ปัจจัยสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อรูปแบบโปรตีนของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

นาย นัฐวัฒน์ ชินะโยธิน

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2549
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ENVIRONMENTAL FACTORS AFFECTING PROTEIN PATTERNS OF KDML 105 RICE

Master Nuttawat Chinayotin

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science Program in Biotechnology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2006

Copyright of Chulalongkorn University

491793

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ปัจจัยสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อรูปแบบโปรตีนของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105
โดย	นาย นัฐวัฒน์ ชินะโยธิน
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. วรรณา ตุลยธัญ
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศักดิ์ดา จงแก้ววัฒนา
	อาจารย์ ดร. อนวัช สุวรรณกุล

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(ศาสตราจารย์ ดร. เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รมณี สงวนดีกุล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร. วรรณา ตุลยธัญ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศักดิ์ดา จงแก้ววัฒนา)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(อาจารย์ ดร. อนวัช สุวรรณกุล)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศุภจิตรา ชัชวาลย์)

นัฐวัฒน์ ชินะโยธิน: ปัจจัยสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อรูปแบบโปรตีนของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (ENVIRONMENTAL FACTORS AFFECTING PROTEIN PATTERNS OF KDML 105 RICE) อาจารย์ที่ปรึกษา : รศ. ดร. วรรณา ตุลยธัญ, อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : ผศ. ดร. ศักดิ์ดา จงแก้ววัฒนา, อ. ดร. อนวัช สุวรรณกุล 44 หน้า.

การศึกษาปัจจัยสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อรูปแบบโปรตีนของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 *Oryza sativa* L. มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบรูปแบบโปรตีนในเมล็ดข้าวที่ปลูกในสภาพดินเหนียว หรือในสภาพดินทราย และศึกษาอิทธิพลของปัจจัยความเครียดจากสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) กรดอะมิโน L-โพรลีน L-อาร์จีนีน ในภาวะที่ได้รับแสงแดด และไม่ได้รับแสงแดดที่มีผลต่อรูปแบบของโปรตีนในใบข้าว โปรตีนที่สกัดได้เมื่อทำการแยกด้วยเทคนิค SDS-PAGE พบว่ารูปแบบโปรตีนจากเมล็ดข้าวที่ปลูกในดินเหนียว หรือดินทรายไม่มีความแตกต่างกัน และการแยกด้วยเทคนิค 2D-PAGE อาจจะแบ่งกลุ่มพอลีเปปไทด์ออกได้เป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่พบเฉพาะในข้าวที่ปลูกในสภาพดินเหนียว กลุ่มที่พบเฉพาะในข้าวที่ปลูกในสภาพดินทราย และกลุ่มที่พบในข้าวทั้งสองสภาพของดินปลูก

การศึกษาผลของปัจจัยความเครียดต่อโปรตีนในใบข้าวที่ 33 วัน ที่ปลูกในภาวะขาดสารอาหารพบว่าการใช้สารละลายผสมของเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ L-อาร์จีนีน 1 มิลลิโมลาร์ L-โพรลีน 1 มิลลิโมลาร์ ที่สัดส่วน 1:1:1 (โดยปริมาตร) ให้ปริมาณโปรตีนในใบข้าวที่สกัดสูงกว่าการใช้สารละลายผสมอื่น ๆ และน้ำประปาอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อนำโปรตีนจากใบข้าวที่ปลูกในภาวะมีแสง ภาวะมืด และภาวะมืด 3 สัปดาห์ และมีแสง 1 สัปดาห์ มาแยกด้วยเทคนิค SDS-PAGE พบว่า มีความแตกต่างกันของแถบโปรตีน 4 กลุ่ม ที่ขนาด 55 39 29 และ 22 – 26 กิโลดาลตัน

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่อนิสิต.....

ปีการศึกษา 2549 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4672296023 : BIOTECHNOLOGY

KEY WORD : PROTEIN CONTENT / NACL / AMINO ACID / STRESS / KHAO DAWK MALI 105

NUTTAWAT CHINAYOTIN : ENVIRONMENTAL FACTORS AFFECTING PROTEIN PATTERNS OF KDML 105 RICE. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. VANNA TULYATHAN, Ph.D., THESIS COADVISORS : ASST. PROF. SAKDA JONGKAEWWATTANA, Ph.D.; ANAWAT SUWANAGUL, Ph.D. 44 pp.

This research aimed to investigate protein patterns of rice seeds grown in clayey soil or sandy clay loam soil and to study the effect of stress from sodium chloride (NaCl), L-proline, L-arginine with or without exposed to day light on protein patterns of leaves after planting for 33 days. SDS-PAGE of protein showed no significant different between rice harvested from both soil conditions. Further separation of protein extracts from both soil conditions by 2D-PAGE showed that there was a possibility that 3 distinct groups of protein spots can be shown: a group that presented only in rice seeds obtained from clayey soil, a group that presented only in rice seeds obtained from sandy clay loam soil and a group of protein spots that was commonly presented in both soil conditions.

Applying a mixture solution of 200 mM NaCl, 1 mM L-proline and 1mM L-arginine (1:1:1 v/v/v) during rice seed germination and growth under nutrient deficiency conditions resulted in highest protein content in the leaves compared to other solutions or water alone. SDS-PAGE of protein profiles from leaves grown under day light for 4 weeks, in the dark for 4 weeks, and in the dark for 3 weeks before moving to day light for one week, resulted in 4 distinctive bands of protein at 55, 39, 29 and 22 - 26 kDa.

Field of study	**Biotechnology**	**Student's signature**.....
Academic year	**2006**	**Advisor's signature**.....
		Co-advisor's signature.....
		Co-advisor's signature.....

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลงได้โดยการสนับสนุนของโครงการสร้างภาคีในการผลิตบัณฑิตระดับปริญญาโท-เอกของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. วรรณา ตุลยธัญ อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศักดิ์ดา จงแก้ววัฒนา และ อาจารย์ ดร. อนวัช สุวรรณกุล อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม เป็นอย่างสูง ที่เสนอแนวความคิดริเริ่มในงานวิจัยนี้ และให้คำแนะนำ อบรม เป็นที่ปรึกษาในการทำวิจัย และการเขียนวิทยานิพนธ์นี้ และขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รมณี สงวนดีกุล ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ช่วยตรวจสอบ และแนะนำ และขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศุภจิตรา ชัชวาลย์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ครั้งนี้ ที่ช่วยตรวจสอบ และแก้ไขให้งานวิจัยนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์สาวิตร มีจุ้ย อาจารย์ประจำสถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตร ลำปาง (สวก.) ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. พงศ์ยุทธ นวลบุญเรือง ผู้อำนวยการสถาบันวิจัย และฝึกอบรมการเกษตร ลำปาง (สวก.) และขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ อานันท์ ผลวัฒนะ นักวิชาการเกษตรประจำจังหวัดพิษณุโลก ที่สนับสนุนด้านตัวอย่างพืชทดลองและความรู้ รวมทั้งให้ที่พักขณะอยู่ที่ จ. พิษณุโลก

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ และพี่ธุรการที่สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ และภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือ และกำลังใจในการทำวิจัยนี้

ขอขอบคุณพี่ ๆ และเพื่อน ๆ ปริญญาโท-เอกที่สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ และภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ภาควิชาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่สถาบันวิจัย และฝึกอบรมการเกษตร ลำปาง และที่สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ที่ให้คำแนะนำ และกำลังใจในการทำวิจัยนี้

และในท้ายสุดนี้ ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และคณาญาติของข้าพเจ้า ตลอดจนผู้มีพระคุณกับข้าพเจ้าทุกท่าน ที่ให้สติ ความรู้ คอยช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจให้ข้าพเจ้าในทุก ๆ เวลาเสมอมา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....จ
กิตติกรรมประกาศ.....ฉ
สารบัญ.....ช
สารบัญตาราง.....ซ
สารบัญรูป.....ฌ
บทที่ 1 บทนำ.....1
บทที่ 2 วารสารปริทัศน์.....2
บทที่ 3 การดำเนินงานวิจัย.....10
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง.....16
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ.....34
รายการอ้างอิง.....35
ภาคผนวก.....40
ภาคผนวก ก.....41
ภาคผนวก ข.....42
ภาคผนวก ค.....43
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....44

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1 ตัวอย่างของแหล่งที่พบสารหอม 2AP.....4

2 ปริมาณสารหอม 2AP ที่ได้จากข้าวพันธุ์ต่าง ๆ.....5

3 ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้จากเมล็ดของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกอยู่ในสภาพดินเหนียว หรือดินทราย.....16

4 ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้จากใบข้าวที่ปลูกภายใต้ภาวะควบคุม.....25

ข1 ชนิดโปรตีนอ้างอิงของการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค SDS-PAGE และเทคนิคเจลอิเล็คโทร ฟอเรซิส แบบ 2 มิติ.....42

ค1 แสดงปริมาณโปรตีนมาตรฐาน และค่าดูดกลืนช่วงแสง (ที่ 595 นาโนเมตร).....43

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	โครงสร้างของสารต่าง ๆ ในกลุ่มเทอร์พีน	3
2	โครงสร้างของ 2-Acetyl-1-pyrroline	3
3	การเปลี่ยน proline ไปเป็น 2-acetyl-1-pyrroline	6
4	วิถีของกระบวนการสังเคราะห์ L-proline ในแบคทีเรีย	7
5	วิถีของกระบวนการสังเคราะห์ L-proline ในพืชชั้นสูง	8
6	รูปแบบสมมติฐานของกระบวนการสังเคราะห์ 2-acetyl-1-pyrroline ในข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105	8
7	แผนผังวิธีการปลูก การให้น้ำ การสร้างสภาพเครียด และการเก็บตัวอย่างของข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105	14
8	SDS-PAGE ของโปรตีนที่สกัดได้จากเมล็ดของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกอยู่ในดินเหนียว (A) และดินทราย (B) (MW คือ molecular weight marker)	17
9	2D-PAGE ของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกอยู่ในดินเหนียว (A) และดินทราย (B)	19
10	ผลวิเคราะห์จุดของโปรตีนที่พบในข้าวที่ปลูกในดินเหนียว (A) แต่ไม่พบในดินทราย (B)	21
11	ผลวิเคราะห์จุดของโปรตีนที่ไม่พบในข้าวที่ปลูกในดินเหนียว (A) แต่พบในดินทราย (B)	22
12	ผลวิเคราะห์จุดของโปรตีนที่พบทั้งในดินเหนียว (A) และดินทราย (B) แต่เพิ่มขึ้นในดินเหนียว	23
13	ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้จากใบข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในภาวะควบคุมทั้ง 3 ภาวะ เป็นเวลา 4 สัปดาห์	27
14	รูปแบบโปรตีน (SDS-PAGE) จากใบของข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในที่มีแสง 4 สัปดาห์ โดยมีการเติมสารละลายชนิดต่าง ๆ 8 ชนิด	29
15	รูปแบบโปรตีน (SDS-PAGE) จากใบของข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในที่มืด 4 สัปดาห์ โดยมีการเติมสารละลายชนิดต่าง ๆ 8 ชนิด	30

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
16	รูปแบบโปรตีน (SDS-PAGE) จากใบของข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในภาวะมืด 3 สัปดาห์ ก่อนเอาไว้ในที่มีแสง 1 สัปดาห์ โดยมีการเติมสารละลายชนิดต่าง ๆ 8 ชนิด	31
17	รูปแบบโปรตีน (SDS-PAGE) จากใบของข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในภาวะควบคุม 4 สัปดาห์ โดยมีการเติมสารละลายชนิดต่าง ๆ 8ชนิด	32
ค1	กราฟของโปรตีนมาตรฐาน	43