

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
Abstract	(5)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบัญ	(8)
รายการตาราง	(9)
รายการรูป	(12)
ตัวย่อและสัญลักษณ์	(16)
1. บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
การตรวจเอกสาร	5
วัตถุประสงค์	40
2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	41
วัสดุ	41
อุปกรณ์	43
วิธีการทดลอง	44
3. ผลและวิจารณ์การทดลอง	59
4. สรุปผลการทดลอง	122
เอกสารอ้างอิง	125
ภาคผนวก	135
ผลงานตีพิมพ์เผยแพร่จากวิทยานิพนธ์	139
ประวัติผู้เขียน	140

รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
1. ชนิดของโรค ลักษณะอาการ เชื้อราสาเหตุ การแพร่ระบาดและการป้องกันกำจัด โรคของยางพาราที่พบในประเทศไทย	9
2. ชื่อสารเคมี น้ำหนักโมเลกุล และบริษัทผู้ผลิตที่ใช้ในการทดลอง	41
3. ต้นกำเนิด (แม่ X พ่อ) ของพันธุ์ยางพาราที่ใช้ในการทดลอง	46
4. ส่วนประกอบของเจลอิเล็กโตรโฟรีซิสแบบไม่แปลงสภาพ (native PAGE) ดัดแปลง จากวิธีของ Laemmli (1970)	54
5. ส่วนประกอบของเจลอิเล็กโตรโฟรีซิสแบบแปลงสภาพ (SDS-PAGE) ดัดแปลงจาก วิธีของ Laemmli (1970)	55
6. ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของรอยไหม้บนใบยางพันธุ์ RRIM600 หลังกระตุ้นด้วย ชูอิสปอร์ของเชื้อรา <i>P. palmivora</i> ความเข้มข้นต่างๆ กัน	61
7. ค่าความว่องไวของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส ในสารสกัดจากใบยางพาราพันธุ์ RRIM600 เมื่อถูกกระตุ้นด้วยชูอิสปอร์ของเชื้อรา <i>P. palmivora</i> ความเข้มข้น 1×10^6 , 1×10^7 และ 5×10^7 ชูอิสปอร์ต่อมิลลิลิตร	64
8. ค่าความว่องไวของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสในสารสกัดใบยางพันธุ์ BPM-24 เมื่อ ถูกกระตุ้นด้วยชูอิสปอร์ของเชื้อรา <i>P. palmivora</i> ความเข้มข้น 1×10^7 , 5×10^7 และ 1×10^8 ชูอิสปอร์ต่อมิลลิลิตร	66
9. ปริมาณของสคอพอลิตินที่ถูกสร้างขึ้นในน้ำที่แช่ใบยางพันธุ์ RRIM600 แบบสร้าง ใหม่ ที่ถูกกระตุ้นด้วยชูอิสปอร์ความเข้มข้น 1×10^7 ชูอิสปอร์ต่อมิลลิลิตร	69
10. ปริมาณของสคอพอลิตินที่ถูกสร้างขึ้นในน้ำที่แช่ใบยางพันธุ์ BPM-24 แบบสร้าง ใหม่ ที่ถูกกระตุ้นด้วยชูอิสปอร์ความเข้มข้น 5×10^7 ชูอิสปอร์ต่อมิลลิลิตร	70
11. ปริมาณของสคอพอลิตินที่ถูกสร้างขึ้นในน้ำที่แช่ใบยางพันธุ์ RRIM600 และ BPM-24 แบบเก็บสะสม หลังจากกระตุ้นด้วยชูอิสปอร์ของเชื้อรา <i>P. palmivora</i> ความเข้มข้น 1×10^7 และ 5×10^7 ชูอิสปอร์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ	73
12. ค่าความว่องไวของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสในน้ำที่แช่ใบยางพันธุ์ RRIM600 และ BPM-24 แบบเก็บสะสม ที่ถูกกระตุ้นด้วยชูอิสปอร์ของเชื้อรา <i>P. palmivora</i> ความเข้มข้น 1×10^7 และ 5×10^7 ชูอิสปอร์ต่อมิลลิลิตร	76

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
13. ค่าความว่องไวของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสในเนื้อใบพันธุ์ RRIM600 ที่ถูกกระตุ้นด้วยชูโอสปอร์ของเชื้อรา <i>P. palmivora</i> ความเข้มข้น 1×10^7 ชูโอสปอร์ต่อมิลลิลิตร แบบเก็บสะสม	79
14. ค่าความว่องไวของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสในเนื้อใบพันธุ์ BPM-24 แบบเก็บสะสม ที่ถูกกระตุ้นด้วยชูโอสปอร์ของเชื้อรา <i>P. palmivora</i> ความเข้มข้น 5×10^7 ชูโอสปอร์ต่อมิลลิลิตร	81
15. ค่าความว่องไวของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสในสารสกัดใบยางพันธุ์ RRIM600 เมื่อถูกกระตุ้นด้วยการตัดใบขนาด 1×1 ตารางนิ้ว และชูโอสปอร์ของเชื้อรา <i>P. palmivora</i> ความเข้มข้น 1×10^7 ชูโอสปอร์ต่อมิลลิลิตร	86
16. ค่าความว่องไวของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสในสารสกัดใบยางพันธุ์ BPM-24 เมื่อถูกกระตุ้นด้วยการตัดใบขนาด 1×1 ตารางนิ้ว และชูโอสปอร์ของเชื้อรา <i>P. palmivora</i> ความเข้มข้น 5×10^7 ชูโอสปอร์ต่อมิลลิลิตร	90
17. ค่าความว่องไวของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสที่กระตุ้นใบยางพันธุ์ RRIM600 ด้วยบาดแผลจากสภาวะต่างๆ	93
18. ค่าความว่องไวของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสจากใบยางพันธุ์ RRIM600 เมื่อใช้ PVP ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในบัฟเฟอร์สกัด	96
19. ค่าความว่องไวของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสจากสารสกัดใบยางพันธุ์ RRIM600 ที่ 0 ชั่วโมง ที่ผ่านการทำบริสุทธิ์เพียงบางส่วน (partially purify)	98
20. ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโปรตีนและค่าความว่องไวของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสกับตัวบ่งชี้ในสารสกัดใบยางพันธุ์ RRIM600	103
21. ผลการเปรียบเทียบค่าความว่องไวของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส เมื่อใช้สับสเตรทต่างๆ กัน ได้แก่ o-dianisidine guaiacol และ coniferyl alcohol ในสารสกัดที่ผ่านคอลัมน์ PD-10	105
22. ผลการเปรียบเทียบค่าความว่องไวของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสในใบยางพันธุ์ BPM-24, PB235, RRIT251 และ RRIM600 ที่ถูกกระตุ้นด้วยการตัดใบที่ผ่านการตกตะกอนโปรตีนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต ความอิ่มตัว 90%	106

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
23. ค่าความว่องไวของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสจากสารสกัดใบยางพาราพันธุ์ RRIM600 ที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยวิธีการสกัดเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสจากแผ่นเจล	110
24. ค่าความว่องไวความว่องไวของเอนไซม์ฟีนอลอะลานีนแอมโมเนียไลเอส (PAL) ในใบยางพาราพันธุ์ RRIM600 ที่กระตุ้นด้วยซูโอสปอร์ของเชื้อรา <i>P. palmivora</i>	114
25. ค่าการดูดกลืนแสงของลิกนิน ที่ความยาวคลื่น 290 นาโนเมตร (OD 290 nm ต่อใบยางแห้ง 50 มิลลิกรัม) ในใบยางพาราพันธุ์ RRIM600 และ BPM-24 หลังกระตุ้นด้วยซูโอสปอร์ของเชื้อรา <i>P. palmivora</i> ความเข้มข้น 1×10^7 และ 5×10^7 ซูโอสปอร์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ	120
26. ปริมาตรของสารต่างๆ ที่ต้องใช้ในปฏิกิริยาการทำกราฟมาตรฐานของ <i>trans-cinnamic acid</i>	137

รายการรูป

รูปที่	หน้า
1. โรคในยางพาราที่เกิดจากเชื้อรา <i>Phytophthora</i> spp.	8
2. ลักษณะโครงสร้างของสปอร์แรงเฉื่อยของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i>	15
3. วงจรชีวิตของเชื้อรา <i>Phytophthora</i> spp.	16
4. วงจรโรคใบไหม้ของมันฝรั่งที่เกิดจากเชื้อรา <i>Phytophthora infestans</i>	17
5. ลักษณะของ stomata ของส้มแมนดาริน (Szinkum)	19
6. การสร้าง cork layer กั้นระหว่างเนื้อเยื่อที่เป็นโรคหลังติดเชื้อรา <i>Rhizoctonia</i> spp.	20
7. การสร้าง abscission layer รอบๆ จุดที่เกิดการติดเชื้อบนใบพืช	21
8. การเจริญของ tylose ใน xylem vessels	22
9. ตัวอย่างโครงสร้างของไฟโตเอเล็กซินที่พืชสร้างขึ้นเพื่อตอบสนองต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา	26
10. ตัวอย่างวิธีที่นำไปสู่การสังเคราะห์ไฟโตเอเล็กซิน	28
11. โครงสร้างโมเลกุลลิกนินของ European beech (<i>Fagus sylvatica</i>)	30
12. ปฏิกิริยาการสังเคราะห์ลิกนินในเนื้อเยื่อพืช	31
13. เชื้อรา <i>P. palmivora</i> ในอาหารแข็ง PDA	44
14. ลักษณะของเชื้อรา <i>P. palmivora</i> ที่เจริญเติบโตในอาหารแข็ง V ₈	45
15. แผ่นภาพรูปแบบอายุใบยางพาราตั้งแต่ชั้นอายุ A, B, B1, B2, C และ D	46
16. การบ่มใบยางพาราพันธุ์ RRIM600 และ BPM-24 ด้วยซุโอสปอร์ของเชื้อรา <i>P. palmivora</i> ความเข้มข้นต่างๆ ในจานแก้วปราศจากเชื้อ	47
17. ลักษณะการตัดใบยางพารา	48
18. การสังเคราะห์สคอพอลิติน (Scp) ที่เกิดจากการแช่ใบยางพาราพันธุ์ RRIM600	50
19. รอยไหม้บนใบยางพาราพันธุ์ RRIM600 ที่เกิดจากการหยดซุโอสปอร์ของเชื้อรา <i>P. palmivora</i> ความเข้มข้น 1×10^6 , 1×10^7 และ 5×10^7 ซุโอสปอร์ต่อมิลลิลิตร	60
20. ขนาดรอยไหม้บนใบยางพาราพันธุ์ RRIM600 ที่เกิดจากการหยดซุโอสปอร์ของเชื้อรา <i>P. palmivora</i> ความเข้มข้น 1×10^6 , 1×10^7 และ 5×10^7 ซุโอสปอร์ต่อมิลลิลิตร	61
21. รอยไหม้ของใบยางพาราพันธุ์ RRIM600 ที่แช่ในซุโอสปอร์ของเชื้อรา <i>P. palmivora</i> ความเข้มข้นต่างๆ กัน	63

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
22. ค่าความว่องไวของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสในสารสกัดใบยางพันธ์ RRIM600 เมื่อถูกกระตุ้นด้วยซูโอสปอร์ของเชื้อรา <i>P. palmivora</i> ความเข้มข้น 1×10^7 และ 5×10^7 ซูโอสปอร์ต่อมิลลิลิตร	64
23. ค่าความว่องไวของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสในสารสกัดใบยางพันธ์ BPM-24 เมื่อถูกกระตุ้นด้วยซูโอสปอร์ของเชื้อรา <i>P. palmivora</i> ความเข้มข้น 1×10^7 , 5×10^7 และ 1×10^8 ซูโอสปอร์ต่อมิลลิลิตร	67
24. ปริมาณของสคอพอลิติน (Scp) ที่ถูกสร้างขึ้นในน้ำที่แช่ใบยางพันธ์ RRIM600 แบบสร้างใหม่ ที่ถูกกระตุ้นด้วยซูโอสปอร์ความเข้มข้น 1×10^7 ซูโอสปอร์ต่อมิลลิลิตร	70
25. ปริมาณของสคอพอลิติน (Scp) ที่ถูกสร้างขึ้นในน้ำที่แช่ใบยางพันธ์ BPM-24 แบบสร้างใหม่ ที่ถูกกระตุ้นด้วยซูโอสปอร์ความเข้มข้น 5×10^7 ซูโอสปอร์ต่อมิลลิลิตร	71
26. ปริมาณของสคอพอลิติน (Scp) ที่ถูกสร้างขึ้นในน้ำที่แช่ใบยางพันธ์ RRIM600 และ BPM-24 แบบเก็บสะสม ที่ถูกกระตุ้นด้วยซูโอสปอร์ของเชื้อรา <i>P. palmivora</i> ความเข้มข้น 1×10^7 และ 5×10^7 ซูโอสปอร์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ	74
27. ค่าความว่องไวของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสในน้ำที่แช่ใบยางพันธ์ RRIM600 แบบเก็บสะสม ที่ถูกกระตุ้นด้วยซูโอสปอร์ของเชื้อรา <i>P. palmivora</i> ความเข้มข้น 1×10^7 และ 5×10^7 ซูโอสปอร์ต่อมิลลิลิตร	77
28. ค่าความว่องไวของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสในเนื้อใบพันธ์ RRIM600 แบบเก็บสะสม ที่ถูกกระตุ้นด้วยซูโอสปอร์ของเชื้อรา <i>P. palmivora</i> ความเข้มข้น 1×10^7 ซูโอสปอร์ต่อมิลลิลิตร	80
29. ค่าความว่องไวของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสในเนื้อใบพันธ์ BPM-24 แบบเก็บสะสม ที่ถูกกระตุ้นด้วยซูโอสปอร์ของเชื้อรา <i>P. palmivora</i> ความเข้มข้น 5×10^7 sp/ml	82
30. ค่าความว่องไวของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสในสารสกัดใบยางพันธ์ RRIM600 เมื่อถูกกระตุ้นด้วยซูโอสปอร์ของเชื้อรา <i>P. palmivora</i> ความเข้มข้น 1×10^7 ซูโอสปอร์ต่อมิลลิลิตร	87

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
31. ค่าความว่องไวของเอนไซม์เปอร็อกซิเดสในสารสกัดใบยางพันธ์ุ BPM-24 เมื่อถูกกระตุ้นด้วยซูโอสปอร์ของเชื้อรา <i>P. palmivora</i> ความเข้มข้น 5×10^7 ซูโอสปอร์ต่อมิลลิลิตร	91
32. ค่าความว่องไวของเอนไซม์เปอร็อกซิเดสที่กระตุ้นใบยางพันธ์ุ RRIM600 ด้วยบาดแผลจากสภาวะต่างๆ	93
33. Native PAGE ของเอนไซม์เปอร็อกซิเดสจากใบยางพาราพันธ์ุ RRIM600 ที่กระตุ้นด้วยบาดแผลจากสภาวะต่างๆ	95
34. ค่าความว่องไวของเอนไซม์เปอร็อกซิเดสจากใบยางพันธ์ุ RRIM600 เมื่อใช้ PVP ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในบัฟเฟอร์สกัด	97
35. ค่าความว่องไวของเอนไซม์เปอร็อกซิเดสจากสารสกัดใบยางพันธ์ุ RRIM600 ที่ 0 ชั่วโมง ที่ผ่านการทำบริสุทธิ์เพียงบางส่วน (partially purify)	98
36. ค่าความว่องไวของเอนไซม์เปอร็อกซิเดส และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร จากสารสกัดใบยางที่ผ่านคอลัมน์ PD-10	100
37. ค่าความว่องไวของเอนไซม์เปอร็อกซิเดสของสารละลายหลอดที่ 3+4 ที่ถูกยับยั้งด้วยสารละลายหลอดที่ 7, 8 และ 9 จากการผ่านคอลัมน์ PD-10	100
38. ผลการเปรียบเทียบค่าความว่องไวของเอนไซม์เปอร็อกซิเดส ในใบยางพันธ์ุ BPM-24, PB235, RRIT251 และ RRIM600 ที่ถูกกระตุ้นด้วยการตัดใบที่ผ่านการตกตะกอนโปรตีนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต ความอิ่มตัว 90%	107
39. Native PAGE ของเอนไซม์เปอร็อกซิเดส จากใบยางพาราพันธ์ุ BPM-24, PB235, RRIT251 และ RRIM600	109
40. Native PAGE และ SDS-PAGE ของเอนไซม์เปอร็อกซิเดสจากใบยางพาราพันธ์ุ RRIM600 ที่กระตุ้นด้วยซูโอสปอร์ของเชื้อรา <i>P. palmivora</i>	112
41. ความว่องไวของเอนไซม์ฟีนอลอะลานีนแอมโมเนียไลเอส (PAL) ในใบยางพาราพันธ์ุ RRIM600 ที่กระตุ้นด้วยซูโอสปอร์ของเชื้อรา <i>P. palmivora</i>	115
42. Native PAGE ของเอนไซม์เปอร็อกซิเดสจากใบยางพาราพันธ์ุ BPM-24 ย้อมด้วยสับสเตรทชนิดต่างๆ	116

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
43.ค่าการดูดกลืนแสงของลิกนินที่ความยาวคลื่น 290 นาโนเมตร ในใบยางพารา พันธุ์ RRIM600 และ BPM-24 หลังกระตุ้นด้วยซูโอสปอร์ของเชื้อรา <i>P. palmivora</i> ความเข้มข้น 1×10^7 และ 5×10^7 ซูโอสปอร์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ	121
44. กราฟมาตรฐานสคอพอลิติน	136
45. กราฟมาตรฐานระหว่างความยาวคลื่น 290 นาโนเมตร กับไมโครโมลของ <i>trans-cinnamic acid</i>	137

ตัวย่อและสัญลักษณ์

ชม.	=	ชั่วโมง
ซม.	=	เซนติเมตร
ตร.	=	ตาราง
มก.	=	มิลลิกรัม
มม.	=	มิลลิเมตร
มล.	=	มิลลิลิตร
BSA	=	Bovine serum albumin
4CL	=	4-(hydroxyl)cinnamoyl CoA ligase
C3H	=	<i>Para</i> -coumarate 3-hydroxylase
C4H	=	Cinnamate 4-hydroxylase
CAD	=	Cinnamyl alcohol dehydrogenase
CCoAOMT	=	Caffeoyl CoA O- methyltransferase
CCR	=	Cinnamoyl CoA reductase
COMT	=	Caffeic acid 5-hydroxyferulic acid O-methyltransferase
CQT	=	Hydroxycinnamoyl CoA: quinate hydroxycinnamoyltransferase
CST	=	Hydroxycinnamoyl CoA: shikimate hydroxycinnamoyltransferase
pCCoA3H	=	<i>Para</i> -coumaryl CoA 3-hydroxylase
°C	=	Degree celsius
DEAE	=	Diethylaminoethyl
EDTA	=	Ethylenediamine tetra acetic acid
F5H	=	Ferulate 5-hydroxylase
kDa	=	Kilodalton
mA	=	Milliampere
mg	=	Milligram
ml	=	Milliliter
MW	=	Molecular weight
µg	=	Microgram

ตัวย่อและสัญลักษณ์ (ต่อ)

μl	=	Microliter
μM	=	Micromolar
OD	=	Optical density
PAL	=	Phenylalanine ammonia lyase
PDA	=	Potato dextrose agar
pH	=	-log hydrogen ion concentration
POD	=	Peroxidase
SAD	=	Sinapyl alcohol dehydrogenase
Scp	=	Scopoletin
SDS	=	Sodium dodecyl sulphate
SDS-PAGE	=	Sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis
Sp/ml	=	Spore per milliliter
TEMED	=	N,N,N,N,-tetramethylenediamine
Tris-HCl	=	Tris (hydroxymethylaminomethane) hydrochloride
UV	=	Ultraviolet
v/v	=	Volume per volume
w/v	=	Weight per volume
*	=	เลขยกกำลัง
λ	=	Lamda
β	=	Beta
o	=	Ortho
p	=	Para
%	=	Percent