



การศึกษาลักษณะการทนร้อนในผักกาดหอม (*Lactuca sativa* Linn.)

STUDY OF HEAT TOLERANT CHARACTERISTICS

IN LETTUCE (*Lactuca sativa* Linn.)

จิรวรรณ สุวรรณบริบูรณ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พ.ศ. 2557

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน

ชื่อเรื่อง

การศึกษาลักษณะการทนร้อนในผักกาดหอม (*Lactuca sativa* Linn.)

โดย

จิรวรรณ สุวรรณบริบูรณ์

พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการที่ปรึกษา

(อาจารย์ ดร.ศิริวัฒน์ สาครวาสี)

วันที่ 24 เดือน พ.ย พ.ศ. 2557

กรรมการที่ปรึกษา

(อาจารย์ ดร.ปรีดา นาเทเวศน์)

วันที่ 24 เดือน พ.ย พ.ศ. 2557

กรรมการที่ปรึกษา

อ.นอม อ.จัน

(อ.นอม อ.จัน)

วันที่ 24 เดือน พ.ย พ.ศ. 2557

ประธานอาจารย์ประจำหลักสูตร

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เจติเมศร์ นนทสวัสดิ์ศรี)

วันที่ 24 เดือน พ.ย พ.ศ. 2557

บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จตุพงศ์ วาฤทธิ์)

วันที่ 1 เดือน พ.ค พ.ศ. 2557

ชื่อเรื่อง	การศึกษาลักษณะการทนร้อนในผักกาดหอม (<i>Lactuca sativa</i> Linn.)
ชื่อผู้เขียน	นางสาวจิรวรรณ สุวรรณบริบูรณ์
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาพืชสวน
ประธานกรรมการที่ปรึกษา	อาจารย์ ดร.ศิริวัฒน์ สาครวาศี

บทคัดย่อ

สภาวะอุณหภูมิสูงเป็นปัญหาสำคัญที่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพและปริมาณผลผลิตผักกาดหอม แนวทางการแก้ไขที่ยั่งยืนคือการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้ผักกาดหอมที่มีความสามารถในการทนร้อน อย่างไรก็ตามการคัดเลือกสายพันธุ์ทนร้อนแบบดั้งเดิมโดยการปลูกพืชในแปลงเปิดนั้นมีข้อจำกัดหลายประการ การทดลองในครั้งนี้จึงมีจุดประสงค์ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการทนร้อนและดัชนีทางสรีรวิทยาสองชนิดคือเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนในสภาวะอุณหภูมิสูงและปริมาณแอนโทไซยานิน เพื่อวิเคราะห์ความเป็นไปได้ในการใช้ดัชนีทั้งสองเพื่อการคัดเลือกสายพันธุ์ทนร้อน ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า เปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนในสภาวะอุณหภูมิสูงมีความสัมพันธ์ในทิศทางตรงข้ามกับการเจริญเติบโตของผักกาดหอมในสภาวะอุณหภูมิสูง นอกจากนี้พบว่าปริมาณแอนโทไซยานินมีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกันกับการเจริญเติบโตในสภาวะอุณหภูมิสูงและยังมีความสัมพันธ์ในทิศทางตรงข้ามกับเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออน แต่ปริมาณแอนโทไซยานินไม่มีความสัมพันธ์กับประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่ 2 (PSII) และการเปลี่ยนพลังงานแสงส่วนเกินเป็นพลังงานความร้อน (NPQ) อีกทั้งไม่พบว่าแอนโทไซยานินมีส่วนช่วยในการกำจัด Superoxide ในสภาวะอุณหภูมิสูง ผลการทดลองเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนในสภาวะอุณหภูมิสูงและปริมาณแอนโทไซยานินอาจถูกใช้ร่วมกับดัชนีทางสรีรวิทยาและการเจริญเติบโตอื่นๆเพื่อในขั้นตอนการคัดเลือกสายพันธุ์ที่ทนต่อสภาวะอุณหภูมิสูงในผักกาดหอมได้

Title	Study of Heat Tolerant Characteristics in Lettuce (<i>Lactuca sativa</i> Linn.)
Author	Miss Jirawan Suwanboriboon
Degree of	Master of Science in Horticulture
Advisory Committee Chairperson	Mr. Siriwat Sakonwasee

ABSTRACT

High temperature is an important problem that adversely affects quantity and quality of lettuce. Breeding for improvement of heat tolerance is a sustainable solution for future lettuce production. However, conventional breeding method that involves selection of heat tolerant strain under field conditions is quite difficult to avoid for an intervention from environmental factors. In this study, the relationship between heat tolerance and two physiological indices, namely percentage of electrolyte leakage under high temperature condition and anthocyanin content, was investigated in order to evaluate the feasibility of using this index for selection of heat tolerant lettuce strain under laboratory conditions. Results revealed that percentage of electrolyte leakage was negatively correlated with growth of lettuce in high temperature condition. In contrast, it was found that anthocyanin content is positively correlated with growth under high temperature but negatively correlated with percentage of electrolyte leakage. Nevertheless, there were no correlation between anthocyanin content and both PSII operating efficiency (Φ PSII), and non-photochemical quenching (NPQ). It was also found that the presence of anthocyanin had no effect on scavenging superoxide under high temperature condition. In conclusion, these results suggested that percentage of electrolyte leakage and anthocyanin content might be used together with other physiological indices for heat tolerant strain selection in lettuce.

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. สิริวัฒน์ สาครวาสี ได้ให้คำแนะนำในการวางแผนการดำเนินงานทดลอง และช่วยสนับสนุนวัสดุ อุปกรณ์สำหรับการดำเนินงาน จนกระทั่งงานทดลองสำเร็จ ตลอดจนกรุณาให้คำแนะนำ ตรวจสอบแก้ไข จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณอาจารย์ ดร.ปริดา นาเทเวศน์ และ อาจารย์ ดร.ประนอม ยังคำมั่ง กรรมการที่ปรึกษาที่ได้ให้คำแนะนำตลอดจนช่วยตรวจสอบแก้ไขจนกระทั่งสำเร็จเป็นวิทยานิพนธ์อย่างสมบูรณ์

นอกจากนี้ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณนายวีระชัย สุวรรณบริบูรณ์และนางพานทิพย์ สุวรรณบริบูรณ์ ที่ได้สนับสนุนค่าใช้จ่ายในการศึกษาเล่าเรียนมาโดยตลอด ขอขอบคุณทุกคนในครอบครัวที่คอยเป็นกำลังใจให้ตลอดระยะเวลาในการศึกษา

จิรวรรณ สุวรรณบริบูรณ์

พฤษภาคม 2557

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
ABSTRACT	(4)
กิตติกรรมประกาศ	(5)
สารบัญ	(6)
สารบัญตาราง	(8)
สารบัญภาพ	(9)
บทที่ 1 บทนำ	1
ความสำคัญของปัญหา	1
วัตถุประสงค์ของการทดลอง	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
บทที่ 2 ตรวจสอบเอกสาร	5
ผักกาดหอม	5
การวัดเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออน	6
ความเสถียรของเยื่อหุ้มเซลล์ในสภาพอุณหภูมิสูง	6
อนุมูลอิสระ	7
สภาพอุณหภูมิสูงส่งผลกระทบต่อกระบวนการสังเคราะห์แสง	7
บทบาทของแอนโทไซยานิน	8
บทที่ 3 วิธีการวิจัย	10
สายพันธุ์และสภาพปลูก	10
สายพันธุ์สัณฐานที่ใช้ในการทดลอง	10
การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณการรั่วไหลของไอออนและ ความสามารถในการทนร้อน	11
การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอนโทไซยานินและความสามารถในการทนร้อน	13
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์	17
การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณการรั่วไหลของไอออนและ ความสามารถในการทนร้อน	17

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอนโทไซยานินและความสามารถในการทนร้อน	
การทนร้อน	29
วิจารณ์ผล	43
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	47
ส่วนที่ 1 การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณการร่วไหลของไอออนและความสามารถในการทนร้อน	47
ส่วนที่ 2 การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอนโทไซยานินและความสามารถในการทนร้อน	47
บรรณานุกรม	48
ภาคผนวก	55
ภาคผนวก ก ประวัติผู้วิจัย	56

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
1	แสดงการวิเคราะห์ ANOVA ของระดับใบอ่อนและใบแก่ในผักกาดหอม	21
2	แสดงการวิเคราะห์ ANOVA ของวิธีการทั้ง 3 วิธี	24
3	แสดงการวิเคราะห์ ANOVA ของอายุและสายพันธุ์ผักกาดหอมแสดงค่า	29
4	แสดงค่าสหสัมพันธ์(Correlation)ของข้อมูลชุดที่ 1	42
5	แสดงค่าสหสัมพันธ์(Correlation)ของข้อมูลชุดที่ 2	42

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
1 แสดงค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายที่ใช้แช่ตัวอย่างใบเป็นเวลา 10-30 นาที	18
2 แสดงเปอร์เซ็นต์การร่วงไหลของไอออนหลังจากการแช่ใบ 10 นาที	18
3 แสดงการร่วงไหลของไอออนต่อช่วงเวลาในการบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส	19
4 แสดงเปอร์เซ็นต์การร่วงไหลของไอออนต่อช่วงเวลาในการบ่มที่ 50 องศาเซลเซียส	20
5 แสดงเปอร์เซ็นต์การร่วงไหลของไอออนต่อช่วงเวลาในการบ่มที่ 45 องศาเซลเซียส	20
6 แสดงเปอร์เซ็นต์การร่วงไหลของไอออนที่มีผลต่อระดับใบในผักกาดหอม	21
7 แสดงเปอร์เซ็นต์การร่วงไหลของไอออนโดยใช้วิธีของ Marcum (1998) และ Yeh and Lin (2003)	23
8 แสดงเปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บโดยใช้วิธีของ Suluvan(1972)	23
9 แสดงเปอร์เซ็นต์การร่วงไหลของไอออนในผักกาดหอม	25
10 แสดงน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของต้นที่อยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูง อายุ 28 วัน	25
11 แสดงความสัมพันธ์ของเปอร์เซ็นต์การร่วงไหลของไอออนและน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของต้นที่อยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูง	26
12 แสดงเปอร์เซ็นต์การร่วงไหลของไอออนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 30 นาทีของผักกาดหอม อายุ 24 วัน	27
13 แสดงเปอร์เซ็นต์การร่วงไหลของไอออนต่อเวลาในการบ่มอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ของผักกาดหอม อายุ 38 วัน	27
14 แสดงเปอร์เซ็นต์การร่วงไหลของไอออนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 30 นาทีของผักกาดหอม อายุ 34 วัน	28
15 แสดงเปอร์เซ็นต์การร่วงไหลของไอออนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 30 นาทีของผักกาดหอม อายุ 44 วัน	28
16 แสดงน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของต้นที่อยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูง อายุ 28 วัน	30
17 แสดงน้ำหนักแห้งสัมพัทธ์ของต้นที่อยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูง อายุ 28 วัน	30
18 แสดงค่าปริมาณของแอนโทไซยานินในผักกาดหอมอายุ 21 วัน	31
19 แสดงค่าปริมาณคลอโรฟิลล์ในผักกาดหอมอายุ 21 วัน	31
20 แสดงค่าประสิทธิภาพในการทำงานของระบบแสงที่ $2(\phi_{PSII}$ หรือ Φ_{PSII})(ก) และ ϕ_{PSII} สัมพัทธ์และ ϕ_{PSII} สัมพัทธ์(ข) ในผักกาดหอมอายุ 28 วัน (n=4) ชุดที่ 1	32

ภาพ	หน้า
21 แสดงค่าประสิทธิภาพสูงสุดในการทำงานของระบบแสงที่สอง (Quantum Efficiency of PSII หรือ Fv/Fm) (ก) และ Fv/Fm สัมพัทธ์ (ข) ในผักกาดหอมอายุ 28 วัน SD(n=4) ชุดที่ 1	33
22 แสดงค่า Non-photochemical quenching(NPQ) (ก)และค่าNPQ สัมพัทธ์(ข)ในผักกาดหอมอายุ 28 วัน SD(n=4) ชุดที่ 1	34
23 แสดงปริมาณของแอนโทไซยานินในผักกาดหอม (g/l) ชุดที่ 2 SD(n=4)	36
24 แสดงปริมาณคลอโรฟิลล์ ชุดที่ 2	36
25 แสดงค่าประสิทธิภาพในการทำงานของระบบแสงที่ 2 (Φ_{PSII} หรือ Phi PSII) (ก) และ Φ_{PSII} สัมพัทธ์(ข) ของผักกาดหอมอายุ 28 วัน SD(n=4) ชุดที่ 2	37
26 แสดงค่าประสิทธิภาพสูงสุดในการทำงานของระบบแสงที่สอง (Quantum Efficiency of PSII หรือ Fv/Fm) (ก) และ Fv/Fm สัมพัทธ์(ข) ชุดที่ 2 SD(n=4)แสดง	38
27 เปรียบเทียบการร่วไหลของไอออนชุดที่ 2	39
28 แสดงปริมาณ Malondialdehyde (MDA) ชุดที่ 2	39
29 แสดงปริมาณน้ำสัมพัทธ์และRWC สัมพัทธ์ชุดที่ 2	40
30 แสดงปริมาณ Superoxide โดยการเชื่อม Nitrobluetetrazolium (NBT) ของผักกาดหอมอายุ 28 วัน	41

บทที่ 1

บทนำ

การเกษตรเป็นกิจกรรมหนึ่งของมนุษย์ที่ต้องอาศัยสภาพภูมิอากาศที่มีความเหมาะสม อุณหภูมิถือเป็นองค์ประกอบหนึ่งของสภาพภูมิอากาศซึ่งมีความสำคัญต่อการทำเกษตรกรรม (Hertel et al., 2010) ตามรายงานของคณะกรรมการระหว่างรัฐบาลว่าด้วยการเปลี่ยนแปลงเกี่ยวกับสภาพภูมิอากาศ (Intergovernmental Panel on Climate Change หรือ IPCC) อุณหภูมิเฉลี่ยทั่วโลกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นประมาณ 0.3 องศาเซลเซียส ต่อทศวรรษ (Jones et al., 1999) อุณหภูมิที่อุ่นขึ้นนี้อาจทำให้พืชบางชนิดชนิดเติบโตได้อย่างรวดเร็ว แต่สำหรับพืชบางกลุ่ม เช่น ธัญพืช นั้นอุณหภูมิสูงมีผลเสียต่อการพัฒนาของเมล็ด และเป็นสาเหตุของการลดลงของผลผลิตในหลายพื้นที่ทั่วโลก เช่น ในประเทศรัสเซียพื้นที่ทำการเกษตรมากกว่า 20% ได้รับความเสียหายจากอุณหภูมิที่สูงขึ้น ซึ่งมีผลทำให้ราคาของข้าวสาลี เพิ่มขึ้นถึง 50% ในปี 2010 (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2010) ในประเทศฟิลิปปินส์มีการศึกษาพบว่า อุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้นเพียง 1 องศาเซลเซียส ในช่วงฤดูแล้งอาจทำให้ผลผลิตของข้าวลดลงถึง 10% (Peng et al., 2004) ในซิมบับเว อุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้น 2 องศาเซลเซียส ในปี 1992 มีผลทำให้ผลผลิตทางการเกษตรลดลงถึง 67% (Downing, 1992) การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิอาจชักนำให้เกิดความเครียดกับพืชซึ่งส่งผลกระทบ ทั้งต่อการเจริญเติบโต กระบวนการทางสรีรวิทยาต่างๆและผลผลิตได้ (Hall, 2001) เช่น ในพืชตระกูลถั่วเมื่อดอกได้รับสภาพอุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส เพียงไม่กี่วันอาจทำให้เกิดการลดลงของผลผลิตอย่างมาก เนื่องจากการผสมไม่ติดหรือการแท้งของฝัก (Siddique et al., 1999) ในคาโนลา (canola) สภาพอุณหภูมิสูงส่งผลกระทบต่อผลผลิตแตกต่างกันตามแต่ละช่วงของการเจริญเติบโต โดยการได้รับอุณหภูมิสูงในช่วงก่อนดอกบาน ช่วงออกดอก และช่วงการพัฒนาของฝัก มีผลทำให้ผลผลิตลดลงประมาณ 15 58 และ 77% ตามลำดับ (Gan et al., 2004)

ในระดับเซลล์สภาพอุณหภูมิสูงมีผลทำให้เกิดการเสียสภาพของไขมันและสร้างความเสียหายให้กับเยื่อหุ้มเซลล์ (Levitt, 1980) ซึ่งอาจมีผลทำให้ไอออนภายในเซลล์รั่วไหลออกมาสู่ภายนอกและทำให้เซลล์พืชตายในที่สุด ปริมาณการรั่วไหลของไอออนจากเซลล์พืชในสภาวะอุณหภูมิสูงนั้นส่วนหนึ่งขึ้นอยู่กับโครงสร้างของใบ องค์ประกอบของผนังเซลล์ และปริมาณของไขมันอิ่มตัวซึ่งเป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ (Jarvis et al., 2000) การรั่วไหลของไอออนที่เพิ่มสูงขึ้น บ่งชี้ถึงการลดลงของเสถียรภาพของเยื่อหุ้มเซลล์ (Chen et al., 1982) นอกจากนี้สภาพอุณหภูมิสูงมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในคลอโรพลาสต์และไมโทคอนเดรีย ยับยั้งการ

สังเคราะห์โปรตีน และเหนี่ยวนำให้เกิดการเสียดสภาพของโปรตีน อีกด้วย (Ashraf and Harris, 2005) อุณหภูมิที่ไม่สูงมากนักมีผลทำให้เกิดการบาดเจ็บอย่างช้าๆ ซึ่งอาจทำให้เซลล์ตายในที่สุด หากได้รับในระยะเวลาที่ยาวนานพอ แต่สภาวะอุณหภูมิที่สูงมากนั้นอาจก่อให้เกิดการบาดเจ็บของเซลล์อย่างรุนแรงจนกระทั่งเซลล์ตายได้ภายในไม่กี่วินาที (Schoffi et al., 1999)

เมื่อเผชิญกับสภาพอุณหภูมิสูงเซลล์พืชมีการตอบสนองในระดับโมเลกุลผ่านทางการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีนจำนวนหนึ่งซึ่งนำไปสู่การสังเคราะห์โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการทนทานต่อสภาวะเครียด (Iba, 2002) เป็นที่ทราบกันดีว่า การแสดงออกของ heat shock proteins (HSPs) เป็นกลยุทธ์หนึ่งในการปรับตัวเพื่อให้เซลล์พืชทนทานต่อสภาวะความเครียดอันมีสาเหตุมาจากความร้อน (Feder, 1999) มีการศึกษาใน มันฝรั่ง หญ้า Creeping bentgrass ข้าวและมะเขือเทศ พบว่าสายพันธุ์ที่มีความทนต่อสภาพอากาศร้อนมีการแสดงออกของยีน HSPs มากกว่าสายพันธุ์ที่ไม่ทนต่อสภาพอากาศร้อน (Mamedov and Shono, 2008 ; Murakami et al., 2004 ; Savic et al., 2012 ; Wang et al., 2014) นอกจากนี้การอยู่ในสภาพอุณหภูมิที่ไม่สูงจนเกินไป ระยะเวลาหนึ่งก่อนได้รับอุณหภูมิสูงมากอาจช่วยทำให้พืชปรับตัวและทนทานต่อสภาพอุณหภูมิสูงได้ดีขึ้นเนื่องจากพืชมีช่วงเวลาในการสังเคราะห์องค์ประกอบใหม่ในโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์และเยื่อไทลาคอยด์ (thylakoid) ที่สามารถทนต่อสภาวะอุณหภูมิสูงได้ (Georgieva, 1999 ; Larkindale and Huang, 2004)

การปรับปรุงพันธุ์พืชทนร้อนอาจทำได้โดยอาศัยยุทธวิธีแบบดั้งเดิมหรือการใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรม การใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมในการปรับปรุงพันธุ์พืชทนร้อนนั้นสามารถทำให้ได้พืชที่มีลักษณะทนทานต่อความร้อนได้อย่างรวดเร็วมากกว่าการคัดเลือกแบบดั้งเดิม แต่มีข้อเสียคือจำเป็นต้องอาศัยเครื่องมือราคาแพงและเทคนิคขั้นสูง อีกทั้งพืชที่ถูกดัดแปลงพันธุกรรมอาจไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ในขณะเดียวกันการปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิมนั้นมีข้อดีคือต้องใช้ระยะเวลายาวนานในการคัดเลือก อีกทั้งการคัดเลือกพันธุ์ทนร้อนมักทำในสภาพแปลงเปิดซึ่งอาจประสบปัญหาการรบกวนจากปัจจัยภายนอกที่ควบคุมยาก เช่น สภาพอากาศที่มีการผันแปร โรคและแมลง ในพื้นที่ที่ทำการเพาะปลูก โดยปัญหาเหล่านี้อาจหลีกเลี่ยงได้โดยใช้การปลูกและคัดเลือกในโรงเรือนขนาดใหญ่ที่มีการควบคุมสภาพแวดล้อมซึ่งมีต้นทุนสูง ดังนั้นการพัฒนาเทคนิคในการคัดเลือกสายพันธุ์พืชทนร้อนที่สะดวก แม่นยำและมีต้นทุนต่ำจึงมีความสำคัญอย่างยิ่งในกระบวนการปรับปรุงพันธุ์พืชให้มีความสามารถในการทนร้อน การใช้ลักษณะทางสรีรวิทยาของพืชเป็นตัวชี้วัดความสามารถในทนร้อนของพืชอาจเป็นทางเลือกหนึ่งในการคัดเลือกสายพันธุ์ทนร้อนที่น่าสนใจเนื่องจากวิธีการลักษณะนี้ถูกใช้ในการบ่งชี้สายพันธุ์ทนร้อนมาแล้วในพืชหลายชนิด (Hilali, 2011)

การทดลองในครั้งนี้ใช้ผักกาดหอมหรือผักสลัดเป็นพืชในการทดลองเนื่องจากผักกาดหอมเป็นพืชที่มีขนาดไม่ใหญ่เกินไป มีอายุสั้นประมาณ 1-2 เดือน มีความหลากหลายทางสายพันธุ์และเป็นพืชที่ชอบอุณหภูมิเย็น โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการงอกและการเจริญเติบโตอยู่ที่ 24-29.4 องศาเซลเซียส (Nonnecke, 1989) จึงจัดได้ว่าเป็นพืชที่มีความอ่อนไหวต่อความร้อน (Coons et al., 1990)

ผักกาดหอมมีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปอเมริกาและยุโรป นิยมปลูกกันมากในแถบทวีปอเมริกา โดย 98% ของการปลูกผักกาดหอมในสหรัฐอเมริกาอยู่ในรัฐแคลิฟอร์เนียและแอริโซนา ผลผลิตทั้งหมดมากกว่า 85.4 ล้านปอนด์ คิดเป็นมูลค่าประมาณ 1.9 ล้านดอลลาร์ ในจำนวนนี้ผักกาดหอมห่อคิดเป็น 43 เปอร์เซ็นต์ของมูลค่าการผลิตทั้งหมด ส่วนที่เหลืออีก 57 เปอร์เซ็นต์ เป็นผักกาดหอมใบและผักกาดห่อหัวกลม (National Agricultural Statistics Service : NASS, 2014) ในประเทศไทยผักกาดหอมนิยมปลูกกันมากในภาคเหนือ เนื่องจากผักกาดหอมเป็นพืชที่บอบช้ำง่าย อายุการเก็บรักษาสั้น จึงมีการส่งออกน้อยมาก ในปี พ.ศ. 2540 มีการส่งออก 3.0 เมตริกตัน มูลค่า 0.1 ล้านบาท และในปี พ.ศ. 2543 มีการส่งออกเมล็ดพันธุ์ 8.62 ตัน มูลค่า 1.42 ล้านบาท และนำเข้า 3.06 ตัน มูลค่า 2.30 ล้านบาท (กมล และคณะ, 2544) จนในปัจจุบันมีมูลนิธิโครงการหลวงเข้ามาจัดการเรื่องการผลิตและจำหน่ายทำให้มูลค่าการผลิตอยู่ที่ประมาณ 43 ล้านบาทต่อปี (มูลนิธิโครงการหลวง, 2554) ซึ่งถือว่าเป็นมูลค่าที่สูงพอควร สภาพอุณหภูมิสูงนั้นส่งผลกระทบต่อผักกาดหอมหลายด้าน เช่น การแทงช่อดอกก่อนเวลา ผักกาดหอมไม่ห่อหัว เจริญเติบโตช้า (Raleigh and Minotti, 1967) การเกิดเส้นใบสีน้ำตาล (Jenn, 2005) ส่งผลให้คุณภาพและปริมาณผลผลิตต่ำกว่าปกติ ดังนั้นการปรับปรุงพันธุ์ผักกาดหอมเพื่อให้ทนทานต่อสภาพอุณหภูมิสูงจึงถือเป็นสิ่งจำเป็นโดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงเวลาปัจจุบันซึ่งอุณหภูมิเฉลี่ยของโลกมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ

วัตถุประสงค์ของการทดลอง

1. ศึกษาวิธีการและความสัมพันธ์ของเปอร์เซ็นต์การร่วงไหลของไอออนกับความสามารถในการทนทานต่อสภาวะอุณหภูมิสูงเพื่อพัฒนาวิธีการคัดเลือกสายพันธุ์ผักกาดหอมทนร้อนที่มีประสิทธิภาพ และรวดเร็ว
2. ศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณแอนโทไซยานินกับการทนร้อนเพื่อให้ได้องค์ความรู้ที่เป็นประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์และการจัดการปลูกผักกาดหอมในสภาวะอุณหภูมิสูง

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้วิธีการคัดเลือกสายพันธุ์หน่อร้อนที่มีประสิทธิภาพแม่นยำและรวดเร็ว
2. ได้องค์ความรู้ที่เป็นประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์และการจัดการปลูก
ผักกาดหอมในสถานะอุณหภูมิสูง



บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

ผักกาดหอม

ผักกาดหอมหรือผักสลัด มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Lactuca sativa* Linn จัดอยู่ในวงศ์ Asteraceae ในยุคอียิปต์โบราณและยุคโรมันผักกาดหอมถูกนำมารับประทานเป็นอาหารและยา ผักกาดหอมพันธุ์ป่าดั้งเดิมนั้นมีหนามที่ลำต้นและใบ ไม่ห่อหุ้ม มีรสขมและขมขื่น ซึ่ง Lettuce นั้นมีความหมายว่า น้ำนมจากพืช (milk juice of the plant) ในภาษาละติน Lac (*Lactuca*) มีความหมายว่า นม จนกระทั่งถูกคัดเลือกสายพันธุ์เรื่อยมาจนได้พันธุ์ผักกาดหอมที่ห่อหุ้มในปี ค.ศ. 1543 (Rubatzky and Yamaguchi, 1997) ลักษณะทั่วไปของผักกาดหอมในปัจจุบันมีความหลากหลาย เช่น ไม่ห่อหุ้ม ห่อหุ้ม และห่อหุ้มไม่แน่น มีสีส้มมากมายตั้งแต่สีเขียวอ่อนไปจนถึงสีแดงเข้ม ซึ่งสามารถจัดกลุ่มออกมาได้ 5 กลุ่มหลักๆ คือ

1. กลุ่ม Leaf lettuce (*Lactuca sativa* var. *crispa* L.) เป็นสายพันธุ์ที่นิยมปลูกกันมากในประเทศไทยโดยเฉพาะ Blackseeded Simpson และ Grand Rapid มีลักษณะลำต้นสั้นและการเจริญเติบโตของใบเป็นแบบกระจุก มีสีและรูปร่างแตกต่างกันออกไปตามสายพันธุ์

2. กลุ่ม Crisp-head (*L. sativa* var. *capitata* L.) บางครั้งเรียก head lettuce หรือ iceberg type ตัวอย่างได้แก่ ผักกาดหอมปลี ผักกาดหอมห่อ ผักกาดแก้วหรือสลัดแก้ว มีใบขนาดใหญ่ น้ำหนักใบมีความแข็งแรงและกรอบกว่าสายพันธุ์อื่น

3. กลุ่ม Butterhead (*L. sativa* var. *capitata* Lam.) บางครั้งเรียก Bibb หรือ Boston lettuce คือ ผักกาดหอมกึ่งห่อหรือ ผักกาดบัตเตอร์ไบมีลักษณะอ่อนนุ่ม ห่อหุ้มแบบหลวมๆ ไม่ทนทานต่อการขนส่ง ชอบอุณหภูมิที่เย็น หากปลูกในฤดูหนาวจะได้หัวที่ใหญ่กว่าที่ปลูกในฤดูร้อน

4. กลุ่ม Cos หรือ Romaine (*L. sativa* var. *longifolia* Bailey) บางครั้งเรียกว่า ผักกาดคอส หรือ โรเมน หรือ ผักกาดหวาน ใบมีลักษณะตั้งตรงยาวและกึ่งห่อหุ้ม มีสีเขียวเข้ม

5. กลุ่ม Stem (*L. sativa* var. *asparagina*) ในบางครั้งเรียกว่า Asparagus lettuce หรือ Celtuce (Celery-Lettuce) มีลักษณะลำต้นสูง ใบเรียวยาว สามารถนำลำต้นมารับประทานได้ (Delahaut and Newenhouse, 2003)

ผักกาดหอมมีสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณสูง (Herrmann, 1976) โดยคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของผักกาดหอมเกิดจากสารประกอบฟีนอล เช่น กรดคาเฟอิก (caffeic acid)

และฟลาโวนอยด์ (flavonols) นอกจากนี้ผักกาดหอมยังอุดมไปด้วยวิตามินซีและวิตามินอี ซึ่งเป็นสารที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเช่นกัน (Nicolle et al., 2004) อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการงอกและการเจริญเติบโตของผักกาดหอมอยู่ที่ 24-29.4 องศาเซลเซียส (Nonnecke, 1989) จึงจัดได้ว่าเป็นพืชที่มีความอ่อนไหวต่อความร้อน (Coon et al., 1990) อุณหภูมิที่สูงมากเกินไปมีผลต่อการพัฒนาของหัวผักกาดหอมห่อกลุ่ม Crisp-head ก่อให้เกิดอาการแคะแกรน เส้นใบสีน้ำตาลและจุดสีน้ำตาลบริเวณแผ่นใบ เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้คุณภาพและผลผลิตเสียหาย (Ryder, 1999)

การวัดเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออน

การวัดการรั่วไหลของไอออนเป็นวิธีที่ใช้ประเมินเสถียรภาพของเยื่อหุ้มเซลล์ที่ตกอยู่ในสภาวะความเครียดและการเสื่อมสภาพของเนื้อเยื่อ ตามหลักการแล้วเซลล์ที่ยังมีชีวิตจะมีไอออนชนิดต่างๆเก็บอยู่ภายในเซลล์ แต่เมื่ออยู่ในสภาวะเครียด หรือสภาวะเสื่อมสภาพ ไขมันและโปรตีนบนเยื่อหุ้มเซลล์อาจถูกออกซิไดซ์โดยอนุมูลอิสระ จนเกิดความเสียหายและทำให้ไอออนที่อยู่ภายในเซลล์รั่วไหลออกสู่นอกเซลล์ในที่สุด (Campos et al., 2003 ; Fuller et al., 1994) งานทดลองจำนวนมากนำค่าการรั่วไหลของไอออนมาเป็นตัวชี้วัดการบาดเจ็บของเซลล์ โดยค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนที่สูงสะท้อนให้เห็นถึงการบาดเจ็บของเซลล์ (Lim et al., 2007) ค่าความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์นี้นิยมใช้อย่างแพร่หลายในการชี้วัดความทนทานต่อสภาวะเครียดต่างๆในพืช เช่น ความเย็น (Dexter, 1956) ความร้อน ความแล้ง (Silva et al., 2013) และความเค็ม (Karlidag et al., 2009)

ความเสถียรของเยื่อหุ้มเซลล์ในสภาพอุณหภูมิสูง

ความเสถียรของเยื่อหุ้มเซลล์ภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูง (Cell Membrane Thermostability หรือ CMT) ถูกใช้ในการประเมินความสามารถในการทนร้อนของพืชบางชนิด โดยหลักการคือการใช้อุณหภูมิสูงเหนี่ยวนำให้เยื่อหุ้มเซลล์ได้รับความเสียหายจนไอออนที่อยู่ภายในเซลล์ รั่วไหลออกสู่ภายนอกเซลล์ ซึ่งปริมาณไอออนที่รั่วไหลนี้มีความสัมพันธ์ในทางตรงกันข้ามกับความสามารถในการทนร้อนของพืชแต่ละสายพันธุ์ (Sullivan, 1972) วิธีการนี้ใช้ได้ผลมาแล้วในพืชบางชนิด เช่นในมะเขือเทศ ค่าความเสถียรของเยื่อหุ้มเซลล์ถูกใช้ในการประเมินความสามารถในการทนร้อนในระยะการเจริญเติบโตทางลำต้นและใบ ระยะออกดอก และระยะติดผล ในแต่ละสายพันธุ์ (Alsadon et al., 2006) ในเบญจมาศ พบว่าช่วงเวลาในการบานของดอกใน

สภาวะอุณหภูมิสูงมีความสัมพันธ์กับความเสถียรของเยื่อหุ้มเซลล์ (Yeh and Lin, 2003) ในหญ้าแคนดักกิบดู ข้าวฟ่างและข้าวสาลี พบว่าค่าความเสถียรของเยื่อหุ้มเซลล์มีความสัมพันธ์กับความสามารถในการทนร้อนเช่นกัน (Marcum, 1998 ; Sullivan, 1972 ; Ibrahim and Quick, 2001)

อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ คือ อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนไม่ครบคู่ จึงทำให้โมเลกุลเกิดความไม่เสถียรและว่องไวต่อการทำปฏิกิริยาทางเคมีกับสารอื่นๆ โดย อิเล็กตรอนที่ไม่ครบคู่นี้สามารถทำปฏิกิริยากับโมเลกุลที่อยู่ข้างเคียงเพื่อแย่งอิเล็กตรอนและทำให้เกิดความเสถียร ส่วนโมเลกุลที่ถูกแย่งอิเล็กตรอนนั้นจะเกิดเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ขึ้นมาแทนและจะทำปฏิกิริยากับโมเลกุลตัวอื่นๆต่อไปเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) (Halliwell, 1991) อนุมูลอิสระที่สำคัญได้แก่ Hydroxyl radical ($\text{HO}^\bullet$), Superoxide anion radical ($\text{O}_2^{\bullet -}$) ซึ่งเป็นกลุ่มของสารประกอบออกซิเจนที่ว่องไวต่อการทำปฏิกิริยา (reactive oxygen species, ROS) การตรวจวัดปริมาณของ ROS เช่น Superoxide anion radical ในเนื้อเยื่อพืชสามารถทำได้โดยอาศัยเทคนิคการย้อมสีด้วยสารละลาย Nitroblue tetrazolium (NBT) (Ramel et al., 2009) ไขมันซึ่งเป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มต่างๆภายในเซลล์สามารถถูกออกซิไดซ์ได้โดย ROS (เรียกกระบวนการนี้ว่า lipid peroxidation) การประเมินปริมาณการเกิด lipid peroxidation เพื่อบ่งชี้ความเสียหายของเยื่อหุ้มอวัยวะต่างๆของเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์ สามารถทำได้โดยใช้ปฏิกิริยาสี เพื่อวัดปริมาณของ Malondialdehyde (MDA) ซึ่งเป็นผลผลิตจากกระบวนการ lipid peroxidation ทั้งนี้ความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์จากการถูกออกซิไดซ์อาจส่งผลกระทบต่อการทำงานและกิจกรรมต่างๆของเซลล์ เช่น การควบคุมกิจกรรมของเอนไซม์ การซึมผ่าน การขนส่งสารอาหาร การเคลื่อนที่ของเยื่อหุ้มเซลล์และการรักษาเสถียรภาพของแรงดันออสโมติกภายในเซลล์ (Kaur and Sanyal, 2010)

สภาพอุณหภูมิสูงส่งผลกระทบต่อกระบวนการสังเคราะห์แสง

การสังเคราะห์แสงเป็นหนึ่งในกระบวนการที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืชและมีความอ่อนไหวต่อภาวะเครียดจากความร้อน (Allakhverdiev et al., 2008) ความเครียดเนื่องจากความร้อนส่งผลให้เกิดการยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์แสงและทำให้กิจกรรมการขนส่งอิเล็กตรอนลดลง (Karim et al., 1999) การวัดการเรืองแสงของคลอโรฟิลล์ ถูกนำมาใช้เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพการทำงานของปฏิกิริยาแสง (light reaction) ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของ

กระบวนการการสังเคราะห์แสง ค่าการเรืองแสงของคลอโรฟิลล์นี้สามารถใช้ประเมินค่าประสิทธิภาพในการทำงานของระบบแสงที่สองในสภาวะแสงปกติ Φ_{PSII} (Phi PSII) ค่าประสิทธิภาพสูงสุดในการทำงานของระบบแสงที่ 2 (F_v/F_m) และ ค่าพลังแสงส่วนเกินที่ถูกเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของพลังงานความร้อน (Govindjee, 1995 ; Neil, 2008) รายงานจำนวนมากแสดงให้เห็นว่าค่าดัชนีการเรืองแสงของคลอโรฟิลล์มีการเปลี่ยนแปลงในสภาวะอุณหภูมิสูง เช่น การศึกษาในใบข้าว ใบข้าวสาลีและใบต้นฝ้าย พบว่าสภาวะอุณหภูมิสูงมีผลทำให้ประสิทธิภาพการทำงานสูงสุดของระบบแสงที่ 2 ลดลง

บทบาทของแอนโทไซยานิน

แอนโทไซยานิน(Anthocyanin)เป็นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ ซึ่งพบในใบหรือส่วนต่างๆของพืชที่มีสีแดง ม่วงและน้ำเงิน เช่น เชอร์รี่ พลัม ราสเบอร์รี่ สตรอเบอร์รี่ BlackBerry แอปเปิ้ล พีช เป็นต้น (Lohachoomplo et al., 2004) สีของแอนโทไซยานินเปลี่ยนแปลงไปตามสภาพความเป็นกรด-ด่าง โดยเมื่ออยู่ในสภาวะที่เป็นด่างจะมีสีน้ำเงิน เมื่ออยู่ในสภาวะที่เป็นกลางจะมีสีม่วง และในสภาวะที่เป็นกรดจะมีสีแดงส้ม (Bondre et al., 2012) แอนโทไซยานินถือเป็นสารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงสำหรับมนุษย์ เนื่องจากมีคุณสมบัติในการต่อต้านสารอนุมูลอิสระได้ดี (Changlian et al., 2006 ; Astadi et al., 2008) นอกจากคุณค่าทางโภชนาการแล้ว แอนโทไซยานินยังมีหน้าที่ที่สำคัญต่อการดำรงชีวิตของพืชในหลายรูปแบบ เช่น การปกป้องเซลล์พืชจากรังสียูวี การปกป้องส่วนประกอบของกระบวนการสังเคราะห์แสงจากพลังงานแสงส่วนเกินและการปกป้องการสลายตัวของธาตุอาหารในช่วงที่ใบเสื่อมสภาพ (Hoch et al., 2003) ทั้งนี้บทบาทและหน้าที่ของแอนโทไซยานินนั้นยังขึ้นอยู่กับตำแหน่งที่มีการสะสมเกิดขึ้นอีกด้วย (Gould et al., 2000) มีงานทดลองแสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิที่สูงขึ้นส่งผลต่อการสะสมของแอนโทไซยานิน เช่น ในองุ่นแดงพบว่าเมื่ออยู่ในอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส การสะสมแอนโทไซยานินจะถูกยับยั้ง (Mori et al., 2007) ดังนั้นปริมาณของแอนโทไซยานินในเซลล์พืชจึงมีความแตกต่างกันออกไปตามแต่ละสายพันธุ์ และสภาพแวดล้อม (Kader et al., 1974 ; Steyn et al., 2002)

ค่าเปอร์เซ็นต์การร่วไหลของไอออนและปริมาณแอนโทไซยานินนั้นเป็นค่าที่สามารถวัดได้ง่ายและรวดเร็ว อีกทั้งยังมีรายงานจำนวนมากที่บ่งชี้ว่าค่าทั้งสองนี้อาจมีความสัมพันธ์กับความทนทานต่อความเครียดในพืชตามที่ได้กล่าวไปแล้ว การทดลองในครั้งนี้จึงมีจุดมุ่งหมายในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการทนร้อนและค่าดัชนีทั้งสองนี้ในผักกาดหอม

โดยหากพบความสัมพันธ์ก็อาจมีความเป็นไปได้ที่ค่าดัชนีทั้งสองนี้จะถูกนำไปใช้ในการคัดเลือก
สายพันธุ์ที่ทนร้อนในอนาคต



บทที่ 3

วิธีการวิจัย

สายพันธุ์และสภาพปลูก

การทดลองใช้ผักกาดหอมทั้งหมด 17 สายพันธุ์ ดินผักกาดหอมทั้งหมดถูกปลูกภายในห้องควบคุมอุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ และ $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ มีการให้แสง $\text{PAR} = 100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ เป็นเวลา 16 ชั่วโมง มีด 8 ชั่วโมงแสงต่อวัน มีการระบายอากาศทุก 6 ชั่วโมง ใช้การวางแผนการทดลองแบบ RCBD การทดลองทั้งหมดปลูกในภาชนะที่มีสารละลาย Hoagland ความเข้มข้น 0.5 เท่า

สายพันธุ์ผักกาดหอมที่ใช้ในการทดลอง

1. Green rapid (*L. sativa* var. *capitata* Grand rapids)
2. Great lake (*L. sativa* var. *capitata* Great lake)
3. Claremont (*L. sativa* var. *capitata* Claremont)
4. Green star (*L. sativa* var. *crispa* Green Star)
5. Vivian (*L. sativa* var. *crispa* Vivian)
6. Sunfire (*L. sativa* var. *crispa* Sunfire)
7. Jericho (*L. sativa* var. *longifolia* Jericho)
8. Super red (*L. sativa* var. *longifolia* Super red)
9. Iticha (*L. sativa* var. *capitata* Itihca)
10. Coastal (*L. sativa* var. *longifolia* Coastal)
11. Paris (*L. sativa* var. *longifolia* Paris)
12. Royal red (*L. sativa* var. *crispa* Royal red)
13. Prizehead (*L. sativa* var. *capitata* Prizehead)
14. กรีน โอ๊ค MJ-3 (*L. sativa* var. *crispa* Green oak)
15. กรีน โอ๊ค MJ-3-2 (*L. sativa* var. *crispa* Green oak)
16. หอมห่อ (*L. sativa* var. *capitata* Grand rapids)
17. เรดโครอสเบบี้ MJ-2-2 (*L. sativa* var. *crispa* Red oak)

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณการรั่วไหลของไอออน และความสามารถในการทนร้อน

การศึกษาช่วงเวลาในการล้างตัวอย่างใบที่เหมาะสม

ตัวอย่างชิ้นส่วนใบที่ถูกตัดเป็นวงกลมเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.5 เซนติเมตร ถูกใส่ลงในหลอดแก้ว 6 ชิ้นต่อหลอด จากนั้นใส่น้ำ deionized (DI) 10 มิลลิลิตรแล้วทำการวัดค่า Electrical conductivity (EC) ที่เวลา 0 นาที (EC_0) 10 นาที (EC_{10}) 20 นาที (EC_{20}) 30 นาที (EC_{30}) และหลัง Autoclave (EC_{total}) ค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนจากตัวอย่างใบในแต่ละช่วงเวลา ถูกคำนวณตามสมการที่ 3.1 (Bajji et al., 2001)

$$\text{สมการที่ 3.1 การรั่วไหลของไอออนในแต่ละช่วงเวลา } (\mu S) = \frac{EC_{t2} - EC_{t1}}{EC_{total}}$$

การศึกษาจำนวนครั้งในการล้างตัวอย่างใบที่เหมาะสม

ตัวอย่างชิ้นส่วนใบที่ถูกตัดเป็นวงกลมเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.5 เซนติเมตร ถูกใส่ลงในหลอดแก้ว 6 ชิ้นต่อหลอด จากนั้นใส่น้ำ deionized (DI) 10 มิลลิลิตรทิ้งไว้ 10 นาที แล้วทำการวัดค่า EC ครั้งที่ 1 (EC_1) แล้วเทน้ำทิ้ง ทำซ้ำจำนวน 4 ครั้งหลังจากนั้นนำตัวอย่างใบไป Autoclave (EC_{total}) ค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนในการล้างแต่ละครั้งถูกคำนวณตามสมการที่ 3.2 (ดัดแปลงจาก Bajji et al., 2001 ; Marcum, 1998)

$$\text{สมการที่ 3.2 เปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนในแต่ละช่วงเวลา} = \frac{EC_{t1}}{EC_{total}} \times 100$$

การศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการบ่มตัวอย่างใบในสภาพอุณหภูมิสูง

ตัวอย่างชิ้นส่วนใบที่ถูกตัดเป็นวงกลมเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.5 เซนติเมตร ถูกใส่ลงในหลอดแก้ว 6 ชิ้นต่อหลอด จากนั้นทำการล้าง (ตามระยะเวลาและจำนวนครั้งที่ทำการทดลองก่อนในขั้นแรก) แล้วบ่มที่ 40 45 และ 50 องศาเซลเซียส (Alsadon et al., 2006 ; Marcum, 1998) ที่เวลา 0 10 20 30 40 50 นาที เมื่อบ่มเสร็จทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องข้ามคืน จากนั้นวัดค่า EC ครั้งที่ 1 แล้วนำไป Autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที วัดค่า EC ครั้งที่ 2 คำนวณค่า

เปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนโดยใช้สมการที่ 3.3 ซึ่งดัดแปลงจาก Marcum, 1998 และ Sullivan, 1972

$$\text{สมการที่ 3.3 ค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออน} = \frac{\text{ค่า EC ก่อน Autoclave}}{\text{ค่า EC หลัง Autoclave}} \times 100$$

การวัดน้ำหนักแห้งและน้ำหนักสดสัมพัทธ์

ต้นผักกาดหอมถูกปลูกในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 วัน ก่อนจะถูกแยกออกเป็นสองชุด ชุดแรก เอาไว้ที่ห้องควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เหมือนเดิม ชุดที่สองถูกย้ายไปที่ห้องควบคุมอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน แล้วทำการบันทึกข้อมูล น้ำหนักสด และน้ำหนักสดสัมพัทธ์คำนวณตามสมการที่ 3.4

$$\text{สมการที่ 3.4 น้ำหนักสดสัมพัทธ์} = \frac{\text{น้ำหนักห้องควบคุมอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส} \times 100}{\text{น้ำหนักห้องควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส}}$$

น้ำหนักแห้งวัดได้จากการนำตัวอย่างพืชสดไปอบที่ อุณหภูมิ 75 องศาเป็นเวลานาน 1 วัน แล้วคำนวณน้ำหนักแห้งสัมพัทธ์เช่นเดียวกับน้ำหนักสด

การเปรียบเทียบผลการวัดความเสถียรของเยื่อหุ้มเซลล์โดยวิธีการที่แตกต่างกัน 3 วิธี

วิธีที่ 1

นำผักกาดหอม อายุ 21 วัน ตัดชิ้นส่วนพืชตัวอย่างใส่ในหลอดแก้ว ล้างด้วย deionized water (DI) สามครั้ง ทำการบ่มในอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 10 – 50 นาที (ต้องทำการทดลองหาเวลาที่เหมาะสมกับผักกาดหอมก่อน) หลังจากนั้น ใส่ DI 10 ml ที่อุณหภูมิห้อง 25 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ข้ามคืน วัดค่าการนำไฟฟ้า (Electrical conductivity หรือ EC) ของสารละลาย และนำไป Autoclave เพื่อให้ไอออนที่อยู่ภายในเซลล์รั่วไหลออกมาให้หมดและทำการวัดค่า EC อีกครั้ง หาเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนได้จากสมการที่ 3.3 (Marcum, 1998)

วิธีที่ 2

นำผักกาดหอม อายุ 21 วัน ย้ายไปบ่มที่ห้องควบคุมอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ก่อนหนึ่งคืน แล้วจึงทำการตัดชิ้นส่วนพืชตัวอย่างใส่ในหลอดแก้ว ล้างด้วยน้ำ deionized (DI) สามครั้งและใส่ DI 10ml เก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาหนึ่งคืน หลังจากนั้น วัดค่าการนำไฟฟ้า

(Electrical conductivity หรือ EC) ของสารละลายและนำไป Autoclave เพื่อให้ไอออนที่อยู่ภายในเซลล์รั่วไหลออกมาให้หมดและทำการวัดค่า EC อีกครั้งหาเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนได้จากสมการที่ 3.3 (Yeh and Lin, 2003)

วิธีที่ 3

นำผักกาดหอม อายุ 21 วัน ย้ายไปบ่มที่ห้องควบคุมอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ก่อนหนึ่งคืน แล้วจึงทำการตัดชิ้นส่วนพืชตัวอย่างใส่ในหลอดแก้ว แบ่งออกเป็นสองส่วนและล้างด้วย น้ำ deionized (DI) สามครั้ง ส่วนแรกทำการบ่มในอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 10 – 50 นาที (ต้องทำการทดลองหาเวลาที่เหมาะสมกับผักกาดหอมก่อน) หลังจากนั้น ใส่ DI 10 ml ที่อุณหภูมิห้อง 25 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ข้ามคืน วัดค่า EC ของสารละลาย (T1) และนำไป Auto clamp เพื่อให้ไอออนที่อยู่ภายในเซลล์รั่วไหลออกมาให้หมดและทำการวัดค่า EC อีกครั้ง (T2) ส่วนที่สองไม่ต้องทำการบ่มเมื่อล้างเสร็จใส่ DI 10 ml และทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องข้ามคืน วัดค่าการนำไฟฟ้าของสารละลาย (C1) และนำไป Auto clamp เพื่อให้ไอออนที่อยู่ภายในเซลล์รั่วไหลออกมาให้หมดและทำการวัดค่า EC อีกครั้ง (C2) (Sullivan, 1972) หาเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนได้จากการคำนวณตาม สมการที่ 3.5 และ 3.6

สมการที่ 3.5 ค่าความเสถียรของเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane stability(CMS))

$$= \left(\frac{1-(T1/T2)}{1-(C1/C2)} \right) \times 100$$

สมการที่ 3.6 ค่าเปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บ = (100 – CMS)

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอนโทไซยานิน และความสามารถในการทนร้อน

การทดลองนี้ใช้ผักกาดหอมสีแดง 3 สายพันธุ์ คือ เรดโคโลรอล สลัดโบ เรดโอ๊ค Sunfire Paris Super red และใช้ผักกาดหอมสีเขียว 3 สายพันธุ์ คือ ผักกาดหอมห่อ กรีนโอ๊ค และสลัดคอส Great Lakes Prizhead ทำการปลูกในระบบสารละลาย Hoagland ภายในห้องควบคุมแสง (PAR = 100 $\mu\text{mol cm}^{-2} \text{s}^{-1}$) และอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 วัน ก่อนย้ายเข้าปลูกในสภาพอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

การวัดปริมาณแอนโทไซยานิน

การวัดปริมาณแอนโทไซยานิน อาศัยคุณสมบัติการดูดกลืนคลื่นแสงของแอนโทไซยานินที่มีการเปลี่ยนแปลงไปตาม pH ของสารละลาย โดยที่ pH1 โครงสร้างแอนโทไซยานินจะอยู่ในรูปของ ออกโซเนียม (Oxonium form) ซึ่งสามารถดูดกลืนแสงในช่วงคลื่น 530 nm ได้ดีจึงทำให้สารละลายมีสีแดงอมม่วง ในขณะที่ pH 4.5 โครงสร้างแอนโทไซยานินจะอยู่ในรูปเฮมิกิทัอล (Hemiketal form) ซึ่งไม่มีสี แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงของ pH1 และ pH4.5 มาหักลบกัน เพื่อกำจัดค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอื่นๆที่ไม่ใช่แอนโทไซยานินออกและวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 700 nm เพื่อลบความขุ่นที่อาจเกิดขึ้นออกเพื่อความแม่นยำและถูกต้อง ในการวัดใช้ตัวอย่างใบที่ถูกตัดเป็นวงกลมเท่าๆกันชั่งน้ำหนักและใส่ในหลอดแก้วพร้อมกับใส่ 1% HCl ใน methanol 95% ในการสกัด จากนั้นเตรียม Buffer โดยใช้โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) ความเข้มข้น 0.025M ค่า pH 1.0 และ โซเดียมอะซิติก ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) ความเข้มข้น 0.4 M ค่า pH 4.5 ผสมรวมกับพืชตัวอย่างที่สกัดนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ค่าการดูดกลืนแสงที่ 530 nm และ 700 nm ของ pH1 และ pH4.5 ถูกคำนวณตามสมการที่ 3.7 (Gazula et al., 2007 ; Giusti and Wrolstad, 2001)

$$\text{สมการที่ 3.7} \quad \text{ปริมาณแอนโทไซยานิน (mg/liter)} = \frac{A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1000}{\epsilon \times 1}$$

$$\text{โดย} \quad A = (A_{530} - A_{700})_{\text{pH}1.0} - (A_{530} - A_{700})_{\text{pH}4.5}$$

$$\text{MW (น้ำหนักโมเลกุล)} = 449.2$$

$$\epsilon \text{ (ค่าคงที่ของการดูดกลืนแสง)} = 26,900$$

$$\text{DF (ค่าการเจือจางด้วยสารละลาย Buffer)} = 6.67$$

การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์

การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ เริ่มจากตัดใบตัวอย่างพืชเป็นวงกลมเท่าๆกัน ชั่งน้ำหนักและนำไปใส่ในหลอดแก้วที่มี Dimethyl Sulfoxide (DMSO) 5 ml ปิดปากหลอดด้วยกระดาษฟอยล์ จากนั้นนำไปบ่มในอ่างน้ำร้อน ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที นำหลอดแก้วออกจากอ่างน้ำร้อนแล้วแช่ในน้ำ ให้อุณหภูมิลดลง นำไปวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ด้วยเครื่อง spectrophotometer โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 645 และ 663 nm คำนวณปริมาณคลอโรฟิลล์ด้วยสมการที่ 3.8 (Richardson et al., 2002)

$$\begin{aligned}\text{สมการที่ 3.8 Chlorophyll a } \left(\frac{\text{g}}{\text{l}}\right) &= 0.0127 A_{663} - 0.00269 A_{645} \\ \text{Chlorophyll a(g/l)} &= 0.0229 A_{640} - 0.00468 A_{663}\end{aligned}$$

การวัดปริมาณ Malondialdehyde(MDA)

การวัดปริมาณ Malondialdehyde (MDA) โดยตัดแผ่นใบเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.5 เซนติเมตร ประมาณ 6 แผ่นใบ และชั่งน้ำหนัก เติมน้ำสารละลายกรดไทรคลอโรอะซิติก (Trichloroacetic Acid; TCA) 0.1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร บดให้ละเอียดจากนั้นเติมน้ำอีก 500 ไมโครลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที คัดส่วนใสปริมาตร 550 ไมโครลิตร จากนั้นเติมกรดไทโอบาร์บิอูริก (Thiobarbituric Acid; TBA) 0.5 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับ TCA 20 เปอร์เซ็นต์ หลอดละ 550 ไมโครลิตร นำไปต้มที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 25 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 7,500 รอบต่อนาที นาน 5 นาที นำสารละลายที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 440 532 และ 600 นาโนเมตร ถูกคำนวณตามสมการที่ 3.9 (Hodges et al., 1999)

$$\text{สมการที่ 3.9 MDA } (\mu\text{mol/g FW}) = \left[\frac{[(A_{532} - A_{600}) - (A_{440} - A_{600}) \left(\frac{8.4}{147}\right)]}{157,000} \right] \times 10^6$$

การวัดเปอร์เซ็นต์การร่วงไหลของไอออน

การวัดเปอร์เซ็นต์การร่วงไหลของไอออน โดยตัดแผ่นใบเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.5 เซนติเมตร ประมาณ 6 ชิ้น ล้างด้วยน้ำ deionized (DI) 10 มิลลิลิตร 3 ครั้ง จากนั้นทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง ข้ามคืน วัดค่าการนำไฟฟ้า (EC) และนำไป Autoclave เพื่อให้ไอออนที่อยู่ภายในเซลล์ร่วงไหลออกมาให้หมดและทำการวัดค่า EC อีกครั้ง คำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การร่วงไหลของไอออนได้ตามสมการที่ 3.3

การวัดปริมาณน้ำสัมพัทธ์ (Relative water content หรือ RWC)

การวัดปริมาณ Relative water content (RWC) โดยตัดแผ่นใบประมาณ 5x5 เซนติเมตร ชั่งน้ำหนัก (น้ำหนักสด) จากนั้น แช่น้ำข้ามคืนและชั่งน้ำหนัก (น้ำหนักเต่ง) นำไปอบแห้งและชั่งน้ำหนัก (น้ำหนักแห้ง) หาเปอร์เซ็นต์ RWC ได้จาก สมการที่ 3.10

$$\text{สมการที่ 3.10 RWC} = \left(\frac{\text{น้ำหนักสด} - \text{น้ำหนักแห้ง}}{\text{น้ำหนักต้ง} - \text{น้ำหนักแห้ง}} \right) \times 100$$

การย้อม Nitroblue tetrazolium (NBT)

การประเมินปริมาณของ Superoxide ในเนื้อเยื่อพืชทำได้โดยการย้อมเนื้อเยื่อพืชด้วยสารละลาย NBT โดยตัดแผ่นใบเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.5 เซนติเมตร แช่ใน Potassium Phosphate buffer เข้มข้น 10 mM ที่ผสมกับ NaN_3 ความเข้มข้น 3.5 mM และ NBT ความเข้มข้น 10 mg/ml ทำสุญญากาศทุกๆ 30 นาทีเป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยเก็บในที่มืด จากนั้นเทสารละลาย NBT ออก เติมสารละลาย acetic acid : glycerol : ethanol (1:1:3) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที จนกระทั่งสีเขียวหายไป (Ramel et al., 2009) ตัวอย่างใบพืชที่ถูกย้อมด้วย NBT จะถูกถ่ายรูปเพื่อนำไปวัดปริมาณพื้นที่ติดสีโดยโปรแกรม ImageJ (National Institutes of Health USA)

การวิเคราะห์สถิติ

ข้อมูลที่ได้ทั้งหมดจะถูกวิเคราะห์ทางสถิติโดยวิธี ANOVA และ t-test เพื่อทดสอบความแตกต่างระหว่าง treatment โดยใช้โปรแกรม Sirichai และ Excel

บทที่ 4

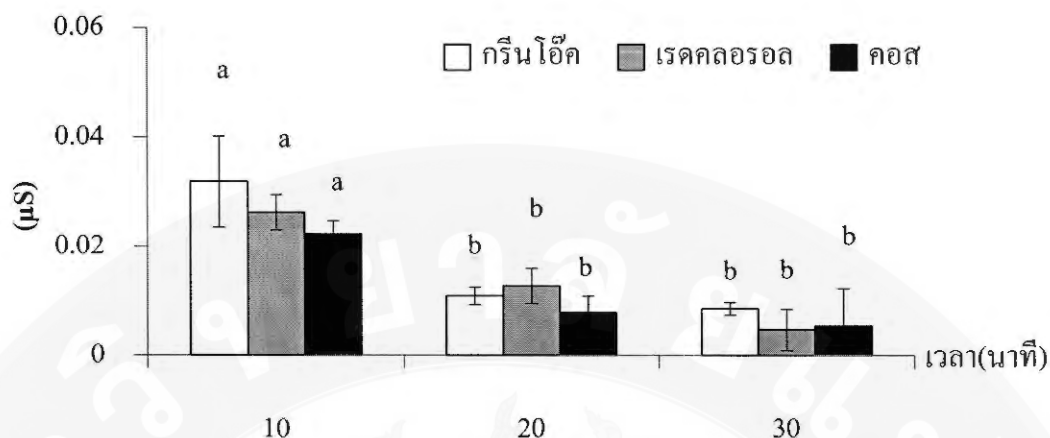
ผลการทดลอง

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณการรั่วไหลของไอออน และความสามารถในการทนร้อน

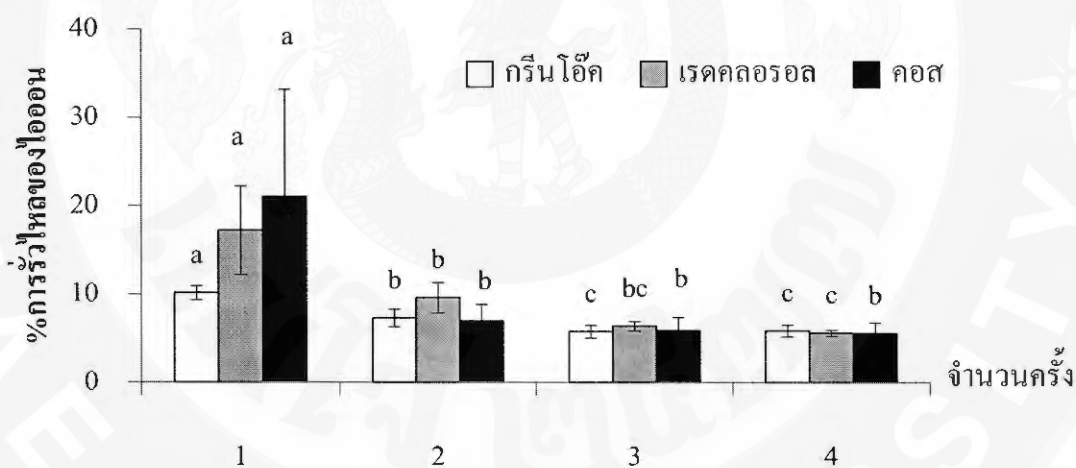
ช่วงเวลาและจำนวนครั้งในการล้างแผ่นใบ

ในการทดลองขั้นต้น ได้ทำการทดลองหาช่วงเวลาและจำนวนครั้งที่เหมาะสมต่อการล้างตัวอย่างใบเพื่อกำจัดไอออนที่รั่วไหลจากเซลล์บริเวณแผลของการตัดใบ โดยจากการทดลองพบว่า เปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออน ในช่วง 10 นาทีแรก มีค่าสูงที่สุด (ภาพ 1) และเมื่อทำการวัดต่อไปในช่วงเวลา 20 และ 30 นาที พบว่าค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออน ที่เพิ่มขึ้นในทั้งสองช่วงเวลานี้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และค่าทั้งสองนี้น้อยกว่าค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนในช่วง 10 นาทีแรกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้ค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออน ที่วัดได้หลังจากการแช่ใบเป็นเวลา 10-30 นาทีนั้นมีค่าอยู่ในระดับเพียง 0.01-0.03% เท่านั้น ผลการทดลองเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าไอออนที่รั่วไหลออกจากเซลล์บริเวณบาดแผลจากการตัดใบนั้นมีปริมาณน้อยมาก นอกจากนี้การแช่ตัวอย่างใบนานกว่า 10 นาทีมีผลช่วยในการกำจัดไอออนที่รั่วออกจากเซลล์บริเวณบาดแผลจากการตัดใบได้เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ด้วยเหตุนี้การทดลองในขั้นต่อไปทั้งหมดจึงจะได้ทำการแช่ล้างใบเป็นเวลา 10 นาที

ต่อมาได้ทำการศึกษาจำนวนครั้งที่เหมาะสมในการล้างตัวอย่างใบเพื่อกำจัดไอออนที่รั่วไหลออกจากเซลล์บริเวณบาดแผลของการตัดใบ โดยพบว่าการแช่ครั้งที่ 1 มีค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนสูงที่สุด รองลงมาคือครั้งที่ 2 และครั้งที่ 3 ตามลำดับ ทั้งนี้ค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออน ในครั้งที่ 2 และครั้งที่ 3 มีความแตกต่างกันเพียงในผักกาดหอม บางสายพันธุ์เท่านั้น และครั้งที่ 3 กับ 4 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทุกสายพันธุ์ (ภาพ 2) ดังนั้นการทดลองในขั้นต่อไปจึงทำการล้าง 3 ครั้ง เพื่อทำความสะอาดแผ่นใบ



ภาพ 1 แสดงค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายที่ใช้แช่ตัวอย่างใบเป็นเวลา 10-30 นาที ของต้นกล้าอายุ 21 วัน แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน SD (n=4) ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P = 0.05$ จากการวิเคราะห์โดยวิธีการ Duncan Multiple Range Test

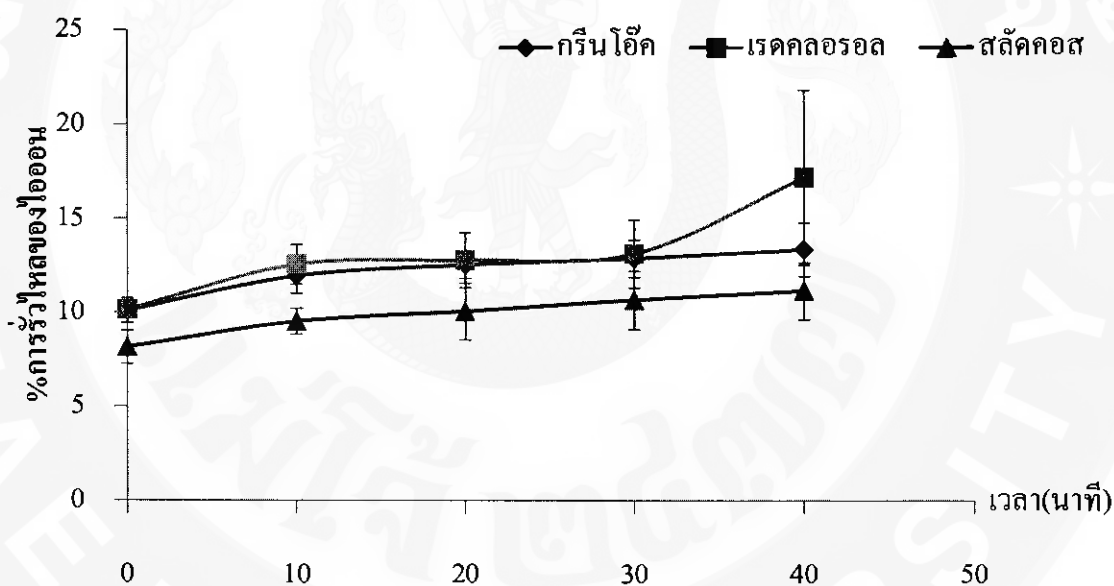


ภาพ 2 แสดงเปอร์เซ็นต์การรื้อไหลของไออน หลังจากการแช่ใบ 10 นาที ในการล้างแต่ละครั้ง ของต้นกล้าอายุ 21 วัน SD (n=4)

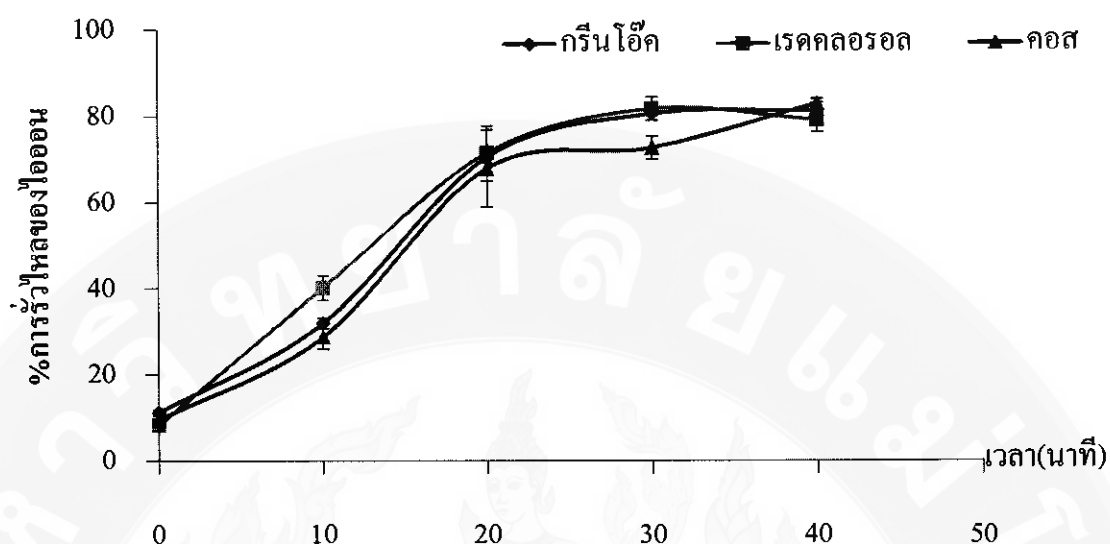
การทดลองหาช่วงเวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการบ่มแผ่นใบ

จากนั้นทำการทดลองหาอุณหภูมิและช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการบ่มในสภาพอุณหภูมิสูง เริ่มต้นโดยบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (ภาพ 3) พบว่า ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เปอร์เซ็นต์การรื้อไหลของไออนมีค่าน้อยมาก อีกทั้งไม่พบความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์การ

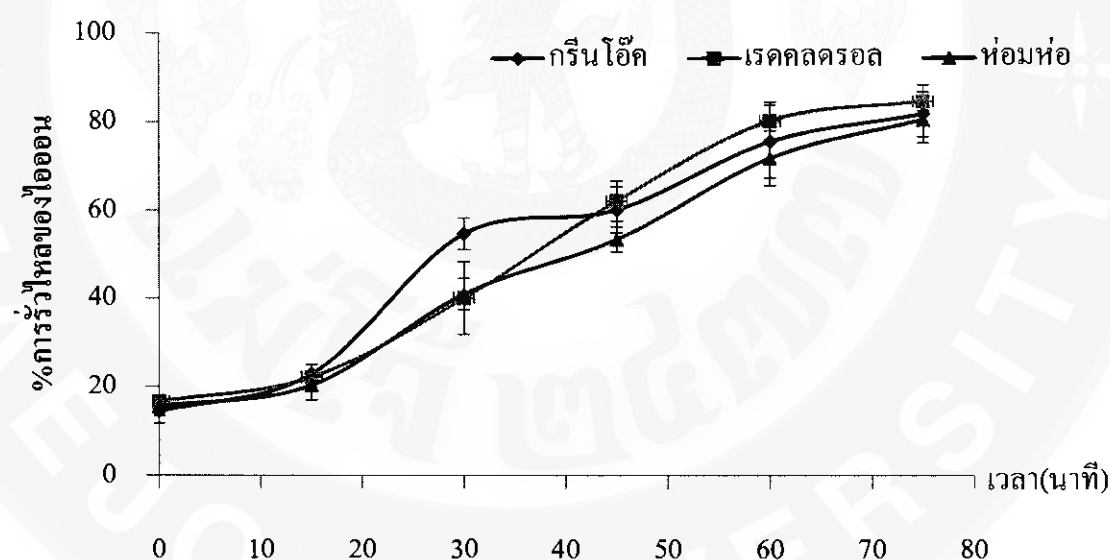
รั่วไหลของไอออน ในแต่ละสายพันธุ์ จนกระทั่งเวลา 40 นาที ซึ่งมีค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนไม่ถึง 10% จึงทำการทดลองอีกครั้งโดยเพิ่มอุณหภูมิเป็น 50 องศาเซลเซียส (ภาพ 4) จากการทดลองพบว่า เปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยที่ 20 นาที เปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออน สูงเกิน 50% และไม่พบความต่างของเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออน ในแต่ละช่วงเวลาของแต่ละสายพันธุ์ จึงอาจเป็นไปได้ว่าอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่สูงเกินไป จึงทดลองอีกครั้งและลดอุณหภูมิลงที่ 45 องศาเซลเซียส (ภาพ 5) จากการทดลองพบว่า เปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนค่อยๆเพิ่มระดับขึ้นตามระยะเวลาที่บ่ม โดยพบว่าที่เวลา 30 นาที มีความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออน ในแต่ละสายพันธุ์ และมีค่าอยู่ที่ประมาณ 40-50% ด้วยเหตุนี้การทดลองในขั้นต่อไปทั้งหมดจึงได้ใช้อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ในการบ่มเนื้อเยื่อของผักกาดหอม



ภาพ 3 แสดงการรั่วไหลของไอออนต่อช่วงเวลาในการบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ของต้นกล้าอายุ 21 วัน SD (n=4)



ภาพ 4 แสดงเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนต่อช่วงเวลาในการบ่มที่ 50 องศาเซลเซียส ของต้นกล้าอายุ 21 วัน SD (n=4)

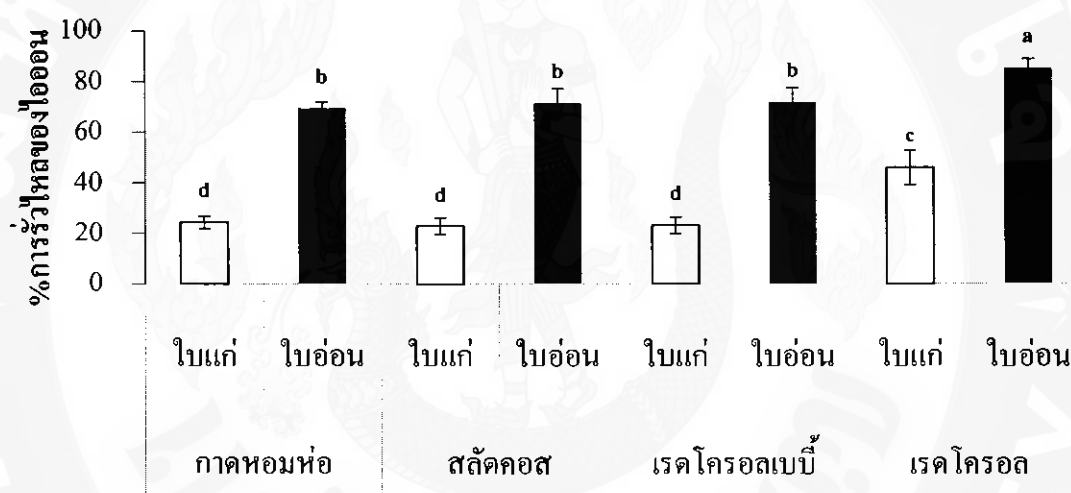


ภาพ 5 แสดงเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออน ที่มีผลต่อช่วงเวลาในการบ่มที่ 45 องศาเซลเซียส ของต้นกล้าอายุ 21 วัน SD (n=4)

การศึกษาอิทธิพลของอายุใบต่อเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนในสภาพอุณหภูมิสูง

เพื่อศึกษาว่าอายุใบมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนหรือไม่ จึงทำการทดลองวัดค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออน ในสภาพอุณหภูมิสูงโดยใช้ใบที่มีอายุแตกต่างกัน

โดยใช้ใบอ่อนที่นับจากใบส่วนยอดลงมา 3 ใบและใบแก่ที่นับจากใบส่วนล่างขึ้นมา 3 ใบ จากการทดลอง พบว่าใบที่มีอายุต่างกันมีเปอร์เซ็นต์การร่วงไหลของไอออนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ภาพ 6) ผลการวิเคราะห์ ANOVA แสดงให้เห็นว่า นอกจากระดับใบจะมีค่าเปอร์เซ็นต์การร่วงไหลของไอออนแตกต่างกันแล้ว ค่าเปอร์เซ็นต์การร่วงไหลของไอออนของผักกาดหอมแต่ละสายพันธุ์ก็มีความแตกต่างกันทางสถิติด้วยเช่นกัน (ตาราง 1) ทั้งนี้พบว่าเปอร์เซ็นต์การร่วงไหลของไอออนระหว่างอายุใบและสายพันธุ์ไม่มีปฏิสัมพันธ์กัน ด้วยเหตุนี้จึงสามารถเลือกใช้ใบอ่อนหรือใบแก่ก็ได้ แต่ต้องเป็นใบที่มีอายุระดับเดียวกัน ในการทดลองต่อไปจึงเลือกใช้ใบแก่ในการทดลอง เนื่องจากมีปริมาณเนื้อเยื่อใบสำหรับการทดลองมากกว่าใบอ่อน



ภาพ 6 แสดงเปอร์เซ็นต์การร่วงไหลของไอออนที่มีผลต่อระดับใบในผักกาดหอม (n=5)

ตาราง 1 แสดงการวิเคราะห์ ANOVA ของระดับใบอ่อนและใบแก่ในผักกาดหอม

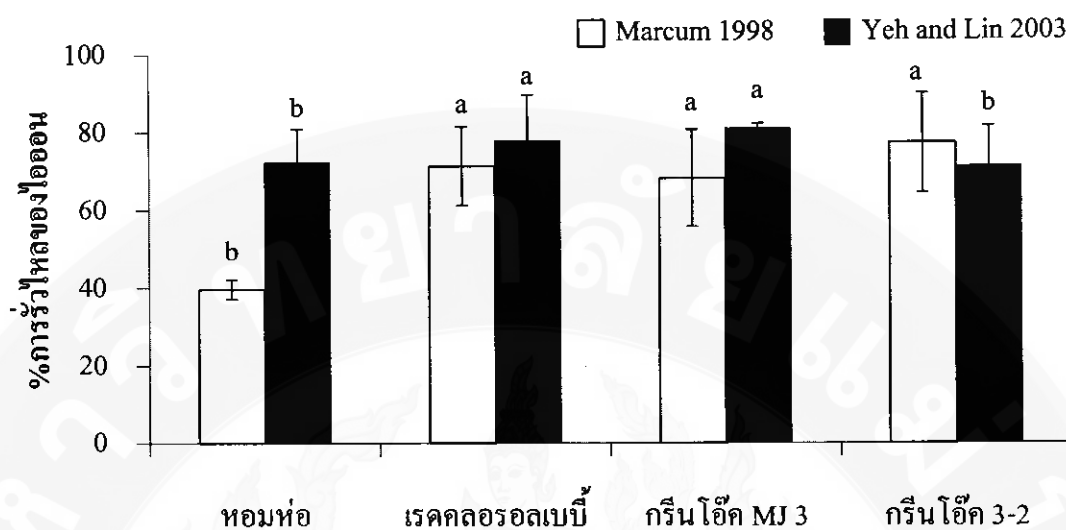
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Cultivars	2529.641	3	843.2138	41.25914	<0.01	2.90112
Age of leaves	20577.47	1	20577.47	1006.872	<0.01	4.149097
Interaction	161.1249	3	53.70832	2.627992	0.067138	2.90112
Within	653.9846	32	20.43702			
Total	23922.22	39				

การทดลองเปรียบเทียบวิธีการวัดความเสถียรของเชื้อหุ้มเซลล์ในสภาพอุณหภูมิสูง 3 วิธี

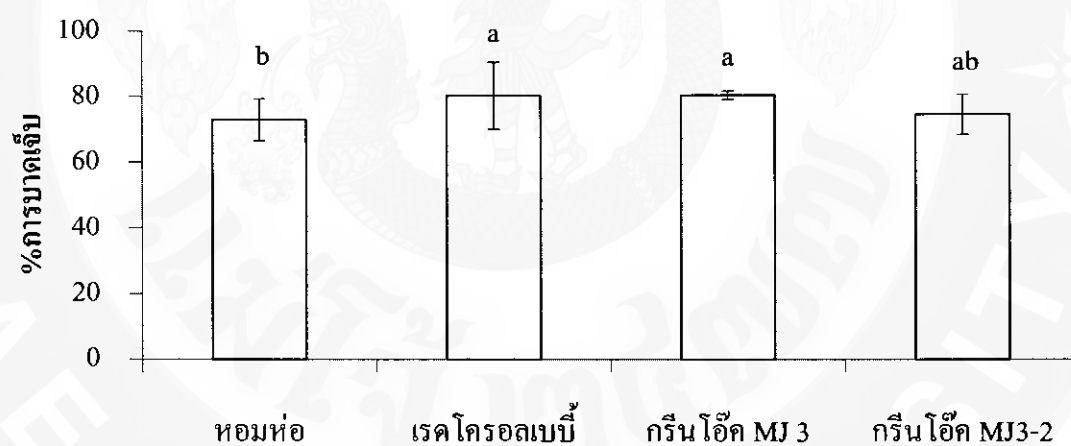
ในการประเมินค่าความเสถียรของเชื้อหุ้มเซลล์โดยการวัดค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนนั้นมียุทธวิธีวัดอยู่หลายรูปแบบซึ่งแต่ละวิธีนั้นมีความแตกต่างกันเล็กน้อย โดยวิธีการของ Marcum (1998) ใช้การบ่มตัวอย่างใบในอ่างน้ำร้อนแล้ววัดเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออน ส่วนวิธีการของ Yeh and Lin (2003) ใช้การย้ายพืชทั้งต้นเข้าไปปลูกในสภาพอุณหภูมิสูง 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลาหนึ่งคืนก่อนนำตัวอย่างใบมาวัดเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออน และวิธีการของ Sullivan (1972) ใช้ทั้งการย้ายต้นพืชเข้าไปปลูกในสภาพอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และการนำตัวอย่างใบที่ได้มาบ่มในอ่างน้ำร้อน อีกทั้งมีการเพิ่มค่าการรั่วไหลของไอออนจากตัวควบคุมเข้ามาเป็นตัวแปรในการคำนวณ (ตามสมการที่ 3.5 และ 3.6) แล้วเรียกค่าที่ได้จากการคำนวณว่า “เปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บ” ดังนั้นจึงทำการทดลองเปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนจากวิธีการวัด 3 วิธีซึ่งถูกใช้อย่างแพร่หลายมากที่สุด

จากการทดลอง ในวิธีของ Marcum (1998) ดังภาพ 7 พบว่าผักกาดหอมห่อมีค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออน ต่ำที่สุด และมีความแตกต่างกับเรดโครอลเบบี้ กรีนโอ๊ค MJ3 และกรีนโอ๊ค MJ3-2 อย่างมีนัยสำคัญ วิธีการที่ 2 เป็นของ Yeh and Lin (2003) ดังภาพ 7 พบว่าหอมห่อและกรีนโอ๊ค MJ 3-2 มีค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนต่ำสุดและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับเรดโครอลเบบี้และกรีนโอ๊ค MJ3-2 ส่วนวิธีการที่ 3 ของ Sullivan (1972) ดังภาพ 8 พบว่า ผักกาดหอมห่อมีค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนต่ำสุด และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับเรดโครอลเบบี้และกรีนโอ๊ค MJ3

จากการทดลองทั้ง 3 วิธี พบว่าค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนทั้ง 3 วิธี มีความแตกต่างกัน จากการวิเคราะห์ ANOVA (ตาราง 2) พบว่าค่าความเสถียรของเชื้อหุ้มเซลล์จากการวัดโดยวิธีการทั้งสามมีความแตกต่างกันทางสถิติ และยังพบว่าวิธีการวัดค่าความเสถียรของเชื้อหุ้มเซลล์และสายพันธุ์มีปฏิสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามในการทดลองขั้นต่อไป ได้เลือกใช้วิธีของ Marcum (1998) ในการหาเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนเพื่อเป็นดัชนีชี้วัดการทนร้อนในผักกาดหอม เนื่องจาก วิธีการของ Marcum (1998) เป็นวิธีที่ง่าย ใช้อุปกรณ์น้อย และเหมาะสำหรับการใช้คัดเลือกสายพันธุ์ทนร้อนในประชากรขนาดใหญ่มากกว่า วิธีการของ Yin and Lin (2003) ซึ่งจำเป็นต้องมีห้องควบคุมอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และวิธีการของ Sullivan (1972) ซึ่งจำเป็นต้องมีตัวอย่างอีกชุดหนึ่งเป็นตัวควบคุมด้วย



ภาพ 7 แสดงเปอร์เซ็นต์การร่วไหลของไขมันโดยใช้วิธีของ Marcum (1998) และ Yeh and Lin (2003) SD (n=4) นัยสำคัญ P = 0.05



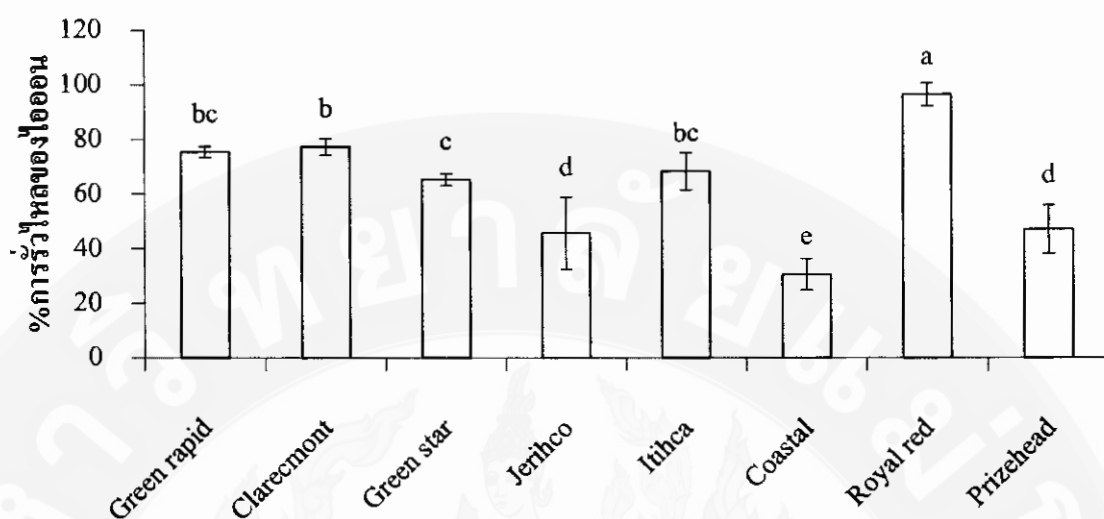
ภาพ 8 แสดงเปอร์เซ็นต์การบดเจ็บวิธีของ Sullivan (1972) SD(n=4) นัยสำคัญ P = 0.05

ตาราง 2 แสดงการวิเคราะห์ ANOVA ของวิธีการทั้ง 3 วิธี

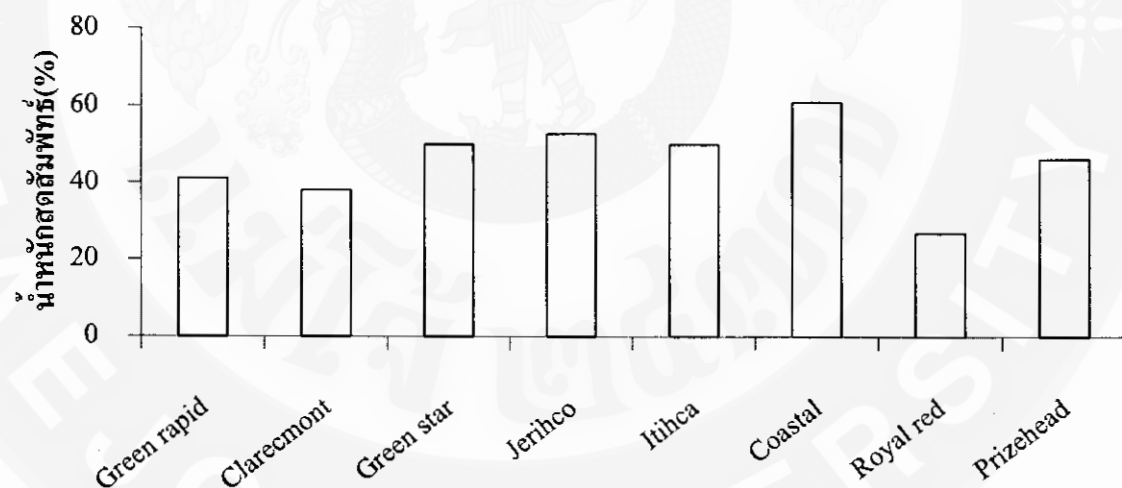
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Method	1999.467	2	999.7337	16.16869	<0.01	3.259446
Cultivars	1775.718	3	591.9059	9.572894	<0.01	2.866266
Interaction	1898.977	6	316.4962	5.118693	<0.01	2.363751
Within	2225.932	36	61.83145			
Total	7900.094	47				

การประเมินความเสถียรของเยื่อหุ้มเซลล์ในผักกาดหอมแต่ละสายพันธุ์และความสัมพันธ์กับน้ำหนักของผักกาดหอมที่อยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูง

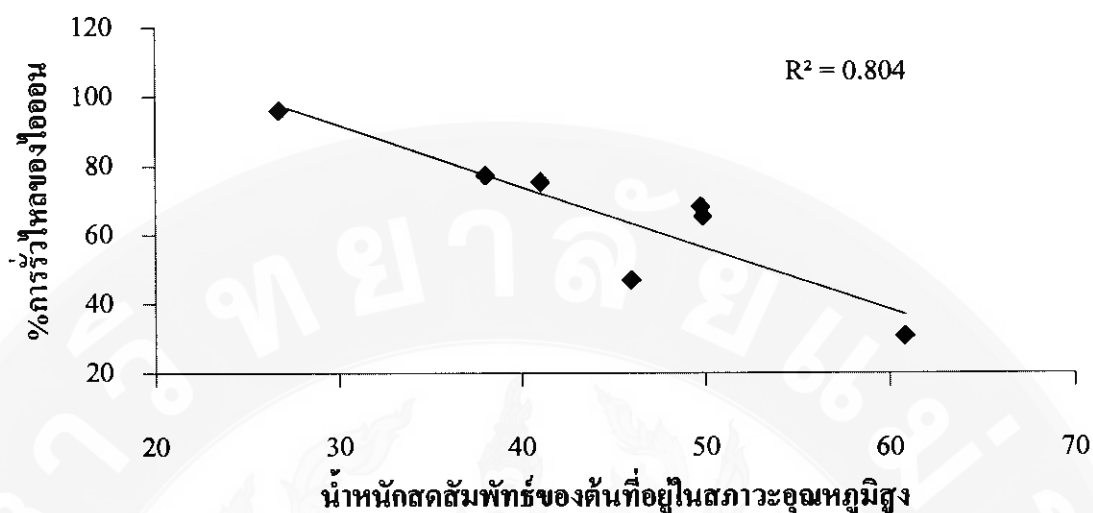
การประเมินความเสถียรของเยื่อหุ้มเซลล์โดยการวัด เปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนในผักกาดหอมแต่ละสายพันธุ์โดยใช้วิธีการของ Marcum (1998) ซึ่งเป็นการใช้ค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนมาเป็นตัวชี้วัดความเสถียรของเยื่อหุ้มเซลล์โดยตรง ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนในแต่ละสายพันธุ์ มีความแตกต่างกัน (ภาพ 9) โดยพบว่า Royal red มีเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนสูงที่สุดและ Coastal มีเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนต่ำสุด และเมื่อนำมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์กับน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของต้นที่อยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูง (ภาพ 10) พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจหรือ $R^2 = 0.817$ (ภาพ 11)



ภาพ 9 แสดงเปอร์เซ็นต์การร่วไหลของไอออนในผักกาดหอม อายุ 22 วัน บ่มที่ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที SD (n=4)

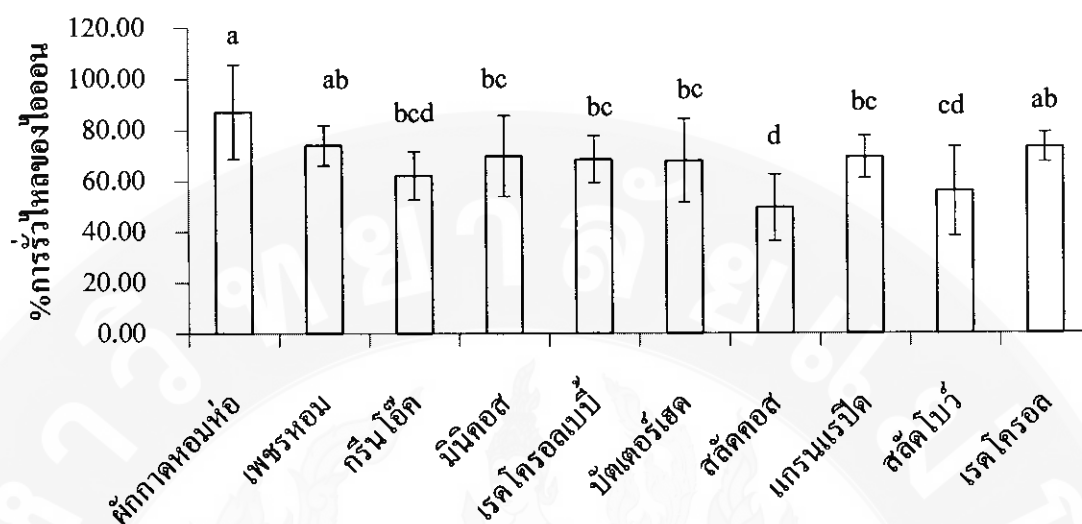


ภาพ 10 แสดงน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของต้นที่อยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูง อายุ 28 วัน (n=4)

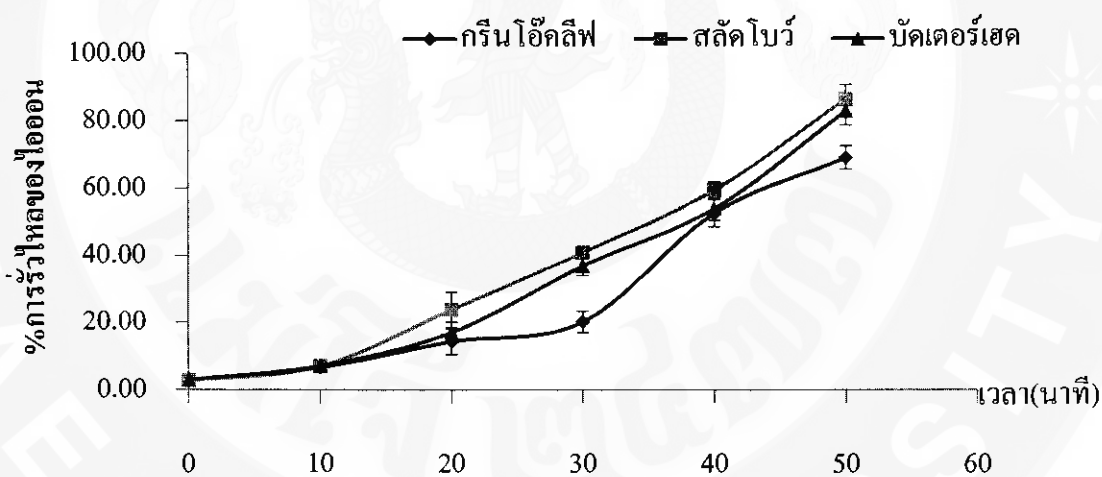


ภาพ 11 แสดงความสัมพันธ์ของเปอร์เซ็นต์การร่วไหลของไออนและน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของคันทันที่อยู่ในสถานะอุณหภูมิสูง

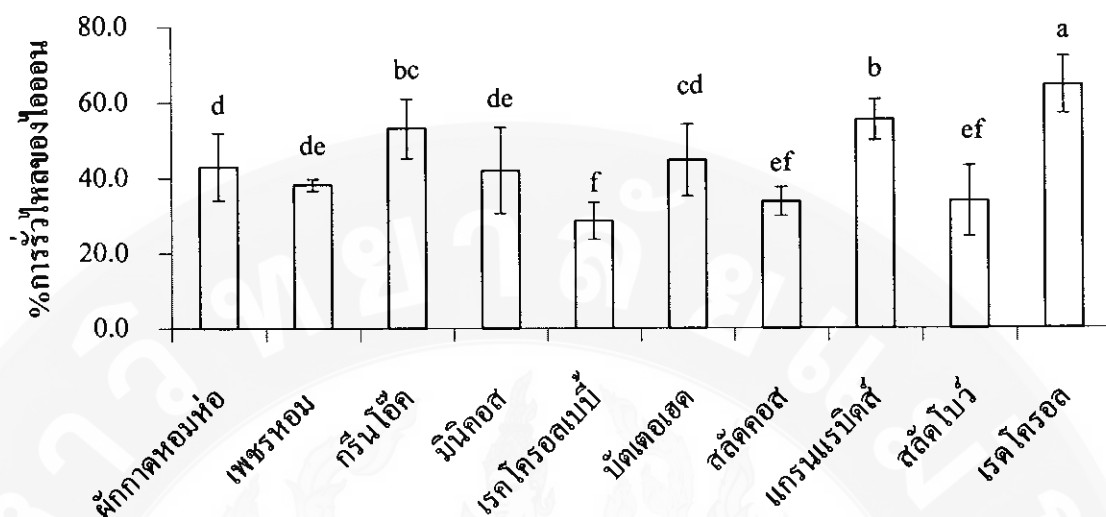
การวัดเปอร์เซ็นต์การร่วไหลของไออนของผักกาดหอมที่มีอายุแตกต่างกันสามช่วงอายุคืออายุ 24 34 และ 44 วัน จากการทดลองพบว่า ที่อายุ 24 วัน ผักกาดหอมห่อมีค่าเปอร์เซ็นต์การร่วไหลของไออนสูงที่สุด และสลัดคอสมิเปอร์เซ็นต์การร่วไหลของไออนต่ำที่สุด (ภาพ 12) ในผักกาดหอมอายุ 34 และ 44 วัน เนื่องจากผักกาดหอมมีอายุที่มากขึ้น การเจริญเติบโตมากขึ้น จึงได้ทำการหาช่วงเวลาที่เหมาะสมของผักกาดหอมที่อายุมากขึ้นอีกครั้ง (ภาพ 13) พบว่าในผักกาดหอมอายุ 38 วันที่อุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส มีความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์การร่วไหลของไออนที่เวลา 30 นาที ดังนั้นจึงใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เป็นตัวแทนในการวัดเปอร์เซ็นต์การร่วไหลของไออนโดยในผักกาดหอมอายุ 34 และ 44 วัน พบว่าผักกาดหอมอายุ 34 วัน (ภาพ 14) ผักกาดหอมพันธุ์เรดโครอลมีค่าเปอร์เซ็นต์การร่วไหลของไออนสูงที่สุดและเรดโครอลเบบี้มีค่าต่ำสุด และในผักกาดหอมอายุ 44 วัน (ภาพ 15) พบว่าผักกาดหอมพันธุ์แกรนด์เรปิดมีเปอร์เซ็นต์การร่วไหลของไออนสูงที่สุด และผักกาดหอมห่อมีเปอร์เซ็นต์การร่วไหลของไออนต่ำสุด นอกจากนี้ได้ทำการวิเคราะห์ ANOVA (ตาราง 3) โดยพบว่าอายุและสายพันธุ์ของผักกาดหอมมีปฏิสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นว่าค่าเปอร์เซ็นต์การร่วไหลของไออนของผักกาดหอมแต่ละสายพันธุ์นั้นมีการเปลี่ยนแปลงไปตามช่วงอายุ



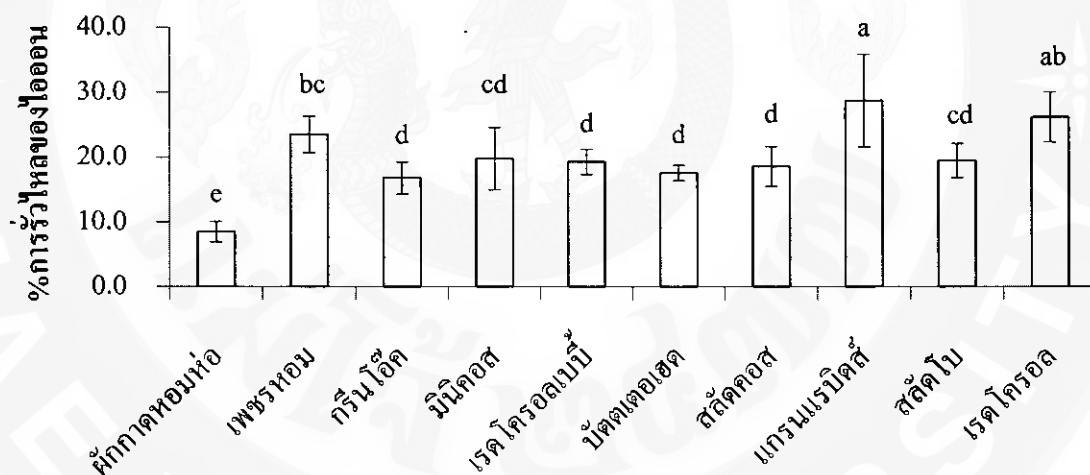
ภาพ 12 แสดงเปอร์เซ็นต์การร่วไหลของไอออนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ที่ ผักกาดหอม อายุ 24 วัน SD (n=5)



ภาพ 13 แสดงเปอร์เซ็นต์การร่วไหลของไอออนต่อเวลาในการบ่มอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ที่ ผักกาดหอม อายุ 38 วัน SD (n=5)



ภาพ 14 แสดงเปอร์เซ็นต์การร่วไหลของไอออนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ที่ผักกาดหอม อายุ 34 วัน SD (n=5)



ภาพ 15 แสดงเปอร์เซ็นต์การร่วไหลของไอออนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ที่ผักกาดหอม อายุ 44 วัน SD (n=5)

ตาราง 3 แสดงการวิเคราะห์ ANOVA ของอายุและสายพันธุ์ผักกาดหอม

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Age of lettuce	59476.38	2	29738.19	414.1298	< 0.01	3.071779
Cultivars	5365.202	9	596.1336	8.301671	< 0.01	1.958763
Interaction	6395.774	18	355.3208	4.948146	< 0.01	1.690432
Within	8617.064	120	71.80886			
Total	79854.42	149				

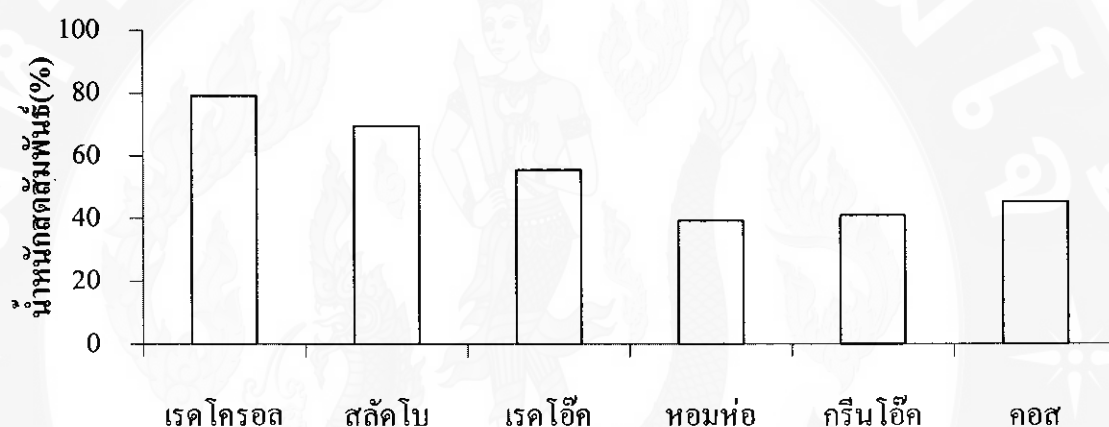
การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอนโทไซยานิน และความสามารถในการทนร้อน

การทดลองครั้งที่ 1

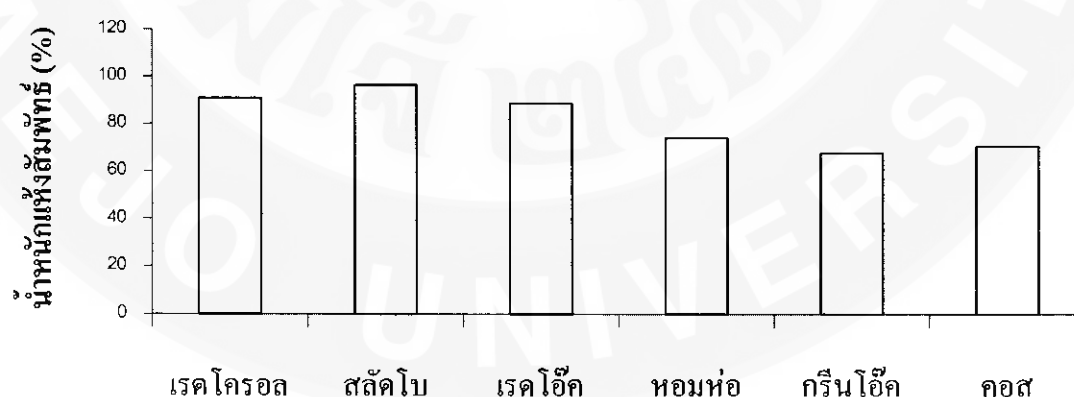
จากการทดลองครั้งที่ 1 ซึ่งต้นผักกาดหอมอายุ 21 วันถูกย้ายปลูกในห้องสภาวะอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน พบว่า ผักกาดหอมพันธุ์เรดโครอล มีค่าน้ำหนักสดสัมพัทธ์ มากที่สุด รองลงมาคือสลัดโบและเรดโอ๊ค ในขณะที่หอมห่อมีน้ำหนักสดสัมพัทธ์น้อยที่สุด (ภาพ 16) ส่วนน้ำหนักแห้งสัมพัทธ์ (ภาพ 17) พบว่า สลัดโบให้ค่าน้ำหนักสูงที่สุดรองลงมาคือ เรดโครอลและเรดโอ๊ค กรีนโอ๊คให้ค่าน้ำหนักแห้งสัมพัทธ์น้อยที่สุด ในส่วนของปริมาณแอนโทไซยานินและคลอโรฟิลล์พบว่า สลัดโบ เรดโครอลและเรดโอ๊ค ที่มีสีแดง มีปริมาณแอนโทไซยานินมากกว่า หอมห่อ กรีนโอ๊คและสลัดคอส ที่มีสีเขียว อย่างมีนัยสำคัญ (ภาพ 18) นอกจากนี้ยังพบว่า สลัดโบมีปริมาณคลอโรฟิลล์สูงที่สุด รองลงมาเป็นกรีนโอ๊ค สลัดคอส และหอมห่อ ที่มีปริมาณคลอโรฟิลล์น้อยที่สุดคือ เรดโครอลและเรดโอ๊ค (ภาพ 19)

จากการวัดค่าประสิทธิภาพในการทำงานของระบบแสงที่สอง (oPSII) ดังภาพ 20 เพื่อประเมินประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่สอง หรือ PSII ในสภาวะที่มีแสง พบว่า สลัดโบที่อยู่ในห้องควบคุมอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสมีค่า oPSII สูงที่สุดรองลงมาคือ เรดโครอล กรีนโอ๊ค หอมห่อ คอส และเรดโอ๊ค ตามลำดับและค่า oPSII สัมพัทธ์ มีค่าไปในทิศทางเดียวกันกับค่า oPSII ของห้องควบคุมอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ส่วนค่าประสิทธิภาพสูงสุดในการทำงานของระบบแสงที่สอง (Fv/Fm) (ภาพ 21) พบว่า พันธุ์เรดโครอลและสลัด โบมีค่าสูงที่สุด รองลงมาคือ

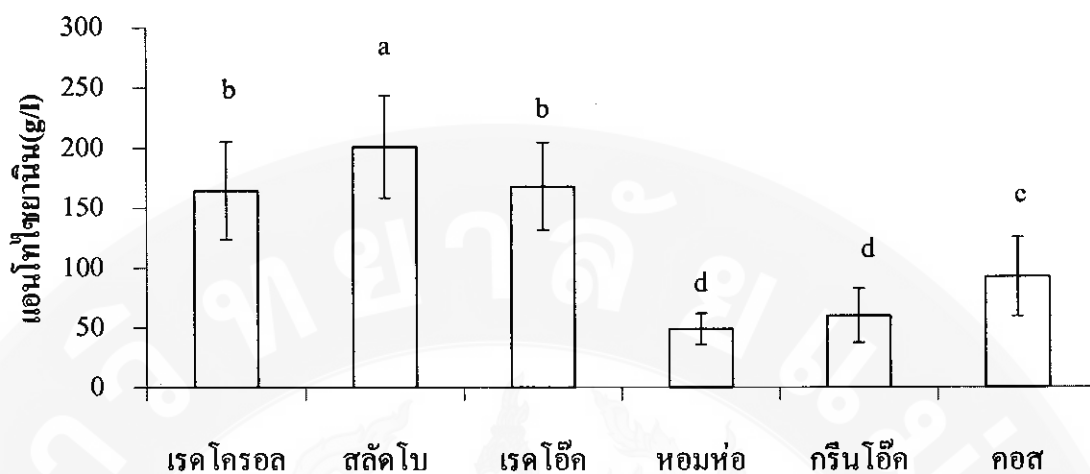
สัลคอส หอมห่อ เรดโอ๊คและกรีนโอ๊ค ตามลำดับและค่า F_v/F_m สัมพัทธ์มีค่าไปในทิศทางเดียวกันกับค่า F_v/F_m ของห้องควบคุมอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ในการวัดค่า Non-photochemical quenching (NPQ) ดังภาพ 22 เพื่อประเมินพลังงานที่สูญเสียไปในรูปของความร้อนพบว่าในห้องควบคุมอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสมีค่า NPQ มากกว่าในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และพบว่า สลัดโบมีค่าสูงที่สุดรองลงมาเป็นหอมห่อ กรีนโอ๊ค คอส เรดโครอล และเรดโอ๊คตามลำดับ และค่า NPQ สัมพัทธ์พบว่า สลัดโบและสัลคอสมีค่าสูงที่สุดรองลงมาคือ เรดโอ๊ค หอมห่อ กรีนโอ๊คและเรดโครอล ตามลำดับ



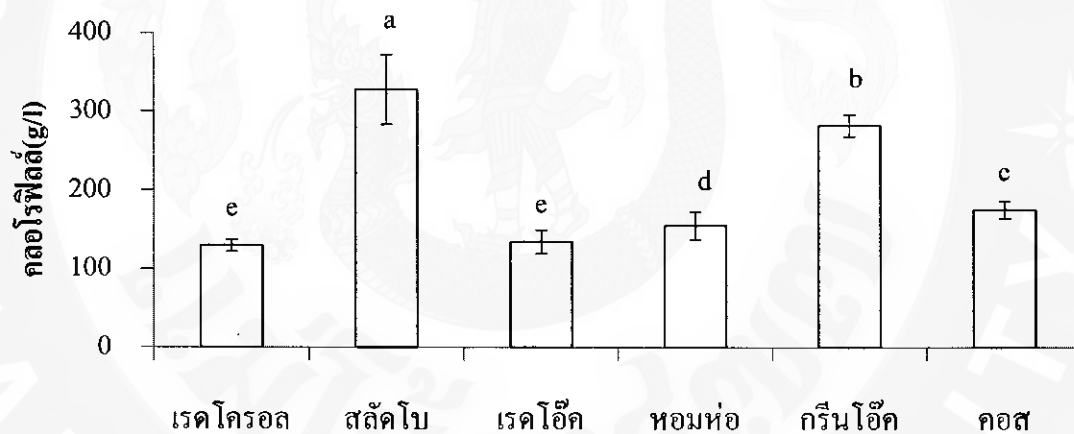
ภาพ 16 แสดงน้ำหนักรวมของสารละลายของต้นที่อยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูง อายุ 28 วัน (n=6) ชุดที่ 1



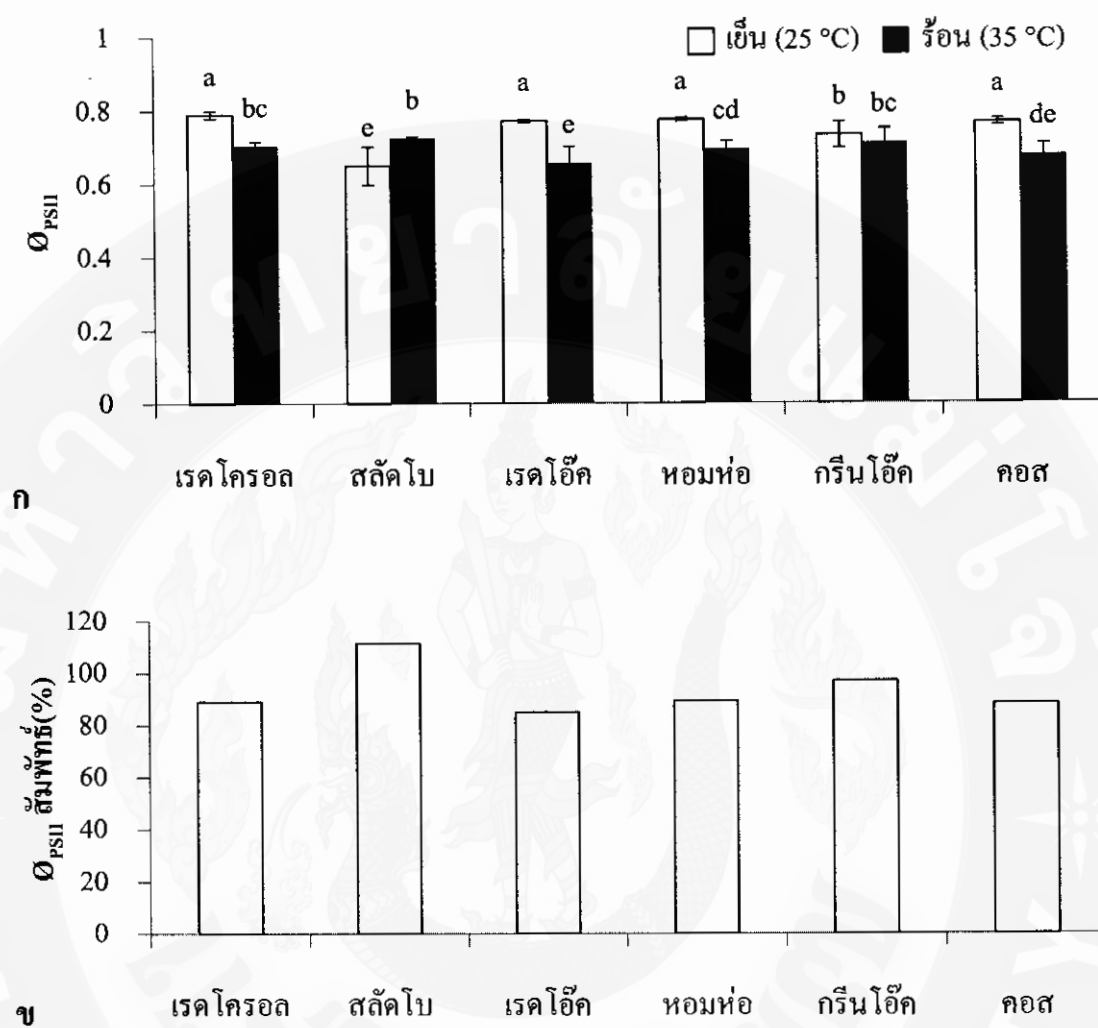
ภาพ 17 แสดงน้ำหนักรวมของสารละลายของต้นที่อยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูง อายุ 28 วัน (n=6) ชุดที่ 1



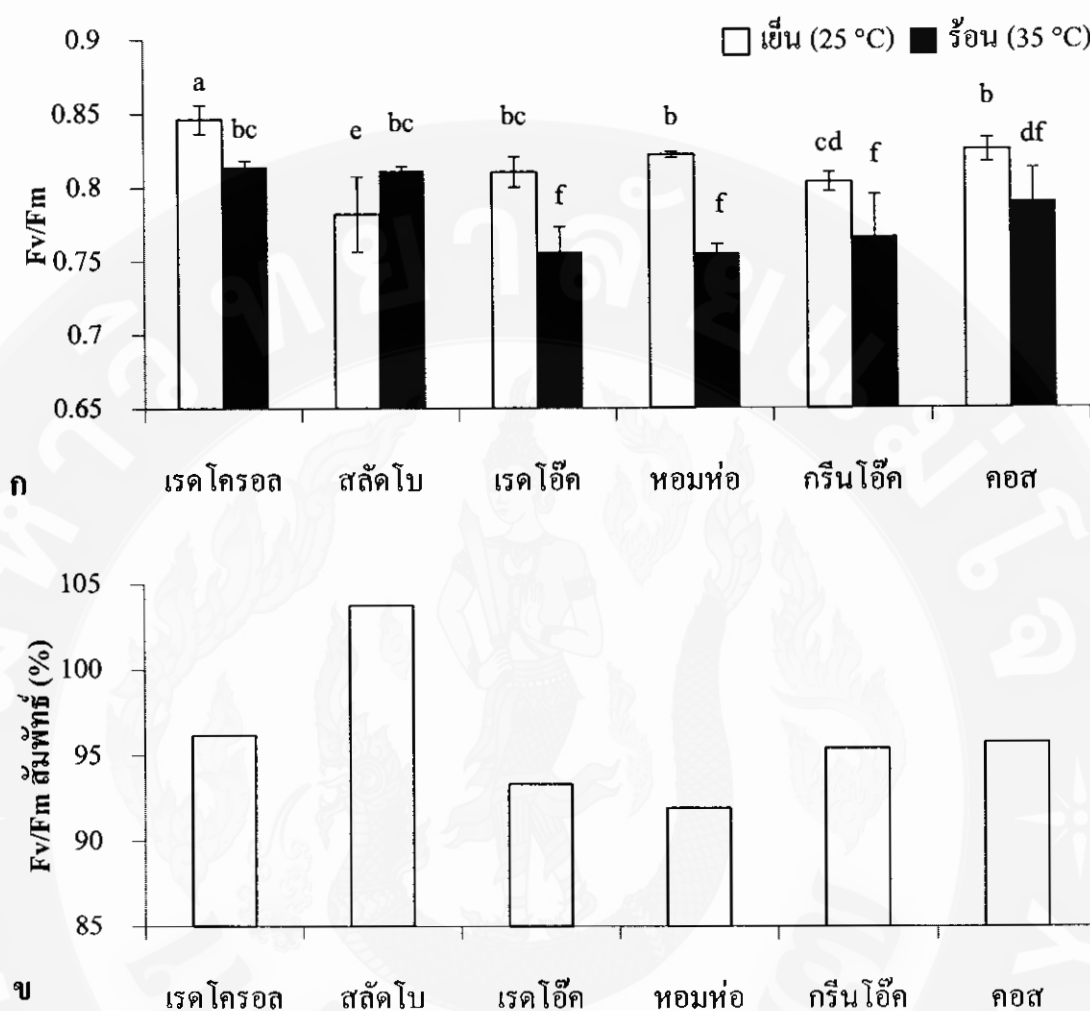
ภาพ 18 แสดงค่าปริมาณของแอนโทไซยานินในผักกาดหอมอายุ 21 วัน SD (n=7) ชุดที่ 1



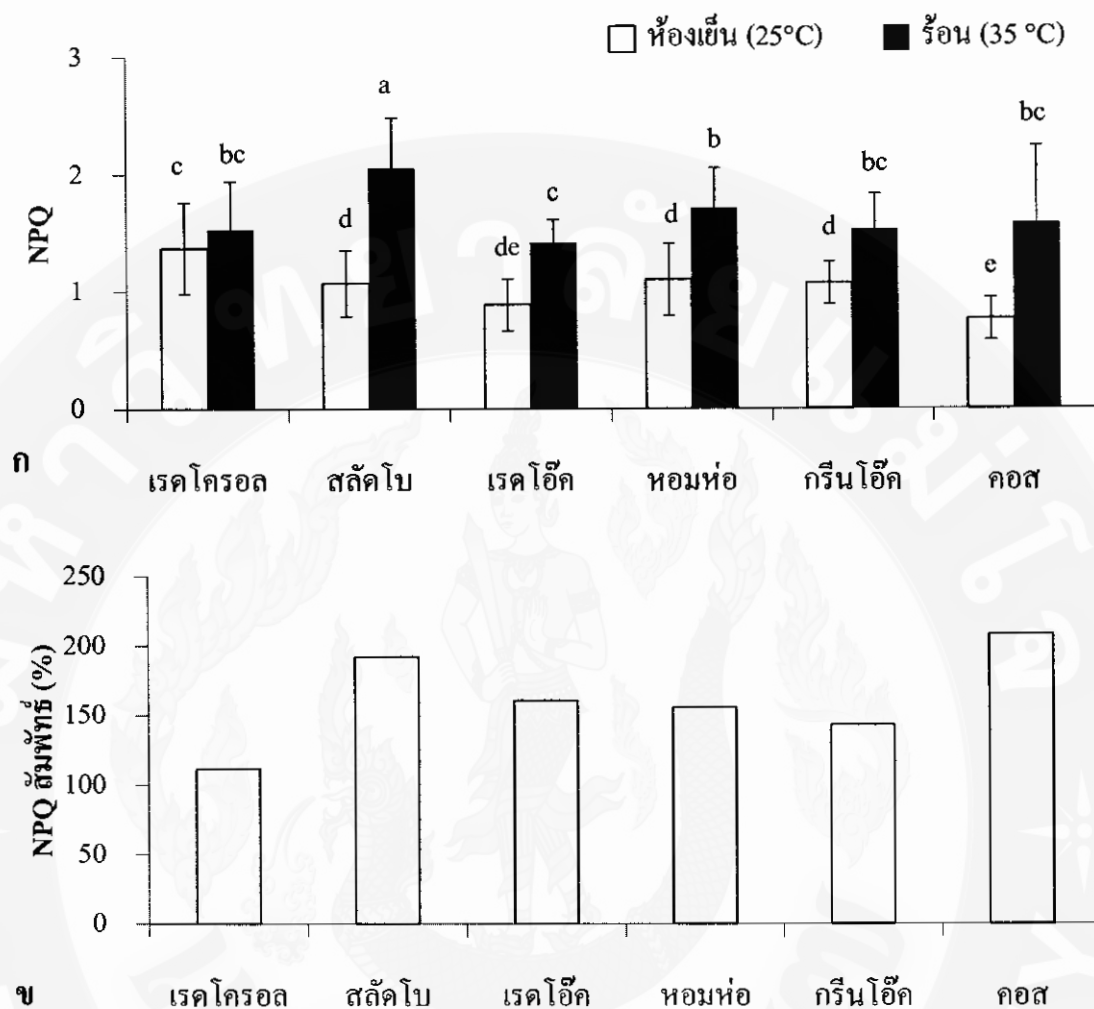
ภาพ 19 แสดงค่าปริมาณคลอโรฟิลล์ในผักกาดหอมอายุ 21 วัน SD (n=7) ชุดที่ 1



ภาพ 20 แสดงค่าประสิทธิภาพในการทำงานของระบบแสงที่ 2 (Φ_{PSII} หรือ Phi PSII) (ก) และ Φ_{PSII} สัมพัทธ์และ Φ_{PSII} สัมพัทธ์(ข) ในผักกาดหอมอายุ 28 วัน (n=4) ชุดที่ 1



ภาพ 21 แสดงค่าประสิทธิภาพสูงสุดในการทำงานของระบบแสงที่สอง (Quantum Efficiency of PSII หรือ Fv/Fm) (ก) และ Fv/Fm สัมพัทธ์ (ข) ในฝักรากหอมอายุ 28 วัน SD (n=4) ชุดที่ 1



ภาพ 22 แสดงค่า Non-photochemical quenching (NPQ) (ก) และค่า NPQ สัมพัทธ์ (ข) ในผักกาดหอมอายุ 28 วัน SD (n=4) ชุดที่ 1

การทดลองครั้งที่ 2

ในการทดลองครั้งที่ 2 พบว่าเรดโอ๊คและ Super red มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงที่สุดรองลงมาคือ Paris Sunfire หอมห่อ Great lakes Prizhead และ กรีนโอ๊ค ตามลำดับ (ภาพ 23) ส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์ (ภาพ 24) พบว่า Super red มีปริมาณสูงที่สุดรองลงมาคือ Paris เรดโอ๊ค Great lakes หอมห่อ Prizehead และกรีนโอ๊ค ตามลำดับ

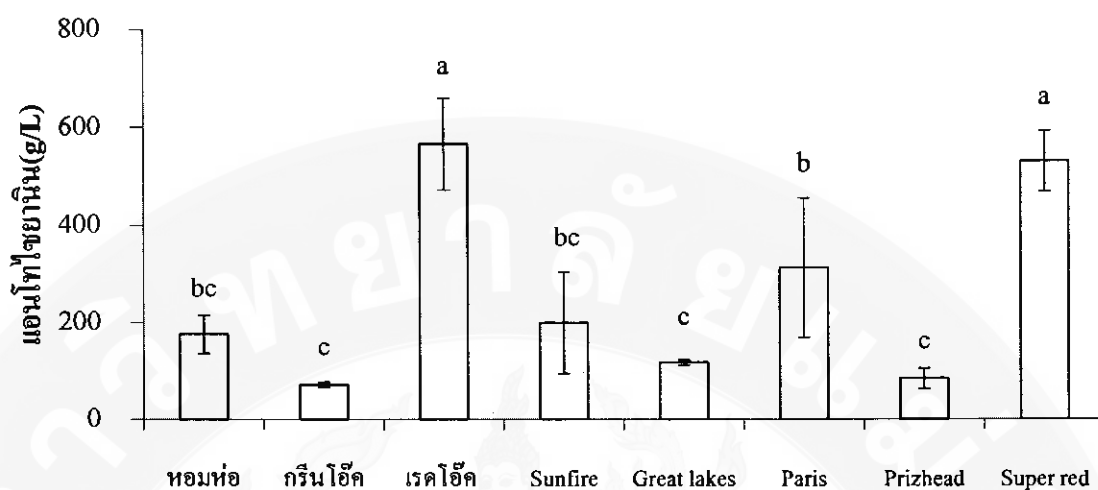
ในส่วนของค่าดัชนีที่เกี่ยวข้องกับการเรืองแสงของคลอโรฟิลล์ พบว่าเมื่อย้ายพืชเข้าห้องควบคุมอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ค่า Φ_{PSII} มีค่าลดลงทุกสายพันธุ์ โดยกรีนโอ๊คมีค่าลดลงมากที่สุดและ Sunfire มีค่าสูงที่สุด แต่เมื่อแสดงค่า Φ_{PSII} สัมพัทธ์ พบว่าค่าที่สูงที่สุดคือหอมห่อและ

กรีนโอ๊คมีค่าน้อยที่สุด (ภาพ 25) ส่วนค่า Fv/Fm (ภาพ 26) พบว่า เมื่อเข้าห้องควบคุมอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ค่า Fv/Fm มีค่าลดลงทุกสายพันธุ์ หอมห่อมีค่าน้อยที่สุดและ Sunfire มีค่าสูงที่สุด ส่วนค่า Fv/Fm สัมพัทธ์ พบว่ามีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันกับค่า Fv/Fm

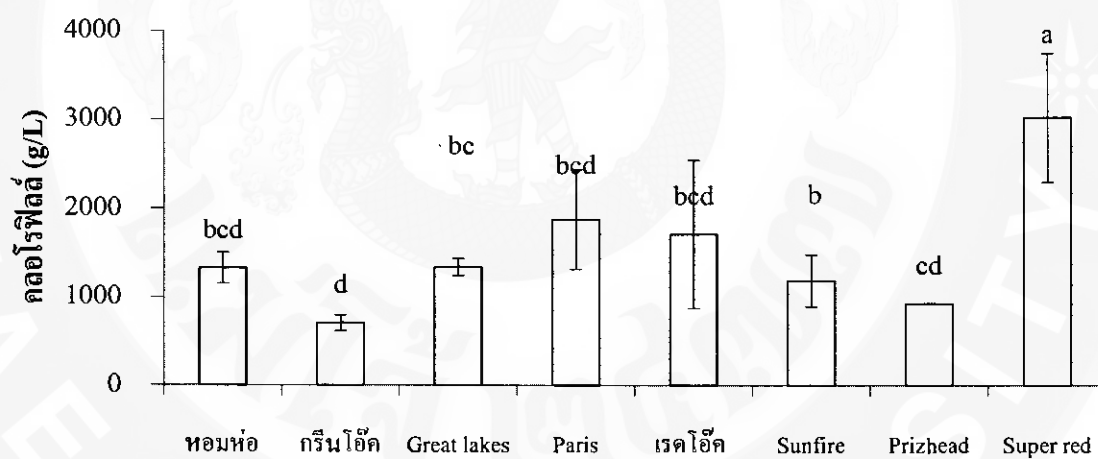
จากการวัดค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออน (ภาพ 27) เพื่อบ่งชี้ความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ พบว่า Sunfire หอมห่อและ Prizhead มีเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลสูงที่สุดและรองลงมาคือ กรีนโอ๊ค Great lakes Paris เรดโอ๊ค และ Super red ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ปริมาณ Malondialdehyde (MDA) (ภาพ 28) พบว่า ค่า MDA จากห้องควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส บางสายพันธุ์มีปริมาณมากกว่า ห้องควบคุมอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยพบว่าเรดโอ๊คในห้องควบคุมอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสมีปริมาณสูงที่สุด นอกจากนี้ในการประเมินปริมาณ Superoxide โดยการย้อมด้วย Nitroblue tetrazolium (NBT) พบว่าในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีปริมาณ NBT น้อยกว่าในห้องควบคุมอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสและ Red oak ปริมาณของ Superoxide สูงที่สุดส่วน Green oak ค่ำที่สุด (ภาพ 30)

ในการวัดปริมาณน้ำสัมพัทธ์(Relative Water Content : RWC) พบว่าผักกาดหอมที่ปลูกในห้องควบคุมอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส มีค่า RWC น้อยกว่าในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เมื่อแสดงค่า RWC สัมพัทธ์ พบว่า เรดโอ๊คมีค่าสูงที่สุด รองลงมาคือ หอมห่อ Sunfire Great lakes Paris Prizhead กรีนโอ๊ค และ Supper red ตามลำดับ (ภาพ 29)

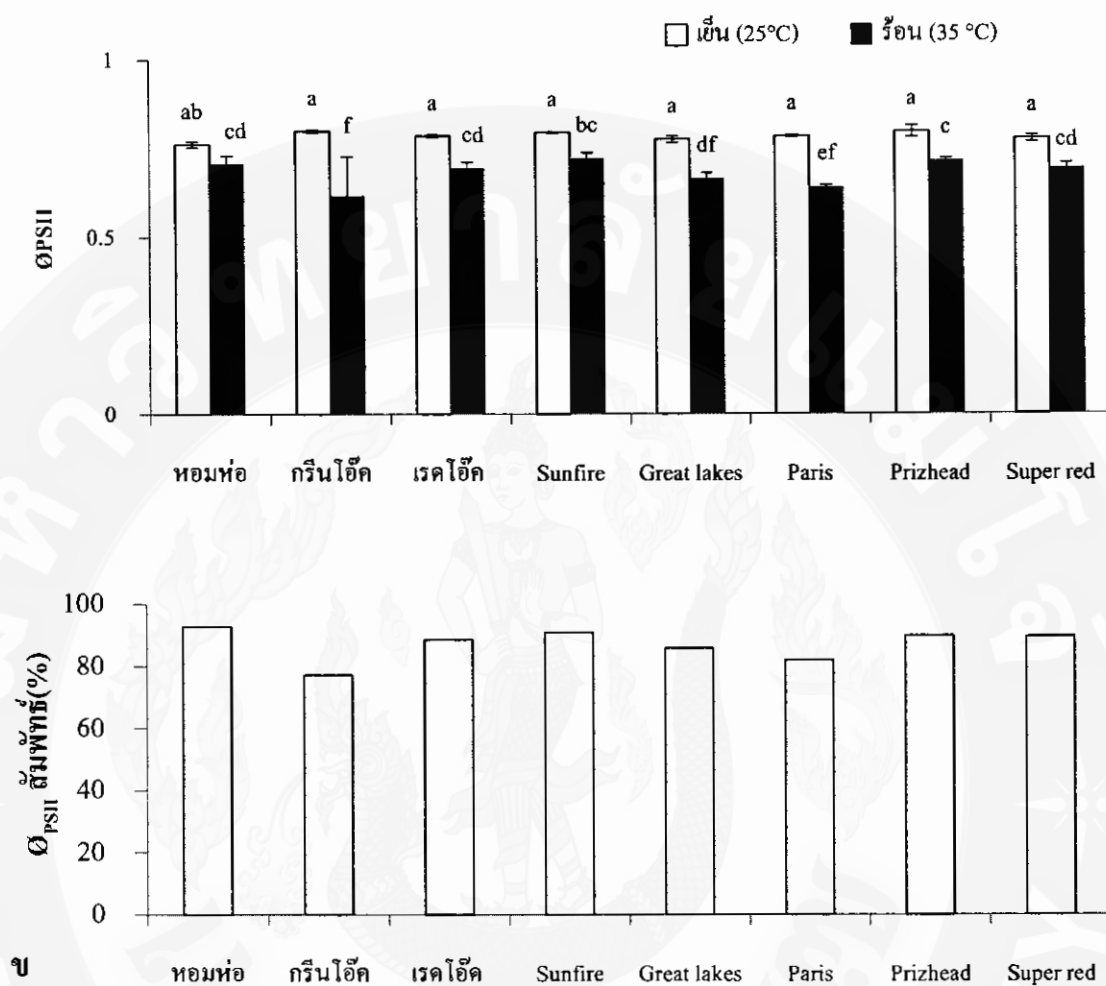
เมื่อทำการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างค่าดัชนีต่างๆในข้อมูลชุดที่ 1 (ตาราง 4) พบว่าปริมาณแอนโทไซยานินมีความสัมพันธ์กับน้ำหนัสดัชนีสัมพัทธ์ (0.877) น้ำหนักแห้งสัมพัทธ์ (0.946) Φ_{PSII} (0.127) Φ_{PSII} สัมพัทธ์ (0.352) Fv/Fm (0.611) Fv/Fm สัมพัทธ์ (0.642) NPQ (0.358) และ NPQ สัมพัทธ์ (0.043) และเมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างค่าดัชนีต่างๆในข้อมูลชุดที่ 2 (ตาราง 5) พบว่าปริมาณแอนโทไซยานินมีความสัมพันธ์กับค่า MDA (0.729) ค่า Φ_{PSII} (0.181) Φ_{PSII} สัมพัทธ์ (-0.452) Fv/Fm (0.116) Fv/Fm สัมพัทธ์ (0.728) EC (-0.588) RWC สัมพัทธ์(0.423) NPQ (-0.586) NPQ สัมพัทธ์ (0.273) (ตาราง 5)



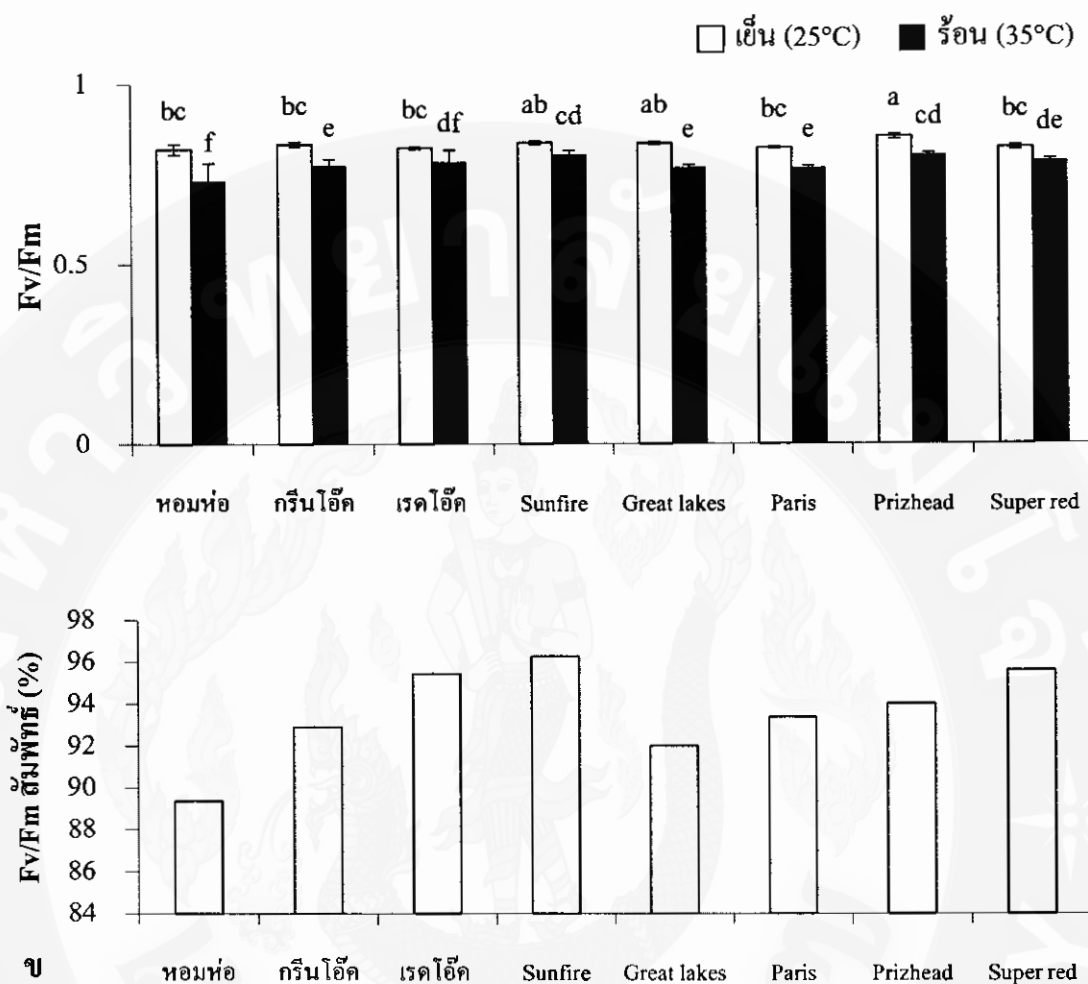
ภาพ 23 แสดงปริมาณของแอนโทไซยานินในผักกาดหอม (g/l) ชุดที่ 2 SD (n=4)



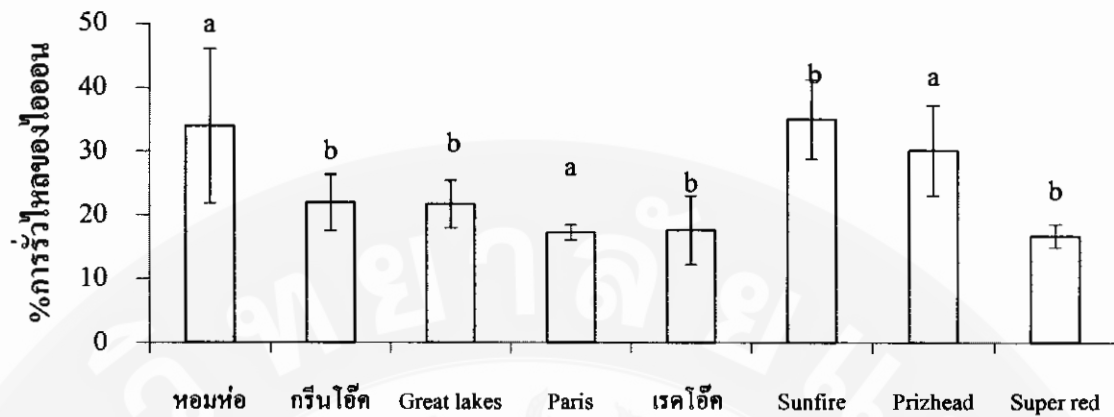
ภาพ 24 แสดงปริมาณคลอโรฟิลล์ ชุดที่ 2 SD (n=4)



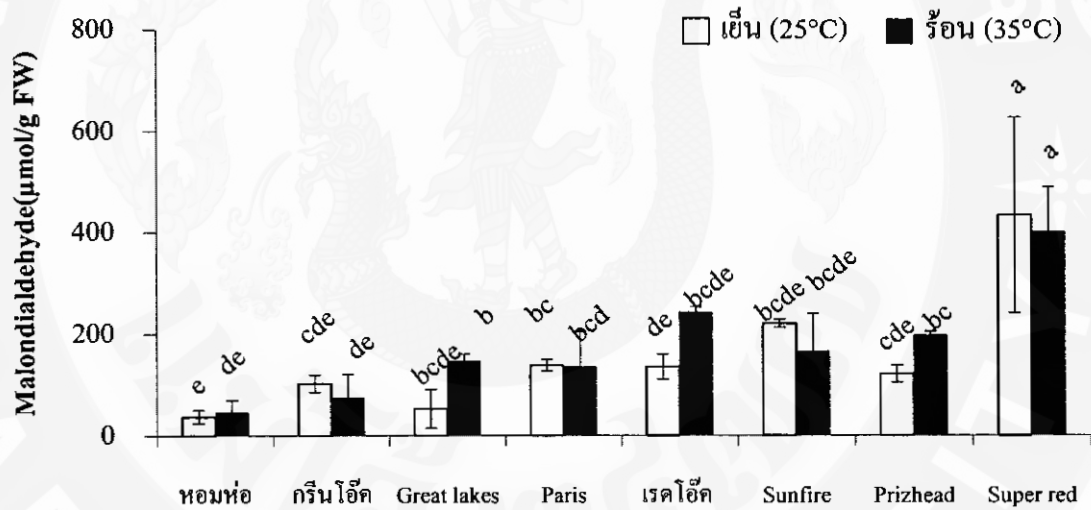
ภาพ 25 แสดงค่าประสิทธิภาพในการทำงานของระบบแสงที่ 2 (Φ_{PSII} หรือ Phi PSII) (ก) และ Φ_{PSII} สัมพัทธ์(ข) ของผักกาดหอมอายุ 28 วัน SD (n=4) ชุดที่ 2



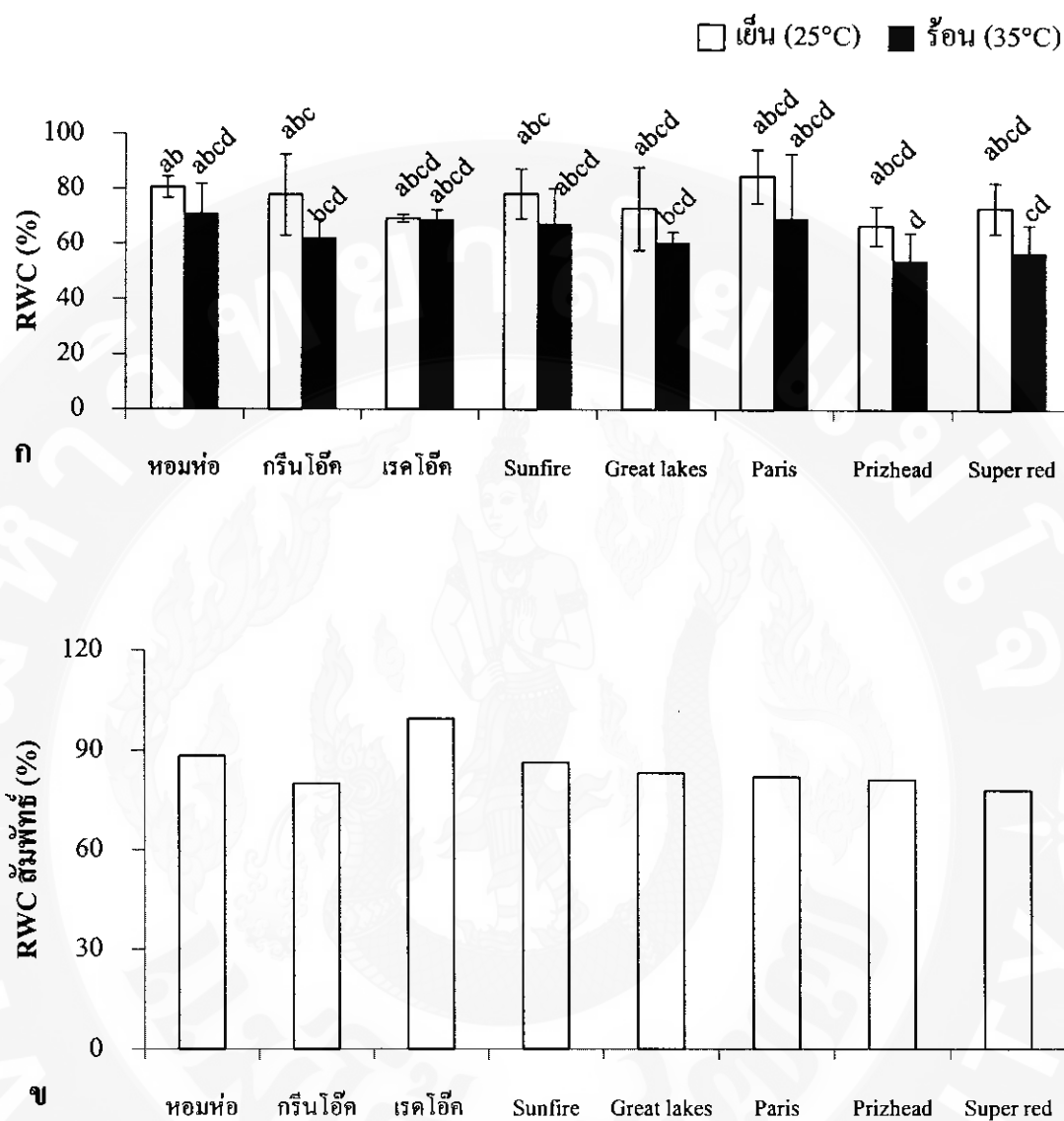
ภาพ 26 แสดงค่าประสิทธิภาพสูงสุดในการทำงานของระบบแสงที่สอง (Quantum Efficiency of PSII หรือ Fv/Fm) (ก) และ Fv/Fm สัมพัทธ์ (ข) ชุดที่ 2 SD (n=4)



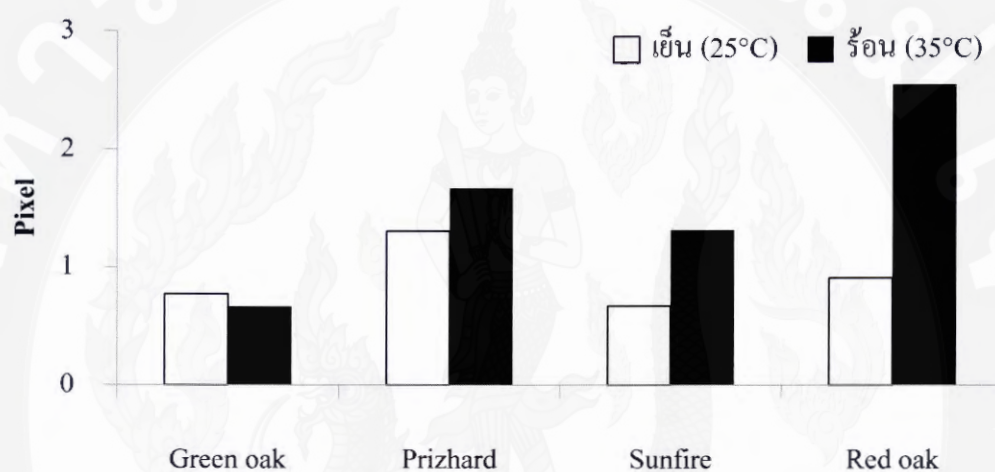
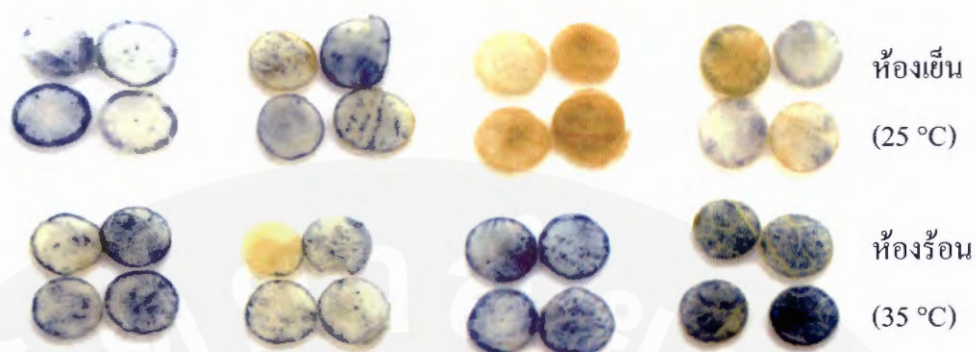
ภาพ 27 แสดงเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออน (Electrical conductivity (EC)) ชุดที่ 2 SD(n=4)



ภาพ 28 แสดงปริมาณ Malondialdehyde (MDA) ชุดที่ 2 SD (n=4)



ภาพ 29 แสดงปริมาณน้ำสัมพัทธ์ (relative water content (RWC)) (ก) และ RWC สัมพัทธ์ (ข)
ชุดที่ 2 SD (n=4)



ภาพ 30 แสดงปริมาณ Superoxide โดยการย้อม Nitroblue tetrazolium (NBT) ของผักกาดหอมอายุ 28 วัน แสดง Superoxide ที่ติดสีน้ำเงินในห้องเย็นและห้องร้อน (ก) และคำนวณโดยโปรแกรม ImageJ (National Institutes of Health USA) (ข)

ตาราง 4 แสดงค่าสหสัมพันธ์ (Correlation) ระหว่างดัชนีต่างๆของข้อมูลชุดที่ 1

	น้ำหนัสด สัมพัทธ์	น้ำหนักร้าง สัมพัทธ์	Chlorophyll Anthocyanin	total	Phi PSII Phi PSII	Phi PSII สัมพัทธ์	Fv/Fm Fv/Fm	Fv/Fm สัมพัทธ์	NPQ NPQ	NPQ สัมพัทธ์
น้ำหนัสด สัมพัทธ์	1									
น้ำหนักร้าง สัมพัทธ์	0.877258	1								
Anthocyanin	0.86624	0.945995	1							
Chlorophyll total	-0.00729	0.057463	0.117361	1						
Phi PSII	0.353967	0.224795	0.127763	0.711676	1					
Phi PSII สัมพัทธ์	0.275539	0.357817	0.352767	0.928903	0.817121	1				
Fv/Fm	0.803881	0.552107	0.611156	0.2602	0.567346	0.475686	1			
Fv/Fm สัมพัทธ์	0.567902	0.565647	0.642101	0.755691	0.676543	0.88975	0.762146	1		
NPQ	0.325338	0.519201	0.358554	0.656023	0.756365	0.855399	0.345206	0.689946033	1	
NPQ สัมพัทธ์	-0.30494	-0.10646	0.043516	0.352493	-0.17167	0.298201	0.02994	0.361503255	0.126379	1

ตาราง 5 แสดงค่าสหสัมพันธ์ (Correlation) ระหว่างดัชนีต่างๆของข้อมูลชุดที่ 2

	Chlorophyll Anthocyanin	total	MDA MDA	MDA สัมพัทธ์	Phi PSII Phi PSII	Phi PSII สัมพัทธ์	Fv/Fm Fv/Fm	Fv/Fm สัมพัทธ์	EC	RWC สัมพัทธ์
Anthocyanin	1									
Chlorophyll total	0.816158	1								
MDA	0.729419	0.79109	1							
MDA สัมพัทธ์	0.860448	0.910638	0.577332	1						
Phi PSII	0.181238	0.117374	0.30576	0.011804	1					
Phi PSII สัมพัทธ์	-0.45273	-0.40985	-0.76394	-0.256	-0.04526	1				
Fv/Fm	0.116826	-0.01675	0.522017	-0.23116	0.273332	-0.79875	1			
Fv/Fm สัมพัทธ์	0.728971	0.794514	0.99914	0.582581	0.267086	-0.77575	0.522051	1		
EC	-0.58869	-0.56534	-0.47059	-0.63498	0.59778	0.513156	0.004489	-0.50083	1	
RWC สัมพัทธ์	0.423009	-0.09292	-0.08426	0.156892	0.346219	0.078948	-0.07219	-0.10219	0.043354	1

วิจารณ์ผล

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณการรั่วไหลของไอออนและความสามารถในการทนร้อน

งานทดลองจำนวนมากได้ใช้ค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนร่วมกับลักษณะทางสรีรวิทยาอื่นๆ เพื่อชี้วัดความสามารถในการทนร้อนของพืช โดยขั้นตอนการวัดและวิธีการคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนนั้นมีความแตกต่างกันออกไปตามแต่ละชนิดพืชและผู้ที่ทำการทดลอง (Yeh and Lin, 2003 ; Marcum, 1998 ; Sullivan, 1972) จากการศึกษาวิธีการวัดค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนในสภาพอุณหภูมิสูงในผักกาดหอม พบว่า การล้างแผ่นใบเป็นเวลา 10 นาที และจำนวน 3 ครั้ง (ภาพ 2) เพียงพอและเหมาะสมต่อการนำไอออนที่รั่วไหลจากบาดแผลเนื่องจากการตัดแผ่นใบหรือไอออนที่ติดบริเวณแผ่นใบออก การล้างแผ่นใบนานกว่า 10 นาที หรือล้างมากกว่า 3 ครั้ง ไม่มีผลหรือมีผลเพียงเล็กน้อยมากต่อผลการทดลองและยังอาจทำให้ใบบอบช้ำจากขั้นตอนการล้างมากขึ้นอีกด้วย

อายุของใบมีผลต่อปริมาณการรั่วไหลของไอออนในสภาพอุณหภูมิสูงโดยใบอ่อนมีค่าการรั่วไหลสูงกว่าใบแก่ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากเซลล์ของใบอ่อนส่วนใหญ่ยังมีการเจริญเติบโตไม่เต็มที่จึงมีการสร้างผนังเซลล์ยังไม่เสร็จสมบูรณ์หรืออาจมีแผ่นใบที่บางกว่า ดังนั้นเมื่อได้รับอุณหภูมิที่สูงและระยะเวลาสั้น จึงทำให้ไอออนในเซลล์ใบอ่อนรั่วไหลออกมามากกว่า (ภาพ 6) ผลการทดลองนี้เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับงานทดลองในใบข้าว ซึ่งพบว่าสภาวะเครียดเกลือมีผลทำให้ใบอ่อนมีเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนสูงกว่าใบแก่ (Lutts et al., 1996) จากการวิเคราะห์ ANOVA แบบสองทาง (ตาราง 1) พบว่า เปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนมีความแตกต่างกันในระหว่างสายพันธุ์และระดับใบ อย่างไรก็ตามไม่พบปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์และระดับใบ แสดงให้เห็นว่าการเลือกใช้ใบอ่อนหรือใบแก่ไม่ได้ทำให้ความแตกต่างของค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนระหว่างสายพันธุ์เปลี่ยนแปลงไป เพียงแต่ต้องใช้ใบที่มีอายุเท่ากันในทุกสายพันธุ์

อุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มตัวอย่างใบถือเป็นปัจจัยสำคัญอันหนึ่งที่กำหนดปริมาณการรั่วไหลของไอออน จากรายงานการทดลองคัดเลือกสายพันธุ์ทนร้อนในมะเขือเทศโดยใช้ค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออน พบว่าอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส นาน 90 นาที เป็นอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสม (Alsadon et al., 2006) และในเบญจมาศพบว่าอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เหมาะสมสำหรับการใช้บ่มตัวอย่างใบ (Yeh and Lin, 2003) ในการทดลองนี้จึงเริ่มบ่มตัวอย่างใบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-40 นาที โดยพบว่าไม่มีความแตกต่างของ

เปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนในแต่ละสายพันธุ์ อีกทั้งค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนมีค่าอยู่ในระดับต่ำประมาณ 5-15% เท่านั้น (ภาพ 3) จึงสันนิษฐานว่าอุณหภูมิหรือระยะเวลาที่ใช้บ่มตัวอย่างใบอาจน้อยเกินไป จึงทำการเพิ่มอุณหภูมิในการบ่มเป็น 50 องศาเซลเซียส โดยจากการทดลองพบว่า ค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วโดยสามารถเห็นความแตกต่างของค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนในแต่ละสายพันธุ์ได้ตั้งแต่ 10 นาทีแรกและค่าเริ่มเข้าใกล้จุดอิ่มตัวที่ 20 นาทีโดยเมื่อบ่มต่อไปพบว่าค่าเริ่มคงที่ (ภาพ 4) การเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วของค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนเช่นนี้อาจไม่สะดวกต่อการคัดเลือกสายพันธุ์ทนร้อนในประชากรขนาดใหญ่ที่มีตัวอย่างจำนวนมาก อีกทั้งการให้อุณหภูมิที่สูงเกินไปอย่างรวดเร็วยังอาจไม่เปิดโอกาสให้เซลล์พืชมีการปรับตัวและนำไปสู่การบาดเจ็บของเซลล์อย่างรุนแรง สภาพการณ์เช่นนี้อาจทำให้การแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ที่อ่อนแอและทนทานต่อความร้อนเป็นไปได้ยากขึ้น จึงทำการทดลองอีกครั้งโดยบ่มตัวอย่างใบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส พบว่าค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนมีการเพิ่มขึ้นทีละน้อยและที่เวลา 30 นาที ค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนของผักกาดหอมแต่ละสายพันธุ์มีความแตกต่างกันอย่างเด่นชัดที่สุด (ภาพ 5) ด้วยเหตุนี้จึงเลือกใช้การบ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 ในการทดลองขั้นต่อไป ความแตกต่างของวิธีการบ่มใบในการทดลองนี้กับรายงานในมะเขือเทศ (Alsadon et al., 2006) และเบญจมาศ (Yeh and Lin, 2003) อาจเกิดขึ้นเพราะความแตกต่างของลักษณะใบของผักกาดหอมซึ่งอาจบางกว่าใบของมะเขือเทศและเบญจมาศ นอกจากนี้อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอมนั้นอยู่ที่ประมาณ 24-29 องศาเซลเซียส ซึ่งต่างจากอุณหภูมิที่เหมาะสมของการปลูกเบญจมาศอยู่ที่ 26-32 องศาเซลเซียส (Chathey, 1954) จึงอาจเป็นไปได้ว่าความสามารถในการทนร้อนของผักกาดหอมมีน้อยกว่าเบญจมาศจึงทำให้เปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนสูงขึ้นอย่างรวดเร็วตั้งแต่ 10 นาที

โดยทั่วไปวิธีการวัดค่าความเสถียรของเยื่อหุ้มเซลล์ในสภาพอุณหภูมิสูงนั้นมีอยู่หลายวิธีการด้วยกันแต่วิธีการที่นิยมใช้มากที่สุด มีอยู่ 3 วิธี ได้แก่ วิธีการของ Marcum (1998) นั้นใช้การวัดเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนจากเนื้อเยื่อใบที่ถูกตัดออกจากต้นแล้วนำมาบ่มในสภาพอุณหภูมิสูง โดยเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนถูกใช้เป็นตัวบ่งชี้ความเสถียรของเยื่อหุ้มเซลล์โดยตรง แต่วิธีการของ Yeh and Lin (2003) นั้นใช้วิธีการบ่มทั้งต้นที่อุณหภูมิสูงปานกลางก่อนจะตัดเนื้อเยื่อใบมาวัดค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออน และวิธีการของ (Sullivan, 1972) ใช้วิธีการเหมือนกับ Yeh and Lin (2003) แต่มีการเพิ่มค่าการรั่วไหลของไอออนของตัวควบคุมซึ่งถูกบ่มที่อุณหภูมิห้องเข้ามาเป็นตัวแปรร่วมในการคำนวณด้วย จากการทดลองทั้ง 3 วิธี พบว่าแต่ละวิธีการให้ค่าความเสถียรของเยื่อหุ้มเซลล์ไม่แตกต่างกันมากนัก โดยข้อมูลการวิเคราะห์ ANOVA (ตาราง 2) แสดงให้เห็นว่าค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนระหว่างสายพันธุ์และวิธีการมี

ปฏิสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ บ่งชี้ว่าวิธีการแต่ละวิธีการให้ผลการทดลองแตกต่างกันออกไป อย่างไรก็ตามผู้ทดลองเลือกใช้วิธีของ Marcum เป็นวิธีการในการคัดเลือกสายพันธุ์ทนร้อน เนื่องจากเป็นวิธีการที่ง่ายและสะดวกที่สุด วิธีการของ Yeh and Lin (2003) และ Sullivan (1972) นั้นจำเป็นต้องมีห้องควบคุมอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และตัวอย่างพืชอีกหนึ่งชุดเป็นตัวควบคุม ซึ่งไม่สะดวกในการคัดเลือกสายพันธุ์ทนร้อนในประชากรขนาดใหญ่

จากการทดลองพบว่าค่าเปอร์เซ็นต์การร่วงไหลของไอออนนั้นมีความสัมพันธ์กับ คำนวณนักสถิติสัมพัทธ์ของต้นที่อยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูง ในผักกาดหอมอายุ 28 วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจหรือค่า R^2 เท่ากับ 0.817 (ภาพ 11) นอกจากนี้เมื่อทำการวัดค่าเปอร์เซ็นต์การร่วงไหลของไอออนในผักกาดหอมที่อายุ 24 34 และ 44 วัน พบว่า ค่าเปอร์เซ็นต์การร่วงไหลของไอออนในแต่ละช่วงอายุมีความแตกต่างกัน และจากการวิเคราะห์ ANOVA แบบสองทางพบว่าอายุและสายพันธุ์มีปฏิสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าอายุของผักกาดหอมในแต่ละสายพันธุ์มีผลต่อการร่วงไหลของไอออนในสภาพอุณหภูมิสูง ที่เป็นเช่นนี้อาจสืบเนื่องมาจากผักกาดหอมเมื่อถึงอายุหนึ่ง ในบางสายพันธุ์อาจมีการเปลี่ยนแปลงความหนาของใบหรือมีการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาเกิดขึ้นจึงทำให้ความสามารถในการทนร้อนเปลี่ยนแปลงไป งานทดลองนี้อาจแสดงให้เห็นว่าผักกาดหอมแต่ละสายพันธุ์อาจมีความอ่อนไหวต่อความร้อนแตกต่างกันไปตามช่วงอายุ ซึ่งข้อมูลนี้อาจเป็นประโยชน์ต่อการวางแผนการปลูกและการจัดการผักกาดหอมเพื่อไม่ให้ช่วงที่ผักกาดหอมอ่อนไหวต่อความร้อนต้องเจอกับสภาวะอุณหภูมิสูง

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอนโทไซยานินและความสามารถในการทนร้อน

การสะสมของแอนโทไซยานินนั้นมีส่วนช่วยในการปกป้องกระบวนการสังเคราะห์แสงเมื่อพืชตกอยู่ภายใต้สภาวะเครียด (Franceschi and Grimes, 1991 ; Krol et al., 1995) มีการศึกษาพบว่าพืชที่มีใบสีเขียวนั้นเกิดการยับยั้งการสังเคราะห์แสง (Photoinhibition) มากกว่าพืชที่มีใบสีแดง โดยส่วนหนึ่งอาจเกิดจากแอนโทไซยานินทำหน้าที่ในการพรางแสงเพื่อปกป้องใบพืชจากพลังงานแสงส่วนเกิน (Gould et al., 2000) การศึกษาในครั้งนี้จึงต้องการทำความเข้าใจเกี่ยวกับบทบาทของแอนโทไซยานินในการบรรเทาการยับยั้งการสังเคราะห์แสงภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูง

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอนโทไซยานินกับความสามารถในการทนร้อนของผักกาดหอม พบว่าน้ำหนักสดสัมพัทธ์และน้ำหนักแห้งสัมพัทธ์มีความสัมพันธ์ในระดับสูง และไปในทิศทางเดียวกันกับค่าแอนโทไซยานิน เห็นได้จากการวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์

(ตาราง 4) โดยสายพันธุ์ที่มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงจะมีปริมาณน้ำหนักรากสดสัมพัทธ์และน้ำหนักแห้งสัมพัทธ์สูงด้วยเช่นกัน

นอกจากนี้ความร้อนมีผลให้ค่าประสิทธิภาพในการทำงานของระบบแสงที่สอง (PSII) และค่าประสิทธิภาพสูงสุดในการทำงานของระบบแสงที่สอง (F_v/F_m) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญในบางสายพันธุ์ และเมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ พบว่า ปริมาณแอนโทไซยานินมีความสัมพันธ์ระดับปานกลางในทิศทางเดียวกันกับค่า F_v/F_m แต่ไม่มีความสัมพันธ์กับ PSII แสดงให้เห็นว่าแอนโทไซยานินอาจมีส่วนช่วยในการปกป้องกลไกการสังเคราะห์แสงจากแสงส่วนเกินหรือมีกลไกบางอย่าง เช่น การทำให้พลังงานส่วนเกินเปลี่ยนเป็นพลังงานความร้อน (Non-photochemical quenching หรือ NPQ) (Pietrini et al., 2002) แต่จากการทดลองครั้งนี้พบว่า NPQ มีความสัมพันธ์กับปริมาณแอนโทไซยานินน้อยมาก

ค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออน แสดงความความสัมพันธ์ในทางตรงกันข้ามกับค่าแอนโทไซยานิน แสดงให้เห็นว่าแอนโทไซยานินอาจมีส่วนช่วยในการบรรเทาความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ในสภาวะอุณหภูมิสูง โดยแอนโทไซยานินอาจทำหน้าที่ในการกำจัดอนุมูลอิสระอย่างใดก็ตามเมื่อดูความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ Malondialdehyde (MDA) พบว่าปริมาณแอนโทไซยานินสูงมีความสัมพันธ์ในทางบวกกับปริมาณ MDA ที่เป็นเช่นนี้อาจเกิดจากความยาวคลื่นที่ใช้วัดปริมาณแอนโทไซยานิน และความยาวคลื่นที่ใช้วัดปริมาณ MDA ในปฏิกิริยามีความใกล้เคียงกัน คือ 532 และ 530 nm (Gazula et al., 2007 ; Hodges et al., 1999) จึงเป็นไปได้ว่าผลการวัดปริมาณ MDA อาจสูงกว่าความเป็นจริงเนื่องจากการปนเปื้อนของแอนโทไซยานิน

สภาวะอุณหภูมิสูงมีผลทำให้ปริมาณอนุมูลอิสระภายในเซลล์พืชเพิ่มสูงขึ้นและอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดความเสียหายของเยื่อหุ้มและส่วนประกอบอื่นๆ ของเซลล์ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสภาวะอุณหภูมิสูงมีผลทำให้ปริมาณ Superoxide เพิ่มขึ้น โดยพบว่าปริมาณของ Super oxide ในผักกาดหอมสีแดงมีมากกว่าในผักกาดสีเขียวเมื่ออยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูง แสดงให้เห็นว่าแอนโทไซยานินไม่ได้ช่วยลดปริมาณของ Superoxide ในสภาวะอุณหภูมิสูง แต่เมื่ออยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูง 25 องศาเซลเซียส ผักกาดหอมสีแดงมีปริมาณของ Superoxide น้อยกว่าในผักกาดหอมใบสีเขียว ซึ่งอาจแสดงให้เห็นว่า เมื่ออยู่ในสภาวะอุณหภูมิปกติ ผักกาดหอมสีแดงมีการลดปริมาณ Superoxide มากกว่าในผักกาดที่มีสีเขียว ดังนั้น ในการทดลองครั้งนี้แอนโทไซยานินไม่ได้ปกป้องระบบแสงที่สองโดยการกำจัด Superoxide ในสภาวะอุณหภูมิ แต่อาจช่วยกำจัดอนุมูลอิสระชนิดอื่นก็เป็นไปได้

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

ส่วนที่ 1 การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณการรื้อไหลของไอออน และความสามารถในการทนร้อน

จากการทดลองศึกษาหาวิธีการคัดเลือกสายพันธุ์ทนร้อนโดยใช้เปอร์เซ็นต์การรื้อไหลของไอออนเป็นดัชนีชี้วัด จากการทดลองพบว่า ลำต้นส่วนใบ 3 ครั้ง โดยแต่ละครั้งละ 10 นาที จากนั้นได้ทำการเปรียบเทียบวิธีการประเมินความเสถียรของเยื่อหุ้มเซลล์โดยการวัดเปอร์เซ็นต์การรื้อไหลของไอออนทั้ง 3 วิธีซึ่งพบว่าแต่ละวิธีการให้ผลที่แตกต่างกัน แต่ในการทดลองนี้เลือกใช้วิธีการของ Marcum (1998) เนื่องจากเป็นวิธีการที่สะดวกที่สุด จากการทดลองพบว่าเปอร์เซ็นต์การรื้อไหลของไอออนมีความสัมพันธ์ในทิศทางตรงกันข้ามกับการเจริญเติบโตของผักกาดหอมสายพันธุ์ต่างๆ ในสภาวะอุณหภูมิสูง นอกจากนี้ได้ทำการทดลองวัดเปอร์เซ็นต์การรื้อไหลของไอออนของผักกาดหอมที่อายุ 24 34 และ 44 วัน พบว่าผักกาดหอมแต่ละสายพันธุ์มีเปอร์เซ็นต์การรื้อไหลของไอออนแตกต่างกันในแต่ละช่วงอายุซึ่งอาจแสดงให้เห็นว่าผักกาดหอมมีความสามารถในการทนร้อนผันแปรไปตามช่วงอายุ ดังนั้นข้อมูลเปอร์เซ็นต์การรื้อไหลของไอออนในผักสลัดแต่ละสายพันธุ์อาจมีประโยชน์ในการวางแผนการปลูกและการจัดการเพื่อหลีกเลี่ยงช่วงอายุของผักสลัดที่มีความอ่อนไหวต่อความร้อนไม่ให้เกิดเจอกับสภาวะอุณหภูมิสูง

ส่วนที่ 2 การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอนโทไซยานิน และความสามารถในการทนร้อน

จากการศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณแอนโทไซยานินกับการทนร้อนของผักกาดหอมพบว่า ปริมาณของแอนโทไซยานินมีความสัมพันธ์ในทางบวกกับการเจริญเติบโตในสภาวะอุณหภูมิ นอกจากนี้พบว่า แอนโทไซยานินไม่มีความสัมพันธ์กับประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่สอง (O₂PSII) การเปลี่ยนพลังงานแสงส่วนเกินเป็นพลังงานความร้อน (NPQ) และการกำจัด Superoxide แต่มีความสัมพันธ์ในทางตรงกันข้ามกับเปอร์เซ็นต์การรื้อไหลของไอออน

บรรณานุกรม

- กมล เลิศรัตน์, อรสา ดิสถาพร, สุชีลา เตชะวงศ์เสถียร และ วีระ ภาควุฑู. 2544. รายงานการ
ประมวลความรู้เรื่องผักในประเทศไทย: สถานภาพของการตลาด การผลิต และการวิจัย.
กรุงเทพฯ: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. 190 น.
- มูลนิธิโครงการหลวง. 2554. รายงานผลการพัฒนามูลนิธิโครงการหลวง ปีงบประมาณ พ.ศ.
2554. กรุงเทพฯ: มูลนิธิ.
- Allakhverdiev, S. I., Klimov, V. V., Kreslavski, V. D., Los, D. A., Carpentier R. and Mohanty, P.
2008. Heat stress: an overview of molecular responses in photosynthesis. **Photosynth
Res** 98: 541-550.
- Alsadon, A. A., Wahb-Allah, M.A. and Khalil, S. O. 2006. In vitro Evaluation of Heat Stress
Tolerance in Some Tomato Cultivars. **Agric. Sci** 19(1) : 13-24.
- Ashraf, M. and Harris, P. (ed.). 2005. **Abiotic Stresses: Plant Resistance Through Breeding
and Molecular Approaches**. Boca Raton: CRC Press. 725 p.
- Astadi, I.R., Astuti, M., Santoso, U. and Nugraheni, P. S. 2008. In vitro antioxidant activity of
anthocyanins of black soybean seed coat in human low density lipoprotein (LDL).
Food Chemistry 112(3): 659-663.
- Bajji, M., Kinet, J. and Lutts, S. 2001. The use of the electrolyte leakage method for assessing
cell membrane stability as a water stress tolerance test in durum wheat. **Plant Growth
Regulation** 00: 1-10.
- Baker, N. R. 2008. Chlorophyll Fluorescence: A Probe of Photosynthesis In Vivo. **Annu. Rev.
Plant Biol.** 58: 89-113.
- Bondre, S. P., Kulkarni, A. P. and Pillai, M. M. 2012. Study on isolation and purification of
anthocyanins and its application as pH indicator. **International Journal of Advanced
Biotechnology and Research** 3(3): 698-702.
- Campos, F. M., Couto, J. A. and Hogg, T. A. 2003. Influence of phenolic acids on growth and
inactivation of *Oenococcus oeni* and *Lactobacillus hilgardii*. **Journal of Applied
Microbiology** 94(2): 167-174.

- Changlian, P., Zhifang, L., Guizhu, L. and Shaowei, C. 2006. The antiphototoxidation of anthocyanins-rich leaves of a purple rice cultivar. **Sci. China C Life Sci.** 49(6): 543-551.
- Chathey, H. M. 1954. Chrysanthemum temperature study: The effect of night, day and mean temperature upon the flowering of chrysanthemum. **Proc. Amer. Soc. Hort. Sci** 64: 499-502.
- Chen, H. H., Shen, Z.Y. and Li, P.H. 1982. Adaptability of crop plants to high temperature stress. **Crop Sci** 22(4): 719-725.
- Coons, J. M., Kueh, R.O. and Simon, N. R. 1990. Tolerance of Ten Lettuce Cultivars to High Temperature Combined with NaCl during Germination. **J. AMER. Soc. HORT Sci.** 115(6): 1004-1007.
- Delahaut, K. and Newenhouse, A. C. 2003. **Growing salad green in Wisconsin a guide fresh market growers.** Wisconsin: University of Wisconsin-Extension.
- Dexter, S.T. 1956. The evaluation of crop plants for winter hardiness. **Advances in agronomy** 8: 203–239.
- Downing, T. E. 1992. **Climate change and vulnerable places: global food security and country studies in Zimbabwe, Kenya, Senegal and Chile.** Oxford: University of Oxford.
- FAO. 2010. **FAO Cuts Wheat Production Forecast but Considers Supplies Adequate.** [Online]. Available <http://www.fao.org/news/story/en/item/44570/icode> (15 January 2011).
- Feder, M. E. and Hofmann, G. E. 1999. Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: evolutionary and ecological physiology. **Annu. Rev. Physiol** 61: 243–282.
- Franceschi, V. R. and Grimes, H. D. 1991. Induction of soybean vegetative storage proteins and anthocyanins by low-level atmospheric methyl jasmonate. **Proceedings of the National Academy of Science USA** 88(15): 6745–6749.
- Fuller, T. F., Doyle, M. and Newman, J. 1994. Simulation and Optimization of the Dual Lithium Ion Insertion Cell. **J. Electrochem. Soc** 141(1): 1-10.

- Gan, Y., Angadi, S. V., Cutforth, H., Potts, D., Angadi, V. V. and McDonald, C. L. 2004. Canola and mustard response to short period of temperature and water stress at different developmental stages. **Can. J. Plant Sci.** 84(3): 697-704.
- Gazula, A., Kleinhenz, M. D., Scheerens, J. C. and Ling, P. P. 2007. Anthocyanin Levels in Nine Lettuce (*Lactuca sativa*) Cultivars: Influence of Planting Date and Relations among Analytic, Instrumented, and Visual Assessments of Color. **Hort. Science** 42(2):232–238.
- Georgieva, K. 1999. Some mechanisms of damage and acclimation of the photosynthetic apparatus due to high temperature. **Bulg J. Plant Physiol** 25(3-4): 89–99.
- Giusti, M. M. and Wrolstad, R. E. 2001. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible spectroscopy. **Current protocols in food analytical chemistry** F.F1: F1.2
- Gould, K. S., Markham, K. R., Smith, R. H., Goris, J. J. 2000. Functional role of anthocyanins in the leaves of *Quintilia serrata* A.Cunn. **Journal of Experimental Botany** 51(347): 1107–1115.
- Govindjee. 1995. Sixty-three years since Kautsky: chlorophyll a fluorescence. **Aust. J. Plant Physiol** 22: 131–160.
- Hall, A. E. 2001. **Crop Responses to Environment**. Boca Raton: CRC Press. 248 p.
- Halliwell, B. 1991. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. **Am J. Med.** 91(3): S14–S22.
- Herrmann, K. 1976. Flavonols and flavones in food plants: a review. **International Journal of Food Science & Technology** 11(5): 433–448.
- Hertel, T. W., Burke, M. B. and Lobell, D. B. 2010. The poverty implications of climate-induced crop yield changes by 2030. **Global Environmental Change** 20: 577–585.
- Hilali, H. S. 2011. **The evaluation of potential of cell membrane thermostability as screening tool for heat stress tolerance in tomato: Research Project Report**. Tanzania: Department of Botany, University of Dar es Salaam. 63 p.
- Hoch, G., Richter, A. and Körner, C. 2003. Non-structural carbon compounds in temperate forest trees. **Plant Cell and Environment** 26: 1067–1081.

- Hodges, D. M., Delong, J. M., Forney, C. F. and Prange, R. K. 1999. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. **Planta** 207(4): 604-611.
- Iba, K. 2002. Acclimative response to temperature stress in higher plants: approaches of gene engineering for temperature tolerance. **Annu. Rev. Plant Biol.** 53: 225–245.
- Ibrahim, A. M. H. and Quick, J. S. 2001. Genetic control of high temperature tolerance in wheat as measured by membrane thermal stability. **Crop Science**. 41:1405–1407.
- Jarvis, P., Dormann, P., Peto, C.A., Lutes, J., Benning, C. and Chory, J. 2000. Galactolipid deficiency and abnormal chloroplast development in the Arabidopsis MGD synthase 1 mutant. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 97(14): 8175–8179.
- Jenn, S. 2005. Rib discoloration: A physiological disorder by heat stress in crisphead lettuce. **Hort. Science** 40: 2031-2035.
- Jones, P. D., New, M., Parker, D.E., Martin, S. and Rigor, I. G. 1999. Surface air temperature and its change over the past 150 years. **Rev. Geophys** 37(2): 173–199.
- Kader, A. A., Lyons, J. M. and Morris, L. L. 1974. Postharvest response of vegetables to preharvest field temperatures. **Hort. Science** 9(6):523–527.
- Karim, M. A., Fracheboud, Y. and Stamp, P. 1999. Photosynthetic activity of developing leaves of *Zea mays* is less affected by heat stress than that of developed leaves. **Physiol. Plant** 105(4): 685–693.
- Karlıdag H., Yildirim, E. and Turan, M. 2009. Salicylic acid ameliorates the adverse effect of salt stress on strawberry. **Sci. Agric** 66(2): 180-187.
- Kaur, J. and Sanyal, S. N. 2010. Alterations in membrane fluidity and dynamics in experimental colon cancer and its chemoprevention by diclofenac. **Mol. Cell Biochem.** 341(1-2): 99–108.
- Krol, M., Gray, G. R., Huner, N. P. A., Hurry, V. M., Öquist, G. and Malek, L. 1995. Low-temperature stress and photoperiod affect an increased tolerance to photoinhibition in *Pinus banksiana* seedlings. **Can. J. Bot.** 73(8):1119–1127.

- Larkindale, J. and Huang, B. 2004. Changes of lipid composition and saturation level in leaves and roots for heat-stressed and heat-acclimated creeping bentgrass (*Agrostis stolonifera*). **Environ. Exp. Bot.** 51: 57–67.
- Levitt, J. 1980. **Responses of plants to environmental stress**. 2nd ed. New York, USA: Academic Press. 607 p.
- Lim, P. O., Kim, H. J. and Nam, H. G. 2007. Leaf senescence. **Annu. Rev. Plant Biol.** 58: 115–136.
- Lohachoompol, V., Srzednicki, G. and Craske, J. 2004. The Change of Total Anthocyanins in Blueberries and Their Antioxidant Effect After Drying and Freezing. **J. Biomed. Biotechnol.** 5: 248–252.
- Lutts, S., Kinet, J. M. and Bouharmont, J. 1996. NaCl-induced Senescence in Leaves of Rice (*Oryza sativa* L.) Cultivars Differing in Salinity Resistance. **Annals of Botany** 78(3): 389.
- Mamedov, T. G. and Shono, M. 2008. molecular chaperone activity of tomato (*Lycopersicon esculentum*) endoplasmic reticulum-located small heat shock protein. **J. Plant Res.** 121: 235-243.
- Marcum, K. B. 1998. Cell membrane thermostability and whole-plant heat tolerance of Kentucky bluegrass. **Crop Sci.** 38(5): 1214–1218.
- Mori, K., Goto-Yamamoto, N., Kitayama, M. and Katsumi, H. 2007. Loss of anthocyanins in red-wine grape under high temperature. **Journal of Experimental Botany** 58(8): 1935–1945.
- Murakami, T., Matsuba, S., Funatsuki, H., Kawaguchi, K., Saruyama, H., Tanida, M. and Sato, Y. 2004. Over-expression of a small heat shock protein, sHSP17.7, confers both heat tolerance and Uv-B resistance to rice plants. **Mol. Breeding** 13: 165–175.
- National Agricultural Statistics Service. 2014. Leaf Lettuce for Fresh Market Area Planted and Harvested, Yield. pp. 29. In United States Department of Agriculture National Agricultural Statistics Service. **Vegetables 2013 Summary: March 2014**. US.: National Agricultural Statistics Service.

- Nicolle, C., Carnat, A., Fraisse, D., Larnaison, J., Rock, E., Michel, H., Amouroux, P. and Remesy, C. 2004. Characterisation and variation of antioxidant micronutrients in lettuce (*Lactuca sativa* folium). **J. Sci. Food Agric** 84(15): 2061–2069.
- Nonnecke, I. L. 1989. **Vegetable Production**. New York: Springer Science & Business Media. 657 p.
- Peng, S., Huang, J., Sheehy, J. E., Laza, R. C., Visperas, R. M., Zhong, X., Centeno, G.S., Khush, G. S. and Cassman, K. G. 2004. Rice yield decline with higher night temperature from global warming. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**. 101(27): 9971-9975.
- Pietrini, F., Iannelli, M. A. and Massacci, A. 2002. Anthocyanin accumulation in the illuminated surface of maize leaves enhances protection from photo-inhibitory risks at low temperature, without further limitation to photosynthesis. **Plant, Cell & Environ.** 25(10): 1251–1259.
- Raleigh, G. and Minotti, P. L. 1967. **Lettuce production in muck soils**. New York: College of Agriculture. 16 p.
- Ramel, F. S., Sulmon, C., Bogard, M., Couée, I. and Gouesbet, G. 2009. Differential patterns of reactive oxygen species and antioxidative mechanisms during atrazine injury and sucrose-induced tolerance in *Arabidopsis thaliana* plantlets. **BMC Plant Biology** 9: 28.
- Redona, E. D., Castro, A. P. and Llanto, G. P. 2004. **Towards a RiceCheck system in the Philippines: Proceedings of the National Workshop on Rice Integrated Crop Management, May 4-5**. Philippine: Department of Agriculture, Philippine Rice Research Institute. 191 p.
- Richardson, A. D., Duigan, S. P., Berlyn, G. P. 2002. An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. **New Phytol.** 153: 185–194.
- Rubatzky, V. E. and Yamaguchi, M. 1997. **World Vegetables: Principles, production, and nutritive values**. 2nd ed. New York: Springer. 844 p.
- Ryder, E. J. 1999. **Lettuce, endive and chicory**. UK: CABI Pub. 208 p.
- Savic, J., Dragicevic, I., Pantelic, D., Oljaca, J. and Momcilovic, I. 2012. Expression of small heat shock proteins and heat tolerance in potato (*Solanum tuberosum* L.). **Arch. Biol. Sci** 64(1): 135-144.

- Schoffl, F., Prandl, R., Reindl. 1999. Molecular responses to heat stress. pp.81-98. In Shinozaki, K. (ed.). **Molecular Responses to Cold, Drought, Heat and Salt Stress in Higher Plants**. Austin: R.G. Landes Co.
- Siddique, K. H. M., Loss, S. P., Regan, K. L. and Jettner, R. L. 1999. Adaptation and seed yield of cool season grain legumes in Mediterranean environments of south-western Australia. **Aust. J. Agric** 50(3): 375–387.
- Silva, E. N., Vieira, S. A., Ribeiro, R. V., Ponte, L. F. A., Ferreira-Silva, S. L. and Silveira, J. A. G. 2013. Contrasting Physiological Responses of *Jatropha curcas* Plants to Single and Combined Stresses of Salinity and Heat. **J. Plant Growth Regul.** 32(1): 159–169.
- Steyn, W. J., Wand, S. J. E., Holcroft, D. M. and Jacobs, G. 2002. Anthocyanins in vegetative tissues: a proposed unified function in photoprotection. **New Phytologist** 155(3): 349–361.
- Sullivan, C. Y. 1972. Mechanisms of Heat and Drought Resistance in Grain Sorghum and Methods of Measurement. pp. 247-264. In Rao, N. G. P. and House, L. R. (eds). **Sorghum in Seventies**. New Delhi: Oxford & IBH Publishing Co.
- Wang, K., Zhang, X., Goatley, M. and Ervin, E. 2014. Heat Shock Proteins in Relation to Heat Stress Tolerance of Creeping Bentgrass at Different N Levels. **PLos One** 9(7): 1371.
- Yeh, D. M. and Lin, H. F. 2003. Thermostability of cell membranes as a measure of heat tolerance and relationship to flowering delay in Chrysanthemum. **J. Amer. Soc. Hort.Sci.** 128(5):656-660.



ภาคผนวก



ภาคผนวก ก

ประวัติผู้วิจัย

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล

นางสาวจิรพรรณ สุวรรณบริบูรณ์

เกิดเมื่อ

26 กรกฎาคม 2531

ประวัติการศึกษา

พ.ศ.2550

มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนชุมแพศึกษา

จังหวัดขอนแก่น

พ.ศ.2554

ปริญญาตรี มหาวิทยาลัยแม่โจ้

จังหวัดเชียงใหม่