

โปรตีนบ่งชี้ความผิดปกติทางสรีรวิทยาในเมล็ดของผลลำไยที่เจริญเติบโต

โดยใช้เทคนิค 2-D gel ตามด้วย LC-MS/MS

Protein Biomarkers from Physiological Disorder Syndrome in Seed of Longan

on Fruit Growth using 2-D gel Coupled with LC-MS/MS

อังคณา เปี่ยมพร้อม (Angkana Paimprom)* ดร.วินัย วิริยะอลงกรณ์ (Dr.Winai Wiriya along gon)**

ดร.เอกวิทย์ ศรีเนตร (Dr.Ekawit Threenet)***

บทคัดย่อ

กลุ่มอาการผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลลำไย เป็นอาการที่ผลลำไยมีลักษณะสีค่อนข้างแดงในระหว่างช่วงระยะการเจริญเติบโตของผลทำให้เกิดความเสียหายและมีผลกระทบต่อผลผลิตลำไย การวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและพัฒนากระบวนการหาตัวบ่งชี้ชีวภาพด้านโปรตีนจากส่วนของเมล็ดของผลลำไย (*Dimocarpus longan Lour.*) ที่มีอาการผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลลำไยในระยะการพัฒนารูปการเจริญเติบโต ผลการศึกษาโดยใช้เทคนิค 2-D gel พบว่าโปรตีน 2 ชนิดคือ 14-3-3 family protein (29.5 KDa) และ NBS-LRR disease resistance protein NBSS54 (93.5 KDa) ซึ่งโปรตีนทั้ง 2 ชนิดนี้ได้แสดงออกเพิ่มขึ้นในลำไยเป็นโรค ขณะที่ acetyl-coenzyme A carboxylase carboxyl transferase subunit beta (59.5 KDa) และ transport inhibitor response 1-like protein (72.9 KDa) แสดงออกเพิ่มขึ้นในลำไยปกติ ตลอดระยะ 20 และ 30 สัปดาห์หลังการติดช่อผล นอกจากนี้พบว่า ATP synthase subunit beta (53.5 KDa) มีการแสดงออกในลำไยปกติเฉพาะในระยะ 20 สัปดาห์หลังการติดช่อผล ขณะที่โปรตีน 3 ชนิด ได้แก่ APX (37.4 KDa), WRKY transcription factor 72-3 (61.0 KDa) และ ramorin-4 protein (52.5 KDa) มีการแสดงออกในลำไยที่เป็นโรคเฉพาะระยะ 30 สัปดาห์หลังการติดช่อผล

ABSTRACT

The physiological disorder syndromes in longan, The purpose of this research was to study and develop the process for finding the biological indicators of the protein from the seed of longan fruits (*Dimocarpus longan Lour.*) with symptoms of physiological disorders in longan fruits The research showed that 14-3-3 family protein (29.5 KDa) and NBS-LRR protein resistance protein NBSS54 (93.5 KDa) were expressed in longan disease. Actyl-coenzyme A carboxylase carboxyl transferase subunit beta (59.5 KDa) and transport inhibitor response 1-like protein (72.9 KDa) were expressed in normal longan throughout the 20 and 30 weeks after fruition. In addition, ATP synthase subunit beta (53.5 KDa) was expressed in normal longan only at 20 weeks after fruition. Three proteins, APX (37.4 KDa), WRKY transcription factor 72-3 (61.0 KDa) and ramorin-4 protein (52.5 KDa) are expressed in the fruit at only 30 weeks after fruition.

คำสำคัญ: ลำไย อีเล็กโทรโฟรีซิส

Keywords: Longan *Dimocarpus longan Lour.*, Electrophoresis

* นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

** อาจารย์ สาขาวิชาพืชสวน คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

*** อาจารย์ สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

บทนำ

ลำไยเป็นไม้ผลเศรษฐกิจสำคัญที่ทางรัฐบาลจัดหมวดหมู่ในกลุ่มสินค้าเพื่อการส่งออก สำหรับลำไยกลุ่มชื่อพันธุ์ดอ เป็นลำไยสายพันธุ์หนึ่งที่ชาวสวนนิยมปลูกมากที่สุดในประเทศไทย เนื่องจากเจริญเติบโตดี ยอดอ่อนมีทั้งยอดสีเขียวและสีแดง ลำต้นแข็งแรงเปลือกผลหนา ออกดอกติดผลค่อนข้างสม่ำเสมอ ทรงผลกลมแป้นและเบ้ช้วยกบ่าข้างเดียว ผิวผลสีน้ำตาล มีกระหรือตาห่าง เนื้อค่อนข้างเหนียว สีขาวขุ่น เมล็ดใหญ่ ปานกลาง (สำนักประชาสัมพันธ์เขต 3 จังหวัดเชียงใหม่, 2556) สำหรับกลุ่มชื่อพันธุ์ดอมีทั้งสิ้น 21 ชื่อพันธุ์ ซึ่งมีความหลากหลายทางด้าน การปรับปรุงพันธุ์ รวมถึงการพัฒนาสีผิวลำไย ซึ่งมีผลต่อการซื้อขายผลผลิตสด พ่อค้าที่รับซื้อลำไยผลสดนอกจากจะดูขนาดแล้วยังดูสีผิวของลำไยด้วย เพราะลักษณะที่ตลาดต้องการคือลำไยที่มีผิวสีเหลืองทอง ไม่มีรอยดำง่าม ซึ่งทำให้ราคาซื้อขายได้แตกต่างกันอย่างชัดเจนแม้ว่าผลลำไยจะมีขนาดไม่แตกต่างกันเลย อิทธิพลของสีผิวลำไยต่อราคาซื้อขายมีความสำคัญต่อเกษตรกรที่ปลูกลำไยอย่างมาก สีผิวลำไยเป็นองค์ประกอบหนึ่งที่จะละเลยเสียไม่ได้ (ธีรนุช และพาวัน, 2548) ดังนั้น การศึกษาปัจจัยภายในด้านองค์ประกอบเคมีของผลลำไย จึงควรเป็นวิธีการหนึ่งในการแก้ปัญหาในเรื่องนี้ สำหรับโปรตีนผลลำไยแม้จะมีปริมาณน้อยเมื่อเทียบกับองค์ประกอบอื่น (บัวเรียม และคณะ, 2554) แต่จะมีความสำคัญเพราะเกี่ยวข้องกับกระบวนการทางชีวเคมีที่เกิดขึ้นภายในผล โดยเฉพาะอย่างยิ่งชนิดของโปรตีนบางตัวจะสามารถสะท้อนถึงการแสดงออกของยีนของสายพันธุ์ลำไยชนิดนั้นตลอดจนสะท้อนสภาวะการพัฒนาในระยะต่างๆ ซึ่งเรียกโปรตีนเหล่านี้ว่าตัวบ่งชี้ทางชีวภาพด้านโปรตีน (protein biomarker) ดังนั้นการหาตัวบ่งชี้ทางชีวภาพด้านโปรตีนในผลลำไยพันธุ์ดอที่เป็นกลุ่มอาการความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลลำไย จะมีประโยชน์ทั้งในด้านการปรับปรุงพันธุ์และเข้าใจกระบวนการเจริญเติบโตของผลเพื่อใช้ในกระบวนการเร่งการพัฒนาของผลลำไยต่อไป

ปัจจุบันการศึกษาด้านความรู้ในกระบวนการทางด้าน proteomic เป็นสิ่งที่มีประโยชน์ที่สำคัญในการใช้อธิบายกระบวนการต่างๆ ในสิ่งมีชีวิต และจำเป็นต้องมีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องสำหรับอุตสาหกรรมด้านเกษตรกรรม เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงด้านโปรตีนสามารถประยุกต์ในการวิเคราะห์การพัฒนาการเจริญเติบโต การวินิจฉัยการเกิดโรค ตลอดจนใช้ในการระบุเอกลักษณ์ของสายพันธุ์ได้ ดังนั้นกระบวนการด้าน proteomic นี้เป็นแนวทางที่ดีสำหรับการพัฒนาการเกษตรในสาขาต่างๆ ได้อย่างยั่งยืนในอนาคต

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาและพัฒนากระบวนการหาตัวบ่งชี้ชีวภาพด้านโปรตีนจากส่วนของผลลำไยที่มีอาการของกลุ่มอาการความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลลำไย
2. เพื่อศึกษาระยะที่เหมาะสมของการป้องกันกลุ่มอาการความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลลำไยที่มีต่อผล การพัฒนาการเจริญเติบโต

วิธีการวิจัย

สำหรับตัวอย่างในการวิเคราะห์ได้ใช้ลำไยพันธุ์ดอปกติและลำไยที่มีความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลช่วงระยะผลอ่อนได้จากแหล่งเพาะปลูก 2 แหล่ง ได้แก่ ฟาร์ม มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ ที่เคยมีประวัติการเกิด การระบาดของอาการลำไยที่มีความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผล และคาดว่าจะเกิดขึ้นอีกเพื่อจะได้ติดตามการพัฒนาการเกิดโรคตั้งแต่ระยะการพัฒนาหลังการติดช่อผลไปจนกระทั่งเกิดโรค โดยทำการเก็บตัวอย่างลำไยตั้งแต่หลังติดช่อผลเป็นระยะเวลา 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 สัปดาห์ โดยการเก็บ 10 ต้นแบ่งออกเป็นต้นปกติ 5 ต้น ต้นผิดปกติ

5 ต้น ทำการเก็บต้นละ 20 ผล โดยสวนดังกล่าวปรากฏพบการระบาดของความผิดปกติทางสรีรวิทยาในผลช่วงระยะผลอ่อนใน 20 สัปดาห์หลังการติดช่อผล (เดือนกรกฎาคม ถึง สิงหาคม 2560) ซึ่งไม่ปรากฏลำไยที่มีความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผล แบบที่ 2 คือระยะผลแก่เกิดขึ้นในสวนดังกล่าว ใน 30 สัปดาห์หลังติดช่อผลซึ่งเป็นระยะการเก็บเกี่ยว ตัวอย่างของผลลำไยได้ทำการเก็บผลสดในระยะต่างๆดังที่กล่าวมาได้นำมาศึกษาลักษณะทางกายภาพ (ความกว้าง ความยาว น้ำหนัก และ ค่าสี) โดยใช้เครื่องวัดสี colorimeter ยี่ห้อ MINOLTA รุ่น CR-10 และวัดค่าทางเคมีของผลลำไย ได้แก่ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำ (total soluble solids, TSS) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และค่าปริมาณวิตามินซี ตามรายงานงานวิจัยของเอกวิทย์ และคณะ (2561) หลังจากนั้นนำมาแยกชิ้นส่วนเปลือก เนื้อ และเมล็ดผ่านกระบวนการเก็บรักษาที่ -20°C ณ ห้องปฏิบัติการชีวเคมี สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ และทำการสกัดโปรตีนในเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2561 ก่อนที่จะนำลำไยไปสกัดด้วย extraction solution ในส่วนเมล็ดของลำไยจำเป็นต้องนำมาผ่านกระบวนการตามวิธีของ เอกวิทย์ และคณะ(2560) โดยนำเมล็ดมาล้างให้สะอาด แล้วนำมาผ่าครึ่ง เพื่อนำส่วนต่างๆ มาแยกองค์ประกอบเพื่อทำการศึกษา และนำไปตัดให้มีขนาดเล็กมีเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 1 เซนติเมตร หลังจากนั้นนำไปบดในโกร่งที่อยู่ในสถานะเย็นจัดโดยใส่ไนโตรเจนเหลวเล็กน้อย และใส่ส่วนต่างๆของลำไยที่ตัดให้เป็นชิ้นเล็ก จากนั้นเทไนโตรเจนเหลวลงไปจนท่วม และทำการบด หากบดแล้วตัวอย่างยังไม่ละเอียด ให้นำตัวอย่างบดบดบดด้วยเครื่องปั่น จนเป็นผงละเอียดและนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20°C เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

สำหรับขั้นตอนการสกัดสารละลายโปรตีนจากเมล็ดใช้เงื่อนไขเจลอิเล็กโตรโฟรีซิสสำหรับวิเคราะห์เมล็ด (2% SDS ใน Tris-HCl buffer pH 6.8) ที่ได้จากการสกัดตามวิธีของ ขนิษฐา (2558) การทำอิเล็กโตรโฟรีซิสแบบ 2-DE เป็นขั้นตอนที่มีค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูงไม่สามารถกระทำกับทุกตัวอย่างได้จึงเลือกตัวอย่างปกติและตัวอย่างที่เป็นโรคใน สัปดาห์ 20 และ 30 หลังการติดช่อผล การทดลองส่วนอิเล็กโตรโฟรีซิสได้ใช้การแยกแบบ 2 มิติ โดยที่มิติที่ 1 แยกโปรตีนด้วยเทคนิค IEF และมิติที่ 2 ใช้เทคนิค SDS-PAGE หลังจากนั้นนำแผ่นเจลมาทำการย้อมสีโดยวิธี Coomassie brilliant blue R-250 แล้วนำไปวิเคราะห์หาชนิดของโปรตีนโดยใช้เทคนิค liquid chromatography-mass spectrometry

ผลการวิจัย

ตัวอย่างลำไยตั้งแต่หลังติดช่อผลเป็นระยะเวลา 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 สัปดาห์ โดยสวนที่ทำการทดสอบปรากฏพบการระบาดของความผิดปกติทางสรีรวิทยาในผลช่วงระยะผลอ่อน ตามรายงานวิจัยของเอกวิทย์ และคณะ (2561) ที่ปรากฏลักษณะค่าสี a และ Hue ของลำไยผลผิดปกติมีค่ามากกว่าผลปกติและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.005$) ในสัปดาห์ที่ 20 หลังการติดช่อผล



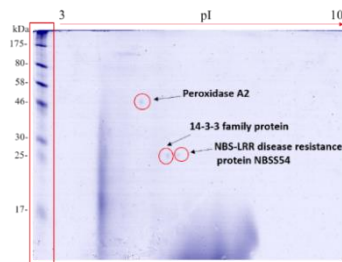
(A)



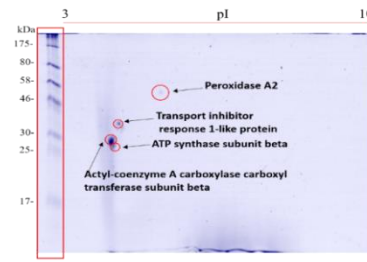
(B)

ภาพที่ 1 ลักษณะสีผลลำไยปกติ (A) และลำไยที่มีความผิดปกติทางสรีรวิทยา (B) ระยะที่เริ่มเกิดความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลในสัปดาห์ที่ 20 หลังการติดช่อผล

สำหรับผลการศึกษาเจลอิเล็กโทรโฟริซิสแบบ 2D-gel ตามด้วยเทคนิค LC-MS/MS ที่ระยะการเจริญเติบโตของผลลำไยที่ 20 และ 30 สัปดาห์หลังการติดช่อผลเท่านั้น ดังแสดงภาพที่ 2 และ 3 และตารางที่ 1

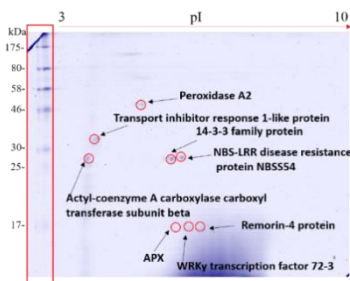


(A)

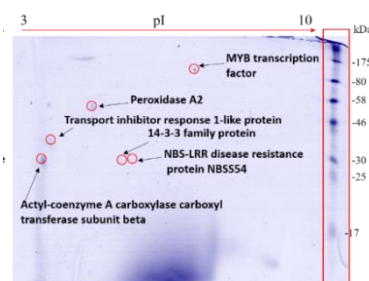


(B)

ภาพที่ 2 โปรตีนในเมสซีของผลลำไยที่มีความผิดปกติทางสรีรวิทยา (A) และลำไยปกติ (B) ในระยะ 20 สัปดาห์หลังการติดช่อผล



(A)



(B)

ภาพที่ 3 โปรตีนในเมสซีของผลลำไยที่มีความผิดปกติทางสรีรวิทยา (A) และลำไยปกติ (B) ในระยะ 30 สัปดาห์หลังการติดช่อผล

ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์หน่วยโปรตีนจากเมล็ดลำไยในระยะ 20 และ 30 สัปดาห์หลังการติดช่อผลด้วยวิธี 2D-gel และเทคนิค LC-MS/MS

Types	Accession	Calculated MW (MS)	Score	Sequence	Matches	Expression in physiological disorder syndrome
ATP synthase subunit beta	ATPB NICRU	53.3 KDa	43	2(1)	4(2)	decrease
Peroxidase A2	PERA2 ARMRU	32.3 KDa	79	2(1)	6(4)	-
APX[<i>Dimocarpus longan</i>]	AFF18848.1	37.4 KDa	21	1(1)	3(1)	-
WRKY transcription factor 72-3 [<i>Dimocarpus longan</i>]	AEO31479.2	61.0 KDa	19	2(1)	2(1)	increase
Ramorin-4 protein [<i>Dimocarpus longan</i>]	AGC39090.1	52.5 KDa	18	6(1)	8(1)	
MYB transcription factor [<i>Dimocarpus longan</i>]	AEK05512.1	23.2 KDa	26	3(1)	3(1)	increase
Actyl-coenzyme A carboxylase carboxyl subunit beta	ACCD_CUCSA	59.5 KDa	42	2(1)	2(1)	
Transport inhibitor response 1-like protein	AKN10574.1	72.9 KDa	21	6(1)	6(1)	
NBS-LRR disease resistance protein [<i>Dimocarpus longan</i>]	AKE49469.1	93.5 KDa	20	5(1)	5(1)	
14-3-3 family protein [<i>Dimocarpus longan</i>]	ADD79961.1	29.5 KDa	18	8(1)	7(1)	
Transport inhibitor response 1-like protein [<i>Dimocarpus longan</i>]	AKN10574.1	72.9 KDa	21	6(1)	6(1)	

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

หลังจากวิเคราะห์ข้อมูลแล้วผลการศึกษา 2D-gel ในระยะ 20 และ 30 สัปดาห์หลังการติดช่องผลทั้งลำไยที่มีความผิดปกติและลำไยปกติ พบโปรตีน peroxidase A2 (32.3 KDa) ใน 2D-gel ทั้งระยะ 20 และ 30 สัปดาห์หลังการติดช่องผล ทั้งลำไยที่มีความผิดปกติและลำไยปกติโดยไม่มีความแตกต่างในการแสดงออก ซึ่งหมายความว่าโปรตีนชนิดนี้น่าจะเป็นโปรตีนทั่วไปของตัวอย่าง

ส่วนโปรตีนชนิดอื่นน่าจะเป็นโปรตีนบ่งชี้ความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลใน 2 ลักษณะ แบบที่หนึ่งบ่งชี้อาการผิดปกติตลอดระยะเวลาการเจริญเติบโตของผล โดยโปรตีนชนิดนี้จะปรากฏในลักษณะที่แตกต่างระหว่างลำไยที่ผิดปกติและลำไยปกติทั้งระยะ 20 และ 30 สัปดาห์หลังการติดช่องผล ได้แก่ โปรตีนชื่อ 14-3-3 family protein (29.5 KDa) ซึ่งเป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องหลายกระบวนการ (Muslin and Lau, 2004) เช่น การเจริญเติบโต กระบวนการรับรู้สารอาหาร และ กระบวนการอยู่รอดของเซลล์ และ โปรตีน NBS-LRR disease resistance protein NBSS54 (93.5 KDa) ซึ่งเป็นโปรตีนด้านการเป็นโรคของพืช (Belkhadir *et al.*, 2004) โดยโปรตีนทั้งสองชนิดนี้ได้แสดงออกในลำไยที่ผิดปกติ แต่ไม่แสดงออกในลำไยปกติในระยะเริ่มเกิดอาการของโรคที่สามารถตรวจสอบได้จากการแสดงลักษณะทางกายภาพของผล (20 สัปดาห์หลังการติดช่องผล) และเมื่อมีการบำรุงรักษาสวนจนลักษณะทางกายภาพของผลไม่แตกต่างระหว่างลำไยที่ผิดปกติและลำไยปกติ (30 สัปดาห์หลังการติดช่องผล) โปรตีนทั้งสองชนิดนี้จะปรากฏในลำไยทั้งที่ผิดปกติและลำไยปกติ เพียงแต่ในลำไยที่ผิดปกติจะมีการแสดงออกที่มากกว่า นอกจากนี้ในทางกลับกันโปรตีน acetyl-coenzyme A carboxylase carboxyl transferase subunit beta (59.5 KDa) ซึ่งเป็นเอ็นไซม์โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมทาบอลิซึมของไขมัน ในวิธีการสร้าง malonyl-CoA (UniProt, 2018a) และ Transport inhibitor response 1-like protein (72.9 KDa) ซึ่งเป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับขบวนการ ubiquitination ที่เป็นการเติม ubiquitin ให้กับโปรตีนเป้าหมาย เพื่อให้โปรตีนนั้นถูกกำจัดต่อไป (UniProt, 2018b) โดยโปรตีนทั้งสองชนิดนี้มีแสดงออกในลำไยปกติแต่ไม่แสดงออกในลำไยที่ผิดปกติในระยะ 20 สัปดาห์หลังการติดช่องผล และพบการแสดงออกของโปรตีนทั้งสองชนิดนี้ในลำไยทั้งที่เป็นโรคและลำไยปกติแต่ในลำไยปกติจะมีการแสดงออกที่มากกว่า ดังนั้นสิ่งบ่งชี้โปรตีนทั้งสองชนิดดังกล่าว น่าจะเกี่ยวข้องกับพัฒนาของความผิดปกติในระยะการเจริญเติบโตของผลได้

สำหรับแบบที่สองบ่งชี้การเป็นโรคนิคมเฉพาะเจาะจงต่อบางระยะเวลาการเจริญเติบโตของผล โดยโปรตีนชนิดนี้จะปรากฏในลักษณะที่แตกต่างระหว่างลำไยที่ผิดปกติและลำไยปกติเฉพาะระยะ 20 หรือ 30 สัปดาห์หลังการติดช่องผลเท่านั้น ซึ่งจากผลการศึกษาพบว่าในระยะ 20 สัปดาห์หลังการติดช่องผล พบโปรตีน ATP synthase subunit beta (53.5 KDa) เฉพาะในลำไยปกติเท่านั้น ขณะที่ในระยะ 30 สัปดาห์หลังการติดช่องผล พบโปรตีน APX (37.4 KDa) ซึ่งเป็นโปรตีนมีบทบาทสำคัญในการกำจัด hydrogen peroxide (UniProt, 2018c) โปรตีน WRKY transcription factor 72-3 (61.0 KDa) ซึ่งเป็นโปรตีนช่วยในขบวนการ DNA transcription และ remorin-4 protein (52.5 KDa) (UniProt, 2018d) ซึ่งเป็นโปรตีนที่ยังไม่สามารถระบุหน้าที่ที่แน่ชัด (UniProt, 2018e) โดยโปรตีนทั้ง 3 ชนิดนี้พบได้เฉพาะในลำไยที่ผิดปกติเท่านั้น

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาลำไยที่มีความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลในระยะผลแก่ โดยตรวจสอบเทคนิค 2 D-gel พบโปรตีนบ่งชี้สองแบบคือ แบบแรกเป็นโปรตีนบ่งชี้การเป็นโรคตลอดระยะเวลาการเจริญเติบโตของผล ได้แก่ 14-3-3 family protein และ NBS-LRR disease resistance protein NBSS54 ซึ่งโปรตีนทั้งสองชนิดนี้ได้แสดงออกสอดคล้องเด่นชัดในลำไยที่ผิดปกติทางสรีรวิทยาของผล ขณะที่โปรตีน acetyl-coenzyme A carboxylase carboxyl transferase subunit beta และ transport inhibitor response 1-like protein แสดงออกสอดคล้องเด่นชัดในลำไยปกติ ดังนั้นตัวบ่งชี้โปรตีนทั้งสองชนิดนี้น่าจะเกี่ยวข้องกับพัฒนาของโรคในระยะการเจริญเติบโตของผลได้ สำหรับตัวบ่งชี้โปรตีนแบบที่

สองบ่งชี้การเป็นโรคชนิดเฉพาะเจาะจงต่อบางระยะเวลาการเจริญเติบโตของผล พบว่าในระยะ 20 สัปดาห์หลังการติด
ข้อผล พบโปรตีน ATP synthase subunit beta เฉพาะในลำไยปกติเท่านั้น ขณะที่ในระยะ 30 สัปดาห์หลังการติดข้อผล
พบโปรตีน APX, WRKY transcription factor 72-3 และ ramorin-4 protein ได้เฉพาะในลำไยที่เป็นโรคนั้น

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ฟาร์มฟาร์ม มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่อย่างสูง ที่ให้ความอนุเคราะห์ในด้าน
สถานที่ในการทำวิจัยในครั้งนี้ ตลอดจนห้องปฏิบัติการ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

เอกสารอ้างอิง

ขนิษฐา ชำนาญ. การศึกษากระบวนการสกัดโปรตีนจากเมล็ดลำไยสายพันธุ์ดอเพื่อการวิเคราะห์ด้านโปรตีโอมิกส์.

เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยแม่โจ้; 2558.

ธีรนุช เจริญกิจ และพาวิณ มะโนชัย. การศึกษาเปรียบเทียบชนิดวัสดุห่อต่อคุณภาพผลลำไยพันธุ์ดอ. เอกสาร

ประกอบการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 6. เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยแม่โจ้; 2548.

บัวเรียม มณีวรรณ ทองเทียน บัวจุม เผ่าพงษ์ ปุระณะพงษ์ และ โยชิน นันตา. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี

การย่อยได้ของโภชนะ และพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ของเมล็ดลำไยและเนื้อในเมล็ดลำไยในไก่พื้นเมือง.

การประชุมวิชาการนเรศวรวิจัย ครั้งที่ 7; 2554.

สำนักประชาสัมพันธ์เขต 3 จังหวัดเชียงใหม่. กินลำไยช่วยชาติ [ออนไลน์] 2556 [ค้นเมื่อ 25 สิงหาคม 2556]. จาก

<http://region3.prd.go.th/Longan/Importance.php>

เอกวิทย์ ตรีเนตร, วัลลภา ดอนคำ, อัจฉรา แก้วกล้า, วินัย วิริยะอลงกรณ์, อติศักดิ์ จูวงษ์. การศึกษาลักษณะคุณภาพผล

และรูปแบบโปรตีนในผลของลำไยพันธุ์ดอที่ปรากฏอาการผิดปกติทางสรีรวิทยาของผล.

เอกสารประกอบการประชุมทางวิชาการระดับชาติประจำปี 2561, 11-13 ธันวาคม 2561 มหาวิทยาลัยแม่โจ้;

เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยแม่โจ้; 2561. หน้า 130.

เอกวิทย์ ตรีเนตร, อัจฉรา แก้วกล้า, วินัย วิริยะอลงกรณ์, อติศักดิ์ จูวงษ์. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ การประเมิน

ตัวบ่งชี้โปรตีนสำหรับการระบุกลุ่มอาการจากความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลลำไย. กรุงเทพฯ:

ทุนวิจัยแห่งชาติ (วช.); 2561.

Belkhadir Y, Subramaniam R, Dangl JL. Plant disease resistance protein signaling: NBS-LRR proteins and their

partners. *Curr Opin Plant Biol* 2004; 7(4): 391-399.

Muslin AJ, Lau JMC. Differential functions of 14-3-3 isoforms in vertebrate development. *Curr Top Dev Biol* 2004;

65: 211-228.

UniProt [Internet]. Acetyl-coenzyme A carboxylase carboxyl transferase subunit beta [Online] 2001 [cited 2018a

February 13]. Available from <https://www.uniprot.org/uniprot/Q9HZA7>

UniProt [Internet]. Transport inhibitor response 1-like protein beta [Online] 2007 [cited 2018b August 2]. Available

from <https://www.uniprot.org/uniprot/Q7XVM8>

UniProt [Internet]. L-Ascorbate peroxidase 1 [Online] 2007 [cited 2018c August 15] Available from

<https://www.uniprot.org/uniprot/Q7XVM8>



UniProt [Internet]. WRKY transcription factor 72-3 [Online] 2013 [cited 2018d August 15]. Available from

<https://www.uniprot.org/uniprot/G3FF82>

UniProt [Internet]. Remorin-4 protein [Online] 2011 [cited 2018e August 15] Available from

<https://www.uniprot.org/uniprot/G3FF82>