Research Article

Received: May 1, 2020; Accepted: October 21, 2020

# ความแปรปรวนทางพันธุกรรมสำหรับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของข้าวพื้นเมือง 20 สายพันธุ์ ที่มีลักษณะทางการเกษตรที่ดี

# Genetic Variability for Antioxidant Contents and Their Capacity of Selected 20 Landrace Rice Genotypes Based on Good Agronomic Traits

พรชัย หาระโคตร* และกมลวรรณ สีคร้าม

*สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*

*มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120*

Bhornchai Harakotr* and Kamonwan Seekram

*Department of Agricultural Technology, Faculty of Science and Technology,*

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

**บทคัดย่อ**

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

***ผู้รับผิดชอบบทความ :** harakotr@tu.ac.th

**คำสำคัญ :** ความหลากหลายทางพันธุกรรม; ปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์กับสภาพแวดล้อม; สารประกอบฟีนอลิค; ฟลาโวนอยด์; *Oryza sativa*

## Abstract

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

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

## 1. บทนำ

ข้าว (*Oryza sativa* L.) เป็นอาหารหลักของประชากรมากกว่าครึ่งหนึ่งของโลก หรือมากกว่า 4 พันล้านคน โดยเฉพาะทวีปเอเชียที่มีประชากรประมาณ 2 พันล้านคน หรือคิดเป็นร้อยละ 60-70 บริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก [1] ข้าวมีสารอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน วิตามิน แร่ธาตุที่จำเป็น ได้แก่ แคลเซียม ฟอสฟอรัส เหล็ก สังกะสี เป็นต้น [2] นอกจากนี้ข้าวมีปริมาณแอนโทไซยานิน สารประกอบฟีนอลิค แกมมาออไรซานอล สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ และมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง [3-5] โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารประกอบฟีนอลิค ซึ่งเป็นสารทุติยภูมิที่มีบทบาทสำคัญต่อสุขภาพของผู้บริโภค เนื่องจากสามารถป้องกันโรคต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับความเครียดอาการอักเสบและโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง ได้แก่ โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคมะเร็ง โรคกระดูกพรุน โรคเบาหวาน โรคข้ออักเสบ และความผิดปกติของระบบประสาท เป็นต้น [6] นอกจากนี้ข้าวยังอุดมด้วยฟลาโวนอยด์ ซึ่งเป็นสารประกอบในกลุ่มโพลีฟีนอลและพบได้ในธรรมชาติที่มีมากกว่า 4,000 ชนิด สามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยตามโครงสร้างเคมี ได้แก่ ฟลาโวนอล ฟลาโวน ฟลาวาโนน ฟลาวานอล ไอโซฟลาโวน แอนโทไซยานิดิน เป็นต้น [7] ซึ่งฟลาโวนอยด์มีผลต่อสุขภาพเช่น

เดียวกันกับสารประกอบฟีนอลิค [8] ประเทศไทยได้รับการยอมรับว่าเป็นแหล่งศูนย์รวมเชื้อพันธุกรรมข้าวที่สำคัญ โดยเฉพาะอย่างยิ่งข้าวพื้นเมืองที่มีความแข็งแรงทนต่อความเครียดจากปัจจัยชีวนะและอชีวนะ โดยเกษตรกรสามารถคัดเมล็ดเก็บไว้ทำพันธุ์ [9] นอกจากนี้ข้าวพื้นเมืองเป็นแหล่งของความแปรปรวนทางพันธุกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ แอนโทไซยานิน ฟีนอลิค แกมมาออไรซานอล แอลฟาโทโคเฟอรอล ไฟโตสเตอรอล เป็นต้น [10-12] อย่างไรก็ตาม การเพาะปลูกข้าวพันธุ์พื้นเมืองในแต่ละภูมิภาคของประเทศมีแนวโน้มลดลง ทำให้สายพันธุ์ข้าวพื้นเมืองบางส่วนสูญหายไป [13] เนื่องจากการส่งเสริมให้เกษตรกรปลูกข้าวพันธุ์ใหม่ทดแทนข้าวพื้นเมืองเพื่อเพิ่มผลผลิต [9]

การใช้ประโยชน์จากความหลากหลายของข้าวพื้นเมืองสำหรับงานปรับปรุงพันธุ์ข้าวเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการใช้ประโยชน์และส่งเสริมการอนุรักษ์ข้าวพื้นเมือง ซึ่งการคัดเลือกเชื้อพันธุกรรมที่มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมของลักษณะที่ต้องการปรับปรุงพันธุ์ควบคู่กับการค้นหาวิธีการคัดเลือกพันธุ์เป็นขั้นตอนสำคัญที่จะส่งผลให้โครงการปรับปรุงพันธุ์ประสบผลสำเร็จ [14] การค้นหาแหล่งของความแปรปรวนทางพันธุกรรมใหม่ ๆ มีความจำเป็นอย่างยิ่งในการพัฒนาพันธุ์ข้าว ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความแปรปรวนทางพันธุกรรมสำหรับปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS และ DPPH ในข้าวพื้นเมือง 20 สายพันธุ์ ที่ผ่านการประเมินลักษณะทางการเกษตร ซึ่งข้อมูลดังกล่าวสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการคัดเลือกพันธุ์ข้าวให้มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงต่อไปในอนาคต

## 2. อุปกรณ์และวิธีการ

### 2.1 แผนการทดลอง

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

### 2.2 สถานที่ปลูกทดสอบและการจัดการแปลงทดลอง

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

รายวัน ได้แก่ อุณหภูมิสูงสุด อุณหภูมิต่ำสุด และปริมาณน้ำฝน โดยใช้ข้อมูลทางอุตุนิยมวิทยาของสถานีตรวจอากาศที่อยู่ใกล้แปลงทดลองมากที่สุด คือ จังหวัดปทุมธานีใช้ข้อมูลจากสถานีอากาศเกษตร ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี และจังหวัดอุบลราชธานีใช้ข้อมูลจากศูนย์อุตุนิยมวิทยาภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง ตำบลไร่น้อย อำเภอเมือง จังหวัดอุบลราชธานี

เริ่มเตรียมพื้นที่โดยพลิกหน้าดิน ไถดินให้ร่วนแล้วปล่อยน้ำเข้าแปลงประมาณ 10-15 วัน เพื่อหมักดินให้วัชพืชย่อยสลาย แล้วไถคราดและปรับระดับดินให้เรียบสม่ำเสมอทั่วแปลง จากนั้นเตรียมเมล็ดพันธุ์และการเตรียมกล้า นำเมล็ดพันธุ์ข้าวแช่น้ำเป็นเวลา 24 ชม. แล้วนำเมล็ดมาบ่มเป็นเวลา 24 ชม. ให้รากสีขาวโผล่พ้น และนำเมล็ดไปเพาะ ถอนต้นกล้าที่มีอายุ 28 วัน ไปปักดำโดยใช้นิ้วชี้และนิ้วโป้งจับที่โคนต้น ระยะปลูก คือ 25 x 25 ซม. จำนวน 4 แถว/แปลงย่อย การดูแลควบคุมเรื่องน้ำ ปรับแปลงนาให้เรียบสม่ำเสมอและทำร่องระบายน้ำระหว่างแปลงย่อย หลังจากปักดำ 1-2 วัน ปล่อยน้ำเข้าแปลงนาสูงจากพื้นดินนา 5 ซม. และรักษาระดับน้ำให้สม่ำเสมอตลอดการทดลอง เพื่อควบคุมวัชพืช ใส่ปุ๋ยครั้งที่ 1 ใส่หลังปักดำ 1 วัน โดยใส่ปุ๋ยสูตร 16-20-0 อัตรา 25 กก./ไร่ ใส่ปุ๋ยครั้งที่ 2 ใส่ก่อนข้าวออกดอกประมาณ 30 วัน โดยใช้สูตร 46-0-0 อัตรา 10 กก./ไร่ โดยการควบคุมโรค แมลง และสัตว์ศัตรูข้าวทำตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตรตามลักษณะอาการที่เกิด

**2.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ**

2.3.1 การเตรียมสารสกัดจากเมล็ดข้าว ซึ่งดัดแปลงวิธีการของ Sutharut และ Sudarat โดยใช้ตัวอย่างเมล็ดข้าวกล้องบดละเอียดหนัก 0.25 g เติมเมทานอล 1 mL นำไป Vortex เป็นเวลา 30 วินาที แล้วแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 60 °C เป็นเวลา 20 นาที โดยนำออกมาเขย่าทุก ๆ 10 นาที จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ดูดนำสารละลายส่วนใสมาเก็บไว้และปรับปริมาตรด้วยเมทานอลเป็น 5 mL แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C [16]

2.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด ทำตามวิธีการของ Folin และ Ciocalteu โดยปิเปตสารละลายตัวอย่างละ 20 µL ใส่ในหลอดทดลอง แล้วเติมน้ำ 1.58 mL เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 100 µL ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex ทิ้งไว้ 5 นาที เติม 20 % โซเดียมคาร์บอเนตปริมาตร 300 µL ผสมให้เข้ากันอีกครั้ง แล้วจึงเก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชม. จากนั้นจึงนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm และหาปริมาณฟีนอลิคทั้งหมดโดยใช้กรดแกลลิคเป็นสารมาตรฐาน แสดงผลเป็นมิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิคต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (mg GAE/g DW) [17]

2.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ทำตามวิธีการของ Kubola และคณะ โดยปิเปตสารละลายตัวอย่างละ 0.5 mL ใส่ในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่น 2.2 mL ผสมให้เข้ากัน แล้วเติม 5 % $NaNO_2$ ปริมาตร 0.15 mL ตั้งทิ้งไว้ 6 นาที เติม 10 % $AlCl_3.6H_2O$ ปริมาตร 0.3 mL ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที และเติม 1 M โซเดียมไฮดรอกไซด์ ปริมาตร 1 mL ผสมให้เข้ากันด้วย Vortex จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 nm โดยใช้คาเตชินเป็นสารมาตรฐาน แสดงผลเป็นไมโครกรัมสมมูลคาเตชินต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (µg CE/g DW) [18]

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

scavenging activity (ABTS) ซึ่งดัดแปลงวิธีการของ Harakotr และคณะ โดยผสมสารละลาย 14 mM $ABTS^+$ ปริมาณ 5 mL และ 4.9 mM $K_2S_2O_8$ ปริมาตร 5 mL ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 16 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ก่อนใช้นำสารละลาย $ABTS^+$ เจือจางด้วยเมทานอลให้มีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.700±0.002 ที่ความยาวคลื่น 734 nm แล้วปิเปตสารละลาย $ABTS^+$ ปริมาตร 950 µL ผสมกับสารสกัดตัวอย่าง 50 µL ตั้งทิ้งไว้ 6 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm [19] แสดงผลเป็น % inhibition ซึ่งคำนวณได้จากสมการ % inhibition = $[(Abs_{control} - Abs_{sample}) \div Abs_{control}] \times 100$ เมื่อ $Abs_{control}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม และ $Abs_{sample}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

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

**2.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ**

วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance, ANOVA) ของข้อมูลสำหรับแต่ละสถานที่ปลูกตามแผนการทดลองแบบ RCBD ทดสอบความเป็นเอกภาพของความแปรปรวน (homogeneity of variance) ตามวิธีของ Gomez และ Gomez [20] แล้ววิเคราะห์ความแปรปรวนรวม (combined analysis) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์สำเร็จรูปทางสถิติ

## 3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

**3.1 สภาพอากาศ**

จังหวัดปทุมธานีมีปริมาณน้ำฝนสะสมตลอดฤดูปลูก 993.5 มม. และความเข้มแสงอาทิตย์เฉลี่ย 13.19 $MJ/m^2/day$ อุณหภูมิเฉลี่ยต่ำสุด 24.9 °C และอุณหภูมิเฉลี่ยสูงสุด 32.1 °C (รูปที่ 1a) ส่วนจังหวัดอุบลราชธานีมีปริมาณน้ำฝนสะสมตลอดฤดูปลูก 670.4 มม. และความเข้มแสงอาทิตย์เฉลี่ย 17.00 $MJ/m^2/day$ อุณหภูมิเฉลี่ยต่ำสุด 22.2 °C และอุณหภูมิเฉลี่ยสูงสุด 31.2 °C (รูปที่ 1b)

**3.2 การตอบสนองของสายพันธุ์และสภาพแวดล้อม**

การวิเคราะห์ความแปรปรวนรวมของข้าวพื้นเมือง 20 สายพันธุ์ ทั้ง 2 สถานที่ทดสอบ พบว่าสายพันธุ์มีอิทธิพลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS และ DPPH อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ คิดเป็นร้อยละ 59.07, 76.58, 66.85 และ 5.84 ของความแปรปรวนรวมทั้งหมด ตามลำดับ ขณะที่สถานที่ทดสอบมีอิทธิพลต่อทุกลักษณะที่ศึกษาอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติเช่นเดียวกัน คิดเป็นร้อยละ 5.31, 10.72, 31.29 และ 94.13 ของความแปรปรวนรวมทั้งหมด นอกจากนี้ปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์และสถานที่ทดสอบมีอิทธิพลต่อทุกลักษณะที่ศึกษามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ยกเว้นความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 1) ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าความแปรปรวนของปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และความสามารถ

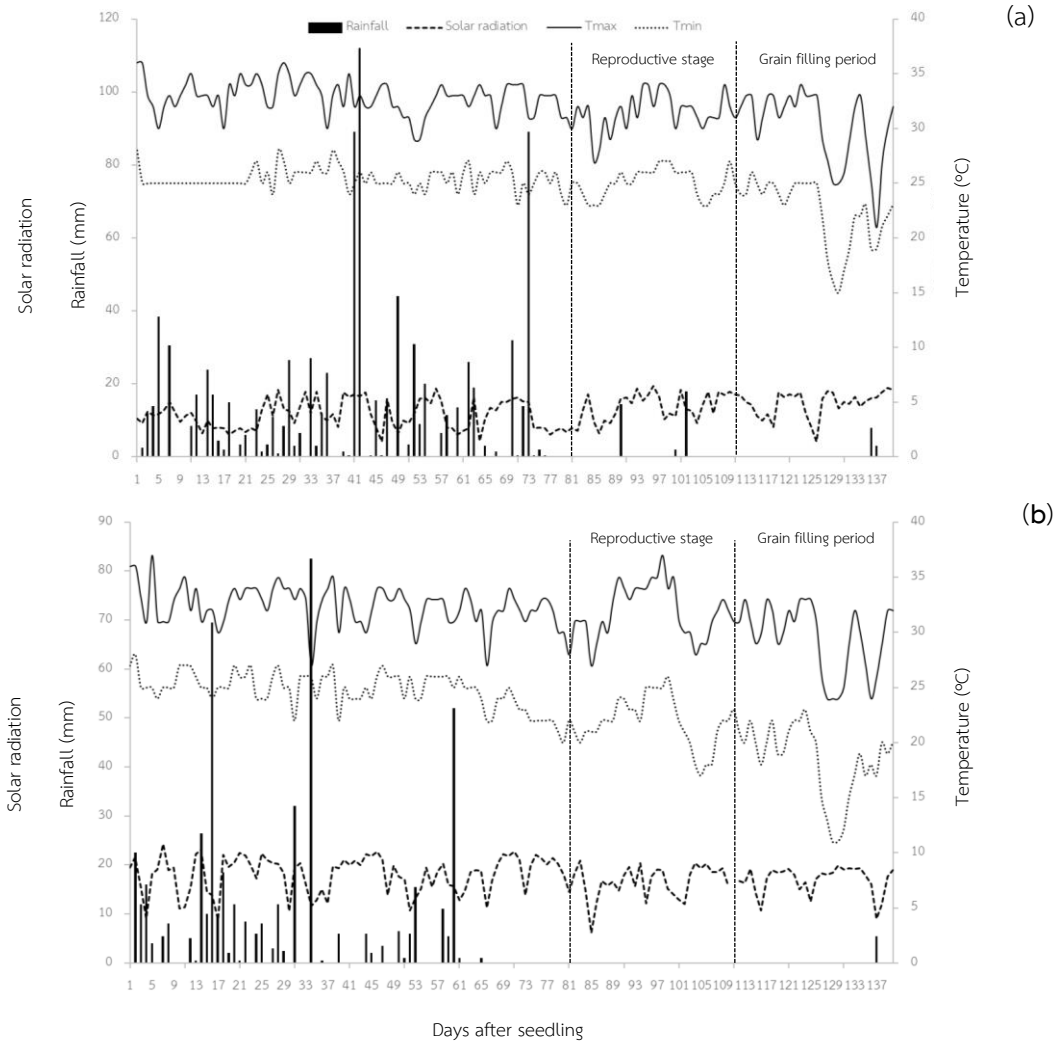


**Figure 1** Total rainfall, maximum temperature, minimum temperature, and solar radiation during the crops growth at two environments: Pathum Thani (a) and Ubon Ratchathani (b)

ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS เกิดจากอิทธิพลของพันธุกรรมเป็นสัดส่วนที่สูง ดังนั้นการคัดเลือกข้าวพื้นเมืองเพื่อเพิ่มปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดังกล่าวมีโอกาสประสบผลสำเร็จสูง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Shen และคณะ [14] และ Kim และคณะ [21] ที่พบว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของปริมาณสารประกอบฟีนอลิคและฟลาโวนอยด์ในข้าวมีค่าสูง ซึ่งลักษณะดังกล่าวจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในงานพัฒนาพันธุ์ข้าว อย่างไรก็ตาม Goffman และ Bergman รายงานว่าความแปรปรวนของปริมาณสารประกอบฟีนอลิคและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในเมล็ดข้าวกล้องขึ้นอยู่กับพันธุกรรม ขณะที่สภาพแวดล้อมและปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์กับสภาพแวดล้อมไม่มีอิทธิพลต่อลักษณะดังกล่าว [22] อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าความแปรปรวนของ

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เกิดจากอิทธิพลของสถานที่ทดสอบสูงที่สุด (ร้อยละ 94.13 ของความแปรปรวนรวมทั้งหมด) ด้วยเหตุที่ปัจจัยของสภาพแวดล้อมของสถานที่ทดสอบแตกต่างกัน ได้แก่ สมบัติทางกายภาพและเคมีของดิน อุณหภูมิ ปริมาณน้ำฝนสะสม และความเข้มแสงอาทิตย์ ซึ่งอิทธิพลของสถานที่ทดสอบที่สูงนั้น สามารถแก้ไขโดยการดูแลการจัดการสภาพแวดล้อม เช่น เลือกพื้นที่ปลูก วันปลูกที่เหมาะสม และการจัดการดูแลให้ดีอยู่เสมอ [23] นอกจากนี้ความแปรปรวนจากปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์และสถานที่ทดสอบแตกต่างทางสถิติ ซึ่งแสดงว่าข้าวพื้นเมืองแต่ละสายพันธุ์ตอบสนองต่อสถานที่ทดสอบต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Kesarwan และคณะ ที่พบว่าปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์และสภาพแวดล้อมมีอิทธิพลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิคและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในเมล็ดข้าวที่ผ่านการปลูกด้วยระบบดั้งเดิมและระบบอินทรีย์ [24] อย่างไรก็ตาม การทดสอบสายพันธุ์ต้องการความแปรปรวนเนื่องจากอิทธิพลทางพันธุกรรมในสัดส่วนที่สูง ดังนั้นหากต้องการลดปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์กับสถานที่ทดสอบ อาจต้องเพิ่มจำนวนซ้ำและสถานที่ใช้ในการทดสอบให้มากขึ้น

**3.3 ความแปรปรวนของปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ**

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

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

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

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

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

เมื่อพิจารณาผลจากการปลูกทดสอบในพื้นที่จังหวัดอุบลราชธานี (ดินร่วนปนทราย) พบว่าข้าวสายพันธุ์ TU-140 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมดสูงที่สุด (8.31 mg GAE/g DW) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับข้าวสายพันธุ์ TU-135 ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด 7.76 mg GAE/g DW รองลงมา คือ ข้าวสายพันธุ์ TU-123, TU-130 และ TU-129 ตามลำดับ (ตารางที่ 2) สายพันธุ์ TU-123 มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด (532.71 µg CE/g DW) รองลงมา คือ สายพันธุ์ TU-145 และ TU-152 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสายพันธุ์ TU-123 และ TU-135 มีความสามารถในการต้านอนุมูล $ABTS^{\circ+}$ สูงที่สุด (ร้อยละ 20.05 และ 19.57 ตามลำดับ) รองลงมา คือ TU-133, TU-152, TU-130 และ TU-145 ตามลำดับ นอกจากนี้ สายพันธุ์ TU-123 ยังมีความสามารถในการต้านอนุมูล $DPPH^{\circ}$ สูงที่สุดเช่นเดียวกัน (ร้อยละ 29.32) รองลงมา คือ สายพันธุ์ TU-134 และ TU-135 ที่มีความสามารถในการต้านอนุมูล $DPPH^{\circ}$ ร้อยละ 27.08 และ 26.04 ตามลำดับ

**3.4 ความสามารถในการปรับตัวและความสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์ข้าวพื้นเมืองและสถานที่ทดสอบ**

การประเมินข้าวพื้นเมือง 20 สายพันธุ์ ในสภาพแวดล้อมที่ต่างกันด้านสมบัติทางเคมีของดินและสภาพอากาศ พบว่าสายพันธุ์ TU-123 เป็นสายพันธุ์ที่มีการปรับตัวได้กว้างกว่าเชื้อพันธุกรรมอื่น ๆ เนื่องจากมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงในทั้งสองสภาพแวดล้อมที่ทดสอบ (รูปที่ 2) สายพันธุ์ TU-130 เป็นสายพันธุ์ที่ปรับตัวได้กว้างสำหรับปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนมูลอิสระด้วยวิธี ABTS และ DPPH ในขณะที่ สายพันธุ์ TU-145 และ TU-148 เป็นสายพันธุ์ที่ปรับตัวได้กว้างสำหรับปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนมูลอิสระด้วยวิธี ABTS และ DPPH นอกจากนี้สายพันธุ์ TU-121 และ TU-121 เป็นเชื้อพันธุกรรมที่มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนมูลอิสระต่ำ ซึ่งข้อมูลเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าข้าวพื้นเมืองแต่ละสายพันธุ์มีความสามารถในการตอบสนองต่อพื้นที่ที่ต่างกัน ซึ่งข้าวที่ทดสอบที่จังหวัดอุบลราชธานีมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิค ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS เฉลี่ยสูงกว่าการทดสอบที่จังหวัดปทุมธานี ด้วยเหตุที่พื้นที่จังหวัดอุบลราชธานีมีอุณหภูมิเฉลี่ยต่ำและความเข้มของแสงอาทิตย์สูง ซึ่งปัจจัยสภาพอากาศดังกล่าวส่งผลให้ข้าวมีการสะสมปริมาณสารทุติยภูมิได้ดี [25] ดังนั้นข้าวพื้นเมืองสายพันธุ์ TU-123, TU-130, TU-145 และ TU-148 เป็นเชื้อพันธุกรรมที่มีศักยภาพสำหรับงานปรับปรุงพันธุ์ข้าวเพื่อเพิ่มคุณค่าทางอาหารต่อไป

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

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

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

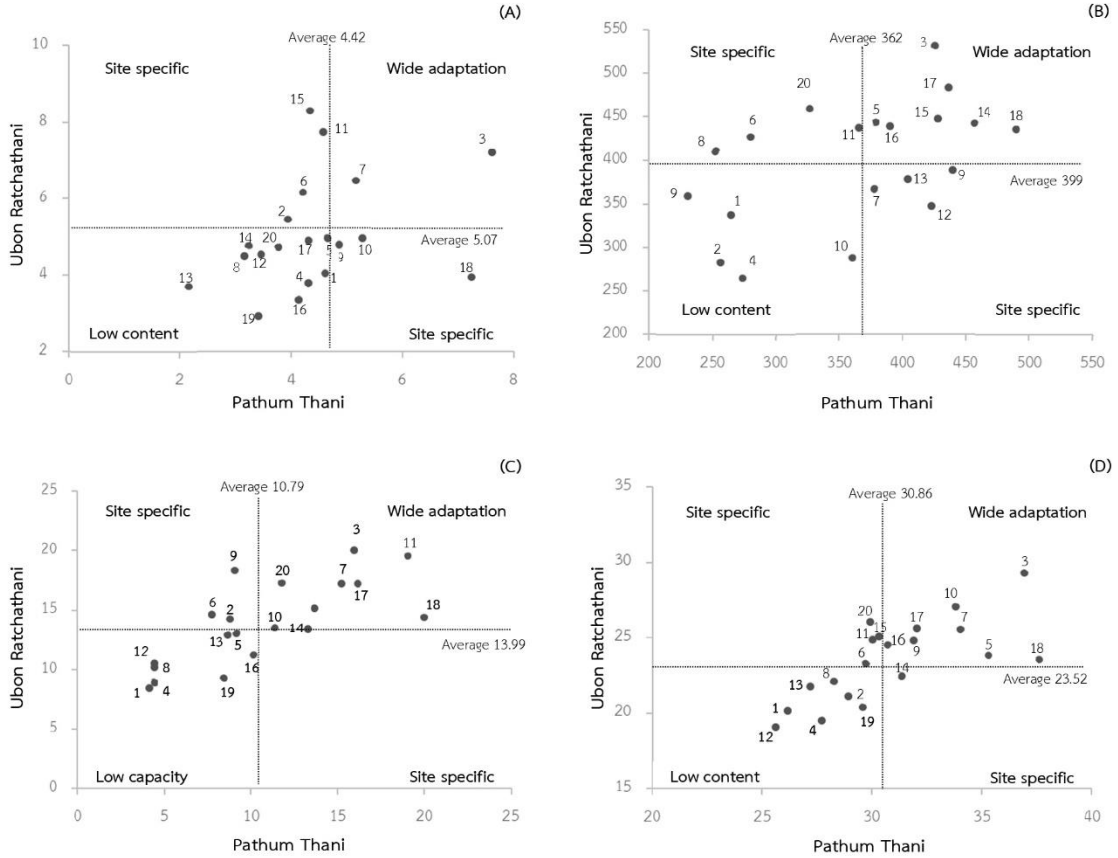


**Figure 2** Scatter plot of selected 20 landrace rice genotypes according to experimental site, based on (A) total phenolic content (mg GAE/g DW), (B) total flavonoid content (μg CE/g DW), (C) ABTS, and (D) DPPH radical scavenging capacities (% inhibition). The numbers of rice genotype are given in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

## 4. สรุป

อิทธิพลของสายพันธุ์ สถานที่ทดสอบ และปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์กับสถานที่ทดสอบมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติในทุกลักษณะที่ศึกษา ยกเว้นปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์กับสถานที่ทดสอบสำหรับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ความแปรปรวนเนื่องจากสายพันธุ์ต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS เป็นสัดส่วนที่สูงที่สุด (ร้อยละ 59.07, 76.58 และ 66.85 ของความแปรปรวนทั้งหมด) ขณะที่ความแปรปรวนของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เกิดจากอิทธิพลของสถานที่ทดสอบคิดเป็นร้อยละ 94.13 ของความแปรปรวนทั้งหมด นอกจากนี้ข้าวพื้นเมืองสายพันธุ์ TU-123, TU-130, TU-145 และ TU-148 มีการปรับตัวได้กว้างสำหรับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้นสายพันธุ์ข้าวที่มีศักยภาพสูงนี้จะถูกคัดเลือกเพื่องานปรับปรุงพันธุ์ต่อไปในอนาคต

## 5. กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ที่สนับสนุนวัสดุอุปกรณ์สำหรับการวิจัยในครั้งนี้

## 6. References

[1] Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rice is Life, Available source: http://www.fao.org/rice2004/en/p17.htm, October 25, 2017.

[2] Watchararparpaiboon, W., Laoakunjit, N. and Kerdchoechuen, O., 2010, An improved process for high quality and nutrition of brown rice production, Food Sci. Technol. Int. 16: 147-158.

[3] Chakuton, K., Puangpronpitag, D. and Nakornriab, M., 2012, Phytochemical content and antioxidant activity of colored and non-colored Thai rice cultivars, Asian J. Plant Sci. 11: 283-293.

[4] Chen, X.Q., Nagao, N., Itani, T. and Irifune, K., 2012, Anti-oxidative analysis and identification and quantification of anthocyanin pigments in different colored rice, Food Chem. 135: 2783-2788.

[5] Moko, E.M., Purnomo, H., Kusnadi, J. and Ijong, F.G., 2014, Phytochemical content and antioxidant properties of colored and non-colored varieties of rice bran from Minahasa, North Sulawesi, Indonesia, Int. Food Res. J. 21: 1053-1059.

[6] Tsao, R., 2010, Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols, Nutrients 2: 1231-1246.

[7] Sompong, R., Siebenhandl-Ehn, S., Linsberger-Martin, G. and Berghofer, E., 2011, Physicochemical and antioxidative properties of red and black rice varieties from Thailand, China, and Sri Lanka, Food Chem. 124: 132-140.

[8] Suttana, W., 2013, Anticancer activities of flavonoids: Mechanisms of actions, Srinagarind Med. J. 28: 567-569. (in Thai)

[9] Pupaka, D., 2016, Rice landraces diversity for developing products of food supplements and functional Foods in Chachoengsao province, KKU Sci. J. 44(3): 566-578. (in Thai)

[10] Yamuangmorn, S. and Prom-u-thai, C.T., 2016, Variation of anthocyanin content and antioxidant capacity among local Thai purple glutinous rice genotype, J. Agri. 32(2): 191-199. (in Thai)

[11] Boonsit, P., Pongpichan, P., Julsrigival, S. and Karladee, D., 2010, Gamma-oryzanol content in glutinous purple rice landrace varieties, CMU. J. Nat. Sci. 9(1): 151-157. (in Thai)

[12] Harakotr, B., Prompoh, K., Boonyuen, S., Suriharn, B. and Lertrat, K., 2019, Variability in nutraceutical lipid content of selected rice (*Oryza sativa* L. spp. *indica*) germplasms, Agronomy 9(12): 823.

[13] Rerkasem, B. and Rerkasem, K., 2002, Agrodiversity for *in situ* conservation of

Thailand's native rice germplasm, CMU. J. 1: 129-148.

[14] Shen, Y., Jin, L., Xiao, P., Lu, Y. and Bao, J., 2009, Total phenolics, flavonoids, antioxidant capacity in rice grain and their relations to grain color, size and weight, J. Cereal Sci. 49: 109-111.

[15] Prompoh, K., Harakotr, B. and Suriharn, B., 2020, Evaluation of rice grain morphological characteristics and lipid compounds using multivariate classification techniques, Thai Sci. Technol. J. 28(7): 1253-1266. (in Thai)

[16] Sutharut, J. and Sudarat, J., 2012, Total anthocyanin content and antioxidant activity of germinated colored rice, Int. Food Res. J. 19(1): 215-221.

[17] Folin, O. and Ciocalteu, V., 1927, On tyrosine and tryptophan determinations in proteins, J. Biol. Chem. 73: 627-650.

[18] Kubola, J., Siriamornpun, S. and Meeso, N., 2011, Phytochemicals, vitamin C and sugar content of Thai wild fruits, J. Agric. Food Chem. 126: 972-981.

[19] Harakotr, B., Suriharn, B., Tangwongchai, R., Scott, M.P. and Lertrat, K., 2014, Anthocyanins and antioxidant activity in colored waxy corn at different maturation stages, J. Funct. Foods 9: 109-118.

[20] Gomez, K. A. and Gomez, A. A. , 1984, Statistical Procedures for Agricultural Research, John Wiley and Sons, New York, 680 p.

[21] Kim, J.K., Lee, S.Y., Chu, S.M., Lim, S.H., Suh, S.C., Lee, Y.T., Cho, H.S. and Ha, S.H., 2010, Variation and correlation analysis of flavonoids and carotenoids in Korean pigmented rice (*Oryza sativa* L.) cultivars, J. Agric. Food Chem. 58(24): 12804-12809.

[22] Goffman, F. D. and Bergman, C. J. , 2004, Rice kernel phenolic content and its relationship with antiradical efficiency, J. Sci. Food Agric. 84: 1235-1240.

[23] Joralee, A., 2013, Yield, yield components and gamma oryzanol content of black glutinous rice (*Oryza sativa* L.) grown under various environmental conditions, Master Thesis, Khon Kaen University, Khon Kaen, 103 p. (in Thai)

[24] Kesarwani, A., Chiang, P.Y. and Chen, S.S., 2014, Distribution of phenolic compounds and antioxidative activities of rice kernel and their relationships with agronomic practice, Sci. World J. 2014: 1-6.

[25] Lur, H.S., Hsu, C.L., Wu, C.E., Lee, C.Y., Lao, C.L., Wu, Y.C., Chang, S.J., Wang, C.S. and Kondo, M., 2009, Changes in temperature, cultivation timing and grain quality of rice in Taiwan changes in temperature, cultivation timing and grain quality of rice in Taiwan in recent years, Crop Environ. Bioinform. 6: 175-182.