

บทนำ

การปลูกถั่วลิสงในประเทศไทย เกษตรกรสามารถปลูกได้ทั้งในฤดูฝนและฤดูแล้ง โดยมีสัดส่วนผลผลิตในฤดูฝน 60 เปอร์เซ็นต์ และผลิตในฤดูแล้ง 40 เปอร์เซ็นต์ (สุกัญญา และคณะ, 2536) สภาพการปลูกถั่วลิสงในฤดูฝนเป็นการปลูกบนที่ดอนสภาพไร่ และที่ราบเชิงเขาอาศัยน้ำจากฝนตามธรรมชาติ ส่วนการปลูกในฤดูแล้ง ส่วนมากจะปลูกในเขตชลประทานที่สามารถจัดการให้น้ำได้ตลอดฤดูปลูก หรือบางท้องที่อาจปลูกโดยอาศัยความชื้นที่ยังเหลืออยู่ในดินเพื่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตเช่น ที่บ้านโคกบุ อำเภอประสาท จังหวัดสุรินทร์ โดยทั่วไปการปลูกถั่วลิสงฤดูฝนมีปัญหาและผลผลิตต่ำกว่าการปลูกในฤดูแล้ง ทั้งนี้เนื่องจากสาเหตุหลายประการ เช่น ปัญหาวัชพืช โรค แมลง และการขาดน้ำในระยะสำคัญของการเจริญเติบโต ปัญหาการขาดน้ำในฤดูฝนในเขตปลูกพืชที่อาศัยน้ำฝนเป็นหลักเป็นสาเหตุที่ป้องกันแก้ไขได้ยากกว่าปัญหาอื่น ๆ เนื่องจากปริมาณและการกระจายของฝนในธรรมชาติไม่แน่นอน บางปีฝนทิ้งช่วงระหว่างฤดูปลูก ทำให้กระทบต่อผลผลิตอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ โดยเฉพาะภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งเป็นภาคที่มีปัญหาเรื่องความแห้งแล้งมากที่สุด เนื่องจากการกระจายของฝนไม่สม่ำเสมอ จากการทดลองที่มหาวิทยาลัยขอนแก่น พบว่า การปลูกถั่วลิสงในช่วงเดือนพฤษภาคม เป็นช่วงที่ให้ผลผลิตสูง แต่การปลูกในช่วงเดือนมิถุนายนซึ่งเป็นระยะที่ฝนทิ้งช่วง จะให้ผลผลิตต่ำลง และถ้าปลูกต่ำกว่าเดือนกรกฎาคม จะให้ผลผลิตต่ำลงมาก โดยเฉพาะในปีที่ฝนหมดเร็ว (อารันต์, 2524 อ้างโดย ทักษิณา, 2536)

ถั่วลิสง จัดได้ว่าเป็นพืชที่ทนแล้ง เมื่อเปรียบเทียบกับพืชไร่ตระกูลถั่วชนิดอื่น เช่น ถั่วเขียว ถั่วเหลือง และถั่วพุ่ม เพราะจากการทดลองของ Pandey และคณะ (1984 a) พบว่า ถั่วลิสงสามารถรักษาศักยภาพของน้ำในใบ (leaf water potential) ได้สูงกว่าถั่วชนิดอื่นในสถานะที่ขาดน้ำ และยังมีความหนาแน่นรากที่ระดับความลึก 0.4 เมตร และ 0.8 เมตร มากกว่าถั่วพุ่ม ถั่วเขียว และถั่วเหลือง (Pandey et al., 1984 b) ถั่วลิสงบางพันธุ์ เช่น Robut 33-1 แม้ได้รับน้ำจำกัดในช่วงแรกของการเจริญเติบโต ก็ไม่ทำให้ผลผลิตฝกลดลง ในทางตรงกันข้ามกลับให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นสูงกว่าที่ได้รับน้ำเต็มที่ถึง 19 เปอร์เซ็นต์ และ 13 เปอร์เซ็นต์ ในปี ค.ศ. 1981 และ 1982 ตามลำดับ (Nageswara Rao et al., 1985) อย่างไรก็ตามถั่วลิสงที่ไม่ได้รับน้ำสม่ำเสมอตลอดฤดูปลูกย่อมให้ผลผลิตต่ำกว่าถั่วลิสงที่ปลูกในสภาพได้รับน้ำเต็มที่ ผลผลิตถั่วลิสงใน

อินเดีย เฉลี่ยเพียง 0.9 ตัน/เฮกตาร์ ในขณะที่ผลผลิตในสหรัฐอเมริกาสูงถึง 2.5 ตัน/เฮกตาร์ ความแตกต่างที่เกิดขึ้นมีสาเหตุหลักมาจาก ปริมาณน้ำที่ได้รับต่างกัน ความแห้งแล้งหรือความไม่สม่ำเสมอของปริมาณน้ำฝน ทำให้ผลผลิตของถั่วลิสงในอินเดียต่ำ (Matthews *et al.*, 1988)

จากงานค้นคว้าวิจัยที่เผยแพร่จำนวนมาก โดยเฉพาะผลงานของสถาบันวิจัยพืชเขตร้อนกึ่งแห้งแล้งนานาชาติ (International Crops Research Institute for the Semi Arid Tropics ; ICRISAT) ทำให้ทราบว่า ถั่วลิสงมีความแตกต่างทางพันธุกรรมในการทนต่อการขาดน้ำ จึงได้มีการพยายามคัดเลือกพันธุ์ถั่วลิสงที่สามารถให้ผลผลิตได้สม่ำเสมอในสภาพแห้งแล้ง แต่ก็พบว่าเป็นการยากที่จะสรุปว่า พันธุ์ใดเป็นพันธุ์ทนแล้งที่แท้จริง เพราะมีความแปรปรวนของสภาพแวดล้อมที่ต่างปีและต่างสถานที่ สาเหตุที่ทำให้ความก้าวหน้าในการปรับปรุงพันธุ์ทนแล้งล่าช้า ประการหนึ่งเป็นเพราะขาดวิธีการคัดเลือกพันธุ์ที่เหมาะสม (Hanson, 1970 อ้างโดย Johnson, 1980) การปรับปรุงพันธุ์พืช เพื่อให้ทนทานต่อความแห้งแล้ง จำเป็นต้องใช้ประชากรขนาดใหญ่ เพราะเกี่ยวข้องกับยีนจำนวนมาก และแต่ละยีนมีผลต่อการควบคุมน้อย (Hurd, 1971 อ้างโดย Johnson, 1980) ดังนั้นวิธีการคัดเลือกพันธุ์ที่เหมาะสม จึงเป็นสิ่งสำคัญและจำเป็นที่จะต้องนำมาใช้ ซึ่ง Johnson (1980) ได้เสนอคุณสมบัติที่พึงประสงค์ทางเทคนิคในการคัดเลือกพันธุ์พืชทนแล้งไว้ 4 ประการ คือ

- 1) ประเมินลักษณะพืชในระยะวิกฤตของการเจริญเติบโต (critical developmental stage)
- 2) สามารถคัดเลือกได้รวดเร็ว
- 3) ใช้ชิ้นส่วนพืชเพียงเล็กน้อย
- 4) สามารถใช้คัดเลือกพืชได้ในประชากรขนาดใหญ่

ด้วยแนวคิดอันเดียวกันนี้ก็ได้มีผู้นำเอาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และลักษณะทางสรีรวิทยา มาศึกษาความสัมพันธ์กับการทนแล้ง เพื่อใช้เป็นตัวชี้วัด (indicator) การทนแล้งในพืช แต่ผลการทดลองยังมีความขัดแย้งกันอยู่มาก และพบว่า ข้อมูลมีปฏิกิริยาสัมพันธ์ (interaction) กับสิ่งแวดล้อมมาก พืชแต่ละชนิดจะมีการปรับตัวต่างกันในการแสดงออกถึงการต้านทาน ต่อความแห้งแล้ง สำหรับถั่วลิสง มีผู้ศึกษาลักษณะการทนแล้งไว้หลายลักษณะ แต่ยังไม่สามารถสรุปได้ว่า ลักษณะใดที่สามารถใช้ในการคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งได้ดีที่สุด นอกเหนือไปจากการคัดเลือกพันธุ์ในสภาพแห้งแล้งจริง ๆ ซึ่งการคัดเลือกในสภาพแห้งแล้งจริง ๆ นั้น มีข้อจำกัดและเสียเวลามากในการคัดเลือกพันธุ์ที่เป็นประชากรขนาดใหญ่

ดังนั้นการศึกษานี้จึงเป็นการทดลอง นำเอาลักษณะการตอบสนองต่อการขาดน้ำของพืช ทั้งทางสัณฐานวิทยา และสรีรวิทยา มากำหนดวิธีการคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งของถั่วลิสง โดยมีวัตถุประสงค์ ดังนี้

1. เพื่อศึกษาวิธีการคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งของถั่วลิสง ที่สามารถปฏิบัติได้ง่าย สะดวก และรวดเร็ว ในการคัดเลือกสายพันธุ์จำนวนมาก
2. เพื่อเปรียบเทียบวิธีการคัดเลือกพันธุ์แบบต่าง ๆ โดยตรวจสอบความสัมพันธ์ระหว่างวิธีการคัดเลือกที่ทำการศึกษากับผลการคัดเลือกในสภาพไร่ที่แห้งแล้ง เพื่อหาวิธีที่ดีที่สุดที่จะใช้ในการคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งของถั่วลิสง
3. เพื่อศึกษาการตอบสนองต่อการขาดน้ำ และเปรียบเทียบความทนแล้งของพันธุ์/สายพันธุ์ถั่วลิสงที่นำมาทดสอบโดยการให้น้ำปริมาณต่างกัน

การตรวจเอกสาร

การปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อให้ทนทานต่อความแห้งแล้ง มีผู้ทำการศึกษาทดลองหลายคน และหลายพืช แต่ความก้าวหน้าในการปรับปรุงพันธุ์พืชทนแล้งค่อนข้างจะล่าช้า ทั้งนี้เพราะขาดวิธีการคัดเลือกพันธุ์ที่เหมาะสม สะดวก และรวดเร็ว (Johnson, 1980)

การตรวจเอกสารชุดนี้เป็นการรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับวิธีการคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งของพืช เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งของถั่วลิสง ซึ่งเป็นจุดประสงค์หลักของการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ โดยมีหัวข้อของการตรวจเอกสารดังนี้

1. ความหมายของความแห้งแล้งและการทนแล้งของพืช
2. การตอบสนองต่อการขาดน้ำของพันธุ์ถั่วลิสง
3. การให้น้ำระบบ Line source sprinkler
4. วิธีการคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งของพืช โดยอาศัยลักษณะบางประการที่แสดงออกถึงความทนทานต่อการขาดน้ำ
 - 4.1 การตรวจสอบความคงทนของเยื่อหุ้มเซลล์ (Cell membrane stability ; CMS)
 - 4.2 การวัดอุณหภูมิพุ่มใบ (Canopy temperature)
 - 4.3 การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ (Chlorophyll content) ในใบ
 - 4.4 การวัดปริมาณน้ำสัมพัทธ์ (Relative water content ; RWC) ในใบ
 - 4.5 การทดสอบดัชนีความงอกของเมล็ดในสภาพเครียดจากการขาดน้ำ (Germination stress index ; GSI)
- 4.6 การให้คะแนนความเหี่ยวของใบด้วยสายตา (Visual scoring)

1. ความหมายของความแห้งแล้งและการทนแล้งของพืช

ความแห้งแล้ง (drought) หมายถึง เหตุการณ์ทางอุทกนิยมนิยามวิทยา และสภาพแวดล้อมที่ฝนไม่ตกเป็นระยะเวลานานพอที่ความชื้นในดินจะลดลงจนเป็นอันตรายต่อพืช (Kramer, 1980) ช่วงเวลาของการขาดฝนจนเป็นอันตรายต่อพืชนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ลักษณะการอุ้มน้ำของดินในแหล่งปลูกพืช และสภาพของบรรยากาศซึ่งมีผลต่ออัตราการระเหยของน้ำและการคายน้ำของพืช ความแห้งแล้ง อาจแบ่งออกเป็น 3 แบบ คือ 1) ความแห้งแล้งแบบถาวร เช่น ในทะเลทราย 2) แห้งแล้งเป็นฤดูกาล เช่น เขตที่มีฤดูฝนและฤดูแล้งแยกกันชัดเจน 3) แห้งแล้งแบบคาดคะเนไม่ได้ เนื่องจากการกระจายของฝนไม่สม่ำเสมอ

ความหมายของคำว่า แห้งแล้งในทางการเกษตร (agricultural drought) โดยทั่วไปหมายถึง สถานะที่น้ำที่ใช้ประโยชน์ได้ (available water) ไม่เพียงพอต่อความต้องการของพืช (Van Bavel and Verlinden, 1956 อ้างถึงใน Kramer, 1980) ทำให้พืชเกิดความเครียด (stress) ซึ่งความเครียดในทางชีววิทยานั้นหมายถึง ปฏิกิริยาใดก็ตามที่รบกวนต่อการทำงานตามปกติของสิ่งมีชีวิต คำว่า drought ใช้ในลักษณะที่มีความกดดันทางสิ่งแวดล้อม ในช่วงเวลาที่พืชขาดน้ำ หรือ stress ซึ่งไปมีผลกระทบต่อกระบวนการทางสรีรวิทยา ระดับความเครียดของพืชที่เกิดจากการขาดน้ำ ขึ้นอยู่กับศักย์ของน้ำ (water potential) และความเต่งของเซลล์ (cell turgor) ที่ลดลงต่ำกว่าค่าที่พอเหมาะ ของพืชนั้น (Kramer, 1980)

ความสัมพันธ์ของน้ำกับพืช

โดยปกติพืชจะมีน้ำเป็นองค์ประกอบที่สำคัญที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต ทั้งนี้เพราะน้ำเป็นแหล่งของ H atom ของสารประกอบอินทรีย์ทั้งหลาย น้ำเป็นตัวทำละลายสารต่าง ๆ เป็นตัวกลางสำหรับกระบวนการทางชีวเคมี เป็นตัวนำการขนส่งแร่ธาตุอาหารภายในต้นพืช และทำให้อวัยวะต่าง ๆ ของพืชคงรูปร่างอยู่ได้ (Mengel, 1982) น้ำเป็นตัวลดความร้อนของใบพืชก่อนที่จะเซลล์จะถูกทำลายดังนั้นในสถานะที่พืชได้รับน้ำปริมาณน้อย หรือขาดน้ำ ย่อมทำให้มีผลกระทบต่อกระบวนการต่าง ๆ ที่กล่าวมา ซึ่งไม่เป็นผลดีต่อการผลิตพืช

พืชปลูกเกือบทุกชนิด จะดูดใช้น้ำจากดิน โดยน้ำจะเคลื่อนที่ผ่าน semi permeable membrane เข้าสู่รากพืช ซึ่งเป็นการเคลื่อนที่จากจุดที่มี water potential สูงไปยังที่มี water

potential ต่ำกว่า และโดยธรรมชาติ soil water potential มักจะสูงกว่า plant water potential เสมอ กล่าวคือ ถ้า soil water potential ลดลง plant water potential ก็จะลดลงด้วยดังตาราง ความสัมพันธ์ระหว่าง soil water potential และ leaf water potential ของถั่วเหลืองที่ รายงานโดย Adjei-Twum and Splittstoesser (1976) ซึ่งอ้างถึงใน Mengel (1982) ต่อไปนี้

soil water potential (bars)	leaf water potential (bars)
จาก 0 ถึง -0.1	-2
จาก 0 ถึง -0.2	-4
จาก 0 ถึง -0.4	-12
จาก 0 ถึง -1.0	-19

สภาพของน้ำในพืช จะมีการเปลี่ยนแปลงตามปริมาณน้ำในดินและปัจจัยอื่น เช่น อุณหภูมิ ลม ซึ่งมีผลต่ออัตราการระเหยของน้ำ โดยทั่วไป water potential ของพืชซึ่งเป็นสิ่งที่บอกถึงสภาพของน้ำในต้น จะเปลี่ยนแปลงอยู่ระหว่าง -1 ถึง -15 bars ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม ในขณะที่ดินที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืชมากที่สุด จะมี water potential อยู่ระหว่าง -0.2 ถึง -0.5 bars (Mengel, 1982)

พืชแต่ละชนิดแต่ละพันธุ์ มีความสามารถในการดูดน้ำและประสิทธิภาพในการใช้น้ำไม่เท่ากัน ขึ้นอยู่กับความแตกต่างทางพันธุกรรมของพืช จินดา (2524) รายงานว่า พืชชนิดต่าง ๆ มีความสามารถทนทานต่อการสูญเสียน้ำไม่เท่ากัน โดยทั่วไปพืชจะตายเมื่อมีการสูญเสียน้ำในช่วง 40-90 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณน้ำอิ่มตัวของดิน (saturated water potential) หรือมีค่าเท่ากับ 92-97 เปอร์เซ็นต์ ของความชื้นสัมพัทธ์ พืชชนิดที่สามารถดำรงอยู่ได้ในสภาพที่สูญเสีย น้ำไปมาก หรือมีปริมาณน้ำในดินเหลืออยู่น้อย ย่อมเรียกได้ว่ามีความทนทานต่อความแห้งแล้ง

การทนแล้งของพืช (drought resistance or tolerance) แบ่งออกเป็น 3 ประเภท ตามการจำแนกของ Kramer (1980) ซึ่งตรงกับการสรุปรวบรวมของสุวิทย์ (2532) ดังนี้

1) **Drought escape** คือความสามารถของพืชในการหลีกเลี่ยงภาวะแห้งแล้ง เช่น มีอายุการเจริญเติบโตสั้นหรือมีความต้องการน้ำน้อยเพราะมีพื้นที่ใบน้อย พืชที่มีการทนแล้งแบบนี้มีอยู่น้อยชนิด เช่น พืชในทะเลทรายหรือพืชที่เจริญในเขตที่มีฤดูฝนสั้นมีปริมาณฝนน้อย ในสภาพปลูกพืชที่มีช่วงแห้งแล้งตอนปลายฤดู พืชจะสุกแก่เร็วขึ้น หรือมีอายุสั้น

2) **Dehydration avoidance** คือความสามารถของพืชที่จะรักษาความเต่งของเซลล์ให้สูงอยู่ในภาวะการขาดน้ำ โดยการเพิ่มศักย์ของน้ำในพืช หรือลด osmotic potential ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของพืช มีการปรับเปลี่ยน เพื่อลดการคายน้ำหรือเพิ่มการดูดน้ำให้มากขึ้น เช่น การมี cuticle หนา การม้วนงอของใบ การตอบสนองทางปากใบ หรือการมีระบบรากลึก ซึ่งล้วนแต่มีส่วนช่วยให้พืชสามารถทนทานต่อความแห้งแล้งมากขึ้น ข้าวบาเลย์ที่ทนทานต่อความแห้งแล้งจะสะสม proline ไว้ในระดับที่สูงกว่าสายพันธุ์ธรรมดา ซึ่งจะทำให้ค่า osmotic potential ภายในเซลล์ มีค่าเป็นลบยิ่งขึ้นก่อให้เกิด positive gradient ในการดูดน้ำ น้ำจะเข้าสู่ภายในเซลล์เพิ่มขึ้น การปรับตัวในลักษณะนี้เรียกว่า osmotic adjustment (Mengel, 1982) กระบวนการทนแล้งที่เรียกว่า dehydration avoidance นี้ Kramer (1980) ใช้ศัพท์คำว่า dehydration postponement เพราะเห็นว่าต้นพืชไม่สามารถหลีกเลี่ยงไปจากความแห้งแล้งได้ แต่เป็นความสามารถปรับตัวด้วยกระบวนการต่างๆ เพื่อให้ทนทานต่อความแห้งแล้งชั่วคราว

3) **Dehydration tolerance** คือความสามารถของพืชที่จะทนอยู่ในภาวะการขาดน้ำได้ หรือสามารถรักษาการเจริญเติบโตได้ในสภาพที่มีศักย์ของน้ำต่ำนั่นเอง โดยปกติเมื่อพืชขาดน้ำ จะทำให้เกิดความเครียดภายในเซลล์ มีผลให้กิจกรรมทางเคมีลดลง แต่สำหรับพันธุ์ที่ทนทานต่อความแห้งแล้ง จะสามารถรักษาระดับกิจกรรมทางเคมีภายในเซลล์และรักษาสภาพความคงทนของเยื่อหุ้มเซลล์ได้ (Blum, 1988)

การทนแล้งของพืชชนิดหนึ่งอาจแสดงออกด้วยการปรับตัวได้มากกว่าหนึ่งแบบ ไม่จำเป็นต้องแสดงออกแบบเดียว ข้อสำคัญจะต้องตรวจวัดให้ได้ว่ามีการปรับตัวแบบใดบ้างเพื่อจำแนกประเภทของการปรับตัวเพื่อประโยชน์ในการศึกษาทั้งทางด้านนิเวศวิทยา และการปรับปรุงพันธุ์พืช (Kramer, 1980)

2. การตอบสนองต่อการขาดน้ำของพันธุ์ถั่วลิสง

น้ำเป็นปัจจัยที่สำคัญมากต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของถั่วลิสง เฉลิมพล (2536) รายงานว่า ปัจจัยที่ทำให้ถั่วลิสงมีการสะสมน้ำหนักแห้งแตกต่างกันมีหลายประการ ได้แก่ พันธุ์ ฤดูปลูก ความชื้น ชนิดของดิน พื้นที่ปลูก และการจัดการ ในบรรดาปัจจัยทั้งหลายนี้ ความชื้น (ในดิน) และชนิดของดิน จะมีผลกระทบต่อการสะสมน้ำหนักแห้งรุนแรงกว่า

สาเหตุอื่น ถั่วลิสงที่ได้รับน้ำทุก 7 วัน มีการสะสมน้ำหนักแห้งสูงกว่าที่ได้รับน้ำทุก 14 วัน ที่อายุ 60 วันหลังปลูก ผลผลิตเมล็ดของถั่วลิสงที่ได้รับน้ำปริมาณมากสูงกว่าถั่วลิสงที่ได้รับน้ำปริมาณน้อยลง (นิมิตร และคณะ, 2531) สอดคล้องกับผลการทดลองของจักรี (2532) ที่ให้น้ำต่างระดับแก่ถั่วลิสง และพบว่า การขาดน้ำทำให้ผลผลิตของถั่วลิสงลดลง

Boote (1982) รายงานว่า ถั่วลิสงที่ขาดน้ำในช่วงการเจริญเติบโตทางลำต้นและใบ (vegetative stage) จะมีผลทำให้การยึดตัวของลำต้นลดลง แตกกิ่งก้านน้อยลง การขยายตัวของใบลดลง ทำให้ขนาดใบเล็ก เซลล์มีขนาดเล็ก และอยู่ชิดกันมาก และมีดัชนีพื้นที่ใบต่ำ ส่วนรากจะมีการพัฒนาขนไขกลึงลงไปในดิน ซึ่ง Turner (1986) กล่าวว่า การที่รากเจริญหยั่งลึกลงไปในดินได้มาก จะทำให้พืชสามารถทนแล้งได้ดี เพราะดูดใช้น้ำในดินระดับลึกได้มากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบถั่วลิสงกับพืชไร่ชนิดอื่นจะพบว่าถั่วลิสงมีความสามารถในการทนแล้งได้ดีกว่าพืชอีกหลายชนิด ถั่วลิสงที่ได้รับน้ำน้อย (ทุก 14 วัน) มีความหนาแน่นรากมากกว่าถั่วลิสงที่ได้รับน้ำมาก (ทุก 7 วัน) รากมีแนวโน้มที่จะกระจายลดลงในดินตามระดับความชื้นที่ field capacity ที่ลดต่ำลง (นิมิตรและอรรถชัย, 2529) และถั่วลิสงที่ได้รับน้ำน้อยจะมีประสิทธิภาพในการใช้น้ำสูงกว่าถั่วลิสงที่ได้รับน้ำเป็นปริมาณมาก (นิมิตร และคณะ, 2531)

การขาดน้ำในช่วงที่ถั่วลิสงออกดอก สุริย์ (2526) รายงานว่าเป็นช่วงสำคัญมาก คือ ถั่วลิสงที่กำลังออกดอกจะไวต่อการขาดน้ำมากที่สุด รองลงมา คือ ช่วงที่กำลังสร้างฝัก ทั้งนี้เพราะการขาดน้ำในขณะออกดอกจะทำให้ดอกชูดแรก ๆ ร่วง ซึ่งดอกชูดแรกนี้จะเป็นดอกที่ให้ฝักสมบูรณ์ ส่วนดอกชูดหลังจะให้ฝักที่ไม่โตเท่ากับฝักที่ได้จากดอกชูดแรก แต่จากการศึกษาของทักษิณา และจันทา (2533) พบว่า การขาดน้ำในช่วงพัฒนาฝัก (60-70 วัน หลังออก) จะทำให้ผลผลิตถั่วลิสงลดลงมากกว่าเมื่อขาดน้ำในช่วงลงเข็ม (45-55 วันหลังออก) และในช่วงออกดอก (30-40 วันหลังออก) เช่นเดียวกับข้อสรุปจากหลายรายงานของ Boote และคณะ (1982) ที่กล่าวว่า การขาดน้ำในช่วงที่ฝักกำลังพัฒนาจะทำให้ผลผลิตของถั่วลิสงลดลงต่ำกว่าการขาดน้ำในระยะอื่น ๆ

ความสามารถในการปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมของพันธุ์ถั่วลิสงมีความแตกต่างกัน อารันต์ (2528) รายงานว่า ชนิดของพันธุ์ถั่วลิสงที่ปลูกตามแหล่งต่าง ๆ ทั่วโลก มีการปรับตัวได้ดีกับสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน ในสภาพการปลูกโดยอาศัยน้ำฝน ถ้าฤดูฝนยาวหรือเขตที่มีปริมาณฝนมากมักจะใช้พันธุ์พวกเวอร์จิเนียเมล็ดโต แต่ถ้าฤดูฝนสั้นหรือเขตที่มีปริมาณฝนน้อยมักจะใช้พันธุ์พวกสเปนิช-วาเล็นเซียที่มีอายุสั้นและมีขนาดเมล็ดเล็ก ในประเทศไทยมีการนำ

พันธุ์เมล็ดโตพวกเวอร์จิเนียมาปลูกแต่ก็มีปัญหาเมล็ดลีบสูง ซึ่งสาเหตุใหญ่มาจากการขาดธาตุแคลเซียม หรือการกระทบแล้ง จากการทดลองของ Williams และคณะ (1986) พบว่าความสามารถในการทนแล้งของถั่วลิสงที่นำมาศึกษา ขึ้นอยู่กับรูปแบบ (pattern) ของช่วงเวลาในการขาดน้ำเป็นหลัก กล่าวคือ บางพันธุ์ทนต่อการขาดน้ำในระยะแรกของการเจริญเติบโต บางพันธุ์ทนต่อการขาดน้ำในระยะออกดอกหรือสร้างฝัก การเปรียบเทียบความสามารถในการทนแล้ง วัดจากอัตราส่วนของการใช้น้ำ (Water use ratio ; WUR) ถั่วลิสงบางพันธุ์สามารถสะสมน้ำหนักแห้งได้สูงกว่าพันธุ์อื่น ๆ ถึง 30% ในระดับที่มีการคายน้ำเท่ากัน การตอบสนองต่อความแห้งแล้งของถั่วลิสง 22 พันธุ์ที่นำมาทดสอบจัดแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม คือ 1) กลุ่มที่มีผลผลิตต่ำกว่าค่าเฉลี่ยของสายพันธุ์ทั้งหมดทุกช่วงเวลาของการกระทบแล้ง 2) กลุ่มที่มีความทนแล้ง หรือไม่ทนแล้ง ต่อบางช่วงเวลาของการกระทบแล้ง และ 3) กลุ่มที่มีความทนแล้งต่อการกระทบแล้งทุกช่วงเวลา แต่การเปรียบเทียบพันธุ์ ควรจะพิจารณาร่วมกันระหว่างผลผลิตในสภาวะที่กระทบแล้งในรูปแบบช่วงอายุต่าง ๆ และผลผลิตในสภาวะที่ไม่ขาดน้ำ (nonstressed)

ความแปรปรวน (variation) ของพันธุ์ถั่วลิสงอาจแสดงออกในรูปของน้ำหนักแห้งได้ เพราะเป็นส่วนที่จะใช้ในการเจริญเติบโตของฝัก ความแตกต่างทางพันธุกรรมของถั่วลิสงในการตอบสนองต่อความแห้งแล้งจะปรากฏชัดเจนมากเมื่อกระทบแล้งในช่วงกลางฤดูปลูก เนื่องจากมีความสามารถในการฟื้นตัวหลังจากรับแล้งไม่เท่ากัน (Williams et al., 1986) ส่วนการคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งของถั่วลิสงในประเทศไทย ที่กำหนดรูปแบบความแห้งแล้งให้ได้รับน้ำน้อยตลอดฤดูปลูก ตามแผนการให้น้ำแบบ line source sprinkler ที่ปริมาณน้ำลดหลั่นกันลงไปจากมากไปหาน้อย Vorasoot และคณะ (1986) พบว่า ถั่วลิสงแต่ละพันธุ์มีความสามารถในการทนแล้งต่างกัน วัดได้จากการเปรียบเทียบผลผลิตฝักแห้ง และน้ำหนักแห้ง พันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงในสภาพที่ได้รับน้ำมาก มักจะให้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์อื่น ๆ ในสภาพที่ได้รับน้ำน้อย โดยผลผลิตและน้ำหนักแห้งของถั่วลิสงจะลดลงตามส่วนของปริมาณน้ำที่ได้รับ

Ketring (1986) ได้ทำการทดลองตรวจสอบลักษณะทางพันธุกรรมของถั่วลิสงในการทนร้อนและทนแล้ง พบว่าถั่วลิสงมีความแตกต่างทางพันธุกรรมในการทนต่อความร้อน ซึ่งวัดได้จากความคงทนของเมมเบรน (membrane thermo stability) และมีความแตกต่างทางพันธุกรรมในการทนแล้ง โดยวัดจากลักษณะของรากที่มีความสามารถในการแพร่กระจายเพื่อดูดใช้น้ำและลักษณะของใบในการเก็บรักษาน้ำ (RWC) ลักษณะการทนร้อนและทนแล้ง

ของถั่วลิสงนี้ สามารถถ่ายทอดได้ทางพันธุกรรม ดังจะเห็นได้จากคุณสมบัติของพันธุ์ OK-FH15 ซึ่งเป็นลูกผสมของพันธุ์ Comet และ Florunner ที่ได้ลักษณะดีของพ่อและแม่มาทั้งสองฝ่าย จึงคาดว่า การคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งของถั่วลิสงจะมีความก้าวหน้าและเป็นไปได้ในอนาคต

3. การให้น้ำระบบ Line Source Sprinkler

Line source sprinkler เป็นระบบการให้น้ำแบบพ่นฝอยที่ให้น้ำปริมาณมากใกล้บริเวณหัวจ่าย (sprinkler) และค่อย ๆ ลดปริมาณลงตามลำดับ เมื่อระยะห่างจากศูนย์กลางหัวจ่ายออกไป ระบบการให้น้ำแบบนี้ Hanks และคณะ (1976) เป็นผู้ริเริ่มใช้ศึกษาเกี่ยวกับการให้น้ำแก่พืช โดยการวางท่อสปริงเกลอร์ในแนวกลางแปลง มีหัวจ่ายน้ำหรือหัวสปริงเกลอร์ติดตั้งเป็นระยะ ซึ่งเมื่อเทียบกับการให้น้ำแบบอื่น ที่ใช้ศึกษาเกี่ยวกับความต้องการน้ำของพืช จะเป็นระบบที่ได้เปรียบในด้านความสะดวกในการติดตั้ง ใช้พื้นที่น้อยและลดปัญหาเรื่องการควบคุมระดับน้ำ ต่อมา Hanks และคณะ (1980) ได้เสนอแผนผังและแผนการทดลองสำหรับใช้กับระบบ Line source sprinkler ปรากฏว่าระบบการให้น้ำแบบนี้ได้มีผู้นำไปใช้อย่างกว้างขวางในการศึกษาเกี่ยวกับการตอบสนองต่อการขาดน้ำของพืช เช่น O'Neil และคณะ (1983) ใช้ประเมินความทนแล้งของข้าวฟ่างในสภาพไร่ ซึ่งได้ผลดีมากในการคัดเลือกพันธุ์ข้าวฟ่าง Matthews และคณะ (1988) ใช้ในการประเมินสายพันธุ์ถั่วลิสงเพื่อคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งสำหรับให้ผลผลิตสูงและสม่ำเสมอที่ ICRIAT ประเทศอินเดีย แต่ยังไม่สามารถสรุปผลได้เด่นชัดนัก เพราะยังมีความแปรปรวนในแต่ละปีและสถานที่ที่ทำการทดลอง Singh และคณะ (1991) ได้ทดลองเปรียบเทียบความทนทานต่อความแห้งแล้งของถั่วลิสง 22 สายพันธุ์ ภายใต้ระบบการให้น้ำแบบ Line source sprinkler โดยใช้ผลผลิตฝักแห้งเป็นตัวเปรียบเทียบ ผลปรากฏว่าไม่มีพันธุ์ใดที่สามารถทนแล้งได้ทุกรูปแบบ จะมีบางพันธุ์เท่านั้นที่ทนแล้งได้เมื่อขาดน้ำในช่วงต้นฤดูและกลางฤดู แต่จะไม่ทนแล้งเมื่อขาดน้ำในช่วงอื่นๆ จักรี (2532) ใช้ระบบ Line source sprinkler ในการประเมินความสามารถในการให้ผลผลิตของถั่วลิสงเทียบกับถั่วชนิดอื่นๆ ในช่วงการผสมพันธุ์ที่สถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (IRRI) พบว่า การขาดน้ำทำให้ผลผลิตถั่วลิสง ถั่วเขียว ถั่วเหลือง และถั่วพุ่มลดลง แต่ไม่ทำให้ผลผลิตถั่วมะแฮะลดลง ถั่วลิสงและถั่วมะแฮะ ใช้น้ำมากที่สุด และทนแล้งมากที่สุด เพราะสามารถดูดน้ำจากดินในระดับลึกๆ ได้ Vorasoot และคณะ (1989) ได้นำเอาระบบ Line source sprinkler เข้ามาทดสอบเพื่อคัดเลือก

พันธุ์ทนแล้งของพืชเป็นครั้งแรกในประเทศไทย พบว่าระบบการให้น้ำแบบนี้มีการกระจายสม่ำเสมอ แต่จะต้องระวังการใช้ คือต้องใช้ในขณะที่ลมสงบ เช่น เวลาเย็น หรือกลางคืน เพื่อหลีกเลี่ยงความแปรปรวนของปริมาณน้ำอันเกิดจากกระแสลมพัด ใช้หัวสปริงเกอร์ Nann เบอร์ 32 ซึ่งจะต้องควบคุมแรงดันน้ำให้อยู่ในระดับ 3 atmosphere หรือมากกว่า พืชที่ใช้ทดลองเพื่อคัดเลือกพันธุ์ทนแล้ง มี 3 ชนิด ได้แก่ ถั่วลิสง งา และปอแก้ว พบว่า สามารถใช้คัดเลือกพันธุ์ทนแล้งของพืชได้ทั้ง 3 ชนิด สำหรับถั่วลิสง ลักษณะที่ใช้วัดความทนแล้งที่ดี คือ ผลผลิตฝัก พันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงในสภาพแห้งแล้งมักจะให้ผลผลิตสูงในสภาพที่ได้รับน้ำมาก ผลผลิตและน้ำหนักแห้งของพืชจะสูงเมื่อได้รับน้ำปริมาณมาก และลดต่ำลงเมื่อได้รับปริมาณน้ำน้อยลงตามลำดับ

สมชาย (2535) ใช้เทคนิคการให้น้ำแบบ Line source sprinkler ศึกษาผลกระทบของการให้น้ำต่างระดับที่มีผลต่อการเจริญเติบโต และการพัฒนาของถั่วเขียว พบว่า อัตราการเจริญเติบโต และผลผลิตจะลดลงเมื่อเกิดการขาดน้ำ การทนแล้งของถั่วเขียวมีความสัมพันธ์กับอายุการเก็บเกี่ยว พันธุ์ที่มีอายุเก็บเกี่ยวปานกลาง ให้ผลผลิตสูงกว่าและทนต่อสภาพการขาดน้ำได้ดีกว่าพันธุ์อายุยาวและอายุสั้น

เทคนิคการให้น้ำระบบ Line source sprinkler จึงเหมาะที่จะนำมาใช้ในการประเมินสายพันธุ์ถั่วลิสง เพื่อคัดเลือกพันธุ์ทนแล้ง และใช้เป็นค่ามาตรฐานในการเปรียบเทียบผลจากวิธีการอื่น ๆ

4. วิธีการคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งของพืช โดยอาศัยลักษณะบางประการที่แสดงความทนทานต่อการขาดน้ำ

4.1 การทดสอบความคงทนของเยื่อหุ้มเซลล์ (Cell membrane stability ; CMS)

บทบาทของเยื่อหุ้มเซลล์ ในการต้านทานต่อสภาวะขาดน้ำ เป็นที่ยอมรับและมีรายงานปรากฏอยู่หลายแห่ง (สุวิทย์, 2532) พืชที่ไม่ทนต่อการขาดน้ำเมื่อประสบสภาวะขาดน้ำจะมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ ความคงทนของเยื่อหุ้มเซลล์นั้นขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ การเปลี่ยนแปลงของโปรตีน หรือ phospholipid ของเยื่อหุ้มเซลล์ซึ่งจะมีผลกระทบต่อความสามารถในการยอมให้ซึมผ่าน (permeability) ของเยื่อหุ้มเซลล์

สุวิทย์ (2532) อ้างถึงการศึกษากายของ Blum และ Ebercon (1981) ว่า ในการศึกษาความแข็งแรงของเยื่อหุ้มเซลล์เพื่อใช้เป็นดัชนีวัดความทนแล้งโดยการวัดการรั่วไหลของ electrolyte

จากเนื้อเยื่อของข้าวสาลีที่ถูกแช่ในสารละลายความเข้มข้นสูง คือ PEG 6000 ปรากฏว่า ข้าวสาลีพันธุ์ต่าง ๆ แตกต่างกันในความคงทนของเยื่อหุ้มเซลล์ สารที่รั่วไหลออกมา (electrolyte) จะประกอบด้วยสารหลายอย่าง เช่น น้ำตาล แอลกอฮอล์ สอร์โบน กรดอะมิโน และสารประกอบฟอสเฟต เป็นต้น

Premachandra และคณะ (1990) ได้รายงานไว้ว่า ลักษณะความคงทนของเยื่อหุ้มเซลล์สามารถใช้ประเมินความทนทานต่อความแห้งแล้งและความทนร้อนของพืชได้ค่อนข้างมีประสิทธิภาพ เป็นวิธีการทำในห้องปฏิบัติการ โดยตัดใบแช่ในสารละลาย PEG หลังจากนั้นนำไปแช่ในน้ำและวัดการรั่วไหลของ electrolyte ที่ออกจากเซลล์ ระดับความคงทนของเยื่อหุ้มเซลล์ภายใต้สภาวะที่มีความเครียดประเมินจากการรั่วไหลของไอออนที่สามารถวัดได้ด้วยเครื่องวัดการนำไฟฟ้า วิธีการนี้เคยมีรายงานการใช้คัดเลือกพันธุ์ของข้าวฟ่าง ข้าวสาลี ถั่วเหลือง *Dactylis glomerata* และข้าวโพด พบว่ามีประสิทธิภาพพอสมควรเมื่อเทียบกับวิธีการอื่น ๆ ในการหาความแตกต่างทางพันธุกรรมของพืชต่อการทนแล้งและการทนต่ออุณหภูมิสูง

Laohasiriwong (1982) ได้ทำการทดสอบความคงทนของเซลล์ใบถั่วเหลือง โดยแช่ใบอ่อนที่คลี่ขยายเต็มที่ใน PEG 6000 43 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งทำให้เกิด osmotic stress -18 บาร์ ทดสอบ 3 ระยะการเจริญเติบโต คือ ครั้งที่ 1 เมื่อถั่วเหลืองอายุยังน้อยอยู่ในช่วงแรกของการเจริญทางด้านลำต้นและใบ (early vegetative stage) ครั้งที่สอง เมื่อถั่วเหลืองเริ่มเข้าสู่ระยะแรกของการสืบพันธุ์ (early reproductive stage) ครั้งที่สาม เมื่อถั่วเหลืองมีฝักและประสพภาวะการขาดน้ำ ผลปรากฏว่าเนื้อเยื่อพืชที่อายุยังน้อย จะมีความทนทานมากกว่าเนื้อเยื่อพืชที่แก่มากขึ้น และความทนทานมีความแตกต่างกันระหว่างสายพันธุ์ทั้ง 3 ครั้งที่ทำการทดสอบ เปอร์เซ็นต์การถูกทำลายลดลงในการทดสอบครั้งที่ 3 เพราะเยื่อหุ้มเซลล์ปรับตัวต่อการขาดน้ำ เปอร์เซ็นต์การถูกทำลายของเยื่อหุ้มเซลล์มีความสัมพันธ์กันกับ relative reduction ของผลผลิต ($r = 0.8028$) แสดงว่า อาจใช้เป็นวิธีการคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งของถั่วเหลืองในช่วงเริ่มต้นได้ ต่อมา Laohasiriwong และคณะ (1988) ได้ทำการทดสอบคัดเลือกพันธุ์ถั่วเหลืองทนแล้ง จำนวน 14 สายพันธุ์ โดยใช้วิธีการทดสอบ Cell membrane stability ในสารละลาย PEG 6000 เหมือนเดิม และวัดค่าการนำไฟฟ้าของไอออนที่รั่วไหลออกจากเซลล์ พบว่าถั่วเหลือง 14 สายพันธุ์ ที่นำมาทดสอบ มีความคงทนของเยื่อหุ้มเซลล์ไม่เท่ากันในสภาพที่ขาดน้ำ พันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์การถูกทำลายต่ำ คือ พันธุ์ที่มี CMS สูง แต่เมื่อนำค่า CMS ไปหาความสัมพันธ์กับ Index of susceptibility ซึ่งเป็นดัชนีในการคัดเลือกพันธุ์ทนแล้ง กลับพบว่าไม่มีความสัมพันธ์กัน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะมีความแปรปรวน

ของเปอร์เซ็นต์การถูกทำลายซึ่งแปรปรวนไปตามช่วงอายุของการเจริญเติบโตของถั่วเหลือง (Laohasiriwong *et al.*, 1989)

Index of drought susceptibility (S) คือ ตัวชี้ที่บอกถึงสัดส่วนการลดลงของผลผลิตในสภาพแห้งแล้งกับผลผลิตในภาวะที่ได้รับน้ำอย่างเพียงพอตามสูตรการคำนวณของ Fischer and Wood (1979) ดังนี้

$$S = \left[1 - \frac{Y_d}{Y_p} \right] \times 100$$

เมื่อ S = drought susceptibility Index

Y_d = ผลผลิตในสภาวะแห้งแล้ง

Y_p = ผลผลิตในสภาวะที่ได้รับน้ำอย่างเพียงพอ

ความคงทนของเยื่อหุ้มเซลล์ (CMS) เมื่อได้รับความเครียดจากการขาดน้ำระดับหนึ่งสามารถที่จะใช้วัดความทนทานต่อความแห้งแล้งได้ (Blum, 1988) จากการศึกษาของ Premachandra และ Shimada (1988) ที่ได้ทดสอบความคงทนของเยื่อหุ้มเซลล์ของใบข้าวสาลีในสารละลาย PEG 6000 พบว่า ความคงทนของเยื่อหุ้มเซลล์สามารถใช้วัดความทนแล้งของข้าวสาลีได้ และจากการทดลองเพื่อดูอิทธิพลของปุ๋ยไนโตรเจนที่มีต่อความคงทนของเยื่อหุ้มเซลล์ของถั่วเหลือง พบว่า ปุ๋ยไนโตรเจนที่ใส่ให้ถั่วเหลืองในอัตรา 300 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ (48 กิโลกรัมต่อไร่) มีผลทำให้ค่า CMS สูงขึ้น (Premachandra, *et al.*, 1990)

ลักษณะความคงทนของเยื่อหุ้มเซลล์ในถั่วลิสงที่ตรวจสอบโดยวิธี Vitro leaf-disc จากใบถั่วลิสงที่เก็บจากแปลงปลูก พบว่ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมในการทนต่อความร้อน (Ketring, 1986) ตรงกับรายงานของ Premachandra และคณะ (1990) ที่กล่าวว่า มีความผันแปรทางพันธุกรรม (genetic variation) ของลักษณะ CMS ในถั่วเหลือง ซึ่งอาจใช้ในการคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งได้ สำหรับความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรม (heritability) พบว่ามี heritability สูงใน *D.glomerata* (Premachandra *et al.*, 1990) ความถี่ในการกระจายตัวของลักษณะ CMS ที่พบในสายพันธุ์ข้าวสาลีฤดูหนาว (winter wheat) นั้น มีความสัมพันธ์กันมากกับรูปแบบการกระจายตัวทางปริมาณ (quantitative inheritance) จึงคาดว่าความคงทนของเยื่อหุ้มเซลล์ (CMS) จะถูกควบคุมด้วยยีนหลายตัว (polygene action) (Premachandra and Shimada, 1990)

4.2 การวัดอุณหภูมิพุ่มใบ (Canopy temperature)

อุณหภูมิพุ่มใบของพืช เป็นลักษณะหนึ่งที่ได้รับ ความสนใจมากในการใช้เป็นตัวชี้วัดการทนแล้ง (dehydration avoidance) ของพืช Ehrler และคณะ (1978) รายงานว่า อุณหภูมิพุ่มใบจะสูงขึ้นเมื่อพืชขาดน้ำ เพราะอุณหภูมิพืชเป็นผลตอบสนองของการเปลี่ยนระดับศักย์ของน้ำซึ่งสามารถวัดรังสีความร้อนได้โดยการสำรวจข้อมูลระยะไกล (remote sensing technique) ศักย์ของน้ำในพืชตอนรุ่งอรุณที่ได้รับความชื้นใหม่ ๆ วัดได้ -2.0 บาร์ และเมื่อถึงจุดเหี่ยวถาวร ศักย์ของน้ำในพืชจะมีค่า -16 บาร์ เวลา 14.00 น. เป็นช่วงที่พืชมีศักย์ของน้ำต่ำที่สุดคือ อยู่ระหว่าง -15 ถึง -30 บาร์ การขาดน้ำในดินมากขึ้น หรือเมื่อมีความแห้งแล้งมากขึ้น จะทำให้ศักย์ของน้ำในพืชลดลงด้วยอัตราเร็วมาก ความแตกต่างระหว่างอุณหภูมิพุ่มใบ กับอุณหภูมิอากาศ (ΔT) พบว่า มีสหสัมพันธ์กับศักย์ของน้ำในพืช พืชที่ขาดน้ำจะมีศักย์ของน้ำในพืชต่ำ และทำให้ความแตกต่างของอุณหภูมิ (ΔT) สูงขึ้น ความแตกต่างของอุณหภูมินี้สามารถใช้เป็นตัววัดการตอบสนองของพืชต่อความแห้งแล้งได้

Blum (1988) ได้อ้างผลการทดลองของ Fischer และคณะ (1986) ว่าอุณหภูมิพุ่มใบของข้าวโพดมีสหสัมพันธ์ในทางลบกับผลผลิตเมล็ด เมื่อปลูกในสภาพที่มีความเครียดน้ำ ($r = -0.56^{**}$ ถึง -0.75^{**}) และจากการทดลองของ Blum และคณะ (1982) ที่ทำในข้าวสาลีก็พบว่า อุณหภูมิพุ่มใบมีสหสัมพันธ์กับศักย์ของน้ำในใบ สูงขึ้น เมื่อมีความเครียดน้ำสูงขึ้น ซึ่งระดับอันตรายของความเครียดจากการขาดน้ำในข้าวสาลีจะเกิดขึ้นเมื่อศักย์ของน้ำในใบในเวลาเที่ยงวันมีค่า -25 บาร์ ลักษณะอุณหภูมิพุ่มใบนี้สามารถใช้ในการคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งของข้าวสาลี ได้ผลดี

ในการเปรียบเทียบวิธีการคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งของข้าว ที่ทดลองโดย Ingram และคณะ (1990) พบว่า อุณหภูมิพุ่มใบของข้าวในสถานะที่ขาดน้ำจะมีค่าสหสัมพันธ์ในทางลบกับผลผลิตเมล็ดอย่างมีนัยสำคัญ ($r = -0.55$ ถึง -0.63) การวัดอุณหภูมิพุ่มใบจึงน่าจะเป็นวิธีการหนึ่งที่จะใช้ในการคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งของข้าว

การขาดน้ำจะทำให้อุณหภูมิพุ่มใบถ่วงลิสงสูงขึ้น มีผลต่ออัตราการพัฒนาใบทำให้จำนวนใบลดลง และจำนวนใบก็มีความสัมพันธ์กับการผลิตดอก เข็ม และฝัก จำนวนใบ ฝัก เข็ม ลดลง ในสภาพที่ได้รับน้ำปกติสัดส่วนของจำนวนฝักต่อจำนวนเข็ม จะอยู่ประมาณ 0.8 แต่เมื่อถ่วงลิสงกระทบแล้ง สัดส่วนของจำนวนฝักต่อจำนวนเข็มของถ่วงลิสง 3 พันธุ์ ที่ใช้ทดลอง จะมีค่าประมาณ 0.15 มีเพียงพันธุ์เดียวคือ พันธุ์ TMV2 ที่สามารถรักษาสัดส่วน 0.8 ไว้ได้ในสถานะแล้ง (Harris et al., 1988)

ถั่วลิสงที่ปลูกในสภาวะการขาดน้ำ ค่าการวัดศักย์ของน้ำในใบ (LWP) จะอยู่ประมาณ -0.67 MPa สูงกว่าถั่วเขียว ถั่วพุ่ม และถั่วเหลือง ซึ่งมีค่า LWP -1.20, -1.40 และ -1.41 MPa ตามลำดับ สภาวะของน้ำในใบตลอดฤดูปลูกมีความใกล้ชิดกันมากกับอุณหภูมิพุ่มใบ ความแห้งแล้งที่เพิ่มขึ้น จะทำให้ศักย์ของน้ำในใบลดลง และทำให้ความแตกต่างของอุณหภูมิอากาศกับอุณหภูมิพุ่มใบ (ΔT) มีค่าสูงขึ้น ΔT มีความสัมพันธ์ในทางลบกับผลผลิต จึงอาจใช้เป็นประโยชน์สำหรับการคัดเลือกชนิดพืชในเขตพื้นที่แห้งแล้งได้ (Harris et al., 1988)

การวัดอุณหภูมิพุ่มใบของพืชที่นิยมกันมาก มักจะใช้เทอร์โมมิเตอร์รังสีอินฟราเรด (Infrared Thermometer) ซึ่ง Blum (1988) ได้กล่าวถึงหลักการของเครื่องมือชนิดนี้ว่า เป็นการรวมสัญญาณความร้อนจากพื้นที่กลุ่มใบพืชทั้งหมด แต่กลุ่มใบที่จะวัดอุณหภูมิจะต้องเป็นตัวแทนที่ดีของพืช กล่าวคือไม่มีช่องว่างระหว่างพุ่มใบ มุมจับของเทอร์โมมิเตอร์ และระยะของกลุ่มใบ จะต้องเหมาะสมไม่ให้เห็นดิน เพราะอุณหภูมิจากพื้นดินจะทำให้ค่าไม่ถูกต้อง พืชที่มีทรงต้นต่างกัน และมีระยะการเจริญเติบโตต่างกัน จึงต้องปรับมุมจับของเทอร์โมมิเตอร์แตกต่างกัน การวัดจะต้องทำหลังจากเที่ยงวันและวางแนวเทอร์โมมิเตอร์ไม่ให้อยู่ตรงข้ามกับแสงอาทิตย์ในขณะที่ทำการวัด ทั้งนี้เพื่อหลีกเลี่ยงการสะท้อนแสงจากพุ่มใบเข้าไปในเทอร์โมมิเตอร์ ภาวะที่ท้องฟ้ามีเมฆมาก หรือเมฆกระจัดกระจายก็เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ค่าการวัดแปรปรวนได้ นอกจากนี้ยังมีความไว (sensitive) ต่อดมด้วย จึงควรหลีกเลี่ยงการวัดเมื่อมีลมพัดจัด

การวัดอุณหภูมิพุ่มใบ อาจใช้เทอร์โมมิเตอร์มือถือ โดยใช้คนจดข้อมูลหรือใช้เครื่องบันทึกข้อมูลแบบตัวเลขก็ได้ การวัดอุณหภูมิควรทำซ้ำ 2-3 ครั้ง/สัปดาห์ ในช่วงที่เกิดภาวะแห้งแล้ง ความแปรปรวนของอุณหภูมิของพันธุ์ตรวจสอบ (control) จะเป็นตัวตรวจสอบ (check) สภาพพื้นที่และเครื่องมือ ความแตกต่างของพืชแต่ละส่วน มีผลทำให้อุณหภูมิที่วัดได้แตกต่างกัน ดังนั้นถ้าวัดเพื่อเปรียบเทียบพันธุ์ จึงควรวัดจากส่วนเดียวกันทั้งหมดทุกพันธุ์ การวัดอุณหภูมิพุ่มใบในภาวะที่พืชเครียดน้ำ ควรวัดก่อนพืชออกดอก และพุ่มใบคลุมผิวดินบริเวณนั้นหมดแล้ว (Blum, 1988)

Sivakumar และ Sarma (1986) ทำการศึกษาความสัมพันธ์ของน้ำกับถั่วลิสงและได้วัดอุณหภูมิพุ่มใบถั่วลิสง เมื่ออายุ 75 วัน หลังออก ทำการวัดในเวลากลางวัน พบว่า ความแปรปรวนของอุณหภูมิพุ่มใบขึ้นอยู่กับช่วงเวลาของวันและช่วงเวลาที่มีพืชกระทบแล้ง อุณหภูมิพุ่มใบถั่วลิสงที่กระทบแล้งในระยะออกดอกจนถึงการเจริญของเมล็ด วัดได้ค่าสูงสุด 35°C เมื่อวัดเวลา 13.00 น. ใน

ขณะที่ถั่วลิสงที่กระทบแสงตลอดฤดูปลูก จะมีอุณหภูมิพุ่มใบสูงสุด 33°C เมื่อวัดในช่วงเวลา 11.00-13.00 น. ส่วนถั่วลิสงที่กระทบแสงในช่วงแรกของการเจริญเติบโต จะมีอุณหภูมิต่ำกว่า 33°C เพราะเมื่อถั่วลิสงอายุ 75 วัน ที่ทำการวัดอุณหภูมิพุ่มใบนั้น ถั่วลิสงพ้นจากความแห้งแล้งแล้ว ซึ่งข้อมูลนี้สอดคล้องกับข้อสังเกตของ Sander และคณะ (1982) ที่อ้างถึงใน Sivakumar and Sarma (1986) ที่รายงานว่าอุณหภูมิพุ่มใบถั่วลิสงจะสูงขึ้นตามสภาวะที่กระทบแสง อุณหภูมิพุ่มใบของถั่วลิสงที่มีการให้น้ำปกติในช่วงบ่มได้ 28.5°C เฉลี่ย แต่ถากระทบแสงอุณหภูมิพุ่มใบจะสูงขึ้นถึง 35°C เฉลี่ย

4.3 การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ (Chlorophyll content) ในใบ

ความเข้มของคลอโรฟิลล์ในใบพืช เป็นลักษณะหนึ่งที่มีผู้สนใจศึกษาความสัมพันธ์กับการทนแล้งของพืช ดังจะเห็นได้จากการทดลองของ Sudhakar และคณะ (1989) ที่ศึกษาการตอบสนองต่อการขาดน้ำของข้าวในระยะต่าง ๆ ของการเจริญเติบโต โดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงลักษณะต่าง ๆ ของต้นข้าว พบว่า พันธุ์ที่ทนทานต่อความแห้งแล้งได้ดีที่สุด และให้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์อื่น คือ พันธุ์ที่สามารถรักษาความเข้มของคลอโรฟิลล์ได้ดีกว่าพันธุ์อื่น ไม่ว่าจะได้รับน้ำปกติหรือเมื่อกระทบแล้ง และพันธุ์ที่ทนแล้งยังมีปริมาณคลอโรฟิลล์สูงกว่าพันธุ์อื่น

Blum (1988) รายงานว่า ลักษณะสีเขียวเข้มของพืช เป็นลักษณะหนึ่งที่ใช้ในการคัดเลือกพันธุ์ทนแล้ง ซึ่งมักจะให้คะแนนด้วยสายตา สังเกตจากการคัดเลือกพันธุ์ข้าวสาลีทนแล้ง พบว่าพันธุ์ที่ถูกคัดเลือก มักจะเป็นพันธุ์ที่มีใบสีเขียวเข้ม ซึ่งหมายถึงว่า มีปริมาณคลอโรฟิลล์สูงโดยปกติแล้วเมื่อพืชมีความเครียดจากการขาดน้ำ การสังเคราะห์คลอโรฟิลล์จะถูกยับยั้ง (อภิพรหม, 2529) จึงทำให้การสังเคราะห์แสงของพืชลดลงดังจะเห็นได้จากกรณีของข้าวสาลีที่การสังเคราะห์แสงลดลงเมื่อขาดน้ำ (จินดา, 2524) พันธุ์ที่รักษาความเข้มของคลอโรฟิลล์ในใบได้ดีเมื่อกระทบแล้ง จึงสามารถเจริญเติบโตให้ผลผลิตสูง

Johnson (1980) รายงานว่า เทคนิคหนึ่งที่ใช้ในการตรวจวัดความทนแล้งของพืช คือ ความคงทนหรือเสถียรภาพของคลอโรฟิลล์ (chlorophyll stability) โดยตรวจสอบ ค่าสีของคลอโรฟิลล์ที่สกัดจากใบที่ได้รับความร้อนและใบที่ไม่ได้รับความร้อน และนำไปหาค่าดัชนีความคงตัวของคลอโรฟิลล์ (chlorophyll stability index) เพื่อใช้เปรียบเทียบระหว่างพันธุ์จากการทดลองของนักวิทยาศาสตร์หลายคนที่ทดลองกับพืชชนิดต่าง ๆ เช่น loblolly pine ข้าว และข้าวโพด พบว่า มีสหสัมพันธ์สูงระหว่าง chlorophyll stability Index และ ความทนแล้งของ

พืชในสภาพการปลูกในแปลง (field drought resistance) แต่การทดลองที่ทำกับข้าวฟ่างไข่มุก (pearl millet) พบว่าไม่มีสหสัมพันธ์ระหว่าง chlorophyll stability index กับการทนแล้งในสภาพการปลูกในแปลง (Fanaus, 1967 อ้างถึงใน Johnson, 1980)

ค่าความคงตัวของคลอโรฟิลล์ (chlorophyll stability index หรือ CSI) ได้จาก ค่าการวัด light transmission ของน้ำกรองที่สกัดจากใบที่ได้รับความร้อน (heated) ลบด้วยค่าที่วัดจากใบที่ไม่ได้รับความร้อน (unheated) ถ้า CSI มีค่าสูง แสดงว่า เป็นพันธุ์ที่อ่อนแอต่อความแห้งแล้ง ส่วนพันธุ์ที่ทนทานต่อความแห้งแล้งจะมีค่า CSI ต่ำ เช่น ข้าวโพดพันธุ์ที่ไม่ทนแล้งจะมีค่า CSI 5.6 พันธุ์ทนแล้งมีค่า CSI 1.6 เป็นต้น (Kilen and Andrew, 1969)

Richard (1978) ได้ศึกษาเปรียบเทียบความคงตัวของคลอโรฟิลล์ระหว่างสายพันธุ์ต่างๆ ของ Rapeseed (*Brassica napus*) ปรากฏว่ามีความแตกต่างกัน และเมื่อเปรียบเทียบกับ *B.campestris* ก็ปรากฏว่า *B. napus* มีลักษณะที่ทนทานต่อความแห้งแล้งมากกว่า และยังพบว่า ความคงตัวของคลอโรฟิลล์ มีสหสัมพันธ์กับผลผลิตอย่างชัดเจนใน *B.napus* การทดลองนี้ เป็นการกระทำในเรือนทดลองก่อนที่ดอกจะบาน จึงถือว่าเป็นวิธีการคัดเลือกที่ดีวิธีหนึ่งที่จะสามารถใช้พิจารณาประกอบการคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งของ Oilseed rape ในออสเตรเลียตะวันตก

นริศ และพิทยา (2535) รายงานว่า ในสภาวะที่อากาศมีอุณหภูมิสูงและความเข้มของแสงสูง จะทำให้อุณหภูมิของใบพืชเพิ่มขึ้น และถ้าอุณหภูมิสูงเกินกว่าสภาพที่เหมาะสมต่อการสังเคราะห์แสง จะทำให้เกิดการซีดจางของคลอโรฟิลล์ (chlorophyll bleaching) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสังเคราะห์แสงของพืชแต่ละชนิดแตกต่างกัน เช่น กาแฟอุณหภูมิที่เหมาะสมระหว่าง 20-25 องศาเซลเซียส ถ้าอุณหภูมิสูงกว่า 25 องศาเซลเซียส จะทำให้ความเข้มของคลอโรฟิลล์ในใบกาแฟลดลง ยิ่งเมื่อกระทบกับความแห้งแล้งยิ่งทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ลดต่ำลงมาก แต่ถ้าหากว่าในสภาพที่ขาดน้ำแล้วให้สารเคมีบางอย่าง เช่น $ZnSO_4$, KNO_3 หรือ Adenine จะช่วยรักษาปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบได้ระดับหนึ่ง ทำให้อัตราการเจริญเติบโตสูงกว่าต้นที่ไม่ได้ใช้สารเคมี

4.4 การวัดปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบ (Leaf Relative Water Content)

ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ (Relative Water Content ; RWC) ในใบพืช ใช้วัดสถานะของน้ำในเนื้อเยื่อพืช เดิมเรียกว่า Relative Turgidity (Turner and Kramer, 1980) เป็นค่าสัดส่วนของปริมาณน้ำในใบสด (fresh weight) กับปริมาณน้ำที่ใบสามารถรับได้เต็มที่ หรือใบที่อิ่มตัวด้วยน้ำ (saturated weight) ดังแสดงด้วยสมการ

$$RWC = \frac{\text{fresh weight} - \text{dry weight}}{\text{saturated weight} - \text{dry weight}} \times 100 \quad (\text{Kramer, 1980})$$

พืชที่ทนทานต่อการขาดน้ำ จะมีการลดค่าศักย์ของน้ำในใบพืชน้อยกว่าที่ไม่ทนแล้ง และพืชที่ทนแล้งนั้น แม้เมื่อปริมาณน้ำในใบ (RWC) ลดลง ก็ยังสามารถรักษาความเต่งไว้ได้ (Morgan, 1980 อ้างถึงใน สุวิทย์, 2532)

รูปทรงของพืชที่ปลูกในสภาพที่ได้รับน้ำจำกัด ขึ้นอยู่กับความสามารถของพืชในการรักษาค่า RWC ให้อยู่ในระดับสูงได้ แม้จะมีค่าศักย์ของน้ำในใบต่ำ และความชื้นในดินลดลง (Singh *et al.*, 1990) ใบที่มีขนาดเล็กและหนา จึงเป็นลักษณะใบที่ดีในสภาพที่พืชได้รับน้ำปริมาณจำกัด (Bhardwaj *et al.* 1988 อ้างถึงใน Singh, *et al.*, 1990)

Singh และคณะ (1990) ได้ทำการทดลองหาความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใบ และ specific leaf weight ของใบฝ้ายในการรักษาระดับ RWC โดยใช้พันธุ์ฝ้าย 21 สายพันธุ์ ปลูกในดินที่มีความชื้นต่างกัน 3 ระดับ พบว่า เมื่อความชื้นในดินลดลง จะทำให้พื้นที่ใบลดลง RWC ลดลง แต่ความหนาของใบเพิ่มขึ้น และค่าศักย์ของน้ำในใบติดลบมากขึ้น

ในสถานะที่ดินขาดน้ำศักย์ของน้ำในใบจะลดลง ไม่มีการขยายตัวของเซลล์ใบทำให้ใบมีขนาดเล็กและหนา สามารถรักษา RWC เพื่อความอยู่รอดในสภาพแล้ง (Hsiao, 1973, อ้างถึงใน Singh *et al.*, 1990)

จากรายงานผลการดำเนินงานของโครงการถั่ว ICRISAT (1993) ที่ได้ทำการทดลอง คัดเลือกพันธุ์ทนแล้งของถั่วลิสง โดยใช้ลักษณะ RWC ในการวัดความทนแล้งของถั่วลิสง 4 พันธุ์ พบว่ามีถั่วลิสง 2 พันธุ์ ได้แก่ Tifton 8 และ Shulamit ที่สามารถรักษาระดับ RWC สูงกว่าอีก 2 พันธุ์ อย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะในช่วงปลายของรอบ (cycle) ที่ปล่อยให้แล้ง (วงรอบที่กำหนดให้แล้งมี 25 วัน) พันธุ์ (genotype) ของถั่วลิสง ที่นำมาทดลอง มีความแตกต่างกันในเรื่องความไวต่อการขาดน้ำในดิน พันธุ์ Chico มีค่า RWC ลดลงอย่างรวดเร็ว เมื่อน้ำที่เป็นประโยชน์ในดินลดลง จึงเป็นการชี้ให้เห็นว่าถั่วลิสงมีความแตกต่างทางพันธุกรรมใน

การทนทานต่อความแห้งแล้ง ซึ่งเป็นแนวทางที่จะนำไปสู่ความสำเร็จในการปรับปรุงพันธุ์ทนแล้งได้

4.5 การตรวจสอบดัชนีความงอกของเมล็ดในสภาพเครียดจากการขาดน้ำ

(Germination Stress Index ; GSI)

การงอกของเมล็ดภายใต้สภาพที่แห้งแล้ง เป็นลักษณะหนึ่งที่จะทำให้เห็นถึงความสามารถในการตั้งตัวและการทนแล้งของพืชหลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งพืชอาหารสัตว์ที่ปลูกในทุ่งหญ้า (Johnson, 1980) ดังนั้นจึงได้มีการประเมินความทนแล้งของพืชโดยอาศัยลักษณะการงอกและการเจริญของต้นกล้าในระยะเริ่มแรกภายใต้สภาวะความแห้งแล้ง วิธีการง่าย ๆ ที่ใช้ศึกษา คือ การวางเมล็ดลงบนกระดาษซับที่ชุ่มด้วย osmotic solution ที่รู้จักกันในนาม solute potential เช่น สารละลาย มานิทอล (mannitol) สารละลายเกลือแกง และ PEG สารละลายเหล่านี้ได้มีผู้ใช้ทดลองทำให้เกิดระดับ water potential ต่าง ๆ เพื่อทดสอบความงอกของเมล็ด ซึ่งต่อมาก็พบว่า สารแต่ละชนิดมีอิทธิพลต่อการงอกแตกต่างกัน ซึ่งไม่เพียงแต่ขึ้นกับ osmotic potential เพียงอย่างเดียว ดังนั้นเทคนิคที่ใช้เมล็ดวางสัมผัสกับเนื้อสาร (osmoticum) โดยตรง จึงอาจเป็นผลเนื่องมาจากอิทธิพลของปัจจัย 2 อย่างร่วมกัน คือ การขาดน้ำ และการวางเมล็ดบน osmoticum ดังนั้นจึงมีการดัดแปลงวิธีใช้โดยการวางเมล็ดในวัสดุเพาะที่มีเยื่อแก้วไม่ให้เมล็ดสัมผัสกับเนื้อสาร (Johnson and Asay 1978 อ้างถึงใน Johnson, 1980) ซึ่งคล้ายกับวิธีการของนักวิจัยหลายคนที่ใช้ semipermeable membrane เป็นตัวแยก osmotic solution ออกจากวัสดุเพาะ (germination medium) โดยที่น้ำสามารถแพร่ผ่าน membrane ได้เมื่อเทียบกับการเพาะเมล็ดในดิน วิธีนี้ถือว่าเป็นการจำลองแบบการสัมผัสระหว่างเมล็ดกับน้ำในดินได้อย่างใกล้เคียง Johnson (1980) กล่าวว่าวิธีการนี้เป็นวิธีการที่ดี สามารถนำไปใช้ได้จริงในการตรวจสอบความงอกของเมล็ดพันธุ์หญ้าภายใต้สภาวะการขาดน้ำ (drought stress) ซึ่งจะสามารถใช้ประเมินประชากรจำนวนมาก ๆ ได้ในเวลาอันสั้น และ Johnson (1980) ยังได้อ้างผลการทดลองของ Kaufman และ Ross (1970) ว่าการงอกของเมล็ดที่เพาะในวัสดุเพาะที่ชักนำให้เกิดการขาดน้ำโดยสารละลายต่าง ๆ นั้น มีสหสัมพันธ์ดีมากกับผลที่ได้รับจากการงอกของเมล็ดที่เพาะในดิน

Richards (1978) ได้ทำการทดสอบความงอกของเมล็ด rapeseed ภายใต้สภาวะความแห้งแล้งที่จำลองขึ้นโดยสารละลายของ mannitol ซึ่งมี osmotic potential 0, -12.5, -15 และ

-17 บาร์ วางเมล็ดลงใน petridish ที่มีกระดาษกรองปูทับอยู่บน vermiculite อีกชั้นหนึ่ง เพาะเมล็ดที่อุณหภูมิ 20°C ในความมืด 10 วัน ตรวจสอบความงอกทุกวัน หลัง 10 วันแล้วนำเมล็ดที่ไม่งอกไปเพาะในความชื้นปกติเพื่อตรวจสอบความมีชีวิต เปอร์เซ็นต์ความงอกคิดจากสัดส่วนของจำนวนเมล็ดที่งอกกับจำนวนเมล็ดที่มีชีวิต ส่วนอัตราการงอกคำนวณจาก จำนวนวันที่เมล็ดงอก 50% ของ 10 วัน ที่ทำการทดลองทั้งหมด ผลการทดลองพบว่า อัตราการงอก และเปอร์เซ็นต์ความงอก มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ระหว่างชนิดและพันธุ์ของ rapeseed อัตราการงอกลดลงเมื่อ osmotic potential ลดลง และลดลงอย่างเห็นได้ชัดที่ -17.5 บาร์ การงอกในสภาวะแห้งแล้งจำลอง มีความสัมพันธ์กับความแปรปรวนทางพันธุกรรม (genotypic variation) ในลักษณะผลผลิตของเมล็ดเมื่อปลูกในสภาพแวดล้อมต่าง ๆ กัน ลักษณะเช่นนี้ Richard (1978) กล่าวว่าน่าจะเป็นประโยชน์ในการนำไปใช้คัดเลือกพันธุ์ทนแล้งได้ และเชื่อว่าน่าจะมีความสามารถในการถ่ายทอดทางพันธุกรรมได้สูงด้วย

อย่างไรก็ตาม แม้ว่าสารเคมีหลายชนิดจะสามารถใช้จำลองสภาวะความแห้งแล้งได้ แต่สารที่นิยมใช้ในการทำให้เกิด osmotic potential ระดับต่าง ๆ ได้แก่ polyethylene glycol หรือ PEG โดยเฉพาะ PEG ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ๆ ระหว่าง 6,000-10,000 Mol. wt. เพราะ PEG ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงโดยทั่วไปจะไม่สามารถแทรกซึมเข้าสู่รากพืชได้ (Blum, 1988) ซึ่งการใช้ PEG ในการทำสารละลายให้มี osmotic potential ระดับต่าง ๆ เพื่อการทดลองนั้นจะต้องระวังเรื่องการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิด้วย เพราะเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น osmotic potential ก็เพิ่มขึ้นเป็นแบบเส้นตรง ดังผลที่ปรากฏกับ PEG 6000 ที่ระดับความเข้มข้นหนึ่ง (Michel and Kaufman, 1973) และจากการทดลองของ Adegboyi และคณะ (1981) พบว่า ความเข้มข้นของ PEG 6000 สำหรับทำให้มี osmotic potential ระดับต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 15°C ได้ผลดังนี้

osmotic potential (-bars)	wt.of PEG 6000 (g/H ₂ O 1 litre)
0	0
2	106
4	162
6	205
8	241
10	273
12	303
14	330

การใช้ PEG เพื่อทำให้เกิดสภาวะแห้งแล้งในการทดลองคัดเลือกพันธุ์พืชทนแล้ง ได้มีผู้นำไปใช้เป็นจำนวนมาก เช่น Blum และคณะ (1980) ได้ประเมินความแตกต่างในการงอกของเมล็ดและการเจริญของต้นกล้าข้าวสาลีในตัวกลางออสโมติก (osmotic media) ที่ใช้ PEG 6000 เป็นตัวทำให้เกิดสภาวะแห้งแล้งระดับต่างๆ พบว่า ข้าวสาลีมีความแตกต่างกันระหว่างพันธุ์ในการทนทานต่อการเพิ่มระดับการขาดน้ำ แต่การเจริญเติบโตของต้นกล้าก็ไม่มีสหสัมพันธ์กับการงอกภายใต้ภาวะ stress จึงไม่สามารถใช้ทำนายการทนแล้งได้

George (1967) ได้ทดสอบความแข็งแรงสมบูรณ์ของเมล็ดพันธุ์พืชด้วยค่า Promptness Index (PI) ซึ่งเป็นตัวเลขที่บอกถึงความเร็วในการงอก ถ้า PI มีค่าสูงแสดงว่ามีความแข็งแรงในการงอกมาก ค่า PI คำนวณได้ดังนี้

$$PI = \sum [nd_1(41 - D_1)] + [nd_2(41 - D_2)] + \dots [nd_{40}(41 - D_{40})]$$

เมื่อ D คือ จำนวนวันที่สังเกต นับ 0 ในวันเริ่มแรก และนับ 1 เมื่อเริ่มนับต้นงอก

nd คือ จำนวนเมล็ดที่งอกในวันที่ d

41 คือ จำนวนวันสุดท้ายที่ทำการทดสอบความงอก

Bouslama และ Schapaugh (1984) รายงานว่า ลักษณะทางสรีรวิทยาในพืชบางลักษณะเป็นตัวชี้วัด (indicator) ที่น่าเชื่อถือสำหรับที่จะนำมาใช้ในการคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งและทนร้อนของพืช เช่น ลักษณะการงอกของเมล็ดภายใต้สภาวะการขาดน้ำ เขาได้ทำการทดลองเพาะเมล็ดถั่วเหลืองในสารละลาย PEG 6000 ที่ osmotic pressure -0.6 MPa เปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำ ซึ่งไม่มีความเครียด (0 Mpa) วางเมล็ดบนกระดาษกรอง Whatman no.2 หน้า 2 ชั้นที่อยู่ใน petridish ทำ 4 ซ้ำ ใส่ไว้ในตู้เพาะ 8 วัน อุณหภูมิกลางวัน/กลางคืน 25/20 °C มีความชื้นสัมพัทธ์ 50% เปิดแสง 12 ชั่วโมง บันทึกการงอกเมื่อ radicle โผล่ออกมา 3 มม. แสดงผลในรูปของ Promptness Index (PI) ซึ่งประยุกต์ใช้สำหรับถั่วเหลือง ดังนี้

$$PI = nd_2(1.00) + nd_4(0.75) + nd_6(0.50) + nd_8(0.25)$$

เมื่อ PI = Promptness Index

nd₂, nd₄, nd₆ และ nd₈ หมายถึงเปอร์เซ็นต์ การงอกของเมล็ดในวันที่ 2, 4, 6 และ 8

ดัชนีความงอกของเมล็ดในสภาวะขาดน้ำ (Germination Stress Index ; GSI) แสดงในรูปเปอร์เซ็นต์ ดังนี้

$$GSI = \frac{\text{Promptness index of stressed seeds (PIS)}}{\text{Promptness index of control seed (PIC)}} \times 100$$

ผลที่ได้จากการทดสอบในถั่วเหลือง ไม่พบว่า GSI มีความสัมพันธ์กับการทนแล้ง จึงไม่อาจสรุปได้นำไปใช้คัดเลือกพันธุ์ทนแล้งของถั่วเหลืองได้หรือไม่

Kpoghomou และคณะ (1990) ได้ทำการทดลองเพื่อคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งของถั่วเหลืองในระหว่างการงอกและระยะต้นกล้า โดยทดสอบความงอกของเมล็ดในสารละลาย PEG8000 ที่ทำให้เกิด osmotic stress -0.3 MPa และ -0.5 MPa ซึ่งที่ 2 ระดับนี้ได้ผ่านการทดสอบมาแล้วว่าเป็นระดับที่แสดงความแตกต่างในการงอกของเมล็ดได้ดีที่สุด สามารถเห็นความแตกต่างทางพันธุกรรมเกี่ยวกับความสามารถในการงอกได้อย่างรวดเร็ว ค่าที่ใช้ในการชี้วัดความเร็วและสมบูรณ์ของการงอก คือ ค่า Promptness Index ซึ่งคำนวณโดยใช้สูตรเดียวกับ Bouslama และ Schapaugh (1984) และเปรียบเทียบความสามารถระหว่างพันธุ์ด้วยค่า Germination Stress Index (GSI) ผลการทดลองพบว่า GSI ที่ระดับ osmotic stress -0.5 MPa ต่ำกว่าค่า GSI ที่ -0.3 MPa osmotic potential ที่ต่ำ จะทำให้ leaf water potential ของต้นกล้าที่เพาะต่ำไปด้วย ถั่วเหลืองพันธุ์ที่มีค่า GSI สูง มักจะมีต้นสูงเมื่อปลูกในสภาวะแห้งแล้งของไร่ และถั่วเหลืองที่เจริญเติบโตทางความสูงได้ดีภายใต้สภาวะแห้งแล้งก็จะสามารถสะสมน้ำหนักแห้งได้ดีด้วย

4.6 การให้คะแนนความเหี่ยวของใบ

การแสดงออกของใบเมื่อกระทบกับความแห้งแล้ง จะมีลักษณะแตกต่างกันไปในแต่ละพืช ซึ่งเป็นสิ่งที่มองเห็นได้ง่าย และเป็นลักษณะที่สามารถนำไปใช้ประกอบในการคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งได้ เช่น ความเข้มของสีใบ ลักษณะการมีขน ปริมาณของไขมันที่เคลือบผิวใบ การเปลี่ยนมุมใบ การม้วนงอของใบ หรืออาการอื่น ๆ ที่มองเห็นได้ด้วยสายตา ลักษณะเหล่านี้สามารถประเมินด้วยการให้คะแนน ซึ่งถือว่าเป็นตัวชี้อาการตอบสนองต่อสภาวะการขาดน้ำโดยรวมของพืช (Blum, 1988)

ตัวอย่างการให้คะแนนของใบในการคัดเลือกพันธุ์ ได้แก่ การคัดเลือกพันธุ์ข้าวที่ IRR (Chang and Loresto, 1985, O'Toole 1979 อ้างถึงใน Blum, 1988) โดยการให้คะแนนการม้วนของใบ (leaf rolling) กำหนดช่วงคะแนน 0-5 คะแนน 0 คือ ใบที่ไม่ม้วนเลย หรือใบปกติ คะแนน 5 คือ ใบที่ม้วนมากที่สุด ให้คะแนนในเวลาเที่ยงวัน สำหรับดูการตอบสนองต่อการขาดน้ำขณะที่มีอัตราการระเหยน้ำสูงที่สุด และให้คะแนนในตอนเช้า เพื่อสังเกตอาการเหี่ยวถาวร ที่ไม่สามารถฟื้นตัวได้หลังจากผ่านช่วงกลางคืนแล้ว มีข้อควรระวังคือ อาการม้วน

ของใบ อาจเปลี่ยนแปลงตามอายุของใบและช่วงของการเจริญเติบโต โดยไม่ได้เป็นไปตามระดับการขาดน้ำ O'Toole (1982) รายงานว่า การม้วนของใบข้าวเป็นลักษณะที่แสดงออกถึงการลดการคายน้ำ หรือการรักษาระดับ LWP ในพืชบางชนิด เช่น ข้าวโพด มิลเลท ข้าวฟ่าง และถั่วต่าง ๆ จะมีอาการที่เรียกว่า leaf firing เมื่อมีการขาดน้ำ ซึ่งใช้ในการให้คะแนนการทนแล้งได้ การใช้ลักษณะ leaf rolling และ leaf firing ในการให้คะแนน ใช้ได้ผลดีมากกับข้าวฟ่าง (Seetharama *et al.*, 1982 และ Rosnow *et al.*, 1983 อ้างถึงใน Blum, 1988) และข้าวโพด (Fischer *et al.*, 1976 และ Castleberry, 1983 อ้างถึงใน Blum, 1988)

Ingram และคณะ (1990) ได้ทำการคัดเลือกพันธุ์ข้าวทนแล้ง โดยอาศัยการให้คะแนนด้วยสายตา คือ การสังเกตลักษณะอาการของใบที่แสดงออกเมื่อกระทบแล้ง ซึ่งกำหนดมาตรฐานไว้ 9 ระดับ กำหนดช่วงคะแนน 1-9 คะแนน 1 หมายถึงใบที่มีลักษณะปกติดีที่สุด ไม่มีอาการม้วนงอ ไม่มีจุดแห้งไหม้บนแผ่นใบ คะแนนที่มากขึ้น แสดงถึงอาการของพืชที่ม้วนงอแห้งเหี่ยวมากขึ้น จนกระทั่งถึงคะแนน 9 หมายถึง ลักษณะอาการของใบที่มีอาการแห้งเหี่ยวไหม้จนพืชตาย ทำการให้คะแนนเมื่อข้าวอายุ 75 วัน หลังย้ายกล้า ผลปรากฏว่า การประเมินความทนแล้งด้วยสายตา (visual assessment) มีสหสัมพันธ์สูงกับผลผลิตเมล็ดข้าวในสถานะแห้งแล้ง ($r=-0.67$) และ คะแนนภายใต้ภาวะสภาพความเครียดยังมีสหสัมพันธ์ในทางบวกกับความหนาแน่นราก และจำนวนรากด้วย Ingram และคณะ (1990) จึงสรุปว่า การให้คะแนนด้วยสายตาตามมาตรฐานที่กำหนดไว้ในภาวะที่ข้าวประสบความแห้งแล้งเป็นวิธีการคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งของข้าวที่ดีที่สุด

Sivakumar และ Sarma (1986) กล่าวว่า การประเมินความทนแล้งของถั่วลิสงโดยวิธีปลูกทดสอบและศึกษาลักษณะอาการที่แสดงออกถึงความทนแล้งในแปลงทดลองนั้น มีข้อจำกัดเรื่องจำนวนประชากรที่มักจะมีขนาดใหญ่ ทำให้เสียเวลาในการคัดเลือกมาก ดังนั้น จึงควรทำตามคำแนะนำของ Turner (1982) ที่ว่า ควรพัฒนาวิธีการที่เห็นได้ง่าย ๆ ด้วยสายตาขึ้นมา เช่น การดูลักษณะ การม้วนของใบ ความเหี่ยว หรือปลายใบไหม้ เพื่อที่จะได้ใช้สำหรับคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งในประชากรขนาดใหญ่