

ปัจจัยสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อรูปแบบโปรดีนของข้าวพันธุ์ข้าวດอกมะดิ 105

นาย นัฐวัฒน์ ชินะโยธิน

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ  
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ปีการศึกษา 2549  
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ENVIRONMENTAL FACTORS AFFECTING PROTEIN PATTERNS OF  
KDM1 105 RICE

Master Nuttawat Chinayotin

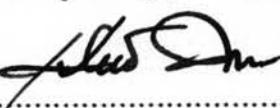
A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science Program in Biotechnology

Faculty of Science  
Chulalongkorn University  
Academic Year 2006  
Copyright of Chulalongkorn University

491793

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ปัจจัยสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อรูปแบบโปรดตินของข้าวพันธุ์ขาวคอกมະลิ 105  
โดย นาย น้ำวัฒน์ ชินะโยธิน  
สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ  
อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร. วรรณา ตุลยชัย  
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศักดิ์ดา จงแก้ววัฒนา  
อาจารย์ ดร. อนวัช สุวรรณภูมิ

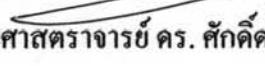
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็น<sup>ก</sup>  
ส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

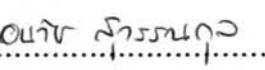
  
..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์  
(ศาสตราจารย์ ดร. เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต)

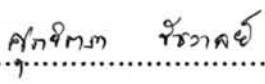
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

  
..... ประธานกรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รมย์ สงวนดีกุล)

  
..... อาจารย์ที่ปรึกษา  
(รองศาสตราจารย์ ดร. วรรณา ตุลยชัย)

  
..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศักดิ์ดา จงแก้ววัฒนา)

  
..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม  
(อาจารย์ ดร. อนวัช สุวรรณภูมิ)

  
..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศุภจิตร ชัชวาลย์)

น้ำวัฒน์ ชินะโยธิน: ปัจจัยสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อรูปแบบโปรตีนของข้าวพันธุ์ขาวคอก  
มะลิ 105 (ENVIRONMENTAL FACTORS AFFECTING PROTEIN PATTERNS OF  
KDM105 RICE) อาจารย์ที่ปรึกษา : รศ. ดร. วรรณ ตุลยธัญ, อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม :  
ผศ. ดร. ศักดิ์ดา จงแก้ววัฒนา, อ. ดร. อนวัช สุวรรณกุล 44 หน้า.

การศึกษาปัจจัยสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อรูปแบบโปรตีนของข้าวพันธุ์ขาวคอกมะลิ 105  
*Oryza sativa* L. มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบรูปแบบโปรตีนในเมล็ดข้าวที่ปลูกในสภาพ  
ดินเหนียว หรือในสภาพดินทราย และศึกษาอิทธิพลของปัจจัยความเครียดจากสารละลายเกลือ  
โซเดียมคลอไรด์ ( $\text{NaCl}$ ) กรดอะมิโน  $\text{L-โพรลีน L-อาร์จินีน}$  ในภาวะที่ได้รับแสงแดด และ  
ไม่ได้รับแสงแดดที่มีผลต่อรูปแบบของโปรตีนในข้าว โปรตีนที่สักด้วยเมื่อทำการแยกด้วย  
เทคนิค SDS-PAGE พบว่ารูปแบบโปรตีนจากเมล็ดข้าวที่ปลูกในดินเหนียว หรือดินทรายไม่มี  
ความแตกต่างกัน และการแยกด้วยเทคนิค 2D-PAGE อาจจะแบ่งกลุ่มพอลีเปปไทด์ออกได้เป็น 3  
กลุ่ม คือ กลุ่มที่พบร่องรอยในข้าวที่ปลูกในสภาพดินเหนียว กลุ่มที่พบร่องรอยในข้าวที่ปลูกในสภาพ  
ดินทราย และกลุ่มที่พบในข้าวทั้งสองสภาพของดินปลูก

การศึกษาผลของปัจจัยความเครียดต่อโปรตีนในข้าวที่ 33 วัน ที่ปลูกในภาวะ  
ขาดสารอาหารพบว่าการใช้สารละลายผสมของเกลือ  $\text{NaCl}$  200 มิลลิโมลาร์  $\text{L-อาร์จินีน}$  1 มิลลิ  
โมลาร์  $\text{L-โพรลีน}$  1 มิลลิโมลาร์ ที่สัดส่วน 1:1:1 (โดยปริมาตร) ให้ปริมาณโปรตีนในข้าวที่สักด้วย  
สูงกว่าการใช้สารละลายผสมอื่น ๆ และนำประป้าอย่างเดียวอยู่ที่ 100 นาที เมื่อนำโปรตีนจาก  
ในข้าวที่ปลูกในภาวะมีแสง ภาวะมืด และภาวะมืด 3 สัปดาห์ และมีแสง 1 สัปดาห์ มาแยกด้วย  
เทคนิค SDS-PAGE พบว่า มีความแตกต่างกันของแต่ละโปรตีน 4 กลุ่ม ที่ขนาด 55 39 29 และ  
22 – 26 กิโลคาลตัน

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ  
ปีการศึกษา 2549

ลายมือชื่อนิสิต.....  
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 KDM 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.....	<i>Nuttawat Chinayotin</i>
Academic year	2006	Advisor's signature.....	<i>V. Tulyathan</i>
		Co-advisor's signature.....	<i>Sakda Jongkaewwattana</i>
		Co-advisor's signature.....	<i>Anawat Suwanagul</i>

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลงได้โดยการสนับสนุนของโครงการสร้างภาคีในการพัฒนาพืชระดับปริญญาโท-เอกของสถาบันวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย  
ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. วรรณา ศุลบรัณ อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศักดิ์ค่า คงแก้ววัฒนา และ อาจารย์ ดร. อนวัช สุวรรณภูมิ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม เป็นอย่างสูง  
ที่เสนอแนวความคิดคริเริ่มในงานวิจัยนี้ และให้คำแนะนำ อบรม เป็นที่ปรึกษาในการทำวิจัย และ การเขียนวิทยานิพนธ์นี้ และขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รัมณี สงวนดีกุล ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ช่วยตรวจสอบ และแนะนำ และขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศุภจิตร ชาชวาลย์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ครั้งนี้ ที่ช่วยตรวจสอบ และแก้ไข ให้งานวิจัยนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์สาวิตร มีจุ๊บ อาจารย์ประจำสถาบันวิจัย และฝึกอบรมการเกษตร ลำปาง (สวก.) ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. พงศ์ยุทธ นวนุชเรือง ผู้อำนวยการสถาบันวิจัย และฝึกอบรมการเกษตร ลำปาง (สวก.) และขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ อานันท์ ผลวัฒนะ นักวิชาการเกษตรประจำจังหวัดพิษณุโลก ที่สนับสนุนด้านตัวอย่างพืชทดลอง และความรู้ รวมทั้งให้ที่พักขณะอยู่ที่ จ. พิษณุโลก

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ และพี่ครุการที่สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ และภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือ และ กำลังใจในการทำวิจัยนี้

ขอขอบคุณพี่ ๆ และเพื่อน ๆ ปริญญาโท-เอกที่สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ และ ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ภาควิชาเทคโนโลยี หลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่สถาบันวิจัย และฝึกอบรมการเกษตร ลำปาง และ ที่สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ที่ให้คำแนะนำ และกำลังใจในการทำวิจัยนี้

และในท้ายสุดนี้ ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และคณาจารย์ของข้าพเจ้า ตลอดจนผู้มีพระคุณกับข้าพเจ้าทุกท่าน ที่ให้สติ ความรู้ คอบช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจให้ข้าพเจ้า ในทุก ๆ เวลาเสมอมา

## สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	๑
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	๑
กิตติกรรมประกาศ.....	๙
สารบัญ.....	๙
สารบัญตาราง.....	๙
สารบัญรูป.....	๙
บทที่ ๑ บทนำ.....	๑
บทที่ ๒ วารสารปริทัศน์.....	๒
บทที่ ๓ การดำเนินงานวิจัย.....	๑๐
บทที่ ๔ ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	๑๖
บทที่ ๕ สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ.....	๓๔
รายการอ้างอิง.....	๓๕
ภาคผนวก.....	๔๐
ภาคผนวก ก.....	๔๑
ภาคผนวก ข.....	๔๒
ภาคผนวก ค.....	๔๓
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	๔๔

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ตัวอย่างของแหล่งที่พบสารหอม 2AP.....	4
2	ปริมาณสารหอม 2AP ที่ได้จากข้าวพันธุ์ต่าง ๆ .....	5
3	ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้จากเมล็ดของข้าวพันธุ์ข้าวคอกมะลิ 105 ที่ปลูกอยู่ในสภาพ ดินเหนียว หรือดินทราย.....	16
4	ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้จากใบข้าวที่ปลูกภายใต้ภาวะความชื้น.....	25
ช1	ชนิดโปรตีนอ้างอิงของการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค SDS-PAGE และเทคนิค เจลอะลีค โทร ฟอร์เซซ 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	วิธีของการบวนการสังเคราะห์ L-proline ในแบคทีเรีย.....	7
5	วิธีของการบวนการสังเคราะห์ L-proline ในพืชชั้นสูง.....	8
6	รูปแบบสมมติฐานของการบวนการสังเคราะห์ 2-acetyl-1-pyrroline ในข้าวหอม พันธุ์ขาวคอกมะลิ 105.....	8
7	แผนผังวิธีการปลูก การให้น้ำ การสร้างสภาพเครียด และการเก็บตัวอย่างของ ข้าวหอมพันธุ์ขาวคอกมะลิ 105.....	14
8	SDS-PAGE ของโปรตีนที่สกัดได้จากเมล็ดของข้าวพันธุ์ขาวคอกมะลิ 105 ที่ ปลูกอยู่ในดินเหนียว (A) และดินทราย (B) (MW คือ molecular weight marker).....	17
9	2D-PAGE ของข้าวพันธุ์ขาวคอกมะลิ 105 ที่ปลูกอยู่ในดินเหนียว (A) และ ดินทราย (B).....	19
10	ผลวิเคราะห์จุดของโปรตีนที่พบในข้าวที่ปลูกในดินเหนียว (A) แต่ไม่พบใน ดินทราย (B).....	21
11	ผลวิเคราะห์จุดของโปรตีนที่ไม่พบในข้าวที่ปลูกในดินเหนียว (A) แต่พบใน ดินทราย (B).....	22
12	ผลวิเคราะห์จุดของโปรตีนที่พบทั้งในดินเหนียว (A) และดินทราย (B) แต่เพิ่มขึ้น ในดินเหนียว.....	23
13	ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้จากในข้าวพันธุ์ขาวคอกมะลิ 105 ที่ปลูกในภาวะความชุ่ม ทั้ง 3 ภาวะ เป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	27
14	รูปแบบโปรตีน (SDS-PAGE) จากใบของข้าวหอมพันธุ์ขาวคอกมะลิ 105 ที่ปลูก ในที่มีแสง 4 สัปดาห์ โดยมีการเติมสารละลายชนิดต่าง ๆ 8 ชนิด.....	29
15	รูปแบบโปรตีน (SDS-PAGE) จากใบของข้าวหอมพันธุ์ขาวคอกมะลิ 105 ที่ปลูก ในที่มีด 4 สัปดาห์ โดยมีการเติมสารละลายชนิดต่าง ๆ 8 ชนิด.....	30

## สารบัญรูป

รูปที่

หน้า

16	รูปแบบโปรตีน (SDS-PAGE) จากใบของข้าวหอมพันธุ์ขาวคอกมะลิ 105 ที่ปลูกในภาวะมีด 3 สัปดาห์ ก่อนเอาไว้ในที่มีแสง 1 สัปดาห์ โดยมีการเติมสารละลายชนิดต่าง ๆ 8 ชนิด.....	31
17	รูปแบบโปรตีน (SDS-PAGE) จากใบของข้าวหอมพันธุ์ขาวคอกมะลิ 105 ที่ปลูกในภาวะควบคุม 4 สัปดาห์ โดยมีการเติมสารละลายชนิดต่าง ๆ 8 ชนิด.....	32
ค1	กราฟของโปรตีนมาตรฐาน.....	43