บทที่ 5
วิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาพันธุ์ข้าวที่จะนำไปใช้ในการทำกราฟมาตรฐานในการวิเคราะห์ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินโดยวิธี Rice Secondary Leaf Sheath Bioassay (RSLSB) พบว่าเมื่อความเข้มข้นของ GA_3(Kyowa) เพิ่มขึ้น มีผลทำให้ความยาวของ secondary leaf sheath ของข้าวเพิ่มขึ้นด้วย และพบว่าข้าวพันธุ์แพร่ 1 มีการตอบสนองต่อ GA_3(Kyowa) ได้ดีกว่าข้าวพันธุ์ กข 7 และ สุพรรณบุรี 2 ในขณะที่ผลการวิเคราะห์กราฟมาตรฐานพบช่วงที่เป็นเส้นตรงระหว่าง $1x10^{-7}$ – $1x10^{-1}$ สตล (เมื่อวิเคราะห์ polynomial contrast) ซึ่งใกล้เคียงกับผลการทดลองของคณพล (2532) ซึ่งใช้ข้าวพันธุ์ IR36 ในการทำกราฟมาตรฐานในการวิเคราะห์ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินโดยวิธีเดียวกันกับการทดลองนี้ แต่สามารถวัดปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินได้ต่ำสุดที่ $1 x10^{-5}$ สตล และไม่ได้รายงานถึงช่วงที่เป็นเส้นตรง ส่วนนพพร (2539) ใช้ข้าวพันธุ์ IR36 ในการทำกราฟมาตรฐานในการวิเคราะห์ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินพบช่วงที่เป็นเส้นตรงระหว่าง $1x10^{-5}$ – $1x10^{-1}$ สตล แต่ในการทดลองนี้สามารถวัดปริมาณ GA_3(Kyowa) ได้ในความเข้มข้นที่ต่ำกว่า โดยได้ช่วงที่เป็นเส้นตรงที่ความเข้มข้น $1x10^{-7}$ ถึง $1x10^{-1}$ สตล

การทำ bioassay ของจิบเบอเรลลินโดยวิธี RSLSB เป็นวิธีการที่สะดวก มีอุปกรณ์และวิธีการทำไม่ยุ่งยาก และเมล็ดพันธุ์ข้าวแพร่ 1 และ กข 7 ก็สามารถหาได้ง่ายในประเทศไทย ดังนั้นจึงน่าจะเป็นวิธีการทำ bioassay ของจิบเบอเรลลินที่มีประสิทธิภาพอีกวิธีหนึ่ง อย่างไรก็ตามยังมีวิธีการที่สามารถวัดความเข้มข้นของจิบเบอเรลลินได้ต่ำกว่าวิธี RSLSB เช่นวิธี Rice Micro-drop Bioassay (RMB) ของ Nishijima *et al.* (1993) ซึ่งใช้ข้าวพันธุ์ Waito-C, Tanginbozu, Koshihikari โดยแช่เมล็ดข้าวในสารละลาย prohexadione calcium ร่วมกับ uniconazole เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สามารถวัดปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินได้ต่ำสุดที่ $3 x 10^{-10}$ สตล แต่ไม่ได้รายงานถึงช่วงที่เป็นเส้นตรง นอกจากนี้สุธาสินี (2541) ใช้ข้าวพันธุ์ กข 7 ในการทำ RMB สามารถวัดปริมาณของ GA_3(Kyowa) ได้ในความเข้มข้นที่ต่ำถึง $3 x 10^{-11}$ สตล โดยพบช่วงที่เป็นเส้นตรงระหว่าง $3x10^{-11}$ – $3x10^{-3}$ สตล

ดังนั้นในการทดลองครั้งต่อไปน่าจะทดลองใช้ข้าวพันธุ์แพร่ 1 และใช้วิธี RMB และควรจะทดลองลดความเข้มข้นของ GA_3(Kyowa) ต่ำลงไปถึง $1x10^{-9}$ หรือ $1x10^{-11}$ สตล จนกว่าจะพบช่วงที่เป็น quadratic ซึ่งอาจจะพบวิธีที่วัดปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินได้ในปริมาณต่ำลงไปอีก ส่งผลให้ตัวอย่างพืชที่จะนำมาสกัดมีขนาดเล็กลง เนื่องจากในการทดลองหาปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในยอดลำไย ลิ้นจี่ และมะปราง ในช่วงก่อนการแตกใบอ่อนหรือการออกดอก มักจะพบปัญหาจำนวนยอดบนต้นไม่เพียงพอที่จะเก็บไปจนถึงช่วงการแตกใบอ่อนหรือการออกดอก

การศึกษาอิทธิพลของเวลาที่แตกต่างกันในการทำกราฟมาตรฐานโดยวิธี RSLSB พบว่าช่วงเวลาที่แตกต่างกันคือตั้งแต่วันที่ 29 กรกฎาคม พ.ศ. 2541 ถึง 5 สิงหาคม พ.ศ. 2541 และวันที่ 19 สิงหาคม พ.ศ. 2541 ถึง 26 สิงหาคม พ.ศ. 2541 ซึ่งเป็นระยะเวลาห่างกัน 21 วัน ไม่มีผลต่อความยาวเฉลี่ยของ secondary leaf sheath ของข้าวพันธุ์แพร่ 1 ในแต่ละครั้งที่ทำการทดลอง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการเพาะเลี้ยงทำในตู้ควบคุมสภาพแวดล้อม (growth chamber) จึงสามารถลดความแปรปรวนอันเนื่องจาก อุณหภูมิ แสง ความชื้น และอื่น ๆ ซึ่งอาจมีผลทำให้เกิดความแปรปรวนของกราฟมาตรฐาน ดังนั้นการทำการทดลองในช่วงเวลาที่แตกต่างกันจึงไม่มีผลต่อความยาวเฉลี่ยของ secondary leaf sheath ของข้าวพันธุ์แพร่ 1 ส่งผลให้ไม่ต้องทำกราฟมาตรฐานควบคู่กับการวิเคราะห์ตัวอย่างทุกครั้งที่ทำการทดลองภายในช่วงเวลา 21 วัน อย่างไรก็ตาม โรจน์รวี (2539) ศึกษาอิทธิพลของเวลาที่แตกต่างกันในการทำกราฟมาตรฐานในการวิเคราะห์ปริมาณสารคล้ายไซโตไคนินโดยวิธี Radish Cotyledon Bioassay (RCB) พบว่าการทดลองในช่วงเวลาที่แตกต่างกันทำให้เปอร์เซ็นต์น้ำหนักสดที่เพิ่มขึ้นของใบเลี้ยงแรดิชในแต่ละการทดลองแตกต่างกัน ส่งผลให้กราฟมาตรฐานที่ได้แตกต่างกันทั้งที่ทำการทดลองภายในตู้ควบคุมสภาพแวดล้อม ทั้งนี้อาจเป็นเพราะ Radish Cotyledon Bioassay มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมในการทดลองมากกว่า ทำให้ต้องทำกราฟมาตรฐานควบคู่ไปด้วยทุกครั้งที่ทำการทดลอง ซึ่งสิ้นเปลืองแรงงานและค่าใช้จ่ายมาก ดังนั้นในการทดลองครั้งต่อไปน่าจะทดลองในช่วงเวลาที่ห่างกันมากขึ้น หรืออาจเป็นในฤดูกาลที่แตกต่างกัน เพื่อศึกษาว่าวิธี RSLSB มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมในแต่ละฤดูกาลที่ทดลองหรือไม่

การหาตำแหน่ง R_f ที่มี activity ของสารคล้ายจิบเบอเรลลินในยอดมะปรางพันธุ์ทูลเกล้าและลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวยโดยวิธี RSLSB พบ activity ของสารคล้ายจิบเบอเรลลินที่ R_f 0.3-0.8 เหมือนกันทั้งในมะปรางและลิ้นจี่ โดยในมะปรางพันธุ์ทูลเกล้ามีปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินเท่ากับ 0.0067, 0.0319, 0.0305, 0.0324, 0.0159, 0.0248 µg GA_3(Kyowa) equivalent / g f. wt. และในลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวยมีปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินเท่ากับ 0.0926, 0.0753, 0.0896, 0.0786, 0.0797, 0.0647 µg GA_3(Kyowa) equivalent / g f. wt. ซึ่งได้ผลการทดลองใกล้เคียงกับการทดลองของนพพร (2539) และ สุวลี(2540) พอสรุปได้ดังนี้

ตารางที่ 5.1 สรุปตำแหน่ง R_f ที่มี activity ของสารคล้ายจิบเบอเรลลิน

ผู้ทดลอง (ปี) ประเทศ	พืช พันธุ์	วิธีการ bioassay	R_f ที่มี activity ของสารคล้ายจิบเบอเรลลิน	ปริมาณที่พบ (μgGA_3(Kyowa) equivalent / g f. wt.)
นพพร (2539) ไทย	ลำไยพันธุ์ดอ	Rice Secondary Leaf Sheath Bioassay (RSLSB)	0.4-0.8	0.6486, 0.6743, 0.3331, 0.5569, 0.5092
สุวลี (2540) ไทย	ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย	Lettuce Hypocotyl Bioassay (LHB)	0.2-0.5	0.289, 0.263, 0.321, 0.215

วิธีการ RSLSB เป็นวิธีการที่สามารถวัดปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินได้ต่ำกว่า วิธี LHB จึงสามารถวัดปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินได้ในช่วงที่กว้างกว่า คือ สามารถวัดปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในช่วง R_f 0.6-0.8 ได้ แต่การที่วิธีการ LHB สามารถวัดปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในช่วง R_f 0.2 ได้ อาจเป็นเพราะในการเก็บตัวอย่างเพื่อทำการทดลองศึกษาหาตำแหน่ง R_f ที่มี activity ของสารคล้ายจิบเบอเรลลินทำในช่วงเวลาที่ต่างกัน activity ของสารคล้ายจิบเบอเรลลินที่พบจึงแตกต่างกันด้วย Chen (1990) ได้ศึกษาในลิ้นจี่พบว่าปริมาณ GA_{17} และ GA_{20} จะสูงมากในช่วงที่มีการแตกใบอ่อนและเติบโตทางกิ่งใบ แต่ในช่วงก่อนการออกดอกและช่วงการออกดอกไม่สามารถตรวจพบจิบเบอเรลลินทั้งสองตัวนี้ได้ ดังนั้นในการทดลองครั้งต่อไปน่าจะศึกษาหาตำแหน่ง R_f ที่มี activity ของสารคล้ายจิบเบอเรลลินควบคู่ไปด้วยทุกครั้ง เพื่อให้ได้ช่วง R_f ที่มี activity ของสารคล้ายจิบเบอเรลลินในแต่ละช่วงที่ทำการทดลอง

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในช่วงก่อนการแตกใบอ่อนของยอดมะปรางพันธุ์ทูลเกล้าและลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย พบว่าปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในยอดมะปรางพันธุ์ทูลเกล้าและลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวยจะมีปริมาณต่ำในสัปดาห์ที่ 4 - 1 ก่อนการแตกใบอ่อน และจะเพิ่มสูงขึ้นในสัปดาห์ที่มีการแตกใบอ่อน ผลการทดลองนี้คล้ายกับการทดลองของ คณพล(2532) ซึ่งศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในยอดมะม่วงพันธุ์เขียวเสวยพบว่าปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินจะเพิ่มขึ้นมากที่สุดตรงระยะที่มะม่วงแตกใบอ่อน ในขณะที่ Chen (1987) ศึกษา

ปริมาณฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของยอด และการพัฒนาของตาดอก ในมะม่วงพันธุ์ Irwin ก็พบว่าปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินจะสูงที่สุดในช่วงแตกใบอ่อน ส่วนการศึกษาในลิ้นจี่ พบว่าปริมาณฮอร์โมนใน xylem sap ของลิ้นจี่พันธุ์ Heh yeh มีปริมาณจิบเบอเรลลินสูงที่สุดในช่วงแตกใบอ่อน (Chen,1990)

ส่วนการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในช่วงก่อนการออกดอก พบว่าการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในยอดลำไยพันธุ์ดอจะลดลงต่ำสุดในสัปดาห์ที่มีการออกดอก (นพพร, 2539) ในขณะที่ สุวลี(2540) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในยอดลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย พบว่าปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินจะเริ่มลดลงในสัปดาห์ที่ 3 ก่อนการออกดอก จนไม่สามารถตรวจพบปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินได้ในสัปดาห์ที่ 1 และในสัปดาห์ที่เริ่มแทงช่อดอก

จากรายงานดังกล่าวอาจสรุปได้ว่าใน ลิ้นจี่ ลำไย มะปราง และมะม่วง มีรูปแบบของการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินที่คล้ายคลึงกัน คือ ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินจะสูงที่สุดในสัปดาห์ที่มีการแตกใบอ่อน และปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินจะลดลงในช่วงก่อนการออกดอกจนมีปริมาณต่ำในช่วงที่มีการออกดอก พีรเดช(2537) กล่าวว่าพืชหลายชนิดจะมีการออกดอกก็ต่อเมื่อปริมาณจิบเบอเรลลินภายในต้นมีน้อยลง เนื่องจากจิบเบอเรลลินเป็นฮอร์โมนที่ช่วยกระตุ้นให้เกิดการเจริญเติบโตทางกิ่งใบ นอกจากปริมาณจิบเบอเรลลินจะลดลงแล้วยังพบว่าพืชหลายชนิดจะมีปริมาณเอทิลีนสูงขึ้นด้วย และ Chen (1990) รายงานว่าในช่วง 30 วันก่อนการสร้างตาดอก ช่วงที่มีการสร้างตาดอก และช่วงการออกดอก จะมีปริมาณไซโตไคนินมากกว่าในช่วงการแตกใบอ่อน และช่วงการพักตัวของตา และพบว่าปริมาณ ABA จะสูงในช่วง 30 วันก่อนการสร้างตาดอก ช่วงการสร้างตาดอกและช่วงการออกดอก จะเห็นได้ว่าการออกดอกอาจควบคุมโดยสมดุลของฮอร์โมนหลายชนิด ดังนั้นนอกจากการศึกษาปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินแล้ว จึงควรมีการศึกษาฮอร์โมนอื่น ๆ ควบคู่ไปด้วย เพื่อพิสูจน์รูปแบบของสมดุลฮอร์โมนที่ควบคุมการออกดอกและการแตกใบอ่อน นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์โบไฮเดรต (TNC) ก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่น่าสนใจและควรมีการศึกษาควบคู่กันไปกับการศึกษาด้านฮอร์โมน โดยในลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย พบว่าปริมาณ TNC ในใบและในกิ่งจะเพิ่มขึ้นในช่วงก่อนการออกดอก หรือแตกใบอ่อน (Chaitrakulsup ,1981) เช่นเดียวกันกับในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้พบว่าปริมาณ TNC ในใบและในกิ่งก็มีปริมาณเพิ่มขึ้นในช่วงก่อนการออกดอก (ศิริชัย,2524)

อย่างไรก็ตามในการทดลองครั้งนี้พบว่าปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินไม่มีการเปลี่ยนแปลงในช่วง 4 – 1 สัปดาห์ก่อนการแตกใบอ่อน ดังนั้นอาจไม่จำเป็นต้องเก็บตัวอย่างทุกสัปดาห์ แต่ควรกำหนดเวลาที่ใช้เป็นวิธีการเป็น 1, 3, 5, และ 7 วัน ก่อนการแตกใบอ่อน และควรทำการศึกษาขนาด

ตัวอย่าง (sample size) ที่เหมาะสม และควรศึกษาความยาวยอดที่เหมาะสม เพราะขนาดตัวอย่าง และความยาวยอดที่เหมาะสม จะทำให้สามารถประหยัดตัวอย่างได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

บทที่ 6

สรุปผลการทดลอง

การทดลองที่ 1

1. ความยาวเฉลี่ยของ secondary leaf sheath ของข้าวเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ GA_3 (Kyowa) เพิ่มขึ้นจาก 1×10^{-7} ถึง 1×10^{-1} สตล

2. พันธุ์ข้าวและความเข้มข้นของ GA_3(Kyowa) มี interaction กัน โดยพันธุ์ต่างกันมีผลทำให้การตอบสนองต่อความเข้มข้นของ GA_3(Kyowa) ต่างกันไปด้วย โดยข้าวพันธุ์แพร่ 1 ตอบสนองต่อ GA_3(Kyowa) ได้ดีกว่าข้าวพันธุ์ กข 7 และ สุพรรณบุรี 2

3. ข้าวพันธุ์แพร่ 1 ตอบสนองต่อความเข้มข้นของ GA_3(Kyowa) ได้ดีที่สุด โดยมีค่า C.V. เท่ากับ 4.212 % (untransformed) และมีค่า F ของ linear เท่ากับ 966.72

4. ผลการวิเคราะห์ standard curve ของข้าวพันธุ์แพร่ 1 พบช่วงที่เป็น linear ระหว่าง 1×10^{-7} ถึง 1×10^{-1} สตล

5. ผลการวิเคราะห์สมการเส้นตรง (linear regression) พบว่า

$Y = -0.21039 + 0.044227 X$ ($p<0.0000$)

$r = 0.9527$ $n = 48$ ($p<0.0000$)

$r^2 = 0.9076$

โดยที่ Y คือความเข้มข้นของ GA_3(Kyowa) (สตล) X คือ ความยาวของ secondary leaf sheath (ซม) มีค่า minimum = 4.757, maximum = 7.018 ซม (ซึ่งจะทำให้มีค่า Y minimum = 1×10^{-7} สตล และ Y maximum = 1×10^{-1} สตล)

การทดลองที่ 2

การทำกราฟมาตรฐานโดยวิธี RSLSB โดยใช้ข้าวพันธุ์แพร่ 1 ในเวลาที่แตกต่างกัน (ห่างกัน 21 วัน) ไม่มีผลต่อการตอบสนองของกราฟมาตรฐาน

การทดลองที่ 3

พบ gibberellin activity ในยอดมะปรางพันธุ์ทูลเกล้า ที่ R_f 0.3 – 0.8 โดยมี gibberellin activity เท่ากับ 0.0067, 0.0319, 0.0305, 0.0324, 0.0159, 0.0248 μgGA_3(Kyowa) equivalent / g f. wt. ตามลำดับ

การทดลองที่ 4

พบ gibberellin activity ในยอดลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย ที่ R_f 0.3 – 0.8 โดยมี gibberellin activity เท่ากับ 0.0926, 0.0753, 0.0896, 0.0786, 0.0797, 0.0647 μgGA_3(Kyowa) equivalent / g f. wt. ตามลำดับ

การทดลองที่ 5

สารคล้ายจิบเบอเรลลินในยอดมะปรางพันธุ์ทูลเกล้าจะมีปริมาณต่ำในสัปดาห์ที่ 4 - 1 ก่อนการแตกใบอ่อน และปริมาณจะเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่แตกใบอ่อน

การทดลองที่ 6

สารคล้ายจิบเบอเรลลินในยอดลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวยจะมีปริมาณต่ำในสัปดาห์ที่ 4 - 1 ก่อนการแตกใบอ่อน และปริมาณจะเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่แตกใบอ่อน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University