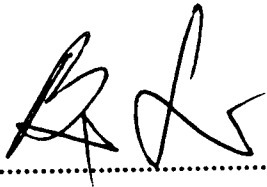


ชื่อวิทยานิพนธ์ การศึกษาระบบไอโซไซม์ที่เหมาะสมในพริกโดยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส

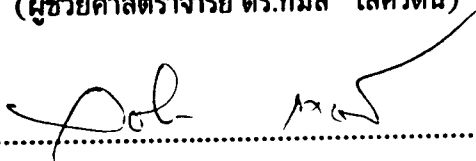
ชื่อผู้ทำวิทยานิพนธ์ นางสาวบุบผา ใจเที่ยง

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์



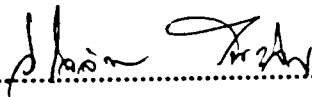
.....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กมล เลิศรัตน์)



.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุชีลา เทชะวงศ์เสถียร)



.....กรรมการ

(ดร. วิไลลักษณ์ ชินะจิตร)

บทคัดย่อ

การนำผลที่ได้จากการวิเคราะห์ไอโซไซม์ในพืชโดยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิสมาใช้ประโยชน์ในงานปรับปรุงพันธุ์พืช การจำแนกพันธุ์ การศึกษาด้านสรีรวิทยาและพัฒนาการของพืช รวมทั้งการศึกษาด้านโรคพืชให้มีประสิทธิภาพสูงที่สุดนั้นจะต้องคำนึงถึงปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการปรากฏแถบของไอโซไซม์ตลอดจนความเหมาะสมของระบบไอโซไซม์ ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาถึงปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการแปลผลไอโซไซม์ในพริก

การศึกษาระบบไอโซไซม์ที่เหมาะสมในพริกพันธุ์ห้วยสีทัน (*Capsicum annuum* L.) โดยปัจจัยที่ศึกษาประกอบด้วย อายุกล้าที่นำมาศึกษาคือ 25 35 45 และ 55 วัน เปรียบเทียบกับกล้าพริกที่อายุ 90 วัน ชนิดของไอโซไซม์ที่ศึกษามี 5 ชนิด คือ เพอร์ออกซิเดส (Pox) กลูตาเมตออกซาลอะซิเตต ทรานสอะมิเนส (GOT) ฟอสโฟกลูโคมิวเตส (Pgm) กลูโคสฟอสเฟตไอโซเมอเรส (Pgi) และลิวซีนอะมิโนเปปติเดส (LAP) โดยใช้ความเข้มข้นของตัวกลางที่เป็น

โพลิอะคริลาไมด์ 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ สารสกัด เอนไซม์ 2 ชนิด สกัดเอนไซม์จากส่วนของใบที่เจริญเติบโตเต็มที่

ผลการทดลองพบว่าในไอโซไซม์ Prx. จากต้นกล้าพริกที่มีอายุ 25 วัน แลบบที่ปรากฏบนตัวกลางโพลิอะคริลาไมด์ทั้งสองความเข้มข้น คือที่ 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์จะจางมาก ซึ่งสารสกัดเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดจะให้ผลการเกิดแถบเช่นเดียวกัน ส่วนแถบของไอโซไซม์ Prx. ที่ได้จากต้นกล้าพริกอายุตั้งแต่ 35 วันขึ้นไป พบว่าจะให้แถบที่คมชัดเมื่อใช้ความเข้มข้นของตัวกลาง 10 เปอร์เซ็นต์ แลบบที่ปรากฏมี 3 แถบ แต่ถ้าใช้ตัวกลางที่มีความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ แลบบที่ได้จะไม่คมชัด ซึ่งสารสกัดทั้ง 2 ชนิด ให้ผลเช่นเดียวกัน

ส่วน GOT พบว่ากล้าพริกจากทุกระยะการเจริญเติบโตที่นำมาศึกษาให้แถบที่มีความคมชัดดีเช่นเดียวกันเมื่อใช้ตัวกลางที่มีความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ โดยจะปรากฏแถบของไอโซไซม์ 2 แถบ ส่วนความคมชัดของแถบไอโซไซม์ที่ใช้ความเข้มข้นของตัวกลาง 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่าแถบที่ปรากฏจะอยู่ชิดกันมากทำให้สังเกตความแตกต่างของแถบไอโซไซม์ได้ยาก ซึ่งสารสกัดทั้ง 2 ชนิด ให้ผลเช่นเดียวกัน

สำหรับ Pgm จากระยะกล้าต่างๆที่นำมาศึกษา ให้แถบที่มีความคมชัดเช่นเดียวกัน โดยเฉพาะที่ความเข้มข้นของตัวกลาง 10 เปอร์เซ็นต์ จะให้แถบที่คมชัด จำนวนแถบของไอโซไซม์ที่ใช้สารสกัดชนิดที่ 1 ปรากฏแถบ 2 แถบ แต่ถ้าใช้สารสกัดชนิดที่ 2 จะปรากฏแถบ 3 แถบ ส่วนที่ความเข้มข้นของตัวกลาง 7.5 เปอร์เซ็นต์ แลบบที่ได้ไม่คมชัด

ส่วน Pgi จากกล้าทุกระยะการเจริญเติบโตที่นำมาศึกษา ให้แถบที่มีความคมชัดเช่นเดียวกัน โดยเฉพาะที่ความเข้มข้นของตัวกลาง 10 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดชนิดที่ 1 และชนิดที่ 2 ให้ผลเช่นเดียวกัน โดยจะให้แถบของไอโซไซม์ 2 แถบ แต่การเคลื่อนที่ของแถบไอโซไซม์จะแตกต่างกัน โดยพบว่าตำแหน่งที่ 2 ของแถบไอโซไซม์ที่ได้จากสารสกัดชนิดที่ 2 จะเคลื่อนที่ช้ากว่าตำแหน่งที่ 2 ของแถบที่ได้จากสารสกัดชนิดที่ 1 ส่วนความเข้มข้นของตัวกลาง 7.5 เปอร์เซ็นต์ แลบบที่ปรากฏจางมากไม่สามารถวัดระยะการเคลื่อนที่ของแถบไอโซไซม์ได้ ส่วน LAP ไม่ปรากฏแถบของไอโซไซม์ในทุกอายุกล้าพริกที่นำมาศึกษา

จากการทดลองสามารถสรุปว่าแถบของไอโซไซม์ Prx. ที่ได้จากต้นกล้าพริกอายุตั้งแต่ 35 วันขึ้นไป จะให้แถบที่คมชัดเมื่อใช้ความเข้มข้นของตัวกลาง 10 เปอร์เซ็นต์ แลบบที่ปรากฏมี 3 แถบ โดยที่สารสกัดทั้ง 2 ชนิด ให้ผลเช่นเดียวกัน ส่วนแถบไอโซไซม์ GOT พบว่าทุกระยะการเจริญเติบโต

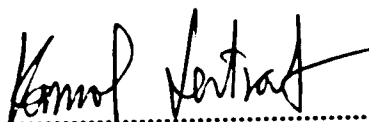
ที่นำมาศึกษาให้แถบที่มีความคมชัดดีเช่นเดียวกัน โดยเฉพาะเมื่อใช้ตัวกลางที่มีความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ โดยจะปรากฏแถบของไอโซไซม์ 2 แถบ ซึ่งสารสกัดทั้ง 2 ชนิด ให้ผลไม่แตกต่างกัน ส่วนการศึกษาระบบของไอโซไซม์ Pgm และ Pgi พบว่า แถบไอโซไซม์จากกลัระยะต่างๆ ที่นำมาศึกษา ให้แถบที่มีความคมชัดเช่นเดียวกัน โดยเฉพาะที่ความเข้มข้นของตัวกลาง 10 เปอร์เซ็นต์จะให้แถบที่คมชัด แต่ผลของสารสกัดทั้งสองชนิดให้ผลแตกต่างกัน โดยในการศึกษาไอโซไซม์ Pgm จำนวนแถบของไอโซไซม์ที่ใช้สารสกัดชนิดที่ 1 ปรากฏแถบ 2 แถบ แต่ถ้าใช้สารสกัดชนิดที่ 2 จะปรากฏแถบ 3 แถบ ส่วนไอโซไซม์ Pgi จำนวนแถบที่ได้จะได้ 2 แถบเท่ากัน แต่แตกต่างกันที่การเคลื่อนที่ของไอโซไซม์ โดยพบว่าตำแหน่งที่ 2 ของแถบไอโซไซม์ที่ได้จากสารสกัดชนิดที่ 2 จะเคลื่อนที่ช้ากว่าตำแหน่งที่ 2 ของแถบที่ได้จากสารสกัดชนิดที่ 1

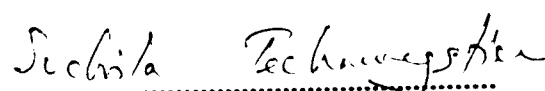
จากการทดลองพบว่า Prx และ GOT เป็นระบบที่ประหยัดค่าใช้จ่ายและมีประสิทธิภาพสามารถนำมาจำแนกสายพันธุ์พริก 3 พันธุ์ คือ ห้วยสีทน (*Capsicum annuum*) พริกขี้หนู (*C. annuum*) และพริกพื้นเมืองของจังหวัดเลย พันธุ์ปากปวน (*C. frutescense*) โดยใช้วิธีทางอิเล็กโตรโฟเรซิส พบว่า Prx สามารถแยกความแตกต่างระหว่างพริกที่อยู่ในชนิดที่เป็น *C. annuum* และ *C. frutescense* ได้ แต่ไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างพริกห้วยสีทนและพริกขี้หนูที่อยู่ในชนิดเดียวกัน คือ *C. annuum* ได้

THESIS TITLE : STUDY ON ISOZYME SYSTEMS OF CHILLIES (*CAPSICUM SPP.*)
BY ELECTROPHORESIS.

AUTHOR :MISS BUBPA CHAITIENG

THESIS ADVISORY COMMITTEE:


.....Chairman
(Asst. Prof. Dr. Kamol Lertrat)


.....
(Asst. Prof. Dr. Suchila Tachawongstien)


.....
(Dr. Wilailak Chinachit)

Plant isozymes are widely used in the studies of plant breeding programs, cultivar identification, physiological and developmental of plants, genetics and pathology by electrophoresis. The accurate and potential of isozyme interpretation are dependent of many factors. Therefore, it is of prime importance to investigate the suitable systems and factors involved in the isozyme systems in chillies.

Isozymes systems were analyzed in chilli "Huaysiton" (*Capsicum annuum L.*) in order to determine the suitable factors. Seedlings at 25, 35, 45 and 55 days old were used to compare with those of mature stage at 90 days old. Five isozymes: Prx (peroxidase), GOT (glutamate oxaloacetate transaminase), Pgm (phosphoglucosmutase), Pgi (glucosephosphate isomerase) and LAP (leucine amino peptidase) were used together with the medium polyacrylamide gel at concentrations of 7.5 % and 10 %,

and two types of extraction buffer (type.1 and type.2). The plant enzymes were extracted from mature leaves.

The bands of Prx at 25 days old seedling were not clear at both concentration of polyacrylamide gel. Whereas the bands from 35 days old were relatively clear at 10% of polyacrylamide gel, but they were not at 7.5 % of polyacrylamide gel. Both extraction buffers revealed 3 similar bands of isozyme patterns.

For GOT, all stages of seedlings revealed absolutely bands at 7.5 % of polyacrylamide gel, whereas the bands at 10% of polyacrylamide gel appeared too close together which made it difficult in interpretation. Both extraction buffers showed the same 2 bands.

For Pgm, all stages of seedlings expressed the clearify bands only at 10 % of polyacrylamide gel. Extraction buffer type1 showed 2 bands while the extraction buffer type2 showed 3 bands.

For Pgi, all stage of seedlings showed the clearify bands at 10 % of polyacrylamide gel, both extraction buffers revealed the 2 similar bands but they were different in mobility of isozymes. In this case the 2nd band from extraction buffer type2 was slower than the 2nd band from extracton buffer type1 and the bands were not clear at the 7.5 % of polyacrylamide gel. In this study LAP was not effective under any conditions.

From this study, it was found that Prx and GOT consumed a little budget and gave more efficient results than the other systems. Prx. was possible to distinguish *Capsicum spp.* between *C. annuum* and *C. frutescens.*, but it could not distinguish between the varieties "Huaysiton and Chor morkhor" which are in the same species (*C. annuum.*).