

การตอบสนองของปากใบและกระบวนการสังเคราะห์แสงภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือที่ ชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ของข้าวพันธุ์ชาวดอกมะลิ 105 ในระยะแตกกอ Stomatal and Photosynthetic Responses to NaCl-induced Salt Stress of Thai Jasmine Rice (*Oryza sativa* L. ssp. *indica* cv. KDML105) during Tillering Stage

พลอยพิศ เพ็ญพิมพ์^{1,2} คัทลียา ฉัตรเที่ยง^{1,2,3,*} ลพ ภาวภูตานนท์⁴ วินัย อุดขาว^{1,2} ศิริพรรณ สุขขัง⁵
และ สมนึก พรหมแดง⁵
Ployphit Penpim^{1,2}, Cattleya Chutteang^{1,2,3,*}, Lop Phavaphutanon⁴, Winai Utkhao^{1,2},
Siriphan Sukkhaeng⁵ and Somnuk Promdang⁵

¹ ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

² ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักงานปลัดกระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม กรุงเทพฯ 10900

³ ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

⁴ ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

⁵ ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง ศูนย์วิจัยและบริการวิชาการ คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

¹ Center for Agricultural Biotechnology, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140

² Center of Excellence on Agricultural Biotechnology: (AG-BIO/MHESI), Bangkok 10900

³ Department of Agronomy, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140

⁴ Department of Horticulture, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140

⁵ Central Laboratory and Greenhouse Complex, Research and Academic Service Center, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140

รับเรื่อง: 21 มกราคม 2565 Received: 21 January 2022

ปรับแก้ไข: 11 พฤษภาคม 2565 Revised: 11 May 2022

รับตีพิมพ์: 15 พฤษภาคม 2565 Accepted: 15 May 2022

* Corresponding author: agrcyc@ku.ac.th

ABSTRACT: The objective of this research was to investigate the effects of NaCl-induced salt stress on stomatal opening, carboxylation, and photochemical processes in Thai jasmine rice (KDML105) at tillering stage. Rice plants were grown in half-strength Yoshida's solution for 55 days before subjected to salt stress by adding NaCl in three stress levels at 0 (control), 60 (mild stress) and 120 mM (severe stress) for 28 days. Light response curve, maximal quantum efficiency of photosystem II, photosynthetic pigments content and nutrient concentrations were measured on leaves of non-stressed and stressed plants. The increasing salt stress levels had definite effect in reducing stomatal conductance (g_s), which then reduced photosynthetic rate and transpiration rate. Under mild salt stress, stomatal opening was limited to light intensity (PPF) in the range of 0–800 $\mu\text{molPPF m}^{-2} \text{s}^{-1}$, and no further opening at increasing PPF. When the salt stress progressed to severe level, stomatal opening was limited to narrow PPF range of 0–600

$\mu\text{molPPF m}^{-2}\text{s}^{-1}$, and g_s decreased at PPF above $2,000 \mu\text{molPPF m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Subsequently, detrimental effects on carboxylation efficiency and photochemical efficiency occurred under severe salt stress. The salt stress did not affect the light reaction of photosynthesis, because the maximum quantum efficiency of PSII and photosynthetic pigments content of salt-stressed plants were still unaffected. Salt-stressed rice leaves had high leaf Na concentration and low K/Na ratio. The parameters for the evaluation of salt stress levels are g_s , instantaneous carboxylation efficiency (P_n/C_i), electron transport rate (ETR), and the ratio of electron transport rate to net photosynthetic rate (ETR/P_n).

Keywords: Khao Dawk Mali 105, salt stress, stomatal conductance, carboxylation efficiency, photochemical efficiency

Agricultural Sci. J. (2022) Vol. 53(1): 77–93

ว. วิทย. กษ. (2565) 53(1): 77–93

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการตอบสนองของปากใบ การตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ และปฏิกิริยาจากแสงของข้าวขาวดอกมะลิ 105 (KDML105) ในระยะแตกกอภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือที่ชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) โดยปลูกต้นข้าวในสารละลายสูตร 1/2 Yoshida จนต้นข้าวมีอายุ 55 วัน (ระยะแตกกอ) จึงย้ายลงปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่ชักนำให้เกิดสภาวะเครียดจากเกลือด้วยการเติม NaCl ที่ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 0 (กลุ่มควบคุม) 60 (ความเครียดระดับต่ำ) และ 120 (ความเครียดระดับรุนแรง) มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 28 วัน วัดเส้นตอบสนองต่อแสง ประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุดของระบบแสงสอง ปริมาณรงควัตถุในใบ และความเข้มข้นของธาตุอาหารที่ปรากฏในใบข้าว พบว่า สภาวะเครียดจากเกลือที่รุนแรงเพิ่มขึ้นชักนำให้ค่าการชักนำการเปิดปิดปากใบ (g_s) ลดลงอย่างชัดเจน และส่งผลต่อเนื่องให้ค่าอัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิและอัตราการคายน้ำลดลง ปากใบของข้าวภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือที่ระดับต่ำเปิดเพิ่มขึ้นในช่วงระดับความเข้มแสงที่ $0-800 \mu\text{mol PPF m}^{-2}\text{s}^{-1}$ และไม่สามารถเปิดกว้าง

ขึ้นได้อีกตามความเข้มแสงที่เพิ่มขึ้น และเมื่อสภาวะเครียดจากเกลือเข้าสู่ระดับรุนแรงสูงสุด พบว่า ปากใบเปิดเพิ่มขึ้นตามความเข้มแสงในช่วงแคบกว่าระหว่าง $0-600 \mu\text{mol PPF m}^{-2}\text{s}^{-1}$ แต่ไม่สามารถเปิดกว้างขึ้นที่ระดับความเข้มแสงที่สูงกว่านี้ และปิดแคบลงเมื่อความเข้มแสงสูงเกิน $2,000 \mu\text{mol PPF m}^{-2}\text{s}^{-1}$ นอกจากนี้ ต้นข้าวที่อยู่ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือที่ระดับรุนแรงมีประสิทธิภาพการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์และประสิทธิภาพการใช้แสงลดลง แต่สภาวะเครียดจากเกลือทั้งสองระดับไม่ส่งผลกระทบต่อระบบรับแสงของใบข้าว โดยค่าประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุดของระบบแสงสองและปริมาณรงควัตถุของใบข้าวยังอยู่ในระดับปกติ นอกจากนี้ ใบข้าวที่ได้รับสภาวะเครียดจากเกลือยังมีความเข้มข้นของโซเดียมที่ปรากฏในใบสูงขึ้น และสัดส่วนความเข้มข้นระหว่างโพแทสเซียมและโซเดียมลดลงด้วย พารามิเตอร์ที่ใช้เป็นดัชนีระบุความรุนแรงของสภาวะเครียดจากเกลือได้ คือ ค่าการชักนำการเปิดปิดปากใบ ค่าประสิทธิภาพการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ชั่วขณะ (P_n/C_i) อัตราการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (ETR) และสัดส่วนของอัตราการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนต่ออัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิ (ETR/P_n)

คำสำคัญ: ข้าวขาวดอกมะลิ 105, ความเครียดจากเกลือ, ค่าการชักนำการเปิดปิดปากใบ, ประสิทธิภาพการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์, ประสิทธิภาพการใช้แสง

บทนำ

การศึกษาเรื่องการตอบสนองทางสรีรวิทยาของต้นพืชภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือ (Salt stress) อย่างเป็นระบบยังมีอยู่น้อยในประเทศไทย เนื่องจากกลไกการตอบสนองมีความซับซ้อนและเชื่อมโยงหลายกระบวนการในต้นพืชพร้อมกัน ที่สำคัญคือพืชมีการปรับตัวได้ สภาวะเครียดจากเกลือจึงมีปัจจัยเรื่องระยะเวลาและระดับความรุนแรงของความเครียดเข้ามาเกี่ยวข้องด้วย (Kaewneramit and Wutipraditkul, 2014) หากการศึกษามีขอบเขตที่ชัดเจน พารามิเตอร์ทางสรีรวิทยาที่ได้สามารถใช้เป็นฐานสำหรับคัดเลือกสายพันธุ์พืชทนเค็ม และใช้อธิบายเชื่อมโยงกลไกการทำงานและการแสดงออกของยีนที่ควบคุมลักษณะทนเค็ม เพื่อประยุกต์ใช้ในงานปรับปรุงพันธุ์พืชได้เป็นอย่างดี

ข้าวขาวดอกมะลิ 105 (Khao Dawk Mali 105; KDML105) เป็นพันธุ์ข้าวหอมที่เกษตรกรนิยมปลูกมากที่สุดในประเทศและเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งในและต่างประเทศ นิยมใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวหอมของไทย พื้นที่ปลูกข้าว KDML105 ส่วนใหญ่อยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งเป็นพื้นที่ดินเค็มคิดเป็น 17.8 ล้านไร่ และความเค็มของดินเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการเติบโตและการสร้างผลผลิตของข้าวเป็นอย่างมาก (Hoang *et al.*, 2016) เนื่องจากมีรายงานว่าข้าวพันธุ์ KDML105 เป็นพันธุ์ที่อ่อนแอต่อสภาวะเครียดจากเกลือที่ได้รับ (Pongprayoon *et al.*, 2019) สำหรับดินเค็มส่วนใหญ่ที่พบในประเทศไทยและในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือเกิดจากการสะสมของเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ในดินที่ระดับความเข้มข้นสูง ส่วนใหญ่จัดเป็นดินเค็มโซดิก (Saline sodic soil) (Kheoruenromne,

2007) ซึ่งเป็นดินที่มีเกลือละลายน้ำได้ในปริมาณมาก และมีโซเดียมที่แลกเปลี่ยนได้สูง (Weil and Brady, 2016) จนทำให้เกิดสภาวะเครียดจากเกลือและเป็นอันตรายต่อการเติบโตของพืช สำหรับข้อมูลการตอบสนองและการปรับตัวทางสรีรวิทยาของข้าว KDML105 ต่อสภาวะเครียดจากเกลือยังมีอยู่อย่างจำกัด อีกทั้งพารามิเตอร์ที่เหมาะสมที่จะใช้บ่งบอกระดับความรุนแรงของสภาวะเครียดจากเกลือยังไม่ชัดเจน

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้สนใจศึกษาอิทธิพลของสภาวะเครียดจากเกลือต่อกระบวนการสังเคราะห์แสงของใบข้าว KDML105 ในระยะแตกกอ (Tillering stage) ซึ่งเป็นช่วงเวลาในระยะการเจริญเติบโตของข้าวที่มีการศึกษากลไกการตอบสนองทางสรีรวิทยาต่อสภาวะเครียดจากเกลือเชิงลึกอยู่น้อย และเป็นช่วงการเจริญเติบโตทางลำต้น (Vegetative growth) ที่ต้นข้าวต้องเผชิญและปรับตัวภายใต้สภาวะดินเค็มให้อยู่รอดในสภาพธรรมชาติจึงจะสามารถสร้างผลผลิตได้ โดยการศึกษาที่ผ่านมาส่วนใหญ่มุ่งเน้นศึกษาข้าวในระยะต้นกล้า (Seedling stage) และระยะสืบพันธุ์ (Reproductive stage) โดยศึกษากลไกการตอบสนองของ 3 กระบวนการหลัก ได้แก่ กลไกการเปิดปิดของปากใบ กระบวนการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ (Carboxylation) และปฏิกิริยาจากแสง (Photochemical reaction) ด้วยการวัดเส้นตอบสนองต่อแสง (Light response curve) ประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุดของระบบแสงสอง (Maximal quantum efficiency of PSII) และปริมาณรงควัตถุในใบข้าว โดยจำลองให้ต้นข้าว KDML105 ในระยะแตกกอได้รับสภาวะเครียดจากเกลือในดินที่ชักนำด้วย NaCl ที่ระดับความรุนแรงต่างกันอย่างต่อเนื่องเป็นเวลานาน 28 วัน เพื่อให้ต้นข้าวสร้างกลไกการตอบสนองต่อสภาวะเครียดจากเกลือที่ได้รับ ข้อมูลการตอบสนองที่ได้จะสามารถสร้างความเข้าใจต่อกลไกของการทนเค็มในข้าว KDML105 และสามารถระบุพารามิเตอร์ทางสรีรวิทยาที่บ่งบอกระดับความรุนแรงและความเสียหายต่อสภาวะเครียดจากเกลือ เพื่อนำไปใช้ประโยชน์

ในการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ข้าวที่ทนทานต่อดินเค็มต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมต้นข้าวและจำลองสภาวะเครียดจากเกลือ

เพาะต้นกล้าข้าวพันธุ์ KDML105 ในกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 12 นิ้ว ที่บรรจุดินเหนียวหนัก 6 กิโลกรัม ในโรงเรือนตาข่ายภายในศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักเขตร้อน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม จนต้นกล้ามีอายุ 30 วัน จึงย้ายกระถางปลูกข้าวลงปรับสภาพ (Acclimation) ในบ่อซีเมนต์ที่มีสารละลายธาตุอาหาร 1/2 Yoshida ซึ่งมีความเข้มข้นเป็น 1/2 เท่าของเต็มสูตร (Yoshida *et al.*, 1976) ปริมาตร 600 ลิตร เป็นเวลา 20 วัน โดยรักษาระดับของสารละลายให้อยู่เหนือผิวดินประมาณ 10 เซนติเมตร ตลอดเวลา

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design; CRD) ปักยี่สิบที่ศึกษา คือ ระดับความรุนแรงของสภาวะเครียดจากเกลือ 3 ระดับ เมื่อต้นข้าวมีอายุ 50 วัน ซึ่งอยู่ในระยะแตกกอ (Tillering stage) จึงเติม NaCl ลงในสารละลายธาตุอาหารเพื่อชักนำให้เกิดสภาวะเครียดจากเกลือแบ่งเป็น 3 ความเข้มข้น คือ 0 (กลุ่มควบคุม) 60 (ความเครียดระดับต่ำ) และ 120 มิลลิโมลาร์ (ความเครียดระดับรุนแรง) เพาะเลี้ยงต้นข้าวในสภาวะเครียดจากเกลือในแต่ละระดับเป็นเวลาทั้งหมด 28 วัน ควบคุมระดับ pH ของสารละลายให้อยู่ในช่วง 4.5–5.0 และเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงต้นข้าวในบ่อซีเมนต์ใหม่ทุกสัปดาห์ ติดตั้งสถานีอากาศ (WatchDog Mini-weather Stations 2475, Spectrum Technologies Inc., USA) เพื่อเก็บข้อมูลสภาพอากาศภายในโรงเรือนตลอดเวลาที่ทำการทดลอง ตั้งแต่เดือนสิงหาคมถึงตุลาคม พ.ศ. 2561 โดยอุณหภูมิเฉลี่ยภายในโรงเรือนช่วงกลางวันมีค่า 31.7 องศาเซลเซียส ความเข้มแสงในช่วงที่มีแสงเฉลี่ย

625.5 $\mu\text{molPPF m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ความชื้นสัมพัทธ์ในช่วงกลางวันเฉลี่ย 56.9% และกลางคืนเฉลี่ย 80.4%

การศึกษาสมบัติทางเคมีของดิน

เก็บตัวอย่างดินที่ใช้ปลูกต้นข้าวหลังจากชักนำให้เกิดสภาวะเครียดจากเกลือในแต่ละระดับเป็นเวลา 28 วัน วิเคราะห์หาค่าปฏิกิริยาดิน (pH) ค่านำไฟฟ้าของสารละลายดินที่สกัดจากดินอิ่มตัวด้วยน้ำ (Electrical conductivity of soil saturation extract; ECe) ค่าความเข้มข้นทั้งหมดของโซเดียม แคลเซียม และแมกนีเซียมที่ละลายในน้ำได้ จากค่าที่วัดได้คำนวณค่าอัตราส่วนดูดซับโซเดียม (Sodium adsorption ratio; SAR) ตามวิธีการของ Chanchareonsook (1993) และคำนวณหาค่าปริมาณโซเดียมที่แลกเปลี่ยนได้ (Exchangeable sodium percentage; ESP) ตามวิธีการของ Levy and Shainberg (2005) ดำเนินการวิเคราะห์โดยงานห้องปฏิบัติการ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์

เส้นตอบสนองต่อแสง

วัดเส้นตอบสนองต่อแสง (Photosynthetic light-response curve) เพื่อประเมินการเปลี่ยนแปลงของอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สโดยใช้แสงเป็นตัวชักนำ โดยทำการวัดเมื่อต้นข้าวได้รับสภาวะเครียดจากเกลือในแต่ละระดับมาแล้ว 28 วัน ในช่วงเวลา 08:00–12:00 น. โดยเลือกวัดใบแรกที่อยู่เต็มที่ด้วยเครื่องวัดอัตราการแลกเปลี่ยนแก๊สระบบเปิด ใช้หัววัดแบบ leaf chamber fluorometer (LI-6400–40, Licor Inc., USA) กำหนดความเข้มข้น CO_2 400 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ความชื้นสัมพัทธ์ 70–75% อุณหภูมิของภาชนะบรรจุใบ 28 องศาเซลเซียส และความเร็วของอากาศที่ไหลผ่านใบ 400 $\mu\text{mol s}^{-1}$ เริ่มต้นปรับความเข้มแสง (LED source) ให้มีค่าสูงสุดที่ 2,500 $\mu\text{molPPF m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ แล้วลดความเข้มแสงลงเป็นลำดับจนถึง 0 $\mu\text{molPPF m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ตามวิธีการของ Laywisadkul and Yingjajaval

(2011) เครื่องมือให้ค่าอัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิ (Net photosynthetic rate; P_n) อัตราการคายน้ำ (Transpiration rate; E) ค่าการชักนำการเปิดปิดปากใบ (Stomatal conductance; g_s) และอุณหภูมิใบ (T_{leaf}) คำนวณค่าประสิทธิภาพการใช้น้ำ (Water use efficiency; $WUE = P_n/E$) และค่าประสิทธิภาพการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ชั่วขณะ (Instantaneous carboxylation efficiency; P_n/C_i) นอกจากนี้ เครื่องมือยังวัดพารามิเตอร์ที่ใช้ประเมินประสิทธิภาพการให้แสงของระบบรับแสงสอง (Photosystem II; PSII) จากค่าปริมาณรังสีฟลูออเรสเซนส์ในขณะที่ไม่ได้รับแสงขณะนั้น (Steady-state fluorescence; F_s) และปริมาณรังสีฟลูออเรสเซนส์สูงสุดในขณะที่ใบได้รับความเข้มแสงสูงมาก (Maximum fluorescence; F'_m) คำนวณค่าประสิทธิภาพการให้แสงขณะที่ใบได้รับ (Light-adapted quantum efficiency of photosystem II; ϕ_{PSII}) ได้ว่า $\phi_{PSII} = (F'_m - F_s)/F'_m$ และคำนวณอัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (Electron transport rate; ETR) ได้ว่า $ETR = \phi_{PSII} \times f \times I \times \alpha_{leaf}$ เมื่อ f คือ สัดส่วนของแสงที่ถูกดูดกลืนโดย PSII เทียบกับ PSI (สำหรับพืช C_3 มีค่า 0.5) I คือ ความเข้มแสงที่ช่วงคลื่นสำหรับการสังเคราะห์แสง (Photosynthetic photo flux; PPF) ที่ตกลงบนใบ และ α_{leaf} คือ สัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสงของใบมีค่า 0.85 (Schreiber *et al.*, 1998) ค่าที่ได้ใช้คำนวณสัดส่วนของอัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนต่ออัตราสังเคราะห์สุทธิ (ETR/P_n)

ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราสังเคราะห์แสงสุทธิกับความเข้มแสงอยู่ในรูปสมการ non-rectangular hyperbola (Thornley and Johnson, 1990) ดังนี้

$$P_n = \frac{\alpha I + P_{max} - \sqrt{(\alpha I + P_{max})^2 - 4\alpha I P_{max}}}{2\theta} - R_d$$

โดย α คือ ประสิทธิภาพการให้แสง (Quantum efficiency) เป็นค่าความชันในช่วงความเข้มแสงต่ำ

(0–100 $\mu\text{molPPF m}^{-2}\text{s}^{-1}$) θ คือ ค่าควบคุมความโค้งของเส้นกราฟ (Curvature factor) R_d คือ อัตราหายใจในที่มืด (Dark respiration) และ P_{max} คือ อัตราสังเคราะห์แสงสูงสุด (Maximum gross photosynthetic rate) รูปสมการของค่า ETR กับ I มีความสัมพันธ์ลักษณะเดียวกันกับความสัมพันธ์ระหว่าง P_n กับ I จึงเข้ารูปสมการด้วยวิธีเดียวกันโดยแทนค่า P_n ด้วยค่าอัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน และ P_{max} ด้วยอัตราสูงสุดของการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนทั้งระบบ (Maximum rate of linear whole-chain electron transport; ETR_{max}) คำนวณพารามิเตอร์ต่าง ๆ ของสมการข้างต้นด้วยวิธี non-linear regression โดยใช้ solver ของโปรแกรม Microsoft Excel คำนวณค่าความเข้มแสงอิ่มตัว (Light saturation point; I_s) โดยกำหนดเป็นค่าความเข้มแสงเมื่อ $P_n = 0.85 P_{max}$ จุดชดเชยแสง (Light compensation point; I_c) โดยกำหนดเป็นค่าความเข้มแสงเมื่อ $P_n = 0$ เพื่อการเปรียบเทียบ ได้คำนวณค่าการชักนำการเปิดปิดปากใบสูงสุด ($g_{s,max}$) และค่าอัตราการคายน้ำสูงสุด (E_{max}) โดยเฉลี่ยค่า E และ g_s ที่ได้ที่ความเข้มแสงสูงกว่าค่าความเข้มแสงอิ่มตัว ($I > 1,200 \mu\text{molPPF m}^{-2}\text{s}^{-1}$)

อิเล็กตรอนที่เกิดขึ้นถูกใช้ในการหายใจเชิงแสง (Photorespiration) ซึ่งเป็นผลจากการที่เอนไซม์ รูบิสโก (RuBisCO) สามารถทำปฏิกิริยาได้ทั้งกับ CO_2 (Carboxylation) และกับ O_2 (Oxygenation) การหายใจเชิงแสง (R_l) ประเมินตามวิธีของ Valentini *et al.* (1995) ดังนี้

$$R_l = \frac{ETR - 4(P_n + R_d)}{12}$$

ประสิทธิภาพการให้แสงสูงสุด

วัดค่าประสิทธิภาพการให้แสงสูงสุดของระบบรับแสงสอง (Maximum quantum yield; F_v/F_m) ในช่วงเข้ามืด เวลา 04:00–05:00 น. เพื่อลดผลกระทบของความเข้มแสงและอุณหภูมิใบจากภายนอก ด้วยเครื่อง pulse amplitude-modulation fluorometer

(PAM 2100, Heinz Walz GmbH, Germany) และหนีบใบด้วย leaf-clip holder (2030B, Heinz Walz) โดยใช้ตัวอย่างใบเดียวกันกับที่วัดเส้นตอบสนองต่อแสง ค่า F_v/F_m คำนวณได้ ดังนี้

$$F_v/F_m = \frac{F_m - F_0}{F_m}$$

โดย F_0 คือ ค่าฟลูออเรสเซนซ์ต่ำสุดที่วัดได้ (Minimum fluorescence yield) และ F_m คือ ค่าฟลูออเรสเซนซ์สูงสุดที่วัดได้ (Maximum total fluorescence yield)

การวิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุในใบ

หลังจากวัดเส้นตอบสนองต่อแสงและประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุดของใบแล้ว จึงเก็บตัวอย่างใบเดียวกันเพื่อนำมาสกัดหาปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ในใบด้วย 80% acetone วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 440, 645 และ 663 นาโนเมตร คำนวณปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (Chl a) คลอโรฟิลล์ บี (Chl b) คลอโรฟิลล์ทั้งหมด (Total Chl) สัดส่วนของคลอโรฟิลล์ เอ ต่อ คลอโรฟิลล์ บี (Chl a/b) และแคโรทีนอยด์ (Car) ตามสมการของ Arnon (1949)

การวิเคราะห์ความเข้มข้นของธาตุอาหารที่ปรากฏในใบ

เก็บตัวอย่างใบของต้นข้าวที่ได้รับสภาวะเครียดจากเกลือแต่ละระดับ ทำการอบแห้งที่ 70 องศาเซลเซียส จนกว่ามวลแห้งคงที่ นำตัวอย่างใบแห้งน้ำหนัก 1.0 กรัม ไปวิเคราะห์หาความเข้มข้นของธาตุไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) โพแทสเซียม (K) แคลเซียม (Ca) แมกนีเซียม (Mg) โซเดียม (Na) เหล็ก (Fe) แมงกานีส (Mn) ทองแดง (Cu) สังกะสี (Zn) และโบรอน (B) ใช้วิธีการสกัดไนโตรเจนด้วยการกลั่น (Micro-Kjeldahl) สำหรับธาตุอาหารพืชที่เหลือใช้วิธีการย่อยในกรด (Mixed-acid digestion) และวัดความเข้มข้นของธาตุอาหารแต่ละตัวด้วยเครื่อง ICP-

OES (Perkin Elmer Avio500) ดำเนินการวิเคราะห์โดยงานบริการห้องปฏิบัติการ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป IBM SPSS Statistics 17 โดยวิเคราะห์อิทธิพลของสภาวะเครียดจากเกลือด้วยวิธี one-way analysis of variance (ANOVA) ทดสอบระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$ และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT)

ผลการทดลองและวิจารณ์

การตอบสนองทางสรีรวิทยาต่อสภาวะเครียดจากเกลือของข้าว KDML105 ในระยะแตกกอ

สมบัติทางเคมีของดิน

เมื่อพิจารณาข้อมูลสมบัติทางเคมีของดินที่ใช้ปลูกต้นข้าว KDML105 ซึ่งผ่านการชักนำให้เกิดสภาวะเครียดจากเกลือด้วย NaCl ทั้ง 2 ระดับเป็นเวลา 28 วัน พบว่า ดินภายใต้ความเครียดจากเกลือทั้ง 2 ระดับจัดเป็นดินเค็มโซดิก (Saline sodic soil) โดยมีค่านำไฟฟ้าของสารละลายดินที่สกัดจากดินอิมตัวด้วยน้ำ (EC_e) ของดินสูงกว่า 4 ค่าอัตราส่วนดูดซับโซเดียม (SAR) สูงกว่า 13 และค่าร้อยละของโซเดียมที่แลกเปลี่ยนได้ (ESP) สูงกว่า 15 (Table 1; Department of Soil Science, 2005; Waskom *et al.*, 2007) ซึ่งดินภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือที่ระดับรุนแรง (120 mM NaCl) มีความเข้มข้นทั้งหมดของโซเดียมที่ละลายในน้ำได้และค่า SAR สูงกว่าดินในกลุ่มสภาวะเครียดจากเกลือที่ระดับต่ำ (60 mM NaCl; Table 1) แสดงให้เห็นว่า มีระดับความเค็มของดินสูงกว่าด้วย นอกจากนี้ ตัวอย่างดินภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือทั้ง 2 ระดับมีความเข้มข้นของแมกนีเซียมและแคลเซียมที่ละลาย

ในน้ำได้สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 1) แต่ยังอยู่ในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการเติบโตและไม่เป็นพิษต่อต้นพืช (Kelling *et al.*, 1999)

Table 1 Analysis of soil samples from control (0 mM NaCl) and salt-stress (Mild stress: 60 mM NaCl and severe stress: 120 mM NaCl) plants of KDML105 rice under NaCl treatments for 28 days. Parameters include potential of hydrogen (pH), electrical conductivity of soil saturation extract (ECe), sodium (Na), calcium (Ca), magnesium (Mg) in the water extract from saturated soil paste, sodium adsorption ratio (SAR) and exchangeable sodium percentage (ESP)

Parameters	Control	Mild stress	Severe stress	P-value
pH	6.79 ± 0.13	6.77 ± 0.12	6.74 ± 0.06	ns
ECe (dS m ⁻¹)	4.19 ± 0.42 ^b	15.71 ± 0.97 ^a	20.14 ± 2.26 ^a	**
[Na] (meq L ⁻¹)	11.71 ± 1.11 ^c	75.49 ± 9.79 ^b	115.41 ± 14.03 ^a	**
[Mg] (meq L ⁻¹)	6.46 ± 0.61 ^b	10.02 ± 0.42 ^a	9.11 ± 1.10 ^{ab}	**
[Ca] (meq L ⁻¹)	20.18 ± 2.64 ^b	38.08 ± 1.83 ^a	36.47 ± 5.10 ^a	**
SAR	3.23 ± 0.34 ^b	15.51 ± 2.42 ^a	24.89 ± 4.68 ^a	**
ESP	3.39 ± 0.46 ^b	17.64 ± 2.35 ^a	25.81 ± 3.65 ^a	**

Values are mean ± standard error (n=3). Means within a row followed by the different letters are significantly different according to Duncan's new multiple range test. ** Statistically significant difference at P < 0.01, ns = non-significant difference

การตอบสนองของปากใบและอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สของใบ

จากการติดตามวัดเส้นตอบสนองต่อแสงของใบข้าว KDML105 ในระยะแตกกอที่ได้รับสภาวะเครียดจากเกลือเป็นเวลานาน 28 วัน พบว่า ค่าการชักนำการเปิดปิดปากใบ (g_s) ค่าการชักนำการเปิดปิดปากใบสูงสุด ($g_{s\max}$) อัตราสังเคราะห์แสงสุทธิ (P_n) อัตราสังเคราะห์แสงสูงสุด ($P_{n\max}$) อัตราการคายน้ำ (E) และอัตราการคายน้ำสูงสุด ($E_{\max}$) มีค่าลดลงตามระดับความรุนแรงของเกลือที่เพิ่มขึ้น (Figures 1A-C; Table 2)

ต้นข้าว KDML105 ที่เพาะเลี้ยงในสภาวะควบคุมที่ไม่ได้รับสภาวะเครียดจากเกลือ (0 mM NaCl) มีค่า g_s , P_n และ E เพิ่มขึ้นตามความเข้มแสงตลอดช่วงที่ให้แสงเพิ่มขึ้น โดยมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงความเข้มแสง 0–1,000 $\mu\text{molPPF m}^{-2} \text{s}^{-1}$ แล้วเริ่มเข้าสู่ค่าสูงคงที่เมื่อความเข้มแสงถึงจุดอิ่มตัวแสง (I_s) (Figures 1A-B) ใบข้าวในสภาวะควบคุมมีค่า $g_{s\max}$ อยู่ที่ 545.0 $\text{mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ค่า $P_{n\max}$ 31.4 $\mu\text{molCO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ และค่า $E_{\max}$ อยู่ที่ 8.80 $\text{mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Table 2)

Table 2 Summary of parameters of light response curves of control (0 mM NaCl) and salt-stress (Mild stress: 60 mM NaCl and severe stress: 120 mM NaCl) plants of KDML105 rice. Maximum gross photosynthetic rate ($P_{\max}$), light compensation point (I_c), light saturation point (I_s), quantum efficiency (α), curvature factor (θ), dark respiration (R_d), maximum rate of linear whole-chain electron transport ($ETR_{\max}$), maximum of stomatal conductance ($g_{s\max}$), and maximum transpiration rate ($E_{\max}$)

Parameter	Control	Mild stress	Severe stress	P-value
$P_{\max}$ ($\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	31.4 ± 2.6^a	23.2 ± 2.4^b	13.8 ± 1.3^c	**
I_c ($\mu\text{molPPF m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	17.1 ± 1.2	21.1 ± 3.1	29.6 ± 3.9	ns
I_s ($\mu\text{molPPF m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	$1,026.6 \pm 28.5^a$	834.3 ± 74.9^a	526.6 ± 58.4^b	**
α ($\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}\text{PPF}$)	0.038 ± 0.006	0.044 ± 0.004	0.038 ± 0.004	ns
θ	0.87 ± 0.04	0.76 ± 0.06	0.86 ± 0.06	ns
R_d ($\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	0.65 ± 0.11	0.89 ± 0.08	1.09 ± 0.11	ns
$ETR_{\max}$ ($\mu\text{mol e}^- \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	189.5 ± 23.3	166.9 ± 13.2	139.4 ± 10.9	ns
$g_{s\max}$ ($\text{mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	545.0 ± 35.9^a	213.3 ± 18.9^b	95.1 ± 10.6^c	**
$E_{\max}$ ($\text{mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	8.80 ± 0.44^a	5.39 ± 0.37^b	3.03 ± 0.33^c	**

Values are mean $\pm$ standard error ($n=4$). Means within a row followed by the different letters are significantly different according to Duncan's new multiple range test. ** Statistically significant difference at $P < 0.01$, ns = non-significant difference

ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือที่ระดับต่ำ (60 mM NaCl) พบว่า ปากใบของข้าวเปิดเพิ่มขึ้นในช่วงความเข้มแสงที่แคบกว่ากลุ่มควบคุมในช่วง 0–800 $\mu\text{molPPF m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ แล้วไม่สามารถเปิดเพิ่มขึ้นได้อีกตามความเข้มแสงที่เพิ่มสูงขึ้น (Figure 1A) โดยค่า $g_{s\max}$ ที่ความเครียดระดับต่ำลดลง 60.9% เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (Table 2) การปิดแคบลงของปากใบส่งผลโดยตรงให้อัตราสังเคราะห์แสงและอัตราการคายน้ำของใบข้าวลดลงตามไปด้วย (Figures 1B-C) โดยค่า $P_{\max}$ ลดลง 26.3% และค่า $E_{\max}$ ลดลง 38.8% เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (Table 2) แสดงให้เห็นว่า การปิดแคบลงของปากใบภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือที่ระดับต่ำ ทำให้อัตราการสูญเสียน้ำลดลงในสัดส่วนที่มากกว่าการลดลงของอัตราสังเคราะห์แสง ส่งผลให้ประสิทธิภาพการใช้น้ำ (WUE) ของใบมีค่าสูงขึ้น

(Figure 1D) ซึ่งการปิดแคบลงของปากใบเป็นกลไกการตอบสนองที่สำคัญในขั้นแรกของข้าว KDML105 ต่อสภาวะเครียดจากความเค็ม เช่นเดียวกับมีรายงานในพืชอื่นหลายชนิด เช่น สับดูต้า (Silva *et al.*, 2011) และ ฝ้าย (Meloni *et al.*, 2003) นอกจากนี้ เมื่อพิจารณาค่าประสิทธิภาพการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ชั่วขณะ (P_n/C_i) ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือที่ระดับนี้ พบว่าใบข้าวภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือที่ระดับต่ำมีค่า P_n/C_i ใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับสภาวะเครียดจากเกลือ (Figure 1E) แสดงให้เห็นว่า กระบวนการตรึง CO_2 ของใบข้าว KDML105 ยังคงดำเนินไปได้อย่างปกติภายใต้ระดับความเครียดจากเกลือที่ระดับต่ำ ดังนั้น การปิดแคบลงของปากใบเป็นกลไกหลักในการจำกัดอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สของใบพืชภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือที่ระดับต่ำนี้

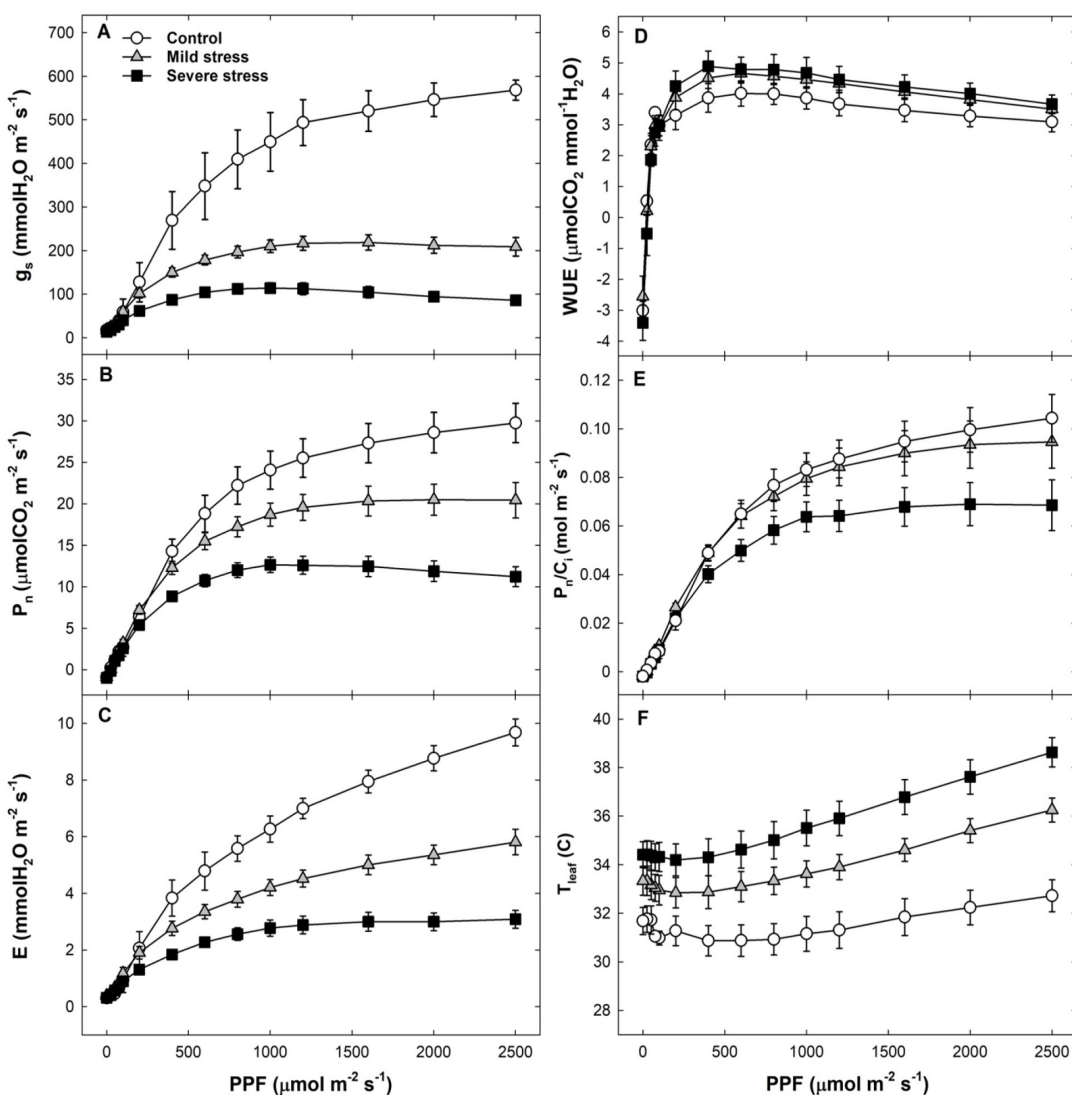


Figure 1 Light response curves of (A) stomatal conductance (g_s), (B) net photosynthetic rate (P_n), (C) transpiration rate (E), (D) water use efficiency (WUE), (E) instantaneous carboxylation efficiency (P_n/C_i) and (F) leaf temperature (T_{leaf}) in control (0 mM NaCl) and salt-stress (Mild stress: 60 mM NaCl and severe stress: 120 mM NaCl) plants of KDML105 rice. Values are means $\pm$ standard error ($n=4$).

เมื่อพิจารณาการตอบสนองของปากใบและ พารามิเตอร์ของกระบวนการแลกเปลี่ยนแก๊สของใบ ข้าว KDML105 ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือที่ระดับ รุนแรง (120 mM NaCl) พบว่า การตอบสนองของปาก ใบต่อระดับความเข้มแสงถูกจำกัดในช่วงแสงแคบมาก ขึ้น โดยค่า g_s เพิ่มขึ้นในช่วงความเข้มแสง 0–600 $\mu\text{molPPF m}^{-2} \text{s}^{-1}$ และไม่สามารถเปิดเพิ่มขึ้นได้ที่ระดับ ความเข้มแสงที่สูงกว่านั้น นอกจากนี้ เมื่อระดับความเข้ม แสงสูงกว่า 2,000 $\mu\text{molPPF m}^{-2}$ ยังชักนำให้ปากใบ ปิดแคบลงและอัตราสังเคราะห์แสงสุทธิลดลงด้วย (Figures 1A–B) สะท้อนว่าเกิดปรากฏการณ์ photoinhibition ที่ระดับความเข้มแสงสูงมากนี้ (Hakala *et al.*, 2005; Goh *et al.*, 2012) การปิด แคบลงมากของปากใบข้าวที่ระดับความเครียดสูงสุดนี้ โดยค่า $g_{s \text{ max}}$ ลดลงไปถึง 82.5% ของกลุ่มควบคุม (Table 2) ส่งผลให้ค่า P_n และ E ลดลงอย่างมาก (Figures 1B–C) โดยค่า $P_{n \text{ max}}$ ลดลง 56.0% และค่า E_{max} ลดลง 65.6% จากกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับสภาวะเครียด จากเกลือ (Table 2) ซึ่งการลดลงของอัตราการคายน้ำเกิด ในสัดส่วนที่มากกว่าอัตราสังเคราะห์แสงของใบ จึงส่ง ผลให้ค่า WUE เพิ่มขึ้น (Figure 1D) นอกจากนี้ ยังพบว่าใบข้าวภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือที่ระดับ รุนแรงมีค่า P_n/C_i ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม ควบคุม (Figure 1E) แสดงให้เห็นว่า กระบวนการตรึง CO_2 ของใบถูกจำกัดภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือที่ ระดับรุนแรงนี้ ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการลดลงของค่า นำไพล์โซฟิลล์ (Mesophyll conductance) อันเนื่อง มาจากการเปลี่ยนสภาพของเส้นทางแพร่ของโมเลกุล ของ CO_2 ความผิดปกติของเยื่อหุ้มคลอโรพลาสต์ ไปจนถึงความหนืดของสโตรมา (Chaves *et al.*, 2009) หรือเป็นผลจากการลดลงของกิจกรรมของเอนไซม์ Rubisco จึงทำให้กระบวนการตรึง CO_2 (Carboxylation) เกิดขึ้นได้ช้าลง อีกทั้งการปิดแคบลง มากของปากใบที่ระดับความเครียดรุนแรงนี้ยังส่งผลต่อ

เนื่องทำให้ใบข้าวระบายความร้อนด้วยการคายน้ำได้น้อย ลง จึงส่งผลโดยตรงให้อุณหภูมิใบ (T_{leaf}) มีค่าเพิ่มสูงขึ้น จากใบข้าวในกลุ่มควบคุมถึง 5 องศาเซลเซียส (Figure 1F)

อิทธิพลของสภาวะเครียดจากเกลือที่ต้นข้าว KDML105 ได้รับส่งผลต่อเนื่องถึงพารามิเตอร์ของ ฟังก์ชันเส้นตอบสนองต่อแสงหลายตัว (Table 2) โดย พบว่าค่า P_{max} ที่ลดลงจะสัมพันธ์กับค่าความเข้มแสง อิ่มตัว (I_s) ที่ลดลงด้วย ในขณะที่อัตราหายใจในที่มืด (R_d) มีค่าเพิ่มขึ้นในทุกะดับของความเครียดจากเกลือ จะสัมพันธ์กับค่าจุดชดเชยแสง (I_c) ที่สูงขึ้น

ประสิทธิภาพการใช้แสงของใบ

ประสิทธิภาพการใช้แสงของระบบ PSII ขณะ ได้รับแสง (ϕ_{PSII}) มีค่าลดลง ในขณะที่อัตราเคลื่อนย้าย อิเล็กตรอน (ETR) และอัตราหายใจเชิงแสง (R_l) มีค่า เพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มแสงที่ใบข้าวได้รับ (Figures 2A–B) ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือที่ระดับต่ำ (60 mM NaCl) ค่า ϕ_{PSII} , ETR และ R_l มีค่าไม่แตกต่างทาง สถิติเมื่อเปรียบเทียบกับต้นข้าวในกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ รับสภาวะเครียดจากเกลือ (Figures 2A–C) โดยอัตรา เคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนสูงสุด (ETR_{max}) มีค่าลดลง 11.9% (Table 2) แสดงให้เห็นว่า ปฏิกิริยาจากแสง (Photochemical reaction) ของใบข้าวที่ได้รับสภาวะ เครียดจากเกลือที่ระดับต่ำยังคงดำเนินไปได้เกือบเท่า ใบข้าวปกติ

เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพการใช้แสงของ ใบข้าวที่ได้รับสภาวะเครียดจากเกลือที่ระดับรุนแรง (120 mM NaCl) พบว่า ค่า ϕ_{PSII} , ETR และ R_l มีค่าลด ลงอย่างเด่นชัดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (Figures 2A–C) โดยค่า ETR_{max} ลดลงถึง 26.4% (Table 2) แสดงให้เห็นว่า ภายใต้สภาวะเครียดจาก เกลือที่รุนแรงและยาวนาน ใบข้าว KDML105 สามารถ ดำเนินปฏิกิริยาจากแสงและกระบวนการเคลื่อนย้าย อิเล็กตรอนได้ลดลง

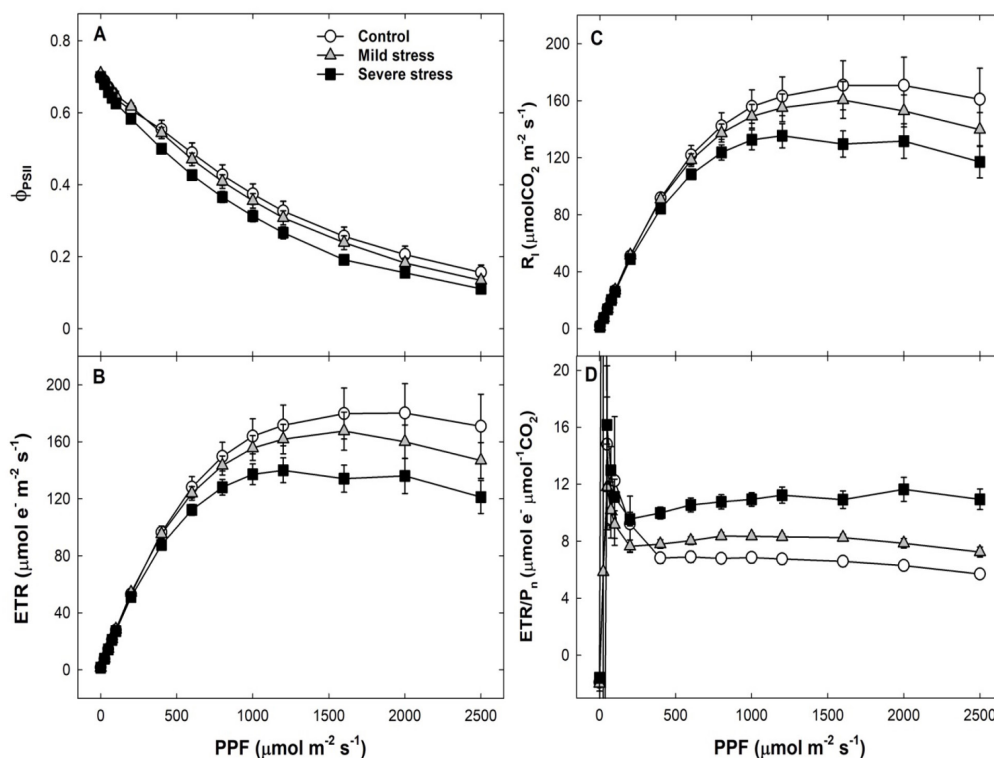


Figure 2 Light response curves of (A) quantum efficiency of PSII (ϕ_{PSII}), (B) electron transport rate (ETR), (C) photorespiration rate (R_i) and (D) ratio of apparent electron transport rate to net photosynthetic rate (ETR/P_n) in control (0 mM NaCl) and salt-stressed (Mild stress: 60 mM NaCl and severe stress: 120 mM NaCl) plants of KDML105 rice. Values are means $\pm$ standard error ($n=4$).

ค่าสัดส่วนของอัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนต่ออัตราสังเคราะห์แสงสุทธิ (ETR/P_n) เป็นอีกพารามิเตอร์หนึ่งที่สะท้อนความผิดปกติของกระบวนการสังเคราะห์แสงของใบพืชได้เป็นอย่างดี โดยพบว่าค่า ETR/P_n ของใบข้าวที่เผชิญสภาวะเครียดจากเกลือมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุม (Figure 2D) และสูงขึ้นตามระดับความรุนแรงของความเค็มที่เพิ่มขึ้น โดยสัดส่วนของ ETR/P_n ที่เพิ่มมากขึ้น แสดงถึงการเพิ่มขึ้นของกระบวนการตรึง O_2 (Oxygenation) ของเอนไซม์ rubisco ส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาการตรึง CO_2 ได้น้อยลง (Silva *et al.*, 2011) และสะท้อนให้เห็นว่าอิเล็กตรอน

จำนวนมากได้เคลื่อนย้ายไปใช้ในกระบวนการอื่นนอกเหนือจากกระบวนการสังเคราะห์แสงและการหายใจเชิงแสง (Photorespiration) ได้แก่ ปฏิกิริยา Mehler-peroxidase (Baker *et al.*, 2007; Ribeiro *et al.*, 2009) ซึ่งการลดลงของค่า P_n/C_i ควบคู่กับการเพิ่มสูงขึ้นมากของค่า ETR/P_n ของใบข้าวภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือที่ระดับรุนแรง (120 mM) นี้ชี้ให้เห็นถึงความเสี่ยงของประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงของข้าวภายใต้สภาวะเครียดจากความเค็มรุนแรง (Silva *et al.*, 2011) ซึ่งทั้งสองพารามิเตอร์สามารถใช้เป็นดัชนีบ่งบอกระดับความรุนแรงของสภาวะเครียดจากเกลือใน

ข้าว KDML105 ในระยะแตกกอได้เป็นอย่างดี

เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของค่าประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุด (F_v/F_m) ของใบข้าว KDML105 ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือ พบว่า ค่า F_v/F_m ของใบข้าวที่ได้รับสภาวะเครียดจากเกลือทั้ง 2 ระดับ มีค่าไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 0.87 (Table 3) ซึ่งเป็นระดับค่าของใบพืช C3 ในสภาพปกติ (Björkman and Demmig, 1987) จากข้อมูลดังกล่าว แสดงให้เห็นว่าสภาวะเครียดจากเกลือที่จำลองขึ้นในการทดลองนี้ไม่ก่อให้เกิดความเสียหาย

กับระบบรับแสงสอง (PSII) ของใบ โดยใบข้าว KDML105 ในระยะแตกกอที่ได้รับสภาวะเครียดจากความเค็มรุนแรงและยาวนาน ยังคงสามารถรักษาเสถียรภาพของระบบแสงสอง (Photosystem II stability) เอาไว้ได้ เช่นเดียวกับที่พบในการทดลองของ Mishra *et al.* (1991) ซึ่งพบว่าสภาวะเครียดจากเกลือไม่ส่งผลต่อกระบวนการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนและค่า F_v/F_m ของใบข้าวสาลี (*Triticum aestivum* L.) โดยปฏิกิริยาจากแสงที่ระบบแสงสองของใบข้าวสาลีที่ได้รับสภาวะเครียดจากเกลือยังคงดำเนินไปได้ดีเป็นปกติ

Table 3 Effect of salt stress on minimal fluorescence (F_o), maximal fluorescence (F_m) and maximum quantum efficiency of PSII (F_v/F_m) in control (0 mM NaCl) and salt-stress (Mild stress: 60 mM NaCl and severe stress: 120 mM NaCl) plants of KDML105 rice

Parameter	Control	Mild stress	Severe stress	P-value
F_o	0.043 ± 0.002	0.044 ± 0.002	0.044 ± 0.002	ns
F_m	0.337 ± 0.004	0.327 ± 0.008	0.322 ± 0.005	ns
F_v/F_m	0.872 ± 0.007	0.867 ± 0.009	0.865 ± 0.006	ns

Values are mean ± standard error (n=4). ns = non-significant difference

จากผลการทดลองที่ได้ พบว่า ต้นข้าว KDML105 ที่ได้รับสภาวะเครียดจากเกลือที่จำลองขึ้นทั้ง 2 ระดับ เกิดกระบวนการสังเคราะห์แสงของใบได้น้อยลง (ค่า P_n และ P_{max} ลดลง) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม จากการปิดแคบลงของปากใบเป็นหลัก ในขณะที่ระบบรับแสงของใบยังไม่ได้ได้รับผลกระทบจากสภาวะเครียดจากเกลือ สอดคล้องกับผลการทดลองของ Shunkao and Theerakulpisut (2019) ที่พบว่า ต้นข้าว KDML105 ในระยะการเจริญเติบโตทางด้านลำต้นที่ได้รับสภาวะเครียดจากเกลือมีอัตราสังเคราะห์แสงสุทธิของใบลดลง แต่ปฏิกิริยาจากแสงยังดำเนินไปได้อย่างปกติ และสภาวะเครียดจากเกลือไม่ส่งผลต่อการสะสมมวลแห้งของต้นข้าวในระยะนี้ โดยระดับการทนเค็มยังขึ้นอยู่กับระยะการเจริญเติบโตของต้นข้าวใน

ขณะที่ได้รับสภาวะเครียดจากเกลือ ต้นข้าวในระยะงอกและต้นกล้ามีความอ่อนแอมากต่อสภาวะเครียดจากเกลือ โดยจะทนทานเพิ่มมากขึ้นในระยะการเจริญเติบโตทางลำต้น และอ่อนแอต่อสภาวะเครียดจากเกลืออีกครั้งในระยะสืบพันธุ์ (Heenan *et al.*, 1988)

ปริมาณรงควัตถุในใบ

ใบข้าว KDML105 ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือทั้ง 2 ระดับ มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (Chl a) คลอโรฟิลล์ บี (Chl b) ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด (Total Chl) สัดส่วนของปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ต่อคลอโรฟิลล์ บี (Chl a/b) และปริมาณแคโรทีนอยด์ (Car) ไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับใบข้าวในกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับสภาวะเครียดจากเกลือ

(Table 4) แสดงให้เห็นว่า สภาวะเครียดจากเกลือไม่ก่อให้เกิดความเสียหายกับรงควัตถุหลัก (Primary pigments) ของระบบรับแสงของใบ สอดคล้องกับข้อมูลการเปลี่ยนแปลงของค่า F_v/F_m ของใบข้าว

KDML105 ที่วัดได้ ซึ่งบ่งบอกว่าไม่มีความเสียหายเกิดขึ้นกับระบบรับแสงของใบข้าวภายใต้สภาวะเครียดจากความเค็มทั้ง 2 ระดับ

Table 4 Effect of salt stress on chlorophyll a content (Chl a), chlorophyll b content (Chl b), total chlorophyll content (Total Chl), ratio of chlorophyll a to chlorophyll b (Chl a/b) and carotenoid content (Car) in control and salt-stressed plants of KDML105 rice

Parameter	Control	Mild stress	Severe stress	P-value
Chl a (mg g ⁻¹ FW)	3.07 ± 0.06	3.01 ± 0.21	2.74 ± 0.25	ns
Chl b (mg g ⁻¹ FW)	1.17 ± 0.04	1.19 ± 0.10	1.04 ± 0.07	ns
Total Chl (mg g ⁻¹ FW)	4.23 ± 0.09	4.20 ± 0.31	3.78 ± 0.32	ns
Chl a/b	2.63 ± 0.08	2.56 ± 0.08	2.62 ± 0.07	ns
Car (mg g ⁻¹ FW)	7.12 ± 0.66	6.75 ± 0.69	5.33 ± 0.77	ns

Values are mean ± standard error (n=4). ns = non-significant difference

ความเข้มข้นของธาตุอาหารที่ปรากฏในใบ
เมื่อพิจารณาความเข้มข้นของธาตุอาหารแต่ละชนิดที่ปรากฏในใบข้าว KDML105 ที่ได้รับสภาวะเครียดจากเกลือทั้ง 2 ระดับ พบว่า ใบข้าวที่ได้รับสภาวะเครียดจากเกลือมีความเข้มข้นของ Na ที่ปรากฏสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเมื่อระดับความรุนแรงของสภาวะเครียดจากเกลือเพิ่มขึ้น จะมีการสะสมของ Na ในใบสูงขึ้นตามไปด้วย (Table 5) ซึ่งให้เห็นว่า ต้นข้าวไม่มีกลไกในการป้องกันการเคลื่อนที่ของ Na เข้าสู่ต้นพืชผ่านราก และเกิดการขนส่ง Na ไปเก็บสะสมไว้ที่ใบ เช่นเดียวกับที่มีการรายงานในพืชหลายชนิด เช่น ฝ้าย (Guo *et al.*, 2020) และสบู่ดำ (Silva *et al.*, 2011) นอกจากนี้ ใบข้าวที่ได้รับสภาวะเครียดจากเกลือยังมีความเข้มข้นของ B สูงกว่าใบข้าวปรกติในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติอีกด้วย สำหรับความเข้มข้นของธาตุอาหารชนิดอื่นที่ทำการวิเคราะห์ ได้แก่ N, P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu และ Zn พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างใบข้าว

ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสภาวะเครียดจากเกลือ (Table 5)

การสะสมของ Na เพิ่มขึ้นในใบข้าวภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือ ส่งผลต่อเนื้อให้สัดส่วนความเข้มข้นระหว่าง K และ Na (K/Na ratio) มีค่าลดลงตามไปด้วย (Table 5) ซึ่งการลดลงของสัดส่วนระหว่างความเข้มข้นของ K/Na ในใบพืชสามารถใช้เป็นดัชนีที่บ่งบอกถึงความรุนแรงของสภาวะเครียดจากเกลือและความไม่สมดุลของการรักษาระดับไอออน (Ionic homeostasis) ในเซลล์ของใบพืชภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือได้เป็นอย่างดี (Hniličková *et al.*, 2019; Guo *et al.*, 2020) นอกจากนี้ การลดลงของประสิทธิภาพการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ของใบพืชภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือ มักเกิดควบคู่กับการสะสม Na ที่มากเกินไปของเซลล์ใบและการลดลงของสัดส่วนความเข้มข้น K/Na ของใบอีกด้วย (Netondo *et al.*, 2004; López-Climent *et al.*, 2008; Silva *et al.*, 2011; Bose *et al.*, 2017)

Table 5 Nutrient concentration and K/Na ratio of leaves in control (0 mM NaCl) and salt-stress (Mild stress: 60 mM NaCl and severe stress: 120 mM NaCl) plants of KDML105 rice

Concentration	Control	Mild stress	Severe stress	P-value
N (% dry mass)	3.19 ± 0.06	2.47 ± 0.49	3.20 ± 0.02	ns
P (% dry mass)	0.49 ± 0.08	0.47 ± 0.02	0.39 ± 0.01	ns
K (% dry mass)	2.82 ± 0.52	2.11 ± 0.12	2.30 ± 0.10	ns
Ca (% dry mass)	0.47 ± 0.07	0.48 ± 0.04	0.49 ± 0.02	ns
Mg (% dry mass)	0.34 ± 0.04	0.38 ± 0.03	0.39 ± 0.02	ns
Na (% dry mass)	0.13 ± 0.01 ^a	0.28 ± 0.01 ^b	0.62 ± 0.07 ^c	**
Fe (mg g ⁻¹ dry mass)	412.07 ± 140.05	287.29 ± 80.07	155.18 ± 25.27	ns
Mn (mg g ⁻¹ dry mass)	570.05 ± 105.35	424.96 ± 58.25	481.95 ± 68.72	ns
Cu (mg g ⁻¹ dry mass)	4.25 ± 0.78	3.40 ± 0.44	4.07 ± 0.24	ns
Zn (mg g ⁻¹ dry mass)	23.27 ± 7.33	14.78 ± 1.95	12.75 ± 2.77	ns
B (mg g ⁻¹ dry mass)	5.82 ± 0.81 ^a	19.79 ± 2.64 ^b	19.27 ± 0.80 ^b	**
K/Na ratio	22.35 ± 4.89 ^b	7.73 ± 0.38 ^a	3.78 ± 0.28 ^a	**

Values are mean ± standard error (n=4). Means within a row followed by the different letters are significantly different according to Duncan's new multiple range test. ** Statistically significant difference at P < 0.01, ns = non-significant difference

สรุป

การจำลองสภาวะเครียดจากเกลือในเขตรากข้าวพันธุ์ KDML105 ในระยะแตกกอ โดยการชักนำด้วย NaCl รุนแรง 2 ระดับ จนกระทั่งให้ต้นข้าวปรับตัวและตอบสนองต่อสภาวะเครียดจากเกลือที่ยาวนาน 28 วัน สามารถวัดผลกระทบทางสรีรวิทยาของข้าวในระยะแตกกอต่อสภาวะเครียดจากเกลือได้อย่างชัดเจน ดังนี้ ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือที่ระดับต่ำ (60 mM NaCl) ต้นข้าวใช้กลไกการปิดแคบลงของปากใบเพียงอย่างเดียว ซึ่งการลดลงของค่าการชักนำการเปิดปิดปากใบส่งผลให้อัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิและอัตราการคายน้ำของใบข้าวลดลงตามไปด้วย แต่เมื่อสภาวะเครียดจากเกลือเพิ่มขึ้นสู่ระดับรุนแรง (120 mM NaCl) พบว่า อัตราการสังเคราะห์

แสงสุทธิและอัตราการคายน้ำลดลงมากตามการลดลงของค่าการชักนำการเปิดปิดปากใบ และเกิดขึ้นควบคู่กับการลดลงของประสิทธิภาพการตรึง CO₂ (การลดลงของค่า P_n/C_i) และประสิทธิภาพการใช้แสงของใบ (การลดลงของค่า ϕ_{PSII} และ ETR และการเพิ่มขึ้นของค่า ETR/P_n) แต่สภาวะเครียดจากเกลือทั้ง 2 ระดับ ไม่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อระบบรับแสงของใบ โดยค่าประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุด (F_v/F_m) และปริมาณคลอโรฟิลล์ (Chl) ของใบข้าวยังอยู่ในระดับปรกติ นอกจากนี้สภาวะเครียดจากเกลือยังส่งผลให้ความเข้มข้นของ Na ที่ปรากฏในใบสูงขึ้น และสัดส่วนความเข้มข้นของ K/Na ในใบข้าวลดลงด้วย พารามิเตอร์ที่ใช้เป็นตัวชี้วัดความรุนแรงของสภาวะเครียดจากเกลือได้คือค่าการชักนำการเปิดปิดปากใบ ค่าประสิทธิภาพการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ชั่วขณะ (P_n/C_i) อัตราการ

เคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (ETR) และสัดส่วนของอัตรา
เคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนต่ออัตราสังเคราะห์สุทธิ
(ETR/P_n)

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักงานปลัดกระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม และขอขอบคุณศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักเขตร้อน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ที่อนุเคราะห์ให้ใช้โรงเรือนเพื่อเป็นสถานที่ในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol. 24(1): 1–15.
- Baker, N.R., J. Harbinson and D.M. Kramer. 2007. Determining the limitations and regulation of photosynthetic energy transduction in leaves. Plant Cell Environ. 30(9): 1107–1125.
- Björkman, O. and B. Demmig. 1987. Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. Planta. 170(4): 489–504.
- Bose, J., R. Munns, S. Shabala, M. Gilliam, B. Pogson and S.D. Tyerman. 2017. Chloroplast function and ion regulation in plants growing on saline soils: lessons from halophytes. J. Exp. Bot. 68(12): 3129–3143.
- Chanchareonsook, J. 1993. Chemical Analysis of Soil and Plant Materials. Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok, Thailand. 213 pp. (in Thai)
- Chaves, M.M., J. Flexas and C. Pinheiro. 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. Ann. Bot. 103(4): 551–560.
- Department of Soil Science. 2005. Introduction to Soil Science. Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok, Thailand. 547 pp. (in Thai)
- Goh, C.H., S.M. Ko, S. Koh, Y.J. Kim and H.J. Bae. 2012. Photosynthesis and environments: photoinhibition and repair mechanisms in plants. J. Plant Biol. 55(2): 93–101.
- Guo, H., Z. Huang, M. Li and Z. Hou. 2020. Growth, ionic homeostasis, and physiological responses of cotton under different salt and alkali stresses. Sci. Rep. 10: 21844.

- Hakala, M., I. Tuominen, M. Keränen, T. Tyystjärvi and E. Tyystjärvi. 2005. Evidence for the role of the oxygen-evolving manganese complex in photoinhibition of photosystem II. *Biochim. Biophys. Acta.* 1706(1–2): 68–80.
- Heenan, D.P., L.G. Lewin and D.W. McCaffery. 1988. Salinity tolerance in rice varieties at different growth stages. *Aust. J. Exp. Agric.* 28(3): 343–349.
- Hniličková, H., F. Hnilička., M. Orsák and V. Hejnák. 2019. Effect of salt stress on growth, electrolyte leakage, Na⁺ and K⁺ content in selected plant species. *Plant Soil Environ.* 65: 90–96.
- Hoang, T.M.L., T.N. Tran, T.K.T. Nguyen, B. Williams, P. Wurm, S. Bellairs and S. Mundree. 2016. Improvement of salinity stress tolerance in rice: challenges and opportunities. *Agronomy.* 6(4): 54.
- Kaewneramit, T. and N. Wutipraditkul. 2014. Effect of salinity stress on growth and photosynthetic pigments in transgenic ‘KDML 105’ rice overexpressing *OsCaM1-1* gene. *Veridian E-Journal Science and Technology Silpakorn University.* 1(5): 11–18. (in Thai)
- Kelling, K.A., L.G. Bundy, S.M. Combs and J.B. Peters. 1999. Optimum soil test levels for Wisconsin. UWEX Fact Sheet A3030. Division of Cooperative Extension, University of Wisconsin-Extension, Wisconsin, USA.
- Kheoruenromne, I. 2007. Saline Soil in Thailand. Available Source: <https://ebook.lib.ku.ac.th/ebook27/ebook/2011-002-0214/#p=2>, Jun 5, 2021. (in Thai)
- Laywisadkul, S. and S. Yingjajaval. 2011. Light response of *Amaranthus tricolor* leaf at different levels of CO₂ concentrations. *Agricultural. Sci. J.* 42(2): 193–202. (in Thai)
- Levy, G.J. and I. Shainberg. 2005. Sodic soils, pp. 504–512. *In* D. Hillel, ed. *Encyclopedia of Soils in the Environment*. Elsevier Ltd., Oxford, UK.
- López-Climent, M.F., V. Arbona, R.M. Pérez-Clemente and A. Gómez-Cadenas. 2008. Relationship between salt tolerance and photosynthetic machinery performance in citrus. *Environ. Exp. Bot.* 62(2): 176–184.
- Meloni, D.A., M.A. Oliva, C.A. Martinez and J. Cambraia. 2003. Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. *Environ. Exp. Bot.* 49(1): 69–76.
- Mishra, S.K., D. Subrahmanyam and G.S. Singhal 1991. Interrelationship between salt and light stress on primary processes of photosynthesis. *J. Plant Physiol.* 138(1): 92–96.

- Netondo, G.W., J.C. Onyango and E. Beck. 2004. Sorghum and salinity. II. Gas exchange and chlorophyll fluorescence of sorghum under salt stress. *Crop Sci.* 44(3): 806–811.
- Pongprayoon, W., R. Tisarum, C. Theerawittaya and S. Cha-Um. 2019. Evaluation and clustering on salt-tolerant ability in rice genotypes (*Oryza sativa* L. subsp. *indica*) using multivariate physiological indices. *Physiol. Mol. Biol. Plant.* 25(2): 473–483.
- Ribeiro, R.V., E.C. Machado, M.G. Santos and R.F. Oliveira. 2009. Photosynthesis and water relations of well-watered orange plants as affected by winter and summer conditions. *Photosynthetica.* 47: 215–222.
- Schreiber, U., W. Bilger, H. Hormann and C. Neubauer. 1998. Chlorophyll fluorescence as a diagnostic tool: basics and some aspects of practical relevance, pp. 320–336. *In* A.S. Raghavendra, ed. *Photosynthesis: A Comprehensive Treatise*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Shunkao, S. and P. Theerakulpisut. 2019. Effects of salinity on photosynthesis and growth of rice and alleviation of salt-stress by exogenous spermidine. *Khon Kaen Agr. J.* 47(Suppl. 1): 1–6.
- Silva, E.N., R.V. Ribeiro, S.L. Ferreira-Silva, R.A. Viégas and J.A.G. Silveira. 2011. Salt stress induced damages on the photosynthesis of physic nut young plants. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)*. 68(1): 62–68.
- Thornley, J.H.M. and I.R. Johnson. 1990. *Plant and Crop Modelling*. Oxford University Press, New York, USA.
- Valentini, R., D. Epron, P.D. Angelis, G. Matteucci and E. Dreyer. 1995. *In situ* estimation of net CO₂ assimilation, photosynthetic electron flow and photorespiration in Turkey oak (*Q. cerris* L.) leaves: diurnal cycles under different levels of water supply. *Plant Cell Environ.* 18(6): 631–640.
- Waskom, R.M., T. Bauder, J.G. Davis and A.A. Andales. 2007. Diagnosing saline and sodic soil problems. Fact Sheet No. 0.521. Colorado State University, Colorado, USA.
- Weil, R.R. and N.C. Brady. 2016. *The Nature and Properties of Soils*. 15th edition. Pearson Education, Inc., Columbus, USA. 1104 pp.
- Yoshida, S., D.A. Forno, J.H. Cock and K.A. Gomez. 1976. *Laboratory Manual for Physiological Studies of Rice*. 3rd edition. The International Rice Research Institute, Laguna, Philippines. 83 pp.