

ผลของ 1-เมทิลไซโคลโพรพีนต่อกระบวนการหลุดร่วงของดอกย่อยของกล้วยไม้สกุลหวาย
พันธุ์ชาวसानาน



บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพฤกษศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2558
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECTS OF
1-METHYLCYCLOPROPENE ON FLORET ABSCISSION PROCESS OF
Dendrobium 'KHAO SANAN'

Miss Naruemol Tueansati



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Botany

Department of Botany

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2015

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของ 1-เมทิลไซโคลโพรพีนต่อกระบวนการหลุดร่วงของ ดอกย่อยของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนาน
โดย	นางสาวนฤมล เตือนสติ
สาขาวิชา	พฤกษศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กนกวรรณ เสรีภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร. มานิต คิตอยู่

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ ดร. พลกฤษณ์ แสงวณิช)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ต่อศักดิ์ สีลานันท์)
..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กนกวรรณ เสรีภาพ)
..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร. มานิต คิตอยู่)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชุมพล คุณวาสี)
..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กุลนาถ ออบสุวรรณ)

นฤมล เตื่อนสติ : ผลของ 1-เมทิลไซโคลโพรพีนต่อกระบวนการหลุดร่วงของดอกย่อยของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนาน (EFFECTS OF 1-METHYLCYCLOPROPENE ON FLORET ABSCISSION PROCESS OF *Dendrobium* 'KHAO SANAN') อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผศ. ดร. กนกวรรณ เสรีภาพ, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: รศ. ดร. มานิต คีตอยู่, 72 หน้า.

การศึกษาผลของ 1-เมทิลไซโคลโพรพีน (1-MCP) ต่อกระบวนการหลุดร่วงของดอกย่อยของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนาน โดยศึกษาอายุการปักแจกันและคุณภาพของช่อดอก การเปลี่ยนแปลงทางกายวิภาคศาสตร์ ปริมาณเพกทิน และแอกทิวิตีของเอนไซม์ที่ย่อยสลายผนังเซลล์ บริเวณ abscission zone ของดอกบานตำแหน่งที่ 1 โดยการรม 1-MCP ความเข้มข้น 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือเอทิลีน ความเข้มข้น 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร นาน 24 ชั่วโมง พบว่าช่อดอกกล้วยไม้ชุดที่รม 1-MCP และ/หรือ เอทิลีนมีอายุการปักแจกันนานขึ้น เปอร์เซ็นต์การหลุดร่วงของดอกตูมและดอกบานลดลง แต่ไม่มีผลต่อการบานเพิ่มของดอกตูม ขณะที่ชุดที่รมเอทิลีนมีอายุการปักแจกันที่ลดลง เปอร์เซ็นต์การหลุดร่วงของดอกตูมและดอกบานเพิ่มขึ้น และลดการบานเพิ่มของดอกตูมในช่วงแรกก่อนจะเพิ่มในช่วงหลังของการทดลอง ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ บริเวณ abscission zone ระหว่างแกนช่อดอกและก้านดอกย่อยของดอกบาน พบว่าชั้น abscission layer ประกอบด้วยเซลล์ขนาดเล็กกว่าเซลล์ข้างเคียง 3 ชั้น พบรอยฉีกบริเวณขอบด้านบน ตั้งแต่วันที่ 0 หลังการรมในทุกชุดการทดลอง และพบการแยกตลอดแนว (ดอกร่วง) ของชุดที่รมเอทิลีนตั้งแต่วันที่ 12 ในชุดควบคุมพบตั้งแต่วันที่ 16 และชุดที่รม 1-MCP และ/หรือ เอทิลีน พบในวันที่ 20 หลังการรม นอกจากนี้พบว่าปริมาณเพกทินของชุดที่รม 1-MCP และ/หรือ เอทิลีน ลดลงน้อยกว่าชุดที่รมเอทิลีน และชุดควบคุม เมื่อพิจารณาแอกทิวิตีของเอนไซม์ Pectate lyase และ Polygalacturonase ของเนื้อเยื่อบริเวณ abscission zone พบว่า 1-MCP ไม่มีผลต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์ทั้งสอง

ภาควิชา พฤกษศาสตร์

ลายมือชื่อนิสิต

สาขาวิชา พฤกษศาสตร์

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก

ปีการศึกษา 2558

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม

5671995023 : MAJOR BOTANY

KEYWORDS: 1-MCP / ABSCISSION / KHAO SANAN

NARUEMOL TUEANSATI: EFFECTS OF 1-METHYLCYCLOPROPENE ON FLORET ABSCISSION PROCESS OF *Dendrobium* 'KHAO SANAN'. ADVISOR: ASST. PROF. DR. KANOGWAN SERAYPHEAP, CO-ADVISOR: ASSOC. PROF. DR. MANIT KIDYOO, 72 pp.

The effects of 1-Methylcyclopropene on floret abscission process of *Dendrobium* 'Khaos Sanan' including vase life and quality of the inflorescences, anatomical changes, pectin content and some cell wall enzymes were investigated. The inflorescences were treated with 0.5 $\mu\text{l/l}$ 1-MCP for 3 hours and/or 0.4 $\mu\text{l/l}$ ethylene for 24 hours. It was found that vase life of the inflorescence treated with 1-MCP and/or ethylene increased and percentages of flower bud and open flower decreased. However, 1-MCP had no effect on flower bud opening; while ethylene treated inflorescences had short vase life and reduced quality. Anatomy of abscission zone between pedicel and rachis of the lowest open floret showed 3 small cell layers of abscission layer and appeared to be separated from the upper edge of pedicel since day 0 after treatment in all treatments. In ethylene treatment, the separation throughout the abscission zone caused floret abscission on day 12 whereas control treatment, this floret abscised on day 16. 1-MCP treatment alone and 1-MCP treatment prior to ethylene treatment exhibited the floret abscission on day 20. In addition, 1-MCP can delay a decrease of pectin content. On the other hand, 1-MCP had no effect on pectate lyase and polygalacturonase activities of the abscission zone.

Department: Botany

Field of Study: Botany

Academic Year: 2015

Student's Signature

Advisor's Signature

Co-Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กนกวรรณ เสรีภาพ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์เป็นอย่างยิ่ง ที่ได้มอบความกรุณาในการให้คำปรึกษา คำแนะนำ และความช่วยเหลือในตลอดการทำงานวิจัยและการเรียน เหนือสิ่งอื่นใดคือกำลังใจที่อาจารย์ได้มอบให้กับลูกศิษย์ตลอดมา

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.มานิต คิโดอยู่ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่มอบความกรุณาให้คำแนะนำการทำวิจัยและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ต่อศักดิ์ สีลานันท์ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชุมพล คุณวาสี และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กุลนาถ ออบสุวรรณ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาช่วยตรวจแก้และให้คำแนะนำวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณโครงการพัฒนากำลังคนด้านวิทยาศาสตร์ (ทุนเรียนดีวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย) ที่สนับสนุนการศึกษา

ขอขอบคุณสวนกล้วยไม้ของคุณมิตร ปานเจริญ อ.นครชัยศรี จ.นครปฐม สำหรับแหล่งพืชทดลองในครั้งนี้

ขอขอบคุณสมาชิกศูนย์ความเป็นเลิศทางด้านสิ่งแวดล้อมและสรีรวิทยาของพืช สำหรับคำแนะนำและความช่วยเหลือที่มีให้กัน

ขอบคุณเพื่อนที่พร้อมจะช่วยเหลือทุกครั้งที่ต้องการความช่วยเหลือ

ขอบคุณที่สุดคือพ่อและแม่ ที่มอบสิ่งที่ดีที่สุดให้ลูกเสมอ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญภาพ	ฎ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	4
1. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกล้วยไม้	4
2. การจัดจำแนกกล้วยไม้	5
3. ลักษณะของกล้วยไม้สกุลหวาย (<i>Dendrobium</i>)	6
4. การหลุดร่วง	6
5. ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อบริเวณ abscission zone.....	8
6. เอทิลีน	9
7. 1-Methylcyclopropene	10
8. ผนังเซลล์.....	10
9. เพกทิน	11
10. Pectate lyase.....	12
11. Polygalacturonase	12
บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ.....	15
1. พีชทดลอง	15
2. อุปกรณ์.....	15

3. สารเคมี	17
4. วิธีการศึกษา.....	19
5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	22
6. สถานที่ปฏิบัติงาน	22
บทที่ 4 ผลการศึกษา.....	23
1. ผลของ 1-MCP ต่ออายุการปักแจกันและคุณภาพของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาว สนาน	23
2. ผลของ 1-MCP ต่อลักษณะกายวิภาคศาสตร์ในบริเวณ abscission zone ของดอกย่อย ของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนาน.....	35
3. ผลของ 1-MCP ต่อปริมาณเพกทินในบริเวณ abscission zone ของดอกย่อยของกล้วยไม้ สกุลหวายพันธุ์ชาวสนาน	41
4. ผลของ 1-MCP ต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์ PL และ PG ในบริเวณ abscission zone ของ ดอกย่อยของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนาน.....	43
บทที่ 5 อภิปรายผลการศึกษา	46
บทที่ 6 สรุปผลการศึกษา.....	51
รายการอ้างอิง	52
ภาคผนวก.....	57
ภาคผนวก ก	58
ภาคผนวก ข	65
1. ขั้นตอนการย้อมสี.....	66
2. การเตรียมสาร.....	66
3. การสกัดและวิเคราะห์ปริมาณเพกทิน	68
4. การสกัดและวิเคราะห์แอกทิวิตีของเอนไซม์ PLและ PG	69
5. การวัด Total protein	71

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 72



สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 อายุการปักแจกันของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนานหลังรมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมง (mean \pm SE).....	24
ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การหลุดร่วงของดอกตูม (floral bud abscission, %) ของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนาน หลังรมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมง และเก็บรักษาเป็นระยะเวลาต่าง ๆ (mean \pm SE)	59
ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การหลุดร่วงของดอกบาน (open flower abscission, %) ของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนาน หลังรมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมง และเก็บรักษาเป็นระยะเวลาต่าง ๆ (mean \pm SE)	60
ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์การบานเพิ่มของดอกตูม (Floral bud opening, %) ของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนาน หลังรมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมง และเก็บรักษาเป็นระยะเวลาต่าง ๆ (mean \pm SE).....	61
ตารางที่ 5 ปริมาณเพกทินที่ละลายน้ำได้บริเวณ abscission zone ของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนาน หลังรมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมง และเก็บรักษาเป็นระยะเวลาต่าง ๆ (mean \pm SE).....	62
ตารางที่ 6 แอคติวิตีของเอนไซม์ PL บริเวณ abscission zone ของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนาน หลังรมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมง และเก็บรักษาเป็นระยะเวลาต่าง ๆ (mean \pm SE).....	63
ตารางที่ 7 แอคติวิตีของเอนไซม์ PG บริเวณ abscission zone ของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนาน หลังรมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมง และเก็บรักษาเป็นระยะเวลาต่าง ๆ (mean \pm SE).....	64
ตารางที่ 8 สูตรการเตรียม dehydrants (Johansen, 1940).....	67

สารบัญภาพ

ภาพที่ 1 รูปแบบการเชื่อมต่อของเพกทินด้วยพันธะโควาเลนต์และพันธะไอออนิก (Cosgrove, 2005).....	14
ภาพที่ 2 ช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนาน ชุดการทดลองควบคุม ชุดการทดลองที่รมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมง และเก็บรักษาเป็นเวลา 0 วัน (บน) และ 2 วัน (ล่าง).....	26
ภาพที่ 3 ช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนาน ชุดการทดลองควบคุม ชุดการทดลองที่รมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมง และเก็บรักษาเป็นเวลา 4 วัน (บน) และ 6 วัน (ล่าง).....	27
ภาพที่ 4 ช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนาน ชุดการทดลองควบคุม ชุดการทดลองที่รมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมง และเก็บรักษาเป็นเวลา 8 วัน (บน) และ 10 วัน (ล่าง).....	28
ภาพที่ 5 ช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนาน ชุดการทดลองควบคุม ชุดการทดลองที่รมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมง และเก็บรักษาเป็นเวลา 12 วัน	29
ภาพที่ 6 เปอร์เซ็นต์การหลุดร่วงของดอกตูม (Floral bud abscission, %) ของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนาน หลังรมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมง และเก็บรักษาเป็นเวลา 20 วัน (mean \pm SE).....	31
ภาพที่ 7 เปอร์เซ็นต์การหลุดร่วงของดอกบาน (Open flower abscission, %) ของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนาน หลังรมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมง และเก็บรักษาเป็นเวลา 20 วัน (mean \pm SE)...	32
ภาพที่ 8 เปอร์เซ็นต์การบานเพิ่มของดอกตูม (Floral bud opening, %) ของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนาน หลังรมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมง และเก็บรักษาเป็นเวลา 12 วัน (mean \pm SE).....	34
ภาพที่ 9 ภาคตัดตามยาว แสดงลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์บริเวณ abscission zone (รอยต่อของแกนช่อดอกและก้านดอกย่อย) ของดอกบานตำแหน่งที่ 1 นับจากก้านของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนาน ในวันที่ 0 ของชุดควบคุม.....	36

ภาพที่ 10 ภาคตัดตามยาว ขยายบริเวณ abscission zone (รอยต่อของแกนช่อดอกและก้านดอกย่อย) ของดอกบานตำแหน่งที่ 1 นับจากก้านของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนาน ในวันที่ 0 ของชุดควบคุม..... 37

ภาพที่ 11 ภาคตัดตามยาว แสดงลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์บริเวณ abscission zone (รอยต่อของแกนช่อดอกและก้านดอกย่อย)ของดอกบานตำแหน่งที่ 1 นับจากก้านของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนาน ในวันที่ 20 ของชุดควบคุม..... 38

ภาพที่ 12 ภาคตัดตามยาว ขยายบริเวณ abscission zone (รอยต่อของแกนช่อดอกและก้านดอกย่อย) ของดอกบานตำแหน่งที่ 1 นับจากก้านของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนาน ในวันที่ 20 ของชุดควบคุม..... 39

ภาพที่ 13 ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ของรอยแยกบริเวณ abscission zone ของดอกบานตำแหน่งที่ 1 นับจากก้านของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนาน ในวันที่ 0, 8, 12, 16, และ 18 หลังรมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมง และเก็บรักษาในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส โดยให้แสงเป็นเวลา 12 ชั่วโมงต่อวัน 40

ภาพที่ 14 ปริมาณเพกทินที่ละลายน้ำได้บริเวณ abscission zone ของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนาน หลังรมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมง และเก็บรักษาเป็นระยะเวลาต่าง ๆ (mean ± SE)..... 42

ภาพที่ 15 แอกทิวิตีของเอนไซม์ PL บริเวณ abscission zone ของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนาน หลังรมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมง และเก็บรักษาเป็นเวลา 12 วัน (mean ± SE)..... 44

ภาพที่ 16 แอกทิวิตีของเอนไซม์ PG บริเวณ abscission zone ของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนาน หลังรมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมง และเก็บรักษาเป็นเวลา 12 วัน (mean ± SE)..... 45

บทที่ 1

บทนำ

1. ที่มาและความสำคัญ

กล้วยไม้เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย จากรายงานของศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร สำนักงานปลัดกระทรวงพาณิชย์ โดยความร่วมมือจากกรมศุลกากร (2557) พบว่า ในปี พ.ศ. 2556 ประเทศไทยส่งออกดอกกล้วยไม้คิดเป็นมูลค่า 2,008.2 ล้านบาท แต่ปัญหาหนึ่งที่พบในอุตสาหกรรมการผลิตกล้วยไม้ตัดดอกคือการเสื่อมคุณภาพของช่อดอก (สายชล เกตุชญา et al., 2528) ซึ่งอาการเสื่อมคุณภาพของดอกไม้ที่สังเกตได้จากภายนอก เช่น การเปลี่ยนแปลงของกลีบเลี้ยงและกลีบดอก การคว่ำของดอก การเหี่ยว รวมทั้งปัญหาการหลุดร่วงของดอกย่อยภายหลังการเก็บเกี่ยว

การหลุดร่วง (abscission) เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นกับอวัยวะหรือเนื้อเยื่อที่พืชต้องการกำจัด เพื่อแยกส่วนดังกล่าวออกจากต้นแม่ (Taylor and Whitelaw, 2001) เกิดขึ้นเพื่อตอบสนองต่อพัฒนาการ ฮอรโมน และสิ่งแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปของพืช (Estornell et al., 2013) โดยการหลุดร่วงเกิดได้กับทั้งส่วนของ vegetative organs และ reproductive organs และมีความสำคัญต่อการอยู่รอดของพืช เช่น ในฤดูแล้ง ไม้ผลัดใบจะมีการหลุดร่วงของใบเพื่อลดการคายน้ำ ทำให้ต้นไม้ยังดำรงชีวิตอยู่ได้ นอกจากนี้การหลุดร่วงยังมีบทบาทที่หลากหลายระหว่างที่พืชมีการพัฒนาส่วนต่าง ๆ เช่น การหลุดร่วงของเกสร ผล เมล็ด และใบย่อย การหลุดร่วงของอวัยวะต่าง ๆ เหล่านี้ทำให้พัฒนาการของพืชดำเนินต่อไปได้ และยังเป็นวิธีที่ทำให้เกิดการกระจายพันธุ์อย่างมีประสิทธิภาพ (Patterson, 2001) โดยการหลุดร่วงของส่วนต่าง ๆ ของพืช จะเกิดขึ้น ณ บริเวณที่เรียกว่า abscission zone ซึ่งเป็นรอยต่อระหว่างต้นพืชกับส่วนที่จะหลุดร่วง บริเวณ abscission zone จะประกอบด้วยชั้นของเซลล์พิเศษที่มีขนาดเล็กจำนวนมากหลายชั้น (Patterson, 2001)

กระบวนการการหลุดร่วงของส่วนต่าง ๆ ของพืช เกิดขึ้นได้จากการทำงานของเอนไซม์ที่ย่อยผนังเซลล์ของเซลล์บริเวณ abscission zone เช่น cellulase, pectate lyase (PL), pectin methylesterase (PME) และ polygalacturonase (PG) เป็นต้น การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอนไซม์ เช่น PME และ PL ในบริเวณที่เกิดการหลุดร่วง เกี่ยวข้องกับการเกิด demethylation ของสารประกอบเพกทิน ซึ่งเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ ทำหน้าที่เชื่อม cellulose และ hemicellulose และเป็นสารประกอบหลักในชั้น middle lamella (Albersheim et al., 2010) ทำให้เกิดการสลายของโครงสร้างดังกล่าว (Patterson, 2001) ซึ่งนำไปสู่การหลุดร่วงของอวัยวะของพืช ในที่สุด โดยเพกทินเป็นสารโพลีแซ็กคาไรด์ที่มีโมเลกุลประจุลบคือ galacturonic acid เป็น

องค์ประกอบหลัก ทำให้สามารถจับกับไอออนบวก เช่น Ca^{2+} และจับกับโมเลกุลของน้ำ เกิดเป็นโครงสร้างคล้ายเจลที่ประสานกันไว้ด้วย cellulose microfibrils (Cooper, 2000) และเนื่องจากเพกทินเป็นองค์ประกอบของ middle lamella การสลายเพกทินโดยเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในบริเวณ abscission zone จึงทำให้เกิดการหลุดร่วงได้

ฮอร์โมนพืชมีความสัมพันธ์กับการกระบวนการเจริญเติบโตและพัฒนาของพืช หนึ่งในฮอร์โมนที่สำคัญคือเอทิลีน ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อมสภาพของพืช รวมถึงการหลุดร่วงของส่วนต่าง ๆ ของพืช จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเอทิลีนกับกระบวนการทางสรีรวิทยาและชีวเคมีหลังการเก็บเกี่ยวของดอกไม้ที่ผ่านมา ได้แสดงให้เห็นแล้วว่าเอทิลีนมีบทบาทสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการหลุดร่วงของพืช ดังเช่นในการศึกษาของภูมิพงษ์ ชูช่วยสุวรรณ (2555) พบว่าการให้เอทิลีนแก่ช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์บูรณะเจดน์ และพันธุ์ขาวสนาน ทำให้ดอกตูมมีเปอร์เซ็นต์การหลุดร่วงสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้เอทิลีนยังมีผลต่อการแสดงออกของยีนของเอนไซม์ย่อยผนังเซลล์ ดังรายงานการศึกษาในดอกกุหลาบ (Singh et al., 2011) ที่พบว่ายีน *RbPel1* (pectate lyase gene) ในบริเวณ abscission zone ของกุหลาบที่ได้รับเอทิลีนมีการแสดงออกมากกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งการทดลองก่อนหน้านี้พบว่า ดอกกุหลาบที่ได้รับเอทิลีนจากภายนอกจะมีการหลุดร่วงของกลีบดอกที่เร็วกว่ากลุ่มควบคุมเช่นกัน ส่วนการศึกษาในกล้วยไม้ (Bunya-atichart et al., 2011) พบว่า หลังจากให้เอทิลีนแก่ช่อดอกกล้วยไม้พันธุ์ Miss Teen เป็นเวลา 4 วัน แอคติวิตีของเอนไซม์ PG จะเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการหลุดร่วงของดอกตูมที่เพิ่มสูงขึ้นเช่นกัน ขณะเดียวกัน มีงานวิจัยที่ศึกษาบทบาทของ 1-MCP 1-methylcyclopropene (1-MCP) ซึ่งเป็นสารที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอทิลีน (action blockers) โดยแย่งจับกับตัวรับเอทิลีน (ethylene receptor) (Blankenship and Dole, 2003) ต่อสรีรวิทยาหลังการเก็บเกี่ยวของพืชที่เกี่ยวข้องกับเอทิลีน ดังรายงานของ Uthachay et al. (2007) ที่ได้ศึกษาผลของ 1-MCP ต่อการหลุดร่วงของดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ Karen พบว่าช่อดอกที่ได้รับ 1-MCP ก่อนได้รับเอทิลีน จะมีการหลุดร่วงของทั้งดอกตูมและดอกบานที่ต่ำกว่าช่อดอกที่ได้รับเอทิลีนเพียงอย่างเดียว นอกจากนี้ผู้วิจัยยังได้ศึกษาผลของ 1-MCP ต่อการสร้างเอทิลีน และพบว่า ในวันที่ 4 และ 5 ของการศึกษา ดอกตูมที่ได้รับ 1-MCP และ ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, เป็น immediate precursor ของ ethylene (Davies, 1987)) มีปริมาณเอทิลีนต่ำกว่าดอกตูมที่ได้รับ ACC เพียงอย่างเดียว และจากการศึกษาของภูมิพงษ์ ชูช่วยสุวรรณ (2555) แสดงให้เห็นว่า 1-MCP สามารถยืดอายุการปักแจกันและชะลอการหลุดร่วงของดอกย่อยของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนานได้

จากความสัมพันธ์ระหว่างเอทิลีนกับการหลุดร่วงของดอกไม้ดังที่ได้กล่าวข้างต้น จึงนำมาสู่การศึกษาผลของ 1-MCP ต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะกายวิภาคศาสตร์ ปริมาณเพกทิน และแอคติวิตีของเอนไซม์ PL และ PG ในบริเวณ abscission zone ของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนาน ซึ่ง

เป็นพันธุ์ที่เกษตรกรนิยมปลูก (ศูนย์บริการจัดการเครือข่ายข้อมูลกล้วยไม้, 2554) เพื่อศึกษาผลของ 1-MCP ต่อกระบวนการหลุดร่วงของดอกย่อยของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสวน

2. วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาผลของ 1-เมทิลไซโคลโพรพิลีนต่อกระบวนการหลุดร่วงของดอกย่อยของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสวน

3. แผนการดำเนินการวิจัย

1. ศึกษาผลของ 1-MCP ต่อคุณภาพและอายุการปักแจกันของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสวน
2. ศึกษาผลของ 1-MCP ต่อลักษณะกายวิภาคศาสตร์ในบริเวณ abscission zone ของดอกย่อยของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสวน
3. ศึกษาผลของ 1-MCP ต่อปริมาณเพกทินและแอกทิวีทีเอนไซม์ PL และ PG ในบริเวณ abscission zone ของดอกย่อย

4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

การส่งเสริมการใช้ 1-MCP ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายวิภาคศาสตร์ ปริมาณเพกทิน และแอกทิวีทีของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง ในกระบวนการการหลุดร่วงของดอกย่อยของช่อดอกกล้วยไม้ เพื่อยืดอายุหลังการเก็บเกี่ยว ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อธุรกิจการส่งออกกล้วยไม้ตัดดอกของไทย

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

1. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกล้วยไม้

กล้วยไม้เป็นไม้ดอกในกลุ่มพืชใบเลี้ยงเดี่ยว (monocotyledonous plant) ในวงศ์ Orchidaceae ซึ่งเป็นกลุ่มพืชที่มีจำนวนชนิดมากที่สุดในกลุ่มไม้ดอก สามารถพบกล้วยไม้ได้ในถิ่นอาศัยต่าง ๆ ตั้งแต่เขตหนาวที่มีน้ำแข็งปกคลุมจนถึงเขตร้อนในป่าทุกประเภท มีความหลากหลายในด้านรูปลักษณ์ทั้งราก ต้น ใบ ดอก และผล ซึ่งลักษณะของส่วนต่าง ๆ ของกล้วยไม้มีดังนี้

1) ต้น ต้นของกล้วยไม้มีความแตกต่างหลายแบบ เช่น ลักษณะที่เรียกว่าลำลูกกล้วย หรือ หัวเทียม (pseudobulb) หรือหัว โดยมีลำต้นป้องกันผลกล้วย ซึ่งส่วนที่เป็นหัวจะมีลักษณะต่าง ๆ กัน เช่น ทรงกระบอก รูปกระสวย รูปหยดน้ำ บางชนิดค่อนข้างกลม กลมแป้น เป็นต้น ลำต้นลักษณะนี้ทำหน้าที่เก็บน้ำและสะสมอาหาร ขณะที่ต้นที่มีลักษณะกลมยาวเป็นเส้นค่อนข้างเล็ก ซึ่งแข็งแรงและเหนียว เรียกว่าเหง้า (rhizome) เหง้าจะทอดไปตามเปลือกไม้ มีรากสั้น ๆ ยึดเกาะจากส่วนของเหง้านี้มีลำต้นอีกส่วนหนึ่งซึ่งแตกต่างไปจากเหง้าเดิม เช่น เป็นลำยาว บางชนิดส่วนโคนพองกว่าส่วนปลาย บางชนิดหัวท้ายเรียว ตรงกลางป่องเล็กน้อย เป็นต้น นอกจากนี้กล้วยไม้บางชนิดยังมีกิ่งที่สามารถหลุดร่วงไปเจริญเป็นต้นใหม่ได้อีกด้วย

2) ราก รากของกล้วยไม้ อาจเกิดเฉพาะที่โคนต้นหรือตามข้อ มีขนาดและจำนวนต่างกันตามชนิด นอกจากทำหน้าที่ยึดเกาะ รากของกล้วยไม้หลายชนิดยังช่วยสังเคราะห์ด้วยแสงได้ด้วย เช่น รากของพวกพญาไร้ใบ (*Chiloschista* spp.) ซึ่งมีสีเขียว เป็นส่วนที่เห็นชัดที่สุด ขณะที่กล้วยไม้พวกหวายและช้าง มีเฉพาะส่วนปลายรากที่เกิดใหม่เท่านั้นที่มีสีเขียว ส่วนรากของกล้วยไม้ดินหลายชนิดมีการพองออกเป็นรากสะสมอาหาร (tuberous root) นอกจากนี้โครงสร้างของรากกล้วยไม้ยังมีเนื้อเยื่อคล้ายพองน้ำล้อมรอบเนื้อเยื่อลำเลียงตรงกลาง ช่วยในการเก็บความชื้นให้กับกล้วยไม้

3) ใบ กล้วยไม้มีลักษณะใบที่หลากหลาย มีทั้งพวกที่ใบลดรูป เช่น กลุ่มพญาไร้ใบ และพวกที่มีใบ ซึ่งยังแบ่งได้เป็นพวกทั้งใบและพวกที่ไม่ทั้งใบ พวกทั้งใบมักมีแผ่นใบที่บาง ส่วนพวกที่ไม่ทั้งใบนั้นมีทั้งใบกลมคล้ายต้นและใบแผ่เป็นแผ่นแบน พวกหลังนี้แผ่นใบมักจะหนา ค่อนข้างอวบน้ำ และแข็งหรือถ้าแผ่นใบไม่หนาก็จะเหนียว ซึ่งขนาดใบของกล้วยไม้พบได้ทั้งพวกที่มีใบขนาดใหญ่มาก เช่น พวกวานิลลา ที่ใบยาวถึง 30 เซนติเมตร กว้างประมาณ 10 เซนติเมตร ไปจนถึงมีขนาดเล็กมาก เช่น *Podochilus microphyllus* Lindl. ที่ใบยาว 5-6 เซนติเมตร

4) ดอก โดยทั่วไปดอกกล้วยไม้มี 6 กลีบ ประกอบด้วย กลีบเลี้ยง (sepal) 3 กลีบ และกลีบดอก (petal) 3 กลีบ ตรงกลางดอกเป็นเส้าเกสร (staminal column)

- กลีบเลี้ยง กล้วยไม้บางชนิดกลีบเลี้ยงคล้ายกันทั้งสามกลีบ แต่หลายชนิดมีกลีบเลี้ยงที่แตกต่างกัน โดยแยกเป็นกลีบเลี้ยงบน (dorsal sepal) 1 กลีบ และกลีบเลี้ยงด้านข้าง (lateral sepal) 2 กลีบ

- กลีบดอก ประกอบด้วยกลีบดอกด้านข้าง (lateral petal) 2 กลีบ และกลีบปาก (lip) ซึ่งมีลักษณะแตกต่างจากกลีบดอกด้านข้าง ส่วนของกลีบปากมีความหลากหลายไปตามสกุลและชนิด กลีบปากของกล้วยไม้ส่วนใหญ่มักอยู่ทางด้านล่างของดอก (resupinate) อันเกิดจากการบิดตัวของดอกในระยะดอกอ่อน ขณะที่อีกกลุ่มนั้นมีกลีบปากอยู่ทางด้านบน (non-resupinate)

- เส้าเกสร เป็นส่วนที่สำคัญและเป็นลักษณะเฉพาะของกล้วยไม้ เส้าเกสรประกอบด้วยเกสรเพศผู้และเกสรเพศเมีย มีลักษณะเป็นแท่งอยู่ตรงกลางดอก ส่วนบนสุดมักมีฝาเล็ก ๆ (anther cap หรือ operculum) ทำหน้าที่ปิดคลุมกลุ่มเรณู (pollinia) ถัดลงมาทางด้านหน้าของเส้าเกสรเป็นส่วนยอดของเกสรเพศเมีย (stigma) ลักษณะเป็นแฉ่งเว้าลึกเข้าไปในเส้าเกสร ภายในมีน้ำเหนียว ๆ

- อับเรณู (anther) กล้วยไม้ส่วนใหญ่มีอับเรณู 1 อัน ติดอยู่ที่ส่วนบนสุดของเส้าเกสร ซึ่งมีฝากรอบกลุ่มเรณูที่มักหลุดร่วงง่าย

- รังไข่ (ovary) อยู่ที่ส่วนล่างสุด ซึ่งอยู่ใต้ชั้นวงกลีบและต่อเนื่องไปกับก้านดอก ภายในรังไข่มีออวูล (ovule) ขนาดเล็กจำนวนมาก

5) ผลหรือฝัก และเมล็ด กล้วยไม้มีผลหรือฝักที่มีขนาดและลักษณะรูปร่างต่าง ๆ กัน เมื่อแก่เต็มที่ผลจะแตกตามแนวยาว 3 แนว ภายในมีเมล็ดขนาดเล็กมาก ลักษณะเป็นผงละเอียดจำนวนมาก ในธรรมชาตินั้นโอกาสที่เมล็ดเหล่านี้จะเจริญเป็นต้นใหม่มีไม่มาก โดยเมล็ดจะต้องตกในที่ที่สภาพแวดล้อมเหมาะสมและมีราพวก mycorrhiza อยู่ด้วย ซึ่งเส้นใยของราพวกนี้จะเจริญเข้าไปในเมล็ด ทั้งราและเมล็ด หรือต้นอ่อนของกล้วยไม้จะอยู่ด้วยกันแบบพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกัน (อบฉันท ไทยทอง, 2548)

2. การจัดจำแนกกล้วยไม้

เนื่องจากกล้วยไม้เป็นพืชที่มีลักษณะเฉพาะตัว แต่มีความหลากหลายสูง ทำให้มีการจัดจำแนกพืชในวงศ์นี้หลายระบบ ดังนี้

1) การจำแนกตามที่พบในธรรมชาติ

อาจแบ่งได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ คือ กล้วยไม้อิงอาศัย (epiphytic orchid) เป็นกลุ่มที่มักพบได้ทั่ว ๆ ไป กล้วยไม้ประเภทนี้จะใช้รากเกาะยึดกับเปลือกไม้โดยไม่ได้ดูดสารอาหารจากต้นไม้ และหลายชนิดที่เจริญได้บนโขดหินหรือหน้าผา ซึ่งอาจเรียกกล้วยไม้พวกนี้ว่ากล้วยไม้อิงอาศัยบนหิน (lithophytic orchid) ขณะที่ประเภทของกล้วยไม้ที่ขึ้นตามพื้นดินหรือชอกหินที่มีซากพืชที่สลายตัวผุพัง เรียกว่ากล้วยไม้ดิน (terrestrial orchid) โดยส่วนใหญ่แล้วกล้วยไม้ดินเป็นฤดูกาลและอาจจะมี

หัวเทียม (pseudobulb) หรือเหง้า (rhizome) หรือส่วนที่สะสมอาหารใต้ดิน นอกจากนี้กล้วยไม้ที่พบตามพื้นดินยังมีอีกกลุ่มหนึ่งซึ่งไม่สามารถสร้างอาหารเองได้ เนื่องจากไม่มีการสร้างใบหรือต้นไม่มีสีเขียว โดยได้อาหารจากการย่อยสลายซากพืช เรียกกล้วยไม้กลุ่มนี้ว่า กล้วยไม้กินซาก (saprophytic orchid)

2) การจำแนกตามลักษณะการเจริญเติบโต แบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ พวกที่มีการเจริญเติบโตทางยอดไปเรื่อย ๆ เรียกว่า พวกที่มีการเจริญเติบโตทางยอด (monopodial orchid) กล้วยไม้พวกนี้มักมีลำต้นยาว อาจมีการแตกหน่อใหม่จากโคนต้นเดิมหรือจากข้อ มักมีลำต้นแบบลำลูกกล้วย ส่วนกล้วยไม้อีกประเภทเรียกว่า พวกที่เจริญทางด้านข้าง (sympodial orchid) กลุ่มนี้จะสร้างต้นหรือหน่อใหม่จากส่วนฐานของต้นหรือหัวเดิมหรือเหง้า

3) การจำแนกกล้วยไม้ทางวิชาการ จำแนกได้เป็น 6 วงศ์ย่อย (subfamily) ตามระบบของ Dressler (1981, 1990) (อ้างถึงใน อภิวัฒน์ ไทยทอง, 2548) ได้แก่ Apostasioideae Cyripedioideae Neottioideae Orchidoideae Epidendroideae และ Vandoideae (อภิวัฒน์ ไทยทอง, 2548)

3. ลักษณะของกล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium*)

กล้วยไม้สกุลหวายเป็นสกุลที่มีจำนวนชนิดมากที่สุด ทุกชนิดเป็นกล้วยไม้อิงอาศัย ต้นมีลักษณะทั้งแบบที่เป็นลำกลมยาวคล้ายหวายย่อยส่วน ลำต้นรูปลูกกล้วย รูปกระสวย รูปเหลี่ยมตลอดจนพวกที่ลำต้นพอมยาวคล้ายเส้นลวด ลักษณะการเจริญเติบโตส่วนใหญ่เป็นแบบเจริญทางด้านข้าง ใบมีทั้งพวกใบยาว พวกใบหนา ใบเล็กเรียวก่อบกลม และพวกทิ้งใบ รากมักมีขนาดเล็ก ลักษณะที่สำคัญของกล้วยไม้สกุลนี้คือ ดอกมีกลุ่มเรณูรูปรี 2 คู่ โดยไม่มีก้านหรือแผ่นเยื่อบาง ๆ เชื่อมระหว่างคู่ ฝาปิดอับเรณูค่อนข้างกลมและร่วงง่าย มีเส้าเกสรที่สั้น ขณะที่ส่วนฐานเจริญยืดยาวคล้ายคาง กليبปากติดอยู่ที่ปลายสุดของส่วนคาง (อภิวัฒน์ ไทยทอง, 2548)

4. การหลุดร่วง

การหลุดร่วง (abscission) เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นกับเนื้อเยื่อหรืออวัยวะที่พืชต้องการแยกออกจากต้นแม่ (Taylor and Whitelaw, 2001) พบได้ทั้งในใบ ดอก ส่วนต่าง ๆ ของดอก ผล (จริงแท้ ศิริพานิช, 2550) การหลุดร่วงเป็นกระบวนการที่ต้องใช้พลังงาน และนับเป็นส่วนหนึ่งของกระบวนการเสื่อมสภาพของพืช ซึ่งเกี่ยวข้องกับการทำงานของฮอร์โมนพืชโดยเฉพาะอย่างยิ่งเอทิลีนและออกซิน เอทิลีนมีบทบาทเป็นฮอร์โมนควบคุมชนิดแรกของกระบวนการหลุดร่วง ในขณะที่ออกซินมีบทบาทเป็นฮอร์โมนคู่ตรงข้าม (antagonist) ของเอทิลีน โดยปริมาณของออกซินในบริเวณ abscission zone จะควบคุมความไวต่อเอทิลีนของเนื้อเยื่อ ขณะที่เอทิลีนสามารถยับยั้งการเคลื่อนที่

ของออกซิน ส่งผลให้เนื้อเยื่อในบริเวณนี้ไวต่อตัวเอทิลีน นอกจากนี้ยังพบว่าออกซินเองสามารถกระตุ้นการสร้างเอทิลีนได้อีกด้วย (Taylor and Whitelaw, 2001) แบบจำลองความสัมพันธ์ระหว่างเอทิลีนและออกซินต่อการควบคุมการหลุดร่วงของใบของ Brown (1997) เสนอว่าเซลล์ในบริเวณ abscission zone ของใบพีชระยะที่ 1 (ใบที่มีอายุน้อย) ยังไม่ตอบสนองต่อเอทิลีน เมื่อเข้าสู่ระยะที่ 2 (ใบอายุมากขึ้นหรือสิ่งแวดล้อมไม่เหมาะสม) ออกซินที่ถูกทำลายมายังบริเวณ abscission zone น้อยลง ทำให้เซลล์ตอบสนองต่อเอทิลีนมากขึ้น และใบพีชเองสามารถสร้างเอทิลีนได้สูงขึ้น จึงทำให้เกิดการหลุดร่วงได้ และในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างออกซินและเอทิลีนต่อการหลุดร่วงของดอกบานของดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์มิสทิน (กาญจนา รุ่งรัชกานนท์, 2550) พบว่าดอกบานที่ได้รับ CMPA (2-(4-chlorophenoxy)-2methyl propionic acid, สารยับยั้งการทำงานของออกซิน) 20 ไมโครกรัม ต่อดอกหรือ TIBA (2,3,5-triiodobenzoic acid, สารยับยั้งการเคลื่อนที่ของออกซิน) 10 ไมโครกรัม ต่อดอก พบการหลุดร่วงที่เร็วขึ้น และแม้ว่าเอทิลีนจากภายนอก (0.4 ppm) เพียงอย่างเดียว ไม่สามารถเร่งการหลุดร่วงของดอกบานได้ (ไม่พบการหลุดร่วงตลอดการทดลอง (15 วันหลังการรวม)) แต่เอทิลีนจากภายนอกสามารถส่งเสริมให้ดอกบานที่ได้รับ CMPA หรือ TIBA ร่วงเร็วขึ้นได้ แสดงให้เห็นว่าฮอร์โมนพืชทั้งสองชนิดส่งผลต่อการควบคุมการหลุดร่วงของส่วนต่าง ๆ ของพืช

เมื่อบริเวณ abscission zone ได้รับสัญญาณการหลุดร่วง เช่น การเสื่อมสภาพ ช่วงแสง (photoperiod) ความเครียดจากน้ำ (water stress) บาดแผลหรือการโจมตีของเชื้อโรค (wounding and pathogen attack) (Taylor and Whitelaw, 2001) เป็นต้น เซลล์ในบริเวณดังกล่าวจะมีการตอบสนองโดยมีการแสดงออกของยีน มีการสร้างโปรตีนและเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง เช่น เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายของผนังเซลล์ เป็นต้น ซึ่งจากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่ารอยต่อระหว่างเซลล์หรือบริเวณ middle lamella ของบริเวณเนื้อเยื่อที่มีการหลุดร่วงถูกย่อยสลายเช่นเดียวกับที่พบในระหว่างการอ่อนนุ่มของผล (จริงแท้ ศิริพานิช, 2550) ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงทางกายวิภาคศาสตร์ของเซลล์และเนื้อเยื่อ และทางชีวเคมีขององค์ประกอบของผนังเซลล์และเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง

Patterson (2001) ได้เสนอแบบรูปของกระบวนการหลุดร่วง โดยแบ่งเป็น 4 ขั้นตอน ดังนี้

- 1) การเปลี่ยนแปลงบริเวณ abscission zone ณ ตำแหน่งที่จะเกิดการหลุดร่วงของอวัยวะ
- 2) การตอบสนองต่อสัญญาณการหลุดร่วงของบริเวณ abscission zone
- 3) การกระตุ้นกระบวนการหลุดร่วงบริเวณ abscission zone และเกิดการหลุดร่วง
- 4) การเปลี่ยนแปลงบริเวณ protective layer ซึ่งอยู่ติดกับ separation layer ในตำแหน่งที่เกิดการหลุดร่วง

5. ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อบริเวณ abscission zone

เนื้อเยื่อบริเวณ abscission zone สามารถแบ่งได้เป็น 2 ชั้น คือ abscission layer (separation layer) และ protective layer (Beck, 2005) ซึ่งทำหน้าที่ป้องกันเซลล์ของต้นแม่จากเชื้อโรคหลังจากเกิดการหลุดร่วง โดยจะมีการสะสมของสารลิกนินและซูเบอร์ริน เนื้อเยื่อบริเวณ abscission zone นี้ อาจเกิดขึ้นพร้อมกับการพัฒนาของอวัยวะ ซึ่งเจริญมาจาก shoot apical meristem เรียกเนื้อเยื่อประเภทนี้ว่า primary abscission zone ขณะที่เนื้อเยื่อ abscission zone ที่เกิดขึ้นภายหลังการพัฒนาของอวัยวะ เรียกว่า adventitious abscission zone (secondary abscission zone) (Estornell et al., 2013) โดยทั่วไปเซลล์ในบริเวณ abscission zone มีผนังเซลล์ที่บางกว่าเซลล์ข้างเคียง เมื่อศึกษาเซลล์บริเวณ abscission zone ของกลีบดอก *Geranium robertianum* ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่า ระหว่างที่มีการพัฒนาของดอกจนถึงก่อนดอกร่วง ปริมาตรของช่องว่างระหว่างเซลล์เพิ่มมากขึ้น มีการสลายของเซลล์บริเวณ middle lamella และมีเซลล์บางเซลล์ที่แยกจากเซลล์โดยรอบ (Sexton et al., 1983) ในระยะแรกของการหลุดร่วงของก้านช่อดอกมะเขือเทศและยาสูบพบว่า ในระยะแรกเซลล์จะมี rough endoplasmic reticulum เป็นจำนวนมาก ซึ่งน่าจะเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์โปรตีนที่สัมพันธ์กับการสลายผนังเซลล์ และยังพบว่าการแยกกันของเซลล์เริ่มจาก middle lamella (Valdovinos and Jensen, 1968) นอกจากนี้จำนวนชั้นของเซลล์บริเวณ abscission zone จะแตกต่างกันไปตั้งแต่ 1 ชั้นในบริเวณ abscission zone ของใบของถั่ว *Phaseolus vulgaris* (Wright and Osborne, 1974) จนถึง 30-40 ชั้น ในใบย่อยของ *Sambucus nigra* (Osborne and Sargent, 1976) และภายหลังที่เกิดกระบวนการหลุดร่วงของพืชบางชนิดอาจมีการสร้าง tylose เข้าไปใน lumen ของไซเลม (Chattaway, 1948) เพื่อป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อโรค

จากรายงานของ van Doorn and Stead (1997) ที่รวบรวมข้อมูลของลักษณะเซลล์ในบริเวณ abscission zone สามารถแบ่งประเภทของเซลล์ได้เป็น 3 ประเภท คือ

1) เซลล์บริเวณ abscission zone ที่มีขนาดเล็กกว่า adjacent cell มีรูปร่างกลม (isodiametric) พบในดอกย่อยและส่วนประกอบของดอก เช่น บริเวณ abscission zone ของก้านดอกย่อยของพืชกลุ่ม *Salvia* และพืช *Solanum nigrum* ซึ่งเซลล์ของเนื้อเยื่อบริเวณนี้มีผนังเซลล์ที่บางกว่าเซลล์ข้างเคียง นอกจากนี้ยังพบเซลล์ลักษณะดังกล่าวในบริเวณ abscission zone ของกลีบดอกของ *Pelargonium x hortorum* (Evensen et al., 1993)

2) เซลล์บริเวณ abscission zone ที่มีขนาดเล็กกว่า adjacent cell รูปร่างขอบขนาน (oblong) ตัวอย่าง เช่น ก้านดอกย่อยของบีโกเนีย

3) เซลล์บริเวณ abscission zone ที่มีขนาดไม่แตกต่างจาก adjacent cell เช่น บริเวณ abscission zone ของดอกมะเขือเทศ (Roberts et al., 1984)

นอกจากนี้ Osborne (1989) (อ้างถึงใน จริงแท้ ศิริพานิช, 2550) ได้แบ่งเซลล์ในบริเวณ abscission zone ตามการตอบสนองต่อฮอร์โมนออกเป็น 3 ประเภท คือ

- 1) Type I เซลล์ไม่ตอบสนองต่อเอทิลีนแต่ตอบสนองต่อออกซิน โดยแบ่งตัวตามยาวเมื่อได้รับออกซิน
- 2) Type II เซลล์ตอบสนองต่อเอทิลีนแต่ไม่ตอบสนองต่อออกซิน
- 3) Type III เซลล์ตอบสนองต่อทั้งเอทิลีนและออกซิน โดยขยายขนาดเมื่อได้รับฮอร์โมนทั้งสอง

โดยเซลล์ในบริเวณ abscission zone เป็นเซลล์เป้าหมาย (target cell) ของการส่งสัญญาณจากพืชหรือสิ่งแวดล้อมเพื่อให้เกิดการตอบสนองและนำไปสู่การหลุดร่วง

6. เอทิลีน

เอทิลีนเป็นฮอร์โมนพืชที่มีสถานะแก๊ส สามารถแพร่กระจายไปยังส่วนต่าง ๆ ของพืชได้ง่าย สามารถกระตุ้นเนื้อเยื่อทุกชนิดให้มีอัตราการหายใจที่สูงขึ้น การทำงานของเอทิลีนจะเกี่ยวข้องกับฮอร์โมนพืชชนิดอื่น (จริงแท้ ศิริพานิช, 2549) เอทิลีนมีบทบาทต่อพัฒนาการของพืชหลายประการ เช่น การตอบสนองที่เรียกว่า triple response การยืดของเซลล์ การสุกของผลไม้ การเสื่อมสภาพของดอกไม้ รวมทั้งการหลุดร่วงของส่วนต่าง ๆ ของพืช (Taiz and Zeiger, 2010) การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเอทิลีนและกระบวนการหลุดร่วง พบว่า อัตราการสร้างเอทิลีนเพิ่มมากขึ้นก่อนที่กลีบดอกของพืชสกุล *Digitalis* จะหลุดร่วง (Stead and Moore, 1983) ขณะที่รายงานของกาญจนา บุญเรือง (2548) พบว่า การให้เอทิลีนจากภายนอกสามารถเร่งกลีบดอกของดอกมะลิให้ร่วงเร็วขึ้นเมื่อเทียบกับดอกที่ไม่ได้รับเอทิลีน เช่นเดียวกับการศึกษาของภูมิพงษ์ ชูช่วยสุวรรณ (2555) ที่พบว่า กล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนานและพันธุ์บูรณะเจดน์ที่ได้รับเอทิลีนความเข้มข้น 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร นาน 24 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การหลุดร่วงของดอกบานและดอกตูมที่มากกว่ากล้วยไม้ในชุดควบคุม นอกจากนี้จากการศึกษาของ Bunya-atichart et al. (2011) พบว่า การรมเอทิลีนความเข้มข้น 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร นาน 24 ชั่วโมงในกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์มัสทีน เร่งให้ดอกตูมหลุดร่วง อย่างไรก็ตาม แม้จะส่งเสริมการเหี่ยวของกลีบดอก แต่เอทิลีนจากภายนอกไม่มีผลต่อการหลุดร่วงของดอกบานของกล้วยไม้พันธุ์ดังกล่าว ขณะที่รายงานของ van Doorn (2002) ที่ศึกษาผลของเอทิลีนต่อการหลุดร่วงของไม้ตัดดอกและไม้กระถางเกือบ 300 ชนิด ใน 50 วงศ์ พบว่าดอกของพืชเกือบทุกชนิดที่ทำการศึกษาไวต่อเอทิลีนและชักนำให้เกิดการหลุดร่วงของดอก แต่กล้วยไม้สกุล *Cymbidium* ไม่ไวต่อเอทิลีนที่ให้จากภายนอก รายงานของ Ichimura et al. (2009) พบว่า อัตราการหลุดร่วงของกลีบเลี้ยงของ *Delphinium hybrid* cv. Bellamosum ที่อายุการเก็บเกี่ยวที่เท่ากัน ไม่มีความแตกต่างกัน ระหว่างชุดควบคุมกับชุดที่ได้รับเอทิลีนจากภายนอก แต่ดอกที่อายุมากขึ้นจะไว

ต่อเอทิลีนจากภายนอกมากขึ้น (กลีบดอกหลุดร่วงเร็วขึ้น) ซึ่งให้เห็นว่าความไวต่อการตอบสนองต่อเอทิลีนในแง่ของการหลุดร่วง อาจแตกต่างกันในพืชแต่ละชนิดและแต่ละช่วงอายุ

7. 1-Methylcyclopropene

1-Methylcyclopropene หรือ 1-MCP เป็นสารที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอทิลีน (ethylene action blocker) โดยแย่งจับกับตัวรับเอทิลีน (Blankenship and Dole, 2003) ทำให้ 1-MCP มีบทบาทอย่างมากในการใช้ศึกษาหน้าที่ของเอทิลีนในพืชดอก สารนี้ได้รับการจดสิทธิบัตร (patent) โดย Sisler and Blankenship (1996) (อ้างถึงใน Blankenship and Dole, 2003) และได้รับการตรวจสอบโดย the United States Environmental Protection Agency (EPA) ในปี ค.ศ. 1999 และอนุญาตให้นำไปใช้ในไม้ประดับ โดยมีชื่อทางการค้าว่า EthylBloc® ผลิตโดย Floralife, Inc. (Walterboro, SC) จากนั้น AgriFresh, Inc. ได้พัฒนา 1-MCP ภายใต้ชื่อทางการค้า SmartFresh™ สำหรับพืชผลที่กินได้ (Hamrick, 2001) (อ้างถึงใน Blankenship and Dole, 2003)

1-MCP มีผลทำให้เกิดการตอบสนองทางสรีรวิทยาหลังการเก็บเกี่ยวในพืชผักผลไม้ในแง่ต่าง ๆ และให้ผลที่หลากหลายในพืชที่ต่างชนิดต่างสายพันธุ์กัน เช่น กล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์บูรณะเจตน์ และพันธุ์เอียสกุลที่รม 1-MCP ความเข้มข้นต่าง ๆ ไม่มีความแตกต่างของอายุการปักแจกันของพันธุ์บูรณะเจตน์ แต่ 1-MCP ที่ความเข้มข้นเดียวกันนี้สามารถยืดอายุการปักแจกันของพันธุ์เอียสกุลได้ (สุณิษา อยู่ดี, 2554) Sun et al. (2012) พบว่า คำน้ำที่รมด้วย 1-MCP ความเข้มข้น 10 ไมโครลิตร/ลิตร นาน 24 ชั่วโมง มีอายุการเก็บรักษาที่นานกว่าชุดควบคุม ชะลอการสูญเสียน้ำหนัก ลดอัตราการเน่าของใบและการสลายของคลอโรฟิลล์ อีกทั้ง 1-MCP ยังยับยั้งการสร้างเอทิลีนและลดอัตราการหายใจ รวมถึงชะลอการลดลงของ ascorbic acid, carotenoid และ glucosinolate ส่วนการศึกษาผลของ 1-MCP ต่อการหลุดร่วงพบว่า 1-MCP ความเข้มข้น 500 ไมโครลิตร/ลิตร ชะลอการหลุดร่วงของดอกตูมของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ 'Karen' เมื่อเทียบกับชุดควบคุมและชุดที่รมด้วยเอทิลีน (Uthaichay et al., 2007)

8. ผนังเซลล์

ผนังเซลล์ของพืชทำหน้าที่ให้ความแข็งแรงแก่เซลล์ มีองค์ประกอบเป็นสารโพลีแซ็กคาไรด์ (เซลลูโลส เพกทิน เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน) ไขมัน (ซูเบอร์อิน แวกซ์ คิวทิน) และโปรตีน สารเหล่านี้เป็นโครงสร้างของผนังเซลล์ในชั้นต่าง ๆ แตกต่างกันตามหน้าที่และอายุของเซลล์ โดยชั้นของผนังเซลล์ประกอบด้วย

- 1) middle lamella เป็นส่วนที่กั้นระหว่างเซลล์ มีเพกทินเป็นองค์ประกอบหลัก

2) ผนังเซลล์ปฐมภูมิ (primary cell wall) ประกอบด้วยสารเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส เพกทิน และไกลโคโปรตีน (glycoprotein) ขณะที่พืชบางชนิดอาจมีการสะสมสารลิกนิน

3) ผนังเซลล์ทุติยภูมิ (secondary cell wall) ประกอบด้วยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และซูเบอร์ริน

(พวงผกา สุนทรชัยนาคแสง, 2548)

9. เพกทิน

เพกทินเป็นองค์ประกอบหนึ่งของผนังเซลล์และเป็นสารประกอบหลักของชั้น middle lamella ทำหน้าที่เป็นตัวเชื่อมระหว่างเซลล์ เพกทินมีโครงสร้างของโมเลกุลค่อนข้างซับซ้อน มีองค์ประกอบหลักเป็นสาร galacturonic acid (จริงแท้ ศิริพานิช, 2550) รวมเป็นโพลิเมอร์ชนิดต่าง ๆ ได้แก่ rhamnogalacturonan I และ II homogalacturonan xylogalacturonan arabinan arabinogalactan และสารโพลีแซ็กคาไรด์อื่น ๆ โดยพบว่า rhamnogalacturonan I ประกอบไปด้วย galacturonic acid และ rhamnose ขณะที่ homogalacturonan เกิดจากโมเลกุลของ galacturonic acid เรียงเป็นเส้นตรง ส่วน xylogalacturonan เกิดจากการเติม xylose ในสาย และ rhamnogalacturonan II ประกอบด้วย sugar residues 11 ชนิดที่แตกต่างกัน และประกอบเป็น dimers ผ่าน borate ester ในขณะที่ neutral arabinans และ arabinogalactans เชื่อมกับ acidic pectin และคาดว่าองค์ประกอบทั้งสองส่งเสริมความยืดหยุ่นของผนังเซลล์และจับกับผิวของเซลลูโลส โดยโครงสร้างเพกทินเกิดจากการเชื่อมกันของสารประกอบเหล่านี้ด้วยพันธะโควาเลนต์และพันธะไอออนิกที่เชื่อมด้วยโบรอนและแคลเซียม เกิดเป็นเครือข่ายเพกทินโมเลกุลขนาดใหญ่ (macromolecular pectin network) จากภาพที่ 1 rhamnogalacturonan I ทำหน้าที่เป็นแกน ส่วนเพกทินโมเลกุลอื่นเป็นแขนง และโมเลกุลของ rhamnogalacturonan II เชื่อมกันด้วยพันธะ borate ester ซึ่งมีบทบาทควบคุมความพรุนและความหนาของผนังเซลล์ ขณะที่ homogalacturonan เชื่อมกันด้วยพันธะไอออนิกและพันธะโคออดิเนตโดยมีโมเลกุลของแคลเซียมเป็นตัวกลางเชื่อมระหว่างหมู่คาร์บอกซิล (ภาพที่ 1) (Cosgrove, 2005)

เพกทินสามารถแบ่งตามความสามารถในการละลายได้เป็น 3 ประเภท คือ protopectin (เพกทินที่ไม่ละลายในน้ำ แอลกอฮอล์ และ ether (Sinclair, 1972)) เพกทินที่ละลายใน chelator (chelator-soluble pectin เช่น EDTA-soluble pectin) และเพกทินที่ละลายน้ำได้ (water-soluble pectin) โดยเพกทินที่ละลายน้ำได้และเพกทินที่ละลายใน chelator มีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นสาร galacturonic acid ร่วมกับ rhamnose 2% และ neutral sugar 10-20% ซึ่งการกระจายและจำนวนของหมู่คาร์บอกซิลอิสระ (free carboxyl group) อาจส่งผลสำคัญต่อประเภทของเพกทิน ส่วน protopectin ประกอบด้วย galactose และ arabinose เป็นส่วนใหญ่ (Walter,

1991) โดยสัดส่วนของเพกทินทั้ง 3 ประเภทแตกต่างกันไปตามอายุและเนื้อเยื่อแต่ละชนิด เช่น ระหว่างการสุกของมะม่วงมีเพกทินที่ละลายน้ำได้เพิ่มมากขึ้น ในขณะที่ปริมาณเพกทินที่ไม่ละลายในน้ำลดลง (Duan et al., 2008) จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบต่าง ๆ ในการพัฒนาของผลกล้วย (นวลกมล อำนวยสิน, 2550) พบว่าผลของกล้วยหอมทองและผลกล้วยหักมุกมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงที่เพิ่มสูงขึ้นตลอดระยะเวลาการสุก เช่นเดียวกับการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบผนังเซลล์ในระหว่างการหลุดร่วงของใบที่พบว่าปริมาณเพกทินที่ละลายน้ำได้เพิ่มขึ้น (จริงแท้ ศิริพานิช, 2550) และจากการศึกษาทางกายวิภาคศาสตร์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ทำให้เห็นว่าบริเวณ middle lamella ของบริเวณ abscission zone ทยอยละลายเช่นเดียวกับที่พบในระหว่างการนึ่งของผล (จริงแท้ ศิริพานิช, 2550) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและองค์ประกอบของผนังเซลล์ในบริเวณ abscission zone เกิดจากการทำงานของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยผนังเซลล์ (Patterson, 2001) เช่น polygalacturonase (PG) cellulase pectin methylesterase (PME) และ pectate lyase (PL) เป็นต้น

10. Pectate lyase

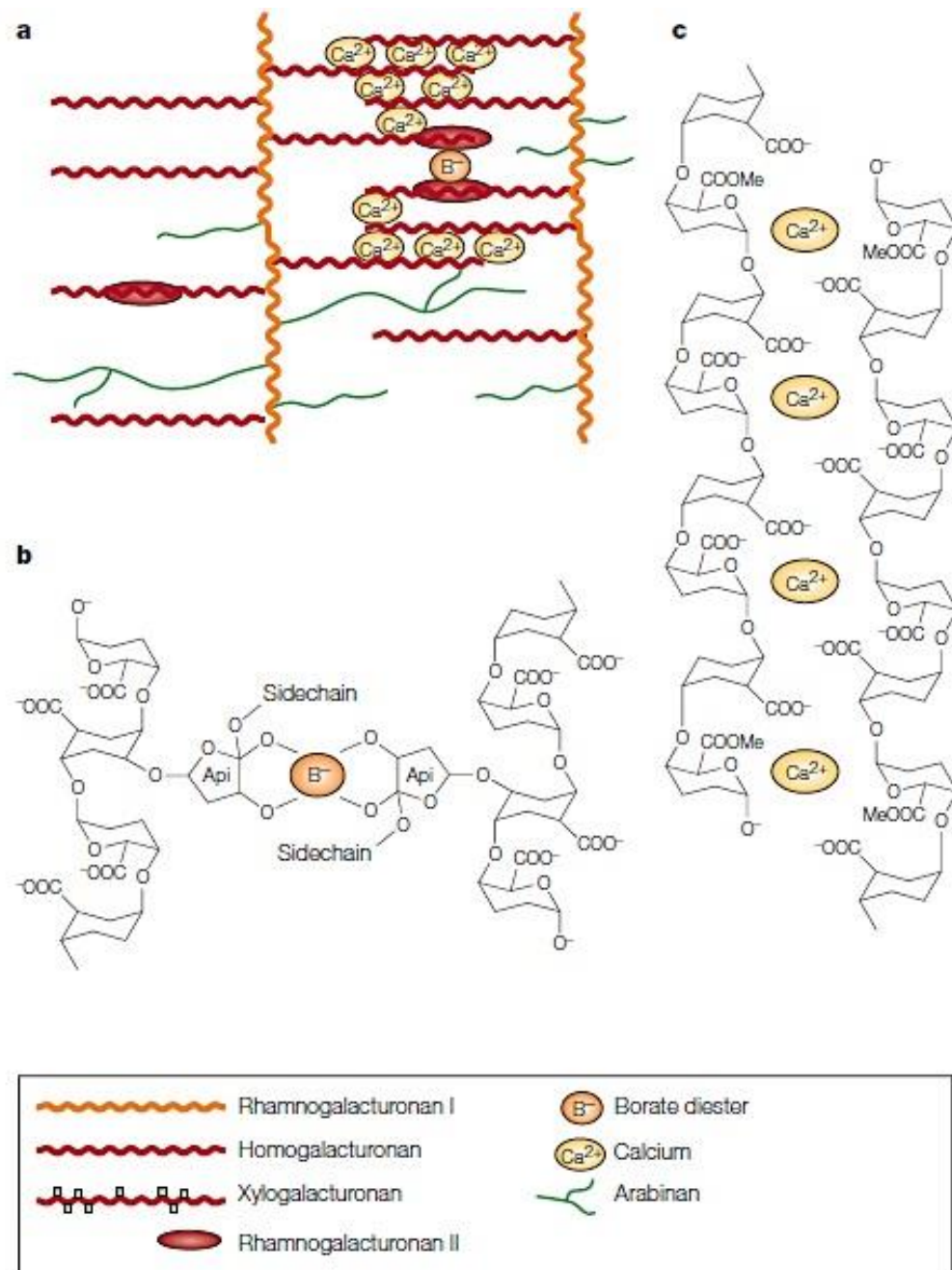
Pectate lyase (PL) เป็นเอนไซม์ที่เร่งการทำลายพันธะ α -1,4-D-galacturonan ได้เป็น galacturonic acid จากโมเลกุลของเพกทินโดยใช้ปฏิกิริยา β -elimination (จริงแท้ ศิริพานิช, 2550) เอนไซม์ PL มีบทบาทในระหว่างการนึ่งของผลไม้ เช่น จากการศึกษาทางชีวโมเลกุลพบว่า ผลสตอเบอร์รี่จากต้น transgenic plant ที่ถูกควบคุมการแสดงออกของยีน จะนึ่งช้ากว่าชุดควบคุม และมีความหนาของเพกทินระหว่างเซลล์ที่มากกว่าเช่นกัน (Santiago-Dome'nech et al., 2008) ส่วนความสัมพันธ์ระหว่างเอนไซม์ PL และการหลุดร่วงของพืชนั้น พบว่า ยีน *RbPel1* (pectate lyase gene) ในบริเวณ abscission zone ของดอกกุหลาบกลุ่มที่ได้รับเอทิลีนจากภายนอกมีการแสดงออกมากกว่าของกลุ่มควบคุม (Singh et al., 2011) ซึ่งสอดคล้องกับการหลุดร่วงที่เพิ่มขึ้นของกลีบดอกกุหลาบที่ได้รับเอทิลีนจากภายนอก

11. Polygalacturonase

Polygalacturonase (PG) เป็นเอนไซม์ในกลุ่ม hydrolase ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการทำลายพันธะ α -1,4-D-galacturonan (Fishcher and Bennett, 1991) ด้วยปฏิกิริยา hydrolysis มีทั้ง exo-polygalacturonase กระตุ้นการทำลายพันธะ α -1,4-D-galacturonan จากปลายสายทางด้าน non-reducing ขณะที่ endo-polygalacturonase เร่งการย่อยพันธะ โดยการสุมั่วทั้งโมเลกุลของเพกทิน (จริงแท้ ศิริพานิช, 2550) จากการศึกษาพบว่าเอนไซม์ PG เกี่ยวข้องกับการนึ่งในผลไม้สุก เช่น ผลมะเขือเทศมีแอกทิวิตีของเอนไซม์ PG ที่สูงขึ้นตามระยะการเก็บรักษาที่มากขึ้น (Brummell

and Harpster, 2001) เช่นเดียวกับการศึกษาของ (นวลกมล อำนวยสิน, 2550) ที่พบว่า แอททิวทีของเอนไซม์ PG ของผลกล้วยหอมทองและผลกล้วยหักมุกค้อย ๆ เพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษาสำหรับการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงแอททิวทีของเอนไซม์ PG และการหลุดร่วง (Bunya-atichart et al., 2011) หลังจากให้เอทิลีนแก่ช่อดอกกล้วยไม้พันธุ์ Miss Teen เป็นเวลา 4 วัน แอททิวทีของเอนไซม์ PG จะเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการหลุดร่วงของดอกตูมที่เพิ่มสูงขึ้นเช่นกัน





ภาพที่ 1 รูปแบบการเชื่อมต่อของเพกทินด้วยพันธะโควาเลนต์และพันธะไอออนิก (Cosgrove, 2005)

บทที่ 3

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

1. พืชทดลอง

ช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนาน เกรดส่งออก ขนาดความยาวช่อ 50-60 เซนติเมตร จากสวนกล้วยไม้ คุณมิตร ปานเจริญ ในอำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม โดยเป็นช่อดอกกล้วยไม้ที่ตัดตอนเข้าระหว่างเวลา 07.00-08.00 น. จากนั้นขนส่งด้วยรถยนต์ปรับอากาศ ใช้ระยะเวลาในการเดินทางถึงห้องปฏิบัติการประมาณ 3 ชั่วโมง

2. อุปกรณ์

2.1 อุปกรณ์ในการมช่อดอกกล้วยไม้

ถังพลาสติกขนาด 100 ลิตร

สายวัด

กรรไกรตัดกิ่ง

แผ่นโฟม

กะละมังพลาสติก

เข็มฉีดยา

เทปกาวย่น

คัตเตอร์

ขวดน้ำกลั่น

หลอดใส่กล้วยไม้

ปีกเกอร์

หลอดทดลอง

หลอดเซนตริฟิวจ์ขนาด 15 มิลลิลิตร

อโต้ปีเปตต์

เชือก

2.2 อุปกรณ์ในการศึกษาอายุการปักแจกันและคุณภาพช่อดอกกล้วยไม้

ผ้าดำ

กล้องถ่ายรูป canon power shot



2.3 อุปกรณ์ในการศึกษาลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์บริเวณ abscission zone ของดอกย่อย

ขวดแก้วขนาด 2 มิลลิลิตร

ตู้อบ

เครื่องอุ่นสไลด์ (slide warmer)

เครื่องดูดอากาศ

เครื่อง rotary microtome (Microm HM 340 E)

ใบมีดสำหรับเครื่อง rotary microtome

ตู้เย็น

หลอดหยด

Hot plate

ตู้ดูดควัน

กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

กล้องถ่ายรูป

สไลด์และแผ่นปิดสไลด์

Tank ย้อมสี

คีมคีบ

แผ่นไม้

แผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์

เข็มเขี่ย

ฟู่กัน



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

2.4 อุปกรณ์ในการศึกษาปริมาณเพกทินบริเวณ abscission zone ของดอกย่อย

แผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์

ตู้แช่เย็นที่ -80 องศาเซลเซียส

กระตักน้ำเก็บความเย็น

Water bath

หลอดทดลอง

Vortex mixer

Centrifuge

Spectrophotometer

Mircropipette
 ขวดน้ำกลั่น
 กล้องโพรบเก็บความเย็น
 หลอดเซนตริฟิวจ์ขนาด 15 มิลลิลิตร
 เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง

2.5 อุปกรณ์ในการศึกษาแอกทิวิตีของเอนไซม์ PL และ PG บริเวณ abscission zone ของดอกย่อย

แผ่นอลูมิเนียมฟอยล์
 ตู้แช่เย็นที่ -80 องศาเซลเซียส
 Centrifuge
 เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง
 Water bath
 หลอดทดลอง
 Spatula
 Micropipette
 Vortex mixer
 ขวดน้ำกลั่น
 กล้องโพรบเก็บความเย็น
 กระตักน้ำเก็บความเย็น



3. สารเคมี

3.1 สารเคมีในการรมช่อดอกกล้วยไม้

1% Ethylene
 1-methylcyclopropene (1-MCP) (EthylBloc®, FloraLife, USA)
 น้ำกลั่น

3.2 สารเคมีในการศึกษาลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์บริเวณ abscission zone ของดอกย่อย

Absolute ethyl alcohol
 95% ethyl alcohol

FAA (formalin acetic acid alcohol) (ภาคผนวก ข)

สีย้อม Fast green (เตรียมตามวิธีการของ Ruzin (1999)) (ภาคผนวก ข)

สีย้อม Safranin O (เตรียมตามวิธีการของ Ruzin (1999)) (ภาคผนวก ข)

Dehydrants (ภาคผนวก ข)

Paraplast

Permount

Xylene

Clove oil

น้ำกลั่น

3.3 สารเคมีในการศึกษาปริมาณเพกทินบริเวณ abscission zone ของดอกย่อย

(Robertson, 1979) (อ้างถึงใน นवलกมล อำนวยสิน, 2550)

3.3.1 สารเคมีในการสกัดเพกทิน

ไนโตรเจนเหลว

95% และ 63% ethyl alcohol

1N และ 0.5% NaOH

น้ำกลั่น

D-galacturonic acid

3.3.2 สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณเพกทิน

สารละลายเพกทินที่สกัดได้

0.0125 M $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ (ใน glacial acetic acid)

0.3% m-hydroxydiphenyl (ในสารละลาย 0.5% NaOH)

D-galacturonic acid

น้ำกลั่น

3.4 สารเคมีในการศึกษาเอกทิวทิของเอนไซม์ PL และ PG บริเวณ abscission zone ของดอกย่อย

3.4.1 สารเคมีในการสกัดเอนไซม์

0.02M sodium phosphate buffer (ภาคผนวก ข)

0.02M ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)

1% triton x-100

0.02M cysteine-HCl

3.4.2 สารเคมีในการวิเคราะห์แอกทิวิตีของเอนไซม์ PL

0.3% polygalacturonic acid (PGA, 0.02M sodium acetate pH 4.5)

0.02M sodium acetate buffer pH 4.5 (ภาคผนวก ข)

50% DNS reagent (ภาคผนวก ข)

D-galacturonic acid

3.4.3 สารเคมีในการวิเคราะห์แอกทิวิตีของเอนไซม์ PG

1% polygalacturonic acid (PGA, 0.05M sodium acetate pH 4.5)

0.2M sodium acetate buffer pH 4.5

50% DNS reagent

D-galacturonic acid

3.4.4 สารเคมีในการวิเคราะห์ Total protein (ดัดแปลงจากวิธี Bio-Rad Protein assay)

ชุดทดสอบโปรตีน Bio-Rad protein assay

น้ำกลั่น

4. วิธีการศึกษา

4.1 การเตรียมช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนาน

คัดเลือกช่อดอกกล้วยไม้ให้มีขนาดและจำนวนดอกใกล้เคียงกัน (ความยาวช่อดอก 50-60 เซนติเมตร จำนวนดอกบานเริ่มต้น 5-7 ดอก และ และจำนวนดอกย่อยทั้งหมด 15-22 ดอก) ตัดก้านช่อดอกใต้น้ำให้มีความยาว 15 เซนติเมตร (วัดจากดอกบานล่างสุดถึงโคนก้าน) ทำเครื่องหมายด้วยการผูกเชือกที่ก้านดอกบานตำแหน่งที่ 1 และก้านดอกตูมตำแหน่งที่ 1 จากนั้นปักช่อดอกกล้วยไม้ในหลอดพลาสติกที่บรรจุน้ำกลั่นปริมาตร 4 มิลลิลิตร เพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

4.2 ศึกษาผลของ 1-MCP ต่ออายุการปักแจกันและคุณภาพของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนาน

แบ่งช่อดอกกล้วยไม้ออกเป็น 4 ชุด ชุดละ 3 ช่อ ช้าละ 6 ช่อ ดังนี้ (ภูมิพงษ์ ชูช่วยสุวรรณ, 2555)

ชุดทดลองที่ 1 ชุดควบคุม ไม่รมเอทิลีน

ชุดทดลองที่ 2 รมเอทิลีน ความเข้มข้น 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร นาน 24 ชั่วโมง

ชุดทดลองที่ 3 รม 1-MCP ความเข้มข้น 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร นาน 3 ชั่วโมง

ชุดทดลองที่ 4 รม 1-MCP ความเข้มข้น 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร นาน 3 ชั่วโมง และเอทิลีน ความเข้มข้น 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร นาน 24 ชั่วโมง

รมช่อดอกกล้วยไม้ด้วย 1-MCP และ/หรือ เอทิลีน ภายในถังพลาสติกขนาด 100 ลิตร ซึ่งปิดสนิทด้วยเทปกาวตามเงื่อนไขข้างต้น จากนั้นนำช่อดอกกล้วยไม้ที่ผ่านการรมใส่ในหลอดเซนตริฟิวจ์ บรรจุน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร วางไว้บนแผ่นโฟมที่ใช้เป็นฐาน เก็บรักษาที่ 25 ± 1 องศาเซลเซียสและได้รับแสงเป็นเวลา 12 ชั่วโมงต่อวัน ทำการเก็บผลการศึกษาในวันที่ 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, และ 20 หลังได้รับการรม หรือจนกว่าจะหมดอายุการปักแจกัน โดยบันทึกผลต่าง ๆ ดังนี้

4.2.1 อายุการปักแจกัน

บันทึกอายุการปักแจกันของช่อดอกกล้วยไม้ โดยกำหนดให้ช่อดอกกล้วยไม้หมดอายุการปักแจกันเมื่อจำนวนดอกบานเริ่มต้นเสื่อมสภาพตั้งแต่ 50 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป ลักษณะของดอกบานที่เสื่อมสภาพ คือ กลีบเลี้ยงหรือกลีบดอกเปลี่ยนสี กลีบเลี้ยงและกลีบดอกปรากฏเส้น vein ชัดเจน ดอกเหี่ยวหรือร่วงหรือดอกคว่ำลง (นริสา อุทัยฉาย, 2546)

4.2.2 การหลุดร่วงของดอกตูมและดอกบาน (ภูมิพงษ์ ชูช่วยสุวรรณ, 2555)

บันทึกจำนวนดอกตูมเริ่มต้น จำนวนดอกตูมที่ร่วงสะสม จำนวนดอกบาน จำนวนดอกบานที่ร่วงสะสมและคำนวณหาการหลุดร่วงของดอกตูม (%) และการหลุดร่วงของดอกบาน (%) ดังสมการต่อไปนี้

$$\text{การหลุดร่วงของดอกตูม (\%)} = \frac{\text{จำนวนดอกตูมที่ร่วงสะสม}}{\text{จำนวนดอกตูมเริ่มต้น}} \times 100$$

$$\text{การหลุดร่วงของดอกบาน (\%)} = \frac{\text{จำนวนดอกบานที่ร่วงสะสม}}{\text{จำนวนดอกบานเริ่มต้น}} \times 100$$

4.2.3 การบานเพิ่มของดอกตูม (ภูมิพงษ์ ชูช่วยสุวรรณ, 2555)

บันทึกจำนวนดอกตูมเริ่มต้น จำนวนดอกตูมที่บานเพิ่มสะสม และคำนวณหาการบานเพิ่มของดอกตูม (%) ดังสมการต่อไปนี้

$$\text{การบานเพิ่มของดอกตูม (\%)} = \frac{\text{จำนวนดอกตูมที่บานเพิ่มสะสม}}{\text{จำนวนดอกตูมเริ่มต้น}} \times 100$$

4.3 ศึกษาผลของ 1-MCP ต่อลักษณะกายวิภาคศาสตร์บริเวณ abscission zone ของดอกย่อยของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนาน

4.3.1 รมช่อดอกกล้วยไม้ตามขั้นตอนในข้อ 3.2 โดยแบ่งช่อดอกกล้วยไม้เป็น 4 ชุดการทดลอง ชุดละ 3 ชำ ช้ำละ 1 ช่อ

4.3.2 เก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อบริเวณ abscission zone (รอยต่อระหว่างแกนช่อดอกและก้านดอกย่อย) ของดอกบานตำแหน่งที่ 1 นับจากก้าน โดยตัดให้ยาวประมาณ 7 มิลลิเมตร ในวันที่ 0, 8, 12, 16, 18, และ 20 หลังได้รับการรม หรือจนถึงวันหลังดอกบานตำแหน่งที่ 1 ร่วง

4.3.3 เตรียมตัวอย่างเนื้อเยื่อจากข้อ 3.3.2 โดยวิธี paraffin embedding (Ruzin, 1999) โดยแช่ตัวอย่างเนื้อเยื่อในสารละลาย FAA และดูดอากาศออกจากตัวอย่างด้วยเครื่องดูดอากาศ ที่ความดันไม่เกิน 25 ปอนด์/นิ้ว² จากนั้นเปลี่ยนสารละลาย FAA และแช่ในตู้เย็น แช่ตัวอย่างเนื้อเยื่อใน dehydrant ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยแช่แต่ในละความเข้มข้นนาน 2 ชั่วโมง แช่ตัวอย่างเนื้อเยื่อใน paraplast ซึ่งหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสอย่างน้อย 2 ชั่วโมง และเปลี่ยน paraplast อีก 4 ครั้งโดยแช่ครั้งละอย่างน้อย 2 ชั่วโมง นำตัวอย่างเนื้อเยื่อวางใน paraplast จากนั้นรื้อให้เย็น แล้วจึงติดตัวอย่างบนแท่งไม้ ตัดตัวอย่างเนื้อเยื่อด้วย rotary microtome ให้มีความหนาของเนื้อเยื่อประมาณ 16 ไมโครเมตร วางตัวอย่างเนื้อเยื่อบนสไลด์ซึ่งมี 3% formalin และ haft adhesive เป็นตัวยึด จากนั้นวางสไลด์บน slide warmer ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เพื่อให้เนื้อเยื่อเคลือบ แล้วจึงอบข้ามคืนในตู้อบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ย้อมสีด้วยสีย้อม safranin O และ fast green (ภาคผนวก ข) ปิดแผ่นปิดสไลด์ โดยใช้ permount เป็นตัวกลาง

4.3.4 นำสไลด์ถาวรที่ได้จาก 4.3.3 มาศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ศึกษา ลักษณะของเซลล์ในเนื้อเยื่อต่าง ๆ พร้อมทั้งบันทึกภาพ

4.4 ศึกษาผลของ 1-MCP ต่อปริมาณเพกทินในบริเวณ abscission zone ของดอกย่อย

4.4.1 รมช่อดอกกล้วยไม้ตามขั้นตอนในข้อ 3.2 โดยแบ่งกล้วยไม้เป็น 4 ชุดการทดลอง ชุดละ 4 ชำ ช้ำละ 2 ช่อ

4.4.2 เก็บเนื้อเยื่อบริเวณ abscission zone ของดอกบานตำแหน่งที่ 1 นับจากก้าน ในวันที่ 0, 2, 4, 6, 8, 10, และ 12 หลังได้รับการรม สกัดและวิเคราะห์ปริมาณเพกทินของเนื้อเยื่อในบริเวณ abscission zone (ภาคผนวก ข) (Robertson, 1979) (อ้างถึงใน นวลกมล อำนวยสิน, 2550)

4.5 ศึกษาผลของ 1-MCP ต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์ PL และ PG ในบริเวณ abscission zone ของดอกย่อย

4.5.1 รมช่อดอกกล้วยไม้ตามขั้นตอนในข้อ 3.2 โดยแบ่งกล้วยไม้เป็น 4 ชุดการทดลอง ชุดละ 4 ช่อ ช่อละ 2 ช่อ

4.5.2 เก็บเนื้อเยื่อบริเวณ abscission zone ของดอกบานตำแหน่งที่ 1 นับจากก้าน ในวันที่ 0, 2, 4, 6, 8, 10, และ 12 หลังได้รับการรม สกัดเอนไซม์จากเนื้อเยื่อด้วยวิธีที่ดัดแปลงจาก Lohani et al. (2004) (ภาคผนวก ข) นำมาวัดแอกทิวิตีของเอนไซม์ PL (Miller, 1959) (อ้างถึงใน นวลกมล อำนวยสิน, 2554) และ PG (Pathak and Sanwal, 1998) (ภาคผนวก ข) โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร แอกทิวิตีของเอนไซม์ 1 หน่วย เท่ากับ นาโนโมล ของ D-galacturonic acid/นาที/มิลลิกรัมโปรตีน

4.5.3 วัด total protein (จินตนา จันเจริญฤทธิ์, 2545) (อ้างถึงใน นวลกมล อำนวยสิน, 2550) (ภาคผนวก ข) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร เทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายโปรตีน Bovine serum albumin (BSA)

5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ผลการทดลองด้วย One-Way ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม SPSS version 17.0 (SPSS Inc, USA)

6. สถานที่ปฏิบัติงาน

ห้องปฏิบัติการไฟโตตรอน ห้องปฏิบัติการทางสรีรวิทยาของพืชห้องปฏิบัติการกายวิภาคและไมโครเทคนิค และห้องปฏิบัติการกลาง ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

ผลการศึกษา

1. ผลของ 1-MCP ต่ออายุการปักแจกันและคุณภาพของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสวน

1.1 อายุการปักแจกัน

ชุดการทดลองควบคุมของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสวนที่ไม่ได้รมด้วยเอทิลีนและ 1-MCP มีอายุการปักแจกัน 9.0 ± 0.7 วัน ในขณะที่ชุดการทดลองที่รมด้วยเอทิลีนมีอายุการปักแจกัน 2.6 ± 0.35 วัน ซึ่งน้อยกว่าชุดควบคุม ชุดการทดลองที่ได้รับ 1-MCP อย่างเดียว (10.2 ± 0.5 วัน) และชุดการทดลองที่รม 1-MCP ก่อนรมเอทิลีน (10.7 ± 0.5 วัน) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสองชุดการทดลองหลังมีอายุการปักแจกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 1)



ตารางที่ 1 อายุการปักแจกันของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนานหลังรมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมง (mean \pm SE)

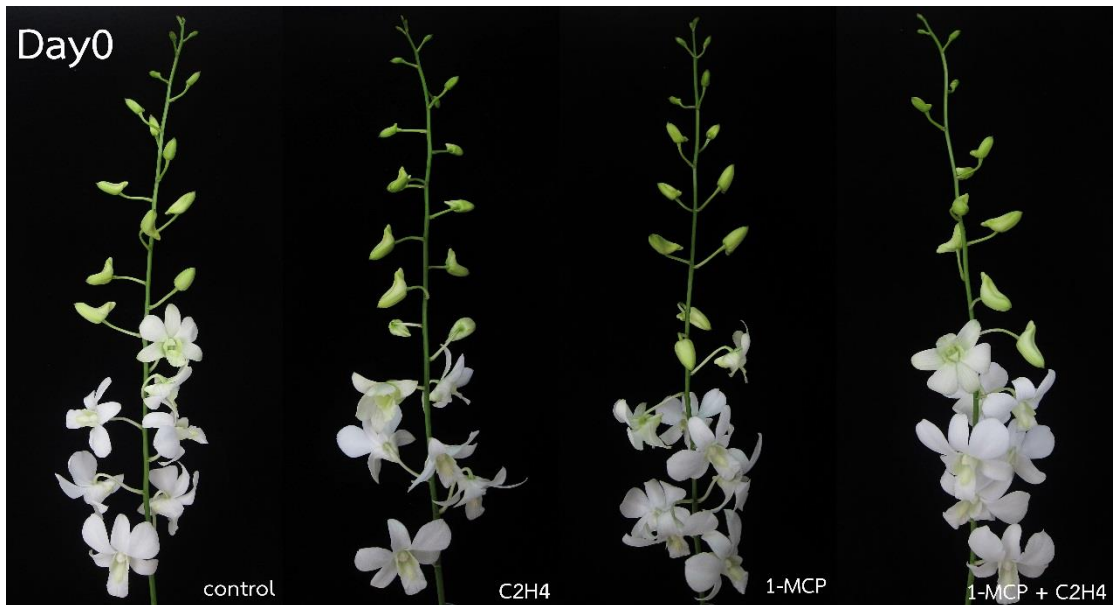
Treatment	Vase life (Days \pm SE)
Control	9.0 \pm 0.7 ^b
Ethylene	2.6 \pm 0.35 ^c
1-MCP	10.2 \pm 0.5 ^a
1-MCP + Ethylene	10.7 \pm 0.5 ^a

*ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

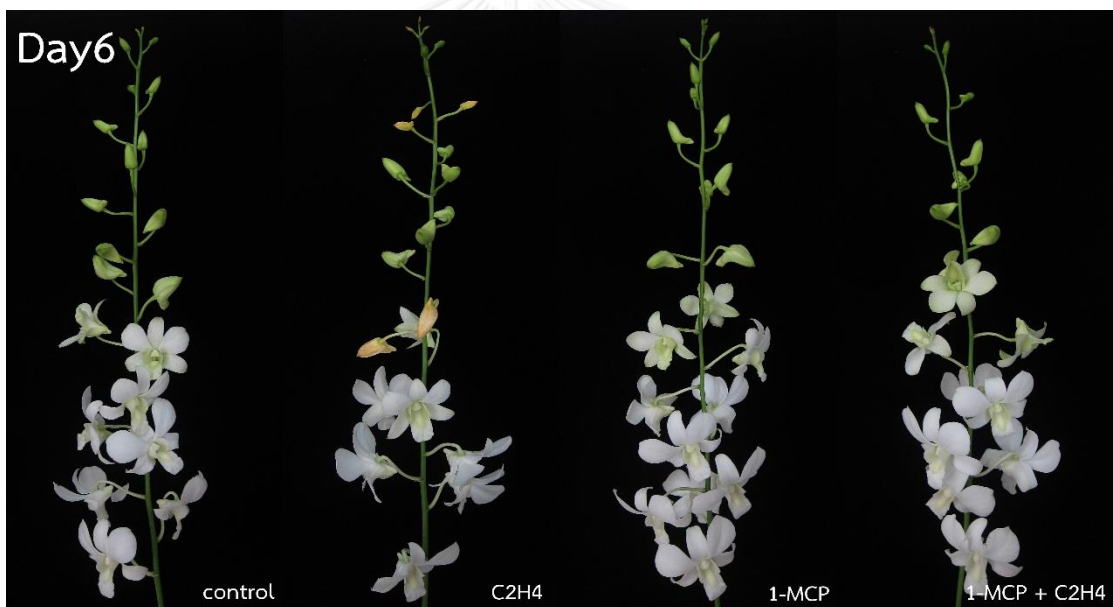
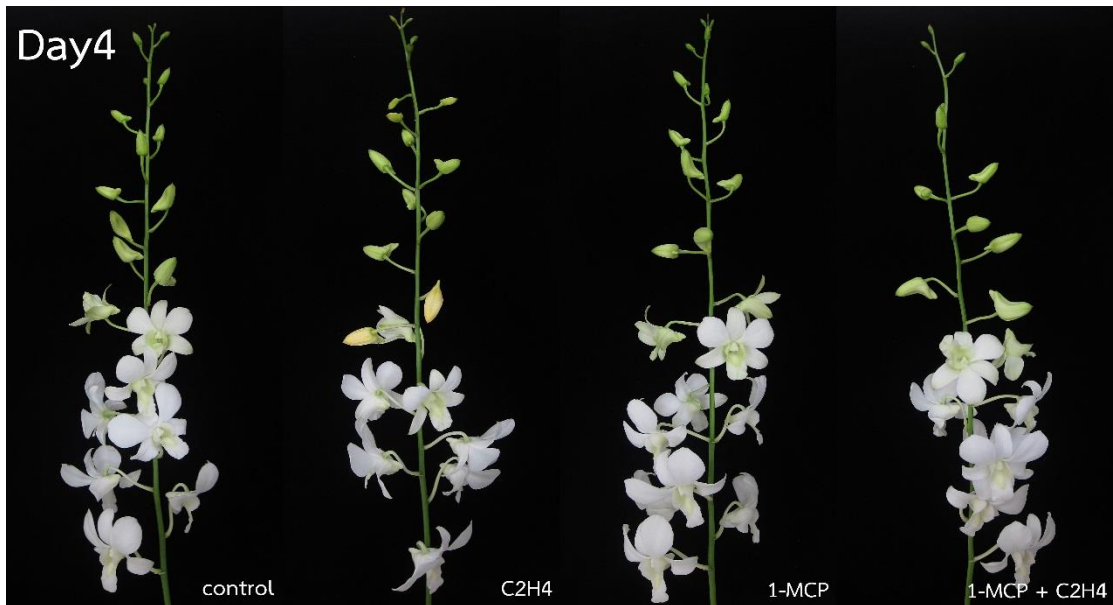


ช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนานหลังรมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมงและเก็บรักษาเป็นเวลา 12 วันในห้องควบคุมอุณหภูมิ (ภาพที่ 2-5) พบการเปลี่ยนแปลงสีอย่างชัดเจนของดอกตูมในชุดการทดลองที่รมเอทิลีนตั้งแต่วันที่ 4 หลังการรม (ภาพที่ 3) ซึ่งกลีบเลี้ยงและกลีบดอกของดอกบานบางส่วนสังเกตเห็นเส้น vein ปรากฏชัดเจน ตั้งแต่วันที่ 2 หลังการรม (ภาพที่ 2 ล่าง) จากนั้น ก้านดอกย่อยของดอกบานโค้งงอเพิ่มขึ้น และมีการหลุดร่วงในที่สุด ในขณะที่ช่อดอกกล้วยไม้ชุดการทดลองควบคุมพบการเปลี่ยนแปลงสีของกลีบเลี้ยงและกลีบดอกในดอกบานอย่างชัดเจนตั้งแต่วันที่ 8 หลังการรม (ภาพที่ 4 บน) และพบการโค้งงอของดอกบานในวันที่ 10 (ภาพที่ 4 ล่าง) ส่วนการเปลี่ยนแปลงของกล้วยไม้ชุดที่รม 1-MCP อย่างเดียวและชุดที่รม 1-MCP ก่อนรมเอทิลีน เห็นเส้น vein ปรากฏ แต่พบลักษณะการเสื่อมคุณภาพอื่น ๆ คือ กลีบเลี้ยงหรือกลีบดอกเปลี่ยนสี ดอกคว่ำลง และดอกเหี่ยวหรือร่วง เพียงเล็กน้อย (ภาพที่ 5)





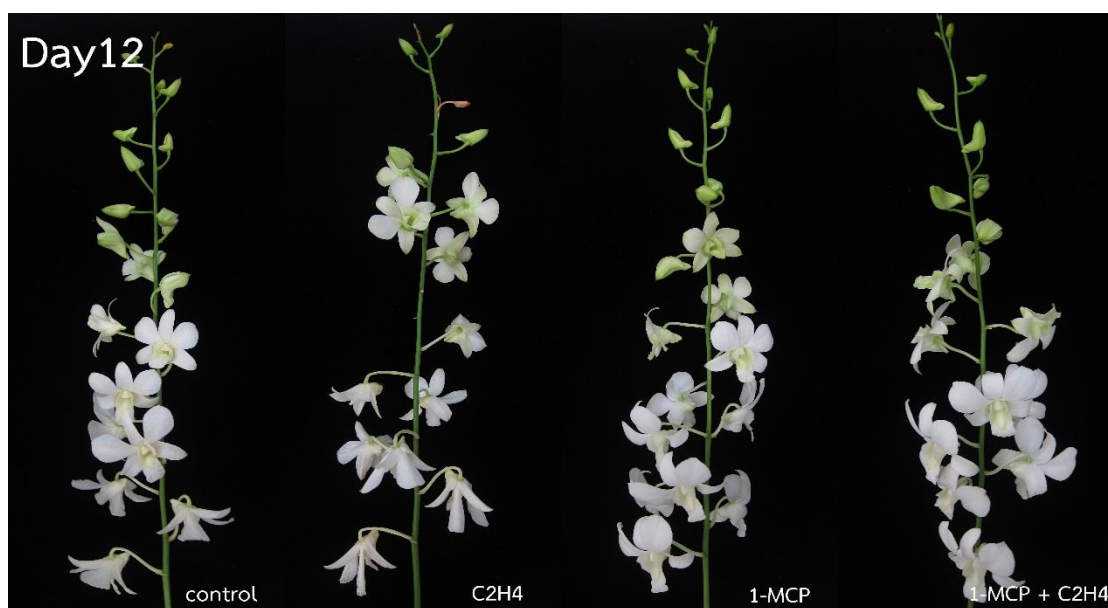
ภาพที่ 2 ช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนาน ชุดการทดลองควบคุม ชุดการทดลองที่รมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมง และเก็บรักษาเป็นเวลา 0 วัน (บน) และ 2 วัน (ล่าง)



ภาพที่ 3 ช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนาน ชุดการทดลองควบคุม ชุดการทดลองที่รมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมง และเก็บรักษาเป็นเวลา 4 วัน (บน) และ 6 วัน (ล่าง)



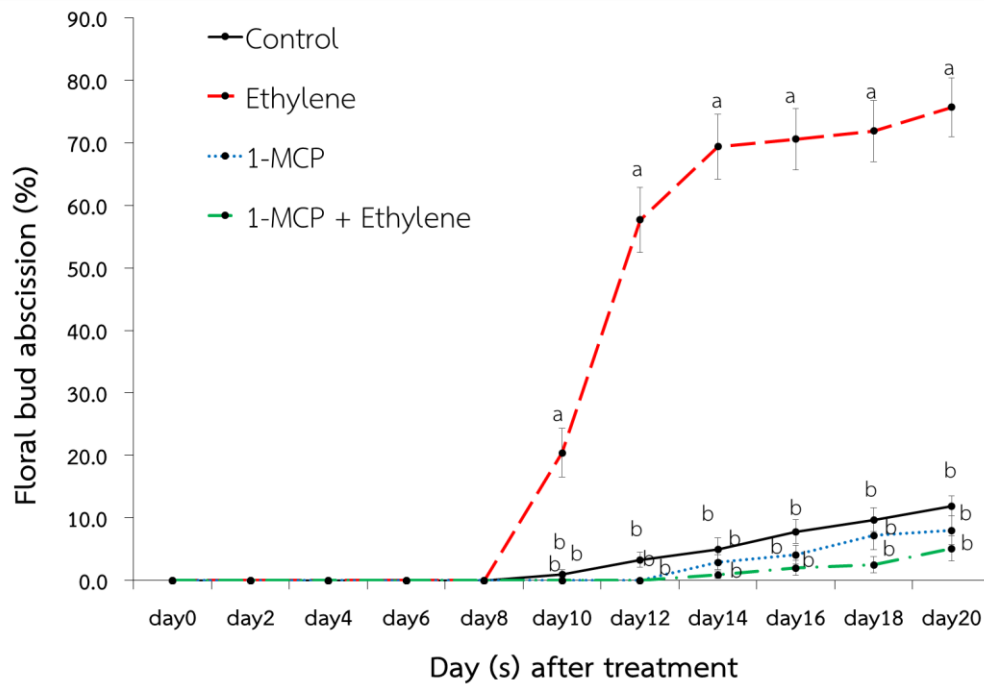
ภาพที่ 4 ช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนาน ชุดการทดลองควบคุม ชุดการทดลองที่รมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมง และเก็บรักษาเป็นเวลา 8 วัน (บน) และ 10 วัน (ล่าง)



ภาพที่ 5 ช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนาน ชุดการทดลองควบคุม ชุดการทดลองที่รมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมง และเก็บรักษาเป็นเวลา 12 วัน

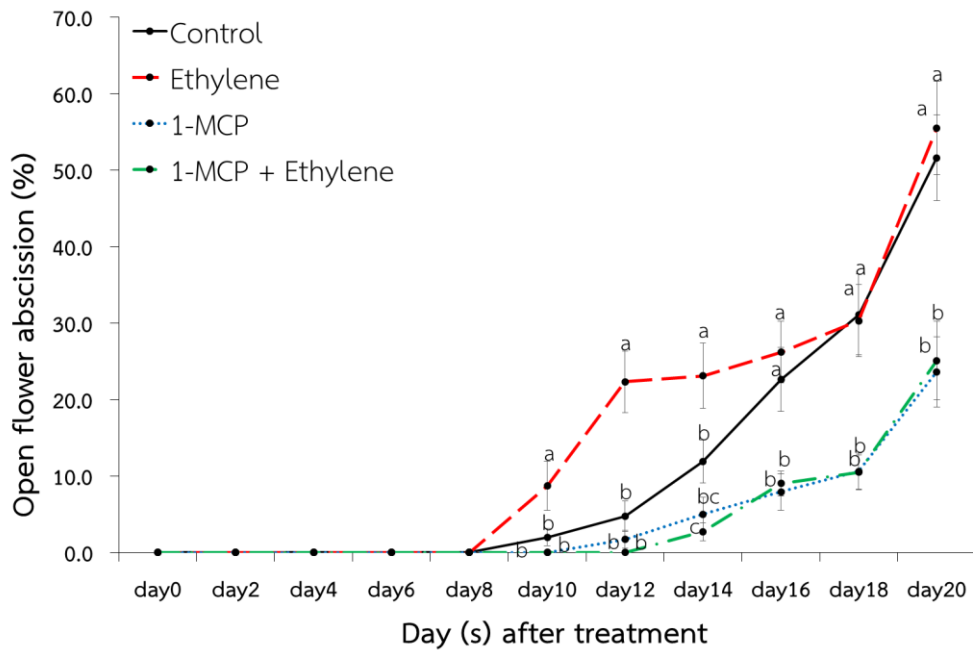
1.2 การหลุดร่วงของดอกตูมและดอกบาน

ผลการศึกษาเปอร์เซ็นต์การหลุดร่วงของดอกตูมของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสวนาน (ภาพที่ 6) พบว่า ในชุดการทดลองควบคุมมีการหลุดร่วงของดอกตูม ตั้งแต่วันที่ 10 หลังการรวม ($1.0 \pm 0.7\%$) และเพิ่มมากขึ้นจนถึงสิ้นสุดการทดลอง (วันที่ 18 หลังการรวม, $9.7 \pm 1.9\%$) ส่วนในชุดการทดลองที่รมเอทิลีน พบการหลุดร่วงของดอกตูมตั้งแต่วันที่ 10 ($20.4 \pm 3.9\%$) ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีแนวโน้มเป็นเช่นนี้จนถึงสิ้นสุดการทดลอง ซึ่งในวันที่ 10 นั้น ไม่พบการหลุดร่วงของดอกตูมทั้งในช่อดอกที่รม 1-MCP อย่างเดียวและช่อดอกที่รม 1-MCP ก่อนรวมด้วยเอทิลีน โดยทั้งสองชุดการทดลองพบการหลุดร่วงของดอกตูมในวันที่ 14 คิดเป็น 2.9 ± 1.2 และ $0.9 \pm 0.6\%$ ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าทั้งชุดควบคุมและชุดที่ได้รับเอทิลีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับเปอร์เซ็นต์การหลุดร่วงของดอกบาน (ภาพที่ 7) พบการหลุดร่วงในชุดควบคุมตั้งแต่วันที่ 10 หลังการรวม คิดเป็น $2.0 \pm 1.1\%$ และเพิ่มมากขึ้นจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง (วันที่ 18 หลังการรวม, $31.1 \pm 5.3\%$) ส่วนในชุดที่รมเอทิลีน พบการหลุดร่วงของดอกบานตั้งแต่วันที่ 10 เช่นกัน โดยคิดเป็น $8.7 \pm 3.2\%$ ซึ่งมากกว่าเปอร์เซ็นต์การหลุดร่วงของดอกบานในชุดควบคุม ชุดการทดลองที่รม 1-MCP และชุดการทดลองที่รม 1-MCP ก่อนรวมด้วยเอทิลีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดย 2 ชุดการทดลองหลังเริ่มพบการหลุดร่วงในวันที่ 12 ($1.7 \pm 1.2\%$) และ 14 ($2.7 \pm 1.2\%$) หลังการรวมตามลำดับ และผลการศึกษาแนวโน้มเป็นเช่นนี้ตลอดการทดลอง



ภาพที่ 6 เปอร์เซ็นต์การหลุดร่วงของดอกตูม (Floral bud abscission, %) ของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนาน หลังรมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมง และเก็บรักษาเป็นเวลา 20 วัน (mean \pm SE)

*ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

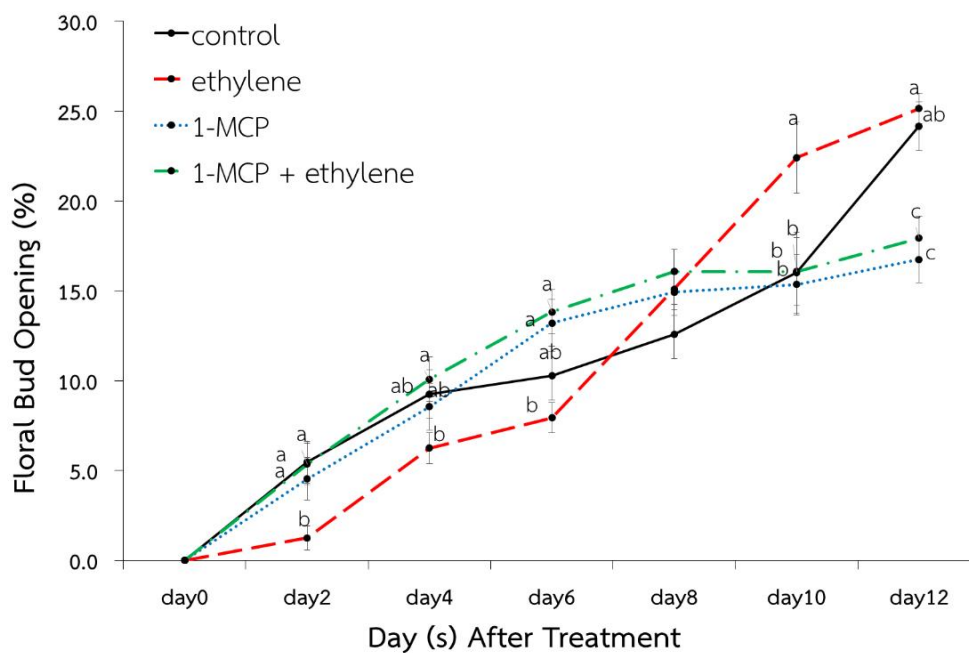


ภาพที่ 7 เปอร์เซ็นต์การหลุดร่วงของดอกบาน (Open flower abscission, %) ของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนาน หลังรมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมง และเก็บรักษาเป็นเวลา 20 วัน (mean \pm SE)

*ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

1.3 การบานเพิ่มของดอกตูม

ผลการศึกษาเปอร์เซ็นต์การบานเพิ่มของดอกตูมของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสวนาน (ภาพที่ 8) ในชุดควบคุม พบการบานเพิ่มของดอกตูม ($5.5 \pm 1.2\%$) ในวันที่ 2 หลังการรม และเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา (วันที่ 12 หลังการรม, $24.2 \pm 1.4\%$) ซึ่งมีแนวโน้มเช่นเดียวกับชุดที่รมเอทิลีน (วันที่ 2 หลังการรม, $1.3 \pm 0.7\%$ และ วันที่ 12 หลังการรม, $25.2 \pm 0.8\%$) ชุดการทดลองที่รม 1-MCP (วันที่ 2 หลังการรม, $4.5 \pm 1.2\%$ และ วันที่ 12 หลังการรม, $16.7 \pm 1.3\%$) และชุดการทดลองที่รม 1-MCP ก่อนรมด้วยเอทิลีน (วันที่ 2 หลังการรม, $5.4 \pm 1.1\%$ และ วันที่ 12 หลังการรม, $17.9 \pm 1.2\%$) เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบแต่ละชุดการทดลองพบว่าชุดควบคุมมีเปอร์เซ็นต์การบานเพิ่มของดอกตูมไม่แตกต่างจากชุดที่รม 1-MCP อย่างเดียว และชุดที่รม 1-MCP ก่อนรมด้วยเอทิลีนตลอดการทดลอง ขณะที่ชุดที่รมเอทิลีนมีเปอร์เซ็นต์การบานเพิ่มของดอกตูมน้อยกว่าชุดการทดลองที่รม 1-MCP อย่างเดียวและชุดการทดลองที่รม 1-MCP ก่อนรมด้วยเอทิลีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในวันที่ 2 4 และ 6 หลังการรมแต่ในวันที่ 10 และ 12 หลังการรม พบว่าชุดการทดลองที่รมเอทิลีนมีเปอร์เซ็นต์การบานเพิ่มของดอกตูมที่มากกว่าชุดการทดลองที่รม 1-MCP อย่างเดียวและชุดการทดลองที่รม 1-MCP ก่อนรมด้วยเอทิลีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

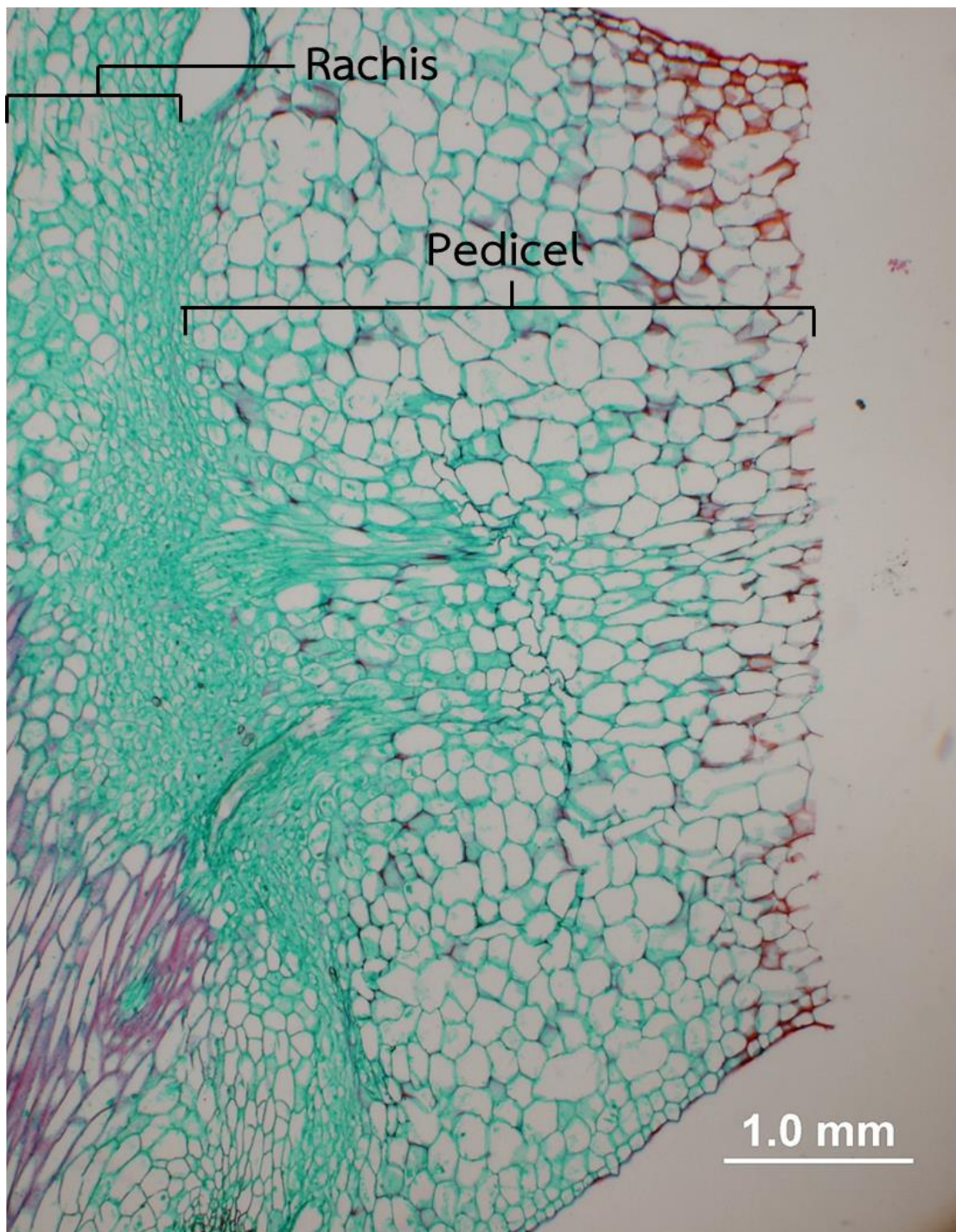


ภาพที่ 8 เปอร์เซ็นต์การบานเพิ่มของดอกตูม (Floral bud opening, %) ของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนาน หลังรมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมง และเก็บรักษาเป็นเวลา 12 วัน (mean \pm SE)

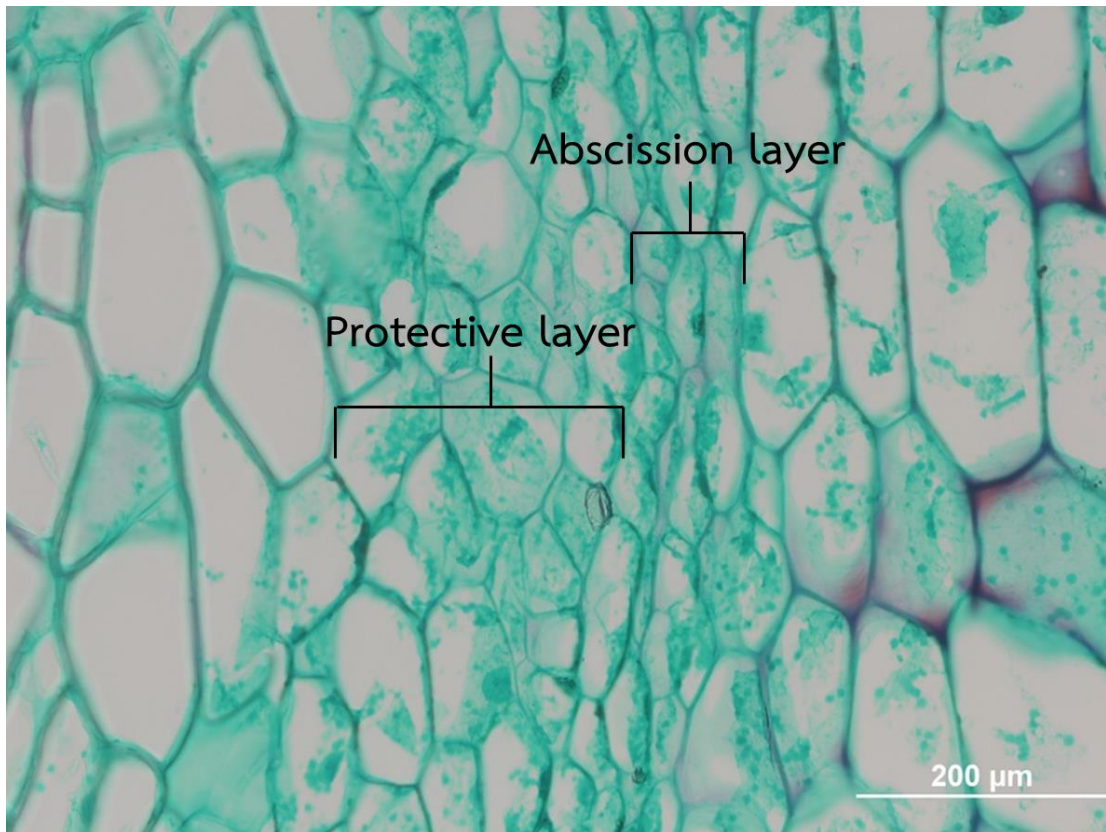
*ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

2. ผลของ 1-MCP ต่อลักษณะกายวิภาคศาสตร์ในบริเวณ abscission zone ของดอกย่อยของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนาน

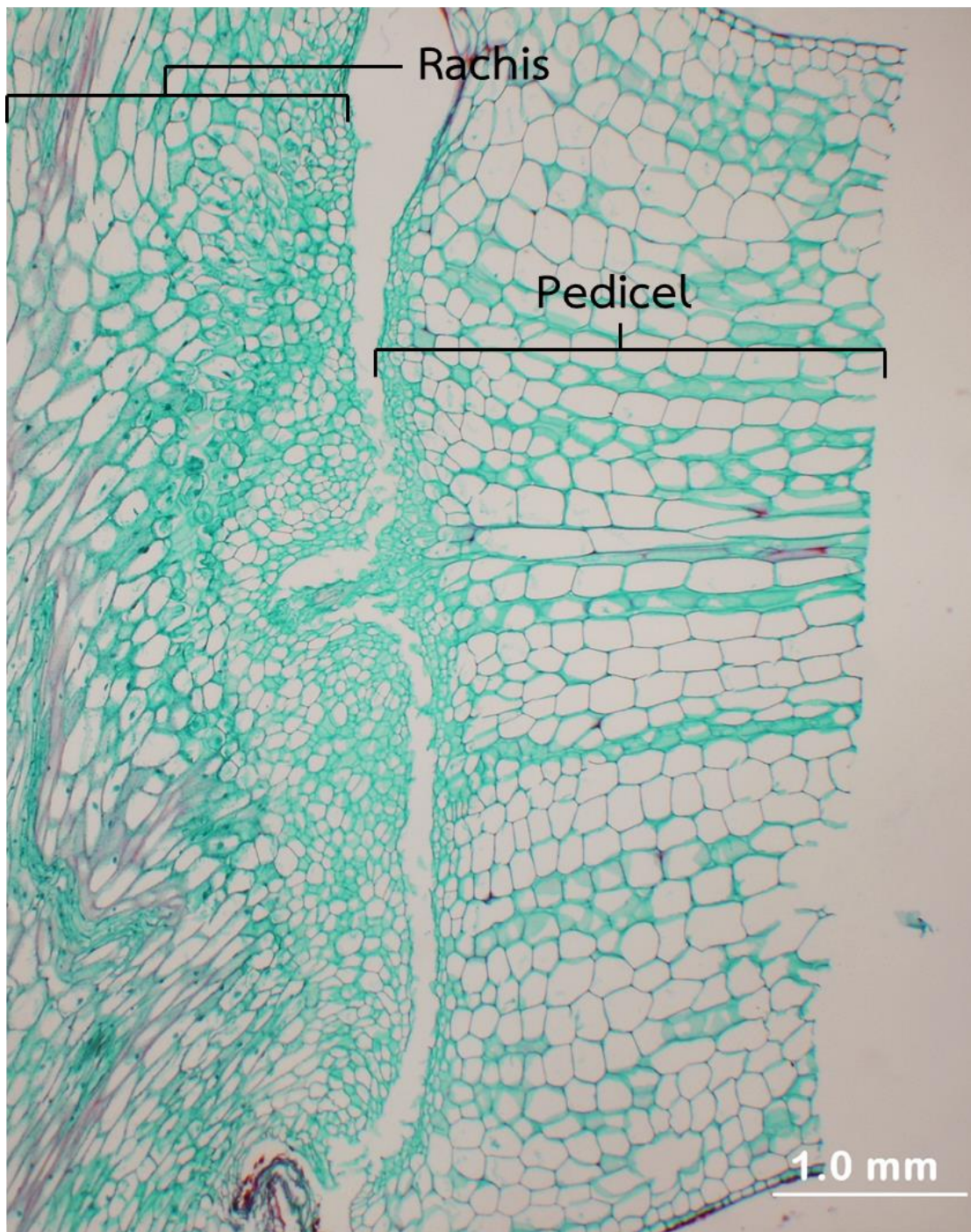
ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์บริเวณ abscission zone ระหว่างแกนช่อดอกและก้านดอกย่อยของดอกบานตำแหน่งที่ 1 นับจากก้าน ของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนาน (ภาพที่ 9) พบว่า abscission layer ประกอบด้วยชั้นของ parenchyma cell จำนวน 3 ชั้น ขนาดเล็กแตกต่างจากเซลล์ข้างเคียง ขณะที่บริเวณ protective layer ประกอบด้วยเซลล์ที่มีขนาดใหญ่กว่าเซลล์ในบริเวณ abscission layer แต่เล็กกว่าเซลล์ในบริเวณข้างเคียง โดยที่เซลล์ทั้งสองส่วนมีผนังเซลล์ที่บางกว่าเซลล์ข้างเคียง (ภาพที่ 10) เมื่อเก็บรักษาไว้นานขึ้น พบว่า เซลล์บริเวณ abscission layer มีการแยกและฉีกขาดบริเวณผนังเซลล์ และเมื่อดอกหลุดร่วง พบว่าผนังเซลล์ของ protective layer ด้านนอกสุด (ส่วนของแกนช่อดอก) หนาขึ้นอย่างชัดเจน (ภาพที่ 11 และ 12) โดยพบการฉีกขาดตลอดแนว (ดอกร่วง) ของกล้วยไม้ชุดควบคุมตั้งแต่วันที่ 16 ขณะที่ชุดการทดลองที่รมเอทิลีนพบตั้งแต่วันที่ 12 ส่วนชุดการทดลองที่ได้รับ 1-MCP อย่างเดียว และชุดการทดลองที่รม 1-MCP ก่อนรมเอทิลีน พบการฉีกขาดตลอดแนวในวันที่ 20 หลังการรม (ภาพที่ 13)



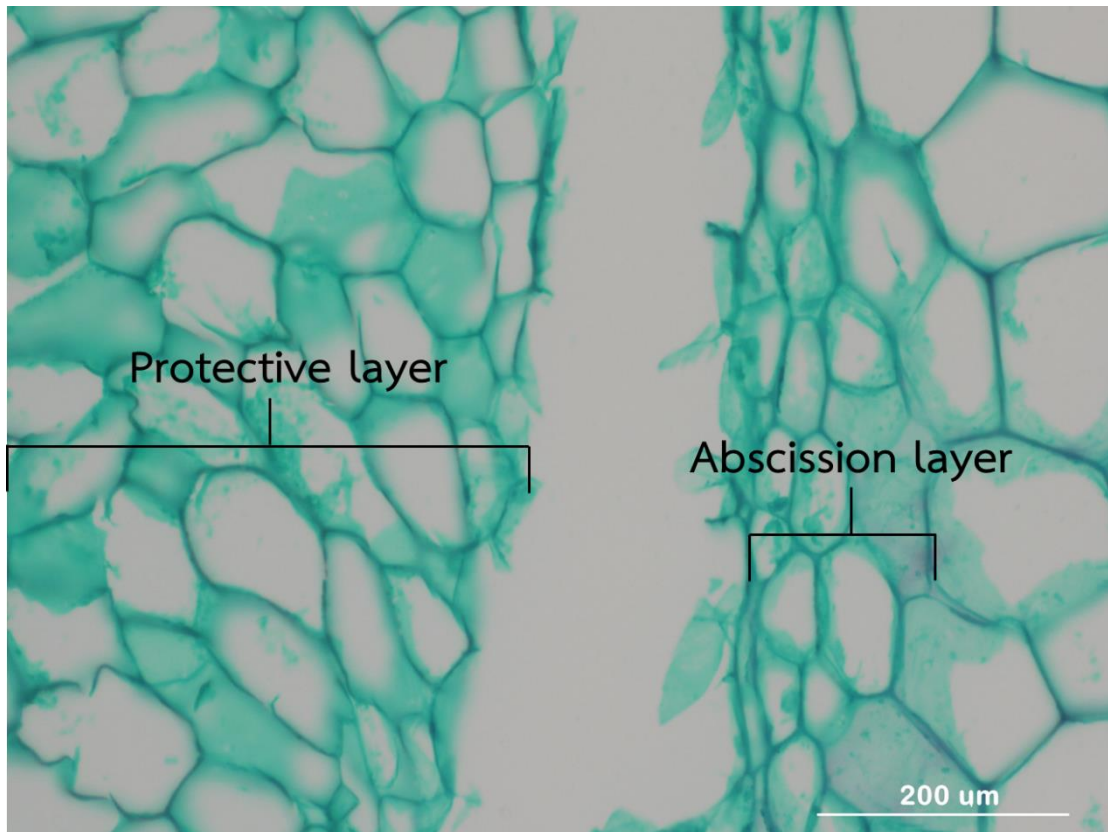
ภาพที่ 9 ภาคตัดตามยาว แสดงลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์บริเวณ abscission zone (รอยต่อของแกนช่อดอกและก้านดอกย่อย) ของดอกบานตำแหน่งที่ 1 นับจากก้านของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนาน ในวันที่ 0 ของชุดควบคุม



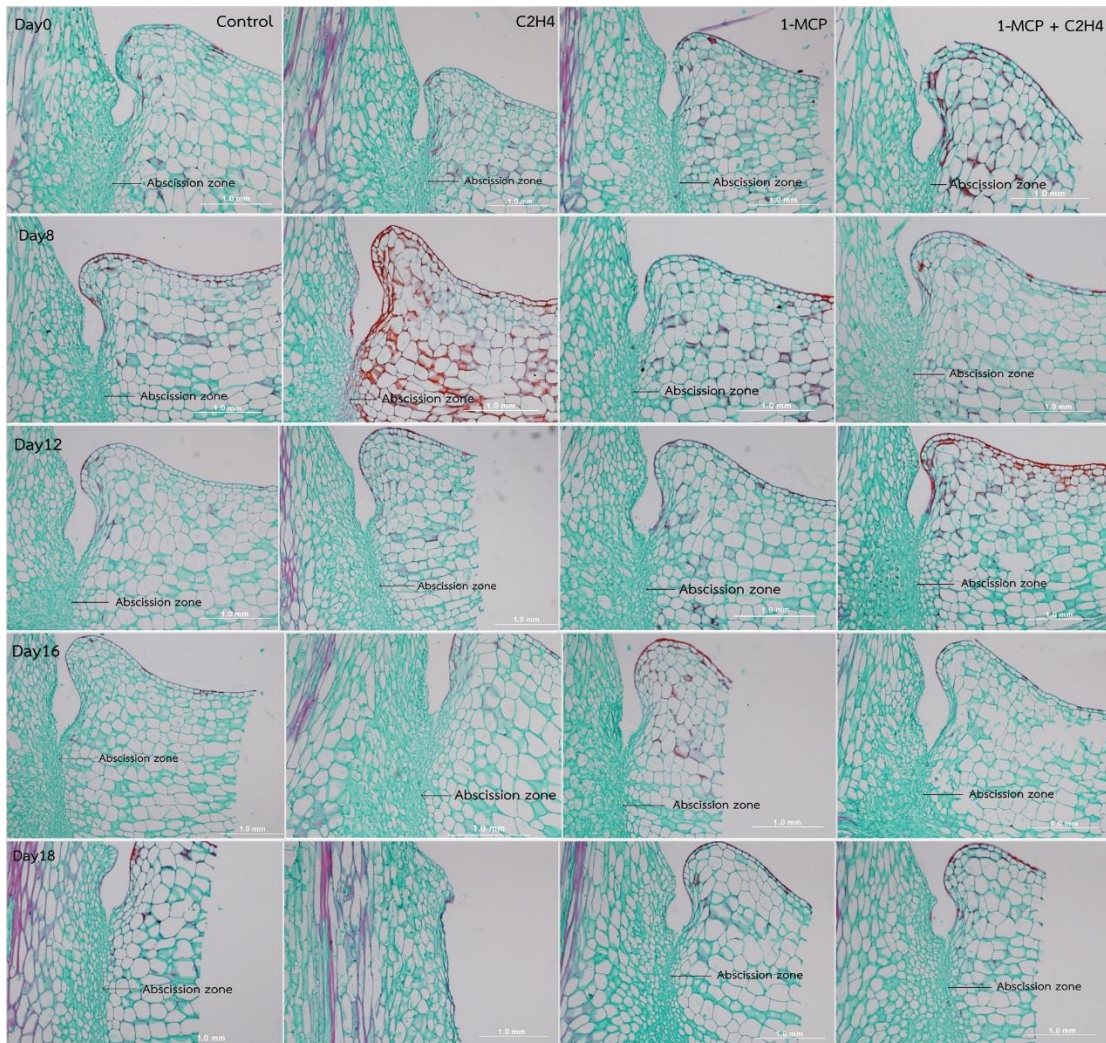
ภาพที่ 10 ภาคตัดตามยาว ขยายบริเวณ abscission zone (รอยต่อของแกนช่อดอกและก้านดอกย่อย) ของดอกบานตำแห่งที่ 1 นับจากก้านของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสวน ในวันที่ 0 ของชุดควบคุม



ภาพที่ 11 ภาคตัดตามยาว แสดงลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์บริเวณ abscission zone (รอยต่อของแกนช่อดอกและก้านดอกย่อย) ของดอกบานตำแหน่งที่ 1 นับจากก้านของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนาน ในวันที่ 20 ของชุดควบคุม



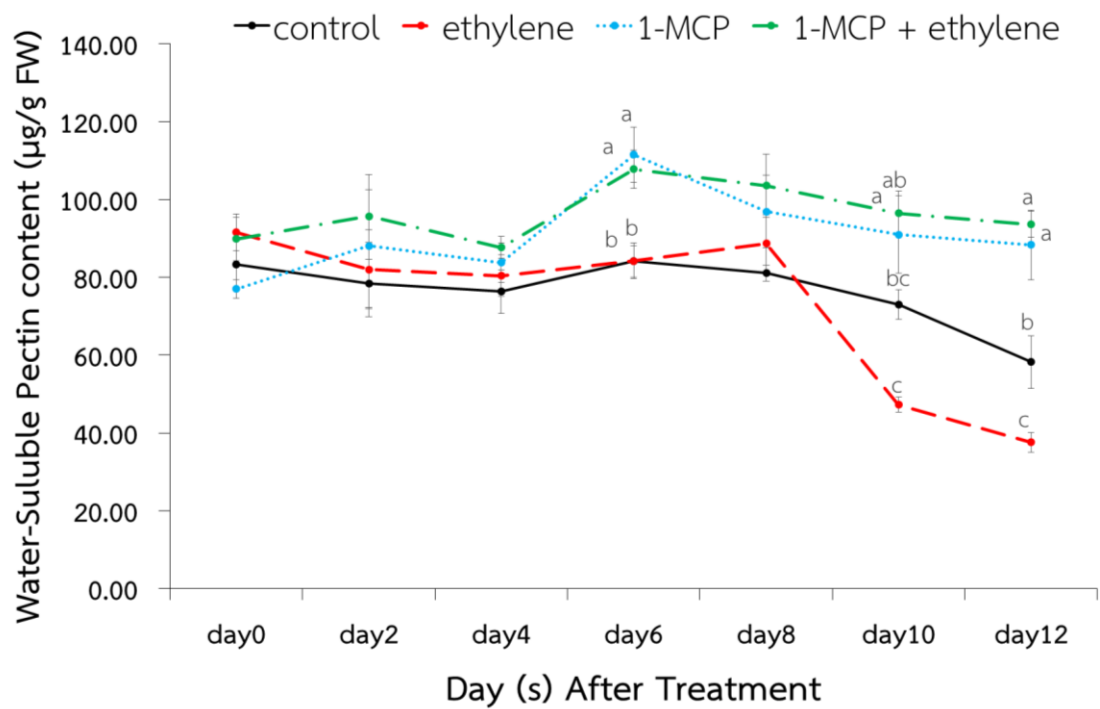
ภาพที่ 12 ภาคตัดตามยาว ขยายบริเวณ abscission zone (รอยต่อของแกนช่อดอกและก้านดอกย่อย) ของดอกบานตำแหน่งที่ 1 นับจากก้านของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสวน ในวันที่ 20 ของชุดควบคุม



ภาพที่ 13 ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ของรอยแยกบริเวณ abscission zone ของดอกบาน ตำแหน่งที่ 1 นับจากก้านของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนาน ในวันที่ 0, 8, 12, 16, และ 18 หลังรมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมง และเก็บรักษาในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส โดยให้แสงเป็นเวลา 12 ชั่วโมงต่อวัน

3. ผลของ 1-MCP ต่อปริมาณเพกทินในบริเวณ abscission zone ของดอกย่อยของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสวน

เพกทินที่ละลายน้ำได้บริเวณ abscission zone (ภาพที่ 14) ของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสวนในชุดควบคุมมีปริมาณค่อนข้างคงที่ในช่วงวันที่ 0 ถึงวันที่ 8 หลังการรม และลดลงในวันที่ 10 และ 12 เช่นเดียวกับชุดที่ได้รับเอทิลีน แต่ชุดการทดลองดังกล่าวมีการลดลงที่มากกว่าชุดควบคุม ในขณะที่เพกทินที่ละลายน้ำได้ของชุดที่ได้รับ 1-MCP และชุดที่ได้รับ 1-MCP ก่อนได้รับเอทิลีนมีปริมาณเพิ่มขึ้นในวันที่ 6 และลดลงเล็กน้อยหลังจากนั้น เมื่อเปรียบเทียบทั้ง 4 ชุดการทดลองพบว่าปริมาณเพกทินที่ละลายน้ำได้ของชุดที่ได้รับเอทิลีนน้อยกว่าชุดที่ได้รับ 1-MCP และชุดที่ได้รับ 1-MCP ก่อนได้รับเอทิลีนในวันที่ 6, 10, และ 12 หลังการรม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และน้อยกว่าชุดควบคุมในวันที่ 12 ส่วนปริมาณเพกทินของชุดที่ได้รับ 1-MCP และชุดที่ได้รับ 1-MCP ก่อนได้รับเอทิลีนมากกว่าชุดควบคุมในวันที่ 6 และ 12 หลังการรม และไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างชุดที่ได้รับ 1-MCP และชุดที่ได้รับ 1-MCP ก่อนได้รับเอทิลีนตลอดการทดลอง (12 วัน หลังการรม)



ภาพที่ 14 ปริมาณเพกตินที่ละลายน้ำได้บริเวณ abscission zone ของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวาย พันธุ์ขาวสนาน หลังรมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมง และเก็บรักษาเป็นระยะเวลาต่าง ๆ (mean \pm SE)

*ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

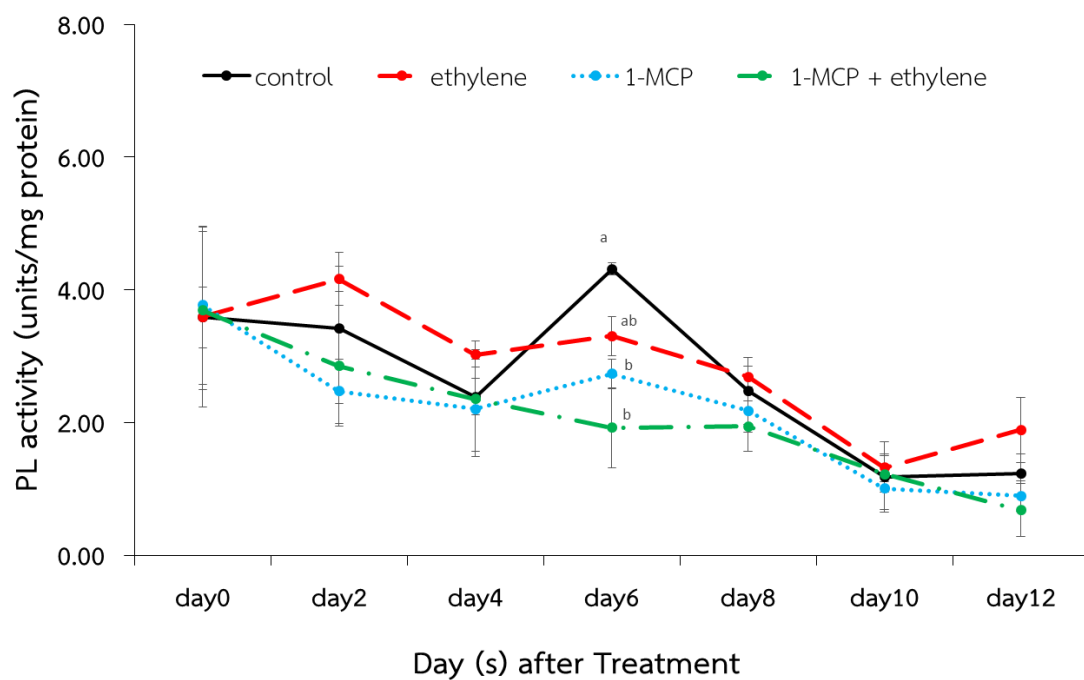
4. ผลของ 1-MCP ต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์ PL และ PG ในบริเวณ abscission zone ของดอกย่อยของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนาน

4.1 ผลของ 1-MCP ต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์ PL

แอกทิวิตีของเอนไซม์ PL บริเวณ abscission zone (ภาพที่ 15) ของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนานในชุดควบคุมลดลงจากวันที่ 0 ถึงวันที่ 4 หลังการรม และเพิ่มขึ้นในวันที่ 6 หลังจากนั้นจึงลดลงในวันที่ 8 และ 10 ขณะที่ชุดการทดลองที่รมเอทิลีนมีแอกทิวิตีของเอนไซม์ PL ค่อนข้างคงที่ก่อนจะลดลงในวันที่ 10 แต่กลับเพิ่มขึ้นอีกครั้งในวันที่ 12 ส่วนชุดการทดลองที่รม 1-MCP อย่างเดียว และชุดการทดลองที่รม 1-MCP ก่อนรมเอทิลีน มีแนวโน้มลดลงตลอดการทดลอง ยกเว้นวันที่ 6 ของชุดการทดลองที่รม 1-MCP อย่างเดียว ที่พบการเพิ่มขึ้นของแอกทิวิตี เมื่อเปรียบเทียบกับทั้ง 4 ชุดการทดลอง พบว่าชุดการทดลองที่รมเอทิลีนมีแนวโน้มของแอกทิวิตีของเอนไซม์ PL ที่สูงกว่าชุดการทดลองอื่น ๆ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นวันที่ 6 ที่ชุดควบคุมมีแอกทิวิตีที่สูงกว่าชุดที่ไ้รม 1-MCP อย่างเดียว และชุดการทดลองที่รม 1-MCP ก่อนรมเอทิลีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

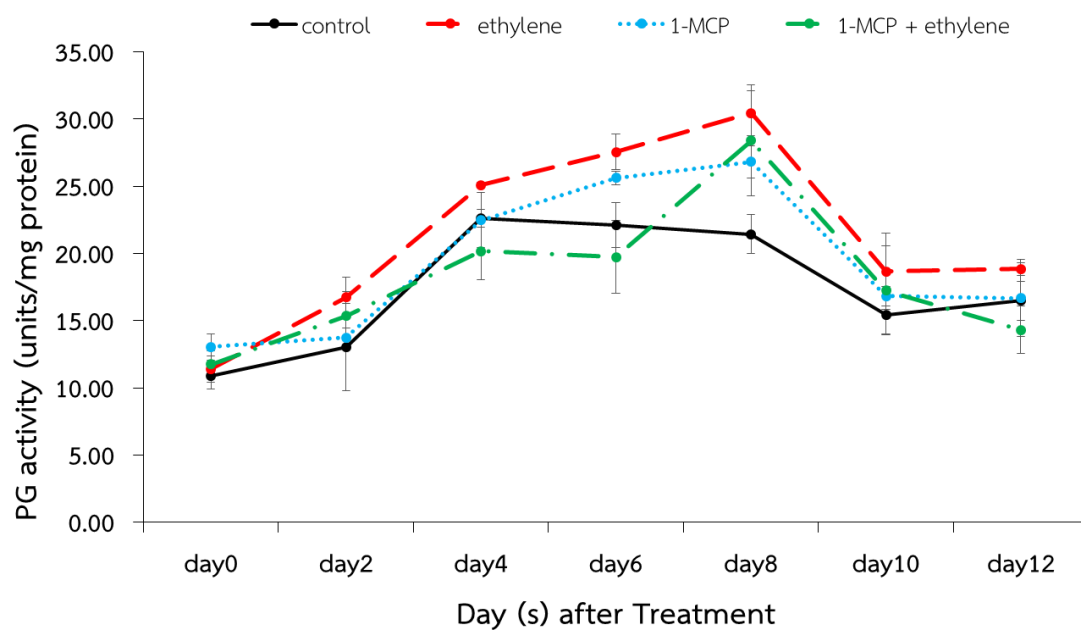
4.2 ผลของ 1-MCP ต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์ PG

แอกทิวิตีของเอนไซม์ PG บริเวณ abscission zone (ภาพที่ 16) ของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนานในชุดควบคุม มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในวันที่ 2 และ 4 หลังการรม ก่อนจะคงที่ในวันที่ 6 และ 8 และลดลงในวันที่ 10 ชุดการทดลองที่รมเอทิลีนมีแอกทิวิตีที่เพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 8 ลดลงในวันที่ 10 และคงที่ในวันที่ 12 ซึ่งคล้ายกับแนวโน้มของชุดการทดลองที่รม 1-MCP อย่างเดียว และชุดการทดลองที่รม 1-MCP ก่อนรมเอทิลีน เมื่อเปรียบเทียบกับทั้ง 4 ชุดการทดลองพบว่า ชุดการทดลองที่รมเอทิลีนมีค่าแอกทิวิตีของเอนไซม์ PG ที่สูงกว่าชุดการทดลองอื่น ๆ แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



ภาพที่ 15 แอกทิวิตีของเอนไซม์ PL บริเวณ abscission zone ของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนาน หลังรมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมง และเก็บรักษาเป็นเวลา 12 วัน (mean \pm SE)

*ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 16 แยกทิวทิของเอนไซม์ PG บริเวณ abscission zone ของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนาน หลังรมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมง และเก็บรักษาเป็นเวลา 12 วัน (mean \pm SE)

*ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

บทที่ 5

อภิปรายผลการศึกษา

จากผลการศึกษาจะเห็นว่า เอทิลีนส่งผลให้อายุการปักแจกันของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสวนลดลง ขณะที่ 1-MCP สามารถยืดอายุการปักแจกันได้ เช่นเดียวกับการศึกษาของภูมิพงษ์ ชูช่วยสุวรรณ (2555) ที่พบว่า 1-MCP สามารถยืดอายุการปักแจกันของช่อดอกกล้วยไม้พันธุ์ดังกล่าวได้ และสอดคล้องกับการศึกษาของสุณิษา อู่ยดี (2554) ที่พบว่าช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์เอียสกุลที่รมด้วย 1-MCP มีอายุการปักแจกันที่นานกว่าชุดควบคุม อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่า ชุดที่ได้รับ 1-MCP มีอายุการปักแจกันของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสวนเพิ่มขึ้นจากชุดควบคุมประมาณ 1 วัน ซึ่งในการนำ 1-MCP ไปใช้เพื่อยืดอายุช่อดอกกล้วยไม้ตัดดอกพันธุ์นี้อาจไม่เห็นความแตกต่างมากนัก เมื่อพิจารณาลักษณะการเสื่อมสภาพของดอกย่อยของช่อดอกกล้วยไม้พันธุ์ชาวสวนในระยะเวลาการเก็บรักษา 12 วันหลังจาการรม พบว่า สามารถสังเกตเห็นกลีบเลี้ยงและกลีบดอกบางส่วนปรากฏเส้น vein ชัดเจนตั้งแต่วันที่ 2 หลังการรม ในช่อดอกกล้วยไม้ชุดที่ได้รับเอทิลีน และพบการเปลี่ยนแปลงสีของดอกตูมของอย่างชัดเจนตั้งแต่วันที่ 4 จากนั้น จึงพบการโค้งงอที่เพิ่มขึ้นของก้านดอกย่อยของดอกบาน ก่อนจะเกิดการหลุดร่วงเป็นลักษณะท้ายสุด และพบว่าดอกตูมจะปรากฏลักษณะการเสื่อมสภาพก่อนดอกบาน และดอกย่อยของช่อดอกกล้วยไม้ในชุดควบคุมปรากฏอาการเหล่านี้เช่นกัน แต่เกิดขึ้นช้ากว่าในชุดที่ได้รับเอทิลีน ขณะที่ชุดที่รม 1-MCP อย่างเดียวและชุดที่รม 1-MCP ก่อนรมเอทิลีนสังเกตเห็นเส้น vein ชัดเจนทั่วกลีบเลี้ยงและกลีบดอก ในระยะเวลาที่ช้ากว่าอีก 2 ชุดการทดลอง ส่วนการเปลี่ยนแปลงสีของกลีบเลี้ยงและกลีบดอก ดอกคว่ำลง ดอกเหี่ยว หรือการหลุดร่วงพบเพียงเล็กน้อย จากผลการศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าดอกตูมของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสวนมีความไวต่อเอทิลีนมากกว่าดอกบาน

1-MCP ไม่มีผลต่อการบานเพิ่มของดอกตูมของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสวนเมื่อเทียบกับชุดควบคุม แต่พบว่าเอทิลีนส่งผลทำให้การบานเพิ่มของดอกตูมในช่วงวันที่ 2 ถึงวันที่ 6 ต่ำกว่าชุดการทดลองอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ในวันที่ 10 ชุดที่รมเอทิลีนมีค่าการบานเพิ่มของดอกตูมที่สูงกว่าชุดที่รม 1-MCP อย่างเดียว และชุดที่รม 1-MCP ก่อนรมเอทิลีน ซึ่งผลของ 1-MCP ต่อการบานเพิ่มของดอกตูมนี้สอดคล้องกับการศึกษาของภูมิพงษ์ ชูช่วยสุวรรณ (2555) ที่พบว่า 1-MCP ไม่มีผลต่อการบานเพิ่มของดอกตูมเมื่อเทียบกับชุดควบคุม และเช่นเดียวกับการศึกษาของศิริโรจน์ เขียวแมน (2554) (อ้างถึงใน ภูมิพงษ์ ชูช่วยสุวรรณ, 2555) ที่ศึกษาในกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสวนและบุรณะเจตน์

การศึกษาผลของ 1-MCP ต่อการหลุดร่วงของดอกตูมและดอกบาน เป็นระยะเวลา 20 วัน หลังการรม พบว่า 1-MCP ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การหลุดร่วงของทั้งดอกตูมของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสวนลดลง เมื่อเทียบกับช่อดอกกล้วยไม้ในชุดที่ได้รับเอทิลีน และ 1-MCP ช่วยให้เปอร์เซ็นต์การหลุดร่วงของดอกบานน้อยกว่าทั้งช่อในชุดควบคุมและช่อที่ได้รับเอทิลีน ซึ่งมีแนวโน้มเดียวกับการศึกษาของ Uthachay et al. (2007) ที่พบว่า 1-MCP สามารถชะลอการหลุดร่วงของทั้งดอกตูมและดอกบานของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ 'Karen' ในการศึกษาของ ภูมิพงษ์ ชูช่วยสุวรรณ (2555) ที่ทำการศึกษาในกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสวน พบว่าดอกตูมและดอกบานมีการตอบสนองต่อ 1-MCP ที่แตกต่างกัน โดย 1-MCP ความเข้มข้น 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร สามารถชะลอการหลุดร่วงของดอกตูมได้จนถึงวันที่ 10 ในขณะที่ชุดที่ได้รับเอทิลีนและชุดควบคุมพบการหลุดร่วงตั้งแต่วันที่ 0 และ 6 หลังการรม ตามลำดับ แต่ 1-MCP ความเข้มข้นดังกล่าวไม่มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การหลุดร่วงของดอกบานแตกต่างจากชุดควบคุมและชุดที่ได้รับเอทิลีนตลอดระยะเวลาการทดลอง (วันที่ 12 หลังการรม) อย่างไรก็ตาม การทดลองในครั้งนี้ได้เพิ่มระยะเวลาการติดตามผลนานขึ้นเป็น 20 วัน และพบการตอบสนองของดอกบานต่อ 1-MCP โดยพบว่า 1-MCP ความเข้มข้น 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร ชะลอการหลุดร่วงของดอกบานได้ ซึ่งดอกบานเกิดการหลุดร่วงในวันที่ 12 หลังการรม ในขณะที่ชุดควบคุมเกิดการหลุดร่วงของดอกบานตั้งแต่วันที่ 10 สำหรับการตอบสนองต่อเอทิลีนในแง่ของการหลุดร่วงของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสวนในการศึกษานี้พบว่า เอทิลีนสามารถเร่งการหลุดร่วงของดอกตูมและดอกบานของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์นี้ได้ และจากการศึกษาผลของเอทิลีนต่อการหลุดร่วงของกลีบดอกของ *Pelargonium x hortorum* พบว่า แรงที่ใช้ดึงเพื่อให้อกลีบดอกหลุดร่วงของดอกที่รมเอทิลีนลดลง เมื่อเทียบกับดอกที่ไม่ได้รับเอทิลีน (Evensen et al., 1993) และเอทิลีนสามารถเร่งการหลุดร่วงของกลีบดอกของ *Pelargonium x hortorum* 'Kim' 'Veronica' 'Fox' และ 'Cotton Candy' ขณะที่ 1-MCP สามารถลดเปอร์เซ็นต์การหลุดร่วงของดอกไม้เหล่านี้ได้ (Jones et al., 2001) แต่ในส่วนของพืชที่ไม่ตอบสนองต่อเอทิลีนให้ผลที่ต่างไป เช่น ในรายงานของกาญจนา รุ่งรัชกานนท์ (2550) ที่พบว่าเอทิลีนไม่สามารถเร่งการหลุดร่วงของดอกบานของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์มิสทินได้ เมื่อเทียบกับชุดที่ไม่ได้รับสารใด ๆ เลย ภายใน 7 วันหลังการเก็บรักษา เนื่องจากดอกบานของกล้วยไม้พันธุ์นี้ไม่ตอบสนองต่อเอทิลีน อย่างไรก็ตาม พบว่า เอทิลีนมีผลต่อการหลุดร่วงของดอกตูมของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์มิสทิน

ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์บริเวณ abscission zone ระหว่างแกนช่อดอกและก้านดอกย่อยของดอกบานตำแหน่งที่ 1 นับจากก้าน ของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสวน พบว่าประกอบด้วย abscission layer และ protective layer ซึ่งสามารถแยกเนื้อเยื่อบริเวณดังกล่าวออกจากบริเวณข้างเคียงได้อย่างชัดเจน เนื่องจากเซลล์ในบริเวณนี้ประกอบด้วยเซลล์ที่มีขนาดเล็กกว่าและผนังเซลล์บางกว่าเซลล์ข้างเคียง นอกจากนี้ พบว่า เซลล์ใน abscission layer มีขนาดเล็กกว่า

เซลล์ใน protective layer และเมื่อเก็บรักษาไว้นานขึ้น เซลล์บริเวณ abscission layer มีการแยกและฉีกขาดในบริเวณผนังเซลล์ ซึ่งพบการฉีกขาดตลอดแนว (ดอกร่วง) ของช่อดอกกล้วยไม้ชุดควบคุมตั้งแต่วันที่ 16 ขณะที่เอทิลีนเร่งการฉีกขาดตลอดแนวของดอกบานตำแหน่งที่ 1 (12 วัน หลังการรม) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ส่วน 1-MCP สามารถชะลอการฉีกขาดตลอดแนวของกล้วยไม้พันธุ์ขาวสนานได้ (20 วัน หลังการรม) จากผลการศึกษาเปอร์เซ็นต์การหลุดร่วงของดอกตูมและดอกบาน รวมทั้งการฉีกขาดของดอกบานตำแหน่งที่ ของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนาน แสดงให้เห็นว่า 1-MCP สามารถชะลอการหลุดร่วงกล้วยไม้พันธุ์ดังกล่าวได้ ซึ่ง 1-MCP อาจส่งผลกระทบต่อ การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ middle lamella เนื่องจากในระหว่างการหลุดร่วง พบว่า middle lamella ที่อยู่ระหว่างเซลล์ใน separation layer จะถูกสลาย ดังเช่นในการศึกษาของ (Machish et al., 2005)

ปริมาณเพกทินที่ละลายน้ำได้ในบริเวณ abscission zone ของดอกบานของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนานในชุดที่รมเอทิลีนมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุมในวันที่ 10 และ 12 หลังการรม ขณะที่แนวโน้มของชุดการทดลองที่รม 1-MCP และชุดที่รม 1-MCP ก่อนรมเอทิลีนมีปริมาณเพกทินที่ละลายน้ำได้ที่มากกว่าชุดควบคุมตลอดระยะเวลาการทดลอง และแนวโน้มของชุดควบคุม พบว่าปริมาณเพกทินที่ละลายน้ำได้ลดลงในช่วงท้ายของการทดลอง คาดว่าเมื่อผนังเซลล์และ middle lamella ถูกสลายมากขึ้น ปริมาณเพกทินที่ละลายน้ำได้จึงลดลง และเอทิลีนส่งเสริมให้เพกทินที่ละลายน้ำได้ลดลง ขณะที่ 1-MCP ทำให้ค่าดังกล่าวเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับชุดควบคุม เนื่องจากเอทิลีนเร่งกระบวนการหลุดร่วง โดยส่งผลกระทบต่อเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง ดังเช่นการศึกษากการเปลี่ยนแปลงของผนังเซลล์ของดอกกล้วยไม้หลังการเก็บเกี่ยว (Yap et al., 2008) ที่พบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณโปรตีน การดูดน้ำ และกระบวนการเมตาบอลิซึมของผนังเซลล์ในดอกกล้วยไม้สกุลหวาย *Dendrobium crumenatum* ตั้งแต่ระยะดอกตูมจนถึงระยะที่ดอกเสื่อมสภาพ โดยพบว่า ในระยะดอกบานจะมีปริมาณน้ำตาลมาก ซึ่งเป็นผลเสียต่อ water potential ส่วนในระยะดอกตูมจะมีเพกทินสูง หลังจากนั้นจะเริ่มลดลง โดยมีการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ β -galactosidase, β -mannosidase, β -xylosidase นอกจากนี้ยังพบว่าการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ cellulases, hemicellulases และปริมาณเพกทิน ในกลีบเลี้ยงและกลีบดอกขณะมีการพัฒนาของดอกตั้งแต่ระยะดอกตูม ซึ่งผลการเปลี่ยนแปลงปริมาณเอนไซม์ดังกล่าวเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลให้ดอกกล้วยไม้บานและเสื่อมสภาพอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้ การศึกษาของ (Bunya-atichart et al., 2011) พบว่าเอทิลีนทำให้แอกทิวิตีของเอนไซม์ PG บริเวณ abscission zone ของดอกตูมของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์มิสทินเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของเปอร์เซ็นต์การหลุดร่วงของดอกตูม และเนื่องจากเพกทินในพืชมีหลายประเภท (Walter, 1991) และโครงสร้างของผนังเซลล์ยังประกอบด้วยสารอื่น เช่น cellulose hemicellulose จึงควรทำการศึกษาเพกทินประเภทอื่น และสารประกอบของผนังเซลล์ชนิดอื่นด้วยเช่นกัน

แอกทิวิตีของเอนไซม์ PL บริเวณ abscission zone ของดอกบานของกล้วยไม้สกุลหวาย พันธุ์ขาวสนานของทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มลดลงและไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตลอดระยะเวลาการทดลอง ยกเว้นวันที่ 6 หลังการรม นอกจากนี้ พบว่าชุดที่รมเอทิลีนมีค่าแอกทิวิตีของเอนไซม์ PL มากกว่าชุดอื่น ๆ เล็กน้อย แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งผลที่ได้แตกต่างจากการศึกษาของ Singh et al. (2011) ที่พบว่าการแสดงออกของยีนของเอนไซม์ PG ชื่อว่า *RbPel1* (pectate lyase gene) ในบริเวณ abscission zone ของกุหลาบที่ได้รับเอทิลีนมีมากกว่ากลุ่มควบคุม ส่วนแอกทิวิตีของเอนไซม์ PG ในการศึกษาบริเวณ abscission zone ของดอกบานของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนานของทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นก่อนจะลดลงในช่วงท้ายของการทดลอง และไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างชุดการทดลอง จากแนวโน้มของแอกทิวิตีของเอนไซม์ PG และเปอร์เซ็นต์การหลุดร่วงของดอกบาน แสดงให้เห็นว่า เอนไซม์ PG จะเพิ่มสูงขึ้นก่อนที่จะเกิดการหลุดร่วง ซึ่งตรงกันข้ามกับการศึกษาของ Tucker et al. (1984) (อ้างถึงใน Bunya-atichart et al., 2011) ที่พบว่า การหลุดร่วงของดอกมะเขือเทศที่ได้รับเอทิลีนเกิดขึ้นก่อนการเพิ่มขึ้นของแอกทิวิตีของเอนไซม์ PG ขณะที่การศึกษาของ Bunya-atichart et al. (2011) พบว่าแอกทิวิตีของเอนไซม์ PG ไม่เพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการทดลอง (6 วันหลังการรม) แต่เอทิลีนทำให้แอกทิวิตีของเอนไซม์ PG บริเวณ abscission zone ของดอกตูมของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์มีสทินเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของเปอร์เซ็นต์การหลุดร่วงของดอกตูม อย่างไรก็ตาม แม้ว่าในการศึกษาครั้งนี้ไม่พบผลของ 1-MCP ต่อการชะลอการทำงานของเอนไซม์ PL และ PG แต่กระบวนการการหลุดร่วงของดอกย่อยของกล้วยไม้ที่อาจเกิดขึ้นได้จากการทำงานของเอนไซม์ที่ย่อยผนังเซลล์ของเซลล์บริเวณ abscission zone เอนไซม์อื่น ๆ อีกนอกเหนือจากเอนไซม์ทั้งสอง เช่น cellulase, pectin methylesterase (PME) เป็นต้น ดังนั้นการสลายของบริเวณผนังเซลล์ที่ต่างกันของชุดการทดลองต่าง ๆ อาจเกิดจากผลของเอทิลีนและ 1-MCP ที่มีต่อการทำงานของเอนไซม์ที่ย่อยสลายผนังเซลล์ที่ไม่ได้ทำการศึกษาในการทดลองนี้

จากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า ทั้งดอกตูมและดอกบานของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวาย พันธุ์ขาวสนานตอบสนองต่อเอทิลีน และ 1-MCP มีผลในการยับยั้งการตอบสนองต่อเอทิลีนของกล้วยไม้พันธุ์นี้ ซึ่งลักษณะอาการเสื่อมสภาพที่เกิดขึ้น ทั้งการเปลี่ยนแปลงสีของกลีบเลี้ยงและกลีบดอก การปรากฏของเส้น vein ที่ชัดเจนทั่วกลีบเลี้ยงและกลีบดอก การคว่ำของดอก การเหี่ยว และการหลุดร่วงของดอกย่อย เป็นอาการที่สังเกตเห็นได้จากภายนอกของกระบวนการเสื่อมสภาพ โดยเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา ชีวเคมี และการแสดงออกของยีนของพืช ลักษณะที่ปรากฏเป็นผลมาจากการที่คลอโรฟิลล์ เยื่อหุ้มเซลล์ โปรตีน และ nucleic acid ถูกทำลาย รวมทั้งเกิดการเคลื่อนย้ายของสารอาหารจากบริเวณที่จะเกิดการเสื่อมสภาพไปยังบริเวณที่ยังเจริญ เช่น ใบอ่อน ผล หรือเมล็ด เป็นต้น (Zhou and Gan, 2010) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้เองที่ส่งผลให้กลีบเลี้ยง

และกลีบดอกของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนานเกิดการเปลี่ยนแปลงสีและปรากฏเส้น vein ชัดเจน ดอกเหี่ยวเนื่องจากการสูญเสีย น้ำ ดอกย่อยคว่ำลง และเกิดการหลุดร่วงในที่สุด และแม้ว่าเอทิลีนและ 1-MCP จะไม่มีผลต่อแอกทิวทิทของเอนไซม์ PL และ PG ในบริเวณ abscission zone ของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนาน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เอทิลีนมีผลเร่งให้ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์บริเวณ abscission zone ของดอกบานตำแหน่งที่ 1 มีการเปลี่ยนแปลงที่เร็วกว่าชุดควบคุม (พบการฉีกขาดตลอดแนวก่อนชุดควบคุม) ขณะที่ 1-MCP ให้ผลตรงกันข้าม แสดงให้เห็นว่ากระบวนการหลุดร่วงของดอกบานของช่อดอกกล้วยไม้พันธุ์นี้ตอบสนองต่อเอทิลีน และเช่นเดียวกับกระบวนการเสื่อมสภาพ กระบวนการหลุดร่วงของดอกและส่วนประกอบต่าง ๆ ของดอก เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา ซีวเคมี ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ บริเวณ abscission zone และการแสดงออกของยีน ตัวอย่างเช่น สารกลุ่มคาร์โบไฮเดรตเปลี่ยนแปลงไป มีการสังเคราะห์โปรตีนบางชนิดเพิ่มสูงขึ้น เกิดการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างของผนังเซลล์อันเนื่องมาจากการทำงานของเอนไซม์ (van Doorn and Stead, 1997) เช่น cellulase PME PG PL (Patterson, 2001) ซึ่งเอทิลีนมีบทบาทเป็นฮอร์โมนที่กระตุ้นให้เกิดกระบวนการเสื่อมสภาพ (Taiz and Zeiger, 2010) และกระบวนการหลุดร่วง (Davies, 1987) การตอบสนองของพืชต่อเอทิลีนที่เกิดขึ้นนี้ มาจากการที่โมเลกุลของเอทิลีนที่พืชสร้างเอง และ/หรือ เอทิลีนจากภายนอก จับกับ ethylene receptor ส่งผลให้เกิดการยับยั้งการทำงานของ CTR pathway และทำให้ EIN2 สามารถกระตุ้นการทำงานของยีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อเอทิลีนของพืชได้ เช่น การให้เอทิลีนจากภายนอก ส่งเสริมการแสดงออกของยีน *RbPel1* (pectate lyase gene) ในบริเวณ abscission zone ของกุหลาบ ทำให้กลีบกุหลาบร่วงเร็วขึ้น (Singh et al., 2011) แต่กรณีที่ไม่มีเอทิลีนหรือเอทิลีนไม่สามารถจับกับ ethylene receptor ได้ โปรตีนตัวกลางที่ส่งสัญญาณ เช่น CTR1 จะทำงานได้ และส่งสัญญาณไปยัง EIN2 ทำให้พืชไม่เกิดการตอบสนองต่อเอทิลีน (Taiz and Zeiger, 2010) ดังนั้นการรม 1-MCP ซึ่งเป็นสารที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอทิลีน โดยแย่งจับกับ ethylene receptor (Blankenship and Dole, 2003) จึงทำให้ช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนานตอบสนองต่อเอทิลีนได้น้อยลง เมื่อเทียบกับชุดควบคุมและชุดที่ได้รับเอทิลีนจากภายนอก

บทที่ 6

สรุปผลการศึกษา

1. ผลของ 1-MCP ต่ออายุการปักแจกันและคุณภาพของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนาน

1-MCP สามารถยืดอายุการปักแจกันของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนานได้ และชะลอการหลุดร่วงของดอกตูมและดอกบาน แต่ไม่มีผลต่อการบานเพิ่มของดอกตูม

2. ผลของ 1-MCP ต่อลักษณะกายวิภาคศาสตร์ในบริเวณ abscission zone ของดอกย่อยของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนาน

เซลล์ในบริเวณ abscission zone มีขนาดเล็กกว่าเซลล์ข้างเคียงและมีผนังเซลล์ที่บางกว่า 1-MCP ชะลอการหลุดร่วงของดอกบานตำแหน่งที่ 1 นับจากล่างของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนาน

3. ผลของ 1-MCP ต่อปริมาณเพกทินในบริเวณ abscission zone ของดอกย่อยของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนาน

1-MCP ชะลอการลดลงของปริมาณเพกทินในบริเวณ abscission zone ของดอกบานตำแหน่งที่ 1 ของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนาน

4. ผลของ 1-MCP ต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์ PL และ PG ในบริเวณ abscission zone ของดอกย่อยของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนาน

1-MCP ไม่มีผลต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์ PL และ PG ของเนื้อเยื่อในบริเวณ abscission zone ของดอกบานตำแหน่งที่ 1 ของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสนาน

รายการอ้างอิง

- กาญจนา บุญเรือง. 2548. สรีรวิทยาและผลของเอทิลีนต่อการหลุดร่วงของกลีบดอกมะลิลา.
วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ, สาขาพืชสวน ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- กาญจนา รุ่งรัชกานนท์. 2550. บทบาทของออกซินและเอทิลีนต่อการร่วงของดอกกล้วยไม้สกุลหวาย
หลังการเก็บเกี่ยว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ, สาขาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว โครงการ
การสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- จริงแท้ ศิริพานิช. 2549. สรีรวิทยาและเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้. กรุงเทพมหานคร:
สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- จริงแท้ ศิริพานิช. 2550. ชีววิทยาหลังการเก็บเกี่ยวและการหายใจของพืช. นครปฐม: โรงพิมพ์ศูนย์
ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน
นครปฐม.
- นริสา อุทัยฉาย. 2546. ผลของ 1-methylcyclopropene ที่มีต่ออายุการปักแจกันและคุณภาพดอก
กล้วยไม้สกุลหวาย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ, สาขาพืชสวน คณะเกษตร
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- นวลกมล อำนวยสิน. 2550. เพกทินและแอกทิวิตีของเอนไซม์ที่ย่อยสลายเพกทินในกล้วยไม้ผ่านการ
แช่น้ำร้อนหลังการเก็บเกี่ยว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ, สาขาพืชสวน คณะ
วิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- นวลกมล อำนวยสิน. 2554. การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางกายวิภาคและเมแทบอลิซึมของผนังเซลล์
ของเปลือกกล้วยหอมทองที่ผ่านการจุ่มน้ำร้อน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ, สาขา
พฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- พวงผกา สุนทรชัยนาคแสง. 2548. กายวิภาคและสัณฐานวิทยาของพืชมีดอก. กรุงเทพมหานคร:
สำนักพิมพ์ท็อป.
- ภูมิพงษ์ ชูช่วยสุวรรณ. 2555. ผลของ 1-เมทิลไซโคลโพรเพนต่อการเปลี่ยนแปลงของวัฏจักรแอสคอร์
เบต-กลูตาไทโอนในช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนาน *Dendrobium* 'Khao
Sanan' และพันธุ์บุรณะเจดน์ *Dendrobium* 'Burana Jade'. วิทยานิพนธ์ปริญญา
โทบริหารธุรกิจ, สาขาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

- ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร สำนักงานปลัดกระทรวงพาณิชย์ โดยความร่วมมือจากกรมศุลกากร. 2557. โครงสร้างสินค้าส่งออกโลก [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.ops3.moc.go.th/infor/menucomth/stru1_export/export_re/report.asp [2 มีนาคม 2557].
- ศูนย์บริการจัดการเครือข่ายข้อมูลกล้วยไม้. 2554. กล้วยไม้ตัดดอกสกุลหวาย (*Dendrobium*) [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://orchidnet.doae.go.th/2555/home/print_view_product_word.php?type=1&id=3 [2 มีนาคม 2558].
- สายชล เกตุษา, เกยูร ชีรเจริญปัญญา and อัจฉรา บุญโรจน์. 2528. การปรับปรุงคุณภาพและยืดอายุการใช้งานของดอกกล้วยไม้. In รายงานผลการวิจัยสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร:
- สุณิษา อยู่ดี. 2554. ผลของสาร 1-Methylcyclopropene ต่ออายุการปักแจกันของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์บูรณะเจตน์และเอี้ยสกุล. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, สาขาวิชาชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- อบฉันท ไทยทอง. 2548. กล้วยไม้เมืองไทย. กรุงเทพฯ: บ้านและสวน.
- Albersheim, P., darvill, A., Roberts, K., Sederoff, R. and Staehelin, A. 2010. Plant Cell Walls. New York: Garland Science.
- Beck, C. B. 2005. An Introduction to Plant Structure and Development : Plant Anatomy for the Twenty-First Century. Cambridge, UK ; New York: Cambridge University Press.
- Blankenship, S. M. and Dole, J. M. 2003. 1-Methylcyclopropene: a review. Postharvest Biology and Technology 28: 1-25.
- Brown, K. M. 1997. Ethylene and abscission. Physiologia Plantarum 100: 567-576.
- Brummell, D. A. and Harpster, M. H. 2001. Cell wall metabolism in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants. Plant Molecular Biology 47: 311-340.
- Bunya-atichart, K., Ketsa, S. and van Doorn, W. G. 2011. Ethylene-sensitive and ethylene-insensitive abscission in *Dendrobium*: Correlation with polygalacturonase activity. Postharvest Biology and Technology 60: 71-74.
- Chattaway, M. M. 1948. The development of tyloses and secretion of gum in heartwood formation. Australian Journal of Science 2(3): 227-240.

- Cooper, G. M. 2000. Cell: a molecular approach. Washington, D. C.: ASM Press
- Cosgrove, D. J. 2005. Growth of the plant cell wall. Nature Reviews Molecular Cell Biology 6: 850-861.
- Davies, P. J. 1987. Plant Hormones and Their Role in Plant Growth and Development. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
- Duan, X., et al. 2008. Modification of pectin polysaccharides during ripening of postharvest banana fruit. Food Chemistry 111(1): 144-149.
- Estornell, L. H., Agusti, J., Merelo, P., Talon, M. and Tadeo, F. R. 2013. Elucidating mechanisms underlying organ abscission. Plant Science 199– 200: 48– 60.
- Evensen, K. B., M., P. A. and Stead, A. D. 1993. Anatomy of ethylene-induced petal abscission in *Pelargonium x hortorum*. Annals of Botany 71: 559-566.
- Fischer, R. L. and Bennett, A. B. 1991. Role of cell wall hydrolases in fruit ripening. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 42: 675-703.
- Ichimura, K., Shimizu-Yumoto, H. and Goto, R. 2009. Ethylene production by gynoecium and receptacle is associated with sepal abscission in cut *Delphinium* flowers. Postharvest Biology and Technology 52: 267-272.
- Johansen, D. A. 1940. Plant microtechnique. New York: McGraw-Hill Book Co., Inc.
- Jones, M. L., Kim, E.-S. and Newman, S. E. 2001. Role of ethylene and 1-MCP in flower development and petal abscission in zonal geraniums. HortScience 36(7): 1305-1309.
- Lohani, S., Trivedi, P. K. and Nath, P. 2004. Changes in activities of cell wall hydrolases during ethylene-induced ripening in banana: effect of 1-MCP, ABA and IAA. Postharvest Biology and Technology 31: 119-126.
- Machish, A. J., Irving, D. E., Joyce, D. C., Vithanage, V. and Wearing, A. H. 2005. Anatomy of ethylene-induced floral-organ abscission in *Chamelaucium uncinatum* (Myrtaceae). Australian Journal of Botany 53: 119-131.
- Osborne, D. J. and Sargent, J. A. 1976. The positional differentiation of ethylene-responsive cells in rachis abscission zones in leaves of *Sambucus nigra* and their growth and ultrastructural changes at senescence and separation. Planta 130: 203-210.

- Pathak, N. and Sanwal, G. G. 1998. Multiple forms of polygalacturonase from banana fruits. Phytochemistry 48(2): 249-255.
- Patterson, S. E. 2001. Cutting Loose. Abscission and dehiscence in Arabidopsis. Plant Physiology 126: 494-500.
- Roberts, J. A., Schindler, B. C. and Tucker, G. A. 1984. Ethylene-promoted tomato flower abscission and the possible involvement of an inhibitor. Planta 160: 159-163.
- Ruzin, S. E. 1999. Plant Microtechnique and Microscopy. New York: Oxford University Press.
- Santiago-Domé'nech, N., et al. 2008. Antisense inhibition of a pectate lyase gene supports a role for pectin depolymerization in strawberry fruit softening. Journal of Experimental Botany 59(10): 2769-2779.
- Sexton, R., Struthers, W. A. and Lewis, L. N. 1983. Some observations on the very rapid abscission of the petals of *Geranium robertianum* L. Protoplasma 116: 179-186.
- Sinclair, W. B. 1972. The Grapefruit: Its Composition, Physiology & Products. Agriculture & Natural Resources.
- Singh, A. P., Pandey, S. P., Pandey, R. S., Nath, P. and Sane, A. P. 2011. Transcriptional activation of a pectate lyase gene, *RbPel1*, during petal abscission in rose. Postharvest Biology and Technology 60: 143-148.
- Stead, A. D. and Moore, K. G. 1983. Studies on flower longevity in *Digitalis*: The role of ethylene in corolla abscission. Planta 157: 15-21.
- Sun, B., Yan, H., Liu, N., Wei, J. and Wang, Q. 2012. Effect of 1-MCP treatment on postharvest quality characters, antioxidants and glucosinolates of Chinese kale. Food Chemistry 131: 519-526.
- Taiz, L. and Zeiger, E. 2010. Plant Physiology. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates.
- Taylor, J. E. and Whitelaw, C. A. 2001. Signals in abscission. New Phytologist 151: 323-339.

- Uthaichay, N., Ketsa, S. and van Doorn, W. G. 2007. 1-MCP pretreatment prevents bud and flower abscission in *Dendrobium* orchids. Postharvest Biology and Technology 43: 374-380.
- Valdovinos, J. G. and Jensen, T. E. 1968. Fine structure of abscission zones II. Cell-wall changes in abscising pedicels of tobacco and tomato flowers. Planta 83: 295-320.
- van Doorn, W. G. and Stead, A. D. 1997. Abscission of flowers and floral parts. Journal of Experimental Botany 48: 821-837.
- van Doorn, W. G. 2002. Effect of ethylene on flower abscission: a survey. Annals of Botany 89: 689-693.
- Walter, R. 1991. The Chemistry and Technology of Pectin. New York: Cornell University.
- Wright, M. and Osborne, D. J. 1974. Abscission in *Phaseolus vulgaris* the positional differentiation and ethylene-induced expansion growth of specialised cells. Planta 120: 163-170.
- Yap, Y., Loh, C. and Ong, B. 2008. Regulation of flower development in *Dendrobium crumenatum* by changes in carbohydrate contents, water status and cell wall metabolism. HortScience 119: 59-66.
- Zhou, C. and Gan, S. 2010. Senescence. In Plant Developmental Biology- Biotechnological Perspective. Heidelberg; New York: Springer.



ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



ภาคผนวก ก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การหลุดร่วงของดอกตูม (floral bud abscission, %) ของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนาน หลังรมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมง และเก็บรักษาเป็นระยะเวลาต่าง ๆ (mean \pm SE)

	Floral bud abscission (%)				
	Control	Ethylene	1-MCP	1-MCP + Ethylene	
Day0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	ns
Day2	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	ns
Day4	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	ns
Day6	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	ns
Day8	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	ns
Day10	1.0 \pm 0.7 ^b	20.4 \pm 3.9 ^a	0.0 \pm 0.0 ^b	0.0 \pm 0.0 ^b	*
Day12	3.3 \pm 1.2 ^b	57.7 \pm 5.2 ^a	0.0 \pm 0.0 ^b	0.0 \pm 0.0 ^b	*
Day14	5.0 \pm 1.8 ^b	69.4 \pm 5.2 ^a	2.9 \pm 1.2 ^b	0.9 \pm 0.6 ^b	*
Day16	7.8 \pm 1.9 ^b	70.6 \pm 4.9 ^a	4.1 \pm 1.5 ^b	2.0 \pm 1.2 ^b	*
Day18	9.7 \pm 1.9 ^b	71.9 \pm 4.9 ^a	7.2 \pm 2.3 ^b	2.5 \pm 1.3 ^b	*
Day20	11.9 \pm 1.6 ^b	75.7 \pm 4.7 ^a	8.0 \pm 2.3 ^b	5.1 \pm 2.0 ^b	*

*ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ns ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การหลุดร่วงของดอกบาน (open flower abscission, %) ของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนาน หลังรมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมง และเก็บรักษาเป็นระยะเวลาต่าง ๆ (mean \pm SE)

	Open flower abscission (%)				
	Control	Ethylene	1-MCP	1-MCP + Ethylene	
Day0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	ns
Day2	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	ns
Day4	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	ns
Day6	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	ns
Day8	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	ns
Day10	2.0 \pm 1.1 ^b	8.7 \pm 3.2 ^a	0.0 \pm 0.0 ^b	0.0 \pm 0.0 ^b	*
Day12	4.7 \pm 2.0 ^b	22.3 \pm 4.0 ^a	1.7 \pm 1.2 ^b	0.0 \pm 0.0 ^b	*
Day14	11.9 \pm 2.8 ^b	23.1 \pm 4.3 ^a	5.0 \pm 2.2 ^{bc}	2.7 \pm 1.2 ^c	*
Day16	22.6 \pm 4.2 ^a	26.2 \pm 4.0 ^a	7.9 \pm 2.4 ^b	9.0 \pm 1.6 ^b	*
Day18	31.1 \pm 5.3 ^a	30.3 \pm 4.7 ^a	10.6 \pm 2.4 ^b	10.5 \pm 2.2 ^b	*
Day20	51.6 \pm 5.6 ^a	55.5 \pm 6.1 ^a	23.6 \pm 4.6 ^b	25.1 \pm 5.1 ^b	*

*ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ns ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์การบานเพิ่มของดอกตูม (Floral bud opening, %) ของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนาน หลังรมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมง และเก็บรักษาเป็นระยะเวลาต่าง ๆ (mean \pm SE)

	Floral bud opening (%)				
	Control	Ethylene	1-MCP	1-MCP + Ethylene	
Day0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	ns
Day2	5.5 \pm 1.2 ^a	1.3 \pm 0.7 ^b	4.5 \pm 1.2 ^a	5.4 \pm 1.1 ^a	*
Day4	9.2 \pm 1.4 ^{ab}	6.2 \pm 0.8 ^b	8.6 \pm 1.3 ^{ab}	10.1 \pm 1.2 ^a	*
Day6	10.3 \pm 1.4 ^{ab}	7.9 \pm 0.8 ^b	13.2 \pm 1.3 ^a	13.8 \pm 1.2 ^a	*
Day8	12.6 \pm 1.4	15.1 \pm 0.8	14.9 \pm 1.3	16.1 \pm 1.2	ns
Day10	16.0 \pm 2.3 ^b	22.4 \pm 2.0 ^a	15.4 \pm 1.7 ^b	16.1 \pm 1.9 ^b	*
Day12	24.2 \pm 1.4 ^{ab}	25.2 \pm 0.8 ^a	16.7 \pm 1.3 ^c	17.9 \pm 1.2 ^{bc}	*

*ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ns ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 5 ปริมาณเพกตินที่ละลายน้ำได้บริเวณ abscission zone ของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวาย พันธุ์ชาวสวน หลังรมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมง และเก็บรักษาเป็นระยะเวลาต่าง ๆ (mean \pm SE)

	Water-soluble pectin content ($\mu\text{g/g}$ fresh weight)				
	Control	Ethylene	1-MCP	1-MCP + Ethylene	
Day0	83.38 \pm 5.9	91.56 \pm 4.7	76.98 \pm 2.4	89.83 \pm 5.6	ns
Day2	78.39 \pm 6.2	82.05 \pm 10.1	88.11 \pm 18.3	95.74 \pm 6.7	ns
Day4	76.30 \pm 5.6	80.44 \pm 5.3	83.78 \pm 5.0	87.67 \pm 2.8	ns
Day6	84.10 \pm 4.1 ^b	84.22 \pm 4.6 ^b	111.53 \pm 7.1 ^a	107.76 \pm 4.9 ^a	*
Day8	81.04 \pm 2.0	88.68 \pm 7.4	96.90 \pm 9.3	103.53 \pm 8.1	ns
Day10	72.99 \pm 3.9 ^{bc}	47.29 \pm 1.9 ^c	91.01 \pm 9.9 ^{ab}	96.51 \pm 5.6 ^a	*
Day12	58.26 \pm 6.8 ^b	37.58 \pm 2.6 ^c	88.38 \pm 9.0 ^a	93.62 \pm 3.3 ^a	*

*ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ns ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 6 แอกทิวิตีของเอนไซม์ PL บริเวณ abscission zone ของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนาน หลังรมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมง และเก็บรักษาเป็นระยะเวลาต่าง ๆ (mean \pm SE)

	PL activity (units/min/mg protein)				
	Control	Ethylene	1-MCP	1-MCP + Ethylene	
Day0	3.58 \pm 0.5	3.59 \pm 1.4	3.77 \pm 1.2	3.69 \pm 1.2	ns
Day2	3.42 \pm 1.1	4.17 \pm 0.2	2.47 \pm 0.5	2.85 \pm 0.9	ns
Day4	2.39 \pm 0.3	3.03 \pm 0.1	2.20 \pm 0.6	2.36 \pm 0.9	ns
Day6	4.31 \pm 0.1 ^a	3.30 \pm 0.3 ^{ab}	2.73 \pm 0.2 ^b	1.92 \pm 0.6 ^b	*
Day8	2.48 \pm 0.5	2.69 \pm 0.2	2.18 \pm 0.3	1.95 \pm 0.4	ns
Day10	1.18 \pm 0.5	1.32 \pm 0.2	1.00 \pm 0.3	1.22 \pm 0.3	ns
Day12	1.23 \pm 0.3	1.89 \pm 0.5	0.89 \pm 0.2	0.68 \pm 0.4	ns

*ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ns ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 7 แอกทิวิตีของเอนไซม์ PG บริเวณ abscission zone ของช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ ขาวสนาน หลังรมด้วย 0.5 ไมโครลิตร/ลิตร 1-MCP นาน 3 ชั่วโมง และ/หรือ 0.4 ไมโครลิตร/ลิตร เอทิลีน นาน 24 ชั่วโมง และเก็บรักษาเป็นระยะเวลาต่าง ๆ (mean \pm SE)

	PG activity (units/min/mg protein)				
	Control	Ethylene	1-MCP	1-MCP + Ethylene	
Day0	10.91 \pm 1.7	11.40 \pm 2.6	13.04 \pm 5.8	11.74 \pm 6.3	ns
Day2	13.04 \pm 3.2	16.73 \pm 1.5	13.75 \pm 0.7	15.35 \pm 1.8	ns
Day4	22.62 \pm 0.6	25.10 \pm 0.2	22.49 \pm 2.0	20.18 \pm 2.1	ns
Day6	22.11 \pm 1.6	27.56 \pm 1.3	25.63 \pm 0.5	26.82 \pm 2.7	ns
Day8	21.44 \pm 1.5	30.44 \pm 1.7	26.82 \pm 1.2	28.42 \pm 4.1	ns
Day10	15.42 \pm 1.4	18.67 \pm 2.8	16.82 \pm 0.7	17.26 \pm 3.3	ns
Day12	16.47 \pm 1.4	18.85 \pm 0.5	16.69 \pm 2.9	14.32 \pm 1.8	ns

*ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ns ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



ภาคผนวก ข

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

1. ขั้นตอนการย้อมสี

ย้อมสีด้วยสีย้อม safranin O และ fast green (Ruzin, 1999) โดยแช่และย้อมตามขั้นตอน
ดังนี้

1. แช่ใน Xylene นาน 3 นาที
2. แช่ใน Xylene นาน 3 นาที
3. แช่ใน Absolute ethyl alcohol 10 วินาที
4. แช่ใน 95% ethyl alcohol 10 วินาที
5. แช่ใน 70% ethyl alcohol 10 วินาที
6. แช่ใน สีย้อม Safranin O อย่างน้อย 3 ชั่วโมง
7. แช่ในน้ำกลั่น นาน 10 วินาที
8. แช่ใน 50% ethyl alcohol 10 วินาที
9. แช่ใน 70% ethyl alcohol 10 วินาที
10. แช่ใน 95% ethyl alcohol 10 วินาที
11. แช่ใน Absolute ethyl alcohol 10 วินาที
12. หยดสีย้อม fast green และทิ้งไว้ 3 นาที
13. หยด clove oil
14. ล้างในสารละลาย 1:1 Absolute ethyl alcohol: xylene
15. แช่ใน Xylene นาน 3 นาที
16. แช่ใน Xylene นาน 5 นาที

2. การเตรียมสาร

2.1 การเตรียม Fast green (Ruzin, 1999)

Fast green 0.225 g

Methyl cellosolve (methoxyethanol) 50 มิลลิลิตร

100% Ethyl alcohol 50 มิลลิลิตร

Clove oil 50 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมเข้าด้วยกันแล้วกรองด้วยกระดาษกรอง

2.2 การเตรียม Safranin O (Ruzin, 1999)

Safranin O 4 กรัม

Methyl cellosolve (methoxyethanol) 200 มิลลิลิตร

95% Ethyl alcohol 100 มิลลิลิตร

NaOAc 4 กรัม

77% Formalin 8 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมเข้าด้วยกันโดยใช้ magnetic stirrer ช่วย เก็บไว้ในอุณหภูมิห้อง

2.3 การเตรียม FAA (Ruzin, 1999)

37% formalin 10 มิลลิลิตร

Glacial acetic acid 5 มิลลิลิตร

95% Ethyl alcohol 50 มิลลิลิตร

น้ำกลั่น 35 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมเข้าด้วยกัน

2.4 การเตรียม Dehydrants

การเตรียม dehydrants ตามวิธีการของ Johansen (1940) เตรียมได้ดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 สูตรการเตรียม dehydrants (Johansen, 1940)

สาร	Dehydrant											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
น้ำกลั่น	95	90	80	70	50	30	15	5				
95% ethyl alcohol	5	10	20	30	40	50	50	40	25			
n/t-butyl alcohol					10	20	35	55	75	100	100	50
สี eosin										เล็กน้อย		
Paraffin oil												50

2.5 การเตรียม 0.2M sodium phosphate buffer (pH 7.0)

เตรียมสารละลาย	0.2M NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	39	มิลลิลิตร
----------------	---------------------------------------------------------	----	-----------

สารละลาย	0.2M Na ₂ HPO ₄	61	มิลลิลิตร
----------	---------------------------------------	----	-----------

ผสมสารละลายทั้งสองเข้าด้วยกัน จากนั้นปรับ pH เป็น 7.0 และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรรวมเป็น 1000 มิลลิลิตร

2.6 การเตรียม 1M sodium acetate buffer pH 4.5

ละลาย CH₃COONa 82.03 g ในน้ำกลั่น จากนั้นปรับ pH ให้เป็น 4.5 ด้วย glacial acetic acid ปรับปริมาตรรวมด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1000 มิลลิลิตร แล้วจึงนำเข้า autoclave

2.7 DNS reagent (นวลกมล อำนวยสิน, 2554)

3,5-dinitrosalicylic acid (DNS)	10	กรัม
---------------------------------	----	------

NaOH	16	กรัม
------	----	------

Na-K tartrate	300	กรัม
---------------	-----	------

น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
----------	-------	-----------

ละลาย DNS ในน้ำกลั่นปริมาตร 250 มิลลิลิตร เติม NaOH คนให้เข้ากัน จากนั้นเติม Na-K tartrate ทีละน้อย แล้วจึงเติมน้ำกลั่นที่เหลือ เก็บไว้ในขวดสีชาหรือขวดที่หุ้มกระดาษฟอยล์

3. การสกัดและวิเคราะห์ปริมาณเพกทิน (Robertson, 1970) (อ้างถึงใน นวลกมล อำนวยสิน, 2550)

3.1 การสกัดเพกทิน

ขั้นตอนการสกัดเพกทินมีดังนี้

1. บดตัวอย่างเนื้อเยื่อด้วยไนโตรเจนเหลว จากนั้นทำการสกัดด้วย 95% ethyl alcohol ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ในหลอดเซนตริฟิวจ์ โดยการต้มใน water bath ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที และทำการเขย่าเป็นระยะ ๆ

2. นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 x g อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

3. เทสารละลายส่วนใสทิ้ง แล้วเติม 63% ethyl alcohol ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เพื่อสกัดสีอีกครั้ง โดยนำหลอดเซนตริฟิวจ์ต้มใน water bath ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที พร้อมเขย่าเป็นระยะๆ

4. นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 x g อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

5. เทสารละลายส่วนใสทิ้ง แล้วเติมน้ำกลั่น ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เพื่อสกัดเพกทินที่ละลายน้ำได้

6. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer เป็นระยะ ๆ เพื่อให้เพกทินละลายในน้ำได้ดีขึ้น
7. นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 x g อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที
8. เติมน้ำละลายส่วนใสในหลอดทดลอง แล้วเติมน้ำละลาย 1N NaOH ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร
9. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเพื่อให้ได้ปริมาตรรวมเป็น 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ 15 นาที
10. นำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณเพกทินที่ละลายน้ำได้

3.2 การวิเคราะห์ปริมาณเพกทิน

ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณเพกทินที่ละลายน้ำได้มีดังนี้

1. นำสารละลายเพกทินที่สกัดได้ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง แล้วแช่ในน้ำแข็ง
 2. เติมน้ำละลาย 0.0125M $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ (ในสารละลาย glacial sulfuric acid) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร
 3. ผสมให้เข้ากันแล้ววางใน water bath อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที จากนั้นนำไปแช่ในน้ำแข็งทันที
 4. เติมน้ำละลาย 0.30% m-hydroxydiphenyl (ในสารละลาย 0.5% NaOH) ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร
 5. ผสมให้เข้ากัน แล้วแช่ในน้ำแข็งนาน 15 นาที สารละลายจะปรากฏสีชมพู
 6. นำหลอดทดลองออกจากถังน้ำแข็ง จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร โดยเทียบกับ blank ของแต่ละตัวอย่าง การเตรียม blank ทำได้โดยนำสารละลายตัวอย่างที่ผ่านปฏิกิริยาเดียวกัน แต่ใช้สารละลาย 1N NaOH ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร แทน สารละลาย 0.30% m-hydroxydiphenyl (ในสารละลาย 0.5% NaOH)
- เปลี่ยนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ด้วยการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลาย D-galacturonic acid ที่ผ่านปฏิกิริยาเคมีเดียวกัน

4. การสกัดและวิเคราะห์แอกทิวิตีของเอนไซม์ PL และ PG

4.1 การสกัดเอนไซม์ (Lohani et al., 2004)

1. บดตัวอย่างเนื้อเยื่อในโกร่งที่มีไนโตรเจนเหลว
2. เติมน้ำ extraction buffer ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ซึ่งประกอบด้วย
0.02M sodium phosphate buffer

0.02M ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)

1% triton x-100

0.02M cysteine-HCl

3. ดูดสารละลายที่ได้ใส่หลอดเซนตริฟิวจ์ (แช่หลอดในน้ำแข็ง)
4. นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 x g นาน 30 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
5. เทสารละลายส่วนใสใส่หลอดทดลองใหม่ เพื่อใช้ในการวิเคราะห์เอนไซม์ต่อไป

4.2 การวิเคราะห์แอกทิวิตีของเอนไซม์ PL (Miller, 1959) (อ้างถึงใน นวลกมล อำนวยสิน, 2554) สารละลายที่ใช้วิเคราะห์มีดังนี้

สารสกัดเอนไซม์ 100 ไมโครลิตร

0.3% Polygalacturonic acid (PGA, 0.05M sodium acetate pH 4.5) 500 ไมโครลิตร

0.02M sodium acetate buffer pH 4.5 200 ไมโครลิตร

1. ผสมสารละลายทั้งหมดแล้วนำไปปั่นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง
2. เติมสารละลาย 50% DNS reagent ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เพื่อวัดปริมาณ reducing sugar ที่ถูกปลดปล่อย
3. ต้มสารละลายในน้ำเดือดนาน 5 นาที เพื่อหยุดปฏิกิริยา แล้วทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร

Blank เตรียมโดยการเติม extraction buffer แทนสารสกัดเอนไซม์ เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ D-galacturonic acid ซึ่งค่าแอกทิวิตีของเอนไซม์ 1 หน่วย เป็น นาโนโมล ของ galacturonic acid/นาที/มิลลิกรัมโปรตีน

4.3 การวิเคราะห์แอกทิวิตีของเอนไซม์ PG (ดัดแปลงจาก Pathak and Sanwal (1998))

สารละลายที่ใช้วิเคราะห์มีดังนี้

สารสกัดเอนไซม์ 500 ไมโครลิตร

1% Polygalacturonic acid (PGA, 0.05M sodium acetate pH 4.5) 300 ไมโครลิตร

0.2M sodium acetate buffer pH 4.5 200 ไมโครลิตร

1. ผสมสารละลายทั้งหมดแล้วนำไปปั่นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง
2. เติมสารละลาย 50% DNS reagent ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เพื่อวัดปริมาณ reducing sugar ที่ถูกปลดปล่อย (Miller, 1959) (อ้างถึงใน นวลกมล อำนวยสิน, 2554)

3. ต้มสารละลายในน้ำเดือดนาน 5 นาที แล้วทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร

Blank เตรียมโดยการเติม extraction buffer แทนสารสกัดเอนไซม์ เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ D-galacturonic acid ซึ่งค่าแอกทิวิตีของเอนไซม์ 1 หน่วย เท่ากับ นาโนโมล ของ D-galacturonic acid/นาที/มิลลิกรัมโปรตีน

5. การวัด Total protein (จินตนา จันเจริญฤทธิ์, 2545) (อ้างอิงใน นवलกมล อำนวยสิน, 2554)

1. ผสมสารละลายดังต่อไปนี้เข้าด้วยกัน

สารสกัดเอนไซม์ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร

ชุดทดสอบ total protein ของ Bio-Rad assay ปริมาตร 50 ไมโครลิตร

น้ำกลั่น ปริมาตร 700 ไมโครลิตร

2. ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา
3. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร

Blank เตรียมโดยการเติมน้ำกลั่นเพิ่ม 50 ไมโครลิตร แทนสารสกัดเอนไซม์ เทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายโปรตีน Bovine serum albumin (BSA)

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวนฤมล เตือนสติ เกิดเมื่อวันที่ 4 กรกฎาคม พ.ศ. 2533 ที่จังหวัดสุโขทัย สำเร็จการศึกษาในระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาชีววิทยา จากภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร เมื่อปี พ.ศ. 2556 ซึ่งได้รับการสนับสนุนด้านการศึกษาจากโครงการพัฒนากำลังคนด้านวิทยาศาสตร์ (ทุนเรียนดีวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย) ทั้งในระดับปริญญาบัณฑิตและปริญญาโท

