บทที่ 1

บทนำ

ปัจจุบันเป็นที่ยอมรับกันว่า การขยายพันธุ์พืชโดยวิธีการเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีโอกาสที่พืชจะเกิดการแปรหรือกลายพันธุ์ (variation) ทำให้ได้ลักษณะใหม่ ๆ เกิดขึ้น ทั้งนี้ขึ้นกับปัจจัยหลายประการ เช่น สารเร่งการเจริญหรือปัจจัยทางกายภาพขณะที่เลี้ยงเนื้อเยื่อ ระยะเวลาที่ใช้ในการเลี้ยง กลุ่มหรือชนิดของเซลล์ที่นำมาเลี้ยง ตลอดจนพันธุกรรมของพืชเองว่าจะมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงทางสภาพแวดล้อมมากน้อยเพียงใด (Chaleff and Kiel, 1981; Flashman, 1982; Reisch, 1983 และ Vajrabhaya, 1988) Vajrabhaya and Vajrabhaya (1974) ได้ทำการศึกษาการแปรของดอกกล้วยไม้สกุลหวาย (Dendrobium) ที่ขยายพันธุ์โดยการเลี้ยงเนื้อเยื่อจากส่วนของตายอดและตาข้าง พบว่ามีการแปรในต้นที่เจริญเต็มวัย Larkin and Scrowcroft (1981) เรียกการแปรหรือการกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นในการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนี้ว่า การแปรของเซลล์ร่างกาย (somaclonal variation) ซึ่งหมายถึงการแปรที่เกิดขึ้นในเซลล์ร่างกาย (somatic cell) นั่นเอง โดยทั่วไปเซลล์ที่เลี้ยงไว้ในอาหารสังเคราะห์มักไม่มีความคงที่ในทางพันธุกรรม โดยจะพบการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นเสมอในเซลล์ที่ถูกเลี้ยงไว้ในสภาพต่าง ๆ (Reisch, 1983) เช่น อาจมีการเปลี่ยนแปลงในจำนวนโครโมโซม ดังในรายงานของกัญญา ไชยเจริญ (2516) อ้างถึงผลงานของ Marashige และ Nakano ซึ่งทำการเลี้ยงเนื้อเยื่อ ยาสูบ เป็นเวลานาน จะพบเซลล์ที่เป็น tetraploid และ octoploid ประมาณ 50 % อีก 50 % เป็น aneuploid อย่างไรก็ตาม การเกิดการแปรจากการเลี้ยงเนื้อเยื่อนี้มีประโยชน์และมีความสำคัญมากในปัจจุบัน เนื่องจากนักวิทยาศาสตร์ได้นำมาใช้เป็นแหล่งเพื่อคัดเลือกพันธุ์ใหม่ ๆ ซึ่งสามารถนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป การคัดเลือกสายพันธุ์ใหม่ ๆ นั้น ทำได้หลายวิธี เช่น ดูจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาหรือโดยการใช้ marker บางอย่างเป็นตัวช่วยในการคัดเลือกลักษณะที่ต้องการ

ส่วนใหญ่การแปรที่เกิดขึ้นในการเลี้ยงเนื้อเยื่อมีพื้นฐานมาจากพันธุกรรม (Scandalios and Sorenson, 1977) และเนื่องจากไอโซไซม์เป็นผลผลิตโดยตรงจากยีน ดังนั้นจึงเป็นไปได้ที่จะใช้ไอโซไซม์เป็นเครื่องบ่งชี้ ในการศึกษาเกี่ยวกับชีววิทยาได้หลายทาง โมเลกุลของไอโซไซม์ที่แปรไปนั้นสามารถใช้เป็น natural label ช่วยให้ทำการตรวจสอบได้ง่าย โดยจะมีความสัมพันธ์โดยตรงกับพื้นฐานทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ จึงอาจใช้เป็นเครื่องบ่งชี้ในการวิเคราะห์หน้าที่ของยีน และการควบคุมเมตาโบลิซึมของเซลล์ที่จะเจริญและเปลี่ยนแปลงต่อไปได้ (Scandalios and Sorenson, 1977).

ไอโซไซม์เป็นเอ็นไซม์ที่มีรูปแบบโมเลกุลหลายแบบในสิ่งมีชีวิตเดียวกัน แต่สามารถเร่งปฏิกิริยาของกระบวนการเดียวกันได้ โดยที่ไอโซไซม์อาจมีความแตกต่างกันในโครงสร้างปฐมภูมิ (primary structure) ซึ่งเกิดจากยีนที่ต่างกัน ทั้งนี้ยีนที่ต่างกันนั้นอาจเป็นยีนที่อยู่คู่กันหรือยีนที่ไม่ใช่คู่กันก็ได้ หรืออาจมีความแตกต่างในโครงสร้างทุติยภูมิ (secondary structure) เนื่องจากมีการเติมโมเลกุลต่าง ๆ เช่น การเติมหมู่อะมิโนหรือหมู่คาร์บอกซิล ในสายโพลีเปปไทด์หรืออาจมีการเชื่อมโพลีเปปไทด์ของโมเลกุลเดี่ยว ๆ กับโมเลกุลของโคเอ็นไซม์(coenzyme) หรือเชื่อมกับ prosthetic group อื่น ๆ เช่น คาร์โบไฮเดรต แต่การเปลี่ยนแปลงเหล่านี้จะเกิดในส่วนที่ไม่จำเป็นต่อการทำงานของไอโซไซม์ ดังนั้นไอโซไซม์จึงยังคงมีหน้าที่เหมือนเดิมเพียงแต่มีรูปแบบของโมเลกุลที่ต่างไปเท่านั้น (Shannon,1968 และScandalios 1974) แม้ว่าไอโซไซม์จะมีรูปแบบโมเลกุลต่างๆ กัน แต่สามารถเร่งปฏิกิริยาเดียวกันได้ จึงมีข้อได้เปรียบกว่าเอ็นไซม์ธรรมดาคือสามารถตรวจพบได้มากกว่า การตรวจสอบทำได้ง่ายโดยสามารถสกัดจากตัวอย่างสด (crude extract) แล้วนำมาใช้ได้โดยตรงไม่จำเป็นต้องทำให้บริสุทธิ์ก่อน (Bassiri and Carlson, 1978) นอกจากนี้ยังใช้ปริมาณตัวอย่างน้อยในการตรวจสอบ และการตรวจสอบทำได้พร้อม ๆ กันทีละหลายตัวอย่าง ทำให้นำมาเปรียบเทียบกันได้ง่าย (Sheen, 1970) จากข้อดีต่าง ๆ ของไอโซไซม์ นักวิทยาศาสตร์จึงได้นำเทคนิคทาง electrophoresis มาใช้ในการวิเคราะห์และวัดปริมาณไอโซไซม์เพื่อจุดประสงค์ต่าง ๆ กันเช่น เพื่อตรวจสอบการแปรของเซลล์ร่างกาย ใช้เป็นเครื่องมือที่ไวในการศึกษาการ

เปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมหรือทางสรีรวิทยา ก่อนที่จะเกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ หรือศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต ใช้ในการตรวจสอบลูกผสม ซึ่งเกิดจาก somatic hybridization หรือ protoplast fusion (Reinert, Bajaj and Zbell, 1977; Scandalios, 1977; Marsalek and Provaznikova, 1984 และ Frih, 1985) และยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการศึกษาอนุกรมวิธานอีกด้วย โดยพบว่าการจำแนกพืชในระดับที่ต่ำกว่าชนิด (species) เช่น ชนิดย่อย (subspecies) และพันธุ์ (variety) ถ้าใช้รูปแบบไอโซไซม์เข้าช่วยจะทำให้มีความถูกต้องมากขึ้น ซึ่งโดยสรุปแล้วจะเห็นได้ว่าระบบไอโซไซม์นี้มีประโยชน์มากมาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางพันธุกรรม (Wilkinson, Mulchi and Aycock, 1985)

ในการวิจัยครั้งนี้ เพื่อศึกษาการแปรในรูปแบบของเปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์ของแคลลัส regenerated plant และ subcultured ที่เจริญจากส่วนของลำต้นและใบของยาสูบ โดยทำการเลี้ยงแคลลัสในอาหารสังเคราะห์เป็นระยะเวลาต่าง ๆ กัน และในออกซินต่างชนิดกัน รวมทั้งศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบเปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์กับการเปลี่ยนแปลงของแคลลัส ก่อนที่จะเกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงจากแคลลัสไปเป็นต้น รวมทั้งศึกษารูปแบบเปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์ของยาสูบที่ปลูกในสภาพธรรมชาติ เปรียบเทียบกับที่เจริญในอาหารสังเคราะห์ โดยศึกษาจากยาสูบสองชนิดคือ Nicotiana tabacum และ Nicotiana rustica โดยปกติเปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์เป็นไอโซไซม์ที่พบมากในพืช และขั้นตอนการตรวจสอบไม่ยุ่งยาก จึงนำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้

วัตถุประสงค์และขอบเขตของงานวิจัย

เพื่อศึกษาศักยภาพของการใช้รูปแบบของไอโซไซม์เป็นเครื่องบ่งชี้การเกิด somaclonal variation และการเกิดเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อยาสูบในระยะแรก ๆ

การสำรวจเอกสาร

การเลี้ยงเซลล์และเนื้อเยื่อพืชไม่ใช่เป็นศาสตร์ที่เพิ่งเกิดใหม่ นักวิทยาศาสตร์ได้เริ่มศึกษาในวิทยาการสาขานี้มานานแล้ว ตั้งแต่สมัยของ Haberlandt ในปีค.ศ.1902 (Bhojawani and Razdan, 1983) โดยเขาได้แยกเอาเซลล์จากส่วนใบของ Lamium purpureum และ Eichhornia crassipes และเซลล์ผิวของ Ornithogalum โดยนำมาเลี้ยงในสูตรอาหารที่มีส่วนผสมของน้ำตาลรวมอยู่ด้วย พบว่าเซลล์เหล่านี้สามารถมีชีวิตอยู่รอดได้นานเป็นเดือนรวมทั้งมีขนาดใหญ่ขึ้นด้วย แต่ไม่พบว่าเซลล์ที่นำมาเลี้ยงนี้มีการแบ่งตัว การที่ Haberlandt ไม่ประสบความสำเร็จนั้น เนื่องจากว่าในสมัยนั้นความรู้ด้านฮอร์โมนพืชยังมีน้อย

ต่อมาในปีค.ศ.1934 ความสนใจด้านการเลี้ยงเซลล์และเนื้อเยื่อเริ่มกลับมาอีกครั้งหนึ่ง ทั้งนี้เนื่องจากผลงานของ White (1934) ซึ่งสามารถเลี้ยงรากของมะเขือเทศได้สำเร็จ โดย White ใช้สูตรอาหารซึ่งประกอบด้วยเกลืออนินทรีย์ yeast extract และน้ำตาล หลังจากนั้น White ได้ดัดแปลงสูตรอาหารใหม่โดยใช้ไวตามิน-บี และ nicotinic acid แทนที่ yeast extract ซึ่งสูตรอาหารของ White นี้ได้กลายเป็นสูตรสำเร็จสูตรหนึ่งที่มีผู้นิยมใช้กันมากเช่นกัน ต่อมาเมื่อความรู้เรื่องไวตามินและฮอร์โมนพืชเป็นที่รู้จัก และเข้าใจกันมากขึ้น จึงนำไปสู่ความสำเร็จในการเลี้ยงเซลล์และเนื้อเยื่อพืชในเวลาต่อมา (Bhojwani และ Razdan, 1983)

การประยุกต์ใช้เทคนิคในการเลี้ยงเซลล์และเนื้อเยื่อได้เป็นไปอย่างกว้างขวาง เช่น เพื่อขยายพันธุ์พืชแบบไม่อาศัยเพศอย่างรวดเร็ว และได้พืชจำนวนมากด้วยการผลิตต้นพืชที่ปลอดเชื้อโดยการเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญ เพื่อการศึกษาทางสรีรวิทยาของเซลล์เนื้อเยื่อและ

อวัยวะ ตลอดจนนำมาเพื่อการสร้างสายพันธุ์ใหม่ ๆ ซึ่งเกิดจากการแปรของเซลล์ร่างกาย ในขณะเลี้ยงเซลล์หรือเนื้อเยื่อ ในธรรมชาติขณะที่ต้นพืชเจริญและแบ่งเซลล์นั้นก็มีโอกาส เกิดการแปรหรือการกลายพันธุ์ได้ ซึ่งเรียกว่าเกิดมิวเตชั่นขึ้นได้เอง (spontaneous mutation) ในการเลี้ยงเซลล์และเนื้อเยื่อพืชนั้นพบว่า ในขณะที่เซลล์แบ่งตัวและเจริญอยู่ในหลอดแก้วสามารถเกิดมิวเตชั่นขึ้นได้เอง เช่นเดียวกับที่พบในธรรมชาติ แม้ว่าอัตราการเกิดมิวเตชั่นได้เองของเซลล์ที่อยู่บนต้นพืชและที่อยู่ในหลอดแก้วจะเท่ากัน แต่การกลายพันธุ์ที่เกิดจากการเลี้ยงเซลล์และเนื้อเยื่อนี้มีโอกาสแสดงออกได้มากกว่า ทั้งนี้เพราะเซลล์ทุกเซลล์ที่เกิดการแปรหรือกลายพันธุ์ไปนั้นมีโอกาสที่จะเจริญกลับเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ได้ ลักษณะที่กลายไปจึงมีโอกาสแสดงออกมาให้เห็น ยิ่งกว่านั้นสภาพในหลอดแก้วที่เลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นต่างจากสภาพธรรมชาติของพืชมาก ซึ่งอาจเป็นสาเหตุทางกายภาพประการหนึ่งที่ช่วยเสริมให้พืชเกิดมิวเตชั่นขึ้นได้เองมากขึ้น นอกจากนี้ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อยังนิยมเติมสารเคมีเพื่อเร่งการเจริญ สารเคมีที่เติมลงไปนั้นอาจทำหน้าที่เป็นสารเร่งการเกิดมิวเตชั่น ทำให้อัตราของการกลายพันธุ์ในหลอดแก้วสูงขึ้น

กล่าวโดยสรุปการแปรหรือการกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นในการเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นอาจเกิดจากมิวเตชั่นที่เกิดได้เอง ความแตกต่างของเซลล์ที่อยู่ในสภาพธรรมชาติ (in vivo) และที่อยู่ในหลอดแก้ว (in vitro) หรือสารควบคุมการเจริญที่เติมลงไปในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อ สภาพของอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ใช้ แสง เป็นต้น ซึ่งการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในการเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นอาจเกิดขึ้นได้หลายระดับ เช่น

การแปรในแคลลัส อาจทำให้ได้แคลลัสที่มีความต้านทานต่อสารเคมีต่าง ๆ สูงขึ้น เช่น ในเซลล์ของแครอทที่แปรไปจะทนต่อ acriflavin ขณะที่ในมะเขือเทศจะทนต่อระดับ pyridoxine ต่าง ๆ ได้ ในพิทูเนียและยาสูบพบว่ามีเซลล์ที่สามารถทนต่อ streptomycin เกิดขึ้นมา หรือพบว่าแคลลัสมีการเปลี่ยนแปลงในด้านการเจริญต่างๆ เช่น มีอัตราการเจริญที่ผิดปกติไปดังที่พบในแคลลัสของถั่ว ยาสูบ แครอท และข้าวสาลี แสดงถึงความแตกต่างในการเจริญ โดยที่แคลลัสบางกลุ่มมีการเกาะกลุ่มของเซลล์แน่น ขณะที่บางกลุ่มมีการเกาะกลุ่มของเซลล์หลวม ๆ ทำให้แคลลัสเปราะและร่วน นอกจากนั้นแคลลัสยังมีสี

แตกต่างกันออกไปด้วย หรืออาจมีการเปลี่ยนแปลงในองค์ประกอบของเซลล์ในแคลลัส เช่น มีการเปลี่ยนแปลงในระดับไอโซไซม์ของต้นทานตะวันหรือมีการลดระดับของ G-6-P-D หรือพบการเปลี่ยนแปลงในชนิดของกรดอะมิโน ระดับโปรตีนและน้ำตาล เช่นที่พบในแคลลัสของ Citrus grandis (Skirvin, 1978)

การเปลี่ยนแปลงในระดับโครโมโซม ที่พบได้บ่อยคือการเพิ่มระดับ ploidy เช่น การเกิด polyploid ใน Haplopappus gracilis และพบว่าความถี่ของ polyploid จะเพิ่มขึ้นตามเวลาที่เลี้ยงไว้ในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อ นอกจากนั้นยังพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงแบบ aneuploid เช่น มีการได้รับหรือสูญหายไปของโครโมโซมบางแท่ง หรือพบมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโครโมโซม เช่น lagging chromosome

Skirvin ปี 1978 ได้อ้างถึงรายงานของ Brossard (1976) ว่าความเข้มข้นของไคเนตินในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นตัวกำหนดระดับ ploidy ของหน่อยาสูบที่จะพัฒนาขึ้นมา ตัวอย่างเช่น ถ้าใช้ไคเนติน 0.02 ม.ก./ล. เมื่อตรวจดูระดับโครโมโซมพบว่าเซลล์ที่ปลายยอดประมาณ 17.6 % จะพบเป็น diploid และเซลล์ที่ปลายใบอีกประมาณ 82.4 % เป็น tetraploid ขณะที่ไคเนติน ความเข้มข้น 1 มก./ล. จะให้เซลล์ที่ยอดเป็น diploid 6.9 % tetraploid 29 % และ aneuploid 64 %

นอกจากการเปลี่ยนแปลงในระดับต่าง ๆ ดังกล่าวแล้ว ยังพบการเปลี่ยนแปลงในพืชที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่ออีกด้วย เช่น ต้นอ้อย ที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อจะให้ลักษณะต่าง ๆ กัน มีจำนวนโครโมโซมต่าง ๆ กัน และระบบเอ็นไซม์ต่าง ๆ กัน Ibrahim (1969) พบว่าเนื้อเยื่อแครอทมีการแปรเกิดขึ้นหลังจากที่ใส่ไคเนตินในปริมาณสูง เช่น ลักษณะของใบ, สี มีความแตกต่างกัน แต่เมื่อปลูกลงในเวอมิคูไลท์ กลับพบการเจริญปกติ แสดงว่าการแปรจะแสดงออกในสภาวะที่มีไคเนตินเท่านั้น Skirvin และ Janick (1976) ได้พัฒนาต้นจากแคลลัสที่ชักนำจากส่วนลำต้น รากและก้านใบของ geranium พบว่าแคลลัสที่ชักนำจากลำต้นจะให้ต้นที่มีรูปแบบเดียวกันและไม่แตกต่างจากสายพันธุ์ที่เป็นพ่อแม่ ขณะที่ต้นที่เกิดจากแคลลัสที่ชักนำจากส่วนรากและก้านใบ มีการแปรมากกว่าและการแปรขึ้นกับสายพันธุ์ แสดงว่าส่วนของพืชที่ใช้ในการชักนำแคลลัสมีความสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้นพืชด้วย

และยังพบว่าต้นยาสูบที่เกิดจากแคลลัสที่มีอายุมากจะเกิดการแปรมากกว่าจากแคลลัสที่มีอายุน้อย และต้นที่ได้ก็จะไม่แข็งแรงด้วย (Skirvin, 1978)

ส่วนการคัดเลือกพืชที่เกิดการแปรนั้น อาจทำได้โดยดูจากรูปร่างภายนอกที่แตกต่างไปหรือตรวจสอบจากการเปลี่ยนแปลงของคาริโอไทป์ (karyotype) หรือดูจากผลของยีนที่เกิดจากการ amplification หรือ depletion ในกรณีนี้สามารถศึกษาว่าเซลล์มีการเพิ่มหรือลดปริมาณของผลผลิตยีนได้ โดยศึกษาจากการเปลี่ยนแปลงในรูปแบบของไอโซไซม์ (Scowcroft and Larkin, 1982) จากหลักเกณฑ์การคัดเลือกพืชที่เกิดการแปรดังกล่าว ทำให้ได้พืชสายพันธุ์ใหม่ ๆ ที่เกิดจากการเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งมีประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์มากมาย เช่น ในอ้อย ได้ค้นพบสายพันธุ์ที่ทนต่อโรค Fiji disease และ Downy Mildew (Chaleff and Keil, 1981) โดยที่ให้ผลผลิตไม่แตกต่างจากต้นที่ใช้เป็น explant สำหรับยาสูบมีการศึกษาหากลุ่มเซลล์ของยาสูบที่ทนต่อ picloram นอกจากนี้ยังพบว่าพืชที่เจริญมาจากเซลล์เหล่านี้ แสดงลักษณะต่าง ๆ ที่ผิดปกติไป เช่น พบต้นกล้าที่เป็น tricotyledon เกิดมากกว่าปกติ (Chaleff and Keil, 1981) ในข้าวพบว่า มีความแตกต่างกันในระยะเวลาของการออกดอก ปริมาณคลอโรพลาสต์ ความสูงของต้นและอื่น ๆ (Scowcroft and Larkin, 1982) กรวิชช์ ณ ถลาง (2529) ได้ศึกษาการแปรที่เกิดจากการเลี้ยงเนื้อเยื่อระย่อมพบว่าสามารถคัดเลือกแคลลัสที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสี แคลลัสที่แตกต่างกันอย่างชัดเจนได้หลายกลุ่มโดยแต่ละกลุ่มมีปริมาณและชนิดของแอลคาลอยด์ต่างกันด้วย นอกจากนี้ยังพบว่า แคลลัสระย่อมที่มีกลุ่มเซลล์สีแดงร่วมอยู่ด้วยนั้นมักจะมีปริมาณของแอลคาลอยด์สูงซึ่งมีแนวโน้มว่าสามารถนำลักษณะและสีของแคลลัสมาใช้ในการคัดเลือก cell line ที่มีแอลคาลอยด์สูงได้ ในหน่วยปฏิบัติการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้นำประโยชน์จากการเกิดการแปรในการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวและอ้อย และสามารถสร้างข้าวสายพันธุ์ที่มีความสามารถทนเค็มโดยลักษณะอื่นไม่เปลี่ยนแปลง (Vajrabhaya etal, 1987) และได้พันธุ์อ้อยที่ทนต่อโรคแส้ดำหลายพันธุ์ (มนทกานติ วัชราภัย, สอบถามเป็นการส่วนตัว)

การตรวจสอบการแปร สามารถศึกษาจากลักษณะสัณฐานวิทยาของแคลลัส โดยตรงหรืออาจต้องรอจนได้ต้น regenerated plant ที่โตเต็มวัยเสียก่อน จึงจะสังเกตดูการแปรได้ เช่น การแปรของสี รูปร่างของใบและดอกที่เกิดขึ้น ซึ่งลักษณะต่าง ๆ ที่ปรากฏนั้น เกิดจากการทำงานของยีนเดียวหรือจากผลผลิตของยีนที่ทำงานร่วมกันหลายตำแหน่งผ่านขบวนการเมตาบอลิซึมต่าง ๆ มากมายกว่าจะเกิดเป็นลักษณะหนึ่ง ๆ ทั้งนี้จะเห็นได้ว่าการรอให้พืชโตเต็มวัยเสียก่อนจึงจะสังเกตความแตกต่างได้นั้น อาจเกิดความเสียหายขึ้นได้ ในกรณีที่เราต้องการผลิตต้นที่เหมือนเดิม (true to type) แต่กลับได้ต้นที่ต่างออกไป อันเนื่องมาจากการเกิดการแปรในการเลี้ยงเนื้อเยื่อขึ้น ดังนั้นหากสามารถวิเคราะห์ถึงการแปรที่เกิดขึ้นในระดับเซลล์หรือแคลลัสได้ก่อน ก็จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่ง การตรวจสอบโดยใช้ไอโซไซม์เป็นการตรวจสอบผลผลิตของยีนโดยตรงและสามารถตรวจสอบได้ แม้ในระยะแรก ๆ ของการเจริญของพืช จึงมีข้อได้เปรียบมากกว่าการใช้ลักษณะอื่นในการตรวจสอบ ชนิดของไอโซไซม์ที่เหมาะสำหรับการศึกษาในพืชและในการเลี้ยงเนื้อเยื่อคือเปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์ (peroxidase isozyme) ซึ่งเปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์อาจแตกต่างกันไปตามองค์ประกอบของกรดอะมิโนและคุณสมบัติการดูดกลืนแสง (Klapper and Hackett, 1965) ข้อดีอีกประการคือเปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์สามารถทนความร้อนและอยู่ตัวที่อุณหภูมิสูงประมาณ 25องศาเซลเซียส pH 7 เปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์จะพบได้ทั่วไปในพืชชั้นสูงต่าง ๆ เช่น ฮอสส์แรดิช (horseradish) มะเดื่อ (fig) ถั่ว (string bean) ผักขม (spinach) ยาสูบ (tobacco) มันฝรั่ง (potato) ข้าวโพด (corn) และอื่น ๆ ยังพบไอโซไซม์นี้ได้ในยีสต์และแบคทีเรีย สำหรับในพืชชั้นสูงพบว่า เปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์กระจายอยู่ทั่วไปในปริมาณที่แตกต่างกันไประหว่างเนื้อเยื่อที่ต่างกัน และระยะของการพัฒนาของเนื้อเยื่อนั้น ๆ เนื่องจากกลุ่มของไอโซไซม์กระจายอยู่ในตำแหน่งต่าง ๆ กัน จึงน่าจะมีความสัมพันธ์ระหว่างตำแหน่งที่อยู่กับหน้าที่ทางชีววิทยาภายในเซลล์ของมันด้วย (Lee, 1973, Birecka and Miller, 1974; Mader, Meyer and Bopp, 1975; Parish, 1975 และ Lagrimini and Rothstein 1987) ในพืชชั้นสูงเปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์มีบทบาทมากมาย โดยมีหน้าที่สำคัญ ๆ คือ การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ IAA ซึ่งผลผลิตของปฏิกิริยา

นี้จะไปกระตุ้นการเจริญในพืชปกติ ระดับ IAA ภายในเซลล์ถูกควบคุมโดยเปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์ แต่เนื่องจาก IAA เองก็เป็นตัวชักนำและยับยั้งให้เกิดการสังเคราะห์เปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์ จึงอาจกล่าวได้ว่าทั้ง IAA และเปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์ควบคุมซึ่งกันและกันดังนั้นความสัมพันธ์ระหว่างฮอร์โมนและเอ็นไซม์ จึงมีความสำคัญในการควบคุมการเจริญของพืช (Ritzert and Turin, 1970; Leshem and Galston, 1971; Schafer, Wender and Smith, 1971; Pickering, Powell, Wender and Smith, 1973; Birecka and Miller, 1974; Brewbaker and Hasegawa, 1975; Shinshi and Noguchi, 1975 Thorpe, Van, and Gaspar, 1978, Ebermann, and Gehringer, 1985) หน้าที่รองลงมาของเปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์คือการสร้างลิกนิน โดยจะพบกิจกรรมของเปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์สูงในบริเวณที่มีการสร้างลิกนินขึ้นแล้วหรือกำลังจะเกิด เช่น บริเวณผนังเซลล์เทรคีด (Lavee and Galston, 1968a; Sheen and Rebagay, 1970; Birecka and Miller, 1974; Parish, 1975; Pickering, Powell, Wender, and Smith, 1973; Van hoof and Gaspar, 1976) นอกจากนี้เปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์ยังเกี่ยวข้องกับกลไกในการต้านทานต่อเชื้อโรค แต่บทบาทที่แน่นอนยังไม่ทราบชัดเจน ได้มีการทดลองใส่เชื้อ Psudomonas tabaci ที่ถูกทำให้เชื้ออ่อนกำลังด้วยความร้อนฉีดเข้าไปในยาสูบและพบว่ากิจกรรมของเปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์เพิ่มขึ้น (Lovrekovich, Lovrekovich and Stahmann, 1968)

จากการศึกษาพบว่า มีการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์ในพืชที่ติดเชื้อโรค ทำให้มีข้อสงสัยว่า ในการเปลี่ยนแปลงของเปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์นั้น มีอะไรเป็นตัวกำหนด ตัวพืชเองหรือตัวเชื้อโรค ได้มีการศึกษาโดยการเพาะเชื้อ Tobacco mosaic virus (TMV) ชนิดเดียวกัน ลงในยาสูบและถั่วหลายพันธุ์ พบว่าการตอบสนองต่อเชื้อจะแตกต่างกันไปตามชนิดของพืช และเมื่อใช้ไวรัสต่าง ๆ กัน ฉีดลงบนพืชชนิดเดียวกันก็จะพบการเปลี่ยนแปลงที่เหมือนกันในพืชชนิดเดียวกันนั้น แสดงว่าการเปลี่ยนแปลงของเปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์ขึ้นกับพืชเองไม่ขึ้นกับชนิดของโรค (Solymosy, Szirmai,

Beczner and Farkas, 1967) บทบาทในการป้องกันเชื้อโรคของเปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์อาจเกี่ยวข้องกับหน้าที่ในการสร้างลิกนิน (lignification) เนื่องจากเมื่อเกิดการติดเชื้อหรือเกิดบาดแผล เปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์จะเร่งปฏิกิริยาการสังเคราะห์ของสารประกอบพวกลิกนิน ทำให้เกิดการเชื่อมและประสานของผนังเซลล์ที่ถูกทำลาย (Nadolny and Sequeira, 1980; Lagrimini and Rothstein, 1987; Sheen,1970) หน้าที่อื่น ๆ ของเปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์ เช่น หน้าที่ในการทำลายความเป็นพิษของ H_2O_2 (H_2O_2 detoxification) เห็นได้ว่า เปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์มีบทบาทมากมายในพืช ซึ่งจะนำไปสู่การพัฒนาและการเปลี่ยนแปลงของพืช (Yip, 1964; Ridge and Osborne, 1971; Thomas and Neucere, 1974 Brewbaker and Hasegawa, 1975)

ในปี 1974 Thomas และ Neucere ได้อ้างถึงผลงานของ Alvarez ที่ทำในปี 1968 เกี่ยวกับการศึกษากิจกรรมของเปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์ในการพัฒนาเป็นผลของกล้วยไม้ชนิดหนึ่ง โดยสังเกตพบว่ากิจกรรมของเปอร์ออกซิเดสจะเพิ่มขึ้นตามเส้นผ่าศูนย์กลางของผลและน้ำหนักสด นอกจากนี้ยังอ้างถึงรายงานของ Austine และคณะในปี 1970 รวมทั้งผลงานของ Ramaiah, Durzan และ Mia ในปี 1971 ที่พบว่าเอมบริโอของข้าวบาร์เลย์และต้นสน (Pinus banksiana) ระหว่างการงอกเป็นต้นจะเกิดแถบเปอร์ออกซิเดสขึ้น และมีกิจกรรมของเปอร์ออกซิเดสสูงขึ้นในพืชดังกล่าวตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของเขาเอง ที่พบว่าหลังจากถั่วลิสง (Arachis hypogaea) เริ่มงอกภายใน 48 ชั่วโมงนั้นจะเกิดเปอร์ออกซิเดสใหม่ ๆ เพิ่มขึ้น จะเห็นว่ากิจกรรมของเปอร์ออกซิเดสมีความสัมพันธ์กับบริเวณที่มีการแบ่งตัวและการเปลี่ยนแปลงของพืช (differentiation)

ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อจากใบเลี้ยงถั่ว เมื่อนำมาศึกษารูปแบบเปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์ ก็พบว่าเปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์มีความสัมพันธ์กับการเกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ และการเกิดเนื้อเยื่อลำเลียง (vascularization) โดยที่กิจกรรมของเปอร์ออกซิเดสจะเพิ่มขึ้น เมื่อมีการพัฒนาของเนื้อเยื่อลำเลียง (Jensen, 1955) ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อแครอทก็แสดงให้เห็นว่า เปอร์ออกซิเดสอาจใช้เป็นตัวบ่งชี้ที่ไวต่อกระบวนการ

เปลี่ยนแปลงของพืชได้ (Wochok and Burleson, 1974) Simola (1973) ได้ทดลองพบว่า เปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์ใน clump ของ Atropa belladomea ที่กำลังจะเกิดรากพบว่ามีสูงกว่าใน clump ที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเป็นราก Van Hoof and Gaspar ในปี 1976 ได้ใช้การเปลี่ยนแปลงในเปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์เป็นเกณฑ์ในการเลือกหน่อไม้ฝรั่งที่มีการเปลี่ยนแปลงให้ราก โดยพบว่าพวกที่มีความเข้มของไอโซไซม์ตัวนี้สูงจะแสดงความสามารถในการเกิดรากได้สูง และสามารถใช้การทดสอบทางชีวเคมีนี้ในการเลือกต้นที่มีความสามารถในการเกิดรากได้ดี ดังนั้นจึงอาจใช้เปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์นี้เป็นเครื่องมือในการศึกษาและตรวจสอบการเกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นอวัยวะต่าง ๆ ในพืชได้ เนื่องจากพืชต่าง ๆ ต้องผ่านการเปลี่ยนแปลงในการแสดงออกของไอโซไซม์ก่อนที่จะเกิดอวัยวะต่าง ๆ ของพืช ด้วยเหตุนี้ไอโซไซม์นี้จึงน่าจะเป็นตัวบ่งชี้ที่ไวต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีระซึ่งจะนำไปสู่การเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นอวัยวะต่าง ๆ ในพืชและในการเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อจำเป็นต้องใส่สารเคมีบางอย่างลงไปเพื่อช่วยเร่งการเจริญ เช่น ฮอร์โมน ซึ่งฮอร์โมนเหล่านี้พบว่า มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์ ซึ่งเป็นการสนับสนุนว่า ไอโซไซม์นี้มีบทบาทในการควบคุมการเจริญของพืช สำหรับยาสูบนั้นเปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์แบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม ซึ่งแตกต่างกันในด้านความเร็วของการเคลื่อนที่ทางไฟฟ้า คือ กลุ่มเคลื่อนที่ช้าและกลุ่มเคลื่อนที่เร็ว ทั้ง 2 กลุ่มนี้ มีความแตกต่างกันในการตอบสนองต่อฮอร์โมนโดยที่การเปลี่ยนแปลงของเปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์เนื่องจากฮอร์โมนจะเกิดขึ้นในกลุ่มเคลื่อนที่เร็วมากกว่า และพบว่าการพัฒนาของเปอร์ออกซิเดสขึ้นกับชนิดของออกซินที่ใช้ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งเปอร์ออกซิเดสจะมีการพัฒนาใน IAA มากกว่าใน 2,4-D (Ritzert and Turin, 1970) พบว่า IAA ในระดับความเข้มข้นที่พอเหมาะแก่การเจริญของพืช อยู่ในช่วง 0.1-100 ไมโครโมล ในยาสูบ IAA ที่ความเข้มข้นประมาณ 10 ไมโครโมล จะก่อให้เกิดการพัฒนาของเปอร์ออกซิเดสในกลุ่มเคลื่อนที่เร็ว ซึ่งเปอร์ออกซิเดสในกลุ่มนี้ภายหลังพบว่า ปริมาณของไอโซไซม์ที่สูงขึ้นจะสอดคล้องกับการเจริญที่มีอัตรารวดเร็วนอกจากออกซินแล้วไซโตไคนินก็มีบทบาท โดยที่การพัฒนาเปอร์ออกซิเดส

ไอโซไซม์ต้องการทั้งไคเนตินและออกซิน พบว่าไคเนตินที่ความเข้มข้นไม่เกิน 5 ไมโครโมล จะกระตุ้นกิจกรรมของไอโซไซม์ได้ แต่ถ้าความเข้มข้นสูงกว่านี้จะยับยั้งกิจกรรมของไอโซไซม์ (Lee, 1971 a,b) นอกจากไคเนตินและ IAA ที่ความเข้มข้นที่เหมาะสมแล้ว ถ้าเติม gibberellic acid ด้วยก็จะเพิ่มกิจกรรมของเปอร์ออกซิเดสกลุ่มเคลื่อนที่เร็วด้วย gibberellic acid ที่ความเข้มข้นประมาณ 20 ไมโครโมล จะมีประสิทธิภาพสูงในการกระตุ้นกิจกรรมของไอโซไซม์ มีหลักฐานยืนยันว่าการตอบสนองต่อฮอร์โมนของพืช อาจถูกควบคุมอยู่ในระดับการลอกรหัสหรือการสังเคราะห์ m-RNA จึงเป็นไปได้ว่า การที่กิจกรรมของไอโซไซม์ขึ้นกับปริมาณและชนิดของฮอร์โมน อาจเป็นผลมาจากการควบคุมที่ระดับการสังเคราะห์ m-RNA ดังนั้นการพัฒนาของเปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์จึงถูกควบคุมด้วยฮอร์โมนทั้ง 3 ชนิดข้างต้น นับเป็นตัวอย่างที่ดีของการควบคุมไอโซไซม์โดยฮอร์โมนพืช การเปลี่ยนแปลงไอโซไซม์มักเกิดขึ้นก่อนการเกิดรูปแบบการเจริญต่าง ๆ ของเนื้อเยื่อ ซึ่งแสดงเป็นนัยว่าการเปลี่ยนแปลงในไอโซไซม์นี้ อาจจะสัมพันธ์กับรูปแบบการเจริญที่เกิดขึ้นภายหลังนี้ก็ได้ นอกจากเปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์จะเปลี่ยนแปลงไปตามฮอร์โมนแล้ว ยังอาจจะเปลี่ยนแปลงไปตามระยะการเจริญของพืชด้วย ดังนั้นเนื้อเยื่อที่มาจากชนิด (species) ที่ต่างกัน จากชิ้นส่วนต่างกันหรือที่ระยะการเจริญต่าง ๆ กันจะตอบสนองต่อฮอร์โมนแตกต่างกันไปด้วย (Ockerse, Siegel and Galston, 1966; Ritzert and Turin, 1970; Lee 1971 C; 1972; Powell etal, 1975)

นอกจากนั้นยังพบว่า เปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์ถูกปล่อยออกจากเนื้อเยื่อพืชที่เลี้ยงลงในอาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อด้วย (Ritzert and Turin, 1970) ในสมัยก่อนเชื่อว่า เซลล์ที่ปล่อยไอโซไซม์เป็นเซลล์ที่ได้จากเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรคเท่านั้น เช่น พบอัลฟาอะไมเลสถูกปล่อยลงในอาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อรากของ Rumex acetosa (Nickell and Brakke, 1954) หรือพบอัลฟาอะไมเลส ปล่อยจากเนื้อเยื่อยาสูบที่เป็น crown-gall (Jaspars and Veldstra, 1965) แต่ปัจจุบันได้มีนักวิจัยหลายท่านได้แสดงให้เห็นว่าการปล่อยไอโซไซม์จากเนื้อเยื่อพืชชั้นสูงนั้นไม่ได้เกิดขึ้นกับเซลล์ที่เป็นโรคเท่านั้น เซลล์ปกติก็สามารถปล่อยไอโซไซม์ลงไปในอาหารได้ในอัตราเดียวกับเนื้อเยื่อที่เกิดบาดแผล และ

อัตราการปล่อยไอโซไซม์จากเนื้อเยื่อจะสูงขึ้นเมื่อในอาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นมีการเติมแคลเซียมอิออน (Ca^{2+}) หรือแมกนีเซียมอิออน (Mg^{2+}) ลงไป มีการทดลองโดยการนำเนื้อเยื่อจากต้นกุหลาบ, **Pelargonium lycopersica** และยาสูบมาเลี้ยงในหลอดแก้ว พบว่าเนื้อเยื่อทั้งหมดสามารถปล่อยไอโซไซม์พวกฟอสฟาเทส เปอร์ออกซิเดสและอะไมเลส ซึ่งการปลดปล่อยไอโซไซม์เหล่านี้จากเนื้อเยื่ออาจมีผลต่อการเจริญของพืชในการเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วย (Straus and Campbell, 1963) ในเซลล์ยาสูบมีการทดลองพบว่า ความเข้มข้น องค์ประกอบและความหนืดของสารโมเลกุลใหญ่ (macromolecules) ที่ปล่อยออกมา ขึ้นกับระยะเวลาในการเลี้ยงในหลอดแก้วและอุณหภูมิที่ใช้ (Olson, Evans, Frederick and Jansen, 1969) ซึ่งได้ผลสอดคล้องกับการทดลองของ De Jong และคณะ (1968) ที่พบว่า รูปแบบเปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์ของเนื้อเยื่อยาสูบและที่ถูกปล่อยลงในอาหารเมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส มีการเคลื่อนที่ทางไฟฟ้าที่ต่างกัน

นอกจากการนำไอโซไซม์มาศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในการเลี้ยงเนื้อเยื่อแล้ว ยังนำมาประยุกต์ใช้ในการศึกษาทางอนุกรมวิธานได้อีก ด้วยอาศัยเหตุผลที่ว่ายีนของสิ่งมีชีวิตมีผลต่อการควบคุมการแสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยผ่านกระบวนการเมตาโบลิซึมของโปรตีนนั่นเอง ดังนั้นโปรตีนหรือเอ็นไซม์จึงน่าจะมีความสัมพันธ์กับลักษณะทางสัณฐานวิทยา และนำมาใช้ในการศึกษาอนุกรมวิธานได้ เช่น การใช้รูปแบบไอโซไซม์และความแตกต่างกันทางปริมาณของเปอร์ออกซิเดสและเอสเทอเรสไอโซไซม์ Sathaiah and Reddy (1984) ได้ทำการศึกษาละหุ่ง 45 ชนิด พบว่าสามารถจัดกลุ่มของละหุ่งที่มีรูปแบบของเปอร์ออกซิเดสต่าง ๆ กันได้ 10 กลุ่ม (type) และเอสเทอเรส 13 กลุ่ม นอกจากนั้นยังสามารถแยกสายพันธุ์ข้าวบาร์เลย์ได้เป็น 32 กลุ่ม โดยใช้คุณสมบัติของเปอร์ออกซิเดสและเอสเทอเรสไอโซไซม์ Quiros (1980) ศึกษาการจำแนกพันธุ์หญ้า alfalfa (Medicago sativa L.) จำนวน 21 พันธุ์ โดยการศึกษาจาก zymogram ของเปอร์ออกซิเดส, เอสเทอเรส และฟอสฟาเทส ที่สกัดจากเนื้อเยื่อส่วนใบของ alfalfa ซึ่งเลี้ยงใน growth chamber ที่ควบคุมสภาวะแวดล้อมในการเจริญอย่างเหมาะสม

Wilkinson, Mulchi and Aycock, 1985 พบว่าในการจำแนกสายพันธุ์ยาสูบนั้นเปอร์ออกซิเดสและคะตะเลส (catalase) มีแนวโน้มที่จะใช้ในการจำแนกสายพันธุ์ยาสูบได้ดีที่สุด แต่เอสเทอเรสไม่สามารถจำแนกความแตกต่างได้ ดังนั้นการจะใช้ระบบเอ็นไซม์เพื่อจำแนกสายพันธุ์ จำเป็นต้องมีการทดสอบก่อน เพื่อจะได้เลือกระบบที่เหมาะสมกับพืชนั้น ๆ

เนื่องจากรูปแบบไอโซไซม์ของอวัยวะและเนื้อเยื่อพืชเป็นผลโดยตรงของยีนที่จะทำงานเมื่อพืชมีการเจริญ การเปลี่ยนแปลงระบบยีนและเอ็นไซม์ จึงมีผลต่อการดำรงชีวิตและการเกิดวิวัฒนาการของพืช ดังนั้นการศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการระหว่างสกุล (genus) และชนิด อาจมีความสัมพันธ์กันกับรูปแบบของไอโซไซม์ โดยศึกษาจากความคล้ายคลึงหรือแตกต่างกันของรูปแบบไอโซไซม์ร่วมกับการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา เซลล์วิทยา การกระจายตัวตามสภาพภูมิศาสตร์และนิเวศน์วิทยา นอกจากนั้นเปอร์ออกซิเดสไอโซไซม์ยังใช้ประโยชน์ในการเป็นตัวบ่งชี้ สำหรับจำแนกความแตกต่างของลูกผสมดังเช่นศึกษากับ Brassicoraphanus ซึ่งเป็นลูกผสมของ Brassica napus และ Raphanus sativas พบว่ารูปแบบไอโซไซม์ของลูกผสมจะเกิดจากการรวมรูปแบบไอโซไซม์พ่อและแม่ แต่อาจจะพบมีแถบสีบางแถบที่ไม่พบในพ่อหรือแม่เพิ่มขึ้นมาในลูกผสมก็ได้ (Kato and Tokumasu, 1979) จะเห็นว่าเปอร์ออกซิเดสเป็นไอโซไซม์ที่มีประโยชน์มากมายเหมาะสมที่จะนำมาประยุกต์ใช้ในงานวิจัยต่าง ๆ ให้มากขึ้น

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัยนี้

1. ได้เรียนรู้เทคนิคในการสกัดเอ็นไซม์จากพืชและเทคนิคทางอิเลคโตรโฟลิซิส

2. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของไอโซไซม์จากแคลลัสที่ชักนำจากส่วนลำต้นและส่วนใบยาสูบ 2 ชนิดที่เลี้ยงในอาหารที่เติมออกซินชนิดเดียวกันและต่างชนิดกันในระยะเวลาต่างๆกัน รวมทั้งศึกษาการเปลี่ยนแปลงของไอโซไซม์เมื่อแคลลัสเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่

3. ศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของยาสูบที่ปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกและที่เพาะในอาหารสังเคราะห์และต้นที่ได้จากแคลลัสในการเลี้ยงเนื้อเยื่อ

4. อาจใช้รูปแบบของไอโซไซม์ในการวิเคราะห์การเกิด การแปรในเซลล์ร่างกายในระยะแรก ๆ ได้

016684

10302281