

การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในช่วงก่อนการออกดอกในยอดมะปรางพันธุ์ทูลเกล้า

Changes in Quantity of Gibberellin-like Substances in Stem Apex prior to Flowering of Marian Plum (*Bouea burmanica* Griff.) cv. Toon Kloaw

สุธาณี มณีทอง¹ และ ธนะชัย พันธุ์เกษมสุข²
Sutasinee Maneethon¹ and Tanachai Pankasemsuk²

Abstract : The study on changes in gibberellin-like substances in stem apex prior to flowering of marian plum (*Bouea burmanica* Griff.) cv. 'Toon Kloaw' was done by Rice Secondary Leaf Sheath Bioassay (RSLSB) during September 1998 to January 2000 at the Horticulture Department, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand. Completely Randomized Design was set with 11 replications. The treatment was number of weeks 2, 4, 6, and 8 prior to flowering. It was found that quantity of gibberellin-like substances tended to decrease gradually during 8 to 2 weeks before flowering from 0.0028800 to 0.006038 μgGA_3 (Kyowa) equi.g f.wt.

บทคัดย่อ : การศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในช่วงก่อนการออกดอกในยอดมะปรางพันธุ์ทูลเกล้าโดยวิธี Rice Secondary Leaf Sheath Bioassay (RSLSB) ตั้งแต่เดือน กันยายน 2541 ถึง เดือน มกราคม 2543 ณ ห้องปฏิบัติการภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ซ้ำ 11 ซ้ำ มี 5 วิธีการ โดยใช้สัปดาห์ก่อนการออกดอกเป็นวิธีการ ได้แก่ 2, 4, 6, และ 8 สัปดาห์ก่อนการออกดอก ผลการทดลองพบว่า ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในยอดมะปรางก่อนการออกดอกลดลงตามลำดับตั้งแต่สัปดาห์ที่ 8 จนถึงสัปดาห์ที่ 2 ก่อนการออกดอก จาก 0.0028800 เป็น 0.006038 μgGA_3 (Kyowa) equi.g f.wt.

Index words : มะปราง ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลิน
Marian plum, Gibberellin-like substances

¹ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

²Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand.

คำนำ

มะปรางเป็นไม้ผลเมืองร้อนที่มีลักษณะพิเศษและมีเอกลักษณ์เฉพาะตัวในด้านสีผลและรูปทรง นอกจากนั้นอายุการเจริญเติบโตของผลต้นและออกสู่ตลาดไม่ตรงกับผลไม้ชนิดอื่นๆ มะปรางจึงเป็นผลไม้ที่มีศักยภาพมากทางด้านการตลาด แม้มะปรางจะมีผลผลิตออกสู่ตลาดน้อยมากในแต่ละปี แต่ก็มีรายงานว่ามีการส่งไปขายยังประเทศฮ่องกงและสิงคโปร์ นอกจากนี้มะปรางหวานพันธุ์ดียังได้รับการบรรจุให้เป็นไม้ผลที่ทางราชการ ส่งเสริมให้เกษตรกรขยายพื้นที่ปลูกและกรมส่งเสริมการเกษตรมีแผนระยะยาวที่จะสนับสนุน ให้ส่งไปขายยังต่างประเทศ (ทวีศักดิ์, 2539)

อย่างไรก็ตามเกษตรกรผู้ปลูกมะปรางพบว่าบางปีมะปรางออกดอกน้อย ซึ่งปัจจัยการออกดอกของมะปรางอาจมีหลายปัจจัย นรินทร์ (2537) ได้กล่าวถึงสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมกับการปลูกมะปรางเป็นการค้าว่าควรเป็นพื้นที่ที่มีฤดูหนาวและฤดูร้อนเด่นชัด เพราะช่วงแล้งมีความสำคัญต่อการออกดอกของมะปรางโดยช่วยทำให้ต้นมะปรางมีการพักตัวชั่วคราว (ชะงักการเจริญเติบโตทางใบและกิ่ง) และถ้ามีอุณหภูมิต่ำก็จะช่วยให้มะปรางออกดอกได้ดีขึ้น นอกจากนี้ สุรัชย์ (2541) ยังได้กล่าวถึงปัญหาของมะปราง ที่จะออกดอกไม่พร้อมกันทั้งต้นโดยทยอยออกดอก 2-3 ครั้งในหนึ่งปี โดยแต่ละครั้งห่างกัน 1-2 อาทิตย์ ในแง่การตลาดและการลงทุนแล้วจะทำให้การจัดการทำได้ยากเก็บผลผลิตได้ล่าช้า สิ้นเปลืองเวลาและแรงงาน ถ้าเรามีการบังคับให้มะปราง ออกผลผลิตพร้อมกันทั้งต้น นอกจากจะเป็นผลดีทางด้านการตลาดและการลงทุนแล้ว ยังทำให้ต้นมะปรางฟื้นตัวได้เร็ว พร้อมทั้งจะให้ผลผลิตในปีต่อไปได้เร็วและปริมาณมาก

สมมุติฐานเดิมในการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการออกดอกของพืช เชื่อว่าการออกดอกของพืชถูกควบคุมด้วยสารชนิดหนึ่ง เรียกว่า ฟลอริเจน (Florigen) แต่จนกระทั่งบัดนี้ ก็ยังไม่ทราบว่าสารฟลอริเจนคืออะไร สมมุติฐานใหม่ที่ดีกว่าน่าจะเป็นไปได้ในปัจจุบันคือ เชื่อกันว่าความสมดุลของฮอร์โมนพืชน่าจะเป็นตัวควบคุมการ ออกดอกแต่ก็ยังไม่ผู้ใดพิสูจน์ ได้ว่าความสมดุลที่ว่่านั้นเป็นอย่างไร (ชนัท, 2538)

การทดลองนี้มุ่งศึกษาหาวิธีการวิเคราะห์และการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลิน ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาสมดุลของฮอร์โมนก่อนการออกดอกของมะปราง หากพิสูจน์ได้ว่าสมดุลของฮอร์โมนในช่วงก่อนออกดอกเป็นปัจจัยที่สำคัญที่ควบคุมการออกดอกของมะปรางจริง ก็น่าจะสามารถนำความรู้นี้ไปใช้เป็นพื้นฐานในการทดลองควบคุมปริมาณจิบเบอเรลลินในยอดมะปรางให้เหมาะสมเพื่อให้ออกดอกได้สม่ำเสมอ

อุปกรณ์และวิธีการ

การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์มี 4 วิธีการ ใช้จำนวนสัปดาห์ก่อนการออกดอก (เห็นด้วยตาเปล่า) 2, 4, 6, และ 8 สัปดาห์เป็นวิธีการ ทำ 11 ซ้ำ โดยมี 1 หน่วยการทดลอง คือ ต้นกล้าข้าวพันธุ์แพร่ 1 จำนวน 8 ต้น การเก็บตัวอย่างจำนวน 4 ครั้ง โดยเริ่มเก็บตัวอย่าง ครั้งแรกวันที่ 26 กันยายน พ.ศ. 2541 และเก็บทุก 14 วัน เก็บตัวอย่างวันสุดท้ายวันที่ 7 พฤศจิกายน พ.ศ. 2541

โดยมีขั้นตอนการเก็บตัวอย่าง การสกัด การแยกส่วน การทำให้บริสุทธิ์ และการทำ Rice

Secondary Leaf Sheath Bioassay (RSLSB) ดังนี้

1) การเก็บตัวอย่างเก็บตัวอย่างโดยตัดยอดมะพร้าวที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 0.3-0.4 เซนติเมตร (โดยวัดที่โคนกิ่ง) ยาว 10 เซนติเมตร จำนวน 30 ยอด รวมกันเป็นหนึ่งตัวอย่าง แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาสกัด

2) การสกัดนำยอดมะพร้าวมาบดให้ละเอียด จากนั้นนำตัวอย่างที่บดละเอียดมา 20 กรัม เติมนิโตรเจน 95% 40 มล. นำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 18 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างมากรอง แล้วนำกากไปสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง นำสารละลายที่กรองได้มารวมกัน แล้วนำไปประเหยด้วยเครื่องระเหยความดันต่ำ ละลายส่วนที่แห้งด้วย 0.5 M sodium phosphate buffer pH 8.0 ปริมาตร 15 มล.

3) การแยกส่วน เติมนิโตรเจน (100%) ปริมาตร 20 มล. ลงไปในตัวอย่างที่สกัดได้ แยกเอาส่วนบนเก็บไว้ นำชั้นล่างซึ่งเป็นสารละลายบัฟเฟอร์ที่ได้มาปรับ pH ให้เท่ากับ 2.0-2.5 ด้วย HCl 6 N แล้วนำไปแยกส่วนด้วย ethyl acetate ปริมาตร 20 มล. อีก 4 ครั้ง จากนั้นนำสารละลาย ที่ได้ทั้ง 5 มารวมกัน แล้วนำไปประเหยให้แห้งแล้วละลายส่วนที่แห้งด้วย methanol 95% ปริมาตร 1 มล.

4) การทำให้บริสุทธิ์ นำตัวอย่างที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีเปเปอร์โครมาโตกราฟีบนกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ขนาด 9x28 เซนติเมตร นำสารละลายจากข้อ 3 มา strip ลงบนแผ่น chromatogram โดยใช้ตัวอย่างแผ่นละ 50 ml (เทียบเท่าตัวอย่างสด 1 กรัม) แห้ง แล้วจึงนำแผ่น chromatogram ไปแช่ใน chamber ที่มีตัวทำละลาย isopropanol 99.7% (A.R. grade): NH_4OH 25% (A.R. grade): น้ำกลั่น ในอัตราส่วน 10:1:1 โดยปริมาตร ทิ้งไว้จนตัวทำละลายเคลื่อนที่ไปจนถึงระยะ 16.5 เซนติเมตร แล้วนำไปผึ่งให้แห้ง ตัดแผ่นโครมาโตแกรมเฉพาะ R_f 0.3-0.8 ซึ่งเป็น R_f ที่พบ activity

ของสารคล้ายจิบเบอเรลลินใส่ในกล่องพลาสติก ขนาด 6x4x3.5 เซนติเมตร ที่มีสารละลาย 0.01 M potassium phosphate buffer pH 5.0 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

5) การหาปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลิน ใช้วิธี RSLSB โดยนำต้นกล้าข้าวพันธุ์แพร่ 1 ที่มี coleoptile ยาวประมาณ 5 มิลลิเมตร วางลงในกล่องพลาสติกในข้อ 4 กล่องละ 8 ต้น ปิดฝากล่องแล้วปิดด้วยเทปกาวยาวไปไว้ในตู้ควบคุมสภาพแวดล้อมที่มีแสงจากหลอด fluorescent ความเข้มแสง 115.38 วัตต์/ตารางเมตร อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

การบันทึกผลการทดลอง

1) วัดความยาวของ secondary leaf sheath (หน่วยเป็นเซนติเมตร) เมื่ออายุได้ 7 วัน หลังบ่ม

2) เทียบหาปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลิน ที่ได้จากตำแหน่ง R_f ต่างๆ กัน จากกราฟมาตรฐาน มีหน่วยเป็น mgGA_3 (Kyowa) equivalent/g f.wt. วิเคราะห์ผลการทดลอง โดยวิเคราะห์ test of AOV Assumption, AOV, C.V., Polynomial contrast, LSD, Linear regression และ Correlation

ผลการทดลอง

จากการทำกราฟมาตรฐานของการหาอิทธิพลของความยาวยอดมะพร้าวที่มีต่อการวิเคราะห์ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในยอดมะพร้าวพันธุ์ลูกแก้ว โดยใช้ GA_3 (Kyowa) เข้มข้น 3×10^{-9} ถึง 3×10^{-1} สตล พบว่าความยาว secondary leaf sheath มีความเข้มข้นของ GA_3 (Kyowa) เป็นแบบสมการเส้นตรง ในช่วงความเข้มข้น 3×10^{-9} ถึง 3×10^{-3} สตล (ภาพที่ 1) โดยมีสมการเส้นตรงคือ

$$Y = -1.6391 \times 10^{-2} + 3.2988 \times 10^{-3}(X)$$

พบว่าค่า $r = 0.7287$ $n = 32$ $P < 0.00000$

$$r^2 = 0.5310$$

โดยที่ Y คือความเข้มข้นของ GA_3 (Kyowa) มีหน่วยเป็นสตล

X คือความยาวเฉลี่ยของ secondary leaf sheath มีหน่วยเป็น ซม. ซึ่งมีค่า minimum = 4.97 ซม. และค่า maximum = 5.88 ซม. (ซึ่งจะทำให้ค่า $Y_{\text{minimum}} = 3 \times 10^{-9}$ สตล และ $Y_{\text{maximum}} = 3 \times 10^{-3}$ สตล) ในขณะที่ผลการวิเคราะห์ linear correlation

และพบว่าปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลิน

จะมีสูงสุดในสัปดาห์ที่ 8 ก่อนการออกดอก ($0.02088 \text{ mg } GA_3 \text{ (Kyowa) equi.g.f.wt}$) จากนั้น ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินจะลดลงเรื่อยๆ จนเป็น $0.006038 \text{ mg } GA_3 \text{ (Kyowa) equi.g.f.wt}$ ในสัปดาห์ที่ 2 ก่อนการออกดอก (ตารางที่ 1 และ ภาพที่ 2)

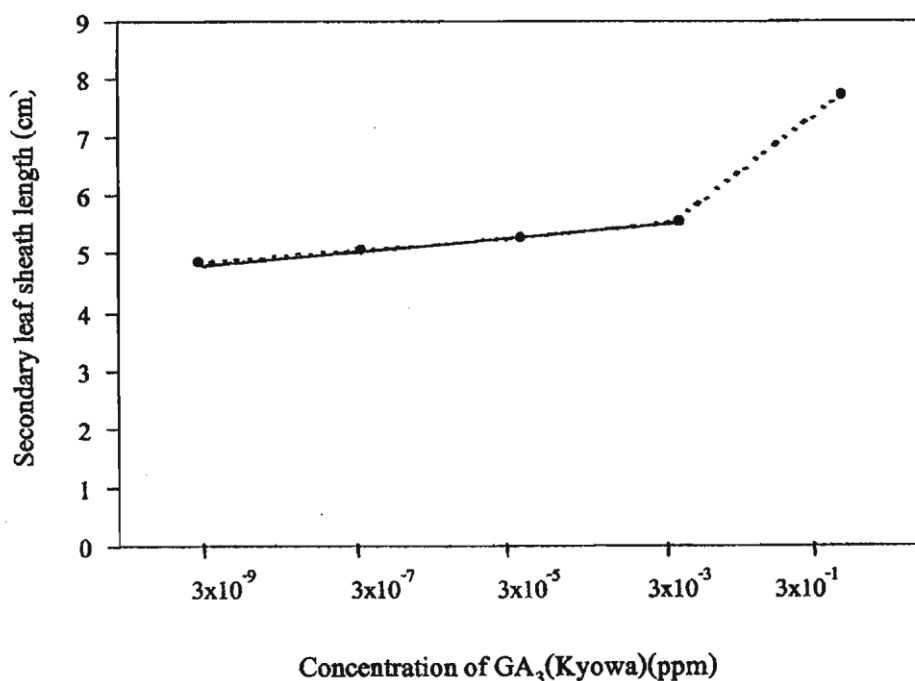


Figure 1 Standard curve of GA_3 (Kyowa) at concentrations of 3×10^{-9} to 3×10^{-1} ppm of glutinous rice seedling cv. 'Phrae 1' 8 seedlings per experimental unit.

Remarks:

Linear regression equation $Y = -1.6391 \times 10^{-2} + 3.2988 \times 10^{-3}(X)$

Y = Concentrations of GA_3 (Kyowa) (ppm)

X = Secondary leaf sheath length (cm)

----- = true means curve

_____ = linear regression equation fitted curve

Table 1 Means of secondary leaf sheath length and quantity of gibberellin-like substances in stem apex of marian plum prior to flowering.

Number of week prior to flowering (weeks)	Means of secondary leaf sheath length (cm)	Quantity of gibberellin-like substances (mgGA ₃ (Kyowa) equi.g f.wt.)
2	5.152 c	0.006038 c
4	5.258 bc	0.009547 bc
6	5.369 b	0.013210 b
8	5.602 a	0.028800 a

Means follow by a difference letter were significantly difference by LSD ($p < 0.05$), C.V. = 41.71%, 11 replications and treatment means difference = 4 % of overall means.

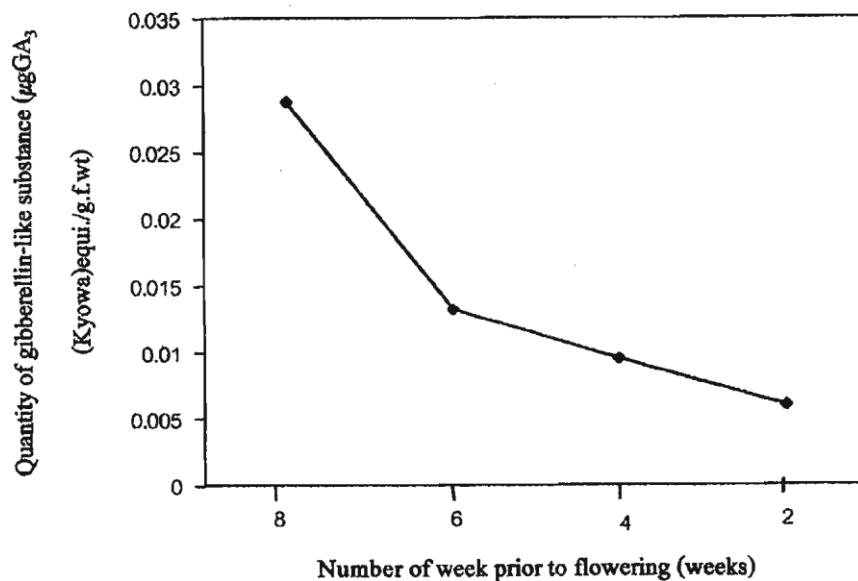


Figure 2 Quantity of gibberellin-like substances in stem apex of marian plum prior to flowering.

(C.V. =41.71%, 11 replications and treatment means difference = 4 % of overall means).

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารคล้ำยจิบเบอเรลลิน ในยอดมะพร้าวพันธุ์ทุลเกล้า ก่อนการออกดอกพบว่าปริมาณสารคล้ำยจิบเบอเรลลินมีปริมาณสูงในสัปดาห์ที่ 8 ก่อนการออกดอก และปริมาณสารคล้ำยจิบเบอเรลลินลดลงเรื่อยๆในสัปดาห์ที่ 6, 4 จนกระทั่งสัปดาห์ที่ 2 ก่อนการออกดอก ซึ่งสอดคล้องกับการทดลอง ของนพพร (2539) ซึ่งพบการเปลี่ยนแปลงปริมาณของสารคล้ำยจิบเบอเรลลินในยอดลำไยพันธุ์ค้อ พบว่ามีสารคล้ำยจิบเบอเรลลินในปริมาณสูงในสัปดาห์ที่ 6 ก่อนการออกดอกและคงที่ไปจนถึงสัปดาห์ที่ 3 ก่อนการออกดอก จากนั้นปริมาณลดลงต่ำสุดในสัปดาห์ที่มีการออกดอก นอกจากนี้สุวลิ (2540) ได้ทำการศึกษการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารคล้ำยจิบเบอเรลลินในยอดลิ้นจี่พันธุ์สงขลวก่อนการออกดอกโดยวิธี LHB พบว่ามีปริมาณสารคล้ำยจิบเบอเรลลินมากในสัปดาห์ที่ 4 ก่อนการแทงช่อดอกแล้วปริมาณลดลงในสัปดาห์ที่ 3 และคงที่ไปจนถึงสัปดาห์ที่ 2 ในขณะที่ปริมาณจะลดลงอีกครั้ง จนไม่สามารถวัดได้ในสัปดาห์ที่ 1 และ 0 ส่วนวรรณวรงค์ (2542) ได้ศึกษการเปลี่ยนแปลงของสารคล้ำยจิบเบอเรลลินในยอดลิ้นจี่เช่นเดียวกันแต่ใช้วิธี RMB พบว่าสารคล้ำยจิบเบอเรลลินมีปริมาณสูงในสัปดาห์ที่ 4 และ 3 ก่อนการออกดอกและมีปริมาณสารคล้ำยจิบเบอเรลลินลดลงในสัปดาห์ที่ 2 ซึ่งเป็นสัปดาห์ที่เริ่มเกิดการสร้างตาออก หลังจากนั้นปริมาณจะลดลงต่อไปอีกในสัปดาห์ที่ 1 ก่อนการออกดอกจนถึงสัปดาห์ที่ออกดอก(มองเห็นด้วยตาเปล่า) ส่วนการศึกษาของ Chen (1990) พบว่าปริมาณสารคล้ำยจิบเบอเรลลินเริ่มลดลงตามลำดับ ตั้งแต่ช่วงการพักตัวของตาช่วง

30 วันก่อนการสร้างตาออก ช่วงการสร้างตาออก และช่วงดอกบาน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในยอดมะม่วงที่ Chen (1987) ได้ศึกษาไว้ พบว่าปริมาณสารคล้ำยจิบเบอเรลลินในระยะที่เกิดตาออก และช่วงที่ดอกบานเต็มที่อยู่ในระดับต่ำ คณพล (2532) พบว่าปริมาณสารคล้ำยจิบเบอเรลลินในมะม่วงพันธุ์เขียวเสวยในช่วงการออกดอก มีปริมาณลดลงไม่สามารถตรวจพบได้หลังจากสัปดาห์ที่ 6 ก่อนการออกดอกจนถึงระยะที่ออกดอก

เอกสารอ้างอิง

- คณพล จุฑามณี. 2532. การเปลี่ยนแปลงระดับ ของสารคล้ำยจิบเบอเรลลินในช่วงการเจริญทางกิ่งใบและการออกดอกของ มะม่วงพันธุ์เขียวเสวย. วิทยานิพนธ์ ปริญญาโท สาขาวิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 64 หน้า.
- ทวีศักดิ์ ชัยเรืองยศ. 2539. มะพร้าว-มะขงชิด. สำนักพิมพ์ มติชน, กรุงเทพฯ. 54 หน้า.
- ธนาถ ธีธัญญาภา. 2538. หลักการทำสวนไม้ผล.ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัย เชียงใหม่, เชียงใหม่. 118 หน้า.
- นพพร บุญปลอด. 2539. การเปลี่ยนแปลงปริมาณสาร คล้ำยจิบเบอเรลลินในยอดลำไยพันธุ์ค้อ ก่อนการออกดอก. วิทยานิพนธ์ ปริญญาโท สาขาวิชาพืชสวน มหาวิทยาลัย เชียงใหม่, เชียงใหม่. 62 หน้า.
- นรินทร์ พูลเพิ่ม. 2537. รวมกลุยุทธ์มะพร้าว. เจริญรัฐ การพิมพ์, กรุงเทพฯ. 117 หน้า.
- วรรณวรงค์ พัฒนาะโพธิ์. 2542. วิธีการวิเคราะห์และเปลี่ยนแปลงปริมาณสารคล้ำยจิบเบอเรลลินในช่วงก่อนการออกดอกในยอดลิ้นจี่พันธุ์สงขลว โดยวิธี Rice Micro-drop Bioassay. วิทยานิพนธ์ ปริญญาโท สาขาวิชาพืชสวน มหาวิทยาลัย เชียงใหม่, เชียงใหม่. 96 หน้า.

สุรชัย มัจฉาชีพ. 2541. มะปราง. ไม่ระบุสำนักพิมพ์.
51 หน้า.

สุวดี แสงอรียนันท์. 2540. การเปลี่ยนแปลงปริมาณสาร
คล้ายจิบเบอเรลลินในยอดคั่นจีพันธุ์สงฮวย
ก่อนการออกดอก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท
สาขาวิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเชียงใหม่,
เชียงใหม่. 81 หน้า.

Chen, W.S. 1987. Endogenous growth substances in rela-
tion to shoot growth and flower bud develop-
ment of mango. J.Amer. Soc. Hort. Sci. 112(2)
:360-363.

Chen, W.S. 1990. Endogenous growth substances in xy-
lem and shoot tip diffusate of lychee in relation
to flowering. HortScience 25(3) :314-315.