ผลของเกลือและแมนนิทอลต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาและการผลิตสารเฟลโวนอยด์ในข้าวสายพันธุ์ไทย (*Oryza sativa* L. spp. *indica*)

Effects of Salt and Mannitol on Physiological Alteration and Flavonoids Production in Thai Rice (*Oryza sativa* L. spp. *indica*)

กนกพร สมพรไพลิน[1] สุธี ชุติไพจิตร[1] และ สุริยันตร์ ฉะอุ่ม[2]

[1] ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

[2]ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ

บทคัดย่อ

สภาวะเครียดทางกายภาพโดยเฉพาะอย่างยิ่งความเค็มและความแห้งแล้งเป็นสาเหตุสำคัญที่มีผลต่อของการสูญเสียผลผลิตของธัญพืชทั่วโลกรวมทั้งข้าวที่เป็นธัญพืชหลัก ในการทดลองนี้ได้ใช้ต้นกล้าข้าว 5 สายพันธุ์ที่เจริญเติบโตภายใต้ระบบโฟรโตออโตโทรปิก สำหรับศึกษาการปรับตัวต่อสภาวะเครียดจากความเค็มและความแห้งแล้ง นำต้นกล้าข้าวอายุ 14 วันมาทดสอบด้วยโซเดียมคลอไรด์ 100 มิลลิโมลาร์หรือแมนนิทอล 100 มิลลิโมลาร์สำหรับความเครียดจากความเค็มหรือความแห้งแล้งตามลำดับ ต้นกล้าข้าวสายพันธุ์ต่างๆ ที่ทดสอบด้วยโซเดียมคลอไรด์หรือแมนนิทอลนั้นได้รับความเสียหายต่อการเจริญเติบโตทางสรีรวิทยาและรงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์ด้วยแสงแตกต่างกันออกไป ในต้นกล้าข้าวสายพันธุ์เหล่านี้พบว่าข้าวขาวดอกมะลิ 105 และข้าวกล่ำจากสกลนครแสดงลักษณะทางสรีรวิทยาที่ทนต่อสภาวะเครียดจากความเค็มและความแห้งแล้งสูงที่สุดตามลำดับ สายพันธุ์ข้าวที่แตกต่างกันจะมีรูปแบบการสะสมสารเฟลโวนอยด์ในการตอบสนองต่อสภาวะเครียดแต่ละชนิดอย่างจำเพาะ เมื่อนำสารสกัดเมธานอลและกรดที่ได้จากต้นกล้าข้าวที่ทนต่อสภาวะเครียดแต่ละชนิดมาทดสอบพบการเพิ่มขึ้นของสารเฟลโวนอยด์ในช่วงท้ายของวิถีชีวสังเคราะห์ (แทนนินและแอนโทไซยานิน) มากกว่าต้นควบคุม เป็นที่ทราบดีว่าสารเหล่านี้มีส่วนเกี่ยวข้องกับระบบการต้านทานต่ออนุมูลอิสระที่ซับซ้อนซึ่งมีส่วนช่วยในการลดสารพิษที่ทำลายพืช ดังนั้นสารดังกล่าวจึงน่าจะเกี่ยวข้องประสิทธิภาพและการทนต่อความเค็มและความแห้งแล้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Abstract

Abiotic stresses, especially salinity and drought, are the primary causes of crop loss worldwide including rice which is a major crop. The adaptation to salinity and drought stresses of five rice seedling varieties grown in a photoautotropic system were used in these experiments. 14 day-old of rice seedling varieties were treated with 100 mM NaCl or 100 mM mannitol for salinity or drought stresses, respectively. Rice seedling varieties treated with salt or mannitol had dissimilar detriments of physiological growth and photosynthetic pigments. Among the treated seedlings, KDML 105 and Klum Sakol cultivars presented the highest physiological tolerance to salt and manitol stresses, respectively. Different rice varieties have specific flavonoid metabolite pattern in response to each type of stress. The methanol:HCl extraction of tolerant seedling varieties showed more increment of flavonoid metabolites from late biosynthetic pathway (tannin and anthocyanin) than control. These substances are known to take part in complex antioxidant system which mitigates the toxic damages in plant. Thus it might relate to the effectiveness of salinity and drought tolerance.

คำสำคัญ (Keywords): abiotic stresses, anthocyanin, flavonoid, *indica* rice, mannitol, salt

1. บทนำ

จากการเปลี่ยนแปลงทางด้านภูมิศาสตร์ในโลกที่เกิดขึ้นในปัจจุบัน ทำให้เกิดสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเพาะปลูก ซึ่งจะส่งผลต่อการเจริญเติบโตและการสร้างผลผลิตในธัญพืชชนิดต่างๆ รวมทั้งข้าวที่เป็นธัญพืชหลักที่คนไทยใช้ในการบริโภคและเป็นสินค้าส่งออกที่ทำมูลค่าให้กับประเทศไทย ปัญหาสภาวะดินเค็มและความแห้งแล้งนั้นเป็นความเครียดจากสภาวะแวดล้อมหลักที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและการสร้างผลผลิตในข้าว [1] รวมทั้งส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางด้านสรีรวิทยาและกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงภายในต้นข้าวอีกด้วย [2, 3]

ในปัจจุบันพบว่าได้มีงานวิจัยอย่างมากมายแสดงให้เห็นว่าในพืชชั้นสูงนั้นเมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมจะมีการปรับตัวให้เข้ากับสภาวะแวดล้อม โดยมีการกระตุ้นการทำงานภายในเซลล์แบบเครือข่าย ทำให้ส่งสัญญาณเพื่อให้กระตุ้นการแสดงออกของยีนและสารเมแทบอ-ไลต์ที่เกี่ยวข้องกับความเครียด ดังนั้นจึงมีรายงานถึงการผลิตและสะสมสารต่างๆ เพื่อป้องกันการเปลี่ยนแปลง เนื่องมาจากแรงดันออสโมติก (osmotic stress) เช่น โพรลีน (proline) [4, 5] ไกลซีน- เบตาอีน (glycine betaine) [6, 7] น้ำตาลชนิดต่างๆ [8, 9] และสารกลุ่มโพลีเอมีน (polyamines) [10, 11] เพื่อไม่ให้เซลล์พืชถูกทำลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้ยังพบว่าในพืชยังมีการสร้างอนุมูลอิสระ (free radicals) เพิ่มขึ้นเมื่ออยู่ในสภาวะเครียด ทั้งซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (superoxide anion; O_2^-) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide; H_2O_2) ไฮดรอกซิลแรดิเคิล (hydroxyl radical; OH^-) [12, 13] เซลล์พืชจำต้องมีกลไกในการกำจัดอนุมูลอิสระเหล่านี้โดยใช้เอนไซม์ต่างๆ เช่น ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase) แคทาเลส (catalase) เปอร์ออกซิเดส (peroxidase) เป็นต้น [14] นอกจากนี้ยังต้องมีกลไกการสร้างสารที่มีคุณสมบัติในการกำจัดอนุมูลอิสระ เช่น แอสคอเบท (ascorbate) กลูต้าไทโอน (glutathione) รวมทั้งสารกลุ่มเฟลโวนอยด์ (flavonoid) เป็นต้น [15]

สารกลุ่มเฟลโวนอยด์จัดเป็นสารทุติยภูมิที่เกิดจากสารตั้งต้นฟีนิลโพรพานอยด์ (phenylpropanoid) สารต่างๆ ในกลุ่มนี้นั้นเกิดจากการเติมมาโลนิลโคเอ (malonyl CoA) เข้าที่โมเลกุลของฟีนิลโพรพานอยด์ในคูมาโลอิลโคเอ (coumaroyl CoA) รวมทั้งมีการทำปฏิกิริยา ไฮดรอกซิเลชั่น (hydroxylation) เมธิลเลชั่น (methylation) ไกลโคซิลเลชั่น (glycosylation) หรือฟีนิลเลชั่น (phenylation) เกิดเป็นสารประกอบต่างๆ ภายในวิถีชีวสังเคราะห์เฟลโวนอยด์ (รูปที่ 1) โดยที่สารประกอบที่พบในพืชชั้นสูงจะเป็นสารจำพวกเฟลโวน (flavone) เฟลโวนอล (flavonol) เฟลโวโนน (flavonone) แอนโทไซยานิน (anthocyanin) และกัลโลแทนนิน (gallotannin) [16, 17] มีรายงานว่าวิถีชีวสังเคราะห์เฟลโวนอยด์ของข้าวนั้นมีการตอบสนองทั้งสภาวะเครียดทางชีวภาพ (biotic stress) และทางกายภาพ (abiotic stress) [18] ซึ่งพบว่ามีการสะสมของสารกลุ่มเฟลโวนอยด์ ในการตอบสนองต่อรังสียูวีบี (UV-B) อุณหภูมิต่ำและความแห้งแล้ง [19, 20]

ในงานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงทางด้านการเจริญเติบโตและการสะสมสารกลุ่มเฟลโวนอยด์ภายในต้นกล้าข้าวสายพันธุ์ไทยอายุ 14 วัน เมื่ออยู่ในสภาวะเครียดทางกายภาพที่เกิดจากความเค็มและความแห้งแล้ง เพื่อใช้เป็นพื้นฐานในการศึกษาถึงกลไกทั้งหมดที่ใช้ในการตอบสนองต่อสภาวะเครียดทางกายภาพในข้าว รวมทั้งใช้ในงานวิจัยทางด้านอณูชีววิทยา (molecular biology) ภายในต้นข้าวต่อไปในอนาคต

2. วิธีการวิจัย

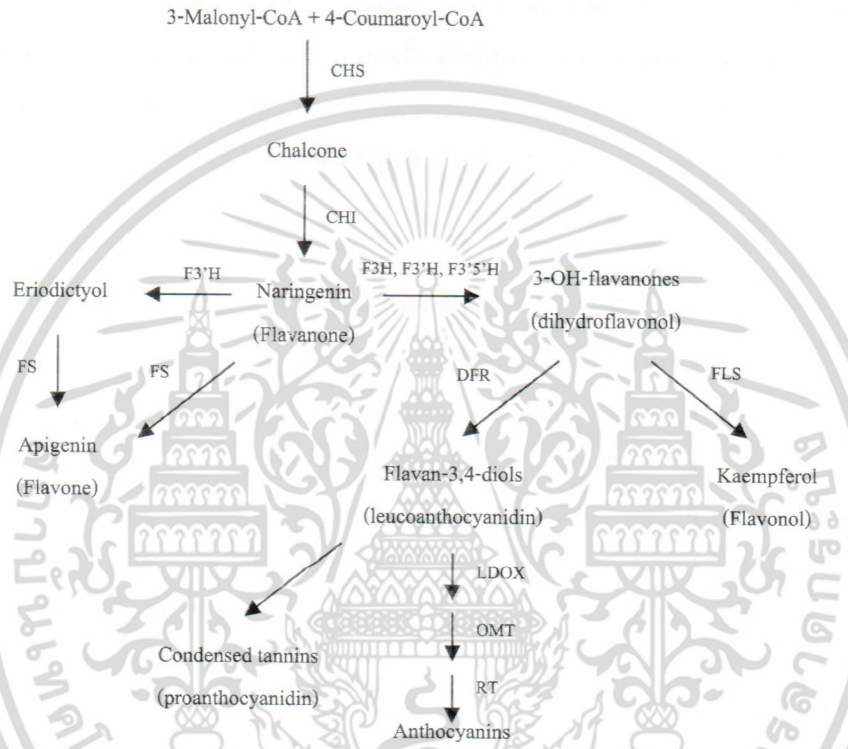
2.1 ตัวอย่างต้นข้าวและการทดสอบสภาวะเครียด

นำเมล็ดข้าวสายพันธุ์อินดิกา (*Oryza sativa* L. spp. *indica*) ทั้ง 5 สายพันธุ์ (ขาวดอกมะลิ 105 ปทุมธานี 1 กล่ำจากสกลนคร เหนียวดำ และกล่ำจากขอนแก่น) มาแกะเปลือกออก แล้วฟอกฆ่าเชื้อด้วยเอธานอล 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 2-3 นาที และย้ายลงในสารละลายคลอรอกซ์ (Clorox®) ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 40 นาที ในสภาวะเขย่าที่อุณหภูมิห้อง ในความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที (rpm) จากนั้นย้ายลงในสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 นาที ในสภาวะเขย่าเช่นเดียวกับขั้นตอนก่อนหน้า หลังจากนั้นล้างสารละลายคลอรอกซ์ออกโดยใช้น้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 5-6 ครั้ง ทำเมล็ดข้าวให้แห้งและนำไปวางในอาหาร NB [21] ที่มีน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร วุ้น 8 กรัมต่อลิตร pH 5.6-5.8 นำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มแสง 800 ลักซ์ (luxs) เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นย้ายต้นกล้าข้าวที่ได้ลงในอาหารเหลว NB ที่มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เวอร์มิคูไลท์ (vermiculite) เป็นวัสดุค้ำจุน และมีการเพิ่มอัตราการแลกเปลี่ยนอากาศให้อยู่ที่ 5.31 โมลต่อชั่วโมง โดยการติดกระดาษกรองขนาด 0.2 ไมโครเมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร นำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มแสง 800 ลักซ์ต่ออีก 7 วัน

เมื่อกล้าข้าวอายุ 14 วัน นำมาชักนำให้เกิดสภาวะเครียดจากความเค็มหรือความแห้งแล้ง โดยเติมอาหารเหลว NB ที่มีโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) หรือแมนทินอล (mantinol) ให้มีความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ และทำการเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 2 และ 4 วัน นำตัวอย่างที่ได้เก็บไว้ที่อุณหภูมิ –80 องศาเซลเซียส เพื่อใช้สำหรับการทดลองต่อไป



รูปที่ 1 วิถีชีวสังเคราะห์เฟลโวนอยด์ในพืชชั้นสูง และหน้าที่ของสารประกอบต่างๆ: chalcone synthase (CHS), chalcone isomerase (CHI), dihydroflavonol-4-reductase (DFR), flavanone-3-hydroxylase (F3H), flavone synthase (FS), flavonoid 3' hydroxylase (F3'H), flavonoid 3'5' hydroxylase (F3'5'H), flavonol synthase (FLS) leucoanthocyanidin dioxygenase (LDOX), O-methyltransferase (OMT), rhamnosyl transferase (RT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 การเจริญเติบโต

ใช้ตัวอย่างต้นกล้าข้าวที่ได้จากการทดลองในข้อ 2.1 จำนวน 5 ต้น ในแต่ละชุดการทดลอง มาวัดความยาวต้น น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นข้าว โดยนำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง แล้วจึงนำมาชั่งหาน้ำหนักแห้ง

2.3 ปริมาณรงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์ด้วยแสง

นำใบของต้นข้าวที่ได้จากการทดลองในข้อ 2.1 (50 มิลลิกรัม) มาบดด้วยไนโตรเจนเหลว แล้วเติมอะซิโตน (acetone) ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำส่วนใสที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 662 644 และ 470 นาโนเมตร [22, 23] และนำค่าที่ได้มาคำนวณเพื่อหาค่าคลอโรฟิลล์เอ (chlorophyll A; Ch_A) คลอโรฟิลล์บี (chlorophyll B; Ch_B) และคาโรทีนอยด์ (carotenoid; Car) ในหน่วยไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ($\mu g.g^{-1}$ F.W.) ตามสูตรดังนี้

$$\text{Chlorophyll A } (Ch_A) = 9.784\,D_{662} - 0.99D_{644}$$

$$\text{Chlorophyll B } (Ch_B) = 21.42\,D_{644} - 4.65D_{662}$$

$$\text{Carotenoid (Car)} = 1000D_{470} - 1.9Ch_A - 63.14Ch_B / 214$$

2.4 ปริมาณสารกลุ่มเฟลโวนอยด์

ใช้การสกัดด้วยกรดในเมทานอลตามวิธีของ Harborne (1998) [24] โดยใช้ต้นกล้าข้าวที่ได้จากการทดลองในข้อ 2.1 (0.5 กรัม) มาบดด้วยไนโตรเจนเหลว แล้วสกัดด้วยสารละลายผสมที่มีเมทานอลกับกรดไฮโดรคลอริกอัตราส่วน 99:1 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 จากนั้นนำส่วนใสที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร สำหรับสารกลุ่มแอนโทไซยานิน 336 นาโนเมตร สำหรับเอพิจีนิน (apigenie) ซึ่งเป็นสารกลุ่มเฟลโวน 550 นาโนเมตร สำหรับกัลโลแทนนิน ซึ่งเป็นสารกลุ่มแทนนิน (tannin) 368 นาโนเมตรสำหรับเคเอ็มฟีรอล (kaempferol) ซึ่งเป็นสารกลุ่มเฟลโวนอล และ 330 นาโนเมตรสำหรับนารินจีนิน (naringenin) ซึ่งเป็นสารกลุ่มเฟลวาโนน ค่าที่ได้จะแสดงในหน่วยค่าการดูดกลืนแสงต่อกรัมน้ำหนักสด (absorbance.g^{-1} F.W.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ

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)

3. ผลการทดลอง

3.1 ผลของการเจริญเติบโตต่อสภาวะเครียดจากความเค็มและความแห้งแล้ง

พืชที่อยู่ในสภาวะเครียดจะมีการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา รวมถึงอัตราการเจริญเติบโต [25] พืชแต่ละชนิดและแต่ละสายพันธุ์จะได้รับผลกระทบจากสภาวะเครียดต่อการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน [26]

จากการทดลองเมื่อนำต้นกล้าข้าวสายพันธุ์ต่างๆ อายุ 14 วัน มาเลี้ยงภายใต้สภาวะเครียดจากความเค็มหรือความแห้งแล้งเป็นระยะเวลา 2 และ 4 วันแล้ว ทำการวัดการเจริญเติบโต โดยศึกษาจากความยาวต้น น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของต้น พบว่าข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 จะสามารถทนต่อสภาวะเครียดจากความเค็มได้ดีกว่าข้าวสายพันธุ์อื่นๆ ที่ทำการทดลอง ซึ่งข้าวสายพันธุ์นี้เมื่อได้รับโซเดียมคลอไรด์เป็นเวลา 4 วันมีลักษณะต้นที่ดีที่สุด โดยพิจารณาจากความยาวต้น น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของต้นอยู่ที่ร้อยละ 97.65 92.17 และ 99.21 ซึ่งลดลงน้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้าข้าวสายพันธุ์เดียวกันที่ไม่ได้รับสภาวะเครียดในระยะเวลาที่เท่ากัน ดังแสดงในรูปที่ 2

เมื่อเลี้ยงต้นกล้าข้าวในสภาวะที่ชักนำให้เกิดความแห้งแล้ง (แมนนิทอล 100 มิลลิโมลาร์) ข้าวกล่ำจากสกลนคร ข้าวเหนียวดำ และข้าวกล่ำจากขอนแก่นจะมีแนวโน้มในการทนต่อสภาวะเครียดชนิดนี้ได้ดีกว่าสภาวะเครียดจากความเค็ม และพบว่าเมื่อได้รับสภาวะเครียดจากความแห้งแล้งเป็นเวลา 2 และ 4 วัน ข้าวกล่ำจากสกลนครจะมีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าข้าวสายพันธุ์อื่นๆ ที่ใช้ในการทดลอง ส่วนข้าวสายพันธุ์ปทุมธานีนั้นพบว่ามีการเจริญเติบโตต่ำที่สุด เมื่ออยู่ในสภาวะเครียดจากความเค็มและความแห้งแล้ง

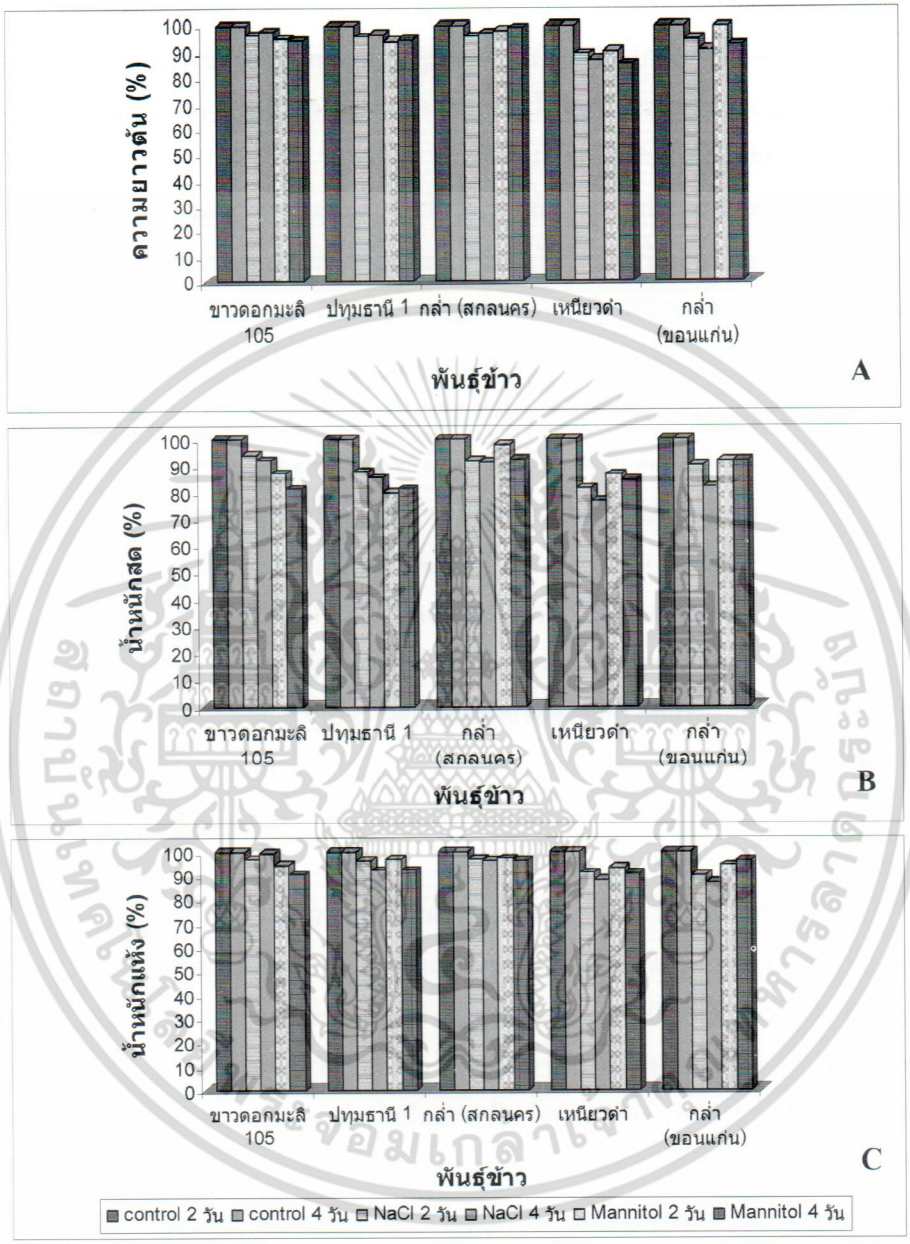
3.2 ปริมาณรงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์ด้วยแสง

เมื่อเซลล์พืชได้รับสภาวะเครียดจะมีแรงตึงผิวภายในเซลล์จะลดลง ทำให้ปากใบปิดมีผลให้การส่งผ่านก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เข้าสู่เซลล์พืชลดลง อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงจึงถูกจำกัด [27] นอกจากนี้ภายใต้สภาวะเครียดยังก่อให้เกิดสารที่ทำลายองค์ประกอบภายในเซลล์ รวมทั้งเอนไซม์ต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ด้วยแสงอีกด้วย [28]

จากการทดลองเมื่อนำต้นกล้าข้าวมาทดสอบสภาวะเครียดทั้งจากความเค็มและความแห้ง-แล้ง พบการลดลงของปริมาณรงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์ด้วยแสงในข้าวทุกสายพันธุ์ และลดลงเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับสภาวะเครียดเป็นระยะเวลาที่ยาวนานขึ้น ข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 นั้น จะมีการลดลงของปริมาณรงควัตถุภายใต้สภาวะเครียดจากความเค็มน้อยกว่าความแห้งแล้ง ในขณะที่ข้าวกล่ำจากสกลนคร ข้าวเหนียวดำและข้าวกล่ำจากขอนแก่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นั้นจะมีการลดลงของรงควัตถุภายใต้สภาวะเครียดจากความเค็มมากกว่าความแห้งแล้ง (ตารางที่ 1) ซึ่งคาดว่าสารเมแทบอไลต์ภายในต้นข้าวแต่ละสายพันธุ์น่าจะมีผลต่อการทนต่อสภาวะเครียดได้แตกต่างกัน



รูปที่ 2 การเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวสายพันธุ์ต่างๆ ที่ได้รับสภาวะเครียดจากโซเดียมคลอไรด์และแมนนิทอล เป็นเวลา 2-4 วัน เมื่อศึกษาจากความยาวต้น (A) น้ำหนักสด (B) และน้ำหนักแห้ง (C)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 ปริมาณสารกลุ่มเฟลโวนอยด์

สภาวะเครียดทางกายภาพซึ่งรวมถึงสภาวะเครียดจากความเค็มและความแห้งแล้ง จะส่งผลให้พืชเกิดการสะสมสารต่างๆ เพื่อป้องกันตัวเองจากสภาวะเครียดเหล่านั้น [29] เมื่อเซลล์พืชได้รับสภาวะเครียดจะเกิดการสะสมอนุมูลอิสระ ทำให้เซลล์พืชต้องมีการสะสมสารต้านทานต่ออนุมูลอิสระ รวมทั้งสารกลุ่มเฟลโวนอยด์ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มหลักที่พบการสะสมทั้งในพืชชั้นสูงหลายชนิด เช่น ข้าว ข้าวโพด อะราบิดอปซิส ข้าวสาลี ยาสูบ เป็นต้น [8, 20, 30, 31] ค่ากิจกรรมในการต้านอนุมูลอิสระของสารกลุ่มเฟลโวนอยด์นั้นจะขึ้นกับการเข้าแทนที่ของหมู่ไฮดรอกซิลในอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น [32]

เมื่อได้รับสภาวะเครียดจากความเค็มที่ถูกชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ และความแห้งแล้งที่ถูกชักนำด้วยแมนนิทอลเป็นเวลา 2 วัน และ 4 วันนั้น ต้นกล้าข้าวแต่ละสายพันธุ์จะมีการสะสมของสารต่างๆ ในกลุ่มเฟลโวนอยด์แตกต่างกันไป ต้นกล้าข้าวแต่ละสายพันธุ์จะมีการสะสมสารกลุ่มเฟลโวนอยด์แต่ละชนิดแตกต่างกันออกไป จากการทดลองพบการสะสมสารกลุ่มเฟลโวนอยด์ที่ผลิตในช่วงต้นของวิถีชีวสังเคราะห์ ได้แก่ เฟลวาโนน เฟลโวน และเฟลโวนอลปริมาณสูงในต้นกล้าข้าวสายพันธุ์ที่ทนต่อสภาวะเครียดได้ต่ำ โดยเฉพาะกล้าข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ซึ่งแสดงลักษณะที่อ่อนแอต่อทั้งโซเดียมคลอไรด์และแมนนิทอล นอกจากนี้ต้นกล้าข้าวขาวดอกมะลิ 105 และกล่ำสกลนครที่อ่อนแอต่อแมนนิทอลและโซเดียมคลอไรด์ (ตามลำดับ) พบการสะสมสารกลุ่มนี้ในปริมาณสูงกว่าในสภาวะที่ต้นกล้าข้าวต้านทานได้สูง เมื่อเปรียบเทียบภายในต้นกล้าข้าวสายพันธุ์เดียวกัน (รูปที่ 3A 3B และ 3C) ขณะที่การสะสมสารกลุ่มแอนโทไซยานินในแนวโน้มที่เหมือนกัน คือ มีการสะสมสารในปริมาณที่สูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับต้นควบคุมในแต่ละสายพันธุ์ โดยเฉพาะในข้าวสายพันธุ์ที่ทนต่อสภาวะเครียดขาวดอกมะลิ 105 ที่ทนต่อความเค็มมากที่สุดเมื่อได้รับสภาวะเครียดจากโซเดียมคลอไรด์เป็นเวลา 4 วันมีการสะสมสารแอนโทไซยานินและแทนนินเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 184.64 และ 175.93 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ขณะที่เมื่ออยู่ภายใต้สภาวะเครียดจากแมนนิทอลยังคงมีการสะสมที่เพิ่มขึ้นเช่นกันแต่พบว่าอยู่ในระดับที่ต่ำกว่าในสภาวะเครียดจากโซเดียมคลอไรด์

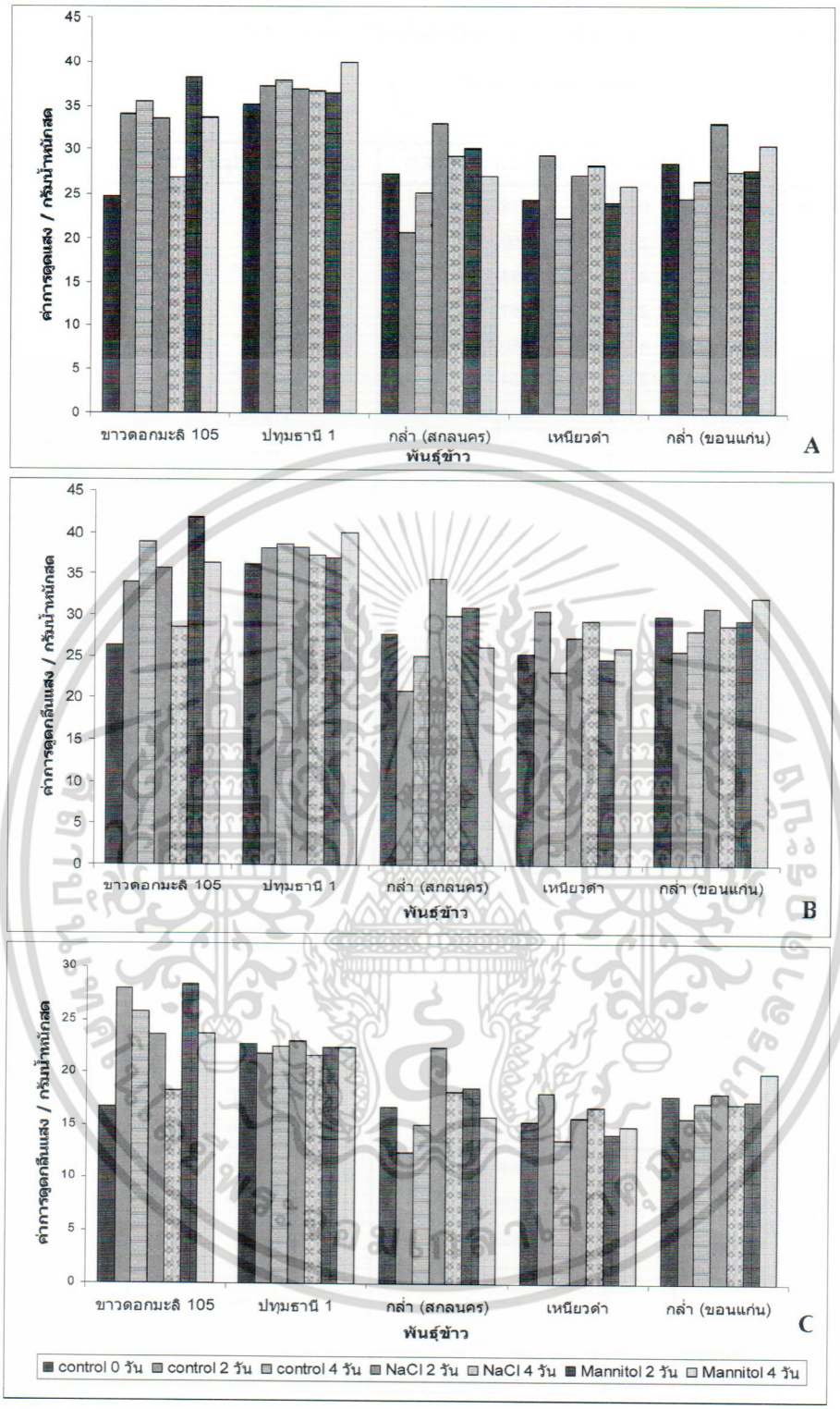
ส่วนข้าวกล่ำจากสกลนคร ข้าวเหนียวดำและข้าวกล่ำจากขอนแก่น จะมีการสะสมของสารกลุ่มแอนโทไซยานินในต้นที่ได้รับสภาวะเครียดจากแมนนิทอลสูงกว่าต้นควบคุม และต้นที่ได้รับสภาวะเครียดจากโซเดียมคลอไรด์ภายในระยะเวลา 2 วัน โดยมีการสะสมสารแอนโทไซยานินสูงถึงร้อยละ 195.42 121.95 113.83 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และพบว่าในข้าวเหนียวดำ และข้าวกล่ำจากขอนแก่นนั้นมีการสะสมสารกลุ่มแอนโทไซยานินที่ลดลง เมื่อได้รับสภาวะเครียดจากโซเดียมคลอไรด์ แต่พบการสะสมที่เพิ่มขึ้นในสารกลุ่มกัลโลแทนนิน (แทนนิน) แทน และพบว่าที่เวลา 2 วันหลังจากได้รับสภาวะเครียดข้าวปทุมธานี 1 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ไม่ต้านทานต่อสภาวะเครียดจะพบการลดลงของปริมาณสารกลุ่มแอนโทไซยานิน และกัลโลแทนนินภายใต้สภาวะเครียดทั้งสองชนิดที่ใช้ในการทดสอบ (รูปที่ 3D และ 3E)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 ปริมาณของรงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์ด้วยแสงของต้นกล้าข้าวสายพันธุ์ต่างๆ ที่ได้รับสภาวะเครียดจากโซเดียมคลอไรด์และแมนนิทอล เป็นเวลา 2-4 วัน

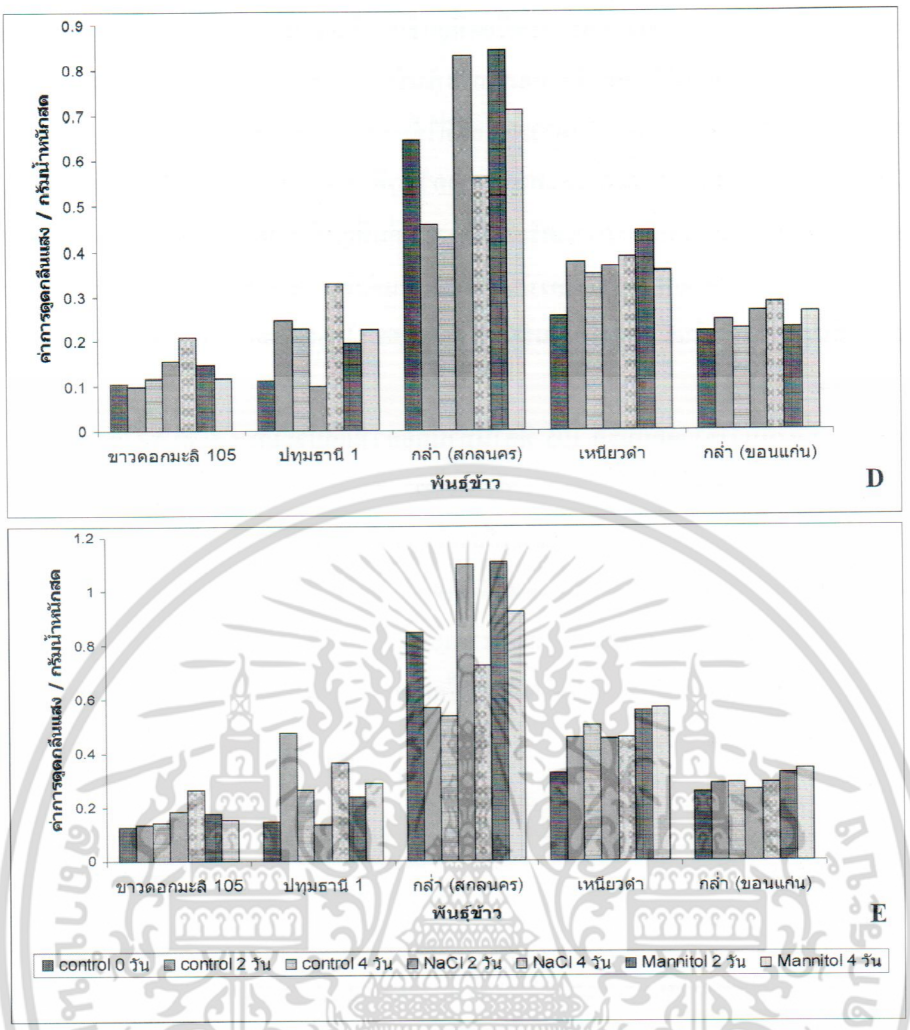
พันธุ์	สาร	เวลา	Chlorophyll A ($\mu g.g^{-1}$ F.W.)	Chlorophyll B ($\mu g.g^{-1}$ F.W.)	Carotenoid ($\mu g.g^{-1}$ F.W.)
ขาวดอกมะลิ 105	control	0	718.45^{c}	210.05^{c}	244.02^{d}
	control	2	760.15^{d}	215.11^{c}	306.09^{e}
	control	4	894.98^{e}	228.33^{d}	331.29^{f}
	NaCl	2	467.73^{a}	116.19^{a}	215.17^{ab}
	NaCl	4	580.93^{b}	138.74^{b}	236.56^{c}
	Mannitol	2	464.57^{a}	110.67^{a}	212.42^{a}
	Mannitol	4	469.54^{a}	112.79^{a}	220.37^{b}
ปทุมธานี 1	control	0	428.10^{a}	102.82^{a}	173.75^{a}
	control	2	542.09^{d}	130.53^{c}	242.09^{d}
	control	4	574.69^{e}	145.90^{d}	245.43^{d}
	NaCl	2	450.45^{b}	109.44^{b}	200.27^{b}
	NaCl	4	425.53^{a}	106.21^{ab}	199.88^{b}
	Mannitol	2	462.55^{c}	110.07^{b}	210.58^{c}
	Mannitol	4	448.63^{b}	108.35^{b}	207.36^{c}
กล่ำ (สกลนคร)	control	0	625.27^{f}	139.11^{ab}	250.71^{d}
	control	2	833.75^{g}	259.42^{f}	310.78^{e}
	control	4	567.18^{d}	244.89^{e}	247.21^{d}
	NaCl	2	555.43^{a}	170.55^{c}	238.63^{c}
	NaCl	4	365.03^{c}	135.31^{a}	177.16^{a}
	Mannitol	2	604.83^{e}	178.96^{d}	240.48^{c}
	Mannitol	4	513.33^{b}	143.51^{b}	232.49^{b}
เหนียวดำ	control	0	563.93^{d}	141.12^{d}	220.05^{c}
	control	2	749.77^{f}	177.37^{e}	280.24^{g}
	control	4	748.55^{e}	174.79^{e}	275.56^{f}
	NaCl	2	465.89^{b}	109.96^{b}	193.67^{c}
	NaCl	4	415.59^{a}	100.98^{a}	175.81^{a}
	Mannitol	2	539.72^{c}	126.39^{c}	211.19^{d}
	Mannitol	4	427.43^{a}	102.22^{ab}	189.91^{b}
กล่ำ (ขอนแก่น)	control	0	709.50^{c}	182.23^{d}	239.45^{c}
	control	2	820.63^{e}	206.31^{f}	262.73^{e}
	control	4	863.49^{f}	220.98^{g}	279.31^{f}
	NaCl	2	629.40^{b}	168.02^{e}	232.26^{b}
	NaCl	4	503.42^{a}	133.08^{a}	214.51^{a}
	Mannitol	2	762.46^{d}	196.32^{e}	260.38^{e}
	Mannitol	4	631.81^{b}	157.07^{b}	244.69^{d}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3 ปริมาณเฟลวาโนน (A) เฟลโวน (B) เฟลโวนอล (C) แทนนิน (D) และแอนโทไซยานิน (E) ในต้นกล้าข้าวสายพันธุ์ต่างๆ เมื่อได้รับสภาวะเครียดจาก จากโซเดียมคลอไรด์และแมนนิทอล เป็นเวลา 2-4 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3 (ต่อ) ปริมาณเฟลาวาโนน (A) เฟลโวน (B) เฟลโวนอล (C) แทนนิน (D) และแอนโทไซยานิน (E) ในต้นกล้าข้าวสายพันธุ์ต่างๆ เมื่อได้รับสภาวะเครียดจาก จากโซเดียมคลอไรด์และแมนนิทอล เป็นเวลา 2-4 วัน

จากผลการทดลองคาดว่าสารต่างๆ ที่อยู่ในช่วงต้นของวิถีชีวสังเคราะห์เฟลโวนอยด์ (เฟลาวาโนน เฟลโวน และเฟลโวนอล) นอกจากทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้นของสารต่างๆ ในช่วงท้ายของวิถีชีวสังเคราะห์ (แอนโทไซยานิน และแทนนิน) แล้วยังมีรายงานว่าสารในกลุ่มนี้น่าจะเกี่ยวข้องกับการต้านทานต่ออนุมูลอิสระได้ค่อนข้างดี [17, 33]

4. สรุปผลการทดลอง

การตอบสนองที่แตกต่างกันภายใต้สภาวะเครียดทางกายภาพทั้งสองชนิดในการทดลองนี้น่าจะเกิดจากการเกิดสภาวะเครียดจากไอออน (ionic stress) และสภาวะเครียดจากแรงดันออสโมติกที่เกิดขึ้นภายใต้สภาวะเครียด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ถูกชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ ในขณะที่สภาวะเครียดที่ถูกชักนำด้วยแมนนิทอลนั้น เกิดสภาวะเครียดจากแรงดันออสโมติกเพียงอย่างเดียว ทำให้ต้นกล้าข้าวแต่ละสายพันธุ์มีการตอบสนอง และสะสมสารทุติยภูมิในกลุ่มเฟลโวนอยด์ที่แตกต่างกันออกไปในแต่ละสภาวะเครียดที่ใช้ทดสอบในการทดลองนี้

เมื่อศึกษาการเจริญเติบโตและการสะสมของรงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์ด้วยแสง จะแสดงให้เห็นว่าข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ทนต่อสภาวะเครียดจากความเค็มที่ถูกชักนำด้วย โซเดียมคลอไรด์ได้ดีกว่าข้าวทุกสายพันธุ์ที่ทดสอบ ขณะที่ข้าวสายพันธุ์สกลนครนั้นพบความทนต่อสภาวะเครียดจากความแห้งแล้งได้ดีกว่าสภาวะเครียดจากความเค็ม และสูงกว่าในข้าวทุกสายพันธุ์ที่ทำการทดสอบ โดยสังเกตการเจริญเติบโตและปริมาณรงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์แสง

นอกจากนี้ยังพบว่าข้าวดอกมะลิ 105 ที่ต้านทานต่อความเค็มจะมีการสะสมของสารกลุ่มแอนโทไซยานินได้สูงกว่าชุดควบคุมและชุดที่ได้รับความแห้งแล้ง ในขณะที่ข้าวกล่ำจากสกลนคร ข้าวเหนียวดำ และข้าวกล่ำจากขอนแก่นมีการสะสมสารกลุ่มแอนโทไซยานินได้สูงเมื่ออยู่ใต้สภาวะเครียดจากความแห้งแล้ง แสดงให้เห็นว่าการสะสมสารช่วงท้ายของชีวสังเคราะห์เฟลโวนอยด์ โดยเฉพาะแอนโทไซยานินมีการสะสมเพิ่มขึ้นในต้นกล้าข้าวทุกสายพันธุ์ที่ทนต่อสภาวะเครียดแต่ละชนิด คาดว่าสารแอนโทไซยานินนี้อาจจะมีการทำหน้าที่บางอย่างร่วมกับสารอื่น เพื่อให้ต้นกล้าข้าวทนต่อสภาวะเครียดดังกล่าว หรืออาจทำหน้าที่เป็นสารที่บ่งบอกถึงความสามารถในการทนต่อสภาวะเครียดแต่ละชนิดของพืช

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณโครงการทุนบัณฑิตวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีไทย (TGIST) รหัสทุน TG-22-22-49-026D ที่สนับสนุนทุนในการทำวิจัยและศึกษาในงานวิจัยชิ้นนี้ และขอบคุณคุณวีระศักดิ์ หอมสมบัติจากสถาบันวิจัยข้าวสกลนครและผู้อำนวยการสถาบันวิจัยข้าวปทุมธานีที่เอื้อเฟื้อสายพันธุ์ข้าวที่ใช้ในการงานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

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

[2] Parry, M. A. J., Andralojic, P. J., Khan, S., Lea, P. J. and Keys, A. J. "Rubisco activity: effects of drought stress." **Ann. Bot.,** 2002, **89**: 833–839.

[3] Alonso, R., Elvira, S., Castillo, F. J. and Gimeno, B. S. "Interactive effects of ozone and drought stress on pigments and activities of antioxidative enzymes in *Pinis halpensis*." **Plant Cell Environ.,** 2001, **24**: 905–916.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[4] Kishore, P. B. K., Hong, Z., Miao, G.-U., Hu, C.-A. H. and Verma, D. P. S. "Overexpression of D-pyrroline-5-carboxylase synthetase increases proline production and confers osmotolerance in transgenic plants." **Plant Physiol.,** 1995, **108**: 1387–1394.

[5] Nanjo, T., Kobayashi, M., Yoshiba, Y., Sanada, Y., Wada, K., Tsukaya, H., Kakubari, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K. and Shinozaki, K. "Biological functions of proline mophogenesis and osmotolerance revealed in antisense transgenic *Arabidopsis thaliana*." **Plant J.,** 1999, **18**: 185–193.

[6] Mc Neil, S. D., Nuccio, M. L., Zeimark, M. J., and Hanson, A. D. "Enhanced synthesis of choline and glycine betaine in transgenic tobacco plants that overexpress phosphoethanolamine, N-methyl-transferase." **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.,** 2001, **98**: 10001–10005.

[7] Nakamura, T., Nomura, M., Mori, H., Jagendroff, A. T., Ueda, A. and Takabe, T. "An isozyme of betaine aldehyde dehydrogenase in barley." **Plant cell Physiol.,** 2001, **42**: 1088–1092.

[8] Reddy, U. S., Goud, K. U., Sharma, R. and Reddy, A. R. "Ultraviolet B-responsive anthocyanin production in a rice cultivar is associated with a specific phase of phenylolalnine ammonia lyase biosynthesis." **Plant Physiol.,** 1994, **105**: 1059-1066.

[9] Rontein, D., Bassat, G. and Hanson, H. D. "Metabolic engineering of osmoprotectant accumulation in plants." **Metab. Eng.,** 2002, **4**: 49–56.

[10] Maigle, S., Sanchez, D. H., Guirado, A., Vidal, A. and Ruez, O.A. "Spermine accumulation under salt stress." **J. Plant Physiol.,** 2004, **161**: 35-42.

[11] Bouchereau, A., Aziz, A., Larher, F. and Martin-Tanguy, J. "Polyamines and environmental challenger: recent development." **Plant Sci.,** 1999, **140**: 103-125.

[12] Pinhero, R. G., Rao, M. V., Palyath, G., Murr, D. P. and Fletcher, R. A. "Changes in the activities of antioxidant enzymes and their relationship to genetic and paclobutrazol-induced chilling tolerance of maize seedlings." **Plant Physiol.,** 2001, **114**: 695–704.

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

[14] Apse, M. P. and Blunwald, E. "Engineering salt tolerance in plants." **Curr. Opin. Biotech.,** 2002, **13**: 146-150.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

[16] Winkel-Shirley, B. "Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology." **Plant Physio.,** 2001, **126**: 485-493.

[17] Pourcel, L., Routaboul, J. M., Cheynier, V., Lepiniec, L. and Debeaujon, I. "Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological functions." **TREND Plant Sci.,** 2006, **12**: 29-36.

[18] Chalker-Scott, L. "Environmental significance of anthocyanins in plant stress reponse." **Photochem. Photobiol**., 1999, **70**: 1-9.

[19] Chiristie, P. J., Alfenito, M. R. and Walbot, V. "Impact of low-temperature stress on general phenyl propanoid and anthocyanin pigmentation in maize seedings." **Planta.,** 1994, **194**: 541-549.

[20] Balakumar, T., Vincent, V. H. B. and Paliwal, K. "On the interaction of UV-B radiation (280-315 nm) with water stress in crop plants." **Physiol. Plant.,** 1994, **87**: 217-222.

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

[22] Shabala, S. N., Shabala, S. I., Martynenko, A. I., Babourina, O. and Newman, I. A. "Salinity effect on bioelectric activity, growth, Na^+ accumulation and chlorophyll flovorescence of maize leaves: A comparative survey and prospect for screenings." **Aust. J. plant Physiol.,** 1999, **25**: 609-616.

[23] Lichtenthaler, H. K. "Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes." **Methods Enzymol.,** 1987, **148**: 350-380.

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

[25] Cornic, G. "Drought stress inhibits photosynthesis by decreasing stomatal aperture-not by affecting ATP synthesis." **Trends Plant Sci.,** 2000, **5**: 187–188.

[26] Chaitanya, K. V., Masilamani, S., Jutur, P. P. and Ramachandra Reddy, A. "Variation in photosynthetic rates and biomass productivity among four mulberry cultivars." **Photosynthetica,** 2002, **40**: 305–308.

[27] Tezara, W., Mitchell, V. J., Driscoll, S. D. and Lawlor, D. W. "Water stress inhibits plant photosynthesis by decreasing coupling factor and ATP." **Nature,** 1999, **1401**: 914–917.

[28] Lawlor, D. W. "Limitation to photosynthesis in water stressed leaves: stomata vs. metabolism and the role of ATP." **Ann. Bot.,** 2002, **89**: 1–15.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[29] Knight, H. and Knight, M. R. "Abiotic stress signaling pathways: specificity and cross-talk." **Trends Plant Sci.,** 2001, **6**: 262-267.

[30] Neuffer, M. G., Coe, E. H. and Wessler, S. "Mutants of Maize." Cold spring Harboratory Press Cold Spring Harbor, 1997, N.Y., USA.

[31] Ramachandra Reddy, A. "Fructose-2, 6-bisphosphate modulated photosynthesis in sorghum leaves grown under low water regimes." **Phytochemistry,** 1996, **43**: 319–322.

[32] Pietta, P. G. "Flavonoids as antioxidants." **J. Nat. Prod.,** 2000, **63**: 1035-1042.

[33] Ichikawa, H., Ichiyanagi, T., Xu, B., Yoshii, Y., Nakajima, M. and Konishi, T. "Antioxidant activity of anthocyanin extract from purple black rice." **J. Med. Food,** 2001, **4(4)**: 211-218.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้