รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การศึกษากลไกการยับยั้งเอทิลีนโดยใช้อนุภาคโลหะนาโนร่วมกับการทำงานของสารเฟลโวนอยด์ในพืชแปลงพันธุ์

A Study of the inhibition mechanisms of ethylene by metal nanomaterials combining with flavonoid in transgenic plants

นางสาวกนกพร สมพรไพลิน

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดินประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558-2559
วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การศึกษากลไกการยับยั้งเอทิลีนโดยใช้อนุภาคโลหะนาโนร่วมกับการทำงานของสารเฟลโวนอยด์ในพืชแปลงพันธุ์

A Study of the inhibition mechanisms of ethylene by metal nanomaterials combining with flavonoid in transgenic plants

นางสาวกนกพร สมพรไพลิน

RCH
ก124ก
2559
สขหมู่.....
เลขทะเบียน 147871
วัน.เดือน.ปี 15 ก.ค. 2560

.b 12862496
.i.....

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดินประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558-2559
วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ประจำปีงบประมาณ 2558 และ 2559 (2558A11802171, 2559A11862015) และขอขอบคุณ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) และ บุคคลากรวิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง ที่มีส่วนช่วยสนับสนุนและให้การช่วยเหลือ จนกระทั่ง สามารถดำเนินการงานวิจัยสำเร็จลุล่วงด้วยดี

กนกพร สมพรไพลิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย 8

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ 9

กิตติกรรมประกาศ 3

สารบัญ 5

สารบัญตาราง 6

สารบัญภาพ 4

บทที่ 1 บทนำ 10

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 14

บทที่ 3วิธีดำเนินการวิจัย 22

บทที่ 4 ผลการวิจัย 24

บทที่5สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 34

บทที่ 6สรุปผลผลิตงานวิจัย 35

เอกสารอ้างอิง 35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1ตัวอย่างสัญญาณกระตุ้นการแสดงออกของยีน ACS แต่ละชนิด 16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 แสดงโครงสร้างทางเคมีของก๊าซเอธิลีน	14
2.2 ชีวสังเคราะห์เอทิลีน	15
2.3แสดงโครงสร้างหลักของเฟลโวนอยด์	18
2.4 ชีวสังเคราะห์เฟลโวนอยด์	20
4.1 ความสมบูรณ์ของเซลล์	24
4.2 ปริมาณเม็ดสีที่ใช้ในการสังเคราะห์แสง	25
4.3 ปริมาณน้ำตาลที่พบในสารสกัดจากเนื้อเยื่อพืช	26
4.4 ปริมาณสารกลุ่มเฟลโวนอยด์ของพืช	27
4.5 ความสมบูรณ์ของเซลล์	28
4.6 ปริมาณเม็ดสีที่ใช้ในการสังเคราะห์แสง	29
4.7 ปริมาณน้ำตาลที่พบในสารสกัดจากเนื้อเยื่อพืช	30
4.8 ปริมาณสารกลุ่มเฟลโวนอยด์ของพืช	31
4.9 ปริมาณร้อยละของเอธิลีนน้ำที่แช่ ใบพืช	33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) การศึกษากลไกการยับยั้งเอทิลีนโดยใช้อนุภาคโลหะนาโนร่วมกับการทำงานของสารเฟลโวนอยด์ในพืชแปลงพันธุ์

แหล่งเงินงบประมาณแผ่นดินประจำปีงบประมาณ
ประจำปีงบประมาณพ.ศ. 2558-2559 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน760,000บาท
ระยะเวลาทำการวิจัย 2 ปี ตั้งแต่ ตค 2557 ถึงกย2559

ชื่อ-สกุล หัวหน้าโครงการ กนกพรสมพรไพลิน วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

พืชดัดแปลงพันธุกรรม ที่เพิ่มการแสดงออกของยีนในชีวสังเคราะห์เฟลโวนอยด์ต่างสายพันธ์ได้ถูกนำมาทดสอบการตอบสนองต่อน้ำตาลในระดับที่สูงกว่าสภาวะเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปรกติ และวิเคราะห์การตอบสนองทางสรีรวิทยาและ การผลิตสาร แมแทบอไลท์ของพืช อาหารที่มีน้ำตาลในอาหารที่สูงกว่าระดับปรกติ มีผลกระตุ้นให้พืชสะสมน้ำตาล และสารเฟลโวนอยด์ กลุ่มย่อย เพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะในพืชดัดต่อพันธุกรรม พืชมีอัตราการเจริญเติบโตลดลง แต่ ไม่ส่งผลต่อ เม็ดสีที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ด้วยแสง และ ปฏิกิริยา การทำลายเมมเบรน (lipid peroxidation) เมื่อเติมอนุภาคนาโน เพิ่มเติมลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่า พืชมีลักษณะฟีโนไทป์ ปรกติ แต่ มีปริมาณรงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์แสงลดลง อนุภาคนี้มีผลให้กระตุ้นให้พืช มีการสะสมสารเฟลโวนอยด์ และน้ำตาลเพิ่มมากขึ้น

การทดลองตัดใบพืชปรกติ และพืชดัดแปลงพันธุกรรม มาแช่น้ำ และน้ำที่เติม อนุภาคนาโน พบว่า พืชดัดแปลงพันธุกรรมมีอายุการแช่น้ำ ที่นานกว่า และ การเติม อนุภาคนาโน มีส่วนสำคัญในการช่วยยืออายุการแช่น้ำของใบพืช

คำสำคัญ : เอธิลีน, เฟลโวนอยด์, วัสดุชีวภาพ, อนุภาคนาโน ซิงค์ออกไซด์, น้ำตาล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Research Title: A Study of the inhibition mechanisms of ethylene by metal nanomaterials combining with flavonoid in transgenic plants

Researcher: Kanokporn Sompornpailin

College of Nanotechnology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

ABSTRACT

Different lines of transgenic overexpressing flavonoids biosynthetic gene were screened for high sugar responding. Physiological responses and metabolite responses of transgenics were used to analyze in compared with WT plant under tissue culture condition. Medium containing slightly high sugar than normal MS condition affected on enhancing sugar and flavonoid biosynthesis especially in transgenic plants. Plant growthที่ slightly retarded their rate, but not disturb their growth parameters (photosynthetic pigments, lipid peroxidation level). When metal nanomaterial was added in the tissue culture medium, no evidence on plant phenotype and MDA level are found to indicate worse effects. However, photosynthetic pigments (chlorophyll and carotenoids) were slightly decreased. This material effects on the increasing accumulation of sugar and flavonoid subgroups in both WT and transgenics but transgenic had higher accumulations. WT and transgenic leave were cut and be immersed in water and water with nanomaterial. The result showed that transgenic leave is highly stable than WT, and nanomaterial enhanced their stability

Keywords: Ethylene, Flavonoid, Biomaterials, Nanoparticles, ZnO, Sugar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ผลผลิตทางการเกษตร ได้แก่ ผัก ผลไม้ และไม้ดอก เป็นผลผลิตที่ เน่าเสียได้ง่าย การส่งสินค้าเหล่านี้เพื่อจำหน่ายในประเทศ หรือต่างประเทศ จำเป็นต้องมีระบบการจัดการที่ดีเพื่อ ลดความเสียหายจากผลผลิตทางการเกษตรเหล่านั้น ในอดีต ถึงปัจจุบัน เกษตรกร ผู้ส่งออก หรือผู้เกี่ยวข้อง ได้ใช้การจัดการกับพืชเหล่านี้ภายหลังเก็บเกี่ยว โดยพัฒนาวิธีการเก็บรักษา การบรรจุหีบหอ เพื่อการขนส่งไปถึงผู้บริโภคในสภาพที่ตรงต่อความต้องการของผู้บริโภค แต่พบว่าเทคโนโลยีที่ใช้การจัดการกับพืชภายหลังเก็บเกี่ยวยังไม่เหมาะสมเท่าที่ควร และคุณลักษณะของสินค้าการเกษตรเองซึ่งใช้อาหารที่สะสมอยู่เพื่อความอยู่รอด เมื่ออาหารสะสมหมดใกล้หมด จะมีการผลิตก๊าซเอทิลีนที่สามารถกระตุ้นการทำงานแบบ network มีผลให้ผลผลิตเหี่ยวเฉาลงและเสื่อมสภาพอย่างรวดเร็ว เนื่องจากกลไกการกระตุ้นการสังเคราะห์ก๊าซเอทิลีนเอง และการกลไกการทำลายเซลล์แบบต่อเนื่อง รวมทั้งอาจเกิดการเข้าทำลายของโรคแมลง ภายหลังเก็บเกี่ยว ก็ส่งผลต่อการกระตุ้นผลิตก๊าซเอทิลีนเช่นเดียวกัน

เอทิลีนเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช ที่มีทั้งข้อดี และข้อด้อยต่อพืชผลทางการเกษตร ข้อดีคือ ช่วยเร่งให้ผลไม้สุกเหมาะสมต่อการบริโภค และข้อด้อยคือพืชผลทางการเกษตรอาจได้รับความเสียหาย ถ้ามีการผลิตก๊าซชนิดนี้มากในระหว่างการเก็บรักษาและขนส่ง ดังนั้นถ้าหากทราบกลไกการควบคุมการผลิตก๊าซเอทิลีน ที่มีความซับซ้อนนี้ และหาแนวทางยับยั้ง หรือควบคุมให้มีการแสดงการสังเคราะห์ก๊าซเอทิลีนในระดับต่างๆ อย่างเหมาะสม โดยใช้องค์ความรู้ทางวิทยาศาสตร์พื้นฐานในระดับโมเลกุลร่วมกับเทคโนโลยีที่มีในปัจจุบันน่าจะมีส่วนสำคัญ ควบคุมการชีวสังเคราะห์ก๊าซเอทิลีนให้มีการแสดงออกอย่างเหมาะสมเพื่อประโยชน์สูงสุด สามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลผลิตทางการเกษตรได้นานขึ้น ลดความเสียหาย ทำให้สามารถส่งออกผลิตผลไปยังตลาดต่างประเทศที่อยู่ห่างไกลได้เป็นปริมาณมากโดยเฉพาะทางทางเรือ รวมทั้งยังเป็นผลดีต่อการเคลื่อนย้ายวัตถุดิบในประเทศ รวมถึงวัตถุดิบทางการเกษตรสำหรับภาคอุตสาหกรรมหลายชนิด ได้แก่ พืชผัก ผลไม้ และดอกไม้สด เป็นการเพิ่มรายได้ให้กับประเทศและชาวเกษตรกร

พืชเศรษฐกิจแต่ละชนิดอาจ มีทางลักษณะ phenotype ที่แตกต่างกันออกไป แต่รายงานการวิจัยทางวิทยาศาสตร์พื้นฐานพบว่า พืชเหล่านี้ มีสารพันธุกรรมที่มียีนเกี่ยวข้องกับการผลิตสารเมแทบอไลท์ หรือโปรตีนใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มเดียวกัน แต่อาจแตกต่างกันที่ชนิดหรือปริมาณ สาร หรือ โปรตีนกลุ่มย่อยที่ผลิตได้ มีผลให้พืชแต่ละชนิดมีลักษณะการเก็บรักษาได้ยากง่ายแตกต่างกันออกไป เนื่องจากสารพันธุกรรมนี้มีผลต่อคุณสมบัติตอบสนองต่อสภาวะไม่เหมาะสมของพืชแต่ละชนิดแตกต่างกันออกไป

มีรายงานถึงผลของอนุภาคโลหะ ต่อการยับยั้งก๊าซเอทิลีนในระดับต่างๆ ในปัจจุบันเทคโนโลยีที่พัฒนาขึ้นส่งผลให้สามารถผลิตสารในขนาดระดับนาโน ซึ่งมีคุณสมบัติเด่นในด้านการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ดียิ่งขึ้น และใช้ในปริมาณน้อยดังนั้นผู้ทดลองสนใจนำอนุภาคโลหะขนาดนาโนมาใช้ศึกษากลไกการยับยั้งการผลิตเอทิลีน ซึ่งน่าจะมีผลสำคัญต่อการยับยั้งการเสียหายของผลผลิตอันเนื่องมาจาก ก๊าซเอทิลีน

สารเฟลโวนอยด์เป็นสารสารทุติยภูมิที่พบได้ทั่วไปในพืชที่อาศัยบนบก สารกลุ่มนี้มีสารกลุ่มย่อยที่หน้าที่ที่หลากหลาย ได้แก่ เป็นสัญญาณโมเลกุลภายในเซลล์เพื่อให้เพื่อเกิดการเจริญ พัฒนา และเกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์ ในสภาวะแวดล้อมไม่เหมาะสม สารเฟลโวนอยด์จะทำหน้าที่ปกป้องพืชโดยมีคุณสมบัติแตกต่างกัน ขึ้นกับชนิดสารกลุ่มย่อย นอกจากนี้แอนโทไซยานินเป็นสารในกลุ่มสารเฟลโวนอยด์ที่มีผลต่อการแสดงสีในดอกไม้และผลไม้ มีรายงานการวิจัยถึงสารเฟลโวนอยด์ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระซึ่งมีผลชลอการแก่ในพืช น้ำตาลทำหน้าที่เป็นสัญญาณโมเลกุลมีส่วนสำคัญ ในการควบคุมทั้งสองชีวสังเคราะห์ แต่กลไกการควบคุมทำงานยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด

ในงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษากลไกภายในต้นพืชเอง โดยใช้พืชทดสอบเป็นตัวแทนของพืชเศรษฐกิจ และพืชดัดแปลงพันธุ์ที่มีปริมาณเฟลโวนอยด์ในปริมาณสูง เนื่องจากมีความสะดวกในการศึกษา สามารถควบคุมสภาวะแวดล้อมได้ เพื่อให้เกิดความชัดเจนในการศึกษาปริมาณสารเฟลโวนอยด์ และอนุภาคโลหะขนาดนาโนที่มีผลต่อชีวสังเคราะห์ก๊าซเอทิลีน กลไกการผลิตสารปกป้องเซลล์โดยผลิตสัญญาณโมเลกุลสารปฐมภูมิภายในเซลล์ และสารทุติยภูมิกลุ่มเฟลโวนอยด์ ร่วมกับการใช้อนุภาคโลหะขนาดนาโน ในการทดลองนี้ทำการทดลองในระบบเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เพื่อให้สามารถควบคุมปัจจัยที่มีผลการแสดงออกของสารและการแสดงออกของยีนอย่างชัดเจนซึ่งจะนำไปสู่การวิเคราะห์ผลอย่างถูกต้อง และนำองค์ความรู้เหล่านี้ไปประยุกต์ใช้จริงกับผลผลิตทางการเกษตรต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อคัดเลือกพืชดัดแปลงพันธุ์ที่ตอบสนองต่อน้ำตาลและผลิตสารเฟลโวนอยด์ในปริมาณสูง
2. เพื่อศึกษาผลของอนุภาคโลหะขนาดนาโนต่อการพืชปรกติและพืชดัดแปลงพันธุ์ต่อการเปลี่ยนแปลงทางฟีโนไทป์ (phenotype)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. เพื่อศึกษาผลของอนุภาคโลหะขนาดนาโนต่อการพืชปรกติและพืชดัดแปลงพันธุ์ต่อการเปลี่ยนแปลงทางเมแทบอไลท์ (metabolite) พืช และการสร้างเอธิลีน

4. เพื่อการศึกษาผลการทำงานร่วมกันของอนุภาคโลหะขนาดนาโนและน้ำตาล ต่อ การเปลี่ยนแปลงทางฟีโนไทป์ของพืชปรกติและพืชดัดแปลงพันธุ์

5. เพื่อการศึกษาผลการทำงานร่วมกันของอนุภาคโลหะขนาดนาโนและน้ำตาล ต่อการเปลี่ยนแปลงทางเมแทบอไลท์ (metabolite) พืช และการสร้างเอธิลีน

6. เพื่อการศึกษาการแนวทางแสดงออกของยีนที่ เกี่ยวข้องในการตอบสนองต่ออนุภาคโลหะขนาดนาโน และน้ำตาล และมีผลยับยั้งการผลิตเอธิลีน

7. เพื่อนำองค์ความรู้ ที่ได้ไปพัฒนาในการเก็บรักษาผลผลิตทางการเกษตร สำหรับไปเผยแพร่ให้เกษตรกร หรืออุตสาหกรรมการส่งออก

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ในการทดลองนี้ ผู้ทดลองจะนำพืชดัดแปลงพันธุ์ ที่มียีนในชีวสังเคราะห์เฟลโวนอยด์ นำมาตรวจสอบการผลิตสารเฟลโวนอยด์ตอบสนองต่อน้ำตาล เพื่อคัดเลือกต้นที่ตอบสนองต่อน้ำตาลสูง โดยมีการสะสมสารเฟลโวนอยด์ในปริมาณสูง นำไปทำการทดสอบผลของอนุภาคโลหะขนาดนาโน และผลของ อนุภาคโลหะขนาดนาโน ร่วมกับน้ำตาล ในการยับยั้งการแก่ของพืชดัดแปลงพันธุ์ เปรียบเทียบกับกับพืชปรกติ ทำการทดลองในระบบเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยทำการตรวจสอบปริมาณน้ำตาลภายในเซลล์ สารเฟลโวนอยด์ และ การผลิตเอทิลีน ที่พืชผลิตขึ้นภายในเซลล์ และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารกับการปกป้องเซลล์ในรูปแบบต่างๆ นอกจากนี้ยังศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้อง เพื่อการเข้าใจกลไกการทำงานอย่างแท้จริง

1.4 สมมติฐานงานวิจัย

การยับยั้งการทำงานของเอทิลีนในพืชมีหลายกลไกจำแนกเป็นกลไกภายนอกและภายในพืช กลไกภายนอกได้แก่การใช้สารที่มีประสิทธิภาพยับยั้งเอทิลีน กลไกภายในได้แก่การยับยั้งชีวสังเคราะห์สารในพืช การอาศัยกลไกการทำงานในพืชเองน่าจะให้ผลดีในการแก้ไขปัญหาผลผลิตการเกษตรแบบยั่งยืน การวิจัยเบื้องต้นของผู้ทดลองเองพบว่าปริมาณสารเฟลโวนอยด์ และเอทิลีน จะผกผันกัน คือพืชที่มีระดับสารเฟลโวนอยด์สูงจะมีปริมาณสารเอทิลีนต่ำ และน้ำตาลทำหน้าที่เป็นสัญญาณโมเลกุลมีส่วนสำคัญในการควบคุมทั้งสองชีวสังเคราะห์ แต่กลไกการควบคุมทำงานยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่การการศึกษากลไกร่วมจากภายนอกคืออนุภาคโลหะขนาดนาโน น่าจะมีส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำคัญในการเพิ่มการยับยั้งการทำงานของเอทิลีนได้อีกแนวทางหนึ่งเพื่อเป็นแนวทางในการเลือกใช้ให้เหมาะกับผลผลิตทางการเกษตรแต่และชนิด

1.5 คำสำคัญ

เอธิลีน, อนุภาคโลหะ, ขนาดนาโน, เฟลโวนอยด์, น้ำตาล

Ethylene, metal nanomaterial, flavonoids, sugar

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. พืชดัดแปลงพันธุ์ที่ตอบสนองต่อน้ำตาลและผลิตสารเฟลโวนอยด์ในปริมาณสูงสำหรับการศึกษาในขั้นต่อไป
2. ผลของอนุภาคโลหะขนาดนาโนต่อการเปลี่ยนแปลงทางฟีโนไทป์ (phenotype) พืชปรกติและพืชดัดแปลงพันธุ์
3. ผลของอนุภาคโลหะขนาดนาโน ต่อการเปลี่ยนแปลงทางเมแทบอไลท์ (metabolite) และการสร้างเอธิลีนพืชปรกติและพืชดัดแปลงพันธุ์
4. ผลการทำงานร่วมของอนุภาคโลหะขนาดนาโนและน้ำตาล ต่อ การเปลี่ยนแปลงทางฟีโนไทป์ของพืชปรกติและพืชดัดแปลงพันธุ์
5. ผลการทำงานร่วมของอนุภาคโลหะขนาดนาโนและน้ำตาล ต่อการเปลี่ยนแปลงทางเมแทบอไลท์ และการสร้างเอธิลีนของพืช
6. ผลการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องต่อการยับยั้งเอธิลีนในพืชที่ตอบสนองต่ออนุภาคโลหะขนาดนาโนและน้ำตาล
7. องค์ความรู้ ที่ได้ไปพัฒนาในการเก็บรักษาผลผลิตทางการเกษตร
8. องค์ความรู้ การจำแนกผลผลิตทางการเกษตรที่สามารถเก็บรักษาได้นาน เพื่อให้สามารถจัดการการส่งออกอย่างเหมาะสม
9. เป็นส่วนหนึ่งของการผลิตกำลังคนด้านวิทยาศาสตร์ ในระดับบัณฑิตศึกษา
10. การนำเสนอผลงานในที่ประชุมวิชาการอย่างน้อยจำนวน 1 เรื่อง
11. การเผยแพร่ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ อย่างน้อยจำนวน 1 เรื่อง

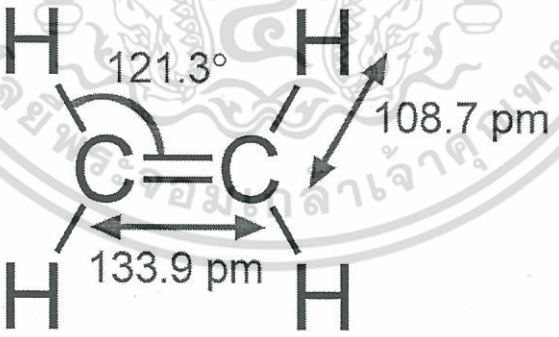
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
แนวคิด และ ทฤษฎี

2.1 แนวคิด และ ทฤษฎี

เอทิลีน (ethylene) เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในพืช (ฮอร์โมนพืช) ที่มีบทบาทสำคัญของคือ ทำหน้าที่ควบคุมกระบวนการเจริญเติบโตในสภาวะปรกติ เกี่ยวข้องกับ การงอกของเมล็ด การหลุดร่วงของใบ ดอก ผล อัตราการสังเคราะห์ขึ้นกับระยะของการเจริญและพัฒนาของพืช เช่น เมล็ดที่กำลังงอก ผลไม้ที่กำลังจะสุก จะผลิตเอทิลีนในปริมาณสูง นอกจากนี้ในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น แห้งแล้ง สภาวะดินเค็ม หรือเมื่อพืชเกิดบาดแผล การได้รับเชื้อจุลินทรีย์ เป็นต้น พืชจะมีการผลิตเอทิลีนเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน เอทิลีนที่พืชผลิตขึ้นมีลักษณะเป็นก๊าซ ผลิตได้ในทุกส่วนของพืช ในปริมาณเพียงเล็กน้อย (ระดับ 0.1 -1 ไมโครลิตร) ก๊าซชนิดนี้กระตุ้นให้เนื้อเยื่อพืช เพิ่มอัตราการหายใจ และควบคุมกระบวนการต่างๆของเนื้อเยื่อพืชในช่วงการแก่และสุกของดอกไม้หรือดอกไม้ เป็นแบบกริยาลูกโซ่

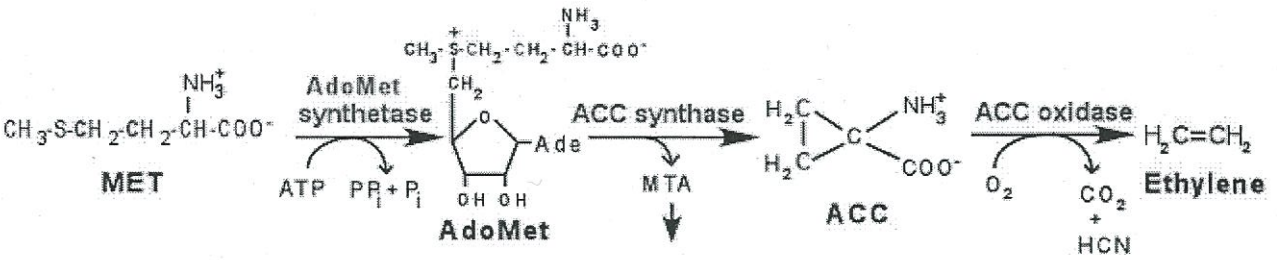
เอทิลีนมีโครงสร้าง ดังแสดง ภาพที่ 1.1 มีคุณสมบัติ เป็นก๊าซที่อุณหภูมิห้อง ก๊าซไม่มีสี ละลายน้ำ และแอลกอฮอล์ได้



ภาพที่ 2.1 แสดงโครงสร้างทางเคมีของก๊าซเอธิลีน

ที่มา : https://en.wikipedia.org/wiki/Ethylene

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.2 ชีวสังเคราะห์เอทิลีน: เอนไซม์ระบุที่เหนือลูกศร ตัวย่อชนิดสารหมายถึง AdoMet: S-adenosyl-methionine; Met: methionine; ACC: 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid; MTA: methylthioadenine.

ที่มา http://labs.bio.unc.edu/Kieber/ethylene%20Biosynthesis%20page.htm

การสังเคราะห์เอทิลีน ในขั้นแรกใช้กรดอะมิโนเมทไทโอนีนเป็นสารตั้งต้น ในการเปลี่ยนแปลงด้วยด้วยเอนไซม์ Methionine adenosyltransferase (AdoMet synthase) ไปเป็น S-adenosyl-L-methionine (SAM) หรือเรียก Adomet ในขั้นที่สอง เป็นขั้นตอนสำคัญในการควบคุมการผลิตเอทิลีน SAM ถูกเปลี่ยนแปลงด้วย ด้วยเอนไซม์ ACC synthase (ACS) ไปเป็น 1-aminocyclopropane-1-carboxylic-acid (ACC) ในขั้นสุดท้าย เกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์ ACC-oxidase (ACO) ต้องการใช้ออกซิเจน ในการเกิดปฏิกิริยาการสังเคราะห์ เอทิลีน การสังเคราะห์เอทิลีนนี้ยังถูกควบคุมโดย สารควบคุมการเจริญเติบโตในพืชชนิดอื่นๆ เช่น ออกซิน ไซโตไคนิน เป็นต้น เอนไซม์ ACS ในพืชมีจัดเป็น multi-gene family คือมีหลายยีนที่ให้เอนไซม์ชนิดนี้ ในพืชที่นิยมใช้เป็นตัวอย่างในการศึกษา (model plant) คืออะราบิดอปซิส (Arabidopsis) พบว่ามียีนชนิดนี้ มากกว่า 6 ยีน (Liang et al., 1995) แต่ละยีนมีการแสดงออกแตกต่างกันออกไป ขึ้นกับสิ่งเร้าที่มากระตุ้น นอกจากการควบคุมการสังเคราะห์เอทิลีนที่ระดับการแสดงออกของยีนแล้วยังพบว่ายังมีการควบคุมการผลิตในสารตัวกลางอีกด้วย สาร ACC สามารถเกิดอนุพันธุ์กับสารตัวอื่น เกิดเป็น malonyl-ACC โดยการทำงานของ เอนไซม์ ACC malonyltransferase (Hoffman et al, 1982) ซึ่งน่าจะเป็นกลไกลควบคุมสารปริมาณสารเอทิลีนในพืช

กลไกการควบคุมการสังเคราะห์สารเอทิลีนในระดับโมเลกุลนั้น มีความซับซ้อนมีการทำงานร่วมกันของสารเมแทบอไลท์และโปรตีนหลายชนิด น้ำตาลเป็นสารปฐมภูมิชนิดหนึ่งที่เป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญภายในเซลล์ นอกจากนี้น้ำตาลยังมีความสำคัญในการทำหน้าที่เป็นสัญญาณโมลกุลในหลากหลายชีวสังเคราะห์สาร ในพืชหลายชนิดพบว่า มีการเปลี่ยนแปลงระดับน้ำตาลตอบสนองต่อ สภาวะกดดันต่างๆ เพื่อส่งสัญญาณภายในพืช ทั้งในการกระตุ้นสารควบคุมการเจริญเติบโต และการสร้างสารทุติยภูมิ พืชการปกป้องพืช (Maness 2010)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 ตัวอย่างสัญญาณกระตุ้นการแสดงออกของยีน ACS แต่ละชนิด

ยีน	สัญญาณกระตุ้นการแสดงออก	Ref.
ACS2	บาดแผล, ไซโคเฮกซามีน (cycloheximide)	Van der Straeten et al.,1992; Liang et al., 1996
ACS4	บาดแผล, ไซโคเฮกซามีน (cycloheximide), กรดอินโดลแอซีติก (indoleacetic acid)	Liang et al., 1992; Abel et al., 1995
ACS5	ลิเทียมคลอไรด์ (lithium chloride), ไซโตไคนิน (cytokinin)	Liang et al., 1996; Vogel et al., 1998
ACS6	การสัมผัส, ไซยานีน (cyanide), ไซโคเฮกซามีน (cycloheximide), กรดอินโดลแอซีติก (indoleacetic acid) และ เอทิลีน	Vahala et al., 1998; Arteca and Arteca, 1999; Overmyer et al., 2000; Smith and Arteca, 2000
ACS10	ยีน *CONSTANS* ที่ควบคุมการบานของดอกในการตอบสนองต่อแสง	Samach et al., 2000

จากตารางที่ 2.1 สัญญาณกระตุ้นการแสดงออกของ ACS จะมีทั้งที่เป็นทางกายภาพเช่น การสัมผัส หรือ บาดแผล สารอินทรีย์ และ สารอนินทรีย์ ซึ่งสอดคล้องกับหลายๆ งานวิจัยที่พบว่า เอทิลีนตอบสนอง และ เป็นสัญญาณให้กับการสังเคราะห์สารต่างๆของพืชในสภาวะที่พืชเกิดความเครียด เช่นเมื่อพืชเกิดบาดแผล สารเคมี โลหะหนัก อยู่ในสภาวะแล้ง อุณหภูมิสูง หรือถูกรุกรานโดยศัตรูพืช (Kende, 1993; Johnson and Ecker, 1998) โดยสถาวะเครียดเหล่านี้จะไปกระตุ้นการผลิตเอทีลีน โดยเร่งการเปลี่ยน S-AdoMet ให้เป็น ACC ภายใต้สภาวะเครียดของพืช นอกจากจะส่งผลกระตุ้นการสังเคราะห์เอทีลีนแล้วยังมีความเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นในเกิด อนุมูลอิสระหรืออนุพันธ์ออกซิเจนที่ว่องไว (reactive oxygen species, ROS) จำพวก ซุปเปอร์ออกไซด์ (superoxide), อนุมูลไฮดรอกซิล (Hydroxyl Radical) และ ไฮโดรเจรเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) (Surplus et al., 1998; Orozco-Cardenas and Ryan, 1999; Pellinen et al., 1999) อนุมูลอิสระเหล่านี้เป็นสาเหตุในการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์โดยก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของลิพิด (lipid oxidation) ที่เซลล์เมมเบรน ซึ่งทำให้เซลล์พืชเกิดความเสียหายได้ เป็นสาเหตุให้พืชต้องสร้างสารทุติยภูมิที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น เพื่อลด ROS ลง สารทุติยภูมิกลุ่มที่มีสำคัญต่อพืชโดยเฉพาะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

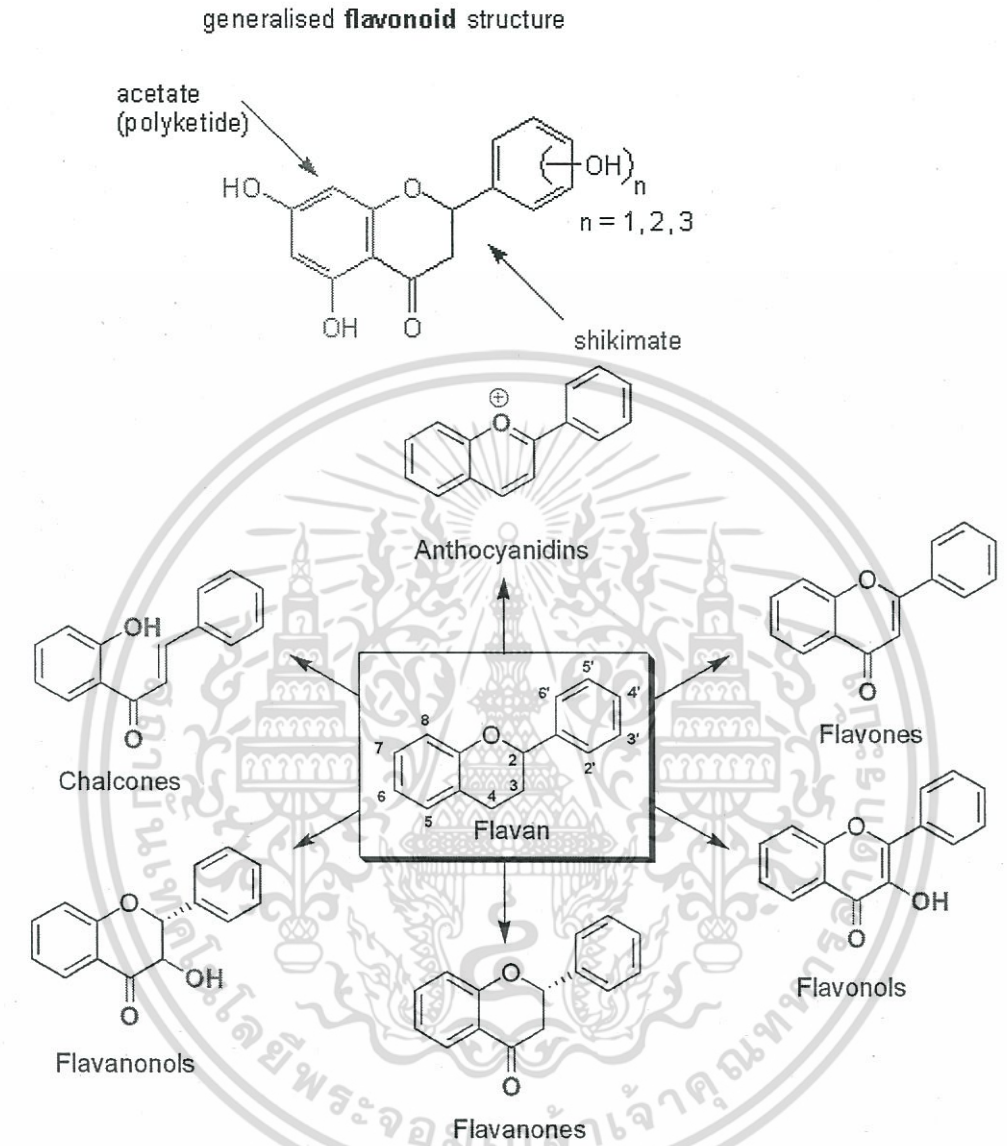
ในเรื่องของการต้านอนุมูลอิสระ คือ สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoid) มีการศึกษาพบว่า ทั้งเอทิลีน และสภาวะเครียดกระตุ้นในพืชมีการสะสมฟลาโวนอยด์สูงขึ้น (Charles S. Buer et al., 2006; Justin M. Watkins et al., 2014; Daniel R. Lewis et al., 2011) รวมทั้งกระตุ้นการแสดงออกของยีนในวิถีสังเคราะห์ฟลาโวนอยด์ (Seok-Won Jeong et al., 2010)

สารทุติยภูมิในกลุ่มเฟลโวนอยด์ พบได้ทั่วไปในพืชที่พัฒนามาเจริญบนบก สารในกลุ่มนี้มีสารกลุ่มย่อยที่ทำหน้าที่แตกต่างกันในเซลล์ ได้แก่ สารต้านอนุมูลอิสระ ดูดซับรังสียูวี เป็นสัญญาณโมเลกุลในการเจริญและพัฒนาของพืช นอกจากนี้ยังทำหน้าที่เป็นเม็ดสีในดอกไม้และผลไม้ (Blokhina et al. 2003, Burchard et al. 2000) เฟลโวนอยด์ของกลุ่มสารประกอบที่เกิดขึ้นจากสารตั้งต้นสองชนิด ได้แก่ คูมาโลอิลโคเอ (coumaroyl CoA) และมาเลอิลโคเอ (malonyl CoA) และเกิดปฏิกิริยาต่าง ๆ เช่น hydroxylation, methylation, glycosylation หรือ acylation ทำให้เกิดสารประกอบต่าง ๆ ในวิถีชีวสังเคราะห์เฟลโวนอยด์ โดยที่สารประกอบกลุ่มหลักที่พบมากในพืชชั้นสูง เช่น เฟลโวน (flavone) เฟลโวนอล (flavonol) ไอโซเฟลโวนอยด์ (isoflavonoids) เฟลวาโนน (flavanone) เรสเวอราทอล (resveratrol) แอนโทไซยานิน (anthocyanin) และกัลโลแทนนิน (gallotannin) (Harborne and Williams 2000) การสะสมสารเฟลโวนอยด์ในพืชมีปริมาณแตกต่างกันออกไปขึ้นกับระยะการเจริญและพัฒนาของพืช (Chalker-Scott 1990).

เฟลโวนอยด์ (flavonoids) เป็นกลุ่มสารที่ให้สีสันแก่พืช รวมถึงสีสันสวยงามของกลีบดอกไม้ โครงสร้างหลักของเฟลโวนอยด์ประกอบด้วยคาร์บอน 15 ตัว จัดเรียงตัวเป็น 3 วง เรียกเป็น วง A B และ C โดย วง A และ B เป็นวงฟีนิล (phenyl ring) ส่วน วง C เป็นวงแลคโตน (lactone ring) ดังภาพที่ 1.3 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างที่วง C ทำให้มีการแยกเฟลโวนอยด์ออกเป็นกลุ่มย่อยได้ต่าง ๆ กัน และการเกิดไฮดรอกซีเลชั่น (hydroxylation) ที่ วง A และ B ทำให้เกิดอนุพันธ์ของเฟลโวนอยด์ชนิดนั้น ๆ เฟลโวนอยด์ แบ่งตามโครงสร้างได้สารกลุ่มย่อย ทำหน้าที่ทางชีวภาพแตกต่างกันในสิ่งมีชีวิต จากการศึกษาที่ผ่านๆ มาทำให้ทราบถึงบทบาทของเฟลโวนอยด์ในพืชต่อสิ่งแวดล้อม รวมถึงมนุษย์และสัตว์ เช่น การปกป้องต้นพืชจากแสงยูวี การล่อแมลงและนกเพื่อให้ช่วยในการแพร่พันธุ์ บางชนิดหน้าที่ทำหน้าที่เป็นสัญญาณ โมเลกุล ในสิ่งมีชีวิต มีผลกระตุ้นการแสดงออกของยีน ทางอ้อม สารเฟลโวนอยด์ สามารถดูดซับรังสีอัลตราไวโอเลต (ultraviolet:UV) ได้ดีและถ่ายทอดพลังงาน ให้กับออร์กาเนลอื่น เช่น คลอโรฟิลล์ จึงป้องกันอันตรายจากรังสีอัลตราไวโอเลต ที่มีพลังงานสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

147871



ภาพที่ 2.3 แสดงโครงสร้างหลักของเฟลโวนอยด์ และโครงสร้างของสารกลุ่มย่อย

ที่มา : http://mylesson.swu.ac.th/ppg301/meta/12Mixed.htm , http://en.naturalproducts.wiki/flavonoids

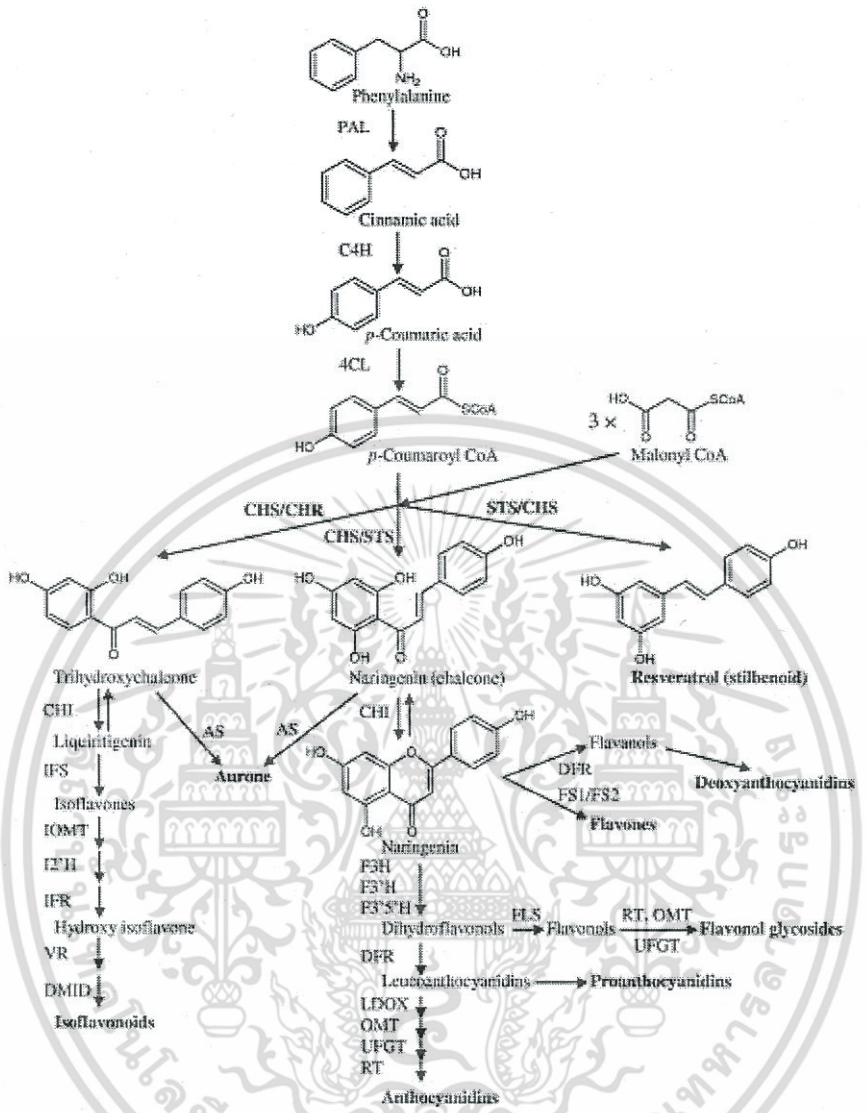
ชีวสังเคราะห์ของเฟลโวนอยด์เริ่มจากการกระตุ้นให้รวมตัวกันของมาโลนิล โคเอ (malonyl CoA) ซึ่งได้รับจากวิถีอะซิเตท-มาโลเนท (acetate-malonate pathway) กับคูมาโลอิล โคเอ (4-coumaroyl-CoA) ซึ่งได้จากวิถีชีวสังเคาะห์ชิคิเมท (shikimate pathway) ด้วยเอนไซม์ chalcone synthase (*CHS*) ได้เป็นแชลโคน (chalcone) มีสีเหลือง ขั้นตอนที่สองเป็นการเกิดไอโซเมอร์ (isomerization) ของสารแชลโคน โดยเอนไซม์ chalcone isomerase (*CHI*) ให้สารแนรินเจนนินเฟลวาโนน (naringenin flavonone) หลังจากนั้นมีการเติมหมู่ไฮดรอกซิล (OH) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 โดย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอนไซม์ flavanone-3-hydroxylase (*F3H*) ให้สารกลุ่มไดไฮโดรเฟลโวนอล คือ สารไดไฮโดรเคเอ็มฟีรอล (dihydrokaempferol) สารนี้อาจได้รับการเติมหมู่ไฮดรอกซีที่ตำแหน่งต่างๆ โดยเอนไซม์ flavonoid 3'-hydroxylase (*F3'H*) และflavonoid 3', 5'- hydroxylase (*F3'5'H*) และให้สาร กลุ่มไดไฮโดรเฟลโวนอลชนิด ได้แก่ ไดไฮโดรเควอซีทีน (dihydroquercetin) และไดไฮโดรเมอริซีทิน (dihydromyricetin) ในการเปลี่ยนสารกลุ่มไดไฮโดรเฟลโวนอลเป็นสารที่มีกลุ่มแอนโทไซยานินนั้นต้องการเอนไซม์อย่างน้อย 3 ชนิด เริ่มจากกระตุ้นการรีดิวซ์ สารกลุ่มนี้ด้วยเอนไซม์ dihydroflavonol reductase (*DFR*) และสารกลุ่มลิวโคแอนโทไซยานิดิน (leucoanthocyanidin) ได้แก่ลิวโคยานิดิน (leucocyanidin) ลิวโคเพลาโกนิดิน (leucopelargonidin) และ ลิวโคเดลฟินิดิน (leucodelphinidin) ถูกออกซิเดชั่น (oxidation) ดีไฮเดรชั่น (dehydration) และไกลโคซิลเลชั่น (glycosylation) ให้สารกลุ่มแอนโทไซยานิน ซึ่งให้เม็ดสีแตกต่างกัน ได้แก่ ไซยานิดิน เพลาโกนิดิน และ เดลฟินิดิน ซึ่งให้สีแดง ส้ม และม่วง ตามลำดับ สารกลุ่มเฟลโวนอยด์ สามารถออกฤทธิ์ต้านทานต่ออนุมูลอิสระ และลดความรุนแรงของสภาวะออกซิเดทิฟ ที่เกิดจากอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ยังพบว่า มีส่วนเกี่ยวข้องกับการ ลดการสร้างเอธิลีน และลดการทำลายเซลล์

ยีน PRODUCTION OF ANTHOCYANIN PIGMENT 1 (PAP1) ที่ถอดรหัสให้ โปรตีนควบคุม (transcription factor) จากอะราบิดอปซิส โปรตีนนี้ มีโดเมน R2R3MYB/MYB75 ได้รับการจำแนกว่าควบคุมชีวสังเคราะห์เฟลโวนอยด์ (Borevitz et al. 2000). การแสดงออกอย่างผิดตำแหน่งของยีนนี้เพียงยีนเดียวสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตสารเฟลโวนอยด์ ได้ในปริมาณสูง (Borevitz et al. 2000, Tohge et al 2005). โดยโปรตีนควบคุมนี้ทำงานร่วมกับโปรตีนที่มีโดเมน basic helix loop helix (bHLH) และ โปรตีนที่มีโดเมน WD-repeat (Sompornpailin et al 2002) เมื่อเร็วๆนี้มีรายงานว่า การแสดงออกของยีน PAP1 นี้มีความสัมพันธ์ในเชิงตรงกันข้ามกันกับ การสังเคราะห์เอธิลีนของพืช การแสดงออกมีความเกี่ยวข้องกับการชักนำของระดับน้ำตาลที่อยู่ภายในเซลล์ (Teng et al 2005, Cominelli et al. 2008) โดยน้ำตาลน่าจะเป็นสัญญาณโมเลกุลที่เกี่ยวข้องกับทั้งสองชีวสังเคราะห์ โดยมีแนวทางการยับยั้งสัญญาณการสังเคราะห์ เอธิลีน ในพืชที่มีปริมาณเฟลโวนอยด์สูง แต่กลไกในการควบคุมยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด ข้อมูลของผู้ทดลองเองพบว่าตำแหน่งการแสดงออกของยีนที่เกิดจากการแทรกเข้าไปในจีโนม (genome) พืชแบบสุ่ม ส่งผลโดยตรงต่อการแสดงออกของสารเฟลโวนอยด์ที่แตกต่างกัน (Sompornpailin and Kanthang unpublished)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.4 ชีวสังเคราะห์เฟลโวนอยด์ ตัวย่อของเอนไซม์ในชีวสังเคราะห์ แสดงดังนี้ ANS anthocyanidin synthase; AS aureusidin synthase; C4H cinnamate-4-hydroxylase; CHR chalcone reductase; DFR dihydroflavonol 4-reductase; DMID 7,2□-dihydroxy, 4□-methoxyisoflavanol dehydratase; F3H flavanone 3-hydroxylase; F3□H flavonoid 3□ hydroxylase; F3□5□H flavonoid 3□5□ hydroxylase; FS1/FS2 flavone synthase; I2□H isoflavone 2□-hydroxylase; IFR isoflavone reductase; IFS isoflavone synthase; IOMT isoflavone O-methyltransferase; LCR leucoanthocyanidin reductase; LDOX leucoanthocyanidin dioxygenase; OMT O-methyltransferase; PAL phenylalanine ammonia-lyase; RT rhamnosyl transferase; UFGT UDP flavonoid glucosyl transferase; VR vestitone reductase; STS stilbene synthase; FLS flavanol synthase. (Dao et al, 2011)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอทิลีนเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช ที่มีทั้งข้อดี และข้อด้อยต่อพืชผลทางการเกษตร ข้อดีคือ ช่วยเร่งให้ผลไม้สุกเหมาะสมต่อการบริโภค และข้อด้อยคือพืชผลทางการเกษตรอาจได้รับความเสียหาย ถ้ามีการผลิตก๊าซชนิดนี้มากในระหว่างการเก็บรักษาและขนส่ง ดังนั้นถ้าหากทราบกลไกการควบคุมการผลิตก๊าซเอทิลีน ที่มีความซับซ้อนนี้ และหาแนวทางยับยั้ง หรือควบคุมให้มีการแสดงการสังเคราะห์ก๊าซเอทิลีนในระดับต่างๆ อย่างเหมาะสม โดยใช้องค์ความรู้ทางวิทยาศาสตร์พื้นฐานในระดับโมเลกุลร่วมกับเทคโนโลยีที่มีในปัจจุบัน น่าจะมีส่วนสำคัญควบคุมการชีวสังเคราะห์ก๊าซเอทิลีนให้มีการแสดงออกอย่างเหมาะสมเพื่อประโยชน์สูงสุด สามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลผลิตทางการเกษตรได้นานขึ้น ลดความเสียหาย ทำให้สามารถส่งออกผลิตผลไปยังตลาดต่างประเทศที่อยู่ห่างไกลได้เป็นปริมาณมากโดยเฉพาะทางทางเรือ รวมทั้งยังเป็นผลดีต่อการเคลื่อนย้ายวัตถุดิบในประเทศ รวมถึงวัตถุดิบทางการเกษตรสำหรับภาคอุตสาหกรรมหลายชนิด ได้แก่ พืชผัก ผลไม้ และดอกไม้สด เป็นการเพิ่มรายได้ให้กับประเทศและชาวเกษตรกร

ปัจจุบันมีเทคนิคการสังเคราะห์ธาตุโลหะอนุภาคขนาดนาโน ซึ่งมีคุณสมบัติพิเศษเพิ่มเติมจากธาตุโลหะทั่วไป และมีการใช้อนุภาคโลหะขนาดนาโนนี้ ในอุตสาหกรรมสารเร่งปฏิกิริยา (catalyst) ซึ่งเกี่ยวข้องกับพื้นที่ผิวโดยตรง อนุภาคเหล่านี้ หลายชนิดพบว่ามีคุณสมบัติ biocompatible ซึ่งน่าจะมีส่วนร่วมในการช่วยพืชปกป้องเซลล์ และในธรรมชาติพบว่าสารหลายตัวทำหน้าที่เป็น โคแฟคเตอร์ให้กับเอนไซม์ในพืช เช่น โคบอล ซิงค์ เป็นต้น จากรายงานการวิจัยในอดีตพบว่า ธาตุโลหะมี ผลในการยับยั้งการสังเคราะห์เอธิลีน และ ยับยั้งการทำงานของเอธิลีน (Rengel and Kordan 1987) ดังนั้นผู้ทดลองจึงสนใจการใช้อนุภาคโลหะขนาดนาโนนี้ สำหรับศึกษากลไกในการควบคุมการสังเคราะห์ และยับยั้งการทำงานของเอธิลีน ร่วมกับการพืชดัดแปลงพันธุ์ที่มีการแสดงออกของยีน PAP1 ที่มีส่วนควบคุมควบคุมชีวสังเคราะห์เฟลโวนอยด์

ดั้งนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้ ศึกษาความสัมพันธ์ ของปริมาณน้ำตาล ระดับการสังเคราะห์เอทิลีนในพืช และระดับการสังเคราะห์สารเฟลโวนอยด์ ในสภาวะเพาะเลี้ยงเนื่อเยื่อที่มีอนุภาคโลหะขนาดนาโน โดยศึกษาถึงผลกระทบต่อลักษณะทั่วไปของเซลล์พืช เพื่อศึกษากลไกการยับยั้งการสังเคราะห์ หรือการทำงานของเอทิลีนในระดับโมเลกุล เพื่อใช้สำหรับเป็นแนวทางเก็บรักษาผลผลิตการเกษตรแบบยั่งยืน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การคัดเลือกพืชดัดแปลงพันธุ์

3.1.1 นำต้นพืชดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับการตรวจสอบด้วยเทคนิค PCR ว่ามียีนควบคุมในชีวสังเคราะห์เฟลวานอยด์ในจีโนม มาทำการคัดเลือกต้นที่มีการตอบสนองต่อระดับ มากกว่า 30 กรัมต่อลิตร ในระบบเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog 1962) ปรับ pH ให้ได้ 5.6-5.8 นำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ในสภาวะ ที่ความเข้มแสง 800 ลักซ์ (lux) 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ และนำไปตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ในหัวข้อถัดไป

3.1.2 การสกัดสารในกลุ่มเฟลโวนอยด์ ทำการตรวจสอบและเปรียบเทียบปริมาณสารในกระบวนการชีวสังเคราะห์ ของสารในกลุ่มเฟลโวนอยด์ ในพืชดัดแปลงพันธุกรรมเปรียบเทียบกับพืชปรกติ โดยการบดใบด้วยสารละลายไนโตรเจนเหลว แล้วจึงสกัดด้วยสารละลายผสมของกรดไฮโดรคลอริกกับเมทานอล และน้ำ และตรวจสอบตามวิธีของ (Harborne 1998) ทำการเปรียบเทียบปริมาณสารเฟลโวนอยด์ในพืชดัดแปลงพันธุ์กับพืชปรกติ และคัดเลือกพืชที่มีสารในปริมาณสูงสำหรับการทดลองถัดไป นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

3.2. การศึกษาผลของอนุภาคโลหะขนาดระดับนาโนแต่ละชนิดต่อพืชดัดแปลงพันธุกรรม

3.2.1 อนุภาคโลหะขนาดระดับนาโนได้แก่ ZnO, TiO_2 จะทำการศึกษาโดยทำการผสมในอาหารสูตร MS ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน และศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางฟีโนไทป์ ของ พืชดัดแปลงพันธุกรรม เปรียบเทียบกับพืชปกติ

3.2.2 ทำการตรวจสอบปริมาณรงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์แสงในพืชแต่ละชนิด ทำการสกัดคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์จากพืชทดลองด้วยอะซีโตน เป็นเวลา 2 วัน จากนั้นทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 662 644 และ 470 นาโนเมตร และคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และแคโรทีนอยด์ ในหน่วยไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.3 ปริมาณการเกิดปฏิกิริยา ลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นของเนื้อเยื่อซึ่งบ่งบอกสภาวะความผิดปรกติของเนื้อเยื่อพืช Hodges et al. (1999) นำตัวอย่างพืชมาทดสอบกับ thiobarbituric acid-reactive-substances assay (TBARS) ตรวจสอบปริมาณ สาร malondyaldehyde (MDA).

3.2.4 ปริมาณน้ำตาลที่มีในเซลล์ (total soluble sugar) ตรวจสอบโดยวิธีฟีนอล-ซัลฟูลิกตาม Dubois และคณะ 1956

3.2.5 การสกัดสารในกลุ่มเฟลโวนอยด์ ทำการตรวจสอบและเปรียบเทียบปริมาณสารในกระบวนการชีวสังเคราะห์ ของสารในกลุ่มเฟลโวนอยด์ ในพืชที่ได้รับอนุภาคโลหะขนาดนาโน และไม่ได้รับ ทำการตรวจสอบปริมาณสารในกลุ่มเฟลโวนอยด์ตามวิธีการที่ 3.1.2

3.3. การศึกษาผลของอนุภาคโลหะขนาดระดับนาโน ร่วมกับน้ำตาล ต่อพืชดัดแปลงพันธุกรรมและทำการตรวจสอบเช่นเดียวกับ ข้อ3. 2 และการตรวจสอบสารเพิ่มเติมตามคุณลักษณะจำเพาะของสารที่มีมีเกี่ยวของกับการทดลอง

3.4. การศึกษาตอบสนองของพืชต่ออนุภาคโลหะขนาดนาโน และหาความสัมพันธ์ในการควบคุมการแสดงออกของเอธิลีน นำพืช ที่เลี้ยงในอาหารที่มีอนุภาคโลหะขนาดนาโน ตรวจสอบการผลิตก๊าซเอธิลีน ด้วยเทคนิคที่พัฒนาขึ้น หลักการคือ ก๊าซเอธิลีนที่พืชผลิตขึ้นสามารถละลายน้ำ และทำปฏิกิริยากับ $KMnO_4$ มีผลให้ปริมาณ $KMnO_4$ ลดลง (Sompornpailin unpublished) โดยทำการตรวจสอบในตัวอย่างที่พืชปรกติ และ พืชดัดแปรพันธุกรรม ที่แช่ในน้ำปล่าว และ แช่ในน้ำที่มีอนุภาคนาโน

3.5. การออกแบบทางสถิติ

ในการทดลองใช้ไม่ต่ำกว่า 3 ซ้ำในแต่ละชุดการทดลอง ออกแบบการทดลองโดยใช้ CRD ผลที่ได้นำไปวิเคราะห์ทางสถิติด้วย ANOVA และ Duncan's multiple range test (DMRT) โดยใช้โปรแกรม SPSS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

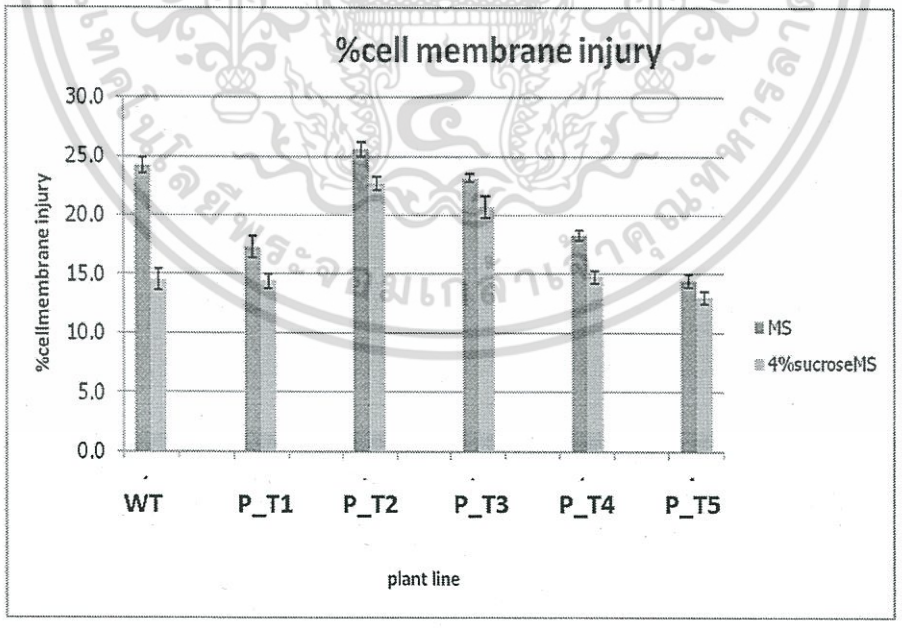
บทที่ 4
ผลการวิจัย

นำต้นพืชดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับการตรวจสอบด้วยเทคนิค PCR ว่ามียีนควบคุมในชีวสังเคราะห์เฟลวานอยด์ในจีโนม มาทำการคัดเลือกต้นที่มีกลกางสรีรวิทยามี การตอบสนองต่อระดับ น้ำตาล ที่ระดับสูงกว่าปรกติ ในระบบเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog 1962) ปรับ pH ให้ได้ 5.6-5.8 นำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ในสภาวะ ที่ความเข้มแสง 800 ลักซ์ (lux) 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ทำการคัดเลือกต้นที่มีสรีรวิทยาของพืชที่ดี 5 ต้น (T_P1-T_P5)

การศึกษาผลของน้ำตาล

เมื่อทำการตรวจสอบการตอบสนองต่อน้ำตาลในระดับที่เพิ่มขึ้นกว่าสภาวะปรกติ (4%) ต่อต้นพืชดัดแปรพันธุกรรม ในสภาวะเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยตรวจสอบผลการตอบสนองของเซลล์พืช โดยวัดการคงความสมบูรณ์ของเซลล์ และการสร้างสารเมแทบอไลท์แบบปฐมภูมิ และทุติยภูมิ

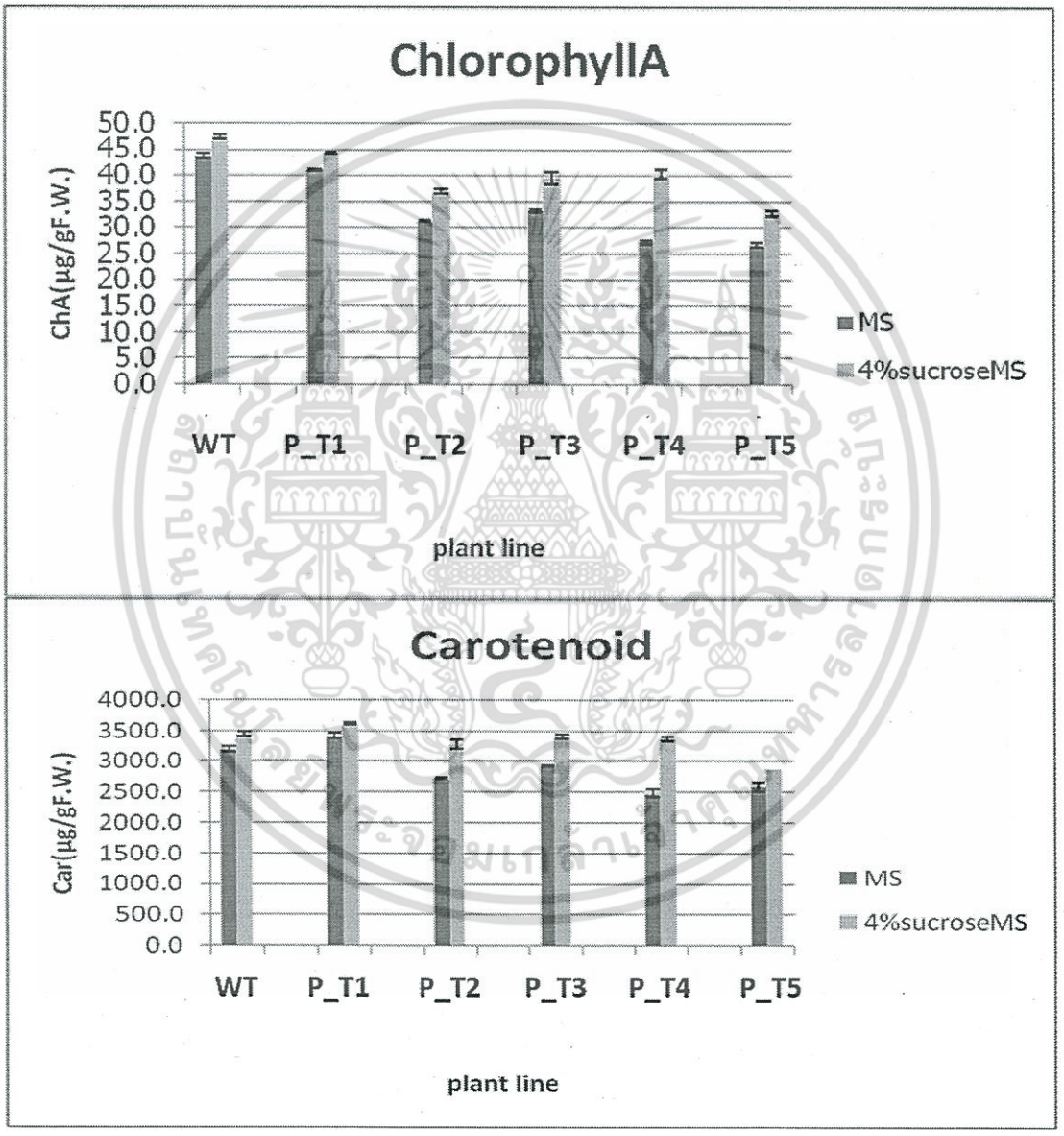
จากผลการทดลองพบว่า พืช สายพันธุ์ ปรกติและพืชดัดแปรพันธุกรรม มีแนวโน้ม มีความสมบูรณ์ของเซลล์ ที่เพิ่มขึ้น สังเกตจาก % cell membrane injury ที่ลดลง



รูปที่ 4.1 ความสมบูรณ์ของเซลล์ แสดงโดย % cell membrane injury ที่เลี้ยงในอาหาร ปรกติ (MS) และ อาหารที่เพิ่มน้ำตาล WT: พืชปรกติ, T_P1-5 พืช ดัดแปรพันธุกรรม

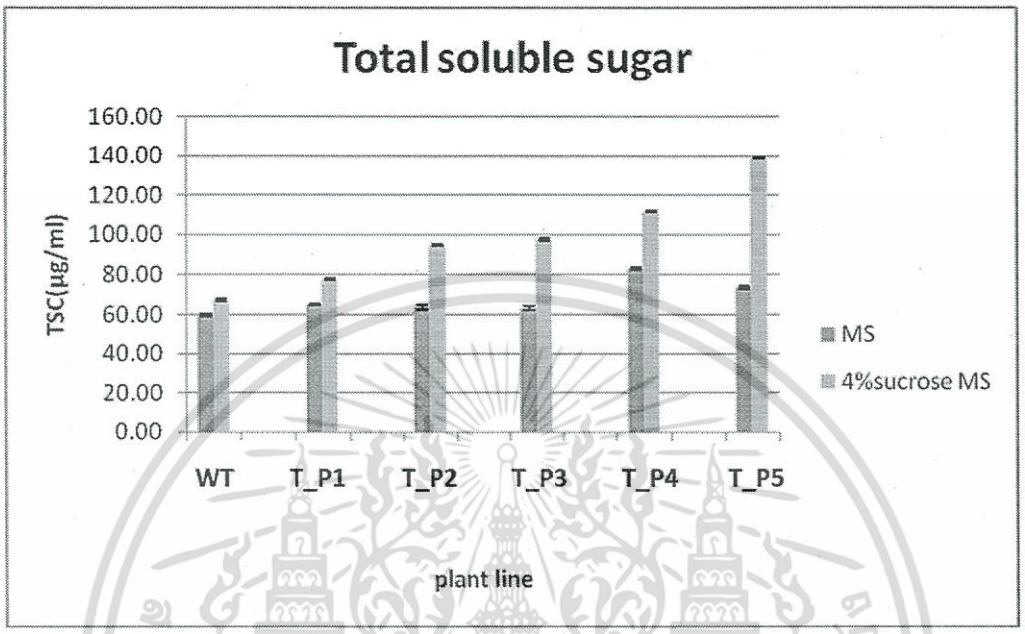
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พืชสายพันธุ์ ปรกติและพืชดัดแปรพันธุกรรม มีปริมาณเม็ดสำหรับการสังเคราะห์แสง คลอโรฟิลล์ และ คาร์โรทีนอยด์ ที่เพิ่มขึ้นกว่าต้นพืชในสภาวะปรกติ โดยพืชดัดแปรพันธุกรรม มีแนวโน้มการเพิ่มสารที่สูงกว่าพืชปรกติ การเพิ่มสารกลุ่มเฟลโวนอยด์ ในพืชพบว่าไปในทิศทางเดียวกันคือ สารกลุ่มเฟลโวนอยด์ มีแนวโน้ม เพิ่มขึ้นสูงกว่า โดยเฉพาะบริเวณต้น ชีวสังเคราะห์ เฟลโวนอยด์



รูปที่ 4.2 ปริมาณเม็ดสีที่ใช้ในการสังเคราะห์แสงและปริมาณคาร์โรทีนอยด์ของพืช ที่เลี้ยงในอาหาร ปรกติ (MS) และ อาหารที่เพิ่มน้ำตาล WT: พืชปรกติ, T_P1-5 พืช ดัดแปรพันธุกรรม

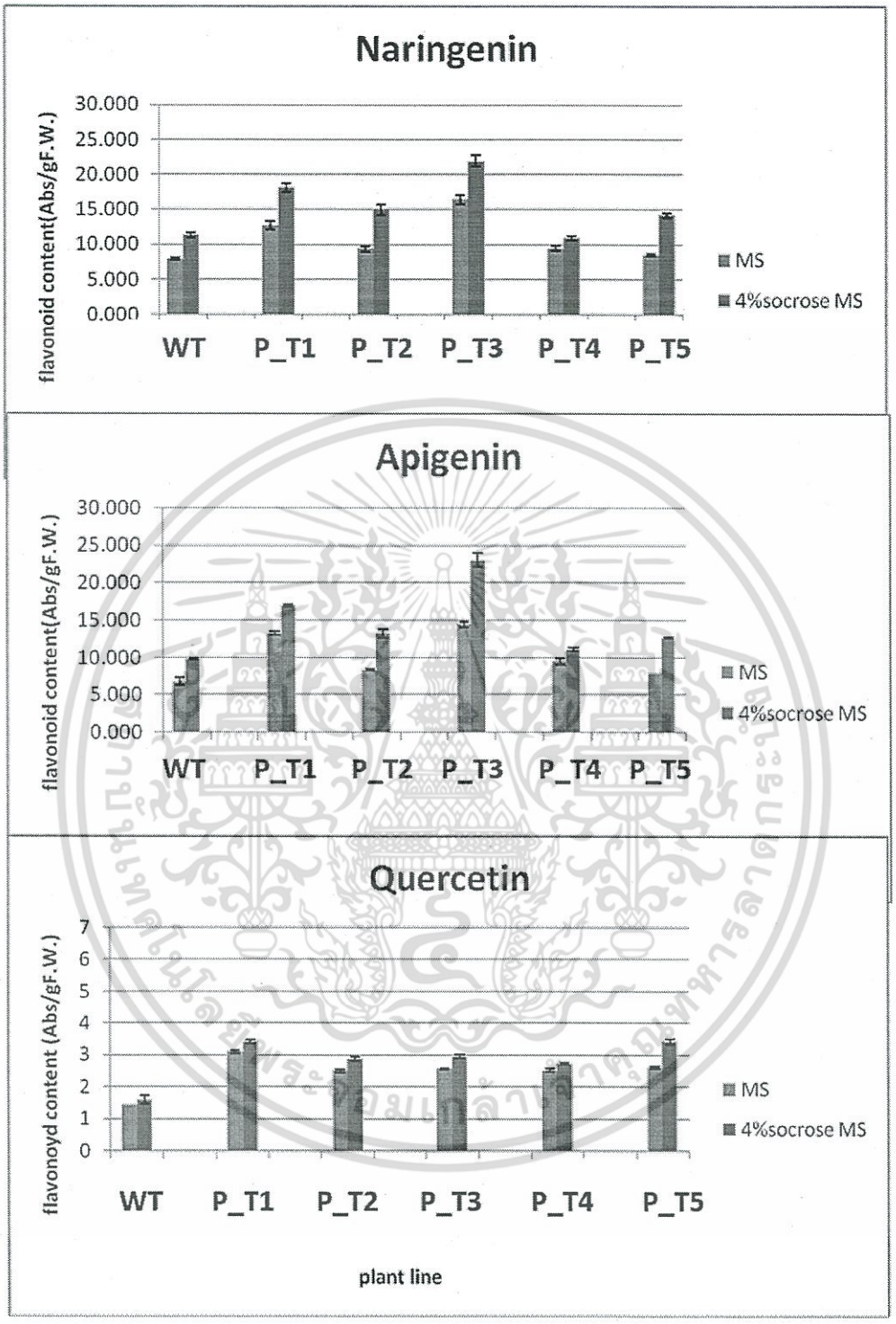
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 ปริมาณน้ำตาลที่พบในสารสกัดจากเนื้อเยื่อพืช ที่เลี้ยงในอาหาร ปรกติ (MS) และ อาหารที่เพิ่มน้ำตาล WT: พืชปรกติ, T_P1-5 พืช ดัดแปรพันธุกรรม

พืชสายพันธุ์ปรกติและพืชดัดแปรพันธุกรรม มีปริมาณน้ำตาล เมื่อเลี้ยงในสภาวะที่เพิ่มน้ำตาล แต่ในพืชดัดดัดแปรพันธุกรรม เพิ่มขึ้นกว่าต้นพืชในสภาวะปรกติ หลายเท่า โดยพืชดัดแปรพันธุกรรม มีการเพิ่มน้ำตาลที่สูงกว่าพืชปรกติ หลายเท่า โดย เฉพาะ ต้น T_P5 โดยต้นดังกล่าวยังคงลักษณะทางสรีรวิทยาที่ดี สังเกตจากค่า MDA และปริมาณเม็ดสีสำหรับการสังเคราะห์แสง คลอโรฟิลล์ และ คาร์โรทีนอยด์ ที่เพิ่มขึ้นกว่าต้นพืชในสภาวะปรกติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 ปริมาณสารกลุ่มเฟลโวนอยด์ของพืช ที่เลี้ยงในอาหาร ปรกติ (MS) และ อาหารที่เพิ่มน้ำตาล WT: พืชปรกติ, T_P1-5 พืช ดัดแปรพันธุกรรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

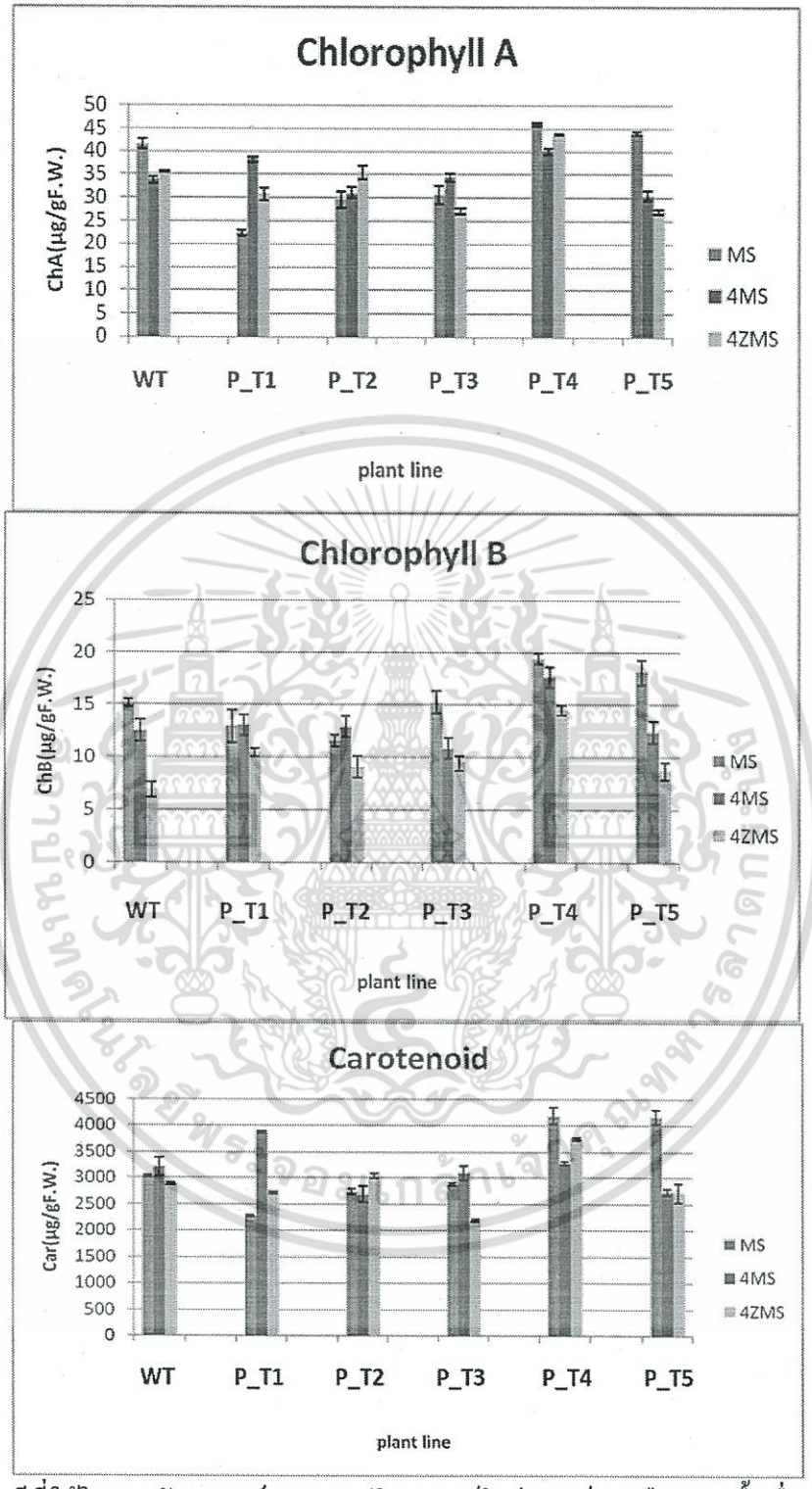
การศึกษาผลของอนุภาคโลหะร่วมกับน้ำตาล

จากการทดลองศึกษาผลของอนุภาคโลหะพบว่าเมื่อเติม ZnO ในระดับที่เหมาะสม พืช สายพันธุ์ ปรกติและพืชดัดแปรพันธุกรรม มีแนวโน้มเช่นเดียวกับน้ำตาล คือ มีความสมบูรณ์ของเซลล์ ที่เพิ่มขึ้น สังเกตจาก % cell membrane injury ที่ลดลง มีความสมบูรณ์ของผนังเซลล์ (lipid peroxidation of cell membrane) ที่เพิ่มขึ้น สังเกตได้จาก การมีระดับสาร MDA ที่เป็น by product ของปฏิกิริยา lipid peroxidation ลดลง เมื่อเปรียบเทียบ พืชที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่เติม ZnO (รูปที่ 4.5)

จากผลการทดลองเลี้ยงพืช ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สูตร ที่มีน้ำตาล และสูตรที่มีน้ำตาลร่วมกับ ZnO พบว่า น้ำตาลในระดับความเข้มข้นที่ทำการทดลอง ร่วมกับ ZnO มีประสิทธิภาพ ในการลดระดับสาร MDA ที่เป็น by product ของปฏิกิริยา lipid peroxidation ได้ดีกว่า ต้นพืชที่เลี้ยงในอาหารปรกติ (MS) และ อาหารที่เพิ่มน้ำตาล เพียงอย่างเดียว

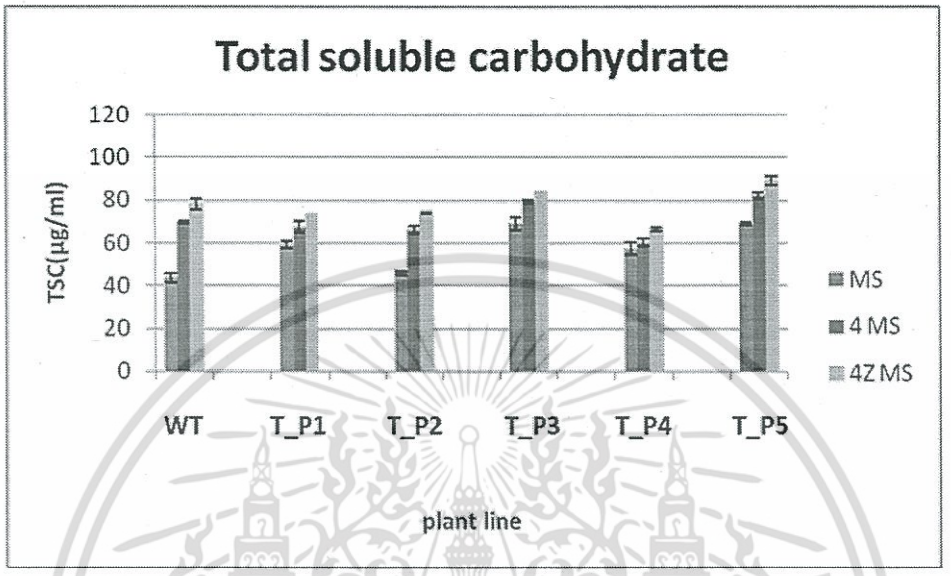
รูปที่ 4.5 ผลผลิต malondialdehyde (MDA) ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่น (lipid peroxidation) ของเนื้อเยื่อพืช ที่เลี้ยงในอาหาร ปรกติ (MS) อาหารที่เพิ่มน้ำตาล (4MS) และ อาหารที่เพิ่มน้ำตาลร่วมกับ ZnO (4ZMS) WT: พืชปรกติ, T_P1-5 พืช ดัดแปรพันธุกรรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 ปริมาณเม็ดสีที่ใช้ในการสังเคราะห์แสงและปริมาณคาร์โรทีนอยด์ของพืช ของเนื้อเยื่อพืช ที่เลี้ยงในอาหารปรกติ (MS) อาหารที่เพิ่มน้ำตาล (4MS) และ อาหารที่เพิ่มน้ำตาลร่วมกับ ZnO (4ZMS) WT: พืชปรกติ, T_P1-5 พืชดัดแปรพันธุกรรม

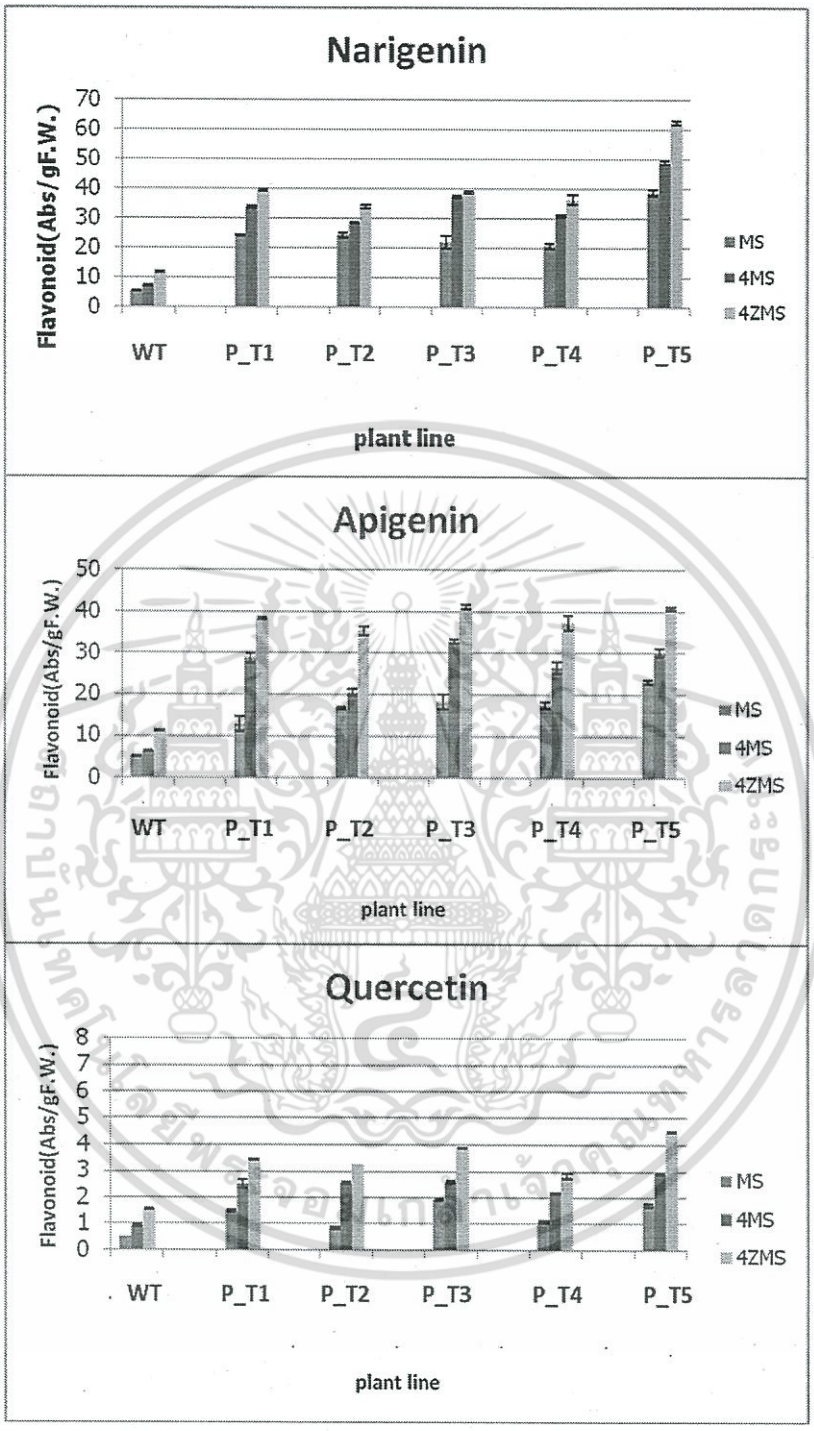
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.7 ปริมาณน้ำตาลที่พบในสารสกัดจากเนื้อเยื่อพืช ที่เลี้ยงในอาหาร ปรกติ (MS) อาหารที่เพิ่มน้ำตาล และอาหารที่เพิ่มน้ำตาลร่วมกับ ZnO WT: พืชปรกติ, T_P1-5 พืช ดัดแปรพันธุกรรม

พืชสายพันธุ์ปรกติและพืชดัดแปรพันธุกรรม มีปริมาณน้ำตาลเปลี่ยนแปลงในทิศทางที่เพิ่มขึ้น เมื่อเลี้ยงในสภาวะที่เพิ่มน้ำตาล และน้ำตาลร่วมกับ ZnO พบว่า ZnO มีส่วนกระตุ้นให้เพิ่มปริมาณในเนื้อเยื่อพืชเพิ่มเติมจาก อาหารที่เพิ่มน้ำตาลอย่างเดียว แต่อัตราการเพิ่ม ไม่สูงมากนัก (รูปที่ 4.7)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.8 ปริมาณสารกลุ่มเฟลโวนอยด์ชนิดต่างๆ ของเนื้อเยื่อพืช ที่เลี้ยงในอาหาร ปรกติ (MS) อาหารที่เพิ่มน้ำตาล (4MS) และ อาหารที่เพิ่มน้ำตาลร่วมกับ ZnO (4ZMS) WT: พืชปรกติ, T_P1-5 พืช ดัดแปรพันธุกรรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พืชดัดแปรพันธุ์ที่มีสารเฟลโวนอยด์เพิ่มขึ้นมีแนวโน้ม ในการลดระดับสาร MDA ได้ดีกว่า พืชสายพันธุ์ปรกติ (รูปที่ 4.6) ปริมาณเม็ดสีที่ใช้ในการสังเคราะห์แสงและปริมาณคาร์โรทีนอยด์ของเนื้อเยื่อพืชในอาหารที่เพิ่มน้ำตาล (4MS) และ อาหารที่เพิ่มน้ำตาลร่วมกับ ZnO (4ZMS) มีแน้วโน้มลดลง จากพืชที่เลี้ยงในอาหาร ปรกติ (MS) แต่สายพันธุ์พืชดัดแปรพันธุกรรม มีผลต่อปริมาณรงควัตถุภายใน

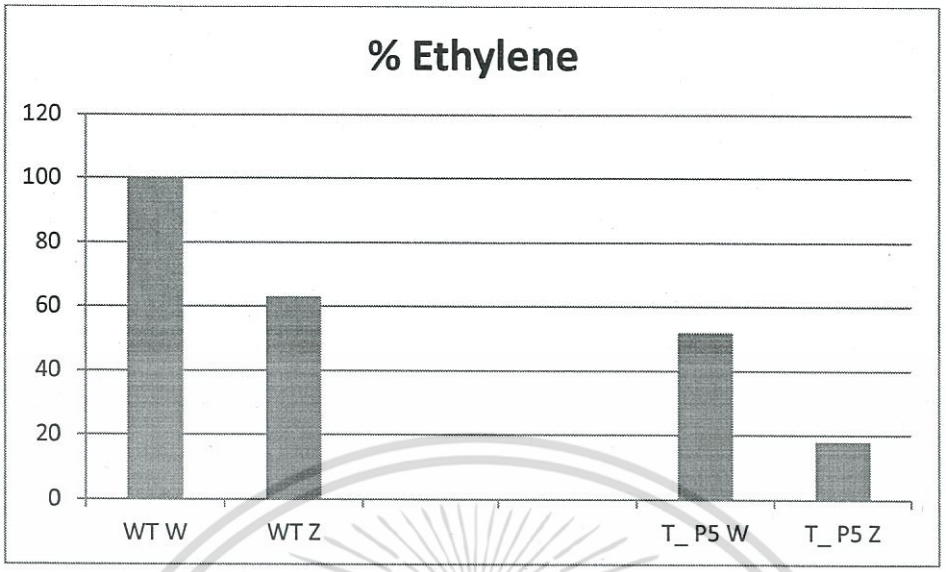
การเพิ่มสารกลุ่มเฟลโวนอยด์ ในพืชพบว่าไปในทิศทางเดียวกันคือ สารกลุ่มเฟลโวนอยด์ มีแนวโน้ม เพิ่มขึ้นในพืชดัดแปลงพันธุกรรม สูงกว่า ต้นปรกติ โดยเฉพาะบริเวณต้น ชีวสังเคราะห์ เฟลโวนอยด์ อาหารที่เพิ่มน้ำตาล (4MS) และ อาหารที่เพิ่มน้ำตาลร่วมกับ ZnO (4ZMS) เพิ่มปริมาณสารกลุ่มเฟลโวนอยด์ สูงกว่าพืช ที่ปลูกในอาหาร MS ปรกติ

การผลิต เอธิลีนในพืชทดสอบ

เนื่องจากการเก็บกักก๊าซเอธิลีน เพื่อนำไปทดสอบพบว่า อุปกรณ์ที่ทำการเก็บอาจรั่ว และเอธีนสามารถละลายน้ำได้ ทำให้การทดสอบไม่ได้ผล ดังนั้นจึงได้พัฒนาเทคนิคขึ้นมาทดสอบจากหลักการทางเคมีพื้นฐาน ที่ก๊าซเอธิลีนสามารถทำปฏิกิริยากับ KMnO4 และ สามารถตรวจสอบโดยเทคนิคสเปคโตโฟโตเมทรี
โดยการนำใบพืชจากต้นปรกติ และ ต้นพืชตัดแปลงพันธุกรรม มาแช่น้ำ

จากรูปที่ 4.9 แสดงให้เห็นว่า พืชปรกติ ผลิต ก๊าซ เอธิลีนได้ลดลง เมื่อแช่ในน้ำที่เติม ZnO พืชดัดแปลงพันธุ์มีการ ผลิต ก๊าซ เอธิลีนได้ต่ำกว่าพืชปรกติ การเลี้ยงพืชดัดแปลงพันธุ์แช่ในน้ำที่เติม ZnO สามารถลด การผลิต ก๊าซเอธิลีนได้เพิ่มเติม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 แสดงร้อยละของเอธิลีนน้ำที่แช่ ใบพืช ปรกติ (WT W) น้ำร่วมกับ ZnO ที่แช่ ใบพืชปรกติ (WT W) น้ำที่แช่ ใบพืชดัดแปลงพันธุ์ (T_P5 W) น้ำร่วมกับ ZnO ที่แช่ ใบพืชดัดแปลงพันธุ์ (T_P5 Z)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

เนื่องจากน้ำตาลเป็นสารพื้นฐานที่สิ่งมีชีวิตใช้เป็นแหล่งพลังงาน นอกจากนี้ปริมาณน้ำตาลยังเป็นสัญญาณโมเลกุลที่สำคัญที่เกี่ยวข้องกับการควบคุม เมแทบอลิซึมในสิ่งมีชีวิต จากผลการทดลองศึกษาปริมาณน้ำตาลพบว่า น้ำตาลที่เพิ่มขึ้น จากร้อยละ 3 เป็นร้อยละ 4 มีผลการให้พืชมีการปรับตัว มีอัตราการเจริญเติบโต ลดลงเล็กน้อย แต่ไม่มีผลต่อ สรีรวิยาของพืชมากนัก เนื่องจาก ผลการทำลายเซลล์ โดยกลไกลิปิดเปอร์รอกซิเดชั่น ต่ำกว่า พืชที่เลี้ยงในน้ำตาลร้อยละ 3 เล็กน้อย นอกจากนี้ ปริมาณ เม็ดสีที่ใช้ในการสังเคราะห์ แสง ทั้งคลอโรฟิลล์ และ คาร์โรทีนอยด์ ยังมีปริมาณที่สูงขึ้นตามปริมาณน้ำตาล โดยเฉพาะในพืชดัดแปลงพันธุ์ มีปริมาณ เม็ดสีที่ใช้ในการสังเคราะห์ แสงเพิ่มขึ้นมากกว่า พืชปรกติ พืชดัดแปลงพันธุกรรม มีปริมาณน้ำตาลสะสมในเนื้อเยื่อสูง เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มี น้ำตาลที่เพิ่มขึ้น เป็นร้อยละ 4 เนื่องจาก พืชกลุ่มนี้มีสารเฟลโวนอยด์ โดยเฉพาะ apigenin และ quercetin ที่สูงกว่า จึงน่าจะมีผลให้สามารถสะสมสารต่างๆไว้ภายในเซลล์ ได้เพิ่มมากขึ้น

การเพิ่มอนุภาคโลหะ ZnO เข้าไปในระบบการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช แม้ว่า ไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของพืชอย่างเด่นชัด ไม่ได้มีผลให้พืชเพิ่ม MDA ซึ่งเป็น by product ของการทำลายเซลล์ แต่พบว่าส่งผลต่อ ปริมาณรงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์แสง คือ ทำให้ คลอโรฟิลล์ และ คาร์โรทีนอยด์ ลดลง การเพิ่มอนุภาคโลหะ ZnO เข้าไปในระบบการเลี้ยงพืช นี้ มีส่วนชักนำให้ พืชสะสมน้ำตาลในระบบเพิ่มมากขึ้น รวมทั้ง สารทุติยภูมิ กลุ่มเฟลโวนอยด์ ทั้ง naringenin apigenin และ quercetin

ใบพืชดัดแปลงพันธุ์ สามารถ แช่น้ำ ได้นานกว่า โดยใบพืชดัดแปลงพันธุ์นี้สามารถคงสรีรวิทยาของพืช ได้ ดี และ ผลิตก๊าซเอธิลีนต่ำ กว่า ใบพืชปรกติ ที่แช่น้ำแบบเดียวกัน การเพิ่มอนุภาคโลหะ ZnO เข้าไปในระบบการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช อาจ ให้ผลดีที่ไม่ชัดเจนนัก แต่ เมื่อตัดใบพืชมาทำในสภาวะปรกติ มาแช่น้ำ และน้ำที่มี ZnO พืช ดัดแปลงพันธุ์ที่มีเฟลโวนอยด์ สะสมในต้นในปริมาณสูง จะให้ลักษณที่ดีอยู่นาน เมื่อทำการปักชำ และถ้าปักชำ ในน้ำที่มี ZnO จะสามารถ เพิ่มอายุการปักชำได้

จากข้อมูล ดังกล่าว น่าจะสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับผลผลิต การเกษตรโดยเฉพาะ ผลผลิตไม้ตัดดอกเพื่อให้สามารถ คงความสดของตัวอย่างได้นานขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 6
สรุปผลผลิตที่ได้จากงานวิจัย

ผลการทดลองตามวัตถุประสงค์ของงานวิจัย

แนวทางการเก็บรักษาผลผลิตทางการเกษตร

วิธีการมาตรฐาน สำหรับการตรวจวัดผลผลิต เอธิลีน ที่ คิดกระบวนการขึ้น

การนำเสนอผลงานวิจัย ในการประชุมวิชาการระดับนานาชาติ

1. K. Sompornpailin. Design and Synthesis of Flavonoid Biomaterial using Metabolic engineering STEMa2016, invited speaker, pattaya Thailand July, 27-29 2016.
2. K. Sompornpailin. Title: Enhancing Flavonoid Secondary Metabolites in Plant System Using Genetic Engineering Techniques. The 2nd International Conference on Herbal and Traditional Medicine (HTM2017) Thailand on January 25-27, 2017 **Silver Medal Award (Poster presentation).**

ผลงานตีพิมพ์ ในระดับ นานาชาติ SCOPUS

Chayaprasert W and Sompornpailin K. 2017 Suitable Concentration of ZnO Nanoparticles Enhanced Biomaterial Synthesis and Plant Cell Protection. Applied Mechanics and Materials 866: 21-24 doi:10.4028/www.scientific.net/AMM.866.21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

Abel S, Nguyen MD, Chow W, Theologis A (1995) ACS4 a primary indoleacetic acid-responsive gene encoding 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase in Arabidopsis thaliana structural characterization, expression in Escherichia coli and expression characteristics in response to auxin. J Biol Chem 270: 19093–19099

Arteca JM, Arteca RN (1999) A multi-responsive gene encoding 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase (ACS6) in mature Arabidopsis leaves. Plant Mol. Biol. 39: 209–219

Bajji M, Kinet JM, Lutts S (2002) The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stress tolerance test in durum wheat. Plant Growth Regulation 36 (1):61-70.

Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt KV (2003) Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. Ann Bot 91 Spec No:179-194

Borevitz JO, Xia Y, Blount J, Dixon RA, Lamb C (2000) Activation tagging identifies a conserved MYB regulator of phenylpropanoid biosynthesis. Plant Cell 12 (12):2383-2394

Burchard P, Bilger W, Weissenböck G (2000) Contribution of hydroxycinnamates and flavonoids to epidermal shielding of UV-A and UV-B radiation in developing rye primary leaves as assessed by ultraviolet-induced chlorophyll fluorescence measurements. Plant, Cell & Environment 23 (12):1373-1380

Chalker-Scott L (1990) Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses. . Photochemistry and Photobiology 70:1-9

Charles S Buer, Poornima Sukumar, Gloria K Muday (2006) Ethylene modulates flavonoid accumulation and gravitropic responses in roots of Arabidopsis. Plant Physiology 140: 1384–1396

Cominelli E, Gusmaroli G, Allegra D, Galbiati M, Wade HK, Jenkins GI, Tonelli C (2008) Expression analysis of anthocyanin regulatory genes in response to different light qualities in Arabidopsis thaliana. J Plant Physiol 165 (8):886-894.

Daniel R Lewis, Melissa V Ramirez, Nathan D.Miller, Prashanthi Vallabhaneni, W Keith Ray, Richard F Helm, Brenda SJ Winkel, Gloria K Muday (2011) Auxin and Ethylene Induce flavonol accumulation through distinct transcriptional networks. Plant Physiology 156: 144–164

Dao TTH, Linthorst HJM, Verpoorte R (2011) Chalcone synthase and its functions in plant resistance. Phytochemistry Reviews 10 (3):397-412. doi:DOI 10.1007/s11101-011-9211-7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

DuBois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal Chem 28:350-356

Harborne JB (1998) Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis Chapman and Hall, London, UK.

Harborne JB, Williams CA (2000) Advances in flavonoid research since 1992. Phytochemistry 55 (6):481-504.

Hoffman NE, Yang SF, McKeon T (1982) Identification and metabolism of 1-(malonylamino)cyclopropane-1-carboxylic acid as a major conjugate of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, an ethylene precursor in higher plants. Biochem Biophys Res Commun 104:765-770

Johnson PR, Ecker JR (1998) The ethylene gas signal transduction pathway: A molecular perspective. Annu Rev Genet 32: 227–254

Justin M. Watkins, Paul J. Hechler, Gloria K. Muday (2014) Ethylene-induced flavonol accumulation in guard cells suppresses reactive oxygen species and moderates stomatal aperture. Plant Physiology 164: 1707–1717

Kanthang S, Sompornpailin K (2013) Increasing Plant Flavonoid Biomaterials in Response to UV-A Light. Advanced Materials Research 802:74-78

Kende H (1993) Ethylene biosynthesis. Plant Physiol. 44: 283–307

Liang X, Abel S, Keller JA, Shen NF, Theologis A (1992) The 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase gene family of Arabidopsis thaliana. Proc Natl Acad Sci USA 89:11046–11050

Liang X, Oono Y, Shen NF, Köhler C, Li K, Scolnik PA, Theologis A (1995) Characterization of two members (ACS1 and ACS3) of the 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase gene family of Arabidopsis thaliana. Gene 167:17-24

Liang X, Shen NF, Theologis A (1996) Li(+)-regulated 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase gene expression in Arabidopsis thaliana. Plant J. 10: 1027–1036

Maness N (ed) (2010) Extraction and analysis of soluble carbohydrate vol 693. Plant Stress Tolerance, Methods in Molecular Biology E-Publishing Inc, New York

Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. . Physiol Plant 15 (3):473-497

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Overmyer K, Tuominen H, Kettunen R, Betz C, Langebartels C, Sandermann, H Jr, Kangasjärvi J (2000) Ozone-sensitive Arabidopsis rcd1 mutant reveals opposite roles for ethylene and jasmonate signaling pathways in regulating superoxidedependent cell death. Plant Cell 12: 1849–1862

Pellinen R, Palva T,Kangasjärvi J (1999) Short communication subcellular localization of ozone-induced hydrogen peroxide production in birch (Betula pendula) leaf cells. Plant J 20: 349–356

Rengel Z, Kordan HA (1987) Effects of growth regulators on light-dependent anthocyanin production in Zea mays seedlings Physiol Plant 69:511-519

Samach A, Onouchi H, Gold SE, Ditta GS, Schwarz-Sommer Z, Yanofsky MF, Coupland G (2000) Distinct roles of CONSTANS target genes in reproductive development of Arabidopsis. Science 288: 1613–1616

Seok Won Jeong, Prasanta Kumar Das , Sae Chae Jeoung, Ji-Young Song, Hyun Kyoung Lee, Yeon-Ki Kim, Woo Jung Kim, Yong Park, Sang-Dong Yoo, Sang-Bong Choi, Giltsu Choi, Youn-Il Park (2010) Ethylene suppression of sugar-induced anthocyanin pigmentation in Arabidopsis. Plant Physiology 154:1514–1531

Smith JM, Arteca RN (2000) Molecular control of ethylene production by cyanide in Arabidopsis thaliana. Physiol Plant 109: 180–187

Sompornpailin K, Makita Y, Yamazaki M, Saito K (2002) A WD-repeat-containing putative regulatory protein in anthocyanin biosynthesis in Perilla frutescens. Plant Mol Biol 50 (3):485-495

Surplus SL, Jordan BR, Murphy AM, Carr JP, Thomas B, Mackerness, SA H (1998) Ultraviolet-B-induced responses in Arabidopsis thaliana: Role of salicylic acid and reactive oxygen species in the regulation of transcripts encoding photosynthetic and acidic pathogenesis-related proteins. Plant Cell Environ. 21: 685–694

Orozco Cardenas M, Ryan CA (1999) Hydrogen peroxide is generated systemically in plant leaves by wounding and systemin via the octadecanoid pathway. Proc Natl Acad Sci USA 96: 6553–6557

Teng S, Keurentjes J, Bentsink L, Koornneef M, Smeekens S (2005) Sucrose-specific induction of anthocyanin biosynthesis in Arabidopsis requires the MYB75/PAP1 gene. Plant Physiology 139 (4):1840-1852.

Tohge T, Nishiyama Y, Hirai MY, Yano M, Nakajima J, Awazuhara M, Inoue E, Takahashi H, Goodenowe DB, Kitayama M, Noji M, Yamazaki M, Saito K (2005) Functional genomics by integrated analysis of metabolome and transcriptome of Arabidopsis plants over-expressing an MYB transcription factor. Plant J 42 (2):218-235.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Vahala J, Schlagnhaufer CD, Pell EJ (1998) Induction of an ACC synthase cDNA by ozone in light-grown *Arabidopsis thaliana* leaves. Physiol. Plant 103: 45–50

Van der Straeten D, Rodrigues-Pousada RA, Villarroel R, Hanley S, Goodman HM, Van Montagu M (1992) Cloning genetic mapping and expression analysis of an *Arabidopsis thaliana* gene that encodes 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase. Proc Natl Acad Sci USA 89: 9969–9973

Vogel JP, Woeste KE, Theologis A, Kieber JJ (1998) Recessive and dominant mutations in the ethylene biosynthetic gene ACS5 of Arabidopsis confer cytokinin insensitivity and ethylene overproduction respectively. Proc Natl Acad Sci USA 95: 4766–4771

Woeste KE, Ye C, Kieber JJ (1999) Two Arabidopsis Mutants That Overproduce Ethylene Are Affected in the Posttranscriptional Regulation of 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylic Acid Synthase. Plant Physiol 119 (2):521-530

http://labs.bio.unc.edu/Kieber/ethylene%20Biosynthesis%20page.htm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ข้อมูลประวัติคณะผู้วิจัย

Name **Dr. Kanokporn Sompornpailin (ดร. กนกพร สมพรไพลิน)**

Position รองศาสตราจารย์

Office Address: ห้องปฏิบัติการดีเอ็นเอเทคโนโลยี

วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

กรุงเทพมหานคร

Phone (02) 329-8000 ext. 2168 Fax (02) 329-8265

E-mail kanokporn.so@kmitl.ac.th

Academic Degrees:

เภสัชศาสตรดุษฎีบัณฑิต (Doctor of Pharmaceutical Sciences) สาขาอณูชีววิทยาและ เทคโนโลยีชีวภาพ, มหาวิทยาลัยชิบะ, Japan

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (Master of Science) สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยาศาสตร์บัณฑิต (Bachelor of Science) สาขาเทคโนโลยีการเกษตร, เกียรตินิยม, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ประสบการณ์ทำงาน:

1991: ตำแหน่ง Process control, บริษัท Fujitsu (Thailand)

1995-2010: ตำแหน่งอาจารย์ ภาควิชาชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

1997: ตำแหน่งนักวิจัย ห้องปฏิบัติการผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยโตเกียว, Japan

2001: ตำแหน่งนักวิจัย ห้องปฏิบัติการอณูชีววิทยาและเทคโนโลยีชีวภาพ, คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยชิบะ, Japan

2004- ปัจจุบัน: ตำแหน่งกรรมการ มูลนิธิสอวน สาขาชีววิทยา (ส่งเสริมโอลิมปิกวิชาการและพัฒนามาตรฐานวิทยาศาสตร์ศึกษา) ในพระอุปถัมภ์สมเด็จพระเจ้าพี่นางเธอเจ้าฟ้ากัลยานิวัฒนากรมหลวงนราธิวาสราชนครินทร์ โดยมีสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาเป็นองค์ประธาน

2012-ปัจจุบัน ตำแหน่งกรรมการความปลอดภัยทางชีวภาพระดับสถาบัน สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Expertise fields

- สาขาอณูชีววิทยาและ เทคโนโลยีชีวภาพ
- วิศวกรรมการควบคุมผลิตสารจากพืช
- ชีวสังเคราะห์สารเฟลโวนอยด์
- การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (regeneration and genetic transformation)
- การผลิตชีววัสดุในระดับนาโน
- การจำแนกสารออกฤทธิ์ และศึกษาฤทธิ์ของสารในสมุนไพร

ผลงานตีพิมพ์ ตั้งแต่ปี 2010

45. O. Ketchart, S. Porntheeraphat, J. Nukeaw and K. Sompornpailin. Al Nanoparticles Deposited on PCR Tube Enhance DNA Amplification at Suitable $MgCl_2$ Concentration. Proceeding of the 8th International Symposium on Biocontrol and Biotechnology, October, 4-6 2010 Pattaya, Thailand. 208-213

44. O. Ketchart, S. Porntheeraphat, J. Nukeaw and K. Sompornpailin. PCR Tube Deposited with Al Nanoparticles Enhance DNA Amplification. Proceeding of NanoThailand, 2010 122-125.

45. P. Darachai, S. Chutipaijit, S. and K. Sompornpailin. Carbon Sources and Supporting Materials in Callus Induction Effects on the Regeneration of *Indica* Rice (Oryza sativa L. cv RD6 and RD15). Proceeding of the 8th International Symposium on Biocontrol and Biotechnology, October, 4-6 2010 Pattaya, Thailand. 266-271

46. K. Sompornpailin, S. Chutipaijit. Relative of the flavonoid contents to antioxidant activity in Thai rice seeds. J Srinakharinwirot U (Science and Technology) January 2011 Vol 3, 95-101

47. K. Sompornpailin, S. Kanthang. High accumulation of flavonoid pigments in transgenic tobacco overexpressing PAP1 gene. J Srinakharinwirot U (Science and Technology) January 2011 Vol 3, 102-106

48. S. Chutipaijit, K. Sompornpailin. Polyamines in Plant response to various abiotic stresses. SWU Sci. J. 2011 Vol 27 No 1 215-229

49. S. Chutipaijit, S. Cha-um, K. Sompornpailin. High contents of proline and anthocyanin increase protective response to salinity in *Oryza sativa* L. spp. indica. Australian Journal of Crop Sciences 2011 5(10) 1191-1198 **IF 1.63**

50. P. Darachai, S. Chutipaijit, S. and K. Sompornpailin. Effect of Carbon Sources and Gelling Agents on Callus Induction and Regeneration Efficiency of Thai Rice (*Oryza sativa* L. cv. RD6) 1st International Symposium on Technology for Sustainability - ISTS2011, KMITL, Bangkok, Thailand, AGT003, 20-22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

51. Chutipaijit, S. Cha-um, K. Sompornpailin. Influence of salinity on growth and antioxidant enzyme activities in indica rice cultivars (*Oryza sativa* L.) 1st International Symposium on Technology for Sustainability - ISTS2011, KMITL, Bangkok, Thailand, AGT004, 23-26

52. S. Chutipaijit, S. Cha-um, K. Sompornpailin. An evaluation of water deficit tolerance screening in pigmented indica rice genotype. Par. J. Bot., 2012 44(1): 65-72, **IF 0.947**

53. S. Chutipaijit, K. Sompornpailin. The Biotechnology Application in the chemical Industry. King Mongkut's Agro-Industry J. 2012 3(1): 30-43

54. K. Sompornpailin and S. Kanthang Significant Protection of Flavonoids in Transgenic Plants from Radiation. ACSS 2012/ACSEE 2012 Osaka, Japan (oral presentation)

55. K. Sompornpailin, S. Chutipaijit. Enhancement of plant regeneration efficiency from mature grain of Thai indica rice (*Oryza sativa* L. CV. KDML105) Pak. J. Bot., 2012 44(4): 1385-1390 **IF 0.947**

56. S. Kanthang and K. Sompornpailin. Increasing Plant Flavonoid Biomaterials in Response to UV-A Light. Advanced Materials Research. 2013 802: 74-78. (Scopus database)

57 K. Sompornpailin and S. Kanthang. Plant Genetic Engineering for antioxidant flavonoids production and theirs protective activities. 4th International conference on nutrient & physical activity in aging, obesity & cancer (NAPA 2013) Chonburi Thailand, Aug 14-17, 2013: 59 Oral Presentation

58 K. Sompornpailin and S. Kanthang. Tobacco expressing *PAP1* increases the responses to PAR and UV-A by enhancing soluble sugar and flavonoids and elevating plant protections. Pak. J. Bot., 2015 47(2): 595-602.

59. K. Sompornpailin and S. Kanthang. Tobacco randomly inserted *TT8* differently enhance light signals and flavonoid accumulation. Pak. J. Bot., 2015 47(4): 1303-1309.

60. K. Sompornpailin. Enhancing flavonoid antioxidant compounds in plant by using metabolic engineering and stressor. Thailand Research Symposiun 2015 (Proceedings) 133-138. (Oral Presentation)

61. S. Kanthang and K. Sompornpailin. Antioxidant activity in petal extract of *PAP1* transgenic tobacco. Applied Mechanics and Materials. 2015 804: 195-198. (SJR 0.15)

62. C. Khunchuay and K. Sompornpailin. The effects of cytokinins of plant regeneration of vetiver gress (*Vetiveria nemorails* A. Camus cv. roiet). Applied Mechanics and Materials. 2015 804: 259-262. (SJR 0.15)

63. K. Sompornpailin and C. Khunchuay. Synergistic effects of BAP and kinetin media additives on regeneration of vetiver grass (*Vetiveria zizanioides* L. Nash) Aus. J. Crop Sci. 2016 10 (5):726-731.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

64. K. Sompornpailin. Design and Synthesis of Flavonoid Biomaterial using Metabolic engineering STEMa2016, invited speaker, pattaya Thailand July, 27-29 2016.

65. C. Khunchuay and K. Sompornpailin. Beneficial Effects of Zinc Oxide Nanoparticles on Plant Regeneration of Vetiver Grass (Vetiveria zizanioides L. Nash) Applied Mechanics and Materials. 2017 866: 25-28 doi:10.4028/www.scientific.net/AMM.866.25

66. W. Chayaprasert and K. Sompornpailin. Proper Concentration of ZnO Nanoparticles Enhanced Biomaterial Synthesis and Plant Cell Protection. Applied Mechanics and Materials. 2017 866: 21-24 doi:10.4028/www.scientific.net/AMM.866.21

67. D. Dangrit and K. Sompornpailin. Enhancing Biosynthesis of Flavonol Protective Biomaterials Using FLS Transgenic. Applied Mechanics and Materials. Applied Mechanics and Materials. 2017 866: 29-32 doi:10.4028/www.scientific.net/AMM.866.29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

T147871

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้