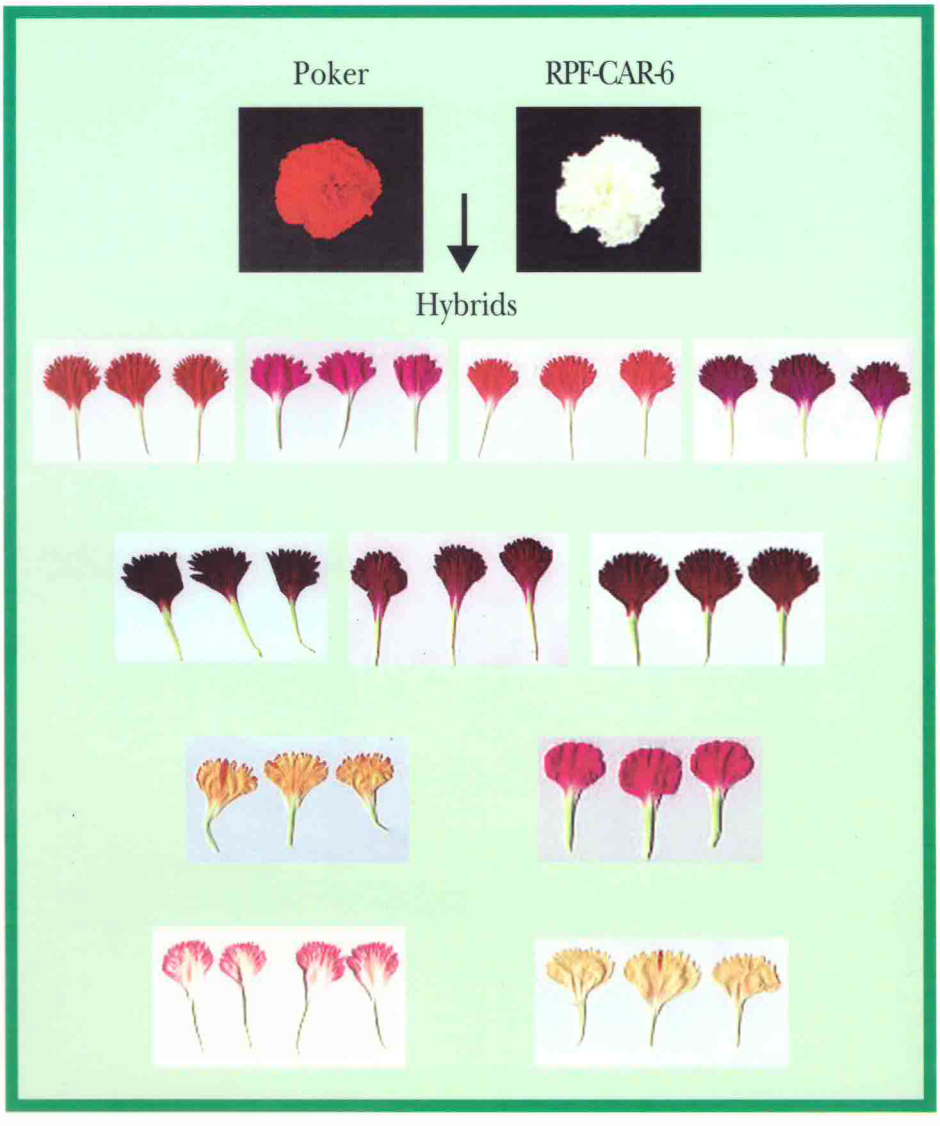
วารสารเกษตร
JOURNAL OF AGRICULTURE

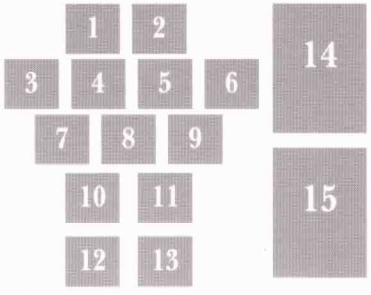
วารสารวิชาการของคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ปีที่ 20 ฉบับที่ 2 มิถุนายน 2547 VOLUME 20 NO. 2 JUNE 2004



ลูกผสมคาร์เนชั่น

1. Red 42 A
2. White 104 A
3. Red 42 A
4. Red 47 A
5. Red 52 A
6. Red 53 A
7. Red-Purple 60A
8. Red-Purple 61A
9. Red-Purple 67A
10. Orange 29B
11. Red 55A
12. Yellow 13C ขลิบ Red 55A
13. Orange 28D ขลิบ Red 55A
14. ลูกผสมที่คัดเลือกได้จาก Poker x RPF-CAR-6
15. ลูกผสมที่คัดเลือกได้จาก RPE-CAR-1 x RPE-CAR-3



เอื้อเฟื้อภาพโดย : รศ.ดร.อดิศร กระแสชัย

ISSN 0857-0841

วารสารเกษตร

Journal of Agriculture

เจ้าของ

คณะเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
เชียงใหม่ 50200
โทร. (053) 944090
โทรสาร (053) 944666

Publisher

Faculty of Agriculture
Chiang Mai University
Chiang Mai 50200, THAILAND
Tel. (053) 944090
Fax. (053) 944666

วัตถุประสงค์ 1. เผยแพร่ผลงานวิจัยและบทความทางวิชาการ สาขาเกษตรศาสตร์ อุตสาหกรรมเกษตร สัตวแพทย์ และชีววิทยา
2. เผยแพร่เกียรติคุณของนักวิจัย
3. สร้างความสัมพันธ์อันดีระหว่างนักวิจัย

บรรณาธิการ ดร. พิทยา สรวมศิริ

กองบรรณาธิการ ผู้ทรงคุณวุฒิและคณาจารย์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ที่ปรึกษา อนันต์ โกเมศ, นคร ณ ลำปาง, ทิม พรรณศิริ

กำหนดเผยแพร่ เดือนกุมภาพันธ์ มิถุนายน และตุลาคม ปีละ 3 ฉบับ

แจ้งรับวารสาร บรรณาธิการวารสารเกษตร หรือ
คุณวิไลพร ธรรมดา
งานบริการงานวิจัยและพัฒนา
คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
เชียงใหม่ 50200

พิมพ์ที่ หน่วยพิมพ์ออฟเซ็ท สำนักงานเลขานุการ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200 โทร.(053) 944015

คำแนะนำสำหรับผู้เขียน

วารสารเกษตร เป็นวารสารวิชาการราย 4 เดือน ของคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ซึ่งพิมพ์เผยแพร่ผลงานวิชาการสาขาเกษตรศาสตร์ อุตสาหกรรมเกษตร สัตวแพทย์ และชีววิทยา ทั้งจากภายในและภายนอกมหาวิทยาลัย

1. เรื่องที่ตีพิมพ์

1.1 ผลงานวิจัย

1.2 บทความรีวิวปริทัศน์

2. การเตรียมต้นฉบับ

2.1 ต้นฉบับ : ควรส่งต้นฉบับที่จัดพิมพ์ด้วยไมโครคอมพิวเตอร์ โปรแกรม Microsolf Word ความยาวไม่เกิน 10 หน้า บรรทัดหนึ่งกำหนดให้มี 70ตัวอักษร และหน้าละ 32 บรรทัดส่งต้นฉบับที่พิมพ์หน้าเดียวลงบนกระดาษ A4 1 ชุด พร้อมแผ่นบันทึกข้อมูล

2.2 ต้นฉบับให้รวมถึงบทคัดย่อภาษาไทย และภาษาอังกฤษ

2.3 ระบุคำย่อ (Index word) ของเรื่อง ทั้งที่เป็นภาษาไทยและภาษาอังกฤษ

2.4 ตาราง : เสนอเป็นภาษาอังกฤษล้วน

2.5 ภาพประกอบ : เสนอเป็นภาษาอังกฤษทั้งในภาพและคำอธิบายภาพ ภาพถ่ายมีขนาด 9.00 x 13.50 ซม. ภาพเขียนใช้หมึกดำเขียนบนกระดาษอาร์ตหนา หรือกระดาษเขียนแบบ

2.6 กราฟ : จัดทำด้วยโปรแกรม Haward Graphic และแนบข้อมูลดิบไปด้วยเพื่อปรับแต่งด้วยไมโครคอมพิวเตอร์ทีหลัง

2.7 เอกสารอ้างอิง : นำด้วยเอกสารภาษาไทยตามด้วยเอกสารภาษาอังกฤษ

2.7.1 *ในเนื้อเรื่อง* อ้างอิงเอกสารในเนื้อเรื่องในระบบชื่อต้นและปี(พ.ศ.) เช่น พรชัย (2538) รายงานว่า....หรือ... (พรชัย,2538) ในกรณีที่เป็นภาษาอังกฤษใช้ระบบนามสกุลและปี (ค.ศ.) เช่น Jone and Smith (1995) ในกรณีที่มีผู้แต่งสามคนขึ้นไปให้ใช้"และคณะหรือ *et al.*" ต่อท้ายผู้แต่งคนแรก แต่ในบัญชีเอกสารอ้างอิงท้ายเรื่องใส่ชื่อหมดทุกคน

2.7.2 *ในบัญชีเอกสารอ้างอิงท้ายเรื่อง* : ให้เรียงอักษรตามชื่อ-สกุลของผู้แต่งคนแรก ไม่ต้องใส่เลขที่ เริ่มจาก ชื่อไทยต่อด้วยชื่ออังกฤษ

1) สำหรับวารสารควรเรียงลำดับดังนี้.-

ผู้แต่งชื่อต้น,ชื่อสกุล.(ปี.พ.ศ.แต่ถ้าเป็นภาษาอังกฤษใช้ชื่อสกุล,ชื่อต้นและปี.ค.ศ. ชื่อเรื่อง (ตามที่ปรากฏในวารสาร) ชื่อวารสาร (ย่อถ้ามี) ปีที่(ฉบับที่) : หน้า
ตัวอย่าง : วิเชียร เลิศรัตน์(2524).การบริหารศัตรูพืชกับระบบการปลูกพืชหลายชนิด ว.วิทย.กษ.14(4) : 193-196

2) สำหรับตำราควรเรียงลำดับดังนี้

ชื่อผู้แต่ง พ.ศ.(ค.ศ.)ชื่อหนังสือ สำนักพิมพ์ เมืองที่พิมพ์.จำนวนหน้า
ตัวอย่าง : เฉลิมพล แซมเพชร.(2527).หลักการเขียนรายงานการวิจัย และวิทยานิพนธ์ทางวิทยาศาสตร์.ท่าแพการพิมพ์.เชียงใหม่.123 หน้า

3. การเสนอเรื่องเพื่อตีพิมพ์

ส่งเรื่องพิมพ์ได้ตลอดเวลา

ถึง บรรณาธิการวารสารเกษตร งานบริการงานวิจัยและพัฒนา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200
กองบรรณาธิการของสงวนสิทธิ์ในการตรวจแก้ไขเรื่องที่เสนอเพื่อตีพิมพ์ ในกรณีที่จำเป็นจะขอความเห็นชอบจากผู้เขียนอีกครั้งก่อนตีพิมพ์

ปีที่ 20 ฉบับที่ 2 (2547)
Volume 20 No.2 (2004)

วารสารเกษตร
JOURNAL OF AGRICULTURE

วารสารวิชาการของคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สารบัญ

ผลของแกมมา-โอไรซานอล ต่อการตอบสนองของภูมิคุ้มกัน ในหนูถีบจักรเพศผู้ 103
ธวัชชัย แถวถาทำ เพทาย พงษ์เพียจันทร์ และ พันทิพา พงษ์เพียจันทร์

ปริมาณแกมมา-โอไรซานอลในผลิตภัณฑ์จากพืชชนิดต่างๆ 111
พันทิพา พงษ์เพียจันทร์ ธวัชชัย แถวถาทำ และ คำนิน กาละดี

Field Monitoring of Cruciferous Insect Pest Populations by Synthetic Sex Pheromone Traps in Chiang Mai Cauliflower Production Areas 120
Sanit Ratanabhumma Sawai Buranapanichpan and Jiraporn Tayutivutikul

ผลของสารสกัดกวาวเครือขาวที่มีต่อการสืบพันธุ์ของแมลงวันบ้าน 133
ลักขณา ร่มเย็น ยุทธนา สมิตะสิริ ปรัชวาล สุกุมลนันทน์ และ จิราพร ตยุติวุฒิกุล

การจำแนกลำไยพันธุ์ดอโดยวิธีสัณฐานวิทยา 142
สลิลรัตน์ วิชัยพานิช และ เกศิณี ระมิงค์วงศ์

การจำแนกกล้วยไม้ไทยสกุลหวายโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี 152
ศิริลักษณ์ อินทะวงศ์ วีณัน บัณฑิตย์ และ ณัฐา ควรประเสริฐ

การหาโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตันและลักษณะทางพืชสวนของมะระขี้นก 159
สโรชา กรีธาพล ปรัชญา คงทวีเลิศ และ มณีฉัตร นิกรพันธุ์

ผลของการใช้ความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงโปรตีนระหว่างการสะท้านหนาวของผลมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์ 168
วีรพล โพธิ์สว่าง นิธิยา รัตนาปนนท์ และ คนัย บุณยเกียรติ

ผลของจิบเบอเรลลินที่มีต่อการยืดอายุเก็บเกี่ยวมะม่วงแก้วที่ปลูกในภาคเหนือตอนบน 178
เบญจวรรณ ชุติชูเดช และ ธวัชชัย รัตน์ชเลศ

ผลของการตัดแต่งช่อดอกต่อการติดผล คุณภาพของผล และผลผลิตของลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย 187
วินัย วิริยะอลงกรณ์ และ ธนะชัย พันธ์เกษมสุข

การปรับปรุงพันธุ์คาร์เนชั่น 197
ชยาภรณ์ ปริยานนท์ อดิศร กระแสชัย และ ขนิษฐา เสนาวงค์

Effect of Gamma Oryzanol on Immune Response in Male Mice 103
Tawatchai Teltathum Petai Pongpiachan and Puntipa Pongpiachan

Gamma Oryzanol Quantity in Plant Products 111
Puntipa Pongpiachan Tawatchai Teltathum and Dumnern Karladee

Field Monitoring of Cruciferous Insect Pest Populations by Synthetic Sex Pheromone Traps in Chiang Mai Cauliflower Production Areas 120
Sanit Ratanabhumma Sawai Buranapanichpan and Jiraporn Tayutivutikul

Effects of White Kwao Khruea Extracts on the Repr oduction of House Fly (*Musca domestica* L.) 133
Lakkhana Romyen Yuthana Smitasiri Prachval Sukumalanand and Jiraporn Tayutivutikul

Identification of Longan var. Daw by Morphological Method 142
Salinrat Wichaipanich and Kesinee Raningwong

Identification of Thai *Dendrobium* Orchid Species by RAPD Technique 152
Sirilak Inthawong Weenun Bundithya and Nuttha Kuanprasert

Determination of Local Bitter Gourd 30 KDa Protein and Horticultural Characteristics 159
Sarocha Kreethaphon Prachya Kongtawelert and Maneechat Nikornpun

Effect of Heat Treatment on Protein Changes During Chilling Injury of Mango Fruit cv. Chok - Anan 168
Weerapon Poswang Nithiya Rattanapanone and Danai Boonyakiat

Effect of Gibberellin on Delayed Harvesting of Mango cv. Kaew in the Upper North 178
Benjawan Chutichudet and Tavatchai Radanachaless

Effect of Panicle Thinning on Fruit Set, Fruit Quality and Yield of Lychee cv. 'Hong Huay' 187
Winai Wiriya-alongkorn and Tanachai Pankasemsuk

Varietal Improvement of Carnation 197
Chayaporn Prariyanone Adisorn Krasaechai and Kanitta Senawong

ISSN 0857-0841

บทบรรณาธิการ

ไม้ผลไทยกับการเป็นครัวของโลก

ผลงานวิจัยตีพิมพ์ในวารสารเกษตรฉบับนี้ จะมีผลงานเกี่ยวกับไม้ผลอยู่หลายเรื่อง ทำให้นึกถึงทิศทางการวิจัยไม้ผลในอนาคต ที่เรานักวิจัยควรทราบ จึงใคร่ขอถือโอกาสนี้กล่าวถึงทิศทางและกลยุทธ์การวิจัยที่สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติได้ตั้งคณะทำงานศึกษา และได้รายงานไว้ใน "บทสรุป สถานภาพและการจัดลำดับความสำคัญของโครงการวิจัยแห่งชาติด้านการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร" ซึ่งจัดพิมพ์และเผยแพร่ในปี พ.ศ. 2547 โดย คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ สาขาเกษตรศาสตร์และชีววิทยา โดยขอสรุปเฉพาะ "ชุดโครงการวิจัยแห่งชาติเกี่ยวกับการพัฒนาไม้ผล" ดังนี้

ไม้ผล/ผลไม้ เป็นผลผลิตเกษตรที่มีคุณภาพทั้งในเชิงโภชนาการและสุขอนามัย และมีผลตอบแทนสูง (High Value Crop) การพัฒนาระบบอุตสาหกรรมไม้ผล/ผลไม้นั้นประกอบไปด้วย ส่วนการผลิตเป็นต้นทาง (Up-stream) ส่วนการตลาดและส่วนการแปรรูปเป็นกลางทาง (Mid-stream) และส่วนการบริโภคปลายทาง (Down-stream) ต้องพึ่งพาการวิจัยในการพัฒนาระบบอุตสาหกรรมที่มีประสิทธิภาพและประสิทธิผลในทุกส่วนอย่างเป็นบูรณาการ โดยมีส่วนการบริโภคเป็นส่วนสำคัญ

จากการรวบรวมงานวิจัยไม้ผลระหว่างปี 2539-2545 มีโครงการวิจัยที่ได้ดำเนินงานโดยหน่วยงานต่างๆ รวม 418 โครงการ โดยส่วนใหญ่เป็นโครงการวิจัยสาขาการผลิต สาขาการแปรรูป/การใช้ประโยชน์ และสาขาการจัดการหลังการเก็บเกี่ยว ส่วนการวิจัยสาขาการควบคุมการผลิต สาขาการตลาดและสาขาการบริโภค ซึ่งเป็นปัญหาพื้นฐานของไม้ผลและเป็นส่วนสำคัญของระบบอุตสาหกรรมไม้ผล/ผลไม้ มีการวิจัยไม่มากนัก

ด้วยเหตุนี้ แนวทางการวิจัยไม้ผลในอนาคต จึงน่าจะเป็นการศึกษาต่อยอดองค์ความรู้ที่นักวิจัยในสาขาเหล่านี้ได้ดำเนินการอย่างประสบผลสำเร็จเป็นอย่างดี สามารถพัฒนาเทคนิคที่ทำให้เป็นที่ยอมรับจากทั้งเกษตรกรและในระดับนานาชาติ การพัฒนาไม้ผลของชาติจะต้องมุ่งสู่ "ระบบการผลิตเชิงอุตสาหกรรม" ที่มีความเชื่อมโยงระบบจากฟาร์มสู่โรงงาน สู่ตลาด โดยใช้ "ผู้บริโภค" ทั้งในประเทศและต่างประเทศเป็นเป้าหมายการพัฒนา การวิจัยแนวทางรวมกลุ่มผู้เกี่ยวข้องอย่างเป็นระบบเป็นสิ่งจำเป็น

ถ้าเราเห็นด้วย โจทย์วิจัยของเราน่าจะมุ่งให้เกิดสิ่งเหล่านี้พร้อมๆ กัน คือ 1) มีปริมาณผลผลิตมากและสม่ำเสมอตลอดปี 2) มีคุณภาพสูงตรงตามความต้องการของตลาด 3) ต้นทุนต่ำแข่งขันได้ 4) มีระบบจัดส่งและจำหน่ายถึงโรงงานหรือถึงผู้บริโภคตรงเวลา และ 5) มีระบบฐานข้อมูลเพื่อเตือนภัยและเพิ่มศักยภาพการแข่งขัน รวมทั้งการต่อรองในระดับนานาชาติ เป็นต้น

วารสารเกษตร 20 (2) : 103-110 (2547)

Journal of Agriculture 20 (2) : 103-110 (2004)

ผลของแกมมา-โอไรซานอล ต่อการตอบสนองของภูมิคุ้มกันในหนูถีบจักรเพศผู้

Effect of Gamma Oryzanol on Immune Response in Male Mice

ธวัชชัย แถวถาทำ[1/] เพทาย พงษ์เพียจันทร์[1/] และ พันทิพา พงษ์เพียจันทร์[1/]

Tawatchai Teltathum[1/] Petai Pongpiachan[1/] and Puntipa Pongpiachan[1/]

Abstract : γ-oryzanol is antioxidant with immune system improvement efficiency. The study aimed to prove this hypothesis and finding the effective level by investigate the effect of four levels (0, 280, 800 and 1340 mg per kg) of pure γ -oryzanol supplementation to mice basal diet on Bovine Serum Albumin (BSA) antibody titer. A complete randomized design was applied to the experiment. 32 Institute of Cancer Research (IRC) male mice, approximately 6 weeks old, were randomly grouped into four mice per pen. There were 2 pens per treatment. Feed and water were given *ad libitum*. Antibody titer was evaluated first and followed by immunizing with BSA for 42 trial days during the experiment. On the first day of trial all mice were given BSA immunization and boosted two times at day 14, 28 respectively. Mice serum were collected before immunization on day 1, 10, 14, 21, 28, 42 and stored at -20°C. Evaluated IgG titer by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). The results showed that no significant differences among treatments on day 0 ($p>0.05$). The mean $\log_2$ IgG titer of mice on the γ-oryzanol supplemented groups developed significantly higher than control group ($p<0.05$). Dietary γ-oryzanol level ranging from 800-1340 mg per kg significantly increased antibody response to BSA ($p<0.05$).

[1/] ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

[1/] Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand.

บทคัดย่อ: คุณสมบัติที่เด่นของ แกมมา-โอไรซานอล คือเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และโดยหลักเกณฑ์ของการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ จึงนำไปสู่การมีคุณสมบัติช่วยปรับปรุงการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน ดังนั้นการวิจัยในครั้งนี้จึงต้องการพิสูจน์คุณสมบัติในข้อนี้ และหาระดับที่ส่งผลในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน โดยทำการทดลองในหนูถีบจักร Institute of Cancer Research (IRC) เพศผู้อายุ 6 สัปดาห์ 32 ตัว เป็นตัวทดสอบ นำหนูมาสุ่มขังกรงละ 4 ตัว โดยแต่ละกลุ่ม (Treatment) ใช้หนู 2 กรง วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด Completely Randomized Design (CRD) ทำการเสริม แกมมา-โอไรซานอลบริสุทธิ์ 4 ระดับคือ 0, 280, 800 และ 1340 มก/กก ในอาหารฐานที่ไม่มีรำละเอียดเป็นส่วนผสม ให้อาหาร และน้ำแบบเต็มที่ เมื่อหนูอายุได้ 7 สัปดาห์ทำการเก็บตัวอย่างเลือดจากส่วนหาง และฉีดกระตุ้นด้วย Bovine Serum Albumin (BSA) เข้าใต้ผิวหนัง 3 ครั้ง ในวันที่ 1, 14 และ 28 เพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (immunization) เก็บเลือดหนูก่อนการกระตุ้นในวันที่ 1, 10, 14, 21, 28 และ 42 นำตัวอย่างเลือดไปปั่นแยกซีรัม เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20°C เพื่อรอการวัดระดับแอนติบอดีไตเตอร์ ของ ไอจีจี โดยวิธี Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) พบว่าการเสริม แกมมา-โอไรซานอลบริสุทธิ์ ในอาหารฐานมีผลทำให้หนูถีบจักรเพศผู้มีการตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วย BSA ดีขึ้นโดยประเมินจาก ค่าเฉลี่ยล็อกฐานสองของ ไอจีจี ไตเตอร์ พบว่าหนูในกลุ่มที่ได้รับ การเสริม แกมมา-โอไรซานอลบริสุทธิ์ จะมีค่าเฉลี่ยล็อกฐานสองของ ไอจีจีไตเตอร์สูงขึ้น อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับหนูในกลุ่มควบคุม โดยค่าเฉลี่ย ล็อกฐานสองของ ไอจีจีไตเตอร์ เพิ่มสูงขึ้นในช่วงวันที่ 21-42 พบว่าหนู ในกลุ่มที่ได้รับ การเสริม แกมมา-โอไรซานอลบริสุทธิ์ มีแนวโน้มของค่าโดยรวมของเฉลี่ยล็อกฐานสองของ ไอจีจีไตเตอร์ สูงกว่าหนูในกลุ่มควบคุม

Index words : แกรมมา-โอไรซานอล การตอบสนองต่อภูมิคุ้มกัน รำข้าว

γ-oryzanol, immune response, rice bran

คำนำ

มักเป็นที่กล่าวขานกันเสมอว่า อาหารที่ดีมีคุณภาพจะทำให้ร่างกายแข็งแรง คำว่า แข็งแรง หมายถึงไม่เป็นโรคได้ง่าย หรือติดเชื้อได้ง่าย นั่นหมายถึงร่างกายสามารถต้านทานโรคได้ เหตุที่ต้านทานโรคได้เนื่องจากร่างกายมีภูมิคุ้มกันโรคนั่นเอง สรุปก็คือ อาหารช่วยทำให้เกิดภูมิคุ้มกันโรค หรือช่วยให้ระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์ทำงานได้ดีขึ้น หากสัตว์มีสุขภาพแข็งแรงดี ไม่ติดเชื้อได้ง่าย ทำให้ประหยัดค่าใช้จ่ายค่ายาควบคุมและยารักษาโรค และที่สำคัญจะเป็นการลดยาตกค้างในซากซึ่งมีผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภคเนื้อสัตว์ด้วยความรู้เท่าไม่ถึงการณ์ ซึ่งกรณียาตกค้างในซากนั้น เป็นเหตุให้ประเทศไทยสูญเสียตลาดไก่ชำแหละไป แล้วไม่น้อย ประกอบกับระบบการค้าด้านสินค้าบริโภคระหว่างประเทศ หลายประเทศได้นำเอาระบบ HACCP มาใช้ และอีกไม่นานประเทศไทยจะต้องถูกบังคับให้ใช้เพื่อการส่งออก นั่นหมายถึงการเลี้ยงสัตว์ให้ปลอดจากโรคทุกขั้นตอน ผลิตภัณฑ์จากสัตว์ต้องปลอดจากสารตกค้าง ดังนั้น เรื่องของภูมิคุ้มกันจึงเป็นเรื่องจำเป็น และน่าศึกษาเพื่อเตรียมการให้พร้อมไว้จะดียิ่ง เพราะสามารถลดอัตราการใช้ยาลงได้ อีกทั้งยังช่วยลดการสูญเสียตัวสัตว์เนื่องจากโรคระบาดอีกด้วย (พันทิพา, 2541)

เซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน มีความไวต่อความตรึงเครียดจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation stress) เพราะเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน มีการติดต่อสื่อสารระหว่างเซลล์ และรับการกระตุ้นจากสิ่งเร้า โดยผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ เยื่อหุ้มเซลล์มีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว (Unsaturated fatty acids) เป็นส่วนประกอบจำนวนมาก ซึ่งกรดไขมันชนิดนี้มี

ความไวต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ผลเสียจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันที่เยื่อหุ้มเซลล์ จะทำให้คุณสมบัติในการคงรูป และการรับส่งสัญญาณของเซลล์เสียไป ซึ่งส่งผลต่อความสามารถในการทำงานของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน นำไปสู่ความล้มเหลวของระบบป้องกันตัวเองของร่างกาย (The body's defense mechanisms) ความตรึงเครียดจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันมีสาเหตุมาจากอนุมูลอิสระ (Free radicals) โดยมี Reactive Oxygen Species (ROS) เป็นตัวการหลักที่ชักนำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่ง ROS สามารถเกิดได้จากหลายสาเหตุ เช่น เซลล์เม็ดเลือดขาวบางชนิด สร้าง hydrogen peroxide ออกมาทำลายเชื้อโรคที่เข้าสู่รางกาย หรือร่างกายอาจได้รับ ROS โดยตรงจากการบริโภคเข้าไป อนุมูลอิสระที่มีอยู่ในร่างกายส่วนหนึ่งถูกกำจัดโดย เอนไซม์ Catalase และ Peroxidase นอกจาก Antioxidant enzymes แล้วยังมีสารบางชนิดที่มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระได้ คือ สารต้านอนุมูลอิสระ (Hughes, 2001)

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants) ที่มีอยู่ตามธรรมชาติ เช่นวิตามิน เอ, อี และ ซี รวมไปถึงสารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่ได้อยู่ในรูปของวิตามิน เช่น แคโรทีนอยด์, ฟลาโวนอยด์ และแกมมา-โอไรซานอล ซึ่งสารเหล่านี้มีคุณสมบัติในการยับยั้ง และกำจัดอนุมูลอิสระที่ร่างกายสร้างขึ้นเองจากระบวนการเมแทบอลิซึม ของเซลล์ในร่างกาย และจากมลพิษที่มีอยู่ในสิ่งแวดล้อม จึงนำไปสู่ สมมติฐานที่ว่า แกมมา-โอไรซานอล มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระและปรับปรุงสุขภาพของสัตว์โดยเพิ่มการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันต่อสิ่งแปลกปลอมได้

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อตรวจสอบคุณสมบัติในการเป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันของ แกมมา-โอไรซานอล บริสุทธิ์ ในหนูถีบจักรเพศผู้

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

แกมมา-โอไรซานอล (Gamma Oryzanol) เป็นสารประกอบที่พบมากในรำข้าว แสดงดังตารางที่ 1 ประมาณ 1.56 % (Deckere and Korver, 1996) Gamma Oryzanol มีสารที่เป็นองค์ประกอบอยู่ 10 ชนิด แสดงดังรูปที่ 1 ซึ่งประกอบด้วย Δ-7-stigmastenyl ferulate, stigmasteryl ferulate, cycloartenyl ferulate, 24-methylene cycloartanyl ferulate, Δ-7-campestenyl ferulate, campesteryl ferulate, Δ-7-sitostenyl ferulate, sitosteryl ferulate, compestanyl ferulate, และ sitostanyl ferulate โดยมี Cycloartenyl ferulate, 24-Methylenecycloartanyl ferulate และCampesteryl ferulate เป็นองค์ประกอบหลัก (Xu and Godber, 1999) มีรายงานว่า แกมมา-โอไรซานอล พบมากในรำข้าวเหนียวดำ (Karladee *et al.,* 2003) โดยแกมมา-โอไรซานอล มีความสามารถในการต้านการเกิดออกซิเดชั่นได้ดีกว่าวิตามิน อี 10 เท่า (Xu *et al.,* 2001) โดยเฉพาะ 24-methylenecycloartanyl ซึ่งเป็นหนึ่งในสามขององค์ประกอบหลักใน แกมมา-โอไรซานอล และมีคุณสมบัติ ในการต้านการหืนของนมผงได้ (Nanua *et al.,* 2000) จากคุณสมบัติในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของ แกมมา-โอไรซานอล ซึ่งเหมือนกับ

วิตามิน เอ, อี และ ซี รวมไปถึงสารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่ได้อยู่ในรูปของ วิตามิน เช่น แคโรทีนอยด์ และแกมมา-โอไรซานอล จากคุณสมบัติที่กล่าวมาทำให้สารเหล่านี้มีความสามารถ ในการปรับปรุงประสิทธิภาพการผลิต และสุขภาพของสัตว์โดยเพิ่มการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันต่อสิ่งแปลกปลอม (Chew, 1996; Nockels, 1996)

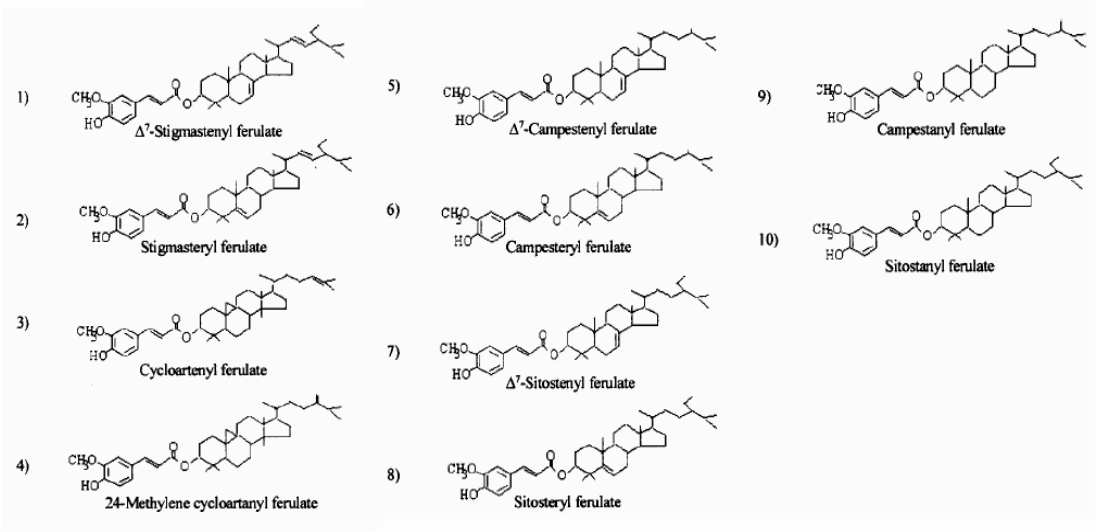


Figure 1 Molecular structure of identified components of γ-oryzanol. (Xu and Godber, 1999)

Table 1 Sterol and triterpene contents in different edible oils.

	mg/100 gm oil				
Oil	**Campesterol**	**stigmasterol**	**Cycloartanol**	**Cycloartenol**	**24-Methylene cycloartanol**
Rice bran	**560**	**271**	**106**	**428**	**494**
Safflower	**45**	**31**	**1**	**34**	**7**
Corn	**410**	**110**	**4**	**8**	**11**
Sunflower	**31**	**31**	**-**	**29**	**16**
Cottonseed	**17**	**4**	**-**	**10**	**17**
Sesame	**117**	**62**	**4**	**62**	**107**
Soybean	**72**	**72**	**-**	**156**	**8**
Peanut	**36**	**21**	**1**	**11**	**16**

(Sugano and Tsuji, 1997)

วิธีการวิจัย และขั้นตอนการศึกษา

ใช้หนูถีบจักรจาก Institute of Cancer Research (IRC) เพศผู้อายุ 6 สัปดาห์ 32 ตัว แยกกรงโดยการสุ่มขังกรงละ 4 ตัว โดยแต่ละกลุ่ม (Treatment) ใช้หนู 2 กรง วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด Completely Randomized Design (CRD) โดยทำการเสริม แกมมา-โอไรซานอลบริสุทธิ์ 4 ระดับคือ 0, 280, 800 และ 1340 มก./กก. ในอาหารฐานที่ไม่มีรำละเอียดเป็นส่วนผสม โดยดัดแปลงความต้องการโภชนะของหนูจาก NRC (1978) ให้อาหารและน้ำแบบเต็มที่ เมื่อหนูอายุได้ 7 สัปดาห์ทำการเก็บตัวอย่างเลือดจากหางหนู (วันที่ 1 ของการทดลอง) และกระตุ้นภูมิคุ้มกันครั้งที่ 1 โดยการฉีด Bovine Serum Albumin (BSA) เข้าใต้ผิวหนัง และเก็บเลือดจากหางหนูในวันที่ 10 ของการทดลอง หลังกระตุ้นด้วย BSA เมื่อหนูมีอายุ 9 สัปดาห์ (วันที่ 14 ของการทดลอง) ทำการเก็บตัวอย่างเลือดจากหางหนู และกระตุ้นภูมิคุ้มกันซ้ำครั้งที่ 2 แล้วเก็บเลือดหนูในวันที่ 21 ของการทดลอง และเมื่อหนูอายุ 11 สัปดาห์ (วันที่ 28 ของการทดลอง) ทำการเก็บตัวอย่างเลือดจากหางหนู และกระตุ้นภูมิคุ้มกันซ้ำครั้งที่ 3 และเมื่อหนูมีอายุ 13 สัปดาห์ (วันที่ 42 ของการทดลอง) นำตัวอย่างเลือดไปปั่นแยกซีรัม เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20°C เพื่อรอการวัดระดับแอนติบอดีไตเตอร์ ของ IgG โดยวิธี Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

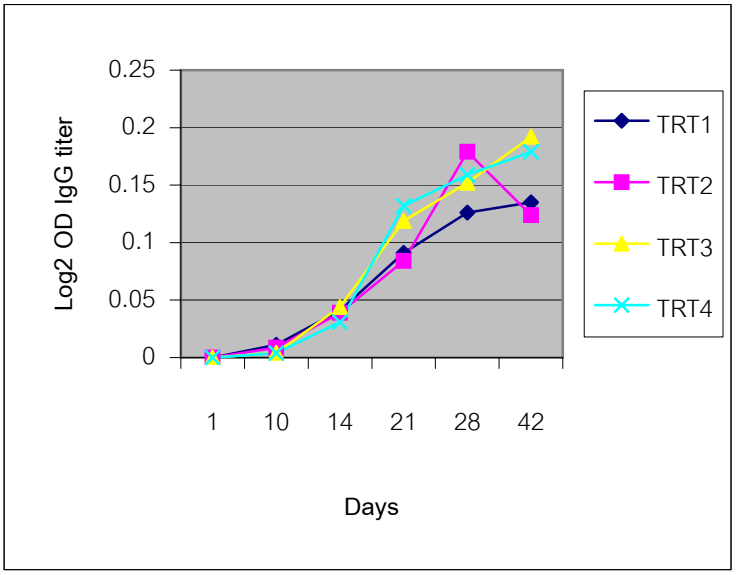


Figure 2 **Effect of dietary γ-oryzanol treatments on Log_2 OD IgG titer in 32 mice following BSA immunization on day 0, 14 and 28.**

ผลการทดลอง

การตรวจสอบผลของ γ-oryzanol ต่อการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน ของหนูถีบจักรเพศผู้ โดยใช้ค่าเฉลี่ยล็อกฐานสองของ ไอจีจี ไตเตอร์ (Log_2 IgG titer) ต่อ BSA เป็นดัชนี โดยหนูในกลุ่มควบคุม, กลุ่มที่2, กลุ่มที่3 และกลุ่มที่4 ได้รับการการเสริม แกมมา-โอไรซานอลบริสุทธิ์ 4 ระดับคือ 0, 280, 800 และ 1340 มก./กก. ตามลำดับ จากการทดลองพบว่า ค่าเฉลี่ยล็อกฐานสองของ ไอจีจี ไตเตอร์ ในวันที่ 1 ของการทดลอง (pre immunization) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ในวันที่ 10 ของการทดลองหนูในกลุ่มควบคุมมีค่าเฉลี่ยล็อกฐานสองของ ไอจีจี ไตเตอร์ สูงกว่า กลุ่มที่3 และกลุ่มที่4 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในวันที่ 14 ของการทดลอง ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติของค่าเฉลี่ยล็อกฐานสองของไอจีจี ไตเตอร์ ระหว่างกลุ่มควบคุม กับกลุ่มที่ได้รับการการเสริม แกมมา-โอไรซานอลบริสุทธิ์ ($p>0.05$) ในวันที่ 21, 28 และ 42 ของการทดลอง หนูในกลุ่มที่ 4, 2 และ 3 มีค่าเฉลี่ยล็อกฐานสองของ ไอจีจีไตเตอร์ สูงกว่าหนูในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ตามลำดับแสดงดังตารางที่ 2 เมื่อมองภาพรวมของการเพิ่มขึ้นของค่าเฉลี่ยล็อกฐานสองของ ไอจีจี ไตเตอร์ พบว่าหนู ในกลุ่มที่ได้รับ การเสริม แกมมา-โอไรซานอล บริสุทธิ์ มีแนวโน้มของค่าเฉลี่ยล็อกฐานสองของ ไอจีจี ไตเตอร์ สูงกว่าหนูในกลุ่มควบคุม แสดงดังรูปที่ 2 จากการทดลองนี้สามารถสรุปได้ว่าแกมมา-โอไรซานอลบริสุทธิ์มีคุณสมบัติในการเป็นสารกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันต่อสิ่งแปลกปลอมได้

Table 2 Effect of dietary γ-oryzanol treatments on Log_2 OD IgG titer.

γ-oryzanol supplement (mg/kg)	n	Log_2 OD IgG titer (mean ± S.E)*					
		Day 0	Day 10	Day 14	Day 21	Day 28	Day 42
0	8	0.000000 ±.000000	0.0111 ±.0012 [a]	0.041 ±.006 [ab]	0.091 ±.004 [b]	0.126 ±.014 [b]	0.135 ±.011 [bc]
280	8	0.000014 ±.000014	0.0085 ±.0008 [a]	0.039 ±.003 [ab]	0.084 ±.006 [b]	0.179 ±.023 [a]	0.124 ±.022 [c]
800	8	0.000027 ±.000019	0.0042 ±.0007 [b]	0.044 ±.003 [a]	0.119 ±.017 [ab]	0.152 ±.010 [ab]	0.192 ±.025 [a]
1340	8	0.000027 ±.000019	0.0039 ±.0012 [b]	0.031 ±.004 [b]	0.132 ±.017 [a]	0.159 ±.017 [ab]	0.179 ±.011 [ab]

* a, b, c indicates significant difference by Least Significant Difference at $p<0.05$

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการวัดค่า OD (Optical density) พบว่า ค่าเฉลี่ยล็อกฐานสองของ ไอจีจี ไตเตอร์ ในวันที่ 1 ของการทดลอง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) เนื่องจากหนูยังไม่ได้รับการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ในวันที่ 10 ของการทดลอง หนูในกลุ่มควบคุมมีค่าเฉลี่ยล็อกฐานสองของ ไอจีจี ไตเตอร์ สูงกว่า กลุ่มที่ 3 และกลุ่มที่ 4 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่ความแตกต่างที่พบเกิดขึ้นในช่วงของการตอบสนองขั้นแรก (primary response) ซึ่งปริมาณของ ไอจีจี มีต่ำมากจึงมีประสิทธิภาพในการต่อต้านสิ่งแปลกปลอมต่ำ และปริมาณของ ไอจีจี ที่มีอยู่ในระดับที่ต่ำในซีรัม มักก่อให้เกิดความคาดเคลื่อนในการวัดผลโดยวิธี ELISA เมื่อเทียบกับการวัดผลในตัวอย่างซีรัมที่มี ปริมาณของ ไอจีจี สูงเนื่องจากการทดลองนี้วัดค่า OD เป็นการวัดโดยวิธี Indirect ELISA เมื่อหลุมไหนมีสีเข้มแสดงว่ามีปริมาณของ ไอจีจี อยู่มาก ตรงกันข้ามถ้าหลุมไหนสีจางแสดงว่ามีปริมาณของ ไอจีจี อยู่น้อย ดังนั้นถ้าวัดค่า OD จากตัวอย่างซีรัมที่มี ปริมาณของ ไอจีจี ต่ำจึงมีโอกาสเกิดความความคาดเคลื่อนได้มากเนื่องจากในทุกๆ หลุมมีโอกาสเกิดปฏิกิริยาการจับกันแบบไม่จำเพาะของแอนติบอดีอยู่บ้าง ในวันที่ 14 ของการทดลอง ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ ของค่าเฉลี่ย ล็อกฐานสองของ ไอจีจี ไตเตอร์ ระหว่างกลุ่มควบคุม กับกลุ่มที่ได้รับการการเสริม แกมมา-โอไรซานอลบริสุทธิ์ ($p>0.05$) ในวันที่ 21, 28 และ42 ของการทดลอง หนูในกลุ่มที่ 4, 2 และ3 มีค่าเฉลี่ยล็อกฐานสองของ ไอจีจีไตเตอร์ สูงกว่าหนูในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ในวันที่ 42 หนูในกลุ่มที่ 2 มีค่าเฉลี่ย ล็อกฐานสองของ ไอจีจีไตเตอร์ ลดลงอย่างรวดเร็วเนื่องมาจากหนูในกลุ่มนี้กัดกันในกลุ่มทำให้มีสุขภาพไม่ดีการตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอมจึงลดลง

จากผลการทดลองที่กล่าวมาทั้งหมด ทำให้เห็นภาพรวมของการเพิ่มขึ้นของค่าเฉลี่ยล็อกฐานสองของ ไอจีจี ไตเตอร์พบว่าหนู ในกลุ่มที่ได้รับการเสริม แกมมา-โอไรซานอลบริสุทธิ์ มีแนวโน้มของค่าเฉลี่ยล็อกฐานสองของ ไอจีจี ไตเตอร์ สูงกว่าหนูในกลุ่มควบคุม (รูปที่ 2) จากการทดลองนี้จึงสามารถสรุปได้ว่า แกมมา-โอไรซานอลบริสุทธิ์ มีคุณสมบัติในการเป็นสารกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันต่อสิ่งแปลกปลอม โดยเพิ่มปริมาณ ไอจีจี ในซีรัมได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้ดีด้วยความกรุณาจาก รศ. พันทิพา พงษ์เพียจันทร์ อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ให้คำแนะนำ คำปรึกษาและตรวจทานแก้ไขจนงานวิจัยชิ้นนี้สำเร็จสมบูรณ์ ผู้เขียนจึงขอกราบขอบพระคุณ รศ. พันทิพา พงษ์เพียจันทร์ เป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบคุณโครงการย่อยบัณฑิตศึกษาและวิจัย สาขาเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (Ag-Biotech) ที่ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยชิ้นนี้

ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการทางรังสีและภูมิคุ้มกัน ห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในด้านสถานที่ และอุปกรณ์

เอกสารอ้างอิง

พันทิพา พงษ์เพียจันทร์. 2541. สารอาหารกับภูมิคุ้มกันในสัตว์, วารสารธุรกิจอาหารสัตว์, ปีที่ 15, เล่มที่ 63, ประจำเดือน พฤศจิกายน–ธันวาคม, หน้า 15-41.

Chew, B. P. 1996. Importance of Antioxidant vitamins in immunity and health in animals. Journal of Animal Feed Science Technology. 59 : 103 - 114

Deckere, E. A. M., and O. Korver. 1996. Minor constituents of rice bran oil as functional foods. Copyright International Life Sciences Institute and Nutrition Foundation. Nutrition Reviews. Volume: 54. Issue: 11. Part: 2.

Hughes, D. A. 2001. Dietary carotenoids and human immune function. Journal of Nutrition 17: 823 – 827.

Karladee D., P. Pongpiachan, T. Teltathum and A. Gavilo. 2003. Accumulation of gamma oryzanol in purple rice grain. 2nd National Technical Seminar on Postharvest/Post Production Technology. 21 – 22 August at Jalearn Princess Konkaen Hotel.

Nanua, J. N., J. U. McGregor, and J. S. Godber. 2000. Influence of high oryzanol rice bran oil on the oxidative stability of whole milk powder. Journal of Dairy Science. 83 : 2426 - 2431.

Nockels, C. F. 1996. Antioxidants improve cattle immunity following stress. Journal of Animal Feed Science Technology. 62 : 59 – 68.

Sugano, M., and E. Tsuji. 1997. Rice bran oil and cholesterol metabolism. Journal of Nutrition. 127 : 521S - 524S.

Xu, Z., and J. S. Godber. 1999. Purification and identification of components of gamma oryzanol in rice bran oil. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 47 : 2724 -2728.

Xu, Z., N. Hua, J. S. Godber. 2001. Antioxidant activity of tocopherols, tocotrienols, and gamma oryzanol components from rice bran against cholesterol oxidation accelerated by 2,2'-azobis (2-methylpropionamidine) dihydrochloride. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 49 : 2077 - 2081.

วารสารเกษตร 20 (2) : 111-119 (2547)

Journal of Agriculture 20 (2) : 111-119 (2004)

ปริมาณแกมมา-โอไรซานอลในผลิตภัณฑ์จากพืชชนิดต่างๆ

Gamma Oryzanol Quantity in Plant Products

พันทิพา พงษ์เพียจันทร์[1/] ธวัชชัย แถวถาทำ[1/] และ ดำเนิน กาละดี[1/]

Puntipa Pongpiachan[1/] Tawatchai Teltathum[1/] and Dumnern Karladee[1/]

Abstract : γ-oryzanol is a compound substance that has been found mostly in rice bran, both the white paddy rice and the black-purple glutinous rice. The main function of γ-oryzanol substance is to anti radicals, and to reduce cholesterol, and triglyceride. Additionally, γ-oryzanol substance can increase the HDL level in blood, can urge and stimulate pituitary gland. Furthermore, γ-oryzanol declines acidity in the stomach, and prevents coagulation of blood platelets in addition to decrease the amount of sugar in blood circulation. Most importantly, γ-oryzanol increase the level of insulin in diabetes patients. As mentioned before, γ-oryzanol decreases rancid in rice bran 10 times better than vitamin E. And because of all these advantages of γ-oryzanol, it leads us to do a research on γ-oryzanol in order that we might probably find a better source of γ-oryzanol. According to our experiments, we found that the black-purple glutinous rice, type "Kamnan", delivered the highest amount of γ-oryzanol, which was 2.854% DM. But when it was compared to the black-purple glutinous rice, type "Kamdoisaket", which yielded 20.160%DM. Meanwhile, other products brought to be measured the γ-oryzanol quantity was relatively low in DM number. For instance, Dokkhamfoi or saffron has no γ-oryzanol substance at all. Nonetheless, other agricultural products, such as, corn, sesame, linen seed, rep seed, cotton, soy bean, and wheat have the following low γ-oryzanol numbers, 0.241, 0.007, 0.014, 0.003, 0.003, 0.001 and 0.143% DM accordingly. However, when we compared the black-purple glutinous rice, type "Kamnan" and type "Kamdoisaket", they gave a very close number of γ-oryzanol quantities, which were 2.854 and 2.693% DM accordingly. Likewise, the black-purple glutinous rice, type "Kamomkoi" gave the lowest γ-oryzanol quantities, which was 1.882% DM. In short, the black-purple glutinous rice gave the highest number of γ-oryzanol quantities in comparison to other agricultural products.

[1/] ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

[1/] Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand.

บทคัดย่อ: แกมมา-โอไรซานอล (γ-oryzanol) เป็นสารประกอบที่พบมากในรำข้าวขาว และรำข้าวเหนียวดำ แกมมา-โอไรซานอล มีคุณสมบัติในการกำจัดอนุมูลอิสระ, ลด Cholesterol, Triglyceride, เพิ่มระดับของ HDL ในเลือด, กระตุ้นการทำงานของต่อมใต้สมอง, ยับยั้งการหลั่งกรดในกระเพาะอาหาร, ยับยั้งการรวมตัวของเกล็ดเลือด, ลดน้ำตาลในเลือด และเพิ่มระดับของฮอร์โมนอินซูลินในเลือดของคนเป็นโรคเบาหวาน นอกจากนั้นแล้วแกมมา-โอไรซานอล ยังทำหน้าที่ในการต้านการหืนของไขมันในรำข้าว ซึ่งแกมมา-โอไรซานอล มีคุณสมบัติในการต้านการหืนได้ดีกว่า ไวตามิน อี ถึงสิบเท่า จากคุณสมบัติที่มีประโยชน์หลายข้อของแกมมา-โอไรซานอล จึงนำไปสู่การวิจัยในครั้งนี้เพื่อแสวงหาแหล่งที่ดีของแกมมา-โอไรซานอล จากผลการทดลองพบว่ารำข้าวเหนียวดำพันธุ์ ก่ำนาน มีค่าแกมมา-โอไรซานอล สูงที่สุดคือ 2.854 %วัตถุแห้ง แต่ถ้าเปรียบเทียบจากความเข้มข้นของแกมมา-โอไรซานอลในไขมันโดยรวม พบว่ารำข้าวเหนียวดำพันธุ์ ก่ำดอยสะเก็ด มีค่าเปอร์เซ็นต์ แกมมา-โอไรซานอลในไขมันโดยรวม สูงที่สุดคือ 20.160 % ส่วนผลิตภัณฑ์จากพืชชนิดต่างๆ ที่นำมาตรวจสอบหาแกมมา-โอไรซานอล ในงานวิจัยนี้มีค่าของแกมมา-โอไรซานอล ต่ำมาก เมื่อเทียบกับรำของข้าวพันธุ์ต่างๆ โดยพบว่าดอกคำฝอยไม่มีแกมมา-โอไรซานอล เป็นองค์ประกอบอยู่เลย นอกจากนั้น ข้าวโพด, งา, เมล็ดลินสีด, กากเรปสีด, กากฝ้าย, ถั่วเหลืองไขมันเต็ม และรำข้าวสาลี มีค่าแกมมา-โอไรซานอล อยู่ในระดับต่ำคือ 0.241, 0.007, 0.014, 0.003, 0.003, 0.001 และ0.143 %วัตถุแห้ง ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างพันธุ์ข้าวเหนียวดำด้วยกันแล้วพบว่า ก่ำนาน และก่ำดอยสะเก็ดมีค่าแกมมา-โอไรซานอล ใกล้เคียงกันคือ 2.854 และ2.693 %วัตถุแห้ง ตามลำดับ นอกจากนั้นข้าวเหนียวดำพันธุ์ ก่ำอมก๋อยมีค่าแกมมา-โอไรซานอล ต่ำที่สุดในบรรดาข้าวเหนียวดำคือ 1.882 %วัตถุแห้ง แต่อย่างไรก็ตามข้าวเหนียวดำทุกพันธุ์มีค่าแกมมา-โอไรซานอล สูงกว่าผลิตภัณฑ์จากพืชชนิดต่างๆที่นำมาวิเคราะห์หาแกมมา-โอไรซานอล ในการวิจัยครั้งนี้

Index words : แกมมา-โอไรซานอล โอไรซานอล รำข้าว น้ำมันรำข้าว ข้าวเหนียวดำ
Gamma oryzanol, γ-oryzanol, Purple glutinous rice, rice bran

คำนำ

แกมมา-โอไรซานอล เป็นสารประกอบที่พบในรำข้าว (White rice) ประมาณ 1.56 % (Deckere and Korver, 1996) เมื่อไม่นานมานี้ Karladee *et al*., (2001) ได้รายงานว่าข้าวเหนียวดำ (Purple glutinous) มีค่าเฉลี่ยของปริมาณแกมมา-โอไรซานอล สูงกว่าข้าวขาว และข้าวเหนียวดำยังมีค่าเฉลี่ยของไขมันโดยรวมสูงกว่าค่าเฉลี่ยของไขมันโดยรวมของข้าวขาว แกมมา-โอไรซานอล มีคุณสมบัติในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ได้ดีกว่าไวตามินอี โดยเฉพาะ 24-ethylenecycloartanyl ซึ่งเป็นหนึ่งในสามขององค์ประกอบหลักในแกมมา-โอไรซานอล (Xu *et al*., 2001), นอกจากนั้น แกมมา-โอไรซานอล ยังมีคุณสมบัติในการลด Cholesterol, Triglyceride และเพิ่มระดับของ High density lipoprotein (HDL) ในเลือด และยังมีผลต่อการกระตุ้นการทำงานของต่อมใต้สมอง, ยับยั้งการหลั่งกรดในกระเพาะอาหาร และยับยั้งการรวมตัวของเกล็ดเลือด (Cicero and Gaddi, 2001), ลดน้ำตาลในเลือด และเพิ่มระดับของฮอร์โมนอินซูลินของคนเป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 (Diabetes mellitus Types II), (Qureshi *et al*., 2002), นอกจากนั้นแล้วแกมมา-โอไรซานอล ยังทำหน้าที่ในการต้านการหืนของไขมันในรำข้าว และต้านการหืนของนมผงไขมันเต็ม (Whole milk powder), (Nanua

et al., 2000) ซึ่งแกมมา-โอไรซานอล มีคุณสมบัติในการต้านการหืนได้ดีกว่าไวตามินอี ถึงสิบเท่า (Xu *et al*., 2001), การหืนนอกจากจะทำให้เกิดกลิ่นเหม็นหืนในอาหารแล้วยังก่อให้เกิดอันตรายต่อสัตว์เลี้ยง และยังทำให้สารต้านการหืนที่มีอยู่ในรำข้าวลดลง เนื่องจากสารต้านการหืนจะเสียความสามารถในการต่อต้านการหืนหลังเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นกับอนุมูลอิสระ เช่น ไวตามินอี (Tocopherol), เอ (Retinol) และยังรวมไปถึง แกมมา-โอไรซานอล ซึ่งสารเหล่านี้ ทำหน้าที่ยับยั้ง Fatty acid radical ที่เป็นตัวการในการเหนี่ยวนำให้เกิด การหืนอย่างต่อเนื่อง (Autoxidation)

จากประโยชน์ที่กล่าวมาข้างต้นทำให้เกิดแนวคิด ที่จะค้นหาแหล่งของแกมมา-โอไรซานอลในผลิตภัณฑ์จากพืช เพื่อจะได้สกัดแกมมา-โอไรซานอล ออกมาใช้ได้ในปริมาณที่มากพอสำหรับการใช้ประโยชน์ในทั้งทางด้านการผลิตสัตว์ และทางการแพทย์ ผลการวิจัยครั้งนี้ยังจะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีแกมมา-โอไรซานอลในระดับสูงเพื่อหวังผลทางด้านสุขภาพที่ดีของประชาชนชาวไทย เพราะว่าข้าวเป็นแหล่งอาหารหลักของคนไทย และข้าวเป็นยังพืชส่งออกที่สำคัญของประเทศไทย ถ้าเราสามารถผลิตพันธุ์ข้าวที่มีแกมมา-โอไรซานอล สูงกว่าข้าวพันธุ์ทั่วๆ ไปโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพ เข้าไปตัดยีนของพืชที่มีศักยภาพในการผลิตแกมมา-โอไรซานอล สูงมาตัดต่อเข้ากับยีนของข้าวพันธุ์ทั่วๆไป ซึ่งผลสุดท้ายจะได้ข้าวพันธุ์ที่มีแกมมา-โอไรซานอลสูง ซึ่งจะทำให้ประเทศเราสามารถต่อสู้ในตลาดข้าวเสรีได้อย่างแท้จริง

วิธีการวิจัย และขั้นตอนการศึกษา

ขั้นตอนการเก็บตัวอย่าง

ทำการสุ่มเก็บตัวอย่าง รำข้าวเหนียวดำพันธุ์ก่ำนาน, ก่ำดอยสะเก็ด, ก่ำ87061, ก่ำอมก๋อย, รำข้าวหอมมะลิ 105, ดอกคำฝอย, ข้าวโพด, งา, เมล็ดลินสีด, กากเรปสีด, กากฝ้าย, ถั่วเหลืองไขมันเต็ม และรำข้าวสาลี จากถุงบรรจุ แล้วนำตัวอย่างวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เก็บได้ไปแช่เย็นในตู้เย็น อุณหภูมิ -20°C เพื่อรอการวิเคราะห์หาปริมาณ แกมมา-โอไรซานอลต่อไป ก่อนนำตัวอย่างไปทำการวิเคราะห์หาปริมาณ γ-oryzanol บดตัวอย่างผ่านตะแกรงขนาด 1 มม. ทุกขั้นตอนควรหลีกเลี่ยงไม่ให้ตัวอย่างถูกแสงแดดโดยตรง

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณ γ-oryzanol

การวิเคราะห์หาปริมาณของ γ-oryzanol โดยดัดแปลงมาจากวิธีการของ Xu and Godber (1999) โดยมีขั้นตอนทั้งหมด 3 ขั้นตอนดังนี้

1. Extraction of Crude oil (ไขมันโดยรวม)

ทำการสกัด Crude oil จากรำข้าว โดยใช้ Hexane และEthyl acetate แล้วแยกสารที่ใช้สกัดออกจาก Crude oil โดยใช้ Rotary evaporator

2.Semipurification of γ-oryzanol (แกมมา-โอไรซานอลกึ่งบริสุทธิ์)

ทำการกำจัด Triglyceride และ Lipids อื่นๆ ออกจาก Crude oil โดยนำ Crude oil ไปผ่านคอลัมน์ที่บรรจุผง Silica โดยมี Hexane และEthyl acetate เป็นตัวทำละลาย หลังจาก Crude Oil ผ่านคอลัมน์ และทำการแยกสารที่ใช้เป็นตัวทำละลายออก โดยใช้ Rotary evaporator จะได้ Semipurified γ-oryzanol

3.Determination of γ-oryzanol (แกมมา-โอไรซานอล)

นำ Semipurified γ-oryzanol ที่สกัดได้มาเจือจางกับ Mobile phase แล้วกรองผ่าน Filter membrane, pore size ขนาด 0.45 μm จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปฉีดในเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

ผลการทดลอง

ไขมันโดยรวม (Crude oil)

จากผลการสกัดไขมันโดยรวมในตัวอย่างดังต่อไปนี้คือ: รำข้าวเหนียวดำพันธุ์ ก่ำนาน, ก่ำดอยสะเก็ด, ก่ำ87061, ก่ำอมก๋อย, รำข้าวหอมมะลิ 105, ดอกคำฝอย, ข้าวโพด, งา, เมล็ดลินสีด, กากเรปสีด, กากฝ้าย, ถั่วเหลืองไขมันเต็ม และรำข้าวสาลี พบว่างา มีค่าไขมันโดยรวมคือ 49.113 %วัตถุแห้ง ซึ่งเป็นค่าที่สูงที่สุด และจัดอยู่ในกลุ่มที่มีค่าไขมันโดยรวมอยู่ในระดับสูง เช่นเดียวกับ เมล็ดลินสีดคือ 21.530 วัตถุแห้ง ส่วน กากเรปสีด มีค่าต่ำที่สุดคือ 1.229 % วัตถุแห้ง นอกจากนั้นรำข้าวเหนียวดำทั้ง 4 พันธุ์คือ ก่ำนาน, ก่ำดอยสะเก็ด, ก่ำ87061 และก่ำอมก๋อย ใกล้เคียงกันคือ 14.214, 13.359, 12.815 และ13.656 % วัตถุแห้ง ตามลำดับ สูงกว่ารำข้าวหอมมะลิ 105 ซึ่งใช้เป็นตัวแทนของรำข้าวขาว โดยรำข้าวหอมมะลิ 105 มีค่าไขมันโดยรวมเท่ากับ 7.732 %วัตถุแห้ง ซึ่งถือว่ามีค่าไขมันโดยรวมอยู่ในระดับปานกลาง โดยมีค่าใกล้เคียงกับ ดอกคำฝอย, ข้าวโพด, และถั่วเหลืองไขมันเต็มคือ 5.352, 8.901, และ13.305 %วัตถุแห้ง ตามลำดับ ส่วน กากเรปสีด, กากฝ้าย และรำข้าวสาลี ถือว่ามีค่าไขมันโดยรวมอยู่ในระดับต่ำคือ 1.229, 3.604, และ1.918 %วัตถุแห้ง ตามลำดับ ดังภาพที่ 1

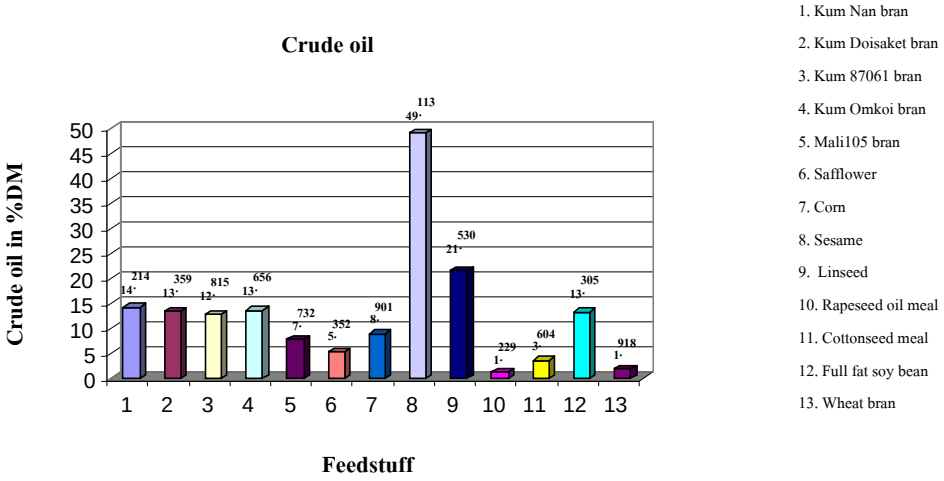


Figure 1 Crude oil in plant products in %DM.

แกมมา-โอไรซานอลกึ่งบริสุทธิ์

จากผลการสกัดแกมมา-โอไรซานอลกึ่งบริสุทธิ์ จากไขมันโดยรวมของตัวอย่างดังต่อไปนี้คือ: รำข้าวเหนียวดำพันธุ์ ก่ำนาน, ก่ำดอยสะเก็ด, ก่ำ87061, ก่ำอมก๋อย, รำข้าวหอมมะลิ 105, ดอกคำฝอย, ข้าวโพด, งา, เมล็ดลินสีด, กากเรปสีด, กากฝ้าย, ถั่วเหลืองไขมันเต็ม และรำข้าวสาลี พบว่า ค่าของแกมมา-โอไรซานอลกึ่งบริสุทธิ์ มีแนวโน้มเช่นเดียวกับค่าไขมันโดยรวม ซึ่ง งา มีแกมมา-โอไรซานอลกึ่งบริสุทธิ์สูงที่สุด คือ 36.586 %วัตถุแห้ง และจัดอยู่ในกลุ่มที่มีค่าไขมันโดยรวมอยู่ในระดับสูง เช่นเดียวกับ เมล็ดลินสีดคือ 20.598 %วัตถุแห้ง ส่วน กากเรปสีด มีค่าต่ำที่สุดคือ 0.942 %วัตถุแห้ง นอกจากนั้นรำข้าวเหนียวดำทั้ง 4 พันธุ์คือ ก่ำนาน, ก่ำดอยสะเก็ด, ก่ำ87061 และก่ำอมก๋อย ใกล้เคียงกันคือ 13.977, 13.123, 12.677 และ13.289 %วัตถุแห้ง ตามลำดับ สูงกว่ารำข้าวหอมมะลิ 105 ซึ่งใช้เป็นตัวแทนของรำข้าวขาว โดยรำข้าวหอมมะลิ 105 มีค่าแกมมา-โอไรซานอลกึ่งบริสุทธิ์ เท่ากับ 7.678 %วัตถุแห้ง ซึ่งถือว่ามีค่าแกมมา-โอไรซานอลกึ่งบริสุทธิ์อยู่ในระดับปานกลาง โดยมีค่าใกล้เคียงกับ ข้าวโพด คือ 8.593 %วัตถุแห้ง ส่วน ดอกคำฝอย, กากเรปสีด, กากฝ้าย, ถั่วเหลืองไขมันเต็ม และรำข้าวสาลี ถือว่ามีค่าแกมมา-โอไรซานอลกึ่งบริสุทธิ์อยู่ในระดับต่ำคือ 4.138, 0.942, 1.299, 3.111 และ1.556 %วัตถุแห้ง ตามลำดับ แสดงดังภาพที่ 2

แกมมา-โอไรซานอล

จากผลการสกัดแกมมา-โอไรซานอล ในตัวอย่างดังต่อไปนี้คือ: รำข้าวเหนียวดำพันธุ์ ก่ำนาน ,ก่ำดอยสะเก็ด, ก่ำ87061, ก่ำอมก๋อย, รำข้าวหอมมะลิ 105, ดอกคำฝอย, ข้าวโพด, งา, เมล็ดลินสีด, กากเรปสีด, กากฝ้าย, ถั่วเหลืองไขมันเต็ม และรำข้าวสาลี พบว่ารำข้าวเหนียวดำพันธุ์ ก่ำนาน มีค่าแกมมา-โอไรซานอล สูงที่สุดคือ 2.854 %วัตถุแห้ง โดยผลิตภัณฑ์จากพืชชนิดอื่นๆ ที่นำมาตรวจสอบหาแกมมา-โอไรซานอล ในงานวิจัยนี้มีค่าของแกมมา-โอไรซานอล ต่ำมาก เมื่อเทียบกับรำของข้าวพันธุ์ต่างๆ โดยพบว่า ดอกคำฝอยไม่มีแกมมา-โอไรซานอล เป็นองค์ประกอบอยู่เลย นอกจากนั้น ข้าวโพด, งา, เมล็ดลินสีด, กากเรปสีด, กากฝ้าย, ถั่วเหลืองไขมันเต็ม และรำข้าวสาลี มีค่าแกมมา-โอไรซานอล อยู่ในระดับต่ำคือ 0.241, 0.007, 0.014, 0.003, 0.003, 0.001 และ0.143 %วัตถุแห้ง ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างรำข้าวหอมมะลิ 105 (รำข้าวขาว) กับรำข้าวเหนียวดำพันธุ์ ก่ำนาน พบว่ารำข้าวเหนียวดำพันธุ์ ก่ำนานมีค่าแกมมา-โอไรซานอล สูงกว่ารำข้าวหอมมะลิ 105 ถึง 154.367 % เมื่อเปรียบเทียบระหว่างพันธุ์ข้าวเหนียวดำด้วยกันแล้วพบว่า ก่ำนาน และก่ำดอยสะเก็ดมีค่าแกมมา-โอไรซานอล ใกล้เคียงกันคือ 2.854 และ2.693 %วัตถุแห้ง ตามลำดับ นอกจากนั้นข้าวเหนียวดำพันธุ์ ก่ำอมก๋อยมีค่า แกมมา-โอไรซานอล ต่ำที่สุดในบรรดาข้าวเหนียวดำคือ 1.882 %วัตถุแห้ง แต่อย่างไรก็ตามข้าวเหนียวดำทุกพันธุ์มีค่าแกมมา-โอไรซานอล สูงกว่าข้าวหอมดอกมะลิ 105 และทุกตัวอย่างที่นำมาใช้ในการวิจัยครั้งนี้ แสดงดังภาพที่ 3

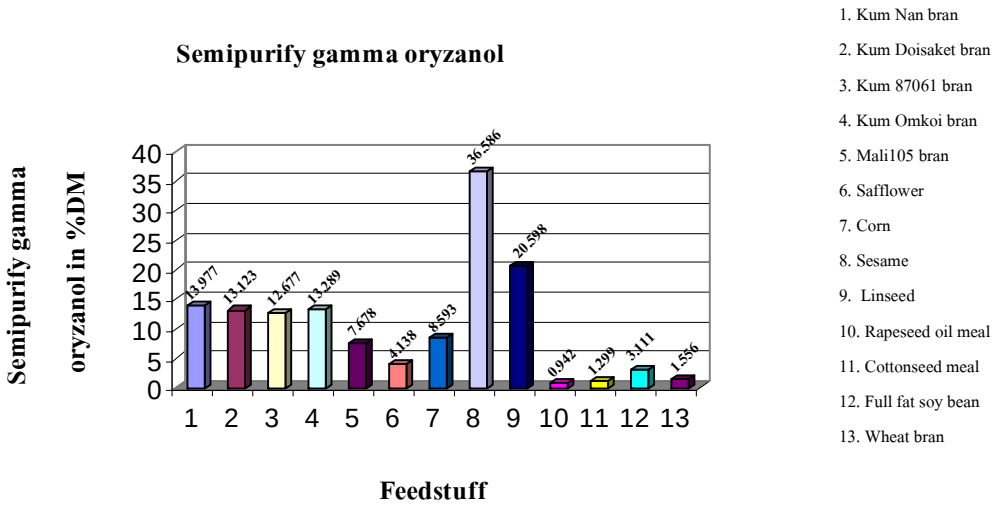


Figure 2 Semipurify γ-oryzanol in plant products in %DM.

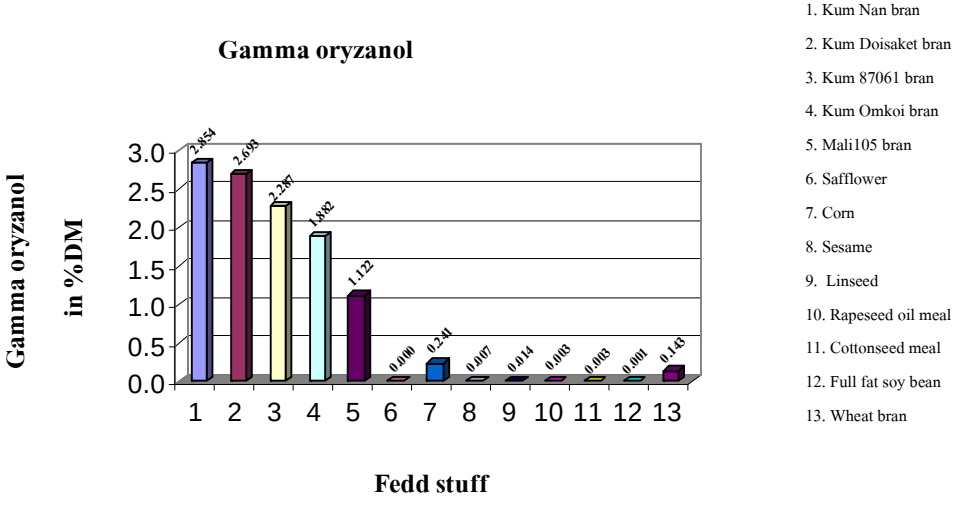


Figure 3 γ-oryzanol in plant products in %DM.

เปอร์เซ็นต์ แกมมา-โอไรซานอล ในไขมันโดยรวม

รำข้าวเหนียวดำพันธุ์ ก่ำดอยสะเก็ด มีค่าเปอร์เซ็นต์ แกมมา-โอไรซานอลในไขมันโดยรวม (Per cent γ-oryzanol in crude oil) สูงที่สุดคือ 20.160 % ส่วนผลิตภัณฑ์จากพืชชนิดอื่นๆ ที่นำมาตรวจสอบหาค่าเปอร์เซ็นต์ แกมมา-โอไรซานอลในไขมันโดยรวม มีค่าต่ำมาก เมื่อเทียบกับรำของข้าวพันธุ์ต่างๆ โดยพบว่า ข้าวโพด, งา, เมล็ดลินสีด, กากเรปสีด, กากฝ้าย และถั่วเหลืองไขมันเต็ม มีค่าเปอร์เซ็นต์ แกมมา-โอไรซานอลในไขมันโดยรวมอยู่ในระดับต่ำคือ 2.706, 0.014, 0.063, 0.230, 0.092 และ0.009 % ส่วน รำข้าวสาลี มีค่าเปอร์เซ็นต์ แกมมา-โอไรซานอลในไขมันโดยรวม อยู่ในระดับปานกลาง คือ 7.455 % ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างรำข้าวหอมมะลิ 105 (รำข้าวขาว) กับรำข้าวเหนียวดำพันธุ์ ก่ำนาน พบว่ารำข้าวเหนียวดำพันธุ์ ก่ำนาน มีค่าเปอร์เซ็นต์ แกมมา-โอไรซานอลในไขมันโดยรวม สูงกว่ารำข้าวหอมมะลิ 105 เมื่อเปรียบเทียบระหว่างพันธุ์ข้าวเหนียวดำด้วยกันแล้วพบว่า ก่ำนาน และก่ำดอยสะเก็ด มีค่าเปอร์เซ็นต์ แกมมา-โอไรซานอลในไขมันโดยรวม ใกล้เคียงกัน คือ 20.080 และ20.160 % ตามลำดับ นอกจากนั้น ข้าวเหนียวดำพันธุ์ ก่ำอมก๋อย มีค่าเปอร์เซ็นต์ แกมมา-โอไรซานอลในไขมันโดยรวม ต่ำที่สุดในบรรดาข้าวเหนียวดำคือ13.782 % แต่อย่างไรก็ตาม ข้าวเหนียวดำทุกพันธุ์ มีค่าเปอร์เซ็นต์ แกมมา-โอไรซานอลในไขมันโดยรวมสูงกว่าผลิตภัณฑ์จากพืชทุกชนิดที่นำมาใช้ในการวิจัยครั้งนี้ แสดงภาพที่ 4

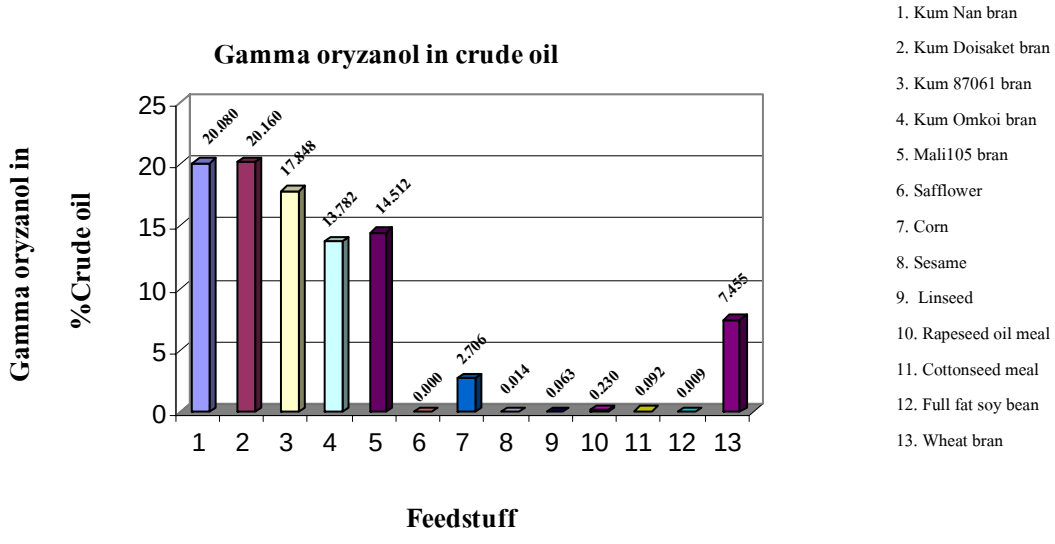


Figure 4 Percent γ-oryzanol in crude oil in plant products.

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการการทดลองพบว่า รำข้าวเหนียวดำพันธุ์ ก่ำนาน มีค่าแกมมา-โอไรซานอล สูงที่สุด คือ 2.854 %วัตถุแห้ง แต่เมื่อพิจารณาจากค่าเปอร์เซ็นต์ แกมมา-โอไรซานอล ในไขมันโดยรวม พบว่า รำข้าวเหนียวดำพันธุ์ ก่ำดอยสะเก็ด กลับมีค่าสูงที่สุด คือ 20.160 % แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของแกมมา-โอไรซานอลในไขมันโดยรวมในผลิตภัณฑ์จากพืชชนิดต่างๆ มีค่าไม่เท่ากัน และพบว่า ดอกคำฝอยไม่มีแกมมา-โอไรซานอล เป็นองค์-ประกอบอยู่เลย ส่วน งา มีค่าไขมันโดยรวม และค่าของแกมมา-โอไรซานอลกึ่งบริสุทธิ์สูงที่สุด คือ 49.113, 36.586 %วัตถุแห้ง ตามลำดับ แต่เมื่อพิจารณาจากค่าแกมมา-โอไรซานอล ปรากฏว่า งา มีค่าแกมมา-โอไรซานอล อยู่ในระดับต่ำคือ 0.006 % วัตถุแห้ง ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จึงได้แง่คิดเกี่ยวกับการคัดเลือกตัวอย่างมาใช้ในการตรวจสอบหา แกมมา-โอไรซานอล โดยพิจารณาจากไขมันโดยรวมไม่ได้ เนื่องมาจากความเข้มข้นของแกมมา-โอไรซานอลในไขมันโดยรวมในผลิตภัณฑ์จากพืชชนิดต่างๆ มีค่าไม่เท่ากัน แต่แนวทางการตัดสินใจนี้ใช้ได้กับพันธุ์ข้าวต่างๆ ได้ โดยคาดว่าพันธุ์ข้าวที่มีค่าไขมันโดยรวมสูงมักจะมีค่าของแกมมา-โอไรซา-นอล สูงตามไปด้วย จากงานวิจัยนี้จะสังเกตเห็นว่า รำข้าวหอมมะลิ 105 มีค่าไขมันโดยรวมต่ำกว่ารำข้าวเหนียวดำทุกๆ พันธุ์ คือ 7.732 %วัตถุแห้ง ซึ่งรำข้าวเหนียวดำมีค่าเฉลี่ยไขมันโดยรวมเท่ากับ 13.510 %วัตถุแห้ง และเมื่อทำการวิเคราะห์หาค่าแกมมา-โอไรซานอล พบว่า รำข้าวเหนียวดำมีค่าแกมมา-โอไรซานอล สูงกว่า รำข้าวหอมมะลิ 105 ถึง 154.367 %

จากผลการการทดลองที่กล่าวมาในข้างต้น สามารถสรุปได้ว่า รำข้าวเหนียวดำพันธุ์ ก่ำนานมีแกมมา-โอไรซานอลเป็นองค์ประกอบอยู่ในปริมาณที่สูงที่สุด และคาดว่าน่าจะมีศักยภาพในการนำมาสกัดเอาแกมมา-โอไรซานอล ออกมาใช้ได้ในปริมาณที่มากพอสำหรับการใช้ประโยชน์ในทั้งทางด้านการผลิตสัตว์, ทางการแพทย์ และอุตสาหกรรมการเกษตรได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณโครงการย่อยบัณฑิตศึกษาและวิจัย สาขาเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (Ag-Biotech) ที่ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยชิ้นนี้

ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในด้านสถานที่ และอุปกรณ์

เอกสารอ้างอิง

Cicero, A. F., A. Gaddi. 2001. Rice bran oil and gamma-oryzanol in the treatment of hyperlipoproteinaemias and other conditions. Journal of Phytotherapy Research: PTR. Volume 15 : 277-289

Deckere, E. A. M., and O. Korver. 1996. Minor constituents of rice bran oil as functional foods. Copyright International Life Sciences Institute and Nutrition Foundation. Nutrition Reviews. Volume: 54. Issue: 11. Part: 2.

Hughes, D. A. 2001. Dietary carotenoids and human immune function. Journal of Nutrition 17: 823 – 827.

Karladee, D., P. Pongpiachan, T. Teltathum and A. Gavilo. 2003. Accumulation of gamma oryzanol in purple rice grain. 2nd National Technical Seminar on Postharvest/Post Production Technology. 21 – 22 August at Jalearn Princess Konkaen Hotel.

Nanua, J. N., J. U. McGregor, and J. S. Godber. 2000. Influence of high oryzanol rice bran oil on the oxidative stability of whole milk powder. Journal of Dairy Science. 83 : 2426 - 2431.

Qureshi, A. A., S. A. Samib, F. A. Khanb. 2002. Effects of stabilized rice bran, its soluble and fiber fractions on blood glucose levels and serum lipid parameters in humans with diabetes mellitus Types I and II. Journal of Nutritional Biochemistry. 13 : 175–187

Xu, Z., and J. S. Godber. 1999. Purification and identification of components of gamma oryzanol in rice bran oil. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 47 : 2724 -2728.

Xu, Z., N. Hua, J. S. Godber. 2001. Antioxidant activity of tocopherols, tocotrienols, and gamma oryzanol components from rice bran against cholesterol oxidation accelerated by 2,2'-azobis (2-methylpropionamidine) dihydrochloride. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 49 : 2077 - 2081.

วารสารเกษตร 20 (2) : 120-132 (2547)

Journal of Agriculture 20 (2) : 120-132 (2004)

Field Monitoring of Cruciferous Insect Pest Populations by Synthetic Sex Pheromone Traps in Chiang Mai Cauliflower Production Areas

Sanit Ratanabhumma[1/] *Sawai Buranapanichpan*[1/] *and Jiraporn Tayutivutikul*[1/]

Abstract: Field monitoring of the diamondback moth (DBM*), Plutella xylostella* (Linnaeus) and the common cutworm (CW), *Spodoptera litula* (Fabricius) adult insect populations by the synthetic sex pheromone traps were conducted during 1995-1997 cauliflower growing seasons at Sarapee, Chiang Mai, to determine the densities and population dynamics of the insect pests in correspondence with the meteorological data. The total area of study was 800 m^2 (0.8 ha) and was divided into thirty plots of 5 m long and 2 m wide, the crop spacing was 30x30 cm, and there was a total of 75 cauliflower plants on each plot. The DMB population attained its first peak of 819 insects on January 2, 1966, during the harvest time of the third cropping of the 1995 growing season, then remained low through the first cropping of the 1996 growing season. The population then reestablished and reached the second peak of 859 insects on March 5, 1966, and continued diminished through the second crop plantation with a small peak of 279 insects during the mid harvest time. The adult insects of less than 100 insects per sampling date were detected through the third crop plantation, then sharply increased and attained a triple peak of more than 500 insects, during the first crop plantation of the 1997 growing season. The DBM population had never exceeded 330 insects through the rest of the field trial. The CW population continued increased during the first six sampling dates then attained the maximum peak of 1,465 insects on December 12, 1995. The adult population reached a triple peak of more than 600 insects per sampling date during the second crop plantation, then remained low through the rest of the study, never exceeded 370 insects per sampling date.

Although the meteorological factors including the temperature, relative humidity, and the rain precipitation displayed inconsistently correlated with both the DBM and the CW populations, the rainfall seemed to exert the negative correspondence with the DBM adult population. This insect population exhibited persistently declined through the rainy seasons of both the 1996 and 1997 growing seasons.

[1/] Department of Entomology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand.

Index words : sex pheromone trap, monitoring, the diamondback moth: *Plutella xylostella* (L.), the common cutworm: *Spodoptera litura* (F.), the cauliflower: *Brassica oleracea* var. *botrytis* L.

Introduction

Northern Thailand is one of the major cash-crop cultivated area producing the high quantity and quality cruciferous vegetables including cabbage, Chinese cabbage, Chinese kale, cauliflower, and others, accommodating the nation needs. One of the chief limiting factors for the crop production is the insect pest and disease problems. Billions of bahts have been spent annually on crop production and protection aspects nationwide.

Wongsiri (1991) reported the totals of eighteen species are the major insect pests of cruciferous vegetables in Thailand (Table 1). However, the green peach aphid: *Myzus persicae* (Sulzer); the striped flea beetle: *Phyllotreta sinuata* Stephens; the beet armyworm: *Spodoptera exigua* (Hübner); the common cutworm: *Spodoptera litula* (Fabricius); the cabbage looper: *Trichoplusia ni* (Hübner); and the diamondback moth: *Plutella xylostella* (Linnaeus); are more predominant and the most injurious insect pests of the vegetables in Chiang Mai cultivated areas. Rushtapakornchai (1992) provided the detail information on biology, ecology, natural enemies, and control strategies for each of cruciferous insect pest in Thailand. He had also summarized and recommended the combined management program for those insect pests.

Monitoring a population of insects is a prerequisite for making a management decision; it also serves as the fundamental tool for insect pest management. The purposes for this monitoring are diverse, from detecting the spread of an insect into a restricted area to estimating the numbers of insect per plant and relating this to an economic threshold. To cope with this diversity, application of appropriate monitoring technique for the specific purpose is required. The complexity of insect behavior often allows entomologists the opportunity to apply a diverse set of monitoring tactics including the use of kairomones, pheromones, or visual traps. Traps designed to attract insects with a light source or pheromones are better detection tools although they give biased counts of insect density per unit area (Shelton and Trumble, 1991). Rushtapakornchai *et al*. (1992) reported the development and implementation of the yellow sticky trap for the diamondback moth (DBM) control in Thailand; they also concluded that this trap could be partially used to control the DBM in cruciferous fields and could be an important tool in integrated management program of the DBM. Synthetic sex pheromones have been utilized for insect pest population suppression either by disruption of communication between both sexes or by mass trapping of adult males (Nemoto *et al*., 1992). The DBM sex pheromone has been identified as a mixture of (Z)-11-hexa-decenal and (Z)-11-hexadecenyl acetate (Tamaki *et al*., 1977), Kitamura and Kobayashi (1985) described the

common cutworm (CW) sex pheromone as a mixture of (Z, E)-9-11-tetradecadienyl acetate and (Z, E)-9-12-tetradecadienyl acetate.

The primary objective of this trial is to monitor and estimate the DMB and the CM adult populations by synthetic sex pheromone traps under field condition and relate the obtained data to the meteorological data existing within the field ecosystem for determining the status of the insect population whether an economic threshold has been exceeded, and also estimating insect population density, dispersion, and dynamics, to help prevent insect pests from becoming established. The acquired data should provide necessary precaution information for better pest management and control decision.

Table 1 Lists of insect pests of cruciferous crops in Thailand (Wongsiri, 1991).

Species	Classification	Common name
Agrotis ipsilon **(Hufnagel)**	**Lepidoptera: Noctuidae**	**Black cutworm**
Aphis gossypii **Glover**	**Homoptera: Aphididae**	**Cotton aphid**
Bemisia tabaci **(Gennadius)**	**Homoptera: Aleyrodidae**	**Tobacco whitefly**
Crocidolomia binotalis **Zeller**	**Lepidoptera: Pyralidae**	**Cabbage moth**
Eurydema pulcha **Westwood**	**Hemiptera: Pentatomidae**	**Cabbage bug**
Hellula undalis **(Fabricius)**	**Lepidoptera: Pyralidae**	**Cabbage webworm**
Lipaphis erysimi **(Kaltenbach)**	**Homoptera: Aphididae**	**Cabbage aphid**
Liriomysa brassicae **(Riley)**	**Diptera: Agromyzidae**	**Cabbage leafminer**
Myzus persicae **(Sulzer)**	**Homoptera: Aphididae**	**Green peach aphid**
Phyllotreta chontalica **Duvivier**	**Coleoptera: Chrysomelidae**	**Blue flea beetle**
Phylloterta sinuata **Stephens**	**Coleoptera: Chrysomelidae**	**Striped flea beetle**
Pieris brassicae **Doubleday**	**Lepidoptera: Pieridae**	**Cabbage white butterfly**
Pieris canidia **Sparrman**	**Lepidoptera: Pieridae**	**Cabbage white butterfly**
Plutella xylostella **(Linnaeus)**	**Lepidoptera: Yponomeutidae**	**Diamondback moth**
Rhopalosiphum maidis **(Fitch)**	**Homoptera: Aphididae**	**Corn leaf aphid**
Spodoptera exigua **(Hübner)**	**Lepidoptera: Noctuidae**	**Beet armyworm**
Spodoptera litura **(Fabricius)**	**Lepidoptera: Noctuidae**	**Common cutworm**
Trichoplusia ni **(Hübner)**	**Lepidoptera: Noctuidae**	**Cabbage looper**

Materials and Methods

Two year-round monitoring of the DBM and the CW adult populations with synthetic sex pheromones were conducted at crucifer cultivated area at Sarapee, Chiang Mai, during November 1995 – November 1997. This is one of the most intensive cauliflower production areas of Chiang Mai. The cauliflower: *Brassica oleracea* var. *botrytis* L. is triple cultivated annually in this area. The first cropping season is begun by sowing the cauliflower seeds in early January, transplanted in early February, and harvested in late March, likewise, the second cropping season is started in April, transplanted in May, and harvested in July. The production land will be left idled during August each year due to the annual heavy rainfall, and then the third cropping season is begun in September, transplanted in October, and harvested during November till December. Different varieties of planting seeds with varying maturity duration have been practiced in accordance with the successive field ecosystem. Besides, the farmers usually apply either organophosphate, synthetic pyrethroid insecticides or bioinsecticides for a total of 7-8 times during each cropping season for their crop protection. The total area of study was 800 m^2 (0.8 ha) and was divided into thirty plots of 5 m long and 2 m wide, the crop spacing was 30x30 cm, and there was a total of 75 cauliflower plants on each plot. A DBM monitoring trap composed of a rectangular sticky board (27x30 cm) baited with a mixture of DBM synthetic sex pheromones, (Z)-11-hexadecenal (Z-11-16: Ald), and (Z)-11-hexadecenyl acetate (Z-11-16: Ac), containing in a rubber septum positioned in the middle of the sticky board was set in 400 m^2 (0.4 ha) on the first halve of the open study field. The sticky board was then placed inside a roof-like corrugated polyethylene cover board, its base were settled and secured with two 2-cm double clips on a rectangular plywood board attached to a wooden stake, was set at 50 cm above the ground level at center of the treated field (Figure 1).

A CW monitoring trap composed of a cylindrical polyethylene bucket-like body of 22 cm high with a flatted round lid of 16 cm in diameter supported by four plastic rods of 4.0 cm long stood at the top round edge of the trap body with a long cotton string at top of the lid. The lid was embedded at the middle with the CW pheromones, (Z, E)-9-11-tetradecadienyl acetate (Z9E11-14: Ac), and (Z, E)-9-12-tetradecadienyl acetate (Z9E12-14: Ac), containing in a rubber septum. The trap was then suspended at the apex of a bamboo pole tripod at 1.0 m above the ground level and was set at center of 400 m^2 (0.4 ha) on the second halve of the open study field (Figure 2).

Figure 1 **The diamondback moth (DBM) synthetic sex pheromone trap.**

Figure 2 **The common cutworm (CW) synthetic sex pheromone trap.**

The DBM and CW adult insect data was collected 105 times during the studies. Sampling was begun on November 25, 1997. The sticky board of the DBM monitoring trap was replaced every week while the pheromones of both DBM and CW monitoring traps were restored every four weeks. In addition, the meteorological data including the temperature, the relative humidity, and the amount of rainfall were also collected at weekly intervals from the nearby meteorological station in accordance with the sampling dates.

Results and Discussion

The numbers of DBM and CW adult populations collected at weekly intervals from the pheromone traps at Sarapee, Chiang Mai, during 1995-1997 cauliflower growing reasons, and the data on the average temperature ($^{\circ}$C), relative humidity (%), and rainfall (mm) corresponded with the sampling date is given in Table 2. The DBM population started to build up sharply on the first 5 sampling dates and reached its first peak of 819 insects on 2 January 1996 agreed with the harvest time of the third cropping of 1995 cauliflower growing season, then steadily declined during the sowing time of the first cropping of 1996 growing season. After this first crop had been transplanted the DBM population reestablished and attained the second peak of 859 insects on 5 March 1996 concurred with the early harvest time, then continually diminished through the second crop plantation with a small peak of 279 insects during the mid harvest time. The adult population remained low with less than 100 insects per sampling date through the crop plantation in late December 1996, then sharply increased and reached a triple peak of more than 500 insects during the first crop plantation of 1997 growing season. After attained a small peak of 330 insects during the sowing time of the second cropping, the DBM adult population had never exceeded 300 insects during the latter part of 1997 growing season till the study terminated. The CW adult population remained high on the first 6 sampling dates through the harvest time of the third cropping of the 1995 growing season with the maximum peak of 1,465 insects occurred on 12 December 1995, then had never reached 600 insects per sampling date during the first crop plantation of 1996 growing season. However, the adult population attained a triple peak of more than 600 insects during the second crop plantation, then remained low throughout the third crop plantation and continued through the entire 1997 growing season, the population had never exceeded 370 insects per sampling date.

Table 2 Numbers of *Plutella xylostella* and *Spodoptera litura* adult populations collected from the pheromone traps in accordance with the average temperature (°C), relative humidity (%), and rainfall (mm) collected at weekly intervals, during 1995 – 1997cauliflower growing seasons, Sarapee, Chiang Mai.

Week	Collected date	*P. xylostella*	*S. litura*	Temp.	% RH	Rainfall
1.	28/11/95	111	1,236	23.21	75.71	0
2.	5/12/95	202	728	23.86	72.86	0
3.	12/12/95	451	1,465	20.63	68.71	0
4.	19/12/95	287	1,008	21.34	68.57	0
5.	26/12/95	416	1,208	22.54	0.14	0
6.	2/1/96	819	1,207	18.69	64.86	0
7.	9/1/96	610	722	19.57	63.71	0
8.	16/1/96	208	592	21.34	4.14	0
9.	23/1/96	196	491	21.50	9.71	0
10.	30/1/96	152	523	21.81	6.43	0
11.	6/2/96	421	527	22.34	2.00	0
12.	13/2/96	698	598	21.90	1.43	0
13.	20/2/96	580	498	24.09	3.51	0
14.	27/2/96	515	369	22.81	6.57	5.80
15.	5/3/96	859	282	25.80	6.71	1.13
16.	12/3/96	312	270	26.09	1.43	0
17.	19/3/96	236	363	27.21	9.86	0
18.	26/3/96	263	575	28.91	5.57	0
19.	2/4/96	218	343	28.83	2.00	0.19
20.	9/4/96	367	314	29.73	7.14	0
21.	16/4/96	145	321	30.27	1.29	0
22.	23/4/96	191	390	28.99	4.43	27.01
23.	30/4/96	114	653	27.37	6.86	3.49
24.	7/5/96	105	472	28.47	74.00	3.56
25.	14/5/96	48	382	28.69	70.71	0.34
26.	21/5/96	13	249	29.43	69.14	2.09
27.	28/5/96	75	649	28.43	6.71	2.79
28.	4/6/96	69	290	28.44	75.14	4.97
29.	11/6/96	38	285	28.26	7.29	1.96
30.	18/6/96	50	38	27.20	9.57	7.96
31.	25/6/96	95	238	27.57	6.86	2.53
32.	2/7/96	74	355	27.67	5.86	1.13

Table 2 (continued).

Week	Collected date	*P. xylostella*	*S. litura*	Temp.	% RH	Rainfall
33.	9/7/96	88	613	28.07	2.14	3.51
34.	16/7/96	208	415	28.41	5.71	5.14
35.	23/7/96	279	178	27.81	77.43	2.57
36.	30/7/96	54	320	26.00	83.71	5.21
37.	6/8/96	82	348	26.74	81.57	7.06
38.	13/8/96	6	275	27.43	77.86	0.63
39.	20/8/96	40	346	26.19	85.14	4.29
40.	27/8/96	52	182	25.70	84.43	15.56
41.	3/9/96	48	103	26.76	81.29	10.50
42.	10/9/96	7	207	26.96	77.71	8.47
43.	17/9/96	9	135	27.11	83.14	7.94
44.	24/9/96	9	221	27.13	83.86	1.49
45.	1/10/96	1	226	26.76	81.86	8.10
46.	8/10/96	8	80	26.80	81.00	14.41
47.	15/10/96	10	34	26.56	80.14	12.71
48.	22/10/96	26	109	26.69	77.14	4.69
49.	29/10/96	54	97	26.29	75.57	0
50.	5/11/96	13	235	26.01	80.71	0
51.	12/11/96	29	154	26.09	79.00	4.07
52.	19/11/96	72	118	24.79	76.29	0.06
53.	26/11/96	40	98	24.01	76.14	0
54.	3/12/96	32	40	24.36	75.00	0
55.	10/12/96	40	211	24.41	78.43	0
56.	17/12/96	51	260	23.03	74.00	0
57.	24/12/96	87	356	21.40	70.29	0
58.	31/12/96	201	269	20.24	66.43	0
59.	7/1/97	385	335	20.00	67.29	0
60.	14/1/97	526	260	20.41	67.43	0
61.	21/1/97	323	275	21.07	64.57	0
62.	28/1/97	368	93	21.10	61.14	0
63.	4/2/97	521	143	22.03	60.14	0
64.	11/2/97	390	184	21.16	52.71	0
65.	18/2/97	319	144	22.54	51.43	0
66.	25/2/97	314	91	23.39	52.00	0
67.	4/3/97	471	169	24.43	51.86	0
68.	11/3/97	388	150	26.17	52.57	0

Table 2 (continued).

Week	Collected date	*P. xylostella*	*S. litura*	Temp.	% RH	Rainfall
69.	18/3/97	542	135	26.87	48.57	0
70.	25/3/97	549	63	28.37	52.57	0
71.	1/4/97	160	41	27.26	60.71	0.96
72.	8/4/97	136	117	27.61	53.86	0.50
73.	15/4/97	131	114	27.06	56.00	0.44
74.	22/4/97	278	139	28.40	61.86	4.26
75.	29/4/97	330	365	25.69	70.86	6.76
76.	6/5/97	143	79	29.06	60.29	0.06
77.	13/5/97	163	45	31.06	59.80	0
78.	20/5/97	287	179	30.59	60.29	1.19
79.	27/5/97	44	98	28.37	72.00	6.74
80.	3/6/97	76	73	28.90	70.43	1.23
81.	10/6/97	73	30	29.33	66.29	0.53
82.	17/6/97	59	103	29.49	66.29	0.07
83.	24/6/97	77	80	28.73	70.43	3.30
84.	1/7/97	136	106	29.16	69.86	0.07
85.	8/7/97	125	38	28.53	69.71	0.11
86.	15/7/97	112	129	28.96	72.71	0.81
87.	22/7/97	80	123	28.36	75.86	6.24
88.	29/7/97	132	49	27.31	85.00	20.31
89.	5/8/97	146	74	27.39	83.86	7.00
90.	12/8/97	108	71	28.04	79.71	3.67
91.	19/8/97	9	215	27.41	81.43	2.56
92.	26/8/97	83	117	28.04	77.57	10.50
93.	2/9/97	41	121	26.77	86.00	9.33
94.	9/9/97	15	115	26.24	84.43	1.91
95.	15/9/97	22	126	27.74	74.86	0.16
96.	23/9/97	68	7	27.79	77.86	2.63
97.	30/9/97	26	56	26.09	84.14	14.27
98.	7/10/97	98	99	26.81	83.43	12.91
99.	14/10/97	45	61	26.66	80.57	3.53
100.	21/10/97	81	44	27.14	77.29	0
101.	28/10/97	58	34	27.76	74.00	4.99
102.	4/11/97	39	33	25.14	73.57	0.01
103.	11/11/97	25	193	22.87	80.00	0.13
104.	18/11/97	120	76	25.83	74.00	0.19
105.	25/11/97	153	115	26.26	76.00	1.66

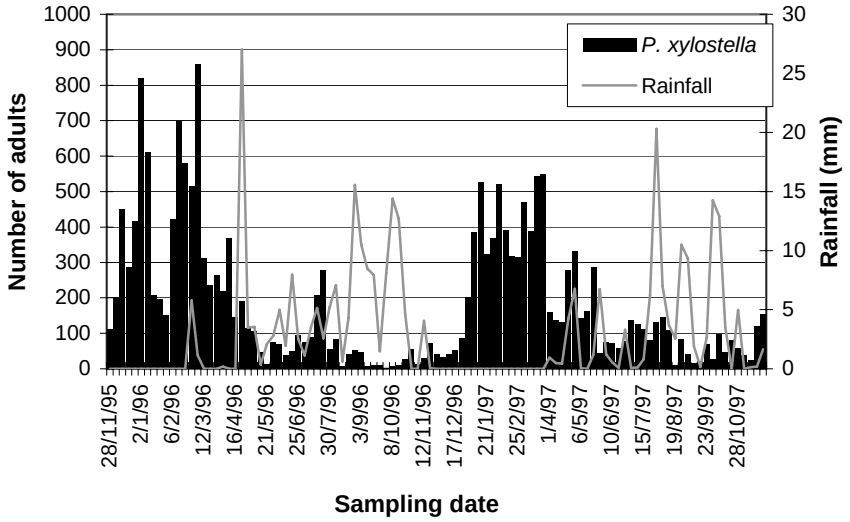


Figure 3 Number of *P. xylostella* adults collected from pheromone trap at weekly intervals in relation to rain precipitation, during 1995-1997, Sarapee, Chiang Mai.

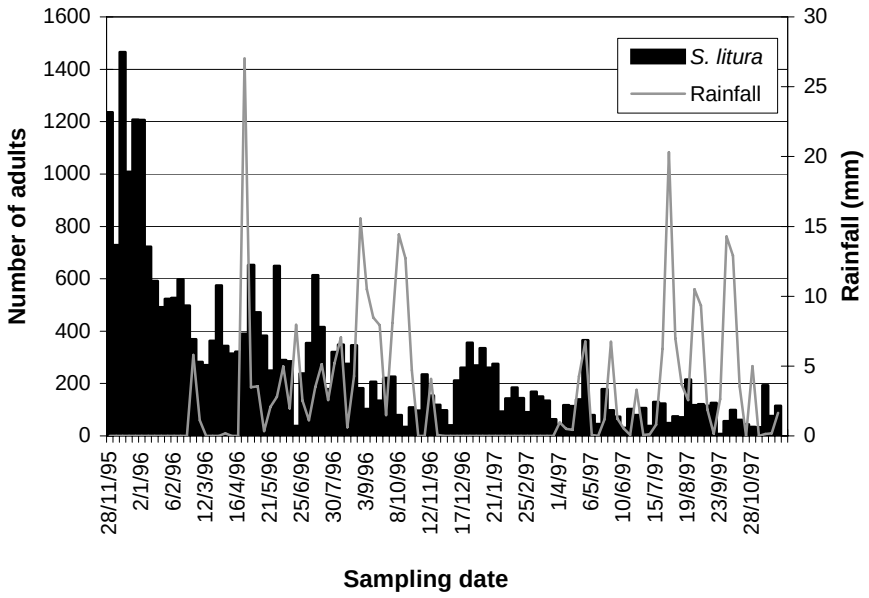


Figure 4 Number of *S. litura* adults collected from pheromone trap at weekly intervals in relation to rain precipitation, during 1995-1997, Sarapee, Chiang Mai.

The relationship of DBM and CW adult populations to the rain precipitation are graphically illustrated in Figures 3 and 4, respectively. Although the temperature, relative humidity, and the rainfall exhibited inconsistently correlated with the DBM and CW adult populations, the rain precipitation seemed to exert the negative correlation with the DBM adult population. This insect population remained low throughout the rainy seasons of both 1996 and 1997 growing seasons.

The DBM and CW synthetic sex pheromones provided significantly detection of the adult insect pest population dynamics in accordance with the meteorological factors, hence, the proper treatment procedures can be instituted to prevent the key pests from reaching the economic injury level. The application of sex pheromone-baited trap has been instrumental in increasing the effectiveness of both monitoring insect populations and in providing adequate information to enable implementation of cost effective control.

Research works on pheromonal control of DBM and other cruciform pests are currently very active in Japan. Nemoto *et al.* (1992) stated the insect pests which were resistant to insecticides could be controlled by pheromones. The pheromone reduced the frequency of insecticide applications to control DBM, though they could not control other pests. Pheromone and chitin synthesis inhibitors which are harmless to beneficial arthropods are regarded as main chemicals acceptable in management of cruciform pests. Ohbayashi *et al.* (1992) reported all synthetic sex pheromone has no insecticidal action; therefore, if the insect pest population increases during the application of sex pheromone, use of insecticides may be necessary. They also added that sex pheromone usage can reduce the need for insecticide application to less than a half. Ohno *et al.* (1992) concluded the total dose of the synthetic sex pheromone released from the dispenser (SSPD) is high in summer than in winter, hence, the efficacy of controlling DBM by the communication disruption method using SSPD is not affected by meteorological or topographical conditions. Wakamura and Takai (1992) discussed the evaluation techniques on the effects of sex pheromone treatment and the feasibility of using as a communication disruption agent for controlling the beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner). Recently, Howse *et al.* (1998) provided excellent detailed information on insect pheromones and their application in insect management. Little works on this subject area have been observed in Thailand; hence, additional researches in this interested field should be further evaluated in the future.

References

Howse, P., I. Stevens, and O. Jones. 1998. Insect Pheromones and Their Use in Pest Management. Chapman & Hall, London.

Kitamura, C., and M. Kobayashi. 1985. A comparison between communication disruption and mass trapping methods in mating suppression effect of a synthetic sex pheromone to Spodoptera litura F. (Lepidoptera: Noctuidae). Appl. Entomol. Zool. 20 : 222-224.

Nemoto, N., E. Yano, and K. Kiritani. 1992. Pheromonal control of diamondback moth in the management of crucifer pests. pp. 91-97. In: N.S. Talekar, (ed.), Proceedings of the Second International Workshop on Diamondback Moth and Other Crucifer Pests. AVRDC Publication No. 92-368. Asian Vegetable Research and Development Center, Shanhua, Taiwan.

Ohbayashi, N., K. Shimizu, and K. Nagata. 1992. Control of diamondback moth using synthetic sex pheromone. pp. 99-104. In: N.S. Talekar, (ed.), Proceedings of the Second International Workshop on Diamondback Moth and Other Cruciform Pests. AVRDC Publication No. 92-368. Asian Vegetable Research and Development Center, Shanhua, Taiwan.

Ohno, T., T. Asayama, and K. Ichikawa. 1992. Evaluation of communication disruption method using synthetic sex pheromone to suppress diamondback moth infestations. pp.109-114. In: N.S. Talekar, (ed.), Proceedings of the Second International Workshop on Diamondback Moth and Other Crucifer Pests. AVRDC Publication No. 92-368. Asian Vegetable Research and Development Center, Shanhua, Taiwan.

Rushtapakornchai, W. 1992. Insect pests of cruciferous vegetable and their management. pp.142-452. In: S. Ruay-aree, (ed.), Major Insect and Animal Pests of Economic Plants and Their Management. Technical Bulletin. Division of Entomology and Zoology, Department of Agriculture, Bangkok. (in Thai)

Rushtapakornchai, W., A. Vattanatangum, and T. Saito. 1992. Development and implementationof the yellow sticky traps for diamondback moth control in Thailand. pp.523-528. In: N.S. Talekar, (ed.), Proceedings of the Second International Workshop on Diamondback Moth and Other Crucifer Pests. AVRDC Publication No. 92-368. Asian Vegetable Research and Development Center, Shanhua. Taiwan.

Shelton, A.M., and J.T. Trumble. 1991. Monitoring insect population. pp.45-62. In: D. Pimentel, (ed.), CRC Handbook of Pest Management in Agriculture. 2nd ed. Vol. II. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida.

Tamaki, Y., K. Kawasaki, H. Yamada, K. Koshihara, N. Osaki, T. Ando, S. Yoshida, and H. Kakinohara. 1977. (Z)-11-hexadecenal and (Z)-11-hexadecenyl acetate: sex-pheromone components of the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). Appl. Entomol. Zool. 12: 208-210.

Wakamura, S., and M. Takai. 1992. Control the beet armyworm in open field with sex pheromone. pp.115-125. In: N.S. Talekar, (ed.), Proceedings

of the Second International Workshop on Diamondback Moth and Other Crucifer Pests. AVRDC Publication No. 92-368. Asian Vegetable Research and Development Center, Shanhua, Taiwan.

Wongsiri, N. 1991. List of Insect, Mite, and Other Zoological Pests of Economic Plants in Thailand. Technical Bulletin. Division of Entomology and Zoology, Department of Agriculture, Bangkok.

วารสารเกษตร 20 (2) : 133-141 (2547)

Journal of Agriculture 20 (2) : 133-141 (2004)

ผลของสารสกัดกวาวเครือขาวที่มีต่อการสืบพันธุ์ของแมลงวันบ้าน

Effects of White Kwao Khruea Extracts on the Reproduction of House Fly (*Musca domestica* L.)

ลักขณา ร่มเย็น[1/] ยุทธนา สมิตะสิริ[2/] ปรัชวาล สุกุมลนันทน์[1/] และ จิราพร ตยุติวุฒิกุล[1/]

Lakkhana Romyen[1/] Yuthana Smitasiri[2/] Prachval Sukumalanand[1/] and Jiraporn Tayutivutikul[1/]

Abstract : The effects of White Kwao Khruea (*Pueraria candollei* Grah. ex. Benth. var. *mirifica* (Airy Shaw et Suvatabandhu) Niyomdham) extracts on the reproduction of the house fly (*Musca domestica* L.) were investigated. The study was made by extracting dried powder from White Kwao Khruea tubers with 95% ethyl alcohol. The tests of White Kwao Khruea extracts on larvae and adult house flies were done by dipping and topical methods, respectively. The results showed that all concentrations of White Kwao Khruea extracts were not toxic to larvae and adults. White Kwao Khruea extract was fed at doses of 0.1, 1, 5, 10, 15 and 20% mixed with larvae food. The percentage of surviving larvae increased concurrently with White Kwao Khruea extracts concentration. Adult eclosion was 84.15 ± 3.36, 75.56 ± 1.62, 82.72 ± 6.90, 82.97 ± 4.34, 88.82 ± 2.54 and 89.98 ± 3.43%, respectively. Adult house flies were reared in mixed doses of White Kwao Khruea extracts and were examined for fecundity at a ratio of male and female 1 : 1. The results showed that the number of house fly eggs per female on the first day of laying egg was highest in 10% dose. Total number of eggs per female, the percentage of hatching eggs, the percentage of surviving larvae and the percentage of emerging adults were non-significant among experimental groups.

[1/] ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

[2/] สำนักวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง จ.เชียงราย 57100

[1/] Department of Entomology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand.

[2/] Faculty of Science, Mae Fah Luang University, Chiang Rai 57100, Thailand.

บทคัดย่อ: การศึกษาผลของสารสกัดกวาวเครือขาว (*Pueraria candollei* Grah. ex. Benth. var. *mirifica* (Airy Shaw et Suvatabandhu) Niyomdham) ที่มีต่อการสืบพันธุ์ของแมลงวันบ้าน (*Musca domestica* L.) โดยนำผงป่นแห้งจากหัวกวาวเครือขาวมาสกัดด้วยเอทธิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ นำสารสกัดที่ได้ไปทดสอบความเป็นพิษของสารต่อหนอนโดยวิธีจุ่มและตัวเต็มวัยแมลงวันบ้านโดยวิธีฉีดพ่น พบว่า สารสกัดกวาวเครือขาวในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ไม่เป็นพิษต่อหนอนและตัวเต็มวัย แมลงวันบ้าน แต่เมื่อนำสารสกัดกวาวเครือขาวที่ระดับ ความเข้มข้น 0.1, 1, 5, 10, 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ผสมในอาหารให้หนอนแมลงวันบ้านกิน พบว่า เปอร์เซ็นต์การรอดของหนอน แมลงวันบ้านเพิ่มมากขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัดกวาวเครือขาวที่ได้รับเพิ่มขึ้น ส่วนการออกเป็นตัวเต็มวัยของดักแด้ คือ 84.15 ± 3.36, 75.56 ± 1.62, 82.72 ± 6.90, 82.97 ± 4.34, 88.82 ± 2.54 และ 89.98 ± 3.43 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อนำตัวเต็มวัยแมลงวันบ้านจากหนอนที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมกับสารสกัดกวาวเครือขาวทุกระดับความเข้มข้นมาเลี้ยงในอัตราส่วนเพศผู้ต่อเพศเมีย1:1 พบว่า ในวันแรกของการวางไข่ของแมลงวันบ้านจากกลุ่มทดลองที่ 10 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนไข่ต่อตัวเมียมากที่สุด แต่จำนวนไข่ทั้งหมดต่อตัวเมีย เปอร์เซ็นต์การฟักของไข่ เปอร์เซ็นต์การรอดของหนอนและเปอร์เซ็นต์การออกเป็นตัวเต็มวัยของแมลงวันบ้านไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลอง

Index words: แมลงวันบ้าน กวาวเครือขาว
house fly, extract, reproduction, toxic, kwao khruea

คำนำ

กวาวขาว หรือ กวาวเครือขาว (*Pueraria candollei* Grah. ex. Benth. var. *mirifica* (Airy Shaw et Suvatabandhu) Niyomdham) เป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่งที่มีสรรพคุณเป็นยาอายุวัฒนะสำหรับผู้สูงอายุทั้งหญิงและชาย บำรุงกำลัง บำรุงสมอง กระตุ้นการขยายตัวของทรวงอก ฯลฯ (อนุสารสุนทร, 2474) โดยพบว่าส่วนหัวของกวาวเครือขาวมีสารที่ออกฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจน คือ miroestrol (Pope *et al*., 1958) ผลของกวาวเครือขาวป่นแห้งและสารสกัดของกวาวเครือขาวให้ผลเด่นชัดต่อระบบสืบพันธุ์ของสัตว์ทดลองทั้งเพศผู้และเพศเมีย คือผลในการคุมกำเนิด กวาวเครือขาวในปริมาณสูงมีผลทำให้อัณฑะ ต่อมลูกหมาก และ seminal vesicle ของหนูเพศผู้มีขนาดลดลง สำหรับในสัตว์เพศเมียนั้น พบว่า กวาวเครือขาวสามารถยับยั้งการวางไข่ของนกกระทา และการให้กวาวเครือขาวในปริมาณสูงยังชักนำให้หนูเกิดการแท้งได้ นอกจากนี้ฤทธิ์ของกวาวเครือขาวสามารถคุมกำเนิดหลังผสมในสัตว์ทดลอง เช่น หนูและสุนัขได้ ในส่วนของแมลงกวาวเครือขาวสามารถคุมกำเนิดยุงรำคาญ ยุงก้นปล่อง และแมลงหวี่ได้ (ยุทธนา, 2541)

การควบคุมแมลงวันบ้านโดยทั่วไปมี 2 วิธี คือ การป้องกันไม่ให้แมลงมาตอมอาหารและ น้ำดื่มของคนและสัตว์ อีกวิธีคือ การทำลายแมลงวันบ้านตัวเต็มวัยและแหล่งเพาะพันธุ์ วิธีการฆ่าแมลงตัวเต็มวัยที่ได้ผลมากที่สุดคือ การฉีดพ่นด้วยสารเคมีฆ่าแมลง แต่จะเกิดปัญหาแมลงสร้างความต้านทานและเกิดการตกค้างของสารเคมีในสิ่งแวดล้อม (Davidson and Lyon, 1987) จากคุณสมบัติของกวาวเครือขาวสามารถคุมกำเนิดสัตว์ทดลองรวมทั้งแมลงหลายชนิด จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาผลของการใช้สารสกัดกวาวเครือขาวต่อการสืบพันธุ์แมลงวันบ้าน

ในระยะต่าง ๆ ของการเจริญเติบโต ซึ่งจะเป็นแนวทางในการหาวิธีการกำจัดและควบคุมจำนวนประชากรของแมลงวันบ้านได้อย่างมีประสิทธิภาพ

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

นำหัวกวาวเครือขาว (ที่เก็บเมื่อเดือนธันวาคม พ. ศ. 2545 ใน อ. แม่สรวย จ. เชียงราย ที่ระดับความสูง420 เมตร จากระดับน้ำทะเล) มาปอกเปลือกแล้วหั่นเป็นแผ่น ๆ ตากแดดทิ้งไว้ให้แห้ง จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จนแห้งสนิท แล้วนำไปบดให้เป็นผงด้วยเครื่องบดสมุนไพร นำผงกวาวเครือขาวแช่ในสารละลายเอทธิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 7 วัน โดยเขย่าสารละลายด้วยเครื่องเขย่า (shaker) ในวันที่ 5-7 ของการแช่ จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปกรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 และนำมาระเหยให้แห้งด้วยเครื่องสกัดสารภายใต้แรงดันต่ำ (rotary evaporator) จะได้ส่วนสกัดหยาบ (crude extracts) นำส่วนสกัดหยาบไปทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดต่อหนอนโดยวิธีจุ่มและตัวเต็มวัยแมลงวันบ้านโดยวิธีฉีดพ่นที่ระดับความเข้มข้น 10, 100, 1,000, 10,000 และ 100,000 ppm บันทึกอาการและเปอร์เซ็นต์การตายที่ 6, 12, และ 24 ชั่วโมง หลังจากจุ่มและฉีดพ่น(จุ่มหนอนวัย 3 กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 50 ตัว ส่วนตัวเต็มวัยใช้ทั้งสองเพศ กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 50 ตัว เพศละ 25 ตัว) นอกจากนี้นำส่วนสกัดหยาบมาอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จะได้ของแข็งลักษณะเป็นเกล็ดสีน้ำตาล นำสารที่ได้ไปเตรียมความเข้มข้นที่ 0.1 , 1, 5, 10, 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำไปผสมกับอาหาร (รำข้าว แกลบ ตับหมูสด ในอัตราส่วน 2 : 1 : 1 โดยน้ำหนักที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที) ในปริมาตร 1/3 ของน้ำหนักอาหาร ใส่อาหารที่ผสมกับสารสกัดและ น้ำกลั่น (ชุดควบคุม) ลงในกล่องเลี้ยงแมลงและย้ายหนอนแมลงวันบ้านวัย 1 ที่เพิ่งฟักออกจากไข่ตามลงไป และนำมาเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 $\pm$ 0.5 องศาเซลเซียส บันทึกผลเปอร์เซ็นต์การรอดของหนอนและเปอร์เซ็นต์การออกเป็นตัวเต็มวัย เมื่อหนอนที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดเจริญเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัยนำตัวเต็มวัยแมลงวันบ้านที่เพิ่งฟักออกจากดักแด้มาแยกเพศผู้และเพศเมีย นำมาผสมพันธุ์กันในกรรมวิธีเดียวกันในอัตราส่วน เพศผู้ : เพศเมีย 1 : 1 (กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 4 คู่) ศึกษาผลที่เกิดขึ้นหลังจากแมลงวันบ้านผสมพันธุ์ ได้แก่ จำนวนไข่ต่อตัวเมีย 1 ตัว ในแต่ละช่วงเวลาของการวางไข่ จำนวนไข่ทั้งหมดต่อตัวเมีย 1 ตัว เปอร์เซ็นต์การฟักของไข่ที่วางในวันที่ 1, 15, 30 และ 45 ของการวางไข่ เปอร์เซ็นต์การรอดของหนอนที่เลี้ยงจากไข่ในวันที่ 1, 15, 30 และ 45 ของ การวางไข่ และเปอร์เซ็นต์การออกเป็นตัวเต็มวัยของดักแด้แมลงวันบ้านที่เลี้ยงจากวันที่ 1, 15, 30 และ 45 ของการวางไข่

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ความเป็นพิษของสารสกัดกวาวเครือขาวต่อตัวเต็มวัยแมลงวันบ้าน

ผลการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดกวาวเครือขาวต่อตัวเต็มวัยแมลงวันบ้าน หลังจากถูกฉีดพ่นฝอยละเอียด (spray) ของสารสกัดกวาวเครือขาวที่ระดับความเข้มข้น 10, 100, 1,000, 10,000 และ 100,000 ppm เป็นเวลา 6, 12 และ 24 ชั่วโมง ไม่พบอาการผิดปกติและการตายเกิดขึ้นกับตัวเต็มวัยแมลงวันบ้านในชุดควบคุมและที่ได้รับสารสกัดทุกระดับความเข้มข้น สิ่งนี้ชี้ให้เห็นว่า ฤทธิ์ของสารสกัดกวาวเครือขาวไม่เป็นพิษกับตัวเต็มวัยแมลงวัน

บ้านจึงไม่ทำให้แมลงวันเกิดอาการผิดปกติและเกิดการตายขึ้น อีกทั้งการสกัดสารใช้วิธีการหมัก (maceration) ซึ่งปริมาณของสารออกฤทธิ์ในสารสกัดอาจจะมีปริมาณน้อยหรือมีปริมาณไม่มากพอที่จะทำให้เกิดความเป็นพิษต่อตัวเต็มวัยแมลงวันบ้านได้ ทั้งนี้น่าจะมีการทดลองหาวิธีการสกัดสารจากหัวกวาวเครือขาวที่เหมาะสมต่อไป

2. ความเป็นพิษของสารสกัดกวาวเครือขาวต่อหนอนแมลงวันบ้าน

ผลการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดกวาวเครือขาวต่อหนอนแมลงวันบ้านวัย 3 หลังจากจุ่มในสารสกัดกวาวเครือขาวที่ระดับความเข้มข้น 10, 100, 1,000, 10,000, และ 100,000 ppm เป็นเวลา 6, 12 และ 24 ชั่วโมง ไม่พบการตายเกิดขึ้นกับหนอนแมลงวันบ้านทั้งในชุดควบคุมและที่ได้รับสารสกัดทุกระดับความเข้มข้น สิ่งนี้ชี้ให้เห็นว่าฤทธิ์ของสารสกัดกวาวเครือขาวไม่เป็นพิษกับหนอนแมลงวันบ้านวัย 3 จึงไม่ทำให้หนอนแมลงวันบ้านตาย แต่สารสกัดที่ใช้ในการทดลองนี้ได้จากวิธี การหมัก (maceration) ซึ่งปริมาณของสารออกฤทธิ์ในสารสกัดอาจจะมีปริมาณน้อยหรือมีปริมาณไม่มากพอที่จะทำให้เกิดความเป็นพิษต่อหนอนแมลงวันบ้านได้ ทั้งนี้น่าจะมีการทดลองหาวิธีการสกัดสารจากหัวกวาวเครือขาวที่เหมาะสมต่อไป

3. ความเข้มข้นของสารสกัดกวาวเครือขาวต่อการเจริญเติบโตของแมลงวันบ้าน

ผลการศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดกวาวเครือขาวต่อการเจริญเติบโตของแมลงวันบ้าน โดยการผสมสารสกัดกวาวเครือขาวที่ระดับความเข้มข้น 0.1, 1, 5, 10, 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารสำหรับเลี้ยงหนอนแมลงวันบ้าน โดยศึกษาผลเปอร์เซ็นต์การรอดของหนอนและเปอร์เซ็นต์การออกเป็นตัวเต็มวัย พบว่า เปอร์เซ็นต์การรอดของหนอนมีค่ามากขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัดกวาวเครือขาวที่ได้รับเพิ่มขึ้น คือ 38.00 $\pm$ 2.82, 42.00 $\pm$ 4.32, 51.50 $\pm$ 4.72, 55.00 $\pm$ 1.15, 66.00 $\pm$ 4.00 และ 71.50 $\pm$ 3.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และในชุดควบคุมมีเปอร์เซ็นต์การรอดของหนอนเพียง 37.50 $\pm$ 9.98 เปอร์เซ็นต์ (Table 1) ผลที่เกิดขึ้นอาจจะอธิบายได้ 2 กรณี กรณีแรกสารสกัดกวาวเครือขาวอาจจะออกฤทธิ์กระตุ้นการเจริญเติบโตของหนอนแมลงวันบ้าน โดยไปมีผลต่อ neurosecretory cell ในสมอง ต่อมลอกคราบ (prothoracic or ecdysial gland) และต่อม corpus allatum (Gullan and Cranston, 1994) มีผลให้มีการเจริญเติบโตของหนอนและมีการลอกคราบเข้าสู่ระยะดักแด้มีจำนวนเพิ่มขึ้น แต่ก็ยังไม่มีรายงานยืนยันผลดังกล่าว กรณีที่สองอาจจะเป็นเพราะสารประกอบในสารสกัดกวาวเครือขาวมีผลต่อการเจริญเติบโตของหนอนแมลงวันบ้าน แต่ก็ยังไม่มีรายงานว่าในสารสกัดกวาวเครือขาวมีสารประกอบอะไรบ้าง และมีปริมาณเท่าไร ซึ่งในขบวนการเจริญเติบโตแมลงต้องการไขมันเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต การลอกคราบ และการสร้างปีก นอกจากนี้ linoleic acid ซึ่งเป็นกรดไขมันชนิดหนึ่งช่วยทำให้แมลงลอกคราบและการเข้าดักแด้ มีบทบาทสำคัญต่อการสร้าง lipid phosphatides ถ้าขาดทำให้แมลงลอกคราบผิดปกติ (สมศรี, 2535) จากการวิเคราะห์สารประกอบในส่วนหัวของกวาวเครือขาวพบมีสารกลุ่ม steroid อยู่ด้วย (จีรเดช และคณะ, 2543) ดังนั้นสารสกัดกวาวเครือขาวที่ใช้ในการทดลองนี้ อาจจะมี linoleic acid หรือ sterol หรือ มีสารทั้งสองชนิด จึงทำให้หนอนมีการลอกคราบและมีจำนวนที่เข้าดักแด้มากขึ้น แต่ก็ยังไม่มีรายงานยืนยันผลของสารประกอบในสารสกัดกวาวเครือขาว

Table 1 The percentage of surviving larvae when mixed White Kwao Khruea extracts on larvae food.

Treatment	The percentage of surviving larvae (%)
Control	37.50 ± 9.98 c
White Kwao Khruea extracts 0.1 %	38.00 ± 2.82 c
White Kwao Khruea extracts 1 %	42.00 ± 4.32 c
White Kwao Khruea extracts 5 %	51.50 ± 4.72 b
White Kwao Khruea extracts 10 %	55.00 ± 1.15 b
White Kwao Khruea extracts 15 %	66.00 ± 4.00 a
White Kwao Khruea extracts 20 %	71.50 ± 3.00 a

Means followed by the same letter are not significantly different at P<0.05

ผลเปอร์เซ็นต์การออกเป็นตัวเต็มวัย พบว่า ดักแด้แมลงวันบ้านจากชุดควบคุม, ชุดทดลอง 20 และ 15 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์การออกเป็นตัวเต็มวัยมากที่สุด คือ 92.22 ± 6.85, 89.88 ± 3.43 และ 88.82 ± 2.54 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รองลงมาคือ ดักแด้แมลงวันบ้านจากชุดทดลอง 0.1, 10 และ 5 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์การออกเป็นตัวเต็มวัย คือ 84.15 ± 3.36, 82.97 ± 4.34 และ 82.72 ± 6.90 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนดักแด้แมลงวันบ้านจากชุดทดลอง 1 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์การออกเป็นตัวเต็มวัยน้อยที่สุด คือ 75.56 ± 1.62 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งชี้ให้เห็นว่า ฤทธิ์ของสารสกัดกวาวเครือขาวมีผลลดเปอร์เซ็นต์การออกเป็นตัวเต็มวัยของดักแด้แมลงวันบ้าน แต่ผลที่ได้ไม่ชัดเจนและไม่เป็นในแนวทางเดียวกัน ซึ่งฤทธิ์ของสารสกัดกวาวเครือขาวอาจจะมีผลยับยั้งระดับของ eclosion hormone ที่ ควบคุมการเจริญเติบโตจากดักแด้เป็นตัวเต็มวัย (Gullan and Cranston, 1994) แต่ผลยับยั้งไม่ชัดเจน และไม่มีรายงานยืนยันถึงผลของสารสกัดกวาวเครือขาวที่มีต่อฮอร์โมนดังกล่าว

4. ผลของสารสกัดกวาวเครือขาวต่อแมลงวันบ้านลูกผสมรุ่นที่ 1 (F1)

การเลี้ยงแมลงวันบ้านลูกผสมรุ่นที่ 1 (F1) ที่เกิดจากการผสมสารสกัดกวาวเครือขาวในอาหารสำหรับเลี้ยงหนอน ผลที่เกิดขึ้นหลังจากแมลงวันบ้านผสมพันธุ์ มีดังนี้

ผลจำนวนไข่ต่อตัวเมีย 1 ตัว ในแต่ละช่วงเวลาของการวางไข่ จากการศึกษา พบว่า ในวันที่ 1 ของการวางไข่ แมลงวันบ้านชุดทดลอง 10 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนไข่มากที่สุดคือ 33.37 ± 6.02 ฟอง รองลงมาคือ แมลงวันบ้านจากชุดทดลอง 0.1, 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดควบคุม ซึ่งมีจำนวนไข่ คือ 26.75 ± 0.00, 26.62 ± 0.71 และ 24.75 ± 0.00 ฟอง ตามลำดับ ส่วนแมลงวันบ้านจากชุดทดลอง 5, 20 และ 15 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนไข่ต่อตัวเมีย 1 ตัว น้อยที่สุดคือ 19 ± 0.00, 16.00 ± 0.00 และ 15.50 ± 0.00 ฟอง ตามลำดับ แต่ฤทธิ์ของสารสกัดกวาวเครือขาวไม่มีผลต่อจำนวนไข่ทั้งหมดต่อ ตัวเมีย 1 ตัว ดังนั้นผลจำนวนไข่ต่อตัวเมีย 1 ตัวที่แตกต่างกันใน

วันที่ 1 ของการวางไข่อาจจะมีสาเหตุมาจากปัจจัยอื่น

ผลจำนวนไข่ทั้งหมดต่อตัวเมีย 1 ตัว จากการนับจำนวนไข่ทั้งหมดต่อตัวเมีย 1 ตัวตลอดอายุขัย พบว่า จำนวนไข่ของแมลงวันบ้านชุดทดลองต่าง ๆ และชุดควบคุมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากผลทดลองชี้ให้เห็นว่า สารสกัดกวาวเครือขาวไม่มีผลต่อจำนวนไข่ทั้งหมดของแมลงวันบ้านลูกผสมรุ่นที่ 1 (F1) จึงมีการผลิตไข่ในจำนวนปกติ

ผลเปอร์เซ็นต์การฟักของไข่ที่วางในวันที่ 1, 15, 30 และ 45 ของการวางไข่ พบว่า ในวันที่ 1 ของการวางไข่ แมลงวันบ้านชุดทดลอง 20, 15 และ 10 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์การฟักของไข่มาก ที่สุด คือ 98.43 ± 0.00, 98.38 ± 0.00 และ 95.27 ± 1.20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รองลงมา คือ แมลงวันบ้านจากชุดทดลอง 5, 0.1, 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดควบคุม ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การฟักของไข่ คือ 67.11 ± 0.00, 64.48 ± 0.00, 63.36 ± 17.11 และ 63.28 ± 0.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในวันที่ 15 และ 30 ของการวางไข่ แมลงวันบ้านในชุดทดลองต่าง ๆ และชุดควบคุมมีเปอร์เซ็นต์การฟักของไข่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ในวันที่ 45 ของการวางไข่แมลงวันบ้านในชุดควบคุมกลับมีเปอร์เซ็นต์การฟักของไข่มากที่สุดคือ 93.63 ± 3.15 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ แมลงวันบ้านจากชุดทดลอง 0.1 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์การฟักของไข่ 87.51 ± 0.00 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ แมลงวันบ้านชุดทดลอง 15, 20 และ 1 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์การฟักของไข่ 82.30 ± 1.10, 82.26 ± 1.35 และ 81.39 ± 7.62 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนแมลงวันบ้านจากชุดทดลอง 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์การฟักของไข่น้อยที่สุด คือ 71.16 ± 1.29 และ 70.14 ± 1.49 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่เมื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์การฟักของไข่จากจำนวนไข่ทั้งหมดที่เก็บจากวันที่ 1, 15, 30 และ 45 รวมกัน พบว่า เปอร์เซ็นต์การฟักของไข่ในแมลงวันบ้านชุดทดลองต่าง ๆ ทุกชุด ไม่แตกต่างจาก ชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า สารสกัดกวาวเครือขาวไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การฟักของไข่ ทำให้เปอร์เซ็นต์การฟักไข่ของแมลงวันบ้านลูกผสมรุ่นที่ 1 (F1)ไม่ แตกต่างกัน

ผลเปอร์เซ็นต์การรอดของหนอนที่เลี้ยงจากไข่ในวันที่ 1, 15, 30 และ 45 ของการวางไข่ พบว่า ในวันที่ 1 ของการวางไข่ แมลงวันบ้านในชุดควบคุมมีเปอร์เซ็นต์การรอดของหนอนมากที่สุด คือ 85.03 ± 0.00 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ แมลงวันบ้านจากชุดทดลอง 1, 0.1 และ 5 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์การรอดของหนอนคือ 79.06 ± 0.00, 78.26 ± 0.00 และ 75.00 ± 0.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนแมลงวันบ้านชุดทดลอง 10, 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์การรอดของหนอนน้อยที่สุด คือ 70.68 ± 10.49, 70.45 ± 0.00 และ 70.02 ± 0.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่เมื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์การรอดของหนอนจากจำนวนหนอนทั้งหมดที่เลี้ยงจากใข่ในวันที่ 1, 15, 30 และ 45 ของการวางไข่รวมกัน พบว่า แมลงวันบ้านในชุดทดลองต่าง ๆ มีเปอร์เซ็นต์การรอดของหนอน ไม่ แตกต่างจากชุดควบคุม ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า สารสกัดกวาวเครือขาวไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ การรอดของหนอนแมลงวันบ้านที่เกิดจากแมลงวันบ้านลูกผสมรุ่นที่ 1 (F1)

ผลเปอร์เซ็นต์การออกเป็นตัวเต็มวัยของดักแด้แมลงวันบ้าน ที่เลี้ยงจากวันที่ 1, 15, 30 และ 45 ของการวางไข่ พบว่า เปอร์เซ็นต์การออกเป็นตัวเต็มวัยของดักแด้แมลงวันบ้านในชุดทดลอง ต่าง ๆ ทุกชุดไม่แตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ไม่ว่าจะเป็นวันที่ 1, 15, 30 และ 45 ของ

การวางไข่ และเมื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์การออกเป็นตัวเต็มวัยจากดักแด้ทั้งหมดที่เลี้ยงจาก วันที่ 1, 15, 30 และ 45 ของการวางไข่รวมกัน พบว่า แมลงวันบ้านในชุดทดลองต่าง ๆ ทุกชุดไม่แตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า สารสกัดกวาวเครือขาวไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การออกเป็นตัวเต็มวัยของดักแด้แมลงวันบ้านที่เกิดจากแมลงวันบ้านลูกผสมรุ่นที่ 1 (F1)

จากการผสมสารสกัดกวาวเครือขาวในอาหารและให้หนอนแมลงวันบ้านกินทำให้หนอนมีการเจริญเติบโตได้ดี มีเปอร์เซ็นต์การรอดเพิ่มขึ้น และสามารถฟักออกเป็นตัวเต็มวัยได้ มีการผลิตไข่ในจำนวนปกติ มีเปอร์เซ็นต์การฟักของไข่ เปอร์เซ็นต์การรอดของหนอนและเปอร์เซ็นต์การออกเป็นตัวเต็มวัยไม่แตกต่างกัน ซึ่งแตกต่างจากการทดลองในลูกน้ำยุงรำคาญที่ได้รับกวาวเครือขาวทำให้ การสร้างสเปิร์มที่อัณฑะลดลง การเจริญของรังไข่ผิดปกติเป็นเหตุให้ไข่ที่ออกมามีอัตราการฟักเป็นลูกน้ำต่ำมาก ไข่ส่วนใหญ่ไม่มีการเจริญของตัวอ่อนอยู่ภายใน (บัณฑูร, 2531) จะเห็นได้ว่าหนอนแมลงวันบ้านและลูกน้ำยุงรำคาญต่างก็ได้รับกวาวเครือขาวในระยะตัวอ่อน แต่ผลที่ได้แตกต่างกัน อาจจะเป็นเพราะสภาพแวดล้อมที่ได้รับสารแตกต่างกัน ลูกน้ำยุงรำคาญได้รับผงกวาวเครือขาวในน้ำ ซึ่งสารประกอบในกวาวเครือขาวอาจจะมีการออกฤทธิ์ได้ดีเมื่อผสมกับน้ำ แต่หนอนแมลงวันบ้านได้รับสารสกัดจากการผสมในอาหารซึ่งมีลักษณะเป็นผงการออกฤทธิ์อาจจะไม่ชัดเจน ทั้งนี้อาจจะเป็นเพราะสารประกอบในกวาวเครือขาวอาจจะออกฤทธิ์ได้แตกต่างกันเมื่ออยู่ในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน นอกจากนี้วิธีการให้กวาวเครือขาวแก่ลูกน้ำยุงรำคาญและหนอนแมลงวันบ้านก็แตกต่างกัน อาจส่งผลให้การทดลองที่ได้แตกต่างกัน แต่ถ้าผสมสารสกัดกวาวเครือขาวในอาหารหรือในน้ำแล้วให้แก่ตัวเต็มวัยแมลงวันบ้านอาจจะมีผลต่อระบบสืบพันธุ์ อาจจะทำให้การผลิตไข่ลดลงหรือไม่สามารถมีลูกได้ดังเช่นการทดลองในแมลงสาบ ทำให้รังไข่มีลักษณะผิดปกติ ตัวเต็มวัยด้วงหนอนนกมีช่วงเวลาในการผลิตไข่ลดลง และแมลงหวี่รุ่นลูกไม่สามารถสืบพันธุ์ให้ลูกหลานต่อไปได้ (จารุวรรณ, 2532; ชูชีพ และคณะ, 2534; อุทัยวรรณ, 2535) ทั้งนี้ผลการทดลองที่ได้อาจจะแตกต่างกันเพราะระยะเวลาที่สัตว์ทดลองได้รับกวาวเครือขาวแตกต่างกันและวิธีการให้กวาวเครือขาวก็แตกต่างกันด้วย เช่น การให้หัวกวาวเครือขาวสดแก่ตัวเต็มวัยด้วงหนอนนก แบบสารสกัดผสมในอาหารและในน้ำแก่ ตัวเต็มวัยแมลงสาบ แบบผงแก่ตัวเต็มวัยแมลงหวี่ และปัจจัยที่มีผลต่อการออกฤทธิ์คล้ายฮอร์โมน เอสโตรเจนของหัวกวาวเครือขาว ได้แก่ ฤดูกาล ขนาดของหัว แหล่งที่กวาวเครือขาวขึ้นอยู่และ สายพันธุ์ของกวาวเครือขาว (ยุทธนา, 2541) ก็จะทำให้ผลการทดลองที่ได้แตกต่างกันด้วย นอกจากนี้การออกฤทธิ์ของกวาวเครือขาวอาจจะขึ้นอยู่กับวิธีสกัดสาร เช่น ในแมลงสาบใช้วิธีการสกัดแบบ soxhlet ซึ่งวิธีสกัดสารแต่ละวิธีอาจจะมีปริมาณของสารออกฤทธิ์แตกต่างกัน ซึ่งน่าจะมีการทดลองหาวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการสกัดกวาวเครือขาวต่อไป

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดกวาวเครือขาวต่อหนอนโดยวิธีจุ่มและตัวเต็มวัยแมลงวันบ้านโดยวิธีฉีดพ่นที่ระดับความเข้มข้น 10, 100, 1,000, 10,000 และ100,000 ppm ไม่พบอาการผิดปกติและการตายเกิดขึ้นกับหนอนและตัวเต็มวัยแมลงวันบ้าน ดังนั้นสารสกัดกวาวเครือขาวที่ใช้ในการทดลองนี้ไม่มีพิษทางผิวหนังต่อหนอนและตัวเต็มวัยแมลงวันบ้าน และเมื่อผสมสารสกัด

กวาวเครือขาวที่ระดับความเข้มข้น 0.1, 1, 5, 10, 15, 20 เปอร์เซ็นต์ในอาหารให้หนอนแมลงวันบ้านกิน พบว่า มีผลต่อการรอดของหนอนแมลงวันบ้าน ทำให้หนอนแมลงวันบ้านมีเปอร์เซ็นต์การรอดมากขึ้น และมีผลต่อการออกเป็นตัวเต็มวัยแมลงวันบ้านทำให้เปอร์เซ็นต์การออกเป็นตัวเต็มวัยของชุดทดลองต่าง ๆ ต่ำกว่าชุดควบคุม แต่ผลที่ได้ไม่ชัดเจน นอกจากนี้สารสกัดกวาวเครือขาวไม่มีผลต่อแมลงวันบ้านลูกผสมรุ่นที่ 1 (F1) โดยไม่มีผลจำนวนไข่ต่อตัวเมีย 1 ตัวในแต่ละช่วงเวลาของการวางไข่ จำนวนไข่ทั้งหมดต่อตัวเมีย 1 ตัว เปอร์เซ็นต์การฟักของไข่ที่วางในวันที่ 1, 15, 30 และ45ของการวางไข่ เปอร์เซ็นต์การฟักของไข่ที่วางในวันที่1, 15, 30 และ45ของการวางไข่ เปอร์เซ็นต์การรอดของหนอนที่เลี้ยงจากไข่ในวันที่1, 15, 30 และ45 ของการวางไข่ และเปอร์เซ็นต์การออกเป็นตัวเต็มวัยของดักแด้แมลงวันบ้านที่เลี้ยงจากวันที่ 1, 15, 30 และ45ของการวางไข่

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยใคร่ขอขอบคุณ รศ. ดร. คม สุคนธสรรพ์ ภาควิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ที่ได้ให้คำแนะนำและเอื้อเฟื้ออุปกรณ์ในการทำงาน

เอกสารอ้างอิง

จารุวรรณ โตตระกูล. 2532. อิทธิพลของกวาวขาว *Pueraria mirifica* Airy Shaw and Suvatabandhu ต่อปริมาณการเติบโตและขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงของด้วงหนอนนก *Tenebrio obscurus*. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. ภาควิชาชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

จีรเดช มโนสร้อย, สุดา เสาวคนธ์ และอรัญญา มโนสร้อย. 2543. กวาวเครือ (Kwao Krua). หน้า 71-83. ใน: อรัญญา มโนสร้อย, (ผู้รวบรวม), สัมมนาวิชาการและเทคโนโลยีชีวภาพเภสัชกรรมครั้งที่ 2 เรื่อง การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเพื่อพัฒนาการแพทย์แผนไทย. 21-23 มิถุนายน 2543. โรงแรม ฮอลิเดย์การ์เดน, เชียงใหม่.

ชูชีพ คำเครือ, ชูเกียรติ บรรณทอง, อุดมลักษณ์ บุญเสริม, ถวัลย์ ตัณธีระพงศ์, วุฒิคุณ กรร่ำ, และยุทธนา สมิตะสิริ. 2534. การศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับผลของกวาวเครือขาวต่อการสืบพันธุ์ของแมลงหวี่เปรียบเทียบกับยาเม็ดคุมกำเนิด. การประชุมทางวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ครั้งที่ 17. มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

บัณฑูร พลอยสุวรรณ. 2531. ผลของกวาวขาว *Pueraria mirifica* Airy Shaw et Suvatabandhu ต่อ ยุง รำคาญ (*Culex pipen fatigans* Wiedemann). ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. ภาควิชาชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

ยุทธนา สมิตะสิริ. 2541. ภาพรวมงานวิจัยและพัฒนากวาวเครือขาวตั้งแต่อดีต (พ.ศ.2524) ถึงปัจจุบัน (พ.ศ.2541). เอกสารประชุมวิชาการเรื่องกวาวเครือ. สถาบันการแพทย์แผนไทย, กรมการแพทย์. กรุงเทพฯ.

สมศรี กันตรัตนากุล. 2535. สรีรวิทยาของแมลง. ภาควิชากีฏวิทยา, คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อนุสารสุนทร. 2474. ตำรายาหัวกวาวเครือขาว. โรงพิมพ์อุปะติพงศ์, เชียงใหม่.

อุทัยวรรณ ระดมสุข. 2535. ผลของสารสกัดกวาวเครือขาว (*Pueraria mirifica* Airy Shaw and Suvatabandhu) ต่อการสืบพันธุ์ของแมลงสาบอเมริกัน (*Periplaneta americana* Linn.). การค้นคว้าอิสระเชิงวิทยานิพนธ์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

Davidson, R. H., and W. F. Lyon. 1987. Insect pests of farm, garden and orchard. 8 th ed. John Wiley α Sons, Inc. U.S.A.

Gullan, P. J., and P. S. Cranston. 1994. The Insect an Outline of Entomology. Chapman α Hall, London.

Pope, G. S., H. M. Grundy, H. E. H. Jone, and S. A. A. Tait. 1958. The Oestrogenic Substance (Miroestrol) from the Tuberous Roots of *Pueraria mirifica* .J. Endocrine. 17: 15.

วารสารเกษตร 20 (2) : 142-151 (2547)

Journal of Agriculture 20 (2) : 142-151 (2004)

การจำแนกลำไยพันธุ์ดอโดยวิธีสัณฐานวิทยา

Identification of Longan var. Daw by Morphological Method

สลิลรัตน์ วิชัยพานิช[1/] และ เกศิณี ระมิงค์วงศ์[1/]

Salinrat Wichaipanich[1/] and Kesinee Ramingwong[1/]

Abstract : Identification was carried out on twenty Daw clones of longan (*Euphoria longana* Lam.) included Daw Yod Kao, Daw Yod Daeng, Daw Kan Kaeng, Daw Kan On, Daw Bai Yoke, Daw Kam Lang, Daw Hom, Daw Bai Hod, Daw Puang Tong, Daw Nam Pueng, Daw Luang, Daw Sukhum, Daw Soy, Daw Lum Nam Ping, Daw Don Chai, Daw Jae, Daw Ta Noi, Daw Nan Sao, Daw Ban Hong 60 and Daw Nong Chang Kuen from orchards plantation in Chiang Mai and Lamphun provinces as well as from field germplasm at the Royal Agriculture Research Centre, Chiang Mai. Morphological method was examined using characters of leaves, flowers and fruits of each cultivar. Then, keys to longan clones were constructed using characters of adaxial petiole colour, abaxial petiole colour, mature leaf colour, fruit shape, skin colour, aril colour and seed shape. At 95 percent similarity, cluster analysis of phylogenetics showed that twenty Daw clones were classified into 14 groups. One group consisted of three clones i.e. Daw Puang Tong, Daw Soy, Daw Don Chai. Four groups consisted of two clones i.e. (1) Daw Bai Hod and Daw Yod Daeng (2) Daw Kam Lang and Daw Ta Noi (3) Daw Jae and Daw Luang (4) Daw Kan Kaeng and Daw Kan On. Nine groups consisted of one clone i.e. Daw Yod Kao, Daw Nong Chang Kuen, Daw Bai Yoke, Daw Nan Sao, Daw Ban Hong 60, Daw Hom, Daw Sukhum, Daw Nam Pueng and Daw Lum Nam Ping.

[1/] ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

[1/] Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand.

บทคัดย่อ: ได้ทำการจำแนกลำไยพันธุ์ดอที่เก็บรวบรวมจากสวนลำไย ในจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน และจากแปลงรวบรวมพันธุ์ของศูนย์วิจัยเกษตรหลวง จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 20 สายพันธุ์ คือ ดอยอดขาว ดอยอดแดง ดอก้านแข็ง ดอก้านอ่อน ดอใบหยก ดอคำลาง ดอหอม ดอใบหด ดอพวงทอง ดอน้ำผึ้ง ดอหลวง ดอสุขุม ดอสร้อย ดอลุ่มน้ำปิง ดอดอนไชย ดอแจ้ ดอทาน้อย ดอหนานซาว ดอบ้านโฮ่ง 60 และดอหนองช้างคืน โดยวิธีสัณฐานวิทยา ด้วยการศึกษาลักษณะของโครงสร้างใบ ดอก และผล สามารถจัดทำรูปวิธานจำแนกแต่ละสายพันธุ์ออกจากกันได้ โดยลักษณะสีก้านใบด้านบน สีก้านใบด้านล่าง สีใบแก่ รูปร่างผล สีเปลือก สีเนื้อ และรูปร่างเมล็ด และการหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ระดับความคล้ายคลึงกันที่ 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่า สามารถจำแนกลำไยพันธุ์ดอ 20 สายพันธุ์ ได้เป็น 14 กลุ่ม โดยมีกลุ่มที่มี 3 สายพันธุ์ 1 กลุ่ม ได้แก่ ดอพวงทอง ดอสร้อย ดอดอนไชย กลุ่มที่มี 2 สายพันธุ์ 4 กลุ่ม ได้แก่ (1) ดอใบหดกับดอยอดแดง (2) ดอคำลางกับดอทาน้อย (3) ดอแจ้กับดอหลวง (4) ดอก้านแข็งกับดอก้านอ่อน กลุ่มที่มี 1 สายพันธุ์ มี 9 กลุ่ม ได้แก่ ดอยอดขาว ดอหนองช้างคืน ดอใบหยก ดอหนานซาว ดอบ้านโฮ่ง 60 ดอหอม ดอสุขุม ดอน้ำผึ้ง และดอลุ่มน้ำปิง

Index words: การจัดจำแนก สัณฐานวิทยา ลำไย

Identification, Morpholoy, Longan (*Euphoria longana* Lam.)

คำนำ

ลำไยเป็นไม้ผลเขตกึ่งร้อนและไม่ผลัดใบ อยู่ในตระกูล Sapindaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Euphoria longana* Lam. (เกศิณี, 2546) มีความสำคัญทางเศรษฐกิจอันดับหนึ่งของภาคเหนือ โดยเฉพาะอย่างยิ่งจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน แต่เนื่องจากลำไยเป็นพืชผสมข้าม โดยผสมข้ามดอกภายในต้นเดียวกันและการผสมข้ามต้น (พาวิน, 2543) รวมทั้งการนิยมขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด สาเหตุเหล่านี้ทำให้เกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรลำไย (Ramingwong and Chiewsilp, 1994) นอกจากนี้การปลูกในสภาพแวดล้อมไม่เหมือนกัน ทำให้ลักษณะที่แสดงออกบางอย่างแตกต่างกัน หรือการมีชื่อพ้องทำให้การเรียกชื่อพันธุ์สับสนเกิดความไม่มั่นใจในความถูกต้อง ทำให้เกิดปัญหาในการจำแนกหรือบ่งบอกชื่อสายพันธุ์ (สัมฤทธิ์, 2523) ซึ่งลำไยพันธุ์ดอเป็นพันธุ์หนึ่งที่มีหลายสายพันธุ์ ทำให้เกิดความสับสนในการเรียกชื่อ งานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไยพันธุ์ดอแต่ละสายพันธุ์เพื่อนำมาเปรียบเทียบสำหรับการจำแนกพันธุ์ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

เก็บรวบรวมลำไยสายพันธุ์ดอ 20 สายพันธุ์ จากสวนลำไยของเกษตรกรในจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน และจากแปลงรวบรวมพันธุ์ของศูนย์วิจัยเกษตรหลวง จังหวัดเชียงใหม่ นำตัวอย่างลำไยมาจำแนกด้วยวิธีสัณฐานวิทยา โดยเก็บตัวอย่างใบ ดอก และผลของลำไยแต่ละสายพันธุ์ สายพันธุ์ละ 5 ต้น จากแหล่งปลูก 5 แหล่ง ศึกษาลักษณะทางคุณภาพและปริมาณของตัวอย่างลำไยแต่ละสายพันธุ์ โดยทำการบันทึกข้อมูลตามวิธีการของ IBPGR Secretariat (1980) อ้างโดย Ramingwong and Chiewsilp (1994) และนำข้อมูลที่ได้มาทำตารางเปรียบเทียบลักษณะของแต่ละสายพันธุ์ และทำรูปวิธานจำแนกสายพันธุ์ลำไย จากนั้นวิเคราะห์กลุ่ม

พืช โดยนำลักษณะของสีใบแก่ รูปร่างใบ ปลายใบ โคนใบ สีดอก รูปร่างผล และรูปร่างเมล็ด มาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ตามวิธีการของ Sneath and Sokal (1973) วิเคราะห์ด้วยเครื่องคอมพิวเตอร์โปรแกรม SPSS release 6.0

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไยพันธุ์ดอ 20 สายพันธุ์ ได้ทำตารางเปรียบเทียบลักษณะทางปริมาณและคุณภาพ (ตารางที่ 1-4)

Table 1 Characters of petiole and mature leaf colour of twenty Daw clones.

character / clone	colour		
	adaxial petiole	abaxial petiole	mature leaf
1. Daw Yod Kao	brown	brownish green	dark green
2. Daw Yod Daeng	grayish brown	greenish brown	dark green
3. Daw Kan Kaeng	brown	greenish brown	dark green
4. Daw Kan On	brownish green	brownish green	dark green
5. Daw Bai Yoke	brown	greenish brown	green
6. Daw Kam Lang	brown	brownish green	green
7. Daw Hom	grayish brown	greenish brown	green
8. Daw Bai Hod	reddish brown	greenish brown	dark green
9. Daw Puang Tong	brown	greenish brown	green
10. Daw Nam Pueng	reddish brown	greenish brown	dark green
11. Daw Luang	grayish brown	brownish green	dark green
12. Daw Sukhum	grayish brown	greenish brown	dark green
13. Daw Soy	brownish red	greenish brown	dark green
14. Daw Lum Nam Ping	reddish brown	brown	green
15. Daw Don Chai	brown	brownish green	dark green
16. Daw Jae	grayish brown	brown	green
17. Daw Ta Noi	grayish brown	greenish brown	green
18. Daw Nan Sao	brown	greenish brown	green
19. Daw Ban Hong 60	brownish green	brownish green	pale green
20. Daw Nong Chang Kuen	grayish brown	greenish brown	dark green

พบว่า ในบางสายพันธุ์มีลักษณะที่แตกต่างจากสายพันธุ์อื่น เช่น ดอบ้านโฮ่ง 60 มีใบแก่สีเขียวอ่อน ดอสุขุมมีใบรูปรีค่อนข้างแคบ และเมล็ดรูปร่างกลมแป้นเบี้ยว ดอใบหยกมีใบรูปไข่ โคนใบมน และเมล็ดรูปร่างกลมเบี้ยว ดอหนานซาวมีใบรูปไข่ค่อนข้างกว้าง และมีเนื้อสีขาวใส ดอลุ่มน้ำปิงมีใบรูปใบหอก และเมล็ดรูปร่างเบี้ยว ดอคำลางมีดอกสีเหลือง ดอพวงทองมีเนื้อสีเหลืองทอง (ตารางที่ 1-3) ส่วนลักษณะทางปริมาณ พบว่า ดอดอนไชยมีใบย่อยขนาดใหญ่ที่สุด (5.47×19.03 ซม.) และดอสร้อยมีขนาดใบย่อยเล็กที่สุด (3.19×9.94 ซม.) ดอหนองช้างคืน และดอก้านอ่อน มีผลที่มีความหนาเนื้อมาก

Table 2 Characters of flower, skin and aril colour of twenty Daw clones.

character / clone	colour		
	flower	skin	aril
1. Daw Yod Kao	yellowish cream	yellow	yellowish white
2. Daw Yod Daeng	cream	greenish yellow	yellowish white
3. Daw Kan Kaeng	cream	greenish yellow	dull white
4. Daw Kan On	cream/ yellowish cream	greenish yellow	dull white
5. Daw Bai Yoke	cream	greenish yellow	creamy white
6. Daw Kam Lang	yellow	brownish yellow	creamy white
7. Daw Hom	cream	yellow	creamy white
8. Daw Bai Hod	cream	greenish yellow	creamy white
9. Daw Puang Tong	cream	brownish yellow	golden yellow
10. Daw Nam Pueng	yellowish cream	brownish yellow	yellowish white
11. Daw Luang	cream	yellow	creamy white
12. Daw Sukhum	cream	brownish yellow	creamy white
13. Daw Soy	cream	brownish yellow	dull white
14. Daw Lum Nam Ping	cream	yellow	creamy white
15. Daw Don Chai	yellowish cream	brownish yellow	yellowish white
16. Daw Jae	cream	brownish yellow	dull white
17. Daw Ta Noi	cream	brownish yellow	dull white
18. Daw Nan Sao	yellowish cream	yellow	clear white
19. Daw Ban Hong 60	cream	yellow	creamy white
20. Daw Nong Chang Kuen	yellowish cream	greenish yellow	yellowish white

ที่สุด (0.66 ซม.) ซึ่งใกล้เคียงกับดอยอดขาว ดอพวงทอง ดอน้ำผึ้ง ดอบ้านโฮ่ง 60 ส่วนดอบ้านโฮ่ง 60 มีน้ำหนักผลมากที่สุด (16.13 ก.) และปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำได้มากที่สุด (23.11 เปอร์เซ็นต์บริกซ์) และสามารถใช้ลักษณะสีก้านใบด้านบน สีก้านใบด้านล่าง สีใบแก่ รูปร่างผล สีเปลือก สีเนื้อ และรูปร่างเมล็ด จัดทำรูปวิธานจำแนกสายพันธุ์ออกจากกันได้ (ภาพที่ 1)

ลักษณะสัณฐานวิทยาของลำไยพันธุ์ดอ 20 สายพันธุ์ พบว่า ลักษณะสีก้านใบด้านบนที่พบมี สีน้ำตาล สีน้ำตาลปนเทา สีเขียวปนน้ำตาล สีน้ำตาลปนแดง และสีแดงปนน้ำตาล สีก้านใบด้านล่าง เป็นสีน้ำตาลปนเขียว สีเขียวปนน้ำตาล และสีน้ำตาล ส่วนสีใบแก่ เป็นสีเขียวอ่อน สีเขียว และสีเขียวเข้ม (ตารางที่ 1)

Table 3 Characters of mature leaf, leaf apex, leaf base, fruit and seed shape of twenty Daw clones.

character / clone	shape				
	mature leaf	leaf apex	leaf base	fruit	seed
1.Daw Yod Kao	elliptic-oblong	acuminate	cuneate	globose-oblique	globose
2. Daw Yod Daeng	elliptic-oblong	acute	cuneate	globose-oblique	oblate
3. Daw Kan Kaeng	elliptic	acute	cuneate	globose-oblique	globose
4. Daw Kan On	elliptic	acuminate	cuneate	globose-oblique	oblate
5. Daw Bai Yoke	ovate	obtuse	obtuse	globose-oblique	globose-oblique
6. Daw Kam Lang	elliptic-oblong	acuminate	cuneate	oblate	oblate
7. Daw Hom	elliptic	acuminate	cuneate	oblate	oblate
8. Daw Bai Hod	elliptic-oblong	obtuse	oblique	globose-oblique	oblate
9. Daw Puang Tong	elliptic	cuspidate	cuneate	globose	oblate
10. Daw Nam Pueng	elliptic	obtuse	oblique	globose	globose
11. Daw Luang	broadly elliptic	cuspidate	oblique	globose-oblique	oblate
12. Daw Sukhum	narrow elliptic	acuminate	cuneate	globose-oblique	oblate-oblique
13. Daw Soy	elliptic	cuspidate	oblique	globose	oblate
14. Daw Lum Nam Ping	lanceolate	acute	oblique	globose-oblique	oblique
15. Daw Don Chai	elliptic	cuspidate	cuneate	globose	oblate
16. Daw Jae	broadly elliptic	cuspidate	oblique	oblate	oblate
17. Daw Ta Noi	elliptic-oblong	acuminate	cuneate	oblate	globose
18. Daw Nan Sao	broadly elliptic	cuspidate	oblique	globose-oblique	oblate
19. Daw Ban Hong 60	broadly elliptic	obtuse	oblique	oblate-oblique	oblate
20. Daw Nong Chang Kuen	elliptic-oblong	acuminate	cuneate	oblate-oblique	oblate

สีดอกที่พบ ได้แก่ สีครีมปนเหลือง สีครีม และสีเหลือง สีเปลือกที่พบ ได้แก่ สีเหลือง สีเหลืองปนเขียว และสีเหลืองปนน้ำตาล ส่วนสีเนื้อที่พบ ได้แก่ สีขาวปนเหลือง สีขาวขุ่น สีขาวใส สีขาวครีม และสีเหลืองทอง (ตารางที่ 2)

รูปร่างใบที่พบ ได้แก่ รูปรี รูปรีค่อนข้างแคบ รูปรีค่อนข้างกว้าง รูปรีขอบขนาน รูปไข่ รูปไข่ค่อนข้างกว้าง และรูปใบหอก ปลายใบ มีปลายใบเรียวแหลม แหลม มน และเป็นติ่งแหลม โคนใบ รูปลิ่ม เฉียง และมน รูปร่างผลที่พบ ได้แก่ กลม กลมเบี้ยว กลมแป้น และกลมแป้นเบี้ยว ส่วนรูปร่างเมล็ดที่พบ ได้แก่ กลม กลมแป้น กลมเบี้ยว และกลมแป้นเบี้ยว (ตารางที่ 3)

Table 4 Characters of leaflet and fruit of twenty Daw clones.

character / clone	leaflet		fruit		
	width (cm.)	length (cm)	fruit weight (g)	aril thickness (cm.)	TSS (% brix)
1.Daw Yod Kao	4.50 cd	15.87 cd	13.31 cde	0.60 ab	20.41 defg
2. Daw Yod Daeng	4.58 bcd	16.08 bc	11.44 gh	0.39 g	21.06 cd
3.Daw Kan Kaeng	4.66 bcd	15.50 cd	12.62 cdefg	0.42 fg	20.97 cd
4. Daw Kan On	4.83 bcd	16.46 bc	12.52 cdefg	0.66 a	19.00 h
5. Daw Bai Yoke	4.86 bcd	13.78 ef	14.65 b	0.49 cdef	17.90 i
6. Daw Kam Lang	4.97 bc	15.95 cd	13.46 bcd	0.46 efg	17.94 i
7. Daw Hom	4.87 bcd	13.11 efg	9.47 j	0.41 fg	19.77 efgh
8. Daw Bai Hod	3.52 e	10.97 hi	12.12 defgh	0.45 efg	19.46 fgh
9. Daw Puang Tong	4.65 bcd	16.40 bc	12.06 efgh	0.60 ab	20.86 cde
10. Daw Nam Pueng	5.01 bc	15.58 cd	11.50 gh	0.59 abc	22.80 ab
11. Daw Luang	4.01 de	12.60 efgh	12.34 cdefg	0.56 bcd	20.45 defg
12. Daw Sukhum	4.60 bcd	16.17 bc	10.78 hi	0.41 fg	20.50 def
13. Daw Soy	3.19 e	9.94 i	11.75 fgh	0.41 fg	20.26 defg
14. Daw Lum Nam Ping	3.45 e	12.27 fgh	9.97 ij	0.54 bcde	17.47 i
15. Daw Don Chai	5.47 ab	19.03 a	13.31 cde	0.53 bcde	22.69 ab
16. Daw Jae	3.27 e	11.75 gh	12.69 cdefg	0.48 defg	19.94 defgh
17. Daw Ta Noi	4.43 cd	14.28 de	13.02 cdef	0.43 fg	20.52 def
18. Daw Nan Sao	5.86 a	16.94 bc	13.62 bc	0.48 defg	19.29 gh
19. Daw Ban Hong 60	5.10 abc	16.54 bc	16.13 a	0.58 abcd	23.11 a
20. Daw Nong Chang Kuen	5.02 bc	17.77 ab	13.13 cdef	0.66 a	21.91 bc

* Indicated significant at 95 per cent level, alphabets in each column show the difference.

เมื่อเปรียบเทียบลักษณะขนาดของใบย่อย พบว่า ดอดอนไชย มีใบย่อยขนาดใหญ่ที่สุด และดอสร้อยมีขนาดใบย่อยเล็กที่สุด ส่วนผล พบว่า ดอหนองช้างคืน และดอก้านอ่อน มีความหนาเนื้อมากที่สุด ซึ่งใกล้เคียงกับ ดอยอดขาว ดอพวงทอง ดอน้ำผึ้ง ดอบ้านโฮ่ง 60 ส่วนดอบ้านโฮ่ง 60 มีน้ำหนัก และปริมาณของแข็งที่ละลาย ในน้ำได้มากที่สุด (ตารางที่ 4)

ทำการวิเคราะห์กลุ่มพืชเพื่อหาความแตกต่าง และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ระดับ 95 เปอร์เซ็นต์ของลำไย 20 สายพันธุ์ โดยใช้ลักษณะของสีใบแก่ รูปร่างใบ ปลายใบ โคนใบ สีดอก รูปร่างผลและเมล็ด พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มได้จำนวน 14 กลุ่ม กลุ่มที่มี 3 สายพันธุ์มี 1 กลุ่มคือ ดอพวงทอง ดอสร้อย ดอดอนไชย โดยมีลักษณะที่เหมือนกันดังนี้ ใบรูปรี ปลายใบเป็นติ่งแหลม ผลรูปร่างกลม เมล็ดรูปร่างกลมแป้น กลุ่มที่ 2 มี 4 กลุ่ม คือ ก. ดอใบหดและดอยอดแดง โดยมีลักษณะที่เหมือนกันดังนี้ ใบแก่สีเขียวเข้ม รูปรีขอบขนาน ดอกสีครีม ผลรูปร่างกลมเบี้ยว เมล็ดรูปร่างกลมแป้น ข. ดอคำลางและดอทาน้อย โดยมีลักษณะที่เหมือนกัน ดังนี้ ใบแก่สีเขียว รูปรีขอบขนาน ปลายใบเรียวแหลม โคนใบรูปลิ่ม ผลรูปร่างกลมแป้น และ ค. ดอแจ้และดอหลวง โดยมีลักษณะที่เหมือนกัน ดังนี้ ใบรูปรีค่อนข้างกว้าง ปลายใบเป็นติ่งแหลม โคนใบเฉียง ดอกสีครีม เมล็ด รูปร่างกลมแป้น และ ง. ดอก้านแข็ง และดอก้านอ่อน โดยมีลักษณะที่เหมือนกันดังนี้ ใบแก่สีเขียวเข้ม รูปรี โคนใบรูปลิ่ม ผลรูปร่างกลมเบี้ยว กลุ่มที่มี 1 สายพันธุ์ มี 9 กลุ่ม ได้แก่ ดอยอดขาว ดอหนองช้างคืน ดอใบหยก ดอหนานซาว ดอบ้านโฮ่ง 60 ดอหอม ดอสุขุม ดอน้ำผึ้ง และดอลุ่มน้ำปิง (ภาพที่ 2)

ลักษณะที่แตกต่างกันนี้อาจเนื่องมาจาก คุณลักษณะของพันธุกรรม (genetic characteristics) ในพืชแต่ละสายพันธุ์นั้นแตกต่างกัน มีผลทำให้ลักษณะที่แสดงออกทางด้านสัณฐานของพืชแตกต่างกัน ถึงแม้พืชในชนิดเดียวกัน ถ้าหากตำแหน่งของยีน (gene locus) ที่คุมลักษณะนั้นๆ แตกต่างกันก็จะมีลักษณะบางลักษณะแตกต่างกัน เช่นพืชในชนิดเดียวกัน แต่มีลักษณะใบเป็นทรงกลมหรือทรงรีเป็นต้น พันธุกรรมยังเป็นตัวกำหนดปริมาณและอัตราการเจริญเติบโตของพืชแต่ละต้น รวมทั้งคุมลักษณะรูปร่างด้วย นอกจากนี้การเจริญเติบโตของพืชยังถูกควบคุมด้วยปัจจัยหลายประการทั้งปัจจัยภายนอกและปัจจัยภายใน ปัจจัยภายนอกโดยเฉพาะสภาพแวดล้อมมีผลต่อการแสดงออกทางพันธุกรรม และมีผลต่อสภาพการทำงานภายใน โดยเฉพาะระบบฮอร์โมน สิ่งแวดล้อมหลักที่สำคัญ คือ สภาพฟ้าอากาศ ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้น ซึ่งอุณหภูมิเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการควบคุมกระบวนการเมตาบอลิซึมและปฏิกิริยาเคมีภายในเซลล์พืช ส่งผลลัพธ์ออกมาเป็นการเจริญเติบโตของพืชทั้งต้น นอกจากนี้ปริมาณน้ำ ความยาววัน แร่ธาตุอาหารในดิน เป็นสภาพแวดล้อมสำคัญที่มีผลต่อสรีรวิทยาของพืช (จินดา, 2524 ; เทียมใจ, 2541) นอกจากนี้แสงยังมีอิทธิพลต่อการขยายขนาดของใบ ใบพืชที่ได้รับความเข้มแสงสูงใบจะมีขนาดเล็กและหนากว่าใบพืชที่ได้รับความเข้มแสงน้อย (นิตย์, 2541)

1 Adaxial petiole brown, brownish green or brownish red.

2 Abaxial petiole greenish brown.

3 Mature leaf dark green.

4 Fruit globose-oblique ; skin greenish yellow. ……... Daw Kan Kaeng

4' Fruit globose ; skin brownish yellow. ……... Daw Soy

3' Matre leaf green.

4 Fruit globose-oblique.

5 Skin yellow ; aril clear white. ……... Daw Nan Sao

5' Skin greenish yellow ; aril creamy whit…… Daw Bai Yoke

4' Fruit globose. ……. Daw Puang Tong

2' Abaxial petiole brownish green.

3 Mature leaf dark green.

4 Fruir globose-oblique.

5 Skin yellow ; aril yellowish white. …… Daw Yod Kao

5' Skin greenish yellow ; aril dull white. …….. Daw Kan On

4' Fruit globose. …… Daw Don Chai

3' Mature leaf green or pale green.

4 Fruit oblate ; skin brownish yellow. ….. ……. Daw Kam Lang

4' Fruit oblate-oblique ; skin yellow. ……. Daw Ban Hong 60

1'Adaxial petiole reddish brown or grayish brown.

2 Abaxial petiole brown or greenish brown.

3 Mature leaf dark green.

4 Fruit globose-oblique.

5 Skin greenish yellow.

6 Aril yellowish white. ……. Daw Yod Daeng

6' Aril creamy white. ……. Daw Bai Hod

5' Skin brownish yellow. ……. Daw Sukhum

4' Fruit globose or oblate-oblique.

5 Skin brownish yellow. ….. ……... Daw Nam Pueng

5' Skin greenish yellow. …… Daw Nong Chang Kuen

3' Mature leaf green.

4 Fruit oblate.

5 Skin brownish yellow ; aril dull white.

6 Seed globose. …….. Daw Ta Noi

6' Seed oblate. ……. Daw Jae

5' Skin yellow ; aril creamy white. …….. Daw Hom

4' Fruit globose-oblique. ……..…… Daw Lum Nam Ping

2' Abaxial petiole brownish green. ….. …….. Daw Luang

Figure 1 Keys to twenty Daw clones.

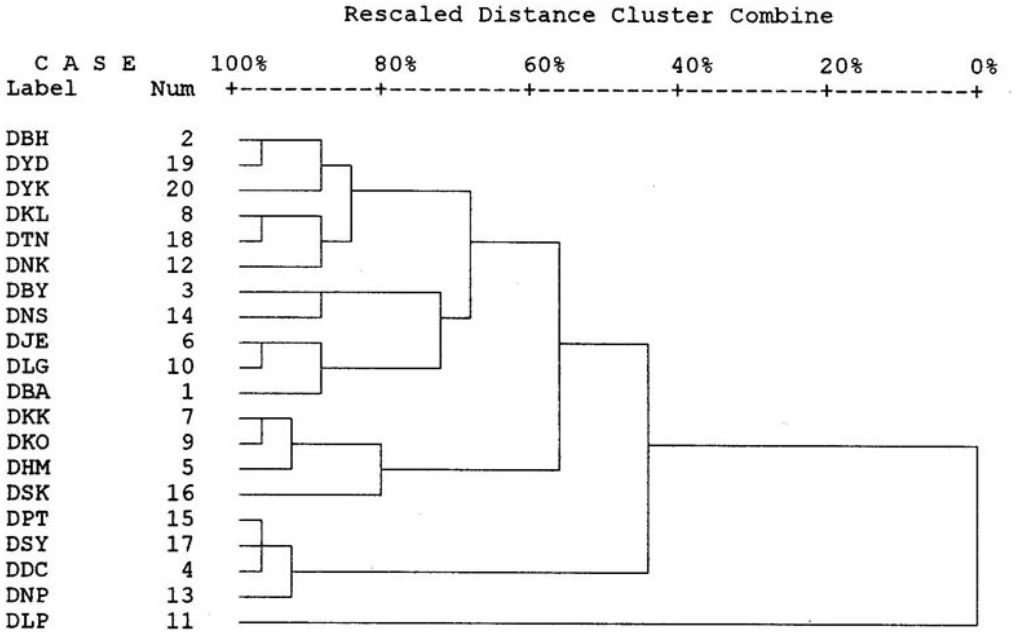


Figure 2 Genetic relationships of twenty Daw clones by morphology.

ในการจัดทำรูปวิธาน เพื่อจำแนกสายพันธุ์ลำไยนี้ ใช้ลักษณะคุณภาพของใบและผล ซึ่งการใช้ลักษณะโครงสร้างหลายส่วนในการทำรูปวิธาน จะทำให้เกิดความแม่นยำมากขึ้น ดังเช่น Ramingwong and Chiewsilp (1994) จัดทำรูปวิธานของลำไย 2 แบบ โดยเน้นลักษณะใบหรือลักษณะผลเป็นหลัก

การจำแนกพันธุ์พืชโดยการศึกษาสัณฐานวิทยานั้น ทำได้ง่าย สะดวก และสามารถทำได้ทันที ไม่ต้องใช้เทคโนโลยีที่ทันสมัยมากนัก ตลอดจนลงทุนน้อยก็สามารถจำแนกพันธุ์พืชออกจากกันได้ อย่างไรก็ตาม ก็ยังมี ข้อเสีย คือ ให้ความแม่นยำน้อยในบางพันธุ์ที่มีลักษณะใกล้เคียงกันมากๆ ต้องใช้ผู้ที่มีความชำนาญพิเศษ จึงจะสามารถแยกความแตกต่างของพันธุ์พืชได้ และยังต้องใช้เวลานานในการเก็บรายละเอียดส่วนต่างๆ ของพืช โดยเฉพาะในพืชยืนต้นที่มีการออกดอกติดผลปีละครั้ง

สรุปผลการทดลอง

โดยวิธีสัณฐานวิทยา สามารถใช้ลักษณะสีก้านใบด้านบน สีก้านใบด้านล่าง สีใบแก่ รูปร่างผล สีเปลือก สีเนื้อ และรูปร่างเมล็ด ทำรูปวิธานจำแนกสายพันธุ์ออกจากกันได้ และการวิเคราะห์กลุ่มพืชที่ระดับความคล้ายคลึงกันที่ 95 เปอร์เซ็นต์ สามารถแบ่งลำไยพันธุ์ดอ 20 สายพันธุ์ ได้เป็น 14 กลุ่ม

เอกสารอ้างอิง

เกศิณี ระมิงค์วงศ์. 2546. การจัดจำแนกไม้ผล. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 417 น.

จินดา ศรศรีวิชัย. 2524. สรีรวิทยาพืช ภาคการเจริญเติบโตและการควบคุม. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 280 น.

เทียมใจ คมกฤส. 2541. กายวิภาคของพฤกษ์. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 308 น.

นิตย์ ศกุนรักษ์. 2541. สรีรวิทยาของพืช. ภาควิชาพืชไร่ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่. 237 น.

พาวิน มะโนชัย. 2543. ลำไย. สาขาไม้ผล ภาควิชาพืชสวน คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่. 115 น.

สัมฤทธิ์ เฟื่องจันทร์. 2523. หลักไม้ผล. ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น. 122 น.

IBPGR Secretariat. 1980. Tropical Fruit Descriptors. International Board for Genetic Resources, Rome. 11 p.

Ramingwong, K. and K. Chiewsilp. 1994. Genetic Resources of Longan in Northern Thailand. Final report submitted to Chiang Mai University, Chiang Mai. 76 p.

Sneath, P.H.A. and R.R. Sokal. 1973. Principles of Numerical Taxonomy. Freeman, San Francisco. 573 p.

วารสารเกษตร 20 (2) : 152-158 (2547)

Journal of Agriculture 20 (2) : 152-158 (2004)

การจำแนกกล้วยไม้ไทยสกุลหวายโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี

Identification of Thai *Dendrobium* Orchid Species by RAPD Technique

ศิริลักษณ์ อินทะวงศ์[1/] วีณัน บัณฑิตย์[1/] และ ณัฐา ควรประเสริฐ[1/]

Sirilak Inthawong[1/] Weenun Bundithya[1/] and Nuttha Kuanprasert[1/]

Abstract : DNA of twelve Thai *Dendrobium* orchid species from three sections, Section *Callista*; *Den. chrysotoxum* (D026) and *Den. lindleyi* (D122), Section *Dendrobium*; *Den. crystallinum* (D044), *Den. findlayanum* (D030), *Den. nobile* (D031), *Den. parishii* (D040) and *Den. unicum* (D015) and Section *Formosae*; *Den. cruentum* (D121), *Den. draconis* (D022), *Den. formosum* (D074), *Den. infundibulum* (D034) and *Den. scabrilingue* (D012), were identified using RAPD with 10-nucleotide primers, OPAK04 and OPD01-09. Primer OPD03 showed polymorphic banding pattern of all twelve *Dendrobium* species. However, dendrogram from cluster analysis could not divide these *Dendrobium* into three sections. DNA fingerprint pattern were derived from random primer OPAK04 were able to distinguish of D034 and D044 from other species.

บทคัดย่อ: ดีเอ็นเอของกล้วยไม้ไทยสกุลหวายจำนวน 12 ชนิด จาก 3 หมู่ (sections) คือ หมู่ *Callista*; *Den. chrysotoxum* (D026) and *Den. lindleyi* (D122), หมู่ *Dendrobium*; *Den. crystallinum* (D044), *Den. findlayanum* (D030), *Den. nobile* (D031), *Den. parishii* (D040) และ *Den. unicum* (D015) และ หมู่ *Formosae*; *Den. cruentum* (D121), *Den. draconis* (D022), *Den. formosum* (D074), *Den. infundibulum* (D034) และ *Den. scabrilingue* (D012) ไปเพิ่มปริมาณในปฏิกิริยาพีซีอาร์ โดยใช้ไพรเมอร์ขนาด 10 นิวคลิโอไทด์ คือ OPAK04 และ OPD01-09 พบว่า มีไพรเมอร์ OPD03 เท่านั้นที่สามารถสังเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่แสดงความแตกต่างกันในกล้วยไม้ทั้ง 12 ชนิดได้ แต่เมื่อนำข้อมูลการปรากฏแถบดีเอ็นเอมาวิเคราะห์เพื่อหาความสัมพันธ์ด้วยวิธี cluster analysis พบว่า ไม่สามารถจัดกลุ่มกล้วยไม้ออกตามหมู่ได้ ส่วนไพรเมอร์ OPAK04 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของ D034 และ D044 แตกต่างออกไปจากกล้วยไม้ชนิดอื่น

[1/] ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200

[1/] Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand.

Index words: กล้วยไม้สกุลหวาย เทคนิคอาร์เอพีดี พีซีอาร์ อิเล็คโตรโฟรีซีส
Dendrobium, RAPD technique, PCR, electrophoresis

คำนำ

กล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium*) เป็นกล้วยไม้สกุลใหญ่ที่จัดอยู่ในวงศ์ Orchidaceae มีมากกว่า 1,000 ชนิด นักพฤกษศาสตร์จึงได้จำแนกกล้วยไม้สกุลหวายออกเป็นหมู่ (section) ได้อีก 41 หมู่ (Baker *et al*., 1996) ซึ่งในประเทศไทยพบกล้วยไม้สกุลนี้ตามธรรมชาติมากกว่า 150 ชนิด ส่วนใหญ่จัดอยู่ในหมู่ *Callista*, *Dendrobium* และ *Formosae* โดยทุกชนิดเป็นกล้วยไม้อิงอาศัย มีการเจริญเติบโตแบบซิมโพเดียลหรือเจริญทางด้านข้าง และมีความแตกต่างกันทั้งในด้านรูปร่างลักษณะของทรงต้น ลำลูก กล้วย ใบ ดอก ตลอดจนสีของดอก (อบฉันท์, 2543)

เนื่องจากกล้วยไม้ไทยสกุลหวายที่พบในปัจจุบันมีความหลากหลายในลักษณะทางสัณฐานวิทยาทั้งระหว่างหมู่และภายในหมู่เดียวกัน เทคนิค RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA) ซึ่งเป็นเทคนิคที่ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในระดับดีเอ็นเอของสิ่งมีชีวิตจากลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ปรากฏ (นพพร, 2543) จึงถูกนำมาใช้เพื่อหาเครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker) ที่แสดงถึงความแตกต่างทางพันธุกรรม และแสดงระดับความสัมพันธ์หรือความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลหวายแต่ละชนิด ซึ่งข้อมูลการปรากฏและไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอนี้ สามารถนำไปวิเคราะห์เพื่อหาความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลหวาย เพื่อนำไปสนับสนุนงานด้านอนุกรมวิธานในด้านการจำแนกกล้วยไม้สกุลหวายได้ (จุลภาค, 2543)

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. การเตรียมดีเอ็นเอ

สกัดดีเอ็นเอจากใบอ่อนของต้นกล้วยไม้สกุลหวายของไทย 12 ชนิด จาก 3 หมู่ ได้แก่ หมู่ *Callista*; *Den. chrysotoxum* (D026) และ *Den. lindleyi* (D122), หมู่ *Dendrobium*; *Den. crystallinum* (D044), *Den. findlayanum* (D030), *Den. nobile* (D031), *Den. parishii* (D040) และ *Den. unicum* (D015) และ หมู่ *Formosae*; *Den. cruentum* (D121), *Den. draconis* (D022), *Den. formosum* (D074), *Den. infundibulum* (D034) และ *Den. scabrilingue* (D012) โดยวิธีของ Doyle and Doyle (1990) ตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอด้วยวิธี agarose gel electrophoresis โดยใช้ความเข้มข้นของเจล 1.0 % ใน 1x TBE buffer และเปรียบเทียบความเข้มข้นของดีเอ็นเอที่สกัดได้กับดีเอ็นเอมาตรฐาน แล้วปรับความเข้มข้นของดีเอ็นเอ โดยนำมาเจือจางใน TE buffer ให้ได้ความเข้มข้น 5 ng/µl ซึ่งเป็นปริมาณที่เหมาะสมกับการทำปฏิกิริยา PCR

2. การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยา PCR

เตรียม reaction mixture ปริมาตร 20 µl ซึ่งประกอบด้วย 1x PCR buffer (20mM Tris-HCl pH 8.0, 0.1 mM EDTA, 1mM DTT, 50% Glycerol), 1.5 mM $MgCl_2$, 100 µM dNTPs (dCTP, dGTP, dTTP, dATP), 0.8 unit *Taq* DNA polymerase, 100 ng primer, 5 ng DNA template และน้ำกลั่น โดยใช้ไพรเมอร์ขนาด 10 นิวคลิโอไทด์

10 หมายเลข คือ OPD01-09 และOPAK04 เข้าสุ่มจับ จากนั้น นำไปเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยา PCR ที่ดัดแปลงจากวิธีการของ Chen *et al.* (1998) ที่มีเงื่อนไขของปฏิกิริยา ดังนี้ อุณหภูมิ 94 ºC 60 วินาที, 36 ºC 10วินาที, 72 ºC 10 วินาที จำนวน 2 รอบ และ อุณหภูมิ 94 ºC 60 วินาที, 42 ºC 45 วินาที, 72 ºC 70 วินาที จำนวน 30 รอบ แล้วเก็บผลผลิต PCR ไว้ที่ อุณหภูมิ 4 ºC

3. การตรวจสอบผลผลิต PCR

ตรวจสอบผลผลิตที่ได้จากปฏิกิริยา PCR (PCR product) ด้วยวิธี agarose gel electrophoresis โดยใช้ความเข้มข้นของเจล 1.8 % ใน 1x TBE buffer ผสมผลผลิต PCR กับ 1x loading buffer แล้วบรรจุลงในช่องเจล ก่อนนำไปเคลื่อนที่ภายใต้ความต่างศักย์ไฟฟ้า 50 โวลต์ จากนั้นย้อมเจลด้วย ethidium bromide ความเข้มข้น 0.1 µg/ml นาน 20 นาที ก่อนนำไปตรวจสอบผลบน UV Transilluminator พร้อมบันทึกภาพโดยใช้ Gel Documentation โปรแกรม Gene Snap

4. การวิเคราะห์ผล

วิเคราะห์ข้อมูลโดยการตรวจดูจำนวนแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏ ตำแหน่งการปรากฏและไม่ปรากฏแถบในลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยไม้ไทยสกุลหวายแต่ละชนิดที่ได้จากแต่ละไพรเมอร์ โดยใช้โปรแกรม Gene Tools จากนั้น นำมาประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมภายในหมู่เดียวกันและข้ามหมู่ โดยวิเคราะห์การจัดกลุ่มแบบ cluster analysis ด้วย UPGMA (Unweighted Pair - Group Method Using Arithmetic Average) ของ Dice จากโปรแกรม Gene Directory

ผลการทดลอง

จากการใช้ไพรเมอร์ขนาด 10 นิวคลิโอ-ไทด์ จำนวน 10 หมายเลข เข้าสุ่มจับกับดีเอ็นเอต้นแบบของกล้วยไม้สกุลหวายของไทย12 ชนิด จาก 3 หมู่ พบว่า มีไพรเมอร์ 2 หมายเลข ได้แก่ OPAK04 และ OPD03 ที่สามารถแสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยไม้ทั้ง 12 ชนิดได้ ส่วนไพรเมอร์อีก 8 หมายเลข คือ OPD01, 02 และ 04-09 ไม่สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอในกล้วยไม้ที่ใช้ในการศึกษาได้

ไพรเมอร์ OPAK04 สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 5 แถบ เป็นแถบดีเอ็นเอที่ไม่มีความแตกต่างกัน (monomorphic band) จำนวน 2 แถบ และเป็นแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกัน (polymorphic band) จำนวน 3 แถบ คือ แถบ a และ b ที่พบในลายพิมพ์ดีเอ็นเอของ D044 และแถบ c ที่พบในลายพิมพ์ดีเอ็นเอของ D034 สำหรับในกล้วยไม้ชนิดอื่น ๆ พบว่า มีแบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ไม่แตกต่างกัน (ภาพที่ 1)

สำหรับไพรเมอร์ OPD03 สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 59 แถบ ที่เป็น polymorphic band ทั้งหมด (ภาพที่ 2) เมื่อนำข้อมูลการปรากฏแถบดีเอ็นเอของกล้วยไม้ทั้ง 12 ชนิดที่ได้จากไพรเมอร์หมายเลขนี้ มาวิเคราะห์ความสัมพันธ์โดยวิธี cluster analysis พบว่า ไม่สามารถจัดกลุ่มกล้วยไม้ไทยสกุลหวายทั้ง 12 ชนิดออกตามหมู่ที่จัดไว้ตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้ (ภาพที่ 3)

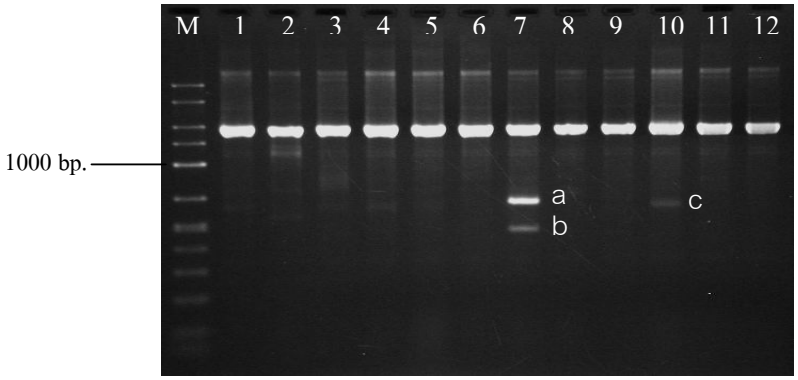


Figure 1 **DNA fingerprinting generated by arbitary primer OPAK04 of 12 *Dendrobium* species :**

1 = *Den. chrysotoxum*, 2 = *Den. lindleyi*, 3 = *Den. unicum*, 4 = *Den. findlayanum*, 5 = *Den. nobile*, 6 = *Den. parishii*, 7 = *Den. crystallinum*, 8 = *Den. scabrilingue*, 9 = *Den. draconis*, 10 = *Den. infundibulum*, 11 = *Den. formosum*, 12 = *Den. cruentum* and M = marker. Polymorphic bands, a, b and c, indicated difference of genetic variation of *Den. infundibulum* (lane 10) and *Den. crystallinum* (lane 7) from other species.

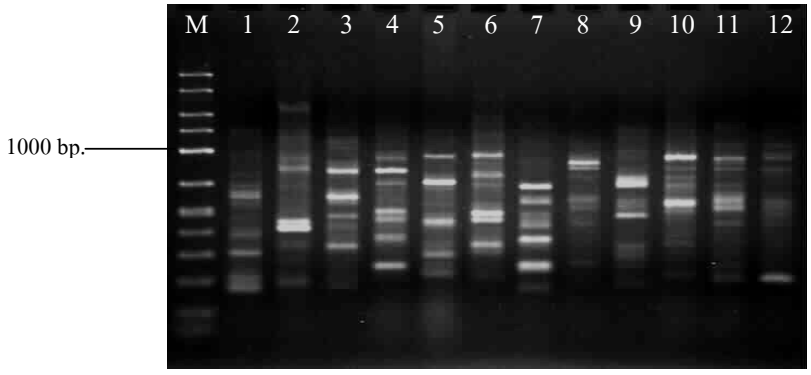
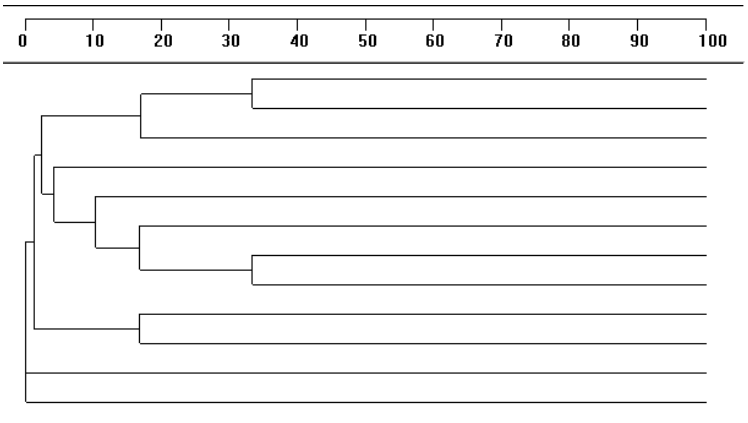


Figure 2 **DNA fingerprinting generated by arbitary primer OPD03 of 12 *Dendrobium* species :**

1 = *Den. chrysotoxum*, 2 = *Den. lindleyi*, 3 = *Den. unicum*, 4 = *Den. findlayanum*, 5 = *Den.nobile*, 6 = *Den. parishii*, 7 = *Den. crystallinum*, 8 = *Den. scabrilingue*, 9 = *Den. draconis*, 10 = *Den. infundibulum*, 11 = *Den. formosum*, 12 = *Den. cruentum* and M; marker. Numerous polymorphic bands indicated genetic variation among *Dendrobium* species.



Column Name 4	Column Name 5	Experiment	Gel ID	Description
D030	DENDROBIL	journal OPDC	1079592953	Track 5
D121	FORMOSAE	journal OPDC	1079592953	Track 13
D044	DENDROBIL	journal OPDC	1079592953	Track 8
D012	FORMOSAE	journal OPDC	1079592953	Track 9
D122	CALLISTA	journal OPDC	1079592953	Track 3
D040	DENDROBIL	journal OPDC	1079592953	Track 7
D034	FORMOSAE	journal OPDC	1079592953	Track 11
D074	FORMOSAE	journal OPDC	1079592953	Track 12
D 015	DENDROBIL	journal OPDC	1079592953	Track 4
D022	FORMOSAE	journal OPDC	1079592953	Track 10
D 026	CALLISTA	journal OPDC	1079592953	Track 2
D031	DENDROBIL	journal OPDC	1079592953	Track 6

Figure 3 Dendrogram of 12 Thai Dendrobium orchid species resulting from a UPGMA cluster analysis based on genetic distances obtained from the arbitary primer OPD03.

วิจารณ์ผลการทดลอง

การคัดเลือกไพรเมอร์ที่สามารถแสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอในกล้วยไม้สกุลหวายของไทย 12 ชนิด จาก 3 หมู่ จากการใช้ไพรเมอร์ 10 หมายเลข พบว่ามีไพรเมอร์ 2 หมายเลข ได้แก่ OPAK04 และ OPD03 ที่สามารถแสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยไม้ทั้ง 12 ชนิดได้ ส่วนไพรเมอร์อีก 8 หมายเลข คือ OPD01, 02 และ 04-09 ไม่สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอในกล้วยไม้ที่ใช้ในการศึกษาได้ ซึ่งให้ผลแตกต่างไปจากการศึกษาของ Sharifani and Jackson (2000) ที่พบว่า ไพรเมอร์ OPD01 และ 02 สามารถสังเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกันในสาลี่ 7 สายพันธุ์ได้ แต่ไม่ปรากฏลายพิมพ์ดีเอ็นเอเมื่อใช้ไพรเมอร์ OPD03 เข้าสุ่มจับ ในไพรเมอร์ OPAK04 สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 5 แถบ เป็น monomorphic band จำนวน 2 แถบ และเป็น polymorphic band จำนวน 3 แถบ ซึ่งแถบ a และ b ที่พบใน ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของ D044 และแถบ c ที่พบในลายพิมพ์ดีเอ็นเอของ D034 เป็น polymorphic band ที่แสดงถึงความแตกต่างทางพันธุกรรมของกล้วยไม้ทั้ง 2 ชนิด ในขณะที่กล้วยไม้ชนิดอื่น ๆ ไม่ปรากฏความแตกต่างทางพันธุกรรม ซึ่งผลดังกล่าวไม่สอดคล้องกับงานทดลองของ Ranamukhaarachchi *et al.* (2001) ที่พบว่า ไพรเมอร์ OPAK04 นี้ สามารถสังเคราะห์ polymorphic band ได้จำนวน 9 แถบ ที่แสดงถึงความแตกต่างทางพันธุกรรมในหน้าวัวลูกผสม 9 สายพันธุ์ได้

สำหรับไพรเมอร์ OPD03 สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 59 แถบ ที่เป็น polymorphic band ทั้งหมด แสดงถึงความแตกต่างทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลหวายของไทยทั้ง 12 ชนิดตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้แต่ละต้นที่มีความแตกต่างกัน (พรพันธ์, 2538) แต่จากการนำข้อมูลการปรากฏแถบดีเอ็นเอของกล้วยไม้ที่ได้จากไพรเมอร์หมายเลขนี้ มาวิเคราะห์ความสัมพันธ์โดยวิธี cluster analysis พบว่า ที่ระดับความสัมพันธ์ทาง พันธุกรรม 90 % สามารถจัดกลุ่ม

กล้วยไม้ไทยสกุลหวายออกได้ 7 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย *Den. findlayanum*, *Den. cruentum* และ *Den. crystallinum* กลุ่มที่ 2 ได้แก่ *Den. scabrilingue* กลุ่มที่ 3 ได้แก่ *Den. lindleyi* กลุ่มที่ 4 ประกอบด้วย *Den. parishii*, *Den. infundibulum* และ *Den. formosum* กลุ่มที่ 5 ประกอบด้วย *Den. unicum* และ *Den. draconis* กลุ่มที่ 6 ได้แก่ *Den. chrysotoxum* และ กลุ่มที่ 7 ได้แก่ *Den. nobile* ซึ่งการจัดกลุ่มที่ได้นี้ไม่เป็นไปตามที่ Seidenfaden and Smitinand (1960) ได้จำแนกกล้วยไม้สกุลหวายทั้ง 12 ชนิดนี้ออกเป็น 3 หมู่ ตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้จำนวนกลุ่มและหมายเลขของไพรเมอร์น้อย ซึ่งอาจไม่ใช่กลุ่มของไพรเมอร์ที่เหมาะสมในการจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลหวาย ข้อมูลที่ได้จากการปรากฏของแถบดีเอ็นเอจึงยังไม่เพียงพอในการจำแนกและจัดกลุ่มกล้วยไม้สกุลหวายของไทยให้สอดคล้องกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้ จึงควรทดลองใช้ไพรเมอร์ในกลุ่มอื่นในการศึกษาจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอในครั้งต่อไป

สรุปผลการทดลอง

การจำแนกพันธุกรรมกล้วยไม้ไทยสกุลหวาย 12 ชนิด จาก 3 หมู่ โดยเทคนิค RAPD จากการใช้ไพรเมอร์ 10 หมายเลข เข้าสุ่มจับกับดีเอ็นเอต้นแบบ พบว่า มีไพรเมอร์ 2 หมายเลข คือ OPAK04 และ OPD03 สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอในกล้วยไม้ไทยสกุลหวายทั้ง 12 ชนิดได้ โดยไพรเมอร์ OPAK04 แสดง polymorphic band จำนวน 3 แถบ ที่บ่งชี้ถึงลักษณะทางพันธุกรรมของ D034 และ D044 ที่แตกต่างไปจากกล้วยไม้สกุลหวายอีก 10 ชนิด ส่วนไพรเมอร์ OPD03 แสดง polymorphic band จำนวน 59 แถบ และเมื่อนำข้อมูลการปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ได้จากไพรเมอร์ OPD03 ไปวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างกล้วยไม้ไทยสกุลหวายทั้ง 12 ชนิด ด้วยวิธี cluster analysis พบว่าไม่สามารถจัดกลุ่มกล้วยไม้เหล่านี้ออกตามหมู่ที่จัดแบ่งโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้

เอกสารอ้างอิง

จุลภาค คุ้นวงศ์. 2543. ความจำเป็นของลายพิมพ์ดี-เอ็นเอกับการจดทะเบียนพันธุ์พืช.วารสารเคหการเกษตร 24(5) : 174-176.

นพพร สายัมพล. 2543. *เทคนิคการปรับปรุงพันธุ์พืช*. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 261 น.

พรพันธ์ ภู่พร้อมพันธุ์. 2538. เทคนิคการจำแนกพันธุ์พืชด้วยวิธี Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). เอกสารประกอบการอบรมทางวิชาการ เรื่อง การตรวจแยกพันธุ์พืชด้วยการใช้เทคนิค Isozyme Pattern และ RAPD ณ ฝ่ายปฏิบัติงานวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งชาติ มหาวิทยาลัย เกษตรศาสาตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม. 10 น.

สมวงษ์ ตระกูลรุ่ง. 2543. การประยุกต์ใช้ DNA เทคโนโลยีในประเทศไทย *ใน* เอกสารประกอบสัมมนาวิชาการปรับปรุงพันธุ์ และขยายพันธุ์พืช ครั้งที่ 13 : เทคโนโลยีใหม่–พันธุ์พืชใหม่ น. 90-93. สมาคมปรับปรุงพันธุ์ และขยายพันธุ์พืชแห่งประเทศไทย กรมวิชาการเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีแห่งชาติ.

อบฉันท์ ไทยทอง. 2543. *กล้วยไม้เมืองไทย*. หน่วยปฏิบัติการวิจัยพรรณไม้ประเทศไทย ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. 166 น.

Baker, L. M. and C. O. Baker. 1996. *Orchid Species Culture Dendrobium*. Timber Press, Portland, Oregon. 852 p.

Chen, W. H., T. M. Chen., Y. M. Fu, R. M. Hsieh and W. S. Chen. 1998. Studies on somaclonal variation in *Phalaenopsis*. Plant Cell Reports 18: 7-13.

Doyle, L. J. and J. J. Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12: 13-14.

Ranamukhaarachchi, D. G., R. J. Henny, C. L. Guy and Q. B. Li. 2001. DNA fingerprinting to identify nine *Anthurium* pot plant cultivars and examine their relationship. HortScience 36: 758-760.

Seidenfaden, G. and T. Smitinand. 1960. *The Orchids of Thailand. Part 2*. The Siam Society, Bangkok. 184 p.

Sharifani, M. M. and J. F. Jackson. 2000. Characterization of pear species and cultivars using RAPD primers. Acta Horticulturae 538: 499-504.

วารสารเกษตร 20 (2) : 159-167 (2547)

Journal of Agriculture 20 (2) : 159-167 (2004)

การหาโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตันและลักษณะทางพืชสวนของมะระขี้นก

Determination of Local Bitter Gourd 30 KDa Protein and Horticultural Characteristics

สโรชา กรีธาพล[1/] ปรัชญา คงทวีเลิศ[2/] และ มณีฉัตร นิกรพันธุ์[1/]

Sarocha Kreethaphon[1/] Prachya Kongtawelert[2/] and Maneechat Nikornpun[1/]

Abstract : 30 kilodalton (kDa) protein was determined on different parts of local bitter gourd and horticultural characteristics of 4 accessions, accession numbers 3, 7 , 8 and 13 were studied. They were grown at Chiang Mai University, from April 2002 to April 2004. Randomized complete block design (RCBD) with 3 replications was used. Results showed that, the 4 accessions had number of days to 50% female flowering from 55 to 68 days, accession number 7 gave the earliest days to 50% female flowering ranged of 55 days and accession number 13 gave the longest days to 50% female flowering of 68 days. Botanical characteristics of the 4 accessions, average seed number per fruit of the 4 accessions ranged from 15 to 30 seeds, accession number 8 gave the highest seed number per fruit of 30 seeds and accession number 3 gave the lowest seed number per fruit of 15 seeds. Average fruit yields of the 4 accessions ranged from 320.09 to 1,186.44 kg/rai, accession number 7 gave the highest fresh fruit yield of 1,186.44 kg/rai and accession number 13 gave the lowest fresh fruit yield of 320.09 kg/rai.

30 kilodalton (kDa) protein was determined on local bitter gourd leaves at 10, 20, 30 and 40 days after fully opened. Fruit and endosperm of the 4 accessions at 8, 16 and 24 days after anthesis (self-pollination by hands). Protein was precipitated by ammonium and 30 kilodalton protein was determined by ELISA method per 5 gram of freshed individual sample. Endosperm showed the highest amount of 30 kilodalton protein in comparison with leaves and fruits.

[1/] ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

[1/] Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand.

Endosperm of the 4 accessions at 24 days after anthesis gave the highest levels of 30 kilodalton protein, ranged from 23.09 to 47.97 μg, accession number 3 showed the highest 30 kilodalton protein of 47.97 μg. Leaves of the 4 accessions at 30 days after fully opened had the highest level of 30 kilodalton protein, ranged from 0.044 to 0.1154 μg, accession number 13 showed the highest level of 30 kilodalton protein of 0.1154 μg. Fruits of the 4 accessions at 24 days after anthesis of showed the highest levels of 30 kilodalton protein, ranged from 0.0071 to 0.0149 μg, accession number 13 showed the highest level of 30 kilodalton protein of 0.0149 μg.

บทคัดย่อ: ตรวจหาโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตันในส่วนต่างๆ ของมะระขี้นก (*Momordica charantia*) และศึกษาลักษณะทางพืชสวนของมะระขี้นกทั้ง 4 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์เบอร์ 3, สายพันธุ์เบอร์ 7, สายพันธุ์เบอร์ 8 และสายพันธุ์เบอร์ 13 โดยนำมาปลูก ณ แปลงทดลองภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ตั้งแต่ เดือนเมษายน ปี 2545 - เดือนเมษายน ปี 2546 วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อคสมบูรณ์ (randomized complete block design) มี 3 ซ้ำ พบว่า สายพันธุ์ที่ทดสอบมีวันออกดอก 50% ของดอกเพศเมียหลังเพาะเมล็ดระหว่าง 55-68 วัน สายพันธุ์เบอร์ 7 เป็นพันธุ์ที่ออกดอกเร็วที่สุด คือ 55 วัน สายพันธุ์เบอร์ 13 เป็นพันธุ์ที่ออกดอกช้าที่สุด คือ 68 วัน ส่วนลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมะระขี้นก 4 สายพันธุ์ พบว่า จำนวนเมล็ดต่อผลของมะระขี้นกทั้งหมดมีระหว่าง 15-30 เมล็ด สายพันธุ์เบอร์ 8 มีจำนวนเมล็ดต่อผลมากที่สุด คือ 30 เมล็ด และสายพันธุ์เบอร์ 3 มีจำนวนเมล็ดต่อผลน้อยที่สุด คือ 15 เมล็ด ผลผลิตของสายพันธุ์ทั้งหมดมีระหว่าง 320.09-1,186.44 กิโลกรัมต่อไร่ สายพันธุ์เบอร์ 7 ให้ผลผลิตสูงที่สุด 1,186.44 กิโลกรัมต่อไร่ และสายพันธุ์เบอร์ 13 ให้ผลผลิตต่ำที่สุด 320.09 กิโลกรัมต่อไร่

การสกัดโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตัน จากใบที่ระยะ 10, 20, 30 และ 40 วันหลังใบคลี่ ส่วนผล และเอนโดส-เปิร์มสกัดที่ระยะ 8, 16 และ 24 วันหลังดอกบานของมะระขี้นก (ผสมตัวเองด้วยมือ) โดยตกตะกอนโปรตีนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต และตรวจหาโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตัน โดยวิธี ELISA โดยทำการศึกษาจากตัวอย่างน้ำหนักสดจำนวน 5 กรัม พบว่า ในเอนโดสเปิร์มมีปริมาณสูงที่สุด รองลงมา คือ ใบ และผลตามลำดับ เอนโดสเปิร์มที่ระยะ 24 วันหลังดอกบานมีปริมาณโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตันสูงที่สุดอยู่ระหว่าง 23.09-47.97 ไมโครกรัม สายพันธุ์เบอร์ 3 มีปริมาณสูงที่สุด คือ 47.97 ไมโครกรัม ในใบมะระขี้นกใบที่ระยะ 30 วันหลังใบคลี่มีปริมาณโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตันสูงที่สุดอยู่ระหว่าง 0.044-0.1154 ไมโครกรัม สายพันธุ์เบอร์ 13 เป็นสายพันธุ์ที่มีปริมาณสูงที่สุด คือ 0.1154 ไมโครกรัม ผลของมะระขี้นกทั้ง 4 สายพันธุ์ ผลที่ระยะ 24 วันหลังดอกบานมีปริมาณโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตันสูงที่สุดอยู่ระหว่าง 0.0071-0.0149 ไมโครกรัม สายพันธุ์เบอร์ 13 เป็นสายพันธุ์ที่มีปริมาณสูงที่สุด คือ 0.0149 ไมโครกรัม

Index words: กิโลดัลตัน วิธีอิมมูโนแอสเสที่ใช้เอนไซม์เชื่อมต่อกับแอนติบอดี ระยะออกดอก
Immunoassay, *Momordia charantia* Ribosome Inactive Protein (RIPs)

คำนำ

ในเมล็ดมะระขี้นกมีโปรตีนที่เป็น Ribosome Inactivating Proteins (RIPs) ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีขนาด 30 กิโลดัลตัน และมีผลยับยั้งการเพิ่มปริมาณของไวรัส HIV โดยยับยั้งเอ็นไซม์ reverse transcriptase, integrase และยับยั้งการสร้าง viral core protein ของเชื้อ HIV (วีณา, 2543, ปัทมา, 2541 และเอมอร, 2545) โปรตีนที่มีฤทธิ์ยับยั้ง ไรโบโซมที่พบในมะระขี้นกเป็นประเภทที่ 1 ที่สามารถยับยั้ง translation ในยูคาริโอต สามารถทำให้เซลล์ตายได้ โปรตีนนี้ คือ α-momorcharin, β-momorcharin และ MAP30 (Momordica Anti-HIV Protein) พบในเมล็ด ผล และใบของมะระขี้นก ซึ่ง α- และ β-momorcharin (α-MMC และ β-MMC) เป็นไกลโคโปรตีนสายเดี่ยว (มีคาร์โบไฮเดรตอยู่ประมาณ 2% มีน้ำหนักโมเลกุล 2900 และ2800 ดัลตันตามลำดับ (Yeung *et al*., 1986) โดยในปี 1999 พบว่า α-MMC ยับยั้งการจำลองตัว HIV-1 ได้เป็นอย่างดี แต่ไม่ทำให้เรื้อรังใน T-lymphocytes ที่ติดเชื้อ จากการจำแนกกิจกรรมการต้านเชื้อเอชไอวีชนิดที่ 1 อย่างรุนแรงของ α-momorcharin จากมะระขี้นก และติดเชื้อเรื้อรังใน T-lymphocytes ผลกระทบจากความเป็นพิษต่อเซลล์ของ α-momorcharin ถูกทดสอบโดย trypan blue dye exclusion หรือ colorimetric MTT assay ผลการทดลองพบว่า α-momorcharin ถูกสร้างขึ้นเพื่อยับยั้งการสร้าง HIV-1 และ ลดการแสดงออกของแกนของสารที่กระตุ้นการสร้าง p24 และจำนวนของสารที่กระตุ้นการสร้างเซลล์บวก HIV อย่างรุนแรง แต่ไม่มีผลกับเชื้อ HIV-1 ที่ติดเชื้ออย่างรื้อรังที่ได้จากการการเพาะเลี้ยง (Zheng *et al*., 1999) ส่น MAP30 เป็นโปรตีนสายเดี่ยวประกอบด้วยกรดอะมิโน 263 ตัว (มีน้ำหนักประมาณ 30 กิโลดัลตัน) (Lee-Huang *et al*., 1995a) คุณสมบัติของ MAP30 คือ ยับยั้ง HIV integrase (Lee-Huang *et al*., 1995b) มีความสัมพันธ์ที่ไม่กระตุ้น viral กลับไปเป็น DNA (Lee-Huang *et al*., 1995a) จดจำสารตั้งต้นทั้ง DNA และ RNA (Lee-Huang *et al*., 1995c) เลือกทำลายเนื้องอกที่เปลี่ยนรูปแบบและทำลายเชื้อเอชไอวี (Lee-Huang *et al*., 1995a) และ MAP30 ยังสามารถยับยั้งการเข้าทำลายในเซลล์อิสระของเชื้อเอชไอวีประเภทที่หนึ่ง (HIV-1) และการจำลองตัวของเชื้อ HIV ซึ่ง MAP30 ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ปกติที่ไม่ติดเชื้อเพราะว่า MAP30 ไม่สามารถผ่านเข้าไปในเซลล์ที่มีความสมบูรณ์ได้ (Buchakul, 2001)

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลผลิตและลักษณะทางพืชสวนของมะระขี้นกในแต่ละสายพันธุ์
2. เพื่อสกัดหาโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตันจากส่วนของใบ ผล และเอนโดสเปิร์ม (เมล็ด) ในระยะต่างๆของมะระขี้นก

อุปกรณ์และวิธีการ

1. วิธีการสกัดโปรตีน

1.1 นำใบ ผล และเอนโดสเปิร์มในระยะต่างๆของมะระขี้นกสายพันธุ์แท้ 4 สายพันธุ์คือ สายพันธุ์เบอร์ 3, สายพันธุ์เบอร์ 7, สายพันธุ์เบอร์ 8 และสายพันธุ์เบอร์ 13 ที่ได้มาจากการวางแผนการทดลอง randomized complete block design (RCBD) ปลูกทดสอบ ณ แปลงทดลองภาควิชา พืชสวน มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ตั้งแต่วันที่ 1 ธันวาคม พ.ศ. 2545 ถึงวันที่ 5 เมษายน พ.ศ. 2546 มา สกัดโปรตีนโดยวิธีของ Ditchaiwong (2003) โดยบดด้วยโกร่งแช่เย็น เติมสารละลาย 0.85% NaCl 20 มิลลิลิตร

ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ประมาณ 15 นาที กรองด้วยผ้าขาวบาง 3 ชั้น กรองอีกครั้งด้วยกระดาษกรอง (Whatman No. 1; diameter 110 mm.) และปรับค่า pH ให้ได้ 3.6-4.0 ด้วย 1 M HClนำสารละลายที่กรองได้ไปตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที (rpm) ควบคุมอุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จำนวน 4 ครั้ง การปั่นเหวี่ยงครั้งที่ 1 ถึง 3 จะเก็บสารละลายที่ได้ (ทิ้งตะกอน) และบันทึกปริมาตรครั้งที่ 2 และ 3 เพื่อเติม $(NH_4)_2SO_4$ โดยหลังจากปั่นเหวี่ยงครั้งที่ 2 ใส่ 16% $(NH_4)_2SO_4$ โดยปริมาตรของสารละลายที่ได้ ผสมให้เข้ากัน และหลังปั่นเหวี่ยงครั้งที่ 3 ใส่ 50% $(NH_4)_2SO_4$ โดยปริมาตรของสารละลายที่ได้ผสมให้เข้ากัน และปั่นเหวี่ยงครั้งที่ 4 เก็บตะกอน ล้างตะกอนด้วย 50mM Na_2PO_4 ใช้ตัวอย่างละ 5 มิลลิลิตร นำสารละลายมาทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี dialyse ในน้ำกลั่นนาน 24 ชั่วโมง นำสารละลายทำให้แห้งด้วยความเย็น โดยใช้เครื่อง Lyophilizer ได้สารสกัดดิบ (crude extract)

2. หาปริมาณโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตัน

หาปริมาณโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตันด้วยวิธี Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) เป็นวิธีที่สามารถบ่งบอกถึงการทำปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจน และแอนติบอดี้ในตัวอย่างที่ต้องการตรวจสอบได้

- Competitive ELISA (Competitive Solution Phase Assay) (Kantawong, 2003)

เคลือบไมโครเพลทขนาด 96 หลุม ด้วยแอนติเจนโดยใช้ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรผสมในบัฟเฟอร์คาร์บอเนตใส่ 100 ไมโครลิตรต่อหลุม incubate 2 ชั่วโมงที่ 37 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นล้างด้วย PBS-tween (ในการล้างทุกครั้งล้าง 3 ครั้ง โดยใช้ 200 ไมโครลิตรต่อครั้ง) และเติม 1% BSA จำนวน 150 ไมโครลิตรต่อหลุม ตั้งทิ้งไว้ 60 นาที ที่ 37 องศาเซลเซียส ล้างด้วย PBS-tween นำหลอดโพลีโพพิลีนใช้เป็นภาชนะในการเตรียมระหว่างสารละลายแอนติเจนและสารละลายแอนติบอดี้ (อัตราส่วนของแอนติบอดี้ที่ คือ 1 (ซีรัมกระต่าย) : 5000 (PBS-tween)) เพื่อเตรียมแอนติเจนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยที่ความเข้มข้นที่ศูนย์ใช้ซีรัมผสมกับแอนติบอดี้ (อัตราส่วน 1 : 1) และเตรียมตัวอย่าง (sample) นำสารละลายตัวอย่างมะระขี้นกที่ต้องการทดสอบผสมกับ แอนติบอดี้ในอัตราส่วน 1 : 1 ตั้งทิ้งไว้ 3 ชั่วโมง ที่ 37 องศาเซลเซียส ใส่สาร-ละลายตัวอย่างลงในไมโครเพลทจำนวน 50 ไมโครกรัมต่อหลุม ตั้งทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง ที่ 37 องศา-เซลเซียส แล้วล้างด้วย PBS-tween หลังจากนั้นเติม alkaline phosphatase-conjugated second antibody ใส่ 100 ไมโครลิตรต่อหลุม ตั้งทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง ที่ 37 องศาเซลเซียส ล้างด้วย PBS-tween แล้วเติม chromogenic substrate 100 ไมโครลิตรต่อหลุม ตั้งทิ้งไว้ 5 ถึง 10 นาที ที่ 37 องศาเซลเซียส เมื่อเกิดสีใส่ 5 N NaOH จำนวน 100 ไมโครลิตรต่อหลุมแล้วนำวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 405/690 นาโนเมตร

ผลการทดลอง

1. ผลจากการเก็บตัวอย่างมะระขี้นก 4 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์เบอร์ 3, สายพันธุ์เบอร์ 7, สายพันธุ์เบอร์ 8 และสายพันธุ์เบอร์ 13 เพื่อนำมาศึกษาลักษณะทางพืชสวน พบว่า วันออกดอก 50% ของดอกเพศเมียของมะระขี้นกทั้ง 4 สายพันธุ์เริ่มออกดอกระหว่าง 55-68 วันหลังปลูก (ตารางที่ 1) ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสายพันธุ์เบอร์ 7 ออกดอกเร็วกว่า 3 สายพันธุ์ เฉลี่ยคือ 55 วัน ส่วนสายพันธุ์เบอร์ 13 ออกดอกช้าที่สุดเฉลี่ยคือ 68 วัน ผลการศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ของผล และปริมาณผลผลิตของมะระขี้นกทั้ง 4 สายพันธุ์ พบว่า ความยาวผลของมะระขี้นกทั้ง 4 สายพันธุ์มีความยาวระหว่าง 4.04-8.91 เซนติเมตร ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสายพันธุ์เบอร์ 13 มีความยาวผลสั้นที่สุด คือ 4.04 เซนติเมตร ส่วนสายพันธุ์เบอร์ 7 มีความยาวผลยาวที่สุด คือ 8.91 เซนติเมตร จำนวนเมล็ดต่อผลของมะระขี้นกทั้ง 4 สายพันธุ์ มีจำนวนเมล็ดระหว่าง 15-30 เมล็ดต่อผลซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสายพันธุ์เบอร์ 3 มีจำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผล 15 เมล็ด สายพันธุ์เบอร์ 8 มีจำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผล 30 เมล็ด ซึ่งสายพันธุ์เบอร์ 8 นั้นไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับสายพันธุ์เบอร์ 7 ที่มีจำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผล 28 เมล็ด แต่ทั้ง 2 สายพันธุ์มีความแตกต่างกันทางสถิติกับสายพันธุ์เบอร์ 3 และสายพันธุ์เบอร์ 13 ผลผลิตต่อไร่มีระหว่าง 320.09-1186.44 กิโลกรัมซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสายพันธุ์เบอร์ 7 มีน้ำหนักผลสดต่อไร่สูงสุด คือ 1186.44 กิโลกรัมซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติกับสายพันธุ์เบอร์ 8 ที่มีน้ำหนักผลสดต่อไร่ 713.52 กิโลกรัม ส่วนสายพันธุ์เบอร์ 13 มีน้ำหนักผลสดต่อไร่ต่ำสุด คือ 320.09 กิโลกรัมนั้นไม่แตกต่างจากสายพันธุ์เบอร์ 3 แต่แตกต่าง สายพันธุ์เบอร์ 7 และเบอร์ 8

Table 1 Horticultural characteristics of local bitter gourd.

Accession number	Days to 50% female flower[1/]	Fruit length[2/] (cm)	Number of seed/fruit[3/]	Fruit yield[1/] (kg/rai)
3	64 b[4/]	4.65 b	15 c	398.18 b
7	55 c	8.91 a	28 a	1186.44 a
8	63 b	8.75 a	30 a	713.517 ab
13	68 a	4.04 c	18 b	320.09
$LSD_{.05}$	2.94	0.46	3.06	530.27
CV (%)	5.16	46.17	26.09	41

[1/]Averange of 6 plants, [2/]Averange of 10 fruits, [3/] Means followed by different letters differ significantly at $p \leq .05$ by LSD

Table 2 Levels of 30 kilodalton (kDa) protein (μg/5 g) in fruit and leaves of local bitter gourd.

Accession number	Fruit (days after anthesis)			Leaves (days after fully opened)			
	8	16	24	10	20	30	40
3	0.0016	0.0078	0.0071 b[3/]	0.012	0.073	0.0518	0.0459 ab
7	0.0037	0.0044	0.0105 ab	0.0173	0.0503	0.0474	0.0962 a
8	0.0135	0.0021	0.0103 ab	0.0171	0.0657	0.044	0.021 b
13	0.0011	0.0034	0.0149 a	0.0226	0.0598	0.1154	0.0373 b
$LSD_{.05}$	0.016	0.009	0.007	0.02	0.063	0.074	0.058
CV (%)	0	0	0	0	0	69.23	63.12

2. จากการหาปริมาณโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตันจากส่วนของผล ใบ และเอนโดสเปิร์มในระยะต่างๆ ของมะระขี้นกทั้ง 4 สายพันธุ์ โดยวิธี ELISA โดยทำการศึกษาจากตัวอย่างน้ำหนักสดจำนวน 5 กรัม พบว่า ปริมาณโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตันที่ได้จากส่วนผลของมะระขี้นก 4 สายพันธุ์ พบว่า ผลมะระขี้นกที่มีอายุ 8 วันหลังดอกบานมีปริมาณโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตันอยู่ระหว่าง 0.0011-0.0135 ไมโครกรัม และ16 วันหลังดอกบานมีปริมาณระหว่าง 0.0021-0.0078 ไมโครกรัม ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 2) แต่ปริมาณโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตันในผลที่อายุ 24 วันหลังดอกบานนั้นมีค่าระหว่าง 0.0071-0.0149 ไมโครกรัม มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยมีปริมาณโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตันอยู่ระหว่าง 0.0071 - 0.0149 ไมโครกรัม โดยสายพันธุ์เบอร์ 13 มีปริมาณโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตันสูงกว่า 3 สายพันธุ์ คือ 0.0149 ไมโครกรัม ซึ่งแตกต่างจากสายพันธุ์เบอร์ 3 มีปริมาณโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตัน คือ 0.0071 ไมโครกรัม แต่สายพันธุ์เบอร์ 8 และ เบอร์ 7 ที่มีปริมาณโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตัน คือ 0.0103 และ 0.0105 ไมโครกรัมตามลำดับนั้น ไม่มีความแตกต่างทางสถิติจากสายพันธุ์เบอร์ 3 และเบอร์ 13 ส่วนปริมาณโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตันในใบมะระขี้นกที่อายุ 10, 20 และ 30 วันหลังใบคลี่มีปริมาณอยู่ระหว่าง 0.012-0.0226, 0.0503-0.073 และ 0.044-0.01154 ไมโครกรัมตามลำดับและไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ปริมาณโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตันในใบที่อายุ 40 วันหลังใบคลี่นั้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติมีปริมาณโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตันอยู่ระหว่าง 0.021-0.0962 ไมโครกรัม โดยสายพันธุ์เบอร์ 8 และสายพันธุ์เบอร์ 13 ที่มีปริมาณโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตัน คือ 0.021 และ 0.373 ไมโครกรัมตามลำดับนั้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างจากสายพันธุ์เบอร์ 7 ที่มีปริมาณโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตัน คือ 0.0962 ไมโครกรัม ส่วนสายพันธุ์เบอร์ 3 ที่มีปริมาณโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตัน คือ 0.0459 ไมโครกรัมไม่แตกต่างจากมะระขี้นกทั้ง 3 สายพันธุ์ ส่วนในเอนโดสเปิร์มของมะระขี้นกทั้ง 4 สายพันธุ์ มีปริมาณโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตันสูงกว่าในผลและใบของมะระขี้นก โดยเอนโดสเปิร์มของมะระขี้นกทั้ง 4 สายพันธุ์ที่อายุ 8 วันหลังดอกบานมีปริมาณระหว่าง 0.2109-0.543 ไมโครกรัม และ 16 วันหลังดอกบาน มีปริมาณระหว่าง 2.8896-4.3049 ไมโครกรัมไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3) ส่วนเอนโดสเปิร์มของมะระขี้นกทั้ง 4 สายพันธุ์ที่อายุ 24 วันหลังดอกบานนั้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติมีปริมาณโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตันอยู่ระหว่าง 20.46-47.97 ไมโครกรัม โดยสายพันธุ์เบอร์ 13 และ เบอร์ 8 มีปริมาณโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตัน คือ 23.09 และ 25.21 ไมโครกรัมตามลำดับไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่แตกต่างจากสายพันธุ์เบอร์ 3 ที่มีปริมาณโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตัน คือ 47.97 ไมโครกรัม ส่วนสายพันธุ์เบอร์ 7 ที่มีปริมาณโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตัน คือ 38.65 ไมโครกรัม ไม่แตกต่างจากมะระขี้นกทั้ง 3 สายพันธุ์

Table 3 Levels of 30 kilodalton (kDa) protein (μg/ 5 g) in endosperm of local bitter gourd.

Accession number	Endosperm (days after anthesis)		
	8	16	24
3	0.2902	4.305	47.97 a[3/]
7	0.2109	3.153	38.65 ab
8	0.543	2.89	25.21 b
13	0.3132	3.58	23.09 b
$LSD_{.05}$	0.448	1.717	20.463
CV (%)	57.45	25.55	16.86

วิจารณ์ผลการทดลอง

1. ลักษณะทางพืชสวนของมะระขี้นกทั้ง 4 สายพันธุ์ มีความสอดคล้องกับการทดลองของ Ditchaiwong (2003) ศึกษามะระขี้นกสายพันธุ์เบอร์ 3, สายพันธุ์เบอร์ 7, สายพันธุ์เบอร์ 8 และสายพันธุ์เบอร์ 13 ที่ปลูกในเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2543 รายงานว่าวันออกดอก 50% ของดอกเพศเมียอยู่ระหว่าง 40-47 วันหลังเพาะกล้า และความยาวเถามีค่าอยู่ระหว่าง 297-474 เซนติเมตร ซึ่งมีสายพันธุ์เบอร์ 3 มีความยาวเถายาวที่สุด คือ 474 เซนติเมตร ผลการศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของผล และปริมาณผลผลิตของมะระขี้นกทั้ง 4 สายพันธุ์ แตกต่างจากการทดลองของ Ditchaiwong (2003) ที่มีความยาวผลของมะระขี้นกมีความยาวอยู่ระหว่าง 4.69-11.44 เซนติเมตร โดยสายพันธุ์เบอร์ 8 มีความยาวผลยาวที่สุด คือ 11.44 เซนติเมตร และสายพันธุ์เบอร์ 13 ผลมีความยาวสั้นที่สุดคือ 4.69 เซนติเมตร จำนวนเมล็ดต่อผลของมะระขี้นกทั้ง 4 สายพันธุ์ ของ Ditchaiwong (2003) มีจำนวนเมล็ดอยู่ระหว่าง 13-31 เมล็ด โดยสายพันธุ์เบอร์ 7 มีปริมาณเมล็ดต่อผลมากสุด คือ 31 เมล็ด ผลผลิตสดต่อไร่ของ Ditchaiwong (2003) พบว่า มีปริมาณอยู่ระหว่าง 1,004-2,244 กิโลกรัมต่อไร่ โดยสายพันธุ์เบอร์ 7 มีปริมาณสูงสุด คือ 2,224 กิโลกรัมต่อไร่ และสายพันธุ์เบอร์ 13 มีปริมาณน้อยสุด คือ 1,004 กิโลกรัมต่อไร่ จากการศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ในครั้งนี้ และของ Ditchaiwong (2003) พบว่า สอดคล้องกับวัชรี (2541) และรุ่งรัตน์ (2540) ที่กล่าวว่ามะระขี้นกมีความยาวของเถายาวได้ถึง 5 เมตร ผลยาวประมาณ 4-6 เซนติเมตร และมีเส้นผ่าศูนย์กลางผลประมาณ 2-5 เซนติเมตร

2. การหาปริมาณโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตันในครั้งนี้ใช้วิธี ELISA ซึ่งวิธีการหาโดยวิธี ELISA นั้น วีระศักดิ์ (2544) กล่าวว่าเป็นวิธีที่สามารถหาปริมาณโปรตีนได้ผลดี ใช้สารเคมีที่เสถียรอย่างประหยัด และมีความจำเพาะเนื่องจากใช้แอนติเจนสองชนิดและมีความไวสูง โดยจากการหาปริมาณโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตันในผล ใบ และเอนโดสเปิร์มในระยะต่างๆ ของมะระขี้นกทั้ง 4 สายพันธุ์ โปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตันซึ่งสกัดมาจากผลและเมล็ดของมะระขี้นก (Lee-Huang *et al*., 1995a)

Lee-Huang (1990) หาโปรตีน MAP30 ในเมล็ดแก่ (เอนโดสเปิร์ม) พบว่า มีโปรตีน 104.86-265.42 ไมโครกรัมต่อเอนโดสเปิร์มหนัก 5 กรัม และ Ditchaiwong (2003) หาโปรตีนในเมล็ดแก่ (เอนโดสเปิร์ม) ของมะระขี้นกในสายพันธุ์เบอร์ 3, สายพันธุ์เบอร์ 7, สายพันธุ์เบอร์ 8 และสายพันธุ์เบอร์ 13 พบว่า มีปริมาณ 206.39, 197.51, 179.86 และ 104.86 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักเอนโดสเปิร์มสด 5 กรัม ตามลำดับ ส่วนการหาปริมาณ α-Momorcharin ในมะระขี้นกของ Kantawong (2003) พบว่า ในส่วนของเมล็ด ใบ และผลของมะระขี้นกในเมล็ดมีปริมาณ α-Momorcharin สูงที่สุด คือ 2.1 μg/mg total protein ใบมีปริมาณ α-Momorcharin คือ 1.0 μg/mg total protein และในผลมีปริมาณ α-Momorcharin คือ 0.6 μg/mg total protein ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองจากการหาปริมาณโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตันในครั้งนี้

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาลักษณะทางพืชสวนของมะระขี้นกทั้ง 4 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์เบอร์ 3, สายพันธุ์เบอร์ 7, สายพันธุ์เบอร์ 8 และสายพันธุ์เบอร์ 13 พบว่า วันออกดอก 50% ของดอกเพศเมีย พบว่ามะระขี้นกทั้ง 4 สายพันธุ์ สายพันธุ์เบอร์ 7 เป็นพันธุ์ที่ออกดอกเร็วที่สุดในมะระขี้นก 4 สายพันธุ์ คือ 55 วันหลังเพาะเมล็ด สายพันธุ์เบอร์ 13 เป็นพันธุ์ที่ออกดอกช้าที่สุดในมะระขี้นก 4 สายพันธุ์ คือ 68 วันหลังเพาะเมล็ด ส่วนลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมะระขี้นกทั้ง 4 สายพันธุ์ พบว่า สายพันธุ์เบอร์ 7 มีผลยาวที่สุด คือ 8.91 เซนติเมตร สายพันธุ์เบอร์ 13 ผลมีขนาดเล็กที่สุด คือ 4.04 เซนติเมตร สายพันธุ์เบอร์ 8 มีจำนวนเมล็ดต่อผลมากที่สุด คือ 30 เมล็ด สายพันธุ์เบอร์ 3 มีจำนวนเมล็ดต่อผลน้อยที่สุด คือ 15 เมล็ด ปริมาณผลผลิตสดต่อไร่ มะระขี้นก สายพันธุ์เบอร์ 7 ให้ผลผลิตสูงที่สุด คือ 1186.44 กิโลกรัมต่อไร่ และสายพันธุ์เบอร์ 13 ให้ผลผลิตต่ำที่สุด คือ 320.09 กิโลกรัมต่อไร่

จากการหาปริมาณโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตันจากน้ำหนักสด 5 กรัม ของผล ใบ และ เอนโดสเปิร์มในระยะต่างๆ ของมะระขี้นก 4 สายพันธุ์ นั้น พบว่า ในเอนโดสเปิร์มมีปริมาณโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตันสูงที่สุด รองลงมา คือในใบ และผลตามลำดับ โดยในเอนโดสเปิร์มที่ระยะ 24 วันหลังดอกบานมีปริมาณโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตันสูงที่สุด คือมีปริมาณอยู่ระหว่าง 23.09-47.97 ไมโครกรัม ซึ่งสายพันธุ์เบอร์ 3 เป็นสายพันธุ์ที่มีปริมาณสูงที่สุด คือ 47.97 ไมโครกรัม ซึ่งในใบ และผลของสายพันธุ์เบอร์ 13 เป็นสายพันธุ์ที่มีปริมาณโปรตีนขนาด 30 กิโลดัลตันสูงที่สุดในมะระขี้นกทั้ง 4 สายพันธุ์ โดยที่ระยะ 30 วันหลังใบคลี่ และผลที่ระยะ 24 วันหลังดอกบาน มีปริมาณ 0.1154 และ 0.0149 ไมโครกรัม ตามลำดับ

เอกสารอ้างอิง

ปัทมา สุนทรศารทูล. 2541. มะระขี้นก. จุลสารข้อมูลสมุนไพร ปีที่ 15 ฉบับที่ 2 มกราคม 2541. *[ระบบออนไลน์]*/http://www.medplant.mahidol.ac.th/ micro/charantia.htm. (28 มีนาคม 2545).

รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ. 2540. พืชเครื่องเทศและสมุนไพร. พิมพ์ครั้งที่1.สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.กรุงเทพ ฯ. 200 หน้า.

วัชรี ประชาศรัยสรเดช. 2542. คุณค่าของผักพื้นบ้าน: มะระขี้นก. เคหการเกษตร ปีที่ 23 ฉบับที่ 11 เดือนพฤศจิกายน. กรุงเทพฯ. หน้า 169-170 .

วีณา จิรัจฉริยากูล. 2543. ทางเลือกสำหรับผู้ติดเชื้อเอดส์ (Natural Alternative Therapy). จุลสารข้อมูล

สมุนไพรปีที่ 17 ฉบับที่ 4 กรกฎาคม 2543. *[ระบบออนไลน์]* http://www. medplant.mahidol. ac.th/mIcro/17(4)_1.htm -21k. (26 มีนาคม 2544).

วีระศักดิ์ สหชัยเสรี. 2544.โปรตีนเทคโนโลยี. โครงการตำรา และเอกสารประกอบการเรียนเคมี ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใม่. 238 หน้า.

เอมอร โสมนะพันธุ์. 2545. สมุนไพรยับยั้งเอดส์ (ANTI-HIV (AIDS) HERBS). *[ระบบออนไลน์]* http://www.boonmeeherb.com/tantil.htm. (27 เมษายน 2545)

Buchakul, N. 2001. The toxicity test of *Momorcharin charantia* L. seed protein. Thesis for Master of Science in Pharmacy (Toxicology). Mahidol University, Bangkok. 130 p.

Ditchaiwong, C., P. Kongtawelert, S. Natakankitkul, M. Tongjiem and M. Nikornpun. 2002. Varietal evaluation and 30 kDa protein studies in local bitter gourd. Kasetart J. (Nat. Sci.). Kasetsart University. 36: 225-234.

Ditchaiwong, C., P. Kongtawelert, S. Natakankitkul, M. Tongjiem and M. Nikornpun. 2003. Varietal evaluation and 30 kDa protein studies in local bitter gourd. The 3 rd World Congresson Medicinal and Aromatic plants for Human Welfare (WOCMAP III) 3-4 February 2003. Chiang Mai. Thailand. OP 04-10 and PP 02-83.

Kantawong, F.. 2003. Purification and characterization of α-Momorcharin from Bitter melon seeds for quantitative analysis by immunoassay. Master of Science in Biochemistry, Chiang Mai University, Chiang Mai. 91 p.

Lee-Huang, S. , P. L. Huang, P. L. Nara, C. Hao-Chen, K. Hsiang-fu, P. Huang, H. I. Huang and P. L. Huang. 1990. MAP30: A new inhibitor of HIV-1 infection and replication. FEBS Letters. 272(1-2):12-18.

Lee-Huang, S., P. L. Huang, A. S. Bourinbaiar, H. C. Chen and H. F. Kung. 1995b. Inhibition of the intergrase of human immunodeficiency virus (HIV) type 1 by anti-HIV plant proteins MAP30 and GAP31. Proc. Natl. Acad. Sci. 92: 8818-8822.

Lee-Huang, S., P. L. Huang, H. C. Chen, A. Bourinbaiar, H. I. Huang and H. F. Kung. 1995a. Anti-HIV and anti-tumor activities of recombinant MAP30 of bitter melon. Gene 161: 151-156.

Lee-Huang, S, H. F. Kung, P. L. Huang, A. S. Bourinbaiar, J. L. Morell, J. H. Brown, P. L. Huang, W. P. Tsai, A. Y. Chen, H. I. Huang and H. C. Chen. 1995c. Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) inhibition, DNA-binding, RNA-binding, and ribosome inactivation activities in the N-terminal segments of the plant anti-HIV GAP31. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91: 12208-12212.

Yeung, H. W., W. W. Li, W. Y. Chan, L. K. Law and T. B. Ng. 1986. Alpha and beta momorcharins. Int. J. Pept. Protein Res. 28: 518-524.

Zheng, Y. T., K. L. Ben and S. W. Jin. 1999. Alpha-momorcharin inhibits HIV-1 replication in acutely but not chronically infected T-lymphocytes. Zhongguo Yao Li Xue Bao. 20(3): 239-243.

วารสารเกษตร 20 (2) : 168-177 (2547)

Journal of Agriculture 20 (2) : 168-177 (2004)

ผลของการใช้ความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงโปรตีนระหว่างการสะท้านหนาวของผลมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์

Effect of Heat Treatment on Protein Changes During Chilling Injury of Mango Fruit cv. Chok - Anan

วีรพล โพธิ์สว่าง[1/] นิธิยา รัตนาปนนท์[1/] และ ดนัย บุณยเกียรติ[1/]

Weerapon Poswang[1/] Nithiya Rattanapanone[1/] and Danai Boonyakiat[1]

Abstract : Mangoes (*Mangifera indica* Linn. cv. "Chok-Anan") were dipped at 40±1°C and 45±1°C for 30, 45, 60 and 75 minutes and the fruit were then stored at 5±1°C with 90-95% RH for 24 days. The results showed that soluble protein contents that was analyzed by a dye binding method in the pulp of mangoes that were dipped at 40±1°C were more than those dipped at 45±1°C. Mangoes that were dipped in hot water for 75 minutes had less soluble protein contents in its pulp than those mangoes that dipped in hot water for 30, 45 and 60 minutes. Protein pattern of mango pulp were analyzed by a 10% SDS-PAGE showing 36 bands were visible in all treatments throughout the storage time with the range of molecular weight of 14.00-170.00 kDa. The molecular weights of major protein bands were determinded by a Gel Documentation and Analysis System. The results showed 18 bands in the control sample on the first day of storage with the range of molecular weight of 16.36-104.32 kDa. The mangoes that were dipped at 45±1°C for 60 and 75 minutes showed less 1 protein band than the control sample in the range of molecular weight of 25.11-26.84 kDa. On the fourth day of storage, the major protein bands at 16.06-16.36 kDa were absented in all treatments and the 23.28-24.01 kDa proteins remained only in a control sample and the hot water treatment at 40±1°C for 30 and 45 minutes. After storage for 8 days, all treatments showed 16 protein bands in the range of molecular weight of 20.00-116.00 kDa.

[1/] ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

[1/] Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand.

บทคัดย่อ: การแช่ผลมะม่วงในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 40±1 และ 45±1°ซ นาน 30, 45, 60 และ 75 นาที แล้วเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 5±1°ซ ความชื้นสัมพัทธ์ 90-95% เป็นเวลา 24 วัน พบว่า การแช่น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 40±1°ซ ทำให้ผลมะม่วงมีปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในเนื้อเมื่อวิเคราะห์โดยวิธี dye binding มากกว่าการแช่ในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 45±1°ซ การแช่ผลมะม่วงในน้ำร้อนนาน 75 นาที พบว่ามีปริมาณโปรตีนที่ละลายได้น้อยกว่าผลมะม่วงที่แช่ในน้ำร้อนนาน 30, 45 และ 60 นาที เมื่อตรวจสอบรูปแบบของโปรตีนโดยวิธีเอสดีเอส-โพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโตรโฟรีซีสความเข้มข้น 10% พบแถบโปรตีนที่เห็นได้ชัดเจนจำนวน 36 แถบในผลมะม่วงทุกกรรมวิธีตลอดระยะเวลาเก็บรักษา ซึ่งโปรตีนเหล่านี้มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 14.00-170.00 กิโลดาลตัน เมื่อวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของแถบโปรตีนโดยเครื่อง Gel Documentation and Analysis System พบว่า เมื่อเริ่มต้นการเก็บรักษา ผลมะม่วงชุดควบคุมมีแถบโปรตีนหลัก 18 แถบ ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 16.36-104.32 กิโลดาลตัน ส่วนผลมะม่วงที่แช่ในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 45±1°ซ นาน 60 และ 75 นาทีมีแถบโปรตีนหลักน้อยกว่าชุดควบคุม 1 แถบ ซึ่งเป็นแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 25.11-26.84 กิโลดาล-ตัน เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 วัน ผลมะม่วงในทุกกรรมวิธีไม่พบว่ามีแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 16.06-16.36 กิโลดาลตัน แต่มีแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 23.28-24.01 กิโลดาลตันในผลมะม่วงชุดควบคุมและผลมะม่วงที่แช่ในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 40±1°ซ นาน 30 และ 45 นาทีเท่านั้น ภายหลังการเก็บรักษานาน 8 วัน ผลมะม่วงในทุกกรรมวิธีมีแถบโปรตีนหลักเท่ากันคือ 16 แถบ ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 20.00-116.00 กิโลดาลตัน

Index words: การใช้ความร้อน โปรตีน การสะท้านหนาว ผลมะม่วง

Heat treatment, Protein, Chilling Injury, Mango Fruit

คำนำ

มะม่วง เป็นไม้ผลชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ซึ่งปลูกและให้ผลผลิตได้ในทุกพื้นที่ของประเทศไทย และเป็นผลไม้ที่สามารถส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศด้วย (วิจิตร, 2526) มะม่วงพันธุ์โชคอนันต์เป็นมะม่วงที่เกษตรกรนิยมปลูกกันมากเนื่องจากสามารถให้ผลผลิตได้ตลอดทั้งปี และยังสามารถส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศได้ (วิจิตร, 2533) แต่มีปัญหาไม่สามารถขนส่งไปจำหน่ายได้เป็นระยะทางไกล เนื่องจากมีอายุการเก็บรักษาสั้น การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำสามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลิตผลไว้ได้นานขึ้น แต่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำเกินไปอาจทำให้เกิดอาการผิดปกติที่เรียกกันว่า อาการสะท้านหนาว (chilling injury) ขึ้นได้ มะม่วงจัดเป็นผลไม้เขตร้อนอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษามะม่วงอยู่ในช่วง 12–13 องศาเซลเซียส ซึ่งหากเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำอาจทำให้เกิดความเสียหายขึ้นได้ (จริงแท้, 2542) ปัจจุบันมีการศึกษาเพื่อหาวิธีการลดความเสียหายที่เกิดจากอาการสะท้านหนาว รวมทั้งหาวิธีการที่จะทำให้ผลิตผลมีความต้านทานต่อการเกิดอาการ สะท้านหนาว หรือสามารถชะลอการพัฒนาของการเกิดอาการสะท้านหนาวในผลิตผลพืชสวนหลายชนิดได้ เช่น การใช้ความร้อนก่อนการเก็บรักษาจะช่วยเพิ่มความทนทานต่อการเกิดอาการสะท้านหนาวในผักและผลไม้บางชนิด และยังทำให้เนื้อเยื่อพืชมีการสังเคราะห์กลุ่มของโปรตีนชนิดพิเศษขึ้นมาเรียกว่า Heat Shock Proteins (HSPs) (Ferguson *et al*., 2000) ซึ่งมีรายงานพบ HSPs ในผลมะเขือเทศ (Sabehat *et al*., 1995) ผลอะโวกาโด (Woolf, 1997) มันฝรั่ง (Berkel *et al*., 1994) ผลมะละกอ (Paull and Chen,

1990) ผลแอปเปิล (Lurie and Klein, 1990) และผลมะม่วง (Leon and Gomez, 2001) ที่ได้รับความร้อนก่อนนำไปเก็บรักษา

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

นำผลมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์ที่เก็บเกี่ยวในระยะแก่ทางการค้ามีน้ำหนักอยู่ในช่วง 250 - 280 กรัม มาแช่ในน้ำที่มีอุณหภูมิ 40±1 และ 45±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30, 45, 60 และ 75 นาที โดยแช่ผลมะม่วงทีละ 46 ผลในน้ำ 40 ลิตร จุ่มผลมะม่วงในน้ำเย็นทันทีหลังจากแช่ในน้ำร้อนเพื่อลดอุณหภูมิ ผึ่งผลมะม่วงให้ผิวนอกแห้ง นำผลมะม่วงบรรจุในกล่องกระดาษขนาด กว้าง×ยาว×สูง เท่ากับ 29.5×50×9 เซนติเมตร ที่มีรูด้านข้าง แล้วนำมาเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 5±1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70-75 เปอร์เซ็นต์ สุ่มตัวอย่างผลมะม่วงออกมาทุก 4 วัน จนครบ 24 วัน เพื่อนำเนื้อมะม่วงมาสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย extraction buffer ซึ่งประกอบด้วย SDS 1.5% (w/v) ที่มี 2-mercaptoethanol 10% และ Tris-HCl buffer 0.5 โมลาร์ พีเอช 7.5 ในอัตราส่วนน้ำหนักเนื้อมะม่วงต่อปริมาตร extraction buffer เป็น 1:2 (น้ำหนักต่อปริมาตร) แล้วนำสารสกัดหยาบที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนที่ละลายได้โดยวิธี dye binding (Caprette, 1997) ที่วัดการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร แล้วคำนวณหาปริมาณโปรตีนโดยเปรียบเทียบจากโปรตีนมาตรฐาน และวิเคราะห์รูปแบบของโปรตีนโดยวิธี SDS-PAGE ที่มีความเข้มข้นของ acrylamide เท่ากับ 10% โดยใช้ระบบบัฟเฟอร์ คือ สารละลาย Tris-HCl บัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.0083 โมล่าร์ พีเอช 8.3 ที่มีไกลซีน 0.192 โมล่าร์ และ SDS 0.1% (Laemmli, 1970) ซึ่งสามารถสังเกตแถบของโปรตีนที่แยกได้แต่ละแถบจากแถบสีน้ำเงินที่เกิดจากการย้อมสีของโปรตีนโดยสารละลาย coomassie brilliant blue R-250 ความเข้มข้น 0.1% ที่มี methanol 50% และ acetic acid 10% วิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนโดยวัดการเคลื่อนที่ของสารละลายโปรตีนมาตรฐานแต่ละชนิดที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่แน่นอนจากการเคลื่อนที่ใน separating gel แล้วคำนวณหาค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของโปรตีนมาตรฐานแต่ละชนิดจากสมการ

$$\text{ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ (Relative mobility, } R_m) = \frac{\text{ระยะทางที่โปรตีนแต่ละแถบเคลื่อนที่}}{\text{ระยะทางที่ bromophenol blue เคลื่อนที่}}$$

นำค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ (R_m) ของโปรตีนมาตรฐานแต่ละชนิดมาเขียนกราฟกับค่า log น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนมาตรฐาน จากนั้นนำค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบโปรตีนจากเนื้อมะม่วงไปอ่านค่าเพื่อหาน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนแต่ละแถบจากกราฟมาตรฐาน

นำแผ่นเจลจากการทำอิเล็กโตโฟรีซีสของโปรตีนไปถ่ายภาพและวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนโดยใช้เครื่อง Gel Documentation and Analysis System ของบริษัท Synoptic Ltd., (U.S.A.) โดยใช้ Lowest slope กำหนดความกว้างของ peak ต่ำสุดเท่ากับ 7 พิกเซล ความสูงของ peak ต่ำสุดเท่ากับ 3 พิกเซล volume ของ peak ต่ำสุดเท่ากับ 1% และความสูงของ Filter ระบบ Savisky-Golay filter ต่ำสุดเท่ากับ 3 พิกเซล

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีน

ปริมาณโปรตีนทั้งหมดที่ละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ที่สกัดจากเนื้อมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์ในทุกกรรมวิธีมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา (ตารางที่ 1) โดยในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษาปริมาณโปรตีนทั้งหมดที่ละลายได้มีค่าผันแปรอยู่ระหว่าง 0.28-0.35 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด และเมื่อเก็บรักษาครบ 24 วัน ปริมาณโปรตีนทั้งหมดที่ละลายได้ในเนื้อมะม่วงมีค่าผันแปรอยู่ระหว่าง 0.31-0.40 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด (ตารางที่ 1) เมื่อศึกษาผลของระดับอุณหภูมิน้ำร้อนที่ใช้แช่ผลมะม่วงต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนทั้งหมดที่ละลายได้ พบว่า ในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษาผลมะม่วงที่แช่ในน้ำอุณหภูมิ 40±1 และ 45±1 องศาเซลเซียสมีปริมาณโปรตีนทั้งหมดที่ละลายได้เท่ากับ 0.34 และ 0.31 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05 ($P<0.01$) (ตารางที่ 2) และเมื่อพิจารณาผลของระยะเวลาที่ใช้ในการแช่ผลมะม่วงในน้ำร้อนต่อปริมาณโปรตีนทั้งหมดที่ละลายได้ พบว่า เมื่อเก็บรักษาผลมะม่วงเป็นระยะเวลา 16 วัน ผลมะม่วงที่แช่ในน้ำร้อนนาน 75 นาที มีปริมาณโปรตีนทั้งหมดที่ละลายได้เท่ากับ 0.29 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด (ตารางที่ 2) ซึ่งมี

Table 1 The soluble protein contents in the pulp of mango fruits dipped in hot water at 40 ±1°C and 45 ±1 °C for 30, 45, 60 and 75 minutes and then stored at 5±1 °C for 24 days.

Temperature and time for dipping mango fruits in hot water	The soluble protein contents (mg/g fresh weight)						
	Storage time (days)						
	0	4	8	12	16	20	24
Control	0.32	0.31	0.40	0.39[a]	0.34	0.35[a]	0.33
40±1 °C for 30 minutes	0.34	0.32	0.30	0.36[ab]	0.31	0.33[ab]	0.33
40 ± 1 °C for 45 minutes	0.34	0.35	0.32	0.35[ab]	0.36	0.34[ab]	0.33
40 ± 1 °C for 60 minutes	0.35	0.35	0.35	0.33[ab]	0.33	0.33[ab]	0.32
40 ± 1 °C for 75 minutes	0.34	0.32	0.29	0.31[ab]	0.33	0.31[ab]	0.33
45 ± 1 °C for 30 minutes	0.32	0.33	0.36	0.35[ab]	0.30	0.31[ab]	0.31
45 ± 1 °C for 45 minutes	0.32	0.34	0.33	0.38[a]	0.28	0.33[ab]	0.40
45 ± 1 °C for 60 minutes	0.31	0.33	0.33	0.38[a]	0.32	0.35[a]	0.37
45 ± 1 °C for 75 minutes	0.28	0.31	0.39	0.26[b]	0.26	0.32[ab]	0.32
LSD 0.05	0.09	0.11	0.17	0.11	0.17	0.06	0.11
CV (%)	5.95	9.58	10.97	6.43	14.24	3.04	7.20

* Mean followed by the same letters are not significantly different at the 5% level by LSD .

ความแตกต่างทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับผลมะม่วงที่แช่ในน้ำร้อนนาน 30, 45 และ 60 นาที รวมทั้งชุดควบคุมที่มีปริมาณโปรตีนทั้งหมดที่ละลายได้เท่ากับ 0.31, 0.32, 0.33 และ 0.34 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ ($P<0.01$) ทั้งนี้อิทธิพลร่วมระหว่างอุณหภูมิของน้ำและระยะเวลาที่ใช้แช่มีปฏิสัมพันธ์กัน เมื่อเก็บรักษานาน 4 และ 8 วัน (ตารางที่ 2) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเมื่อแช่ผลมะม่วงในน้ำร้อนที่มีอุณหภูมิสูงขึ้น ปริมาณโปรตีนทั้งหมดที่ละลายได้ในเนื้อมะม่วงลดลง สอดคล้องกับรายงานของ Key *et al.* (1981) ที่พบว่าต้นถั่วเหลืองมีการสังเคราะห์โปรตีนและมีปริมาณโปรตีนโดยรวมทั้งหมดลดลงเมื่อได้รับอุณหภูมิ 40±1 องศาเซลเซียสหรืออุณหภูมิที่สูง

Table 2 The soluble protein contents in the pulp of mango fruits dipped in hot water at 40±1 °C and 45±1 °C for 30, 45, 60 and 75 minutes and then stored at 5±1 °C for 24 days.

	The soluble protein contents (mg/g fresh weight)						
Factor 1	Storage time (days)						
Temperature	**0**	**4**	**8**	**12**	**16**	**20**	**24**
40±1 °C	**0.34[a]**	**0.32**	**0.33**	**0.30**	**0.33**	**0.33**	**0.33**
45±1 °C	**0.31[b]**	**0.30**	**0.35**	**0.35**	**0.33**	**0.33**	**0.35**
C.V. (%)	**6.04**	**14.29**	**8.98**	**10.51**	**14.38**	**4.34**	**9.36**
Factor 2	Storage time (days)						
Time	**0**	**4**	**8**	**12**	**16**	**20**	**24**
30 minutes	**0.33**	**0.30**	**0.33**	**0.35 [a]**	**0.31 [a]**	**0.33 [a]**	**0.32**
45 minutes	**0.33**	**0.30**	**0.33**	**0.37 [a]**	**0.32 [a]**	**0.33 [a]**	**0.36**
60 minutes	**0.33**	**0.34**	**0.34**	**0.35 [a]**	**0.33 [a]**	**0.34 [a]**	**0.35**
75 minutes	**0.31**	**0.32**	**0.34**	**0.30 [b]**	**0.29 [b]**	**0.32 [b]**	**0.32**
C.V. (%)	**17.07**	**14.29**	**11.60**	**7.71**	**16.71**	**4.34**	**9.36**
Control	**0.32**	**0.31**	**0.40**	**0.39**	**0.34**	**0.35**	**0.33**
Factor 1	*	Ns	ns	ns	ns	ns	ns
Factor 2	ns	Ns	ns	*	*	*	ns
Factor1×2	*	*	*	ns	ns	ns	ns

* Mean followed by the same letters are not significantly different at the 5% level by LSD .

* = significantly different ns = non significantly different

กว่า ในทำนองเดียวกัน Ferguson *et al.* (1994) ได้รายงานว่าผลสาลี่ที่ได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาตั้งแต่ 1 – 8 ชั่วโมงมีการสังเคราะห์ Heat Shock Proteins (HSPs) แต่เมื่อผลสาลี่ได้รับอุณหภูมิสูง 40±1 องศาเซลเซียสขึ้นไปมีการสังเคราะห์ HSPs ลดลง และเมื่อระยะเวลาที่ได้รับอุณหภูมิสูงนานขึ้น การเสื่อมสลายของโปรตีนเพิ่มขึ้นตามไปด้วย และผลสาลี่ที่ได้รับความร้อนที่ระดับอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง มีการสลายตัวของโปรตีนสูงกว่าผลสาลี่ที่ได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 42 และ 39 องศาเซลเซียส เมื่อได้รับความร้อนนานเท่ากัน คาดว่าอุณหภูมิที่สูงเกินไปทำให้ mRNA สลายตัว และกระบวนการการ transcription และ translation ลดลง

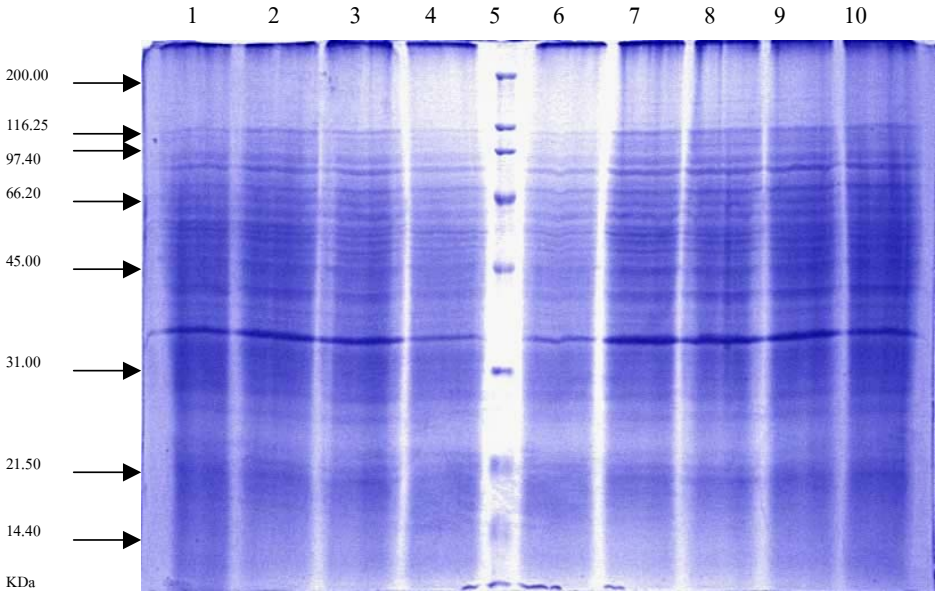


Figure 1 The protein patterns of mango pulp dipped in hot water at 40±1°C and 45±1°C for 30, 45, 60 and 75 minutes and then stored at 5±1°C for 24 days.

1 = The protein pattern of mango pulp in control.
2 = The protein pattern of mango pulp dipped in hot water at 40±1°C for 30 minutes.
3 = The protein pattern of mango pulp dipped in hot water at 40±1°C for 45 minutes.
4 = The protein pattern of mango pulp dipped in hot water at 40±1°C for 60 minutes
5 = The protein pattern of standards protein.
6 = The protein pattern of mango pulp dipped in hot water at 40±1°C for 75 minutes.
7 = The protein pattern of mango pulp dipped in hot water at 45±1°C for 30 minutes.
8 = The protein pattern of mango pulp dipped in hot water at 45±1°C for 45 minutes.
9 = The protein pattern of mango pulp dipped in hot water at 45±1°C for 60 minutes.
10 = The protein pattern of mango pulp dipped in hot water at 45±1°C for 75 minutes.

2. การเปลี่ยนแปลงรูปแบบโปรตีน

รูปแบบของโปรตีนที่ได้จากผลมะม่วงในทุกกรรมวิธีตลอดระยะการเก็บรักษามีจำนวนแถบที่สังเกตได้ด้วยตาเปล่าเท่ากัน คือเท่ากับ 36 แถบ ซึ่งแถบโปรตีนส่วนใหญ่อยู่ชิดกัน (รูปที่ 1) ผลการวิเคราะห์รูปแบบของแถบโปรตีนโดยใช้เครื่อง Gel Documentation and Analysis System พบว่าในวันแรกของการเก็บรักษาผลมะม่วงที่แช่ในน้ำอุณหภูมิ 40±1 องศาเซลเซียส นาน 30, 45, 60 และ 75 นาที มีแถบโปรตีน 18 แถบเท่ากับชุดควบคุม มีเพียงการแช่ผลมะม่วงในน้ำอุณหภูมิ 45±1 องศาเซลเซียส นาน 60 และ 75 นาที ที่ตรวจพบแถบโปรตีนหลักเพียง 17 แถบ โดยแถบโปรตีนที่พบในกรรมวิธีอื่นแต่ไม่พบในกรรมวิธีทั้งสองคือแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 25.11-26.84 กิโลดาลตัน

คาดว่าการได้รับอุณหภูมิที่สูงขึ้นและการได้รับอุณหภูมิสูงเป็นระยะเวลานานขึ้นมีผลทำให้เกิดการสลายตัวของโปรตีนบางชนิดในผลมะม่วง ซึ่งสอดคล้องกับ Leon and Gomez (2001) ที่รายงานว่าผลมะม่วงพันธุ์ Manila ที่ได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส นาน 36 ชั่วโมง แล้วเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 6 องศาเซลเซียส เมื่อศึกษารูปแบบโปรตีน พบว่าผลมะม่วงที่ได้รับความร้อนก่อนการเก็บรักษาไม่พบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 73 กิโลดาลตัน ซึ่งพบในผลมะม่วงชุดควบคุม แต่ตรวจพบโปรตีนกลุ่มใหม่ที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 64, 62, 32, 26, 24, และ 19 กิโลดาลตันซึ่งคาดว่าเป็น HSPs และ Woolf *et al*. (1995) รายงานว่ายีนส์ที่ทำหน้าที่สังเคราะห์ HSP17 และ HSP70 ในผลอะโวกาโดพันธุ์ Hass ที่ได้รับความร้อนก่อนนำไปเก็บรักษาถูกกระตุ้นให้แสดงออกเพิ่มขึ้นเมื่อผลอะโวกาโดได้รับอุณหภูมิ 38 และ 40 องศาเซลเซียสนาน 3-10 ชั่วโมง และมีการแสดงออกของยีนส์สูงสุดเมื่อผลอะ-โวกาโดได้รับอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส แต่เมื่อได้รับอุณหภูมิเพิ่มสูงกว่า 40 องศาเซลเซียส การแสดงออกของยีนส์ดังกล่าวลดลง ในวันที่ 4 ของการเก็บรักษาผลมะม่วงที่แช่ในน้ำที่อุณหภูมิ 40±1 องศาเซลเซียส นาน 60 และ 75 นาที และผลมะม่วงที่แช่ในน้ำที่อุณหภูมิ 45±1 องศาเซลเซียสนาน 30, 45, 60 และ 75 นาทีไม่พบแถบโปรตีนหลักที่มีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 23.3-24.0 กิโลดาลตัน ซึ่งพบในผลมะม่วงชุดควบคุมและผลมะม่วงที่แช่ในน้ำที่อุณหภูมิ 40±1 องศาเซลเซียส นาน 30 และ 45 นาที และภายหลังการเก็บรักษาวันที่ 8 เป็นต้นไป ผลมะม่วงในทุกกรรมวิธีมีจำนวนแถบโปรตีนหลักเท่ากับ 16 แถบ โดยไม่พบแถบโปรตีนหลักที่มีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 21.9-24.5 กิโลดาลตัน และ 16.1-16.7 กิโลดาลตัน ซึ่งพบในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษา แสดงว่าเมื่อเก็บรักษานานขึ้นโปรตีนในเนื้อมะม่วงมีการเปลี่ยนแปลง โดยผลิตผลที่เก็บรักษาเป็นเวลานานอาจมีการสลายตัวของโปรตีนหรือเปลี่ยนจากโปรตีนไปเป็นกรดอะมิโน อิสระ (จริง-แท้, 2542) การได้รับความร้อนยังมีผลในการลดการสังเคราะห์และการทำงานของเอนไซม์บางชนิดเช่นเอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์เอทธิลีน พบว่าเอนไซม์ดังกล่าวมีการเสื่อมสภาพหรือหยุดการทำงานเมื่อผลิตผลได้รับความร้อนเป็นผลให้กระบวนการสังเคราะห์เอทธิลีนถูกยับยั้ง โดย Yang *et al*. (1990) ได้เก็บรักษาผลมะเขือเทศภายหลังที่ได้รับความร้อน มีผลทำให้การทำงานของเอนไซม์ ACC synthase และ ACC oxidase ถูกยับยั้ง ส่งผลให้ปริมาณเอทธิลีนในผลมะเขือเทศลดลง ผลมะเขือเทศสุกช้าลงและไม่มีการตอบสนองต่อเอทธิลีนที่ได้รับจากภายนอก ที่อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียสสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองชนิดได้ดีที่สุด

จากผลการทดลองพบว่าไม่ปรากฏแถบโปรตีนบางแถบเมื่อเก็บรักษาผลมะม่วงเป็นระยะ

เวลานานขึ้นนั้นอาจเกิดจากการที่โปรตีนมีการสลายตัวหรือเปลี่ยนรูปไปเป็นโปรตีนที่มีขนาดเล็กหรือเปลี่ยนเป็นกรดอะมิโนอิสระ โดยในธรรมชาติพบว่าโปรตีนเป็นองค์ประกอบหนึ่งที่มีในผักและผลไม้ มีการเปลี่ยนแปลงค่อนข้างมากภายหลังการเก็บเกี่ยว โดยในผลไม้ประเภท climacteric พบปริมาณกรดอะมิโนที่เป็นอิสระน้อยลงเมื่อผลิตผลเข้าสู่ระยะ climacteric แสดงให้เห็นว่ามีการสร้างโปรตีนในระยะดังกล่าว แต่เมื่อผลิตผลเข้าสู่ระยะเสื่อมสภาพ พบว่าปริมาณกรดอะมิโนที่เป็นอิสระเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่ามีการสลายตัวของโปรตีน จึงอาจกล่าวได้ว่าโปรตีนในผักและผลไม้เป็นโปรตีนสำหรับการทำงานหรือเพื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงต่างๆ (Functional protein) (จริงแท้, 2542) นอกจากนี้ Sabehat *et al*. (1996) ยังรายงานว่าผลมะเขือเทศที่ได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง มีการสังเคราะห์ HSPs ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล 70 กิโลดาลตัน (HSP70) และโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 18-21 กิโลดาลตัน และผลมะเขือเทศที่ได้รับอุณหภูมิดังกล่าวแสดงอาการสะท้านหนาวน้อยกว่าผลมะเขือเทศชุดควบคุม จึงเชื่อว่า HSPs ที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นเป็นกลุ่มโปรตีนที่ทำหน้าที่เหมือน molecular chaperone ที่จับกับโปรตีนที่เสียสภาพเนื่องจากสภาพเครียดต่างๆ แล้วทำให้เกิดการรวมตัวสร้างเป็นโปรตีนที่สมบูรณ์อีกครั้ง และยังช่วยป้องกันการรวมตัวที่ผิดระเบียบของโปรตีน ส่วนโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจะช่วยป้องกันความเสียหายที่เกิดกับโปรตีนภายในเซลล์และโปรตีนที่เกี่ยวกับเยื่อหุ้ม ดังนั้น HSPs จึงสามารถเพิ่มความทนทานของเนื้อเยื่อพืชต่อการเกิดอาการสะท้านหนาวเมื่อนำมาเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำได้ สอดคล้องกับ Woolf (1997) ที่รายงานว่าผลอะโวกาโดที่แช่ในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส นาน 120 นาที ก่อนนำไปแช่ใน น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 6 องศาเซลเซียส นาน 1 สัปดาห์ แสดงอาการสะท้านหนาวลดลง เมื่อศึกษา HSPs พบว่า ผลอะโวกาโดที่แช่ในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส นาน 120 นาที ก่อนนำไปแช่ในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 10 นาทีมีการแสดงออกของยีนส์ที่สังเคราะห์ HSPs เพิ่มสูงขึ้น และไม่พบการแสดงออกของยีนส์ดังกล่าวในผลอะโวกาโดที่ไม่ได้รับความร้อน

สรุปผลการทดลอง

การแช่ผลมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์ในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 40±1 และ 45±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30, 45, 60 และ 75 นาทีแล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5±1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70-75 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 วัน ผลมะม่วงแสดงอาการสะท้านหนาวเมื่อเก็บรักษานาน 16 วัน และมีผลทำให้โปรตีนที่ละลายได้ในเนื้อมะม่วงที่แช่ในน้ำอุณหภูมิ 45±1 องศาเซลเซียสมีปริมาณน้อยกว่าเนื้อมะม่วงที่แช่ในน้ำอุณหภูมิ 40±1 องศาเซลเซียส ในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษา และรูปแบบของแถบโปรตีนจากการสังเกตด้วยตาเปล่าไม่มีความแตกต่างกัน แต่การวิเคราะห์รูปแบบของแถบโปรตีนโดยใช้เครื่อง Gel Documentation and Analysis System พบว่าการแช่ผลมะม่วงในน้ำอุณหภูมิ 45±1 องศาเซลเซียส นาน 60 และ 75 นาที มีแถบโปรตีนหลักน้อยกว่ากรรมวิธีอื่น และไม่ปรากฏแถบโปรตีนหลักที่มีมวลโมเลกุลต่ำบางแถบเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว (ADB)

เอกสารอ้างอิง

จริงแท้ ศิริพานิช. 2542. สรีรวิทยาและเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้. โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและฝึก-อบรมการเกษตรแห่งชาติ. สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม. 369 น

วิจิตร วังใน. 2526. มะม่วง. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ . น. 70-71.

วิจิตร วังใน. 2533. พันธุ์มะม่วง. น. 1-17. *ใน* ไพบูลย์ ไพรีพ่ายฤทธิ์ (ผู้รวบรวม) การทำสวนมะม่วง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. นครปฐม.

Caprette, D.R. 1997. "Bradford protein assay" [Online] Available http://www.ruf.rice.edu/~bioslabs/methods/protein/bradford.html (17 May 2002).

Ferguson, I.B., S. Lurie and J.H. Bowen. 1994. Protein synthesis and breakdown during heat shock of cultured pear (*Pyrus communis* L.) cells. Plant Physiol. 104 : 1429-1437.

Ferguson, I.B., S. Ben–Yehoshua, E.J. Mitcham, R.E. McDonald and S. Lurie. 2000. Postharvest heat treatments : introduction and workshop summary. Postharvest Biol. Technol. 21 : 1-6.

Hershko, A. and A. Ciechanover. 1992. The ubiquitin system for protein degradation Ann. Rev. Biochem. 61 : 801-807.

Key, J.L., C.Y. Lin and Y.M. Chen. 1981. Heat shock proteins of higher plants. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 78 : 3526-3530.

Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structure proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature. 227 : 680-685.

Leon, D.M. and M.A. Gomez. 2001. Heat shock proteins in refrigerated heat pre-treated mango. Annual Meeting, Section 30B, Fruit and Vegeable Products, New Orleans, Louisiana, USA. [Online] Available http://ift.confex.com/ift/2001/techprogram/session_900.htm. (9 October 2002).

Lurie, S. and J.D. Klein. 1990. Heat treatment of ripening apples, differential effects on physiology and biochemistry. Physiol. Plant., 78 :181-186.

Paull, R.E. and N.T. Chen. 1990. Heat shock response in field grown, ripening papaya fruit. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 115(4) : 623-631.

Sabehat, A., D. Weiss and S. Lurie. 1995. Persistence of heat shock proteins in heated tomato fruit and resistance to chilling injury of the fruit. Acta Hort. 398 : 11-21.

Sabehat, A., D. Weiss and S. Lurie. 1996. The correlation between heat-shock protein accumulation, persistence and chilling tolerance in tomato fruit. Plant Physiol. 110 : 531-537.

Wettern M., H.A. Parag, L. Pallman, I. Ohad and R.G. Kullka. 1990. Ubiquitin in *Chlamydomonas reinhardii*. distribution in the cell and effect of heat shock and photoinhibition on its conjugate patterns. Eur. J. Biochem. 191 : 571-576.

Woolf, B.A., C.B. Watkins, J.H. Bowan, M. Lay-Yee, J.H. Maindonald and J.B. Ferguson. 1995. Reducing external chilling injury in stored 'Hass' avocado with dry heat treatments. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 120(6) : 1050-1056.

Woolf, A.B. 1997. Reduction of chilling injuries in stored 'Hass' avocado fruit by 38 degrees C water treatments. HortScience. 32(7) : 1247-1254.

Yang, R.F., T.S. Chenge and R.L. Shewfelt. 1990. The effect of high temperature and ethylene treatment on the ripening of tomatoes. Plant Physiol. 136 : 368-372.

วารสารเกษตร 20 (2) : 178-186 (2547)

Journal of Agriculture 20 (2) : 178-186 (2004)

ผลของจิบเบอเรลลินที่มีต่อการยืดอายุเก็บเกี่ยวมะม่วงแก้ว ที่ปลูกในภาคเหนือตอนบน

Effect of Gibberellin on Delayed Harvesting of Mango cv. Kaew in the Upper North

เบ็ญจวรรณ ชุติชูเดช [1/] *และ ธวัชชัย รัตน์ชเลศ* [1/]

Benjawan Chutichudet [1/] *and Tavatchai Radanachaless* [1/]

Abstract : The rainfed production sites in the Upper North are naturally the late-harvesting area of Kaew mango in the country. Because of climatic and environmental advantages, increased value of Kaew mango for fresh consumption by the more delayed harvesting is expected. The objective of this study was to determine the effect of gibberellin (GA_3) on the delayed harvesting of Kaew mango trees. A Factorial in a Completely Randomized Design with 3 replicates was established, 1 tree was assigned as 1 replicate, consisting of two factors : five levels of gibberellin (GA_3) concentrations (0, 50, 100, 150 and 200 ppm) and two number of applications (one and two times), at 80 days after full bloom stage and one week later. Thirty 12 year old mango trees cv. Kaew trees planted with a spacing of 6 m X 6 m, grown in the farmer 's field, the Chom Tong Land Reform Project Area, Doi Lor district, Chiang Mai, were tested during December 2000 -May 2001. The results indicate that all the treatments of GA_3 concentrations and times of GA_3 applications had no effect on the delayed harvesting, size, weight of fruit and seed, fruit drop, fruit stalk toughness, fruit firmness, soluble solids (SS) and titratable acidity (TA). The application time of GA_3 had only a significant effect on the L value of the peel 's color. Double applications gave a significant higher L value of green peel color than a single application. The relatively high rate of GA_3 at 200 ppm gave also a significantly lower L value of flesh color than the others. Further studies are needed to determine the appropriate application time of GA_3 for delaying the Kaew mangos harvesting in the Upper North.

[1/] ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

[1/] Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand.

บทคัดย่อ: ภาคเหนือตอนบนในเขตที่ดอนอาศัยน้ำฝน โดยธรรมชาติเป็นแหล่งผลิตมะม่วงปลายฤดูของประเทศ จากข้อได้เปรียบด้านภูมิอากาศและสิ่งแวดล้อม จึงทำให้พื้นที่นี้มีศักยภาพในการผลิตมะม่วงแก้วล่าฤดูเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่ม การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาผลของจิบเบอเรลลิน (GA_3) ต่อการยืดอายุเก็บเกี่ยวของผลมะม่วงแก้วบนต้น วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์(Completely Randomized Design, CRD) จัดสิ่งทดลองแบบ Factorial มี 2 ปัจจัย คือ ความเข้มข้นของจิบเบอเรลลิน (GA_3) 5 ระดับ (0, 50, 100, 150 และ 200 สตล.) โดยพ่นที่ช่อผลเมื่ออายุ 80 วันหลังดอกบานเต็มที่ ร่วมกับจำนวนครั้งในการให้สาร 2 ระดับ คือ 1 และ 2 ครั้ง ครั้งแรกพ่น GA_3 ที่ 80 วันหลังดอกบานเต็มที่ ครั้งที่สอง พ่นหลังจากครั้งแรก 1 สัปดาห์ ทดลองกับต้นมะม่วงแก้วอายุ 12 ปี ระยะปลูก 6 เมตร X 6 เมตร จำนวน 3 ซ้ำ ให้ 1 ต้นแทน 1 ซ้ำ ระหว่างเดือนธันวาคม 2543-พฤษภาคม 2544 บนพื้นที่เกษตรกร ในเขตปฏิรูปที่ดินเพื่อเกษตรกรรม โครงการป่าจอมทอง กิ่ง อ.ดอยหล่อ จ.เชียงใหม่ ผลการทดลองพบว่า ทั้ง 2 ปัจจัยไม่มีผลต่อการยืดอายุเก็บเกี่ยว ขนาด น้ำหนักผลและเมล็ด การร่วงของผล ความเหนียวก้านขั้วผล ความแน่นเนื้อ ปริมาณน้ำตาลที่ละลายน้ำได้ (soluble solids, SS) ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (titratable acidity, TA) แต่จำนวนครั้งในการให้ GA_3 มีผลต่อค่าความสว่างของสี (lightness, L) ผิวเปลือก โดยกลุ่มที่ได้รับ GA_3 2 ครั้ง ผิวเปลือกมีสีเขียวใสสว่างกว่ากลุ่มที่ได้รับ GA_3 เพียงครั้งเดียว ส่วน GA_3 ระดับความเข้มข้น 200 สตล. ทำให้เนื้อมีสีเหลืองคล้ำกว่ากลุ่มอื่น ๆ ดังนั้นจึงควรทำการศึกษาเพิ่มเติมถึงระยะเวลาที่เหมาะสมในการให้ GA_3 เพื่อยืดอายุเก็บเกี่ยวมะม่วงแก้วในภาคเหนือตอนบนต่อไป

Index words: จิบเบอเรลลิน การยืดอายุเก็บเกี่ยว มะม่วงแก้ว ภาคเหนือตอนบน

คำนำ

การสุกแก่ของมะม่วงแก้วหรือการมีผลผลิตออกสู่ตลาด จะเริ่มจากพื้นที่ภาคกลางในเดือนมีนาคม ภาคตะวันออกเฉียงเหนือเดือนเมษายน และภาคเหนือตอนบนในช่วงกลางเดือนพฤษภาคมเป็นแหล่งสุดท้าย (ธวัชชัยและคณะ, 2546) การที่มะม่วงแก้วภาคเหนือตอนบนแก่ช้ากว่าพื้นที่ภาคอื่นๆ เนื่องจากสภาพภูมิอากาศและสิ่งแวดล้อม จึงนำมาใช้เป็นข้อได้เปรียบและเสริมด้วยการใช้เทคโนโลยีเพื่อผลิตมะม่วงแก้วล่าฤดู โดยเฉพาะการใช้สารควบคุมชีวภาพของพืชซึ่งมีอยู่อย่างหลากหลายในปัจจุบัน จิบเบอเรลลินเป็นสารหนึ่งที่มีรายงานว่าสามารถชะลอการเสื่อมสภาพ ช่วยยืดระยะการสุกแก่บนต้นของผลหลายชนิด เช่น ส้มในกลุ่มแมนดาริน (Ludford, 1995) ผลเมล็ดเดียวแข็ง เช่น พลัม (Looney, 1996) เกรพฟรุทพันธุ์ ‘Marsh’ (McDonald *et al.*, 1997) cactus pear (Schirra *et al.*, 1999) และเชอรี่หวาน (Willemsen, 2000) ปัจจุบันยังไม่พบงานวิจัยที่กล่าวถึงผลของจิบเบอเรลลิน (GA_3) ต่อการชะลออายุเก็บเกี่ยวของมะม่วง โดยเฉพาะในพื้นที่ภาคเหนือตอนบนอย่างจริงจัง การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้ GA_3 ต่อการยืดอายุเก็บเกี่ยวมะม่วงแก้วเป็นมะม่วงล่าฤดูในพื้นที่ดังกล่าว ซึ่งจะเป็นเทคโนโลยีทางเลือกหนึ่งของเกษตรกร ให้มะม่วงแก้วมีระยะเวลาการให้ผลผลิตต่อเนื่องที่ยาวนานขึ้น และผู้ผลิตได้รับผลตอบแทนทางด้านราคาที่สูงขึ้น โดยอาศัยข้อได้เปรียบของสภาพภูมิอากาศและสิ่งแวดล้อมที่เป็นลักษณะเฉพาะในพื้นที่ภาคเหนือตอนบน

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

ศึกษากับต้นมะม่วงแก้วอายุ 12 ปีที่ให้ผลผลิตแล้วและมีขนาดและความสมบูรณ์ใกล้เคียงกัน บนพื้นที่เกษตรกรในเขตปฏิรูปที่ดินเพื่อเกษตรกรรม โครงการป่าจอมทอง กิ่งอำเภอดอยหล่อ จังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งเป็นที่ดอนอาศัยน้ำฝน ทดลองระหว่างเดือนธันวาคม 2543 – พฤษภาคม 2544 ระยะปลูก 6 เมตร X 6 เมตร วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) จัดสิ่งทดลองแบบ Factorial มี 2 ปัจจัย คือ ความเข้มข้นของจิบเบอเรลลิน (GA_3) ในรูปของ ProGibb มี 5 ระดับ คือ 0, 50, 100, 150 และ 200 สตล. ปัจจัยที่ 2 คือ จำนวนครั้งที่ให้สาร มี 2 ระดับ คือ 1 และ 2 ครั้ง ให้ครั้งแรกเมื่ออายุ 80 วันหลังดอกบานเต็มที่ ให้ครั้งที่สองห่างจากครั้งแรก 1 สัปดาห์ โดยใช้ hand sprayer พ่น GA_3 ที่ช่อผลและใบที่ติดบนช่อผล จนกระทั่งสารละลายเริ่มไหลหยดจากผลและใบ

การบันทึกผล การร่วงของผลภายหลังให้สารจนกระทั่งเก็บเกี่ยว อายุเก็บเกี่ยวโดยนับจำนวนวันตั้งแต่ระยะดอกบานเต็มที่ถึงผลแก่ เมื่อเก็บเกี่ยวผลแก่ นำมาวัดขนาด น้ำหนักผลและเมล็ด ความเหนียวก้านขั้วผลและความแน่นเนื้อโดยใช้เครื่องวัดความแน่นเนื้อ (digital force gauges, model SHIMPO FGV- 50A สีผิวเปลือกผลและเนื้อ โดยใช้เครื่อง color reader, Minolta CR-10 ระบบ CIE system ปริมาณน้ำตาลที่ละลายน้ำได้ (soluble solids, SS) โดย digital hand refractometer Atago PR-101 ปริมาณกรดในน้ำคั้น (titratable acidity, TA) (A.O.A.C., 1990) นำข้อมูลทั้งหมดไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Least Significant Difference (LSD) ความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. อายุเก็บเกี่ยว

ระดับความเข้มข้นและจำนวนครั้งของการให้สาร GA_3 โดยพ่นตั้งแต่ 80 วันหลังดอกบานเต็มที่ไม่สามารถยืดอายุเก็บเกี่ยวผลมะม่วงแก้วที่ปลูกในสภาพอาศัยน้ำฝนบนที่ดอนได้ (ตารางที่ 1) โดยมีอายุเก็บเกี่ยวอยู่ระหว่าง 129.8 -134.5 วันหลังดอกบานเต็มที่ ทั้งนี้อาจเนื่องจากระยะเวลาในการให้สารอาจไม่เหมาะสม เช่น ให้ GA_3 เร็วเกินไป ซึ่งระดับความสามารถของ GA_3 ที่ให้จากภายนอกสามารถลดลงโดยกระบวนการสลาย (catabolism) หรือโดยกระบวนการสังยุค (conjugation) กับน้ำตาลโมโนแซคคาไรด์ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นกลูโคส แล้วสร้างเป็น gibberellin glycoside ผลจากการตอบสนองต่อ GA_3 ที่ให้จึงไม่มีประสิทธิภาพช่วยยืดอายุเก็บเกี่ยวเท่าที่ควร (Davenport and Nunez-Elisea, 1997, Taiz and Zeiger, 1998)

2. ขนาดและน้ำหนักผล

2.1 ขนาดผล ผลมะม่วงแก้วจากทุกกลุ่มทดลองมีความกว้าง ความยาว และความหนาเมื่อเก็บเกี่ยวไม่แตกต่างกัน อยู่ในช่วงระหว่าง 6.7-6.9, 9.7-10.1 และ 5.9-6.1 ซม. ตามลำดับ (ตารางที่ 1) การพัฒนาของผลมะม่วงส่วนใหญ่จะปรากฏระหว่างสัปดาห์ที่ 5-8 หลังจากนั้นอัตราการเจริญของผลจะดำเนินไปอย่างช้า ๆ จนกระทั่งหลังจากสัปดาห์ที่ 9 ผลจะหยุดการเพิ่มขนาด (Krisanapook *et al*., 2000) ทำให้ GA_3 ที่ให้กับผลอายุ 80 วันหลังดอกบานเต็มที่ มีขนาดผลไม่แตกต่างกัน เนื่องจากผลมะม่วงมีพัฒนาการผ่านเลยระยะที่จะตอบสนองต่อสารในด้านการเจริญของผลไปแล้ว ทำให้ไม่มีผลต่อขนาดและน้ำหนักผลระหว่างต้นที่ได้รับสารและต้นที่ไม่ได้รับสาร (Guardiola *et al*., 1994)

Table 1 Effect of foliar spray of different GA_3 concentrations and two different application times on harvesting time, size and weight of fruits and seeds, fruit drop, fruit stalk toughness and firmness of Kaew mango.

Treatment	Harvesting time (days)	Fruit size (cm)			Fruit weight (g)	Seed size (cm)			Seed weight (g)	Fruit drop (%)	Fruit stalk toughness (kg)	Fruit firmness (kg/cm^2)
		Width	Length	Thickness		Width	Length	Thickness				
GA_3 conc. (ppm)												
0	132.17	6.80	9.90	6.03	218.56	3.69	9.0	2.28	34.00	4.17	3.32	13.60
50	134.50	6.87	10.09	6.10	226.26	3.83	9.3	2.21	34.87	5.00	3.34	14.06
100	132.00	6.88	9.97	6.08	224.82	3.77	9.12	2.25	33.80	1.67	3.52	13.94
150	131.00	6.68	9.76	5.92	210.17	3.52	8.84	2.14	33.34	3.33	3.62	14.28
200	129.83	6.71	9.67	5.95	212.78	3.62	8.65	2.16	32.19	0.83	3.80	13.73
F – test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C.V. (%)	0.81	2.76	3.69	2.17	7.58	5.51	49.23	6.06	5.90	117.06	10.71	10.07
Number of application (time)												
1	131.80	6.75	9.84	6.00	215.41	3.63	8.88	2.19	33.49	3.67	3.47	13.76
2	132.00	6.83	9.92	6.03	221.62	3.75	9.09	2.23	33.79	2.33	3.57	14.08
F – test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C.V. (%)	4.01	2.83	3.79	2.35	7.63	5.80	51.92	6.14	6.18	120.62	11.33	9.60

ns = nonstatistical difference at 95% level ($P < 0.05$)

2.2 น้ำหนักผล ทำนองเดียวกับขนาดผล การให้ GA_3 และจำนวนครั้งในการให้ไม่มีผลต่อน้ำหนักผล โดยทุกกลุ่มทดลองมีน้ำหนักผลใกล้เคียงกันระหว่าง 210.2-226.3 กรัมต่อผล (ตารางที่ 1)

3. ขนาดและน้ำหนักเมล็ด

3.1 ขนาดเมล็ด GA_3 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ และจำนวนครั้งในการให้สาร ไม่มีผลต่อขนาดเมล็ด เมล็ดมะม่วงจากผลแก่ทุกกลุ่มทดลองมีขนาดใกล้เคียงกัน โดยมีความกว้าง (3.5-3.8 ซม.) ความยาว (8.7-9.3 ซม.) และความหนา (2.1-2.3 ซม.) (ตารางที่ 1) ซึ่งกาญจนา (2537) รายงานว่าผลมะม่วงอายุ 70-75 วันหลังดอกบาน เมล็ดจะเริ่มหยุดการเจริญ ดังนั้นการให้ GA_3 ในระยะดังกล่าวจึงไม่ส่งผลต่อขนาดของเมล็ด

3.2 น้ำหนักเมล็ด เช่นเดียวกับขนาดเมล็ด เมล็ดจากผลทั้ง 2 ปัจจัยมีน้ำหนักใกล้เคียงกันระหว่าง 32.2-34.9 กรัม (ตารางที่ 1)

4. การร่วงของผล

หลังการให้ GA_3 กับผลอายุ 80 วัน จนกระทั่งเก็บเกี่ยว ผลมะม่วงทุกกลุ่มทดลองมีการร่วงของผลไม่แตกต่างกัน ระหว่างร้อยละ 0.8-5.0 (ตารางที่ 1) แม้กลุ่มทดลองที่ได้รับ GA_3 ในระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้นและจำนวนครั้งที่เพิ่มขึ้น มีแนวโน้มทำให้การร่วงของผลลดลง รุ่งทิพย์และคณะ (2545) ติดตามการร่วงของผลมะม่วงแก้วในระยะต่าง ๆ พบว่าการร่วงเกิดได้ในทุกระยะการพัฒนาของผล ซึ่งเป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ โดยผลระยะแก่จัดจะเหลือผลเพียง 1.6 ผลต่อช่อ สอดคล้องกับ Krisanapook *et al*. (2000) รายงานว่าการร่วงของผลมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย ส่วนใหญ่ปรากฏระหว่างผลอายุ 3-7 สัปดาห์หลังดอกบาน เนื่องจากการแข่งขันกันระหว่างผลที่ติดบนต้นและระดับสมดุลของฮอร์โมน โดยเฉพาะ GA_3 ซึ่งมีบทบาทสำคัญทำให้ผลร่วงลดลง ประกอบกับการลดการหลุดร่วงของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้จะมีประสิทธิภาพ เมื่อให้ GA_3 กับผลที่เจริญในระยะแรก ๆ (1-3 สัปดาห์หลังดอกบาน) (วิมล, 2545)

5. ความเหนียวก้านขั้วผล

ผลมะม่วงแก่จากทุกกลุ่มทดลองมีความเหนียวบริเวณขั้วผลไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 1) โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 3.3-3.8 กิโลกรัม

6. ความแน่นเนื้อ

GA_3 ทุกระดับความเข้มข้นและจำนวนครั้งในการให้สาร ไม่มีผลต่อความแน่นเนื้อของผลมะม่วงแก้วที่เก็บเกี่ยวได้ (ตารางที่ 1) โดยผลมะม่วงแก้วทุกกลุ่มทดลองมีค่าความแน่นเนื้อใกล้เคียงกัน ระหว่าง 13.6-14.3 กิโลกรัม / ซม.^{2} สอดคล้องกับ ธีรวุฒิ (2540) ที่พบว่า GA_3ไม่มีผลต่อความแน่นเนื้อของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้และฟ้าลั่น โดยเฉพาะผลมะม่วงที่เจริญเติบโตในสภาพที่มีน้ำจำกัด ส่วนการใช้ GA_3 ความเข้มข้น 10 สตล. สามารถชะลอการอ่อนนุ่มของเปลือกผลส้มได้ (El-Otmani *et al*., 1990)

7. สีผิวเปลือกและสีเนื้อ

7.1 ค่าความสว่างของสี (lightness, L) จำนวนครั้งในการให้สารมีส่วนช่วยในเรื่องของความสว่างของสีผิวเปลือกบริเวณกลางผล (ตารางที่ 2) โดยกลุ่มที่ได้รับ GA_3 2 ครั้ง มีการตอบสนองทำให้ผิวเปลือกมีสีเขียวใสสว่างขึ้น (45.3) กว่ากลุ่มที่ได้รับ GA_3 เพียงครั้งเดียว (44.2) สอดคล้องกับ Garcia-Luis *et al*. (1992) ที่พบว่าการให้ GA_3 ช่วยชะลอการเปลี่ยนแปลงสารสี (pigment) ในส่วนเปลือกของผลส้มแมนดาริน ขณะที่ระดับความเข้มข้นของ GA_3 มีผลต่อสีเนื้อ โดยกลุ่มที่ได้รับ GA_3 200 สตล. เนื้อมีสีเหลืองคล้ำ (65.4) กว่ากลุ่มอื่น ๆ

7.2 ค่าความเข้มของสี (chroma, c) ระดับความเข้มข้นของ GA_3 และจำนวนครั้งในการให้ ไม่มีผลต่อค่า c ทั้งในส่วนผิวเปลือก (25.3-28.9) และเนื้อผล (39.1-40.0) (ตารางที่ 2) โดยผิวเปลือกมีสีเขียวเข้ม ส่วนเนื้อมีสีเหลืองอ่อน แม้กลุ่มทดลองที่ได้รับ GA_3 ความเข้มข้นที่สูงขึ้น ผิวเปลือกมีแนวโน้มที่จะมีสีเขียวเข้มขึ้น ส่วน Schirra *et al*. (1999) พบว่าผล cactus pear ที่ได้รับ GA_3 10 สัปดาห์หลังดอกบานเต็มที่ สามารถชะลอการปรากฏสีเหลืองส้มของผิวเปลือก และลดอัตราการเปลี่ยนแปลงสีผิวเปลือกได้

7.3 ค่าโทนสี (chromatic tonality, hue, h) ค่า h บริเวณผิวเปลือกผลและเนื้อภายในจากแต่ละกลุ่มทดลองมีค่าไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 2) โดยผิวเปลือกผลมะม่วงทุกกลุ่มทดลอง มีค่า h อยู่ในโซนสีเขียว (107.5 - 109.3) ส่วนเนื้อในผลมีสีเหลืองอ่อน (92.9-95.9)

8. ปริมาณน้ำตาลที่ละลายน้ำได้ (soluble solids, SS)

ทุกกลุ่มทดลองไม่มีความแตกต่างกันในส่วนของปริมาณ SS ซึ่งอยู่ในช่วงระหว่าง 9.0-11.6° Brix (ตารางที่ 3)

9. ปริมาณกรดในน้ำคั้น (titratable acidity, TA)

ทุกกลุ่มทดลองไม่มีความแตกต่างกันในส่วนของปริมาณ TA (0.39-0.42%) (ตารางที่ 3) สอดคล้องกับ McDonald *et al.* (1997) ที่รายงานว่าการใช้ GA_3ในรูปของ ProGibb กับผลเกรพฟรุทก่อนที่ผลจะมีการเปลี่ยนสี (color break stage) ในช่วงก่อนเก็บเกี่ยวกับผลเกรพฟรุทที่ไม่ได้ให้สาร มีคุณภาพภายใน (SS และ TA ในน้ำคั้น) ไม่แตกต่างกัน ทำนองเดียวกับ Garcia-Luis *et al.* (1992) ที่พบว่าการให้ GA_3 กับผลส้มแมนดาริน ไม่มีผลกระทบต่อองค์ประกอบของน้ำคั้น

Table 2 Effect of GA_3 concentration and number of application time on peel and flesh of mango fruits' color measured in L, c and h value.

	Peel color			Flesh color		
Treatment	**L**	**c**	**h**	**L**	**c**	**h**
GA_3 conc. (ppm)						
0	**43.96**	**25.33**	**109.25**	**67.04 ab**	**39.08**	**94.60**
50	**44.83**	**25.30**	**107.62**	**68.18 a**	**39.27**	**92.93**
100	**45.93**	**28.86**	**107.50**	**67.34 a**	**39.29**	**95.25**
150	**44.48**	**26.32**	**107.70**	**68.17 a**	**39.55**	**93.46**
200	**44.48**	**25.34**	**108.03**	**65.35 b**	**39.99**	**95.92**
F - test	**ns**	**ns**	**ns**	*****	**ns**	**ns**
C.V. (%)	**3.44**	**8.64**	**1.21**	**2.46**	**3.46**	**2.46**
Number of application time						
1	**44.15 b**	**26.24**	**107.83**	**67.61**	**39.53**	**93.82**
2	**45.32 a**	**26.22**	**108.21**	**66.82**	**39.34**	**95.04**
F - test	*****	**ns**	**ns**	**ns**	**ns**	**ns**
C.V. (%)	**3.32**	**10.08**	**1.29**	**2.75**	**3.36**	**2.53**

[1] Mean within the same column followed by the same letters do not significantly differ at 5% level ($P < 0.05$) by LSD ; ns = nonstatistical difference at 95% level ($P < 0.05$)

สรุปผลการทดลอง

ระดับความเข้มข้นของ GA_3 (0, 50, 100, 150 และ 200 สตล.) และจำนวนครั้งในการให้สาร (1 และ 2 ครั้ง) ที่พ่นให้กับช่อผลอายุ 80 วันหลังดอกบานเต็มที่ ของมะม่วงแก้ว ต้นอายุ 12 ปี ปลูกบนพื้นที่ดอนอาศัยน้ำฝนของภาคเหนือตอนบน ไม่สามารถช่วยยืดอายุเก็บเกี่ยวออกไป แต่ก็ไม่ทำให้คุณภาพผล และองค์ประกอบอื่นของผลเปลี่ยนไป รวมทั้งขนาด น้ำหนักของผลและเมล็ด การร่วงของผล ความเหนียวก้านขั้วผล ความแน่นเนื้อ ค่าความเข้มของสี (croma) ค่าโทนสี (hue) ในส่วนผิวเปลือกและเนื้อ ตลอดจนปริมาณ SS และ ปริมาณ TA ในน้ำคั้น ยกเว้นกลุ่มที่ได้รับ GA_3 2 ครั้ง มีค่าความสว่าง (lightness) ของสีเขียวที่ผิวเปลือกมากกว่ากลุ่มที่ได้รับสารเพียงครั้งเดียว และกลุ่มที่ได้รับ GA_3 ความเข้มข้น 200 สตล. มีค่าความสว่างของสีเหลืองในส่วนเนื้อต่ำกว่าความเข้มข้นอื่น ๆ

Table 3 Effect of GA_3 concentrations and number of application times on soluble solids and titratable acidity of Kaew mango.

Treatment	Soluble solids (°Brix)	Titratable acidity (%)
GA_3 conc. (ppm)		
0	9.49	0.4067
50	10.35	0.4033
100	8.97	0.4033
150	9.97	0.3867
200	9.29	0.4183
F – test	ns	ns
C.V. (%)	10.36	11.08
Number of application time		
1	11.61	0.4093
2	11.26	0.3980
F – test	ns	ns
C.V. (%)	10.77	11.08

ns = nonstatistical difference at 95% level ($P < 0.05$)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่อนุเคราะห์เงินทุนสนับสนุนในการตีพิมพ์ในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กาญจนา เหลืองสุวาลัย. 2537. การศึกษาการเจริญเติบโต การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี ดัชนีการเก็บเกี่ยว การเก็บรักษา และการบ่มผลมะม่วง (*Mangifera indica* L.) พันธุ์แก้วจุก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ธวัชชัย รัตน์ชเลศ พฤกษ์ ยิบมันตะสิริ และ รุ่งทิพย์ อุทุมพันธ์. 2546. มะม่วงแก้ว ไม้ผลเพื่อความหวังและฟื้นฟูทรัพยากรธรรมชาติ. ศูนย์วิจัยเพื่อเพิ่มผลผลิตทางเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 199 น.

ธีรวุฒิ มาประชา. 2540. อิทธิพลของ GA_3, GA_{4+7}, GA_{4+7} + BA ต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้และพันธุ์ฟ้าลั่น. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

รุ่งทิพย์ อุทุมพันธ์ ธวัชชัย รัตน์ชเลศ พฤกษ์ ยิบมันตะสิริ และ ปฐมา เดชะ. 2545. พัฒนาการของมะม่วงแก้วในสภาพที่ดอนอาศัยน้ำฝน : ความแปรปรวนการร่วงของผลระหว่างสายต้น. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 33 (4-5) : 71-74.

วิมล แก้วลัดดากร. 2545. อิทธิพลของสาร GA_3 ต่อการติดผล การเจริญเติบโตของผล และการเปลี่ยนแปลงปริมาณ GA_3-, ABA- like substances ภายในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

A.O.A.C. 1990. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemist. Virginia. 1298 p.

Davenport, T.L. and R. Nunez-Elisea. 1997. Reproductive Physiology. pp. 203-256. In R. E. Litz (ed.). The Mango Botany, Production and Uses. CAB International, Wallingford.

El-Otmani, M., A. A. M' Barek and C. W. Coggins. 1990. GA_3 and 2,4-D prolong on – tree storage of citrus in Morocco. Scientia Horticulturae 44 : 241-249.

Garcia-Luis, A., A. Herrero-Villen and J.L. Guardiola. 1992. Effects of applications of gibberellic acid on late growth, maturation and pigmentation of the Clementine mandarin. Scientia Horticulturae 49 : 71-82.

Guardiola, J. L., M. T. Barres, C. Albert and L. A. Garcia. 1994. Growth regulators and fruit development in Satsuma mandarin. Hort. Abstr. 64 : 110.

Looney, N. E. 1996. Role of endogenous plant growth substances in regulating fruit tree growth and development. pp. 31-40. In K. M. Maib, P. K. Andrews, G. A. Lang and K. Mullinix (eds.). Good Fruit Grower, Washington. 165 p.

Ludford, P. M. 1995. Postharvest hormone changes in vegetables and fruit. pp. 725-750. In P. J. Davies (ed.). Plant Hormones Physiology, Biochemistry and Molecular Biology. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.

Krisanapook, K., L. Phavaphutanon, A. Pichakum and K. Jutamanee. 2000. Studies on fruit growth, levels of GA-like substances and CK-like substances in fruits of mango cv. Khiew sawoey. Acta Hort 509 : 697-704.

McDonald, R. E., P.D. Greany, P. E. Shaw and T. G. McCollum. 1997. Preharvest applications of

gibberellic acid delay senescence of Florida grapefruit. Journal of Horticultural Science 72 (3) : 461-468.

Schirra, M., G. D. Hallewin, P. Inglese and T. La Mantia. 1999. Epicuticular changes and storage potential of cactus pear (*Opuntia ficus-indica* Miller (L.)) fruit following gibberellic acid preharvest sprays and postharvest heat treatment. Postharvest Biology and Technology 17 : 79-88.

Taiz, L. and E. Zeiger. 1998. Plant Physiology. 2nd edition. Sinauer Associates, Inc., Publishers.Massachusetts. 792 p.

Willemsen, K. 2000. " Gibberellins". [Online]. Available http://www.frec.wsu. edu/Horticulture/stonefruits. html. (28/10/2000).

วารสารเกษตร 20 (2) : 187-196 (2547)

Journal of Agriculture 20 (2) : 187-196 (2004)

ผลของการตัดแต่งช่อดอกต่อการติดผล คุณภาพของผล และผลผลิตของลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย

Effect of Panicle Thinning on Fruit Set, Fruit Quality and Yield of Lychee cv. 'Hong Huay'

วินัย วิริยะอลงกรณ์[1/] และ ธนะชัย พันธ์เกษมสุข[1/]

Winai Wiriya-alongkorn[1/] and Tanachai Pankasemsuk[1/]

Abstract : Panicle thinning, cutting off 1/3 rachis length before blooming, was done in 6-year-old lychee cv. 'Hong – Huay' trees which grow at an orchard in Buak-chan village, MaeRim district, Chiang Mai province. It revealed that rachilla length, fruit weight, seed weight, peel weight, flesh weight, total fruit weight and number of harvested fruit per panicle, significantly (α=0.05) increased compared to those of the unthinning panicles. However total number of flowers, staminate, pistillate and perfect flowers, fruit set and fruit drop percentage, total nonstructural carbohydrate (TNC) of leaves and panicles, edible portion percentage, total soluble solids (TSS) and titratable acidity (TA) did not significant differences (α=0.05).

บทคัดย่อ: การตัดแต่งโดยการตัดปลายช่อดอกออกประมาณ 1/3 ของความยาวช่อดอกในระยะก่อนดอกบานในลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย อายุ 6 ปี ณ สวนของเกษตรกร หมู่บ้านบวกจั่น อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ พบว่า ช่อดอกที่ได้รับการตัดแต่งปลายช่อดอกมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับช่อดอกที่ไม่ได้รับการตัดแต่งปลายช่อดอก มีความยาวของก้านช่อดอกย่อยที่โคนช่อ น้ำหนักผล น้ำหนักเมล็ด น้ำหนักเปลือก น้ำหนักเนื้อ น้ำหนักรวมทั้งหมดต่อช่อ และจำนวนผลที่เก็บเกี่ยวได้ต่อช่อมากกว่า ส่วนลักษณะที่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญได้แก่ จำนวนดอกรวม ดอกเพศผู้ ดอกเพศเมีย และดอกสมบูรณ์เพศ เปอร์เซ็นต์การติดผล เปอร์เซ็นต์การร่วงของผล ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้าง (total nonstructural carbohydrate; TNC) ในใบและในช่อดอก เปอร์เซ็นต์ส่วนที่รับประทานได้ (edible portion) ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (total soluble solids; TSS) และปริมาณกรดที่ไตเตรตได้ (titratable acidity; TA)

[1/] ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

[1/] Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand.

Index words: ลิ้นจี่ การตัดแต่ง การติดผล การร่วงของผล คาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้าง
Lychee, Thinning, Fruit set, Fruit drop, Total nonstructural carbohydrate (TNC)

คำนำ

นอกเหนือจากอุปสรรคทางด้านการออกดอกไม่สม่ำเสมอ หรือออกดอกเว้นปีแล้ว ปัญหาที่สำคัญของชาวสวนลิ้นจี่ คือ การติดผล และการที่ผลร่วงมากในระหว่างการเจริญเติบโตของผล แม้ว่าต้นลิ้นจี่จะออกดอกได้ดีก็ตาม แต่ก็มิได้เป็นหลักประกันเสมอไปว่าจะสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้มาก (รวี, 2540) การร่วงของผลลิ้นจี่สามารถแบ่งได้เป็น 2 ช่วงคือ ระยะแรกเริ่มตั้งแต่ช่วงท้ายของการบานของดอกตัวเมียไปจนถึง 4 สัปดาห์หลังดอกเพศเมียบานเต็มที่ ระยะนี้มีการร่วงของดอกเพศเมีย 85-90 เปอร์เซ็นต์ ส่วนระยะที่สอง เริ่มตั้งแต่สัปดาห์ที่ 5-6 หลังดอกเพศเมียบานเต็มที่ มีการร่วงของผลอีกประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ของผลที่เหลือจากการร่วงในระยะแรก หลังจากนี้การร่วงของผลจะลดลงเรื่อย ๆ จนกระทั่งไม่มีการร่วงเมื่อผลอายุได้ 13-14 สัปดาห์หลังดอกเพศเมียบานเต็มที่ คือในระยะที่ผิวผลเริ่มเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นอมชมพู ถึงแดง (Stern *et al*., 1995) จากปัญหาดังกล่าวในต่างประเทศมีการแก้ไขปัญหาโดยการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตเข้าช่วย เพื่อเพิ่มการติดผลและให้ผลผลิตดีขึ้น สำหรับในประเทศจีนมีการใช้ naphthalene acetic acid (NAA) และ 2,4-dichlorophenoxyacetic acid(2,4-D) ช่วยเพิ่มการติดผลของลิ้นจี่ได้ (Zhang *et al.,*1988) นอกจากนี้ Stern and Gazit (1997) พบว่าการฉีดพ่นสาร 3,5,6-trichloro-2-pyridyl-oxyacetic acid (3,5,6-TPA) เข้มข้น 25 และ 50 สตล ช่วยเพิ่มการติดผลและคุณภาพของผลผลิตได้มากขึ้น จะเห็นได้ว่าการใช้สารเคมีในกลุ่มข้างต้น สามารถเพิ่มการติดผลและคุณภาพของผลลิ้นจี่ในต่างประเทศได้อย่างชัดเจน อย่างไรก็ตามการใช้ NAA gibberellic acid (GA_3) 2,4,5-trichlorophenoxypropionic acid (2,4,5-TP) และ N-(2-chloro-4-pyridyl)-4-phenylurea (CPPU) ในประเทศไทย พบว่าให้ผลที่แตกต่างกันไปจากการใช้ในต่างประเทศ คือสารดังกล่าวไม่มีผลต่อการติดผล และคุณภาพของผลลิ้นจี่ได้อย่างชัดเจน (นิอามัด, 2542; ธนิตย์, 2542) จนกระทั่งมีเกษตรกรชาวสวนได้ทำการตัดแต่งปลายช่อดอกลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ โดยมีจุดประสงค์เพื่อให้มีจำนวนผลต่อช่อน้อยลง แต่กลับพบว่ามีการติดผลและคุณภาพของผลดีขึ้น ซึ่งจากการสังเกตพบว่าก้านช่อดอกย่อยมีการยืดยาวและมีสัดส่วนเพศดอก โดยเฉพาะดอกเพศเมียมีจำนวนมากขึ้น ซึ่งอาจจะเป็นผลให้ลิ้นจี่มีการติดผลมาก ฉะนั้นจึงได้นำวิธีการดังกล่าวมาศึกษาทดลองใช้กับพันธุ์ที่มีปัญหาเกี่ยวกับการติดผลการร่วงของผล เช่น พันธุ์ฮงฮวย เพื่อใช้เป็นแนวทางในการจัดการหรือควบคุมผลผลิต และคุณภาพของผลลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวยต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

คัดเลือกต้นลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวยอายุประมาณ 6 ปี โดยคัดเลือกต้นลิ้นจี่ที่มีขนาดใกล้เคียงกันซึ่งมีความกว้างทรงพุ่มประมาณ 4 เมตร จำนวน 16 ต้น ปลูกในเขตพื้นที่ระดับความสูง 1,100 เมตร จากระดับน้ำทะเล วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design ; CRD) มี 2 กรรมวิธี คือกรรมวิธีที่ 1 ไม่ตัดแต่งช่อดอก และกรรมวิธีที่ 2 คือตัดแต่งปลายช่อดอก จำนวน 8 ซ้ำ ๆ ละ 1 ต้น การตัดแต่งปลายช่อดอกทำโดยตัด rachis ออกประมาณ 1/3 ของความยาวช่อดอก จะตัดเมื่อช่อดอกยืดยาวเต็มที่หรือก่อนที่ดอกแรกจะบาน ซึ่งใช้ระยะเวลาตั้งแต่แทงช่อถึงยืดยาวเต็มที่ประมาณ 1 เดือน จึงเริ่มตัด (ขจรศักดิ์, 2543) ความยาวของก้านช่อดอกย่อยที่โคนช่อดอก บันทึกสัดส่วนเพศดอก เปอร์เซ็นต์การติดผล จำนวนผลต่อช่อ เปอร์เซ็นต์การร่วงของผล คุณภาพของผล เปอร์เซ็นต์ส่วนที่รับประทานได้ (edible portion) ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (total soluble solids; TSS) ปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ (titratable acidity; TA) และปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้าง (total nonstructural carbohydrate; TNC)

ผลการทดลองและวิจารณ์

การเจริญเติบโตของช่อดอกและการติดผล

หลังการตัดปลายช่อดอกของลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวยในระยะก่อนดอกบาน พบว่าต้นลิ้นจี่ที่ตัดปลายช่อดอกในระยะ 1-3 สัปดาห์แรก มีความยาวของช่อดอกย่อยยาวมากกว่าต้นที่ไม่ได้ตัดแต่งอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 1) ซึ่งโดยปกติแล้วช่อดอกย่อยที่อยู่บริเวณโคนช่อจะไม่ค่อยยืดยาวมากนัก สาเหตุหนึ่งที่ทำให้มีการยืดยาวออกมาของช่อดอกที่โคนช่อ อาจเป็นเพราะส่วนปลายช่อดอกที่เป็นส่วนที่อ่อนที่สุดมีแรงดึงดูดอาหาร (sink strength) มาก (Ho, 1988) ถูกตัดออกไปการลำเลียงน้ำและธาตุอาหารจึงมีการกระจายไปทั่วทั้งช่อ การที่ sink ถูกตัดออกไปจึงทำให้มีการถ่ายเทอาหารไปยังช่อดอกย่อยได้มากขึ้นตามไปด้วย นอกจากนี้ปลายช่อดอกย่อยกลับกายเป็น sink ที่เกิดใหม่มีการผลิตฮอร์โมนด้วยจึงทำให้ sink ที่เกิดใหม่สามารถดึงอาหารมาใช้มากขึ้น (นิตย์, 2541) อย่างไรก็ตาม จำนวนดอกรวม ดอกเพศผู้ ดอกเพศเมีย และดอกสมบูรณ์เพศ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 2) เป็นที่น่าสังเกตว่ามีการเพิ่มขึ้นของดอกเพศเมีย และดอกสมบูรณ์เพศได้มากขึ้นกว่าช่อที่ไม่ตัดปลายช่อดอก อาจเป็นเพราะธาตุอาหารหรือฮอร์โมนต่าง ๆ มีการเคลื่อนย้ายหรือกระจายไปทั่วทั้งช่อดอก ได้อย่างดี ซึ่งศรีมูล (2527) ได้กล่าวไว้ว่าต้นลิ้นจี่ที่มีความสมบูรณ์มาก ๆ มีการพัฒนาเป็นดอกเพศเมียได้มากขึ้น นอกจากนี้งานทดลองของ Wu *et al*. (2000) พบว่าการตัดปลายช่อดอกลิ้นจี่พันธุ์ Feizixiao สามารถทำให้สัดส่วนดอกเพศเมียต่อดอกเพศผู้มีมากขึ้น กว่าช่อดอกที่ไม่ได้ตัดแต่งช่อดอก สำหรับเปอร์เซ็นต์การติดผล และจำนวนผลต่อช่อไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 3 และ 4) แต่มีแนวโน้มว่าการตัดปลายช่อดอกมีการติดผลที่สูงขึ้น ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการยืดยาวของช่อดอกย่อยที่มีมากขึ้น ส่งผลให้มีจำนวนดอกเพิ่มขึ้น

และดอกสมบูรณ์เพศเพิ่มขึ้น ซึ่งการเพิ่มขึ้นของดอกเพศเมียและดอกสมบูรณ์เพศนี้ ส่งผลให้มีโอกาสของการติดผลมีมากขึ้นตามไปด้วย (Menzel, 1984) อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับเปอร์เซ็นต์การติดผล พบว่าสอดคล้องกันกล่าวคือ ช่วงสัปดาห์แรก ๆ มีเปอร์เซ็นต์การติดผลมากและลดลงเรื่อย ๆ นั่นหมายถึง มีการร่วงของผลสะสมเพิ่มขึ้นเช่นกัน (ตารางที่ 5) การตัดปลายช่อดอกมีการร่วงของผลน้อยกว่าช่อดอกที่ไม่ได้ตัดปลายช่อดอก อาจเป็นไปได้ว่าความสมบูรณ์ของช่อที่ตัดปลายช่อดอกมีมากกว่าช่อดอกที่ไม่ได้ตัดปลายช่อดอก ทำให้จำนวนผลต่อช่อที่เก็บเกี่ยวได้เหลือมากกว่า ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเป็นการเพิ่มโอกาสผลผลิตที่เก็บเกี่ยวได้มากขึ้น

Table 1 Rechilla length of lychee cv. 'Hong Huay' after panicle thinning.

Treatment	Length after thinning (cm)				
	Time after panicle thinning (weeks)				
	0	1	2	3	4
Unthinning	3.91	6.02b	9.27b	13.80b	15.65
Thinning	3.94	8.83a	13.07a	17.12a	19.02
LSD .05	ns	1.92	2.77	3.15	ns
C.V. (%)	34.41	24.10	23.14	18.98	21.71

ab : means in the same column followed by the same letter are not significant difference at $\alpha = 0.05$ by LSD

Table 2 The number of tatal flowers, staminate flower, pistillate flower, perfect flower and their ratio of lychee cv. 'Hong Huay' after panicle thinning.

Treatment	Number of flowers				flower ratio
	total flowers	staminate flower	pistillate flower	perfect flower	
Unthinning	1603.25	782.31	225.38	605.56	3.63 : 1 : 2.81
Thinning	1746.06	780.69	295.94	669.44	2.64 : 1 : 2.26
LSD .05	ns	ns	ns	ns	-
C.V. (%)	34.81	52.95	40.26	39.85	-

คุณภาพของผลผลิต

คุณภาพของผลผลิตในระยะที่เก็บเกี่ยวได้ พบว่า การตัดปลายช่อดอกทำให้น้ำหนักผล น้ำหนักเมล็ด น้ำหนักเนื้อ น้ำหนักเปลือก น้ำหนักรวมทั้งหมดมากกว่าต้นที่ไม่ได้ตัดปลายช่อดอกอย่างมีนัย-สำคัญ (ตารางที่ 6) อาจเป็นเพราะเมื่อมีผลเพิ่มขึ้น ย่อมทำให้มีน้ำหนักส่วนต่าง ๆ เพิ่มขึ้นตามไปด้วย อย่างไรก็ตามเปอร์เซ็นต์ส่วนที่รับประทานได้ (ตารางที่ 6) ความกว้าง ความยาว ความหนาของผลและเมล็ด ความหนาของเปลือก และความหนาของเนื้อ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 7 และ 8) อาจเป็นไปได้ว่าสารอาหารส่วนใหญ่มีการขยายไปเป็นส่วนของเมล็ด และเปลือก และยังมีการเจริญเติบโตของผลได้สัดส่วนกันไม่ว่าผลมีขนาดเล็กหรือขนาดใหญ่ และในระยะก่อนการเก็บเกี่ยวมีจำนวนผลต่อช่อน้อย ผลลิ้นจี่จึงไม่เกิดการแก่งแย่งสารอาหารกันมากนักทำให้การเจริญเติบโตของผลมีขนาดใกล้เคียงกัน โดยปกติในลิ้นจี่ถ้าเมล็ดเล็กหรือลีบ ผลจะมีขนาดเล็กตามไปด้วย (รวี, 2540) ส่วนปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) และปริมาณกรดที่ไตเตรตได้ (TA) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 8) อาจเป็นเพราะการตัดแต่งช่อดอกเป็นวิธีการหนึ่งที่ทำให้มีดอกเพศเมียและสมบูรณ์เพศเพิ่มขึ้น เพิ่มโอกาสการติดผลดีขึ้น แต่ไม่มีผลเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลง TSS และ TA ซึ่ง Chaitrakulsub *et al.* (1988) พบว่าปริมาณ TSS เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อผลอายุ 6-9 สัปดาห์หลังติดผล จากนั้นค่อนข้างคงที่ ส่วนปริมาณ TA หลังการติดผล 7 สัปดาห์มีปริมาณลดลงจนถึงผลแก่

Table 3 Fruit set percentage of lychee cv. 'Hong Huay'.

Treatment	Fruit set percentage of tatal flowers at time after blooming (weeks)				Fruit set percentage of pistillate and perfect flower at time after blooming (weeks)			
	9	11	13	15	9	11	13	15
Unthinning	2.65	1.15	0.92	0.73	4.21	2.06	1.78	1.42
Thinning	2.97	1.20	1.08	0.96	4.98	2.03	1.81	1.63
LSD .05	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C.V. (%)	49.99	46.69	46.02	44.23	45.79	36.49	37.16	35.11

Table 4 The number of fruit per panicle of lychee cv. 'Hong Huay'.

Treatment	Number of fruit per panicle at time after blooming (weeks)			
	9	11	13	15
Unthinning	42.68	16.87	14.31	11.44
Thinning	45.72	18.43	16.44	14.83
LSD .05	ns	ns	ns	ns
C.V. (%)	51.19	37.25	33.99	31.53

Table 5 Fruit drop percentage of lychee cv. 'Hong Huay'.

Treatment	Fruit drop percentage at time after blooming (weeks)			
	9	11	13	15
Unthinning	13.51	51.95a	67.63	70.13
Thinning	11.78	36.60b	57.68	61.05
LSD .05	ns	13.59	ns	ns
C.V. (%)	41.19	28.62	24.01	22.88

ab : means in the same column followed by the same letter are not significant difference at $\alpha = 0.05$ by LSD

Table 6 Fruit weight, seed weight, flesh weight, peel weight, total weight and edible portion percentage of lychee cv. 'Hong Huay' after thinning panicle.

Treatment	Weight (g)				Edible	
	fruit	seed	flesh	peel	total weight	portion
					(g)	(%)
Unthinning	176.60b	32.90b	106.05b	31.08b	346.63b	30.50
Thinning	276.21a	50.52a	165.23a	47.29a	538.88a	30.53
LSD .05	66.18	11.34	44.85	12.53	128.98	ns
C.V. (%)	27.26	25.34	30.84	29.80	27.16	7.40

ab : means in the same column followed by the same letter are not significant difference at $\alpha = 0.05$ by LSD

Table 7 Effect of panicle thinning on width length and thickness of fruit and seed of lychee cv. 'Hong Huay'.

Treatment	Fruit size (mm)			Seed size (mm)		
	width	length	thickness	width	length	thickness
Unthinning	29.86	35.50	28.26	14.62	23.88	12.87
Thinning	30.92	36.15	29.43	14.69	23.94	12.96
LSD .05	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C.V. (%)	5.18	4.40	5.05	11.87	6.64	9.06

Table 8 Effect of panicle thinning on thickness of peel and flesh, total soluble solids and titratable acidity of lychee cv. 'Hong Huay'.

Treatment	Thickness of peel (mm)	Thickness of flesh (mm)	Total soluble solids (% brix)	Ttitratable acidity (%)
Unthinning	1.69	4.43	16.88	0.59
Thinning	1.62	4.45	16.98	0.57
LSD .05	ns	ns	ns	ns
C.V. (%)	12.77	13.05	7.04	30.93

การเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครง-สร้าง (total nonstructural carbohydrate; TNC) ในใบและช่อดอก ก่อนและหลังการตัดปลายช่อดอก

ปริมาณ TNC ในใบและช่อดอก พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ มีการเปลี่ยนแปลงไปในทิศทางเดียวกัน และ TNC ในช่อดอกมีมากกว่าในใบเล็กน้อย (ภาพที่ 1 และ 2) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะพืชมีการใช้ TNC ในการเจริญเติบโต และใช้เป็นแหล่งพลังงานตลอดเวลา (สัมพันธ์, 2529) อีกปัจจัยหนึ่ง ปริมาณ TNC ในใบลดลงมากกว่าในช่อดอก อาจเป็นเพราะช่อดอกที่กำลังเจริญเติบโต ยืดยาวจำเป็นต้องใช้คาร์โบไฮเดรตเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานทำให้ปริมาณ TNC ลดลงโดยเฉพาะอย่างยิ่งระยะที่ช่อดอกกำลังยืดยาว และดอกเริ่มบานจำเป็นต้องใช้คาร์โบไฮเดรตจากใบในการพัฒนาช่อดอก ทำให้ปริมาณ TNC ในใบลดลงมากกว่าในช่อดอก ซึ่ง Menzel *et al*. (1995) รายงานว่าลิ้นจี่ต้องการอาหารในการพัฒนาช่อดอก โดยมีทิศทางการเคลื่อนย้ายของสารอาหารเปลี่ยนไปจากใบไปสู่ดอกและผลมากขึ้น (Davis and Spark, 1974) อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาเฉพาะ TNC เพียงอย่างเดียวไม่เพียงพอต่อการอธิบายเรื่องการร่วงของผลการติดผลของลิ้นจี่ เนื่องจากมีปัจจัยอย่างอื่นที่มีผลอีกมาก เช่น สภาพแวดล้อม ธาตุอาหาร ฮอร์โมน และการปฏิบัติดูแลรักษา

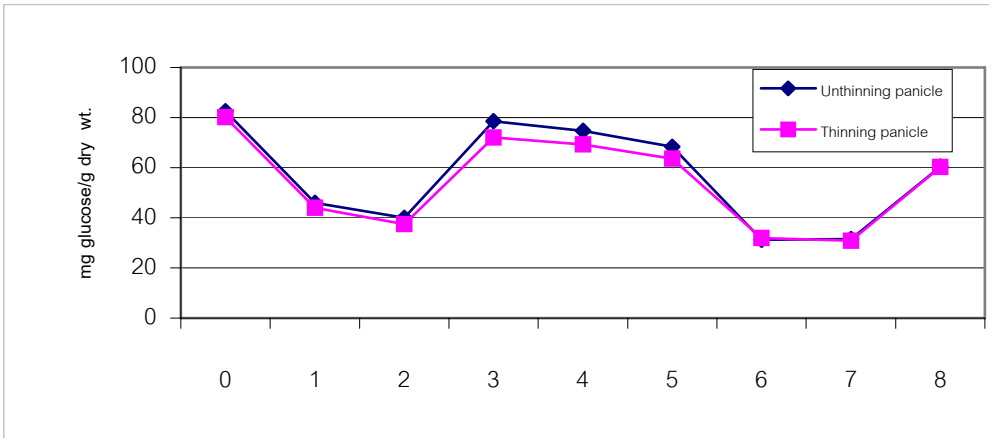


Figure 1 **Total nonstructural carbohydrate (TNC) of leaves of lychee cv. 'Hong Huay' after panicle thinning.**

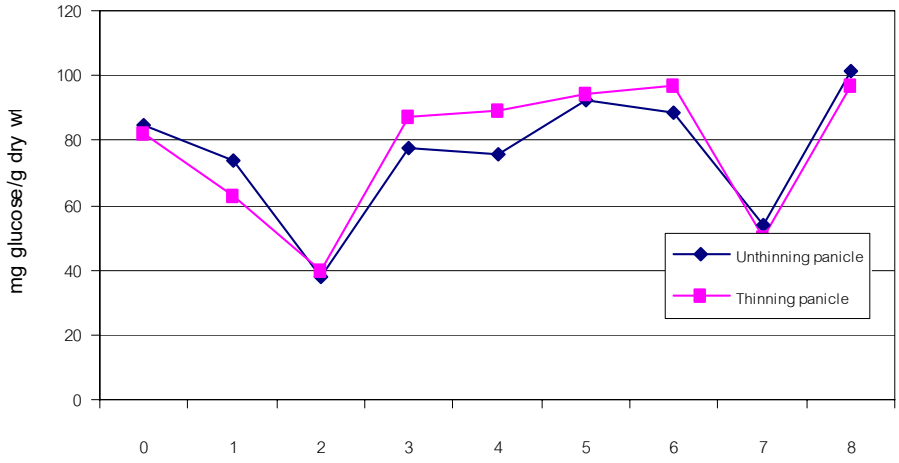


Figure 2 **Total nonstructural carbohydrate (TNC) of panicle of lychee cv. 'Hong Huay' after panicle thinning.**

สรุปผลการทดลอง

การยืดยาวของก้านช่อดอกย่อยบริเวณโคนช่อดอก น้ำหนักผล น้ำหนักเมล็ด น้ำหนักเนื้อ น้ำหนักเปลือก และน้ำหนักรวม ในพวกที่ได้รับการตัดแต่งช่อดอกสูงกว่าพวกที่ไม่ได้รับการตัดแต่งช่อดอก แต่การแสดงออกของเพศดอก เปอร์เซ็นต์การติดผล จำนวนผลต่อช่อ เปอร์เซ็นต์การร่วงของผล เปอร์เซ็นต์ส่วนที่รับประทานได้ ขนาดผล ขนาดเมล็ด ความหนาของเปลือก ความหนาของเนื้อ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด ปริมาณกรดที่ไตเตรตได้ และปริมาณ TNC ในใบ และช่อดอก ของพวกที่รับและไม่ได้รับการตัดแต่งช่อดอกไม่แตกต่างกัน

เอกสารอ้างอิง

ขจรศักดิ์ เชยบาล. 2543. อิทธิพลของการตัดแต่งช่อดอกต่อการติดผลของลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย. ปัญหาพิเศษสาขาไม้ผล ภาควิชาพืชสวน คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่. 11 น.

ชัยฤทธิ์ ยุติธรรม. 2542. การศึกษาฟีโนโลจีการออกดอกของลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย และพันธุ์จักรพรรดิในเขตที่สูงของจังหวัดเชียงใหม่. ปัญหาพิเศษ สาขาไม้ผล ภาควิชาพืชสวน คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่. 16 น.

ธนิตย์ ทองเพ็ง. 2542. ผลของ GA_3 ต่อการติดผลและผลผลิตของลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย. ปัญหาพิเศษ สาขาไม้ผล ภาควิชาพืชสวน คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่. 19 น.

นิตย์ ศกุนรักษ์. 2541. สรีรวิทยาของพืช. ภาควิชาพืชไร่ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่. 237 น.

นิอามัด สาเมาะ. 2542. ผลของ NAA ต่อการติดผลและผลผลิตของลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย. ปัญหาพิเศษ สาขาไม้ผล ภาควิชาพืชสวน คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่. 22 น.

รวี เสรฐภักดี.2540. การติดผลและการเจริญเติบโตของลิ้นจี่และลำไย. หน้า 43-65. *ใน* เอกสารการฝึกอบรมหลักสูตรเทคโนโลยียุคใหม่ในการผลิตลิ้นจี่และลำไย. ณ โรงแรมเชียงใหม่ออคิด จังหวัดเชียงใหม่ จัดโดยสำนักส่งเสริมและฝึกอบรม และศูนย์วิจัยและพัฒนาไม้ผลเขตร้อนและกึ่งร้อน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศรีมูล บุญรัตน์. 2527. การปลูกลิ้นจี่ เล่ม 1. สถานีทดลองพืชสวนฝาง จ.เชียงใหม่. สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 88 น.

สัมพันธ์ คัมภิรานนท์. 2529. หลักสรีรวิทยาของพืช. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 330 น.

Chaitrakulsub. T., P. Chaidate and H. Gemma. 1988. Study on fruit development of *Litchi chinensis* Sonn. cv.'Hong Huay'. Japan. J. of Trop. Agri. 32 (4) : 201-207.

Davis, T.T. and D. Sparks. 1974. Assimilation and translocation pattern of carbon 14 in the shoot of fruiting pecan trees *Carya illinoesis* Koch. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 99 (5) : 468-480.

Degani, C., R.A. Stern, R. El-Batsri and S. Gazit. 1995. Pollen parent effect on the selective abscission of Mauritius' and 'Floridian' lychee fruitlets. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 120 : 523-526.

Ho,L.C.1988. Metabolism and compartmentation of imported sugars in sink organs in relation to sink strength. Annu. Rev. Plant Physio. Plant Mol. Biol. 39:355-378

Menzel, C.M. 1984. The pattern and control of reproductive development in lychee : A review. Scientia Hort. 22 : 333-345.

Menzel, C.M.,T.S. Rasmussen and D.R.Simpson. 1995. Carbohydrate reserves in lychee trees (*Litchi chinensis* Sonn.). J. Hort. Sci. 70 : 245-255.

Stern, R.A. and S. Gazit. 1997. Effect of 3,5,6-trichloro-2-pyridyl-oxyacetic acid on fruitlet abscission and yield of 'Mauritius' litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) J. Hort. Sci. 72:659 - 663.

Stern, R.A., J. Kigel, E. Tomer and S. Gazit. 1995. 'Mauritius' lychee fruit development and reduced abscission after treatment with the auxin 2,4,5-TP. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 120 : 65 – 70.

Wu,D., K.Lin, Q.Ye. and W. Wang. 2000. Improvement of fruit set in secondary panicles of 'Feizixiao' Litchi by removal of the primary panicles. First International Symposium on Litchi & Longan. China. Program & Abstracts. 1 : 42

Zhang, K. R. Guo and Z. Zhang. 1988. Effect of plant growth regulators on fruit set in litchi. J. Fujian Agric. College 17(1):54-61.

วารสารเกษตร 20 (2) : 197-203 (2547)

Journal of Agriculture 20 (2) : 197-203 (2004)

การปรับปรุงพันธุ์คาร์เนชั่น

Varietal Improvement of Carnation

ชยาภรณ์ ปริยานนท์[1/] อดิศร กระแสชัย[1/] และ ขนิษฐา เสนาวงศ์[2/]

Chayaporn Prariyanone[1/] Adisorn Krasaechai [1/] and Kanitta Senawong[2/]

Abstract : Hybridization of *Dianthus caryophyllus* using 5 standard type varieties and 10 spray types varieties making 72 crosses was conducted. Eight plants, 7spray type and 1 standard type, was finally selected from 4153 hybrids. Hybrids were different from parents in term of colour, shape and number of petals. Root tip chromosome number of the parental varieties of each type and two hybrids were counted, the chromosome number was found to be 30.

บทคัดย่อ: การผสมพันธุ์คาร์เนชั่น *(Dianthus caryophyllus)* กลุ่มดอกเดี่ยว 5 พันธุ์ และกลุ่มดอกช่อ 10 พันธุ์ โดยเป็นการผสมทั้งแบบภายในกลุ่ม และข้ามกลุ่มจำนวน 72 คู่ผสม ได้จำนวนลูกผสมทั้งหมด 4153 ต้น คัดเลือกต้นลูกผสมได้ 8 ต้น โดยเป็นชนิดดอกช่อ 7 ต้นและชนิดดอกเดี่ยว 1 ต้น ลูกผสมที่ได้ ให้สีที่ต่างจากพ่อแม่ มีรูปทรงและจำนวนกลีบดอกที่ต่างจากพ่อแม่ พบว่า โครโมโซมปลายรากของพ่อแม่แต่ละกลุ่มอย่างละ 2 พันธุ์และของลูกผสม เท่ากับ 30

Index words: คาร์เนชั่น การผสมตัวเอง การผสมข้าม การกระจายตัวของสี

carnation, self pollination, cross pollination, colour variation

---

[1/] ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

[2/] ฝ่ายงานไม้ดอก มูลนิธิโครงการหลวง จ.เชียงใหม่ 50200

[1/] Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand.

[2/] Flower section, Royal Project Foundation, Chiang Mai 50200, Thailand.

คำนำ

คาร์เนชั่น *(Dianthus caryophyllus)* เป็นไม้ตัดดอกที่ติดอันดับ 1 ใน 10 ของตลาดมาอย่างต่อเนื่อง (นันทิยา, 2533) ดอกมีกลิ่นหอมของกานพลู สีของดอกมีหลายกลุ่มสี เช่น สีขาว ชมพู แดง ม่วง และ สีส้ม ลักษณะเดิมคาร์เนชั่นคือดอกผีเสื้อ (pink) มีกลีบชั้นเดียวสีชมพู อาจพบสีแดงและสีขาวเพียงเล็กน้อย บานไม่ทน ปัจจุบันได้มีการพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์ ได้ดอกขนาดใหญ่มีกลีบดอกซ้อนหนา ก้านยาวตรง แข็งแรง มีสีสัน มากมาย และมีอายุการปักแจกันที่ยาวนาน (Bunt and Cockshull, 1985)

สำหรับประเทศไทย การผลิตคาร์เนชั่นได้เริ่มขึ้นในช่วงปี 2524-2528 และประสบความสำเร็จดอกมีคุณภาพดี แต่ดอกจะมีคุณภาพดี ก็แต่ในเฉพาะฤดูหนาวเท่านั้น การที่จะปลูกในเมืองร้อนและปลูกในสภาพกลางแจ้งย่อมมีอุปสรรคมากและทำให้มีปัญหาเรื่องโรค ปัญหาที่สำคัญของการปลูกคาร์เนชั่น คือโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อ Fusarium (อดิศร, 2539) อย่างไรก็ตาม มีการศึกษาในด้านการปรับปรุงพันธุ์น้อยมาก จึงเป็นที่มาของการวิจัยในครั้งนี้

อุปกรณ์ และวิธีการ

ผลที่ได้จากผสมพันธุ์

ใช้สายพันธุ์ ดอกเดี่ยว 5 สายพันธุ์ ได้แก่ Leopardi (แดง), Omeggio (ชมพู), Sahara (เหลือง), Casper (ขาว) และ RPF- CAR- 2 (ส้มขอบหยัก) สายพันธุ์ดอกช่อ 10 สายพันธุ์ ได้แก่ Poker (แดง), Lior (เหลือง), Splendid (ชมพู), White Ashley (ขาว), Sampried (ชมพู), RPF- CAR -1 (ชมพูอ่อนขลิบชมพูเข้ม), RPF-CAR-3 (แดงขอบหยัก), RPF-CAR-4 (บานเย็นขอบหยัก), RPF- CAR- 5 (ม่วงขอบหยัก) และ RPF-CAR- 6 (ขาวขอบหยัก) โดยผสมตัวเองและ ผสมข้าม ทั้งในกลุ่มดอกเดี่ยวและกลุ่มดอกช่อ เตรียมดอกที่ใช้เป็นดอกเพศเมีย โดยเลือกดอกที่อยู่ในระยะบานได้ครึ่งหนึ่ง ใช้มีดตัดส่วนของกลีบรองดอกออก ประมาณ 1 ใน 4 ส่วนของความยาว และใช้คีมคีบ ดึงกลีบตรงกลาง และเกสรเพศผู้ออกรอจนกระทั่งดอกตัวเมียพร้อมที่จะได้รับการผสม สังเกตได้จากปลายเกสรตัวเมียจะมีขนพองฟูและมีน้ำที่มีลักษณะเหนียวติดอยู่ จึงนำเกสรเพศผู้ของต้นที่จะนำมาผสมมาป้ายที่เกสรเพศเมีย โดยระยะเวลาที่เหมาะสำหรับการผสมพันธุ์อยู่ในช่วงระยะเวลา 8:00-10:00 น. หลังการผสมพันธุ์คลุมดอกที่ได้การผสมด้วยถุงผ้ารีเมย์

ผลการทดลอง

การผสมพันธุ์

จาก 72 คู่ผสม พบว่าการผสมตัวเองภายในกลุ่มดอกเดี่ยว 3 สายพันธุ์ที่เลือกทำการศึกษาผสมไม่ติด การผสมตัวเอง 3 ใน 10 พันธุ์ที่เลือกศึกษาของกลุ่มดอกช่อผสมติดทั้ง 3 สายพันธุ์ แต่ให้ลูกที่ไม่ดีเด่นกว่าต้นเดิม ส่วนการผสมข้ามภายในกลุ่มดอกช่อ ผสมติดเป็นส่วนใหญ่ โดยให้จำนวนเมล็ดและจำนวนต้นที่คัดเลือกได้เป็นจำนวนมาก (ตารางที่ 1) ได้คัดเลือกลูกผสมรอบแรกที่มีกลีบดอกหยักมากขึ้นให้สีที่ต่างจากพ่อแม่และมีกลีบดอกมากขึ้นไว้ได้ 94 หมายเลข จากจำนวนต้นลูกผสมทั้งหมด 4153 ต้น

Table 1 The pollination results of *Dianthus caryophyllus* both standard and spray type.

Type of pollination	No. of possible crosses	No. of crosses done	No. of successful pollination	No. of seeds	No. of seedling	No. of plant reached maturing stage	No. of selected (1 st. round)	No. of selected (2 nd. round)
1. Self pollination of standard type varieties	5	3	0	0	0	0	0	0
2. Cross pollination of standard type varieties	20	4	2	62	49	27	0	0
3. Self pollination of spray type varieties	10	3	3	64	60	53	7	0
4. Cross pollination of spray type varieties	90	38	27	6024	5006	2742	86	8
5. Cross pollination between standard and spray type varieties	50	24	9	1240	857	526	1	1

ลูกผสมที่คัดเลือกไว้ในรอบแรกพบว่ามีการกระจายตัวของสี เช่น จากการผสมพันธุ์ ระหว่าง Poker × RPF-CAR-3, Poker × RPF-CAR-5, Poker × RPF-CAR-6 และ Sampride × RPF-CAR-2 พบว่ามีการกระจายตัวของสีกลีบดอกตั้งแต่ 5-11 สี

ลูกผสมระหว่าง Poker × RPF-CAR-3 มีการกระจายตัวของสีกลีบดอก 5 สี โดยมีระดับความเข้มของสีแดง 4 สี (Red 42A, Red 48A, Red 50A และ Red 53A) และส้มอมแดง 1 สี (Orange-Red 32C) (ภาพที่ 1)

คู่ผสมที่มีการกระจายตัว 7 สีคือคู่ผสม Poker × RPF-CAR-5 มีการกระจายตัวของกลุ่มสีแดง 3 ระดับสี (Red 42A Red 52A และ Red 53A) กลุ่มสีแดงอมม่วง 4 ระดับสี (Red-Purple 58A Red-Purple 60A Red-Purple 61A และ Red-Purple 74A) (ภาพที่ 2)

คู่ผสม Poker × RPF-CAR-6 พบว่ามีการกระจายตัวของระดับสีมากที่สุดคือ 11 สี ได้แก่กลุ่มสีแดง 4 สี (Red 42A, Red 47c, Red 52A และ Red 53A) กลุ่มสีม่วง 3 สี (Red-Purple 60A, Red-Purple 61A, Red-Purple 67A) ชมพู (Red 55A) ส้ม (Orange 29B) และให้ลักษณะของกลีบดอกที่มีขลิบสีตรงปลายกลีบ 2 สี คือ เหลืองขลิบชมพู (Yellow 13C ขลิบ Red 55A) และ ส้มอ่อนขลิบชมพู (Orange 28D ขลิบ Red 55A) โดยคู่ผสมที่เหลือมีการกระจายตัวของสีอยู่ระหว่าง 1-4 สีเป็นส่วนมาก (ภาพที่ 3)

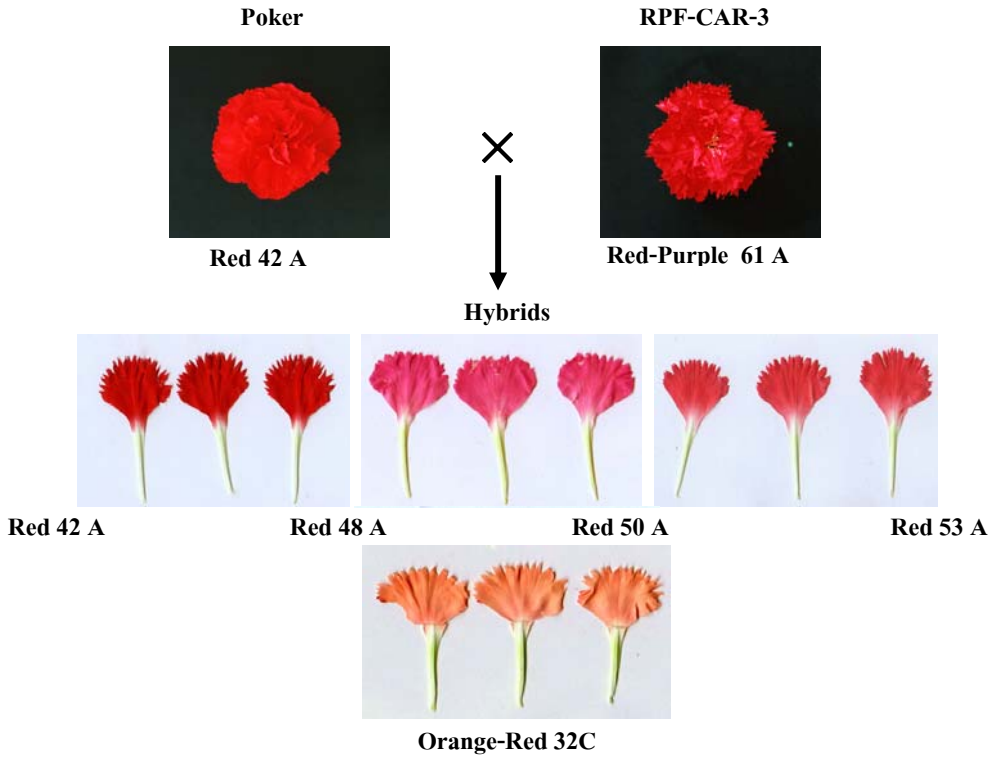


Figure 1 Colour variation of hybrids resulting from Poker × RPF-CAR-3.

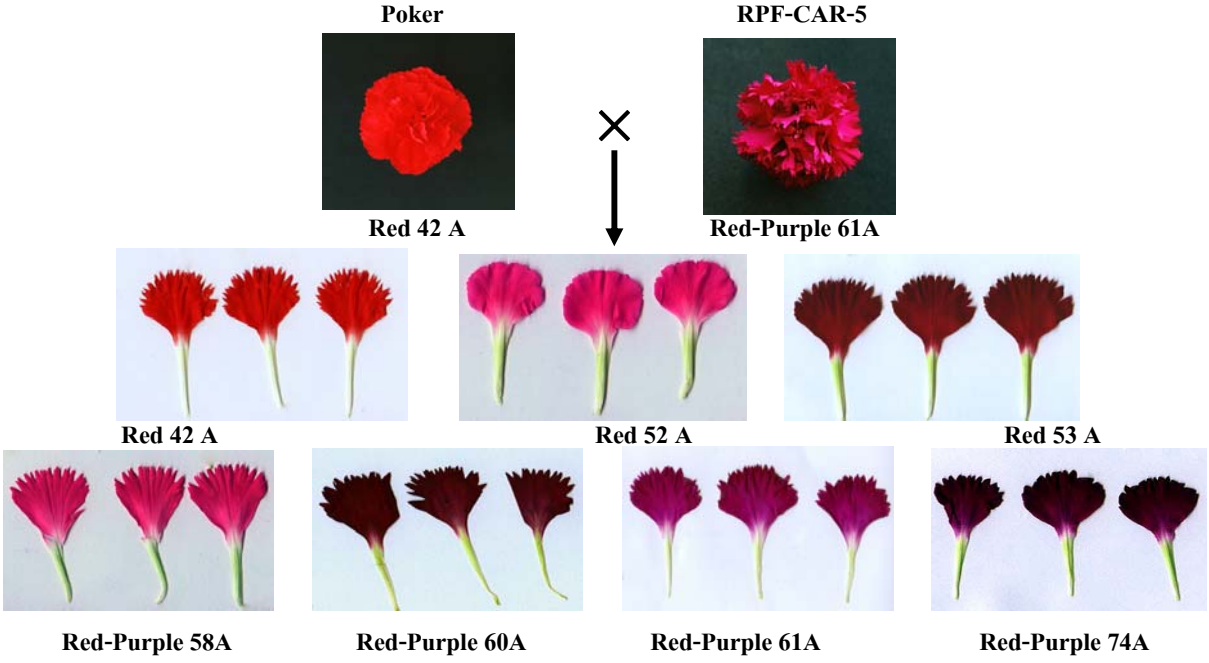


Figure 2 Colour variation of hybrids resulting from Poker × RPF-CAR-5.

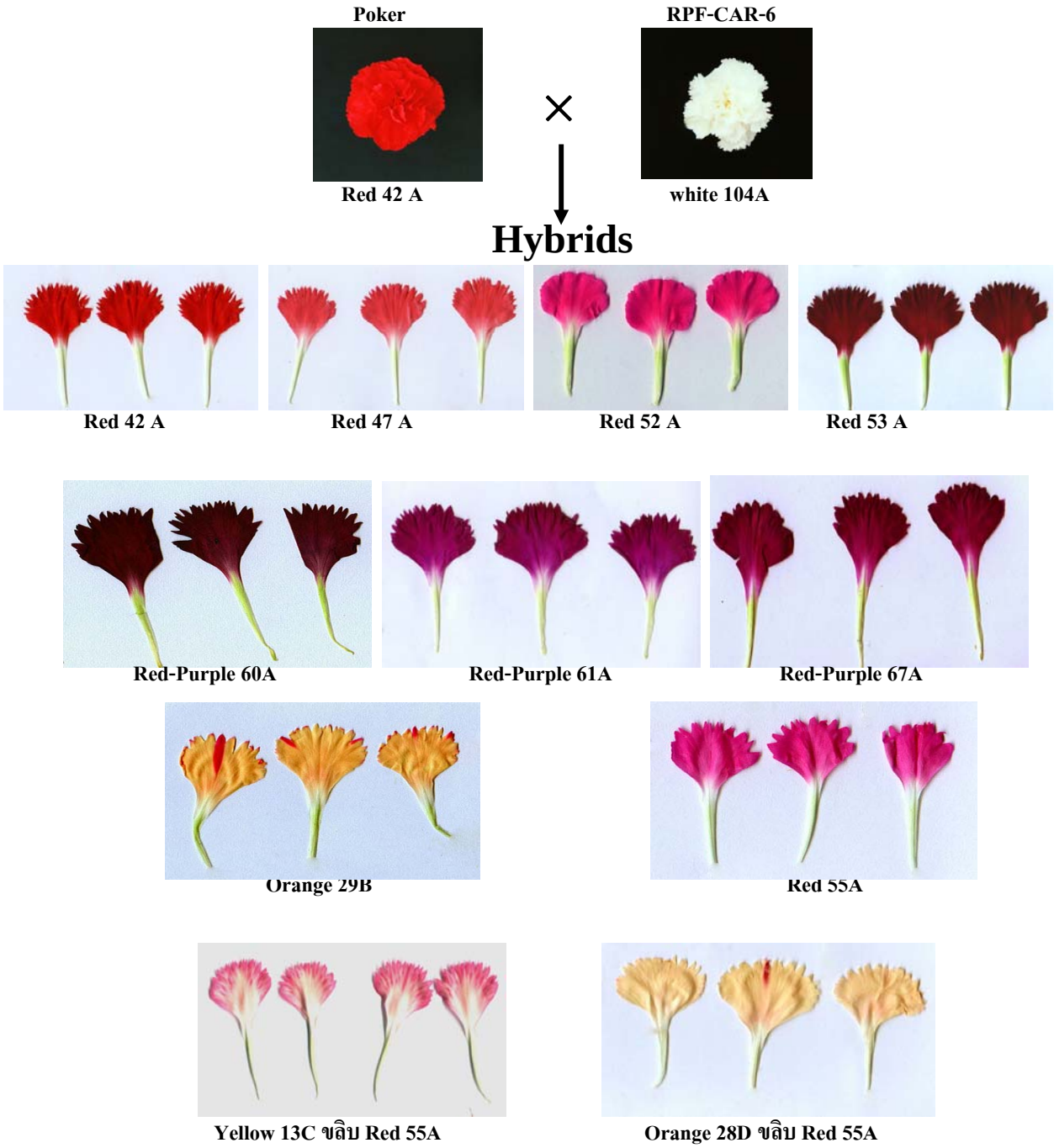


Figure 3 Colour variation of hybrids resulting from Poker × RPF-CAR-6.

ลักษณะอื่นที่พบได้แก่ การเกิดไคเมอร่า (chimera) พบในคู่ผสม Poker × RPF-CAR-6 (ภาพที่ 4) นำไปขยายพันธุ์ พบว่าไม่เกิดลักษณะดังกล่าวของไคเมอร่า อีก

โดยในการคัดเลือกรอบที่ 2 คัดเลือกจากต้นที่ถูกขยาย จำนวนต้นให้มากขึ้นเป็น 20 ต้นการคัดเลือกคัดเลือกต้นลูกผสมยึดหลักของลักษณะคาร์เนชั่นที่ดีของ อดิศร (2539) กล่าวคือ กลีบรองดอกไม่ฉีกหรือ แตก ก้านดอกแข็งแรง โดยเมื่อถือปลายก้านช่อไม่ว่าจะเป็นดอกเดี่ยวหรือดอกช่อ ก้านดอกไม่โน้มลงไป ใบสด มีสีเขียวไม่มีโรคและแมลง ส่วนปลายสุดของใบต้องไม่แห้งเป็นสีน้ำตาล สีดอกสวยสดใส

Figure 4 Chimera formation of some hybrids .

7-1 9-1 37-1 26-1

6-1 23-1 23-2 23-3

Figure 5 Final selected hybrids 4153 plants.

วิจารณ์ผลการทดลอง

การปรับปรุงพันธุ์คาร์เนชั่นโดยการผสมข้ามระหว่างคาร์เนชั่นกลุ่มดอกช่อและคาร์เนชั่นกลุ่มดอกเดี่ยวพบว่ามีการผสมติดน้อย อาจเนื่องมาจากความสามารถในการงอกของละอองเกสรตัวผู้ ที่สามารถงอกผ่านก้านชูเกสรตัวเมีย ลงไปต่างกัน (นพพร, 2543) ฤดูกาลที่ผสมและความใกล้ชิดทางพันธุกรรม มีผลต่อความสำเร็จเช่นกัน (นิรนาม, 2542) ในทำนองเดียวกัน วนนท์ (2544) ศึกษาการผสมพันธุ์ว่านสี่ทิศ 3 สายพันธุ์ ผลปรากฏว่า การผสม R⊗ O⊗ และ P ⊗ ผสมไม่สำเร็จเนื่องจากดอกที่ได้รับการผสม ถึงแม้จะติดฝักได้ แต่ฝักก็ฝ่อไปก่อนที่จะเจริญเติบโตเป็นฝักแก่ เมื่อนำฝักอ่อนที่เกิดจากการผสมตัวเองและมีการเจริญเติบโตในระยะก่อนที่ฝักจะฝ่อลีบไปมาศึกษาเนื้อเยื่อของไข่อ่อนพบว่ามีการสลายตัวของเนื้อเยื่อของไข่อ่อนก่อนที่ไข่อ่อนจะเจริญเติบโตไปเป็นเมล็ดที่สมบูรณ์นั้น อาจเป็นสาเหตุให้ฝักฝ่อและลีบไป

การเกิดสีดอกต่างๆของลูกผสมของคาร์เนชั่นสันนิษฐานว่ายีนที่ควบคุมการเกิดสีมีมากกว่า 1 คู่ และยีนแต่ละคู่แสดงอาการข่มไม่สมบูรณ์ สังเกตจากคู่ผสม Poker × RPF-CAR-6 ให้ลูกผสมที่มีสีถึง 11 ระดับสีซึ่งยีนที่ควบคุมการเกิดสีของพ่อและแม่ อาจทำปฏิกิริยากันแบบบวกสะสม ความแปรปรวน ของลูกผสมที่ได้ อาจเกิดจากปฏิกิริยาของยีนที่แสดงออกมา ยีนแต่ละคู่อาจแสดงผลอย่างอิสระแต่เมื่อรวมกันแล้วอาจทำให้เกิดลักษณะใหม่ ๆ เกิดขึ้น โดยการถ่ายทอดพันธุกรรมของสีดอก Mehlquist (1954) อ้างโดยนันทิยา (2533) ได้ทำงานวิจัยส่วนประกอบของพันธุกรรมสำหรับการถ่ายทอดสีดอกโดยแบ่งจีโนไทป์ ของสีพื้นคาร์เนชั่นออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ Acynic, Transition group และ Cyanic group โดยทั้ง 3 กลุ่ม มียีนที่ควบคุมการเกิดสี มากกว่า 1 คู่ และมียีนที่ควบคุมการเกิดสี จำนวนมาก ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Nieuwhof *et al.* (1990) ที่กล่าวถึงสีของดอกทิวลิป (*Tulipa* L.) ว่ามีความสัมพันธ์กับเม็ดสี โดยทำการศึกษาจากลูกผสมชั่วที่ 1 พบว่าการถ่ายทอดลักษณะสีดอกถูกควบคุมโดยยีนหลายยีน (polygene)

เอกสารอ้างอิง

นพพร สายัมพล. 2543. เทคนิคการปรับปรุงพันธุ์พืช. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 261น.

นันทิยา สมานนท์ . 2533. คาร์เนชั่น. โรงพิมพ์ โอ เอส พริ้นติ้ง เฮาส์, กรุงเทพฯ.198 น.

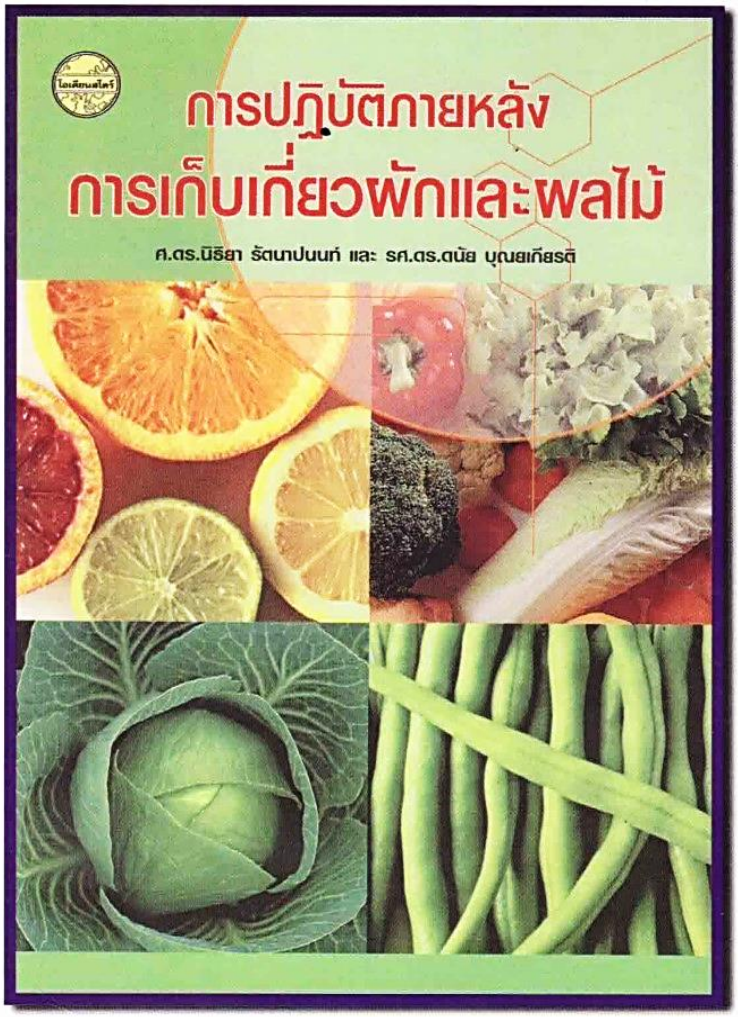
นิรนาม. 2542. เอกสารการสอนชุดวิชา การปรับปรุงพันธุ์พืชและการขยายพันธุ์พืช. มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมธิราช โรงพิมพ์ชวนพิมพ์, กรุงเทพฯ. 432

วนนท์ สุดสงวน. 2544. การผสมพันธุ์ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นบ้าน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชา พืชสวนมหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 86 น.

อดิศร กระแสชัย. 2539. *อัลสโตรมีเรีย คาร์เนชั่น บูวาเดีย ลิเอทริส*. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 32 น.

Bunt, A. C. and K. E. Cockshull. 1985. *Dianthus caryophyllus*. *In* Handbook of Flowering, Vol.II, CRC Press, Boca Raton, Florida. pp. 433-440.

Nieuwhof, M., J. P. Van Eijk, F. Garretsen and W. Eikelboom. 1990. Inheritance of flower colour in relation to inheritance of flower pigments in tulip (*Tilipa* L.). J. Genet. And Breed. 44: 277-280.



การปฏิบัติภายหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้

หนังสือการปฏิบัติภายหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้ เรียบเรียงขึ้นเพื่อเป็นการแนะนำและให้ความรู้เกี่ยวกับการปฏิบัติภายหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้ที่ถูกต้อง สำหรับนักศึกษาสาขาเกษตรศาสตร์ระดับต่าง ๆ สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร นักส่งเสริมการเกษตร และผู้สนใจทั่วไป

ราคา 170 บาท

เขียนโดย : ศาสตร์จารย์ ดร.นิธิยา รัตนาปนนท์ และรองศาสตร์จารย์ ดร.ดนัย บุณยเกียรติ

สั่งซื้อได้ที่ : ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
โทร. 053-944040-41 และหาซื้อได้ตามร้านหนังสือชั้นนำทั่วไป