บทที่ 5
วิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของ GA_3 (Kyowa) ที่มีต่อกราฟมาตรฐานในการวิเคราะห์ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินโดยวิธี Rice Micro-drop Bioassay (RMB) ตามแบบ Nishijima *et al.* (1993) พบว่าสามารถวัดความเข้มข้นของ GA_3 (Kyowa) ได้ต่ำถึง $3x10^{-11}$ สตล ซึ่งวัดได้ต่ำกว่าที่ Nishijima *et al.* (1993) ได้รายงานไว้ โดยผลการวิเคราะห์กราฟมาตรฐานได้ช่วงที่เป็นเส้นตรงที่ความเข้มข้น $3x10^{-11}$ – $3x10^{-3}$ สตล (ตารางภาคผนวกที่ 1.5) ส่วนผลการทดลองของ Nishijima *et al.* (1993) พบการตอบสนองไม่เป็นเส้นตรงในช่วงที่ความเข้มข้นต่ำกว่า $3x10^{-8}$ สตล (10^2 fmol / plant) ซึ่งการทำ bioassay ของจิบเบอเรลลินโดยวิธี RMB นี้เป็นวิธีการที่สะดวก อุปกรณ์และวิธีการไม่ยุ่งยาก และเมล็ดข้าวก็หาได้ง่าย และวิธีการนี้ยังสามารถวัดปริมาณของจิบเบอเรลลินได้ในความเข้มข้นที่ต่ำมากเมื่อเทียบกับวิธีการอื่นๆ เช่น นพพร (2539) ใช้ข้าวพันธุ์ IR36 ในการทำ RSLSB นั้นสามารถวัดปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินได้ต่ำสุดเพียง $1x10^{-5}$ สตล โดยช่วงที่เป็นเส้นตรงที่วัดได้ คือ $1x10^{-5}$ ถึง $1x\ 10^{-1}$ สตล ซึ่งการทำ RMB จะช่วยให้สามารถใช้ตัวอย่างขนาดเล็ก และประหยัดตัวอย่างพืชที่จะนำมาสกัด เนื่องจากการทดลองหาปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในยอดลำไย มีปัญหาจำนวนยอดลำไยบนต้นมีไม่เพียงพอที่จะเก็บไปจนถึงการออกดอก และจากงานทดลองครั้งนี้พบว่ามีความสัมพันธ์กันแบบเป็นเส้นตรงน้อยมาก ($r = 0.5995$) ที่ระดับความเข้มข้นของ GA_3 (Kyowa) = $3x10^{-3}$ สตล มีความแตกต่างจากความเข้มข้นของ GA_3 (Kyowa) ที่ระดับ $3x10^{-5}$ สตล (เมื่อดูจากค่าเฉลี่ย และค่า standard deviation) ซึ่งจะพบว่าในช่วงความเข้มข้น $3x10^{-3}$ – $3x10^{-5}$ สตล มีแนวโน้มที่จะเป็นเส้นโค้ง จึงทำให้ค่าความสัมพันธ์กันแบบเป็นเส้นตรงมีค่าน้อย ดังนั้นหากไม่นำข้อมูลความเข้มข้นของ GA_3 (Kyowa) ที่ระดับความเข้มข้น $3x10^{-3}$ สตล มาคำนวณเพื่อหา linear regression และ correlation ก็อาจจะพบค่าความสัมพันธ์กันแบบเป็นเส้นตรงมากขึ้น

การศึกษาอิทธิพลของพันธุ์ข้าวที่มีต่อกราฟมาตรฐานในการวิเคราะห์ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินโดยวิธี RMB พบว่า ข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 2 ตอบสนองต่อความเข้มข้นของจิบเบอเรลลินเป็นเส้นตรงได้ดีที่สุด โดยให้ค่า F ของ linear สูงกว่าข้าวพันธุ์ แพร่ 1 และ กข 7 ดังนั้นในการทดลองครั้งต่อไปควรศึกษาเปรียบเทียบข้าวพันธุ์ใหม่ที่หาได้ง่ายในท้องถิ่นกับข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 2 และอาจจะพบพันธุ์ข้าวที่มีการตอบสนองที่ดีกว่าข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 2 เนื่องจากข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 2 หาได้ยาก ซึ่งทำให้เป็นอุปสรรคในงานวิจัยได้ และควรทดลองที่ต่ำกว่า

$3x10^{-11}$ ลงไปมากๆ เช่น $3x10^{-13}$, $3x10^{-15}$ และ $3x10^{-17}$ สตล เพื่อจะหา sensitivity ของข้าวพันธุ์ที่ผ่านการทดลองคัดเลือก

การหาตำแหน่ง R_f ที่มี activity ของสารคล้ายจิบเบอเรลลินในยอดลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย พบ activity ของสารคล้ายจิบเบอเรลลินที่ R_f 0.3-0.8 ซึ่งได้ผลการทดลองใกล้เคียงกับการทดลองของนพพร (2539) ซึ่งศึกษาปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินที่ยอดลำไยพันธุ์ดอ โดยวิธี RSLSB พบ activity ของสารคล้ายจิบเบอเรลลินที่ R_f 0.4-0.8 (ตารางที่ 7) ส่วนสุวลี (2540) ซึ่งศึกษาปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในยอดลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย โดยวิธี LHB แต่พบ activity ของสารคล้ายจิบเบอเรลลินที่ R_f 0.2-0.5 (ตารางที่ 7) ซึ่งได้ผลแตกต่างออกไปเนื่องจากวิธีการ LHB ไม่ sensitive พอจึงไม่พบที่ R_f 0.6-0.8 ส่วนพบ R_f ที่ 0.2 นั้นอาจเนื่องจากตัวอย่างยอดลิ้นจี่ที่นำมาทำการทดลองนั้นต่างระยะกัน โดยสุวลี (2540)ใช้ยอดลิ้นจี่ในระยะที่ออกดอก ส่วนในการทดลองนี้ใช้ยอดลิ้นจี่ในระยะก่อนการออกดอกจึงไม่สามารถพบ activity ของจิบเบอเรลลินบางตัว ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Chen (1987) ที่ศึกษาปริมาณฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาตาดอกของมะม่วง พบว่าในระยะก่อนการออกดอกจะไม่พบ GA_5 แต่ในระยะที่ออกดอกจะพบ GA_5

ตารางที่ 7 สรุปปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินที่พบใน R_f ต่างกันในพืช

(μgGA_3 (Kyowa) equi. /g f. wt.)

R_fที่พบ activity ของสารคล้ายจิบเบอเรลลิน	นพพร (2539)	สุวลี (2540)	การทดลองนี้ (2542)
	ลำไยพันธุ์ดอ RSLSB	ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย LHB	ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย RMB
0.2	-	0.2890	-
0.3	-	0.2631	0.003571
0.4	0.6486	0.3210	0.003004
0.5	0.6743	0.2150	0.003021
0.6	0.3331	-	0.003433
0.7	0.5569	-	0.003200
0.8	0.5092	-	0.003509

การศึกษาอิทธิพลของระยะเวลาในการเก็บรักษาตัวอย่างยอดลิ้นจี่ที่มีต่อการวิเคราะห์ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินโดยวิธี RMB พบว่าการเก็บตัวอย่างยอดลิ้นจี่ไว้ที่อุณหภูมิ -30° ซ ที่ระยะเวลา 4 ชั่วโมง , 1 เดือน , 2 เดือน และ 3 เดือน ไม่มีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลิน แต่ถ้าหากเก็บยอดไว้เป็นเวลามากกว่า 3 เดือน สารคล้ายจิบเบอเรลลินภายในยอดอาจจะสลายตัวจนหมดไปได้ เนื่องจากปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินภายในยอดมีค่อนข้างน้อยซึ่งเห็นได้จากการทดลอง

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในยอดลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวยก่อนการออกดอก พบว่า สารคล้ายจิบเบอเรลลินจะมีปริมาณสูงในสัปดาห์ที่ 4 และ 3 ก่อนการออกดอก และมีปริมาณลดลงในสัปดาห์ที่ 2 ซึ่งเป็นสัปดาห์ที่เริ่มเกิด flower initiation เมื่อตรวจสอบด้วย microtome section หลังจากนั้นปริมาณจะลดลงต่อไปอีกในสัปดาห์ที่ 1 ก่อนการออกดอก จนถึงสัปดาห์ที่ออกดอก(เมื่อมองเห็นด้วยตาเปล่า) ผลการทดลองครั้งนี้คล้ายกับการทดลองของหลายท่านซึ่งสรุปได้ ดังตารางที่ 8

จากตารางที่ 8 จะเห็นได้ว่าการทดลองของสุวลี (2540) พบว่ามีปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินมากในสัปดาห์ที่ 4 ก่อนการแทงช่อดอก แล้วปริมาณจะลดลงในสัปดาห์ที่ 3 และคงที่ไปจนถึงสัปดาห์ที่ 2 ในขณะที่ปริมาณจะลดลงอีกครั้งจนไม่สามารถวัดได้ในสัปดาห์ที่ 1 และ 0 ก่อนแทงช่อดอก นอกจากนี้นพพร (2539) ได้รายงานว่าปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินมีปริมาณสูงในสัปดาห์ที่ 6 ก่อนการออกดอก และจะคงที่ไปจนถึงสัปดาห์ที่ 3 ก่อนการออกดอก จากนั้นปริมาณจะลดลงต่ำสุดในสัปดาห์ที่มีการออกดอก ส่วนการศึกษาของ Chen (1990) พบว่าปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินจะเริ่มลดลงตามลำดับตั้งแต่ช่วงการพักตัวของตา ช่วง 30 วันก่อนการสร้างตาดอก ช่วงการสร้างตาดอก และช่วงดอกบาน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในยอดมะม่วงที่ Chen (1987) ได้ศึกษาไว้ พบว่า ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในระยะที่เกิดตาดอก และช่วงที่ดอกบานเต็มที่จะอยู่ในระดับต่ำ

ตารางที่ 8 สรุปการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินที่พบในช่วงก่อนการออกดอกของพืชโดยวิธีการ bioassay ต่างกัน

ผู้วิจัย (ปี) ประเทศ	พืช พันธุ์	วิธีการ (bioassay)	ช่วงเวลาของพืชที่ใช้วิเคราะห์	ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินที่พบ
สุวลี 2540. ไทย	ลิ้นจี่ พันธุ์ฮงฮวย	LHB	4 , 3 , 2 , 1 และ 0 ก่อนการออกดอก	สัปดาห์ที่ 4 = 0.351 สัปดาห์ที่ 3 = 0.168 สัปดาห์ที่ 2 = 0.162 ($\mu g\ GA_3$ (Kyowa) equi. / g.f.wt.) สัปดาห์ที่ 1 = ND และสัปดาห์ที่ออกดอก = ND
นพพร 2539. ไทย	ลำไย พันธุ์คอ	RSLSB	6 , 5 , 4, 3 และ 0 สัปดาห์ก่อนการออกดอก	สัปดาห์ที่ 6 = 0.2740 สัปดาห์ที่ 5 = 0.2550 สัปดาห์ที่ 4 = 0.2230 สัปดาห์ที่ 3 = 0.1170 ($\mu g\ GA_3$ (Kyowa) equi. / g.f.wt.) และสัปดาห์ที่ออกดอก = ND
Chen 1990. จีน	ลิ้นจี่พันธุ์ Heh Yeh	ไม่ระบุ	30 วันก่อนการสร้างตาดอก	1.8 ± 0.2 (mg / kg of xylem sap)
Chen 1987. จีน	มะม่วง (*Mangifera indica* L.)	Dwarf rice bioassay (Murakami , 1968)	ระยะที่เกิดตาดอก	2.5 ± 0.7 (ng / mg of xylem sap)

จากรายงานข้างต้นชี้ให้เห็นว่า ลิ้นจี่ ลำไย และมะม่วงมีปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในยอดลดลงในช่วง 30-40 วัน ก่อนการเกิดตาดอก และจะมีปริมาณต่ำมากในช่วงที่มีการสร้างตาดอกและออกดอก (ที่มองเห็นด้วยตาเปล่า)

จากการทดลองนี้จะเห็นได้ว่ามีค่าความแปรปรวน (C.V.) สูงมาก คือ 90.47% (ตารางภาคผนวกที่ 5.1.1) สาเหตุมาจากความแปรปรวนของต้นพืชเอง และในขั้นตอนการวิจัย คือ ขั้นตอนการปรับปริมาตรของสารให้ได้ 1 มล หลังจากนำไประเหยให้แห้งด้วยเครื่องระเหยความดันต่ำอาจจะมี error เกิดขึ้นเนื่องจากดูดสารออกมาไม่ได้ 1 มล ภายในครั้งเดียวเนื่องจากสารบางส่วนจะค้างอยู่ภายใน pipet ทำให้ต้องใช้จำนวนครั้งในการนำสารออกมาเพื่อให้ได้ปริมาตร 1 มล หลายครั้งดังนั้นจึงเกิด error มากขึ้นตามจำนวนครั้งที่ดูดสารจึงทำให้งานทดลองมีความแปรปรวนมากขึ้น

นอกจากการศึกษาปริมาณของฮอร์โมนจิบเบอเรลลินแล้ว การศึกษาปริมาณของฮอร์โมนชนิดอื่นก็มีการศึกษาด้วย เพราะฮอร์โมนพืชแต่ละกลุ่มมีความสัมพันธ์ซึ่งกันและกันทั้งในด้านการส่งเสริมและยับยั้งการเจริญเติบโต กระบวนการต่างๆเหล่านี้จะเกิดขึ้นเมื่อความสมดุลย์ระหว่างสารเร่งการเติบโตและสารยับยั้งการเจริญเติบโตอยู่ในระดับพอเหมาะ ในไม้ผลหลายชนิดพบว่าปริมาณจิบเบอเรลลินจะลดลงและมีการสร้างเอทธิลีนมากขึ้นในช่วงออกดอก (พีรเดช,2537) มีรายงานการศึกษาถึงสมดุลย์ฮอร์โมน เช่น Chen (1990) ได้รายงานการศึกษาใน xylem sap และปลายยอดของลิ้นจี่ พบว่าในช่วงแตกใบอ่อนมีปริมาณจิบเบอเรลลินมาก และปริมาณลดลงในช่วงสร้างตาดอก ในขณะที่ปริมาณไซโตไคนินในช่วงแตกใบอ่อนมีปริมาณน้อยกว่าในช่วงสร้างตาดอก ส่วนปริมาณ ABA (Abscisic acid) ในปลายยอดในช่วงแตกใบอ่อนมีปริมาณน้อยกว่าในช่วงแตกใบอ่อนและช่วงออกดอก ซึ่งลักษณะเช่นนี้จะบ่งบอกถึงรูปแบบสมดุลย์ที่ควบคุมการออกดอกและการแตกใบอ่อนของลิ้นจี่

ปัจจัยอื่นที่อาจมีผลต่อการออกดอกของพืชที่น่าสนใจและควรมีการศึกษาควบคู่กับการศึกษาปริมาณฮอร์โมน เช่น การศึกษา Total Nonstructural Carbohydrate (TNC) โดย Chaitrakulsup (1981) ศึกษา TNC ในยอดและใบลิ้นจี่พบว่า ปริมาณ TNC ในยอดสูงขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 1 เดือน ก่อนการออกดอกหรือแตกใบอ่อน Wanichkul and Subhadrabandhu (1992) ทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง TNC ในใบของเงาะพันธุ์โรงเรียน พบว่า ปริมาณ TNC ในใบเพิ่มขึ้นจนกระทั่งเริ่มมีตาดอก กลางเดือน มกราคม

ปริมาณไนโตรเจนในใบก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่น่าศึกษา ซึ่ง Menzel *et al.* (1994) รายงานว่าปริมาณไนโตรเจนในใบมีความสัมพันธ์กับการแตกใบอ่อน และการออกดอก และ Chaitrakulsup (1981) ทำการศึกษาปริมาณ Total Nitrogen (TN) ในลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย พบว่า ปริมาณ TN ในใบจะมีปริมาณสูงขึ้นเรื่อยๆจนถึงสัปดาห์ที่ 9 ก่อนการแตกใบอ่อนหลังจากนั้นจะลดลง ดังนั้นควรศึกษาเกี่ยวกับธาตุอาหารควบคู่ไปกับการแตกใบอ่อนด้วย ซึ่งเป็นสิ่งจำเป็นเพื่อที่จะอธิบายถึงความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโตทางกิ่งใบและการออกดอก (Stephenson and Cull , 1986)