

ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและสารป้องกันแรงดันออกซิเดติก ในใบถั่วเขียวภายใต้สภาพอุณหภูมิสูง

Antioxidant and Osmoprotectant Contents in Mungbean Leaves Under High Temperature Condition

วาสนา สงกลาง ประกิจ สมท่า และ จำเนียร ชมภู*
Wassana Songklang, Prakit Somta and Jamnian Chompoo*

ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140

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

*Corresponding author: Email: agrjnc@ku.ac.th

(Received: 1 December 2021; Accepted: 1 April 2022)

Abstract: Heat stress is a major abiotic stress causing yield of seed crops. The objectives of this study were to evaluate heat stress tolerance and investigate biochemical changes of antioxidants (total phenolics, total flavonoids) and osmoprotectants (proline and glycine betaine) in 13 mungbean accessions grown under heat stress in a greenhouse. The results revealed that yield reduction in accessions JP231223, JP31324, and JP78930 was less affected by heat stress, as compared to other accessions. Under heat stress, JP231223, JP31324, and JP78930 showed an increase in total phenolics and glycine betaine. JP31324 and JP78930 also expressed a high level of total flavonoids and proline. Moreover, JP231223, JP31324 and JP78930 inhibited lipid peroxidation, resulting in a decrease in the accumulation of malondialdehyde, a biomarker of oxidative stress. Altogether, these results suggested that the increase in antioxidants and osmoprotectants are associated with heat tolerance in the mungbean accessions JP231223, JP31324 and JP78930.

Keywords: Heat tolerance, flavonoid, phenolics, glycine betaine, proline

บทคัดย่อ: ความเครียดจากความร้อนเป็นความเครียดทางกายภาพที่สำคัญ ส่งผลกระทบทำให้ผลผลิตเมล็ดของพืชปลูกลดลง งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความทนทานต่ออุณหภูมิสูงของถั่วเขียว จำนวน 13 สายพันธุ์ และตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในถั่วเขียวที่อยู่ภายใต้สภาพอุณหภูมิสูงในโรงเรือนร้อน ประกอบด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ (ฟีนอลิกรวม และ ฟลาโวนอยด์รวม) และสารป้องกันแรงดันออสโมติก (ไกลซีนเบตาอิน และ โพรลีน) ผลการทดลองพบว่า ถั่วเขียวสายพันธุ์ JP231223, JP31324 และ JP78930 มีผลผลิตลดลงเล็กน้อยเมื่ออยู่ในสภาพเครียดจากอุณหภูมิสูง โดยถั่วเขียวที่ทนทานต่ออุณหภูมิสูงทั้ง 3 สายพันธุ์นี้มีการสังเคราะห์สารฟีนอลิกรวม และไกลซีนเบตาอิน เพิ่มขึ้น ในขณะที่สายพันธุ์ JP31324 และ JP78930 มีปริมาณของสารฟลาโวนอยด์รวมและโพรลีนเพิ่มขึ้นอีกด้วย นอกจากนี้ยังพบว่า ถั่วเขียวสายพันธุ์ JP231223, JP31324 และ JP78930 มีการยับยั้งปฏิกิริยา lipid peroxidation โดยมีการสะสมของสาร malondialdehyde ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยา lipid peroxidation ลดลง ซึ่งการเพิ่มขึ้นของสารต้านอนุมูลอิสระและสารป้องกันแรงดันออสโมติกนี้อาจมีความสัมพันธ์กับความทนทานต่ออุณหภูมิสูงของถั่วเขียวสายพันธุ์ JP231223, JP31324 และ JP78930

คำสำคัญ: ทนร้อน ฟลาโวนอยด์ ฟีนอลิก ไกลซีนเบตาอิน โพรลีน

คำนำ

อุณหภูมิอากาศที่สูงขึ้นอย่างต่อเนื่องนับว่าเป็นสถานะเครียดที่เป็นอันตรายที่สุด โดยมีรายงานว่าอุณหภูมิของอากาศทั่วโลกคาดว่าจะเพิ่มขึ้น 0.2 องศาเซลเซียสต่อทศวรรษ ส่งผลให้ในปี พ.ศ. 2643 (ค.ศ. 2100) อุณหภูมิโลกสูงขึ้นจากปัจจุบัน 1.8 - 4.0 องศาเซลเซียส (Intergovernmental Panel on Climate Change, 2007) ความเครียดจากความร้อนหรืออุณหภูมิสูง (heat stress) เป็นปัญหาสำคัญของภาคเกษตรทั่วโลก เนื่องจากส่งผลกระทบในการจำกัดการเจริญเติบโตและการพัฒนาการของพืช (Wahid *et al.*, 2007) สามารถทำลายโครงสร้างและกระบวนการเมแทบอลิซึมของพืช (Vierling, 1991) การปรับปรุงพันธุ์พืชให้สามารถทนทานต่อสภาวะอุณหภูมิสูงจึงเป็นเป้าหมายที่สำคัญของนักวิจัยเพื่อเกษตรกรจากการศึกษากลไกการหลีกเลี่ยงหรือปรับตัวของพืชจากอุณหภูมิสูง พบว่า พืชมีการขนส่งอิเล็กตรอน มีการสร้างโปรตีน มีการสร้างสารป้องกันแรงดันออสโมติก มีการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ และปัจจัยอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการส่งสัญญาณเพื่อให้พืชเปลี่ยนแปลงกระบวนการทางสรีรวิทยาและชีวเคมีภายในพืช (Hasanuzzaman *et al.*, 2013) อนุมูลอิสระ (reactive oxygen species; ROS) เป็นกลไกหนึ่งที่เกิดขึ้นเมื่อ

พืชอยู่ในสภาวะเครียดจากความร้อน เป็นต้นเหตุในการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) และกระบวนการเมแทบอลิซึมของพืช (Suzuki and Mittler, 2006) พืชที่ทนทานต่อความร้อนสามารถป้องกันผลกระทบที่ก่อให้เกิดความเสียหายจาก ROS ได้ด้วยการสังเคราะห์เอนไซม์ในการต้านอนุมูลอิสระ (enzymatic antioxidants) สารต้านอนุมูลอิสระ (non-enzymatic antioxidants) และกระบวนการ detoxification (Apel and Hirt, 2004) นอกจากนี้ยังพบว่า พืชมีการสะสมสารป้องกันแรงดันออสโมติก (osmoprotectants) และสร้างโปรตีนตอบสนองต่ออุณหภูมิสูง (heat shock protein) (Bita and Gerats, 2013)

ถั่วเขียว (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) เป็นพืชที่มีความสำคัญของประเทศไทย ผลผลิตส่วนใหญ่ใช้สำหรับการบริโภคโดยตรงและแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ได้หลากหลายชนิด เช่น ถั่วงอก วุ้นเส้น แป้งถั่วเขียว ถั่วชิก และขนมชนิดต่าง ๆ (Heuzé *et al.*, 2015) นอกจากนี้เมล็ดถั่วเขียวผิวนั้นมีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งแป้งและโปรตีนประมาณ 58 เปอร์เซ็นต์ และ 24 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Kumar and Pandey, 2020) ซึ่งช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของถั่วเขียว อยู่ระหว่าง 27 - 32 องศาเซลเซียส เมล็ดสามารถงอกได้ที่อุณหภูมิต่ำสุด 15 องศาเซลเซียส ถั่วเขียวเป็นพืชที่ไวแสง ถ้าช่วงวันสั้น

จะออกดอกเร็วในขณะที่ช่วงวันยาวจะออกดอกช้า
อย่างไรก็ตามถั่วเขียวต่างพันธุ์กันมีการตอบสนองต่อ
ช่วงแสงที่ต่างกัน โดยที่อุณหภูมิสูงมากกว่า 37
องศาเซลเซียส มีผลกระทบต่อการพัฒนาระบบ
สืบพันธุ์ของถั่วเขียวและถั่วพุ่ม ผลผลิตลดลงอย่าง
กะทันหันสาเหตุจากละอองเกสรเพศผู้ (pollen) ของ
พืชเป็นหมัน (Khattak *et al.*, 2006; Zinn *et al.*, 2010)
นอกจากนี้ ความเครียดจากอุณหภูมิสูงสามารถทำลาย
องค์ประกอบของเมล็ดพืช เช่น น้ำตาล แป้ง โปรตีน
และกรดไขมัน ในพืชตระกูลถั่วที่เป็นอาหารส่วนใหญ่
เมื่ออุณหภูมิของดินและอากาศเพิ่มขึ้น ส่งผลเสีย
ต่อปริมาณโปรตีนในเมล็ดและคุณภาพเมล็ด โดย
พบว่า ปริมาณน้ำมันในเมล็ดเพิ่มขึ้นใน 20 และ 37
เปอร์เซ็นต์ในเมล็ดของถั่วลิสงและถั่วเหลือง ตามลำดับ
(Bhandari *et al.*, 2016) และยังพบว่า ปริมาณของกรด
ไขมันโอเลอิกเพิ่มขึ้นส่วนกรดไลโนเลอิกลดลงใน
เมล็ดของพืชตระกูลถั่ว (Farooq *et al.*, 2018) ในทาง
กลับกันพบว่า ปริมาณโปรตีนในเมล็ดถั่วลดลงเมื่อได้รับ
ความเครียดจากอุณหภูมิสูง (Sarkar *et al.*, 2021)
นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า ปริมาณ N, P และน้ำตาลที่
ละลายน้ำได้ (soluble sugar) ในเมล็ดถั่วลดลง เมื่อ
ได้รับอุณหภูมิสูง 40/31 องศาเซลเซียส (เวลากลางวัน/
กลางคืน) (Sehgal *et al.*, 2018) ดังนั้น การทดลองนี้
จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเขียว
ทนทานต่อสภาวะอุณหภูมิสูง ด้วยการประเมิน
องค์ประกอบผลผลิตและผลผลิต และศึกษากลไก
ทางชีวเคมีในใบของถั่วเขียวแต่ละสายพันธุ์ที่อยู่
ภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูง ได้แก่ ปริมาณสารต้านอนุมูล-
อิสระ ปฏิกริยาด้านอนุมูลอิสระ และการเกิดปฏิกริยา

lipid peroxidation ซึ่งผลการทดลองที่ได้สามารถ
นำไปใช้ประโยชน์ สำหรับการพัฒนาพันธุ์พืชถั่วเขียว
ให้ต้านทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้

อุปกรณ์และวิธีการ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายใน
บล็อก (randomized completely block design, RCBD)
จำนวน 3 ซ้ำ โดยปลูกถั่วเขียว จำนวน 13 สายพันธุ์ ได้แก่
JP212360 (ประเทศไนจีเรีย), JP226698 (ประเทศลาว),
JP229233 (ประเทศอินโดนีเซีย), JP231216 (ประเทศไทย),
JP231223 (ประเทศอินเดีย), JP240344 (ประเทศอินเดีย),
JP240383 (ประเทศปากีสถาน), JP240384 (ประเทศ
ปากีสถาน), JP31324 (ประเทศอัฟกานิสถาน), JP73287
(ประเทศตุรกี), JP78930 (ประเทศทาจิกิสถาน), JP85557
(ประเทศเนปาล), JP99049 (ประเทศไต้หวัน) และพันธุ์
การค้า 2 พันธุ์ ได้แก่ ชัยนาท 84 (ประเทศไทย) และ
กำแพงแสน 2 (KPS2; ประเทศไทย) ลงในกระถางพลาสติก
สีดำ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 นิ้ว สูง 7.5 นิ้ว ในวันที่ 29
มีนาคม พ.ศ. 2564 เมื่อถั่วอายุ 10 วัน หรือมีใบจริง
ประมาณ 4 - 5 ใบ นำถั่วเขียวสายพันธุ์/พันธุ์เดียวกัน
แบ่งไปวางไว้ในโรงเรือนร้อน และภายนอกโรงเรือนร้อน
(ชุดควบคุม) (Figure 1) ตลอดการทดลอง ใส่ปุ๋ยครั้งที่
1 เมื่อถั่วอายุ 15-20 วัน โดยใส่ปุ๋ยเกรด 46-0-0 ปริมาณ
5 กรัม ต่อกระถาง หลังจากนั้นเมื่อถั่วอายุ 30 วัน ใส่ปุ๋ย
ครั้งที่ 2 โดยใส่ปุ๋ยเกรด 8 - 24 - 24 ปริมาณ 5 กรัมต่อ
กระถาง รดน้ำตามสภาพดินในกระถาง นอกจากนี้ยัง
มีการดูแลรักษาด้วยการพ่นสารกำจัดแมลงและโรคศัตรู
ถั่วตามการแพร่ระบาด



Figure 1. Experimental pots designed inside (A) and outside (B) a greenhouse

บันทึกข้อมูลอุณหภูมิภายในและภายนอกโรงเรือนร้อนด้วย data logger (WatchDog 1250 Micro Station รุ่น 3682WD1) ซึ่งอุณหภูมิในระยะที่ถั่วเขียวออกดอก หรืออายุ 35 - 60 วันหลังปลูก นอกโรงเรือนร้อน (ชุดควบคุม) มีอุณหภูมิสูง อยู่ในช่วง 34.1 - 39.0 องศาเซลเซียส อุณหภูมิต่ำ อยู่ในช่วง 23.5 - 27.4 องศาเซลเซียส ส่วนอุณหภูมิในโรงเรือนร้อนสูงสุด อยู่ในช่วง 41.4 - 48.8 องศาเซลเซียส อุณหภูมิต่ำอยู่ในช่วง 24.1 - 27.1 องศาเซลเซียส (Figure 2)

ผลของสภาวะอุณหภูมิสูงต่อองค์ประกอบผลผลิตและผลผลิตของถั่วเขียว

เก็บข้อมูลองค์ประกอบของผลผลิตถั่วเขียว ได้แก่ จำนวนเมล็ดต่อฝัก จำนวนฝักต่อต้น และน้ำหนักเมล็ดต่อต้น โดยเก็บข้อมูลจากฝักถั่วเขียวที่มีการติดฝักฝักที่ 1 ถึงฝักที่ 10 และเก็บข้อมูลผลผลิตเมล็ดต่อต้น (มีหน่วยเป็นกรัมต่อต้น)

วิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

การเก็บตัวอย่าง: เก็บตัวอย่างใบของถั่วเขียวแต่ละสายพันธุ์ในระยะออกดอก 50 เปอร์เซ็นต์ โดยเก็บจากบริเวณ 4 ตำแหน่งทุกทิศจากทรงพุ่มของต้น แล้วตัดให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ นำตัวอย่างสดของใบ 1 กรัม แช่ในตัวทำละลายเมทานอล ความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ เขย่าตลอดเวลาด้วยความเร็ว 1,000 รอบต่อนาที เป็น

เวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นกรองสารละลายด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ได้เป็นสารสกัดด้วยเมทานอลจากใบของถั่วเขียว เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

วิเคราะห์ปริมาณของสารฟลาโวนอยด์รวม (total flavonoids): นำสารสกัดด้วยเมทานอลจากใบของถั่วเขียวแต่ละพันธุ์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ลงในสารละลาย aluminium chloride (ความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร (Djeridane *et al.*, 2006) เปรียบเทียบปริมาณ flavonoids กับกราฟมาตรฐานของ สมมูลรูทีน (rutin equivalent, RUE) เมื่อ $Y = 0.0081X + 0.2525$ และ $R^2 = 0.989$ มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมสมมูลของรูทีนต่อตัวอย่างแห้ง 1 กรัม (mg RUE/ g sample)

วิเคราะห์ปริมาณของสารฟีนอลิกรวม (total phenolics): นำสารสกัดด้วยเมทานอลจากใบของถั่วเขียวแต่ละพันธุ์ ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ใส่ลงในน้ำ ปริมาตร 20 ไมโครลิตร หลังจากนั้นเติม Folin-Ciocalteu reagent (อัตราส่วน 1 : 1; reagent : water) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร น้ำกลั่น ปริมาตร 50 ไมโครลิตร และสารละลาย sodium carbonate (ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์) เขย่าสารละลายให้เข้ากัน นำไปบ่มไว้ในที่มืด อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่า

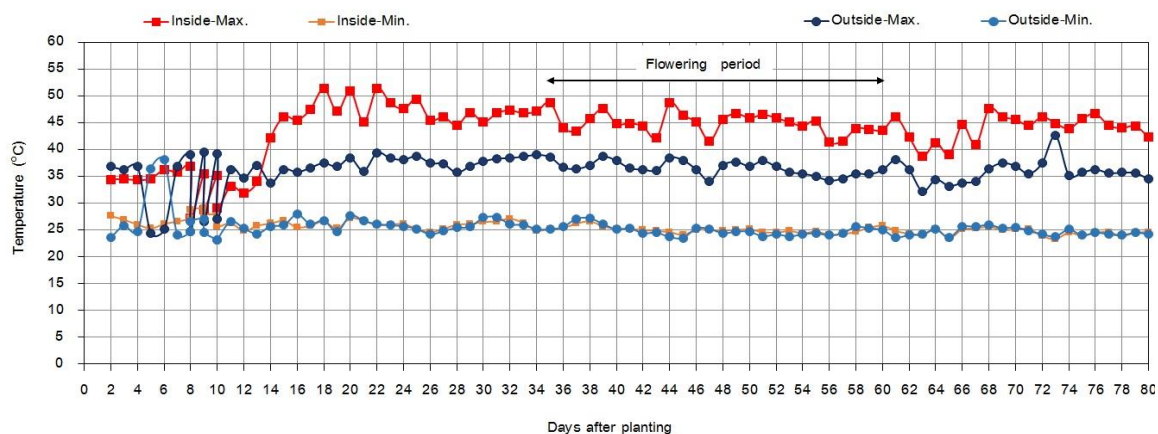


Figure 2. Distribution of maximum and minimum temperatures inside and outside a greenhouse of each day

การดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร (Kähkönen *et al.*, 1999) เปรียบเทียบปริมาณสารฟีนอลิกกับกราฟมาตรฐานของสมมูลกรดแกลลิก (gallic acid equivalent, GAE) เมื่อ $Y = 0.0038X + 0.0495$ และ $R^2 = 0.995$ มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อตัวอย่างแห้ง 1 กรัม (mg GAE/g sample)

วิเคราะห์ปริมาณสารป้องกันแรงดันออกซิเดชัน

วิเคราะห์ปริมาณโพรลีน (proline) ตามวิธีของ Bates *et al.* (1973) นำใบถั่วเขียวมา 0.5 กรัม บดละเอียดในสารละลาย sulfosalicylic acid (ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ดูดสารละลายส่วนใส ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดที่มีสารผสมของสาร acid-ninhydrin ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และสาร glacial acetic acid ปริมาตร 2 มิลลิลิตร บ่มสารผสมไว้ water bath อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำหลอดทดลองออก เติมน้ำ toluene ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ผสมสารละลายให้เข้ากัน ตั้งไว้ในที่มืด (อุณหภูมิห้อง) เป็นเวลา 30 นาที ดูดสารละลายใส นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer คำนวณปริมาณโพรลีนด้วยการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารโพรลีน เมื่อ $Y = 0.0053X + 0.0881$ และ $R^2 = 0.984$ มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมของโพรลีนต่อตัวอย่างแห้ง 1 กรัม (mg proline/g sample)

วิเคราะห์ปริมาณสารไกลซีนเบตาอีน (glycine betaine) ตามวิธีของ Grieve and Grattan (1983) นำใบถั่วเขียวมาบดละเอียดในสาร toluene (ความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์) หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ดูดสารละลายส่วนใส ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในสารผสม HCl (ความเข้มข้น 2 โมลาร์) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และสารละลาย potassium tri-iodide ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร นำสารผสมไปต้มไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที จากนั้นเติมน้ำกลั่นแช่เย็น ปริมาตร 2

มิลลิลิตร และสารละลาย 1,2-dichloroethane ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ดูดสารละลายใสส่วนบน วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer คำนวณปริมาณสารไกลซีนเบตาอีน (glycine betaine, GB) ด้วยการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารไกลซีนเบตาอีน เมื่อ $Y = 0.0091X + 0.0053$ และ $R^2 = 0.998$ มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมของไกลซีนเบตาอีนต่อตัวอย่างแห้ง 1 กรัม (mg GB/g sample)

วิเคราะห์การเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation

ทดสอบการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation ตามวิธีของ De Azevedo Neto *et al.* (2006) บดตัวอย่างใบถั่วเขียว ลงในสารผสม thiobarbituric acid (ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์) และ trichloroacetic acid (ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์) ในสารละลาย DMSO ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นำสารผสมวางไว้ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นหยุดปฏิกิริยาด้วยการวางในที่เย็น ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำสารผสมปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 3,000 กรัม นาน 10 นาที ดูดสารละลายใส นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer คำนวณปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น ด้วยการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารมาลอนไดไฮด์ (malondialdehyde, MDA) เมื่อ $Y = 0.0035X + 0.0030$ และ $R^2 = 0.999$ มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมของมาลอนไดไฮด์ต่อตัวอย่างแห้ง 1 กรัม (mg MDA/g sample)

คำนวณการเปลี่ยนแปลงของพารามิเตอร์ต่าง ๆ ของถั่วเขียวสายพันธุ์/พันธุ์เดียวกันที่อยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูงเปรียบเทียบกับสภาวะปกติ (ชุดควบคุม) จากสูตรดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ของชุดควบคุม (\% of control)} = \frac{[(\text{Treatment} - \text{Control}) / \text{Control}] \times 100}{1}$$

เมื่อ Control คือ ข้อมูลของถั่วเขียวที่อยู่ในโรงเรือนร้อน (Out) และ Treatment คือ ข้อมูลของถั่วเขียวที่อยู่ในโรงเรือนร้อน (In) โดยที่ ผลเป็นลบ (-) แสดงว่า ถั่วเขียวพันธุ์นั้นมีการเจริญเติบโตและ

สร้างผลผลิตลดลงเมื่อเจริญเติบโตในสภาพอุณหภูมิสูง ผลเป็นบวก (+) แสดงว่า ถั่วเขียวพันธุ์นั้นมีการเจริญเติบโตและสร้างผลผลิตเพิ่มขึ้นเมื่อเจริญเติบโตในสภาพอุณหภูมิสูง

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยมีการวางแผนการทดลองแบบ สุ่ม สมบูรณ์ ภายในบล็อก (randomized completely block design, RCBD) จำนวน 5 ซ้ำ ด้วยโปรแกรม SPSS วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธีของ Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P < 0.05$) และวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ (R) แบบเพียร์สัน (Person product moment correlation)

ผลการศึกษา

จากการบันทึกข้อมูลองค์ประกอบผลผลิตและผลผลิตเมล็ดของถั่วเขียวเปรียบเทียบกับถั่วเขียวสายพันธุ์/พันธุ์เดียวกันที่อยู่ในสภาพอุณหภูมิปกติ (ชุดควบคุม) (Table 1) พบว่า ถั่วเขียวทุกสายพันธุ์/พันธุ์มีจำนวนเมล็ดต่อฝักลดลง โดยที่สายพันธุ์ JP78930 และ JP231223 มีการลดลงของจำนวนเมล็ดต่อฝักน้อยที่สุด เท่ากับ 3.93 และ 4.42 เปอร์เซ็นต์ของชุดควบคุม รองลงมาคือ สายพันธุ์ JP31324 เท่ากับ 10.32 เปอร์เซ็นต์ของชุดควบคุม แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับถั่วเขียวสายพันธุ์อื่น และพันธุ์การค้า สำหรับข้อมูลจำนวนฝักต่อต้น พบว่า ถั่วเขียวส่วนใหญ่มีจำนวนฝักต่อต้นลดลงเมื่ออยู่ในสภาพอุณหภูมิสูง ยกเว้น สายพันธุ์ JP231223, JP229233, JP31324 และ JP78930 ที่พบมีจำนวนฝักต่อต้นเพิ่มขึ้น เท่ากับ 3.50, 1.58, 1.48 และ 0.50 เปอร์เซ็นต์ของชุดควบคุม ตามลำดับ ส่วนข้อมูลผลผลิตเมล็ดต่อต้นนั้น พบว่า ถั่วเขียวทุกสายพันธุ์/พันธุ์มีผลผลิตเมล็ดต่อต้นลดลงเมื่ออยู่ในสภาพอุณหภูมิสูง โดยที่สายพันธุ์ JP231223 มีการลดลงของจำนวนเมล็ดต่อฝักน้อยที่สุด เท่ากับ 5.78 เปอร์เซ็นต์ของ

ชุดควบคุม รองลงมาคือ JP78930 และ JP31324 มีผลผลิตเมล็ดต่อต้นลดลง 8.76 และ 12.30 เปอร์เซ็นต์ของชุดควบคุม ตามลำดับ (Table 1)

ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในใบของถั่วเขียว (Table 2) พบว่า ถั่วเขียวสายพันธุ์ JP78930, JP231223, JP31324, JP229233 และ JP85557 มีการสังเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มฟีนอลิกเพิ่มขึ้นเมื่ออยู่ในสภาพอุณหภูมิสูงเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยที่มีปริมาณของสารฟีนอลิกรวม เท่ากับ 57.75, 56.42, 51.40, 24.91 และ 4.78 เปอร์เซ็นต์ของชุดควบคุม ตามลำดับ ส่วนปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มฟลาโวนอยด์นั้น พบว่า ถั่วเขียวสายพันธุ์ JP226698, JP31324 และ JP78930 มีการสังเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มนี้เพิ่มขึ้น เท่ากับ 104.72, 47.70 และ 6.41 เปอร์เซ็นต์ของชุดควบคุม ในขณะที่สายพันธุ์/พันธุ์อื่น ๆ มีปริมาณของสารกลุ่มนี้ลดลงเมื่ออยู่ในสภาพอุณหภูมิสูง (Table 2) สำหรับปริมาณของสารป้องกันแรงดันออกซิเดติก โพรลีนและไกลซีน-เบตาอีน (Table 3) พบว่า ถั่วเขียวทุกสายพันธุ์/พันธุ์มีการสังเคราะห์สาร proline ลดลง ยกเว้น สายพันธุ์ JP78930 และ JP31324 ที่สามารถสังเคราะห์สารป้องกันแรงดันออกซิเดติกชนิดนี้เพิ่มขึ้นเมื่ออยู่ในสภาพอุณหภูมิสูง เท่ากับ 16.23 และ 0.78 เปอร์เซ็นต์ของชุดควบคุม ตามลำดับ ในขณะที่สายพันธุ์ JP78930, JP231223, JP31324, JP212360, JP85557, JP231216, JP73287, JP99049, JP240383, JP229233 และ JP240384 สามารถสังเคราะห์สาร glycine betaine เพิ่มขึ้นเมื่ออยู่ในสภาพอุณหภูมิสูง เท่ากับ 15.13, 10.90, 7.19, 6.61, 5.03, 4.83, 3.68, 2.70, 1.34, 0.55 และ 0.24 เปอร์เซ็นต์ของชุดควบคุม ตามลำดับ

Table 1. Yield components of mungbean under high temperature (In) compared with normal condition (Out)

Accession no.		No. seeds/pod		No. pods/plant		Seed yield (gram/plant)	
		% of control		% of control		% of control	
JP212360	In	6.76 ± 0.59 ¹		12.87 ± 1.62		4.19 ± 0.66	
	Out	8.90 ± 0.20	-24.04 fg ²	16.66 ± 3.15	-22.75 c	8.45 ± 1.11	-50.39 c
JP226698	In	7.92 ± 0.07		12.66 ± 2.06		8.91 ± 0.86	
	Out	10.02 ± 0.25	-20.94 def	37.00 ± 4.25	-65.78 h	35.05 ± 5.12	-74.58 k
JP229233	In	6.14 ± 0.21		12.86 ± 2.11		5.37 ± 1.01	
	Out	7.62 ± 0.19	-19.42 cde	12.66 ± 1.05	1.58 a	7.05 ± 1.72	-23.75 c
JP231216	In	7.87 ± 0.12		10.66 ± 1.89		8.07 ± 2.01	
	Out	9.40 ± 1.01	-16.31 bc	26.00 ± 2.10	-58.99 g	27.07 ± 3.02	-70.19 j
JP231223	In	9.35 ± 0.07		22.77 ± 4.26		10.80 ± 2.11	
	Out	9.78 ± 0.40	-4.42 a	22.00 ± 4.21	3.50 a	11.46 ± 2.76	-5.78 a
JP240344	In	6.17 ± 0.24		9.29 ± 1.08		4.83 ± 0.68	
	Out	8.78 ± 0.56	-29.71 h	34.86 ± 3.33	-73.35 i	26.30 ± 5.61	-81.64 l
JP240383	In	8.58 ± 0.31		18.11 ± 2.61		10.02 ± 1.28	
	Out	10.50 ± 0.78	-18.28 b-e	35.00 ± 4.56	-48.27 f	24.69 ± 4.16	-59.43 h
JP240384	In	8.11 ± 0.72		21.45 ± 4.56		8.28 ± 2.60	
	Out	9.84 ± 0.25	-17.57 bcd	25.33 ± 1.98	-15.34 b	12.85 ± 2.01	-35.57 e
JP31324	In	7.65 ± 1.02		12.67 ± 0.98		5.98 ± 0.56	
	Out	8.53 ± 0.85	-10.32 b	13.00 ± 1.89	1.48 a	6.82 ± 1.16	-12.30 b
JP73287	In	7.16 ± 0.51		16.96 ± 1.66		9.92 ± 1.86	
	Out	8.53 ± 0.85	-19.56 cde	20.33 ± 2.87	-16.60 b	14.34 ± 2.32	-30.81 d
JP78930	In	8.93 ± 2.05		16.43 ± 3.26		7.05 ± 0.86	
	Out	9.30 ± 0.56	-3.98 a	16.35 ± 3.01	0.50 a	7.72 ± 1.46	-8.76 ab
JP85557	In	6.76 ± 1.56		15.64 ± 1.65		10.88 ± 3.12	
	Out	8.89 ± 0.17	-23.98 fg	26.67 ± 2.36	-41.36 e	23.16 ± 5.02	-53.01 fg
JP99049	In	7.34 ± 1.14		11.56 ± 1.59		8.86 ± 1.99	
	Out	10.07 ± 0.71	-27.09 gh	36.00 ± 3.50	-67.90 h	37.38 ± 2.61	-76.29 k
CN84	In	7.27 ± 0.31		12.99 ± 2.08		8.00 ± 0.76	
	Out	9.35 ± 0.07	-22.27 ef	19.51 ± 2.16	-33.42 d	23.68 ± 4.61	-66.23 i
KPS2	In	7.56 ± 0.78		14.19 ± 1.06		11.35 ± 1.87	
	Out	8.54 ± 0.35	-22.48 ef	24.00 ± 4.20	-40.89 e	24.90 ± 6.21	-54.45 g

¹ The data represent the mean ± standard deviation of three replications

² Values followed by the same letters within each column are not significantly different according to DMRT at $P < 0.05$

Table 2. Antioxidant (total phenolics and flavonoids) contents of mungbean under high temperature (In) compared with normal condition (Out)

Accession no.	Total phenolics (mg GAE/g DW)			Total flavonoids (mg RUE/g DW)		
	In	Out	% of control	In	Out	% of control
JP212360	0.59 ± 0.02 ¹	19.83 ± 3.42	-97.02 j ²	13.03 ± 1.26	15.08 ± 0.82	-13.61 e
JP226698	1.26 ± 0.56	12.55 ± 2.93	-89.97 i	13.27 ± 2.86	6.48 ± 2.11	104.72 a
JP229233	7.52 ± 1.01	6.02 ± 1.21	24.91 e	10.32 ± 2.86	18.60 ± 2.66	-44.53 i
JP231216	1.01 ± 0.12	28.66 ± 4.02	-96.49 j	18.11 ± 3.08	38.44 ± 4.62	-52.87 jk
JP231223	24.06 ± 3.17	15.38 ± 2.76	56.42 a	9.77 ± 1.96	15.66 ± 1.86	-37.59 h
JP240344	4.84 ± 1.21	13.22 ± 2.31	-63.38 g	12.47 ± 2.66	22.66 ± 3.92	-44.96 i
JP240383	10.75 ± 2.01	14.37 ± 3.21	-25.18 e	12.07 ± 0.96	19.06 ± 2.61	-36.65 h
JP240384	4.01 ± 0.11	17.98 ± 3.61	-77.70 h	17.43 ± 3.12	28.78 ± 4.22	-39.42 h
JP31324	7.16 ± 2.11	4.72 ± 1.29	51.40 b	21.97 ± 1.66	14.87 ± 3.39	47.70 b
JP73287	1.19 ± 0.21	7.13 ± 2.09	-110.75 k	11.25 ± 1.02	12.01 ± 2.72	-6.34 d
JP78930	15.80 ± 2.12	10.02 ± 1.62	57.75 a	13.93 ± 0.86	13.09 ± 1.72	6.41 c
JP85557	9.57 ± 1.31	9.13 ± 0.89	4.78 d	18.83 ± 3.02	23.52 ± 3.86	-19.97 f
JP99049	1.74 ± 0.98	17.20 ± 1.24	-89.87 i	10.99 ± 1.08	15.58 ± 3.19	-29.49 g
CN84	3.42 ± 0.12	8.40 ± 1.86	-58.30 f	5.07 ± 0.62	11.56 ± 0.99	-56.12 k
KPS2	1.44 ± 0.11	6.18 ± 2.02	-76.70 h	17.01 ± 2.82	34.22 ± 4.66	-50.31 j

¹ The data represent the mean ± standard deviation of three replications² Values followed by the same letters within each column are not significantly different according to DMRT at $P < 0.05$

Table 3. Osmoprotectant (proline and glycine betaine) contents of mungbean under high temperature (In) compared with normal condition (Out)

Accession no.	Proline (mg/g DW)			Glycine betaine (mg/g DW)		
	In	Out	% of control	In	Out	% of control
JP212360	5.64 ± 0.62 ¹	5.76 ± 1.49	-2.06 b ²	23.34 ± 1.95	21.89 ± 3.98	6.61 cd
JP226698	5.19 ± 1.02	6.37 ± 1.82	-18.54 f	19.17 ± 3.62	19.97 ± 4.03	- 4.00 i
JP229233	4.04 ± 1.50	5.17 ± 2.10	-21.84 g	23.35 ± 5.01	23.22 ± 2.73	0.55 fgh
JP231216	5.90 ± 1.32	7.48 ± 1.21	-20.91 fg	22.83 ± 4.16	21.78 ± 3.51	4.83 cde
JP231223	5.65 ± 1.86	6.28 ± 0.98	-10.09 cd	22.87 ± 3.79	20.62 ± 3.42	10.90 b
JP240344	3.79 ± 1.22	4.23 ± 1.96	-10.45 cd	21.74 ± 3.68	22.23 ± 4.66	-2.19 hi
JP240383	6.01 ± 2.01	7.49 ± 0.56	-19.76 fg	21.78 ± 3.62	21.49 ± 2.12	1.34 e-h
JP240384	5.85 ± 1.86	6.79 ± 0.76	-13.81 e	21.32 ± 2.68	21.27 ± 6.16	0.24 fgh
JP31324	5.15 ± 1.32	5.11 ± 1.46	0.78 b	23.83 ± 3.66	22.23 ± 3.26	7.19 c
JP73287	4.42 ± 1.08	4.82 ± 1.02	-8.30 c	22.59 ± 4.16	21.79 ± 0.59	3.68 c-f
JP78930	5.66 ± 0.76	4.87 ± 1.36	16.23 a	25.48 ± 1.48	22.13 ± 2.66	15.13 a
JP85557	5.25 ± 1.72	6.13 ± 1.31	-14.36 e	23.14 ± 2.92	22.03 ± 3.14	5.03 cde
JP99049	4.36 ± 0.88	6.46 ± 2.16	-32.50 h	21.37 ± 2.36	20.81 ± 3.83	2.70 d-g
CN84	4.47 ± 0.52	5.07 ± 0.66	-11.81 de	22.22 ± 2.23	22.54 ± 2.63	-1.43 hi
KPS2	5.29 ± 1.45	5.41 ± 0.13	-2.23 b	22.26 ± 3.12	22.43 ± 3.11	-0.79 ghi

¹ The data represent the mean ± standard deviation of three replications² Values followed by the same letters within each column are not significantly different according to DMRT at $P < 0.05$

การวิเคราะห์ปริมาณสาร malondialdehyde ซึ่งเป็นสารผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้จากการกระบวนการ lipid peroxidation ที่โครงสร้างไขมันในพืชถูกอนุมูลอิสระทำลาย หากปริมาณของสาร malondialdehyde มีการสะสมในเซลล์พืชมากบ่งชี้ถึงการมีภาวะ oxidative stress เกิดขึ้น และชักนำให้เกิดปฏิกิริยา lipid oxidation ขึ้น ผลการทดลองพบว่า ถั่วเขียวบางสายพันธุ์/พันธุ์เกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation ในเซลล์ที่ใบเพิ่มขึ้น (Table 4) ได้แก่ สายพันธุ์ JP99049, JP226698, JP231216, JP240383 และพันธุ์การค้า CN84 และ KPS2 ในทางกลับกัน สายพันธุ์ JP229223, JP240344, JP 231223, JP240384, JP85557, JP31324, JP73287, JP78930 และ JP212360 มีการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation ในเซลล์บริเวณใบของถั่วเขียวเมื่ออยู่ในสภาพอุณหภูมิสูงน้อยกว่าในสภาพปกติ นอกจากนี้

ยังพบว่า ถั่วเขียวสายพันธุ์ JP229223, JP231223, JP85557, JP31324 และ JP78930 มีการสังเคราะห์สารฟีนอลิกรวมและสารไกลซีนเบตาอินเพิ่มขึ้น เมื่ออยู่ในสภาพอุณหภูมิสูง จึงส่งผลให้สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation ภายในใบของถั่วเขียวได้

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างองค์ประกอบผลผลิตกับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและสารป้องกันแรงดันออกซิเดติก (Table 5) พบว่า จำนวนเมล็ดต่อฝักและจำนวนฝักต่อต้นมีความสัมพันธ์ทางบวกกับผลผลิตของถั่วเขียว มีค่า R เท่ากับ 0.547 และ 0.913 ตามลำดับ นั่นคือ เมื่อจำนวนเมล็ดต่อฝักและจำนวนฝักต่อต้นเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ผลผลิตของถั่วเขียวเพิ่มขึ้น โดยที่องค์ประกอบผลผลิตและผลผลิตที่เพิ่มขึ้นมีความสัมพันธ์กับปริมาณของสารฟีนอลิกที่เพิ่มขึ้น

Table 4. The accumulation of malondialdehyde (MDA) in leaves of mungbean under high temperature (In) compared with normal condition (Out)

Accession no.		MDA (mg/g DW)		Accession no.		MDA (mg/g DW)	
		% of control				% of control	
JP212360	In	29.85 ± 12.52 ¹	-32.96 h ²	JP31324	In	50.82 ± 6.90	-13.44 ef
	Out	44.53 ± 13.25			Out	58.71 ± 12.06	
JP226698	In	51.87 ± 9.42	7.59 c	JP73287	In	31.06 ± 7.49	-60.28 j
	Out	48.21 ± 8.10			Out	78.20 ± 10.22	
JP229223	In	48.89 ± 7.82	-41.68 i	JP78930	In	37.61 ± 3.35	-15.18 f
	Out	83.83 ± 15.66			Out	44.34 ± 4.77	
JP231216	In	56.63 ± 8.41	6.90 c	JP85557	In	40.68 ± 8.01	-24.47 g
	Out	52.98 ± 0.74			Out	53.86 ± 16.62	
JP231223	In	50.29 ± 8.02	-15.35 f	JP99049	In	53.38 ± 3.10	11.44 b
	Out	59.41 ± 3.32			Out	47.90 ± 1.13	
JP240344	In	35.95 ± 7.61	-11.86 e	CN84	In	49.43 ± 12.52	3.68 d
	Out	40.79 ± 4.08			Out	47.67 ± 4.27	
JP240383	In	63.58 ± 5.05	16.60 a	KPS2	In	52.57 ± 9.83	10.29 b
	Out	54.54 ± 3.70			Out	47.67 ± 1.10	
JP240384	In	41.60 ± 3.02	-35.11 h				
	Out	64.56 ± 4.45					

¹ The data represent the mean ± standard deviation of three replications.

² Values followed by the same letters within each column are not significantly different according to DMRT at $P < 0.05$

Table 5. Correlation coefficients between yield components and antioxidants (phenolics and flavonoids) and osmoprotectants (glycine betaine and proline) and MDA content

	Seeds/pod	Pod/plant	Seed w.	Yield	Phenolics	Flavonoids	Proline	GB
Pods/pl	0.332**							
Seed w.	-0.277**	-0.147						
Yields	0.547**	0.913**	0.045					
Phe	0.266**	0.419**	0.062	0.506**				
Fla	0.209*	0.017	-0.073	0.052	0.131			
Pro	0.287**	0.400	-0.249**	0.094	0.018	-0.061		
GB	-0.300	-0.168*	-0.076	0.119	0.217**	-0.136	-0.105	
MDA	-0.112	-0.293**	-0.100	-0.316**	0.182*	-0.161	-0.146	-0.120

* Significance level at $P < 0.05$ and ** significance level at $P < 0.01$

นอกจากนี้ยังพบว่า ปริมาณฟลาโวนอยด์และโพรลีนที่เพิ่มขึ้นมีความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อฝักที่เพิ่มขึ้น มีค่า R เท่ากับ 0.209 และ 0.287 ตามลำดับ ในทางกลับกันผลผลิตของถั่วเขียวมีความสัมพันธ์เชิงลบกับปริมาณของ MDA มีค่า R เท่ากับ -0.316 นั่นคือ ปฏิกิริยา lipid peroxidation ที่เกิดขึ้นทำให้เกิดการสะสมของสาร MDA มากขึ้น ส่งผลกระทบทำให้ผลผลิตของถั่วเขียวลดลง

วิจารณ์

จากรายงานความเครียดจากอุณหภูมิสูงทำให้ใบพืชเหี่ยวแห้ง ใบม้วน ใบเหลือง ความสูงและมวลชีวภาพของพืชลดลง (Siddiqui *et al.*, 2015) พืชที่ได้รับอุณหภูมิรุนแรงมักจะลดการเจริญเติบโตของยอด ราก และจำนวนราก (Xu *et al.*, 2000) นอกจากนี้ความเครียดจากอุณหภูมิสูงส่งผลให้เกิดการสูญเสีย น้ำจากเซลล์ ขนาดเซลล์ (Liu and Huang, 2000) และการยืดยาวของปล้องลดลง ส่งผลให้พืชตาย (Reddy *et al.*, 2003) นอกจากนี้ยังพบรายงานว่า ความเครียดจากความความร้อนส่งผลกระทบอย่างรุนแรงทำให้พืชตระกูลถั่วมีอัตราการงอกต่ำลง กิจกรรมของเอนไซม์ RuBisCo ผิดปกติ ปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลง

และส่งผลให้กระบวนการสังเคราะห์แสงในระบบ PSII ถูกรบกวน โดยที่ถั่วแต่ละชนิดมีช่วงอุณหภูมิวิกฤติ (กลางวัน/กลางคืน) แตกต่างกัน ตัวอย่างเช่น ถั่วลิสง (38/22 องศาเซลเซียส) ถั่วลูกไก่ (35/16 องศาเซลเซียส) ถั่วแระ (45/40 องศาเซลเซียส) ถั่วพุ่ม (36/27 องศาเซลเซียส) ถั่วเหลือง (38/30 องศาเซลเซียส) ถั่วแขก (32/27 องศาเซลเซียส) ถั่วเขียว (>40/25 องศาเซลเซียส) และถั่วเขียวผิวดำ 35/27 องศาเซลเซียส (Djanajuiraman *et al.*, 2013; Farooq *et al.*, 2017) โดยที่โรงเรือนร้อนในการทดลองนี้มีอุณหภูมิ 41 - 48.8 องศาเซลเซียส จากผลการศึกษาค้นคว้าการตอบสนองของถั่วเขียวภายใต้สภาพอุณหภูมิสูงในโรงเรือนร้อน พบว่า สายพันธุ์ JP231223, JP31324 และ JP78930 มีองค์ประกอบผลผลิตและผลผลิตลดลงน้อยที่สุด โดยที่ ถั่วเขียวทั้ง 3 สายพันธุ์นี้มีการสังเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ-ฟีนอลิกรวมเพิ่มขึ้น ซึ่งจากผลการวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตกับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระฟีนอลิกรวม พบว่า มีความสัมพันธ์ในเชิงบวกต่อกัน สอดคล้องกับรายงานของ Mohi-Ud-Din *et al.* (2021) พบว่า พืชสามารถทนทานต่อสภาพอุณหภูมิสูงได้ด้วยการสังเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ ตัวอย่างเช่น ascorbic acid, carotenoids, tocopherols,

isoprenoids, flavonoids, phenolic acids ลดความเป็นพิษหรือกำจัด ROS (Asthir, 2015) เนื่องจากสภาพอุณหภูมิสูงทำให้เกิดอนุมูลอิสระจากปฏิกิริยา oxidation ของออกซิเจน (reactive oxygen species; ROS) เช่น singlet oxygen ($^1O_2$), superoxide anion radical ($O_2^{\bullet-}$), hydroxyl radical ($\bullet OH$) และ hydrogen peroxide (H_2O_2) ซึ่งทำให้เกิดการรั่วไหลของไอออน (ion leakage) ในเซลล์พืชที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์และรงควัตถุ เกิดการสะสมของสาร malondialdehyde ซึ่งเป็นสารผลิตภัณฑ์จากกระบวนการ lipid peroxidation ส่วน Cai *et al.* (2020) พบว่า ข้าวทนร้อนพันธุ์ SDWG005 มีการแสดงออกของ DEGs gene ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ lignin และ flavonoids ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการทำให้ข้าวพันธุ์นี้สามารถทนทานต่อความร้อนในช่วงการแบ่งเซลล์แบบ meiosis นอกจากนี้ Wang *et al.* (2019) ยังรายงานว่า *Festuca trachyphylla* พันธุ์ Reliat IV ที่ทนทานต่อความร้อนอุณหภูมิกลางวัน/กลางคืน ประมาณ 38/33 องศาเซลเซียส มีปริมาณของสาร phenolic acids ได้แก่ salicylic acid, homovanillic acid, caffeic acid และ ferulic acid เพิ่มขึ้น เมื่ออยู่ภายใต้อุณหภูมิสูงระยะเวลาสั้น 7 ชั่วโมง แต่เมื่อระยะเวลานานขึ้นเป็น 22 วัน ภายใต้สภาพอุณหภูมิสูงพบชนิดของสารประกอบ phenolic acid มากขึ้น ได้แก่ 3,4-dihydroxybenzoic acid, 4-hydroxybenzoic acid, coumaric acid, gallic acid, cinnamic acid, benzoic acid และ vanillic acid โดยที่ปริมาณสาร homovanillic acid และ caffeic acid เพิ่มขึ้น 118 และ 117 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับเมื่ออยู่ภายใต้สภาพอุณหภูมิสูงระยะสั้น สำหรับอีกกลไกภายในพืชที่ช่วยให้พืชทนทานต่อสภาพเครียดจากความร้อนในการทดลองนี้ได้ค้นพบว่า ถั่วเขียวทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ JP231223, JP31324 และ JP78930 มีการสังเคราะห์สารไกลซีน-เบทาอินเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่า สายพันธุ์ JP31324 และ JP78930 มีการสังเคราะห์สารโพรลีนเพิ่มขึ้นอีกด้วย ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกับรายงานของ Hemantaranjan *et al.* (2014) ซึ่งพบว่า การสะสมสารป้องกันแรงดันออกซิเดชัน เช่น โพรลีน ไกลซีนเบทาอิน และทรียาโลส เป็นกลไกการปรับตัวของพืชที่ต้านทาน

ความเครียดต่าง ๆ จากสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม รวมถึงทนทานต่อความร้อน (Rasheed *et al.*, 2011) โพรลีนและไกลซีนเบทาอินช่วยลดการสังเคราะห์ H_2O_2 ป้องกันเนื้อเยื่อถูกทำลาย โดยที่ Kaushal *et al.* (2011) พบว่า ถั่ว chickpea ที่อยู่ในสภาพอุณหภูมิสูง (กลางวัน/กลางคืน) 45/40 องศาเซลเซียส มีการสังเคราะห์สารโพรลีนเพิ่มขึ้น ทำให้เซลล์ได้รับความเสียหายจากอนุมูลอิสระน้อยลง และสามารถทนทานและเจริญเติบโตอยู่ในสภาพดังกล่าวได้ Sharma *et al.* (2019) ศึกษาการตอบสนองของข้าวพันธุ์ N22 ที่ทนทานความร้อน และพันธุ์ IR8 ที่ไม่ทนต่อความร้อนในสภาพอุณหภูมิสูง 36.0 องศาเซลเซียส พบว่า ข้าวพันธุ์ N22 ปริมาณสาร ascorbate และ proline สูงกว่าพันธุ์ IR8 เท่ากับ 78.5 และ 81.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยที่ข้าวพันธุ์ N22 ยังมีกิจกรรมของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ superoxide dismutase, catalase และ ascorbate peroxidase มากกว่าพันธุ์ IR8 เท่ากับ 35.7, 88.8 และ 84.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้ Wang *et al.* (2010) ยังพบว่า ข้าวสาลีที่ทนทานต่อสภาพแห้งแล้งและอุณหภูมิสูง มีการสะสมของสารไกลซีนเบทาอินบริเวณใบเพิ่มมากขึ้น ซึ่งสารนี้สามารถช่วยป้องกันผลกระทบของอนุมูลอิสระในการขัดขวางกระบวนการสังเคราะห์แสง ส่วน Allakhverdiev *et al.* (2007) ได้ทดสอบการตอบสนองของเชื้อแบคทีเรีย *Synechococcus* sp. PCC 7942 ที่มียีน *cod A* ซึ่งเป็นยีนควบคุมการสังเคราะห์สาร glycine betaine ในสภาพอุณหภูมิสูงช่วงประมาณ 46 - 54 และ 51 - 58 องศาเซลเซียส ด้วยการศึกษาระบบถ่ายถอดดีเอ็นเอในกระบวนการสังเคราะห์แสง II พบว่า สารไกลซีนเบทาอินช่วยป้องกันความเสียหายของโปรตีน D1 จากอนุมูลอิสระที่เกิดการกระตุ้นจากความร้อนและช่วยซ่อมแซมส่วนที่ถูกทำลาย ทำให้เชื้อแบคทีเรียนี้สามารถสังเคราะห์แสงได้ ส่วน Rasheed *et al.* (2011) ได้ศึกษาบทบาทของสารโพรลีนและสารไกลซีนเบทาอินบริเวณตาของหน่อถั่วที่อยู่ในสภาพอุณหภูมิสูง 42 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง ด้วยการแช่หน่อถั่วในสารละลายโพรลีน และไกลซีนเบทาอิน พบว่า อนุมูลอิสระ H_2O_2 ที่บริเวณตาใบลดลง

โดยพบการสะสมของ soluble sugar และสารป้องกัน
แรงดันเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่า สารโพสลีนมีบทบาท
ในการป้องกันความเสียหายของเซลล์จาก H_2O_2 ได้ดีกว่า
สารไกลซีนเบทาอีน

สรุป

ถั่วเขียวสายพันธุ์ JP231223, JP31324 และ
JP78930 มีผลผลิตลดลงเล็กน้อยเมื่ออยู่ในสภาพ
เครียดจากอุณหภูมิสูง โดยที่ถั่วเขียวที่ทนทานต่อ
อุณหภูมิสูงทั้ง 3 สายพันธุ์นี้ มีการสังเคราะห์สารฟีนอลิก
ทั้งหมดและไกลซีนเบทาอีนเพิ่มขึ้น ในขณะที่ถั่วเขียว
สายพันธุ์ JP31324 และ JP78930 มีการสังเคราะห์สาร
ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และโพสลีนเพิ่มขึ้นอีกด้วย ซึ่ง
การเพิ่มขึ้นของสารต้านอนุมูลอิสระและสารป้องกัน
แรงดันออกซิเดชันนี้อาจสัมพันธ์กับความทนทานต่อ
อุณหภูมิสูง ดังนั้น การทราบถึงกลไกทางชีวเคมีเบื้องต้น
ของถั่วเขียวทนทานต่ออุณหภูมิสูง จึงอาจใช้เป็นข้อมูล
พื้นฐานประกอบการตัดสินใจในการคัดเลือกพันธุ์พืช
เพื่อการปรับปรุงพันธุ์ต่อไปได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจาก สำนักงาน
สภานโยบายการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและ
นวัตกรรมแห่งชาติ (สอวช.) ผ่านหน่วยบริหารและจัด
การทุนด้านการพัฒนากำลังคน และทุนด้านการพัฒนา
สถาบันอุดมศึกษา การวิจัยและการสร้างนวัตกรรม
(บพค.) (สัญญาเลขที่ 5826)

เอกสารอ้างอิง

Allakhverdiev, S.I., D.A. Los, P. Mohanty, Y. Nishiyama
and N. Murata. 2007. Glycinebetaine
alleviates the inhibitory effect of moderate
heat stress on the repair of photosystem II
during photoinhibition. *Biochimica et
Biophysica Acta* 1767(12): 1363-1371.

Apel, K. and H. Hirt. 2004. Reactive oxygen
species: metabolism, oxidative stress, and
signal transduction. *Annual Review of Plant
Biology* 55: 373-399.

Asthir, B. 2015. Mechanisms of heat tolerance in
crop plants. *Biologia Plantarum* 59(4): 620-
628.

Bates, L.S., R.P. Waldren and I.D. Teare. 1973.
Rapid determination of free proline for
water-stress studies. *Plant and Soil* 39(1):
205-207.

Bhandari, K., K.H.M. Siddique, N.C. Turner, J. Kaur,
S. Singh, S.K. Agrawal and H. Nayyar. 2016.
Heat stress at reproductive stage disrupts
leaf carbohydrate metabolism, impairs
reproductive function, and severely reduces
seed yield in lentil. *Journal of Crop
Improvement* 30(2): 118-151.

Bitá, C.E. and T. Gerats. 2013. Plant tolerance to
high temperature in a changing environment:
scientific fundamentals and production of
heat stress-tolerant crops. *Frontiers in Plant
Science* 4: 273, doi: 10.3389/fpls.2013.
00273.

Cai, Z., F. He, X. Feng, T. Liang, H. Wang, S. Ding
and X. Tian. 2020. Transcriptomic analysis
reveals important roles of lignin and
flavonoid biosynthetic pathways in rice
thermotolerance during reproductive stage.
Frontiers in Genetics 11: 562937, doi:
10.3389/fgene.2020.562937.

De Azevedo Neto, A.D., J.T. Prisco, J. Enéas-Filho,
C.E.B. de Abreu and E. Gomes-Filho. 2006.
Effect of salt stress on antioxidative enzymes
and lipid peroxidation in leaves and roots
of salt-tolerant and salt-sensitive maize
genotypes. *Environmental and Experimental
Botany* 56(1): 87-94.

- Djanaguiraman, M., P.V.V. Prasad, D.L. Boyle and W.T. Schapaugh. 2013. Soybean pollen anatomy, viability and pod set under high temperature stress. *Journal of Agronomy and Crop Science* 199(3): 171-177.
- Djeridane, A., M. Yousfi, B. Nadjemi, D. Boutassouna, P. Stocker and N. Vidal. 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry* 97(4): 654-660.
- Farooq, M., F. Nadeem, N. Gogoi, A. Ullah, S.S. Alghamdi, H. Nayyar and K.H.M. Siddique. 2017. Heat stress in grain legumes during reproductive and grain-filling phases. *Crop and Pasture Science* 68(1): 985-1005.
- Farooq, M., M. Hussain, M. Usman, S. Farooq, S.S. Alghamdi and K.H.M. Siddique. 2018. Impact of abiotic stresses on grain composition and quality in food legumes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 66(34): 8887-8897.
- Grieve, C.M. and S.R. Grattan. 1983. Rapid assay for determination of water soluble quaternary ammonium compounds. *Plant and Soil* 70: 303-307.
- Hasanuzzaman, M., K. Nahar, M.M. Alam, R. Roychowdhury and M. Fujita. 2013. Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants. *International Journal of Molecular Sciences* 14(5): 9643-9684.
- Heuzé, V., G. Tran, D. Bastianelli and F. Lebas. 2015. Mung bean (*Vigna radiata*). (Online). Available: <https://www.feedipedia.org/node/235> (November 10, 2021).
- Hemantaranjan, A., A.N. Bhanu, M.N. Singh, D.K. Yadav, P.K. Patel, R. Singh and D. Katiyar. 2014. Heat stress responses and thermotolerance. *Advances in Plants and Agriculture Research* 1(3): 62-70.
- Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). 2007. Summary for policymakers. pp 1-18. *In*: S. Solomon, D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis, K.B. Averyt, M. Tignor and H.L. Miller (eds.). *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Kähkönen, M.P., A.I. Hopia, H.J. Vuorela, J.P. Rauha, K. Pihlaja, T.S. Kujala and M. Heinonen. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47(10): 3954-3962.
- Kaushal, N., K. Gupta, K. Bhandhari, S. Kumar, P. Thakur and H. Nayyar. 2011. Proline induces heat tolerance in chickpea (*Cicer arietinum* L.) plants by protecting vital enzymes of carbon and antioxidative metabolism. *Physiology and Molecular Biology of Plants* 17(3): 203-213.
- Khattak, G.S.S., I. Saeed and T. Muhammad. 2006. Breeding for heat tolerance in mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). *Pakistan Journal of Botany* 38(5): 1539-1550.
- Kumar, S. and G. Pandey. 2020. Biofortification of pulses and legumes to enhance nutrition. *Heliyon* 6(3): e03682, doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e03682.
- Liu, X. and B. Huang. 2000. Heat stress injury in relation to membrane lipid peroxidation in creeping bentgrass. *Crop Science* 40(2): 503-510.

- Mohi-Ud-Din, M., N. Siddiqui, M. Rohman, S.V.K. Jagadish, J.U. Ahmed, M.M. Hassan, A. Hossain and T. Islam. 2021. Physiological and biochemical dissection reveals a trade-off between antioxidant capacity and heat tolerance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Antioxidants* 10(3): 351, doi: 10.3390/antiox10030351.
- Rasheed, R., A. Wahid, M. Farooq, I. Hussain and S.M.A. Basra. 2011. Role of proline and glycinebetaine pretreatments in improving heat tolerance of sprouting sugarcane (*Saccharum* sp.) buds. *Plant Growth Regulation* 65(1): 35-45.
- Reddy, T.Y., V.R. Reddy and V. Anbumozhi. 2003. Physiological responses of groundnut (*Arachis hypogea* L.) to drought stress and its amelioration: a critical review. *Plant Growth Regulation* 41: 75-88.
- Sarkar, S., M. Khatun, F.M. Era, A.K.M.M. Islam, Md. P. Anwar, S. Danish, R. Datta and A.K.M.A. Islam. 2021. Abiotic stress: alteration of composition and grain quality in food legumes. *Agronomy* 11: 2238, doi: 10.3390/agronomy11112238.
- Sehgal, A., K. Sita, K.H.M. Siddique, R. Kumar, S. Bhogireddy, R.K. Varshney, B. HanumanthRao, R.M. Nair, P.V. Vara Prasad and H. Nayyar. 2018. Drought or/and heat-stress effects on seed filling in food crops; impacts on functional biochemistry, seed yields, and nutritional quality. *Frontiers in Plant Science* 27: 9, doi: 10.3389/fpls.2018.01705.eCollection2018.
- Siddiqui, M.H., M.Y. Al-Khaishany, M.A. Al-Qutami, M.H. Al-Whaibi, A. Grover, H.M. Ali and M.S. Al-Wahibi. 2015. Morphological and physiological characterization of different genotypes of faba bean under heat stress. *Saudi Journal of Biological Science* 22(5): 656-663.
- Sharma, K.P., N. Sharma and R. Kaur. 2019. Variation in antioxidant response in rice (*Oryza sativa* L.) genotypes differing in sensitivity to heat stress. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 8(7): 1518-1529.
- Suzuki, N. and R. Mittler. 2006. Reactive oxygen species and temperature stresses: a delicate balance between signaling and destruction. *Physiologia Plantarum* 126(1): 45-51.
- Vierling, E. 1991. The roles of heat shock proteins in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 42: 579-620.
- Wahid, A., S. Gelani, M. Ashraf and M.R. Foolad. 2007. Heat tolerance in plants: an overview. *Environmental and Experimental Botany* 61(3): 199-223.
- Wang, G.P., X.Y. Zhang, F. Li, Y. Luo and W. Wang. 2010. Erratum to: overaccumulation of glycine betaine enhances tolerance to drought and heat stress in wheat leaves in the protection of photosynthesis. *Photosynthetica* 48(1): 117-126.
- Wang, J., B. Yuan and B. Huang. 2019. Differential heat-induced changes in phenolic acids associated with genotypic variations in heat tolerance for hard fescue. *Crop Science* 59(2): 667-674.
- Xu, W., P.K. Subudhi, O.R. Crasta, D.T. Rosenow, J.E. Mullet and H.T. Nguyen. 2000. Molecular mapping of QTLs conferring stay-green in grain sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Genome* 43(3): 461-469.

Zinn, K.E., M. Tunc-Ozdemir and J.F. Harper. 2010.
Temperature stress and plant sexual
reproduction: uncovering the weakest links.
Journal of Experimental Botany 61(7): 1959-
1968.
