

ความแปรปรวนทางพันธุกรรมสำหรับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ
และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของข้าวพื้นเมือง
20 สายพันธุ์ ที่มีลักษณะทางการเกษตรที่ดี
Genetic Variability for Antioxidant Contents and
Their Capacity of Selected 20 Landrace Rice Genotypes
Based on Good Agronomic Traits

พรชัย หาระโคตร* และกมลวรรณ สีคร้าม

สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

Bhornchai Harakotr* and Kamonwan Seekram

Department of Agricultural Technology, Faculty of Science and Technology,

Thammasat University, Rangsit Centre, Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 12120

บทคัดย่อ

การค้นหาเชื้อพันธุกรรมที่มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมสูงเป็นขั้นตอนสำคัญสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเพื่อเพิ่มคุณค่าทางอาหาร ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความแปรปรวนทางพันธุกรรมสำหรับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในข้าวพื้นเมือง 20 สายพันธุ์ ซึ่งปลูกทดสอบจาก 2 สถานที่ คือ แปลงทดลอง สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ จังหวัดปทุมธานี และแปลงอนุรักษ์พันธุ์ข้าวพื้นเมือง จังหวัดอุบลราชธานี ผลการศึกษาพบว่าอิทธิพลของสายพันธุ์ สถานที่ทดสอบ และปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์กับสถานที่ทดสอบมีความแตกต่างกันทางสถิติในทุกลักษณะที่ศึกษา โดยอิทธิพลของสายพันธุ์ส่งผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS สูงที่สุด คิดเป็นร้อยละ 59.07, 76.58 และ 66.85 ของความแปรปรวนทั้งหมด ตามลำดับ ขณะที่สถานที่ทดสอบมีอิทธิพลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (ร้อยละ 94.13 ของความแปรปรวนทั้งหมด) นอกจากนี้สายพันธุ์ TU-123, TU-130, TU-145 และ TU-148 มีการปรับตัวได้กว้างสำหรับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้นสายพันธุ์ข้าวที่มีศักยภาพสูงเหล่านี้จะถูกคัดเลือกเพื่องานปรับปรุงพันธุ์ต่อไปในอนาคต

คำสำคัญ : ความหลากหลายทางพันธุกรรม; ปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์กับสภาพแวดล้อม; สารประกอบฟีนอลิก; พลาไวโนอยด์; *Oryza sativa*

Abstract

Exploring the rice germplasm with high genetic variability is an important step for a rice breeding program for increased nutritional components. Thus, the objective of this study was to evaluate the genetic variability of the antioxidants and their capacities in 20 landrace rice genotypes. The experiment was conducted in two locations, consisting of (1) the Experimental Field, Department of Agricultural Technology, Thammasat University, Pathum Thani province, and (2) the landrace rice farmers' field, Ubon Ratchathani province. The results indicated that genotype, location, and location by genotype interaction were statistically different for all studied traits. Variations due to genotype were significant for total phenolic content, total flavonoid content, and ABTS free radical scavenging activity, accounting for 59.07, 76.58, and 66.85 % of total variations, respectively. In contrast, variation due to location was considerable for ABTS free radical scavenging activity (94.13 % of total variation). Moreover, TU-123, TU-130, TU-145, and TU-148 rice genotypes exhibited high adaptability for antioxidants and their capacities across two locations. As a result, these promising rice germplasms will be chosen for use as genetic materials in rice breeding.

Keywords: genetic diversity; genotype x environment interaction; phenolic compound; flavonoid; *Oryza sativa*

1. บทนำ

ข้าว (*Oryza sativa* L.) เป็นอาหารหลักของประชากรมากกว่าครึ่งหนึ่งของโลก หรือมากกว่า 4 พันล้านคน โดยเฉพาะทวีปเอเชียที่มีประชากรประมาณ 2 พันล้านคน หรือคิดเป็นร้อยละ 60-70 บริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก [1] ข้าวมีสารอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน วิตามิน แร่ธาตุที่จำเป็น ได้แก่ แคลเซียม ฟอสฟอรัส เหล็ก สังกะสี เป็นต้น [2] นอกจากนี้ข้าวมีปริมาณแอนโทไซยานิน สารประกอบฟีนอลิก แกมมาออโรซานอล สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ และมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง [3-5] โดยเฉพาะ

อย่างยิ่งสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งเป็นสารพฤกษเคมีที่มีบทบาทสำคัญต่อสุขภาพของผู้บริโภค เนื่องจากสามารถป้องกันโรคต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับความเครียด อากาศอักเสบและโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง ได้แก่ โรคหัวใจ และหลอดเลือด โรคมะเร็ง โรคกระดูกพรุน โรคเบาหวาน โรคข้ออักเสบ และความผิดปกติของระบบประสาท เป็นต้น [6] นอกจากนี้ข้าวยังอุดมด้วยพลาไวโนอยด์ ซึ่งเป็นสารประกอบในกลุ่มโพลีฟีนอลและพบได้ในธรรมชาติที่มีมากกว่า 4,000 ชนิด สามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยตามโครงสร้างเคมี ได้แก่ พลาไวโนล พลาไวโนพลาวาโนน พลาวานอล ไอโซพลาไวโน แอนโทไซยานิน เป็นต้น [7] ซึ่งพลาไวโนอยด์มีผลต่อสุขภาพเช่น

เดียวกันกับสารประกอบฟีนอลิก [8] ประเทศไทยได้รับการยอมรับว่าเป็นแหล่งศูนย์รวมเชื้อพันธุกรรมข้าวที่สำคัญ โดยเฉพาะอย่างยิ่งข้าวพื้นเมืองที่มีความแข็งแกร่งต่อความเครียดจากปัจจัยชีวและอชีว โดยเกษตรกรสามารถคัดเลือกเก็บไว้ทำพันธุ์ [9] นอกจากนี้ข้าวพื้นเมืองเป็นแหล่งของความแปรปรวนทางพันธุกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ แอนโทไซยานิน ฟีนอลิก แกมมาออโรซานอล แอลฟาโทโคเฟอรอล โฟโตสเตอรอล เป็นต้น [10-12] อย่างไรก็ตาม การเพาะปลูกข้าวพันธุ์พื้นเมืองในแต่ละภูมิภาคของประเทศมีแนวโน้มลดลง ทำให้สายพันธุ์ข้าวพื้นเมืองบางส่วนสูญหายไป [13] เนื่องจากการส่งเสริมให้เกษตรกรปลูกข้าวพันธุ์ใหม่ทดแทนข้าวพื้นเมืองเพื่อเพิ่มผลผลิต [9]

การใช้ประโยชน์จากความหลากหลายของข้าวพื้นเมืองสำหรับงานปรับปรุงพันธุ์ข้าวเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการใช้ประโยชน์และส่งเสริมการอนุรักษ์ข้าวพื้นเมือง ซึ่งการคัดเลือกเชื้อพันธุกรรมที่มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมของลักษณะที่ต้องการปรับปรุงพันธุ์ควบคู่กับการค้นหาวิธีการคัดเลือกพันธุ์เป็นขั้นตอนสำคัญที่จะส่งผลให้โครงการปรับปรุงพันธุ์ประสบผลสำเร็จ [14] การค้นหาแหล่งของความแปรปรวนทางพันธุกรรมใหม่ ๆ มีความจำเป็นอย่างยิ่งในการพัฒนาพันธุ์ข้าว ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความแปรปรวนทางพันธุกรรมสำหรับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS และ DPPH ในข้าวพื้นเมือง 20 สายพันธุ์ ที่ผ่านการประเมินลักษณะทางการเกษตรซึ่งข้อมูลดังกล่าวสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการคัดเลือกพันธุ์ข้าวให้มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงต่อไปในอนาคต

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ randomized complete block design (RCBD) จำนวน 3 ซ้ำ โดยใช้ข้าวพื้นเมืองที่ผ่านการประเมินลักษณะทางการเกษตรและผลผลิต 20 สายพันธุ์ [15] ได้แก่ สายพันธุ์มันปู (TU-121) มะยม (TU-122) หอมทุ่ง 1 (TU-123) เหลืองบุญมา (TU-124) ตับเหมยดำ (TU-127) กาบยาง 1 (TU-129) กาบหมาก (TU-130) นางบุญมา (TU-131) หอมแดง (TU-133) หอมพวงลาย (TU-134) หมากแขก (TU-135) ดอกแดง (TU-136) เล็บม้า (TU-137) ตับเมย (TU-138) อีฐขาว 1 (TU-140) กอเดียว (TU-144) เขียวใบโพธิ์ (TU-145) ปลาเซ็ง (TU-148) รากไฟ (TU-149) และหวิดหนี (TU-152)

2.2 สถานที่ปลูกทดสอบและการจัดการแปลงทดลอง

ดำเนินการปลูกทดสอบในฤดูนาปี พ.ศ. 2560 ณ แปลงทดลอง สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ จ.ปทุมธานี พิกัดละติจูด 14°04'28.2" เหนือ ลองจิจูด 100°36'33.9" ตะวันออก เนื้อดินเป็นดินเหนียว มีอินทรีย์วัตถุต่ำ (0.95 %) และค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ด่าง 4.91 ส่วนสมบัติทางเคมีประกอบด้วยปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดร้อยละ 0.05 ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 38.50 ppm และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 165 ppm และแปลงอนุรักษ์พันธุ์ข้าวพื้นเมือง อำเภอนางรอง จังหวัดอุดรธานี พิกัดละติจูด 14°37'07.8" เหนือ ลองจิจูด 105°10'22.3" ตะวันออก เนื้อดินเป็นดินร่วนปนทราย มีอินทรีย์วัตถุสูง (1.20 %) และค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ด่าง 5.81 ส่วนสมบัติทางเคมีประกอบด้วยปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดร้อยละ 0.06 ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 4.43 ppm และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 35 ppm นอกจากนี้บันทึกข้อมูลสภาพอากาศ

รายวัน ได้แก่ อุณหภูมิสูงสุด อุณหภูมิต่ำสุด และ ปริมาณน้ำฝน โดยใช้ข้อมูลทางอุตุนิยมวิทยาของสถานี ตรวจอากาศที่อยู่ใกล้เคียงแปลงทดลองมากที่สุด คือ จังหวัด ปทุมธานีใช้ข้อมูลจากสถานีอากาศเกษตร ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี และจังหวัด อุบลราชธานีใช้ข้อมูลจากศูนย์อุตุนิยมวิทยาภาค ตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง ตำบลไธสง อำเภอมือง จังหวัดอุบลราชธานี

เริ่มเตรียมพื้นที่โดยพลิกหน้าดิน ไถดินให้ ร่วนแล้วปล่อยน้ำเข้าแปลงประมาณ 10-15 วัน เพื่อ หมักดินให้วัชพืชย่อยสลาย แล้วไถคราดและปรับระดับ ดินให้เรียบสม่ำเสมอทั่วแปลง จากนั้นเตรียมเมล็ดพันธุ์ และการเตรียมกล้า นำเมล็ดพันธุ์ข้าวแช่น้ำเป็นเวลา 24 ชม. แล้วนำเมล็ดมาบ่มเป็นเวลา 24 ชม. ให้รากสี ขาวโผล่พ้น และนำเมล็ดไปเพาะ ถอนต้นกล้าที่มีอายุ 28 วัน ไปปักดำโดยใช้นิ้วชี้และนิ้วโป้งจับที่โคนต้น ระยะปลูก คือ 25×25 ซม. จำนวน 4 แถว/แปลงย่อย การดูแลควบคุมเรื่องน้ำ ปรับแปลงนาให้เรียบสม่ำเสมอและทำร่องระบายน้ำระหว่างแปลงย่อย หลังจาก ปักดำ 1-2 วัน ปล่อยน้ำเข้าแปลงนาสูงจากพื้นดินนา 5 ซม. และรักษาระดับน้ำให้สม่ำเสมอตลอดการทดลอง เพื่อควบคุมวัชพืช ใส่ปุ๋ยครั้งที่ 1 ใส่หลังปักดำ 1 วัน โดยใส่ปุ๋ยสูตร 16-20-0 อัตรา 25 กก./ไร่ ใส่ปุ๋ยครั้งที่ 2 ใส่ก่อนข้าวออกดอกประมาณ 30 วัน โดยใช้สูตร 46-0-0 อัตรา 10 กก./ไร่ โดยการควบคุมโรค แมลง และ สัตว์ศัตรูข้าวทำตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร ตามลักษณะอาการที่เกิด

2.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

2.3.1 การเตรียมสารสกัดจากเมล็ดข้าว ซึ่ง ดัดแปลงวิธีการของ Sutharut และ Sudarat โดยใช้ ตัวอย่างเมล็ดข้าวกล้องบดละเอียดหนัก 0.25 g เติมน้ำ 1 mL นำไป Vortex เป็นเวลา 30 วินาที

แล้วแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 60 °C เป็นเวลา 20 นาที โดยนำออกมาเขย่าทุก ๆ 10 นาที จากนั้นนำไป หมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็น เวลา 10 นาที ตู้นำสารละลายส่วนในมาเก็บไว้และ ปรับปริมาตรด้วยเมทานอลเป็น 5 mL แล้วนำไปเก็บ ไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C [16]

2.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกทั้งหมด ทำตามวิธีการของ Folin และ Ciocalteu โดยปิเปตสารละลายตัวอย่างละ 20 µL ใส่ ในหลอดทดลอง แล้วเติมน้ำ 1.58 mL เติมน้ำสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 100 µL ผสมให้ เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex ทิ้งไว้ 5 นาที เติมน้ำ 20 % โซเดียมคาร์บอเนตปริมาตร 300 µL ผสมให้เข้ากันอีก ครั้ง แล้วจึงเก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชม. จากนั้นจึงนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาว คลื่น 765 nm และหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดโดยใช้ กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน แสดงผลเป็นมิลลิกรัม สมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (mg GAE/g DW) [17]

2.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ ทั้งหมด ทำตามวิธีการของ Kubola และคณะ โดย ปิเปตสารละลายตัวอย่างละ 0.5 mL ใส่ในหลอด ทดลอง เติมน้ำกลั่น 2.2 mL ผสมให้เข้ากัน แล้วเติม 5 % NaNO₂ ปริมาตร 0.15 mL ตั้งทิ้งไว้ 6 นาที เติมน้ำ 10 % AlCl₃·6H₂O ปริมาตร 0.3 mL ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที และเติม 1 M โซเดียมไฮดรอกไซด์ ปริมาตร 1 mL ผสมให้เข้ากันด้วย Vortex จากนั้นนำไปวัดค่าการ ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 nm โดยใช้คาเดซิน เป็นสารมาตรฐาน แสดงผลเป็นไมโครกรัมสมมูลคาเด ซินต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (µg CE/g DW) [18]

2.3.4 การวิเคราะห์ความสามารถในการ ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-Azino-bis (3-ethy benzothia-zoline-6-sulfonic acid) free radical

scavenging activity (ABTS) ซึ่งดัดแปลงวิธีการของ Harakotr และคณะ โดยผสมสารละลาย 14 mM ABTS⁺ ปริมาณ 5 mL และ 4.9 mM K₂S₂O₈ ปริมาตร 5 mL ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 16 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ก่อนใช้น้ำสารละลาย ABTS⁺ เจือจางด้วยเมทานอลให้มีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.700±0.002 ที่ความยาวคลื่น 734 nm แล้วปิเปตสารละลาย ABTS⁺ ปริมาตร 950 µL ผสมกับสารสกัดตัวอย่าง 50 µL ตั้งทิ้งไว้ 6 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm [19] แสดงผลเป็น % inhibition ซึ่งคำนวณได้จากสมการ % inhibition = [(Abs_{control} - Abs_{sample}) ÷ Abs_{control}] × 100 เมื่อ Abs_{control} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม และ Abs_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

2.3.5 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical activity (DPPH) ซึ่งดัดแปลงจากวิธีการของ Harakotr และคณะ โดยปิเปตสารละลายตัวอย่างละ 100 µL ใส่ในหลอดทดลอง แล้วเติมสารละลาย 100 µM DPPH ปริมาตร 1.90 mL ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex เก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที แล้ววัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 nm แสดงผลเป็น % inhibition ซึ่งคำนวณได้เช่นเดียวกับวิธี ABTS [19]

2.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance, ANOVA) ของข้อมูลสำหรับแต่ละสถานที่ปลูกตามแผนการทดลองแบบ RCBD ทดสอบความเป็นเอกภาพของความแปรปรวน (homogeneity of variance) ตามวิธีของ Gomez และ Gomez [20] แล้ววิเคราะห์ความแปรปรวนรวม (combined analysis) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่

ระดับความเชื่อมั่น 95 % ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์สำเร็จรูปทางสถิติ

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 สภาพอากาศ

จังหวัดปทุมธานีมีปริมาณน้ำฝนสะสมตลอดฤดูปลูก 993.5 มม. และความเข้มแสงอาทิตย์เฉลี่ย 13.19 MJ/m²/day อุณหภูมิเฉลี่ยต่ำสุด 24.9 °C และอุณหภูมิเฉลี่ยสูงสุด 32.1 °C (รูปที่ 1a) ส่วนจังหวัดอุบลราชธานีมีปริมาณน้ำฝนสะสมตลอดฤดูปลูก 670.4 มม. และความเข้มแสงอาทิตย์เฉลี่ย 17.00 MJ/m²/day อุณหภูมิเฉลี่ยต่ำสุด 22.2 °C และอุณหภูมิเฉลี่ยสูงสุด 31.2 °C (รูปที่ 1b)

3.2 การตอบสนองของสายพันธุ์และสภาพแวดล้อม

การวิเคราะห์ความแปรปรวนรวมของข้าวพื้นเมือง 20 สายพันธุ์ ทั้ง 2 สถานที่ทดสอบ พบว่าสายพันธุ์มีอิทธิพลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS และ DPPH อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คิดเป็นร้อยละ 59.07, 76.58, 66.85 และ 5.84 ของความแปรปรวนรวมทั้งหมด ตามลำดับ ขณะที่สถานที่ทดสอบมีอิทธิพลต่อทุกลักษณะที่ศึกษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกัน คิดเป็นร้อยละ 5.31, 10.72, 31.29 และ 94.13 ของความแปรปรวนรวมทั้งหมด นอกจากนี้ปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์และสถานที่ทดสอบมีอิทธิพลต่อทุกลักษณะที่ศึกษามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 1) ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าความแปรปรวนของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และความสามารถ

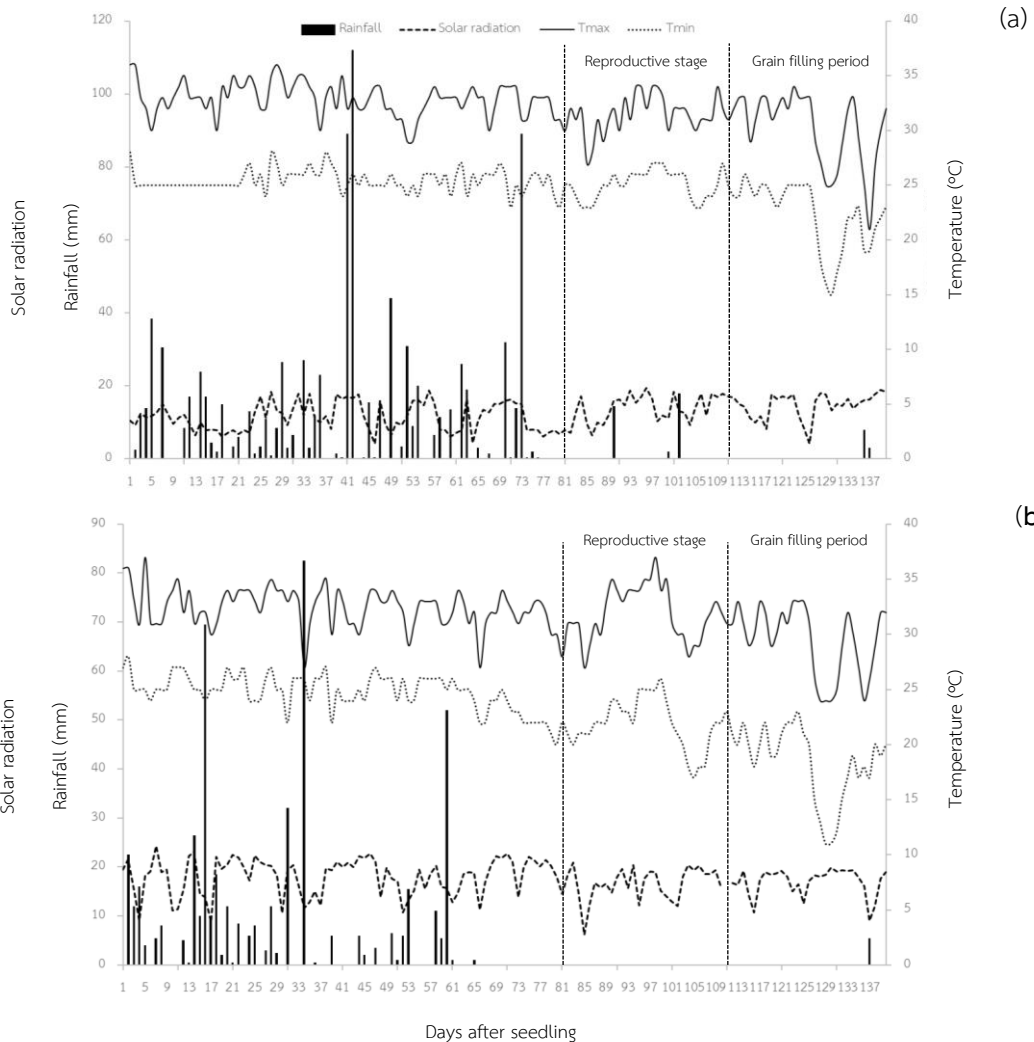


Figure 1 Total rainfall, maximum temperature, minimum temperature, and solar radiation during the crops growth at two environments: Pathum Thani (a) and Ubon Ratchathani (b)

ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS เกิดจากอิทธิพลของพันธุกรรมเป็นสัดส่วนที่สูง ดังนั้นการคัดเลือกข้าวพื้นเมืองเพื่อเพิ่มปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดังกล่าวมีโอกาสประสบความสำเร็จสูง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Shen และคณะ [14] และ Kim และคณะ [21] ที่พบว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในข้าวมีค่าสูง ซึ่ง

ลักษณะดังกล่าวจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในงานพัฒนาพันธุ์ข้าว อย่างไรก็ตาม Goffman และ Bergman รายงานว่าความแปรปรวนของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในเมล็ดข้าวกล้องขึ้นอยู่กับพันธุกรรม ขณะที่สภาพแวดล้อมและปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์กับสภาพแวดล้อมไม่มีอิทธิพลต่อลักษณะดังกล่าว [22] อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าความแปรปรวนของ

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เกิดจากอิทธิพลของสถานที่ทดสอบสูงสุด (ร้อยละ 94.13 ของความแปรปรวนรวมทั้งหมด) ด้วยเหตุที่ปัจจัยของสภาพแวดล้อมของสถานที่ทดสอบแตกต่างกัน ได้แก่ สมบัติทางกายภาพและเคมีของดิน อุณหภูมิ ปริมาณน้ำฝนสะสม และความเข้มแสงอาทิตย์ ซึ่งอิทธิพลของสถานที่ทดสอบที่สูงนั้น สามารถแก้ไขโดยการดูแลการจัดการสภาพแวดล้อม เช่น เลือกพื้นที่ปลูก วันปลูกที่เหมาะสม และการจัดการดูแลให้ต่อเนื่อง [23] นอกจากนี้ความแปรปรวนจากปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์และสถานที่ทดสอบแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งแสดงว่าข้าวพื้นเมืองแต่ละสายพันธุ์ตอบสนองต่อสถานที่ทดสอบต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Kesarwan และคณะ ที่พบว่าปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์และสภาพแวดล้อมมีอิทธิพลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในเมล็ดข้าวที่ผ่านการปลูกด้วยระบบดั้งเดิมและ

ระบบอินทรีย์ [24] อย่างไรก็ตาม การทดสอบสายพันธุ์ต้องการความแปรปรวนเนื่องจากอิทธิพลทางพันธุกรรมในสัดส่วนที่สูง ดังนั้นหากต้องการลดปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์กับสถานที่ทดสอบ อาจต้องเพิ่มจำนวนซ้ำและสถานที่ใช้ในการทดสอบให้มากขึ้น

3.3 ความแปรปรวนของปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในข้าวพื้นเมือง 20 สายพันธุ์ เพื่อหาสายพันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง สำหรับการใช้เป็นเชื้อพันธุกรรมในโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวในอนาคต เมื่อพิจารณาผลการปลูกทดสอบในพื้นที่จังหวัดพุมธานี (ดินเหนียว) พบว่าข้าวสายพันธุ์ TU-123 และ TU-148 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด (7.61 และ 7.24 mg GAE/g DW ตามลำดับ) รองลงมา คือ สายพันธุ์

Table 1 Combined analysis of variance for total phenolic content (TPC), total flavonoid content (TFC), and antioxidant capacities of selected 20 landrace rice genotypes evaluated at two locations in growing season 2017.

SOV	df	TPC	TFC	Antioxidant capacities	
				ABTS	DPPH
Genotype (G)	19	7.38 (59.07)**	25,195 (76.58)**	91.51 (66.85)**	46.98 (5.84)**
Location (L)	1	12.61 (5.31)**	39,204 (10.72)**	306.11 (31.29)**	1,617.52 (94.13)**
Error (L /Rep)	4	0.47 (0.79)	453 (0.02)	0.57 (0)	1.93 (0)
G x L	19	3.71 (29.70)**	8,248 (12.60)**	15.5 (1.86)**	8.07 (0.03)*
Error (G x L/Rep)	76	0.16 (5.12)	332 (0.09)	0.33 (0)	0.4 (0)
C.V. % ^a		14.48	5.59	6.07	5.11
C.V % ^b		8.42	4.79	4.63	2.32

* and ** significant difference at $p \leq 0.05$ and 0.01 probability levels, respectively; Number within the parentheses is percentage of sum squares to total sum of squares; ^a and ^b show coefficient of variation due to error (L x Rep) and error (G x L x Rep), respectively.

TU-134, TU-130 และ TU-133 ตามลำดับ (ตารางที่ 2) สายพันธุ์ TU-148 มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด (489.82 $\mu\text{g CE/g DW}$) ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับสายพันธุ์ TU-138 โดยมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 442.74 $\mu\text{g CE/g}$ เมื่อพิจารณาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสายพันธุ์ TU-148 และ TU-135 มีความสามารถในการต้านอนุมูล ABTS⁺ สูงที่สุด (ร้อยละ 20.00 และ 19.07 ตามลำดับ) รองลงมาคือ สายพันธุ์ TU-145, TU-123 และ TU-130 ตามลำดับ นอกจากนี้สายพันธุ์ TU-148 ยังมีความสามารถในการต้านอนุมูล DPPH[°] สูงที่สุดเช่นเดียวกัน (ร้อยละ 37.61) รองลงมา คือ สายพันธุ์ TU-123 และ TU-127 ที่มีความสามารถในการต้านอนุมูล DPPH[°] ร้อยละ 36.92 และ 35.29 ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาผลจากการปลูกทดสอบในพื้นที่จังหวัดอุบลราชธานี (ดินร่วนปนทราย) พบว่าข้าวสายพันธุ์ TU-140 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด (8.31 mg GAE/g DW) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับข้าวสายพันธุ์ TU-135 ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 7.76 mg GAE/g DW รองลงมา คือ ข้าวสายพันธุ์ TU-123, TU-130 และ TU-129 ตามลำดับ (ตารางที่ 2) สายพันธุ์ TU-123 มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด (532.71 $\mu\text{g CE/g DW}$) รองลงมา คือ สายพันธุ์ TU-145 และ TU-152 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสายพันธุ์ TU-123 และ TU-135 มีความสามารถในการต้านอนุมูล ABTS⁺ สูงที่สุด (ร้อยละ 20.05 และ 19.57 ตามลำดับ) รองลงมา คือ TU-133, TU-152, TU-130 และ TU-145 ตามลำดับ นอกจากนี้สายพันธุ์ TU-123 ยังมีความสามารถในการต้านอนุมูล DPPH[°] สูงที่สุดเช่นเดียวกัน (ร้อยละ 29.32) รองลงมา คือ สายพันธุ์ TU-134 และ TU-135 ที่มีความสามารถในการต้านอนุมูล DPPH[°] ร้อยละ 27.08

และ 26.04 ตามลำดับ

3.4 ความสามารถในการปรับตัวและความสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์ข้าวพื้นเมืองและสถานที่ทดสอบ

การประเมินข้าวพื้นเมือง 20 สายพันธุ์ ในสภาพแวดล้อมที่ต่างกันด้านสมบัติทางเคมีของดินและสภาพอากาศ พบว่าสายพันธุ์ TU-123 เป็นสายพันธุ์ที่มีการปรับตัวได้กว้างกว่าเชื้อพันธุ์กรรมอื่น ๆ เนื่องจากมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงในทั้งสองสภาพแวดล้อมที่ทดสอบ (รูปที่ 2) สายพันธุ์ TU-130 เป็นสายพันธุ์ที่ปรับตัวได้กว้างสำหรับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS และ DPPH ในขณะที่สายพันธุ์ TU-145 และ TU-148 เป็นสายพันธุ์ที่ปรับตัวได้กว้างสำหรับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS และ DPPH นอกจากนี้สายพันธุ์ TU-121 และ TU-121 เป็นเชื้อพันธุ์กรรมที่มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระต่ำ ซึ่งข้อมูลเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าข้าวพื้นเมืองแต่ละสายพันธุ์มีความสามารถในการตอบสนองต่อพื้นที่ที่ต่างกัน ซึ่งข้าวที่ทดสอบที่จังหวัดอุบลราชธานีมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS เฉลี่ยสูงกว่าการทดสอบที่จังหวัดปทุมธานี ด้วยเหตุที่พื้นที่จังหวัดอุบลราชธานีมีอุณหภูมิเฉลี่ยต่ำและความเข้มของแสงอาทิตย์สูง ซึ่งปัจจัยสภาพอากาศดังกล่าวส่งผลให้ข้าวมีการสะสมปริมาณสารทุติยภูมิได้ดี [25] ดังนั้นข้าวพื้นเมืองสายพันธุ์ TU-123, TU-130, TU-145 และ TU-148 เป็นเชื้อพันธุ์กรรมที่มีศักยภาพสำหรับงานปรับปรุงพันธุ์ข้าวเพื่อเพิ่มคุณค่าทางอาหารต่อไป

Table 2 Total phenolic content (TPC), total flavonoid content (TFC), and antioxidant capacities of selected 20 landrace rice genotypes at Pathum Thani (PT) and Ubon Ratchathani (UB) province during growing season 2017

No.	Genotypes	TPC (mg GAE/g DW)		TFC (μ g CE/g DW)		Antioxidant capacities (% inhibition)			
		PT	UB	PT	UB	ABTS		DPPH	
						PT	UB	PT	UB
1	TU-121	4.61 cde	4.06 fg	264.50 i	337.36 j	4.07 h	8.43 k	26.16 o	20.19 lm
2	TU-122	3.94 fgh	5.46 d	256.74 ij	283.10 k	8.81 fg	14.29 ef	28.94 kl	21.12 kl
3	TU-123	7.61 a	7.21 b	425.74 bcd	532.71 a	15.93 b	20.05 a	36.92 b	29.32 a
4	TU-124	4.31 d-g	3.81 gh	273.80 i	264.50 k	4.38 h	8.86 jk	27.73 mn	19.50 m
5	TU-127	4.66 b-e	4.96 de	379.22 fg	444.34 cd	9.14 ef	13.05 g	35.29 c	23.85 efg
6	TU-129	4.21 d-g	6.16 c	280.00 i	427.29 de	7.76 g	14.66 de	30.04 ij	24.91 cde
7	TU-130	5.16 bc	6.48 c	377.67 fg	366.82 ghi	15.21 b	17.24 c	34.03 d	25.59 cd
8	TU-131	3.16 i	4.51 ef	252.09 ij	410.23 ef	4.43 h	10.19 i	28.31 lm	22.11 ijk
9	TU-133	4.86 bcd	4.81 de	230.39 j	359.58 hij	9.07 f	18.33 b	31.88 ef	24.84 c-f
10	TU-134	5.28 b	4.98 de	360.62 g	287.75 k	11.38 d	13.57 fg	33.82 d	27.08 b
11	TU-135	4.58 c-f	7.76 ab	365.27 g	438.14 cd	19.07 a	19.57 a	29.94 ij	26.04 bc
12	TU-136	3.46 hi	4.56 ef	422.64 cde	348.22 ij	4.43 h	10.52 hi	25.63 o	19.07 m
13	TU-137	2.16 j	3.71 gh	404.03 def	379.22 gh	8.66 fg	12.93 g	27.21 n	21.78 jk
14	TU-138	3.24 i	4.78 e	456.74 ab	442.79 cd	13.28 c	13.43 g	29.73 ij	23.27 ghi
15	TU-140	4.34 d-g	8.31 a	427.29 bcd	448.99 cd	13.67 c	15.14 d	30.72 gh	24.55 d-g
16	TU-144	4.14 efg	3.34 hi	390.08 efg	439.69 cd	10.14 e	11.24 h	31.36 fg	22.49 hij
17	TU-145	4.31 d-g	4.91 de	436.07 bcd	484.65 b	16.19 b	17.24 c	32.04 e	25.63 cd
18	TU-148	7.24 a	3.94 fgh	489.82 a	436.07 cde	20.00 a	14.36 def	37.61 a	23.56 fgh
19	TU-149	3.41 hi	2.94 i	439.17 bc	390.08 fg	8.43 fg	9.29 j	29.57 jk	20.37 lm
20	TU-152	3.78 ghi	4.74 e	326.51 h	459.84 bc	11.76 d	17.33 c	30.30 hi	25.09 cde
Mean		4.42	5.07	362.92	399.07	10.79	13.99	30.86	23.52
F-test		**	**	**	**	**	**	**	**
C.V. (%)		9.06	7.86	5.61	3.97	5.92	3.53	1.28	3.4

** significant at 0.01 probability level; Mean in the column followed by the same letter were not significantly different by DMRT at $p=0.05$.

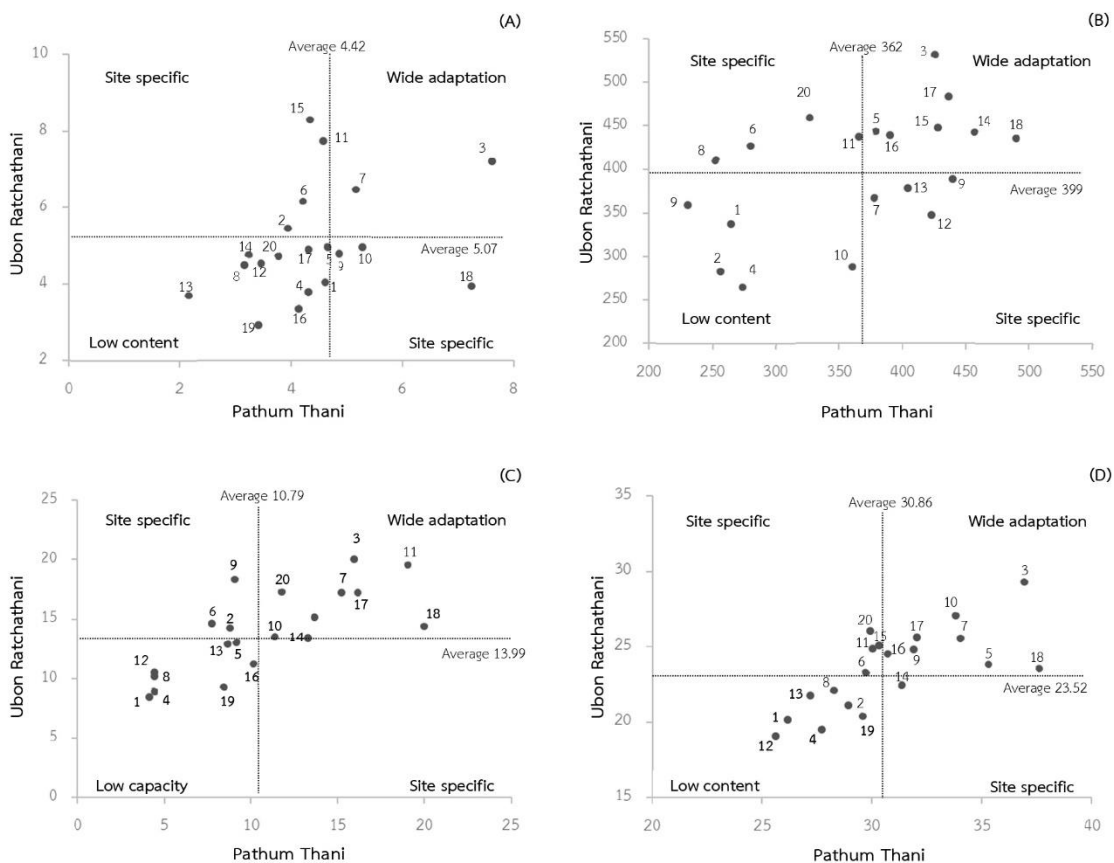


Figure 2 Scatter plot of selected 20 landrace rice genotypes according to experimental site, based on (A) total phenolic content (mg GAE/g DW), (B) total flavonoid content ($\mu\text{g CE/g DW}$), (C) ABTS, and (D) DPPH radical scavenging capacities (% inhibition). The numbers of rice genotype are given in Table 2.

4. สรุป

อิทธิพลของสายพันธุ์ สถานที่ทดสอบ และ ปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์กับสถานที่ทดสอบมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติในทุกลักษณะที่ ศึกษา ยกเว้นปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์กับสถานที่ ทดสอบสำหรับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทาง สถิติ ความแปรปรวนเนื่องจากสายพันธุ์ต่อปริมาณสาร ประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS

เป็นสัดส่วนที่สูงที่สุด (ร้อยละ 59.07, 76.58 และ 66.85 ของความแปรปรวนทั้งหมด) ขณะที่ความ แปรปรวนของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH เกิดจากอิทธิพลของสถานที่ทดสอบคิด เป็นร้อยละ 94.13 ของความแปรปรวนทั้งหมด นอกจากนี้ข้าวพื้นเมืองสายพันธุ์ TU-123, TU-130, TU-145 และ TU-148 มีการปรับตัวได้กว้างสำหรับ ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการ ต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้นสายพันธุ์ข้าวที่มีศักยภาพสูงนี้ จะถูกคัดเลือกเพื่องานปรับปรุงพันธุ์ต่อไปในอนาคต

5. กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ที่สนับสนุนวัสดุอุปกรณ์สำหรับการวิจัยในครั้งนี้

6. References

- [1] Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rice is Life, Available source: <http://www.fao.org/rice2004/en/p17.htm>, October 25, 2017.
- [2] Watchararparpaiboon, W., Laoakunjit, N. and Kerdchoechuen, O., 2010, An improved process for high quality and nutrition of brown rice production, Food Sci. Technol. Int. 16: 147-158.
- [3] Chakuton, K., Puangpronpitag, D. and Nakornriab, M., 2012, Phytochemical content and antioxidant activity of colored and non-colored Thai rice cultivars, Asian J. Plant Sci. 11: 283-293.
- [4] Chen, X.Q., Nagao, N., Itani, T. and Irifune, K., 2012, Anti-oxidative analysis and identification and quantification of anthocyanin pigments in different colored rice, Food Chem. 135: 2783-2788.
- [5] Moko, E.M., Purnomo, H., Kusnadi, J. and Ijong, F.G., 2014, Phytochemical content and antioxidant properties of colored and non-colored varieties of rice bran from Minahasa, North Sulawesi, Indonesia, Int. Food Res. J. 21: 1053-1059.
- [6] Tsao, R., 2010, Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols, Nutrients 2: 1231-1246.
- [7] Sompong, R., Siebenhandl-Ehn, S., Linsberger-Martin, G. and Berghofer, E., 2011, Physicochemical and antioxidative properties of red and black rice varieties from Thailand, China, and Sri Lanka, Food Chem. 124: 132-140.
- [8] Suttana, W., 2013, Anticancer activities of flavonoids: Mechanisms of actions, Srinagarind Med. J. 28: 567-569. (in Thai)
- [9] Pupaka, D., 2016, Rice landraces diversity for developing products of food supplements and functional Foods in Chachoengsao province, KKU Sci. J. 44(3): 566-578. (in Thai)
- [10] Yamuangmorn, S. and Prom-u-thai, C.T., 2016, Variation of anthocyanin content and antioxidant capacity among local Thai purple glutinous rice genotype, J. Agri. 32(2): 191-199. (in Thai)
- [11] Boonsit, P., Pongpichan, P., Julsrigival, S. and Karladee, D., 2010, Gamma-oryzanol content in glutinous purple rice landrace varieties, CMU. J. Nat. Sci. 9(1): 151-157. (in Thai)
- [12] Harakotr, B., Prompoh, K., Boonyuen, S., Suriham, B. and Lertrat, K., 2019, Variability in nutraceutical lipid content of selected rice (*Oryza sativa* L. spp. *indica*) germplasm, Agronomy 9(12): 823.
- [13] Rerkasem, B. and Rerkasem, K., 2002, Agrodiversity for *in situ* conservation of

- Thailand's native rice germplasm, CMU. J. 1: 129-148.
- [14] Shen, Y., Jin, L., Xiao, P., Lu, Y. and Bao, J., 2009, Total phenolics, flavonoids, antioxidant capacity in rice grain and their relations to grain color, size and weight, J. Cereal Sci. 49: 109-111.
- [15] Prompoh, K., Harakotr, B. and Suriharn, B., 2020, Evaluation of rice grain morphological characteristics and lipid compounds using multivariate classification techniques, Thai Sci. Technol. J. 28(7): 1253-1266. (in Thai)
- [16] Sutharut, J. and Sudarat, J., 2012, Total anthocyanin content and antioxidant activity of germinated colored rice, Int. Food Res. J. 19(1): 215-221.
- [17] Folin, O. and Ciocalteu, V., 1927, On tyrosine and tryptophan determinations in proteins, J. Biol. Chem. 73: 627-650.
- [18] Kubola, J., Siriamornpun, S. and Meeso, N., 2011, Phytochemicals, vitamin C and sugar content of Thai wild fruits, J. Agric. Food Chem. 126: 972-981.
- [19] Harakotr, B., Suriharn, B., Tangwongchai, R., Scott, M.P. and Lertrat, K., 2014, Anthocyanins and antioxidant activity in colored waxy corn at different maturation stages, J. Funct. Foods 9: 109-118.
- [20] Gomez, K. A. and Gomez, A. A. , 1984, Statistical Procedures for Agricultural Research, John Wiley and Sons, New York, 680 p.
- [21] Kim, J.K., Lee, S.Y., Chu, S.M., Lim, S.H., Suh, S.C., Lee, Y.T., Cho, H.S. and Ha, S.H., 2010, Variation and correlation analysis of flavonoids and carotenoids in Korean pigmented rice (*Oryza sativa* L.) cultivars, J. Agric. Food Chem. 58(24): 12804-12809.
- [22] Goffman, F. D. and Bergman, C. J. , 2004, Rice kernel phenolic content and its relationship with antiradical efficiency, J. Sci. Food Agric. 84: 1235-1240.
- [23] Joralee, A., 2013, Yield, yield components and gamma oryzanol content of black glutinous rice (*Oryza sativa* L.) grown under various environmental conditions, Master Thesis, Khon Kaen University, Khon Kaen, 103 p. (in Thai)
- [24] Kesarwani, A., Chiang, P.Y. and Chen, S.S., 2014, Distribution of phenolic compounds and antioxidative activities of rice kernel and their relationships with agronomic practice, Sci. World J. 2014: 1-6.
- [25] Lur, H.S., Hsu, C.L., Wu, C.E., Lee, C.Y., Lao, C.L., Wu, Y.C., Chang, S.J., Wang, C.S. and Kondo, M., 2009, Changes in temperature, cultivation timing and grain quality of rice in Taiwan changes in temperature, cultivation timing and grain quality of rice in Taiwan in recent years, Crop Environ. Bioinform. 6: 175-182.