รายงานการวิจัยประจำปีงบประมาณ 2550

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

เรื่อง

ความหลากหลายของสารเฟลโวนอยด์จากข้าวสายพันธุ์ไทยตอบสนองการทนต่อโรคไหม้

Differences in Flavonoid Compounds Response among Thai Rice Cultivars of Resistance to Blast

โดย กนกพร สมพรไพลิน

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานการวิจัยประจำปีงบประมาณ 2550

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

เรื่อง

ความหลากหลายของสารเฟลโวนอยด์จากข้าวสายพันธุ์ไทยตอบสนองการทนต่อโรคไหม้

Differences in Flavonoid Compounds Response among Thai Rice Cultivars of Resistance to Blast

โดย กนกพร สมพรไพลิน

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

จากการศึกษาการตอบสนองต่อเชื้อราโรคไหม้ในข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี60 และข้าวสายพันธุ์สุพรรณบุรี 60 โดยเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา เพื่อจำแนกความต้านทานต่อการติดเชื้อ และยังได้ทำการศึกษาถึงสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มเฟลโวนอยด์ในต้นข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ที่ติดเชื้อราโรคไหม้กับต้นข้าวปรกติ พบว่าข้าวสายพันธุ์สุพรรณบุรี60 ให้ลักษณะที่ทนต่อเชื้อราโรคไหม้มากกว่าข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี60 โดยข้าวสายพันธุ์สุพรรณบุรี60 มีปริมาณน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ลดลงเพียงเล็กน้อย นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณการเกิดมาโลนดีไฮด์ซึ่งเป็นผลผลิตที่ได้จากการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ไม่มีการเปลี่ยนแปลงในข้าวสายพันธุ์สุพรรณบุรี60 ส่วนในข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี60 มีการเกิดมาโลนดีไฮด์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากผลการตรวจสอบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มเฟลโวนอยด์ในต้นข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่าข้าวสายพันธุ์สุพรรณบุรี60 ที่ได้รับเชื้อราโรคไหม้มีระดับสารซาโคน ออโรน เฟลวาโนน เฟลโวน และเฟลโวนอลสูงกว่า ข้าว ที่ไม่ได้รับเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี60 ที่ได้รับเชื้อราโรคไหม้มีระดับสารแทนนิน และแอนโทไซยานินสูงกว่าข้าวที่ไม่ได้รับเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในการศึกษาการแสดงออกของยีน *CHS* ในข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ที่ตอบสนองต่อเชื้อราโรคไหม้ โดยการสกัดอาร์เอ็นเอจากต้นข้าวที่ตอบสนองต่อเชื้อราโรคไหม้ นำไปสังเคราะห์ cDNA เพื่อใช้เป็นแม่แบบในการทำอาร์ทีพีซีอาร์ พบว่าไม่ปรากฏแถบของดีเอ็นเอของยีน *CHS* ในทุกวิธีการทดลองซึ่งคาดว่าจะมีการแสดงออกของ ยีน *CHS* เพิ่มขึ้นในข้าวสายพันธุ์สุพรรณบุรี60 ที่ได้รับเชื้อราโรคไหม้ เนื่องจากสามารถตรวจผลได้ในระดับสารเมแทบอไลต์ จึงคาดว่าสารกลุ่มเฟลโวนอยด์ในต้นชีวสังเคราะห์สารน่าจะมีผลต่อการตอบสนองต่อสภาวะเครียดต่อเชื้อราโรคไหม้

RCH
SB
191
.R5
ก124ค

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 82227
วัน,เดือน,ปี 10 ก.ค. 2551

ข้อมูลในเอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Abstract

The response of flavonoid levels to blast disease in Thai rice was studied using Patumthani 60 and Suphan Buri 60 by comparing the physiological change. This report study the identification of plant cultivars that tolerance to blast disease and the accumulation of flavonoid antioxidant substances in infected plant and control plant. After exposing to *Pyricularia grisea,* Suphan Buri 60 rice showed higher tolerance than Patumthani 60 rice. Suphan Buri 60 rice infected blast disease has less reduction of fresh weight and dry weight; moreover malondiadehyde (MDA) content, which produced from membrane degradation, was no significantly change. While Patumthani 60 rice infected with blast disease has significantly increase of MDA content. The determination of flavonoid antioxidants in both cultivars of rice plant shows that infected rice plant of Suphan Buri 60 have higher levels of chalcone, aurone, flavanone, flavone and flavonol than control plant. While infected Patumthani 60 rice shows significant increasing of tannin and anthocyanin accumulation than control Patumthani 60 rice. A study of *CHS* gene expression was performed in both of infected rice cultivars. RNA was extracted and used as template for first strand cDNA synthesis. Result of RT-PCR did not show amplified band of *CHS* fragments in all treatments. We have expected that *CHS* gene was increasingly expressed in Suphan Buri 60 rice infected blast disease because of the detection of flavonoid metabolites. Thus flavonoid substances of early biosynthetic pathways could be involved in blast disease response.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
สารบัญ	ค
สารบัญรูป	ง
สารบัญตาราง	จ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	1
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัยและผลการวิจัย	2
บทที่ 4 อภิปรายผลการวิจัยและวิจารณ์	3
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	7
บรรณานุกรม	8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	แสดงการเจริญเติบโตโดยศึกษาจากปริมาณน้ำหนักสด (ก) และน้ำหนักแห้ง (ข) ของข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี60 และ สุพรรณบุรี60 จากการติดเชื้อราก่อโรคไหม้	4
2	แสดงการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นโดยศึกษาจากสะสมสารมาโลนไดออลดีไฮด์ ของข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี60 และ สุพรรณบุรี60	4
3	ผลการทำอาร์ทีพีซีอาร์ของตัวอย่างข้าวแต่ละสายพันธุ์	7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารในกลุ่มเฟลโวนอยด์ที่ความยาวคลื่นต่างๆ โดยใช้สารสกัดจากใบข้าวที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะ 2001, Kato-Noguchi และคณะ 2002) โดยเฉพาะสารกลุ่มเฟลโวนอยด์มักพบการสะสมที่บริเวณเอพิเดอร์-มิสของเซลล์คาดว่าทำหน้าที่ปกป้องเซลล์ และมีการรายงานว่าสารกลุ่มนี้สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราไหม้ได้ (Padmavati และคณะ 1997) และพบการะสมของสาร 3-deoxyanthocyanidins ในข้าวฟ่างจะแสดงลักษณะเป็นพิษต่อเชื้อโรคพืช และสารแอนโทไซยานินที่ได้จากใบข้าวสามารถยับยั้งการเจริญของชื้อ *Xanthomonas* ได้ (Padmavati และคณะ 1997) และยังมีรายงานว่าข้าวฟ่างสายพันธุ์ที่มีสาร flavan-4-ol สูงจะสามารถต้านทานเชื้อราได้เพื่อมากขึ้น และรูปแบบการสะสมของสารกลุ่ม naringenin ในพืชจะมีผลทำให้โรคไหม้ทำลายได้แตกต่างกัน (Dillon และคณะ 1997)

เนื่องจากในปัจจุบันเกษตรกรมีความจำเป็นต้องใช้สารเคมี เพื่อลดการเข้าทำลายของโรคไหม้ การใช้สารเคมีเหล่านี้จะเป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิต และอาจเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค รวมทั้งต่อสิ่งแวดล้อมเมื่อใช้ในระยะยาว จากการรายงานถึงความเป็นไปได้ว่าข้าวมีสารออกฤทธิ์ยับยั้งวัชพืชและเชื้อก่อโรคในพืช (Kim และ Shin, 2000) ดังนั้นการศึกษาถึงสายพันธุ์ข้าวไทย และจำแนกสารที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเข้าทำลายของเชื้อราโรคไหม้ รวมทั้งดูการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้อง เพื่อใช้เป็นข้อมูลสำหรับเกษตรกรที่ประสบปัญหาดังกล่าวในการตัดสินใจเลือกสายพันธุ์ข้าวที่ทนต่อเชื้อราโรคไหม้ รวมทั้งใช้สำหรับการปรับปรุงสายพันธุ์ข้าวให้ทนต่อโรคไหม้ โดยใช้การผสมพันธุ์แบบดั้งเดิมหรือเทคนิคพันธุวิศวกรรม ซึ่งน่าจะมีส่วนช่วยในการลดการทำลายของเชื้อราโรคไหม้ วิธีการดังกล่าวน่าจะช่วยในการลดการใช้สารเคมีที่มีพิษต่อสิ่งแวดล้อมและผู้บริโภค และยังเป็นการลดต้นทุนการผลิตของเกษตรกรอีกด้วย

วิธีดำเนินการวิจัยและผลการวิจัย

การเก็บตัวอย่างต้นข้าวและสภาวะในการติดเชื้อ

นำเมล็ดพันธุ์ข้าวไทยสายพันธุ์ปทุมธานี60 และสุพรรณบุรี60 มาทำให้ปราศจากเชื้อโดยใช้แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ 2-3 นาที และแช่ในสารละลายไฮเตอร์ 30 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 นาทีตามลำดับ จากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อประมาณ 4-5 ครั้ง นำเมล็ดข้าวดังกล่าวมาวางลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสูตร half-strength MS (เติมน้ำตาล 15 กรัมต่อลิตร, เกลือโซเดียมคลอไรด์ 2.15 กรัมต่อลิตร, ไฟต้าเจล 4 กรัมต่อลิตร) นำมาเพาะเลี้ยงในสภาวะห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะการให้แสง 16 ชั่วโมง สภาวะมืด 8 ชั่วโมง (Jung, 2005) เมื่อข้าวเข้า สู่ระยะ 2 ใบ (อายุประมาณ 7-8 วัน) ทำการทดลองให้ข้าวติดเชื้อราก่อโรคไหม้โดยการสเปย์ (spay) สารละลายสปอร์ของเชื้อราก่อโรคไหม้ หลังจากนั้นนำบ่มมืดที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงในสภาวะห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นเวลา 7 วัน โดยทำการวิเคราะห์หาการเจริญเติบโต (น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง) และทำการเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส เพื่อใช้สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารต่างๆ ต่อไป

การวิเคราะห์การเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน (Lipid peroxidation)

การวิเคราะห์ตรวจสอบการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน นำต้นข้าวแต่ละสายพันธุ์ มาบดด้วยไนโตรเจนเหลว จากนั้นเติมกรดไตรคลอโรอะซิติกความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ นำไปเขย่าที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำการแบ่งส่วนใสออกเป็น 2 ตัวอย่าง จากนั้นเติมกรดไตรคลอโรอะซิติกความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1 เท่าลงในตัวอย่างที่หนึ่ง ส่วนตัวอย่างที่สองเติมสารละลายผสมระหว่างกรดไตรคลอโรอะซิติกที่ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ กับกรดไทโอบาร์ไบทูลิกความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ นำไปต้มที่อุณหภูมิ 95 องศา-เซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที และนำตัวอย่างที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง วัดที่ความยาวคลื่น 532 600 และ 440 นาโนเมตรตามลำดับ นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณตามสูตรของ Hodges (1999)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสกัดสารในกลุ่มเฟลโวนอยด์

ทำการตรวจสอบและเปรียบเทียบปริมาณสารในชีวสังเคราะห์สารกลุ่มเฟลโวนอยด์ของข้าวแต่ละสายพันธุ์ โดยการนำต้นข้าวมาบดด้วยสารละลายไนโตรเจนเหลว แล้วนำมาสกัดด้วยสารละลายผสมของกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นกับเมทานอลและน้ำกลั่น นำไปเขย่าที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นเติมคลอโรฟอร์มปริมาตร 1 มิลลิลิตร ทำการตรวจสอบปริมาณสารแต่ละตัวในกลุ่มเฟลโวนอยด์โดยนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงความยาวคลื่นต่างๆ ของสารแต่ละชนิดในกลุ่มเฟลโวนอยด์ ตามวิธีของ Harborne (1998)

การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) โดยการศึกษาทดลองครั้งนี้ทำการทดลองจำนวน 5 ซ้ำ และวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS เปรียบเทียบค่า เฉลี่ยของตัวแปรที่ศึกษาโดยวิธี DMRT (Ducans new Multiple Range Test)

การวิเคราะห์ยีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อการทนโรคไหม้ในข้าว

การทำ PCR เพื่อเพิ่มปริมาณยีนที่ต้องการ ได้แก่ ยีน *CHS* ซึ่งถอดรหัสและแปรรหัสให้เอนไซม์ chalcone synthase โดยใช้ไพรเมอร์ ฟอร์เวอร์สไพรเมอร์ 5' -CGGGAT CCA TGG TGA CCG TYG AGG ACA- 3' และรีเวอร์สไพรเมอร์ 5' –CGGGAT CCT CAA TTA TTA ATC GGG ACG- 3' (Y หมายถึง C และ T) ทำการสกัด RNA ของต้นข้าว และทำการสร้างสาย cDNA โดยใช้ชุดทำ cDNA (Iscript cDNA synthesis kit, Bio-rad) จากนั้นนำสาย cDNA มาทำ RT-PCR เพื่อศึกษาระดับการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อการทนโรคไหม้ในข้าว

อภิปรายผลการวิจัยและวิจารณ์

ศึกษาผลการติดเชื้อโรคไหม้ต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าว

จากการศึกษาการติดเชื้อราก่อโรคไหม้ในข้าวไทยสายพันธุ์ต่างๆ โดยทำการหาปริมาณของน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งในข้าว 2 สายพันธุ์ ได้แก่ สุพรรณบุรี60 และปทุมธานี60 ข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ที่ติดเชื้อมีปริมาณของน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งลดลงต่ำกว่าต้นข้าวปรกติที่ไม่ติดเชื้อ คิดเป็น 13.77 และ 23.29 เปอร์เซ็นต์ของการลดลงของน้ำหนักสด และ 10.25 และ 22.59 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ (ดังรูป 1ก และ ข)

จากการทดลองจะพบว่าข้าวสายพันธุ์สุพรรณบุรี60 นั้นมีเปอร์เซ็นต์การลดลงของน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งที่น้อยกว่าที่พบในข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี60 แสดงให้เห็นว่าข้าวสายพันธุ์สุพรรณบุรี60 นั้นถูกยับยั้งการเจริญเติบโตจากการติดเชื้อราก่อโรคไหม้ได้น้อยกว่าข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี60

เมื่อได้พืชได้รับสภาวะเครียดทั้งทางด้านกายภาพและชีวภาพ พืชจะเกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยา เช่น การเจริญเติบโต ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ ประสิทธิภาพในการสังเคราะห์ด้วยแสง และการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น เป็นต้น (Bastiaans, 1993; Kim และคณะ 1987; Koga และNakayachi, 2004) โดยที่พืชที่ทนหรือต้านทานต่อการถูกทำลายจากเชื้อโรคพืชต่างๆนั้น จะมีการลดลงของการเปลี่ยนแปลงทางด้านสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาที่น้อยกว่าในพืชที่ไม่ทนหรืออ่อนแอต่อการถูกทำลายจากเชื้อโรคพืชต่างๆ (Coca และคณะ 2006; Katsantonis และคณะ 2007; Koga และคณะ 2008)

ศึกษาผลการติดเชื้อโรคไหม้ต่อการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นของต้นข้าว

ในการศึกษาการเกิดลิปิดเปอร์อกซิเดชั่นเป็นการตรวจสอบหาระดับความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ของพืชได้รับสภาวะเครียดทั้งทางชีวภาพและทางกายภาพ ที่เกิดจากการทำลายของอนุมูลอิสระ ซึ่งการตรวจสอบการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ศึกษาผลการติดเชื้อโรคไหม้ต่อการสะสมสารกลุ่มเฟลโวนอยด์ของต้นข้าว

เมื่อพืชอยู่ภายใต้สภาวะเครียดนั้นจะเกิดผลกระทบแบบทุติยภูมิ (secondary effect) ที่เกิดจากความเครียดทางอนุมูลอิสระ ซึ่งเกิดจากการสะสมอนุมูลอิสระที่มากขึ้นในเซลล์พืช ดังนั้นพืชจึงต้องมีกลไกในการทำลายหรือสลายอนุมูลอิสระเหล่านี้ โดยการสะสมและสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ ทั้งชนิดที่เป็นเอนไซม์ และชนิดที่ไม่ใช้เอนไซม์ ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระชนิดที่ไม่ใช้เอนไซม์ ที่พบว่าเกี่ยวข้องกับการต้านทานการเกิดอนุมูลอิสระจากสภาวะเครียดทางชีวภาพชนิดหนึ่ง คือ สารกลุ่มเฟลโวนอยด์ (Bors et al., 2001; Rice-Evans, 2001; Owuor และ Kong, 2002)

เมื่อนำสารสกัดจากใบข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี60 และสายพันธุ์สุพรรณบุรี60 ที่ติดเชื้อราโรคไหม้ วัดค่าการดูดกลืนแสงเปรียบเทียบกับต้นปกติ (ตารางที่ 1) ผลปรากฏว่าสารสกัดในใบข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี60 ที่ติดและไม่ติดเชื้อราโรคไหม้ให้ค่าการดูดกลืนแสงของสารไอโซลิควิริทิจีนิน (isoliquiritigenin) ไม่แตกต่างกัน ส่วนในข้าวสายพันธุ์สุพรรณบุรี60 ที่ติดเชื้อราโรคไหม้ ให้ค่าการดูดกลืนแสงมากกว่าข้าวที่ไม่ติดเชื้อราโรคไหม้อย่างมีนัยสำคัญ สำหรับสารซัลฟูเรติน (sulphuretin) พบว่าสารสกัดในข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ที่ติดเชื้อราโรคไหม้ ให้ค่าการดูดกลืนแสงมากกว่าข้าวที่ไม่ติดเชื้อราโรคไหม้อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนสารในกลุ่มเฟลวาโนน พบว่าสารสกัดจากข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี60 ให้ค่าการดูดกลืนแสงไม่แตกต่างกัน ระหว่างข้าวที่ติดและไม่ติดเชื้อราโรคไหม้ ในขณะที่สารสกัดจากข้าวสายพันธุ์สุพรรณบุรี 60 ที่ติดเชื้อราโรคไหม้ให้ค่าการดูดกลืนแสงมากกว่าข้าวที่ไม่ติดเชื้อราโรคไหม้อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนสารเฮสเพอริติน (hesperitin) พบว่าสารสกัดในข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ที่ติดเชื้อราโรคไหม้ ให้ค่าการดูดกลืนแสงมากกว่าข้าวที่ไม่ติดเชื้อราโรคไหม้อย่างมีนัยสำคัญ

ขณะที่สารในกลุ่มเฟลโวน พบว่าสารลูทิโอลิน (luteolin) และ ไทรซิน (tricin) จากสารสกัดในข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี60 ให้ค่าการดูดกลืนแสงไม่แตกต่างกันระหว่างข้าวที่ติดและไม่ติดเชื้อราโรคไหม้ ในขณะที่สารสกัดจากข้าวสายพันธุ์สุพรรณบุรี60 ที่ติดเชื้อราโรคไหม้ ให้ค่าการดูดกลืนแสงมากกว่าข้าวที่ไม่ติดเชื้อราโรคไหม้อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนสารอะพิจินิน (apigenin) พบว่าสารสกัดในข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ที่ติดเชื้อราโรคไหม้ จะให้ค่าการดูดกลืนแสงมากกว่าสายพันธุ์ที่ไม่ติดเชื้อราโรคไหม้อย่างมีนัยสำคัญ สำหรับสารในกลุ่มเฟลโวนอลนั้น พบว่าในข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี60 ที่ติดเชื้อราโรคไหม้ให้ค่าการดูดกลืนแสงของสารเควอซีตินและเคเอ็มเฟอรอลไม่แตกต่างกับข้าวที่ไม่ติดเชื้อราโรคไหม้ ในขณะที่สารสกัดจากข้าวสายพันธุ์สุพรรณบุรี60 ที่ติดเชื้อราโรคไหม้ ให้ค่าการดูดกลืนแสงมากกว่าข้าวที่ไม่ติดเชื้อราโรคไหม้อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนสารเมอริเซตินจากสารสกัดในข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ที่ติดเชื้อราโรคไหม้ ให้ค่าการดูดกลืนแสงมากกว่าข้าวที่ไม่ติดเชื้อราโรคไหม้อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนสารในกลุ่มเบนโซควิโนน (benzoquinone) ได้แก่ สารไดเมททิลออกซิเบนโซควิโนน(dimethyoxybenzoquinone) และเบนโซควิโนน (benzoquinone) นั้นพบว่าสารสกัดจากข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ที่ติดเชื้อราโรคไหม้ ให้ค่าการดูดกลืนแสงมากกว่าข้าวที่ไม่ติดเชื้อราโรคไหม้อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนสารในกลุ่มแนฟทาควิโนน (napthaquinone) นั้นพบว่าสารสกัดจากข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ที่ติดเชื้อราโรคไหม้ ให้ค่าการดูดกลืนแสงของสารพลัมเบกิน (plumbagin) มาก กว่าข้าวที่ไม่ติดเชื้อราโรคไหม้อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่สารในกลุ่มแทนนิน ได้แก่ กัลโลแทนนิน (gallotannin) มีค่าการดูดกลืนแสงที่ต่ำมาก โดยสารสกัดจากข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี60 ที่ติดเชื้อราโรคไหม้ให้ค่าการดูดกลืนแสงมากกว่าข้าวที่ไม่ติดเชื้อราโรคไหม้อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนสารสกัดจากข้าวสายพันธุ์สุพรรณบุรี60 ที่ติดเชื้อราโรคไหม้ให้ค่าการดูดกลืนแสงที่น้อยกว่าข้าวที่ไม่ติดเชื้อราโรคไหม้อย่างมีนัยสำคัญ สารในกลุ่มแอนโทไซยานิน ได้แก่ เดลฟีนิดิน (delphinidin) ไซยานิดิน(cyanidin) และเพลาโกนิดิน (pelargonidin) พบว่าสารสกัดจากข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ต่ำมาก โดยสารสกัดจากข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี60 ที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ติดเชื้อราโรคไหม้ให้ค่าการดูดกลืนแสงมากกว่าข้าวที่ไม่ติดเชื้อราโรคไหม้อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนสารสกัดจากข้าวสายพันธุ์สุพรรณบุรี60 ที่ติดเชื้อราโรคไหม้กลับให้ค่าการดูดกลืนแสงที่น้อยกว่าข้าวที่ไม่ติดเชื้อราโรคไหม้อย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 1 ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารในกลุ่มเฟลโวนอยด์ที่ความยาวคลื่นต่างๆ โดยใช้สารสกัดจากใบข้าวที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรภาษาอังกฤษเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-Way ANOVA) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

กลุ่มสาร	ชนิดสาร	ปทุมธานี60		สุพรรณบุรี60	
		ไม่ติดเชื้อ	ติดเชื้อ	ไม่ติดเชื้อ	ติดเชื้อ
Chalcone	Isoliquiritigenin	0.41^{b}	0.49^{b}	0.39^{c}	0.51^{a}
Aurone	Sulpluretin	0.13^{c}	0.16^{a}	0.08^{d}	0.15^{b}
Flavanones	Naringenin	0.71^{b}	0.86^{ab}	0.48^{c}	0.88^{a}
	Hesperitin	0.47^{b}	0.61^{a}	0.27^{c}	0.54^{ab}
Flavones	Luteolin	0.79^{b}	0.82^{ab}	0.61^{c}	0.83^{a}
	Tricin	0.77^{b}	0.81^{ab}	0.59^{c}	0.82^{a}
	Apigenin	0.78^{b}	0.81^{a}	0.62^{c}	0.82^{a}
Flavonols	Quercetin	0.79^{b}	0.80^{b}	0.62^{c}	0.97^{a}
	Kaempferol	0.51^{b}	0.55^{b}	0.39^{c}	0.60^{a}
	Myricetin	0.62^{c}	0.69^{b}	0.46^{d}	0.77^{a}
Benzoguinone	Dimethyoxybenzoquinone	0.68^{c}	0.78^{b}	0.56^{d}	0.82^{a}
	Benzoquinone	0.62^{c}	1.22^{a}	0.53^{d}	0.76^{b}
Napthaguinones	Plumbagin	$0.26b^{c}$	0.42^{a}	0.18^{c}	0.29^{c}
Tannin	Gallotanin	0.029^{b}	0.048^{a}	0.031^{b}	0.018^{c}
Anthocyanins	Delphinidin	0.029^{b}	0.051^{a}	0.031^{b}	0.017^{c}
	Cyanidin	0.030^{b}	0.065^{a}	0.032^{b}	0.015^{c}
	Pelargonidin	0.046^{b}	0.071^{a}	0.044^{b}	0.025^{c}

พืชมีกลไกการป้องกันตัวจากเชื้อโรค โดยพบว่าสารในกลุ่มเฟลโวนอยด์ซึ่งเป็นสาร ทุติยภูมิที่พบในพืชชั้นสูงทั่วไปมีคุณสมบัติในการต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ (Izabela และ Wei, 2004) โดยพืชที่ติดเชื้อจุลินทรีย์จะมีการกระตุ้นให้ผลิตสารเฟลโวนอยด์ออกมาในปริมาณที่มากกว่าปกติโดยเฉพาะบริเวณแผลที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อ (Gandikota และคณะ 2001) นอกจากนี้สารกลุ่มเฟลโวนอยด์ยังมีหน้าที่ทางชีวภาพอีกหลากหลาย เช่น เป็นสารให้สีแก่พืช ช่วยล่อแมลงในการผสมเกสร ป้องกันพืชจากแมลง รวมถึงสภาวะเครียด โดยจะมีผลให้พืชมีความสามารถในการปรับตัวต่อสภาวะเครียดจากสภาพแวดล้อมที่เกิดจากสิ่งมีชีวิต และไม่มีชีวิต (Chalker-Scott และคณะ 1999) Padmavati และคณะ (1997) ได้รายงานว่า การสะสมของสารกลุ่มแนรินเจนินที่แตกต่างกันในพืชนั้นมีผลทำให้เชื้อราโรคไหม้เข้าทำลายได้แตกต่างกันโดยมีผลต่อยับยั้งการงอกของสปอร์ซึ่งอาจเป็นเพราะสารมีคุณสมบัติเป็นไลโปฟีลิก (lipophilic) และพบว่าสารสกัดแอนโทไซยานินจากข้าวสามารถ ยับยั้งการเจริญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขณะที่สารที่อยู่ในกลุ่มท้ายของวิถีชีวสังเคราะห์เฟลโวนอยด์ (แทนนินและแอนโทไซยานิน) นั้น พบการเพิ่มขึ้นในข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี60 มากกว่าข้าวสายพันธุ์สุพรรณบุรี60 จึงคาดว่าสารในกลุ่มดังกล่าวโดยเฉพาะสารที่อยู่ในช่วงต้นของวิถีชีวสังเคราะห์เฟลโวนอยด์ น่าจะส่งผลต่อระดับการติดเชื้อที่แตกต่างกัน และส่งผลให้ข้าวสายพันธุ์สุพรรณบุรี60 มีความทนต่อการถูกทำลายจากเชื้อราโรคไหม้ อาจเนื่องมาจากการสะสมสารต่างๆที่อยู่ในกลุ่มเฟลโวนอยด์ที่มีฤทธิ์ในการต้านทานต่ออนุมูลอิสระที่มากกว่าข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี60

บรรณานุกรม

Agrawal, G. K., Rakwal, R., Jwa, N. S. and Agrawal, V. P. 2002. Effects of signaling molecules, protein phosphatase inhibitors and blast pathogen (*Magnaporthe grisea*) on the mRNA level of a rice (*Oryza sativa* L.) phospholipids hydroperoxide glutathione peroxidase (*OsPHGPX*) gene in seedling leaves, Gene, 283: 227-236.

Anderson, A. J. 1991. Phytoalexins and plant resistance. In sharma, R. P., salunkhe, D. K. (Eds.). Mycotoxins and phytoalexins. CRC Press, Boca Raton, pp. 569-594.

Bastiaans, L. 1993. Effects of leaf blast on growth and production of a rice crop. Euro. J. Plant Pathol., 99: 10-22.

Bors, W., Michel, C. and Stettmaier, K. 2001. Structure–activity relationships governing antioxidant capacities of plant polyphenols. Methods Enzymol., 335:166–180.

Chalker, S., Rakwal, R., Tamogami, S., Agrawal, G. K. and Iwahashi, H. 2002. Octadecanoid signaling component "burst" in rice (*Oryza sativa L*) seeding leaves upon wounding by cut and treatment with fungal elicitor chitosan. Biochem. Biophy. Res. Commun., 295: 1041-1045.

Chung, I. M., Ahn, J. K. and Yun, S. J., 2001. Identification of allelopathic compounds from rice (*Oryza sative* L.) straw and their biological activity, Canadian J. Plant Sci., 81: 815-819.

Dillon, V. M., Overton, J., Grayer, R. J. and Harborne, J. B. 1997. Differences in phytoalexin response among rice cultivars of different resistance to blast, Phytochemistey, 44: 599-603.

Coca, M., Penas, G., Gomez, J., Campo, S., Bortolotti, C., Messeguer, J. and Segundo, B. S. 2006. Enhanced resistance to the rice blast fungus *Magnaporthe grisea* conferred by expression of a cecropin A gene in transgenic rice. Planta, 223: 392–406.

Gandikota, M., De Kochko, A., Chen, L., Ithal, N., Eauquet, C. and Reddy, A. R. 2001. Development of transgenic rice plants expressing maize anthocyanin gene and increased blast resistance. Mol. Breed., 7: 73-83.

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

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

Izabela, K. and Wei, Z. 2004. Transcription factors controlling plant secondary metabolism: what regulates the regulators. Phytochemistry, 61: 107–114.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Jung, H. Y. 2005. The rice (*Oryza sativa*) Blast Lesion Mimic Mutant , blm, may confer resistance to blast pathogens by trigger multiple defense assosiciated singnaling pathway, J. Plant Physiol. Bio., 43: 397-406.

Kato-Noguchi, H., Ino, T., Sata, N. and Yamamura, S. 2002. Isolation and identification of a potent allelopathic substance in rice root exudates. Physiol. Planta., 115: 401-405.

Katsantonis, D., Koutroubas, S. D., Ntanos, D. A. and Lupotto, E. 2007. A comparison of three experimental designs for the field assessment of resistance to rice blast disease (*Pyricularia oryzae*). J. Phytopathology, 155: 204–210.

Kim, K. D., Hwang, B. K. and Koh, Y. J. 1987. Evaluation of rice cultivars under greenhouse conditions for adult-plant resistance to *Pyricularia oryzae*. J. Phytopathology, 120: 310-316.

Kim, K.U. and Shin, D. H. (Eds.). 2000. Rice Allelopathy. Kyungpook National University, Taegu, pp.57-82.

Koga, H. and Nakayachi, O. 2004. Morphological studies on attachment of spores of *Magnaporthe grisea* to the leaf surface of rice. J. Gen. Plant Pathol., 70: 11–15.

Koga, H., Dohi, K., Yoshimoto, R and Mori, M. 2008. Resistance in leaf blades assessed by counting conidia correlates with whole-plant-specific resistance in leaf sheaths in a compatible rice–*Magnaporthe oryzae* interaction. J. Gen. Plant Pathol. 74: 151-160.

Luo, Y., Teng, P. S., Fabellar, N. G. and TeBeest D. O. 1998. The effects of global terperature change on rice leaf blast epidermics: a simulation study in three agroecological zones Agriculturn, Ecosystem and Environment, 68: 187-196.

Mattice, J., Lavy, T., Skulman, B. and Dilday, R. 1998. Searching for allelochemicals in rice that control ducksalad. In; Olofsdotter, M., Editor, 1998. Allelopathy In Rice, Internationl Rice Research Institute, Manila, pp. 81-97.

Owuor, E. D. and Kong, A. N. 2002. Antioxidants and oxidants regulated signal transduction pathways. Biochem. Pharmacol., 64: 765–770.

Padmavati, M., Sakthivel, K. V. and Ruddy, A. R. 1997. Differential sensitivity of rice pathogens to growth inhibition by flavonoids. Phytochemistry, 46: 499-502.

Rice-Evans, C. 2001. Flavonoid Antioxidants. Curr. Med. Chem., 8: 797-807.

Rimand, A. M.., Olofsdotter, M., Dayan, F. E. and Duke, S. O. 2001. Searching for rice allelochemicals: an example of dioassay-guided isolation. Agro. J., 93:.16-20.

Skadhauge, B., Thomsen, K. and von Wettstein, D. 1997. The role of barley testa layer and its flavonoid content in resistance to *Fusarium* infections. Hereditas, 126:147–160.

VanLoon, L. C.1997. Induced resistance in plants and the role of pathogenesis-relted proteins. Eur. J. Pathol. 103, 753-765.

http://www.doa.go.th/rri/tech/RB.htm.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้