

รูปแบบของ ไอ โซ ไซม์ของแคลลัสและต้นที่เจริญจากแคลลัสของยาสูบ



นางสาว ศิริลักษณ์ เอี่ยมธรรม

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาพฤษศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2532

ISBN 974-577-081-7

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

016684

1 10302981

Isozyme Pattern of Callus and Regenerated Plant of Tobacco

Miss Siriluck Iamtham

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Department of Botany

Graduate School

Chulalongkorn University

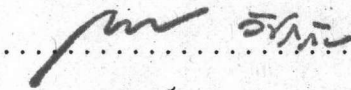
1989

ISBN 974-577-081-7

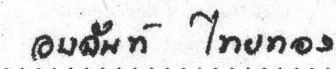


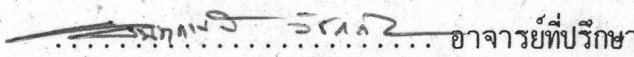
หัวข้อวิทยานิพนธ์ : รูปแบบของ ไอ โซ ไซม์ของแคลลัสและต้นที่เจริญจากแคลลัสของยาสูบ
โดย : นางสาว ศิริลักษณ์ เอี่ยมธรรม
ภาควิชา : พฤษศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ มณฑานติ วัชรากัย
นาย สมิต บุญเสริมสุข

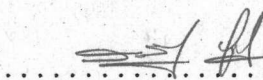
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็น
ส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

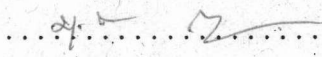

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วัชรากัย)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.อบฉันท์ ไทยทอง)


..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ มณฑานติ วัชรากัย)


..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(นาย สมิต บุญเสริมสุข)


..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ มุกดา ณัฐสมบูรณ์)



คิรลักษณะ เอี่ยมธรรม : รูปแบบของไอโซไซม์ของแคลลัสและต้นที่เจริญจากแคลลัสยาสูบ

(Isozyme Pattern of Callus and Regenerated Plant of Tobacco)

อ.ที่ปรึกษา : รศ.มณฑกานติ วชิรารักษ์, นายสมิต บุญเสริมสุข, 158 หน้า. ISBN

974-577-081-7

แคลลัสของยาสูบ 2 ชนิดคือ *Nicotiana tabacum* และ *N. rustica* มีรูปแบบเปอร้ออกซีเตลไอโซไซม์ที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน ส่วนแคลลัสของยาสูบชนิดเดียวกันไม่ว่าจะชกนมาจากส่วนลำต้นหรือใบก็ให้รูปแบบเปอร้ออกซีเตลไอโซไซม์ที่คล้ายคลึงกันมากเมื่อเปรียบเทียบกับรูปแบบเปอร้ออกซีเตลไอโซไซม์ของแคลลัสปฐมภูมิและทุติยภูมิ อายุ 30, 50, 70 และ 90 วัน พบว่ามีรูปแบบไอโซไซม์ไม่แตกต่างกันมากนัก นอกจากนี้ยังตรวจสอบเปอร้ออกซีเตลไอโซไซม์ที่ปล่อยลงในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่ออีกด้วย

แคลลัสเลี้ยงในอาหารที่เติม IAA และ 2,4-D ในปริมาณ 1.9 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความแตกต่างกันทั้งในสี การเกาะกลุ่มของเซลล์ และเปอร์เซ็นต์การเกิดต้น โดยแคลลัสเลี้ยงในอาหารที่เติม IAA มีเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นสูงกว่าแคลลัสเลี้ยงในอาหารที่เติม 2,4-D การตรวจสอบเปอร้ออกซีเตลไอโซไซม์ของแคลลัสสามารถยืนยันความแตกต่างของแคลลัสแต่ละกลุ่ม นอกจากนั้นยังพบความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบเปอร้ออกซีเตลไอโซไซม์กับลักษณะภายนอกและความสามารถในการเกิดต้นของแคลลัส โดยที่แคลลัสที่มีการเกาะกลุ่มของเซลล์แน่น มีสีค่อนข้างเขียว มีเปอร้ออกซีเตลไอโซไซม์กลุ่มเคลื่อนที่เร็วมีความเข้มข้นสูงและจำนวนแถบมาก แคลลัสกลุ่มนี้พัฒนาเป็นต้นได้จำนวนมาก ส่วนแคลลัสที่มีการเกาะกลุ่มของเซลล์หลวม ชุ่มน้ำ มีสีเหลืองน้ำตาล จะมีเปอร้ออกซีเตลไอโซไซม์กลุ่มเคลื่อนที่เร็วความเข้มข้นต่ำและจำนวนแถบน้อย แคลลัสพวกนี้พัฒนาให้ต้นน้อยกว่า

การศึกษารูปแบบเปอร้ออกซีเตลไอโซไซม์ของกล้ายาสูบที่เพาะในอาหารสังเคราะห์ และควบคุมสภาพแวดล้อมให้คงที่ มีรูปแบบเปอร้ออกซีเตลไอโซไซม์ที่ค่อนข้างอยู่ตัวมากกว่ายาสูบที่ปลูกในสภาพธรรมชาติ นอกจากนี้ยังพบว่าภายในยาสูบต้นเดียวกันเปอร้ออกซีเตลไอโซไซม์ในลายนยอดมีความเข้มข้นต่ำและจำนวนแถบน้อยที่สุดและส่วนที่ถัดลงมาจะค่อย ๆ มีความเข้มข้นและจำนวนแถบสูงขึ้น และพบว่ามีสูงสุดที่บริเวณโคนต้นยาสูบ แสดงถึงรูปแบบไอโซไซม์เปลี่ยนแปลงไปสอดคล้องกับหน้าที่ทางสรีระ และสภาวะการพัฒนาของพืช

ภาควิชา พฤษศาสตร์
สาขาวิชา พันธุศาสตร์
ปีการศึกษา 2532

ลายมือชื่อนิติกร
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม



SIRILUCK IAMTHAM : Isozyme Pattern of Callus and Regenerated Plant of Tobacco. Thesis Advisor : ASSO. PROF MONTAKAN VAJRABHAYA, M.S., SMIT BOONSERM SOOK, M.S. 158 pp. ISBN 974-577-081-7

Calli of two tobacco species, Nicotiana tabacum and N. rustica, were found to have marked different patterns of peroxidase isozymes. Whereas calli of stem and leaf of the same species gave very similar patterns. In comparing the peroxidase isozymes of the primary and secondary calli with different ages, 30,50,70 and 90 days similar patterns were also found. These isozymes were also found in the agar medium.

Differences of color, compactness of calli and percentage of regeneration were found in calli grown in the media with IAA and 2,4-D at 1.9 mg/l. Calli culture in media supplemented with IAA gave higher percentage of regeneration than the ones in 2,4-D. Results of peroxidase isozyme analysis confirmed the differences in appearance of calli, and the relationship of peroxidase, external appearance, and ability to regenerate were also found. The compact callus with green high concentration with many bands of fast migrating peroxidase isozyme tended to regenerate into whole plant better than the ones with loose, moist with brownish yellow. The latter produced low concentration of isozyme with slow migrating property with fewer bands.

The study of peroxidase isozyme of tobacco seedling cultured in synthetic media with no hormone added under controlled environment shows the stability in peroxidase isozyme than the tobacco seedling cultured in nature. Besides this it's also found that the same tobacco plant producing low concentration of the peroxidase isozyme on the top and gradually increase toward the base of the plant. This study shows the pattern of peroxidase isozyme changes according to its physiological function and its developmental in stage of the plant.

ภาควิชา พฤษศาสตร์
สาขาวิชา พันธุ์ศาสตร์
ปีการศึกษา 2532

ลายมือชื่อนิติ *สมิท บุญธรรม*

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา *สมิท บุญธรรม*

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม *สมิท บุญธรรม*



กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจาก
รองศาสตราจารย์ มณฑกานติ วัชรภักย์ และ นายสมิต บุญเสริมสุข ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา
แนะนำข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ อีกทั้งช่วยแก้ไขปัญหาค้นคว้าต่าง ๆ ด้วยความเอาใจใส่
ด้วยดีมาตลอด ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

กราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.อบฉันท์ ไททอง รองศาสตราจารย์
มุกดา วัฒนสมบุรณ์ และ ศ.ดร.ถาวร วัชรภักย์ ที่ได้กรุณาตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์และให้
คำแนะนำต่าง ๆ ทำให้วิทยานิพนธ์เสร็จสมบูรณ์

กราบขอบพระคุณ ฝ่ายวนวัฒนวิจัย กรมป่าไม้ ที่ได้กรุณาให้ใช้สารเคมีบาง
อย่างตลอดจนเครื่องมือในการ run electrophoresis กราบขอบพระคุณ คุณสมิต
บุญเสริมสุข ที่ช่วยดูแลและให้คำแนะนำในการใช้เครื่องมือการ run electrophoresis
ขอขอบคุณ คุณเกรงจิต ปิติพรชัย คุณวัชรพัช วัชรภักย์ และคุณทรงศักดิ์ สวารณสุข ที่ได้ให้
ความช่วยเหลือในด้านการถ่ายภาพ ขอขอบคุณเพื่อน ๆ ที่ได้ให้ความช่วยเหลือและให้กำลังใจ
ใจมาโดยตลอด และเนื่องจากวิทยานิพนธ์นี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยของบัณฑิตวิทยาลัย และ
พ.ส.ว.ท. จึงขอกราบขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย และพ.ส.ว.ท. มา ณ ที่นี้ด้วย

กราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และพี่ ๆ ซึ่งสนับสนุนในด้านการเงินและให้
กำลังใจแก่ผู้วิจัยเสมอมา



สารบัญ

ฉ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย	ฆ
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญกราฟ	ญ
สารบัญภาพ	ฉ
สารบัญแผนภาพ	ด
บทที่	
1. บทนำ	1
2. วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง	16
3. ผลการทดลอง	34
4. สรุปและอภิปรายผล	100
เอกสารอ้างอิง	124
ภาคผนวก	139
ประวัติผู้เขียน	158



สารบัญตาราง

๕

ตารางที่

หน้า

1	ส่วนประกอบของธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองตาม Murashige and Skoog (1962)	17
2	ส่วนประกอบของ running gel stock solution	23
3	ส่วนประกอบของ spacing gel stock solution	24
4	ส่วนประกอบของ reservoir buffer และ bromophenol blue stock solution	25
5	ส่วนประกอบของ stock สีย้อมเปอร์ออกซิเคสไอโซไซม์	26
6	ส่วนประกอบของ extract buffer stock solution	27
7	การเจริญของแคลลัสที่ชักนำจากส่วนลำต้นและส่วนใบของ <u>N. tabacum</u> ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS (1962) ที่เติม IAA 1.9 มก./ล. และโคเนติน 0.5 มก./ล. เมื่อเลี้ยงเป็นเวลานาน 30, 50, 70 และ 90 วัน (ผลเฉลี่ยจากค่าการทดลอง 6 ซ้ำ) ..	36
8	การพัฒนาของแคลลัสที่เกิดจากส่วนลำต้นและส่วนใบของ <u>N. tabacum</u> ทั้ง 2 กลุ่มในอาหารสูตร MS (1962) ที่เติม IAA 1.9 มก./ล. และโคเนติน 0.5 มก./ล. เมื่อแคลลัสอายุ 50 วัน (ผลจากการทดลอง 25 ซ้ำ)	37

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
9	การเจริญของแคลลัสที่ชักนำจากส่วนลำต้นและส่วนใบของ <u>N. tabacum</u> ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS (1962) ที่เติม 2,4-D 1.9 มก./ล. และไคเนติน 0.5 มก./ล. เมื่อเลี้ยงเป็นเวลานาน 30, 50, 70 และ 90 วัน (ผลเฉลี่ยจากค่าการทดลอง 6 ซ้ำ) ..	40
10	การพัฒนาของแคลลัสที่เกิดจากส่วนลำต้นและส่วนใบของ <u>N. tabacum</u> ทั้ง 2 กลุ่มในอาหารสูตร MS (1962) ที่เติม 2,4-D 1.9 มก./ล. และไคเนติน 0.5 มก./ล. เมื่อแคลลัสอายุ 50 วัน (ผลจากการทดลอง 25 ซ้ำ)	42
11	เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิด regenerated plant ของ แคลลัสจากการเลี้ยงเนื้อเยื่อ <u>N. tabacum</u> ในอาหารที่เติม IAA กับที่เติม 2,4-D	43
12	การเจริญของแคลลัสที่ชักนำจากส่วนลำต้นและส่วนใบของ <u>N. rustica</u> ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS (1962) ที่เติม IAA 1.9 มก./ล. และไคเนติน 0.5 มก./ล. เมื่อเลี้ยงเป็นเวลานาน 30, 50, 70 และ 90 วัน (ผลเฉลี่ยจากค่าการทดลอง 6 ซ้ำ) ..	46
13	การพัฒนาของแคลลัสที่เกิดจากส่วนลำต้นและส่วนใบของ <u>N. rustica</u> ทั้ง 3 กลุ่มในอาหารสูตร MS (1962) ที่เติม IAA 1.9 มก./ล. และไคเนติน 0.5 มก./ล. เมื่อแคลลัสอายุ 50 วัน (ผลจากการทดลอง 25 ซ้ำ)	48

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
14	การเจริญของแคลลัสที่ชักนำจากส่วนลำต้นและส่วนใบของ <u>N. rustica</u> ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS (1962) ที่เติม 2,4-D 1.9 มก./ล. และไคเนติน 0.5 มก./ล. เมื่อเลี้ยงเป็นเวลานาน 30, 50, 70 และ 90 วัน (ผลเฉลี่ยจากค่าการทดลอง 6 ซ้ำ) ..	51
15	การพัฒนาของแคลลัสที่เกิดจากส่วนลำต้นและส่วนใบของ <u>N. rustica</u> ทั้ง 2 กลุ่มในอาหารสูตร MS (1962) ที่เติม 2,4-D 1.9 มก./ล. และไคเนติน 0.5 มก./ล. เมื่อแคลลัสอายุ 50 วัน (ผลจากการทดลอง 25 ซ้ำ)	52
16	เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิด regenerated plant ของ แคลลัสจากการเลี้ยงเนื้อเยื่อ <u>N. rustica</u> ในอาหารที่เติม IAA กับที่เติม 2,4-D	53
17	เปรียบเทียบความแตกต่างของลักษณะทางสัณฐานวิทยาและ เปอร์เซ็นต์การเกิด regenerated plant ของแคลลัส <u>N. tabacum</u> และ <u>N. rustica</u> ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS (1962) ที่เติมออกซินต่างกัน คือ IAA และ 2,4-D	104



สารบัญกราฟ

ญ

กราฟที่

หน้า

- 1 ความเข้มและจำนวนแถบของเปอร้ออกซิเดสไอโซไซม์จากแคลลัส (C), regenerated plant (R) และ subcultured (S) ของแคลลัสที่ชักนำจากส่วนลำต้นและใบของ N. tabacum..... 63
- 2 ความเข้มและจำนวนแถบของเปอร้ออกซิเดสไอโซไซม์จากแคลลัสกลุ่มต่าง ๆ ของ N. tabacum ที่ชักนำในอาหารที่เติม IAA กับอาหารที่เติม 2,4-D 68
- 3 ความเข้มและจำนวนแถบของเปอร้ออกซิเดสไอโซไซม์จากส่วนลำต้นและใบของ N. tabacum ที่ปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกที่อายุ 30 และ 90 วัน กับยาสูบที่เพาะในอาหารสังเคราะห์อายุ 90 วัน 72
- 4 ความเข้มและจำนวนแถบของเปอร้ออกซิเดสไอโซไซม์จากส่วนลำต้นและใบส่วนอ่อนและแก่ของ N. tabacum ในต้นเดียวกันที่ปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก เมื่อยาสูบเจริญเต็มที่ 77
- 5 ความเข้มและจำนวนแถบของเปอร้ออกซิเดสไอโซไซม์จากแคลลัส (C), regenerated plant (R) และ subcultured (S) ของแคลลัสที่ชักนำจากส่วนลำต้นและใบของ N. rustica..... 85
- 6 ความเข้มและจำนวนแถบของเปอร้ออกซิเดสไอโซไซม์จากแคลลัสกลุ่มต่าง ๆ ของ N. rustica ที่ชักนำในอาหารที่เติม IAA กับอาหารที่เติม 2,4-D 90

สารบัญกราฟ (ต่อ)

กราฟที่	หน้า
7 ความเข้มและจำนวนแถบของเปอร็อกซิเดสไอโซไซม์จากส่วนลำต้น และใบของ <i>N. rustica</i> ที่ปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกที่อายุ 30 และ 90 วัน กับยาสูบที่เพาะในอาหารสังเคราะห์อายุ 90 วัน ...	94
8 ความเข้มและจำนวนแถบของเปอร็อกซิเดสไอโซไซม์จากส่วนลำต้น และใบส่วนอ่อนและแก่ของ <i>N. rustica</i> ในต้นเดียวกันที่ปลูกใน สภาพแวดล้อมภายนอก เมื่อยาสูบเจริญเต็มที่	99



สารบัญภาพ

รูปที่		หน้า
1	ขั้นตอนการสกัด เอ็นไซม์	
	ก. บดตัวอย่างพืชที่ผสมกับ extract buffer และ PVP ในโถรง ที่แช่อยู่บนน้ำแข็ง	28
	ข. นำตัวอย่างพืชที่บดละเอียดใส่หลอดเหวี่ยงเข้าเครื่อง refrigerated centrifuge	28
	ค. นำน้ำใสที่อยู่ตอนบนใช้ในการ run electrophoresis	28
2	ขั้นตอนการ run electrophoresis	
	ก. การเตรียม gel	33
	ข. ติดตั้ง gel mould เข้ากับ electrophoresis cell	33
	ค. เมื่อ marker ที่หยอดพร้อมตัวอย่างเคลื่อนไปถึงที่กำหนดไว้ ปิดเครื่อง ตั้ง gel mould ออก	33
	ง. และ จ. แกะแผ่น gel ออก	33
	ฉ. แฉ่ gel ลงในสีย้อม	33
	ช. นำแผ่น gel ที่ได้ไปวัดความเข้มด้วย densitometer	33
3	ก. ต้นยาสูบ <i>N. tabacum</i> ที่เพาะในอาหารสังเคราะห์สำหรับ ใช้เป็น explant ในการชักนำให้เกิดแคลลัส	38
	ข. regenerated plant ที่เกิดจากแคลลัสยาสูบ <i>N. tabacum</i> .	38
4	แคลลัสของ <i>N. tabacum</i> ที่ชักนำในอาหารสูตร MS (1962) ที่เติม IAA และโคเนติน สามารถจำแนกความแตกต่างได้เป็น 2 กลุ่ม ...	39

สารบัญภาพ (ต่อ)

รูปที่		หน้า
5	แคลลัสของ <u>N. tabacum</u> ที่ชักนำในอาหารสูตร MS (1962) ที่เติม 2,4-D และโคเนติน สามารถจำแนกความแตกต่างได้เป็น 2 กลุ่ม ...	44
6	เปรียบเทียบการเกิด regenerated plant ของแคลลัส <u>N. tabacum</u> ก. และ ข. แคลลัสกลุ่มที่ 1 และ 2 ตามลำดับ แคลลัสชักนำจากอาหารสูตร MS (1962) ที่เติม IAA.....	45
	ค.และ ง. แคลลัสกลุ่มที่ 1 และ 2 ตามลำดับ แคลลัสชักนำจากอาหารสูตร MS (1962) ที่เติม 2,4-D	45
7	ก. ต้นยาสูบ <u>N. rustica</u> ที่เพาะในอาหารสังเคราะห์สำหรับใช้เป็น explant ในการชักนำให้เกิดแคลลัส	49
	ข. regenerated plant ที่เกิดจากแคลลัสยาสูบ <u>N. rustica</u> ..	49
8	แคลลัสของ <u>N. rustica</u> ที่ชักนำในอาหารสูตร MS (1962) ที่เติม IAA และโคเนติน สามารถจำแนกความแตกต่างได้เป็น 3 กลุ่ม	50
9	แคลลัสของ <u>N. rustica</u> ที่ชักนำในอาหารสูตร MS (1962) ที่เติม 2,4-D และโคเนติน สามารถจำแนกความแตกต่างได้เป็น 2 กลุ่ม	54
10	เปรียบเทียบการเกิด regenerated plant ของแคลลัส <u>N. rustica</u> ก,ข และ ค. แคลลัสกลุ่มที่ 1,2 และ 3 ตามลำดับ แคลลัสชักนำจากอาหารสูตร MS (1962) ที่เติม IAA	55
	ง และ จ. แคลลัสกลุ่มที่ 1 และ 2 ตามลำดับ แคลลัสชักนำจากอาหารสูตร MS (1962) ที่เติม 2,4-D	55

สารบัญภาพ (ต่อ)

รูปที่		หน้า
11	<p>เปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์ของแคลลัส (C), regenerated plant (R) และ subcultured (S) ของ <u>N. tabacum</u> ที่ชักนำในอาหารสูตร MS (1962) ที่เติม IAA 1.9 มก./ล. และไคเนติน 0.5 มก./ล.</p> <p>ก-ง. รูปแบบไอโซไซม์ของ C, R และ S ของแคลลัสที่ชักนำจากส่วนลำต้นเมื่อเลี้ยงในอาหารนาน 30, 50, 70 และ 90 วันตามลำดับ</p> <p>จ-ช. รูปแบบไอโซไซม์ของ C, R และ S ของแคลลัสที่ชักนำจากส่วนใบเมื่อเลี้ยงในอาหารนาน 30, 50, 70 และ 90 วันตามลำดับ</p>	62 62
12	<p>เปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์ของแคลลัส <u>N. tabacum</u></p> <p>ก และ ข. รูปแบบไอโซไซม์ของแคลลัสกลุ่มที่ 1 และ 2 ที่ชักนำในอาหารที่เติม IAA ตามลำดับ</p> <p>ค และ ง. รูปแบบไอโซไซม์ของแคลลัสกลุ่มที่ 2 และ 1 ที่ชักนำในอาหารที่เติม 2,4-D ตามลำดับ</p>	68 68
13	<p>เปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์ของ <u>N. tabacum</u></p> <p>ก - ง. รูปแบบไอโซไซม์จากส่วนใบ (L) และลำต้น (S) ของยาสูบที่ปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกเมื่อยาสูบอายุ 30, 50, 70 และ 90 วันตามลำดับ</p> <p>จ - ช. รูปแบบไอโซไซม์จากส่วนใบ (L) และลำต้น (S) ของยาสูบที่เพาะในอาหารสังเคราะห์ เมื่อยาสูบอายุ 30, 50, 70 และ 90 วันตามลำดับ</p>	71 71

สารบัญภาพ (ต่อ)

รูปที่		หน้า
14	เปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์จากส่วนยอดไปยังส่วนโคนของลำต้น (S) และจากส่วนโคนไปยังส่วนยอดของใบ (L) <u>N. tabacum</u> ที่ปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกเมื่อยาสืบเจริญเต็มที่	77
15	เปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์ของแคลลัส (C), regenerated plant (R) และ subcultured (S) ของ <u>N. rustica</u> ที่ชักนำในอาหารสูตร MS (1962) ที่เติม IAA 1.9 มก./ล. และ ไคเนติน 0.5 มก./ล. ก-ง. รูปแบบไอโซไซม์ของ C, R และ S ของแคลลัสที่ชักนำจาก ส่วนลำต้นเมื่อเลี้ยงในอาหารนาน 30, 50, 70 และ 90 วัน ตามลำดับ	84
	จ-ช. รูปแบบไอโซไซม์ของ C, R และ S ของแคลลัสที่ชักนำจาก ส่วนใบเมื่อเลี้ยงในอาหารนาน 30, 50, 70 และ 90 วัน ตามลำดับ	84
16	เปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์ของแคลลัส <u>N. rustica</u> ก, ข และ ค. รูปแบบไอโซไซม์ของแคลลัสกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 ที่ชักนำในอาหารที่เติม IAA ตามลำดับ	
	ง และ จ. รูปแบบไอโซไซม์ของแคลลัสกลุ่มที่ 1 และ 2 ที่ชักนำในอาหารที่เติม 2,4-D ตามลำดับ	90

สารบัญภาพ (ต่อ)

รูปที่	หน้า
17	
เปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์ของ <i>N. rustica</i>	
ก - ง. รูปแบบไอโซไซม์จากส่วนใบ (L) และลำต้น (S) ของ	
ยาสูบที่ปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกเมื่อยาสูบอายุ 30, 50, 70	
และ 90 วันตามลำดับ	93
จ - ช. รูปแบบไอโซไซม์จากส่วนใบ (L) และลำต้น (S) ของ	
ยาสูบที่เพาะในอาหารสังเคราะห์ เมื่อยาสูบอายุ 30, 50, 70	
และ 90 วันตามลำดับ	93
18	
เปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์จากส่วนโคนไปยังส่วนยอดของลำต้น (S)	
และใบ (L) ของ <i>N. rustica</i> ที่ปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก	
เมื่อยาสูบเจริญเต็มที่	98



สารบัญแผนภาพ

แผนภาพที่		หน้า
1	แผนดำเนินงานวิจัย โดยสังเขปตลอดโครงการ	20
2	ขั้นตอนการสกัดเอ็นไซม์	27
3	ขั้นตอนการ run electrophoresis	30
4	Zymogram ของเปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์จากแคลลัส (C), regenerated plant (R) และ subcultured (S) ของแคลลัสที่เกิดจากส่วนลำต้นและส่วนใบของ <i>N. tabacum</i> ที่ชักนำในอาหารสูตร MS (1962) ที่เติม IAA และโคเนติน เมื่อเลี้ยงเป็นเวลานาน 30, 50, 70 และ 90 วัน	59
5	Zymogram เปรียบเทียบรูปแบบเปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์ของ แคลลัส (C), regenerated plant (R) และ subcultured (S) ของแคลลัส <i>N. tabacum</i>	61
6	Zymogram ของเปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์จากอาหารสังเคราะห์ ที่ใช้เลี้ยงแคลลัส <i>N. tabacum</i> เมื่อเลี้ยงแคลลัสนาน 30, 50, 70 และ 90 วัน	64
7	Zymogram เปรียบเทียบรูปแบบเปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์จาก แคลลัสกลุ่มต่าง ๆ ของ <i>N. tabacum</i> เมื่อเลี้ยงในอาหาร ที่เติม IAA กับในอาหารที่เติม 2,4-D เมื่อแคลลัสอายุ 10 วัน ...	67

สารบัญแผนภาพ (ต่อ)

แผนภาพที่		หน้า
8	Zymogram เปรียบเทียบรูปแบบเปอร็อกซิเดสไอโซไซม์จากส่วน ลำต้นและส่วนใบของ <u>N. tabacum</u> ที่ปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก และที่เพาะในอาหารสังเคราะห์ที่ควบคุมสภาพแวดล้อมเมื่อยาสูบ อายุ 30,50,70 และ 90 วัน	70
9	Zymogram ของเปอร็อกซิเดสไอโซไซม์จากส่วนลำต้นและส่วนใบ บริเวณยอดไปยังโคนต้นยาสูบในต้นเดียวกันของ <u>N. tabacum</u> ที่ปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก เมื่อยาสูบเจริญเต็มที่	75
10	Zymogram ของเปอร็อกซิเดสไอโซไซม์จากแคลลัส (C), regenerated plant (R) และ subcultured (S) ของแคลลัสที่เกิดจากส่วนลำต้นและส่วนใบของ <u>N. rustica</u> ที่ชักนำในอาหารสูตร MS (1962) ที่เติม IAA และโคเนติน เมื่อเลี้ยงเป็นเวลานาน 30,50,70 และ 90 วัน	81
11	Zymogram เปรียบเทียบรูปแบบเปอร็อกซิเดสไอโซไซม์ของ แคลลัส (C), regenerated plant (R) และ subcultured (S) ของแคลลัส <u>N. rustica</u>	83
12	Zymogram ของเปอร็อกซิเดสไอโซไซม์จากอาหารสังเคราะห์ ที่ใช้เลี้ยงแคลลัส <u>N. rustica</u> เมื่อเลี้ยงแคลลัสนาน 30,50,70 และ 90 วัน	86

สารบัญแผนภาพ (ต่อ)

แผนภาพที่		หน้า
13	Zymogram เปรียบเทียบรูปแบบเปอร้ออกซิเดสไอโซไซม์จาก แคลลัสกลุ่มต่าง ๆ ของ <i>N. rustica</i> เมื่อเลี้ยงในอาหาร ที่เติม IAA กับในอาหารที่เติม 2,4-D เมื่อแคลลัสอายุ 10 วัน ...	89
14	Zymogram เปรียบเทียบรูปแบบเปอร้ออกซิเดสไอโซไซม์จากส่วน ลำต้นและส่วนใบของ <i>N. rustica</i> ที่ปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก และที่เพาะในอาหารสังเคราะห์ที่ควบคุมสภาพแวดล้อมเมื่อยาสูบ อายุ 30,50,70 และ 90 วัน	92
15	Zymogram ของเปอร้ออกซิเดสไอโซไซม์จากส่วนลำต้นและส่วนใบ บริเวณยอดไปยังโคนต้นยาสูบในต้นเดียวกันของ <i>N. rustica</i> ที่ปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก เมื่อยาสูบเจริญเต็มที่	97