

การตรวจเอกสาร

ความสำคัญของกล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium*)

การส่งออกช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ต่าง ๆ ไปจำหน่ายยังประเทศ ได้แก่ ญี่ปุ่น เยอรมันนี เนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา และอิตาลี (ชนมลักษณ์, 2539; สุเทพ, 2543) มีปริมาณการส่งออกรวม 1,000 ตัน ตั้งแต่ปีพุทธศักราช 2545 ถึง 2549 (สำนักเศรษฐกิจการเกษตร, 2549) ปริมาณการส่งออกจะลดลงระหว่างเดือนเมษายนถึงเดือนมิถุนายน (สุเทพ, 2543) ซึ่งในช่วงเวลาดังกล่าวอาจเกิดจากสภาวะแวดล้อมไม่เหมาะสม เช่น ฝนตกหนัก หรืออาจเข้าสู่ระยะพักตัว การเข้าทำลายของเชื้อโรคและแมลง และปัญหาบางประการที่เกิดขึ้นหลังการเก็บเกี่ยว ทำให้คุณภาพช่อดอกลดลงเช่น ดอกร่วง (สายชล, 2531) การร่วงของดอกกล้วยไม้ส่วนมากเกิดขึ้นบริเวณเนื้อเยื่อบริเวณการร่วง (abscission zone, AZ) ระหว่างรอยต่อของก้านดอกย่อยกับก้านช่อดอก

การร่วง (abscission)

การร่วง (abscission) เป็นกระบวนการที่ส่วนของพืชเกิดการร่วงออกจากต้น ได้แก่ ใบ ดอกและส่วนของดอก และผล นอกจากนี้ยังพบบริเวณ AZ ในส่วนของเปลือกตา และเปลือกไม้ ใบตามธรรมชาติจะเกิดการร่วงเมื่อสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม หรือเข้าสู่ระยะการชรา ส่วนดอกบริเวณ AZ ของส่วนต่าง ๆ ของดอกมักเกิดขึ้นเมื่อเกิดการถ่ายเรณูและการปฏิสนธิแล้ว ดอกไม้หลายชนิดดอกจะร่วงถ้าไม่ได้รับการปฏิสนธิ ในขณะที่ดอกที่มีการปฏิสนธิจะพัฒนาต่อไปเป็นผล แต่ส่วนอื่น ๆ ได้แก่ กลีบเลี้ยง กลีบดอก ก้านชูเกสรเพศผู้และเพศเมียร่วงไป นอกจากนี้การร่วงของดอกอาจเกิดจากสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม ทำให้ต้องสลัดดอกที่ไม่สมบูรณ์ออกไป ในกรณีของดอกกล้วยไม้ภายหลังการเก็บเกี่ยว การร่วงอาจเนื่องมาจากดอกได้รับการปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยวที่ไม่เหมาะสม เช่น ถูกนำไปวางไว้อุณหภูมิสูง ได้รับเอทิลีนจากภายนอก หรือขาดน้ำ

การเปลี่ยนแปลงทางกายวิภาคและการเปลี่ยนสภาพเนื้อเยื่อบริเวณ AZ (abscission zone, AZ)

กระบวนการร่วงเกิดขึ้นในบริเวณที่เรียกว่า AZ ซึ่งมักเป็นรอยต่อระหว่างส่วนของพืช เช่น ใบกับกิ่ง ระหว่างดอกกับก้านช่อดอก การศึกษาทางกายภาพในพืช *Phaseolus vulgaris*, *Sambucus nigra* และมะเขือเทศ (Jensen and Valdovinos, 1967; Adicott, 1982; Sexton and Roberts, 1982;

Osborne, 1989; Tabuchi and Arai, 2000) พบว่าบริเวณ AZ เป็นแถบแคบ ๆ ที่มี 3-4 ชั้นเซลล์ในพืชส่วนใหญ่ หรือมากกว่า 50 ชั้นเซลล์ใน *Sambucus nigra* (Taylor and Whitelaw, 2001) ชั้นของเซลล์เหล่านี้มีลักษณะแตกต่างออกไปจากเซลล์บริเวณข้างเคียง คือ รูปร่างกลม หรือสี่เหลี่ยมแบน ขนาดเล็กกว่าเซลล์ข้างเคียง มีไซโทพลาสซึม (cytoplasm) ที่บวม ดูอวบอ้วนสามารถในการขยายตัวและการเพิ่มขนาดของแควิวโอล แต่จะขยายตัวในขณะที่เกิดการร่วง เซลล์เหล่านี้ตอบสนองต่อฮอร์โมนแตกต่างไปจากเซลล์บริเวณรอบ ๆ อาจแบ่งชนิดของเซลล์ในบริเวณนี้ได้เป็นสองส่วนคือ separation layer คือ ชั้นเซลล์ที่จะเกิดการแยกตัวออกจากกัน และ protective layer คือชั้นเซลล์ที่จะเกิดการแบ่งตัวเพื่อปกป้องเซลล์บริเวณที่ยังคงติดอยู่กับส่วนของต้น

เซลล์ในบริเวณการร่วงนี้ นอกจากจะมีรูปร่างไม่เหมือนกับเซลล์ในบริเวณใกล้เคียงแล้ว องค์ประกอบทางชีวเคมีก็แตกต่างออกไปด้วย ทั้งชนิดและปริมาณของ DNA และโปรตีน ทำให้เซลล์ในบริเวณนี้ตอบสนองต่อสภาพแวดล้อม หรือสัญญาณจากภายนอกและสัญญาณจากภายในแตกต่างออกไปจากเซลล์นอกบริเวณการร่วง เรียกเซลล์ในชั้นก่อนการร่วงว่า target cell ซึ่งหมายถึงเซลล์เป้าหมายของสัญญาณหรือปัจจัยแวดล้อมต่าง ๆ ที่จะตอบสนองให้เกิดการเปลี่ยนแปลงขึ้น Osborne (1989) แบ่ง target cell ออกเป็น 3 ประเภท ตามการตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วยฮอร์โมน ได้แก่ Type I เป็นเซลล์ที่ไม่ตอบสนองต่อเอทิลีน แต่จะขยายตัวตามยาวเมื่อได้รับการกระตุ้นจากออกซิน Type II เป็นเซลล์ที่ตอบสนองต่อเอทิลีนและขยายขนาดขึ้นแต่ไม่ตอบสนองต่อออกซิน และ Type III เป็นเซลล์ที่ขยายขนาดขึ้นเมื่อได้รับการกระตุ้นจากทั้งเอทิลีนและออกซิน ซึ่งโดยส่วนใหญ่พบ Type II เซลล์มากที่สุดภายในบริเวณการร่วงต่าง ๆ เพราะว่าเซลล์เป้าหมายนี้ตอบสนองต่อเอทิลีนกับออกซินในทางตรงกันข้าม เซลล์ประเภทนี้จึงช่วยในการควบคุมการร่วงตามสมดุลของฮอร์โมนทั้งสอง

จากการศึกษาของ Szymkowiak and Irish (1999) ในมะเขือเทศพันธุ์ปกติและกลายพันธุ์ (*jointless*) สรุปว่า เซลล์ AZ พัฒนามาจากเซลล์เจริญ (meristematic cell) Type III ในส่วนตาดอก และพบว่าถ้าเกิดการผิดปกติขึ้นในเซลล์ Type III ดอกมะเขือเทศจะไม่สร้างชั้นเนื้อเยื่อ AZ นอกจากนี้บางพืช เช่น *Impatiens sultani* และ *Phaseolus vulgaris* ยังสามารถชักนำให้มีการแบ่งเซลล์ เพื่อสร้างบริเวณการร่วงขึ้น แล้วทำให้เกิด AZ ได้ เรียกว่า บริเวณการร่วงทุติยภูมิ (secondary abscission หรือ adventitious abscission zone) พบว่าเอทิลีนชักนำให้มีการสร้างเนื้อเยื่อ ส่วนออกซินทำหน้าที่กำหนดตำแหน่งของบริเวณการร่วง (Roberts *et al.*, 2002)

Van Doorn and Stead (1997) รายงานว่า ลักษณะทางกายวิภาคของเนื้อเยื่อบริเวณการร่วงในดอกไม้ไม้จัดจำแนกโดย Reiche (1885); Hannig (1913); Namikawa (1926); และ Pfeiffer (1928) ดังนี้

1. เซลล์เนื้อเยื่อบริเวณ AZ มีขนาดเล็กกว่าเซลล์ข้างเคียงแต่มีลักษณะกลม และเนื้อเยื่อใน AZ นี้มีผนังเซลล์บางกว่าเซลล์ข้างเคียง ได้แก่ ก้านดอกของดอก *Salvia* sp.

2. เซลล์เนื้อเยื่อบริเวณ AZ มีขนาดเล็กกว่าเซลล์ข้างเคียงแต่มีลักษณะยาว ได้แก่ เนื้อเยื่อใน AZ ของก้านดอกบีโกเนีย

3. เซลล์เนื้อเยื่อบริเวณ AZ มีขนาดใกล้เคียงกับเซลล์ข้างเคียง ได้แก่ ดอกยาสูบ (*Nicotiana* sp)

การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพที่สัมพันธ์กับบริเวณการร่วง

ในขณะที่เกิดการร่วง เซลล์ใน AZ มีการเปลี่ยนแปลงหลายอย่างเกิดขึ้น เกิดการขยายขนาดของเซลล์ บางกรณีพบว่าการสลายเม็ดแป้งภายในเซลล์เหล่านี้ ซึ่งบ่งชี้ว่าเป็นสาเหตุที่ทำให้ศักย์ (water potential) ต่ำลง และดึงน้ำจากเซลล์ข้างเคียงเข้าไปในเซลล์ทำให้เซลล์ขยายตัว และดันให้ส่วนของพืชหลุดออกจากคั่น ในที่สุดส่วนของ middle lamella ถูกย่อยสลาย (Webster and Chiu, 1975) ทำให้แรงยึดเหนี่ยวระหว่างเซลล์ลดลง เกิดช่องว่างระหว่างเซลล์มากขึ้น ในผนังเซลล์มักพบว่ามพบอง แสดงว่าแรงยึดกันระหว่างโมเลกุลของ microfibril ลดน้อยลง นอกจากนี้ยังพบว่าภายในเซลล์เหล่านี้ golgi vesicle ขยายใหญ่ขึ้น ปริมาณของ rough endoplasmic reticulum เพิ่มมากขึ้น แสดงว่าเกิดการสร้างโปรตีนขึ้นใน AZ ซึ่งเป็นโปรตีนหรือเอนไซม์สำหรับการย่อยผนังเซลล์ (จริงแท้, 2549)

ดังนั้นการร่วงส่วนของพืชจึงขึ้นอยู่กับปัจจัยทั้งภายในและสิ่งแวดล้อม เกิดการกระตุ้นให้เนื้อเยื่อบริเวณ AZ มีการตอบสนอง เกิดการแสดงออกของยีนและเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสลายตัวและแบ่งเซลล์ของเนื้อเยื่อบริเวณดังกล่าว ปัจจัยต่าง ๆ เหล่านี้ ได้แก่

1. การเสื่อมสภาพ (senescence)

การร่วงมีความสัมพันธ์กับการเสื่อมสภาพ (senescence) โดยทั้งสองกระบวนการนี้ถูกกระตุ้นจากการพัฒนาได้แก่ อายุของเนื้อเยื่อ สิ่งแวดล้อม และภาวะความเครียดที่ใกล้เคียงกัน โดยการร่วงนี้เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นต่อจากการเสื่อมสภาพของพืช อายุการพัฒนาของเนื้อเยื่อเป็นตัวกำหนดบริเวณ AZ ซึ่งเนื้อเยื่อบริเวณ AZ ถูกเปลี่ยนสภาพมาตั้งแต่ระยะแรกของการพัฒนาของเนื้อเยื่อเป็นอวัยวะต่าง ๆ และยังคงอยู่ในสภาพปกติโดยการควบคุมของการพัฒนา จนกระทั่งมีสัญญาณอื่น ๆ มากระตุ้นให้เกิดการเสื่อมสภาพ จึงเริ่มมีการแยกตัวของเนื้อเยื่อ (Taylor and Whitelaw, 2001) Wilson (1997) เสนอสองสมมุติฐานในการเสื่อมสภาพของพืชใบเลี้ยงเดี่ยว สมมุติฐานแรกเกี่ยวกับการเคลื่อนย้ายอาหาร โดยการเสื่อมสภาพและการร่วงเกิดจากการชักนำของการขาดแคลนอาหาร จึงมีการเคลื่อนย้ายอาหารจากใบไปสะสมไว้ในส่วนของเมล็ดที่กำลังพัฒนาและผล และสมมุติฐานข้อสองคือ มีการสร้าง death hormone จากเมล็ดและผลแล้วส่งไปยังใบ แต่ทั้งสองสมมุติฐานนี้ยังไม่สามารถสรุปได้

2. แสง

ทั้งคุณภาพและปริมาณแสงที่พืชได้รับแต่ละวันมีผลต่อการชักนำให้เกิดการร่วง ทำให้การสังเคราะห์แสงเกิดขึ้นได้น้อย จึงมีอาหารไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของส่วนต่าง ๆ พืชเกิดความเครียด มีการสร้างเอทิลีนเพิ่มขึ้น เช่นที่พบในการร่วงของดอกพริก (*Capsicum annuum*) ภายหลังจากได้รับการพร่างแสง 80% เป็นเวลา 6 วัน แต่สามารถหยุดยั้งการร่วงของดอกพริกได้ด้วยการให้ออกซิน (Wien and Turner, 1989) นอกจากนี้ดอกตูมลิลลี่ที่ปลูกในสภาพที่มีแสงน้อยและวันสั้น (dark and short-day) มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณเอทิลีนสูงถึง 8 เท่าระหว่างการร่วง และสามารถป้องกันการร่วงได้ด้วยซิลเวอร์ไธโอซัลเฟต (silver thiosulphate) (van Meeteren and de Proft, 1982)

การร่วงของใบที่เป็นไปตามฤดูกาล เกิดเนื่องจากความยาวของกลางวันและกลางคืนที่แตกต่างกัน เป็นปัจจัยกระตุ้นให้ใบพืชสร้าง AZ โดยพืชอาศัย phytochrome เป็นตัวรับสัญญาณที่เกี่ยวข้องกับช่วงแสงแล้วตอบสนองโดยการกระตุ้นการสร้างเอทิลีนมากขึ้น แล้วไปกระตุ้นการสร้าง AZ อีกทอดหนึ่ง (จริงแท้, 2549)

3. ความเครียดจากการขาดน้ำ

ภาวะความเค็ม หนาวเย็น หรืออุณหภูมิสูง ทำให้พืชเกิดความเครียดจากการขาดน้ำ พืชจะมีการร่วงเพิ่มขึ้นซึ่งเป็นผลจากการที่พืชมีความแข็งแรงลดลง ความสัมพันธ์ระหว่างการขาดน้ำ

กับการร่วง เกิดเนื่องจากเนื้อเยื่อบริเวณ AZ มีการเพิ่มความไวต่อเอทิลีนมากขึ้นส่งผลถึงการเปลี่ยนแปลงระดับสาร IAA และ กรดแอบซีสติก (ABA) ในเนื้อเยื่อโดยเกิดความเครียดกระตุ้นให้เกิดการสร้างเอทิลีนและกรดแอบซีสติก มากขึ้น ในขณะที่การสร้างออกซินลดลง (Taylor and Whitelaw, 2001) นอกจากนี้ระดับของฮอร์โมน GA และ cytokinin ก็ลดลงด้วย

การร่วงของใบพืชบางชนิดเกิดขึ้นภายหลังการได้รับน้ำเข้าไปอีกครั้ง (rehydration) หลังจากอยู่ภายใต้ภาวะความเครียดการขาดน้ำ จะพบปริมาณ ACC ในใบสูงกว่าที่ต่อลำเลียง 10 เท่าเมื่อเทียบกับพืชปกติ ซึ่งปริมาณ ACC ที่เพิ่มมากขึ้นนี้มาจากสมมุติฐานที่ว่า ระหว่างการขาดน้ำ รากพืชสร้างสารตัวกลาง 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) เมื่อพืชได้รับน้ำใหม่อีกครั้ง จึงมีการลำเลียง ACC ขึ้นมาที่ใบ แล้วจึงเปลี่ยนเป็นเอทิลีนในที่สุดเมื่อได้รับออกซิเจน (Taylor and Whitelaw, 2001)

4. การเกิดบาดแผลและการเข้าทำลายของเชื้อโรค

การเกิดบาดแผลและการเข้าทำลายของเชื้อโรคมักเกิดเกี่ยวเนื่องกัน เพราะการเกิดบาดแผลทำให้เกิดช่องเปิดให้เชื้อโรคเข้าเจริญเติบโตภายในพืช พืชตอบสนองด้วยการซ่อมแซมส่วนที่เกิดบาดแผล พืชจะมีการสร้างสารเคมี หรือเอนไซม์ต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ เช่น protease inhibitor, chitinase และ glucanase กลไกการกระตุ้นการตอบสนองเหล่านี้ เชื่อว่า เกิดจากโมเลกุลย่อย ๆ ของผนังเซลล์ที่เป็นผลมาจากการเกิดบาดแผล หรือการเข้าทำลายของเชื้อโรค ได้แก่ oligosacchride ทำหน้าที่เป็นสัญญาณไปกระตุ้นให้เกิดการสังเคราะห์เอทิลีนมากขึ้น (จริงแท้, 2549)

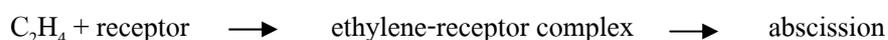
ฮอร์โมนพืชบริเวณ AZ

ในการตอบสนองของพืชต่อสภาพแวดล้อมและการพัฒนาต่าง ๆ พบว่ามีฮอร์โมนพืชเข้ามาเกี่ยวข้องได้แก่ มีการสังเคราะห์และเคลื่อนย้ายฮอร์โมนที่ยับยั้งการร่วง เช่น ออกซิน และไซโตไคนิน มีการเพิ่มขึ้นของเอทิลีน และกรดแอบซีสติก

1. เอทิลีน

อัตราการผลิตเอทิลีนมีเพิ่มขึ้นระหว่างการร่วงของดอก *Ecballium elaterum* (Jackson *et al.*, 1972) และเป็นตัวชักนำให้เกิดการร่วงของส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น ใบ ดอก และผล ดังจะเห็นได้จากข้อมูลการร่วงเนื่องจากสภาพแวดล้อม พบว่าเกือบทุกปีจัญล้วนกระตุ้นให้มีการสังเคราะห์ ACC และเอทิลีนในเนื้อเยื่อมากขึ้นก่อนการร่วงหรือระหว่างการร่วง เมื่อมีการให้สารยับยั้งการสังเคราะห์หรือการทำงานของเอทิลีน สามารถชะลอการร่วงให้เกิดช้าลงได้ หรือไม่เกิดการร่วงเลย

เอทิลีนทำงานผ่านตัวรับ โพรตีนของเอทิลีน จากนั้นเกิดการส่งถ่ายสัญญาณไปยังเนื้อเยื่อบริเวณการร่วงให้มีการตอบสนองต่อเอทิลีน ดังภาพของ Sexton (2002)



การร่วงของใบและดอกจะเกิดขึ้นในเวลาที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับปัจจัยและความเข้มข้นของเอทิลีนที่ได้รับ นอกจากนี้ชนิดและอายุของเนื้อเยื่อพืชมีผลต่อการตอบสนองต่อเอทิลีน โดยพบว่าเนื้อเยื่อที่อ่อนกว่าตอบสนองต่อเอทิลีนได้น้อยกว่า ที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นเพราะบริเวณเนื้อเยื่อนั้น ๆ มีปริมาณโพรตีนตัวรับฮอร์โมนเอทิลีนน้อยเกินไปหรือโพรตีนตัวรับนั้นไม่สามารถทำงานได้ Sexton, (2002)

Webster and Chiu (1975) รายงานว่าเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงของผนังเซลล์ของดอกถั่ว (*Phaseolus*) ภายหลังการผสมเกสร 24 ชั่วโมง และเกิดการร่วงตามมาในเวลา 48 ชั่วโมง ขณะที่การเปลี่ยนแปลงของผนังเซลล์ของใบจะเกิดขึ้นภายใน 10 วันหลังจากใบแผ่ขยายเต็มที่ และจะเกิดการร่วงได้หลังจากนี้ 8 วัน Sexton and Robert (1982) รายงานว่าใบหลังจากได้รับเอทิลีนจากภายนอกจะเกิดการร่วงภายใน 10-48 ชั่วโมง ในขณะที่ดอกจะร่วงหลังได้รับเอทิลีน 2.2-8 ชั่วโมง ส่วนการร่วงของดอกมะเขือเทศบริเวณก้านดอกย่อยจะเกิดขึ้นใน 4 ชั่วโมงหลังได้รับเอทิลีน (Roberts *et al.*, 1984) การร่วงของกลีบดอกของดอก *Geranium robertianum* เริ่มขึ้นภายหลังการได้รับเอทิลีน 2.5 ชั่วโมง แต่การร่วงของกลีบดอกของ *Pelargonium x domesticum* และ *P. x hortorum* เกิดขึ้น 1 ชั่วโมงหลังการได้รับเอทิลีน (Sexton *et al.*, 1983; Denele *et al.*, 1990; Evensen *et al.*, 1993) Sexton *et al.* (1985) รายงานว่าระดับความเข้มข้นของเอทิลีนที่ชักนำให้เกิดการร่วงในพืชอยู่ในช่วง $0.1-5 \mu\text{L L}^{-1}$ และจิตรรา (2541) รายงานว่าดอกกล้วยไม้สกุลหวายจะเกิดการร่วงของดอกตูมและดอกบานเมื่อได้รับการชักนำด้วยเอทิลีนที่ระดับความเข้มข้น $0.4 \mu\text{L L}^{-1}$ นอกจากนี้ดอกตูมของไม้กระถาง *Schlumbergera truncata* cv. Dark Maric เกิดการร่วงภายใน 2-6 วันภายหลังการได้รับเอทิลีนจากภายนอกที่ระดับความเข้มข้น $0.5 \mu\text{L L}^{-1}$ (Serek and Sisler, 2001)

การลดปริมาณเอทิลีนบริเวณเนื้อเยื่อของ AZ ด้วยสารยับยั้งการทำงานของเอทิลีนเช่น silverthiosulphate (STS) หรือ 1-aminocyclopropene (1-MCP) ช่วยป้องกันการร่วงของดอก geraniums (Cameron and Reid, 1983), *Pelargonium x hortorum* (Michelle *et al.*, 2001), ไบส้ม (Guang *et al.*, 2001) ดอกบานพลีอก (*Phlox paniculata* cv. Rembrandt) (Porat *et al.*, 1995) และ ดอกตูมของ *Schlumbergera truncata* cv. Dark Maric (Serek and Sisler, 2001)

จากรายงานวิจัยดังกล่าวข้างต้นพบว่า การร่วงของพืชเกิดจากการตอบสนองของพืชต่อเอทิลีน ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ชนิดพืช ความเข้มข้นของเอทิลีน และระยะเวลาการที่ได้รับเอทิลีน ดังนั้นการลดปริมาณเอทิลีนจะช่วยลดการตอบสนองของเนื้อเยื่อต่อเอทิลีน

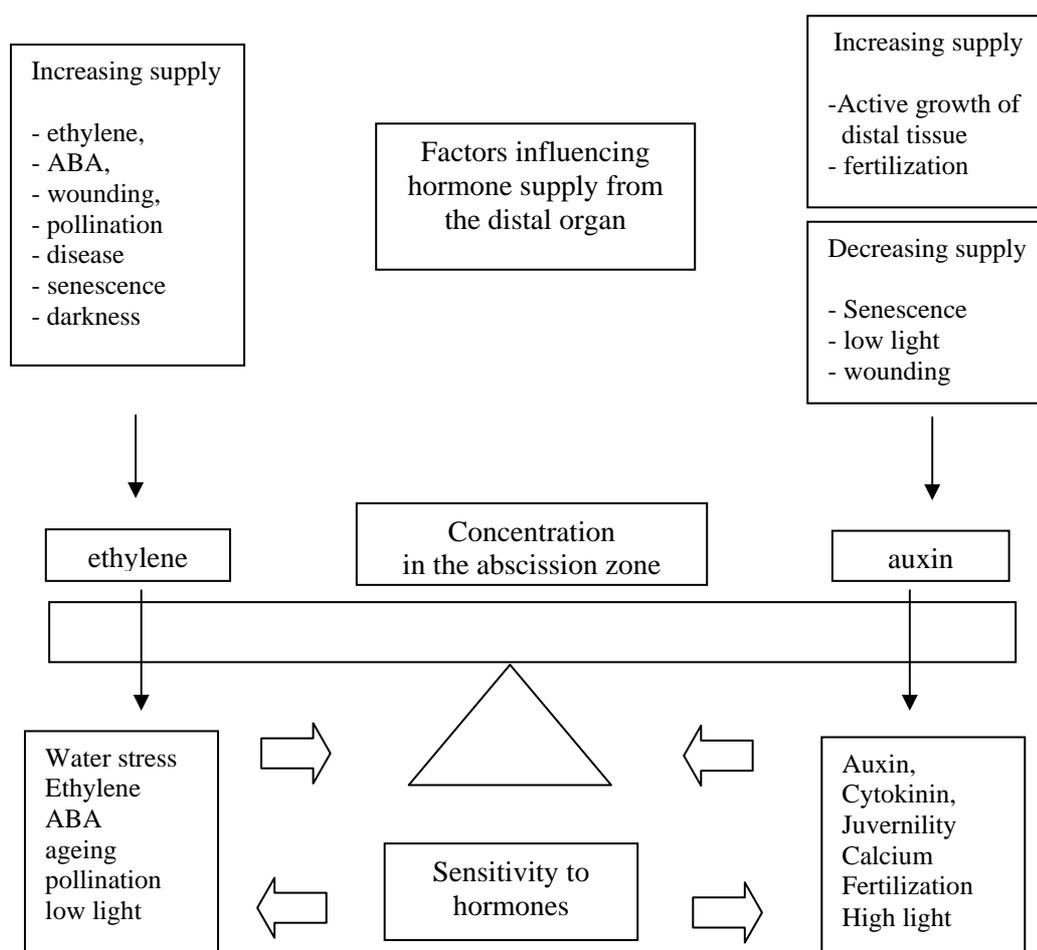
2. ออกซิน

ปริมาณออกซินในใบที่มากกว่าระดับจุดวิกฤตจะช่วยยับยั้งการร่วง แต่เมื่อใบนั้นมีปัจจัยอื่น ๆ เข้ามากระตุ้น เช่น อายุ ความเครียด สามารถทำให้ปริมาณออกซินลดต่ำลงจนทำให้ใบร่วงได้ และถ้าให้ออกซินเพิ่มขึ้นทางด้านโคน (proximal side) ของบริเวณ AZ จะช่วยเร่งการผลิตเอทิลีนและนำไปสู่การร่วงของก้านใบ โดยการชักนำให้มีสร้าง ACC และเคลื่อนย้ายไปยัง AZ เพื่อไปสร้างเอทิลีนภายหลัง แต่ถ้าให้ออกซินจากด้านปลาย (distal side) พบว่าสามารถยับยั้งการร่วงของก้านใบได้ (Sexton, 2002)

สำหรับในผล การให้ออกซินสังเคราะห์ (NAA) ทำให้เกิดการร่วงมากขึ้น ทั้งนี้พบว่าออกซินไปขัดขวางการลำเลียงน้ำตาลเข้าสู่ผล นอกจากนั้นยังพบว่าออกซินไปกระตุ้นให้มีการสร้างเอทิลีนมากขึ้น บางครั้งการให้ออกซินอาจได้ผลตรงข้าม เช่นเดียวกับกรณีของใบ การทดลองตัดเอาผลออกจากต้น แล้วปล่อยให้ก้านผลยังติดอยู่กับต้น ทำให้ก้านผลร่วงเร็วกว่าปกติ แต่ถ้าให้ออกซินกับก้านผลส่วนที่เหลืออยู่หลังจากการตัดผลออกไปแล้ว ช่วยชะลอการร่วงของก้านได้ (จริงแท้, 2549)

สำหรับในดอกมีรายงานว่า การให้ออกซิน ทั้งในรูปแบบ IAA และ NAA จากภายนอกสามารถลดการร่วงของดอกได้ เช่น ดอกลูปินัส (*Lupinus* sp.) แอปเปิ้ล บีโกเนีย ฝ้ายและกุหลาบ

(van Doorn and Stead, 1997) เมื่อมีการให้สาร 2,3,5-triiodobenzoic acid (TIBA) ซึ่งเป็นสารยับยั้งการเคลื่อนย้ายของออกซินกับก้านดอกย่อยของดอกพริก พบว่าเร่งการร่วงของก้านพริกให้เร็วขึ้น (Wien *et al.*, 1992) แสดงให้เห็นว่าออกซินจากภายในของพริกเป็นตัวควบคุมการร่วงของดอกพริก



ภาพที่ 1 จุดสมดุลของสารควบคุมการเจริญเติบโตบริเวณการร่วง (abscission zone)

ที่มา: คัดแปลงจาก Taylor and Whitelaw (2001) และ Sexton (2002)

จากภาพที่ 1 พบว่าบริเวณเนื้อเยื่อ AZ ถูกควบคุมด้วยความสมดุลระหว่างปริมาณออกซินและเอทิลีน ถ้าความเข้มข้นของออกซินมากกว่าเอทิลีน จะทำให้เนื้อเยื่อบริเวณ AZ มีความต้านทานต่อเอทิลีน แต่ถ้าความเข้มข้นของเอทิลีนมากกว่าออกซิน เนื้อเยื่อ AZ จะมีการตอบสนองต่อเอทิลีน และทำให้เนื้อเยื่อบริเวณนั้นแยกออกจากกัน ซึ่งมีปัจจัยหลายปัจจัยที่ชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของสารทั้งสองตัว โดยปัจจัยที่กระตุ้นให้เกิดการร่วงคือด้านซ้ายมือ ส่วนปัจจัยทางขวามือสามารถยับยั้งการร่วงได้ และถ้าเลื่อนจุดสมดุลไปทางขวามือจะเพิ่มความไว (sensitivity)

ของเนื้อเยื่อต่อเอทิลีน ปัจจัยที่มีผลต่อการเลื่อนจุดสมมูลในลักษณะนี้คือ ภาวะความเครียดจากน้ำ อายุพืช การผสมเกสร ฯลฯ ขณะเดียวกันการเลื่อนจุดสมมูลไปทางซ้ายมือจะเพิ่มความไวของเนื้อเยื่อต่อออกซิน และปัจจัยที่มีผลต่อการเลื่อนจุดคือ ปริมาณออกซินและไซโตไคนิน ฯลฯ

3. กรดแอบซีสติก (ABA)

ในพืชบางชนิดพบว่าปริมาณ ABA เพิ่มขึ้นก่อนที่จะเกิดการร่วงของใบ แต่บางชนิดไม่พบว่า ABA เพิ่มขึ้น การให้ ABA จากภายนอกบางครั้งกระตุ้นให้เกิดการร่วงมากขึ้นแต่บางครั้งได้ผลตรงกันข้าม ดังนั้นบทบาทของ ABA ต่อการร่วงยังไม่ชัดเจน อาจเป็นไปได้ว่า ABA มีผลต่อการร่วงในทางอ้อม กล่าวคือ ABA ไปกระตุ้นกระบวนการหายใจ และการผลิตเอทิลีนให้สูงขึ้น โดยเฉพาะในส่วนของพืชที่ตัดออกจากต้น (จริงแท้, 2549) ดอกชบา (*Hibiscus* sp.) และ *Lupinus luteus* พบปริมาณของ ABA อิสระเพิ่มขึ้นก่อนเกิดการร่วงของดอก การให้ ABA แก่ดอกฝ้ายเร่งให้เกิดการร่วงเร็วขึ้น แต่ไม่มีผลต่อการร่วงของดอกพิทูเนีย (van Doorn and Stead, 1997)

4. จิบเบอเรลลินและไซโตไคนิน

การร่วงของกลีบดอก *Pelargoniumx hortorum* ถูกยับยั้งได้ด้วยสารฉีดพ่นสาร GA (van Doorn and Stead, 1997) การให้จิบเบอเรลลินจากภายนอกแก่ดอกมะลิ จะทำให้ดอกมะลิติดอยู่กับต้นไม่ร่วงได้นานหนึ่งวัน (กาญจนา, 2548) การให้ไซโตไคนินจากภายนอกชะลอการร่วงของกลีบดอก Golden Wave roses แต่เมื่อวิเคราะห์หาปริมาณไซโตไคนินจากดอกที่ติดอยู่บนต้น พบว่ามีปริมาณเพียงเล็กน้อย ไซโตไคนินลดการสร้างเอทิลีนในพืช *Leptospermum* การที่ไซโตไคนินสามารถชะลอการร่วงได้ อาจเป็นผลทางอ้อม เนื่องมาจากการที่ไซโตไคนินไปชะลอการหายใจ (senescence) (จริงแท้, 2549)

จากข้อมูลของปัจจัยต่าง ๆ ที่มีต่อการร่วงของส่วนของดอก ใบ และผล นักวิจัยจึงแบ่งแยกรูปแบบการร่วงออกดังนี้

แบบจำลองการร่วงของใบ

การจะเกิดหรือไม่เกิดการร่วงของใบ ขึ้นอยู่กับความสมดุลของฮอร์โมนออกซินและเอทิลีน แบ่งออกเป็น 2 ระยะ ระยะแรกใบที่อายุไม่มาก เซลล์ในบริเวณ AZ จะไม่ตอบสนองต่อเอทิลีน เนื่องจากยังมีออกซินซึ่งสังเคราะห์ขึ้นในตัวใบแล้วลำเลียงเข้ามาในบริเวณนี้ ระยะที่สองเมื่อใบอายุมากขึ้นหรือเมื่อสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม เช่น ฤดูแล้ง อุณหภูมิสูงหรือต่ำเกินไป ปริมาณออกซินที่ถูกลำเลียงเข้ามาน้อยลง ทำให้เซลล์บริเวณนี้ตอบสนองหรือไวต่อเอทิลีนมากขึ้น และเอทิลีนจากภายนอกสามารถกระตุ้นให้ใบเปลี่ยนจากระยะแรกมาเป็นระยะที่สองได้ เนื่องจากเอทิลีนลดการลำเลียงออกซินจากใบ เพิ่มการทำลายออกซิน รวมทั้งทำให้ออกซินอยู่ในรูปที่ไม่มีฤทธิ์ เช่น การรวมตัว (conjugate) กับโมเลกุลอื่นมากขึ้น (จริงแท้, 2549)

แบบจำลองการร่วงของผล

การร่วงของผลก็เช่นเดียวกับใบ ก็มีฮอร์โมนออกซินและเอทิลีนเข้ามาเกี่ยวข้อง และเกี่ยวข้องกับเมล็ดภายในผลด้วย กล่าวคือ หลังจากใบได้รับการผสม เมล็ดจะพัฒนาขึ้นจากเอ็มบริโอ ซึ่งเป็นแหล่งผลิตออกซิน ออกซินที่เอ็มบริโอสร้างขึ้นชักนำให้มีการลำเลียงอาหารในรูปของคาร์โบไฮเดรตจากใบเพื่อใช้ในการพัฒนาของเมล็ด ออกซินยังถูกส่งออกมายังบริเวณ AZ ทำให้ปริมาณออกซินในเซลล์นี้สูงและไม่ตอบสนองต่อเอทิลีน กรณีที่ไข่ที่ไม่ได้รับการผสม เมล็ดไม่สามารถพัฒนาขึ้นได้ หรือในสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม ก่อให้เกิดความเครียด เช่น สภาพที่ขาดน้ำ เมล็ดไม่สามารถพัฒนา การสร้างออกซินภายในเมล็ดเกิดขึ้นน้อย จึงไม่สามารถชักนำให้มีการลำเลียงอาหารเข้าสู่ผล ขณะเดียวกันออกซินที่ถูกลำเลียงออกไปยังบริเวณ AZ มีปริมาณลดลง เซลล์บริเวณนี้จึงตอบสนองต่อเอทิลีนได้ดีขึ้น ส่งผลให้เกิดการร่วงได้ หรือกรณีของการติดผลมากเกินไป อาหารจากต้นและใบส่งมายังผลไม่เพียงพอเมล็ดไม่สามารถพัฒนาได้ การสร้างออกซินจึงน้อยลง และส่งผลให้เกิดการร่วงได้เช่นเดียวกัน (จริงแท้, 2549)

แบบจำลองการร่วงของดอก

การร่วงของดอกมีทั้งส่วนที่เหมือนกับใบและผล ถ้าไข่ไม่ได้รับการผสม เมล็ดไม่พัฒนา ก็จะไม่มีการผลิตออกซินออกมาให้กับบริเวณการร่วงทำให้ออกกร่วงในที่สุด เมื่อมีการให้ออกซินจากภายนอกชะลอการร่วง การให้เอทิลีนจากภายนอกกระตุ้นให้ส่วนต่าง ๆ ของดอกร่วงได้ แต่

การร่วงของกลีบดอก ก้านชูเกสรเพศผู้และเพศเมีย สามารถเกิดจากการที่ผลเจริญเติบโตมากขึ้น แล้วคั่นให้ส่วนต่าง ๆ เหล่านี้ร่วงไป (จริงแท้, 2549; van Doorn and Stead, 1997)

กลไกการร่วงในระดับเซลล์

ในภาพรวมหลังจากพืชได้รับสัญญาณ เช่นการขาดน้ำ ช่วงแสงที่สั้นลงจะเกิดการกระตุ้นให้เซลล์มีการตอบสนองต่อเอทิลีน และการแสดงออกของยีนให้มีการสร้างโปรตีนหรือเอนไซม์ใหม่ ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายผนังเซลล์เช่น เอนไซม์ pectin methylesterase และ pectate lyases (Patterson, 2001) และ ระดับของเพคตินที่ไม่ละลายน้ำลดลงในขณะที่เพคตินที่ละลายน้ำเพิ่มขึ้น รวมทั้งมีการพบระดับการลดลงของปริมาณแคลเซียมสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของเพคตินในรูปไม่ละลายน้ำเป็นละลายน้ำ สิ่งเหล่านี้ทำให้แรงยึดกันระหว่างเซลล์น้อยลง จากนั้นแรงต่าง ๆ ทั้งจากภายนอกเช่น แรงโน้มถ่วง แรงภายในเช่น แรงที่เกิดจากการขยายขนาดของเซลล์ในชั้นก่อนการร่วงดึงหรือคั่นให้ส่วนต่าง ๆ เหล่านี้หลุดจากต้น ดังนั้นเพื่อให้เข้าใจว่าการย่อยสลายผนังเซลล์เกิดขึ้นได้อย่างไร จำเป็นต้องรู้อุ้งค์ประกอบของผนังเซลล์และการย่อยสลายของผนังเซลล์ด้วยเอนไซม์ต่าง ๆ

ผนังเซลล์ของพืชประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต 90-95 % และโปรตีน 5% องค์ประกอบย่อยของคาร์โบไฮเดรตที่จำแนกตามการละลาย (จริงแท้, 2549; Fischer and Bennett, 1991) คือ

1. Pectin 35% เป็นกลุ่มของ polymer ของทั้ง neutral sugar เช่น arabinan, galactan และ acidic sugar ได้แก่ rhamnogalacturonan ซึ่งเป็นโมเลกุลค่อนข้างซับซ้อน แกนหลักของโมเลกุลประกอบด้วยกรดของน้ำตาล ซึ่ง galacturonic acid จับกันอยู่ด้วยพันธะ α -1,4 และมีโมเลกุลของ rhamnose แทรกเป็นระยะ และเชื่อมโยงกับ neutral sugar อื่น ๆ ด้วย covalent bond บนโมเลกุลของ galacturonic acid หมู่ของ carboxyl ที่ตำแหน่ง C-6 อาจมีหมู่ของ methyl มาเกาะ (esterified) หรือว่างอยู่ก็ได้ ซึ่งทำให้โมเลกุลของ pectin เชื่อมต่อกันได้โดยมี calcium ion เป็นตัวกลาง pectin มีสะสมอยู่มากในบริเวณ middle lamella ทำหน้าที่จับยึดเซลล์เข้าด้วยกัน

2. Hemicellulose 30% เป็นกลุ่ม polymer ของคาร์โบไฮเดรต ซึ่งประกอบด้วย chain ของ neutral sugar มากกว่าหนึ่งชนิด ที่พบมากในพืชใบเลี้ยงคู่ ได้แก่ xyloglucan หมายถึง chain ของน้ำตาล glucose ยึดเกาะกันด้วยพันธะ β -1,4 และมีแขนงประกอบด้วยน้ำตาล xylose เป็นระยะ ๆ หรืออาจประกอบด้วยน้ำตาลชนิดอื่น ๆ เช่น galactose ซึ่ง hemicellulose ทำหน้าที่เชื่อมโยง microfibril ของ

cellulose เข้าด้วยกันด้วยพันธะไฮโดรเจนและเชื่อมโยงกับ pectin ด้วย มีสะสมอยู่บริเวณผนังเซลล์ชั้นปฐมภูมิ (primary cell wall)

3. Cellulose 30% เป็น linear polymer ของน้ำตาล glucose ซึ่งแต่ละโมเลกุลยึดเกาะกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic bond) ที่ตำแหน่ง β -1,4 จึงเรียกโมเลกุลของ cellulose ว่า β -1,4 glucan โมเลกุลของ cellulose จับเรียงตัวกันเป็นคู่และยึดเกาะกับคู่อื่น ๆ ประมาณ 40 คู่ ด้วยพันธะไฮโดรเจน (H-bond) รวมเป็นเส้นใยเรียกว่า microfibril และให้ความแข็งแรงแก่ผนังเซลล์ในเซลล์ชั้นปฐมภูมิ (primary cell wall)

การย่อยสลายของผนังเซลล์ที่สัมพันธ์กับการสุกของผล พบว่ามีเอนไซม์หลายชนิดเข้ามาเกี่ยวข้อง เช่น pectin methylesterase (PME) endo-polygalacturonase และ exo-polygalacturonase (PG) β -galactosidase และ β -1,4-glucanase (van Doorn and Stead, 1997) โดยบทบาทของเอนไซม์ PME จะย่อยหมู่ methyl บน pectin polymer ออก จากนั้นเอนไซม์ PG ย่อยสลายโมเลกุลของ pectin โดยย่อยพันธะ α -1,4 ทำให้โมเลกุลถูกย่อยออกเป็นโมเลกุลเล็ก ๆ อย่างรวดเร็ว (Hadfield and Bennett, 1998) เอนไซม์ β -galactosidase ทำหน้าที่ย่อย galactose ซึ่งเป็นองค์ประกอบของโซ่ข้างหรือแขนงของโมเลกุล pectin ทำให้ pectin มีขนาดเล็กลง และละลายน้ำได้ ส่วนเอนไซม์ β -1,4-glucanase จะย่อยพันธะ β -1,4-D-glucosyl bond ที่เกิดขึ้นทั้งในส่วน of xyloglucan และ glucan อื่นๆ ซึ่งพบในส่วน of hemicellulose และ cellulose (จริงแท้, 2549) แต่เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการร่วงได้แก่ PME, PG และ β -1,4-glucanase (van Doorn and Stead, 1997)

จากกระบวนการย่อยสลายของผนังเซลล์ดังที่ได้กล่าวมาพบว่า เอนไซม์หลายชนิดมีบทบาทสำคัญในการควบคุมการย่อยสลายผนังเซลล์ การอธิบายกระบวนการร่วงโดยอาศัยข้อมูลจากเอนไซม์อย่างเดียวจึงอาจไม่เพียงพอ ดังนั้นในปัจจุบันเทคนิคทางชีวโมเลกุลที่ถูกพัฒนาขึ้นทำให้สามารถหาข้อมูลระดับลึกถึงยีนที่ผลิตเอนไซม์นั้น ๆ โดยเทคนิคทางชีวโมเลกุลนี้จะทำให้ทราบลักษณะ หน้าทีของยีน การควบคุมการแสดงออกของยีนที่เป็นยีนที่ควบคุมการร่วงอย่างเฉพาะเจาะจง

การแสดงออกของยีนและเอนไซม์ที่ควบคุมการย่อยสลายผนังเซลล์ Cell wall hydrolases

บริเวณ AZ

เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายผนังเซลล์ถูกจำแนกในการสุกของผลไม้ ได้แก่ pectin esterase (PE), endo-polygalacturonase , exo-polygalacturonase, rhamnogalacturonidase, α -galactosidase and β -galactosidase, hemicellulases, and β -1,4-glucanase (van Doorn and Stead, 1997), glucanases, xyloglucan hydrolases (Hadfield and Bennett, 1998; Roberts *et al.*, 2000) แต่ van Doorn and Stead, (1997) กล่าวว่าเอนไซม์เพียงสามชนิดที่ถูกรายงานในปัจจุบันว่าเกี่ยวข้องกับการร่วงคือ β -1,4-glucanase, PE and PG

β -1,4-glucanase หรือ cellulase หรือ EGase

กิจกรรมของเอนไซม์ β -1,4-glucanase เกี่ยวข้องกับการหลวมของผนังเซลล์ (Sexton and Robert, 1982) และมีเพิ่มมากขึ้นระหว่างการร่วงของใบถั่ว (*Phaseolus vulgaris*) (Lewis and Varner, 1970; Tucker *et al.*, 1988) ใบและดอกยาสูบ (Lieberman *et al.*, 1983) ดอกมะเขือเทศ (Tucker *et al.*, 1984) ใบของ *Sambucus nigra* (Taylor *et al.*, 1994) ใบและดอกพริก (Ferrarese *et al.*, 1995) และดอกส้ม (Burns, 2004) แต่บางรายงานกล่าวว่ากิจกรรมของเอนไซม์นี้เพิ่มขึ้นอย่างมากในระยะแรกก่อนการแยกตัวของเซลล์ และลดลงก่อนการร่วงจะเกิดขึ้นจริงในกรณีของชิ้นส่วนถั่ว (bean explant) และเมื่อให้ออกซินจากภายนอก สามารถหยุดกิจกรรมของเอนไซม์และการร่วงได้ (Sexton, 2002) กิจกรรมของเอนไซม์ β -1,4-glucanase เป็นตัวควบคุมการร่วง เมื่อมีการทดลองให้อิทธิพลจากภายนอกพบว่าทั้งระดับกิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มขึ้นและการเคลื่อนย้ายเอนไซม์ไปสู่ผนังเซลล์มีมากขึ้น มีการสกัดเอนไซม์ ได้ 2 isoforms จากใบถั่วที่กำลังร่วงคือ ไอโซไซม์ที่มี isoelectric point ที่มี pH 4.5 และ 9.5 โดยไอโซไซม์ที่มี isoelectric point ที่ pH 4.5 ถูกพบได้ทั่วไปในทุกเนื้อเยื่อ แต่ไอโซไซม์ที่มี isoelectric point ที่ pH 9.5 เป็นเอนไซม์ที่ควบคุมการร่วงในใบ ซึ่งตรวจวัดด้วยการใช้เทคนิค immunoblotting (Abeles and Leather, 1971; Reid *et al.*, 1974; Kemmerer and Tucker, 1994)

มีการโคลนยีนที่เกี่ยวข้องกับการร่วง (abscission-related gene) ของ *Phaseolus vulgaris* ได้สำเร็จเป็นพืชแรกโดยใช้ cDNA probe ที่ได้จากผลสุกของอโวคาโด (Tucker *et al.*, 1988) ซึ่งสามารถ encode ให้เอนไซม์ β -1,4-glucanase ยีนนี้จะแสดงออกบริเวณ AZ และจะแสดงออกเพิ่มขึ้นถ้ามีการให้อิทธิพลจากภายนอก และการแสดงออกจะลดลงเมื่อมีการให้ IAA จากภายนอก

(Robert *et al.*, 2000) นอกจากนี้การแสดงออกของยีน β -1,4-glucanase มีเพิ่มขึ้นในระหว่างการร่วงของใบ *S. nigra* ดอกมะเขือเทศ ดอกและใบพริก มีการจำแนกยีน β -1,4-glucanase ในมะเขือเทศจำนวน 7 ยีน (*Cell-Cel7*) (Lashbrook *et al.*, 1994; del Campillo and Bennett, 1996; Catala *et al.*, 1997) ในจำนวนนี้พบว่ายีน *Cell*, *Cel2* และ *Cel5* มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นระหว่างการร่วงของก้านดอกย่อย (pedicel) ในมะเขือเทศ (del Campillo and Bennett 1996; Gonzalez-Bosch *et al.*, 1997; Kalaitzis *et al.*, 1999) ทั้ง *Cell* และ *Cel2* มีความเหมือนกันเพียง 55% เมื่อทำการลดการแสดงออกโดยเทคนิค antisense RNA ของยีน *Cell* และ *Cel2* แต่ละตัว พบว่าสามารถลดกิจกรรม (down-regulate) ของเอนไซม์ได้ และเมื่อลดการแสดงออกของยีนยังทำให้แรงดึงในการทำให้เซลล์แยกออกจากกันเพิ่มขึ้น (Lashbrook *et al.*, 1998; Brummell *et al.*, 1999) ในทำนองเดียวกันมีการทดลองในผลสุกมะเขือเทศ พบว่าระหว่างการสุกของผลมีการแสดงออกของยีน *Cell* และ *Cel2* แต่เมื่อทำ antisense RNA ให้กับผลมะเขือเทศพบว่าไม่สามารถยับยั้งหรือชะลอการอ่อนนุ่มในผลได้ แสดงว่ายีน *Cell* และ *Cel2* ที่พบในดอกและผลเป็นคนละยีนกัน และแสดงออกในกระบวนการร่วงเท่านั้น (Brummell *et al.*, 1999)

เมื่อศึกษาบทบาทของ β -1,4-glucanase ที่มีต่อการร่วงของดอกในมะเขือเทศกลายพันธุ์ 2 พันธุ์ คือ มะเขือเทศพันธุ์ *rin* (เป็นมะเขือเทศกลายพันธุ์ที่มีการสุกของผลช้ากว่าพันธุ์ปกติ) และพันธุ์ *Nr* (เป็นมะเขือเทศกลายพันธุ์ที่ไม่ปรากฏอาการสุกของผล ซึ่งเกิดการกลายพันธุ์ที่ระดับ ethylene receptor) การทดลองนี้พบว่าเนื้อเยื่อบริเวณการร่วงของดอกมะเขือเทศพันธุ์ *rin* ที่กลายพันธุ์ มีการชะลอการเพิ่มขึ้นของกิจกรรม β -1,4-glucanase และทำให้ระดับกิจกรรมต่ำกว่ามะเขือเทศ *rin* ปกติ ส่วนมะเขือเทศพันธุ์ *Nr* กลายพันธุ์พบว่าทั้งการเพิ่มและระดับกิจกรรมของกิจกรรม β -1,4-glucanase ลดลงต่ำกว่าในพันธุ์ *rin* กลายพันธุ์ ข้อมูลนี้ยืนยันว่าเอนไซม์ β -1,4-glucanase มีผลต่อการร่วงของดอกมะเขือเทศ (van Doorn and Stead, 1997)

จากรายงานการทดลองหาความสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมของเอนไซม์ที่ควบคุมการร่วงของส่วนต่าง ๆ ของส้ม ได้แก่ ผล ใบ และดอก พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ β -1,4-glucanase และ PG เกี่ยวข้องกับการร่วงของส่วนต่างๆ ของส้ม และเมื่อใดก็ตามที่ตรวจพบว่ามีกิจกรรมของเอนไซม์ทั้งสองในบริเวณ AZ ของผล เมื่อนั้นการใช้แรงดึงเพื่อให้ผลหลุดจากกิ่งจะน้อยลงกว่าปกติ (Burns *et al.*, 1998)

จากข้อมูลทั้งหมดแสดงให้เห็นว่ากระบวนการร่วงถูกควบคุมด้วยยีน *Cel* ซึ่งถอดรหัสให้โปรตีนที่เป็นเอนไซม์ β -1,4-glucanase ยีนนี้เป็นกลุ่มยีน (family) มีการแสดงออกอย่างเฉพาะเจาะจง

ต่อกระบวนการร่วง โดยเอนไซม์นี้จะเข้าไปย่อยสลายพันธะไกลโคซิดิกที่ β -1,4 ของน้ำตาล glucose ซึ่งพบบนโมเลกุลของ hemicellulose และ cellulose ที่ผิวของ microfibril หรือ noncrystalline cellulose ทำให้พอลิเมอร์ของน้ำตาล glucose ถูกย่อยสลายให้มีขนาดเล็กลง นำไปสู่การแยกตัวของผนังเซลล์ชั้นปฐมภูมิ

Pectin methylesterase (PME)

Sexton and Roberts (1982) รายงานว่า PME เป็นเอนไซม์ตัวแรกที่มีการศึกษาและคาดว่า จะเกี่ยวข้องกับการสลายตัวของผนังเซลล์ บทบาทของเอนไซม์ตัวนี้คือ ย่อยหมู่ methyl ออกจาก โมเลกุลของกรด galacturonic ใน polymer ของ pectin ทำให้ PG เข้าทำงานย่อยสลาย pectin ได้ง่ายขึ้น (Fischer and Bennett, 1991) แต่การศึกษาต่อ ๆ มาพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ PME ที่พบไม่ สอดคล้องกับการร่วงของใบหรือส่วนต่าง ๆ ของพืช หรือแม้ให้เอทิลีนเพื่อกระตุ้นการร่วง (Yager, 1960; Ratner *et al.*, 1969; Abeles *et al.*, 1971; Moline *et al.*, 1972; Hänisch Ten Cate *et al.*, 1975) Valdovinos and Muir (1965) และ Osborne (1968) รายงานว่า กิจกรรมของเอนไซม์ PME ลดลง อย่างรวดเร็วก่อนเกิดการร่วง แต่ในการร่วงของดอกยาสูบกิจกรรมของเอนไซม์ PME ไม่มีการ เปลี่ยนแปลง (Moline *et al.*, 1972) การศึกษาการร่วงของก้านผลของพริก Tabasco กลับพบว่า ใน พันธุ์ที่ก้านผลร่วงจากผลได้ง่าย มีปริมาณหมู่ methyl ที่ถูกกำจัดออกจากกรด galacturonic ระหว่าง การสุกของผลมากกว่าในพันธุ์ที่ก้านผลไม่ค่อยร่วงอย่างเห็นได้ชัด และโมเลกุลของเพคตินมีขนาด เล็กกว่า ดังนั้นเอนไซม์ PME จึงมีบทบาทต่อการร่วงในพริก (จริงแท้, 2549) มีการโคลนยีน PME จำนวน 2 ยีนในผลส้ม พบว่ายีนทั้งสองถูกควบคุมด้วยเอทิลีน โดยยีนตัวหนึ่งจะมีการแสดงออก มากระหว่างการร่วงของผล ในขณะที่อีกยีนหนึ่งมีการแสดงออกทั่วไปในทุกเนื้อเยื่อ (Narin *et al.*, 1998)

Polygalacturonase (PG)

ในการสุกของผลไม้พบว่าการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมเอนไซม์ PG ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการ เสื่อมสลายของผนังเซลล์ งานวิจัยต่อมาพบว่า การเพิ่มขึ้นของกิจกรรมเอนไซม์ PG มีความสัมพันธ์ กับการร่วงของพืชหลายชนิด เช่น ใบ ดอกและผลมะเขือเทศ (Tucker *et al.*, 1984) ใบและผลท้อ (peach) (Bonghi *et al.*, 1992) ใบ (*Sambucus nigra*) (Taylor *et al.*, 1993; Coupe *et al.*, 1995) ที่ ได้รับการกระตุ้นด้วยเอทิลีน บางรายงานเสนอว่า กิจกรรมของเอนไซม์ PG เกิดขึ้นพร้อมกับ

เอนไซม์ PME และบางรายงานเสนอว่า กิจกรรมของ PG มีได้มีการเพิ่มขึ้นในขณะเกิดการร่วงของใบ *Prunus* นอกจากนี้ยังมีรายงานการแสดงออกของยีน PG เพิ่มขึ้นระหว่างการร่วงด้วย เช่นเดียวกับการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมเอนไซม์ ทำให้การศึกษาในขั้นต่อมาเป็นการพิสูจน์ว่ายีน PG ที่พบในแต่ละพืชสามารถถอดรหัสให้เอนไซม์ PG ที่นำไปสู่การควบคุมกระบวนการร่วงจริงหรือไม่ ด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล โดยการใช้เทคนิคพืชจำลองพันธุ์ (transgenic plant) ในมะเขือเทศ การถ่ายยีน antisense mRNA ของยีน PG ให้กับมะเขือเทศ พบว่าสามารถควบคุมการแสดงออกของยีน PG ได้แบบเฉพาะเจาะจง โดยควบคุม PG ในผลสุกได้ แต่ไม่สามารถควบคุมแสดงออกของยีน PG ที่เกี่ยวข้องกับกรร่วงได้ แสดงว่า ยีน PG ที่พบสามารถถอดรหัสให้เอนไซม์ PG จริง แต่เอนไซม์ที่ได้เป็นคนละตัว (isozyme) กัน ส่งผลให้เกิดการแสดงออกในพืชที่เนื้อเยื่อต่างกันและกระบวนการต่างกัน (Taylor *et al.*, 1990)

การโคลนยีนในมะเขือเทศพบยีน PG ทั้งหมด 7 ยีน คือ *TAPG1-TAPG7* โดย *TAPG1*, *TAPG2*, *TAPG4* และ *TAPG5* มีการแสดงออกในระหว่างการร่วงของดอก ใบ ที่ได้รับการกระตุ้นด้วยเอทิลีน *TAPG1*, *TAPG2* และ *TAPG4* ยีนทั้ง 3 ยีนนี้มีความเหมือนของระดับนิวคลีโอไทด์ต่อกันอยู่ระหว่าง 80-90% แต่มีความเหมือนกันในระดับกรดอะมิโนของเนื้อเยื่อจากผลเพียง 50% ยีนเหล่านี้ encode ให้ขนาดเอนไซม์ 1.5 kb ในขณะที่ยีน PG ที่พบในผล encode ให้เอนไซม์ขนาด 1.9 kb การศึกษาในลำดับต่อมาคือการดูการแสดงออกของยีนที่เนื้อเยื่อต่าง ๆ และเวลาต่าง ๆ (spatial and temporal) ของยีน *TAPG1* และ *TAPG4* ด้วยเทคนิคการต่อส่วนโปรโมเตอร์ของยีนทั้งสองเข้ากับยีนรายงานผล GUS (β -glucosidase) ด้วยเทคนิคนี้จะทำให้ทราบว่าส่วนของโปรโมเตอร์ที่ต่ออยู่กับยีนรายงานผลมีการแสดงออกหรือไม่ และแสดงออกได้มากน้อยเพียงใดในเนื้อเยื่อส่วนใด จากการศึกษาทดลองครั้งนี้สามารถทราบลักษณะการแสดงออกของยีน *TAPG1* และ *TAPG4* ว่าสามารถมีการแสดงออกได้เมื่อได้รับเอทิลีนและยับยั้งการแสดงออกได้ด้วยออกซิน แต่มีการแสดงออกที่แตกต่างกันดังนี้ *TAPG4* จะแสดงออกในบริเวณ AZ ของก้านดอก ก้านใบ และก้านผล ในช่วงได้รับการกระตุ้นด้วยเอทิลีน 6 ชั่วโมง ขณะที่ *TAPG1* mRNA มีการแสดงออกหลังจากได้รับเอทิลีน 6 ชั่วโมงไปแล้ว แสดงว่าการร่วงของดอกและใบที่ถูกชักนำด้วยเอทิลีนของมะเขือเทศมียีน *TAPG4* เป็นตัวควบคุม จากนั้นยีน *TAPG1* จึงเริ่มแสดงออกเมื่อเวลาผ่านไป (Kalaitzis *et al.*, 1997; Hong and Tucker, 2000)

Arabidopsis thaliana เป็นพืชต้นแบบในการศึกษาการร่วงของดอก เนื่องจากพืชนี้เกิดการร่วงที่ดอกและส่วนของดอกเท่านั้นเนื่องจากพบ AZ เฉพาะที่ส่วนของดอก ไม่สามารถศึกษาการร่วงของใบได้ เนื่องจากพบ AZ เฉพาะที่ส่วนของดอก มีการจำแนกยีน PG ได้ 75 putative gene

และสามารถสกัดยีนที่เกี่ยวข้องกับการร่วง (an abscission-related PG) ชื่อ *PGAZAT* ยีนนี้มีการแสดงออกได้ทั้งในธรรมชาติและการชักนำด้วยเอทิลีน โดยสามารถแสดงออกได้ที่ฐานของก้านชูเกสรตัวผู้ (Gonzalez-Carranza *et al.*, 2002) เมื่อทำการทดลองต่อด้วยการศึกษาในต้นกลายพันธุ์ (mutant) พบว่า สามารถชะลอเวลาที่เกิดการร่วงได้เมื่อเทียบกับพันธุ์ปกติ (wild type) แสดงว่ากิจกรรมของ *PGAZAT* สนับสนุนการร่วงของเนื้อเยื่อ และการทดลองต่อมาพบว่าขณะเกิดการร่วงไม่พบการแสดงออกของ *PGAZAT* แสดงว่าจำเป็นต้องมีสมาชิกของกลุ่มยีน PG ตัวอื่น ๆ เข้ามาควบคุมการร่วง หรือ PG อาจเป็นเพียงหนึ่งในเอนไซม์หลายตัว ๆ ของกลุ่มเอนไซม์ hydrolytic enzyme ที่นำไปสู่กระบวนการย่อยสลายผนังเซลล์

การศึกษาด้วยเทคนิคการเชื่อมต่อก่อนโปรโมเตอร์ของยีน *PGAZAT* เข้ากับยีนรายงานผล GUS นำมาสู่การค้นพบว่า เซลล์ในชั้นบริเวณการร่วง (separation layer) ทุกชั้นเซลล์ไม่จำเป็นต้องตอบสนองต่อสัญญาณร่วม (coordinating signals) ภายใต้อายุเดียวกัน (the same temporal pattern) ส่วนการศึกษาลักษณะนี้ในพืช *Brassica napus* พบว่าบริเวณที่เกิดการร่วงของพืชนี้มีการแสดงออกของยีน PG ที่ถอดรหัสให้เอนไซม์ PG มาย่อยสลายผนังเซลล์บริเวณดังกล่าว (Roberts *et al.*, 2000)

ดังนั้นเอนไซม์ PG มีบทบาทในการย่อยสลาย pectin ของผนังเซลล์เนื้อเยื่อบริเวณการร่วง ยีน PG สามารถถูก up-regulate ได้ด้วยการให้เอทิลีนจากภายนอก และ down-regulate ด้วยการให้ออกซิน ยีน PG ที่พบในปัจจุบัน เป็น family ยีน แต่ละไอโซฟอร์ม (isoform) ควบคุมการร่วงที่ตำแหน่งต่างกันและเวลาต่างกันซึ่งขึ้นกับชนิดของพืช

จากการนำข้อมูลปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการร่วงและความรู้ทางด้านชีวเคมีและชีวโมเลกุลมาใช้ศึกษากระบวนการร่วงของพืช ทำให้สรุปได้ว่า กระบวนการร่วงของพืชในส่วนต่าง ๆ จะเกิดขึ้นบริเวณ AZ ซึ่งถูกสร้างขึ้นตั้งแต่ในช่วงการพัฒนาของพืชหรือสร้างขึ้นได้ภายหลัง ฮอร์โมนพืชสองชนิดที่ควบคุมบริเวณ AZ คือ ออกซินและเอทิลีน โดยถ้าปริมาณของฮอร์โมนทั้งสองนี้อยู่ในภาวะสมดุล จะทำให้เนื้อเยื่อ AZ ไม่ตอบสนองต่อเอทิลีน จึงไม่เกิดการร่วง แต่เมื่อใดที่สมดุลของปริมาณฮอร์โมนทั้งสองเปลี่ยนแปลงไป โดยเฉพาะถ้ามีการลดลงของออกซินและมีการเพิ่มขึ้นของเอทิลีนจะทำให้เนื้อเยื่อบริเวณนั้นเกิดการร่วงในที่สุด สิ่งที่ควบคุมความสมดุลของฮอร์โมนทั้งสองได้แก่ ปัจจัยภายในตัวพืชเอง และสภาพแวดล้อมภายนอก แต่อย่างไรก็ตามกลไกการร่วงในระดับเซลล์ เกิดจากการทำงานร่วมกันของเอนไซม์ในกลุ่ม wall loosening enzymes หรือ cell wall hydrolases ซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงผนังเซลล์บริเวณ AZ และนำไปสู่การร่วง ได้แก่เอนไซม์

β -1,4-glucanase PG และ PME ในปัจจุบันพบว่ามียีน 2 กลุ่มที่มีบทบาทสำคัญในการควบคุมการ
สร้างเอนไซม์ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงผนังเซลล์บริเวณ AZ ได้แก่ ยีน PG และ β -1,4-glucanase
ยีนทั้งคู่ถูกควบคุมด้วยเอทิลีนแบบ up-regulate และออกซินแบบ down-regulate