

การตรวจสอบความบริสุทธิ์ของพันธุ์มะเขือเทศลูกผสมเป็นอีกขั้นตอนหนึ่งที่มีความสำคัญต่อขบวนการผลิตเมล็ดพันธุ์ ปัจจุบันได้มีการนำเทคนิคไอโซอิเล็กทริกโฟกัสซึ่งเข้ามาช่วยตรวจสอบ ซึ่งเทคนิคนี้เป็นการตรวจสอบในระดับโปรตีน โดยโปรตีนที่นำมาใช้ตรวจสอบได้แก่ ไอโซไซม์ acid phosphatase บางครั้งแถบไซโมแกรมไม่คมชัดทำให้ยากต่อการตรวจสอบ จึงได้มีการศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อไซโมแกรม ซึ่งได้แก่ อิทธิพลของอายุพืชและชนิดของเนื้อเยื่อ ชนิดและปริมาณสารสกัดไอโซไซม์ ผลของความเข้มข้นของ polyacrylamide และปริมาณสารละลายตัวอย่างต่อความคมชัดของแถบไอโซไซม์ นอกจากนี้ยังศึกษาถึงผลของแสงและอุณหภูมิในขณะเพาะกล้าต่อความคมชัดของแถบไอโซไซม์ ผลการทดลองพบว่ารากคือชิ้นส่วนที่เหมาะสมต่อการนำมาสกัดไอโซไซม์มากที่สุดเพราะค่าความเข้มของแถบไซโมแกรมแถบที่ 1 แถบที่ 2 และแถบที่ 3 มีค่าสูงสุด คือ 42.72, 34.95 และ 20.28 ซึ่งสูงกว่าแถบไซโมแกรมของลำต้น, ใบเลี้ยงและใบจริง อายุของต้นกล้าที่เหมาะสมต่อการนำมาสกัดไอโซไซม์พบว่า อายุ 14 และ 15 วันให้ค่าความเข้มของแถบไซโมแกรมที่สูงและคมชัดมากกว่าแถบของรากที่มีอายุมากกว่า ในการศึกษาหาชนิดและปริมาณสารสกัดที่เหมาะสมต่อการนำมาสกัดไอโซไซม์ พบว่ามีสารละลายหลายชนิดสามารถให้ค่าความคมชัดของแถบไซโมแกรมได้ดีไม่แตกต่างกัน คือ สารละลายน้ำตาล 2% ปริมาตร 80 ไมโครลิตร สารละลาย DTT 0.01% ปริมาตร 40 ไมโครลิตร สารละลาย sodium acetate pH 5.2 ปริมาตร 40 และ 80 ไมโครลิตร สารละลาย sodium acetate pH 5.4 ปริมาตร 40 ไมโครลิตร และ สารละลาย sodium acetate pH 5.6 ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ต่างให้ค่าความเข้มของแถบไซโมแกรมทั้ง 3 ได้ดีเช่นเดียวกัน เมื่อศึกษาถึงความเข้มข้นของ polyacrylamide พบว่า ค่าความเข้มของแถบไซโมแกรมทั้ง 3 แถบมีค่าสูงเมื่อใช้ความเข้มข้นของ polyacrylamide 8.5 และ 9.5 % ร่วมกับปริมาณสารละลายตัวอย่าง 15 ไมโครลิตร เช่นเดียวกับการใช้ความเข้มข้นของ polyacrylamide 11.5 % พบว่าค่าความเข้มของแถบไซโมแกรมทั้ง 3 แถบมีค่าสูงเมื่อใช้สารละลายตัวอย่างปริมาณ 15 และ 20 ไมโครลิตร นอกจากนี้การศึกษาค่าผลของแสงและอุณหภูมิระหว่างเพาะกล้าต่อค่าความเข้มของแถบไซโมแกรมพบว่า การเพาะกล้าในตู้ที่มีความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสแถบไซโมแกรมมีค่าสูงกว่าการเพาะในสภาพอื่น ๆ

Varietal purity test in hybrid tomato seed production is very important and is one of the main/requested test. Isoelectric focusing technique, at protein level, is one of the most famous and has been applied for hybridity test. Acid phosphatase isozyme is one of the protein marker that has been used in Isoelectric focusing. Using acid phosphatase sometimes give the unclear zymogram bands which resulted in the difficulty of gel interpretation. Effect of different seedling stages , seedling part , kind and volume of extraction buffer, concentration of polyacrylamide and volume of supernatant , temperature and light intensity on zymogram bands were studied. Seedlings at 14 and 15 days old gave the highest and clearness of zymogram bands. In relation to the extraction buffer, 40 microlitter of 0.01% DTT, 80 microlitter of 2% sucrose, 40 and 80 microlitter of sodium acetate pH 5.2, 40 microlitter of pH 5.4 and 80 microlitter of pH 5.6 showed the highest bands. Regarding the concentration of polyacrylamide the highest zymogram band obtained from 8.5 , 9.5 and 11.5% with 15 microlitter of supernatant.. In terms of temperature and light intensity of seedling growth chamber, 30-degree temperature , 5,000-lux found to give the highest zymogram bands.