5. สรุป

จากการศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการทำงานของเอนไซม์ไนเทรตรีดักเทสในต้นข้าวไร่ สายพันธุ์ดอกพยอม และ กู้เมืองหลวง เปรียบเทียบกับพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ใช้ปลูกในนาน้ำขังโดยทั่วไป ตลอดจนการใช้ระบบการปลูกพืชแบบไฮโดรโพนิคเพื่อแยกศึกษาปัจจัยต่างๆที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์ไนเทรตรีดักเทสในต้นข้าวไร่ โดยใช้ตัวแทนคือข้าวไร่พันธุ์กู้เมืองหลวงในการศึกษา และได้ศึกษาข้อมูลทั่วไปที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ไนเทรตรีดักเทส สามารถสรุปผลได้ดังนี้

1. ในสภาวะธรรมชาติ ระดับแอคติวิตีของเอนไซม์ในใบข้าวมีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา แต่มีแนวโน้มลดลงเมื่อปริมาณปุ๋ยในดินลดลง และการเติมปุ๋ยในช่วงที่ข้าวแตกกอซึ่งจำเป็นต้องใช้ไนโตรเจนจำนวนมากในต้นพืช จะมีผลให้แอคติวิตีของเอนไซม์ไนเทรตรีดักเทสเพิ่มขึ้นได้อีก แสดงให้เห็นว่ามีความสอดคล้องกับการปลูกข้าวจริงในแปลงนาที่ควรเติมปุ๋ยครั้งที่สองเมื่อต้นข้าวแตกกอ

2. ข้าวพันธุ์กู้เมืองหลวงมีการตอบสนองของแอคติวิตีของเอนไซม์ไนเทรตรรีดักเทสต่อปุ๋ยไนโตรเจนสูงที่สุด รองลงมาคือพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 และข้าวพันธุ์ดอกพยอมมีการตอบสนองของแอคติวิตีของเอนไซม์ไนเทรตรีดักเทสต่อปุ๋ยต่ำที่สุด

3. ระดับไนเทรตในใบกับแอคติวิตีของเอนไซม์ไนเทรตรีดักเทสมีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน คือ มีแนวโน้มลดลงเมื่อเวลาผ่านไป และจะเพิ่มขึ้นได้อย่างรวดเร็วเมื่อได้รับไนเทรตจากภายนอก

4. เอนไซม์ไนเทรตรีดักเทสในใบข้าวมีการตอบสนองต่อแสงในลักษณะของนาฬิกาชีวภาพ (biological clock) แต่ในส่วนของรากจะไม่แสดงลักษณะดังกล่าว

5. ระดับความสมบูรณ์ของแร่ธาตุอาหารมีผลต่อรูปแบบการแสดงออกของเอนไซม์ไนเทรตรีดักเทส

6. การเติมอากาศให้แก่ระบบการปลูกข้าวแบบไฮโดรโพนิค มีผลให้แอคติวิตีของเอนไซม์ไนเทรตรีดักเทสมีค่าต่ำกว่าการไม่เติมอากาศ แต่ข้อควรระวังคือการปรับระดับสารละลายธาตุอาหาร และค่า พีเอชของสารละลายให้คงที่อยู่เสมอเพื่อให้แร่ธาตุต่างๆ อยู่ในสภาพเป็นอิออนที่ลายน้ำ ไม่จับตัวตกตะกอนไป

7. ต้นข้าวสายพันธุ์กู้เมืองหลวง ดอกพยอม และขาวดอกมะลิ มีรูปแบบการตอบสนองของเอนไซม์ไนเทรตรีดักเทสต่อการได้รับไนเทรตหรือการได้รับไนเทรตร่วมกับแอมโมเนียมแตกต่างกันโดยขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ แต่ไม่มีผลตอบสนองเมื่อได้รับเฉพาะแอมโมเนียม แสดงให้เห็นว่า มีความเป็นไปได้ที่จะนำไปสู่การให้ปุ๋ยในรูปที่มีไนเทรตอยู่ เพื่อเพิ่มปริมาณไนโตรเจนให้แก่ต้นข้าวไร่อีกทางหนึ่ง

8. ค่าแอคติวิตีของเอนไซม์ไนเทรตรีดักเทสไม่ได้แปรผันตรงกับปริมาณของไนเทรตที่ให้แก่ต้นข้าว แอคติวิตีของเอนไซม์ไนเทรตจะขึ้นกับความต้องการใช้ไนเทรตในต้นพืช อย่างไรก็ตามการให้ไนเทรตแก่ต้นข้าวจะมีผลชักนำให้มีการเพิ่มแอคติวิตีของเอนไซม์ไนเทรตรีดัก-เทสได้

9. จากการตกตะกอนโปรตีนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตที่ 20-50 % ของความอิ่มตัวพบว่าจะได้ค่าความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 3.61 เท่า และการเก็บเอนไซม์ที่ได้จากการตกตะกอนด้วยเกลือแล้วพบว่าควรเก็บบนน้ำแข็ง และ การเก็บในรูปที่จับอยู่กับเกลือจะรักษาแอคติวิตีของเอนไซม์ได้นานกว่าการเก็บในรูป dialysate ประมาณ 10 วัน

10. ใบข้าวที่บดเป็นผงแล้ว สามารถนำไปเก็บไว้ได้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสประมาณ 1 สัปดาห์ และที่ –20 องศาเซลเซียสนานสามสิบวัน หรือมากกว่านั้น

11. การเติม PMSF มีผลต่อการเก็บรักษา crude extract ที่เก็บบนน้ำแข็ง ให้มีความเสถียรได้ประมาณ 5 ชั่วโมง แต่การเก็บเอนไซม์ที่สกัดแล้วโดยการทำให้แข็งจะทำให้แอคติวิ-ตีของเอนไซม์ไนเทรตรีดักเทสหมดไป

12. การศึกษาจลศาสตร์ของเอนไซม์ไนเทรตรีดักเทสในใบข้าวไร่พบว่า เอนไซม์ไนเทรตรีดักเทสมีสมบัติเป็น NAD(P)H-bispecific enzyme คือสามารถใช้ได้ทั้ง NADH และ NADPH เป็นตัวให้อิเล็กตรอน โดยค่า K_m ของ KNO_3 เมื่อใช้ NADH เป็นตัวให้อิเล็กตรอน มีค่า 0.109 มิลลิโมลาร์ ค่า K_m ของNADH มีค่า0.018 มิลลิโมลาร์, ค่า K_m ของ KNO_3 เมื่อใช้ NADPH เป็นตัวให้อิเล็กตรอน มีค่า 2.5 มิลลิโมลาร์ และค่า K_m ของ NADPH มีค่า 0.05 มิลลิโมลาร์

13. แอคติวิตีของเอนไซม์ไนเทรตรีดักเทส ในส่วนของ crude extract มีค่าอยู่ในช่วงพีเอช 6-11 และในส่วนของ 20-50 % ammonium precipitate จะมีค่าอยู่ในช่วงพีเอช 4-12 โดยทั้งส่วน crude extract และในส่วนของ 20-50 % ammonium precipitate จะมีค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไนเทรตรีดักเทสเหมือนกัน คือ ที่พีเอช 7.5

14. molybdenum และ FAD มีผลต่อการเพิ่มแอคติวิตีของเอนไซม์ไนเทรตรีดักเทส โดยการได้รับ molybdenum จะช่วยเพิ่มแอคติวิตีของเอนไซม์ไนเทรตรดักเทสได้มากกว่าการได้รับ FAD แสดงว่า ในระหว่างขั้นตอนการสกัดเอนไซม์ มีการสูญเสีย molybdenum ได้มากกว่า FAD

15. สารที่มีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไนเทรตรีดักเทสจากการทดลองนี้ ได้แก่ sodium azide ซึ่งสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไนเทรตรีดักเทสได้แม้จะใช้ในระดับความเข้มข้นในหน่วยไมโครโมลาร์ นอกจากนี้การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไนเทรตรีดัก-เทสสามารถเกิดขึ้นจากการเติม Mg^{2+} ซึ่งต้องใช้ในระดับความเข้มข้นเป็นมิลลิโมลาร์