

การตอบสนองของปากใบและกระบวนการสังเคราะห์แสงภายใต้สภาวะขาดน้ำ
จากการชักนำด้วยสารพอลิเอทิลีนไกลคอลของข้าวพันธุ์ชาวดอกมะลิ 105
(*Oryza sativa* L. ssp. *indica* cv. KDML105) ในระยะการเจริญเติบโตทางลำต้น
Stomatal and Photosynthetic Response to Polyethylene Glycol Induced
Drought Stress of Thai Jasmine Rice
(*Oryza sativa* L. ssp. *indica* cv. KDML105) during Vegetative Stage

วสันต์ ปานนิม^{1,2} คัทลียา ฉัตรเที่ยง^{1,2,3,*} วินัย อุดขาว^{1,2} ศิริพรรณ สุขขัง⁴

สมนึก พรหมแดง⁴ และ สุนทรี ยิ่งชัชวาลย์^{1,2}

Wason Pannim^{1,2}, Cattleya Chutteang^{1,2,3,*}, Winai Utkhao^{1,2}, Siriphan Sukkhaeng⁴,
Somnuk Promdang⁴ and Suntaree Yingjajaval^{1,2}

¹ ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

² ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการ
การอุดมศึกษา กรุงเทพฯ 10900

³ ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

⁴ ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง ศูนย์วิจัยและบริการวิชาการ คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

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

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

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

⁴ Central Laboratory and Greenhouse Complex, Research and Academic Service Center, Faculty of Agriculture at
Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140

รับเรื่อง: 29 สิงหาคม 2563

Received: 29 August 2020

ปรับแก้ไข: 18 พฤศจิกายน 2563

Revised: 18 November 2020

รับตีพิมพ์: 30 พฤศจิกายน 2563

Accepted: 30 November 2020

* Corresponding author: agrcyc@ku.ac.th

ABSTRACT: We examined the stomatal response and photosynthetic potential of Thai jasmine rice (KDML105) to induced increasing drought stress. Rice plants were grown in Yoshida's nutrient solution for 50 days before subjected to 3 stepwise drought stress levels, each lasted for 7 days, by adding polyethylene glycol (PEG6000) at 12.5, 22.5 and 35% (w/v), which lowered the osmotic potential of the nutrient solution to -300 (mild stress), -1,000 (moderate stress), and -2,800 (severe stress) kPa. At the end of each stress period, light response curve, maximum quantum efficiency of PSII (F_v/F_m), and photosynthetic pigments content were measured on leaves of non-stressed and stressed plants. The increasing drought stress levels had definite effect in reducing stomatal conductance (g_s), which then reduced the net (P_n) and the maximal gross photosynthetic rates (P_{max}). Under mild and moderate drought stress, stomatal opening showed response in the limited range of light intensity (PPF) of 0–600 $\mu\text{molPPF m}^{-2}\text{s}^{-1}$, beyond

which stomatal conductance remained stable. When drought stress became severe, stomata closed and showed no response to the increasing PPF. The data on photosynthetic rate showed that the reduction under mild stress was mainly the result of reduced g_s . Under moderate and severe drought stress, the reduction in photosynthesis was because of both stomatal and non-stomatal limitation, which included the reduction in g_s , carboxylation efficiency (P_n/C_i), and quantum efficiency of PSII. In addition, severe drought stress caused damage to PSII and decrease in leaf chlorophyll content. The stepwise protocol in imposing drought stress can be used to induce the photosynthetic response mechanisms in KDML105 rice.

Keywords: Thai jasmine rice, drought stress, stomatal conductance, quantum efficiency, carboxylation efficiency

Agricultural Sci. J. (2020) Vol. 51(2): 90–106

ว. วิทย. กษ. (2563) 51(2): 90–106

บทคัดย่อ

ศึกษาการตอบสนองของปากใบและศักยภาพการสังเคราะห์แสงของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (KDML105) ภายใต้สภาวะเครียดจากการขาดน้ำที่เพิ่มขึ้นทีละขั้นอย่างต่อเนื่อง 3 ระดับ ระดับละ 7 วัน โดยปลูกต้นข้าวในสารละลายธาตุอาหารสูตร Yoshida จนอายุต้น 50 วัน จึงเริ่มจำลองสภาวะขาดน้ำในเขตรากให้เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ด้วยการเติมสารพอลิเอทิลีนไกลคอล (PEG6000) เข้มข้น 12.5, 22.5 และ 35 เปอร์เซ็นต์เชิงมวลต่อปริมาตร ทำให้ค่าศักย์ออสโมซิสของสารละลายธาตุอาหารลดลงเป็น -300 (ระดับต่ำ), -1,000 (ระดับปานกลาง) และ -2,800 (ระดับรุนแรง) kPa ตามลำดับ วัดเส้นตอบสนองต่อแสง ประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุดของ PSII (F_v/F_m) และปริมาณรงควัตถุในใบข้าวในวันสุดท้ายของความเครียดแต่ละระดับพบว่า สภาวะขาดน้ำที่รุนแรงเพิ่มขึ้นชักนำให้ค่านำไหลปากใบ (g_s) ลดลงอย่างชัดเจน และส่งผลต่อเนื่องให้ค่าอัตราสังเคราะห์แสงสุทธิ (P_n) และสูงสุด ($P_{n_{max}}$) ลดลงปากใบของข้าวภายใต้สภาวะขาดน้ำที่ระดับต่ำและปานกลางเปิดเพิ่มขึ้นตามความเข้มแสงในช่วงแคบ

ระหว่าง 0–600 $\mu\text{molPPF m}^{-2}\text{s}^{-1}$ แต่ไม่สามารถเปิดกว้างขึ้นได้อีกตามความเข้มแสงที่เพิ่มขึ้น และเมื่อสภาวะขาดน้ำเข้าสู่ระดับรุนแรงสูงสุด พบว่า ปากใบปิดแคบตลอดช่วงความเข้มแสง การลดลงของอัตราสังเคราะห์แสงที่สภาวะขาดน้ำระดับต่ำเป็นผลมาจากการลดลงของ g_s เพียงอย่างเดียว แต่การลดลงของอัตราสังเคราะห์แสงภายใต้สภาวะขาดน้ำที่ระดับปานกลางและรุนแรงในระยะต่อมาเกิดขึ้นจากการลดลงของค่า g_s ประสิทธิภาพการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ (P_n/C_i) และประสิทธิภาพการใช้แสงของ PSII นอกจากนี้ สภาวะขาดน้ำที่ระดับรุนแรงยังส่งผลให้เกิดความเสียหายต่อระบบ PSII และการลดลงของปริมาณคลอโรฟิลล์ของใบ การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า การจำลองสภาวะขาดน้ำที่เพิ่มระดับความรุนแรงขึ้นเป็นลำดับขั้นสามารถชักนำให้ต้นข้าว KDML105 แสดงกลไกการตอบสนองต่อกระบวนการสังเคราะห์แสงได้เป็นอย่างดี

คำสำคัญ: ข้าวขาวดอกมะลิ 105, สภาวะขาดน้ำ, ค่านำไหลปากใบ, ประสิทธิภาพการใช้แสง, ประสิทธิภาพการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์

บทนำ

กลไกการตอบสนองทางสรีรวิทยาของพืชต่อสภาวะขาดน้ำมีความซับซ้อน เชื่อมโยงหลายกระบวนการ และต้องคำนึงถึงระยะเวลาและระดับความรุนแรงของสภาวะขาดน้ำที่ต้นพืชได้รับ (Bray, 1993; Utkhao *et al.*, 2016) จึงจำเป็นต้องอาศัยการศึกษาในเชิงลึกเพื่ออธิบายกลไกการตอบสนองของพืชอย่างเป็นระบบ มีการศึกษาอิทธิพลของระดับความรุนแรงของการขาดน้ำต่อกระบวนการแลกเปลี่ยนแก๊ส กระบวนการถ่ายเทอเล็กตรอน และปฏิกิริยาจากแสงของฝ่ายด้วยการงดน้ำ (Deeba *et al.*, 2012) ในขณะที่ Chen *et al.* (2017) ศึกษากระบวนการเดียวกันในข้าวสาลีโดยใช้สารพอลิเอทิลีนไกลคอลชักนำให้เกิดสภาวะขาดน้ำในระบบสารละลายธาตุอาหาร นอกจากนี้ Shi *et al.* (2014) ศึกษาการงดน้ำสลับกับการให้น้ำต่อพฤติกรรมเปลี่ยนแปลงกระบวนการทางสรีรวิทยาข้างต้นในละหุ่ง ทำให้เข้าใจการตอบสนองของพืชนั้น ๆ ต่อสภาพเครียดจากการขาดน้ำ อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันข้อมูลการตอบสนองทางสรีรวิทยาของพืชต่อสภาวะขาดน้ำในเชิงลึกยังมีจำกัด โดยเฉพาะในข้าวไทยที่การศึกษาส่วนใหญ่มุ่งเน้นศึกษาทางด้านการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีลักษณะทนแล้งและให้ผลผลิตสูงหรือศึกษาด้านชีววิทยาเชิงโมเลกุลเพื่อค้นหาและใช้ประโยชน์จากยีนทนแล้ง ในขณะที่ การศึกษาทางด้านสรีรวิทยายังคงขาดแคลนและจำเป็นอย่างมากเนื่องจากข้อมูลหรือพารามิเตอร์ทางสรีรวิทยาสามารถใช้บ่งบอกระดับความรุนแรงของการขาดน้ำและคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวทนแล้งได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้ ข้อมูลการตอบสนองและการปรับตัวทางสรีรวิทยายังใช้เป็นองค์ความรู้พื้นฐานเพื่อเชื่อมโยงกลไกการทำงานและการแสดงออกของยีนที่ควบคุมลักษณะทนแล้งซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวได้ต่อไป

ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (KDML105) เป็นข้าวเจ้าคุณภาพดี มีกลิ่นหอม เป็นที่ต้องการของตลาด

ทั้งในและต่างประเทศ และนิยมใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวของไทย ซึ่งแหล่งผลิตข้าว KDML105 ส่วนใหญ่อยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และเป็นการปลูกในสภาพอาศัยน้ำฝน ซึ่งมักประสบปัญหาภัยแล้งและฝนทิ้งช่วงในระดับที่รุนแรงมากกว่าพื้นที่อื่นของประเทศ ส่งผลให้ต้นข้าวขาดน้ำในระหว่างการเจริญเติบโต โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระยะการเจริญเติบโตทางลำต้น (Vegetative stage) ทำให้ลดการแตกกอ สร้างมวลชีวภาพและผลผลิตได้น้อยลง (Kangkan and Polthanee, 1996) นอกจากนี้ การขาดน้ำยังส่งผลให้ข้าวปิดปากใบแคบลง จำกัดกระบวนการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์และปฏิกิริยาจากแสงของใบ ทำให้อัตราสังเคราะห์แสงลดลง (Gangshun *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2019; Xiong *et al.*, 2019) ถึงแม้ว่าข้าวพันธุ์ KDML105 เป็นข้าวพันธุ์ที่ค่อนข้างทนแล้ง (Moderate drought tolerance; Bunnag and Pongthai, 2013) แต่ข้อมูลการตอบสนองและการปรับตัวทางสรีรวิทยาของข้าว KDML105 ต่อสภาวะขาดน้ำยังมีอยู่อย่างจำกัด อีกทั้งพารามิเตอร์ที่เหมาะสมที่จะใช้บ่งบอกระดับความรุนแรงของการขาดน้ำและความทนแล้งในข้าวพันธุ์ KDML105 ยังไม่ชัดเจน ในการศึกษาครั้งนี้สนใจศึกษาผลกระทบของสภาวะขาดน้ำต่อกระบวนการสังเคราะห์แสงของใบข้าวพันธุ์ KDML105 ในระยะการเจริญเติบโตทางลำต้น โดยศึกษากลไกการตอบสนองของ 3 กระบวนการหลัก ได้แก่ กลไกการเปิดปิดของปากใบ กระบวนการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ (Carboxylation) และปฏิกิริยาจากแสง (Photochemical reaction) ด้วยการวัดเส้นตอบสนองต่อแสง (Light response curve) ประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุดของ PSII (Maximum quantum efficiency of PSII) และปริมาณรงควัตถุในใบข้าวในวันสุดท้ายของการขาดน้ำแต่ละระดับ เพื่อลดขั้นตอนการติดตามวัดการตอบสนองทางสรีรวิทยาต่อสภาวะขาดน้ำอย่างต่อเนื่องและบ่อยครั้งซึ่งเป็นภาระงานที่หนักและต้องอาศัยทักษะของนักวิจัย

เป็นอย่างมาก โดยปลูกพืชในสารละลายธาตุอาหาร และจำลองสภาวะขาดน้ำในเขตรากด้วยการเติมสารออสโมติกัม (Osmoticum) คือ พอลิเอทิลีนไกลคอล (PEG6000) ให้มีระดับความรุนแรงเพิ่มขึ้นเป็นลำดับขั้น (Stepwise stress) อย่างต่อเนื่อง 3 ระดับ และทอดเวลาในระดับละ 7 วัน เพื่อให้ต้นข้าวสร้างกลไกการตอบสนองต่อสภาวะเครียดที่ได้รับและเป็นการเลียนแบบสภาพการลดลงของค่าพลังงานศักย์ของน้ำในดินตามธรรมชาติ ซึ่งรูปแบบการชักนำสภาวะขาดน้ำดังกล่าวสามารถใช้ชักนำให้พืชหลายชนิดเกิดการเปลี่ยนแปลงและตอบสนองทางสรีรวิทยาที่ระดับความรุนแรงต่างกันได้อย่างชัดเจน เช่น อ้อย (Teinseree *et al.*, 2008) และยูคาลิปตัส (Utkhao and Yingjajaval, 2015) เป็นต้น ข้อมูลการตอบสนองที่ได้จะสามารถสร้างความเข้าใจต่อกลไกของการทนแล้งในข้าว KDML105 และสามารถระบุพารามิเตอร์ทางสรีรวิทยาที่บ่งบอกระดับความรุนแรงและความเสียหายต่อการขาดน้ำ เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ข้าวทนแล้งต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมต้นข้าวและจำลองสภาวะขาดน้ำ

เพาะเลี้ยงต้นข้าว KDML105 ในสารละลายธาตุอาหารสูตร 1/2 Yoshida (ความเข้มข้นเป็น 1/2 เท่าของความเข้มข้นเต็มสูตร; Yoshida *et al.*, 1976) ภายใต้สภาพแสงธรรมชาติภายในโรงเรือนตาข่ายที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักเขตร้อน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม เพื่อปรับสภาพต้นกล้า (Acclimation) เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ควบคุมระดับ pH ของสารละลายให้อยู่ในช่วง 4.5–5.5 และค่าการนำไฟฟ้า (Electrical conductivity, EC) อยู่ในช่วง 1.2–1.4 dS m⁻¹ ติดตั้งปั๊มลมเพื่อเพิ่มปริมาณออกซิเจนในสารละลายธาตุอาหาร ให้มีค่าอยู่ในช่วง 4.0–6.0 mg L⁻¹ ติดตั้งสถานีอากาศ (WatchDog mini-weather stations 2475,

Spectrum Technologies Inc., USA) เพื่อเก็บข้อมูลสภาพอากาศภายในโรงเรือนตลอดเวลาที่ทำการทดลอง ตั้งแต่เดือนมกราคมถึงเมษายน 2561 โดยความเข้มแสงในช่วงกลางวัน (6.00–18.00 น.) ภายในโรงเรือนมีค่าเฉลี่ย 483.6 $\mu\text{molPPF m}^{-2}\text{s}^{-1}$ อุณหภูมิเฉลี่ยในช่วงกลางวัน 32°C ความชื้นสัมพัทธ์ช่วงกลางวัน เฉลี่ย 52% และกลางคืน เฉลี่ย 82%

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design, CRD) ปัจจัยที่ศึกษา คือ ระดับความรุนแรงของสภาวะขาดน้ำ 3 ระดับ เมื่อต้นข้าวมีอายุ 50 วัน เลือกต้นข้าวที่มีสภาพสมบูรณ์ย้ายลงปลูกในกระบะพลาสติกขนาด 25×30×45 cm ที่มีสารละลาย Yoshida (ความเข้มข้นเต็มสูตร) ปริมาณ 8 L แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ทริทเมนต์ คือ (1) สภาวะควบคุม โดยเฉพาะเลี้ยงต้นข้าวในสารละลายธาตุอาหารสูตร Yoshida ซึ่งมีค่าศักย์ออสโมซิสของน้ำ (Osmotic potential, $\Psi_{\pi, \text{sol}}$) ในสารละลายธาตุอาหารเท่ากับ -30 kPa ตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง และ (2) สภาวะขาดน้ำ โดยเฉพาะเลี้ยงต้นข้าวในสารละลายธาตุอาหารสูตร Yoshida ที่เติมสารพอลิเอทิลีนไกลคอล (PEG6000) เพื่อจำลองให้เกิดสภาวะขาดน้ำในเขตรากพืชที่ระดับต่อเนื่องกัน 3 ระดับ คือ ระดับต่ำ ระดับปานกลาง และระดับรุนแรง ด้วยการเติม PEG6000 ในความเข้มข้น 12.5, 22.5 และ 35% เติมนวลต่อปริมาตร ซึ่งทำให้ค่า $\Psi_{\pi, \text{sol}}$ ลดลงเป็น -300, -1,000 และ -2,800 kPa ตามลำดับ ซึ่งความเข้มข้นของ PEG6000 ที่ใช้ในแต่ละระดับความรุนแรงได้จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของค่าน้ำไหลปากใบของต้นข้าว KDML105 เบื้องต้นก่อนหน้านี้เพื่อใช้กำหนดระดับความรุนแรงของสภาวะขาดน้ำซึ่งความเข้มข้นของ PEG6000 ที่เลือกใช้ในระดับความรุนแรงสูงสุดเป็นระดับที่ชักนำให้ปากใบของข้าวปิดแคบได้ตลอดทั้งวัน โดยเฉพาะเลี้ยงต้นข้าวในสภาวะขาดน้ำแต่ละระดับเป็นเวลา 7 วัน เมื่อครบกำหนดในแต่ละระดับจึงย้ายต้นข้าวลงเพาะเลี้ยงในสภาวะขาดน้ำที่ระดับรุนแรงขึ้นอย่างต่อเนื่องที่ละขั้นจนครบทั้ง 3 ระดับ เป็นเวลา

ทั้งหมด 21 วัน ติดตามวัดค่า $\Psi_{\pi, \text{sol}}$ ด้วยเครื่อง vapro pressure osmometer (Vapro 5600, Wescor Inc., USA) ค่า pH ด้วยเครื่อง pH meter (pH 33, Horiba Scientific, Japan) และค่า EC ด้วยเครื่อง conductivity meter (EC 33, Horiba Scientific, Japan) และรักษาระดับให้คงที่ทุกวัน

การวัดการตอบสนองทางสรีรวิทยา

ติดตามวัดเส้นตอบสนองต่อแสง (Photosynthetic light-response curve) ประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุด (Maximum quantum efficiency of PSII, F_v/F_m) และปริมาณรงควัตถุของใบข้าวในแต่ละระดับของสภาวะขาดน้ำ โดยเลือกวัดใบแรกที่คลีออกเต็มที่นับจากปลายยอด ในวันสุดท้ายของแต่ละระดับของสภาวะขาดน้ำ รวม 3 ครั้ง คือ วันที่ 7, 14 และ 21 ของการทดลอง

เส้นตอบสนองต่อแสง

วัดเส้นตอบสนองต่อแสงเพื่อประเมินการตอบสนองของปากใบโดยใช้แสงเป็นตัวชักนำ ในช่วง 8.00–12.00 น. จำนวน 3 ชั่วโมง ด้วยเครื่องวัดอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สระบบเปิด ใช้หัววัดแบบ leaf chamber fluorometer (LI-6400-40, Licor Inc., USA) กำหนดความเร็วของอากาศที่ไหลผ่านใบ $400 \mu\text{mol s}^{-1}$ ความเข้มข้นของ CO_2 $400 \mu\text{mol mol}^{-1}$ อุณหภูมิภายในภาชนะบรรจุใบ 28°C และความชื้นสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 70–75% ทำให้ค่าแรงดึงระเหยน้ำ (Air vapor pressure deficit, VPD_{air}) อยู่ในช่วง 1–2 kPa เริ่มวัดโดยให้ใบได้รับความเข้มแสงสูงสุดที่ $2,500 \mu\text{molPPF m}^{-2}\text{s}^{-1}$ แล้วลดความเข้มแสงลงเป็นลำดับทั้งหมด 14 ระดับจนถึง $0 \mu\text{molPPF m}^{-2}\text{s}^{-1}$ เครื่องมือให้ค่าอัตราสังเคราะห์แสงสุทธิ (Net photosynthesis rate, P_n) คำนวณไหลปากใบ (Stomatal conductance, g_s) อัตราคายน้ำ (Transpiration rate, E) และอุณหภูมิใบ (T_{leaf}) คำนวณค่าประสิทธิภาพการใช้น้ำ (Water use efficiency, $\text{WUE} = P_n/E$) และประสิทธิภาพการตรึง

คาร์บอนไดออกไซด์ชั่วขณะ (Instantaneous carboxylation efficiency, P_n/C_i) นอกจากนี้ เครื่องยังวัดปริมาณรังสีฟลูออเรสเซนซ์ในขณะที่ได้รับแสงในขณะนั้น (Steady-state fluorescence, F_s) และปริมาณรังสีฟลูออเรสเซนซ์สูงสุดในขณะที่ได้รับแสงสูงมาก (Maximum fluorescence, F_m) คำนวณค่าประสิทธิภาพการใช้แสงของระบบ PSII ในขณะที่ได้รับแสง (Light-adapted quantum efficiency of photosystem II, ϕ_{PSII}) ได้ว่า $\phi_{\text{PSII}} = (F_m' - F_s)/F_m'$ และคำนวณอัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (Electron transport rate, ETR) ซึ่ง $\text{ETR} = \phi_{\text{PSII}} \times f \times I \times \alpha_{\text{leaf}}$ เมื่อ f คือ สัดส่วนของพลังงานแสงที่ถูกดูดกลืนโดยระบบ PSII เทียบกับ PSI (สำหรับพืช C_3 มีค่า 0.5) I คือ ความเข้มแสงในช่วงคลื่นสำหรับการสังเคราะห์แสง (Photosynthetic photon flux density, PPFD) และ α_{leaf} คือ ค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสงของใบมีค่า 0.85 (Björkman and Demmig, 1987) ค่าที่ได้ใช้คำนวณสัดส่วนของอัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนต่ออัตราสังเคราะห์สุทธิ (ETR/P_n)

ความสัมพันธ์ของอัตราสังเคราะห์แสงสุทธิกับความเข้มแสง อยู่ในรูปสมการ non-rectangular hyperbolic (Thornley and Johnson, 1990) ดังนี้

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

เมื่อ α คือ ประสิทธิภาพการใช้แสง (Quantum efficiency) เป็นความชันในช่วงความเข้มแสงต่ำ ($0-100 \mu\text{molPPF m}^{-2}\text{s}^{-1}$), θ คือ ค่าควบคุมความโค้งของเส้นกราฟ (Curvature factor), R_d คือ อัตราหายใจในที่มืด (Dark respiration), P_n คือ อัตราสังเคราะห์แสงสุทธิ (Net photosynthetic rate) และ P_{max} คือ อัตราสังเคราะห์แสงรวมสูงสุด (Maximum gross photosynthetic rate) คำนวณพารามิเตอร์ต่าง ๆ ของสมการข้างต้นด้วยวิธี non-linear

regression โดยใช้ solver ของโปรแกรม Microsoft excel คำนวณค่าความเข้มแสงอิ่มตัว (Light saturation point, I_s) โดยกำหนดเป็นค่าความเข้มแสงเมื่อ $P_n = 0.85P_{n_{max}}$ และจุดชดเชยแสง (Light compensation point, I_c) โดยกำหนดเป็นค่าความเข้มแสงเมื่อ $P_n = 0$ สำหรับความสัมพันธ์ระหว่าง ETR กับ I มีลักษณะเช่นเดียวกับ P_n กับ I จึงสามารถคำนวณอัตราสูงสุดของการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนทั้งระบบ (Maximum rate whole-chain electron transport, ETR_{max}) และพารามิเตอร์ต่าง ๆ ของสมการข้างต้น ด้วยวิธีการเดียวกัน นอกจากนี้ คำนวณค่านำไหลปากใบสูงสุด ($g_{s, max}$) และอัตราคายน้ำสูงสุด (E_{max}) โดยคำนวณจากค่าเฉลี่ยของ g_s และ E ที่ระดับความเข้มแสงสูงกว่าค่าความเข้มแสงอิ่มตัว ($I > 1200 \mu\text{molPPF m}^{-2}\text{s}^{-1}$)

เอนไซม์รูบิสโก (RuBisCO) สามารถทำปฏิกิริยาได้ทั้ง CO_2 (Carboxylation) และ O_2 (Oxygenation) ทำให้สามารถประเมินอัตราหายใจเชิงแสง (Photorespiration, R_l) ได้ตามสมการของ Valentini *et al.* (1995)

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

ประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุด

วัดประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุดในช่วงเช้าตรู่ (4.00–5.00 น.) เพื่อลดอิทธิพลของความเข้มแสงภายนอกและอุณหภูมิใบ ด้วยเครื่อง pluse amplitude-modulation fluorometer (PAM-2100, Heinz Walz GmBH, Germany) และหนีบใบด้วย leaf-clip holder (2030B, Heinz Walz) จำนวน 5 ซ้ำ โดยใช้ตัวอย่างใบเดียวกับที่ใช้วัดเส้นตอบสนองต่อแสง คำนวณค่าประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุด (F_v/F_m) ดังสมการ

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

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

ปริมาณรงควัตถุในใบ

หลังจากวัดอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สและประสิทธิภาพการใช้แสงของใบแล้ว จึงตัดตัวอย่างใบเดียวกันเพื่อวัดปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ในใบ โดยสกัดด้วย 80% acetone และวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 445, 645 และ 663 nm ตามวิธีการของ Arnon (1949)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป IBM SPSS Statistics 17 วิเคราะห์อิทธิพลของทรีทเมนต์ด้วย one-way analysis of variance (ANOVA) โดยทดสอบระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างทรีทเมนต์ ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

ผลการทดลองและวิจารณ์

การตอบสนองของปากใบและอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สของใบ

ต้นข้าว KDML105 ที่เพาะเลี้ยงในสภาวะควบคุมที่ไม่ขาดน้ำ ($\Psi_{\pi, sol} = -30 \text{ kPa}$) มีค่านำไหลปากใบ (g_s) และอัตราสังเคราะห์แสงสุทธิ (P_n) เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วตามความเข้มแสงในช่วง 0–1000 $\mu\text{molPPF m}^{-2}\text{s}^{-1}$ แล้วเริ่มโค้งขึ้นสู่ค่าสูงคงที่ (Figures 1a–b) ที่ความเข้มแสงอิ่มตัว (I_s) ใบข้าวในสภาวะควบคุมมีค่านำไหลปากใบสูงสุด ($g_{s, max}$) อยู่ที่ 567.0 $\text{mmolH}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ค่าอัตราสังเคราะห์แสงรวมสูงสุด ($P_{n, max}$) 25.3 $\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ และค่าอัตราคายน้ำสูงสุด (E_{max}) 8.9 $\text{mmolH}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Table 1)

ภายใต้สภาวะขาดน้ำที่ระดับต่ำ ($\Psi_{\pi, \text{sol}} = -300$ kPa) เป็นเวลานาน 7 วัน ปากใบตอบสนองต่อแสงโดยเปิดเพิ่มขึ้น แต่ในช่วงแสงที่แคบกว่ากลุ่มควบคุมคือเปิดในช่วง $0-600 \mu\text{molPPF m}^{-2}\text{s}^{-1}$ แล้วไม่สามารถเปิดกว้างเพิ่มขึ้นได้อีกตามความเข้มแสงที่เพิ่มสูงขึ้น (Figure 1a) ทั้งนี้ ค่า $g_{s, \text{max}}$ ลดลงเหลืออยู่ที่ 41.0% ของค่ากลุ่มควบคุม (Table 1) การลดลงของค่า g_s ส่งผลโดยตรงให้ค่า P_n และอัตราการคายน้ำ (E) ลดลงตามไปด้วย (Figures 1a–c) โดยค่า P_{max} ลดลง 7.6% และค่า E_{max} ลดลง 23.6% เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (Table 1) แสดงให้เห็นว่า ในสภาวะขาดน้ำที่ระดับต่ำชักนำให้ปากใบเปิดได้น้อยลง ทำให้อัตราการสูญเสียน้ำลดลงในสัดส่วนที่มากกว่าการลดลงของ

อัตราสังเคราะห์แสงสุทธิ ส่งผลให้ค่าประสิทธิภาพการใช้น้ำ (WUE) มีค่าสูงขึ้น (Figure 1d) การปิดแคบลงของปากใบเป็นกลไกแรกที่ต้นข้าวตอบสนองต่อสภาวะขาดน้ำ ซึ่งมีผลต่อทั้งอัตราการคายน้ำและอัตราสังเคราะห์แสงสุทธิ (Pinheiro and Chaves, 2011; Ouyang *et al.*, 2017) และเมื่อพิจารณาค่าประสิทธิภาพการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ชั่วขณะ (P_n/C_i) พบว่า ใบข้าวภายใต้สภาวะขาดน้ำที่ระดับต่ำมีค่า P_n/C_i ใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ขาดน้ำ (Figure 1e) แสดงให้เห็นว่า กระบวนการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ (Carboxylation) ของใบข้าวภายใต้สภาวะขาดน้ำที่ระดับต่ำนี้ยังคงดำเนินไปได้อย่างปกติ

Table1 Summary of parameters of light response curves of control and drought-stress plants of KDML105 rice. Maximum gross photosynthetic rate (P_{max}), light compensation point (I_c), light saturation point (I_s), quantum efficiency (α), curvature factor (θ), dark respiration (R_d), maximum rate of linear whole-chain electron transport (ETR_{max}), maximum of stomatal conductance ($g_{s, \text{max}}$), and maximum transpiration rate (E_{max})

Parameters	Control	Mild stress	Moderate stress	Severestress	p-value
$P_{\text{max}}, \mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$	25.30 ± 2.80 ^a	23.40 ± 0.30 ^a	12.70 ± 0.40 ^b	1.10 ± 0.30 ^c	**
$I_c, \mu\text{molPPF m}^{-2}\text{s}^{-1}$	16.20 ± 5.90	26.30 ± 2.10	19.00 ± 1.80	nd	ns
$I_s, \mu\text{molPPF m}^{-2}\text{s}^{-1}$	787.10 ± 11.60 ^a	572.70 ± 56.90 ^b	433.40 ± 17.50 ^c	nd	**
$\alpha, \text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ PPF}$	0.033 ± 0.005 ^b	0.047 ± 0.002 ^a	0.040 ± 0.002 ^{ab}	0.010 ± 0.001 ^c	**
θ	0.93 ± 0.03	0.92 ± 0.03	0.88 ± 0.03	0.99 ± 0.03	ns
$R_d, \mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$	0.51 ± 0.11 ^b	1.28 ± 0.10 ^a	0.79 ± 0.11 ^b	0.57 ± 0.05 ^b	**
$ETR_{\text{max}}, \mu\text{mol e}^- \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$	149.70 ± 4.70 ^a	146.30 ± 1.70 ^a	120.30 ± 6.20 ^b	27.60 ± 7.10 ^c	**
$g_{s, \text{max}}, \text{mmolH}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$	567.00 ± 79.70 ^a	334.70 ± 28.40 ^b	118.90 ± 1.90 ^c	22.60 ± 1.50 ^c	**
$E_{\text{max}}, \text{mmolH}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$	8.89 ± 0.61 ^a	6.79 ± 0.48 ^b	3.03 ± 0.27 ^c	0.83 ± 0.03 ^d	**

Values are mean ± SE. 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 $P < 0.01$; ns = non-significant difference

เมื่อเพิ่มสภาวะขาดน้ำเป็นระดับปานกลาง ($\Psi_{\pi, \text{sol}} = -1000 \text{ kPa}$) ต่อมาอีก 7 วัน พบว่า การตอบสนองของปากใบต่อระดับความเข้มแสงถูกจำกัดในช่วงแสงแคบมากขึ้น และมีระดับกว้างของการเปิดน้อยลงมาก (Figure 1a) โดยที่ค่า $g_{s, \text{max}}$ ลดลงไปถึง 79.0% ของกลุ่มควบคุม (Table 1) ส่งผลให้ค่า P_n และ E ลดลงอย่างมาก (Figures 1b-c) โดยค่า P_{max} ลดลง 49.7% และค่า E_{max} ลดลง 65.9% จากกลุ่มควบคุม (Table 1) การลดลงของอัตราคายน้ำจึงเกิดในสัดส่วนที่มากกว่าอัตราสังเคราะห์แสงสุทธิ ส่งผลให้ค่า WUE ของใบเพิ่มสูงขึ้นภายใต้สภาวะขาดน้ำทั้งที่ระดับต่ำและระดับปานกลาง (Figure 1d) นอกจากนี้ยังพบว่า ใบข้าวมีค่า P_n/C_i ลดลง เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (Figure 1e) แสดงให้เห็นว่ากระบวนการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ของใบข้าวเริ่มถูกจำกัดภายใต้สภาวะขาดน้ำระดับปานกลาง ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการลดลงของประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ Rubisco (Maroco *et al.*, 2002; Zhou *et al.*, 2007) หรือเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของชั้นมีโซฟิลล์ภายในใบ (Wang *et al.*, 2018)

เมื่อเพิ่มสภาวะขาดน้ำเป็นระดับรุนแรงสูงสุด ($\Psi_{\pi, \text{sol}} = -2800 \text{ kPa}$) ต่อเนื่องอีก 7 วัน พบว่าปากใบข้าวปิดแคบตลอดช่วงของความเข้มแสง คือ ปากใบไม่แสดงการตอบสนองต่อแสง (Figure 1a) โดยค่า $g_{s, \text{max}}$ ลดลงถึง 96.0% จากกลุ่มควบคุม (Table 1) ทำให้

อัตราสังเคราะห์แสง (P_n และ P_{max}) อัตราคายน้ำ (E และ E_{max}) และประสิทธิภาพการตรึง CO_2 ของใบลดลงจนมีค่าใกล้เคียงศูนย์ (Figures 1b, c, e และ Table 1) เมื่อใบข้าวระบายความร้อนด้วยการคายน้ำได้น้อยลง จึงส่งผลโดยตรงให้อุณหภูมิใบ (T_{leaf}) มีค่าเพิ่มสูงขึ้นจากใบข้าวกลุ่มควบคุมที่ไม่ขาดน้ำถึง 4°C (Figure 1f)

สภาวะขาดน้ำที่รุนแรงขึ้นอย่างเป็นลำดับขั้นและกินเวลายาวนาน 21 วัน มีผลกระทบต่อข้าวที่แสดงได้ด้วยพารามิเตอร์หลายตัวของฟังก์ชันเส้นตอบสนองต่อแสง (Table 1) โดยพบว่า ค่า P_{max} ที่ลดลงจะสัมพันธ์กับค่า I_s ที่ลดลงด้วย ในขณะที่อัตราหายใจในที่มืด (R_d) ที่เพิ่มขึ้นในทุกะดับของการขาดน้ำจะสัมพันธ์กับค่า I_c ที่เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Tingting *et al.* (2010) ที่พบว่า ความรุนแรงของการขาดน้ำเพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่า I_c ของใบข้าวฟ่างหวาน (*Sorghum bicolor* L. Moench) มีค่าเพิ่มขึ้น ในขณะที่ I_s มีค่าลดลง นอกจากนี้ ที่ระดับขาดน้ำรุนแรงพบว่า ประสิทธิภาพการใช้แสง (α) มีค่าลดลงอย่างมาก ทั้งนี้ ข้อมูลเส้นตอบสนองต่อแสงภายใต้การขาดน้ำระดับรุนแรงสูงสุด ($\Psi_{\pi, \text{sol}} = -2800 \text{ kPa}$) ไม่สามารถเข้ารูปสมการ non-rectangular hyperbola ได้ เนื่องจากค่า P_n มีค่าต่ำคงที่ตลอดช่วงของความเข้มแสง (Figure 1b) ทำให้คำนวณค่าความเข้มแสงอิ่มตัว (I_s) และค่าจุดชดเชยแสง (I_c) ไม่ได้

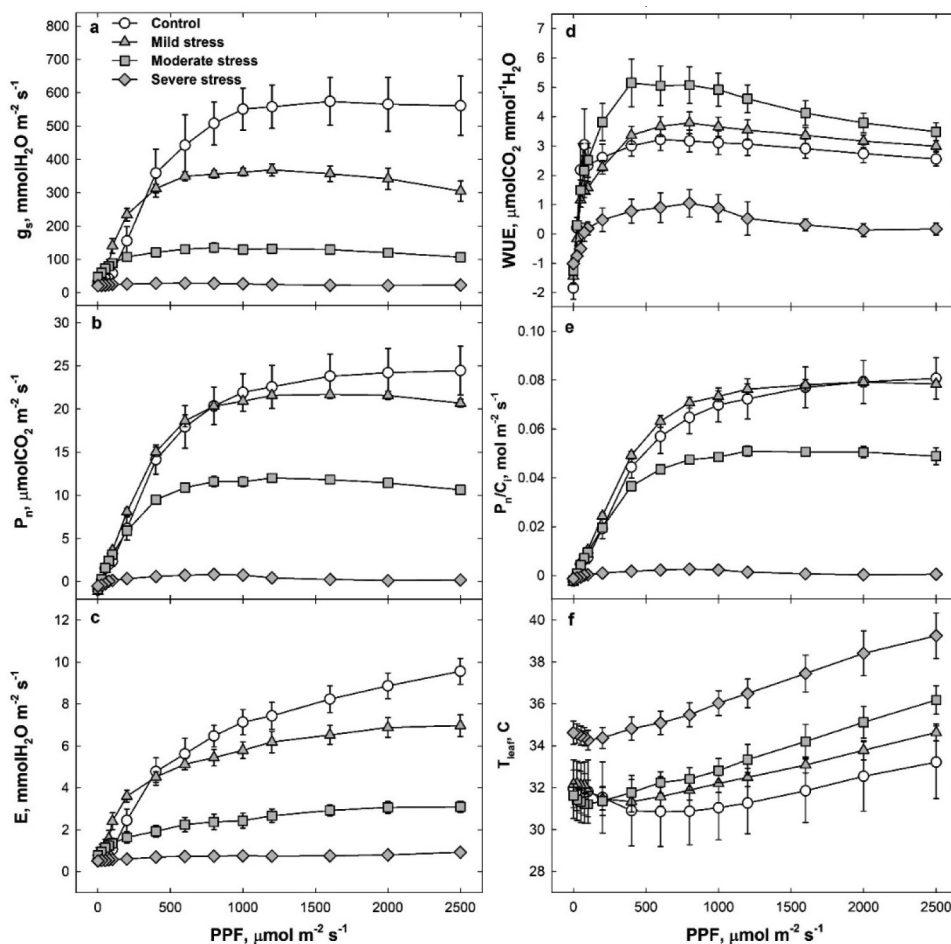


Figure 1 Light response curves of (a) stomatal conductance (g_s), (b) net photosynthetic rate (P_n), (c) transpiration rate (E), (d) water use efficiency (WUE), (e) instantaneous carboxylation efficiency (P_n/C_i) and (f) leaf temperature (T_{leaf}) in control and drought-stressed plants of KDML105 rice. Values are means $\pm$ SE

ประสิทธิภาพการใช้แสงของใบ

ในสภาพปกติเมื่อใบได้รับความเข้มแสงเพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพการใช้แสงของระบบ PSII (ϕ_{PSII}) มีค่าลดลง ในขณะที่อัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (ETR) และอัตราหายใจเชิงแสง (R_L) มีค่าเพิ่มขึ้น (Figures 2a-c) เมื่อเพิ่มสภาวะขาดน้ำผลกระทบต่อการกระบวนการใช้แสง

แสดงออกแตกต่างกัน ภายใต้การขาดน้ำในระดับต่ำ ($\Psi_{\pi, \text{sol}} = -300 \text{ kPa}$) พบว่า ค่า ϕ_{PSII} , ETR และ R_L ของใบข้าว KDML105 ไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ขาดน้ำ (Figures 2a-c) แสดงให้เห็นว่า กลไกต้านฟิสิกส์ของกระบวนการสังเคราะห์แสงยังไม่ถูกรบกวนโดยการขาดน้ำในระดับต่ำ

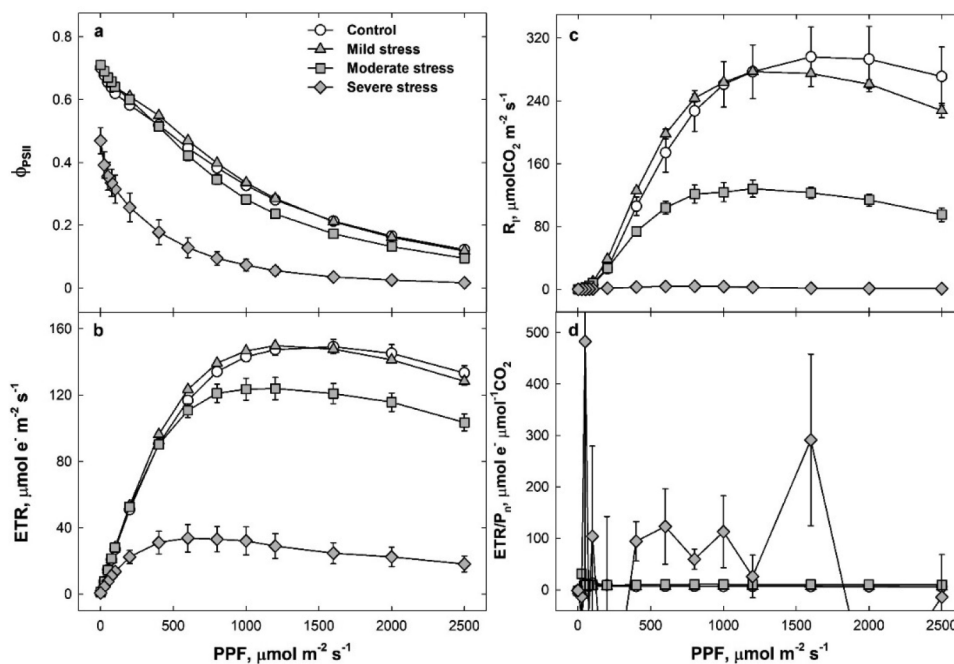


Figure 2 Light response curves of (a) quantum efficiency of PSII (ϕ_{PSII}), (b) electron transport rate (ETR), (c) photorespiration rate (R_l) and (d) ratio of apparent electron transport rate to net photosynthetic rate (ETR/P_n) in control and drought-stressed plants of KDML105 rice. Values are means $\pm$ SE

เมื่อสภาวะขาดน้ำเพิ่มขึ้นจนถึงระดับปานกลาง ($\Psi_{\pi, \text{sol}} = -1,000$ kPa) พบว่าค่า ϕ_{PSII} , ETR และ R_l เริ่มลดลง (Figures 2a–c) โดยอัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนสูงสุด (ETR_{max}) ของใบมีค่าลดลง 19.7% จากกลุ่มควบคุม (Table 1) และเมื่อสภาวะขาดน้ำเพิ่มขึ้นจนถึงระดับรุนแรง ($\Psi_{\pi, \text{sol}} = -2,800$ kPa) พบว่าค่า ϕ_{PSII} , ETR และ R_l ลดลงมากขึ้นอีก โดยค่า ETR_{max} ลดลงไปถึง 81.5% (Figures 2a–c และ Table 1) แสดงให้เห็นว่า กระบวนการรับแสงและกระบวนการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนของใบข้าวเริ่มลดลงที่สภาวะขาดน้ำระดับปานกลางจนลดลงอย่างรุนแรงเมื่อเพิ่มการขาดน้ำถึงขั้นรุนแรงสูงสุด นอกจากนี้ยังพบว่า ใบข้าวภายใต้สภาวะขาดน้ำรุนแรงสูงสุดมีค่าสัดส่วนของอัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนต่ออัตราสังเคราะห์แสงสุทธิ (ETR/P_n) เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด (Figure 2d) ซึ่ง

สะท้อนความผิดปกติที่แสดงว่าพลังงานแสงที่ใบดูดซับไว้ถูกนำไปใช้ในกระบวนการอื่นนอกเหนือจากกระบวนการสังเคราะห์แสงและการหายใจเชิงแสง (Photorespiration) ได้แก่ ปฏิกิริยา Mehler-peroxidase (Osório *et al.*, 2013) และการถ่ายเทอิเล็กตรอนแบบเป็นวัฏจักร (Cyclic electron transport) (Murchie and Niyogi, 2011) ซึ่งทำให้ดุลของคาร์บอน (Carbon balance) ระหว่างกระบวนการสังเคราะห์แสงและการหายใจเชิงแสงลดลงอย่างมาก (Flexas *et al.*, 2006) ดังแสดงจากการลดลงของค่า R_l ควบคู่กับ P_n ภายใต้สภาวะขาดน้ำที่ระดับปานกลางและรุนแรง (Figures 1b and 2c)

เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของค่าประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุด (F_v/F_m) ของใบข้าว KDML105 ภายใต้สภาวะขาดน้ำพบว่า ค่า F_v/F_m

ของใบข้าว KDML105 ที่ได้รับสภาวะขาดน้ำที่ระดับต่ำและปานกลางมีค่าใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ขาดน้ำ โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 0.85 ซึ่งเป็นช่วงค่าในสภาพปกติสำหรับใบพืช C3 (Björkman and Demmig, 1987) แต่ที่ระดับขาดน้ำรุนแรงสูงสุด ค่า F_v/F_m ของใบข้าวลดลงอย่างมากและมีนัยสำคัญทางสถิติโดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 0.10 (Figure 3) การลดลงมากของค่า F_v/F_m

แสดงให้เห็นว่า ความสมบูรณ์ของระบบ PSII ของใบข้าวเกิดเสียหายได้เมื่อเผชิญกับการขาดน้ำขั้นรุนแรงสูงสุด ซึ่งอธิบายกันว่าเกิดจากการเสียดรูปของปริมาณโปรตีน D1 ในระบบ PSII (Ghotbi-Ravandi *et al.*, 2014) ผลที่ได้ทำให้สามารถใช้ค่า F_v/F_m เป็นพารามิเตอร์บ่งชี้ลักษณะทนแล้งระดับรุนแรงในข้าวได้ (Puteh *et al.*, 2013)

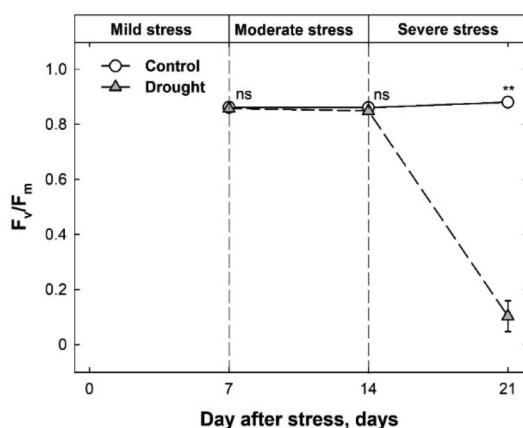


Figure 3 Effect of drought stress on the maximum quantum efficiency of PSII (F_v/F_m) in control and drought-stressed plants of KDML105 Rice. Values are means $\pm$ SE. Within each day, ** = significant difference between means at $P < 0.01$, ns = no significant difference between means

ปริมาณรงควัตถุในใบ

ใบข้าว KDML105 ภายใต้สภาวะขาดน้ำที่ระดับต่ำ ($\Psi_{\pi, \text{sol}} = -300$ kPa) และปานกลาง ($\Psi_{\pi, \text{sol}} = -1,000$ kPa) มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (Chl a), บี (Chl b) และปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด (Total Chl) ใกล้เคียงกับใบข้าวในสภาวะควบคุม (Figures 4a-c) แต่เมื่อสภาวะขาดน้ำเพิ่มขึ้นจนถึงระดับความรุนแรงสูงสุด ($\Psi_{\pi, \text{sol}} = -2,800$ kPa) พบว่า ปริมาณ Chl a, Chl b และ Total Chl ของใบข้าวมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (Figures 4a-c) แสดงถึงความเสียหายของระบบรับแสงของใบภายใต้สภาวะขาดน้ำรุนแรง โดยการลดลงของปริมาณคลอโรฟิลล์ภายใต้สภาวะขาดน้ำเกิดขึ้นได้จากหลายสาเหตุ

ได้แก่ การสลายตัวและการเสื่อมสภาพของคลอโรฟิลล์ การเกิดกระบวนการโฟโตออกซิเดชัน (Photo-oxidation) ของคลอโรฟิลล์ เอ และการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation ที่ระบบ PSII เพิ่มขึ้น (Shukla *et al.*, 2012; Pandey and Shukla, 2015) นอกจากนี้ การลดลงของปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบยังเป็นกลไกป้องกันความเสียหายของ PSII โดยลดการดูดซับแสงบริเวณคลอโรฟลาสต์ และเป็นดัชนีบ่งชี้การเกิดความเครียดออกซิเดชัน (Oxidative stress) ของพืช (Wijewardana *et al.*, 2019)

การที่สัดส่วนของปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ต่อคลอโรฟิลล์ บี (Chl a/b) มีค่าลดลงอย่างเด่นชัดที่ระดับขาดน้ำรุนแรงสูงสุด (Figure 4d) แสดงว่า light

harvesting complex ที่บริเวณเยื่อหุ้มไทลาคอยด์ (Thylakoid membrane) ได้รับความเสียหายแล้ว (Parida *et al.*, 2007) การลดลงของ Chl a/b เป็นอีกดัชนีหนึ่งที่บ่งชี้ลักษณะทนทานต่อความเครียดออกซิเดชันในข้าวได้ดีเช่นเดียวกับค่า F_v/F_m (Kasajima, 2017; 2019)

เมื่อพิจารณาปริมาณแคโรทีนอยด์ (Car) ในใบข้าวภายใต้สภาวะขาดน้ำ พบว่า ต้นข้าวที่อยู่ภายใต้สภาวะขาดน้ำที่ระดับต่ำมีปริมาณ Car ของใบสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เมื่อสภาวะขาดน้ำเพิ่มขึ้นสู่ระดับปานกลางและรุนแรงสูงสุดพบว่า ปริมาณ Car ของใบข้าวที่มีค่าลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (Figure 4e) สอดคล้องกับการศึกษาของ Wang *et al.* (2019) ซึ่งพบว่า ใบข้าวพันธุ์

Liangyoupeijiu ที่งดน้ำมาแล้วเป็นเวลา 7 วัน มีปริมาณ Car สูงกว่าใบข้าวในกลุ่มควบคุมที่ไม่ขาดน้ำ แต่เมื่อยืดเวลาของการขาดน้ำออกไปให้ยาวนานและรุนแรงขึ้นเป็นเวลา 35 วัน พบว่า ใบข้าวในกลุ่มที่ขาดน้ำมีปริมาณ Car ลดต่ำลงเมื่อเทียบกับในข้าวในกลุ่มควบคุม การสังเคราะห์ Car ของใบที่เพิ่มขึ้นในช่วงแรกของการขาดน้ำนี้ช่วยปกป้องคลอโรพิลล์โดยกระจายความร้อนที่มากเกินไปของระบบการถ่ายทอดอิเล็กตรอนบริเวณเยื่อหุ้มไทลาคอยด์ และช่วยยับยั้งการสะสมของอนุมูลอิสระในกลุ่มของ reactive oxygen species (Amoah *et al.*, 2019; Basal *et al.*, 2020) ในขณะที่ การลดลงของปริมาณ Car นั้นเกิดจากปฏิกิริยา lipid peroxidation ภายในเซลล์ใบ (Terzi and Kadioglu, 2006)

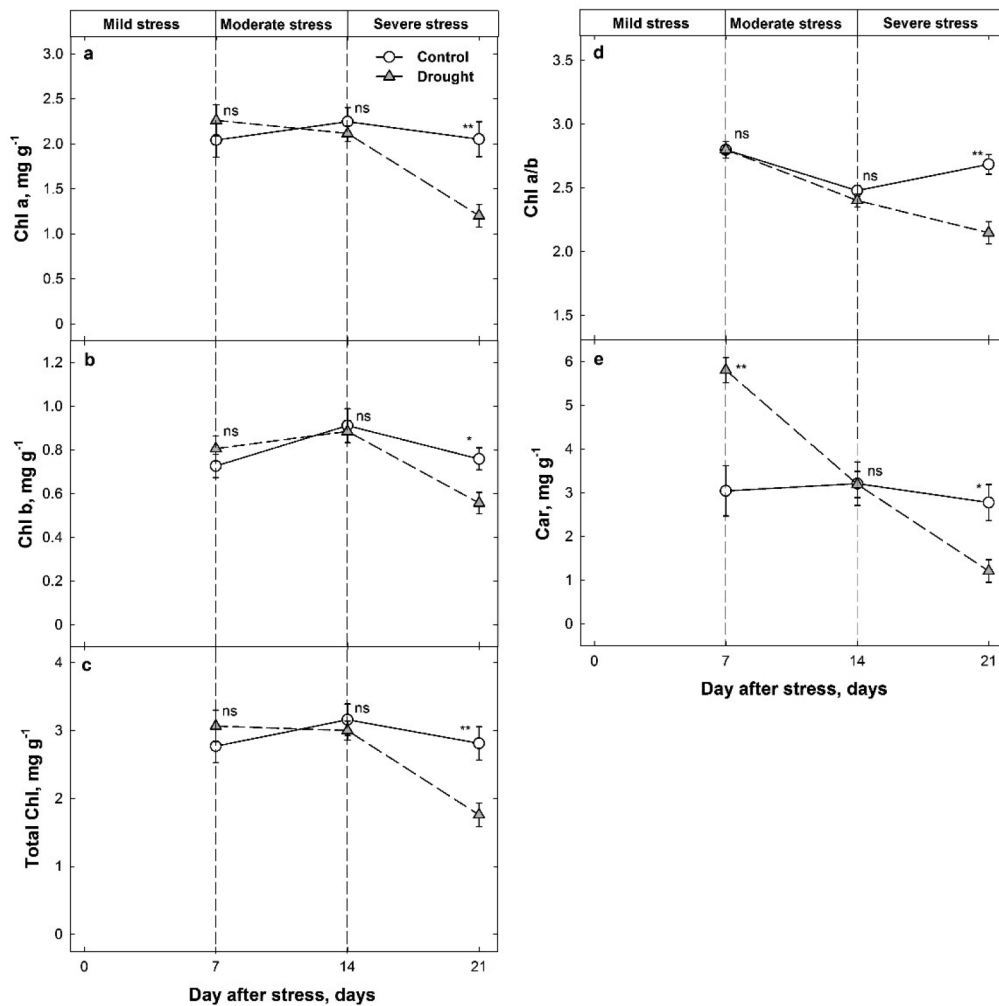


Figure 4 Effect of drought stress on (a) chlorophyll a content (Chl a), (b) chlorophyll b content (Chl b), (c) total chlorophyll content (Total Chl), (d) ratio of chlorophyll a to chlorophyll b (Chl a/b) and (e) carotenoid content (Car) in control and drought-stressed plants of KDML105 rice. Values are means $\pm$ SE. Within each day, * = significant difference between means at $P < 0.05$, ** = significant difference between means at $P < 0.01$, ns = no significant difference between means

สรุป

การจำลองสภาวะขาดน้ำในเขตรากของข้าวพันธุ์ KDML105 โดยการชักนำด้วย PEG6000 และเพิ่มระดับความรุนแรงอย่างต่อเนื่องเป็นลำดับขั้น 3 ระดับ ระดับละ 7 วัน สามารถวัดผลกระทบทางสรีรวิทยาของข้าวในระยะการเจริญเติบโตทางลำต้นได้อย่างชัดเจน ผลกระทบต่อกระบวนการแลกเปลี่ยนแก๊สของใบเกิดเป็นลำดับดังนี้ ในช่วงแรกของสภาวะขาดน้ำที่ระดับต่ำ ($\Psi_{\pi, \text{sol}} = -300$ kPa) ต้นข้าวใช้กลไกในการปิดเคลือบปากใบเพียงอย่างเดียว ซึ่งการลดลงของค่านำไหลปากใบส่งผลให้อัตราสังเคราะห์แสงและอัตราการคายน้ำลดลงตามไปด้วยโดยอัตราการคายน้ำลดลงในอัตราส่วนที่สูงกว่า ภายใต้อัตราสภาวะขาดน้ำที่ระดับปานกลางและรุนแรงในระยะต่อมา ($\Psi_{\pi, \text{sol}} = -1,000$ ถึง $-2,800$ kPa) พบว่า อัตราสังเคราะห์แสงและอัตราการคายน้ำลดลงอย่างมากตามการลดลงของค่านำไหลปากใบ และเกิดขึ้นควบคู่กับการลดลงของประสิทธิภาพ

การตรึง CO_2 (การลดลงของค่า P_n/C_i) พร้อมกับการลดลงของประสิทธิภาพการใช้แสงของใบ (การลดลงของค่า ϕ_{PSII} และ ETR) นอกจากนี้ ที่ระดับความรุนแรงสูงสุดของสภาวะขาดน้ำ ($\Psi_{\pi, \text{sol}} = -2,800$ kPa) ยังเกิดความเสียหายต่อระบบ PSII (การลดลงของค่า F_v/F_m) และส่งผลให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ของใบข้าวลดลงอีกด้วย

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับได้รับการสนับสนุนจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม และขอขอบคุณศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักเขตร้อน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ที่อนุเคราะห์ให้ใช้โรงเรือนเพื่อเป็นสถานที่ในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Amoah, J.N., C.S. Ko, J.S. Yoon and S.Y. Weon. 2019. Effect of drought acclimation on oxidative stress and transcript expression in wheat (*Triticum aestivum* L.). J. Plant Interact. 14(1): 492–505.
- Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol. 24(1): 1–15.
- Basal, O., A. Szabó and S. Veres. 2020. Physiology of soybean as affected by PEG-induced drought stress. Curr. Plant Biol. 22: 100135.
- Björkman, O. and B. Demmig. 1987. Photon yield of O_2 evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77K among vascular plants of diverse origins. Planta. 170: 489–504.
- Bunnag, S. and P. Pongthai. 2013. Selection of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars tolerant to drought stress at the vegetative stage under field conditions. Am. J. Plant Sci. 4: 1701–1708.

- Bray, E.A. 1993. Molecular responses to water deficit. *Plant Physiol.* 103: 1035–1040.
- Chen, Y.E., J.M. Cui, Y.Q. Su, C.M. Zhang, J. Ma, Z.W. Zhang, M. Yuan, W.J. Liu, H.Y. Zhang and S. Yuan. 2017. Comparison of phosphorylation and assembly of photosystem complexes and redox homeostasis in two wheat cultivars with different drought resistance. *Sci.Rep.* 7(1): 12718.
- Deeba, F., A.K. Pandey, S. Ranjan, A. Mishra, R. Singh, Y.K. Sharma, P.A. Shirke and V. Pandey. 2012. Physiological and proteomic responses of cotton (*Gossypium herbaceum* L.) to drought stress. *Plant Physiol. Biochem.* 53: 6–18.
- Flexas, J., J. Bota, J. Galme's, H. Medrano and M. Ribas-Carbó. 2006. Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress. *Physiol. Plant.* 127: 343–352.
- Gang-shun, R., U. Ashraf, K. Lei-lei, M. Zhao-wen, X. Li-zhong, Z. Ke-you, F. Rasul and T. Xiang-ru. 2019. Low soil temperature and drought stress conditions at flowering stage affect physiology and pollen traits of rice. *J. Integ. Agri.* 18(8): 1859–1870.
- Ghotbi-Ravandi, A.A., M. Shahbazi, M. Shariati and P. Mulo. 2014. Effects of mild and severe drought stress on photosynthetic efficiency in tolerant and susceptible barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes. *J. Agron. Crop Sci.* 200(6): 403–415.
- Kangkan, P. and A. Polthanee. 1996. Effect of water stress at different growth stages on growth and yield of Khao Dok Mali 105 rice variety. *J. Agri.* 12(3): 256–262. (in Thai)
- Kasajima, I. 2017. Difference in oxidative stress tolerance between rice cultivars estimated with chlorophyll fluorescence analysis. *BMC Research Notes.* 10: 168.
- Kasajima, I. 2019. *Advances in Rice Research for Abiotic Stress Tolerance*. MPS Ltd. Chennai, India. pp. 469–487.
- Maroco, J.P., M.L. Rodrigues, C. Lopes and M.M. Chaves. 2002. Limitations to leaf photosynthesis in field-grown grapevine under drought-metabolic and modelling approaches. *Funct. Plant Biol.* 29: 451–459.
- Murchie, E.H. and K. Niyogi. 2011. Manipulation of photoprotection to improve plant photosynthesis. *Plant Physiol.* 155: 86–92.
- Osório, M.L., J. Osório and A. Romano. 2013. Photosynthesis, energy partitioning, and metabolic adjustments of the endangered Cistaceae species *Tuberaria major* under high temperature and drought. *Photosynthetica.* 51(1): 75–84.

- Ouyang, W., P.C. Struik, X. Yin and J. Yang. 2017. Stomatal conductance, mesophyll conductance, and transpiration efficiency in relation to leaf anatomy in rice and wheat genotypes under drought. *J. Exp. Bot.* 68(18): 5191–5205.
- Pandey, V. and A. Shukla. 2015. Acclimation and tolerance strategies of rice under drought stress. *Rice Sci.* 22(4): 147–161.
- Parida, A.K., V.S. Dagaonkar, M.S. Phalak, G.V. Umalkar and L.P. Aurangabadkar. 2007. Alterations in photosynthetic pigments, protein and osmotic components in cotton genotypes subjected to short-term drought stress followed by recovery. *Plant Biotechnol. Rep.* 1: 37–48.
- Pinheiro, C. and M.M. Chaves. 2011. Photosynthesis and drought: can we make metabolic connections from available data? *J. Exp. Bot.* 62(3): 869–882.
- Puteh, A.B., A.A. Saragih, M.R. Ismail and M.M.A. Mondal. 2013. Chlorophyll fluorescence parameters of cultivated (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*) and weedy rice (*Oryza sativa* L. var. *nivara*) genotypes under water stress. *Aust. J. Crop Sci.* 7(9): 1277–1283.
- Shi, G., F. Zhu-Ge, Z. Liu and L. Le. 2014. Photosynthetic responses and acclimation of two castor bean cultivars to repeated drying–wetting cycles. *J. Plant Interact.* 9(1): 783–790.
- Shukla, N., R.P. Awasthi, L. Rawat and J. Kumar. 2012. Biochemical and physiological responses of rice (*Oryza sativa* L.) as influenced by *Trichoderma harzianum* under drought stress. *Plant Physiol. Biochem.* 54: 78–88.
- Teinseree, N., S. Yingjajaval and S. Chanprame. 2008. Chlorophyll fluorescence parameters as indicators for water stress trait in sugarcane. *Agricultural Sci. J.* 39(2): 201–204. (in Thai)
- Terzi, R. and A. Kadioglu. 2006. Drought stress tolerance and the antioxidant enzyme system in *Ctenanthe setosa*. *Acta Biol. Crac. Ser. Bot.* 48(2): 89–96.
- Thornley, J.H.M. and I.R. Johnson. 1990. *Plant and Crop Modeling*. Oxford University Press, New York, USA. p. 213–242.
- Tingting, X., S. Peixi and S. Lishan. 2010. Photosynthetic characteristics and water use efficiency of sweet sorghum under different watering regimes. *Pak. J. Bot.* 42(6): 3981–3994.
- Utkhao, W., P. Eameaksuwan and S. Yingjajaval. 2016. Stomatal and photosynthetic responses of *Eucalyptus camaldulensis* to drought stress induced by polyethylene glycol. *Agricultural Sci. J.* 47(2): 149–161. (in Thai)

- 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.
- Valentini, R., D. Epron, P.D. Angelis, G. Matteucci and E. Dreyer. 1995. *In situ* estimation of net CO₂ assimilation, photosynthetic electron flow and photorespiration in Turkey oak (*Q. cerris* L.) leaves: diurnal cycles under different levels of water supply. *Plant Cell Environ.* 18: 631–640.
- Wang, Y., H. Lei, C. Xu and G. Chen. 2019. Long-term drought resistance in rice (*Oryza sativa* L.) during leaf senescence: a photosynthetic view. *Plant Growth Regul.* 88: 253–266.
- Wang, Y.W., D.X. Jiang, J.J. Hou and G.X. Chen. 2019. Physiological characterization and thylakoid ultrastructure analysis in super high-yield hybrid rice leaves under drought stress. *Photosynthetica*. 57(3): 890–896.
- Wang, Z., G. Li, H. Sun, L. Ma, Y. Guo, Z. Zhao, H. Gao and L. Mei. 2018. Effects of drought stress on photosynthesis and photosynthetic electron transport chain in young apple tree leaves. *Biol. Open*. 7(11): bio035279.
- Wijewardana, C., F.A. Alsajri, J.T. Irby, L.J. Krutz, B. Golden, W.B. Henry, W. Gao and K.R. Reddy. 2019. Physiological assessment of water deficit in soybean using midday leaf water potential and spectral features. *J. Plant Interact.* 14(1): 533–543.
- Xiong, Q., C. Cao, T. Shen, L. Zhong, H. He and X. Chen. 2019. Comprehensive metabolomic and proteomic analysis in biochemical metabolic pathways of rice spikes under drought and submergence stress. *BBA - Proteins and Proteomics*. 1867: 237–247.
- Yoshida, S., D.A. Forno, J.H. Cock and K.A. Gomez. 1976. *Laboratory Manual for Physiological Studies of Rice*. 3rd edition. International Rice Research Institute. Los Baños, Laguna, Philippines. pp. 61–66.
- Zhou, Y., H.M. Lam and J. Zhang. 2007. Inhibition of photosynthesis and energy dissipation induced by water and high light stresses in rice. *J. Exp. Bot.* 58(5): 1207–1217.