บทที่ 4

ผล และวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1. เปรียบเทียบรูปแบบของโปรตีนที่สกัดได้จากเมล็ดของข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกอยู่ในสภาพดินเหนียว และดินทรายด้วยวิธีเจลอิเล็คโทรฟอเรซิส แบบ 1 และ 2 มิติ (2D-PAGE)

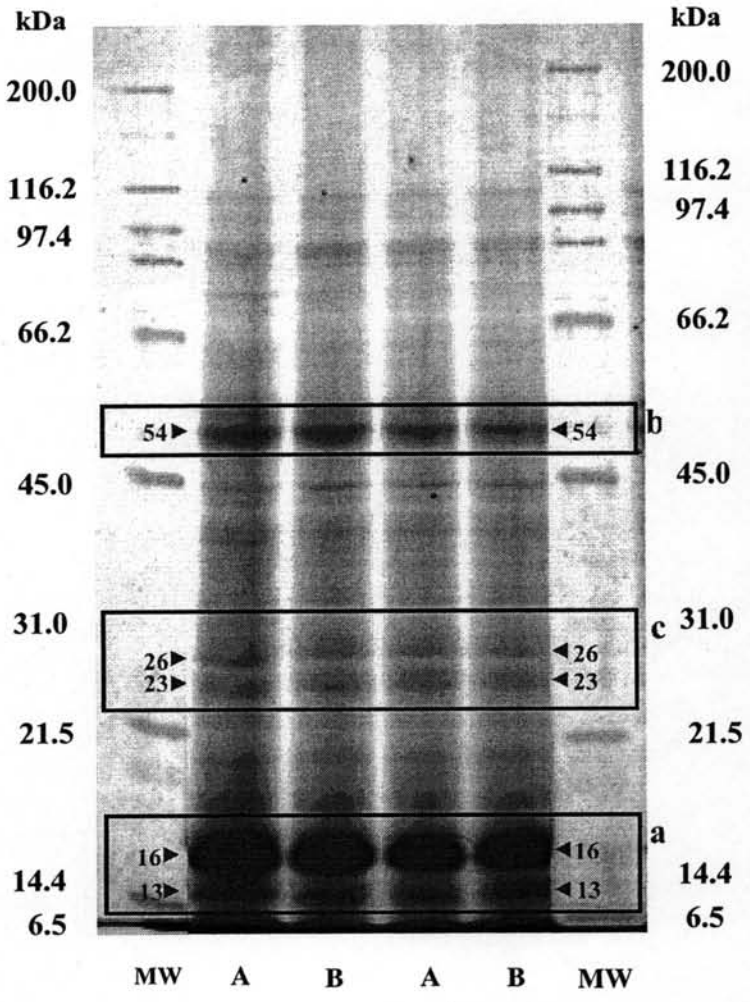
เมื่อนำตัวอย่างเมล็ดของข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในดินเหนียว และปลูกในดินทรายตามภาวะธรรมชาติมาสกัดตามขั้นตอนการสกัดโปรตีนที่ได้จากขั้นตอนที่ 3.1.3. ได้สารละลายโปรตีนเข้มข้น เมื่อเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนที่สกัดได้จากเมล็ดของข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกอยู่ในดินเหนียวและดินทรายด้วยวิธี Bradford (1976) ซึ่งวิเคราะห์โดยเติม Bio-Rad dye binding protein assay (Bio-Rad, Richmond, CA) ใช้ bovine serum albumin (BSA) เป็นโปรตีนมาตรฐาน พบว่ามีปริมาณไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 3) กล่าวคือ เมล็ดของข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในดินเหนียวมีปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ เท่ากับ 4.804 $\pm$ 0.041 มิลลิกรัมโปรตีนต่อกรัมตัวอย่างสด ในขณะที่เมล็ดของข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในดินทรายมีปริมาณโปรตีน เท่ากับ 4.860 $\pm$ 0.028 มิลลิกรัมโปรตีนต่อกรัมตัวอย่างสด (ตารางที่ 4) เมื่อทำการศึกษารูปแบบของโปรตีนของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกอยู่ในดินเหนียว และ ดินทรายด้วยวิธีเจลอิเล็คโทรฟอเรซิส แบบ 1 มิติ และ 2 มิติ แสดงผลการทดลอง ดังรูปที่ 8 และ 9 ตามลำดับ

ตารางที่ 3 ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้จากเมล็ดของข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกอยู่ในสภาพดินเหนียว หรือดินทราย

สภาพดินที่ใช้ปลูกข้าว	ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้*[ns] (มิลลิกรัมโปรตีน/กรัมน้ำหนักสด)
สภาพดินเหนียว	4.804 $\pm$ 0.041
สภาพดินทราย	4.860 $\pm$ 0.028

หมายเหตุ : * ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ (mean $\pm$ SE)

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติแบบ T-Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

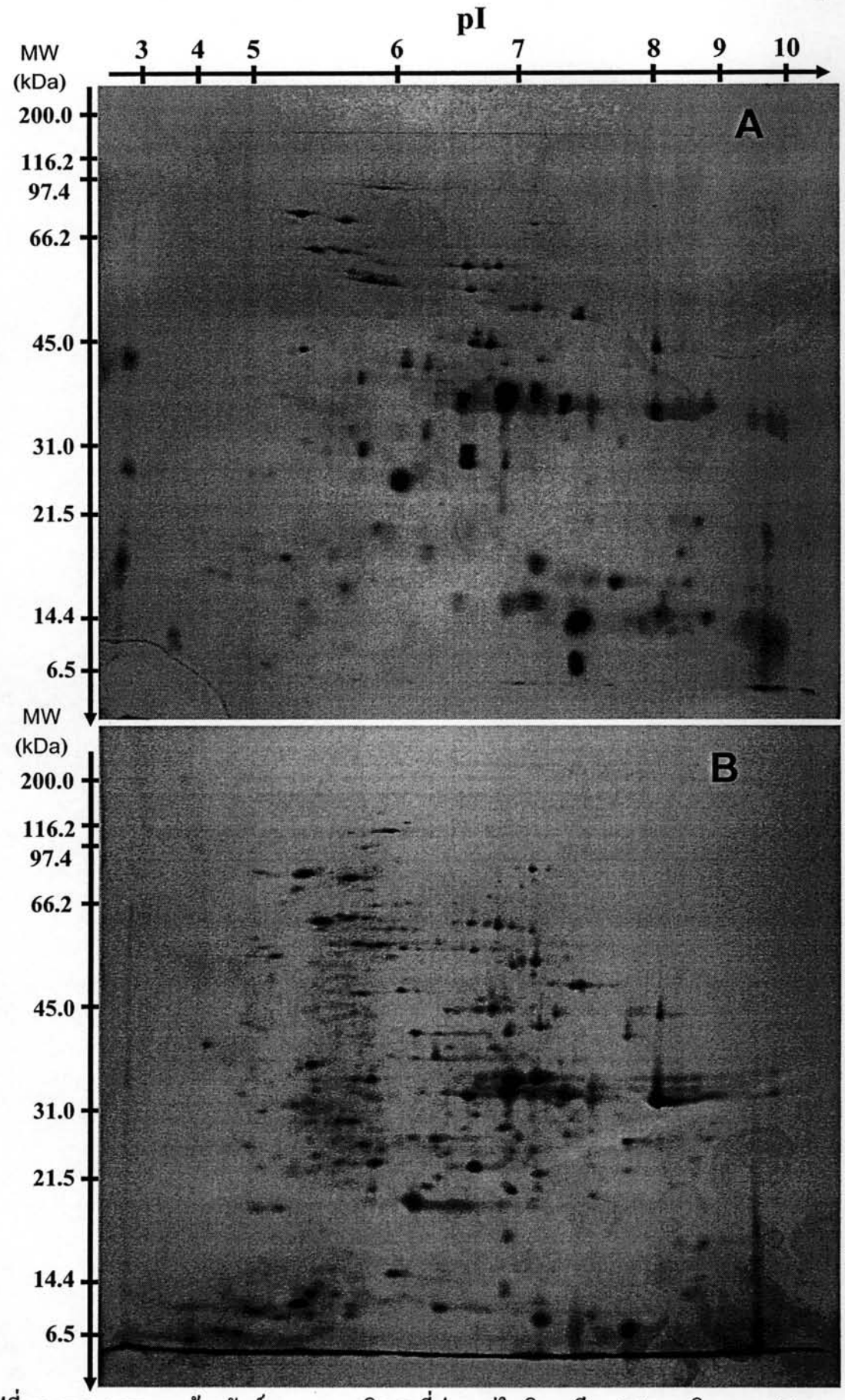


รูปที่ 8 SDS-PAGE ของโปรตีนที่สกัดได้จากเมล็ดของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกอยู่ในดินเหนียว (A) หรือดินทราย (B) (MW คือ molecular weight marker)

เมื่อเปรียบเทียบรูปแบบโปรตีน แบบ 1 มิติด้วยวิธี SDS-PAGE ในรูปที่ 8 พบว่ารูปแบบโปรตีนจากเมล็ดของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในดินเหนียว และดินทรายไม่มีความแตกต่างกันชัดเจน โดยพบว่ารูปแบบโปรตีนแบบ SDS-PAGE ของข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในดินทั้ง 2 ชนิด ประกอบไปด้วยโปรตีนหลายชนิด แต่มีชนิดโปรตีนหลัก ๆ 3 กลุ่ม คือ กลุ่มโปรตีนที่มีขนาด 13 และ 16 กิโลดาลตัน (a) มีปริมาณโปรตีนมากที่สุด รองลงมาคือกลุ่มโปรตีนที่มีขนาด 54 กิโลดาลตัน (b) และกลุ่มโปรตีนที่มีขนาด 23 และ26 กิโลดาลตัน (c) ตามลำดับ ซึ่งพบว่าสอดคล้องกับรายงานการวิจัยอื่น ๆ เช่น Hagan และคณะ (2003) ซึ่งทำการศึกษาชนิดของ polypeptide ในเมล็ดของข้าว รายงานว่า โปรตีนขนาด 13 กิโลดาลตัน เป็นโปรตีน sulfur-poor prolamin ซึ่งจะพบมากในเมล็ดข้าว non-transgenic ที่ปลูกในภาวะขาด sulfur และคาดว่าโปรตีนชนิดนี้จะไม่มี cysteine และ methionine Hibino และคณะ (1989) รายงาน

ว่า โปรตีน prolamin ขนาด 13 กิโลดาลตัน เป็นโปรตีนที่มี glutamic acid, glutamine และ leucine มาก แต่จะมี methionine, cysteine และ lysine ต่ำ ส่วนโปรตีน prolamin ขนาด 10 และ 16 กิโลดาลตัน จะมีกรดอะมิโนชนิด sulfur มาก โดยเฉพาะโปรตีน prolamin ขนาด 10 กิโลดาลตัน จะประกอบด้วย methionine และ cysteine มาก Irihimovitch และ Shapirat (2000) ที่ศึกษาประสิทธิภาพ การเกิด glutathione redox โดย reactive oxygen spices ของ rubisco large subunit ใน chloroplast พบว่า โปรตีนขนาด 54 กิโลดาลตัน คือ โปรตีน rubisco ชนิด large subunit (LSU) ที่มีบทบาทต่อกระบวนการสังเคราะห์แสงในเมล็ด และใบของข้าว และธัญพืชชนิดต่าง ๆ และ Nishimura และคณะ (2004) ที่ได้ศึกษาข้าวสายพันธุ์ใหม่โดยใช้ระดับการย่อยของโปรตีนในเมล็ดข้าว พบว่า ในเมล็ดข้าวมีโปรตีน 2 ชนิด เป็นส่วนประกอบหลัก คือ โปรตีน glutelin และโปรตีน prolamine และเมื่อนำเมล็ดข้าวกล้องไปวิเคราะห์เทคนิค SDS-PAGE สามารถระบุชนิด และขนาดของโปรตีนบางชนิด ได้แก่ โปรตีน prolamine ที่มีขนาด 13 และ 16 กิโลดาลตัน ซึ่งเป็นโปรตีนชนิดย่อยยาก โปรตีน glutelin ที่มีขนาด 22, 23, 37 และ 39 กิโลดาลตัน และโปรตีน globulin ที่มีขนาด 26 กิโลดาลตัน ซึ่งทั้งโปรตีน glutelin และโปรตีน globulin เป็นโปรตีนชนิดย่อยง่าย

จากการศึกษาโปรตีนที่สกัดได้จากส่วนเมล็ดของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกอยู่ในดินเหนียว และดินทรายด้วยวิธีเจลอิเล็คโทรฟอเรซิส แบบ 2 มิติ และบันทึกภาพด้วย Kodak DC 120 digital camera (Kodak, Rochester, NY) ซึ่งแสดงผลดังรูปที่ 9



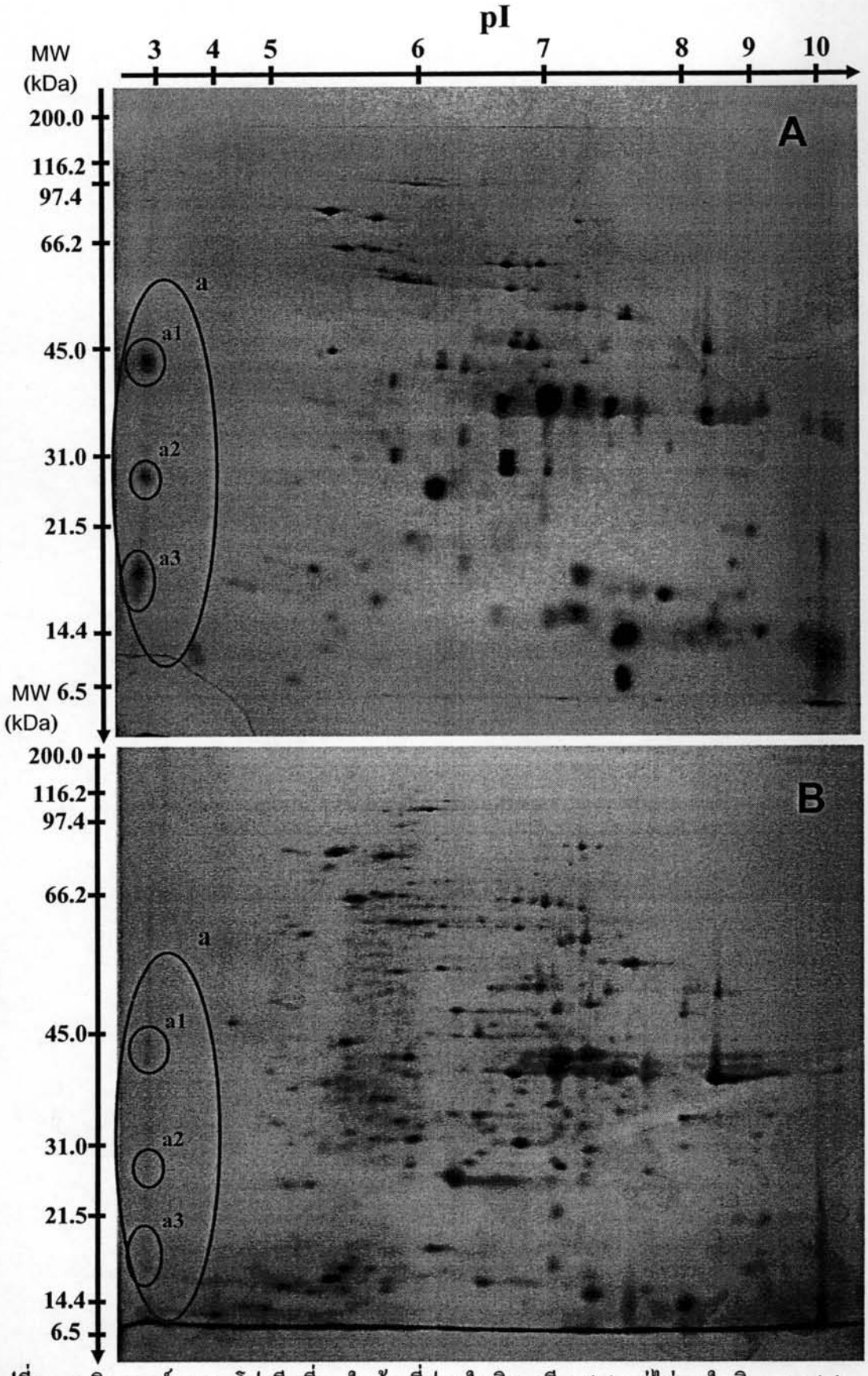
รูปที่ 13 2D-PAGE ของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกอยู่ในดินเหนียว (A) และดินทราย (B)

หลังจากนั้นนำรูปแบบโปรตีน แบบ 2D ของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ทั้งที่ปลูกในดินเหนียว และดินทรายมาเปรียบเทียบตำแหน่งจุดของโปรตีนกัน พบว่า รูปแบบโปรตีนของข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในดินเหนียว หรือดินทรายมีความแตกต่างกัน ดังนั้นเมื่อนำรูปแบบโปรตีน แบบ 2 มิติที่ได้มาทำการวิเคราะห์จุดของโปรตีนด้วยโปรแกรม ImageMaster 2D โดยกำหนดตำแหน่งจุดของโปรตีนโดยการวัดระยะด้วยไม้บรรทัดก่อน และจึงใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูปกำหนดตำแหน่งจุดของโปรตีนบนรูปแบบโปรตีนแบบ 2D ทั้งสองแผ่น จากนั้นนำรูปแบบโปรตีนแบบ 2D ที่ผ่านการกำหนดตำแหน่งจุดของโปรตีนแล้วมาซ้อนกันด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป และให้โปรแกรมคอมพิวเตอร์วิเคราะห์ความใกล้เคียงกันของแต่ละจุดของโปรตีนในแต่ละแผ่นเจล ซึ่งได้ผลการวิเคราะห์ความแตกต่าง ระหว่างชนิดของโปรตีนที่แยกได้จากตัวอย่างเมล็ดของข้าวจากดินเหนียว หรือดินทราย ดังในรูปที่ 10 11 และ 12 ซึ่งสามารถแยกโปรตีนออกเป็นกลุ่ม ๆ แต่ไม่สามารถระบุชนิดของโปรตีน และกลุ่มของโปรตีนได้ ดังนี้

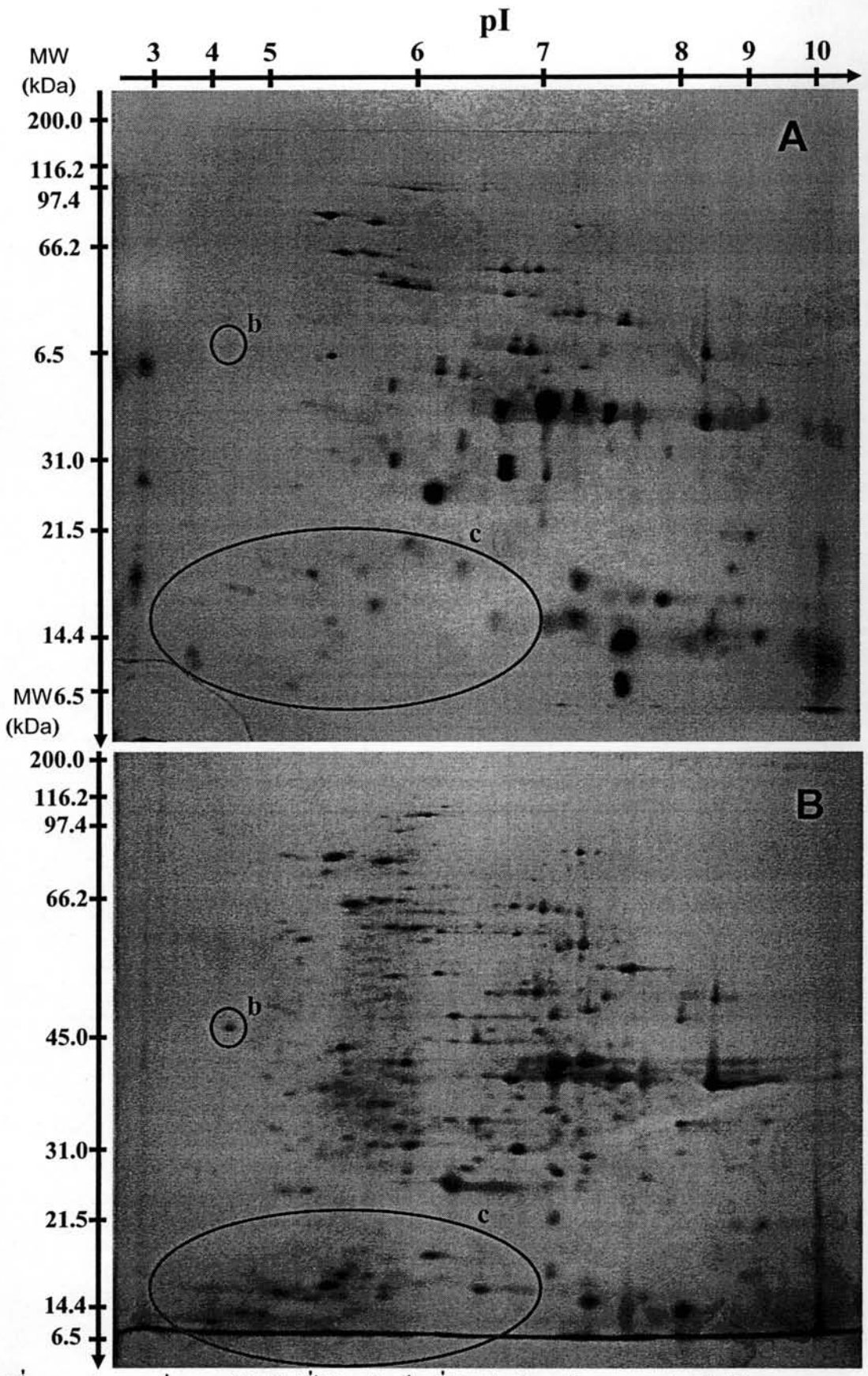
1. ประเภทของกลุ่มโพลีเปปไทด์ที่พบเฉพาะในตัวอย่างที่สกัดจากเมล็ดข้าวที่ปลูกในดินเหนียวเท่านั้น (รูปที่ 10) มี 1 กลุ่ม คือ กลุ่ม a มีค่า pI ประมาณ 3.0 และมีโพลีเปปไทด์ 3 ชนิด คือ a1 a2 และ a3 ซึ่งมีค่าน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 44.0, 29.0 และ 17.5 กิโลดาลตัน ตามลำดับ

2. ประเภทของกลุ่มโพลีเปปไทด์ที่พบเฉพาะในตัวอย่างที่สกัดจากเมล็ดข้าวที่ปลูกในดินทรายเท่านั้น (รูปที่ 11) มี 2 กลุ่ม คือ b และ c ซึ่งโพลีเปปไทด์กลุ่ม b มีค่า pI ประมาณ 4.0 มีค่าน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 46.0 กิโลดาลตัน และโพลีเปปไทด์กลุ่ม c มีค่า pI ประมาณ 3.5 ถึง 6.5 และ มีค่าน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 7.5 ถึง 17.5 กิโลดาลตัน

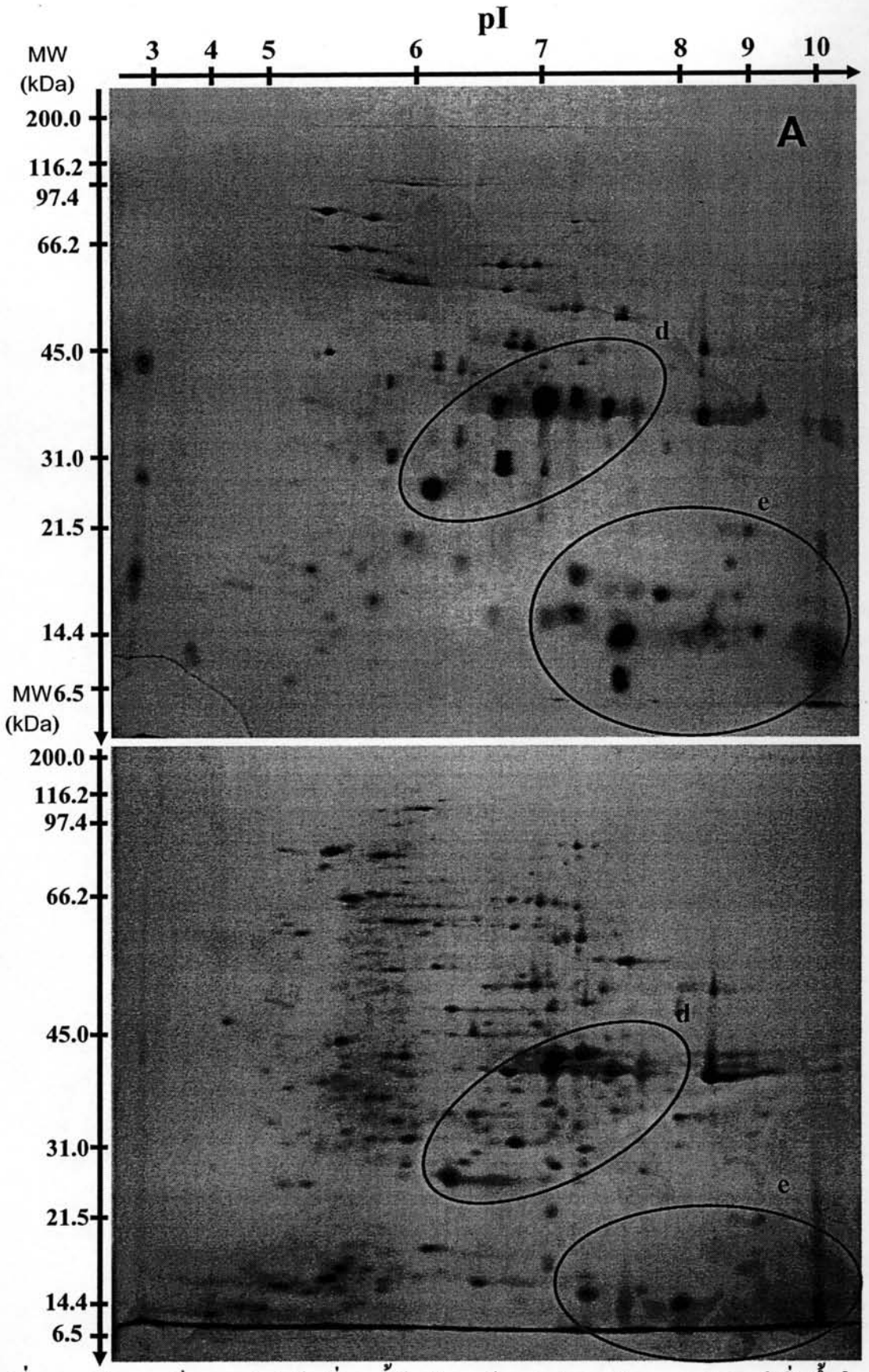
3. ประเภทของกลุ่มโพลีเปปไทด์ที่พบทั้งในตัวอย่างที่สกัดจากเมล็ดข้าวที่ปลูกในดินเหนียว และดินทราย แต่เพิ่มขึ้นมากในตัวอย่างที่สกัดจากเมล็ดข้าวที่ปลูกในดินเหนียว (รูปที่ 12) คือ โพลีเปปไทด์กลุ่ม d และ e ซึ่งโพลีเปปไทด์กลุ่ม d มีค่า pI ประมาณ 6.0 ถึง 7.5 และมีค่าน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 28.0 ถึง 45.0 กิโลดาลตัน และโพลีเปปไทด์กลุ่ม e มีค่า pI ประมาณ 7.2 ถึง 10.0 และ มีค่าน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 6.5 ถึง 21.5 กิโลดาลตัน



รูปที่ 10 ผลวิเคราะห์จุดของโปรตีนที่พบในข้าวที่ปลูกในดินเหนียว (A) แต่ไม่พบในดินทราย (B)



รูปที่ 11 ผลวิเคราะห์จุดของโปรตีนที่ไม่พบในข้าวที่ปลูกในดินเหนียว (A) แต่พบในดินทราย (B)



รูปที่ 12 ผลวิเคราะห์จุดของโปรตีนที่พบทั้งในดินเหนียว (A) และดินทราย (B) แต่เพิ่มขึ้นในดินเหนียว

การที่รูปแบบโปรตีน แบบ 2D ของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในดินเหนียวหรือดินทรายมีความแตกต่างกัน อาจเนื่องมาจากคุณสมบัติเฉพาะ และส่วนประกอบของดินทั้ง 2 ชนิด ได้แก่ โครงสร้างของดินที่มีการจัดเรียงตัวแตกต่างกัน โดยดินเหนียวมีโครงสร้างที่จัดเรียงตัวแน่นกว่าดินทราย ธาตุอาหารที่ถูกกักเก็บในดินแต่ละชนิดอาจมีปริมาณแตกต่างกัน และการระบายน้ำในดินอาจต่างกัน (Ladd, 2004) ซึ่งอาจส่งผลต่อการแสดงออกทางพันธุกรรมของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

Manders และ Smith (1992) ได้ทำการพิสูจน์สมมุติฐานเกี่ยวกับพัฒนาการของการสร้างรากแก้ว และลักษณะการเจริญของพืชที่ปลูกโดยการให้น้ำด้วยการรดน้ำ และปลูกในดินต่างชนิดกัน โดยใช้ *Cunonia capensis* L., *Kiggelaria africana* L. และ *Protea neriifolia* R. Br. และ *P. nitida* Miller เป็นพืชทดลอง ซึ่งสามารถสรุปผลได้ว่าการให้น้ำด้วยการรดน้ำ และการปลูกในดินต่างชนิดกันมีผลต่อพัฒนาการของรากแก้ว และลักษณะการเจริญของพืช

Kabaki และคณะ (2001) ที่ศึกษาการพัฒนาระบบการปลูกข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในพื้นที่ภาคเหนือของประเทศไทย พบว่า คุณภาพ และผลผลิตของข้าวที่ดีมาจากการจัดการดินตลอดจนการใช้วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรมาคลุมดินไว้เพื่อลดการสูญเสียน้ำในดิน และรักษาความชื้นในดิน ซึ่งตัวอย่างดินที่เหมาะกับการปลูกข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มากที่สุด ได้แก่ ดินชุดร้อยเอ็ด ดินชุดท่าตูม ดินชุดทุ่งกุลาร้องไห้ และดินชุดนครพนม จึงน่าจะมีการวิจัยเพื่อส่งเสริมให้ปลูกในพื้นที่ที่มีดินชุดดังกล่าว

นอกจากนี้ความแตกต่างของรูปแบบโปรตีน แบบ 2 มิติ ของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในดินเหนียว และดินทรายที่พบที่ในเมล็ด และ/หรือต้นข้าว อาจมีผลเกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์สารหอม 2AP โดย ปวีณา โภชนสมบูรณ์ (2546) ได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างองค์ประกอบทางเคมี และปริมาณสารหอม 2AP ในเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 โดยการวิเคราะห์ปริมาณสารหอม 2AP และองค์ประกอบทางเคมีในตัวอย่างเมล็ดของข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในทุ่งกุลาร้องไห้บริเวณต่าง ๆ ที่มีสภาพดินเป็นดินทรายกับข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกนอกบริเวณทุ่งกุลาร้องไห้ที่สภาพดินเป็นดินเหนียว พบว่าข้าวที่ปลูกในทุ่งนาดินทรายมีปริมาณสารหอม 2AP ในเมล็ด (3.12 ppm) มากกว่าเมล็ดของข้าวที่ปลูกในทุ่งนาดินเหนียว (2.05 ppm) อย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 99

นอกจากนี้งานวิจัยของ Yoshihashi และคณะ (2004) ได้ทำการเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารหอม 2AP ในส่วนเมล็ดของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในพื้นที่ต่าง ๆ ของประเทศไทย พบว่าข้าวที่ปลูกในบริเวณทุ่งกุลาร้องไห้ (ซึ่งเป็นดินทราย) กับข้าวที่ปลูกในบริเวณภาคกลาง (ซึ่งเป็นดินร่วนปนทราย) มีความเข้มข้นของสารหอม 2AP แตกต่างกัน โดยพบว่าปริมาณโปรตีนของข้าวที่ปลูกในบริเวณทุ่งกุลาร้องไห้ (525 $\pm$ 28 ppb) มีมากกว่าปริมาณโปรตีนของข้าวที่ปลูกในบริเวณภาคกลาง (87 $\pm$ 18 ppb)

4.3. ศึกษาปัจจัยความเครียดจากปริมาณของเกลือ NaCl กรดอะมิโน โดยปลูกในภาวะมีแสง และไม่มีแสงที่มีผลต่อรูปแบบของโปรตีน (SDS-PAGE) ที่สกัดได้จากใบของข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในภาวะควบคุม

4.3.1. ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ (yield)

ผลของการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ด้วย Duncan's Multiple Range Test (DMRT) โดยแยกวิเคราะห์ตามภาวะในการปลูก 3 ภาวะ นำค่าปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ (ตารางที่ 4) และเมื่อนำไปสร้างกราฟในรูปที่ 13 และนำ มาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ ดังนี้

ตารางที่ 4 ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้จากใบข้าวที่ปลูกภายใต้ภาวะควบคุม

สารละลายชนิดต่าง ๆ	ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้* (มิลลิกรัมโปรตีน/กรัมตัวอย่างสด)		
	มีแสง	ที่มืด	ที่มืด + มีแสง
1. น้ำประปา (Control)	$3.0100^{f} \pm 0.0039$	$1.4750^{e} \pm 0.0113$	$3.4550^{g} \pm 0.0128$
2. NaCl	$5.2850^{d} \pm 0.0165$	$2.4700^{d} \pm 0.0106$	$6.2650^{e} \pm 0.0201$
3. Proline	$5.5567^{d} \pm 0.0165$	$4.4850^{b} \pm 0.0021$	$6.5150^{e} \pm 0.0094$
4. NaCl + Proline	$5.8233^{d} \pm 0.0130$	$4.8550^{b} \pm 0.0164$	$8.0900^{d} \pm 0.0030$
5. Arginin	$3.6750^{e} \pm 0.0026$	$3.4392^{c} \pm 0.0124$	$4.5800^{f} \pm 0.0029$
6. NaCl + Arginin	$7.2000^{c} \pm 0.0034$	$7.8310^{a} \pm 0.0086$	$9.8970^{c} \pm 0.0042$
7. Proline + Arginin	$8.9450^{b} \pm 0.0112$	$7.7212^{a} \pm 0.0035$	$10.6000^{b} \pm 0.0061$
8. NaCl + Proline + Arginin	$9.6200^{a} \pm 0.0076$	$8.2175^{a} \pm 0.0040$	$13.6733^{a} \pm 0.0102$

หมายเหตุ : * หมายถึง ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จากการวิเคราะห์ด้วย Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

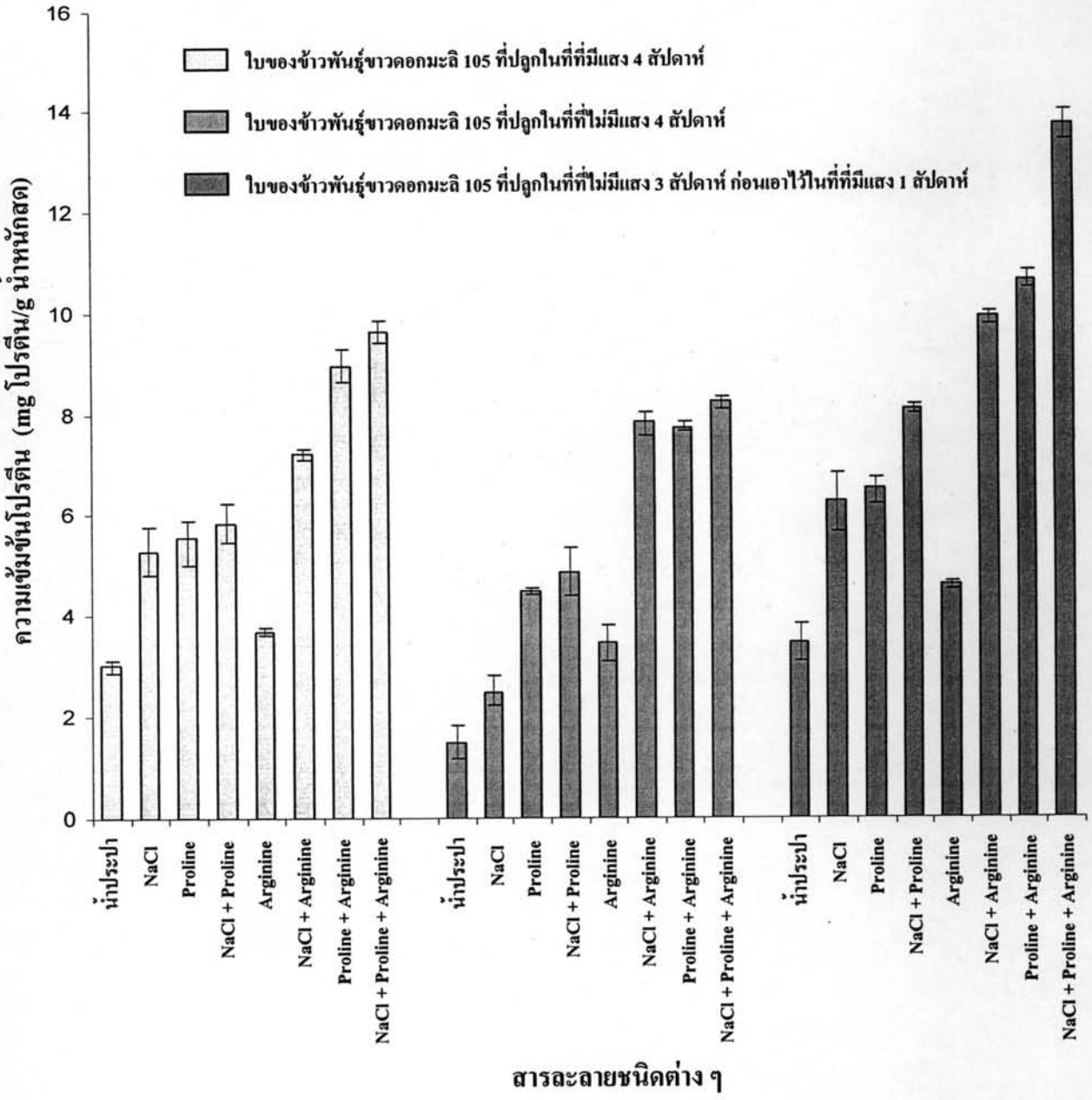
จากตารางที่ 4 จะเห็นได้ว่า ใบของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในภาวะมีแสงที่เติมสารละลายเกลือ NaCl 200 mM และ L-Proline 1 mM และ L-Arginine 1 mM อัตราส่วน 1:1:1 (v/v/v) เมื่อนำใบข้าวมาสกัดโปรตีน พบว่ามีปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ สูงกว่าการเติมสารละลายชนิดอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความน่าเชื่อถือร้อยละ 95 คือ โดยมีปริมาณโปรตีนที่สกัดได้เท่ากับ 9.6200 ± 0.0076 มิลลิกรัม/กรัมตัวอย่างสด ส่วนใบของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกใน

ภาวะมีแสงที่เติมน้ำประปาเมื่อนำมาสกัดโปรตีน พบว่ามีปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ ต่ำกว่าการเติมสารละลายชนิดอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความน่าเชื่อถือร้อยละ 95 คือมีปริมาณโปรตีน เท่ากับ 3.0100± 0.0039 มิลลิกรัม/กรัมตัวอย่างสด

ส่วนใบของข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในภาวะมืด 4 สัปดาห์ ที่เติมสารละลายชนิดต่าง ๆ และนำมาสกัดโปรตีน พบว่า ใบของข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่เติมสารละลายเกลือ NaCl 200 mM และ L-Proline 1 mM และ L-Arginine 1 mM มีปริมาณโปรตีนที่สกัดได้สูงที่สุด (8.2175 มิลลิกรัม/กรัมตัวอย่างสด) แต่ไม่แตกต่างจากการเติมสารละลายเกลือ NaCl 200 mM และ L-Arginine 1 mM และการเติมสารละลาย L-Proline 1 mM และ L-Arginine 1 mM (ตารางที่ 4) ส่วนการเติมสารละลายเกลือ NaCl 200 mM ผสม L-Proline 1 mM และการเติมสารละลาย L-Proline 1 mM ให้ผลไม่แตกต่างกัน และการเติมน้ำประปาให้โปรตีนที่สกัดได้จากใบน้อยที่สุด (3.4500 มิลลิกรัมโปรตีน/กรัมตัวอย่างสด)

ใบของข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในภาวะมืด 3 สัปดาห์ ก่อนเอาไว้ในที่มีแสง 1 สัปดาห์ ที่เติมสารละลายชนิดต่าง ๆ พบว่า ใบของข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่เติมสารละลายเกลือ NaCl 200 mM และ L-Proline 1 mM และ L-Arginine 1 mM มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุด (13.6733 มิลลิกรัม/กรัมตัวอย่างสด) รองลงมาคือ การเติมสารละลายผสม L-Proline 1 mM และ L-Arginine 1 mM และการเติมสารละลายผสมเกลือ NaCl 200 mM และ L-Arginine 1 mM ตามลำดับ ส่วนการเติมสารละลาย L-Proline 1 mM และการเติมสารละลายเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 mM ให้ผลไม่แตกต่างกัน และการเติมน้ำประปา (Control) ให้ปริมาณโปรตีนในใบน้อยที่สุด (8.2175 มิลลิกรัมโปรตีน/กรัมตัวอย่างสด)

เมื่อนำปริมาณโปรตีนที่สกัดได้จากใบข้าวที่ปลูกในสภาวะการปลูกทั้ง 3 ภาวะมาเปรียบเทียบกัน (รูปที่ 13) พบว่า การปลูกข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในภาวะการปลูกทั้ง 3 สภาวะที่มีการเติมสารละลายเกลือ NaCl 200 mM และ L-Proline 1 mM และ L-Arginine 1 mM ในระหว่างการปลูกช่วยเพิ่มปริมาณโปรตีนที่สกัดได้สูงกว่าการเติมสารละลายชนิดอื่นๆ โดยเฉพาะการเติมน้ำประปา



รูปที่ 13 ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้จากใบข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในภาวะควบคุมทั้ง 3 ภาวะ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

นอกจากนี้การเติมสารละลายเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 mM ชนิดเดียวในระหว่างการปลูกช่วยเพิ่มปริมาณโปรตีนในใบได้สูงกว่าการเติมน้ำประปา และเมื่อพิจารณาสารละลายชนิดอื่น ๆ พบว่า การเติมสารละลายเกลือ NaCl 200 mM และ L-Proline 1 mM, L-Arginine 1 mM ในระหว่างการปลูกช่วยเพิ่มปริมาณโปรตีนได้สูงกว่าการเติมสารละลาย L-Proline 1 mM และ L-Arginine 1 mM ส่วนการเติมสารละลายเกลือ NaCl 200 mM และ L-Arginine 1 mM ในระหว่างการปลูกช่วยเพิ่มปริมาณโปรตีนได้สูงกว่าการเติมสารละลาย L-Arginine 1 mM และการเติม

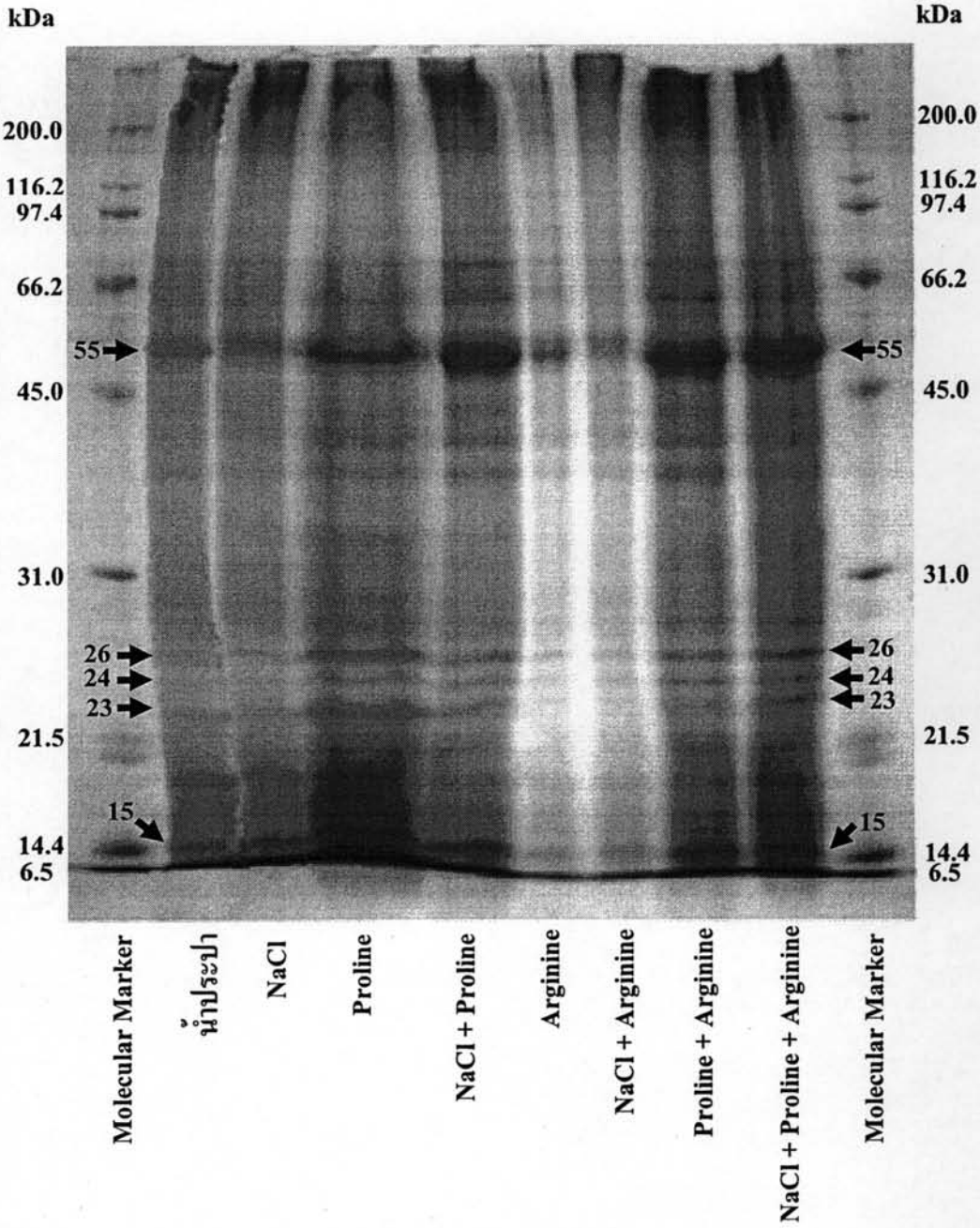
สารละลายเกลือ NaCl 200 mM และ L-Proline 1 mM ในระหว่างการปลูกก็สามารถช่วยเพิ่มปริมาณโปรตีนได้สูงกว่าการเติมสารละลาย L-Proline 1 mM ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากปัจจัยความเครียดเกลือ NaCl มีความสัมพันธ์กับปริมาณโปรตีนที่ผลิตขึ้นภายในพืช

4.3.3. รูปแบบโปรตีน (SDS-PAGE)

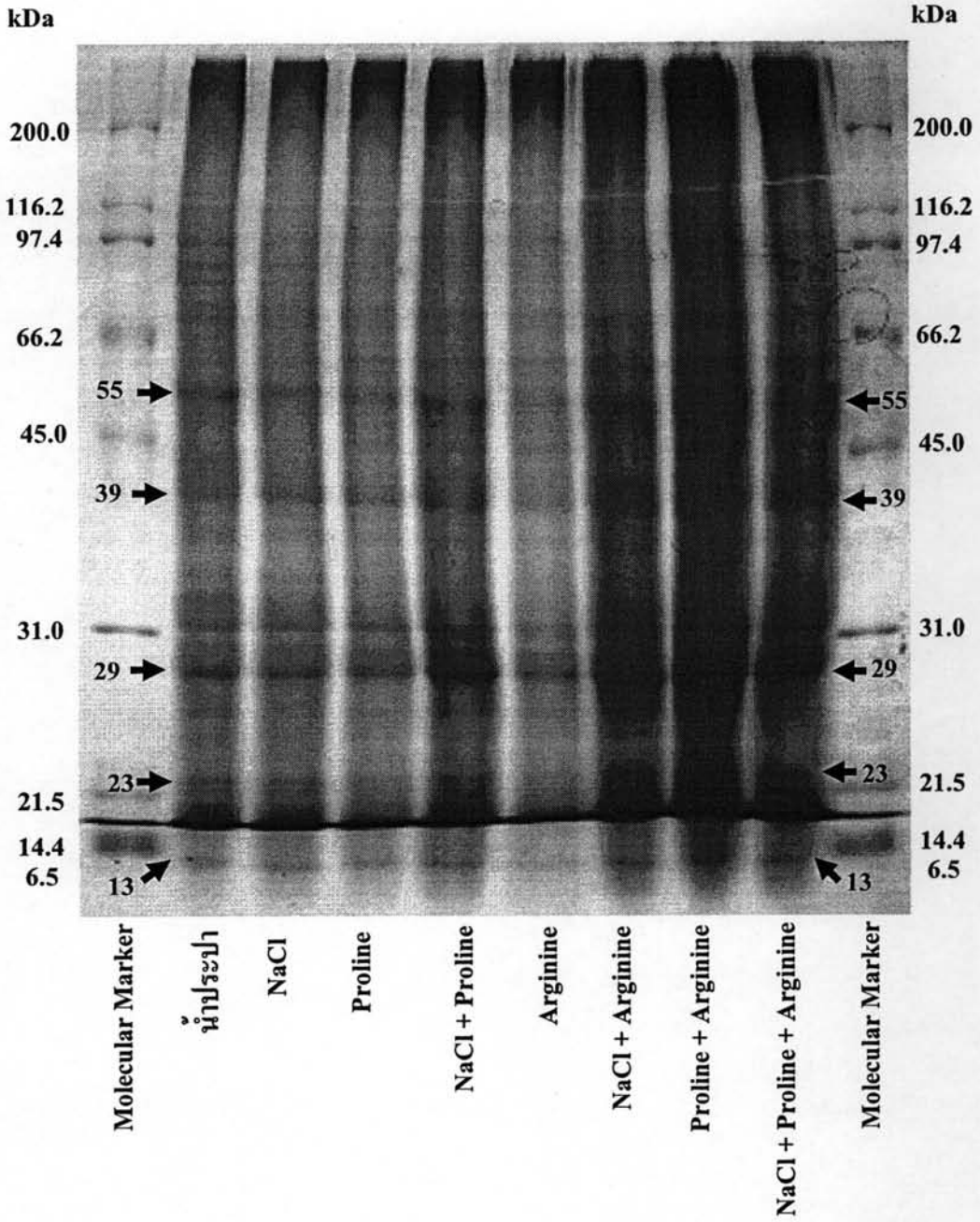
รูปแบบโปรตีน (SDS-PAGE) ที่สกัดจากใบของต้นข้าวปลูก 3 ภาวะ อายุ 33 วัน ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 14 15 และ 16 ดังนี้

จากรูปแบบโปรตีน (SDS-PAGE) จากใบของข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในที่ที่มีแสง 4 สัปดาห์ โดยมีการเติมสารละลายชนิดต่าง ๆ 8 ชนิด (รูปที่ 14) พบว่าประกอบด้วยโปรตีนหลัก ๆ 5 ชนิด ซึ่งมีขนาด 55 26 24 23 และ 15 กิโลดาลตัน ในขณะที่รูปแบบโปรตีน จากใบของข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในที่มืด 4 สัปดาห์ (รูปที่ 15) ประกอบด้วยโปรตีนหลัก ๆ 5 ชนิด ที่มีขนาด 55 39 29 23 และ 13 กิโลดาลตัน

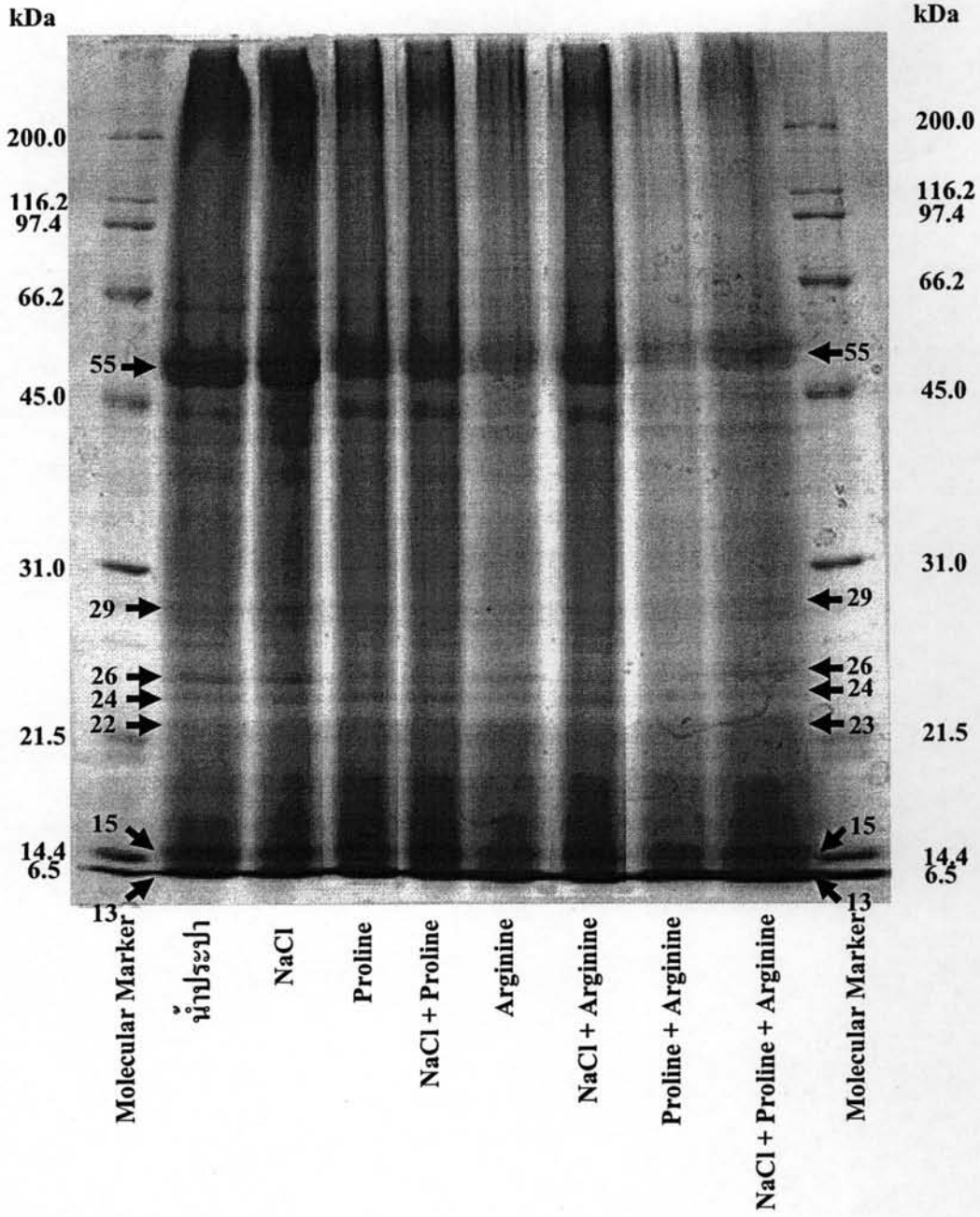
ส่วนรูปแบบโปรตีน (SDS-PAGE) จากใบของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในภาวะไม่มีแสง 3 สัปดาห์ ก่อนเอาไว้ในที่มีแสง 1 สัปดาห์ โดยมีการเติมสารละลายชนิดต่าง ๆ 8 ชนิด (รูปที่ 16) พบว่าประกอบด้วยโปรตีนหลักๆ 7 ชนิด ซึ่งมีขนาด 55 29 26 24 23 15 และ 13 กิโลดาลตัน



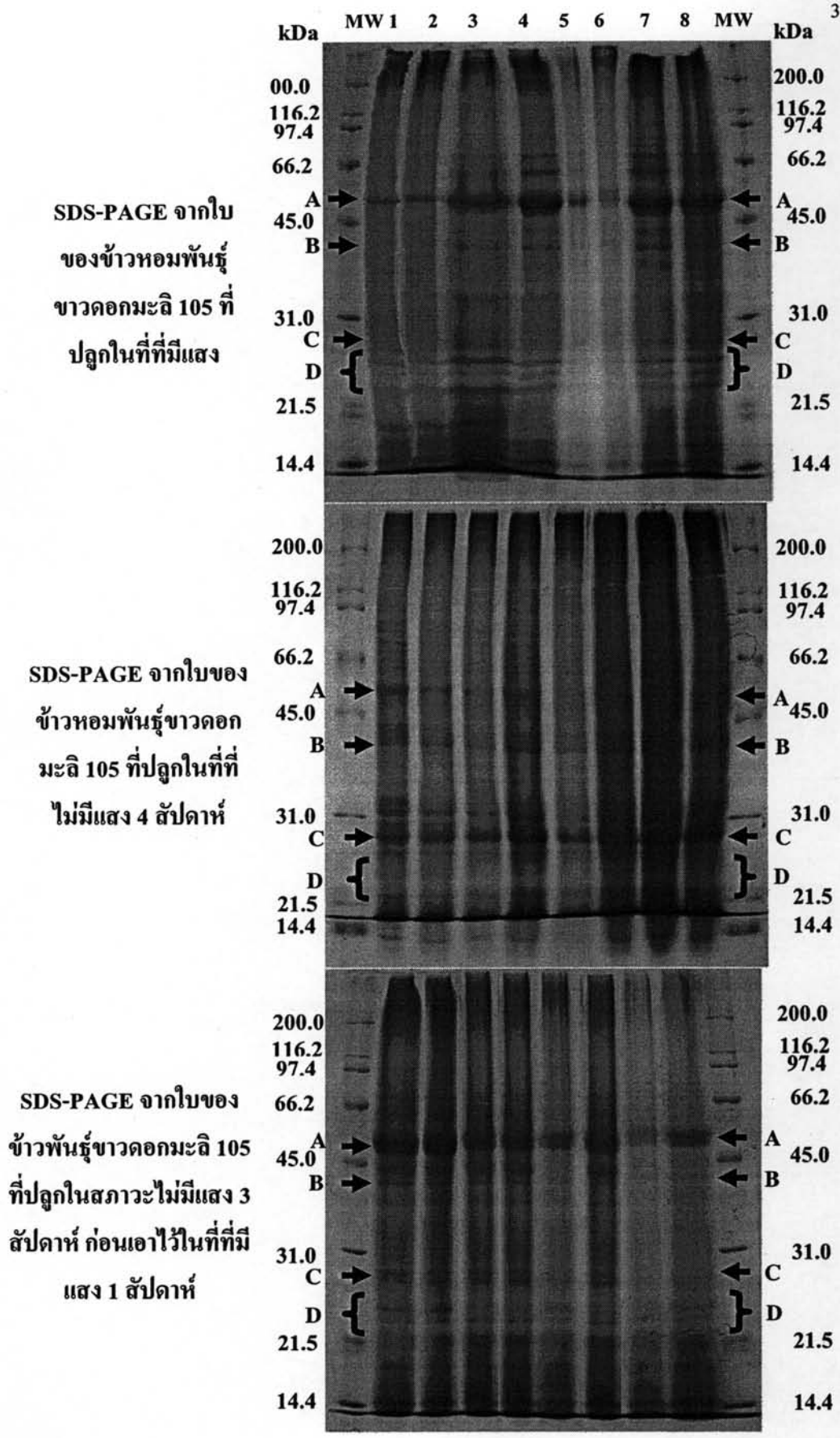
รูปที่ 14 รูปแบบโปรตีน (SDS-PAGE) จากใบของข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในที่มีแสง 4 สัปดาห์ โดยมีการเติมสารละลายชนิดต่าง ๆ 8 ชนิด



รูปที่ 15 รูปแบบโปรตีน (SDS-PAGE) จากใบของข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในที่มืด 4 สัปดาห์ โดยมีการเติมสารละลายชนิดต่าง ๆ 8 ชนิด



รูปที่ 16 รูปแบบโปรตีน (SDS-PAGE) จากใบของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในภาวะมืด 3 สัปดาห์ ก่อนเอาไว้ในที่มีแสง 1 สัปดาห์ โดยมีการเติมสารละลายชนิดต่าง ๆ 8 ชนิด



รูปที่ 17 รูปแบบโปรตีน (SDS-PAGE) จากใบของข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในภาวะควบคุมเป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยมีการเติมสารละลายชนิดต่าง ๆ 8 ชนิด

เมื่อนำ SDS-PAGE ของใบข้าวที่ปลูกในสภาวะควบคุมทั้ง 3 ภาวะ มาเปรียบเทียบกัน ดังรูปที่ 17 พบว่า SDS-PAGE ทั้ง 3 แผ่น มีแนวโน้มที่จะมีความแตกต่างกันของแถบโปรตีน 4 ตำแหน่ง คือ ตำแหน่ง A B C และ D ซึ่งพบว่ามีขนาดโปรตีน เท่ากับ 55 39 29 และ 22-26 กิโลดาลตัน ตามลำดับ โดยพบว่ารูปแบบของโปรตีนจากใบของข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในที่มีแสงมีตำแหน่ง A และ D เป็นส่วนใหญ่ และมีตำแหน่ง B และ C เป็นส่วนน้อย

SDS-PAGE จากใบของข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในที่มืด 4 สัปดาห์ ตำแหน่ง C เป็นส่วนใหญ่ และมีตำแหน่ง A และ B เป็นส่วนน้อย แต่ไม่ปรากฏตำแหน่ง D อาจเป็นเพราะในภาวะการปลูกไม่มีปัจจัยแสงไปกระตุ้นกลไกบางอย่างในกระบวนการเมตาบอลิซึมของพืชทำให้ไม่เกิดการแสดงออกอย่างชัดเจนของโปรตีน หรือมีการแสดงออกที่ลดลง และ SDS-PAGE จากใบของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในภาวะมืด 3 สัปดาห์ ก่อนเอาไว้ในที่มีแสง 1 สัปดาห์ พบว่าปรากฏตำแหน่ง A เป็นส่วนใหญ่ และมีตำแหน่ง B C และ D ในส่วนน้อย

ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบโปรตีน (SDS-PAGE) จากใบของข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 กับปัจจัยความเครียดชนิดต่าง ๆ เนื่องจากยังไม่มีงานวิจัยใดที่ศึกษาความสัมพันธ์นี้จึงไม่สามารถระบุ หรืออ้างอิงชนิดของโปรตีนที่พบความแตกต่างในงานวิจัยนี้ได้ มีเพียงรายงานการวิจัยหลาย ๆ ฉบับที่พอนำมาอ้างอิงได้ ดังเช่น

El-Baz และคณะ (2003) ศึกษาวิธีตรวจสอบตัวบ่งชี้ทางชีวเคมีเกี่ยวกับการทนเค็มในพืชประเภทแตง (*Cucums sativus* L.) 2 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ Dott และสายพันธุ์ Alphabet พบว่าเมื่อทำการเพิ่มความเข้มข้นเกลือ NaCl จาก 50 mM ไปเป็น 100 mM ปริมาณ proline มีปริมาณเพิ่มขึ้นถึง 3 เท่า นอกจากนี้ยังพบว่าในภาวะดังกล่าว ยังมีผลทำให้รูปแบบโปรตีนของแตงทั้งสองสายพันธุ์แตกต่างกัน แต่มีแถบโปรตีนหลักที่ขนาด 60 และ 25 กิโลดาลตัน เหมือนกัน

Lee และคณะ (2004) ได้ทำการทดลองเติมเกลือ NaCl ปริมาณ 25 มิลลิโมลาร์ ลงในข้าว และนำไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน พบว่ามีปริมาณเพิ่มขึ้น และมีโปรตีนบางชนิดเพิ่มขึ้น

Olave-Concha และคณะ (2004) ได้ทำการวิจัยปัจจัยความเครียดของเกลือ NaCl ที่มีผลต่อ *Deschampsia antarctica* Desv. ซึ่งเป็นหญ้าชนิดหนึ่ง พบว่าการเติมเกลือ NaCl ปริมาณ 500 มิลลิโมลาร์ มีผล ทำให้โปรตีน 7 ชนิด (58, 57, 55, 53, 48, 30 and 27 kDa) มีปริมาณเพิ่มขึ้น

Zörb และคณะ (2004) ได้ทดลองเติมเกลือ NaCl ปริมาณ 25 มิลลิโมลาร์ ลงในข้าวโพด (*Zea mays* L.) และนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธีเจลอิเล็คโทรฟอเรซิส แบบ 2 มิติ พบว่ามีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้น

จากรายงานข้างต้นให้ผลการศึกษาที่สอดคล้องกับงานวิจัยครั้งนี้ ซึ่งพบว่า ตัวอย่างที่มีการเติมสารละลายเกลือ NaCl มีปริมาณโปรตีนที่มากกว่าตัวอย่างที่ไม่ได้เติมสารละลายเกลือ NaCl จึงกล่าวได้ว่าเกลือ NaCl มีผลต่อปริมาณโปรตีน ซึ่งชนิดของโปรตีนที่ตอบสนองต่อความเครียดเกลือ NaCl และกลไกของความสัมพันธ์ต้องมีการศึกษาในขั้นตอนต่อไป