













ในส่วนของปริมาณคลอโรฟิลล์รวม พบว่า ข้าวเหนียวดำที่อยู่ในสภาวะแล้งจะมีปริมาณคลอโรฟิลล์รวมลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารกับกลุ่มสภาวะแล้ง พบว่า การพันทางใบด้วยกรดแอบไซซิก และการพันทางใบด้วยไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ส่งผลให้มีปริมาณคลอโรฟิลล์รวมเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มสภาวะแล้งแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ เช่นเดียวกับการพันทางใบด้วยกรดแอบไซซิกร่วมกับไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่ให้ผลไม่แตกต่างจากกลุ่มสภาวะแล้ง (ภาพที่ 3c)

#### **ผลของกรดแอบไซซิกและไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ต่อปริมาณแอนโทไซยานินในใบ**

เมื่อข้าวเหนียวดำอยู่ในสภาวะแล้ง พบว่าจะมีปริมาณแอนโทไซยานินในใบเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารกับกลุ่มสภาวะแล้ง พบว่า การพันทางใบด้วยไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ส่งผลให้ข้าวเหนียวดำมีปริมาณแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มสภาวะแล้งแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่การพันทางใบด้วยกรดแอบไซซิก และการพันทางใบด้วยกรดแอบไซซิกร่วมกับไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ พบว่า ส่งผลให้มีปริมาณแอนโทไซยานินลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มสภาวะแล้งแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ภาพที่ 3d)

#### **ผลของกรดแอบไซซิกและไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ต่อเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตในใบ**

ข้าวเหนียวดำที่อยู่ในสภาวะแล้ง จะมีปริมาณน้ำตาลรวมและน้ำตาลกลูโคสเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารกับกลุ่มสภาวะแล้ง พบว่า การพันทางใบด้วยกรดแอบไซซิก ส่งผลให้มีปริมาณน้ำตาลรวมและน้ำตาลกลูโคสลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มสภาวะแล้ง ( $P<0.05$ ) การพันทางใบด้วยไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ ส่งผลให้มีปริมาณน้ำตาลรวมและน้ำตาลกลูโคสไม่แตกต่างจาก

กลุ่มสภาวะแล้ง ในขณะที่การพันทางใบด้วยกรดแอบไซซิกร่วมกับไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ส่งผลให้ข้าวเหนียวดำมีปริมาณน้ำตาลรวมไม่แตกต่างจากกลุ่มสภาวะแล้ง แต่ส่งผลให้มีปริมาณน้ำตาลกลูโคสลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มสภาวะแล้ง ( $P<0.05$ ) (ภาพที่ 4a และ 4b)

ข้าวเหนียวดำที่อยู่ในสภาวะแล้งจะมีปริมาณน้ำตาลซูโครสลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ( $P<0.05$ ) และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารกับกลุ่มสภาวะแล้ง พบว่า การพันทางใบด้วยกรดแอบไซซิก จะมีปริมาณน้ำตาลซูโครสเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มสภาวะแล้ง ( $P<0.05$ ) เช่นเดียวกับการพันทางใบด้วยไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ และการพันทางใบด้วยกรดแอบไซซิกร่วมกับไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (ภาพที่ 4c) นอกจากนี้ยังพบว่า ข้าวเหนียวดำที่อยู่ในสภาวะแล้ง จะมีปริมาณแป้งลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ( $P<0.05$ ) และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารกับกลุ่มสภาวะแล้ง พบว่า การพันทางใบด้วยกรดแอบไซซิก และการพันทางใบด้วยกรดแอบไซซิกร่วมกับไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ส่งผลให้มีปริมาณแป้งไม่แตกต่างจากกลุ่มสภาวะแล้ง ในขณะที่การพันทางใบด้วยไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ส่งผลให้ข้าวเหนียวดำมีปริมาณแป้งเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มสภาวะแล้ง ( $P<0.05$ ) (ภาพที่ 4d)

#### **อภิปรายและสรุปผลการวิจัย**

สภาวะแล้งส่งผลให้การเจริญเติบโตของข้าวเหนียวดำลดลง เห็นได้จากความยาว น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของลำต้นและราก ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อพืชอยู่ในสภาวะแล้งจะมีปริมาณน้ำในเซลล์ลดลง ส่งผลให้แรงดันเต่งของเซลล์ลดลง ซึ่งทำให้เซลล์ไม่สามารถขยายตัวและเจริญเติบโตได้เต็มที่ นอกจากนี้สภาวะแล้งอาจส่งผลให้เกิดการปิดปากใบ ทำให้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ไม่สามารถแพร่เข้าสู่เนื้อเยื่อของ

ใบ ส่งผลให้อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงลดต่ำลง ซึ่งทำให้การเจริญเติบโตในภาพรวมลดลง

ข้าวเหนียวดำที่อยู่ในสภาวะแล้งจะมีค่าร้อยละการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์สูงขึ้น รวมทั้งมีปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบลดลง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Farooq et al. (2009) ที่รายงานว่า ข้าวที่อยู่ในสภาวะแล้งจะมีปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบลดลง และมีค่าร้อยละการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์เพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากสภาวะแล้งชักนำให้เกิดสภาวะเครียดจากค่าศักย์ออสโมติกภายในเซลล์ ที่อาจทำให้เกิดการสูญเสียสภาพของเยื่อหุ้มเซลล์และการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ อันเป็นสาเหตุที่นำไปสู่การรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ นอกจากนี้ยังพบว่า ข้าวเหนียวดำที่อยู่ในสภาวะแล้งจะมีปริมาณคลอโรฟิลล์เอในใบลดลง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chutia and Borah (2012) ที่รายงานว่า ข้าวที่อยู่ในสภาวะเครียดจากน้ำจะมีปริมาณคลอโรฟิลล์เอในใบลดลง ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อพืชเกิดความเครียดแล้ง จะเกิดสารอนุมูลอิสระและสารประกอบออกซิเจนที่ไวต่อปฏิกิริยา ซึ่งสารเหล่านี้มีผลเสียต่อเซลล์พืช โดยสามารถทำลายโครงสร้างต่าง ๆ ภายในเซลล์ โดยเฉพาะไทลาคอยด์เมมเบรน ส่งผลให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบลดต่ำลง

ข้าวเหนียวดำที่อยู่ในสภาวะแล้งจะมีปริมาณน้ำตาลซูโครสลดลง ทั้งนี้เนื่องจากน้ำตาลซูโครสเป็นน้ำตาลหลักจากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ดังนั้นเมื่อพืชอยู่ในสภาวะแล้ง พืชมีการปิดปากใบ ส่งผลให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ไม่สามารถแพร่เข้าสู่ใบได้ ทำให้มีการสังเคราะห์ด้วยแสงลดลง ส่งผลให้มีปริมาณน้ำตาลซูโครสลดลง สภาวะแล้งยังส่งผลให้ข้าวเหนียวดำมีปริมาณแป้งลดลง ซึ่งสอดคล้องกับงานของ Mohammadkhani and Heidari (2008) ที่รายงานว่ารากและต้นข้าวโพดจะมีปริมาณแป้งลดลงเมื่ออยู่ในสภาวะแล้ง ทั้งนี้เนื่องจากการสร้างแป้งในพืชเกิดขึ้นในส่วนของพลาสติดี ไม่ว่าจะเป็นคลอโรพลาสติดีหรืออะไมโลพลาสติดี ดังนั้นเมื่อโครงสร้างของคลอโรพลาสติดีถูกทำลาย จึงทำให้มีการสร้างแป้งลดลง

นอกจากนี้ยังพบว่า ข้าวเหนียวดำที่อยู่ในสภาวะแล้งจะมีปริมาณน้ำตาลรวมและน้ำตาลกลูโคสเพิ่มขึ้น ซึ่งการสะสมน้ำตาลบางชนิดส่งผลให้พืชสามารถรักษาศักย์ของน้ำในเซลล์ให้ต่ำกว่าศักย์ของน้ำภายนอกเซลล์ ทำให้น้ำสามารถเคลื่อนที่เข้าสู่เซลล์ได้อย่างต่อเนื่อง

สภาวะแล้งส่งผลให้ข้าวเหนียวดำมีปริมาณแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาในฝ้าย (*Gossypium herbaceum* L.) ที่พบว่าจะมีปริมาณแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้น 4 เท่าเมื่อปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบเท่ากับร้อยละ 35 (Deeba et al., 2012) นอกจากนี้ยังพบว่าใน *Arabidopsis thaliana* ที่อยู่ในสภาวะแล้งจะมีปริมาณแอนโทไซยานินเพิ่มสูงขึ้น 2-3 เท่า (Sperdouli and Moustakas, 2012) ทั้งนี้แอนโทไซยานินที่สะสมในใบมีบทบาทเกี่ยวข้องกับกลไกการทนต่อสภาวะเครียดต่าง ๆ ในพืช (Chalker-Scott, 1999) บทบาทหน้าที่ของแอนโทไซยานินคือ ทำหน้าที่กรองรังสีอัลตราไวโอเล็ตและลดปริมาณแสงที่มากเกินไป ทั้งนี้เมื่อพืชอยู่ในสภาวะแล้งจะมีการปิดปากใบเพื่อลดการสูญเสียน้ำ จึงมีปริมาณแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ในใบลดลง ในขณะที่พืชยังคงได้รับแสงตลอดเวลาทำให้เกิดการสร้าง NADPH เพิ่มสูงขึ้น เมื่อปริมาณ NADPH ไม่สมดุลกับอัตราการตรึงแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์จะส่งผลให้เกิดสารอนุมูลอิสระและสารประกอบออกซิเจนที่ไวต่อปฏิกิริยา ซึ่งสารเหล่านี้จะส่งผลทำลายโครงสร้างในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงและโครงสร้างของเซลล์ การลดปริมาณแสงที่เข้าสู่ใบจึงเป็นกลไกสำคัญหนึ่งในการลดปริมาณพลังงาน เพื่อลดการสร้าง NADPH ให้น้อยลง (Manetas, 2006)

กรดแอบซิชิกเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีความสำคัญในกลไกการทนแล้งของพืช โดยกรดแอบซิชิกมีบทบาทในการกระตุ้นให้พืชปิดปากใบเมื่ออยู่ในสภาวะแล้งเพื่อลดการสูญเสียน้ำ กรดแอบซิชิกยังทำหน้าที่กระตุ้นการแสดงออกของยีนต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับกลไกการทนต่อสภาวะเครียดของพืช ในการทดลองนี้พบว่ากรดแอบซิชิกช่วยลดค่าร้อยละการ



ร่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ รวมทั้งช่วยเพิ่มปริมาณ น้ำตาลซูโครสในใบ อย่างไรก็ตาม ในการทดลองครั้งนี้ พบว่ากรดแอบไซซิกไม่มีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินในใบของข้าวเหนียวดำ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก ปริมาณหรือความเข้มข้นที่ใช้ยังไม่เหมาะสม

สำหรับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ทำหน้าที่เป็น โมเลกุลสัญญาณไปกระตุ้นกลไกต้านอนุมูลอิสระ ทำให้พืชสามารถตอบสนองและทนต่อสภาวะเครียด ต่าง ๆ ได้ดีขึ้น มีรายงานว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มี บทบาทสำคัญช่วยให้ข้าวสาริยะระต้นกล้าทนต่อ สภาวะเครียดเกลือได้ดีขึ้น และช่วยทำให้การเจริญเติบโตและการพัฒนาของพืชดีขึ้น (Li et al., 2011) ในการ ทดลองนี้ พบว่า ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ช่วยให้ข้าว เหนียวดำที่อยู่ในสภาวะแล้งมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับกลุ่มสภาวะแล้ง นอกจากนี้ยังพบว่า ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ช่วยให้ข้าวเหนียวดำที่อยู่ใน สภาวะแล้งมีปริมาณแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้น ซึ่งผล ดังกล่าวสอดคล้องกับ Hung et al. (2008) ที่ศึกษาการ ให้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์แก่ต้นกล้าข้าว พบว่ากลุ่ม ที่ให้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะปริมาณแอนโทไซยานินในใบข้าวเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ให้น้ำกลั่น

จากผลการศึกษาดังกล่าว สามารถสรุปได้ว่า ข้าวเหนียวดำที่อยู่ในสภาวะแล้งจะมีการเจริญเติบโต ลดลง แต่มีการสะสมน้ำตาลรวม และน้ำตาลกลูโคส เพิ่มขึ้นเล็กน้อย ซึ่งการสะสมของน้ำตาลในพืชเป็น กลไกหนึ่งในการทนต่อสภาวะแล้งของพืช นอกจากนี้ ยังสรุปได้ว่า ทั้งกรดแอบไซซิกและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ มีบทบาทสำคัญในการทนต่อสภาวะแล้งของพืช โดยกรดแอบไซซิกทำให้พืชมีการปรับตัวทางสรีรวิทยา เช่น ปิดปากใบเพื่อลดการคายน้ำ ทำหน้าที่เป็น โมเลกุล สัญญาณในการกระตุ้นกลไกต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการ ทนต่อสภาวะแล้ง อย่างไรก็ตาม ในการทดลองนี้ พบว่ากรดแอบไซซิกไม่มีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินในใบของข้าวเหนียวดำ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก ปริมาณและความเข้มข้นที่ใช้ยังไม่เหมาะสมหรืออาจ เกิดจากการตอบสนองของตัวพืชเอง จึงอาจเป็นไปได้

ว่าการสังเคราะห์แอนโทไซยานินในใบของข้าวเหนียวดำ ไม่ได้ถูกกระตุ้นด้วยกรดแอบไซซิก ตรงกันข้ามกับ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ช่วยกระตุ้นให้ข้าวเหนียวดำที่อยู่ในสภาวะแล้งมีปริมาณแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับกลุ่มสภาวะแล้งที่ไม่ได้รับสาร อย่างไรก็ตาม การให้กรดแอบไซซิกหรือไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์อย่างใดอย่างหนึ่ง ส่งผลให้พืชชนิดนี้มีการตอบสนองได้ดีกว่าการให้สารสองชนิดร่วมกัน ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจาก เมื่อพืชอยู่ในสภาวะแล้งกรดแอบไซซิก จะส่งสัญญาณไปกระตุ้นให้มีการสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพิ่มขึ้น และการที่ให้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จากภายนอกเพิ่มเข้าไป อาจทำให้พืชมีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มากเกินไปพืชจะกำจัดได้ ทำให้เป็นพิษต่อเซลล์พืช และส่งผลให้พืชมีการเจริญเติบโตลดลง

#### กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากทุนอุดหนุน และส่งเสริมการทำวิทยานิพนธ์สำหรับนักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยขอนแก่น และทุนโครงการพัฒนาและส่งเสริมผู้มีความสามารถพิเศษทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (พสวท.)

#### เอกสารอ้างอิง

- Abdel-Aal EM, Hucl P. A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats. *Cereal Chemistry* 1999; 76(3): 350-354.
- Arnon DI. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology* 1949; 24: 1-15.
- Baninasab B, Ghobadi C. Influence of paclobutrazol and application methods on high-temperature stress injury in cucumber seedlings. *Journal of Plant Growth Regulation* 2011; 30: 213-219.



- Cassidy A, Mukamal KJ, Liu L, Franz M, Eliassen AH, Rimm EB. High anthocyanin intake is associated with a reduced risk of myocardial infarction in young and middle-aged women. *Circulation Journals* 2013; 127: 188-196.
- Chalker-Scott L. Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses. *Photochemistry and Photobiology* 1999; 70: 1-9.
- Chandler PM, Robertson M. Gene expression regulated by abscisic acid and its relation to stress tolerance. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 1994; 45: 113-141.
- Chutia J, Borah SP. Water stress effects on leaf growth and chlorophyll content but not the grain yield in traditional rice (*Oryza sativa* Linn.) genotypes of Assam, India II. Protein and Proline Status in seedlings under PEG induced water stress. *American Journal of Plant Sciences* 2012; 3: 971-980.
- Deeba F, Pandey AK, Ranjan S, Mishra A, Singh R, Sharma YK, et al. Physiology and proteomic responses of cotton (*Gossypium herbaceum* L.) to drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry* 2012; 53: 6-18.
- Dubois M, Gilles KA, Hamiton JK, Rebers PA, Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substance. *Analytical Chemistry* 1956; 28: 350-356.
- Farooq M, Basra SMA, Wahid A, Ahmad N, Saleem BA. Improving the drought tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) by exogenous application of salicylic acid. *Journal of Agronomy and Crop Science* 2009; 195: 237-246.
- Hung KT, Cheng DG, Hsu YT, Kao CH. Abscisic acid-induced hydrogen peroxide is required for anthocyanin accumulation in leaves of rice seedlings. *Journal of Plant Physiology* 2008; 165: 1280-1287.
- Li JT, Qiu ZB, Zhang XW, Wang LS. Exogenous hydrogen peroxide can enhance tolerance of wheat seedlings to salt stress. *Acta Physiologiae Plantarum* 2011; 33: 835-842.
- Madore MA. Carbohydrate metabolism in photosynthetic and nonphotosynthetic tissues of variegated leaves of *Coleus blumei* Benth. *Plant Physiology* 1990; 93: 617-622.
- Manetas Y. Why some leaves are anthocyanic and why most anthocyanic leaves are red? *Flora* 2006; 201: 163-177.
- Mazza GJ. Anthocyanins and heart health. *Annist Super Sanita* 2007; 43(4): 369-74.
- Mohammadkhani N, Heidari R. Drought-induced accumulation of soluble sugars and proline in two maize varieties. *World Applied Sciences Journal* 2008; 3(3): 448-453.
- Robbins NS, Pharr DM. Regulation of photosynthetic carbon metabolism in cucumber by light intensity and photosynthetic period. *Plant Physiology* 1987; 85: 592-597.
- Sperdouli I, Moustakas M. Interaction of proline, sugar and anthocyanins during photosynthetic acclimation of *Arabidopsis thaliana* to drought stress. *Journal of Plant Physiology* 2012; 169: 577-585.
- Steyn WJ, Wand SJE, Holcroft DM, Jacobs G. Anthocyanins in vegetative tissues: a proposed unified function in photoprotection. *New Phytologist* 2002; 155: 349-361.



Turner NC. Techniques and experimental approaches

for the measurement of plant water status.

Plant Soil 1981; 58: 339-366.