รายงานการวิจัย

การสะสมสารต้านอนุมูลอิสระและการตอบสนองทางสรีรวิทยาของข้าวไทย ภายใต้สภาวะเกลือและความแห้งแล้ง

Accumulation of Antioxidant Substances and Physiological Response of Thai Rice under Salinity and Drought

ชื่อผู้วิจัย 1. นางสาวกนกพร สมพรไพลิน

2. นายสุธี ชุติไพจิตร

RCH
QP
144
.R53
ก124ก

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....121408
วัน, เดือน, ปี.....4 ก.ค. 2555

b.12400002
i.....

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2552

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Accumulation of Antioxidant Substances and Physiological Response of Thai Rice under Salinity and Drought

Kanokporn Sompornpailin[1,2*] and Sutee Chutipaijit[1,2]

[1]Faculty of Science, [2]College of KMITL Nanotechnology

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, 10520 Thailand

kskanokp@kmitl.ac.th

Abstract

Salinity and drought are the major abiotic factors that limiting productivity in rice. To study the seedling responses to both types of stress, this experiment used photoautotrophic system grown rice seedlings. Salt and drought stressed-seedlings were induced by 100 mM NaCl or mannitol in NB medium at 2 and 4 days, respectively. Changed in the fresh weight, dry weight, shoot length, root length and lipid peroxidation contents of stressed-seedlings rice were selected for screening of both stressed-tolerant cultivars. In salinity, KDML105, Sangyod, Dang cultivars showed more salt tolerance than RD15, Klum Sakol and Klum Khonkaen cultivars. While drought stress, RD15, Klum Sakol and Klum Khonkaen cultivars presented more drought tolerance than KDML105, Sangyod, Dang cultivars. Both stresses caused a significant increase in proline, anthocyanins and tannin contents in stressed-tolerant cultivars higher than stressed-sensitive cultivars. The flavone and flavonol contents of stressed-sensitive cultivars were decreased whereas those contents were increased in stressed-tolerant cultivars under both stress conditions. These results indicated that induction of proline, anthocyanins and tannin accumulations by both stresses may be involved in the defense mechanism of stress tolerance in rice seedlings.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีที่สนับสนุนทุนในการทำวิจัยและศึกษาในงานวิจัยนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญเรื่อง

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	ง
สารบัญเรื่อง	จ
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
บทนำ	1
วิธีทดลอง	5
ผลการทดลอง	7
สรุปผลการทดลอง	20
เอกสารอ้างอิง	21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 ค่าการดูดกลืนแสงและสารที่ทำการวัดในการวิจัย 6

ตารางที่ 3.1 การสะสมสารกลุ่มเฟลโวนอยด์ (ค่าการดูดกลืนแสง/กรัมน้ำหนักสด) ในต้นกล้าข้าว 6 สายพันธุ์อายุ 14 วัน เมื่อได้รับสภาวะเครียดจากความเค็ม โดยการชักนำด้วยอาหาร NB ที่มีโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ เป็นเวลา 2 และ 4 วัน 16-17

ตารางที่ 3.2 การสะสมสารกลุ่มเฟลโวนอยด์ (ค่าการดูดกลืนแสง/กรัมน้ำหนักสด) ในต้นกล้าข้าว 6 สายพันธุ์อายุ 14 วัน เมื่อได้รับสภาวะเครียดจากความแห้งแล้งโดยการชักนำด้วยอาหาร NB ที่มีแมนนิทอลความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ เป็นเวลา 2 และ 4 วัน 18-19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

หน้า

รูปที่ 1.1 แสดงเมแทบอลิซึมของโพรลีนในพืช OAT; Ornithine-delta-aminotransferase, P5CS; Delta-1-pyrroline 5-carboxylase synthetase, P5CR; Delta-1-pyrroline 5-carboxylase reductase, P5CDH; Delta-1-pyrroline 5-carboxylase dehydrogenase, ProDH; Proline dehydrogenase / proline oxidase, proT; Proline transporter 2

รูปที่ 1.2 แสดงชีวสังเคราะห์เฟลโวนอยด์ในอะราบิดอปซิส CHS; chalcone synthase, CHI; chalcone isomerase, F3H; flavanone 3-hydroxylase, F3'H; flavonoid 3'-hydroxylase, DFR; dihydroflavonol 4-reductase, FLS; flavonol synthase I, ANS; anthocyanin synthase (or LDOX), ANR; anthocyanidin reductase (or banyuls) 3

รูปที่ 3.1 การเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าว 6 สายพันธุ์อายุ 14 วัน เมื่อได้รับสภาวะเครียดจากความเค็ม โดยการชักนำด้วยอาหาร NB ที่มีโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 2 และ 4 วัน เมื่อศึกษาจากการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักสด (A) น้ำหนักแห้ง (B) ความยาวต้น (C) และความยาวราก (D) 8-9

รูปที่ 3.2 การเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าว 6 สายพันธุ์อายุ 14 วัน เมื่อได้รับสภาวะเครียดจากความแห้งแล้งโดยการชักนำด้วยอาหาร NB ที่มีแมนนิทอล ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 2 และ 4 วัน เมื่อศึกษาจากการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักสด (A) น้ำหนักแห้ง (B) ความยาวต้น (C) และความยาวราก (D) 9-10

รูปที่ 3.3 การสะสมมาโลนไดอัลดีไฮด์ (malondialdehyde; MDA) ในต้นกล้าข้าว 6 สายพันธุ์อายุ 14 วัน เมื่อได้รับสภาวะเครียดจากความเค็ม (A) หรือความแห้งแล้ง (B) โดยการชักนำด้วยอาหาร NB ที่มีโซเดียมคลอไรด์หรือแมนนิทอลความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ เป็นเวลา 2 และ 4 วัน 12

รูปที่ 3.4 การสะสมสารโพรลีนในต้นกล้าข้าว 6 สายพันธุ์อายุ 14 วัน เมื่อได้รับสภาวะเครียดจากความเค็ม (A) หรือความแห้งแล้ง (B) โดยการชักนำด้วยอาหาร NB ที่มีโซเดียมคลอไรด์หรือแมนนิทอลความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ เป็นเวลา 2 และ 4 วัน 13

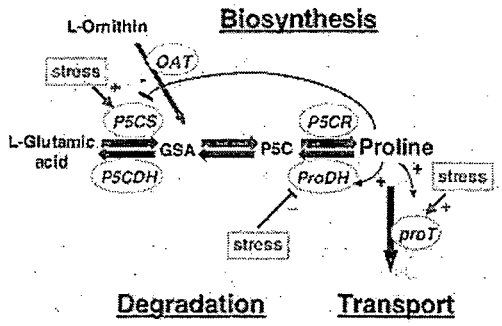
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. บทนำ

ปัญหาด้านสภาพแวดล้อมในปัจจุบันที่เกิดขึ้นในพื้นที่ที่ใช้ในการทำเกษตรกรรมซึ่งเกิดขึ้นทั้งพื้นที่เพาะปลูกทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทย โดยพบว่าสภาพแวดล้อมที่เกิดจากความแห้งแล้งและความเค็มนั้นเป็นสองปัจจัยหลัก ซึ่งก่อให้เกิดสภาวะที่ไม่เหมาะสมทางกายภาพ (abiotic stress) กับพืชที่ใช้ในการเพาะปลูก รวมทั้งข้าวที่เป็นพืชเศรษฐกิจและเป็นอาหารหลักที่สำคัญของประเทศไทย ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและปริมาณผลผลิตที่ได้ ข้าวเป็นสินค้าส่งออกลำดับต้น ๆ ของประเทศไทย และประเทศไทยยังเป็นประเทศที่ส่งออกข้าวเป็นอันดับ 6 ของโลก (Londo *et al.*, 2006) ดังนั้นปัญหาด้านสภาพแวดล้อมจะมีผลกระทบต่อรายได้โดยรวมของประเทศด้วย

จากรายงานการทดลองพบว่าสภาวะเครียดจากความเค็มและความแห้งแล้งนั้น จะก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา และทางชีวเคมีภายในต้นข้าว (Lutts *et al.*, 1999; Zhu, 2002) สภาวะเครียดจะชักนำให้พืชเกิดการปรับตัว และส่งสัญญาณในระดับโมเลกุลเป็นแบบเครือข่าย ให้มีการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องเพื่อให้ผลิตสารเมแทบอไทต์ตอบสนองต่อสภาวะเครียด โดยสภาวะเครียดทั้งสองชนิดจะก่อให้เกิดความเครียดจากแรงดันออสโมติก (osmotic stress) ทำให้เกิดการเคลื่อนที่ออกของน้ำจากไซโตพลาสภายในเซลล์ออกสู่ภายนอกเซลล์ ดังนั้นภายในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตจึงมีการสังเคราะห์สารเพื่อป้องกันการถูกทำลายของเซลล์จากแรงดันออสโมติก ซึ่งเรียกว่า compatible solutes (Brug *et al.*, 1996) เช่น กรดอะมิโน ไกลซีนเบต้าอีน (glycine betaine) น้ำตาล หรือน้ำตาลแอลกอฮอล์ (sugar alcohol) โดยที่โมเลกุลของสารเหล่านี้นั้นจะมีหน้าที่หลักในการรักษาแรงดันเต่งภายในเซลล์ รวมทั้งรักษาโครงสร้างของโปรตีนและเซลล์ (Chen and Murata, 2002; Yancey *et al.*, 1982) หนึ่งในสาร compatible solutes ที่น่าสนใจ คือ โพรลีน (proline) ซึ่งพบว่านอกจากจะเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงแรงดันออสโมติกแล้ว โพรลีนยังช่วยป้องกันเยื่อหุ้มเซลล์ เป็นแหล่งพลังงานหรือเป็นแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน (Mansour, 1998; Peng *et al.*, 1996; Bartels and Sunkar, 2005) ในพืชชั้นสูงนั้นสารตั้งต้นในวิถีชีวสังเคราะห์โพรลีนจะเป็นกรดกลูตามิก (glutamic acid) และมีเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องสองชนิด ได้แก่ ไพโรลีน-5-คาร์บอกซิเลสซินเทส (pyrroline-5-carboxylate synthase; P5CS) และไพโรลีน-5-คาร์บอกซิเลสรีดักเทส (pyrroline-5-carboxylate reductase; P5CR) (Delauney and Verma, 1993) ดังแสดงในรูปที่ 1.1 พบการดัดแปลงพันธุกรรมในพืชเพื่อให้เพิ่มปริมาณการสะสมโพรลีนให้สามารถต้านทานต่อสภาวะเครียดในพืชหลายพืชหลายชนิด รวมทั้งข้าวด้วย (Kishor *et al.*, 1995; Zhu, 1998; Su and Wu, 2004)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1.1 แสดงเมแทบอลิซึมของโพรลีนในพืช OAT; Ornithine-delta-aminotransferase, P5CS; Delta-1-pyrroline 5-carboxylase synthetase, P5CR; Delta-1-pyrroline 5-carboxylase reductase, P5CDH; Delta-1-pyrroline 5-carboxylase dehydrogenase, ProDH; Proline dehydrogenase / proline oxidase, proT; Proline transporter

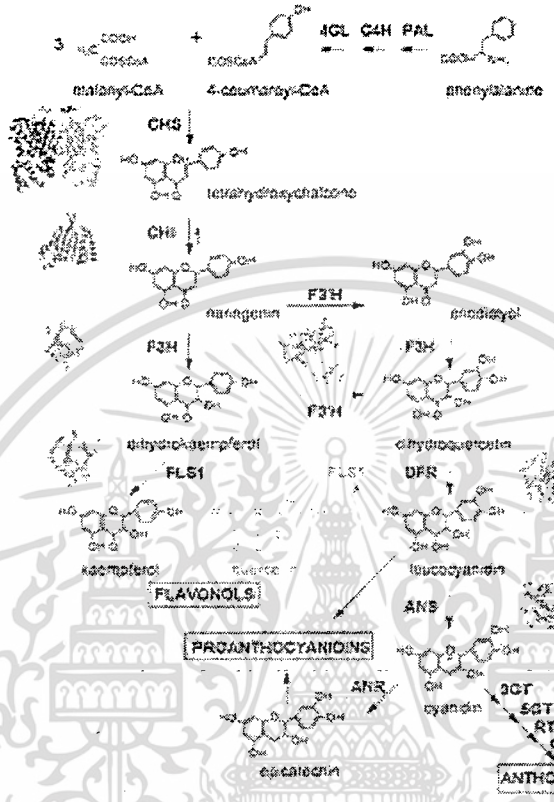
ที่มา http://www.szbk.u-szeged.hu/~arabidop/osmoticstressresponses.htm

นอกจากสภาวะเครียดจากแรงดันออสโมติกแล้ว ยังพบว่าผลขั้นทุติยภูมิ (secondary effect) ที่เกิดจากสภาวะเครียดทั้งสองชนิดนี้ เกิดจากการเพิ่มขึ้นของอนุมูลอิสระหรือที่เรียกว่า reactive oxygen species (ROSs) ซึ่งได้แก่ singlet oxygen, superoxide anion, hydroxyl radical และ hydrogen peroxide (Apel and Hirt, 2004) ROSs เหล่านี้จะก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น (oxidation) ส่งผลให้เซลล์พืชเกิดสภาวะเครียด ROSs จะเกิดขึ้นภายในคลอโรพลาสต์ในช่วงที่เกิดการสังเคราะห์ด้วยแสงและในไมโตคอนเดรียของเซลล์พืช (Allen, 1995) การลดความรุนแรงและเพิ่มความต้านทานต่อสภาพแวดล้อมที่เกิดจากอนุมูลอิสระ จะต้องเกี่ยวข้องกับระบบต้านทานอนุมูลอิสระ (antioxidative system) ภายในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต ซึ่งจะเกี่ยวข้องกับเอนไซม์ต่าง ๆ เช่น superoxidative dismutase, peroxidase หรือ catalase รวมถึงสารต่าง ๆ ที่ไม่ใช้เอนไซม์ เช่น กลูต้าไทโอน (glutathione) แอสคอเบต (ascorbate) หรือเฟลโวนอยด์ (flavoniod) (Bartels and Sunkar, 2005)

เฟลโวนอยด์ของกลุ่มสารประกอบที่เกิดขึ้นจากสารตั้งต้นสองชนิด ได้แก่ คูมาโลอิลโคเอ (coumaroyl CoA) และมาเลอิลโคเอ (malonyl CoA) และเกิดปฏิกิริยาต่าง ๆ เช่น hydroxylation, methylation, glycosylation หรือ acylation ทำให้เกิดสารประกอบต่าง ๆ ในวิถีชีวสังเคราะห์เฟลโว-นอยด์ โดยที่สารประกอบกลุ่มหลักที่พบมากในพืชชั้นสูง เช่น เฟลโวน (flavone) เฟลโวนอล (flavonol) เฟลวาโนน (flavanone) แอนโทไซยานิน (anthocyanin) และกัลโลแทนนิน (gallotannin) โดยทั่วไปหน้าที่ของสารกลุ่มเฟลโวนอยด์จะเกี่ยวข้องกับการสร้างสีของดอก การผสมเกสร การป้องกันรังสียูวี และการต้านทานต่อจุลินทรีย์ (Poucel *et al.*, 2006) นอกจากนี้ยังพบว่าสารกลุ่มนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ออกฤทธิ์ต้านทานต่ออนุมูลอิสระในพืช การออกฤทธิ์ของสารจะขึ้นอยู่กับจำนวนและการเรียงตัวของหมู่ไฮดรอกซิล และการรับอิเล็กตรอนจากอนุมูลอิสระภายในโครงสร้างของสารประกอบเหล่านี้ (Ithal and Reddy, 2004; Rice-Evans, 2001)



รูปที่ 1.2 แสดงชีวสังเคราะห์เฟลโวนอยด์ในอะราบิดอปซิส CHS; chalcone synthase, CHI; chalcone isomerase, F3H; flavanone 3-hydroxylase, F3'H; flavonoid 3'-hydroxylase, DFR; dihydroflavonol 4-reductase, FLS; flavonol synthase I, ANS; anthocyanin synthase (or LDOX), ANR; anthocyanidin reductase (or banyuls)

ดังนั้นการศึกษาและการทำความเข้าใจเกี่ยวกับการตอบสนองของพืชต่อสภาวะเครียดจากความเค็มและความแห้งแล้ง จึงทำให้สามารถที่จะลดความรุนแรงที่เกิดจากสภาวะเครียดดังกล่าว รวมทั้งอาจใช้เพิ่มประสิทธิภาพในการต้านทานต่อสภาวะเครียด เพื่อใช้สำหรับการเพาะปลูกให้เหมาะสมกับสภาพแวดล้อมในพื้นที่ของเกษตร เนื่องจากข้าวแต่ละสายพันธุ์จะมีลักษณะพันธุกรรมที่หลากหลาย ซึ่งจะมีผลให้ยีนแสดงออกได้แตกต่างกันตามสภาวะแวดล้อม สารเมแทบอไลต์ที่ต้นข้าวแต่ละสายพันธุ์สร้างและสะสมขึ้นเมื่อได้รับสภาวะเครียดจากความเค็มและความแห้งแล้งนั้นจะแตกต่างกันออกไป สารแต่ละกลุ่มจะมีหน้าที่การทำงานในพืชแตกต่างกันออกไป เช่น การลด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แรงดันออสโมติก การต้านอนุมูลอิสระ ดั้งนั้นการสะสมสารแต่ละกลุ่มในข้าวแต่ละสายพันธุ์จะส่งผลต่อการทนต่อสภาวะเครียดได้แตกต่างกัน

การศึกษาถึงการสร้างและสะสมสารตอบสนองต่อสภาวะเครียดจากความเค็ม และความแห้งแล้งในต้นข้าวแต่ละสายพันธุ์ควบคู่กับการเปลี่ยนแปลงทางสรีวิทยาของพืช น่าจะนำไปสู่การทำความรู้และความเข้าใจเกี่ยวกับกลไกต่างๆ ที่ตอบสนองและเปลี่ยนแปลงภายในต้นข้าว และจำแนกสาระสำคัญที่เพิ่มประสิทธิภาพการทนต่อสภาวะเครียดดังกล่าว เพื่อการนำองค์ความรู้ไปใช้สำหรับการจำแนกและปรับปรุงพันธุ์ต้านทานต่อสภาวะเครียดในข้าวและพืชชนิดอื่นๆ ทำให้เกษตรกรสามารถจะเพาะปลูกข้าวในสายพันธุ์ที่เหมาะสมกับพื้นที่เพาะปลูก และยังเป็นพื้นฐานเพื่อใช้ในการสร้างข้าวดัดแปลงพันธุกรรมที่สามารถต้านทานต่อสภาวะเครียดจากความเค็มและความแห้งแล้งได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. วิธีการดำเนินการวิจัย

1. การเพาะปลูกต้นกล้าข้าวและการทดสอบสภาวะเครียด

นำเมล็ดข้าวสายพันธุ์อินดิกา (*Oryza sativa* L. spp. *indica*) ทั้ง 6 สายพันธุ์ (ขาวดอกมะลิ 105 กข15 กล่ำจากสกลนคร กล่ำจากขอนแก่น สังข์หยดและข้าวแดง) มาแกะเปลือกออก แล้วนำมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอรอกซ์ (Clorox®) ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 40 นาที ในสภาวะเขย่าที่อุณหภูมิห้อง ในความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที (rpm) จากนั้นย้ายลงในสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 นาที ในสภาวะเขย่าเช่นเดียวกับขั้นตอนก่อนหน้า หลังจากนั้นล้างสารละลายคลอรอกซ์ออกโดยใช้น้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 5-6 ครั้ง แล้ววางเมล็ดข้าวที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้ววางบนกระดาษชำระที่ฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นวางเมล็ดข้าวลงในอาหาร NB ที่มีน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร วุ้น 8 กรัมต่อลิตร pH 5.6-5.8 นำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มแสง 800 ลักซ์ (luxs) เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นย้ายต้นกล้าข้าวที่ได้ลงในอาหารเหลว NB (Li *et al.*, 1993) ที่มีการใช้เวอร์มิ-คูไลท์ (vermiculite) เป็นวัสดุค้ำจุน และมีการเพิ่มอัตราการแลกเปลี่ยนอากาศให้อยู่ที่ 5.31 โมลต่อชั่วโมงโดยการติดกระดาษกรองขนาด 0.2 ไมโครเมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร นำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ อุณหภูมิ 25 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มแสง 800 ลักซ์ (luxs) เป็นเวลา 7 วัน

เมื่อได้ต้นกล้าข้าวอายุ 14 วัน นำมาชักนำให้เกิดสภาวะเครียดจากความเค็มหรือความแห้งแล้ง โดยทำการเติมอาหารเหลว NB ที่มีโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) หรือแมนทินอล (mantinol) ให้มีความเข้มข้นอยู่ที่ 100 มิลลิโมลาร์ และทำการเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 2 และ 4 วัน นำตัวอย่างที่ได้เก็บไว้ที่อุณหภูมิ –80 องศาเซลเซียส เพื่อใช้สำหรับการทดลองต่อไป

2. การศึกษาถึงการเจริญเติบโตภายใต้สภาวะเครียด

ตัวอย่างต้นกล้าข้าว 5 ต้น ในแต่ละชุดการทดลอง นำมาวัดความยาวต้น ความยาวราก น้ำหนักสดของต้นข้าว และน้ำหนักแห้งของต้นข้าว โดยนำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง แล้วจึงนำมาชั่งหาน้ำหนักแห้ง

3. การเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation) ในเซลล์ภายใต้สภาวะเครียด

นำต้นกล้าข้าว (0.15 กรัม) มาบดด้วยไนโตรเจนเหลว แล้วสกัดด้วยกรดไตรคลอโรอะซิติก 1 เปอร์เซ็นต์ตามวิธีของ Hodges *et al.* (1999)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การสะสมสารโพรลีนภายใต้สภาวะเครียด

สกัดโดยใช้วิธีของ Bates *et al.* (1973) โดยนำต้นกล้าข้าว (0.2 กรัม) มาบดด้วยไนโตรเจนเหลว แล้วสกัดด้วยกรดซัลโฟซาลิไซลิก 3 เปอร์เซ็นต์ ทิ้งไว้ข้ามคืน ที่ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมกรด อะซิติกและกรดนินไฮดรินในปริมาตรที่เท่ากัน นำไปต้มที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที แล้วนำมาสกัดด้วยโทลูอีน นำส่วนที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 519 นาโนเมตร นำไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานโพรลีน

5. การสะสมสารกลุ่มเฟลโวนอยด์ ภายใต้สภาวะเครียด

นำต้นกล้าข้าว (0.5 กรัม) มาบดด้วยไนโตรเจนเหลว แล้วสกัดด้วยสารละลายผสมที่มีเมทานอลกับกรดไฮโดรคลอริก (HCl) อัตราส่วน 99:1 ตามวิธีของ Harborne (1998) โดยทำการผสมสารสกัดกับน้ำอัตราส่วน 3:2 เติมลงในต้นกล้าข้าวที่บดแล้วปริมาตร 2 มิลลิลิตร นำไปเขย่าที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทำการเติมคลอโรฟอร์ม (chloroform) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 4000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำส่วนใสที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นดังตารางที่ 1 ค่าที่ได้จะแสดงในหน่วยค่าการดูดกลืนแสงต่อกรัมน้ำหนักสด (absorbance/g FW)

ตารางที่ 2.1 ค่าการดูดกลืนแสงและสารที่ทำการวัดในการวิจัย

Flavonoids		Wavelengths (nm)
Flavone	Lutiolin	350
Flavonol	Kaempherol	374
Anthocyanin	Delphinidin	546
	Cyanidin	535
Tannin	Gallotannin	550

6. การออกแบบทางสถิติ

ใช้การทดลอง 5 ซ้ำในแต่ละชุดการทดลอง (n = 5) ออกแบบการทดลองโดยใช้ CRD ผลที่ได้นำไปวิเคราะห์ทางสถิติด้วย ANOVA และ Duncan's multiple range test (DMRT) โดยใช้โปรแกรม SPSS version 11.0 (SPSS for Windows, SPSS Inc., USA)

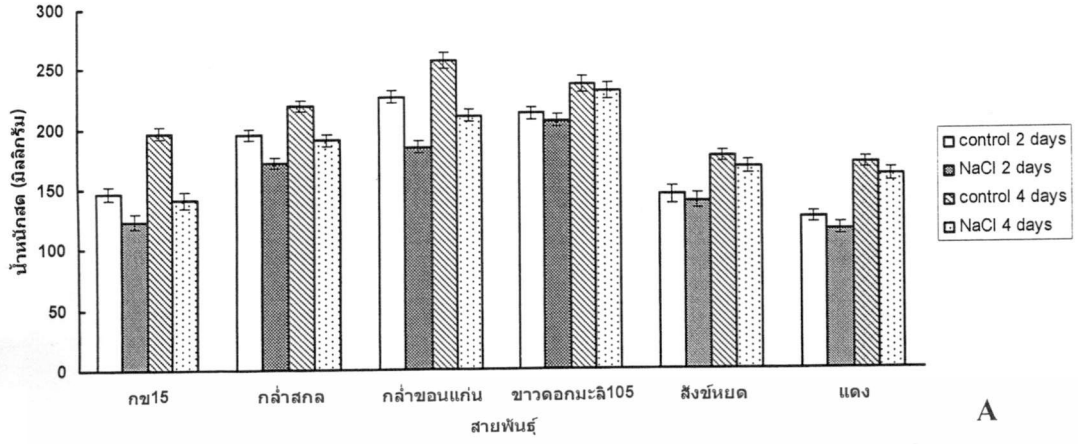
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3 ผลการทดลอง

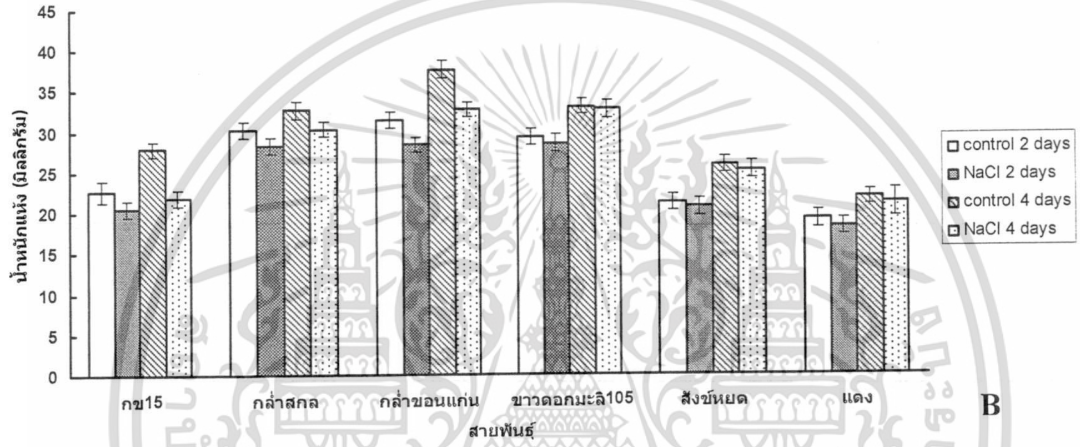
3.1 ผลของสภาวะเครียดต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าว

เมื่อทำการเพาะเลี้ยงต้นกล้าข้าวอายุ 14 วันทั้ง 6 สายพันธุ์ แล้วนำต้นกล้าข้าวที่ได้มาทดสอบสภาวะเครียดจากความเค็มโดยใช้อาหาร NB ที่มีโซเดียมคลอไรด์ผสมอยู่ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์หรือทดสอบสภาวะเครียดจากความแห้งแล้งโดยใช้อาหาร NB ที่มีแมนนิทอลผสมอยู่ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 2 และ 4 วัน พบว่าเมื่ออยู่ในสภาวะเครียดจากความเค็มนั้นต้นกล้าข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 สังข์หยดและแดงจะมีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าต้นกล้าข้าวสายพันธุ์กข15 กล่ำสกลและกล่ำขอนแก่น เมื่อสังเกตจากน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความยาวต้นและความยาวรากของต้นกล้าข้าวในแต่ละสายพันธุ์เปรียบเทียบกับต้นกล้าข้าวแต่ละสายพันธุ์ที่ไม่ได้รับสภาวะเครียด (ควบคุม) โดยที่น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความยาวต้นและความยาวรากของต้นกล้าข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 สังข์หยดและแดงจะมีการลดลงอยู่ที่ 2.75-7.59 เปอร์เซ็นต์ 0.79-4.92 เปอร์เซ็นต์ 1.01-3.83 เปอร์เซ็นต์ และ 4.23-6.85 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ขณะที่น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความยาวต้นและความยาวรากของต้นกล้าข้าวสายพันธุ์กข15 กล่ำสกลและกล่ำขอนแก่นจะมีการลดลงอยู่ที่ 11.89-28.47 เปอร์เซ็นต์ 6.54-21.79 เปอร์เซ็นต์ 9.15-15.99 เปอร์เซ็นต์ และ 9.52-22.41 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (รูปที่ 3.1A B C และ D) และเมื่ออยู่ในสภาวะเครียดจากความแห้งแล้งต้นกล้าข้าวสายพันธุ์กข15 กล่ำสกลและกล่ำขอนแก่น มีน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความยาวต้นและความยาวรากของต้นกล้าข้าวในแต่ละสายพันธุ์เปรียบเทียบกับต้นกล้าข้าวแต่ละสายพันธุ์ที่ไม่ได้รับสภาวะเครียด (ควบคุม) ที่ลดลง 2.01-8.11 เปอร์เซ็นต์ 1.85-5.97 เปอร์เซ็นต์ 1.17-4.41 เปอร์เซ็นต์ และ 2.38-5.66 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าต้นกล้าข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 สังข์หยดและแดงที่อยู่ในสภาวะเครียดจากความแห้งแล้งที่มีการลดลงอยู่ที่ 17.45-24.18 เปอร์เซ็นต์ 9.17-16.74 เปอร์เซ็นต์ 8.74-13.24 เปอร์เซ็นต์ และ 12.68-16.67เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (รูปที่ 3.2A B C และ D)

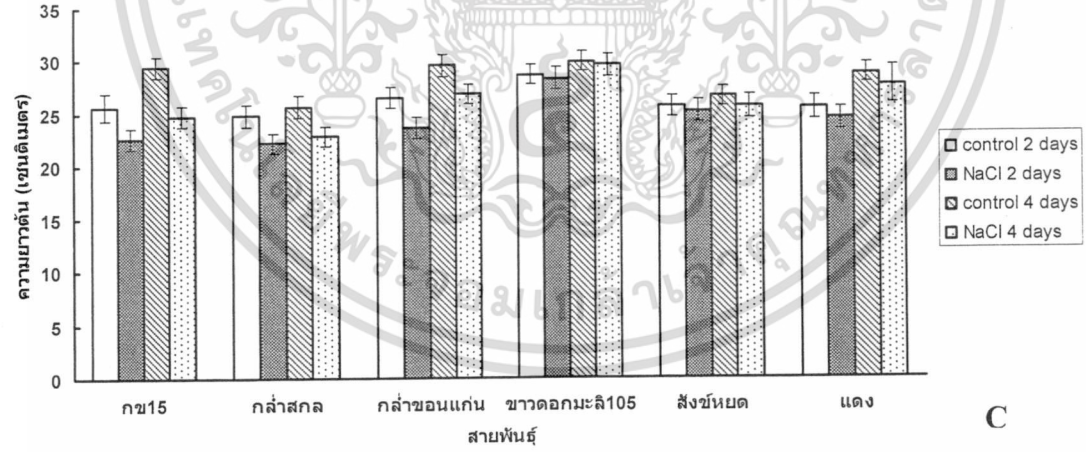
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



A

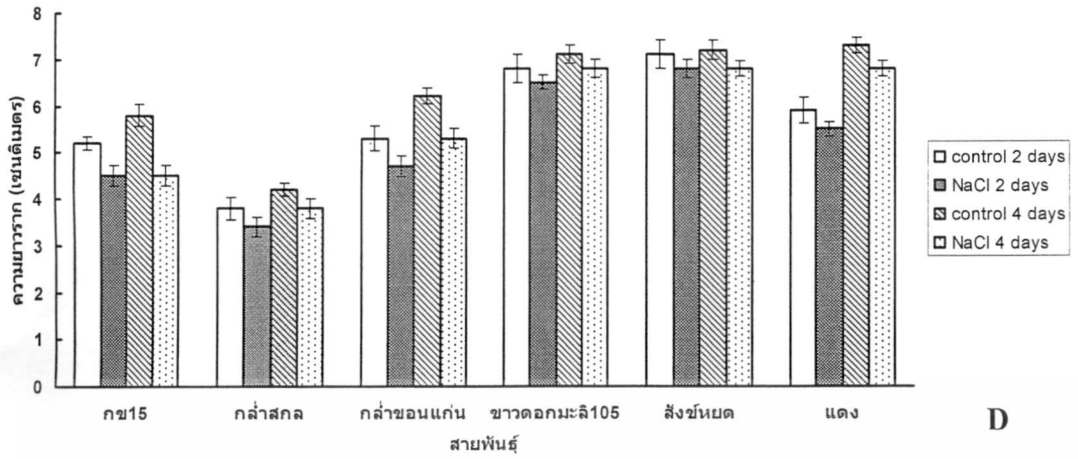


B

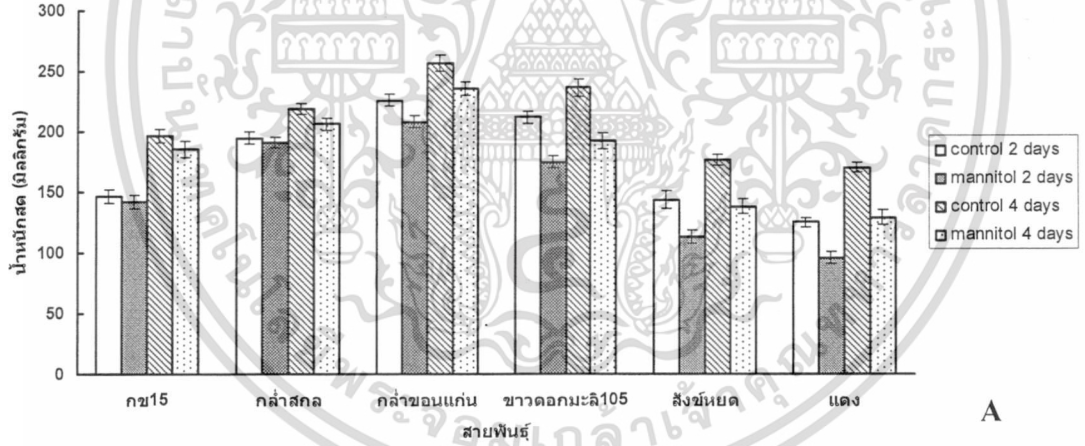


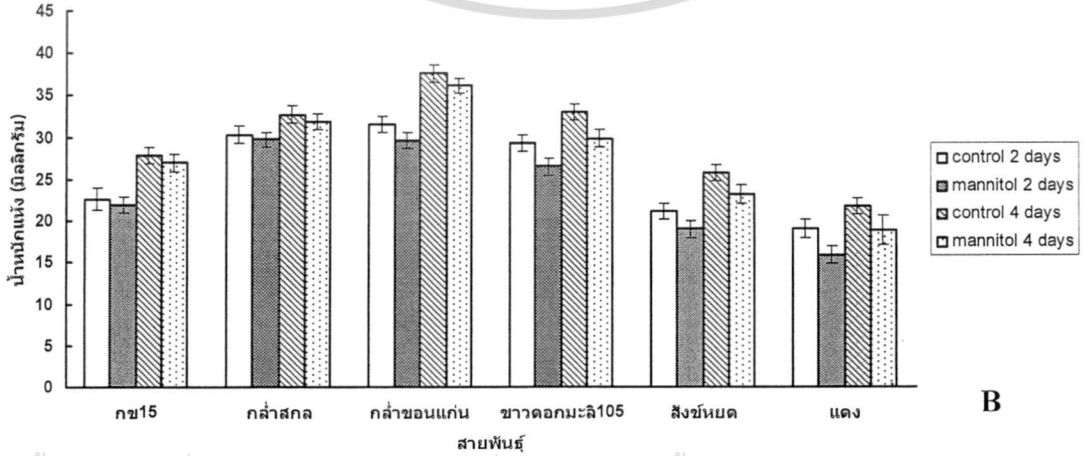
C

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

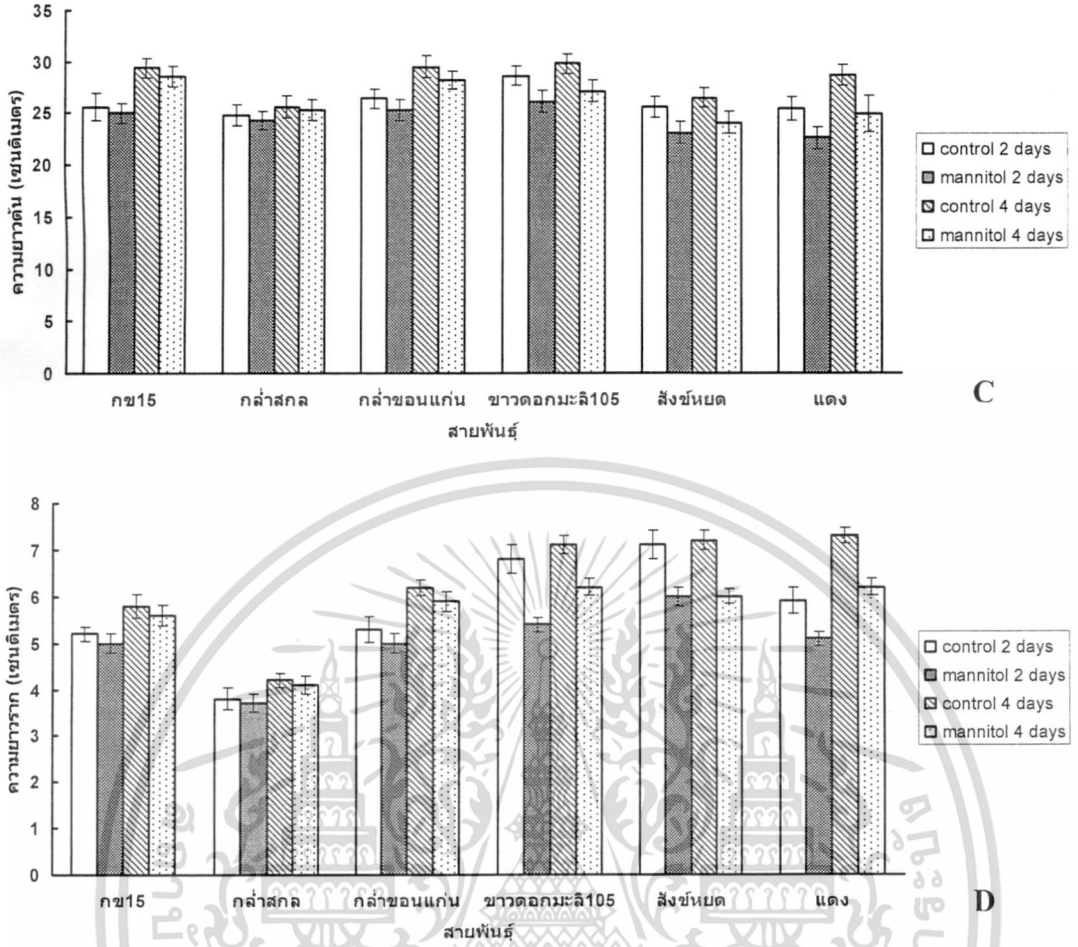


รูปที่ 3.1 การเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าว 6 สายพันธุ์อายุ 14 วัน เมื่อได้รับสภาวะเครียดจากความเค็มโดยการชักนำด้วยอาหาร NB ที่มีโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 2 และ 4 วัน เมื่อศึกษาจากการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักสด (A) น้ำหนักแห้ง (B) ความยาวต้น (C) และความยาวราก (D)





เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.2 การเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าว 6 สายพันธุ์อายุ 14 วัน เมื่อได้รับสภาวะเครียดจากความแห้งแล้งโดยการชักนำด้วยอาหาร NB ที่มีแมนนิทอลความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 2 และ 4 วัน เมื่อศึกษาจากการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักสด (A) น้ำหนักแห้ง (B) ความยาวต้น (C) และความยาวราก (D)

3.2 ผลของสภาวะเครียดต่อการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นของต้นกล้าข้าว

เมื่อต้นกล้าข้าวได้รับสภาวะเครียดทางกายภาพ (ความเค็มและความแห้งแล้ง) จะเกิดการสะสมของอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้นภายในเซลล์พืช ซึ่งอนุมูลอิสระเหล่านี้จะส่งผลให้เซลล์ที่อยู่ในสภาวะเครียดนั้นถูกทำลาย โดยการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ที่มีผลทำให้เซลล์พืชเกิดความเสียหาย ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืช ซึ่งการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นนั้นสามารถวัดได้จากการสะสมมาโลนไดอัลดีไฮด์ (malondialdehyde; MDA) เนื่องจาก MDA นั้นเป็นผลผลิตที่ได้จากการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นภายในเซลล์พืช (Lin and Kao, 2000; Blokhina *et al.,* 2003)

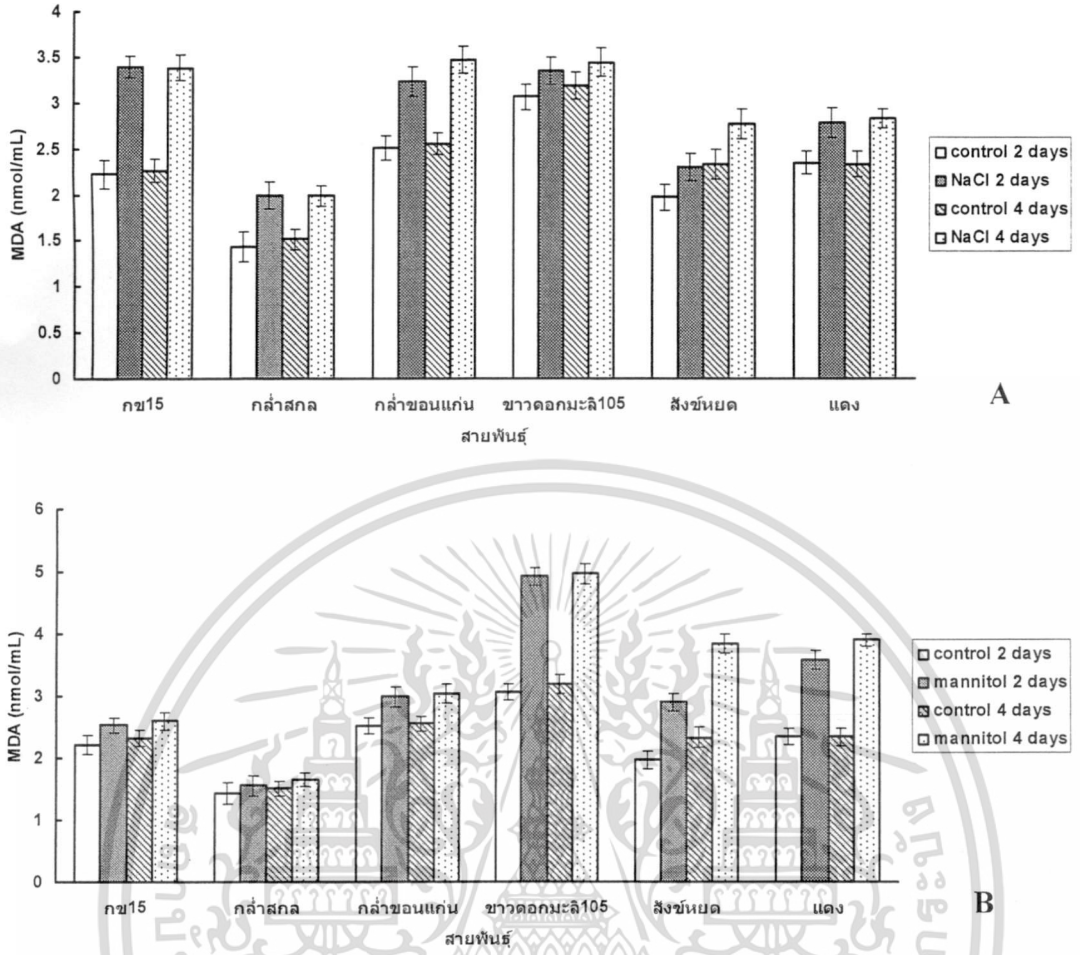
จากผลการทดลองจะพบการสะสมของปริมาณ MDA ที่มากขึ้นในต้นกล้าข้าวทุกสายพันธุ์เมื่อได้รับสภาวะเครียดทั้งสองสภาวะ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสภาวะเครียดจากความเค็มและความแห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แล้งนั้นสามารถชักนำให้เกิดอนุมูลอิสระที่มีผลทำให้เซลล์พืชเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น เมื่อศึกษาถึงสภาวะเครียดจากความเค็มจะพบว่าต้นกล้าข้าวสายพันธุ์กข15 กล่ำสกลและกล่ำขอนแก่น มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณ MDA ที่มากกว่าต้นกล้าข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 สังข์หยดและแดง ซึ่งมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณ MDA อยู่ที่ 28.71-52.78 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ต้นกล้าข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 สังข์หยดและแดงมีการเพิ่มขึ้นอยู่ที่ 7.94-20.93 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้าข้าวในแต่ละสายพันธุ์ที่ไม่ได้รับสภาวะเครียด (รูปที่ 3.3A)

และเมื่อต้นกล้าข้าวทั้ง 6 สายพันธุ์ได้รับสภาวะเครียดจากความแห้งแล้งจะพบการเพิ่มขึ้นของปริมาณ MDA ในต้นกล้าข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 สังข์หยดและแดงอยู่ที่ 47.11-66.82 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้าข้าวในแต่ละสายพันธุ์ที่ไม่ได้รับสภาวะเครียด ขณะที่ต้นกล้าข้าวสายพันธุ์กข15 กล่ำสกลและกล่ำขอนแก่นมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณ MDA อยู่ที่ 8.27-19.26 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งน้อยกว่าปริมาณ MDA ในต้นกล้าข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 สังข์หยดและแดง (รูปที่ 3.3B) จากผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าเมื่ออยู่ภายใต้สภาวะเครียดจากความเค็มต้นกล้าข้าวสายพันธุ์กข15 กล่ำสกลและกล่ำขอนแก่นจะถูกทำลายด้วยอนุมูลอิสระมากกว่าต้นกล้าข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 สังข์หยดและแดง แต่เมื่ออยู่ภายใต้สภาวะเครียดจากความแห้งแล้งนั้นต้นกล้าข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 สังข์หยดและแดงจะถูกทำลายด้วยอนุมูลอิสระมากกว่าต้นกล้าข้าวสายพันธุ์กข15 กล่ำสกลและกล่ำขอนแก่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.3 การสะสมมาโลนไดอัลดีไฮด์ (malondialdehyde; MDA) ในต้นกล้าข้าว 6 สายพันธุ์อายุ 14 วัน เมื่อได้รับสภาวะเครียดจากความเค็ม (A) หรือความแห้งแล้ง (B) โดยการชักนำด้วยอาหาร NB ที่มีโซเดียมคลอไรด์หรือแมนนิทอลความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ เป็นเวลา 2 และ 4 วัน

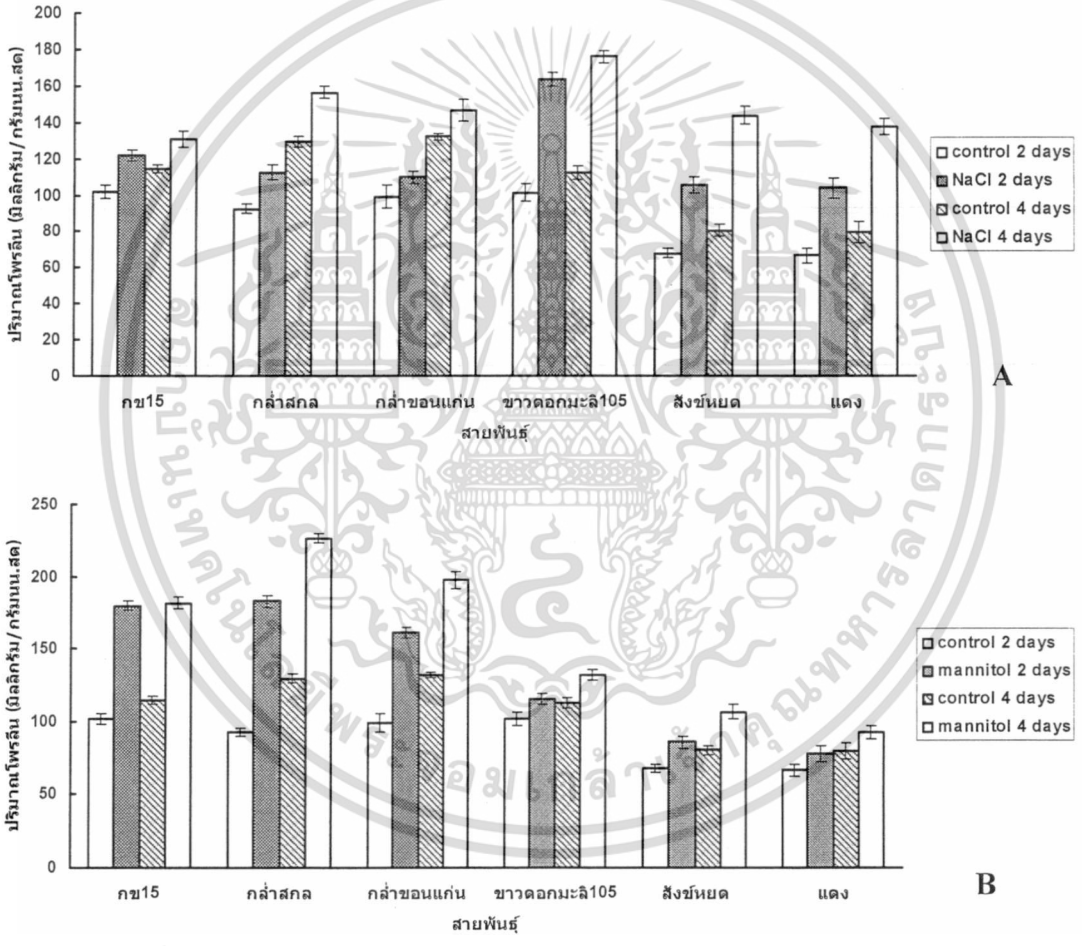
3.3 ผลของสภาวะเครียดต่อการสะสมสารโพรลีนของต้นกล้าข้าว

เมื่อพืชได้รับสภาวะเครียดทางกายภาพนั้น พืชจำเป็นต้องมีการปรับตัวเพื่อให้สามารถอยู่รอดได้ในสภาวะเครียดเหล่านั้น ซึ่งการปรับตัวของพืชอย่างหนึ่งนั้นคือการสะสมสารที่ช่วยรักษาสมดุลของแรงดันออสโมติกระหว่างภายในและภายนอกเซลล์ โดยที่สารที่ช่วยในการรักษาสมดุลของแรงดันออสโมติกชนิดหนึ่งที่น่าสนใจคือสารโพรลีน ซึ่งพบว่ามีการสะสมในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตทั้งพืช สัตว์และจุลินทรีย์ เมื่ออยู่ภายใต้สภาวะเครียดทางกายภาพ (Fendina and Popova, 1996; Jain *et al.*, 2001)

ผลการทดลองจะพบการเพิ่มขึ้นของการสะสมสารโพรลีน ในต้นกล้าข้าวทุกสายพันธุ์ที่ได้รับสภาวะเครียดทั้งสองสภาวะ และเมื่อศึกษาถึงสภาวะเครียดจากความเค็มจะพบการสะสมของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารโพรลีนในต้นกล้าข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 สังข์หยดและแดงอยู่ที่ 55.89-78.66 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมากกว่าต้นกล้าข้าวสายพันธุ์กข15 กล่ำสกลและกล่ำขอนแก่นที่มีการสะสมสารโพรลีน 10.68-21.81 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้าข้าวในแต่ละสายพันธุ์ที่ไม่ได้รับสภาวะเครียด (รูปที่ 3.4A) ขณะที่ต้นกล้าข้าวสายพันธุ์กข15 กล่ำสกลและกล่ำขอนแก่นจะมีการสะสมสารโพรลีนที่มากกว่าต้นกล้าข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 สังข์หยดและแดง เมื่อได้รับสภาวะเครียดจากความแห้งแล้ง โดยพบการสะสมสารโพรลีนอยู่ที่ 49.72-97.97 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ต้นกล้าข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 สังข์หยดและแดงมีการสะสมสารโพรลีนอยู่ที่ 13.70-32.72 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้าข้าวในแต่ละสายพันธุ์ที่ไม่ได้รับสภาวะเครียด (รูปที่ 3.4B)



รูปที่ 3.4 การสะสมสารโพรลีนในต้นกล้าข้าว 6 สายพันธุ์อายุ 14 วัน เมื่อได้รับสภาวะเครียดจากความเค็ม (A) หรือความแห้งแล้ง (B) โดยการชักนำด้วยอาหาร NB ที่มีโซเดียมคลอไรด์หรือแมนนิทอลความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ เป็นเวลา 2 และ 4 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 ผลของสภาวะเครียดต่อการสะสมสารกลุ่มเฟลโวนอยด์ของต้นกล้าข้าว

จากผลการทดลองเมื่ออยู่ภายใต้สภาวะเครียดจากความเค็มนั้น จะพบว่าข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 สังข์หยดและแดงจะมีการสะสมสารกลุ่มเฟลโวน (ลูทิโอลิน) และสารกลุ่มเฟลโวนอล (เคเอ็มฟีรอล) ที่เพิ่มขึ้นสูงกว่าต้นกล้าข้าวแต่ละสายพันธุ์ที่ไม่ได้รับสภาวะเครียด โดยพบการสะสมสารกลุ่มเฟลโวนเพิ่มขึ้น 1.36-5.64 เปอร์เซ็นต์ และสารกลุ่มเฟลโวนอลเพิ่มขึ้น 1.52-8.41 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 2 และ 4 วันหลังได้รับสภาวะเครียด ยกเว้นสารกลุ่มเฟลโวนในต้นกล้าข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 สังข์หยดและแดงที่ได้รับสภาวะเครียดเป็นเวลา 4 วัน จะมีการลดลงอยู่ที่ 9.17-14.15 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ต้นกล้าข้าวสายพันธุ์กข15 กล่ำสกลและกล่ำขอนแก่นจะพบการลดลงของสารทั้งสองกลุ่ม โดยที่การลดลงของสารกลุ่มเฟลโวนอยู่ที่ 5.21-25.70 เปอร์เซ็นต์และสารกลุ่มเฟลโวนอลอยู่ที่ 0.28-31.70 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้าข้าวในแต่ละสายพันธุ์ที่ไม่ได้รับสภาวะเครียด (ตารางที่ 3.1)

เมื่อศึกษาถึงสภาวะเครียดจากความแห้งแล้งนั้น จะพบการเพิ่มขึ้นของการสะสมสารกลุ่มเฟลโวน (ลูทิโอลิน) และสารกลุ่มเฟลโวนอล (เคเอ็มฟีรอล) ที่เวลา 2 และ 4 วัน ในต้นกล้าข้าวสายพันธุ์กข15 กล่ำสกลและกล่ำขอนแก่นอยู่ที่ 15.53-49.38 เปอร์เซ็นต์และ 3.86-49.27 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้าข้าวในแต่ละสายพันธุ์ที่ไม่ได้รับสภาวะเครียด ตามลำดับ ขณะที่ต้นกล้าข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 สังข์หยดและแดงจะพบการลดลงของการสะสมสารกลุ่มเฟลโวน และสารกลุ่มเฟลโวนอล อยู่ที่ 1.02-27.45 เปอร์เซ็นต์และ 2.28-27.08 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้าข้าวในแต่ละสายพันธุ์ที่ไม่ได้รับสภาวะเครียด ตามลำดับ (ตารางที่ 3.2)

ขณะที่สารกลุ่มแอนโทไซยานิน (เดลฟินิดินและไซยานิดิน) และสารกลุ่มแทนนินนั้นจะพบการเพิ่มขึ้นในต้นกล้าข้าวทุกสายพันธุ์ เมื่อได้รับสภาวะเครียดทั้งสองสภาวะ ที่เวลา 2 และ 4 วัน โดยในสภาวะเครียดจากความเค็มนั้น ต้นกล้าข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 สังข์หยดและแดงจะมีการสะสมสารทั้งสองกลุ่มที่มากกว่าในต้นกล้าข้าวสายพันธุ์กข15 กล่ำสกลและกล่ำขอนแก่น ซึ่งอยู่ที่ 44.07-185.08 เปอร์เซ็นต์ ในสารเดลฟินิดิน 40.83-187.54 เปอร์เซ็นต์ ในสารไซยานิดิน และ 43.95-116.96 เปอร์เซ็นต์ ในสารแทนนิน ขณะที่ต้นกล้าข้าวสายพันธุ์กข15 กล่ำสกลและกล่ำขอนแก่นมีการสะสมเพิ่มขึ้น 7.10-23.22 เปอร์เซ็นต์ 7.45-22.54 เปอร์เซ็นต์ 6.06-18.01 เปอร์เซ็นต์ ในสารทั้งสามชนิด เมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้าข้าวในแต่ละสายพันธุ์ที่ไม่ได้รับสภาวะเครียดตามลำดับ (ตารางที่ 3.1) และเมื่อศึกษาถึงสภาวะเครียดจากความแห้งแล้งจะพบการเพิ่มขึ้นของการสะสมสารทั้งสามชนิดในต้นกล้าข้าวสายพันธุ์กข15 กล่ำสกลและกล่ำขอนแก่นอยู่ที่ 23.57-93.99 เปอร์เซ็นต์ 24.65-97.35 เปอร์เซ็นต์ 38.15-81.84 เปอร์เซ็นต์ ในสารทั้งสามชนิด ตามลำดับ ซึ่งมีการสะสมที่มากกว่าในต้นกล้าข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 สังข์หยดและแดงที่ได้รับสภาวะเครียดเดียวกันที่เวลา 2 และ 4 วัน ซึ่งมีการเพิ่มขึ้นอยู่ที่ 5.05-11.43 เปอร์เซ็นต์ 6.99-10.56 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.08-10.94 เปอร์เซ็นต์ ในสารทั้งสามชนิด เมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้าข้าวในแต่ละสายพันธุ์ที่ไม่ได้รับสภาวะเครียด ตามลำดับ (ตารางที่ 3.2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 การสะสมสารกลุ่มเฟลโวนอยด์ (ค่าการดูดกลืนแสง/กรัมน้ำหนักสด) ในต้นกล้าข้าว 6 สายพันธุ์อายุ 14 วัน เมื่อได้รับสภาวะเครียดจากความเค็มโดยการชักนำด้วยอาหาร NB ที่มีโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ เป็นเวลา 2 และ 4 วัน

สายพันธุ์	สภาวะ	ลูทิโอลิน	SE	เคเอ็มฟีรอล	SE	เคลฟินิดิน	SE	ไซยานิดิน	SE	แทนนิน	SE
กข15	ควบคุม 2 วัน	30.355	1.842	20.542	0.947	0.124	0.078	0.126	0.066	0.116	0.061
	NaCl 2 วัน	22.555	1.818	14.029	0.939	0.133	0.054	0.136	0.096	0.123	0.070
	ควบคุม 4 วัน	31.671	1.741	21.354	0.925	0.137	0.076	0.137	0.069	0.168	0.060
	NaCl 4 วัน	29.209	1.633	19.870	0.958	0.151	0.088	0.152	0.075	0.178	0.049
กล่ำสกล	ควบคุม 2 วัน	19.389	1.836	12.400	0.945	0.476	0.067	0.535	0.058	0.407	0.053
	NaCl 2 วัน	16.486	1.637	11.381	0.925	0.555	0.075	0.629	0.088	0.428	0.054
	ควบคุม 4 วัน	23.300	1.730	15.064	0.916	0.606	0.056	0.648	0.057	0.431	0.044
	NaCl 4 วัน	21.306	1.825	14.152	0.970	0.746	0.065	0.794	0.065	0.508	0.037
กล่ำขอนแก่น	ควบคุม 2 วัน	24.559	1.531	15.653	0.938	0.265	0.058	0.284	0.068	0.245	0.046
	NaCl 2 วัน	22.486	1.736	14.061	0.919	0.290	0.092	0.315	0.059	0.268	0.053
	ควบคุม 4 วัน	27.711	1.634	17.103	0.905	0.294	0.065	0.303	0.048	0.286	0.051
	NaCl 4 วัน	26.268	1.831	17.056	0.952	0.323	0.057	0.336	0.087	0.299	0.045

ขาวดอกมะลิ105	ควบคุม 2 วัน	33.369	1.841	27.959	0.939	0.108	0.076	0.124	0.049	0.107	0.070
	NaCl 2 วัน	35.250	1.651	28.573	0.851	0.156	0.085	0.175	0.087	0.155	0.060
	ควบคุม 4 วัน	36.075	1.736	28.836	0.953	0.111	0.067	0.135	0.079	0.118	0.053
	NaCl 4 วัน	30.970	1.835	29.275	0.947	0.195	0.046	0.245	0.028	0.208	0.051
สังข์หยด	ควบคุม 2 วัน	32.972	1.723	19.364	0.933	0.116	0.043	0.128	0.075	0.115	0.034
	NaCl 2 วัน	34.152	1.635	20.231	0.946	0.239	0.076	0.268	0.026	0.228	0.051
	ควบคุม 4 วัน	33.558	1.531	20.169	0.766	0.126	0.058	0.136	0.058	0.159	0.045
	NaCl 4 วัน	29.233	1.831	20.816	0.833	0.485	0.058	0.529	0.068	0.345	0.046
แดง	ควบคุม 2 วัน	36.673	1.835	21.964	0.939	0.218	0.066	0.203	0.065	0.185	0.052
	NaCl 2 วัน	37.173	1.535	23.352	0.860	0.449	0.074	0.420	0.078	0.335	0.062
	ควบคุม 4 วัน	38.260	1.731	22.205	0.930	0.219	0.057	0.207	0.059	0.228	0.065
	NaCl 4 วัน	34.754	1.821	24.073	0.853	0.585	0.047	0.552	0.059	0.433	0.045

121408

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.2 การสะสมสารกลุ่มเฟลโวนอยด์ (ค่าการดูดกลืนแสง/กรัมน้ำหนักสด) ในต้นกล้าข้าว 6 สายพันธุ์อายุ 14 วัน เมื่อได้รับสภาวะเครียดจากความแห้งแล้งโดยการชักนำด้วยอาหาร NB ที่มีแมนนิทอลความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ เป็นเวลา 2 และ 4 วัน

สายพันธุ์	สภาวะ	ลูทิโอทิน	SE	เคเอ็มฟีรอล	SE	เดลฟินิดิน	SE	ไซยานิดิน	SE	แทนนิน	SE
กข15	ควบคุม 2 วัน	30.355	2.083	20.542	0.887	0.124	0.078	0.126	0.066	0.116	0.096
	mannitol 2 วัน	31.242	2.189	21.683	0.918	0.174	0.090	0.178	0.035	0.164	0.105
	ควบคุม 4 วัน	31.671	1.882	21.354	0.938	0.137	0.076	0.137	0.069	0.168	0.095
	mannitol 4 วัน	32.153	1.975	22.177	0.912	0.203	0.062	0.204	0.076	0.256	0.084
กล่ำสกล	ควบคุม 2 วัน	19.389	2.077	12.400	0.887	0.476	0.067	0.535	0.058	0.407	0.088
	mannitol 2 วัน	28.964	2.178	18.510	0.910	0.924	0.069	1.057	0.069	0.741	0.089
	ควบคุม 4 วัน	23.300	1.872	15.064	0.934	0.606	0.056	0.648	0.057	0.431	0.079
	mannitol 4 วัน	27.460	1.967	18.755	0.909	1.058	0.048	1.147	0.086	0.710	0.073
กล่ำขอนแก่น	ควบคุม 2 วัน	24.559	2.073	15.653	0.868	0.265	0.058	0.284	0.068	0.245	0.081
	mannitol 2 วัน	28.425	1.978	18.143	0.939	0.327	0.068	0.354	0.087	0.339	0.078
	ควบคุม 4 วัน	27.711	1.876	17.103	0.959	0.294	0.065	0.303	0.048	0.286	0.086
	mannitol 4 วัน	32.015	2.172	19.939	0.979	0.365	0.057	0.380	0.079	0.423	0.090

ขาวดอกมะลิ105	ควบคุม 2 วัน	33.369	2.082	27.959	0.887	0.108	0.076	0.124	0.049	0.107	0.095
	mannitol 2 วัน	32.052	1.882	26.334	0.919	0.115	0.077	0.136	0.059	0.117	0.095
	ควบคุม 4 วัน	36.075	1.977	28.836	0.939	0.111	0.067	0.135	0.079	0.118	0.088
	mannitol 4 วัน	35.253	2.176	26.672	0.910	0.117	0.065	0.146	0.076	0.126	0.086
สังข์หยด	ควบคุม 2 วัน	32.972	2.165	19.364	0.887	0.116	0.043	0.128	0.075	0.115	0.069
	mannitol 2 วัน	24.045	2.076	14.049	0.959	0.127	0.065	0.138	0.046	0.122	0.086
	ควบคุม 4 วัน	33.558	1.873	20.169	0.940	0.126	0.058	0.136	0.058	0.159	0.081
	mannitol 4 วัน	28.831	1.973	19.066	0.918	0.140	0.059	0.151	0.078	0.175	0.081
แดง	ควบคุม 2 วัน	36.673	2.077	21.964	0.887	0.218	0.066	0.203	0.065	0.185	0.087
	mannitol 2 วัน	28.051	1.857	16.720	0.913	0.233	0.066	0.217	0.058	0.205	0.087
	ควบคุม 4 วัน	38.260	1.952	22.205	0.938	0.219	0.057	0.207	0.059	0.228	0.080
	mannitol 4 วัน	34.683	2.132	21.981	0.922	0.238	0.057	0.226	0.047	0.251	0.080

4 สรุปผลการทดลอง

จากผลการศึกษาถึงการเจริญเติบโต โดยสังเกตจากการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความยาวต้นและความยาวราก (รูปที่ 3.1 และ 3.2) และการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น (รูปที่ 3.3) จะแสดงให้เห็นว่าต้นกล้าข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 สังข์หยดและแดงสามารถทนต่อสภาวะเครียดจากความเค็มได้ดีกว่าต้นกล้าข้าวสายพันธุ์กข15 กล่ำสกลและกล่ำขอนแก่น เมื่อศึกษาจากการลดลงของการเจริญเติบโตและการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นที่น้อยกว่าของต้นกล้าข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 สังข์หยดและแดง และเมื่อทำการทดสอบสภาวะเครียดจากความแห้งแล้งกลับพบว่าต้นกล้าข้าวสายพันธุ์กข15 กล่ำสกลและกล่ำขอนแก่นสามารถทนต่อสภาวะเครียดจากความแห้งแล้งได้ดีกว่าต้นกล้าข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 สังข์หยดและแดง เมื่อสังเกตุจากการลดลงของการเจริญเติบโตและการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นที่น้อยกว่า ในต้นกล้าข้าวที่ได้รับสภาวะเครียดเปรียบเทียบกับต้นกล้าข้าวในแต่ละสายพันธุ์ที่ไม่ได้รับสภาวะเครียด เช่นกัน

และเมื่อศึกษาถึงการสะสมสารโพรลีน สารกลุ่มแอนโทไซยานินและสารกลุ่มแทนนิน จะพบการสะสมสารกลุ่มนี้ที่เพิ่มขึ้นในต้นกล้าข้าวทุกสายพันธุ์ แต่จะพบการเพิ่มขึ้นในต้นกล้าข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 สังข์หยดและแดง ซึ่งทนต่อสภาวะเครียดจากความเค็มที่มากกว่าต้นกล้าข้าวสายพันธุ์กข15 กล่ำสกลและกล่ำขอนแก่นที่ทนต่อสภาวะเครียดจากความเค็มได้น้อยกว่า (รูปที่ 3.4 ตารางที่ 3.1 และ 3.2) ในขณะที่สภาวะเครียดจากความแห้งแล้งจะพบการเพิ่มขึ้นของการสะสมสารโพรลีน สารกลุ่มแอนโทไซยานินและสารกลุ่มแทนนินในต้นกล้าข้าวสายพันธุ์กข15 กล่ำสกลและกล่ำขอนแก่นที่ทนต่อสภาวะเครียดจากความแห้งแล้งได้มากกว่าต้นกล้าข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 สังข์หยดและแดงที่ทนต่อสภาวะเครียดจากความแห้งแล้งได้น้อยกว่า (รูปที่ 3.4 ตารางที่ 3.1 และ 3.2) ขณะที่สารกลุ่มเฟลโวนและเฟลโวนอลนั้นมีการสะสมที่แตกต่างกัน คือมีการสะสมที่เพิ่มขึ้นต้นกล้าข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 สังข์หยดและแดง ซึ่งทนต่อสภาวะเครียดจากความเค็ม แต่พบการลดลงของสารกลุ่มเฟลโวนและเฟลโวนอลในต้นกล้าข้าวสายพันธุ์กข15 กล่ำสกลและกล่ำขอนแก่นที่ทนต่อสภาวะเครียดจากความเค็มได้น้อยกว่า (ตารางที่ 3.1 และ 3.2) เช่นเดียวกันสภาวะเครียดจากความแห้งแล้งจะพบการสะสมที่เพิ่มขึ้นต้นกล้าในต้นกล้าข้าวสายพันธุ์กข15 กล่ำสกลและกล่ำขอนแก่นซึ่งทนต่อสภาวะเครียดจากความแห้งแล้ง และพบการลดลงของสารกลุ่มเฟลโวนและเฟลโวนอล ในต้นกล้าข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 สังข์หยดและแดงที่ทนต่อสภาวะเครียดจากความแห้งแล้งได้น้อยกว่า (ตารางที่ 3.1 และ 3.2) ยกเว้นสารกลุ่มเฟลโวนในต้นกล้าข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 สังข์หยดและแดงที่ได้รับสภาวะเครียดจากความเค็มเป็นเวลา 4 วัน จะมีการลดลง

จึงสรุปได้ว่าสารโพรลีน สารกลุ่มแอนโทไซยานินและสารกลุ่มแทนนิน น่าจะมีบทบาทสำคัญต่อการป้องกันตัวเองภายในเซลล์พืชและทำให้พืชสามารถทนต่อสภาวะเคียดได้ เมื่อได้รับสภาวะเครียดจากความเค็มหรือความแห้งแล้ง โดยสังเกตุได้จากการเพิ่มขึ้นของสารโพรลีน สารกลุ่มแอนโทไซยานินและสารกลุ่มแทนนินที่มีมากกว่าในต้นกล้าข้าวสายพันธุ์ที่ทนต่อสภาวะเครียด เปรียบเทียบกับต้นกล้าข้าวสายพันธุ์ที่ทนต่อสภาวะเครียดได้น้อยกว่าทั้งสองสภาวะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. เอกสารอ้างอิง

Allen, R. 1995. "Dissection of oxidative stress tolerance using transgenic plant." **Plant Physiol.** 107: 1049-1054.

Apel, K. and Hirt, H. 2004. "Reactive oxygen species: Matabolism, oxidative stress, and signal transduction." **Annu. Rev. Plant. Biol.** 55: 373-399.

Bartels, D. and Sunkar, R. 2005. "Drought and salt tolerance in plants." **Crit. Rev. Plants Sci.** 24: 23-58.

Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. 1973. "Rapid determination of free proline for water-stress studies." **Plant Soil.** 39: 205–207.

Blokhina, O., Virolainen, E. and Fagerstedt, K. V. 2003. "Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review." **Ann. Bot.** 91: 179-194.

Burg, M. B., Kwon, E. D. and Kultz, D. 1996. "Osmotic regulation of gene expression." **FASEB. J.** 10: 1598-1606.

Chen. T. H. H. and Murata, N. 2002. "Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineeting of betaines and other compatible solutes." **Curr. Opin. Plant Biol.** 5: 250-257.

Fendina, I. S. and Popova, A. V. 1996. "Photosynthesis, photorespiration and proline accumulation in water-stressed pea leaves." **Photosynthetica** 32: 213-220.

Harborne, J. B. 1998. "Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis." London: Chapman & Hall.

Heim, K. E., Tahliaferro, A. R. and Bobilya, D. J. 2002. "Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships." **J. Nutr. Biochem.** 13: 572-584.

Hodge, D. M., DeLong, J. M., Forney, C. F. and Prange, R. K. 1999. "Improving the thiobarbituric acid-reactive-substraces assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds." **Planta.** 207: 604-611.

Ithal, N. and Reddy, A. R. 2004. "Rice flavonoid pathway genes, *OsDfr* and *OsAns*, are indiced by dehydration, high salt and ABA, and contain stress responsive promoter elements that interact with the transcription activiator, OsC1-MYB." **Plant. Sci.** 166: 1505-1513.

Jain, M., Mathur, G., Koul, S. and Sarin, N. B. 2001. "Ameliorative effects of proline on salt stress-induced lipid peroxidation in cell lines of groundnut (*Arachis hypogea* L.)." **Plant Cell Rep.** 20: 463-468.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. เอกสารอ้างอิง

Allen, R. 1995. "Dissection of oxidative stress tolerance using transgenic plant." **Plant Physiol.** 107: 1049-1054.

Apel, K. and Hirt, H. 2004. "Reactive oxygen species: Matabolism, oxidative stress, and signal transduction." **Annu. Rev. Plant. Biol.** 55: 373-399.

Bartels, D. and Sunkar, R. 2005. "Drought and salt tolerance in plants." **Crit. Rev. Plants Sci.** 24: 23-58.

Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. 1973. "Rapid determination of free proline for water-stress studies." **Plant Soil.** 39: 205–207.

Blokhina, O., Virolainen, E. and Fagerstedt, K. V. 2003. "Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review." **Ann. Bot.** 91: 179-194.

Burg, M. B., Kwon, E. D. and Kultz, D. 1996. "Osmotic regulation of gene expression." **FASEB. J.** 10: 1598-1606.

Chen. T. H. H. and Murata, N. 2002. "Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineeting of betaines and other compatible solutes." **Curr. Opin. Plant Biol.** 5: 250-257.

Fendina, I. S. and Popova, A. V. 1996. "Photosynthesis, photorespiration and proline accumulation in water-stressed pea leaves." **Photosynthetica** 32: 213-220.

Harborne, J. B. 1998. "Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis." London: Chapman & Hall.

Heim, K. E., Tahliaferro, A. R. and Bobilya, D. J. 2002. "Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships." **J. Nutr. Biochem.** 13: 572-584.

Hodge, D. M., DeLong, J. M., Forney, C. F. and Prange, R. K. 1999. "Improving the thiobarbituric acid-reactive-substraces assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds." **Planta.** 207: 604-611.

Ithal, N. and Reddy, A. R. 2004. "Rice flavonoid pathway genes, *OsDfr* and *OsAns*, are indiced by dehydration, high salt and ABA, and contain stress responsive promoter elements that interact with the transcription activiator, OsC1-MYB." **Plant. Sci.** 166: 1505-1513.

Jain, M., Mathur, G., Koul, S. and Sarin, N. B. 2001. "Ameliorative effects of proline on salt stress-induced lipid peroxidation in cell lines of groundnut (*Arachis hypogea* L.)." **Plant Cell Rep.** 20: 463-468.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Kishor, P. B. K., Hong, Z. Miao, G. H., Hu, C. A. A. and Verma, D. P. S. 1995. "Overexpression of [delta]-pyrroline-5-carboxylate synthesis increase praline production and confers osmotolerance in transgenic plants." **Plant Physiol.** 108: 1387-1394.

Li, L., Qu, R., De Kochko, A., Fauquet, C. and Beachy, R. N. 1993. "An improved rice transformation method using the biolistic method." **Plant Cell Rep.** 12: 250-255.

Lin, C. C. and Kao, C. H. 2000. "Effect of NaCl stress on H_2O_2 metabolism in rice leaves." **Plant Growth Regul.** 30: 151-155.

Londo, J. P., Chiang, Y. C., Hung, K. H., Chiang, T. Y. and Schaal, B. A. 2006 "Phylogeography of Asian wild rice, *Oryza rufipogon*, reveals multiple independent domestications of cultivated rice, *Oryza sativa*." **PNAS.** 103(25): 9578–9583.

Lutts, S., Majerus, V. and Kinet, J. M. 1999. "NaCl effects on proline metabolism in rice (*Oryza sativa*) seedlings." **Physiol. Plant.** 105: 450-458.

Mansour, M. M. F. 1998. "Protection of plasma membrane of onion epidermal cells by glycinebetaine and proline against NaCl stress." **Plant Physiol. Biochem.** 36:767-772.

Peng, Z., Lu, Q. and Verma, D.P. 1996. "Reciprocal regulation of Δ^1-pyrroline levels during and after osmotic stress in plants." **Mol. Gen. Genet.** 253: 334-341.

Pourcel, L., Routaboul, J. M., Cheynier, V., Lepinice, L. and Debeaujon, I. 2006. "Flavoniod oxidation in plants : from biochemical properties to physiogical functions." **TRENDS Plant Sci.** 12: 29-36.

Rice-Evans, C. 2001. "Flavonoid antioxidants." **Curr. Med. Chem.** 8: 797-807.

Su, J. and Wu, R. 2004. "Stress-inducible synthesis of proline in transgenic rice confers faster growth under stress conditions than that with constitutive synthesis." **Plant Sci.** 166: 941-948.

Tsau, R. and Deng, Z. 2004. "Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals." **J. Chromatog. B.** 812: 85-99.

Yancey, P. H., Clark, M. E., Hand, S. C., Bowlus, R. D. and Somero, G. N. 1982. "Living with water stress : Evoluiton of osmolyte system." **Science.** 217: 1214-1222.

Zhu, B. C., Su, J., Chan, M. C., Verma, D. P. S., Fan, Y. L. and Wu, R. 1998. "Over-expression of a Δ–pyrroline-5-carboxylate synthetase gene and analysis of tolerance to water-stress and salt-stress in transgenic rice." **Plant Sci.** 139: 41-48.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Zhu, J. K. 2002. "Salt and drought stress signal transduction in plants." **Ann. Rev. Plant Biol.** 53: 247-273.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้