



ผลการทดลอง

ในการศึกษาการเจริญของแคลลัสและรูปแบบไอโซไซน์ของแคลลัสและของต้นที่เจริญจากแคลลัสยาสูบ ใช้พืชตัวอย่างเป็นยาสูบ 2 ชนิด คือ Nicotiana tabacum และ Nicotiana rustica ได้แบ่งการรายงานผลเป็น 2 หัวตอน ดังนี้

- ผลการศึกษาการเลี้ยงเนื้อเยื่อยาสูบ ซึ่งศึกษาการแปรในลักษณะการเกาะกลุ่มของเซลล์ สี นำหนักของแคลลัส และเปอร์เซนต์การเกิด regenerated plant ของแคลลัสที่ได้จากการลอกต้นและใบยาสูบ เมื่อเลี้ยงในอาหารที่เติมออกซินต่างกัน
- ผลการศึกษาการแปรในรูปแบบของเบอร์ออกซิเดสไอโซไซน์ในแคลลัสและต้นที่เจริญจากแคลลัสยาสูบ รวมทั้งยาสูบที่ปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกและที่เพาะในอาหารสังเคราะห์ที่เติมยาร์โนนที่ควบคุมสภาวะแวดล้อม เมื่อยาสูบอายุต่าง ๆ กัน

การศึกษารูปแบบไอโซไซน์ใช้เทคนิคทาง electrophoresis ซึ่งในการสกัดไอโซไซน์จากตัวอย่างพืช มีปัญหาในเรื่องคุณภาพและความอยู่ตัวของ โปรตีนที่สกัดจากพืชเนื่องจากอาจมีสารพาก phenol หรือ quinone ปนมา phenol อาจเกิดปฏิกิริยาเชื่อมกับ โปรตีนด้วยไนโตรเจนบอนด์ ทำให้โปรตีนเมื่อ遇สมบัติเปลี่ยนแปลงไป จึงมีการใช้สารบอ้งกัน (protective reagent) เดิมลงไว้ ในการทดลองนี้ใช้ PVP (Polyvinylpyrrolidone) ในการสกัดแยก phenol และ quinone ของพืช ออกจากโปรตีนซึ่งสอดคล้องกับที่ McCown, Beck and Hall ปี 1968 ได้อ้างถึงผลงานของ Loomis and Battaille ที่ใช้ PVP ร่วมในการสกัดโปรตีนจากใบของแอปเปิลและเบร์รี่นิ่นด้วย และการใช้สารบอ้งกันร่วมไปกับการสกัดโปรตีนจากพืช จะช่วยให้โปรตีนเมื่อ遇สภาพสูงขึ้นและมีความคงที่มากขึ้น

รูปแบบไอโซไซน์ที่ได้ เมื่อนำมาเขียนเป็น zymogram จะแสดงความเข้มและตำแหน่งของแคนบอี้โซไซน์ในระดับต่าง ๆ กัน เพื่อให้ง่ายต่อการวิเคราะห์จึงใช้สัญลักษณ์แทนดังนี้

- เปอร์อ็อกซิเดส ไอ ไซไซม์ที่มีความเข้มสูงมาก
 เปอร์อ็อกซิเดส ไอ ไซไซม์ที่มีความเข้มสูง
 เปอร์อ็อกซิเดส ไอ ไซไซม์ที่มีความเข้มปานกลาง
 เปอร์อ็อกซิเดส ไอ ไซไซม์ที่มีความเข้มต่ำ
 เปอร์อ็อกซิเดส ไอ ไซไซม์ที่มีความเข้มต่ำมาก

1. ผลการศึกษาการเลี้ยงเนื้อยาสูบ

1.1 การเลี้ยงเนื้อยาสูบ *Nicotiana tabacum*

1.1.1 การซักน้ำแคลลัสจากส่วนลำต้นและใบของยาสูบในอาหาร
สูตร MS. (1962) ที่เติม IAA และไคเนติน

ชั้นส่วนของลำต้นและส่วนใบของยาสูบ (รูปที่ 3 ก) ที่
เลี้ยงในอาหารซักน้ำแคลลัสสูตร MS. (1962) ที่เติม IAA 1.9 มก./ล. และไคเนติน
0.5 มก./ล. สามารถซักน้ำให้เกิดแคลลัสรูบบริเวณรอยตัดและตามรอยกิริข่องลำต้นและ
ใบ ในเวลาประมาณ 15 วัน หลังจากนั้นจึงขยายแคลลัสลงในอาหารใหม่ ซึ่งบรรจุไว้ในขวด
รูปทรงพู่ขนาด 200 มล. เพื่อศึกษาการเจริญของแคลลัส เมื่อเลี้ยงแคลลัสเป็นเวลาต่าง ๆ
กัน 30 50 70 และ 90 วัน โดยพิจารณาจากขนาดของแคลลัส (เส้นผ่าศูนย์กลาง)
น้ำหนักแคลลัสความสูงของต้น regenerated plant (รูปที่ 3 ข.) โดยวัดจากส่วนโคนต้น
ไปยังปลายใบสุดท้ายของต้นยาสูบ ผลเป็นดังตารางที่ 7 พบว่า ขนาดและน้ำหนักของแคลลัส
รวมทั้งความสูงของ regenerated plant ของแคลลัสที่เลี้ยงจากส่วนลำต้นและใบ ไม่มี
ความแตกต่างกันทางสถิติ (คูภาคผนวกที่ 1)

ตารางที่ 7 การเจริญของแคลลัสที่ขึ้นจากส่วนลำต้นและส่วนใบของ *N. tabacum* ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS. (1962) ที่เติม IAA 1.9 มก./ล. และไคเนติน 0.5 มก./ล. เมื่อเลี้ยงเป็นเวลานาน 30, 50, 70 และ 90 วัน (ผลเฉลี่ยจากค่าการทดลอง 6 ชั้้า)

ระยะเวลา ที่เลี้ยง (วัน)	ขนาดของแคลลัส (เส้นผ่าศูนย์กลาง, ซม.)		น้ำหนักแคลลัส (กรัม)		ความสูงของ (ซม.) regenerated plant	
	ส่วนของ explant		ส่วนของ explant		ส่วนของ explant	
	ลำต้น	ใบ	ลำต้น	ใบ	ลำต้น	ใบ
30	1.6	1.4	1.404	1.264	2.3	2.08
50	2.0	1.88	1.808	1.714	4.1	3.2
70	2.5	2.27	2.046	1.954	4.6	4.1
90	2.6	2.4	2.385	2.154	5.4	5.2

1.1.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแคลลัส *N. tabacum* ในอาหารสูตร MS. (1962) ที่เติม IAA และไคเนติน

แคลลัสที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS. (1962) ที่เติม IAA 1.9 มก./ล. และไคเนติน 0.5 มก./ล. มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาแตกต่างกัน สามารถจำแนกได้เป็น 2 กลุ่มดังนี้ (รูปที่ 4)

กลุ่มที่ 1 เป็นแคลลัสที่มีเซลล์กำกับอย่างหนาแน่น มีสีค่อนข้างเขียว และเมื่อแคลลัสอายุมากขึ้น สีจะเขียวเข้มขึ้น

กลุ่มที่ 2 เป็นแคลลัสที่มีเซลล์กำกับอย่างหลวม ๆ สีเขียวเหลืองและเมื่ออายุมากขึ้นจะมีสีน้ำตาลปน

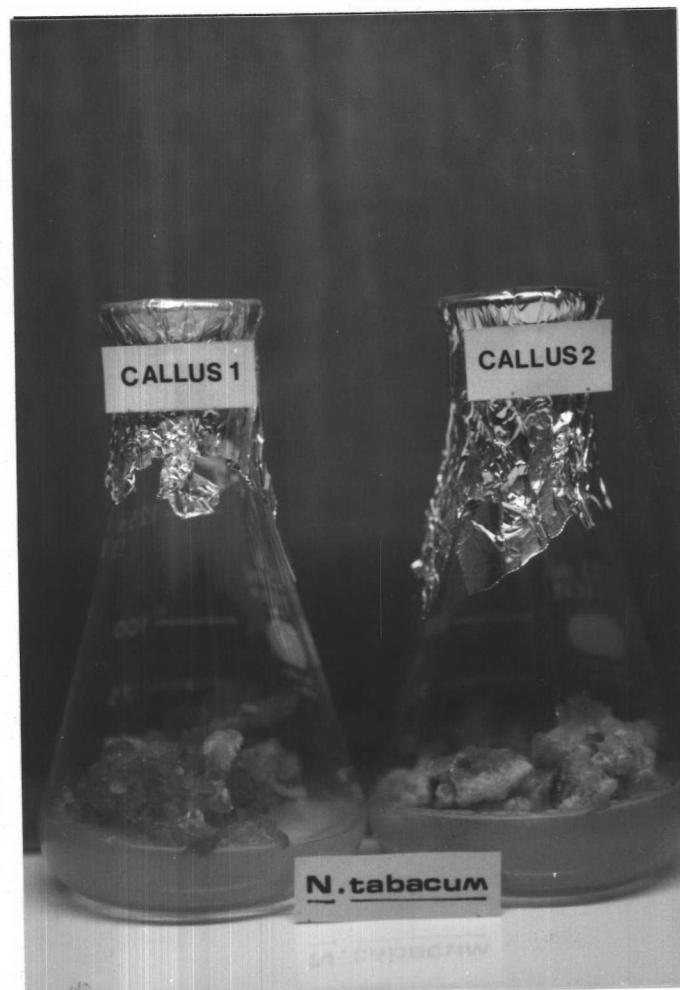
จากแคลลัสทั้ง 2 กลุ่ม นำเสนอหนึ่งไปศึกษารูปแบบเบื้อร์ออกซิเดส ไอโซไซเมร์ และอิกส่วนหนึ่ง เลี้ยงต่อไป เพื่อศึกษาความสามารถในการพัฒนาของแคลลัส ผลดังแสดงในตารางที่ 8 จากผลแสดงว่าแคลลัสทั้ง 2 กลุ่ม ให้เบื้อร์เซนต์การเปลี่ยนแปลง เป็นต้น ใหม่ และมีน้ำหนักเฉลี่ยของแคลลัสต่างกัน ทางสถิติ (ภาคผนวกที่ 5) โดยที่แคลลัส กลุ่มที่ 1 มีเบื้อร์เซนต์การเปลี่ยนแปลงเป็นต้น ใหม่ และมีน้ำหนักเฉลี่ยของแคลลัสสูงกว่า แคลลัสกลุ่มที่ 2 เห็นได้ชัดว่า แคลลัสที่มีลักษณะแบบกลุ่มที่ 1 น่าจะเป็นแคลลัสที่ประกอบด้วย embryogenic cells เป็นส่วนใหญ่จึงสามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้นได้มากกว่า แคลลัส กลุ่มที่ 2

ตารางที่ 8 การพัฒนาของแคลลัสที่เกิดจากส่วนลำต้นและส่วนใบของ *N. tabacum*
 ทั้ง 2 กลุ่ม ในอาหารสูตร MS. (1962) ที่เติม IAA 1.9 มก./ล. และ ไคเนติน 0.5 มก./ล. เมื่อแคลลัสอายุ 50 วัน (ผลจากการทดลอง 25 ชั้้น)

แคลลัส	จำนวนแคลลัส		น้ำหนักเฉลี่ยของ		regenerated plant		% regenerated plant	
			แคลลัสต่อชั้น (กรัม)					
	จำนวน explant ต้น	% ใบ						
กลุ่มที่ 1	54	61	1.927	1.831	36	32	66.67	52.46
กลุ่มที่ 2	36	27	1.315	1.276	9	6	25.00	22.22



รูปที่ 3. ๑ ต้น烟草 N. tabacum ที่เพาะในอาการสั่งเคราะห์ที่เราพบใช้เป็น explant ในการซักฟัน
ให้เกิดเซลล์ราก
๑ regenerated plant ที่เกิดจากเซลล์ราก烟草 N. tabacum



รูปที่ 4. แหล่งต้นของ N. tabacum ที่ถูกนำไปทำการสืบพันธุ์ MS. (1962) ด้วย IAA และไนโตรเจน สามารถจำแนกความแตกต่างให้เป็น 2 กลุ่ม คือ callus 1 เป็นแหล่งต้นที่มีเซลล์เก่าแก่ก่อให้เกิด regeneration ได้ดีและช้าๆ เนื่องจากไป มีเม็ดรากเนื่องจากการเก็บ regenerated plant ที่ callus 2 เป็นแหล่งต้นที่มีเซลล์เก่าแก่ก่อให้เกิด regeneration ดี มีเม็ดรากเนื่องและมีรากยาวปานกลาง เนื่องจากไปมีไข่รากเนื่องจากการเก็บ regenerated plant ดี

1.1.3 การซักน้ำแคลลัสจากส่วนลำต้นและใบของยาสูบในอาหาร
สูตร MS. (1962) ที่เติม 2,4-D และไอเคนิน

ในการเลี้ยงขึ้นส่วนของลำต้นและใบยาสูบ N. tabacum

ในอาหารสูตร MS. (1962) ที่เติม 2,4-D 1.9 มก./ล. และไอเคนิน 0.5 มก./ล. พบร่วมสามารถซักน้ำให้เกิดแคลลัส หลังจากเลี้ยงในอาหารได้ 18 วัน หลังจากนั้นศึกษาในท่านองเดียว กับข้อ 1.1.1 ซึ่งได้ผลดังแสดงไว้ในตารางที่ 9 จากการทดสอบทางสถิติ พบร่วม ขนาด น้ำหนัก และความสูงของ regenerated plant ของแคลลัสที่เกิดจากส่วนลำต้นและใบ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (คุณภาพนวากที่ 2)

ตารางที่ 9 การเจริญของแคลลัสที่ซักน้ำจากส่วนลำต้นและส่วนใบของ N. tabacum

ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS. (1962) ที่เติม 2,4-D 1.9 มก./ล. และไอเคนิน 0.5 มก./ล. เมื่อเลี้ยงเป็นเวลานาน 30, 50, 70 และ 90 วัน (ผลเฉลี่ยจากค่าการทดลอง 6 ช้ำ)

ระยะเวลา ที่เลี้ยง (วัน)	ขนาดของแคลลัส		น้ำหนักแคลลัส		ความสูงของ (ซม.)	
	เส้นผ่าศูนย์กลาง (ซม.)		(กรัม)		regenerated plant	
	ส่วนของ explant	ส่วนของ explant	ส่วนของ explant	ส่วนของ explant	ลำต้น	ใบ
30	1.1	1.2	1.094	1.234	1.9	2.0
50	1.56	1.7	1.314	1.479	2.7	2.5
70	1.8	1.9	1.685	1.745	3.7	3.4
90	2.1	2.2	1.975	1.844	4.0	3.9

1.1.4 ลักษณะทางสัมฐานวิทยาของแคลลัส N. tabacum ในอาหารสูตร MS. (1962) ที่เติม 2,4-D และไคเนติน

แคลลัสที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS. (1962) ที่เติม 2,4-D 1.9 มก./ล. และไคเนติน 0.5 มก./ล. มีลักษณะทางสัมฐานวิทยาแตกต่างกัน สามารถจำแนกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

กลุ่มที่ 1 เป็นแคลลัสที่มีการเกาะกลุ่มของเซลล์แบบหลวม มีลักษณะเป็นน้ำตาล และเมื่อแคลลัสมีอายุมากขึ้น จะมีลิน้ำตาลปนด้วย มีลักษณะช้ำมน้ำ ดังรูปที่ 5 ก.

กลุ่มที่ 2 เป็นแคลลัสที่มีการเกาะกลุ่มของเซลล์ค่อนข้างแน่น และแคลลัสมีลักษณะเป็นอ่อนนุ่ม เมื่อแคลลัสมีอายุมากขึ้นจะมีลักษณะเป็นปุ่มปอง ดังรูปที่ 5 ข.

จากแคลลัสทั้ง 2 กลุ่ม นำเสนอหนึ่งไปศึกษาฐานแบบเบอร์ออกซิเดส ไอโซไซด์ และอิกส่วนหนึ่งเลี้ยงต่อไป เพื่อศึกษาความสามารถในการพัฒนาของแคลลัส ซึ่งได้ผลดังแสดงในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 การพัฒนาของแคลลัสที่เกิดจากส่วนลำต้นและส่วนใบของ *N. tabacum*

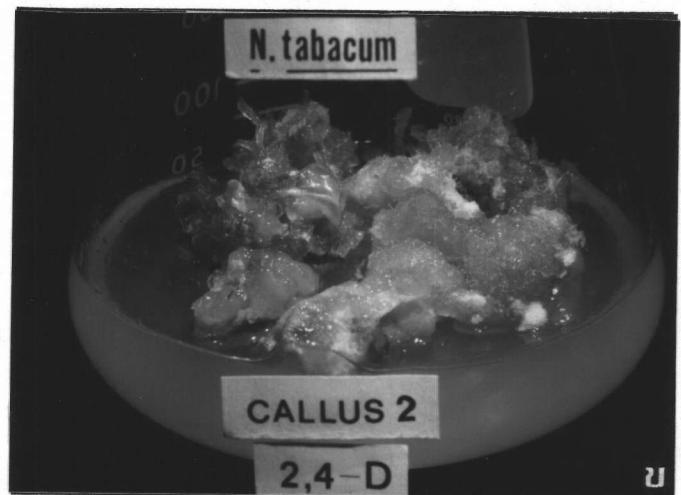
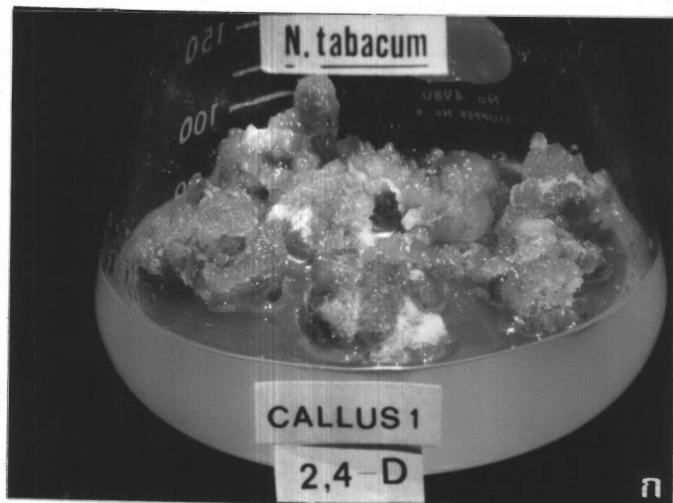
ทั้ง 2 กลุ่มในอาหารสูตร MS. (1962) ที่เติม 2,4-D 1.9 มก./ล. และ
ไอเคนเดิน 0.5 มก./ล. เมื่อแคลลัสอายุ 50 วัน (ผลจากการทดลอง 25 ชั้้น)

แคลลัส	จำนวนแคลลัส		น้ำหนักเฉลี่ยของ		regenerated plant		% regenerated plant	
	(ชิ้น)		แคลลัสต่อชิ้น (กรัม)		(ต้น)			
	จำนวน explant	จำนวน explant	จำนวน explant	จำนวน explant	จำนวน explant	จำนวน explant	จำนวน explant	จำนวน explant
	จำนวน	ใบ	จำนวน	ใบ	จำนวน	ใบ	จำนวน	ใบ
กลุ่มที่ 1	58	34	1.327	1.255	6	4	10.34	11.76
กลุ่มที่ 2	29	54	1.393	1.475	8	11	27.59	20.37

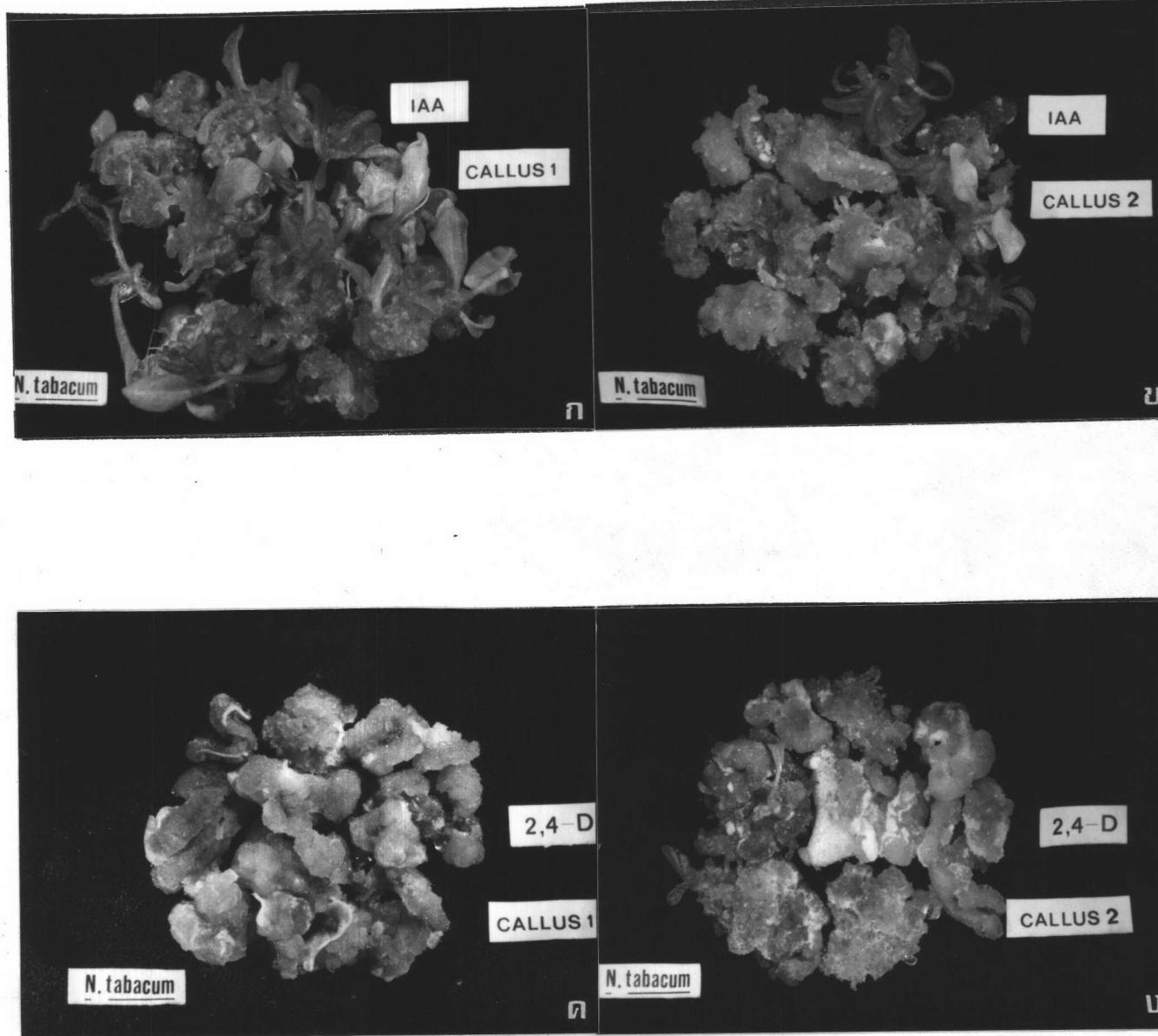
จากผลแคลลัสทั้ง 2 กลุ่มมีเบอร์เซนต์การเกิด regenerated plant และมีน้ำหนักเฉลี่ยของแคลลัสแตกต่างกันทางสถิติ (ภาคผนวกที่ 6) และจะสังเกตเห็นว่าเบอร์เซนต์การเกิด regenerated plant ของแคลลัสที่เลี้ยงในอาหารซักร่าน้ำสูตร MS. (1962) ที่เติม 2,4-D ค่อนข้างต่ำมากเมื่อเทียบกับแคลลัสที่เลี้ยงในอาหารซักร่าน้ำสูตร MS. (1962) ที่เติม IAA ดังรูปที่ 6 และในตารางที่ 11

ตารางที่ 11 เปรียบเทียบเบอร์เซนต์การเกิด regenerated plant ของแคลลัสจากการเลี้ยงเนื้อเยื่อ N. tabacum ในอาหารที่เติม IAA กับที่เติม 2,4-D

เบอร์เซนต์ regenerated plant ของแคลลัส				เบอร์เซนต์ regenerated plant ของแคลลัส			
ที่เติม IAA		ที่เติม 2,4-D		ที่เติม IAA		ที่เติม 2,4-D	
แคลลัสกลุ่มที่ 1	แคลลัสกลุ่มที่ 2	แคลลัสกลุ่มที่ 1	แคลลัสกลุ่มที่ 2	ส่วนของ explant	ส่วนของ explant	ส่วนของ explant	ส่วนของ explant
จำนวน	%	จำนวน	%	จำนวน	%	จำนวน	%
66.67	52.46	25.00	22.22	10.34	11.76	27.59	20.37



รูปที่ 5. ตissued ของ N. tabacum ที่เพาะในอุตสาหกรรม MS. (1962) ที่เติม 2,4-D
และไตรีบีน สามารถจราบมากกว่าตัวที่ไม่เติม 2 ถึง 3 เท่า¹
a. callus 1 เป็นเซลล์ที่มีการแตกตัวอย่างเรื่อยๆ คงอยู่โดยไม่หล่อหลอมเป็นตัวเดียว ดูดูน้ำ เมื่อเอามาลงพื้นที่
จะเจริญเร็วที่สุด การเก็บ regenerated plant ได้
b. callus 2 เป็นเซลล์ที่มีการแตกตัวอย่างเรื่อยๆ แต่เป็นกลุ่มๆ 1 กลุ่มๆ นั้นก็จะเจริญเร็ว
เมื่อเอามาลงพื้นที่ จะเจริญเร็วที่สุด การเก็บ regenerated plant ดูดูค้างคาวกว่า callus 1 มากนัก



รูปที่ 6. เชื้อเย็บเพื่อขบการเกื้อกูล regenerated plant ของสายพันธุ์ *N. tabacum*

n แต่ 1 แหล่งจ่ายกุ่มที่ 1 แต่ 2 ทางเดียว แหล่งจ่ายร่องน้ำจากคลองสาธารณะ MS. (1962) ที่เติม IAA ให้ regenerated plant เติมชั้นนอก (โดยใช้อาหารและกุ่มที่ 1)

n แต่ 4 แหล่งจ่ายกุ่มที่ 1 แต่ 2 ทางเดียว แหล่งจ่ายร่องน้ำจากคลองสาธารณะ MS. (1962) ที่เติม 2,4-D ฉะนั้นว่า ชั้น regenerated plant เติมชั้นน้อยกว่าเพื่อให้เก็บกับแหล่งจ่ายร่องน้ำในคลองสาธารณะ ที่เติม IAA ในแต่ n แต่ 1.

1.2 การเลี้ยงเนื้อเยื่อยาสูบ Nicotiana rustica

1.2.1 การซักน้ำแคลลัสจากส่วนลำต้นและใบของยาสูบในอาหารสูตร MS. (1962) ที่เติม IAA และไคเนติน

ชั้นส่วนของลำต้นและส่วนใบของยาสูบ (รูปที่ 7 ก)

ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS. (1962) ที่เติม IAA 1.9 มก./ล. และไคเนติน 0.5 มก./ล. สามารถซักน้ำให้เกิดแคลลัสรอบบริเวณรอยตัดและตามรอยกิรด์ ในเวลาประมาณ 10 วัน หลังจากนั้นศึกษาในหานองเดียวกับข้อ 1.1.1 ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 12 เมื่อทำการทดสอบทางสถิติ พบว่า ขนาดและน้ำหนักของแคลลัส รวมทั้งความสูงของ regenerated plant ของแคลลัสที่เลี้ยงจากลำต้นและใบ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (คุณภาพนวากที่ 3)

ตารางที่ 12 การเจริญของแคลลัสที่ซักน้ำจากส่วนลำต้นและส่วนใบของ N. rustica

ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS. (1962) ที่เติม IAA 1.9 มก./ล. และไคเนติน 0.5 มก./ล. เมื่อเลี้ยงเป็นเวลานาน 30, 50, 70 และ 90 วัน (ผลเฉลี่ยจากค่าการทดลอง 6 ช้ำ)

ระยะเวลา ที่เลี้ยง (วัน)	ขนาดของแคลลัส		น้ำหนักแคลลัส		ความสูงของ (ซม.)	
	เส้นผ่าศูนย์กลาง (ซม.)		(กรัม)		regenerated plant	
	ส่วนของ explant	ลำต้น	ส่วนของ explant	ลำต้น	ส่วนของ explant	ใบ
30	1.5	1.3	0.976	0.814	2.5	2.35
50	1.9	1.63	1.114	0.995	3.6	3.4
70	2.2	1.98	1.582	1.364	4.2	3.9
90	2.3	2.1	1.617	1.449	5.0	4.58

1.2.2 ลักษณะทางสัมฐานวิทยาของแคลลัส N. rustica ในอาหารสูตร MS. (1962) ที่เติม IAA และไคเนติน

แคลลัสที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS. (1962) ที่เติม IAA 1.9 มก./ล. และไคเนติน 0.5 มก./ล. มีลักษณะทางสัมฐานวิทยาแตกต่างกัน สามารถจำแนกได้เป็น 3 กลุ่มดังนี้ (รูปที่ 8)

กลุ่มที่ 1 เป็นแคลลัสที่มีเซลล์เก่ากั่นอย่างหนาแน่น สีขาวขุ่นออกเบียวและจะมีสีเบียวเพิ่มขึ้น เมื่อแคลลัสอายุมากขึ้น

กลุ่มที่ 2 เป็นแคลลัสที่มีเซลล์เก่ากั่นอย่างหลวม ๆ แคลลัสสูญมีสีขาวออกเหลือง และเมื่อแคลลัสอายุมากขึ้น จะมีสีออกน้ำตาลอ่อน

กลุ่มที่ 3 เป็นแคลลัสที่มีเซลล์จับกันแน่นพอดี มีสีขาว ใสออกเบียวและชุ่มน้ำ เมื่อแคลลัสอายุมากขึ้นจะมีสีเหลืองออกเบียว

จากแคลลัสทั้ง 3 กลุ่ม นำเสนอในไปศึกษารูปแบบเบื้องต้นของชีวภาพ และอิทธิพลต่อการพัฒนาของแคลลัส ผลดังแสดงในตารางที่ 13 เห็นได้ชัดว่า แคลลัสที่มีลักษณะแบบกลุ่มที่ 1 และ 3 น่าจะเป็นแคลลัสที่ประกอบด้วย embryogenic cells เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งสามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้นไม้มากกว่าแคลลัสกลุ่มที่ 2 และยังมีน้ำหนักเฉลี่ยของแคลลัสสูงกว่าอิทธิพลต่อการเกิด regenerated plant และน้ำหนักเฉลี่ยของแคลลัสแตกต่างกันทางสถิติ (ดังแสดงในภาคผนวกที่ 7)

ตารางที่ 13 การพัฒนาของแคลลัสที่เกิดจากส่วนลำต้นและส่วนใบของ *N. rustica*

ทั้ง 3 กลุ่มในอาหารสูตร MS. (1962) ที่เติม IAA 1.9 มก./ล. และ

ไคเนติน 0.5 มก./ล. เมื่อแคลลัสอายุ 50 วัน (ผลจากการทดลอง 25 ชั้้น)

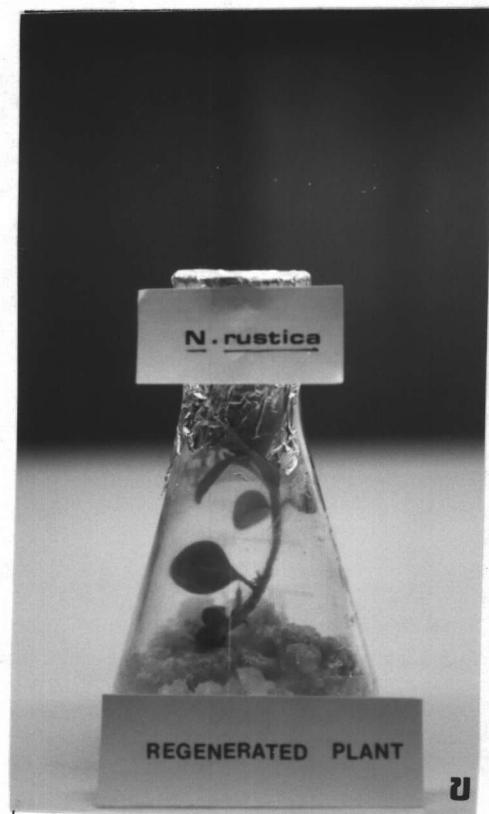
แหล่งวัสดุ	จำนวนแคลลัส		น้ำหนักเฉลี่ยของ		regenerated plant		% regenerated plant	
	(ชั้น)		แคลลัสต่อชั้น (กรัม)		(ต้น)			
	จำนวน	จำนวน	จำนวน	จำนวน	จำนวน	จำนวน	จำนวน	จำนวน
กลุ่มที่ 1	16	19	1.401	1.215	11	13	68.75	68.42
กลุ่มที่ 2	24	21	1.144	1.023	7	6	29.16	28.57
กลุ่มที่ 3	44	48	1.477	1.379	33	34	75.00	70.83

1.2.3 การซักกันไนแคลลัสจากส่วนลำต้นและใบของยาสูบ ในอาหารสูตร MS. (1962) ที่เติม 2,4-D และไคเนติน

ในการเลี้ยงขึ้นส่วนของลำต้นและใบยาสูบ *N. rustica*

ในอาหารสูตร MS. (1962) ที่เติม 2,4-D 1.9 มก./ล. และไคเนติน 0.5 มก./ล.

พบว่าสามารถซักกันไนให้เกิดแคลลัส หลังจากเลี้ยงในอาหารแล้ว 15 วัน หลังจากนั้นศึกษาในท่านองเดียวกับข้อ 1.1.1 ซึ่งได้ผลตั้งแสดงไว้ในตารางที่ 14 เมื่อทำการทดสอบทางสถิติพบว่า ขนาดน้ำหนัก และความสูงของ regenerated plant ของแคลลัสที่เกิดจาก ส่วนลำต้นและใบ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ดูภาคผนวกที่ 4)



รูปที่ 7. a ต้นยาสูบ N. rustica ที่เพาะในลักษณะเดียวกันกับต้น explant
ในการซักน้ำให้เกิดผลลัพธ์
b regenerated plant ที่เกิดจากเซลล์ต้นยาสูบ N. rustica



รูปที่ 8. แหล่งเพาะพันธุ์ N. rustica ที่เก็บไว้ในภาชนะดูด MS. (1962) ที่เติม TAA และไอลูบิน สามารถจำแนกความแตกต่างได้เป็น 3 กลุ่ม คือ¹⁾
 callus 1 เป็นเซลล์ที่ไม่ใช่เซลล์ทางเดินที่มีผิวหุ้มอย่างหนาแน่น ใช้เวลาสักสองเดือน เพื่อให้สามารถ
 นำไปใช้ในการเพาะ regenerated plant ได้²⁾
 callus 2 เป็นเซลล์ที่มีเซลล์ทางเดินอยู่น้อยกว่า ๑ ชั้น ใช้เวลาสักหกเดือนถึงหนึ่งเดือน เพื่อให้สามารถ
 นำไปใช้ในการเพาะ regenerated plant ได้³⁾
 callus 3 เป็นเซลล์ที่มีเซลล์ทางเดินอยู่หนึ่งชั้นและมาก ใช้เวลาสักสองเดือน เพื่อให้สามารถนำไป
 ใช้ในการเพาะ regenerated plant ได้⁴⁾

ตารางที่ 14 การเจริญของแคลลัสที่หักน้ำจากส่วนลำต้นและส่วนใบของ *N. rustica*

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 ช้ำ)

ระยะเวลา ที่เลี้ยง (วัน)	ขนาดของแคลลัส		น้ำหนักแคลลัส		ความสูงของ (ซม.)	
	เส้นผ่าศูนย์กลาง (ซม.)		(กรัม)		regenerated plant	
	ลักษณะ	ใบ	ลักษณะ	ใบ	ลักษณะ	ใบ
30	0.8	0.7	0.327	0.315	1.4	1.2
50	1.2	1.4	0.695	0.779	2.0	1.83
70	1.58	1.8	0.877	0.919	2.3	2.1
90	1.7	1.9	1.111	1.191	2.7	2.5

1.2.4 ลักษณะทางสัมฐานวิทยาของแคลลัส *N. rustica* ในอาหารสูตร MS. (1962) ที่เติม 2,4-D และไคเนติน

แคลลัสที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS. (1962) ที่เติม 2,4-D 1.9 มก./ล. และไคเนติน 0.5 มก./ล. มีลักษณะทางสัมฐานวิทยาแตกต่างกัน สามารถจำแนกได้เป็น 2 กลุ่ม ดังนี้ (รูปที่ 9)

กลุ่มที่ 1 เป็นแคลลัสที่มีการเกาะกลุ่มของเซลล์แบบหลวม
พุ่มน้ำ และร่วน แคลลัสมีสีขาวเหลือง เมื่อ

แคลลัสมีอายุมากขึ้น มีสีขาวออกน้ำตาล (9 ก)

กลุ่มที่ 2 เป็นแคลลัสที่มีการเกาะกลุ่มของเซลล์แน่นกว่า
กลุ่มที่ 1 แคลลัสมีสีเหลืองออกเบียว เมื่อ
แคลลัสอายุมากขึ้น มีสีเบียวเพิ่มขึ้น (9 ข.)

จากแคลลัสทั้ง 2 กลุ่ม นำส่วนหนึ่งไปศึกษารูปแบบเบื้อร์อกซิเตล ไอโซไซเม่ และอีกส่วนหนึ่งเลี้ยงต่อไป เพื่อศึกษาความสามารถในการพัฒนาของแคลลัส ซึ่งได้ผลดังแสดงในตารางที่ 15 จากผลแคลลัสทั้ง 2 กลุ่มมีเบื้อร์เซนต์การเกิด regenerated plant และมีน้ำหนักเฉลี่ยของแคลลัสแตกต่างกันทางสถิติ (ภาคผนวกที่ 8) และจะสังเกตเห็นว่าเบื้อร์เซนต์การเกิด regenerated plant ของแคลลัสที่เลี้ยงในอาหารซักน้ำสูตร MS. (1962) ที่เติม 2,4-D ค่อนข้างต่ำมากเมื่อเทียบกับแคลลัสที่เลี้ยงในอาหารซักน้ำสูตร MS. (1962) ที่เติม IAA ดังรูปที่ 10 และในตารางที่ 16

ตารางที่ 15 การพัฒนาของแคลลัสที่เกิดจากส่วนลำต้นและส่วนใบของ N. *rustica*

ทั้ง 2 กลุ่มในอาหารสูตร MS. (1962) ที่เติม 2,4-D 1.9 มก./ล. และ ไคเนติน 0.5 มก./ล. เมื่อแคลลัสอายุ 50 วัน (ผลจากการทดลอง 25 ชั้้า)

แหล่ง แคลลัส	จำนวนแคลลัส		น้ำหนักเฉลี่ยของ แคลลัสต่อชั้น (กรัม)		regenerated plant		% regenerated plant	
	จำนวน explant ชั้น	ใบ	จำนวน explant ชั้น	ใบ	จำนวน explant ชั้น	ใบ	จำนวน explant ชั้น	ใบ
กลุ่มที่ 1	56	35	0.773	0.918	6	4	10.71	11.43
กลุ่มที่ 2	41	59	0.941	1.030	8	11	19.51	18.64

ตารางที่ 16 เปรียบเทียบเบื้อร์เซนต์การเกิด regenerated plant ของแคลลัสจากการเลี้ยงเนื้อเยื่ออ N. rustica ในอาหารที่เติม IAA กับที่เติม 2,4-D

เบื้อร์เซนต์ regenerated plant ของแคลลัสในอาหารที่เติม IAA						เบื้อร์เซนต์ regenerated plant ของแคลลัสในอาหารที่เติม 2,4-D					
แคลลัสกลุ่มที่ 1		แคลลัสกลุ่มที่ 2		แคลลัสกลุ่มที่ 3		แคลลัสกลุ่มที่ 1		แคลลัสกลุ่มที่ 2		แคลลั�กลุ่มที่ 3	
จำนวน explant		จำนวน explant		จำนวน explant		จำนวน explant		จำนวน explant		จำนวน explant	
จำนวน	%	จำนวน	%	จำนวน	%	จำนวน	%	จำนวน	%	จำนวน	%
68.75	68.42	29.16	28.57	75.00	70.83	10.71	11.43	19.51	18.64		

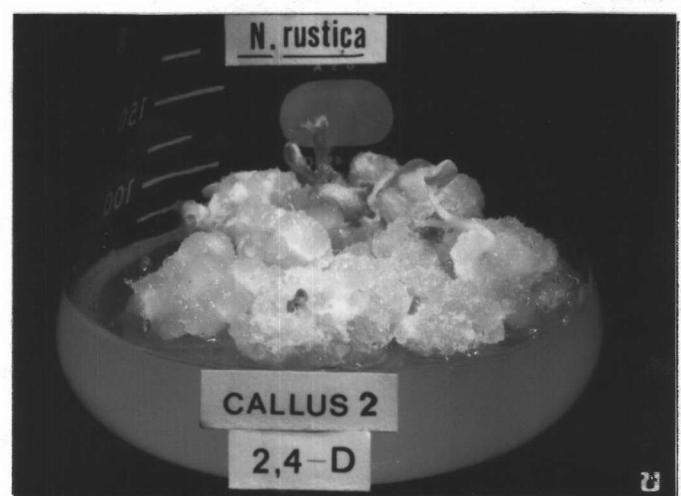
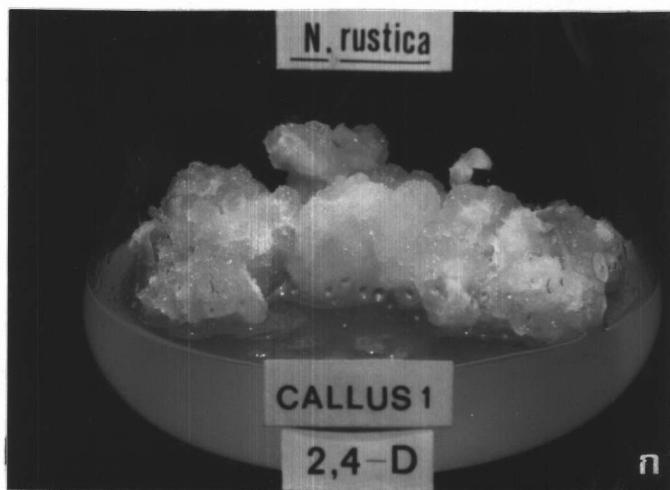
2. ผลการศึกษา ไอโซไซด์

2.1 การแปรของรูปแบบเบื้อร์ออกซิเดส ไอโซไซด์ Nicotiana tabacum

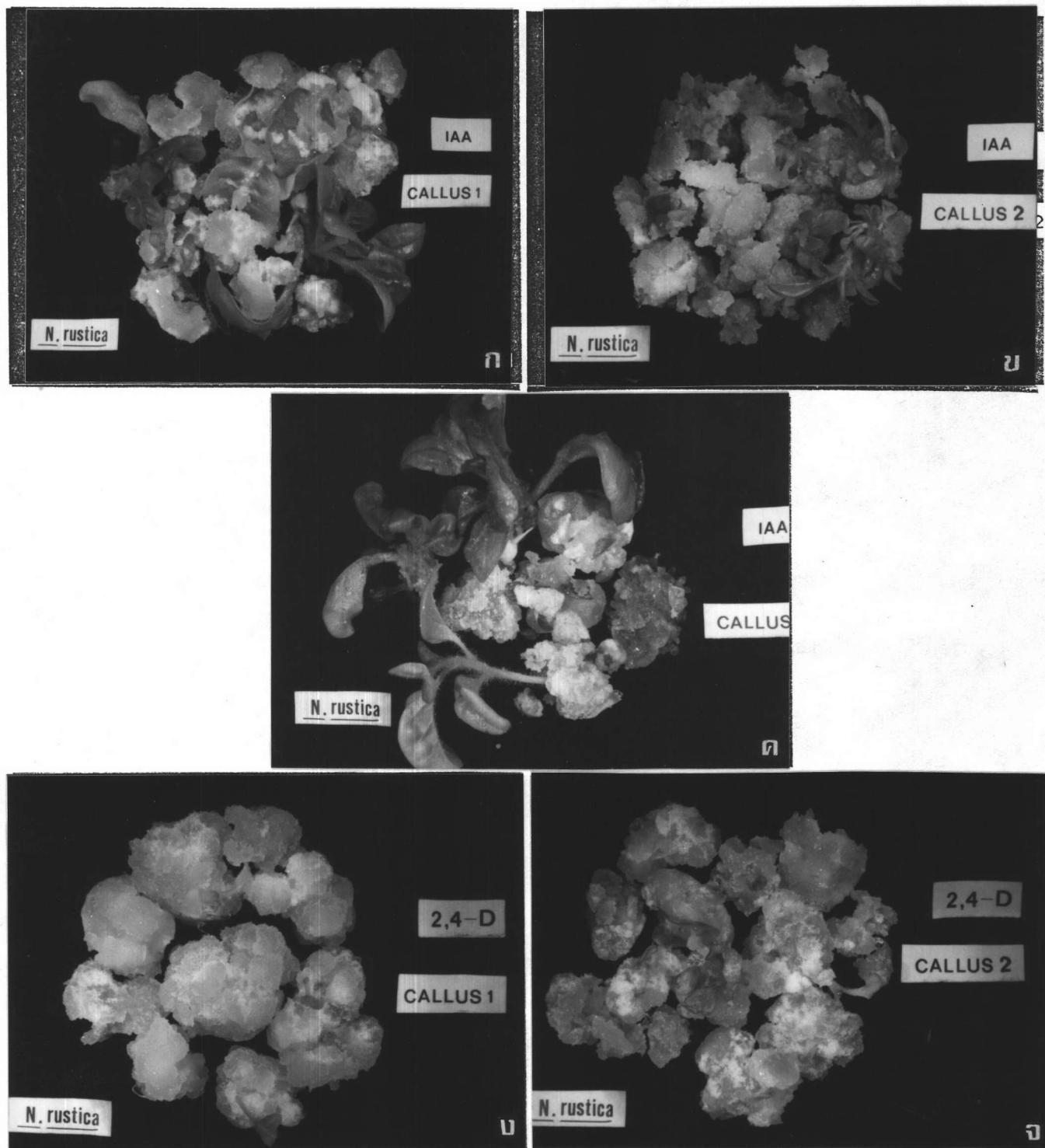
2.1.1 เปรียบเทียบรูปแบบเบื้อร์ออกซิเดส ไอโซไซด์ของแคลลัส regenerated plant และ subcultured ของแคลลัสที่ขึ้นก้านจากส่วนลำต้นกับส่วนใบ ที่เลี้ยงในอาหารเป็นเวลา 30, 50, 70 และ 90 วัน

2.1.1.1 รูปแบบเบื้อร์ออกซิเดส ไอโซไซด์ของแคลลัส

แคลลัสที่ขึ้นก้านจากจากส่วนลำต้นและส่วนใบของ N. tabacum ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS. (1962) ที่เติม IAA 1.9 มก./ล. และไคเนติน 0.5 มก./ล. เลี้ยงเป็นเวลานาน 30, 50, 70 และ 90 วัน เมื่อนำแคลลัสที่อายุดังกล่าวมาศึกษารูปแบบเบื้อร์ออกซิเดส ไอโซไซด์ พบร่วมรูปแบบ ไอโซไซด์ที่คล้ายคลึงกัน โดยมีการเคลื่อนที่ของเบื้อร์อักซิเดส ไอโซไซด์ แยกได้เป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มเคลื่อนที่ช้า มีการเคลื่อนที่ (R_f) อยู่ระหว่าง 0.15-0.23 มีจำนวนແตอบ 2 ແตอบ มีความเข้มของແตอบ ในกลุ่มนี้สูง และ



รูปที่ 9. ผลลัพธ์ของ N. rustica ที่อ่อน化ในข้าวสารสูตร MS. (1962) ที่เติม 2,4-D และไม่เติม
สามารถจำแนกความแตกต่างได้เป็น 2 กลุ่ม คือ¹
 1. callus 1 เป็นผลลัพธ์จากการเกาะกลุ่มของเซลล์หลาย รุ่น ที่ได้รับการเพาะ
เพื่อเจริญเติบโตไป ไม่เป็นรากเนื้อที่สามารถ regenerate plant ได้
 2. callus 2 เป็นผลลัพธ์จากการเกาะกลุ่มของเซลล์ที่มีน้ำหนักเบา กว่า callus 1 น้ำหนัก
น้ำหนักน้อยกว่า callus 1



รูปที่ 10 เปรียบเทียบการเกิด regenerated plant ของพืช N. rustica

1 และ 2 แหล่งสืบพันธุ์ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ แหล่งสืบพันธุ์จากคลาสราดูรา MS. (1962) ที่ได้รับ IAA จะเห็นว่า แหล่งสืบพันธุ์ 1 และ 3 นิ regenerated plant เกิดขึ้นมาก
4 และ 5 แหล่งสืบพันธุ์ 1 และ 2 ตามลำดับ แหล่งสืบพันธุ์จากคลาสราดูรา MS. (1962) ที่ได้รับ 2,4-D จะเห็นว่า ที่ regenerated plant เกิดขึ้นน้อยกว่าเพื่อเปรียบกับแหล่งสืบพันธุ์ที่รักษาในลักษณะเดิม IAA ในรั้ง 0, 1 และ 2

กลุ่มเคลื่อนที่เร็ว มีการเคลื่อนที่ (ค่า R_f) อยู่ระหว่าง 0.44-0.64 มีจำนวนเก็บ 7 แบบ ตั้งแสดงในแผนภาพที่ 4 จากแผนภาพ พบว่าแคลลัสแต่ละกลุ่มที่เลี้ยงในอาหารเป็นระยะเวลาก่อตั้ง ๆ กัน ให้รูปแบบเปอร์ออกซิเดส์ไอโซไซด์ไม่แตกต่างกันมากนัก พbmค่า R_f อยู่ในคาดการณ์เดียวกันทุกช้า แต่ในบางช้าของแคลลัสซักกันจากส่วนล้ำต้นที่เลี้ยงในอาหารนาน 90 วัน พbmเก็บที่ R_f 0.20 เพิ่มขึ้นมา อีกทั้งบางช้าของแคลลัสที่เลี้ยงในอาหารนาน 70 และ 90 วัน พbmเก็บในกลุ่มเคลื่อนที่เร็วที่ R_f 0.66 เพิ่มขึ้นมาในความเข้มต่า

2.1.1.2 รูปแบบเปอร์ออกซิเดส์ไอโซไซด์ของ regenerated plant

เมื่อนำ regenerated plant ของแคลลัส

ในข้อ 2.1.1.1 มาศึกษารูปแบบเปอร์ออกซิเดส์ไอโซไซด์ พบว่า รูปแบบไอโซไซด์ของ regenerated plant ของแคลลัสที่ซักกันจากส่วนล้ำต้นกับส่วนในเมื่อรูปแบบไอโซไซด์ที่คล้ายคลึงกัน โดยมีการเคลื่อนที่ของเปอร์ออกซิเดส์ไอโซไซด์แยกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มเคลื่อนที่ช้า มีค่า R_f อยู่ระหว่าง 0.15-0.23 มีจำนวนเก็บ 3 แบบ ความเข้มค่อนข้างต่ำมาก และ กลุ่มเคลื่อนที่เร็ว มีค่า R_f อยู่ระหว่าง 0.44-0.66 มีจำนวนเก็บ 8 แบบ และมีความเข้มค่อนข้างสูง ตั้งแสดงในแผนภาพที่ 4 จากแผนภาพนี้พบว่า regenerated plant ของ แคลลัสที่เลี้ยงในอาหารเป็นระยะเวลาก่อตั้ง ๆ กัน ให้รูปแบบเปอร์ออกซิเดส์ไอโซไซด์ไม่แตกต่างกันมากนัก โดยมีการเคลื่อนที่ของไอโซไซด์ในคาดการณ์เดียวกัน จะสังเกตเห็นว่า แบบที่ R_f 0.66 (ครั้งที่ 4) มีความเข้มต่าในระยะแรก และความเข้มจะค่อย ๆ เพิ่มขึ้น เมื่อ regenerated plant ของแคลลัสถูกเลี้ยงในอาหารเป็นเวลานานขึ้น

2.1.1.3 รูปแบบเปอร์ออกซิเดส์ไอโซไซด์ของ subcultured ของแคลลัส

subcultured ของแคลลัสที่ซักกันจากส่วน

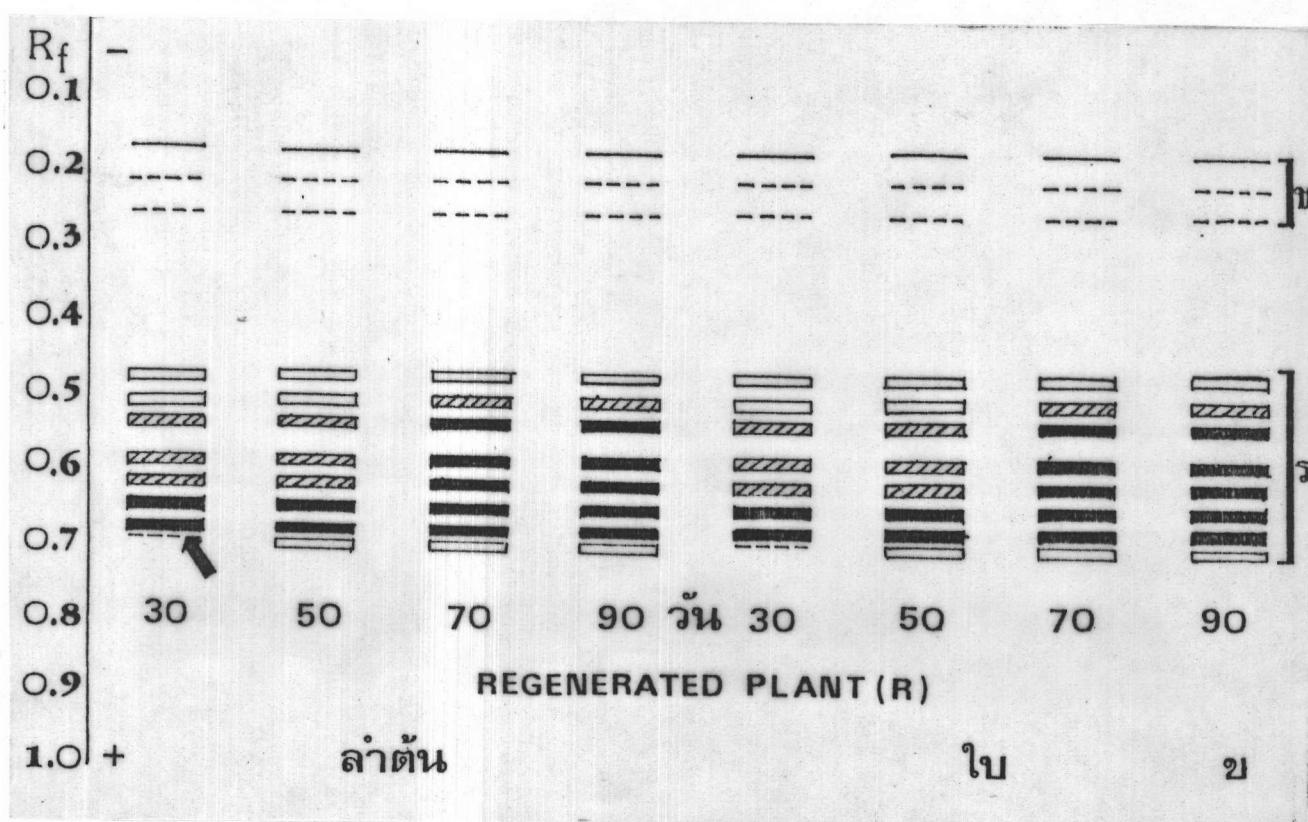
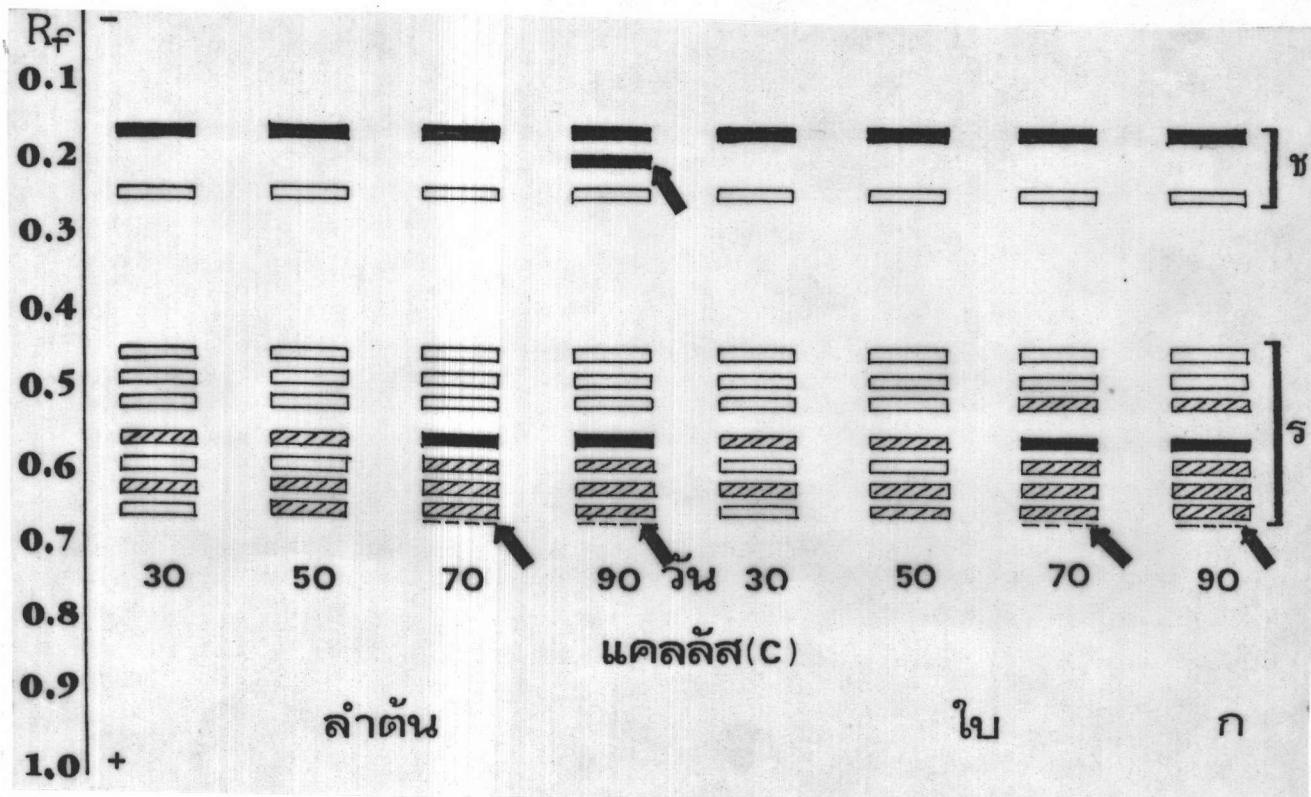
ล้ำต้นและใบของยาสูบที่เลี้ยงในอาหารเป็นเวลานาน 30, 50, 70 และ 90 วัน เพื่อศึกษาถึงความแตกต่างและความคงที่ของรูปแบบไอโซไซด์ของแคลลัสที่ไม่ได้ผ่านการ subcultured ในข้อ 2.1.1.1 กับแคลลัสที่ผ่านการ subcultured ก่อนนำยั่งอาหาร

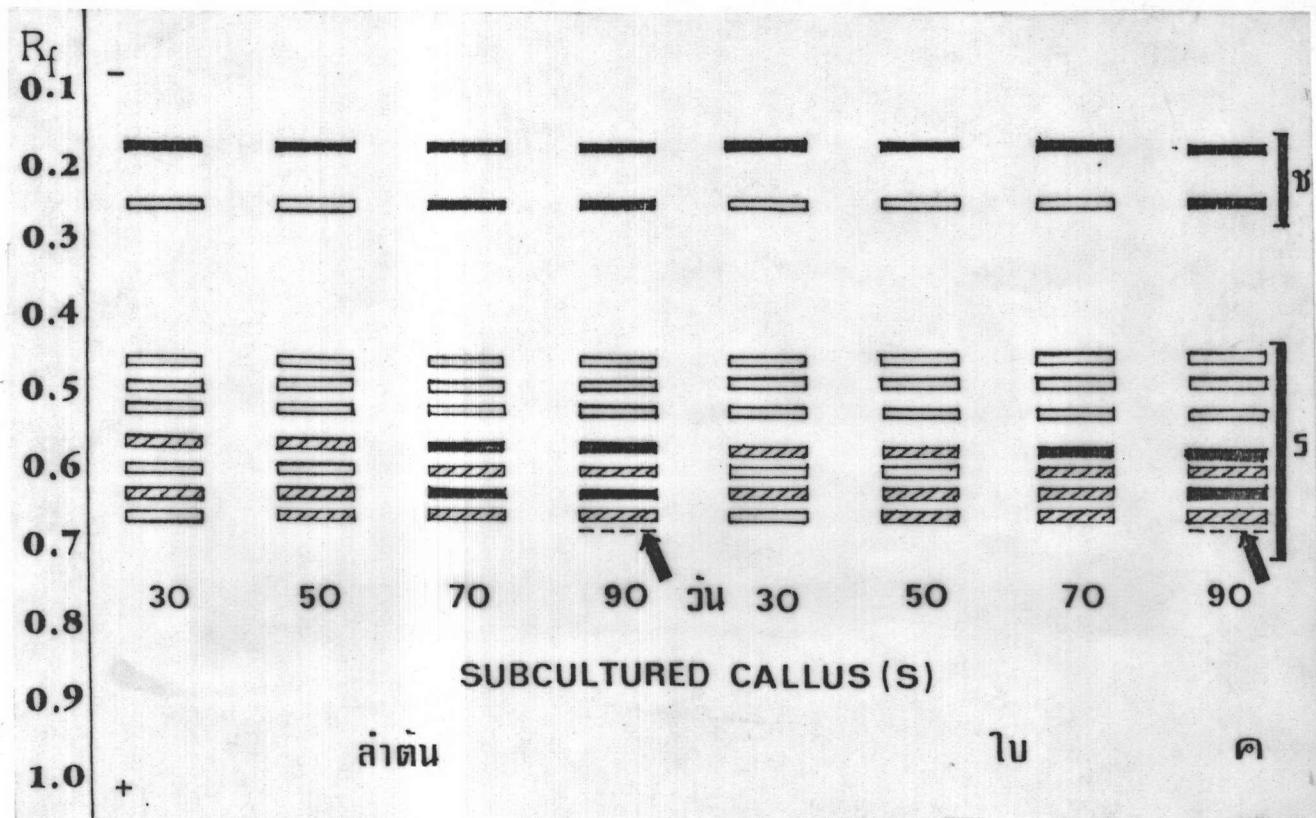
ใหม่เมื่อนำ subcultured ของแคลลัสที่อายุดังกล่าวมาศึกษารูปแบบเบอร์ออกซิเดส ไอโซไซด์ พบร่วมกับ subcultured ของแคลลัสในกลุ่มเดียวกันที่ขึ้นจากส่วนลำต้นและใบของยาสูบให้รูปแบบไอโซไซด์ที่คล้ายคลึงกัน โดยมีการเคลื่อนที่ของไอโซไซด์แยกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มเคลื่อนที่ช้า มีค่า R_f อยู่ระหว่าง 0.15-0.23 มีจำนวน 2 แผ่น ความเข้มของแถบค่อนข้างสูงมาก และกลุ่มเคลื่อนที่เร็ว มีค่า R_f อยู่ระหว่าง 0.44-0.64 มีจำนวน 7 แผ่น ดังแสดงในแผนภาพที่ 4 จากแผนภาพแสดงว่า subcultured ของแคลลัสแต่ละกลุ่มที่เลี้ยงในอาหารเป็นระยะเวลาต่าง ๆ กัน ให้รูปแบบเบอร์ออกซิเดส ไอโซไซด์ที่คล้ายคลึงกัน โดยมีการเคลื่อนที่ของไอโซไซด์ในตัวแห่งเดียวกัน แต่ในบางช้าจาก subcultured ของแคลลัสที่เลี้ยงนาน 90 วัน พบรูปแบบที่ $R_f = 0.66$ เพิ่มขึ้นมาในความเข้มต่อ (ศรีชัยในแผนภาพที่ 4)

เมื่อเปรียบเทียบรูปแบบเบอร์ออกซิเดส ไอโซไซด์ของแคลลัส, regenerated plant และ subcultured ของแคลลัสที่เกิดจากส่วนลำต้นและใบของ *N. tabacum* พบรูปแบบไอโซไซด์ของแคลลัส และ subcultured ของแคลลัสมีความคล้ายคลึงกัน โดยแบ่งไอโซไซด์ได้เป็น 2 กลุ่มเหมือนกัน อิกทึ้งมีจำนวนแถบสีและความเข้มใกล้เคียงกัน แต่รูปแบบไอโซไซด์ของแคลลัสและ subcultured ของแคลลัส มีความแตกต่างกับ regenerated plant ทั้งในกลุ่มเคลื่อนที่ช้าและกลุ่มเคลื่อนที่เร็ว โดยที่ในกลุ่มเคลื่อนที่ช้า นั่น regenerated plant จะให้แถบสีในกลุ่มนี้ 3 แผ่น (โดยพบรูปแบบที่ $R_f = 0.20$ เพิ่มขึ้นมา) แต่มีความเข้มต่อ ขณะที่ไอโซไซด์จากแคลลัสและ subcultured ของแคลลัส จะให้แถบสี 2 แผ่น และมีความเข้มสูง ส่วนในกลุ่มเคลื่อนที่เร็ว ที่มีความแตกต่างกันทั้งความเข้มและจำนวนแถบ โดยที่ไอโซไซด์จาก regenerated plant จะให้ความเข้มสูงกว่า และมีจำนวนแถบที่ $R_f = 0.66$ เพิ่มขึ้นมาสังเกตความแตกต่างจากแผนภาพที่ 5 ในบางช้าของแคลลัสและ subcultured ของแคลลัส จะพบรูปแบบที่ $R_f = 0.20$ และ $R_f = 0.66$ เพิ่มขึ้นมาในความเข้มต่อ คล้ายกับที่พบใน regenerated plant ด้วย ชั้นแคลลัสและ subcultured ของแคลลัสที่มีแถบสี เพิ่มขึ้นมาอีก ต่อมาก็มีการพัฒนาให้คนในเวลาอันรวดเร็ว

เมื่อนำอาหารสูตรชักนำแคลลัสของยาสูบ *N. tabacum* ที่เลี้ยงเป็นเวลา 30, 50, 70 และ 90 วัน มาตรวจ ก็พบว่าสามารถตรวจพบเบอร์ออกซิเดส ไอโซไซด์ในอาหารที่

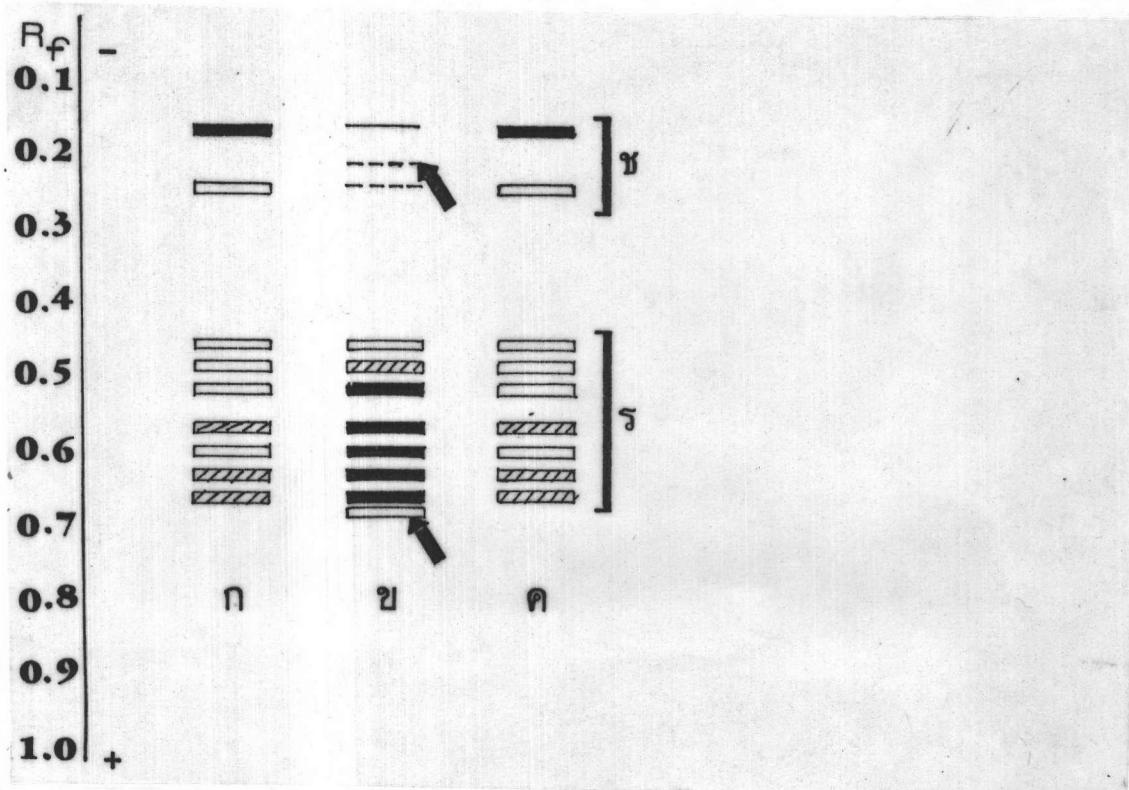
ใช้เลี้ยงแคลลัสได้ ชั้นรูปแบบ ไอ โซไซม์ส่วนใหญ่คล้ายคลึงกับที่ตรวจพบในแคลลัส แต่ความเข้มจะต่างกันมาก โดยที่ไอ โซไซม์ในอาหารมีความเข้มของแกบต่ำกว่า ไอ โซไซม์ในแคลลัสมากและยังพบแกบสีที่ $Rf = 0.20$ เพิ่มขึ้นมาในกลุ่มเคลื่อนที่ชา ในอาหารที่ใช้เลี้ยงแคลลัสอายุ 70 และ 90 วัน นอกจากนั้นแกบสีที่ $Rf = 0.44$ ที่พบในแคลลัสนั้น ตรวจไม่พบในอาหารหรืออาจเป็นเพราะแกบสีมีความเข้มต่ำมากจนตรวจสอบไม่ได้ แต่จะเห็นว่าความเข้มของแกบสีในอาหารจะค่อย ๆ เพิ่มขึ้นในอาหารที่ใช้เลี้ยงแคลลัสที่มีอายุมากขึ้น (ดังแสดงในแผนภูมิที่ 6)



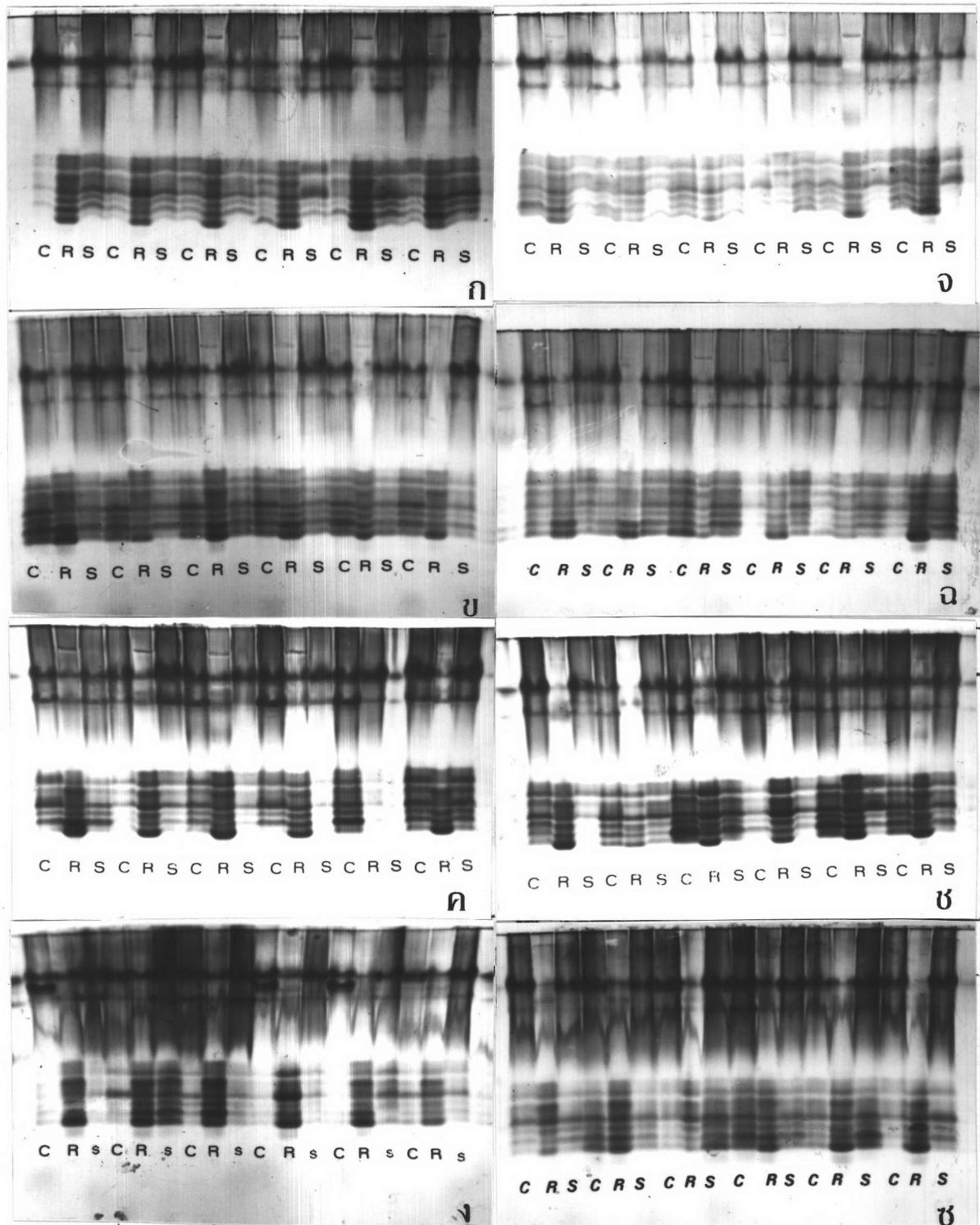


แผนภูมิที่ 4 Zymogram ของเบื้องต้นของสาร似ไอโซไซไซด์จากแคลลัส (C), regenerated plant (R) และ subcultured (S) ของแคลลัสที่เกิดจากส่วนอ่อนและส่วนใบของ *N. tabacum* ที่เก็บมาใน 8 อาการ ณ. MS. (1962) ที่เติม IAA และไคเนติน เมื่อเริ่งเป็นเวลา 30, 50, 70 และ 90 วัน รูปแบบ似ไอโซไซด์ของ C สังเกตแคลลัสจากส่วนอ่อนที่อายุ 90 วัน มีค่าที่ $R_f = 0.20$ เพื่อนำมาก และแคลลัสจากส่วนอ่อนและใบที่อายุ 70 และ 90 วัน มีค่าที่ $R_f = 0.66$ เพื่อนำมา ในความเข้มข้น (สูกสรรช์) แคลลัสที่มีแบบ似เพื่อนำมาที่ต่อมาเกิดพัฒนาเป็นต้นในเวลาอันรวดเร็ว

- รูปแบบ似ไอโซไซด์ของ C สังเกตแคลลัสจากส่วนอ่อนที่อายุ 90 วัน มีค่าที่ $R_f = 0.20$ เพื่อนำมาก และแคลลัสจากส่วนอ่อนและใบที่อายุ 70 และ 90 วัน มีค่าที่ $R_f = 0.66$ เพื่อนำมา ในความเข้มข้น (สูกสรรช์) แคลลัสที่มีแบบ似เพื่อนำมาที่ต่อมาเกิดพัฒนาเป็นต้นในเวลาอันรวดเร็ว
- รูปแบบ似ไอโซไซด์ที่ได้จาก R
- รูปแบบ似ไอโซไซด์ที่ได้จาก S สังเกต subcultured ของแคลลัสจากส่วนอ่อนและใบที่อายุ 90 วันมีค่าที่ $R_f = 0.66$ เพื่อนำมาในความเข้มข้น (สูกสรรช์) แคลลัสที่มีแบบ似เพื่อนำมาที่ต่อมาเกิดพัฒนาเป็นต้นในเวลาอันรวดเร็ว



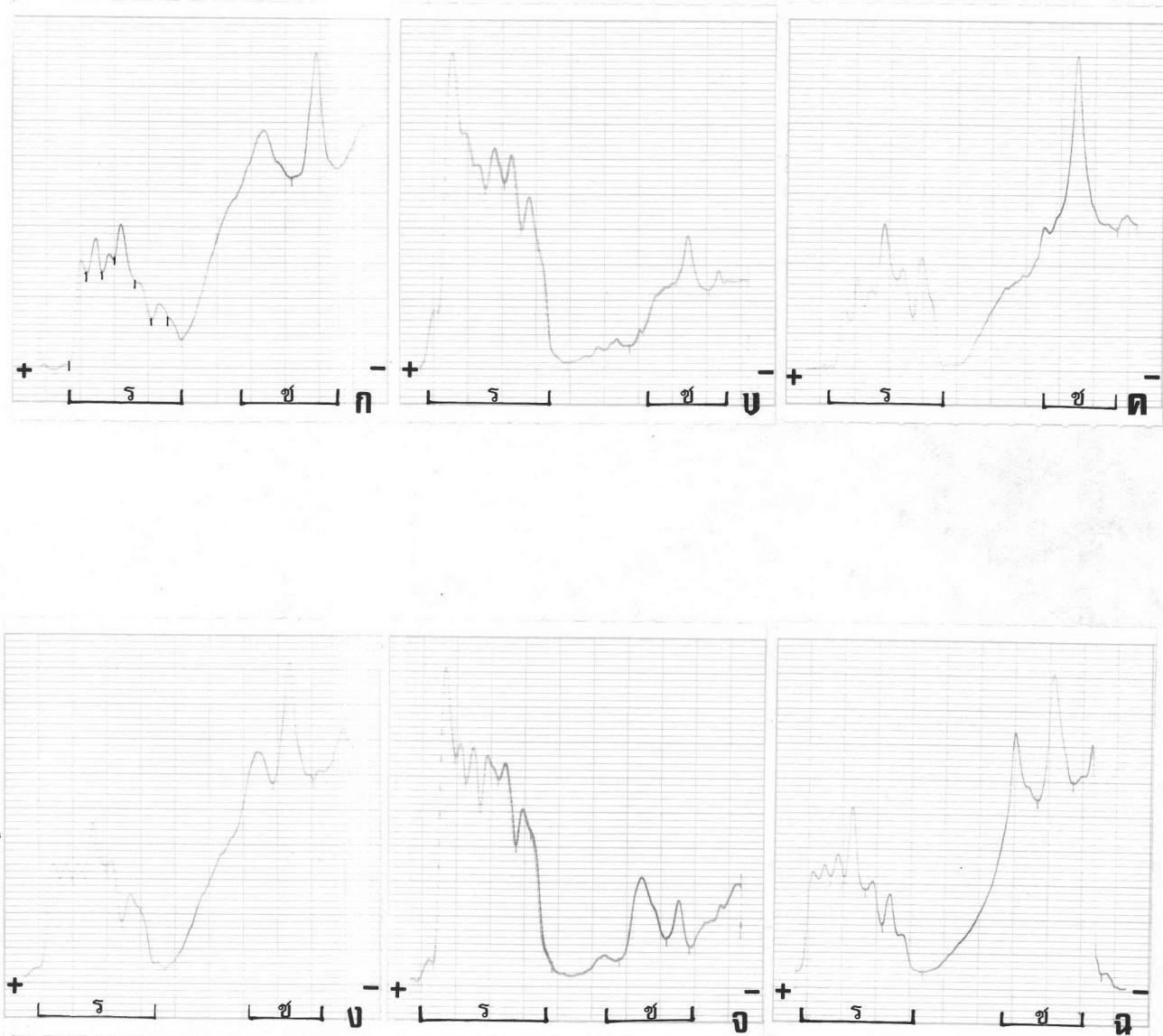
- แผนภาพที่ 5 Zymogram เปรียบเทียบรูปแบบเบื้องต้นของไซโนไซด์จากเซลล์ (C), regenerated plant (R) และ subcultured (S) ของแมลง *N. tabacum* รูปแบบໄอโซไฟโนฟาร์มเบ็งคาน R ได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มเคลื่อนที่ช้า (ช) และเร็ว (ร)
- และ ก. รูปแบบໄอโซไฟโนของ C และ S ตามลำดับ ໄอโซไฟโนในกลุ่มเคลื่อนที่ช้ามีความเข้มสูง มีจำนวน 2 แบบ
 - ร. รูปแบบໄอโซไฟโนของ R ໄอโซไฟโนในกลุ่มเคลื่อนที่เร็วมีความเข้มต่ำ มีจำนวน 3 แบบ โดยมีแบบที่ $R_f = 0.20$ เป็นชั้นหนา (ลูกศรชี้) และໄอโซไฟโนในกลุ่มเคลื่อนที่เร็วมีความเข้มสูง และมีน้อยที่ $R_f = 0.66$ เป็นชั้นหนา (ดังลูกศรชี้)



รูปที่ 11 เปรียบเทียบ DNA ของพืชต้นเดิม (C), regenerated plant (R) และ subcultured (S) ต่อ *N. tabacum* ตัวหนาในอัตราการเจริญ MS. (1962) ที่เพิ่ม IAA 1.9 $\mu\text{g}/\text{a}$. และลดลง 0.5 $\mu\text{g}/\text{a}$.

๑-๑ รูปแบบ DNA ของพืช C, R และ S ต่อหนาต่อตัวเดิมจากตัวเดิมที่เพิ่มเจริญในอัตราการเจริญ 30, 50, 70 และ 90 วัน ตามลำดับ

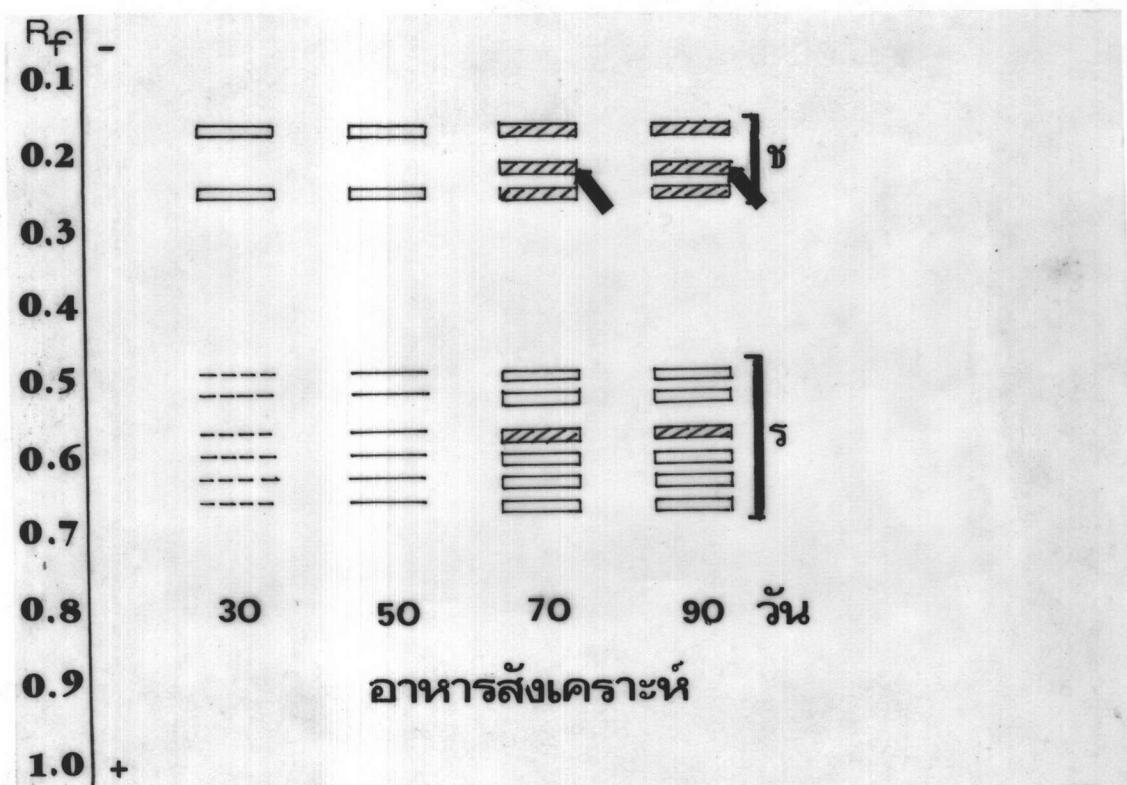
๑-๒ รูปแบบ DNA ของพืช C, R และ S ต่อหนาต่อตัวเดิมจากตัวเดิมที่เพิ่มเจริญในอัตราการเจริญ 30, 50, 70 และ 90 วัน ตามลำดับ



ตารางที่ 1 ความเร้นและจำนวนแอนด์ของเพอร์ออกซิเดตในไนโตรเจนจากแหล่งต้น (C), regenerated plant (R) และ subcultured (S) ของพืชต้นที่รักษาจากส่วนต้นและใบ *N. tabacum* รูปแบบไนโตรเจน
สามารถแยกความแตกต่างในระดับทางการค้าอ่อนน้ำของเป็น 2 กลุ่มคือกลุ่มเครื่องมือ (๑) และ^๑
เครื่องมือเร็ว (๒)

ก-ก ความเร้นและจำนวนแอนด์ของไนโตรเจน C, R และ S ที่รักษาจากส่วนต้น

ก-ก ความเร้นและจำนวนแอนด์ของไนโตรเจน C, R และ S ที่รักษาจากส่วนใบ ฉะนั้นเกิดเห็นความ
เพียงอย่างไนโตรเจนกลุ่มเครื่องมือเร็วของ R ที่ peak มากที่สุดมาก เมื่อเทียบกับ C และ S



แผนกที่ 6 Zymogram ของเบอร์ออกไซด์ไฮไดroxจากอาหารสั่งเคราะห์ที่ใช้เจลลิ่งแคลลัส *N. tabacum* เมื่อเจลลิ่งแคลลัสนาน 30, 50, 70 และ 90 วัน รูปแบบไฮไดroxที่สามารถแบ่งตามค่า RF ได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มเคลื่อนที่ช้า (ช) และกลุ่มเคลื่อนที่เร็ว (ร) ลักษณะเด่นที่ RF 0.20 เป็นชั้นนา ในอาหารที่ใช้เจลลิ่งแคลลัสอายุ 70 และ 50 วัน (ถูกสร้าง) และความเข้มของแบบสูงขึ้นในอาหารที่ใช้เจลลิ่งแคลลัสนานขึ้น

2.1.2 เปรียบเทียบรูปแบบเบอร์ออกซิเดส ไอโซไซด์ของแคลลัส *N. tabacum* อายุ 10 วัน เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS. (1962) ที่เติม IAA 1.9 มก./ล. และไคเนติน 0.5 มก./ล. กับรูปแบบเบอร์ออกซิเดส ไอโซไซด์ของ แคลลัสที่เลี้ยงในอาหารที่เติม 2,4-D แทน IAA

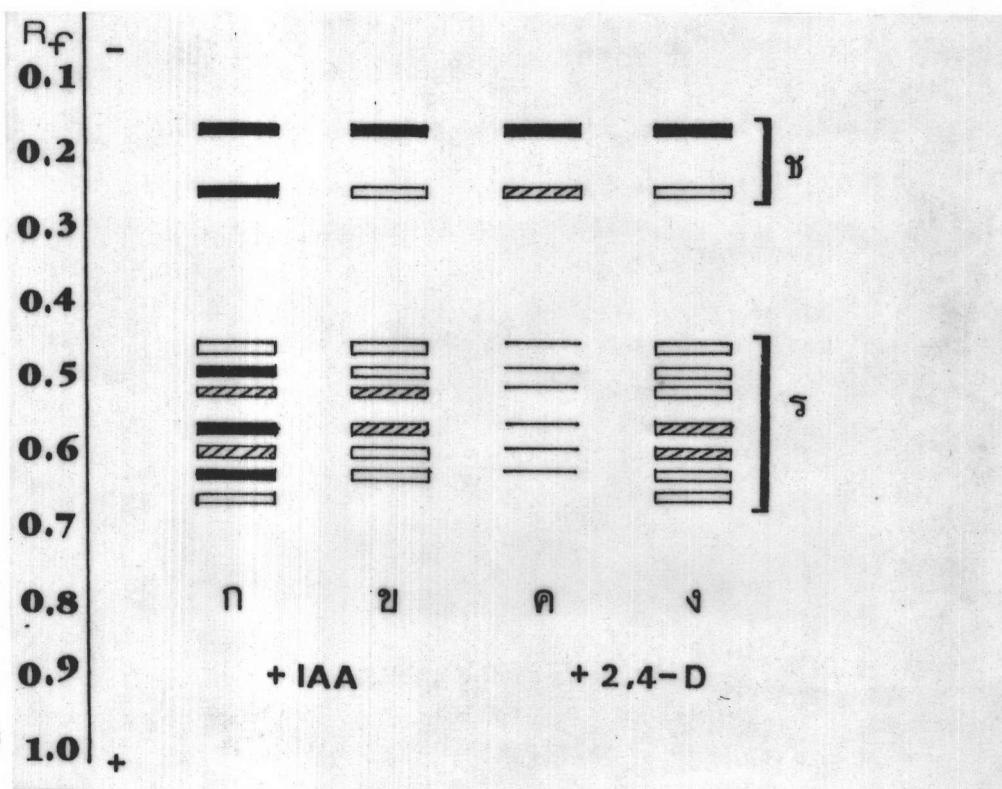
แคลลัสของยาสูบ *N. tabacum* ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS. (1962) ที่เติม IAA 1.9 มก./ล. และไคเนติน 0.5 มก./ล. สามารถจำแนกตาม ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้เป็น 2 กลุ่ม ดังกล่าวแล้ว เมื่อนำแคลลัสทั้ง 2 กลุ่ม มาเปรียบเทียบ รูปแบบเบอร์ออกซิเดส ไอโซไซด์ พบร้าแคลลัสทั้ง 2 กลุ่ม ให้แกบ ไอโซไซด์มีการเคลื่อนที่ แบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มเคลื่อนที่ช้า มีค่า R_f อยู่ระหว่าง 0.15–0.23 มีจำนวน 2 แผ่น และกลุ่มเคลื่อนที่เร็ว มีค่า R_f อยู่ระหว่าง 0.44–0.64 มีจำนวน 6–7 แผ่น ตั้งแสดงในแผนภาพที่ 7 จะเห็นว่าแคลลัสทั้ง 2 กลุ่มนี้ ให้ความเข้มและจำนวนแผ่นของ ไอโซไซด์กลุ่มเคลื่อนที่ช้า ไม่แตกต่างกันนัก แต่ในกลุ่มเคลื่อนที่เร็ว จะเห็นความแตกต่างกัน ค่อนข้างชัด โดยที่แคลลัสกลุ่มที่ 1 ให้แผ่นของ ไอโซไซด์มีความเข้มสูงกว่ารวมทั้งมีจำนวน แผ่นมากกว่าคือ 7 แผ่น ขณะที่ในแคลลัสกลุ่มที่ 2 มีความเข้มต่ำกว่าและมีจำนวนแผ่น 6 แผ่น โดยตรวจไม่พบแกบที่ $R_f = 0.64$ และแคลลัสในกลุ่มที่ 1 เมื่อเลี้ยงต่อไปจะมี เบอร์เซน्ऱ์การเกิด regenerated plant สูงกว่าแคลลัสกลุ่มที่ 2 ด้วย ดังนั้นความเข้ม และจำนวนแผ่นของ ไอโซไซด์น่าจะเป็นปฏิกิริยาโดยตรงกับเบอร์เซน์การเกิด regenerated plant

ส่วนแคลลัสของ *N. tabacum* ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS. (1962) ที่เติม 2,4-D แทน IAA สามารถจำแนกตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้เป็น 2 กลุ่ม เช่นกัน เมื่อนำแคลลัสทั้ง 2 กลุ่ม มาเปรียบเทียบรูปแบบเบอร์ออกซิเดส ไอโซไซด์ พบร้าสามารถจัดแบ่ง ไอโซไซด์ได้เป็น 2 กลุ่ม มีค่า R_f ในตัวแหน่งเดียวกับ ไอโซไซด์ของ แคลลัสที่เลี้ยงในอาหารที่เติม IAA ตั้งแสดงในแผนภาพที่ 7 และพบความแตกต่างในความ เข้มและจำนวนแผ่นเบอร์ออกซิเดส ไอโซไซด์ในกลุ่มเคลื่อนที่เร็วของแคลลัสทั้ง 2 กลุ่ม โดย

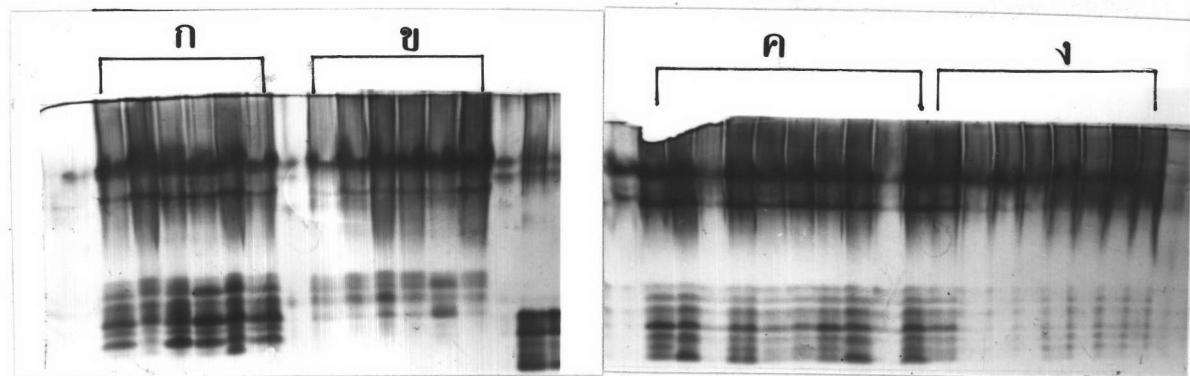
ที่แคลลัสกลุ่มที่ 1 มีความเข้มของแทน ไอ ไซไซต์มาก และมีจำนวนແเกນ้อยประมาณ 6 ແກນ
ขณะที่กลุ่มที่ 2 มีความเข้มของແກນสูงกว่าและมีจำนวนແກນมากกว่า

ในอาหารที่เติม IAA กับที่เติม 2,4-D แทน IAA จะให้แคลลัสที่มีความแตกต่าง
ทั้งในลักษณะทางสัณฐานวิทยาและในรูปแบบเบอร์อ็อกซิเดสไอ ไซไซ เมื่อนำแคลลัสต่าง ๆ
เหล่านี้มาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ต่อไป พบว่าแคลลัสในกลุ่มที่มีเบอร์อ็อกซิเดสไอ ไซไซ
กลุ่มเคลื่อนที่เร็วมีความเข้มสูง และจำนวนແเกນมากนี้เป็นแคลลัสที่มีลักษณะการเกะกะกลุ่ม
ແນลีค่อนข้างเขียว โดยแคลลัสในกลุ่มนี้จะพัฒนาให้เบอร์เซนต์การเกิด regenerated
plant สูงกว่า (เช่น แคลลัสในกลุ่มที่ 1 ของแคลลัสที่เลี้ยงในอาหารที่เติม IAA และ
แคลลัสกลุ่มที่ 2 ที่เลี้ยงในอาหารที่เติม 2,4-D) แคลลัสในกลุ่มที่มีเบอร์อ็อกซิเดสไอ ไซไซ
ในกลุ่มเคลื่อนที่เร็วมีความเข้มต่ำ จำนวนແเกนน้อย ซึ่งเป็นแคลลัสมีลักษณะการเกะกะกลุ่มหลวມ
ฟู ชุมน้ำ แคลลัสออกสีเหลืองน้ำตาล และแคลลัสกลุ่มนี้จะพัฒนาให้เบอร์เซนต์การเกิด
regenerated plant ต่ำ (เช่น แคลลัสกลุ่มที่ 2 ที่เลี้ยงในอาหารที่เติม IAA และแคลลัส
กลุ่มที่ 1 ที่เลี้ยงในอาหารที่เติม 2,4-D)

เมื่อเปรียบเทียบแคลลัสที่เลี้ยงในอาหารซักน้ำแคลลัสสูตร MS. (1962) ที่เติม
IAA กับที่เติม 2,4-D แทน พบร้าแคลลัสที่เลี้ยงในอาหารทั้ง 2 ชนิด ให้รูปแบบ
เบอร์อ็อกซิเดสไอ ไซไซที่มีระยะกาลเคลื่อนที่ปราศจากในตัวແเน่งเดียวกัน แต่ความเข้มและ
จำนวนແเกນในกลุ่มเคลื่อนที่เร็วจะแตกต่างกันโดยที่แคลลัสที่เลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่เติม
IAA จะมีความเข้มของແเกນสูงกว่าแคลลัสที่เลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่เติม 2,4-D
นอกจากนี้แคลลัสที่เลี้ยงในอาหารที่เติม IAA ยังให้เบอร์เซนต์การเกิด regenerated
plant สูงกว่าแคลลัสที่เลี้ยงในอาหารที่เติม 2,4-D ดังกล่าวแล้ว ในผลการศึกษาการเลี้ยง
เนื้อเยื่อยาสูบ (ตารางที่ 11)



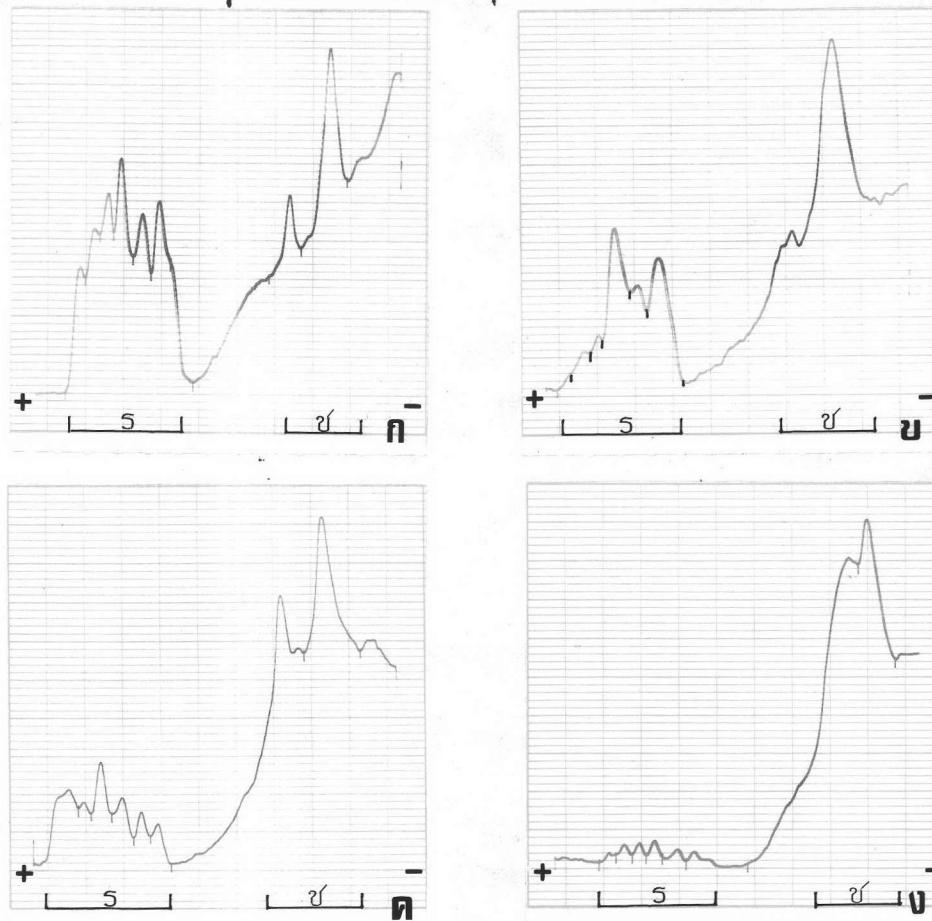
แผนภารที่ 7 Zymogram เปรียบเทียบรูปแบบของร่องรอยเอนไซม์ในโพรตีนจากเซลล์กลุ่มทั้ง 4 ของ *N. tabacum* เมื่อเพิ่มในอาหารที่เติบ IAA กับในอาหารที่เติบ 2,4-D เมื่อทดลองอายุ 10 วัน รูปแบบ ໄอโซไฟน์สามารถแบ่งตามค่า R_f ได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มเคลื่อนที่ช้า (ช) และเร็ว (ร) ก และ ข รูปแบบໄอisoไฟน์ของเซลล์กลุ่มที่ 1 และ 2 ที่รักษาในอาหารที่เติบ IAA คล้ายคลึงกัน ก และ ง รูปแบบໄอisoไฟน์ของเซลล์กลุ่มที่ 1 และ 2 ที่รักษาในอาหารที่เติบ 2,4-D คล้ายคลึงกัน ໄอisoไฟน์ในกลุ่มเคลื่อนที่เร็วของเซลล์กลุ่มที่รักษาในอาหารที่เติบ IAA (โดยเฉลี่ยกลุ่มที่ 1) จะมีความเข้มสูงกว่าໄอisoไฟน์ของเซลล์ที่รักษาในอาหารที่เติบ 2,4-D



รูปที่ 12 เมื่อต่อคอกิ่วโดยไม่ใช้เอนไซม์ตัดหัว *N. tabacum*

บ ละ 1 รูปแบบໄสิโวไม่ใช้เอนไซม์ตัดหัวกุ้นที่ 1 และ 2 ที่รักษาในความเร็ว IAA ทางเดียว

ช ละ 2 รูปแบบໄสิโวไม่ใช้เอนไซม์ตัดหัวกุ้นที่ 2 และ 1 ที่รักษาในความเร็ว 2,4-D ทางเดียว



กราฟที่ 2 ความเร็วและจำนวนแบบของเปื้องต่อคอกิ่วโดยไม่ใช้เอนไซม์ตัดหัวกุ้นต่างๆ ของ *N. tabacum*

ที่รักษาในความเร็วที่เดิน IAA ที่ความเร็วที่เดิน 2,4-D รูปแบบໄสิโวไม่ใช้เอนไซม์ตัดหัวกุ้นต่างๆ
ในระดับทางการค้าอันที่สองแบบของกุ้น 2 กุ้น คือ กุ้นเรือยันที่ร้า (๑) และ เรือ (๒)

บ-1 ความเร็วและจำนวนแบบของໄสิโวไม่ใช้เอนไซม์ตัดหัวกุ้นที่ 1 และ 2 ที่รักษาในความเร็ว IAA ทางเดียว

บ-2 ความเร็วและจำนวนแบบของໄสิโวไม่ใช้เอนไซม์ตัดหัวกุ้นที่ 2 และ 1 ที่รักษาในความเร็ว 2,4-D ทางเดียว

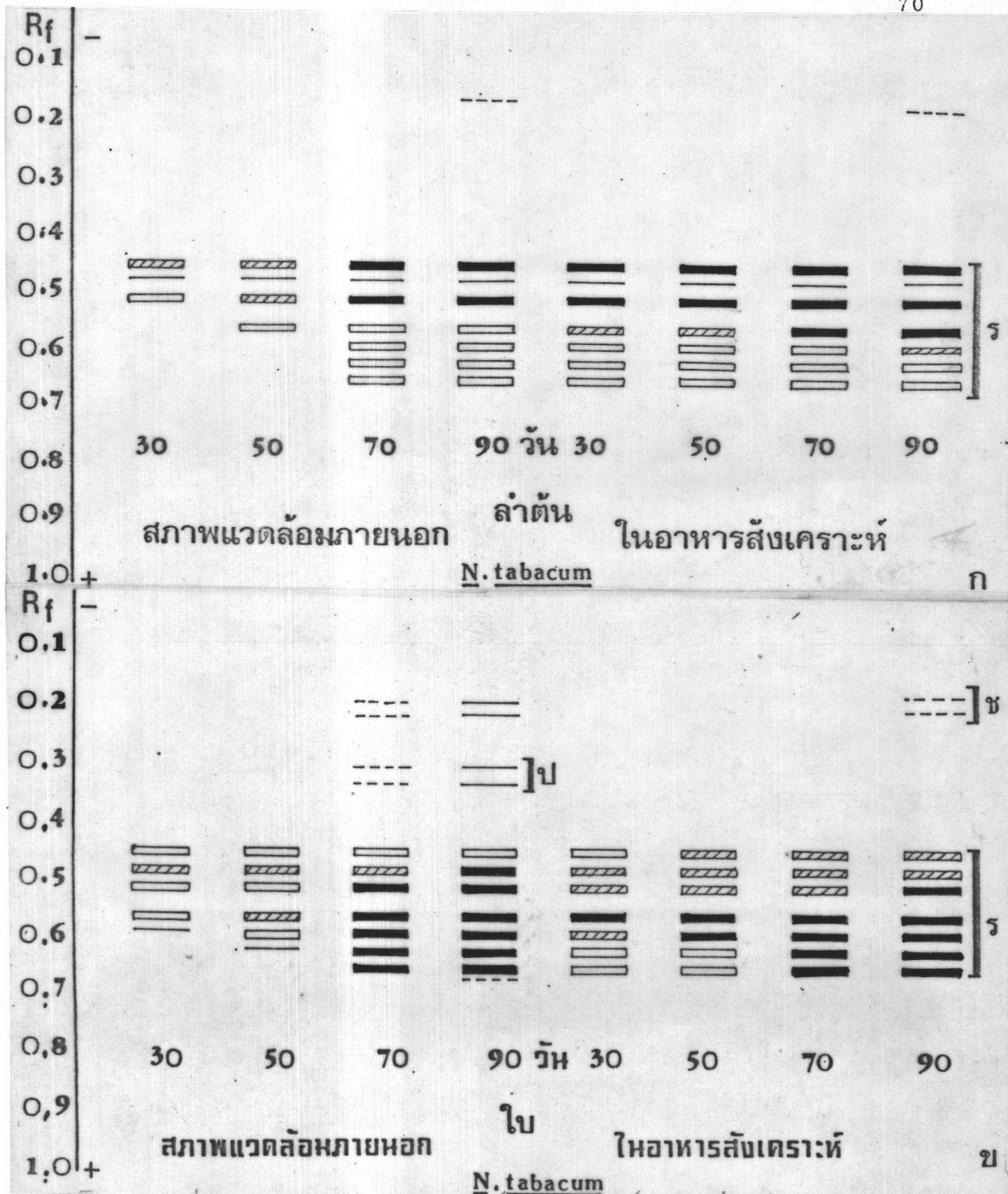
2.1.3 เปรียบเทียบรูปแบบเบอร์ออกซิเดส ไอ ไซไซม์จากส่วน
ลิตตันและส่วนในของ *N. tabacum* ที่ปลูกในสภาพ
แวดล้อมภายนอกกับยาสูบที่เพาะในอาหารสังเคราะห์
และมีการควบคุมสภาพแวดล้อมเมื่อยาสูบมีอายุ
30, 50, 70 และ 90 วัน

2.1.3.1 รูปแบบเบอร์ออกซิเดส ไอ ไซไซม์จากส่วน ลิตตันของยาสูบ

นำเสนอส่วนลิตตันของยาสูบ *N. tabacum* ที่ปลูก¹
ในสภาพแวดล้อมภายนอก โดยไม่มีการควบคุมสภาวะต่าง ๆ เช่น แสง, อุณหภูมิหรือความชื้น²
แต่รดน้ำและให้รากสัมผัสรเอนอ และที่เพาะในอาหารสังเคราะห์ MS. (1962) ไม่เดิมชอร์โนน
และมีการควบคุมสภาวะแวดล้อมขณะเลี้ยงให้คงที่คืออุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ประมาณ
แสง 1200 ลักซ์ โดยมีช่วงมืดต่อช่วงสว่าง 8:16 ชม. จนยาสูบมีอายุ 30, 50, 70
และ 90 วัน มาศึกษารูปแบบเบอร์ออกซิเดส ไอ ไซไซม์ พบร่วมรูปแบบไอ ไซไซม์ที่ได้จากส่วน
ลิตตันของยาสูบจากสภาพแวดล้อมทั้ง 2 นั้น มีค่า RF อุ่นระหว่าง 0.44-0.64 เช่นเดียวกัน
และเมื่อยาสูบอายุ 90 วัน พบรูปแบบที่ RF 0.15 เพิ่มขึ้นมาในความเข้มต่ำ ลิตตันของยาสูบที่
ปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกเมื่อยาสูบอายุน้อย (30, 50 วัน) มีจำนวนแแกบไม่คงที่และความเข้ม³
ต่ำไม่ค่อยชัดเจน เมื่อยาสูบมีอายุมากขึ้น (70, 90 วัน) ความเข้มของแแกบจะสูงขึ้นรวมทั้ง⁴
จำนวนแแกบจะเริ่มคงที่ขึ้น ขณะที่รูปแบบเบอร์ออกซิเดส ไอ ไซไซม์ของยาสูบที่เพาะในอาหาร
สังเคราะห์จะให้จำนวนไอ ไซไซม์ที่คงที่ตั้งแต่ยาสูบอายุน้อย และคงที่ต่อไปจนยาสูบมีอายุเพิ่ม⁵
มากขึ้น ดังแผนภาพที่ 8

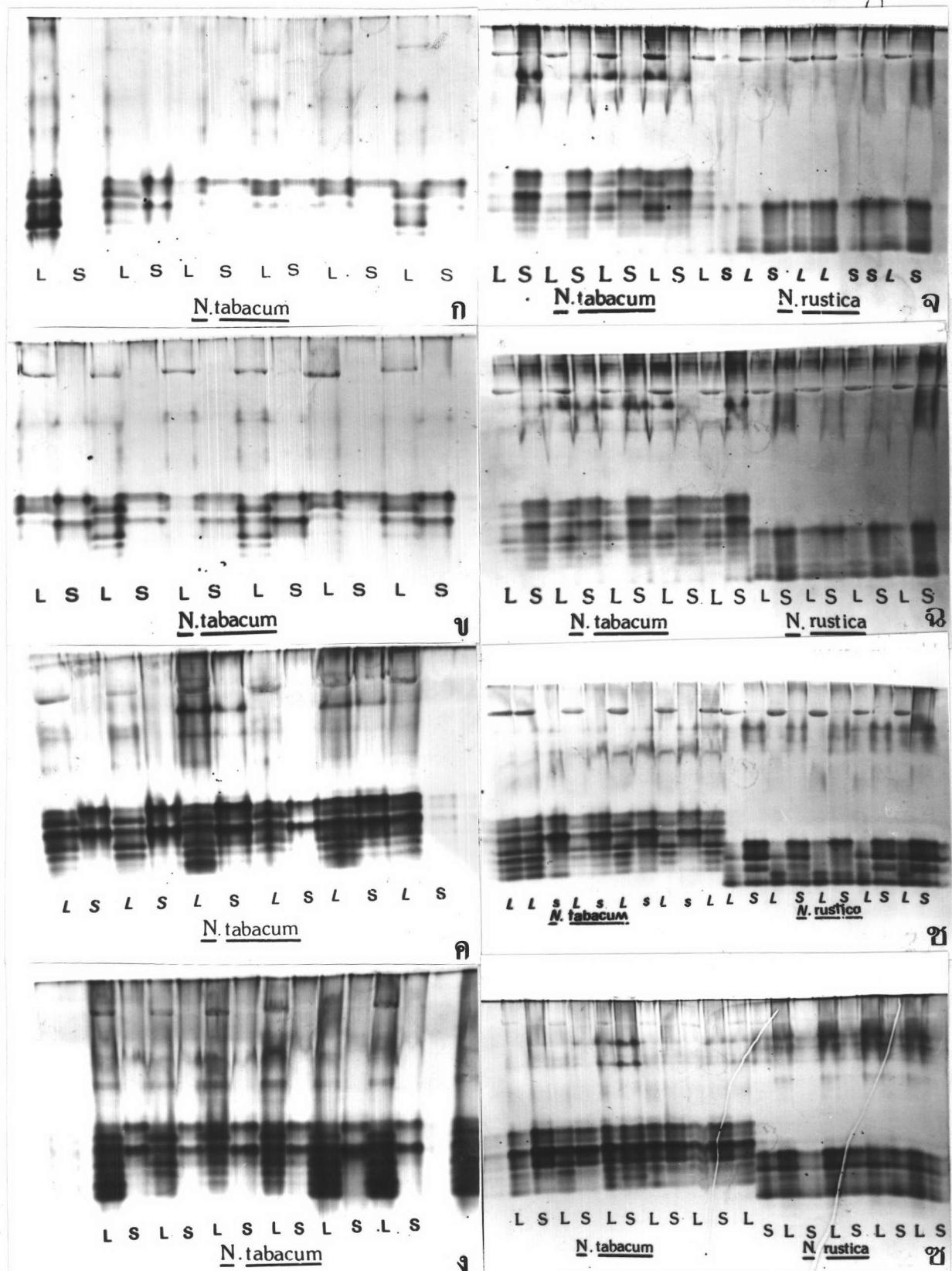
2.1.3.2 รูปแบบเบอร์ออกซิเดส ไอ ไซไซม์จากส่วนใน ของยาสูบ

นำเสนอส่วนในของยาสูบ *N. tabacum* ที่ปลูก¹
ในสภาพแวดล้อมทั้ง 2 ดังกล่าว ในข้อ 2.1.3.1 มาศึกษารูปแบบเบอร์ออกซิเดส ไอ ไซไซม์
เมื่อยาสูบอายุได้ 30, 50, 70 และ 90 วัน พบร่วมรูปแบบไอ ไซไซม์ที่ได้จากส่วนในของ



แผนกษาที่ 8 Zymogram เปรียบเทียบรูปแบบเบื้องต้นของไข้ไข่ไข้จากส่วนคลื่นและใบของ *N. tabacum* ที่ปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก และที่เพาะใน容器การสังเคราะห์ที่ควบคุมสภาพแวดล้อมเพื่อยากับ อายุ 30, 50, 70 และ 90 วัน

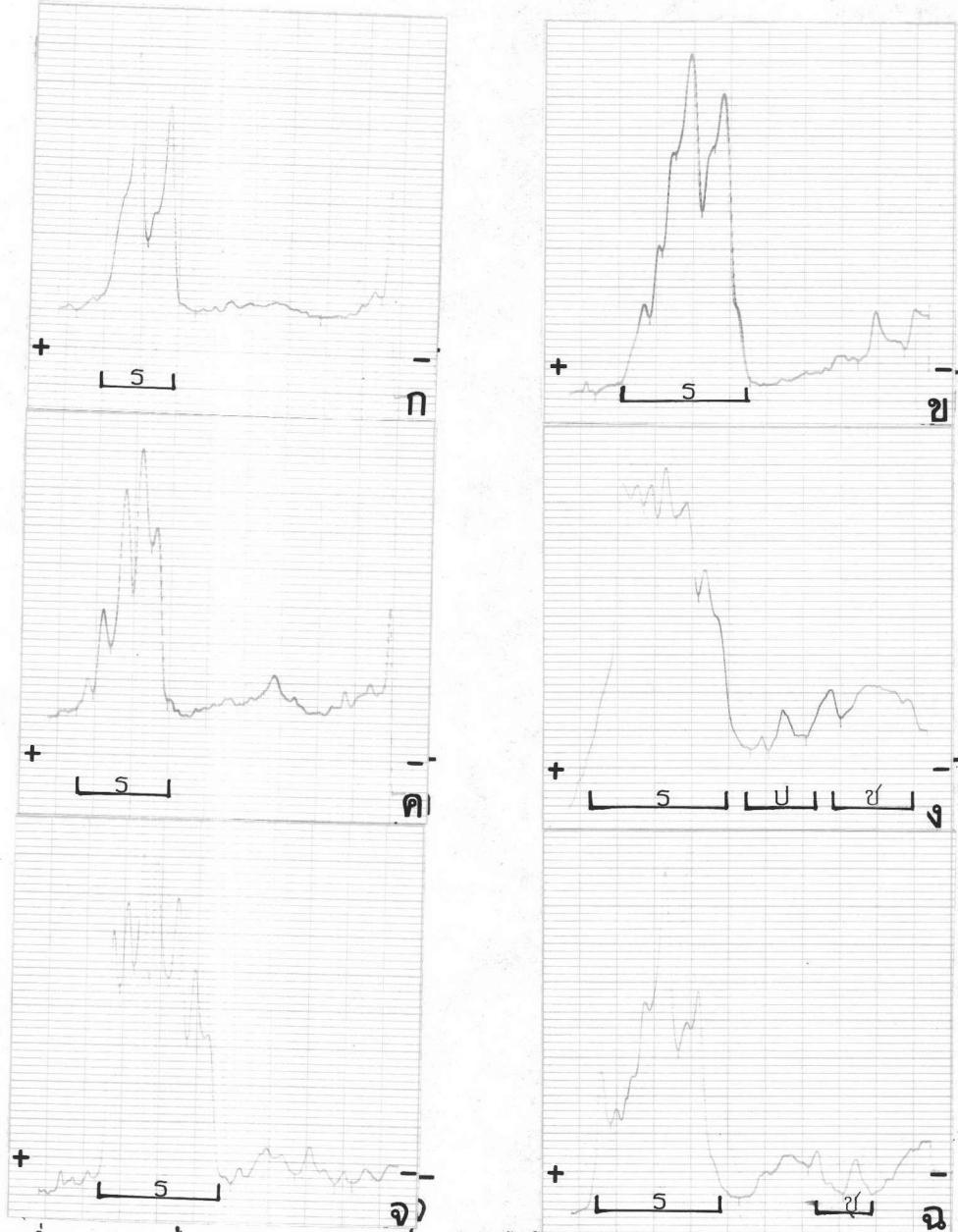
- ก. รูปแบบไอโซไฟน์จากส่วนคลื่น แบ่งได้เป็น 1 กลุ่ม คือ กลุ่มเคลื่อนที่เร็ว (ร) เมื่อยาสูญหาย 90 วันพบผลที่ R_f 0.15 เพิ่มขึ้นมากในความเข้มตัว
ข. รูปแบบไอโซไฟน์จากส่วนใหญ แบ่งได้เป็น 3 กลุ่มตามค่า R_f คือ กลุ่มเคลื่อนที่ช้า (ช.) ปานกลาง (ป.) และเร็ว (ร.)



รูปที่ 13 เผชิญออกซิเจนในใบของ N. tabacum

ก-๑ รูปแบบใบของพืชากว่าใน (L) และล่าสั้น (S) ของชาบูฟู่ถูกใช้ในการน้ำดื่มน้ำยาเพื่อขยายตัว 30, 50, 70 และ 90 วัน ทางล่าง

ก-๒ รูปแบบใบของพืชากว่าใน (L) และล่าสั้น (S) ของชาบูฟู่มาจากในรายการที่สองที่ เพื่อขยายตัว 30, 50, 70 และ 90 วัน ทางล่าง



กราฟที่ 3 ความเร็วและจำนวนเต้นของปั๊มรือกซิเดอไว้อิโซโนมิกส์จากช่วงเวลาเด่นและในช่วง N. *N. tabacum* ที่ปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกที่อายุ 30 และ 90 วัน กับยาสูบที่เพาะในอาคารร่างเคราะห์อายุ 90 วัน
 ก และ ๑ ความเร็วและจำนวนเต้นของปั๊มรือกซิเดอไว้อิโซโนมิกส์จากช่วงเวลาเด่นและในสภาพแวดล้อมภายนอกเมื่อչาสูบอายุ 30 และ 90 วัน ตามลำดับ รูปแบบปั๊มรือกซิเดอไว้อิโซโนมิกส์ที่บ่งบอกถึงการเคลื่อนที่ได้เป็นอย่างเดียว คือ กดผิวเคลื่อนที่เร็ว (ร.)
 ก และ ๔ ความเร็วและจำนวนเต้นของปั๊มรือกซิเดอไว้อิโซโนมิกส์จากช่วงเวลาเด่นและในสภาพแวดล้อมภายนอกเมื่อչาสูบอายุ 30 และ 90 วัน ตามลำดับ รูปแบบปั๊มรือกซิเดอไว้อิโซโนมิกส์ที่บ่งบอกถึงการเคลื่อนที่ได้เป็น ๓ กดผิวเคลื่อนที่เร็ว (ร.) ช้าๆ กว้าง (ป.) และเร็ว (ร.)
 ก และ ๘ ความเร็วและจำนวนเต้นของปั๊มรือกซิเดอไว้อิโซโนมิกส์จากช่วงเวลาเด่นและในสภาพแวดล้อมภายนอกเมื่อչาสูบอายุ 90 วัน (เนื่องจากรูปแบบปั๊มรือกซิเดอไว้อิโซโนมิกส์ที่เปลี่ยนไปในช่วงอายุ 30-90 วัน จึงนำไปแทนโดยรูปแบบปั๊มรือกซิเดอไว้อิโซโนมิกส์จากช่วงอายุ 90 วันเท่านั้น)

ยาสูบที่ปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก สามารถจัดแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มเคลื่อนที่ช้า มีค่า R_f 0.15-0.20 มีจำนวนແກບ 2 ແກບ กลุ่มเคลื่อนที่ปานกลางมีค่า R_f 0.30-0.34 มีจำนวนແກບ 2 ແກບ ซึ่งหั้ง 2 กลุ่มมีความเข้มต่ำมาก และความเข้มจะค่อย ๆ เพิ่มขึ้นจาก ใบของต้นที่มีอายุมาก และกลุ่มเคลื่อนที่เร็วมีค่า R_f 0.44-0.64 มีจำนวนແກບ 5-8 ແກບ โดยเมื่อยาสูบมีอายุน้อย ส่วนใบของยาสูบมีจะให้รูปแบบเบอร์ออกซิเดสไอโซไซด์ไม่คงที่ มีจำนวนແກບน้อย ความเข้มต่ำ เมื่อยาสูบมีอายุมากขึ้น จำนวนແກບและความเข้มจะสูงขึ้นด้วย ส่วนยาสูบที่เพาะในอาหารสังเคราะห์ที่ควบคุมสภาพแวดล้อม เมื่อไন่าส่วนในมาตรฐานสอบ รูปแบบเบอร์ออกซิเดสไอโซไซด์ พบร้า ในกลุ่มเคลื่อนที่เร็วมีความเข้มและจำนวนແກບสูง เสมอตั้งแต่ยาสูบอายุน้อย ๆ แต่จะพบແກບสีในกลุ่มเคลื่อนที่ช้า ในความเข้มที่ต่ำมากเมื่อยาสูบ มีอายุมาก ดังแสดงในแผนภาพที่ 8

2.1.4 เปรียบเทียบรูปแบบเบอร์ออกซิเดสไอโซไซด์ของลำต้น และใบจากส่วนยอด ไปยังส่วนโคนต้นภายในต้นเดียวกัน ของ N. tabacum ที่ปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก เมื่อต้นเจริญเติบโต

นำต้นยาสูบ N. tabacum ที่ปลูกในสภาพแวดล้อม ภายนอกและมีสภาพสมบูรณ์มาทำการศึกษารูปแบบของเบอร์ออกซิเดสไอโซไซด์ โดยทำการ ศึกษาเป็นส่วน ๆ ดังนี้ คือ ส่วนลำต้นและส่วนใบ ในส่วนของลำต้นศึกษาจากโคนต้นไปยัง ปลายยอด ส่วนของใบศึกษาตั้งแต่ใบรองโคนต้นไปยังใบที่ปลายยอด ผลการศึกษามีดังต่อไปนี้

2.1.4.1 รูปแบบเบอร์ออกซิเดสไอโซไซด์ที่ได้จาก ส่วนลำต้นของยาสูบ

ลำต้นบริเวณส่วนยอดจะเป็นลำต้นอ่อนและ ค่อย ๆ แข็งขึ้นตามเนื้อไม้บริเวณโคนต้น ซึ่งจะให้รูปแบบของไอโซไซด์ดังแผนภาพที่ 9 จาก แผนภาพนี้ พบร้ารูปแบบเบอร์ออกซิเดสไอโซไซด์ที่ได้จากส่วนลำต้น มีการเคลื่อนที่แบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม ตามค่า R_f คือกลุ่มเคลื่อนที่ช้า มีค่า R_f 0.15-0.23 มีจำนวนແກບ 2 ແກບ และกลุ่มเคลื่อนที่เร็ว มีค่า R_f 0.44-0.64 มีจำนวนແກບ 3-7 ແກບ จะเห็นว่า จำนวน

แบบและความเข้มของ ไอ ไซ ไซซ์ จะมากขึ้น เมื่อเนื้อเยื่อมีความแก่หรือพัฒนาเต็มที่แล้ว ดังจะเห็นจากบริเวณยอดจะมีจำนวนแบบน้อยกว่าและมีความเข้มของแบบต่ำ โดยจำนวนแบบจะเพิ่มขึ้นจนคงที่และมีความเข้มของแบบสูงขึ้น เมื่อลักษณะการพัฒนาเต็มที่หรือแก่ขึ้น

2.1.4.2 รูปแบบเบอร์อ็อกซิเดส ไอ ไซ ไซซ์ ที่ได้จากส่วนในของยาสูบ

ใบจากบริเวณยอดจะเป็นใบอ่อนและจะค่อยๆ แก่ลง ในบริเวณโคนต้นซึ่งจะให้รูปแบบ ไอ ไซ ไซซ์ ตั้งแต่ภาพที่ 9 จากแผนภาพนี้พบว่ารูปแบบ ไอ ไซ ไซซ์ ที่ได้จากส่วนในมีการเคลื่อนที่แบ่งได้เป็น 2 กลุ่มตามค่า Rf คือกลุ่มเคลื่อนที่ช้ามีค่า Rf 0.15-0.23 มีจำนวนแบบ 3 แบบ มีความเข้มต่ำ กลุ่มเคลื่อนที่ปานกลาง มีค่า Rf 0.30-0.34 มีจำนวน 2 แบบ และกลุ่มเคลื่อนที่เร็ว มีค่า Rf 0.44-0.66 มีจำนวนแบบ 3-8 แบบ จะเห็นว่าในใบบริเวณยอดซึ่งเป็นใบอ่อนมีจำนวนแบบของ ไอ ไซ ไซซ์ น้อยกว่าและจากกว่าแบบในใบแก่ และรูปแบบ ไอ ไซ ไซซ์ จะค่อนข้างคงที่ในใบที่ค่อนข้างแก่หรือมีการพัฒนาเต็มที่แล้ว

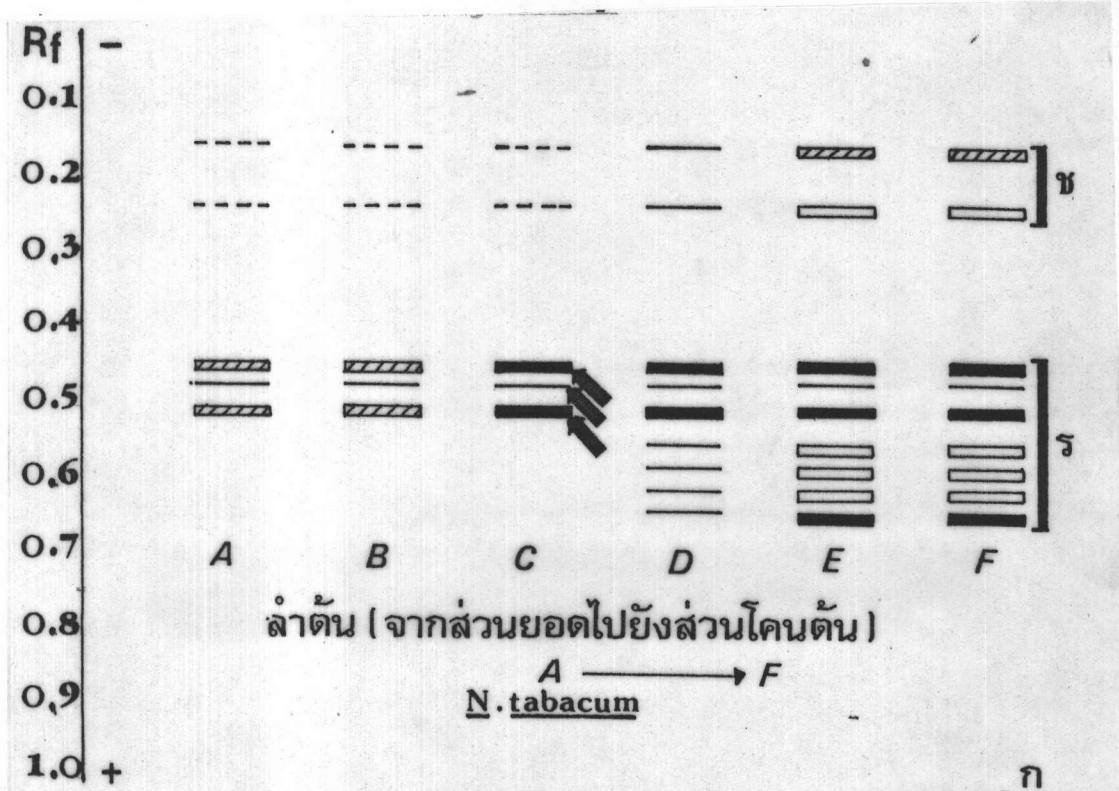
รูปแบบเบอร์อ็อกซิเดส ไอ ไซ ไซซ์ มีความจำเพาะในส่วนลักษณะและส่วนใบ โดยแบบที่ Rf 0.44, 0.47 และ 0.50 (ลูกศรชี้ในแผนภาพที่ 9) เป็นแบบที่แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างระหว่าง ไอ ไซ ไซซ์ ส่วนลักษณะและในส่วนใบ ส่วนลักษณะจะมีความเข้มของแบบที่ Rf 0.44 และ 0.50 สูงเด่นกว่าแบบอื่น และแบบที่ Rf 0.47 มีความเข้มต่ำ ขณะที่ส่วนใบความเข้มของแบบที่ 3 นั้นใกล้เคียงกัน และพบ ไอ ไซ ไซซ์ ในกลุ่มเคลื่อนที่ปานกลางด้วย ซึ่งตรวจไม่พบในส่วนลักษณะ และจะสังเกตเห็นว่า แบบของ ไอ ไซ ไซซ์ บางแบบปรากฏในทั้งลักษณะและใบ เช่น แบบที่ Rf 0.15, 0.23, 0.44, 0.47, 0.50, 0.58, 0.61 และ 0.64 ดังแสดงในแผนภาพที่ 9 ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า เบอร์อ็อกซิเดส ไอ ไซ ไซซ์ ที่บริเวณดังกล่าวควบคุมกิจกรรมเดียวกันทั้งในส่วนลักษณะและใบ ส่วนแบบที่ Rf 0.20, 0.30, 0.34 และ 0.66 พบเฉพาะในส่วนใบ ซึ่ง ไอ ไซ ไซซ์ ในแบบดังกล่าวอาจเป็น ไอ ไซ ไซซ์ ที่มีหน้าที่เฉพาะในอวัยวะแต่ละส่วนก็ได้ จำนวนแบบและความเข้มที่เพิ่มขึ้นทั้งส่วนลักษณะและส่วนใบจากบริเวณโคนต้น แสดงถึงการพัฒนาของรูปแบบ ไอ ไซ ไซซ์ ตามสภาพการเจริญของต้นยาสูบ

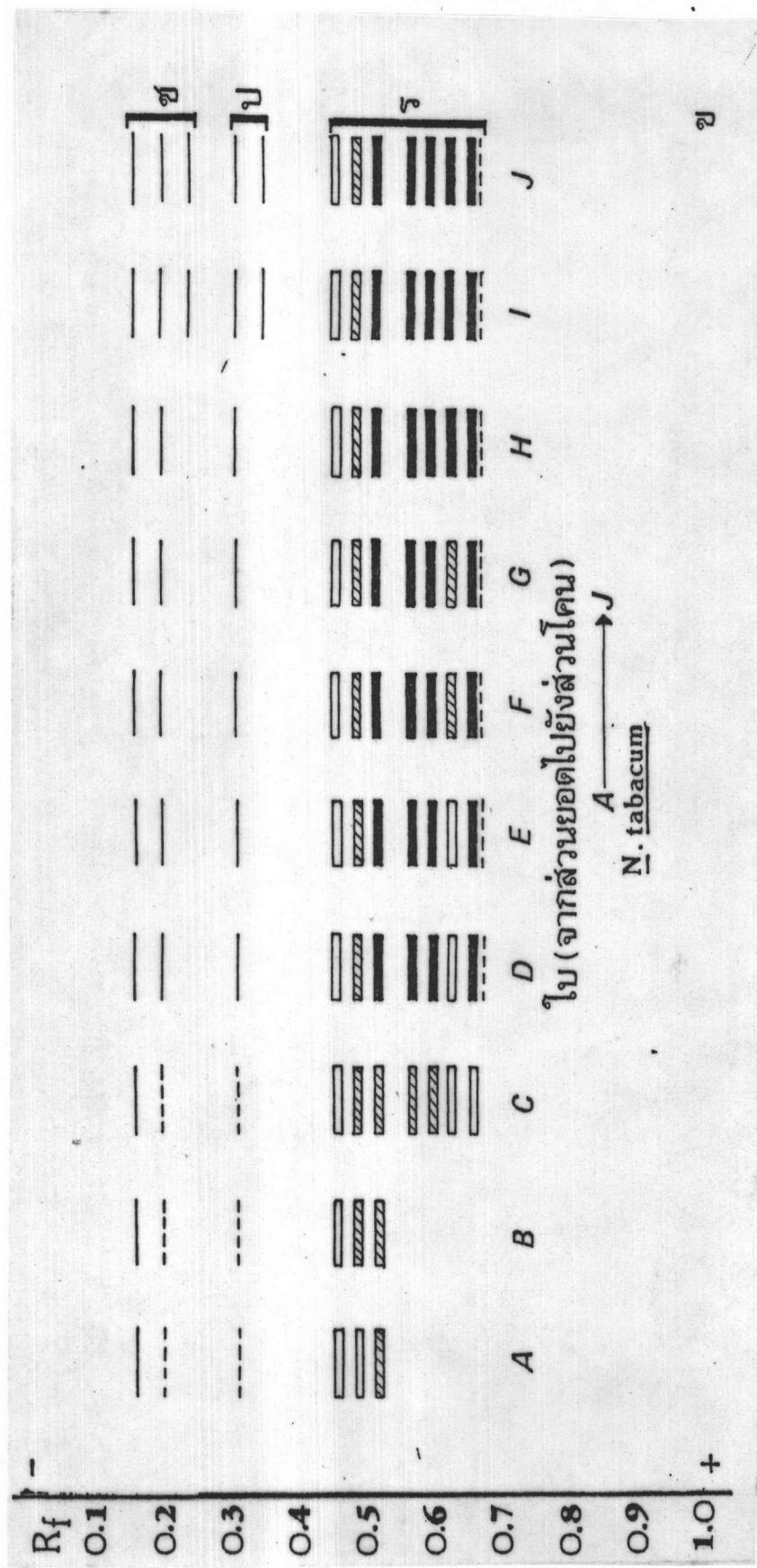
แผนภูมิที่ 9 Zymogram ของเพอร์ออกซิไดไฮด์ไฮโดรเจนจากส่วนต่างๆ ในบริเวณยอดใบอ่อนใบหนุ่มของ *N. tabacum*

ในส่วนเดียวกันของ *N. tabacum* ที่ปูกูกในสภาพแวดล้อมภายนอกเพื่อยาสูบเจริญเติบโต

- รูปแบบไฮโดรเจนจากส่วนต่างๆ ในบริเวณยอดใบอ่อน รูปแบบไฮโดรเจนสามารถแบ่ง成ค่า R_f ได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มเคลื่อนที่ช้า (ช.) และเร็ว (ร.)

- รูปแบบไฮโดรเจนจากส่วนในบริเวณยอดใบอ่อน รูปแบบไฮโดรเจนสามารถแบ่ง成ค่า R_f ได้เป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มเคลื่อนที่ช้า (ช.) ปานกลาง (ป.) และเร็ว (ร.) ซึ่งเกิดขึ้นที่ R_f 0.44, 0.47 และ 0.50 (ระหว่าง) ซึ่งเป็นแบบที่แสดงความแตกต่างของไฮโดรเจนจากส่วนต่างๆ และในส่วนต่างๆ ในส่วนต่างๆ ก็มี R_f 0.44 และ 0.50 มีความเร็วสูงเจนเดียวกับที่ R_f 0.47 ที่ความเร็วต่อไปนี้ในส่วนต่างๆ ไม่พบแสดงไว้ในกลุ่มนี้



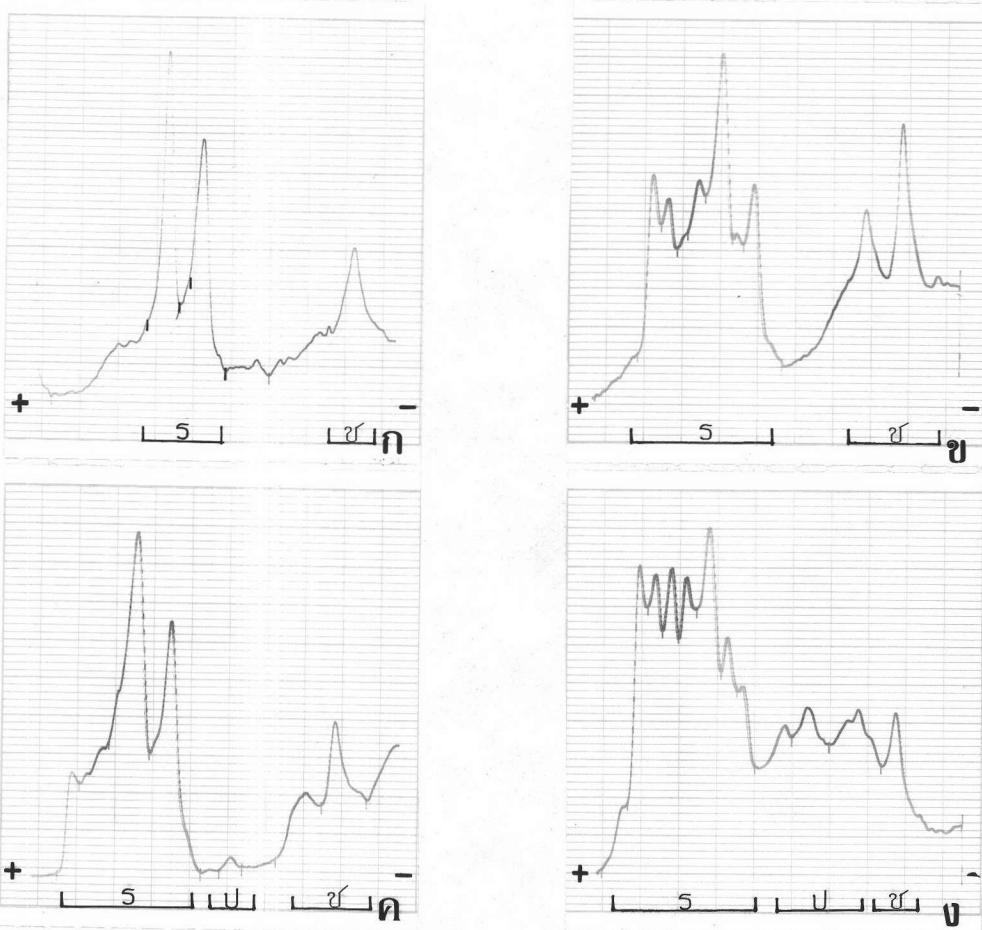




L L L L L L L L S S S S S S R R

โคน —————→ยอด ยอด————→โคน

รูปที่ 14 เมื่อเรื่องอกตัวเมืองไว้ไว้แล้วจากส่วนของไบฟิล์มที่ส่วนโคนของต้น (S) และจากส่วนโคนไปยังส่วนของหัวใน (L) *N. tabacum* ที่ปั๊กในสภาวะน้ำดือมภายนอกเพื่อถอดสูบเจริญเติบโต



ตารางที่ 4 ความเร็วและจำนวนของขบวนของเรื่องอกตัวเมืองไว้ไว้แล้วจากส่วนโคนและในส่วนหัวของ *N. tabacum* ในต้นเดียวกันที่ปั๊กในสภาวะน้ำดือมภายนอก เพื่อถอดสูบเจริญเติบโต

ก และ 1 ความเร็วและจำนวนของไว้ไว้ไว้แล้วจากส่วนโคนและหัว ทางเดินบุบ รูปแบบไว้ไว้ไว้แต่ละระดับ ทางการเคลื่อนที่ของขบวนได้เป็น 2 กลุ่มคือกลุ่มเคลื่อนที่ต่อ (ร.) และเร็ว (ร.)

ก และ 2 ความเร็วและจำนวนของไว้ไว้ไว้แล้วในส่วนหัวและในต้น ทางเดินบุบ รูปแบบไว้ไว้ไว้แต่ละระดับทางการเคลื่อนที่ได้ เป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มเคลื่อนที่ต่อ (ร.) ช้านกล่าว (ป.) และเร็ว (ร.)

2.2 การแปรของรูปแบบเบอร์อ็อกซิเดสไอโซไซเม่ใน

Nicotiana rustica

2.2.1 เปรียบเทียบรูปแบบเบอร์อ็อกซิเดสไอโซไซเม่ของแคลลัส regenerated plant และ subcultured ของ แคลลัสที่ซักก้นจากส่วนลำต้นกับส่วนใบ ที่เลี้ยงในอาหารเป็นเวลา 30, 50, 70 และ 90 วัน

2.2.1.1 รูปแบบเบอร์อ็อกซิเดสไอโซไซเม่ของแคลลัส

แคลลัสที่ซักก้นจากส่วนลำต้นและส่วน

ใบของ N. rustica ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS. (1962) ที่เติม IAA 1.9 มก./ล. และไคเนติน 0.5 มก./ล. เลี้ยงเป็นเวลานาน 30, 50, 70 และ 90 วัน เมื่อนำแคลลัส ที่อายุดังกล่าวมาศึกษารูปแบบเบอร์อ็อกซิเดสไอโซไซเม่ พบร่วมรูปแบบไอโซไซเม่ของแคลลัส ในกลุ่มเดียวกันที่ซักก้นจากส่วนลำต้นกับส่วนใบ มีรูปแบบไอโซไซเม่ที่คล้ายคลึงกัน โดยมีการเคลื่อนที่ของเบอร์อ็อกซิเดสไอโซไซเม่ แยกได้เป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มเคลื่อนที่ช้า มีการเคลื่อนที่ (R_f) อยู่ระหว่าง 0.14-0.19 มีจำนวนแอบ 2 แอบ มีความเข้มสูง และกลุ่มเคลื่อนที่เร็ว มีค่า R_f อยู่ระหว่าง 0.55-0.70 มีจำนวนแอบ 6 แอบ ตั้งแสดงในแผนภาพที่ 10 จากการทดลองนี้ พบร่วมแคลลัสของ N. rustica แต่ละกลุ่มที่เลี้ยงในอาหารเป็นระยะเวลาต่าง ๆ กัน จะพบการแปรในจำนวนและความเข้มของแอบลีมากกว่าที่พบใน N. tabacum โดยเฉพาะไอโซไซเม่ในกลุ่มเคลื่อนที่เร็ว ในบางชั้พบจำนวนแอบลีอยหรือมีความเข้มต่ำมาก หรือในบางชั้พบแอบลีที่ R_f 0.72 เพิ่มขึ้นมาในแคลลัสที่ซักก้นจากใบที่เลี้ยงนาน 90 วัน แต่มีความเข้มต่ำมาก (ลูกศรชี้ในแผนภาพที่ 10)

2.2.1.2 รูปแบบเบอร์อ็อกซิเดสไอโซไซเม่ของ regenerated plant

เมื่อนำ regenerated plant ของแคลลัส

ในข้อ 2.2.1.1 มาศึกษารูปแบบเบอร์อ็อกซิเดสไอโซไซเม่ พบร่วมรูปแบบไอโซไซเม่ของ regenerated plant ของแคลลัสในกลุ่มเดียวกันที่ซักก้นจากส่วนลำต้นกับส่วนใบ มีรูปแบบ

ไอ ไซ ไซม์ที่คล้ายคลึงกัน โดยมีการเคลื่อนที่ของแกบแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มเคลื่อนที่ช้า มีค่า R_f อยู่ระหว่าง 0.14-0.24 มีจำนวนแกบ 3 แกบ มีความเข้มต่ำ และกลุ่มเคลื่อนที่เร็ว มีค่า R_f อยู่ระหว่าง 0.55-0.72 มีจำนวนแกบ 7 แกบ โดยจะสังเกตเห็นแกบจาก ๆ ที่ R_f 0.72 (ลูกศรชี้ในแผนภาพที่ 10) ซึ่งแกบมีความเข้มสูงขึ้นเมื่อเลี้ยง regenerated plant ในอาหารนานขึ้น ดังแสดงในแผนภาพที่ 10 จากแผนภาพนั้นพบว่า regenerated plant ของแคลลัสที่เลี้ยงในอาหารเป็นระยะเวลาต่าง ๆ กัน จะให้รูปแบบเปอร์ออกซิเดส ไอ ไซ ไซม์ไม่แตกต่างกันมากนักแต่ก็ยังพบการแปรรูปในความเข้มและจำนวนแกบในบางช้ามากกว่าที่พบใน N. tabacum ซึ่งค่อนข้างมีความคงที่

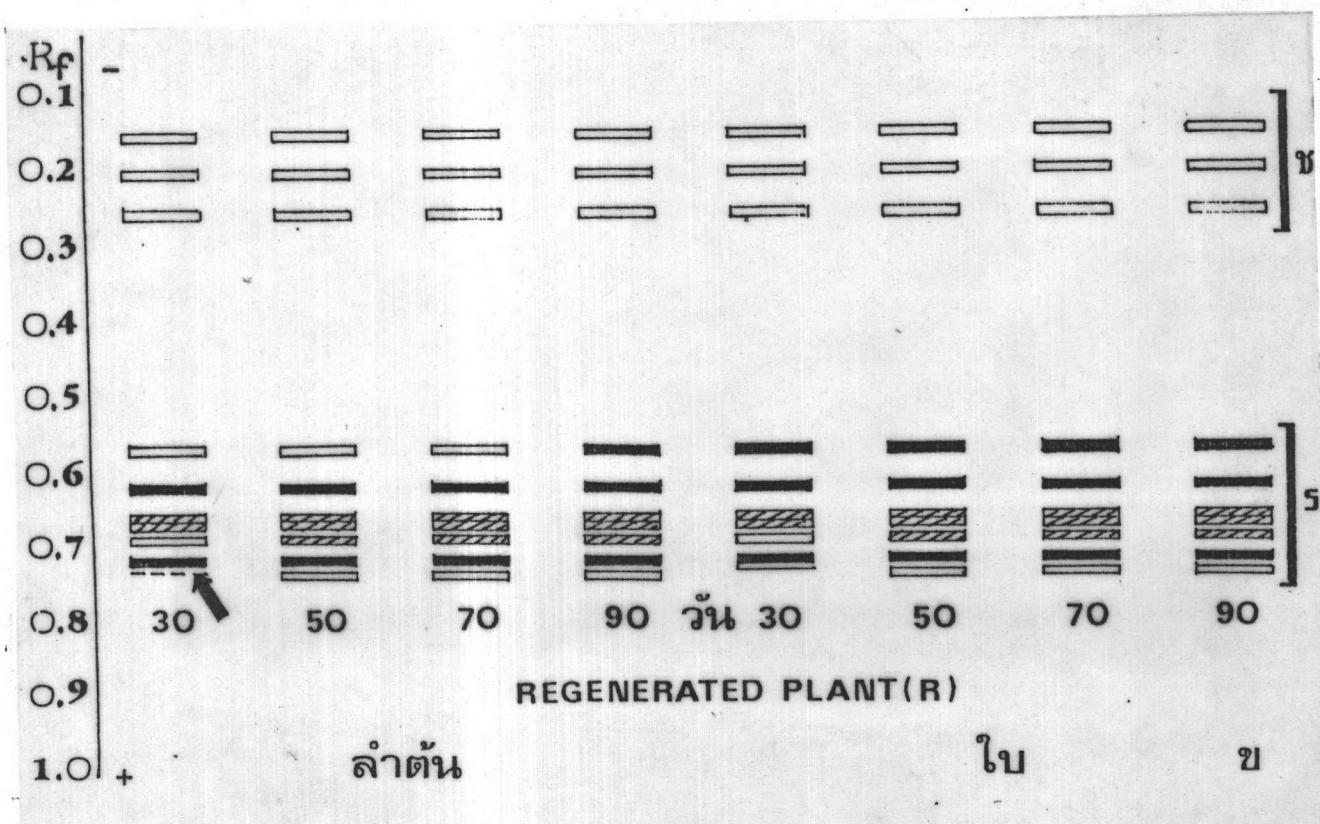
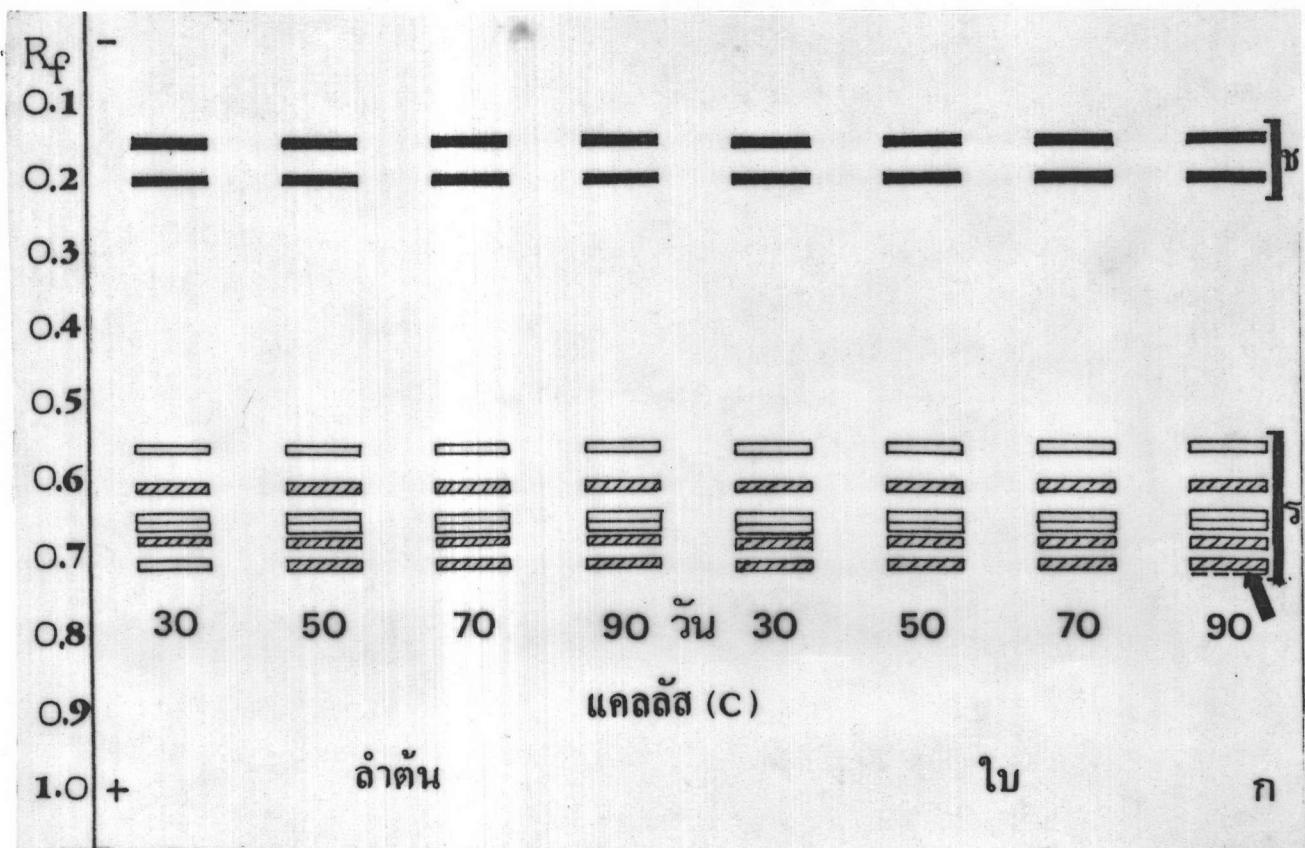
2.2.1.3 รูปแบบเปอร์ออกซิเดส ไอ ไซ ไซม์ของ subcultured ของแคลลัส

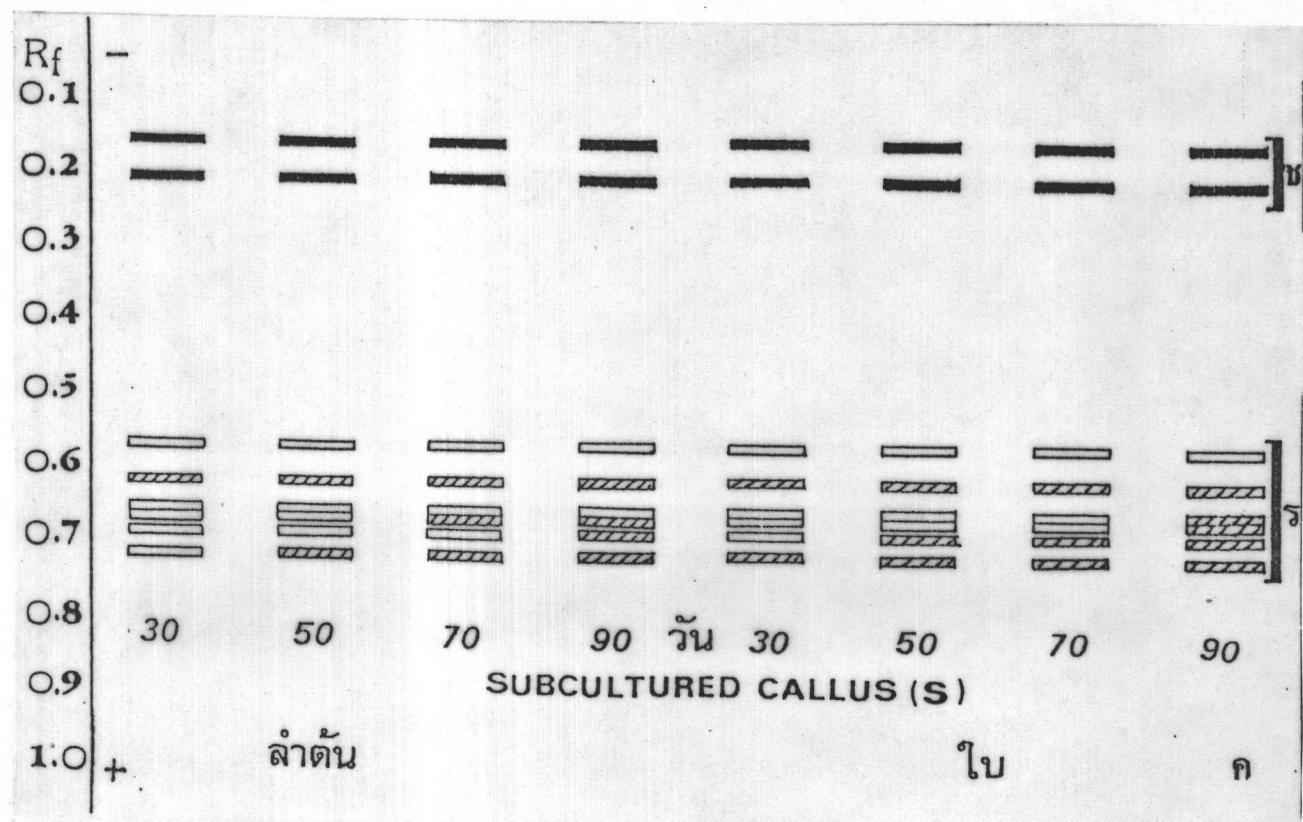
subcultured ของแคลลัสที่ซักน้ำจากส่วนล่างลักษณะในของยาสูบที่เลี้ยงในอาหารเป็นเวลานาน 30, 50, 70 และ 90 วัน เพื่อศึกษาถึงความแตกต่างและความคงที่ของรูปแบบเปอร์ออกซิเดส ไอ ไซ ไซม์ของแคลลัสที่ไม่ได้ผ่านการ subcultured ในข้อ 2.2.1.1 กับแคลลัสที่ผ่านการ subcultured ก่อนนำยั่งอาหาร เมื่อนำ subcultured ของแคลลัสที่อายุตั้งกล่าวมาศึกษารูปแบบเปอร์ออกซิเดส ไอ ไซ ไซม์พบว่า subcultured ของแคลลัส ในกลุ่มเดียวกันที่ซักน้ำจากส่วนล่างล่างและในของยาสูบจะให้รูปแบบ ไอ ไซ ไซม์ที่คล้ายคลึงกัน โดยมีการเคลื่อนที่ของ ไอ ไซ ไซม์แบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม และอยู่ในตำแหน่งเดียวกับรูปแบบ ไอ ไซ ไซม์ของแคลลัสในข้อ 2.2.1.1 ดังแสดงในแผนภาพที่ 10 จากแผนภาพนั้นพบว่า subcultured ของแคลลัสที่เลี้ยงเป็นระยะเวลาต่าง ๆ กัน จะมีการแปรรูปในจำนวนและความเข้มของแกบในบางช้า เช่นเดียวกับที่พบในแคลลัส

เมื่อเปรียบเทียบรูปแบบเปอร์ออกซิเดส ไอ ไซ ไซม์ของแคลลัส regenerated plant และ subcultured ของแคลลัส ดังแสดงในแผนภาพที่ 11 พบว่า รูปแบบ ไอ ไซ ไซม์ที่ได้จากการแคลลัส และ subcultured ของแคลลัส ให้รูปแบบที่คล้ายคลึงกันมาก โดยอยู่ในช่วง R_f 0.14-0.70 และมีจำนวนแกบท่างกัน (แต่ในบางช้า ไอ ไซ ไซม์ในกลุ่มเคลื่อนที่เร็วของทั้งแคลลัสและ subcultured callus มีจำนวนแกบไม่

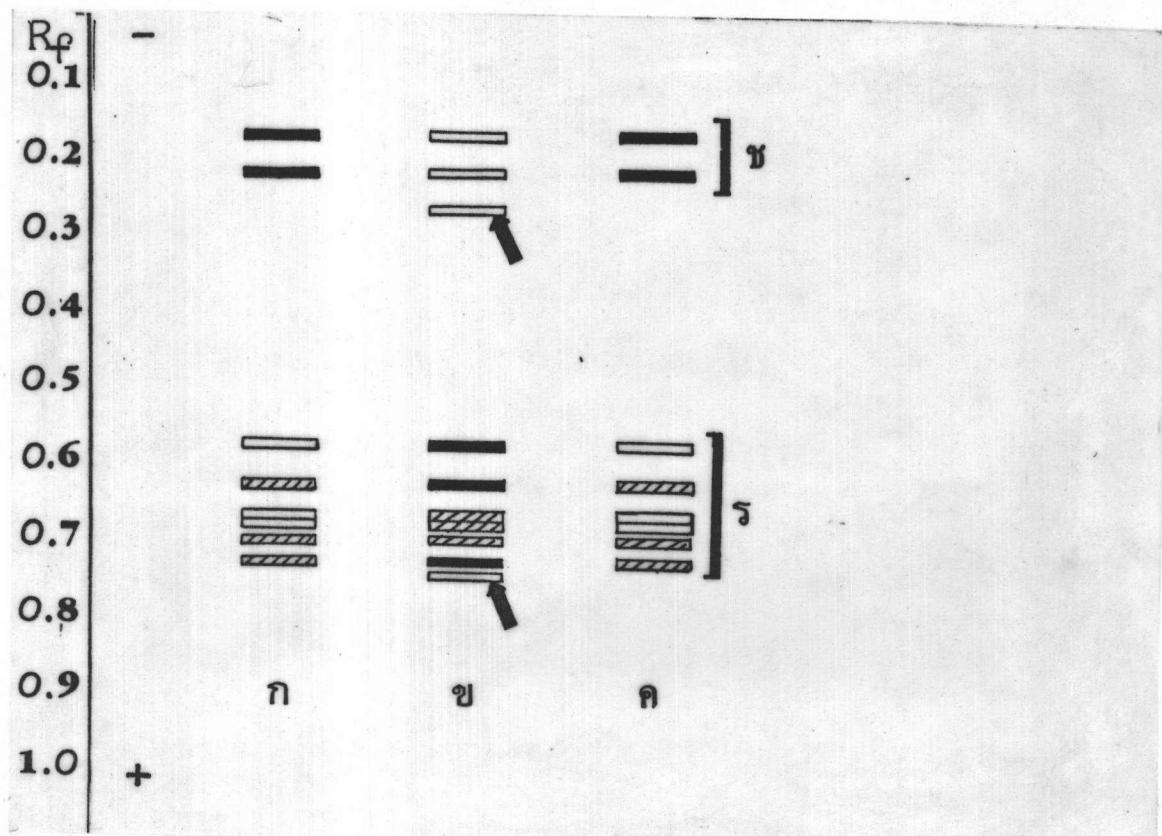
สมำเสນօ บางແບບขาดหายໄປ ແລະ ເມື່ອເກີດ regenerated plant ແບທ້່ຫຍ່ໄປ ກີຈະ
ປາກງູ້ຂຶ້ນ ແລະ ມີຄວາມເພີ່ມສູງກວ່າ ແຄລັສດ້ວຍ) ຈະເຫັນໄດ້ວ່າ ແຄລັສທີ່ຜ່ານການ
subcultured ລົງໃນອາຫາຣໃໝ່ກັບ ແຄລັສທີ່ໄໝໄດ້ຜ່ານການ subcultured ໃຫ້ຮູບແບບ
ໄອໂຈໄໝ໌ໄໝແຕກຕ່າງກັນ ແລະ ຄ່ອນຂ້າງຄົງທີ່ໃນ subcultured ຂອງ ແຄລັສແຕ່ລະກຸມ ແຕ່
ຮູບແບບເປົ້ອງອົກຊີເດສໄອ ໄອໂຈໄໝ໌ຂອງ regenerated plant ຈະແຕກຕ່າງອອກໄປ ກລ່າວິວ
ໃນກຸມເຄລື່ອນທີ່ຂ້າໄອໂຈໄໝ໌ຂອງ regenerated plant ມີຄ່າ $R_f = 0.14-0.24$ ມີຈຳນວນ
3 ແບ ໂດຍມີແບບທີ່ $R_f = 0.24$ ເພີ່ມຂໍ້ມາ ແລະ ແບທີ່ 3 ມີຄວາມເພີ່ມຕ່າງ ໃນຂະໜາດທີ່ ແຄລັສ
ແລະ subcultured ຂອງ ແຄລັສ ໃຫ້ຈຳນວນແບບ 2 ແບ ມີຄວາມເພີ່ມຂອງແບບສູງ ໃນກຸມ
ເຄລື່ອນທີ່ເຮົວ ມີຄ່າ $R_f = 0.55-0.72$ ມີຈຳນວນແບບ 7 ແບ ໂດຍມີແບບທີ່ $R_f = 0.72$ ເພີ່ມຂໍ້ມາ
ແລະ ອານຸມາດເພີ່ມຂອງໄອໂຈໄໝ໌ກຸມເຄລື່ອນທີ່ເຮົວຂອງ regenerated plant ມີຄວາມເພີ່ມສູງກວ່າ
ໄອໂຈໄໝ໌ຈາກ ແຄລັສ ແລະ subcultured ຂອງ ແຄລັສ ທີ່ມີຈຳນວນແບບ ໃນກຸມເຄລື່ອນທີ່ເຮົວ
ເພີ່ມ 6 ແບ ອານຸມາດເພີ່ມຂໍ້ມາ ດັ່ງເກີດຄວາມແຕກຕ່າງຈາກແນ່າພັກທີ່ 11 ໃນບັນຫາຂອງ
ແຄລັສ ແລະ subcultured ຂອງ ແຄລັສພບແບບທີ່ $R_f = 0.72$ ເພີ່ມຂໍ້ມາ ໃນອານຸມາດເພີ່ມຕ່າງ
ຄໍາຢັກກັບທີ່ພບໃນ regenerated plant ດ້ວຍ ທີ່ມີແຄລັສ ແລະ subcultured ຂອງ ແຄລັສທີ່ມີ
ແບບສີ ເພີ່ມຂໍ້ມານີ້ ຕ້ອມາກີມການພັດທະນາ ໄທັນໃນເວລາອັນຈາກເຮົວ

ເນື່ອນ້າອາຫາຣສູຕຽກນາມ ແຄລັສຂອງ ຍາສູບ *N. rustica* ທີ່ເລີ່ມເປັນເວລາ 30,
50, 70 ແລະ 90 ວັນ ມາດວາຈວ່າມີການປ່ອຍເປົ້ອງອົກຊີເດສໄອ ໄອໂຈໄໝ໌ຫຼືໄໝ໌ ກີບວ່າ
ສາມາດຕຽບໄອໂຈໄໝ໌ນີ້ໃນອາຫາຣສັງເຄຣະທີ່ໃຊ້ເລີ່ມແຄລັສໄດ້ ແຕ່ພບ ໃນອານຸມາດເພີ່ມຂອງ
ແບບທີ່ຄ່ອນຂ້າດ້ານາກ ແຕ່ພວຈະສັງເກດ ໄດ້ວ່າຮູບແບບໄອໂຈໄໝ໌ທີ່ພບ ໃນອາຫາຣມີຮູບແບບຄໍາຢັກ
ກັບໄອໂຈໄໝ໌ທີ່ພບ ໃນແຄລັສ ແລະ ພບວ່າຈຳນວນແບບ ແລະ ອານຸມາດເພີ່ມຕ່າງ ແບບເປົ້ອງອົກຊີເດສ
ໄອໂຈໄໝ໌ຈະຄ່ອຍ ၁ ເພີ່ມຂໍ້ມື່ອ ແຄລັສມີອາຍຸມາກັ້ນ ດັ່ງແສດງ ໃນແນ່າພັກທີ່ 12





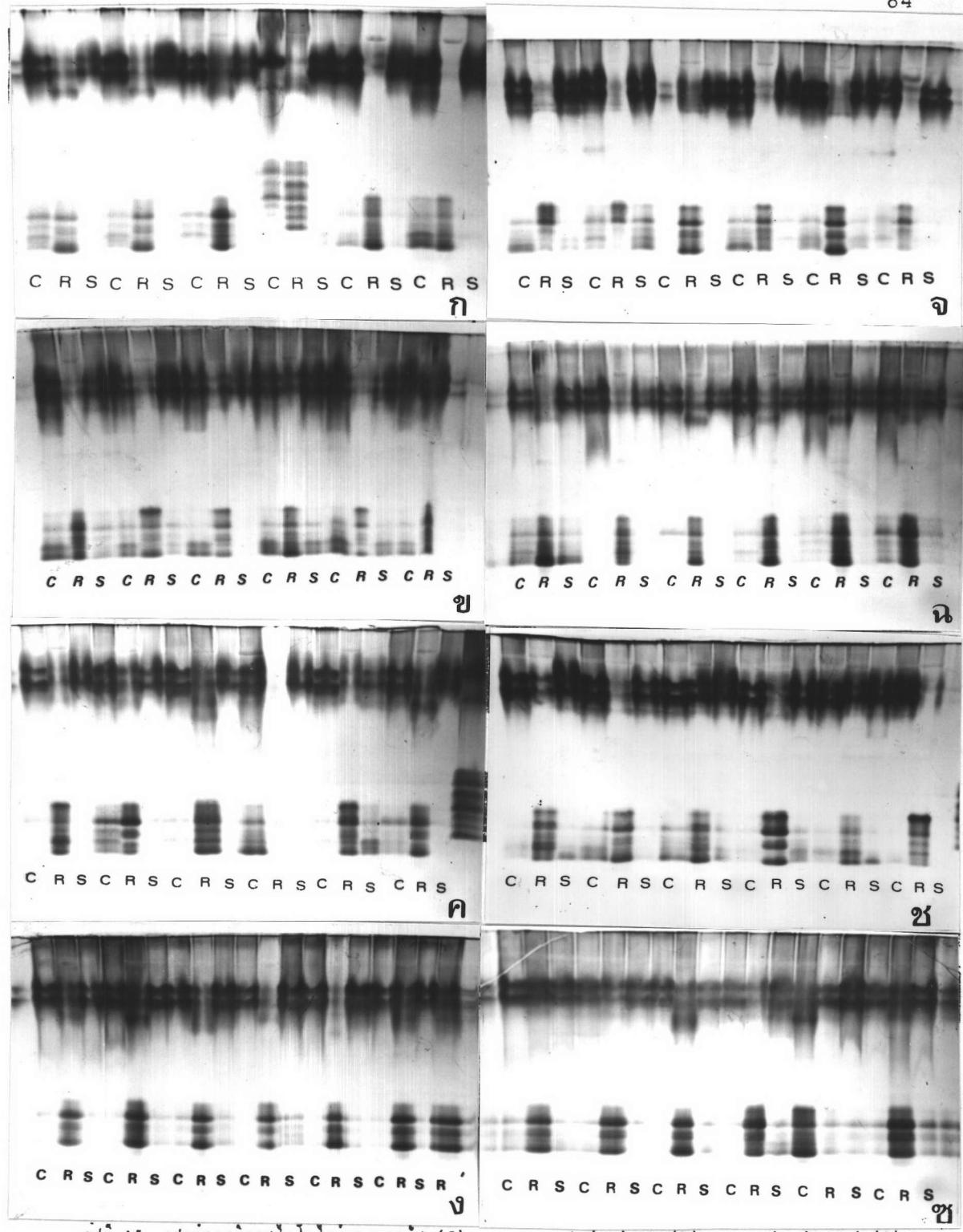
แผนภารที่ 10 Zymogram ของเบื้องต้นของไบโอดีเจนิค (C), regenerated plant (R) และ subcultured (S) ของเซลล์ที่เกิดจากส่วนรากและส่วนใบของ *N. rustica* ที่รักษาในอุปกรณ์ MS. (1962) ที่เติม IAA และไครอนีน เพื่อเรี้ยงเป็นเวลาหนา 30, 50, 70 และ 90 วัน รูปแบบไบโอดีเจนิคสามารถแบ่งพากค่า R_f เป็น 2 กลุ่มคือกลุ่มเคลื่อนที่ช้า (L.) และเร็ว (R.)
 ก. รูปแบบไบโอดีเจนิคของ C สำหรับเซลล์ส่วนใบที่อายุ 90 วัน มีค่า $R_f = 0.72$ เพียงชิ้น (ลูกศรชี้)
 ข. รูปแบบไบโอดีเจนิคของ R ค่า $R_f = 0.72$ (ลูกศรชี้) มีความเข้มเทียบเท่ากับ R อย่างมาก
 ค. รูปแบบไบโอดีเจนิคของ S



แผนภารที่ 11 Zymogram เปรียบเทียบรูปแบบเบื้องต้นกับเมล็ดไวไฟที่แยกกลับ (C), regenerated plant (R) และ subcultured (S) ของแคลลัส *N. rustica* รูปแบบไวไฟที่สามารถแบ่งตามค่า Rf ได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มเคลื่อนที่ช้า (ช.) และเร็ว (ร.)

ก. และ ค. รูปแบบไวไฟที่ของ C และ S ตามลำดับ ໄລไวไฟที่ในกลุ่มเคลื่อนที่ช้ามีความเข้มสูงมีจำนวน 2 แบบ

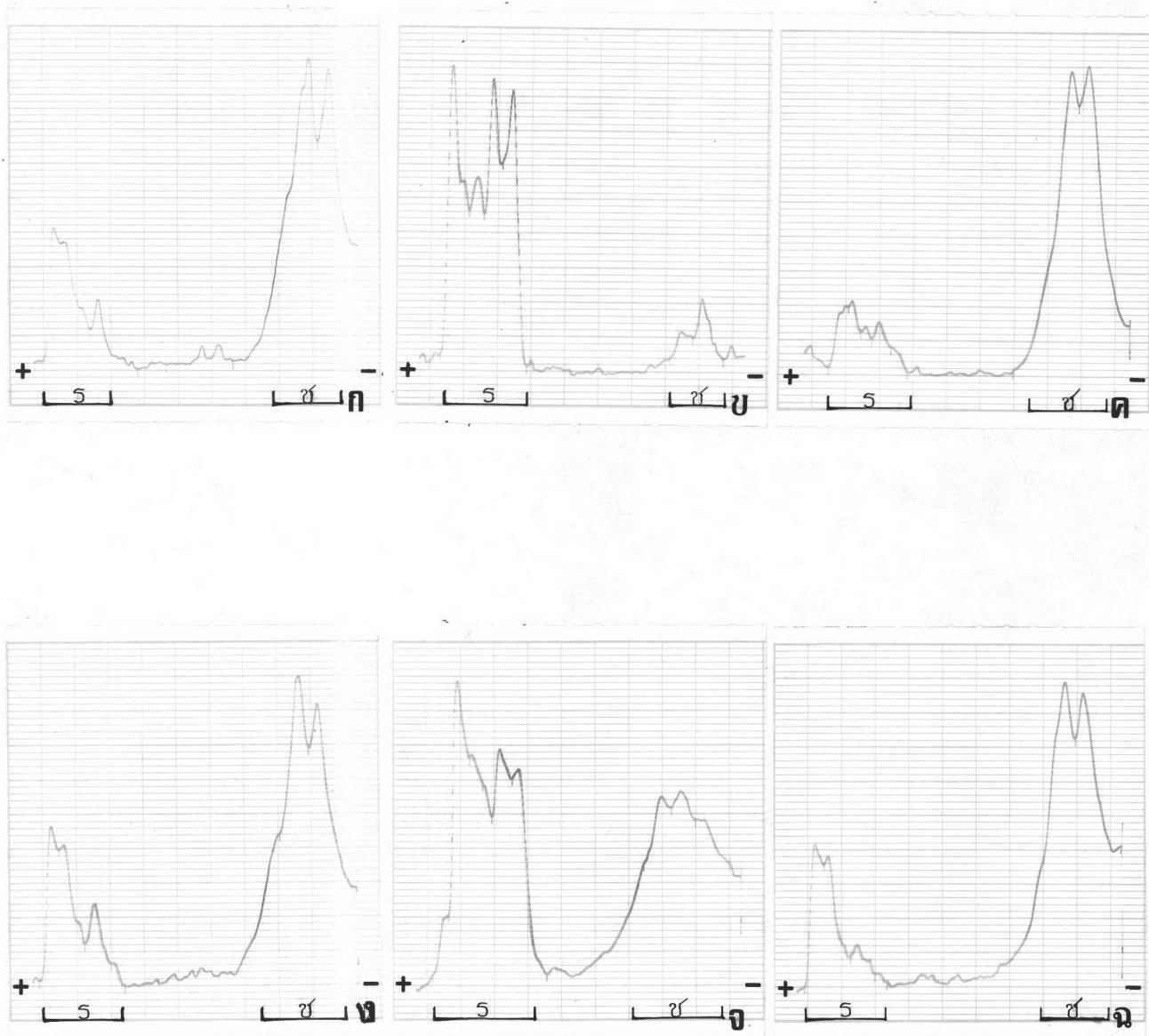
1. รูปแบบไวไฟที่ของ R ໄລไวไฟที่ในกลุ่มเคลื่อนที่เร็วมีความเข้มต่ำ มีจำนวน 3 แบบ โดยมีค่าที่ Rf 0.24 เที่ยวนาน (ลูกศรชี้) และໄລไวไฟที่ในกลุ่มเคลื่อนที่เร็วมีความเข้มสูง และมีค่าที่ Rf 0.72 เที่ยวนาน (ลูกศรฟัน)



รูปที่ 15 เมื่อต่อเกลือดไว้ในพืชต้นหน่อหัว (C), regenerated plant (R) และ subcultured (S) ของพันธุ์ *N. rustica* ที่เพาะในภาชนะราก MS. (1962) ตั้งแต่ 1 ถึง 1.9 มม./ล. และ ไนโตรเจน 0.5 มม./ล.

ก-1 รูปแบบไว้ในพืช C, R และ S ของต่อเกลือดที่เพาะจากต้นหน่อหัวเมื่อต่อไว้ตั้งแต่ 30, 50, 70 และ 90 วัน ภายนอกดับ

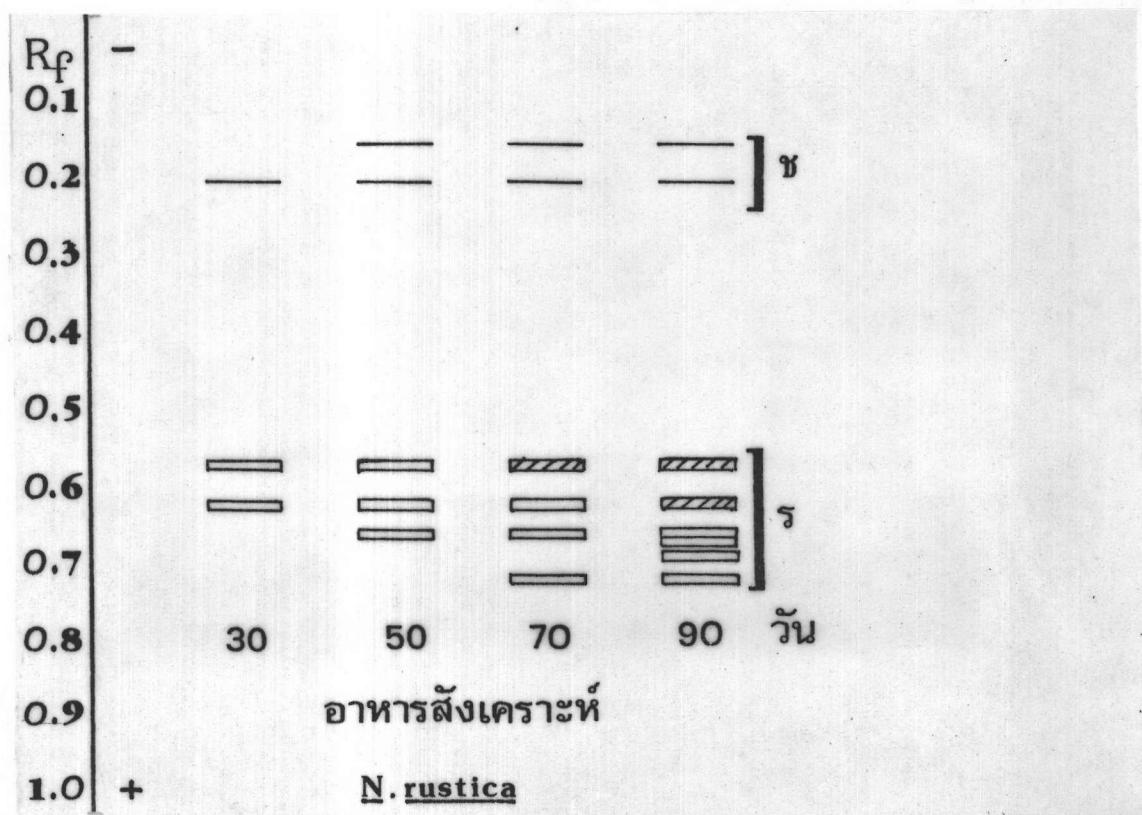
ก-2 รูปแบบไว้ในพืช C, R และ S ของต่อเกลือดที่เพาะจากต้นไว้เพื่อต่อไว้ตั้งแต่ 30, 50, 70 และ 90 วัน ภายนอกดับ



กราฟที่ ๕ ความเร้นและจำนวนเม็ดของเปอร์ออกซิเดตไออกไซด์ไออกไซด์ (C), regenerated plant (R) และ subcultured (S) ของเซลล์ *N. rustica* ที่รักษาจากส่วนรากหัวแมลงใน ญี่ปุ่นและไออกไซด์ สามารถแยกความแตกต่างในระดับทางการเคลื่อนที่ของเม็ดเป็น 2 กลุ่มคือกลุ่มเคลื่อนที่ร้า (S.) และ เคลื่อนที่เร็ว (R.)

ก-๘ ความเร้นและจำนวนเม็ดของไออกไซด์ C, R และ S ที่รักษาจากส่วนรากหัวแมลง

ก-๙ ความเร้นและจำนวนเม็ดของไออกไซด์ C, R และ S ที่รักษาจากส่วนรากหัวแมลง



แผนกานที่ 12 Zymogram ของเบื้องต้นของการสังเคราะห์ที่ใช้เบื้องต้น *N. rustica* เมื่อเบื้องต้นนาน 30, 50, 70 และ 90 วัน รูปแบบໄสโซไฟโนฟาร์มเป็นพากค่า Rf ได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มเบล็อกที่ร้า (ช.) และกลุ่มเบล็อกที่เร็ว (ร.) ซึ่งแสดงเห็นว่าความเข้มของเบื้องต้น ໄสโซไฟโนฟาร์มในอาหารที่ใช้เบื้องต้นนานขึ้น

2.2.2 เปรียบเทียบรูปแบบเบอร์ออกซิเดส ไอโซไซด์ของแคลลัส *N. rustica* อายุ 10 วัน เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS. (1962) ที่เติม IAA 1.9 มก./ล. และไคเนติน 0.5 มก./ล. กับรูปแบบเบอร์ออกซิเดส ไอโซไซด์ของ แคลลัสที่เลี้ยงในอาหารที่เติม 2,4-D แทน IAA

แคลลัสของยาสูบ *N. rustica* ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS. (1962) ที่เติม IAA 1.9 มก./ล. และไคเนติน 0.5 มก./ล. สามารถจำแนก แคลลัสได้เป็น 3 กลุ่มตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา เมื่อนำแคลลัสทั้ง 3 กลุ่มนี้มาเปรียบเทียบ รูปแบบเบอร์ออกซิเดส ไอโซไซด์ พบร่วมสามารถแบ่งไอโซไซด์ตามการเคลื่อนที่ได้เป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มเคลื่อนที่ช้า มีค่า Rf อยู่ระหว่าง 0.14-0.19 มีจำนวน 2 แบบ ความเข้มสูง กลุ่มเคลื่อนที่ปานกลาง มีค่า Rf อยู่ระหว่าง 0.30-0.40 มีจำนวน 2 แบบ (พบเฉพาะใน แคลลัสกลุ่มที่ 1 มีความเข้มต่ำ) และกลุ่มเคลื่อนที่เร็ว มีค่า Rf อยู่ระหว่าง 0.55-0.70 มีจำนวนแบบ 2-6 แบบ ดังแสดงในแผนภาพที่ 13

แคลลัสทั้ง 3 กลุ่มนี้ ให้รูปแบบเบอร์ออกซิเดส ไอโซไซด์ที่แตกต่างกันในจำนวนและความเข้มของแบบ กล่าวคือ ในแคลลัสกลุ่มที่ 1 จะพบแบบ ไอโซไซด์ ที่เคลื่อนที่ปานกลาง ในความเข้มต่ำ ในขณะที่ตรวจไม่พบในแคลลัสกลุ่มที่ 2 และ 3 อีกทั้ง ความเข้มของ ไอโซไซด์ในกลุ่มเคลื่อนที่เร็วของแคลลัสกลุ่มที่ 1 และ 3 จะสูงกว่าความเข้ม ของ ไอโซไซด์ของแคลลัสกลุ่มที่ 2 เมื่อเลี้ยงต่อไป แคลลัสในกลุ่มที่ 1 และ 3 จะมี เปอร์เซนต์การเกิด regenerated plant สูงกว่าแคลลัสกลุ่มที่ 2 ด้วย ตั้งนี้เปรียบ ความเข้มและจำนวนแบบของเบอร์ออกซิเดส ไอโซไซด์น่าจะเป็นปฏิกิริยาโดยตรงกับเปอร์เซนต์ การเกิด regenerated plant ส่วนแคลลัส *N. rustica* ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS. (1962) ที่เติม 2,4-D แทน IAA ที่สามารถจำแนกแคลลัสได้เป็น 2 กลุ่มตามลักษณะทาง สัณฐานวิทยา เมื่อนำแคลลัสทั้ง 2 กลุ่มนี้มาศึกษาเปรียบเทียบรูปแบบเบอร์ออกซิเดส ไอโซไซด์ พบร่วมสามารถแบ่งกลุ่ม ไอโซไซด์ตามการเคลื่อนที่ได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มเคลื่อนที่ช้ามีค่า Rf 0.14-0.19 มีจำนวน 2 แบบ มีความเข้มสูงมาก และกลุ่มเคลื่อนที่เร็วมีค่า Rf

0.55-0.70 มิลลิเมตร 3-6 แผ่น โดยมีความแตกต่างของเบอร์ออกซิเดส ไอโซไซด์กลุ่ม เคลื่อนที่เร็ว ในแคลลัสทั้ง 2 กลุ่มนี้ คือ แคลลัสกลุ่มที่ 1 มีจำนวนแอบน้อยกว่า แคลลัสกลุ่มที่ 2

เมื่อนำแคลลัสจากอาหารที่เติม IAA กับที่เติม 2,4-D แทน IAA น้ำยาเลี้ยง ต่อไปพบว่า ให้ผลไปในทันต่อเดียวกัน คือ แคลลัสในกลุ่มที่มีเบอร์ออกซิเดส ไอโซไซด์กลุ่ม เคลื่อนที่เร็ว มีความเข้มสูงและจำนวนแอบมาก จะมีการพัฒนาให้เปอร์เซนต์การเกิด regenerated plant สูงกว่า (เช่น แคลลัสในกลุ่มที่ 1 และ 3 ในอาหารที่เติม IAA และแคลลัสกลุ่มที่ 2 ของแคลลัสที่เลี้ยงในอาหารที่เติม 2,4-D) แคลลัสในกลุ่มที่มีเบอร์ออกซิเดส ไอโซไซด์ความเข้มต่ำและมีจำนวนแอบน้อยกว่า ตั้งแสดงในผลการศึกษา การเลี้ยงเนื้อเยื่อ (ตารางที่ 13 และ 15) เมื่อเปรียบเทียบแคลลัสที่เลี้ยงในอาหารทั้ง 2 ชนิดให้รูปแบบ เปอร์ออกซิเดส ไอโซไซด์ปรากฏในตานแห่งเดียวกัน แต่ความเข้มของแอบในกลุ่ม เคลื่อนที่เร็วจะแตกต่างกัน โดยที่แคลลัสที่เลี้ยงในอาหารที่เติม IAA จะมีความเข้มและจำนวนแอบ สูงกว่า แคลลัสที่เลี้ยงในอาหารที่เติม 2,4-D และแคลลัสที่เลี้ยงในอาหารที่เติม IAA ให้เปอร์เซนต์การเกิด regenerated plant สูงกว่า แคลลัสที่เลี้ยงในอาหารที่เติม 2,4-D ตั้งกล่าวแล้ว ในผลการศึกษาการเลี้ยงเนื้อเยื่อยาสูบ (ตารางที่ 16)

2.2.3 เปรียบเทียบรูปแบบ เปอร์ออกซิเดส ไอโซไซด์จากส่วน

ลำต้นและส่วนใบของ *N. rustica* ที่ปลูกในสภาพ

แวดล้อมภายนอกกับยาสูบที่เพาะในอาหารสังเคราะห์

และมีการควบคุมสภาพแวดล้อมเมื่อยาสูบมีอายุ

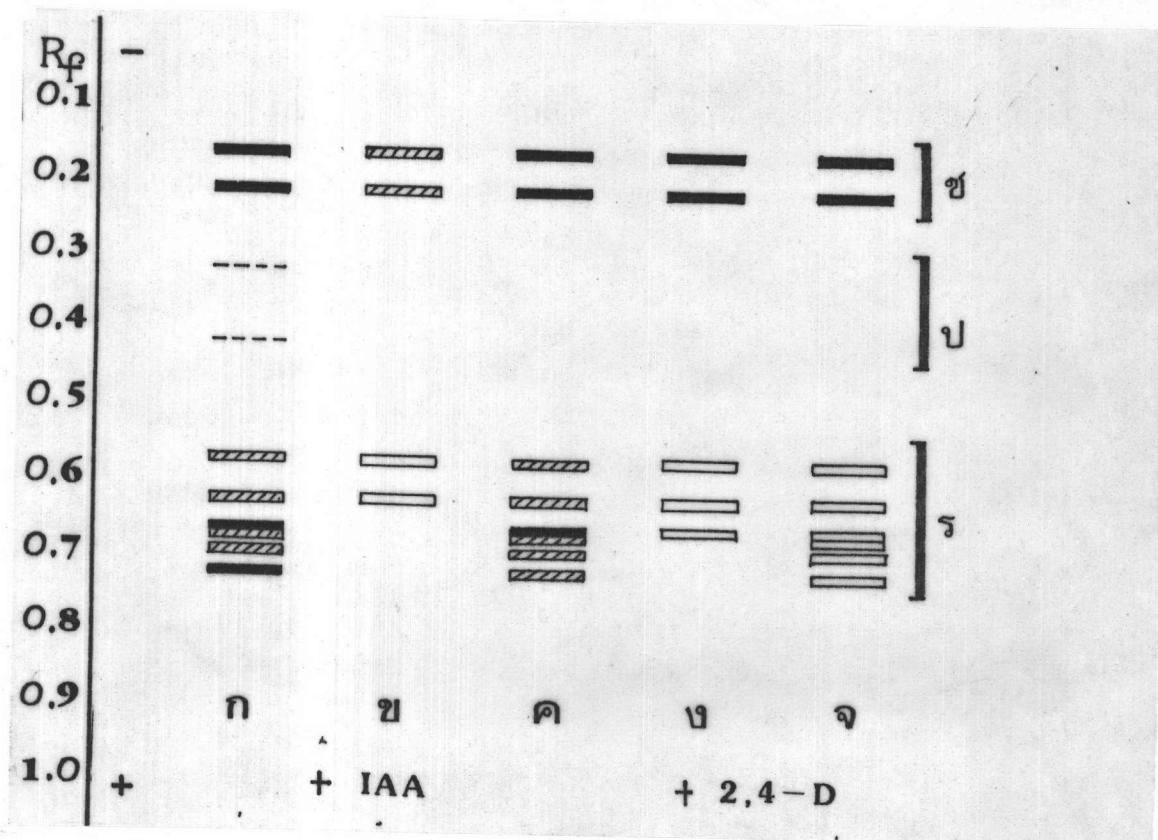
30, 50, 70 และ 90 วัน

2.2.3.1 รูปแบบ เปอร์ออกซิเดส ไอโซไซด์จากส่วน

ลำต้นของยาสูบ

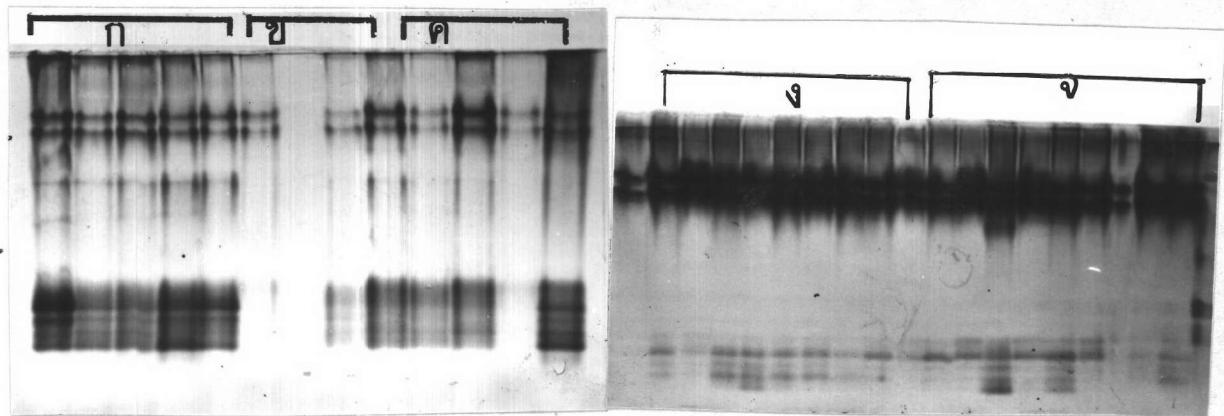
นำส่วนลำต้นของยาสูบ *N. rustica* ที่ปลูก

ในสภาพแวดล้อมภายนอก โดยไม่มีการควบคุมสภาพแวดล้อม แต่รดน้ำและให้ปุ๋ยสม่ำเสมอและ ต้นยาสูบที่เพาะในอาหารสังเคราะห์ MS. (1962) ที่มีการควบคุมสภาพแวดล้อมขณะเลี้ยงให้



- แผนภาพที่ 13 Zymogram เปรียบเทียบรูปแบบเบื้องต้นของรากในพืช N. *rustica* เนื่องจากเพิ่มฮอร์โมนเจริญเติบโตในอัตราที่เดิน 1, 2, 4-D และเพิ่มฮอร์โมนเจริญเติบโตในอัตราที่เดิน IAA ตามลำดับ รูปแบบไม่ใช่ไข่ในกรณีของรากกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 ที่ซึ่งนำไปในอัตราที่เดิน IAA ตามลำดับ รูปแบบไม่ใช่ไข่ สำหรับรากกลุ่มที่ 1 ให้เป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มเคลื่อนที่ช้า (η.), ปานกลาง (γ.) ชี้เฉพาะกลุ่มที่ 1) และเร็ว (ε.)
- 4 และ 5 รูปแบบไม่ใช่ไข่ในกรณีของรากกลุ่มที่ 1 และ 2 ที่ซึ่งนำไปในอัตราสูตรที่เดิน 2,4-D ตามลำดับ รูปแบบไม่ใช่ไข่ในกรณีของรากกลุ่มที่ 1 ให้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มเคลื่อนที่ช้า (η.) และเร็ว (ε.)

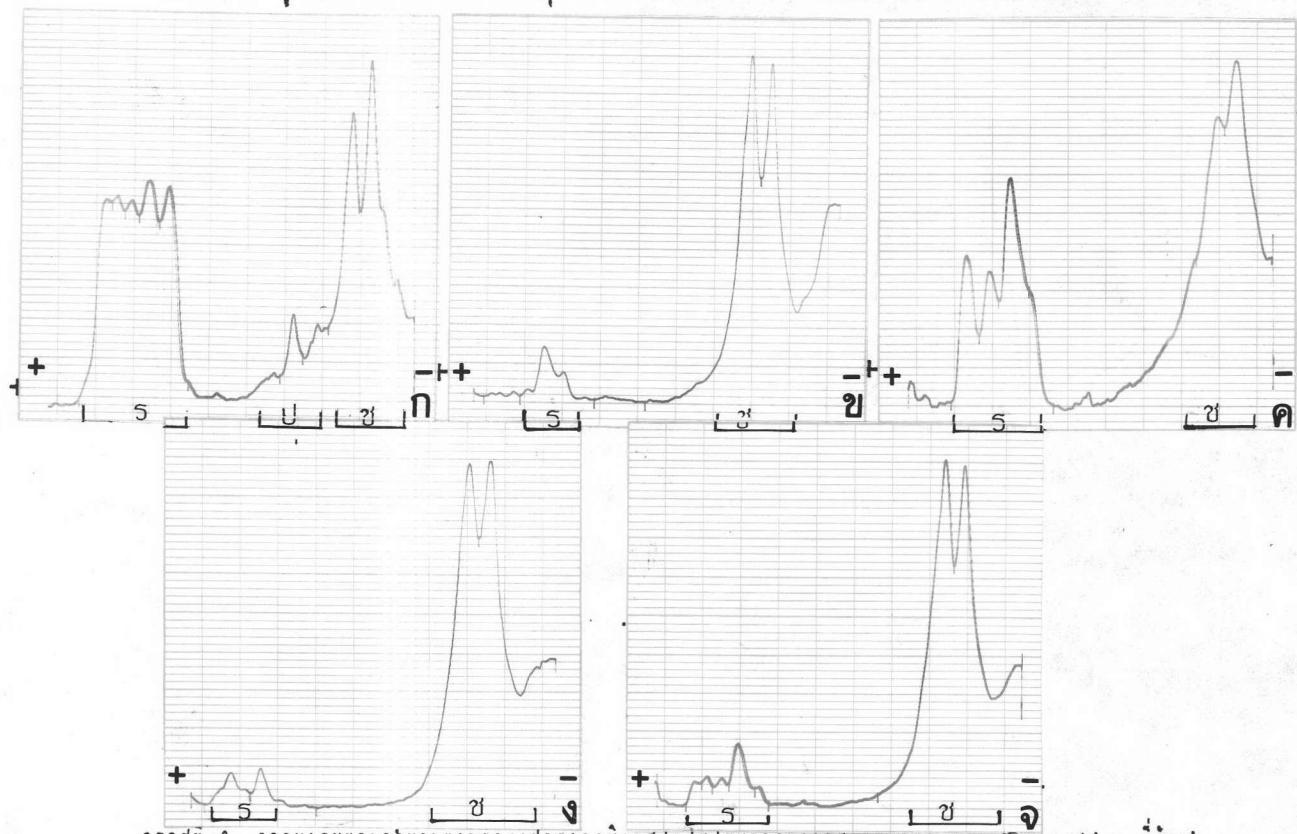
ความเร็วของไข่ไข่ในกลุ่มเคลื่อนที่เร็วของรากกลุ่มที่ซึ่งนำไปในอัตราที่เดิน IAA (โดยเฉพาะกลุ่มที่ 1 และ 3) จะมีความเร็วสูงกว่าและกลุ่มที่ซึ่งนำไปในอัตราที่เดิน 2,4-D



รูปที่ 16 เผาตัวอย่างเมล็ดไถไห่ไห่ฟูงนองและไถ *N. rustica*

ก แสดง ไถ รูปแบบไถไห่ไห่ฟูงนองและไถกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 ที่รักษาในความเร็วเดียวกัน IAA ทางคลื่น

ก แสดง ไถ รูปแบบไถไห่ไห่ฟูงนองและไถกลุ่มที่ 1 และ 2 ที่รักษาในความเร็ว 2,4-D ทางคลื่น



กราฟที่ 6 ความเข้มของจานวนเมล็ดของเมล็ดออกซิเจนไนท์จากเมล็ดของ *N. rustica* ที่รักษาในความเร็วเดียวกัน IAA กับความเร็ว 2,4-D

ก-ก ความเข้มและจานวนเมล็ดของไถไห่ไห่ฟูงนองและไถกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 ที่รักษาในความเร็วเดียวกัน IAA

ก-ก ความเข้มและจานวนเมล็ดของไถไห่ไห่ฟูงนองและไถกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 ที่รักษาในความเร็วเดียวกัน IAA ทางคลื่น รูปแบบไถไห่ไห่ฟูงนองและไถกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 ที่รักษาในความเร็วเดียวกัน IAA ทางคลื่น คือ กลุ่มเคลื่อนที่ร้า (ร.) ปานกลาง (ป. ข) และเร็ว (ร.)

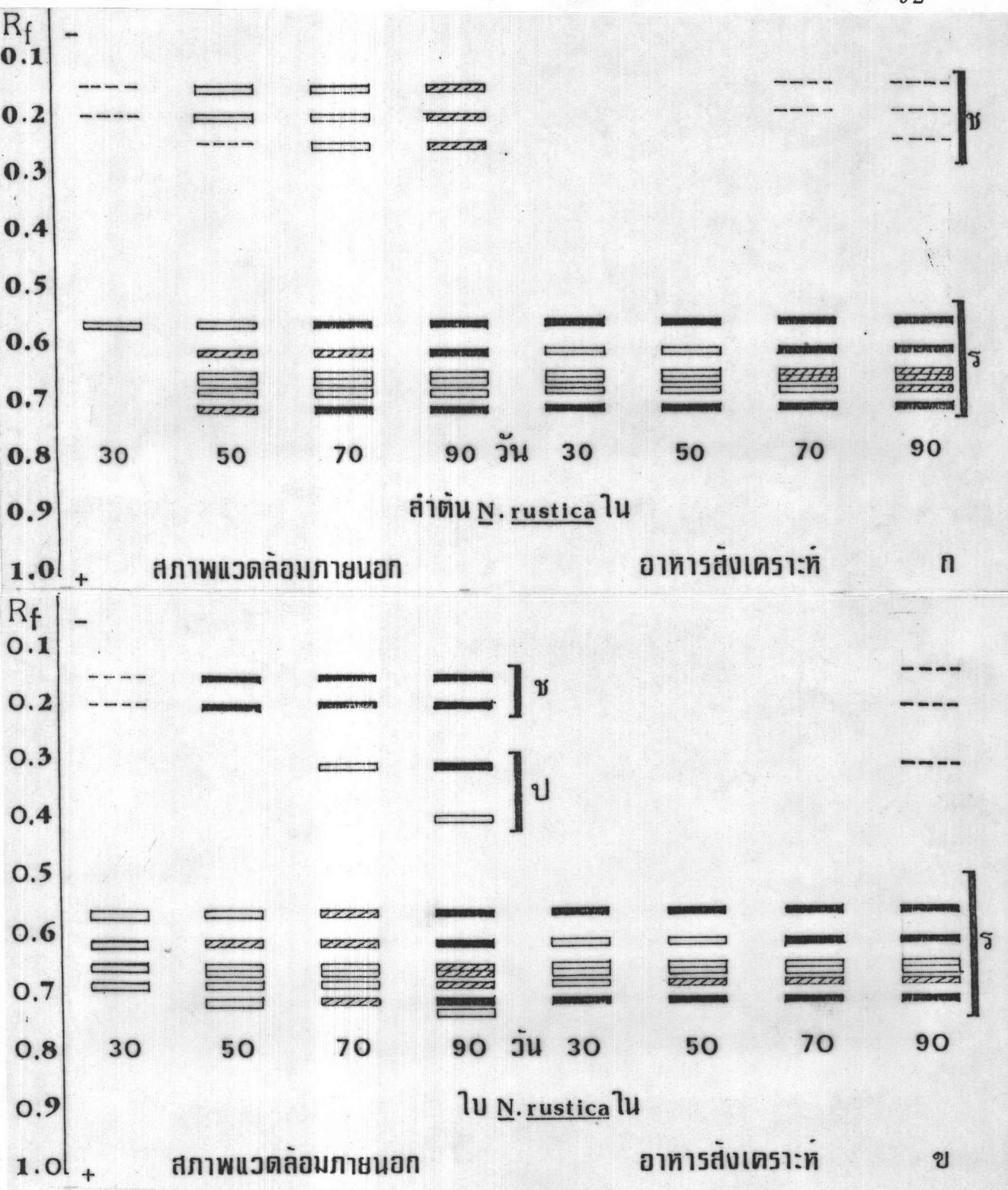
ก-ก ความเข้มและจานวนเมล็ดของไถไห่ไห่ฟูงนองและไถกลุ่มที่ 1 และ 2 ที่รักษาในความเร็วเดียวกัน 2,4-D

ก-ก ความเข้มและจานวนเมล็ดของไถไห่ไห่ฟูงนองและไถกลุ่มที่ 1 และ 2 ที่รักษาในความเร็วเดียวกัน 2,4-D ทางคลื่น คือ กลุ่มเคลื่อนที่ร้า (ร.) และเร็ว (ร.)

คงที่ เช่นเดียวกับยาสูบ *N. tabacum* ในข้อ 2.1.3.1 มาศึกษารูปแบบเบอร์ออกซิเดส ไอโซไซด์ พบว่ารูปแบบไอโซไซด์ของลักษณ์ยาสูบที่ปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก เมื่อยาสูบอายุน้อย (30, 50 วัน) จะให้จำนวนแเกบน้อยไม่คงที่และไม่ชัดเจน เมื่อยาสูบอายุมากขึ้น จำนวนแเกบจะคงที่ขึ้น และมีความเข้มสูงขึ้นเห็นได้ชัดเจน และพบแเกบสีในกลุ่มเคลื่อนที่ช้า ปรากฏในความเข้มที่ค่อนข้างสูง ขณะที่รูปแบบเบอร์ออกซิเดส ไอโซไซด์ของยาสูบที่เพาะในอาหารสังเคราะห์ที่ควบคุมสภาพแวดล้อม จะให้จำนวนไอโซไซด์กลุ่มเคลื่อนที่เร็ว คงที่ ตั้งแต่ยาสูบอายุยังน้อย พบแเกบสีในกลุ่มเคลื่อนที่ช้าปรากฏในความเข้มที่ต่ำมาก และตรวจสอบได้ เฉพาะในลักษณ์ยาสูบที่มีอายุมาก (70 และ 90 วัน) ดังแสดงในแผนภาพที่ 14

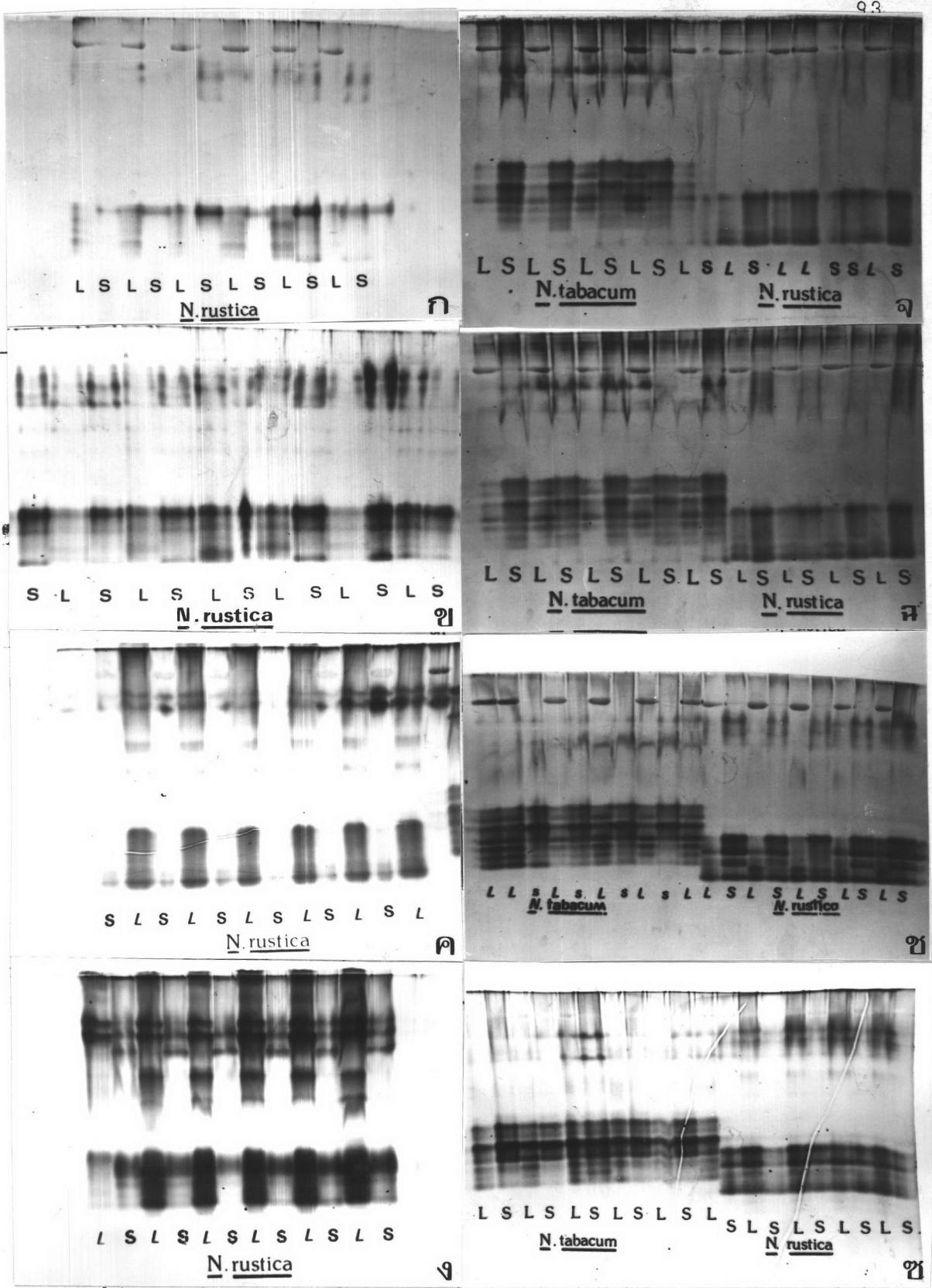
2.2.3.2 รูปแบบเบอร์ออกซิเดส ไอโซไซด์จากส่วนในของยาสูบ

นำส่วนใบของยาสูบ *N. rustica* ที่ปลูกในสภาพแวดล้อมทั้ง 2 ดังกล่าวในข้อ 2.1.3.1 มาศึกษารูปแบบเบอร์ออกซิเดส ไอโซไซด์ เมื่อยาสูบอายุได้ 30, 50, 70 และ 90 วัน พบว่ารูปแบบเบอร์ออกซิเดส ไอโซไซด์แตกต่างกัน โดยที่รูปแบบไอโซไซด์ของยาสูบที่ปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก ในใบของต้นที่มีอายุน้อย (30 วัน) จะให้แเกบที่มีสีจาง และมีจำนวนแเกบน้อยกว่า ใบของต้นที่มีอายุมากขึ้น (ตั้งแต่ 50 วันขึ้นไป) ซึ่งจะให้แเกบที่เข้มกว่า โดยจะมีจำนวนแเกบมากที่สุด ในใบของต้นที่มีอายุ 90 วัน (ซึ่งพบแเกบสีที่ $R_f = 0.72$ เพิ่มขึ้นมาในความเข้มต่ำ) และจะพบแเกบสีในกลุ่มเคลื่อนที่ช้า มีความเข้มต่ำ และพบในยาสูบที่มีอายุมากเท่านั้น ดังแสดงในแผนภาพที่ 14



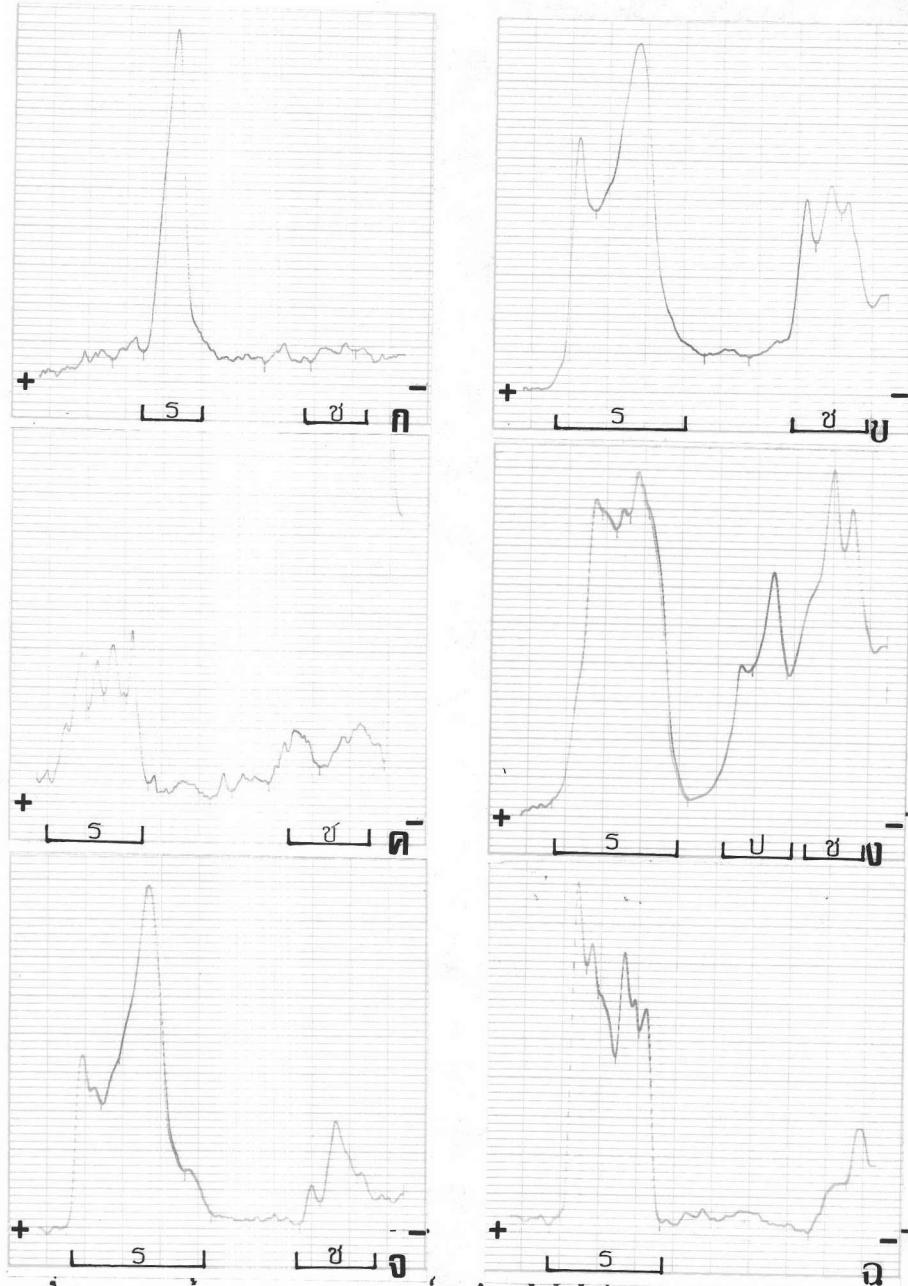
แผนภาพที่ 14 Zymogram เปรียบเทียบรูปแบบเปอร์เซอร์ฟิล์มของไข่ไก่จากส่วนตัวทั้งหมดและส่วนไขบทอง *N. rustica* ที่ปูกุอกในสภาพแวดล้อมภายนอก และที่เพาะไว้อาหารสังเคราะห์ที่ควบคุม สภาพแวดล้อมเมื่อยาสูบอาทิตย์ 30, 50, 70 และ 90 วัน

- รูปแบบใบไข่ไข่ที่จากส่วนตัวทั้น แบ่งได้เป็น 2 ก้อนคือก้อนเคลื่อนที่ซ้าย (ซ.) และขวา (ขวา)
- รูปแบบใบไข่ไข่ที่จากส่วนไข่ แบ่งได้เป็น 3 ก้อน คือ ก้อนเคลื่อนที่ซ้าย (ซ.) ปานกลาง (ป.) และ เรื้อร (ขวา)



รูปที่ 17 เผชิญสอดหัวใจไนฟ์ลง N. rustica

- ก-๑ รูปแบบไนไนฟ์จากผ่านไป (L) และกลับ (S) ของยาสูบเม็ดก่อนทำการเผาไหม้พากอน
เผาไหม้ถูกชาย 30, 50, 70 และ 90 วัน ตามลำดับ
- ก-๒ รูปแบบไนไนฟ์จากผ่านไป (L) และกลับ (S) ของยาสูบเม็ดในของการเผาไหม้เราระดับ
เผาไหม้ถูกชาย 30, 50, 70 และ 90 วัน ตามลำดับ



- กราฟที่ 7** ความเร็วและจำนวนดับของเบatsต่อวินาทีเมื่อไห้ไว้ผู้จากหัวใจหืดและไข้ในสัตว์ *N. rustica* ที่ปัก^{*} ในช่องเส้นเลือดแดงน่องอกที่อุ่น 30 และ 90 วัน กับยาสูบเพิ่มในอาหารสัตว์เคราะห์ถุง 90 วัน
- ก แสดง 1 ความเร็วและจำนวนดับໄไปไห้ไว้ผู้จากหัวใจหืดของยาสูบเพิ่มอยู่ในช่องเส้นเลือดแดงการนองอกเพิ่มยาสูบถุง 30 และ 90 วัน ทางลิ้น รูปแบบໄไปไห้ไว้ผู้บังคับอาหารระดับทางการเดินเที่ยวที่ได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มเดือนที่ร้า (ร.) และเด็ก (ร.)
- ก แสดง 2 ความเร็วและจำนวนดับໄไปไห้ไว้ผู้จากหัวใจหืดและไข้ในช่องเส้นเลือดแดงน่องอกเพิ่มยาสูบ 30 และ 90 วัน ทางลิ้น รูปแบบໄไปไห้ไว้ผู้บังคับอาหารระดับทางการเดินเที่ยวที่ได้เป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มเดือนที่ร้า (ร.) ปานกลาง (ป.) และเด็ก (ร.)
- ก แสดง 3 ความเร็วและจำนวนดับໄไปไห้ไว้ผู้จากหัวใจหืดและไข้ในช่องเส้นเลือดแดงน่องอกเพิ่มยาสูบถุง 90 วัน (เมื่อจราจรปะเปะໄไปไห้ไว้ไว้ผู้บังคับอาหารเคราะห์เพิ่มยาสูบถุง 30-90 วัน จึงหาเหตุผลเพิ่มรูปแบบໄไปไห้ไว้ของยาสูบที่อุ่น 90 วัน(หัวน้ำ)

2.2.4 เปรียบเทียบรูปแบบเบอร์ออกซิเดส ไอ ไซไซม์ของลำต้น และใบจากส่วนยอดไปยังส่วนโคนต้นภายในต้นเดียวกัน ของ N. rustica ที่ปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก เมื่อต้นเจริญเติบโต

นำต้นยาสูบ N. rustica ที่ปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกและมีสภาพสมบูรณ์มาทำการศึกษารูปแบบของเบอร์ออกซิเดส ไอ ไซไซม์ โดยทำการศึกษาเป็นส่วน ๆ ดังนี้ คือ ส่วนลำต้นและส่วนใบ ในส่วนของลำต้นศึกษาจากโคนต้นไปยังปลายยอด ส่วนของใบศึกษาตั้งแต่ใบตรงโคนต้นไปยังใบที่ปลายยอด ผลการศึกษามีดังต่อไปนี้

2.2.4.1 รูปแบบเบอร์ออกซิเดส ไอ ไซไซม์ที่ได้จากการศึกษาส่วนลำต้นของยาสูบ

ลำต้นบริเวณส่วนยอดจะเป็นลำต้นอ่อนและค่อย ๆ แข็งขึ้นจนเมื่อไม่บริเวณโคนต้น ซึ่งจะให้รูปแบบของไอ ไซไซม์ดังแผนภาพที่ 15 จากแผนภาพนี้ พบว่ารูปแบบเบอร์ออกซิเดส ไอ ไซไซม์ที่ได้จากการศึกษาส่วนลำต้น มีการเคลื่อนที่แบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม ตามค่า R_f คือกลุ่มเคลื่อนที่ช้า มีค่า R_f 0.14-0.24 มีจำนวนແກบ 3 ແກບ และกลุ่มเคลื่อนที่เร็ว มีค่า R_f 0.55-0.70 มีจำนวนແກบ 6 ແກບ จะเห็นว่า จำนวนແກบและความเข้มของไอ ไซไซม์จะมากขึ้น เมื่อเนื่องจากความแก่หรือพัฒนาเติบโตแล้ว ตั้งจะเห็นจากบริเวณยอดจะมีจำนวนແກบหนักกว่าและมีความเข้มของແກบต่ำ โดยจำนวนແກบจะเพิ่มขึ้นตามที่และมีความเข้มของແກบสูงขึ้น เมื่อลำต้นมีการพัฒนาเติบโตหรือแก่ขึ้น

2.2.4.2 รูปแบบเบอร์ออกซิเดส ไอ ไซไซม์ที่ได้จากการศึกษาส่วนใบของยาสูบ

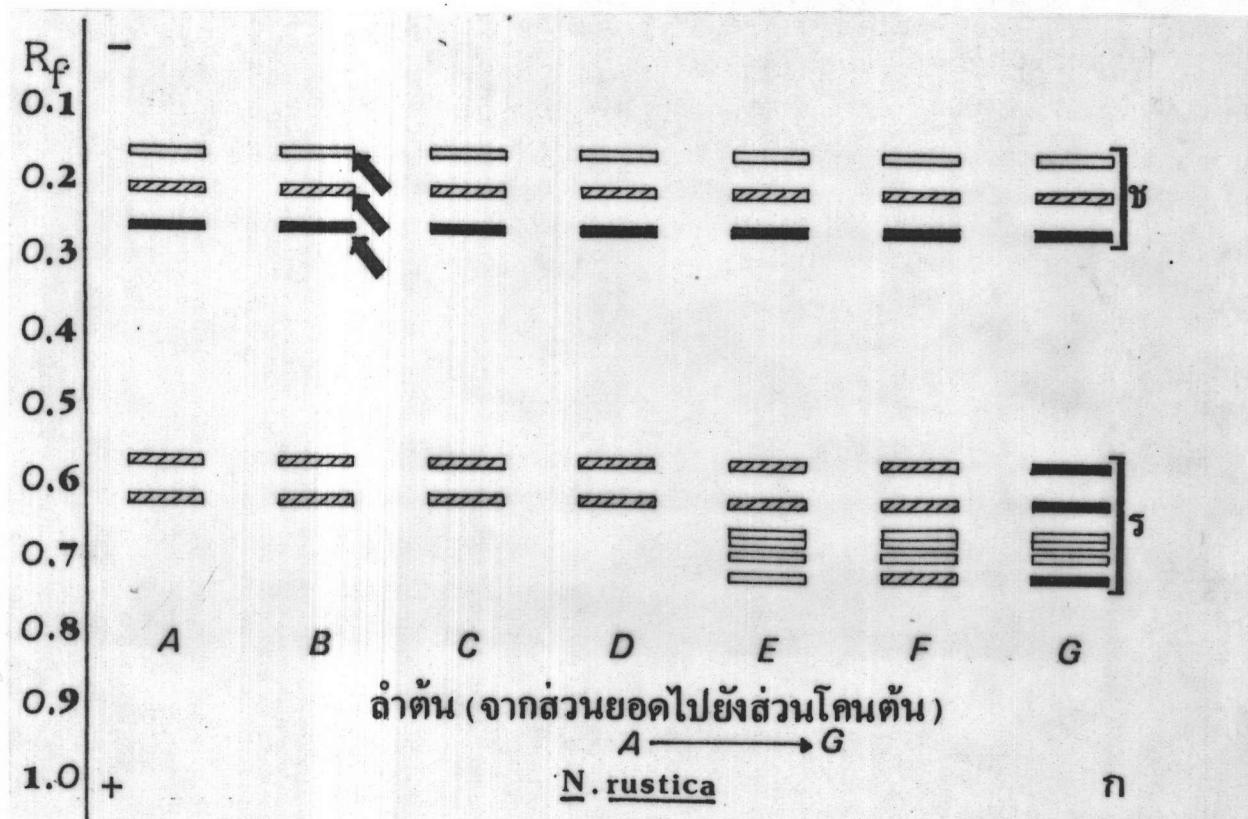
ใบจากบริเวณยอดจะเป็นใบอ่อนและจะค่อยๆ แก่ในบริเวณโคนต้น ซึ่งจะให้รูปแบบไอ ไซไซม์ดังแผนภาพที่ 15 จากแผนภาพนี้พบว่ารูปแบบไอ ไซไซม์ที่ได้จากการศึกษาส่วนใบมีการเคลื่อนที่แบ่งได้เป็น 3 กลุ่มตามค่า R_f คือกลุ่มเคลื่อนที่ช้ามีค่า R_f 0.14-0.19 มีจำนวน 2 ແກບ ความเข้มสูง กลุ่มเคลื่อนที่ปานกลาง มีค่า R_f 0.30-0.39 มีจำนวน 2 ແກບ ความเข้มต่ำ และกลุ่มเคลื่อนที่เร็ว มีค่า R_f 0.55-0.70

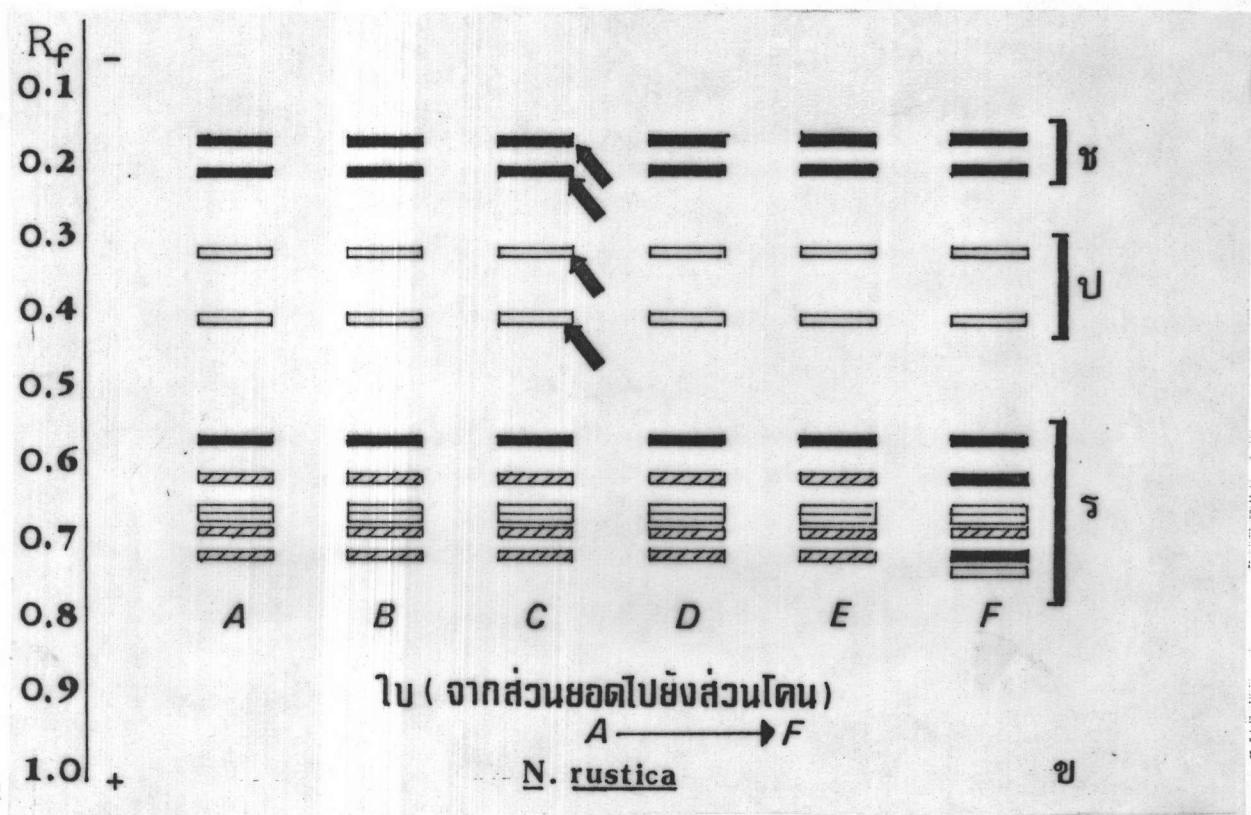
มีจำนวน 6 แผ่น และในใบส่วนโคน ซึ่งเป็นใบแก่ที่สุด พบรูปแบบที่ Rf 0.71 เพิ่มขึ้นมา ทำให้มีจำนวน 7 แผ่น จะเห็นว่ารูปแบบไอโซไซด์ของใบบริเวณยอด ซึ่งเป็นใบอ่อน มีจำนวนແกบของไอโซไซด์น้อยกว่าและจำกกว่าແกบในใบแก่ และรูปแบบไอโซไซด์จะค่อนข้างคงที่ในใบที่ค่อนข้างแก่หรือมีการพัฒนาเต็มที่

รูปแบบเบอร์ออกซิเดสไอโซไซด์ มีความจำเพาะในส่วนลำต้นและส่วนใบ โดยมีความแตกต่างกันในไอโซไซด์กลุ่มเคลื่อนที่ช้า ในส่วนลำต้นพบแล็บลีในกลุ่มเคลื่อนที่ช้า 3 แผ่น ขณะที่ในส่วนใบมีแล็บลีในกลุ่มเคลื่อนที่ช้า 2 แผ่น และกลุ่มเคลื่อนที่ปานกลาง 2 แผ่น แต่ແกบบางແกบพบได้ในส่วนทึ่ง 2 เผมีกัน เช่น แผ่นที่ Rf 0.14, 0.19, 0.55, 0.60, 0.64, 0.65, 0.67 และ 0.70 ดังแสดงในแผนภาพที่ 15 ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าเบอร์ออกซิเดสไอโซไซด์ที่บริเวณดังกล่าวควบคุมกิจกรรมเดียวกันทึ่งในส่วนลำต้นและใบ ส่วนที่ Rf 0.24 พบรูปแบบในส่วนลำต้น และແกบที่ Rf 0.30, 0.39 และ 0.71 พบรูปเฉพาะในส่วนใบ ไอโซไซด์ในແกบดังกล่าวอาจเป็นไอโซไซด์ที่มีหน้าที่เฉพาะในอวัยวะแต่ละส่วนก็ได้ จำนวนແกบและความเข้มที่เพิ่มขึ้นทึ่งส่วนลำต้นและส่วนใบจากบริเวณยอด ไปยังบริเวณโคนต้น แสดงถึงการพัฒนาของรูปแบบไอโซไซด์ตามลักษณะการเจริญของต้นยาสูบ

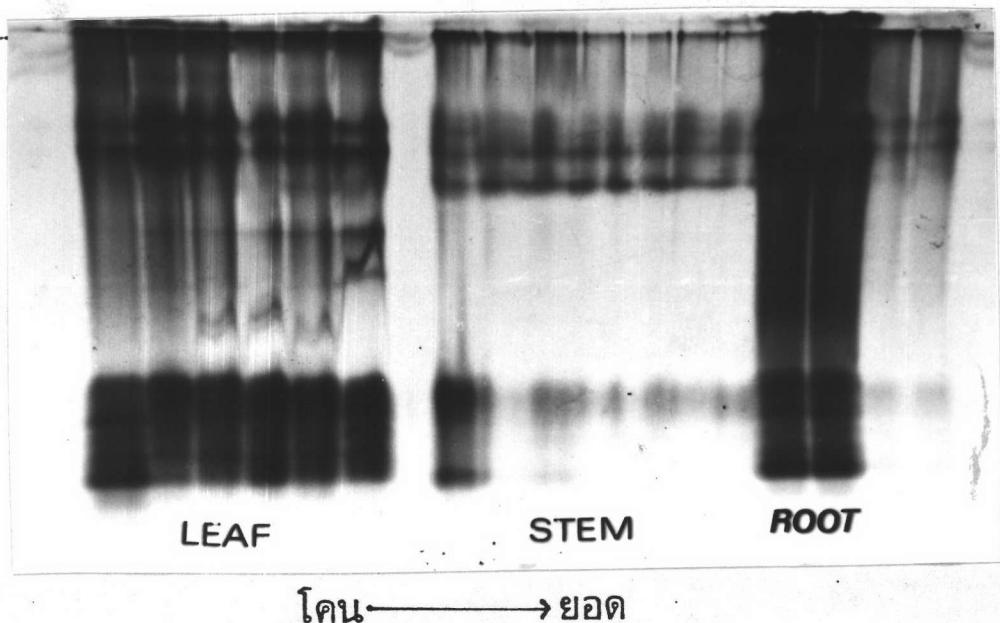
แผนภารที่ 15 Zymogram ของเบต้าอ็อกซิเดตไออกไซด์จากตัวอย่างที่บันทึกไว้ในช่วงเวลาต่อไปนี้ในต้นข้าว
ในพื้นเดียวกันของ *N. rustica* ที่สูงในสภาพแวดล้อมภายนอกเมื่อข้าวสูบเจริญเติบโต

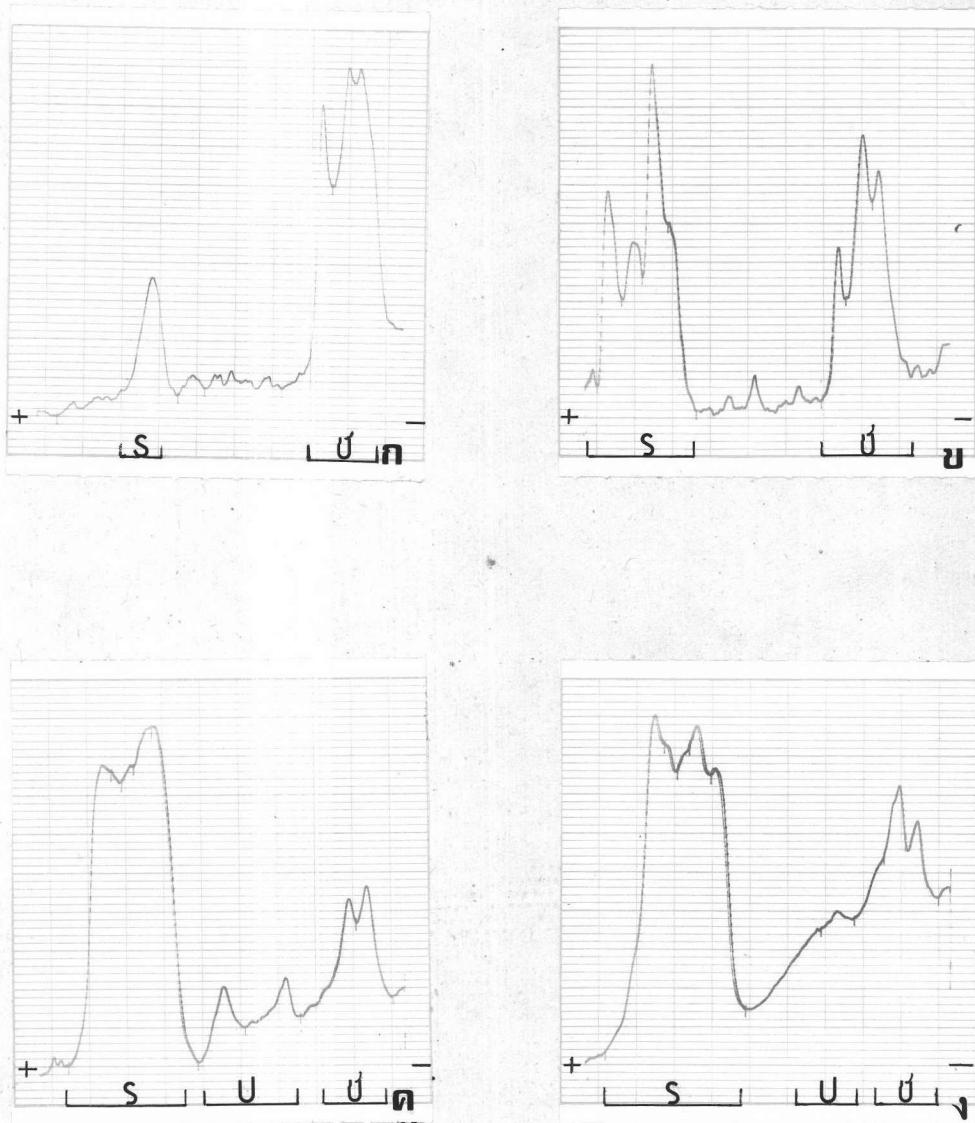
- ก. รูปแบบไออกไซด์จากตัวอย่างที่บันทึกไว้ในช่วงเวลาต่อไปนี้ในช่วงไก่น (A) ไปยังโคน (G) ที่รูปแบบไออกไซด์สามารถบันทึกค่า RF ได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กว่าและต่ำกว่า (ร.) และต่ำ (ล.)
- ก. รูปแบบไออกไซด์จากตัวอย่างที่บันทึกไว้ในช่วงเวลาต่อไปนี้ในช่วงไก่น (A) ไปยังโคน (F) ที่รูปแบบไออกไซด์สามารถบันทึกค่า RF ได้เป็น 3 กลุ่ม คือ กว่าและต่ำกว่า (ร.) ปานกลาง (ป.) และต่ำ (ล.) ซึ่งแสดงความแตกต่างของรูปแบบไออกไซด์จากตัวอย่างที่บันทึกไว้ในช่วงไก่นไปยังไออกไซด์ที่บันทึกไว้ในช่วงปานกลาง ในตัวอย่างที่บันทึกไว้ในช่วงไก่นต่ำกว่า 3 เดือน (ถูก标记) ไม่พบแสดงในกลุ่มต่ำกว่าปานกลาง 2 เดือน (ถูก标记)





รูปที่ 18 เมื่อรักษาเหลือไว้ใช้พันจากส่วนโคนไปยังส่วนยอดของต้น (S) และ ใบ (L) ของ N. rustica ที่ปลูกในสภาพการณ์ต่างกันมากจะมีผลให้สารเคมีเจริญเติบโต





ตารางที่ 8 ความเข้มและจำนวนดูบของเบื้องต้นที่ทดสอบโดยใช้ไฟฟ้าจากผ่านคลื่นแสงในรัตนอุตสาหกรรม
N. rustica ในต้นเดียวกันที่ปักในสภาพแวดล้อมภายนอกเพื่ออยู่สูบเจริญเติบโต²

ก และ จ	ความเข้มและจำนวนดูบโดยใช้ไฟฟ้าจากผ่านคลื่นแสงและบ่อก ตามลำดับ รูปแบบໄอโนฟีล์บัฟฟาร์ ระบะทางการเคลื่อนที่ของแบบไดร์ฟ 2 กลุ่มคือกลุ่มเคลื่อนที่ซ้าย (1.) และขวา (2.)
ก และ จ	ความเข้มและจำนวนดูบของໄอโนฟีล์จากผ่านในรัตนอุตสาหกรรมในบ่อก ตามลำดับ รูปแบบໄอโนฟีล์บัฟฟาร์ ระบะทางการเคลื่อนที่ไดร์ฟ 3 กลุ่ม คือ กลุ่มเคลื่อนที่ซ้าย (1.) ปานกลาง (2.)-และขวา (3.)