

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

ลำไย (Longan)

ลำไยจัดเป็นพืชตระกูล Sapindaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Dimocarpus longan* Lour.; *Euphoria longana* Lam.; *Euphoria* Steud.; ลำไยจัดเป็นไม้ยืนต้นไม่ผลัดใบ สามารถปลูกได้ใน พื้นที่สูง 300 ถึง 1,000 เมตร จากระดับน้ำทะเล (Menzel, 1983)

ถิ่นกำเนิดและการแพร่กระจาย

ลำไยเป็นไม้ผลเขตร้อน (นิพัฒน์, 2542) เป็นไม้พื้นเมืองของประเทศไทยจีนตอนใต้ โดยปลูก กันอย่างแพร่หลายในมณฑลกว่างตุ้ง (Kwangtung) ฟูเกี้ยน (Fukien) กว่างซี (Guangxi) (นิพัฒน์ และเฉลิม, 2542) และมีการแพร่กระจายเข้าไปสู่อินเดีย ลังกา พม่า พิลิปปินส์ ยุโรป สหรัฐอเมริกา (มลรัฐฯaway และฟลอริดา) คิวบา หมู่เกาะอินดีสตะวันตก มาดากัสการและไทย แหล่งปลูกลำไยใน ประเทศไทยที่สำคัญคือ จังหวัดที่อยู่ในเขตภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน เชียงราย ลำปาง แพร่ น่านและพะ夷า นอกจากนี้มีการปลูกในภาคกลาง เช่น สมุทรสาคร สมุทรสงคราม ปัจจุบันลำไยได้แพร่กระจายไปตามจังหวัดต่าง ๆ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น จังหวัดเลย หนองคาย นครพนม ภาคใต้ เช่น จังหวัดพัทลุง สงขลา และนครศรีธรรมราช (พาวิน, 2543)

ลักษณะทั่วไป

ลำไยเจริญเติบโตได้ดีในดินที่มีหน้าดินลึกมีอินทรีย์วัตถุสูงระบายน้ำได้ดีโดยรวมชาติของ ลำไยจะให้ผลผลิตไม่สม่ำเสมอทุกปีซึ่งขึ้นอยู่กับปัจจัยที่เหมาะสม (สำนักงานเกษตรภาคเหนือและ สำนักงานกระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2544) ดังนี้

สภาพความอุดมสมบูรณ์ของต้นลำไย โดยสังเกตจาก ความอุดมสมบูรณ์ของใบ โดย จะมีสีเขียวเข้มและมัน ทั้งนี้ในระยะก่อนการแห้งซึ่งดอกกลำไยต้องแตกซึ่งใบ 1 ครั้งขึ้นไป

อุณหภูมิที่เหมาะสม ลำไยเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 20 - 25 องศาเซลเซียสและ ต้องการอุณหภูมิ 10 - 12 องศาเซลเซียส ระยะเวลาต่อเนื่อง 10 - 15 วัน เพื่อกระตุ้นการออกดอก

ความชื้นและปริมาณน้ำฝนที่เหมาะสม ลำไยต้องการปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยตลอดปี
1,200 - 1,400 มิลลิเมตรและมีการกระจายตัวของน้ำฝน 100 - 150 วัน/ปี

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลำต้น ลำไยเป็นไม้ผลขนาดกลางถึงใหญ่ สูงประมาณ 10 - 12 เมตร (พิชัย, 2532) กิ่งก้านลำไยมีเนื้อไม้ที่เปราะหักได้ง่าย เปลือกลำต้นขรุขระ สีน้ำตาล หรือเทา (ฉันทนา, 2513)

ใบ ใบของลำไยเป็นใบประกอบใบประกอบ เรียงตัวกันแบบตรงกันข้ามหรือแบบสลับใบอยู่กว้าง 3 - 6 เซนติเมตร และยาว 1 - 15 เซนติเมตร ด้านบนใบสีเขียวเข้มเป็นมันใบใหม่ที่ออกมากนีสีน้ำตาลแดง (ฉันทนา, 2513) ขอบใบเรียบไม่มีหยัก ใบเป็นคลื่นเล็กน้อยและเห็นเส้นใบ (vein) แตกออกจากเส้นกลางใบชัดเจนและมีจำนวนมาก (พาวิน, 2543)

ดอก ออกเป็นช่อ (panicle) มีชื่อดอกแบบ compound dichasis ออกดอกตามปลายกิ่งทางด้านนอกของพุ่ม ซึ่งเกิดเป็นช่อที่ซอกใบ ช่อดอกมีขนาดใหญ่ รูปทรงกรวย ก้านของช่อดอกยาวแข็งแรง เหี่ยดตรง แต่สاقของออกใบโดยรอบ ก้านที่แตกออกเหล่านี้เป็นที่เกิดของดอกเล็ก ๆ มากมาย มีสีขาวนวล (เกียรติเกษตร และคณะ, 2530) ช่อดอกยาวประมาณ 15 - 60 เซนติเมตร ช่อดอกขนาดกลางมีดอกย่อยประมาณ 3,000 朵 ชอนหนึ่ง ๆ มีดอก 3 ชนิด คือ ดอกตัวผู้ (staminate flower) ดอกตัวเมีย (pistillate flower) และดอกสมบูรณ์เพศ (perfect flower) ลักษณะที่คล้ายคลึงของดอกทั้ง 3 ชนิด คือ กลีบเลี้ยงหนาแข็ง 5 กลีบ สีเขียวปนน้ำตาล กลีบดอกบาง 5 กลีบ สีครีม (พงษ์ศักดิ์ และคณะ, 2542)

ผล เป็นผลเดี่ยวแบบ berry มีขนาดใหญ่ปานกลาง ผลออกเป็นช่อ แต่ละช่ออาจมีตั้งแต่ 2 - 30 ผล (เกศินี, 2546) ลำไยมีผลทรงกลมหรือทรงเบี้ยว เปลือกสีน้ำตาลปนเหลืองหรือปนเขียว ผลสุกมีเปลือกสีเหลืองหรือสีน้ำตาล อมแดง ผลเปลือกเรียบหรือเกือบเรียบ มีตุ่มแบบ ปากคลุ่มที่ผลเปลือกด้านนอก ผลเปลือก (pericarp) เจริญมาจากรังไข่ (ovary wall) (จังรักษ์, 2544)

เนื้อผล เป็นเนื้อเยื่อพานิคมาที่เจริญล้อมรอบเมล็ดและอยู่ระหว่างเปลือกับเมล็ด สีขาว คล้ายวุ้น สีขาวขุ่น 似หรือซมพูเรื่อง ๆ กลิ่นหอม รสหวานและมีลักษณะเนื้อที่แน่น แห้ง กรอบ หรือเหนียวแตกต่างกันไปตามพันธุ์ (พงษ์ศักดิ์ และคณะ, 2542) เนื้อลำไยเกิดจากส่วนที่เจริญมาจากก้านรังไข่ (funiculus) (นิพัฒน์, 2542)

เมล็ด ขนาดใหญ่เปลือกหุ้มเมล็ดมีสีน้ำตาลเข้มผิวน้ำมัน รูปโล่ค่อนข้างยาวเมล็ดล่อนออกจากเนื้อผล (เกศินี, 2546)

พันธุ์ลำไย

พันธุ์ลำไยที่พบในปัจจุบันอาจแบ่งได้ 2 ชนิด ตามลักษณะการเจริญเติบโต ลักษณะของผล เนื้อ เมล็ดและรสชาติ (พาวิน, 2543; พาวิน และวินัย, 2543) คือ

ลำไยเครื่องหรือลำไยເກາ ลำไยชนิดนี้ลำต้นเลือกคล้ายเดาวัลย์ ทรงพุ่มต้นคล้ายเพื่องฟ้า ลำต้นไม่มีแก่น ใบขนาดเล็กและสั้น ผลเล็ก ผิวผลสีชมพูปน้ำตาล เมล็ดใหญ่เนื้อผลบาง มีกลิ่นคล้ายกำมะถัน เมล็ดใหญ่ ปลูกไว้สำหรับเป็นไม้ประดับมากกว่าที่จะใช้เพื่อรับประทานผล

ลำไยตัน แบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ

ลำไยพื้นเมืองหรือลำไยกระดูก ออกดอกประจำเดือนกันวาคมถึงต้นเดือนมกราคม และเก็บเกี่ยวผลได้ประจำเดือนกรกฎาคมถึงต้นเดือนสิงหาคม ให้ผลดก เปลือกลำต้นชูชูระมาก ต้นตั้งตรงสูง 20 - 30 เมตร ใบขนาดเล็กกว่าลำไยกะหลก ผลมีขนาดเล็ก ขนาดของผลเฉลี่ยกว้าง 1.8 เซนติเมตร หนา 1.6 เซนติเมตร รูปร่างค่อนข้างกลม ผิวสีน้ำตาล เปลือกหนาเนื้อบาง สีขาวใส ปริมาณน้ำตาล 19 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดมีขนาดใหญ่ มักพบตามป่าของจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย มีอยู่ยืนมาก ปัจจุบันไม่นิยมปลูก เนื่องจากผลมีขนาดเล็ก

ลำไยกะหลก เป็นพันธุ์ที่นิยมปลูกกันมาก เพราะให้ขนาดผลใหญ่เนื้อหนาและมีรสหวาน ปริมาณน้ำตาล 16 - 24 เปอร์เซ็นต์ มีอยู่รวมกันหลายพันธุ์แต่ละพันธุ์มีคุณสมบัติพิเศษแตกต่าง กันซึ่งลำไยพันธุ์กะหลกที่ปลูกในประเทศไทย ได้แก่

พันธุ์ดอหรืออีดอ เป็นพันธุ์เบาอุดกอดติดผลก่อนพันธุ์อื่น ชาวสวนนิยมปลูกก่อน เพราะเก็บเกี่ยวได้ ráca ตัดต่างปะเทศนิยมบริโภค เก็บเกี่ยวได้ประจำเดือนมิถุนายนถึงเดือนกรกฎาคม สามารถจำหน่ายทั้งผลสดและแปรรูปทำลำไยอบแห้ง มีเนื้อหนา รสหวาน เมล็ดใหญ่ปานกลาง

พันธุ์สีชมพูหรือชมพู เป็นลำไยพันธุ์กลาง จัดเป็นพันธุ์ที่มีรสชาติดี นิยมรับประทานภายในประเทศ ผลขนาดใหญ่ปานกลาง ทรงผลค่อนข้างกลม เบี้ยงเล็กน้อย ผิวสีน้ำตาลอ่อนแดง ผิวเรียบ เปลือกหนา เนื้อหนาปานกลาง สีชมพูเรื่อง ๆ ยิ่งผลแก่จัดสีของเนื้อยิ่งเข้ม เนื้อล่อน รสหวาน กลิ่นหอม ปริมาณน้ำตาล 21 - 22 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดค่อนข้างเล็กสีดำเข้ม

พันธุ์แห้วหรืออีแห้ว เป็นลำไยพันธุ์หนัก ขนาดผลใหญ่หรือปานกลาง กว้าง 2.8 เซนติเมตร หนาและสูง 2.6 เซนติเมตร ทรงผลกลมและเบี้ยง ฐานผลบุ๋ม ผิวเปลือกสีน้ำตาล มีกระสีคล้ำตลอดผล เมื่อจับจะรู้สึกสาบมือ เปลือกหนามาก เนื้อหนา แน่น แห้งและกรอบสีขาวขุ่น รสหวานแหลม มีกลิ่นหอม มีน้ำปานกลาง เมล็ดค่อนข้างเล็ก ทนแล้งได้ดี

พันธุ์เบี้ยวหรืออีเบี้ยวเขียว เป็นพันธุ์หนักที่เก็บเกี่ยวผลผลิตได้มากกว่าพันธุ์อื่น ๆ ผลมีขนาดใหญ่ ทรงผลกลมแบนและเบี้ยวมากเห็นได้ชัด กว้าง 3.0 เซนติเมตร หนา 2.6 เซนติเมตร ยาว 2.8 เซนติเมตร ผิวสีเขียวอมน้ำตาล ผิวเรียบเปลือกหนาและเหนียว เนื้อหนา สีขาว มีน้ำน้อย รสหวานแ Holt และมีกลิ่นหอม ปริมาณน้ำตาล 22 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดค่อนข้างเล็ก

พันธุ์ใบคำหรือคำหรือกะหลาบใบคำ เป็นพันธุ์เบา ลักษณะเด่น คือ ออกดอกติดผล สมำเสมอ เจริญเติบโตได้ดีมาก ทนแล้งและน้ำท่วมขังได้ดี แต่มีข้อเสียคือ ขณะที่ผลโตเต็มที่ ผลมีขนาดเล็กกว่าพันธุ์อื่น ๆ ทั้งนี้เพราะความดกมาก ผลกว้าง 2.8 เซนติเมตร หนา 2.3 เซนติเมตร สูง 2.3 เซนติเมตร ทรงผลค่อนข้างกลม แบนและเบี้ยวเล็กน้อย ผิวสีน้ำตาลคล้ำ ขรุขระ เปลือกหนา และเหนียว ทนทานต่อการขันส่ง ปริมาณน้ำตาล 20 เปอร์เซ็นต์

พันธุ์แดงหรืออีแดงกลม เป็นลำไยพันธุ์กลาง ลักษณะเฉพาะของพันธุ์นี้ คือ ผลกลม เนื้อมีกลิ่นคาดคล้ายกำมะถัน ทำให้คุณภาพผลไม่ค่อยดี ขนาดผลใหญ่ปานกลาง กว้าง 2.6 เซนติเมตร หนา 2.5 เซนติเมตรและยาว 2.5 เซนติเมตร ขนาดผลค่อนข้างสมำเสมอ เปลือกบาง ผิวสีน้ำตาลอ่อนแดง ผิวเรียบ เนื้อหนาปานกลาง สีขาวครีม เหนียว มีน้ำมาก จึงมักจะแฉะ ปริมาณน้ำตาลประมาณ 17 เปอร์เซ็นต์

พันธุ์เหลืองหรืออีเหลือง มีทรงพุ่มค่อนข้างกลม ออกผลดก กิ่งเปราะเจ้มหักง่ายเมื่อมีผล มาก ผลค่อนข้างกลม มีปริมาณน้ำตาลประมาณ 20 - 21 เปอร์เซ็นต์

พันธุ์พวงทอง เป็นพันธุ์ที่มีชื่อดอกขนาดใหญ่ ทรงผลค่อนข้างกลมและเบี้ยวเล็กน้อย กว้าง 18.6 เซนติเมตร ยาว 29.3 เซนติเมตร กว้าง 2.5 เซนติเมตร หนา 2.3 เซนติเมตร สูง 2.4 เซนติเมตร ผิวสีน้ำตาล เนื้อหนา กรอบ สีเหลือง ปริมาณน้ำตาล 22 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดขนาดปานกลางและแบน

พันธุ์เพชรสารคหราวย จัดเป็นลำไยพันธุ์ทະวาຍ คือ สามารถออกดอกออกผลมากกว่าชนิดอื่น ๆ ต่อปี มีผลกลม ผลกว้าง 2.7 เซนติเมตร สูง 2.5 เซนติเมตร หนา 2.6 เซนติเมตร เปลือกบาง เนื้อมีสีขาว ข่าน้ำ ปริมาณน้ำตาล 18 - 20 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดกว้าง 1.3 เซนติเมตร ยาว 1.5 เซนติเมตร หนา 1.1 เซนติเมตร

พันธุ์ปูมาตินโคง มีผลสวยงาม ขนาดใหญ่ สีเขียว ให้ผลดก แต่คุณภาพแพร่ rascha ต่ำ มีกลิ่นคาด นอกรากานี้ยังเป็นพันธุ์ที่อ่อนแอต่อโรคพุ่มไม้根腐病

พันธุ์ตับนาง ผลขนาดใหญ่ ค่อนข้างกลม ผิวเปลือกเรียบ เนื้อหนา สีขาวใส เมล็ดเล็ก รสไม่หวานจัด

นอกจากพันธุ์ดังกล่าวข้างต้นยังมีลำไยอีกหลาย ๆ พันธุ์ที่มีการสำรวจพบ แต่ยังไม่ได้ปลูกแพร่หลาย ได้แก่ พันธุ์ใบหยก อีสร้อย ดอยหลวง และดอยแก้วยี่ เป็นต้น

สรีรวิทยาการเจริญเติบโตและการพัฒนาการ

การเจริญเติบโตทางลำต้น

ลำไยที่อยู่ในระยะต้นกล้า และต้นลำไยที่ปลูกด้วยกิงตอนที่ยังไม่ให้ผลผลิตจะมีการผลิใบ 3 - 5 ครั้งต่อปี ส่วนต้นที่ให้ผลผลิตและมีอายุมากจะมีการผลิใบก่อนออกดอก ประมาณ 1 - 2 ครั้งต่อปี คือ หลังจากเก็บเกี่ยวผลผลิต 3 - 4 สัปดาห์ ลำไยจะเริ่มผลิใบช่วงฤดูฝน ในภาคเหนือช่วงเดือนกันยายน-ตุลาคม การผลิใบครั้งที่สองอาจเกิดขึ้นอีกรอบในช่วงฤดูหนาว สภาพของอุณหภูมิทั้งในดินและอากาศต่ำ มีผลทำให้การเจริญเติบโตของยอดใหม่ใช้เวลานานกว่าครั้งแรก 2 เท่า สำหรับต้นลำไยพันธุ์ต่าง ๆ ที่มีอายุมากกว่า 30 ปี พบว่ามีการผลิใบอ่อนเพียงหนึ่งครั้งต่อปีก่อนออกดอกแต่อย่างไรก็ตามการผลิใบอาจเกิดได้ถึง 3 ครั้งต่อปี ในต้นที่มีอายุมากแต่มักจะพบในต้นที่มีการออกดอกเร็วนี้ (พาวิน, 2543)

การเจริญทางสืบพันธุ์

การออกดอก ลำไยที่ปลูกด้วยกิงตอนที่มีสภาพของต้นที่สมบูรณ์ จะเริ่มออกดอกในปีที่ 2 โดยการผลิซื้อดอกส่วนใหญ่ เกิดที่ส่วนยอด ภายในต้นเดียวกันแต่ละยอดอาจผลิดอกไม่พร้อมกันทั้งต้น โดยเริ่มแห้งซื้อดอกขาว ๆ ปลายเดือนธันวาคมถึงต้นเดือนกุมภาพันธุ์ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับพันธุ์ พื้นที่ปลูก และสภาพแวดล้อม ในแต่ละปี สำหรับนิสัยการออกดอกของต้นลำไยนั้นมักจะออกดอกไม่สม่ำเสมอ (irregular bearing) บางปีออกดอกมาก (on year) บางปีออกดอกน้อย (off year) (พาวิน, 2543) สาเหตุเกิดจากความสมบูรณ์ของต้น และปัจจัยภายนอกได้แก่ ความหนาแน่น ความชื้นในดิน น้ำฝน แสงแดด เป็นต้น (วิรัตน์, 2543)

การบานของดอกและการผสมเกสร ระยะเวลาที่เริ่มเห็นซื้อดอกจนถึงดอกเริ่มบานใช้เวลา 3 - 4 สัปดาห์ ลักษณะการบานของดอกบานจากโคนซื้อไปหาปลายซื้อและการบานของซื้อแขวนอยู่บนจากโคนไปหาปลายดอกซื้อกัน ในระยะแรกของการบานดอกตัวผู้จะบานมากกว่าดอกตัวเมีย ลำไยต้นหนึ่ง ๆ จะใช้เวลาบาน 1 - 1.5 เดือน สำหรับการบานของดอกนั้นพบว่า มี 2 รูปแบบ คือ รูปแบบที่ดอกตัวผู้บานก่อนดอกตัวเมียและรูปแบบที่ ดอกตัวเมียบานก่อนดอกตัวผู้ สำหรับดอกตัวเมียที่บานเต็มที่ ลักษณะการพร้อมที่จะรับประทานเกสรของดอกตัวเมีย สังเกตได้จาก ยอดเกสรตัวเมีย (stigmatic lobe) จะแยกออกเป็น 2 แฉก (bifurcation) และมีน้ำ

ต้อย (nectar) ที่สู่านดออก ช่วงเวลาในการผสมเกสร อยู่ระหว่าง 07.00-10.30 น. อับเรณูเริ่มแตกใช้เวลาประมาณ 4 ชั่วโมง หลังดอกบาน (พาวิน, 2543)

สัดส่วนเพศดอก ข้อดอกหนึ่ง ๆ อาจประกอบด้วยดอก ตัวผู้ ดอกตัวเมีย และดอกสมบูรณ์เพศ โดยปกติดอกตัวผู้มีมากกว่าดอกประเททอื่น ซึ่งสัดส่วนเพศดอกผันแปรตามพันธุ์ การปฏิบัติการดูแลรักษาและสภาพแวดล้อมในแต่ละปี ซึ่งพบว่าการมีดอกตัวเมียอยู่ในสัดส่วนสูง ก็มีส่วนทำให้การติดผลสูงตามไปเช่นเดียวกัน โดยปกติพบว่าต้นที่เพาะจากเมล็ดจะมีการติดผลดี (พาวิน, 2543)

การติดผล ภายในหลังดอกบานประมาณ 2 สัปดาห์ จะเกิดการติดผล ซึ่งสังเกตได้จากการเริ่มเหี่ยวยางของดอกตัวเมียกลีบดอกจะค่อย ๆ มีสีเข้มลงและเหี่ยวย่างไปในระยะ 3 - 4 วันหลัง จากถ่ายละอองเกสร ปัญหาที่สำคัญอย่างหนึ่งของการทำสวนลำไย คือต้นลำไยที่ติดผลมากเกิน ไปบางต้นติดผลมากกว่า 100 ผลต่อช่อ ทำให้ผลลำไยมีขนาดเล็กและเปลือกบาง เช่น พันธุ์สีชมพู เนื้อมักและน้ำ แต่อย่างไรก็ตามในบางปีกลับพบปัญหาการติดผลน้อย ทำให้ปริมาณผลผลิตที่ได้มีปริมาณต่ำ ซึ่งสาเหตุของการติดผลมากหรือน้อยนั้นเกิดจากปัจจัยใดปัจจัยหนึ่งหรืออาจเกิดจากหลาย ๆ ปัจจัย ร่วมกัน ยกตัวอย่างเช่น ความสมบูรณ์ของต้น เพศและสัดส่วนเพศดอก ลำดับการบานของดอกหรือเกิดจากปัจจัยภายนอก เช่น แมลงผสมเกสรหรือสภาพภูมิอากาศ เป็นต้น (พาวิน, 2543)

การเจริญเติบโตของผล การเจริญเติบโตของผลลำไยเป็นแบบ sigmoid curve สำหรับพันธุ์ดอกใช้เวลาในการเจริญเติบโตของผลประมาณ 21 สัปดาห์ หลังติดผลจึงเจริญโตเต็มที่ (พาวิน, 2543) โดยทั่วไปการเติบโตของผลช่วงแรก ๆ เกิดจากการแบ่งเซลล์เป็นส่วนใหญ่ ขณะที่การขยายตัวของเซลล์เกิดขึ้นในช่วงหลัง ๆ ของการเติบโต ขึ้นอยู่กับผลไม้แต่ละชนิด ในไม้ผลส่วนใหญ่กระบวนการแบ่งเซลล์สัมพันธ์กับการเพิ่มขนาดของผล ขนาดของผลจะขึ้นอยู่กับจำนวนเซลล์ของผลและกระบวนการเพิ่มปริมาตรของเซลล์ที่มีอยู่แล้ว ไม้ผลบางชนิดมีการแบ่งเซลล์เกิดขึ้นตลอดเวลาจนกระทั่งผลแก่ เกิดขึ้นในระยะต่าง ๆ กันในส่วนต่าง ๆ กันของผล (จินดา, 2544)

ขนาดของผล พันธุ์ลำไยที่ปลูกเป็นการค้าของไทยโดยทั่วไปแล้วจะมีขนาดของผลอยู่ในช่วง 10 - 20 กรัมต่อผล ขนาดของผลนั้นขึ้นอยู่กับพันธุ์ สภาพแวดล้อมและการปฏิบัติ และการดูแลรักษา มีรายงานการใช้ GA₃ เข้มข้น 50 ส่วนต่อล้าน ในระยะดอกบาน หรือ 2 สัปดาห์ หลังติดผล หรือ 4 สัปดาห์หลังดอกบาน พบร่วงสามารถเพิ่มขนาดของผลได้ 17.7 เปอร์เซ็นต์ (กิติโภดิ แล้ววี, 2537)

การแตกของผล ผลแตก (fruit cracking) เกิดจากภาร�性ยัดตัวของส่วนเปลือก และส่วนเนื้อไม่สมดุลกัน ส่วนเนื้อซึ่งมีลักษณะเป็นเซลล์อ่อนนุ่ม (spongy parenchyma) มีความสามารถในการยึดหยัดตัวได้สูงในขณะที่ส่วนเปลือกมีความยืดหยุ่นมากกว่า ในกรณีของเปลือกถ้าพัฒนาไม่ดีก็ไม่สามารถรองรับภาร�性ยัดตัวของเนื้อได้ แรงดันจากการขยายตัวของเนื้อผลจึงดันให้เปลือกแตก สำหรับการแตกของผลลำไยนั้น มักจะเกิดในระยะที่ผลลำไยใกล้จะแก่ เก็บเกี่ยวได้ มีข้อสังเกตว่าการแตกของผลลำไยนั้น มักเกิดกับต้นที่ติดผลกับเปลือกผลบางและมักเกิดกับพันธุ์อกก้านอ่อน สาเหตุคาดว่าจะเกิดจากการขาดน้ำและธาตุอาหารในระยะเริ่มต้นของการพัฒนาของเปลือกจึงทำให้เปลือกผลพัฒนาได้ไม่ดีเท่าที่ควร เมื่อถึงระยะสร้างเนื้อองค์จึงเกิดแรงดันขึ้นภายในผล เมื่อเปลือกขยายตัวไม่ทันก็เกิดอาการแตกของผล การป้องกันการแตกของผลทำโดยให้น้ำอย่างสม่ำเสมอ ตั้งแต่ระยะออกดอกถึงระยะผลแก่ (พาวิน, 2543)

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องต่อการออกดอกของลำไยมีดังนี้

1. ปัจจัยภายนอก

พันธุ์ การออกดอกของลำไยแต่ละพันธุ้มีความยาก-ง่ายแตกต่างกัน บางพันธุ์ออกดอกง่ายและค่อนข้างสม่ำเสมอ เช่น พันธุ์เบต้า, อีดอ (พาวิน, 2543) ในขณะที่บางพันธุ์ออกดอกยากและมักออกดอกในเว้นปี คือ พันธุ์แห้วและเบี้ยวน้ำ นอกจากนี้ยังมีพันธุ์ที่สามารถออกดอกได้มากกว่า 1 ครั้งต่อปี คือ พันธุ์เพชรสารค ชื่อพับครังแรบที่ จ. สมุทรสาคร (วิรัตน์, 2543)

ความสมบูรณ์ของต้น ความสมบูรณ์ของต้นลำไยเพื่อพร้อมต่อการออกดอก จะสัมพันธ์กับปริมาณอาหารที่สะสมไว้ในต้นค่อนข้างมาก ลำไยจะใช้เวลาในการออกดอก จนถึงเป็นผลแก่พร้อมเก็บเกี่ยวรวมทั้งสิ้น ประมาณ 7 - 8 เดือน (มกราคม-สิงหาคม) ซึ่งเป็นช่วงที่มีการใช้อาหารสำหรับเลี้ยงผล ในปริมาณมากและมีเวลาสะสมอาหาร เพื่อใช้ในการออกดอกครั้งต่อไป เพียง 4 - 5 เดือน คือ กันยายนจนถึงธันวาคม ดังนั้นหากไม่มีการดูแลรักษาต้นลำไยให้สมบูรณ์เพียงพอ จะทำให้เป็นสาเหตุ หนึ่งที่ทำให้ไม่ปีต่อไปลำไยออกดอกลดลง (พาวิน, 2543)

ฮอร์โมน มีรายงานถึงการศึกษาปริมาณฮอร์โมน ที่คาดว่าเกี่ยวข้องกับการติดดอกออกผลของลำไย โดย Huang (1996) พบว่าระดับฮอร์โมนภายนอกในต้นลำไยที่เข้าต่อการซักนำให้เกิดการสร้างตัวดอก คือ มีระดับของไอโซโตไคนิน (isopentenyladenosine) สูง แต่มีปริมาณของ Gibberellic acid (GA₃) และแอปซีสติก อีซิก (ABA) ต่ำ นอกจากนี้ (Chen et al., 1997) ได้วิเคราะห์ปริมาณไอโซโตไคนินในยอดลำไยในระยะต่าง ๆ พบว่าปริมาณไอโซโตไคนินทั้งหมดต่ำในระยะที่ลำไยผลใบอ่อน แต่จะสูงในระยะสร้างตัวดอก โดยเฉพาะอย่างยิ่ง zeatin, zeatin riboside, isopentenyladenosine และ isopentenyladenin นพพ. (2539) ได้ศึกษาถึงปริมาณสารคล้าย

จีบเบอเรลลินลดลงและลดลงต่ำสุด จนไม่สามารถตรวจพบในสัปดาห์ที่มีการออกดอก อย่างไรก็ตามมีผู้ทดลองใช้สารพาราโคบิวทร้าโซล ซึ่งเป็นตัวยับยั้งการสร้างจีบเบอเรลลินกลับไม่สามารถขัดกันได้ (ณัฐวุฒิ, 2542) แสดงให้เห็นว่าการลดปริมาณของจีบเบอเรลลินเพียงอย่างเดียวตนี้ ไม่สามารถขัดกันได้ ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าการออกดอกของลำไย อาจถูกควบคุมด้วยสมดุลของฮอร์โมนหลาย ๆ ชนิด (พาวิน, 2543)

2. ปัจจัยภายนอก

แสง ลำไยออกดอกที่ปลายยอดบริเวณที่ได้รับแสง ส่วนกิ่งที่ไม่ได้รับแสงจะออกดอกน้อย ทั้งนี้แสงเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์แสงและปริมาณคราวีไซเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้าง ซึ่งพืชต้องใช้ในการออกดอก นอกจากนี้ลำไยที่มีพุ่มหนาทึบจะออกดอกน้อยกว่าต้นที่มีทรงพุ่มโปร่งและใบได้รับแสงอย่างทั่วถึง (วิรัตน์, 2543)

อุณหภูมิ ปัจจัยสำคัญที่สุดที่ทำให้ลำไยออกดอกได้ คือ ความหนาวยืนของอากาศ เพราะแม้ต้นลำไยจะไม่สมบูรณ์ หรือปริมาณฝนมีปานกลางหรือน้อยแต่หากอากาศหนาวยืนเพียงพอ ก็ส่งผลให้ลำไยออกดอกได้ ซึ่งคาดว่าอุณหภูมิต่ำมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับฮอร์โมนภายในของพืช ลำไยออกดอกได้ดีภายหลังผ่านช่วงเวลาของความหนาวยืน ระยะเวลาที่ได้รับอุณหภูมิต่ำหรือระดับอุณหภูมิที่ได้รับที่สามารถกระตุ้นให้ลำไยออกดอกได้ชื่นอยู่กับพันธุ์ พันธุ์ลำไยที่ออกดอกง่ายส่วนใหญ่มักต้องอุณหภูมิต่ำในช่วงระยะเวลาที่สั้นและระดับอุณหภูมิไม่ต่ำมาก เช่น พันธุ์ใบคำ, พันธุ์ดอ โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการออกดอก ตั้งแต่ 10 ถึง 20 องศาเซลเซียส (วิรัตน์, 2543)

ปริมาณน้ำ วิรัตน์ (2543) รายงานว่าปริมาณน้ำที่เกี่ยวข้องกับการออกดอกของลำไยได้แก่ ปริมาณน้ำฝน, ปริมาณไอน้ำในอากาศหรือความชื้นสัมพัทธ์และปริมาณน้ำในดินหรือความชื้นในดิน การเปลี่ยนแปลงจากตาใบ (vegetative bud) ไปเป็นตาดอก (flower bud) ถือเป็นช่วงภาวะวิกฤติของลำไย ซึ่งมีระยะเวลาสั้นมากหากช่วงนี้ลำไยได้รับปริมาณน้ำมาก จะทำให้ติดเชื้อเปลี่ยน เป็นยอดอ่อนของกิ่งใบแทนการเกิดตาดอกตั้งนั้นลำไย จึงไม่ต้องการน้ำมากในการออกดอกและจะออกดอกหลังจากฤดูฝนผ่านไปแล้ว ในช่วงก่อนการออกดอกความชื้นสัมพัทธ์จะลดลง ซึ่งสัมพันธ์กับการลดลงของปริมาณน้ำฝนและลมในฤดูหนาวที่แห้งและเย็น ซึ่งผลกระแทบดังกล่าวทำให้ความชื้นในดินลดลงส่งผลถึงปริมาณน้ำที่รากพืชคุ้ดชื้นไปใช้ รวมถึงเมแทบอลิซึมของการใช้คราวีไซเดรตลดลง การสะสมอาหารที่จะใช้ในการออกดอกจึงเพิ่มขึ้น สภาพความชื้นในดินต่ำ ยัง

ลดอัตราการดูดဓาตุในตัวเจนจะส่งเสริมการเกิดกิงไปและลดการออกฤทธิ์ ดังนั้นความชื้นต่ำในดินจึงเพิ่มโอกาสในการเกิดออกฤทธิ์มากขึ้น

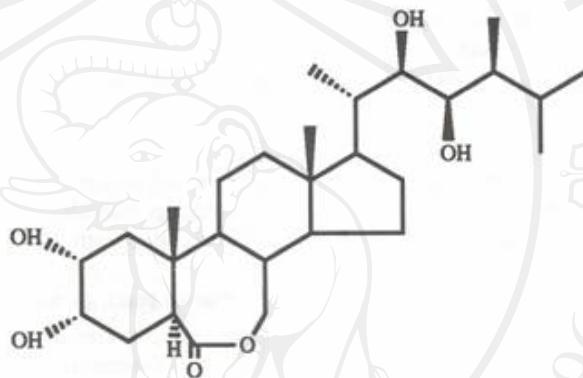
บราสิโนสเตียรอยด์ (Brassinosteroid, BRs)

บราสิโนสเตียรอยด์ เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชได้จากการสกัด rape pollen สารที่สกัดได้ให้ชื่อว่า “brassins (BRs)” โดย The U.S. Department of Agriculture (Mitchell et al., 1970 และ Yokota, 1999) บราสิโนสเตียรอยด์ เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชกลุ่มใหม่ (Khripach et al., 1999 ; Sasse; 1997 และ Sasse, 1999) แต่ยังมีสิ่งที่ยังไม่รู้คือมาก ซึ่งทำให้เกิดข้อสงสัยขึ้นได้ หลักฐานแรกที่ทำให้เชื่อว่า บราสิโนสเตียรอยด์ เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มใหม่ คือ สารนี้มีกระจายอยู่ทั่วไปในอาณาจกรพืช เหตุผลที่สอง คือ สารนี้ออกฤทธิ์ได้ในระดับต่ำมาก ๆ ทั้งในการตรวจด้วยมานิดเดียวแล้วพบพืชทั้งหลาย เหตุผลที่สาม คือ การตอบสนองของพืชที่มีต่อสารกลุ่มนี้มีมากมาย ซึ่งแตกต่างจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มนี้ ๆ อีกทั้งบราสิโนสเตียรอยด์มีโครงสร้างเฉพาะ ซึ่งจำเป็นต่อการออกฤทธิ์ในการส่งเสริมการตอบสนองทางสีวิทยาอย่างโดยย่างหนึ่ง เหตุผลที่สี่ คือ เมื่อให้สารนี้กับส่วนหนึ่งส่วนใดของพืช จะเกิดการจำเลียงไปยังตำแหน่งที่เกิดการตอบสนองทางสีวิทยาได้ ในระดับความเข้มข้นที่ต่ำมาก

การศึกษาがらไกการทำงานของ บราสิโนสเตียรอยด์ โดยใช้เทคโนโลยีระดับโมเลกุล พบว่า บราสิโนสเตียรอยด์ มีความสามารถในการควบคุมการแสดงออกของยีนที่ก่อให้เกิดการยึดยา (Clouse et al., 1992 และ Zurek and Clouse, 1994) และการสร้างเอทธิลีน (Arteca et al., 1993) นอกจากนี้ ยังได้ค้นพบพืชที่กลยุพันธุ์ไม่ตอบสนองต่อ บราสิโนสเตียรอยด์ ซึ่งสามารถใช้ในการระบุชนิดและทำการจำลองยีนของตัวรับบราสิโนสเตียรอยด์ (BRs receptor) ในพืชได้ด้วย (Clouse et al., 1992) อย่างไรก็ตาม จำเป็นต้องมีการศึกษาวิจัยอีกมากเกี่ยวกับกลไกการทำงานของบราสิโนสเตียรอยด์ให้ชัดเจนกว่านี้

สำหรับ บราสิโนสเตียรอยด์ ที่เกิดขึ้นตามธรรมชาตินั้นอยู่ในรูปของอนุพันธุ์ของ 5 α -cholestane การผันแปรของชนิดและตำแหน่งการเรียงตัวบนโครงสร้าง จะบ่งบอกถึงการออกฤทธิ์ได้ เพื่อเป็นการระบุถึงการออกฤทธิ์ของบราสิโนสเตียรอยด์ ส่วนประกอบของโครงสร้างต้องมีสิ่งต่อไปนี้ (ภาพที่ 1)

1. เป็นระบบ tran A/B ring (5α -hydrogen)
2. เป็นระบบ 6-ketone หรือ 7 –oxa-6ketone ใน ring B
3. มี Cis α -oriented hydroxyl group อยู่ที่ตำแหน่ง C-2 และ C-3
4. มี Cis hydroxyl group ที่ตำแหน่ง C-22 และ C-23 อีกทั้งมี methyl group อยู่ที่ตำแหน่ง C-24
5. การเรียงตัวกันในแบบ α - oriented ที่ตำแหน่ง C-22 C-23 และ C-24 จะมีฤทธิ์มากกว่าสารประกอบที่มีการเรียงตัวแบบ β - oriented



ภาพที่ 1 โครงสร้างเคมีของ Brassinosteroid; BRs (William, 1999)

บราสิโนสเตียรอยด์ เป็น bioactive เกี่ยวกับ growth-promoting plant พบทั่วไปในธรรมชาติ บราสิโนสเตียรอยด์แต่ละชนิดต่างกันตรงตำแหน่ง C-3 position ที่จับกับ O₂, C2, 6, 22, 23 การศึกษากระบวนการสังเคราะห์ (biosynthetic) และเมแทบoliซึม (metabolic pathway) จากการทำงานของเอนไซม์ ในระดับโมเลกุลของบราสิโนสเตียรอยด์เป็นสิ่งที่น่าสนใจ (Bishop and Yokota, 2001; Friadrichsen and Chory, 2001; Mussig and Altmann, 2001; Schneider, 2002)

บราสิโนสเตียรอยด์ พบรได้ในทุกส่วนของพืช เช่น pollen, anthers, seed, leaves, stems, root, flower, grain และ young vegetative tissue ของพืชทั่ว ๆ ไป (Andrzej and Andrzej, 2003) นอกจากนี้ยังพบได้จากเนื้อเยื่อของแมลง แต่ปริมาณบราสิโนสเตียรอยด์ที่พบในพืชสูงกว่าในแมลง ละอองเกสร (pollen) และเมล็ดอ่อน (immature seeds) เป็นแหล่งที่มีบราสิโนสเตียรอยด์มากเป็นพิเศษถึง 1 - 100 ng.g⁻¹ fresh weight ส่วนยอดและใบพบเพียง 0.01 - 0.1

ng.g⁻¹ fresh weight ในส่วนอื่น ๆ นั้นอาจมีต่ำกว่าระดับ nanogram per gram fresh weight ซึ่งความเข้มข้นที่เคยสูงที่สุดคือ 6.4 mg/1 kg pollen นั้นพบใน *Cupressus arizonica* (Griffiths et al., 1995; Clouse and Sasse, 1998; Fujioka, 1999) สารบราสิโนสเตียรอยด์พาก brassinolide (BL) และ castasterone (CS) เป็น บรากสิโนสเตียรอยด์ที่สำคัญอย่างมากในกระบวนการ biological activity (Kim, 1991; Fujioka, 1999) มีการศึกษาและวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นของบราสิโนสเตียรอยด์ที่พบในส่วนต่าง ๆ ของพืชแต่ละชนิด (Andrzej and Andrzej, 2003)

การจำเลี้ยงและเมแทabolism ของบราสิโนสเตียรอยด์ biosynthesis และ metabolism ของบราสิโนสเตียรอยด์ประกอบด้วย epimerization, oxidation และ conjugation (Fujioka and Yokota, 2003) ในปัจจุบันยังไม่ทราบแน่ชัดว่า บรากสิโนสเตียรอยด์ มีการจำเลี้ยงในลักษณะใด (Schlanhauser and Ateca, 1985) หลักฐานว่าบราสิโนสเตียรอยด์มีการจำเลี้ยงจากรากไปยังลำต้นของพืชได้ เมื่อให้บราสิโนสเตียรอยด์ที่รากของต้นมะเขือเทศ พบร่วมกับการลดลงใน epinasty แต่พบ ACC ได้น้อยมากหรือแทบจะไม่พบเลยใน xylem แสดงให้เห็นว่าอาจมีสัญญาณ (คาดว่าเป็นบราสิโนสเตียรอยด์) จากรากไปกระตุ้นการสร้าง ACC ในเนื้อเยื่อใบ นอกเหนือนี้ยังมีผู้เสนอว่า เมื่อให้บราสิโนสเตียรอยด์จากภายนอกกับรากมะเขือเทศและ radish พบร่วม ก้านใบ (petiole) และส่วนของคัพพะหรือต้นกล้าที่อยู่ใต้ใบเลี้ยงลงไป (hypocotyl) ยืดยาวเพิ่มขึ้นและเมื่อให้บราสิโนสเตียรอยด์ไปที่ฐานของกิ่งถั่วเขียวที่ตัดออกมาปักชำ พบร่วมกับการส่งเสริมการยืดยาวของส่วน嫩茎ใบเลี้ยง (epicotyls) (Sasse, 1991)

ผลทางสุริวิทยาของบราสิโนสเตียรอยด์

บราสิโนสเตียรอยด์ มีผลต่อลักษณะทางสุริวิทยาหลายอย่างดังนี้ การยืดและการขยายขนาดของเซลล์ (cell expansion and cell elongation) (Azpiruz et al., 1998), การแบ่งเซลล์ (cell division) (Sala and Sala, 1985; Nakajima et al., 1996), การพัฒนาของท่อน้ำท่ออาหาร (vascular differentiation and development) (Clouse and Zurek, 1991), เพิ่มการแก่ร้า (enhancement activities) (He et al., 1996), การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ (changes in enzymatic activities), คุณสมบัติเยื่อหุ้มเซลล์ (membrane potential), การสังเคราะห์ DNA, RNA และโปรตีน, การสังเคราะห์แสง (photosynthesis), การพัฒนาทางลำต้นและดอก (floral and vegetative bud development) และความทนทานต่อความเครียดต่าง ๆ (stress) (Khripach et al., 1999; Mussig and Altmann, 2001)

ประโยชน์จากการใช้บราสิโนสเตียรอยด์

การศึกษาผลของบราสิโนสเตียรอยด์ความเข้มข้น 0.00001 ถึง 10 มก/ล ใน cladodes (*Opuntia, Ficus indica* (L.) Maill. Var. *Lutea*) พบว่ามีการกระตุ้นการเจริญเติบโตในระยะแรกของ vegetative bud อย่างมาก นอกจากรักษาน้ำหนักและกระตุ้นให้เกิดการแก่ก่อนวัย (precocity) ซึ่งความเข้มข้นที่ตอบสนองได้ดี คือ 0.001, 0.1 และ 10 มก/ล (Cortes et al., 2002)

ไม้ผลที่ทำการพ่นก่อนมีดอกสามารถป้องกันการพักตัวของดอกในช่วงให้ดอก กระตุ้นการเจริญของผลและปรับปรุงลักษณะพิดปกติของผล ที่สำคัญคือเพิ่มขนาดของผลโดยทำให้มีผลผลิตเพิ่มขึ้น 15 - 50 % เช่น ลินจิ้งไย สตรอเบอร์รีและกล้วย นอกจากนี้ช่วยทำให้ แอบเปิล สาลี มีสีผิวสวายสว่างมั่นวาว ในสัม Monta การใช้บราสิโนสเตียรอยด์ช่วยกระตุ้นการติดผล ทำให้อัตราการติดผลเพิ่มขึ้นและแทนสภาพอากาศหนาวเย็นทางใต้ของญี่ปุ่นได้ ทำให้ขนาดผลใหญ่ขึ้น (Chengdu Newsum Biochemistry Co. Ltd. 2003)

การพ่น brassinolide 0.5, 0.75 และ 1.0 มก/ล ให้กับผลลินจิ้งไย พบว่า brassinolide ช่วยลดการแตกของผลลินจิ้งไยได้และสามารถเพิ่มปริมาณผลผลิตให้มากขึ้น (Peng et al., 2004)

Pipattanawong et al., (1996) ศึกษา brassinolide ต่อการเจริญเติบโตของสตรอเบอร์รีพันธุ์ Miyoshi และ Enrai ที่ปลูกในสภาพปิด พบว่า brassinolide สามารถเพิ่มจำนวนใบ ความยาวของ petiole และ จำนวนหน่อ (crowns) ได้ 110-140 เปอร์เซ็นต์และเพิ่มพื้นที่ใบได้ถึง 150-180 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีผลต่อการเกิดไหล (runner) สำหรับน้ำหนักแห้งรวมของทุกส่วนที่ได้รับสารหนักกว่ามาตรฐาน นอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มจำนวนดอกและช่อดอกต่อต้น แต่ไม่เพิ่มจำนวนดอกต่อช่อและเพิ่มจำนวนผลผลิตทั้งหมดต่อต้นของพันธุ์ Miyoshi แต่ไม่พบว่ามีผลต่อผลผลิตของพันธุ์ Enrai

การให้บราสิโนสเตียรอยด์กับแตงโมพบว่า ช่วยเพิ่มผลผลิตทั้งด้านปริมาณและคุณภาพ (Wang et al., 1993) ลดการหลุดร่วงของดอกก่อนและผลของอุ่นและทำให้เกิดการสุกแก่เร็วขึ้น (Xu et al., 1994) ช่วยขัดขวางการออกในมันฝรั่งก่อนเวลาที่เหมาะสมต่อการออก (Plalonava and Korableva, 1994) ช่วยลดการปนเปื้อนของพืชจากโลหะหนัก (heavy metal) ที่มาจากการใช้ปุ๋ยเคมีช่วยลดการเกิดอาการ chlorosis จากการได้รับ magnesium ในปริมาณต่ำของต้นกล้า spruce ที่ปลูกโดยระบบ hydroponic มีผลทำให้เมล็ดพืชสูญเสียการออก โดยเฉพาะถูกนำมาใช้กับเมล็ดของวัชพืชต่าง ๆ ลดอาการเครียดเมื่อนำกิ่งตอนของสนเข้มโดยที่ (22S, 23S)-28-

homoBL ทำให้เปอร์เซ็นต์รากที่เกิดเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับสน (*Pinus radiata*) มีเปอร์เซ็นต์รากที่เกิดเพิ่มขึ้น แต่พบว่าบัญชีการเกิดรากในยูคาลิปตัส (Sasse, 1997)

วรศุลีและคณะ (2542) พบร่วมกันในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้และไซโคนันต์การออกของละอองเรณูจะสูงขึ้นเมื่อใช้ brassinolide 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนพันธุ์มันเดือนเก้าความเข้มข้นที่ดีคือ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้การออกของละอองเรณูพันธุ์น้ำดอกไม้จะสูงขึ้นเมื่อใช้ไฮโดรไซนิน 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และมันเดือนเก้าการออกของละอองเรณูจะสูงขึ้นเมื่อใช้ไฮโดรไซนิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนพันธุ์ไซโคนันต์ใช้ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

เสาวภา (2547) ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต (NAA 50 มิลลิกรัมต่อลิตร + GA₃ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร + BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + brassinolide 0.002 มิลลิกรัมต่อลิตร) พบร่วมกันทำให้ผลลำไยมีขนาดที่ใหญ่กว่ามาตรฐานและการใช้ NAA 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Ca (NO₃)₂ 0.5 % พ่น 2 ครั้งห่างกัน 1 สัปดาห์ ทำให้การติดผลของผลลำไยน้อยที่สุดแต่ในด้านการเจริญเติบโตของผลและคุณภาพผลในทุกกรุณวิธีไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ชรัสันน์ (2548) ได้ทำการทดลองศึกษาผลของบรัสิโนสเตียรอยด์โดยฉีดพ่นในปริมาณ 0, 0.004 และ 0.01 mg/l พบร่วมกันทำให้ผลลำไยมีขนาด ความกว้าง ความยาว ความหนาของผลเพิ่มขึ้น

การใช้ 0.1% brassinolide 481 ในพืชพบว่ามีการเพิ่มขึ้นของ activity of SOD ในใบ โดยการกระตุ้นการเคลื่อนย้ายออกของ H⁺ ลดการทำงานของ cell membrane เพื่อรักษา membrane ไว้ ทำให้ประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสงของคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้น เพิ่มอัตราการติดผล เพิ่มขนาดได้ในพืชหลายชนิด ส่งเสริมคุณภาพของผลผลิต เพิ่มผลผลิต เช่น ข้าวบัวในพื้นที่ 128 ลูกบาศก์ ฟุต (8x4x4) มีผลผลิตเพิ่มได้ 15 - 20 % ผลไม้ 15 - 35 % ผัก 20 - 45 % ฝ้ายและน้ำมัน 10 - 20 % และในพืชอีกหลาย ๆ ชนิดผลผลิตสามารถเพิ่มได้เช่นกัน (Chengdu Newsum Biochemistry Co. Ltd. 2003)

ในพืชน้ำมัน เช่น ถั่วเหลือง ถั่วลิสงและพืชอื่น ๆ พบร่วมกับความต้านทานโรคสูงและยังเพิ่มปริมาณและคุณภาพของถั่วได้ด้วย Mandava (1998) รายงานผลผลิตของ radish และผักกาดหอม (lettuce) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญจากการใช้บรัสิโนสเตียรอยด์ นอกจากนี้บรัสิโนสเตียรอยด์เพิ่มผลผลิตของผักต่าง ๆ เช่น พริก, bush bean, ข้าวบาเลย์และมันฝรั่ง เป็นต้น นอกจากนี้ยังเกี่ยวข้องกับการเกิดการสุกแก่ (maturation) ของพืชด้วย

การใช้บราสิโนสเตียรอยด์ในการกระตุ้นการสุกแก่ของมะเขือเทศ พบร่วมกันได้ให้เกิดการสุกได้โดยการเพิ่มเอทิลีน มีระดับของ lycopene และ chlorophyll ต่ำลง นอกจากนี้ยังเพิ่มการลดลงของ ascorbic acid และเพิ่มปริมาณคาร์บอโนไซเดรตด้วย (Vidya and Seeta, 2001)

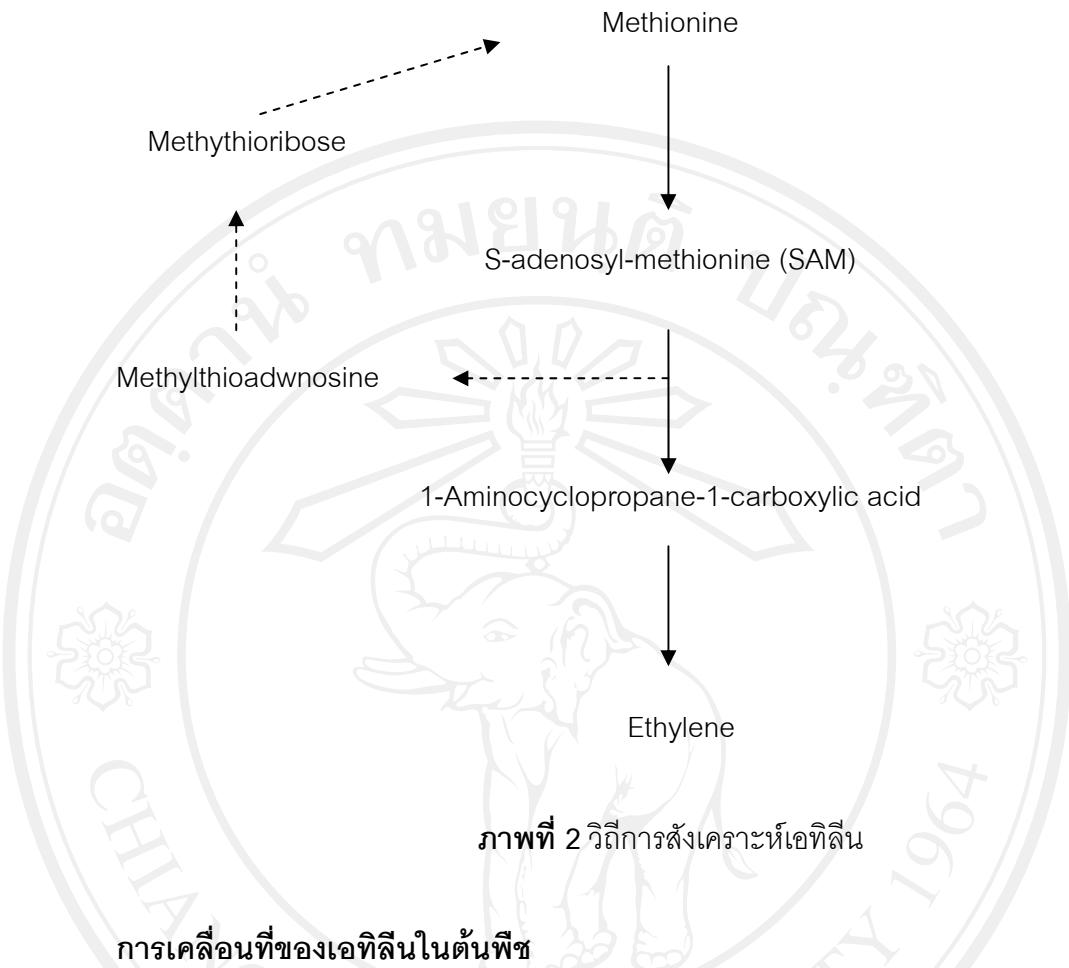
เอทิลีน (Ethylene)

เอทิลีนเป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนชนิดไม่อิมตัว ที่มีสถานะเป็นก๊าซที่คุณภูมิปักติมีสูตรโครงสร้างเป็น C_2H_4 เอทิลีนเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ตั้งแต่ระยะการเจริญเติบโต การพัฒนา การแก่และการเสื่อมสภาพ (เดนีย, 2540) เอทิลีนมีผลยับยั้งการขยายขนาดความยาวของเซลล์ แต่กระตุ้นการขยายขนาดทางด้านข้าง ช่วยเร่งการสุกของผลไม้พวกบ่มสุก (climacteric fruit) กระตุ้นการร่วงของใบ ดอกและผล (สมบูรณ์, 2544) พืชสามารถตอบสนองต่อเอทิลีนที่มีความขั้นต่ำมากคือ 0.01 - 10 แสตด. (Abeles, 1973) ส่วนต่าง ๆ ของพืชที่สร้างเอทิลีนได้แก่ เมล็ดที่กำลังออก ปลายราก ปลายยอด กิ่งที่ถูกโค้งงอ ใบพืชที่กำลังร่วง (สมบูรณ์, 2544)

การสังเคราะห์เอทิลีน

สารเริ่มต้นที่พืชใช้ในการสังเคราะห์เอทิลีนคือ เมทไธโอนีน (methionine) ในต้นอ่อนนั้น เป็นส่วนสำคัญที่สังเคราะห์เอทิลีน ทั้งนี้ เพราะมีออกซินอยู่ในบริเวณนั้นสูง และออกซินสามารถกระตุ้นให้เนื้อยื่อย่อสังเคราะห์เอทิลีนได้ راكสามารถสังเคราะห์เอทิลีนได้บ้าง แต่ในปริมาณไม่มาก ส่วนดอกก็สร้างเอทิลีนได้และเอทิลีนมีผลทำให้ดอกไม่บานชนิดไม่บาน หรือเหี่ยวและกลับดอกร่วง ผลไม้สุกสามารถสังเคราะห์เอทิลีนได้มากกว่าไม่ผลที่ไม่สุก (เดนีย, 2539)

วิถีการสังเคราะห์เอทิลีนในพืชชั้นสูงจะมี 3 ขั้นตอน คือ เมทไธโอนีน (methionine) เปลี่ยนเป็นสารตัวกลาง S-adenosyl-methionine (SAM) โดยอาชัยเอนไซม์ SAM synthase เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา จากนั้น ACC จะเปลี่ยนเป็นเอทิลีน โดยอาชัยเอนไซม์ ACC synthase (ภาพที่ 2) (Srivastava, 2002)



การเคลื่อนที่ของเอทิลีนในต้นพืช

เอทิลีนเป็นฮอร์โมนพืชในรูปของก๊าซ มีโมเลกุลขนาดเล็กและลายน้ำได้และละลายได้ในไขมัน สามารถเคลื่อนที่ได้โดยกระบวนการแพร่ซึ่งเคลื่อนที่ผ่านผนังเซลล์ ซึ่งจะช่วยให้ระหว่างเซลล์ และเนื้อเยื่อพืชได้หรืออาจเคลื่อนที่ผ่านเนื้อเยื่อ (สมบูรณ์, 2544) ระดับของเอทิลีนในส่วนหนึ่งของพืชส่งผลให้เกิดการสังเคราะห์เอทิลีนในส่วนอื่น ๆ ด้วย เช่น ถ้ามีปริมาณเอทิลีนมากในส่วนรากจะเกิดการกระตุ้นให้มีการเพิ่มระดับของเอทิลีนที่ยอดด้วย ซึ่งกลไกการกระตุ้นที่ยังไม่เข้าใจเด่นชัดนัก เอทิลีนอาจเคลื่อนที่ผ่านพืชในรูปของ 1-amino cyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) (ดันย์, 2539)

ผลของเอทิลีนที่มีต่อพืช

ผลของเอทิลีนให้ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของพืช ได้แก่

1. ทำให้ยอดของต้นกล้าที่งอกในที่มีดีโค้งงอคล้ายตะข้อ (apical hook) ต้นกล้าที่งอกในที่มีดีโค้งต้นยาว ไปไม่ขยายตัว สีขาวซีด ทั้งนี้ เพราะปลายยอดของต้นกล้าดังกล่าวสร้างสารเอทิลีน ขึ้นมามาก (สมบูรณ์, 2544)

2. กระตุ้นการเกิดรากขอนอ่อนและรากพิเศษ (สมบูรณ์, 2544) เอทิลีนสามารถกระตุ้นให้เกิดรากได้ เช่น กระตุ้นการเกิดรากที่ใบ กิ่ง ก้าน ซ่อดอก แต่การตอบสนองนี้ต้องใช้เอทิลีนความเข้มข้นสูงถึง $10 \mu\text{l/l}$ (Taiz and Zeiger, 1991)

3. กระตุ้นการเจริญเติบโตทางด้านข้าง ต้นกล้าที่เพาะในที่มีดินมีลักษณะลำต้นที่ป่วนพองเนื่องมาจากเอทิลีนยับยั้งการยึดตัวออกทางด้านยาวของลำต้นแต่เมื่อผลในการกระตุ้นให้เซลล์ขยายออกทางรัศมี (สมบูรณ์, 2544)

4. กระตุ้นการสร้างตอดอก เอทิลีนสามารถเร่งการเกิดตอดอกของพืชบางชนิดได้โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้ ethephon เร่งการเกิดตอดอกของต้นสับปะรด ซึ่งการกระตุ้นการออกตอดอกโดยใช้ ethephon เกิดขึ้นได้กับพืชบางชนิดเท่านั้น (สมบูรณ์, 2544)

5. เร่งการสุกของผลไม้ อาจเรียกเอทิลีนว่า ripening hormone และใช้ในการบ่มผลไม้ในทางการค้า (ดนัย, 2539) ผลไม้เมื่อแก่จัดแล้วเข้าสู่ระยะการสุกอาจมีการผลิตเอทิลีนเพิ่มขึ้นมาซึ่งเอทิลีนที่ผลไม้สร้างขึ้นนั้นเป็นตัวการสำคัญที่กระตุ้นให้ผลไม้สุก (พีเดช, 2537) ในกระบวนการบ่มผลไม้โดยการใช้เอทิลีนโดยตรงทำได้ยากในไทยนิยมใช้ถ่านก๊าซ (calcium carbide) ห่อกระดาษวางไว้กาง LANG ภาชนะที่บรรจุผลไม้ เมื่อผลไม้ decay โอบน้ำทำปฏิกิริยา กับถ่านก๊าซ เกิดก๊าซอะเซทิลีน (acetylene) ซึ่งสูตรโครงสร้างสร้างและคุณสมบัติคล้ายก๊าซเอทิลีน (สมบูรณ์, 2544)

6. เร่งการเกิดการร่วงของใบ ดอก ผล ฯลฯ ซึ่งกระตุ้นให้เกิด abscission zone ขึ้นทำให้ใบและกลีบดอกร่วงได้และกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางคุณภาพของรากและลำต้น (ดนัย, 2539)

7. การทำลายการพักตัวของพืช พืชหัวบางชนิด เช่น มันฝรั่ง แกลบดิโอลัส มีระบบพักตัวการที่ทำให้พืชเหล่านี้ออก ต้องนำไปเบก์ไว้ที่อุณหภูมิต่ำระยะหนึ่งก่อนการนำไปปลูก เอทิลีนสามารถกระตุ้นการออกและช่วยย่นระยะเวลาในการเก็บรากษาที่อุณหภูมิต่ำ ทำให้สามารถนำหัวไปปลูกแล้วให้ผลผลิตเร็วขึ้นได้ (สมบูรณ์, 2544)

8. ช่วยกระตุ้นการเร่งผลิตน้ำยางในต้นยางพาราที่มีอายุสูง และเร่งการให้ผลน้ำยางพารานอกจากนี้แล้วยังช่วยผลิตปาเป่นในมะลากออีกด้วย (สมบูรณ์, 2544)

9. ช่วยในการสร้างหัว การฉีดพ่นอีเทรอลกับต้นหอมในระยะแรกของการเจริญเติบโตทำให้ต้นหอมสร้างหัว (bulb) ได้เร็วขึ้น (สมบูรณ์, 2544)

10. เอทิลีนยับยั้งการเคลื่อนย้ายออกซินคือการเคลื่อนของออกซินจากปลายยอดสู่โคนต้นด้านล่างและทางด้านข้างช่วง (สมบูรณ์, 2544)

11. กระตุ้นให้เกิดตอดอกตัวเมียมากขึ้นในพืช dioecious (ดนัย, 2539)

12. มีผลกระทบต่อสชาติของพืชบางชนิด เช่น แครอต ถ้าได้รับเอทิลีนในปริมาณสูงเกิดรษณ์ เพราะเอทิลีนกระตุ้นให้มีการสร้างสาร isocoumarin นอกจากนั้นเอทิลีนยังทำให้สชาติของมันเทศเสียไปด้วย เพราะเกิดสาร ipomeamarone (เดือน, 2540)

ผลของบราสิโนสเตียรอยด์ต่อการส่งเสริมการสังเคราะห์ของเอทิลีน

ขั้นส่วนของ hypocotyl ที่ซึ้ดขาว (etiolated) ของถั่วเขียวเมื่อได้รับบราสิโนสเตียรอยด์จากภายนอก ก่อให้เกิดการสร้างเอทิลีนขึ้นในขั้นตอนระหว่าง S-Adenosyl-L-methionine (AdoMet) และ 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) โดยจะกระตุ้นการทำงานของ ACC synthase ซึ่งเอทิลีนที่เกิดจากการกระตุ้นโดยบราสิโนสเตียรอยด์นี้ถูกยับยั้งโดย amino-oxyacetic acid (AOA), Co²⁺, fusicocin (สารพิษที่เกิดจากเชื้อรา) และสารยับยั้งการลำเลียง auxins ได้แก่ 2,3,4-triiodobenzoic acid และ 2-(p-chlorophenoxy)-2-methylpropionic acid สารบราสิโนสเตียรอยด์จะออกฤทธิ์ควบคู่ไปกับ ออกซิน และ แคลเซียม ได้โดยที่มีอิทธิพลในทางเพิ่มประสิทธิภาพ เมื่อใช้ร่วมกับไซโตคินิน ในการกระตุ้นการสร้างเอทิลีนนอกจานี้ยังพบว่า แสงจะยับยั้งการสร้างเอทิลีนที่เกิดจากการกระตุ้นโดยบราสิโนสเตียรอยด์ แต่แสงจะมีอิทธิพลน้อยมากต่อการสร้างเอทิลีน ที่เกิดจากการตอบสนองต่อ IAA (Arteca *et al.*, 1993) การให้บราสิโนสเตียรอยด์ที่หากของต้นมะเขือเทศที่เพาะเลี้ยงในสวนละลาย พบร่วมกับการส่งเสริมให้เกิดการเพิ่มในขั้นตอนระหว่าง AdoMet และ ACC ซึ่งจะเกิดผลทำให้ ACC และเอทิลีนเพิ่มขึ้น และเกิดการโค้งงอของก้านใบ (petiole) เพิ่มขึ้นด้วย (Schlaginhauf and Arteca, 1985) บราสิโนสเตียรอยด์มีอิทธิพลในการส่งเสริมการสร้างเอทิลีนในส่วนต่าง ๆ ของพืชและในระบบต่าง ๆ ของพืชทั้งต้น ซึ่งไม่เหมือนกับออกซินที่มีอิทธิพลมากกว่าในส่วนของพืชที่แยกออกจากต้นแม่แล้วเท่านั้น

การศึกษาเกี่ยวกับ pleiotropic effects (การที่ยืน (gene) ตัวเดียวสามารถบังคับลักษณะได้มากกว่าหนึ่งลักษณะ) โดยใช้บราสิโนสเตียรอยด์ในการสุกของมะเขือเทศ พบร่วงดับของ lycopene ลงขั้นและปริมาณคลอโรฟิลลดลง ปริมาณ ascorbic acid ลดลงและเพิ่ม carbohydrate contents ส่งผลให้มีการเพิ่มขึ้นของเอทิลีน จึงเกิดการเสื่อมสภาพ (senescence) ขึ้น (Vidya and Seeta, 2001)

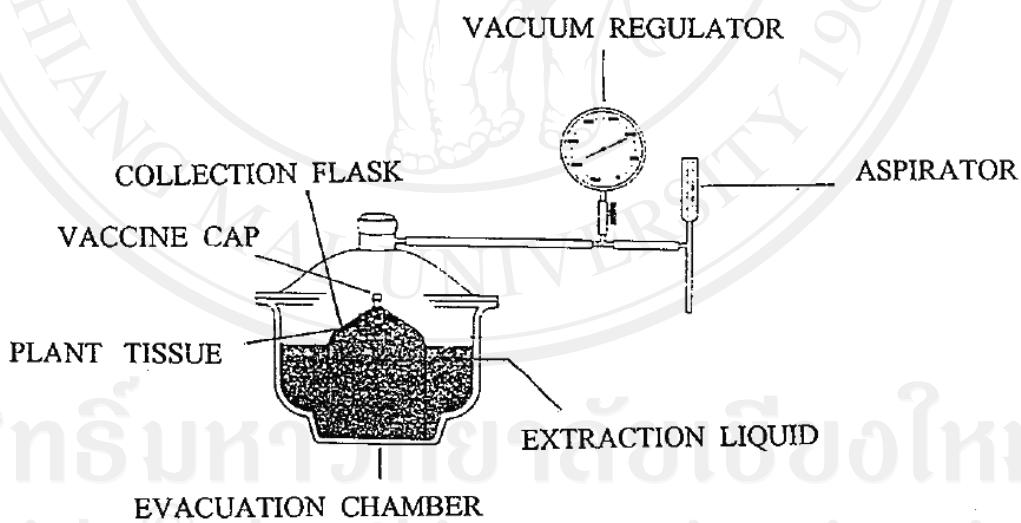
การหาปริมาณเอทิลีนในต้นพืช

การสกัดก้ำชาจากตัวอย่างพืชเพื่อการวิเคราะห์ปริมาณเอทิลีน วิธีการที่เหมาะสมและนิยมในการหาปริมาณเอทิลีน คือ physical measurement ฉะนั้นจึงได้นำวิธีการนี้มากล่าวรายละเอียดดังนี้

เนื่องจากเอกทิลีนเป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนชนิดไม่ค้มตัวที่มีสถานะเป็นก๊าซ (เดนัย, 2540) ดังนั้นการวัดเอกทิลีนส่วนใหญ่ ทำโดยการสกัดเอาก๊าซที่อยู่ภายในช่องระหว่างเซลล์ (intercellular gas) ในภาชนะที่ปิดสนิทที่มี septum ซึ่งสามารถใช้เข็มฉีดยาดูดเอาตัวอย่างออกมาก่อนแล่นนำไปฉีดเข้าเครื่อง GC เพื่อวิเคราะห์ปริมาณเอกทิลีน (Abeles, 1973)

Saltveit (1982) รายงานขั้นตอนวิธีการวิเคราะห์ก๊าซภายในตัวอย่างพืชโดยการสกัดเอาตัวอย่างก๊าซออกมายกจากผลไม้ที่มีช่องว่างภายใน เช่น แคนตาลูปและแอปเปิล โดยใช้ syringe การนำตัวอย่างก๊าซออกมานำมาสามารถทำได้โดยแทงเข็มฉีดยาแบบ hollow hypodermic เข้าไปในช่องว่างของผลไม้ และดูดก๊าซออกมานำมา สภาพสุญญากาศทำให้ก๊าซเหล่านี้ออกจากเนื้อเยื่อพืชเข้าไปใน syringe ซึ่งควรทำความสะอาดร่างกายให้สะอาดแล้วจึงเข้ามือขั้น แต่สภาพที่เนื้อเยื่ออ่อนไหวในอาการนั้นทำให้อาการด佳กภายในออกปนเข้าไปในระบบออกฉีดยาได้ ซึ่งป้องกันได้โดยใช้ผึ้งอุดรูบ ๆ ครอบแทงเข็ม

ในกรณีของผลหรือเนื้อเยื่อผล ที่ตัวอย่างก๊าซไม่สามารถเอาออกมายกได้ ด้วยวิธีการใช้ syringe เช่น กิง ไบ หรือ ยอด เนื้อเยื่อผลบางชนิด วิธีการสกัดทำได้โดยวิธี vacuum โดยเครื่องมือสำหรับสกัดก๊าซที่มีอยู่ในช่องระหว่างเซลล์ของเนื้อเยื่อพืช (Beyer and Morgan, 1970)

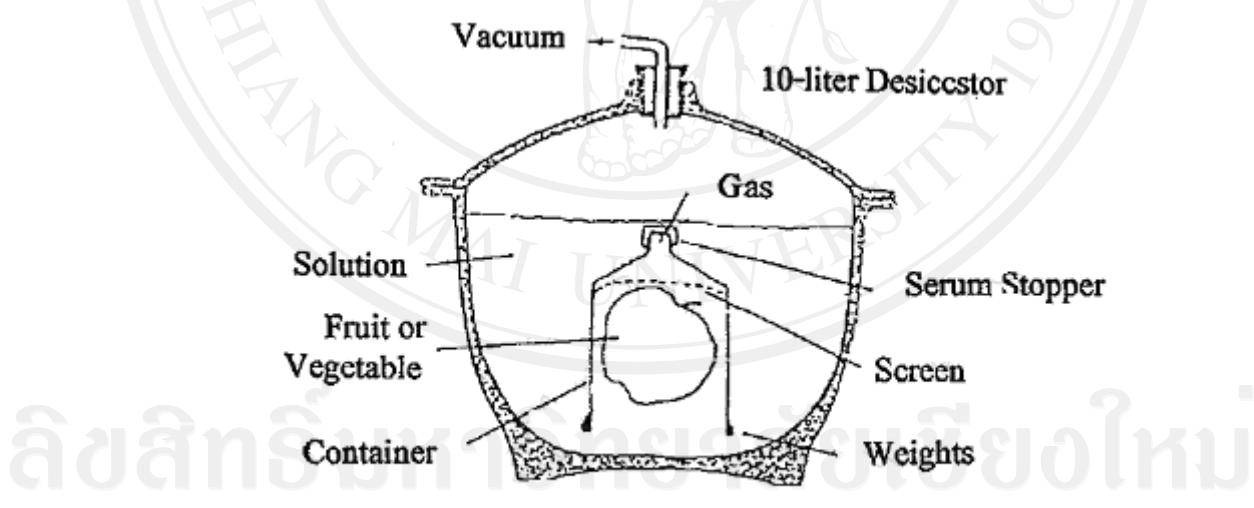


ภาพที่ 3 เครื่องมือสกัดก๊าซที่อยู่ในช่องระหว่างเซลล์จากเนื้อเยื่อพืช (Beyer and Morgan, 1970)

การสกัดด้วยวิธี vacuum ต้องให้ตัวอย่างพืชอยู่ใต้ของเหลว ทำให้ก้าชขยายตัว และซึมออกมานอกเซลล์ไปสะสมบริเวณหนึ่งของเหลวในภาชนะที่ปิดสนิท (Beyer and Morgan, 1970) ของเหลวที่ใช้เป็นสารละลายอิ่มตัวของโซเดียมคลอไนโตรแอมโมเนียมชัลเฟตหรือแมgnesiun chlufe (Saltveit, 1982) โดยสารละลายเกลือใช้ได้กิ่งกว่าน้ำ จึงช่วยลดปัญหาการละลายน้ำของ เอทิลีน (Beyer and Morgan, 1970)

เมื่อเอาตัวอย่างพืชใส่ไว้ใน collection flask และจุ่มอยู่ใต้สารละลายเกลือแอมโมเนียมชัลเฟตที่อิ่มตัว ก่อนนำตัวอย่างพืชใส่ใน collection flask ให้จุ่มใน surfactant (0.01%) เช่น Tween 20 ก่อนเพื่อป้องกันฟองอากาศมาเกาะอยู่ตรงบริเวณเนื้อเยื่อพืช หลังจากนั้นให้รีบปิดฝา evacuation chamber และเปิดเครื่องดูดอากาศออกด้วยแรง vacuum ที่ส่วนมาก 100 มิลลิเมตรปอนด์ ปกติ นาน 2 นาที (Beyer and Morgan, 1970)

นอกจากเครื่องมือในการสกัดก้าชออกจากตัวอย่างพืชของ Beyer and Morgan (1970) และ Saltveit (1982) ได้แสดงเครื่องมือในการสกัดก้าชโดยใช้ vacuum ด้วยเข็มกัน มีหลักการเดียวกับ Beyer and Morgan (1970)



ภาพที่ 4 เครื่องมือการสกัดก้าชออกจากตัวอย่างพืชของ Saltveit (1982)

นอกจากนี้ปัจจุบันและเวลาที่ใช้ในการ vacuum มีความสำคัญต่อการทำ vacuum กับเนื้อเยื่อพืช พบว่าการใช้ vacuum (ที่ต่ำ) 100 มิลลิเมตรปอนด์ ทำให้ใช้เวลานานขึ้น การลดแรง vacuum ลงทำให้เกิดการปลดปล่อยเอทิลีนจากส่วนที่ละลายอยู่หรือส่วนของ bound เอทิลีน ดังนั้นไม่ควรใช้ vacuum ที่ต่ำกว่า 100 มิลลิเมตรปอนด์ และในการนำก้าชตัวอย่างออกจาก

ผลไม้ด้วยการที่สกัดโดยการใช้ syringe มีปริมาณเอกทีลีนน้อยกว่าตัวอย่างที่ได้สกัดด้วยวิธี vacuum เช่น การสกัดออกจากผลแอปเปิลและแคนตาลูป พบร่วงการสกัดด้วยวิธี vacuum มีระดับเอกทีลีนสูงกว่าการสกัดด้วยวิธีการใช้ syringe คือได้ก้าวปริมาณ 20 และ 30 % ตามลำดับ (Saltveit, 1982)

คาร์บอไฮเดรต (Carbohydrate)

คาร์บอไฮเดรตเป็นสารชีวโมเลกุลที่เป็นสารประกอบอินทรีย์จำพวกอัลดีไฮด์ หรือคีโตน ที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (OH^-) หลายหมู่ในโมเลกุล ธาตุที่เป็นองค์ประกอบของคาร์บอไฮเดรต ได้แก่ คาร์บอน ไฮโดรเจนและออกซิเจน โดยคาร์บอไฮเดรตมีน้ำหนักเฉลี่ยนิดทั่วไปในธรรมชาติ ส่วนใหญ่เป็นองค์ประกอบของพืช เช่น แป้ง น้ำตาลและเซลลูโลส ทำหน้าที่เหมือนเป็นเสบียงเก็บไว้เมื่อต้องการ คาร์บอไฮเดรตบางชนิดทำหน้าที่เป็นโครงสร้างของผังเซลล์พืช บางชนิดรวมอยู่กับชีวโมเลกุลอื่น เช่น โปรตีนและไขมัน ได้แก่ ไกลโคโปรตีน ไกลโคลิปิด เป็นต้น (พนມ, 2531)

ความต้องการคาร์บอไฮเดรตของพืชมีการเพิ่มขึ้นตามอายุ ดังนั้นทำให้ผลต่างระหว่างการสังเคราะห์แสง การสังเคราะห์คาร์บอไฮเดรตกับการหายใจเป็นตัวกำหนดปริมาณคาร์บอไฮเดรต ซึ่งพบว่าในขณะที่พืชมีการสังเคราะห์โปรตีน มีการสะสมคาร์บอไฮเดรตลดลง (สุวนันท์, 2526) นอกจากนี้ยังมีสมมติฐานเกี่ยวกับ C/N ratio เป็นสัดส่วนที่บ่งบอกถึงปริมาณของสารอาหารที่จะสลายในรูปของคาร์บอไฮเดรตและปริมาณสารประกอบที่มีในต่อเจน เป็นองค์ประกอบที่เหมาะสมต่อการออกดอก (จำรงค์, 2542) ซึ่งปริมาณคาร์บอไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้าง เป็นแหล่งของพลังงานที่เก็บไว้ในส่วนของ vegetative organ และนำไปใช้ประโยชน์ในการเจริญเติบโต ประกอบด้วยน้ำตาล แป้ง dextrin fructosans เป็นต้น โดยมีร่วงคาร์บอไฮเดรตในรูปโครงสร้าง (structural carbohydrate) (Salisbury and Ross, 1992) เช่น การศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์บอไฮเดรตในใบ หรือในยอดในช่วงก่อนการออกดอก หรือแตกใบอ่อนในลักษณะ และปริมาณลดลงเมื่อมีการออกดอก หรือแตกใบอ่อน (Chaitrakulsup, 1981) ในส้มจีน (*Citrus reticulate* Blanco) พันธุ์ Yoshida พบร่วงถ้ามีปริมาณคาร์บอไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้างในใบมาก การเจริญทางด้านกิ่งใบจะน้อยแต่การติดดอกจะมากขึ้น (Maata and Tominaga, 1998) ซึ่งสอดคล้องกับ ศิริเพ็ญ (2544) ที่ได้ศึกษาปริมาณคาร์บอไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้างในยอดลำไย พบร่วงมีความเข้มข้นคงที่ตั้งแต่สปดาห์ที่ 8 - 4 ก่อนการแตกใบอ่อน จากนั้นจะเพิ่มขึ้นจนถึงสปดาห์ที่มีการแตกใบอ่อนนอกจากนี้ วันทนา (2543) รายงานว่าปริมาณคาร์บอไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้างในยอดลำไยค่อนข้างคงที่ในสปดาห์ที่ 8 และ 6 ก่อนการออกดอก และเพิ่มขึ้นสูงสุดใน

สัปดาห์ที่ 4 ก่อนการออกดอก หลังจากนั้นจะลดลงในสัปดาห์ที่ 2 ก่อนการออกดอก ซึ่งเห็นได้ว่า ปริมาณคาร์บอโนไซเดรต ที่ไม่ได้เป็นปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการออกดอกเพียงอย่างเดียว นอกจากรายงานของ Bernier et al., (1985) ได้กล่าวเน้นว่าธาตุอาหารเป็นเพียงส่วนสนับสนุนการออกดอกเท่านั้นไม่ได้เป็นตัวควบคุมการออกดอก เนื่องจากการสร้างดอกขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายปัจจัยด้วยกัน

น้ำตาล

น้ำตาลในผักและผลไม้ที่สำคัญคือ น้ำตาลซูโคส กลูโคส และฟรุกโตส ซึ่งพบสะสมในแวกวีโอล (vacuole) เป็นส่วนใหญ่ สัดส่วนของน้ำตาลแต่ละชนิดในผลผลิตต่าง ๆ แตกต่างกัน น้ำตาลทั้ง 3 ชนิดนี้อาจเปลี่ยนรูปแบบได้ด้วยเอนไซม์หลายชนิด เช่น invertase ซึ่งเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนน้ำตาลซูโคสเป็นกลูโคสและฟรุกโตส ในกรณีของการศึกษามักจะรวมน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโตสเข้าด้วยกันเรียกว่า น้ำตาลรีดิวชิง ในผลไม้ส่วนใหญ่มักจะมีน้ำตาลกลูโคสมากกว่าฟรุกโตส ในบางกรณีอาจมีน้ำตาลกลูโคสมากกว่าเป็น 2 เท่าของน้ำตาลฟรุกโตส

ขณะที่ผลและเมล็ดกำลังเจริญเติบโต จะมีการเปลี่ยนแปลงหลายอย่างเกิดขึ้น ทั้งการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและสรีรวิทยาโดยมักจะเริ่มจากการสะสมน้ำตาลซูโคส กลูโคส ฟรุกโตสในออวูล (ovule) ซึ่งน้ำตาลเหล่านี้จะถูกนำไปใช้ในการสังเคราะห์ผังแข็งเซลล์และแป้ง หรืออาจถูกเปลี่ยนไปเป็นน้ำมันหรือลิปิดชนิดอื่น ๆ น้ำตาลถูกสังเคราะห์มาจากการแลกเปลี่ยนผ่านไฟลเออม (phloem) มาสะสมที่ผลและเมล็ด ผลจัดเป็น strong sink หากกว่าส่วนอื่น ๆ ในต้นเดียวกัน (นิตย์, 2541)

ปริมาณน้ำตาลรีดิวชิง ของผลมะม่วงพันธุ์หนังกลางวันผลดิบ ตลอดการเติบโตของผลที่มีค่าสูงสุดในวันที่ 49 หลังจากติดผล เท่ากับ 148.72 มิลลิกรัม กลูโคสต่อกรัมน้ำหนักแห้งจากนั้นปริมาณรีดิวชิงมีแนวโน้มลดลง การศึกษาระบบที่รีดิวชิงในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม่พบว่าตลอดการเจริญเติบโตของผลมีการเปลี่ยนแปลงไม่คงที่เข่นกัน (ดวงตรา, 2526) และมะม่วงพันธุ์อัลฟองโซ่ปริมาณรีดิวชิงลดลงขณะที่ผลเติบโตขึ้น ซึ่งลักษณะนี้คล้ายกับมะม่วงอีกหลายพันธุ์ จากนั้นจะสูงขึ้นและค่อย ๆ ลดลงเมื่อผลมีการหายใจสูงขึ้นและโตขึ้น (อัจฉรา, 2545)

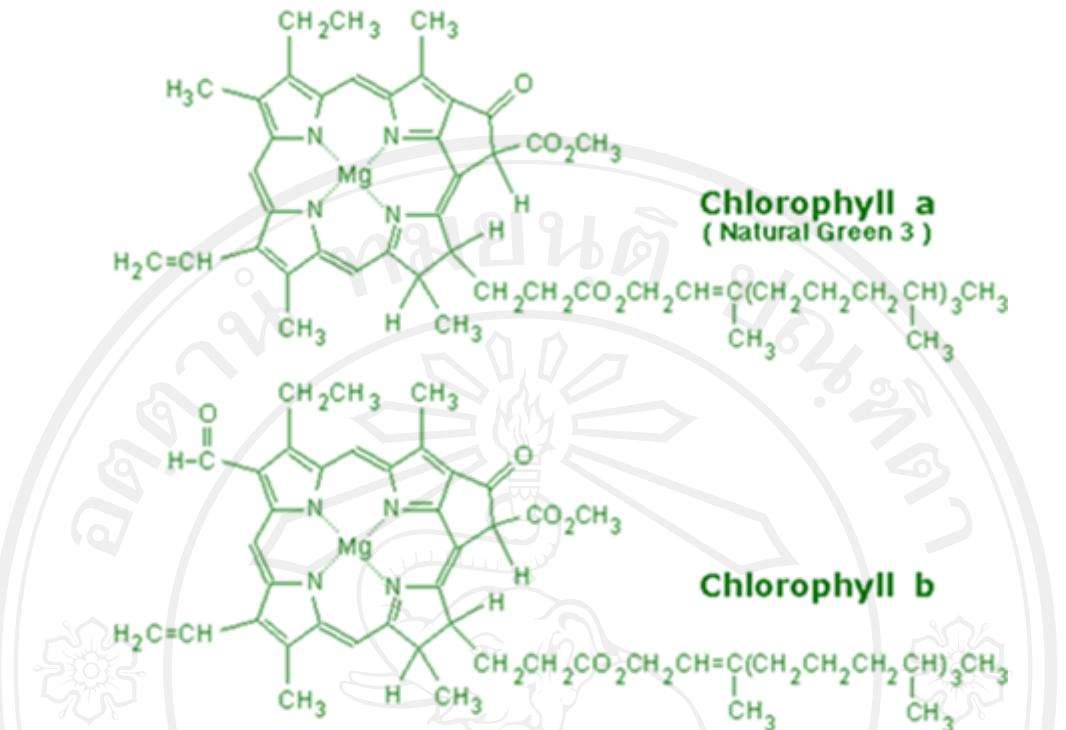
น้ำตาลรีดิวชิง ในผลมะม่วงพบว่ามีปริมาณน้ำตาลรีดิวชิงลดลงตลอดการเติบโตตามการพัฒนาของผล (สรรพมงคล, 2545) และเมื่อผลแก่เต็มที่ปริมาณน้ำตาลรีดิวชิงจะเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ

คลอโรฟิลล์ (Chlorophyll)

คลอโรฟิลล์ เป็นสารประกอบที่พบได้ในส่วนที่มีสีเขียวของพืช โดยพบมากที่ใบ นอกจากนี้ยังพบได้ที่ลำต้น ดอก ผลและรากที่มีสีเขียวและยังพบได้ในสาหร่ายทุกชนิด นอกจากนี้ยังพบได้ในแบคทีเรียบางชนิดคลอโรฟิลล์ทำหน้าที่เป็นโมเลกุลรับพลังงานจากแสงและนำพลังงานดังกล่าวไปใช้ในการสร้างพลังงานเคมี โดยกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงเพื่อสร้างสารอินทรีย์ เช่นน้ำตาลและน้ำไปใช้ในการดำรงชีวิต คลอโรฟิลล์ อยู่ในโครงสร้างที่เรียกว่า เยื่อหุ้มไอลากอยด์ (thylakoid membrane) ซึ่งเป็นเยื่อหุ้มที่อยู่ภายใน คลอโรพลาสต์ (chloroplast)

โครงสร้างทางเคมี คลอโรฟิลล์เป็นสารที่ละลายได้ในอะซైตันและแอลกอฮอล์ โครงสร้างอาจแบ่งได้เป็นสองส่วน คือ ส่วนหัวและส่วนหาง โดยที่ส่วนหัวของคลอโรฟิลล์มีลักษณะเป็นวงแหวนไพรอล (pyrrole ring) ที่มีในตรีเจนเป็นองค์ประกอบอยู่ 4 วงและมีราดูเมกานีเซียมอยู่ตรงกลางโดยทำพันธะกับในตรีเจน ส่วนหัวนี้มีขนาดประมาณ 1.5×1.5 埃สตอรอม ส่วนหางของคลอโรฟิลล์มีลักษณะเป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบ 20 อะตอม มีความยาวประมาณ 2 อั้งสตอรอม คลอโรฟิลล์ดูดกลืนแสงได้ที่ช่วงคลื่นของแสงสีฟ้าและสีแดง แต่ดูดกลืนช่วงแสงสีเหลืองและเขียวได้น้อย ดังนั้นเมื่อได้รับแสงจะดูดกลืนแสงสีฟ้าและสีแดงไว้ ส่วนแสงสีเขียวที่ไม่ได้ดูดกลืนจึงสะท้อนออกมาก ทำให้เห็นคลอโรฟิลล์มีสีเขียว

ในธรรมชาติมีคลอโรฟิลล์อยู่หลายชนิดด้วยกัน ซึ่งแต่ละชนิดมีโครงสร้างหลักที่เหมือนกัน คือ วงแหวนไพรอล 4 วง แต่โซ่อ้าง (side chain) ของคลอโรฟิลล์แต่ละชนิดจะมีลักษณะที่ต่างกันออกไป เช่น คลอโรฟิลล์ เอ และคลอโรฟิลล์ บี มีโครงสร้างโมเลกุลที่ต่างกันเพียงตำแหน่งเดียวเท่านั้น (ภาพที่ 5) นั่นคือ ที่วงแหวนไพรอลวงที่สองของคลอโรฟิลล์ เอ มีโซ่อ้างเป็นหมู่เมทธิล ($-CH_3$) ส่วนของคลอโรฟิลล์ บี เป็นหมู่อัลดีไฮด์ ($-CHO$) ซึ่การที่โครงสร้างที่ต่างกันนี้ ก็ทำให้มีคุณสมบัติแตกต่างกันด้วย โดยเฉพาะด้านการละลายโดยที่ หมู่เมทธิลของคลอโรฟิลล์ทำให้โมเลกุลมีข้าว ดังนั้นจึงละลายได้ในสารละลายที่มีข้าว เช่น เมทิลแอลกอฮอล์ ส่วนหมู่อัลดีไฮด์ซึ่งไม่มีข้าว จึงทำให้คลอโรฟิลล์ บี ละลายได้ดีในตัวทำละลายไม่มีข้าว เช่น ปิโตรเลียมอีเธอร์ (petroleum ether) รวมทั้งคุณสมบัติการดูดกลืนแสงก็ต่างกันด้วย และทำให้คลอโรฟิลล์ทั้งสองชนิดนี้มีสีต่างกันเล็กน้อย โดยที่คลอโรฟิลล์ เอ มีสีเขียวเข้ม ส่วนคลอโรฟิลล์ บี มีสีเขียวอ่อน (ภาครุ่ม, 2550)



ภาพที่ 5 โครงสร้างคลอโรฟิลล์ เอ และคลอโรฟิลล์ บี

คลอโรฟิลล์ เอ และคลอโรฟิลล์ บี มีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการในการสังเคราะห์แสง มีการสรุปว่ามีกลุ่มของรงค์ตุ 2 กลุ่ม เรียกว่า photosystem ทำงานร่วมกันและก่อให้เกิดการสังเคราะห์แสงที่มีประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสงฟาร์เดและแสงสีแดง

รงค์ตุ กลุ่มแรกเรียกว่า photosystem I ซึ่งประกอบด้วยคลอโรฟิลล์ เอ เป็นจำนวนมาก และ photosystem II จะประกอบด้วยคลอโรฟิลล์ บี เป็นจำนวนมาก photosystem I เป็นรงค์ตุ ที่สามารถดูดซับแสงที่มีความยาวคลื่นมากกว่า 680 นาโนเมตร และแสงที่มีความยาวคลื่นต่ำกว่า 680 นาโนเมตร ส่วน photosystem II จะดูดซับแสงที่มีความยาวคลื่นต่ำกว่า 680 นาโนเมตร ภายในไฮโลคอยด์ มีโปรตีน และโมเลกุลอีกหลายชนิด ซึ่งเรียงตัวกันอยู่ใน photosystem ทั้งสอง เพื่อให้เกิดการถ่ายอิเล็กตรอน จากความยาวคลื่น 680 และ 700 นาโนเมตร (Menzel and Waite, 2005)

โปรตีน

โปรตีนเป็นสารอินทรีย์ที่เป็นส่วนประกอบสำคัญพบในสิ่งมีชีวิตทั้งในคนสัตว์ พืช จุลินทรีย์ รวมทั้งไวรัส ลิ่งมีชีวิตโดยทั่วไปมีโปรตีนเป็นส่วนประกอบสำคัญ โปรตีนสามารถทำหน้าที่ได้หลายอย่าง เช่น จัดการเรื่องความต้องการพลังงาน ควบคุมการทำงานของเซลล์ และรักษาสมดุลของร่างกาย โปรตีนยังมีบทบาทสำคัญในการสร้างภูมิคุ้มกันต่อเชื้อโรค ฯลฯ

โครงสร้างของโปรตีน (พวงมาลัย, 2541)

โครงสร้างปฐมภูมิ (primary structure) หมายถึง โครงสร้างของโปรตีนในลักษณะที่กรดอะมิโน เรียงตัวเป็นสายโซ่พอลิเพปไทด์ที่จำเพาะ

โครงสร้างทุติยภูมิ (secondary structure) หมายถึง โครงสร้างของโปรตีนในลักษณะที่มีโซ่อ่อนตัวเป็นเกลียวในลักษณะเกลียวอัลฟ่า หรือโครงรูปแบบบีกแซกโนเมร์ ซึ่งเป็นก้อนแบนๆ (pleated sheet) โดยคงรูปอยู่ได้ด้วยพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond) และพันธะไดซัลไฟด์ (disulfide bond) โครงสร้างนี้พบในโปรตีนเส้นๆ

โครงสร้างตertiary structure หมายถึง โครงสร้างของโปรตีนในลักษณะที่มีโซ่อ่อนตัวเป็นแผ่นแน่นในลักษณะกลมโดยคงรูปอยู่ได้ด้วยพันธะไดซัลไฟด์และพันธะอ่อนๆ ได้แก่ พันธะไฮโดรเจน พันธะไฮดรอฟิบิก (hydrophobic bond) และแรงวนเดอร์วัลล์ (Van der Waals force) โครงสร้างนี้พบในโปรตีนกลดอนบูลาร์

โครงสร้างจตุรภูมิ (quaternary structure) หมายถึง โครงสร้างของโปรตีนในลักษณะที่มีโซ่อ่อนตัวเป็นมากกว่านี้ ซึ่งรวมกันด้วยพันธะไฮดรอฟิบิก พันธะไฮดรอฟิบิก และแรงวนเดอร์วัลล์ แต่ละโซ่อ่อนตัวเป็นโซ่อ่อนตัวเป็น อาจเรียกว่า หน่วยย่อย (subunit) หรือ โปรโตเมอร์ (protomer) ซึ่งอาจจะเหมือนกัน หรือต่างกันได้ โปรตีนที่มีโครงสร้างลักษณะนี้ เรียกว่า โอลิโกเมอริกโปรตีน (oligomeric protein) เช่น ฮีโมโกลบิน ประกอบด้วยโซ่อัลฟ่า 2 โซ่ และโซเบตา 2 โซ่

คุณสมบัติของโปรตีน

1. เกิดปฏิกิริยาไบูเรต (Biuret reaction) ได้นั่นคือ เพปไทด์และโปรตีนสามารถทำปฏิกิริยากับ CuSO_4 ในด่างให้สารเชิงซ้อน (complex) ระหว่าง Cu^{2+} และเพปไทด์ได้สารสีม่วง จึงนำมาใช้ในการหาปริมาณของโปรตีน

2. โปรตีน สามารถดูดแสงได้ในช่วงความยาวคลื่น 180 - 220 นาโนเมตร และช่วงอินฟราเรด

3. โปรตีนสามารถสูญเสียเอกตัวทิ้งชีวภาพ (denaturation) โดยพันธะอ่อน จะถูกทำลายไป สาเหตุมาจากการภาวะที่อุณหภูมิที่สูงเกินไป การเปลี่ยนแปลง pH ที่สูงหรือต่ำเกินไป และสารบางชนิด เช่น ยูเรีย และกวนิดีเนียม ไอโอกอน (guanidinium ion) ดังนั้น จึงใช้สารเหล่านี้ในการแยกหน่วยย่อยของโปรตีนออกจากกัน ส่วนพันธะ เพปไทด์และพันธะไดซัลไฟฟ์ยังคงอยู่ ซึ่งพันธะไดซัลไฟฟ์สามารถถูกทำลายได้ด้วยสารเคมี เช่น กรดเพอร์ฟอร์มิก (performic acid) และตัวรีดิวซ์ (reducing agent) เช่น เบตา-เมอร์แคปโตโคฮานอล และไดไฮโอดิಥอเรitol (dithiothreitol) กระบวนการแอนนิลิง (annealing หรือ renaturation หรือ refolding) เป็นกระบวนการการทำให้โปรตีนที่สูญเสียเอกตัวทิ้ง ทางชีวภาพกลับมีเอกตัวทิ้งชีวภาพเหมือนเดิมหลังจากที่แยกເเอกสาร ทำลาย สภาพการขาดตัวออกไป อาจการทำโดยวิธีไดเอลิซิส (dialysis)

4. โปรตีนสามารถแตกตัวได้ เช่นเดียวกับกรดอะมิโน ดังนั้นที่จุด p_i โปรตีนจะมีประจุสุทธิเป็นศูนย์ ซึ่งไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ในสนามไฟฟ้า ที่จุด pH สูงกว่า p_i โปรตีนจะมีประจุสุทธิเป็นลบ ทำให้เคลื่อนที่เข้าหาข้อบก แล้วที่จุด pH ต่ำกว่า p_i โปรตีนจะมีประจุสุทธิเป็นบวก ทำให้เคลื่อนที่เข้าหาข้อลบ

5. โปรตีนส่วนใหญ่ละลายได้ในน้ำหรือสารละลายเกลือที่เจือจาง ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อการละลายของโปรตีน มีดังนี้

5.1 ความเข้มข้นของเกลือ โปรตีนจะละลายเพิ่มขึ้นเมื่อเติมเกลืออนินทรีลงไปในปริมาณน้อย เรียกว่า salting in แต่เมื่อเติมเกลืออนินทรีลงไปในปริมาณที่มาก ๆ โปรตีนกลับละลายลดลง และเกิดการตกตะกอนเพิ่มขึ้น เรียกว่า salting out ดังนั้น จึงนำเทคนิค salting out มาใช้ในการทำให้โปรตีนบริสุทธิ์โดยไม่ทำให้โปรตีน เสียเอกตัวทิ้งชีวภาพ เช่น ใช้เกลือแอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) ในการตกตะกอนโปรตีน

5.2 ในสภาพที่เป็นด่าง ไอโอกอนของโลหะหนัก เช่น Cd^{2+} Cu^{2+} Fe^{2+} Hg^{2+} Pb^{2+} และ Zn^{2+} สามารถตกตะกอน โปรตีนที่มีประจุสุทธิเป็นลบได้ และในสภาพที่เป็นกรด โปรตีนมีประจุสุทธิเป็นบวกสามารถจับกับ anion ของกรดบางชนิด เช่น กรดไตรคลอโรอะซีติก (trichloroacetic acid หรือ TCA) และตกตะกอนโปรตีนได้

5.3 pH มีผลทำให้ประจุสุทธิบันโมเลกุลของโปรตีนเปลี่ยนแปลงได้ และโปรตีนจะละลายได้น้อยที่สุด หรือตกตะกอนได้มากที่สุด ที่จุด p_i ของมัน เนื่องจากโปรตีนมีประจุสุทธิเป็นศูนย์ เรียกการตกตะกอน โปรตีนที่จุด p_i ว่า isoelectric precipitation

5.4 ความร้อน มีผลทำให้การละลายของโปรตีนลดลง ทั้งนี้ เพราะไปทำลาย weak bond ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีน

5.5 ตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น อะซีโตน และเอทานอล สามารถตอกตะกอนโปรตีนได้ดีที่อุณหภูมิใกล้ 0°C หรือ ต่ำกว่าโดยไม่เสียแก๊สตีวีติทางชีวภาพ เพราะไปลดความสามารถในการทำหน้าที่เป็นตัวทำละลาย ของน้ำได้ นอกจากนี้ ตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น ไดเมธิลซัลฟอกไซด์ (dimethyl sulfoxide, DMSO) และ N,N-ไดเมธิล ฟอร์มาไมด์ (N,N-dimethylformamide, DMF) ก็เป็นตัวทำละลายของโปรตีนที่ดีในภาวะอุณหภูมิปกติ

ผลบราสิโนสเตียรอยด์ต่อการสังเคราะห์โปรตีน

การกระตุ้นให้เกิดการเจริญเติบโตโดยออร์โนนพีชนน์เป็นผลโดยการเกิด nucleic acid synthesis ขึ้น เมื่อให้สารบราสิโนสเตียรอยด์กับต้นถั่ว (bean) พบร่วมกับการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมของ RNA polymerase และ DNA polymerase อย่างชัดเจน ตลอดจนมีการสังเคราะห์ RNA, DNA และโปรตีนเพิ่มขึ้น สายรับผู้บ่งการสร้าง RNA และการสังเคราะห์โปรตีนจะไปขัดขวางการยึดยาวยาของ epicotyl ที่ได้รับการกระตุ้นโดยบราสิโนสเตียรอยด์ ผลของการเจริญเติบโตที่กระตุ้นโดยบราสิโนสเตียรอยด์ขึ้นอยู่กับการสังเคราะห์ nucleic acid และโปรตีนต่าง ๆ ในระดับความเข้มข้นต่าง (Mandava, 1988) บราสิโนสเตียรอยด์กระตุ้นการยึดยาวยาในถั่วเหลือง รูปแบบการแสดงออกของยีนถูกเปลี่ยนแปลงโดยบราสิโนสเตียรอยด์ไม่จำกัดมี IAA ร่วมด้วยหรือไม่ก็ตาม แสดงให้เห็นว่าบราสิโนสเตียรอยด์สามารถออกฤทธิ์รวมไปกับออกซินที่มีอยู่ภายในพืช งานวิจัยเพื่อให้ทราบถึงอิทธิพลของบราสิโนสเตียรอยด์ ที่มีต่อยีนซึ่งควบคุมโดยออกซิน พบร่วมกับในระดับโมเลกุลของการยึดยาวยา ซึ่งกระตุ้นโดยบราสิโนสเตียรอยด์ นั้นแตกต่างจากยาวยาที่ถูกกระตุ้นโดยออกซิน (Clouse et al., 1992) ล่าสุดได้ค้นพบยีนที่บราสิโนสเตียรอยด์ ควบคุมและทราบโครงสร้างได้ จากการศึกษาการยึดยาวยาของ epicotyls ของถั่วเหลือง (Zurek and Clouse, 1994) นอกจากนี้เมื่อให้บราสิโนสเตียรอยด์ และ IAA ร่วมกับชิ้นส่วน hypocotyl ที่ซึ่ดยาวยาของถั่วเขียวจะพบความสัมพันธ์ที่ร่วมกันกระตุ้น ACC synthesize เกิดจากการกระตุ้นโดย IAA ซึ่งได้จากการศึกษาในเนื้อเยื่อดังกล่าว การใช้ cDNA เป็น probe ได้แสดงให้เห็นว่า บราสิโนสเตียรอยด์สามารถทำให้ยีนสำหรับ ACC synthesize ทำงานได้ (Arteca et al., 1993)

เมื่อใช้ 24-rpibrassinolide แก้ต้านกล้าถั่วเขียว (mung bean) พบร่วมกับ DNA, RNA เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังมี activity ของ RNA polymerase เพิ่มอีก แต่พบว่า activity ของ RNAase และ DNAase ลดลง (Xu et al., 1994) สำหรับในกะหล่ำปลี Chinese cabbage นั้นพบว่ามีการเพิ่มขึ้นของ soluble proteins (Nakajima et al., 1996)

Vidya and Seeta (2001) ทำการศึกษาผลบราสิโนสเตียรอยด์ ต่อการเจริญเติบโตอัตราของเมแทบอลิซึมและผลผลิตของถั่วลิสง (*Arachis hypogaea L.*) พบร้าสิโนสเตียรอยด์มีความสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของปริมาณ DNA, RNA, soluble protein และ carbohydrates ซึ่งนำไปสู่การเพิ่มขึ้นของผลผลิตและปริมาณน้ำมัน (fat)

เทคนิคในการวัดปริมาณโปรตีนในสารละลาย

เทคนิคในการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน สามารถทำได้หลายวิธีโดยแต่ละวิธีจะมีความไว (sensitivity) ต่อการวิเคราะห์และข้อจำกัดที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบในสารละลาย โปรตีนหรือปริมาณโปรตีนในสารละลายตัวอย่าง ซึ่งจะต้องเลือกใช้ให้เหมาะสมกับสารตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ สำหรับในการศึกษานี้เลือกใช้วิธีการหาปริมาณโปรตีน คือ วิธี protein-dry binding หรือ Bradford (Bradford, 1976) โดยโปรตีนจะทำปฏิกิริยากับสีย้อม coomassie brilliant blue G-250 ในสารละลายกรด ซึ่งเป็นสารประกอบเชิงช้อนสีแดง สามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่น 465 นาโนเมตร ปฏิกิริยาเกิดขึ้นจากการจับกันของโปรตีนกับสีย้อมที่อยู่ในสารละลายกรด และเกิดเป็นสารประกอบเชิงช้อนสีน้ำเงิน ซึ่งดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร ปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเชิงช้อนดังกล่าวเป็นปฏิกิริยาระหว่างประจุลบ (sulfonic acid group) ของสีย้อมกับประจุบวก (amino group) ของโปรตีน ปฏิกิริยานี้เกิดได้อย่างสมบูรณ์ภายในเวลา 2 นาที และสารประกอบเชิงช้อนที่เกิดขึ้นมีเวลาความเสถียรเป็นเวลา 1 ชั่วโมง การวิเคราะห์โปรตีนวิธีนี้ทำได้ 2 วิธีคือ วิธีมาตรฐาน ซึ่งเหมาะสมสำหรับ ตัวอย่างโปรตีนที่มีปริมาณ 20 - 200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และวิธีปริมาณน้อย ซึ่งใช้สำหรับกรณีที่สารตัวอย่างมีโปรตีนปริมาณน้อย 0.2 - 1.4 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ข้อดีของการหาปริมาณโปรตีนโดยวิธีนี้คือ ทำได้ง่ายและรวดเร็ว อีกทั้งมีการควบคุมจากอิโอนและสารประกอบต่าง ๆ เช่น triton X-100, sodium dodecyl sulfate (SDS) และอะซีโตนน้อยกว่าวิธีอื่น ๆ ซึ่งในการวิเคราะห์นี้ถูกควบคุม จากบัฟเฟอร์ที่มีสมบัติเป็นต่างแก่ ซึ่งต้องใช้ tris เป็นตัวควบคุม วิธีนี้สามารถใช้หาปริมาณโปรตีน ในสารละลาย crude protein หรือ undialysed proteins ได้ดีและให้ผลถูกต้องกว่าวิธีอื่น ๆ ประสิทธิภาพในการวิเคราะห์โปรตีนในปริมาณปานกลางและปริมาณต่ำตามลำดับ (Bradford, 1976 ; Caprette, 1997)