BRT 542006

สรีรวิทยาและกายวิภาคศาสตร์ของข้าวทนเค็ม

PHYSIOLOGY AND ANATOMY OF SALT TOLERANT RICE

นายอาทิต์ยา ฉิมรักแก้ว

วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

พ.ศ. 2544

ISBN 974-654-064-5

สรีรวิทยาและกายวิภาคศาสตร์ของข้าวทนเค็ม

PHYSIOLOGY AND ANATOMY OF SALT TOLERANT RICE

นายอาทิติ๊ยา ฉิมรักแก้ว

วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

พ.ศ. 2544

ISBN 974-654-064-5

สรีรวิทยาและกายวิภาคศาสตร์ของข้าวทนเค็ม

นายอาทิตย์ยา ฉิมรักแก้ว

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาชีววิทยา
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น
พ.ศ. 2544

ISBN 974-654-064-5

PHYSIOLOGY AND ANATOMY OF SALT TOLERANT RICE

Mr. ARTITYA CHIMRUKKEAW

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS
FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN BIOLOGY
GRADUATE SCHOOL KHON KAEN UNIVERSITY
2001
ISBN 974-654-064-5

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาชีววิทยา

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ สรีรวิทยาและกายวิภาคศาสตร์ของข้าวทนเค็ม

ชื่อผู้ทำวิทยานิพนธ์ นายอาทิตี้ยา ฉิมรักแก้ว

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. ปิยะดา ธีระกุลพิศุทธิ์)

....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อัจฉรา ธรรมถาวร)

....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุมนทิพย์ บุนนาค)

....
(รองศาสตราจารย์ ดร. สมหมาย ปรีเปรม)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยขอนแก่น

....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ วันชัย สุ่มเล็ก)
คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยขอนแก่น

สำเร็จการศึกษาเมื่อวันที่ 13 กุมภาพันธ์ 2544

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยขอนแก่น

BRT 542006

อาทิตย์ยา ฉิมรักแก้ว. 2543. *สรีรวิทยาและกายวิภาคศาสตร์ของข้าวทนเค็ม.* วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น. [ISBN 974-654-064-5]

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : รศ.ดร.ปิยะดา ธีระกุลพิศุทธิ์; ผศ.ดร.อัจฉรา ธรรมถาวร, รศ.ดร.สุมนทิพย์ บุนนาค

บทคัดย่อ

ปลูกข้าวพันธุ์ แดงดอกกก, ลูกแดง, เหลืองตาโม, ขาวหมากแขก, พอคคาลี, ขาวดอกมะลิ 105, น้ำสะกุย 19 และ สุพรรณบุรี 2 ในระบบสารละลายธาตุอาหาร ที่มีระดับความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0, 50, 100 และ 150 mM ศึกษาเปรียบเทียบลักษณะทางสรีรวิทยา และกายวิภาคศาสตร์ใบข้าวแต่ละพันธุ์พบว่า เมื่อให้ระดับเกลือสูงขึ้นการเจริญเติบโตลดลง พันธุ์พอคคาลีมีการเจริญดีที่สุดรองลงมาคือ พันธุ์เหลืองตาโม คลอโรฟิลล์มีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อให้เกลือที่ระดับ 50 mM และลดลงเมื่อให้เกลือที่ระดับ 100 mM ยกเว้น พันธุ์แดงดอกกก และ พันธุ์เหลืองตาโม ยังคงเพิ่มขึ้น ค่าออสโมติกโพเทนเชียลของใบและรากมีค่าต่ำลงเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นเกลือ ซึ่งพันธุ์พอคคาลีและพันธุ์เหลืองตาโมมีค่าออสโมติกโพเทนเชียลลดต่ำลงมากที่สุด และรองลงมาตามลำดับ ปริมาณโปรลีนในใบเพิ่มขึ้นเมื่อระดับความเข้มข้นเกลือสูงขึ้นยกเว้นพันธุ์พอคคาลีอยู่ในระดับคงที่ ในรากทุกพันธุ์มีการสร้างโปรลีนเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นเกลือเพิ่มขึ้น ปริมาณโปรตีนในใบและรากมีปริมาณลดลงเมื่อระดับเกลือสูงขึ้น ยกเว้น ใบพันธุ์ขาวหมากแขกมีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ในการศึกษาแบบแผนโปรตีนในใบและรากข้าว 8 พันธุ์เมื่อได้รับเกลือ 0-150 mM โปรตีนในใบที่เพิ่มขึ้นคือ 64 kD พบในพันธุ์แดงดอกกก และเหลืองตาโม และน้ำหนักมวลโมเลกุล 62 kD พบในพันธุ์สุพรรณบุรี 2 และลูกแดง โปรตีนในรากที่เพิ่มขึ้นคือ 61 และ 29 kD ซึ่งพบในพันธุ์พอคคาลี และเหลืองตาโมตามลำดับ โปรตีนในใบที่ลดลงที่มีน้ำหนักมวลโมเลกุลใกล้เคียงกันคือ 55 และ 51 kD ซึ่งพบในพันธุ์สุพรรณบุรี 2 และขาวดอกมะลิ 105 ตามลำดับ และสำหรับโปรตีนในรากที่ลดลงที่มีน้ำหนักมวลโมเลกุลเท่ากันคือ 67 kD พบในพันธุ์แดงดอกกก และสุพรรณบุรี 2 การศึกษากายวิภาคศาสตร์ใบพบว่าการกระจายตัวของปากใบจะขนานกับเส้นใบ ขนาดของปากใบทั้งด้านผิวใบด้านบน และด้านล่างขนาดเล็กลง ความหนาแน่นปากใบด้านบนมากขึ้นเมื่อได้รับเกลือในพันธุ์แดงดอกกก, ขาวดอกมะลิ 105, เหลืองตาโม และขาวหมากแขก ลดลงในพันธุ์น้ำสะกุย 19 และลูกแดง ความหนาแน่นปากใบด้านล่างเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับเกลือคือ พันธุ์แดงดอกกก ขาวดอกมะลิ 105 น้ำสะกุย 19 และขาวหมากแขก ความหนาแน่นปากใบด้านล่างลดลงเมื่อได้รับเกลือในพันธุ์สุพรรณบุรี 2 และลูกแดง ความหนาใบเพิ่มขึ้นในพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 พอคคาลี และ เหลืองตาโม ความหนาใบลดลงเมื่อได้รับเกลือ คือ พันธุ์แดงดอกกก และสุพรรณบุรี 2 ขนาดเซลล์ม้วนมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อได้รับเกลือ คือ พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 พอคคาลี และขนาดลดลงในพันธุ์ลูกแดง ผลของเกลือ 100 mM ทำให้การพัฒนาเส้นกลางใบช้ากว่าปกติ ผิวใบมีเซลล์ที่ถูกทำลาย มีเซลล์หลั่งเกิดมากขึ้น และใบเกิดการแก่เร็วกว่ากลุ่มควบคุม

Artitya Chimrukkeaw. 2000. ***Physiology and Anatomy of Salt Tolerant Rice.*** Master of Science Thesis in Biology, Graduate School, Khon Kaen University. [ISBN 974-654-064-5]

Thesis Advisory Committee : Assoc. Prof. Dr. Piyada Theerakulpisut, Asst. Prof. Dr. Achara Thammathaworn, Assoc. Prof. Dr. Sumontip Bunnak

Abstract

Eigth cultivars of rice ; Daeng Dawk Kok, Look Daeng, Leuang Tha Mo, Khao Mahk Kaek, Pokkali, Khao Dawk Mali 105, Nam sa-kui 19 and Supanburi 2, were grown in hydroponic culture for 17 days before NaCl was gradually added to the solution culture until the concentration of NaCl reached 0, 50, 100 and 150 mM. Growth and physioloical parameters were recorded 3 days after salinity treatment and leaf anatomical features after 60 days. Increasing NaCl concentration resulted in reduction of growth in relation to the controlled plants without added NaCl. Pokkali and Leuang Tha Mo were the two best performing cultivars with lowest amount of reduction in growth. Chlorophyll content of most cultivars increased in response to 50 mM NaCl then decreased at 100 mM NaCl, with the exception of Daeng Dawk Kok and Leuang Tha Mo with increasing chlorophyll content at 100 mM NaCl. Osmotic potential of leaf and root extract decreased with increasing concentration of NaCl. Pokkali followed by Leuang Tha Mo showed highest degrees of decrease in osmotic potential. Proline content in leaves and roots of all cultivars increased with increasing concentration of NaCl, with the exception of Pokkali's leaves in which proline content was not affected by NaCl. Protein content in roots and leaves decreased with increasing concentration of NaCl, except Khao Mahk Kaek's leaves in which protein content slightly increased. Changes in electrophoretic protein profile of leaves and roots from eight cultivars of rice treated with 50-150 mM NaCl were studied using SDS-polyacrylamide gel electrophoresis. Polypeptides in leaves which appeared as a result of NaCl treatment included 64 kD protein in Daeng Dawk Kok and Leuang Tha Mo and 62 kD protein in Supanburi 2 and Look Daeng. In roots of salt-treated rice, the level of 61 kD protein in Pokkali, 29 kD protein in Luang Tha Mo decreased. Polypeptides in leaves which decreased in level included 55 kD and 51 kD protein in Supanburi 2 and Khao Dawk Mali 105 respectively. A 67 kD protein in roots of both Daeng Dawk Kok and Supanburi 2 clearly decreased.. Leaf anatomical studies showed that stomata distribution on leaves paralleled with leaf veins. The stomata size of upper and lower epidermis was reduced in response to 100 mM NaCl. The stomatal density on the upper leaf surface was increased in Daeng Dawk Kok, Khao Dawk Mali 105, Leuang Tha Mo and Khao Mahk Kaek and decreased in Nam sa-kui 19 and Look Daeng. The stomatal density on the lower leaf surface was increased in Daeng Dawk Kok, Khao Dawk Mali 105, Nam sa-kui 19 and Khao Mahk Kaek and decreased in Supanburi 2 and Look daeng. Leaf thickness of Khao Dawk Mali 105, Pokkali and Leuang Tha Mo was increased and that of Daeng Dawk Kok decreased in response to 100 mM NaCl. Bulliform cells enlarged in Khao Dawk Mali 105 and Pokkali and reduced in Look Daeng. The treatment of 100 mM NaCl resulted in slower development of mid veins and enhanced leaf aging as evident from increased number of lysigenous and secretory cells on upper and lower epidermis.

งานวิทยานิพนธ์นี้มอบส่วนดีให้บุพการีและคณาจารย์

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณบิดาของข้าพเจ้าที่เป็นที่รักและเคารพ ให้ทุกสิ่งทุกอย่างที่ข้าพเจ้าต้องการ ให้กำลังใจ และเกื้อหนุนข้าพเจ้าตลอดมา

ขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.ปิยะดา ธีระกุลพิศุทธิ์ ที่กรุณาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา โดยให้ความรู้และความเข้าใจในสาขาวิชาสรีรวิทยา และชีวโมเลกุลเป็นอย่างดี กราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.อัจฉรา ธรรมถาวรที่กรุณาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ให้ความรู้และความเข้าใจในสาขาวิชากายวิภาคศาสตร์ และกราบขอบพระ คุณ รศ.ดร.สุมนทิพย์ บุนนาค ที่กรุณาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม โดยให้ความรู้และความเข้าใจในสาขาวิชาชีวโมเลกุล และให้กำลังใจข้าพเจ้าเสมอมา

กราบขอบพระคุณผู้ให้ทุนเพื่อทำงานวิจัยนี้ "โครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย" รหัส BRT 542006

กราบขอบพระคุณคุณฉวีวรรณ วุฒิญาโณ ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานีที่ให้ความอนุเคราะห์พันธุ์ข้าวและข้อมูลเกี่ยวกับพันธุ์ข้าวทั้งหมดในการวิจัยครั้งนี้

ขอบคุณนางสาวจุฬาลักษณ์ ลาเกิด ที่ช่วยข้าพเจ้าตั้งแต่ต้นจนจบ งานวิจัยนี้นอกจากใช้การวางแผนที่ดี ใช้ความคิดรอบคอบแล้วต้องใช้แรงงานเป็นส่วนสำคัญในการเปลี่ยนสารละลายอาหาร และการเก็บตัวอย่าง ขอบคุณอาจารย์กัลยา กองเงิน ที่ช่วยสอนเทคนิค SDS-PAGE ขอบคุณอาจารย์จรัญ ลีรติวงศ์ ที่กรุณาให้ยืมกล้องถ่ายรูป

ขอบคุณน้อง ๆ นักศึกษาปริญญาโทอีกหลาย ๆ คนที่ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจให้แก่ข้าพเจ้าเสมอมา

และที่สุดคือขอขอบพระคุณภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยขอนแก่นที่ได้เอื้ออำนวยสถานที่ อุปกรณ์และเครื่องมือวิทยาศาสตร์รวมไปถึงสิ่งที่ขาดตกบกพร่องทั้งปวงที่อำนวยแก่งานวิจัยนี้ให้ดำเนินไปสู่ความสำเร็จด้วยดี

อาทิตี้ยา ฉิมรักแก้ว

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
คำอุทิศ	ค
กิตติกรรมประกาศ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ฌ
รายการสัญลักษณ์และคำย่อ	ฎ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	2
2.1 อนุกรมวิธาน และ ความเป็นมา	2
2.2 ดินเค็ม	2
2.3 การปรับปรุงดินเค็ม	3
2.4 กลไกของพืชทนเค็ม	3
2.5 ผลกระทบของเกลือต่อการงอกของเมล็ดพืช	4
2.6 การเพิ่มลำดับการให้เกลือ	6
2.7 ผลกระทบของเกลือต่อการสังเคราะห์ด้วยแสง	6
2.8 ผลกระทบของเกลือต่อปริมาณน้ำในพืช	8
2.9 ผลของเกลือต่อการสะสมแร่ธาตุและปริมาณอิออนในส่วนต่าง ๆ ของพืช	8
2.10 สารสะสมอินทรีย์ประเภทออสโมโพเทคแทนท์เมื่อได้รับผลกระทบของเกลือ	11
2.11 ผลของเกลือต่อขนาดและจำนวนปากใบ	12
2.12 ผลของเกลือต่อปริมาณโปรตีนและกิจกรรมของเอนไซม์	13
2.13 ผลของเกลือที่มีต่อคุณสมบัติผนังเซลล์	15
บทที่ 3 ผลของเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อสรีรวิทยาของข้าวทนเค็ม	16
3.1 บทนำ	16
3.2 วัตถุประสงค์	16
3.3 การวางแผนการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูล	16
3.4 วิธีการวิจัย	17
3.5 ผลการทดลอง	20
3.6 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	55

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 กายวิภาคศาสตร์ใบทนเค็ม 58

4.1 บทนำ 58

4.2 วัตถุประสงค์ 58

4.3 วิธีการวิจัย 58

4.4 ผลการทดลอง 60

4.5 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง 83

เอกสารอ้างอิง 84

ภาคผนวก 90

ประวัติผู้เขียน 103

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานน้ำหนักใบสด (กรัมต่อต้น) ของข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM	26
ตารางที่ 2	ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานน้ำหนักรากสด (กรัมต่อต้น) ของข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM	27
ตารางที่ 3	ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานน้ำหนักใบแห้ง (กรัมต่อต้น) ของข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM	28
ตารางที่ 4	ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานน้ำหนักรากแห้ง (กรัมต่อต้น) ของข้าว 8 พันธุ์ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM	29
ตารางที่ 5	ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานปริมาณคลอโรฟิลล์เอ (mg/g น้ำหนักสด) ในใบข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM	31
ตารางที่ 6	ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานปริมาณคลอโรฟิลล์บี (mg/g น้ำหนักสด) ในใบข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM	32
ตารางที่ 7	ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานปริมาณคลอโรฟิลล์รวม (mg/g น้ำหนักสด) ในใบข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM	33
ตารางที่ 8	อัตราส่วนระหว่างคลอโรฟิลล์เอต่อคลอโรฟิลล์บีในใบข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM	34
ตารางที่ 9	ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานค่าออสโมติกโพเทนเชียล (MPa) ในใบข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM	35
ตารางที่ 10	ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานค่าออสโมติกโพเทนเชียล (MPa) ในรากข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM	36
ตารางที่ 11	ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานปริมาณโปรลีน (μg/g น้ำหนักสด) ในใบข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM	37
ตารางที่ 12	ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานปริมาณโปรลีน (μg/g น้ำหนักสด) ในรากข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM	38
ตารางที่ 13	ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานปริมาณโปรตีน(μg/g น้ำหนักสด) ในใบข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM	40
ตารางที่ 14	ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานปริมาณโปรตีน(μg/g น้ำหนักสด) ในรากข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM	41
ตารางที่ 15	ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานโซเดียมและโพแทสเซียม (mmol/kg น้ำหนักแห้ง) ในใบข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM	43
ตารางที่ 16	ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานโซเดียมและโพแทสเซียม (mmol/kg น้ำหนักแห้ง) ในรากข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM	45
ตารางที่ 17	อัตราส่วนระหว่างโซเดียมกับโพแทสเซียมในใบเมื่อได้รับเกลือโซเดียมในใบข้าว 8 พันธุ์เมื่อได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM	46

สารบัญตาราง (ต่อ)

		หน้า
ตารางที่ 18	อัตราส่วนระหว่างโซเดียมกับโพแทสเซียมในรากเมื่อได้รับเกลือโซเดียมในรากข้าว 8 พันธุ์เมื่อได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM	47
ตารางที่ 19	อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงของข้าว 8 พันธุ์เมื่อได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 mM เป็นเวลา 4 วัน มีหน่วยเป็น $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$	49
ตารางที่ 20	โปรตีนที่เพิ่มขึ้นและลดลงในส่วนของใบและรากข้าว 8 พันธุ์	50
ตารางที่ 21	การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ (Relative Performance) เชิงเปรียบเทียบของพันธุ์ข้าว 8 พันธุ์	56
ตารางที่ 22	ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของความหนาใบและขนาดเซลล์ม้วน (µm) เมื่อได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 mM	80
ตารางที่ 23	ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของขนาดเซลล์คุมใบ (µm) เมื่อได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 mM	81
ตารางที่ 24	ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจำนวนปากใบต่อตารางมิลลิเมตร เมื่อได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 mM	82

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 1	ผลของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0-150 mM ต่อลักษณะสัณฐานใบข้าวพันธุ์ (ก) แดงดอกกก, (ข) ขาวดอกมะลิ 105, (ค) สุพรรณบุรี 2 และ (ง) พอคคาลี	22
ภาพที่ 2	ผลของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0-150 mM ต่อลักษณะสัณฐานใบข้าวพันธุ์ (ก) น้ำสะกุย 19, (ข) ลูกแดง, (ค) เหลืองตาโม และ (ง) ขาวหมากแขก	23
ภาพที่ 3	ผลของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0-150 mM ต่อการเจริญและพัฒนาการต้นข้าวพันธุ์ (ก) แดงดอกกก, (ข) ขาวดอกมะลิ 105, (ค) สุพรรณบุรี 2 และ (ง) พอคคาลี	24
ภาพที่ 4	ผลของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0-150 mM ต่อการเจริญและพัฒนาการต้นข้าวพันธุ์ (ก) น้ำสะกุย 19, (ข) ลูกแดง, (ค) เหลืองตาโม และ (ง) ขาวหมากแขก	25
ภาพที่ 5	น้ำหนักใบสดของข้าว 8 พันธุ์ (กรัมต่อต้น) ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM	26
ภาพที่ 6	น้ำหนักรากสด (กรัมต่อต้น) ของข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM	27
ภาพที่ 7	น้ำหนักใบแห้ง (กรัมต่อต้น) ของข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM	28
ภาพที่ 8	น้ำหนักรากแห้ง (กรัมต่อต้น) ของข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM	29
ภาพที่ 9	ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ (mg/g น้ำหนักสด) ในใบของข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM	31
ภาพที่ 10	ปริมาณคลอโรฟิลล์บี (mg/g น้ำหนักสด) ในใบของข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM	32
ภาพที่ 11	ปริมาณคลอโรฟิลล์รวม (mg/g น้ำหนักสด) ในใบของข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM	33
ภาพที่ 12	อัตราส่วนระหว่างคลอโรฟิลล์เอต่อคลอโรฟิลล์บีในใบข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือความเข้มข้น 0-150 mM	34
ภาพที่ 13	ค่าออสโมติกโพเทนเชียล (MPa) ในใบข้าว 8 พันธุ์ ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM	35
ภาพที่ 14	ค่าออสโมติกโพเทนเชียล (MPa) ในรากข้าว 8 พันธุ์ ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM	36
ภาพที่ 15	ปริมาณโปรลีน (μg/g น้ำหนักสด) ในใบของข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM	37
ภาพที่ 16	ปริมาณโปรลีน (μg/g น้ำหนักสด) ในรากของข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM	38
ภาพที่ 17	ปริมาณโปรตีน (μg/g น้ำหนักสด) ในใบของข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM	40

สารบัญภาพ (ต่อ)

		หน้า
ภาพที่ 18	ปริมาณโปรตีน ($\mu g/g$ น้ำหนักสด) ในรากของข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM	41
ภาพที่ 19	ปริมาณ Na และ K (mmol/kg น้ำหนักแห้ง) ในใบของข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM	42
ภาพที่ 20	ปริมาณ Na และ K (mmol/kg น้ำหนักแห้ง) ในใบของข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM	44
ภาพที่ 21	อัตราส่วนระหว่างโซเดียมและโพแทสเซียมในใบของข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM	46
ภาพที่ 22	อัตราส่วนระหว่างโซเดียมและโพแทสเซียมในรากของข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM	47
ภาพที่ 23	อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงของข้าว 8 พันธุ์เมื่อได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 mM เป็นเวลา 4 วัน มีหน่วยเป็น $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$	48
ภาพที่ 24	(ก) แบบแผนโปรตีนจากใบข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (ข) แบบแผนโปรตีนจากใบข้าวพันธุ์แดงดอกกก	51
ภาพที่ 25	(ก) แบบแผนโปรตีนจากใบข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 2 (ข) แบบแผนโปรตีนจากใบข้าวพันธุ์น้ำสะกุย 19	51
ภาพที่ 26	(ก) แบบแผนโปรตีนจากใบข้าวพันธุ์เหลืองตาโม (ข) แบบแผนโปรตีนจากใบข้าวพันธุ์พอคคาลี	52
ภาพที่ 27	(ก) แบบแผนโปรตีนจากใบข้าวพันธุ์ขาวหมากแขก (ข) แบบแผนโปรตีนจากใบข้าวพันธุ์ลูกแดง	52
ภาพที่ 28	แบบแผนโปรตีนจากรากข้าวพันธุ์แดงดอกกก และ แบบแผนโปรตีนจากรากข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 2	53
ภาพที่ 29	แบบแผนโปรตีนจากรากข้าวพันธุ์น้ำสะกุย 19 และ แบบแผนโปรตีนจากรากข้าวพันธุ์ขาวหมากแขก	53
ภาพที่ 30	(ก) แบบแผนโปรตีนจากรากข้าวพันธุ์พอคคาลี (ข) แบบแผนโปรตีนจากรากข้าวพันธุ์ลูกแดง	54
ภาพที่ 31	(ก) แบบแผนโปรตีนจากรากข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (ข) แบบแผนโปรตีนจากรากข้าวพันธุ์เหลืองตาโม	54
ภาพที่ 32	ผิวใบข้าวกลุ่มควบคุมแสดงลักษณะและการกระจายตัวของปากใบ	61
ภาพที่ 33	ผิวใบข้าวกลุ่มควบคุมแสดงการสะสมผลึกซิลิกา	61
ภาพที่ 34	ผิวใบข้าวกลุ่มที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 mM แสดงเซลล์หลั่ง และการสลายตัวของเซลล์	62
ภาพที่ 35	ภาคตัดขวางเส้นกลางใบของกลุ่มควบคุม	62
ภาพที่ 36	ภาคตัดขวางใบข้าว และแบบแผนของเซลล์ม้วนในกลุ่มควบคุม	63
ภาพที่ 37	ภาคตัดขวางใบข้าวกลุ่มควบคุมแสดงลักษณะของเซลล์ม้วน	63

สารบัญภาพ (ต่อ)

		หน้า
ภาพที่ 38	ลักษณะและการกระจายตัวของปากใบด้านบนของข้าวพันธุ์ (ก,ข) แดงดอกกก และ (ค,ง) ขาวดอกมะลิ 105	65
ภาพที่ 39	ลักษณะและการกระจายตัวของปากใบด้านบนของข้าวพันธุ์ (ก,ข) สุพรรณบุรี 2 และ (ค,ง) พอคคาลี	66
ภาพที่ 40	ลักษณะและการกระจายตัวของปากใบด้านบนของข้าวพันธุ์ (ก,ข) น้ำสะกุย 19 และ (ค,ง) ลูกแดง	67
ภาพที่ 41	ลักษณะและการกระจายตัวของปากใบด้านบนของข้าวพันธุ์ (ก,ข) เหลืองตาโม และ (ค,ง) ขาวหมากแขก	68
ภาพที่ 42	การสะสมซิลิกาในเส้นใบด้านบนของข้าวพันธุ์ (ก) แดงดอกกก, (ข) ขาวดอกมะลิ 105, (ค) สุพรรณบุรี 2 และ (ง) พอคคาลี	69
ภาพที่ 43	การสะสมซิลิกาในเส้นใบด้านบนของข้าวพันธุ์ (ก) น้ำสะกุย 19, (ข) ลูกแดง, (ค) เหลืองตาโม และ (ง) ขาวหมากแขก	70
ภาพที่ 44	ลักษณะการเกิดเซลล์หลั่ง และสลายตัวของเซลล์ผิวใบด้านบนของข้าวพันธุ์ (ก,ข) แดงดอกกก และ (ค,ง) ขาวดอกมะลิ 105	71
ภาพที่ 45	ลักษณะการเกิดเซลล์หลั่ง และสลายตัวของเซลล์ผิวใบด้านบนของข้าวพันธุ์ (ก,ข) สุพรรณบุรี 2 และ (ค,ง) พอคคาลี	72
ภาพที่ 46	ลักษณะการเกิดเซลล์หลั่ง และสลายตัวของเซลล์ผิวใบด้านบนของข้าวพันธุ์ (ก,ข) น้ำสะกุย 19 และ (ค,ง) ลูกแดง	73
ภาพที่ 47	ลักษณะการเกิดเซลล์หลั่ง และสลายตัวของเซลล์ผิวใบด้านบนของข้าวพันธุ์ (ก,ข) เหลืองตาโม และ (ค,ง) ขาวหมากแขก	74
ภาพที่ 48	ภาคตัดขวางเส้นกลางใบพันธุ์ (ก,ข) แดงดอกกก, (ค,ง) ขาวดอกมะลิ 105, (จ,ฉ) สุพรรณบุรี 2 และ (ช,ซ) พอคคาลี	75
ภาพที่ 49	ภาคตัดขวางเส้นกลางใบพันธุ์ (ก,ข) น้ำสะกุย 19, (ค,ง) ลูกแดง, (จ,ฉ) เหลืองตาโม และ (ช,ซ) ขาวหมากแขก	76
ภาพที่ 50	ภาคตัดขวางใบข้าวพันธุ์ (ก,ข) แดงดอกกก, (ค,ง) ขาวดอกมะลิ 105, (จ,ฉ) สุพรรณบุรี 2 และ (ช,ซ) พอคคาลี	77
ภาพที่ 51	ภาคตัดขวางใบข้าวพันธุ์ (ก,ข) น้ำสะกุย 19, (ค,ง) ลูกแดง, (จ,ฉ) เหลืองตาโม และ (ช,ซ) ขาวหมากแขก	78
ภาพที่ 52	ความหนาใบ และขนาดเซลล์ม้วน (μm) เมื่อได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 mM	80
ภาพที่ 53	ความยาวเซลล์คุม (μm) เมื่อได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 mM	81
ภาพที่ 54	จำนวนปากใบต่อตารางมิลลิเมตรเมื่อได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 mM	82

รายการสัญลักษณ์และคำย่อ

EC	=	Electrical conductivity
$dS\ m^{-1}$	=	เดซิซิเมนต่อเมตร
Sm^{-1}	=	ซิเมนต่อเมตร
mM	=	มิลลิโมลาร์
MPa	=	เมกะปาสคาล
mOsmol/Kg H_2O	=	มิลลิออสโมลต่อกิโลกรัมน้ำ
µl	=	ไมโครลิตร
µg	=	ไมโครกรัม
µm	=	ไมโครเมตร
มล.	=	มิลลิลิตร
%	=	เปอร์เซ็นต์
µmol $CO_2\ m^{-2}\ s^{-1}$	=	ไมโครโมลก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ต่อตารางเมตรต่อวินาที
kD	=	กิโลดาลตัน
DDK	=	แดงดอกกก
KDML	=	ขาวดอกมะลิ 105
SP2	=	สุพรรณบุรี 2
POK	=	พอคคาลี
NSK19	=	น้ำสะกุย 19
LD	=	ลูกแดง
LTM	=	เหลืองตาโม
KMK	=	ขาวหมากแขก
FWL	=	น้ำหนักสดใบ
FWR	=	น้ำหนักสดราก
DWL	=	น้ำหนักแห้งใบ
DWR	=	น้ำหนักแห้งราก
CHLA	=	คลอโรฟิลล์เอ
CHLB	=	คลอโรฟิลล์บี
CHLTOTAL	=	คลอโรฟิลล์รวม

บทที่ 1
บทนำ

การผลิตข้าวและการเพาะปลูกในภาคตะวันออกเฉียงเหนือประสบปัญหาทางด้านความแห้งแล้ง ฝนไม่ตกต้องตามฤดูกาล และมีปัญหาเรื่องดินเค็มที่ทวีความรุนแรงมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากมีธรณีวิทยาหินเกลือ และการหมุนเวียนของน้ำใต้ดินพาน้ำเค็มสู่ระดับผิวดินด้วยแรงแคปพิลลารี (พิทักษ์ รัตนจารุรักษ์, 2533) การศึกษาพัฒนา และปรับปรุงดินเค็มที่ผ่านมา โดยการขุดลอกหน้าดินและปูแผ่นพลาสติกเพื่อตัดท่อแคปพิลลารีที่ส่งน้ำเกลือจากใต้ดิน ต้องใช้งบประมาณ และแรงงานมาก เนื่องจากขอบเขตของดินเค็มครอบคลุมพื้นที่หลายตารางกิโลเมตร ดังนั้นจึงทำได้ในขอบเขตที่จำกัด การใช้สารเคมีเพื่อปรับปรุงดินเค็ม มีค่าใช้จ่ายสูงมาก และดินจะกลับเป็นดินเค็มเช่นเดิมหลังจากปรับปรุงดินได้ไม่นาน เนื่องจากน้ำเกลือจากใต้ดินจะขึ้นมาสะสมเช่นเดิม การใช้พันธุ์ข้าวทนเค็มจึงเป็นที่นิยมอย่างมาก ส่วนพื้นที่ดินเค็มจัดมักจะเป็นพื้นที่ว่างเปล่ามีวัชพืชที่ชอบเกลือขึ้นอยู่ประปราย ถ้าปลูกพืชต้องเป็นพืชที่ให้ผลตอบแทนด้านเศรษฐกิจ อาจจะเป็นพันธุ์พืชพื้นเมืองหรือเป็นพันธุ์ต่างประเทศก็ได้ พืชที่ชอบขึ้นบริเวณดินเค็มในภาคตะวันออกเฉียงเหนือได้แก่ หนามแดง หนามพุงดอ หนามปี และชลู่ ในประเทศสหรัฐอเมริกาพืชที่ชอบขึ้นในดินเค็มได้แก่ *Atriplex*, *Pluchea*, *Salicornia* และ *Prosopis* ในออสเตรเลียพบ *Atriplex*, *Melaleuca*, *Wheatgrass*, *Puccinellia*, *Halosarcia* และ *Tamarix* ในประเทศอินเดียพบ *Prosopis*, *Tamarix*, *Pluchea* และ *Diplachne* พืชที่ขึ้นในพื้นที่ดินเค็มจัดเหล่านี้ส่วนใหญ่จะใช้เป็นอาหารสัตว์ (สมศรี อรุณินท์, 2532) การใช้พันธุ์ข้าวทนเค็มปลูกในพื้นที่ดินเค็มนับเป็นวิธีหนึ่งที่นิยมใช้กันและเป็นวิธีที่กสิกรยอมรับ และสามารถนำไปใช้ได้ เนื่องจากข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจให้ผลตอบแทนสูง

พันธุ์ข้าวพื้นเมืองไทยนับว่ามีความหลากหลายทางด้านพันธุกรรมสูง โดยจำแนกชื่อในเบื้องต้นที่ไม่ซ้ำกันได้ทั้งหมด 5,928 พันธุ์ เชื้อพันธุ์เหล่านี้นับว่ามีคุณค่าและมีประโยชน์มหาศาลต่อการปรับปรุงข้าวให้ได้พันธุ์ดีในอนาคต พันธุ์ข้าวพื้นเมืองเป็นพันธุ์ดีให้ผลผลิตสูง เหมาะสมกับดินฟ้าอากาศ ต้านทานโรคและศัตรูพืช (ฉวีวรรณ วุฒิญาโณ, 2543) เนื่องจากทรัพยากรที่ดีเหล่านี้กำลังจะถูกสูญหายงานวิจัยนี้จึงเป็นส่วนหนึ่งในการอนุรักษ์พันธุ์ข้าวพื้นเมืองได้แก่ พันธุ์แดงดอกกก น้ำสะกุย 19 ลูกแดง เหลืองตาโม และขาวหมากแขก พันธุ์ส่งเสริมได้แก่ขาวดอกมะลิ 105 และสุพรรณบุรี 2 โดยการนำมาศึกษาเปรียบเทียบกับพันธุ์ทนเค็มของประเทศอินเดียคือ พันธุ์พอคคาลี (Pokkali) งานวิจัยพันธุ์ข้าวในประเทศไทยมักจะศึกษาการเพิ่มผลผลิตและการเก็บรักษาหลังเก็บเกี่ยวเป็นส่วนใหญ่ ข้อมูลทางด้านสรีรวิทยา และกายวิภาคศาสตร์จึงมีน้อย โดยเฉพาะการศึกษาสรีรวิทยาและกายวิภาคศาสตร์เกี่ยวกับพันธุ์ข้าวทนเค็ม โดยศึกษาสรีรวิทยาเพื่อทราบถึงความสามารถในการทนเค็ม และกลไกบางกลไกที่เกิดขึ้นในต้นข้าวที่ได้รับเกลือ 0, 50, 100 และ 150 mM NaCl และศึกษากายวิภาคศาสตร์ใบข้าวที่ได้รับเกลือ 100 mM เพื่อทราบถึงผลของเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อโครงสร้างใบ และหาข้อสรุปเบื้องต้นเกี่ยวกับสรีรวิทยาและกายวิภาคศาสตร์ของข้าวทนเค็ม เพื่อที่จะได้นำข้าวทนเค็มไปศึกษาขั้นต่อไป

บทที่ 2
วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 อนุกรมวิธาน และ ความเป็นมา

ข้าวจัดอยู่ในพืชล้มลุกวงศ์หญ้า (Gramineae หรือ Poaceae) วงศ์ย่อย Oryzoideae (Pooidea) สกุล *Oryza* สามารถเจริญเติบโตได้ดีทั้งในเขตร้อน และเขตอบอุ่น ข้าวสามารถปลูกได้อย่างกว้างขวางตั้งแต่เส้นรุ้งที่ 53 องศาเหนือ ถึง 35 องศาใต้ และจากระดับน้ำทะเลปานกลางจนถึงระดับความสูง 2,500 เมตร อุณหภูมิที่ข้าวสามารถเจริญเติบโตได้ดีระหว่าง 10-40 องศาเซลเซียส ปัจจุบันข้าวที่ปลูกเพื่อบริโภคมีอยู่ 2 ชนิด คือ ข้าวเอเชีย (*O. sativa* L.) และข้าวอัฟริกา (*O. glaberrima* Steud) ข้าวที่ปลูกทั่วไปมีโครโมโซม 24 แท่ง (2n=24) (สถาบันวิจัยข้าว, 2538)

2.2 ดินเค็ม

ดินเค็ม คือดินที่มีเกลืออยู่ในปริมาณมากจนกระทั่งมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโต และผลผลิตของพืช ในทางวิชาการสามารถวัดระดับความเค็มในรูปของค่าการนำไฟฟ้า (electrical conductivity) ของสารละลายดินที่ค่ามากกว่า 2 มิลลิโมห์ต่อเซนติเมตร เกลือในดินเป็นสารประกอบระหว่างอนุภาคที่มีประจุบวกได้แก่ โซเดียม แมกนีเซียมกับอนุภาคที่มีประจุลบ เช่น คลอไรด์ ซัลเฟต ไบคาร์บอเนต และไนเตรท ดินเค็มที่เกิดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มีเกลือที่อยู่ในรูปของโซเดียมคลอไรด์เป็นส่วนใหญ่ คล้ายคลึงกับดินเค็มชายทะเล แต่ดินเค็มชายทะเลมีแมกนีเซียมในรูปคลอไรด์และซัลเฟตมากกว่า สามารถแบ่งระดับความเค็มของดินในภาคตะวันออกเฉียงเหนือได้ดังนี้

2.2.1 พื้นที่ดินเค็มจัด

ส่วนใหญ่เป็นพื้นที่ว่างเปล่าไม่มีการเกษตรกรรม พบคราบเกลืออยู่ทั่วไปตามผิวดิน วัดค่าการนำไฟฟ้าได้มากกว่า 16 มิลลิโมห์ต่อเซนติเมตร หรือสังเกตได้ว่ามีหย่อมเกลือเกิดขึ้นมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ในพื้นที่ พืชที่ขึ้นได้มักเป็นวัชพืช มีพื้นที่ประมาณ 1.5 ล้านไร่

2.2.2 พื้นที่ดินเค็มปานกลาง

ในฤดูแล้งความเค็มของดินอยู่ระหว่าง 8-16 มิลลิโมห์ต่อเซนติเมตร พบคราบเกลือบนผิวดิน 10-50 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ ส่วนใหญ่เป็นนาข้าวแต่ต้นข้าวมักตายเป็นจำนวนมากตั้งแต่ระยะกล้า ส่วนต้นที่รอดตายก็ให้ผลผลิตต่ำมาก มีพื้นที่ประมาณ 3.7 ล้านไร่

2.2.3 พื้นที่ดินเค็มน้อย

ไม่พบคราบเกลือตามผิวดิน หรือถ้าพบก็มีไม่มากประมาณ 1-10 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ ค่าการนำไฟฟ้าอยู่ระหว่าง 4-8 มิลลิโมห์ต่อเซนติเมตร แหล่งน้ำมักจะเค็มด้วย พื้นที่ดินเค็มน้อยส่วนใหญ่เป็นนาข้าวที่ให้ผลผลิตต่ำกว่าปกติ มีพืชอื่นขึ้นประปราย มีพื้นที่ประมาณ 12.6 ล้านไร่

2.2.4 พื้นที่ที่มีศักยภาพในการแพร่กระจายของดินเค็ม

ส่วนใหญ่อยู่ในบริเวณที่สูงเป็นเนิน ที่ผิวดินไม่พบคราบเกลือ แต่ในชั้นดินลึกลงไปไม่มากจะมีหินทราย และหินดินดานที่มีเกลือเป็นองค์ประกอบ เมื่อชั้นดินที่มีเกลือสลายตัว จะถูกน้ำชะล้างไปทำให้เกิดการแพร่กระจายของเกลือ ไปสู่บริเวณที่ราบลุ่มที่อยู่ต่ำกว่า ซึ่งส่วนใหญ่เป็นนาข้าว ให้กลายเป็นพื้นที่ดินเค็มเพิ่มขึ้น พื้นที่เหล่านี้มีประมาณ 19.4 ล้านไร่ (ฝ่ายเผยแพร่และประชาสัมพันธ์กรมพัฒนาที่ดิน, 2532)

2.3 การปรับปรุงดินเค็ม

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ หรือที่รู้จักในชื่อของที่ราบสูงโคราช มีเนื้อที่ประมาณ 170,000 ตารางกิโลเมตร ซึ่งเป็นเนื้อที่ 1 ใน 3 ของประเทศมีพื้นที่ที่จัดเป็นดินเค็มประมาณ 17.8 ล้านไร่ ภาวะดินเค็มไม่ใช่ปัญหาใหม่ และไม่ได้เกิดจากกิจกรรมของมนุษย์โดยทั้งหมด ส่วนใหญ่เกิดขึ้นเองโดยธรรมชาติ (Ghassemi et al., 1995)

การปรับปรุงหรือการจัดการพื้นที่ดินเค็มมี 3 มาตรการคือ มาตรการป้องกันไม่ให้เกิดดินเค็มแพร่กระจายมากขึ้น ซึ่งอาจรวมทั้งวิธีการทางวิศวกรรม อุทกวิทยาโดยการสร้างคันคูดักเกลือไม่ให้แพร่กระจายหรือใช้วิธีการทางชีววิทยา โดยการปลูกพืชเพื่อลดระดับน้ำใต้ดินเค็ม มาตรการที่สองเกี่ยวกับการกำจัดหรือปรับปรุงพื้นที่ที่เป็นดินเค็มไปแล้วให้ใช้ประโยชน์ได้ กรณีนี้เป็นวิธีที่ต้องล้างและระบายเกลือออกเพื่อให้ระดับความเค็มลดลงมาจนปลูกพืชได้ วิธีการนี้ต้องลงทุนสูง รัฐบาลต้องช่วยสนับสนุนเรื่องเงินทุน มาตรการสุดท้ายคือ การใช้ประโยชน์พื้นที่ดินเค็มให้เกิดประโยชน์สูงสุดโดยการลงทุนน้อยกสิกรสามารถรับได้ เพื่อช่วยให้กสิกรสามารถทำกินในพื้นที่ดินเค็มนั้นได้ วิธีการนี้ได้แก่ การใช้พืชทนเค็ม การใส่สารปรับปรุงดิน เป็นต้น

2.4 กลไกของพืชทนเค็ม

พืชที่ขึ้นได้ในดินเค็มต้องมีกลไกบางอย่างเพื่อบรรเทาความเป็นพิษของเกลืออาจแบ่งได้ 3 ลักษณะใหญ่ ๆ คือ การไม่ดูดเกลือเข้าไป การดูดเกลือเข้าไปสะสมเอาไว้ หรือคายเกลือออกมา พืชที่จัดอยู่ในประเภทแรกที่ไม่ดูดเกลือเข้าไปหรือการหลีกเลี่ยงความเค็มหรือหนีความเค็ม พืชพยายามปรับตัวเองให้เข้ากับสภาพดินเค็มได้แก่ การปรับระบบโครงสร้างของรากให้แผ่กระจายไปยังจุดที่เค็มน้อยกว่า หรือปรับตัวให้ออกดอกช้าหรือเร็วกว่าปกติ ในขณะที่ดินมีความเค็มลดลง เพื่อหนีช่วงที่เค็มจัดหรืออาจจะมีการฟื้นตัวอย่างรวดเร็ว เมื่อความเค็มลดลง สำหรับพืชทนเค็มประเภทที่ดูดเกลือเข้าไป เมื่อดูดเกลือเข้าไปอาจจะนำไปสะสมอยู่ในส่วนที่ไม่เป็นอันตรายต่อพืช เช่น สะสมในแวคิวโอล หรือเพิ่มความหนาของใบ มีกลไกอวบน้ำเพิ่มปริมาณน้ำในเซลล์เพื่อให้ความเข้มข้นของเกลือลดลง หรือเพิ่มความเครียดของปากใบ เพื่อให้ใบคายน้ำน้อยลง นอกจากนี้ยังมีการเลือกดูดธาตุโปแทสเซียมเข้าไปมากขึ้นหรือดูดโซเดียมน้อยลง มีการขนย้ายธาตุโซเดียมจากใบอ่อนไปยังใบแก่ หรือสามารถสะสมธาตุโซเดียมไว้ตามลำต้น และราก เป็นต้น ส่วนพืชบางประเภทก็มีต่อมเกลือ เพื่อคายเกลือออกมาได้ ลักษณะดังกล่าวเป็นกลไกของพืชที่สามารถปรับตัวเองให้เข้ากับสภาพความเค็มเพื่อความอยู่รอด โดยพืชชนิดหนึ่ง ๆ อาจจะมีลักษณะเดียวหรือหลายลักษณะรวมกันก็ได้ (สมศรี อรุณินท์, 2532) ความเค็มของดินจะไม่สม่ำเสมอกันในพื้นที่เดียวกัน ซึ่งความเค็มมักจะเปลี่ยนไปสะสมในชั้นดินต่าง ๆ ไม่เท่ากันตามฤดูกาล ในฤดูฝนเกลือจะถูกชะล้างไปสะสมที่ชั้นล่างของดิน ในฤดูแล้งเกลือในชั้นดินจะละลายและระเหยขึ้นมากับน้ำใต้ดิน ถ้าลักษณะเนื้อดินส่วนใหญ่เป็นดินทรายการขึ้นลงของเกลือตามชั้นของดินจึงเป็นไปอย่างรวดเร็ว โดยทั่วไปพื้นที่ดินเค็มในภาคตะวันออกเฉียงเหนือจะมีค่าการนำไฟฟ้าอยู่ในช่วง 2-16 มิลลิ

โมห์ต่อเซนติเมตร ค่าความเป็นกรดเป็นด่างอยู่ระหว่าง 6-7 ความอุดมสมบรูณ์ค่อนข้างต่ำ มีคุณสมบัติทางกายภาพที่เลว การใช้พันธุ์ข้าวทนเค็มนับว่าเป็นวิธีการแก้ปัญหาดินเค็มที่เกษตรกรสามารถจะยอมรับได้โดยง่าย เพราะไม่จำเป็นต้องลงทุนใด ๆ พันธุ์ข้าวทนเค็มที่ปลูกอย่างแพร่หลายได้แก่ ขาวดอกมะลิ 105, กข 6, กข 8 และสันป่าตอง กรมพัฒนาที่ดินได้ทำการทดลองค้นคว้าเพื่อหาพันธุ์ข้าวทนเค็ม จากการทดลองปรากฏว่าได้ค้นพบข้าวทนเค็มปานกลาง ซึ่งคุณภาพดีมีความเหมาะสมสำหรับใช้ทำพันธุ์ปลูกในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มีดังต่อไปนี้ ข้าวพันธุ์พื้นเมือง ได้แก่ หอมอ้ม, ขาวตาอู๋, กอเดียวเบา, แดงน้อย, เจ็กกระโดด พันธุ์ กข. ได้แก่ กข 1, กข 6, กข 7, กข 8, กข 15 พันธุ์แนะนำส่งเสริม ได้แก่ ขาวดอกมะลิ 105, สันป่าตอง, ขาวตาแห้ง, คำฝาย, เก้ารวง 88 และ ขาวปากหม้อ 148 (พรรณี รุ่งแสงจันทร์, 2532)

โดยทั่วไปความเค็มมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช 2 ประการ ได้แก่ ความดันออสโมติก (osmotic pressure) และความเป็นพิษ (toxicity) ของโซเดียมอิออน ความดันออสโมติกจะทำให้ปริมาณน้ำที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้น้อยลง เนื่องจากความเค็มทำให้น้ำในดินมีความเข้มข้นต่ำ และยากที่จะแพร่สู่ราก สำหรับความเป็นพิษของโซเดียมอิออน เกิดขึ้นเมื่อปริมาณของธาตุดังกล่าว ถูกพืชดูดเข้าไปสะสมไว้ในปริมาณมากจนเป็นอันตรายต่อการเจริญเติบโตหรือผลผลิตของพืช เนื่องจากความเป็นพิษของคลอไรด์อิออนมีน้อยกว่า ซึ่งประจุบวกจะเป็นตัวกำหนดหน้าที่สำคัญในระบบการทำงานของเซลล์พืชโดยอ้างในการทดลองต่าง ๆ ดังนี้

พืช	ส่วนประกอบ	K	Na	Cl	แหล่งที่มา
อาโวกาโด	ราก	70.2	41.4	-	Martin & Bingham (1954)
	ใบ	32.8	8.4	-	
พืช	ราก	17.9	15.6	21.4	Hayward et al. (1946)
	ใบ	76.8	2.2	11.5	
ส้ม	ราก	26.6	13.6	-	Jones & Peason (1952)
	ใบ	30.4	4.2	-	
ถั่วลิสง	ราก	18.0	43.0	-	Heimann & Ratner (1965)
	ลำต้น	31.5	13.4	-	
	ใบ	11.0	4.8	-	

(อ้างถึงใน เล็ก มอญเจริญ, 2532)

ผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่าธรรมชาติของพืชจะดูดธาตุโซเดียมสะสมไว้ที่รากในปริมาณสูง ส่วนที่ใบจะมีการสะสมอยู่น้อย เมื่อรากพืชเป็นส่วนที่ทำหน้าที่สำคัญในการเจริญเติบโตของพืชทั้งต้นได้รับผลกระทบเนื่องจากการสะสมของธาตุโซเดียมแล้ว ส่วนใบที่ได้รับการขนส่งธาตุโซเดียมขึ้นมาย่อมจะได้รับผลกระทบเช่นกัน

2.5 ผลกระทบของเกลือต่อการงอกของเมล็ดพืช

Kaskar (1991) ศึกษาการเจริญของต้นข้าวที่รดด้วยสารละลายเกลือระดับต่าง ๆ โดยนำข้าวพันธุ์ทนเค็ม Krasnodarsky 424 ปลูกในทราย และรดด้วยสารละลายความเข้มข้น 0, 0.001, 0.01, 0.1, 0.5 และ 1.0% NaCl, Na_2SO_4, NaCl + Na_2SO_4, และ Na_2CO_3, พบว่าเมล็ดไม่สามารถงอกได้ใน 0.1, 0.5, 1% NaCl, 0.1, 1% Na_2SO_4, 0.1, 1% NaCl + Na_2SO_4 และ 0.001% Na_2CO_3 เมล็ดที่ปลูกใน

สารละลายนอกเหนือจากนี้สามารถงอกเป็นต้นได้ปกติ พบว่าน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม เนื่องจากเกลือที่ระดับความเข้มข้นต่ำชักนำให้มีการเจริญเติบโตมากขึ้น

Rajarathinam et al. (1992) ศึกษาผลของความเค็มต่อการงอกของข้าว 20 สายพันธุ์ พบว่าสายพันธุ์ CSR 2 และ CSR 4 สามารถเจริญได้ในความเค็มสูงสุด 4 มิลลิโมห์ต่อเซนติเมตร ในขณะที่พันธุ์อื่นตายเมื่อเพิ่มความเข้มข้นสูงขึ้น

Jagadev และ Jena (1993) ศึกษาผลของความเค็มที่มีผลต่อการงอกของเมล็ดของข้าวทั้งหมด 18 สายพันธุ์ พบว่าข้าวทั้งหมดสามารถทนต่อความเค็มได้ที่ระดับค่าการนำไฟฟ้าเท่ากับ 11 มิลลิโมห์ต่อเซนติเมตร

Powar และ Mehta (1995) ศึกษาข้าวบางสายพันธุ์ที่ทนต่อความเค็มระยะกำลังงอก โดยคัดเมล็ดที่มีสุขภาพสมบูรณ์จากพันธุ์ Panvel 1, Panvel 2, Kala Rata 1-24, Bhura Rata 4-10, Palghar 1 และ Jaya นำเมล็ดไปเพาะบนกระดาษกรอง และรดด้วยสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่มีค่าการนำไฟฟ้า 1.5, 3, 6 มิลลิโมห์ต่อเซนติเมตร และน้ำกลั่น ควบคุมอุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 วัน เปอร์เซ็นต์การงอกสูง แต่รากของต้นอ่อนมีขนาดสั้นลงเมื่อความเข้มข้นเกลือสูงขึ้น จัดลำดับความสามารถในการทนเค็มได้ดังนี้ Panvel 1 > Panvel 2 > Kala Rata 1-24 > Bhura Rata 4-10 > Jaya > Palghar 1

Bui et al. (1996) ศึกษาความทนเค็มข้าวในประเทศเวียดนาม ข้าวพันธุ์สูง 7 พันธุ์ และข้าวกึ่งพันธุ์แคระ 8 พันธุ์ ศึกษาอัตราการงอกของเมล็ด และการเจริญของต้นอ่อนข้าว เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ 1.5% มีช่วงอัตราการงอกตั้งแต่ 3% (Mot Bui) - 81% (OM 1630-50) ต้นอ่อนพันธุ์สูง Thang Nong สามารถทนเค็มได้มากที่สุด พันธุ์กึ่งแคระ OM 997 สามารถทนได้ปานกลาง แต่ให้ผลผลิตมาก เกลือมีผลต่อการเจริญในยอดอ่อนน้อยกว่าใบแก่ และเกลือ $CaCl_2$, มีผลกระทบมากที่สุด และ Na_2SO_4 มีผลน้อยที่สุด

Zhang et al. (1996) ศึกษาความเค็มที่มีผลต่อการงอกของเมล็ดข้าว โดยศึกษาข้าวทั้งหมดจากเอเชีย 375 พันธุ์ และจากแอฟริกา 5 พันธุ์ทดลองในความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ 1.5% พบว่าข้าวที่มาจากมาเลเซีย และแอฟริกา ทนเค็มได้สูงสุดโดยเฉลี่ย ขณะที่ข้าวจากไทย ฟิลิปปินส์ และญี่ปุ่น เป็นพันธุ์ข้าวที่ไวต่อความเค็ม และสายพันธุ์ indica ทนความเค็มได้มากกว่า japonica

Powar และ Mehta (1997) ศึกษาอิทธิพลของความเค็มที่มีต่อข้าว โดยใช้ดินจากป่าชายเลน และรดด้วยสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่มีค่าการนำไฟฟ้า 1.5, 3.0, 6.0 และ 9.0 มิลลิโมห์ต่อเซนติเมตร พบว่าผลผลิตลดลงเมื่อความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์เพิ่มข้น สายพันธุ์ Panvel 1 ทนความเค็มได้มากที่สุด ขณะที่ พันธุ์ Palghar 1 และ Ratnagiri 1 ตายเมื่อโซเดียมคลอไรด์อยู่ในระดับค่าการนำไฟฟ้า 9 มิลลิโมห์ต่อเซนติเมตร

Khan et al. (1997) ศึกษาผลของเกลือโซเดียมคลอไรด์ ต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญในระยะต้นอ่อนในข้าวพันธุ์ทนเค็ม 9 สายพันธุ์ (3 สายพันธุ์เป็นพันธุ์ข้าวหอมเมล็ดเล็ก) พบว่าอัตราการเจริญเติบโตระยะต้นอ่อนอายุ 9 วันเมื่อได้รับความเค็ม 0, 50, 100, 150 และ 200 mM NaCl ดัชนีการงอกลดลง เปรียบเทียบผลจากการวัดความสูง และน้ำหนักแห้ง ข้าวหอมเมล็ดเล็ก 3 พันธุ์ทนเค็มได้น้อยกว่าพันธุ์ข้าวชนิดอื่น

Misra et al. (1997a) ศึกษาการเจริญของรากข้าวพันธุ์ไวต่อความเค็มสายพันธุ์ Jaya และสายพันธุ์ทนต่อความเค็ม Damodar ซึ่งทดลองทั้งในห้องทดลอง และภาคสนาม โดยให้ความเค็มแก่ต้นข้าวในระยะที่กำลังงอก โดยวัดความยาวของยอด และราก ผลในห้องปฏิบัติการพบว่า อัตราความยาวยอดต่อรากของพันธุ์ Jaya ได้รับผลกระทบมากกว่าสายพันธุ์ Damoda เช่นเดียวกันกับผลจากภาคสนาม ในช่วงอายุ 15 วัน ความยาวรากต่อยอด น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้นในพันธุ์ Jaya แต่เมื่ออายุ 25 วัน อัตราการ

เจริญลดลง สำหรับพันธุ์ Damodar เมื่ออายุ 15 วัน ความยาวรากต่อยอด น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งลดลง แต่เมื่ออายุ 25 วัน ให้เกลือ 0.5 % (w/v) พบว่าสามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวเจริญเติบโตได้ดีขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ซึ่งให้ผลตรงกันทั้งที่ทำในห้องทดลอง และภาคสนาม และเมื่อให้ความเค็ม 1-3% พบว่าอัตราการเจริญเติบโตลดลง

Gonzalez และ Ramirez (1998) ศึกษาข้าว 20 สายพันธุ์ โดยให้เกลือที่มีค่าการนำไฟฟ้า เท่ากับ 12 มิลลิโมห์ต่อเซนติเมตร และน้ำที่มีค่าการนำไฟฟ้าเท่ากับ 0.02 มิลลิโมห์ต่อเซนติเมตร เป็นเวลา 7 วัน พบว่าการดูดน้ำของเมล็ด กิจกรรมของเอนไซม์ peroxidase การงอก ความสูงของต้น ความยาวของราก น้ำหนักแห้ง และปริมาณน้ำในใบ ค่าทั้งหมดมีความสัมพันธ์ในแนวโน้มที่ลดลงเมื่อได้รับเกลือ

2.6 การเพิ่มลำดับการให้เกลือ (Pretreatment)

Bonilla et al. (1995) ศึกษาสรีรวิทยาที่ตอบสนองต่อความเค็มในข้าวโดยใช้สารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นต่ำเป็น pretreatment ใช้ข้าวพันธุ์ทนเค็ม Kala rata 1-24 (KR1) และ Bhura Rata ข้าวไวต่อความเค็มพันธุ์ Taichung 65 และ IR28 โดยได้รับ pretreatment 0, 9, 18 และ 52 mM NaCl เป็นเวลา 14 วัน แล้วย้ายไปเลี้ยงใน 0, 18, 52 และ 104 mMNaCl ผลคือกลุ่มที่ได้รับ pretreatment จะมีน้ำหนักแห้งมากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับ pretreatment โดยอธิบายว่าการที่ข้าวมีประสิทธิภาพในการทนเค็มมากขึ้น และสร้างโปรตีนบางชนิดเพื่อให้มีผลต่อการยืดหยุ่นของเยื่อหุ้มเซลล์ สำหรับกลุ่มที่ไม่ได้รับ pretreatment มีการปรับตัวไม่ทัน มีการสร้างกลไกการป้องกันได้ช้า จึงทำให้เซลล์ไม่สามารถปรับตัวได้ จึงทำให้มีการเจริญเติบโตในอัตราที่ต่ำ สำหรับพันธุ์ข้าวที่ทนเค็มอยู่แล้ว มีการสร้างกลไกดังกล่าวขึ้นตั้งแต่แรก จึงไม่ประสบปัญหาดังกล่าว

Liu et al. (1997) ศึกษาผลของการเพิ่มภาวะทนเค็มให้กับข้าวซึ่งชักนำโดยการใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นต่ำ โดยใช้ข้าวพันธุ์ Chugok 91 (ทนเค็มปานกลาง) และ 83-51 (ไวต่อความเค็ม) เลี้ยงในระบบสารละลายที่มีความเข้มข้นเกลือ 0.1% เป็น pretreatment เลี้ยงเป็นเวลา 8 วันจึงนำไปเลี้ยงในเกลือที่มีระดับความเข้มข้น 0.3% เป็นเวลา 8 วัน และอีกกลุ่มไม่ได้รับ pretreatment ทำการศึกษาเปรียบเทียบจากน้ำหนักแห้ง จากทั้งสองวิธี พบว่ากลุ่มที่ได้รับ pretreatment มีน้ำหนักแห้งสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับ pretreatment

2.7 ผลกระทบของเกลือต่อการสังเคราะห์ด้วยแสง

Peiris และ Ranasinghe (1993) ศึกษาผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบข้าวพันธุ์ Nona Bokra ซึ่งเป็นพันธุ์ทนเค็ม และ IR 593-110-1 ซึ่งเป็นพันธุ์ไวต่อความเค็ม พบว่าเมื่อให้ความเค็มระดับ 5.2 มิลลิโมห์ต่อเซนติเมตร น้ำหนักแห้งของ IR 593-110-1 ในกลุ่มควบคุมเท่ากับ 10.06 กรัม และกลุ่มที่ได้รับเกลือเท่ากับ 5.68 กรัม ซึ่งใน Nona Bokra ในกลุ่มควบคุมเท่ากับ 18.13 กรัม และกลุ่มที่ได้รับเกลือเท่ากับ 12.08 กรัม พันธุ์ IR 593-110-1 ปริมาณคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้นจาก 1.00 เป็น 1.33 mg/g และใน Nona Bokra เพิ่มจาก 0.77 เป็น 1.22 mg/g

Singh และ Dubey (1995) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคลอโรฟิลล์เอ และ บี และกิจกรรมของระบบแสง 1 (Photosystem I) และ ระบบแสง 2 (Photosystem II) ในต้นอ่อนของข้าวเมื่อได้รับความเค็ม ข้าวไวต่อความเค็มพันธุ์ Ratna และ Jaya ข้าวทนต่อความเค็มพันธุ์ CSR 1 และ CSR 3 ปลูกในทรายและรดด้วยสารละลายอาหารที่มีโซเดียมคลอไรด์ที่มีค่าการนำไฟฟ้า 7 และ 14 มิลลิโมห์ต่อเซนติเมตร ที่ 28

องศาเซลเซียส ให้แสง 12 ชั่วโมง เมื่ออายุ 20 วัน จึงนำมาวิเคราะห์รงควัตถุ พบว่าที่ความเค็มปานกลาง 7 มิลลิโมห์ต่อเซนติเมตร ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ และ บี ในพันธุ์ Ratna และ Jaya น้อยกว่าในพันธุ์ CSR 1 และ CSR 3 ที่ระดับความเค็มสูง 14 มิลลิโมห์ต่อเซนติเมตร พบว่าในพันธุ์ทนเค็มกิจกรรมการถ่ายทอดอิเล็คตรอน และ กิจกรรมของระบบแสง 2 ลดลง 40% และในพันธุ์ไวต่อความเค็มลดลง 62-67%

Cho et al. (1996) ศึกษาการทนต่อความเค็มของข้าวในประเทศเกาหลีโดยศึกษา ข้าว 6 พันธุ์ แบ่งออกเป็นพันธุ์ทนเค็ม 3 พันธุ์ เปรียบเทียบกับพันธุ์ไวต่อความเค็ม 3 พันธุ์ พบว่าหลังจากที่เลี้ยงโดยให้เกลือโซเดียมคลอไรด์ระดับต่าง ๆ ทุกพันธุ์มีพื้นที่ใบลดลง พันธุ์ที่ไวต่อความเค็มมีอัตราการสังเคราะห์แสงลดลง เมื่อได้รับความเข้มข้นเกลือสูงขึ้น โดยศึกษาปริมาณเอนไซม์ Ribulose-bisphosphate carboxylase (Rubisco) เพื่อใช้เป็นตัวตัดสินภาวะทนเค็มของข้าว พบว่าข้าวทนเค็มพันธุ์ Han Kan Chal และข้าวไวต่อความเค็มพันธุ์ Dong Hae มีปริมาณ Rubisco ลดลง เมื่อได้รับความเค็มสูงขึ้น เนื่องจากสะสมโซเดียมมากขึ้น แต่ในข้าวพันธุ์ทนเค็มจะมีการลดปริมาณ Rubisco ช้ากว่าพันธุ์ไวต่อความเค็ม นอกจากนี้ข้าวพันธุ์ทนเค็มมีออสโมติกโพเทนเชียลในเซลล์ต่ำมากกว่า ข้าวไวต่อความเค็ม เนื่องจากต้องการดึงน้ำเข้าเซลล์ จึงทำให้พันธุ์ทนเค็มมีศักยภาพในการดำรงชีวิตภายใต้สภาวะที่ได้รับเกลือดีกว่า

Lutts et al. (1996a) ศึกษาข้าวที่มีความแตกต่างในการทนต่อความเค็ม 5 พันธุ์ได้รับเกลือ 0, 30 และ 50mM NaCl 30 วัน พบว่าผลของเกลือทำให้ข้าวเกิดการแก่เร็วกว่าปกติ และปริมาณคลอโรฟิลล์และความเข้มข้นโปรตีนลดลง กิจกรรมเยื่อเลือกผ่านมีสูงขึ้น และมีการสังเคราะห์ malondialdehyde ในพันธุ์ทนเค็มมากกว่า

Misra et al. (1997b) ศึกษาการชักนำของโซเดียมคลอไรด์ ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของการเจริญของใบ รงควัตถุ และปริมาณโปรตีนในพันธุ์ข้าว 2 พันธุ์ Damodar และ Jaya ต้นข้าวที่เจริญภายใต้ภาวะความเค็ม 0-3% NaCl พบว่าการเจริญของใบข้าวพันธุ์ทนเค็ม Damodar ได้รับผลกระทบจากเกลือน้อยกว่าพันธุ์ที่ไวต่อความเค็ม Jaya โปรตีนจากใบข้าวไม่พบความแตกต่างกันมากนักภายใต้ความเค็ม แต่สิ่งที่เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดคือ คลอโรฟิลล์ และ คาโรทีนอยด์ ในต้นข้าวอายุ 25 วันทั้ง 2 สายพันธุ์ แต่ในช่วงอายุ 15 วันพบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์ และ คาโรทีนอยด์ ของพันธุ์ Jaya จะลดลง และใน Damodar จะเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับเกลือ

Tiwari et al. (1997) ศึกษาอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงของข้าวเมื่อได้รับอิทธิพลจากเกลือ โดยศึกษาข้าวไวต่อความเค็มพันธุ์ IR 29 และ IR 8 ข้าวพันธุ์ทนเค็ม Nana Brokra และ Pokkali โดยเลี้ยงในสารละลายอาหารที่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0, 50, 100, 150 และ 200 mM เป็นเวลา 6 ชั่วโมง จึงทำการศึกษากิจกรรมของระบบแสง 1 และ ระบบแสง 2 ในคลอโรพลาสต์ และศึกษาการเรืองแสงของคลอโรฟิลล์ (chlorophyll fluorescence transient) โดยใช้ช่วงแสง 688 nm พบว่าพันธุ์ไวความเค็มมีการสังเคราะห์ด้วยแสงลดลงมากกว่าพันธุ์ทนเค็มเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

Shim et al. (1999) ศึกษาข้าวพันธุ์ Nipponbare และ Annapurna ที่ได้รับเกลือ 0, 50, 100 และ 150 mM พบว่าเมื่อให้เกลือการเจริญเติบโตของใบใหม่ลำดับที่ 3 ของพันธุ์ Annapurna จะเจริญช้ากว่าของพันธุ์ Nipponbare เกิด chlorophyll fluorescence ลดลงโดยเกิดปฏิกิริยาโฟโตออกซิเดชัน (photooxidation) ของคลอโรฟิลล์ในระบบแสง 2 และมีการเพิ่มการผลิต malondialdehyde โดยเกิดจาก oxidation ของกรดไขมันไม่อิ่มตัว หลังจากที่ได้รับความเค็ม กิจกรรมของเอนไซม์ superoxide dismutase เพิ่มขึ้นหลังจากให้ความเค็ม ซึ่งเกิดในพันธุ์ Annapurna มากกว่า Nipponbare กิจกรรมของเอนไซม์ ascorbate peroxidase และ glutathione reductase เกิดขึ้นจากการชักนำโดยเกลือ ซึ่งเกิดขึ้นมากในพันธุ์ Nipponbare กิจกรรมของเอนไซม์ catalase ลดลงเมื่อได้รับเกลือโดยเฉพาะในพันธุ์ Annapurna ผลของความเค็มที่มีต่อต้นข้าวทำให้เกิด activated oxygen ทำให้มีการผลิต malondialdehyde เพิ่มมากขึ้น และกระบวน

การ detoxification ของ H_2O_2 โดยเอนไซม์ superoxide dismutase ซึ่งจะเกิดได้มากหรือน้อยขึ้นอยู่กับข้าวแต่ละพันธุ์ ซึ่งกิจกรรมดังกล่าวจะเกิดขึ้นก็ต่อเมื่อเกิดกิจกรรมของเอนไซม์ ascorbate peroxidase และ catalase ซึ่งจะเกิดขึ้นเมื่อได้รับการกระตุ้นจากความเค็ม โดยเกิดใน chloroplast และ cytosol ตามลำดับ

2.8 ผลกระทบของเกลือต่อปริมาณน้ำในพืช

Flowers et al. (1991) ศึกษาข้าวพันธุ์ Amber และ IR 2153-26-3-5-2 โดยให้เกลือ 50 mM NaCl พบว่าใบจะแสดงอาการขาดน้ำและมีการสะสมอิออนเพื่อลดค่าศักย์ของน้ำ หลังจากที่ได้รับเกลือ 2-3 วันปริมาณโซเดียมคลอไรด์ที่วัดได้ในอะโพพลาสต์ (apoplast) สามารถวัดได้สูงถึง 600 mM ในใบ ในขณะที่รากมีความเข้มข้นของเกลือในอะโพพลาสต์เพียง 50 mM แสดงให้เห็นว่าเซลล์ของใบกำลังถูกทำลายจากการขาดน้ำ และมีการสะสมเกลือที่ช่องว่างระหว่างเซลล์และผนังเซลล์ ซึ่งเป็นไปตามทฤษฎีของ Oertli

Gonzalez และ Ramirez (1997) ศึกษาความสัมพันธ์ของน้ำในต้นอ่อนข้าวที่ได้รับอาหารที่มีเกลือ โดยศึกษา seedling water content (SWC), leaf relative water content (LRWC), transpiration intensity (TI) และ cell sap concentration (CSC) ในข้าว 4 พันธุ์ นำมาเลี้ยงในอาหารที่มี NaCl 0.7 % พบว่า SWC, LRWC และโดยเฉพาะ TI ลดลงเมื่อได้รับความเค็ม สำหรับพันธุ์ไวต่อความเค็ม MI48 และ Perla เมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์ทนเค็ม Pokkali และ IR 42 พบว่ามีค่า SWC และ LRWC ลดลงมากกว่าพันธุ์ทนเค็ม สำหรับ CSC มีค่าเพิ่มขึ้น 66-67% ในทุกพันธุ์เมื่อได้รับเกลือ ต่อมา ศึกษาข้าวทนเค็มพันธุ์พอคคาลี และ IR 42 ข้าวไวต่อความเค็มพันธุ์ MI 48 และ Perla หลังจากให้เกลือพบว่าการหายใจลดลง น้ำในใบลดลง การคายน้ำลดลง ซึ่งเห็นได้ชัดเจนมากที่สุดในพันธุ์ไวต่อความเค็ม ความเข้มข้นของ cell sap มากขึ้น วงควัตถุลดลง แต่ไม่แตกต่างระหว่างพันธุ์ทนเค็มกับพันธุ์ไวต่อความเค็ม (Gonzalez และ Ramirez, 1999)

2.9 ผลของเกลือต่อการสะสมแร่ธาตุและปริมาณอิออนในส่วนต่าง ๆ ของพืช

Muhammad et al. (1989) ศึกษาผลของเกลือที่ 100 mM NaCl ในใบข้าวทนเค็มพันธุ์ NIAB6 และข้าวไวต่อความเค็มพันธุ์ IR1561 พบว่าโซเดียม และคลอไรด์มีการสะสมในใบแก่มากกว่าในใบอ่อน ในพันธุ์ทนเค็มจะมีปริมาณโพแทสเซียมมากกว่า และมีการสะสมโซเดียมและคลอไรด์น้อยกว่าพันธุ์ไวต่อความเค็ม

Aslam et al. (1993) ศึกษากลไกทนต่อความเค็มของข้าวพันธุ์ NIAB 6, BG 402-4, Basmati 370 และ IR 1561 โดยวิธีปลูกในสารละลาย (Yoshida nutrient solution) โดยให้ความเข้มข้นเกลือ 100 mM จากการวิเคราะห์แร่ธาตุใน Shoot sap พบว่า โซเดียม, แคลเซียม, สังกะสี, ฟอสฟอรัส และคลอไรด์ เพิ่มขึ้นขณะที่โพแทสเซียม และ แมกนีเซียม ลดลง ผลที่เกิดขึ้นดังกล่าวมาจากการเปลี่ยนแปลงปัจจัยทางสรีรวิทยาให้มีค่าออสโมติกโพเทนเชียลภายในเซลล์ต่ำลง แต่จะทำให้ทนต่อความเค็มอยู่ได้ไม่นานเนื่องจากมีการสะสม โซเดียม และคลอไรด์มากขึ้น ถ้าพืชมีกลไกการทนเค็มที่ดีจะมีการขจัดเอาโซเดียมและคลอไรด์ออกไป และรักษาระดับ โพแทสเซียม, สังกะสี และฟอสฟอรัสให้มีอยู่ในระดับสูงภายในเซลล์ เพื่อเพิ่มภาวะการทนเค็มให้อยู่ในระดับที่สูงขึ้น

Yan และ Wang (1992) ศึกษาการส่งผ่านโซเดียมโดยกิจกรรมของ plasma membrane ATPase (adenosine triphosphatase) ในรากข้าวทนเค็มพันธุ์ 80-85 และข้าวไวต่อความเค็มพันธุ์ 83-51 โดยศึกษาใน Espino culture solution ให้เกลือ 0-136 mM NaCl พบว่าโซเดียมในเนื้อเยื่อจะมีมากขึ้นเมื่อ

ระดับความเข้มข้นเกลือเพิ่มขึ้น ข้าวทนเค็มจะมีปริมาณโซเดียมต่ำกว่า และมีอัตราโพแทสเซียมต่อโซเดียมสูงกว่าพันธุ์ไวต่อความเค็ม หลังจากที่ได้รับเกลือ 0.2% หรือ 34 mM พบว่ามีกิจกรรมของ plasma membrane ATPase เพิ่มขึ้นเล็กน้อยและกิจกรรมดังกล่าวถูกยับยั้งเมื่อได้รับเกลือ 0.5% หรือ 86 mM ซึ่งเห็นได้ชัดเจนในพันธุ์ไวต่อความเค็ม ซึ่งการลดลงของกิจกรรม plasma membrane ATPase เกิดควบคู่กับการสะสมโซเดียมในราก และลดการนำโพแทสเซียมเข้าเซลล์ เขาจึงเสนอว่าโพแทสเซียมและโซเดียมที่เข้าสู่เซลล์สามารถควบคุมได้โดย plasma membrane ATPase

Yan et al. (1992) ศึกษาข้าวพันธุ์ทนเค็ม Pokkali และ IR 29725-25-22-3-3-3 และข้าวพันธุ์ไวต่อความเค็ม Peta และ IR 5 ที่ปลูกโดยระบบสารละลายพบว่าที่ความเข้มข้น 0.1 mM NaCl อิออนโซเดียมสามารถผ่านเข้าเซลล์แบบแพสซีฟ (passive transport) ขณะที่คลอไรด์เข้าเซลล์โดยแบบแอคทีฟ (active transport) พันธุ์ Pokkali มีอัตราการนำอิออนเข้าสู่เซลล์น้อยกว่า Peta สำหรับ IR 29725-25-22-3-3-3 ไม่แตกต่างกับ IR5 อัตราการเคลื่อนย้ายโซเดียม และคลอไรด์อิออนไปที่ยอดเกิดขึ้นในข้าวพันธุ์ทนเค็มมากกว่า เขาเสนอว่าการเคลื่อนย้ายอิออนไปที่ยอดเป็นกลไกของการทนเค็มขั้นตอนต่อไป จากการได้รับความเข้มข้นของเกลือเพิ่มขึ้นจากภาวะเดิม

Faustino et al. (1996) ศึกษาสรีรวิทยาในความไวต่อการทนโซเดียมคลอไรด์ระดับต่ำสุดในข้าวทนเค็ม IR 9884-54-3-1 และ พันธุ์ไวต่อความเค็ม IR 29 ใน 9 ความเข้มข้นคือ 0, 15, 30, 50, 70, 90, 120, 150 และ 200 mM NaCl เมื่อได้รับเกลือผลคือน้ำหนักแห้งพันธุ์ไวต่อความเค็มลดลง 30% พันธุ์ทนเค็มลดลง 25 % พื้นที่ใบลดลง 37 % แต่ที่ความเข้มข้น 50 mM อัตราส่วนน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้ง อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง อัตราการคายน้ำ ปริมาณการใช้น้ำ stomatal conductance การสังเคราะห์คลอโรฟิลล์และปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่เมื่อได้รับเกลือมากกว่า 50 mM พบว่าการวัดและตรวจสอบข้างต้นมีค่าลดลงเมื่อปริมาณเกลือมากขึ้น การกระจายตัวของโซเดียมพบใน แผ่นใบ 53% กาบใบ 36% และราก 11% และพบว่าโซเดียมคลอไรด์กระตุ้นการสังเคราะห์สารประกอบอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบมากขึ้นเมื่อกระตุ้นด้วยเกลือ 50 mM ในพันธุ์ทนเค็ม แต่ในพันธุ์ที่ไวต่อความเค็มต้องได้รับการกระตุ้นที่ระดับเกลือที่สูงกว่า 50 mM

Zheng และ Yan (1996) ศึกษาการกระจายตัวของโซเดียมและคลอไรด์อิออน ในรากข้าวที่ได้รับความเค็มโดยใช้วิธี X-ray microanalysis พบว่าข้าวพันธุ์ทนเค็มมีการสะสมโซเดียมอิออนสูงสุดไว้ในเนื้อเยื่อพาเรงคิมาของท่อลำเลียงของราก และในพันธุ์ไวต่อความเค็มจะมีการสะสมไว้ที่เนื้อเยื่อพาเรงคิมาที่รากเช่นกัน แต่มีปริมาณน้อยกว่า และเสนอว่าเนื้อเยื่อพาเรงคิมาในท่อลำเลียงของรากเป็นกลุ่มเนื้อเยื่อที่ควบคุมการดูดโซเดียมอิออน และขนส่งจากรากสู่ยอด ส่วนคลอไรด์อิออนจะกระจายตัวในทิศตรงกันข้ามกันกับโซเดียมอิออน ทั้ง 2 สายพันธุ์

Cho et al. (1996) ศึกษาการทนเค็มของข้าวในประเทศเกาหลี เพื่อศึกษาผลกระทบของโซเดียมคลอไรด์ต่อ แผ่นใบ กาบใบ และราก ศึกษาพันธุ์ทนเค็มและพันธุ์ไวต่อความเค็ม 3 สายพันธุ์เปรียบเทียบกับ Nipponbare และ IR 8 โดยให้ความเข้มข้นเกลือโซเดียม 0-75 mM พบว่าโซเดียมอิออนใน แผ่นใบ กาบใบ และรากเพิ่มขึ้น แต่โพแทสเซียมอิออนในราก และกาบใบลดลง ในทางกลับกันในแผ่นใบ มีการสะสมโพแทสเซียมอิออน เพิ่มมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์มากขึ้น

Song และ Fujiyama (1998) ศึกษาผลของโซเดียมในข้าวพันธุ์ Yamabiko อายุ 9 วัน โดยให้เกลือ 40, 60, 80, 100 และ 120 mM โดยการให้ทางใบ พบว่ามีการยับยั้งการส่งโพแทสเซียมไปยังส่วนของช่องอากาศในต้นข้าว อัตราการคายน้ำต่อการหายใจสูงขึ้นเมื่อได้รับเกลือความเข้มข้นสูงขึ้น อิออนบวกจะมีผลต่อการเพิ่มออสโมติกโพเทนเชียลในใบและราก มีการเพิ่มการกักเก็บน้ำในราก แต่มีอาการขาดน้ำในใบมากขึ้นเมื่อระดับเกลือเพิ่มขึ้น

Shannon et al. (1998) ศึกษาข้าว 11 พันธุ์ เพื่อหาช่วงของการทนความเค็ม โดยเก็บตัวอย่างในรัฐแคลิฟอร์เนียบริเวณที่ได้รับผลกระทบจากดินเค็ม พบว่าตัวอย่างที่เก็บมาจากบริเวณดินเค็มมีปริมาณโซเดียมและคลอไรด์มากกว่าบริเวณดินปกติ จากนั้นจึงปลูกข้าวในเรือนเพาะชำโดยใช้ทรายและรดด้วยน้ำเกลือที่มีค่าการนำไฟฟ้าเท่ากับ 1(control), 3, 7, 11, 13 และ 16 มิลลิโมห์ต่อเซนติเมตร พบว่าเมื่อให้เกลือความเข้มข้นมากขึ้นทำให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งลดลง ในความเข้มข้นสูงสุดพบว่าน้ำหนักของต้นข้าวเหลือเพียง 20% ของกลุ่มควบคุม แต่พบว่ามีการสะสมโซเดียมมากเป็น 5 เท่า คลอไรด์เป็น 3 เท่า และโพแทสเซียมลดลง 40% เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมเมื่อทดลองได้ 17 วัน และไม่พบการเปลี่ยนแปลงปริมาณของแคลเซียมและแมกนีเซียม

Ashraf และ Yousaf (1998) ทำการศึกษาข้าวโดยเลี้ยงในตู้ควบคุม และให้เกลือที่มีส่วนผสมกันระหว่าง Na_2SO_4, $CaCl_2$, $MgCl_2$ และ NaCl ในอัตราส่วน 6.33 : 3.58 : 1 : 2.28 และ NaCl โดยเตรียมเกลือผสมและสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่มีค่า EC เท่ากับ 0.5 และ 10 มิลลิโมห์ต่อเซนติเมตร ผลการทดลองพบว่ากลุ่มที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์อย่างเดียวแสดงอาการเป็นพิษรุนแรงมากกว่ากลุ่มที่ได้รับเกลือผสม

Whang et al. (1998) ศึกษาความแตกต่างการสร้างและสะสมซิลิกาในผิวใบในข้าว 17 พันธุ์ โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดบริเวณเส้นกลางใบ เส้นใบใหญ่ เส้นใบย่อย และบริเวณขอบใบ พบว่าบริเวณเส้นกลางใบของแต่ละพันธุ์กลุ่มผลึกซิลิกา (silica body) มีค่าความแปรปรวนทางสถิติน้อยที่สุด จึงใช้บริเวณดังกล่าวจำแนกข้าวพันธุ์ต่าง ๆ ออกเป็น 11 กลุ่มโดยพิจารณาจากขนาด และรูปร่าง เนื่องจากเก็บตัวอย่างมาจากคนละที่ จึงไม่สรุปว่าสิ่งที่ได้แยกกลุ่มมีความถูกต้องอย่างมีนัยสำคัญ เพราะว่าแต่ละแหล่งที่เก็บตัวอย่างมามีการสะสมซิลิคอนในดินแต่ละที่แตกต่างกัน รวมถึงค่าการนำไฟฟ้าของน้ำในดินก็แตกต่างกันจึงเป็นปัจจัยหลักในความแปรปรวนในการสะสมซิลิกาที่เกิดขึ้น

Fukuda et al. (1998) ศึกษาการแลกเปลี่ยนโซเดียม และไฮโดรเจนอิออนในโทโนพลาสต์ (tonoplast) ของรากข้าวพันธุ์ไวต่อความเค็ม Nipponbare ขนาด 10 mm อายุ 7 วันจากการศึกษา pH ในแวคิวโอล เมื่อให้ 0.1 M NaCl แก่รากข้าว พบว่ามีการเปลี่ยนแปลง pH จาก 5.34 ไปเป็น 5.58 มีการขับไฮโดรเจนอิออนออกจากแวคิวโอล แลกเปลี่ยนกับการนำโซเดียมอิออนเข้าไปในแวคิวโอล เป็นกลไกหนึ่งที่ทำให้พืชทนเค็มได้มากขึ้น

Yeo et al. (1999) ศึกษาข้าวทนเค็มพันธุ์ CSR 10 ข้าวไวต่อความเค็มพันธุ์ GR 4 และข้าวทนเค็มปานกลางพันธุ์ IR36 โดยการให้เกลือโซเดียมคลอไรด์และโซเดียมซิลิเคท พบว่าโซเดียมซิลิเคทที่มีอยู่ในสูตรอาหารมาตรฐานไม่มีผลต่อน้ำหนักสดและแห้ง แต่เมื่อให้ในปริมาณที่มากขึ้นพบว่าใบมีขนาดสั้นกว่ากลุ่มที่ปลูกในอาหารมาตรฐาน ผลของเกลือโซเดียมคลอไรด์สามารถลดการเจริญเติบโต และอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงได้ แต่ผลดังกล่าวจากโซเดียมคลอไรด์สามารถชดเชยได้โดยการเติมโซเดียมซิลิเคทเป็นธาตุเสริม เนื่องจากโซเดียมซิลิเคทมีผลทางอ้อมต่อพืช โดยการลดอัตราการคายน้ำ ลดการส่งขนส่งโซเดียมและการขนส่ง trisodium-8-hydroxy-1,3,6-pyrenetrisulphonic acid ซึ่งเป็นโมเลกุลเครื่องหมายที่เคลื่อนที่ในอะโพพลาสต์ (apoplastic tracer) แต่โซเดียมซิลิเคทไม่สามารถลดการนำโซเดียมเข้าสู่เซลล์ที่บริเวณรากได้

Alpaslan et al. (1999) ศึกษาข้าว 6 พันธุ์ได้แก่ Ribe, Tri 445, Serhat 92, Kros 424, Baldo และ Rocca เมื่อได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์พบว่ามีการยับยั้งการเจริญเติบโตในข้าวทุกพันธุ์ แต่ในพันธุ์ Baldo, Ribe, Rocca และ Kros 424 ได้รับผลน้อยกว่า ผลจากการให้เกลือทำให้มีการสะสมโซเดียมและคลอไรด์ในพืชมากขึ้น แต่ปริมาณโพแทสเซียมในพืชลดลง ในขณะเดียวกันปริมาณโปรลีน และความต้านทานที่ปากใบ (stomatal resistance) เพิ่มขึ้น

2.10 สารสะสมสารอินทรีย์ประเภทออสโมโพเทคแทนท์ (osmoprotectant) เมื่อได้รับผลกระทบของเกลือ

Pandey et al. (1989) ศึกษาการทนต่อความเค็มในข้าว 12 พันธุ์ ที่ระดับ 15 mM พันธุ์ทนเค็ม Kalaratha, Damodar และ RPA 5929 พันธุ์ทนเค็มปานกลาง IET 3359, IR 20, T-26 และ Pusa 2-21 และพันธุ์ไวต่อความเค็ม CR 10-141, IR 51213, IR 1514, A-E 666, IET 1444 และ MI 48 พบว่าความเค็มลดกิจกรรม nitrate reductase ในใบขณะที่มีการสะสมโปรลีน ปริมาณโปรลีนที่มีมากขึ้นมีความสัมพันธ์กับพันธุ์ทนเค็มมากกว่าพันธุ์ไวต่อความเค็ม โดยเสนอว่าโปรลีนที่สะสมมากขึ้นสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้เพื่อนำมาปรับปรุงพันธุ์ข้าวทนเค็มได้

Lee et al. (1992) ศึกษาการตอบสนองต่อเกลือของข้าว 10 พันธุ์โดยให้สารละลายเกลือ 0, 0.2, 0.4, 0.6 และ 0.8% NaCl นาน 25 วัน พบว่าที่ 0.6% ปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลงอย่างชัดเจนในพันธุ์ Taebaegbyeo มากกว่าพันธุ์ Gayabyeo แต่ที่ระดับเกลือเดียวกันเมื่อให้กับข้าวเป็นเวลา 10 วันแรกพบว่าปริมาณโปรลีนในพันธุ์ Taebaegbyeo และ Hankangchalbyeo มากกว่าทุกพันธุ์ โดยเชื่อว่าการทำลายคลอโรฟิลล์และการสร้างโปรลีนที่ระดับความเป็นพิษหนึ่ง ๆ สามารถใช้เป็นตัววัดความสามารถในการทนเค็มของข้าวแต่ละพันธุ์ได้

Harinasut et al. (1995) ศึกษา ผลของ glycine betaine ต่อการทนเค็มของข้าว พบว่าต้นอ่อนข้าวที่ได้รับ glycine betaine ความเข้มข้น 15 mM 4 วัน ก่อนนำไปเลี้ยงในอาหารที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ 150 mM จากการวิเคราะห์พบว่า glycine bataine สามารถซึมเข้าสู่รากได้ สามารถช่วยป้องกันการเสียน้ำออกจากเซลล์ ขณะเดียวกันก็คงสมดุลของน้ำภายในเซลล์ สามารถป้องกันการลดกิจกรรมการสร้างโปรตีน, กิจกรรมของคลอโรพลาสต์ และ ระบบแสง 1 และ 2

Lutt et al. (1996b) ศึกษาผลกระทบของเกลือต่อการเจริญเติบโต, แร่ธาตุสารอาหาร และโปรลีนที่เพิ่มขึ้น ซึ่งสัมพันธ์กับการปรับแรงดันออสโมติกในต้นข้าว ข้าวพันธุ์ทนเค็ม Nona Bokra และ IR4630 อายุ 1-2 สัปดาห์ได้รับเกลือ 0, 20, 30, 40 และ 50 mM มีการสะสม Na, Cl, Zn และ โปรลีนน้อยแต่มีการสะสม K ในราก และยอดมากกว่า พันธุ์ไวต่อความเค็มคือพันธุ์ I Kong Pao และ IR39785 พันธุ์ทนเค็มปานกลาง Aiwu มีพฤติกรรมก้ำกึ่ง มีการขนส่ง P จากรากไปยอด และมีการยับยั้งการขนส่ง P ในพันธุ์ไวต่อความเค็ม IR39785 มีการสะสม Na, Cl และ K ลดลงในใบที่แก่สุด ของพันธุ์ทนเค็ม ในขณะที่มีการสะสมโปรลีน ในใบที่อ่อนสุดของทุกพันธุ์ ผลของเกลือทำให้แรงดันออสโมติกของราก และใบที่แก่สุด และใบอ่อนสุดในพันธุ์ทนเค็ม มีค่าต่ำกว่าพันธุ์ไวต่อความเค็ม

Zhang et al. (1997) ศึกษาสรีรวิทยาของข้าวผ่าเหล่าทนเค็มพันธุ์ Japonica (M-20) ที่มาจากสายพันธุ์ 77-170 โดยคัดเลือกพันธุ์จากความสามารถในการทนเค็มโดยเลี้ยงในระบบสารละลาย ต้นอ่อนพันธุ์ M 20 มีการเจริญเติบโตช้า แต่มีความสามารถในการอยู่รอดสูง เนื่องจากเยื่อหุ้มเซลล์มีความแข็งแรงและทนต่อภาวะความเข้มข้นเกลือสูง ใบของพันธุ์ M 20 สามารถเก็บน้ำได้ดีกว่า มีอัตราการผลิตฮอร์โมน ABA มากกว่าพันธุ์ 77-170 นอกจากนี้มีการผลิตโปรลีนสูงกว่า ซึ่งจากผลการทดลองสรุปได้ว่าเป็นกลไกที่พัฒนาไปเพื่อทนต่อความเค็ม และจะทำการศึกษาในระดับสูงต่อไป

Garcia et al. (1997) ศึกษาผลของออสโมโพรเทคแทนท์ ในต้นข้าวพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงและสะสมตัวถูกละลายขณะที่ได้รับความเค็ม พันธุ์ Taichung ปกติจะมีการสร้างโปรลีนซึ่งสามารถที่จะตรวจพบได้ง่าย แต่ยังมีสารประกอบอีกประเภทหนึ่งคือ ทรีฮาโลส (trehalose) เริ่มมีการสะสมในราก หลังจากที่ได้รับความเค็มเพียง 3 วัน กลไกการสร้างโปรลีน และ ทรีฮาโลส สามารถตรวจวัดได้โดยการใช้สารเคมี ความรุนแรงของโซเดียมคลอไรด์ส่งผลต่อพืชโดยยับยั้งการเจริญเติบโต, เกิดการทำลายและสูญเสียคลอโรฟิลล์ และ

ทำให้พืชเกิดความไวต่อการชักนำให้เกิดความเครียด (stress) ในขณะเดียวกันทำให้เกิดการแสดงออกของจีน *salT* ซึ่งมีผลต่อการควบคุมแรงดันออสโมติกภายในเซลล์ จากการศึกษาผลของสารประกอบทรีฮาโลส ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ และปานกลางสามารถลดการสะสมโซเดียมอิออน, ลดการแสดงออกของจีน *salT* และลดการยับยั้งการเจริญเติบโต ถ้าความเข้มข้นของทรีฮาโลส มีมากกว่า 10 mM สามารถป้องกันการทำลายคลอโรฟิลล์ในใบจากผลของความเค็มโซเดียมคลอไรด์ได้ ในระบบรากยังสามารถทำให้รากเจริญ และเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต และเสนอว่าทรีฮาโลสซึ่งเป็นสารประกอบคาร์โบไฮเดรต อาจจะมีความสำคัญมากกว่าโปรลีน ในต้นข้าวขณะที่เกิดภาวะเครียด

Lutt et al. (1999) ศึกษาผลของเกลือต่อเมแทบอลิซึมของโปรลีนในต้นข้าว พบว่าความเค็มมีผลต่อการปรับค่าแรงดันออสโมติก ปริมาณอิออน และความเข้มข้นของโปรลีนภายในเซลล์ โดยศึกษาเมแทบอลิซึมของโปรลีน และเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในพันธุ์ข้าว 2 พันธุ์ คือ พันธุ์ไวต่อความเค็ม I Kong Pao และพันธุ์ทนเค็ม Nona Bokra พบว่าพันธุ์ไวต่อความเค็มเมื่อได้รับเกลือ 50 และ 100 mM ในระบบสารละลายอาหารเป็นเวลา 3 และ 10 วัน มีการสะสมโซเดียม และโปรลีน ระดับสูงในพันธุ์ไวต่อความเค็ม และมีค่าแรงดันออสโมติกต่ำกว่า การสะสมโปรลีนไม่สัมพันธ์กับกระบวนการย่อยสลายโปรตีน (proteolysis) และการเกิด proline modification โดยเอนไซม์ DELTA1-pyrroline-5-carboxylate reductase (proline dehydrogenase) กิจกรรมของเอนไซม์ ornithine delta-aminotransferase (Ornithine-oxo-acid aminotransferase) พบว่ามีการสร้างขึ้นขณะมีความเครียด และมีเฉพาะพันธุ์ทนเค็มเท่านั้น เมื่อข้าวทั้ง 2 พันธุ์ได้รับความเค็มมีการสร้างกรดอะมิโนในรากโดยพบกิจกรรมของเอนไซม์ glutamate dehydrogenase เพิ่มขึ้น และลดกิจกรรม deamination ที่ใบในพันธุ์ที่ไวต่อความเค็ม ในการศึกษาเอนไซม์ glutamine synthetase (glutamate-ammonia ligase) พบว่ามีปริมาณลดลงหลังจากที่ตอบสนองต่อเกลือ ในพันธุ์ไวต่อความเค็มการเพิ่มความเข้มข้นเกลือพบว่ากิจกรรม ferredoxin-dependent glutamate synthase เพิ่มขึ้นซึ่งพบจากใบของข้าวทั้ง 2 พันธุ์ และเพิ่มกิจกรรม NADH-dependent glutamate synthase โดยเสนอว่าการเพิ่มโปรลีนเป็นอาการหนึ่งที่เกิดขึ้นจากการได้รับอันตรายจากความเค็ม และผลจากการสร้าง ornithine delta-aminotrans ferase มากขึ้นทำให้เกิด precursor ในการสร้าง glutamate ซึ่ง glutamate เป็น precursor ในการสร้างโปรลีนต่อไป

Iyer และ Caplan (1998) พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายโปรลีน สามารถชักนำให้เกิดการควบคุมจีน ที่เกี่ยวข้องกับการปรับออสโมติกโพเทนเชียลของเซลล์ ในข้าวได้โดยสามารถทำให้มีการแสดงออกของจีน *salT* และ *dhn* 4 มากขึ้น

2.11 ผลของเกลือต่อขนาดและจำนวนปากใบ

Yeo et al. (1991) ศึกษาข้าวพอคคาลีพันธุ์สูง พันธุ์สูงปานกลาง และพันธุ์เตี้ย 2 พันธุ์ที่ปลูกในเกลือ 50 mM NaCl พบว่าใบมีอัตราการตายมากกว่าปกติของการแก่แบบธรรมชาติ และใบมีขนาดสั้นลงและสรุปว่าผลของเกลือทำให้การเจริญเติบโตลดลง เนื่องจากความเข้มข้นของเกลือจำกัดการดูดน้ำของพืชและการสะสมเกลือในพืชแบบระยะยาวมีผลต่อการขยายขนาดของใบ

Chartozoulakis (1994) ศึกษาอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง ความสัมพันธ์ของน้ำ และการเจริญเติบโตของแตง (*Cucumis sativus* L., hybrid Pepinex) เมื่อได้รับความเค็มโดยปลูกในดินปนทราย และรดด้วยสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้น 0-190 mM พบว่าที่ความเข้มข้น 8.5 mM ไม่มีผลต่อแตง แต่เมื่อระดับความเข้มข้นเกลือสูงขึ้นเป็น 25, 50, 120 และ 190 mM พบว่าปากใบของแตงปิด

เป็นส่วนใหญ่ อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงลดลง ออสโมติกโพเทนเชียล และแรงดันเต่งลดลง เมื่อความเข้มข้นเกลือสูงขึ้น มีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโตลดลง 22, 49 และ 80% ตามลำดับ

Jafri et al. (1995) ศึกษาผลของดินเค็มต่อการเจริญของใบ ขนาดปากใบ สรีรวิทยา และกายวิภาคศาสตร์ของฝ้าย (*Gossypium hirsutum* L.) จากการเปรียบเทียบผลของความเค็มที่มีค่าการนำไฟฟ้า 4-24 มิลลิโมห์ต่อเซนติเมตร ใช้ฝ้ายพันธุ์ B 557, Niab 78, Sarmast และ Qalandri พบว่าความหนาแน่นของปากใบลดลง แต่มีขนาดเพิ่มขึ้น มีชั้นมีโซฟิลล์เพิ่มขึ้น เรียงลำดับความสามารถทนเค็มได้ดังนี้ Niab 78 > B 557 > Qalandri > Sarmast

Kawamitsu et al. (1991) ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการแลกเปลี่ยนก๊าซ และปากใบ ความถี่ของปากใบ และความยาวของเซลล์คุมในพืช C_3 และ C_4 โดยทำการนับจำนวนปากใบ และวัดความยาวเซลล์คุมของพืช 41 ชนิด ในวงศ์หญ้า และ ข้าว 60 พันธุ์ เพื่อเปรียบเทียบจำนวนปากใบต่อหน่วยพื้นที่ ซึ่งพืชทั้งหมดอยู่ในวงศ์ย่อย Eragrostideae, Panicoideae, Arundinoideae, Festucoideae, Panicoideae และ Oryzoideae พบว่าจำนวนปากใบเฉลี่ยของ Eragrostideae ประมาณ 418.5 ปากใบต่อตารางมิลลิเมตร และ Panicoideae มีปากใบเฉลี่ย 243.9 ปากใบต่อตารางมิลลิเมตร พืช C_3 โดยเฉพาะใน Oryzoideae มีปากใบมากพอสมควร แต่มีขนาดเล็กกว่าพืชวงศ์ย่อยอื่นในส่วนของใบธง (flag leaf) จะมีปากใบมากกว่าใบส่วนอื่นที่เจริญเติบโตเต็มที่แล้ว

Villiers et al. (1996) ศึกษาผลของเกลือต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางกายวิภาค จำนวนปากใบ และอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงใน *Atripex semibaccata* R.Br. พบว่าความเข้มข้นเกลือสูงขึ้น ทำให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางราก และขนาดใบลดลง จำนวนคลอโรพลาสต์ในเซลล์พาเรงคิมา (chlorenchyma cells) และ เซลล์มัดท่อลำเลียง (bundle sheath cells) ลดลง ในขณะที่ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ภายในเซลล์เพิ่มขึ้น เนื่องจากปากใบปิด และมีการยับยั้งกระบวนการทางชีวเคมี ผลจากการลดอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง ทำให้พื้นที่ผิวใบลดลง แต่จำนวนปากใบไม่ลดลง ทำให้ความหนาแน่นของปากใบเพิ่มขึ้น แต่ไม่มีผลต่อขนาดเซลล์ผิวใบและเซลล์คุม

Sam et al. (1997) ศึกษาจำนวนปากใบของข้าวทนเค็มพันธุ์ Pokkali และข้าวไวต่อความเค็มพันธุ์ Amistad-28 พบว่าพันธุ์ทนเค็มมีปริมาณปากใบน้อยกว่าพันธุ์ไวต่อความเค็ม

Zhang et al. (1997) ศึกษาความหลากหลายของโครงสร้างผิวใบข้าว 22 ชนิด โดยการศึกษาชีวานุกรมวิธาน (biosystematics) พบว่าโครงสร้างผิวใบมีการกระจายตัวของปุ่ม (papillae) ที่มีลักษณะคล้ายขนในบริเวณผิวใบด้านล่างมากกว่าด้านผิวใบด้านบน นอกจากนี้ยังมีการกระจายตัวบนเซลล์คุมด้วย จากลักษณะการกระจายตัวดังกล่าวสามารถแบ่งกลุ่มของข้าวได้ 3 กลุ่ม

2.12 ผลของเกลือต่อปริมาณโปรตีนและกิจกรรมของเอนไซม์

Singh (1995) ศึกษาโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการปรับตัวของเซลล์ยาสูบ พบว่ามีการสร้างและสะสมโปรตีนที่มีน้ำหนักมวลโมเลกุล 26 kD มากขึ้น เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์เพียง 2 วัน และเสนอว่าโปรตีนขนาด 26 kD นี้มีความเกี่ยวข้องกับการปรับค่าออสโมติกโพเทนเชียลภายในเซลล์

Dubey และ Rani (1990) ศึกษาข้าวไวต่อความเค็มพันธุ์ Ratna และ Java พันธุ์ทนเค็มพันธุ์ CSR-1 และ CSR-3 พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ aminopeptidase และ carboxypeptidase ในเอนโดสเปิร์มและเอ็มบริโอ และกิจกรรมของเอนไซม์ leucine aminotransferase (LAP) เพิ่มขึ้นโดยเฉพาะในเอนโดสเปิร์มของกลุ่มควบคุมในช่วงเวลา 48-72 ชั่วโมง ของการงอกจะมีกิจกรรมดังกล่าวลดลง แต่ในกลุ่มที่ได้รับเกลือจะยังมีกิจกรรมจนกระทั่ง 120 ชั่วโมง ในพันธุ์ไวต่อความเค็มพบว่ากิจกรรมของ LAP ลดลงในเอนโดสเปิร์ม

แต่เพิ่มขึ้นในเอ็มบริโอ ในพันธุ์ไวต่อความเค็มกิจกรรมของ carboxypeptidase เพิ่มขึ้นใน เอนโดสเปิร์ม ในระยะการงอกเริ่มแรก แต่เมื่อได้รับเกลือเกิดการยับยั้งกิจกรรม carboxypeptidase ในเอ็มบริโอ สำหรับในพันธุ์ทนเค็มเมื่อได้รับเกลือจะมีปริมาณ glutamine, alanine, proline, valine, arginine และ phenylalanine มากกว่าพันธุ์ไวต่อความเค็มเขาเสนอว่าเอนไซม์ peptidase และ กรดอะมิโนดังกล่าวมีผลต่อการทนเค็มของข้าว

Naqvi et al. (1992) ศึกษาโปรตีนที่สร้างขึ้นจากการชักนำด้วยเกลือโซเดียมคลอไรด์ในรากข้าวพันธุ์ IR 10198-66-2 โดยนำต้นข้าวอ่อนอายุ 10 วัน เลี้ยงในสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ 2% เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่ามีการสร้างโปรตีนที่มีน้ำหนักมวลโมเลกุล 27 และ 25 kD มีค่า pI ประมาณ 7 ซึ่งไม่พบโปรตีนชนิดนี้ในส่วนของรากในชุดควบคุม

Sahoo และ Sahu (1993-1994) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ catalase peroxidase และ polyphenol oxidase (catechol oxidase) ในใบที่เริ่มแก่ ในข้าวพันธุ์ Ratna ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์พบว่าคลอโรฟิลล์และโปรตีนลดลงขณะที่ใบเริ่มกระบวนการแก่ กระบวนการดังกล่าวเร่งให้เกิดเร็วขึ้นเมื่อได้รับเกลือ และสามารถชลออาการดังกล่าวเมื่อได้รับไคนิติน เอนไซม์ catalase มีกิจกรรมมากขึ้นเมื่อได้รับเกลือ และลดลงเมื่อได้รับไคนิติน ส่วนกิจกรรมของ peroxidase จะลดลงเมื่อได้รับเกลือ และเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับไคนิตินกิจกรรมของ catechol oxidase จะลดลงเมื่อได้รับไคนิติน โดยเสนอว่าความสามารถทนต่อความเค็มได้ระดับหนึ่งนั้นเนื่องมาจากการคงปริมาณไคนิตินไว้ไม่ให้ลดลงในใบที่กำลังแก่ ในขณะที่ไคนิตินชลอการแก่ที่เกิดจากผลของเกลือได้ระดับหนึ่ง

Rani และ Reddy (1994) ศึกษาการตอบสนองของโพลีเปปไทด์ต่อความเค็มในระหว่างการงอกของเมล็ด และการเจริญระยะต้นอ่อนของข้าว พบว่าการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนหลังจากได้รับการชักนำจากความเค็ม ในช่วงเมล็ดกำลังงอก และต้นอ่อนระยะแรกของข้าวพันธุ์ Hamsa มีการสร้างโพลีเปปไทด์ที่มีน้ำหนักมวลโมเลกุล 70 และ 23 kD มากกว่าปกติ และพบว่าเนื้อเยื่อบริเวณยอดมีการสร้างโพลีเปปไทด์ขนาด 15 และ 26 kD มากกว่าปกติ และมีความเสถียรมาก

Alamgir (1995) ศึกษาโปรตีนโดยวิธี polyacrylamide gel electrophoresis ในต้นอ่อนข้าวพันธุ์ Binasail, Canning 7, M 10 และ Pokkali ที่เจริญในสภาพที่มีความเค็ม พบว่าจำนวนแถบโปรตีนที่เกิดขึ้นจากกลุ่มควบคุมมีประมาณ 7-9 แถบในกลุ่มที่ได้รับเกลือพบว่ามี 9-12 แถบในพันธุ์ M 10 และ Pokkali พบว่ามีมากกว่าพันธุ์อื่น ๆ

Iglesias และ Gonzalez (1995) ศึกษาโปรตีนในข้าวเมื่อได้รับความเค็มโดยการใช้ SDS-PAGE วิเคราะห์โปรตีนที่สกัดจากราก และใบของข้าวพันธุ์ Amistad 82, IR 20 และ Pokkali ที่เลี้ยงในเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0, 0.4 และ 0.7% พบว่าโปรตีนที่พบในราก และใบที่เหมือนกันมีมวลโมเลกุล 26, 20 และ 16 kD แต่พบในใบมากกว่า

Echevarria et al. (1995) ศึกษาข้าวพันธุ์ Amistad82 โดยแช่น้ำ 12 ชั่วโมง ปลูกในที่มืด 5 วัน โดยให้น้ำกลั่น และ 150, 200 mM NaCl แล้วทำการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ protease และปริมาณโปรตีน พบว่าการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมในเมล็ดที่กำลังงอกในกลุ่มที่ได้รับเกลือมีความเป็นไปได้ว่าจะมีการเปลี่ยนแปลงรูปแบบกิจกรรมเอ็นไซม์ และการสังเคราะห์โปรตีน ซึ่งต่อมาศึกษาพบว่าปริมาณโปรตีนในกลุ่มควบคุมลดลงเมื่อผ่านไปได้ 3 วันของการงอก แต่ในกลุ่มที่ได้รับเกลือเป็นระยะเวลา 5 วัน ยังคงมีปริมาณโปรตีนสูง ซึ่งสามารถแสดงถึงความแตกต่างของกิจกรรมของ protease ขณะกำลังงอก สิ่งที่พบอีกประการ คือ ปริมาณโปรลีนที่เพิ่มขึ้นสอดคล้องกับปริมาณโปรตีนที่เพิ่มขึ้นด้วย (Echevarria et al. 1996)

2.13 ผลของเกลือที่มีต่อคุณสมบัติผนังเซลล์

Bonilla et al. (1995) ศึกษาข้าวที่ได้รับการกระตุ้นการทนเค็มในระดับความเข้มข้นที่ต่ำก่อนที่จะได้รับเกลือในระดับสูง พบว่าพืชปรับตัวในการเปลี่ยนแปลงกลไก และโครงสร้างเซลล์ให้เตรียมพร้อมต่อความเค็มที่จะมีผลต่อเซลล์ ปริมาณอิออนที่ได้รับครั้งแรก จะเป็นตัวกระตุ้นให้เกิดการสร้างลิกนินมากขึ้น และเพิ่มการสร้างเซลลูโลส เพื่อเพิ่มความแข็งแรงแก่ผนังเซลล์

Wang (1997) ศึกษาผลของของเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อการเจริญเติบโตปริมาณอิออนในเนื้อเยื่อใบ และเคมีของผนังเซลล์ ใน *Atriplex prostrata* พบว่าการสะสมของสารลิกนินลดลง ซึ่งเป็นผลมาจากการขยายตัว และหดตัวที่ไม่เสถียรทำให้สมบัติทางเคมีของผนังเซลล์เปลี่ยนไป พื้นที่ผิวของใบ และความยาวของปล้องลำต้นมีขนาดลดลง เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์สูงขึ้น มีการสะสมโซเดียมอิออนในส่วนต่าง ๆ ของพืชในขณะที่โพแทสเซียมอิออน แคลเซียมอิออน และแมกนีเซียมอิออนมีปริมาณลดลง

บทที่ 3
ผลของเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อสรีรวิทยาของข้าวทนเค็ม

3.1 บทนำ

สรีรวิทยาของพืชเป็นสาขาวิชาด้านพฤกษศาสตร์ที่ศึกษากระบวนการที่เกิดขึ้นในพืชที่ทำให้พืชมีชีวิต เจริญเติบโตและสืบพันธุ์ได้ ซึ่งมีความสัมพันธ์เกี่ยวโยงกับความรู้ทางด้านชีวเคมีและชีววิทยาระดับโมเลกุล ปฏิกิริยาชีวเคมีนับพันที่เกิดขึ้นในเซลล์ทำให้สารประกอบอนินทรีย์จากสิ่งแวดล้อมเปลี่ยนเป็นสารอินทรีย์ซึ่งนำไปประกอบเป็นเซลล์ เนื้อเยื่อ และอวัยวะ (ปิยะดา, 2540) ในภาวะที่ได้รับความเค็มพืชจำเป็นต้องมีการจัดการระบบเพื่อให้ระบบยังคงกิจกรรมต่าง ๆ และสามารถดำรงชีวิตได้จนถึงระดับวิกฤตที่ไม่สามารถทนต่อไปได้อีก ในขณะเดียวกันพืชที่มีความสามารถทนต่อความเค็มได้ในระดับสูงมักจะมีกลไกในการรักษาสภาพความสมดุลภายในเซลล์ โดยการเพิ่มสารประกอบภายในเซลล์ ดังนั้นการศึกษาสรีรวิทยาจึงเป็นส่วนสำคัญในการศึกษากลไกเหล่านั้นในการหาคำตอบของความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่ได้รับเกลือและไม่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ และเพื่อเป็นข้อมูลในการวิเคราะห์และศึกษาระดับสูงต่อไป

3.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาสรีรวิทยาเปรียบเทียบการทนความเค็มของเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่ระดับ 0, 50, 100 และ 150 mM ในพันธุ์ข้าว 8 พันธุ์ ได้แก่ แดงดอกกก ขาวดอกมะลิ 105 สุพรรณบุรี 2 พอคคาลี น้ำสะกุย 19 ลูกแดง เหลืองตาโม และขาวหมากแขก โดยศึกษาผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อ น้ำหนักสด-แห้ง, ปริมาณคลอโรฟิลล์, ค่าออสโมติกโพเทนเชียล, ปริมาณโปรลีน, ปริมาณโปรตีน, SDS – Polyacrylamide Gel Electrophoresis, อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง และ การวิเคราะห์การสะสมอิออนโซเดียม และโพแทสเซียม

3.3 การวางแผนการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูล

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด Completely Randomized Design : CRD แบบ 1 ปัจจัย คือ ระดับความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกทางเดียว One-way Analysis เปรียบเทียบเชิงซ้อนระหว่างค่าเฉลี่ยแบบ Least Significant Difference : LSD ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (รังสรรค์ เนียมสนิท, 2534) โดยวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมสถิติ SPSS version 9

นำผลการทดลองมาเปรียบเทียบระดับความทนต่อความเค็มระหว่างสายพันธุ์โดยวิธีของ Rahman et al. (1998) โดยหาค่า Relative performance ของแต่ละลักษณะโดย

$$\text{Relative performance (RP)} = \frac{\text{Performance under stress}}{\text{Performance under control condition}} \times 100$$

ลักษณะที่นำมาวิเคราะห์ได้แก่ น้ำหนักแห้งใบ น้ำหนักแห้งราก ปริมาณคลอโรฟิลล์รวม อัตราส่วนระหว่างโพแทสเซียมต่อโซเดียมอิออนในใบและราก อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง แล้วจึงนำค่า Relative performance

ของทุกลักษณะที่ได้มารวมกันในแต่ละพันธุ์ แล้วนำค่าที่ได้ของพันธุ์ที่มีค่าสูงสุดเป็นตัวหารทั้งหมด ดังนั้นพันธุ์ที่มีค่าสูงที่สุดจะมีค่าเท่ากับ 1 เสมอ จากนั้นจึงจัดลำดับความสามารถของการทนต่อความเค็มได้

3.4 วิธีการวิจัย

3.4.1 การปลูกข้าว

การปลูกพืชในสารละลายธาตุอาหาร (solution culture หรือ hydroponic culture) เป็นวิธีหนึ่งในการควบคุมพืชให้ได้รับแร่ธาตุต่าง ๆ ตามที่กำหนดเพื่อลดปัจจัยแร่ธาตุอาหารที่มีอยู่ไม่สม่ำเสมอในดิน และง่ายต่อการเก็บส่วนของรากในการศึกษาทดลอง การปลูกในห้องควบคุมช่วยลดการทำลายของแมลง ควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในช่วง 25-28 องศาเซลเซียสเพื่อให้ปริมาณก๊าซออกซิเจน (8-9 ppm) ละลายในสารละลายอาหารได้เหมาะสม (Shinohara, 2542)

การปลูกข้าวในสารละลายเริ่มจากการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดข้าวด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ 5 % เป็นเวลา 5 นาที 2 ครั้ง ล้างด้วยน้ำกรอง 3 ครั้ง จากนั้นแช่ข้าวในน้ำกรองเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปปลูกในตะแกรงที่วางบนถังดำ โดยให้ระดับน้ำกรองในถังสูงท่วมตะแกรงและเมล็ดข้าวประมาณ 1 เซนติเมตร นำกระดาษดำปิดเพื่อไม่ให้ได้รับแสงเป็นระยะเวลา 5 วัน โดยสังเกตระดับน้ำในถังไม่ให้ลดลงมากไปกว่าเดิม เมื่อเมล็ดเริ่มงอก ให้ได้รับแสงเป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง และที่มืด 12 ชั่วโมง เมื่ออายุ 8 วันเปลี่ยนน้ำกรองเป็นสารละลายอาหาร (วิทยา มะเสนา และ คณะ, 2529) 1/3 เท่า 3 วัน 1/2 เท่า 3 วัน และ 1 เท่า 3 วัน เมื่อต้นข้าวมีอายุ 17 วัน เริ่มให้เกลือโดยเพิ่มระดับความเข้มข้นครั้งละ 25 mM ขั้นตอนละ 3 วัน ดังตารางข้างล่าง ต้นข้าวจะมีอายุได้ 35 วัน จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างใส่ถุงพลาสติกชั่งน้ำหนักและนำไปเก็บที่ตู้แช่แข็ง -70 องศาเซลเซียส เพื่อไม่ให้เนื้อเยื่อเสียคุณภาพ

NaCl	25mM 3 วัน	50 mM 3 วัน	75 mM 3 วัน	100 mM 3 วัน	125 mM 3 วัน	150 mM 3 วัน
control	-	-	-	-	-	-
50 mM	-	-	-	-	25 mM	50 mM
100 mM	-	-	25 mM	50 mM	75 mM	100 mM
150 mM	25 mM	50 mM	75 mM	100 mM	125 mM	150 mM

3.4.2 วิธีการทดลองและการบันทึกผล

3.4.2.1 น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง

นำตัวอย่างพืชในแต่ละทรีทเมนต์มาจำนวน 10 ต้น แยกส่วนรากและต้น ทำการชั่งด้วยตาชั่ง 4 ตำแหน่งบันทึกน้ำหนักสด และนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง บันทึกผลน้ำหนักแห้ง

3.4.2.2 การหาปริมาณคลอโรฟิลล์

3.4.2.2.1 ชั่งใบสดจำนวน 0.5 กรัมตัดให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ ใส่ลงในโกร่ง บดให้ละเอียดแล้วเติม 80% acetone 10 มิลลิลิตร ลงไปบดจนกว่าสีเขียวละลายออกมาหมด

3.4.2.2.2 กรองกากด้วยกระดาษกรอง ถ้ายังมีสีเขียวติดอยู่ที่กากให้บดต่อกับ acetone อีก 5 มิลลิลิตร

3.4.2.2.3 เติม acetone ลงไปในสารละลายที่กรองได้จนปริมาตร 20 มิลลิลิตร

3.4.2.2.4 นำสารละลายรงควัตถุที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ช่วงคลื่น 645 และ 663 nm ตามลำดับด้วยเครื่อง spectronic 20 โดยใช้ 80% acetone เป็น blank

3.4.2.2.5 นำค่า absorbance ที่วัดได้ไปคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์จากสูตร

$$\text{chlorophyll a (mg/g tissue)} = [\,12.7\,(A663) - 2.69\,(A645)\,] \times \frac{V}{1000 \times W}$$

$$\text{chlorophyll b (mg/g tissue)} = [\,22.9\,(A645) - 4.68\,(A663)\,] \times \frac{V}{1000 \times W}$$

$$\text{Total chlorophyll (mg/g tissue)} = [\,20.2\,(A645) + 8.02\,(A663)\,] \times \frac{V}{1000 \times W}$$

V = ปริมาตรทั้งหมดของสารละลาย

W = น้ำหนักใบ

3.4.2.3 การวัดค่าออสโมติกโพเทนเชียล

นำตัวอย่างพืชสดน้ำหนัก 1 กรัมเก็บที่ -70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน นำมาคั้นเอาน้ำจากเซลล์ โดยไม่ใช้ไนโตรเจนเหลว แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 13,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำของเหลวที่อยู่เหนือกากมา 200 μl วัดค่าออสโมลาริตีโดยเครื่อง Automatic osmometer ของบริษัท KNUAUER แล้วนำไปคำนวณเป็นค่าออสโมติกโพเทนเชียล

$$\psi_s = -C\,i\,R\,T$$

ψ_s = ออสโมติกโพเทนเชียลมีหน่วยเป็น MPa

C = ความเข้มข้นของสารละลายในหน่วยของ molal (mole per kg of H_2O)

i = ค่าสัมประสิทธิ์ของการแตกตัวของตัวถูกละลาย

R = ค่าคงที่ของก๊าซ = 0.00831 Kg. MPa $mol^{-1}K^{-1}$

T = อุณหภูมิเป็นองศาสัมบูรณ์ (K)

3.4.2.4 การหาปริมาณโปรลีน

นำตัวอย่างใบ และรากสดอย่างละ 0.1 กรัม บดกับ 5 มิลลิลิตร 3 % sulphosalicylic acid แล้วกรองเอากากออก นำสารละลายที่ได้จำนวน 2 มิลลิลิตร มาเติม glacial acetic 2 มิลลิลิตร และ acid ninhydrin 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้ vortex mixer แล้วนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 1 ชั่วโมงแล้วจึงนำไปหยุดปฏิกิริยาโดยการแช่น้ำแข็ง เติม toluene 4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้ vortex mixer แล้วดูดเฉพาะชั้น toluene ที่มีสีชมพูแกมแดงไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงคลื่น 520 นาโนเมตร และนำค่าที่ได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐานของโปรลีน (ดูภาคผนวก ก)

3.4.2.5 การหาปริมาณโปรตีน

นำตัวอย่างใบ และรากน้ำหนัก 0.5 กรัม บดกับไนโตรเจนเหลวให้เป็นผงละเอียดสีขาว เติม Grinding solution 200 ไมโครลิตร บดจนกระทั่งผงตัวอย่างเป็นของเหลว แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 13,000

rpm ดูดสารละลายเหนือกากมาเพื่อทำการวัดปริมาณโปรตีนโดยทำปฏิกิริยากับสีย้อมโปรตีน โดยดูดสารละลายที่สกัดได้มา 5 ไมโครลิตร เติมสี Protein assay dye reagent concentrate ของบริษัท BIO-RAD 200 ไมโครลิตร และเติมน้ำกลั่น 795 ไมโครลิตรนำไปวัดค่า absorbance ที่ 595 นาโนเมตร และนำค่าที่ได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐานของโปรตีน (ดูภาคผนวก ข)

3.4.2.6 การศึกษาแบบแผนโปรตีนโดยวิธี SDS Polyacrylamide gel electrophoresis

เตรียม SDS-Polyacrylamide Gel ตามขั้นตอนในภาคผนวก ข ปริมาณโปรตีนที่ใส่ในแต่ละช่องของเจลควรมีปริมาณโปรตีน 20 ไมโครกรัม เป็นอย่างน้อยในการย้อมด้วยสี Coomassie blue และถ้าปริมาณโปรตีนมีน้อยมากไม่สามารถใช้การย้อมสีแบบดังกล่าวได้ควรใช้วิธีการย้อมแบบ Silver stain โดย 1 ช่องเจลควรมีปริมาณโปรตีน 5 ไมโครกรัม เป็นอย่างน้อย ในการทดลองนี้ใช้ความเข้มข้นเจล 10 เปอร์เซ็นต์ (ดูภาคผนวก ข)

3.4.2.7 การวิเคราะห์อิออนโซเดียม และโพแทสเซียม

ทำการอบตัวอย่างแยกต้น และ ราก ให้ได้น้ำหนักแห้ง 0.5 กรัม ส่งตัวอย่างวิเคราะห์ที่ศูนย์ศึกษาค้นคว้าและพัฒนาการเกษตรกรรมภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

3.4.2.8 การวัดอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง

หลังจากปลูกข้าวให้ได้อายุ 26 วัน ทำการให้เกลือ 100 mM NaCl และทำการวัดอัตราการสังเคราะห์แสงด้วยเครื่อง Portable photosynthesis system ของบริษัท LICOR รุ่น 6400 เป็นเวลา 4 วัน เพื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

3.5. ผลการทดลอง

พันธุ์ข้าวที่สามารถทนต่อโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 150 mM คือ แดงดอกกก ขาวดอกมะลิ 105 สุพรรณบุรี 2 พอคคาลี และเหลืองตาโม พันธุ์ข้าวที่สามารถทนโซเดียมคลอไรด์ได้ถึง 100 mM คือ น้ำสะกุย 19 ลูกแดง และขาวหมากแขก

3.5.1 ผลกระทบของเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่มีต่อลักษณะสัณฐานของใบ

เมื่อเริ่มให้โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 50 mM เป็นเวลา 3 วันปลายใบเริ่มเหลืองลักษณะใบเริ่มบิดแผ่นใบเริ่มห่อตัวเล็กน้อยในตำแหน่งใบด้านล่างสุด อาการเริ่มแสดงเห็นได้ชัดเจนมากขึ้นเมื่อให้โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 100 mM ในวันที่ 2 ใบตำแหน่งล่างสุดเป็นสีเหลืองมากขึ้นเกิดอาการขาดน้ำอย่างรุนแรงใบหยิกงอ และเริ่มแสดงอาการในใบถัดสูงขึ้นไปโดยที่เกิดอาการใบเหลืองที่ปลายใบ และใบเริ่มบิด หลังจากที่ให้โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 150 mM เป็นเวลา 1 วัน ใบด้านล่างสุดของบางพันธุ์แห้งตาย ใบถัดสูงขึ้นไปก็เริ่มเกิดอาการเหลืองใบหยิกงอ และเริ่มตาย (ภาพที่ 1-2) เมื่อครบกำหนดการให้เกลือ 150 mM เป็นเวลา 3 วัน พันธุ์ที่ตายได้แก่ น้ำสะกุย 19 ลูกแดง และขาวหมากแขก สำหรับพันธุ์ที่ยังมีชีวิตอยู่ก็เหลือใบอยู่ประมาณ 2-3 ใบจากจำนวนใบทั้งหมด 4-5 ใบที่มีอยู่ บางพันธุ์เมื่อได้รับเกลือแล้วการเจริญเติบโตลดลง พร้อมกับการสร้างใบจำนวนลดลง และต้นแคระแกรนกว่ากลุ่มควบคุม (ภาพที่ 3-4)

3.5.2 ผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง

3.5.2.1 น้ำหนักใบสด

ข้าวพันธุ์แดงดอกกก สุพรรณบุรี 2 น้ำสะกุย 19 ลูกแดง เหลืองตาโม และขาวหมากแขก เมื่อได้รับเกลือ 50 mM น้ำหนักใบสดไม่แตกต่างทางสถิติกับกลุ่มควบคุม แต่ในพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพอคคาลี มีน้ำหนักใบสดเพิ่มขึ้น เมื่อได้รับเกลือ 100 mM ข้าวพันธุ์แดงดอกกก และสุพรรณบุรี 2 มีน้ำหนักใบสดลดลงส่วนพันธุ์อื่น ๆ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกลุ่มควบคุม และเมื่อได้รับเกลือ 150 mM ข้าวพันธุ์แดงดอกกก ขาวดอกมะลิ 105 พอคคาลี และเหลืองตาโม น้ำหนักใบสดลดลง ส่วนพันธุ์สุพรรณบุรี 2 น้ำหนักใบสดไม่แตกต่างทางสถิติกับกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 5 และ ตารางที่ 1)

3.5.2.2 น้ำหนักรากสด

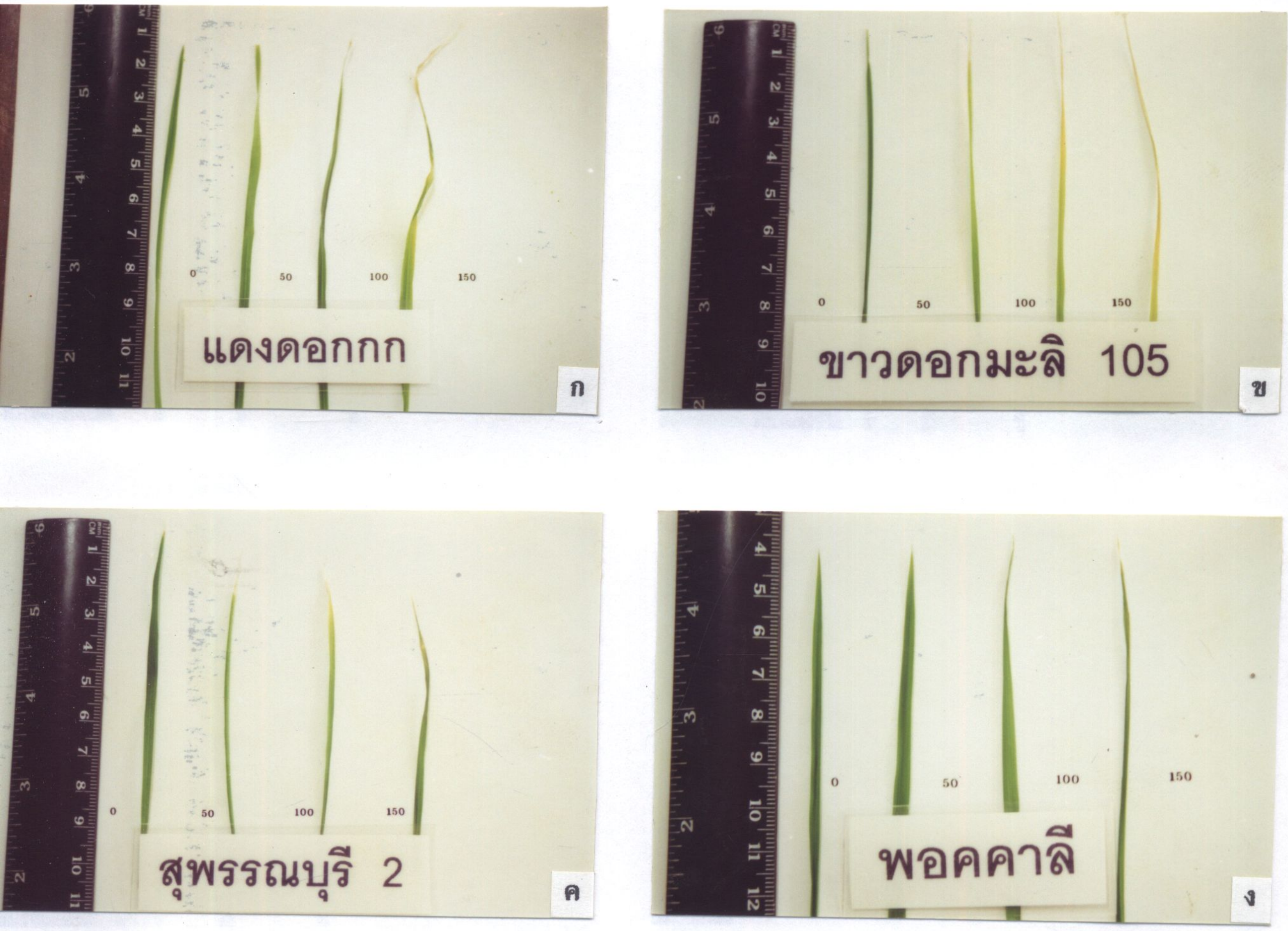
ข้าวพันธุ์แดงดอกกก สุพรรณบุรี 2 น้ำสะกุย 19 ลูกแดง และขาวหมากแขก เมื่อได้รับเกลือ 50 mM น้ำหนักรากสดไม่แตกต่างทางสถิติกับกลุ่มควบคุม ส่วนพันธุ์ ขาวดอกมะลิ 105 พอคคาลี และเหลืองตาโมมีน้ำหนักรากสดเพิ่มขึ้น เมื่อได้รับเกลือ 100 mM พันธุ์แดงดอกกกมีน้ำหนักรากสดลดลง พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 พอคคาลี และเหลืองตาโม น้ำหนักรากสดเพิ่มขึ้น ส่วนพันธุ์สุพรรณบุรี 2 น้ำสะกุย 19 ลูกแดง และขาวหมากแขก น้ำหนักรากสดไม่แตกต่างทางสถิติกับกลุ่มควบคุม และเมื่อได้รับเกลือ 150 mM พันธุ์แดงดอกกก และขาวหมากแขก มีน้ำหนักรากสดลดลง ส่วนพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 สุพรรณบุรี 2 และพอคคาลี น้ำหนักรากสดไม่แตกต่างทางสถิติกับกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 6 และตารางที่ 2)

3.5.2.3 น้ำหนักใบแห้ง

ข้าวทุกพันธุ์มีน้ำหนักใบแห้งเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับเกลือ 50 mM โดยเฉพาะพันธุ์พอคคาลี ขาวดอกมะลิ 105 และขาวหมากแขก มีน้ำหนักใบแห้งมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อได้รับเกลือ 100 mM ข้าวส่วนใหญ่ยังคงมีน้ำหนักใบแห้งมากกว่ากลุ่มควบคุม ยกเว้นพันธุ์สุพรรณบุรี 2 ที่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกลุ่มควบคุม และพันธุ์แดงดอกกกมีน้ำหนักใบแห้งต่ำกว่ากลุ่มควบคุม เมื่อได้รับเกลือ 150 mM พันธุ์แดงดอกกก ขาวดอกมะลิ 105 และเหลืองตาโม มีน้ำหนักใบแห้งต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ส่วนพันธุ์พอคคาลีและสุพรรณบุรี 2 มีน้ำหนักใบแห้งไม่แตกต่างทางสถิติกับกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 7 และตารางที่ 3)

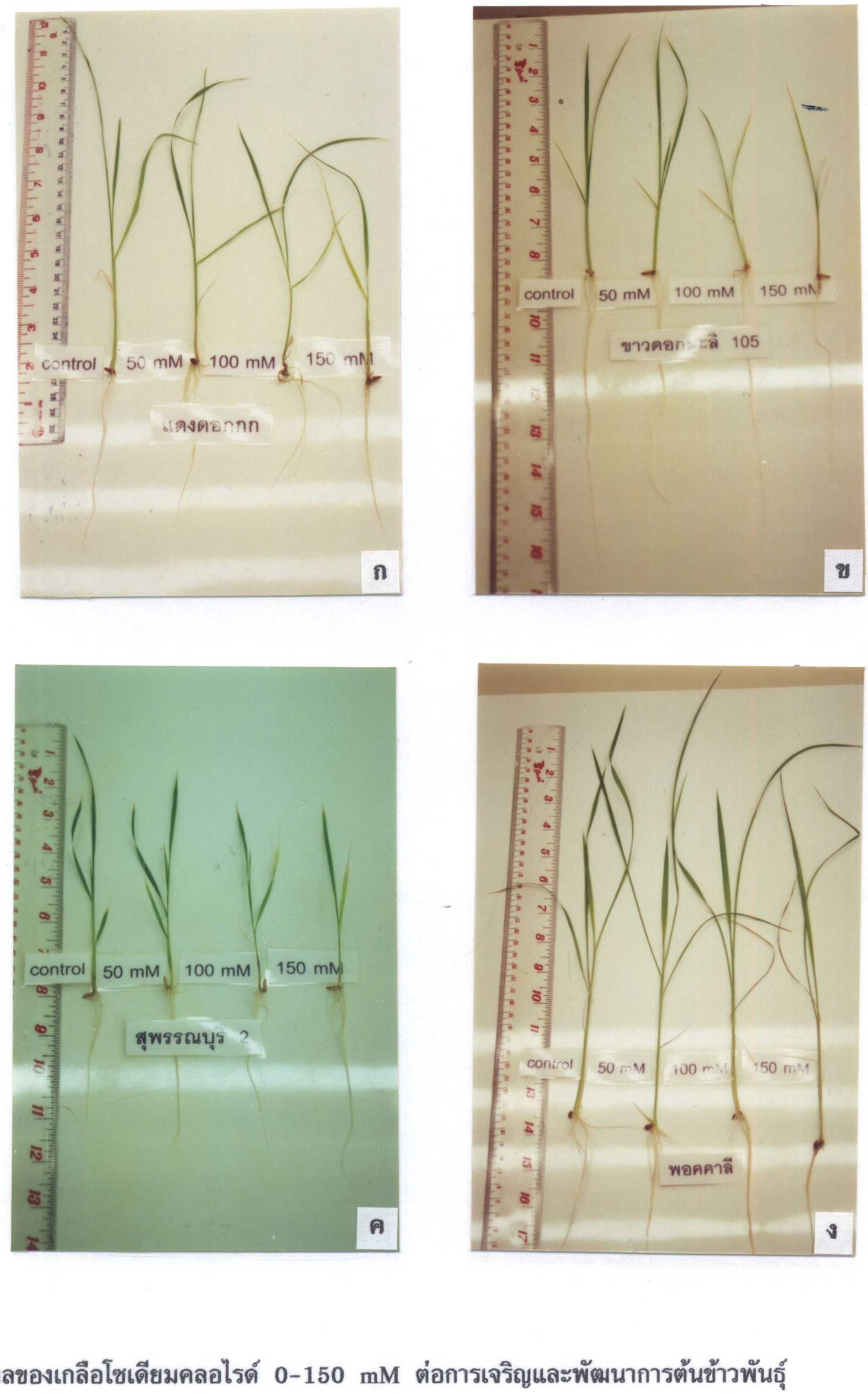
3.5.2.4 น้ำหนักรากแห้ง

ข้าวทุกพันธุ์มีน้ำหนักรากแห้งเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับเกลือ 50 mM และ 100 mM เมื่อได้รับเกลือ 150 mM พันธุ์แดงดอกกก และขาวดอกมะลิ 105 น้ำหนักรากแห้งลดลง พันธุ์สุพรรณบุรี 2 และพอคคาลีน้ำหนักรากแห้งเพิ่มขึ้น ส่วนพันธุ์เหลืองตาโม น้ำหนักรากแห้งไม่แตกต่างทางสถิติกับกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 8 และตารางที่ 4)

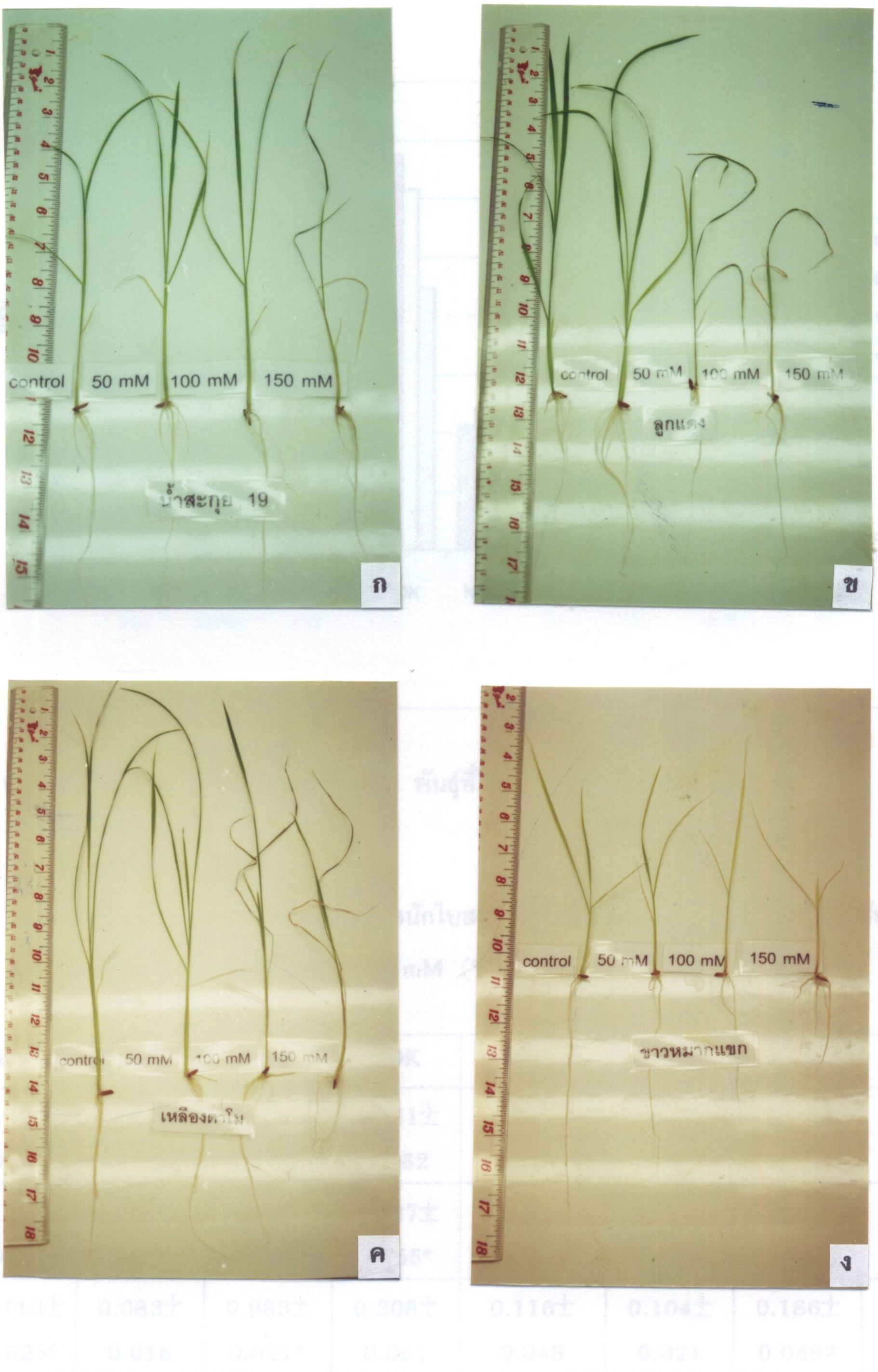


ภาพที่ 1 ผลของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0-150 mM ต่อลักษณะสัณฐานใบข้าวพันธุ์
(ก) แดงดอกกก, (ข) ขาวดอกมะลิ 105, (ค) สุพรรณบุรี 2 และ (ง) พอคคาลี

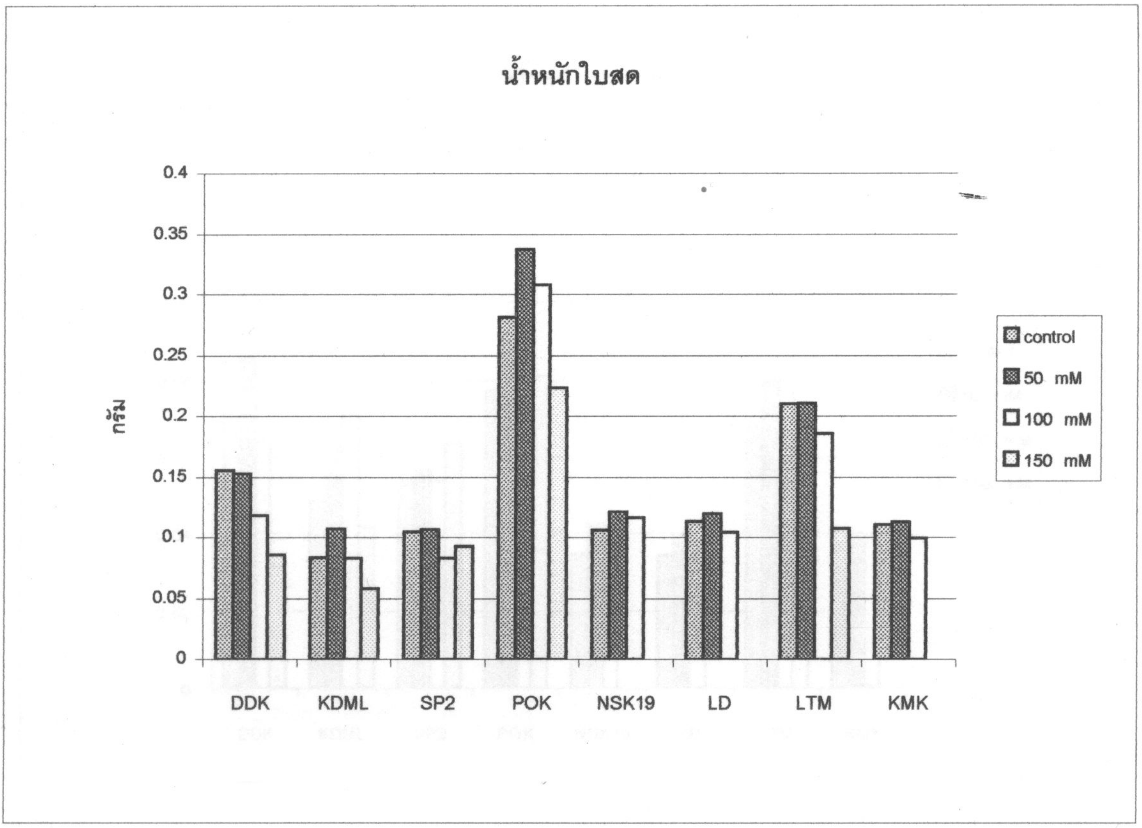
ภาพที่ 2 ผลของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0-150 mM ต่อลักษณะสัณฐานใบข้าวพันธุ์
(ก) น้ำสะกุย 19, (ข) ลูกแดง, (ค) เหลืองตาโม และ (ง) ขาวหมากแขก



ภาพที่ 3 ผลของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0-150 mM ต่อการเจริญและพัฒนาการต้นข้าวพันธุ์ (ก) แดงดอกกก, (ข) ขาวดอกมะลิ 105, (ค) สุพรรณบุรี 2 และ (ง) พอคคาลี



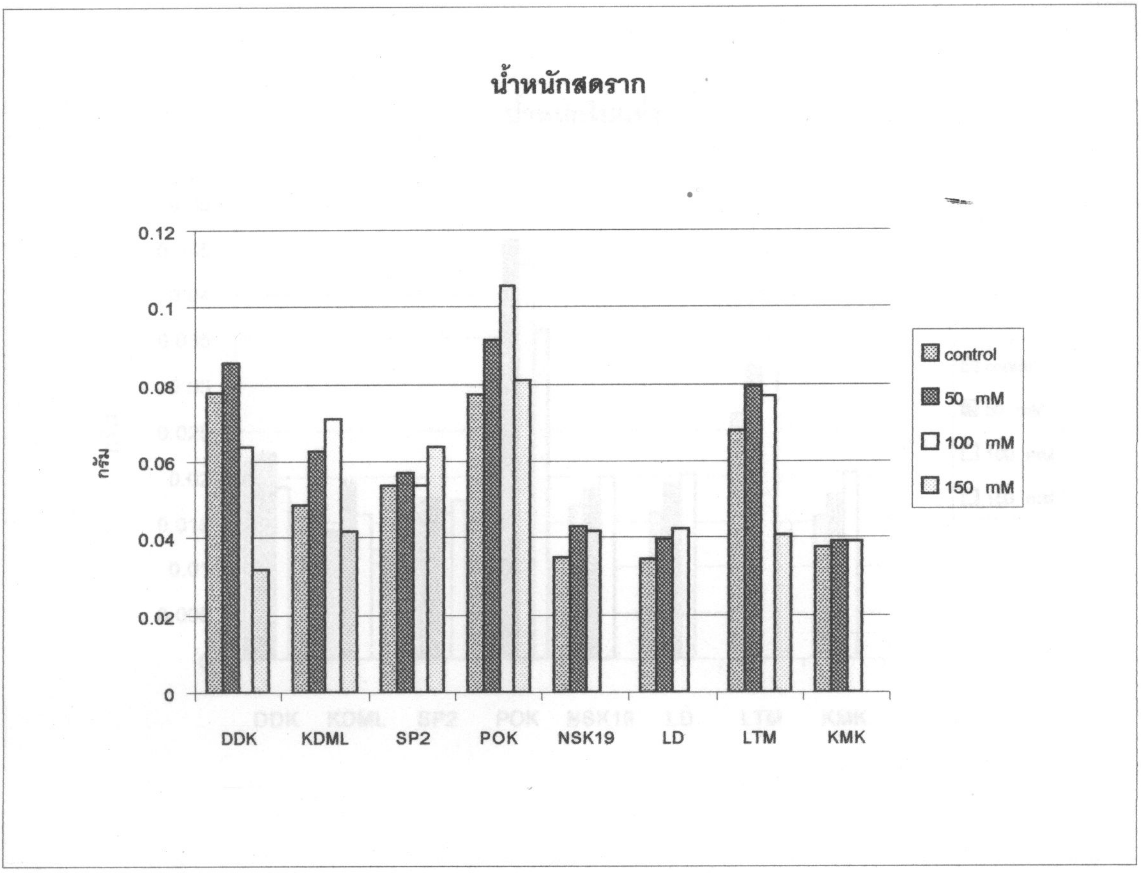
ภาพที่ 4 ผลของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0-150 mM ต่อการเจริญและพัฒนาการต้นข้าวพันธุ์ (ก) น้ำสะกุย 19, (ข) ลูกแดง, (ค) เหลืองตาโม และ (ง) ขาวหมากแขก



ภาพที่ 5 น้ำหนักใบสด (กรัมต่อต้น) ของข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานน้ำหนักใบสด (กรัมต่อต้น) ของข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM (* แตกต่างจาก Control $p \leq 0.05$)

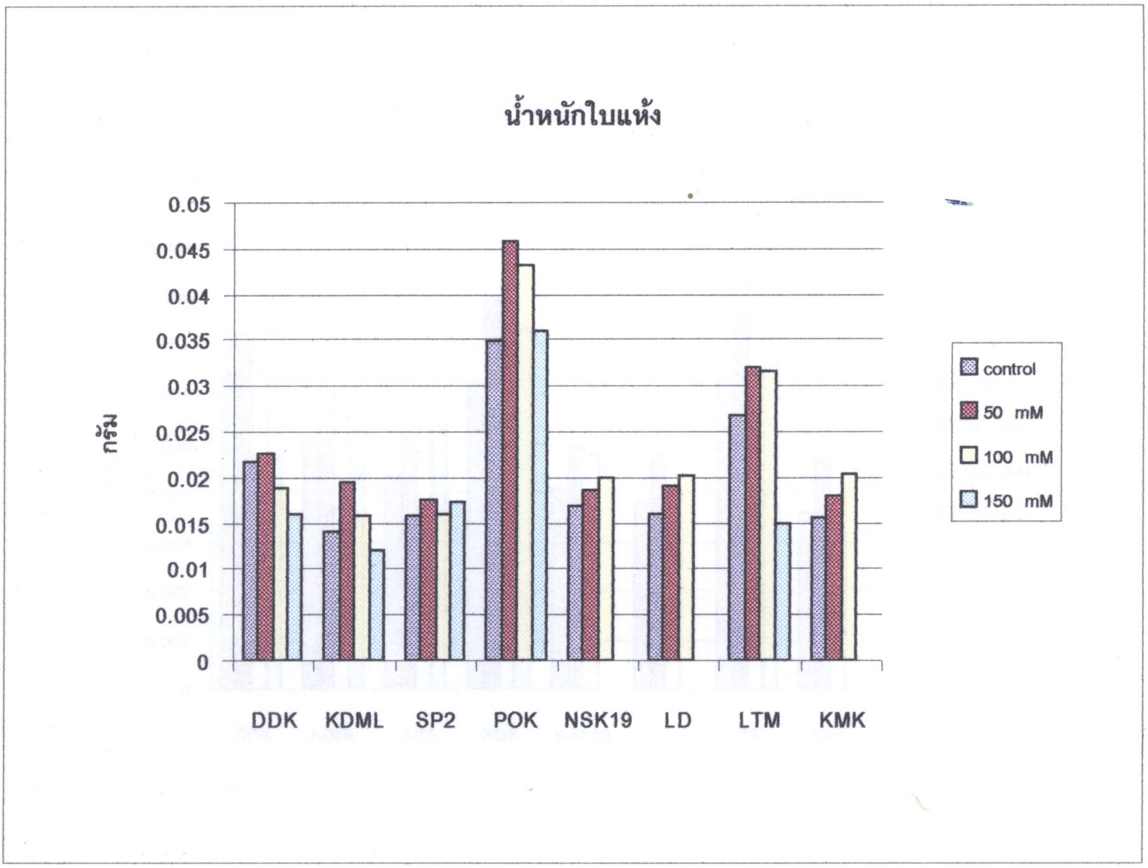
	DDK	KDML	SP2	POK	NSK19	LD	LTM	KMK
con	0.155± 0.026	0.083± 0.019	0.104± 0.011	0.281± 0.062	0.106± 0.021	0.113± 0.024	0.210± 0.041	0.110± 0.0207
50 mM	0.152± 0.024	0.107± 0.019*	0.106± 0.015	0.337± 0.055*	0.121± 0.018	0.119± 0.016	0.210± 0.0266	0.112± 0.0153
100 mM	0.118± 0.025*	0.083± 0.016	0.083± 0.021*	0.308± 0.061	0.116± 0.048	0.104± 0.021	0.186± 0.0497	0.099± 0.0191
150 mM	0.085± 0.030*	0.058± 0.011*	0.093± 0.018	0.223± 0.048*	-	-	0.107± 0.0505*	-



ภาพที่ 6 น้ำหนักรากสด (กรัมต่อต้น) ของข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานน้ำหนักรากสด (กรัมต่อต้น) ของข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM (* แตกต่างจาก Control p $\leq$ 0.05)

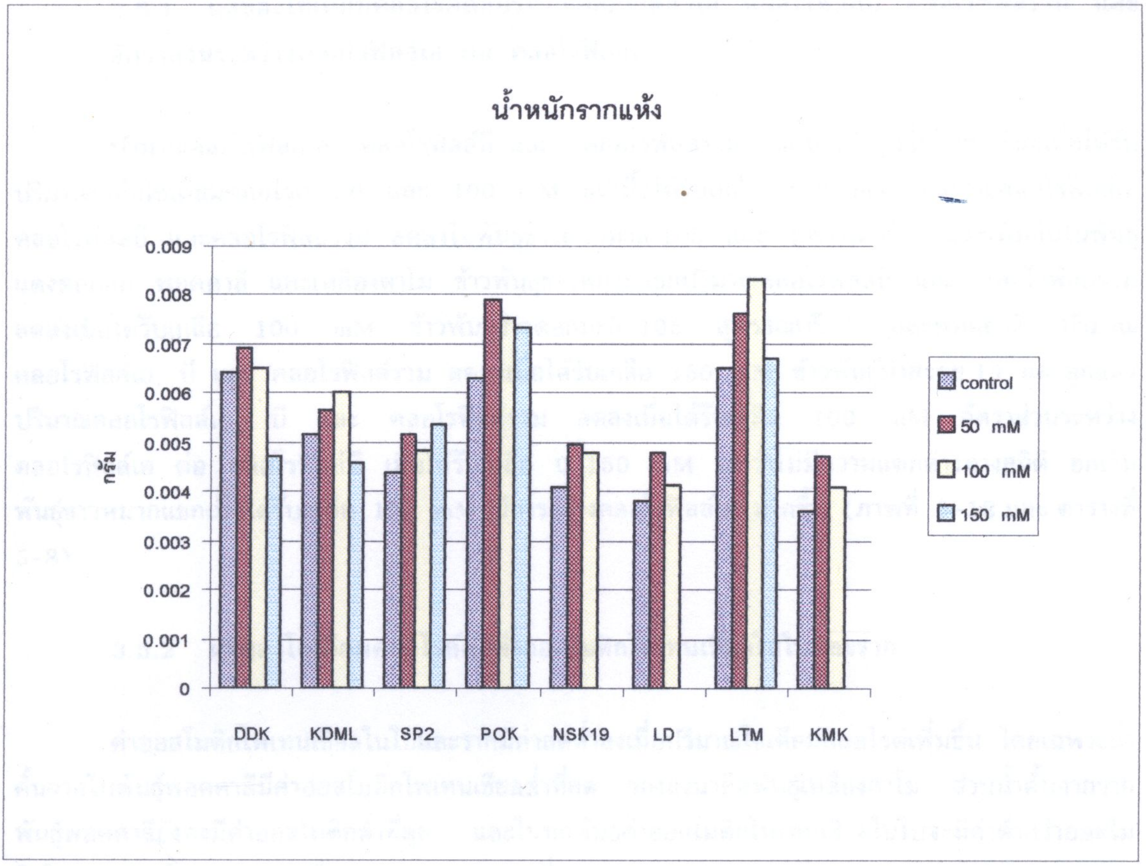
	DDK	KDML	SP2	POK	NSK19	LD	LTM	KMK
con	0.077± 0.013	0.048± 0.008	0.053± 0.015	0.077± 0.020	0.035± 0.010	0.034± 0.010	0.067± 0.019	0.037± 0.011
50 mM	0.085± 0.018	0.06255± 0.01124*	0.057± 0.013	0.091± 0.018*	0.042± 0.010	0.039± 0.006	0.079± 0.018	0.039± 0.006
100 mM	0.063± 0.021	0.07073± 0.01323*	0.053± 0.010	0.105± 0.022*	0.041± 0.008	0.042± 0.008	0.076± 0.022	0.039± 0.006
150 mM	0.031± 0.010*	0.04162± 0.009509	0.063± 0.016	0.080± 0.011	-	-	0.040± 0.019*	-



ภาพที่ 7 น้ำหนักใบแห้ง (กรัมต่อต้น) ของข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานน้ำหนักใบแห้ง (กรัมต่อต้น) ของข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM (* แตกต่างจาก Control p $\leq$ 0.05)

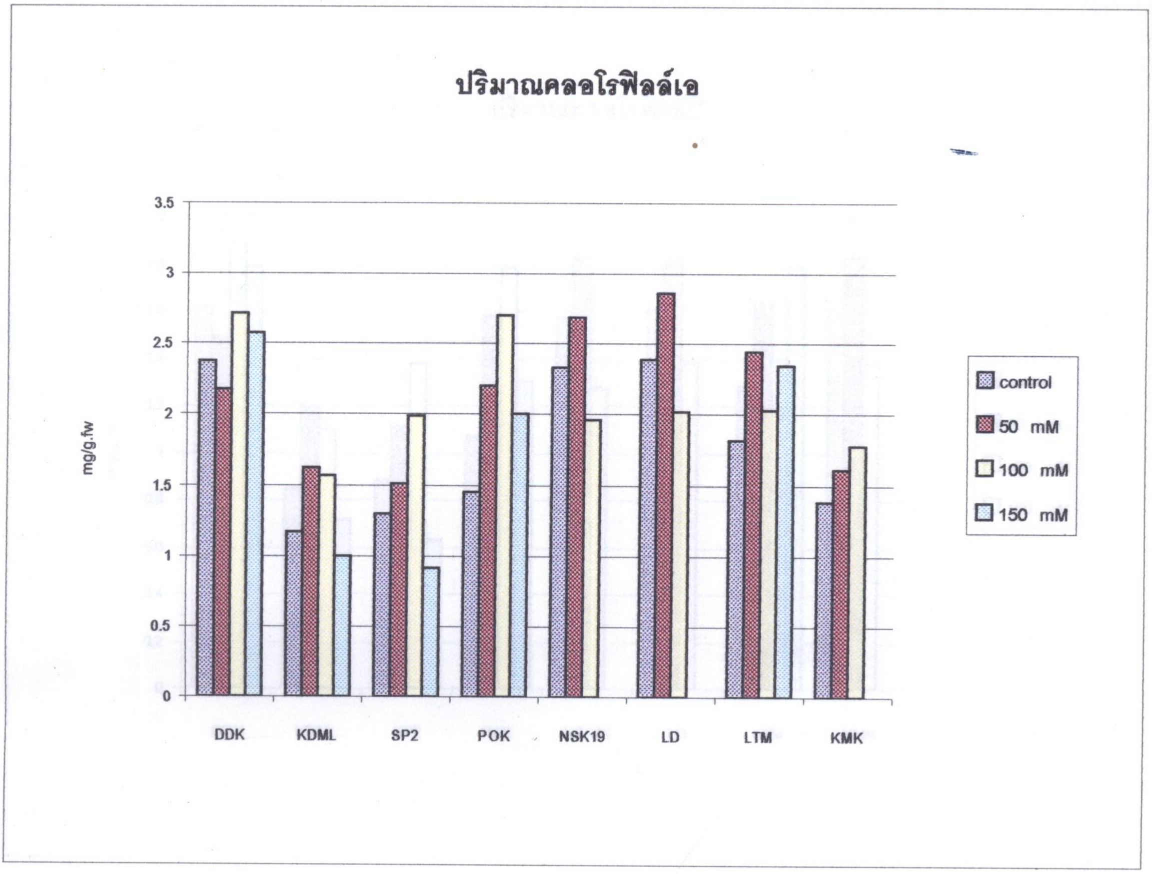
	DDK	KDML	SP2	POK	NSK19	LD	LTM	KMK
con	0.021± 0.002	0.014± 0.002	0.015± 0.002	0.034± 0.008	0.016± 0.002	0.016± 0.002	0.026± 0.006	0.015± 0.002
50 mM	0.022± 0.002	0.019± 0.002*	0.017± 0.002	0.045± 0.008*	0.018± 0.003	0.019± 0.003	0.031± 0.004	0.018± 0.002*
100 mM	0.018± 0.003	0.015± 0.002	0.016± 0.003	0.043± 0.010	0.019± 0.003*	0.020± 0.004*	0.031± 0.008	0.020± 0.004*
150 mM	0.016± 0.003*	0.011± 0.001	0.017± 0.004	0.036± 0.009	-	-	0.014± 0.009*	-



ภาพที่ 8 น้ำหนักรากแห้ง (กรัมต่อต้น) ของข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานน้ำหนักรากแห้ง (กรัมต่อต้น) ของข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM (* แตกต่างจาก Control p $\leq$ 0.05)

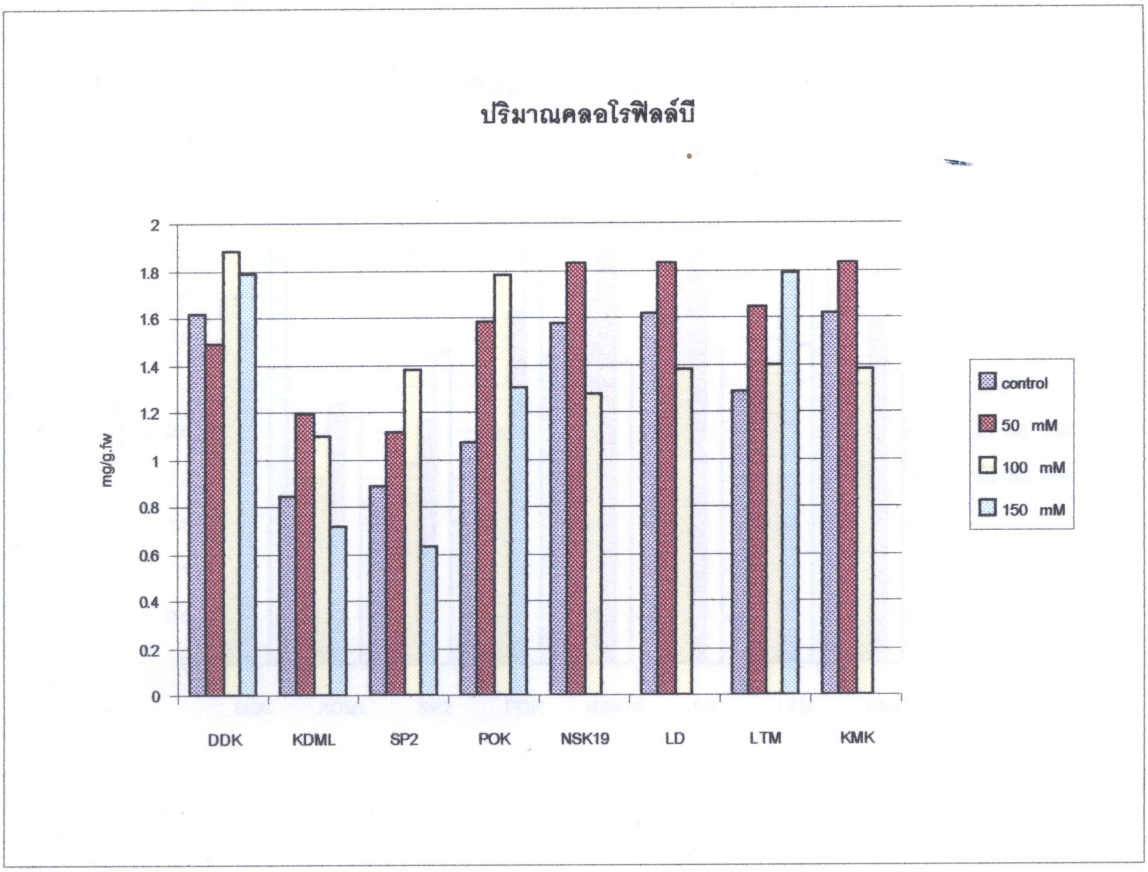
	DDK	KDML	SP2	POK	NSK19	LD	LTM	KMK
con	0.0064± 0.0007	0.0051± 0.0011	0.0043± 0.0008	0.0063± 0.0013	0.00409± 0.0009	0.0037± 0.0010	0.0065± 0.0014	0.0035± 0.0005
50 mM	0.0069± 0.0010	0.0056± 0.0007	0.0051± 0.0009*	0.00791± 0.0018*	0.0049± 0.0007*	0.0047± 0.0008*	0.0076± 0.0013	0.0047± 0.0010*
100 mM	0.0065± 0.0011	0.0060± 0.0012*	0.0048± 0.0011	0.0075± 0.0011*	0.0047± 0.0008	0.0041± 0.0008	0.0083± 0.0018*	0.0041± 0.0006
150 mM	0.0047± 0.0008*	0.0045± 0.0013*	0.0053± 0.0012*	0.00734± 0.0008	-	-	0.0067± 0.0025	-



ภาพที่ 9 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ (mg/g น้ำหนักสด) ในใบข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM

ตารางที่ 5 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานปริมาณคลอโรฟิลล์เอ (mg/g น้ำหนักสด) ในใบข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0-150 mM (* แตกต่างจาก Control $p \leq 0.05$)

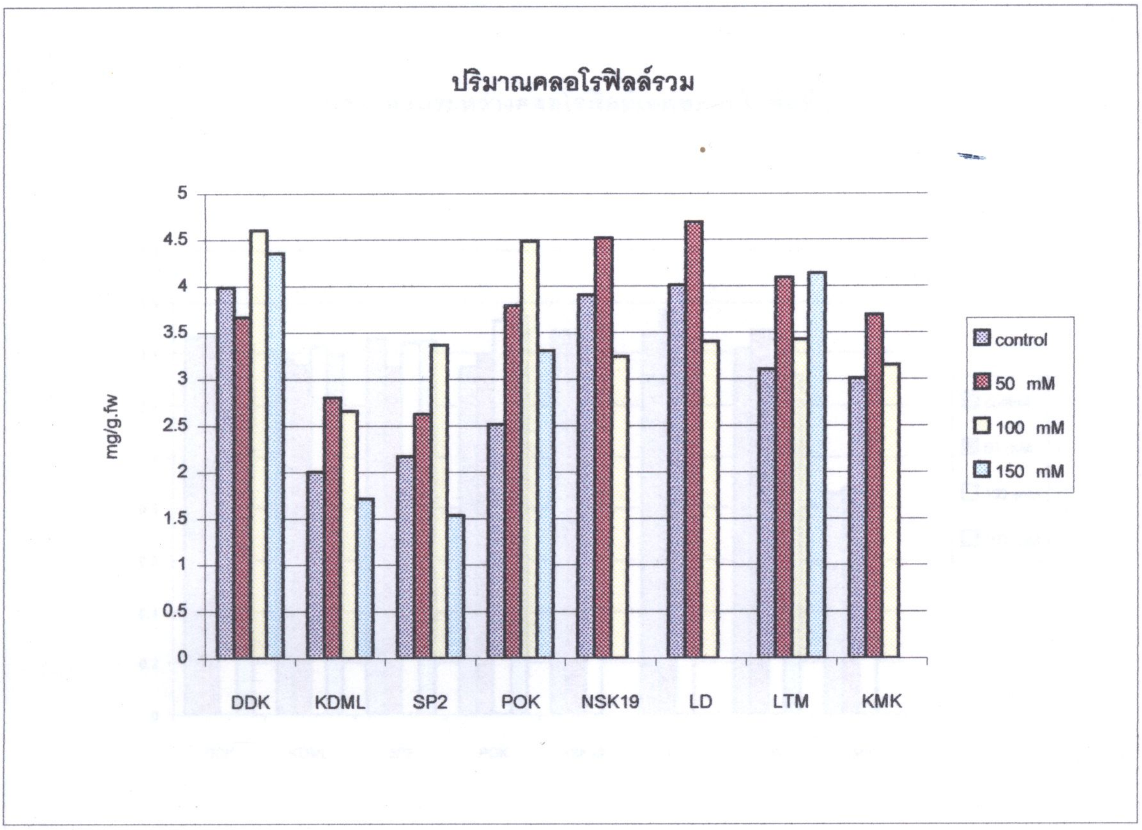
	DDK	KDML	SP2	POK	NSK19	LD	LTM	KMK
Con	2.370± 0.2728	1.162± 0.277	1.287± 0.531	1.444± 0.193	2.336± 0.648	2.388± 0.242	1.819± 0.063	1.385± 0.242
50 mM	2.183± 0.448	1.616± 0.352*	1.510± 0.397	2.210± 0.194*	2.691± 0.217*	2.862± 0.309*	2.445± 0.644*	1.612± 0.409
100 mM	2.720± 0.518*	1.566± 0.268*	1.990± 0.278*	2.706± 0.234*	1.967± 0.136	2.024± 0.167	2.030± 0.522	1.772± 0.521
150 mM	2.571± 0.788	1.001± 0.290	0.909± 0.130	2.005± 0.655*	-	-	2.3481± 0.3176*	-



ภาพที่ 10 ปริมาณคลอโรฟิลล์บี (mg/g น้ำหนักสด) ในใบข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM

ตารางที่ 6 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานปริมาณคลอโรฟิลล์บี (mg/g น้ำหนักสด) ในใบข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0-150 mM (* แตกต่างจาก Control p $\leq$ 0.05)

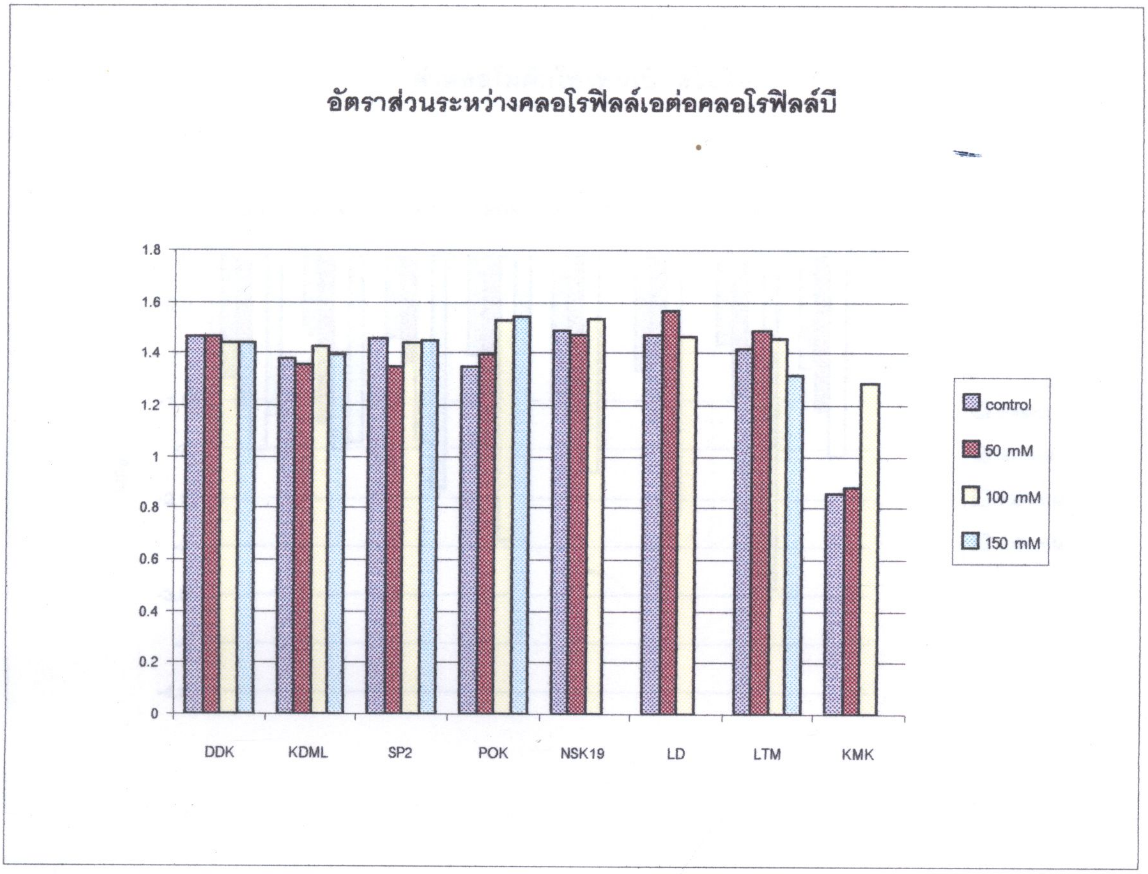
	DDK	KDML	SP2	POK	NSK19	LD	LTM	KMK
con	1.616± 0.185	0.841± 0.198	0.885± 0.383	1.072± 0.157	1.571± 0.457	1.620± 0.186	1.286± 0.066	1.62± 0.215
50 mM	1.489± 0.308	1.192± 0.277*	1.118± 0.246	1.582± 0.185*	1.828± 0.190	1.830± 0.193	1.645± 0.409	1.832± 0.261
100mM	1.884± 0.325	1.097± 0.186	1.380± 0.209*	1.776± 0.133*	1.278± 0.097	1.382± 0.153	1.396± 0.361	1.38± 0.156
150mM	1.786± 0.528	0.717± 0.206	0.629± 0.081	1.299± 0.424*	-	-	1.787± 0.150*	-



ภาพที่ 11 ปริมาณคลอโรฟิลล์รวม (mg/g น้ำหนักสด) ในใบข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM

ตารางที่ 7 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานปริมาณคลอโรฟิลล์รวม (mg/g น้ำหนักสด) ในใบข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0-150 mM (* แตกต่างจาก Control $p \leq 0.05$)

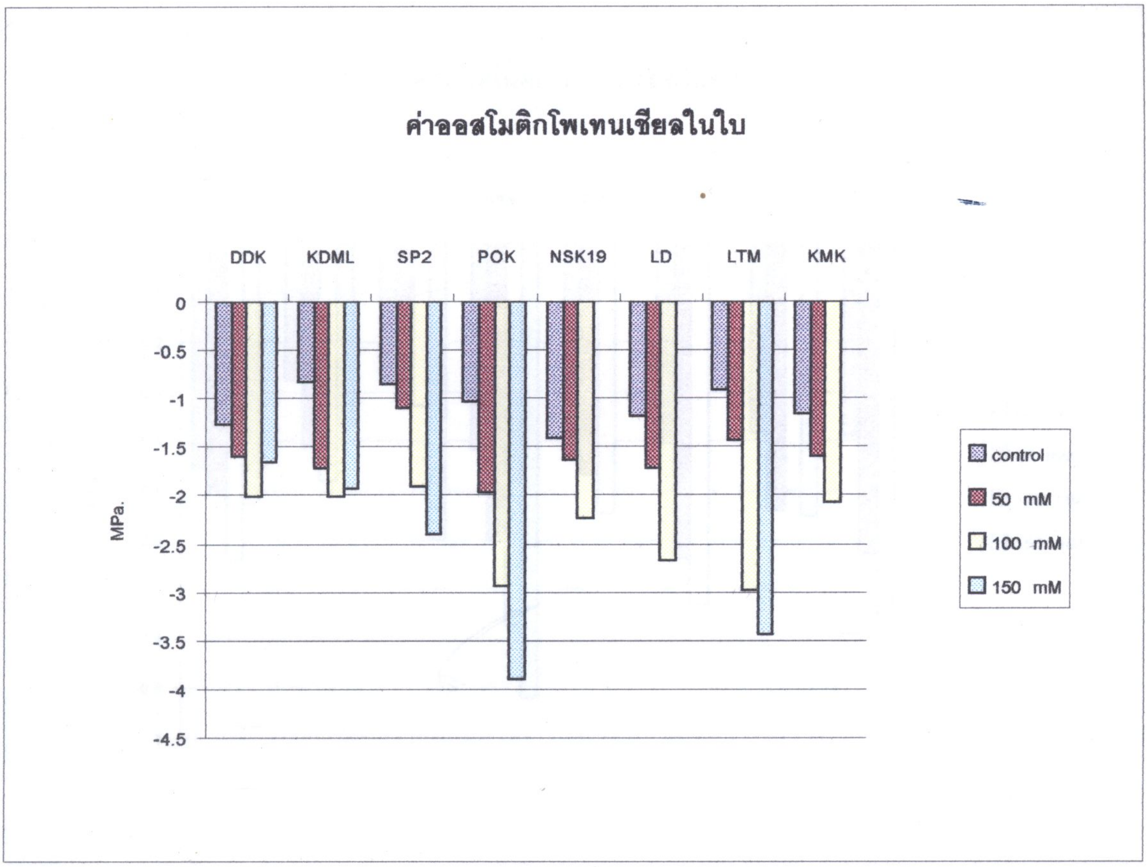
	DDK	KDML	SP2	POK	NSK19	LD	LTM	KMK
con	3.985± 0.458	2.003± 0.475	2.172± 0.914	2.516± 0.348	3.907± 1.105	4.008± 0.427	3.105± 0.123	3.007± 0.425
50 mM	3.672± 0.757*	2.807± 0.629*	2.628± 0.620	3.791± 0.378*	4.5179± 0.401	4.690± 0.501*	4.089± 1.053	3.692± 0.500
100 mM	4.603± 0.842	2.663± 0.454	3.370± 0.486*	4.480± 0.367*	3.245± 0.231	3.406± 0.318	3.426± 0.882	3.152± 0.417
150 mM	4.356± 1.266	1.718± 0.490	1.538± 0.208	3.303± 1.079*	-	-	4.134± 0.467	-



ภาพที่ 12 อัตราส่วนระหว่างคลอโรฟิลล์เอต่อคลอโรฟิลล์บีในใบข้าว 8 พันธุ์ ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM

ตารางที่ 8 อัตราส่วนระหว่างคลอโรฟิลล์เอต่อคลอโรฟิลล์บีในใบข้าว 8 พันธุ์ ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM (* แตกต่างจาก Control $p \leq 0.05$)

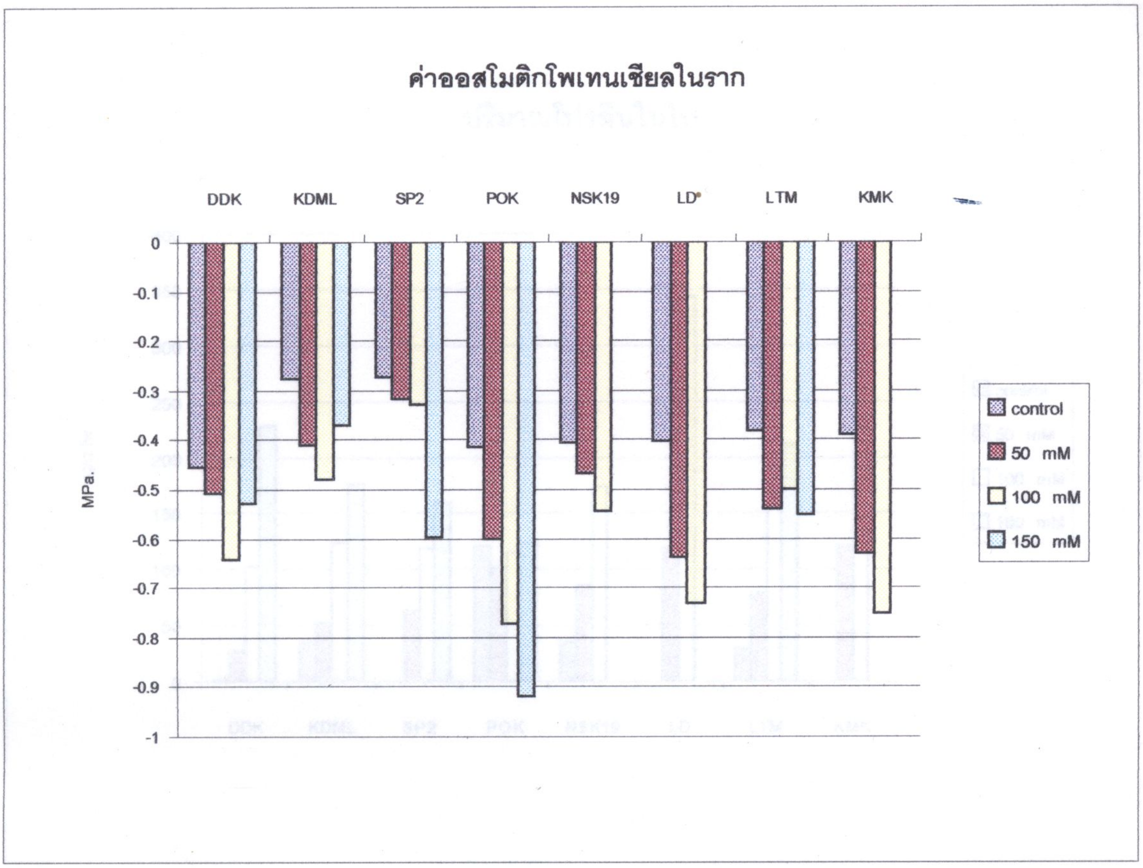
	DDK	KDML	SP2	POK	NSK19	LD	LTM	KMK
control	1.466	1.382	1.454	1.346	1.486	1.473	1.414	0.854
50 mM	1.466	1.356	1.351	1.397	1.472	1.563	1.486	0.879
100 mM	1.443	1.427	1.441	1.523	1.538	1.465	1.453	1.284*
150 mM	1.439	1.394	1.445	1.543	-	-	1.313	-



ภาพที่ 13 ค่าออสโมติกโพเทนเชียล (MPa) ในใบข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM

ตารางที่ 9 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานค่าออสโมติกโพเทนเชียล (MPa) ใบข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM (* แตกต่างจาก Control $p \leq 0.05$)

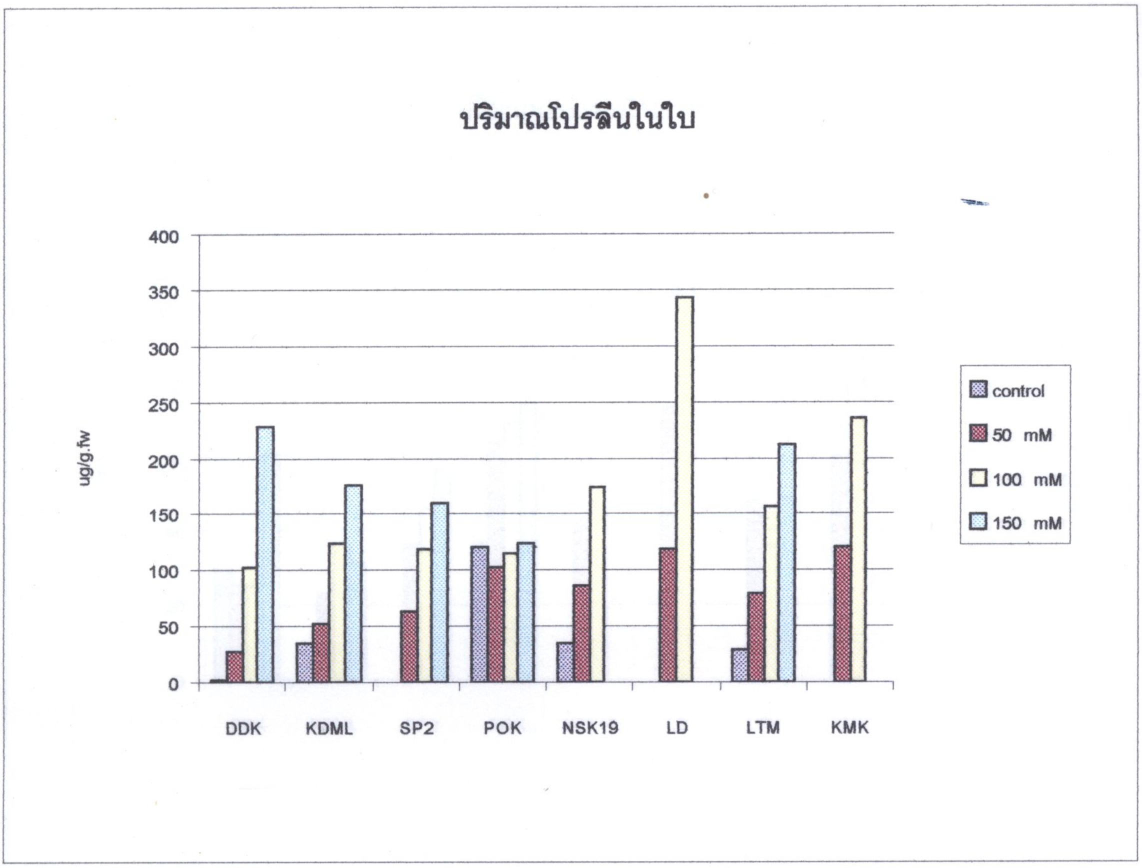
	DDK	KDML	SP2	POK	NSK19	LD	LTM	KMK
control	-1.274± 0.070	-0.835± 0.380	-0.859± 0.099	-1.037± 0.023	-1.416± 0.197	-1.177± 0.101	-0.920± 0.084	-1.154± 0.074
50 mM	-1.588± 0.097*	-1.722± 0.362*	-1.104± 0.141*	-1.979± 0.048*	-1.644± 0.061	-1.720± 0.146*	-1.429± 0.118*	-1.590± 0.072*
100 mM	-2.020± 0.159*	-2.009± 0.064*	-1.900± 0.061*	-2.937± 0.124*	-2.232± 0.230*	-2.675± 0.338*	-2.995± 0.162*	-2.069± 0.077*
150 mM	-1.649± 0.208*	-1.926± 0.085*	-2.396± 0.150*	-3.902± 0.299*	-	-	-3.441± 0.430*	-



ภาพที่ 14 ค่าออสโมติกโพเทนเชียล (MPa) ในรากข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM

ตารางที่ 10 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานค่าออสโมติกโพเทนเชียล (MPa) รากข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM (* แตกต่างจาก Control $p \leq 0.05$)

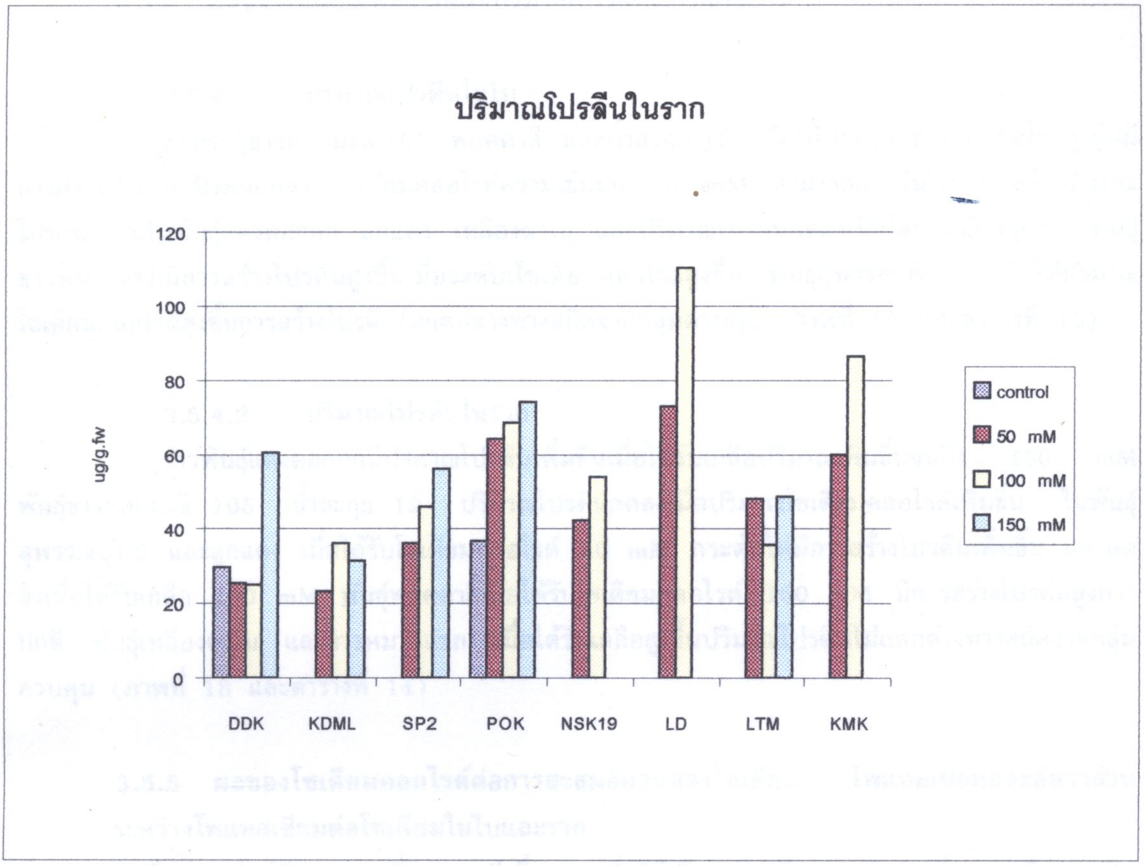
	DDK	KDML	SP2	POK	NSK19	LD	LTM	KMK
control	-0.454± 0.029	-0.276± 0.023	-0.272± 0.018	-0.413± 0.016	-0.405± 0.035	-0.400± 0.026	-0.383± 0.037	-0.391± 0.007
50 mM	-0.506± 0.036*	-0.410± 0.016*	-0.317± 0.022	-0.602± 0.017*	-0.467± 0.010*	-0.636± 0.020*	-0.540± 0.052*	-0.631± 0.021*
100 mM	-0.640± 0.035*	-0.478± 0.029*	-0.329± 0.030	-0.773± 0.019*	-0.545± 0.023*	-0.732± 0.038*	-0.499± 0.038*	-0.752± 0.016*
150 mM	-0.528± 0.019*	-0.371± 0.059*	-0.596± 0.013*	-0.917± 0.027*	-	-	-0.551± 0.064*	-



ภาพที่ 15 ปริมาณโปรลีน (μg/g น้ำหนักสด) ในใบข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM

ตารางที่ 11 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานปริมาณโปรลีน (μg/g น้ำหนักสด) ในใบข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM (* แตกต่างจาก Control $p \leq 0.05$)

	DDK	KDML	SP2	POK	NSK19	LD	LTM	KMK
con	1.99± 0.63	34.16± 3.83	0	120.63± 12.88	34.65± 6.08	0	28.08± 15.72	0
50 mM	27.766± 2.96*	52.24± 4.93*	62.87± 7.47*	101.77± 20.87	85.94± 8.01*	117.89± 26.50*	78.50± 13.74*	120.89± 8.31*
100 mM	101.61± 9.51*	124.64± 12.00*	117.62± 34.83*	115.12± 69.59	173.14± 22.33*	341.77± 86.61*	156.07± 19.76*	234.40± 19.69*
150 mM	227.57± 12.53*	175.11± 7.02*	160.43± 31.84*	124.14± 26.70	-	-	211.11± 13.59*	-



ภาพที่ 16 ปริมาณโปรลีน (μg/g น้ำหนักสด) ในรากข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0-150 mM

ตารางที่ 12 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานปริมาณโปรลีน (μg/g น้ำหนักสด) ในรากข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM (* แตกต่างจาก Control $p \leq 0.05$)

	DDK	KDML	SP2	POK	NSK19	LD	LTM	KMK
con	29.49± 6.223	0	0	36.7± 43.428	0	0	0	0
50mM	25.46± 2.340	23.40± 0.943*	36.27± 5.052*	64.2± 16.408*	41.9± 4.584*	73.134± 10.620*	48.29± 6.343*	60.23± 4.839*
100mM	24.72± 5.058	36.22± 1.125*	45.71± 10.142*	68.41± 17.825*	53.81± 8.071*	110.296± 37.814*	35.94± 8.110*	86.44± 10.978*
150mM	60.34± 5.549*	31.56± 0.973*	56.33± 5.566*	73.967± 24.955*	-	-	48.43± 13.338*	-

3.5.4 ผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อปริมาณโปรตีนในใบและราก

3.5.4.1 ปริมาณโปรตีนในใบ

ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 พอคคาลี และน้ำสะกุย 19 เมื่อให้ปริมาณโซเดียมคลอไรด์สูงขึ้นมีการสร้างปริมาณโปรตีนลดลง โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 50 .mM สามารถกระตุ้นให้มีการสร้างปริมาณโปรตีนสูงขึ้นในพันธุ์แดงดอกกก ลูกแดง เหลืองตาโม และปริมาณโปรตีนลดลงเมื่อได้รับเกลือที่สูงขึ้น พันธุ์ขาวหมากแขกมีการสร้างโปรตีนสูงขึ้นเมื่อระดับเโซเดียมคลอไรด์สูงขึ้น พันธุ์สุพรรณบุรี 2 เมื่อให้ปริมาณโซเดียมคลอไรด์สูงขึ้นการสร้างโปรตีนไม่แตกต่างทางสถิติจากกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 17 และตารางที่ 13)

3.5.4.2 ปริมาณโปรตีนในราก

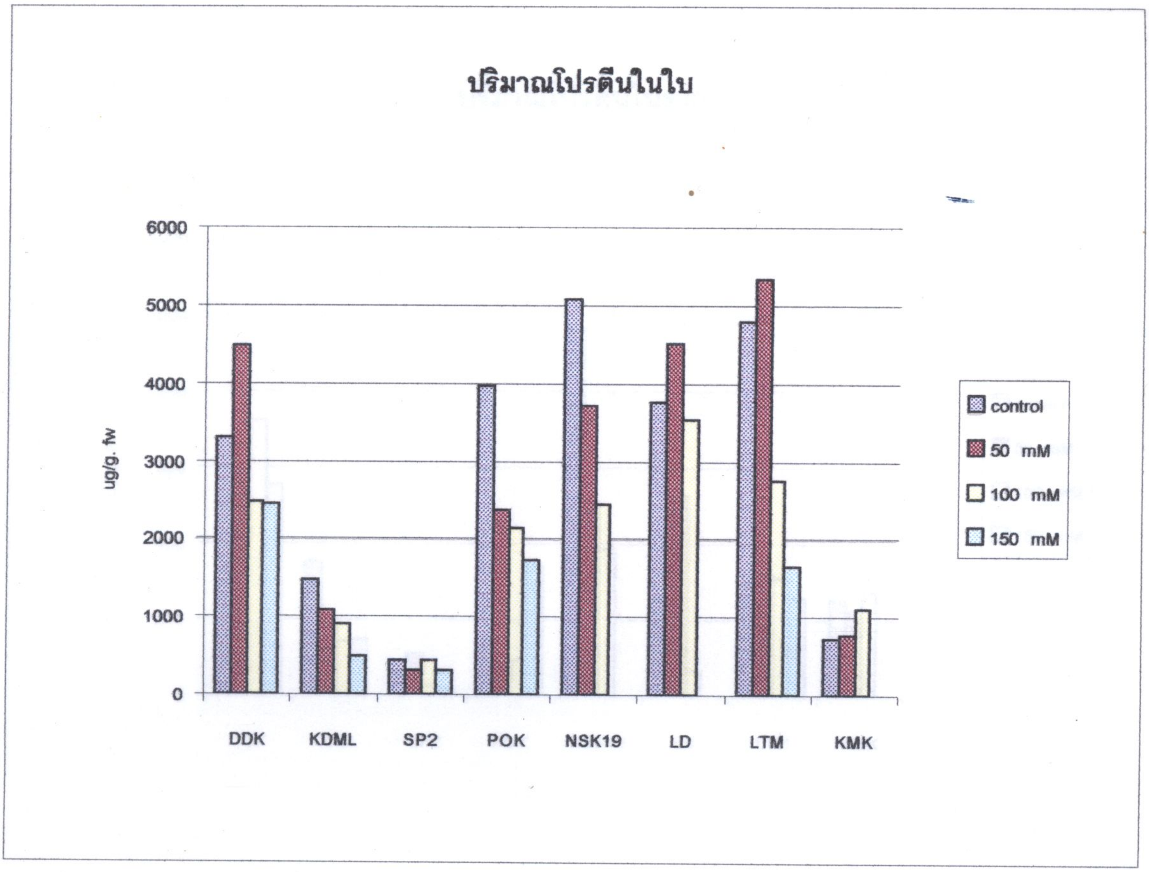
ข้าวพันธุ์แดงดอกกกมีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับเกลือปริมาณเพิ่มขึ้นจนถึง 150 mM พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 น้ำสะกุย 19 ปริมาณโปรตีนลดลงเมื่อปริมาณโซเดียมคลอไรด์เพิ่มขึ้น ในพันธุ์สุพรรณบุรี 2 และลูกแดง เมื่อได้รับโซเดียมคลอไรด์ 50 mM กระตุ้นให้มีการสร้างโปรตีนเพิ่มขึ้น และลดลงเมื่อได้รับเกลือ 100 mM พันธุ์พอคคาลีเมื่อได้รับโซเดียมคลอไรด์ 150 mM มีการสร้างโปรตีนสูงกว่าปกติ พันธุ์เหลืองตาโม และขาวหมากแขก เมื่อได้รับเกลือสูงขึ้นปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างทางสถิติจากกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 18 และตารางที่ 14)

3.5.5 ผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อการสะสมอิออนของโซเดียม โพแทสเซียมและอัตราส่วนระหว่างโพแทสเซียมต่อโซเดียมในใบและราก

โซเดียมคลอไรด์มีการสะสมที่ใบมากกว่าที่ราก เมื่อให้ปริมาณโซเดียมคลอไรด์สูงขึ้น จะมีการสะสมโซเดียมสูงขึ้นและการสะสมโพแทสเซียมลดลงทั้งในส่วนใบและรากอัตราส่วนระหว่างปริมาณการสะสมโพแทสเซียมต่อโซเดียมในใบและรากมีค่าลดลงเมื่อให้ปริมาณโซเดียมคลอไรด์เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 19-22 และตารางที่ 15-18)

3.5.6 ผลของโซเดียมคลอไรด์ต่ออัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง

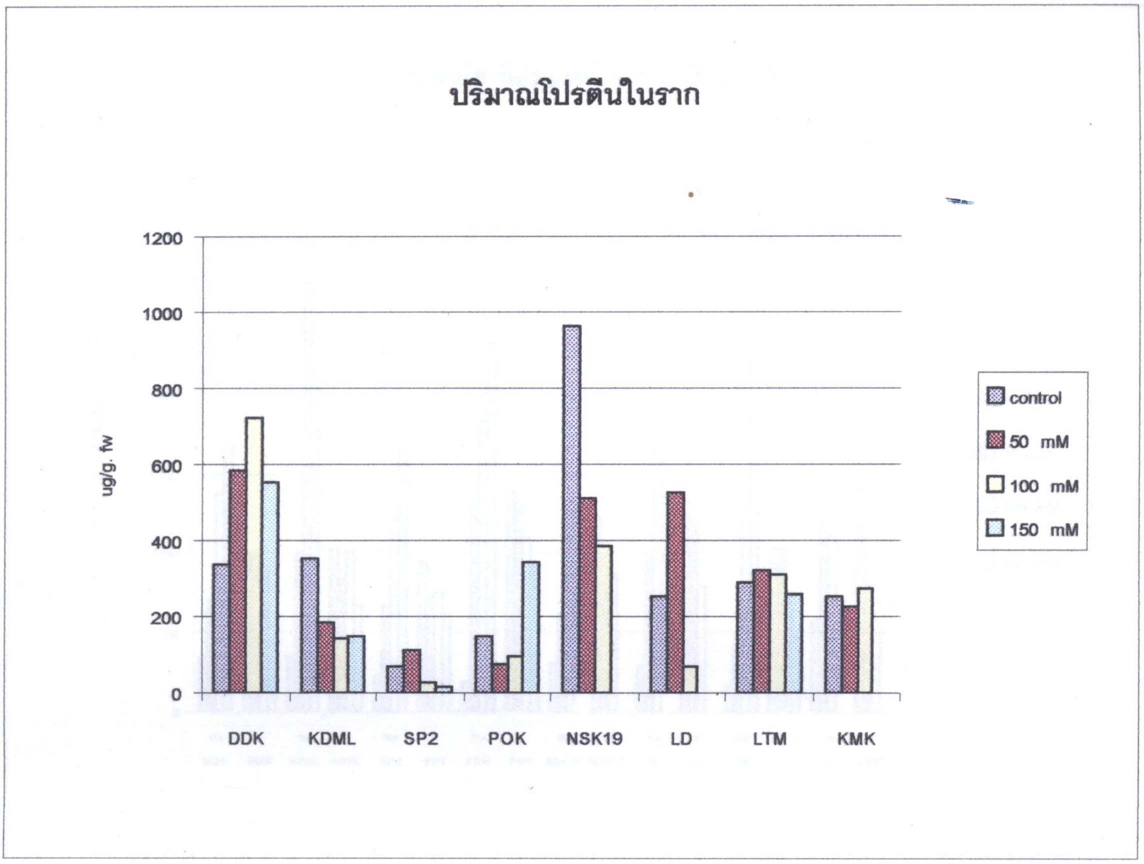
ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ขาวหมากแขก ลูกแดง น้ำสะกุย 19 และ พอคคาลี เมื่อได้รับโซเดียมคลอไรด์ 100 mM 24 ชั่วโมงพบว่าอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงลดลง พันธุ์สุพรรณบุรี 2 เมื่อได้รับโซเดียมคลอไรด์ 100 mM 48 ชั่วโมงพบว่าอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงลดลง พันธุ์แดงดอกกก และเหลืองตาโมเมื่อได้รับโซเดียมคลอไรด์ 100 mM พบว่าอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงลดลงไม่แตกต่างทางสถิติจากกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 23 และตารางที่ 19)



ภาพที่ 17 ปริมาณโปรตีน (μg/g น้ำหนักสด) ในใบข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM

ตารางที่ 13 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานปริมาณโปรตีน (μg/g น้ำหนักสด) ในใบข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM (* แตกต่างจาก Control $p \leq 0.05$)

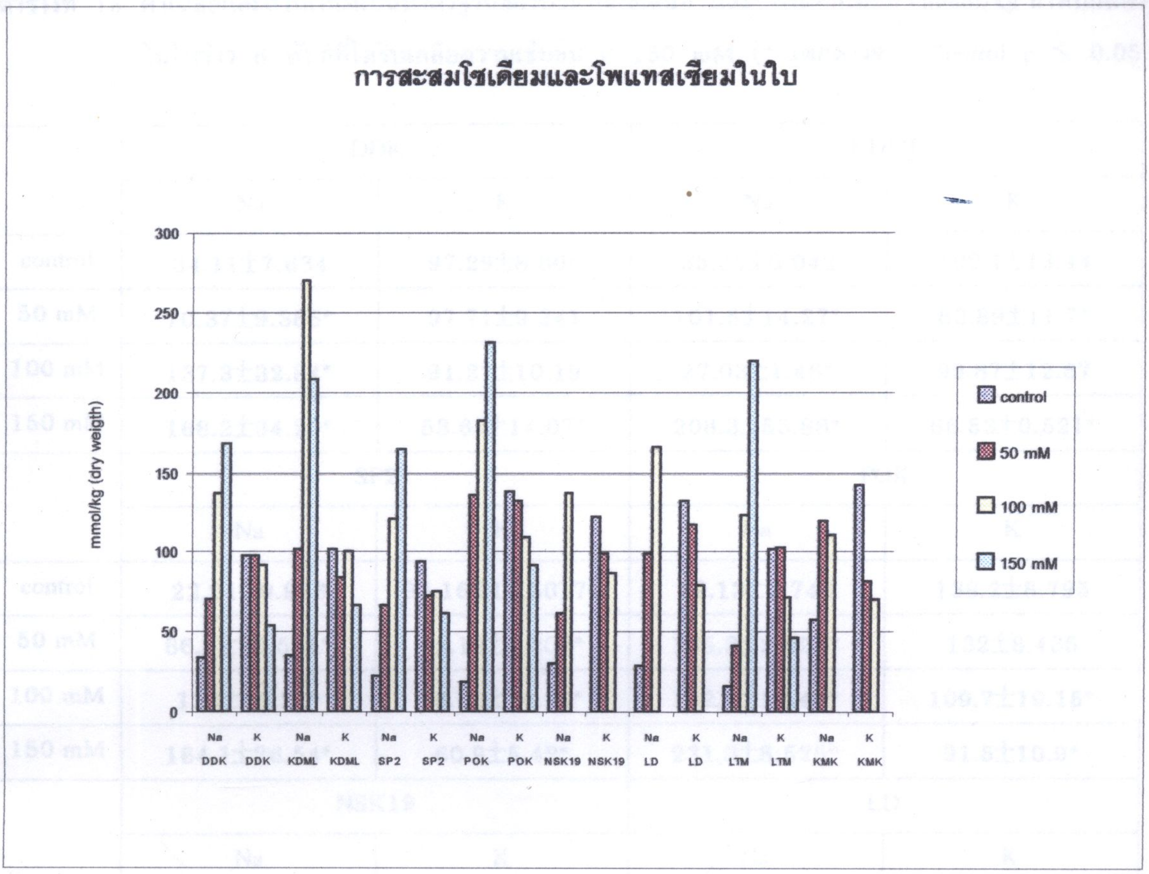
	DDK	KDML	SP2	POK	NSK19	LD	LTM	KMK
con	3297.57± 790.60	1474.87± 493.50	428.00± 119.48	3969.86± 1163.61	5073.12± 996.29	3761.53± 651.01	4788.08± 658.37	722.59± 149.13
50 mM	4487.67± 1101.75*	1086.39± 420.04	320.82± 120.52	2378.42± 329.22*	3718.98± 1255.98*	4499.63± 2496.87*	5335.84± 750.05	784.34± 144.66
100 mM	2461.12± 1693.72*	898.88± 93.27*	449.05± 115.37	2129.55± 428.05*	2438.19± 597.15*	3526.66± 1654.66*	2751.52± 181.17*	1118.89± 259.33*
150 mM	2456.92± 882.98*	498.26± 190.54*	314.70± 112.95	1731.07± 385.93*	-	-	1648.62± 127.63*	-



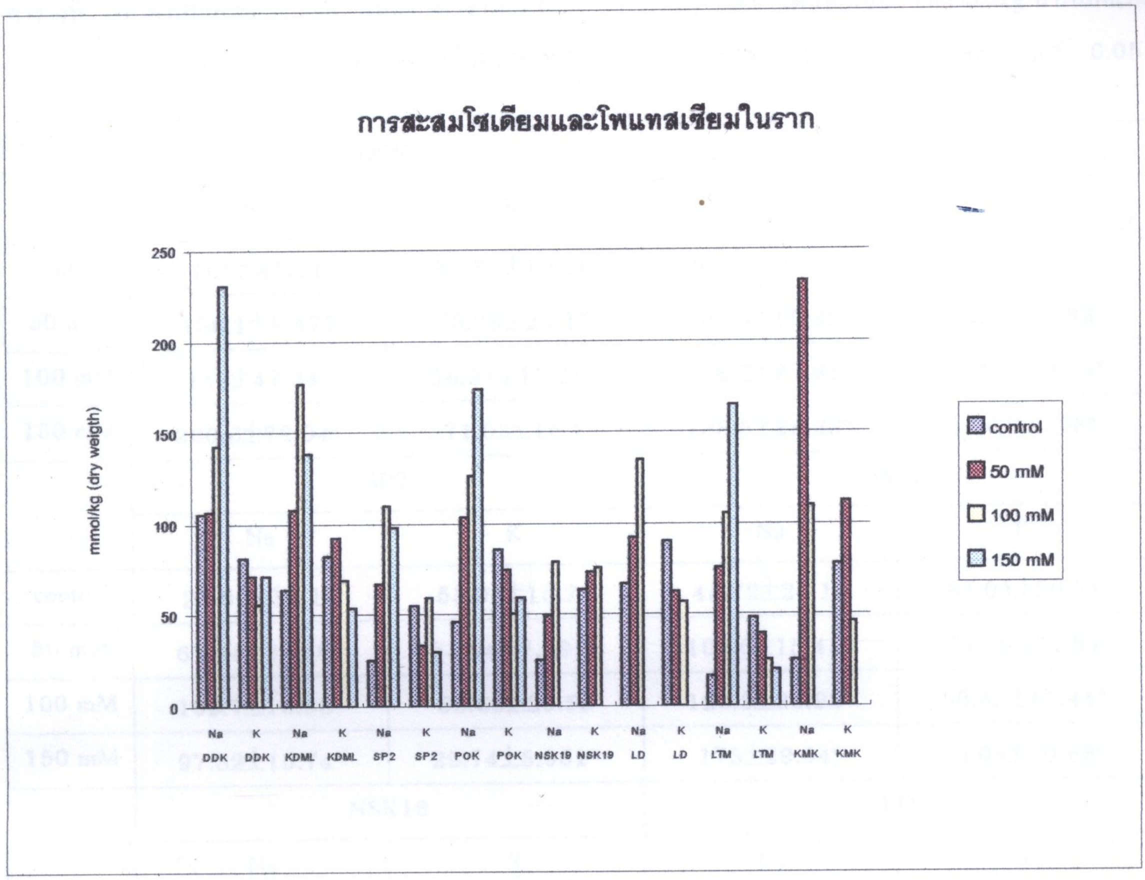
ภาพที่ 18 ปริมาณโปรตีน (μg/g น้ำหนักสด) ในรากข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM

ตารางที่ 14 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานปริมาณโปรตีน (μg/g น้ำหนักสด) ในรากข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM (* แตกต่างจาก Control $p \leq 0.05$)

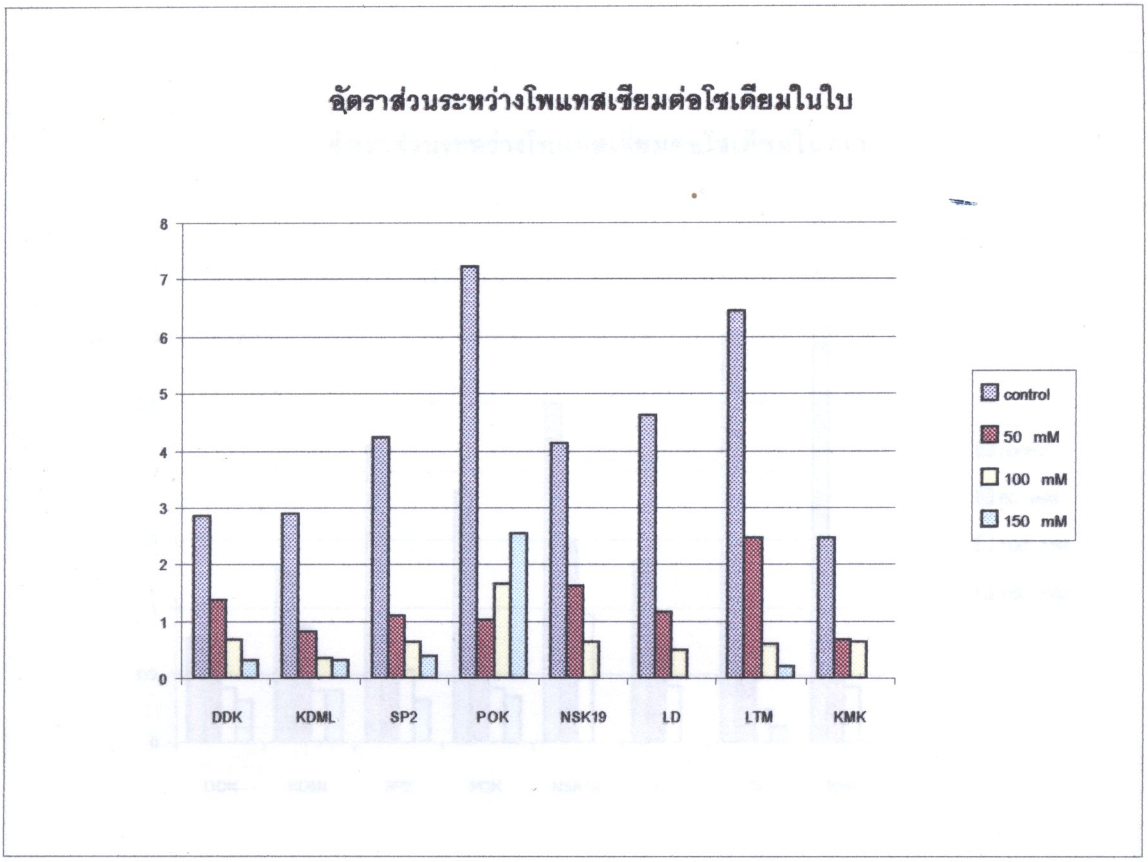
	DDK	KDML	SP2	POK	NSK19	LD	LTM	KMK
con	334.45± 111.15	352.56± 27.25	70.66± 10.18	144.84± 113.55	965.01± 375.90	250.40± 49.65	288.45± 112.01	251.95± 58.10
50 mM	581.98± 189.15*	183.40± 51.14*	110.47± 28.41*	73.93± 31.30*	508.14± 129.59*	523.69± 231.58*	319.44± 38.59	223.74± 73.23
100 mM	721.46± 32.51*	142.12± 23.03*	27.34± 31.32*	92.71± 18.01*	384.12± 225.36*	68.79± 16.67*	308.78± 101.51	271.62± 130.25
150 mM	552.29± 204.80*	149.23± 34.29*	15.68± 2.12*	340.47± 490.08*	-	-	258.26± 62.25	-



ภาพที่ 19 ปริมาณ Na และ K (mmol/kg น้ำหนักแห้ง) ในใบข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0-150 mM



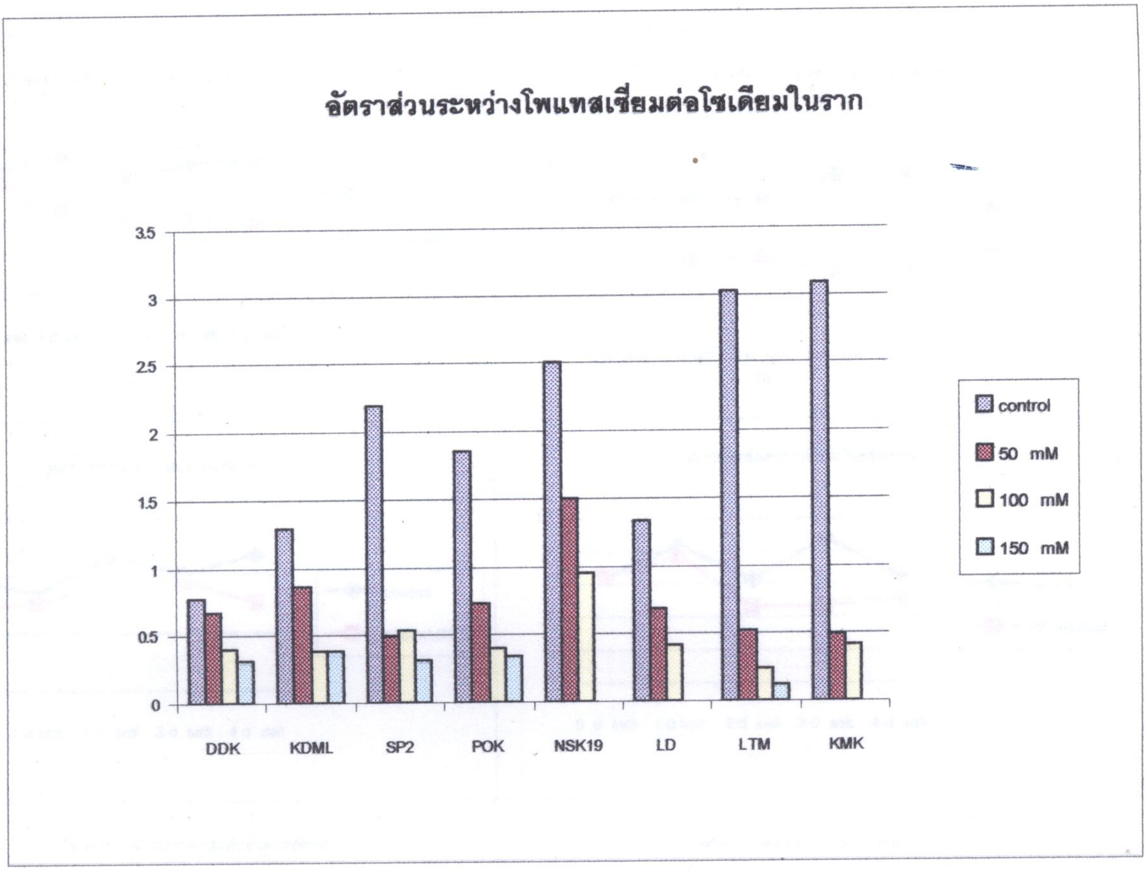
ภาพที่ 20 ปริมาณ Na และ K (mmol/kg น้ำหนักแห้ง) ในรากข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM



ภาพที่ 21 อัตราส่วนระหว่างโพแทสเซียมกับโซเดียมในใบข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM

ตารางที่ 17 อัตราส่วนระหว่างโพแทสเซียมกับโซเดียมในใบข้าว 8 พันธุ์เมื่อได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM (* แตกต่างจาก Control $p \leq 0.05$)

ใบ	DDK	KDML	SP2	POK	NSK19	LD	LTM	KMK
Control	2.852	2.887	4.240	7.224	4.109	4.629	6.451	2.459
50 mM	1.388*	0.826*	1.081*	1.025*	1.613*	1.174*	2.474*	0.681*
100 mM	0.664*	0.369*	0.629*	1.660*	0.638*	0.480*	0.582*	0.637*
150 mM	0.319*	0.319*	0.371*	2.528*	–	–	0.212*	–



ภาพที่ 22 อัตราส่วนระหว่างโพแทสเซียมกับโซเดียมในรากข้าว 8 พันธุ์ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM

ตารางที่ 18 อัตราส่วนระหว่างโพแทสเซียมกับโซเดียมในรากข้าว 8 พันธุ์เมื่อได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-150 mM (* แตกต่างจาก Control $p \leq 0.05$)

ราก	DDK	KDML	SP2	POK	NSK19	LD	LTM	KMK
control	0.7699	1.2851	2.1961	1.8599	2.5049	1.3337	3.0218	3.0841
50 mM	0.6672	0.8580*	0.4927*	0.7238*	1.4964*	0.6753*	0.5181*	0.4820*
100 mM	0.3957*	0.3926*	0.5347*	0.3989*	0.9507*	0.4213*	0.2379*	0.4197*
150 mM	0.3079*	0.3869*	0.3055*	0.3415*	-	-	0.1176*	-

ตารางที่ 19 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงของข้าว 8 พันธุ์เมื่อได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 mM เป็นเวลา 4 วันมีหน่วยเป็น $\mu mol\ CO_2\ m^{-2}\ s^{-1}$

	0 d salt	1 d salt	2 d salt	3 d salt	4 d salt
Control KDML	8.563± 1.632	9.439± 2.452	8.015± 2.216	8.861± 1.775	9.096± 2.295
Salt KDML	7.782± 2.458	5.805± 2.258*	5.462± 2.079*	5.254± 0.841*	4.900± 1.673*
Control KMK	15.687± 4.184	15.716± 5.674	15.799± 3.223	18.722± 6.155	19.082± 3.178
Salt KMK	17.246± 2.197	7.340± 1.299*	7.636± 1.340*	5.547± 1.303*	5.604± 1.756*
Control LTM	9.992± 5.884	8.408± 2.107	11.704± 3.744	10.149± 2.263	11.799± 3.458
Salt LTM	7.187± 2.692	7.644± 4.142	9.236± 2.890*	9.393± 2.540	7.618± 3.236*
Control SP2	6.477± 2.260	8.341± 1.838	6.277± 1.518	8.806± 3.195	6.540± 1.476
Salt SP2	6.410± 1.963	7.699± 4.812	4.618± 3.379	4.672± 1.885*	4.958± 1.485*
Control DDK	7.971± 1.658	9.109± 1.025	12.381± 2.998	12.622± 3.569	11.125± 3.310
Salt DDK	7.552± 2.714	7.502± 2.445	10.710± 2.853	10.203± 3.398	10.400± 3.327
Control LD	13.525± 1.952	15.507± 3.196	15.075± 1.901	16.680± 1.988	17.360± 1.794
Salt LD	12.849± 1.953	12.049± 1.979*	10.208± 2.761*	7.492± 4.293*	6.703± 3.944*
Control NSK19	7.629± 2.022	7.894± 1.372	7.076± 1.712	7.458± 2.458	8.506± 1.432
Salt NSK19	7.076± 1.387	6.174± 2.320	6.219± 2.824	4.608± 1.218*	4.700± 0.982*
Control POK	8.673± 1.110	11.418± 4.944	13.232± 1.856	14.625± 5.069	16.593± 2.827
Salt POK	12.885± 2.886	9.281± 2.737	10.231± 3.221*	7.868± 2.824*	8.314± 2.733*

3.5.9 ผลของโซเดียมคลอไรด์ที่มีต่อแบบแผนโปรตีน

3.5.9.1 การศึกษาอิเล็กโตรโฟรีซิสของโปรตีนที่สกัดจากใบข้าวที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0-150 mM

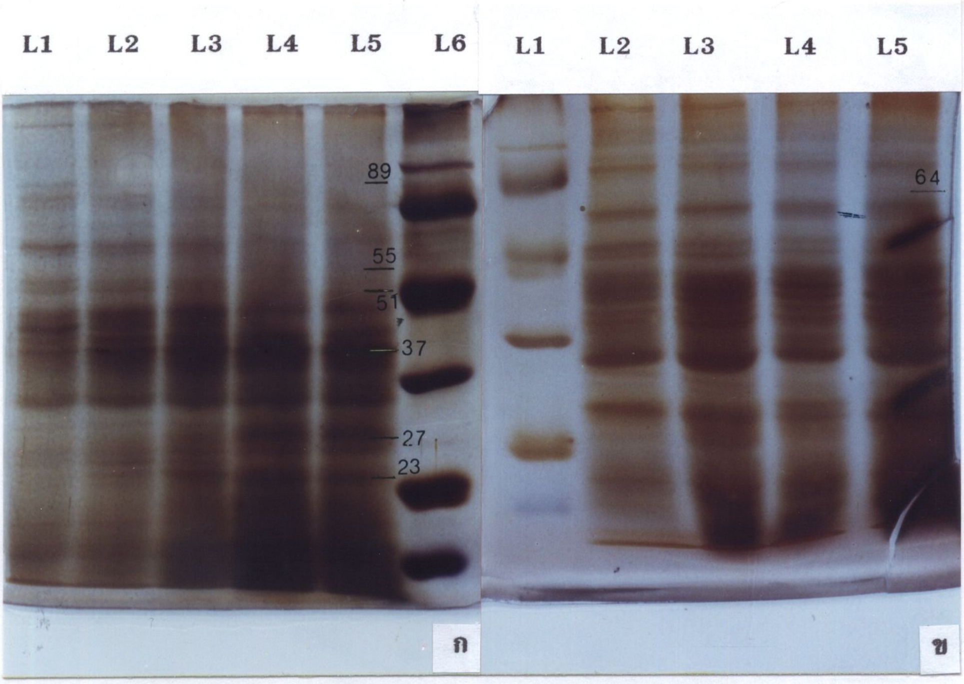
โปรตีนในใบข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นคือ 55, 37, 27, 23 kD และโปรตีนที่มีขนาด 89 และ 51 kD ลดลง (ภาพที่ 24) โปรตีนในใบพันธุ์แดงดอกกกที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นคือ 64 และ 25 kD (ภาพที่ 24) โปรตีนในใบพันธุ์สุพรรณบุรี 2 ที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นคือ 62 และ 42 kD และโปรตีนที่มีขนาด 55 kD มีปริมาณลดลง (ภาพที่ 25) โปรตีนในใบพันธุ์น้ำสะกุย 19 ที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นคือ 65 kD (ภาพที่ 25) โปรตีนในใบพันธุ์เหลืองตาโมที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นคือ 64 kD และโปรตีนที่มีขนาด 46 และ 39 kD มีปริมาณลดลง (ภาพที่ 26) โปรตีนในใบพันธุ์พอคคาลีที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นคือ 68 และ 61 kD และโปรตีนที่มีขนาด 35, 28 และ 26 kD มีปริมาณลดลง (ภาพที่ 26) โปรตีนในใบพันธุ์ขาวหมากแขกที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นคือ 95 kD และโปรตีนที่มีขนาด 28 และ 22 kD มีปริมาณลดลง (ภาพที่ 27) โปรตีนในใบพันธุ์ลูกแดงที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นคือ 62, 53 และ 49 kD และโปรตีนที่มีขนาด 76 kD มีปริมาณลดลง (ภาพที่ 27)

3.5.9.2 การศึกษาอิเล็กโตรโฟรีซิสของโปรตีนที่สกัดจากรากข้าวที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0-150 mM

โปรตีนในรากพันธุ์แดงดอกกกที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นคือ 37 kD และ โปรตีนที่มีขนาด 67 kD มีปริมาณลดลง (ภาพที่ 28) โปรตีนในรากพันธุ์สุพรรณบุรี 2 ที่มีปริมาณลดลงคือ 67 kD (ภาพที่ 28) โปรตีนในรากพันธุ์น้ำสะกุย 19 ที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นคือ 86 kD (ภาพที่ 29) โปรตีนในรากพันธุ์ขาวหมากแขกที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นคือ 82, 67 kD และ โปรตีนที่มีขนาด 46 kD มีปริมาณลดลง (ภาพที่ 29) โปรตีนในรากพันธุ์พอคคาลีที่มีปริมาณลดลงคือ 61, 41 และ 39 kD (ภาพที่ 30) โปรตีนในรากพันธุ์ลูกแดงที่มีปริมาณลดลงคือ 33 kD (ภาพที่ 30) โปรตีนในรากพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นคือ 77 kD (ภาพที่ 31) โปรตีนในรากพันธุ์เหลืองตาโมที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นคือ 29 kD (ภาพที่ 31)

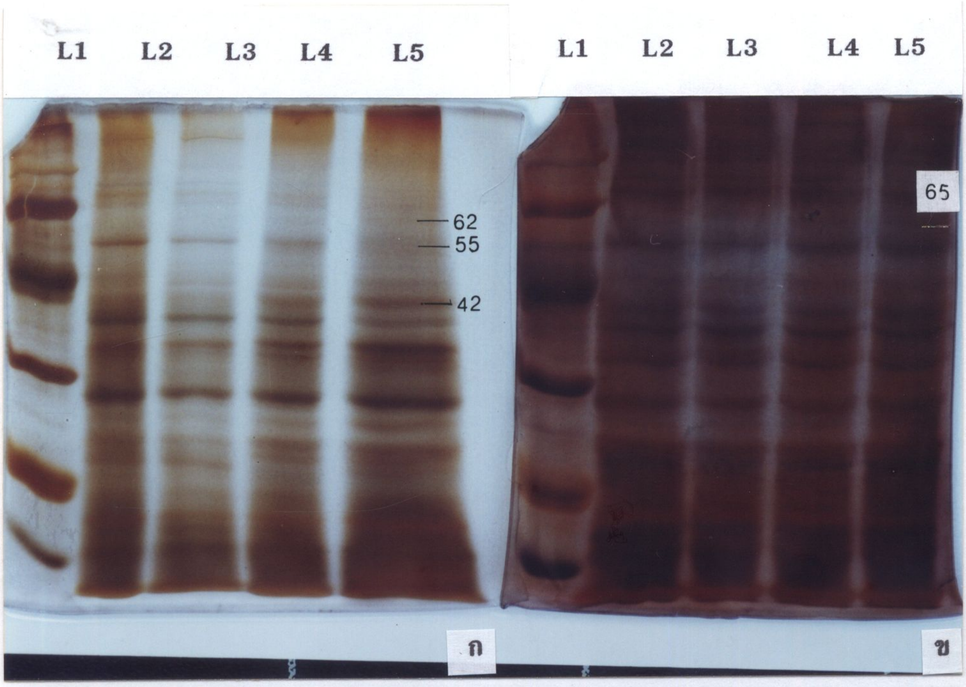
ตารางที่ 20 โปรตีนที่เพิ่มขึ้นและลดลงในส่วนของใบและรากข้าว 8 พันธุ์

โปรตีนในใบข้าว พันธุ์	โปรตีนที่เพิ่มขึ้น (kD)	โปรตีนที่ลดลง (kD)	แสดงในภาพที่	โปรตีนในรากข้าว พันธุ์	โปรตีนที่เพิ่มขึ้น (kD)	โปรตีนที่ลดลง (kD)	แสดงในภาพที่
ขาวดอกมะลิ 105	55,37, 27,23	89,51	24	แดงดอกกก	37	67	28
แดงดอกกก	64,25	-	24	สุพรรณบุรี 2	-	67	28
สุพรรณบุรี 2	62,42	55	25	น้ำสะกุย 19	86	-	29
น้ำสะกุย 19	65	-	25	ขาวหมากแขก	82, 67	46	29
เหลืองตาโม	64	46,39	26	พอคคาลี	61,41,39	-	30
พอคคาลี	68,61	35	26	ลูกแดง	-	33	30
ขาวหมากแขก	95	28,22	27	ขาวดอกมะลิ 105	77	-	31
ลูกแดง	62,53, 49	76	27	เหลืองตาโม	29	-	31



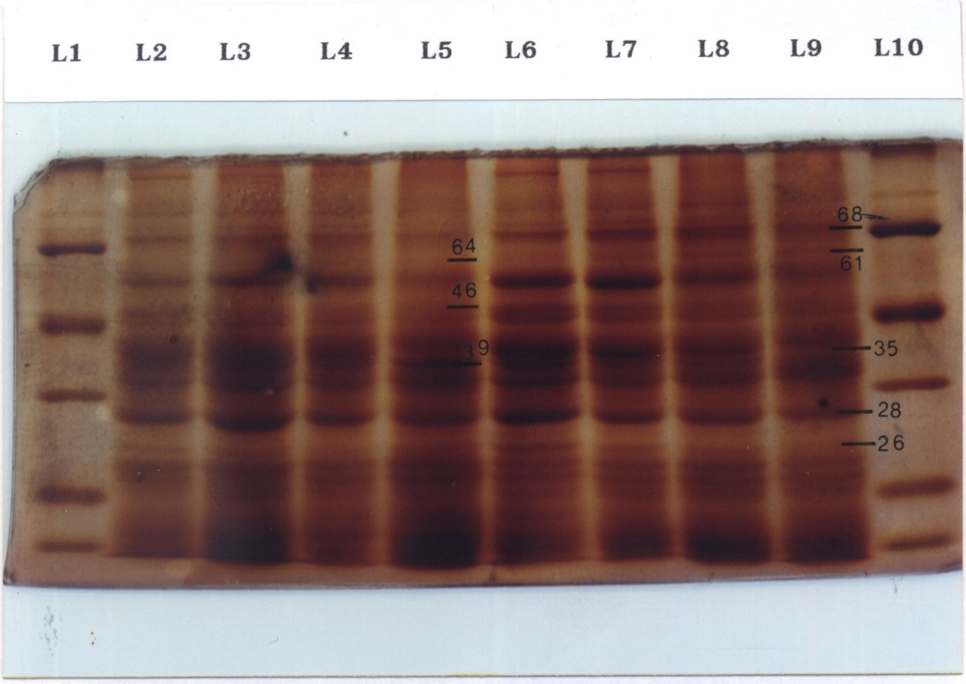
ภาพที่ 24 (ก) แบบแผนโปรตีนจากใบข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (L1 = control, L2 = 50 mM, L3 = 100 mM, L4 = 150 mM, L5 = 150 mM และ L6 = Protein standards)

(ข) แบบแผนโปรตีนจากใบข้าวพันธุ์แดงดอกกก (L1 = Protein standards , L2 = control, L3 = 50 mM, L4 = 100 mM และ L5 = 150 mM)

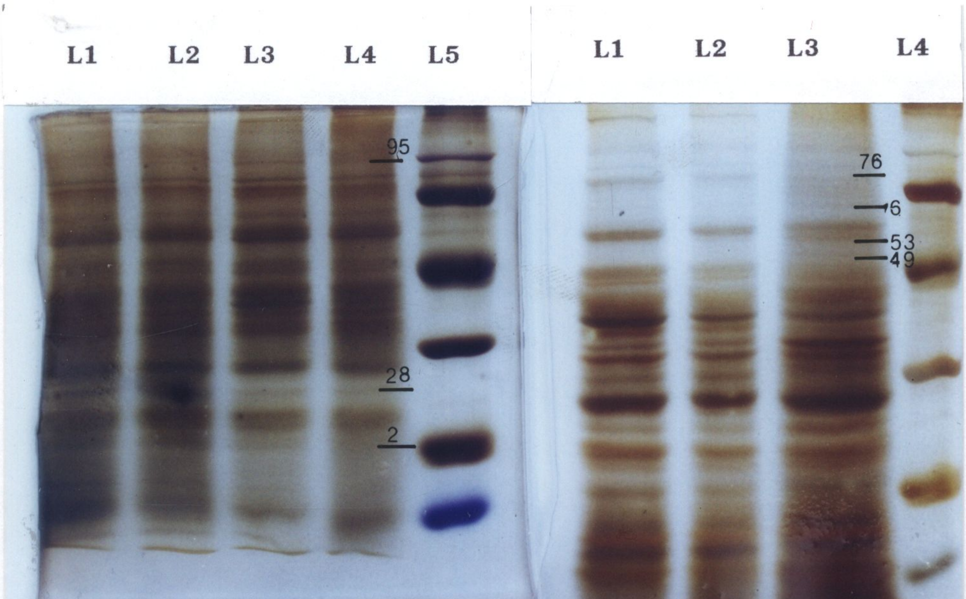


ภาพที่ 25 (ก) แบบแผนโปรตีนจากใบข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 2 (L1 = Protein standards, L2 = control, L3 = 50 mM, L4 = 100 mM และ L5 = 150 mM)

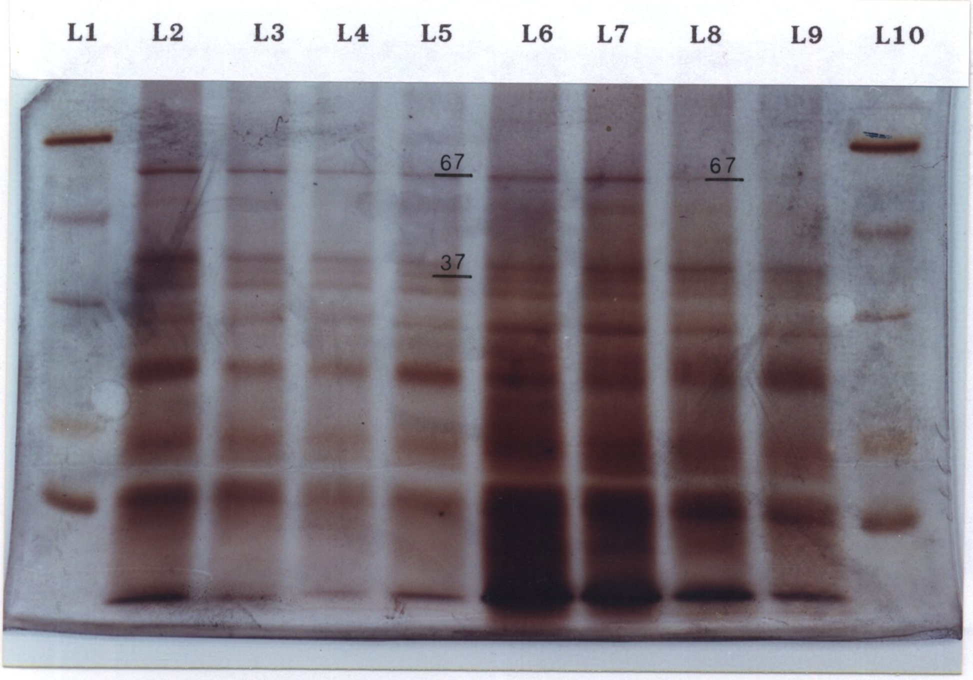
(ข) แบบแผนโปรตีนจากใบข้าวน้ำสะกุย 19 (L1 = Protein standards, L2 = control, L3 = 50 mM, L4 = 100 mM และ L5 = 100 mM)



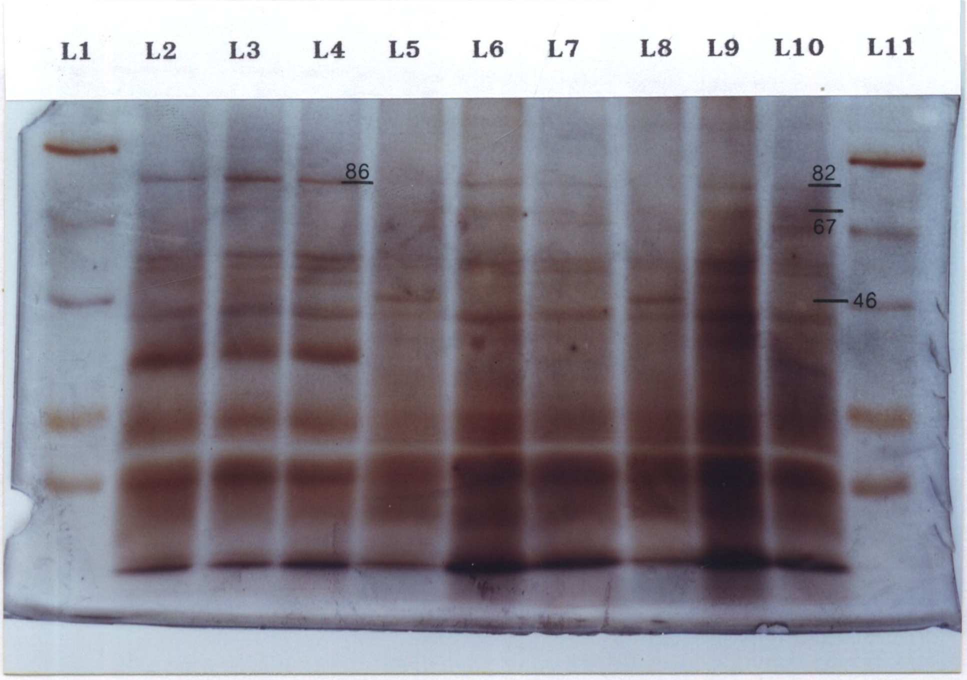
ภาพที่ 26 (ก) แบบแผนโปรตีนจากใบข้าวพันธุ์เหลืองตาโม (L1 = Protein standards , L2 = control, L3 = 50 mM, L4 = 100 mM และ L5 = 150 mM)
(ข) แบบแผนโปรตีนจากใบข้าวพันธุ์พอคคาลี (L6 = control, L7 = 50 mM, L8 = 100mM, L9 = 150 mM และ L10 = Protein standards)



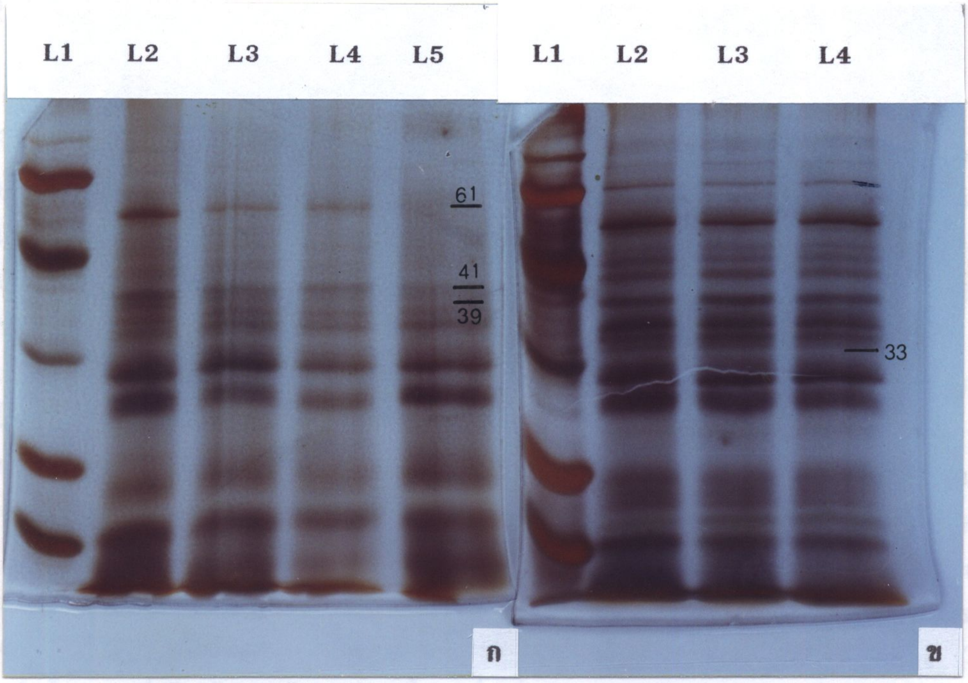
ภาพที่ 27 (ก) แบบแผนโปรตีนจากใบข้าวพันธุ์ขาวหมากแขก (L1 = control, L2 = 50 mM, L3 = 100 mM, L4 = 100 mM และ L5 = Protein standards)
(ข) แบบแผนโปรตีนจากใบข้าวพันธุ์ลูกแดง (L1 = control, L2 = 50 mM, L3 = 100 mM และ L4 = Protein standards)



ภาพที่ 28 แบบแผนโปรตีนจากรากข้าวพันธุ์แดงดอกกก (L1 = Protein standards, L2 = control, L3 = 50 mM, L4 = 100 mM และ L5 = 150 mM) แบบแผนโปรตีนจากรากข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 2 (L6 = control, L7 = 50 mM, L8 = 100 mM, L9 = 150 mM และ L10 = Protein standards)

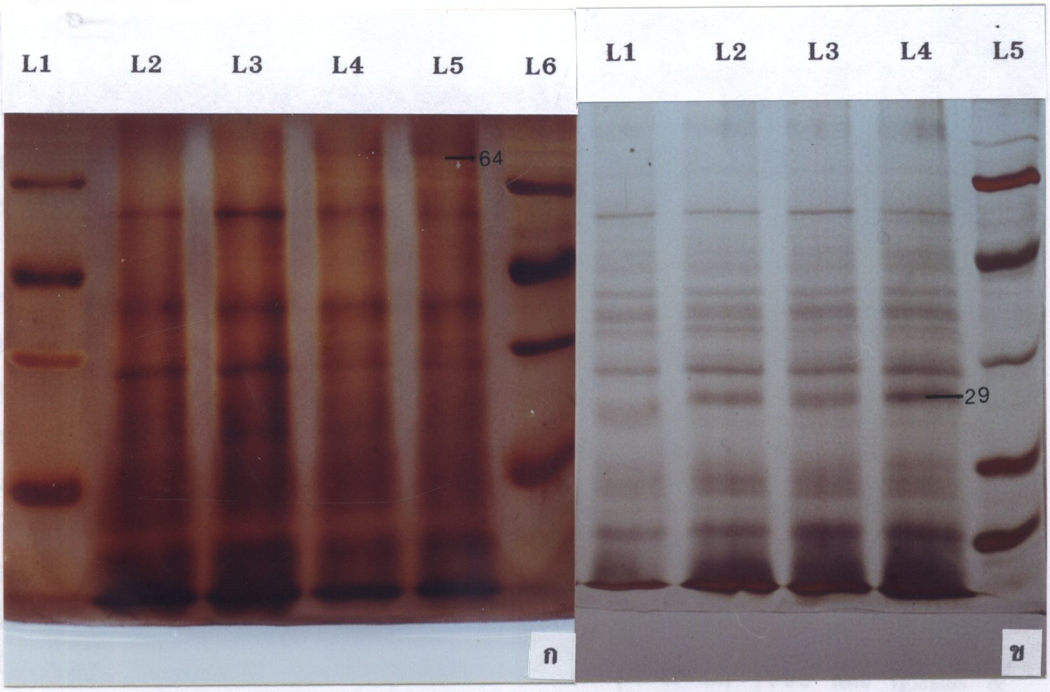


ภาพที่ 29 แบบแผนโปรตีนจากรากข้าวพันธุ์น้ำสะกุย 19 (L1 = Protein standards, L2 = control, L3 = 50 mM และ L4 = 100 mM) แบบแผนโปรตีนจากรากข้าวพันธุ์ขาวหมากแขก (L5 = control, L6 = 50 mM, L7 = 100 mM, L8 = control, L9 = 50 mM, L10 = 100 mM และ L11 = Protein standards)



ภาพที่ 30 (ก) แบบแผนโปรตีนจากรากข้าวพอคคาลี (L1 = Protein standards, L2 = control, L3 = 50 mM, L4 = 100 mM และ L5 = 150 mM)

(ข) แบบแผนโปรตีนจากรากข้าวพันธุ์ลูกแดง (L1 = Protein standards, L2 = control, L3 = 50 mM และ L4 = 100 mM)



ภาพที่ 31 (ก) แบบแผนโปรตีนจากรากข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (L1 = Protein standards, L2 = control, L3 = 50 mM, L4 = 100 mM, L5 = 150 mM และ L6 = Protein standards)

(ข) แบบแผนโปรตีนจากรากข้าวพันธุ์เหลืองตาโม (L1 = control, L2 = 50 mM, L3 = 100 mM, L4 = 150 mM และ L5 = Protein standards)

3.6 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาผลของเกลือที่มีต่อสรีรวิทยาในข้าว 8 พันธุ์ได้แก่ แดงดอกกก ขาวดอกมะลิ 105 สุพรรณบุรี 2 พอคคาลี ลูกแดง เหลืองตาโม น้ำสะกุย 19 และ ขาวหมากแขก ที่เลี้ยงในระบบสารละลายจนอายุ 17 วันและได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 50, 100 และ 150 mM พบว่าโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 50 mM มีผลในการกระตุ้นการเจริญเติบโตข้าวได้ดีกว่ากลุ่มควบคุมเล็กน้อย แต่เมื่อได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์สูงกว่า 50 mM พบว่าการเจริญเติบโตลดลง สอดคล้องกับ Faustino et al. (1996) ที่พบว่าเมื่อข้าวพันธุ์ IR 29 และ IR 9884 ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นมากกว่า 50 mM อัตราการเจริญเติบโตลดลง แต่ต้นข้าวที่ได้รับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 50 mM มีอัตราการเจริญเติบโตไม่แตกต่างทางสถิติกับกลุ่มควบคุม

ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบมีแนวโน้มสร้างมากขึ้นเมื่อได้รับเกลือสูงขึ้น ต้นข้าวแต่ละพันธุ์มีศักยภาพในการทนต่อความเค็มได้ไม่เท่ากัน เมื่อได้รับเกลือเกินจุดวิกฤตที่สามารถทนต่อความเค็มได้แล้ว คลอโรฟิลล์จะถูกทำลาย (Peris & Ranasinghe, 1993 และ Misra et al., 1997b) เนื่องจากพิษของเกลือหลังจากนั้นเนื้อเยื่อจะเริ่มเกิดการแก่ และใบเริ่มแห้ง การที่คลอโรฟิลล์สร้างเป็นจำนวนมากขึ้นเนื่องจาก ความสามารถในการลำเลียงน้ำขึ้นมาใช้ในต้นได้น้อยลง ในขณะที่พืชยังต้องคงระดับอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงให้ปกติดังนั้นเมื่อปริมาณน้ำน้อยลง พืชจึงสร้างคลอโรฟิลล์มากขึ้น เพื่อเพิ่มอัตราของปฏิกิริยาการแตกตัวของน้ำในขั้นตอนปฏิกิริยาแสงให้มากขึ้น

ค่าออสโมติกโพเทนเชียลในใบและรากเพิ่มขึ้น เมื่อระดับความเข้มข้นเกลือสูงขึ้น เนื่องมาจากในส่วนใบและรากมีการสร้างสารประกอบหลายประเภท หรืออาจเรียกโดยรวมว่าเป็นสารประกอบประเภท Osmoticum หรือ Osmoprotectant ที่ทำให้ค่าออสโมติกโพเทนเชียลภายในเซลล์ลดลง สารประกอบดังกล่าวอาจเป็นได้ทั้ง อิออนของแร่ธาตุต่าง ๆ กรดอะมิโน โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ที่เกิดจากการสะสม สร้างขึ้นมาใหม่ หรือเกิดจากการสลายตัวจากโมเลกุลใหญ่มาเป็นโมเลกุลย่อยที่มีขนาดเล็กลง เพื่อเพิ่มการกระจายตัวเพื่อทำหน้าที่ในการลดค่าออสโมติกโพเทนเชียล หรืออาจทำหน้าอย่างอื่นร่วมด้วย สารประกอบดังกล่าวที่ทราบกันแพร่หลายในปัจจุบันคือ โปรลีน (Pandey et al., 1989) ซึ่งตรวจพบในส่วนของใบ ลำต้น และราก ซึ่งสามารถให้เป็นตัวชี้อย่างคร่าว ๆ ได้ว่าพืชนั้นเคยได้รับสภาวะเค้น (stress) อยู่หรือไม่โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งโปรลีนจะมีมากขึ้นเมื่อได้รับสภาวะเค้นมากขึ้น ในการทดลองนี้สภาวะเค้นที่ต้นข้าวได้รับคือระดับความเข้มข้นเกลือที่สูงขึ้น พบว่าต้นข้าวมีการสร้างโปรลีนมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์สูงขึ้น ซึ่งอาจเป็นส่วนหนึ่งที่ทำให้ค่าออสโมติกโพเทนเชียลมีค่าลดลง (Lutt et al., 1996a และ Lutt et al., 1999) ยกเว้น ในพันธุ์พอคคาลีที่ปริมาณโปรลีนหลังจากที่ได้รับเกลือที่สูงขึ้นไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม แต่พบว่ามีการสร้างโปรลีนไว้อยู่แล้วถึงแม้ว่าจะไม่ได้รับความเค้นด้วยเกลือ ซึ่งอาจจะเป็นกลไกหนึ่งทางพันธุกรรมที่กำหนดมาในข้าวพันธุ์ทนเค็มพอคคาลี ซึ่งมีหลายกลไกที่พืชทนเค็มสร้างไว้รอเพื่อเตรียมรับสภาพและป้องกันอันตรายที่จะเกิดขึ้น เช่น การสะสมสารลิกนิน เพื่อรักษาสภาพของผนังเซลล์เป็นต้น (Bonilla et al., 1995)

โปรตีนมีปริมาณลดลงเมื่อระดับเกลือโซเดียมคลอไรด์สูงขึ้น เนื่องจากโปรตีนที่มีขนาดใหญ่หยุดการสร้างหรือได้สลายกลายเป็นโปรตีนที่มีขนาดโมเลกุลขนาดเล็กลง (Naqvi et al., 1992 และ Iglesias & Gonzalez, 1995) ดังนั้นปริมาณโปรตีนที่ตรวจพบจึงลดลง โปรตีนที่มีขนาดเล็ก ๆ ไม่สามารถตรวจพบได้อย่างละเอียดด้วยการทำปฏิกิริยากับสี Bio-Rad ที่กล่าวเช่นนั้นเนื่องจากการศึกษาแบบแผนโปรตีนพบว่ามีการสร้าง และสะสมโปรตีนที่มีขนาดโมเลกุลขนาดเล็กมาก เมื่อระดับความเข้มข้นเกลือสูงขึ้น โปรตีนที่มีขนาดเล็กบางส่วนอาจจะไม่ได้สลายมาจากโปรตีนโมเลกุลใหญ่อย่างเดียวแต่อาจจะสร้างขึ้นมาใหม่ หรืออาจจะมีอยู่แล้ว

แต่สร้างเพิ่มขึ้น การที่โปรตีนที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่สลายเป็นโปรตีนที่มีขนาดโมเลกุลเล็กลงนั้นเนื่องมาจากการทำงานของเอนไซม์ protease ที่มีกิจกรรมเพิ่มขึ้นเมื่อพืชอยู่ในสภาวะเค้น (Echevarria et al., 1995) เนื่องจากพืชต้องการเพิ่มการกระจายตัวของสารภายในเซลล์เพื่อลดค่าออสโมติกโพเทนเชียล และการเปลี่ยนแปลงหน้าที่ของโมเลกุลนำไปใช้ในส่วนอื่นที่สำคัญมากกว่าในขณะที่อยู่ในสภาวะเค้น

เนื่องจากการสลายตัวของโปรตีนบางกลุ่มหลังจากที่ได้รับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์สูงขึ้น อาจส่งผลให้การทำงานภายในเซลล์ไม่เป็นไปตามปกติ โดยเฉพาะการผลิตเอนไซม์ต่าง ๆ ที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและพัฒนา เอนไซม์บางชนิดผลิตน้อยลงหรืออาจยับยั้งการผลิต ทำให้การเจริญเติบโตและพัฒนาการของต้นข้าวช้ากว่าปกติ ส่งผลให้ต้นข้าวแคระแกรน ใบไม่แผ่ขยายและยืดยาว

จากการศึกษาการสะสมอิออนในใบและรากข้าวเมื่อได้รับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์มากขึ้น พบว่าปริมาณโซเดียมที่มีการสะสมมากขึ้นส่งผลให้มีการสะสมโพแทสเซียมน้อยลงทั้งในส่วนใบและราก (Alpaslan et al., 1999) ความเป็นพิษของโซเดียมปรากฏพร้อม ๆ กับอาการการขาดธาตุโพแทสเซียมโดยที่ใบจะเกิดอาการเหลือง ใบเริ่มบิดงอ และปลายใบแห้ง โดยเรียกอาการดังกล่าวว่า chlorosis และ necrosis โดยอาการที่เกิดขึ้นจะเริ่มเกิดจากใบที่เจริญเต็มที่แล้ว

อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงลดลงเมื่อได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 mM เป็นระยะเวลา 24-48 ชั่วโมง (Tiwari et al, 1997) ต้นข้าวที่ไม่สามารถทนเค็มได้จะตายในวันที่ 6 เนื่องจากการให้เกลือไม่ได้เป็นไปแบบทีละขั้นเป็นการให้เกลือครั้งเดียวแบบฉับพลัน ซึ่ง Liu et al. (1997) ได้ทดลองเพื่อพิสูจน์ว่าการไม่เพิ่มเกลือทีละขั้นจะทำให้ต้นข้าวตายเร็วกว่าปกติ และการให้เกลือทีละขั้นเป็นการกระตุ้นให้ต้นข้าวปรับตัวในการทนต่อความเค็มและสามารถมีชีวิตอยู่ในความเค็มได้นานกว่ากลุ่มที่ได้รับเกลือแบบฉับพลัน (Bonilla et al., 1995) การลดลงของอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงในพันธุ์ที่ไม่สามารถทนเค็มได้เนื่องมาจากต้นข้าวไม่สามารถปรับสมดุลภายในเซลล์ทำให้เซลล์ขาดน้ำอย่างรุนแรง พืชสร้างกลไกการป้องกันตัวไม่ทันจึงตายในที่สุด สำหรับต้นข้าวที่สามารถสังเคราะห์ด้วยแสงได้ปกติถึงแม้ว่าจะได้รับเกลือแบบฉับพลัน เนื่องมาจากพันธุ์ดังกล่าวเป็นพันธุ์ทนเค็มซึ่งมีกลไกการทนเค็มสร้างไว้เตรียมพร้อมอยู่แล้วจึงไม่ประสบปัญหาดังกล่าว

จากการนำผลการทดลองมาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ (Relative Performance)(Rahman et al., 1998) เพื่อทราบถึงพันธุ์ที่สามารถทนต่อความเค็มมากไปน้อยโดยนำข้อมูลในกลุ่มควบคุมเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 mM ตามลำดับดังนี้

ตารางที่ 21 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ (Relative Performance) เชิงเปรียบเทียบของพันธุ์ข้าว 8 พันธุ์

พันธุ์	DWL	DWR	TTCHL	K/Na (R)	K/Na (L)	PHOTO	TOTAL	I	ลำดับ
DDK	87.287	101.24	115.51	51.405	23.3091	80.836	459.58	0.8853	4
KDML	112.31	116.47	132.94	30.549	12.795	59.299	464.37	0.8945	3
SP2	102.03	110.02	155.15	24.349	14.8411	53.06	459.46	0.8851	5
POK	123.47	119.37	178.06	21.45	22.978	53.799	519.13	1	1
NSK19	117.86	116.63	83.057	37.956	15.5343	61.799	432.83	0.8338	6
LD	125.18	108.97	84.972	31.594	10.3732	44.915	406.01	0.7821	8
LTM	118.05	127.69	110.36	7.8735	9.02643	92.556	465.55	0.8968	2
KMK	131.72	114.21	104.82	13.609	25.9059	29.631	419.89	0.8088	7

จากค่า relative performance จะพบว่าในสภาพการทดลองในการวิจัยครั้งนี้พันธุ์พอคคาลีมีความทนเค็มมากที่สุด พันธุ์เหลืองตาโม ขาวดอกมะลิ 105 แดงดอกกก และสุพรรณบุรี 2 มีความทนเค็มในระดับที่ใกล้เคียงกัน รองลงมาจากพันธุ์พอคคาลี พันธุ์น้ำสะกุย 19 ขาวหมากแขก และ ลูกแดง มีความทนเค็มน้อยลงมาตามลำดับ

บทที่ 4
กายวิภาคศาสตร์ใบข้าวทนเค็ม

4.1 บทนำ

ในการเรียนรู้เกี่ยวกับส่วนต่าง ๆ ของพืชจำเป็นที่จะต้องศึกษาถึงลักษณะภายนอก ตลอดถึงโครงสร้างภายในของพืชควบคู่กันไปเสมอ การศึกษาทางด้านกายวิภาคศาสตร์ของพืช เป็นการศึกษาเกี่ยวกับรูปร่างลักษณะภายในเนื้อเยื่อชนิดต่าง ๆ การเจริญ การเปลี่ยนสภาพ และความสำคัญของเนื้อเยื่อ ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับวิชาทางพืชอีกหลายวิชา เช่น สรีรวิทยาของพืช อนุกรมวิธานและนิเวศวิทยา เป็นต้น ในงานวิจัยนี้การศึกษากายวิภาคศาสตร์เพื่อศึกษาผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อพัฒนาการและลักษณะเนื้อเยื่อ เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาระดับสูงต่อไป

4.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาลักษณะของเซลล์ในเนื้อเยื่อชั้นผิวใบ (epidermal cell) เซลล์คุม (guard cell) จำนวนปากใบ และ มีโซฟิลล์ (mesophyll) ระบบเนื้อเยื่อลำเลียงของใบข้าว 8 พันธุ์ได้แก่ แดงดอกกก ขาวดอกมะลิ 105 สุพรรณบุรี 2 พอคคาลี น้ำสะกุย 19 ลูกแดง เหลืองตาโม และ ขาวหมากแขก เมื่อได้รับความเค็มเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่ระดับ 0 และ 100 mM

4.3 วิธีการวิจัย

4.3.1 การปลูกข้าว

การปลูกข้าวในสารละลายเริ่มจากการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดข้าวด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ 5 % เป็นเวลา 5 นาที 2 ครั้งล้างด้วยน้ำกรอง 3 ครั้ง จากนั้นแช่ข้าวในน้ำกรองเป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้วจึงนำไปปลูกในตะแกรงที่วางบนถังดำโดยให้ระดับน้ำกรองในถังสูงท่วมตะแกรงและเมล็ดข้าวประมาณ 1 เซนติเมตร นำกระดาษดำปิดเพื่อไม่ให้ได้รับแสงเป็นระยะเวลา 5 วัน โดยสังเกตระดับน้ำในถังไม่ให้ลดลงมากไปกว่าเดิม เมื่อเมล็ดเริ่มงอก ให้ได้รับแสงเป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง และที่มืด 12 ชั่วโมง เมื่ออายุ 7 วัน เปลี่ยนน้ำกรองเป็นสารละลายอาหาร 1/3 เท่า 5 วัน 1/2 เท่า 5 วัน และ 1 เท่า จนอายุได้ 40 วัน จากนั้นให้เกลือโซเดียมคลอไรด์ 25 mM 5 วัน 50 mM 5 วัน 75 mM 5 วัน 100 mM 5 วัน จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างใส่ขวดดองและรักษาสภาพด้วย FAA 70 %

4.3.2 การศึกษาโครงสร้างผิวใบ

ศึกษาเซลล์ในเนื้อเยื่อชั้นผิวใบด้านบน (upper epidermis) ด้านล่าง (lower epidermis) ลอกด้วยใบมีดโกนบางจนเห็นชั้นเนื้อเยื่อเป็นชั้นเดียวแล้วนำชิ้นตัวอย่างย้อมสีซาฟรานิน (safranin 1 %) 12 ชั่วโมง ล้างสีออกโดยนำชิ้นตัวอย่างแช่และล้างน้ำ 3-4 ชั่วโมง จึงทำการดึงน้ำออกจากเซลล์ด้วยแอลกอฮอล์ 15 %, 30 %, 50 %, 70 %, 90 %, 95 %, 100 % จากนั้นแช่ชิ้นตัวอย่างในสารละลายที่เป็นส่วนผสมของ

absolute alcohol กับ xylene และ pure xylene ตามลำดับ ทุกขั้นตอนใช้เวลา 10 นาที แล้วจึงผนึกสไลด์ วัดขนาดเซลล์คุม และจำนวนเซลล์คุม ด้วย ocular micrometer ที่กำลังขยาย 400 เท่า

4.3.3 การศึกษาภาคตัดขวางของใบ

โดยรักษาเซลล์ใน FAA (formalin-acetic acid-ethyl alcohol 70 %) ดึงน้ำออกด้วย tertiary butyl alcohol ฝังตัวอย่างใน paraplast ตัดตัวอย่างหนา 10-15 ไมโครเมตร ย้อมด้วยสี safranin และ fast green (ภาคผนวกที่ 2)

4.4 ผลการทดลอง

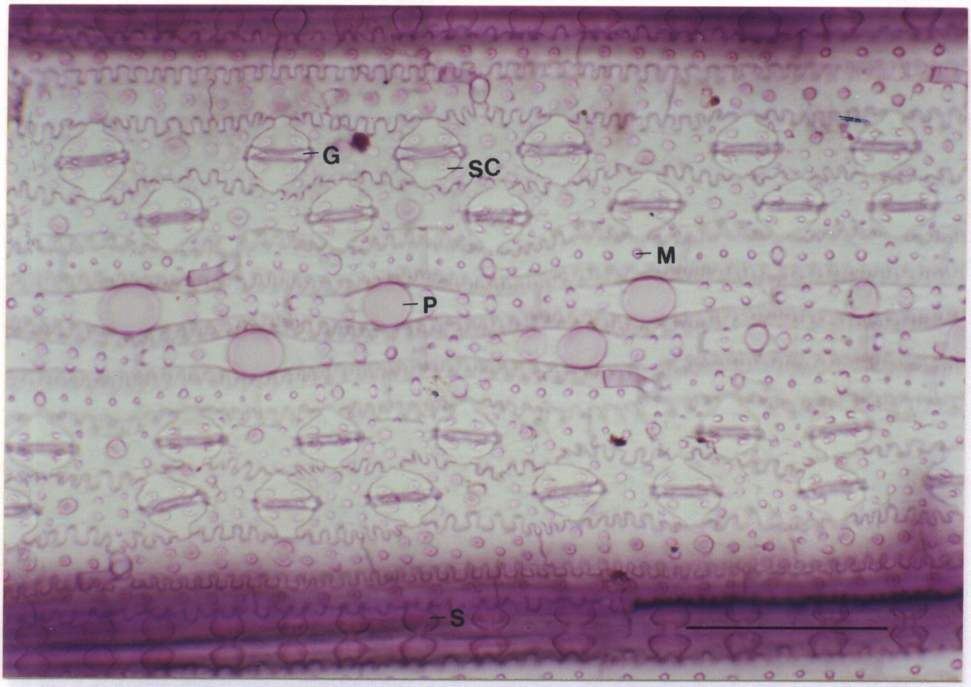
4.4.1 ลักษณะกายวิภาคทั่วไปของใบข้าว

ข้าว 8 พันธุ์ได้แก่ แดงดอกกก ขาวดอกมะลิ 105 สุพรรณบุรี 2 พอคคาลี น้ำสะกุย 19 ลูกแดงเหลืองตาโม และ ขาวหมากแขก มีปากใบแบบพาราไซติก (paraçytic) มีการกระจายตัวทั้งผิวใบด้านบนและผิวใบด้านล่าง (amphistomata leaf) เซลล์คุมเป็นรูปดัมเบลล์ (dumbbell) เซลล์ข้างเซลล์คุมมีรูปร่างเป็นสามเหลี่ยม (triangular-shape) มากกว่าเป็นรูปโดม (dome-shape) มีการกระจายตัวของปุ่ม (papillae) อยู่บริเวณกลางระหว่างเส้นใบ และมีขนขนาดเล็ก (micro-hairs) กระจายบนผิวใบทั่วไปเป็นจำนวนมากทั้งผิวใบด้านบนและด้านล่าง (ภาพที่ 32) มีการสะสมผลึกซิลิกา (silica body) ในเซลล์ชั้นผิวที่อยู่ตรงกับเส้นใบ ขนาดผลึกซิลิกาขึ้นอยู่กับขนาดของเส้นใบที่อยู่ตรงกัน มีรูปร่างเป็นสองพู (two-lobed-shape) (ภาพที่ 32 และ 33)

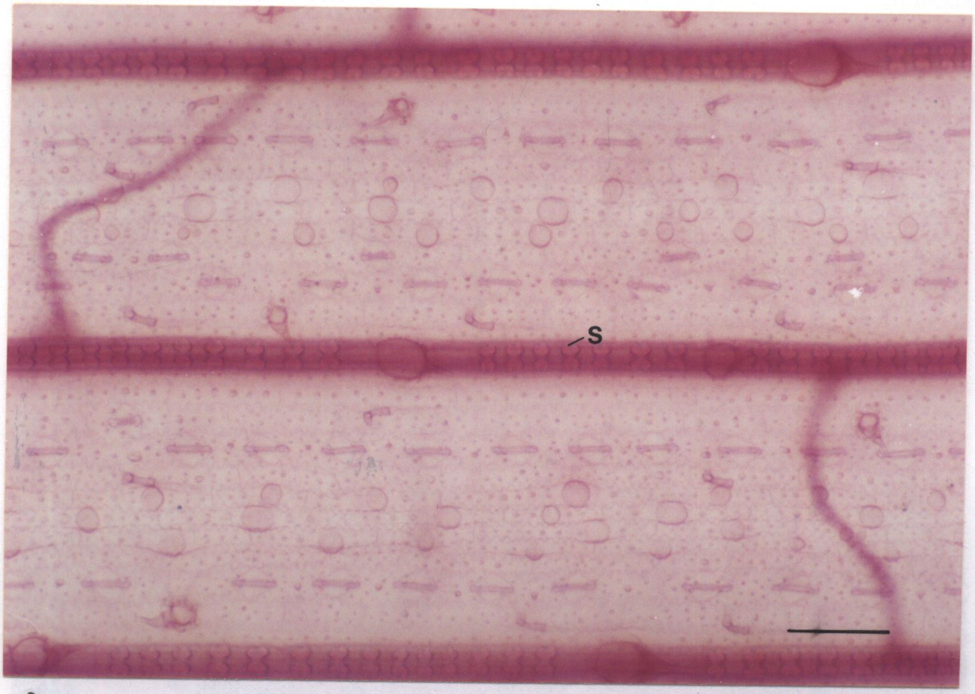
โดยทั่วไปใบที่เจริญเติบโตเต็มที่มักมีการสะสมสารบางอย่างที่ใบ ซึ่งหมายถึงการเกิดการแก่ที่ใบ สารดังกล่าวเป็นสารประเภทแทนนิน เมื่อเกิดการสะสมที่เซลล์ที่มีชีวิตอยู่จึงเรียกว่า เซลล์แทนนิน (tannin cell) ทำให้สีของเซลล์เปลี่ยนแปลงไปเป็นสีน้ำตาล น้ำตาลแดง หรือสีแดง เนื่องจากย้อมติดสีซาฟรานินจึงสามารถสังเกตได้ชัดเจน มักจะมีการสะสมสารแทนนินในแวคิวโอลของเซลล์รวมถึงสารประกอบอื่น ๆ ด้วยดังนั้นจึงเรียกสารประกอบนี้ว่า solid tannoid สำหรับในใบข้าวมีการสะสมสารในเซลล์ม้วนที่แก่ เนื่องจากเซลล์ม้วนเป็นเซลล์ที่มีแวคิวโอลขนาดใหญ่จึงมีการสะสมสารมากและมีสีแตกต่างได้ชัดเจน สารประกอบที่ปรากฏในเซลล์ม้วนที่เป็นสีน้ำตาล น้ำตาลแดง หรือสีแดง อาจจะเป็นสารที่มีสมบัติคล้ายแทนนิน (tannoid) หรือมีแทนนินเป็นส่วนประกอบ เนื่องจากไม่ได้ทำการทดสอบจึงไม่ทราบแน่ชัดว่าเป็นสารประกอบจำพวกใด จึงเรียกเซลล์ม้วนที่มีสีน้ำตาล น้ำตาลแดง หรือสีแดง ดังกล่าวว่า เซลล์หลั่ง (secretory cell) และเรียกช่องว่างระหว่างเซลล์ที่เกิดการสลายตัวไปเนื่องจากการสภาวะเค้นว่า lysigenous (ภาพที่ 34)

ภาคตัดขวางเส้นกลางใบมีกลุ่มเนื้อเยื่อลำเลียง 8-15 กลุ่ม เนื้อเยื่อพื้นบริเวณเส้นกลางใบเป็นเนื้อเยื่อพาเรงคิมาที่มีช่องว่างระหว่างเซลล์ขนาดใหญ่ (aerenchyma) เซลล์พาเรงคิมาบริเวณนี้เรียงเป็นแถวเชื่อมโยงระหว่างมัดท่อลำเลียงขนาดใหญ่ (owe) ซึ่งขนาดกลุ่มเนื้อเยื่อลำเลียงถ้ามีการเจริญน้อยจะมีกลุ่มเนื้อเยื่อลำเลียงขนาดเล็กกว่าปกติ มีการเจริญของกลุ่มเนื้อเยื่อลำเลียงสมบรูณ์ และมีจำนวนแถวเซลล์พาเรงคิมาที่เจริญเชื่อมมัดท่อลำเลียงขนาดใหญ่มากกว่าใบที่ได้รับเกลือ (ภาพที่ 35) ภาคตัดขวางใบ มีเซลล์ม้วนเรียงสลับกับกลุ่มเนื้อเยื่อลำเลียงที่แผ่นใบ (ภาพที่ 36) เซลล์ม้วนจะเรียงตัวอยู่ที่ผิวใบด้านบนมีรูปร่างแบบพัด (fan-shape) (ภาพที่ 37)

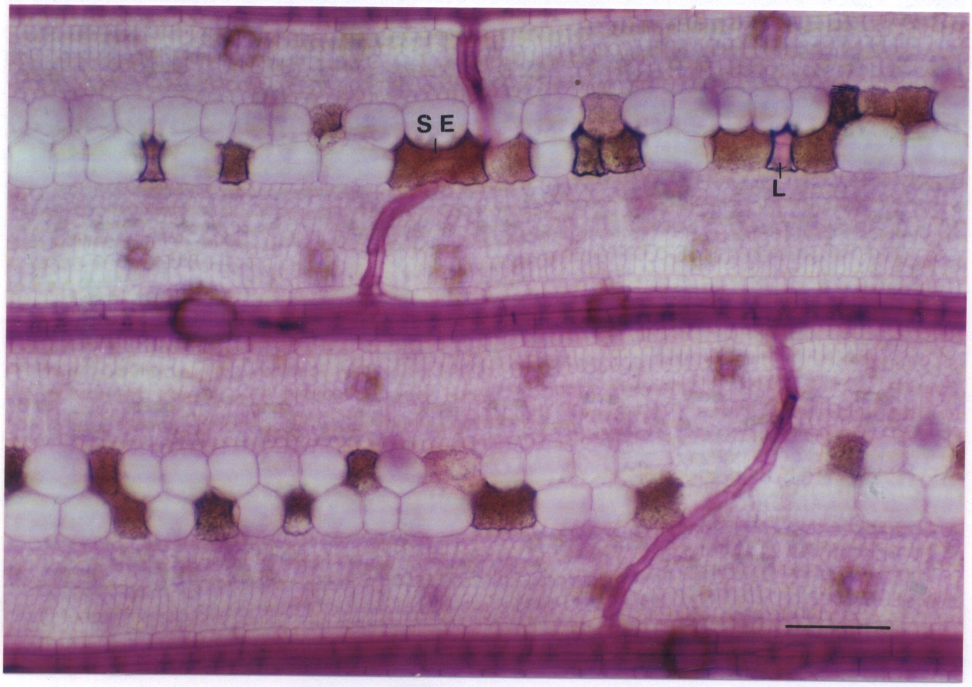
ลักษณะทั่วไป



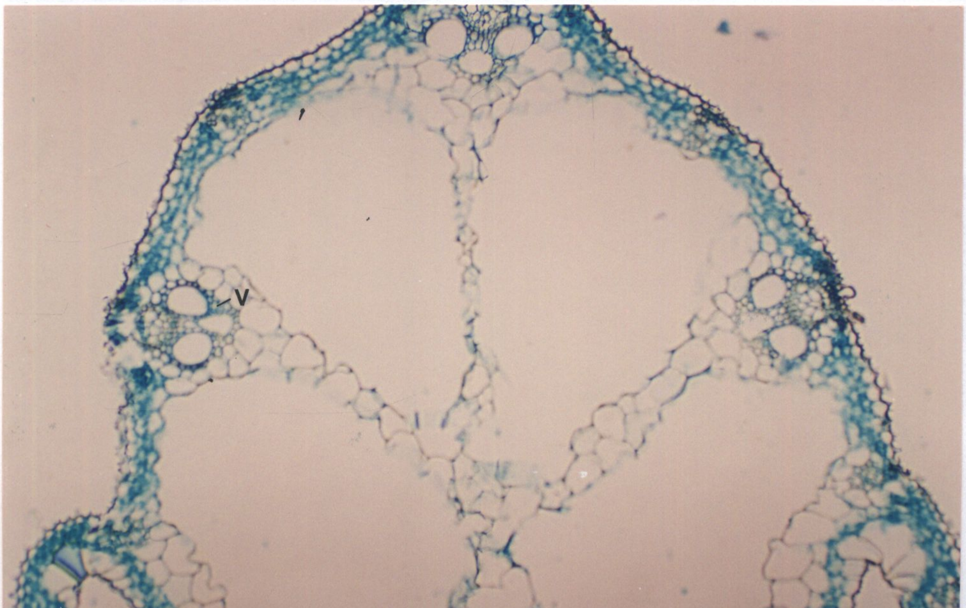
ภาพที่ 32 ผิวใบข้าวกลุ่มควบคุมแสดงลักษณะและการกระจายตัวของปากใบ (G = guard cell, M = micro-hairs, P = papillae, S = silica body, SC = subsidiary cell) bar = 50 µm



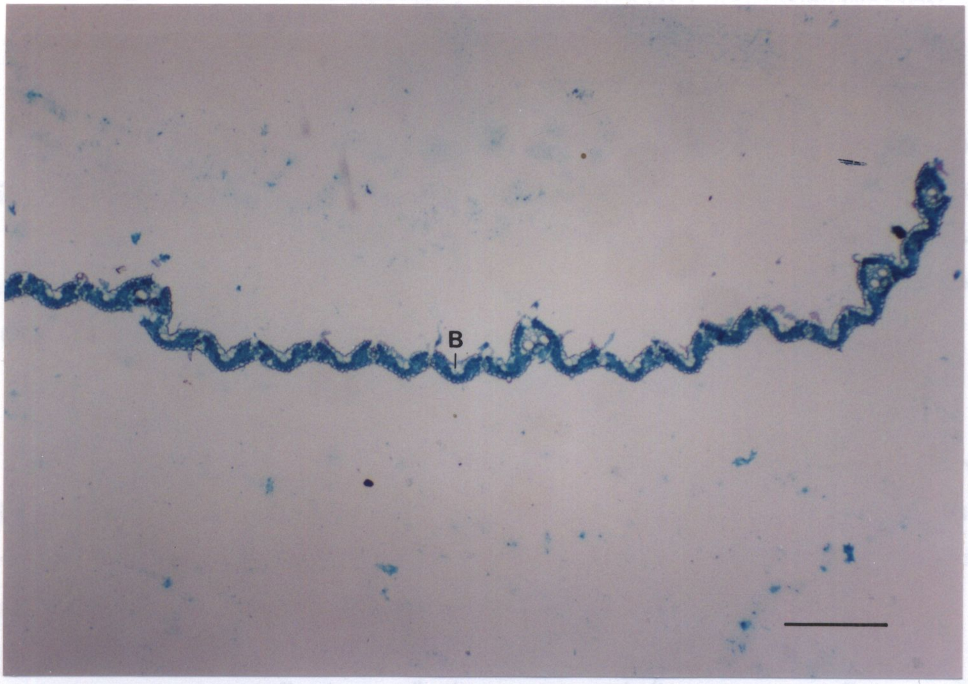
ภาพที่ 33 ผิวใบข้าวกลุ่มควบคุมแสดงการสะสมผลึกซิลิกา (S = silica body) bar = 50 µm



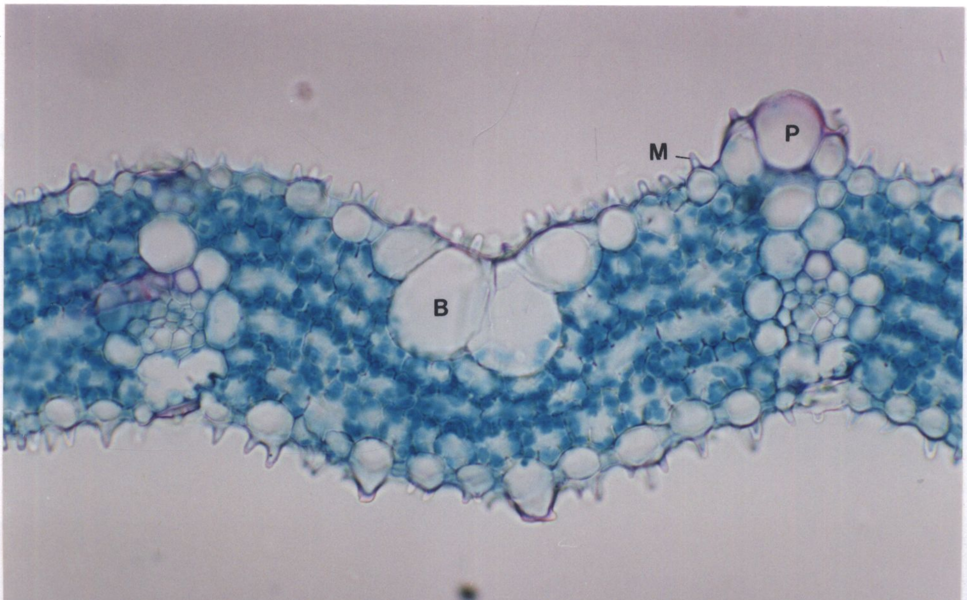
ภาพที่ 34 ผิวใบข้าวกลุ่มที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 mMแสดงเซลล์หลั่ง และ การสลายตัวของเซลล์ (L = lysigenous, SE = secretory cell) bar = 50 μm



ภาพที่ 35 ภาคตัดขวางเส้นกลางใบข้าวของกลุ่มควบคุม (V = vascular bundle) bar = 100 μm



ภาพที่ 36 ภาคตัดขวางใบข้าว และแบบแผนของเซลล์ม้วนในกลุ่มควบคุม (B = bulliform cell) bar = 250 μm



ภาพที่ 37 ภาคตัดขวางใบข้าวกลุ่มควบคุมแสดงลักษณะของเซลล์ม้วน (B = bulliform cell) bar = 25 μm

4.4.2 ผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อลักษณะเซลล์คุม ผลึกซิลิกา การเกิดเซลล์หลั่ง การสลายตัวของเซลล์ พัฒนาการของเส้นกลางใบ และลักษณะเซลล์ม้วน

4.4.2.1 ผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อลักษณะเซลล์คุม

เซลล์คุมในกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 mM ในข้าวทั้ง 8 พันธุ์ มีลักษณะไม่แตกต่างกันทั้งผิวใบด้านบนและผิวใบด้านล่าง โดยลักษณะเซลล์คุมเป็นรูปดัมเบลล์เซลล์ข้างเซลล์คุม มีรูปร่างสามเหลี่ยมมากกว่ารูปโดม แบบแผนการเรียงตัวของเซลล์คุมมีลักษณะขนานกับเส้นใบ เนื่องจากลักษณะเซลล์คุมเหมือนกันทั้งผิวใบด้านบนและผิวใบด้านล่างจึงแสดงภาพเฉพาะผิวใบด้านบนของแต่ละพันธุ์ (ภาพที่ 38, 39, 40 และ 41)

4.4.2.2 ผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อลักษณะผลึกซิลิกา

ผลึกซิลิกาในกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 mM ในข้าวทั้ง 8 พันธุ์ มีลักษณะไม่แตกต่างกัน โดยแบบแผนการเรียงตัวในเซลล์ของเนื้อเยื่อชั้นผิวตรงเส้นใบ และจำนวนของผลึกซิลิกาไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับเกลือทั้งผิวใบด้านบนและผิวใบด้านล่าง ดังนั้นจึงแสดงภาพเฉพาะผิวใบด้านบนของกลุ่มที่ได้รับเกลือของแต่ละพันธุ์ (ภาพที่ 42 และ 43)

4.4.2.3 ผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อการเกิดเซลล์หลั่ง และการสลายตัวของเซลล์ม้วน

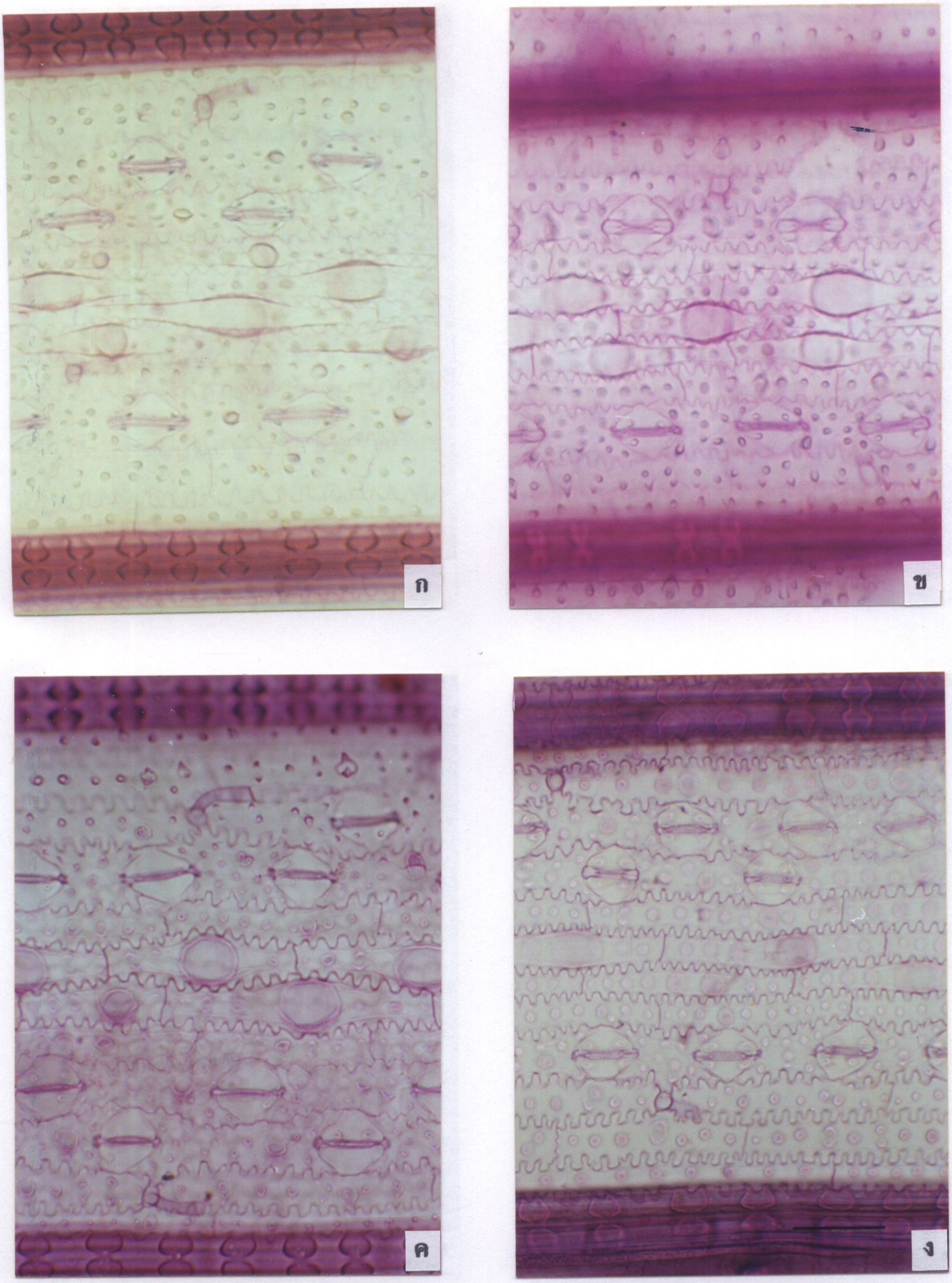
เซลล์ม้วนในใบของกลุ่มที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 mM พัฒนาเป็นเซลล์หลั่งโดยสะสมสารที่สามารถย้อมติดสีซาฟรานินเป็นสีน้ำตาล น้ำตาลแกมแดง หรือสีแดง และหลังจากนั้นเซลล์หลั่งนี้จะสลายตัวปรากฏให้เห็นกระจายทั่วไปทั้งผิวใบด้านบนและผิวใบด้านล่าง สำหรับเซลล์ที่เกิดการสลายตัวนั้นจะปรากฏเป็นเซลล์ช่องว่างเปล่า มักจะเกิดกับเซลล์ม้วนเป็นส่วนใหญ่ (ภาพที่ 44, 45, 46 และ 47)

4.4.2.4 ผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อพัฒนาการของเส้นกลางใบ

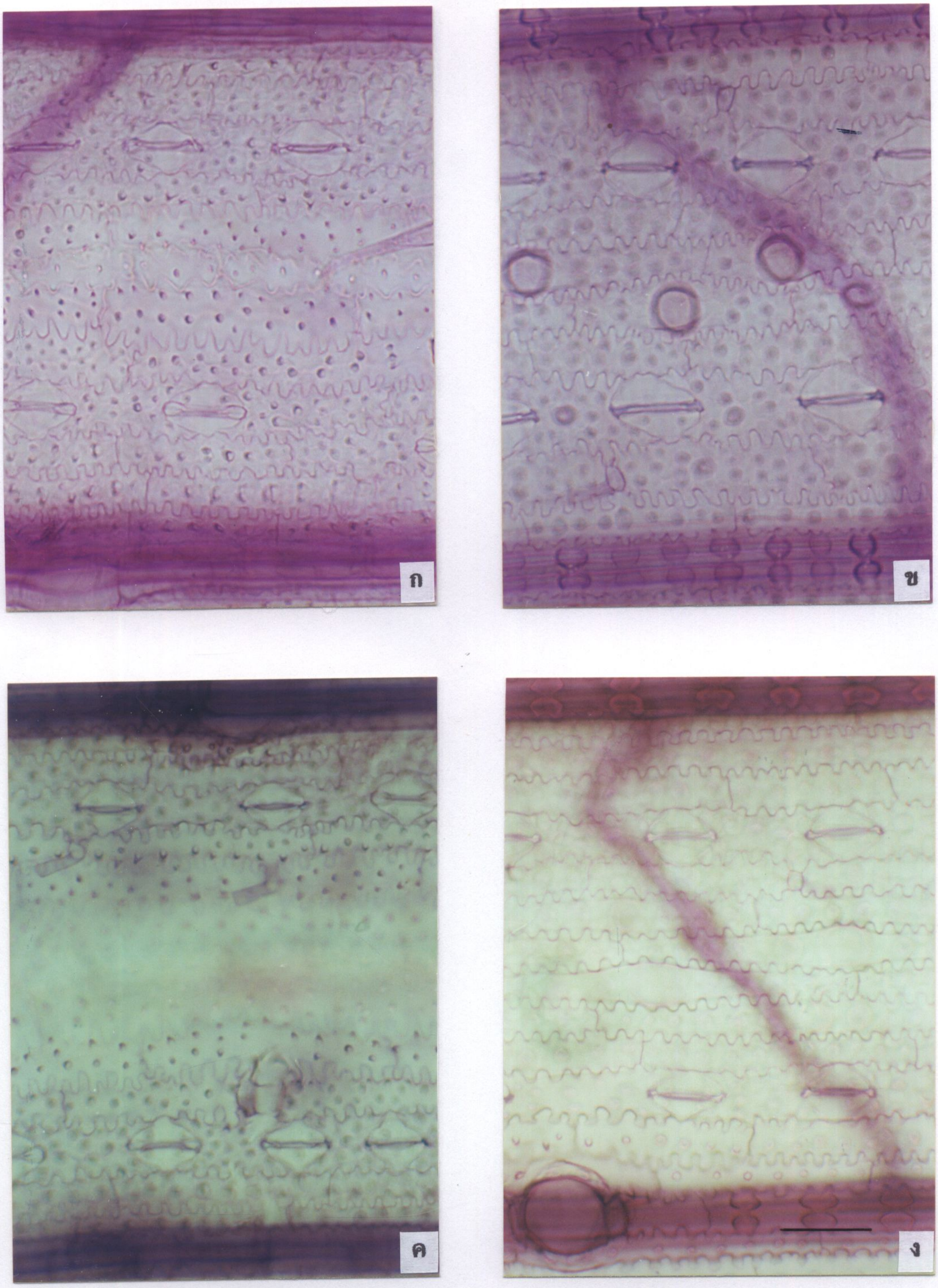
พัฒนาการกลุ่มเนื้อเยื่อลำเลียง และเนื้อเยื่อแอเรงคิมาในเส้นกลางใบลดลงเมื่อพืชได้รับเกลือ ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ว่าผลของโซเดียมคลอไรด์ 100 mM สามารถทำให้ต้นข้าวทั้ง 8 พันธุ์ มีการพัฒนาการของใบช้ากว่ากลุ่มควบคุม (ภาพที่ 48 และ 49)

4.4.2.5 ผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อลักษณะของเซลล์ม้วน

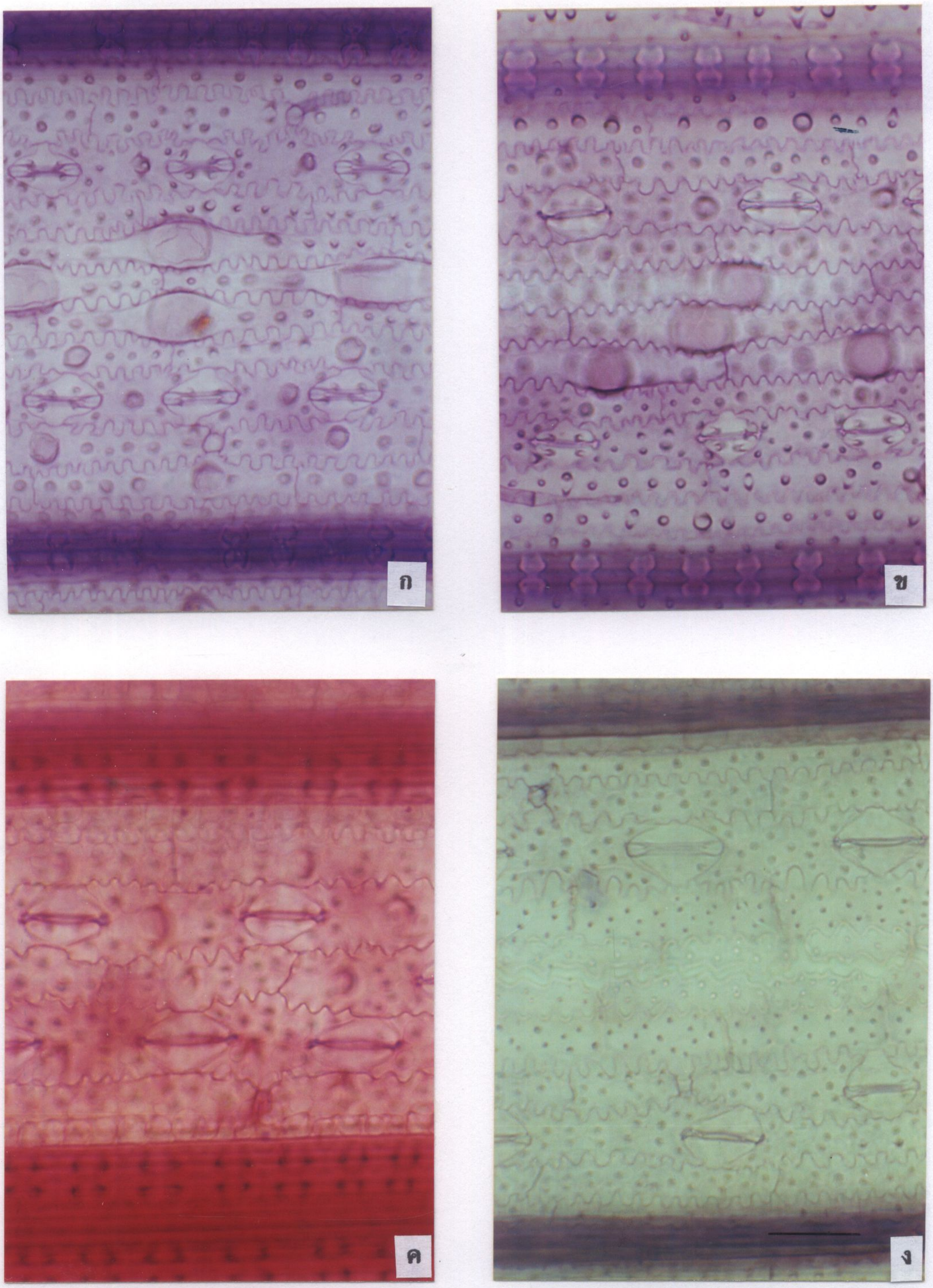
พบว่าลักษณะเซลล์ม้วนยังมีรูปแบบเซลล์ที่เรียงติดกันเป็นรูปพัด และแบบแผนของพัฒนาการของเซลล์ม้วนของกลุ่มที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 50 และ 51)



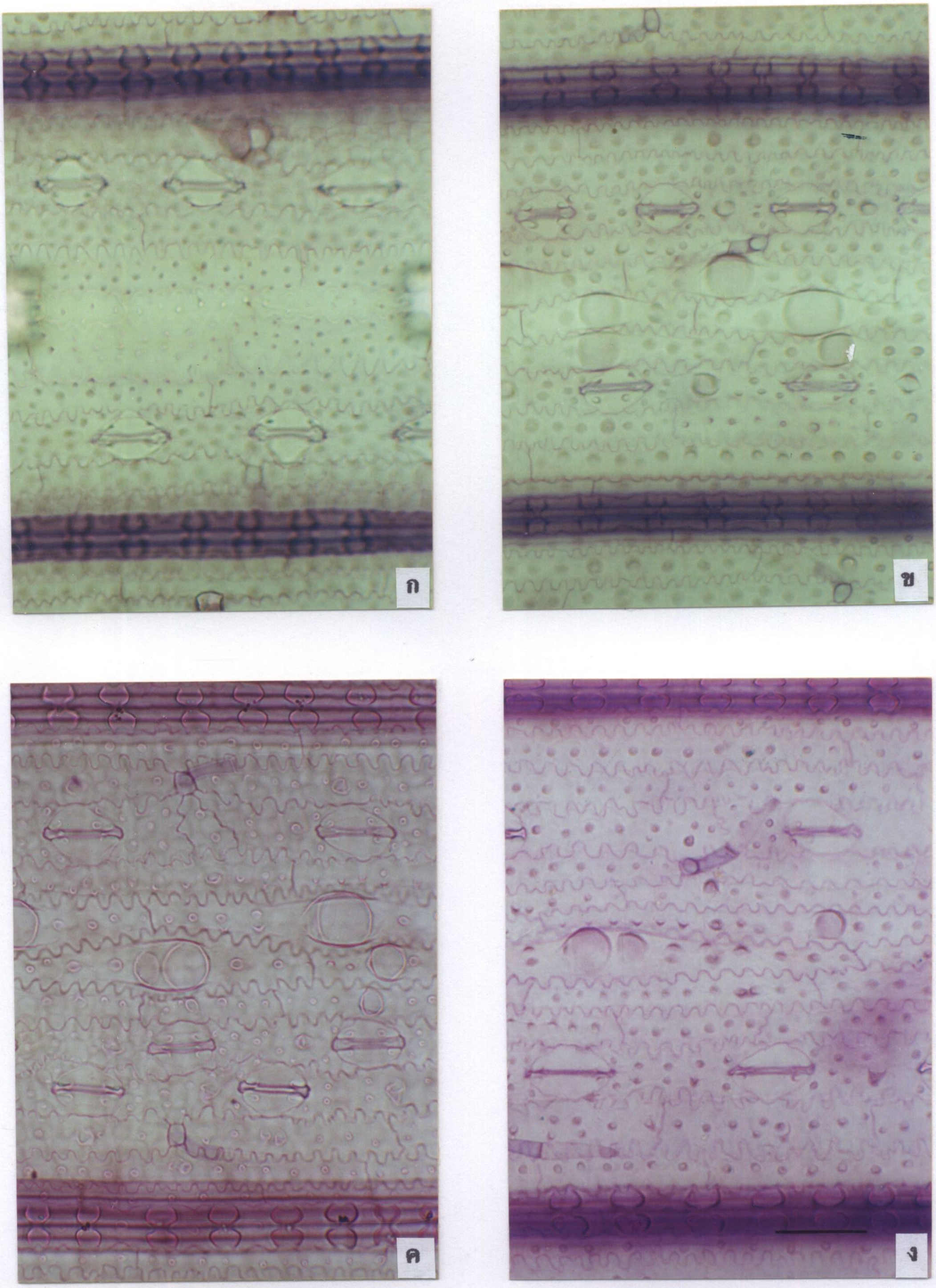
ภาพที่ 38 ลักษณะและการกระจายตัวของปากใบด้านบนของข้าวพันธุ์ (ก,ข) แดงดอกกก และ (ค,ง) ขาวดอกมะลิ 105 (ก,ค) กลุ่มควบคุม และ (ข,ง) กลุ่มที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 mM (bar = 25 μm)



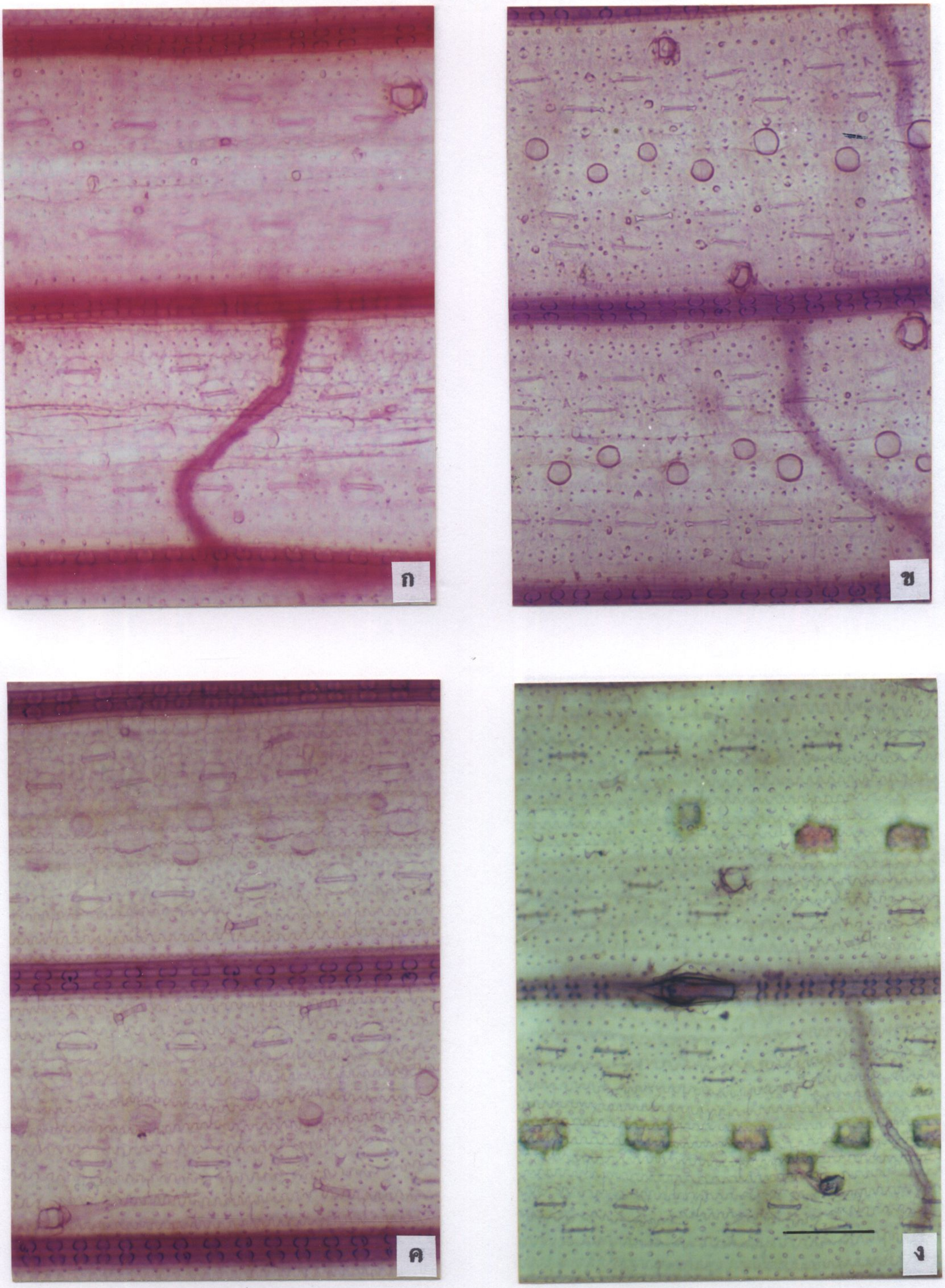
ภาพที่ 39 ลักษณะและการกระจายตัวของปากใบด้านบนของข้าวพันธุ์ (ก,ข) สุพรรณบุรี 2 และ (ค,ง) พอคคาลี (ก,ค) กลุ่มควบคุม และ (ข,ง) กลุ่มที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 mM (bar = 25 μm)



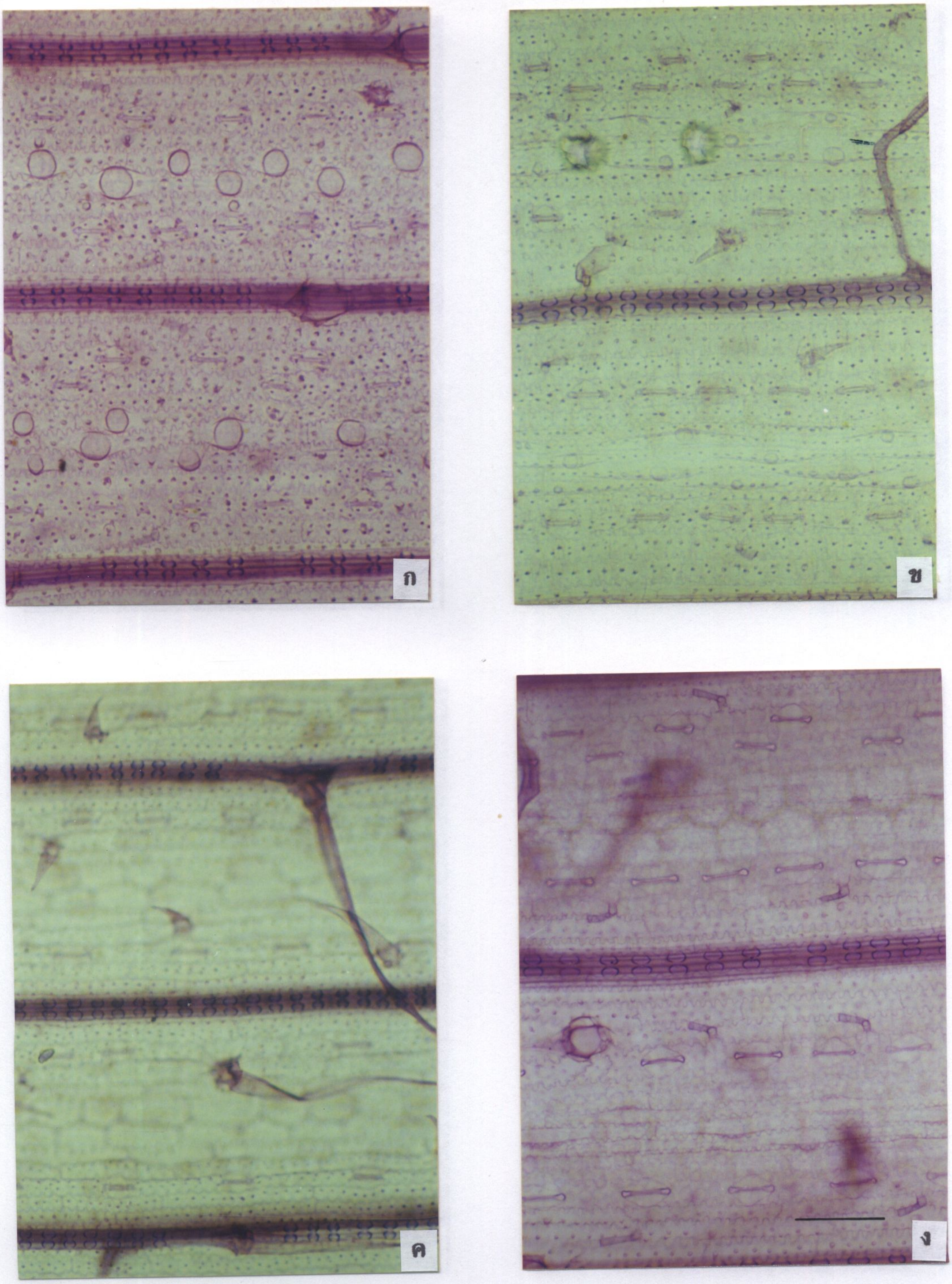
ภาพที่ 40 ลักษณะและการกระจายตัวของปากใบด้านบนของข้าวพันธุ์ (ก,ข) น้ำสะกุย 19 และ (ค,ง) ลูกแดง (ก,ค) กลุ่มควบคุม และ (ข,ง) กลุ่มที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 mM (bar = 25 μm)



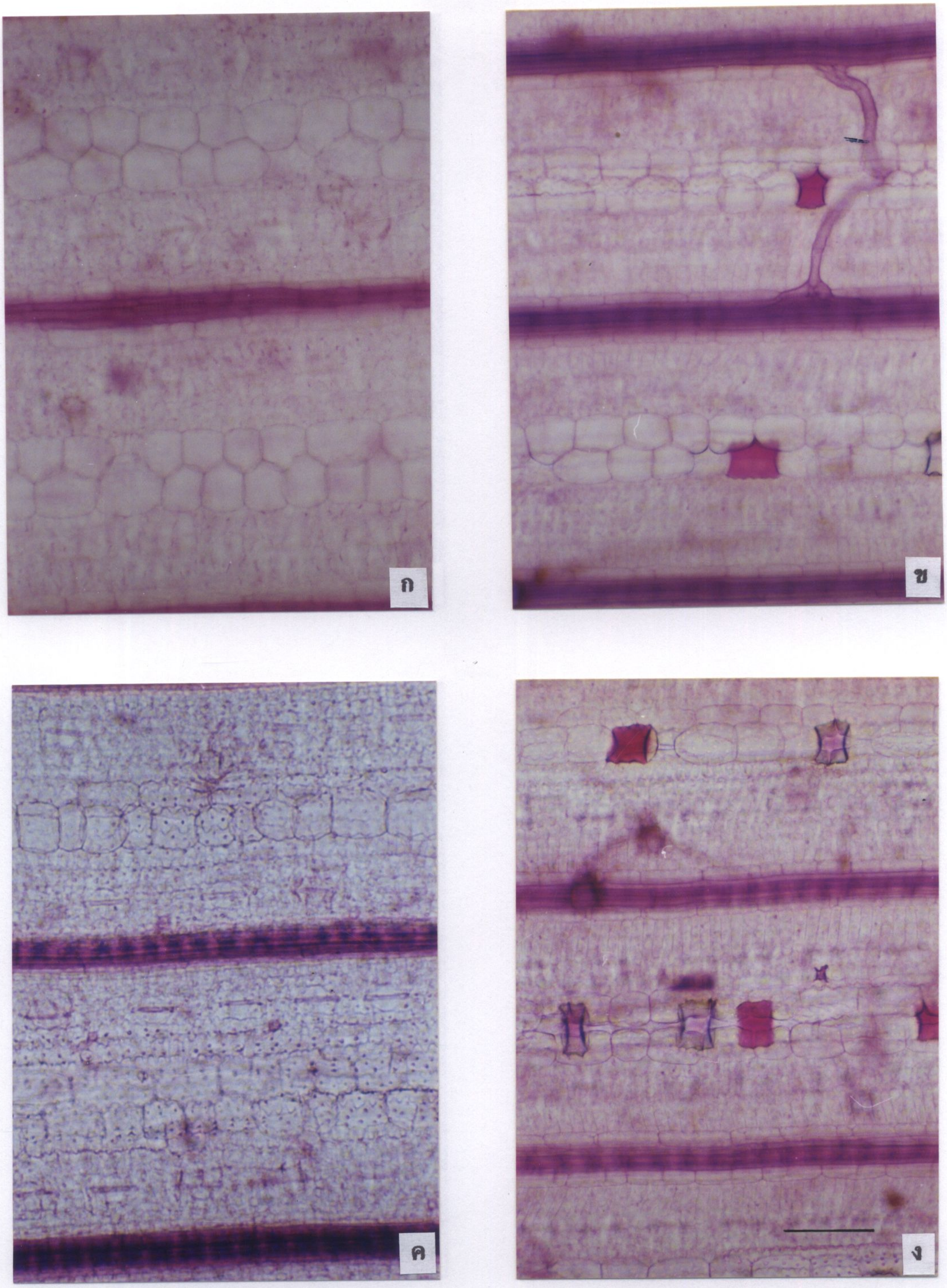
ภาพที่ 41 ลักษณะและการกระจายตัวของปากใบด้านบนของข้าวพันธุ์ (ก,ข) เหลืองตาโม และ (ค,ง) ขาวหมากแขก (ก,ค) กลุ่มควบคุม และ (ข,ง) กลุ่มที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 mM (bar = 25 μm)



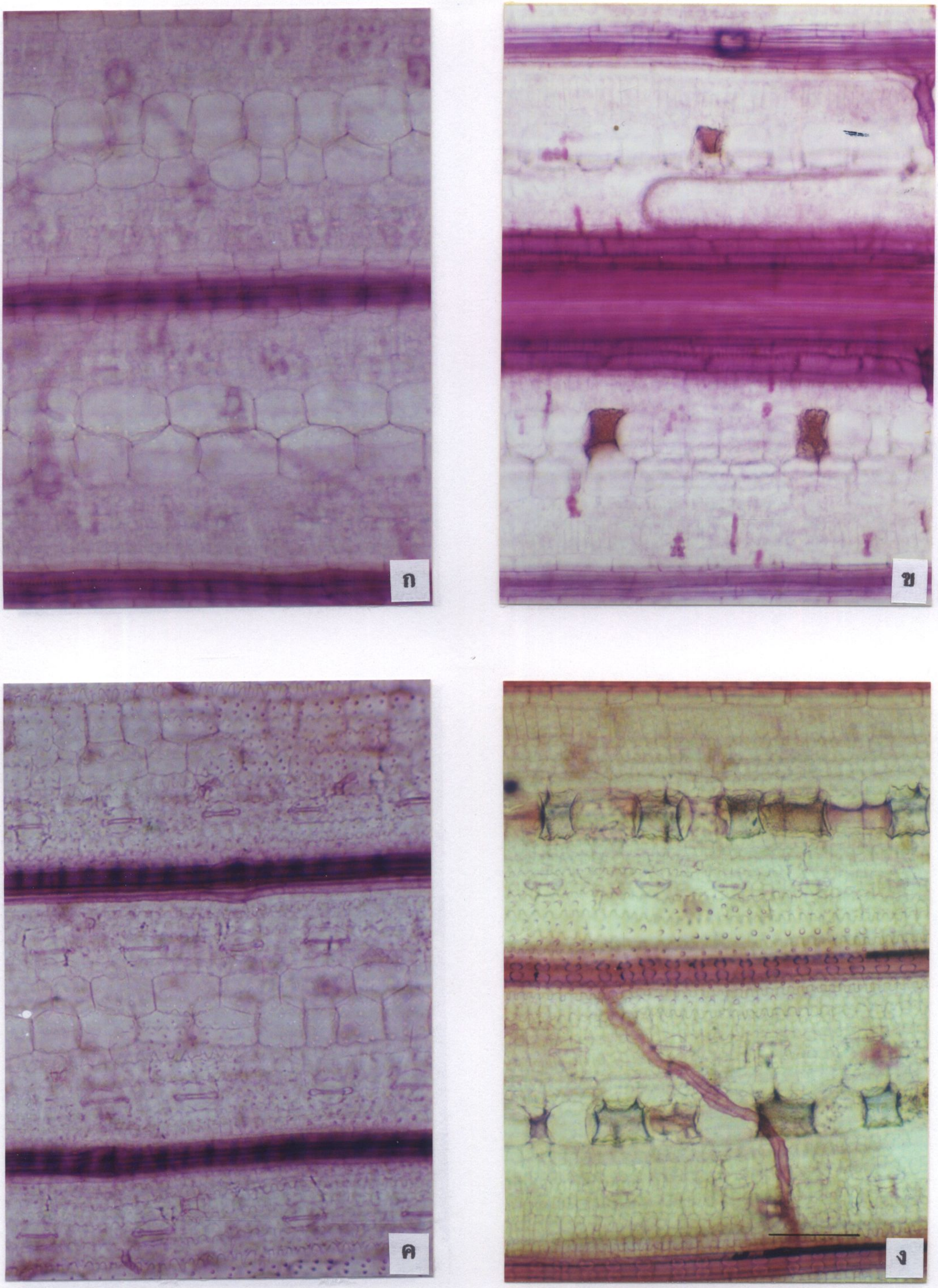
ภาพที่ 42 การสะสมซิลิกาในเส้นใบด้านบนของข้าวพันธุ์ (ก) แดงดอกกก, (ข) ขาวดอกมะลิ 105, (ค) สุพรรณบุรี 2 และ (ง) พอคคาลี (bar = 50 μm)



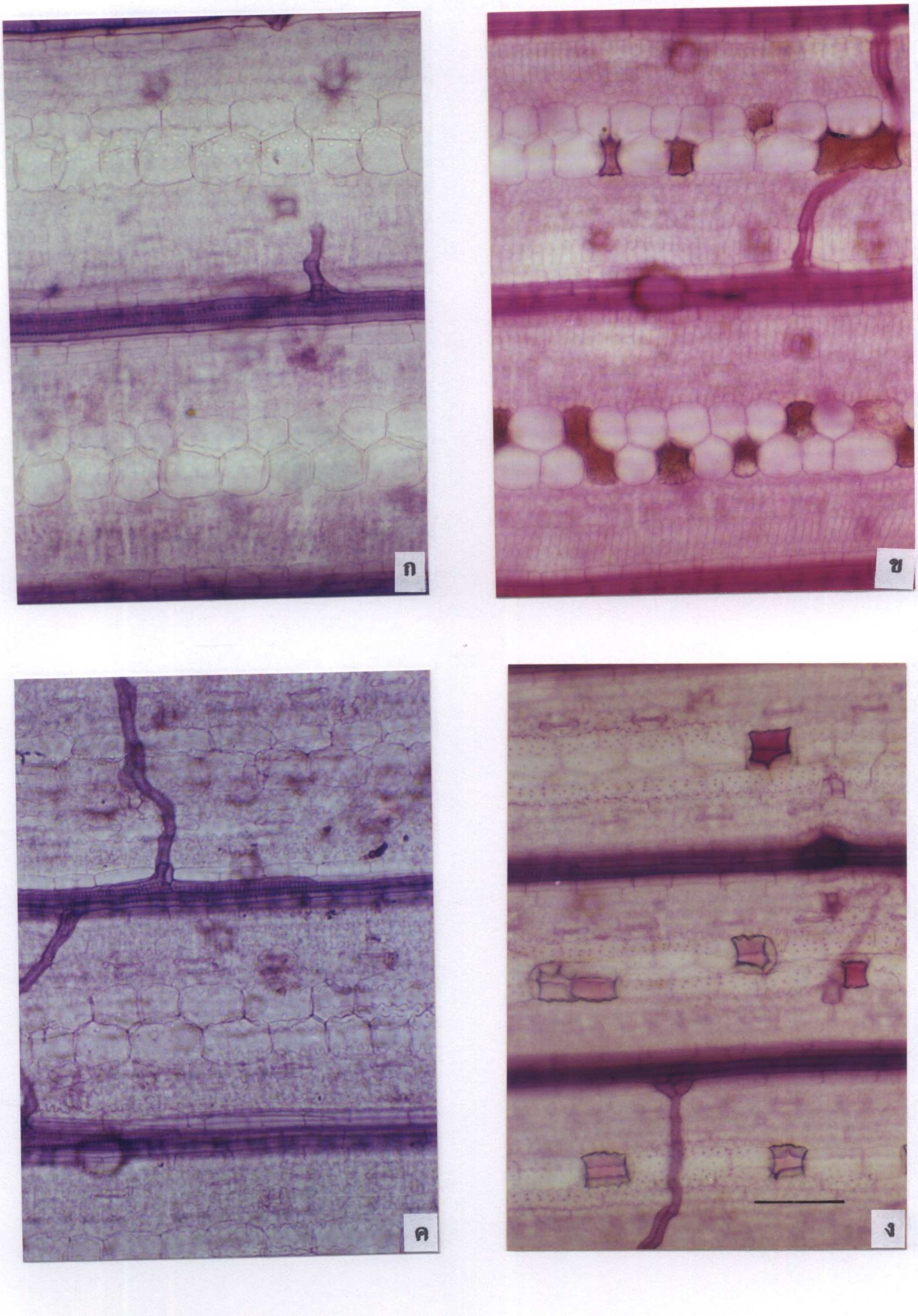
ภาพที่ 43 การสะสมซิลิกาในเส้นใบด้านบนของข้าวพันธุ์ (ก) น้ำสะกุย 19, (ข) ลูกแดง, (ค) เหลืองตาโมและ (ง) ขาวหมากแขก (bar = 50 μm)



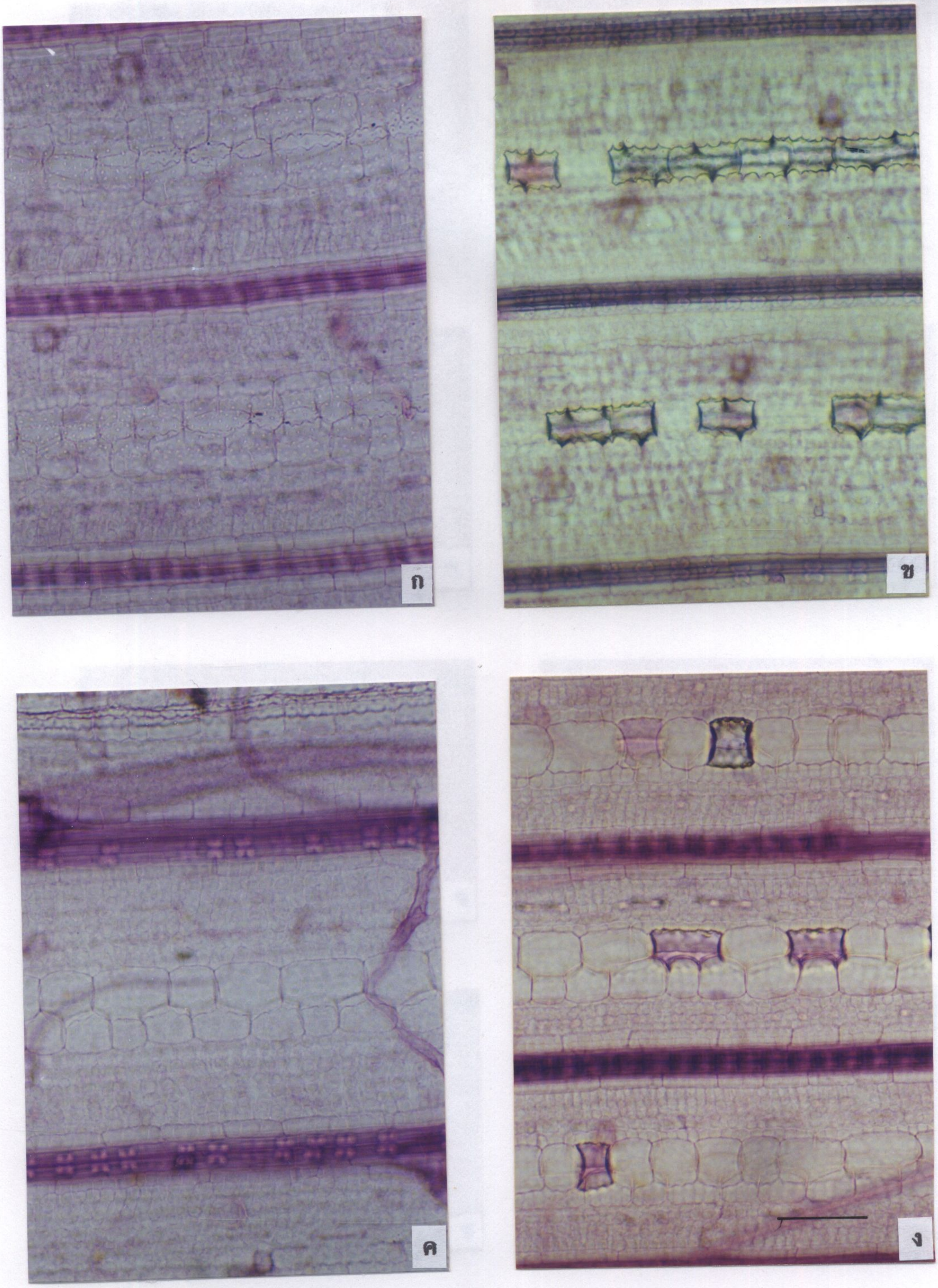
ภาพที่ 44 ลักษณะการเกิดเซลล์หลั่ง และการสลายตัวของเซลล์ผิวใบด้านบนของข้าวพันธุ์ (ก,ข) แดงดอกกก, (ค,ง) ขาวดอกมะลิ 105, (ก,ค) กลุ่มควบคุม และ (ข,ง) กลุ่มที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 mM (bar = 25 μm)



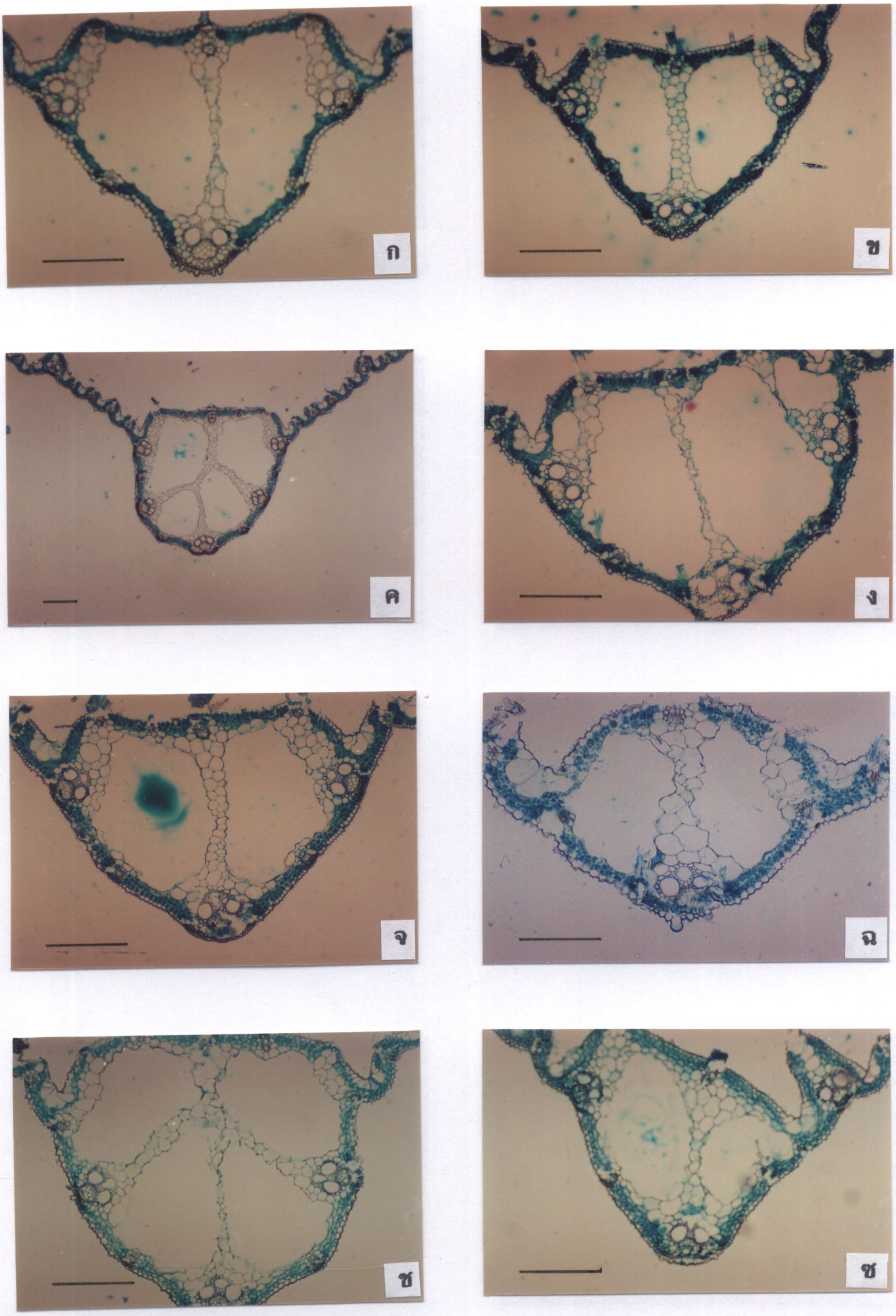
ภาพที่ 45 ลักษณะการเกิดเซลล์หลั่ง และการสลายตัวของเซลล์ผิวใบด้านบนของข้าวพันธุ์ (ก,ข) สุพรรณบุรี 2, (ค,ง) พอคคาลี, (ก,ค) กลุ่มควบคุม และ (ข,ง) กลุ่มที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 mM (bar = 25 μm)



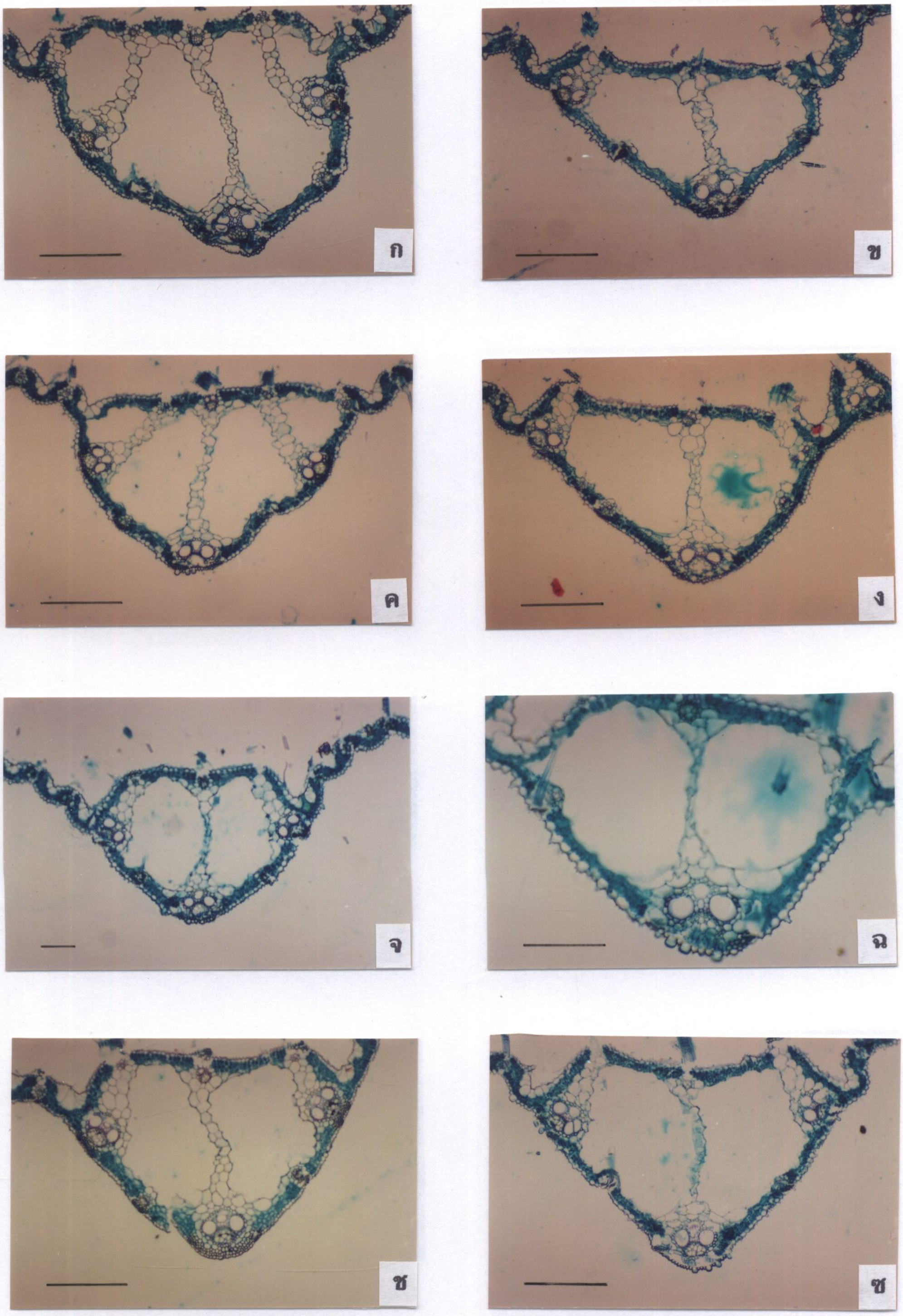
ภาพที่ 46 ลักษณะการเกิดเซลล์หลั่ง และการสลายตัวของเซลล์ผิวใบด้านบนของข้าวพันธุ์ (ก,ข) น้ำสะกุย 19, (ค,ง) ลูกแดง (ก,ค), กลุ่มควบคุม และ (ข,ง) กลุ่มที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 mM (bar = 25 μm)



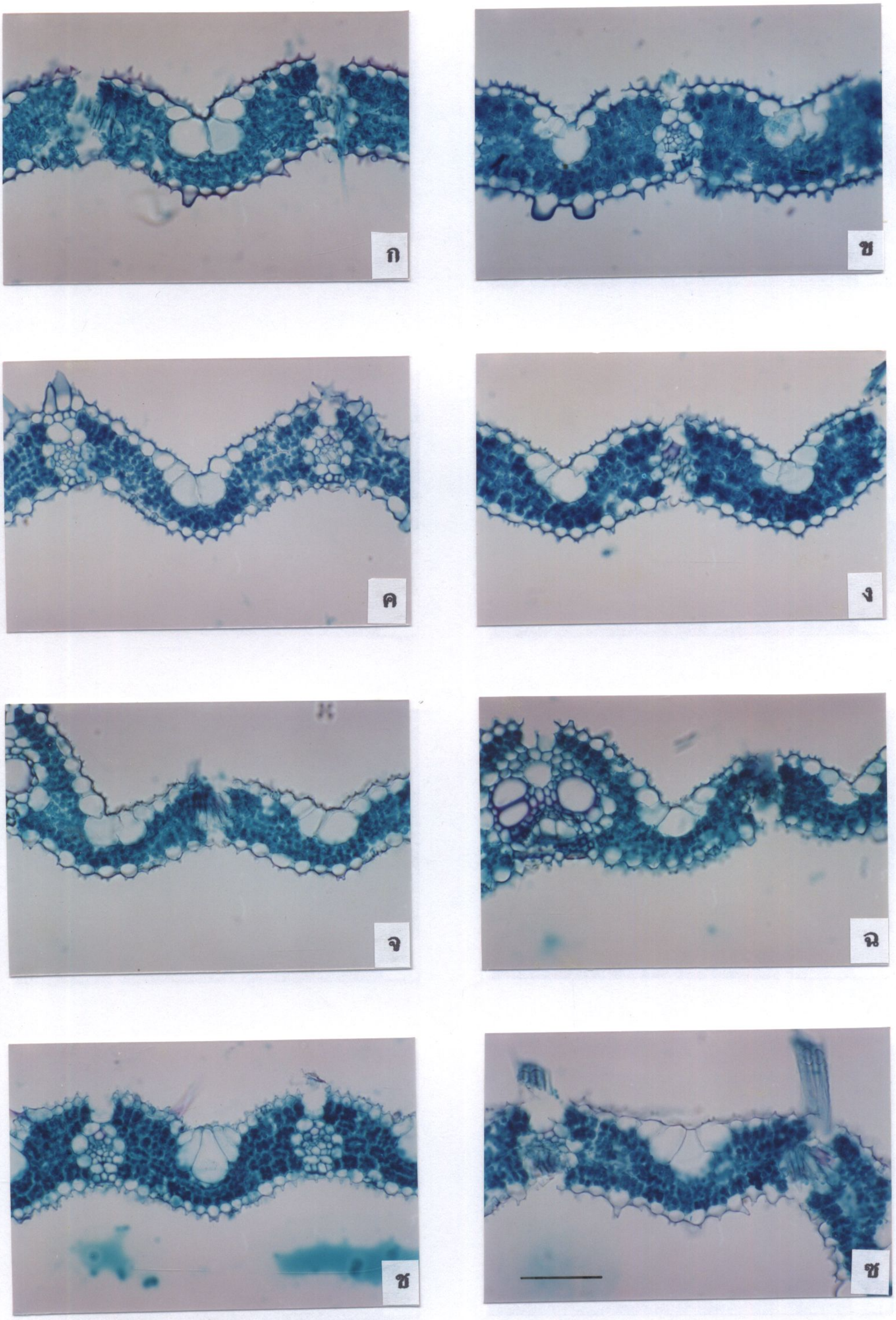
ภาพที่ 47 ลักษณะการเกิดเซลล์หลั่ง และการสลายตัวของเซลล์ผิวใบด้านบนของข้าวพันธุ์ (ก,ข) เหลืองตาโม, (ค,ง) ขาวหมากแขก, (ก,ค) กลุ่มควบคุม และ (ข,ง) กลุ่มที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 mM (bar = 25 μm)



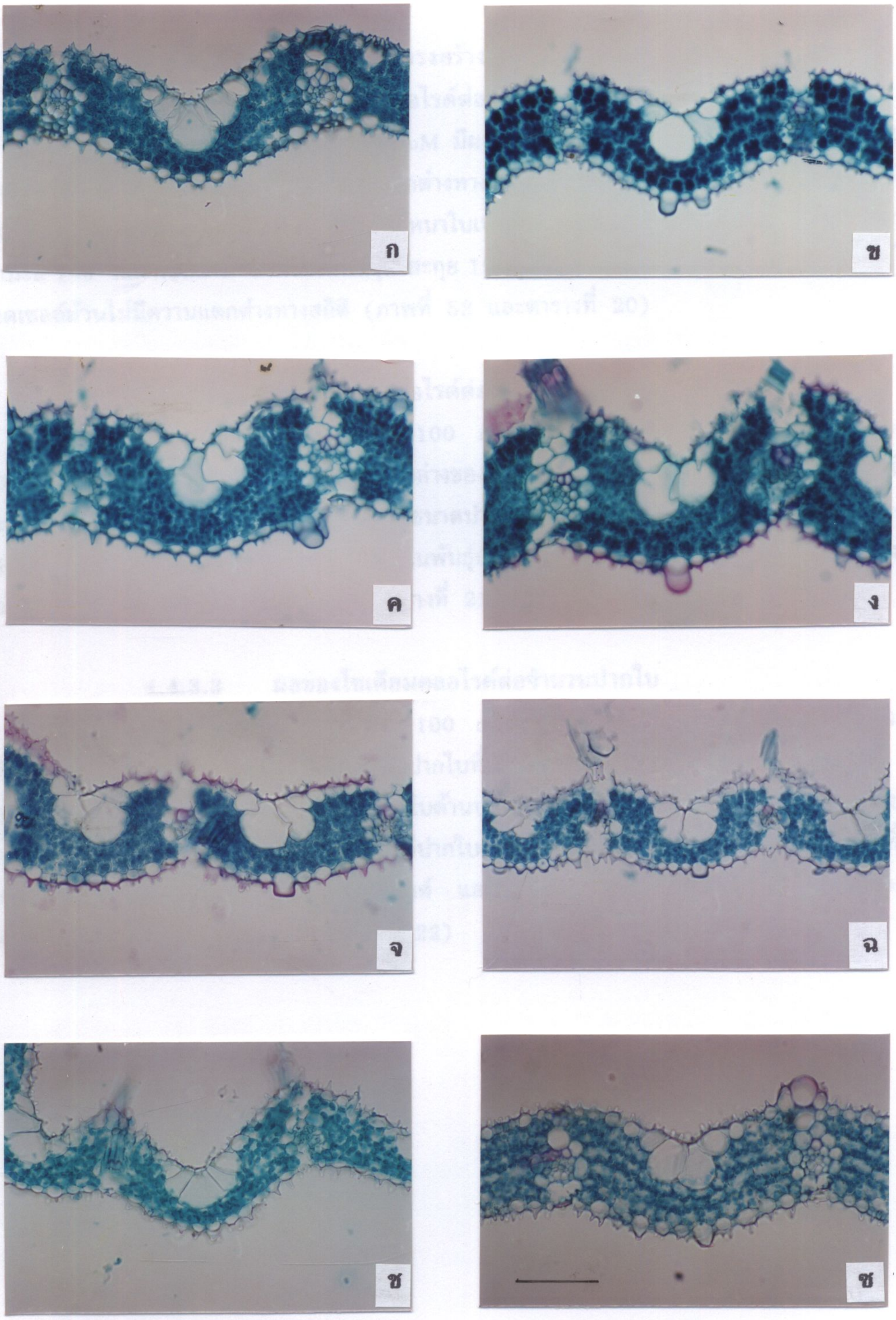
ภาพที่ 48 ภาคตัดขวางเส้นกลางใบข้าวพันธุ์ (ก,ข) แดงดอกกก, (ค,ง) ขาวดอกมะลิ 105, (จ,ฉ) สุพรรณบุรี 2, (ช,ซ) พอคคาลี, (ก,ค,จ และ ช) กลุ่มควบคุม และ (ข, ง, ฉ และ ซ) กลุ่มที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 mM (bar = 200 μm)



ภาพที่ 49 ภาคตัดขวางเส้นกลางใบข้าวพันธุ์ (ก,ข) น้ำสะกุย 19, (ค,ง) ลูกแดง, (จ,ฉ) เหลืองตาโมง (ช,ซ) ขาวหมากแขก, (ก,ค,จ และ ช) กลุ่มควบคุม และ (ข,ง,ฉ และ ซ) กลุ่มที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 mM (bar = 200 μm)



ภาพที่ 50 ภาคตัดขวางของใบข้าวพันธุ์ (ก,ข) แดงดอกกก, (ค,ง) ขาวดอกมะลิ 105, (จ,ฉ) สุพรรณบุรี 2, (ช,ซ) พอคคาลี, (ก,ค,จ และ ช) กลุ่มควบคุม และ (ข,ง,ฉ และ ซ) กลุ่มที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 mM (bar = 50 μm)



ภาพที่ 51 ภาคตัดขวางของใบข้าวพันธุ์ (ก,ข) น้ำสะกุย 19, (ค,ง) ลูกแดง, (จ,ฉ) เหลืองตาโม, (ช,ซ) ขาวหมากแขก, (ก,ค,จ และ ช) กลุ่มควบคุม และ (ข,ง,ฉ และ ซ) กลุ่มที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 mM (bar = 50 μm)

4.4.3 ผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อโครงสร้างใบข้าว

4.4.3.1 ผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อความหนาใบและขนาดเซลล์ม้วน

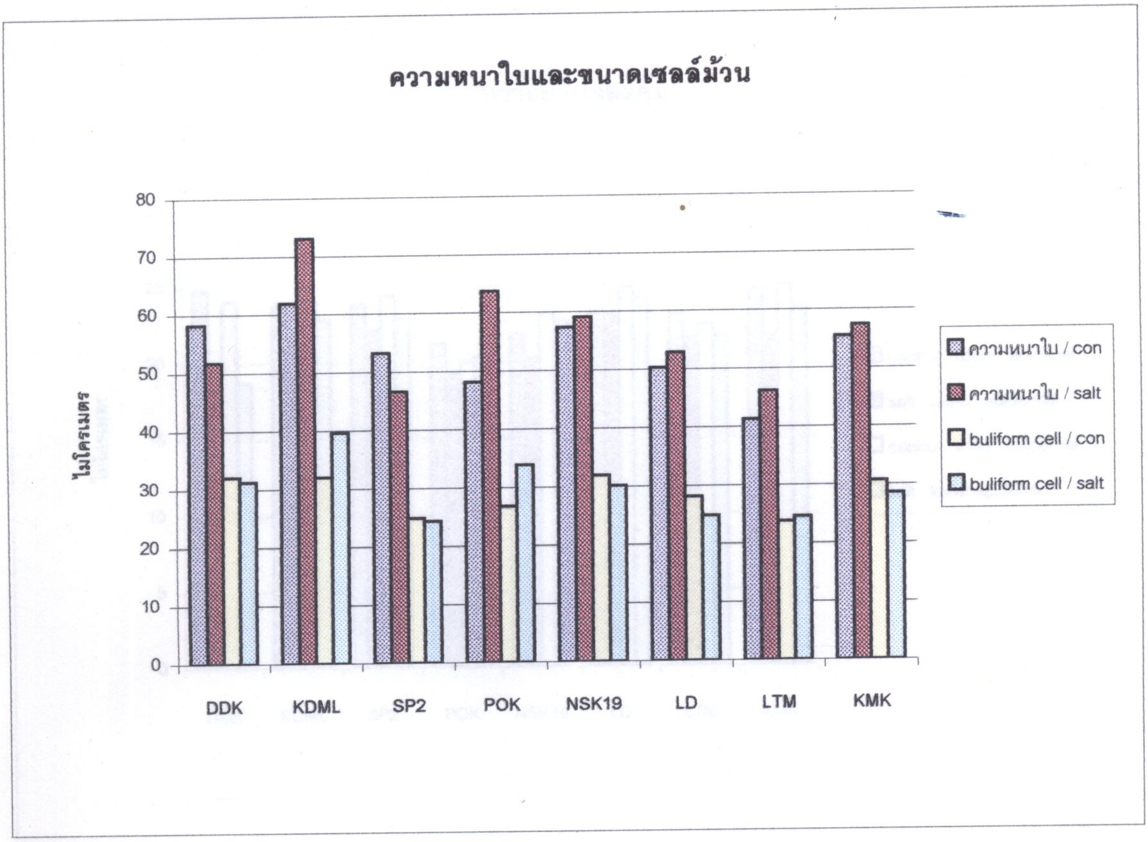
พบว่าโซเดียมคลอไรด์ 100 mM มีผลต่อข้าวพันธุ์แดงดอกกก และสุพรรณบุรี 2 ทำให้ความหนาใบลดลง และมีขนาดเซลล์ม้วนไม่แตกต่างทางสถิติ ในพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 พอคคาลี และเหลืองตาโม ผลของโซเดียมคลอไรด์ทำให้ความหนาใบเพิ่มขึ้น และขนาดเซลล์ม้วนเพิ่มขึ้นเฉพาะในพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพอคคาลี สำหรับในพันธุ์น้ำสะกุย 19 ลูกแดง และ ขาวหมากแขก ความหนาใบ และขนาดเซลล์ม้วนไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ภาพที่ 52 และตารางที่ 20)

4.4.3.2 ผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อความยาวเซลล์คุม

พบว่าระดับโซเดียมคลอไรด์ 100 mM มีผลต่อข้าวพันธุ์แดงดอกกก และขาวดอกมะลิ 105 ทำให้ความยาวเซลล์คุมทั้งด้านบนและด้านล่างของผิวใบมีขนาดเล็กลง ในพันธุ์พอคคาลี เหลืองตาโม และขาวหมากแขก ผลของโซเดียมคลอไรด์ทำให้ขนาดปากใบด้านบนเล็กลง ในพันธุ์สุพรรณบุรีผลของโซเดียมคลอไรด์ทำให้ขนาดปากใบด้านล่างเล็กลง และในพันธุ์น้ำสะกุย และลูกแดงขนาดปากใบไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อได้รับโซเดียมคลอไรด์ (ภาพที่ 53 และตารางที่ 21)

4.4.3.3 ผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อจำนวนปากใบ

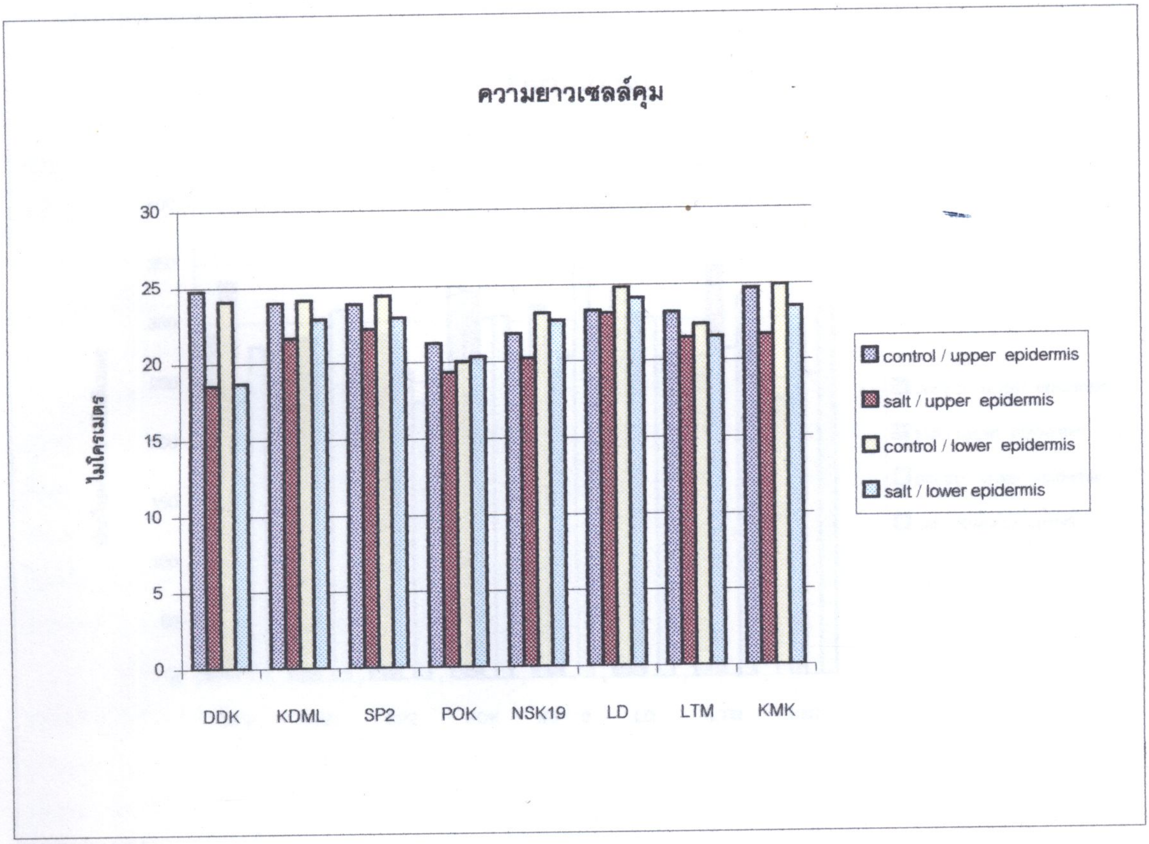
พบว่าระดับโซเดียมคลอไรด์ 100 mM มีผลต่อข้าวพันธุ์แดงดอกกก ขาวดอกมะลิ 105 เหลืองตาโม และขาวหมากแขก ทำให้จำนวนปากใบที่ผิวใบด้านบน และด้านล่างมีจำนวนเพิ่มขึ้น ผลของโซเดียมในพันธุ์สุพรรณบุรี 2 ทำให้ปากใบที่ผิวใบด้านบนเพิ่มขึ้น แต่ปากใบด้านล่างลดลง ในพันธุ์น้ำสะกุย 19 มีจำนวนปากใบที่ผิวใบด้านบนลดลง แต่มีปากใบด้านล่างเพิ่มขึ้น พันธุ์ลูกแดงจำนวนปากใบทั้งด้านบนและด้านล่างลดลงเมื่อได้รับผลของโซเดียมคลอไรด์ และในพันธุ์พอคคาลีจำนวนปากใบไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 54 และตารางที่ 22)



ภาพที่ 52 ความหนาใบ และขนาดเซลล์ม้วน (μm) เมื่อได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 mM

ตารางที่ 22 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของความหนาใบและขนาดเซลล์ม้วน (μm) เมื่อได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 mM (* แตกต่างจาก Control $p \leq 0.05$)

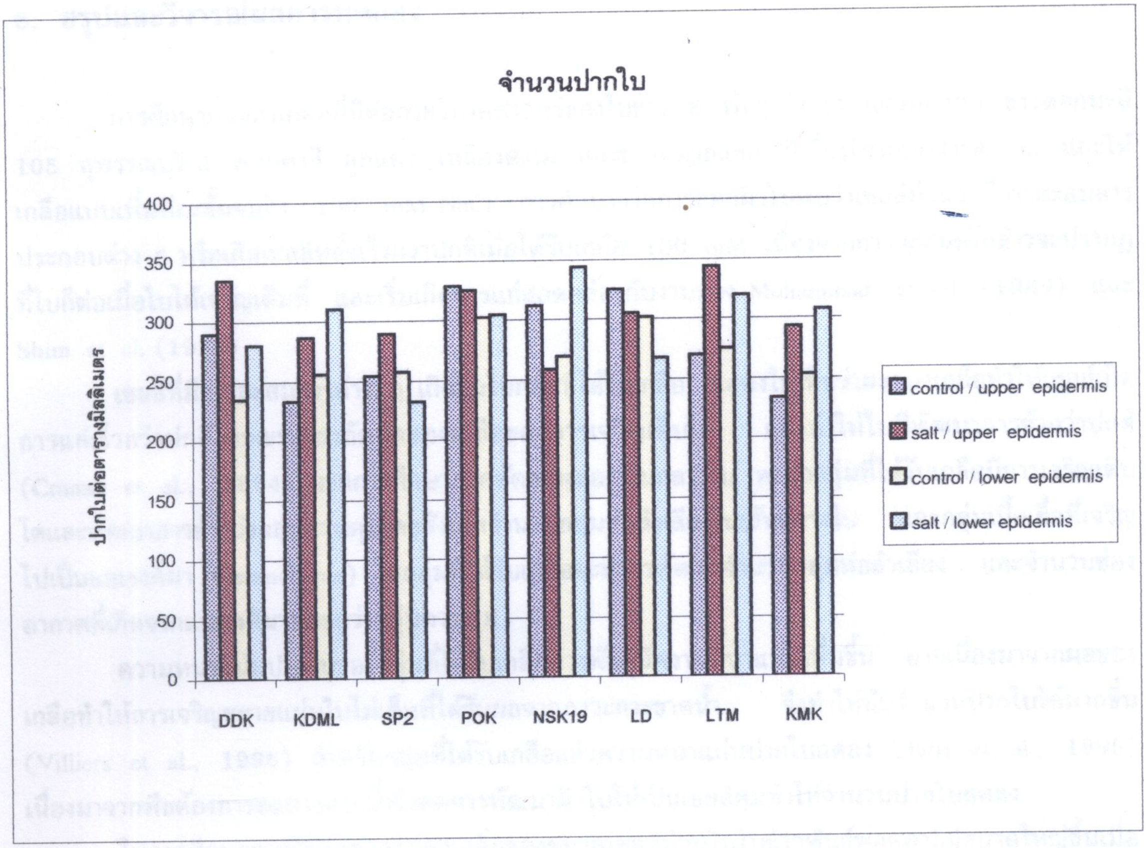
	DDK	KDML	SP2	POK	NSK19	LD	LTM	KMK
ความหนาใบ / con	58.250± 5.286	61.935± 6.417	53.187± 3.921	48.187± 8.491	57.375± 5.369	50.312± 3.720	41.312± 5.546	55.437± 9.386
ความหนาใบ / salt	51.750± 3.006*	73.062± 5.923*	46.625± 5.705*	63.687± 8.281*	59.125± 6.215	52.812± 7.450	46.187± 4.902*	57.375± 5.854
bulliform cell / con	32.125± 5.533	32.062± 3.664	24.875± 5.030	26.812± 5.400	31.937± 5.295	28.187± 3.443	23.750± 3.396	30.625± 4.555
bulliform cell / salt	31.312± 5.429	39.625± 2.159*	24.312± 4.042	33.812± 6.956*	30.187± 5.412	24.875± 4.666	24.562± 2.880	28.562± 5.961



ภาพที่ 53 ความยาวเซลล์คุม (μm) เมื่อได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 mM

ตารางที่ 23 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของความยาวเซลล์คุม (μm) เมื่อได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 mM (* แตกต่างจาก Control p ≤ 0.05)

	DDK	KDML	SP2	POK	NSK19	LD	LTM	KMK
upper epidermis/con	24.75± 2.20	23.968± 3.124	23.875± 1.313	21.25± 1.257	21.843± 1.722	23.312± 2.178	23.156± 1.767	24.656± 1.106
upper epidermis/salt	18.562± 2.277*	21.656± 1.588*	22.218± 1.778	19.343± 1.675*	20.218± 1.600	23.125± 2.909	21.5± 1.354*	21.656± 1.537*
lower epidermis/con	24.093± 2.491	24.156± 1.731	24.406± 1.789	20.062± 1.539	23.156± 1.811	24.812± 1.579	22.375± 1.944	24.906± 1.345
lower epidermis/salt	18.718± 1.822*	22.875± 2.070*	22.968± 1.692*	20.375± 1.854	22.687± 2.311	24.125± 2.145	21.562± 1.559	23.468± 1.800



ภาพที่ 54 จำนวนปากใบต่อตารางมิลลิเมตรเมื่อได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 mM

ตารางที่ 24 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของจำนวนปากใบต่อตารางมิลลิเมตรเมื่อได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 mM (* แตกต่างจาก Control $p \leq 0.05$)

จำนวนปากใบ	DDK	KDML	SP2	POK	NSK19	LD	LTM	KMK
upper epidermis/con	290.23± 40.373	233.20± 27.454	254.29± 22.853	328.51± 21.526	311.71± 26.991	324.60± 32.473	269.53± 35.705	233.20± 27.454
upper epidermis/salt	334.76± 31.537*	286.32± 22.732*	289.45± 23.054*	325± 24.259	258.20± 20.756*	305.07± 44.908*	343.35± 24.513*	292.96± 23.812*
lower epidermis/con	234.76± 21.526	256.25± 29.930	257.42± 19.123	302.34± 28.309	269.14± 21.586	301.17± 41.345	275± 41.015	253.12± 27.575
Lower epidermis/salt	280.46± 23.259*	310.15± 37.974*	232.42± 22.502*	304.29± 27.168	344.14± 31.330*	267.18± 39.031*	319.14± 18.606*	307.03± 37.072*

6. สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาผลของเกลือที่มีต่อกายวิภาคศาสตร์ของใบข้าว 8 พันธุ์ ได้แก่ แดงดอกกก ขาวดอกมะลิ 105 สุพรรณบุรี 2 พอคคาลี ลูกแดง เหลืองตาโม และขาวหมากแขก ที่เลี้ยงในระบบสารละลาย และให้เกลือแบบเพิ่มทีละขั้นจนถึง 100 mM NaCl การศึกษาจากการลอกผิวใบพบว่าเซลล์ม้วนจะมีการสะสมสารประกอบต่าง ๆ หรือเกิดเซลล์หลั่งเร็วกว่าปกติเมื่อได้รับเกลือ 100 mM เนื่องจากการสะสมดังกล่าวจะปรากฏที่ใบก็ต่อเมื่อใบได้เจริญเต็มที่ และเริ่มเกิดการแก่สอดคล้องกับงานของ Muhammad et al (1989) และ Shim et al. (1999)

เซลล์ที่มีการสะสมสารต่าง ๆ เกิดขึ้นในกลุ่มที่ได้รับเกลือ แสดงให้เห็นว่าผลของเกลือทำให้เซลล์เกิดการแก่เร็วกว่าปกติในขณะเดียวกันผลของเกลือชลอการเจริญเติบโต และทำให้ใบมีพัฒนาการช้ากว่าปกติ (Cramer et al., 1994) จากการศึกษาภาคตัดขวางของเส้นกลางใบ พบว่ากลุ่มที่ได้รับเกลือมีการเจริญเติบโตและพัฒนาการช้ากว่ากลุ่มควบคุมโดยสังเกตจำนวนกลุ่มท่อลำเลียงในเส้นกลางใบ และกลุ่มเนื้อเยื่อที่เจริญไปเป็นแอเรงคิมา (aerenchyma) ในกลุ่มที่ได้รับเกลือจะมีการพัฒนาจำนวนกลุ่มท่อลำเลียง และจำนวนช่องอากาศที่เกิดจากแอเรงคิมาน้อยกว่ากลุ่มควบคุม

ความหนาแน่นปากใบของกลุ่มที่ได้รับเกลือบางพันธุ์มีความหนาแน่นเพิ่มขึ้น อาจเนื่องมาจากผลของเกลือทำให้การเจริญขยายแผ่นใบไม่เต็มที่ได้รับผลจากภาวะการขาดน้ำ จึงทำให้นับจำนวนปากใบได้มากขึ้น (Villiers et al., 1996) สำหรับกลุ่มที่ได้รับเกลือแล้วความหนาแน่นปากใบลดลง (Jafri et al., 1995) เนื่องมาจากพืชต้องการลดการคายน้ำจึงลดการพัฒนาผิวใบให้เป็นเซลล์คุมทำให้จำนวนปากใบลดลง

ในการศึกษากายวิภาคศาสตร์ค่าเฉลี่ยของขนาดเซลล์ม้วนในใบข้าวพันธุ์พอคคาลีมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อได้รับเกลือ อาจเนื่องมาจากพันธุ์พอคคาลีเป็นพันธุ์ทนเค็มมีกลไกในการพัฒนา และเจริญเติบโตที่ทนต่อความเค็มได้ จึงสามารถดึงน้ำมาสะสมที่เซลล์ม้วนได้มาก ในขณะที่พันธุ์ลูกแดงมีขนาดเซลล์ม้วนเฉลี่ยลดลงเมื่อได้รับเกลือ เนื่องจากพันธุ์ลูกแดงไม่สามารถลดค่าออสโมติกโพเทนเชียลภายในเซลล์ให้ต่ำเพื่อเพิ่มศักยภาพในการดึงน้ำเข้าสู่เซลล์ได้ ดังนั้นเมื่อพืชขาดน้ำจึงลำเลียงน้ำจากส่วนของเซลล์ม้วนมาใช้ จึงทำให้ขนาดเซลล์ม้วนมีขนาดเล็กลง ซึ่งอาจจะส่งผลไปถึงเซลล์และเนื้อเยื่ออื่น ๆ ดังนั้นใบข้าวที่มีอายุมากกว่าใบอื่นจึงมีลักษณะแห้งและแก่เร็วกว่าปกติ สำหรับในพันธุ์ที่มีความหนาใบและขนาดเซลล์ม้วนที่เพิ่มขึ้นเนื่องมาจากต้นข้าวลดค่าออสโมติกโพเทนเชียล เพื่อให้น้ำแพร่เข้าเซลล์รากมากขึ้นจึงมีการสะสมน้ำมากขึ้น และมีการสะสมน้ำที่บริเวณพาเรงคิมาและเซลล์ม้วนที่ใบมากขึ้นในพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพอคคาลี

เอกสารอ้างอิง

ฉวีวรรณ วุฒิญาโณ. 2543. **พันธุ์ข้าวพื้นเมืองไทย.** กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพมหานคร. 215 หน้า.

ปิยะดา ธีระกุลพิศุทธิ์. 2540. **สรีรวิทยาของพืช.** ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 366 หน้า.

ฝ่ายเผยแพร่และประชาสัมพันธ์กรมพัฒนาที่ดิน. 2532. ดินเค็มภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. **พัฒนาที่ดิน.** เม.ย. 26(287), 30-33.

พรรณี รุ่งแสงจันทร์. 2532. การเพิ่มผลผลิตข้าวในพื้นที่ดินเค็ม. **พัฒนาที่ดิน.** เม.ย. 26(287), 10-19.

พิทักษ์ รัตนจารุรักษ์, 2533. บรรณาธิการ. **อิทธิพลของชั้นเกลือหินต่อสภาพดินเค็มในภาคอิสาน.** กรมทรัพยากรธรณี. กรุงเทพมหานคร.

รังสรรค์ เนียมสนิท. 2534. **การวางแผนการทดลอง.** ภาควิชาสถิติ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 150 หน้า.

เล็ก มอญเจริญ. 2532. ความเค็มกับการเจริญเติบโต. **พัฒนาที่ดิน.** เม.ย. 26(287), 20-29.

วิทยา มะเสนา, ทองปาน นนฤาชา, & ดวงสมร เตจา. 2529. กรรมวิธีเตรียมฟางไอโซโทป ^{15}N. ***ว. วิชาการเกษตร.*** 4(11), 11-16.

สมศรี อรุณินท์. 2532. พืชทนเค็ม. **พัฒนาที่ดิน.** เม.ย. 26(287), 38-46.

สถาบันวิจัยข้าว. 2538. **การทำนาน้ำฝน.** ชุมชนสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. กรุงเทพมหานคร. 76 หน้า.

สุมนทิพย์ บุนนาค. 2531. **เอกสารประกอบการสอนวิชา 311 311 ปฏิบัติการสรีรวิทยาของพืช.** ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 83 หน้า

อัจฉรา ธรรมถาวร 2538. **คู่มือการทำสไลด์ถาวรเนื้อเยื่อพืชโดยกรรมวิธีพาราฟิน.** ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 21 หน้า.

Alamgir, A.N.M. 1995. Electrophoretic characterization of root membrane proteins of one wheat and four cultivars of rice seedlings growth under salinity stress. **Chittagong University Studies Science.** 19(2), 225-233.

Alpaslan, M., Gunes, A. and Taban, S. 1999. Salinity resistance of certain rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. **Turkish Journal of Biology.** 23(4), 499-506.

Ashraf, M.Y. and Yousaf, A. 1998. Effect of salinity on growth, chlorophyll content, and flag leaf area of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. **International Rice Research Note.** 23(2), 33-35.

Aslam, M., Qureshi, R.H., Ahmad, N., Lieth, H. and Masoom, A.A. 1993. **Mechanisms of salinity tolerance in rice (Oryza sativa L.). Towards the rational use of high salinity tolerance plant.: Agriculture and Forestry Under Marginal Soil Water Conditions.** Proceedings of the ASWAS conference 8-15 December 1990, Al Ain, United Arab Emirates. 135-138.

Bonilla, P., Hirai, T., Naito, H. and Tsuchiya, M. 1995. Physiological response to salinity in rice plant. **Japanese Journal of Crop Science.** 64(2), 266-272.

Bui, B.B., Tobita, S., Bermawie, N. and Senboku, T. 1996. Salt tolerance of cultivated rice varieties from Vietnam. **JIRCAS Journal.** 59, 27-35.

Chartzoulakis, K.S. 1994. Photosynthesis, water relation and leaf growth of cucumber exposed to salt stress. **Scientia Horticulturae.** 59, 27-35.

Cho, D.H., Itoh, R. and Ishii, R. 1996. Studies on salt tolerance in Korean rice cultivars. **Japanese Journal of Crop Science.** 65 (1), 1-7.

Cramer, G.R., Alberico, G.J. and Schmidt, C. 1994. Leaf expansion limits dry matter accumulation of salt-stressed maize. **Australian Journal Plant Physiology.** 21, 663-674.

Dubey, R.S. and Rani, M. 1990. Influence of sodium chloride salinity on peptidase activities and the status of total amino acids in germinating rice seeds of differing salt tolerance. **Tropical Science.** 30(2), 133-145.

Echevarria, I., Reynaldo, I. and Mainardi, S. 1995. Some aspects of nitrogen metabolism in rice seeds germinating at two NaCl concentration. I Amistad 82 varities. **Cultivos Tropicales.** 16(1), 43-45.

Echevarria, I., Reynaldo, I. and Mainardi, S. 1996. Some aspects of nitrogen metabolism in rice seeds germinating at two NaCl concentration. II Pokkali variety. **Cultivos Tropicales.** 17(1), 20-23.

Faustino, F.C., Lips, H.S. and Pacardo, E.P. 1996. Physiological and biochemical mechanisms of salt tolerance in rice. I. Sensitivity thresholds to salinity of some physiological processes in rice (*Oryza sativa* L.) **Philippine Journal of Crop Science.** 21(1-2), 40-50.

Flowers, T.J., Hajibagheri, M.A. and Yeo, A.R. 1991. Ion accumulation in the cell walls of rice plants growing under saline conditions : evidence for the Oerti hypothesis. **Plant cell and Environment.** 14(3), 119-125.

Fukuda, A., Yazaki, Y., Ishikawa, T., Koike, S. and Tanaka, Y. 1998. Na^+/H^+ antiporter in tonoplast vesicles from rice roots. **Plant and Cell Physiology.** 39(2), 196-201.

Garcia, A.B., Engler, J.D.A., Iyer, S., Gerats, T., Montagu, M.V. and Caplan, A.B. 1997. Effect of osmoprotectants upon NaCl stress in rice. **Plant Physiology.** 115 (1), 159-169.

Ghassemi, F., Jakeman, A.J. and Nix, H.A. 1995. **Salinisation of Land and Water Resources.** Center for Resource and Environmental Studies. The Australian National University. Canberra. 1218 p.

Gonzalez, L.M. and Ramirez, R. 1997. Water relations in rice seedlings in saline medium. **International Rice Research Notes.** 22, 19-20.

Gonzalez, L.M. and Ramirez, R. 1998. Correlation of some varietal characteristics with grain yield and stress tolerance index under saline condition. **International Rice Research Note.** 23(1), 19-20.

Gonzalez, L.M. and Ramirez, R. 1999. Respiration, water relation and pigment concentration in rice seedlings grow under saline conditions. **Cultivos Tropicales.** 20(1), 35-37.

Harinasut, P., Tsutsui, K., Takabe, T., Nomura, M., Kishitani, S. and Mathis, S. 1995. Glycine betaine enhances rice salt tolerance. **Photosynthesis**. From light to biosphere. 4, 733-736.

Hoefer. 1994. **Protein Electrophoresis Application Guide**. Hoefer Scientific Instruments. 105 p.

Iglesias, L. and Gonzalez, M.C. 1995. Variation in the total protein composition of a rice varietal group submitted to saline stress. **Cultivos Tropicales**. 16, 81-83.

Iyer, S. and Caplan, A. 1998. Products of proline catabolism can induce osmotically regulated genes in rice. **Plant Physiology**. 116, 203-211.

Jafri, A.Z. and Rafiq, A. 1995. Effect of soil salinity on leaf development, stomatal size and its distribution in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). **Pakistan Journal of Botany**. 27, 297-303.

Jagadev, P.N. and Jena, D. 1993. Effect of saline irrigation water on germination and seedling growth of rice genotypes. **Orissa Journal of Agricultural Research**. 6 (1-2), 87-90.

Kaskar, D.R. 1991. Growth of rice at different salt concentration in media reflection on potential difference between root and shoot. **Journal of the Indian Society of Soil Science**. 39, 94-98.

Kawamitsu, Y., Agata, W., Hiyane, S., Murayama, S., Nose, A. and Shinjyo, O. 1991. Relation between leaf gas exchange rate and stomata. I. Stomata frequency guard cell length in C_3 and C_4 grass species. **Japanese Journal of Crop Science**. 65, 626-633.

Khan, M.S.A., Hamid, A. and Karim, M.A. 1997. Effect of sodium chloride on germination and seedling characters of different types of rice. **Journal of Agronomy and Crop Science**. 179(3), 163-169.

Lee, K.S., Lee, J.S. and Choi, S.Y. 1992. Changes in the contents of chlorophyll and free proline as affected by NaCl in rice seedlings. **Korean Journal of Crop Science**. 37 (2), 178-184.

Liu, X.Z., Wang, Z.X. and Li, J.K. 1997. Enhance salt tolerance in rice seedlings induced by low concentration of NaCl and its relationship to the toxicity of active oxygen. ***Chinese* Journal of Rice Science**. 11(1), 33-38.

Lutts, S., Kinet, J.M. and Bouharmont, J. 1996a. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. **Annals of Botany**. 78(3), 389-398.

Lutts, S., Kinet, J.M. and Bouharmont, J. 1996b. Effects of salt stress on growth, mineral nutrition and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in rice (*Oryza sativa* L.). **Plant Growth Regulation**. 19(3), 207-218.

Lutts S, Majerus V, Kinet JM. 1999. NaCl effects on proline metabolism in rice (*Oryza sativa* L.). **Physiologia Plantarum**. 105 (3), 450-458.

Misra, A.N., Sahu, S.M., Meera, I., Mohapatra, P., Das, N. and Misra, M. 1997a. Root growth of salt susceptible and a salt resistant rice. **Journal of Agronomy and Crop Science.** 178(1), 9-14.

Misra, A.N., Sahu, S.M., Misra, M., Singh, P., Meera, I. And Das, N. 1997b. Sodium chloride induced changes in leaf growth and pigment and protein contents in two rice cultivars. **Biologia Plantarum.** 39(2), 257-262.

Muhammad, A., Qureshi, R.H. and Ahmad, N. 1989. Effect of external sodium chloride on ionic variations in leaves of rice varieties. **Journal of Agricultural Research Lahore.** 27(4), 327-332.

Naqvi, S.M.S., Ozalp, C.V., Oktem, H.A. and Yucel, M. 1992. Study of proteins synthesized in rice roots under salt stress conditions. **International Rice Research Newsletter.** 17, 15-16.

Pandey, U.K. and Srivastava, R.D.L. 1989. Salinity index in relation to nitrate reductase activity and proline accumulation in paddy genotypes. **Indian Journal of Plant Physiology.** 32(2), 175-177.

Peiris, B.D. and Ranasinghe, A. 1993. Effect of sodium chloride salinity on chlorophyll content in rice (*Oryza sativa* L.) leaves. **Indian Journal of Plant Physiology.** 36(4), 257-258.

Powar, S.L. and Mehta, V.B. 1995. Salt tolerance of some cultivars of rice (*Oryza sativa* L.) at germination stage. **Current Agricultural Research.** 19, 43-45.

Powar, S.L. and Mehta, V.B. 1997. Salt tolerance of different rice varieties under coastal saline soil condition. **Annuals of Agricultural Research.** 18, 536-537.

Rahman, L.S.M., Nawata, E.J. and Sakuratani, T. 1998. Effect of water stress on yield and related morphological characters among tomato (*Lycopersicon esculcentum* Mill.) cultivars. ***Thai* Journal of Agriculture Science.** 31(1), 60-78.

Rajarathinam, S., Koodalingam, K. and Raja, V.D.G. 1992. Effect of saline stress on the germination of rice (*Oryza sativa* L.). **Madras Agricultural Journal.** 79(10), 595-597.

Rani, U.R. and Reddy, A.R. 1994. Salt stress responsive polypeptides in germinating seeds and young seedlings of indica rice. **Journal of Plant Physiology.** 143(2), 250-253.

Sahoo, S.K. and Sahu, A.C. 1993-1994. Catalase, peroxidase and polyphenoloxidase activities during attached rice leaf senescence under NaCl-stress. **Acta Botanica Hungarica.** 38 (1-4), 411-419.

Sam, O.D., Falcon, V. and Rosa, M.D.L. 1997. Leaf epidermis anatomy of rice plant (*Oryza sativa* L.) with different salinity tolerance degree. **Revista de Agricultura Piracicaba.** 72, 3-13.

Shanon, M.C., Rhoades, J.D., Draper, J.H., Scardaci, S.C. and Spyres, M.D. 1998. Assessment of salt tolerance in rice cultivars in response to salinity problems in California. **Crop Science.** 38(2), 394-398.

Shim, I., Naruse, Y., Kim, Y., Kobayashi, K. and Usui, K. 1999. 1999. Scavenging activity of NaCl-induced activated oxygen in two rice (*Oryza sativa* L.). **Japanese Journal of Tropical Agriculture.** 43(1), 32-41.

Shinohara, Y. 2542. Possibility of Hydroponics Application in Thailand **เอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการ.** ภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ. 23-25 ก.ย. 149 หน้า.

Singh, A.K. and Dubey, R.S. 1995. Changes in chlorophyll a and b content and activities of photosystems 1 and 2 in rice seedlings induced by NaCl. **Photosynthetica.** 31(4), 489-499.

Song, J.Q. and Fujiyama, H. 1998. Importance of Na content and water status for growth in Na-salinized rice and tomato plants. **Soil Science and Plant Nutrition.** 44(2), 197-208.

Tiwari, B.S., Bose, A. and Ghosh, B. 1997. Photosynthesis in rice under a salt stress. **Photosynthetica.** 34(2), 303-306.

Villiers, A.J.D., Teichman, I.V., Rooyen, M.W.V. and Theron, G.K. 1996. Salinity induced changes in anatomy, stomatal counts and photosynthetic rate of *Atriplex semibaccata* R.Br. **South African Journal of Botany.** 62, 270-276.

Wang, L., Showalter, A.M. and Ungar, I.A. 1997. Effect of salinity on growth, ion content, and cell wall chemistry in *Atriplex prostrata.* **American Journal of Botany.** 84(9), 1247-1255.

Whang, S.S., Kim, K. and Hess, W.M. 1998. Variation of silica bodies in leaf epidermal long cell within and among seventeen species of *Oryza* (Poaceae). **American Journal of Botany.** 85(4), 461-466.

Yan, B. and Wang, Z.L. 1992. Absorption of sodium ion and function of plasma membrane ATPase in roots of two rice varieties under salt stress. **Chinese Journal of Rice Science.** 6(1), 27-32.

Yan, X.L., Zheng, S.L., He, Y.K. and Huang, N.G. 1992. Rice genotypes differing in salt tolerance. II. Short-term kinetics of NaCl absorption and translocation in intact plants. **Journal of Plant Nutrition.** 151(2), 2667-2678.

Yeo, A.R., Flower, S.A., Rao, G., Welfare, K., Senanayake, N. and Flower, T.J. 1999. Silicon reduces sodium uptake in rice (*Oryza sativa* L.) in saline condition and this is accounted for by a reduction in the transpirational bypass flow. **Plant Cell and Environment.** 22(5), 559-565.

Yeo, A.R., Lee, K.S., Izard, P., Boursier, P.J. and Flowers, T.J. 1991. Short and long - term effects of salinity on leaf growth in rice (*oryza sativa* L.). **Journal of Experimental Botany.** 42(240), 881-889.

Zhang, H., Zhou, J.M., Guo, Y. and Chen, S.Y. 1997. A physiological study on the salt-tolerant mutant of rice. **Acta Phytophysiologica Sinica.** 23, 181-186.

Zhang, Y.H., Somantri, I.H., Tobica, S., Nagamine, T. and Senboku, T. 1996. Variation of salt tolerance at germination in cultivated rice (*Oryza sativa* L.) varieties. **SABRAO Journal**. 28, 15-23.

Zhang, Z.Y., Wen, J. and Lu, B.R. 1997. Diversity of leaf epidermal structures used in biosystematics of rice species. **International Rice Research Notes**. 22, 4-5.

Zheng, S.L. and Yan, X.L. 1996. Distribution of Na^+/ Cl^- in the roots of different rice genotypes under salt stress. **Journal of South China Agricultural University**. 17(4), 24-28.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การสร้างกราฟมาตรฐานของโปรลีน

เตรียมโปรลีน 1 mg/ml แล้วนำมา 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 และ 90 µl ใส่หลอด จากนั้นเติม 3% sulphosalicylic acid ให้ครบ 2 ml เติม glacial acetic 2 ml และ acid ninhydrin 2 ml ผสมให้เข้ากันโดยใช้ vortex mixer แล้วนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 1 ชั่วโมงแล้วจึงนำไปหยุดปฏิกิริยาโดยการแช่น้ำแข็ง เติม toluene 4 ml ผสมให้เข้ากันโดยใช้ vortex mixer แล้วดูดเฉพาะชั้น toluene ที่มีสีชมพูแกมแดงไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงคลื่น 520 นาโนเมตรและนำค่าที่ได้สร้างกราฟมาตรฐานของโปรลีนโดยให้แกน X เป็นค่า absorbance ที่วัดได้ แกน Y เป็น ปริมาณโปรลีน 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 และ 90 µg

ภาคผนวก ข

การสร้างกราฟมาตรฐานของโปรตีน

เตรียม bovine serum albumin (BSA) ที่มีความเข้มข้น 1 mg/ml แล้วนำมา 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 และ 20 µl ใส่หลอด เติม Protein assay dye reagent concentrate ของบริษัท BIO-RAD 200 µl /หลอด เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ml ผสมให้เข้ากันเป็นอย่างดีทิ้งไว้ 15 นาที แล้วนำไปวัดที่ค่า absorbance ที่ 595 นาโนเมตร และนำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานของโปรตีนโดยให้แกน X เป็นค่า absorbance ที่วัดได้ แกน Y เป็น ปริมาณ BSA 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 และ 20 µg

ขั้นตอนการศึกษาแบบแผนโปรตีนโดยวิธี SDS-polyacrylamide gel electrophoresis

(Hoefer, 1994)

1. ใช้แผ่น alumina ประกบแผ่นกระจกโดยให้ spacer อยู่ระหว่างแผ่นกระจกกับ alumina ทำให้มีช่องว่างเกิดขึ้นระหว่างกระจกกับแผ่น alumina
2. สอดชุดแผ่น gel เข้ากับ gel cassette โดยให้ปลายล่างของแผ่น gel เสมอกับส่วนล่างของ cassette หมุนสกรูยึดแผ่น gel เข้ากับ cassett ให้แน่นพอสมควร
3. เตรียมสารละลาย running gel solution แล้วเทลงในช่องว่างระหว่างกระจก จากนั้นค่อย ๆ เติมน้ำกลั่นลงให้ท่วมผิวของขอบสารละลาย gel ทั้งนี้เพื่อป้องกันไม่ให้สารละลาย gel สัมผัสกับออกซิเจนในอากาศ (ออกซิเจนสามารถยับยั้งกระบวนการแข็งตัวของ gel)
4. เมื่อ gel แข็งตัว เทน้ำกลั่นที่อยู่ตอนบนให้หมด จากนั้นเทสารละลาย stacking gel ที่เตรียมไว้ลงในช่องว่างที่เหลือ พร้อมทั้งสอด comb ลงไประหว่างกระจกจัด comb ให้อยู่ในระดับ เติมน้ำกลั่นให้ท่วมผิว gel อีกครั้งเมื่อ gel แข็งตัวจึงค่อย ๆ ถอด comb ออกจากกระจก โดยระวังอย่าให้ gel ที่อยู่ระหว่างซี่ของ comb ขาด
5. ถอดชุด gel ออกจาก gel caster และ gel cassette ล้างช่อง gel (sample well) ด้วยน้ำกลั่น 1-2 ครั้ง ทำเครื่องหมายแสดงตำแหน่งของแต่ละช่อง gel ด้วยปากกา
6. เท 1x Running buffer ลงใน chamber ล่าง ประกอบแผ่น gel เข้ากับ chamber โดยขยับแผ่น gel ขึ้นลงเล็กน้อยเพื่อไล่ฟองอากาศที่อยู่ระหว่างกระจกด้านล่างออกให้หมด เติม 1x Running buffer ลงใน chamber บนจนท่วมแผ่น gel ตอนบน และมีระดับสูงกว่า gel ประมาณ 0.3-0.4 ซม.
7. ใส่สารละลายตัวอย่างที่ต้องการศึกษาโดยให้มีปริมาณโปรตีนประมาณ 10-20 µg ในปริมาณ 5-10 µl ลงในช่อง gel แต่ละช่อง ถ้าต้องการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของสารตัวอย่างให้ใส่ standard molecular weight marker ลงในอีกช่อง gel หนึ่ง
8. ต่อ electrophoretic chamber เข้ากับ power supply โดยให้ chamber บนเป็นขั้วลบ (สีดำ) chamber ล่างเป็นขั้วบวก (สีแดง) ใช้ความต่างศักย์ 20V จนกระทั่งสีของ bromphenol blue เคลื่อนไปจนเกือบสุดขอบของแผ่น gel (หรือ 0.5-1 ชม. จากปลายล่าง)
9. แกะ gel ออกจากกระจก ตัดเอาเฉพาะส่วนของ separating gel ใส่ลงในกล่องพลาสติกที่มีสีย้อม coomassie blue ใช้เวลาย้อมประมาณ 30 นาที (ถ้าเป็นสีที่ใช้แล้วให้เพิ่มเวลาเป็น 1-3 ชั่วโมง) ล้างเอาสีส่วนเกินออกให้หมดด้วยสารละลาย destain I และ II

การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

ตัวอย่างที่จะวิเคราะห์ด้วยอิเล็กโทรโฟเรซิสควรทราบปริมาณหรือความเข้มข้นของโปรตีนในสารตัวอย่างก่อน เจือจางสารตัวอย่างด้วย 2X solubilizing medium (SM) เพื่อให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของสารตัวอย่างประมาณ 2 mg/μl ใน 1X SM ใช้น้ำกลั่นในการเจือจางและปรับปริมาตรตามต้องการ ต้มสารตัวอย่างที่เตรียมไว้ในน้ำเดือด 90 วินาทีก่อนนำไปวิเคราะห์โดยอิเล็กโทรโฟเรซิส

การเตรียมเจล

Running gel solution

5 ml (one 1.5 mm or two 0.75 mm thick SE 250 gels) Light Solution

	Final Gel Concentration				
	5 %	7.5 %	10 %	12 %	15 %
Monomer solution	0.84 ml	1.25 ml	1.65 ml	2.1 ml	2.5 ml
4X Running Gel Buffer	1.25 ml	1.25 ml	1.25 ml	1.25 ml	1.25 ml
10 % SDS	0.05 ml	0.05 ml	0.05 ml	0.05 ml	0.05 ml
ddH_2O	2.85 ml	2.45 ml	2.0 ml	1.6 ml	1.2 ml
10 % Ammonium persulfate	17 μl	17 μl	17 μl	17 μl	17 μl
TEMED[1]	1.7 μl	1.7 μl	1.7 μl	1.7 μl	1.7 μl
1. Added just before pouring gel					

Stacking gel solution

Gel thickeness	0.75 mm	1.5 mm
Monomer solution	0.44 ml	0.88 ml
4X stacking gel buffer	0.83 ml	1.66 ml
10 % SDS	33 μl	66 μl
ddH_2O	2.03 ml	4.06 ml
10 % Ammonium persulfate	16.7 μl	33.4 μl
TEMED[1]	1.7 μl	3.3 μl
1. Added just before pouring gel		

Stock Solution

Monomer Solution (30.8%T 2.7%C_{bis})

Caution: Acrylamide is neurotoxic and should be handled with care.

60 g acrylamide (FW 154.2)

ddH_2O to 200 ml

Store up to 3 months at 4 C in the dark.

4X Running Gel Buffer (1.5 M Tris – Cl, pH 8.8)

36.3 g Tris (FW 121.1)

Add 150 ml ddH_2O

Adjust to pH 8.8 with HCl

ddH_2O to 200 ml

Store up to 3 months at 4 c in the dark.

4X Stacking Gel Buffer (0.5 M Tris – Cl, pH 6.8)

3.0 g Tris (FW 121.1)

Add 40 ml ddH_2O

Adjust to pH 6.8 with HCl

ddH_2O to 200 ml

Store up to 3 months at 4 c in the dark.

10% SDS

10 g SDS

ddH_2O to 100 ml

Store up to 6 months at room temperature

10% Ammonium persulfate (Initiator)

0.1 g ammonium persulfate

ddH_2O to 1.0 ml

Use fresh; do not store.

2X Treatment Buffer (0.125 M Tris – Cl, 4%SDS, 20%v/v glycerol, 0.2 m DTT, 0.02 % Bromophenol Blue, pH 6.8)

2.5 ml 4X stacking gel buffer

4.0 ml 10% SDS

2.0 ml glycerol

2.0 mg bromophenol blue

0.31 g dithiothreitol (DTT; FW 154.2)

ddH_2O to 10.0 ml

Store 0.5 – ml aliquots at –20 C for up to 6 months

Tank Buffer (0.025 M Tris, 0.192 M Glycine, 0.1% SDS, pH 8.3)

30.28 g Tris (FW 121.1)

144.13 g glycine

10 g SDS

ddH_2O to 10 L

This solution can be made up directly in large reagent bottles because it is not necessary to check the pH. Store at room temperature for up to 1 month

Silver Staining

เป็นการย้อมโปรตีนที่มีขนาดโมเลกุลเล็ก หรือมีปริมาณโปรตีนน้อย โปรตีนที่นำมาศึกษาควรมีปริมาณ 5 μg เป็นอย่างน้อยมีขั้นตอนดังนี้

1. แช่เจลไว้ใน destain I 100 ml เป็นเวลา 30 นาที แล้วเทสารทิ้ง
2. แช่เจลไว้ใน destain II 100 ml เป็นเวลา 30 นาที แล้วเทสารทิ้ง
3. จากนั้นจึงไปแช่ใน cross-linking solution 100 ml เป็นเวลา 30 นาที แล้วเทสารทิ้ง
4. ทำการล้างเจลให้สะอาด 5-6 ครั้งแล้วแช่ในน้ำกลั่นเป็นเวลา 30 นาที หรือ 2 ชั่วโมง แล้วเทน้ำทิ้ง
5. นำไปแช่ใน DTT solution 100 ml เป็นเวลา 30 นาที แล้วเทสารทิ้ง
6. นำไปแช่ silver nitrate solution 100 ml เป็นเวลา 30 นาที แล้วเทสารทิ้ง
7. ล้างเจลด้วยน้ำกลั่นให้สะอาด 2-3 ครั้ง จึงเท developing solution 100 ml แล้วเขย่าเบา ๆ อย่างสม่ำเสมอเมื่อสารละลายเริ่มเปลี่ยนสีให้เททิ้ง แล้วเติม developing solution เพิ่มจนกว่าแถบโปรตีนจะเริ่มปรากฏลาง ๆ แล้วจึงล้างด้วยน้ำกลั่น 5-6 ครั้ง แล้วจึงใส่ stop solution 5 ml ทิ้งไว้ 5 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่น 3-4 ครั้ง แล้วจึงนำไปแช่ destain II

Cross-linking Solution (10% glutaraldehyde)

20ml of 50% glutaralddehyde stock

Distilled water to 100 ml.

DTT (dithiothreitol) Solution (5 μl/ml)

5 mg DTT

Bring to 1 L with ddH_2O

Silver Nitrate Solution (0.1% W/V Silver Nitrate)

1 g silver nitrate

Distilled water to 1 L.

3% Sodium Carbonate (3% W/V)

60 g sodium carbonate

Bring to 2 L with distilled water, store in glass container.

Developing Solution (3% sodium carbonate, 0.019% formaldehyde)

200 ml of 3% sodium carbonate

100 μl of 37% formaldehyde

Prepare just before use.

Stop Solution (2.3 M sodium citrate)

67.64 g sodium citrate, dihydrate (FW 294.1)

Bring to final volume of 100 ml with ddH_2O

Bio-Rad's SDS-PAGE Molecular Weight Standard

Rabit muscle phosphorylase b	97.4 KDa
Bovine serum albumin	66.2 KDa
Hen egg white ovalbumin	45 KDa
Carbonic anhydrase	31 KDa
Soybean trypsin inhibitor	21.5 KDa
Hen egg white lysozyme	14 KDa

1% Coomassie Brilliant Blue R-250 stock

Coomassie Blue R-250	2.0 g.
Distilled water to	200 ml.

Staining solution

1% Coomassie Brilliant Blue R-250 stock	62.5 ml.
Methanol	250 ml.
Acetic acid (glacial)	50 ml.
Distilled water to	500 ml.

Destaining solution I

Methanol	500 ml.
Acetic acid (glacial)	100 ml.
Distilled water to	1000 ml.

Destaining solution II

Methanol	50 ml.
Acetic acid (glacial)	70 ml.
Distilled water to	1000 ml.

ภาคผนวก ค

ขั้นตอนการทำสไลด์ถาวรเนื้อเยื่อพืชโดยกรรมวิธีพาราฟิน (อัจฉรา ธรรมถาวร, 2534)

การฆ่าและรักษาเซลล์ในตัวอย่าง (Fixation)

Fixation เป็นการทำให้เซลล์ตายโดยใช้สารเคมีไปทำให้เมแทโบลิซึมของเซลล์หยุดลงและสารเคมีนั้นยังสามารถรักษาไม่ให้ตัวอย่างเน่าเปื่อยไปอีกด้วย เรียกสารเคมีที่ใช้ใน fixation ว่า fixing reagent หรือ fixative

Fixative ที่นิยมใช้ได้แก่ FAA 70% ซึ่งประกอบด้วย formalin 5 ส่วน glacial acetic acid 5 ส่วน และ ethyl alcohol 70 % 90 ส่วนโดยปริมาตร ถ้าตัวอย่างมีลักษณะอ่อนนุ่มบอบบาง ควรใช้ ethyl alcohol 50 % แทน 70 % และเรียกว่า FAA 50 %

การดูดอากาศออกจากตัวอย่าง (Suction)

Suction เป็นการดูดอากาศออกจากเซลล์ในตัวอย่างเพื่อให้ fixative และสารเคมีอื่น ๆ ที่ใช้ในขั้นตอนต่อ ๆ ไปเข้าไปอยู่ในทุกส่วนของเซลล์ เซลล์พืชมีช่องว่างระหว่างเซลล์ และ lumen ที่มีอากาศอยู่มากจึงจำเป็นต้องดูดออก

การล้าง Fixative ออกจากตัวอย่าง (Washing)

สารละลายที่ใช้ล้างควรมีความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ใกล้เคียงกับความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ใน Fixative และสารละลายที่จะใช้ดึงน้ำออกจากตัวอย่างในขั้นตอนต่อไป

การดึงน้ำออกจากตัวอย่าง (Dehydration)

สารละลายน้ำที่ใช้ดึงน้ำออกจากตัวอย่างส่วนใหญ่เป็นแอลกอฮอล์ ซึ่งต้องใช้ตามลำดับความเข้มข้นจากน้อยไปหามากตามลำดับโดยช่วงห่างไม่ควรเกิน 30 % นิยมดึงน้ำออกจากชิ้นตัวอย่างด้วย Tertiary butyl alcohol (TBA) ลำดับความเข้มข้น (grade) จาก 1 ถึง 5 ดังตาราง

ส่วนผสม	ปริมาตร(ลบ.ซม.)ในแต่ละgrade				
	grade				
	1	2	3	4	5
น้ำกลั่น	50	30	15	0	0
Ethyl alcohol 95 %	40	50	50	45	0
Tertiary butyl alcohol	10	20	35	55	75
Ethyl alcohol 100 %	0	0	0	0	25
รวมปริมาตรแอลกอฮอล์ทั้งหมด	50	70	85	95	100

การดึงน้ำ (Dehydration)

1. เทแอลกอฮอล์ที่ใช้ล้าง Fixative ออกจากขวดใส่ตัวอย่างให้มากที่สุด และเท TBA grade 1 ลงไปแทนที่ เอียงขวดแล้วหมุนขวดโดยรอบจึงเททิ้งครั้งหนึ่งก่อน แล้วใส่ TBA grade 1 อีกครั้ง จนท่วมชิ้นตัวอย่างปิด

ฝาขวด ตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 2 ชั่วโมง ถ้าขวดใหญ่ จำนวนชิ้นตัวอย่างมาก และแข็งต้องเพิ่มเวลาให้นานขึ้น อาจถึง 24 ชั่วโมง

2. เท TBA grade 1 ออกใส่ grade 2 ลงไปแทนเอียงและหมุนขวด แล้วเท TBA grade 2 ลงไปใหม่ปิดฝาตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง

3. ทำเช่นเดียวกับข้อ 2 โดยใช้ TBA grade 3 และ 4 ตามลำดับ แต่ละลำดับแช่ไว้ 1 ชั่วโมง

4. ใส่ผงสี erythrosin (สีแดงส้ม) ลงไปในขวด TBA grade 5 เล็กน้อยเขย่าให้สีละลายหมดก่อนจึงนำไปใช้ดึงน้ำโดยทำเช่นเดียวกับข้อ 3 สีแดงจะติดผิวของชิ้นตัวอย่างทำให้สังเกตเห็นชิ้นตัวอย่างได้ชัดเจนระหว่างการฝังตัวอย่างในพาราฟิน สีนี้จะหลุดไปเองในขั้นตอนเตรียมย้อมสี

5. เท TBA grade 5 ออกใส่ pure TBA ลงไปแทนปิดฝาขวดตั้งไว้ 24 ชั่วโมงทำซ้ำ 3 ครั้ง

การนำพาราฟินเข้าสู่เซลล์ในตัวอย่าง (Infiltration)

การนำพาราฟินเข้าสู่เซลล์ในตัวอย่างจำเป็นต้องใช้ตู้อบความร้อน (Oven) ที่มีเครื่องดูดอากาศ เนื้อเยื่อพืชที่อยู่ในที่มีความร้อนสูงเกินไปและนานเกินไปจะกรอบทำให้แตกหักง่ายนอกจากนั้นยังทำให้คุณสมบัติของพาราฟินเสียไปด้วย ดังนั้นก่อนเข้าสู่ขั้นตอนนี้จึงต้องตั้งอุณหภูมิภายในตู้อบให้เท่ากับจุดหลอมเหลวของพาราฟินที่ใช้ โดยทั่วไปจะประมาณ 58 °C จากนั้นจึงนำพาราฟินใส่ภาชนะที่แห้งสะอาดและทนความร้อน (เช่น กาน้ำอลูมิเนียม) นำไปหลอมเตรียมไว้ ปัจจุบันมีหม้อหลอมพาราฟิน (paraffin dispenser) ที่มีเครื่องกำหนดอุณหภูมิ และมีก๊อกเปิด-ปิด ทำให้สะดวกมากขึ้น แม้กระนั้นก็ต้องกำหนดอุณหภูมิภายในตู้อบดังกล่าวข้างต้นเตรียมไว้เช่นกันเกี่ยวกับเวลาที่เหมาะสมสำหรับชิ้นตัวอย่างจะอยู่ในตู้อบนั้นให้ถือหลักว่า ถ้าชิ้นตัวอย่างเล็ก อ่อนนุ่ม บอบบางควรใช้เวลาน้อยถ้าชิ้นตัวอย่างใหญ่ หนา แข็งควรใช้เวลานานกว่าการนำพาราฟินเข้าสู่เซลล์

1. เตรียมสารละลายที่เป็นส่วนผสมของ Pure TBA กับ paraffin oil อัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตรเขย่าเบา ๆ ให้ส่วนผสมเข้ากันดี

2. เท Pure TBA ในขวดใส่ตัวอย่างจากขั้นตอนการดึงน้ำออก ลงในขวดสำหรับเก็บแอลกอฮอล์ใช้แล้ว (used alcohol) ใส่สารละลายที่เตรียมในข้อ 1 ลงไปท่วมชิ้นตัวอย่าง ปิดฝาตั้งไว้อย่างน้อย 1 ชั่วโมง

3. เทพาราฟินบริสุทธิ์ที่หลอมไว้แล้วลงใน Vial ให้ความสูงของพาราฟินประมาณ 3 ใน 4 ของความสูงของ vial รอจนผิวบนของพาราฟินแข็งตัวจึงนำชิ้นตัวอย่างในขวดข้อ 2 ลงบนพาราฟินโดยให้มีสารละลายที่เป็นส่วนผสมของ paraffin oil + pure TBA ปนลงไปบ้างเล็กน้อย นำ vials เข้าตู้อบที่ตั้งอุณหภูมิไว้ เวลาที่ชิ้นตัวอย่างอยู่ในตู้อบอย่างน้อย 1 ชั่วโมงหลังจากชิ้นตัวอย่างจมลงถึงก้น vial แล้วแต่ไม่เกิน 24 ชั่วโมง

4. นำ Vial ในข้อ 3 ออกจากตู้อบ (ทำทีละ vial) ออกใส่กระทงกระดาษอย่างหนา ใส่พาราฟินบริสุทธิ์ที่หลอมไว้ลงไปใน vial อีกครั้งนำเข้าตู้อบ คราวนี้ใช้เวลาประมาณ 6 ชั่วโมง

การฝังชิ้นตัวอย่าง (Embedding)

ก่อนฝังชิ้นตัวอย่างผู้ปฏิบัติต้องเตรียมแบบสำหรับฝัง ขนาดของแบบเกี่ยวข้องโดยตรงกับขนาดและจำนวนชิ้นตัวอย่างที่จะนำมาฝัง มีหลักการคำนวณง่าย ๆ คือ

ระยะห่างระหว่างชิ้นตัวอย่างแต่ละชิ้น 1.5 ซม.

ระยะห่างระหว่างชิ้นตัวอย่างกับขอบของแบบ 1.0 ซม.

ความสูงของแบบ = ความสูงของชิ้นตัวอย่าง + 1.0 ซม.

ขั้นตอนการฝังตัวอย่าง

1. เทพาราฟินที่หลอมไว้แล้วลงในแบบ ให้พาราฟินสูงจากก้นประมาณ □ ของความสูงของแบบ

2. เทชิ้นตัวอย่างออกจากขวดตัวอย่างที่ผ่านการนำพาราฟินเข้าสู่เซลล์แล้วลงในข้อ 1
3. ใช้เข็มปลายแบนลนไฟจัดเรียงชิ้นตัวอย่างให้อยู่ในตำแหน่งที่ต้องการ ขณะนี้พาราฟินจะต้องท่วมชิ้นตัวอย่าง
4. ทุกชิ้นและสูงกว่าชิ้นตัวอย่างประมาณ 0.5 ซม. ถ้าพาราฟินไม่พอให้รีบเติมลงไปก่อนที่พาราฟินในแบบจะขาวขุ่น แล้วจึงจัดเรียงชิ้นตัวอย่าง
5. ปล่อยให้พาราฟินในแบบแข็งตัวเรียบร้อยแล้วจึงเคลื่อนย้ายแบบ

จะเห็นว่าต้องฝังตัวอย่างให้เสร็จก่อนที่พาราฟินจะแข็งตัวจึงไม่ควรฝังตัวอย่างหลายชิ้นในแบบเดียวกัน เครื่องมือที่จะช่วยในการฝังตัวคือ แท่นอุ่นสไลด์ (Slide warmer) โดยใช้อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

การตัดตัวอย่าง (Microtoming)

ก่อนการตัดตัวอย่างด้วยไมโครโทมต้องติดแท่งพาราฟินที่ฝังตัวอย่างไว้แล้วกับแท่งไม้ที่มีขนาดเหมาะสมกับช่องยึดตัวอย่างเรียบร้อยแล้ว

1. นำแท่งไม้ที่ติดบล็อกไว้มาแต่งขอบบล็อกให้เรียบและเป็นมุมฉาก ส่วนด้านผิวที่สัมผัสกับคมมีดต้องเฉือนพาราฟินออก เพื่อให้ชิ้นตัวอย่างอยู่ใกล้ผิวบล็อกมากที่สุด
2. ใส่แท่งไม้ในข้อ 1 เข้าในช่องใส่บล็อกของไมโครโทม หมุนสกรูยึดแท่งไม้ให้แน่น
3. ใส่ใบมีดลงในช่องยึดใบมีดเลื่อนชุดใบมีดเข้าใกล้บล็อก ให้คมมีดอยู่ใกล้บล็อกมากที่สุดยึดใบมีดให้แน่น
4. ปรับสเกลบอกความหนาของชิ้นตัวอย่างตามต้องการส่วนใหญ่จะอยู่ระหว่าง 10 ถึง 12 ไมโครเมตร
5. หมุนวงล้อไมโครโทมตามลูกศร 3-4 รอบหรือมากกว่านั้นจนกว่าจะได้พาราฟิน 1 ชิ้นใช้ภู่พันช้อนชิ้นพาราฟินที่ตัดได้ไม่ให้พับแนบกับใบมีดแล้วจึงหมุนวงล้อต่อไปเรื่อย ๆ ควรจะได้แถบพาราฟินบาง ยาว หรือเรียกริบบ้อน (Ribbon) และชิ้นตัวอย่างถูกตัดออกมาพร้อมกับพาราฟินด้วย เมื่อได้ริบบ้อนยาวพอสมควรให้หยุดตัดแล้วนำริบบ้อนไปวางในกล่องกระดาษที่มีกระดาษผิวมันสีเข้มรองก้นกล่องไว้ โดยให้ด้านที่มีผิวมันซึ่งเป็นด้านที่สัมผัสกับใบมีดลงข้างล่าง ตัดต่อไปจนกว่าจะได้จำนวนชิ้นตัวอย่างตามต้องการ

การติดริบบ้อนลงบนสไลด์ (Affixing section to slides)

การติดริบบ้อนจะต้องอาศัยกาว Haupt's adhesive ซึ่งมีส่วนประกอบดังนี้ ละลายเจลาติน 1 กรัมในน้ำกลั่น 100 มล.ที่ 90 องศาเซลเซียสคนจนละลายหมด เติมเกล็ดฟีนอล (Phenol crystal) 2 กรัมลงในสารละลายเจลาตินคนจนละลายหมด เติมกลีเซอรีน (glycerine) 15 มล.ลงในสารละลายคนให้เข้ากันดีแล้วกรองสารละลายทั้งหมด แล้วเก็บไว้ในขวดสีชา การทากาวควรทาบริเวณที่จะติดริบบ้อนเท่านั้น เพื่อไม่ต้องเสียเวลาเช็ดออกหลังจากย้อมสีและควรเว้นที่บนสไลด์ไว้ติดป้ายอธิบายด้วย สไลด์ที่ทากาวแล้วต้องเก็บใส่กล่องไม่ให้ถูกฝุ่นและควรทาทิ้งไว้อย่างน้อง 12 ชั่วโมงก่อนนำมาติดริบบ้อน

การติดริบบ้อน

1. เปิดแท่นอุ่นสไลด์ตั้งอุณหภูมิที่ 45 องศาเซลเซียส
2. หยดสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์ลงบนสไลด์ตรงบริเวณที่ทากาว 3-4 หยด
3. ใช้ใบมีดตัดริบบ้อนให้ได้ความยาวเหมาะกับบริเวณที่ทากาว แล้วใช้ภู่กันหรือเข็มเขี่ยช้อนริบบ้อนไปลอยบนฟอร์มาลดีไฮด์ให้ด้านผิวมันอยู่ด้านล่าง
4. จัดวางริบบ้อนให้เหมาะสมกับการที่นำสไลด์ไปใช้กับกล้องจุลทรรศน์และการถ่ายภาพตัวอย่างแผ่นใบที่ตัดตามขวางควรเรียงในแนวตั้งให้ด้านที่เป็นผิวใบด้านล่างอยู่ข้างบน
5. รอจนริบบ้อนเหยียดออก แล้วซับฟอร์มาลดีไฮด์ที่เกินออกโดยอาจให้ไหลลงด้านข้าง วางสไลด์บนแท่นอุ่นสไลด์จนฟอร์มาลดีไฮด์แห้งจึงเก็บใส่กล่องสไลด์ ควรเก็บสไลด์ไว้ 24 ชั่วโมงก่อนนำไปย้อมสี

การย้อมสี (Staining)

การเตรียมสี

1. สี Safranin O และ fast green
   1.1 ละลายสี Safranin O 4 กรัมด้วย Methyl cellosolve 200 มล.คนจนสีละลายหมด
   1.2 เติมแอลกอฮอล์ 95 % 100 มล.และน้ำกลั่น 100 มล.
   1.3 ใส่ sodium acetate 4 กรัม และ ฟอร์มาลิน 8 มล.ลงในสารละลายคนให้เข้ากันเก็บในขวดที่มีฝาปิดสนิท ถ้ามีตะกอนมากควรกรองก่อนเก็บ
2. สี fast green FCF
   2.1 เตรียมสารละลายที่เป็นส่วนผสมของ
      -methyl cellosolve 60 มล.
      -Clove oil 60 มล.
      -Absolute alcohol60 มล.
   2.2 ชั่งผงสี Fast green 1 กรัมละลายผงสีนี้ด้วยสารละลายในข้อ 2.1 คนให้ละลายมากที่สุดแล้วกรองเก็บไว้ในขวดที่มีฝาปิดสนิท

การล้างพาราฟินออกจากชิ้นตัวอย่าง

ก่อนย้อมสีจะต้องล้างพาราฟินออกหลังจากนั้นจึงนำชิ้นตัวอย่างไปแช่ในสารละลายที่พร้อมจะย้อมสี เรียกขั้นตอนนี้ว่า การเตรียมย้อมสี (Prestaining) สารละลายที่ใช้จะบรรจุอยู่ในขวดย้อมสี (staining jar) ประมาณครึ่งขวด เมื่อใส่สไลด์ลงไปแล้วสารละลายต้องท่วมชิ้นริบบ้อน

1. แช่สไลด์ที่ติดริบบ้อนไว้แล้วใน Xylol อย่างน้อย 5 นาที
2. ย้ายสไลด์จากขวดที่มี Xylol ไปใส่ขวดที่มีสารละลายที่เป็นส่วนผสมของ xylol กับ alcohol 100% อัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตรเป็นเวลา 5 นาที
3. แช่สไลด์ในสารละลายแอลกอฮอล์กับอีเทอร์ อัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร นาน 5 นาที
4. ย้ายสไลด์ไปแช่ในแอลกอฮอล์ 100%, 95% และ 70 % ตามลำดับโดยแช่ไว้ขั้นตอนละ 5 นาที

การย้อมสี Safranin ควบคู่กับสี fast green

1. ย้ายสไลด์มาแช่สี Safranin O โดยให้สีท่วมชิ้นริบบ้อนนาน 2-24 หรือ 48 ชั่วโมงขึ้นอยู่กับชนิดพืช
2. ล้างสีส่วนเกินออกโดยจุ่มล้างน้ำในภาชนะปากกว้าง 3-4 ครั้ง จนน้ำที่ไหลออกมาไม่มีสีชมพู
3. ดึงน้ำและล้างสีส่วนเกินออกโดยใช้แอลกอฮอล์ 95% ที่มีกรดพิคริก (pricric acid) 0.5% นาน 10 วินาที ถ้านานกว่านี้สีจะลอกออกมาเกินไป
4. แช่สไลด์ในแอลกอฮอล์ 95% ที่มีแอมโมเนีย 4-5 หยดต่อแอลกอฮอล์ 100 มล.เพื่อหยุดปฏิกิริยาของกรดพิคริก ไม่ควรแช่นานเกิด 2 นาที
5. แช่สไลด์ตัวอย่างในแอลกอฮอล์ 95% อย่างน้อย 10 วินาที (ขั้นตอนที่ 6-10 ต้องนำสไลด์มาทำทีละแผ่น)
6. ย้อมสีด้วย fast green ที่ใส่ในขวดที่มีหลอดหยด โดยหยดสีพอท่วมชิ้นตัวอย่างไม่นานเกิน 15 วินาที แล้วเอียงสไลด์ให้สีไหลลงในภาชนะเก็บสีซึ่งสามารถนำกลับมาใช้ได้อีก
7. ล้างสีส่วนเกินด้วย clove oil 50 ส่วนแอลกอฮอล์ 100% ส่วนและ xylol 25 ส่วนโดยจุ่มสไลด์ในขวดย้อมสีหรือขวดปากกว้างที่มีสารละลายดังกล่าว 2-3 ครั้ง
8. ย้ายสไลด์ไปแช่ในแอลกอฮอล์ 100% กับ xylol อัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตรนาน 5 นาที
9. ย้ายสไลด์ไปแช่ใน xylol นาน 15 นาทีแล้วเตรียมผนึกสไลด์

การผนึกสไลด์ (Mounting)

1. นำสไลด์ที่ต้องการผนึกเช็ดทำความสะอาดคราบสีที่อยู่บนสไลด์รอบ ๆ ชิ้นตัวอย่าง
2. หยด xylol 1-2 หยดเพื่อไม่ให้สไลด์แห้งจากนั้นหยดสารที่ใช้ผนึกลงบนชิ้นตัวอย่าง
3. พยายามอย่าให้มีฟองอากาศ แล้วจึงวางแผ่นปิดสไลด์ในตำแหน่งที่เหมาะสมโดยเว้นที่สำหรับคำอธิบายสไลด์
4. ผึ่งสไลด์ไว้ในอุณหภูมิห้องโดยวางสไลด์ในแนวนอนจนกว่าสไลด์จะแห้งสนิท

การอธิบายสไลด์ (Labelling)

1. ชื่อโครงสร้างและชื่อพืช
2. ชื่อวิทยาศาสตร์
3. แนวการตัด เช่น CS., TS., หรือ RS. เป็นต้น
4. สีที่ใช้ย้อม เช่น Safranin และ fast green

ภาคผนวก ง

การเตรียมสารละลายอาหาร

ธาตุ	สารเคมีที่ใช้	มิลลิกรัมต่อลิตร
N	$(NH_4)_2SO_4$	7
P	$NaH_2PO_4 H_2O$	7.75
K	KCl	19.5
Ca	$CaCl_2$ $2H_2O$	10
Mg	$MgSO_4$ $7H_2O$	4.5
S	Na_2SO_4	6
Mn	$MnSO_4$ $4H_2O$	0.05
B	H_2BO_3	0.05
Zn	$ZnSO_4$ $7H_2O$	0.0125
Cu	$CuSO_4$ $5H_2O$	0.0125
Mo	Na_2MoO_4 $2H_2O$	0.0125
Fe	$C_{10}H_{12}N_{20}O_8NaFe$	0.75
Si	Na_2SiO_2	12.5

1. เตรียม stock สารละลายให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 1000 เท่า ดังนั้นเนื้อสารใน 1 มิลลิลิตรของทุก stcok สามารถเตรียมสารละลายอาหารได้ 1 ลิตร ตัวอย่างการเตรียม เช่น ชั่ง $(NH_4)_2SO_4$ 7 กรัม ละลายน้ำกลั่น 1 ลิตร ถ้าต้องการเตรียมสารละลายอาหาร 80 ลิตร จะต้องดูดสารละลายใน stock ดังกล่าวมา 80 มิลลิลิตร เป็นต้น เมื่อดูดสารละลายจาก stock ละลายในน้ำกรองครบทุก stock แล้ว ปรับปริมาตรสารละลายเป็น 80 ลิตร และปรับ pH เท่ากับ 5.0 หรือให้อยู่ในช่วง 5.0-5.5
2. การให้สารละลายอาหารแก่พืชจะเพิ่มความเข้มข้นสารละลายอาหารทีละ 1/3 เท่า เป็นเวลา 3 วัน 1/2 เท่า เป็นเวลา 3 วัน และ 1 เท่า เป็นเวลา 3 วัน สารละลายอาหาร 1/3 เท่า หมายถึงสารละลายอาหารที่เตรียมเสร็จแล้ว 1 ส่วน เติมน้ำกรองเพิ่ม 2 ส่วน สารละลายอาหาร 1/2 เท่า คือ สารละลายอาหารที่เตรียมเสร็จแล้ว 1 ส่วน เติมน้ำกรองเพิ่ม 1 ส่วน และสารละลายอาหาร 1 เท่า คือ สารละลายอาหารที่เตรียมปกติ สารละลายอาหารที่เตรียมเสร็จแล้วทุกความระดับความเข้มข้นจะต้องปรับ pH เท่ากับ 5.0 หรือให้อยู่ในช่วง 5.0-5.5

ประวัติผู้เขียน

นายอาทิตย์ยา ฉิมรักแก้ว เกิดเมื่อวันที่ 5 พฤศจิกายน 2516 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี จากภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เมื่อ พ.ศ. 2539 และศึกษาต่อในระดับปริญญาโท สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เมื่อปี พ.ศ. 2539 ระหว่างศึกษาในระดับปริญญาโท ได้รับทุนสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์จาก โครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย (Biodiversity Research and Training Program, BRT)