



การตอบสนองทางสรีรวิทยาและการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการทนแล้ง
ของมะเขือเทศพันธุ์ CH154 ด้วยสารบราสซิโนสเตียรอยด์เทียม

THE PHYSIOLOGICAL RESPONSE AND DROUGHT TOLERANT GENE EXPRESSION
OF TOMATO (*Solanum lycopersicum* cv. CH154) BY BRASSINOSTEROIDS MIMIC

พชร มณีโชติ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

2563

การตอบสนองทางสรีรวิทยาและการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการทนแล้ง
ของมะเขือเทศพันธุ์ CH154 ด้วยสารบราสซิโนสเตรอยด์มีมิก



ปริญญาานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ปีการศึกษา 2563
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

THE PHYSIOLOGICAL RESPONSE AND DROUGHT TOLERANT GENE EXPRESSION
OF TOMATO (*Solanum lycopersicum* cv. CH154) BY BRASSINOSTEROIDS MIMIC



PACHARA MANEECHOTE

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of MASTER OF SCIENCE
(Biotechnology)

Faculty of Science, Srinakharinwirot University

2020

Copyright of Srinakharinwirot University

ปริญญานิพนธ์

เรื่อง

การตอบสนองทางสรีรวิทยาและการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการทนแล้ง

ของมะเขือเทศพันธุ์ CH154 ด้วยสารบราสซิโนสเตรอยด์มีมิก

ของ

พชร มณีโชติ

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉัตรชัย เอกปัญญาสกุล)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์

..... ที่ปรึกษาหลัก ประธาน
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุชมาภรณ์ แสงงาม) (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรอุษา คำสุข)

..... ที่ปรึกษาร่วม กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ปรินทร์ ชัยวิสุทธิทางกูร) (รองศาสตราจารย์ ดร.ศิวาพร ลงยันต์)

ชื่อเรื่อง	การตอบสนองทางสรีรวิทยาและการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการทนแล้งของมะเขือเทศพันธุ์ CH154 ด้วยสารบราสซิโนสเตียรอยด์มีมิก
ผู้วิจัย	พชร มณีโชติ
ปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
ปีการศึกษา	2563
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุขุมภรณ์ แสงงาม
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร. ปรีนทร์ ชัยวิสุทธิทางกูร

มะเขือเทศจัดเป็นพืชเศรษฐกิจส่งออกที่สำคัญของประเทศไทย แต่ปัญหาภัยแล้งในปัจจุบันส่งผลกระทบต่อ การเติบโตของมะเขือเทศ จึงทำให้ผู้วิจัยสนใจนำสารที่มีโครงสร้างคล้ายกับฮอร์โมนพืชบราสซิโนสเตียรอยด์ ได้แก่ 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD) มาใช้เพื่อเพิ่มความสามารถในการทนแล้งให้กับต้นมะเขือเทศ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาผลของสาร DHECD ต่อโครงสร้างคลอโรพลาสต์ ดังนี้ความเสียหายของใบ ปริมาณรงควัตถุ การสะสมปริมาณโพรงน้ำ น้ำตาลที่ ละลายน้ำ สารประกอบฟีนอลิกรวม คลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ (F_v/F_m) performance index (PI) กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ ด้านอนุมูลอิสระ ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) การเกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน และการแสดงออกของยีน *CHLASE* ในใบของต้นมะเขือเทศ ภายใต้สภาวะแล้ง โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 6 ทรีตเมนต์ ได้แก่ ต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสภาวะ ปกติและไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสภาวะแล้งระดับ 0.5%(w/v) polyethylene glycol 6000 (PEG) และไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD และต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสภาวะแล้งระดับ 0.5%(w/v) PEG และได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ได้แก่ 10, 50, 100 และ 150 ไมโครโมลาร์ ผลการทดลองพบว่า ต้นมะเขือเทศที่ได้รับการ พ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 10 และ 50 ไมโครโมลาร์ มีปริมาณคลอโรฟิลล์รวม แคโรทีนอยด์ และค่าดัชนีความเสียหายของใบ เพิ่มขึ้น หลังจากได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 9 วัน การพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ ทำให้ต้นมะเขือเทศที่อยู่ใน สภาวะแล้งมีการสะสมปริมาณโพรงน้ำ น้ำตาล และสารประกอบฟีนอลิกรวมในใบเพิ่มขึ้น ในวันที่ 18 ของการทดลอง การใช้สาร DHECD ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ช่วยลดปริมาณ malondialdehyde (MDA) H_2O_2 และระดับการแสดงออกของยีน *CHLASE* ในใบ หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 18 วัน และการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ รักษาสภาพ ของโครงสร้างคลอโรพลาสต์ และส่งเสริมกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ catalase (CAT) ค่า F_v/F_m และ PI ในใบ ของต้นมะเขือเทศ หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 12 วัน เมื่อเทียบกับต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสภาวะแล้งและไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD แสดงให้เห็นว่า การใช้สาร DHECD ส่งเสริมประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสง เพิ่มความสามารถในการทนแล้งให้กับ ต้นมะเขือเทศ โดยเพิ่มการสะสมปริมาณโพรงน้ำและน้ำตาลในใบ และช่วยบรรเทาความเครียดจากสภาวะแล้งได้ โดยกระตุ้นระบบ บำบัดอนุมูลอิสระ เพื่อกดการเกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน อีกทั้งช่วยรักษาสุขภาพของโครงสร้างคลอโรพลาสต์ และปริมาณรงควัตถุในใบภายใต้สภาวะแล้ง นอกจากนี้สาร DHECD ที่ 50 ไมโครโมลาร์ เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดสำหรับ มะเขือเทศพันธุ์ CH154

คำสำคัญ : มะเขือเทศ, ความแล้ง, บราสซิโนสเตียรอยด์มีมิก, ลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน, คลอโรพลาสต์, รงควัตถุ, เอนไซม์ต้านอนุมูล อิสระ, ยีน *CHLASE*

Title	THE PHYSIOLOGICAL RESPONSE AND DROUGHT TOLERANT GENE EXPRESSION OF TOMATO (<i>Solanum lycopersicum</i> cv. CH154) BY BRASSINOSTEROIDS MIMIC
Author	PACHARA MANEECHOTE
Degree	MASTER OF SCIENCE
Academic Year	2020
Thesis Advisor	Assistant Professor Dr. Sukhumaporn Saeng-ngam
Co Advisor	Associate Professor Dr. Parin Chaivisuthangkura

Tomato plants (*Solanum lycopersicum*) are an exported and important economic crop in Thailand. However, drought caused to limit tomato growth. Therefore, the researchers were interested in 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD), which was similar in the structure of brassinosteroids plant hormones for increasing drought tolerance in tomato cv. CH154. This research aimed to investigate the effect of DHECD on the chloroplast ultrastructure, leaf greenness index (SPAD value), photosynthetic pigments, proline, total soluble sugar and total phenolic compounds accumulations, the maximum quantum efficiency of PSII (F_v/F_m), performance index (PI), enzymatic antioxidant activity, hydrogen peroxide (H_2O_2) content, lipid peroxidation and *CHLASE* gene expression. The experiment was divided into six groups as follows: (1) unstressed plants (0% (w/v) polyethylene glycol 6000 (PEG)) without DHECD spray; (2) stressed plants (0.5% (w/v) PEG) without DHECD spray; (3) stressed plants + 10 μ M DHECD; (4) stressed plants + 50 μ M DHECD; (5) stressed plants + 100 μ M DHECD; and (6) stressed plants + 150 μ M DHECD. The results showed that DHECD application at concentrations of 10 μ M and 50 μ M increased total chlorophyll, carotenoids contents and SPAD value in tomato leaves after 9 days of drought. The drought treated plants and spray with 50 μ M DHECD improved accumulations of proline, total soluble sugar and total phenolic compounds on day 18 of the experiment. The MDA, H_2O_2 contents and relative expression of *CHLASE* gene declined in stressed plants and spray with 100 μ M DHECD after 18 days of drought. The DHECD application at a concentration of 50 μ M maintained chloroplast structure and enhanced catalase (CAT) activity, F_v/F_m and PI in stressed tomato leaves on day 12 of the experiment, compared with stressed plants without DHECD spray. These results indicated that DHECD application could enhance photosynthetic efficiency, improve drought tolerance in tomatoes by increasing proline and total soluble sugar contents in leaves, alleviate drought stress by inducing an antioxidant defense system for decreasing lipid peroxidation, and maintain chloroplast structures and photosynthetic pigments in leaves under drought stress. Moreover, DHECD at 50 μ M was the most optimum concentration for tomato cv. CH154.

Keyword : Tomato, Drought, Brassinosteroids mimic, Lipid peroxidation, Chloroplast, Photosynthetic pigments, Enzymatic antioxidant, *CHLASE* gene

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุชумаภรณ์ แสงงาม อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ที่ได้ให้ความรู้ คำแนะนำ และให้คำปรึกษาทางการศึกษาด้านชีววิทยาของพืช ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ในการทำปฏิญานิพนธ์มาโดยตลอด รวมถึงให้คำชี้แจงและปลุกฝังให้ข้าพเจ้ามีระเบียบวินัยในการทำงาน และขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ปรินทร์ ชัยวิสุทธิทางกูร อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่ช่วยแนะนำการทำปฏิญานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์และถูกต้องยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณศูนย์เพื่อความเป็นเลิศทางวิจัยด้านเทคโนโลยีชีวภาพสัตว์ พืช และประติต มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) (RDG6050067) ที่สนับสนุนค่าใช้จ่ายการทำปฏิญานิพนธ์ในครั้งนี้

ข้าพเจ้าขอขอบคุณ ดร.อรรคพล วณิกสัมพันธ์ นางสาวอรพรรณ มานะจิตต์ นางสาวจินิสชา ชูเลิศ นายธีรยุทธ ฤทธิรักษ์ และนางสาวเกศินี ฤทธิงาม ที่ช่วยเหลือการทำงานวิจัยในครั้งนี้ รวมถึงอาจารย์ พี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ ภาควิชาชีววิทยาที่คอยช่วยเหลือและเป็นกำลังใจในการทำปฏิญานิพนธ์ สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ พี่สาว และญาติพี่น้องทุกคน ที่ช่วยสนับสนุนและเป็นกำลังใจในการทำปฏิญานิพนธ์ในครั้งนี้

พชร มณีโชติ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญรูปภาพ	ฐ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ที่มาและความสำคัญ	1
ความมุ่งหมายของการวิจัย.....	2
ขอบเขตของการวิจัย	2
สมมติฐานในการวิจัย.....	3
ผลที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
มะเขือเทศ (tomato).....	4
พันธุ์มะเขือเทศ.....	4
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์	5
มะเขือเทศเชอร์รี่ (cherry tomato).....	6
บทบาทของน้ำต่อการเจริญเติบโตของพืช.....	6
ศักย์ของน้ำ (water potential; Ψ).....	6
สภาวะแล้ง (drought)	7
ผลกระทบของสภาวะแล้งต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาของพืช	8

ความต้านทานของพืชต่อสภาวะแล้ง	9
Polyethylene glycol (PEG).....	10
อนุมูลอิสระ (free radicals).....	11
Reactive oxygen species (ROs).....	13
ปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation)	14
ระบบต่อต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant defense system).....	15
สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds).....	16
เอนไซม์ ascorbate peroxidase (APX).....	17
เอนไซม์ catalase (CAT)	18
ฮอร์โมนบราสซิโนสตีรอยด์ (brassinosteroids).....	18
บราสซิโนสตีรอยด์มิมิก (brassinosteroids mimic)	21
สารออสโมโพรเทคแทนต์ (osmoprotectants)	23
โพรลีน (proline)	24
น้ำตาลที่ละลายน้ำ (soluble sugar).....	26
คลอโรฟิลล์ (chlorophyll).....	27
ความเครียดจากความแล้งต่อปริมาณคลอโรฟิลล์.....	28
ยีน <i>CHLASE</i>	29
ดัชนีความเขียวของใบ (leaf greenness index)	30
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	32
สารเคมีและอุปกรณ์.....	32
สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง.....	32
อุปกรณ์และเครื่องมือ	33
โปรแกรมที่ใช้ในการทดลอง	35

พืชทดลอง.....	36
การศึกษาค่าผลของสารบราสซิโนสเตรอยด์ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาบางประการ ของมะเขือเทศพันธุ์ CH154 ภายใต้ความเครียดจากความแล้ง.....	36
การเตรียมต้นพันธุ์และการวางแผนการทดลอง.....	36
การศึกษาปริมาณรงควัตถุในใบ	37
การศึกษาดัชนีความเขียวของใบ (leaf greenness index; SPAD value).....	37
การศึกษาปริมาณกรดอะมิโนโพรลีน.....	37
การศึกษาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (total soluble sugar).....	38
การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม.....	38
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	38
การศึกษาค่าผลของสารบราสซิโนสเตรอยด์ที่มีต่อการเกิดปฏิกิริยาอะคิลิเพอร์ออกซิเดชัน การ สังเคราะห์ด้วยแสง โครงสร้างคลอโรพลาสต์ การแสดงออกของยีน <i>CHLASE</i> และกิจกรรม การทำงานของเอนไซม์ catalase และ ascorbate peroxidase ในมะเขือเทศพันธุ์ CH154 ภายใต้ความเครียดจากความแล้ง.....	39
การเตรียมต้นพันธุ์และการวางแผนการทดลอง.....	39
การศึกษาคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์พารามิเตอร์.....	39
การศึกษาปริมาณ malondialdehyde (MDA).....	40
การศึกษาปริมาณ hydrogen peroxide (H ₂ O ₂)	40
การศึกษากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ (enzyme activity).....	40
การศึกษาโครงสร้างคลอโรพลาสต์ (chloroplast ultrastructure).....	41
การสกัดอาร์เอ็นเอรวมจากพืชด้วย PureLink [®] RNA Mini Kit	42
การประเมินความบริสุทธิ์และความเข้มข้นของอาร์เอ็นเอที่สกัดได้	42
การทำ semi-quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (RT- PCR)	42

บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	44
ผลของ 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD) ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ในใบ ของต้นมะเขือเทศภายใต้สภาวะแล้ง.....	44
ผลของ 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD) ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ในใบ ของต้นมะเขือเทศภายใต้สภาวะแล้ง.....	45
ผลของ 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD) ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์รวมในใบ ของต้นมะเขือเทศภายใต้สภาวะแล้ง.....	46
ผลของ 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD) ต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ในใบของ ต้นมะเขือเทศภายใต้สภาวะแล้ง.....	47
ผลของ 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD) ต่อดัชนีความเขียวของใบ (SPAD value) ของต้นมะเขือเทศภายใต้สภาวะแล้ง.....	48
ผลของ 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD) ต่อปริมาณโพรลีน (proline) ในใบ ของต้นมะเขือเทศภายใต้สภาวะแล้ง.....	49
ผลของ 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD) ต่อปริมาณน้ำตาล (total soluble sugar) ในใบของต้นมะเขือเทศภายใต้สภาวะแล้ง.....	50
ผลของ 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD) ต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก รวมในใบของต้นมะเขือเทศภายใต้สภาวะแล้ง.....	51
ผลของ 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD) ต่อคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ (F _v /F _m) ของใบของต้นมะเขือเทศภายใต้สภาวะแล้ง.....	52
ผลของ 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD) ต่อค่า performance index (PI) ของใบของต้นมะเขือเทศภายใต้สภาวะแล้ง.....	53
ผลของ 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD) ต่อปริมาณ malondialdehyde (MDA) ในใบของต้นมะเขือเทศภายใต้สภาวะแล้ง.....	54
ผลของ 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD) ต่อปริมาณไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (H ₂ O ₂) ในใบของต้นมะเขือเทศภายใต้สภาวะแล้ง.....	55

ผลของ 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD) ต่อกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ catalase (CAT) ในใบของต้นมะเขือเทศภายใต้สภาวะแล้ง.....	56
ผลของ 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD) ต่อกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ ascorbate peroxidase (APX) ในใบของต้นมะเขือเทศภายใต้สภาวะแล้ง.....	57
ผลของ 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD) ต่อระดับการแสดงออกของยีน <i>CHLASE</i> ในใบของต้นมะเขือเทศภายใต้สภาวะแล้ง	58
ผลของ 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD) ต่อโครงสร้างคลอโรพลาสต์ในใบของต้นมะเขือเทศภายใต้สภาวะแล้ง.....	60
บทที่ 5 สรุปและอภิปรายผลการทดลอง.....	77
ข้อเสนอแนะ.....	83
ข้อเสนอแนะในการศึกษาครั้งต่อไป	83
ข้อเสนอแนะทั่วไป.....	83
บรรณานุกรม.....	85
ประวัติผู้เขียน.....	98

สารบัญตาราง

	หน้า
ตาราง 1 อนุมูลอิสระ (free radicals) และสารที่ไม่ใช่อนุมูลอิสระ (nonradicals)	12
ตาราง 2 กลุ่มของสารประกอบฟีนอลิก.....	17
ตาราง 3 แหล่งพบ BRs ในพืช.....	19
ตาราง 4 คุณสมบัติของไพโรเมอร์.....	35
ตาราง 5 อุณหภูมิ เวลา และจำนวนรอบที่ใช้ในการทำ semi-quantitative RT-PCR	43
ตาราง 6 ผลของสาร DHECD ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ภายใต้สภาวะแล้ง.....	62
ตาราง 7 ผลของสาร DHECD ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ภายใต้สภาวะแล้ง	63
ตาราง 8 ผลของสาร DHECD ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์รวมภายใต้สภาวะแล้ง.....	64
ตาราง 9 ผลของสาร DHECD ต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ภายใต้สภาวะแล้ง.....	65
ตาราง 10 ผลของสาร DHECD ต่อดัชนีความเขียวของใบภายใต้สภาวะแล้ง.....	66
ตาราง 11 ผลของสาร DHECD ต่อปริมาณโพรงใยภายใต้สภาวะแล้ง.....	67
ตาราง 12 ผลของสาร DHECD ต่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมดภายใต้สภาวะแล้ง.....	68
ตาราง 13 ผลของสาร DHECD ต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมภายใต้สภาวะแล้ง	69
ตาราง 14 ผลของสาร DHECD ต่อคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ (F_v/F_m) ภายใต้สภาวะแล้ง	70
ตาราง 15 ผลของสาร DHECD ต่อค่า performance index ภายใต้สภาวะแล้ง.....	71
ตาราง 16 ผลของสาร DHECD ต่อปริมาณ malondialdehyde ภายใต้สภาวะแล้ง.....	72
ตาราง 17 ผลของสาร DHECD ต่อปริมาณไฮโดรเจนเพอออกไซด์ภายใต้สภาวะแล้ง	73
ตาราง 18 ผลของสาร DHECD ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ CAT ภายใต้สภาวะแล้ง.....	74
ตาราง 19 ผลของสาร DHECD ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ APX ภายใต้สภาวะแล้ง.....	75
ตาราง 20 ผลของสาร DHECD ต่อระดับการแสดงออกของยีน <i>CHLASE</i> ภายใต้สภาวะแล้ง.....	76

สารบัญรูปภาพ

	หน้า
ภาพประกอบ 1 โครงสร้างของ polyethylene glycol (PEG)	11
ภาพประกอบ 2 กลไกการเกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน	14
ภาพประกอบ 3 โครงสร้างของสารในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก	16
ภาพประกอบ 4 กลไกการทำลาย H ₂ O ₂ ของเอนไซม์ ascorbate peroxidase	18
ภาพประกอบ 5 กลไกการทำลาย H ₂ O ₂ ของเอนไซม์ catalase	18
ภาพประกอบ 6 โครงสร้างของสาร EBR (ก) และ DHECD (ข)	22
ภาพประกอบ 7 กระบวนการสร้าง (ก) และสลาย (ข) ของกรดอะมิโนโพรงในพืช	25
ภาพประกอบ 8 โครงสร้างของคลอโรฟิลล์ เอ และบี	28
ภาพประกอบ 9 chlorophyllide a (R=CH ₃) (ก) และ phytol (ข)	30
ภาพประกอบ 10 ผลของสาร DHECD ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ภายใต้สภาวะแล้ง	45
ภาพประกอบ 11 ผลของสาร DHECD ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ภายใต้สภาวะแล้ง	46
ภาพประกอบ 12 ผลของสาร DHECD ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์รวมภายใต้สภาวะแล้ง	47
ภาพประกอบ 13 ผลของสาร DHECD ต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ภายใต้สภาวะแล้ง	48
ภาพประกอบ 14 ผลของสาร DHECD ต่อดัชนีความเขียวของใบภายใต้สภาวะแล้ง	49
ภาพประกอบ 15 ผลของสาร DHECD ต่อปริมาณโพรงภายใต้สภาวะแล้ง	50
ภาพประกอบ 16 ผลของสาร DHECD ต่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมดภายใต้สภาวะแล้ง	51
ภาพประกอบ 17 ผลของสาร DHECD ต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมภายใต้สภาวะแล้ง ..	52
ภาพประกอบ 18 ผลของสาร DHECD ต่อคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ (F _v /F _m) ภายใต้สภาวะแล้ง	53
ภาพประกอบ 19 ผลของสาร DHECD ต่อค่า performance index ภายใต้สภาวะแล้ง	54
ภาพประกอบ 20 ผลของสาร DHECD ต่อปริมาณ malondialdehyde ภายใต้สภาวะแล้ง	55
ภาพประกอบ 21 ผลของสาร DHECD ต่อปริมาณไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ภายใต้สภาวะแล้ง	56

ภาพประกอบ 22 ผลของสาร DHECD ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ CAT ภายใต้สภาวะแล้ง	57
ภาพประกอบ 23 ผลของสาร DHECD ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ APX ภายใต้สภาวะแล้ง	58
ภาพประกอบ 24 ผลของสาร DHECD ต่อการแสดงออกของยีน <i>CHLASE</i> ภายใต้สภาวะแล้ง...	59
ภาพประกอบ 25 เจลอิเล็กโทรโฟรีซิสของยีน β -Actin และ <i>CHLASE</i>	59
ภาพประกอบ 26 ต้นมะเขือเทศพันธุ์ CH154 หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 12 วัน	60
ภาพประกอบ 27 ผลของสาร DHECD ต่อโครงสร้างคลอโรพลาสต์ภายใต้สภาวะแล้ง	61



บทที่ 1

บทนำ

ที่มาและความสำคัญ

มะเขือเทศ (*Solanum lycopersicum*) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย และมีมูลค่าการส่งออกที่สูง อีกทั้งยังอุดมไปด้วยสารต่อต้านอนุมูลอิสระ เช่น แคโรทีนอยด์ ไลโคพีน วิตามินซี วิตามินอี และสารประกอบฟีนอลิก (Ayaz et al., 2015, p. 48) ในปัจจุบันพบว่าปัญหาภัยแล้งส่งผลให้ผลผลิตและการเติบโตของพืชลดลง (Saddam, Bibi, Sadaqat, & Usman, 2014, p. 1181) ดังนั้นจึงมีการนำสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth regulator; PGR) บางชนิดมาประยุกต์ใช้เพื่อเพิ่มความทนทานของพืชต่อความเครียดจากสิ่งแวดล้อม (Upreti & Sharma, 2016, p. 20) เช่น ฮอริโมนบราสซิโนสตีรอยด์ (brassinosteroids; BRs) ซึ่งจัดเป็นสาร PGR ที่มีบทบาทในการกระตุ้นการขยายขนาดของเซลล์ (Clouse & Sasse, 1998, p. 437) ส่งเสริมการงอกของเมล็ด กระตุ้นการออกดอก และเพิ่มผลผลิตของพืช (นิติพัฒน์ พัฒนฉัตรชัย, 2553, pp. 137, 139) จากการศึกษาของ Thussagunpanit, Jutamanee, Chai-arree, and Kaveeta (2012, p. 135) พบว่า การใช้สาร 24-epibrassinolide (EBR) ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม BRs ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการสังเคราะห์ด้วยแสง และส่งเสริมการงอกของละอองเรณูของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ภายใต้ความเครียดจากความร้อน และจากการศึกษาของ Ogwen et al. (2008, p. 55) พบว่า สาร EBR ช่วยลดการสะสมปริมาณ malondialdehyde (MDA) และ hydrogen peroxide (H_2O_2) แต่ช่วยเพิ่มกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ต่อต้านอนุมูลอิสระ เช่น superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX) และ guaiacol peroxidase (GPOD) ของใบมะเขือเทศพันธุ์ 9021 ภายใต้อุณหภูมิสูงได้ แต่เนื่องจาก BRs มีต้นทุนการผลิตสูงและมีราคาแพง จึงทำให้มีการนำสารที่มีโครงสร้างและคุณสมบัติคล้าย BRs หรือบราสซิโนสตีรอยด์ที่มีมีก ได้แก่ 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD) มาใช้ทดแทน เนื่องจากมีการศึกษาผลของสาร DHECD พบว่า มีบทบาทในการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงของมะเขือเทศพันธุ์ CH154 ภายใต้สภาวะเครียดจากความแล้ง (สุขุมารภรณ์ แสงงาม, ธนบุรณ พลากุลมณฑล, คณิน คงเอียง, & อภิชาติ สุขสำราญ, 2561, p. 328) และช่วยลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 เมื่อได้รับอุณหภูมิสูง (วีรศิลป์ สอนจรรยา et al., 2556, p. 188)

ดังนั้นในงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยจึงสนใจนำสาร DHECD มาประยุกต์ใช้เพื่อเพิ่มความสามารถในการทนแล้งของมะเขือเทศที่ได้รับสภาวะแล้ง ซึ่งเป็นแนวทางหนึ่งในการเพิ่มความทนทานต่อความเครียดจากความแล้ง โดยในการทดลองครั้งนี้เป็นการศึกษาผลของสาร DHECD ในระดับความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาบางประการของมะเขือเทศพันธุ์ CH154 ภายใต้สภาวะแล้ง โดยปลูกมะเขือเทศในสารละลายธาตุอาหารสูตร Hoagland ที่มีสาร polyethylene glycol 6000 (PEG6000) เพื่อจำลองให้พืชอยู่ในสภาวะความเครียดจากความแล้ง ทำการวิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุในใบ ดัชนีความเขียวของใบ การสะสมกรดอะมิโนโพรลีน ปริมาณของน้ำตาลที่ละลายน้ำ สารประกอบฟีนอลิกรวม เพื่อหาระดับความเข้มข้นของสาร DHECD ที่เหมาะสม เพื่อนำไปใช้ในการทดลองที่ 2 จากนั้นทำการศึกษาผลของสาร DHECD ต่อการแสดงออกของยีน *chlorophyllase (CHLASE)* ด้วยวิธี semi-quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) ศึกษากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ catalase (CAT) และ ascorbate peroxidase (APX) ศึกษาโครงสร้างคลอโรพลาสต์ และศึกษาคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ (F_v/F_m) performance index (PI) MDA และ H_2O_2 ในใบมะเขือเทศภายใต้สภาวะแล้ง

ความมุ่งหมายของการวิจัย

- 1) เพื่อศึกษาผลของสาร DHECD ต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาบางประการของมะเขือเทศพันธุ์ CH154 ภายใต้สภาวะแล้ง ได้แก่ ได้แก่ ปริมาณรงควัตถุในใบ ดัชนีความเขียวของใบ โครงสร้างของคลอโรพลาสต์ การสะสมกรดอะมิโนโพรลีน ปริมาณของน้ำตาลที่ละลายน้ำ สารประกอบฟีนอลิกรวม ปริมาณ MDA H_2O_2 ค่า F_v/F_m และ PI
- 2) เพื่อศึกษาผลของสาร DHECD ต่อการแสดงออกของยีน *CHLASE* ในใบมะเขือเทศพันธุ์ CH154 ภายใต้สภาวะแล้ง
- 3) เพื่อศึกษาผลของสาร DHECD ต่อกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ catalase (CAT) และ ascorbate peroxidase (APX) ในใบมะเขือเทศพันธุ์ CH154 ภายใต้สภาวะแล้ง

ขอบเขตของการวิจัย

การทดลองตอนที่ 1 ทำการพ่นสาร DHECD ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ให้กับต้นมะเขือเทศพันธุ์ CH154 โดยจำลองสภาวะแล้งโดยใช้สาร polyethylene glycol 6000 (PEG6000) แล้วนำตัวอย่างใบมาศึกษาปริมาณรงควัตถุในใบ ดัชนีความเขียวของใบ การสะสม

ปริมาณกรดอะมิโนในโพรลีน น้ำตาลที่ละลายน้ำทั้งหมด สารประกอบฟีนอลิกรวม จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติแบบทางเดียว (One-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 23 และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

การทดลองตอนที่ 2 ทำการพ่นสาร DHECD ให้กับมะเขือเทศพันธุ์ CH154 ที่ได้รับความเครียดจากสภาวะแล้งโดยใช้สารละลาย PEG6000 แล้วเก็บตัวอย่างใบมาวิเคราะห์การแสดงออกของยีน *CHLASE* ด้วยวิธี semi-quantitative RT-PCR โดยเทียบกับยีน *Actin* และศึกษากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ CAT และ APX โครงสร้างของคลอโรพลาสต์ การสะสมปริมาณ MDA H_2O_2 ค่า F_v/F_m และ PI

สมมติฐานในการวิจัย

สาร DHECD น่าจะมีบทบาทในการช่วยเพิ่มดัชนีความเขียวของใบ ปริมาณรงควัตถุในใบ การคงสภาพโครงสร้างคลอโรพลาสต์ การสะสมกรดอะมิโนโพรลีน น้ำตาลที่ละลายน้ำทั้งหมด สารประกอบฟีนอลิกรวม ค่า F_v/F_m และ PI รวมทั้งส่งเสริมกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ CAT และ APX แต่ลดการสะสม MDA H_2O_2 และระดับการแสดงออกของยีน *CHLASE* ในใบของต้นมะเขือเทศพันธุ์ CH154 ภายใต้ความเครียดจากสภาวะแล้งได้

ผลที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบถึงบทบาทของสาร DHECD ต่อกลไกการตอบสนองทางสรีรวิทยาบางประการและการแสดงออกของยีน *CHLASE* ในมะเขือเทศพันธุ์ CH154 ภายใต้ความเครียดจากสภาวะแล้ง

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

มะเขือเทศ (tomato)

มะเขือเทศเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย อยู่ในตระกูล Solanaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Solanum lycopersicum* นิยมปลูกและบริโภคกันอย่างแพร่หลาย รับประทานได้ทั้งในรูปของผลสด สามารถนำผลสดไปประกอบอาหารได้หลายอย่าง และเป็นแหล่งของสารต่อต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ เช่น วิตามินซี วิตามินอี แคโรทีนอยด์ และสารประกอบฟีนอลิก อีกทั้งยังมีสารไลโคปีน (lycopene) เป็นรงควัตถุสีแดงที่มีคุณสมบัติเป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งช่วยป้องกันโรคหลอดเลือดหัวใจและมะเร็งที่ต่อมลูกหมาก มะเร็งเต้านม มะเร็งกระเพาะอาหาร มะเร็งลำไส้ใหญ่ และมะเร็งที่ส่วนปลายของทวารหนัก ในปัจจุบันมีการนำมะเขือเทศส่งเข้าโรงงานอุตสาหกรรมเพื่อแปรรูปในแบบต่าง ๆ เช่น ซอสมะเขือเทศ มะเขือเทศแช่แข็ง และน้ำมะเขือเทศ (Ayaz et al., 2015, p. 48; ทวีทอง หงษ์วิวัฒน์, 2545, p. 59; สุนทร เรื่องเกษม, 2539, p. 97) ดังนั้นมะเขือเทศจึงเป็นที่ต้องการของตลาดอยู่ตลอดทั้งปี แต่ในบางฤดูกาลมีปริมาณมะเขือเทศไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด เนื่องจากในฤดูร้อนและฤดูฝนมีโรคและแมลงรบกวนมาก ส่งผลให้มะเขือเทศเจริญเติบโตได้ไม่ดีและให้ผลผลิตต่ำ ในขณะที่การปลูกมะเขือเทศช่วงฤดูหนาว มะเขือเทศเจริญเติบโตได้ดีและให้ผลผลิตสูง เนื่องจากเป็นพืชที่ต้องการอากาศเย็นในการติดผล และในฤดูหนาวมีโรคแมลงรบกวนน้อยกว่าฤดูอื่น จึงทำให้ได้ผลผลิตสูงและมีคุณภาพดี (เมฆจันทน์ประยูร, 2541, p. 107) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ ตอนกลางวัน 12 องศาเซลเซียส ตอนกลางวัน 28 องศาเซลเซียส (พุมิโอะ, 2555, p. 119) จากการสำรวจในปี พ.ศ. 2559 พบว่า ประเทศไทยมีมูลค่าและปริมาณการส่งออกมะเขือเทศสดหรือแช่เย็นสูงถึง 32.28 ล้านบาท และ 1,876.00 ตัน ตามลำดับ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2560) นอกจากนี้มีเนื้อที่เพาะปลูกมะเขือเทศทั้งสิ้น 36,444 ไร่ ให้ผลผลิตรวม 118,650 ตัน โดยจังหวัดที่มีการเพาะปลูกมะเขือเทศมาก ได้แก่ เพชรบุรี หนองคาย นครพนม สกลนคร และเชียงใหม่ เป็นต้น (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2560)

พันธุ์มะเขือเทศ

พันธุ์มะเขือเทศสามารถแบ่งตามการใช้ประโยชน์ได้ออกเป็น 2 ประเภท ดังนี้ (จิรวัดน์ ภูเสริมภูมิ, 2551, pp. 61-62; สุนทร เรื่องเกษม, 2539, p. 98)

1) พันธุ์สำหรับบริโภคสด สามารถแบ่งตามขนาดผลได้ออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ พันธุ์ผลโต มีลักษณะผลโต ทรงกลมคล้ายแอปเปิ้ล ผลมีสีเขียว เมื่อสุกจะมีสีแดงจัด จำนวนช่องใน

ผลมาก ไม่กลวง เนื้อหนาแน่น รสชาติดี เปลือกไม่เหนียว เหมาะสำหรับนำมาใช้ทำสลัดและระดับจานอาหารให้รับประทาน เช่น พันธุ์ฟลอราเดล และพันธุ์มาสเตอร์เบอร์ 3 เป็นต้น อีกกลุ่มหนึ่งคือ พันธุ์ผลเล็ก มีลักษณะผลเล็ก สีชมพูหรือแดง รสเปรี้ยว ไม่ขม นิยมนำมาใช้ประกอบอาหารพื้นบ้าน สามารถปลูกได้ตลอดทั้งปี เช่น พันธุ์สีดาห่างฉัตร, พันธุ์แอล-22, พันธุ์เอสวีอาร์ดีซี 4, พันธุ์สีดาทิพย์ และพันธุ์สีดาน้ำเค็ม เป็นต้น

2) พันธุ์สำหรับส่งโรงงานอุตสาหกรรม ส่วนใหญ่เป็นพันธุ์ที่ผลสุกพร้อมกัน ivalผลหลุดจากผลได้ง่ายเมื่อเด็ด มีเนื้อมากแต่น้ำน้อย มีปริมาณกรดสูง เมื่อผลสุกจะมีสีแดงจัดตลอดผล ใ้กลางของผลสั้นเล็กและไม่แข็ง เปลือกหนาและเหนียว เช่น พันธุ์อีเอฟ 134-1-2, พันธุ์เซตเตอร์ 500, พันธุ์แพสเซตเตอร์ 600, พันธุ์ปีโต 94, พันธุ์ที่ดับเบิลยู 2 และพันธุ์พี 502 เป็นต้น

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

มะเขือเทศมีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ดังนี้ (ธนาคารกสิกรไทย, 2531, pp. 34-35; นิดดา หงษ์วิวัฒน์, ทวีทอง หงษ์วิวัฒน์, & สุภาพรรณ เยี่ยมชัยภูมิ, 2553, p. 200)

1) ใบ (leaf) เป็นใบประกอบ (compound leaf) ซึ่งมีใบย่อย 7-9 ใบ ลักษณะใบเป็นรูปไข่หรือรูปหอก ขอบใบจัก แผ่นใบขรุขระ มีขนขึ้นปกคลุม

2) ลำต้น (stem) ในระยะแรกของการเจริญเติบโต ลำต้นจะกลม อ่อนเปราะ แต่เมื่อเจริญเติบโตมากขึ้น ลำต้นจะแข็งเป็นเหลี่ยม มีกิ่งก้านสาขาแผ่กว้าง ลักษณะของลำต้นมีทั้งเป็นแบบพุ่มและเลื้อยขึ้นอยู่กับแต่ละพันธุ์

3) ราก (root) เป็นระบบรากแก้ว (tap root) และมีรากแขนง (lateral root) เจริญไปตามแนวนอน รากสามารถฝังลึกลงไปในดินได้ไกลถึง 4 ฟุต

4) ดอก (flower) เกิดเป็นช่อบนลำต้นระหว่างข้อ ดอกมีกลีบเลี้ยง (sepal) สีเขียว 5-10 กลีบ มีกลีบดอก (petal) 5 กลีบ สีเหลือง รูปร่างคล้ายดอกเชื่อมติดกันที่โคน เมื่อดอกบาน กลีบเลี้ยงและกลีบดอกจะโค้งออก กลีบเลี้ยงตอนแรกสั้นกว่ากลีบดอก แต่จะมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อผลแก่ เกสรตัวผู้ (stamen) มี 5 อัน ประกอบด้วยอับเรณู (anther) ขนาดใหญ่ และก้านชูอับเรณู (filament) สั้น อยู่รอบเกสรตัวเมีย (pistil)

5) ผล (fruit) เป็นผลเดี่ยว (simple fruit) รูปร่างของผลมีตั้งแต่กลมจนถึงรี ผิวเปลือกเกลี้ยงเป็นมัน ขนาดและสีไม่แน่นอนขึ้นอยู่กับพันธุ์ สีของผลขึ้นอยู่กับการคัดเลือกได้แก่ ไลโคพิน ทำให้เกิดสีแดง และแคโรทีน ทำให้เกิดสีเหลือง แดง ส้ม และน้ำตาลอ่อน ผลสุกเต็มที่มีสีเหลืองหรือสีแดงสด เมื่อผ่าดูผลจะพบว่า ภายในผลแบ่งเป็นช่อง (locule) ตั้งแต่ 2-15 ช่อง ซึ่งภายในมีเมล็ดขนาดเล็กมากมายล้อมรอบด้วยวุ้น

6) เมล็ด (seed) มีสีเนื้อเข้มถึงสีน้ำตาลอ่อน รูปร่างกลมแบน ปกคลุมด้วยขนสั้น ๆ ทั้งเมล็ด

มะเขือเทศเชอร์รี่ (cherry tomato)

มะเขือเทศเชอร์รี่เป็นมะเขือเทศที่มีผลขนาดเล็ก ผลสุกสีแดงสด รสชาติหวาน และมีเมล็ดน้อย เหมาะสำหรับบริโภคเป็นผลไม้มากกว่านำไปประกอบอาหาร อีกทั้งยังเป็นพืชผักที่มีคุณค่าทางโภชนาการสำหรับผู้บริโภค และเป็นพืชที่ทำรายได้ค่อนข้างสูงให้แก่ผู้ปลูก พันธุ์ของมะเขือเทศเชอร์รี่ที่ปลูกในประเทศไทยเป็นพันธุ์ที่ได้รับการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์จากต่างประเทศทั้งหมด มะเขือเทศเชอร์รี่พันธุ์ CH154 เป็นพันธุ์ที่ทนร้อน สามารถติดผลได้ในสภาพอุณหภูมิสูง แต่ในฤดูร้อนการเจริญเติบโตของลำต้น ใบ แขนงค่อนข้างจำกัด ทรงต้นเล็ก ให้ผลผลิตต่ำกว่า 1,000 กิโลกรัมต่อไร่ และรสชาติไม่หวาน อีกทั้งสีผลออกส้มอมแดงไม่น่ารับประทาน ส่วนฤดูฝนมีความชื้นในดินสูง ส่งผลให้ประสบปัญหาผลแตก ดังนั้นฤดูหนาวจึงเป็นฤดูปลูกที่เหมาะสม โดยช่วงที่อากาศเย็นที่สุดของปีจะได้ผลผลิตมากกว่า 4,000 กิโลกรัมต่อไร่ และคุณภาพผลเป็นที่ยอมรับของตลาด (กรุง สีตะธนี, วิทยา เศรษฐวิทยา, เฉลิมพล มากมูล, ประเสริฐ คำวงษ์, & สุระปานี อาตมากร, 2541, pp. 125-126) ในประเทศพบว่ามีพื้นที่ปลูกมะเขือเทศเชอร์รี่ CH154 อยู่ในภาคกลาง เช่น จังหวัดราชบุรี นครปฐม และกาญจนบุรี เป็นต้น (กรุง สีตะธนี, 2558, p. 364)

บทบาทของน้ำต่อการเจริญเติบโตของพืช

น้ำเป็นตัวทำละลายที่ดีและเป็นองค์ประกอบที่สำคัญภายในเซลล์พืช โดยในเนื้อเยื่อของผักและผลไม้มีน้ำเป็นส่วนประกอบสูงถึง 80-95 เปอร์เซ็นต์ ความสำคัญของน้ำในพืช เช่น จำเป็นต่อปฏิกิริยาออกซิไดซ์น้ำตาลกลูโคสภายในเซลล์ ช่วยควบคุมอุณหภูมิ เป็นตัวกลางในการขนส่งตัวถูกละลายต่าง ๆ ในผลผลิตของพืช ทำให้เซลล์เต่ง ช่วยในการขยายตัวของเซลล์ระหว่างการเจริญเติบโต และทำให้เกิดการปิดเปิดของปากใบ (दनัย บุญยเกียรติ, 2556, pp. 253-255)

ศักย์ของน้ำ (water potential; Ψ)

การเคลื่อนที่ของสารเกิดจากความต่างระดับของพลังงานอิสระ (free energy) ซึ่งเป็นพลังงานที่สามารถเปลี่ยนไปเป็นงานได้โดยสารจะเคลื่อนที่จากจุดที่มีพลังงานอิสระสูงไปสู่จุดที่มีพลังงานอิสระต่ำ พลังงานอิสระของระบบใด ๆ ขึ้นอยู่กับจำนวนโมเลกุลของสารในระบบนั้น ถ้าจำนวนโมเลกุลของสารมาก พลังงานอิสระก็มาก ก่อให้เกิดงานได้มาก ค่าที่บ่งบอกถึงความสามารถในการทำงานของสารคือ ศักย์เคมี (chemical potential; μ) หรือพลังงานอิสระต่อ

จำนวนโมลของสาร (free energy/mole) ผลต่างระหว่างค่า μ ของน้ำในสารละลายใด ๆ กับน้ำบริสุทธิ์ คือ ค่า Ψ (psi) ดังสมการ (1) Ψ เป็นค่าที่บอกถึงความสามารถในการทำงานของน้ำ การเคลื่อนที่ของน้ำ มีหน่วยเป็นบาร์ (bar) หรือบรรยากาศ (atmosphere; atm) หรือเมกะพาสคาล (MPa) โดยน้ำจะเคลื่อนที่จากจุดที่มีค่า Ψ สูง ไปสู่จุดที่มี Ψ ต่ำ เสมอ

$$\Psi = \mu (\text{น้ำในสารละลายใด ๆ}) - \mu (\text{น้ำบริสุทธิ์}) \dots \dots \dots (1)$$

จากสมการ (1) ค่า Ψ ของน้ำบริสุทธิ์จึงมีค่าเท่ากับ 0 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความดัน 1 atm (ลิลลี่ กาวีต๊ะ, มาลี ณ นคร, ศรีสม สุวรรณวงศ์, สุรียา ตันติวิวัฒน์, & ณรงค์ วงศ์กันทรากกร, 2556, p. 10; วิไลภรณ์ บุญญกิจจินดา, 2556a, pp. 35-36) ค่า Ψ ของน้ำภายในเซลล์พืชในสภาพที่อุณหภูมิคงที่เท่ากับผลรวมระหว่าง osmotic potential (Ψ_{π}) และ pressure potential (Ψ_p) ดังสมการ (2) โดย Ψ_{π} คือ ค่า Ψ ที่ลดลงเมื่อมีตัวถูกละลายอยู่ในน้ำ และมีค่าเป็นลบเสมอ ส่วน Ψ_p คือ ค่า Ψ ที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อความดันเปลี่ยนไป เช่น ถ้านำน้ำบริสุทธิ์ไปอยู่ที่ความดัน 1 MPa น้ำจะมีค่า Ψ_p เป็นบวก คือ 1 MPa แต่ถ้านำไปอยู่ที่ความดัน -1 MPa น้ำจะมีค่า Ψ_p เป็นลบ คือ -1 MPa สรุปได้ว่าค่านี้จะเพิ่มขึ้นเมื่อแรงดันเพิ่มขึ้น (ภาคภูมิ พระประเสริฐ, 2550b, pp. 30-31)

$$\Psi_{\text{cell}} = \Psi_{\pi} + \Psi_p \dots \dots \dots (2)$$

สภาวะแล้ง (drought)

สภาวะแล้ง คือ สภาวะที่เกิดจากการขาดน้ำในพื้นที่ใดพื้นที่หนึ่งเป็นเวลานาน ส่งผลให้เกิดความแห้งแล้ง สำหรับสภาวะแล้งในประเทศไทยส่วนใหญ่เกิดจากฝนแล้ง คือปริมาณฝนตกน้อยกว่าปกติหรือฝนไม่ตกตามฤดูกาล ทำให้พืชขาดน้ำและชะงักการเจริญเติบโต ส่งผลให้ผลผลิตที่ได้มีปริมาณลดลงและมีคุณภาพต่ำ (กรมอุตุฯ, 2561) สภาวะแล้งมี 2 แบบ ดังนี้ (วิไลภรณ์ บุญญกิจจินดา, 2556b, p. 161)

1) True drought เป็นสภาวะแล้งที่เกิดจากดินขาดแคลนน้ำ เนื่องจากฝนแล้งหรือการชลประทานไม่ดี ทำให้ระดับน้ำของผิวดินและใต้ดินลดลง

2) Physiological drought เป็นสภาวะแล้งที่เกิดจากในดินยังมีน้ำมากเพียงพอ แต่รากไม่สามารถดูดน้ำไปใช้ได้ เนื่องจากน้ำในดินมีเกลือละลายอยู่ในความเข้มข้นที่สูง ทำให้ค่า Ψ ของน้ำในดินต่ำกว่าน้ำในเซลล์ราก ส่งผลให้น้ำไม่สามารถออสโมซิสเข้าสู่รากได้ หรือเกิดจากน้ำในดินกลายเป็นน้ำแข็ง ทำให้อากาศดูดน้ำไปใช้ไม่ได้ ซึ่งเรียกการเกิดนี้ว่า frost drought

ผลกระทบของสภาวะแล้งต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาของพืช

สภาวะแล้งส่งผลต่อสรีรวิทยาของพืชหลายประการ ดังนี้

1) การเตบโต กล่าวคือ ความเครียดจากความแล้งทำให้ปริมาณน้ำภายในเซลล์ลดลง ส่งผลให้แรงดันเต่ง (turgor pressure) ภายในเซลล์ลดลงและเกิดการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสที่ไม่สมบูรณ์ มีผลให้การขยายตัวตามยาวของเซลล์และการแบ่งเซลล์ลดลง ซึ่งทำให้การเตบโตของพืชลดลง (Farooq, Wahid, Kobayashi, Fujita, & Basra, 2009, p. 186)

2) การดูดธาตุอาหาร กล่าวคือ สภาวะแล้งทำให้การดูดธาตุอาหารในดินของรากลดลง เนื่องจากความแล้งทำให้ปริมาณน้ำในดินลดลง ส่งผลให้ธาตุอาหารในรูปของไอออนในสารละลายดินมีการเคลื่อนที่ไปยังรากลดลง (da Silva, Nogueira, da Silva, & de Albuquerque, 2011, p. 39; Singh & Singh, 2004, p. 337)

3) การสังเคราะห์ด้วยแสง กล่าวคือ ความเครียดจากความแล้งทำให้การสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชลดลง โดยการลดจำนวนของเอนไซม์ ATP synthase ที่อยู่ตรงบริเวณ thylakoid membrane ทำให้ปริมาณ ATP ที่พืชสังเคราะห์ได้มีปริมาณลดลง ส่งผลให้เกิดการลดลงของปริมาณ ribulose-1,5-bisphosphate (RuBP) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในวัฏจักรคัลวิน (Calvin cycle) ที่ทำปฏิกิริยากับแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) โดยมีเอนไซม์ ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (rubisco) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา และถูกสร้างขึ้นโดยการใช้อุณหภูมิและ NADPH (Tezara, Mitchell, Driscoll, & Lawlor, 1999, pp. 915-917) นอกจากนี้ความเครียดดังกล่าว ทำให้การกำจัดตัวยับยั้งออกจาก binding site ของ rubisco ด้วยโปรตีน rubisco activase ลดลง ส่งผลให้กิจกรรมของเอนไซม์ rubisco ลดลง (Reddy, Chaitanya, & Vivekanandan, 2004, p. 1191) อีกทั้งยังทำให้มีการผลิตฮอร์โมนกรดแอบไซซิก (abscisic acid; ABA) ในรากและใบเพิ่มขึ้น ABA ที่สร้างถูกลำเลียงเข้าสู่เซลล์คุม (guard cells) โดยผ่านโปรตีน ATP-binding cassette (ABC) transporter ที่อยู่ตรงบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ จากนั้น ABA ไปกระตุ้นการสร้าง reactive oxygen species (ROSs) เช่น hydrogen peroxide (H_2O_2) ซึ่งเป็นตัวส่งสัญญาณไปกระตุ้นให้ Ca^{2+} ไหลเข้าสู่เซลล์คุม การเพิ่มขึ้นของระดับ Ca^{2+} กระตุ้น Cl^- channel ทำให้ Cl^- ถูกปล่อยออกจากเซลล์คุม ส่งผลให้ศักย์ของเยื่อหุ้มเซลล์ (membrane potential) เป็นบวกเพิ่มขึ้น มีผลให้ K^+ ถูกปล่อยออกจากเซลล์คุม โดยผ่าน K^+_{out} channel เพื่อให้ศักย์ของเยื่อหุ้มเซลล์กลับสู่สภาวะที่มีค่าปกติ นอกจากนี้ปริมาณที่เพิ่มขึ้นของ Ca^{2+} ยังไปยับยั้ง K^+_{in} channel เพื่อป้องกันไม่ให้ K^+ ไหลเข้าสู่เซลล์ (Arve, Torre, Olsen, & Tanino, 2011, pp. 272-273; Pirasteh-Anosheh, Saed-Moucheshi, Pakniyat, & Pessarakli, 2016, pp. 28-29)

การลดลงของปริมาณ K^+ ภายในเซลล์คุม ทำให้ค่า Ψ ของน้ำภายในเซลล์สูงกว่าภายนอกเซลล์ ซึ่งทำให้น้ำออสโมซิสออกจากเซลล์ มีผลให้แรงดันเต่งภายในเซลล์คุมลดลง ส่งผลให้รูปากใบมีขนาดเล็กลง (Luan, 2002, p. 229) การลดขนาดของรูปากใบ ทำให้การแพร่ของ CO_2 เข้าสู่ช่องว่างระหว่างเซลล์ของใบถูกจำกัด ซึ่งนำไปสู่การลดลงของอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง (Lawlor, 1995, p. 131)

ความต้านทานของพืชต่อสภาวะแล้ง

พืชมีความต้านทานต่อความเครียดจากความแล้ง เพื่อให้สามารถอยู่รอดในสภาวะเครียดนั้นได้ ซึ่งความต้านทานของพืชมีหลายประการ ดังนี้ (นวัตน์ อุดมประเสริฐ, 2558, pp. 14-15, 17-18, 20-21, 23, 26)

1) ลดพื้นที่ใบ กล่าวคือ การสูญเสียน้ำภายในเซลล์จากสภาวะแล้ง ทำให้เซลล์เกิดการหดตัวและผนังเซลล์อ่อนตัวลง การลดปริมาตรของเซลล์ทำให้แรงดันเต่งภายในเซลล์ลดลง เมื่อการสูญเสียน้ำของเซลล์ดำเนินต่อไป จะส่งผลให้ความเข้มข้นของสารละลายภายในเซลล์เพิ่มขึ้น และเยื่อหุ้มเซลล์หนาขึ้นและอัดแน่นขึ้น เนื่องจากมีพื้นที่ใบในการห่อหุ้มเล็กลง การลดลงของแรงดันเต่งยับยั้งการขยายขนาดของเซลล์ ทำให้การขยายขนาดของใบดำเนินไปอย่างช้า ๆ การลดลงของพื้นที่ใบช่วยลดการคายน้ำ ซึ่งทำให้พืชมีปริมาณน้ำในดินไว้ใช้ในระยะเวลาที่ยาวนานขึ้น

2) เพิ่มการเจริญเติบโตของราก กล่าวคือ การลดลงของระดับน้ำในดิน ทำให้พืชดูดน้ำได้น้อยลง ส่งผลให้การขยายขนาดของใบถูกยับยั้ง ซึ่งมีผลให้การใช้พลังงานและคาร์บอนลดลง นอกจากนี้อาหารที่พืชสร้างขึ้นจะถูกลำเลียงไปยังระบบราก เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของรากให้ลึกกลงไปในชั้นดินที่มีความชื้นภายใต้สภาวะแล้ง

3) ปิดปากใบ กล่าวคือ ภายใต้สภาวะแล้ง พืชมีการปล่อยฮอร์โมน ABA ที่สะสมบางส่วนใน mesophyll cells ออกไปสู่ช่องว่างระหว่างผนังเซลล์กับเยื่อหุ้มเซลล์ แล้วลำเลียงไปยังเซลล์คุม ทำให้เกิดการลดลงของปริมาณตัวถูกละลายภายในเซลล์คุม ส่งผลให้เซลล์เกิดการสูญเสียน้ำและแรงดันเต่งภายในเซลล์ลดลง ซึ่งนำไปสู่การปิดปากใบเพื่อลดการคายน้ำ

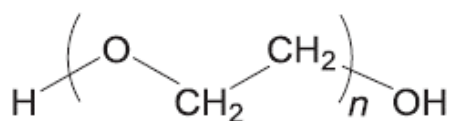
4) ปรับค่า Ψ ภายในเซลล์ กล่าวคือ พืชจะดูดน้ำจากในดินได้ต่อเมื่อค่า Ψ ภายในพืช น้อยกว่า Ψ ของดิน ในสภาวะที่ดินขาดน้ำ ส่งผลให้ค่า Ψ ของดินเป็นลบมากขึ้น ดังนั้นเซลล์พืชจึงมีการสะสมสารประกอบบางชนิดในไซโทพลาสซึม เพื่อทำให้ค่า Ψ_{π} เป็นลบมากขึ้น ส่งผลให้ภายในเซลล์มีค่า Ψ ลดลง แต่แรงดันเต่งไม่ลด โดยสารเหล่านี้เรียกว่า compatible solutes ซึ่งเป็นสารอินทรีย์ที่ไม่รบกวนการทำงานของเอนไซม์ในไซโทพลาสซึม เช่น proline,

sorbitol, sugar alcohol และ glycine-betaine การปรับค่า Ψ นี้ทำให้พืชสามารถดูดน้ำจากในดินได้เพิ่มขึ้น

5) การสะสมคิวติน (cutin) บนผิวใบเพิ่มขึ้น กล่าวคือ ผลจากการขาดน้ำของพืชทำให้บนผิวใบมีการสะสมสารคิวตินเพิ่มขึ้น ทำให้ชั้น cuticle หนาขึ้น ส่งผลให้การคายน้ำที่กำจัดไอน้ำออกมาทางผิวใบที่มีชั้น cuticle เคลือบอยู่ (cuticular transpiration) ลดลง

Polyethylene glycol (PEG)

Polyethylene glycol หรือ PEG (ภาพประกอบ 1) เป็นสารสังเคราะห์ที่มีลักษณะเป็นผงสีขาว ซึ่งสามารถขัดขวางการดูดน้ำของรากได้ เนื่องจากสาร PEG ทำให้ค่า Ψ_{π} ของสารละลายที่อยู่ล้อมรอบเซลล์รากลดลง (สุภาพร ภัสสร, 2561, p. 1211) ดังนั้นสาร PEG จึงถูกนำมาใช้ในการจำลองสภาวะแล้งให้กับพืช นอกจากนี้สารดังกล่าวมีมวลโมเลกุลหลายขนาด เช่น 200, 1000, 4000 และ 6000 ดาลตัน โดยสาร PEG มวลโมเลกุลตั้งแต่ 1000 ดาลตันขึ้นไป มีการเข้าสู่รากพืชน้อยกว่า PEG มวลโมเลกุล 200 (PEG200) (Zyl & Kennedy, 1983, p. 1) จากผลการทดลองของ Steuter, Mozafar, and Goodin (1981, pp. 64-66) พบว่า ที่ PEG ความเข้มข้นเดียวกัน PEG มวลโมเลกุลสูงกว่า มีค่า Ψ_{π} ของสารละลายน้อยกว่า PEG มวลโมเลกุลต่ำกว่า และที่ PEG มวลโมเลกุลเดียวกัน สารละลายที่มีความเข้มข้นของ PEG สูงกว่า มีค่า Ψ_{π} เป็นลบมากกว่า สารละลายที่มีความเข้มข้นของ PEG ต่ำกว่า จากรายงานของ Meher, Shivakrishna, Reddy, and Rao (2018, pp. 285-288) ที่ศึกษาผลของความเครียดจากความแล้งโดยใช้ PEG6000 ต่อปริมาณ RNA ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ (relative water content; RWC) และคลอโรฟิลล์ในใบและรากของถั่วลิสง (*Arachis hypogaea*) พบว่า การใช้ PEG ความเข้มข้น 5, 10, 15 และ 20% (w/v) ทำให้ถั่วลิสงมีปริมาณ RNA ค่า RWC และคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี และปริมาณคลอโรฟิลล์รวมมีค่าลดลง โดยที่ระดับความเข้มข้น 20% (w/v) PEG ทำให้ปริมาณดังกล่าวลดลงมากที่สุด ดังนั้นจากผลการทดลองจึงแสดงให้เห็นว่า ความเครียดจากสภาวะแล้งทำให้ปริมาณ RNA ค่า RWC และคลอโรฟิลล์ของถั่วลิสงลดลง



ภาพประกอบ 1 โครงสร้างของ polyethylene glycol (PEG)

ที่มา: J. Brady; T. Dürig; P. I. Lee; & J. -X. Li. (2017). Polymer properties and characterization. In *Developing Solid Oral Dosage Forms*. p. 219.

อนุมูลอิสระ (free radicals)

อนุมูลอิสระ คือ โมเลกุลหรือสารที่มีความเสถียรต่ำเนื่องจากขาดอิเล็กตรอนไป 1 ตัว และมีความว่องไวในการทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลที่อยู่ภายในเซลล์ (โกสินทร์วิระพร, กุลธิดากล้ารอด, ประณิธิ หงส์ประภาส, & พัชรี บุญศิริ, 2557, p. 208) ซึ่งเกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์ ผลกระทบของอนุมูลอิสระต่อองค์ประกอบต่าง ๆ ของเซลล์ เช่น ทำลายโครงสร้างของสายดีเอ็นเอ สร้างความเสียหายให้กับโปรตีน รบกวนกิจกรรมของเอนไซม์ และชักนำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (lipid peroxidation) ในเยื่อหุ้มเซลล์ ส่งผลให้เยื่อหุ้มเซลล์เกิดความเสียหาย (Sarma, Mallick, & Ghosh, 2010, p. 187) อนุมูลอิสระและสารที่ไม่ใช่อนุมูลอิสระที่สามารถเปลี่ยนไปเป็นอนุมูลอิสระได้ง่าย สามารถแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มใหญ่ (ตาราง 1) (Halliwell, 2006, p. 1636) ดังนี้

1) กลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ (reactive oxygen species; ROSs) เช่น superoxide anion ($\text{O}_2^{\cdot -}$) hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$) hydrogen peroxide (H_2O_2) และ singlet oxygen ($^1\text{O}_2$)

2) กลุ่มที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ (reactive nitrogen species; RNS) เช่น nitric oxide radical (NO^{\cdot}) nitrogen dioxide radical (NO_2^{\cdot}) nitrous acid (HNO_2) และ dinitrogen trioxide (N_2O_3)

3) กลุ่มที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบ (reactive chlorine species; RCS) เช่น hypochlorous acid (HOCl) และ chlorine dioxide (ClO_2)

4) กลุ่มที่มีโบรมีนเป็นองค์ประกอบ (reactive bromine species; RBS) เช่น bromine gas (Br_2) และ hypobromous acid (HOBr)

ตาราง 1 อนุมูลอิสระ (free radicals) และสารที่ไม่ใช่อนุมูลอิสระ (nonradicals)

Free radicals	Nonradicals
ROs	ROs
Superoxide, $O_2^{\bullet -}$	Hydrogen peroxide, H_2O_2
Hydroxyl, $\bullet OH$	Hypobromous acid, $HOBr$
Hydroperoxyl, HO_2^{\bullet}	Hypochlorous acid, $HOCl$
Carbonate, $CO_3^{\bullet -}$	Ozone, O_3
Peroxyl, RO_2^{\bullet}	Organic peroxides, $ROOH$
Alkoxy, RO^{\bullet}	Peroxynitrite, $ONOO^-$
Carbon dioxide radical, $CO_2^{\bullet -}$	Peroxynitrate, O_2NOO^-
	Peroxynitrous acid, $ONOOH$
	Peroxomonocarbonate, $HOOCO_2^-$
	Nitrosoperoxycarbonate, $ONOOCO_2^-$
RNS	RNS
Nitric oxide, NO^{\bullet}	Nitrous acid, HNO_2
Nitrogen dioxide, NO_2^{\bullet}	Nitrosyl cation, NO^+
Nitrate, NO_3^{\bullet}	Nitroxyl anion, NO^-
	Dinitrogen tetroxide, N_2O_4
	Dinitrogen trioxide, N_2O_3
	Peroxynitrite, $ONOO^-$
	Peroxynitrate, O_2NOO^-
	Peroxynitrous acid, $ONOOH$
	Nitronium cation, NO_2^+
	Alkyl peroxynitrites, $ROONO$
	Alkyl peroxynitrates, RO_2ONO
	Nitryl chloride, NO_2Cl
	Peroxyacetyl nitrate, $CH_3C(O)OONO_2$

ตาราง 1 (ต่อ)

Free radicals	Nonradicals
RCS Atomic chlorine, Cl [•]	RCS Hypochlorous acid, HOCl Nitryl chloride, NO ₂ Cl Chloramines Chlorine gas (Cl ₂) Bromine chloride (BrCl) Chlorine dioxide (ClO ₂)
RBS Atomic bromine, Br [•]	RBS Hypobromous acid, HOBr Bromine gas (Br ₂) Bromine chloride (BrCl)

ที่มา: Barry Halliwell. (2006). Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now?. *Journal of Neurochemistry*. 97: 1636.

Reactive oxygen species (ROSs)

ROSs เป็นสารออกซิไดซ์แรงสูงที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ ซึ่งเป็นผลผลิตที่เกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์ เช่น การถ่ายทอดอิเล็กตรอน (electron transport chain) และทำหน้าที่เป็นตัวส่งสัญญาณลำดับที่ 2 (second messenger) ของกระบวนการส่งต่อสัญญาณภายในเซลล์ (Bras, Clément, Pervaiz, & Brenner, 2005, p. 205) โดย ROSs แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ 1) โมเลกุลที่เป็นอนุมูลอิสระ เช่น O₂^{•-} และ [•]OH และ 2) โมเลกุลที่ไม่ใช่อนุมูลอิสระ เช่น H₂O₂ และ ¹O₂ (P. Sharma, Jha, Dubey, & Pessaraki, 2012, p. 1) ถ้ามีปริมาณ ROSs ภายในเซลล์มากกว่าระดับปกติ จะส่งผลให้เกิดภาวะความเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) (Corbi et al., 2013, p. 1) โดย ROSs ที่เกิดขึ้นสามารถสร้างความเสียหายให้กับเซลล์ โดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ทำให้เกิดการสลายของเมมเบรน และเปลี่ยนแปลงระดับการแสดงออกของยีน (Jajic, Sarna, & Strzalka, 2015, p. 393)

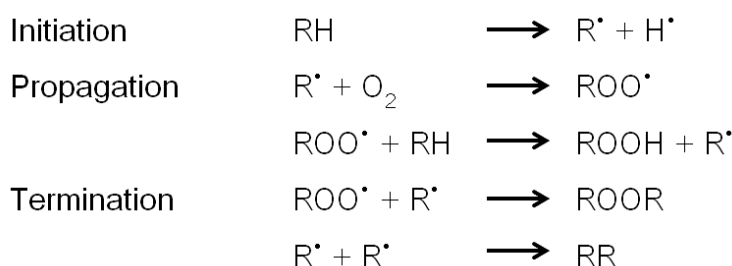
ปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation)

ปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน เป็นกระบวนการที่อนุมูลอิสระเข้าไปทำลายไขมันที่มีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว (polyunsaturated fatty acid) เป็นองค์ประกอบ (Ayala, Muñoz, & Argüelles, 2014, p. 1) ส่งผลให้ลิพิดที่เป็นองค์ประกอบของเมมเบรนเกิดความเสียหาย กลไกการเกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน (ภาพประกอบ 2) คือ

1) ขั้นเริ่มต้น (initiation) เริ่มจาก ROSs ไปดึงอะตอมไฮโดรเจนออกจากกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว ทำให้เกิดเป็นอนุมูลของไขมัน (lipid radical; R[•])

2) ขั้นลุกลาม (propagation) เกิดจาก R[•] ทำปฏิกิริยากับออกซิเจนเกิดเป็น lipid peroxy radical (ROO[•]) ซึ่งเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียร จากนั้น ROO[•] จะดึงอะตอมไฮโดรเจนออกจากกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวตัวอื่นเกิดเป็น R[•] และ lipid hydroperoxide (ROOH) โดย R[•] ที่เกิดขึ้นทำปฏิกิริยากับออกซิเจนตัวต่อไปและเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อไปเรื่อย ๆ ในขณะที่ ROOH ซึ่งเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรเกิดการสลายโครงสร้างเกิดเป็นผลิตภัณฑ์ ได้แก่ malondialdehyde (MDA) และ 4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE)

3) ขั้นสุดท้าย (termination) เป็นการรวมตัวกันของอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น เช่น ROO[•] รวมกับ R[•] ได้เป็น peroxide bridged dimer (ROOR) และ R[•] รวมกับ R[•] ได้เป็น fatty acid dimer (RR) (Choe & Min, 2006, p. 170; Grotto et al., 2009, pp. 169-170; Kudryavtseva et al., 2016, pp. 44882-44883; Makris & Boskou, 2014, pp. 170-171) ดังนั้นในการวิเคราะห์การเกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันจึงพิจารณาจากปริมาณของ MDA ที่เกิดขึ้น



ภาพประกอบ 2 กลไกการเกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน

ที่มา: Ennok Choe; & David B. Min. (2016). Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 5: 170.

Tian, Wang, Zhang, Liu, and Zhao (2012, pp. 189-190) ศึกษากลไกของสารต่อต้านอนุมูลอิสระและการเกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันในใบและกลีบดอกของดาวเรือง (*Tagetes erecta* L.) ต่อการตอบสนองต่อความเครียดจากความแล้ง โดยศึกษาใน 2 พันธุ์ ได้แก่ Chokdee และ Discovery จากการศึกษาการเกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันและการสะสม ROSs พบว่า ดาวเรืองพันธุ์ Discovery และ Chokdee มีปริมาณ MDA H_2O_2 และ $O_2^{\cdot-}$ ในใบและกลีบดอกเพิ่มขึ้น หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 6 วัน เมื่อเทียบกับต้นที่อยู่ในสภาวะปกติ โดยพันธุ์ Discovery มีปริมาณสารดังกล่าวสูงกว่าพันธุ์ Chokdee จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง MDA และ ROSs พบว่า ปริมาณ MDA มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณ H_2O_2 และ $O_2^{\cdot-}$ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) ดังนั้นจากผลการทดลองจึงแสดงให้เห็นว่า ความเครียดจากความแล้งส่งเสริมการสร้าง ROSs ซึ่งมีผลทำให้เกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน นอกจากนี้ดาวเรืองพันธุ์ Chokdee สามารถทนทานต่อความแล้งได้ดีกว่าพันธุ์ Discovery

Jin et al. (2015, pp. 215-220) ศึกษากระบวนการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของผักเบี้ยใหญ่ (*Portulaca oleracea* L.) หลังได้รับสภาวะขาดน้ำและสภาวะที่ได้รับน้ำหลังจากการขาดน้ำ จากการศึกษาการเกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันและการสะสม $O_2^{\cdot-}$ พบว่าผักเบี้ยใหญ่มีปริมาณ MDA และ $O_2^{\cdot-}$ เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 22 วัน เมื่อเทียบกับต้นที่อยู่ในสภาวะปกติ อย่างไรก็ตามปริมาณดังกล่าวลดลงเมื่อพืชได้รับน้ำหลังจากสภาวะแล้ง ดังนั้นจากผลการทดลองจึงแสดงให้เห็นว่า ผักเบี้ยใหญ่มีปริมาณ ROSs และเกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันเพิ่มขึ้น ภายใต้ความเครียดจากความแล้ง แต่ลดลงเมื่อได้รับน้ำหลังจากการขาดน้ำ

ระบบต่อต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant defense system)

ระบบต่อต้านอนุมูลอิสระทำหน้าที่กำจัดปริมาณ ROSs ที่มากกว่าระดับปกติภายในเซลล์ โดยใช้สารต่อต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่

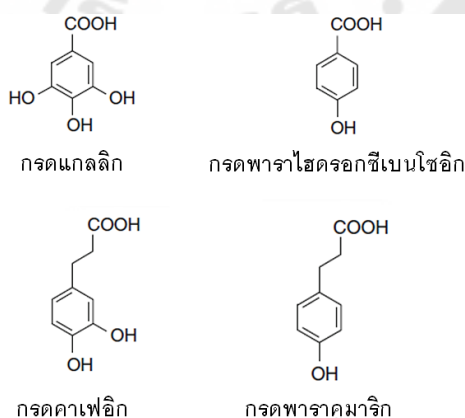
1) สารต่อต้านอนุมูลอิสระในรูปของเอนไซม์ (enzymatic antioxidants) เช่น superoxide dismutase (SOD) glutathione peroxidase (GPX) ascorbate peroxidase (APX) และ catalase (CAT)

2) สารต่อต้านอนุมูลอิสระที่ไม่ได้อยู่ในรูปของเอนไซม์ (non-enzymatic antioxidants) เช่น วิตามินซี (ascorbic acid) วิตามินอี (α -tocopherol) glutathione (GSH)

แคโรทีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ และสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) (Racchi, 2013, p. 342; Valko et al., 2007, p. 50)

สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds)

สารประกอบฟีนอลิก หรือโพลีฟีนอล (polyphenols) เป็นสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) มีบทบาทเป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระ สามารถป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง และโรคหลอดเลือดหัวใจ พบในอาหารจากพืช เช่น ผัก ผลไม้ ธัญพืช และถั่ว อีกทั้งยังพบในเครื่องดื่ม เช่น ไวน์ เบียร์ ชา และโกโก้ โครงสร้างทางเคมีประกอบด้วยวงแหวนอะโรมาติก (aromatic ring) ซึ่งเชื่อมกับหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) อย่างน้อย 1 หมู่ กลุ่มของสารประกอบฟีนอลิกแบ่งตามโครงสร้างพื้นฐาน (ตาราง 2) เช่น กลุ่มของกรดฟีนอลิก (phenolic acid) และกรดไฮดรอกซีซินนามิก (hydroxycinnamic acid) ถูกจัดอยู่ในโครงสร้างพื้นฐานที่มีคาร์บอนอะตอมต่อกันแบบ C_6-C_1 และ C_6-C_3 ตามลำดับ โดยสารในกลุ่มกรดฟีนอลิก เช่น กรดแกลลิก (gallic acid) และกรดพาราไฮดรอกซีเบนโซอิก (*p*-hydroxybenzoic acid) ส่วนสารในกลุ่มกรดไฮดรอกซีซินนามิก เช่น กรดคาเฟอิก (caffeic acid) และกรดพาราคูมาริก (*p*-coumaric acid) (ภาพประกอบ 3) (Balasundram, Sundram, & Samman, 2006, pp. 191-192; Bravo, 198, pp. 317, 319, 321, 327; Lattanzio, 2013, p. 1546) สารประกอบฟีนอลิกสามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ โดยการให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลของไขมัน (Shahidi, Janitha, & Wanasundara, 1992, pp. 70-71)



ภาพประกอบ 3 โครงสร้างของสารในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก

ที่ ม ๑ : Marta Goleniowski; Mercedes Bonfill; Rosa Cusido; & Javier Palazón. (2013). Phenolic acids. In *Natural Products*. p. 1954.

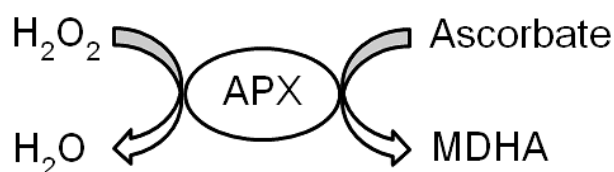
ตาราง 2 กลุ่มของสารประกอบฟีนอลิก

กลุ่ม	โครงสร้าง
Simple phenol, benzoquinones	C_6
Phenolic acid	C_6-C_1
Acetophenone, phenylacetic acid	C_6-C_2
Hydroxycinnamic acid, phenylpropanes	C_6-C_3
Naphthoquinones	C_6-C_4
Xanthones	$C_6-C_1-C_6$
Stilbenes, anthraquinones	$C_6-C_2-C_6$
Flavonoids, isoflavonoids, neoflavonoids	$C_6-C_3-C_6$
Bi-, triflavonoids	$(C_6-C_3-C_6)_{2,3}$
Lignans, neolignans	$(C_6-C_3)_2$
Lignins	$(C_6-C_3)_n$
Catechol melanins	$(C_6)_n$
Condensed tannins	$(C_6-C_3-C_6)_n$

ที่มา: Vincenzo Lattanzio. (2013). Phenolic compounds: introduction. In *Natural Products*. p. 1546.

เอนไซม์ ascorbate peroxidase (APX)

เอนไซม์ APX (EC 1.11.1.11) เป็นเอนไซม์ในกลุ่ม oxidoreductase ซึ่งมีบทบาทในการเร่งปฏิกิริยาการสลายตัวของ H_2O_2 โดยใช้ ascorbate เป็นตัวให้อิเล็กตรอนจำเพาะ (specific electron donor) ได้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำกับ monodehydroascorbate (MDHA) (Caverzan et al., 2012, pp. 1011-1012, 1016) (ภาพประกอบ 4)

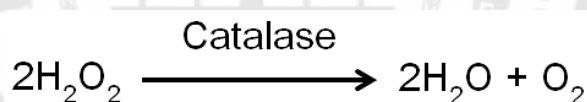


ภาพประกอบ 4 กลไกการกำจัด H_2O_2 ของเอนไซม์ ascorbate peroxidase

ที่มา : Andréia Caverzan; et al. (2012). Plant responses to stresses: role of ascorbate peroxidase in the antioxidant protection. *Genetics and Molecular Biology*. 35(4 Supplement): 1016.

เอนไซม์ catalase (CAT)

เอนไซม์ CAT (EC 1.11.1.6) เป็นเอนไซม์ในกลุ่ม oxidoreductase ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการกำจัด ROSs โดยการเปลี่ยน H_2O_2 ให้กลายเป็นน้ำ (H_2O) กับแก๊สออกซิเจน (O_2) (Kaushal, Mehandia, Singh, Raina, & Arya, 2018, p. 192) (ภาพประกอบ 5)



ภาพประกอบ 5 กลไกการกำจัด H_2O_2 ของเอนไซม์ catalase

ที่มา : Wayne F. Beyer; & Irwin Fridovich. (1988). Catalase—with and without heme. In *Oxygen Radicals in Biology and Medicine*. p. 651.

ฮอร์โมนบราสสิโนสเตียรอยด์ (brassinosteroids)

บราสสิโนสเตียรอยด์ (brassinosteroids; BRs) จัดเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่สามารถกระตุ้นการขยายตัวของเซลล์ ชักนำการออกดอก เพิ่มผลผลิตพืช ส่งเสริมการงอกของเมล็ด และเพิ่มความทนทานต่อความเครียดจากปัจจัยทางชีวภาพและกายภาพ (นิติพัฒน์ พัฒนฉัตรชัย, 2553, pp. 137-139) แหล่งพบ BRs ในพืช เช่น เมล็ด ละอองเรณู ใบ และลำต้น (ตาราง 3) (S. S. R. Rao, Vardhini, Sujatha, & Anuradha, 2002, p. 1240) สารในกลุ่ม BRs เช่น 24-epibrassinolide (EBR) (ภาพประกอบ 6ก)

ตาราง 3 แหล่งพบ BRs ในพืช

Plant part	Plant species
Pollen	<i>Helianthus annuus</i> , <i>Alnus glutinosa</i> , <i>Brassica napus</i> , <i>Robinia pseudo-acacia</i> , <i>Vicia faba</i> , <i>Fagopyrum esculentum</i> , <i>Citrus unshiu</i> , <i>Citrus sinensis</i> , <i>Cupressus arizonica</i> , <i>Pinus thunbergii</i> , <i>Cryptomeria japonica</i>
Seed	<i>Gypsophili perfoliata</i> , <i>Beta vulgaris</i> , <i>Pharbitis purpurea</i> , <i>Brassica campestris</i> , <i>Raphanus sativus</i> , <i>Cassia tora</i> , <i>Lablab purpureus</i> , <i>Orinthopus sativus</i> , <i>Phaseolus vulgaris</i> , <i>Pisum sativum</i> , <i>Vicia faba</i> , <i>Cannabinus sativa</i> , <i>Apium graveolens</i>
Shoot	<i>Arabidopsis thaliana</i> , <i>Ornithopus sativus</i> , <i>Pisum sativum</i> , <i>Lycopersicon esculentum</i>
Leaf	<i>Castanea crenata</i> , <i>Distylium recemosus</i> , <i>Thea sinensis</i>
Others	
Cultured cell	<i>Catharanthus roseus</i>
Panicle	<i>Rheum rhabarum</i>
Cambial region	<i>Cryptomeria japonica</i>
Gall	<i>Castanea crenata</i>
Strobilus	<i>Equisetum arvense</i>
Thallus	<i>Hydrodictyon reticulatum</i>

ที่มา: S. Seeta Ram Rao; B. Vidya Vardhini; E. Sujatha; & S. Anuradha. (2002).
Brassinosteroids-a new class of phytohormones. *Current Science*. 82(10): 1240.

Yuan et al. (2010, pp. 103-107) ศึกษาผลของสารบราสซิโนสตีรอยด์ต่อการต้านทานความแล้งและปริมาณกรดแอบไซซิก (abscisic acid; ABA) ของมะเขือเทศพันธุ์ Ailsa Craig ภายใต้ความเครียดจากสภาวะขาดน้ำ จากการศึกษาในมะเขือเทศดัดแปลงพันธุกรรมให้ไม่มีการสังเคราะห์ฮอร์โมน ABA (*notabilis*; *not*) พบว่า การพ่นสาร EBR ที่ระดับความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ ให้กับ *not* ทำให้ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ ความเข้มข้นของ ABA อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงสุทธิ (net photosynthetic rate; PN) และกิจกรรมของเอนไซม์ SOD CAT และ APX เพิ่มขึ้น ในขณะที่ ค่านำาไหลปากใบ (stomatal conductance; g_s) ความเข้มข้นของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ในช่องว่างระหว่างเซลล์ (intercellular CO_2 concentration; C_i) ปริมาณ H_2O_2 และ MDA ลดลง หลังจากได้รับสภาวะขาดน้ำเป็นเวลา 2 วัน เมื่อเทียบกับ *not* ที่ไม่ได้รับ EBR ในสภาวะขาดน้ำ ดังนั้นจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การใช้สาร EBR ช่วยบรรเทาความเครียดจากสภาวะขาดน้ำของ *not* ได้ โดยการลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน เพิ่มอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง ส่งเสริมกิจกรรมของเอนไซม์ต่อต้านอนุมูลอิสระ และเพิ่มความเข้มข้นของ ABA เพื่อกระตุ้นการปิดปากใบ

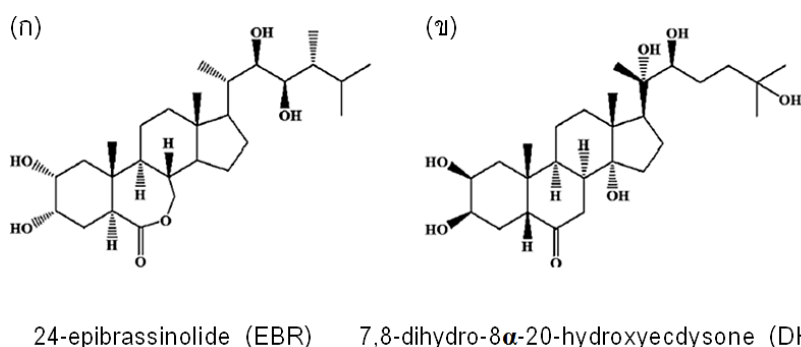
Ding et al. (2012, pp. 767-769) ศึกษาการบรรเทาความเครียดจากความเค็มในต้นมะเขือม่วง (*Solanum melongena* L. cv. Huqie 08-9) ด้วยการพ่นสาร EBR จากผลการทดลองพบว่า สาร EBR ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ต้นมะเขือม่วงที่ได้รับสภาวะเค็มจาก NaCl เข้มข้น 90 มิลลิโมลาร์ มีความสูง เส้นผ่านศูนย์กลางต้น น้ำหนักสดต้นและราก ปริมาณกลูตาไธโอน การสะสมวิตามินซี กิจกรรมของเอนไซม์ SOD, POD และ CAT การสะสม K^+ และ Ca^{2+} ในใบและราก และอัตราส่วนของ K^+ ต่อ Na^+ และ Ca^{2+} ต่อ Na^+ ในใบและราก เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่มีการสะสม Na^+ และ Cl^- ในใบและราก และปริมาณ MDA, H_2O_2 , $O_2^{\cdot-}$ และการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับสาร EBR ในสภาวะเค็ม ดังนั้นจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การใช้สาร EBR ช่วยกระตุ้นความทนทานต่อความเค็มในต้นมะเขือม่วงพันธุ์ Huqie 08-9 โดยการรักษาสสมดุลของอิออน และส่งเสริมระบบต่อต้านอนุมูลอิสระ เพื่อกำจัด ROSs

Çoban and Baydar (2016, pp. 251-257) ศึกษาผลของสารบราสซิโนสตีรอยด์ต่อสรีรวิทยาบางประการ คุณสมบัติของสารชีวโมเลกุล และการสะสมสารเมแทบอลิท์ทุติยภูมิในต้นเปปเปอร์มินต์ (*Mentha piperita* L.) ภายใต้ความเครียดจากความเค็ม จากผลการทดลองพบว่า การพ่นสาร EBR ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้กับต้นเปปเปอร์มินต์ที่ได้รับสภาวะ

ปกติ ทำให้น้ำหนักสดและแห้งของต้นส่วนเหนือดิน และน้ำหนักแห้งใบเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่ดัชนีการบาดเจ็บ (injury index) ค่าการนำไฟฟ้า ปริมาณ MDA การสะสมกรดอะมิโนโพรลีน และกิจกรรมของเอนไซม์ SOD, CAT และ APX ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่การใช้สาร EBR ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ใบมีการสะสมปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและน้ำมันหอมระเหยรวมเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับสาร EBR ในสภาวะปกติ ส่วนการพ่นสาร EBR ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้กับต้นเปปเปอร์มินต์ที่ได้รับสภาวะเค็มจาก NaCl เข้มข้น 150 มิลลิโมลาร์ ทำให้ดัชนีการบาดเจ็บ ค่าการนำไฟฟ้า ปริมาณ MDA และกิจกรรมของเอนไซม์ SOD, CAT และ APX ลดลง แต่มีการสะสมน้ำมันหอมระเหยรวมที่ใบเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่น้ำหนักสดและแห้งของต้นส่วนเหนือดิน น้ำหนักแห้งใบ การสะสมโพรลีน และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับสาร EBR ในสภาวะเค็มจาก NaCl เข้มข้น 150 มิลลิโมลาร์ ดังนั้นจากผลการทดลองจึงแสดงให้เห็นว่า การพ่นสาร EBR ให้กับต้นเปปเปอร์มินต์ ช่วยเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและน้ำมันหอมระเหยรวม อีกทั้งส่งเสริมการเติบโตภายใต้สภาวะปกติ นอกจากนี้ยังช่วยรักษาโครงสร้างของเมมเบรนและลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันภายใต้ความเครียดจากความเค็ม

บราสซิโนสเตียรอยด์มีมิก (brassinosteroids mimic)

บราสซิโนสเตียรอยด์มีมิก (brassinosteroids mimic) จัดเป็นสารที่มีโครงสร้างทางเคมีคล้ายกับสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่ม BRs เช่น 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD) (ภาพประกอบ 6ข) สารดังกล่าวถูกเปลี่ยนมาจากสาร 20-hydroxyecdysone ซึ่งเป็นสารที่พบในส่วนเปลือกของต้นไช้เนา (*Vitex glabrata* R. Br.) (Werawattanametin, Podimuang, & Suksamrarn, 1986, p. 365)



ภาพประกอบ 6 โครงสร้างของสาร EBR (ก) และ DHECD (ข)

ที่ ม า : Jutiporn Thussagunpanit; et al. (2013). Effects of brassinosteroid and ecdysone analogue on pollen germination of rice under heat stress. *Journal of Pesticide Science*. 38(3): 106.

วีรศิลป์ สอนจรรยา et al. (2556, pp. 183, 187-188) ศึกษาผลของบราสซิโนสเตอรอยด์ต่อการสังเคราะห์ด้วยแสงและลิพิดเปอร์ออกซิเดชันของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ภายใต้ความเครียดจากความร้อน จากผลการทดลองพบว่า ในวันที่ 9 ของการทดลอง การใช้สาร DHECD ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 และ 1 ไมโครโมลาร์ ทำให้ข้าวที่ได้รับสภาวะอุณหภูมิสูงมีค่าอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงสุทธิเพิ่มขึ้น แต่มีปริมาณ MDA ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) เมื่อเทียบกับต้นข้าวที่ไม่ได้รับสาร DHECD ในสภาวะอุณหภูมิสูง แต่การใช้สาร DHECD ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ ช่วยลดปริมาณ MDA ได้ดีที่สุดในวันที่ 3 ของการทดลอง ดังนั้นจากการทดลองจึงแสดงให้เห็นว่า การใช้สาร DHECD สามารถบรรเทาความเครียดจากความร้อนของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ได้ โดยเพิ่มอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง และลดการเกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันในข้าว

เกษรวิภา เมทเมรุรัตน์, ลิลลี่ กาวีตะ, มาลี ณ นคร, and อรุษา คาสุข (2558, pp. 167-173) ศึกษาผลของสารบราสซิโนสเตอรอยด์มีมิก (DHECD) ต่อการเติบโตทางลำต้นและผลผลิตของมันสำปะหลัง (*Manihot esculenta* Crantz. cv. Huay Bong 80) จากการศึกษาค้นคว้าของสาร 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD 4) และ EBR ต่อการเติบโตทางลำต้นและรากของมันสำปะหลังพบว่า 16 สัปดาห์หลังปลูก การใช้สาร DHECD 4 และ EBR ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-9} โมลาร์ ส่งเสริมการเติบโตด้านความยาวต้น โดยทำให้มีความสูงเป็น 30.28 และ 32.40 เซนติเมตร ตามลำดับ นอกจากนี้สาร DHECD 4 และ EBR ความเข้มข้น 10^{-11} และ 10^{-8}

โมลาร์ ตามลำดับ ทำให้น้ำหนักสดและแห้งของรากฝอยและรากสะสมเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับชุดควบคุม จากการศึกษาผลของสาร DHECD 4 และ 7,8-dihydro-8 α ,5 α -20-hydroxyecdysone (DHECD 5) ต่อการเติบโตทางลำต้นและผลผลิตของมันสำปะหลังในสภาพแปลงพบว่า การใช้สาร DHECD 4 ทำให้มันสำปะหลังมีพื้นที่ทรงพุ่มและดัชนีความเขียวของใบมากกว่าการใช้สาร DHECD 5 ในขณะที่สาร DHECD 5 (16.78 รากต่อต้น) สามารถกระตุ้นการเกิดรากสะสมอาหารได้มากกว่าสาร DHECD 4 (15.78 รากต่อต้น) นอกจากนี้สารละลายเข้มข้น 10^{-9} โมลาร์ ทำให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของรากสะสมอาหารเพิ่มขึ้นเป็น 8.58 และ 0.53 ต้นต่อไร่ ตามลำดับ เมื่อใช้สาร DHECD 4 และ 8.02 และ 0.50 ต้นต่อไร่ ตามลำดับ เมื่อใช้สาร DHECD 5 ดังนั้นจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การใช้สาร DHECD 4 ช่วยส่งเสริมการเติบโตทางลำต้น และเพิ่มน้ำหนักสดและแห้งของรากฝอยและรากสะสมอาหารของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 80

สุขุมภรณ์ แสงงาม, ศรุตพงศ์ มารยาท, กานติมา ตาคำ, and อภิชาติ สุขสำราญ (2561, pp. 372-373) ศึกษาผลของสาร DHECD ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และการสะสมไนเตรทของผักกาดหอมพันธุ์กรีนโอ๊คที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิคส์ จากผลการทดลองพบว่า ในวันที่ 8 ของการทดลอง การพ่นสาร DHECD ในช่วงระดับความเข้มข้น 10^{-4} ถึง 10^{-9} โมลาร์ ทำให้ผักกาดมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยสาร DHECD ที่ความเข้มข้น 10^{-7} โมลาร์ ทำให้พืชมีการสะสมคลอโรฟิลล์ เอ สูงสุด ในขณะที่การสะสมไนเตรทลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในช่วงระดับความเข้มข้น 10^{-4} ถึง 10^{-8} โมลาร์ ของสาร DHECD เมื่อเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับการพ่นสาร DHECD (ชุดควบคุม) ดังนั้นจากผลการทดลองจึงแสดงให้เห็นว่า สาร DHECD ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-7} โมลาร์ เหมาะสมสำหรับการนำมาใช้เพิ่มปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และลดการสะสมไนเตรทในผักกาดหอมพันธุ์กรีนโอ๊คที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิคส์

สารออสโมโพรเทคแทนต์ (osmoprotectants)

ออสโมโพรเทคแทนต์หรือ compatible solutes เป็นสารที่มีโมเลกุลขนาดเล็กที่พืชสร้างขึ้นมาในช่วงที่ได้รับความเครียดออสโมติก (osmotic stress) โดยแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ

- 1) กรดอะมิโน เช่น โพรลีน (proline) เอกโตอิน (ectoine)
- 2) น้ำตาล (soluble sugars) เช่น ซูโครส (sucrose) เทรฮาโลส (trehalose)

ฟรักแทน (fructans)

3) quaternary amines เช่น ไกลซีน-บีเทน (glycine-betaine) และโพลิเอมีน (polyamines) (Khan, Ahmad, & Khan, 2015, p. 258) การสะสมตัวถูกละลายดังกล่าวมีหน้าที่ช่วยรักษาค่าศักย์ของน้ำภายในเซลล์ให้ต่ำกว่าภายนอกเซลล์ เพื่อป้องกันการสูญเสียน้ำออกจากเซลล์ นอกจากนี้ยังช่วยรักษาแรงดันเต่ง (turgor pressure) ของเซลล์ให้อยู่ในสภาวะปกติ (ปรียานุช ลาขุนทด, ปิยะดา ธีระกุลพิศุทธิ, จิรวัดณ์ สนิทชน, & โจนาลิชา แอล เชียงหลิว, 2558, p. 680)

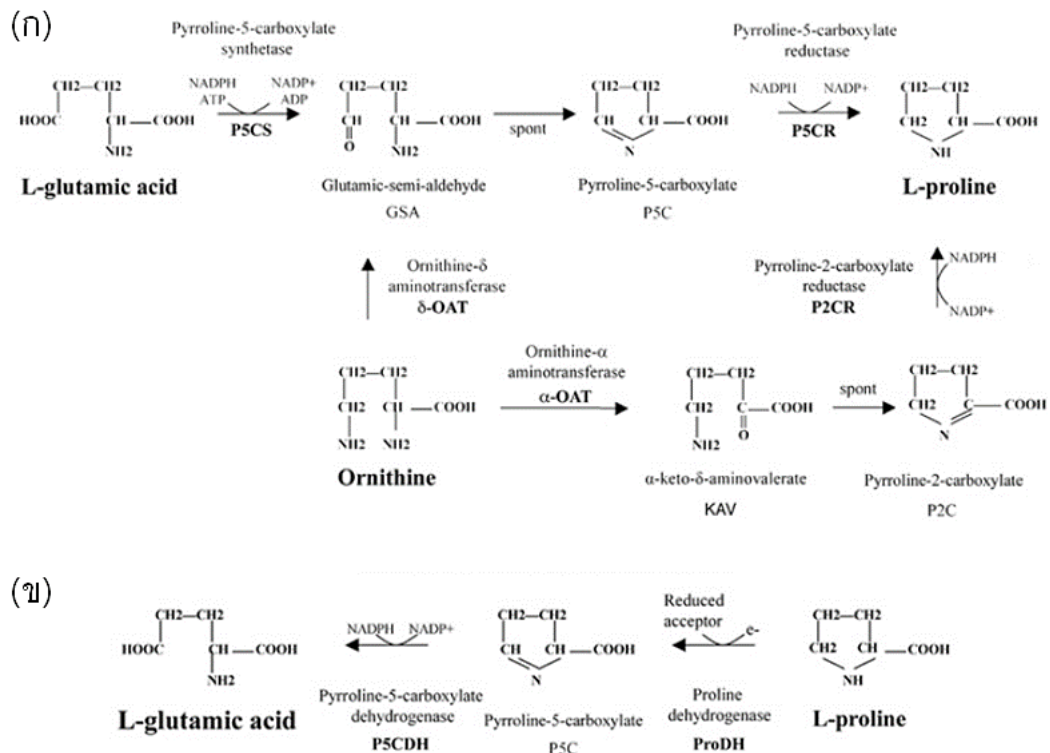
โพรลีน (proline)

โพรลีนเป็นกรดอะมิโนที่ไม่มีซัลฟู การสร้างโพรลีนเกิดขึ้นที่ไซโทพลาสซึมหรือคลอโรพลาสต์ โดยแบ่งออกเป็น 2 วิธี (ภาพประกอบ 7ก) คือ

1) กรดกลูตามิก (glutamic acid) เป็นสารตั้งต้น ซึ่งถูกเปลี่ยนเป็น glutamic- γ -semialdehyde (GSA) โดยเอนไซม์ Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase (P5CS) ต่อมา GSA ถูกเปลี่ยนเป็น Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate (P5C) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเอง จากนั้น P5C ถูกเปลี่ยนเป็นโพรลีน โดยเอนไซม์ Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate reductase (P5CR) (Verslues & Sharma, 2010, pp. 2, 5)

2) ออร์นิทีน (ornithine) เป็นสารตั้งต้น ซึ่งถูกเปลี่ยนเป็น GSA โดยเอนไซม์ ornithine- δ -aminotransferase (δ -OAT) จากนั้น GSA ถูกเปลี่ยนเป็น P5C แล้วถูกเปลี่ยนเป็นโพรลีน โดย P5CR หรือออร์นิทีนถูกเปลี่ยนเป็น α -keto- δ -aminovalerate (KAV) โดยเอนไซม์ ornithine- α -aminotransferase (α -OAT) ต่อมา KAV ถูกเปลี่ยนเป็น pyrroline-2-carboxylate (P2C) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเอง จากนั้น P2C ถูกเปลี่ยนเป็นโพรลีน โดยเอนไซม์ pyrroline-2-carboxylate reductase (P2CR) (Trovato, Mattioli, & Costantino, 2008, p. 329)

ในการสลายโพรลีน (ภาพประกอบ 7ข) เกิดขึ้นที่ไมโทคอนเดรีย ซึ่งมีกระบวนการคือโพรลีนถูกเปลี่ยนเป็น P5C โดยเอนไซม์ proline dehydrogenase (PDH) หรือ proline oxidase (POX) จากนั้น P5C ถูกเปลี่ยนเป็นกรดกลูตามิก โดยเอนไซม์ Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate dehydrogenase (P5CDH) (Hayat et al., 2012, p. 1457)



ภาพประกอบ 7 กระบวนการสร้าง (ก) และสลาย (ข) ของกรดอะมิโนโพรลีนในพืช

ที่มา : Maurizio Trovato; Roberto Mattioli; & Paolo Costantino. (2008). Multiple roles of proline in plant stress tolerance and development. *Rendiconti Lincei*. 19: 328.

บทบาทสำคัญของโพรลีนเมื่อพืชได้รับความเครียดจากสภาวะแล้ง คือ ช่วยปกป้องโปรตีน และส่งเสริมกิจกรรมของเอนไซม์ (Szabados & Savouré, 2009, p. 92) อีกทั้งยังช่วยรักษาแรงดันเต่งภายในเซลล์ และทำให้เมมเบรนมีเสถียรภาพ โดยการป้องกันการเกิดการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ (Hayat et al., 2012, p. 1456) นอกจากนี้พบว่า โพรลีนสามารถกำจัด H₂O₂ และ ·OH ได้ โดยการใช้พันธะเปปไทด์ทำปฏิกิริยากับ ROSs ดังกล่าว แล้วเกิดเป็นโครงสร้างที่เสถียรคือ proline nitroxyl radical และ hydroxyproline ตามลำดับ (Liang, Zhang, Natarajan, & Becker, 2013, p. 1002)

สุกัญญา ใจโพธิ์ and สุรินทร์ นิลสำราญ (2545, pp. 201, 204, 206) ศึกษาผลของสภาวะความเครียดจากน้ำต่อปริมาณโพรลีนและการเติบโตของสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 จากการศึกษาปริมาณโพรลีนพบว่า การรดน้ำทันทีเป็นระยะเวลา 10 วัน ทำให้ต้นสตรอว์เบอร์รี่ในระยะออกดอกและติดผลมีปริมาณโพรลีนในใบเพิ่มขึ้นเป็น 6.24 และ 57.76 เท่า ตามลำดับ เมื่อ

เทียบกับต้นที่ได้รับน้ำปกติ จากการศึกษาคุณภาพผลผลิตพบว่า สภาวะการรดน้ำทำให้น้ำหนักผล ปริมาตรผล ขนาดผล และปริมาณวิตามินซีของสตอร์วเบอร์รี่ในระยะออกดอกและติดผลไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับต้นที่ได้รับน้ำปกติ ดังนั้นจากผลการทดลองจึงแสดงให้เห็นว่า ปริมาณโพสลินที่เพิ่มขึ้นในสภาวะเครียดจากการรดน้ำ เป็นการตอบสนองและปรับตัวให้อยู่ได้ในสภาพที่ไม่เหมาะสม นอกจากนี้สตอร์วเบอร์รี่ในระยะติดผลมีการปรับตัวต่อสภาวะขาดน้ำได้ดีกว่าระยะออกดอก

Zhang et al. (2014, pp. 1729-1732) ศึกษาผลของความเครียดจากความแล้งต่อการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันและปริมาณโพสลินในรากของฝ้ายพันธุ์ไม่ทนความแล้ง (drought-sensitive) และทนความแล้ง (drought-resistant) ซึ่งคือ พันธุ์ CCRI-27 และ CCRI-60 ตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่า สภาวะแล้งที่ระดับความเข้มข้น 10% และ 20% (w/v) PEG6000 หรือ -0.52 และ -0.77 MPa ตามลำดับ ทำให้รากของฝ้ายพันธุ์ CCRI-27 มีปริมาณโพสลิน MDA และ H_2O_2 เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่รากของฝ้ายพันธุ์ CCRI-60 มีปริมาณโพสลินเพิ่มขึ้น แต่ปริมาณ MDA และ H_2O_2 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับฝ้ายในสภาวะปกติ นอกจากนี้การสะสมโพสลินในรากของฝ้ายพันธุ์ CCRI-60 มากกว่าพันธุ์ CCRI-27 ดังนั้นจากผลการทดลองจึงแสดงให้เห็นว่า การสะสมโพสลินที่เพิ่มขึ้นในสภาวะขาดน้ำเป็นการตอบสนองอย่างหนึ่งของพืช เพื่อเพิ่มความทนทานต่อความเครียดโดยฝ้ายพันธุ์ CCRI-60 สามารถทนทานต่อความแล้งได้ดีกว่าพันธุ์ CCRI-27

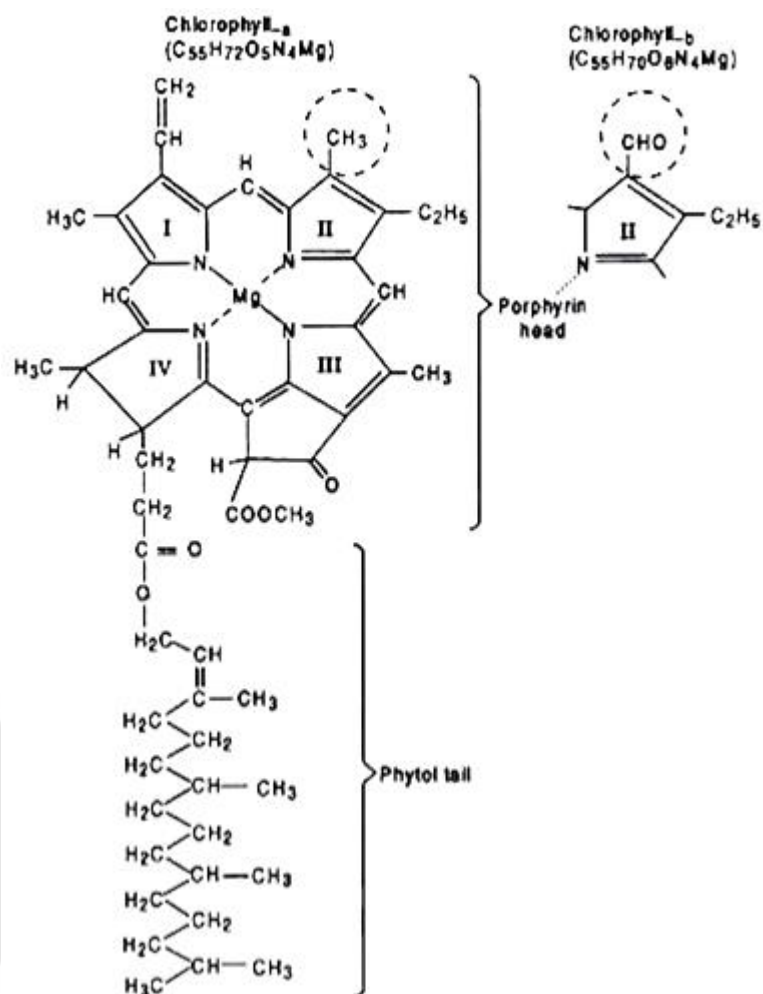
น้ำตาลที่ละลายน้ำ (soluble sugar)

จากการศึกษาความสามารถในการต้านทานความแล้งของถั่ว chickpea สายพันธุ์ Gab-3 พบว่า หลังได้รับความเครียดจากสภาวะแล้ง ใบของถั่วมีอัตราการคายน้ำ ค่าน้ำไหลปากใบ และ Ψ ลดลง แต่มีปริมาณน้ำตาล fructose, glucose และ sucrose เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับต้นที่อยู่ในสภาวะปกติ แสดงให้เห็นว่า ความสามารถในการต้านทานความแล้งของถั่วเกิดจากการปรับค่า Ψ ลดลง โดยการเพิ่มการสะสมปริมาณน้ำตาล ทำให้ปากใบเกิดการปิด เพื่อลดการคายน้ำ (Amede & Schubert, 2003, pp. 137-143) และ Madden et al. (1985, pp. 67, 72-73) ศึกษาความสามารถของน้ำตาลในการปกป้องโครงสร้างเมมเบรนของ large unilamellar vesicles (LUV) ในระหว่างที่เกิดการสูญเสียน้ำ (dehydration) โดยการวัดเปอร์เซ็นต์คงเหลือของ $^{22}Na^+$ ที่อยู่ใน LUV จากผลการทดลองพบว่า หลังได้รับสภาวะสูญเสียน้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง น้ำตาล trehalose, glucose, sucrose, maltose และ lactose ช่วยรักษาปริมาณของ $^{22}Na^+$ ภายใน LUV โดยมีปริมาณคงเหลือเท่ากับ 88, 73, 86, 76 และ 66%

ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า น้ำตาลช่วยรักษาโครงสร้างของเมมเบรน โดยการจับกับส่วนหัวที่มีขั้วของลิพิด (lipid polar headgroups) ด้วยพันธะไฮโดรเจน นอกจากนี้ fructans สามารถทำให้เมมเบรนมีเสถียรภาพภายใต้สภาวะแห้ง โดยการแทรกส่วนหนึ่งเข้าไปในบริเวณ lipid headgroups ของเมมเบรน (Livingston III, Hinch, & Heyer, 2009, p. 2007) จากการศึกษาที่กล่าวมาข้างต้น แสดงให้เห็นว่า ภายใต้ความเครียดจากความแห้ง น้ำตาลมีบทบาทสำคัญในการช่วยรักษาโครงสร้างของเมมเบรน และปรับค่า Ψ ภายในเซลล์พืชให้ต่ำลง เพื่อลดการสูญเสียน้ำ

คลอโรฟิลล์ (chlorophyll)

คลอโรฟิลล์เป็นรงควัตถุสีเขียวที่อยู่บน thylakoid membrane ของคลอโรพลาสต์ (chloroplast) ซึ่งทำหน้าที่รับและส่งพลังงานแสงไปยังศูนย์กลางปฏิกิริยาของระบบแสง (reaction center) ในพืชพบคลอโรฟิลล์ 2 ชนิด ได้แก่ คลอโรฟิลล์ เอ (Chl a) และคลอโรฟิลล์ บี (Chl b) (ภาพประกอบ 8) โครงสร้างของ Chl a ประกอบด้วย porphyrin เป็นส่วนหัว และ phytol เป็นส่วนหาง โดย porphyrin มีลักษณะเป็นวงแหวนไพโรล (pyrrole ring) 4 วง และมีแมกนีเซียมอยู่ตรงกลาง ส่วนหัวมีลักษณะพิเศษคือ มีโครงสร้างที่เป็นพันธะเดี่ยวสลับกับพันธะคู่ ซึ่งตำแหน่งนี้เกี่ยวข้องกับการรับพลังงานแสง ส่วน phytol มีลักษณะเป็นโซ่ของไฮโดรคาร์บอน มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบ 20 อะตอม และเกาะอยู่บริเวณไฮโดรโฟบิก (hydrophobic) ของ thylakoid membrane นอกจากนี้ Chl a ดูดกลืนแสงได้ดีในช่วงแสงสีฟ้าและสีแดงที่มีความยาวคลื่น 430 และ 662 นาโนเมตร ตามลำดับ โครงสร้างของ Chl b คล้ายกับ Chl a ต่างกันตรงที่วงแหวนไพโรลที่ 2 โดย Chl b มีหมู่ aldehyde (-CHO) แต่ Chl a เป็นหมู่ methyl (-CH₃) และ Chl b ดูดกลืนแสงได้ดีในช่วงแสงสีฟ้าและสีแดงเหมือนกับ Chl a แต่ต่างกันที่ความยาวคลื่น คือ 454 และ 643 นาโนเมตร ตามลำดับ (ภาควิชา วิทยาศาสตร์, 2550a, pp. 65-66)



ภาพประกอบ 8 โครงสร้างของคลอโรฟิลล์ เอ และบี

ที่มา : Srinibas Kumar. (2018). The process of photosynthesis in plants (with diagram). (Online).

ความเครียดจากความแล้งต่อปริมาณคลอโรฟิลล์

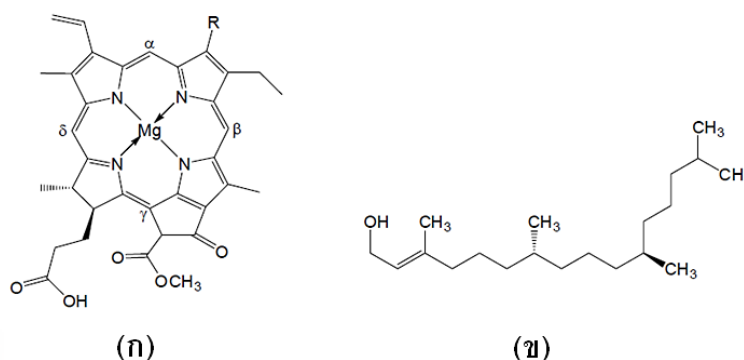
จากศึกษาการแสดงออกของยีนต่อความเครียดจากความแล้งในส่วนของ lemma, palea และ awn ของข้าวบาร์เลย์ (*Hordeum vulgare* L. cv. Morex) พบว่า ยีนที่เกี่ยวข้องกับการสลายคลอโรฟิลล์มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นในสภาวะแล้ง ได้แก่ ยีนที่ควบคุมการทำงานของเอนไซม์ pheophorbide a oxygenase มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นในส่วน of lemma, palea และ awn ในขณะที่ยีนสำหรับเอนไซม์ chlorophyllase มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นโดยเฉพาะส่วนของ awn เท่านั้น นอกจากนี้ยังพบว่า ยีนที่ควบคุมการทำงานของเอนไซม์ phytoene synthase ซึ่งเกี่ยวข้อง

กับการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นในส่วนของ lemma ภายใต้สภาวะแล้ง (Abebe, Melmaiee, Berg, & Wise, 2010, pp. 191-192, 199, 201) และ Ahmad, Murali, and Panneerselvam (2013, pp. 80, 82, 85-86) ศึกษาความเครียดจากความแล้งต่อการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในหญ้าปล้องหิน (*Paspalum scrobiculatum* L.) 2 สายพันธุ์ ได้แก่ CO-1 และ CO-2 พบว่า หญ้าปล้องหินทั้ง 2 สายพันธุ์ มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี และคลอโรฟิลล์รวมลดลง แต่มีปริมาณแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้น หลังได้รับสภาวะแล้งในระดับรุนแรง (severe stress) เมื่อเทียบกับต้นที่อยู่ในสภาวะปกติ จากการศึกษาที่กล่าวมาข้างต้น แสดงให้เห็นว่า ความเครียดจากความแล้งส่งเสริมการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสลายคลอโรฟิลล์ ทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลง ดังนั้นพืชจึงต้องสร้างแคโรทีนอยด์ซึ่งเป็นรงควัตถุเสริมขึ้นมาแทนเพื่อทำหน้าที่รับและส่งพลังงานแสงแทนคลอโรฟิลล์ที่สลายไป

ยีน *CHLASE*

CHLASE เป็นยีนที่แปลรหัสให้โปรตีน chlorophyllase (Chlase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ในกระบวนการสลายของคลอโรฟิลล์ (chlorophyll degradation) โดย Chlase ทำหน้าที่แยกส่วนของ phytol ออกจาก porphyrin ทำให้ได้ chlorophyllide a (Harpaz-Saad et al., 2007, pp. 1007-1008) (ภาพประกอบ 9) จากผลการทดลองของ Gupta, Gupta, Sane, and Kumar (2012, pp. 7134-7136) ที่ศึกษาคูณสมบัติของเอนไซม์ Chlase ในหลอดทดลอง พบว่า ต้นพลู (*Piper betle*) พันธุ์ Kapoori Vellaikodi (KV) มีปริมาณคลอโรฟิลล์รวมน้อยกว่าเป็น 2 เท่าของพันธุ์ Khasi Shillong (KS) ในขณะที่กิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ Chlase ของต้นพลูพันธุ์ KV และ KS เท่ากับ 0.249 และ 0.032 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ จากผลการทดลองจึงแสดงให้เห็นว่า ปริมาณคลอโรฟิลล์และกิจกรรมของเอนไซม์ Chlase มีความสัมพันธ์ในทิศทางตรงกันข้าม และ A. Sharma et al. (2016, pp. 1, 3-4, 6-7, 9) ศึกษาผลการนำเมล็ดของต้น *Brassica juncea* L. cv. RLC-1 แห้ในสารละลาย EBR ต่อกระบวนการสรีรวิทยาของต้นอ่อน *B. juncea* ที่เจริญเติบโตภายใต้ความเครียดจากยาฆ่าแมลง imidacloprid (IMI) จากการศึกษาปริมาณคลอโรฟิลล์พบว่า ภายใต้สภาวะที่ได้รับสาร IMI ที่ระดับความเข้มข้น 250 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นที่ไม่ได้รับสาร EBR มีปริมาณคลอโรฟิลล์รวมลดลง เมื่อเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับสาร EBR ในสภาวะปกติ อย่างไรก็ตามการใช้สาร EBR ที่ระดับความเข้มข้น 100 นาโนโมลาร์ ทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับสาร EBR ในสภาวะพิษจาก IMI เข้มข้น 250 มิลลิกรัมต่อลิตร จากการศึกษาการแสดงออกของยีน *CHLASE* พบว่า ภายใต้ IMI เข้มข้น 200

มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นที่ไม่ได้รับสาร EBR มีการแสดงออกของยีน *CHLASE* เพิ่มขึ้น 2.66 เท่า ในขณะที่ต้นที่ได้รับสาร EBR เข้มข้น 100 นาโนโมลาร์ มีการแสดงออกของยีน *CHLASE* ลดลงเหลือ 1.07 เท่า เมื่อเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับสาร EBR ในสภาวะปกติ จากผลการทดลองจึงแสดงให้เห็นว่า ภายใต้ความเครียดจาก IMI การใช้สาร EBR ช่วยส่งเสริมปริมาณคลอโรฟิลล์ของต้นอ่อน *B. juncea* โดยการลดการแสดงออกของยีน *CHLASE*



ภาพประกอบ 9 chlorophyllide a (R=CH₃) (ก) และ phytol (ข)

ที่มา : Samak Kaewsuksaeng. (2011). Chlorophyll degradation in horticultural crops. *Walailak Journal of Science and Technology*. 8(1): 10.

ดัชนีความเขียวของใบ (leaf greenness index)

ดัชนีความเขียวของใบหรือ SPAD value เป็นค่าที่มีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ในทิศทางเดียวกัน ค่าดังกล่าวถูกวัดโดยเครื่อง chlorophyll meter ซึ่งมีหลักการทำงานคือ วัดแสงที่ส่องผ่านใบ ในช่วงความยาวคลื่น 400 ถึง 500 และ 600 ถึง 700 นาโนเมตร (Loh, Grabosky, & Bassuk, 2002, pp. 682, 684) จากการศึกษาของ Jiang, Johkan, Hohjo, Tsukagoshi, and Maruo (2017, pp. 37, 39-40) ที่วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์และ SPAD value ในใบของมะเขือเทศ พบว่า SPAD value ของมะเขือเทศในระยะการเจริญเติบโตทางลำต้น (vegetative growth) และระยะเจริญพันธุ์ (reproductive growth) มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี และคลอโรฟิลล์รวม โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient; r) เป็นบวก จากผลการทดลองจึงแสดงให้เห็นว่า SPAD value กับปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบมะเขือเทศมีความสัมพันธ์กัน

ในทิศทางเดียวกัน และ Reis, Favarin, Malavolta, Júnior, and Moraes (2009, pp. 1512, 1521, 1523) ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง SPAD value กับปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบของกาแฟ (*Coffea arabica*) ในช่วงการพัฒนาของผล พบว่า SPAD value มีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกันกับปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี และคลอโรฟิลล์รวมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า r เท่ากับ 0.95, 0.97 และ 0.96 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า SPAD value กับปริมาณคลอโรฟิลล์ของกาแฟมีความสัมพันธ์กันสูงมาก จากการศึกษาที่กล่าวมาข้างต้น จึงแสดงให้เห็นว่า SPAD value เป็นค่าที่มีความสัมพันธ์กับปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี และคลอโรฟิลล์รวมในทิศทางเดียวกัน



บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

สารเคมีและอุปกรณ์

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

- น้ำกลั่น
- ไนโตรเจนเหลว (บริษัทลินเด)
- Acetone (RCI Labscan)
- Acid ninhydrin (Sigma-Aldrich)
- Agarose (Life Technologies)
- Anthrone (Loba Chemie)
- Ascorbic acid (Bio Basic Canada)
- β -mercaptoethanol (β -ME) (Sigma-Aldrich)
- Boric acid (Ajax Finechem)
- Calcium nitrate (Ajax Finechem)
- Copper (II) chloride (Carlo Erba)
- 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD)
- Dimethyl sulfoxide (DMSO) (RCI Labscan)
- Ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt (Ajax Finechem)
- Ethanol (RCI Labscan)
- Folin-Ciocalteu reagent (Merck)
- Gallic acid
- Gel Loading Dye, Purple (6X) (New England Biolabs)
- Glacial acetic acid (J. T. Baker)
- Hexane
- Hydrogen peroxide
- Iron (III) chloride (Ajax Finechem)
- Magnesium sulphate (Ajax Finechem)
- Manganese (II) chloride (Ajax Finechem)
- Ortho-phosphoric acid (EMSURE)

- Polyethylene glycol 6000 (PEG6000) (บริษัทรวมเคมี 1986)
- Potassium chloride (KCl)
- Potassium dihydrogen phosphate (Merck)
- Potassium hydroxide (KOH)
- Potassium Iodide (Ajax Finechem)
- Potassium nitrate (Ajax Finechem)
- Quick-Load[®] Purple 2-Log DNA Ladder (New England Biolabs)
- Sodium carbonate (Ajax Finechem)
- Sodium hydroxide (Merck)
- Sodium molybdate (Ajax Finechem)
- Sulfosalicylic acid (Loba Chemie)
- Sulfuric acid (Quality Reagent Chemical; QREC)
- SYBR[®] Safe DNA Gel Stain (Invitrogen)
- Thiobarbitulic acid (TBA) (Sigma-Aldrich)
- Toluene (Panreac)
- Trichloroacetic acid (TCA) (Carlo Erba)
- Tris base (Amresco)
- Triton X-100 (Panreac)
- Zinc chloride (Ajax Finechem)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

- โถรงบดตัวอย่างพร้อมที่บด
- กรรไกร
- กรวยแก้ว
- กระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman)
- กระดาษทิชชู
- กระจกต้นไม้พลาสติก
- กระบอกลม (cylinder) (Bomex)
- กระบะพลาสติก
- กล่องรักษาความเย็น (cool box)

- กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน รุ่น HT7700 (Hitachi)
- กล้องถ่ายรูป
- ขวดแก้ว
- ขวดดูแรน (duran bottle) (Borosil)
- ขวดสำหรับพ่นสาร (foggy spray bottle)
- ชุด gel electrophoresis รุ่น nanoPAC-300 (Bio-Rad)
- เครื่องกวนสารให้ความร้อน (hotplate stirrer) รุ่น MSH-20D (DAIHAN Scientific)
- เครื่องเขย่าผสมสาร (vortex mixer) รุ่น G560E (Scientific Industries)
- เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง รุ่น BSA2245-CW (Sartorius)
- โถดูดความชื้น (vacuum desiccator)
- เครื่องถ่ายภาพเจล (gel documentation) รุ่น GD-GVMS (Dynamica)
- เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ (autoclave) รุ่น HL-340 (Gemmy Industrial)
- เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) รุ่น 1200 (UNICO)
- เครื่องวัดการดูดกลืนแสง รุ่น UV-1800 (Shimadzu)
- เครื่องวัดปริมาณสารพันธุกรรม (nanodrop) รุ่น Lite (Thermo Scientific)
- เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) รุ่น D3024 (Scilogex)
- เครื่อง chlorophyll meter รุ่น SPAD-502 (Konica Minolta Sensing)
- เครื่อง Poket PEA chlorophyll fluorimeter (Hansatech)
- เครื่อง pressure bomb
- เครื่อง thermal cycler รุ่น T100 (Bio-Rad)
- เครื่อง ultramicrotome รุ่น EM UC7 (Leica)
- คิวเวต (cuvette)
- ซ็อนต์กาสาร
- ตะกร้า
- ตู้แช่แข็งฝาทึบ รุ่น SF-PC997 (Panasonic)
- ตู้อบความร้อน รุ่น 650G (Fisher Scientific)
- ถุงมือสำหรับการตรวจโรค (Sri Trang Gloves)
- แขนงแก้วคนสาร
- ปีกเกอร์ (beaker) (Schott Duran)

- ปิเปต (pipette) (HBG)
- ปากกาเคมี
- ปากคีบ (forceps)
- ไมโครปิเปต (micropipette) รุ่น discovery comfort (HTL Lab Solutions)
- ไมโครปิเปตทิว (micropipette tip) (Extra Gene)
- ไมโครเวฟ (microwave) รุ่น MG23F301EAS (Samsung)
- แรค (rack)
- หน้ากากอนามัยชนิดยางยืด 3 ชั้น (Dura)
- หลอดทดลอง (Pyrex)
- หลอด microcentrifuge (Sorenson BioScience)
- หลอด collection (Macherey-Nagel)
- อลูมิเนียมฟอยล์ (aluminum foil) (Diamond)

ไพรเมอร์ที่ใช้ในการทดลอง

ไพรเมอร์สำหรับตรวจสอบการแสดงออกของยีน *chlorophyllase* (*CHLASE*) คือ

CHLASE-forward : 5' GATTACATCGTTATCTCCCTCTC 3'

CHLASE-reverse : 5' AGTTGCCTTTCCTCTTACCC 3'

ไพรเมอร์สำหรับตรวจสอบการแสดงออกของยีน *Actin* (Yi et al., 2018, pp. 2153-2154) คือ

Actin-forward : 5' GATGGTGTTCAGCCACAC 3'

Actin-reverse : 5' ATTCCAGCAGCTTCCATTCC 3'

ตาราง 4 คุณสมบัติของไพรเมอร์

ไพรเมอร์	ความยาว (เบส)	Melting temperature (T _m) (องศาเซลเซียส)	ขนาดของ PCR product (เบส)
<i>CHLASE</i> -forward	24	68	425
<i>CHLASE</i> -reverse	20	60	
<i>Actin</i> -forward	17	54	353
<i>Actin</i> -reverse	20	60	

พืชทดลอง

เมล็ดมะเขือเทศเชอร์รี่ (*Solanum lycopersicum* cv. CH154) ได้จากศูนย์วิจัยพืชผักเขตร้อน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน นครปฐม

การศึกษามลของสารบราสซิโนสเตรอยด์มีมิกต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาบางประการของมะเขือเทศพันธุ์ CH154 ภายใต้ความเครียดจากความแล้ง

การเตรียมต้นพันธุ์และการวางแผนการทดลอง

นำเมล็ดมะเขือเทศพันธุ์ CH154 มาเพาะในกระบะให้ได้ต้นอ่อนที่มีความสูงประมาณ 5 เซนติเมตร แล้วย้ายลงขวดแก้วที่มีสารละลายธาตุอาหารสูตร Hoagland โดยเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารทุก ๆ 15 วัน เมื่อพืชอายุ 65 วัน ให้นำต้นมะเขือเทศมาใช้ในการทดลอง โดยปลูกลงในกระบะ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) โดยชุดการทดลองประกอบด้วย 6 ชุดการทดลอง ได้แก่

- 1) ชุดการทดลองที่อยู่ในสภาวะปกติ และไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD (พ่นด้วยน้ำกลั่น)
- 2) ชุดการทดลองที่อยู่ในสภาวะแล้ง และไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD (พ่นด้วยน้ำกลั่น)
- 3) ชุดการทดลองที่อยู่ในสภาวะแล้ง และได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD เข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์
- 4) ชุดการทดลองที่อยู่ในสภาวะแล้ง และได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD เข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์
- 5) ชุดการทดลองที่อยู่ในสภาวะแล้ง และได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD เข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์
- 6) ชุดการทดลองที่อยู่ในสภาวะแล้ง และได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD เข้มข้น 150 ไมโครโมลาร์

เลือกต้นมะเขือเทศอายุ 65 วัน ที่อยู่ในระยะการเจริญเติบโตทางลำต้น (vegetative growth) และมีขนาดและความสูงของลำต้นใกล้เคียงกัน มาพ่นด้วยสาร DHECD จำนวน 1 ครั้ง โดยปริมาตรที่พ่นต่อต้น 2 มิลลิลิตร แล้วนำมาจำลองให้ได้รับความเครียดจากสภาวะแล้งด้วยสารละลายธาตุอาหารพืชที่มี 0.5%(w/v) PEG6000 โดยแต่ละชุดการทดลองทำซ้ำจำนวน 5 ซ้ำ ๆ ละ 3 ต้น เก็บสุ่มตัวอย่างใบทุก ๆ 3 วัน เป็นเวลา 21 วัน โดยปลูกพืชในสภาพโรงเรือนที่ได้รับแสงตามธรรมชาติ

การศึกษาปริมาณรงควัตถุในใบ

การวิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุในใบ ทำตามวิธีของ Hiscox and Israelstam (1979, p. 1332) นำตัวอย่างใบมะเขือเทศ หน้า 0.1 กรัม ใส่หลอดทดลอง แล้วเติมสารละลาย DMSO ปริมาตร 7 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ในที่มีดเป็นเวลา 1 คืน จากนั้นนำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส จนสีเขียวที่ใบหายไป แล้วเติม สารละลาย DMSO เพื่อปรับปริมาตรของสารละลายให้ครบ 10 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 480 649 และ 665 นาโนเมตร แล้วนำค่าที่อ่านได้ไปคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ ตามสมการของ Wellburn (1994, p. 311) โดยรายงานค่าที่ได้ในรูปมิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักสดตัวอย่างใบพืช (mg/gFW)

$$\text{ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (C}_a\text{)} = 12.19 (A_{665}) - 3.45 (A_{649})$$

$$\text{ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี (C}_b\text{)} = 21.99 (A_{649}) - 5.32 (A_{665})$$

$$\text{ปริมาณคลอโรฟิลล์รวม} = C_a + C_b$$

$$\text{ปริมาณแคโรทีนอยด์} = [1000 (A_{480}) - 2.14 (C_a) - 70.16 (C_b)]/220$$

การศึกษาดัชนีความเขียวของใบ (leaf greenness index; SPAD value)

ทำการเลือกใบที่อยู่ในตำแหน่งใบประกอบที่ 4 และ 5 โดยนับจากยอดลงมา แล้ววัดดัชนีความเขียวของใบ (SPAD value) ด้วยเครื่อง chlorophyll meter ในแต่ละชุดการทดลอง ทำการวัด SPAD value ของใบ จำนวน 5 ซ้ำ ๆ ละ 3 ต้น ๆ ละ 2 ใบย่อยของใบประกอบที่ 4 และ 5 โดย 1 ใบย่อย วัด 3 ตำแหน่ง แล้วนำค่าที่ได้มาหาค่าเฉลี่ย

การศึกษาปริมาณกรดอะมิโนโพรลีน

การวิเคราะห์ปริมาณโพรลีน ดัดแปลงจากวิธีของ Bates and Waldren (1973, pp. 205-206) นำใบมะเขือเทศหน้า 0.5 กรัม มาบดให้ละเอียดด้วยโกร่งโดยใช้ไนโตรเจนเหลว เติมสารละลาย 3% (w/v) sulfosalicylic acid ปริมาตร 12.5 มิลลิลิตร หลังจากกรองด้วยกระดาษกรอง ดูดสารสกัดพืช ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง แล้วเติมสารละลาย glacial acetic acid ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และ acid ninhydrin ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วหยุดปฏิกิริยาโดยแช่น้ำแข็งทันที เติมสารละลาย toluene ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่หยุดปฏิกิริยาแล้ว ผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 20 วินาที แล้วดูดชั้นสารละลาย toluene มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร นำค่าที่อ่านได้เทียบกับกราฟมาตรฐานโพรลีน แล้วคำนวณหาปริมาณโพรลีนในรูปไมโครกรัมต่อกรัมของน้ำหนักสดตัวอย่างใบพืช ($\mu\text{g/gFW}$)

การศึกษาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (total soluble sugar)

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ดัดแปลงจากวิธีของ Sinay and Karuwal (2014, p. 79) นำใบมะเขือเทศหนัก 0.5 กรัม มาบดให้ละเอียดด้วยโกร่งโดยใช้ไนโตรเจนเหลว เติมน้ำตาลละลาย 80% (v/v) ethanol ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มในที่มืด อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ดูดสารสกัดพืช ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง แล้วเติม anthrone reagent (เตรียมจาก anthrone หนัก 0.05 กรัม ในสารละลาย sulfuric acid (H_2SO_4) เข้มข้น 70% (v/v) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร) ปริมาตร 4.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร นำค่าที่อ่านได้เทียบกับกราฟมาตรฐานน้ำตาลทั้งหมด แล้วคำนวณหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในรูปไมโครกรัมต่อกรัมของน้ำหนักสดตัวอย่างใบพืช ($\mu\text{g/gFW}$)

การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (total phenolic compounds) ดัดแปลงจากวิธีของ กนกวรรณ ปานสุขสาร (2558, p. 25) นำใบมะเขือเทศหนัก 1.0 กรัม มาบดให้ละเอียดด้วยโกร่งโดยใช้ไนโตรเจนเหลว เติมน้ำตาลละลาย 100% (v/v) ethanol ปริมาตร 4 มิลลิลิตร แล้วนำสารสกัดหยาบที่ได้มาบ่มในที่มืด อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 คืน หลังจากกรองด้วยกระดาษกรอง ดูดสารสกัดพืช ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่หลอดทดลอง แล้วเติมน้ำตาลละลาย Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และสารละลาย 10% (w/v) sodium carbonate (Na_2CO_3) ปริมาตร 1.6 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันบ่มไว้ในที่มืด อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร นำค่าที่อ่านได้เทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (gallic acid) แล้วคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในรูปไมโครกรัมของ gallic acid equivalent (GAE) ต่อกรัมของน้ำหนักสดตัวอย่างใบพืช ($\mu\text{gGAE/gFW}$)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติแบบทางเดียว (One-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 23 และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

การศึกษาผลของสารบราสซิโนสเตียรอยด์ที่มีต่อการเกิดปฏิกิริยาฟิสิกัลเคมีออกซิเดชัน การสังเคราะห์ด้วยแสง โครงสร้างคลอโรพลาสต์ การแสดงออกของยีน *CHLASE* และ กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ catalase และ ascorbate peroxidase ในมะเขือเทศพันธุ์ CH154 ภายใต้ความเครียดจากความแล้ง

การเตรียมต้นพันธุ์และการวางแผนการทดลอง

นำเมล็ดมะเขือเทศพันธุ์ CH154 มาเพาะให้ได้ต้นอ่อนสูงประมาณ 5 เซนติเมตร แล้วย้ายลงขวดแก้วที่มีสารละลายธาตุอาหารสูตร Hoagland โดยเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารทุก ๆ 15 วัน เมื่อพืชอายุ 65 วัน ให้นำต้นมะเขือเทศมาใช้ในการทดลอง โดยปลูกลงในกระบะ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 4 ชุดการทดลอง ได้แก่

- 1) ชุดการทดลองที่อยู่ในสภาวะปกติ และไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD (พ่นด้วยน้ำกลั่น)
- 2) ชุดการทดลองที่อยู่ในสภาวะแล้ง และไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD (พ่นด้วยน้ำกลั่น)
- 3) ชุดการทดลองที่อยู่ในสภาวะแล้ง และได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD เข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์
- 4) ชุดการทดลองที่อยู่ในสภาวะแล้ง และได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD เข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์

เลือกต้นมะเขือเทศอายุ 65 วัน ที่อยู่ในระยะการเจริญเติบโตทางลำต้น (vegetative growth) และมีขนาดและความสูงของลำต้นใกล้เคียงกัน มาพ่นด้วยสาร DHECD จำนวน 1 ครั้ง ปริมาตรที่พ่นต่อต้น 2 มิลลิลิตร แล้วนำมาจำลองให้ได้รับความเครียดจากสภาวะแล้งด้วยสารละลายธาตุอาหารพืชที่มี 0.5%(w/v) PEG6000 โดยแต่ละชุดการทดลองทำซ้ำจำนวน 5 ซ้ำ ๆ ละ 3 ต้น เก็บสุ่มตัวอย่างใบทุก ๆ 6 วัน เป็นเวลา 18 วัน โดยปลูกพืชในสภาพโรงเรือนที่ได้รับแสงตามธรรมชาติ

การศึกษาคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์พารามิเตอร์

ทำการเลือกใบที่อยู่ในตำแหน่งใบประกอบที่ 4 และ 5 โดยนับจากยอดลงมา แล้ววัดประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุดของระบบแสงสอง (the maximum quantum efficiency of PSII; F_v/F_m) และ performance index (PI) ด้วยเครื่อง Pocket PEA chlorophyll fluorimeter โดยก่อนการวัดค่าคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์พารามิเตอร์ใบของมะเขือเทศถูกหนีบด้วยคลิปหนีบใบเป็นเวลา 30 นาที ในแต่ละชุดการทดลอง ทำการวัดค่า F_v/F_m และ PI ของใบ จำนวน 5 ซ้ำ ๆ ละ 2 ใบย่อยของใบประกอบที่ 4 และ 5 แล้วนำค่าที่ได้มาหาค่าเฉลี่ย

การศึกษาปริมาณ malondialdehyde (MDA)

การวิเคราะห์ปริมาณ MDA ดัดแปลงจากวิธีของ K. V. M. Rao and Sresty (2000, p. 116) นำใบมะเขือเทศหนัก 0.3 กรัม มาบดให้ละเอียดด้วยโกร่งโดยใช้ไนโตรเจนเหลว เติมสารละลาย 0.1%(w/v) trichloroacetic acid (TCA) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 30 นาที นำสารสกัดพืช ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง แล้วเติมสารละลาย 0.5%(w/v) thiobarbitulic acid (TBA) ใน 20%(w/v) TCA ปริมาตร 2 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 30 นาที แล้วหยุดปฏิกิริยาโดยแช่น้ำแข็งทันทีเป็นเวลา 5 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 และ 600 นาโนเมตร แล้วนำค่าที่อ่านได้ไปคำนวณหาปริมาณ MDA ในรูปไมโครโมลต่อกรัมของน้ำหนักสดตัวอย่างใบพืช ($\mu\text{mol/gFW}$) โดยใช้สูตร ดังสมการ

$$\text{ปริมาณ MDA} = [(A_{532} - A_{600}) / (155 \times 1)] \times V_f \times (V_e / V_a) \div W \text{ เมื่อ}$$

V_f = ปริมาตรสุดท้าย (มิลลิลิตร)

V_e = ปริมาตรสารละลาย TCA ที่ใช้สกัด (มิลลิลิตร)

V_a = ปริมาตรสารสกัดพืชที่ใช้วิเคราะห์ (มิลลิลิตร)

W = น้ำหนักสดตัวอย่างใบพืช (กรัม)

การศึกษาปริมาณ hydrogen peroxide (H_2O_2)

การวิเคราะห์ปริมาณ H_2O_2 ดัดแปลงจากวิธีของ Velikova, Yordanov, and Edreva (2000, p. 60) นำใบมะเขือเทศหนัก 0.3 กรัม มาบดให้ละเอียดด้วยโกร่งโดยใช้ไนโตรเจนเหลว เติมสารละลาย 0.1%(w/v) TCA ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มในที่มืด อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที หลังจากกรองด้วยกระดาษกรอง นำสารสกัดพืช ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง แล้วเติมสารละลาย potassium phosphate buffer เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ (pH 7.0) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลาย potassium iodide (KI) เข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 390 นาโนเมตร นำค่าที่อ่านได้เทียบกับกราฟมาตรฐานของ H_2O_2 แล้วคำนวณหาปริมาณ H_2O_2 ในรูปไมโครโมลต่อกรัมของน้ำหนักสดตัวอย่างใบพืช ($\mu\text{mol/gFW}$)

การศึกษากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ (enzyme activity)

การสกัดเอนไซม์หยาบ (crude enzyme) ดัดแปลงวิธีของ Velikova et al. (2000, p. 60) นำใบมะเขือเทศน้ำหนัก 0.3 กรัม มาบดให้ละเอียดด้วยโกร่งโดยใช้ไนโตรเจนเหลว แล้วเติมสารละลาย potassium phosphate buffer ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ (pH 7.0) ที่มี 4%(w/v) polyvinylpyrrolidone ปริมาตร 3 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 4,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที ดูด

สารละลายส่วนน้ำใส ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เก็บใส่หลอด microcentrifuge แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

การศึกษากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ catalase (CAT) ดัดแปลงวิธีของ Velikova et al. (2000, p. 61) นำสารสกัดเอนไซม์หยาบ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย potassium phosphate buffer ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ (pH 7.0) ปริมาตร 0.8 มิลลิลิตร และ H_2O_2 ความเข้มข้น 0.03%(v/v) ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 240 นาโนเมตร เป็นเวลา 4 นาที แล้วนำค่าที่อ่านได้ไปคำนวณหากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ CAT ในรูปยูนิตต่อนาทีต่อน้ำหนักสดตัวอย่างใบพืช ($units\ min^{-1}\ gFW^{-1}$) โดยใช้สัมประสิทธิ์ของ H_2O_2 ในการทำปฏิกิริยาอย่างสมบูรณ์กับเอนไซม์ CAT (extinction coefficient) เท่ากับ 40 ต่อมิลลิโมลาร์ต่อเซนติเมตร ($mM^{-1}\ cm^{-1}$)

การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ ascorbate peroxidase (APX) ดัดแปลงจากวิธีของ Sano et al. (2001, p. 434) นำสารละลาย potassium phosphate buffer ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ (pH 7.0) ปริมาตร 0.7 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย ascorbic acid ความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร และ H_2O_2 ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร แล้วเติมสารสกัดเอนไซม์หยาบ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 290 นาโนเมตร เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นนำค่าที่อ่านได้ไปคำนวณหากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ APX ในรูปยูนิตต่อนาทีต่อน้ำหนักสดตัวอย่างใบพืช ($units\ min^{-1}\ gFW^{-1}$) โดยใช้สัมประสิทธิ์การลดลงของ H_2O_2 ที่ทำปฏิกิริยากับ APX (extinction coefficient) เท่ากับ 2.8 ต่อ มิลลิโมลาร์ต่อเซนติเมตร ($mM^{-1}\ cm^{-1}$)

การศึกษาโครงสร้างคลอโรพลาสต์ (chloroplast ultrastructure)

การวิเคราะห์โครงสร้างคลอโรพลาสต์ทำตามวิธีของ Shu, Guo, Sun, and Yuan (2012, p. 287) นำใบย่อยส่วนปลาย (terminal leaflet) ของใบประกอบที่ 3 มาตัดให้มีขนาด 1 ตารางมิลลิเมตร นำชิ้นส่วนที่ได้แช่ลงในสารละลาย phosphate buffer (pH 7.5) ที่มีส่วนผสมของสาร glutaraldehyde ความเข้มข้น 2.5% และ formaldehyde เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (การตรึงเนื้อเยื่อครั้งที่ 1) แล้วนำไปล้างด้วย buffer ความเข้มข้น 0.1% จากนั้นนำไปแช่ในสารละลาย osmic acid เป็นเวลา 2 ชั่วโมง (การตรึงเนื้อเยื่อครั้งที่ 2) หลังจากนั้นผ่านกระบวนการดึงน้ำออกจากเนื้อเยื่อ (dehydration) ใน ethanol และทำพาราฟินบล็อกเนื้อเยื่อ (embedding) ให้ทำการตัดเป็นแผ่นสไลด์เนื้อเยื่อด้วยเครื่อง ultramicrotome แล้วย้อมด้วยสี uranium acetate และ

lead citrate จากนั้นตรวจสอบเนื้อเยื่อด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (transmission electron microscope; TEM) แรงดันไฟฟ้า 80 กิโลโวลต์

การสกัดอาร์เอ็นเอรวมจากพืชด้วย PureLink® RNA Mini Kit

นำใบมะเขือเทศหนัก 10 มิลลิกรัม มาบดให้ละเอียดในหลอดทดลองพลาสติกด้วยแท่งบดตัวอย่างโดยใช้ในโตรเจนเหลว เติมสารละลาย lysis buffer ปริมาตร 600 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 14,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ดูดสารละลายส่วนใส ปริมาตร 600 ไมโครลิตร ใส่หลอด microcentrifuge แล้วเติมสารละลาย 70%(v/v) ethanol ปริมาตร 600 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วดูดสารละลายผสม ปริมาตร 700 ไมโครลิตร ลงในหลอด spin cartridge ที่รองด้วยหลอด collection นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 × g เป็นเวลา 30 วินาที ที่อุณหภูมิห้อง แล้วเทสารละลายในหลอด collection ทิ้ง แล้วเติมสารละลาย wash buffer I ปริมาตร 700 ไมโครลิตร ลงในหลอด spin cartridge นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 × g เป็นเวลา 30 วินาที ที่อุณหภูมิห้อง แล้วย้ายหลอด spin cartridge ดังกล่าว ไปใส่ในหลอด collection ใหม่ เติมสารละลาย wash buffer II ที่มี ethanol ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงในหลอด spin cartridge นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 × g เป็นเวลา 30 วินาที ที่อุณหภูมิห้อง แล้วเทสารละลายในหลอด collection ทิ้ง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 × g เป็นเวลา 2 นาที ย้ายหลอด spin cartridge ไปใส่ในหลอด microcentrifuge เติม RNase-free water ปริมาตร 15 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 × g เป็นเวลา 2 นาที ที่อุณหภูมิห้อง แล้วเก็บอาร์เอ็นเอที่สกัดได้ไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

การประเมินความบริสุทธิ์และความเข้มข้นของอาร์เอ็นเอที่สกัดได้

นำอาร์เอ็นเอที่สกัดได้ ปริมาตร 2 ไมโครลิตร มาวัดหาความเข้มข้นและคำนวณสัดส่วนระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร ต่อ 280 นาโนเมตร (A_{260}/A_{280}) ด้วยเครื่องวัดปริมาณสารพันธุกรรม (nanodrop) โดยความเข้มข้นของอาร์เอ็นเออยู่ในรูปนาโนกรัมต่อไมโครลิตร (ng/ μ L)

การทำ semi-quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)

นำอาร์เอ็นเอที่สกัดได้มาเปลี่ยนเป็นดีเอ็นเอและเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธี RT-PCR โดยใช้ PCRBIO One-Step RT-PCR Kit (PCRBIO SYSTEMS) เจือจางอาร์เอ็นเอที่สกัดได้ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 50 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร เตรียม reaction mixture ในหลอด microcentrifuge ซึ่งประกอบด้วย 2X PCRBIO ปริมาตร 12.5 ไมโครลิตร forward primer ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร reverse primer ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์

ปริมาตร 1 ไมโครลิตร 20x RTase ปริมาตร 1.25 ไมโครลิตร อาร์เอ็นเอต้นแบบ ความเข้มข้น 50 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร ปริมาตร 1 ไมโครลิตร และน้ำกลั่น ปริมาตร 8.25 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปใส่ในเครื่อง thermal cycler เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยใช้อุณหภูมิดังนี้

ตาราง 5 อุณหภูมิ เวลา และจำนวนรอบที่ใช้ในการทำ semi-quantitative RT-PCR

ขั้นตอน	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา	จำนวนรอบ
การสังเคราะห์ cDNA	45	10 นาที	1
การทำ PCR			
1) Pre-denaturation	95	2 นาที	1
2) Denaturation	95	10 วินาที	35
3) Annealing			
- <i>CHLASE</i> primers	60	10 วินาที	
- <i>Actin</i> primers	60		
4) Extension	72	30 วินาที	

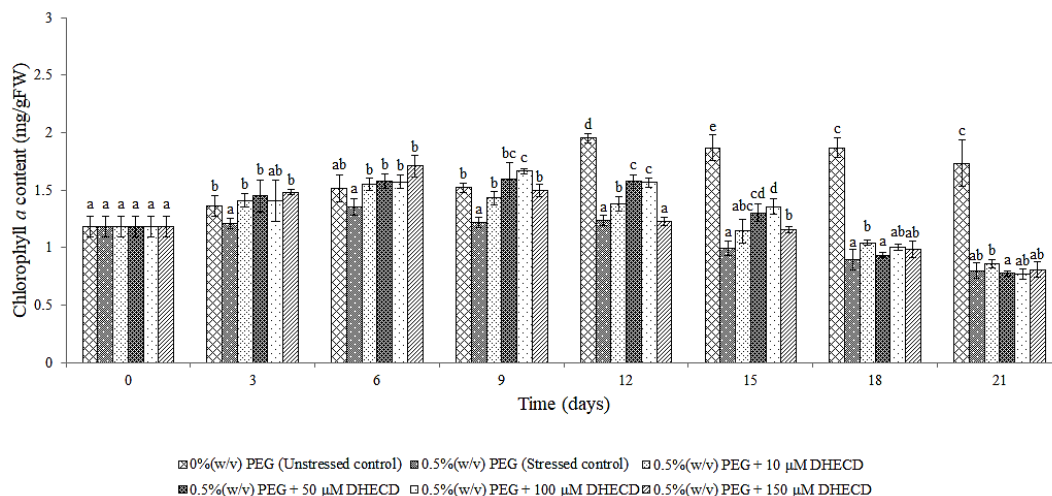
นำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำพีซีอาร์ (PCR product) ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ผสมกับ Gel Loading Dye, Purple (6X) ปริมาตร 5 ไมโครลิตร แล้วนำไปตรวจสอบด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสบน 2% อะกาโรสเจล เป็นเวลา 65 นาที โดยใส่ตัวอย่าง cDNA ลงในแต่ละ lane เท่ากับ 15 ไมโครลิตร จากนั้นนำเจลที่ได้ไปส่องภายใต้แสง ultraviolet (UV) ด้วยเครื่องถ่ายภาพเจล เปรียบเทียบขนาดของดีเอ็นเอกับ Quick-Load[®] Purple 2-Log DNA Ladder วิเคราะห์ระดับการแสดงออกของยีน *CHLASE* เปรียบเทียบกับระดับการแสดงออกของยีน *Actin* ด้วยโปรแกรม GelView Master Imaging System (Dynamica)

บทที่ 4

ผลการทดลอง

ผลของ 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD) ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ในใบของต้นมะเขือเทศภายใต้สภาวะแล้ง

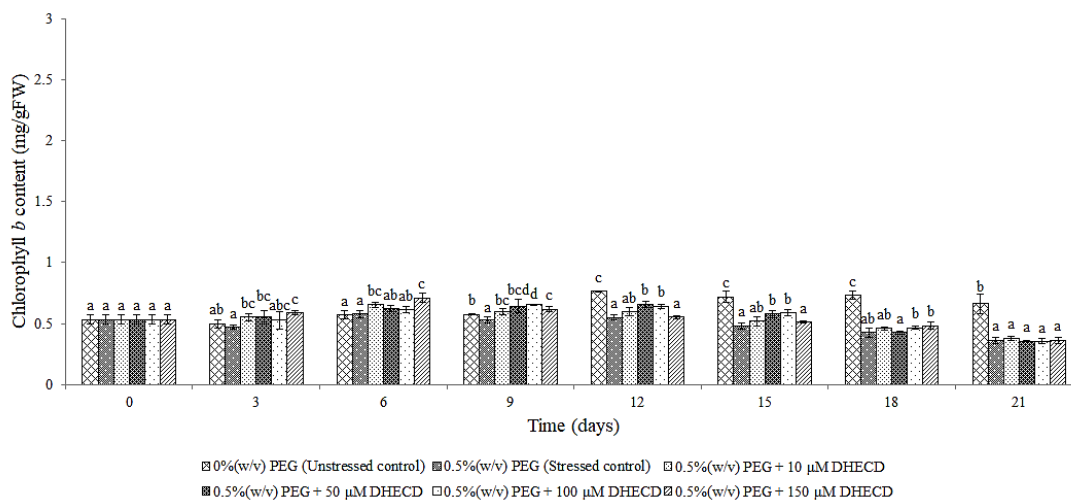
ต้นมะเขือเทศที่ไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD และอยู่ในสภาวะแล้ง มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ น้อยกว่าต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสภาวะปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ตั้งแต่วันที่ 3 ถึงวันที่ 21 ของการทดลอง ต้นมะเขือเทศที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ภายใต้สภาวะแล้ง มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในวันที่ 3, 6, 9, 12 และ 18 ของการทดลอง โดยเพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 17.41% หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 9 วัน การใช้สาร DHECD ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ ทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ในใบของต้นมะเขือเทศเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ตั้งแต่วันที่ 3 ถึงวันที่ 15 ของการทดลอง โดยเพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 30.78% หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 9 วัน ต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสภาวะแล้งและได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ มีการสะสมคลอโรฟิลล์ เอ ในใบเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ตั้งแต่วันที่ 6 ถึงวันที่ 15 ของการทดลอง โดยเพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 36.81% ในวันที่ 9 ของการทดลอง และการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 150 ไมโครโมลาร์ ทำให้ต้นมะเขือเทศมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ในใบเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 3, 6, 9 และ 15 วัน โดยเพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 26.11% ในวันที่ 6 ของการทดลอง เมื่อเทียบกับต้นมะเขือเทศในชุดควบคุมที่อยู่ในสภาวะแล้งและไม่ได้พ่นสาร DHECD (ภาพประกอบ 10)



ภาพประกอบ 10 ผลของสาร DHECD ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ภายใต้สภาวะแล้ง

ผลของ 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD) ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ในใบของต้นมะเขือเทศภายใต้สภาวะแล้ง

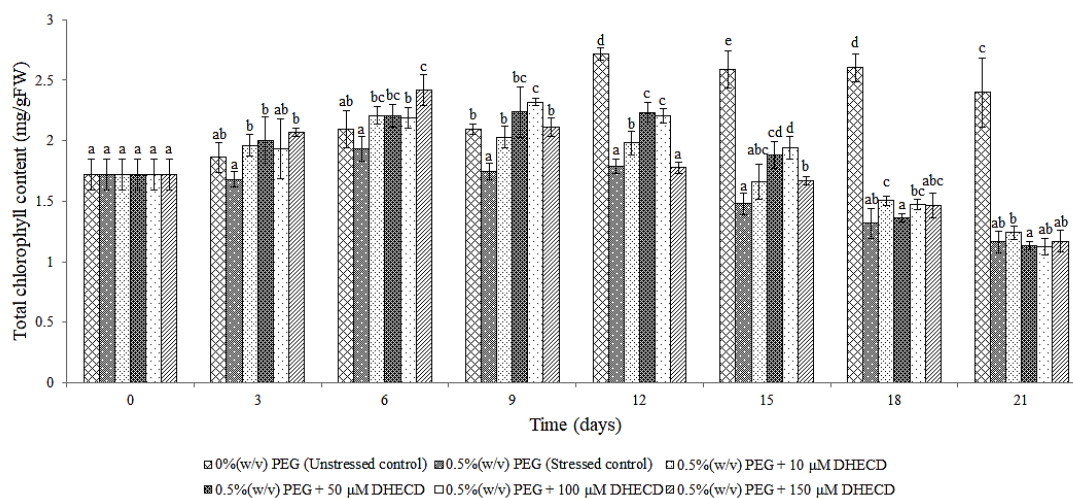
ต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสภาวะแล้งและไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ตั้งแต่วันที่ 9 ถึงวันที่ 21 ของการทดลอง เมื่อเทียบกับต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสภาวะปกติ การใช้สาร DHECD ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ทำให้ต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสภาวะแล้งมีการสะสมปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ในใบเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ตั้งแต่วันที่ 3 ถึงวันที่ 9 ของการทดลอง โดยเพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 17.53% หลังได้รับความแล้งเป็นเวลา 3 วัน ต้นมะเขือเทศที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ในใบเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 3, 9, 12 และ 15 วัน โดยเพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 21.57% ในวันที่ 9 ของการทดลอง การพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ทำให้ต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสภาวะแล้งมีการสะสมคลอโรฟิลล์ บี ในใบเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ตั้งแต่วันที่ 9 ถึงวันที่ 15 ของการทดลอง โดยเพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 23.38% ในวันที่ 9 ของการทดลอง และต้นมะเขือเทศที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 150 ไมโครโมลาร์ มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ตั้งแต่วันที่ 3 ถึงวันที่ 9 ของการทดลอง โดยเพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 24.83% หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 3 วัน เมื่อเทียบกับต้นในชุดควบคุมที่อยู่ในสภาวะแล้งและไม่ได้รับสาร DHECD (ภาพประกอบ 11)



ภาพประกอบ 11 ผลของสาร DHECD ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ภายใต้สภาวะแล้ง

ผลของ 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD) ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์รวมในใบของต้นมะเขือเทศภายใต้สภาวะแล้ง

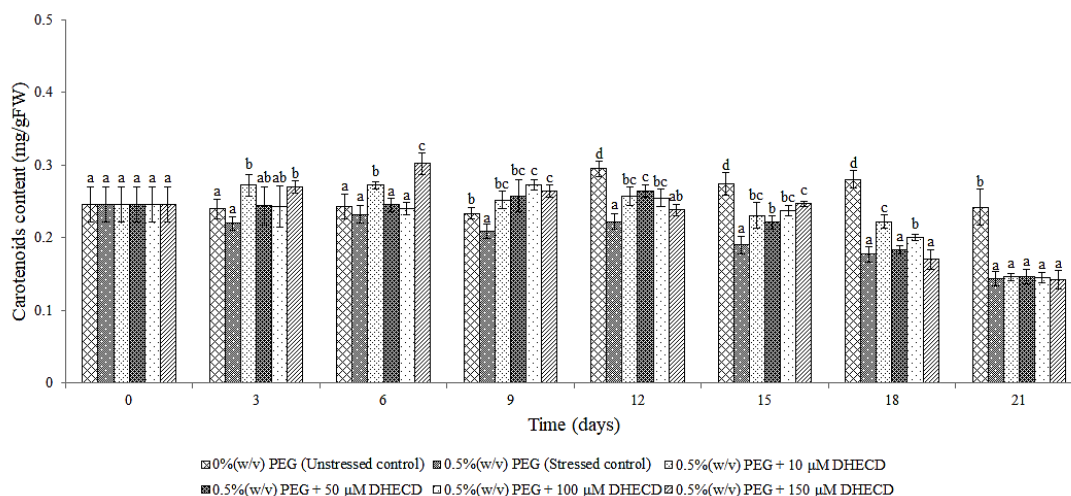
ต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสภาวะแล้งและไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD มีปริมาณคลอโรฟิลล์รวมลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ตั้งแต่วันที่ 9 ถึงวันที่ 21 ของการทดลอง เมื่อเทียบกับต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสภาวะปกติ การใช้สาร DHECD ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์รวมในใบของต้นมะเขือเทศเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) หลังได้รับความแล้งเป็นเวลา 3, 6, 9, 12 และ 18 วัน โดยเพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 16.73% ในวันที่ 3 ของการทดลอง ต้นมะเขือเทศที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ มีการสะสมปริมาณคลอโรฟิลล์รวมในใบเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ตั้งแต่วันที่ 3 ถึงวันที่ 15 ของการทดลอง โดยเพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 27.98% หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 9 วัน การพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ทำให้ใบของต้นมะเขือเทศมีปริมาณคลอโรฟิลล์รวมเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ตั้งแต่วันที่ 6 ถึงวันที่ 15 ของการทดลอง โดยเพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 32.73% หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 9 วัน และต้นมะเขือเทศที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 150 ไมโครโมลาร์ มีการสะสมคลอโรฟิลล์รวมในใบเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในวันที่ 3, 6, 9 และ 15 ของการทดลอง โดยเพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 25.20% หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 6 วัน เมื่อเทียบกับต้นมะเขือเทศในชุดควบคุมที่อยู่ในสภาวะแล้งและไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD (ภาพประกอบ 12)



ภาพประกอบ 12 ผลของสาร DHECD ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์รวมภายใต้สภาวะแล้ง

ผลของ 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD) ต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ในใบของต้นมะเขือเทศภายใต้สภาวะแล้ง

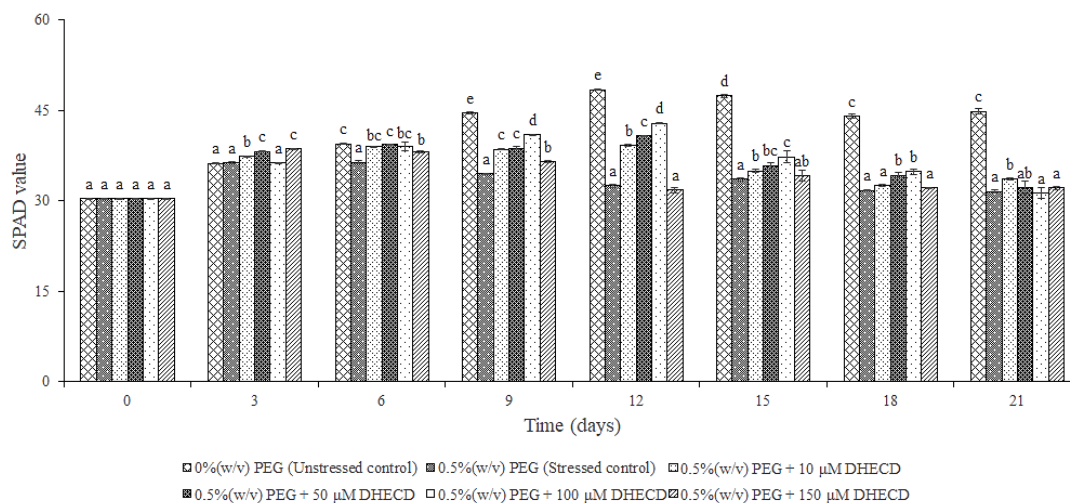
ต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสภาวะแล้งและไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD มีปริมาณแคโรทีนอยด์ในใบน้อยกว่าต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสภาวะปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ตั้งแต่วันที่ 9 ถึงวันที่ 21 ของการทดลอง การใช้สาร DHECD ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ทำให้ปริมาณแคโรทีนอยด์ในใบของต้นมะเขือเทศเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ตั้งแต่วันที่ 3 ถึงวันที่ 18 ของการทดลอง โดยเพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 25.34% หลังได้รับความแล้งเป็นเวลา 18 วัน ต้นมะเขือเทศที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ มีการสะสมปริมาณแคโรทีนอยด์ในใบเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ตั้งแต่วันที่ 9 ถึงวันที่ 15 ของการทดลอง โดยเพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 23.36% หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 9 วัน การพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ทำให้ต้นมะเขือเทศมีการสะสมแคโรทีนอยด์ในใบเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ตั้งแต่วันที่ 9 ถึงวันที่ 18 ของการทดลอง โดยเพิ่มสูงสุดเท่ากับ 30.83% หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 9 วัน และต้นมะเขือเทศที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 150 ไมโครโมลาร์ มีปริมาณแคโรทีนอยด์ในใบเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในวันที่ 3, 6, 9 และ 15 ของการทดลอง โดยเพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 30.14% หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 6 วัน เมื่อเทียบกับต้นมะเขือเทศในชุดควบคุมที่อยู่ในสภาวะแล้งและไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD (ภาพประกอบ 13)



ภาพประกอบ 13 ผลของสาร DHECD ต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ภายใต้สภาวะแล้ง

ผลของ 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD) ต่อดัชนีความเขียวของใบ (SPAD value) ของต้นมะเขือเทศภายใต้สภาวะแล้ง

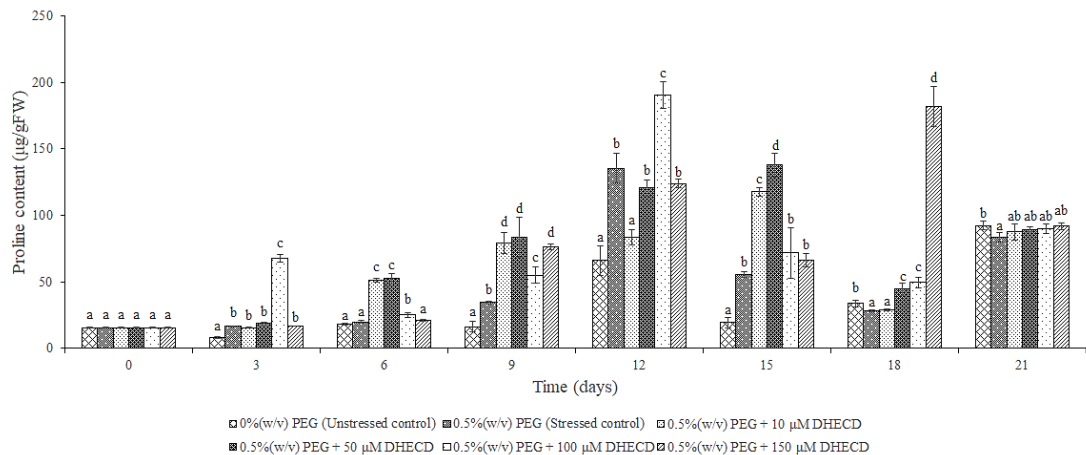
ต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสภาวะแล้งและไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD มีดัชนีความเขียวของใบ (SPAD value) น้อยกว่าต้นที่อยู่ในสภาวะปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ตั้งแต่ วันที่ 6 ถึงวันที่ 21 ของการทดลอง ต้นมะเขือเทศที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ภายใต้สภาวะแล้ง มีค่า SPAD เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ตั้งแต่ วันที่ 3 ถึงวันที่ 15 ของการทดลอง โดยเพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 20.79% หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 12 วัน การใช้สาร DHECD ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ ทำให้ค่า SPAD ของใบของต้นมะเขือเทศเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ตั้งแต่วันที่ 3 ถึงวันที่ 18 ของการทดลอง โดยเพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 25.43% หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 12 วัน ต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสภาวะแล้งและได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ มีค่า SPAD เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ตั้งแต่วันที่ 6 ถึงวันที่ 18 ของการทดลอง โดยเพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 31.94% หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 12 วัน และการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 150 ไมโครโมลาร์ ทำให้ใบของต้นมะเขือเทศมีค่า SPAD เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ตั้งแต่วันที่ 3 ถึงวันที่ 9 ของการทดลอง โดยเพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 6.45% หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 3 วัน เมื่อเทียบกับต้นมะเขือเทศในชุดควบคุมที่อยู่ในสภาวะแล้งและไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD (ภาพประกอบ 14)



ภาพประกอบ 14 ผลของสาร DHECD ต่อดัชนีความเขียวของใบภายใต้สภาวะแล้ง

ผลของ 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD) ต่อปริมาณโพรลีน (proline) ในใบของต้นมะเขือเทศภายใต้สภาวะแล้ง

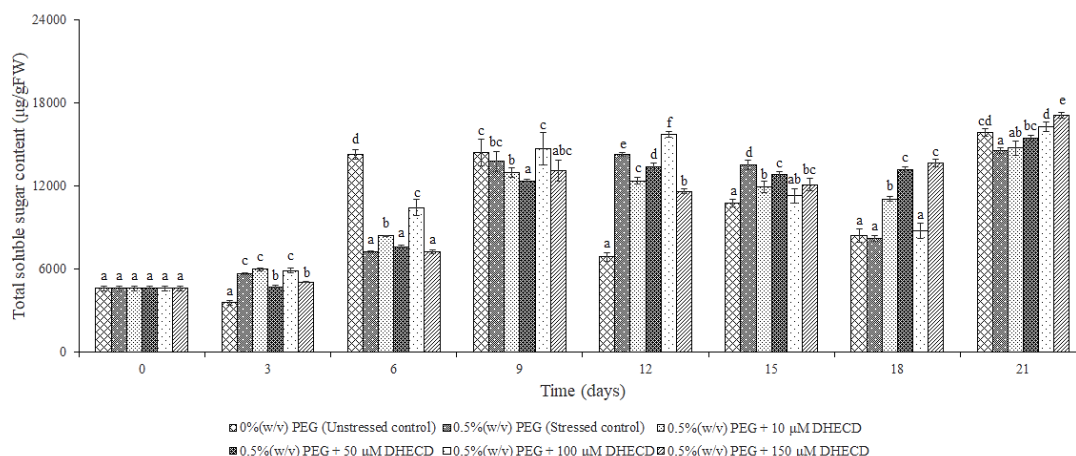
ต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสภาวะแล้งและไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD มีปริมาณโพรลีนในใบมากกว่าต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสภาวะปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในวันที่ 3, 9, 12 และ 15 ของการทดลอง โดยเพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 188.13% หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 15 วัน การใช้สาร DHECD ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ทำให้การสะสมปริมาณโพรลีนในใบของต้นมะเขือเทศเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในวันที่ 6, 9 และ 15 ของการทดลอง โดยเพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 158.24% หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 6 วัน ต้นมะเขือเทศที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ มีปริมาณโพรลีนในใบเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 6, 9, 15 และ 18 วัน โดยเพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 163.74% ในวันที่ 6 ของการทดลอง การพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ทำให้ต้นมะเขือเทศมีการสะสมโพรลีนในใบเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในวันที่ 3, 6, 9, 12 และ 18 ของการทดลอง โดยเพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 302.43% หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 3 วัน และต้นมะเขือเทศที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 150 ไมโครโมลาร์ มีปริมาณโพรลีนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เท่ากับ 122.29% และ 547.95% หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 9 และ 18 วัน ตามลำดับ เมื่อเทียบกับต้นมะเขือเทศในชุดควบคุมที่อยู่ในสภาวะแล้งและไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD (ภาพประกอบ 15)



ภาพประกอบ 15 ผลของสาร DHECD ต่อปริมาณโพรลีนภายใต้สภาวะแล้ง

ผลของ 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD) ต่อปริมาณน้ำตาล (total soluble sugar) ในใบของต้นมะเขือเทศภายใต้สภาวะแล้ง

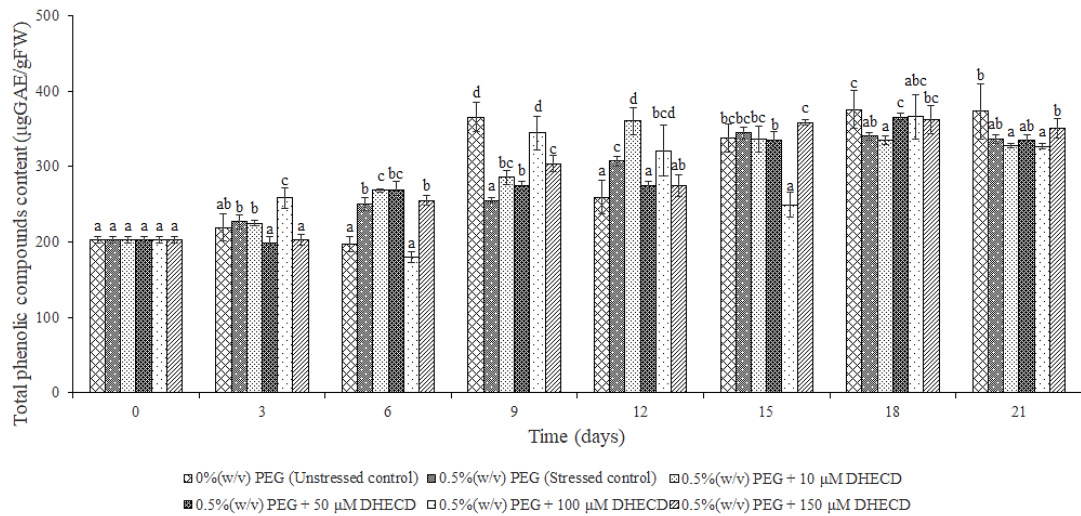
ต้นมะเขือเทศที่ไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ภายใต้สภาวะแล้ง มีการสะสมปริมาณน้ำตาลในใบเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในวันที่ 3, 12 และ 15 ของการทดลอง โดยเพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 107.58% หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 12 วัน เมื่อเทียบกับต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสภาวะปกติ การใช้สาร DHECD ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ทำให้ต้นมะเขือเทศมีปริมาณน้ำตาลในใบเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เท่ากับ 16.06 และ 34.81% หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 6 และ 18 วัน ตามลำดับ ต้นมะเขือเทศที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ ในสภาวะแล้ง มีปริมาณน้ำตาลเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เท่ากับ 60.54% และ 6.01% ในวันที่ 18 และ 21 ของการทดลอง ตามลำดับ การพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ทำให้มีการสะสมน้ำตาลในใบของต้นมะเขือเทศเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในวันที่ 6, 12 และ 21 ของการทดลอง โดยเพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 44.30% หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 6 วัน และต้นมะเขือเทศที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 150 ไมโครโมลาร์ มีปริมาณน้ำตาลในใบเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เท่ากับ 66.33 และ 17.56% หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 18 และ 21 วัน ตามลำดับ เมื่อเทียบกับต้นมะเขือเทศในชุดควบคุมที่อยู่ในสภาวะแล้งและไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD (ภาพประกอบ 16)



ภาพประกอบ 16 ผลของสาร DHECD ต่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมดภายใต้สภาวะแล้ง

ผลของ 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD) ต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในใบของต้นมะเขือเทศภายใต้สภาวะแล้ง

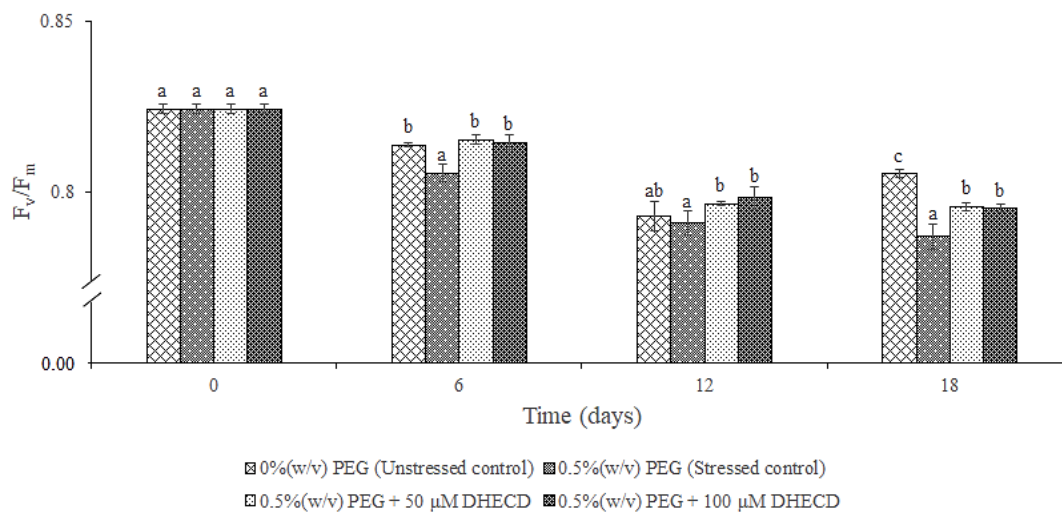
ต้นมะเขือเทศที่ไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD และอยู่ในสภาวะแล้ง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในใบเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เท่ากับ 27.18 และ 18.30% หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 6 และ 12 วัน ตามลำดับ เมื่อเทียบกับต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสภาวะปกติ การใช้สาร DHECD ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ทำให้ต้นมะเขือเทศมีการสะสมปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในใบเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ตั้งแต่วันที่ 6 ถึงวันที่ 12 ของการทดลอง โดยเพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 17.46% หลังได้สภาวะแล้งเป็นเวลา 12 วัน ต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสภาวะแล้งและได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในใบเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในวันที่ 6, 9 และ 18 ของการทดลอง โดยเพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 7.75% หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 9 วัน การพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ทำให้การสะสมสารประกอบฟีนอลิกรวมในใบของต้นมะเขือเทศเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เท่ากับ 13.86 และ 34.95% หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 3 และ 9 วัน ตามลำดับ และต้นมะเขือเทศที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 150 ไมโครโมลาร์ ในสภาวะแล้ง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เท่ากับ 19.09% ในวันที่ 9 ของการทดลอง เมื่อเทียบกับต้นมะเขือเทศในชุดควบคุมที่อยู่ในสภาวะแล้งและไม่ได้พ่นสาร DHECD (ภาพประกอบ 17)



ภาพประกอบ 17 ผลของสาร DHECD ต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมภายใต้สภาวะแล้ง

ผลของ 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD) ต่อคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ (F_v/F_m) ของใบของต้นมะเขือเทศภายใต้สภาวะแล้ง

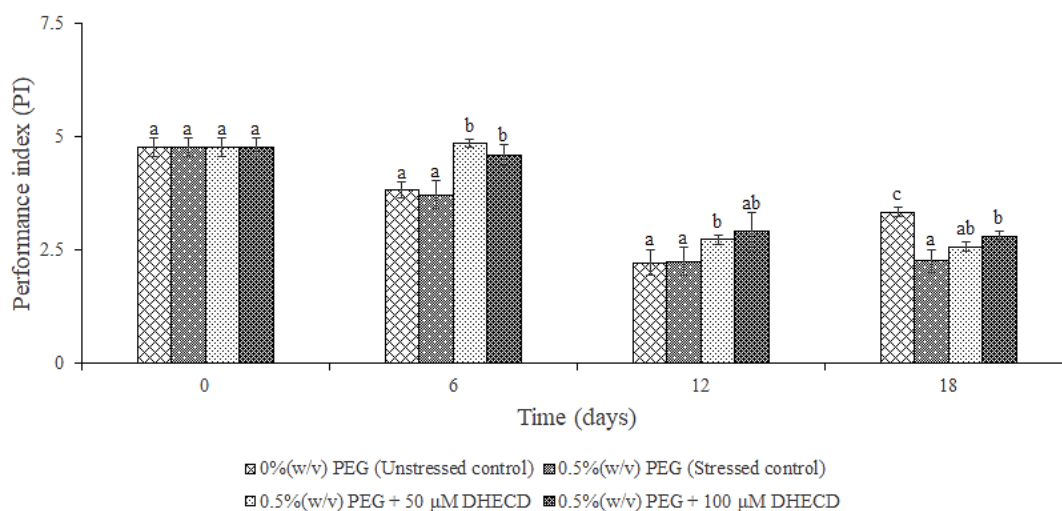
ต้นมะเขือเทศที่ไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ภายใต้สภาวะแล้ง มีค่าคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ (F_v/F_m) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในวันที่ 6 และ 18 ของการทดลอง เมื่อเทียบกับต้นในชุดควบคุมที่อยู่ในสภาวะปกติ การใช้สาร DHECD ที่มีผลต่อค่า F_v/F_m ของใบ พบว่า ต้นมะเขือเทศที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD เข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ ภายใต้ความแล้ง มีค่า F_v/F_m มากกว่าต้นในชุดควบคุมที่ได้รับสภาวะแล้งและไม่ได้พ่นด้วยสาร DHECD อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในวันที่ 6, 12 และ 18 ของการทดลอง ในขณะที่การใช้สาร DHECD เข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ทำให้ค่า F_v/F_m ของใบต้นมะเขือเทศเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 6, 12 และ 18 วัน เมื่อเทียบกับต้นที่อยู่ในสภาวะแล้งและไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD และพบว่าต้นมะเขือเทศที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD เข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ และต้นที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD เข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ภายใต้สภาวะแล้ง มีค่า F_v/F_m ไม่แตกต่างกันตลอดช่วงระยะเวลาของการทดลอง (ภาพประกอบ 18)



ภาพประกอบ 18 ผลของสาร DHECD ต่อคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ (F_v/F_m) ภายใต้สภาวะแล้ง

ผลของ 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD) ต่อค่า performance index (PI) ของใบของต้นมะเขือเทศภายใต้สภาวะแล้ง

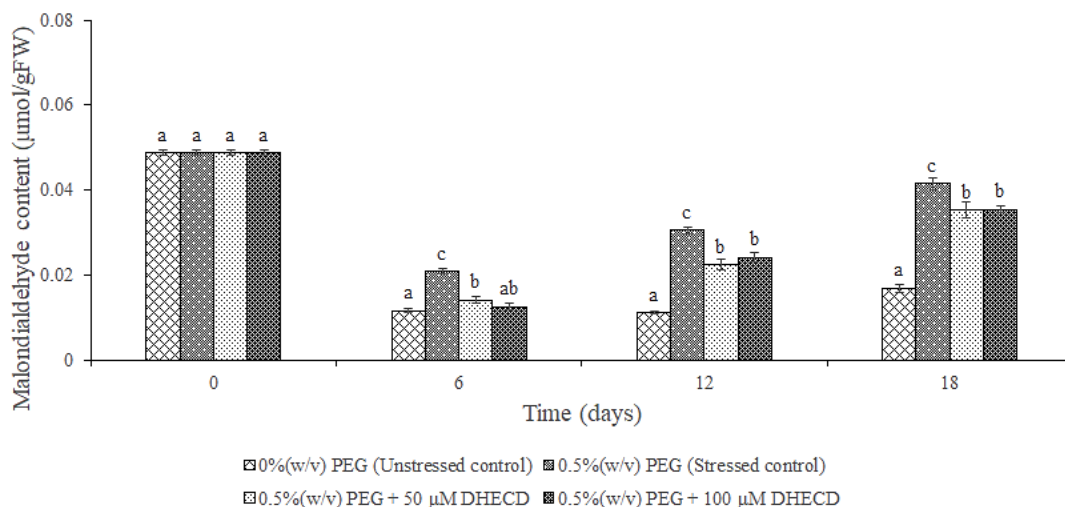
ต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสภาวะแล้งและไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD กับต้นที่อยู่ในสภาวะปกติ มีค่า performance index (PI) ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ในวันที่ 6 และ 12 ของการทดลอง แต่หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 18 วัน ต้นมะเขือเทศที่ไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ในสภาวะแล้ง มีค่า PI ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เท่ากับ 32.51% เมื่อเทียบกับต้นมะเขือเทศในสภาวะปกติ ต้นมะเขือเทศที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ในสภาวะแล้ง มีค่า PI เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เท่ากับ 30.54% และ 21.22% ในวันที่ 6 และ 12 ของการทดลอง เมื่อเทียบกับต้นมะเขือเทศในชุดควบคุมที่ได้รับสภาวะแล้งและไม่ได้อพ่นด้วยสาร DHECD ตามลำดับ ในขณะที่การใช้สาร DHECD ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ทำให้ค่า PI ของใบต้นมะเขือเทศเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เท่ากับ 23.49% และ 24.54% หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 6 และ 18 วัน ตามลำดับ เมื่อเทียบกับต้นมะเขือเทศที่ไม่ได้รับสาร DHECD ในสภาวะแล้ง และพบว่าต้นมะเขือเทศที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ และต้นมะเขือเทศที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ภายใต้สภาวะแล้ง มีค่า PI ไม่แตกต่างกันตลอดช่วงระยะเวลาของการทดลอง (ภาพประกอบ 19)



ภาพประกอบ 19 ผลของสาร DHECD ต่อค่า performance index ภายใต้สภาวะแล้ง

ผลของ 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD) ต่อปริมาณ malondialdehyde (MDA) ในใบของต้นมะเขือเทศภายใต้สภาวะแล้ง

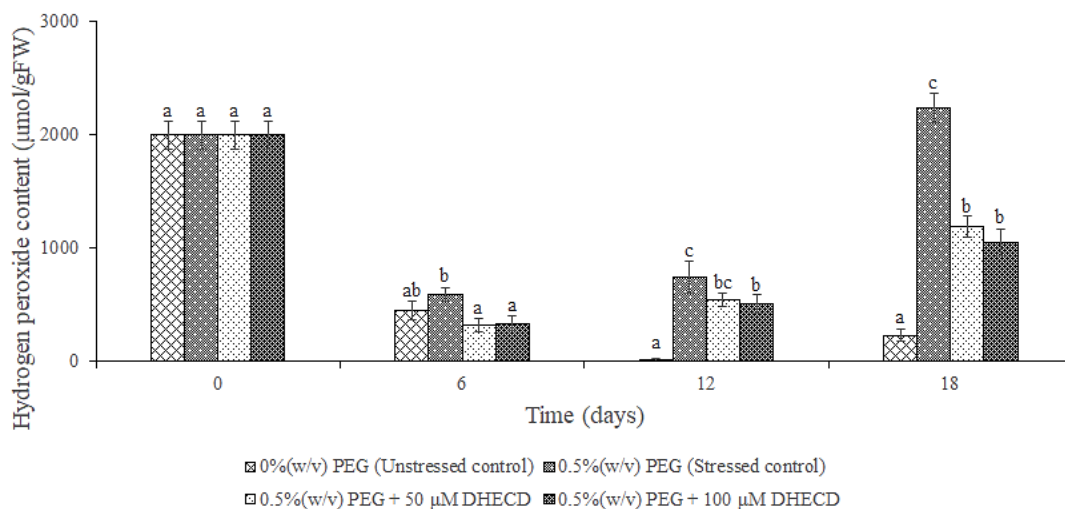
ต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสภาวะแล้งและไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD มีปริมาณ malondialdehyde (MDA) มากกว่าต้นที่อยู่ในสภาวะปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) หลังได้รับความแล้งเป็นเวลา 18 วัน ต้นมะเขือเทศที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ ภายใต้สภาวะแล้ง มีปริมาณ MDA ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เท่ากับ 32.54%, 26.56% และ 14.94% ในวันที่ 6, 12 และ 18 ของการทดลอง ตามลำดับ เมื่อเทียบกับต้นมะเขือเทศในชุดควบคุมที่อยู่ในสภาวะแล้งและไม่ได้รับพ่นด้วยสาร DHECD ในขณะที่การใช้สาร DHECD ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ทำให้การสะสมปริมาณ MDA ในใบของต้นมะเขือเทศลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เท่ากับ 39.71%, 20.66% และ 14.46% หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 6, 12 และ 18 วัน ตามลำดับ เมื่อเทียบกับต้นมะเขือเทศที่ไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ในสภาวะแล้ง และพบว่าต้นมะเขือเทศที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ และต้นมะเขือเทศที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ภายใต้สภาวะแล้ง มีการสะสมปริมาณ MDA ในใบไม่แตกต่างกันตลอดช่วงระยะเวลาของการทดลอง (ภาพประกอบ 20)



ภาพประกอบ 20 ผลของสาร DHECD ต่อปริมาณ malondialdehyde ภายใต้สภาวะแล้ง

ผลของ 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD) ต่อปริมาณไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (H₂O₂) ในใบของต้นมะเขือเทศภายใต้สภาวะแล้ง

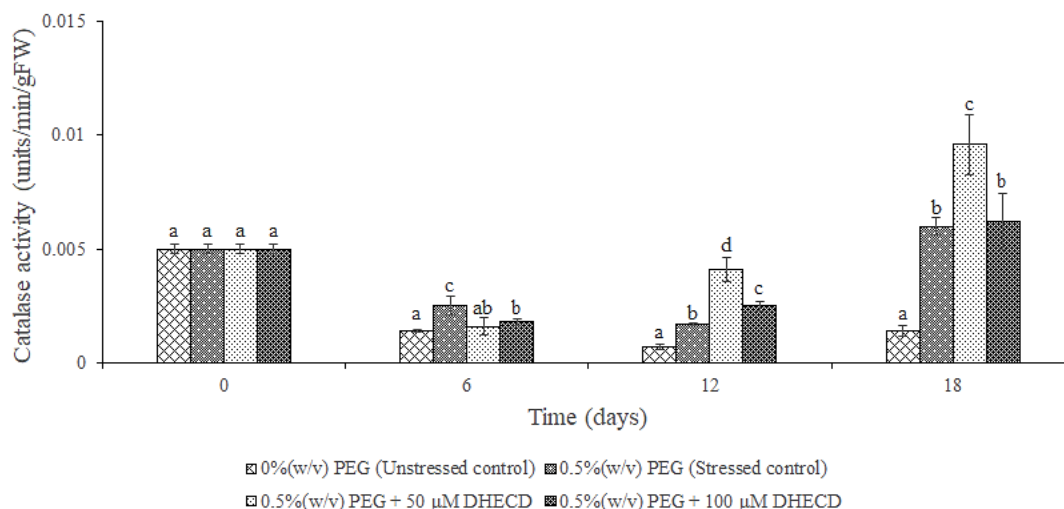
ต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสภาวะแล้งในชุดควบคุมซึ่งไม่ได้ทำการพ่นด้วยสาร DHECD พบว่า มีปริมาณไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide; H₂O₂) สะสมในใบพืชเพิ่มขึ้นมากกว่าต้นมะเขือเทศในสภาวะปกติ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) หลังได้รับความเครียดจากความแล้งเป็นเวลา 12 และ 18 วัน ตามลำดับ การใช้สาร DHECD ที่มีต่อการสะสมปริมาณ H₂O₂ ในใบ พบว่า ต้นมะเขือเทศที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ ในสภาวะแล้ง มีการสะสมปริมาณ H₂O₂ ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เท่ากับ 45.97 และ 46.72% ในวันที่ 6 และ 18 ของการทดลอง เมื่อเทียบกับต้นมะเขือเทศในชุดควบคุมที่ได้รับสภาวะแล้งและไม่ได้พ่นด้วยสาร DHECD ตามลำดับ ในขณะที่การใช้สาร DHECD ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ทำให้ปริมาณ H₂O₂ ในใบของต้นมะเขือเทศมีปริมาณลดลง เท่ากับ 43.44, 31.82, และ 53.15% หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 6, 12 และ 18 วัน เมื่อเทียบกับต้นมะเขือเทศในสภาวะแล้งที่ไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ตามลำดับ และพบว่าต้นมะเขือเทศที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ที่ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ และต้นมะเขือเทศที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ภายใต้สภาวะแล้ง มีการสะสมปริมาณ H₂O₂ ไม่แตกต่างกันตลอดช่วงระยะเวลาของการทดลอง (ภาพประกอบ 21)



ภาพประกอบ 21 ผลของสาร DHECD ต่อปริมาณไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ภายใต้สภาวะแล้ง

ผลของ 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD) ต่อกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ catalase (CAT) ในใบของต้นมะเขือเทศภายใต้สภาวะแล้ง

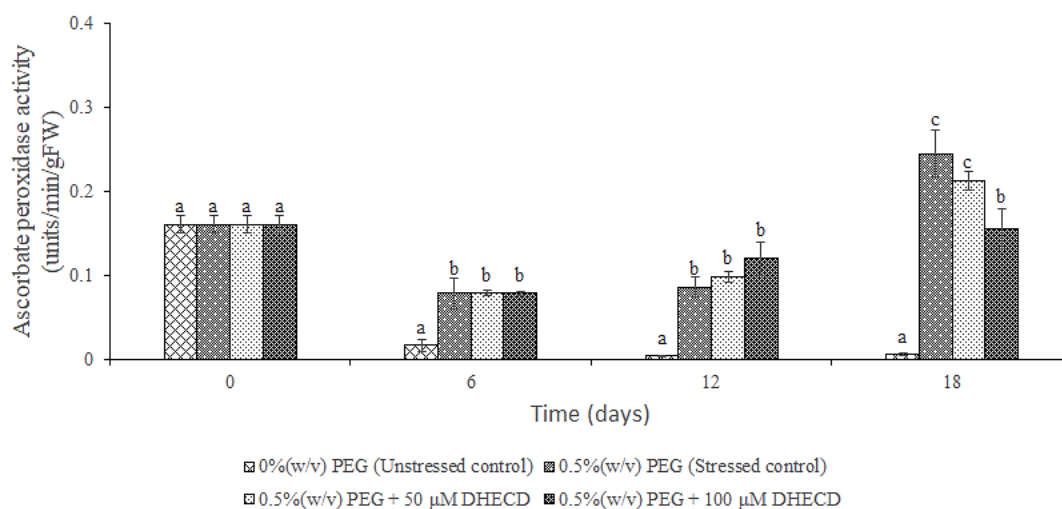
ต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสภาวะปกติมีกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ catalase (CAT) น้อยกว่าต้นที่อยู่ในสภาวะแล้งและไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 18 วัน ต้นมะเขือเทศที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ ภายใต้สภาวะแล้ง มีกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ CAT เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เท่ากับ 141.18% และ 60% ในวันที่ 12 และ 18 ของการทดลอง ตามลำดับ เมื่อเทียบกับต้นมะเขือเทศในชุดควบคุมที่ไม่ได้พ่นด้วยสาร DHECD ในสภาวะแล้ง ในขณะที่การใช้สาร DHECD ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ทำให้กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ CAT ในใบของต้นมะเขือเทศเพิ่มขึ้น เท่ากับ 47.06% หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 12 วัน เมื่อเทียบกับต้นมะเขือเทศที่ได้รับสภาวะแล้งและไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD และพบว่าต้นมะเขือเทศที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ มีกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ CAT สูงกว่าต้นมะเขือเทศที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ หลังจากได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 12 และ 18 วัน (ภาพประกอบ 22)



ภาพประกอบ 22 ผลของสาร DHECD ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ CAT ภายใต้สภาวะแล้ง

ผลของ 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD) ต่อกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ ascorbate peroxidase (APX) ในใบของต้นมะเขือเทศภายใต้สภาวะแล้ง

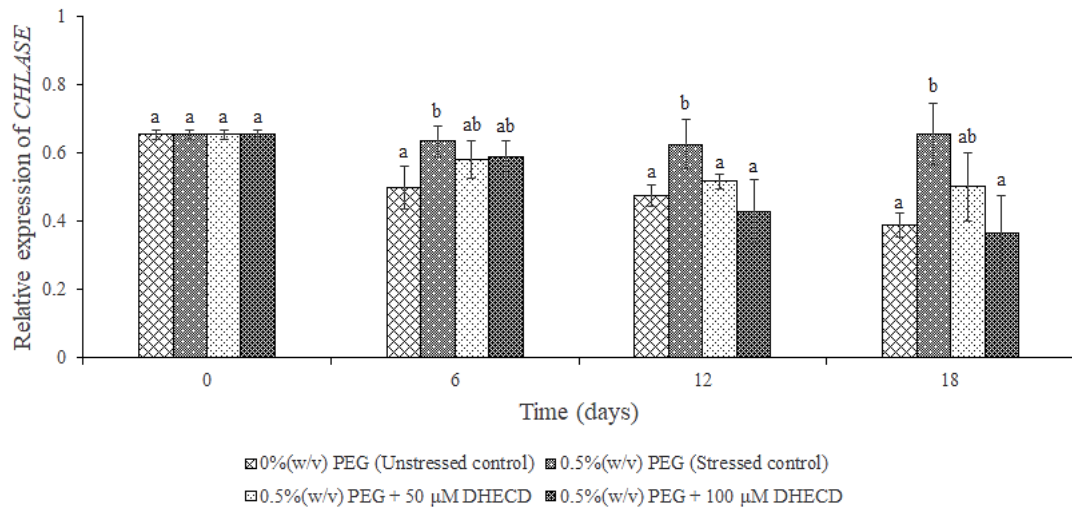
ต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสภาวะแล้งและไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD มีกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ ascorbate peroxidase (APX) สูงกว่าต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสภาวะปกติที่ไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) หลังจากได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 18 วัน ต้นมะเขือเทศที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ ภายใต้สภาวะแล้ง มีกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ APX ไม่แตกต่างกับต้นมะเขือเทศในชุดควบคุมที่ได้รับสภาวะแล้งและไม่ได้รับพ่นด้วยสาร DHECD ตลอดระยะเวลาของการทดลอง ในขณะที่ต้นที่ได้รับพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ และต้นที่ไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD มีกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ APX ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ในวันที่ 6 และ 12 ของการทดลอง ภายใต้สภาวะแล้ง และพบว่าต้นมะเขือเทศที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ และต้นมะเขือเทศที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ มีกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ APX ไม่แตกต่างกัน หลังได้รับความแล้งเป็นเวลา 6 และ 12 วัน (ภาพประกอบ 23)



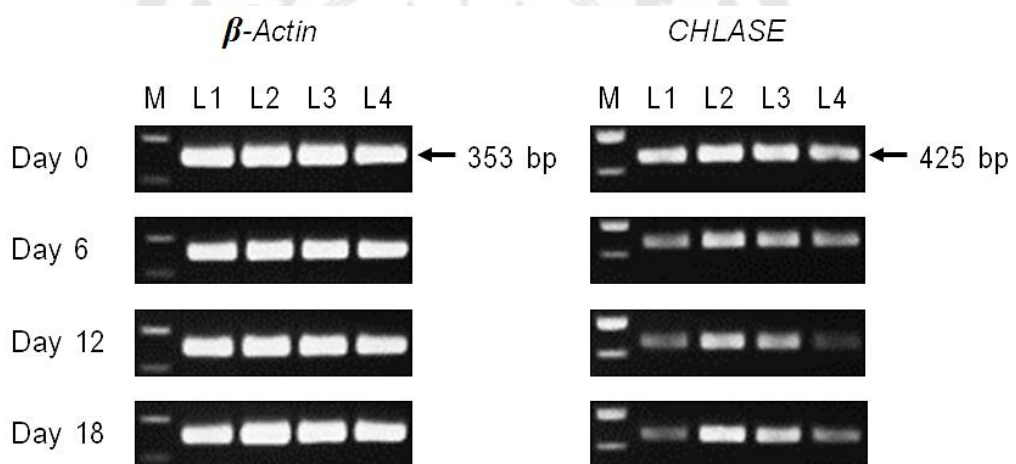
ภาพประกอบ 23 ผลของสาร DHECD ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ APX ภายใต้สภาวะแล้ง

ผลของ 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD) ต่อระดับการแสดงออกของยีน *CHLASE* ในใบของต้นมะเขือเทศภายใต้สภาวะแล้ง

ต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสภาวะแล้งและไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD มีค่า relative expression ของยีน *CHLASE* เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เท่ากับ 27.06%, 31.83% และ 68.56% หลังได้รับความเครียดจากความแล้งเป็นเวลา 6, 12 และ 18 วัน ตามลำดับ เมื่อเทียบกับต้นมะเขือเทศในสภาวะปกติ ต้นมะเขือเทศที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ ในสภาวะแล้ง มีค่า relative expression ของยีน *CHLASE* น้อยกว่าต้นมะเขือเทศในชุดควบคุมที่ได้รับสภาวะแล้งและไม่ได้รับพ่นด้วยสาร DHECD เท่ากับ 17.39% ในวันที่ 12 ของการทดลอง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่ต้นมะเขือเทศที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ มีค่า relative expression ของยีน *CHLASE* ในใบของต้นมะเขือเทศลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เท่ากับ 31.38% และ 44.33% หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 12 และ 18 วัน ตามลำดับ เมื่อเทียบกับต้นมะเขือเทศที่ไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ในสภาวะแล้ง และพบว่าต้นมะเขือเทศที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ และต้นที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ภายใต้สภาวะแล้ง มีค่า relative expression ของยีน *CHLASE* ไม่แตกต่างกันตลอดช่วงระยะเวลาของการทดลอง (ภาพประกอบ 24)



ภาพประกอบ 24 ผลของสาร DHECD ต่อการแสดงออกของยีน *CHLASE* ภายใต้สภาวะแล้ง



L1: 0%(w/v) PEG (Unstressed control) L2: 0.5%(w/v) PEG (Stressed control)
 L3: 0.5%(w/v) PEG + 50 μM DHECD L4: 0.5%(w/v) PEG + 100 μM DHECD

ภาพประกอบ 25 เจลอิเล็กโทรโฟรีซิสของยีน *β-Actin* และ *CHLASE*

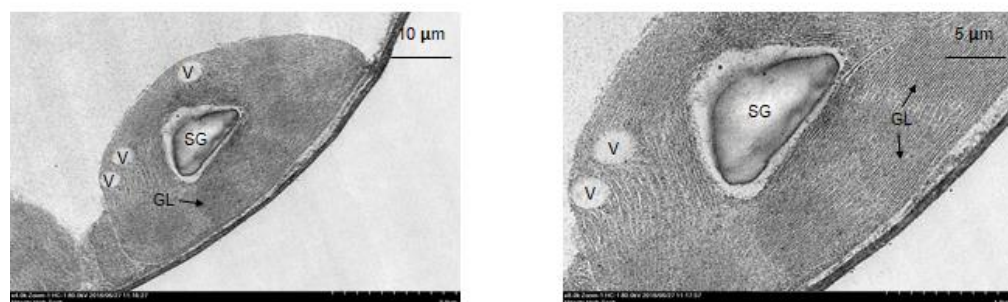
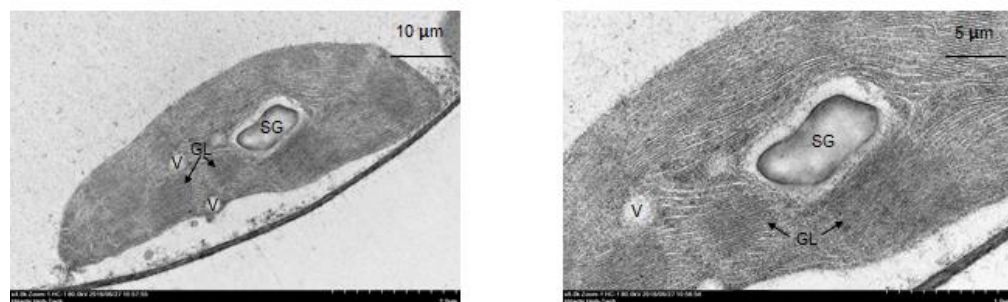
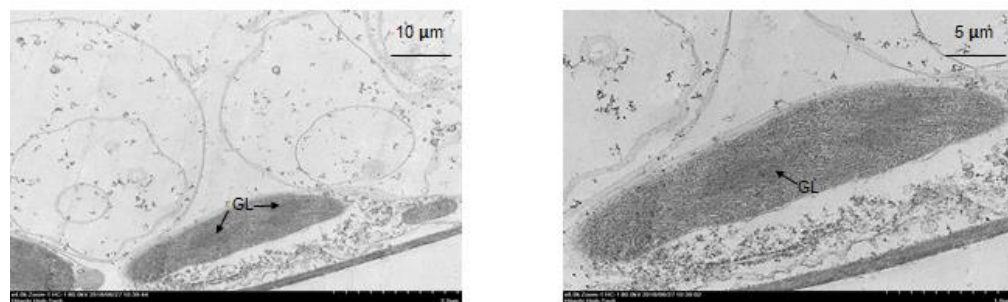
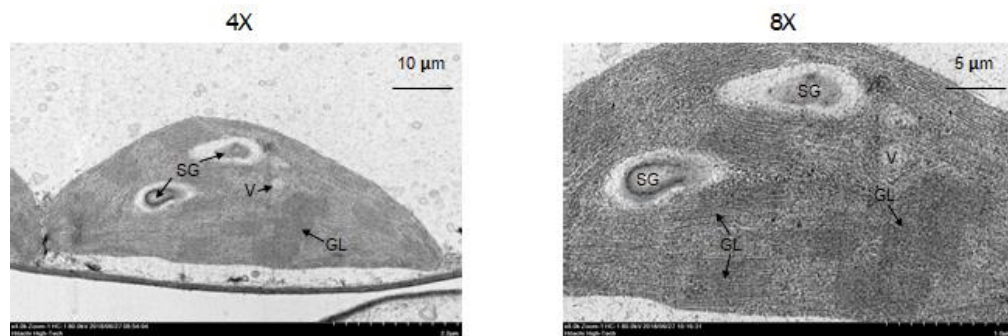
ผลของ 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD) ต่อโครงสร้างคลอโรพลาสต์ในใบของต้นมะเขือเทศภายใต้สภาวะแล้ง

จากผลการทดลองพบว่า ต้นมะเขือเทศในชุดควบคุมที่อยู่ในสภาวะแล้งและไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD พบลักษณะของโครงสร้างคลอโรพลาสต์ในใบที่มีขนาดเล็ก (ความกว้างเท่ากับ 7.3 ไมโครเมตร และความยาว เท่ากับ 36.3 ไมโครเมตร) รูปร่างมีการหดตัว ไม่พบการสร้างเวสิเคิล ไม่พบการสร้างเม็ดแป้ง โครงสร้างของกรานาลาเมลลาบาง และลิวคินอิมเมอรอนของคลอโรพลาสต์ไม่คมชัด (ภาพประกอบ 27b) ในขณะที่ต้นมะเขือเทศในชุดควบคุมที่อยู่ในสภาวะปกติ พบว่า โครงสร้างคลอโรพลาสต์มีขนาดใหญ่ (ความกว้าง เท่ากับ 23.8 ไมโครเมตร และความยาว เท่ากับ 62.1 ไมโครเมตร) มีรูปร่างปกติ พบการสร้างเวสิเคิล พบการสร้างเม็ดแป้ง กรานาลาเมลลาหนา และมีลิวคินอิมเมอรอนคมชัดมากกว่าต้นที่ไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ในสภาวะแล้ง (ภาพประกอบ 27a) ต้นมะเขือเทศที่ได้รับสภาวะแล้งและได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ และต้นที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ มีลักษณะคลอโรพลาสต์ที่มีขนาดใหญ่ (ความกว้าง เท่ากับ 22.4 และ 25.7 ไมโครเมตร และความยาว เท่ากับ 66.4 และ 50.0 ไมโครเมตร ตามลำดับ) รูปร่างปกติ พบการสร้างเวสิเคิล พบการสร้างเม็ดแป้ง กรานาลาเมลลาหนา และมีลิวคินอิมเมอรอนคมชัดมากกว่าต้นมะเขือเทศที่ได้รับสภาวะแล้งและไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD (ภาพประกอบ 27c และ 27d) หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 12 วัน



1: 0% PEG (Unstressed control) 2: 0.5% PEG (Stressed control)
 3: 0.5% PEG + 50 μ M DHECD 4: 0.5% PEG + 100 μ M DHECD

ภาพประกอบ 26 ต้นมะเขือเทศพันธุ์ CH154 หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 12 วัน



SG: starch grain

GL: grana lamellae

V: vesicle

ภาพประกอบ 27 ผลของสาร DHECD ต่อโครงสร้างคลอโรพลาสต์ภายใต้สภาวะแล้ง

ตาราง 6 ผลของสาร DHECD ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ภายใต้สภาวะแสง

พรีตเมนต์	ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (mg/gFW) (ค่าเฉลี่ย \pm SE) ¹									
	เวลา (วัน)									
	0	3	6	9	12	15	18	21		
0%(w/v) PEG	1.186 \pm 0.090a	1.363 \pm 0.087b	1.520 \pm 0.117ab	1.523 \pm 0.039b	1.952 \pm 0.042d	1.870 \pm 0.111e	1.869 \pm 0.084c	1.735 \pm 0.204c		
0.5%(w/v) PEG	1.186 \pm 0.090a	1.212 \pm 0.047a	1.356 \pm 0.072a	1.218 \pm 0.047a	1.236 \pm 0.042a	0.998 \pm 0.063a	0.895 \pm 0.089a	0.800 \pm 0.065ab		
0.5%(w/v) PEG + 10 μ M DHECD	1.186 \pm 0.090a	1.411 \pm 0.060b	1.555 \pm 0.054b	1.430 \pm 0.062b	1.383 \pm 0.064b	1.144 \pm 0.107abc	1.044 \pm 0.024b	0.859 \pm 0.035b		
0.5%(w/v) PEG + 50 μ M DHECD	1.186 \pm 0.090a	1.450 \pm 0.140b	1.579 \pm 0.066b	1.593 \pm 0.150bc	1.575 \pm 0.059c	1.304 \pm 0.077cd	0.936 \pm 0.024a	0.776 \pm 0.025a		
0.5%(w/v) PEG + 100 μ M DHECD	1.186 \pm 0.090a	1.407 \pm 0.179ab	1.572 \pm 0.057b	1.667 \pm 0.024c	1.565 \pm 0.040c	1.357 \pm 0.068d	1.006 \pm 0.029ab	0.769 \pm 0.044ab		
0.5%(w/v) PEG + 150 μ M DHECD	1.186 \pm 0.090a	1.483 \pm 0.020b	1.710 \pm 0.092b	1.495 \pm 0.055b	1.226 \pm 0.036a	1.160 \pm 0.026b	0.983 \pm 0.071ab	0.809 \pm 0.066ab		

¹ ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกันโดยวิธี DMRT ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

SE = ค่าความคลาดเคลื่อน (standard error)

ตาราง 7 ผลของสาร DHECD ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ภายใต้สภาวะแสง

พรีตเมนต์	ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี (mg/gFW) (ค่าเฉลี่ย ± SE) ¹										
	เวลา (วัน)										
	0	3	6	9	12	15	18	21			
0%(w/v) PEG	0.532 ± 0.038a	0.499 ± 0.036ab	0.573 ± 0.037a	0.576 ± 0.006b	0.766 ± 0.005c	0.720 ± 0.045c	0.734 ± 0.031c	0.663 ± 0.081b			
0.5%(w/v) PEG	0.532 ± 0.038a	0.470 ± 0.017a	0.578 ± 0.032a	0.530 ± 0.022a	0.551 ± 0.019a	0.482 ± 0.027a	0.425 ± 0.035ab	0.364 ± 0.026a			
0.5%(w/v) PEG + 10 µM DHECD	0.532 ± 0.038a	0.552 ± 0.032bc	0.654 ± 0.019bc	0.600 ± 0.026bc	0.598 ± 0.033ab	0.519 ± 0.041ab	0.461 ± 0.012ab	0.381 ± 0.017a			
0.5%(w/v) PEG + 50 µM DHECD	0.532 ± 0.038a	0.555 ± 0.054bc	0.625 ± 0.028ab	0.644 ± 0.058bcd	0.659 ± 0.023b	0.579 ± 0.030b	0.428 ± 0.012a	0.357 ± 0.007a			
0.5%(w/v) PEG + 100 µM DHECD	0.532 ± 0.038a	0.527 ± 0.069abc	0.616 ± 0.028ab	0.653 ± 0.005d	0.642 ± 0.018b	0.586 ± 0.025b	0.466 ± 0.013b	0.354 ± 0.022a			
0.5%(w/v) PEG + 150 µM DHECD	0.532 ± 0.038a	0.586 ± 0.016c	0.711 ± 0.038c	0.618 ± 0.021c	0.552 ± 0.012a	0.512 ± 0.009a	0.483 ± 0.029b	0.363 ± 0.024a			

¹ ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่แตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกันโดยวิธี DMRT ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

SE = ค่าความคลาดเคลื่อน (standard error)

ตาราง 8 ผลของสาร DHECD ต่อปริมาณคอโรฟิลด์รวมภายใต้สภาวะแสง

พรีตเมนต์	ปริมาณคอโรฟิลด์รวม (mg/gFW) (ค่าเฉลี่ย ± SE) ¹										
	เวลา (วัน)										
	0	3	6	9	12	15	18	21			
0%(w/v) PEG	1.719 ± 0.128a	1.862 ± 0.122ab	2.093 ± 0.154ab	2.099 ± 0.043b	2.718 ± 0.047d	2.590 ± 0.155e	2.603 ± 0.115d	2.398 ± 0.286c			
0.5%(w/v) PEG	1.719 ± 0.128a	1.682 ± 0.062a	1.933 ± 0.103a	1.748 ± 0.069a	1.788 ± 0.061a	1.480 ± 0.090a	1.320 ± 0.124ab	1.163 ± 0.092ab			
0.5%(w/v) PEG + 10 µM DHECD	1.719 ± 0.128a	1.963 ± 0.092b	2.209 ± 0.071bc	2.031 ± 0.087b	1.981 ± 0.097b	1.663 ± 0.147abc	1.504 ± 0.035c	1.241 ± 0.052b			
0.5%(w/v) PEG + 50 µM DHECD	1.719 ± 0.128a	2.005 ± 0.194b	2.204 ± 0.094bc	2.237 ± 0.208bc	2.234 ± 0.082c	1.883 ± 0.108cd	1.364 ± 0.035a	1.133 ± 0.033a			
0.5%(w/v) PEG + 100 µM DHECD	1.719 ± 0.128a	1.934 ± 0.248ab	2.188 ± 0.085b	2.320 ± 0.028c	2.207 ± 0.058c	1.943 ± 0.093d	1.472 ± 0.041bc	1.123 ± 0.066ab			
0.5%(w/v) PEG + 150 µM DHECD	1.719 ± 0.128a	2.069 ± 0.035b	2.421 ± 0.130c	2.113 ± 0.076b	1.778 ± 0.046a	1.672 ± 0.035b	1.466 ± 0.100abc	1.171 ± 0.090ab			

¹ ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกันโดยวิธี DMRT ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

SE = ค่าความคลาดเคลื่อน (standard error)

ตาราง 9 ผลของสาร DHECD ต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ภายใต้สภาวะแสง

พรีติเมนต์	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/gFW) (ค่าเฉลี่ย \pm SE) ¹									
	เวลา (วัน)									
	0	3	6	9	12	15	18	21		
0%(w/v) PEG	0.246 \pm 0.024a	0.240 \pm 0.014a	0.243 \pm 0.017a	0.234 \pm 0.008b	0.295 \pm 0.010d	0.274 \pm 0.015d	0.280 \pm 0.012d	0.242 \pm 0.024b		
0.5%(w/v) PEG	0.246 \pm 0.024a	0.220 \pm 0.009a	0.232 \pm 0.012a	0.209 \pm 0.010a	0.222 \pm 0.011a	0.190 \pm 0.011a	0.177 \pm 0.011a	0.143 \pm 0.010a		
0.5%(w/v) PEG + 10 μ M DHECD	0.246 \pm 0.024a	0.272 \pm 0.015b	0.272 \pm 0.005b	0.252 \pm 0.012bc	0.257 \pm 0.013bc	0.230 \pm 0.018bc	0.222 \pm 0.009c	0.146 \pm 0.005a		
0.5%(w/v) PEG + 50 μ M DHECD	0.246 \pm 0.024a	0.244 \pm 0.026ab	0.245 \pm 0.009a	0.258 \pm 0.023bc	0.265 \pm 0.009c	0.221 \pm 0.009b	0.183 \pm 0.006a	0.146 \pm 0.010a		
0.5%(w/v) PEG + 100 μ M DHECD	0.246 \pm 0.024a	0.243 \pm 0.028ab	0.240 \pm 0.008a	0.273 \pm 0.007c	0.255 \pm 0.012bc	0.237 \pm 0.007bc	0.200 \pm 0.004b	0.145 \pm 0.007a		
0.5%(w/v) PEG + 150 μ M DHECD	0.246 \pm 0.024a	0.270 \pm 0.009b	0.302 \pm 0.015c	0.264 \pm 0.009c	0.239 \pm 0.008ab	0.247 \pm 0.004c	0.170 \pm 0.013a	0.142 \pm 0.013a		

¹ ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกันโดยวิธี DMRT ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

SE = ค่าความคลาดเคลื่อน (standard error)

ตาราง 10 ผลของสาร DHECD ต่อดัชนีความเขียวของใบภายใต้สภาวะแสง

พรีตเมนต์	ดัชนีความเขียวของใบ (SPAD value) (ค่าเฉลี่ย ± SE) ¹									
	เวลา (วัน)									
	0	3	6	9	12	15	18	21		
0%(w/v) PEG	30.36 ± 0.042a	36.23 ± 0.070a	39.49 ± 0.028c	44.58 ± 0.229e	48.47 ± 0.016e	47.47 ± 0.274d	44.08 ± 0.281c	44.87 ± 0.395c		
0.5%(w/v) PEG	30.36 ± 0.042a	36.31 ± 0.191a	36.41 ± 0.220a	34.56 ± 0.048a	32.50 ± 0.209a	33.60 ± 0.283a	31.71 ± 0.089a	31.58 ± 0.285a		
0.5%(w/v) PEG + 10 µM DHECD	30.36 ± 0.042a	37.36 ± 0.040b	38.98 ± 0.097bc	38.58 ± 0.094c	39.25 ± 0.135b	35.00 ± 0.237b	32.52 ± 0.206a	33.67 ± 0.190b		
0.5%(w/v) PEG + 50 µM DHECD	30.36 ± 0.042a	38.20 ± 0.090c	39.37 ± 0.084c	38.77 ± 0.255c	40.76 ± 0.042c	35.85 ± 0.513bc	34.23 ± 0.454b	32.23 ± 1.127ab		
0.5%(w/v) PEG + 100 µM DHECD	30.36 ± 0.042a	36.33 ± 0.063a	39.02 ± 0.689bc	40.98 ± 0.043d	42.88 ± 0.129d	37.33 ± 1.000c	34.84 ± 0.417b	31.31 ± 0.888a		
0.5%(w/v) PEG + 150 µM DHECD	30.36 ± 0.042a	38.65 ± 0.105c	38.21 ± 0.165b	36.54 ± 0.212b	31.80 ± 0.495a	34.13 ± 0.914ab	32.17 ± 0.125a	32.15 ± 0.303a		

¹ ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกันโดยวิธี DMRT ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

SE = ค่าความคลาดเคลื่อน (standard error)

ตาราง 11 ผลของสาร DHECD ต่อปริมาณโพรลินภายใต้สภาวะแห้ง

พรีตเมนต์	ปริมาณโพรลิน (µg/gFW) (ค่าเฉลี่ย ± SE) ¹										
	เวลา (วัน)										
	0	3	6	9	12	15	18	21			
0%(w/v) PEG	15.56 ± 0.335a	7.89 ± 0.601a	18.08 ± 0.898a	16.11 ± 4.001a	66.15 ± 11.201a	19.26 ± 3.751a	33.62 ± 2.243b	92.34 ± 2.974b			
0.5%(w/v) PEG	15.56 ± 0.335a	16.83 ± 0.219b	19.89 ± 1.255a	34.31 ± 1.093b	135.39 ± 11.240b	55.51 ± 2.034b	28.07 ± 0.643a	83.46 ± 3.797a			
0.5%(w/v) PEG + 10 µM DHECD	15.56 ± 0.335a	15.37 ± 0.275b	51.35 ± 1.305c	79.33 ± 7.975d	83.50 ± 5.501a	117.79 ± 3.297c	28.78 ± 0.927a	87.48 ± 6.363ab			
0.5%(w/v) PEG + 50 µM DHECD	15.56 ± 0.335a	18.51 ± 1.026b	52.45 ± 3.551c	83.48 ± 15.058d	120.55 ± 5.909b	137.67 ± 8.664d	44.48 ± 4.497c	89.52 ± 1.894ab			
0.5%(w/v) PEG + 100 µM DHECD	15.56 ± 0.335a	67.72 ± 3.066c	24.99 ± 1.790b	54.96 ± 6.083c	190.39 ± 9.865c	71.63 ± 18.965b	49.40 ± 4.227c	89.63 ± 3.598ab			
0.5%(w/v) PEG + 150 µM DHECD	15.56 ± 0.335a	16.61 ± 0.000b	20.98 ± 0.798a	76.27 ± 2.323d	123.81 ± 3.194b	66.22 ± 5.345b	181.86 ± 14.957d	91.77 ± 2.811ab			

¹ ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกันโดยวิธี DMRT ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

SE = ค่าความคลาดเคลื่อน (standard error)

ตาราง 12 ผลของสาร DHECD ต่อปริมาณน้ำตาตาดทั้งหมดภายใต้สภาวะแสง

พรีตเมนต์	ปริมาณน้ำตาตาดทั้งหมด (µg/FW) (ค่าเฉลี่ย ± SE) ¹										
	เวลา (วัน)										
	0	3	6	9	12	15	18	21			
0%(w/v) PEG	4603.3 ± 169.94a	3579.7 ± 186.91a	14283.7 ± 334.22d	14439.2 ± 975.23c	6886.7 ± 322.07a	10753.2 ± 285.20a	8424.5 ± 476.48a	15862.5 ± 253.92cd			
0.5%(w/v) PEG	4603.3 ± 169.94a	5683.6 ± 84.79c	7231.4 ± 74.08a	13790.0 ± 723.26bc	14295.1 ± 149.06e	13512.7 ± 337.47d	8214.6 ± 200.73a	14557.2 ± 185.52a			
0.5%(w/v) PEG + 10 µM DHECD	4603.3 ± 169.94a	6008.6 ± 99.33c	8392.7 ± 36.55b	12980.9 ± 351.34b	12369.9 ± 249.91c	11930.9 ± 396.26b	11073.7 ± 174.87b	14747.4 ± 530.18ab			
0.5%(w/v) PEG + 50 µM DHECD	4603.3 ± 169.94a	4733.0 ± 124.53b	7610.9 ± 106.60a	12321.8 ± 143.64a	13389.7 ± 257.86d	12821.8 ± 241.55c	13187.3 ± 211.35c	15431.8 ± 217.74bc			
0.5%(w/v) PEG + 100 µM DHECD	4603.3 ± 169.94a	5903.6 ± 168.96c	10434.6 ± 593.16c	14720.5 ± 1178.23c	15708.1 ± 209.14f	11291.0 ± 543.33ab	8785.7 ± 535.80 a	16274.2 ± 369.44d			
0.5%(w/v) PEG + 150 µM DHECD	4603.3 ± 169.94a	5062.0 ± 23.65b	7254.1 ± 142.41a	13094.5 ± 768.96abc	11616.1 ± 169.37b	12094.5 ± 463.43bc	13662.9 ± 249.65c	17113.4 ± 197.96e			

¹ ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกันโดยวิธี DMRT ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

SE = ค่าความคลาดเคลื่อน (standard error)

ตาราง 13 ผลของสาร DHECD ต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมภายใต้สภาวะแสง

พรีตเมนต์	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ($\mu\text{gAE/gFW}$) (ค่าเฉลี่ย \pm SE) ¹										
	เวลา (วัน)										
	0	3	6	9	12	15	18	21			
0%(w/v) PEG	202.82 \pm 4.585a	218.86 \pm 17.882ab	196.97 \pm 10.484a	365.66 \pm 19.110d	259.50 \pm 22.303a	337.35 \pm 18.415bc	375.72 \pm 24.538c	372.96 \pm 36.095b			
0.5%(w/v) PEG	202.82 \pm 4.585a	226.67 \pm 9.366b	250.50 \pm 8.592b	255.14 \pm 3.891a	306.98 \pm 6.618c	344.31 \pm 8.154bc	340.00 \pm 5.280ab	336.65 \pm 5.676ab			
0.5%(w/v) PEG + 10 μM DHECD	202.82 \pm 4.585a	224.80 \pm 3.915b	268.24 \pm 2.341c	285.62 \pm 9.345bc	360.58 \pm 17.927d	336.21 \pm 16.944bc	334.74 \pm 6.202a	327.77 \pm 3.205a			
0.5%(w/v) PEG + 50 μM DHECD	202.82 \pm 4.585a	198.26 \pm 8.176a	268.83 \pm 11.992bc	274.90 \pm 5.641b	274.88 \pm 5.284a	334.31 \pm 11.383b	365.74 \pm 4.977c	334.91 \pm 7.626ab			
0.5%(w/v) PEG + 100 μM DHECD	202.82 \pm 4.585a	258.09 \pm 14.124c	179.98 \pm 7.034a	344.33 \pm 22.448d	320.97 \pm 33.652bcd	249.46 \pm 16.510a	365.79 \pm 29.946abc	326.91 \pm 3.608a			
0.5%(w/v) PEG + 150 μM DHECD	202.82 \pm 4.585a	202.72 \pm 7.553a	254.79 \pm 6.292b	303.85 \pm 10.442c	274.69 \pm 14.095ab	358.12 \pm 3.397c	362.31 \pm 18.111bc	350.80 \pm 13.273b			

¹ ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกันโดยวิธี DMRT ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

SE = ค่าความคลาดเคลื่อน (standard error)

ตาราง 14 ผลของสาร DHECD ต่อคอลโลโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ (F_v/F_m) ภายใต้สภาวะแสง

พรีดเมนต์	คอลโลโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ (F_v/F_m) (ค่าเฉลี่ย \pm SE) ¹			
	0	6	12	18
0%(w/v) PEG (Unstressed control)	0.824 \pm 0.0014a	0.814 \pm 0.0007b	0.793 \pm 0.0042ab	0.806 \pm 0.0012c
0.5%(w/v) PEG (Stressed control)	0.824 \pm 0.0014a	0.806 \pm 0.0025a	0.791 \pm 0.0035a	0.787 \pm 0.0038a
0.5%(w/v) PEG + 50 μ M DHECD	0.824 \pm 0.0014a	0.815 \pm 0.0014b	0.797 \pm 0.0006b	0.796 \pm 0.0011b
0.5%(w/v) PEG + 100 μ M DHECD	0.824 \pm 0.0014a	0.815 \pm 0.0023b	0.798 \pm 0.0033b	0.795 \pm 0.0013b

¹ ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกันโดยวิธี DMRT ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

SE = ค่าความคลาดเคลื่อน (standard error)

ตาราง 15 ผลของสาร DHECD ต่อค่า performance index ภายใต้สภาวะแสง

พรีดเมนต์	ค่า performance index (PI) (ค่าเฉลี่ย ± SE) ¹			
	เวลา (วัน)			
	0	6	12	18
0%(w/v) PEG (Unstressed control)	4.778 ± 0.209a	3.829 ± 0.182a	2.222 ± 0.269a	3.339 ± 0.097c
0.5%(w/v) PEG (Stressed control)	4.778 ± 0.209a	3.721 ± 0.310a	2.249 ± 0.300a	2.254 ± 0.246a
0.5%(w/v) PEG + 50 µM DHECD	4.778 ± 0.209a	4.857 ± 0.081b	2.726 ± 0.097b	2.573 ± 0.110ab
0.5%(w/v) PEG + 100 µM DHECD	4.778 ± 0.209a	4.594 ± 0.244b	2.907 ± 0.418ab	2.807 ± 0.110b

¹ ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกันโดยวิธี DMRT ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

SE = ค่าความคลาดเคลื่อน (standard error)

ตาราง 16 ผลของสาร DHECD ต่อปริมาณ malondialdehyde ภายใต้สภาวะแสง

ชนิดเมเนต์	ปริมาณ malondialdehyde (MDA) ($\mu\text{mol/gFW}$) (ค่าเฉลี่ย \pm SE) ¹			
	0	6	12	18
0%(w/v) PEG (Unstressed control)	0.0488 \pm 0.0006a	0.0116 \pm 0.0005a	0.0112 \pm 0.0004a	0.0169 \pm 0.0010a
0.5%(w/v) PEG (Stressed control)	0.0488 \pm 0.0006a	0.0209 \pm 0.0007c	0.0305 \pm 0.0009c	0.0415 \pm 0.0014c
0.5%(w/v) PEG + 50 μM DHECD	0.0488 \pm 0.0006a	0.0141 \pm 0.0008b	0.0224 \pm 0.0012b	0.0353 \pm 0.0020b
0.5%(w/v) PEG + 100 μM DHECD	0.0488 \pm 0.0006a	0.0126 \pm 0.0009ab	0.0242 \pm 0.0011b	0.0355 \pm 0.0008b

¹ ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกันโดยวิธี DMRT ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

SE = ค่าความคลาดเคลื่อน (standard error)

ตาราง 17 ผลของสาร DHECD ต่อปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ภายใต้สภาวะแสง

พรีดเมนต์	ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H ₂ O ₂) (µmol/gFW) (ค่าเฉลี่ย ± SE) ¹			
	เวลา (วัน)			
	0	6	12	18
0%(w/v) PEG (Unstressed control)	1995.25 ± 125.96a	447.40 ± 80.55ab	12.16 ± 7.77a	228.50 ± 51.85a
0.5%(w/v) PEG (Stressed control)	1995.25 ± 125.96a	593.19 ± 58.36b	741.13 ± 138.27c	2235.27 ± 131.62c
0.5%(w/v) PEG + 50 µM DHECD	1995.25 ± 125.96a	320.48 ± 60.33a	538.15 ± 57.93bc	1190.89 ± 89.65b
0.5%(w/v) PEG + 100 µM DHECD	1995.25 ± 125.96a	335.52 ± 66.23a	505.31 ± 83.16b	1047.15 ± 117.88b

¹ ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกันโดยวิธี DMRT ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

SE = ค่าความคลาดเคลื่อน (standard error)

ตาราง 18 ผลของสาร DHECD ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ CAT ภายใต้สภาวะแสง

พรีดเมนต์	กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ catalase (CAT) (units/min/gFW) (ค่าเฉลี่ย ± SE) ¹				
	เวลา (วัน)	0	6	12	18
0%(w/v) PEG (Unstressed control)		0.0050 ± 0.0002a	0.0014 ± 0.0001a	0.0007 ± 0.0001a	0.0014 ± 0.0002a
0.5%(w/v) PEG (Stressed control)		0.0050 ± 0.0002a	0.0025 ± 0.0004c	0.0017 ± 0.0001b	0.0060 ± 0.0004b
0.5%(w/v) PEG + 50 µM DHECD		0.0050 ± 0.0002a	0.0016 ± 0.0004ab	0.0041 ± 0.0005d	0.0096 ± 0.0013c
0.5%(w/v) PEG + 100 µM DHECD		0.0050 ± 0.0002a	0.0018 ± 0.0001b	0.0025 ± 0.0002c	0.0062 ± 0.0012b

¹ ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกันโดยวิธี DMRT ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

SE = ค่าความคลาดเคลื่อน (standard error)

ตาราง 19 ผลของสาร DHECD ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ APX ภายใต้สภาวะแสง

พรีดเมนต์	กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ ascorbate peroxidase (APX) (units/min/gFW) (ค่าเฉลี่ย ± SE) ¹			
	0	6	12	18
0%(w/v) PEG (Unstressed control)	0.1609 ± 0.0106a	0.0167 ± 0.0070a	0.0047 ± 0.0007a	0.0061 ± 0.0020a
0.5%(w/v) PEG (Stressed control)	0.1609 ± 0.0106a	0.0787 ± 0.0177b	0.0861 ± 0.0116b	0.2451 ± 0.0279c
0.5%(w/v) PEG + 50 µM DHECD	0.1609 ± 0.0106a	0.0795 ± 0.0029b	0.0986 ± 0.0064b	0.2122 ± 0.0109c
0.5%(w/v) PEG + 100 µM DHECD	0.1609 ± 0.0106a	0.0786 ± 0.0027b	0.1201 ± 0.0195b	0.1556 ± 0.0237b

¹ ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกันโดยวิธี DMRT ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

SE = ค่าความคลาดเคลื่อน (standard error)

ตาราง 20 ผลของสาร DHECD ต่อระดับการแสดงออกของยีน CHLASE ภายใต้สภาวะแห้ง

พรีดเมนต์	ค่า relative expression ของยีน CHLASE (ค่าเฉลี่ย \pm SE) ¹			
	เวลา (วัน)			
	0	6	12	18
0%(w/v) PEG (Unstressed control)	0.654 \pm 0.013a	0.499 \pm 0.063a	0.475 \pm 0.031a	0.388 \pm 0.034a
0.5%(w/v) PEG (Stressed control)	0.654 \pm 0.013a	0.634 \pm 0.044b	0.626 \pm 0.071b	0.654 \pm 0.090b
0.5%(w/v) PEG + 50 μ M DHECD	0.654 \pm 0.013a	0.581 \pm 0.056ab	0.517 \pm 0.022a	0.502 \pm 0.099ab
0.5%(w/v) PEG + 100 μ M DHECD	0.654 \pm 0.013a	0.587 \pm 0.049ab	0.429 \pm 0.093a	0.364 \pm 0.110a

¹ ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกันโดยวิธี DMRT ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

SE = ค่าความคลาดเคลื่อน (standard error)

บทที่ 5

สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

คลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุที่ทำหน้าที่รับและส่งพลังงานแสงในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช จากผลการทดลองพบว่า ต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสภาวะแล้งและไม่ได้พ่นด้วยสาร DHECD มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี คลอโรฟิลล์รวม และแคโรทีนอยด์ในใบลดลง ตั้งแต่วันที่ 9 ถึงวันที่ 21 ของการทดลอง เมื่อเทียบกับต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสภาวะปกติ แสดงให้เห็นว่า ความเครียดจากสภาวะแล้งทำให้การสะสมปริมาณรงควัตถุในใบพืชลดลง เนื่องจากกระตุ้นกระบวนการสลายคลอโรฟิลล์ และส่งเสริมการสร้าง reactive oxygen species (ROSs) ซึ่งเป็นผลให้ปริมาณแคโรทีนอยด์ลดลง (Havaux, 2013, p. 600) สอดคล้องกับการศึกษาของ Macar and Ekmekçi (2008, pp. 589-590) ที่รายงานไว้ว่า ถั่วลูกไก่ (chickpea) มีปริมาณคลอโรฟิลล์ (เอ + บี) และแคโรทีนอยด์ในใบลดลง หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 7 วัน ในการทดลองนี้พบว่า การใช้สาร DHECD ความเข้มข้น 10, 50, 100 และ 150 ไมโครโมลาร์ ทำให้การสะสมปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี คลอโรฟิลล์รวม และแคโรทีนอยด์ในใบของต้นมะเขือเทศเพิ่มขึ้น หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 9 วัน โดยเมื่อเปรียบเทียบสาร DHECD ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน พบว่า DHECD ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ทำให้ปริมาณรงควัตถุเพิ่มขึ้นสูงสุด แสดงให้เห็นว่า สาร DHECD ช่วยรักษาระดับปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ในใบภายใต้ความเครียดจากสภาวะแล้ง สอดคล้องกับการศึกษาของ Honnerová et al. (2010, p. 503) ที่รายงานไว้ว่า ต้นข้าวโพดที่ได้รับการพ่นด้วยสาร 24-epibrassinolide (EBR) ความเข้มข้น 10^{-8} โมลาร์ มีการสะสมปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี และแคโรทีนอยด์ในใบมากกว่าต้นข้าวโพดที่ไม่ได้พ่นสาร EBR หลังได้รับความเครียดจากความเย็น และ Lv et al. (2020, pp. 63, 69) รายงานว่า การพ่นด้วยสารบราสซิโนสตีรอยด์ ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ใบของต้น *Leymus chinensis* ภายใต้ความเครียดจากความแล้ง ทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี สัดส่วนคลอโรฟิลล์ เอต่อบี คลอโรฟิลล์รวม และแคโรทีนอยด์ในใบมากกว่าต้น *L. chinensis* ที่ไม่ได้รับการพ่นด้วยสารบราสซิโนสตีรอยด์ในสภาวะแล้ง

ดัชนีความเขียวของใบ (SPAD value) เป็นค่าที่มีความสัมพันธ์กับปริมาณคลอโรฟิลล์ในพืชทางบวก จากผลการทดลองพบว่า ต้นมะเขือเทศที่ไม่ได้พ่นด้วยสาร DHECD ในสภาวะแล้ง มีค่า SPAD ของใบลดลง ตั้งแต่วันที่ 6 ถึงวันที่ 21 ของการทดลอง เมื่อเทียบกับต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสภาวะปกติ แสดงให้เห็นว่า ความเครียดจากสภาวะแล้งทำให้ความเขียวของใบลดลง เป็นผล

จากที่ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบลดลง สอดคล้องกับการศึกษาของ Fanizza, Ricciardi, and Bagnulo (1991, p. 30) ที่รายงานค่า SPAD ของใบที่แผ่กว้างและเติบโตเต็มที่ของต้นองุ่น มีค่าลดลง หลังได้รับความเครียดจากสภาวะขาดน้ำ เมื่อเทียบกับต้นองุ่นที่ไม่ได้รับความเครียด และพบว่าการใช้สาร DHECD ความเข้มข้น 10, 50, 100 และ 150 ไมโครโมลาร์ ทำให้ใบของต้นมะเขือเทศมีค่า SPAD เพิ่มขึ้น หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 9 วัน โดยเมื่อเปรียบเทียบสาร DHECD ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน พบว่า DHECD ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ทำให้ค่า SPAD ของใบมะเขือเทศเพิ่มขึ้นสูงสุด แสดงให้เห็นว่า ค่า SPAD และปริมาณคลอโรฟิลล์ มีผลการทดลองที่สอดคล้องไปในทิศทางเดียวกัน และสาร DHECD ช่วยรักษาความเขียวของใบมะเขือเทศภายใต้สภาวะแล้ง และ Furio et al. (2019, pp. 4-5) รายงานว่า การใช้สาร 24-epibrassinolide (EP24) และสาร brassinosteroid spirostanoic analogue DI-31 (BB16) ทำให้ค่า SPAD ของใบสตรอเบอร์รี่พันธุ์ Pájaro เพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับต้นสตรอเบอร์รี่ที่ไม่ได้รับสาร brassinosteroid

สารออกซิโมโพรเทคแทนต์ เช่น โพรลีน และน้ำตาล มีบทบาทสำคัญในการปรับค่าศักยภาพของน้ำภายในเซลล์พืช เพื่อป้องกันการสูญเสียน้ำออกจากเซลล์ ดังนั้นจึงถูกนำไปใช้เป็นตัวบ่งบอกถึงความสามารถในการทนแล้งของพืช จากผลการทดลองพบว่า ต้นมะเขือเทศที่ไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD มีการสะสมปริมาณโพรลีนและน้ำตาลในใบเพิ่มขึ้น หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 15 วัน แสดงให้เห็นว่า ความเครียดจากสภาวะแล้งชักนำให้มีการสะสมโพรลีนและน้ำตาลในใบ เพื่อรักษาระดับน้ำของเซลล์ โดยการลดค่าศักยภาพของน้ำภายในเซลล์ สอดคล้องกับการศึกษาของ Irigoyen, Emerich, and Sánchez-Díaz (1992, p. 57) ที่รายงานค่า ปม (nodule) และใบของถั่ว alfalfa มีการสะสมปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและโพรลีนเพิ่มขึ้น หลังได้รับสภาวะขาดน้ำ ส่วนการทดลองที่ใช้สาร DHECD ความเข้มข้น 10, 50, 100 และ 150 ไมโครโมลาร์ พบว่าช่วยส่งเสริมการสะสมโพรลีนและน้ำตาลในใบของต้นมะเขือเทศให้มีปริมาณมากกว่าต้นมะเขือเทศในชุดควบคุมที่ไม่ได้พ่นสาร DHECD ภายใต้สภาวะแล้ง เมื่อเปรียบเทียบสาร DHECD ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน พบว่า DHECD ความเข้มข้น 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการเพิ่มปริมาณโพรลีนและน้ำตาลในใบของต้นมะเขือเทศพันธุ์ CH154 แสดงให้เห็นว่า สาร DHECD ช่วยเพิ่มความสามารถในการทนแล้งให้กับต้นมะเขือเทศได้ สอดคล้องกับการศึกษาของ Sonjaroon et al. (2018, p. 237) ที่รายงานค่า ใบของต้นข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 0.001 ไมโครโมลาร์ มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในใบมากกว่าต้นข้าวที่ไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ตั้งแต่วันที่ 3 ถึงวันที่ 7 ของการทดลอง ภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูง

สารประกอบฟีนอลิก เป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระที่ไม่ได้อยู่ในรูปของเอนไซม์ มีบทบาทสำคัญในการลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยการเป็นตัวให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ (Smetanska, 2018, p. 30) จากผลการทดลองพบว่า ต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสภาวะแล้งและไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในใบมากกว่าต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสภาวะปกติ ในวันที่ 12 ของการทดลอง แสดงให้เห็นว่า ความเครียดจากสภาวะแล้งชักนำให้มีการสร้างสารประกอบฟีนอลิกในใบเพิ่มขึ้น เพื่อกำจัดอนุมูลอิสระที่มากกว่าระดับปกติ สอดคล้องกับการศึกษาของ Sánchez-Rodríguez et al. (2010, pp. 34, 37) ที่รายงานว่า ต้นมะเขือเทศเชอร์รี่สายพันธุ์ Kosaco, Josefina และ Katalina มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในใบเพิ่มขึ้น หลังได้รับสภาวะเครียดจากการขาดน้ำ และพบว่าการใช้สาร DHECD ความเข้มข้น 10, 50, 100, 150 ไมโครโมลาร์ ทำให้การสะสมสารประกอบฟีนอลิกรวมในใบของต้นมะเขือเทศมีปริมาณมากกว่าต้นในชุดควบคุมที่ไม่ได้พ่นด้วยสาร DHECD หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 9 วัน เมื่อเปรียบเทียบสาร DHECD ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน พบว่า DHECD ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ เพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในใบสูงสุด แสดงให้เห็นว่า สาร DHECD ช่วยส่งเสริมการสร้างสารประกอบฟีนอลิกในใบของต้นมะเขือเทศที่ได้รับผลกระทบจากความแล้งได้จากผลการทดลองสรุปได้ว่า การพ่นด้วยสาร DHECD ที่ 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ เป็นระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมที่ช่วยเพิ่มความสามารถในการทนแล้งให้กับต้นมะเขือเทศพันธุ์ CH154 จึงได้เลือกสาร DHECD ความเข้มข้น 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ไปใช้ในการทดลองที่ศึกษาผลของสารบราสซิโนสตีรอยด์มีมิกต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน การสังเคราะห์ด้วยแสง โครงสร้างคลอโรพลาสต์ การแสดงออกของยีน *CHLASE* และกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ catalase (CAT) และ ascorbate peroxidase (APX) ในมะเขือเทศพันธุ์ CH154 ภายใต้สภาวะแล้ง

การศึกษาคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ของพืชที่ตอบสนองต่อความเครียดจากสิ่งแวดล้อมสามารถศึกษาได้จากประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุดของระบบแสงสอง (the maximum quantum efficiency of PSII; F_v/F_m) และ performance index (PI) เนื่องจากค่า F_v/F_m บ่งบอกถึงการเกิดการยับยั้งการสังเคราะห์ด้วยแสง (photoinhibition) โดยการลดลงของค่า F_v/F_m สัมพันธ์กับความเสียหายที่เกิดขึ้นกับศูนย์กลางปฏิกิริยาของระบบแสงสองและการลดลงของอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง (Calatayud & Barreno, 2004, p. 552) และค่า PI บ่งบอกถึงการไหลของอิเล็กตรอนจากระบบแสงสองไปยังระบบแสงหนึ่ง (Ceusters et al., 2019, pp. 1-2) จากผลการทดลองพบว่า ต้นมะเขือเทศที่ไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD มีค่า F_v/F_m และ PI ของใบลดลง หลัง

ได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 18 วัน แสดงให้เห็นว่า ประสิทธิภาพในการสังเคราะห์ด้วยแสงของต้นมะเขือเทศลดลง ภายใต้สภาวะแล้ง สอดคล้องกับการศึกษาของ Liu and Huang (2000, pp. 504, 506) รายงานว่า หลัาสายพันธุ์ L-93 และ Penncross มีค่า F_v/F_m ของใบลดลง หลังได้รับอุณหภูมิสูงเป็นเวลา 56 วัน และ Mehta, Jajoo, Mathur, and Bharti (2010, p. 18) พบว่า ค่า PI ของใบข้าวสาลีมีค่าลดลง หลังได้รับความเครียดจากความเค็มจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ในขณะที่การใช้สาร DHECD ความเข้มข้น 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ช่วยเพิ่มค่า F_v/F_m และ PI ในใบของต้นมะเขือเทศ หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 6 วัน แสดงให้เห็นว่า สาร DHECD ส่งเสริมประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสง สอดคล้องกับการศึกษาของ Thussagunpanit et al. (2015, p. 326) ที่รายงานว่าการพ่นด้วยสาร EBR (ความเข้มข้น 10^{-8} โมลาร์) และ DHECD (ความเข้มข้น 10^{-7} โมลาร์) มีค่า F_v/F_m ของใบเพิ่มขึ้น หลังได้รับความเครียดจากอุณหภูมิสูงเป็นเวลา 7 วัน

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เป็น ROSs เมื่อมีปริมาณมากกว่าระดับปกติ จะชักนำให้เกิดความเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ซึ่งเป็นผลให้เกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน ได้ผลิตภัณฑ์เป็น malondialdehyde (MDA) จากผลการทดลองพบว่า สภาวะแล้งทำให้ต้นมะเขือเทศที่ไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD มีปริมาณ H_2O_2 และ MDA ในใบเพิ่มขึ้น ตั้งแต่วันที่ 6 ถึงวันที่ 18 ของการทดลอง แสดงให้เห็นว่า ความเครียดจากสภาวะแล้งกระตุ้นการสร้าง H_2O_2 ทำให้เกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาของ Cao, Ma, Zhao, Wang, and Xu (2015, pp. 57, 59) ที่รายงานว่าการสะสมปริมาณ H_2O_2 และ MDA ในคลอโรพลาสต์เพิ่มขึ้น หลังได้รับความเครียดจากสภาวะแล้งเป็นเวลา 12 วัน ส่วนการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ช่วยลดการสะสมปริมาณ H_2O_2 และ MDA ในใบของต้นมะเขือเทศ หลังได้รับสภาวะแล้งเป็นเวลา 18 วัน แสดงให้เห็นว่า สาร DHECD ช่วยบรรเทาความเครียดจากสภาวะแล้งได้ โดยยับยั้งการสร้าง H_2O_2 เพื่อลดการเกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันในมะเขือเทศ

สารต่อต้านอนุมูลอิสระในรูปของเอนไซม์ เช่น CAT และ APX มีบทบาทสำคัญในการกำจัด H_2O_2 ที่มากกว่าระดับปกติ เพื่อลดความเสียหายที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ จากผลการทดลองพบว่า ต้นมะเขือเทศที่ไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ภายใต้ความแล้ง มีกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ CAT และ APX ในใบเพิ่มขึ้น ตั้งแต่วันที่ 6 ถึงวันที่ 18 ของการทดลอง แสดงให้เห็นว่า ความเครียดจากสภาวะแล้งชักนำให้ระบบป้องกันด้วยสารต้านอนุมูลอิสระในรูปของเอนไซม์มีกิจกรรมการทำงานเพิ่มขึ้น เพื่อลดปริมาณ H_2O_2 สอดคล้องกับการศึกษาของ Wang et al. (2009,

pp. 573-574) ที่รายงานไว้ว่า ถั่ว alfalfa สายพันธุ์ Xinmu และ Northstar มีการสะสมปริมาณ H_2O_2 กับ MDA และกิจกรรมของเอนไซม์ CAT และ APX ในส่วนต้น (shoot) เพิ่มขึ้น หลังได้รับสถานะเค็มจาก NaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ ในขณะที่การพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ เพิ่มกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ CAT ในวันที่ 12 และ 18 ของการทดลอง ส่วนการใช้สาร DHECD ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ส่งเสริมกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ CAT ในใบของต้นมะเขือเทศ หลังได้รับสถานะแล้งเป็นเวลา 12 วัน เมื่อเทียบกับต้นมะเขือเทศในชุดควบคุมที่อยู่ในสถานะแล้งและไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD และกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ APX ของต้นมะเขือเทศที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ และต้นที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ไม่มีความแตกต่างกับต้นมะเขือเทศที่ไม่ได้รับสาร DHECD ในสถานะแล้ง แสดงให้เห็นว่า สาร DHECD ช่วยส่งเสริมกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ CAT ภายใต้สถานะแล้ง เพื่อเพิ่มความสามารถในการทนแล้งให้กับต้นมะเขือเทศ สอดคล้องกับการศึกษาของ Sonjaroon et al. (2016, pp. 4-5) ที่รายงานไว้ว่า ข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ที่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD มีปริมาณ H_2O_2 และ MDA ในใบลดลง แต่มีกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ CAT และ APX ในใบเพิ่มขึ้น หลังได้รับสถานะอุทกภัยสูงเป็นเวลา 9 วัน เมื่อเทียบกับต้นข้าวที่ไม่ได้พ่นสาร DHECD ภายใต้ความเครียดจากความร้อน

เอนไซม์ chlorophyllase เป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสลายคลอโรฟิลล์ โดยถูกแปลรหัสมาจากยีน *CHLASE* จากผลการทดลองพบว่า ต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสถานะแล้งและไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD มีค่า relative expression ของยีน *CHLASE* ในใบเพิ่มขึ้น ตั้งแต่วันที่ 6 ถึงวันที่ 12 ของการทดลอง เมื่อเทียบกับต้นที่อยู่ในสถานะปกติ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบลดลง แสดงให้เห็นว่า สถานะแล้งทำให้ระดับการแสดงออกของยีน *CHLASE* เพิ่มขึ้น เนื่องจากความเครียดจากสถานะแล้งส่งเสริมระดับการแสดงออกของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสลายคลอโรฟิลล์ เช่น chlorophyllase (Kosavá, Urban, Vitámvás, & Prášil, 2016, p. 290) สอดคล้องกับการศึกษาของ Ella, Kawano, Yamauchi, Tanaka, and Ismail (2003, p. 816) รายงานว่า ข้าวสายพันธุ์ IR42 มีระดับการแสดงออกของยีน *CHLASE* ในใบเพิ่มขึ้น ภายใต้ความเครียดจากสถานะน้ำท่วม สำหรับการพ่นด้วยสาร DHECD ความเข้มข้น 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ทำให้ต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสถานะแล้งมีค่า relative expression ของยีน *CHLASE* ในใบลดลง ในวันที่ 12 ของการทดลอง แสดงให้เห็นว่า สาร DHECD ช่วยรักษาระดับปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบ โดยการยับยั้งการแสดงออกของยีน *CHLASE* ภายใต้สถานะแล้ง ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบของต้นมะเขือเทศที่ได้รับการพ่นด้วยสาร

DHECD มากกว่าต้นที่ไม่ได้พ่นสาร DHECD ภายใต้สภาวะแล้ง สอดคล้องกับการศึกษาของ A. Sharma et al. (2016, p. 9) รายงานว่า ต้นอ่อน *Brassica juncea* L. cv. RLC-1 ที่ได้รับสาร EBR มีระดับการแสดงของยีน *CHLASE* น้อยกว่าต้นที่ไม่ได้รับสาร EBR ภายใต้ความเครียดจากความเค็มของสาร imidacloprid (IMI)

คลอโรพลาสต์เป็นออร์แกเนลล์ที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์อาหารด้วยแสงของพืช การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางโครงสร้างของคลอโรพลาสต์ สามารถใช้เป็นตัวบ่งบอกถึงผลกระทบของความเครียดจากสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อพืชได้ จากผลการทดลองพบว่า ต้นมะเขือเทศที่ไม่ได้รับการพ่นด้วยสาร DHECD ในสภาวะแล้ง มีโครงสร้างคลอโรพลาสต์ขนาดเล็ก รูปร่างหดตัว ไม่พบการสร้างเวสิเคิล ไม่พบการสร้างเม็ดแป้ง กรานาเลลาเมลลาบาง และมีลิพิดเมมเบรนไม่คมชัด เนื่องจากความเครียดจากสภาวะแล้งกระตุ้นการสร้าง ROSs ภายในคลอโรพลาสต์ (Carvalho, 2008, p. 156) ซึ่ง ROSs ทำลายองค์ประกอบภายในเซลล์ เช่น ดีเอ็นเอ กรดอะมิโน และกรดไขมัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Shao et al. (2016, pp. 78-79) ที่รายงานว่า โครงสร้างคลอโรพลาสต์ของต้นอ่อนข้าวโพดสายพันธุ์ Wi6-2 และ HZ4 ที่รับความเครียดจากสภาวะแล้งเป็นเวลา 1 วัน มีความหนาแน่นของกรานาไทลาคอยด์ลดลง และรูปร่างมีการเปลี่ยนแปลง ในขณะที่การใช้สาร DHECD ความเข้มข้น 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ช่วยรักษาสภาพของคลอโรพลาสต์ของต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสภาวะแล้งให้เหมือนกับต้นที่อยู่ในสภาวะปกติ คือ มีโครงสร้างคลอโรพลาสต์ขนาดใหญ่ พบการสร้างเม็ดแป้ง กรานาเลลาเมลลาหนา และมีลิพิดเมมเบรนคมชัด ซึ่งเป็นผลจากการที่สาร DHECD ส่งเสริมกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ CAT ในใบของต้นมะเขือเทศ เพื่อลดปริมาณ H_2O_2 ที่เป็นสาเหตุของการเกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน อีกทั้งช่วยให้การสร้างเวสิเคิลยังคงดำเนินต่อไปได้ภายใต้สภาวะแล้ง โดยที่เวสิเคิลมีบทบาทในการช่วยขนส่งกาแล็กโทลิพิด (galactolipid) จากเยื่อหุ้มชั้นในของคลอโรพลาสต์ (inner envelope) สู่ออกซิเดชัน (Andersson & Dörmann, 2009, pp. 125, 142)

ดังนั้นจากการทดลองสรุปได้ว่า การใช้สาร DHECD เพิ่มประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสง ส่งเสริมความสามารถในการทนแล้งให้กับต้นมะเขือเทศ โดยเพิ่มการสะสมปริมาณสารออกซิโมโปรเทคแทนต์ ได้แก่ โพรลีน และน้ำตาลที่ละลายน้ำในใบพืช นอกจากนี้ยังช่วยบรรเทาความเครียดจากความแล้ง โดยเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและส่งเสริมกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ CAT เพื่อลดการเกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน อีกทั้งช่วยรักษาสภาพของโครงสร้างคลอโรพลาสต์และปริมาณรงควัตถุในใบของต้นมะเขือเทศที่อยู่ใน

สภาวะแล้ง และสาร DHECD ที่ 50 ไมโครโมลาร์ เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดสำหรับต้นมะเขือเทศพันธุ์ CH154

ข้อเสนอแนะ

ข้อเสนอแนะในการศึกษาครั้งต่อไป

1) ควรมีการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการส่งเสริมความสามารถในทนแล้งระหว่างสาร 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone (DHECD) และสาร 7,8-dihydro-5 α ,8 α -20-hydroxyecdysone (α -DHECD) ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากัน เพื่อหาสารบราสสินอยด์ที่ย่อยดีมีมากที่สุดสำหรับมะเขือเทศพันธุ์ CH154

2) ควรมีการศึกษากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ chlorophyllase เพื่อดูความสัมพันธ์กับการแสดงออกของยีน *CHLASE* และศึกษากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ด้านอนุมูลอิสระตัวอื่น ๆ เช่น superoxide dismutase (SOD) และ guaiacol peroxidase (GPOD) เพื่อให้รู้บทบาทของสาร DHECD ต่อการส่งเสริมกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์เหล่านี้เพิ่มขึ้นในมะเขือเทศพันธุ์ CH154 ภายใต้สภาวะแล้ง

3) ควรมีการศึกษากิจกรรมการแสดงออกของ *Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthase (P5CS)* และ *ornithine- δ -aminotransferase (δ -OAT)* ซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์กรดอะมิโนไพโรลีน เพื่อให้เข้าใจถึงกลไกการสร้างไพโรลีนของมะเขือเทศพันธุ์ CH154 ในสภาวะแล้ง มากยิ่งขึ้น

4) ในงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของสาร DHECD ต่อการตอบสนองทางสรีรวิทยาบางประการของมะเขือเทศพันธุ์ CH154 ที่ได้รับความเครียดจากความแล้ง โดยทำการทดลองในระดับโรงเรือน ดังนั้นจึงควรทำการทดลองในระดับแปลง เพื่อเปรียบเทียบความเหมือนและความแตกต่างของผลการทดลองที่ได้จากการศึกษาทั้ง 2 ระดับ

5) ควรมีการศึกษ้อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงสุทธิ (net photosynthetic rate) ค่าน้ำไหลปากใบ (stomatal conductance) อัตราการคายน้ำ (transpiration rate) และอัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ในช่องว่างระหว่างเซลล์กับอากาศ เพื่อให้เข้าใจถึงการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของมะเขือเทศพันธุ์ CH154 ที่อยู่ในสภาวะแล้ง มากยิ่งขึ้น

ข้อเสนอแนะทั่วไป

1) ในงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า สาร DHECD สามารถเพิ่มความสามารถในการทนแล้งและช่วยบรรเทาความเครียดจากความแล้งในมะเขือเทศพันธุ์ CH154 ได้ ดังนั้นจึงควรนำสาร

DHECD ไปประยุกต์ใช้กับพืชต่างชนิดพันธุ์ หรือนำไปใช้กับความเครียดจากปัจจัยทางกายภาพอื่น ๆ (abiotic stress) เช่น ความร้อน และความเค็ม เพื่อเป็นแนวทางหนึ่งในการช่วยให้พืชสามารถอยู่รอดในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้

2) ในการจำลองสภาวะแล้งด้วยสาร polyethylene glycol 6000 (PEG6000) พืชแต่ละชนิดมีความสามารถในการทนแล้งที่แตกต่างกัน จึงควรทำการทดลองหาความเข้มข้นของ PEG6000 ที่เป็นระดับความแล้งสูงสุดที่พืชชนิดนั้นสามารถทนได้

3) ควรมีการจดบันทึกข้อมูลสภาพอากาศตลอดทำการทดลอง เช่น ความเข้มแสง อุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ เพราะสภาพภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลงในแต่ละวันมีผลต่อการตอบสนองทางสรีรวิทยาของพืชด้วยเช่นกัน



บรรณานุกรม

- Abebe, T., Melmaiee, K., Berg, V., & Wise, R. P. (2010). Drought response in the spikes of barley: gene expression in the lemma, palea, awn, and seed. *Functional and Integrative Genomics*, 10, 191-192, 199, 201.
- Ahmad, M. A., Murali, P. V., & Panneerselvam, R. (2013). Drought stress induced biochemical alterations in two varieties of *Paspalum scrobiculatum* L. *International Journal of Current Science*, 7, 80, 82, 85-86.
- Amede, T., & Schubert, S. (2003). Mechanisms of drought resistance in grain II: stomatal regulation and root growth. *Ethiopian Journal of Science*, 26(2), 137-143.
- Andersson, M. X., & Dörmann, P. (2009). *Chloroplast membrane lipid biosynthesis and transport* (Vol. 13). Berlin, Heidelberg: Springer.
- Arve, L. E., Torre, S., Olsen, J. E., & Tanino, K. K. (2011). Stomatal responses to drought stress and air humidity. In A. K. Shanker & B. Venkateswarlu (Eds.), *Abiotic Stress in Plants-Mechanisms and Adaptations* (pp. 272-273). Rijeka: InTech.
- Ayala, A., Muñoz, M. F., & Argüelles, S. (2014). Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1.
- Ayaz, M., Ahmad, R., Shahzad, M., Khan, N., Shah, M. M., & Khan, S. A. (2015). Drought stress stunt tomato plant growth and up-regulate expression of *SIAREB*, *SINCE3*, and *SIERF024* genes. *Scientia Horticulturae*, 195, 48.
- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99, 191-192.
- Bates, L. S., & Waldren, R. P. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-206.
- Beyer, W. F., & Fridovich, I. (1988). Catalases--with and without heme. In M. G. Simic, K. A. Taylor, J. F. Ward, & C. von Sonntag (Eds.), *Oxygen Radicals in Biology and Medicine* (pp. 651). New York: Plenum Press.

- Brady, J., Dürig, T., Lee, P. I., & Li, J. -X. (2017). Polymer properties and characterization. In Y. Qiu, Y. Chen, G. Zhang, L. Yu, & R. V. Mantri (Eds.), *Developing Solid Oral Dosage Forms* (2nd ed., pp. 219). Cambridge: Academic Press.
- Bras, M. L., Clément, M. -V., Pervaiz, S., & Brenner, C. (2005). Reactive oxygen species and the mitochondrial signaling pathway of cell death. *Histol Histopathol*, *20*, 205.
- Bravo, L. (1998). Polyphenol: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, *56*(11), 317, 319, 321, 327.
- Calatayud, A., & Barreno, E. (2004). Response to ozone in two lettuce varieties on chlorophyll a fluorescence, photosynthetic pigments and lipid peroxidation. *Plant Physiology and Biochemistry*, *42*, 552.
- Cao, B., Ma, Q., Zhao, Q., Wang, L., & Xu, K. (2015). Effects of silicon on absorbed light allocation, antioxidant enzymes and ultrastructure of chloroplasts in tomato leaves under simulated drought stress. *Scientia Horticulturae*, *194*, 57, 59.
- Carvalho, M. H. C. de. (2008). Drought Stress and Reactive Oxygen Species. *Plant Signaling and Behavior*, *3*(3), 156.
- Caverzan, A., Passaia, G., Rosa, S. B., Ribeiro, C. W., Lazzarotto, F., & Margis-Pinheiro, M. (2012). Plant responses to stresses: role of ascorbate peroxidase in the antioxidant protection. *Genetics and Molecular Biology*, *35*(4 Supplement), 1011-1012, 1016.
- Ceusters, N., Valcke, R., Frans, M., Claes, J. E., Ende, W. V. den, & Ceusters, J. (2019). Performance Index and PSII Connectivity under Drought and Contrasting Light Regimes in the CAM Orchid *Phalaenopsis*. *Frontiers in Plant Science*, *10*, 1-2.
- Choe, E., & Min, D. B. (2006). Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *5*, 170.
- Clouse, S. D., & Sasse, J. M. (1998). Brassinosteroids: essential regulators of plant growth and development. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, *49*, 437.
- Çoban, Ö., & Baydar, N. G. (2016). Brassinosteroid effects on some physical and biochemical properties and secondary metabolite accumulation in peppermint (*Mentha piperita* L.) under salt stress. *Industrial Crops and Products*, *86*, 251-257.

- Corbi, G., Conti, V., Russomanno, G., Longobardi, G., Furgi, G., Filippelli, A., & Ferrara, N. (2013). Adrenergic signaling and oxidative stress: a role for sirtuins?. *Frontiers in Physiology*, 4, 1.
- da Silva, E. C., Nogueira, R. J. M. C., da Silva, M. A., & de Albuquerque, M. B. (2011). Drought stress and plant nutrition. *Drought Stress and Plant Nutrition*, 5(Special Issue 1), 39.
- Ding, H. -D., Zhu, X. -H., Zhu, Z. -W., Yang, S. -J., Zha, D. -S., & Wu, X. -X. (2012). Amelioration of salt-induced oxidative stress in eggplant by application of 24-epibrassinolide. *Biologia Plantarum*, 56(4), 767-769.
- Ella, E. S., Kawano, N., Yamauchi, Y., Tanaka, K., & Ismail, A. M. (2003). Blocking ethylene perception enhances flooding tolerance in rice seedling. *Functional Plant Biology*, 30, 816.
- Fanizza, G., Ricciardi, L. , & Bagnulo, C . (1991). Leaf greenness measurements to evaluate water stressed genotypes in *Vitis vinifera*. *Euphytica*, 55, 30.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., & Basra, S. M. A. (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*, 29, 186.
- Furio, R. N., Salazar, S. M., Martinez-Zamora, G. M., Coll, Y., Hael-Conrad, V., & Díaz-Ricci, J. C. (2019). Brassinosteroids promote growth, fruit quality and protection against Botrytis on *Fragaria x ananassa*. *European Journal of Pathology*, 4-5.
doi:10.1007/s10658-019-01704-3
- Goleniowski, M., Bonfill, M., Cusido, R., & Palazón, J. (2013). Phenolic acids. In K. G. Ramawat (Ed.), *Natural Products* (pp. 1954). Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
- Grotto, D., Maria, L. S., Valentini, J., Paniz, C., Schmitt, G., Garcia, S. C., . . . Farina, M. (2009). Importance of the lipid peroxidation biomarkers and methodological aspects for malondialdehyde quantification. *Química Nova*, 32(1), 169-170.
- Gupta, S., Gupta, S. M., Sane, A. P., & Kumar, N. (2012). Chlorophyllase in *Piper betle* L. has a role in chlorophyll homeostasis and senescence dependent chlorophyll breakdown. *Molecular Biology Reports*, 39, 7134-7136.

- Halliwell, B. (2006). Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now?. *Journal of Neurochemistry*, 97, 1636.
- Harpaz-Saad, S., Azoulay, T., Arazi, T., Ben-Yaakov, E., Mett, A., Shibolet, Y. M., . . . Eyal, Y. (2007). Chlorophyllase is a rate-limiting enzyme in chlorophyll catabolism and is posttranslationally regulated. *The Plant Cell*, 19, 1007-1008.
- Havaux, M. (2013). Carotenoid oxidation products as stress signals in plants. *The Plant Journal*, 79, 600.
- Hayat, S., Hayat, Q., Alyemeni, M. N., Wani, A. S., Pichtel, J., & Ahmad, A. (2012). Role of proline under changing environments. *Plant Signaling and Behavior*, 7(11), 1456-1457.
- Hiscox, J. D., & Israelstam, F. (1979). A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. *Canadian Journal of Botany*, 57, 1332.
- Honnerová, J., Rothová, O., Holá, D., Kočová, M., Kohout, L., & Kvasnica, M. (2010). The Exogenous Application of Brassinosteroids to Zea mays (L.) Stressed by Long-Term Chilling Does Not Affect the Activities of Photosystem 1 or 2. *Journal of Plant Growth Regulation*, 29(4), 503.
- Irigoyen, J. J., Emerich, D. W., & Sánchez-Díaz, M. (1992). Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia Plantarum*, 84, 57.
- Jajic, I., Sarna, T., & Strzalka, K. (2015). Senescence, stress, and reactive oxygen species. *Plants*, 4, 393.
- Jiang, C., Johkan, M., Hohjo, M., Tsukagoshi, S., & Maruo, T. (2017). A correlation analysis on chlorophyll content and SPAD value in tomato leaves. *HortResearch*, 71, 37, 39-40.
- Jin, R., Shi, H., Han, C., Zhong, B., Wang, Q., & Chan, Z. (2015). Physiological changes of purslane (*Portulaca oleracea* L.) after progressive drought stress and rehydration. *Scientia Horticulturae*, 194, 215-220.
- Kaewsuksaeng, S. (2011). Chlorophyll degradation in horticultural crops. *Walailak Journal of Science and Technology*, 8(1), 10.

- Kaushal, J., Mehandia, S., Singh, G., Raina, A., & Arya, S. K. (2018). Catalase enzyme: application in bioremediation and food industry. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 16, 192.
- Khan, M. S., Ahmad, D., & Khan, M. A. (2015). Utilization of genes encoding osmoprotectants in transgenic plants for enhanced abiotic stress tolerance. *Electronic Journal of Biotechnology*, 18, 258.
- Kosavá, K., Urban, M. O., Vitámvás, P., & Prášil, I. T. (2016). *Drought Stress Response in Common Wheat, Durum Wheat, and Barley: Transcriptomics, Proteomics, Metabolomics, Physiology, and Breeding for an Enhanced Drought Tolerance* (M. A. Hossain, S. H. Wani, S. Bhattacharjee, D. J. Burritt, & L. P. Tran Eds. Vol. 2). Switzerland: Springer International.
- Kudryavtseva, A. V., Krasnov, G. S., Dmitriev, A. A., Alekseev, B. Y., Kardymon, O. L., Sadritdinova, A. F., . . . Snezhkina, A. V. (2016). Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in aging and cancer. *Oncotarget*, 7(29), 44882-44883.
- Kumar, Srinibas. (2018). The process of photosynthesis in plants (with diagram). Retrieved from <http://www.biologydiscussion.com/photosynthesis/process/the-process-of-photosynthesis-in-plants-with-diagram/15096>
- Lattanzio, V. (2013). Phenolic Compounds: introduction. In K. G. Ramawat & J. M. Mérillon (Eds.), *Natural Products* (pp. 1546). Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
- Lawlor, D. W. (1995). The effects of water deficit on photosynthesis. In N. Smirnov (Ed.), *Environment and Plant Metabolism* (pp. 131). Oxford: Bios Scientific.
- Liang, X., Zhang, L., Natarajan, S. K., & Becker, D. F. (2013). Proline mechanisms of stress survival. *Antioxidants and Redox Signaling*, 19, 1002.
- Liu, X., & Huang, B. (2000). Heat Stress Injury in Relation to Membrane Lipid Peroxidation in Creeping Bentgrass. *Crop Science*, 40, 504, 506.
- Livingston III, D. P., Hinch, D. K., & Heyer, A. G. (2009). Fructan and its relationship to abiotic stress tolerance in plants. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 66, 2007.
- Loh, F. C. W., Grabosky, J. C., & Bassuk, N. L. (2002). Using the SPAD 502 meter to assess chlorophyll and nitrogen content of benjamin fig and cottonwood leaves.

HortTechnology, 12(4), 682, 684.

Luan, S. (2002). Signalling drought in guard cells. *Plant Cell and Environment*, 25, 229.

Lv, J., Zong, X., Ahmad, A. S., Wu, X., Wu, C., Li, Y., & Wang, S. (2020). Alteration in morpho-physiological attributes of *Leymus chinensis* (Trin.) Tzvelev by exogenous application of brassinolide under varying levels of drought stress. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 80(1), 63, 69.

Macar, T., & Ekmekçi, Y. (2008). PSII Photochemistry and Antioxidant Responses of a Chickpea Variety Exposed to Drought. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 63(7-8), 589-590.

Madden, T. D., Bally, M. B., Hope, M. J., Cullis, P. R., Schieren, H. P., & Janoff, A. S. (1985). Protection of large unilameilar vesicles by trehalose during dehydration: retention of vesicle contents. *Biochimica et Biophysica Acta*, 817, 67, 72-73.

Makris, D. P., & Boskou, D. (2014). Plant-derived antioxidants as food additives. In N. K. Dubey (Ed.), *Plants as a Source of Natural Antioxidants* (pp. 170-171). Boston: CAB International.

Meher, Shivakrishna, P., Reddy, K. A., & Rao, D. M. (2018). Effect of PEG-6000 imposed drought stress on RNA content, relative water content (RWC), and chlorophyll content in peanut leaves and roots. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25, 285-288.

Mehta, P., Jajoo, A., Mathur, S., & Bharti, S. (2010). Chlorophyll a fluorescence study revealing effects of high salt stress on Photosystem II in wheat leaves. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48, 18.

Ogwen, J. O., Song, X. S., Shi, K., Hu, W. H., Mao, W. H., Zhou, Y. H., . . . Nogués, S. (2008). Brassinosteroids alleviate heat-induced inhibition of photosynthesis by increasing carboxylation efficiency and enhancing antioxidant system in *Lycopersicon esculentum*. *Journal of Plant Growth Regulation*, 27, 55.

Pirasteh-Anosheh, H., Saed-Moucheshi, A., Pakniyat, H., & Pessarakli, M. (2016). Stomatal responses to drought stress. In P. Ahmad (Ed.), *Water Stress and Crop Plants: A Sustainable Approach* (Vol. 1, pp. 28-29). West Sussex: Wiley Blackwell.

- Racchi, M. L. (2013). Antioxidant defenses in plants with attention to *Prunus* and *Citrus* spp. *Antioxidants*, 2, 342.
- Rao, K. V. M., & Sresty, T. V. S. (2000). Antioxidative parameters in the seedlings of pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millspaugh) in response to Zn and Ni stresses. *Plant Science*, 157, 116.
- Rao, S. S. R., Vardhini, B. V., Sujatha, E., & Anuradha, S. (2002). Brassinosteroids-a new class of phytohormones. *Current Science*, 82(10), 1240.
- Reddy, A. R., Chaitanya, K. V., & Vivekanandan, M. (2004). Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology*, 161, 1191.
- Reis, A. R., Favarin, J. L., Malavolta, E., Júnior, J. L., & Moraes, M. F. (2009). Chlorophylls, and SPAD readings in coffee leaves in relation to nitrogen supply. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 40, 1512, 1521, 1523.
- Saddam, S., Bibi, A., Sadaqat, H. A., & Usman, B. F. (2014). Comparison of 10 sorghum (*Sorghum bicolor* L.) genotypes under various water stress regimes. *The Journal of Animal and Plant Sciences*, 24(6), 1181.
- Sánchez-Rodríguez, E., Rubio-Wilhelmi, M., Cervilla, L. M., Blasco, B., J. J. Rios, Rosales, M. A., . . . Ruiz, J. M. (2010). Genotypic differences in some physiological parameters symptomatic for oxidative stress under moderate drought in tomato plants. *Plant Science*, 178, 34, 37.
- Sano, S., Ueda, M., Kitajima, S., Takeda, T., Shigeoka, S., Kurano, N., . . . Yokota, A. (2001). Characterization of Ascorbate Peroxidases from Unicellular Red Alga *Galdieria partita*. *Plant and Cell Physiology*, 42(4), 434.
- Sarma, A. D., Mallick, A. R., & Ghosh, A. K. (2010). Free radicals and their role in different clinical conditions: an overview. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 1(2), 187.
- Shahidi, F., Janitha, P. K., & Wanasundara, P. D. (1992). Phenolic antioxidants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 32(1), 70-71.
- Shao, R., Xin, L. F., Zheng, H. F., Li, L. L., Ran, W. L., Mao, J., & Yang, Q. H. (2016).

- Changes in chloroplast ultrastructure in leaves of drought-stressed maize inbred lines. *Photosynthetica*, 54.
- Sharma, A., Thakur, S., Kumar, V., Kanwar, M. K., Kesavan, A. K., Thukral, A. K., . . . Ahmad, P. (2016). Pre-sowing seed treatment with 24-epibrassinolide ameliorates pesticide stress in *Brassica juncea* L. through the modulation of stress markers. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1, 3-4, 6-7, 9.
- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., & Pessarakli, M. (2012). Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany*, 1.
- Shu, S., Guo, S. -R., Sun, J., & Yuan, L. -Y. (2012). Effects of salt stress on the structure and function of the photosynthetic apparatus in *Cucumis sativus* and its protection by exogenous putrescine. *Physiologia Plantarum*, 146(3), 287.
- Sinay, H., & Karuwal, R. L. (2014). Proline and total soluble sugar content at the vegetable phase of six corn cultivars from Kisar Island Maluku, grown under drought stress conditions. *International Journal of Advance Agricultural Research*, 2, 79.
- Singh, B., & Singh, G. (2004). Influence of soil water regime on nutrient mobility and uptake by *Dalbergia sissoo* seedlings. *Tropical Ecology*, 45(2), 337.
- Smetanska, I. (2018). *Sustainable production of polyphenols and antioxidants by plant in vitro cultures*. Cham: Springer.
- Sonjaroon, W., Jutamanee, K., O. Khamsuk, a, Thussagunpanit, J., Kaveeta, L., & Suksamrarn, A. (2018). Impact of brassinosteroid mimic on photosynthesis, carbohydrate content and rice seed set at reproductive stage under heat stress. *Agriculture and Natural Resources*, 52, 237.
- Sonjaroon, W., Kaveeta, L., Chai-arree, W., Klinsakorn, S., Suksamrarn, A., & Jutamanee, K. (2016). Exogenous 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone application improves antioxidative enzyme system, photosynthesis, and yield in rice under high-temperature condition. *Acta Physiol Plant*, 38, 4-5.
- Steuter, A. A., Mozafar, A., & Goodin, J. R. (1981). Water potential of polyethylene glycol. *Plant Physiology*, 67, 64-66.

- Szabados, L., & Saviouré, A. (2009). Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science*, 15(2), 92.
- Tezara, W., Mitchell, V. J., Driscoll, S. D., & Lawlor, D. W. (1999). Water stress inhibits plant photosynthesis by decreasing coupling factor and ATP. *Nature*, 401, 915-917.
- Thussagunpanit, J., Jutamanee, K., Chai-arree, W., & Kaveeta, L. (2012). Increasing photosynthetic efficiency and pollen germination with 24-epibrassinolide in rice (*Oryza sativa* L.) under heat stress. *Thai Journal of Botany*, 4(Special Issue), 135.
- Thussagunpanit, J., Jutamanee, K., Kaveeta, L., Chai-arree, W., Pankean, P., Homvisasevongsa, S., & Suksamrarn, A. (2015). Comparative Effects of Brassinosteroid and Brassinosteroid Mimic on Improving Photosynthesis, Lipid Peroxidation, and Rice Seed Set under Heat Stress. *Journal of Plant Growth Regulation*, 34(2), 326.
- Thussagunpanit, J., Jutamanee, K., Kaveeta, L., Chai-arree, W., Pankean, P., & Suksamrarn, A. (2013). Effects of a brassinosteroid and an ecdysone analogue on pollen germination of rice under heat stress. *Journal of Pesticide Science*, 38(3), 106.
- Tian, Z., Wang, F., Zhang, W., Liu, C., & Zhao, X. (2012). Antioxidant mechanism and lipid peroxidation pattern in leaves and petals of marigold in response to drought stress. *Horticulture Environment and Biotechnology*, 53(3), 183, 185-186, 189-190.
- Trovato, M., Mattioli, R., & Costantino, P. (2008). Multiple roles of proline in plant stress tolerance and development. *Rendiconti Lincei*, 19, 328-329.
- Upreti, K. K., & Sharma, M. (2016). Role of plant growth regulators in abiotic stress tolerance. In N. K. S. Rao, K. S. Shivashankara, & R. H. Laxman (Eds.), *Abiotic Stress Physiology of Horticultural Crops* (pp. 20). New Delhi: Springer India.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39, 50.
- Velikova, V., Yordanov, I., & Edreva, A. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants protective role of exogenous polyamines.

Plant Science, 151, 60.

- Verslues, P. E., & Sharma, S. (2010). Proline metabolism and Its implications for plant-environment interaction. In *The Arabidopsis Book* (pp. 2, 5). Rockville: American Society of Plant Biologists.
- Wang, W., Kim, Y., Lee, H., Kim, K., Deng, X., & Kwak, S. (2009). Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47, 573-574.
- Wellburn, A. R. (1994). The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology*, 144, 311.
- Werawattanametin, K., Podimuang, V., & Suksamram, A. (1986). Ecdysteroids from *Vitex glabrata*. *Journal of Natural Products*, 49(2), 365.
- Yi, Z., Yu, S., Hai-jun, G., Hai-liang, Z., Huan-li, L., Yan-hong, H., & Yi-chao, W. (2018). Beneficial effects of silicon on photosynthesis of tomato seedlings under water stress. *Journal of Integrative Agriculture*, 17(10), 2153-2154.
- Yuan, G., Jia, C., Li, Z., Sun, B., Zhang, L., Liu, N., & Wang, Q. (2010). Effect of brassinosteroids on drought resistance and abscisic acid concentration in tomato under water stress. *Scientia Horticulturae*, 126, 103-107.
- Zhang, L., Peng, J., Chen, T. T., Zhao, X. H., Zhang, S. P., Liu, S. D., . . . Yu, S. X. (2014). Effect of drought stress on lipid peroxidation and proline content in cotton roots. *The Journal of Animal and Plant Sciences*, 24(6), 1729-1732.
- Zyl, J. L. V., & Kennedy, C. S. (1983). Vine response to water stress induced by polyethylene glycol. *South African Journal for Enology and Viticulture*, 4(1), 1.
- กนกวรรณ ปานสุขสาร. (2558). อิทธิพลของก๊าซไอโซนตอร์ระดับของสารต้านอนุมูลอิสระในคะน้า (*Brassica alboglabra Bailey*). (ปริญญาานิพนธ์ กศ.ม. (ชีววิทยา)), บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ, กรุงเทพฯ.
- กรมส่งเสริมการเกษตร. (2560). Retrieved from <http://www.agriinfo.doae.go.th/5year/export/55-59/veget/tomato.pdf>
- กรมอุตุวิทยามติวิทยา. (2561). ภัยแล้ง (Drought). Retrieved from

<https://www.tmd.go.th/info/info.php?FileID=71>

- กรุง สีตะธนี. (2558). มะเขือเทศเชอร์รี่ CH154. In เกษตรนวัตกรรม รวบรวมผลงานนวัตกรรมทางการค้นคว้าวิจัย ในวาระครบรอบ 72 ปี แห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (pp. 364). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- กรุง สีตะธนี, วิทยา เศรษฐวิทยา, เฉลิมพล มากมูล, ประเสริฐ คำวงษ์, & สุระปानी อาตมางกูร. (2541). มะเขือเทศเชอร์รี่. In ยี่สิบปีสืบสาน งานวิจัยให้แผ่นดิน (pp. 125-126). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- เกษร วรา เมทเมรุรัตน์, ลิลลี่ กาวีตะ, มาลี ณ นคร, & อรุษา คาสุข. (2558). ผลของบราสซิโนสเตรอยด์มีมิก (DHECD) ต่อการเติบโตทางลำต้นและผลผลิตของมันสำปะหลัง. In เอกสารประชุมทางวิชาการของ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 53 (pp. 167-173). กรุงเทพฯ: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.
- โกสินทร์ วิระษร, กุลธิดา กล้ารอด, ประณิธิ หงส์ประภาส, & พัชรี บุญศิริ. (2557). ภาวะถูกออกซิไดซ์เกินสมดุล และสารต้านออกซิเดชันกับโรคมะเร็ง. ศรีนครินทร์เวชสาร, 29(2), 208.
- จิรวัดณ์ ภูเสริมภูมิ. (2551). มะเขือเทศ (คณิต ศรีแป้น, Trans.). In ผักกินผล (pp. 61-62). กรุงเทพฯ: เกษตรสยามบุ๊คส์.
- दनัย บุญยเกียรติ. (2556). การสูญเสียน้ำ. In ศรีวิทย์วิทยาหลังการเก็บเกี่ยวผลผลิตพืชสวน (pp. 253-255). กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.
- ทวีทอง หงษ์วิวัฒน์. (2545). มะเขือเทศ. In สารานุกรมผัก (pp. 59). กรุงเทพฯ: แสงแดด.
- ธนาคารกสิกรไทย. (2531). มะเขือเทศและผลิตภัณฑ์. In ผักและผลิตภัณฑ์ (pp. 34-35). กรุงเทพฯ: ส่วนวิจัยเกษตรกรรม, ฝ่ายวิชาการ, ธนาคารกสิกรไทย.
- นวรรตน์ อุดมประเสริฐ. (2558). สภาวะเครียดเนื่องจากน้ำ (Water Stress). In ศรีวิทย์วิทยาของพืชภายใต้สภาวะเครียด (pp. 14-15, 17-18, 20-21, 23, 26). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- นิตดา หงษ์วิวัฒน์, ทวีทอง หงษ์วิวัฒน์, & สุภาพรณ เยี่ยมชัยภูมิ. (2553). มะเขือเทศ. In ผัก๓๓ชนิดคุณค่าอาหารและการกิน (พิมพ์ครั้งที่ 3 ed., pp. 200). กรุงเทพฯ: แสงแดด.
- นิติพัฒน์ พัฒนจักรชัย. (2553). บราสซิโนสเตรอยด์ : บทบาททางสรีรวิทยาในพืช. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา, 15(1), 137-139.
- ปริญานุษ ลาขุนทด, ปิยะดา ธีระกุลพิศุทธิ์, จิรวัดณ์ สนิทชน, & โจนาลิชา แอล เชียงหลิว. (2558). ผลของการขาดน้ำต่อการเปลี่ยนแปลงสถานะของน้ำในใบข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่โครโมโซม 9 บางส่วนถูกแทนที่ด้วยยีนทนแล้ง In เอกสารการประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 34 (pp. 680). ขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- พุมิโอะ, มิซุงชิ. (2555). มะเขือเทศ (อังคณา รัตนจันทร์, Trans.). In ปลูกผักกินเอง แบ่งได้ ขายด้วย (pp. 119). กรุงเทพฯ: อินสปายร์.

- ภาคภูมิ พระประเสริฐ. (2550a). การสังเคราะห์แสง. In *สรีรวิทยาของพืช* (pp. 65-66). กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.
- ภาคภูมิ พระประเสริฐ. (2550b). ความสัมพันธ์ระหว่างเซลล์พืชกับน้ำ. In *สรีรวิทยาของพืช* (pp. 30-31). กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.
- เมฆ จันทน์ประยูร. (2541). มะเขือเทศ. In *ผักสวนครัว* (pp. 107). กรุงเทพฯ: ไททอร์น.
- ลิลลี่ กาวีตะ, มาลี ณ นคร, ศรีสม สุวรรณวงศ์, สุรียา ตันติวิวัฒน์, & ณรงค์ วงศ์กันทรากกร. (2556). การเคลื่อนที่ของสาร. In *สรีรวิทยาของพืช* (พิมพ์ครั้งที่ 3 ed., pp. 10). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วิไลภรณ์ บุญญกิจจินดา. (2556a). การแพร่ ออสโมซิส และอิมบิซิชั่น. In *สรีรวิทยาของพืช* (pp. 35-36). นครปฐม: มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- วิไลภรณ์ บุญญกิจจินดา. (2556b). สภาวะแล้งและสภาวะน้ำท่วม. In *สรีรวิทยาของพืช* (pp. 161). นครปฐม: มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- วีรศิลป์ สอนจรรยา, คณพล จุฑามณี, ลิลลี่ กาวีตะ, วิทิตร์ ใจอารีย์, อภิชาติ สุขสำราญ, & ธีรพัฒน์ เทพแก้ว. (2556). ผลของบราสซิโนสเตียรอยด์ต่อการสังเคราะห์ด้วยแสงและลิพิดเพอรอกซิเดชันของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ภายใต้ภาวะเครียดจากความร้อน. *วารสารพฤกษศาสตร์ไทย*, 5(ฉบับพิเศษ), 183, 187-188.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. (2560). มะเขือเทศ. Retrieved from http://www.oae.go.th/view/1/รายละเอียดข่าว/ข้อมูลการผลิตสินค้าการเกษตร_พืชผัก/27336/TH-TH
- สุกัญญา ใจโพธิ์, & สุรินทร์ นิลสำราญ. (2545). ผลของสภาวะเครียดจากน้ำต่อปริมาณโปรตีนและการเติบโตของสตรอบเบอร์. *วารสารเกษตร*, 18(3), 201, 204, 206.
- สุขุมภรณ์ แสงงาม, ธนบูรณ์ พลากุลมณฑล, คณิน คงเชียง, & อภิชาติ สุขสำราญ. (2561). การเพิ่มประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงของมะเขือเทศเชอร์รี่พันธุ์ CH154 ภายใต้ความเครียดจากความแล้งด้วยสารบราสซิโนสเตียรอยด์มีมิก. *แก่นเกษตร*, 46(ฉบับพิเศษ 1), 328.
- สุขุมภรณ์ แสงงาม, ศรุตพงศ์ มารยาท, กานติมา ตาคำ, & อภิชาติ สุขสำราญ. (2561). ผลของสาร 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และการสะสมไนเตรทของผักกาดหอมพันธุ์กรีนไคคที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์. *แก่นเกษตร*(ฉบับพิเศษ 1), 369, 372-373.
- สุนทร เรืองเกษม. (2539). มะเขือเทศ. In *วิเศษฐ์ ชูประสิทธิ์* (Ed.), *คู่มือการปลูกผัก* (pp. 97-98).
- สุภาพร ภัตสร. (2561). รูปแบบการแสดงออกของยีน Heat Shock Protein ในข้าวท่าพะเยาระยะต้นกล้าภายใต้สภาวะแล้ง. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 26(7), 1211.



ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	พชร มณีโชติ
วัน เดือน ปี เกิด	20 กรกฎาคม 2536
สถานที่เกิด	จังหวัดลพบุรี
วุฒิการศึกษา	ปี พ.ศ. 2555 สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนวินิตศึกษาในพระราชูปถัมภ์ฯ ปี พ.ศ. 2559 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต (วท.บ.) สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ที่อยู่ปัจจุบัน	200/4 หมู่ 1 ตำบลป่าตาล อำเภอเมือง จังหวัดลพบุรี 15000
ผลงานตีพิมพ์	1. Maneechote, P., Ke, X., Thongsomnuek, P., Keawlaong, S., Hngokchai, C., Suksamrarn, A., Chaivisuthangkura, P., & Saeng-ngam, S. (2018). Effect of brassinosteroid mimic on chlorophyll content and lipid peroxidation of tomato (<i>Solanum lycopersicum</i>) grown under drought stress. <i>Khon Kaen Agriculture Journal</i> , 46(Supplement 1), 322-327. 2. Maneechote, P., Saeng-ngam, S., & Chaivisuthangkura, P. (2020). Effect of 7,8-dihydro-8 α -20-hydroxyecdysone on photosynthesis, chlorophyll content and chloroplast structure in tomato (<i>Solanum lycopersicum</i> cv. "CH154") under drought stress. <i>Thaksin University Journal</i> , 23(2), 14-23.
รางวัลที่ได้รับ	รางวัลระดับชมเชย ในการนำเสนอแบบบรรยาย ประเภทนักศึกษา งานประชุมวิชาการเกษตร ครั้งที่ 19 ประจำปี 2561 ณ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ชื่อผลงาน ผลของสารบราสซิโนสเตรอยด์มีมิกต่อการสะสมคลอโรฟิลล์ และการเกิดปฏิกิริยาไลพิดเปอร์ออกซิเดชันของมะเขือเทศภายใต้สภาวะแล้ง