ผลของภาวะเครียดจากความเค็มต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์ต้านออกซิเดชันในประชากรข้าว CSSL

นางสาวฝนทิพย์ หนูทอง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย
The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพฤกษศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2557
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECTS OF SALT STRESS ON ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITIES IN CSSL RICE POPULATION

Miss Fonthip Noothong

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Botany
Department of Botany
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2014
Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของภาวะเครียดจากความเค็มต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์ต้านออกซิเดชันในประชากรข้าว CSSL
โดย	นางสาวฝนทิพย์ หนูทอง
สาขาวิชา	พฤกษศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	อาจารย์ ดร. อัญชลี ใจดี
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร. ศุภจิตรา ชัชวาลย์

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(ศาสตราจารย์ ดร. สุพจน์ หารหนองบัว)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ต่อศักดิ์ สีลานันท์)

....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(อาจารย์ ดร. อัญชลี ใจดี)

....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์ ดร. ศุภจิตรา ชัชวาลย์)

....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กนกวรรณ เสรีภาพ)

....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(ดร. ธีรยุทธ ตู้จินดา)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ฝนทิพย์ หนูทอง : ผลของภาวะเครียดจากความเค็มต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์ต้านออกซิเดชันในประชากรข้าว CSSL (EFFECTS OF SALT STRESS ON ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITIES IN CSSL RICE POPULATION) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อ. ดร. อัญชลี ใจดี, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: รศ. ดร. ศุภจิตรา ชัชวาลย์, 123 หน้า.

ปัจจุบันความต้องการพืชอาหารเพิ่มมากขึ้นตามจำนวนประชากรโลกที่เพิ่มขึ้น ขณะเดียวกันพื้นที่ทำการเกษตรหลายแห่งทั่วโลกรวมทั้งภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยซึ่งเป็นแหล่งปลูกข้าวขาวดอกมะลิ 105 ประสบกับปัญหาดินเค็ม เพื่อแก้ปัญหานี้จึงได้มีการพัฒนาประชากรข้าวที่ได้รับการแทนที่บางชิ้นส่วนในโครโมโซม (chromosome segment substitution line, CSSL) ขึ้น และจากการใช้ค่าคะแนนการประเมินมาตรฐานความทนเค็ม (standard evaluating score, SES) พบ CSSL บางสายพันธุ์ที่ทนเค็มดีกว่า KDML105 ซึ่งมีฐานทางพันธุกรรมเหมือนกัน และการวิเคราะห์ co-expression network พบยีนที่เป็น node คือ *LOC_Os01g68450* ซึ่งแสดงออกร่วมกับยีนที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ต้านออกซิเดชัน เพื่อที่จะตรวจสอบว่าความทนเค็มใน CSSL นั้นเกิดจากกลไกการต้านออกซิเดชัน จึงมีการวัดค่าการเติบโต ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ รงควัตถุในการสังเคราะห์ด้วยแสง และแอกทิวิตีของเอนไซม์ต้านออกซิเดชันในใบอ่อนภายใต้ภาวะปกติและภาวะเค็มสองระดับ ผลการทดลองพบว่า ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งต้น และปริมาณรงควัตถุในใบไม่มีความแตกต่างกันระหว่าง CSSL และ KDML105 เนื่องจากเป็นการทดลองที่ทำในระยะเวลาสั้น อย่างไรก็ตาม ข้าวได้ประสบกับภาวะเครียดออกซิเดชันที่ชักนำโดยภาวะเค็มเมื่อดูจากปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในใบ นอกจากนี้ พบว่าแอกทิวิตีของเอนไซม์ต้านออกซิเดชันที่แตกต่างกันในประชากรข้าว CSSL และ KDML105 นั้นสอดคล้องกับปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และ SES อีกทั้งยังพบว่า เอนไซม์ guaiacol peroxidase (GPX) superoxide dismutase (SOD) ascorbate peroxidase (APX) และ glutathione reductase (GR) ตอบสนองเหมือนใน DH212 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ให้ชิ้นส่วนโครโมโซม 1 ดังนั้น CSSL เหล่านี้จึงมีชิ้นส่วนของโครโมโซม 1 ที่ส่งผลต่อกลไกการต้านออกซิเดชัน ทำให้สามารถทนเค็มได้ดีกว่า KDML105

ภาควิชา พฤกษศาสตร์	ลายมือชื่อนิสิต ....
สาขาวิชา พฤกษศาสตร์	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก ....
ปีการศึกษา 2557	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม ....

5472037923 : MAJOR BOTANY
KEYWORDS: HYDROGEN PEROXIDE / NACL / ORYZA SATIVA L. / SALINITY

FONTHIP NOOTHONG: EFFECTS OF SALT STRESS ON ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITIES IN CSSL RICE POPULATION. ADVISOR: ANCHALEE CHAIDEE, Ph.D., CO-ADVISOR: ASSOC. PROF. SUPACHITRA CHADCHAWAN, Ph.D., 123 pp.

Nowadays, the demand of food crops increases by increasing world population. Nonetheless, many agricultural fields including the northeastern Thailand cultivating KDML105 rice are affected by soil salinity. To overcome this problem, chromosome segment substitution line (CSSL) rice populations were developed. Using standard evaluating score (SES), some CSSLs showed more salt tolerance than KDML105, which has similar genetic background. Moreover, co-expression network analysis found that *LOC_Os01g68450* is the node gene co-expressed with antioxidant enzyme involving genes. To determine whether salt tolerance in these CSSLs is via antioxidant system, growth parameters, relative water content, photosynthetic pigments, and antioxidant enzyme activities in young leaves were measured under normal and two levels of salt stress conditions. The results showed that the relative water content, shoot fresh and dry weight, and leaf pigment content were not different among CSSL and KDML105 due to short exposure time. However, rice plants experienced salt-induced oxidative stress as shown by leaf hydrogen peroxide content. In addition, differential responses of antioxidant enzymes in CSSLs and KDML105 corresponded with hydrogen peroxide content and SES. Moreover, guaiacol peroxidase (GPX), superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX), and glutathione reductase (GR) in CSSLs preformed similar responses to DH212, the donor line. Therefore, these CSSLs carry chromosome 1 segment that influences antioxidant mechanisms, leading to higher salt tolerance than KDML105.

Department:	Botany	Student's Signature	....
Field of Study:	Botany	Advisor's Signature	....
Academic Year:	2014	Co-Advisor's Signature	....

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.อัญชลี ใจดี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และรองศาสตราจารย์ ดร.ศุภจิตรา ชัชวาลย์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม หัวหน้าศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางสิ่งแวดล้อมและสรีรวิทยาของพืช ที่กรุณาให้คำแนะนำ คำปรึกษา ข้อคิดเห็นอันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการศึกษาวิจัยและเสนอผลงานทางวิชาการ รวมถึงกรุณาตรวจแก้วิทยานิพนธ์นี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี อีกทั้งความกรุณาห่วงใย และให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยเสมอมา

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ต่อศักดิ์ สีลานันท์ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กนกวรรณ เสรีภาพ และดร.ธีรยุทธ ตู้จินดา กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ คุณมีชัย เชี่ยงหลิว และคุณอาสาพหะ พัฒนธารา ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่ให้ความอนุเคราะห์ เอื้อเฟื้อและให้คำแนะนำต่าง ๆ รวมทั้งการจัดหาพันธุ์ข้าวเพื่อใช้ในการทำวิจัยครั้งนี้

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) รหัสโครงการ P-12-01235 และทุนสนับสนุนจากโครงการพัฒนาและส่งเสริมผู้มีความสามารถพิเศษทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (พสวท.)

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และครอบครัว สำหรับการสนับสนุน ตลอดจนให้ความรัก เป็นกำลังใจและให้ความช่วยเหลือเสมอมา

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณ คุณนพวิชญพงศ์ เครือสาร คุณพนิตา ชุติมานุกูล และสมาชิกทุกท่านในศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางสิ่งแวดล้อมและสรีรวิทยาของพืช รวมถึงเพื่อน ๆ พี่ ๆ น้อง ๆ ทุกคน สำหรับความช่วยเหลือ คำแนะนำ และกำลังใจที่มีให้แก่ผู้วิจัยเสมอมา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.. จ

กิตติกรรมประกาศ.. ฉ

สารบัญ... ช

สารบัญตาราง.. ญ

สารบัญภาพ ....ฏ

บทที่ 1 1

บทนำ.. 1

บทที่ 2 3

ตรวจเอกสาร 3

1. ดินเค็มและปัญหาดินเค็ม 3

2. การตอบสนองทางสรีรวิทยาของพืชต่อภาวะเค็ม.. 6

2.1 สภาวะน้ำในพืชที่ได้รับภาวะเค็ม... 7

2.2 การเจริญเติบโตของพืชที่ได้รับภาวะเค็ม 9

2.3 ปริมาณรงควัตถุในพืชที่ได้รับภาวะเค็ม 9

2.4 รีแอกทีฟออกซิเจนสปีชีส์ในพืชที่ได้รับภาวะเค็ม 11

2.5 แอกทิวิตีของเอนไซม์ต้านออกซิเดชันในพืชที่ได้รับภาวะเค็ม................................ 12

3. ข้าวประชากร CSSL (Chromosome Segment Substitution Line Population)............ 15

บทที่ 3 19

วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง 19

1. พืชทดลอง... 19

2. วัสดุอุปกรณ์.. 19

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

หน้า

3. สารเคมี 21
4. ขั้นตอนและวิธีดำเนินการทดลอง 22
5. สถานที่ทำการทดลอง 26
บทที่ 4 27
ผลการทดลอง 27
1. การเจริญเติบโตและปริมาณน้ำสัมพัทธ์ของประชากรข้าว CSSL ภายใต้ภาวะปกติและภาวะเค็ม 27
1.1 การเจริญเติบโตของต้นข้าว 27
1.1.1 น้ำหนักสดต้น 27
1.1.2 น้ำหนักแห้งต้น 28
1.2 ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบข้าว 29
2. ปริมาณรงควัตถุในใบของประชากรข้าว CSSL ภายใต้ภาวะปกติและภาวะเค็ม 39
2.1 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ 39
2.2 ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี 41
2.3 ปริมาณแคโรทีนอยด์ 42
3. ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และแอกทิวิตีของเอนไซม์ต้านออกซิเดชันภายใต้ภาวะปกติและภาวะเค็ม 54
3.1 ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในใบข้าว 54
3.2 แอกทิวิตีของเอนไซม์ catalase (CAT) 59
3.3 แอกทิวิตีของเอนไซม์ guaiacol peroxidase (GPX) 60
3.4 แอกทิวิตีของเอนไซม์ superoxide dismustase (SOD) 62
3.5 แอกทิวิตีของเอนไซม์ ascorbate peroxidase (APX) 64
3.6 แอกทิวิตีของเอนไซม์ glutathione reductase (GR) 66
3.7 ความสัมพันธ์ของปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และแอกทิวิตีของเอนไซม์ 83

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

หน้า

บทที่ 5 87

อภิปรายผลการทดลอง 87

5.1 การเติบโตและสภาวะน้ำของประชากรข้าว CSSL ภายใต้ภาวะปกติและภาวะเค็ม 87

5.2 ปริมาณรงควัตถุในใบของประชากรข้าว CSSL ภายใต้ภาวะปกติและภาวะเค็ม 89

5.3 ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และแอกทิวิตีของเอนไซม์ต้านออกซิเดชันภายใต้ภาวะปกติและภาวะเค็ม 90

บทที่ 6 100

สรุปผลการทดลอง 100

รายการอ้างอิง 102

ภาคผนวก 111

ภาคผนวก ก 112

การวิเคราะห์ค่า pH และ EC ของดิน ดัดแปลงจากวิธีการของกรมพัฒนาที่ดิน (2553) 113

ภาคผนวก ข 115

1.วิธีสกัดตัวอย่างพืชและวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ 116

2. วิธีวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H2O2) 121

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 123

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

ตารางที่ 1 ดินเค็มระดับต่าง ๆ และผลกระทบที่มีต่อพืช 3

ตารางที่ 2 การแทนที่ชิ้นส่วนของโครโมโซม 1 ที่มียีนทนแล้งจากข้าวพันธุ์ DH212 ลงในข้าวพันธุ์ KDML105 ระหว่างโมเลกุลเครื่องหมาย RM212 และ RM3362 ในข้าวประชากร CSSL ซึ่งมีค่าคะแนนการประเมินมาตรฐานความทนเค็ม (standard evaluating score; SES) แตกต่างกัน 18

ตารางที่ 3 น้ำหนักสดต้น (Shoot fresh weight, mg) ของข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) เมื่อได้รับภาวะปกติ ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ และภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ 30

ตารางที่ 4 น้ำหนักแห้งต้น (Shoot dry weight, mg) ของข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) เมื่อได้รับภาวะปกติ ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ และภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ 33

ตารางที่ 5 ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ (Relative water content, RWC,%) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) เมื่อได้รับภาวะปกติ ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ และภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ 36

ตารางที่ 6 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (Chlorophyll *a*, Chl *a*, mg/g FW) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) เมื่อได้รับภาวะปกติ ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ และภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ 45

ตารางที่ 7 ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี (Chlorophyll *b*, Chl *b*, mg/g FW) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) เมื่อได้รับภาวะปกติ ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ และภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ ... 48

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ หน้า

ตารางที่ 8 ปริมาณแคโรทีนอยด์ (Carotenoid, mg/g FW) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) เมื่อได้รับภาวะปกติ ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ และภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์............ 51

ตารางที่ 9 ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (umol/g FW) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) เมื่อได้รับภาวะปกติ ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ และภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์... 56

ตารางที่ 10 แอกทิวิตีของเอนไซม์ Catalase (CAT, U/mg protein) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) เมื่อได้รับภาวะปกติ ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ และภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์..... 68

ตารางที่ 11 แอกทิวิตีของเอนไซม์ Guaiacol peroxidase (GPX, U/mg protein) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) เมื่อได้รับภาวะปกติ ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ และภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์.. 71

ตารางที่ 12 แอกทิวิตีของเอนไซม์ Superoxide dismustase (SOD, U/mg protein) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) เมื่อได้รับภาวะปกติ ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ และภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์.. 74

ตารางที่ 13 แอกทิวิตีของเอนไซม์ Ascorbate peroxidase (APX, units/mg protein) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) เมื่อได้รับภาวะปกติ ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ และภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์.. 77

ตารางที่ 14 แอกทิวิตีของเอนไซม์ Glutathione reductase (GR, units/mg protein) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) เมื่อได้รับภาวะปกติ ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ และภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์.. 80

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

ภาพที่ 1 ประเทศที่ได้รับผลกระทบจากดินเค็มแสดงโดยใช้จุดสีแดง 4

ภาพที่ 2 พื้นที่ดินเค็มในประเทศไทย... 5

ภาพที่ 3 บริเวณที่มีการปลูกข้าวหอมในประเทศไทย 6

ภาพที่ 4 การปรับปรุงและพัฒนาพันธุ์ข้าวโดยใช้ข้าวพันธุ์ KDML105 ในการผสมกลับ (backcross) และใช้โมเลกุลเครื่องหมาย MAS (marker assisted selection) และ SSR (simple sequence repeat) ในการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวที่มีพันธุกรรมทนแล้งจากพันธุ์ DH103 DH126 และ DH212.. 17

ภาพที่ 5 น้ำหนักสดต้น (Shoot fresh weight, mg) ในข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ภาวะปกติ ข. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ค. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน (p≤0.05).. 31

ภาพที่ 6 ค่าสัมพัทธ์ของน้ำหนักสดต้น (Relative shoot fresh weight, %) ในข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ และ ข. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ โดยเทียบกับค่าในภาวะปกติ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ns แสดงค่าเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกัน (p≤0.05).. 32

ภาพที่ 7 น้ำหนักแห้งต้น (Shoot dry weight, mg) ในข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ภาวะปกติ ข. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ค. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน (p≤0.05).. 34

ภาพที่ 8 ค่าสัมพัทธ์ของน้ำหนักแห้งต้น (Relative shoot dry weight, %) ในข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ และ ข. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ โดยเทียบกับค่าในภาวะปกติ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน (p≤0.05) 35

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาพที่ หน้า

ภาพที่ 9 ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ (Relative water content, RWC,%) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ภาวะปกติ ข. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ค. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ns แสดงค่าเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)........ 37

ภาพที่ 10 ค่าสัมพัทธ์ของปริมาณน้ำสัมพัทธ์ (Relative of RWC, %) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ข. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ โดยเทียบกับค่าในภาวะปกติ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ns แสดงค่าเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)........ 38

ภาพที่ 11 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (Chlorophyll *a*, Chl *a*, mg/g FW) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ภาวะปกติ ข. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ค. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)........ 46

ภาพที่ 12 ค่าสัมพัทธ์ของปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (Relative chlorophyll *a*, Chl *a*, %) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ข. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ โดยเทียบกับค่าในภาวะปกติ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)........ 47

ภาพที่ 13 ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี (Chlorophyll *b*, Chl *b*, mg/g FW) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ภาวะปกติ ข. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ค. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ns แสดงค่าเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)........ 49

ภาพที่ หน้า

ภาพที่ 14 ค่าสัมพัทธ์ของปริมาณคลอโรฟิลล์ บี (Relative chlorophyll *b*, Chl *b,* %) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ข. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ โดยเทียบกับค่าในภาวะปกติ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ns แสดงค่าเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) 50

ภาพที่ 15 ปริมาณแคโรทีนอยด์ (Carotenoid, mg/g FW) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ภาวะปกติ ข. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ค. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ns แสดงค่าเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) 52

ภาพที่ 16 ค่าสัมพัทธ์ของปริมาณแคโรทีนอยด์ (Relative carotenoid, %) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ข. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ โดยเทียบกับค่าในภาวะปกติ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ns แสดงค่าเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) 53

ภาพที่ 17 ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide, H_2O_2, umol/g FW) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ภาวะปกติ ข. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ค. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ns แสดงค่าเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) 57

ภาพที่ 18 ค่าสัมพัทธ์ของปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Relative hydrogen peroxide content, %) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ข. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ โดยเทียบกับค่าในภาวะปกติ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ns แสดงค่าเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) 58

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาพที่ หน้า

ภาพที่ 19 แอกทิวิตีของเอนไซม์ Catalase (CAT, U/mg protein) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ภาวะปกติ ข. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ค. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน (p≤0.05)...................................... 69

ภาพที่ 20 แอกทิวิตีสัมพัทธ์ของเอนไซม์ Catalase (Relative CAT activity, %) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ข. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ โดยเทียบกับค่าในภาวะปกติ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน (p≤0.05).. 70

ภาพที่ 21 แอกทิวิตีของเอนไซม์ Guaiacol peroxidase (GPX, U/mg protein) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ภาวะปกติ ข. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ค. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน (p≤0.05) 72

ภาพที่ 22 แอกทิวิตีสัมพัทธ์ของเอนไซม์ Guaiacol peroxidase (Relative GPX activity, %) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ข. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ โดยเทียบกับค่าในภาวะปกติ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน (p≤0.05)... 73

ภาพที่ 23 แอกทิวิตีของเอนไซม์ Superoxide dismustase (SOD, U/mg protein) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ภาวะปกติ ข. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ค. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ns แสดงค่าเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกัน (p≤0.05) 75

ภาพที่ 24 แอกทิวิตีสัมพัทธ์ของเอนไซม์ Superoxide dismustase (Relative SOD activity, %) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ข. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ โดยเทียบกับค่าในภาวะปกติ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ns แสดงค่าเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกัน (p≤0.05) 76

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาพที่ หน้า

ภาพที่ 25 แอกทิวิตีของเอนไซม์ Ascorbate peroxidase (APX, units/mg protein) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ภาวะปกติ ข. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ค. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ns แสดงค่าเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) 78

ภาพที่ 26 แอกทิวิตีสัมพัทธ์ของเอนไซม์ Ascorbate peroxidase (Relative APX activity, %) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ข. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ โดยเทียบกับค่าในภาวะปกติ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ns แสดงค่าเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) 79

ภาพที่ 27 แอกทิวิตีของเอนไซม์ Glutathione reductase (GR, units/mg protein) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ภาวะปกติ ข. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ค. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) .. 81

ภาพที่ 28 แอกทิวิตีสัมพัทธ์ของเอนไซม์ Glutathione reductase (Relative GR activity, %) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ข. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ โดยเทียบกับค่าในภาวะปกติ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) 82

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 1
บทนำ

ภาวะเครียดจากความเค็มในพืชเกิดขึ้นเมื่อดินที่ใช้ปลูกพืชมีสารละลายเกลือละลายอยู่ในปริมาณมากเกินไปจนส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของพืช ซึ่งเป็นผลที่เกิดจากภาวะเครียดจากไอออนเกลือที่มากเกินไป และภาวะเครียดจากการขาดน้ำ เนื่องจากเกลือในดินที่มากเกินไปจะทำให้น้ำในดินมีค่าชลศักย์ (water potential) ต่ำลง พืชดูดน้ำไปใช้ได้ยากขึ้นจึงเกิดภาวะการขาดน้ำของเซลล์พืช (Abrol et al., 1988; Taiz and Zeiger, 2010; Oliveira et al., 2013) ซึ่งภาวะเครียดทั้งสองอย่างส่งผลต่อความเสถียรของเยื่อหุ้มและโปรตีน เนื่องจากทำให้การถ่ายทอดอิเล็กตรอนในไมโทคอนเดรียและคลอโรพลาสต์เสียสมดุล มีอิเล็กตรอนถ่ายทอดไปยังโมเลกุลออกซิเจนมากเกินไป โดย Vaidyanathan et al. (2003) เสนอว่าการเสียสมดุลของการถ่ายทอดอิเล็กตรอน ส่งผลให้มีรีแอกทีฟออกซิเจนสปีชีส์ (Reactive oxygen species, ROSs) ต่าง ๆ เช่น $•O_2^-$, H_2O_2 , $•OH$ เพิ่มมากขึ้น เกิดการเปลี่ยนแปลงของโมเลกุลต่าง ๆ รวมทั้งคลอโรฟิลล์ ทำให้คลอโรฟิลล์สลาย (Parida and Das, 2005; Taiz and Zeiger, 2010; Sobhanian et al., 2011)

เซลล์จะกำจัด ROSs ทั้งด้วยกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์และไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ ในภาวะปกติเซลล์จะมีความสมดุลระหว่างการสร้างและการกำจัด ROSs แต่เมื่อพืชอยู่ในภาวะเครียดจะเกิดการสร้าง ROSs มากขึ้น ทำให้เซลล์เสียสมดุลของระบบการกำจัด ROSs ดังกล่าว ซึ่ง ROSs จะทำให้เกิดการออกซิเดชันของโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และกรดนิวคลีอิก นอกจากนี้ไอออนของโซเดียมและคลอไรด์ที่สะสมในเซลล์มากเกินไปจะมีผลทำให้ไอออนในเซลล์เสียสมดุล ทั้งหมดนี้ส่งผลต่อการทำงานของออร์แกเนลล์ต่าง ๆ ทำให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์และลดการเจริญเติบโตของต้นพืช (Parida and Das, 2005; Singh et al., 2007; El-Shabrawi et al., 2010; Taiz and Zeiger, 2010; Mishra et al., 2011) แต่ในพืชบางสายพันธุ์ที่สามารถทนต่อความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่มากกว่าระดับปกติ พบว่ามีความสามารถของระบบการกำจัด ROSs ที่ดีกว่าสายพันธุ์ที่ไม่ทนเค็ม ซึ่งจากงานวิจัยหลายชิ้นพบว่าความสามารถในการทนเค็มของพืชสัมพันธ์กับแอกทิวิตีของเอนไซม์ต้านออกซิเดชัน เช่น catalase ascorbate peroxidase guaiacol peroxidase glutathione reductase และ superoxide dismutase เป็นต้น ซึ่งจะทำหน้าที่กำจัด ROSs (Parida and Das, 2005; Singh et al., 2007; Kumar et al., 2009; El-Shabrawi et al., 2010; Mishra et al., 2011; Chawla et al., 2013)

ข้าวซึ่งเป็นพืชอาหารสำคัญที่มีการผลิตมากเป็นอันดับสามของโลกและมีมูลค่าสูงสุดในตลาดโลก (Food and Agriculture Organization, 2014a) ได้รับผลกระทบจากภาวะเครียดจาก

ความเค็ม โดยพบว่าในปัจจุบันพื้นที่ 6.5% ของโลกได้รับผลกระทบจากความเค็ม (Sankar et al., 2011; Food and Agriculture Organization, 2014b) และจากข้อมูลของกรมพัฒนาที่ดินใน พ.ศ. 2545 พบว่าประเทศไทยมีพื้นที่ดินเค็มถึง 22 ล้านไร่ (เอิบ เขียวรื่นรมณ์, 2550) โดยทั่วทั้งโลกมีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของพื้นที่ดินเค็มจากหลายสาเหตุ ทำให้พื้นที่เกษตรกรรมไม่เพียงพอ ในขณะเดียวกันจำนวนประชากรโลกที่เพิ่มขึ้นทำให้มีความต้องการด้านพืชอาหารเพิ่มมากขึ้น (Food and Agriculture Organization, 2009; United Nations, 2014) เกษตรกรจึงมีความจำเป็นต้องปลูกพืชรวมทั้งข้าวในพื้นที่ดินเค็ม ซึ่งการเพาะปลูกในสภาพดินเค็มทำให้ผลผลิตข้าวน้อยกว่าการปลูกในดินปกติ (Zeng et al., 2001; Grattan et al., 2002; Zeng et al., 2003; Ali et al., 2004) ดังนั้นจึงต้องมีการวิจัยเพื่อพัฒนาข้าวสายพันธุ์ทนเค็มที่ให้ผลผลิตสูงและคุณภาพดี

ดร.ธีรยุทธ ตู้จินดา et al. (2554) ได้พัฒนาประชากรข้าว CSSL (chromosome segment substitution line populations – CSSL populations) ซึ่งมีลักษณะทนแล้งขึ้น โดยใช้วิธีการศึกษา QTL ของลักษณะการทนแล้งของข้าวสายพันธุ์ที่ได้จากการผสมกลับระหว่างพันธุ์ DH212 (double haploid ของสายพันธุ์ที่ได้จากการผสมระหว่าง CT9993 และ IR62266) และพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (KDML 105) นอกจากนี้เมื่อทดสอบการตอบสนองต่อภาวะเค็มโดยใช้ค่าความเสียหายจากความเค็ม (salt injury score, SIS) พบว่าสายพันธุ์ข้าวที่มีส่วนของโครโมโซมที่ 1 บางชิ้นส่วนจากต้น DH212 บางสายพันธุ์ทนเค็มสูงกว่าข้าว KDML 105 ซึ่งประชากร CSSL เหล่านี้เป็นสายพันธุ์ที่เป็น near isogenic lines คือมีลักษณะเหมือนกันเกือบทั้งหมดยกเว้นลักษณะทนเค็ม จึงเหมาะสมต่อการศึกษายีนและกลไกในการทนเค็ม

ทั้งนี้ยังไม่ทราบว่ากลไกใดที่ทำให้ประชากรข้าว CSSL กลุ่มนี้ทนเค็ม จึงเป็นไปได้ว่าความสามารถในการทนเค็มนี้เกิดจากแอกทิวิตีที่ต่างกันของเอนไซม์ที่ใช้ในการกำจัด ROSs เพื่อต้านการเกิดออกซิเดชัน โดยจากการศึกษา co-expression network ของกลุ่มยีนทนแล้งระหว่างเครื่องหมายโมเลกุล RM212 และ RM5310 บนโครโมโซมที่ 1 ที่อยู่ในข้าว CSSL พบว่ามียีนที่เป็น node ที่ส่งผลต่อยีนที่เกี่ยวข้องกับการต้านออกซิเดชัน เช่น catalase และ peroxideroxin คือ *LOC_Os01g68450* (นพวิชญพงศ์ เครือสาร et al., 2556) งานวิจัยนี้จึงมีจุดประสงค์เพื่อศึกษาแอกทิวิตีของเอนไซม์ต้านออกซิเดชันในประชากรข้าว CSSL บางสายพันธุ์ที่มีความทนเค็มแตกต่างกันและมีชิ้นส่วนยีนในโครโมโซม 1 (*LOC_Os01g68450*) ต่างกัน ผลของงานวิจัยนี้จะทำให้เข้าใจลักษณะการตอบสนองในกลไกที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ต้านออกซิเดชันของข้าวที่อยู่ในภาวะเค็ม ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อนักปรับปรุงพันธุ์ในการพัฒนาสายพันธุ์ข้าวทนเค็มต่อไป

บทที่ 2
ตรวจเอกสาร

1. ดินเค็มและปัญหาดินเค็ม

ดินเค็มคือดินที่มีเกลือที่ละลายน้ำอยู่ในเนื้อดินในปริมาณมากจนส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืช โดยเกลือส่วนใหญ่จะเป็นโซเดียมคลอไรด์และโซเดียมซัลเฟต นอกจากนี้ยังประกอบด้วยเกลือแคลเซียมและแมกนีเซียมในปริมาณมากด้วย (Abrol et al., 1988) ดินเค็มจะมี pH น้อยกว่า 8.2 มีค่าการนำไฟฟ้า (electrical conductivity, EC) มากกว่า 4 เดซิซีเมนต่อเมตร ทั้งนี้สามารถแบ่งระดับดินเค็มได้ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ดินเค็มระดับต่าง ๆ และผลกระทบที่มีต่อพืช (Abrol et al., 1988)

ระดับดินเค็ม	**ค่าการนำไฟฟ้าของดิน (เดซิซีเมนต่อเมตร,dS/m)**	**ผลกระทบต่อพืช**
ดินปกติ (Non saline)	0 - 2	ความเค็มมีผลกระทบเล็กน้อย
ดินเค็มเล็กน้อย (Slightly saline)	2 - 4	พืชที่อ่อนแอต่อความเค็มมีผลผลิตลดลง
ดินเค็มระดับกลาง (Moderately saline)	4 - 8	พืชส่วนมากมีผลผลิตลดลง
ดินเค็มระดับสูง (Strongly saline)	8 - 16	มีเพียงพืชที่ทนต่อความเค็มที่ยังมีผลผลิตปกติ
ดินเค็มระดับสูงมาก (Very strongly saline)	> 16	มีเพียงพืชบางชนิดที่ทนต่อความเค็มระดับสูงมากที่ยังให้ผลผลิตปกติ

ดินเค็มมีสาเหตุมาจากธรรมชาติของดินและเกลือจากทะเล รวมทั้งจากกิจกรรมของมนุษย์ (Verzandvoort, 2010) โดยมีสาเหตุหลัก 3 สาเหตุดังนี้

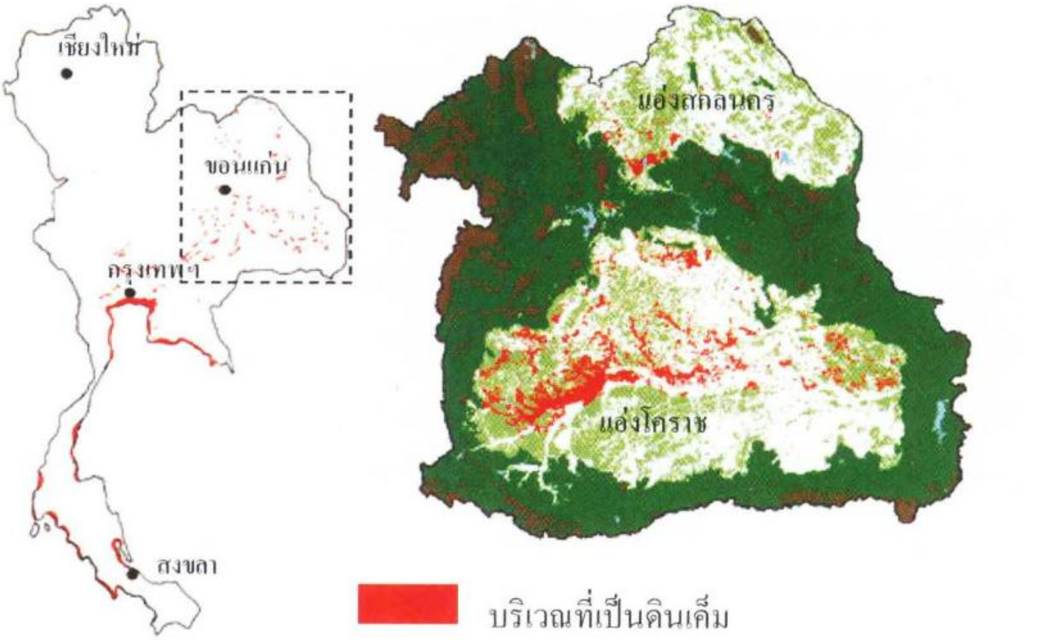
1. น้ำผิวดินมีการระเหยทำให้เกิดการสะสมของเกลือ น้ำใต้ดินขึ้นมาตามรูพรุนของดินด้วยแรงคะพิลลารี (capillary) ซึ่งน้ำใต้ดินมีเกลือสะสมอยู่แล้วตามปกติ น้ำใต้ดินที่ขึ้นมาบนผิวดินจะนำเกลือขึ้นมาด้วยทำให้เกลือสะสมอยู่ที่ผิวดินเพิ่มขึ้น

2. การใช้น้ำเพื่อการชลประทานในบริเวณที่มีสภาพภูมิอากาศค่อนข้างแห้งแล้ง น้ำที่นำมาใช้จะมีเกลือสะสมอยู่แล้ว เมื่อมีการระเหยก็จะมีการสะสมของเกลือที่ผิวดินมากขึ้น และในสภาพที่แห้งแล้งนี้ธรรมชาติไม่มีน้ำมากพอที่จะชะล้างเกลือออกไป (เอิบ เขียวรื่นรมณ์, 2550)

3. การรุกเข้ามาของน้ำทะเลในบริเวณชายฝั่ง

จากรายงานขององค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) ระบุว่า ทั่วทั้งโลกมีพื้นที่ได้รับผลกระทบจากเกลือในดินมากกว่า 831 ล้านแฮกแตร์ คิดเป็น 6.5 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่โลก โดยมีหลายประเทศทั่วโลกที่ได้รับผลกระทบจากภาวะดินเค็ม (ภาพที่ 1) (Verzandvoort, 2010) สำหรับประเทศไทยมีพื้นที่ได้รับผลกระทบจากเกลือประมาณ 19.7 ล้านไร่ กระจายอยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ที่ราบภาคกลางและบริเวณชายฝั่ง โดยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีดินเค็มกระจายอยู่แถบทุกจังหวัด กินเนื้อที่ประมาณ 17.8 ล้านไร่ คิดเป็น 17 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ภาคซึ่งกระจายอยู่ในบริเวณแอ่งโคราช แอ่งสกลนคร และที่ลุ่มต่ำตอนเหนือของภาค (ภาพที่ 2) (เอิบ เขียวรื่นรมณ์, 2550)

ภาพที่ 1 ประเทศที่ได้รับผลกระทบจากดินเค็มแสดงโดยใช้จุดสีแดง (●) (Verzandvoort, 2010)



ภาพที่ 2 พื้นที่ดินเค็มในประเทศไทย (เอิบ เขียวรื่นรมณ์, 2550)

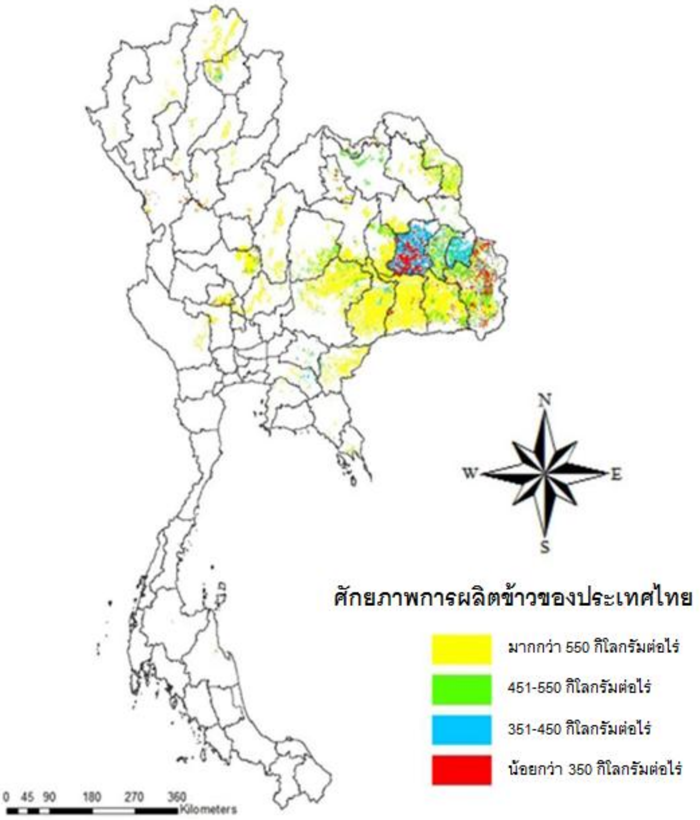
บริเวณภาคตะวันออกเฉียงเหนือเป็นพื้นที่ที่เหมาะสมต่อการปลูกข้าวขาวดอกมะลิ 105 พืชเศรษฐกิจของไทยซึ่งเป็นข้าวไวแสงและเป็นข้าวหอมที่มีการปลูกกันมากในภาคนี้ (ภาพที่ 3) (Thai Rice Exporters Association, 2015; กรมการข้าว, 2553; กรมการข้าว, 2556) ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งปลูกในบริเวณนี้จึงได้รับผลกระทบจากดินเค็ม ต้นข้าวจะอ่อนแอต่อความเค็มในระยะต้นกล้า ระยะปักดำ และระยะออกดอก ข้าวที่ได้รับผลกระทบจากดินเค็มจะมีความงอกลดลง รากมีการเจริญเติบโตไม่ดี มีปลายใบเป็นสีขาว บางใบแห้งเป็นแถบ ๆ ซึ่งเกิดกับใบแก่ก่อนแล้วจึงเกิดกับใบที่กำลังเจริญเติบโต มีอัตราการเจริญเติบโตและแตกกอลดลง ดอกมีความเป็นหมันเพิ่มขึ้น น้ำหนักเมล็ดและโปรตีนในเมล็ดลดลง ทำให้ผลผลิตลดลงในที่สุด นอกจากนี้ดินเค็มอาจทำให้ข้าวขาดธาตุฟอสฟอรัส สังกะสี เหล็ก หรือโบรอนได้ด้วย โดยสามารถประมาณสัดส่วนผลผลิตข้าวที่ลดลงได้คร่าว ๆ เทียบกับระดับความเค็มดังนี้ (กรมการข้าว, 2558)

EC น้อยกว่า 2 dS/m: ไม่ทำให้ผลผลิตลดลง

EC มากกว่า 4 dS/m: ทำให้ผลผลิตลดลงเล็กน้อย คือลดลง 10 – 15 เปอร์เซ็นต์

EC มากกว่า 6 dS/m: ทำให้ผลผลิตลดลงปานกลาง คือลดลง 20 – 50 เปอร์เซ็นต์

EC มากกว่า 10 dS/m: ทำให้ผลผลิตในพันธุ์ที่อ่อนแอลดลงมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 3 บริเวณที่มีการปลูกข้าวหอมในประเทศไทย (กรมการข้าว, 2556)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2. การตอบสนองทางสรีรวิทยาของพืชต่อภาวะเค็ม

การที่ในดินมีสารละลายเกลือละลายอยู่ในปริมาณมากเกินไปจะทำให้พืชเกิดภาวะเครียดจากความเค็ม ซึ่งแบ่งได้เป็นภาวะเครียดที่เกิดจากไอออนเกลือที่มากเกินไป และภาวะเครียดจากการขาดน้ำ เนื่องจากเกลือในดินที่มากเกินไปจะทำให้น้ำในดินมีค่าชลศักย์ (water potential) ต่ำลง พืชดูดน้ำไปใช้ได้ยากขึ้นจึงเกิดภาวะการขาดน้ำของเซลล์พืช (Taiz and Zeiger, 2010; Oliveira et al., 2013) ภาวะเครียดเหล่านี้ทำให้การถ่ายทอดอิเล็กตรอนในคลอโรพลาสต์และในไมโทคอนเดรียเสียสมดุล มีอิเล็กตรอนถ่ายทอดไปยังออกซิเจนมากขึ้นทำให้เกิดรีแอกทีฟออกซิเจนสปีชีส์ (reactive oxygen spicies, ROSs) เช่น $O_2^{\bullet -}$, H_2O_2, และ $OH^{\bullet}$ เพิ่มมากขึ้น (Vaidyanathan et al., 2003) โซเดียมไอออนที่พืชได้รับมากเกินไปมีผลต่ออัตราส่วนโซเดียม-โพแทสเซียม และ โซเดียม/โปรตอนแอนติพอร์เตอร์ (Shabala and Cuin, 2007; Morales et al., 2012) ซึ่งมีผลต่อการรักษาสมดุลไอออนในเซลล์

และการถ่ายทอดอิเล็กตรอนในไมโทคอนเดรีย ส่วนภาวะเครียดจากการขาดน้ำทำให้พืชปิดปากใบมากขึ้นจึงเกิดวัฏจักรเคลวินน้อยลง ทำให้มี $NADP^+$ มารับอิเล็กตรอนน้อยลง อิเล็กตรอนจึงถ่ายทอดไปยังออกซิเจนมากขึ้น (Sharma et al., 2012; Hajiboland, 2014) นอกจากนี้การปิดปากใบของพืชยังทำให้เกิดการหายใจแสง (Photorespiration) เพิ่มมากขึ้น ซึ่งทำให้มีไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เกิดในเพอรอกซิโซมมากขึ้น (Hajiboland, 2014)

ROSs จะทำให้เกิดการออกซิเดชันของโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และกรดนิวคลีอิก ทั้งหมดนี้ส่งผลต่อการทำงานของออร์แกเนลล์ต่าง ๆ ทำให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์และลดการเจริญเติบโตของต้นพืช (Parida and Das, 2005; Singh et al., 2007; El-Shabrawi et al., 2010; Taiz and Zeiger, 2010; Mishra et al., 2011) เซลล์จะกำจัด ROSs ทั้งด้วยกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์และไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ (Mishra et al., 2011; Sharma et al., 2012) ในพืชบางสายพันธุ์ที่สามารถทนต่อความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่มากกว่าระดับปกติ พบว่ามีความสามารถของระบบการต้านออกซิเดชันที่ดีกว่าสายพันธุ์ที่ไม่ทนเค็ม นอกจากนี้ยังสามารถรักษาปริมาณรงควัตถุในคลอโรพลาสต์ได้ดีกว่าสายพันธุ์ที่ไม่ทนเค็ม ซึ่งจากงานวิจัยหลายชิ้นพบว่าความสามารถในการทนเค็มของพืชสัมพันธ์กับแอกทิวิตีของเอนไซม์ต้านออกซิเดชัน รวมทั้งความสามารถในการรักษาปริมาณรงควัตถุในคลอโรพลาสต์ (Ali et al., 2004; Parida and Das, 2005; Singh et al., 2007; Cha-um et al., 2009; Hefny and Abdel-Kader, 2009; Kumar et al., 2009; El-Shabrawi et al., 2010; Mandhania et al., 2010; Mishra et al., 2011; Chawla et al., 2013; Panda et al., 2013)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.1 สภาวะน้ำในพืชที่ได้รับภาวะเค็ม

น้ำจะเคลื่อนที่จากที่ที่มีค่าชลศักย์ (water potential, Ψ_W) สูงไปยังที่ที่มีค่า Ψ_W ต่ำ ค่า Ψ_W คือค่าวัดพลังงานอิสระของน้ำต่อหน่วยปริมาตร โดยค่า Ψ_W จะเป็นผลรวมของค่าศักย์ออสโมซิส (osmotic potential, Ψ_π) ซึ่งเป็นค่าศักย์ของน้ำที่ลดลงเนื่องจากตัวถูกละลาย และค่าศักย์ความดัน (pressure potential, Ψ_P) ซึ่งเป็นค่าศักย์ของน้ำที่เป็นผลมาจากแรงที่กระทำต่อน้ำ โดยหากเป็นแรงดันจะให้ Ψ_P ที่เป็นค่าบวก และหากเป็นแรงดึง Ψ_P จะมีค่าลบ (Pritchard, 2001; Taiz and Zeiger, 2010; Bueckert, 2013)

ในภาวะเค็มจะมีไอออนโซเดียมและคลอไรด์ละลายอยู่ในสารละลายในดินมาก ทำให้มีน้ำในดินมีค่า Ψ_{π} ต่ำ ส่งผลให้น้ำในดินมี Ψ_{W} ที่ต่ำลงกว่าในภาวะปกติ ความแตกต่างระหว่าง Ψ_{W} ของน้ำในเซลล์รากกับน้ำในดินจึงลดลง รากพืชจึงดูดน้ำได้ยากขึ้น พืชจึงต้องปรับตัวโดยลดค่า Ψ_{W} ภายในเซลล์ให้ต่ำกว่า Ψ_{W} ในสารละลายในดิน เพื่อให้น้ำสามารถออสโมซิสเข้าสู่เซลล์พืชได้ (Vysotskaya et al., 2010) หากพืชไม่สามารถลดค่า Ψ_{W} ของเซลล์ให้ต่ำกว่า Ψ_{W} ของน้ำในดิน น้ำจะไม่สามารถออสโมซิสเข้าสู่เซลล์พืชได้ ประกอบกับมีการสูญเสียน้ำทางปากใบอยู่ตลอดเวลา เมื่อไม่สามารถดูดน้ำมาชดเชยน้ำที่สูญเสียออกจากเซลล์ได้ ก็จะมีผลลดค่า Ψ_{P} ภายในเซลล์และเกิดภาวะเซลล์เหี่ยว (Jensen, 1981; Mahajan and Tuteja, 2005; Gall et al., 2015)

จากการที่น้ำเข้าสู่เซลล์พืชได้น้อยลงยังทำให้พืชลดการคายน้ำโดยการปิดปากใบ (Arve et al., 2011; Oliveira et al., 2013) ซึ่งทำให้พืชลำเลียงน้ำเข้าสู่ไซเลมได้น้อยลงไปอีก เนื่องจากในภาวะปกติน้ำที่เข้าสู่รากพืชจะลำเลียงไปยังไซเลมทั้งโดยการเคลื่อนที่จากเซลล์หนึ่งไปยังเซลล์หนึ่งผ่านทางไซโทพลาสซึมหรือที่เรียกว่าซิมพลาสต์ (symplast) และการเคลื่อนที่แบบอะโพพลาสต์ (apoplast) คือเคลื่อนที่ผ่านช่องว่างระหว่างเซลล์และผนังเซลล์ (Taiz and Zeiger, 2010) การเคลื่อนที่แบบอะโพพลาสต์ต้องอาศัย negative hydrostatic pressure ที่เกิดจากการคายน้ำ ดังนั้นเมื่อการคายน้ำเกิดน้อยก็จะมี negative hydrostatic pressure เพื่อการลำเลียงน้ำผ่านทางอะโพพลาสต์น้อยลง (Steudle, 2000) ในภาวะนี้น้ำจะเกิดการลำเลียงแบบซิมพลาสต์เป็นส่วนใหญ่ (Vysotskaya et al., 2010)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

จะเห็นได้ว่าเมื่อพืชได้รับภาวะเค็ม ค่าปริมาณน้ำสัมพัทธ์ (relative water content, RWC) ในใบพืชจะลดลง ค่านี้แสดงถึงสภาวะน้ำที่มีในเซลล์เปรียบเทียบกับปริมาตรเซลล์ทั้งหมดที่บรรจุน้ำไว้ได้ เมื่อพืชขาดน้ำจะมีปริมาณน้ำภายในเซลล์น้อยลง ค่า RWC จึงลดลง (Pattanagul and Thitisaksakul, 2008; Chutipaijit et al., 2009; Kwon et al., 2009) ซึ่งเป็นผลมาจากน้ำเคลื่อนที่เข้าสู่รากพืชได้ยากขึ้น

2.2 การเจริญเติบโตของพืชที่ได้รับภาวะเค็ม

ผลของภาวะเค็มต่อการเจริญเติบโตของพืชขึ้นอยู่กับระยะเวลาและระดับความเค็มที่พืชได้รับ (Munns, 2002) แบ่งการเจริญเติบโตของพืชในภาวะเค็มออกเป็น 2 ระยะ ระยะแรกการเจริญเติบโตลดลงอย่างรวดเร็วเนื่องจากการขาดน้ำ เพราะการมีเกลือในดินที่สูงจะลดการดูดน้ำของพืช เซลล์พืชจะขยายขนาดได้น้อยลงเนื่องจากการสูญเสียแรงดันเต่ง (Katerji et al., 2005; Läuchli and Grattan, 2007) และเกิดการแบ่งเซลล์ได้น้อยลงทำให้ลดการเจริญเติบโตของต้นและราก ระยะที่สองเกิดขึ้นอย่างช้า ๆ จากการสะสมไอออนของเกลือในใบซึ่งเป็นพิษต่อพืช เนื่องจากทำให้พืชเสียสมดุลไอออน ส่งผลให้เกิดการแห้งตายของใบ ลดการสังเคราะห์ด้วยแสง ทำให้ผลผลิตลดลง

พืชในภาวะเค็มจะลดอัตราการขยายขนาดและการแบ่งเซลล์ลง ซึ่งการให้แคลเซียมเพิ่มเติมแก่พืชที่ได้รับภาวะเค็มจะสามารถช่วยรักษาอัตราการขยายขนาดและอัตราการแบ่งเซลล์ไว้ได้ ทั้งนี้แคลเซียมเป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้ม ซึ่งจะมีการดูดซึมเข้าสู่เซลล์ได้น้อยลงเนื่องจากการเพิ่มขึ้นของโซเดียมในภาวะเค็ม (Läuchli and Grattan, 2007)

พืชโดยส่วนมากจะอ่อนแอต่อความเค็มอย่างมากในระยะต้นกล้า และในระยะแรกของการเจริญเติบโตทางลำต้นและใบ พืชบางชนิดอ่อนแอต่อความเค็มมากในระยะการเจริญเติบโตทางลำต้นและใบ และในช่วงแรกของระยะสืบพันธุ์ มีความอ่อนแอเล็กน้อยในระยะออกดอก และมีความอ่อนแอน้อยที่สุดในระยะให้เมล็ด (Hasanuzzaman et al., 2013) ต้นกล้าข้าวจะมีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งทั้งในส่วนต้นและรากลดลงน้อยกว่าปกติเมื่อได้รับภาวะเค็ม รวมทั้งมีความยาวต้นและความยาวรากที่น้อยลงด้วย (Cha-um et al., 2009; Amirjani, 2010; Abbas et al., 2013) นอกจากนี้มีรายงานพบว่าภาวะเค็มทำให้ดอกเป็นหมันเพิ่มขึ้น และละอองเรณูมีความมีชีวิตน้อยลง (Khatun and Flowers, 1995) รวมทั้งมีผลผลิตลดลง (Zeng et al., 2001; Grattan et al., 2002; Zeng et al., 2003; Ali et al., 2004; Hasanuzzaman et al., 2013)

2.3 ปริมาณรงควัตถุในพืชที่ได้รับภาวะเค็ม

ปริมาณรงควัตถุในพืชเป็นค่าที่สามารถใช้วัดผลกระทบของความเค็มที่มีต่อพืชได้ เนื่องจากเมื่อพืชได้รับภาวะเค็ม แล้วไม่สามารถทนต่อภาวะเค็มได้จะมีการลดลงของปริมาณรงควัตถุ ทั้งคลอโรฟิลล์ เอ (chlorophyll *a*) คลอโรฟิลล์ บี (chlorophyll *b*) และแคโรทีนอยด์ (carotenoid)

และจะเห็นภาวะพร่องคลอโรฟิลล์ (chlorosis) เริ่มเกิดขึ้นจากใบแก่ในพืชที่ได้รับภาวะเค็ม (Ali et al., 2004; Cha-um et al., 2009; Jampeetong and Brix, 2009; Panda et al., 2013; Torabi et al., 2013) ซึ่งเป็นผลทั้งจากการยับยั้งการสร้างรงควัตถุเหล่านี้ และความเสียหายของระบบรับแสงของการสังเคราะห์ด้วยแสง (PS antenna system) (Misra et al., 1999) ในพืชที่ได้รับภาวะเครียดจะมีการสลายของคลอโรฟิลล์ เอ มากกว่าคลอโรฟิลล์ บี ทำให้อัตราส่วนคลอโรฟิลล์ เอ/บี ลดลง (Netto et al., 2005)

การให้แมกนีเซียมและแคลเซียมเพิ่มแก่พืชที่ได้รับภาวะเค็ม สามารถทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้นมากกว่าพืชที่ปลูกในภาวะเค็มโดยไม่ได้รับแมกนีเซียมและแคลเซียมเพิ่มเติม เนื่องจากแมกนีเซียมเป็นธาตุที่เป็นแกนหลักในโมเลกุลคลอโรฟิลล์ ส่วนแคลเซียมเป็นองค์ประกอบที่จะช่วยรักษาสภาพเยื่อหุ้มในพืช (Yildirim et al., 2009) นอกจากนี้ปริมาณคลอโรฟิลล์ในพืชยังมีความสัมพันธ์กับปริมาณไนโตรเจนในพืช เนื่องจากไนโตรเจนในต้นพืชส่วนใหญ่อยู่ในโมเลกุลของคลอโรฟิลล์ (Netto et al., 2005)

แคโรทีนอยด์มีบทบาทสำคัญในการรับแสงและการปกป้องระบบแสงของการสังเคราะห์ด้วยแสง แคโรทีนอยด์มีบทบาทในการต้านการเกิดออกซิเดชัน โดยจะกำจัด singlet oxygen เพื่อป้องกันความเสียหายที่จะเกิดจากออกซิเดชัน และทำให้ triplet chlorophyll และ excited chlorophyll กลับมาอยู่ในสถานะพื้น เพื่อปกป้องระบบการสังเคราะห์ด้วยแสง แคโรทีนอยด์ยังทำหน้าที่เป็นสัญญาณที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชและการตอบสนองต่อภาวะเครียด แคโรทีนอยด์มีความสามารถในการป้องกันการเกิด triplet chlorophyll ได้เนื่องจากแคโรทีนอยด์มีสายของโมเลกุลไอโซพรีนซึ่งมีพันธะเดี่ยวสลับคู่เป็นสายยาว ทำให้ง่ายต่อการรับพลังงานจากโมเลกุลที่อยู่ในสถานะกระตุ้นและสามารถสลายพลังงานที่มากเกินไปได้ (Sharma et al., 2012) อย่างไรก็ตาม มักพบว่าพืชที่ได้รับภาวะเค็มจะมีการลดลงของแคโรทีนอยด์ (Cha-um et al., 2009; Jampeetong and Brix, 2009; Panda et al., 2013) การสลายของแคโรทีนอยด์ในภาวะเครียดจากความเค็มจะนำไปสู่การสลายของ เบต้า-แคโรทีน และการสร้างซีแซนทิน (zeaxanthin) ซึ่งจะช่วยปกป้องระบบแสงในพืชจากการยับยั้งด้วยแสง (photoinhibition) (Amirjani, 2010) การลดลงของอัตราส่วนคลอโรฟิลล์ เอ+บี/แคโรทีนอยด์ ในภาวะเครียดจากความเค็มแสดงให้เห็นว่าระบบแสงเกิดความเสียหาย (Jampeetong and Brix, 2009)

2.4 รีแอกทีฟออกซิเจนสปีชีส์ในพืชที่ได้รับภาวะเค็ม

รีแอกทีฟออกซิเจนสปีชีส์ (reactive oxygen species, ROSs) คือโมเลกุลที่เปลี่ยนแปลงมาจากออกซิเจน (O_2) และสามารถทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่น ๆ ได้ ในภาวะปกติที่มีความสมดุลในระบบการสร้างและกำจัด ROSs พืชจะมีการสร้าง ROSs ในปริมาณต่ำถึงปานกลางซึ่งไม่เป็นพิษต่อพืช และ ROSs สามารถทำหน้าที่เป็นโมเลกุลสัญญาณ (signal) ในการตอบสนองต่อสิ่งต่าง ๆ ของเซลล์ (Sharma et al., 2012)

เมื่อพืชอยู่ในภาวะเครียดจะมีการสร้าง ROSs เพิ่มมากขึ้น พร้อมทั้งมีความเสียหายเกิดกับระบบการกำจัด ROSs ทำให้พืชมี ROSs ในปริมาณที่มากจนเป็นอันตรายแก่พืช เนื่องจาก ROSs สามารถออกซิไดส์องค์ประกอบต่าง ๆ ในเซลล์ ทั้งโปรตีน ไขมัน และกรดนิวคลีอิก ทำให้เกิดความเสียหายแก่ส่วนต่าง ๆ ในเซลล์ ส่งผลให้พืชลดการเจริญเติบโตและตายได้ (Amirjani, 2010; El-Shabrawi et al., 2010) ปริมาณ ROSs เช่น ซุปเปอร์ออกไซด์เรดิเคิล (superoxide radical, $O_2^{\bullet-}$) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide, H_2O_2) ในต้นพืชสามารถบอกถึงระดับความเครียดของพืชได้ โดยพบว่าพืชที่อยู่ในภาวะเครียดจากความเค็มจะมีปริมาณ H_2O_2 และ $O_2^{\bullet-}$ เพิ่มขึ้น (Amirjani, 2010; El-Shabrawi et al., 2010; Mishra et al., 2011; Chawla et al., 2013)

ภาวะเครียดจากความเค็มจะทำให้พืชเกิดภาวะเครียดจากการขาดน้ำ ซึ่งนำไปสู่การปิดปากใบในพืช ทำให้คาร์บอนไดออกไซด์เข้าสู่พืชน้อยลง เกิดการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์น้อยลง ทำให้มี $NADP^+$ เกิดขึ้นน้อย จึงมี $NADP^+$ ไปรับอิเล็กตรอนที่เกิดจากการถ่ายทอดอิเล็กตรอนไม่เพียงพอ ทำให้มีการรั่วไหลของอิเล็กตรอนจากเฟอรีดอกซิน ไปยังออกซิเจน (O_2) ทำให้เกิดเป็นซุปเปอร์ออกไซด์เรดิเคิล (superoxide radical, $O_2^{\bullet-}$) ตามปฏิกิริยาเมธเลอร์ (Mehler reaction) :

$$2O_2 + 2Fd_{red} \longrightarrow 2O_2^{\bullet-} + 2Fd_{ox}$$

การรั่วไหลของอิเล็กตรอนไปยัง O_2 ยังสามารถเกิดได้ที่ 2Fe-2S cluster และ 4Fe-4S cluster ในขั้นตอนการถ่ายทอดอิเล็กตรอนของระบบแสง I ส่วนการถ่ายทอดอิเล็กตรอนในระบบแสง II มี QA (primary acceptor quinone) และ QB (secondary acceptor quinone) ทำหน้าที่รับอิเล็กตรอน การรั่วไหลของอิเล็กตรอนจากบริเวณนี้ไปยัง O_2 จะทำให้เกิด $O_2^{\bullet-}$ (Sharma et al., 2012)

$O_2^{\bullet-}$ สามารถเปลี่ยนเป็น ROS ตัวอื่น ๆ ได้ โดยเมื่อ $O_2^{\bullet-}$ รับโปรตอนจะกลายเป็นเพอรีดรอกซิลเรดิเคิล (perhydroxyl radical, $HO_2^{\bullet}$) และ $O_2^{\bullet-}$ สามารถเปลี่ยนเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide, H_2O_2) โดยการทำงานของเอนไซม์ superoxide

dismutase นอกจากนี้ H_2O_2 สามารถเปลี่ยนเป็นไฮดรอกซิลเรดิเคิล (hydroxyl radical, $OH^{\bullet}$) ซึ่งมีความอันตรายมากขึ้นผ่านทางปฏิกิริยาเฟนตัน (Fenton reaction) (Sharma et al., 2012):

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \longrightarrow Fe^{3+} + OH^{-} + {}^{\bullet}OH$$

การปิดปากใบของพืชซึ่งทำให้มีคาร์บอนไดออกไซด์ในเซลล์ต่ำ จะทำให้เกิดการหายใจแสง (photorespiration) มากขึ้นเพื่อสลายพลังงานส่วนเกินที่เกิดระหว่างปฏิกิริยาแสง เพื่อป้องกันระบบแสงจากการยับยั้งด้วยแสง (photoinhibition) และความเสียหายจากพลังงานส่วนเกิน ซึ่งในกระบวนการหายใจแสงนี้จะทำให้มีการเพิ่มขึ้นของ H_2O_2 (Hajiboland, 2014)

นอกจากนี้ภาวะเครียดจากความเค็มจะทำให้พืชได้รับไอออนโซเดียมและคลอไรด์มากเกินไป เกิดภาวะที่มีความเป็นพิษจากไอออน การที่พืชมีไอออนตัวใดตัวหนึ่งมากเกินไปจะทำให้เสียสมดุลไอออน เนื่องจากจะเกิดการยับยั้งการทำงานและการเปลี่ยนแปลงในขั้นตอนการถ่ายทอดอิเล็กตรอนและการสร้างพลังงาน ATP (ATP synthesis) มีผลต่อช่องทางการผ่านของไอออนในไมโทคอนเดรีย มีการลดลงของตัวรับส่งอิเล็กตรอน ทำให้การถ่ายทอดอิเล็กตรอนและการสร้างพลังงาน ATP เกิดขึ้นไม่สมดุลกัน เป็นผลให้เกิดการเพิ่มขึ้นของ ROSs (Sharma et al., 2012)

2.5 แอกทิวิตีของเอนไซม์ต้านออกซิเดชันในพืชที่ได้รับภาวะเค็ม

เอนไซม์ต้านออกซิเดชันในพืชประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิดด้วยกัน ได้แก่ superoxide dismutase (SOD) catalase (CAT) guaiacol peroxidase (GPX) และเอนไซม์ที่อยู่ในวัฏจักร ascorbate-glutathione เช่น ascorbate peroxidase (APX) และ glutathione reductase (GR) เป็นต้น เอนไซม์เหล่านี้อยู่ในส่วนต่าง ๆ ของเซลล์ และจะมีการตอบสนองเมื่อเซลล์ได้รับความเครียดจากออกซิเดชัน ซึ่งเกิดขึ้นเมื่อเซลล์มี ROS ในปริมาณมาก (Sharma et al., 2012)

2.5.1 Superoxide Dismutase

superoxide dismutase (SOD) ทำหน้าที่หลักในการป้องกันความเครียดจากออกซิเดชันในสิ่งมีชีวิตทุกชนิดที่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีวิต SOD อยู่ในกลุ่มของเอนไซม์ที่มีโลหะเป็นองค์ประกอบในโมเลกุล (metalloenzyme) มีหน้าที่สลาย $O_2^{\bullet -}$ ให้เป็น O_2 และ H_2O_2 พบได้ในส่วนต่าง ๆ ของเซลล์ที่มีการสร้างออกซิเจนที่ทำปฏิกิริยาได้ (activated oxygen) SOD ในพืช มี 3 ไอโซไซม์ (isozyme) ได้แก่ คอปเปอร์/ซิงค์ SOD (CuZn-SOD) ซึ่งมี 3 ไอโซฟอร์ม (isoform) พบในไซโทซอล คลอโรพลาสต์ เพอรอกซิโซมและไมโทคอนเดรีย แมงกานีส SOD (Mn-SOD) พบในไมโทคอนเดรีย และเหล็ก SOD (Fe-SOD) พบในคลอโรพลาสต์ ทั้งสามรูปแบบของ SOD สร้างขึ้นโดยนิวเคลียสแล้วส่งไปยังส่วนต่าง ๆ ของเซลล์ CuZn-SOD มีความไวต่อไซยาไนด์และอยู่ในรูปไดเมอร์ ส่วน Mn-SOD และ Fe-SOD ไม่ไวต่อไซยาไนด์และอยู่ในรูปไดเมอร์หรือเตตระเมอร์ (Sharma et al., 2012;

Hajiboland, 2014) โดยในข้าวมียีนที่เกี่ยวข้องโดยตรงกับเอนไซม์ SOD อยู่บนโครโมโซมที่ 3 4 5 6 7 และ 8 (Kawahara et al., 2013)

แอกทิวิตีของ SOD จะเพิ่มขึ้นในพืชที่ได้รับความเครียดจากสภาวะแวดล้อมต่าง ๆ การเพิ่มขึ้นของแอกทิวิตีของ SOD สัมพันธ์กับความสามารถในการทนต่อภาวะเครียดของพืช โดยพบว่าพืชที่ทนต่อความเครียดจากความเค็มเมื่อได้รับภาวะเค็มจะมีการเพิ่มแอกทิวิตีของ SOD ขึ้นมากกว่าพืชที่ไม่ทน ดังนั้นจึงสามารถใช้แอกทิวิตีของ SOD บ่งชี้ความสามารถในการทนต่อความเครียดจากออกซิเดชันของพืชได้ (Dionisio-Sese and Tobita, 1998; Moradi and Ismall, 2007; Kumar et al., 2009; El-Shabrawi et al., 2010; Mishra et al., 2011; Chawla et al., 2013)

2.5.2 Catalase

catalase (CAT) เป็นเอนไซม์ชนิดแรกที่มีการค้นพบและได้ศึกษาโครงสร้างและหน้าที่ เป็นเอนไซม์ที่อยู่ในรูปเตตระเมอร์และมีฮีม (heme) เป็นองค์ประกอบ มีหน้าที่สลาย H_2O_2 สองโมเลกุลให้กลายเป็นน้ำและออกซิเจน เป็นเอนไซม์ที่มีความจำเพาะสูงต่อ H_2O_2 แต่มีความจำเพาะต่ำต่อสารอินทรีย์เปอร์ออกไซด์ พืชมีเอนไซม์หลายชนิดที่มีหน้าที่กำจัด H_2O_2 แต่ CAT มีลักษณะเฉพาะคือทำงานได้โดยไม่ต้องมีตัวให้อิเล็กตรอน ปฏิกิริยาที่เกิดโดย CAT มีจำนวนสารตั้งต้นที่สามารถเปลี่ยนแปลงในหนึ่งหน่วยเวลา (turnover rate) ที่สูง แต่สามารถจับกับ H_2O_2 ได้ต่ำกว่า ascorbate peroxidase (APX) CAT กำจัด H_2O_2 ที่เกิดในเพอรอกซิโซมเนื่องจากปฏิกิริยา บีตา-ออกซิเดชัน (β-oxidation) การหายใจแสง และการสลายพิวรีน (purine catabolism) นอกจากนี้ ยังสามารถพบ CAT ได้ในไซโทซอล คลอโรพลาสต์ และไมโทคอนเดรีย CAT มีหลายไอโซฟอร์ม และมียีนที่เกี่ยวข้องซึ่งแสดงออกแตกต่างกันไปซึ่งมีการควบคุมที่เป็นอิสระจากกัน CAT เป็นเอนไซม์ที่ไวต่อแสงเนื่องจากการดูดกลืนแสงของฮีมซึ่งเป็นองค์ประกอบหนึ่งของเอนไซม์ (Sharma et al., 2012; Hajiboland, 2014) โดยในข้าวมียีนที่เกี่ยวข้องโดยตรงกับเอนไซม์ CAT อยู่บนโครโมโซมที่ 2 3 และ 6 (Kawahara et al., 2013)

ความเครียดจากสภาวะแวดล้อมต่าง ๆ ที่พืชได้รับสามารถทำให้แอกติวิทีของ CAT เพิ่มขึ้นหรือลดลงก็ได้ ขึ้นอยู่กับความรุนแรง ระยะเวลา และลักษณะของความเครียดที่พืชได้รับ โดยทั่วไปความเครียดที่ลดอัตราการสร้างและสลายโปรตีนจะลดแอกทิวิตีของ CAT ด้วย (Sharma et al., 2012) โดยส่วนมากพบว่าพืชสายพันธุ์ที่ทนต่อความเครียดจะสามารถรักษาแอกทิวิตีของ CAT ไว้ได้ดีกว่าสายพันธุ์ที่ไม่ทน ทำให้ในภาวะเครียดจากความเค็มพืชสายพันธุ์ที่ทนเค็มมีแอกทิวิตีของ CAT สูงกว่าสายพันธุ์ที่ไม่ทน (Kumar et al., 2009; El-Shabrawi et al., 2010; Mishra et al., 2011; Chawla et al., 2013)

2.5.3 Guaiacol Peroxidase

guaiacol peroxidase (GPX) เป็นโปรตีนที่มีฮีมเป็นองค์ประกอบ มักจะออกซิไดส์ตัวให้อิเล็กตรอนที่เป็นวงแหวนอโรมาติก เช่น guaiacol และ pyragallol เพื่อที่จะสลาย H_2O_2 พบเอนไซม์นี้ได้ทั้งในสัตว์ พืช และจุลินทรีย์ GPX ในพืชมีหลายไอโซเอนไซม์ พบได้ที่แวคิวโอล ผนังเซลล์ และไซโทซอล แต่ละไอโซเอนไซม์มีไดซัลไฟด์บริดจ์ที่คล้ายคลึงกัน (conserved disulfide bridge) 4 ตำแหน่ง และประกอบด้วยไอออนแคลเซียม 2 รูปแบบโครงสร้าง GPX เกี่ยวข้องกับกระบวนการทางชีวสังเคราะห์ (biosynthesis) หลายกระบวนการในพืช ทั้งการสร้างลิกนินของผนังเซลล์ การสลาย indole-3-acetic acid การสร้างเอทิลีน การสมานบาดแผล และการจัดการกับความเครียดทั้งทางกายภาพและชีวภาพ (Sharma et al., 2012; Hajiboland, 2014) โดยในข้าวมียีนที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ peroxidase อยู่บนโครโมโซมทั้ง 12 โครโมโซม (Kawahara et al., 2013) GPX ได้รับการยอมรับว่าเป็นเอนไซม์ในภาวะเครียด มีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระที่เปลี่ยนแปลงมาจากออกซิเจนและเพอรอกซีเรดิเคิลซึ่งเกิดขึ้นภายใต้ภาวะเครียด (Sharma et al., 2012; Hajiboland, 2014) ภาวะเครียดจากสภาวะแวดล้อมต่าง ๆ ที่พืชได้รับสามารถทำให้แอกทิวิตีของ GPX เพิ่มขึ้น และพบว่าพืชสายพันธุ์ทนเค็มเมื่อได้รับภาวะเค็มจะมีแอกทิวิตีของ GPX สูงกว่าสายพันธุ์ที่ไม่ทน (Dionisio-Sese and Tobita, 1998; Kumar et al., 2009; El-Shabrawi et al., 2010; Mishra et al., 2011; Chawla et al., 2013)

2.5.4 Ascorbate Peroxidase

ascorbate peroxidase (APX) เป็นเอนไซม์หลักในวัฏจักร ascorbate-glutathione APX ใช้แอสคอร์เบท (ascorbate) 2 โมเลกุลเพื่อเปลี่ยน H_2O_2 ให้เป็นน้ำ ในขณะเดียวกันก็จะสร้าง monodehydroascorbate (MDHA) ขึ้นมา 2 โมเลกุล APX เป็น peroxidase ที่มีฮีมเป็นองค์ประกอบ (heme peroxidase) จัดอยู่ในซุปเปอร์แฟมมิลี class I (class I super family) ซึ่งถูกกระตุ้นการทำงานได้ด้วยสัญญาณรีดอกซ์ (redox signal) และ H_2O_2 เอนไซม์ APX มี 5 ไอโซเอนไซม์ พบในส่วนต่าง ๆ ของเซลล์พืชชั้นสูง ได้แก่ ไซโทซอล สโตรมา ไทลาคอยล์ ไมโทคอนเดรีย และเพอรอกซิโซม APX ที่พบในแต่ละออร์แกเนลล์จะกำจัด H_2O_2 ที่เกิดภายในออร์แกแนลล์นั้น ๆ ส่วน APX ในไซโทซอลจะกำจัด H_2O_2 ในไซโทซอล อะโพพลาสต์ และ H_2O_2 ที่แพร่มาจากออร์แกแนลล์ APX ในคลอโรพลาสต์และไซโทซอลมีความจำเพาะต่อตัวให้อิเล็กตรอนคือแอสคอร์เบท และ APX ในไซโทซอลจะไวต่อการลดลงของแอสคอร์เบทมากกว่า APX ในส่วนอื่น (Sharma et al., 2012; Hajiboland, 2014) โดยในข้าวมียีนที่เกี่ยวข้องโดยตรงกับเอนไซม์ APX อยู่บนโครโมโซมที่ 2 3 4 7 และ 12 (Kawahara et al., 2013)

APX เป็นเอนไซม์หนึ่งที่กระจายอยู่ในเซลล์มากที่สุด และเนื่องจาก APX จับกับ H_2O_2 ได้ดีกว่า CAT จึงทำให้ APX มีประสิทธิภาพสูงในการกำจัด H_2O_2 ที่เกิดภายใต้ภาวะเครียด (Sharma et al., 2012) มีรายงานพบว่าพืชมีแอกทิวิตีของ APX เพิ่มขึ้นเมื่ออยู่ภายใต้ความเครียดจากสภาวะแวดล้อมต่าง ๆ และพบว่าโดยส่วนใหญ่พืชสายพันธุ์ทนเค็มเมื่ออยู่ภายใต้ภาวะเครียดจากความเค็มจะมีแอกทิวิตีของ APX สูงกว่าสายพันธุ์ที่ไม่ทน (Vaidyanathan et al., 2003; Moradi and Ismall, 2007; El-Shabrawi et al., 2010; Mishra et al., 2011; Chawla et al., 2013)

2.5.5 Glutathione Reductase

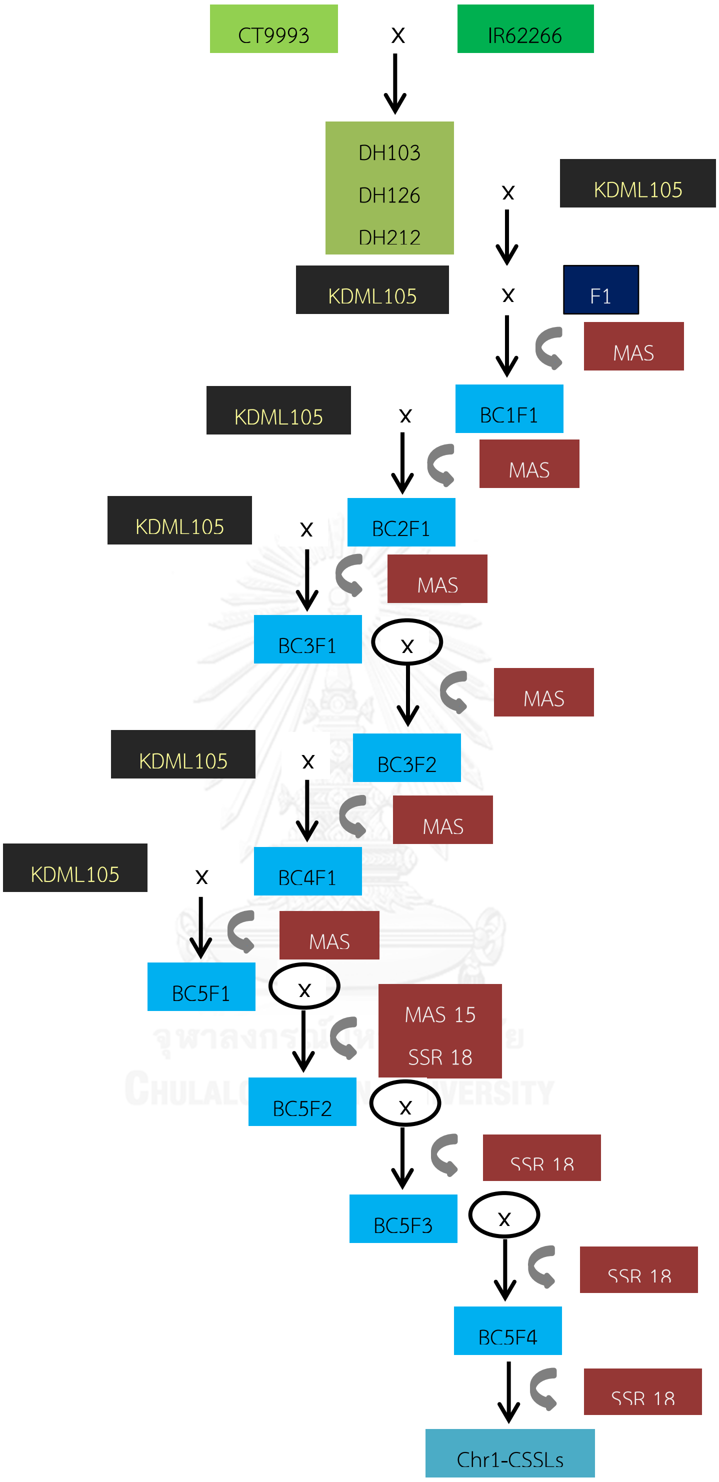
glutathione reductase (GR) เป็นเอนไซม์หนึ่งในวัฏจักร ascorbate-glutathione เป็นเอนไซม์ที่มีการทำงานขึ้นอยู่กับ NADPH (NADPH-dependent enzyme) มีหน้าที่รีดิวซ์ oxidized glutathione (GSSG) ให้เป็น reduced glutathione (GSH) เพื่อรักษาอัตราส่วน GSH/GSSG ในเซลล์ให้สูง เนื่องจาก GSH จะถูกออกซิไดซ์ให้เป็น GSSG โดยเอนไซม์ dehydroascorbate reductase (DHAR) เอนไซม์ GR จัดอยู่ในกลุ่มฟลาโวเอนไซม์ (flavoenzyme) และมีหมู่ไดซัลไฟด์เป็นองค์ประกอบ เอนไซม์นี้พบได้ในคลอโรพลาสต์ ไซโทซอล ไมโทคอนเดรีย และเพอรอกซิโซม ในเนื้อเยื่อที่มีการสังเคราะห์ด้วยแสงพบว่าแอกทิวิตีของ GR 80 เปอร์เซ็นต์ เกิดโดย GR ในคลอโรพลาสต์ ทั้งนี้ GSH และ GR ในคลอโรพลาสต์จะทำหน้าที่กำจัด H_2O_2 ที่เกิดจากปฏิกิริยาเมธเลอร์ (Sharma et al., 2012; Hajiboland, 2014) โดยในข้าวมียีนที่เกี่ยวข้องโดยตรงกับเอนไซม์ GR อยู่บนโครโมโซมที่ 2 3 และ 10 (Kawahara et al., 2013) มีรายงานพบว่าพืชมีการเพิ่มแอกทิวิตีของ GR เมื่ออยู่ภายใต้ภาวะเครียดจากความเค็ม และพบว่าพืชสายพันธุ์ที่ทนเค็มมีแอกทิวิตีของ GR สูงกว่าสายพันธุ์ไม่ทนเมื่ออยู่ภายใต้ภาวะเครียดจากความเค็ม (Vaidyanathan et al., 2003; Moradi and Ismall, 2007; El-Shabrawi et al., 2010; Mishra et al., 2011; Chawla et al., 2013)

3. ข้าวประชากร CSSL (Chromosome Segment Substitution Line Population)

ข้าวประชากร CSSL (Chromosome Segment Substitution Line Population) ได้รับการปรับปรุงพันธุ์โดยใช้ข้าวพันธุ์ DH212 ซึ่งเป็น double haploid line ที่มีลักษณะทนแล้ง โดยได้จากการชักนำให้เกิด doubled haploid ของเรณู (pollen) ที่ได้จากการผสมพันธุ์ระหว่างข้าวทนแล้ง 2 พันธุ์ คือ IR62266 ซึ่งเป็นข้าวที่มีความสามารถในการปรับค่าออสโมติกได้ดี และ CT9993 ซึ่งเป็นข้าวที่มีระบบรากลึกและหนาดีต่อการทนแล้ง ทำการคัดเลือกทางพันธุกรรมจากส่วนของโครโมโซมที่มียีนควบคุมลักษณะที่ต้องการ (quantitative trait loci, QTLs) แล้วนำมาผสมพันธุ์กับข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (KDML105) เพื่อสร้างข้าวสายพันธุ์ทนแล้งที่มีลักษณะอื่น ๆ เหมือน

พันธุ์ KDML 105 เนื่องจากข้าวพันธุ์นี้มีลักษณะการหุงต้มที่ดี มีกลิ่นหอม เมล็ดอ่อนนุ่ม แต่มีความสามารถในการทนเค็มและทนแล้งได้ปานกลาง มีพื้นที่ปลูกที่เหมาะสมและปลูกมากในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย (Siangliw et al., 2007; กรมการข้าว, 2553; กรมการข้าว, 2556) ซึ่งมีลักษณะพื้นที่แห้งแล้งและได้รับผลกระทบจากความเค็ม การปลูกข้าวพันธุ์ KDML105 ในพื้นที่ดังกล่าวจึงมีผลผลิตต่ำกว่าที่ควรจะได้รับ ดังนั้นจึงนำข้าวที่มีลักษณะทนแล้ง (DH212) ดังกล่าวซึ่งได้รับคัดเลือกให้มีส่วนของโครโมโซมที่มียีนทนแล้ง ณ โครโมโซมต่าง ๆ มาผสมกลับ (backcross) ไปยังข้าวพันธุ์ KDML 105 จำนวน 5 ชั่วรุ่น (ภาพที่ 4) แต่ละครั้งในการผสมกลับมีการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวที่มีพันธุกรรมทนแล้งโดยใช้โมเลกุลเครื่องหมาย MAS (marker assisted selection; MAS) และ SSR (simple sequence repeat; *SSR)* (Siangliw et al., 2007; Kanjoo, 2012) โดยหลังจากผสมพันธุ์ DH212 กับพันธุ์ KDML105 จะได้ข้าวรุ่น F1 ผสมกลับไปยังพันธุ์ KDML105 เป็นจำนวน 3 ชั่วรุ่น แล้วนำรุ่น BC3F1 มาปลูกให้ผสมตัวเองจนได้ประชากรลูกผสมกลับครั้งที่ 3 ชั่วที่ 2 (BC3F2) ต่อมานำข้าวรุ่น BC3F2 มาผสมกลับไปยังพันธุ์ KDML105 เป็นจำนวน 2 ชั่วรุ่น แล้วนำรุ่น BC5F1 ปลูกให้ผสมตัวเองจนได้เป็น BC5F4 นำมาศึกษาต่อไป โดยข้าวประชากร CSSL เหล่านี้มีพื้นฐานพันธุกรรม (genetic background) คล้ายคลึงกับข้าวพันธุ์ KDML105 มากถึง 96.3 เปอร์เซ็นต์ (ธีรยุทธ ตู้จินดา et al., 2554)

ข้าวประชากร CSSL เหล่านี้เป็น near isogenic line กับพันธุ์ KDML105 กล่าวคือเป็นสายพันธุ์ที่มีลักษณะเหมือนกับพันธุ์ KDML105 เกือบทั้งหมดยกเว้นลักษณะการทนแล้ง และเมื่อนำมาทดสอบในภาวะเค็มพบว่าตำแหน่งของยีนทนเค็มหลัก ๆ อยู่บนโครโมโซม 1 (Kanjoo, 2012) สายพันธุ์ CSSL ที่มีลักษณะทนเค็มมีการแทนที่ชิ้นส่วนบนโครโมโซม 1 ตำแหน่งต่าง ๆ กันจากข้าวพันธุ์ DH212 ที่ให้กับข้าวพันธุ์ KDML 105 ระหว่างโมเลกุลเครื่องหมาย RM1003 และ RM3362 (ตารางที่ 2) และจากการศึกษาของนพวิชญพงศ์ เครือสาร et al. (2556) โดยใช้ฐานข้อมูล Rice Array Nucleotide ศึกษา co-expression network ของกลุ่มยีนทนแล้งระหว่างเครื่องหมายโมเลกุล RM3285 และ RM3362 บนโครโมโซม 1 ที่อยู่ในข้าว CSSL พบว่ามียีนที่เป็นโหนดที่ส่งผลต่อยีนที่เกี่ยวข้องกับการต้านออกซิเดชัน เช่น catalase และ peroxiredoxin คือ *LOC_Os01g68450*



ภาพที่ 4 การปรับปรุงและพัฒนาพันธุ์ข้าวโดยใช้ข้าวพันธุ์ KDML105 ในการผสมกลับ (backcross) และใช้โมเลกุลเครื่องหมาย MAS (marker assisted selection) และ SSR (simple sequence repeat) ในการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวที่มีพันธุกรรมทนแล้งจากพันธุ์ DH103 DH126 และ DH212 (Siangliw et al., 2007; Kanjoo, 2012)

ตารางที่ 2 การแทนที่ชิ้นส่วนของโครโมโซม 1 ที่มียีนทนแล้งจากข้าวพันธุ์ DH212 ลงในข้าวพันธุ์ KDML105 ระหว่างโมเลกุลเครื่องหมาย RM212 และ RM3362 ในข้าวประชากร CSSL ซึ่งมีค่าคะแนนการประเมินมาตรฐานความทนเค็ม (standard evaluating score; SES) แตกต่างกัน (นพวิชญพงศ์ เครือสาร et al., 2556)

Line/Cultivar	Genotypes of Chr.1 Markers																SES (13 days after treatment)
	RM212	RM1003	RM7594	RM3442	RM3602	RM5759	RM1361	RM6827	RM3468	RM104	RM3520	RM529	RM5794	RM5310	RM1067	RM3362	
CSSL1															■		7.7 cd
CSSL2															■	■	7.4 bcd
CSSL3														■	■	■	7.9 cd
CSSL4														■			7.8 cd
CSSL5													■	■			8.4 d
CSSL6													■	■	■	■	8.3 d
CSSL7 *										■							7.5 cd
CSSL8									■	■	■	■	■	■			7.4 bcd
CSSL9					■	■	■	■	■	■	■	■	■	■			7.6 cd
CSSL10 *		■	■	■	■	■	■	■									7.4 bcd
CSSL11 *		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	6.5 ab
CSSL12 *		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	7.8 cd
CSSL13					■												8.2 d
CSSL14									■	■	■	■	■	■	■	■	7.6 cd
CSSL15		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■			7.5 cd
CSSL16 *		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	7.4 bcd
CSSL18		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■		7.2 abcd
CSSL19		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■			7.9 cd
CSSL20		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■			7.5 cd
CSSL21		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■				7.6 cd
CSSL22		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■					6.9 abc
CSSL23																■	8.4 d
CSSL24														■			7.9 cd
CSSL25													■				7.7 cd
CSSL26 *									■	■	■	■					7.3 bcd
CSSL27			■	■													8.3 d
CSSL28									■	■	■	■	■	■	■	■	7.6 cd
CSSL29									■	■	■	■	■	■	■		8.0 cd
CSSL30								■	■	■	■	■	■	■			7.8 cd
DH212 *	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	6.4 ab
KDML105 *																	8.0 cd

* คือพันธุ์/สายพันธุ์ที่เลือกไปใช้ในการทดลอง

บทที่ 3
วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง

1. พืชทดลอง

เมล็ดข้าว จำนวน 4 พันธุ์ ได้แก่ ขาวดอกมะลิ105 (*Oryza sativa* L. cv KDML105) DH212 Pokkali (พันธุ์มาตรฐานทนเค็ม) และ IR29 (พันธุ์มาตรฐานอ่อนแอต่อความเค็ม) และ ข้าวในกลุ่มประชากร CSSL จำนวน 6 สายพันธุ์ ได้แก่ CSSL7 CSSL10 CSSL11 CSSL12 CSSL16 และ CSSL26 ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จาก ดร. ธีรยุทธ ตู้จินดา หน่วยค้นหาและใช้ประโยชน์ยีนข้าว ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

2. วัสดุอุปกรณ์

2.1 วัสดุอุปกรณ์สำหรับการปลูกพืช

- กระปุกพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร สูง 3 เซนติเมตร
- ถาดหลุมพลาสติก ขนาดถาดละ 12x6 หลุม ขนาดหลุมละ 4x4x5 เซนติเมตร
- ดินเหนียว (ชุดดินนครปฐม สำนักสำรวจดินและวิจัยทรัพยากรดิน กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์)
- บ่อปูนซีเมนต์ขนาด 90x180x50 เซนติเมตร
- เครื่องวัดค่า EC (Digital conductivity meter)
- เครื่องวัด pH (pH meter)
- ปั๊มน้ำ
- ไม้เมตร
- บีกเกอร์
- ถังน้ำพลาสติก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.2 วัสดุอุปกรณ์สำหรับการวัดการตอบสนองทางสรีรวิทยาของพืช

- ตู้แช่แข็งสำหรับเก็บตัวอย่างอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส (Deep freezer)
- ตู้แช่แข็งสำหรับเก็บตัวอย่างอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส (Freezer)
- ตู้อบตัวอย่างพืช (Hot air oven)
- หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)
- เครื่องวัด pH (pH meter)
- เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอนชนิดควบคุมอุณหภูมิ (Refrigerated centrifuge รุ่น Universal 2R, บริษัท Hettich ประเทศเยอรมนี)
- เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixer)
- เครื่องกวนสารละลาย (Magnetic *Stirrer*)
- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่งของหน่วยกรัม
- เครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท (Microplate Reader รุ่น SpectraMax M5 บริษัท Molecular Devices ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- ไมโครเพลท 96 หลุม (96 well UV transparent plate รหัสสินค้า 8404 และ 96F-well, Non treated plate รหัสสินค้า 269620 ยี่ห้อ NUNC ประเทศเดนมาร์ก)
- ช้อนตักสาร
- กรรไกร
- ปากคีบ
- บีกเกอร์
- กระบอกน้ำกลั่น
- อะลูมิเนียมฟอยล์
- ขวดแก้วขนาด 150 และ 250 มิลลิลิตร
- ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 และ 100 มิลลิลิตร
- ปิเปต
- ออโต้ปิเปต
- ไมโครปิเปต
- microcentrifuge tube
- pipette tip ขนาด 10 200 และ 1000 ไมโครลิตร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

- ถุงมือ
- กล่องใส่น้ำแข็ง
- กระติกใส่ไนโตรเจนเหลว

3. สารเคมี

3.1 สารเคมีสำหรับการปลูกพืช

- สารละลายธาตุอาหารสูตรอาหารของศูนย์เกษตรกรรมบางไทร (ศูนย์เกษตรกรรมบางไทร, 2555)
- sodium chloride (NaCl)

3.2 สารเคมีสำหรับการวัดปริมาณรงควัตถุในการสังเคราะห์ด้วยแสง แอกทิวิตีของเอนไซม์ต้านออกซิเดชัน และปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

- acetone (C_3H_6O)
- dipotassium phosphate (K_2HPO_4)
- potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4)
- polyvinylpolypyrrolidone (PVPP)
- dithiothreitol (DTT)
- phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF)
- hydrogen peroxide (H_2O_2)
- L(+)-ascorbic acid ($C_6H_8O_6$)
- ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt dihydrate (Na_2EDTA)
- 5,5’-dithiobis(2-nitrobenzoic acid) ($C_{14}H_8N_2O_8S_2$)
- β-nicotinamide adenine dinucleotide 2’-phosphate reduced tetrasodium salt (NADPH, tetrasodium salt)
- L-glutathione oxidized (GSSG)
- guaiacol ($C_7H_8O_2$)
- cytochrome c (Cyt c)

- xanthine ($C_5H_4N_4O_2$)
- xanthine oxidase (XOD)
- bovine serum albumin
- Bio-Rad protein assay
- hydroxylamine (NH_2OH)
- titanium III sulfate ($Ti_2(SO_4)_3$)
- sulfuric acid (H_2SO_4)

4. ขั้นตอนและวิธีดำเนินการทดลอง

4.1 คัดเลือกสายพันธุ์ข้าวเพื่อใช้ในการศึกษาผลของภาวะเค็มต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์ต้านออกซิเดชัน

นำผลการปลูกทดสอบความสามารถในการทนเค็มของข้าวในประชากร CSSL ที่ได้รับส่วนของยีนทนแล้งที่อยู่บนโครโมโซมที่ 1 ที่มีขนาดต่าง ๆ กัน ซึ่งทำให้ได้ข้าวที่ทนเค็มดีที่สุด 29 สายพันธุ์ (ธีรยุทธ ตู้จินดา et al., 2554) มาศึกษาเพิ่มเติมโดยการปลูกทดสอบระดับความทนต่อภาวะเค็ม โดยใช้ค่าคะแนนการประเมินมาตรฐานความทนเค็มหรือค่าความเสียหายจากความเค็ม (standard evaluating score; SES) (นพวิชญพงศ์ เครือสาร et al., 2556) (ตารางที่ 2) จากนั้นนำผลการศึกษาที่ได้มาพิจารณาร่วมกับการมีส่วนของโครโมโซมที่ 1 (*LOC_Os01g68450*) ซึ่งอยู่ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุล RM6827 และ RM3468 ที่แต่ละสายพันธุ์ได้รับเพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ทนเค็มและไม่ทนเค็ม ซึ่งได้สายพันธุ์ CSSL จำนวน 6 สายพันธุ์ สำหรับการศึกษาขั้นต่อไป ดังนี้

CSSL7 เป็นสายพันธุ์ที่ได้รับส่วนของโครโมโซม 1 จาก KDML105 และมี SES = 7.5 ซึ่งสูงกว่า DH212 (SES = 6.4) แต่ไม่ต่างจาก KDML105 (SES = 8.0)

CSSL10 เป็นสายพันธุ์ที่ได้รับส่วนของโครโมโซม 1 จาก DH212 และ KDML105 และมี SES = 7.4 ซึ่งไม่ต่างจาก DH212 และ KDML105

CSSL11 เป็นสายพันธุ์ที่ได้รับส่วนของโครโมโซม 1 จาก DH212 และมี SES = 6.5 ซึ่งไม่ต่างจาก DH212 แต่ต่ำกว่า KDML105

CSSL12 เป็นสายพันธุ์ที่ได้รับส่วนของโครโมโซม 1 จาก DH212 และมี SES = 7.8 ซึ่งสูงกว่า DH212 แต่ไม่ต่างจาก KDML105

CSSL16 เป็นสายพันธุ์ที่ได้รับส่วนของโครโมโซม 1 จาก DH212 และมี SES =7.4 ซึ่งไม่ต่างจาก DH212 และ KDML105

CSSL26 เป็นสายพันธุ์ที่ได้รับส่วนของโครโมโซม 1 จาก KDML105 และ DH212 และมี SES = 7.3 ซึ่งไม่ต่างจาก DH212 และ KDML105

และมีพันธุ์ทดสอบ 4 พันธุ์ ได้แก่

- พันธุ์ KDML105 (ขาวดอกมะลิ 105)
- พันธุ์ DH212
- พันธุ์ Pokkali ซึ่งเป็นพันธุ์มาตรฐานทนเค็ม
- พันธุ์ IR29 ซึ่งเป็นพันธุ์มาตรฐานอ่อนแอต่อความเค็ม

4.2 ศึกษาการเจริญเติบโตและสภาวะน้ำของข้าวในประชากร CSSL ในภาวะปกติและภาวะเค็ม

4.2.1 วางแผนการทดลองแบบ randomized complete block design (RCBD) และจัดสิ่งทดลองแบบ factorial จำนวน 4 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ต้น

4.2.2 เตรียมต้นกล้าข้าว โดยมีวิธีการดังนี้

4.2.2.1 เพาะเมล็ดข้าวโดยแช่เมล็ดข้าวในกระปุกพลาสติกที่เติมน้ำพอท่วมเมล็ดเป็นเวลา 5 วัน จนมีรากงอก

4.2.2.2 ย้ายเมล็ดที่มีรากงอกลงดินซึ่งเตรียมไว้ในถาดหลุมพลาสติกขนาด 12x6 หลุม ปลูกข้าวหลุมละ 1 ต้น โดยถาดหลุม 1 ถาดปลูกข้าวทั้ง 10 พันธุ์/สายพันธุ์ พันธุ์/สายพันธุ์ละ 1 แถว และเว้นแถวด้านข้างไว้เก็บตัวอย่างดิน วางถาดปลูกข้าวในบ่อปลูกโดยให้ได้รับแสงตามธรรมชาติ ที่โรงเรือนปลูกพืชทดลองของหน่วยปฏิบัติการค้นหาและใช้ประโยชน์ยีนข้าว ศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จงหวัดนครปฐม

4.2.2.3 เติมน้ำในบ่อปลูกให้พอท่วมเมล็ดข้าว เมื่อข้าวต้นสูงขึ้นจึงเติมน้ำให้สูง 10 เซนติเมตร จากพื้นบ่อปลูก

4.2.2.4 เติมสารละลายธาตุอาหาร (1:100) สูตรอาหารของศูนย์เกษตรกรรมบางไทร (ศูนย์เกษตรกรรมบางไทร, 2555) ในวันที่ 14 หลังการเพาะเมล็ด

4.2.3 ให้ภาวะเค็มแก่ต้นข้าวในข้อ 4.2.2 เมื่อต้นข้าวมีอายุ 20 วันหลังการเพาะเมล็ด โดยการให้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0 75 และ 150 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับสารละลายธาตุอาหาร (1:100) สูตรอาหารของศูนย์เกษตรกรรมบางไทร และรักษาระดับความเค็มโดยการตรวจสอบ

ค่าการนำไฟฟ้าของสารละลาย (electrical conductivity, EC) ให้อยู่ในระดับคงที่ ตลอดระยะเวลาการทดลองชุดทดลองที่ได้รับโซเดียมคลอไรด์ 0 75 และ 150 มิลลิโมลาร์ มีค่า EC ของสารละลายดิน 0.5±0.1 9.8±0.8 และ 22.5±1.5 เดซิซีเมนต่อเมตร ตามลำดับ มีค่า EC ของสารละลายธาตุอาหาร 2.5±0.5 10.7±1.6 และ 21.1±1.5 เดซิซีเมนต่อเมตร ตามลำดับ มีค่า pH ของสารละลายดิน 7.7±0.2 7.8±0.1 และ 7.8±0.1 ตามลำดับ และมีค่า pH ของสารละลายธาตุอาหาร 6.7±0.6 5.4±0.3 และ 5.8±0.4 ตามลำดับ โดยเก็บค่า EC และ pH ดัดแปลงตามวิธีการของกรมพัฒนาที่ดิน (2553) (ภาคผนวก ก)

4.2.4 เก็บผลการทดลองเมื่อให้โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 0 6 24 และ 48 ชั่วโมง โดยเก็บผลค่าต่าง ๆ ดังนี้

- น้ำหนักสดส่วนต้น โดยตัดต้นข้าวแต่ละต้นชั่งน้ำหนักสด

- น้ำหนักแห้งส่วนต้น โดยน้ำต้นข้าวที่ชั่งน้ำหนักสดแล้วเข้าตู้อบอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน แล้วนำต้นข้าวที่แห้งแล้วชั่งน้ำหนักแห้ง

- ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ (relative water content, RWC) ส่วนต้น โดยตัดใบข้าวลำดับที่ 2 หรือ 3 จากยอดยาวประมาณ 2 เซนติเมตร จำนวน 3 ชิ้น นำไปชั่งน้ำหนักสด (fresh weight, FW) แล้วนำไปแช่ในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ชั่งใบข้าวอีกครั้งเพื่อหาน้ำหนักอิ่มตัว (turgid weight, TW) แล้วจึงนำใบข้าวไปอบแห้งและชั่งเพื่อหาน้ำหนักแห้ง (dry weight, DW) นำค่าที่ได้มาคำนวณหาปริมาณน้ำสัมพัทธ์จากสมการ (Turner, 1981)

$$RWC (\%) = (FW-DW) \times 100 / (TW-DW)$$

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4.3 ศึกษาปริมาณรงควัตถุในการสังเคราะห์ด้วยแสง แอกทิวิตีของเอนไซม์ต้านออกซิเดชัน และปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของข้าวในประชากร CSSL ในภาวะปกติและภาวะเค็ม

4.3.1 วางแผนการทดลองและใช้พันธุ์/สายพันธุ์ข้าวเช่นเดียวกับข้อ 4.2

4.3.2 เตรียมต้นกล้าข้าวเช่นเดียวกับข้อ 4.2.2

4.3.3 ให้ภาวะเค็มแก่ต้นข้าวในข้อ 4.3.2 เช่นเดียวกับข้อ 4.2.3

4.3.4 เก็บผลการทดลองเมื่อให้โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 0 6 24 และ 48 ชั่วโมง โดยเก็บผลค่าต่าง ๆ ดังนี้

- วัดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) โดยเก็บตัวอย่างใบข้าวลำดับที่ 2 และ 3 จากยอด ประมาณ 50 มิลลิกรัม ห่อด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์แล้วแช่ในไนโตรเจนเหลวทันที จากนั้นย้ายตัวอย่างเก็บในตู้แช่แข็งที่มีอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป ใช้วิธีวิเคราะห์

ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ดัดแปลงจากวิธีของ Jana and Choudhuri (1982) ซึ่งเป็นการวัดความเข้มสีเหลืองของ pertitanic acid (ที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาของ H_2O_2 กับ titanium III sulfate) (Eisenberg, 1943) ที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร (ภาคผนวก ข.)

- วัดแอกทิวิตีของเอนไซม์ต่าง ๆ โดยเก็บตัวอย่างใบข้าวลำดับที่ 2 และ 3 จากยอดประมาณ 50 มิลลิกรัม ห่อด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์แล้วแช่ในไนโตรเจนเหลวทันที จากนั้นย้ายตัวอย่างเก็บในตู้แช่แข็งที่มีอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป โดยจะวัดแอกทิวิตีของเอนไซม์ catalase (CAT) guaiacol peroxidase (GPX) superoxide dismustase (SOD) ascorbate peroxidase (APX) และ glutathione reductase (GR) สำหรับเอนไซม์ catalase เป็นการวัดอัตราการลดลงของการดูดกลืนแสงของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่ความยาวคลื่น 240 นาโนเมตร (Beers and Sizer, 1952) สำหรับเอนไซม์ guaiacol peroxidase เป็นการวัดอัตราการเพิ่มขึ้นของการดูดกลืนแสงของ tetraguaiacol ที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร (MacAdam et al., 1992; Pitkin, 1992) สำหรับเอนไซม์ superoxide dismustase เป็นการวัดอัตราการเพิ่มขึ้นของการดูดกลืนแสงของ ferrocytochrome ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร(McCord and Fridovich, 1969) สำหรับเอนไซม์ ascorbate peroxidase เป็นการวัดอัตราการลดลงของการดูดกลืนแสงของ ascorbate ที่ความยาวคลื่น 290 นาโนเมตร (Nakano and Asada, 1981) สำหรับเอนไซม์ glutathione reductase เป็นการวัดอัตราการเพิ่มขึ้นของการดูดกลืนแสงของ trinitrobenzene ที่ความยาวคลื่น 412 นาโนเมตร (Smith et al., 1988) คำนวณค่าแอกทิวิตีของเอนไซม์โดยเปรียบเทียบกับปริมาณโปรตีนทั้งหมด ซึ่งจะได้ค่าแอกทิวิตีของเอนไซม์เป็น unit/mg protein โดย 1 unit คือปริมาณของเอนไซม์ที่เปลี่ยนแปลงสารตั้งต้นเป็นผลิตภัณฑ์ได้จำนวน 1 ไมโครโมลต่อนาที (ภาคผนวก ข.)

- วัดปริมาณรงควัตถุในการสังเคราะห์ด้วยแสงในใบข้าว โดยเก็บตัวอย่างใบข้าวลำดับที่ 2 หรือ 3 จากยอดประมาณ 25 มิลลิกรัม ห่อด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์แล้วแช่ในไนโตรเจนเหลวทันที จากนั้นย้ายตัวอย่างเก็บในตู้แช่แข็งที่มีอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป ใช้วิธีวิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุดัดแปลงจากวิธีของ Arnon (1949) โดยตัดตัวอย่างใบเป็นชิ้นเล็ก ๆ ใส่ในหลอดทดลองที่มี 80% acetone ปริมาตร 15 มิลลิลิตร ปิดฝาหลอด เก็บในที่มืดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำสารละลายที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 646.8 และ 663.2 นาโนเมตร และคำนวณปริมาณรงควัตถุตามสมการของ (Wellburn, 1994) ดังนี้

คลอโรฟิลล์ *เอ* (Chl *a*) = 12.25 $A_{663.2}$ – 2.79 $A_{646.8}$

คลอโรฟิลล์ *บี* (Chl *b*) = 21.5 $A_{646.8}$ – 5.1 $A_{663.2}$

แคโรทีนอยด์ (Carotenoids) = [(1,000 A_{470} – 1.82 Chl *a* – 85.02 Chl *b*)] / 198

4.4 วิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) ของข้อมูลตามแผนการทดลองโดยเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ด้วยวิธี Duncan’s multiple range test (DMRT) ในกรณีที่ความแปรปรวนของแต่ละสิ่งทดลองไม่แตกต่างกัน และ Dunnett's test ในกรณีที่ความแปรปรวนแตกต่างกัน เพื่อระบุว่าข้าว CSSL สายพันธุ์ใดมีการตอบสนองของเอนไซม์ต้านออกซิเดชัน รวมทั้งค่าพารามิเตอร์อื่น ๆ ดีกว่าพันธุ์ KDML105 และรูปแบบการตอบสนองดังกล่าวสัมพันธ์กับระดับความเค็มหรือไม่ และวิเคราะห์สหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และแอกทิวิตีของเอนไซม์ต้านออกซิเดชัน

5. สถานที่ทำการทดลอง

- โรงเรือนปลูกพืชทดลองของหน่วยปฏิบัติการค้นหาและใช้ประโยชน์ยีนข้าว ศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จงหวัดนครปฐม
- ห้องปฏิบัติการของศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางสิ่งแวดล้อมและสรีรวิทยาของพืช ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- ห้องปฏิบัติการกลาง และห้องปฏิบัติการของศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านอณูชีววิทยาและจีโนมกุ้ง ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4
ผลการทดลอง

1. การเจริญเติบโตและปริมาณน้ำสัมพัทธ์ของประชากรข้าว CSSL ภายใต้ภาวะปกติและภาวะเค็ม

1.1 การเจริญเติบโตของต้นข้าว

1.1.1 น้ำหนักสดต้น

จากตารางที่ 3 พบว่าน้ำหนักสดต้นของข้าวที่มีความแตกต่างกันในแต่ละระยะเวลาที่ศึกษานั้นเป็นผลมาจากความแตกต่างกันของพันธุ์/สายพันธุ์ และเป็นผลมาจากภาวะเค็ม โดยที่ไม่มีปฏิสัมพันธ์ระหว่างระดับของภาวะเค็มและพันธุ์/สายพันธุ์ที่ศึกษา

ในภาวะปกติ ข้าวทุกพันธุ์/สายพันธุ์มีการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักสดต้นเมื่อมีอายุมากขึ้น เมื่อเริ่มทดลองที่ระยะเวลา 0 ชั่วโมง ข้าวพันธุ์ KDML105 มีน้ำหนักสดต้น 254 มิลลิกรัมซึ่งไม่แตกต่างจาก CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์ และเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง KDML105 มีน้ำหนักสดต้นเพิ่มขึ้นเป็น 359 มิลลิกรัมซึ่งไม่แตกต่างจาก CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์ รวมทั้ง DH212 และ IR29 (ตารางที่ 3, ภาพที่ 5ก) ส่วนพันธุ์ Pokkali นั้นมีค่าน้ำหนักสดต้นเมื่อเริ่มทดลอง 436 มิลลิกรัม และเพิ่มขึ้นเป็น 627 มิลลิกรัมที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง ซึ่งสูงกว่าพันธุ์/สายพันธุ์อื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญตลอดระยะเวลาที่ศึกษา (ตารางที่ 3, ภาพที่ 5ก) เมื่อต้นข้าวที่อายุ 20 วันได้รับโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 6 24 และ 48 ชั่วโมง (ภาพที่ 5ข) พบว่า KDML105 มีค่าน้ำหนักสดต้นเพิ่มขึ้น จาก 254 มิลลิกรัมเพิ่มเป็น 286 มิลลิกรัม ซึ่งไม่แตกต่างจาก CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์ รวมทั้ง DH212 และ IR29 ตลอดระยะเวลาที่ศึกษา (ตารางที่ 3, ภาพที่ 5ข) แต่ข้าวทุกพันธุ์/สายพันธุ์มีน้ำหนักสดต้นที่ต่ำกว่าพันธุ์ Pokkali อย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 5ข) เมื่อได้รับโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 6 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่า KDML105 มีน้ำหนักสดต้นที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมงเพียง 190 มิลลิกรัม โดยยังคงมีค่าไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับ CSSLs DH212 และ IR29 (ตารางที่ 3, ภาพที่ 5ค) ส่วน Pokkali นั้นเป็นพันธุ์ที่มีน้ำหนักสดต้นมากกว่าทุกพันธุ์/สายพันธุ์ตลอดระยะเวลาที่ทดลอง (ภาพที่ 5ค)

เมื่อเปรียบเทียบกับค่าในภาวะปกติที่แต่ละระยะเวลาพบว่า ภาวะเค็มระดับปานกลาง (โซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์) มีผลให้ KDML105 มีน้ำหนักสดต้นประมาณ 80 % ของค่าในภาวะปกติ ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงที่ไม่แตกต่างจาก CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์ตลอดระยะเวลาที่ทดลอง (ภาพที่ 6ก) อีกทั้งยังไม่แตกต่างจาก DH212 และ Pokkali อีกด้วย อย่างไรก็ตาม ที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าในขณะที่ข้าวทุกพันธุ์/สายพันธุ์มีน้ำหนักสดต้นเปลี่ยนแปลงจากภาวะปกติในระดับที่ไม่แตกต่างกัน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข้าวพันธุ์ IR29 เป็นพันธุ์เดียวที่มีน้ำหนักสดต้นเพิ่มขึ้นเป็น 137% ของค่าในภาวะปกติ (ภาพที่ 6ก) ส่วนการได้รับภาวะเค็มระดับสูง (โซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์) มีผลต่อน้ำหนักสดต้นของข้าวทุกพันธุ์/สายพันธุ์ในระดับเดียวกัน โดยมีน้ำหนักสดต้นประมาณ 41-60% ของค่าในภาวะปกติ หลังการได้รับภาวะเค็มเป็นเวลา 48 ชั่วโมง (ภาพที่ 6ข)

1.1.2 น้ำหนักแห้งต้น

จากตารางที่ 4 จะเห็นว่าน้ำหนักแห้งต้นของข้าวมีความแตกต่างกันในแต่ละระยะเวลาที่ศึกษา โดยความแตกต่างของค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งต้นเป็นผลมาจากความแตกต่างกันของพันธุ์/สายพันธุ์และภาวะเค็ม โดยที่ไม่มีปฏิสัมพันธ์ระหว่างระดับของภาวะเค็มและพันธุ์/สายพันธุ์ที่ศึกษา

ทั้งนี้ ในภาวะปกติ จะเห็นว่าไม่มีความแตกต่างกันของน้ำหนักแห้งต้นระหว่างพันธุ์ KDML105 และ CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์ รวมทั้ง DH212 และ IR29 ตลอดระยะเวลาที่ศึกษา (ภาพที่ 7ก) โดยพันธุ์ KDML105 มีน้ำหนักแห้งต้นเมื่อเริ่มทดลอง 38.4 มิลลิกรัม และเพิ่มเป็น 58.1 มิลลิกรัมที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง (ตารางที่ 4) ทั้งนี้ Pokkali เป็นพันธุ์เดียวที่มีน้ำหนักแห้งต้นสูงที่สุดตลอดระยะเวลาที่ศึกษา (ภาพที่ 7ก) เมื่อได้รับโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 6 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่าพันธุ์ KDML105 และ CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์ยังคงมีน้ำหนักแห้งต้นที่ไม่แตกต่างกันในแต่ละระยะเวลาที่ศึกษา (ภาพที่ 7ข) โดยที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมงมีน้ำหนักแห้งต้นอยู่ระหว่าง 43.2 ถึง 64.5 มิลลิกรัม (ตารางที่ 4) เมื่อได้รับโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 6 24 และ 48 ชั่วโมง พันธุ์ KDML105 และ CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์มีค่าน้ำหนักแห้งต้นที่ไม่แตกต่างกันในแต่ละระยะเวลา (ภาพที่ 7ค) โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 39.4 ถึง 48.1 มิลลิกรัมที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง (ตารางที่ 4) สำหรับ DH212 นั้น มีน้ำหนักแห้งต้นที่ไม่ต่างจาก KDML105 ทั้งในภาวะปกติและภาวะเค็มเช่นกัน อย่างไรก็ตาม เมื่อมองในภาพรวมจะเห็นได้ว่า Pokkali ซึ่งเป็นพันธุ์มาตรฐานทนเค็มนั้น มีค่าน้ำหนักแห้งที่สูงกว่าพันธุ์/สายพันธุ์อื่น ๆ อย่างเห็นได้ชัด ทั้งในภาวะปกติและภาวะเค็ม ส่วน IR29 นั้นมีน้ำหนักแห้งต้นที่ค่อนข้างต่ำแต่ยังคงอยู่ในระดับที่ใกล้เคียงกับ KDML105 DH212 และ CSSL ทั้งในภาวะปกติและภาวะเค็ม (ภาพที่ 7)

เมื่อเปรียบเทียบกับค่าในภาวะปกติที่แต่ละระยะเวลาพบว่า ภาวะเค็มระดับปานกลางมีผลให้ KDML105 มีน้ำหนักแห้งต้นประมาณ 80-90 % ของค่าในภาวะปกติ ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงที่ไม่แตกต่างจาก CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์ตลอดระยะเวลาที่ทดลอง (ภาพที่ 8ก) อีกทั้งยังไม่แตกต่างจาก DH212 และ Pokkali อย่างไรก็ตาม ที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมงพบว่าข้าวพันธุ์ IR29 เป็นพันธุ์ที่มีน้ำหนักแห้งต้นมากกว่าค่าในภาวะปกติถึง 50% (ภาพที่ 8ก) ส่วนการได้รับภาวะเค็มระดับสูงมีผลให้น้ำหนักแห้งต้นของข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์ลดต่ำลง โดยมีค่าประมาณ 60-79% ของค่าในภาวะปกติ ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงในระดับที่ไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบระหว่างพันธุ์/สายพันธุ์ (ภาพที่ 8ข)

1.2 ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบข้าว

ผลการศึกษาพบว่าที่ระยะเวลาต่าง ๆ ของการทดลอง ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบมีค่าแตกต่างกันเป็นผลมาจากภาวะเค็มและความแตกต่างของพันธุ์/สายพันธุ์ โดยที่ไม่ได้เป็นผลร่วมกันของปัจจัยทั้งสอง (ตารางที่ 5)

ในภาวะปกติ ต้นข้าวที่อายุ 20-22 วัน (ระยะเวลา 0-48 ชั่วโมง) มีปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบอยู่ระหว่าง 72 ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 5) และข้าวทุกพันธุ์/สายพันธุ์มีค่านี้ไม่แตกต่างจากพันธุ์ KDML105 (ภาพที่ 9ก) เมื่อต้นข้าวที่อายุ 20 วันได้รับโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 6 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่าปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์ มีค่าอยู่ระหว่าง 73 ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 5) โดยข้าวทุกพันธุ์/สายพันธุ์มีค่านี้ไม่แตกต่างกันที่ระยะเวลา 6 และ 48 ชั่วโมง (ภาพที่ 9ก) แต่ที่เวลา 24 ชั่วโมงหลังจากได้รับโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ พบว่า CSSL12 มีปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบที่ต่ำกว่าพันธุ์ Pokkali อย่างมีนัยสำคัญ การได้รับโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 6 และ 24 ชั่วโมง (ภาพที่ 9ค) ไม่มีผลให้ข้าวทุกพันธุ์/สายพันธุ์มีค่านี้ที่แตกต่างกัน โดยพบว่ามีค่าระหว่าง 72 ถึง 91 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 5) แต่ที่เวลา 48 ชั่วโมงหลังจากได้รับโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ พบว่า CSSL7 มีปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบต่ำลงเหลือเพียง 41 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่พันธุ์/สายพันธุ์อื่น ๆ มีปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบอยู่ระหว่าง 58 ถึง 82 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ CSSL 7 มีค่านี้ต่ำกว่า CSSL11 CSSL12 CSSL26 KDML105 และ Pokkali อย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 9ค)

นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบปริมาณน้ำสัมพัทธ์ระหว่างภาวะเค็มเทียบกับค่าในภาวะปกติของแต่ละพันธุ์ พบว่าเห็นผลของภาวะเค็มต่อปริมาณน้ำสัมพัทธ์ได้ที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง โดยพบว่าภาวะเค็มระดับปานกลางมีผลให้ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ลดลงเพียงเล็กน้อยใน CSSL7 (ลดลง 16%) (ภาพที่ 10ก) ส่วนภาวะเค็มระดับสูงมีผลลดปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบของ CSSL7 อย่างชัดเจนประมาณ 53% CSSL10 และ CSSL16 มีการลดลงในระดับเดียวกันกับ DH212 และ IR29 (25-29%) ส่วน CSSL12 และ KDML105 และ IR29 มีปริมาณน้ำสัมพัทธ์อยู่ในระดับเดียวกับค่าในภาวะปกติ (ภาพที่ 10ข)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

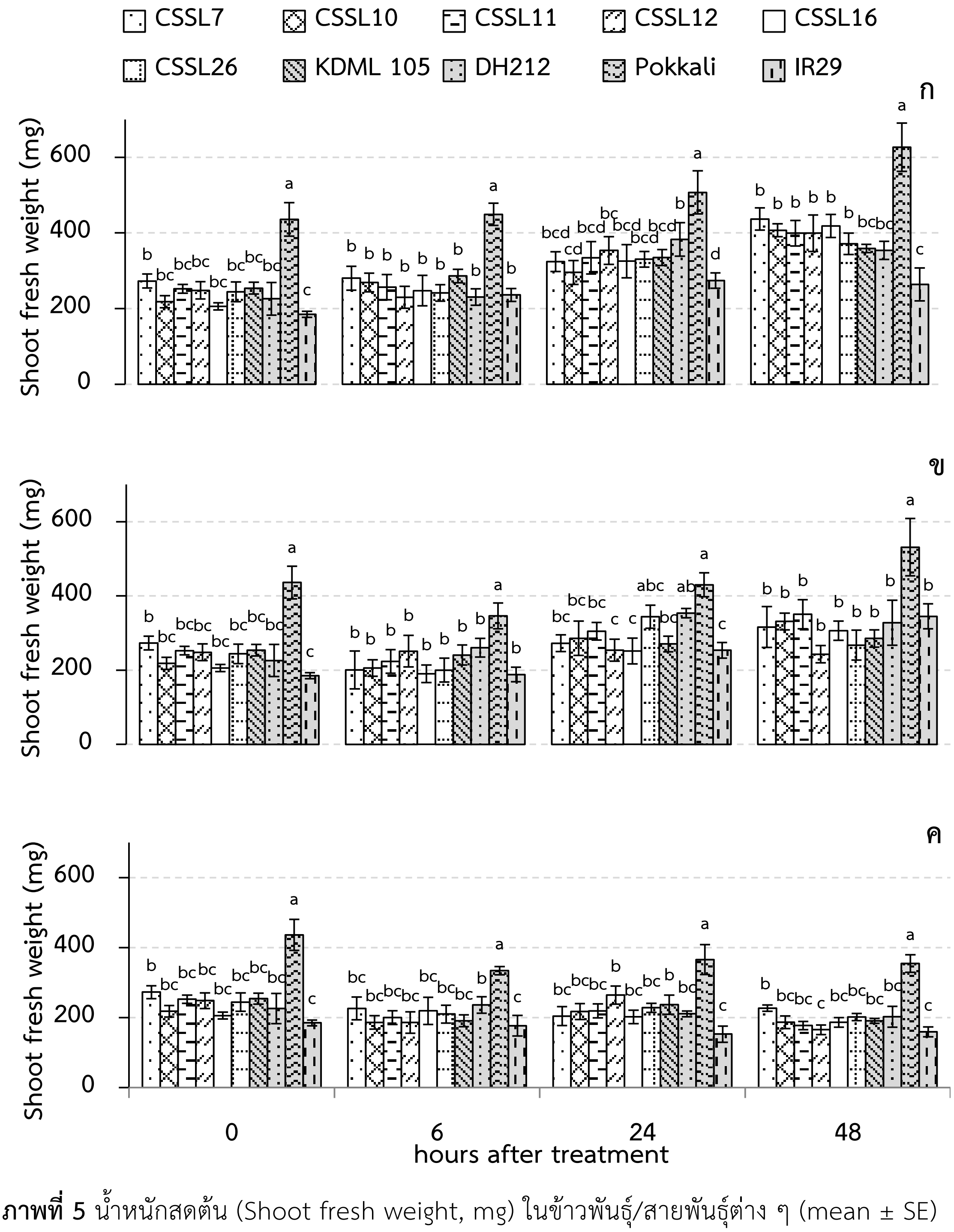
ตารางที่ 3 น้ำหนักสดต้น (Shoot fresh weight, mg) ของข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) เมื่อได้รับภาวะปกติ ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ และภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์

NaCl (mM)	Cultivars/ Lines	hours after treatment			
		0	6	24	48
0	CSSL7	272.8 ± 18.4	280.5 ± 31.5	324.4 ± 26.0	436.9 ± 29.2
	CSSL10	218.3 ± 16.3	269.3 ± 24.6	295.6 ± 31.4	407.0 ± 17.1
	CSSL11	252.5 ± 11.6	256.6 ± 33.5	334.4 ± 42.5	399.3 ± 33.5
	CSSL12	248.3 ± 22.6	230.0 ± 29.1	353.6 ± 36.5	399.4 ± 48.1
	CSSL16	205.9 ± 9.6	247.5 ± 40.1	325.3 ± 43.6	418.6 ± 30.4
	CSSL26	244.1 ± 26.2	241.4 ± 22.0	330.4 ± 21.0	371.5 ± 28.2
	KDML105	254.1 ± 15.6	286.3 ± 17.7	335.0 ± 21.1	359.0 ± 10.8
	DH212	225.9 ± 43.2	230.4 ± 21.9	383.1 ± 44.1	353.8 ± 23.9
	Pokkali	436.1 ± 44.2	449.3 ± 29.1	507.3 ± 57.0	626.8 ± 63.8
	IR29	184.9 ± 8.0	236.1 ± 17.2	274.0 ± 20.4	264.0 ± 43.3
75	CSSL7	272.8 ± 18.4	200.9 ± 51.0	272.6 ± 22.5	316.1 ± 54.9
	CSSL10	218.3 ±16.3	206.1 ± 22.2	285.9 ± 46.4	331.1 ± 22.5
	CSSL11	252.5 ±11.6	223.8 ± 31.8	304.9 ± 23.7	351.0 ± 39.2
	CSSL12	248.3 ± 22.6	251.0 ± 42.5	253.9 ± 29.7	242.9 ± 23.3
	CSSL16	205.9 ± 9.6	190.5 ± 23.8	251.6 ± 35.1	306.3 ± 26.1
	CSSL26	244.1 ± 26.2	200.1 ± 32.1	344.0 ± 31.0	267.5 ± 40.3
	KDML105	254.1 ± 15.6	240.9 ± 26.8	270.6 ± 21.3	285.5 ± 23.3
	DH212	225.9 ± 43.2	260.6 ± 25.4	353.6 ± 12.5	327.6 ± 60.7
	Pokkali	436.1 ± 44.2	346.3 ± 35.1	430.1 ± 32.1	531.1 ± 77.2
	IR29	184.9 ± 8.0	188.3 ± 19.5	253.5 ± 21.3	345.0 ± 33.9
150	CSSL7	272.8 ± 18.4	226.1 ± 32.6	204.3 ± 27.0	227.0 ± 9.2
	CSSL10	218.3 ± 16.3	186.3 ± 19.1	217.1 ± 22.7	186.8 ± 17.8
	CSSL11	252.5 ± 11.6	199.8 ± 19.7	219.1 ± 19.9	177.3 ± 11.9
	CSSL12	248.3 ± 22.6	186.0 ± 30.8	264.0 ± 25.9	165.4 ± 13.6
	CSSL16	205.9 ± 9.6	219.4 ± 38.6	202.3 ± 19.3	186.4 ± 13.6
	CSSL26	244.1 ± 26.2	209.9 ± 25.2	228.1 ± 12.8	201.5 ± 10.2
	KDML105	254.1 ± 15.6	190.8 ± 16.9	236.9 ± 27.3	190.4 ± 7.1
	DH212	225.9 ± 43.2	236.3 ± 23.4	210.8 ± 8.0	202.4 ± 29.7
	Pokkali	436.1 ± 44.2	334.3 ± 11.7	365.6 ± 42.8	354.6 ± 25.3
	IR29	184.9 ± 8.0	176.9 ± 29.7	152.6 ± 22.9	159.1 ± 14.0
Significant level					
NaCl		ns	**	**	**
Cultivar/Line		**	**	**	**
NaCl x Cultivar/Line		ns	ns	ns	ns

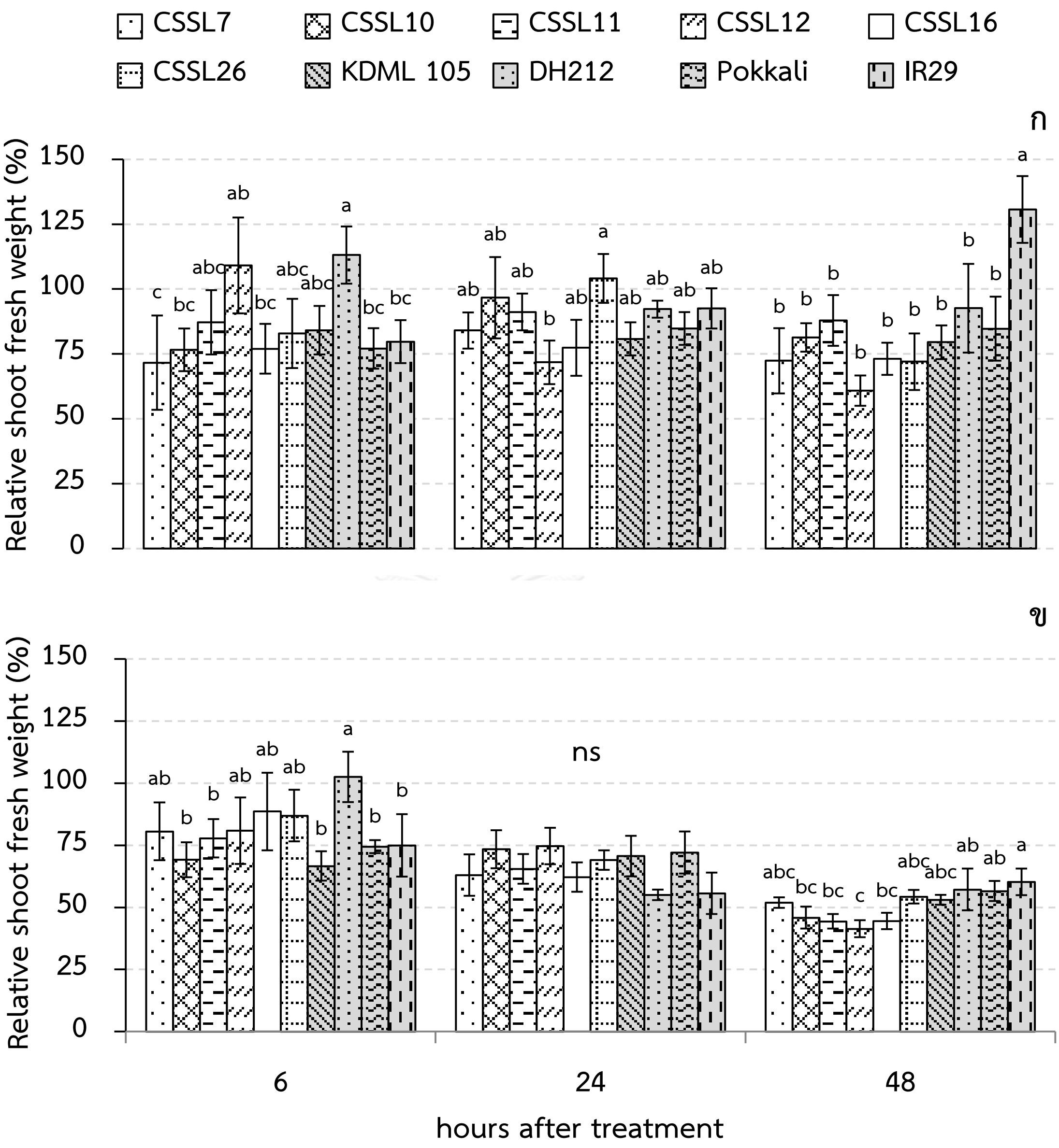
ns คือค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกัน ($p\leq0.05$)

* คือค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ($p\leq0.05$)

** คือค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ($p\leq0.01$)



ภาพที่ 5 น้ำหนักสดต้น (Shoot fresh weight, mg) ในข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ภาวะปกติ ข. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ค. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)



ภาพที่ 6 ค่าสัมพัทธ์ของน้ำหนักสดต้น (Relative shoot fresh weight, %) ในข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ และ ข. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ โดยเทียบกับค่าในภาวะปกติ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ns แสดงค่าเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)

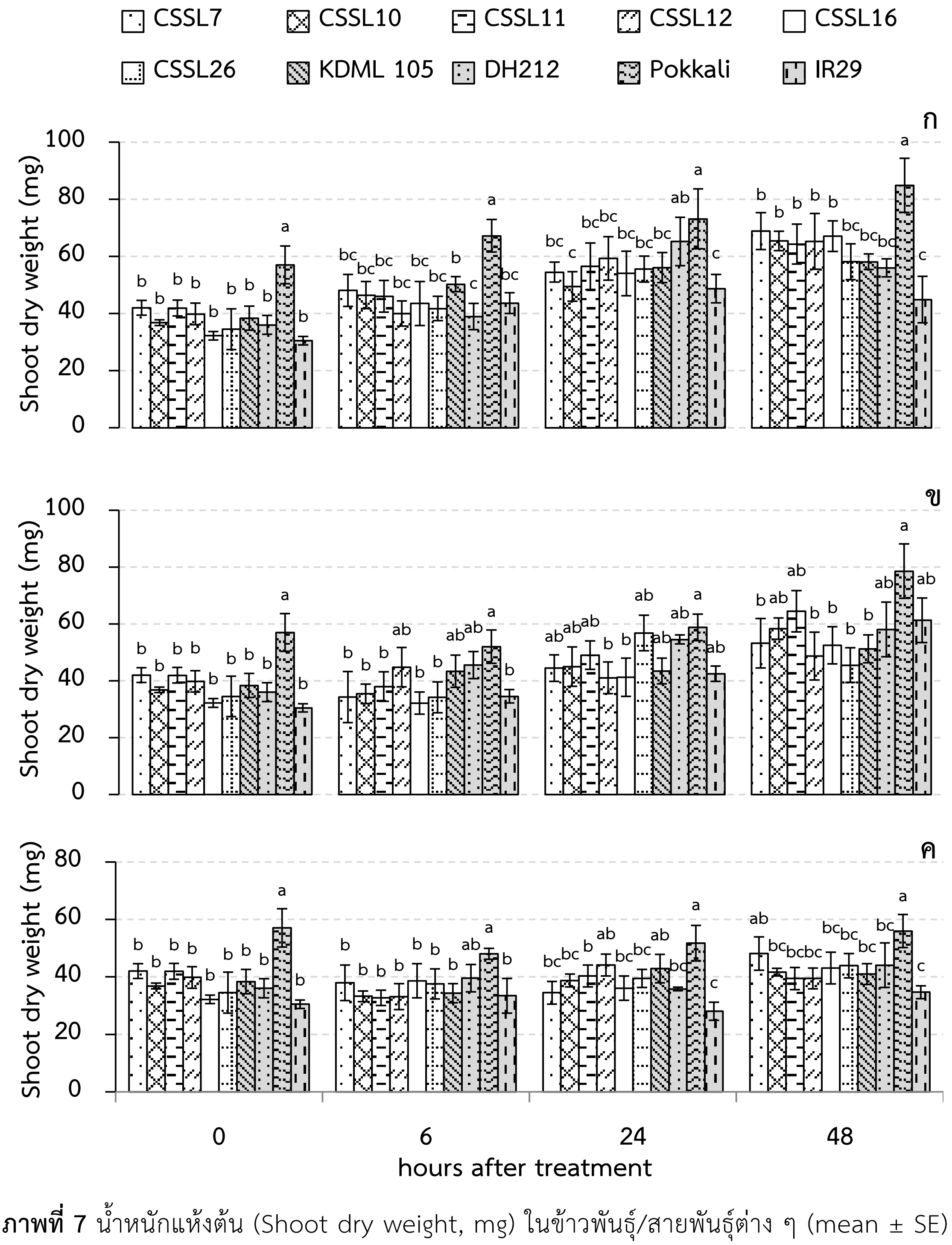
ตารางที่ 4 น้ำหนักแห้งต้น (Shoot dry weight, mg) ของข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) เมื่อได้รับภาวะปกติ ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ และภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์

NaCl (mM)	Cultivars/ Lines	hours after treatment 0	6	24	48
0	CSSL7	42.0 ± 2.6	48.1 ± 5.6	54.5 ± 3.5	68.9 ± 6.5
	CSSL10	36.8 ± 1.0	46.4 ± 4.7	49.5 ± 5.2	65.4 ± 3.4
	CSSL11	41.9 ± 2.7	46.1 ± 5.6	56.5 ± 8.2	64.3 ± 7.0
	CSSL12	39.8 ± 3.8	40.0 ± 4.4	59.3 ± 7.6	65.2 ± 9.7
	CSSL16	32.2 ± 1.5	43.5 ± 7.7	54.0 ± 7.8	67.1 ± 5.3
	CSSL26	34.5 ± 7.1	41.7 ± 4.3	55.6 ± 4.5	58.1 ± 6.3
	KDML105	38.4 ± 4.2	50.3 ± 2.6	56.1 ± 5.2	58.1 ± 2.7
	DH212	36.0 ± 3.3	38.9 ± 4.6	65.2 ± 8.5	56.0 ± 3.2
	Pokkali	57.0 ± 6.6	67.2 ± 5.7	73.1 ± 10.5	84.9 ± 9.5
	IR29	30.5 ± 1.5	43.6 ± 3.6	48.7 ± 5.0	44.9 ± 8.2
75	CSSL7	42.0 ± 2.6	34.3 ± 9.0	44.5 ± 4.7	53.2 ± 8.7
	CSSL10	36.8 ± 1.0	35.5 ± 3.4	45.0 ± 6.9	58.4 ± 3.8
	CSSL11	41.9 ± 2.7	38.0 ± 5.2	49.0 ± 5.0	64.5 ± 7.2
	CSSL12	39.8 ± 3.8	44.8 ± 6.9	41.1 ± 5.6	48.7 ± 8.4
	CSSL16	32.2 ± 1.5	32.1 ± 3.9	41.2 ± 6.7	52.5 ± 6.5
	CSSL26	34.5 ± 7.1	34.2 ± 5.4	56.9 ± 6.3	45.5 ± 6.1
	KDML105	38.4 ± 4.2	43.3 ± 5.7	43.5 ± 4.5	51.3 ± 4.9
	DH212	36.0 ± 3.3	45.5 ± 4.8	54.6 ± 1.6	58.1 ± 9.6
	Pokkali	57.0 ± 6.6	52.0 ± 5.9	58.8 ± 4.7	78.6 ± 9.6
	IR29	30.5 ± 1.5	34.6 ± 2.4	42.5 ± 2.7	61.3 ± 7.9
150	CSSL7	42.0 ± 2.6	37.9 ± 6.2	34.5 ± 3.9	48.1 ± 5.8
	CSSL10	36.8 ± 1.0	33.3 ± 1.9	38.8 ± 2.2	41.7 ± 1.4
	CSSL11	41.9 ± 2.7	32.8 ± 2.7	40.4 ± 3.8	39.4 ± 3.9
	CSSL12	39.8 ± 3.8	33.1 ± 4.5	44.1 ± 4.2	39.5 ± 3.6
	CSSL16	32.2 ± 1.5	38.7 ± 6.0	36.1 ± 3.1	43.1 ± 5.5
	CSSL26	34.5 ± 7.1	37.6 ± 5.2	39.5 ± 0.6	43.9 ± 4.2
	KDML105	38.4 ± 4.2	34.3 ± 3.3	42.9 ± 6.2	41.0 ± 3.6
	DH212	36.0 ± 3.3	39.6 ± 4.8	35.8 ± 3.1	44.1 ± 7.8
	Pokkali	57.0 ± 6.6	48.0 ± 1.9	51.8 ± 1.4	56.0 ± 5.7
	IR29	30.5 ± 1.5	33.5 ± 6.0	28.0 ± 4.9	34.7 ± 2.2
Significant level					
NaCl		ns	**	**	**
Cultivar/Line		**	**	**	**
NaCl x Cultivar/Line		ns	ns	ns	ns

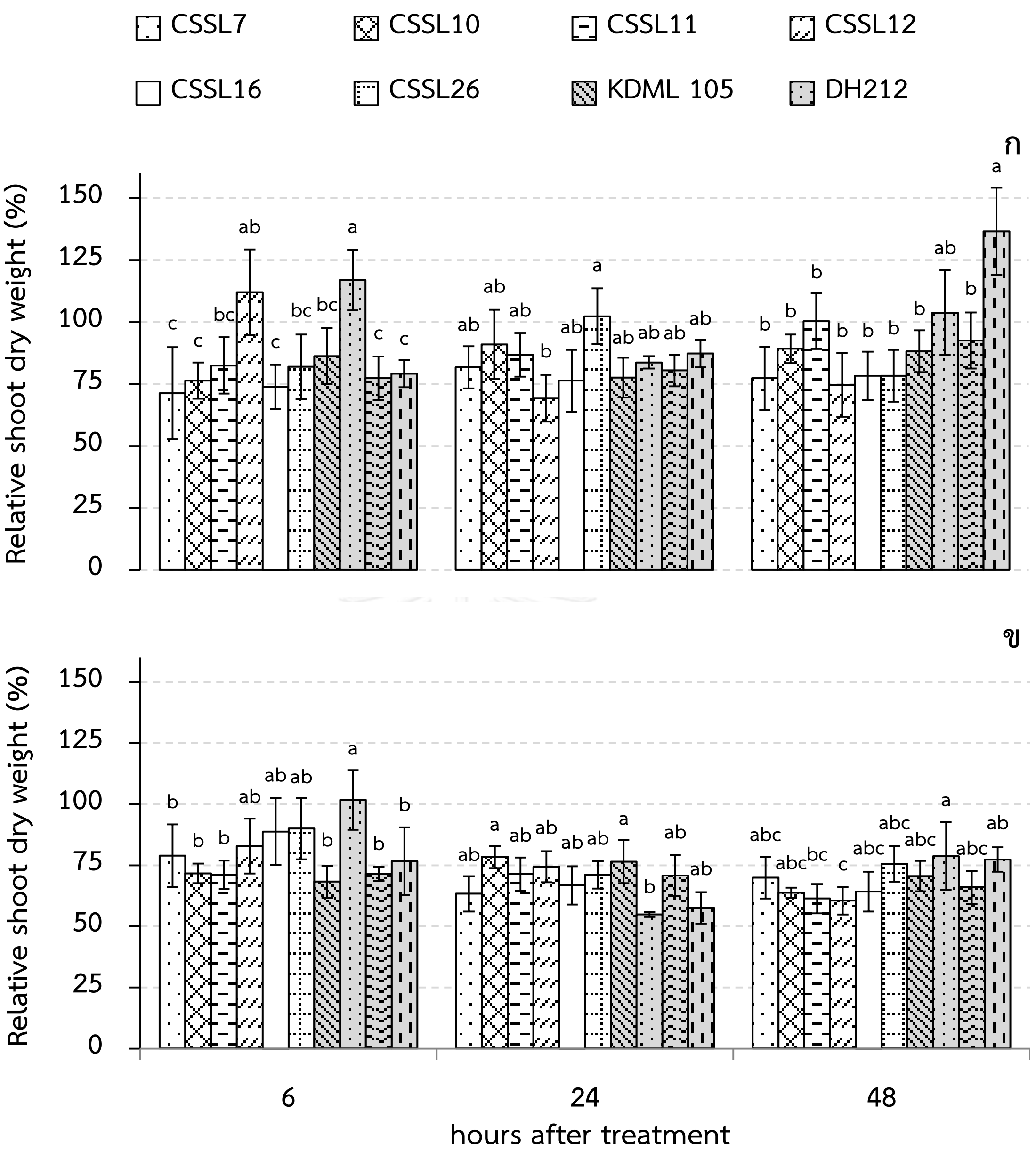
ns คือค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)

* คือค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)

** คือค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.01$)



ภาพที่ 7 น้ำหนักแห้งต้น (Shoot dry weight, mg) ในข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ภาวะปกติ ข. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ค. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)



ภาพที่ 8 ค่าสัมพัทธ์ของน้ำหนักแห้งต้น (Relative shoot dry weight, %) ในข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ และ ข. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ โดยเทียบกับค่าในภาวะปกติ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)

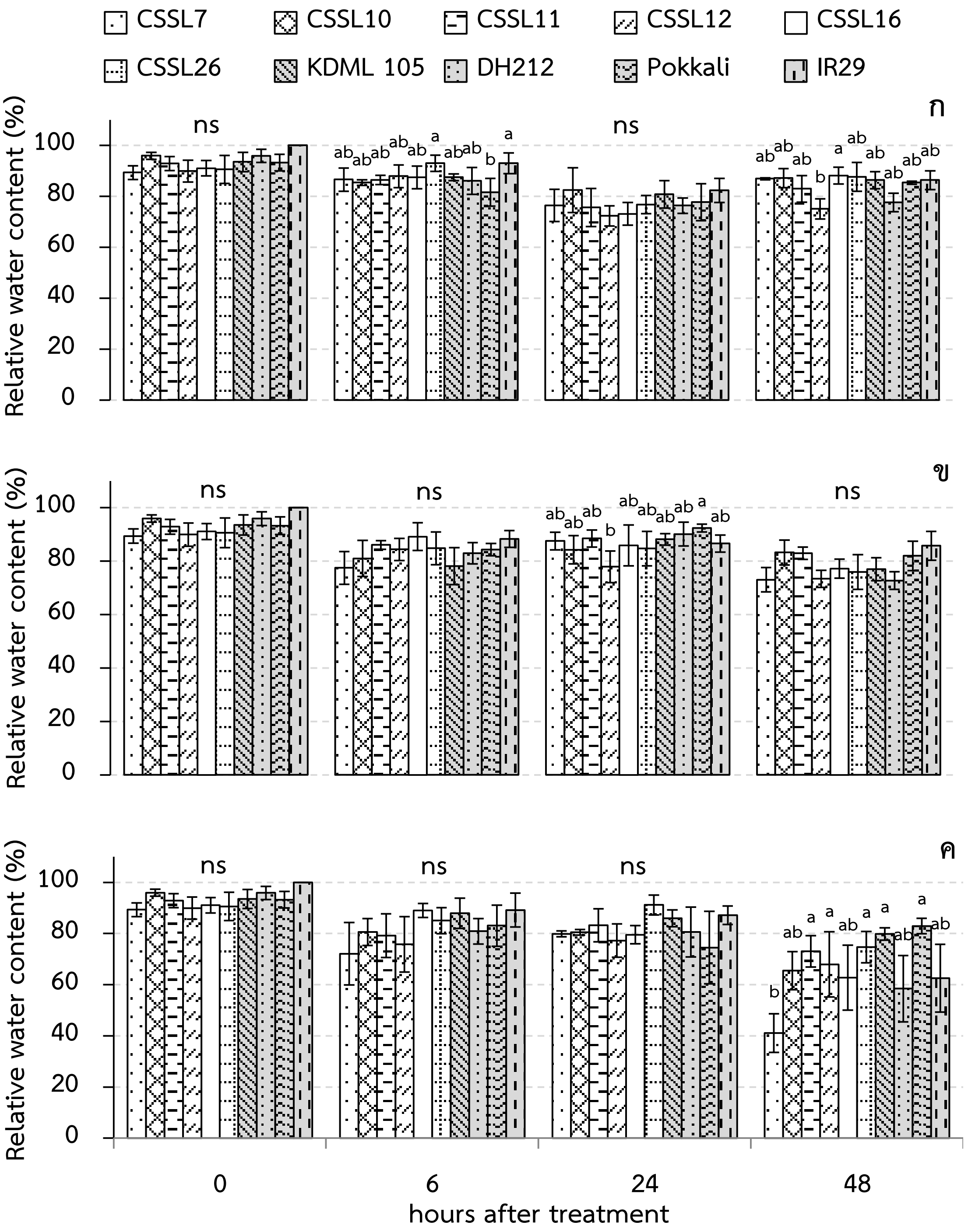
ตารางที่ 5 ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ (Relative water content, RWC,%) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) เมื่อได้รับภาวะปกติ ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ และภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์

NaCl (mM)	Cultivars/ Lines	hours after treatment 0	6	24	48
0	CSSL7	89.3 ± 2.7	86.6 ± 4.5	76.4 ± 6.3	86.9 ± 0.3
	CSSL10	95.9 ± 1.4	85.4 ± 1.1	82.5 ± 8.8	87.2 ± 3.8
	CSSL11	92.8 ± 2.8	86.4 ± 1.8	75.6 ± 7.4	82.9 ± 5.2
	CSSL12	89.9 ± 4.3	87.9 ± 4.4	72.3 ± 4.0	75.0 ± 3.9
	CSSL16	91.1 ± 3.0	87.5 ± 4.4	73.1 ± 4.4	88.2 ± 3.3
	CSSL26	90.6 ± 5.5	93.0 ± 3.2	76.8 ± 3.6	87.7 ± 5.6
	KDML105	93.5 ± 3.8	87.5 ± 1.3	80.8 ± 5.4	86.3 ± 3.3
	DH212	95.9 ± 2.6	86.0 ± 5.3	76.4 ± 3.0	77.6 ± 3.6
	Pokkali	93.2 ± 3.3	81.6 ± 5.4	77.7 ± 7.3	85.4 ± 0.6
	IR29	100.0 ± 0.0	93.0 ± 4.1	82.3 ± 4.8	86.4 ± 3.7
75	CSSL7	89.3 ± 2.7	77.5 ± 6.1	87.5 ± 3.3	73.0 ± 4.5
	CSSL10	95.9 ± 1.4	81.0 ± 6.7	84.2 ± 5.3	83.2 ± 4.7
	CSSL11	92.8 ± 2.8	86.0 ± 1.7	88.4 ± 3.2	82.9 ± 2.3
	CSSL12	89.9 ± 4.3	84.4 ± 4.1	77.9 ± 5.9	73.3 ± 3.2
	CSSL16	91.1 ± 3.0	89.2 ± 5.2	85.8 ± 7.6	77.2 ± 3.6
	CSSL26	90.6 ± 5.5	84.8 ± 6.1	84.7 ± 6.5	75.9 ± 6.5
	KDML105	93.5 ± 3.8	78.1 ± 6.9	88.1 ± 2.2	76.9 ± 4.3
	DH212	95.9 ± 2.6	82.9 ± 4.0	90.1 ± 4.5	72.7 ± 3.3
	Pokkali	93.2 ± 3.3	84.3 ± 2.3	92.3 ± 1.4	82.0 ± 5.5
	IR29	100.0 ± 0.0	88.3 ± 3.1	86.6 ± 3.2	85.7 ± 5.4
150	CSSL7	89.3 ± 2.7	72.1 ± 12.2	79.9 ± 1.2	41.1 ± 7.6
	CSSL10	95.9 ± 1.4	80.6 ± 5.3	80.5 ± 1.1	65.5 ± 7.5
	CSSL11	92.8 ± 2.8	79.1 ± 8.5	83.2 ± 6.4	73.0 ± 6.1
	CSSL12	89.9 ± 4.3	75.8 ± 10.8	77.3 ± 6.5	67.9 ± 12.8
	CSSL16	91.1 ± 3.0	89.0 ± 2.7	79.6 ± 3.5	62.8 ± 12.7
	CSSL26	90.6 ± 5.5	85.1 ± 5.1	91.2 ± 3.9	74.7 ± 6.2
	KDML105	93.5 ± 3.8	87.9 ± 5.9	85.9 ± 3.3	79.8 ± 2.4
	DH212	95.9 ± 2.6	80.9 ± 5.0	80.6 ± 9.7	58.5 ± 12.9
	Pokkali	93.2 ± 3.3	83.1 ± 8.1	74.5 ± 14.2	82.9 ± 3.0
	IR29	100.0 ± 0.0	89.1 ± 6.6	87.2 ± 3.6	62.5 ± 13.2
Significant level					
NaCl		ns	ns	**	*
Cultivar/Line		**	ns	ns	**
NaCl x Cultivar/Line		ns	ns	ns	ns

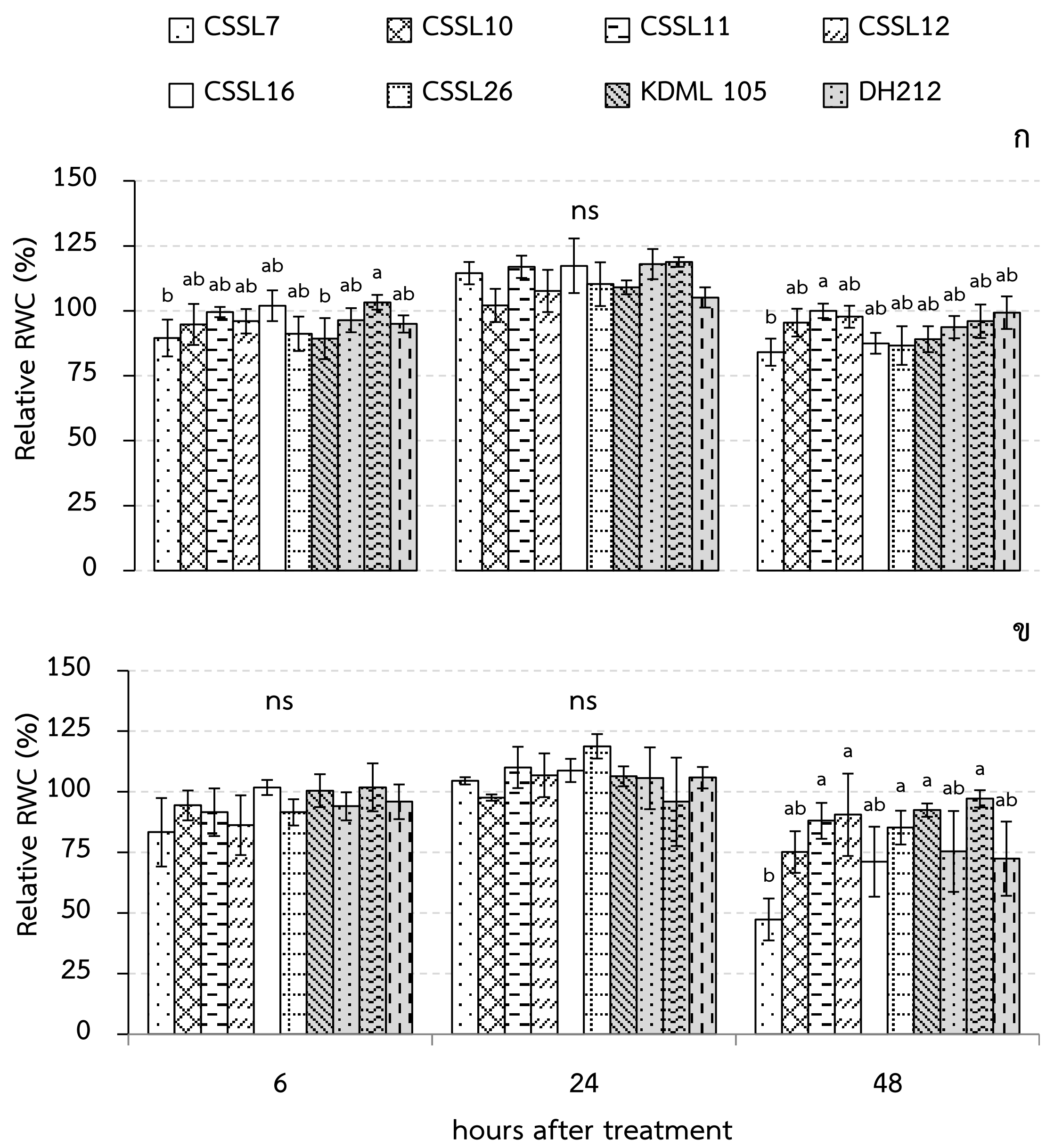
ns คือค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกัน (p≤0.05)

* คือค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน (p≤0.05)

** คือค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน (p≤0.01)



ภาพที่ 9 ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ (Relative water content, RWC,%) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ภาวะปกติ ข. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ค. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ns แสดงค่าเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกัน (p≤0.05)



ภาพที่ 10 ค่าสัมพัทธ์ของปริมาณน้ำสัมพัทธ์ (Relative of RWC, %) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ข. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ โดยเทียบกับค่าในภาวะปกติ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ns แสดงค่าเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)

2. ปริมาณรงควัตถุในใบของประชากรข้าว CSSL ภายใต้ภาวะปกติและภาวะเค็ม

2.1 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ

จากการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ในใบที่ระยะเวลาต่าง ๆ เมื่อปลูกให้ได้รับภาวะปกติและภาวะเค็มทั้งสองระดับพบว่า ข้าวที่ศึกษามีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ที่แตกต่างกันอันเนื่องมาจากความแตกต่างของพันธุ์/สายพันธุ์และผลของภาวะเค็ม โดยที่ทั้งสองปัจจัยไม่ได้มีผลร่วมกันต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (ตารางที่ 6)

ต้นข้าวที่อายุ 20 วันมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ในใบอยู่ระหว่าง 2.34 ถึง 3.22 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด (mg/g FW) (ตารางที่ 6) ซึ่งมีความแตกต่างกันโดย CSSL11 และ CSSL26 มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ต่ำกว่า KDML105 ส่วน CSSL สายพันธุ์อื่น ๆ มีคลอโรฟิลล์ เอ ไม่ต่างจาก KDML105 นอกจากนี้ CSSL ทุกสายพันธุ์มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ไม่ต่างจาก DH212 และยังพบว่า Pokkali มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ไม่ต่างจาก CSSL26 แต่ต่ำกว่าพันธุ์/สายพันธุ์อื่น ๆ (ภาพที่ 11) ระยะเวลาถัดมาอีก 6 ชั่วโมง พบว่าในภาวะปกติใบข้าวมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ อยู่ระหว่าง 2.41 ถึง 3.26 mg/g FW (ตารางที่ 6) CSSL7 มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ต่ำกว่า KDML105 ส่วน CSSL สายพันธุ์อื่น ๆ มีคลอโรฟิลล์ เอ ไม่ต่างจาก KDML105 ทั้งนี้ CSSL ทุกสายพันธุ์มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ไม่ต่างจาก DH212 โดย Pokkali มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ไม่ต่างจาก CSSL7 แต่ต่ำกว่าพันธุ์/สายพันธุ์อื่น ๆ (ภาพที่ 11ก) เมื่อต้นข้าวอายุ 21 วัน พบว่าใบข้าวมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ อยู่ระหว่าง 2.31 ถึง 3.28 mg/g FW (ตารางที่ 6) CSSL ทุกสายพันธุ์มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ไม่ต่างจาก KDML105 และ DH212 โดย Pokkali มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ 2.31 mg/g FW ซึ่งต่ำกว่าพันธุ์/สายพันธุ์อื่น ๆ ที่มีปริมาณอยู่ระหว่าง 2.90 ถึง 3.28 mg/g FW (ภาพที่ 11ก) เมื่อต้นข้าวอายุ 22 วัน พบว่าใบข้าวมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ อยู่ระหว่าง 2.80 ถึง 3.67 mg/g FW (ตารางที่ 6) โดยที่ CSSL10 และ CSSL26 มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ต่ำกว่า KDML105 ส่วน CSSL สายพันธุ์อื่น ๆ มีคลอโรฟิลล์ เอ ไม่ต่างจาก KDML105 นอกจากนี้พบว่า DH212 และ Pokkali มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ต่ำกว่า CSSL 7 และ KDML105 (ภาพที่ 11ก)

เมื่อต้นข้าวที่อายุ 20 วันได้รับโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่า CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ อยู่ระหว่าง 2.97 ถึง 3.21 mg/g FW (ตารางที่ 6) ซึ่งไม่แตกต่างจาก KDML105 และ DH212 โดย Pokkali มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ 2.46 mg/g FW ซึ่งไม่ต่างจาก DH212 แต่ต่ำกว่าพันธุ์/สายพันธุ์อื่น ๆ (ภาพที่ 11ข) เมื่อได้รับโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ อยู่ระหว่าง 2.58 ถึง

3.34 mg/g FW (ตารางที่ 6) ซึ่งไม่แตกต่างกันและไม่ต่างจากพันธุ์อื่น ๆ ยกเว้น Pokkali ที่มีปริมาณต่ำกว่า CSSL10 (ภาพที่ 11ข) เมื่อได้รับโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ อยู่ระหว่าง 2.83 ถึง 3.31 mg/g FW (ตารางที่ 6) ซึ่ง CSSL11 และ CSSL26 มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ต่ำกว่า KDML105 แต่อยู่ในระดับเดียวกับ DH212 และ Pokkali ส่วน CSSL อื่น ๆ มีปริมาณไม่ต่างจาก KDML105 รวมทั้ง IR29 นอกจากนี้ยังพบว่า CSSL16 มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ สูงกว่า DH212 (ภาพที่ 11ข)

เมื่อต้นข้าวที่อายุ 20 วันได้รับโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่า CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ อยู่ระหว่าง 2.56 ถึง 3.17 mg/g FW (ตารางที่ 6) โดย CSSL7 CSSL11 DH212 และ Pokkali มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ อยู่ในระดับเดียวกัน และต่ำกว่า KDML105 ส่วน CSSL10 CSSL12 CSSL16 และ CSSL26 มีปริมาณ คลอโรฟิลล์ เอ ไม่ต่างจาก KDML105 นอกจากนี้ IR29 ยังมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ สูงในระดับเดียวกันกับ KDML105 (ภาพที่ 11ค) เมื่อได้รับโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ อยู่ระหว่าง 2.61 ถึง 3.16 mg/g FW (ตารางที่ 6) ซึ่งไม่แตกต่างจาก DH212 และ IR29 แต่ CSSL7 CSSL11 และ CSSL12 มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ต่ำกว่า KDML105 อย่างมีนัยสำคัญ โดย Pokkali มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ไม่ต่างจาก DH212 และ IR29 แต่ต่ำกว่า KDML105 (ภาพที่ 11ค) เมื่อได้รับโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ อยู่ระหว่าง 1.95 ถึง 3.39 mg/g FW (ตารางที่ 6) ซึ่งไม่แตกต่างจาก KDML105 DH212 และ IR29 นอกจากนี้ยังพบว่า CSSL26 และ IR29 มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ สูงกว่า CSSL10 และ Pokkali (ภาพที่ 11ค)

จะเห็นได้ว่า ในภาพรวม CSSL มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ที่ต่ำกว่า KDML105 และมีค่าอยู่ในระดับเดียวกับ DH212 ทั้งในภาวะปกติและภาวะเค็ม อีกทั้งยังเห็นได้ว่า DH212 และ Pokkali ซึ่งเป็นพันธุ์ทนแล้งและทนเค็มนั้นมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ที่ต่ำกว่า KDML105 (ภาพที่ 11ก-11ค) และเมื่อเปรียบเทียบค่าในภาวะเค็มกับค่าในภาวะปกติ (ภาพที่ 12) ไม่พบว่าในภาวะเค็มระดับปานกลางมีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ที่ชัดเจนทั้งใน CSSL และในพันธุ์ตรวจสอบ แต่พบว่ามีการลดลงของปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ เมื่อได้รับภาวะเค็มระดับสูงเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ประมาณ 28-37% ใน CSSL7 CSSL10 CSSL12 และ Pokkali (ภาพที่ 12ก และ 12ข)

2.2 ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี

จากตารางที่ 7 จะเห็นได้ว่าปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ในใบที่ระยะเวลาต่าง ๆ มีความแตกต่างกันโดยเป็นผลมาจากภาวะเค็มและความแตกต่างของพันธุ์/สายพันธุ์ โดยที่ทั้งสองปัจจัยไม่มีผลร่วมกันต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ บี (ตารางที่ 6)

ในภาวะปกติต้นข้าวที่อายุ 20 วันมีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ในใบอยู่ระหว่าง 0.70 ถึง 0.99 mg/g FW (ตารางที่ 7) โดย CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ไม่ต่างจาก DH212 และ IR29 ส่วน KDML105 มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี สูงกว่า CSSL26 และ Pokkali แต่ไม่แตกต่างจากพันธุ์/สายพันธุ์อื่น ๆ (ภาพที่ 13ก-13ค) ระยะเวลาถัดมาอีก 6 ชั่วโมงพบว่าใบข้าวมีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี อยู่ระหว่าง 0.76 ถึง 1.04 mg/g FW (ตารางที่ 7) โดย CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ไม่ต่างจาก DH212 CSSL เกือบทั้งหมดมีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ไม่ต่างจาก KDML105 ยกเว้น CSSL7 ที่มีปริมาณต่ำกว่า ยังพบว่า Pokkali มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ไม่ต่างจาก CSSL7 แต่ต่ำกว่าพันธุ์/สายพันธุ์อื่น ๆ (ภาพที่ 13ก) ต้นข้าวอายุ 21 วันมีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ในใบอยู่ระหว่าง 0.70 ถึง 0.98 mg/g FW (ตารางที่ 7) โดย CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ไม่แตกต่างจาก KDML105 DH212 และ IR29 ส่วน Pokkali มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ต่ำกว่า CSSL16 KDML105 และ IR29 แต่ไม่ต่างจากพันธุ์/สายพันธุ์อื่น ๆ (ภาพที่ 13ก) ต้นข้าวอายุ 22 วันมีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ในใบอยู่ระหว่าง 0.94 ถึง 1.22 mg/g FW CSSL (ตารางที่ 7) ทั้ง 6 สายพันธุ์มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ไม่ต่างจาก DH212 และ IR29 โดย CSSL10 และ CSSL26 มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ต่ำกว่า KDML105 นอกจากนี้พบว่า Pokkali มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ต่ำกว่า CSSL7 KDML105 และ IR29 โดยไม่แตกต่างจากพันธุ์/สายพันธุ์อื่น ๆ (ภาพที่ 13ก)

เมื่อต้นข้าวอายุ 20 วันได้รับโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่า CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี อยู่ระหว่าง 0.87 ถึง 0.96 mg/g FW (ตารางที่ 7) ซึ่งไม่แตกต่างจาก KDML105 DH212 และ IR29 แต่สูงกว่า Pokkali อย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 13ข) เมื่อได้รับโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี อยู่ระหว่าง 0.81 ถึง 1.04 mg/g FW (ตารางที่ 7) ซึ่งไม่แตกต่างจาก DH212 และพบว่า KDML105 มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี อยู่ในระดับเดียวกับพันธุ์/สายพันธุ์อื่น ๆ ยกเว้น CSSL26 และ Pokkali ที่มีปริมาณต่ำกว่า KDML105 (ภาพที่ 13ข) เมื่อได้รับโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี อยู่ระหว่าง 0.94 ถึง 1.12 mg/g FW (ตารางที่ 7) ซึ่งไม่แตกต่างจาก DH212 และ KDML105 นอกจากนี้ยังพบว่า Pokkali มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ต่ำกว่า CSSL7 CSSL10 และ CSSL16 และ IR29 มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี สูงกว่า CSSL11 CSSL12 และ CSSL26 (ภาพที่ 13ข)

เมื่อต้นข้าวที่อายุ 20 วันได้รับโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่า CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี อยู่ระหว่าง 0.82 ถึง 0.98 mg/g FW (ตารางที่ 7) โดย KDML105 มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี อยู่ในระดับเดียวกับ CSSL16 และ IR29 แต่สูงกว่าพันธุ์/สายพันธุ์อื่น ๆ CSSL 16 มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี สูงกว่า DH212 และ Pokkali ส่วน CSSL สายพันธุ์อื่น ๆ มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี อยู่ในระดับเดียวกับ DH212 (ภาพที่ 13ค) เมื่อได้รับโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี อยู่ระหว่าง 0.80 ถึง 0.97 mg/g FW (ตารางที่ 7) ซึ่งไม่แตกต่างจาก DH212 Pokkali และ IR29 ส่วน KDML105 มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี สูงกว่า CSSL7 CSSL11 CSSL12 และ Pokkali แต่ไม่แตกต่างจากพันธุ์/สายพันธุ์อื่น ๆ (ภาพที่ 13ค) เมื่อได้รับโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี อยู่ระหว่าง 0.80 ถึง 1.30 mg/g FW (ตารางที่ 7) ซึ่งไม่แตกต่างจาก DH212 โดยพบว่า CSSL10 มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี อยู่ในระดับเดียวกับ Pokkali และต่ำกว่า CSSL26 KDML105 และ IR29 ส่วน CSSL อื่น ๆ มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ไม่ต่างจาก KDML105 (ภาพที่ 13ค)

สำหรับปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ในภาพรวมนั้นพบว่าไม่มีความแตกต่างกันระหว่าง CSSL และ KDML105 ในภาวะปกติ แต่เมื่อได้รับภาวะเค็มระดับปานกลางและระดับสูงพบว่ามีความแตกต่างกันระหว่าง CSSL บางสายพันธุ์เมื่อเปรียบเทียบกับ KDML105 อย่างไรก็ตาม ไม่มี CSSL สายพันธุ์ใดที่มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ที่มากกว่า KDML105 (ภาพที่ 13ก-ค) ซึ่งผลดังกล่าวสอดคล้องกับการมีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ที่ค่อนข้างต่ำใน DH212 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ให้ยืนทนแล้ง นอกจากนี้ยังพบว่าสายพันธุ์ทนเค็มมีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ที่ต่ำ ในลักษณะเดียวกันกับปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ส่วนการเปรียบเทียบค่าในภาวะเค็มกับค่าในภาวะปกตินั้น ไม่พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจนของปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ที่เกิดจากการชักนำโดยภาวะเค็มทั้งใน CSSL ส่วนใหญ่และในพันธุ์ตรวจสอบ ยกเว้นเพียง CSSL26 ที่ได้รับภาวะเค็มสูงเป็นเวลา 48 ชั่วโมงที่พบว่ามีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี เพิ่มขึ้น 35% (ภาพที่ 14ก และ 14ข)

2.3 ปริมาณแคโรทีนอยด์

จากการวัดปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ระยะเวลาต่าง ๆ พบว่ามีค่าที่แตกต่างกันอันเป็นผลมาจากความแตกต่างของพันธุ์/สายพันธุ์ โดยเมื่อระยะเวลาที่ได้รับภาวะเค็มนานขึ้นถึง 48 ชั่วโมงพบว่าภาวะเค็มมีผลให้เกิดความแตกต่างของปริมาณแคโรทีนอยด์ด้วย อย่างไรก็ตาม ผลที่มีต่อปริมาณแคโรทีนอยด์นั้นไม่ได้เกิดจากปฏิสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์/สายพันธุ์กับระดับความเค็ม (ตารางที่ 8)

ต้นข้าวอายุ 20 วันในภาวะปกติมีปริมาณแคโรทีนอยด์ในใบอยู่ระหว่าง 0.62 ถึง 0.85 mg/g FW (ตารางที่ 8) โดย CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์มีปริมาณแคโรทีนอยด์อยู่ในระดับเดียวกับ DH212 และพบว่า KDML105 มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงกว่า CSSL7 CSSL26 และ Pokkali แต่ไม่ต่างจากพันธุ์/สายพันธุ์อื่น ๆ (ภาพที่ 15ก-15ค) ระยะเวลาถัดมาอีก 6 ชั่วโมง พบว่าใบข้าวมีปริมาณแคโรทีนอยด์อยู่ระหว่าง 0.60 ถึง 0.84 mg/g FW (ตารางที่ 8) CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์ยังคงมีปริมาณแคโรทีนอยด์อยู่ในระดับเดียวกับ DH212 โดย CSSL7 มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงกว่า Pokkali แต่ต่ำกว่า CSSL12 CSSL16 และ KDML105 (ภาพที่ 15ก) ต้นข้าวอายุ 21 วันมีปริมาณแคโรทีนอยด์ในใบอยู่ระหว่าง 0.61 ถึง 0.89 mg/g FW (ตารางที่ 8) ต้นข้าวเกือบทุกพันธุ์/สายพันธุ์มีปริมาณแคโรทีนอยด์ไม่ต่างกัน ยกเว้น Pokkali ที่มีปริมาณแคโรทีนอยด์ไม่ต่างจาก CSSL10 และ DH212 แต่ต่ำกว่าพันธุ์/สายพันธุ์อื่น ๆ (ภาพที่ 15ก) ต้นข้าวอายุ 22 วันมีปริมาณแคโรทีนอยด์ในใบอยู่ระหว่าง 0.68 ถึง 0.93 mg/g FW (ตารางที่ 8) โดย KDML105 มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงกว่า CSSL26 DH212 และ Pokkali แต่ไม่ต่างจากพันธุ์/สายพันธุ์อื่น ๆ และ DH212 มีปริมาณแคโรทีนอยด์ต่ำกว่า CSSL 7 และ KDML105 แต่ไม่ต่างจากพันธุ์/สายพันธุ์อื่น ๆ (ภาพที่ 15ก)

เมื่อต้นข้าวอายุ 20 วัน ได้รับโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่า CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์มีปริมาณแคโรทีนอยด์อยู่ระหว่าง 0.76 ถึง 0.82 mg/g FW (ตารางที่ 8) ซึ่งไม่แตกต่างจาก KDML105 DH212 และ IR29 แต่สูงกว่า Pokkali (ภาพที่ 15ข) เมื่อได้รับโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์มีปริมาณแคโรทีนอยด์อยู่ระหว่าง 0.68 ถึง 0.88 mg/g FW (ตารางที่ 8) ซึ่งไม่แตกต่างกันในเกือบทุกพันธุ์/สายพันธุ์ ยกเว้น CSSL10 ที่มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงกว่า Pokkali (ภาพที่ 15ข) เมื่อได้รับโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์มีปริมาณแคโรทีนอยด์อยู่ระหว่าง 0.70 ถึง 0.80 mg/g FW (ตารางที่ 8) ซึ่งไม่แตกต่างจาก DH212 และ IR29 และพบว่า KDML105 มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงกว่า CSSL11 CSSL26 DH212 และ Pokkali แต่ไม่แตกต่างจากพันธุ์/สายพันธุ์อื่น ๆ (ภาพที่ 15ข)

เมื่อต้นข้าวอายุ 20 วันได้รับโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่า CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์มีปริมาณแคโรทีนอยด์อยู่ระหว่าง 0.70 ถึง 0.87 mg/g FW (ตารางที่ 8) ซึ่ง CSSL16 มีปริมาณแคโรทีนอยด์ไม่ต่างจาก KDML105 และ IR29 แต่สูงกว่าพันธุ์/สายพันธุ์อื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ CSSL7 และ CSSL11 มีปริมาณแคโรทีนอยด์ต่ำกว่า KDML105 ส่วน CSSL สายพันธุ์อื่น ๆ มีปริมาณไม่ต่างจาก KDML105 CSSL เกือบทั้งหมดมีปริมาณแคโรทีนอยด์อยู่ในระดับเดียวกับ DH212 ยกเว้น CSSL16 ที่มีปริมาณสูงกว่า และยังพบว่า Pokkali มีปริมาณแคโรทีนอยด์ต่ำกว่าพันธุ์/สายพันธุ์อื่น ๆ (ภาพที่ 15ค) เมื่อได้รับโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 24

ชั่วโมง พบว่า CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์มีปริมาณแคโรทีนอยด์อยู่ระหว่าง 0.70 ถึง 0.84 mg/g FW (ตารางที่ 8) ซึ่งไม่ต่างจาก DH212 และ IR29 โดย KDML105 มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงกว่า CSSL7 CSSL11 และ Pokkali แต่ไม่แตกต่างจากพันธุ์/สายพันธุ์อื่น ๆ และยังพบว่า Pokkali มีปริมาณแคโรทีนอยด์ต่ำกว่าพันธุ์/สายพันธุ์อื่น ๆ (ภาพที่ 15ค) เมื่อได้รับโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์มีปริมาณแคโรทีนอยด์อยู่ระหว่าง 0.52 ถึง 0.81 mg/g FW (ตารางที่ 8) ซึ่งไม่แตกต่างกันในทุกพันธุ์/สายพันธุ์ (ภาพที่ 15ค)

สำหรับปริมาณแคโรทีนอยด์ในภาพรวมจะเห็นว่า มีความแตกต่างกันระหว่าง CSSL และ KDML105 ทั้งในภาวะปกติและเมื่อได้รับภาวะเค็มระดับกลางและระดับสูง โดยพบว่า CSSL บางสายพันธุ์มีปริมาณแคโรทีนอยด์ที่น้อยกว่า KDML105 ในบางระยะเวลา สำหรับ DH212 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ให้ยีนทนแล้งและ Pokkali ซึ่งเป็นพันธุ์มาตรฐานทนเค็มนั้น มีปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับ KDML105 และ IR29 (ภาพที่ 15ก-15ค) เช่นเดียวกับที่พบในคลอโรฟิลล์ เอ และคลอโรฟิลล์ บี ส่วนการเปรียบเทียบค่าในภาวะเค็มกับค่าในภาวะปกตินั้น พบว่าการได้รับภาวะเค็มระดับปานกลางไม่มีผลต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ ส่วนการได้รับภาวะเค็มระดับสูงมีผลลดปริมาณแคโรทีนอยด์ใน CSSL7 CSSL10 CSSL11 และ CSSL12 ประมาณ 26-40% (ภาพที่ 16ก และ 16ข)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

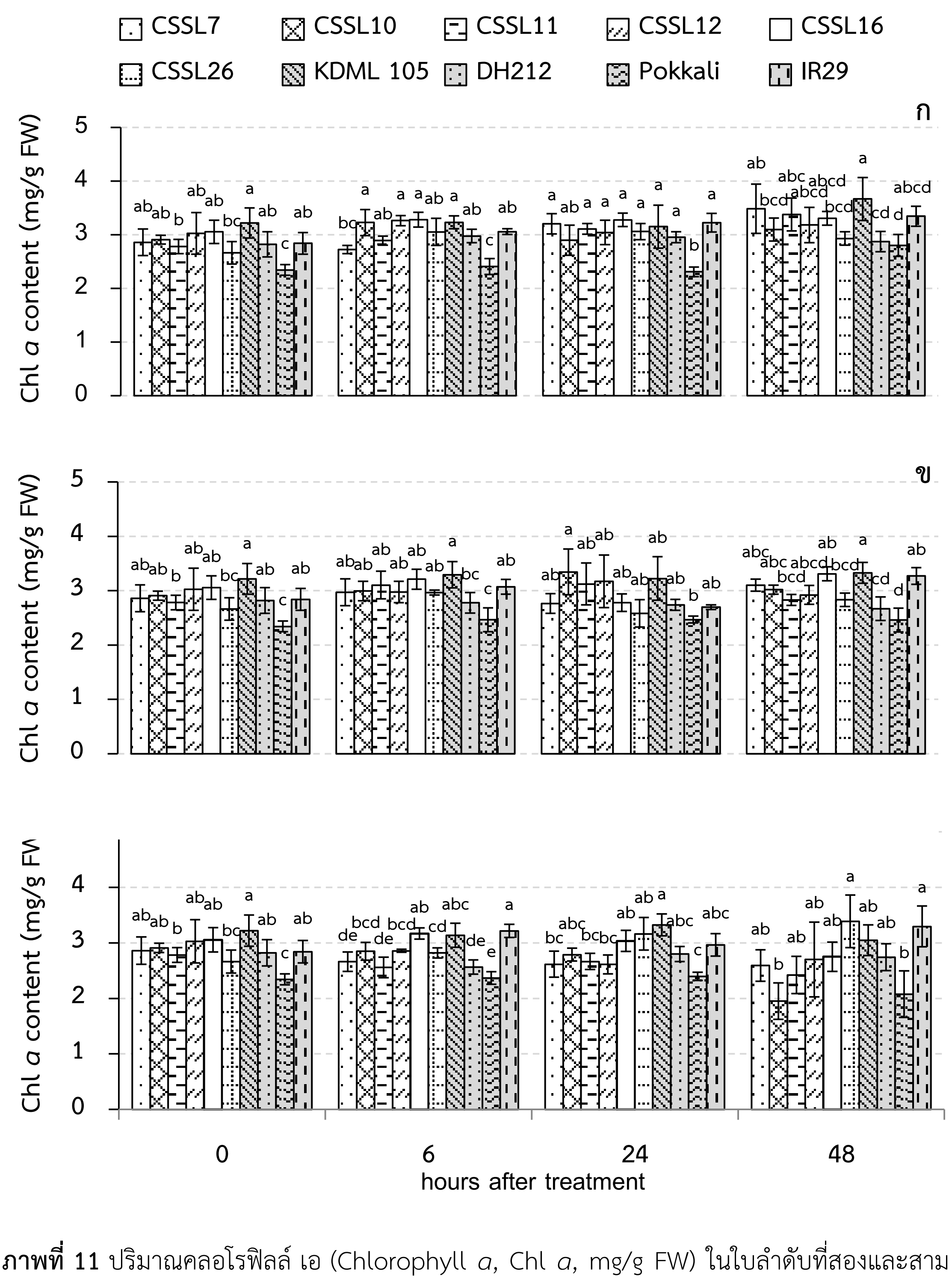
ตารางที่ 6 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (Chlorophyll *a*, Chl *a*, mg/g FW) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) เมื่อได้รับภาวะปกติ ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ และภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์

NaCl	Cultivars/	hours after treatment			
(mM)	Lines	0	6	24	48
0	CSSL7	2.86 ± 0.25	2.72 ± 0.08	3.21 ± 0.19	3.49 ± 0.46
	CSSL10	2.91 ± 0.08	3.23 ± 0.24	2.90 ± 0.28	3.10 ± 0.21
	CSSL11	2.78 ± 0.13	2.89 ± 0.08	3.11 ± 0.10	3.38 ± 0.31
	CSSL12	3.03 ± 0.39	3.26 ± 0.09	3.04 ± 0.23	3.18 ± 0.33
	CSSL16	3.06 ± 0.22	3.28 ± 0.14	3.28 ± 0.13	3.31 ± 0.13
	CSSL26	2.66 ± 0.21	3.05 ± 0.25	3.06 ± 0.15	2.93 ± 0.13
	KDML105	3.22 ± 0.28	3.23 ± 0.12	3.15 ± 0.40	3.67 ± 0.40
	DH212	2.82 ± 0.24	2.98 ± 0.12	2.95 ± 0.10	2.87 ± 0.19
	Pokkali	2.34 ± 0.10	2.41 ± 0.15	2.31 ± 0.09	2.80 ± 0.20
	IR29	2.84 ± 0.20	3.06 ± 0.05	3.22 ± 0.17	3.35 ± 0.19
75	CSSL7	2.86 ± 0.25	2.97 ± 0.25	2.76 ± 0.18	3.10 ± 0.11
	CSSL10	2.91 ± 0.08	2.99 ± 0.18	3.35 ± 0.42	3.02 ± 0.08
	CSSL11	2.78 ± 0.13	3.10 ± 0.25	3.12 ± 0.38	2.83 ± 0.10
	CSSL12	3.03 ± 0.39	2.98 ± 0.20	3.17 ± 0.48	2.92 ± 0.17
	CSSL16	3.06 ± 0.22	3.21 ± 0.19	2.78 ± 0.16	3.31 ± 0.13
	CSSL26	2.66 ± 0.21	2.97 ± 0.05	2.58 ± 0.25	2.83 ± 0.12
	KDML105	3.22 ± 0.28	3.29 ± 0.24	3.22 ± 0.40	3.33 ± 0.19
	DH212	2.82 ± 0.24	2.78 ± 0.19	2.74 ± 0.10	2.67 ± 0.22
	Pokkali	2.34 ± 0.10	2.47 ± 0.22	2.47 ± 0.06	2.46 ± 0.22
	IR29	2.84 ± 0.20	3.07 ± 0.14	2.70 ± 0.04	3.27 ± 0.15
150	CSSL7	2.86 ± 0.25	2.66 ± 0.18	2.62 ± 0.24	2.59 ± 0.28
	CSSL10	2.91 ± 0.08	2.85 ± 0.16	2.79 ± 0.12	1.95 ± 0.33
	CSSL11	2.78 ± 0.13	2.56 ± 0.19	2.67 ± 0.15	2.42 ± 0.33
	CSSL12	3.03 ± 0.39	2.86 ± 0.03	2.61 ± 0.17	2.70 ± 0.67
	CSSL16	3.06 ± 0.22	3.17 ± 0.10	3.03 ± 0.19	2.75 ± 0.26
	CSSL26	2.66 ± 0.21	2.82 ± 0.09	3.16 ± 0.29	3.39 ± 0.47
	KDML105	3.22 ± 0.28	3.14 ± 0.22	3.32 ± 0.20	3.05 ± 0.28
	DH212	2.82 ± 0.24	2.56 ± 0.13	2.80 ± 0.14	2.74 ± 0.24
	Pokkali	2.34 ± 0.10	2.37 ± 0.11	2.40 ± 0.08	2.08 ± 0.42
	IR29	2.84 ± 0.20	3.22 ± 0.12	2.96 ± 0.20	3.30 ± 0.37
Significant level					
NaCl		ns	*	ns	**
Cultivar/Line		**	**	*	**
NaCl x Cultivar/Line		ns	ns	ns	ns

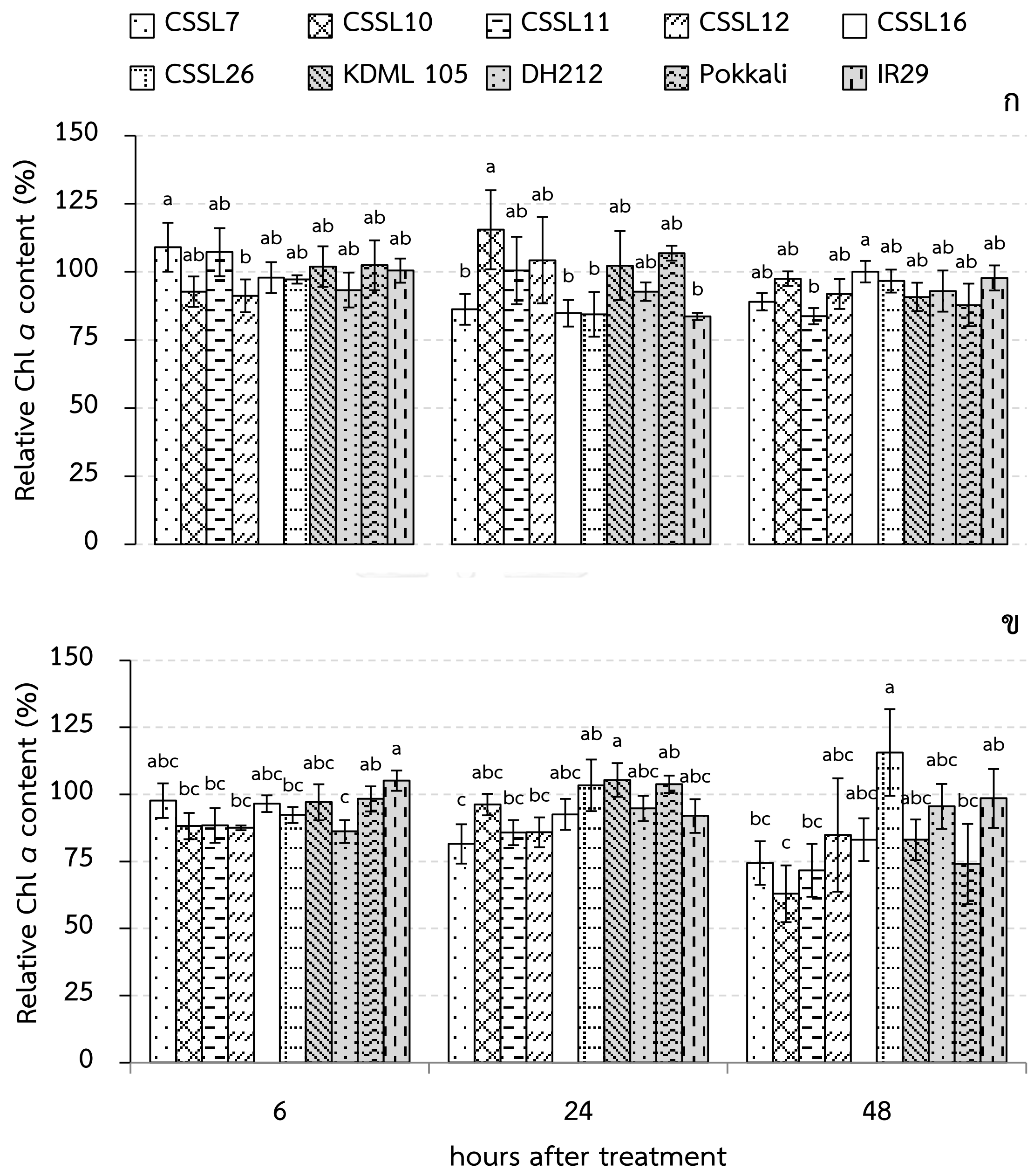
ns คือค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)

* คือค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)

** คือค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.01$)



ภาพที่ 11 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (Chlorophyll *a*, Chl *a*, mg/g FW) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ภาวะปกติ ข. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ค. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)



ภาพที่ 12 ค่าสัมพัทธ์ของปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (Relative chlorophyll *a*, Chl *a*, %) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ข. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ โดยเทียบกับค่าในภาวะปกติ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)

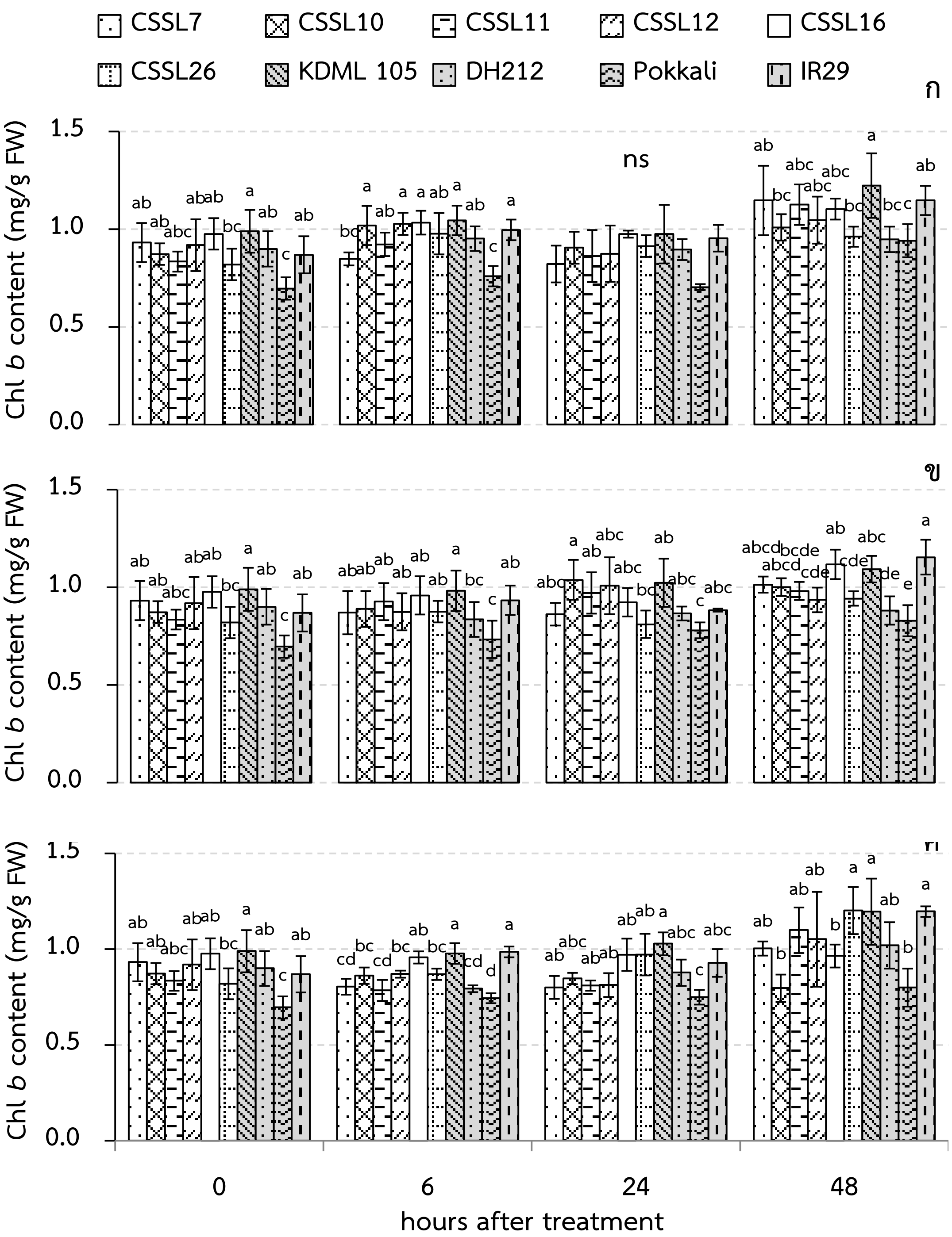
ตารางที่ 7 ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี (Chlorophyll *b*, Chl *b*, mg/g FW) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) เมื่อได้รับภาวะปกติ ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ และภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์

NaCl	Cultivars/	hours after treatment			
(mM)	Lines	0	6	24	48
0	CSSL7	0.93 ± 0.10	0.85 ± 0.03	0.82 ± 0.09	1.15 ± 0.18
	CSSL10	0.87 ± 0.06	1.02 ± 0.10	0.91 ± 0.08	1.01 ± 0.07
	CSSL11	0.83 ± 0.05	0.92 ± 0.06	0.86 ± 0.13	1.13 ± 0.10
	CSSL12	0.92 ± 0.13	1.03 ± 0.06	0.87 ± 0.14	1.05 ± 0.12
	CSSL16	0.98 ± 0.08	1.03 ± 0.06	0.98 ± 0.02	1.10 ± 0.05
	CSSL26	0.82 ± 0.08	0.98 ± 0.11	0.91 ± 0.06	0.96 ± 0.05
	KDML105	0.99 ± 0.11	1.04 ± 0.08	0.97 ± 0.15	1.22 ± 0.17
	DH212	0.90 ± 0.09	0.95 ± 0.06	0.90 ± 0.05	0.95 ± 0.07
	Pokkali	0.70 ± 0.06	0.76 ± 0.05	0.70 ± 0.02	0.94 ± 0.08
	IR29	0.87 ± 0.09	1.00 ± 0.05	0.95 ± 0.07	1.15 ± 0.08
75	CSSL7	0.93 ± 0.10	0.87 ± 0.11	0.86 ± 0.06	1.01 ± 0.04
	CSSL10	0.87 ± 0.06	0.89 ± 0.09	1.04 ± 0.10	1.00 ± 0.05
	CSSL11	0.83 ± 0.05	0.93 ± 0.10	0.97 ± 0.11	0.98 ± 0.05
	CSSL12	0.92 ± 0.13	0.87 ± 0.09	1.01 ± 0.15	0.94 ± 0.06
	CSSL16	0.98 ± 0.08	0.96 ± 0.10	0.92 ± 0.07	1.12 ± 0.08
	CSSL26	0.82 ± 0.08	0.88 ± 0.06	0.81 ± 0.07	0.94 ± 0.04
	KDML105	0.99 ± 0.11	0.98 ± 0.10	1.02 ± 0.12	1.09 ± 0.07
	DH212	0.90 ± 0.09	0.84 ± 0.09	0.87 ± 0.04	0.88 ± 0.07
	Pokkali	0.70 ± 0.06	0.73 ± 0.10	0.78 ± 0.04	0.83 ± 0.08
	IR29	0.87 ± 0.09	0.93 ± 0.08	0.88 ± 0.01	1.15 ± 0.09
150	CSSL7	0.93 ± 0.10	0.80 ± 0.04	0.80 ± 0.06	1.00 ± 0.04
	CSSL10	0.87 ± 0.06	0.86 ± 0.04	0.85 ± 0.03	0.80 ± 0.07
	CSSL11	0.83 ± 0.05	0.78 ± 0.05	0.81 ± 0.03	1.10 ± 0.12
	CSSL12	0.92 ± 0.13	0.87 ± 0.02	0.81 ± 0.06	1.05 ± 0.25
	CSSL16	0.98 ± 0.08	0.96 ± 0.03	0.97 ± 0.08	0.96 ± 0.06
	CSSL26	0.82 ± 0.08	0.87 ± 0.03	0.97 ± 0.11	1.20 ± 0.11
	KDML105	0.99 ± 0.11	0.98 ± 0.05	1.03 ± 0.06	1.20 ± 0.17
	DH212	0.90 ± 0.09	0.79 ± 0.02	0.88 ± 0.07	1.02 ± 0.12
	Pokkali	0.70 ± 0.06	0.74 ± 0.03	0.75 ± 0.04	0.80 ± 0.10
	IR29	0.87 ± 0.09	0.99 ± 0.03	0.93 ± 0.07	1.20 ± 0.03
Significant level					
NaCl		ns	**	ns	ns
Cultivar/Line		**	**	*	**
NaCl x Cultivar/Line		ns	ns	ns	ns

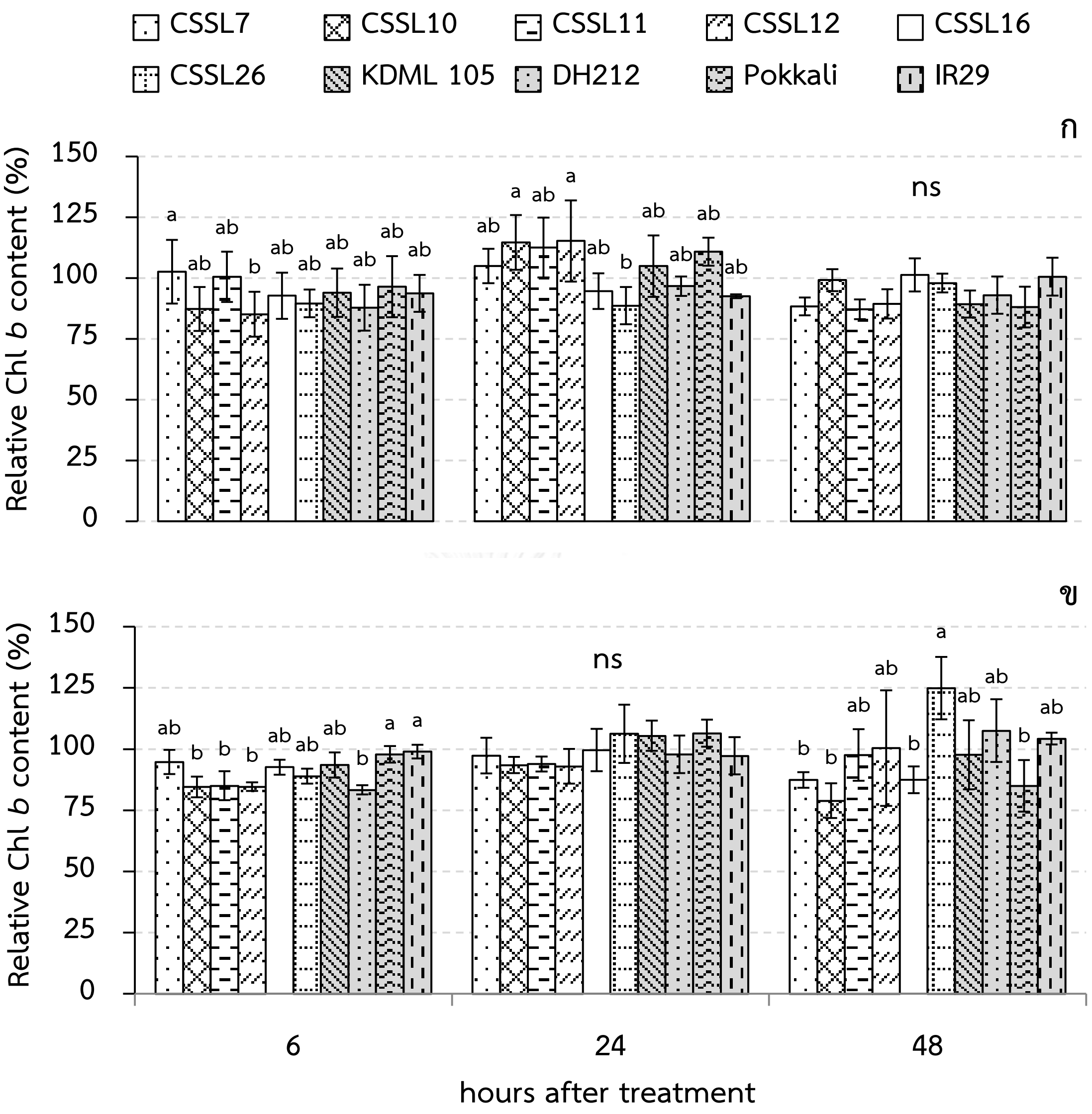
ns คือค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)

* คือค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)

** คือค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.01$)



ภาพที่ 13 ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี (Chlorophyll *b*, Chl *b*, mg/g FW) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ภาวะปกติ ข. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ค. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ns แสดงค่าเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)



ภาพที่ 14 ค่าสัมพัทธ์ของปริมาณคลอโรฟิลล์ บี (Relative chlorophyll *b*, Chl *b*, %) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ข. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ โดยเทียบกับค่าในภาวะปกติ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ns แสดงค่าเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)

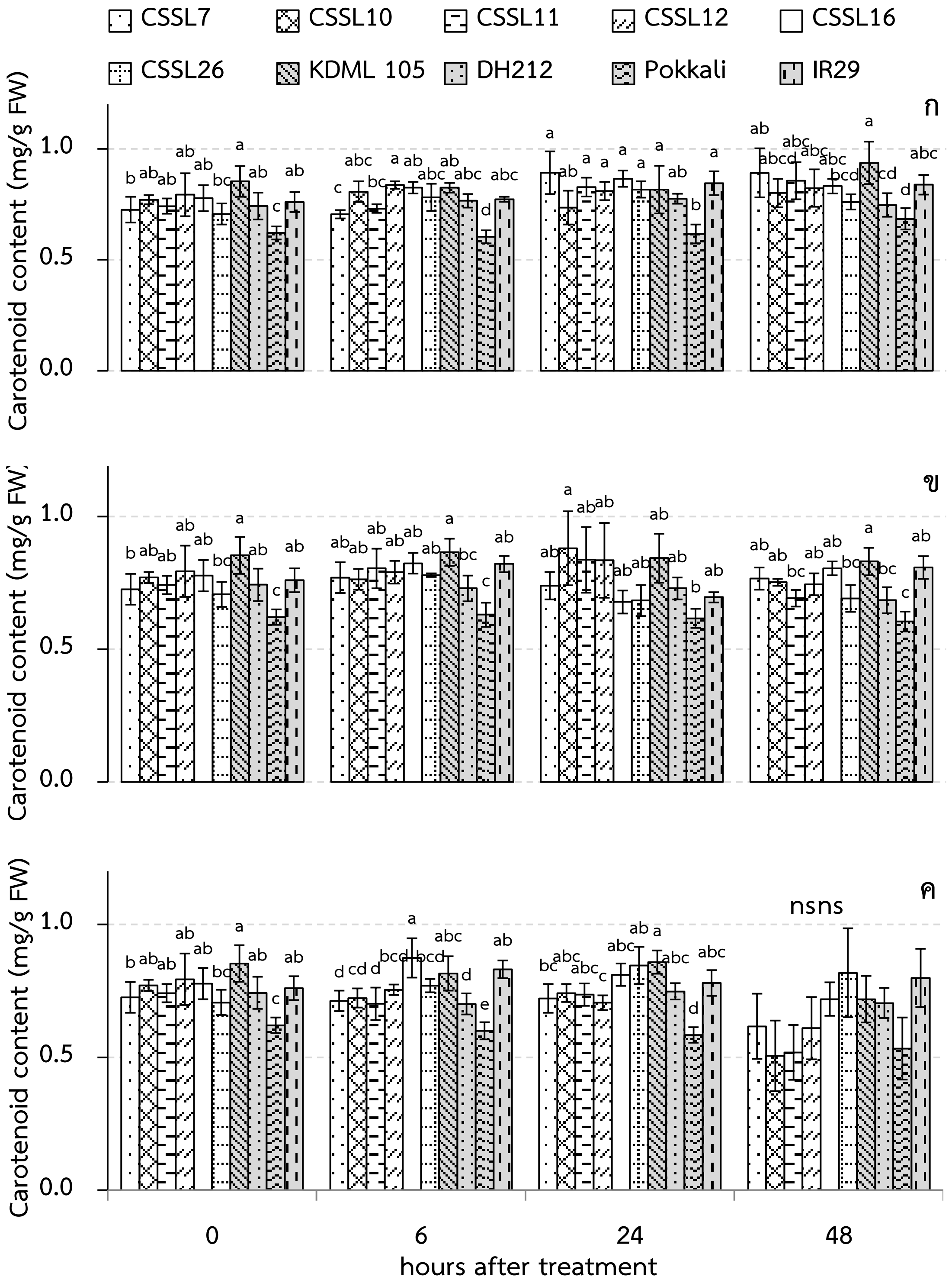
ตารางที่ 8 ปริมาณแคโรทีนอยด์ (Carotenoid, mg/g FW) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) เมื่อได้รับภาวะปกติ ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ และภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์

NaCl (mM)	Cultivars/ Lines	hours after treatment 0	6	24	48
0	CSSL7	0.73 ± 0.06	0.70 ± 0.02	0.89 ± 0.10	0.89 ± 0.11
	CSSL10	0.77 ± 0.02	0.81 ± 0.05	0.73 ± 0.08	0.80 ± 0.06
	CSSL11	0.74 ± 0.03	0.73 ± 0.02	0.83 ± 0.04	0.86 ± 0.08
	CSSL12	0.79 ± 0.10	0.84 ± 0.02	0.81 ± 0.04	0.82 ± 0.08
	CSSL16	0.78 ± 0.06	0.82 ± 0.03	0.87 ± 0.04	0.83 ± 0.03
	CSSL26	0.71 ± 0.05	0.78 ± 0.06	0.82 ± 0.04	0.76 ± 0.03
	KDML105	0.85 ± 0.07	0.82 ± 0.02	0.82 ± 0.11	0.94 ± 0.10
	DH212	0.74 ± 0.06	0.77 ± 0.03	0.78 ± 0.02	0.75 ± 0.05
	Pokkali	0.62 ± 0.03	0.60 ± 0.03	0.62 ± 0.04	0.68 ± 0.05
	IR29	0.76 ± 0.04	0.77 ± 0.01	0.84 ± 0.05	0.84 ± 0.04
75	CSSL7	0.73 ± 0.06	0.77 ± 0.06	0.74 ± 0.05	0.77 ± 0.04
	CSSL10	0.77 ± 0.02	0.76 ± 0.04	0.88 ± 0.14	0.75 ± 0.01
	CSSL11	0.74 ± 0.03	0.80 ± 0.07	0.84 ± 0.12	0.69 ± 0.03
	CSSL12	0.79 ± 0.10	0.79 ± 0.04	0.83 ± 0.14	0.74 ± 0.04
	CSSL16	0.78 ± 0.06	0.82 ± 0.04	0.68 ± 0.04	0.80 ± 0.03
	CSSL26	0.71 ± 0.05	0.78 ± 0.01	0.68 ± 0.06	0.69 ± 0.05
	KDML105	0.85 ± 0.07	0.87 ± 0.05	0.84 ± 0.09	0.83 ± 0.05
	DH212	0.74 ± 0.06	0.73 ± 0.05	0.73 ± 0.04	0.68 ± 0.05
	Pokkali	0.62 ± 0.03	0.63 ± 0.05	0.62 ± 0.04	0.60 ± 0.04
	IR29	0.76 ± 0.04	0.82 ± 0.03	0.70 ± 0.02	0.81 ± 0.04
150	CSSL7	0.73 ± 0.06	0.71 ± 0.04	0.72 ± 0.05	0.62 ± 0.12
	CSSL10	0.77 ± 0.02	0.72 ± 0.04	0.74 ± 0.03	0.51 ± 0.13
	CSSL11	0.74 ± 0.03	0.70 ± 0.06	0.74 ± 0.04	0.52 ± 0.10
	CSSL12	0.79 ± 0.10	0.75 ± 0.02	0.71 ± 0.03	0.61 ± 0.12
	CSSL16	0.78 ± 0.06	0.87 ± 0.07	0.81 ± 0.04	0.72 ± 0.06
	CSSL26	0.71 ± 0.05	0.77 ± 0.03	0.85 ± 0.07	0.82 ± 0.17
	KDML105	0.85 ± 0.07	0.82 ± 0.06	0.86 ± 0.04	0.72 ± 0.09
	DH212	0.74 ± 0.06	0.70 ± 0.04	0.75 ± 0.03	0.70 ± 0.06
	Pokkali	0.62 ± 0.03	0.60 ± 0.03	0.58 ± 0.03	0.53 ± 0.12
	IR29	0.76 ± 0.04	0.83 ± 0.03	0.78 ± 0.05	0.80 ± 0.11
Significant level					
NaCl		ns	ns	ns	**
Cultivar/Line		**	**	*	*
NaCl x Cultivar/Line		ns	ns	ns	ns

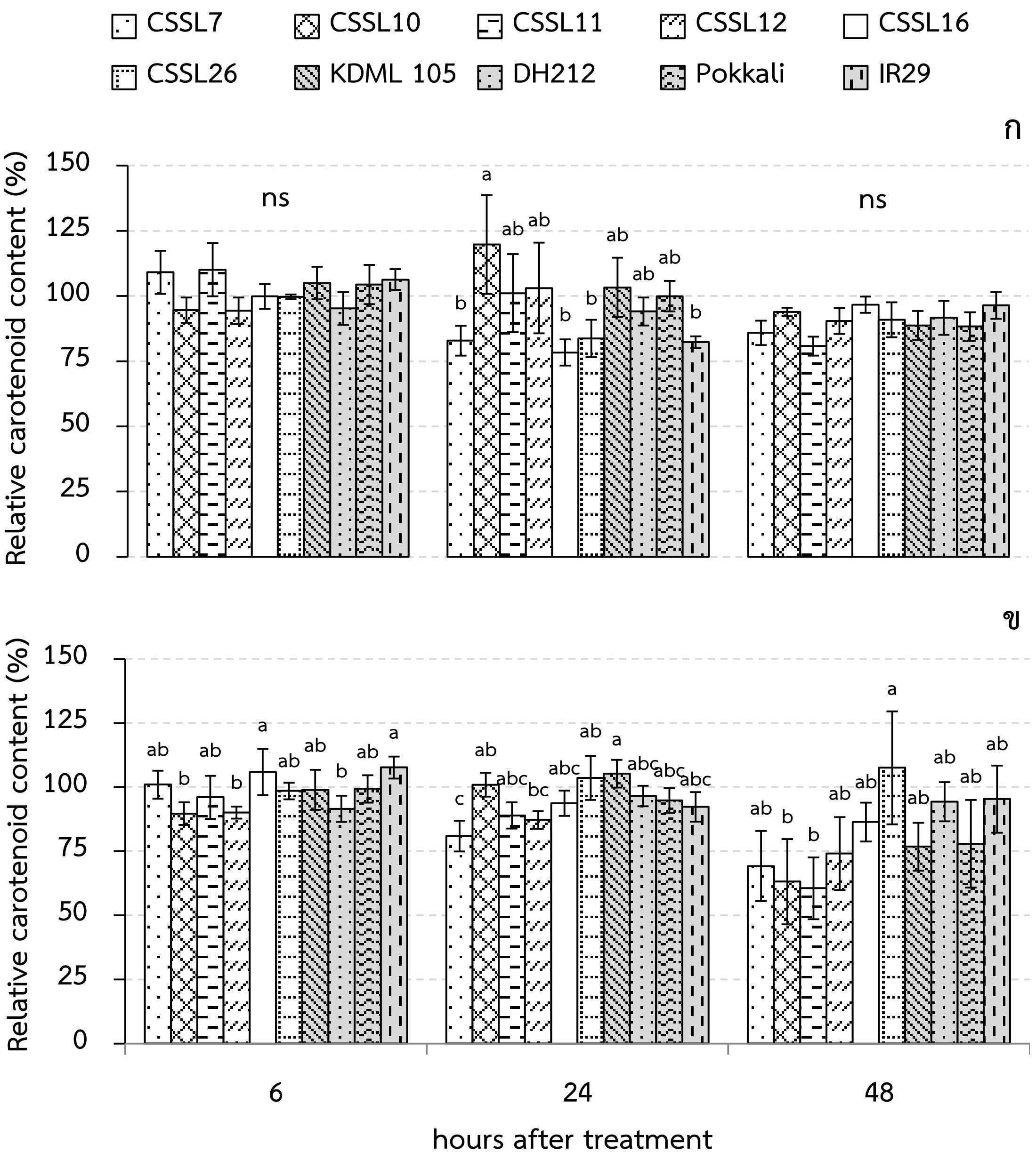
ns คือค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกัน (p≤0.05)

* คือค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน (p≤0.05)

** คือค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน (p≤0.01)



ภาพที่ 15 ปริมาณแคโรทีนอยด์ (Carotenoid, mg/g FW) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ภาวะปกติ ข. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ค. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ns แสดงค่าเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)



ภาพที่ 16 ค่าสัมพัทธ์ของปริมาณแคโรทีนอยด์ (Relative carotenoid, %) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ข. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ โดยเทียบกับค่าในภาวะปกติ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ns แสดงค่าเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)

3. ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และแอกทิวิตีของเอนไซม์ต้านออกซิเดชันภายใต้ภาวะปกติและภาวะเค็ม

3.1 ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในใบข้าว

จากการวัดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในใบที่ระยะเวลาต่าง ๆ พบว่าค่าที่แตกต่างกันในภาวะปกติเมื่อเริ่มทดลองเป็นผลมาจากความแตกต่างของพันธุ์/สายพันธุ์ ส่วนปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่แตกต่างกันที่ระยะเวลา 6 และ 48 ชั่วโมงนั้นเป็นผลร่วมกันของพันธุ์/สายพันธุ์และภาวะเค็ม (ตารางที่ 9)

ทั้งนี้ ต้นข้าวที่อายุ 20 วัน (ที่ระยะเวลา 0 ชั่วโมง) มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในใบอยู่ระหว่าง 19.5 ถึง 29.9 ไมโครโมลต่อกรัมน้ำหนักสด (umol/g FW) (ตารางที่ 9) โดย CSSL10 และ CSSL26 มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สูงกว่า KDML105 และ DH212 ส่วน CSSL สายพันธุ์อื่น ๆ มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไม่ต่างจาก KDML105 และ DH212 และพบว่า Pokkali มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไม่ต่างจากทุกพันธุ์/สายพันธุ์ ส่วน IR29 มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สูงกว่า CSSL7 CSSL16 KDML105 และ DH212 แต่ไม่ต่างจากพันธุ์/สายพันธุ์อื่น ๆ (ภาพที่ 17ก-17ค) ระยะเวลาถัดมาอีก 6 ชั่วโมง ข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพิ่มขึ้นเล็กน้อยมาอยู่ระหว่าง 20.8 ถึง 38.8 umol/g FW (ตารางที่ 9) โดย CSSL16 มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่ำกว่า CSSL สายพันธุ์อื่นๆ และต่ำกว่า KDML105 แต่ไม่ต่างจาก DH212 CSSL7 มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สูงกว่า KDML105 และ DH212 แต่ไม่ต่างจาก Pokkali และ IR29 ส่วน CSSL สายพันธุ์อื่น ๆ มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไม่ต่างจาก KDML105 และ DH212 (ภาพที่ 17ก) ต้นข้าวที่อายุ 21 วัน (ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง) มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในใบอยู่ระหว่าง 20.6 ถึง 33.7 umol/g FW (ตารางที่ 9) ซึ่งไม่แตกต่างกันในทุกพันธุ์/สายพันธุ์ (ภาพที่ 17ก) ต้นข้าวที่มีอายุ 22 วัน (ที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง) มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในใบอยู่ระหว่าง 21.4 ถึง 39.9 umol/g FW (ตารางที่ 9) ซึ่ง CSSL16 มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่ำกว่า CSSL สายพันธุ์อื่น ๆ แต่ไม่แตกต่างจาก KDML105 และ DH212 CSSL12 และ Pokkali มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สูงกว่าพันธุ์/สายพันธุ์อื่น ๆ CSSL7 และ CSSL10 มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สูงกว่า KDML105 และ DH212 แต่ไม่ต่างจาก IR29 ส่วน CSSL11 และ CSSL26 มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไม่ต่างจาก KDML105 DH212 และ IR29 (ภาพที่ 17ก)

จากการวิเคราะห์แยกแต่ละระดับของภาวะเค็มเพื่อศึกษาผลของพันธุ์/สายพันธุ์ พบว่าเมื่อได้รับโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 6 ชั่วโมง KDML105 และ IR29 มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพิ่มขึ้นเป็น 49.7 และ 48.9 umol/g FW (ตารางที่ 9) ซึ่งสูงกว่า DH212 และ CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์ที่มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์อยู่ระหว่าง 18.2 ถึง 34.7 umol/g FW อย่างมี

นัยสำคัญ (ภาพที่ 17ข) ทั้งนี้ CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไม่แตกต่างกัน เมื่อได้รับโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมงพบว่าข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์ มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในใบอยู่ระหว่าง 22.6 ถึง 40.5 umol/g FW (ตารางที่ 9) ซึ่งไม่แตกต่างกันในทุกพันธุ์/สายพันธุ์ (ภาพที่ 17ข) เมื่อได้รับโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในใบอยู่ระหว่าง 16.7 ถึง 34.3 umol/g FW (ตารางที่ 9) โดย CSSL 16 และ DH212 มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่ำกว่า KDML105 และ IR29 อย่างมีนัยสำคัญ ส่วน CSSL สายพันธุ์อื่น ๆ มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไม่แตกต่างจาก KDML105 และ Pokkali (ภาพที่ 17ข)

เมื่อต้นข้าวที่อายุ 20 วันได้รับโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่า CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในใบอยู่ระหว่าง 24.7 ถึง 40.1 umol/g FW (ตารางที่ 9) โดย CSSL10 และ CSSL16 มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไม่ต่างจาก DH212 และ IR29 แต่ต่ำกว่า KDML105 และ CSSL26 อย่างมีนัยสำคัญ ส่วน CSSL สายพันธุ์อื่น ๆ มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไม่ต่างจาก KDML105 ทั้งนี้ CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไม่ต่างจาก Pokkali (ภาพที่ 17ค) ส่วนที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในใบอยู่ระหว่าง 24.7 ถึง 40.2 umol/g FW (ตารางที่ 9) ซึ่งไม่แตกต่างจาก KDML105 และ DH212 (ภาพที่ 17ค) และพบว่า CSSL26 มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สูงกว่า CSSL11 CSSL12 Pokkali และ IR29 เมื่อได้รับโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในใบอยู่ระหว่าง 19.9 ถึง 42.6 umol/g FW (ตารางที่ 9) ซึ่งไม่แตกต่างจากกันในทุกพันธุ์/สายพันธุ์ (ภาพที่ 17ค)

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในภาวะเค็มระดับปานกลาง (75 มิลลิโมลาร์) กับค่าที่วัดได้ในภาวะปกติ (ภาพที่ 18ก) พบว่า KDML105 และ IR29 ตอบสนองต่อภาวะเค็มในทำนองเดียวกันคือ มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ตลอดระยะเวลาที่ได้รับภาวะเค็ม โดยเพิ่มขึ้นประมาณ 20-78% ใน KDML105 และเพิ่มขึ้นประมาณ 25-37% ใน IR29 ส่วนใน Pokkali มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่อยู่ในระดับเดียวกันหรือต่ำกว่าในภาวะปกติตลอดระยะเวลาที่ศึกษา สอดคล้องกับการเป็นพันธุ์มาตรฐานทนเค็ม สำหรับ CSSL ทุกสายพันธุ์ และ DH212 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ให้ยีนทนแล้งแก่ CSSL พบว่า แม้ว่าจะมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง แต่สามารถควบคุมให้มีระดับปกติได้ที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง ส่วนในภาวะเค็มระดับสูง (150 มิลลิโมลาร์) (ภาพที่ 18ข) พบว่ามีการตอบสนองที่คล้ายกับในภาวะเค็มระดับปานกลาง อย่างไรก็ดี CSSL16 และ CSSL26 ไม่สามารถควบคุมปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ให้อยู่ในระดับปกติได้ที่ระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

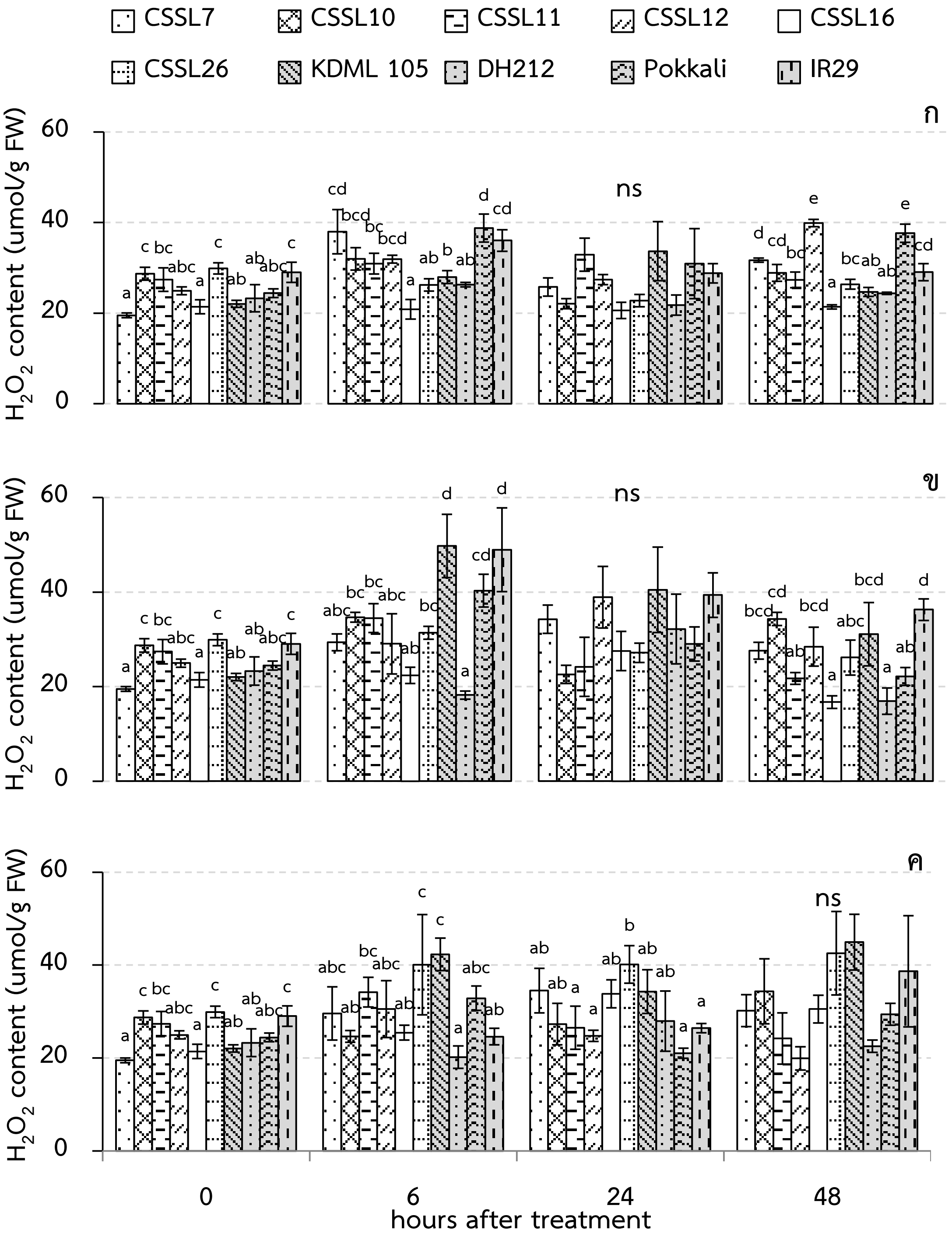
ตารางที่ 9 ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (umol/g FW) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) เมื่อได้รับภาวะปกติ ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ และภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์

NaCl (mM)	Cultivars/ Lines	hours after treatment 0	6	24	48
0	CSSL7	19.50 ± 0.52	37.99 ± 4.88	25.77 ± 2.01	31.69 ± 0.47
	CSSL10	28.73 ± 1.42	31.96 ± 2.49	22.09 ± 1.12	28.89 ± 1.85
	CSSL11	27.39 ± 2.60	30.93 ± 2.30	32.90 ± 3.66	27.33 ± 1.75
	CSSL12	24.96 ± 0.87	31.92 ± 0.88	27.42 ± 1.10	39.90 ± 0.82
	CSSL16	21.41 ± 1.55	20.84 ± 2.15	20.61 ± 1.79	21.39 ± 0.48
	CSSL26	29.90 ± 1.23	26.22 ± 1.37	22.76 ± 1.35	26.37 ± 1.08
	KDML105	22.04 ± 0.78	27.96 ± 1.44	33.66 ± 6.53	24.69 ± 0.98
	DH212	23.29 ± 2.99	26.30 ± 0.51	21.76 ± 2.23	24.40 ± 0.24
	Pokkali	24.42 ± 0.95	38.78 ± 3.08	30.92 ± 7.75	37.65 ± 2.00
	IR29	29.03 ± 2.22	36.03 ± 2.39	28.81 ± 2.14	29.05 ± 1.87
75	CSSL7	19.50 ± 0.52	29.38 ± 1.77	34.24 ± 2.98	27.57 ± 1.77
	CSSL10	28.73 ± 1.42	34.66 ± 1.02	22.57 ± 1.92	34.31 ± 1.40
	CSSL11	27.39 ± 2.60	34.48 ± 3.05	24.17 ± 6.23	21.73 ± 1.24
	CSSL12	24.96 ± 0.87	29.05 ± 6.39	38.91 ± 6.54	28.43 ± 4.12
	CSSL16	21.41 ± 1.55	22.37 ± 1.73	27.52 ± 4.13	16.73 ± 1.31
	CSSL26	29.90 ± 1.23	31.37 ± 1.36	27.16 ± 2.04	26.15 ± 3.69
	KDML105	22.04 ± 0.78	49.74 ± 6.67	40.48 ± 9.01	31.09 ± 6.68
	DH212	23.29 ± 2.99	18.21 ± 0.88	32.18 ± 7.37	16.93 ± 2.81
	Pokkali	24.42 ± 0.95	40.29 ± 3.48	29.01 ± 3.62	22.14 ± 1.90
	IR29	29.03 ± 2.22	48.95 ± 8.87	39.36 ± 4.70	36.27 ± 2.26
150	CSSL7	19.50 ± 0.52	29.61 ± 5.73	34.52 ± 4.81	30.20 ± 3.45
	CSSL10	28.73 ± 1.42	24.66 ± 1.26	27.28 ± 4.45	34.37 ± 7.00
	CSSL11	27.39 ± 2.60	34.17 ± 3.21	26.53 ± 4.63	24.20 ± 5.52
	CSSL12	24.96 ± 0.87	30.53 ± 6.11	24.77 ± 1.22	19.92 ± 2.48
	CSSL16	21.41 ± 1.55	25.46 ± 1.57	33.79 ± 3.02	30.53 ± 2.98
	CSSL26	29.90 ± 1.23	40.09 ± 10.78	40.16 ± 4.03	42.57 ± 8.99
	KDML105	22.04 ± 0.78	42.33 ± 3.49	34.32 ± 4.71	44.96 ± 6.00
	DH212	23.29 ± 2.99	20.20 ± 2.40	27.94 ± 6.48	22.53 ± 1.32
	Pokkali	24.42 ± 0.95	32.87 ± 2.61	21.05 ± 1.07	29.44 ± 2.35
	IR29	29.03 ± 2.22	24.60 ± 1.77	26.45 ± 0.99	38.67 ± 11.96
Significant level					
NaCl		ns	ns	ns	*
Cultivar/Line		**	**	ns	**
NaCl x Cultivar/Line		ns	**	ns	**

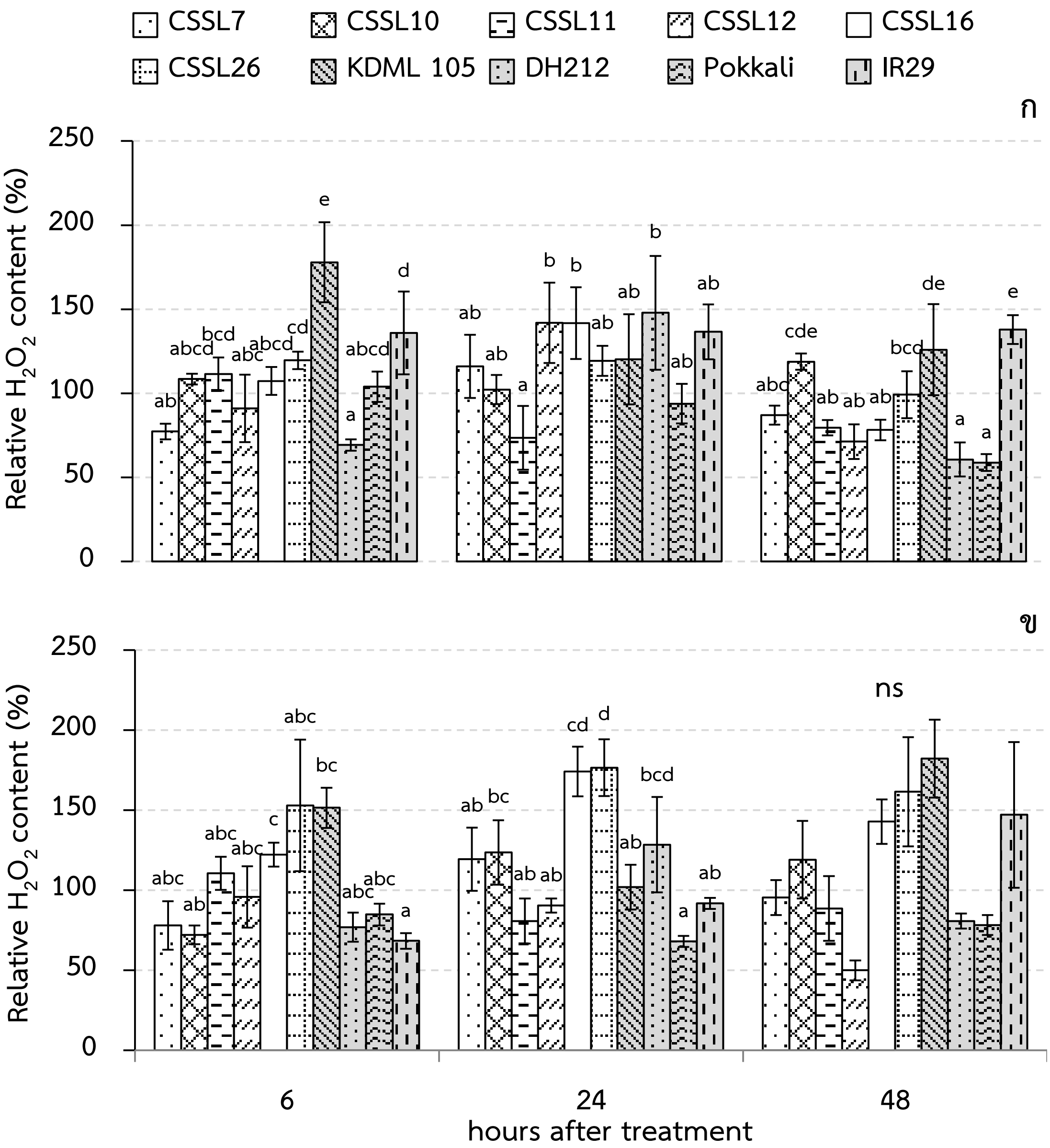
ns คือค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)

* คือค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)

** คือค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.01$)



ภาพที่ 17 ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide, H_2O_2, umol/g FW) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ภาวะปกติ ข. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ค. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ns แสดงค่าเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)



ภาพที่ 18 ค่าสัมพัทธ์ของปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Relative hydrogen peroxide content, %) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ข. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ โดยเทียบกับค่าในภาวะปกติ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ns แสดงค่าเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)

3.2 แอกทิวิตีของเอนไซม์ catalase (CAT)

จากตารางที่ 10 จะเห็นว่า แอกทิวิตีของเอนไซม์ CAT มีความแตกต่างกันเนื่องมาจากพันธุ์/สายพันธุ์ที่ระยะเวลา 0 ชั่วโมง และเป็นความแตกต่างที่เกิดจากผลของภาวะเค็มที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ส่วนความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแอกทิวิตีของ CAT ที่ระยะเวลา 6 และ 48 ชั่วโมงเป็นผลร่วมกันของพันธุ์/สายพันธุ์และภาวะเค็ม

ในภาวะปกติที่ระยะเวลา 0 ชั่วโมงพบว่า สายพันธุ์ CSSL7 CSSL11 CSSL12 และ CSSL26 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ CAT อยู่ระหว่าง 21.7 ถึง 30.8 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน (U/mg protein) ซึ่งไม่แตกต่างจาก KDML105 ส่วน CSSL10 และ CSSL16 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ CAT อยู่เท่ากับ 37.6 และ 36.1 U/mg protein ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่า KDML105 แต่ไม่ต่างจาก DH212 Pokkali และ IR29 (ตารางที่ 10 และภาพที่ 19ก-19ค) ระยะเวลาถัดมาอีก 6 ชั่วโมงในภาวะปกติพบว่าข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ CAT อยู่ระหว่าง 24.5 ถึง 47.1 U/mg protein (ตารางที่ 10) โดย CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ CAT ไม่ต่างจาก KDML105 Pokkali และ IR29 และยังพบว่า DH212 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ CAT สูงกว่า CSSL7 และ CSSL26 แต่ไม่แตกต่างจากพันธุ์/สายพันธุ์อื่น ๆ (ภาพที่ 19ก) ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมงมีแอกทิวิตีของเอนไซม์ CAT อยู่ระหว่าง 21.5 ถึง 40.0 U/mg protein (ตารางที่ 10) โดยพบว่าเกือบทุกพันธุ์/สายพันธุ์มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ CAT ไม่แตกต่างกัน (ภาพที่ 19ก) ยกเว้น CSSL10 และ CSSL26 ที่มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้ต่ำกว่า KDML105 เมื่อต้นข้าวมีอายุ 22 วัน (ที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง) ในภาวะปกติ พบว่ามีแอกทิวิตีของเอนไซม์ CAT อยู่ระหว่าง 15.7 ถึง 39.7 U/mg protein (ตารางที่ 10) โดย CSSL ทุกสายพันธุ์มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้ไม่ต่างจาก KDML105 และ Pokkali และพบว่า CSSL16 และ CSSL26 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้ไม่ต่างจาก DH212 และ IR29 ในขณะที่ CSSL สายพันธุ์อื่น ๆ มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้ต่ำกว่า DH212 (ภาพที่ 19ก)

เมื่อต้นข้าวที่อายุ 20 วันได้รับโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่าข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ CAT อยู่ระหว่าง 15.0 ถึง 61.4 U/mg protein (ตารางที่ 10) โดยที่ข้าวเกือบทุกพันธุ์/สายพันธุ์มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้ไม่ต่างกัน ยกเว้น CSSL16 ที่มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงกว่า CSSL10 และ DH212 (ภาพที่ 19ข) เมื่อได้รับโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าสายพันธุ์ CSSL มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ CAT อยู่ระหว่าง 28.3 ถึง 63.0 U/mg protein (ตารางที่ 10) ซึ่งไม่แตกต่างกันในแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์ (ภาพที่ 19ข) เมื่อได้รับโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าสายพันธุ์ CSSL มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ CAT อยู่ระหว่าง 12.1 ถึง 29.7 U/mg protein (ตารางที่ 10) ซึ่งไม่แตกต่างกันในสายพันธุ์ CSSL รวมทั้งไม่แตกต่างจากพันธุ์ตรวจสอบ (ภาพที่ 19ข)

เมื่อต้นข้าวที่อายุ 20 วันได้รับโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่าสายพันธุ์ CSSL มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ CAT อยู่ระหว่าง 27.8 ถึง 57.8 U/mg protein (ตารางที่ 10) ซึ่งไม่แตกต่างจากพันธุ์ KDML105 DH212 และ Pokkali ทั้งนี้ยังพบว่า IR29 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้ไม่ต่างจาก CSSL7 แต่สูงกว่าพันธุ์/สายพันธุ์อื่น ๆ (ภาพที่ 19ค) เมื่อได้รับโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าสายพันธุ์ CSSL มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ CAT อยู่ระหว่าง 25.6 ถึง 44.2 U/mg protein (ตารางที่ 10) ซึ่งไม่แตกต่างจาก KDML105 เช่นกัน และพบว่า CSSL11 และ IR29 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงกว่า CSSL26 DH212 และ Pokkali (ภาพที่ 19ค) ส่วนการได้รับโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าสายพันธุ์ CSSL มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ CAT อยู่ระหว่าง 7.6 ถึง 32.3 U/mg protein (ตารางที่ 10) โดยพบว่าเกือบทุกพันธุ์/สายพันธุ์ มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้ไม่แตกต่างกันยกเว้น CSSL26 ที่มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้ต่ำกว่า CSSL16 และ KDML105 (ภาพที่ 19ค)

จากที่กล่าวมาข้างต้นจะเห็นได้ว่า ในภาวะปกติมีสายพันธุ์ CSSL ที่มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ CAT สูงกว่า KDML105 ได้แก่ CSSL10 และ CSSL16 ที่อายุ 20 วัน แต่เมื่อมีอายุมากขึ้น พบว่ามีแอกทิวิตีที่เปลี่ยนแปลงไป และไม่พบสายพันธุ์ที่มีแอกทิวิตีของ CAT ที่สูงกว่า KDML105 ส่วนการได้รับภาวะเค็มระดับปานกลางและระดับสูงเป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าไม่มี CSSL สายพันธุ์ใดมีแอกทิวิตีของ CAT ที่แตกต่างจาก KDML105 (ภาพที่ 19ก-19ค)

นอกจากนี้ จากการเปรียบเทียบแอกทิวิตีในภาวะเค็มกับค่าที่วัดได้ในภาวะปกติ แสดงให้เห็นว่า KDML105 เป็นพันธุ์ที่มีแอกทิวิตีของ CAT ไม่เปลี่ยนแปลงในภาวะเค็มระดับปานกลาง แต่มีการเพิ่มแอกทิวิตีของเอนไซม์ CAT เมื่อได้รับภาวะเค็มระดับสูงที่ระยะเวลา 6 และ 24 ชั่วโมง โดยเพิ่มขึ้นประมาณ 44% ของค่าที่วัดได้ในภาวะปกติ (ภาพที่ 20ก และ 20ข) DH212 เป็นพันธุ์ที่มีแอกทิวิตีของ CAT ลดต่ำลงเมื่อได้รับภาวะเค็มทั้งสองระดับ ส่วน CSSL ที่มีแอกทิวิตีเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด (> 50%) แม้ว่าจะเป็นการเพิ่มขึ้นเพียงชั่วคราวเมื่อได้รับภาวะเค็มระดับปานกลาง ได้แก่ CSSL7 CSSL11 CSSL16 และ CSSL26 ส่วนในภาวะเค็มระดับสูง ได้แก่ CSSL7 และ CSSL10 นอกจากนี้ IR29 เป็นพันธุ์ที่มีการเพิ่มแอกทิวิตีของ CAT ภายใต้ภาวะเค็มอย่างเห็นได้ชัดเช่นกัน แต่มีแอกทิวิตีลดต่ำลงอย่างมากเมื่อระยะเวลาที่ได้รับภาวะเค็มนานขึ้น ส่วน Pokkali นั้นเป็นพันธุ์ที่ไม่มีการเพิ่มแอกทิวิตีของ CAT ภายใต้ภาวะเค็มในช่วงระยะเวลาที่ศึกษา

3.3 แอกทิวิตีของเอนไซม์ guaiacol peroxidase (GPX)

จากตารางที่ 11 จะเห็นว่า แอกทิวิตีของเอนไซม์ GPX ที่แตกต่างกันที่ระยะเวลา 0 ชั่วโมง เป็นผลมาจากพันธุ์/สายพันธุ์ ส่วนความแตกต่างที่พบเมื่อได้รับภาวะเค็มเป็นเวลา 6 24 และ 48 ชั่วโมงเป็นผลร่วมกันของพันธุ์/สายพันธุ์และภาวะเค็ม

ในภาวะปกติ ต้นข้าวที่อายุ 20 วันมีแอกทิวิตีของเอนไซม์ GPX อยู่ระหว่าง 0.09 ถึง 0.28 U/mg protein (ตารางที่ 11) โดย CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้ไม่ต่างจาก KDML105 (ภาพที่ 21ก-ค) และพบว่า CSSL16 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงกว่า DH212 แต่ไม่ต่างจาก Pokkali และ IR29 ส่วน CSSL สายพันธุ์อื่น ๆ มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้ไม่ต่างจาก DH212 ระยะถัดมาอีก 6 ชั่วโมงในภาวะปกติพบว่าข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ GPX อยู่ระหว่าง 0.04 ถึง 0.35 U/mg protein (ตารางที่ 11) โดยพบว่า CSSL11 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงกว่า DH212 แต่ไม่ต่างจาก KDML105 Pokkali และ IR29 ส่วน CSSL สายพันธุ์อื่น ๆ มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้ไม่ต่างจาก DH212 แต่ CSSL10 และ CSSL26 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้ต่ำกว่า KDML105 (ภาพที่ 21ก) ต้นข้าวที่อายุ 21 วันมีแอกทิวิตีของเอนไซม์ GPX อยู่ระหว่าง 0.07 ถึง 0.17 U/mg protein (ตารางที่ 11) โดย CSSL ทุกสายพันธุ์มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้ไม่ต่างจาก KDML105 (ภาพที่ 21ก) และพบว่า CSSL10 และ CSSL11 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้ต่ำกว่า DH212 แต่ไม่ต่างจาก Pokkali และ IR29 ส่วน CSSL สายพันธุ์อื่น ๆ มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้ไม่ต่างจาก DH212 ส่วนต้นข้าวที่อายุ 22 วันพบว่ามีแอกทิวิตีของเอนไซม์ GPX อยู่ระหว่าง 0.09 ถึง 0.48 U/mg protein (ตารางที่ 11) โดย CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงกว่า DH212 แต่ไม่ต่างจาก IR29 และพบว่า CSSL26 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงกว่า KDML105 ในขณะที่ CSSL สายพันธุ์อื่น ๆ มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้ไม่ต่างจาก KDML105 นอกจากนี้ยังพบว่า Pokkali มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงกว่าทุกพันธุ์/สายพันธุ์ (ภาพที่ 21ก)

ที่ภาวะเค็มระดับปานกลาง พบว่า CSSL แต่ละสายพันธุ์มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ GPX อยู่ระหว่าง 0.16 ถึง 0.24 U/mg protein ที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง (ตารางที่ 11) ซึ่ง CSSL7 เป็นสายพันธุ์ที่มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงกว่า KDML105 และพันธุ์ตรวจสอบ ส่วน CSSL สายพันธุ์อื่น ๆ มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้ไม่ต่างจาก KDML105 Pokkali และ IR29 แต่สูงกว่า DH212 (ภาพที่ 21ข) เมื่อต้นข้าวได้รับโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า CSSL แต่ละสายพันธุ์มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ GPX อยู่ระหว่าง 0.09 ถึง 0.31 U/mg protein (ตารางที่ 11) โดยพบว่า CSSL16 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงกว่า CSSL12 CSSL26 และ KDML105 อย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 21ข) ส่วน CSSL สายพันธุ์อื่น ๆ มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้ไม่ต่างจาก KDML105 และ DH212 เมื่อต้นข้าวที่อายุ 20 วันได้รับโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า CSSL แต่ละสายพันธุ์มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ GPX อยู่ระหว่าง 0.13 ถึง 0.40 U/mg protein (ตารางที่ 11) อีกทั้งยังพบว่า CSSL10 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงกว่าทุกพันธุ์/สายพันธุ์ CSSL7 CSSL26 DH212 และ IR29 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงกว่า KDML105 ส่วน CSSL11 CSSL12 และ CSSL16 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้ไม่ต่างจาก KDML105 (ภาพที่ 21ข)

เมื่อต้นข้าวที่อายุ 20 วันได้รับโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่า CSSL แต่ละสายพันธุ์มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ GPX อยู่ระหว่าง 0.06 ถึง 0.23 U/mg protein (ตารางที่ 11) มีเพียง CSSL7 เท่านั้นที่มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงกว่า KDML105 และ CSSL สายพันธุ์อื่น ๆ แต่ไม่ต่างจาก DH212 และ Pokkali ส่วน CSSL16 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้ต่ำที่สุด (ภาพที่ 21ค) และพบว่า IR29 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงกว่าทุกพันธุ์/สายพันธุ์ที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมงนี้ เมื่อได้รับโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า CSSL แต่ละสายพันธุ์มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ GPX อยู่ระหว่าง 0.05 ถึง 0.17 U/mg protein (ตารางที่ 11) โดย CSSL7 CSSL10 CSSL11 CSSL12 DH212 และ IR29 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงกว่า CSSL16 CSSL26 และ KDML105 อย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 21ค) เมื่อได้รับโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ GPX อยู่ระหว่าง 0.09 ถึง 0.38 U/mg protein (ตารางที่ 11) ซึ่งสูงกว่า KDML105 อย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 21ค) โดยที่ CSSL10 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงที่สุด

จะเห็นได้ว่า ในภาวะปกติมีเพียง CSSL26 เท่านั้นที่มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ GPX สูงกว่า KDML105 ในภาวะเค็มระดับปานกลางพบว่า CSSL7 และ CSSL26 เป็นสายพันธุ์ที่มีแอกทิวิตีของ GPX ที่สูงกว่า KDML105 ส่วนในภาวะเค็มระดับสูง พบว่า CSSL ทุกสายพันธุ์มีแอกทิวิตีของ GPX ที่สูงกว่า KDML105 ที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง ซึ่งสอดคล้องกับ DH212 ที่มีแอกทิวิตีของ GPX ที่มากกว่า KDML105 ตลอดระยะเวลาที่ศึกษา (ภาพที่ 21ก-ค)

นอกจากนี้ เพื่อที่จะแสดงให้เห็นว่า GPX ในข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์มีการเปลี่ยนแปลงอย่างไรภายใต้ภาวะเค็ม จึงได้เปรียบเทียบแอกทิวิตีในภาวะเค็มกับค่าที่วัดได้ในภาวะปกติ พบว่าใน KDML105 เอนไซม์ GPX มีแอกทิวิตีลดลงอย่างมากตั้งแต่ 6 ชั่วโมงของการได้รับภาวะเค็มทั้งสองระดับ ส่วน DH212 นั้นเป็นพันธุ์ที่มีการเพิ่มขึ้นของ GPX อย่างเห็นได้ชัดตั้งแต่ 6 ชั่วโมงของการได้รับภาวะเค็มทั้งสองระดับเช่นกัน ส่วน IR29 และ Pokkali นั้นเป็นพันธุ์ที่มีแอกทิวิตีของ GPX ลดต่ำลงอย่างมากภายใต้ภาวะเค็มระดับสูง การตอบสนองของ GPX ที่แตกต่างกันระหว่าง KDML105 และ CSSL และเหมือนกันระหว่าง CSSL และ DH212 แสดงให้เห็นว่า CSSL ได้รับยีนที่เกี่ยวข้องกับการแสดงออกของเอนไซม์ GPX มาจาก DH212 (ภาพที่ 22ก และ 22ข)

3.4 แอกทิวิตีของเอนไซม์ superoxide dismustase (SOD)

แอกทิวิตีของเอนไซม์ SOD ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ยกเว้นที่ 0 ชั่วโมง มีค่าแตกต่างกันเนื่องมาจากผลร่วมกันของพันธุ์/สายพันธุ์และภาวะเค็ม (ตารางที่ 12)

ในภาวะปกติ ต้นข้าวที่อายุ 20 วันมีแอกทิวิตีของเอนไซม์ SOD อยู่ระหว่าง 4.4 ถึง 11.6 U/mg protein (ตารางที่ 12) โดยที่ CSSL10 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงที่สุด ส่วน CSSL สายพันธุ์อื่น ๆ มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้ไม่ต่างกันและไม่แตกต่างจากพันธุ์ตรวจสอบ ยกเว้น CSSL26 ที่มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้ต่ำกว่า Pokkali (ภาพที่ 23ก-ค) ระยะเวลาถัดมาอีก 6 ชั่วโมง พบว่าข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ SOD อยู่ระหว่าง 5.2 ถึง 12.7 U/mg protein (ตารางที่ 11) โดย CSSL10 ยังคงมีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงกว่าทุกพันธุ์/สายพันธุ์ โดยที่ CSSL สายพันธุ์อื่น ๆ มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้ไม่ต่างกันและไม่ต่างจากพันธุ์ตรวจสอบ ยกเว้น DH212 ที่มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้ต่ำกว่า CSSL11 CSSL16 และ Pokkali (ภาพที่ 23ก) เมื่อต้นข้าวอายุ 21 วันพบว่ามีแอกทิวิตีของเอนไซม์ SOD อยู่ระหว่าง 3.4 ถึง 7.9 U/mg protein (ตารางที่ 11) โดยที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ยกเว้น CSSL26 และ DH212 ที่มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงกว่า CSSL11 และ Pokkali (ภาพที่ 23ก) เมื่อต้นข้าวมีอายุ 22 วันพบว่ามีแอกทิวิตีของเอนไซม์ SOD อยู่ระหว่าง 4.1 ถึง 6.5 U/mg protein (ตารางที่ 11) ซึ่งไม่แตกต่างกันในทุกพันธุ์/สายพันธุ์ (ภาพที่ 23ก)

เมื่อต้นข้าวที่อายุ 20 วันได้รับโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่า CSSL แต่ละสายพันธุ์มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ SOD อยู่ระหว่าง 4.9 ถึง 10.4 U/mg protein (ตารางที่ 11) โดยที่ CSSL10 เป็น CSSL สายพันธุ์เดียวที่มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงกว่า KDML105 (ภาพที่ 23ข) เมื่อได้รับโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่าข้าวทั้ง CSSL และพันธุ์ตรวจสอบมีแอกทิวิตีของเอนไซม์ SOD อยู่ระหว่าง 5.5 ถึง 13.1 U/mg protein และ 3.8 ถึง 5.8 U/mg protein ตามลำดับ (ตารางที่ 11) ซึ่งไม่แตกต่างกันในทุกพันธุ์/สายพันธุ์ (ภาพที่ 23ข)

เมื่อต้นข้าวที่อายุ 20 วันได้รับโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 6 และ 24 ชั่วโมง พบว่า มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ SOD อยู่ระหว่าง 4.8 ถึง 7.5 U/mg protein และ 4.9 ถึง 9.9 U/mg protein ตามลำดับ (ตารางที่ 11) ซึ่งไม่แตกต่างกันในทุกพันธุ์/สายพันธุ์ (ภาพที่ 23ค) เมื่อต้นข้าวได้รับโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า CSSL แต่ละสายพันธุ์มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ SOD อยู่ระหว่าง 6.1 ถึง 15.7 U/mg protein (ตารางที่ 11) โดยที่ CSSL11 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงกว่าทุกพันธุ์/สายพันธุ์อย่างมีนัยสำคัญ และยังพบว่า CSSL12 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงกว่า KDML105 อีกด้วย (ภาพที่ 23ค)

จะเห็นได้ว่า ที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมงในภาวะปกติและภาวะเค็มระดับกลาง มีเพียง CSSL10 ที่มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ SOD สูงกว่า KDML105 ซึ่งที่ระยะเวลาดังกล่าวนี้ เป็นเวลาในช่วงบ่ายของวัน (16:00 น.) ส่วนในภาวะเค็มระดับสูง พบว่ามีเพียง CSSL11 และ CSSL12 ที่มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ SOD มากกว่า KDML105 ที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมงของการได้รับภาวะเค็ม (ภาพที่ 23ก-23ค)

ส่วนการเปลี่ยนแปลงของแอกทิวิตีของ SOD ในข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์เนื่องจากภาวะเค็มนั้น พบว่าใน KDML105 นั้นมีแอกทีวิตีของ SOD ที่ลดต่ำลงเล็กน้อยภายใต้ภาวะเค็มทั้งสองระดับ ส่วน DH212 นั้นเป็นพันธุ์ที่มีการเพิ่มขึ้นของ SOD อย่างชัดเจนเพียงชั่วคราวเฉพาะที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมงของการได้รับภาวะเค็มระดับสูง และมี SOD อยู่ในระดับปกติเมื่อระยะเวลาที่ได้รับภาวะเค็มยาวนานขึ้น สำหรับ IR29 และ Pokkali นั้นพบว่าเป็นพันธุ์ที่มีแอกทิวิตีของ SOD เพิ่มขึ้นภายใต้ภาวะเค็มสูง ส่วนใน CSSL นั้นพบว่า CSSL7 CSSL10 และ CSSL11 มีการเพิ่มขึ้นของแอกทิวิตีของ SOD มากกว่า 50% เมื่อได้รับภาวะเค็มระดับปานกลางเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และภายใต้ภาวะเค็มสูงพบว่า CSSL10 CSSL11 CSSL12 และ CSSL16 มีแอกทิวิตีของ SOD เพิ่มขึ้นอย่างมากที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง โดยเฉพาะอย่างยิ่ง CSSL11 ที่เพิ่มขึ้นถึง 164% ของค่าในภาวะปกติ ซึ่งจะเห็นได้ว่าการตอบสนองของ SOD ต่อภาวะเค็มใน CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์นี้แตกต่างจาก KDML105 อย่างเห็นได้ชัด อีกทั้งยังเป็นการตอบสนองที่ไม่สอดคล้องกับ DH212 (ภาพที่ 24ก และ 24ข)

3.5 แอกทิวิตีของเอนไซม์ ascorbate peroxidase (APX)

แอกทิวิตีของเอนไซม์ APX ที่แตกต่างกันที่ระยะเวลา 0 6 และ 24 ชั่วโมงเป็นผลมาจากพันธุ์/สายพันธุ์ ส่วนที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมงเป็นผลร่วมกันของพันธุ์/สายพันธุ์และภาวะเค็ม นอกจากนี้ภาวะเค็มมีผลต่อเอนไซม์ APX ที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมงด้วย (ตารางที่ 13)

ต้นข้าวอายุ 20 วันที่ปลูกในภาวะปกติมีแอกทิวิตีของเอนไซม์ APX อยู่ระหว่าง 0.24 ถึง 0.71 U/mg protein (ตารางที่ 13) ซึ่งไม่แตกต่างกัน ยกเว้น CSSL7 CSSL10 และ CSSL11 ที่มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงกว่า KDML105 (ภาพที่ 25ก-25ค) ระยะเวลาถัดมาอีก 6 ชั่วโมง ข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์ มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ APX อยู่ระหว่าง 0.46 ถึง 0.87 U/mg protein (ตารางที่ 13) โดยที่ข้าวเกือบทุกพันธุ์/สายพันธุ์มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้ไม่แตกต่างกันยกเว้น CSSL16 ที่มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงกว่า CSSL26 KDML105 และ DH212 (ภาพที่ 25ก) เมื่อต้นข้าวอายุ 21 วัน พบว่ามีแอกทิวิตีของเอนไซม์ APX อยู่ระหว่าง 0.46 ถึง 1.04 U/mg protein (ตารางที่ 13) โดยที่ข้าวเกือบทุกพันธุ์/สายพันธุ์มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้ไม่แตกต่างกัน ยกเว้น CSSL7 ที่มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้ต่ำกว่า DH212 ส่วนต้นข้าวที่มีอายุ 22 วันนั้นมีแอกทิวิตีของเอนไซม์ APX อยู่ระหว่าง 0.46 ถึง 0.92 U/mg protein ซึ่งไม่แตกต่างกันในทุกพันธุ์/สายพันธุ์ (ภาพที่ 25ก)

เมื่อต้นข้าวที่อายุ 20 วันได้รับโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่า CSSL แต่ละสายพันธุ์มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ APX อยู่ระหว่าง 0.40 ถึง 0.67 U/mg protein (ตารางที่ 13) โดยที่ CSSL7 CSSL11 และ CSSL26 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงกว่า KDML105 แต่ไม่ต่างจาก Pokkali และ IR29 โดย CSSL 7 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงกว่า DH212 ด้วยในขณะที่ CSSL

สายพันธุ์อื่น ๆ มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้ไม่ต่างจาก DH212 (ภาพที่ 25ข) ส่วนการได้รับภาวะเค็มระดับนี้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า CSSL แต่ละสายพันธุ์มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ APX อยู่ระหว่าง 0.49 ถึง 0.77 U/mg protein (ตารางที่ 13) โดย DH212 และ IR29 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงกว่าพันธุ์/สายพันธุ์อื่น ๆ (ภาพที่ 25ข) เมื่อได้รับภาวะเค็มเป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า CSSL แต่ละสายพันธุ์มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ APX อยู่ระหว่าง 0.38 ถึง 0.61 U/mg protein (ตารางที่ 13) โดยที่ CSSL10 CSSL11 CSSL12 CSSL16 และ CSSL26 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงกว่า KDML105 อย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่ต่างจาก IR29 และยังพบว่า Pokkali มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้ไม่ต่างจาก IR29 แต่สูงกว่าพันธุ์/สายพันธุ์อื่น ๆ (ภาพที่ 25ข)

เมื่อต้นข้าวอายุ 20 วันได้รับโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่า CSSL แต่ละสายพันธุ์มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ APX อยู่ระหว่าง 0.49 ถึง 1.07 U/mg protein (ตารางที่ 13) โดยที่ข้าวเกือบทุกพันธุ์/สายพันธุ์ มีแอกทิวิตีที่ไม่ต่างกัน ยกเว้น CSSL12 และ CSSL16 ที่มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้ต่ำกว่า IR29 (ภาพที่ 25ค) เมื่อได้รับโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ APX อยู่ระหว่าง 0.38 ถึง 0.68 U/mg protein (ตารางที่ 13) ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 25ค) เมื่อได้รับภาวะเค็มระดับสูงนี้เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า CSSL แต่ละสายพันธุ์มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ APX อยู่ระหว่าง 0.10 ถึง 0.40 U/mg protein (ตารางที่ 13) โดยที่ CSSL10 และ CSSL12 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้ไม่ต่างจาก CSSL7 CSSL16 DH212 และ Pokkali แต่สูงกว่า CSSL11 CSSL26 และ IR29 (ภาพที่ 25ค)

จะเห็นได้ว่าในภาวะปกติ ข้าว CSSL7 CSSL10 CSSL11 และ CSSL16 ที่มีอายุ 20 วัน มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ APX สูงกว่า KDML105 แต่มีแอกทิวิตีไม่แตกต่างจาก KDML105 เมื่อมีอายุมากขึ้น ส่วนในภาวะเค็มระดับกลางพบว่า CSSL เกือบทุกสายพันธุ์มีแอกทิวิตีของ APX ที่มากกว่า KDML105 ที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมงของการได้รับภาวะเค็ม แต่การได้รับภาวะเค็มระดับสูง ไม่พบความแตกต่างกันระหว่าง CSSL และ KDML105 แต่อย่างใด (ภาพที่ 25ก-25ค)

สำหรับการเปลี่ยนแปลงของแอกทิวิตีของ APX ที่ชักนำโดยภาวะเค็มนั้น พบว่าภาวะเค็มระดับกลางมีผลยับยั้งแอกทิวิตีของ APX ถึง 50% ใน KDML105 ตั้งแต่ที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง ส่วนใน CSSL นั้นพบว่ามีแอกทิวิตีที่ลดลงเฉพาะเมื่อได้รับภาวะเค็มยาวนานถึง 48 ชั่วโมง ส่วนการเพิ่มแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้มากกว่า 50% นั้นพบใน CSSL7 เฉพาะที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง นอกจากนี้ พบว่า Pokkali เป็นพันธุ์เดียวที่พบการเพิ่มขึ้นของแอกทิวิตีมากกว่า 50% ที่เวลา 48 ชั่วโมง สำหรับภาวะเค็มระดับสูงนั้นพบว่ามีผลเพิ่มแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้เฉพาะที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมงในข้าวพันธุ์ตรวจสอบทุกพันธุ์ รวมทั้ง CSSL7 CSSL10 CSSL11 และ CSSL26 แต่เมื่อระยะเวลานานขึ้นเป็น

48 ชั่วโมง พบว่าแอกทิวิตีของ APX ลดต่ำลงอย่างมากในข้าวทุกพันธุ์/สายพันธุ์ ยกเว้น Pokkali และ KDML105 ที่มีค่าใกล้เคียงกับค่าในภาวะปกติ (ภาพที่ 26ก และ 26ข)

3.6 แอกทิวิตีของเอนไซม์ glutathione reductase (GR)

แอกทิวิตีของเอนไซม์ GR ที่แตกต่างกันที่ระยะเวลา 0 ชั่วโมงเกิดจากความแตกต่างของพันธุ์/สายพันธุ์ ส่วนค่าที่แตกต่างกันที่ระยะเวลา 6 24 และ 48 ชั่วโมงเป็นผลร่วมกันของพันธุ์/สายพันธุ์และภาวะเค็ม (ตารางที่ 14)

ต้นข้าวที่ปลูกในภาวะปกติมีแอกทิวิตีของ GR ที่ค่อนข้างผันแปรและแตกต่างกันตามเวลา (ภาพที่ 27ก-ค) โดยเมื่อต้นข้าวมีอายุ 20 วันพบว่ามีแอกทิวิตีของ GR อยู่ระหว่าง 0.09 ถึง 0.25 U/mg protein (ตารางที่ 14) โดยที่ CSSL10 CSSL11 CSSL16 DH212 และ Pokkali มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงกว่า KDML105 (ภาพที่ 27ก-ค) ระยะเวลาถัดมาอีก 6 ชั่วโมงพบว่าข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ GR อยู่ระหว่าง 0.06 ถึง 0.23 U/mg protein (ตารางที่ 14) โดยที่ข้าวเกือบทุกพันธุ์/สายพันธุ์มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้ไม่ต่างกัน ยกเว้น CSSL10 ที่มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงกว่า CSSL7 CSSL12 และ KDML105 (ภาพที่ 27ก) เมื่อต้นข้าวมีอายุ 21 วัน พบว่ามีแอกทิวิตีของเอนไซม์ GR อยู่ระหว่าง 0.08 ถึง 0.16 U/mg protein (ตารางที่ 14) โดยที่ CSSL16 และ CSSL26 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงกว่า KDML105 และพันธุ์/สายพันธุ์อื่น ๆ แต่ไม่ต่างจาก CSSL7 และ DH212 (ภาพที่ 27ก) เมื่อต้นข้าวมีอายุ 22 วันพบว่ามีแอกทิวิตีของเอนไซม์ GR อยู่ระหว่าง 0.09 ถึง 0.22 U/mg protein (ตารางที่ 14) โดยที่ CSSL7 และ CSSL10 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงกว่า KDML105 และ CSSL ทุกสายพันธุ์ แต่ไม่ต่างจาก DH212 Pokkali และ IR29 (ภาพที่ 27ก)

เมื่อต้นข้าวที่อายุ 20 วันได้รับโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่า CSSL แต่ละสายพันธุ์มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ GR อยู่ระหว่าง 0.07 ถึง 0.18 U/mg protein (ตารางที่ 14) โดยที่ CSSL7 และ CSSL10 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงกว่า KDML105 รวมทั้งพันธุ์/สายพันธุ์อื่น ๆ แต่ไม่ต่างจาก IR29 และยังพบว่า CSSL12 และ CSSL26 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงกว่า CSSL16 KDML105 และ DH212 แต่ไม่แตกต่างจาก CSSL11 Pokkali และ IR29 (ภาพที่ 27ข) เมื่อระยะเวลานานขึ้นเป็น 24 ชั่วโมงพบว่า CSSL แต่ละสายพันธุ์มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ GR อยู่ระหว่าง 0.09 ถึง 0.14 U/mg protein (ตารางที่ 14) โดย DH212 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงที่สุด อีกทั้งพบว่า CSSL7 และ CSSL11 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงกว่า CSSL16 (ภาพที่ 27ข) ส่วนการได้รับโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า CSSL แต่ละสายพันธุ์มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ GR อยู่ระหว่าง 0.09 ถึง 0.15 U/mg protein (ตารางที่ 14) ซึ่ง CSSL ทุกสายพันธุ์มีแอกทิวิตี

ของเอนไซม์นี้สูงกว่า KDML105 อย่างมีนัยสำคัญ และพบว่า DH212 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงแต่ไม่ต่างจาก CSSL12 CSSL16 CSSL26 และ IR29 (ภาพที่ 27ข)

เมื่อต้นข้าวอายุ 20 วันได้รับโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่า CSSL แต่ละสายพันธุ์มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ GR อยู่ระหว่าง 0.08 ถึง 0.15 U/mg protein (ตารางที่ 14) ซึ่งไม่ต่างจาก KDML105 และพบว่า Pokkali มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงที่สุด (ภาพที่ 27ค) เมื่อได้รับโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า CSSL แต่ละสายพันธุ์มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ GR อยู่ระหว่าง 0.06 ถึง 0.14 U/mg protein (ตารางที่ 14) โดยพบว่า CSSL7 และ CSSL26 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงกว่า CSSL10 CSSL11 CSSL16 และ KDML105 แต่ไม่ต่างจาก CSSL12 DH212 Pokkali และ IR29 (ภาพที่ 27ค) เมื่อได้รับโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า CSSL แต่ละสายพันธุ์มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ GR อยู่ระหว่าง 0.08 ถึง 0.23 U/mg protein (ตารางที่ 14) โดย CSSL10 และ Pokkali มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้สูงกว่าพันธุ์/สายพันธุ์อื่น ๆ และ CSSL26 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้ต่ำกว่า DH212 และ CSSL ทุกสายพันธุ์ ยกเว้น CSSL7 (ภาพที่ 27ค)

จะเห็นได้ว่าในภาวะปกติ ข้าว CSSL ที่มีอายุ 22 วันมีเพียง CSSL7 และ CSSL10 เท่านั้นที่มีแอกทิวิตีไม่แตกต่างจาก KDML105 แต่เมื่อได้รับภาวะเค็มระดับกลางพบว่า CSSL ทุกสายพันธุ์มีแอกทิวิตีของ GR ที่มากกว่า KDML105 ส่วนการได้รับภาวะเค็มระดับสูงพบว่า CSSL7 และ CSSL26 เท่านั้นที่มีแอกทิวิตีของ GR มากกว่า KDML105 เฉพาะที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง แต่เมื่อได้รับภาวะเค็มนานขึ้นเป็น 48 ชั่วโมง ความแตกต่างกันระหว่าง CSSL และ KDML105 นั้นพบใน CSSL10 เท่านั้น (ภาพที่ 27ก-27ค)

สำหรับการตอบสนองของ GR ต่อภาวะเค็มในข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ต่าง ๆ นั้น พบว่าใน KDML105 นั้นมีรูปแบบการตอบสนองที่แตกต่างกันระหว่างในภาวะเค็มระดับกลางและระดับสูง โดยมีแอกทิวิตีของ GR ลดลงอย่างมากที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมงภายใต้ภาวะเค็มระดับกลาง แต่มีแอกทิวิตีไม่เปลี่ยนแปลงภายใต้ภาวะเค็มระดับสูง ส่วนใน CSSL นั้นพบว่าการได้รับภาวะเค็มระดับกลางมีผลเพิ่มแอกทิวิตีของ GR อย่างมากใน CSSL7 และ CSSL12 แต่เมื่อระยะเวลานานขึ้นเป็น 48 ชั่วโมง พบการมีแอกทิวิตีที่เพิ่มขึ้นเฉพาะใน CSSL26 สำหรับ DH212 นั้นพบว่ามีการเพิ่มแอกทิวิตีเกิดขึ้นที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมงของการได้รับภาวะเค็มระดับกลาง แต่ไม่เปลี่ยนแปลงในภาวะเค็มระดับสูง ซึ่งแตกต่างจาก CSSL บางสายพันธุ์ ได้แก่ CSSL7 CSSL11 และ CSSL12 ที่มีการเพิ่มแอกทิวิตีของเอนไซม์นี้มากกว่า 50% ที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง ส่วนใน Pokkali นั้นพบว่า GR มีแอกทิวิตีเพิ่มขึ้นตั้งแต่ที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมงของการได้รับภาวะเค็ม (ภาพที่ 28ก และ 28ข)

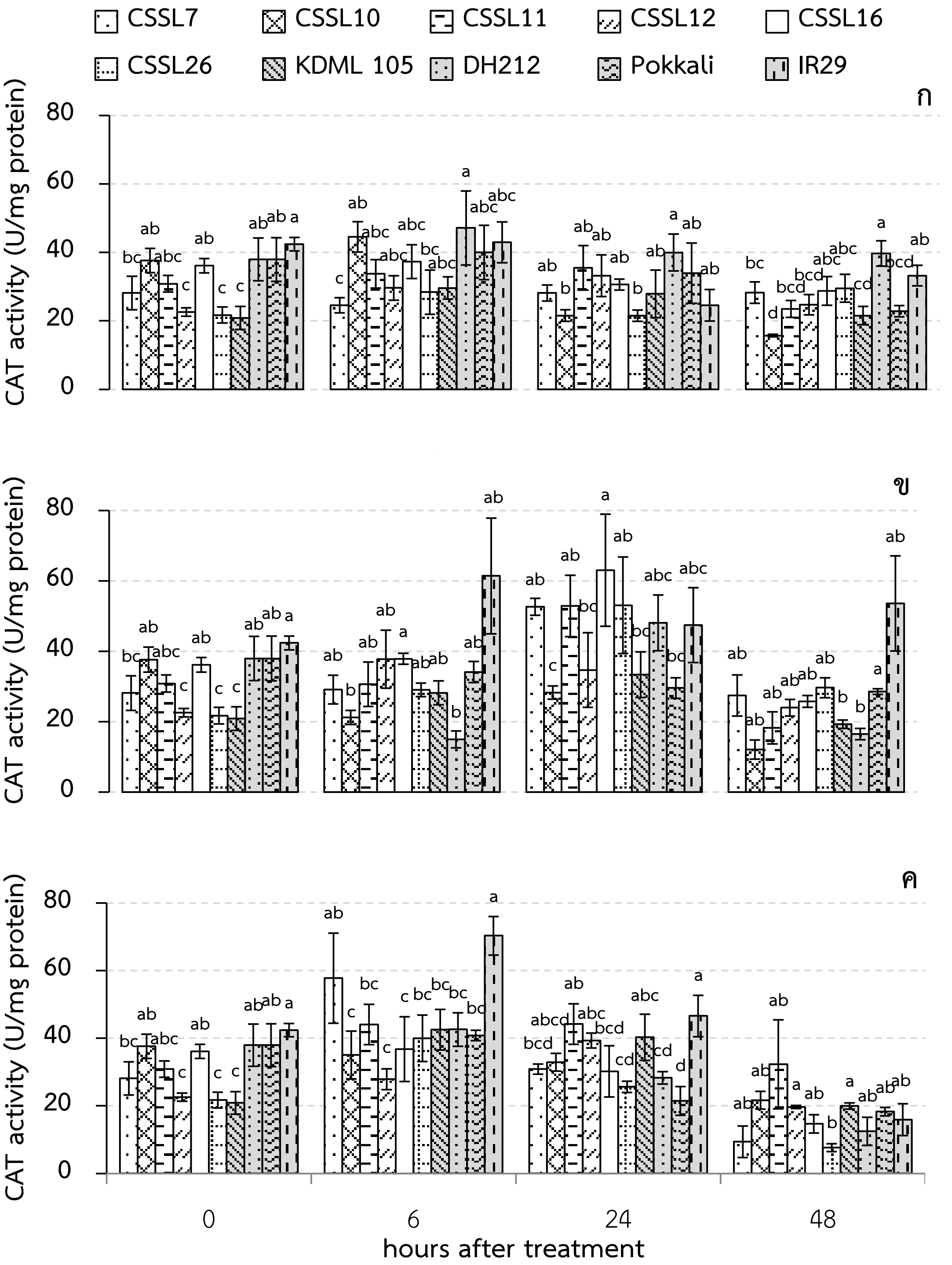
ตารางที่ 10 แอกทิวิตีของเอนไซม์ Catalase (CAT, U/mg protein) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) เมื่อได้รับภาวะปกติ ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ และภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์

NaCl (mM)	Cultivars/ Lines	hours after treatment 0	6	24	48
0	CSSL7	28.15 ± 4.91	24.53 ± 2.22	28.15 ± 2.35	28.26 ± 3.15
	CSSL10	37.63 ± 3.55	44.52 ± 4.43	21.55 ± 1.67	15.71 ± 0.36
	CSSL11	30.85 ± 2.42	33.73 ± 4.18	35.48 ± 6.47	23.49 ± 2.49
	CSSL12	22.57 ± 1.21	29.64 ± 3.57	33.18 ± 6.07	24.69 ± 2.97
	CSSL16	36.14 ± 2.08	37.33 ± 4.92	30.61 ± 1.60	28.77 ± 4.18
	CSSL26	21.71 ± 2.37	28.40 ± 6.47	21.52 ± 1.64	29.52 ± 4.09
	KDML105	20.88 ± 3.36	29.59 ± 3.24	27.89 ± 6.93	21.55 ± 2.69
	DH212	37.95 ± 6.28	47.14 ± 10.79	39.96 ± 5.40	39.68 ± 3.70
	Pokkali	37.95 ± 6.36	40.01 ± 7.94	33.91 ± 8.79	22.83 ± 1.65
	IR29	42.39 ± 1.95	42.95 ± 5.95	24.58 ± 4.60	33.22 ± 3.00
75	CSSL7	28.15 ± 4.91	29.14 ± 4.10	52.65 ± 2.42	27.46 ± 5.86
	CSSL10	37.63 ± 3.55	21.24 ± 1.99	28.28 ± 1.89	12.12 ± 2.72
	CSSL11	30.85 ± 2.42	30.68 ± 6.31	52.90 ± 8.71	18.26 ± 4.59
	CSSL12	22.57 ± 1.21	37.79 ± 8.23	34.68 ± 10.61	24.00 ± 2.37
	CSSL16	36.14 ± 2.08	37.86 ± 1.56	63.05 ± 15.90	25.80 ± 1.69
	CSSL26	21.71 ± 2.37	29.02 ± 1.92	53.09 ± 13.75	29.68 ± 2.84
	KDML105	20.88 ± 3.36	28.19 ± 3.41	33.41 ± 6.48	19.30 ± 1.17
	DH212	37.95 ± 6.28	14.99 ± 2.39	48.11 ± 7.92	16.48 ± 1.60
	Pokkali	37.95 ± 6.36	34.12 ± 3.02	29.59 ± 2.91	28.61 ± 0.80
	IR29	42.39 ± 1.95	61.41 ± 16.44	47.46 ± 10.63	53.61 ± 13.54
150	CSSL7	28.15 ± 4.91	57.78 ± 13.30	30.88 ± 1.48	9.41 ± 4.65
	CSSL10	37.63 ± 3.55	35.04 ± 7.06	32.91 ± 2.61	21.66 ± 2.61
	CSSL11	30.85 ± 2.42	44.06 ± 5.94	44.19 ± 5.99	32.29 ± 13.14
	CSSL12	22.57 ± 1.21	27.83 ± 3.08	39.30 ± 2.20	19.66 ± 0.47
	CSSL16	36.14 ± 2.08	36.81 ± 9.59	30.18 ± 7.60	14.67 ± 2.74
	CSSL26	21.71 ± 2.37	39.98 ± 6.85	25.61 ± 1.69	7.65 ± 1.17
	KDML105	20.88 ± 3.36	42.53 ± 5.98	40.30 ± 6.80	19.94 ± 0.94
	DH212	37.95 ± 6.28	42.58 ± 4.95	28.28 ± 1.81	12.49 ± 4.16
	Pokkali	37.95 ± 6.36	40.82 ± 1.56	21.47 ± 4.27	18.26 ± 1.24
	IR29	42.39 ± 1.95	70.33 ± 5.70	46.59 ± 6.13	15.89 ± 4.70
Significant level					
NaCl		ns	**	**	**
Cultivar/Line		**	**	ns	**
NaCl x Cultivar/Line		ns	**	ns	**

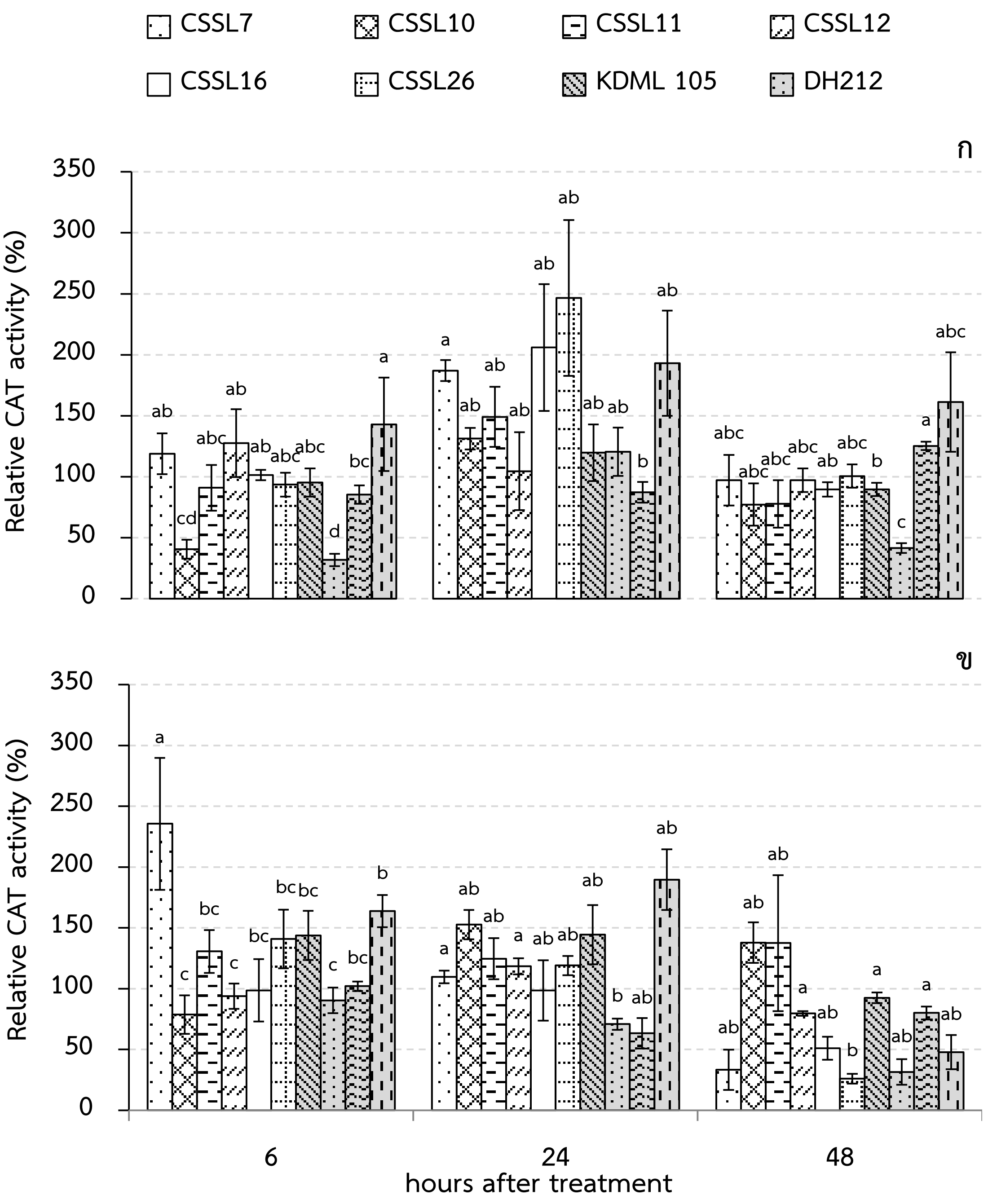
ns คือค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)

* คือค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)

** คือค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.01$)



ภาพที่ 19 แอกทิวิตีของเอนไซม์ Catalase (CAT, U/mg protein) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ภาวะปกติ ข. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ค. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)



ภาพที่ 20 แอกทิวิตีสัมพัทธ์ของเอนไซม์ Catalase (Relative CAT activity, %) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ข. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ โดยเทียบกับค่าในภาวะปกติ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ($p \le 0.05$)

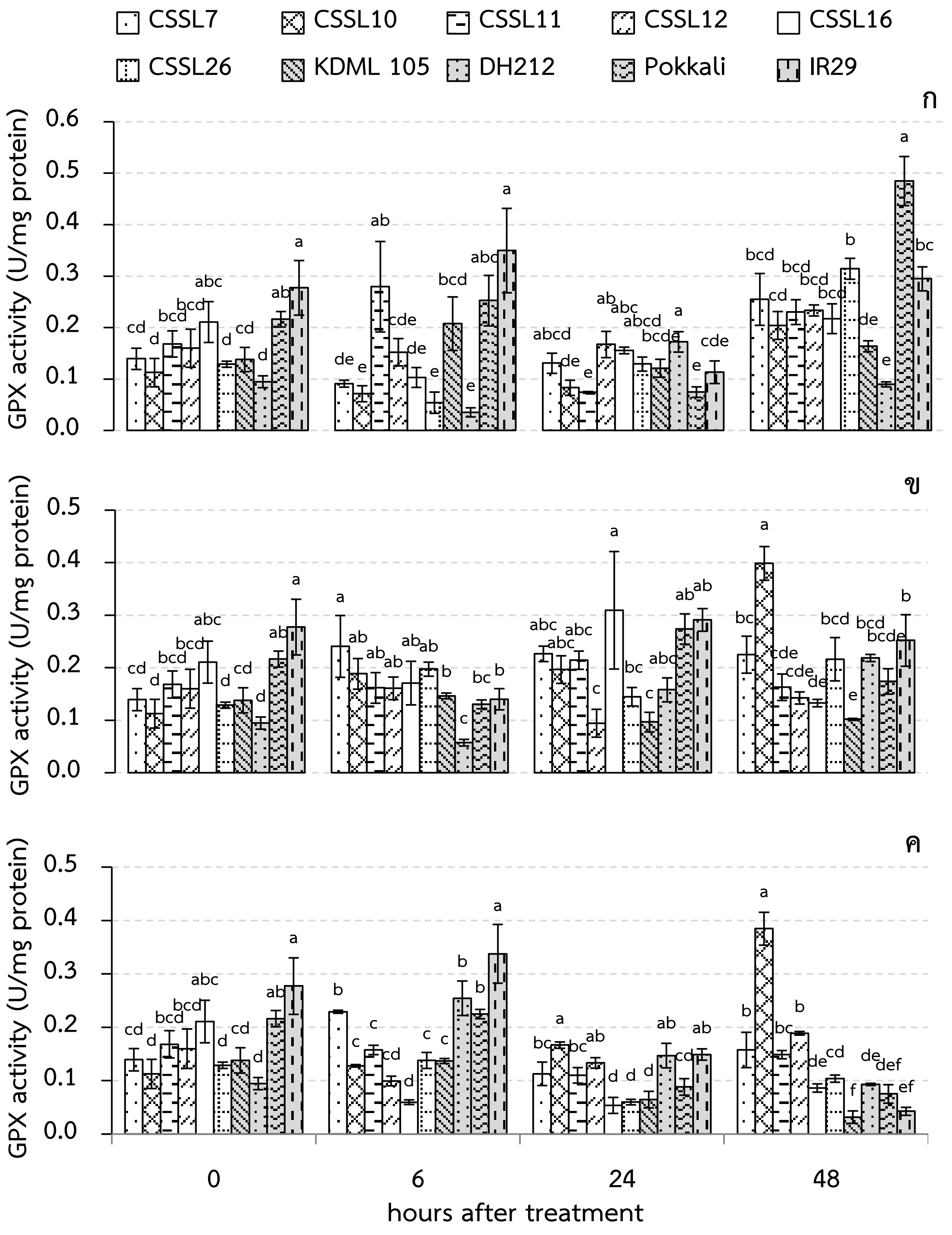
ตารางที่ 11 แอกทิวิตีของเอนไซม์ Guaiacol peroxidase (GPX, U/mg protein) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) เมื่อได้รับภาวะปกติ ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ และภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์

NaCl (mM)	Cultivars/ Lines	hours after treatment 0	6	24	48
0	CSSL7	0.14 ± 0.02	0.09 ± 0.01	0.13 ± 0.02	0.25 ± 0.05
	CSSL10	0.11 ± 0.03	0.07 ± 0.02	0.08 ± 0.01	0.20 ± 0.03
	CSSL11	0.17 ± 0.03	0.28 ± 0.09	0.07 ± 0.002	0.23 ± 0.02
	CSSL12	0.16 ± 0.04	0.15 ± 0.03	0.17 ± 0.03	0.23 ± 0.01
	CSSL16	0.21 ± 0.04	0.10 ± 0.02	0.16 ± 0.01	0.22 ± 0.03
	CSSL26	0.13 ± 0.01	0.05 ± 0.02	0.13 ± 0.01	0.31 ± 0.02
	KDML105	0.14 ± 0.02	0.21 ± 0.05	0.12 ± 0.02	0.16 ± 0.01
	DH212	0.09 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.17 ± 0.02	0.09 ± 0.005
	Pokkali	0.22 ± 0.02	0.25 ± 0.05	0.07 ± 0.01	0.48 ± 0.05
	IR29	0.28 ± 0.05	0.35 ± 0.08	0.11 ± 0.02	0.29 ± 0.02
75	CSSL7	0.14 ± 0.02	0.24 ± 0.06	0.23 ± 0.01	0.23 ± 0.04
	CSSL10	0.11 ± 0.03	0.19 ± 0.03	0.20 ± 0.03	0.40 ± 0.03
	CSSL11	0.17 ± 0.03	0.16 ± 0.03	0.21 ± 0.02	0.16 ± 0.03
	CSSL12	0.16 ± 0.04	0.16 ± 0.02	0.09 ± 0.03	0.14 ± 0.01
	CSSL16	0.21 ± 0.04	0.17 ± 0.04	0.31 ± 0.11	0.13 ± 0.01
	CSSL26	0.13 ± 0.01	0.20 ± 0.01	0.14 ± 0.02	0.22 ± 0.04
	KDML105	0.14 ± 0.02	0.15 ± 0.01	0.10 ± 0.02	0.10 ± 0.002
	DH212	0.09 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.16 ± 0.02	0.22 ± 0.01
	Pokkali	0.22 ± 0.02	0.13 ± 0.01	0.27 ± 0.03	0.17 ± 0.02
	IR29	0.28 ± 0.05	0.14 ± 002	0.29 ± 0.02	0.25 ± 0.05
150	CSSL7	0.14 ± 0.02	0.23 ± 0.003	0.11 ± 0.02	0.16 ± 0.03
	CSSL10	0.11 ± 0.03	0.13 ± 0.003	0.17 ± 0.01	0.38 ± 0.03
	CSSL11	0.17 ± 0.03	0.16 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.15 ± 0.01
	CSSL12	0.16 ± 0.04	0.10 ± 0.01	0.13 ± 0.01	0.19 ± 0.003
	CSSL16	0.21 ± 0.04	0.06 ± 0.004	0.05 ± 0.02	0.09 ± 0.01
	CSSL26	0.13 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.10 ± 0.01
	KDML105	0.14 ± 0.02	0.14 ± 0.005	0.06 ± 0.02	0.03 ± 0.01
	DH212	0.09 ± 0.01	0.25 ± 0.03	0.15 ± 0.02	0.09 ± 0.002
	Pokkali	0.22 ± 0.02	0.22 ± 0.01	0.09 ± 0.02	0.08 ± 0.02
	IR29	0.28 ± 0.05	0.34 ± 0.06	0.15 ± 0.01	0.04 ± 0.01
Significant level					
NaCl		ns	ns	**	**
Cultivar/Line		**	**	*	**
NaCl x Cultivar/Line		ns	**	**	**

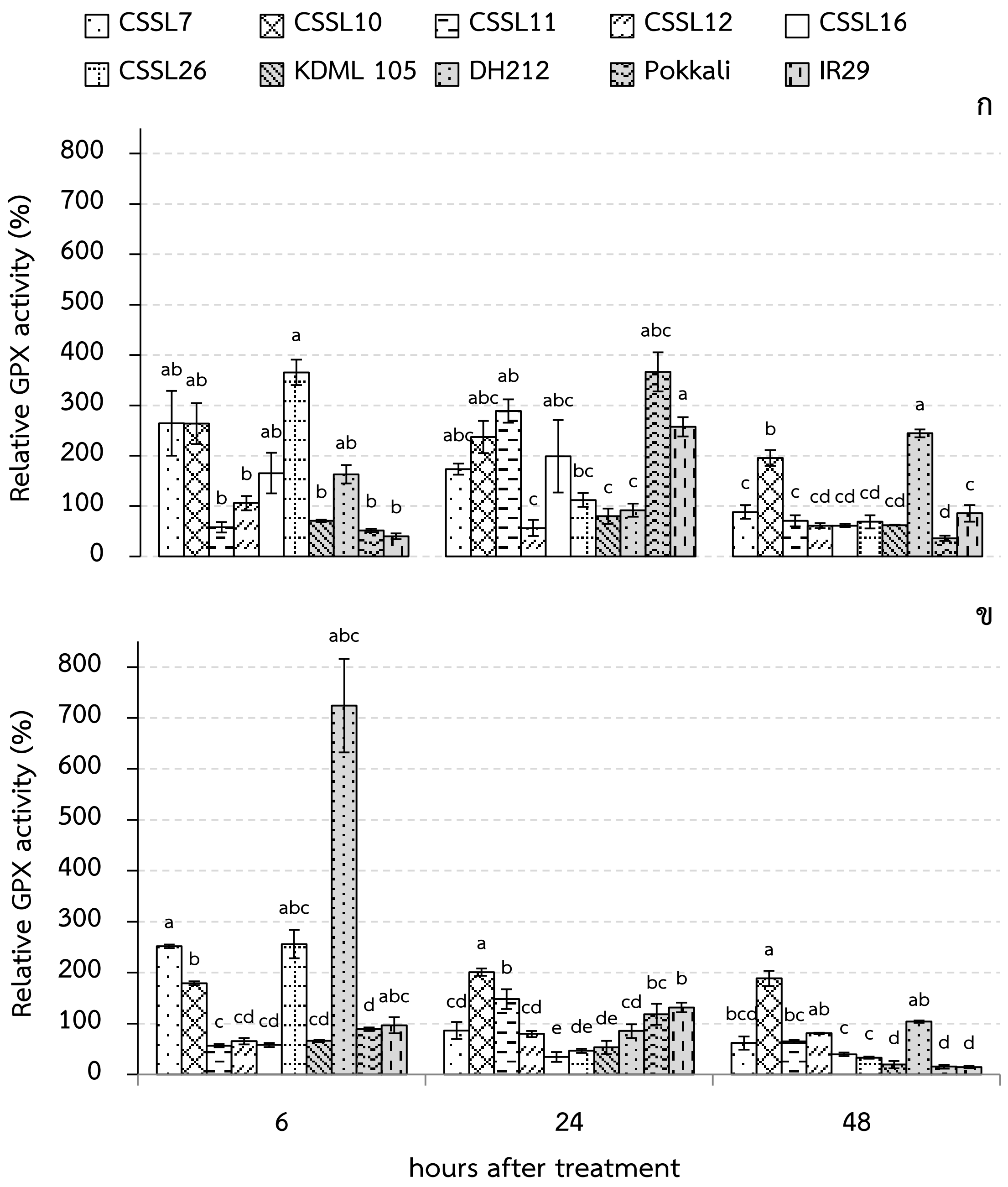
ns คือค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกัน (p≤0.05)

* คือค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน (p≤0.05)

** คือค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน (p≤0.01)



ภาพที่ 21 แอกทิวิตีของเอนไซม์ Guaiacol peroxidase (GPX, U/mg protein) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ภาวะปกติ ข. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ค. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)



ภาพที่ 22 แอกทิวิตีสัมพัทธ์ของเอนไซม์ Guaiacol peroxidase (Relative GPX activity, %) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ข. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ โดยเทียบกับค่าในภาวะปกติ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)

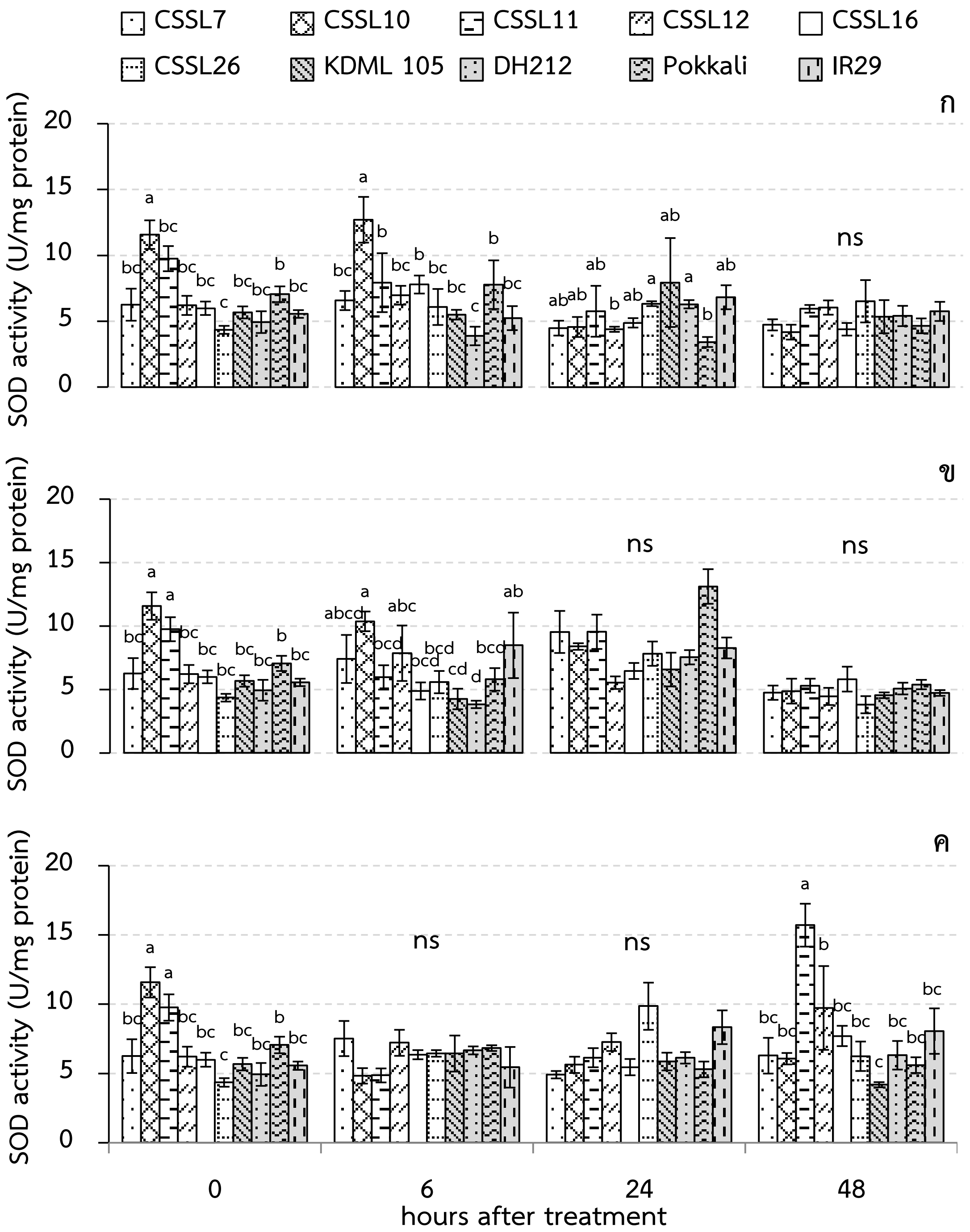
ตารางที่ 12 แอกทิวิตีของเอนไซม์ Superoxide dismustase (SOD, U/mg protein) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) เมื่อได้รับภาวะปกติ ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ และภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์

NaCl	Cultivars/	hours after treatment			
(mM)	Lines	0	6	24	48
0	CSSL7	6.25 ± 1.22	6.58 ± 0.73	4.48 ± 0.56	4.73 ± 0.42
	CSSL10	11.57 ± 1.09	12.70 ± 1.74	4.56 ± 0.76	4.17 ± 0.56
	CSSL11	9.76 ± 0.95	7.94 ± 2.24	5.76 ± 1.93	5.95 ± 0.30
	CSSL12	6.21 ± 0.73	6.97 ± 0.71	4.39 ± 0.19	6.05 ± 0.55
	CSSL16	5.99 ± 0.51	7.80 ± 0.68	4.88 ± 0.35	4.39 ± 0.49
	CSSL26	4.35 ± 0.31	6.08 ± 1.37	6.33 ± 0.18	6.51 ± 1.61
	KDML105	5.67 ± 0.45	5.50 ± 0.38	7.94 ± 3.37	5.34 ± 1.26
	DH212	4.93 ± 0.83	3.89 ± 0.71	6.29 ± 0.31	5.40 ± 0.77
	Pokkali	7.05 ± 0.60	7.78 ± 1.84	3.42 ± 0.38	4.65 ± 0.57
	IR29	5.56 ± 0.29	5.24 ± 0.91	6.83 ± 0.91	5.75 ± 0.73
75	CSSL7	6.25 ± 1.22	7.41 ± 1.89	9.53 ± 1.66	4.75 ± 0.56
	CSSL10	11.57 ± 1.09	10.36 ± 0.78	8.38 ± 0.25	4.86 ± 0.99
	CSSL11	9.76 ± 0.95	5.95 ± 0.96	9.55 ± 1.35	5.30 ± 0.56
	CSSL12	6.21 ± 0.73	7.86 ± 2.19	5.53 ± 0.50	4.46 ± 0.67
	CSSL16	5.99 ± 0.51	4.88 ± 0.67	6.46 ± 0.63	5.81 ± 0.98
	CSSL26	4.35 ± 0.31	5.59 ± 0.88	7.82 ± 0.96	3.79 ± 0.67
	KDML105	5.67 ± 0.45	4.25 ± 0.81	6.57 ± 1.33	4.54 ± 0.23
	DH212	4.93 ± 0.83	3.82 ± 0.29	7.54 ± 0.57	5.07 ± 0.46
	Pokkali	7.05 ± 0.60	5.80 ± 0.89	13.11 ± 1.36	5.38 ± 0.38
	IR29	5.56 ± 0.29	8.48 ± 2.58	8.27 ± 0.83	4.72 ± 0.23
150	CSSL7	6.25 ± 1.22	7.51 ± 1.27	4.91 ± 0.26	6.28 ± 1.28
	CSSL10	11.57 ± 1.09	4.83 ± 0.56	5.63 ± 0.59	6.06 ± 0.41
	CSSL11	9.76 ± 0.95	4.86 ± 0.51	6.13 ± 0.70	15.70 ± 1.54
	CSSL12	6.21 ± 0.73	7.21 ± 0.94	7.26 ± 0.65	9.72 ± 3.03
	CSSL16	5.99 ± 0.51	6.35 ± 0.33	5.45 ± 0.58	7.70 ± 0.73
	CSSL26	4.35 ± 0.31	6.44 ± 0.24	9.86 ± 1.70	6.24 ± 1.06
	KDML105	5.67 ± 0.45	6.43 ± 1.29	5.85 ± 0.64	4.19 ± 0.18
	DH212	4.93 ± 0.83	6.66 ± 0.30	6.13 ± 0.42	6.31 ± 1.04
	Pokkali	7.05 ± 0.60	6.83 ± 0.20	5.30 ± 0.57	5.60 ± 0.57
	IR29	5.56 ± 0.29	5.44 ± 1.46	8.33 ± 1.23	8.06 ± 1.63
Significant level					
NaCl		ns	ns	**	**
Cultivar/Line		**	**	ns	**
NaCl x Cultivar/Line		ns	**	**	**

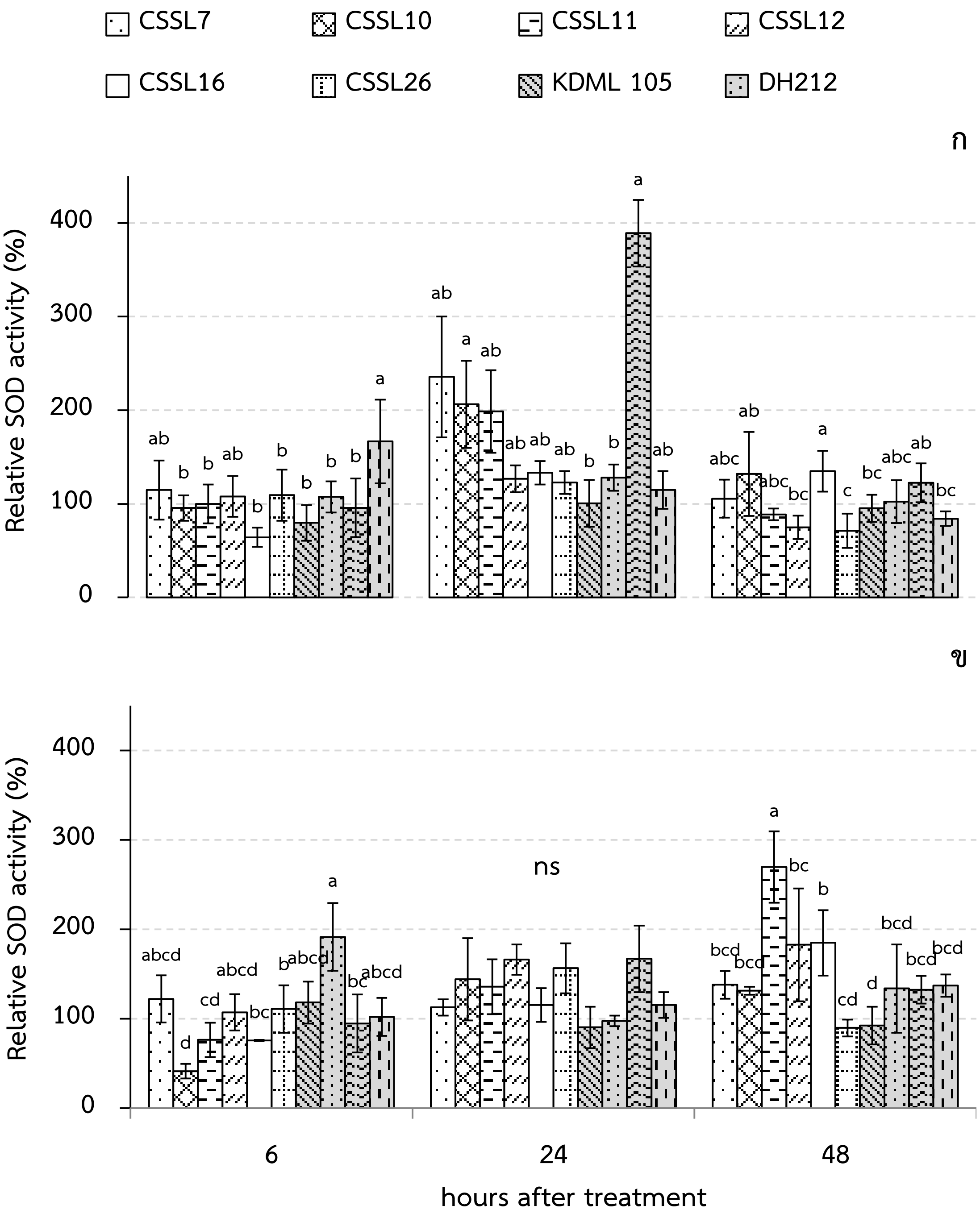
ns คือค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกัน (*p*≤0.05)

* คือค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน (*p*≤0.05)

** คือค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน (*p*≤0.01)



ภาพที่ 23 แอกทิวิตีของเอนไซม์ Superoxide dismustase (SOD, U/mg protein) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ภาวะปกติ ข. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ค. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ns แสดงค่าเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)



ภาพที่ 24 แอกทิวิตีสัมพัทธ์ของเอนไซม์ Superoxide dismustase (Relative SOD activity, %) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ข. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ โดยเทียบกับค่าในภาวะปกติ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ns แสดงค่าเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกัน (p≤0.05)

ตารางที่ 13 แอกทิวิตีของเอนไซม์ Ascorbate peroxidase (APX, units/mg protein) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) เมื่อได้รับภาวะปกติ ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ และภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์

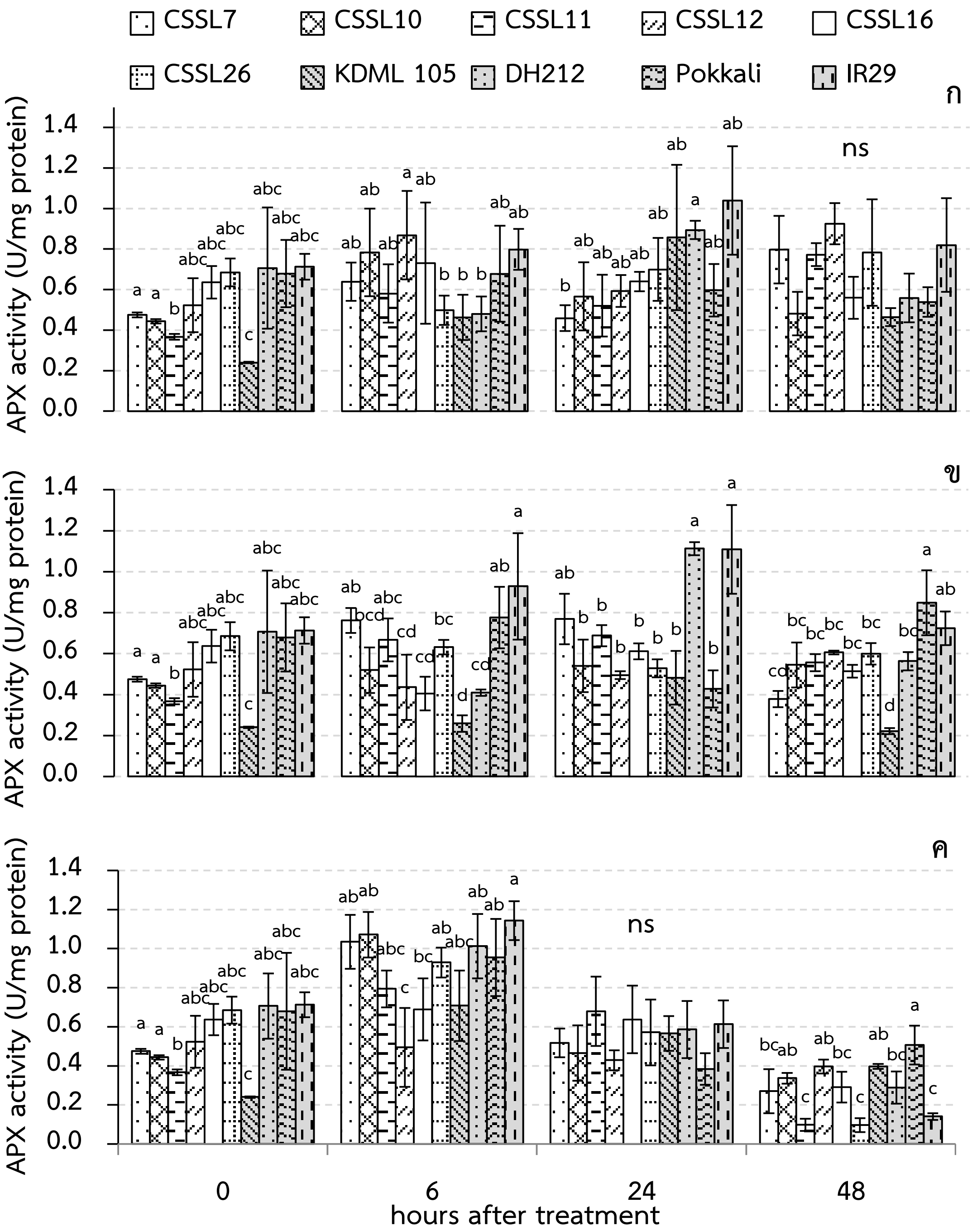
NaCl	Cultivars/	hours after treatment			
(mM)	Lines	0	6	24	48
0	CSSL7	0.48 ± 0.01	0.64 ± 0.09	0.46 ± 0.06	0.80 ± 0.17
	CSSL10	0.44 ± 0.01	0.78 ± 0.22	0.57 ± 0.17	0.48 ± 0.11
	CSSL11	0.37 ± 0.01	0.58 ± 0.14	0.52 ± 0.15	0.77 ± 0.06
	CSSL12	0.52 ± 0.13	0.87 ± 0.22	0.59 ± 0.08	0.92 ± 0.10
	CSSL16	0.64 ± 0.08	0.73 ± 0.30	0.64 ± 0.05	0.56 ± 0.10
	CSSL26	0.68 ± 0.07	0.50 ± 0.07	0.70 ± 0.16	0.78 ± 0.26
	KDML105	0.24 ± 0.004	0.46 ± 0.11	0.86 ± 0.36	0.46 ± 0.04
	DH212	0.71 ± 0.30	0.48 ± 0.09	0.89 ± 0.04	0.56 ± 0.12
	Pokkali	0.68 ± 0.17	0.68 ± 0.24	0.60 ± 0.13	0.54 ± 0.07
	IR29	0.71 ± 0.06	0.80 ± 0.10	1.04 ± 0.27	0.82 ± 0.23
75	CSSL7	0.48 ± 0.01	0.76 ± 0.06	0.77 ± 0.12	0.38 ± 0.04
	CSSL10	0.44 ± 0.01	0.52 ± 0.11	0.54 ± 0.13	0.54 ± 0.11
	CSSL11	0.37 ± 0.01	0.67 ± 0.10	0.69 ± 0.05	0.56 ± 0.04
	CSSL12	0.52 ± 0.13	0.44 ± 0.16	0.49 ± 0.02	0.61 ± 0.01
	CSSL16	0.64 ± 0.08	0.40 ± 0.08	0.61 ± 0.04	0.51 ± 0.03
	CSSL26	0.68 ± 0.07	0.63 ± 0.04	0.53 ± 0.04	0.60 ± 0.05
	KDML105	0.24 ± 0.004	0.26 ± 0.04	0.48 ± 0.13	0.22 ± 0.02
	DH212	0.71 ± 0.30	0.41 ± 0.02	1.11 ± 0.03	0.56 ± 0.04
	Pokkali	0.68 ± 0.17	0.78 ± 0.15	0.43 ± 0.09	0.85 ± 0.16
	IR29	0.71 ± 0.06	0.93 ± 0.26	1.11 ± 0.22	0.72 ± 0.08
150	CSSL7	0.48 ± 0.01	1.04 ± 0.14	0.52 ± 0.07	0.27 ± 0.11
	CSSL10	0.44 ± 0.01	1.07 ± 0.12	0.47 ± 0.14	0.34 ± 0.03
	CSSL11	0.37 ± 0.01	0.79 ± 0.09	0.68 ± 0.18	0.10 ± 0.03
	CSSL12	0.52 ± 0.13	0.49 ± 0.20	0.43 ± 0.05	0.40 ± 0.04
	CSSL16	0.64 ± 0.08	0.69 ± 0.16	0.64 ± 0.17	0.29 ± 0.08
	CSSL26	0.68 ± 0.07	0.93 ± 0.08	0.57 ± 0.17	0.10 ± 0.04
	KDML105	0.24 ± 0.004	0.71 ± 0.18	0.57 ± 0.09	0.40 ± 0.01
	DH212	0.71 ± 0.30	1.01 ± 0.20	0.59 ± 0.08	0.29 ± 0.10
	Pokkali	0.68 ± 0.17	0.95 ± 0.16	0.38 ± 0.15	0.51 ± 0.08
	IR29	0.71 ± 0.06	1.14 ± 0.10	0.61 ± 0.12	0.14 ± 0.02
Significant level					
NaCl		ns	**	ns	**
Cultivar/Line		**	*	**	ns
NaCl x Cultivar/Line		ns	ns	ns	**

ns คือค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)

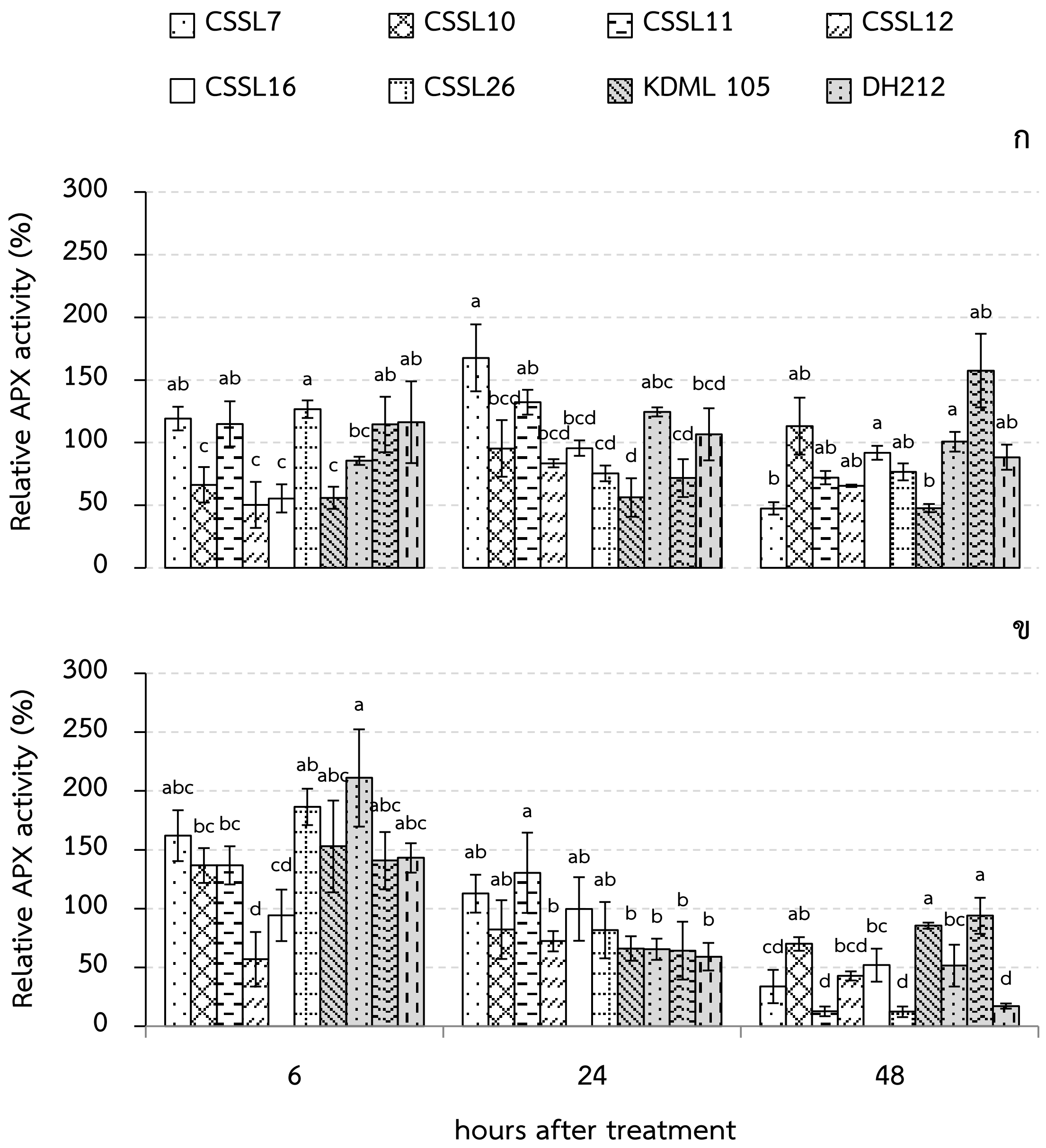
* คือค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)

** คือค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.01$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย Chulalongkorn University



ภาพที่ 25 แอกทิวิตีของเอนไซม์ Ascorbate peroxidase (APX, units/mg protein) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ภาวะปกติ ข. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ค. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ns แสดงค่าเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)



ภาพที่ 26 แอกทิวิตีสัมพัทธ์ของเอนไซม์ Ascorbate peroxidase (Relative APX activity, %) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ข. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ โดยเทียบกับค่าในภาวะปกติ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ns แสดงค่าเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)

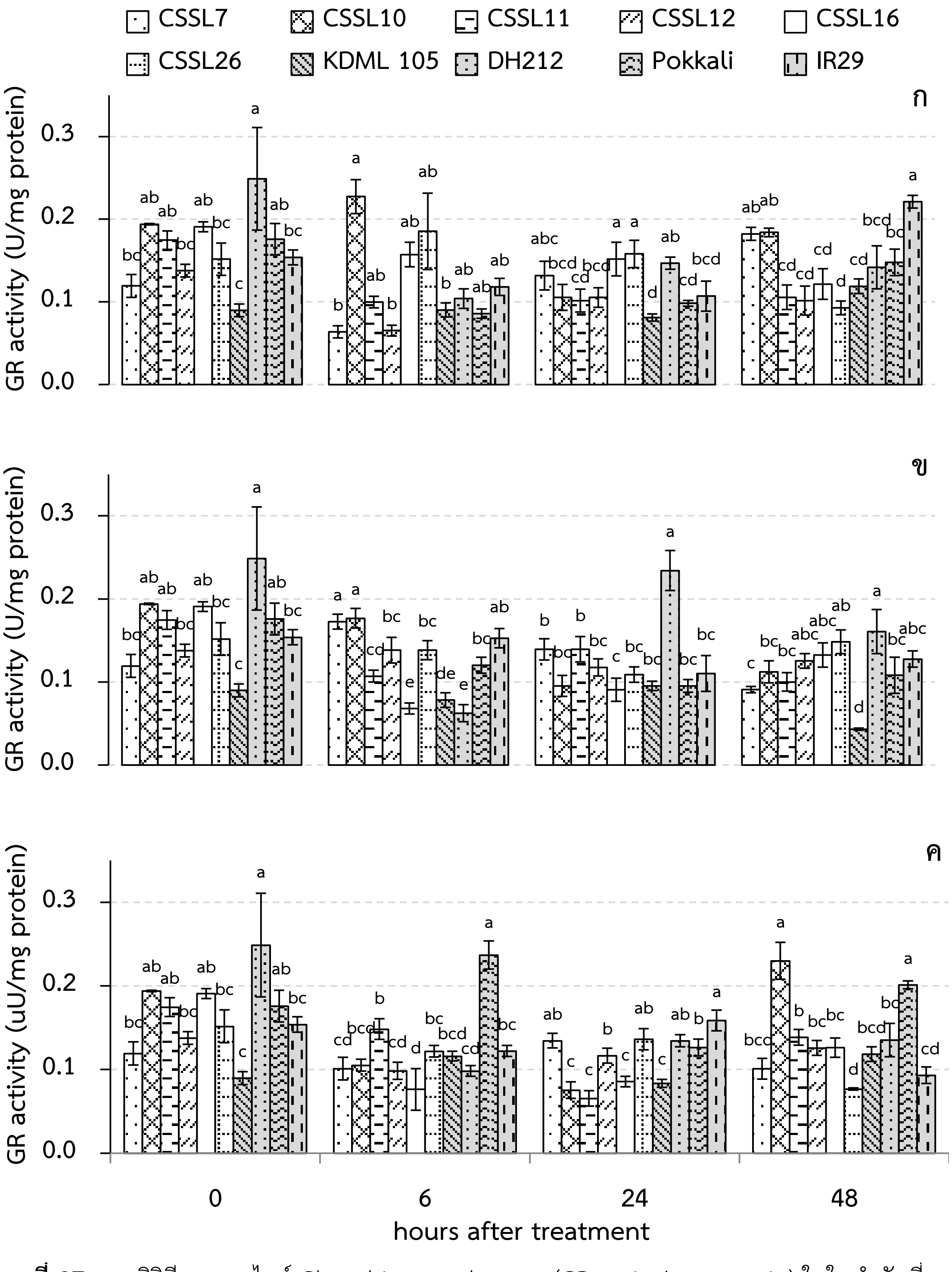
ตารางที่ 14 แอกทิวิตีของเอนไซม์ Glutathione reductase (GR, units/mg protein) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) เมื่อได้รับภาวะปกติ ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ และภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์

NaCl (mM)	Cultivars/ Lines	hours after treatment 0	6	24	48
0	CSSL7	0.12 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.13 ± 0.02	0.18 ± 0.01
	CSSL10	0.19 ± 0.001	0.23 ± 0.02	0.11 ± 0.02	0.18 ± 0.01
	CSSL11	0.17 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.11 ± 0.01
	CSSL12	0.14 ± 0.01	0.07 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.10 ± 0.02
	CSSL16	0.19 ± 0.01	0.16 ± 0.01	0.15 ± 0.02	0.12 ± 0.02
	CSSL26	0.15 ± 0.02	0.19 ± 0.05	0.16 ± 0.02	0.09 ± 0.01
	KDML105	0.09 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.08 ± 0.004	0.12 ± 0.01
	DH212	0.25 ± 0.06	0.10 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.14 ± 0.03
	Pokkali	0.18 ± 0.02	0.09 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.15 ± 0.02
	IR29	0.15 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.11 ± 0.02	0.22 ± 0.01
75	CSSL7	0.12 ± 0.01	0.17 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.09 ± 0.004
	CSSL10	0.19 ± 0.001	0.18 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.11 ± 0.01
	CSSL11	0.17 ± 0.01	0.11 ± 0.1	0.14 ± 0.02	0.10 ± 0.01
	CSSL12	0.14 ± 0.01	0.14 ± 0.02	0.12 ± 0.01	0.13 ± 0.01
	CSSL16	0.19 ± 0.01	0.07 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.13 ± 0.01
	CSSL26	0.15 ± 0.02	0.14 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.15 ± 0.01
	KDML105	0.09 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.04 ± 0.001
	DH212	0.25 ± 0.06	0.06 ± 0.01	0.23 ± 0.02	0.16 ± 0.03
	Pokkali	0.18 ± 0.02	0.12 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.11 ± 0.02
	IR29	0.15 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.11 ± 0.02	0.13 ± 0.01
150	CSSL7	0.12 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.13 ± 0.01	0.10 ± 0.01
	CSSL10	0.19 ± 0.001	0.11 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.23 ± 0.02
	CSSL11	0.17 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.07 ± 0.01	0.14 ± 0.01
	CSSL12	0.14 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.13 ± 0.01
	CSSL16	0.19 ± 0.01	0.08 ± 0.02	0.09 ± 0.01	0.13 ± 0.01
	CSSL26	0.15 ± 0.02	0.12 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.08 ± 0.001
	KDML105	0.09 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.08 ± 0.005	0.12 ± 0.01
	DH212	0.25 ± 0.06	0.10 ± 0.01	0.13 ± 0.01	0.14 ± 0.02
	Pokkali	0.18 ± 0.02	0.24 ± 0.02	0.13 ± 0.01	0.20 ± 0.005
	IR29	0.15 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.16 ± 0.01	0.09 ± 0.01
Significant level					
NaCl		ns	ns	ns	**
Cultivar/Line		**	**	**	**
NaCl x Cultivar/Line		ns	**	**	**

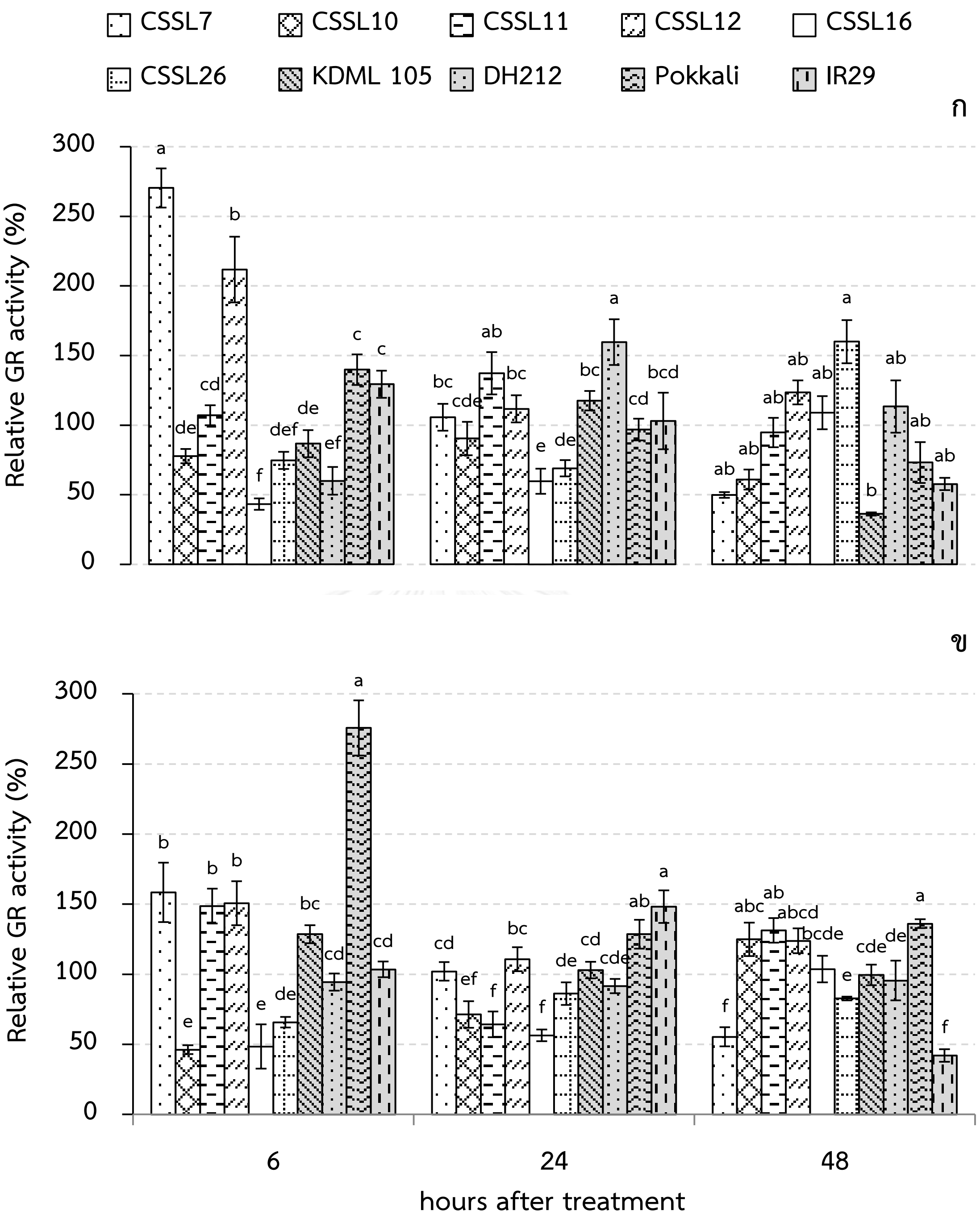
ns คือค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกัน (p≤0.05)

* คือค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน (p≤0.05)

** คือค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน (p≤0.01)



ภาพที่ 27 แอกทิวิตีของเอนไซม์ Glutathione reductase (GR, units/mg protein) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ภาวะปกติ ข. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ค. ภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน (p≤0.05)



ภาพที่ 28 แอกทิวิตีสัมพัทธ์ของเอนไซม์ Glutathione reductase (Relative GR activity, %) ในใบลำดับที่สองและสามจากยอดข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ ต่าง ๆ (mean ± SE) ก. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ ข. ในภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ โดยเทียบกับค่าในภาวะปกติ ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน (p≤0.05)

3.7 ความสัมพันธ์ของปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และแอกทิวิตีของเอนไซม์

เมื่อต้นข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์ได้รับภาวะเค็มระดับปานกลาง (โซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์) เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และแอกทิวิตีของเอนไซม์ต้านออกซิเดชัน ได้แก่ เอนไซม์ CAT (r = 0.500) เอนไซม์ SOD (r = 0.389) และเอนไซม์ APX (r = 0.367) นอกจากนี้ยังพบว่าแอกทิวิตีของเอนไซม์ CAT มีการเปลี่ยนแปลงในทิศทางเดียวกันกับเอนไซม์ SOD (r = 0.532) และเอนไซม์ APX (r = 0.482) ส่วน GPX นั้นมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับเอนไซม์ SOD (r = 0.469) และ GR (r = 0.620) นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างแอกทิวิตีของเอนไซม์ APX และเอนไซม์ GR (r = 0.621) (ตารางที่ 15) ส่วนการได้รับภาวะเค็มระดับสูง (โซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์) เป็นเวลา 6 ชั่วโมงไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และแอกทิวิตีของเอนไซม์ต่าง ๆ แต่พบความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างแอกทิวิตีของเอนไซม์ CAT กับเอนไซม์ GPX (r = 0.631) และเอนไซม์ APX (r = 0.508) และความสัมพันธ์ระหว่าง GPX และเอนไซม์ APX (r = 0.431) รวมทั้งมีความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างแอกทิวิตีของเอนไซม์ APX และเอนไซม์ GR (r = 0.339) (ตารางที่ 16)

เมื่อต้นข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์ได้รับภาวะเค็มระดับปานกลางเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบเพียงความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างแอกทิวิตีของเอนไซม์ APX และเอนไซม์ GR (r = 0.394) (ตารางที่ 17) แต่การได้รับภาวะเค็มระดับสูงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำให้เห็นความสัมพันธ์เชิงลบระหว่างปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และแอกทิวิตีของเอนไซม์ GPX (r = -0.376) นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างแอกทิวิตีของเอนไซม์ CAT และเอนไซม์ GPX (r = 0.383) แอกทิวิตีของเอนไซม์ CAT และเอนไซม์ APX (r = 0.419) และพบว่ามีสหสัมพันธ์ระหว่างแอกทิวิตีของเอนไซม์ SOD และเอนไซม์ APX (r = 0.344) รวมทั้งแอกทิวิตีของเอนไซม์ SOD และเอนไซม์ GR (r = 0.438) (ตารางที่ 18)

เมื่อต้นข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์ได้รับภาวะเค็มระดับปานกลางเป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และแอกทิวิตีของเอนไซม์ GPX (r = 0.440) แต่พบความสัมพันธ์เชิงลบระหว่างปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และแอกทิวิตีของเอนไซม์ SOD (r = -0.351) นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างแอกทิวิตีของเอนไซม์ CAT และเอนไซม์ APX (r = 0.358) รวมทั้งแอกทิวิตีของเอนไซม์ APX และเอนไซม์ GR (r = 0.455) (ตารางที่ 19) การได้รับภาวะเค็มระดับสูงเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ยังคงทำให้พบความสัมพันธ์เชิงลบระหว่างปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และแอกทิวิตีของเอนไซม์ SOD (r = -0.388) นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างแอกทิวิตีของเอนไซม์ GPX และเอนไซม์ GR (r = 0.587) รวมทั้งระหว่างแอกทิวิตีของเอนไซม์ APX และเอนไซม์ GR (r = 0.431) (ตารางที่ 20)

ตารางที่ 15 สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบเพียร์สัน (Pearson correlation coefficient, r) ระหว่างปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และแอกทิวิตีของเอนไซม์ต้านออกซิเดชันในข้าวที่ได้รับภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

	H_2O_2	CAT	GPX	SOD	APX	GR
H_2O_2	1					
CAT	0.500**	1				
GPX	-0.006	0.255	1			
SOD	0.389*	0.532**	0.469**	1		
APX	0.367*	0.482**	0.273	0.575**	1	
GR	0.280	0.292	0.487**	0.620**	0.621**	1

* คือ มีความสหสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

** คือ มีความสหสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.01$)

ตารางที่ 16 สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบเพียร์สัน (Pearson correlation coefficient, r) ระหว่างปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และแอกทิวิตีของเอนไซม์ต้านออกซิเดชันในข้าวที่ได้รับภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

	H_2O_2	CAT	GPX	SOD	APX	GR
H_2O_2	1					
CAT	0.090	1				
GPX	-0.164	0.631**	1			
SOD	-0.105	-0.142	0.006	1		
APX	-0.158	0.508**	0.431*	0	1	
GR	0.215	0.161	0.322	0.018	0.339*	1

* คือ มีความสหสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

** คือ มีความสหสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.01$)

ตารางที่ 17 สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบเพียร์สัน (Pearson correlation coefficient, r) ระหว่างปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และแอกทิวิตีของเอนไซม์ต้านออกซิเดชันในข้าวที่ได้รับภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

	H_2O_2	CAT	GPX	SOD	APX	GR
H_2O_2	1					
CAT	0.053	1				
GPX	-0.188	0.201	1			
SOD	-0.146	-0.064	0.183	1		
APX	0.220	0.253	0.067	-0.006	1	
GR	0.063	0.289	-0.162	0.021	0.394*	1

* คือ มีความสหสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 18 สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบเพียร์สัน (Pearson correlation coefficient, r) ระหว่างปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และแอกทิวิตีของเอนไซม์ต้านออกซิเดชันในข้าวที่ได้รับภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

	H_2O_2	CAT	GPX	SOD	APX	GR
H_2O_2	1					
CAT	-0.135	1				
GPX	-0.376*	0.383*	1			
SOD	0.175	0.193	0.145	1		
APX	-0.135	0.419**	0.015	0.344*	1	
GR	0.011	-0.121	0.148	0.438**	0.076	1

* คือ มีความสหสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

** คือ มีความสหสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.01$)

ตารางที่ 19 สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบเพียร์สัน (Pearson correlation coefficient, r) ระหว่างปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และแอกทิวิตีของเอนไซม์ต้านออกซิเดชันในข้าวที่ได้รับภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

	H_2O_2	CAT	GPX	SOD	APX	GR
H_2O_2	1					
CAT	0.326	1				
GPX	0.440**	0.207	1			
SOD	-0.351*	0.006	-0.103	1		
APX	-0.001	0.358*	0.179	0.217	1	
GR	-0.300	0.197	0.136	0.073	0.455**	1

* คือ มีความสหสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

** คือ มีความสหสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.01$)

ตารางที่ 20 สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบเพียร์สัน (Pearson correlation coefficient, r) ระหว่างปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และแอกทิวิตีของเอนไซม์ต้านออกซิเดชันในข้าวที่ได้รับภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

	H_2O_2	CAT	GPX	SOD	APX	GR
H_2O_2	1					
CAT	-0.300	1				
GPX	-0.124	0.177	1			
SOD	-0.388*	0.256	0.137	1		
APX	-0.042	0.078	0.121	-0.300	1	
GR	-0.110	0.341	0.587**	0.058	0.431*	1

* คือ มีความสหสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

** คือ มีความสหสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.01$)

บทที่ 5
อภิปรายผลการทดลอง

ในการพิสูจน์ว่ากลไกที่ทำให้ประชากรข้าว CSSL บางสายพันธุ์ทนเค็มได้ดีกว่า KDML105 คือการมีแอกทิวิตีของเอนไซม์ต้านออกซิเดชันที่มีประสิทธิภาพดีกว่า ได้ทำโดยศึกษาในข้าว CSSL จำนวน 6 สายพันธุ์ที่มีชิ้นส่วนยีนในโครโมโซมที่ 1 (*LOC_Os01g68450*) ต่างกัน อีกทั้งยังเป็นสายพันธุ์มีระดับความทนเค็มที่แตกต่างกัน ซึ่งได้แสดงด้วยค่าคะแนนการประเมินมาตรฐานความทนเค็ม หรือค่าความเสียหายจากความเค็ม (standard evaluating score, SES) (นพวิชญพงศ์ เครือสาร et al., 2556) นอกจากนี้ ยังใช้ค่าวัดการเจริญเติบโต (ภาพที่ 5-8 และตารางที่ 3 และ 4) ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ (ภาพที่ 9-10 และตารางที่ 5) และ ปริมาณรงควัตถุในการสังเคราะห์ด้วยแสง (ภาพที่ 11-16 และตารางที่ 6-8) เพื่อแสดงถึงระดับความทนเค็มที่แตกต่างกันของ CSSL และ KDML105 เมื่อได้รับภาวะเค็มในระยะสั้นร่วมด้วย ส่วนการเกิดความเครียดออกซิเดชันเนื่องจากภาวะเค็มนั้นได้แสดงด้วยปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในใบ (ภาพที่ 17 และ18 และตารางที่ 9) และระบบกำจัด ROSs นั้นได้ติดตามด้วยการวัดแอกทิวิตีของเอนไซม์ต้านออกซิเดชันจำนวน 5 เอนไซม์ (ภาพที่ 19-28 และตารางที่ 10-14) โดยเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์ CSSL กับ KDML105 ภายใต้ภาวะปกติและภาวะเค็มสองระดับ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

5.1 การเติบโตและสภาวะน้ำของประชากรข้าว CSSL ภายใต้ภาวะปกติและภาวะเค็ม

การวัดการเติบโตและสภาวะน้ำของข้าวสายพันธุ์ CSSL โดยเปรียบเทียบกับ KDML105 สามารถใช้เพื่อแสดงถึงระดับความทนเค็มของข้าวประชากร CSSL ได้ อย่างไรก็ตาม การที่จะแสดงให้เห็นความแตกต่างระหว่างพันธุ์/สายพันธุ์ได้หรือไม่นั้น ขึ้นอยู่กับระยะเวลาและระดับความเค็มที่ข้าวได้รับด้วย จากผลการทดลองในภาวะปกติพบว่าข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์มีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งส่วนต้นที่ไม่ต่างกัน ยกเว้นเพียง Pokkali ซึ่งเป็นพันธุ์มาตรฐานทนเค็ม ที่มีการเจริญเติบโตที่มากกว่าพันธุ์/สายพันธุ์อื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญตลอดระยะเวลาที่ทดลอง และ IR29 ซึ่งมีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งที่น้อยกว่า CSSL บางสายพันธุ์ ส่วนสภาวะน้ำซึ่งแสดงด้วยค่าปริมาณน้ำสัมพัทธ์ของข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์นั้นพบว่าไม่มีความแตกต่างที่เห็นได้ชัดเจน ส่วนการได้รับภาวะเค็มระดับปานกลาง (โซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์) เป็นเวลา 48 ชั่วโมงนั้น ไม่พบว่า CSSL และ KDML105 มี

ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบที่แตกต่างกันเช่นกัน (ภาพที่ 9ข) ซึ่งสอดคล้องกับการมีน้ำหนักสดต้นและน้ำหนักแห้งต้นที่ไม่แตกต่างกันในเกือบทุกพันธุ์/สายพันธุ์ ยกเว้น Pokkali (ภาพที่ 5ข และ 7ข) นอกจากนี้จะเห็นว่า ภาวะเค็มระดับปานกลางมีผลให้น้ำหนักสดต้นและน้ำหนักแห้งต้นลดลงจากภาวะปกติเล็กน้อยใน CSSL บางสายพันธุ์ (ภาพที่ 6ก และ 8ก) แต่ข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์ยังคงมีปริมาณน้ำสัมพัทธ์อยู่ในระดับเดียวกับภาวะปกติ (ภาพที่ 10ก) จึงไม่เห็นความแตกต่างของระดับความทนเค็มระหว่าง CSSL และ KDML105 ได้จากค่าการเจริญเติบโตและสภาวะน้ำในใบที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมงนี้

เมื่อให้ภาวะเค็มระดับสูง (โซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า ไม่มีความแตกต่างของน้ำหนักสดต้นและน้ำหนักแห้งต้นระหว่างสายพันธุ์ CSSL และ KDML105 เช่นกัน (ภาพที่ 5ค และ 7ค) อย่างไรก็ตาม พบว่า CSSL7 มีปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบต่ำกว่า KDML105 และ CSSL สายพันธุ์อื่น ๆ ที่ภาวะเค็มระดับนี้ (ภาพที่ 9ค) แม้การได้รับภาวะเค็มระดับสูงนี้จะทำให้ข้าวมีน้ำหนักสดต้น น้ำหนักแห้งต้น และปริมาณน้ำสัมพัทธ์ลดลงจากภาวะปกติ (ภาพที่ 6ข, 8ข และ 10ข) และแม้ว่าที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง จะมีสายพันธุ์ CSSL ที่มีปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบแตกต่างกัน แต่ยังไม่พบสายพันธุ์ใดที่มีค่านี้ดีกว่า KDML105 ดังนั้น จึงไม่สามารถใช้ค่าปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบเพื่อการคัดเลือกสายพันธุ์ CSSL ที่มีความสามารถในการทนเค็มสูงกว่า KDML105 ได้เช่นเดียวกับค่าน้ำหนักสดต้นและน้ำหนักแห้งต้น

อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาโดยใช้ระยะเวลาที่นานกว่านี้ สามารถแสดงความแตกต่างกันของระดับความทนเค็มใน CSSL สายพันธุ์ต่างๆ ได้ด้วยค่าความเสียหายจากความเค็ม (นพวิชญพงศ์ เครือสาร et al., 2556) โดยพบว่า CSSL ที่มีระดับความทนเค็มมากกว่า KDML105 ได้แก่ CSSL11 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ได้รับชิ้นส่วนของโครโมโซมระหว่างเครื่องหมายโมเลกุล RM1003 และ RM3362 ซึ่งเป็นบริเวณเกือบทั้งหมดของ QTL ทนแล้งบนโครโมโซม 1 มาจาก DH212 สำหรับ CSSL7 CSSL10 CSSL12 CSSL16 และ CSSL26 นั้นมีแนวโน้มค่าความเสียหายจากความเค็มที่น้อยกว่า KDML105 แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ จากการวัดการสังเคราะห์ด้วยแสงพบว่า CSSL ทุกสายพันธุ์ ยกเว้น CSSL26 มีอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงสูงสุดที่มากกว่า KDML105 หลังจากได้รับภาวะเค็มระดับปานกลาง (75 มิลลิโมลาร์ โซเดียมคลอไรด์) เป็นเวลา 18 วัน (พนิตา ชุติมานุกูล et al., 2556)

5.2 ปริมาณรงควัตถุในใบของประชากรข้าว CSSL ภายใต้ภาวะปกติและภาวะเค็ม

ข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์นั้นมีพื้นฐานทางพันธุกรรมที่มีปริมาณรงควัตถุในการสังเคราะห์ด้วยแสงแตกต่างกัน และได้รับผลกระทบจากภาวะเค็มในบางช่วงเวลา แต่ทั้งนี้ภาวะเค็มส่งผลกระทบต่อข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์ไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 6-8) ทำให้ปริมาณรงควัตถุในข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์เมื่อได้รับภาวะเค็มมีระดับความแตกต่างกันเช่นเดียวกับในภาวะปกติ (ภาพที่ 11, 13 และ15) ในภาวะปกติ ประชากรข้าว CSSL มีปริมาณรงควัตถุในใบบริเวณใกล้ยอดไม่แตกต่างจาก KDML105 และ DH212 (ภาพที่ 11ก, 13ก และ15ก) เมื่อต้นข้าวได้รับภาวะเค็มระดับปานกลางเป็นเวลา 6 ถึง 48 ชั่วโมง พบว่า CSSL แต่ละสายพันธุ์มีค่าปริมาณรงควัตถุในใบ ทั้งปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี และปริมาณแคโรทีนอยด์ อยู่ระหว่างค่าของ KDML105 และ DH212 ซึ่งเป็นพันธุ์พ่อแม่ (ภาพที่ 11ข, 13ข และ15ข) สอดคล้องกับข้อเท็จจริงที่ CSSL แต่ละสายพันธุ์มีฐานทางพันธุกรรมเหมือน KDML105 และได้รับยีนบางตำแหน่งมาจาก DH212 (Kanjoo, 2012) สำหรับค่าปริมาณคลอโรฟิลล์ บี พบความแตกต่างกันระหว่าง CSSL บางสายพันธุ์ หลังจากได้รับภาวะเค็มเป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง (ภาพที่ 13ข) แต่ยังคงไม่พบสายพันธุ์ใดที่มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี สูงกว่า KDML105 สำหรับปริมาณแคโรทีนอยด์ไม่พบความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ CSSL และไม่มีสายพันธุ์ใดที่มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงกว่า KDML105 (ภาพที่ 15ข)

อย่างไรก็ดี สำหรับใน DH212 และ Pokkali ที่เป็นพันธุ์ทนเค็ม มีแนวโน้มที่จะมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และ บี และแคโรทีนอยด์ที่ต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างสายพันธุ์ CSSL พบว่า CSSL บางสายพันธุ์มีปริมาณรงควัตถุไม่แตกต่างกันยกเว้นปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ที่พบความแตกต่างกันในบางช่วงเวลา แสดงให้เห็นว่าการได้รับภาวะเค็มระดับปานกลางเป็นเวลา 48 ชั่วโมงนี้ ยังไม่เหมาะสมที่จะทำให้เห็นความแตกต่างของปริมาณรงควัตถุในสายพันธุ์ CSSL ด้วยกันได้ ทั้งนี้ KDML105 มีพันธุกรรมที่มีปริมาณรงควัตถุสูงและ DH212 มีพันธุกรรมที่มีปริมาณรงควัตถุต่ำกว่าพันธุ์/สายพันธุ์ อื่น ๆ ดังที่เห็นได้จากในภาวะปกติ (ภาพที่ 11ก, 13ก และ15ก) และปริมาณรงควัตถุเหล่านี้อยู่ในระดับเดียวกับภาวะปกติเมื่อได้รับภาวะเค็มระดับปานกลาง (ภาพที่ 12ก, 14ก และ16ก) ดังนั้น จึงไม่พบ CSSL สายพันธุ์ใดมีปริมาณรงควัตถุสูงกว่า KDML105 ซึ่งผลดังกล่าวนอกจากจะอธิบายได้จากพื้นฐานทางพันธุกรรมแล้ว อีกเหตุผลหนึ่งอาจเป็นเพราะการได้รับภาวะเค็มระดับปานกลางเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมงนี้ เป็นระดับที่มีผลต่อปริมาณรงควัตถุของ KDML105 ไม่มาก จนแสดงให้เห็นความแตกต่างเมื่อเปรียบเทียบกับ CSSL โดยมีรายงานพบว่าพืชสายพันธุ์ทนเค็มปานกลางถึงสูง

หรือพืชที่มีความสามารถทนเค็มใกล้เคียงกัน จะมีปริมาณรงควัตถุไม่แตกต่างกัน หากได้รับภาวะเครียดจากความเค็มไม่สูงมากหรือระยะเวลาไม่นานมาก (Lutts et al., 1996; Khavari-Nejad and Mostofi, 1998; Doganlar et al., 2010; Lee et al., 2013)

เมื่อต้นข้าวได้รับภาวะเค็มระดับสูงเป็นเวลา 6 ถึง 48 ชั่วโมง พบว่า CSSL แต่ละสายพันธุ์มีค่าปริมาณรงควัตถุในใบ ทั้งปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี และปริมาณแคโรทีนอยด์อยู่ระหว่างค่าของ KDML105 และ DH212 ซึ่งเป็นพันธุ์พ่อแม่ (ภาพที่ 11ค, 13ค และ15ค) เช่นเดียวกับในภาวะเค็มระดับปานกลาง พบว่าบางช่วงเวลา CSSL บางสายพันธุ์มีปริมาณรงควัตุแตกต่างกัน แต่ยังไม่พบสายพันธุ์ใดที่มีปริมาณรงควัตถุมากกว่า KDML105 แม้จะได้รับภาวะเค็มในระดับสูงขึ้น แสดงให้เห็นว่าช่วงเวลาการได้รับภาวะเค็ม 48 ชั่วโมงนี้ไม่นานพอที่จะเห็นการตอบสนองของปริมาณรงควัตถุของสายพันธุ์ CSSL ที่ดีกว่า KDML105 แต่ทั้งนี้พบว่าในภาวะเค็มระดับสูงข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์มีปริมาณรงควัตถุลดลงจากภาวะปกติมากกว่าในภาวะเค็มระดับปานกลาง (ภาพที่ 12, 14 และ16) ทำให้มีความแตกต่างของปริมาณรงควัตถุระหว่างพันธุ์/สายพันธุ์ มากกว่าในภาวะเค็มระดับปานกลาง (ภาพที่ 11ข-ค, 13ข-ค และ15ข-ค) แสดงว่าภาวะเครียดจากความเค็มนี้มีผลกระทบต่อปริมาณรงควัตถุในใบข้าว ซึ่งแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์ได้รับผลกระทบแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับระดับความเค็มและระยะเวลาที่ได้รับภาวะเค็ม โดยมีรายงานพบว่าผลกระทบของภาวะเครียดจากความเค็มต่อปริมาณรงควัตถุในใบพืชขึ้นอยู่กับระดับความเค็มและระยะเวลาที่ได้รับภาวะเค็ม (Misra et al., 1999; Cha-um et al., 2004; Jampeetong and Brix, 2009; Amirjani, 2010)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

5.3 ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และแอกทิวิตีของเอนไซม์ต้านออกซิเดชันภายใต้ภาวะปกติและภาวะเค็ม

ในภาวะปกติ ข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์ มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในใบบริเวณใกล้ยอดที่ค่อนข้างผันแปรขึ้นอยู่กับระยะเวลาโดยไม่มีรูปแบบที่ชัดเจน ซึ่งแต่ละการศึกษาในข้าวแต่ละพันธุ์ก็จะมีระดับปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในระดับปกติที่แตกต่างกันออกไป เช่นการศึกษาโดย Amirjani (2010) พบว่าข้าวพันธุ์ Tarom Azmoon มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในภาวะปกติอยู่ที่ประมาณ 0.15 µmol/g FW การศึกษาโดย El-Shabrawi et al. (2010) พบว่าข้าวพันธุ์ Pokkali มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในภาวะปกติอยู่ที่ประมาณ 50 nmol/g FW ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาครั้งนี้ที่พบว่าข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในภาวะปกติอยู่ระหว่าง 19.5-39.9 µmol/g FW (ตารางที่ 9 และภาพที่ 17ก) นอกจากนี้การศึกษาโดย (Pongprayoon et al., 2013) ในข้าวพันธุ์ LPT123-TC171 พบว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในระดับ 20-30 µmol/g FW ที่ทำหน้าที่เป็นโมเลกุลสัญญาณ (signal molecule) ให้แก่ต้นข้าวในการ

เจริญเติบโต หากมีระดับต่ำลงจะทำให้การเจริญเติบโตของต้นข้าวแย่ลง ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีบทบาทเป็นโมเลกุลสัญญาณให้แก่ต้นพืช และจากการศึกษาต่างๆก็พบว่าปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เพิ่มขึ้นเมื่อได้รับภาวะเค็มนั้นเป็น ROSs ที่ทำให้เกิดภาวะเครียดแก่ต้นพืช (Amirjani, 2010; El-Shabrawi et al., 2010; Chawla et al., 2013)

การศึกษาครั้งนี้ พบว่าปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์นั้นมีพื้นฐานที่จะมีความแตกต่างกัน และปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์ได้รับผลกระทบจากภาวะเค็มแตกต่างกัน (ตารางที่ 9) ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจว่าภาวะเค็มส่งผลต่อปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์อย่างไร โดยพบว่าปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ใน CSSL16 มีค่าค่อนข้างต่ำ โดยที่ในบางระยะเวลามีค่าต่ำกว่า KDML105 (ภาพที่ 17ก) เมื่อได้รับภาวะเค็มระดับปานกลาง พบว่ามีผลต่อปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ตั้งแต่ที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง โดย KDML105 มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์อย่างเห็นได้ชัด (ภาพที่ 18ก) จากที่ในภาวะปกติมีค่าที่มากกว่า CSSL16 เพียงสายพันธุ์เดียว แต่ในภาวะเค็ม KDML105 กลับมีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่มากกว่า CSSL ทุกสายพันธุ์ (ภาพที่ 17ก และ17ข) จึงเห็นได้ว่าภาวะเค็มระดับนี้ทำให้เกิดภาวะเครียดจากการเกิดออกซิเดชันแก่ KDML105 แต่ยังไม่เกิดแก่สายพันธุ์ CSSL เนื่องจากพืชที่เกิดภาวะเครียดจากการเกิดออกซิเดชันนั้นจะมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Amirjani, 2010; El-Shabrawi et al., 2010; Chawla et al., 2013) นอกจากนี้จะเห็นได้ว่า DH212 มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่ำ และลักษณะนี้ได้ถูกถ่ายทอดไปยังสายพันธุ์ CSSL ด้วย (ภาพที่ 17ข) ส่วน Pokkali และ IR29 ที่มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สูงไม่ต่างจาก KDML105 นั้น พบว่าเป็นปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่สูงอยู่ในระดับใกล้เคียงกับภาวะปกติ (ภาพที่ 17ก และ17ข) โดยเพิ่มขึ้นจากภาวะปกติน้อยกว่า KDML105 (ภาพที่ 18ก) ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของทุกพันธุ์/สายพันธุ์ไม่ต่างกันหลังจากได้รับภาวะเค็ม 24 ชั่วโมง แต่ต่างกันหลังได้รับภาวะเค็ม 48 ชั่วโมง โดย CSSL11 ซึ่งมีค่าความเสียหายจากความเค็มต่ำกว่า KDML105 และ CSSL16 ซึ่งมีค่าความเสียหายจากความเค็มไม่ต่างจาก CSSL11 นั้น (นพวิชญพงศ์ เครือสาร et al., 2556) มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่ำเช่นเดียวกับ DH212 ในขณะที่ CSSL สายพันธุ์อื่น ๆ มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สูงอยู่ในระดับเดียวกับ KDML105 (ภาพที่ 17ข) จึงเห็นได้ว่าการให้ภาวะเค็มระดับปานกลาง (โซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์) เป็นเวลา 6 ชั่วโมง สามารถแยกความแตกต่างของสายพันธุ์ CSSL ออกจาก KDML105 ได้โดยใช้ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และเมื่อให้ภาวะเค็มเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จะสามารถแยก CSSL สายพันธุ์ที่ทนเค็มสูงออกจากสายพันธุ์ที่ทนเค็มต่ำกว่าได้ มีการศึกษาที่พบการตอบสนองในลักษณะนี้เช่นกัน กล่าวคือเมื่อได้รับภาวะเค็มพืชสายพันธุ์ทนเค็มจะมีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่ำกว่าสายพันธุ์ที่ไม่ทน (El-Shabrawi et al., 2010; Mishra et al., 2011; Chawla et al., 2013) เนื่องจากภาวะเครียดจากความเค็มทำให้เกิด

ภาวะเสียสมดุลของปฏิกิริยาแสงและปฏิกิริยาการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ ที่ทำให้มีอิเล็กตรอนจากกระบวนการถ่ายทอดอิเล็กตรอนส่งให้กับออกซิเจนได้มากขึ้น จึงทำให้เกิด ROSs มากขึ้น (Sharma et al., 2012) ซึ่งไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ก็เป็นรูปหนึ่งของ ROSs ที่หากมีในปริมาณหนึ่งจะมีบทบาทเป็นโมเลกุลสัญญาณ ในกระบวนการตอบสนองต่อภาวะเครียดของเซลล์ แต่หากมีปริมาณมากเกินไปจะก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ที่ทำให้โครงสร้างเซลล์เสียหายได้ เซลล์พืชจึงมีกลไกที่ช่วยควบคุมให้ ROSs มีปริมาณไม่สูงเกินไป ดังนั้น การมีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่สูงมากกว่าค่าในระดับปกติ จึงสามารถใช้เป็นค่าที่บ่งชี้ได้ว่าพืชอยู่ในภาวะเครียดจากการเกิดออกซิเดชัน (Sies, 1993; Sies, 1997; Sharma et al., 2012)

เมื่อได้รับภาวะเค็มระดับสูงพบว่าข้าวมีการตอบสนองที่แตกต่างจากภาวะเค็มระดับปานกลาง โดยเมื่อได้รับภาวะเค็มสูงเป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่าสายพันธุ์ CSSL ที่มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่ำกว่า KDML105 คือ CSSL10 และ CSSL16 แต่เมื่อระยะเวลาที่ได้รับภาวะเค็มนานขึ้น ไม่พบว่ามี CSSL สายพันธุ์ใดที่มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่างจาก KDML105 แต่พบว่า CSSL11 และ CSSL12 มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ต่ำกว่า CSSL26 ส่วนที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมงแม้ว่าจะไม่มีความแตกต่างกันระหว่างพันธุ์/สายพันธุ์ แต่พบแนวโน้มที่สอดคล้องกับที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ที่ CSSL11 และ CSSL12 มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่ำ และ CSSL26 มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่สูง (ภาพที่ 17ค) ทั้งนี้ CSSL11 และ CSSL16 เป็นสายพันธุ์ที่ได้รับชิ้นส่วนของยีนระหว่างเครื่องหมายโมเลกุล RM1003 และ RM3362 ซึ่งเป็นบริเวณเกือบทั้งหมดของ QTL ทนแล้งบนโครโมโซม 1 จาก DH212 และเป็นสายพันธุ์ที่มีค่าความเสียหายจากความเค็มต่ำ (นพวิชญพงศ์ เครือสาร et al., 2556) อีกทั้งยังมีการตอบสนองเกี่ยวกับการสังเคราะห์ด้วยแสงที่ดีอีกด้วย (พนิตา ชุติมานุกูล et al., 2556) ส่วน CSSL26 ซึ่งได้รับการแทนที่ชิ้นส่วนโครโมโซมเฉพาะในส่วนครึ่งหลังของบริเวณยีนทนแล้งจาก DH212 (ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุล RM3468 ถึง RM529) (ตารางที่ 2) มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่สูงกว่า CSSL11 และ CSSL16 (ภาพที่ 17ค) จึงอาจเป็นไปได้ว่ายีน *LOC_Os01g68450* ไม่อยู่ในบริเวณนี้ แต่อาจเป็นชิ้นส่วนที่อยู่บริเวณเครื่องหมายโมเลกุล RM6827 สำหรับ CSSL12 นั้นมีเครื่องหมายโมเลกุลที่ได้รับมาเช่นเดียวกับ CSSL11 และ CSSL16 (ตารางที่ 2) ดังนั้นการที่ CSSL12 มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่ำในลักษณะเดียวกับ CSSL11 และ CSSL16 จึงเป็นหลักฐานหนึ่งที่สนับสนุนว่าชิ้นส่วนยีนจาก DH212 ที่มีการแทนที่เข้าไปในสายพันธุ์ CSSL นั้นเกี่ยวข้องกับภาวะเครียดจากการเกิดออกซิเดชันที่เกิดขึ้นเมื่อต้นข้าวได้รับภาวะเครียดจากความเค็ม

จากผลมีต่อปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นสิ่งยืนยันว่าข้าวเกิดความเครียดออกซิเดชันเมื่อได้รับภาวะเค็มทั้งระดับปานกลางและระดับสูง นอกจากนี้ยังพบว่าข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์มีพื้นฐานทางพันธุกรรมที่จะมีแอกทิวิตีของเอนไซม์ต้านออกซิเดชันแตกต่างกัน และเอนไซม์เหล่านั้นมีการตอบสนองต่อภาวะเค็มแตกต่างกัน (ตารางที่ 10-14) จึงเป็นที่น่าสนใจว่าสายพันธุ์ CSSL มีการตอบสนองของเอนไซม์ใดบ้างที่ดีกว่า KDML105 อย่างไรก็ตาม ภาวะเครียดจากความเค็มทั้งระดับปานกลางและระดับสูงไม่ส่งผลให้สายพันธุ์ CSSL มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ CAT แตกต่างไปจาก KDML105 (ภาพที่ 19ก-ค) ทั้งนี้เนื่องจาก KDML105 ตอบสนองต่อภาวะเค็มโดยเกิดการเพิ่มขึ้นของ CAT ประมาณ 44% โดย CSSL ที่มีการเพิ่มขึ้นของ CAT ภายใต้ภาวะเค็มระดับสูงในลักษณะที่คล้ายกับ KDML105 ได้แก่ CSSL7 และ CSSL10 ส่วน CSSLs สายพันธุ์อื่นๆนั้นตอบสนองคล้ายกับ DH212 กล่าวคือไม่พบการเพิ่มขึ้นของแอกทิวิตีของ CAT ในช่วงเวลาที่เก็บผลการทดลอง นอกจากนี้แอกทิวิตีของเอนไซม์ CAT ในภาวะเครียดอาจจะเพิ่มขึ้นหรือลดลงก็ได้ ขึ้นอยู่กับความรุนแรง ระยะเวลา และลักษณะของความเครียดที่พืชได้รับ โดยทั่วไปพบว่าความเครียดที่ลดอัตราการสร้างและสลายโปรตีนจะลดแอกทิวิตีของ CAT ด้วย (Sharma et al., 2012) จึงเป็นไปได้ว่าภาวะเค็มที่ข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์ได้รับ อาจมีผลต่อการสร้างและสลายโปรตีนในอัตราที่ไม่ต่างกันในข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์ อย่างไรก็ตาม มีความเป็นไปได้ว่าหากมีการเก็บผลการทดลองในระยะเวลาที่ต่างออกไปจากนี้ อาจพบการตอบสนองของ CAT ที่แตกต่างกันในข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์ ทั้งนี้การศึกษาโดย Vaidyanathan et al. (2003) ได้พบว่าข้าวพันธุ์ Pokkali ในภาวะปกติและภาวะเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ มีแอกทิวิตีของ CAT ประมาณ 34-40 U/mg protein ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาครั้งนี้ที่พบว่าข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์มีแอกทิวิตีของ CAT ประมาณ 15-70 U/mg protein (ภาพที่ 19)

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์มีแอกทิวิตีของ GPX อยู่ระหว่าง 0.05-0.48 U/mg protein ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาโดย Vaidyanathan et al. (2003) ที่พบว่าในภาวะปกติข้าวพันธุ์ Pokkali มีแอกทิวิตีของ GPX ประมาณ 0.2 U/mg protein สำหรับ GPX นั้นพบว่าเป็นเอนไซม์ใน DH212 ที่มีค่าสูงกว่า KDML105 ตลอดระยะเวลาที่ศึกษา นอกจากนี้ยังพบว่า GPX ใน CSSL ทุกสายพันธุ์มีค่าสูงกว่า KDML105 เมื่อได้รับภาวะเค็มระดับสูงเป็นเวลา 48 ชั่วโมง (ภาพที่ 21ก-21ค) ทั้งนี้จากการเปรียบเทียบแอกทิวิตีในภาวะเค็มกับภาวะปกติ ทำให้ทราบว่า KDML105 มีแอกทิวิตีของ GPX ลดลงอย่างมากตั้งแต่ 6 ชั่วโมงของการได้รับภาวะเค็มทั้งสองระดับ ตรงข้ามกับ DH212 ที่มีแอกทิวิตีเพิ่มขึ้นตั้งแต่ 6 ชั่วโมงแรก (ภาพที่ 22ก และ 22ข) จากการที่ GPX ใน CSSL และ DH212 มีการตอบสนองที่ต่างจาก KDML105 นี้ แสดงให้เห็นว่า CSSL อาจได้รับยีนที่เกี่ยวข้องกับการ

แสดงออกของเอนไซม์ GPX มาจาก DH212 นอกจากนี้ ผลการศึกษานี้สนับสนุนบทบาทของ GPX ในการทนต่อความเครียดจากสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม โดยมีรายงานด้วยว่าข้าวสายพันธุ์ทนเค็มจะมีแอกทิวิตีของ GPX สูงกว่าสายพันธุ์ที่ไม่ทน (Dionisio-Sese and Tobita, 1998; Kumar et al., 2009; El-Shabrawi et al., 2010; Mishra et al., 2011; Chawla et al., 2013)

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์ CSSL ยังพบสิ่งที่น่าสนใจ นั่นคือ CSSL10 เป็นสายพันธุ์ที่มีแอกทิวิตีของ GPX มากที่สุดภายใต้ภาวะเค็มระดับปานกลางและระดับสูง ซึ่งเป็นแอกทิวิตีที่ชักนำให้เพิ่มขึ้นจากภาวะปกติมากถึงสองเท่าตั้งแต่ 6 ชั่วโมงของการได้รับภาวะเค็มทั้งสองระดับ (ภาพที่ 21 และ22) จึงเป็นที่น่าสนใจว่านอกจาก CSSL11 และ CSSL16 แล้ว ยังมี CSSL10 ที่น่าจะได้รับยีนที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ต้านออกซิเดชันมาจาก DH212 สำหรับ CSSL11 CSSL12 และ CSSL16 ซึ่งมีชิ้นส่วนของยีนทนแล้งที่ได้รับจาก DH212 เหมือนกันนั้น มีการตอบสนองของ GPX ที่เหมือนกัน คือ มีการเพิ่มขึ้นของแอกทิวิตีเมื่อได้รับภาวะเค็มระดับปานกลาง แต่เป็นการเพิ่มที่ระยะเวลาของการได้รับภาวะเค็มที่แตกต่างกัน ส่วนในภาวะเค็มสูงพบว่ามีเพียง CSSL11 เท่านั้นที่มีแอกทิวิตีของ GPX เพิ่มขึ้นที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง อย่างไรก็ตาม เมื่อระยะเวลาที่ได้รับภาวะเค็มนานขึ้น พบว่า CSSL ทั้งสามสายพันธุ์มีแอกทิวิตีของ GPX ที่ต่ำกว่าค่าในภาวะปกติเช่นเดียวกัน ซึ่งเป็นการตอบสนองที่แตกต่างจาก DH212

นอกจาก GPX แล้ว เอนไซม์ที่มีแอกทิวิตีแตกต่างกันระหว่าง CSSL และ KDML105 ได้แก่ APX และ GR ทั้งนี้ APX และ GR ในข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ที่ศึกษามีแอกทิวิตีในภาวะปกติและในภาวะเค็มอยู่ในระดับใกล้เคียงกันกับที่มีรายงานไว้ก่อนหน้านี้ (Vaidyanathan et al., 2003) เอนไซม์ทั้งสองชนิดนี้มักจะมีแอกทิวิตีเพิ่มสูงขึ้นเมื่อได้รับภาวะเค็ม มีรายงานว่า ส่วนมากข้าวสายพันธุ์ทนเค็มจะมีแอกทิวิตีของเอนไซม์เหล่านี้สูงกว่าสายพันธุ์ไม่ทนเค็ม (Vaidyanathan et al., 2003; Moradi and Ismall, 2007; Kumar et al., 2009; El-Shabrawi et al., 2010; Mishra et al., 2011; Chawla et al., 2013) สอดคล้องกับการศึกษาครั้งนี้ที่พบว่าบางช่วงเวลาสายพันธุ์ CSSL มีแอกทิวิตีของ APX และ GR สูงกว่า KDML105 โดยพบความแตกต่างกันเมื่อได้รับภาวะเค็มระดับปานกลางเป็นเวลา 48 ชั่วโมง แต่ความแตกต่างดังกล่าวไม่ได้เกิดจากการมีแอกทิวิตีที่เพิ่มขึ้นใน CSSL เมื่อได้รับภาวะเค็ม แต่เป็นเพราะ KDML105 มีแอกทิวิตีของ APX และ GR ที่ลดลงจากภาวะปกติมากเมื่อได้รับภาวะเค็มระดับปานกลาง (ภาพที่ 26ก และ28ก) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง APX ที่ลดลงถึง 50% ตลอดระยะเวลาที่ศึกษา ผลการตอบสนองที่พบใน CSSL นั้นสอดคล้องกับการตอบสนองของ DH212 ที่ยังคงมีแอกทิวิตี

ของเอนไซม์ดังกล่าวในระดับปกติเมื่อได้รับภาวะเค็ม ส่วนการได้รับภาวะเค็มระดับสูง ไม่พบความแตกต่างกันของ APX ระหว่าง CSSL และ KDML105 (ภาพที่ 25ค) ส่วน GR นั้น มีความแตกต่างระหว่าง CSSL และ KDML105 ในบางช่วงเวลา อีกทั้งยังพบว่าเมื่อได้รับภาวะเค็มเป็นเวลา 48 ชั่วโมง CSSL10 มีแอกทิวิตีของ GR ที่มากกว่า KDML105 และมากกว่า CSSL ทุกสายพันธุ์ที่ศึกษาอีกด้วย โดยเป็นแอกทิวิตีที่มีค่าใกล้เคียงกับค่าในภาวะปกติ (ภาพที่ 27ค และ 28ข) ผลดังกล่าวเป็นหลักฐานหนึ่งที่แสดงให้เห็นความเป็นไปได้ว่า ความแตกต่างกันของแอกทิวิตีของ APX และ GR ระหว่าง CSSL และ KDML105 นั้น อาจเป็นผลมาจากการแทนที่ชิ้นส่วนของยีนจากโครโมโซม 1 ซึ่งมียีนที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับกลไกการต้านออกซิเดชัน อย่างไรก็ตาม การตอบสนองที่พบอาจเป็นผลมาจากยีนในบริเวณส่วนอื่นของจีโนมข้าวด้วย ซึ่งในข้าวนั้นมียีนที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ต้านออกซิเดชันอยู่บนโครโมโซมหลายแห่ง (Kawahara et al., 2013) ดังนั้น การศึกษาในระดับการแสดงออกของยีนจึงจำเป็นในการพิสูจน์ความเป็นไปได้ดังกล่าว สำหรับการที่พบว่า IR29 ซึ่งเป็นพันธุ์มาตรฐานไม่ทนเค็ม มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ GPX APX และ GR สูงกว่า KDML105 รวมทั้ง DH212 ในบางช่วงเวลา (ภาพที่ 21ข, 25ข และ27ข) ทั้งนี้ก็เนื่องมาจากพื้นฐานทางพันธุกรรมของ IR29 นั้นมีแนวโน้มที่จะมีแอกทิวิตีของเอนไซม์เหล่านี้ในภาวะปกติสูงกว่า KDML105 และ DH212 อยู่แล้ว (ภาพที่ 21ก, 22ก, 25ก, 26ก, 27ก และ28ก) อย่างไรก็ตาม IR29 นั้นยังคงมีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ค่อนข้างสูงเมื่อได้รับภาวะเค็มเป็นเวลานาน

สำหรับ SOD นั้น ในการศึกษาครั้งนี้ข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์มีแอกทิวิตีอยู่ที่ประมาณ 5-16 U/mg protein (ภาพที่ 23) ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาในข้าวพันธุ์ Pokkali โดย Vaidyanathan et al. (2003) ที่พบว่ามีแอกทิวิตีอยู่ที่ประมาณ 10 U/mg protein รวมทั้งการศึกษาโดย Kumar et al. (2009) ที่พบว่าข้าวพันธุ์ Karjat-3 Kalarata และ Panvel-3 มีแอกทิวิตีของ SOD อยู่ระหว่าง 7-11 U/mg protein โดยในการศึกษาครั้งนี้จะเห็นได้ว่า SOD เป็นเอนไซม์ที่มีการตอบสนองแตกต่างกันระหว่าง CSSL และ KDML105 เช่นกัน โดย CSSL10 มีแอกทิวิตีของ SOD ที่สูงกว่า KDML105 ทั้งในภาวะปกติและในภาวะเค็มระดับปานกลางเฉพาะที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง ส่วนในภาวะเค็มระดับสูงพบว่ามีเพียง CSSL11 และ CSSL12 ที่มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ SOD มากกว่า KDML105 ที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมงของการได้รับภาวะเค็ม (ภาพที่ 23) ส่วนการเปลี่ยนแปลงของแอกทิวิตีของ SOD ในข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์เนื่องจากภาวะเค็มนั้น พบว่า SOD มีบทบาทโดดเด่นใน Pokkali และ IR29 ส่วนใน KDML105 และ DH212 นั้นไม่พบการเปลี่ยนแปลงไปจากค่าในภาวะปกติที่

เด่นชัด สำหรับ CSSL นั้นพบว่า CSSL7 CSSL10 และ CSSL11 มีการเพิ่มขึ้นของแอกทิวิตีของ SOD มากกว่า 50% เมื่อได้รับภาวะเค็มระดับปานกลางเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ส่วนภายใต้ภาวะเค็มสูง พบว่า CSSL10 CSSL11 CSSL12 และ CSSL16 มีแอกทิวิตีเพิ่มขึ้นอย่างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่ง CSSL11 ที่เพิ่มขึ้นถึง 164% ของค่าในภาวะปกติที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง (ภาพที่ 24) ซึ่งจะเห็นได้ว่า การตอบสนองของ SOD ต่อภาวะเค็มใน CSSL ทั้ง 6 สายพันธุ์นี้แตกต่างจาก KDML105 อย่างเห็นได้ชัด อีกทั้งยังเป็นการตอบสนองที่ไม่สอดคล้องกับ DH212 อีกด้วย ทั้งนี้ในการศึกษาอื่น ๆ นั้นพบว่าข้าวสายพันธุ์ทนเค็มเมื่อได้รับภาวะเค็มจะมีการเพิ่มแอกทิวิตีของ SOD ขึ้นมากกว่าสายพันธุ์ที่ไม่ทน (Dionisio-Sese and Tobita, 1998; Moradi and Ismall, 2007; Kumar et al., 2009; El-Shabrawi et al., 2010; Mishra et al., 2011; Chawla et al., 2013)

จากผลการศึกษาโดยนพวิชญพงศ์ เครือสาร et al. (2556) และ พนิตา ชุติมานุกูล et al. (2556) ที่สนับสนุนว่า CSSL11 และ CSSL16 เป็นสายพันธุ์ที่ทนเค็มได้ดีกว่า KDML105 เนื่องมาจากการได้รับชิ้นส่วนยีนทนแล้งจาก DH212 ที่มีเครือข่ายการแสดงออกร่วมของยีนหลักจำนวน 9 ยีน ซึ่งมีจำนวน 2 ยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง จึงมีความสามารถในการสังเคราะห์ด้วยแสงภายใต้ภาวะเค็มที่ดีกว่า KDML105 จากผลการวัดระบบกำจัด ROSs ในการศึกษาครั้งนี้สนับสนุนความสามารถในการทนต่อภาวะเค็มของ CSSL ทั้งสองสายพันธุ์ โดยพบว่า CSSL16 นี้มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ APX และ GR สูงกว่า KDML105 หลังจากได้รับภาวะเค็มระดับปานกลางเป็นเวลา 48 ชั่วโมง (ภาพที่ 25ข และ 27ข) สอดคล้องกับการที่มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ณ ช่วงเวลานี้ต่ำกว่า KDML105 (ภาพที่ 17ข) จึงกล่าวได้ว่าเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในการป้องกันภาวะเครียดจากการเกิดออกซิเดชันในภาวะเค็มระดับปานกลางสำหรับ CSSL16 คือเอนไซม์ในวัฏจักร ascorbate-glutathione ซึ่งได้แก่ APX และ GR สำหรับ CSSL11 นั้น มีการควบคุมปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในภาวะเค็มระดับปานกลางได้ดีเช่นเดียวกับ CSSL16 (ภาพที่ 17ข) ซึ่งพบว่ามีแอกทิวิตีของเอนไซม์ APX และ GR สูงกว่า KDML105 ที่ระยะเวลา 6 และ 48 ชั่วโมง (ภาพที่ 25ข และ 27ข) แม้จะมีการตอบสนองที่เร็วกว่า CSSL16 แต่ท้ายที่สุดแล้วทั้ง 2 สายพันธุ์ มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ APX และ GR ไม่ต่างกันหลังจากได้รับภาวะเค็มเป็นเวลา 48 ชั่วโมงนี้ จึงอาจเป็นเหตุผลหนึ่งที่ทำให้ CSSL11 และ CSSL16 มีค่าความเสียหายจากความเค็มไม่ต่างกัน (นพวิชญพงศ์ เครือสาร et al., 2556)

ส่วน CSSL สายพันธุ์อื่น ๆ มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ต่าง ๆ สูงกว่า KDML105 ในบางช่วงเวลา ได้แก่ แอกติวิตีของเอนไซม์ GPX ใน CSSL7 (ภาพที่ 13ข) แอกทิวิตีของเอนไซม์ SOD ใน CSSL10 และ CSSL12 (ภาพที่ 15ข) แอกทิวิตีของเอนไซม์ APX ใน CSSL7 และ CSSL26 (ภาพที่ 15ข) แอกทิวิตีของเอนไซม์ GR ใน CSSL7 CSSL10 CSSL12 และ CSSL26 (ภาพที่ 16ข) หลังจากได้รับภาวะเค็มระดับปานกลาง 6 ชั่วโมง แอกทิวิตีของเอนไซม์ GPX ใน CSSL7 CSSL10 และ CSSL26 (ภาพที่ 13ข) แอกทิวิตีของเอนไซม์ APX ใน CSSL10 CSSL12 และ CSSL26 (ภาพที่ 15ข) แอกทิวิตีของเอนไซม์ GR ใน CSSL7 CSSL10 CSSL12 และ CSSL26 (ภาพที่ 16ข) หลังจากได้รับภาวะเค็มระดับปานกลาง 48 ชั่วโมง แต่ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในสายพันธุ์เหล่านี้ไม่แตกต่างจาก KDML105 (ภาพที่ 17ข) จึงกล่าวได้ว่าแอกทิวิตีของเอนไซม์ต่าง ๆ ที่มากกว่า KDML105 นั้นยังไม่มากพอที่จะกำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ให้ต่ำลงกว่า KDML105 ได้ จึงทำให้ในภาวะเค็มที่สูงและนานขึ้นสายพันธุ์ CSSL เหล่านี้มีค่าความเสียหายจากความเค็มไม่ต่างจาก KDML105 (นพวิชญพงศ์ เครือสาร et al., 2556) ทั้งนี้จะเห็นได้ว่า สายพันธุ์ CSSL ส่วนใหญ่มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ APX และ GR สูงกว่า KDML105 เอนไซม์ทั้งสองเอนไซม์นี้จึงมีบทบาทสำคัญในการป้องกันความเครียดจากการเกิดออกซิเดชันที่เกิดภายใต้ภาวะเค็มระดับปานกลางในประชากรข้าว CSSL ในช่วงเวลาที่ศึกษา นอกจากนี้ ยังมีเอนไซม์ GPX และ SOD ที่มีบทบาทร่วมด้วยเช่นกัน สำหรับเอนไซม์ CAT ใน CSSL นั้นมีบทบาทในการป้องกันความเครียดออกซิเดชันด้วยเช่นกัน โดยพบการเพิ่มแอกทิวิตีอย่างมากที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง แต่เป็นการตอบสนองต่อภาวะเค็มที่ไม่แตกต่างจาก KDML105 (ภาพที่ 20ก) โดยทั่วไป ในการควบคุมปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์รวมทั้ง ROSs ชนิดอื่น ๆ ให้อยู่ในระดับปกติและในระดับที่มีบทบาทเป็นโมเลกุลสัญญาณนั้น ต้องอาศัยการทำงานของเอนไซม์หลายชนิดร่วมกัน (Dionisio-Sese and Tobita, 1998; Vaidyanathan et al., 2003; Moradi and Ismall, 2007; Kumar et al., 2009; El-Shabrawi et al., 2010; Mishra et al., 2011; Chawla et al., 2013) Mittler (2002) ให้ความเห็นว่า ความแตกต่างกันของค่า affinity ต่อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของ APX (ระดับโมลาร์) และ CAT (ระดับมิลลิโมลาร์) แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ CAT อาจมีบทบาทในการควบคุม ROSs ให้อยู่ในระดับที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ และ APX อาจทำหน้าที่ควบคุมให้มี ROSs ในระดับที่มีบทบาทเป็นโมเลกุลสัญญาณ

จากการวิเคราะห์สหสัมพันธ์ระหว่างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และแอกทิวิตีของเอนไซม์ต่าง ๆ ในข้าวพันธุ์สายพันธุ์ที่ศึกษา ได้แสดงให้เห็นถึงภาพรวมของการเปลี่ยนแปลงปริมาณไฮโดรเจน

เปอร์ออกไซด์และระบบการควบคุมด้วยเอนไซม์ที่ขึ้นกับระดับของภาวะเค็มและระยะเวลาของการได้รับภาวะเค็ม ทั้งนี้จะเห็นว่า ที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมงของการได้รับภาวะเค็มระดับปานกลาง มีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และแอกทิวิตีของเอนไซม์ต่าง ๆ ในทิศทางเดียวกัน (ตารางที่ 15) ส่วนการได้รับภาวะเค็มระดับสูงเริ่มเห็นความสัมพันธ์เชิงลบระหว่างปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และแอกทิวิตีของบางเอนไซม์ แต่ทั้งนี้ยังไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 16) แสดงให้เห็นว่า มีความเครียดจากออกซิเดชันมากขึ้นกว่าที่พบในภาวะเค็มระดับปานกลาง นอกจากนี้ การพบความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างแอกทิวิตีของเอนไซม์ CAT GPX และ APX ทั้งในภาวะเค็มระดับกลางและระดับสูง (ตารางที่ 15 และ16) ซึ่งเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดนี้ต่างก็ทำหน้าที่กำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เหมือนกัน แต่มีบริเวณหลักที่อยู่ในเซลล์แตกต่างกัน (Sharma et al., 2012) แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดนี้มีบทบาทที่ช่วยให้การกำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เกิดได้ครอบคลุมบริเวณต่าง ๆ ในเซลล์ นอกจากนี้การมีความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างแอกทิวิตีของเอนไซม์ APX และ GR สอดคล้องกับการเป็นเอนไซม์ที่อยู่ในวัฏจักร ascorbate-glutathione เช่นเดียวกัน (Sharma et al., 2012)

เมื่อได้รับภาวะเค็มระดับกลางเป็นเวลา 24 ชั่วโมงพบเพียงความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างเอนไซม์ APX และ GR ที่อยู่ในวัฏจักรเดียวกันโดยมีนัยสำคัญน้อยกว่าที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง (ตารางที่ 15 และ17) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าระดับการตอบสนองของแต่ละเอนไซม์เปลี่ยนแปลงไปตามระยะเวลาที่ได้รับภาวะเค็ม ส่วนการได้รับภาวะเค็มระดับสูงที่ระยะเวลาเดียวกันทำให้เห็นความสัมพันธ์เชิงลบระหว่างปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และแอกทิวิตีของเอนไซม์ GPX โดยเอนไซม์ GPX มีความสัมพันธ์เชิงบวกเฉพาะกับเอนไซม์ CAT (ตารางที่ 18) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ทั้ง 2 เอนไซม์นี้มีบทบาทสำคัญในการกำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในข้าวที่ได้รับภาวะเค็มระดับสูงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ส่วนการตอบสนองของเอนไซม์อื่น ๆ นั้นมีระดับแตกต่างกันออกไปทำให้เห็นความสัมพันธ์เชิงบวกที่มีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างเอนไซม์บางเอนไซม์เท่านั้น (ตารางที่ 18)

การได้รับภาวะเค็มระดับปานกลางเป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าเอนไซม์ SOD มีความสัมพันธ์เชิงลบกับปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จึงเป็นไปได้ว่าเอนไซม์ SOD มีบทบาทสำคัญในการกำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ แต่เอนไซม์ SOD นั้นทำให้เกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยการเปลี่ยนซุปเปอร์ออกไซด์ไอออนให้เป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Sharma et al., 2012) ดังนั้นจะต้องมีเอนไซม์อื่นที่เข้ามากำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซึ่งจะเห็นได้ว่า เอนไซม์ SOD มีแนวโน้มของ

ความสัมพันธ์เชิงบวกกับเอนไซม์ APX แต่ยังไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเอนไซม์ APX มีความสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญกับเอนไซม์ CAT และ GR ดังนั้นเอนไซม์ 3 เอนไซม์นี้จึงมีบทบาทสำคัญในการช่วยกันกำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เกิดจากการทำงานของเอนไซม์ SOD ในข้าวที่ได้รับภาวะเค็มระดับปานกลางเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ส่วนแอกทิวิตีของ GPX นั้นมีการเปลี่ยนแปลงในทิศทางเดียวกันกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (ตารางที่ 19) อาจแสดงถึงการมีบทบาทที่น้อยกว่าเอนไซม์ชนิดอื่น ๆ เมื่อมองในภาพรวมของข้าว ส่วนการได้รับภาวะเค็มระดับสูงเป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีแนวโน้มของความสัมพันธ์เชิงลบกับเอนไซม์ทุกเอนไซม์ที่ทำการศึกษา โดยพบความสัมพันธ์ที่มีนัยสำคัญทางสถิติกับเอนไซม์ SOD (ตารางที่ 20) ทำให้เห็นว่าเอนไซม์ทุกเอนไซม์มีส่วนช่วยในการกำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ แต่ทั้งนี้พบเพียงเอนไซม์ GR ที่มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับเอนไซม์ GPX และ APX

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทที่ 6
สรุปผลการทดลอง

ภาวะเครียดจากความเค็มส่งผลให้มีการตอบสนองของเอนไซม์ต้านออกซิเดชันในประชากรข้าว CSSL แตกต่างกันออกไป ขึ้นอยู่กับระดับความเค็มและระยะเวลาที่ได้รับภาวะเค็ม โดยกลไกของเอนไซม์ที่มีบทบาทต้านออกซิเดชันที่เกิดในภาวะเครียดจากความเค็มทั้งในภาวะเค็มระดับปานกลาง (โซเดียมคลอไรด์ 75 มิลลิโมลาร์) และภาวะเค็มระดับสูง (โซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์) ในประชากรข้าว CSSL ได้แก่ guaiacol peroxidase (GPX) superoxide dismutase (SOD) ascorbate peroxidase (APX) และ glutathione reductase (GR) ซึ่งเป็นการตอบสนองของเอนไซม์ที่ดีกว่าใน KDML105 และส่งผลให้สายพันธุ์ CSSL มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในบางช่วงเวลาต่ำกว่า KDML105 โดยเฉพาะ CSSL11 และ CSSL16 ซึ่งมีความสามารถในการทนเค็มสูงพบว่ามีแนวโน้มปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่ำกว่า KDML105 ในหลายช่วงเวลา แอกทิวิตีของเอนไซม์ต้านออกซิเดชันจึงเป็นกลไกสำคัญที่ทำให้ประชากรข้าว CSSL มีความสามารถในการทนเค็ม

แอกทิวิตีของเอนไซม์ต้านออกซิเดชันที่แตกต่างกันในประชากรข้าว CSSL และ KDML105 สัมพันธ์กับปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ แต่ไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณน้ำสัมพัทธ์ การเติบโตและปริมาณรงควัตถุในใบ ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกันในประชากรข้าว CSSL และ KDML105 เนื่องจากพันธุ์ DH212 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ให้ยีนบางชิ้นส่วนบนโครโมโซม 1 แก่ประชากรข้าว CSSL มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ที่ดีกว่า KDML105 และมีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่ำกว่า KDML105 ทำให้สายพันธุ์ CSSL ที่ได้รับการถ่ายทอดยีนบางชิ้นส่วนจาก DH212 มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ดีกว่า KDML105 และมีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่ำกว่า KDML105 แอกทิวิตีของเอนไซม์และปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จึงเป็นค่าที่สัมพันธ์กับระดับความทนเค็มในต้นข้าว สำหรับค่าปริมาณรงควัตถุในใบของ DH212 นั้นค่อนข้างต่ำกว่า KDML105 ทำให้สายพันธุ์ CSSL มีค่านี้ไม่สูงไปกว่า KDML105 นอกจากนี้ไม่เห็นการตอบสนองของปริมาณน้ำสัมพัทธ์ และการเจริญเติบโตในในประชากรข้าว CSSL และ KDML105 ที่สัมพันธ์กับระดับความทนเค็ม ในช่วงเวลาที่ศึกษา

CHULALONGKORN UNIVERSITY

ข้อเสนอแนะ

ในการศึกษานี้ทำให้ทราบว่าความสามารถในการทนเค็มของข้าวสัมพันธ์กับแอกทิวิตีของเอนไซม์ต้านออกซิเดชันและปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในใบข้าว แต่อย่างไรก็ตามหากมีการวัดปริมาณซุปเปอร์ออกไซด์ไอออน และเอนไซม์อื่น ๆ เพิ่มเติมจะทำให้ทราบความเชื่อมโยงกันของเอนไซม์แต่ละตัวมากขึ้น ความสามารถในการทนเค็มของพืชยังสัมพันธ์กับกลไกอื่น ๆ เช่นการรักษาอัตราส่วนโซเดียม/โพแทสเซียมในรากและต้น การสังเคราะห์ด้วยแสง เป็นต้น จึงควรมีการศึกษากลไกอื่น ๆ ที่ทำให้ประชากรข้าว CSSL มีความสามารถในการทนเค็มร่วมด้วย นอกจากนี้ควรศึกษาการแสดงออกของยีนที่มีความสำคัญในภาวะเครียดของพืช เช่น *LOC_Os01g68450* เพื่อให้ทราบความเกี่ยวข้องกันของแอกทิวิตีของเอนไซม์และการแสดงออกของยีน ทั้งนี้ในการได้รับภาวะเค็มเพียง 48 ชั่วโมง ไม่ทำให้น้ำหนักสดต้น น้ำหนักแห้งต้น ปริมาณน้ำสัมพัทธ์และปริมาณรงควัตถุในการสังเคราะห์ด้วยแสงใน CSSL แตกต่างจาก KDML105 ดังนั้นการศึกษาเพื่อทดสอบระดับความทนเค็มของพันธุ์/สายพันธุ์ข้าวต่าง ๆ ในระยะสั้นไม่มีความจำเป็นต้องเก็บผลค่าเหล่านี้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

รายการอ้างอิง

Abbas, M. K., Ali, A. S., Hasan, H. H. and Ghal, R. H. 2013. Salt tolerance study of six cultivars of rice (*Oryza sativa* L.) during germination and early seedling growth. **Journal of Agricultural Science** 5: 250-259.

Abrol, I. P., Yadav, J. S. P. and Massoud, F. I. 1988. **Salt-affected soils and their management.** Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Ali, Y., Aslam, Z., Ashraf , M. Y. and Tahir , G. R. 2004. Effect of salinity on chlorophyll concentration, leaf area, yield and yield components of rice genotypes grown under saline environment. **International Journal of Environmental Science and Technology** 1: 221-225.

Amirjani, M. R. 2010. Effect of NaCl on some physiological parameters of rice. **European Journal of Biological Sciences** 3: 6-16.

Arnon, D. I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology** 24: 1-15.

Arve, L. E., Torre, S., Olsen, J. E. and Tanino, K. K. 2011. Stomatal responses to drought stress and air humidity. In Shanker, A. (ed.), **Abiotic stress in plants – mechanisms and adaptations**, pp. 267-280. Rijeka, Croatia: InTech.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Beers, R. F. and Sizer, L. W. 1952. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. **Journal of Biological Chemistry** 195: 133-140.

Bueckert, R. A. 2013. General principles of plant water relations. **Prairie Soils and Crops Journal** 6: 107-118.

Cha-um, S., Kirdmaneea, C. and Supaibulwatanab, K. 2004. Biochemical and physiological responses of Thai jasmine rice (*Oryza sativa* L. ssp. *indica* cv. KDML105) to salt stress. **Science Asia** 30: 247-253.

Cha-um, S., Trakulyingcharoen, T., Smitamana, P. and Kirdmanee, C. 2009. Salt tolerance in two rice cultivars differing salt tolerant abilities in responses to iso-osmotic stress. **Australian Journal of Crop Science** 3: 221-230.

Chawla, S., Jain, S. and Jain, V. 2013. Salinity induced oxidative stress and antioxidant system in salt-tolerant and salt-sensitive cultivars of rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology** 22: 27-34.

Chutipaijit, S., Cha-um, S. and Sompornpailin, K. 2009. Differential accumulations of proline and flavonoids in indica rice varieties against salinity. **Pakistan Journal of Botany** 41: 2497-2506.

Dionisio-Sese, M. L. and Tobita, S. 1998. Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. **Plant Science** 135: 1-9.

Doganlar, Z. B., Demir, K., Basak, H. and Gul4, I. 2010. Effects of salt stress on pigment and total soluble protein contents of three different tomato cultivars. **African Journal of Agricultural Research** 5: 2056-2065.

Eisenberg, G. M. 1943. Colorimetric determination of hydrogen peroxide. **Industrial and Engineering Chemistry** 15: 327-328.

El-Shabrawi, H., Kumar, B., Kaul, T., Reddy, M. K., Singla-Pareek, S. L. and Sopory, S. K. 2010. Redox homeostasis, antioxidant defense, and methylglyoxal detoxification as markers for salt tolerance in Pokkali rice. **Protoplasma** 245: 85-96.

Food and Agriculture Organization. 2009. **High level expert forum - How to feed the world in 2050**. [Online]. Available from http://www.fao.org/fileadmin/templates/wsfs/docs/Issues_papers/HLEF2050_Global_Agriculture.pdf [2015, Febuary 11]

Food and Agriculture Organization. 2014a. **Food and agricultural commodities production**. [Online]. Avialable from: http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx [2015, May 20]

Food and Agriculture Organization. 2014b. **World reference base for soil resources 2014 : International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps**. [Online]. Available from: http://www.fao.org/3/a-i3794e.pdf [2015, March 20]

Gall, H. L., Philippe, F., Domon, J.-M., Gillet, F., Pelloux, J. and Rayon, C. 2015. Cell wall metabolism in response to abiotic stress. **Plants** 4: 112-166.

Grattan, S. R., Zeng, L., Shannon, M. C. and Roberts, S. R. 2002. Rice is more sensitive to salinity than previously thought. **California Agriculture** 56: 189-195.

Hajiboland, R. 2014. Reactive oxygen species and photosynthesis. In Ahmad, P. (ed.), **Oxidative damage to plants: antioxidant networks and signaling**, pp. 1-50. Waltham: Elsevier.

Hasanuzzaman, M., Nahar, K. and Fujita, M. 2013. Plant response to salt stress and role of exogenous protectants to mitigate salt-induced damages. In Ahmad, P., Azooz, M. M. and Prasad, M. N. V. (eds.), **Ecophysiology and responses of plants under salt stress**, pp. 25-87. New York: Springer-Verlag

Hefny, M. and Abdel-Kader, D. Z. 2009. Antioxidant-enzyme system as selection criteria for salt tolerance in forage sorghum genotypes (*Sorghum bicolor* L. Moench). In Ashraf, M., Ozturk, M. and Athar, H.-u.-R. (eds.), **Salinity and water stress,**, pp. 25-36. Netherlands: Springer

Jampeetong, A. and Brix, H. 2009. Effects of NaCl salinity on growth, morphology, photosynthesis and proline accumulation of *Salvinia natans*. **Aquatic Botany** 91: 181–186.

Jana, S. and Choudhuri, M. A. 1982. Glycolate metabolism of three submerged aquatic angiosperms during ageing. **Aquatic Botany** 12: 345-354.

Jensen, C. R. 1981. Influence of water and salt stress on water relationships and carbon dioxide exchange of top and roots in beans. **New Phytologist** 87: 285-295.

Kanjoo, V. 2012. **Development of Chromosome Segment Substitution Lines Related to Drought Tolerance in Rice (*Oryza sativa* L.)**. Doctoral dissertation, Agricultural Biotechnology, Interdisciplinary Graduate Program, Graduate School, Kasetsart University.

Katerji, N., van Hoorn, J. W., Mastrorilli, M. and Hamdy, A. 2005. Crop sensitivity to salinity. In Hamdy, A., El Gamal, F., Lamaddalena, N., Bogliotti, C. and Guelloubi, R. (eds.). **Non-conventional Water Use: WASAMED Project**, pp. 43-51. Cairo, Egypt.

Kawahara, Y., de la Bastide, M., P., H. J., Kanamori, H., McCombie, W. R., Ouyang, S., Schwartz, D. C., Tanaka, T., Wu, J., Zhou, S., Childs, K. L., Davidson, R. M., Lin, H., Quesada-Ocampo, L., Vaillancourt, B., Sakai, H., Lee, S. S., Kim, J., Numa, H., Itoh, T., Buell, C. R. and Matsumoto, T. 2013. Improvement of the Oryza sativa Nipponbare reference genome using next generation sequence and optical map data. **Rice** 6: 1-10.

Khatun, S. and Flowers, T. J. 1995. Effects of salinity on seed set in rice. **Plant Cell and Environment** 18: 61-67.

Khavari-Nejad, R. A. and Mostofi, Y. 1998. Effects of NaCl on photosynthetic pigments, saccharides, and chloroplast ultrastructure in leaves of tomato cultivars. **Photosynthetica** 35: 151-154.

Kumar, V., Shriram, V., Nikam, T. D., Jawali, N. and Shitole, M. G. 2009. Antioxidant enzyme activities and protein profiling under salt stress in indica rice genotypes differing in salt tolerance. **Archives of Agronomy and Soil Science** 55: 379-394.

Kwon, T. R., Lee, J. O., Lee, S. K. and Park, S. C. 2009. Water loss and gene expression of rice (*Oryza sativa* L.) plants under dehydration. In Ashraf, M., Ozturk, M. and Athar, H.-u.-R. **Salinity and water stress**, pp.73-83. Netherlands: Springer.

Läuchli, A. and Grattan, S. R. 2007. Plant growth and development under salinity stress. In Jenks, M. A., Hasegawa, P. M. and Jain, S. M. (eds.), **Advances in molecular breeding toward drought and salt tolerant crops**, pp. 1-32. Netherlands: Springer.

Lee, M. H., Cho, E. J., Wi, S. G., Bae, H., Kim, J. E., Cho, J.-Y., Lee, S., Kim, J.-H. and Chung, B. Y. 2013. Divergences in morphological changes and antioxidant responses in salt-tolerant and salt-sensitive rice seedlings after salt stress. **Plant Physiology and Biochemistry** 70: 325-335.

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

Chulalongkorn University

MacAdam, J. W., Sharp, R. E. and Nelson, C. J. 1992. Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue. II. spatial distribution of apoplastic peroxidase activity in genotypes differing in length of the elongation zone. **Plant Physiology** 99: 879-885.

Mahajan, S. and Tuteja, N. 2005. Cold, salinity and drought stresses: an overview. **Archives of Biochemistry and Biophysics** 444: 139-158.

Mandhania, S., Madan, S. and Sheokand, S. 2010. Differential response in salt tolerant and sensitive genotypes of wheat in terms of ascorbate, carotenoids proline and plant water relations. **Asian Journal of Experimental Biological Sciences** 1: 792-797.

McCord, J. M. and Fridovich, I. 1969. Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). **The Journal of Biological Chemistry** 244: 6049-6055.

Mishra, P., Bhoomika, K. and Dubey, R. S. 2011. Differential responses of antioxidative defense system to prolonged salinity stress in salt-tolerant and salt-sensitive Indica rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. **Protoplasma** 250: 3-19.

Misra, A. N., Sahu, S. M., Misrabf, M., K.Ramaswamyc, N. and S.Desaid, T. 1999. Sodium chloride salt stress induced changes in thylakoid pigment-protein complexes, photosystem II activity and thermoluminescence glow peaks. **Zeitschrift für Naturforschung C** 54: 640-644.

Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science** 9: 405-410.

Moradi, F. and Ismall, A. M. 2007. Responses of photosynthesis, chlorophyll fluorescence and ROS-scavenging systems to salt stress during seedling and reproductive stages in rice. **Annals of Botany** 99: 1161-1173.

Morales, S. G., Trejo-Téllez, L. I., Merino, F. C. G., Caldana, C., Espinosa-Victoria, D. and Cabrera, B. E. H. 2012. Growth, photosynthetic activity, and potassium and sodium concentration in rice plants under salt stress. **Acta Scientiarum** 34: 317-324.

Munns, R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant, Cell and Enviroment** 25: 239-250.

Nakano, Y. and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and Cell Physiology** 22: 867-880.

Netto, A. T., Campostrini, E., Oliveira, J. G. a. d. and Bressan-Smith, R. E. 2005. Photosynthetic pigments, nitrogen, chlorophyll a fluorescence and SPAD-502 readings in coffee leaves. **Scientia Horticulturae** 104: 199-209.

Oliveira, A. B. d., Alencar, N. L. M. and Gomes-Filho, E. 2013. Comparison between the water and salt stress effects on plant growth and development. In Akinci, S. (ed.), **Responses of Organisms to Water Stress**, pp. 67-94. Croatia: InTech.

Panda, D., Ghosh, D. C. and Kar, M. 2013. Effect of salt stress on the pigment content and yield of different rice (Oryza sativa L.) genotypes. **International Journal of Bio-resource and Stress Management** 4: 431-434.

Parida, A. K. and Das, A. B. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 60: 324-349.

Pattanagul, W. and Thitisaksakul, M. 2008. Effect of salinity stress on growth and carbohydrate metabolism in three rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity tolerance. **Indian Journal of Experimental Biology** 46: 736-742.

Pitkin, R. B. 1992. Enzyme investigations for introductory courses. In C. A. Goldman (ed.).**Tested Studies for Laboratory Teaching**, pp. 107-118. University of Nevada, Las Vegas.

Pongprayoon, W., Roytrakul, S., Pichayangkura, R. and Chadchawan, S. 2013. The role of hydrogen peroxide in chitosan-induced resistance to osmotic stress in rice (*Oryza sativa* L.). **Plant Growth Regulation** 70: 159-173.

Pritchard, J. 2001. Turgor pressure. In Hetherington, A. M. (ed.), **Encyclopedia of life sciences**, pp. 1-3. New Jersey, USA: John Wiley and Sons.

Sankar, P. D., Saleh, M. A. A. M. and Selvaraj, C. I. 2011. Rice breeding for salt tolerance. **Research in Biotechnology** 2: 1-10.

Shabala, S. and Cuin, T. A. 2007. Potassium transport and plant salt tolerance. **Physiologia Plantarum** 133: 651-669.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S. and Pessarakli, M. 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany** 2012: 1-26.

Siangliw, J. L., Jongdeeb, B., Pantuwanc, G. and Toojindaa, T. 2007. Developing KDML105 backcross introgression lines using marker-assisted selection for QTLs associated with drought tolerance in rice. **Science Asia** 33: 207-214.

Sies, H. 1993. Strategies of antioxidant defense. **European Journal of Biochemistry** 215: 213-219.

Sies, H. 1997. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. **Experimental Physiology** 82: 291-295.

Singh, M. P., Singh, D. K. and Rai, M. 2007. Assessment of growth, physiological and biochemical parameters and activities of antioxidative Enzymes in Salinity tolerant and sensitive basmati rice varieties. **Journal of Agronomy and Crop Science** 193: 398-412.

Smith, I. K., Vierheller, T. L. and Thorne, C. A. 1988. Assay of glutathione reductase in crude tissue homogenates using 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid). **Analytical Biochemistry** 175: 408-413.

Sobhanian, H., Aghaei, K. and Komatsu, S. 2011. Changes in the plant proteome resulting from salt stress: Toward the creation of crops? **Journal of Proteomics** 74: 1323–1337.

Steudle, E. 2000. Water uptake by roots: effects of water deficit. **Journal of Experimental Botany** 51: 1531-1542.

Taiz, L. and Zeiger, E. 2010. **Plant physiology.** 5th ed. Sunderland, MA: Sinauer Associates.

Thai Rice Exporters Association. 2015. **Rice export quantity and value : 2014**. [Online]. Avialable from: http://www.thairiceexporters.or.th/statistic_2014.html [2015, May 15]

Torabi, M., Halim, R. A., Mokhtarzadeh, A. and Miri, Y. 2013. Physiological and biochemical responses of plants in saline environment. In Roychowdhury, R. (ed.), **Crop biology and agriculture in harsh environments**, pp. 47-80. Germany: Lap Lambert Academic Publishing.

Turner, N. C. 1981. Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water status. **Plant and Soil** 58: 339-366.

United Nations. 2014. **Agriculture in the face of climate change has to up its game to meet future population demand**. [Online]. Available from: http://www.21stcentech.com/agriculture-face-climate-change-game-meet-future-population-demand [2015, May 15]

Vaidyanathan, H., Sivakumar, P., Chakrabarty, R. and Thomas, G. 2003. Scavenging of reactive oxygen species in NaCl stressed rice (Oryza sativa L.) -differential response in salt tolerant and sensitive cultivars. **Plant Science** 165: 1411–1418.

Verzandvoort, S. 2010. **Tackling salinizationof soils in arid and semi-arid regions**. [Online]. Available from: http://desire-project.eu/index3d3b.html?option=com_content&task=view&id=180&Itemid=1 [2015, January 10]

Vysotskaya, L., Hedley, P. E., Sharipova, G., Veselov, D., Kudoyarova, G., Morris, J. and Jones, H. G. 2010. Effect of salinity on water relations of wild barley plants differing in salt tolerance. **AoB PLANTS** 2010: 1-8.

Wellburn, A. R. 1994. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal of Plant Physiology** 144: 307-313.

Yildirim, E., Karlidag, H. and Turan, M. 2009. Mitigation of salt stress in strawberry by foliar K, Ca and Mg nutrient supply. **Plant Soil and Environment** 55: 213-221.

Zeng, L., Lesch, S. M. and Grieve, C. M. 2003. Rice growth and yield respond to changes in water depth and salinity stress. **Agricultural Water Management** 59: 67-75.

Zeng, L., Shannon, M. C. and Lesch, S. M. 2001. Timing of salinity stress affects rice growth and yield components. **Agricultural Water Management** 48: 191-206.

การข้าว, กรม. 2553. ข้าวขาวดอกมะลิ **105**. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.brrd.in.th/library/document/E-book/brrd5301008c1.pdf [10 มีนาคม 2558]

การข้าว, กรม. 2556. เขตการปลูกข้าวของไทย. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.thairice.org/doc_dl/doc-zoning/kingkraw.pdf [10 มีนาคม 2558]

การข้าว, กรม. 2558. ดินเค็ม. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://brrd.in.th/rkb/Fact%20Sheet/Fertilizer/Fertilizer_022.pdf [15 มีนาคม 2558]

เกษตรกรรมบางไทร, ศูนย์. 2555. สูตรอาหารพืชไฮโดรโปนิกส์. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.bangsaiagro.com/formula.aspx [30 กันยายน 2555]

พัฒนาที่ดิน, กรม. 2553. คู่มือการปฏิบัติงานกระบวนการวิเคราะห์ตรวจสอบดินทางเคมี. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.ldd.go.th/PMQA/2553/Manual/OSD-03.pdf [10 กรกฎาคม 2557]

ธีรยุทธ ตู้จินดา, Jonaliza L. Siangliw, กาญจนา ปัญญาแวว และ ไวพจน์ กันจู. 2554. Development of single QTL near isogenic lines (NILs) of KDML105 for drought tolerance. ใน รายงานการวิจัย พัฒนาและวิศวกรรม ฉบับสมบูรณ์, ณ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ จังหวัดปทุมธานี.

นพวิชญพงศ์ เครือสาร, กิติพร พลายมาศ, บุญธิดา โฆษิตทรัพย์, อัญชลี ใจดี, ธีรพงษ์ บัวบูชา, มีชัย เซี่ยงหลิว, ธีรยุทร ตู้จินดา และ ศุภจิตรา ชัชวาลย์. 2556. เครือข่ายการแสดงออกร่วมของยีนในบริเวณที่คาดว่าเกี่ยวข้องกับความทนเค็มบนโครโมโซมที่ 1 ในข้าว (*Oryza sativa* L.). **Thai Journal of Genetics** 6: 30-35.

พนิตา ชุติมานุกูล, ศุภจิตรา ชัชวาลย์, ธีรพงษ์ บัวบูชา, มีชัย เซี่ยงหลิว, ธีรยุทธ ตู้จินดา, อัญชลี ใจดี และ บุญธิดา โฆษิตทรัพย์. 2556. การตอบสนองต่อการสังเคราะห์ด้วยแสงของข้าวจากประชากร CSSL ในภาวะเครียดที่เกิดจากความเค็ม. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 44: 177-180.

เอิบ เขียวรื่นรมณ์. 2550. ดินเค็มในประเทศไทย. กรุงเทพมหานคร: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

การวิเคราะห์ค่า pH และ EC ของดิน ดัดแปลงจากวิธีการของกรมพัฒนาที่ดิน (2553)

1.อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์ค่า pH และ EC

1.1 อุปกรณ์สำหรับเตรียมตัวอย่างดิน

- เครื่องชั่ง
- ช้อนตักสาร
- หลอด centrifuge ขนาด 15 มิลลิลิตร
- เครื่องดูดจ่ายของเหลว (dispenser Duran)
- เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอนชนิดควบคุมอุณหภูมิ (Refrigerated centrifuge รุ่น Universal 2R, บริษัท Hettich ประเทศเยอรมนี)

1.2 อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์ค่า pH

- เครื่องวัด pH (pH meter รุ่น SevenCompact^{TM} pH/Ion S220, บริษัท Mettler Toledo ประเทศสวิตเซอร์แลนด์)
- กระบอกน้ำกลั่น

1.3 อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์ค่า EC

- เครื่องวัดค่า EC (Electrical conductivity meter รุ่น SevenCompact^{TM} Conductivity S230, บริษัท Mettler Toledo ประเทศสวิตเซอร์แลนด์)
- กระบอกน้ำกลั่น

2 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ค่า pH และ EC

2.1 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ค่า pH

- สารละลายมาตรฐาน pH 4.01 (standard buffer solution pH 4.01)
- สารละลายมาตรฐาน pH 7.00 (standard buffer solution pH 7.00)
- สารละลายมาตรฐาน pH 9.21 (standard buffer solution pH 9.21)

2.2 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ค่า EC

- สารละลายมาตรฐาน EC 1413 μS/cm (conductivity standard 1413 μS/cm)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3 วิธีการวิเคราะห์ค่า pH และ EC

3.1 สกัดดินในอัตราส่วน ดิน : น้ำ เท่ากับ 1 : 5 โดยชั่งดินที่ตำละเอียดแล้ว 2 กรัม ใส่ในหลอด centrifuge แล้วเติมน้ำ 10 มิลลิลิตร เขย่าจนสารละลายดินเป็นเนื้อเดียวกันกับน้ำ

3.2 นำหลอด centrifuge ที่มีสารละลายดินปั่นเหวี่ยงที่ 8,000 rpm อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แล้วเก็บส่วนสารละลายใสนำไปวัดค่า pH และ EC

3.3 นำไปอ่านค่า pH ด้วยเครื่องวัด pH และอ่านค่า EC ด้วยเครื่องวัด EC

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ข

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

1.วิธีสกัดตัวอย่างพืชและวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์

1.1 วิธีสกัดเอนไซม์จากตัวอย่างพืช (Beers และ Sizer, 1952)

a) เตรียมสารละลายที่ใช้สกัดเอนไซม์ (extraction buffer) ประกอบด้วย

- potassium phosphate buffer (pH 7) 50 มิลลิโมลาร์
- PVPP (polyvinylpolypyrrolidone) 4 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร
- DTT (dithiothreitol) 4 มิลลิโมลาร์
- PMSF (phenylmethylsulfonyl fluoride) 1 มิลลิโมลาร์ (stock เตรียมใน isopropanol)

โดยเตรียมสารละลายใหม่ทุกครั้งที่ทำการสกัด

b) นำตัวอย่างใบประมาณ 100 มิลลิกรัม ใส่ในหลอดตัวอย่าง (microcentrifuge tube) ที่มีลูกบดขนาด 2 มิลลิเมตร ประมาณ 15 ลูก แล้วนำไปบดด้วยเครื่องบดตัวอย่าง ซึ่งให้ความเย็นโดยใช้ไนโตรเจนเหลว ใช้ความเร็วในการบดเขย่า 30 รอบต่อวินาที เป็นเวลา 3 นาที เก็บตัวอย่างที่บดแล้วในไนโตรเจนเหลว

c) เติม extraction buffer ลงในหลอดตัวอย่าง ตัวอย่างละ 1 มิลลิลิตร นำไป vortex แล้วแช่หลอดตัวอย่างไว้ในน้ำแข็ง

d) ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

e) เก็บส่วนที่เป็นสารละลายใส (supernatant) ใส่ microcentrifuge tube ใหม่เพื่อนำไปใช้วัดแอกทิวิตีของเอนไซม์ต่าง ๆ และปริมาณโปรตีนทั้งหมดต่อไป

1.2 การวิเคราะห์แอกทิวิตีของเอนไซม์ด้วยวิธี spectrophotometric assay

สำหรับเอนไซม์ catalase (CAT) guaiacol peroxidase (GPX) ascorbate peroxidase (APX) และ glutathione reductase (GR) ใช้วิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายใน microplate โดยดูดสารละลายใส่ microplate แต่ละ well ดังนี้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

solution	reference well (μl)	sample well (μl)
50 mM potassium phosphate buffer (pH 7)	20	-
crude extract	-	20
substrate mixture	180	180

และคำนวณค่ากิจกรรมของเอนไซม์โดยใช้สมการ

units / mg protein

$$= \frac{(\Delta A_{sample}/min - \Delta A_{reference}/min) \times (\text{vol of reaction}) \times (\text{dilution factor})}{(e^{mM}) \times (\text{vol of crude extract}) \times (\text{path length in cm}) \times (\text{mg protein/ ml crude extract})}$$

โดยที่ e^{mM} = milimolar extinction coefficient ($mM^{-1}cm^{-1}$)

1.2.1 การวิเคราะห์แอกทิวิตีของเอนไซม์ catalase (CAT) (ดัดแปลงจากวิธีของ Beer และ Sizer, 1952)

a) เตรียม substrate mixture สำหรับการวัดแอกทิวิตีของเอนไซม์ catalase ประกอบด้วย

- potassium phosphate buffer (pH 7) 50 มิลลิโมลาร์
- hydrogen peroxide 10 มิลลิโมลาร์

b) ดูดสารละลายใส่ microplate แต่ละ well

c) อ่านค่าการดูดกลืนแสงแบบ kinetic ที่ความยาวคลื่น 240 นาโนเมตร ที่ลดลงภายใน 5 นาที

d) คำนวณค่ากิจกรรมของเอนไซม์ catalase โดยเทียบกับปริมาณโปรตีนทั้งหมด และใช้ค่า extinction coefficient เท่ากับ 0.0436 $mM^{-1}cm^{-1}$

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

1.2.2 การวิเคราะห์แอกทิวิตีของเอนไซม์ guaiacol peroxidase (GPX) (ดัดแปลงจากวิธีของ MacAdam และคณะ, 1992)

a) เตรียม substrate mixture สำหรับการวัดแอกทิวิตีของเอนไซม์ guaiacol peroxidase ประกอบด้วย

- potassium phosphate buffer (pH 6) 50 มิลลิโมลาร์
- hydrogen peroxide 0.2 มิลลิโมลาร์
- guaiacol 2.5 มิลลิโมลาร์

b) ดูดสารละลายใส่ microplate แต่ละ well

c) อ่านค่าการดูดกลืนแสงแบบ kinetic ที่ที่ความยาวกลืน 470 นาโนเมตร ที่เพิ่มขึ้นภายใน 5 นาที

d) คำนวณค่ากิจกรรมของเอนไซม์ ascorbate peroxidase โดยเทียบกับปริมาณโปรตีนทั้งหมด และใช้ค่า extinction coefficient เท่ากับ 26.6 $mM^{-1}cm^{-1}$

1.2.3 การวิเคราะห์แอกทิวิตีของเอนไซม์ ascorbate peroxidase (APX) (ดัดแปลงจากวิธีของ Nakano และ Asada, 1981)

a) เตรียม substrate mixture สำหรับการวัดแอกทิวิตีของเอนไซม์ ascorbate peroxidase ประกอบด้วย

- potassium phosphate buffer (pH 7) 50 มิลลิโมลาร์
- hydrogen peroxide 10 มิลลิโมลาร์
- EDTA (pH 8) 1 มิลลิโมลาร์
- ascorbic acid 0.5 มิลลิโมลาร์

b) ดูดสารละลายใส่ microplate แต่ละ well

c) อ่านค่าการดูดกลืนแสงแบบ kinetic ที่ความยาวกลืน 290 นาโนเมตร ที่ลดลงภายใน 5 นาที

d) คำนวณค่ากิจกรรมของเอนไซม์ ascorbate peroxidase โดยเทียบกับปริมาณโปรตีนทั้งหมด และใช้ค่า extinction coefficient เท่ากับ 2.8 $mM^{-1}cm^{-1}$

1.2.4 การวิเคราะห์แอกทิวิตีของเอนไซม์ glutathione reductase (GR) (ดัดแปลงจากวิธีของ Smith et al., 1988)

a) เตรียม substrate mixture สำหรับการวัดแอกทิวิตีของเอนไซม์ glutathione reductase ประกอบด้วย

- potassium phosphate buffer (pH 7.5) 100 มิลลิโมลาร์
- EDTA (pH 8) 0.5 มิลลิโมลาร์
- DTNB 0.75 มิลลิโมลาร์ (Stolck เตรียมใน potassium phosphate buffer (pH 7.5) 10 มิลลิโมลาร์)
- NADPH 0.1 มิลลิโมลาร์
- GSSG 1 มิลลิโมลาร์

b) ดูดสารละลายใส่ microplate แต่ละ well

c) อ่านค่าการดูดกลืนแสงแบบ kinetic ที่ความยาวกลืน 412 นาโนเมตร ที่เพิ่มขึ้นภายใน 5 นาที

d) คำนวณค่ากิจกรรมของเอนไซม์ ascorbate peroxidase โดยเทียบกับปริมาณโปรตีนทั้งหมด และใช้ค่า extinction coefficient เท่ากับ 14.15 $mM^{-1}cm^{-1}$

1.2.5 การวิเคราะห์แอกทิวิตีของเอนไซม์ superoxide dismustase (SOD) (ดัดแปลงจากวิธีของ McCord and Fridovich, 1969)

a) เตรียม substrate mixture สำหรับการวัดแอกทิวิตีของเอนไซม์ superoxide dismustase ประกอบด้วย

- potassium phosphate buffer (pH 7.8) 50 มิลลิโมลาร์
- EDTA (pH 8) 0.2 มิลลิโมลาร์
- cytochrome C 0.02 มิลลิโมลาร์
- xanthine 0.1 มิลลิโมลาร์

b) เตรียม 0.8 U/ml xanthine oxidase

c) ดูดสารละลายใส่ microplate แต่ละ well ดังนี้

solution	reference well (μl)	uninhibited well (μl)	sample well (μl)
50 mM potassium phosphate buffer (pH 7)	20	15	-
crude extract	-	-	15
0.8 U/ml xanthine oxidase	-	5	5
substrate mixture	180	180	180

d) อ่านค่าการดูดกลืนแสงแบบ kinetic ที่ที่ความยาวกลืน 550 นาโนเมตร ที่เพิ่มขึ้นภายใน 5 นาที

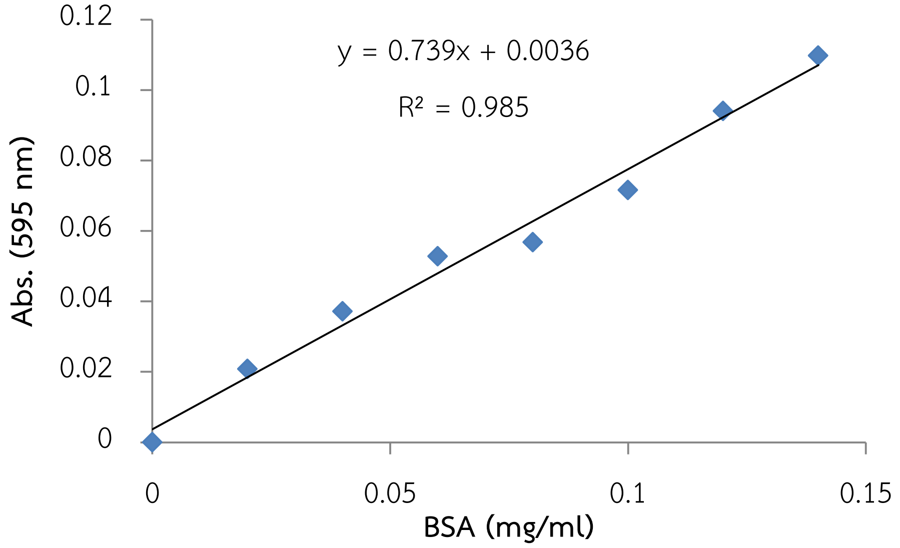
e) คำนวณแอกทิวิตีโดยค่าความชันกราฟของ sample well ที่ลดลงครึ่งหนึ่งจากความชันของ uninhibited well เทียบเป็น 1 ยูนิตของเอนไซม์

1.3 การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนทั้งหมด (total protein) (ดัดแปลงจากวิธีการของ Bradford, 1976)

ใช้วิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายใน microplate โดยดูดสารละลายใส่ microplate แต่ละ well ดังนี้

solution	reference well (μl)	sample well (μl)
50 mM potassium phosphate buffer (pH 7)	50	-
crude extract	-	50
Biorad protein assay	50	50

ปล่อยให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร นำค่าที่ได้เทียบกับสมการที่ได้จากกราฟมาตรฐานของ Bovine Serum Albumin (BSA) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (ภาพที่ ข-1)



ภาพที่ ข-1 กราฟโปรตีนมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมด

2. วิธีวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H2O2) (Jana และ Choudhuri, 1982)

a) เตรียมสารละลายที่ใช้สกัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (extraction buffer) ประกอบด้วย

- potassium phosphate buffer (pH 6.5) 100 มิลลิโมลาร์
- hydroxylamine 1 มิลลิโมลาร์

b) นำตัวอย่างใบประมาณ 50 มิลลิกรัม ใส่ในหลอดตัวอย่าง (microcentrifuge tube) ที่มีลูกบดขนาด 2 มิลลิเมตร ประมาณ 15 ลูก แล้วนำไปบดด้วยเครื่องบดตัวอย่าง ซึ่งให้ความเย็นโดยใช้ไนโตรเจนเหลว ใช้ความเร็วในการบดเขย่า 30 รอบต่อวินาที เป็นเวลา 2.5 นาที เก็บตัวอย่างที่บดแล้วในไนโตรเจนเหลว

c) เติม extraction buffer ลงในหลอดตัวอย่าง ตัวอย่างละ 500 ไมโครลิตร นำไป vortex แล้วแช่หลอดตัวอย่างไว้ในน้ำแข็ง

d) ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

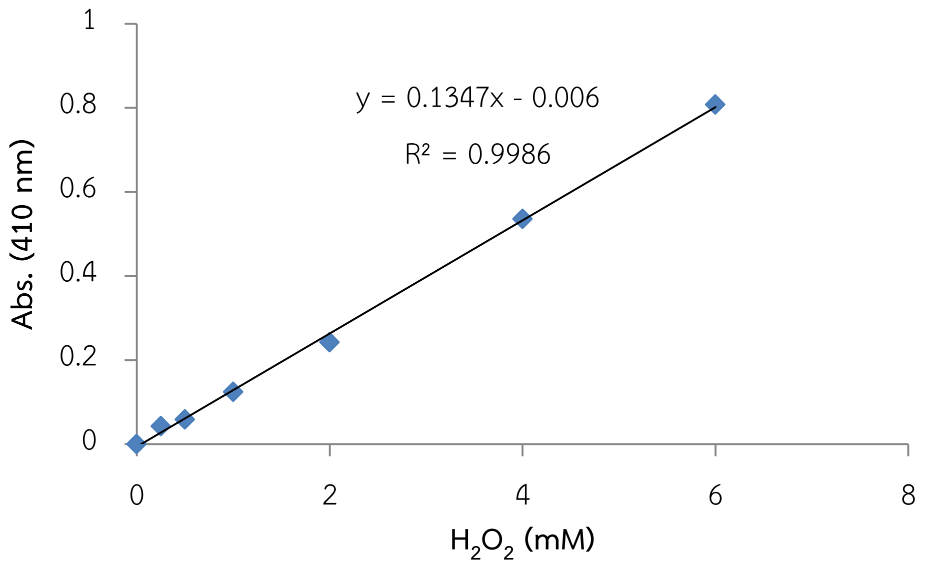
e) เก็บส่วนที่เป็นสารละลายใส (supernatant) ปริมาตร 300 ไมโครลิตร ใส่ microcentrifuge tube ใหม่

f) เติม 0.3% $Ti_2(SO_4)_3$ ที่เตรียมใน 20% H_2SO_4 (v/v) ปริมาตร 90 ไมโครลิตร ลงในสารละลายใสที่เก็บไว้

g) ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

h) เก็บสารละลายใสที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer

i) นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยเทียบกับค่าที่ได้จากกราฟมาตรฐาน (ภาพที่ ข-2)



ภาพที่ ข-2 กราฟ H_2O_2 มาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณ H_2O_2

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวฝนทิพย์ หนูทอง เกิดวันที่ 18 ธันวาคม พ.ศ.2531 ที่จังหวัดนครศรีธรรมราช สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาชีววิทยา จากภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ในปีการศึกษา 2553 และเข้าศึกษาในหลักสูตรวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ ที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อ พ.ศ.2554

การนำเสนอผลงาน

นำเสนอผลงานแบบบรรยายในหัวข้อเรื่อง แอกทิวิตีของเอนไซม์ต้านออกซิเดชันในข้าว CSSL บางสายพันธุ์ภายใต้ภาวะเค็ม ที่การประชุมวิชาการพฤกษศาสตร์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 9 ระหว่างวันที่ 3-5 มิถุนายน 2558 ณ โรงแรมแอมบาสเดอร์ สุขุมวิท กรุงเทพมหานคร

การตีพิมพ์บทความวิชาการ

ฝนทิพย์ หนูทอง, ศุภจิตรา ชัชวาลย์, บุญธิดา โฆษิตทรัพย์, มีชัย เชี่ยงหลิว, ธีรยุทธ ตู้จินดา และ อัญชลีใจดี. 2558. แอกทิวิตีของเอนไซม์ต้านออกซิเดชันในข้าว CSSL บางสายพันธุ์ภายใต้ภาวะเค็ม. ใน เอกสารประกอบการประชุมวิชาการพฤกษศาสตร์แห่งประเทศไทยครั้งที่ 9. หน้า 248-260. 3-5 มิถุนายน 2558 ณ โรงแรมแอมบาสเดอร์ สุขุมวิท กรุงเทพมหานคร.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University