KHON KAEN AGR. J. 48 (3): 483-500 (2020)./doi:10.14456/kaj.2020.44.

ผลของความเป็นกรด-ด่างของดิน และปุ๋ยไนโตรเจนต่อปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดของข้าวสีดำ

Effects of Soil pH, and Nitrogen Fertilizer on the Anthocyanin Contents in Black Rice Seed

วริศรา บุราคร [1], สมพงศ์ จันทร์แก้ว[1], จิรวัฒน์ สนิทชน[1*], วรรณวิภา แก้วประดิษฐ์ พลพินิจ[1] และ ธิดารัตน์ มอญขาม[1]

Waritsara Burakorn[1], Sompong Chankaew[1], Jirawat Sanitchon[1*], Wanwipa Kaewpradit Polpinit[1] and Tidarat Monkham[1]

บทคัดย่อ: สารแอนโทไซยานินเป็นหนึ่งในสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ ที่ให้สารสีแดง ถึงสีม่วง ที่สามารถพบได้ในผลไม้ ผัก รวมทั้งในข้าวที่มีเมล็ดสีดำหรือแดง การสะสมของสารแอนโทไซยานินได้รับอิทธิพลจากสภาพแวดล้อมหลายปัจจัย ดังนั้นการเพิ่มปริมาณสารแอนโทไซยานินในข้าวจึงจำเป็นต้องทราบปัจจัยที่มีผลต่อการสะสมสารแอนโทไซยานินเหล่านั้น การศึกษานี้จึงได้ทำการประเมินผลของค่าความเป็นกรด-ด่างของดิน และปุ๋ยไนโตรเจนที่แตกต่างกันที่มีผลต่อปริมาณสารแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวสีดำจำนวน 4 สายพันธุ์ ทดสอบในจังหวัดสกลนครและขอนแก่น พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่างของดินมีผลต่อปริมาณสารแอนโทไซยานินในข้าวแต่ละสายพันธุ์ที่แตกต่างกันที่ปลูกจังหวัดสกลนคร ความเป็นกรด-ด่างของดิน และปุ๋ยไนโตรเจนมีผลโดยตรงต่อน้ำหนักแห้งต้น พื้นที่ใบ จำนวนหน่อต่อกอ และจำนวนรวงต่อกอในทั้งสองจังหวัด นอกจากนั้นยังพบว่า ปริมาณสารแอนโทไซยานินแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับสถานที่และพันธุ์ของข้าวด้วย โดยข้าวพันธุ์ ULR238 มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงที่สุด ระดับของความเป็นกรด-ด่างของดินและปุ๋ยไนตรเจนที่เหมาะสมจะเป็นประโยชน์ในการผลิตข้าวให้ได้คุณภาพต่อไป
คำสำคัญ: แอนโทไซยานิน, ข้าวไร่, เชื้อพันธุกรรมข้าว, ขนาดเมล็ด

ABSTRACT: Anthocyanin is a flavonoid compound which is red and purple in color, found in fruits, vegetables, and black rice seed. Anthocyanin accumulation is influenced by several environment factors through the growth stages. Therefore, to increase anthocyanin in rice, it is necessary to identify the affecting factors. This study was aimed to examine effects of soil pH, and soil nitrogen on anthocyanin content in four rice varieties at Sakon Nakhon and Khon Kaen provinces. The results found that soil pH affected the anthocyanin content in each rice cultivars at Sakon Nakhon. The effects of soil pH and nitrogen fertilization mainly influenced shoot dry weight, leaf area, number of tillers and number of panicles at both provinecs. Anthocyanin accumulation was also dependent on genotype and location. Genotype also played an important role in anthocyanin content, in which the ULR238 variety contained the highest anthocyanin. The appropriate level of soil pH and nitrogen will be beneficial for cultural practice to maximize rice quality.
Keywords: anthocyanin accumulation; upland rice; germplasm; seed size.

Received September 17, 2019

Accepted November 12, 2019

[1] สาขาวิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น 40002 ประเทศไทย

Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002 Thailand

* Corresponding author: jirawat@kku.ac.th

บทนำ

ข้าว (*Oryza sativar* L.) เป็นอาหารหลักที่สำคัญของประชากรโลก โดยเฉพาะในทวีปเอเชียและแอฟริกา ซึ่งมีการบริโภคข้าวมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ การเพาะปลูกข้าวจึงเป็นรายได้หลักของคนในพื้นที่ดังกล่าวด้วย (Khush and Virk, 2000) ในประเทศไทยข้าวเป็นพืชหลักที่สำคัญ และมีการเพาะปลูกทั่วทุกภาคในประเทศ นอกจากนั้นประเทศไทยยังเป็นผู้ส่งออกข้าวรายใหญ่ของโลก และในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มามากกว่า 10 ทศวรรษ ข้าวขาวดอกมะลิ105 (KDML105) เป็นข้าวที่ได้รับการยกย่องให้เป็นข้าวที่มีคุณภาพการหุงต้มที่ดี และเป็นที่นิยมของคนทั่วโลก (Lanceras, et al., 2000) ทุกวันนี้ผู้บริโภคข้าวเริ่มหันมาสนใจบริโภคข้าวเพื่อสุขภาพกันมากขึ้น ทำให้การบริโภคข้าวเริ่มมีการเปลี่ยนแปลง จากการบริโภคข้าวขัดสีเปลี่ยนเป็นการบริโภคข้าวกล้องมากยิ่งขึ้น จากการศึกษาพบว่า ข้าวเป็นแหล่งของสารอาหารที่มีประโยชน์มากมายทั้งคาร์โบไฮเดรต โปรตีน กรดอะมิโน และธาตุอาหารรองต่างๆ และยังเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระด้วย (Deepa, et al., 2008) ดังนั้นการบริโภคข้าวที่มีแหล่งของสารอาหารต่างๆ เหล่านี้จึงเริ่มเป็นที่นิยมมากยิ่งขึ้น โดยเฉพาะในตลาดเฉพาะกลุ่ม (niche market) ข้าวกล้องและข้าวพื้นเมืองมีสารอาหารที่ดีมากมายจึงเริ่มได้รับความนิยม ในอดีตข้าวพื้นเมืองมักมีการเพาะปลูกไว้บริโภคภายในครัวเรือนในชนบท หรือมีการเพาะปลูกเพื่อใช้ในการบริโภคเฉพาะเทศกาลเท่านั้น ต่อมาได้มีการศึกษาองค์ประกอบต่างๆ ในข้าวพื้นเมืองเหล่านั้น ทำให้ทราบถึงความดีเด่น เช่น เป็นแหล่งของวิตามิน (Garcia, et al., 2010) สารต้านอนุมูลอิสระ เช่น สารแอนโทไซยานิน สารแกมมาออไรซานอน สาร GABA (γ-aminobutyric acid) รวมทั้งสารประกอบฟีโนลิคอื่นๆ (Rogers, et al., 1993; Terahara, et al., 1994; Harukaze, et al., 1999; Goufo and Trindade, 2014) โดยเฉพาะในพันธุ์ที่เป็นข้าวมีสี นิยมนำมาใช้ทั้งในการบริโภค และการสกัดสารเป็นประโยชน์อื่นๆ

ข้าวดำเป็นข้าวที่มีการเพาะปลูกในประเทศไทยมาเป็นเวลาช้านาน ซึ่งข้าวดำมีการเพาะปลูกกันมากในภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยเฉพาะกลุ่มชาติพันธุ์ (Somsana, et al., 2013) สีดำของเมล็ดข้าวในส่วนของชั้น pericarp พบว่า มีปริมาณสารโพลิฟีนอลที่สูง (Tian, et al., 2004; Zhou, et al., 2004) สารโพลิฟีนอลหลักที่พบ คือ แอนโทไซยานิน (Iqbal, et al., 2005; Walter and Marchesan, 2011; Muhidin, et al., 2013; Goufo and Trindade, 2014; Rerkasem, et al., 2015; Melini and Acquistucci, 2017) สารแอนโทไซยานินเป็นหนึ่งในกลุ่มที่มีรายงานว่า ช่วยในการป้องกันการเกิดมะเร็ง การแพ้ โรคอ้วน โรคความดันโลหิต ลดการเปราะแตกของเส้นเลือด และโรคลำไส้อักเสบ (Dilip and Tetsuya, 2007)

การสังเคราะห์สารแอนโทไซยานินมีความซับซ้อนซึ่งเกี่ยวพันกับหลายกลไก (Tanaka, et al., 2008) ซึ่ง Tanaka et al. (2008) รายงานว่าการสังเคราะห์แอนโทไซยานินเป็นกระบวนการที่ผ่านวิธีของฟลาโวนอยด์ซึ่งมีฟีนิลอะลานิน (phenylalanine) เป็นสารตั้งต้น การสะสมสารแอนโทไซยานินในพืชขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น ความเป็นกรด-ด่างของดิน (Kumi, et al., 2003) การจัดการปุ๋ยไนโตรเจน (Soubeyrand, et al., 2014) ความเครียดเนื่องจากความเค็ม (Chunthaburee, et al., 2016) จากการศึกษาของ Somsana et al. (2013) พบว่า สภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันมีผลต่อการสะสมสารแอนโทไซยานินในเมล็ดของข้าวไร่พื้นเมือง แต่ยังไม่มีการศึกษาถึงปัจจัยใดที่ส่งผลต่อการสะสมสารแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวพื้นเมืองเหล่านั้น ดังนั้นการทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของความเป็นกรด-ด่างของดิน และปริมาณปุ๋ยไนโตรเจนที่แตกต่างกันที่มีผลต่อการปริมาณสารแอนโทไซยานินในเมล็ดของข้าว

วิธีการศึกษา

พันธุ์ข้าว

การศึกษาครั้งนี้ เลือกใช้พันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่มีชั้น pericarp สีดำทั้งหมด 4 สายพันธุ์ แบ่งออกเป็นข้าวไร่ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ ULR017 ULR046 และ ULR238 ข้าวนาสวน 1 สายพันธุ์ ได้แก่ LLR391 ซึ่งเป็นข้าวนาพันธุ์ปรับปรุงเป็นพันธุ์เปรียบเทียบที่มีรายงานว่ามีสารแอนโทไซยานินสูง 38.14 มก./100 กรัมของเมล็ด โดยปลูกข้าวในสภาพไร่เหมือนกันทั้ง 4 สายพันธุ์ (Somsana, et al., 2013) (**Table 1**)

Table 1 Accession no., varieties name, morphology and source of rice used in this study

Accession no.	Var. Name	Paddy morphology	Source
ULR017	Neiw Dum Hmong	Long grain, Flat shape, Brown pericarp	Phitsanulok / North
ULR046	Neiw Dum Rai	Short grain, Brown pericarp	Phitsanulok / North
ULR238	Unknown	Long grain, Flat shape, Black brown pericarp	Phetchabun / North
LLR391	Hom Phu Keiw	Short grain, Black pericarp	Chaiyaphum

วิธีการทำการทดลอง

ทำการทดลอง 2 สถานที่ ได้แก่ แปลงทดลองหมวดพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และโรงเรือนคณะทรัพยากรยาธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร ในฤดูฝน ปี 2559 โดยแบ่งเป็น 2 การทดลอง ได้แก่ การทดลองที่ 1 การศึกษาความเป็นกรด-ด่างในดินที่มีผลต่อการสะสมแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าว และ 2 การศึกษาระดับปุ๋ยไนโตรเจนในดินที่มีผลต่อการสะสมแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าว

1. **การศึกษาความเป็นกรด-ด่างของดินที่มีผลต่อการสะสมแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าว** ทำการเตรียมดินเพื่อใช้ในการทดลอง โดยการตากดินที่ได้จากแปลงเกษตรกรในพื้นที่ปลูกข้าวไร่ในเขตอำเภอบ้านแฮด จังหวัดขอนแก่น เป็นเวลา 3 วัน หลังจากนั้นทำการร่อนดินผ่านตะแกรงขนาด 0.3 มิลลิเมตร แล้วทำการเตรียมดินเพื่อให้มี pH แตกต่างกัน 3 ระดับ คือ pH6 (ดินปกติที่ใช้ในการทดลองไม่มีการคลุกโดโลไมล์), pH7 ทำการคลุกโดโลไมล์ ปริมาณ 0.6 กิโลกรัม ผสมกับดินน้ำหนัก 10 กิโลกรัม ซึ่งบรรจุลงในแต่ละกระถาง และ pH8 ทำการคลุกโดโลไมล์ลงไปในดินปริมาณ 1.2 กิโลกรัม หลังจากนั้นบรรจุดินลงในกระถางขนาด 12 นิ้ว ตามทรีตเมนต์

การเพาะเมล็ดข้าว นำเมล็ดพันธุ์ข้าวมาแช่น้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเมล็ดข้าวที่งอกแล้วมาเพาะในถาดเพาะกล้า จนกระทั่งต้นกล้าอายุ 7 วัน จึงย้ายปลูกลงในกระถางที่เตรียมดินไว้ กระถางละ 1 ต้น เมื่อข้าวอายุ 30 และ 60 วันหลังงอก ทำการใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 25 กิโลกรัม/ไร่ และทำการกำจัดวัชพืชด้วยมือ และกำจัดโรคและแมลงเมื่อพบการระบาด

2. **การศึกษาระดับปุ๋ยไนโตรเจนในดินที่มีผลต่อการสะสมแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าว** ทำการเตรียมดินด้วยวิธีเดียวกับการทดลองที่ 1 การเพาะเมล็ดข้าว และการย้ายปลูก ทำเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 จากนั้น ทดสอบอัตราปุ๋ยไนโตรเจน 4 ระดับคือ 1.9 3.75 5.65 และ 7.5 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อไร่ ซึ่งมีกรรมวิธีในการใส่ปุ๋ยดังนี้ เมื่อข้าวอายุได้ 30 วันหลังงอก ทำการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน ทั้งหมด 4 ระดับ ได้แก่ 1. ปุ๋ยสูตร 18-46-0 , 46-0-0 และ 0-0-60 อัตรา 8.15 กิโลกรัม/ไร่ 0.93 กิโลกรัม/ไร่ และ 6.25 กิโลกรัม/ไร่ ตามลำดับ ทรีตเมนต์ 2, 3, และ 4 ทำการใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 25 กิโลกรัม/ไร่ แต่ได้เพิ่มปุ๋ยสูตร 46-0-0 ใน ทรีตเมนต์ 3 และ 4 โดยทำการเพิ่มเป็นอัตรา 4.13 กิโลกรัม/ไร่ และ 8.15 กิโลกรัม/ไร่ เมื่อข้าวอายุได้ 60 วันหลังงอก ทำการใส่ปุ๋ย สูตร 21-0-0 ในอัตราที่แตกต่างกันทั้งหมด 4 อัตรา ได้แก่ 10 กิโลกรัม/ไร่, 20 กิโลกรัม/ไร่, 30 กิโลกรัม/ไร่, และ 40 กิโลกรัม/ไร่ ตามลำดับ และทำการกำจัดวัชพืชด้วยมือ และกำจัดโรคและแมลงเมื่อพบการระบาด

การบันทึกข้อมูล

1. **ข้อมูลสภาพฟ้าอากาศ**

เก็บรวบรวมข้อมูลฟ้าอากาศของทุกๆ แปลงทดลองจากสถานีอุตุนิยมวิทยาในพื้นที่ใกล้เคียง ข้อมูลที่เก็บรวบรวมประกอบด้วย ปริมาณน้ำฝน (มม.) อุณหภูมิสูงสุด อุณหภูมิต่ำสุด (°ซ.) และความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศ (เปอร์เซ็นต์)

2. **ข้อมูลดิน**

ทำการเก็บตัวอย่างดินจากแปลงเกษตรกร ตำบลหนองแซง อำเภอบ้านแฮด จังหวัดขอนแก่น แล้วนำมาวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ และทางเคมีของดิน ได้แก่ เนื้อดิน ปริมาณอินทรียวัตถุในดิน

(OM) สภาพความเป็นกรด-ด่าง (pH) ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (total N) ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (available P) และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (exchangeable K)

3. การบันทึกข้อมูลผลผลิต และองค์ประกอบผลผลิต

บันทึกข้อมูล ความสูงต้นจำนวน 2 ครั้ง คือ เมื่อข้าวมีอายุ 70, 124 วัน หลังปลูก ค่าความเขียวใบ (SCMR) จำนวน 4 ครั้ง คือ เมื่อข้าวมีอายุ 70, 85, 104, และ 124 วันหลังปลูก จำนวนหน่อ พื้นที่ใบ จำนวนรวง เปอร์เซ็นต์เมล็ดดี ความกว้างเมล็ดข้าวเปลือก ความยาวเมล็ดข้าวเปลือก น้ำหนัก 100 เมล็ด น้ำหนักลำต้นแห้ง และปริมาณแอนโทไซยานินในระยะเก็บเกี่ยว

4. การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานิน

นำตัวอย่างเมล็ดข้าวกล้อง ซึ่งกะเทาะเปลือกและบดละเอียดแล้ว ไปชั่งให้ได้น้ำหนัก 0.2 กรัม นำตัวอย่างใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 14 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย ethanol-0.1%TFA (trifluoroacetic acid) ปริมาตร 10 มิลลิลิตรลงในหลอดตัวอย่าง ทิ้งให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำสารที่ได้มาปั่นเหวี่ยงโดยใช้ความเร็วรอบ 4000 rpm เป็นเวลา 10 นาที เทสารสกัดลงใน glass syringe ขนาด 10 มิลลิลิตรที่ติดตั้ง nylon membrane filter ขนาด 4.5 ไมครอน เพื่อทำการกรองสารสกัดตัวอย่าง นำสารสกัดที่ผ่านการกรอง ไปวิเคราะห์หาปริมาณสารแอนโทไซยานิน โดยใช้วิธี ซึ่งดัดแปลงจาก Ryu et al. (2003) แล้วอ่านผลวิเคราะห์ด้วยเครื่อง spectrophotometer (Jenway 7310) โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 nm

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลของลักษณะต่างๆ มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยแยกเป็นการวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) แต่ละสภาพแวดล้อม การวิเคราะห์ความแปรปรวนรวม (combined analysis of variance) ซึ่งการวิเคราะห์มีขั้นตอนการดำเนินการดังนี้

1. การวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance)

นำข้อมูลของลักษณะต่างๆ ในการทดลองที่ 1 มาวิเคราะห์ความแปรปรวนตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design : CRD) ส่วนการทดลองที่ 2 ได้วิเคราะห์ความแปรปรวนตามแผนการทดลอง factorial in CRD แล้วเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ย ตามวิธี Least Significant Difference Test (LSD) (Gomez and Gomez, 1984)

2. การวิเคราะห์ความแปรปรวนรวม (combined analysis of variance)

นำข้อมูลของลักษณะที่ศึกษาที่เก็บรวบรวมจากทั้ง 3 การทดลอง มาวิเคราะห์ความแปรปรวนรวม เพื่อศึกษาปฏิกิริยาสัมพันธ์ ระหว่างพันธุ์ข้าวและสภาพแวดล้อม ตามรูปแบบการวิเคราะห์ความแปรปรวนรวมของแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ในหลายสภาพแวดล้อม และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่าง ค่าเฉลี่ยตามวิธี Least Significant Difference Test (LSD) (Gomez and Gomez, 1984)

ผลการทดลอง

ข้อมูลสภาพฟ้าอากาศและลักษณะของดินที่ใช้ในการทดลอง

พื้นที่ทดลองมีองค์ประกอบสภาพฟ้าอากาศที่แตกต่างกัน โดยจังหวัดขอนแก่น มีค่าเฉลี่ยอุณหภูมิสูงสุดและต่ำสุดที่ 32.41 องศาเซลเซียส และ 22.90 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ยที่ 90.36 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณน้ำฝนเฉลี่ย 5.10 มิลลิเมตรต่อวัน ส่วนที่จังหวัดสกลนคร มีค่าเฉลี่ยอุณหภูมิสูงสุดและต่ำสุดที่ 32.56 องศาเซลเซียส และ 24.27 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ยที่ 84.42 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณน้ำฝนเฉลี่ย 6.06 มิลลิเมตร (**Figure 1**)

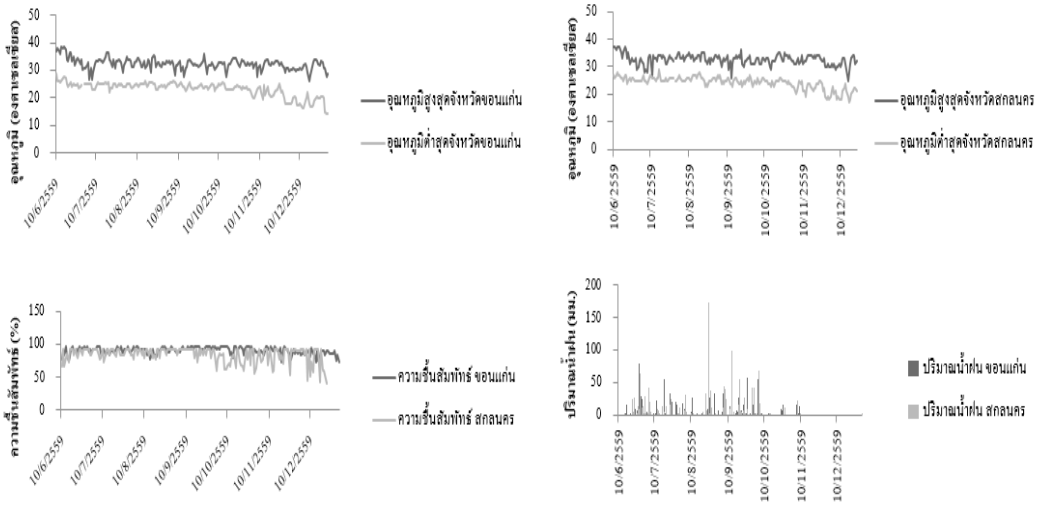

Figure 1 Minimum – maximum temperature, relative humidity and amount of rain during the experiment at Khon Kaen and Sakon Nakhon province

ผลของการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพของดินที่ใช้ในการทดลองที่ได้จากแปลงเกษตรกร ตำบลหนองแซง อำเภอบ้านแฮด จังหวัดขอนแก่น พบว่าเนื้อดินมีเปอร์เซ็นต์สัดส่วนของทราย ดินทรายแป้ง และดินเหนียว ที่ 87.48, 9.79 และ 2.73 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งจากผลการวิเคราะห์สามารถระบุได้ว่าดินที่ใช้ในการทดลองมีลักษณะของเนื้อดินเป็นดินทราย (**Table 2**) และผลของการวิเคราะห์ลักษณะทางเคมีของดิน พบว่า ดินที่ใช้ในการทดลองมีความเป็นกรด-ด่างของดินที่ระดับ 5.95 ค่าการนำไฟฟ้าของดิน 0.046 mS/cm ค่าอินทรียวัตถุ 0.5 เปอร์เซ็นต์ เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนทั้งหมด 0.025 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืช 6.58 ppm และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 87.77 ppm (**Table 3**)

Table 2 Physical properties of soil sample

Soil sample	Sand	Silt	Clay	Soil
		(%)		Texture
Farmer field at Ban Haed district, Khon Kaen	87.48	9.79	2.73	Sandy

Table 3 Chemical properties of soil sample

Soil sample	pH	EC (mS/cm)	OM (%)	Total N (%)	Avai. P (ppm)	Exch. K (ppm)
Farmer field at Ban Hed district, Khon Kaen	5.95	0.046	0.5	0.025	6.58	87.77

การศึกษาความเป็นกรด-ด่างในดินที่มีผลต่อการสะสมแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าว

การศึกษาผลของความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของดินที่แตกต่างกัน 3 ระดับ ได้แก่ pH6, pH7, และ pH8 พบว่าระดับความเป็นกรด-ด่างไม่มีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินในการทดลองที่มหาวิทยาลัยขอนแก่น ในทางตรงข้ามระดับความเป็นกรด-ด่างที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้ปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ ($p<0.05$) ในการทดลองที่จังหวัดสกลนคร (**Table 4, 5**) ระดับความเป็นกรด-ด่างมีผลต่อลักษณะทางการเกษตรของพืช โดยมีผลต่อความสูงที่ปลูกในจังหวัดสกลนคร และ ค่า SCMR ที่อายุ 70 และ 85 วัน ที่ปลูกในจังหวัดสกลนคร และมีผลต่อจำนวนหน่อ จำนวนรวง น้ำหนักแห้งราก และ พื้นที่ใบ ทั้งสองสถานที่ โดยลักษณะดังกล่าวนั้นความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.01$) (**Table 4, 5**) และข้าวที่ปลูกในดินที่มี pH6 มีลักษณะทางการเกษตรที่ดีกว่าข้าวที่ปลูกใน pH7 และ pH8 เนื่องจากเป็นระดับ pH ที่พืชสามารถดูดใช้ธาตุอาหารที่จำเป็นในการเจริญเติบโตได้ เมื่อพิจารณาพันธุ์ข้าว พบว่า ข้าวทั้ง 4 สายพันธุ์มีปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ $p<0.01$ ทั้ง 2 สถานที่ (**Table 4, 5**) โดยที่มหาวิทยาลัยขอนแก่น ข้าวสายพันธุ์ ULR017 มีปริมาณแอนโทไซยานินมากที่สุด คือ 42.53 มิลลิกรัม/100 กรัมเมล็ด รองลงมาเป็น ULR046, ULR238 และ LLR391 โดยมีปริมาณแอนโทไซยานิน 37.54 27.68 และ 7.61 มิลลิกรัม/100 กรัมเมล็ด ตามลำดับ (**Table 4**) ในขณะที่การทดลอง ณ จังหวัดสกลนคร พบว่า ข้าวพันธุ์ ULR238 มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุดที่ 91.53 มิลลิกรัม/100 กรัมเมล็ด รองลงมาเป็น ULR046, ULR017 และ LLR391 มีปริมาณแอนโทไซยานิน 72.88 55.55 และ 8.39 มิลลิกรัม/100 กรัมเมล็ด ตามลำดับ (**Table 5**) นอกจากนั้นพันธุ์ข้าวยังมีลักษณะทางการเกษตรที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ $p<0.01$ คือ SCMR ที่อายุ 85 วัน จำนวนหน่อ จำนวนรวง พื้นที่ใบ ความยาวเมล็ด เปอร์เซ็นต์เมล็ดดี น้ำหนัก 100 เมล็ด ส่วนความสูง 124 วัน ความแตกต่างทางสถิติที่ระดับ $p<0.05$ ของการทดลองที่มหาวิทยาลัยขอนแก่น

แต่การทดลอง ณ จังหวัดสกลนคร พบว่า ลักษณะทางการเกษตรที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ $p<0.01$ คือ ความสูงที่ 124 วัน จำนวนหน่อ จำนวนรวง น้ำหนักแห้งต้น พื้นที่ใบ ความกว้างเมล็ด ความยาวเมล็ด เปอร์เซ็นต์เมล็ดดีและน้ำหนัก 100 เมล็ด (**Table 4, 5**)

Table 4 Analysis of the variance of the agronomic traits and anthocyanin contents of four rice varieties group under different soil pH levels at KKU in the wet season of 2016

	Anthocyanin (mg/100gseed)	PH (cm)	SCMR 70 DAS	SCMR 85 DAS	Tiller no.	Panicle no.	SDW (g)	LA (cm^2)	SW (mm)	SL (mm)	%FGW	100 SW (g)
pH6	31.35	120	35.14 a	38.50 a	7.3 a	4.4 a	20.71 a	1072.1 a	3.28	10.90	64.3	3.29
pH7	30.18	117	32.88 b	37.65 ab	5.2 b	3.6 b	14.95 b	749.3 b	3.87	10.89	62.6	3.31
pH8	24.99	118	31.25 b	36.40 b	5.5 b	3.6 b	14.04 b	719.0 b	3.30	10.94	66.2	3.30
Factor A	ns	ns	**	**	**	**	**	**	ns	ns	ns	ns
ULR017	42.53a	120 b	34.34	38.99 a	4.1 c	3.2 b	13.39 b	773.3 b	3.63	11.41 a	63.3 b	3.69a
ULR046	37.54ab	121 ab	32.18	37.89 ab	5.0 b	3.4 b	14.08 b	772.6 b	3.49	11.46 a	57.0 b	3.74a
ULR238	27.68b	125 a	33.31	37.07 bc	4.6 bc	3.6 b	14.60 b	805.5 b	3.37	10.64 b	56.7 b	3.35a
LLR391	7.61c	109 c	32.53	36.12 c	10.3 a	5.3 a	24.18 a	1035.8 a	3.44	10.14 c	80.6 a	2.41b
Factor B	**	*	ns	**	**	**	**	**	ns	**	**	**
A x B	ns	**	ns	ns	**	ns	*	**	ns	*	ns	ns

ns, * and ** are not significant, significantly different at $P \leq 0.05$ and $P \leq 0.01$, respectively.

PH=plant height, SCMR=SPAD Chlorophyll meter reading, SDW=shoot dry weight, LA=leaf area index, SW=seed width, SL=seed length, %FGW=filled grain weight percentage, 100 SW=100 seed weight.

Table 5 Analysis of the variance of the agronomic traits and anthocyanin contents of four rice varieties group under different soil pH levels at Sakon Nakhon (SKN) in the wet season of 2016

	Anthocyanin (mg/100gseed)	PH 124 DAS (cm)	SCMR 70 DAS	SCMR 85 DAS	Tiller no.	Panicle no.	SDW (g)	LA (cm^2)	SW (mm)	SL (mm)	%FGW	100 SW (g)
pH6	72.09 a	136 a	28.21	36.89	6.1 a	4.1 a	17.11 a	865.4 a	3.23	10.91	83.0	3.35
pH7	60.23 ab	127 b	27.93	34.21	3.5 b	3.1 b	12.25 b	680.1 b	3.25	10.69	82.0	3.27
pH8	38.95 b	123 b	28.13	34.08	3.1 b	2.8 b	10.71 c	593.6 b	3.26	10.83	78.9	3.27
Factor A	*	**	ns	ns	**	**	**	**	ns	ns	ns	ns
ULR017	55.55 b	128 b	28.45	35.56	3.8 b	2.9 b	11.49 c	572.1 c	3.43 a	10.65 b	73.5 c	3.46 a
ULR046	72.88 ab	127 b	27.01	34.98	4.1 b	2.8 b	11.36 c	632.6 c	3.47 a	11.08 a	82.3 b	3.46 a
ULR238	91.53 a	124 b	29.40	35.60	3.5 b	3.3 b	12.67 b	753.0 b	3.28 b	11.23 a	77.9 bc	3.42 a
LLR391	8.39 c	136 a	27.50	34.08	5.4 a	4.3 a	17.90 a	894.4 a	2.80 c	10.27 b	91.5 a	2.84 b
Factor B	**	**	ns	ns	**	**	**	**	**	**	**	**
A x B	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	*	ns

ns, * and ** are not significant, significantly different at $P \leq 0.05$ and $P \leq 0.01$, respectively.

PH=plant height, SCMR= SPAD Chlorophyll meter reading, SDW=shoot dry weight, LA=leaf area index, SW=seed width, SL=seed length, %FGW=filled grain weight percentage, 100 SW=100 seed weight.

แก่นเกษตร 48 ฉบับที่ 3: 483-500 (2563)./doi:10.14456/kaj.2020.44.

จากการศึกษาอิทธิพลของความเป็นกรด-ด่างของดินต่อสีของเมล็ดข้าว พบว่า เมื่อข้าวพื้นเมืองทั้ง 4 สายพันธุ์ ปลูกในดินมีความเป็นกรด-ด่างที่ระดับ 6, 7 และ 8 ส่งผลให้สีของเมล็ดข้าวกล้องที่ทำการทดสอบที่จังหวัดขอนแก่นและสกลนคร มีสีที่แตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ข้าวและระดับความเป็นกรด-ด่างที่ได้รับ โดยรวมสีของข้าวกล้องที่ทดลองในจังหวัดสกลนครมีความเข้มกว่าข้าวที่ปลูกทดลองในจังหวัดขอนแก่น (Figure 2)

Khon Kaen Sakon Nakhon

Figure 2 Seed coat color of 4 rice varieties under 3 pH conditions at Khon Kaen and Sakon Nakhon province

เมื่อนำปริมาณแอนโทไซยานินของข้าวทั้ง 4 สายพันธุ์ที่ทดสอบ ณ จังหวัดขอนแก่น มาเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย พบว่า ปริมาณแอนโทไซยานินที่สะสมอยู่ในเมล็ดของข้าวสายพันธุ์ ULR017 ไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปตามระดับความเป็นกรด-ด่างที่ได้รับ สายพันธุ์ ULR046 เมื่อได้รับความเป็นกรด-ด่างที่ระดับ 7 ส่งผลปริมาณแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้นเป็น 47.85 มิลลิกรัม/ 100 กรัมเมล็ด และลดลงเมื่อได้รับความเป็นกรด-ด่างที่ระดับ 8 แต่การเพิ่มขึ้นและลดลง ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนสายพันธุ์ ULR238 เมื่อได้รับความเป็นกรด-ด่างที่ระดับ 6 ส่งผลให้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงที่สุดคือ 39.46 มิลลิกรัม/ 100 กรัมเมล็ด และลดลงเมื่อได้รับความเป็นกรด-ด่างที่ระดับ 7 และคงที่เมื่อได้รับความเป็นกรด-ด่างที่ระดับ 8 แต่ก็ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติของปริมาณแอนโทไซยานิน และสายพันธุ์ LLR391 ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอนโทไซยานินเมื่อได้รับความเป็นกรด-ด่างทั้ง 3 ระดับ (Figure 3) ในขณะที่งานทดลองที่จังหวัดสกลนคร เมื่อนำปริมาณแอนโทไซยานินของข้าวทั้ง 4 สายพันธุ์มาเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย พบว่า ข้าวสายพันธุ์ ULR017 เมื่อปลูกในดินที่มีความเป็นกรด-ด่างที่สูงขึ้นปริมาณแอนโทไซยานินที่สะสมอยู่ในเมล็ดมีแนวโน้มที่ลดลง ส่วนสายพันธุ์ ULR046 มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณแอนโทไซยานิน เมื่อได้รับความเป็นกรด-ด่างของดินที่ระดับ 7 และลดลงเมื่อได้รับความเป็นกรด-ด่างของดินที่ระดับ 8 ส่วนสายพันธุ์ ULR238 เมื่อได้รับความเป็นกรด-ด่างของดินที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณแอนโทไซยานินลดลงและเริ่มคงที่ และสายพันธุ์ ULR391 พบว่า ระดับความเป็นกรด-ด่างไม่มีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินที่สะสมอยู่ในเมล็ดข้าวกล้อง (Figure 3)

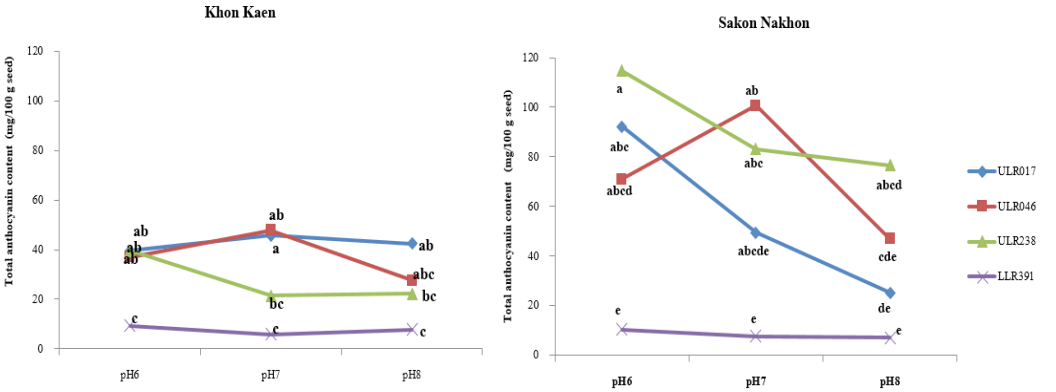

Figure 3 Anthocyanin content of 4 rice varieties under 3 pH conditions at Khon Kaen and Sakon Nakhon provinces

ระดับไนโตรเจนในดินที่มีผลต่อการสะสมแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวพื้นเมืองสีดำ

การศึกษาระดับไนโตรเจนในดิน 4 ระดับที่มีผลต่อการสะสมแอนโทไซยานินของข้าวพื้นเมืองทั้ง 4 สายพันธุ์ ที่จังหวัดขอนแก่นเท่านั้น เมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวน พบว่า ระดับไนโตรเจนที่แตกต่างกันมีผลทำให้ความสูงต้นข้าว 70 วันหลังปลูก จำนวนหน่อ จำนวนรวง และน้ำหนักแห้งต้นแตกต่างกันทางสถิติทั้ง 2 สถานที่ (**Table 6 and 7**) โดยเมื่อเพิ่มอัตราของไนโตรเจน มีผลทำให้มีจำนวนหน่อต่อกอ จำนวนรวง ความสูง และน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้น นอกจากนี้การเพิ่มอัตราไนโตรเจนทำให้มีค่าความเขียวใบมากขึ้น ส่งผลให้ข้าวมีการสังเคราะห์ด้วยแสงที่ดี และยังพบปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์และอัตราไนโตรเจนในการทดลองที่มหาวิทยาลัยขอนแก่นด้วย โดยการตอบสนองของพันธุ์เมื่อมีอัตราของไนโตรเจนที่เพิ่มขึ้นทำให้ปริมาณแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้นด้วย (**Table 6**) ในขณะที่การทดลองที่สกลนครไม่พบปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์และอัตราไนโตรเจน (**Table 7**) การทดลองที่มหาวิทยาลัยขอนแก่น ข้าวพันธุ์ ULR046 มีปริมาณแอนโทไซยานินมากที่สุด คือ 81.61 มิลลิกรัม/100 กรัมเมล็ด รองลงมาเป็น ULR017 ULR238 และ LLR391 โดยมีปริมาณแอนโทไซยานิน 67.90 46.44 และ 9.90 มิลลิกรัม/100 กรัมเมล็ด ตามลำดับ (**Table 6**) ในขณะที่การทดลอง ณ จังหวัดสกลนคร พบว่า ข้าวพันธุ์ ULR238 มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุดที่ 250.08 มิลลิกรัม/100 กรัมเมล็ด รองลงมาเป็น ULR046 ULR017 และ LLR391 มีปริมาณแอนโทไซยานิน 175.73 175.73 และ 23.17 มิลลิกรัม/100 กรัมเมล็ด ตามลำดับ (**Table 7**) แสดงให้เห็นว่า ปริมาณแอนโทไซยานินในข้าวไร่สายพันธุ์ ULR238 มีปริมาณแอนโทไซยานิน ณ งานทดลองจังหวัดสกลนครสูงกว่าข้าวนาสวนสายพันธุ์ LLR391 ถึง 10 เท่า (**Table 7**) และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณแอนโทไซยานิน ทั้ง 2 สถานที่ พบว่า มีปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างสถานที่กับสายพันธุ์ข้าวซึ่งแสดงให้เห็นว่า การตอบสนองของสายพันธุ์ข้าวเมื่อเปลี่ยนแปลงสถานที่ปลูกมีการตอบสนองที่แตกต่างกัน ซึ่งการตอบสนองดังกล่าว ยังส่งผลให้ปริมาณแอนโทไซยานินที่สะสมอยู่ในเมล็ดข้าวแต่ละสายพันธุ์แตกต่างกันไปด้วย (**Table 8**)

Table 6 Analysis of variance of the agronomic traits and anthocyanin contents of four rice varieties group under different nitrogen fertilizer levels (Exp. 3) at KKU in the wet season of 2016

	Anthocyanin	PH (cm)	SCMR	SCMR	Tiller	Panicle	SDW	LA	SW	SL	100 SW
	(mg/100gseed)		70 DAS	85 DAS	no.	no.	(g)	(cm^2)	(mm)	(mm)	(g)
1.90 kg N/rai	29.29 b	122 b	34.71 c	63.01 c	5.1 c	3.8 b	15.9 d	864.3 c	3.28	10.77	3.40
3.75 kg N/rai	57.44 a	132 a	36.70 b	68.61 b	7.3 b	4.4 b	20.3 c	1020.3 c	3.28	10.94	3.41
5.65 kg N/rai	**60.81 a**	132 a	39.08 a	69.72 ab	7.9 ab	5.7 a	24.5 b	1289.6 b	3.28	11.15	3.40
7.50 kg N/rai	58.10 a	134 a	37.07 b	70.84 a	8.4 a	6.1 a	27.6 a	1495.6 a	3.31	11.01	3.43
Factor A	**	**	**	**	**	**	**	**	ns	ns	ns
ULR017	67.69 a	131 b	38.68 a	71.38 a	5.3 b	3.6 c	17.4 a	935.6 c	3.62 a	11.32 a	3.90 a
ULR046	**81.61 a**	131 b	38.11 a	69.90 a	5.9 b	4.1 bc	18.5 b	1177.5 b	3.59 a	11.67 a	3.86 a
ULR238	46.44 b	136 a	36.17 b	70.59 a	5.6 b	4.8 b	20.7 c	1083.4 bc	3.25 b	10.52 b	3.35 b
LLR391	9.90 c	121 c	34.59 b	60.31 b	11.9 a	7.4 a	31.7 c	1473.3 a	2.69 c	10.36 b	2.54 c
Factor B	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
A x B	**	ns	ns	ns	ns	*	**	ns	ns	ns	**

ns, * and ** are not significant, significantly different at $P \leq 0.05$ and $P \leq 0.01$, respectively.

PH=plant height, SCMRSPAD Chlorophyll meter reading, SDW=shoot dry weight, LA=leaf area index, SW=seed width, SL=seed length, 100 SW=100 seed weight.

Table 7 Analysis of variance of the agronomic traits and anthocyanin contents of four rice varieties group under different nitrogen fertilizer levels (Exp. 3) at SKN in the wet season of 2016

	Anthocyanin (mg/100g seed)	PH (cm)	SCMR 70 DAS	SCMR 85 DAS	Tiller no.	Panicle no.	SDW (g)	LA (cm^2)	SW (mm)	SL (mm)	100SW (g)
1.90 kg N/rai	145.00	132 c	28.80	35.91 b	5.3 c	3.5 c	13.2 d	735.1 c	3.28	10.59 ab	3.40
3.75 kg N/rai	131.14	138 bc	28.76	37.99 a	6.5 b	4.6 b	19.7 c	1186.2 b	3.25	10.47 b	3.38
5.65 kg N/rai	162.15	143 b	29.51	38.73 a	7.5 a	5.3 ab	23.9 b	1317.0 ab	3.23	10.82 a	3.38
7.50 kg N/rai	171.26	150 a	30.83	39.69 a	7.1 ab	5.7 a	26.1 a	1421.5 a	3.28	10.69 ab	3.26
Factor A	ns	**	ns	**	**	**	**	**	ns	*	ns
ULR017	175.73 b	141	29.80	38.82 a	5.4 b	3.6 b	17.5 b	1017.5 b	3.47 a	10.76 b	3.54 a
ULR046	175.73 b	142	28.27	37.93 ab	5.4 b	3.8 b	18.0 b	1111.0 b	3.49 a	11.07 a	3.64 a
ULR238	250.08 a	142	30.67	39.28 a	4.9 b	4.3 b	18.0 b	1106.8 b	3.27 b	10.71 b	3.38 b
LLR391	23.17 c	139	29.15	36.29 b	10.6 a	7.4 a	29.5 a	1424.4 a	2.81 c	10.03 c	2.86 c
Factor B	**	ns	ns	**	**	**	**	**	**	**	**
A x B	ns	ns	ns	ns	ns	ns	**	ns	*	**	ns

ns, * and ** is not significant, significantly different at $P \leq 0.05$ and $P \leq 0.01$, respectively.

PH=plant height, SCMR=SPAD Chlorophyll meter reading, SDW=shoot dry weight, LA=leaf area index, SW=seed width, SL=seed length, 100 SW=100 seed weight.

แก่นเกษตร 48 ฉบับพิเศษ 3: 483-500 (2563)./doi:10.14456/kaj.2020.44.

Table 8 Mean square of anthocyanin of 4 black glutinous rice varieties as affected by 4 soil nitrogen levels at Khon Kaen and Sakon Nakhon Province

Source of variation	Mean square
Location	326294**
Nitrogen fertilizer levels	5661 ^{ns}
Varieties	108770**
Nitrogen fertilizer levels x Varieties	2640 ^{ns}
Location x Nitrogen fertilizer levels	2959 ^{ns}
Location x Varieties	50046**
Location x Nitrogen fertilizer levels x Varieties	1170 ^{ns}
C.V. (L)(%)	72.65
C.V. (LxV)(%)	49.35

ns, * and ** is not significant, significantly different at P≤0.05 and P≤0.01, respectively.

จากการศึกษาอิทธิพลของระดับไนโตรเจนในดิน พบว่า เมื่อข้าวพื้นเมืองทั้ง 4 สายพันธุ์ ได้รับอัตราปุ๋ยที่ระดับ 1.9 3.75 5.65 และ 7.5 กิโลกรัมไนโตรเจน/ไร่ สังเกตได้ว่า ที่จังหวัดขอนแก่นข้าวสายพันธุ์ต่างๆ มีการเปลี่ยนแปลงของสีเมล็ดข้าวกล้องที่แตกต่างกัน โดยข้าวบางสายพันธุ์มีสีที่เข้มขึ้น แต่ในบางสายพันธุ์มีสีที่จางลง เมื่อได้รับปุ๋ยไนโตรเจนในอัตราที่สูงขึ้น ในทำนองเดียวกับที่จังหวัดสกลนคร มีการตอบสนองของสีของเมล็ดข้าวกล้องของข้าวทั้ง 4 พันธุ์ เช่นเดียวกันกับการทดสอบที่จังหวัดขอนแก่น และข้าวที่ทดสอบในจังหวัดสกลนครมีสีเข้มกว่าข้าวที่ทดลองในจังหวัดขอนแก่น (**Figure 4**)

Khon Kaen Sakon Nakhon

Figure 4 Seed coat color of 4 rice varieties under 4 nitrogen level conditions at Khon Kaen and Sakon Nakhon province

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย ปริมาณแอนโทไซยานินของข้าวทั้ง 4 พันธุ์ในการทดลองที่ขอนแก่น พบว่า พันธุ์ ULR017 มีปริมาณแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้น เมื่อได้รับปุ๋ยไนโตรเจนที่ระดับ 3.75 กิโลกรัมไนโตรเจน/ ไร่ แต่เมื่อได้รับปุ๋ยไนโตรเจนที่ระดับ 5.65 กิโลกรัมไนโตรเจน/ ไร่ มีปริมาณลดลง และมีปริมาณคงที่เมื่อได้รับปุ๋ยไนโตรเจนที่ระดับ 7.50 กิโลกรัมไนโตรเจน/ ไร่ ส่วนสายพันธุ์ ULR046 มีแนวโน้มของปริมาณแอนโทไซยานินที่เพิ่มขึ้นเมื่อได้รับอัตราปุ๋ยไนโตรเจนตั้งแต่ระดับ 1.9 กิโลกรัมไนโตรเจน/ ไร่ ถึง 5.65 กิโลกรัมไนโตรเจน/ ไร่ และเริ่มมีปริมาณคงที่ในระดับ 7.50 กิโลกรัมไนโตรเจน/ ไร่ ส่วนพันธุ์ ULR238 มีปริมาณแอนโทไซยานินที่ลดลงเมื่อได้รับอัตราที่ระดับ 3.75 กิโลกรัมไนโตรเจน/ไร่ และมีปริมาณที่เพิ่มขึ้นในระดับปุ๋ย 5.65 กิโลกรัมไนโตรเจน/ ไร่ แล้วปริมาณแอนโทไซยานินเริ่มคงที่ และพันธุ์ LLR391 ไม่มีการตอบสนองของปริมาณแอนโทไซยานิน (Figure 5) ในขณะที่งานทดลองที่สกลนคร เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย ปริมาณแอนโทไซยานินของข้าวทั้ง 4 พันธุ์ พบว่า พันธุ์ ULR238 เมื่อได้รับอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ระดับ 3.75 กิโลกรัมไนโตรเจน/ไร่ ปริมาณแอโทไซไซยานินลดลง และมีปริมาณที่เพิ่มขึ้นในระดับอัตราปุ๋ย 5.65 และ 7.5 กิโลกรัม ไนโตรเจน/ไร่ ส่วนพันธุ์ ULR107 ปริมาณแอนโทไซยานินคงที่เมื่อได้รับปุ๋ยอัตราปุ๋ย 3.75 กิโลกรัมไนโตรเจน/ไร่ และเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับอัตราปุ๋ยที่ระดับ 5.65 กิโลกรัมไนโตรเจน/ไร่ และมีปริมาณลดลงในระดับปุ๋ย 7.5 กิโลกรัมไนโตรเจน/ไร่ ส่วนพันธุ์ ULR046 เมื่อได้รับปุ๋ยไนโตรเจนที่อัตรา 3.75 กิโลกรัมไนโตรเจน/ไร่ ทำให้ปริมาณแอนโทไซยานินลดลง แล้วปริมาณแอนโทไซยานินพิ่มเมื่อได้รับปุ๋ยในอัตรา 5.65 กิโลกรัมไนโตรเจน/ไร่ หลังจากนั้นปริมาณแอนโทไซยานินเริ่มคงที่ ซึ่งสังเกตได้ว่าปริมาณแอนโทไซยานินของกลุ่มข้าวไร่ทั้ง 3 พันธุ์ มีการเพิ่มขึ้นและลดลงในอัตราปุ๋ยบางอัตรา แต่การเพิ่มขึ้นและลดลงที่พบนั้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และสำหรับพันธุ์ LLR391 เมื่อข้าวได้รับอัตราปุ๋ยที่เพิ่มขึ้นไม่พบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอนโทไซยานินที่สะสมอยู่ในเม็ดข้าวกล้อง (Figure 5)

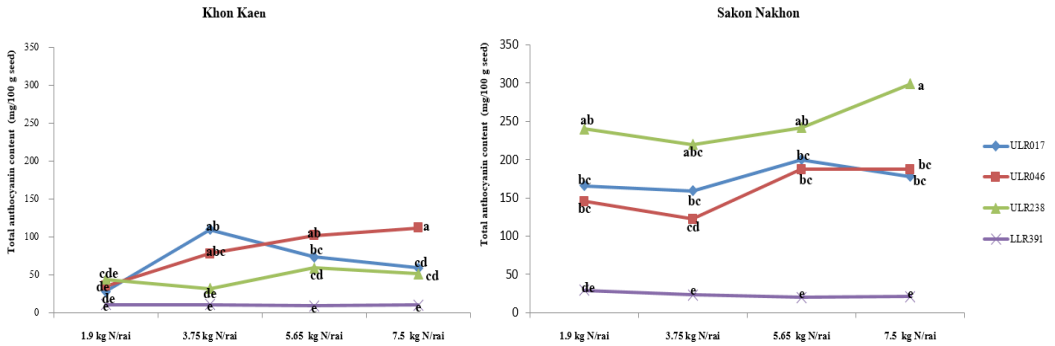

Figure 5 Anthocyanin content of 4 rice varieties under 4 nitrogen level conditions at Khon Kaen and Sakon Nakhon province

วิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาผลของความเป็นกรด-ด่างของดิน และระดับไนโตรเจนในดินที่มีผลต่อการสะสมแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวสีดำ ซึ่งทำการทดสอบใน 2 สถานที่ คือ จังหวัดขอนแก่น และจังหวัดสกลนคร โดยมีละติจูดและลองจิจูด ดังนี้ 16°27'38" เหนือ 102°48'31"ใต้ และ 17°23' 26" เหนือ 103°43'1" ใต้ ตามลำดับ ซึ่งละติจูดและลองจิจูดที่แตกต่างกัน มีผลต่อสภาพอากาศในแต่ละสถานที่ที่แตกต่างกันไปด้วย ดังข้อมูลสภาพอากาศ (Figure 1) สภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน ทำให้ปริมาณแอนโทไซยานินแตกต่างกันออกไป (Somsana, et al., 2013) นอกจากนั้นการสะสมแอนโทไซยานินมีวิถีการสร้างและการสะสมที่ค่อนข้างซับซ้อน ข้าวแต่ละสายพันธุ์มีการตอบสนองต่อสภาพแวดล้อมที่ได้รับแตกต่างกัน (Hirratsuka et al., 2001)

การทดสอบความเป็นกรด-ด่างของดิน เมื่อข้าวได้รับ pH ในดินที่แตกต่างกัน 3 ระดับ (pH6 pH7 และ pH8) พบว่า ปริมาณแอนโทไซยานินลดลงเมื่อข้าวได้รับ pH8 เนื่องจาก pH ในดินมีผลต่อการดูดใช้ธาตุอาหารของพืชซึ่ง pH ในดินที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 5.6 -7.0 ดังนั้น เมื่อ pH ดินเพิ่มขึ้นการเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารก็จะลดลง เช่น ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส ที่เป็นส่วนประกอบในการที่จะนำไปสร้างแอนโทไซยานิน (Jugsujinda and Patrick, 1976) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบระหว่างข้าวไร่และข้าวนาสวน พบว่าข้าวไร่มีความทนทานต่อระดับความเป็นกรด-ด่างของดินได้ดีกว่าข้าวนาสวน จึงทำให้ ข้าวไร่มีปริมาณแอนโทไซยานิน สูงกว่าข้าวนาสวน (Fageria, et al., 2004) นอกจากนั้นในการทดลองครั้งนี้ยังพบว่า การเพิ่มขึ้นของระดับความเป็นกรด-ด่าง มีผลทำให้ปริมาณแอนโทไซยานินลดลง ทั้งนี้เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของ pH ในดินจะทำให้ลดการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน และกระตุ้น (up-regulation) การสร้างฟลาโวน (flavone) และฟลาโวนอยด์ (flavonol) จึงทำให้การสะสมแอนโทไซยานินลดลง (Zhang, et al., 2014) นอกจากนั้น Zhang et al. (2014) ยังได้เสนอว่า ขนาดเมล็ดก็มีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานิน เนื่องจากแอนโทไซยานินอยู่ที่บริเวณเยื่อหุ้มเมล็ด (Yoshimura, et al., 2012)

นอกจากนั้นยังสังเกตได้ว่า สถานที่ (location) มีผลต่อปริมาณแอนโธไซยานินอย่างมีนัยสำคัญ โดยค่าเฉลี่ยรวมปริมาณแอนโทไซยานินของข้าวทั้ง 4 พันธุ์ที่ทดสอบที่จังหวัดขอนแก่นมีปริมาณแอนโทไซยานินน้อยกว่า การทดสอบที่สกลนคร (Figure 3, 4) อาจเนื่องมาจากในช่วงที่ข้าวเข้าสู่ระยะสุกแก่ ซึ่งเป็นระยะที่ข้าวสีดำมีการสะสมของแอนโทไซยานินที่เยื่อหุ้มเมล็ด สภาพอากาศที่จังหวัดสกลนครมีปริมาณน้ำฝนมากกว่าจังหวัดขอนแก่น และอาจเป็นผลทำให้ท้องฟ้ามีเมฆมาก (Figure 1) ทำให้แสงที่ผ่านลงมายังพืชได้น้อยลง จึงทำให้ปริมาณแอนโทไซยานินที่สะสมอยู่ในเมล็ดข้าวที่ทดสอบที่จังหวัดสกลนครมีปริมาณที่สูงกว่า สังเกตได้จากข้อมูลความชื้นสัมพัทธ์และปริมาณน้ำฝน ซึ่งเห็นได้ว่า ในช่วงที่เมล็ดสุกแก่เปอร์เซ็นต์ความชื้นและปริมาณน้ำฝนของที่จังหวัดสกลนครมีค่าสูงกว่าที่ขอนแก่น

การทดสอบระดับไนโตรเจนที่แตกต่างกัน 4 ระดับ (1.9 3.75 5.65 และ 7.5 กิโลกรัม ไนโตรเจน/ไร่) เมื่อข้าวได้รับปุ๋ยไนโตรเจนที่เพิ่มขึ้น พบว่า การทดสอบที่จังหวัดขอนแก่น มีการตอบสนองต่ออัตราปุ๋ย แต่ไม่มีการตอบสนองในการทดสอบที่จังหวัดสกลนครอย่างมีนัยสำคัญ แต่อย่างไรก็ตามในพันธุ์ข้าวไร่ 3 พันธุ์มีการตอบสนองต่ออัตราปุ๋ยโดยมีการเพิ่มของแอนโทไซยานินในเมล็ด (Table 6, 7) ซึ่งงานทดลองของ Markus and Geza (1998) ศึกษาอิทธิพลของปุ๋ยไนโตรเจนที่มีผลต่อสีขององุ่น โดยทำการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 0.34, 1.7 และ 3.4 กรัม/ต้น พบว่า อัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่สูงขึ้นมีผลกับการสะสมสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่ผิวขององุ่นในอัตราที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้มีปริมาณแอนโทไซยานินลดลง การวัดสีใบของข้าวช่วยติดตามพัฒนาการหลังการได้รับปุ๋ยไนโตรเจน โดยสามารถสังเกตได้จากการที่ข้าวได้รับปุ๋ยไนโตรเจนในอัตราที่สูงขึ้น ข้าวจะมีพัฒนาการดีขึ้นไม่ว่าจะเป็น การแตกกอ จำนวนรวง น้ำหนักแห้งต้นและพื้นที่ใบ ใน 2 สถานที่ ซึ่งส่งผลต่อความอุดมสมบูรณ์ของต้นข้าว จึงมีผลต่อประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสง (Peng, et al., 1996) และปริมาณแอนโทไซยานิน (Diaz, et al., 2006) แต่การทดลองนี้ข้าวนาสวนอัตราปุ๋ยไม่มีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ด เนื่องจากการปลูกข้าวนาสวนจะปลูกในพื้นที่ที่มีน้ำขังตลอดในช่วงฤดูกาลปลูก เมื่อนำมาปลูกในสภาพที่ดอน ซึ่งเป็นสภาพที่ไม่เหมาะสมในการเจริญเติบโตอาจส่งผลให้ข้าวเกิดความเครียด ทำให้ประสิทธิภาพการดูดใช้ธาตุอาหารลดลงและส่งผลต่อกระบวนการต่างๆ

ในต้นพืช และนอกจากปัจจัยที่ทำการศึกษายังพบอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการสะสมแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวพื้นเมืองสีดำ คือปัจจัยเรื่องพันธุกรรม

พันธุกรรมเป็นส่วนหนึ่งที่มีผลต่อการสร้างและสะสมแอนโทไซยานินของพืช ซึ่งการสร้างแอนโทไซยานินภายในพืช เป็นกระบวนการที่ทำงานต่อเนื่องถูกควบคุมด้วยหลายยีน ซึ่งลักษณะทางปริมาณสภาพแวดล้อมมีผลต่อการแสดงออก และการสะสมแอนโทไซยานินของพืชจะขึ้นอยู่กับช่วงอายุ ระยะเวลาการเจริญเติบโต และพัฒนาการ เช่น ในข้าวสาลี พบว่า การสะสมแอนไซยานินจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงระยะการสะสมน้ำหนักเมล็ด แต่จะลดลงเพียงเล็กน้อยในช่วงสุกแก่ (Knievel et al., 2009) และนอกจากนี้ อิทธิพลของสภาพแวดล้อมก็มีส่วนในการสร้างความแปรปรวนในลักษณะต่างๆ ที่พืชแสดงออกมา คือ เกิดจากความแปรปรวนของพืชที่ปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่ปลูก เกิดจากพันธุกรรมของพืชเอง ซึ่งแสดงออกผ่านยีนที่ควบคุม และเกิดจากปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างพันธุกรรมและสภาพแวดล้อม จึงทำให้การตอบสนองในการแสดงออกของพืชแตกต่างกันไปตามแต่ละสภาพแวดล้อมทำให้การแสดงออกของพืชเป็นเรื่องที่ซับซ้อน และยากที่จะบอกได้ว่าปัจจัยใดมีอิทธิพลต่อการแสดงออกมากน้อยกว่ากัน (Kang, 1998) และจากการศึกษาในครั้งนี้มี พบว่า ข้าวพันธุ์ LLR391 ซึ่งเป็นพันธุ์ข้าวนาสวนที่นำมาเปรียบเทียบเพียงพันธุ์เดียวที่ไม่มีการตอบสนองของปริมาณแอนโทไซยานินที่สะสมอยู่ในเมล็ดข้าวกล้อง เมื่อได้รับทั้ง 2 ปัจจัย ได้แก่ ความเป็นกรด-ด่าง ของดิน และระดับไนโตรเจนในดิน อาจเนื่องมาจากข้าวนาสวนที่มีสีดำมีลักษณะสีม่วงที่ปรากฏอยู่ในส่วนอื่นๆ นอกเหนือจากส่วนของเยื่อหุ้มเมล็ด แต่ในข้าวไร่นั้นมีสีม่วงเฉพาะส่วนของเยื่อหุ้มเมล็ดเป็นส่วนใหญ่

สรุปผลการทดลอง

ความเป็นกรด-ด่างของดินและระดับไนโตรเจนในดิน มีผลต่อการสะสมแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวสีดำ โดยระดับความเป็นกรด-ด่างของดินที่เพิ่มขึ้นทำให้มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชและทำให้การสะสมปริมาณแอนโทไซยานินมีแนวโน้มลดลง ในขณะที่อัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่เพิ่มขึ้นทำให้ข้าวมีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้นและมีแนวโน้มสะสมแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้น โดยข้าวไร่สายพันธุ์ ULR238 แสดงความสามารถในการสะสมแอนโทไซยานินสูงสุด

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยในครั้งนี้ได้รับการสนับสนุนจากศูนย์วิจัยปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อการเกษตรที่ยั่งยืน และโครงการ Food cluster มหาวิทยาลัยขอนแก่น โครงการเมธีวิจัยอาวุโส ศาสตราจารย์ สนั่น จอกลอย (Project No. RTA 6180002) และขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนครที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ทำการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

Ahuja, U., S.C. Ahuja, N. Chaudhary, and R. Thakrar. 2007. Red rices-past, present, and future. Asian Agri-History. 11: 291–304.

Chunthaburee, S., S. Sakuanrungsirikul, T. Wongwarat, J. Sanitchon, W. Pattanagul, and P. Theerakulpisut, 2016. Changes in anthocyanin content and expression of anthocyanin synthesis genes in seedlings of black glutinous rice in response to salt stress. Asian J. Plant Sci. 15: 56-65.

Deepa, G., V. Singh, and K.A. Naidu, 2008. Nutrient composition and physicochemical properties of Indian medicinal rice: Najavara. Food Chem. 106: 165–171.

Diaz, C., V. Saliba-Colombani, O. Loudet, P. Belluomo, L. Moreau, F. Daniel-Vedele, J. Morot-Gaudry, and C. Masclaux-Daubresse. 2006. Leaf yellowing and anthocyanin accumulation are two genetically independent strategies in response to nitrogen limitation in *Arabidopsis thaliana*. Plant Cell Physiol. 47: 74–83.

Dilip, G. and K. Tetsuya. 2007. Anthocyanins and anthocyanin-rich extracts: Role in

diabetes and eye function. Asia. Pac. J. Clin. Nutr. 16: 200-208.

Fageria, N.K., E.M. Castro, and V.C. Baligar. 2004. Response of upland rice genotypes to soil acidity. In The Red Soils of China, Wilson, M.J., He, Z., Yang, X., Eds.; Springer: Dordrecht, pp. 219-237.

Garcia, D.M., P.Z. Bassinello, D.R.P. Ascheri, J.L.R. Ascheri, J.B. Trovo, and R.M.A. Cobucci. 2010. Cooking quality of upland and lowland rice characterized by different methods. Ciencia. Tecnol. Alime. 31: 341-348.

Gomez, K.A., and A.A. Gomez. 1984. Statistical procedures for agricultural research, 3rd ed.; John Wiley and Sons: New York: USA, pp. 7-170.

Goufo, P., and H. Trindade. 2014. Rice antioxidants: phenolic acids, flavonoids, anthocyanins, proanthocyanidins, tocopherols, tocotrienols, γ-oryzanol, and phytic acid. Food Sci. Nutri. 2: 75–104.

Harukaze, A., M. Murata, and S. Homma. 1999. Analysis of free and bound phenolics in rice. Food Sci Technol Res. 5: 74–79.

Hiratsuka, S., H. Onodera, Y. Kawai, T. Kubo H. Itoh, and R. Wada. 2001. ABA and sugar effects on anthocyanin formation in grape berry cultured in vitro. Sci. Hortic. 90: 121– 130.

Iqbal, S., M.I. Bhanger, and F. Anwar. 2005. Antioxidant properties and components of some commercially available varieties of rice bran in Pakistan. Food Chem. 93: 265–272.

Jugsujinda, A., and J. W.H. Patrick. 1976. Growth and nutrient uptake by rice in a flooded soil under controlled aerobic-anaerobic and pH conditions. Agron. J. 69: 705-710.

Kang, M.S. 1998. Using genotype-by-environment interactions for crop cultivar development. Adv. Agron.62: 201-210.

Khush, G.S., and R.S Virk. 2000. Rice breeding: achievements and future strategies. J. Crop Improv. 27: 115-144.

Knievel, D.C., E.S.M. Abdel Aal, I. Rabalski, T. Nakamura, and P. Hucl. 2009. Grain color development and the inheritance of high anthocyanin blue aleurone and purple pericarp in spring wheat (*Triticum aestivum* L.). J. Cereal Sci. 50: 113-120.

Kumi, Y., T.K. Yuki, K. Kiyoshi, and K. Tadao. 2003. Sepal color variation of hydrangea macrophylla and vacuolar pH measured with a proton-selective microelectrode. Plant Cell Physiol. 44: 262-268.

Lanceras, J.C., Z.L. Huang, O. Naivikul, A. Vanavichit, V. Ruanjaichon, and S. Tragoonrun. 2000. Mapping of genes for cooking and eating qualities in Thai Jasmine rice (KDML 105). DNA Res. 7: 93–101.

Markus, K., and H. Geza. 1998. Interaction of nitrogen availity during bllom and light intensity during veraison. II. Effects on anthocyanin and phenolic development during grape ripening. Am. J. Enol Vitic.49: 341-349.

Melini, V., and R. Acquistucci. 2017. Health-promoting compounds in pigmented Thai and wild rice. Foods 6: 2-13.

Muhidin J. K., S. Elkawakib, M. Yunus, M. Kaimuddin, S.G. Ray, and B.L. Rianda. 2013. The development of upland red rice under shade trees. World Appl. Sci. J. 24: 23-30.

Peng, S., F.V. Garcia, R.C. Laza, A.L. Sanico, R.M. Visperas, and K.G. Cassman. 1996. Increased N-use efficiency using a chlorophyll meter on high-yielding irrigated rice. Field Crops Res. 47: 243-252.

Rerkasem, B., S. Jumrus, N. Yimyam, and C. Prom-u-thai. 2015. Variation of grain nutritional quality among Thai purple rice genotypes grown at two different altitudes. Science Asia 41: 377–385.

Rogers, E.J., S.M. Rice, R.J. Nicolosi, D.R. Carpenter, C.A. McClelland, and J.L.J. Romanczyk. 1993. Identification and quantitation of c-oryzanol components and simultaneous assessment of tocols in rice bran oil. J. Am. Oil. Chem. Soc. 70: 301–307.

Ryu, S.N., S.Z. Park, S.S. Kang, and S.J. Han. 2003. Determination of C_3G content in black purple rice using HPLC and UV-Vis spectrophotometer. Korean J. Crop Sci. 48: 369-371.

Somsana, P., P. Wattana, B. Suriharn, and J. Sanitchon. 2013. Stability and genotype by environment interactions for grain anthocyanin content of Thai black glutinous upland rice (*Oryza sativa*). SABRAO J. Breed. Genet. 45: 523-532.

Soubeyrand, E., C. Basteau, G. Hilbert, C. van Leeuwen, S. Delrot, and E. Gomès. 2014. Nitrogen supply affects anthocyanin biosynthetic and regulatory genes in grapevine cv, Cabernet–Sauvignon berries. Phytochem. 103: 38-49.

Tanaka, Y., N. Sasaki, and A. Ohmiya. 2008. Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. Plant J. 3: 207-219.

Terahara, N., N. Saigusa, R. Ohba, and S. Ued., 1994. Composition of anthocyanin pigments in aromatic red rice and its wine. Japan Soc. Food Sci. Technol. 41: 519–522.