

## การตอบสนองของปากใบและกระบวนการสังเคราะห์แสงของยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซิส ต่อสภาวะขาดน้ำจากการชักนำด้วยพอลิเอทิลีนไกลคอล

### Stomatal and photosynthetic responses of *Eucalyptus camaldulensis* to drought stress induced by polyethylene glycol

วินัย อุดขาว<sup>1,2</sup>, ภฤศนันท์ เอี่ยมเอกสุวรรณ<sup>1,2</sup> และสุนทรี ยิ่งชัชวาลย์<sup>1,2\*</sup>  
Winai Utkhao<sup>1,2</sup>, Parussanan Eameaksuwan<sup>1,2</sup> and Suntaree Yingjajaval<sup>1,2\*</sup>

#### Abstract

Plant response to drought stress varies as functions of stress level and duration. The responses of *Eucalyptus camaldulensis* to induce drought stress were examined in three levels, each lasted for seven days, in terms of stomatal opening, photochemical and carboxylation processes. After each stress level, stomatal response to light (light response function), quantum efficiency of PSII and carboxylation efficiency were measured on leaves of non-stressed and stressed plantlets. Under mild stress, stomatal conductance ( $g_s$ ) increased in response to increasing light intensity (PPF), but at a lower level than the non-stressed plantlets. When drought stress was moderate, stomatal opening were limited to narrow PPF range of 0-400  $\mu\text{molPPF m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , then did not open further at increasing PPF. Under severe drought stress, stomata closed and showed no response to the increasing PPF. The increasing drought stress levels had definite effect in reducing  $g_s$  and  $g_{s,\text{dark}}$  (at PPF=0), which then reduced the net ( $P_n$ ), and the maximal gross ( $P_{\text{max}}$ ) photosynthetic rates. Subsequently, detrimental effects on quantum efficiency and carboxylation efficiency occurred under moderate and severe drought stress levels. Electron transport rate (ETR) and mesophyll conductance ( $g_m$ ) decreased, but  $\text{CO}_2$  compensation point ( $\Gamma$ ) increased. *E. camaldulensis* has been demonstrated to show response to the stepwise increase in drought stress levels lasting seven days each. The measurement of the photosynthesis process at the end of each stress level was able to differentiate between the stressed and non-stressed plantlets. The pertinent indicators are the changes in the magnitudes of  $g_s$ ,  $g_{s,\text{dark}}$ ,  $g_m$ ,  $\Gamma$ , ETR and ETR/ $P_n$ .

**Keywords:** Drought stress, stomatal conductance, photosynthesis, quantum efficiency, carboxylation efficiency

<sup>1</sup> ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

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

<sup>2</sup> ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนานวัตกรรมศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา  
กรุงเทพฯ 10900

Center of Excellence on Agricultural Biotechnology: (AG-BIO/PERDO-CHE), Bangkok 10900, Thailand

รับเรื่อง : กุมภาพันธ์ 2559

รับตีพิมพ์ : เมษายน 2559

\* Corresponding author: suntaree.y@ku.ac.th

## บทคัดย่อ

ศึกษาการตอบสนองของปากใบและกระบวนการสังเคราะห์แสงของต้นยูคาลิปตัส ความลาดดูเลนซิสต่อสภาวะขาดน้ำของราก โดยปลูกต้นกล้ายูคาลิปตัสอายุ 5 เดือน ในสารละลายธาตุอาหารสูตร Hoagland และจำลองสภาวะขาดน้ำในเขตรากให้เพิ่มขึ้นที่ระดับอย่างต่อเนื่อง 3 ระดับ ด้วยการเติมสารพอลิเอทิลีนไกลคอล (PEG 6000) เข้มข้น 5, 9 และ 12.5 เปอร์เซ็นต์เชิงมวลต่อปริมาตร ทำให้ค่าพลังงานความเข้มข้นของน้ำในสารละลายธาตุอาหารในแต่ละช่วงเวลาเท่ากับ  $-70$  (ระดับต่ำ),  $-140$  (ระดับปานกลาง) และ  $-280$  (ระดับรุนแรง) kPa ตามลำดับ เพาะเลี้ยงต้นกล้าในแต่ละระดับเป็นเวลา 7 วัน รวมทั้งสิ้น 21 วัน ติดตามวัดการตอบสนองของปากใบโดยการชักน้ำด้วยแสง (เส้นตอบสนองต่อแสง) วัดประสิทธิภาพการใช้แสงของระบบแสงสอง และประสิทธิภาพการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ของใบยูคาลิปตัสที่วันสุดท้ายของแต่ละระดับ เทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการเติม PEG 6000 พบว่าปากใบของยูคาลิปตัสที่อยู่ภายใต้สภาวะขาดน้ำระดับต่ำยังคงตอบสนองต่อความเข้มแสงที่เพิ่มสูงขึ้นได้เช่นเดียวกับกลุ่มควบคุม แต่เปิดได้ในระดับน้อยกว่า เมื่อสภาวะขาดน้ำเข้าสู่ระดับปานกลาง ปากใบเปิดเพิ่มขึ้นตามความเข้มแสงในช่วงแคบระหว่าง  $0-400 \mu\text{molPPF m}^{-2} \text{s}^{-1}$  แต่ไม่สามารถเปิดกว้างขึ้นได้อีกตามความเข้มแสงที่เพิ่มขึ้น และเมื่อสภาวะขาดน้ำเข้าสู่ระดับสูงสุด พบว่าปากใบปิดแคบตลอดช่วงความเข้มแสง สภาวะขาดน้ำที่รุนแรงเพิ่มขึ้นชักน้ำให้ค่าน้ำไหลปากใบ ( $g_s$ ) และค่าน้ำไหลปากใบในสภาพมืด ( $g_{s,\text{dark}}$ ) ลดลงอย่างชัดเจน และส่งผลต่อเนื่องให้ค่าอัตราสังเคราะห์แสงสุทธิ ( $P_n$ ) และสูงสุด ( $P_{\text{max}}$ ) ลดลง เมื่อเข้าสู่สภาวะขาดน้ำที่ระดับปานกลางและรุนแรง เกิดผลกระทบเพิ่มขึ้นถึงปฏิกิริยาจากแสงและกระบวนการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ ค่าที่ลดลงคืออัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (ETR) และค่าน้ำไหลมีโซฟิลล์ ( $g_m$ ) โดยที่จุดชดเชยคาร์บอนไดออกไซด์ ( $\Gamma$ ) มีค่าเพิ่มขึ้น การศึกษาในครั้งนี้สรุปว่า การให้ต้นกล้ายูคาลิปตัสเผชิญสภาวะขาดน้ำที่เพิ่มระดับความรุนแรงขึ้นเป็นขั้น ๆ ละ 7 วัน ทำให้สามารถวัดความแตกต่างของกระบวนการสังเคราะห์แสงของใบเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม พารามิเตอร์ที่ใช้เป็นดัชนีได้คือค่าที่เปลี่ยนแปลงของ  $g_s$ ,  $g_{s,\text{dark}}$ ,  $g_m$ ,  $\Gamma$ , ETR และ  $ETR/P_n$  ตามลำดับความรุนแรงของสภาวะขาดน้ำ

**คำสำคัญ:** สภาวะขาดน้ำ ค่าน้ำไหลปากใบ การสังเคราะห์แสง ประสิทธิภาพการใช้แสง ประสิทธิภาพการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์

## คำนำ

การศึกษาเรื่องการตอบสนองทางสรีรวิทยาของต้นพืชภายใต้สภาวะขาดน้ำอย่างเป็นระบบ ยังมีอยู่น้อยในประเทศไทย เนื่องจากกลไกการตอบสนองมีความซับซ้อนและเชื่อมโยงหลายกระบวนการในต้นพืชพร้อมกัน อีกทั้งยังต้องคำนึงถึงระยะเวลาและระดับความรุนแรงของสภาวะขาดน้ำที่ต้นพืชได้รับ จากการศึกษาของหน้านี้ของ Utkhao and Yingjajaval (2015) ซึ่งได้จำลองสภาวะขาดน้ำโดยลดระดับค่าพลังงานความเข้มข้นของน้ำ (ศักย์ออสโมติก, osmotic potential) ในสารละลายธาตุอาหารที่ใช้เลี้ยงต้นกล้วยคาลิปต์สลงเป็นขั้นๆ ให้มีความรุนแรงของสภาวะขาดน้ำเพิ่มขึ้น 3 ระดับ เป็นเวลารวม 24 วัน เพื่อทดสอบเวลาให้ต้นกล้วยคาลิปต์สได้สร้างกลไกป้องกันความเสียหายจากสภาพเครียดของการขาดน้ำ มีการติดตามวัดการตอบสนองภายใต้สภาพเครียดของการขาดน้ำอย่างต่อเนื่องทุก 1 – 2 วัน โดยวัดใบสองช่วงในตอนเช้าตรู่ก่อนมีแสงและในช่วงเช้าของวัน พารามิเตอร์ที่วัด ได้แก่ ค่าพลังงานศักย์และปริมาณน้ำในใบ อัตราสังเคราะห์แสงสุทธิ อัตราคายน้ำ คำนำไหลปากใบ และประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสง รวมทั้งวัดประสิทธิภาพการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์และมวลชีวภาพเมื่อสิ้นสุดการให้สภาพเครียดในแต่ละระดับ ผลการศึกษาพบว่า วิธีการที่ติดตามวัดพารามิเตอร์บ่อยครั้งและต่อเนื่อง ทำให้เห็นรูปแบบของการเปลี่ยนแปลง และสามารถเรียงลำดับขั้นตอนการตอบสนองของพืชต่อสภาวะขาดน้ำได้ชัดเจน กล่าวได้ว่าเมื่อต้นกล้วยคาลิปต์สเริ่มเข้าสู่สภาวะขาดน้ำ ใบมีค่าพลังงานศักย์รวมของน้ำลดลง ซึ่งเป็นตัวส่งสัญญาณแรกที่ได้รับรู้ได้ทั่วต้นอย่างรวดเร็ว เพราะ

ผ่านทางลำน้ำในส่วนของอะโปพลาสต์ ส่งผลให้เกิดการปิดปากใบแคบลงในการตอบสนองขั้นต้น ขณะที่ระดับความเครียดยังไม่รุนแรง หลังจากนั้นเมื่อสภาวะขาดน้ำเกิดต่อเนื่องและรุนแรงขึ้นจึงพบผลกระทบขั้นที่สองต่อประสิทธิภาพการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ และเมื่อสภาวะขาดน้ำยังเกิดต่อเนื่องจนถึงระดับรุนแรงมาก หลังจากปากใบปิดแคบและกระบวนการคาร์บอกซิเลชันลดลงไปอีกมาก ผลกระทบขั้นต่อไปแสดงออกที่ความเสียหายของระบบรับแสง และการลดลงของมวลชีวภาพของต้นกล้วยคาลิปต์ส อย่างไรก็ดี วิธีการนี้ต้องใช้ทักษะของนักวิจัย และเป็นภาระงานที่หนักตลอดช่วงที่ทดลอง ในการศึกษาครั้งนี้จึงพัฒนาวิธีการให้ลดขั้นตอนลง โดยปรับเป็นวัดผลกระทบของสภาวะขาดน้ำ ที่ทำให้เกิดการตอบสนองของกระบวนการเมทาบอลิซึมภายในเซลล์ที่แสดงออกชัดเจนในขั้นแรก คือวัดการเปลี่ยนแปลงของพารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์แสงเพียงอย่างเดียว และวัดเฉพาะในวันสุดท้ายของแต่ละระดับความเครียดของสภาวะขาดน้ำ (แทนการติดตามวัดอย่างต่อเนื่องทุก 1 – 2 วัน) เพื่อทดสอบว่าข้อมูลที่ได้อาจสามารถระบุระดับความรุนแรงของสภาวะขาดน้ำ เช่นเดียวกับการติดตามวัดอย่างต่อเนื่องหรือไม่

วิธีการในที่นี่เน้นการวัดกระบวนการสังเคราะห์แสงสุทธิของใบพืชภายใต้สภาวะขาดน้ำ ซึ่งเป็นกระบวนการที่เชื่อมโยงระหว่าง 3 กระบวนการใหญ่ๆ คือ กลไกการเปิดปิดของปากใบ ปฏิกริยาจากแสง (photochemical reaction) และกระบวนการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ (carboxylation) พืชโดยทั่วไปจะใช้กลไกในการปิดปากใบให้แคบลงเมื่อเผชิญสภาวะเครียดจากการขาดน้ำหรือความแห้งแล้ง ซึ่งส่งผลให้อัตราสังเคราะห์แสงและอัตราคายน้ำของใบลดลงตามไป

ด้วย (Flexas and Medrano, 2002) ปัจจัยที่มีผลชัดเจน ในรอบวันต่อค่านำไหลปากใบ (stomatal conductance,  $g_s$ ) ได้แก่ ความเข้มแสง (photo synthetic photon flux, PPF) แสงตั้งระเหย น้ำของอากาศ (air vapor pressure deficit,  $VPD_{air}$ ) และพลังงานศักย์ของน้ำในใบ ในรูปของพลังงาน ศักย์รวมหรือ พลังงานความดัน (leaf total or pressure potential) ในทางปฏิบัติ การวัดการตอบสนองของปากใบพืชต่อระดับความเข้มแสง ที่เรียกว่าการวัดเส้นตอบสนองต่อแสง (light response function) ทำได้ง่ายกว่าการปรับระดับของแสงตั้งระเหยน้ำของอากาศ อีกทั้งเครื่องมือยังสามารถวัดประสิทธิภาพการใช้แสง (quantum efficiency) ซึ่งใช้ประเมินการทำงานของระบบรับแสงของใบไปพร้อมกันได้ (เครื่องวัดอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สระบบเปิด, LI-6400-40 Fluorometer, Licor Inc., USA) การวัดเส้นตอบสนองต่อแสงจะได้พารามิเตอร์หลายตัวของกระบวนการสังเคราะห์แสง 2 กระบวนการแรกข้างต้น ส่วนกระบวนการตรึง  $CO_2$  ประเมินโดยวัดอัตราสังเคราะห์แสงสุทธิเมื่อให้ใบสัมผัสความเข้มข้นของ  $CO_2$  หลายระดับภายใต้ความเข้มแสงที่สูงเพียงพอคงที่ หรือที่เรียกว่าการวัดเส้นตอบสนองต่อคาร์บอนไดออกไซด์

การศึกษาผลกระทบของการขาดน้ำโดยวัดอัตราแลกเปลี่ยนแก๊ส หลังจากให้พืชเผชิญสภาวะขาดน้ำแล้วเป็นระยะยาวเกินกว่า 1-2 วัน และวัดเพียงหนึ่งเวลา จะได้ข้อมูลน้อยเกินกว่าจะเห็นรูปแบบการตอบสนองของพืช ข้อเสนอในการศึกษานี้ คือหากจะวัดอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สโดยวัดทั้งช่วง เช่นนี้ ควรวัดมากกว่าหนึ่งค่าในแต่ละครั้ง กล่าวคือให้วัดอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สโดยผันแปรความเข้มแสงหรือความเข้มข้นของ  $CO_2$  ซึ่งทำให้ได้ข้อมูล

หลายจุดภายใต้สภาพอากาศที่ควบคุมให้ค่อนข้างคงที่ จึงจะเห็นลักษณะการตอบสนองต่อสภาวะเครียดได้ชัดเจน ในการศึกษาครั้งนี้เลือกใช้ต้นยูคาลิปตัส (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.) เป็นพืชต้นแบบในการศึกษา โดยใช้พันธุ์ที่ผ่านการประเมินภาคสนามว่าเป็นพันธุ์ทนแล้ง สามารถปรับตัวได้ดีในพื้นที่แห้งแล้งทั้งในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคตะวันตกของประเทศ และมีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมเยื่อกระดาษ (Hinjan, 2005) วิธีการจำลองสภาวะขาดน้ำในเขตรากทำได้ด้วยการปลูกพืชในสารละลายธาตุอาหารแล้วชักนำให้เกิดสภาพเครียดจากการขาดน้ำด้วยการเติมสารพอลิเอทิลีนไกลคอล (PEG 6000) ที่มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นเป็นลำดับ ทำให้เกิดความรุนแรงของความเครียดที่เกิดจากการลดลงของพลังงานความเข้มข้นของน้ำในเขตรากพืชทีละขั้นเป็นระยะเวลาต่อเนื่อง ซึ่งเป็นการเลียนสภาพการลดลงเป็นลำดับของค่าพลังงานศักย์ของน้ำในดินตามธรรมชาติ ร่วมกับการควบคุมสภาพอากาศภายในโรงเรือนที่เพาะเลี้ยงให้เอื้อต่อการเปิดปากใบ เพื่อให้พืชเผชิญสภาวะเครียดจากการขาดน้ำเฉพาะในเขตรากพืชเพียงอย่างเดียว

### อุปกรณ์และวิธีการ

#### การเตรียมต้นกล้ายูคาลิปตัสและการจำลองสภาวะขาดน้ำ

ใช้ต้นกล้ายูคาลิปตัสสายพันธุ์ทนแล้ง ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของบริษัท สยามฟอเรสทรี จำกัด โดยคัดเลือกต้นกล้าอายุ 3 เดือน ที่มีขนาดใกล้เคียงกัน ย้ายลงปลูกในสารละลาย 1/2 Hoagland (ความเข้มข้นเป็น 1/2 เท่าของเต็มสูตร) เป็นเวลา 2 เดือน เพื่อปรับสภาพต้นกล้า (accli-

mation) ควบคุมระดับ pH ของสารละลายให้อยู่ในช่วง 5.5 – 5.8 ติดตั้งปั๊มลมเพื่อเพิ่มปริมาณออกซิเจนในสารละลายให้มีค่าอยู่ในช่วง 6.0 – 7.0 mg L<sup>-1</sup> เพาะเลี้ยงต้นกล้าภายในโรงเรือนพลาสติกภายในศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักเขตร้อนมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ที่มีการติดตั้งระบบพ่นหมอกเพื่อปรับระดับแรงดึงระเหยน้ำของอากาศ และติดตั้งสถานีอากาศ (WatchDog mini-weather stations 2475, Spectrum Technologies Inc., USA) เพื่อเก็บข้อมูลสภาพอากาศภายในโรงเรือนตลอดเวลาทำการทดลอง ตั้งแต่เดือนสิงหาคม ถึงตุลาคม 2558 อุณหภูมิเฉลี่ยภายในโรงเรือนช่วงกลางวันมีค่า 33.0°C ความเข้มแสงในช่วงที่มีแสงเฉลี่ย 700  $\mu\text{molPPF m}^{-2} \text{s}^{-1}$  ความชื้นสัมพัทธ์ในช่วงกลางวันเฉลี่ย 57% และกลางคืนเฉลี่ย 85%

เมื่อต้นกล้ามีอายุ 5 เดือน จึงย้ายลงปลูกในถังพลาสติกขนาด 25×30×45 cm ที่มีสารละลายธาตุอาหารอยู่ 8 L แบ่งการทดลองเป็น 2 ทรีทเมนต์ คือ (1) สภาวะควบคุม โดยเพาะเลี้ยงต้นกล้าในสารละลาย 1/2 Hoagland ที่มีค่าพลังงานความเข้มข้นของน้ำ (osmotic potential,  $\Psi_{\pi,\text{sol}}$ ) เท่ากับ -35 kPa ตลอดระยะเวลาที่ทดลอง และ (2) สภาวะขาดน้ำ โดยเพาะเลี้ยงต้นกล้าในสารละลาย 1/2 Hoagland ที่เติมสารพอลิเอทิลีนไกลคอล (PEG 6000) เพื่อจำลองให้เกิดสภาวะขาดน้ำในเขตรากพืชที่ระดับต่อกัน 3 ครั้ง คือ ระดับต่ำ ระดับปานกลาง และระดับรุนแรง ด้วยการเติม PEG ในความเข้มข้น 5%, 9% และ 12.5% เชิงมวลต่อปริมาตรซึ่งทำให้ค่า  $\Psi_{\pi,\text{sol}}$  ลดลงเป็น -70, -140 และ -280 kPa ตามลำดับ ซึ่งปริมาณ PEG 6000 ที่ใช้ในแต่ละระดับความรุนแรง ได้จากการประเมินเบื้องต้น

ของการเปลี่ยนแปลงของค่าน้ำไหลปากใบของต้นกล้วยคาลิปตัส ซึ่งพบว่าระดับความรุนแรงสูงสุดที่ใช้ในที่นี้ได้ชักนำให้ปากใบปิดแคบได้ตลอดทั้งวัน (Utkhao and Yingjajaval, 2015) เพาะเลี้ยงต้นกล้าในสภาวะขาดน้ำแต่ละระดับเป็นเวลา 7 วัน เมื่อครบกำหนดในแต่ละระดับ จึงย้ายต้นกล้าลงในสภาวะขาดน้ำที่ระดับสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องที่ละขั้นจนครบทั้ง 3 ระดับ เป็นเวลาทั้งหมด 21 วัน ติดตามวัดค่า  $\Psi_{\pi,\text{sol}}$  ของสารละลายที่เปลี่ยนแปลงในแต่ละวันด้วยเครื่อง vapor pressure osmometer (Vapro 5520, Wescor Inc., USA) และค่าน้ำไฟฟ้า (EC) ด้วยเครื่อง conductivity meter (Twin Cond B-173, Spectrum Technologies Inc., USA) และควบคุมค่า  $\Psi_{\pi,\text{sol}}$  และ EC ของสารละลายโดยเติมสารละลายใหม่ให้ค่าทั้งสองกลับเท่ากับระดับเริ่มต้นของทุกวัน

## ค่าน้ำไหลปากใบ

วัดเส้นตอบสนองต่อแสง เพื่อประเมินการเปลี่ยนแปลงของค่าน้ำไหลปากใบโดยใช้แสงเป็นตัวชักนำ วัดใบยูคาลิปตัสในลำดับที่ 6-7 นับจากปลายยอด ซึ่งมีค่าดัชนีความเขียว (SPAD index) อยู่ในช่วง 40-45 โดยวัดใบ รวม 3 ครั้ง ในวันที่ 7, 14 และ 21 ในช่วงเวลา 8-12 น. มีการเปิดระบบพ่นหมอกภายในโรงเรือนเพื่อควบคุมระดับแรงดึงระเหยน้ำ (air vapor pressure deficit) ให้ไม่เกิน 2.5 kPa เพื่อลดการชักนำให้ปากใบปิดแคบลงจากความแห้งของอากาศ (Tay *et al.*, 2007) และป้องกันการเกิดหยดน้ำลงใบด้วยการคลุมต้นกล้าด้วยโดมพลาสติกแบบโปร่งแสงตลอดเวลา วัดใบด้วยเครื่องวัดอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สระบบเปิด ใช้หัววัดแบบ leaf chamber fluorometer (LI-6400-

40, Licor Inc., USA) กำหนดความเข้มข้นของ CO<sub>2</sub> 400 μmol mol<sup>-1</sup> ความชื้นสัมพัทธ์ 70-75% อุณหภูมิของภาชนะบรรจุใบ 28°C และความเร็วของอากาศไหลผ่านใบ 400 μmol s<sup>-1</sup> เริ่มต้นปรับความเข้มแสง (LED source) ให้มีค่าสูงสุดที่ 2500 μmolPPF m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> แล้วลดความเข้มแสงลงเป็นลำดับจนถึง 0 μmolPPF m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> เครื่องมือให้ค่าอัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิ (net photosynthetic rate, P<sub>n</sub>) อัตราคายน้ำ (transpiration rate, E) ค่านำไหลปากใบ (stomatal conductance, g<sub>s</sub>) และอุณหภูมิใบ (T<sub>leaf</sub>) คำนวณค่าประสิทธิภาพการใช้น้ำ (water use efficiency, WUE=P<sub>n</sub>/E) นอกจากนี้ ยังได้พารามิเตอร์ที่ใช้ประเมินประสิทธิภาพการใช้น้ำของระบบรับแสงสอง (Photosystem II, PSII) จากค่าปริมาณรังสีฟลูออเรสเซนซ์ในขณะที่ไม่ได้รับแสงขณะนั้น (steady-state fluorescence, F<sub>s</sub>) และปริมาณรังสีฟลูออเรสเซนซ์สูงสุดในขณะที่ไม่ได้รับแสง (maximum fluorescence, F<sub>m</sub>') คำนวณค่าประสิทธิภาพการใช้น้ำในขณะที่ไม่ได้รับแสง (light-adapted quantum efficiency of photosystem II, Φ<sub>PSII</sub>) ได้ว่า Φ<sub>PSII</sub> = (F<sub>m</sub>' - F<sub>s</sub>)/F<sub>m</sub>' และคำนวณอัตราการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (electron transport rate, ETR) ได้ว่า ETR = Φ<sub>PSII</sub> × f × I × α<sub>leaf</sub> เมื่อ f คือสัดส่วนของแสงที่ถูกดูดกลืนโดย PSII เทียบกับ PSI (สำหรับพืช C<sub>3</sub> มีค่า 0.5) I คือความเข้มแสงในช่วงคลื่นสำหรับการสังเคราะห์แสง (photosynthetic photon flux, PPF) ที่ตกลงบนใบ α<sub>leaf</sub> คือสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสงของใบมีค่า 0.85 (Schreiber *et al.*, 1998) ค่าที่ได้ใช้คำนวณสัดส่วนของอัตราการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนต่ออัตราการสังเคราะห์สุทธิ (ETR/P<sub>n</sub>)

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

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

เมื่อ α คือประสิทธิภาพการใช้น้ำ (quantum efficiency) เป็นค่าความชันในช่วงความเข้มแสงต่ำ (0-100 μmolPPF m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) θ คือค่าควบคุมความโค้งของเส้นกราฟ (curvature factor) R<sub>d</sub> คืออัตราหายใจในที่มืด (dark respiration) P<sub>n</sub> คืออัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิ (net photosynthetic rate) และ P<sub>max</sub> คืออัตราการสังเคราะห์สูงสุด (maximum gross photosynthetic rate) ฟังก์ชันของค่า ETR กับ I มีลักษณะเดียวกันกับความสัมพันธ์ระหว่าง P<sub>n</sub> กับ I จึงให้ข้อมูลเข้ารูปสมการด้วยวิธีเดียวกันโดยแทนค่า P<sub>n</sub> ด้วยค่าอัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (ETR) และ P<sub>max</sub> ด้วยอัตราสูงสุดของการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนทั้งระบบ (maximum rate of linear whole-chain electron transport, ETR<sub>max</sub>) คำนวณพารามิเตอร์ต่างๆ ของสมการข้างต้นด้วยวิธี non-linear regression โดยใช้ solver ของโปรแกรม Microsoft Excel คำนวณค่าความเข้มแสงอิ่มตัว (light saturation point, I<sub>s</sub>) โดยกำหนดเป็นค่าความเข้มแสงเมื่อ P<sub>n</sub> = 0.85P<sub>max</sub> และจุดชดเชยแสง (light compensation point, I<sub>c</sub>) โดยกำหนดเป็นค่าความเข้มแสงเมื่อ P<sub>n</sub> = 0 เพื่อการเปรียบเทียบ ได้คำนวณค่านำไหลปากใบสูงสุด (g<sub>s,max</sub>) และค่าอัตราการคายน้ำสูงสุด (E<sub>max</sub>) โดยเฉลี่ยค่า E และ g<sub>s</sub> ที่ได้ที่ความเข้มแสงสูงกว่าค่าความเข้มแสง

อิมิตัว ( $I > 1200 \mu\text{molPPF m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) และกำหนดค่า  $g_{s,\text{dark}}$  เป็นค่านำไหลปากใบในที่มืด (stomatal conductance in the dark) หรือค่านำไหลปากใบขณะที่ระดับความเข้มแสงเป็นศูนย์

**กระบวนการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์**

ประเมินกระบวนการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์เชิงฟิสิกส์ ด้วยการวัดเส้นตอบสนองต่อความเข้มข้นของ  $\text{CO}_2$  ใช้ตัวอย่างใบเดียวกันกับที่วัดเส้นตอบสนองต่อแสงข้างต้น ในช่วงเวลา 12 – 14 น. ด้วยเครื่องวัดอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สระบบเปิดเครื่องเดิม (LI-6400-40, Licor Inc., USA) กำหนดความเข้มแสงคงที่  $1500 \mu\text{mol PPF m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  ความชื้นสัมพัทธ์ 70 – 75% อุณหภูมิของภาชนะบรรจุใบ  $28^\circ\text{C}$  และความเร็วของอากาศผ่านใบ  $400 \mu\text{mol s}^{-1}$  เริ่มต้นปรับความเข้มข้นของ  $\text{CO}_2$  อยู่ที่  $400 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$  แล้วลดความเข้มข้นลงจนถึง  $0 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$  ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของ  $\text{CO}_2$  ภายในช่องว่างระหว่างใบ (inter-cellular  $\text{CO}_2$  concentration,  $C_i$ ) กับค่า  $P_n$  เป็นสมการเชิงเส้นตรงดังนี้  $P_n = g_m(C_i - \Gamma)$  คำนวณจุดชดเชยคาร์บอนไดออกไซด์ ( $\text{CO}_2$  compensation point,  $\Gamma$ ) เป็นค่า  $C_i$  ขณะที่  $P_n = 0$  และค่านำไหลมีโซฟิลล์ (mesophyll conductance,  $g_m$ ) เป็นความชันของสมการเส้นตรง ( $dP_n/dC_i$ ) ซึ่งสะท้อนความยากง่ายของการแพร่โมเลกุลของ  $\text{CO}_2$  ผ่านเส้นทางตั้งแต่ผนังเซลล์ของมีโซฟิลล์จนถึงจุดภายในคลอโรพลาสต์ที่  $\text{CO}_2$  ถูกตรึงในวัฏจักรเคลวินในขั้นตอนคาร์บอกซิเลชัน

**ผลและวิจารณ์**

**การตอบสนองของปากใบและอัตราแลกเปลี่ยนแก๊ส**

ต้นกล้วยคาลิปัตสในกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับความเครียดจากการขาดน้ำ ( $\Psi_{\pi,\text{sol}} = -35 \text{ kPa}$ ) มีค่านำไหลปากใบ ( $g_s$ ) อัตราคายน้ำ ( $E$ ) และอัตราสังเคราะห์แสงสุทธิ ( $P_n$ ) เพิ่มขึ้นตามความเข้มแสงตลอดช่วง โดยมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงแรก แล้วเริ่มเพิ่มขึ้นอย่างช้าลง (Figure 1a-c) ค่า  $P_n$  มีระดับสูงเข้าสู่ค่าสูงคงที่เมื่อความเข้มแสงถึงจุดอิมิตัวแสง ( $I_s$ ) (Figure 1b) ในอีกด้านหนึ่งขณะที่ความเข้มแสงเป็นศูนย์ ค่า  $g_{s,\text{dark}}$  มีค่า  $107 \text{ mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (Table 1) ซึ่งถือได้ว่าเป็นระดับการเปิดปากใบในช่วงมืดของใบยูคาลิปตัสปกติ

เมื่อต้นกล้วยคาลิปัตสเผชิญสภาวะขาดน้ำที่ระดับต่ำ ( $\Psi_{\pi,\text{sol}} = -70 \text{ kPa}$ ) มาแล้ว 7 วัน พบว่าปากใบยังคงตอบสนองต่อความเข้มแสงที่เพิ่มขึ้นได้เช่นเดียวกับกลุ่มควบคุม แต่ระดับของ  $g_s$  มีค่าต่ำกว่าตลอดช่วงความเข้มแสง ค่า  $g_{s,\text{dark}}$  มีค่าลดลงอยู่ที่  $62 \text{ mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  ในขณะที่ค่านำไหลปากใบสูงสุดเฉลี่ย ( $g_{s \text{ max}}$ ) ลดลงคิดเป็น 41% ของกลุ่มควบคุม (Figure 1a และ Table 1) ลักษณะที่น่าสนใจคือ  $g_s$  มีค่ากว้างขึ้นตลอดช่วงแสง แสดงถึงปากใบที่ยังทำงานได้ค่อนข้างมาก และตอบสนองต่อสภาพแวดล้อม อธิบายได้ว่าในช่วงแรกปากใบเปิดกว้างขึ้นตามความเข้มแสงซึ่งทำให้อัตราคายน้ำเพิ่มตาม แต่เนื่องจากพลังงานความเข้มข้นของน้ำในเขตรากลดต่ำลง ทำให้อัตรา

ดูน้ำของรากไม่สามารถชดเชยได้ทัน ปากใบจึงไม่สามารถเปิดเพิ่มขึ้นตามความเข้มแสงเหมือนของกลุ่มควบคุมได้ อีกทั้งต้องปิดแคบลงจากเดิมเล็กน้อย เพื่อให้อัตรานำเข้าน้ำสามารถทดแทนกับอัตราที่ใบคายน้ำไป หลังจากใบได้น้ำชดเชยแล้ว ปากใบจึงกลับเปิดมากขึ้นได้อีกในช่วงความเข้มแสงสูงขึ้น

การปิดแคบลงของปากใบส่งผลโดยตรงต่อค่า  $E$  แสดงว่าปากใบควบคุมอัตราการคายน้ำเมื่อค่าแรงดึงคายน้ำสูงเกินพอ ในขณะที่ผลกระทบต่อค่า  $P_n$  เกิดต่อเมื่อความเข้มแสงเพิ่มถึงประมาณ  $500 \mu\text{molPPF m}^{-2} \text{s}^{-1}$  แสดงว่ากระบวนการสังเคราะห์แสงถูกควบคุมด้วยความเข้มแสงในลำดับแรก ก่อนจะถูกควบคุมด้วยอัตราแพร่เข้าของ  $\text{CO}_2$  (Figure 1b-c) ผลโดยรวมเมื่อเผชิญสภาวะขาดน้ำระดับต่ำ พบว่าอัตราสังเคราะห์แสงสูงสุด ( $P_{\text{max}}$ ) มีค่าลดลง 22% และอัตราการคายน้ำสูงสุด ( $E_{\text{max}}$ ) ลดลง 30% เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (Table 1) กลไกของการปิดปากใบให้แคบลง ทำให้อัตราแลกเปลี่ยนแก๊สลดลงในช่วงแรกเมื่อได้รับสภาพเครียดจากการขาดน้ำในระดับที่ไม่รุนแรง (Flexas and Medrano, 2002) การปิดแคบของปากใบทำให้เกิดอัตราการสูญเสียน้ำลดลงในสัดส่วนที่มากกว่าการลดลงของอัตราสังเคราะห์แสงสุทธิ ส่งผลให้ค่าประสิทธิภาพการใช้น้ำ (WUE) มีค่าสูงขึ้น (Figure 1d) การปิดแคบของปากใบจึงเป็นกลไกแรกในการตอบสนองต่อสภาวะขาดน้ำ มีผลในการลดอัตราการสูญเสียน้ำของใบให้ได้คู่กับอัตราดูน้ำของรากที่ลดลงภายใต้สภาวะขาดน้ำ โดยที่อัตราสังเคราะห์แสงยังถูกระงับในสัดส่วนที่น้อยกว่า (Utkhao and Yingjajaval, 2015)

ต่อมาได้เพิ่มสภาวะขาดน้ำเข้าสู่ระดับปานกลาง ( $\Psi_{\pi, \text{sol}} = -140 \text{ kPa}$ ) หลังจากครบ 7 วัน

พบว่าปากใบปิดแคบลงอีกเมื่อเทียบกับสภาวะขาดน้ำระดับต่ำ ค่า  $g_{s, \text{dark}}$  มีค่าลดลงอยู่ที่  $42 \text{ mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Table 1) ทั้งนี้ปากใบเปิดเพิ่มขึ้นตามความเข้มแสงได้ในช่วงแรกระหว่าง  $0-400 \mu\text{molPPF m}^{-2} \text{s}^{-1}$  เท่านั้น หลังจากนั้น  $g_s$  มีค่าเข้าใกล้ค่าคงที่อยู่ที่  $75 \text{ mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (ภาพที่ 1a) แม้ปากใบจะปิดแคบลงมาก แต่เนื่องจากความเข้มแสงที่เพิ่มสูงขึ้นทำให้อุณหภูมิใบเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 1e) ส่งผลให้ค่าแรงดึงคายน้ำจากใบสู่อากาศ (leaf to air vapor pressure deficit,  $\text{VPD}_{\text{leaf}}$ ) และค่า  $E$  มีค่าสูงขึ้นตามความเข้มแสงผลกระทบของสภาวะขาดน้ำในชั้นปานกลางแสดงให้เห็นว่า ในช่วงจากมืดถึงความเข้มแสงต่ำ ปากใบยังแสดงการตอบสนองต่อแสงด้วยการเปิดกว้างขึ้นได้เล็กน้อย แต่เมื่อความเข้มแสงเพิ่มขึ้น ทำให้อัตราคายน้ำสูงขึ้นและใบขาดดุลของน้ำเพิ่มขึ้น ปากใบจึงไม่สามารถเปิดกว้างเพิ่มขึ้นตามแสงต่อไปได้อีก แต่มีการตอบสนองด้วยการเปิดปิดปากใบ โดยมีช่วงแกว่งที่แคบกว่าที่แสดงในสภาวะขาดน้ำระดับต่ำอย่างชัดเจน ค่า  $g_{s, \text{max}}$  ลดลงคิดเป็น 75% เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (Table 1) ทำให้อัตราคายน้ำ ( $E$  และ  $E_{\text{max}}$ ) มีระดับต่ำ ส่วนอัตราสังเคราะห์แสง ( $P_n$  และ  $P_{\text{max}}$ ) ลดลงเพราะค่า  $g_s$  ที่ลดลงได้จำกัดการแพร่โมเลกุลเข้าของ  $\text{CO}_2$  ตั้งแต่ความเข้มแสงที่  $200 \mu\text{molPPF m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Figure 1b-c และ Table 1)

เมื่อเพิ่มระดับความรุนแรงของการขาดน้ำจนเข้าสู่ระดับสูงสุด ( $\Psi_{\pi, \text{sol}} = -280 \text{ kPa}$ ) อีก 7 วันพบว่าปากใบปิดแคบตลอดช่วงความเข้มแสง คือไม่แสดงการตอบสนองต่อแสง ค่า  $g_{s, \text{dark}}$  ลดต่ำลงเหลือเพียง  $15 \text{ mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (คิดเป็นประมาณ 14% ของกลุ่มควบคุม) กล่าวได้ว่าปากใบปิดเกือบ



สนิท และแสงไม่สามารถกระตุ้นให้ปากใบเปิดขึ้นได้ (Figure 1a) ส่วนค่า  $g_{s,max}$  ลดลงจากกลุ่มควบคุมถึง 95% (Table 1) ทำให้อัตราสังเคราะห์แสง ( $P_n$  และ  $P_{max}$ ) และอัตราการคายน้ำ ( $E$  และ  $E_{max}$ ) ของใบยูคาลิปตัสลดลงจนถึงระดับต่ำสุด แต่ยังมีค่าสุทธิเป็นบวก (Figure 1b-c และ Table 1) การที่ใบระบายความร้อนด้วยกระบวนการคายน้ำได้ลดลงอย่างมาก ทำให้อุณหภูมิใบสูงสุดเพิ่มขึ้นจากกลุ่มควบคุมถึงเกือบ  $4^{\circ}C$  (Figure 1e)

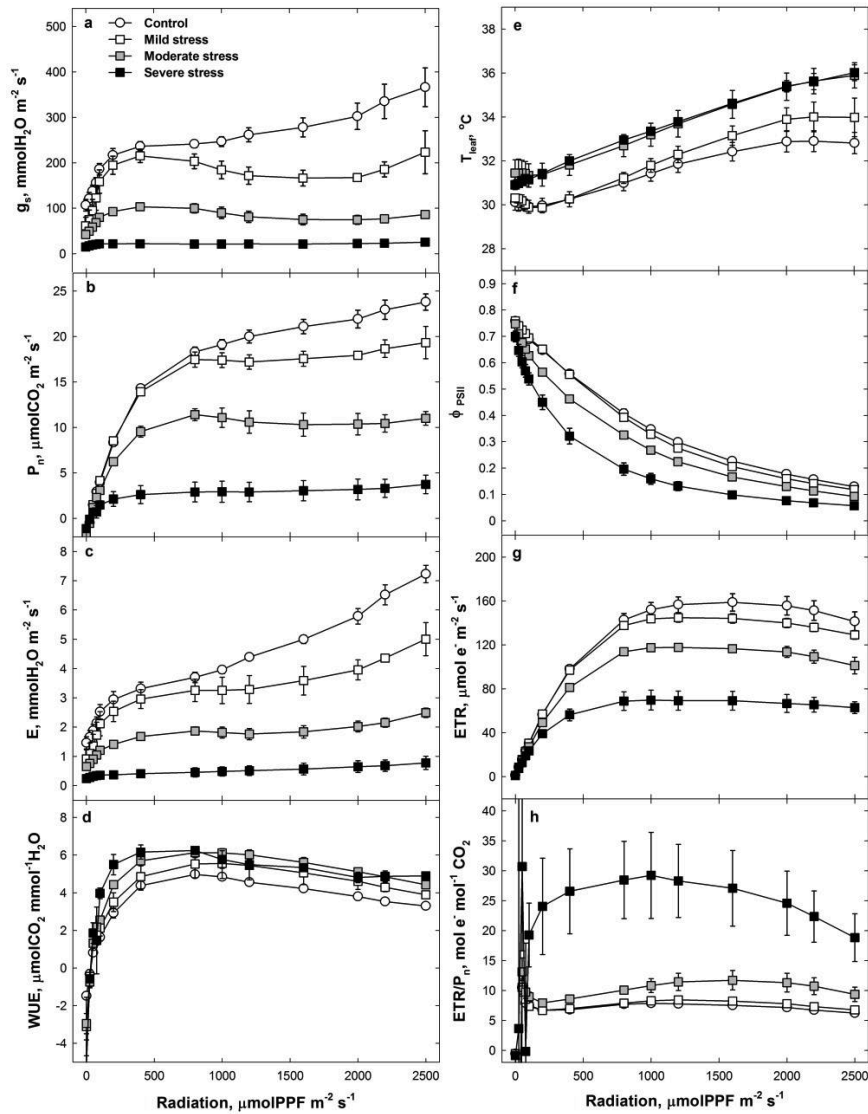
ผลกระทบของสภาวะขาดน้ำต่อค่าน้ำไหลปากใบ ส่งผลต่อเนื่องถึงพารามิเตอร์ทุกตัวของฟังก์ชันเส้นตอบสนองต่อแสง (Table 1) ค่า  $P_{max}$  ลดลงในทุกระดับของการขาดน้ำ ส่วนอัตราหายใจในที่มืด ( $R_d$ ) ลดลงต่อเมื่อสภาวะขาดน้ำอยู่ที่ระดับรุนแรงเท่านั้น แสดงว่ากิจกรรมต่างๆภายในเซลล์ขณะนั้นเกิดขึ้นน้อยและช้าลง (Flexas and Medrano, 2002)

### ประสิทธิภาพการใช้แสงของใบ

ประสิทธิภาพการใช้แสงของ PSII ขณะได้รับแสง ( $\Phi_{PSII}$ ) มีค่าลดลง ในขณะที่อัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (ETR) มีค่าเพิ่มขึ้นตามความเข้มแสง (ภาพที่ 2) ภายใต้สภาวะขาดน้ำที่ระดับต่ำ ค่า  $\Phi_{PSII}$  และ ETR ของใบยูคาลิปตัสมีค่าไม่แตกต่างกันสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (Figure 1f-g และ Table 1) โดยอัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนสูงสุด ( $ETR_{max}$ ) มีค่าลดลง 9.2% แสดงว่าในระยะแรกที่ระดับของการขาดน้ำต่ำ ปฏิกริยาจากแสงของ PSII ของใบยูคาลิปตัสยังคงดำเนินไปได้เกือบเท่าใบปกติ

เมื่อสภาพเครียดจากการขาดน้ำเข้าสู่ระดับปานกลาง พบว่าค่า  $\Phi_{PSII}$  และ ETR มีค่าลดลงจากระดับก่อนหน้านี้เป็นอย่างมาก (Figure 1f-g) โดยค่า  $ETR_{max}$  ลดลง 26.4% จากกลุ่มควบคุม (Table 1) หลังจากเผชิญสภาวะขาดน้ำเข้าสู่ระดับความรุนแรงสูงสุด พารามิเตอร์ทั้งสองมีค่าลดลงจนถึงระดับต่ำสุด (Figure 1f-g) ค่า  $ETR_{max}$  ลดลง 58.8% เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (Table 1) แสดงให้เห็นว่าภายใต้สภาวะขาดน้ำอย่างต่อเนื่องและรุนแรง ใบยูคาลิปตัสสามารถดำเนินปฏิกิริยาจากแสงได้ลดลง สะท้อนถึงความเสียหายของ PSII ของใบ ผลการทดลองนี้ยังแสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพการใช้แสงของ PSII ที่ลดลง เริ่มเกิดเมื่อสภาพเครียดจากการขาดน้ำเข้าสู่ระดับปานกลาง และเสียหายมากเมื่อเผชิญสภาพเครียดจากการขาดน้ำระดับรุนแรง แต่แทบไม่ถูกกระทบภายใต้สภาวะขาดน้ำระดับต่ำ

สัดส่วนของ  $ETR/P_n$  เป็นอีกพารามิเตอร์ที่สะท้อนความผิดปกติของกระบวนการสังเคราะห์แสงได้เป็นอย่างดี พบว่าค่า  $ETR/P_n$  ของใบยูคาลิปตัสที่เผชิญสภาพเครียดจากการขาดน้ำมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุม (Figure 1h) โดยการเพิ่มขึ้นของค่า  $ETR/P_n$  เริ่มเด่นชัดเมื่อเข้าสู่สภาวะขาดน้ำระดับปานกลางและเพิ่มสูงขึ้นมากที่ระดับรุนแรง สัดส่วนของค่า  $ETR/P_n$  ที่เพิ่มมากขึ้น แสดงว่าพลังงานแสง ทำให้เกิดการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน แต่ถูกนำไปใช้ในกระบวนการอื่นที่ไม่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์แสง เช่น กระบวนการ Photorespiration และกระบวนการ Mehler-Peroxidase (Biehler and Fock, 1996)



**Figure 1** Light response curves of (a) stomatal conductance ( $g_s$ ), (b) net photosynthetic rate ( $P_n$ ), (c) transpiration rate (E), (d) water use efficiency (WUE), (e) leaf temperature ( $T_{\text{leaf}}$ ), (f) quantum efficiency of PSII ( $\Phi_{\text{PSII}}$ ), (g) electron transport rate (ETR), and (h) ratio of apparent electron transport rate to  $\text{CO}_2$  assimilation ( $\text{ETR}/P_n$ ) in control and drought-stressed plantlets of *Eucalyptus camaldulensis*. Values are means  $\pm$  SE ( $n = 3$ ).

**Table 1** Summary of parameters of light response and carboxylation measurement of control and drought-stressed plantlets of *Eucalyptus camaldulensis*. Stomatal conductance in the dark ( $g_{s, \text{dark}}$ ), maximum gross photosynthetic rate ( $P_{\text{max}}$ ), light compensation point ( $I_c$ ), light saturation point ( $I_s$ ), quantum efficiency ( $\alpha$ ), curvature factor ( $\theta$ ), dark respiration ( $R_d$ ), maximum rate of linear whole-chain electron transport ( $\text{ETR}_{\text{max}}$ ), maximum stomatal conductance ( $g_{s, \text{max}}$ ), and maximum transpiration rate ( $E_{\text{max}}$ ),  $\text{CO}_2$  compensation point ( $\Gamma$ ), mesophyll conductance ( $g_m$ ), and leaf temperature ( $T_{\text{leaf}}$ ).

Parameter	Drought stress level				p-value	C.V. (%)
	Control	Mild stress	Moderate stress	Severe stress		
$g_{s, \text{dark}}$ , $\text{mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$	$106.7 \pm 13.2^a$	$61.6 \pm 18.8^{ab}$	$42.1 \pm 6.0^{bc}$	$14.8 \pm 1.9^c$	**	66.2
$P_{\text{max}}$ , $\mu\text{molCO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$	$27.1 \pm 1.5^a$	$21.1 \pm 0.6^b$	$12.8 \pm 0.9^c$	$4.0 \pm 1.0^d$	**	54.9
$I_c$ , $\mu\text{molPPF m}^{-2} \text{s}^{-1}$	$28 \pm 3$	$29 \pm 1$	$34 \pm 5$	$40 \pm 15$	ns	38.9
$I_s$ , $\mu\text{molPPF m}^{-2} \text{s}^{-1}$	$958 \pm 71^a$	$603 \pm 85^b$	$359 \pm 34^c$	$437 \pm 64^{bc}$	**	44.7
$\alpha$ , $\text{molCO}_2 \text{mol}^{-1} \text{PPF}$	$0.063 \pm 0.001^a$	$0.062 \pm 0.002^a$	$0.053 \pm 0.001^b$	$0.024 \pm 0.005^c$	**	31.9
$\theta$	$0.48 \pm 0.08^a$	$0.77 \pm 0.06^{ab}$	$0.89 \pm 0.02^b$	$0.68 \pm 0.05^c$	**	27.9
$R_d$ , $\mu\text{molCO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$	$1.71 \pm 0.17^a$	$1.76 \pm 0.03^a$	$1.77 \pm 0.24^a$	$0.75 \pm 0.10^b$	**	33.7
$\text{ETR}_{\text{max}}$ , $\mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$	$158 \pm 9^a$	$143 \pm 4^a$	$116 \pm 5^b$	$68 \pm 8^c$	**	30.4
$g_{s, \text{max}}$ , $\text{mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$	$311 \pm 31^a$	$183 \pm 6^b$	$79 \pm 10^c$	$23 \pm 7^c$	**	76.8
$E_{\text{max}}$ , $\text{mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$	$5.8 \pm 0.2^a$	$4.0 \pm 0.2^b$	$2.1 \pm 0.2^c$	$0.6 \pm 0.2^d$	**	63.6
$\Gamma$ , $\mu\text{molCO}_2 \text{mol}^{-1} \text{air}$	$69.7 \pm 4.6^a$	$69.9 \pm 2.1^a$	$99.8 \pm 9.3^b$	$117.5 \pm 9.4^b$	**	27.0
$g_m$ , $\mu\text{molCO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$	$124.0 \pm 10.1^a$	$122.7 \pm 2.9^a$	$72.9 \pm 16.9^b$	$43.3 \pm 7.1^b$	**	42.3
$T_{\text{leaf}}$ , $^{\circ}\text{C}$	$32.57 \pm 0.44^a$	$33.46 \pm 0.58^{ab}$	$35.03 \pm 0.60^b$	$35.08 \pm 0.25^b$	**	4.1

Values are means  $\pm$  SE ( $n = 3$ ). Means within a row followed by the different letters are significantly different (Duncan's New Multiple Range test,  $p < 0.05$ ). \*\*, statistically significant difference at  $p < 0.05$ ; ns = non-significant difference at  $p < 0.05$ .

## ประสิทธิภาพของการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์

ใบยูคาลิปตัสที่อยู่ภายใต้สภาวะขาดน้ำระดับต่ำ มีจุดชดเชยคาร์บอนไดออกไซด์ ( $\Gamma$ ) และค่าน้ำไหลมีโซฟิลล์ ( $g_m$ ) ไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (Table 1) ดังนั้น ในระยะแรกที่ระดับของการขาดน้ำยังไม่รุนแรง กระบวนการตรึง  $CO_2$  ของใบยูคาลิปตัสยังคงดำเนินไปได้อย่างปกติ

เมื่อสภาวะขาดน้ำรุนแรงมากขึ้นเข้าสู่ระดับปานกลางและระดับสูงสุด พบว่าค่า  $\Gamma$  มีค่าสูงขึ้นมากอย่างมีนัยสำคัญจากกลุ่มควบคุม (Table 1) การเพิ่มขึ้นของค่า  $\Gamma$  สะท้อนว่าได้เกิดความเสียหายหรือบาดเจ็บ ทำให้อัตราสังเคราะห์แสงลดลงหรืออัตราหายใจเพิ่มขึ้น (Chuennakorn and Yingjajaval, 2007) ซึ่งในที่นี้ น่าจะเป็นผลจากอัตราสังเคราะห์แสงที่ลดลง (เพราะค่า  $R_d$  มีระดับลดลง) อีกทั้งค่า  $g_m$  มีระดับลดลงด้วย แสดงว่าเส้นทางแพร่โมเลกุลของ  $CO_2$  มีการเปลี่ยนแปลง ซึ่งอาจสะท้อนความผิดปกติของผนังเซลล์ พลาสมาเมมเบรน เมมเบรนของคลอโรพลาสต์ ไปจนถึงความหนืดของสโตรมา ผลการทดลองยังชี้ชัดเจนว่า สภาวะขาดน้ำส่งผลกระทบต่อกระบวนการตรึง  $CO_2$  ของใบยูคาลิปตัสเมื่อให้สภาวะขาดน้ำตั้งแต่ระดับปานกลางเป็นต้นไป อย่างไรก็ตาม กระบวนการคาร์บอกซิเลชันที่ลดลงนี้ ยังไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นความเสียหายของระบบโดยตรง (*per se*) หรือเกิดจากการชะลอตัวของทั้งกระบวนการที่สืบเนื่องจากการซ้าลงของอัตราขนส่งน้ำและสารอาหารจากการปิดแคบของปากใบ เมื่อสารที่สังเคราะห์ได้ถูกเคลื่อนย้าย (translocation) ในท่ออาหารได้ช้า จะทำให้การเคลื่อนออกจากคลอโรพลาสต์ช้าลง

ด้วย กระบวนการป้อนกลับ (feedback) จึงส่งผลให้อัตราการตรึง  $CO_2$  ลดลงตามไป

## สรุป

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการจำลองสภาวะขาดน้ำของรากโดยการชักนำด้วย PEG 6000 และเพิ่มระดับความรุนแรงของสภาวะขาดน้ำที่ละขั้น ซึ่งสำหรับต้นกล้ายูคาลิปตัสใช้ 3 ขั้น ขั้นละ 7 วัน สามารถวัดผลกระทบต่อกระบวนการเมทาบอลิซึมของใบยูคาลิปตัสได้ชัดเจน โดยประเมินจากการวัดเปรียบเทียบกับกลไกปากใบที่ตอบสนองต่อแสง (วัดเส้นตอบสนองต่อแสง) และวัดกระบวนการคาร์บอกซิเลชัน (วัดเส้นตอบสนองต่อ  $CO_2$ ) ของใบเมื่อสิ้นสุดการให้สภาวะขาดน้ำแต่ละขั้น ผลกระทบต่อกระบวนการสังเคราะห์แสงเกิดเป็นลำดับดังนี้ ภายใต้การขาดน้ำในช่วงแรกที่ระดับต่ำ ( $\Psi_{\pi, \text{sol}} = -70$  kPa) ใบใช้กลไกในการปิดแคบลงของปากใบเพียงอย่างเดียว เพื่อลดอัตราเสียน้ำของใบให้ได้คู่กับอัตราดูดน้ำที่ลดลงของราก การลดลงของค่า  $g_s$  ส่งผลให้อัตราสังเคราะห์แสงและคายน้ำของใบลดลงตามไปด้วย โดยอัตราคายน้ำลดลงในสัดส่วนที่สูงกว่า ภายใต้ระดับปานกลางถึงรุนแรงในระยะต่อมา ( $\Psi_{\pi, \text{sol}} = -140$  ถึง  $-280$  kPa) พบว่าอัตราสังเคราะห์แสงและคายน้ำลดลงอย่างมากตามการลดลงของค่าน้ำไหลปากใบ แต่ความเสียหายเกิดควบคู่กับการลดลงของกระบวนการคาร์บอกซิเลชัน (การลดลงของค่า  $g_m$  และการเพิ่มขึ้นของค่า  $\Gamma$ ) พร้อมกับการลดลงของประสิทธิภาพการใช้แสงของ PSII (การลดลงของค่า ETR และการเพิ่มขึ้นของค่า  $ETR/P_n$ )

## คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ ขอขอบคุณโครงการพัฒนาและส่งเสริมผู้มีความสามารถพิเศษทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (พสวท.) สถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำหรับทุนการศึกษาระดับปริญญาเอกของนายวินัย อุดขาว ขอขอบคุณบริษัท สยามฟอเรสทรี จำกัด ที่สนับสนุนต้นกล้ายูคาลิปตัสที่ใช้ในการทดลอง และขอขอบคุณศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักเขตร้อน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม สำหรับโรงเรือนและสถานที่ในการทดลอง

## เอกสารอ้างอิง

- Biehler, K. and H. Fock. 1996. Evidence for the contribution of the Mehler-Peroxidase reaction in dissipating excess electrons in drought-stressed wheat. *Plant Physiol.* 112: 265-272.
- Chuennakorn, P. and S. Yingjajaval. 2007. Leaf photosynthetic potential of *Dendrobium* sp. Sonia 'BOM JO'. *Agric. Sci. J.* 38: 405-413. (in Thai with English abstract)
- Flexas, J. and H. Medrano. 2002. Drought-inhibition of photosynthesis in  $C_3$  plants: stomatal and non-stomatal limitations revisited. *Ann Bot.* 89: 183–189.
- Hinjan, S. 2005. *In vitro* selection technique of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. resistance to calcareous soil. M.S. Thesis, Kasetsart University. (in Thai)
- Schreiber, U., W. Bilger, H. Hormann and C. Neubauer. 1998. Chlorophyll fluorescence as a diagnostic tool: basics and some aspects of practical relevance. in: A.S. Raghavendra AS (ed) *Photosynthesis: A Comprehensive Treatise*. Cambridge University Press, Cambridge. p. 320-336.
- Tay, A.C., A.M. Abdullah, M. Awang and M. Furukawa. 2007. Midday depression of photosynthesis in *Enkleia malaccensis*, a woody climber in a tropical rainforest. *Photosynthetica.* 45: 189–193.
- Thornley, J.H.M. and I.R. Johnson. 1990. *Plant and Crop Modelling*. Oxford University Press, New York. p. 213-242.
- Utkhao, W. and S. Yingjajaval. 2015. Changes in leaf gas exchange and biomass of *Eucalyptus camaldulensis* in response to increasing drought stress induced by polyethylene glycol. *Trees.* 29: 1581-1592.