# วิจารณ์

ช่อดอกกล้วยไม้หลังการเก็บเกี่ยวได้รับเอทิลีนจากภายนอก มีการตอบสนองของแตกต่างกันทั้งด้านระยะเวลาการแสดงอาการ และระดับความรุนแรงของอาการ การตอบสนองของดอกภายในช่อแบ่งออกเป็น 2 ระยะ คือ ระยะแรกดอกตูมและดอกบานแสดงการเสื่อมสภาพที่ตัวดอก เช่น ดอกตูมเปลี่ยนจากสีดอกสีเขียวเป็นสีเหลือง ส่วนดอกบานเริ่มมีอาการดอกคว่ำ ลู่ การปรากฏเส้นเวน และฉ่ำน้ำ ระยะที่สองบริเวณก้านดอกย่อยเริ่มเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง และฉ่ำน้ำทั้งก้าน ทำให้ก้านดอกย่อยหลุดออกจากก้านช่อดอกบริเวณ AZ ซึ่งอยู่ระหว่างก้านดอกย่อยและก้านช่อดอก บางกรณีการตอบสนองของดอกต่อเอทิลีนอาจทำให้ระยะที่สองเกิดก่อนระยะแรก คือดอกร่วงทันทีที่ได้รับเอทิลีน ดังเช่นผลการทดลองที่ 1 ซึ่งแสดงในภาพที่ 3 การร่วงของดอกตูมพันธุ์ปอมปาดัวร์และเยลโลริเวอร์หลังการให้เอทิลีน 24 ชั่วโมง สอดคล้องกับผลการทดลองของจิตรา (2541) ที่พบการร่วงของดอกตูมทันทีหลังการให้เอทิลีน 0.4 $\mu L\ L^{-1}$ เป็นเวลา 24 ชั่วโมงกับช่อดอกกล้วยไม้พันธุ์ปอมปาดัวร์ แต่ความเด่นชัดของระยะเวลาการร่วงของดอกจากงานทดลองนี้ทั้งดอกตูมและดอกบานเริ่มร่วงหลังจากวันที่ 5 ส่วนระดับความรุนแรงของการตอบสนองต่อเอทิลีนของดอกหลังการให้เอทิลีนที่ระดับความเข้มข้น 0.4 $\mu LL^{-1}$ เป็นเวลา 24 ชั่วโมงกับกล้วยไม้ทั้ง 7 พันธุ์พบว่า เอทิลีนทำให้ดอกตูมและดอกบานร่วงมากขึ้น แสดงให้เห็นว่าการให้เอทลีนจากภายนอกที่ระดับความเข้มข้น 0.4 $\mu LL^{-1}$ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สามารถจำแนกพันธุ์กล้วยไม้ออกเป็นกลุ่มต่าง ๆ ตามความไวของเนื้อเยื่อดอกกล้วยไม้ต่อเอทิลีน โดยกลุ่มแรกเป็นกลุ่มที่ทั้งเนื้อเยื่อดอกตูมและดอกบานมีความไวต่อเอทิลีนมาก ได้แก่ กล้วยไม้พันธุ์ลีน่า และวรรณา กลุ่มที่สองเนื้อเยื่อดอกตูมและดอกบานมีความไวต่อเอทิลีนระดับปานกลาง ได้แก่ กล้วยไม้พันธุ์ ปอมปาดัวร์ โซเนีย และเยลโลริเวอร์ กลุ่มที่สามเป็นกลุ่มที่เนื้อเยื่อดอกตูมมีความไวต่อเอทิลีนมากและเนื้อเยื่อดอกบานไม่ไวต่อเอทิลีน ได้แก่ กล้วยไม้พันธุ์ วิลลี่ และมีสทีน การร่วงของดอกบานภายหลังการได้รับเอทิลีนสามารถอธิบายได้จากสมมุติฐานของ Sexton (2002) กล่าวไว้ว่าเนื้อเยื่อที่อ่อนกว่าตอบสนองต่อเอทิลีนได้น้อยกว่า ที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นเพราะบริเวณเนื้อเยื่อที่ยังอ่อนอยู่มีปริมาณโปรตีนตัวรับฮอร์โมนเอทิลีน (ethylene receptor) น้อยเกินไปหรือโปรตีนตัวรับนั้นไม่สามารถทำงานได้ ทำให้ดอกบานซึ่งเป็นเนื้อเยื่อที่แก่มีการสร้างโปรตีนตัวรับเอทิลีนในปริมาณมาก เมื่อได้รับเอทิลีนในปริมาณและเวลาที่พอเหมาะจึงแสดงการตอบสนองโดยมีการร่วงของดอก เช่นเดียวกับ *Pelargonium peltatum*, *P. domesticum*, *P. x hortorum* เมื่อได้รับเอทิลีนจากภายนอกที่ระดับความเข้มข้น 1 $\mu LL^{-1}$ พบการร่วงเฉพาะกลีบดอกตั้งแต่ระยะดอกเริ่มบานถึงบานเต็มที่ ในขณะที่ระยะดอกตูมไม่พบการร่วงของกลีบดอก (Cameron and Reid, 2001) แต่โดยภาพรวมของดอกร่วงดอกกล้วยไม้ที่ได้รับเอทิลีนจะมีการร่วงของดอกตูม

มากกว่าดอกบานทั้งในการร่วงของดอกจากกล้วยไม้ต่างพันธุ์และพันธุ์เดียวกันจึงขัดแย้งกับ Sexton (2002) ที่เสนอว่าเนื้อเยื่อที่อ่อนกว่าตอบสนองต่อเอทิลีนได้น้อยกว่า ทั้งนี้ในการทดลองดอกตูมมีการตอบสนองต่อเอทิลีนมากกว่าดอกบาน ได้มีการพิสูจน์สมมุติฐานหลาย ๆ สมมุติฐานที่เกี่ยวกับการร่วงของดอกตูมและบานที่แตกต่างกัน โดย Bunya-atichart *et al.* (2006) โดยพบว่าการรร่วงของดอกตูมและดอกบานที่แตกต่างกันอาจเกิดจากปริมาณการผลิตเอทิลีนภายในบริเวณ AZ หรือของก้านช่อดอกต่างกัน แต่ในการทดลองพบว่าระหว่างบริเวณ AZ ของดอกตูมและดอกบาน และช่อดอกของดอกตูมและดอกบานต่างมีการผลิตเอทิลีนที่ไม่แตกต่างกันทั้งภายในกล้วยไม้พันธุ์เดียวกันและต่างพันธุ์กันที่มีการร่วงของดอกต่างกัน หรือการที่ดอกบานบางพันธุ์ไม่มีการร่วงของดอกอาจเนื่องมาจากจำนวนดอกตูมภายในช่อดอกต่างกัน เนื่องจากดอกตูมถือเป็นแหล่งที่ใช้อาหาร (sink) และดอกบานถือเป็นแหล่งให้อาหาร (source) หรือระดับน้ำตาลภายในช่อดอกต่างกัน ทำให้เกิดความไม่สมดุลระหว่างการให้และใช้อาหาร จากรายงานการทดลองในพืช *Delphinium genss* พบว่าการสะสมคาร์โบไฮเดรตในดอกช่วยลดความไวต่อเอทิลีนของดอก ทำให้กลีบดอกไม่ร่วง (Ichimura *et al*., 2000) แต่ผลการทดลองกับกล้วยไม้ไม่พบความแตกต่างระหว่างจำนวนดอกตูมและระดับน้ำตาลของช่อดอกจากกล้วยไม้ต่างพันธุ์ทั้งจากพันธุ์ที่มีการร่วงของดอกมากและดอกร่วงน้อย ดังนั้นการร่วงของดอกตูมที่มากกว่าดอกบานจึงไม่สามารถอธิบายได้ด้วยสมมุติฐานดังที่กล่าวมา ยกเว้นความแตกต่างที่เกิดจากพันธุ์ และกลไกบางกลไกที่อยู่ในก้านดอก (pedicel)

เมื่อคัดเลือกกล้วยไม้พันธุ์มีสทินซึ่งมีการร่วงของดอกตูมมากภายหลังการได้รับเอทิลีนให้เป็นตัวแทนของกล้วยไม้ในกลุ่มที่ดอกตูมมีความไวต่อเอทิลีนมาก (most sensitive) และกล้วยไม้พันธุ์เยลโลริเวอร์เป็นตัวแทนของกล้วยไม้กลุ่มที่ดอกตูมมีความไวต่อเอทิลีนน้อย (least sensitive) ความแตกต่างของการร่วงนี้ถูกตั้งสมมุติฐานไว้ที่ความแตกต่างระหว่างพันธุ์ตอบสนองต่อเอทิลีนที่ต่างกัน แต่การตอบสนองของเนื้อเยื่อต่อเอทิลีนต้องทำงานผ่านโปรตีนตัวรับเอทิลีน ดังนั้นความแตกต่างของพันธุ์อาจเกิดจากโปรตีนตัวรับเอทิลีน (ethylene receptor) ที่แตกต่างกัน ได้แก่ความเร็วในการสร้าง หรือปริมาณโปรตีนตัวรับเอทิลีน เมื่อพิจารณาประเด็นความเร็วในการสร้างโปรตีนตัวรับเอทิลีน พบว่าผลของการให้เอทิลีนกระตุ้นให้ดอกตูมกล้วยไม้พันธุ์มีสทีนร่วงมากกว่า 30% หลังจากวันที่ 3 และร่วงมากกว่า 60% ในวันที่ 7 ขณะที่การให้สาร1-MCP ซึ่งเป็นสารยับยั้งการทำงานของเอทิลีน เพียงอย่างเดียว หรือการให้สาร 1-MCP ก่อนการให้เอทิลีน สามารถยับยั้งการร่วงของดอกตูมได้อย่างสมบูรณ์ (ภาพที่ 5 A) แต่ผลของการให้เอทิลีนกับช่อดอกกล้วยไม้พันธุ์เยลโลริเวอร์กระตุ้นให้ดอกตูมเริ่มร่วงเล็กน้อยตั้งแต่วันที่ 3 และร่วงมากกว่า 30 % ตั้งแต่วันที่ 11 ขณะที่การให้สาร 1-MCP เพียงอย่างเดียว หรือการให้สาร 1-MCP ก่อนการให้เอทิลีน ไม่สามารถยับยั้งการร่วงของดอกตูมได้ทั้งหมด (ภาพที่ 7 ดอกตูม) จากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการร่วงของดอกตูม

กล้วยไม้พันธุ์มิสทีนไม่ถูกกระตุ้นด้วยเอทิลีนจากภายใน แต่ถูกกระตุ้นด้วยเอทิลีนจากนอก และถูกยับยั้งการร่วงได้อย่างสมบูรณ์ด้วยสารยับยั้งการทำงานของเอทิลีน ซึ่งเป็นผลมาจากการที่มีโปรตีนตัวรับเอทิลีนพร้อมทำงานอยู่แล้ว ส่วนดอกตูมกล้วยไม้พันธุ์เยลโลริเวอร์ถูกกระตุ้นการร่วงด้วยเอทิลีนจากภายนอก และถูกยับยั้งการร่วงได้บางส่วนจากการให้สาร 1-MCP การร่วงที่เกิดขึ้นภายหลังอาจเกิดจากการทำงานของโปรตีนตัวรับเอทิลีนและเอทิลีนที่ถูกสร้างขึ้นมาใหม่ นอกจากนี้การร่วงของดอกตูมกล้วยไม้พันธุ์เยลโลริเวอร์ที่ได้รับสาร 1-MCP มีการร่วงมากกว่าดอกตูมของช่อดอกที่ไม่ได้รับเอทิลีน แต่ไม่แตกต่างจากช่อดอกที่ได้รับสาร 1-MCP ก่อนได้รับเอทิลีน อาจเนื่องจากสาร 1-MCP ที่ให้กับช่อดอกมีข้อจำกัดด้านระยะเวลาการทำงานในการจับกับโปรตีนตัวรับเอทิลีน (Cameron and Reid, 2001) มากกว่าขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นของสาร 1-MCP ที่ให้ สอดคล้องกับ Porat *et al*. (1995) รายงานว่าการให้สาร 1-MCP ที่ระดับความเข้มข้น 25- 500 nL $L^{-1}$ นาน 6 ชั่วโมง ก่อนการให้เอทิลีนที่ระดับความเข้มข้น 3 μL $L^{-1}$ กับช่อดอก *Phlox paniculata* cv. Rembrandt สามารถลดการร่วงของดอกบานในช่อดอกจาก 100 % ให้เหลือเพียง 20 % สาร 1-MCP สามารถยับยั้งการตอบสนองของเนื้อเยื่อพืชที่มีต่อเอทิลีนได้ประมาณ 12 วัน ภายหลังการให้สาร 1-MCP ครั้งแรก (Sisler and Serek, 1997; Sisler *et al*., 1999) การตอบสนองต่อเอทิลีนในช่อดอกกล้วยไม้พันธุ์เยลโลริเวอร์จึงเกิดขึ้นเนื่องจากโปรตีนตัวรับเอทิลีนที่ถูกสร้างขึ้นมาใหม่ทำงานจับกับเอทิลีนภายในที่ถูกสร้างขึ้นใหม่ได้โดยไม่ถูกขัดขวางจากสาร 1-MCP

เมื่อพิจารณาความแตกต่างที่เกิดจากปริมาณโปรตีนตัวรับเอทิลีนที่มากหรือน้อยต่างกัน อาจกล่าวได้ว่าดอกตูมของกล้วยไม้พันธุ์มีสทีนมีการสร้างโปรตีนตัวรับเอทิลีนที่น้อยกว่าพันธุ์เยลโลริเวอร์ สืบเนื่องจากผลของการให้เอทิลีนจากภายนอก และสารยับยั้งการทำงานของเอทิลีนมีผลต่อการตอบสนองที่เด่นชัด ในขณะที่ดอกตูมของกล้วยไม้พันธุ์เยลโลริเวอร์มีปริมาณโปรตีนตัวรับเอทิลีนมากเกินกว่าที่เอทิลีนและสารยับยั้งจะจับได้หมด จึงไม่สามารถกระตุ้นให้เกิดการร่วงได้สูงสุดรวมทั้งไม่สามารถยับยั้งการร่วงได้ทั้งหมด สอดคล้องกับรายงานของ Klee and Tieman (2002) กล่าวว่ารูปแบบจำลองการตอบสนองต่อเอทิลีนแบบ negative regulation ของโปรตีนตัวรับเอทิลีน จะต้องเพิ่มปริมาณของโปรตีนตัวรับเอทิลีนจึงสามารถลดความไวต่อเอทิลีนได้ หรือ ปริมาณโปรตีนตัวรับเอทิลีนที่มากขึ้นต้องการปริมาณเอทิลีนที่มากขึ้นจึงสามารถกระตุ้นกระบวนการตอบสนองได้ ในทางตรงกันข้ามการเพิ่มขึ้นของการตอบสนองต่อเอทิลีนสามารถทำได้โดยการลดปริมาณโปรตีนตัวรับเอทิลีน นอกจากนี้ Serek *et al*. (2006) กล่าวว่า ความไวต่อเอทิลีนของพืชมีความแตกต่างกันในระดับ species และ cultivars ของพืชในแต่ละสกุล ซึ่งคาดว่าเกิดจากโปรตีนตัวรับเอทิลีนที่แตกต่างกันทั้งทางด้านจำนวน (number) และความเข้ากันได้ (affinity) เช่น ดอกคาร์เนชั่นพันธุ์ Chinera มี

ความไวต่อเอทิลีนลดลงเมื่อเทียบกับพันธุ์ White Sim ซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีความไวต่อเอทิลีนมาก ความไวต่อเอทิลีนที่ลดลงในพันธุ์ Chinera เกิดจากการควบคุมที่ระดับตัวรับเอทิลีน

การตอบสนองของดอกบานต่อเอทิลีนที่แตกต่างกันระหว่างพันธุ์ อธิบายได้ด้วยปริมาณโปรตีนตัวรับเอทิลีนที่แตกต่างกัน จากการทดลองไม่พบการร่วงของดอกบานจากทุกทรีทเมนต์ของช่อดอกกล้วยไม้พันธุ์มีสทีน (ภาพที่ 5 B) ขณะที่ดอกบานจากช่อดอกกล้วยไม้พันธุ์เยลโลริเวอร์แสดงการร่วงเมื่อได้รับการกระตุ้นด้วยเอทิลีนจากภายนอกที่ระดับความเข้มข้น 0.4 $\mu L\ L^{-1}$ ประกอบกับผลการทดลองที่ให้เอทิลีนที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 0.04 0.4 และ 4 $\mu L\ L^{-1}$ กับช่อดอกกล้วยไม้พันธุ์มีสทีน พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของเอทิลีน 4 $\mu L\ L^{-1}$ ทำให้ดอกบานร่วงได้ ผลการทดลองทั้งหมดนี้ยังคงสนับสนุนสมมุติฐานที่กล่าวว่าปริมาณโปรตีนตัวรับเอทิลีนที่มากกว่ามีผลต่อการลดความไวต่อการตอบสนองต่อเอทิลีนในพืช ดอกบานของกล้วยไม้พันธุ์มีสทีนมีปริมาณโปรตีนตัวรับเอทิลีนมากกว่าดอกบานของกล้วยไม้พันธุ์เยลโลริเวอร์ ทำให้ดอกบานของกล้วยไม้พันธุ์มีสทีนไม่ตอบสนองต่อเอทิลีนที่ระดับความเข้มข้น 0.4 $\mu L\ L^{-1}$ ตัวอย่างของการตอบสนองต่อเอทิลีนภายในของพืช *Delphinium* spp. คือ ดอกบานร่วงมากกว่า 50 % ภายหลังการตัดช่อดอก *D.* สายพันธุ์ Magic-Fountain dark-blue มาปักแจกัน 4 วันในน้ำกลั่นและดอกบานร่วงเกือบ 100 % ภายหลังปักแจกัน 6 วัน ซึ่งเมื่อทำการวัดปริมาณเอทิลีนและการแสดงออกของยีนตัวรับเอทิลีน (*D1-ERS1*) พบว่าทั้งอัตราการผลิตเอทิลีนและยีน *D1-ERS1* มีการแสดงออกเพิ่มมากขึ้นเมื่อดอกบานมีการร่วงเพิ่มขึ้น ดังนั้นการเพิ่มขึ้นของยีนตัวรับเอทิลีน *D1-ERS1* และอัตราการผลิตเอทิลีนภายใน เป็นสาเหตุให้เกิดการร่วงของดอกบานของ *Delphinium* (Kuroda *et al*., 2003) นอกจากนี้ผลการทดลองในกุหลาบ โดย Ma *et al*., (2006) รายงานว่ากุหลาบตัดดอกมีกระบวนการบานที่ช้าและกระบวนการบานต้องอาศัยอิทธิพลจากเอทิลีน กุหลาบที่บานแล้วจะมีความไวต่อเอทิลีนมากกว่า นอกจากนี้การตอบสนองของกุหลาบต่อเอทิลีนยังคงเปลี่ยนแปลงไปตามสายพันธุ์ การทดลองตัดดอกกุหลาบสายพันธุ์ Samatha ระยะตูมแย้ม (opened bud) แล้วให้เอทิลีนที่ระดับความเข้มข้น 10 $\mu L\ L^{-1}$ เป็นระยะเวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง ผลของการให้เอทิลีนที่ 72 ชั่วโมง ทำให้ดอกเข้าสู่ระยะการบานได้เร็วกว่าที่ 48 และ 24 ชั่วโมง ที่ 3.5 4.2 และ 5.0 วันตามลำดับ และมียีนตัวรับเอทิลีน *ETR1* และ *ETR3* แสดงออกเพิ่มขึ้นตามจำนวนชั่วโมงที่ได้รับเอทิลีน และลดลงอย่างเด่นชัดเมื่อได้รับสาร 1-MCP การทดลองที่กล่าวมาทั้งสองนี้สนับสนุนสมมติฐานการเพิ่มขึ้นของตัวรับเอทิลีนในพืชต้องการปริมาณเอทิลีนที่มากกว่าจึงจะสามารถตอบสนองต่อเอทิลีนได้อย่างเด่นชัด

จากข้อมูลการทดลองการร่วงของดอกตูมและดอกบานของช่อดอกกล้วยไม้พันธุ์มีสทีนที่แตกต่างกัน การให้เอทิลีนส่งผลต่อการร่วงของดอกตูมสูงสุด แต่ไม่พบการร่วงของดอกบานหลัง

การได้รับเอทิลีนที่ระดับ 0.4 μL $L^{-1}$ อาจเกิดจากปริมาณโปรตีนตัวรับเอทิลีนที่ผลิตขึ้นในกล้วยไม้พันธุ์นี้มีปริมาณเพิ่มขึ้นตามระยะการพัฒนาของดอก (developmental age) โดยระยะดอกตูมมีปริมาณโปรตีนตัวรับเอทิลีนต่ำกว่าระยะดอกบาน ดังเช่นการทดลองของ Sato-Nara *et al*. (1999) ศึกษาการแสดงออกของยีนตัวรับเอทิลีน *Cm-ERS1* และ *Cm-ETR1* ตามระยะการพัฒนาของผลของ muskmelon (*Cucumis melo*) 2 พันธุ์ คือ FuyaA และ Nastu4 ซึ่งพันธุ์ FuyaA มีอายุการขยายขนาดผลให้โตเต็มที่ 35 วัน และจุดที่หยุดการขยายขนาดคือ 49 วัน ส่วนพันธุ์ Nastu4 มีอายุการขยายขนาดผลให้โตเต็มที่ 21 วัน และจุดที่หยุดการขยายขนาดคือ 35 วัน เมื่อศึกษาการแสดงออกของยีนพบว่ายีน *Cm-ETR1* มีการแสดงออกตั้งแต่ผลมีอายุ 1 วัน ทั้งสองสายพันธุ์ และแสดงออกคงที่ตั้งแต่ผล FuyaA มีอายุระหว่าง 7-35 วัน ส่วนพันธุ์ Nastu4 มีอายุผลระหว่าง 7-21 วัน ส่วนยีน *Cm-ERS1* มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นตามอายุการขยายขนาดของผล โดยพันธุ์ FuyaA มีการแสดงออกของยีนเมื่อผลพัฒนาโตเต็มที่ (15 21 และ 35 วัน) และแทบไม่พบการแสดงออกเมื่อผลหยุดการขยายขนาด (49 วัน) ส่วนพันธุ์ Nastu4 มีการแสดงออกของยีน *Cm-ERS1* ลักษณะเดียวกับพันธุ์ FuyaA คือ แสดงออกมากเมื่อผลขยายขนาดเต็มที่และแทบไม่มีการแสดงออกเมื่อผลหยุดการขยายขนาด จากการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าระยะการพัฒนาของผลที่เพิ่มขึ้นมีผลต่อปริมาณโปรตีนตัวรับเอทิลีนที่เพิ่มขึ้น

เมื่อพิจารณาการตอบสนองต่อเอทิลีนของดอกตูมและดอกบานของช่อดอกกล้วยไม้ผ่านกิจกรรมของเอนไซม์กลุ่ม cell wall hydrolases ได้แก่ β-1,4-glucanase PG และ PME ในบริเวณ AZ ของดอกกล้วยไม้พันธุ์มีสทีน (most sensitive) และดอกกล้วยไม้พันธุ์เยลโลริเวอร์ (least sensitive) พบว่ากิจกรรม β- 1,4-glucanase สามารถตรวจพบได้ตลอดเวลา (ภาพที่ 6 A) ในดอกตูมของกล้วยไม้พันธุ์มีสทีน และมีกิจกรรมเพิ่มขึ้นทันทีภายหลังการได้รับเอทิลีน 24 ชั่วโมง และกิจกรรมดังกล่าวเริ่มลดลงเมื่อดอกเข้าสู่ระยะเสื่อมสภาพ (วันที่ 2-3 : ภาพที่ 5 และ 9) ลักษณะการเพิ่มขึ้นของกิจกรรม β-1,4-glucanase ในดอกกล้วยไม้นี้สอดคล้องกับ Sexton (2002) กล่าวว่ากิจกรรมของเอนไซม์นี้เพิ่มขึ้นอย่างสูงในระยะแรกก่อนการแยกตัวของเซลล์ และลดลงก่อนการร่วงจะเกิดขึ้นจริงในกรณีของชิ้นส่วนถั่ว (bean explant) ขณะที่กิจกรรมเอนไซม์ β-1,4-glucanase ของดอกตูมของช่อดอกกล้วยไม้พันธุ์เยลโลริเวอร์ที่ได้รับเอทิลีนไม่มีความแตกต่างทางสถิติของกิจกรรมในช่อดอกที่ไม่ได้รับเอทิลีนตลอดระยะเวลาการทดลอง แต่ดอกตูมของกล้วยไม้พันธุ์เยลโลริเวอร์ยังคงมีการร่วงซึ่งเกิดจากกิจกรรมของเอนไซม์นี้ที่มีมากตั้งแต่เริ่มการทดลอง (ภาพที่ 12 A) และมากกว่ากิจกรรมในดอกตูมของกล้วยไม้พันธุ์มีสทีน กิจกรรมเอนไซม์ β-1,4-glucanase ในดอกตูมของกล้วยไม้ทั้งสองพันธุ์แสดงให้เห็นว่ากิจกรรมของเอนไซม์ β-1,4-glucanase นี้สัมพันธ์กับการร่วงของดอกตูมกล้วยไม้สกุลหวายหรือกล่าวอีกนัยหนึ่งว่า เอนไซม์นี้กระตุ้นให้เกิดกลไกการร่วงในดอกตูมกล้วยไม้พันธุ์ที่มีความไวต่อเอทิลีน

เมื่อพิจารณาการแสดงออกของยีน β- 1,4-glucanase (*Den-Cel*) ที่ได้จากการวัดการสะสมปริมาณ mRNA ด้วยเทคนิค Semiquantitative revers transcriptase (RT-PCR) ในดอกตูมของกล้วยไม้พันธุ์มีสทีนและเยลโลริเวอร์ภายหลังได้รับเอทิลีน พบการสะสม mRNA (mRNA accumulation) ของยีน *Den-Cel* ในดอกตูมของกล้วยไม้พันธุ์มีสทีน และมีรูปแบบการแสดงออกของยีนเป็นไปในทิศทางเดียวกับแนวโน้มของกิจกรรมเอนไซม์ กล่าวคือ ยีนมีการแสดงออกมากภายหลังได้รับเอทิลีนและมีการแสดงออกของยีนในระยะก่อนดอกร่วงมากกว่าระยะดอกร่วง (ภาพที่ 15) ข้อมูลนี้จึงสนับสนุนผลของกิจกรรมเอนไซม์ว่าเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการกระตุ้นให้เกิดการร่วง และเอนไซม์นี้มีลำดับความสำคัญในการเข้าทำงานย่อยสลายผนังเซลล์ชั้นปฐมภูมิในระดับแรก ๆ เมื่อเทียบกับการเข้าทำงานของเอนไซม์ PG (ภาพที่ 10) ต่างจากการร่วงของดอกส้ม (citrus) มีเพียงการแสดงออกของยีนและ เอนไซม์ β-1,4-glucanase เท่านั้นในการกระตุ้นให้เกิดการร่วง (Burns, 2004) การแสดงออกของยีน *Den-Cel* ในดอกกล้วยไม้หวายนี้ไม่ได้เกิดขึ้นเฉพาะในกรณีการกระตุ้นด้วยเอทิลีนเท่านั้น ดอกตูมที่ไม่ได้รับเอทิลีนจากภายนอกยังมีการสะสม mRNA ของยีน *Den-Cel* ด้วย ทำให้มีการแสดงออกของยีนนี้ตลอดเวลา โดยเฉพาะวันแรกก่อนการให้เอทิลีนกับช่อดอก อาจเนื่องจากภาวะเครียดที่สะสมในช่อดอกระหว่างการขนส่ง ร่วมกับบาดแผลที่โคนก้านดอก แต่การแสดงออกที่มากของยีนนี้มิได้ไปกระตุ้นให้เกิดการร่วงในดอกกล้วยไม้ ลักษณะการแสดงออกของยีนที่มากขึ้นเช่นนี้เหมือนกับที่พบการแสดงออกของยีน *D1-ERS1* ดอก *Delphinium* ยีนตัวรับเอทิลีน *D1-ERS1* เริ่มแสดงออกตั้งแต่วันแรกหลังการตัดก้านดอกออกจากต้น Kuroda *et al.*(2003) สรุปว่าการแสดงออกของยีน *D1-ERS1* นี้ถูกกระตุ้นโดยเอทิลีนภายในที่สร้างขึ้นโดยดอกและส่งผลต่อการร่วง ในทางตรงกันข้ามการร่วงของดอกตูมกล้วยไม้มิได้ถูกกระตุ้นด้วยเอทิลีนจากภายใน แต่เอทิลีนจากภายในอาจเป็นตัวกระตุ้นให้มีการแสดงออกของยีน *Den-Cel* ซึ่งพบในดอกตูมของช่อดอกที่ไม่ได้รับเอทิลีน ได้รับสาร 1-MCP เพียงอย่างเดียว หรือ ได้รับสาร 1-MCP ก่อนการได้รับเอทิลีน ประกอบกับการแสดงออกของยีน *Den-Cel* ในดอกตูมของช่อดอกกล้วยไม้พันธุ์เยลโลริเวอร์ที่ได้รับเอทิลีน มีการแสดงออกมากกว่าช่อดอกที่ไม่ได้รับเอทิลีน หรือช่อดอกที่ได้รับสาร 1-MCP เพียงอย่างเดียว หรือ ได้รับสาร 1-MCP ก่อนการได้รับเอทิลีน สรุปได้ว่ามีการแสดงออกของ ยีน *Den-Cel* ตลอดเวลาทั้งในดอกกล้วยไม้พันธุ์ที่มีการตอบสนองต่อเอทิลีนมากและน้อย แต่ภายหลังการให้เอทิลีนดอกตูมของกล้วยไม้พันธุ์ที่มีความไวต่อเอทิลีนมากมีการแสดงออกของยีน *Den-Cel* มาก (ภาพที่ 18)

กิจกรรมของเอนไซม์ β-1,4-glucanase ในดอกบานกล้วยไม้พันธุ์มีสทีนถูกกระตุ้นด้วยเอทิลีนและกิจกรรมลดลงต่ำสุดเมื่อช่อดอกได้รับสาร 1-MCP แต่พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่เพิ่มมากขึ้นในดอกบานนี้ไม่สามารถทำเกิดการร่วงของดอกได้ ดังนั้นกิจกรรมเอนไซม์ β-1,4-glucanase ในดอกบานกล้วยไม้พันธุ์มีสทีนมิได้เป็นตัวการสำคัญที่กระตุ้นให้เกิดร่วง ในขณะที่ดอกบานกล้วยไม้พันธุ์

เยลโลริเวอร์มีการร่วงในระยะท้ายการทดลองเกือบทุกทรีทเมนต์ยกเว้นดอกบานที่ได้รับสาร 1-MCP และกิจกรรมเอนไซม์ β-1,4-glucanase ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุกทรีทเมนต์ แต่มีการตรวจพบกิจกรรมมากตั้งแต่วันที่ 0 และลดลงอย่างรวดเร็วในวันที่ 1 หลังจากนั้นกิจกรรมจะคงที่ตลอดการทดลอง กิจกรรมของเอนไซม์ β-1,4-glucanase ที่ได้รับการชักนำด้วยเอทิลีนจากภายนอกในดอกบานกล้วยไม้พันธุ์เยลโลริเวอร์ที่มีค่ามากในระยะแรกรวมทั้งมีค่ามากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับดอกบานพันธุ์มีสทีน (ภาพที่ 12 B) มีเพียงพอที่สามารถกระตุ้นให้เกิดการร่วงของดอกบาน ดังเช่นการร่วงของดอกตูมพันธุ์เยลโลริเวอร์ที่ถูกชักนำให้มีกิจกรรมเอนไซม์ β-1,4-glucanase เพิ่มมากขึ้นในระยะแรก

ความสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมเอนไซม์ β-1,4-glucanase กับการร่วงที่แตกต่างกันระหว่างดอกตูมและดอกบานพันธุ์มิสทีนอาจเกิดจากสมมุติฐาน 4 ข้อ คือ 1) กิจกรรมเอนไซม์นี้มีอยู่ในเนื้อเยื่อส่วนอื่น ๆ ด้วย ที่ไม่ใช่ส่วนของบริเวณ AZ ดังรายงานของ Goren *et al*. (1973) พบว่าเนื้อเยื่อส่วนบริเวณ AZ ของผลส้มที่ถูกตัดจากต้นยังมีการสร้างเอนไซม์ β-1,4-glucanase แม้ว่าเนื้อเยื่อส่วนนั้นไม่สามารถทำหน้าที่เป็น AZ ได้ รวมทั้งมีการตรวจพบเอนไซม์นี้ทั้งในบริเวณที่เป็นบริเวณ AZ และเนื้อเยื่อปกติ ภายหลังเอนไซม์จากทั้งสองส่วนนี้ถูกเคลื่อนย้ายเข้าไปในบริเวณที่เป็นผนังเซลล์ แต่กิจกรรมของเอนไซม์ β- 1,4-glucanase ในการทดลองนี้ไม่สามารถอธิบายได้ด้วยสมมุติฐานนี้ เนื่องจากเนื้อเยื่อที่นำมาตรวจสอบกิจกรรมเอนไซม์มีทั้งส่วนที่เป็นบริเวณ AZ และส่วนที่ไม่ใช่ AZ ดังนั้นจึงไม่สามารถพิสูจน์ได้ว่า กิจกรรมที่พบมาจากส่วนของบริเวณ AZ เพียงอย่างเดียว 2) กิจกรรมที่แตกต่างกัน ซึ่งกิจกรรมเอนไซม์ที่ตรวจพบในเนื้อเยื่อของดอกตูมและดอกบานพันธุ์มิสทีนที่ได้รับเอทิลีนมีกิจกรรมใกล้เคียงกันคือ ประมาณ 0.4 umole $min^{-1}$ mg $protein^{-1}$ ยกเว้นในดอกตูมภายหลังการให้เอทิลีน 1 และ 2 วัน ที่มีกิจกรรมเอนไซม์ 0.6 umole $min^{-1}$ mg $protein^{-1}$ ซึ่งกิจกรรมที่มากในดอกตูมนี้สามารถกระตุ้นให้เกิดการร่วงได้ แต่กิจกรรมในดอกบานมากไม่เพียงพอที่สามารถกระตุ้นการร่วงของดอกบาน 3) ขาดองค์ประกอบที่จำเป็นบางอย่างในกลไกการร่วงบริเวณ AZ จึงทำให้กลไกการร่วงไม่สามารถเกิดขึ้นได้ จากแผนภาพจุดสมดุลของสารควบคุมการเจริญเติบโตบริเวณการร่วง (Taylor and Whitelaw, 2001; Sexton, 2002) กล่าวว่าการร่วงจะเกิดได้เมื่อเนื้อเยื่อบริเวณ AZ มีความไวต่อเอทิลีนหรือกล่าวอีกนัยหนึ่งคือ เกิดความไม่สมดุลระหว่างปริมาณออกซินและเอทิลีน โดยในบริเวณดังกล่าวมีปริมาณของเอทิลีนมากกว่า ดังนั้นการที่ดอกบานของกล้วยไม้พันธุ์มีสทีนไม่ร่วงเมื่อได้รับเอทิลีนจากภายนอกและแม้ว่าจะมีกิจกรรมของเอนไซม์ β-1,4-glucanase เพิ่มขึ้นนั้นอาจเป็นผลเนื่องจากการที่ปริมาณออกซินภายในบริเวณ AZ ยังคงสามารถรักษาระดับความสมดุลกับเอทิลีนที่ให้จากภายนอกได้ จึงทำให้กลไกการร่วงไม่เกิดขึ้น สอดคล้องกับการทดลองของกาญจนา (2550) ที่กล่าวว่าการให้สารยับยั้งการเคลื่อนย้ายออกซิน

(2,3,5-triiodobenzoic acid; TIBA) ร่วมกับการให้เอทิลีนที่ความเข้มข้น 0.4 μL $L^{-1}$ และไม่ให้เอทิลีนจากภายนอกกับช่อดอกกล้วยไม้พันธุ์มีสทีน พบว่าดอกบานของกล้วยไม้ดังกล่าวมีการร่วงใกล้เคียงกัน รวมทั้งเมื่อวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ β-1,4-glucanase พบว่ากิจกรรมดังกล่าวมีค่าใกล้เคียงกันด้วย แสดงให้เห็นว่าออกซินมีบทบาทควบคุมการร่วงของดอกบานพันธุ์มีสทีน และ 4) ผนังเซลล์ของเซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงเมื่อพืชมีการพัฒนา (development) Huberman and Goren (1979) รายงานว่า ในกรณีของส้มไม่พบการร่วงของผลในระยะแก่ เพราะบริเวณ AZ ของก้านผลส้ม (pedicel) แก่มีการเปลี่ยนแปลงของผนังเซลล์หนาขึ้นในบริเวณนี้ทำให้กลุ่มเอนไซม์ hydrolase ต่าง ๆ ไม่สามารถสัมผัสกับเนื้อเยื่อได้นานพอที่จะทำให้เกิดการร่วง ประกอบคำอธิบายของ Sexton (2002) เกี่ยวกับการสูญเสียความสามารถในการร่วงของบริเวณ AZ เกิดขึ้นเนื่องจากสองสมมุติฐานคือ 1) พืชนั้น ๆ อาจขาดตัวการสำคัญในกระบวนการตอบสนองได้แก่ โปรตีนตัวรับฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการร่วง และ 2) กระบวนการตอบสนองของพืชยังคงเกิดขึ้นปกติ แต่ผนังเซลล์บริเวณ AZ มีการเปลี่ยนแปลงโดยสารบางอย่างเช่น lignin หรือ suberin ทำให้ผนังเซลล์ดังกล่าวมีความต้านทานต่อการเข้าทำงานของเอนไซม์กลุ่ม cell wall hydrolases สำหรับการทดลองเรื่องการร่วงของดอกกล้วยไม้พันธุ์มีสทีนนี้สมมุติฐานข้อที่หนึ่งไม่สามารถใช้อธิบายการไม่ร่วงของดอก เพราะจากการทดลองเพิ่มระดับความเข้มข้นเอทิลีน ดอกบานยังร่วงได้ แสดงว่ายังคงมีโปรตีนตัวรับฮอร์โมน (เอทิลีน) ทำงานอยู่ ดังนั้นการร่วงของดอกบานจึงใช้สมมุติฐานข้อ 2 เรื่องการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างผนังเซลล์บริเวณ AZ ดังเช่นการร่วงของผลส้ม ดังนั้นจากสมมุติฐานทั้งสี่ข้อนี้ สมมุติฐานที่ 2 3 และ 4 ที่มีเหตุผลพอเพียงที่สามารถคำอธิบายความแตกต่างของการร่วงที่ต่างกันของดอกตูมและดอกบานผ่านกิจกรรมของเอนไซม์ β-1,4-glucanase ที่ต่างกัน

กิจกรรมของเอนไซม์ PG ทำหน้าที่ย่อยสลายพันธะ α-1,4 ของ สารตั้งต้น pectin ซึ่งสะสมมากบริเวณ middle lamella ของเซลล์ ที่ทำหน้าจับยึดเซลล์สองเซลล์เข้าด้วยกัน สารตั้งต้นดังกล่าวเมื่อถูกย่อยสลายจึงเกิดการแยกของเซลล์ โดยทั่วไปการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมเอนไซม์ PG จะเกิดขึ้นพร้อมกับการลดลงของแรงดึงภายในเซลล์ในเนื้อเยื่อ AZ (Roberts *et al*., 2000) การร่วงของใบดอกหรือผล ในพืชหลายชนิดมีกิจกรรมเอนไซม์ PG เพิ่มขึ้น ดังเช่นที่กล่าวไว้ในส่วนของตรวจเอกสาร ผลการทดลองของ Awad and Young (1979) พบว่ากิจกรรมเอนไซม์ PG เพิ่มขึ้นในช่วงการอ่อนนุ่มของผลอะโวกาโด (*Persea americana* Mill cv. Fuerte) ระยะ climacteric และกิจกรรมดังกล่าวเพิ่มขึ้นเป็น 3 เท่าเมื่อผลเข้าสู่ระยะสุก (postclimacteric) ลักษณะการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมเอนไซม์ PG อย่างต่อเนื่องนี้ยังพบในผลท้อ (Brummell *et al*., 2004) ซึ่งกิจกรรมเอนไซม์ endo-PG มีการเพิ่มขึ้นในผลท้อระยะ mid ripe และเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องโดยเพิ่มขึ้นเป็น 4 และ 5 เท่าเมื่อผลเข้าสู่ระยะ full ripe และ over ripe ตามลำดับ นอกจากนี้ Imsabai (2004) ยังรายงานว่ามีการเพิ่มขึ้น

ของกิจกรรมเอนไซม์ PG ทั้งในผลกล้วยหอมและกล้วยน้ำว้าบริเวณก้านขั้วผลโดยมีการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมอย่างต่อเนื่องตามการเปลี่ยนสีของเปลือกผล ซึ่งกล้วยหอมมีการร่วงของผล แต่กล้วยน้ำว้าไม่พบการร่วงของผล เมื่อพิจารณากิจกรรมเอนไซม์ PG ของดอกตูมพันธุ์มิสทีนพบว่า กิจกรรมเอนไซม์ PG ถูกกระตุ้นให้เพิ่มมากขึ้นด้วยเอทิลีนโดยมีการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมอย่างต่อเนื่องหลังจากได้รับเอทิลีน 4 วันซึ่งเป็นวันที่ดอกตูมเริ่มร่วง จนถึงวันที่ 6 ซึ่งเป็นวันที่ดอกตูมร่วงมากที่สุด และเมื่อให้สาร 1-MCP กับช่อดอกสามารถลดกิจกรรม PG ได้ (ภาพที่ 5 และ 10 ตามลำดับ) ลักษณะของเนื้อเยื่อบริเวณ AZ ก่อนการร่วงมีลักษณะ บวม ฉ่ำน้ำ แสดงถึงความอ่อนนุ่มของเนื้อเยื่อ เช่นเดียวกับเนื้อเยื่อบริเวณ AZ ของดอกตูมพันธุ์เยลโลริเวอร์ที่มีกิจกรรมเอนไซม์ PG มากตั้งแต่เริ่มการทดลองซึ่งกิจกรรมดังกล่าวมีค่าใกล้เคียงกับกิจกรรมเอนไซม์ PG บริเวณ AZ ของดอกตูมพันธุ์มิสทีนที่วิเคราะห์ได้ในวันที่ 4 ซึ่งเป็นวันที่ดอกเริ่มร่วง และอาการเสื่อมสภาพก่อนการร่วงไปในทิศทางเดียวกับดอกตูมพันธุ์มิสทิน ดังนั้นกิจกรรมเอนไซม์ PG จึงมีความสำคัญในการกระตุ้นให้เกิดการร่วงของดอกตูมทั้งสองพันธุ์

บริเวณ AZ ของดอกบานพันธุ์มิสทีนที่ได้รับสาร 1-MCP มีกิจกรรมเอนไซม์ PG มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกิจกรรมในช่อดอกที่ได้รับและไม่ได้รับเอทิลีน (ภาพที่ 10 B) กิจกรรมดังกล่าวไม่สัมพันธ์กับการร่วงของดอก กล่าวคือไม่พบการร่วงของดอกแม้ว่าระดับกิจกรรม PG มากเท่าในดอกตูม ลักษณะการตอบสนองของพืชที่มีการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมเอนไซม์ที่มีเอทิลีนเป็นตัวกระตุ้นภายหลังการให้ 1-MCP มีรายงานในการทดลองของ Ma *et al.* (2006) กรณีการแสดงออกของยีน *Rh-ACO1* และ *Rh-ACS3* ในระดับใกล้เคียงกันระหว่างดอกกุหลาบระยะตูมแย้มที่ได้รับเอทิลีนหรือที่ได้รับสาร 1-MCP ผู้ทำการทดลองแสดงความคิดเห็นว่า อาจเกิดจากผลสะท้อนกลับของการสร้างเอทิลีนที่ต่างไปจากเดิมของยีน *ACS* และ *ACO* แต่กรณีของดอกกล้วยไม้ไม่สามารถอธิบายได้เช่นนี้ เนื่องจากเอนไซม์ PG ไม่อยู่ในวิถีการสังเคราะห์เอทิลีน ดังนั้นการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ PG จึงอาจเป็นผลทางอ้อมจากการควบคุมของเอทิลีนที่ดอกได้รับในขณะนั้น ขณะที่ดอกบานพันธุ์เยลโลริเวอร์มีกิจกรรมไม่แตกต่างกันในทุกทรีทเมนต์ (ภาพที่ 13 B) แต่ดอกบานที่ได้รับเอทิลีนมีการร่วงของดอกมากกว่าทรีทเมนต์อื่น ๆ ดังนั้นกิจกรรมของเอนไซม์ PG ในดอกบานจึงไม่น่าเป็นเอนไซม์ที่ควบคุมการร่วง จากลักษณะของความสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมเอนไซม์ PG และการร่วงที่แตกต่างของดอกตูมและดอกบานพันธุ์มิสทีน กล่าวได้ว่ากิจกรรมเอนไซม์ PG มีส่วนสนับสนุนเฉพาะการร่วงของดอกตูม ส่วนดอกบานที่ไม่ร่วงสามารถใช้คำอธิบายได้เช่นเดียวกับในกรณีของเอนไซม์ β-1,4-glucanase คือ ระดับกิจกรรมที่แตกต่างกัน ความสมดุลของปริมาณออกซินและเอทิลีนบริเวณ AZ และโครงสร้างของเนื้อเยื่อบริเวณ AZ ที่เปลี่ยนแปลงไปอาจมีผลทำให้ดอกบานไม่ร่วง

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างการร่วงและกิจกรรมเอนไซม์ PME ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ตัดหมู่ methyl บน pectin polymer ออกก่อนที่เอนไซม์ PG เข้าทำงาน พบว่าไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการร่วงและกิจกรรมของดอกกล้วยไม้ทั้งสองพันธุ์ การให้เอทิลีนจากภายนอก เอทิลีนจากภายใน หรือการให้สาร 1-MCP กับช่อดอกกล้วยไม้ทั้งสองพันธุ์ไม่มีผลต่อกิจกรรมเอนไซม์ PME ในแต่ละวันที่บริเวณ AZ ของทั้งดอกตูมและดอกบาน สอดคล้องกับ Sexton (1982) รายงานว่าเอนไซม์ PME ไม่มีส่วนสัมพันธ์กับการร่วง และ Imsabai (2004) รายงานว่ากิจกรรมเอนไซม์ PME ในส่วนของก้านขั้วผลของกล้วยหอมทองไม่มีการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของกิจกรรมตลอดระยะเวลาการเปลี่ยนสีผิวของผลแต่ยังคงมีการหลุดร่วงของผล ขณะที่มีการลดลงของกิจกรรมเอนไซม์ PME ของขั้วผลในกล้วยน้ำว้าตลอดระยะการเปลี่ยนสีผิวของผลแต่ผลไม่มีการร่วง เมื่อพิจารณาระดับกิจกรรมเอนไซม์ PME ที่แตกต่างกันระหว่างดอกตูมพันธุ์มีสทีนและเยลโลริเวอร์ที่มีระดับกิจกรรมต่างกันประมาณ 5 เท่า และแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงระดับกิจกรรมเอนไซม์ PME ของเนื้อเยื่อบริเวณ AZ ดอกตูมพันธุ์มีสทีนภายหลังการได้รับเอทิลีนสอดคล้องกับแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์ PG ในเนื้อเยื่อดังกล่าว ซึ่งอาจกล่าวได้ว่ากิจกรรมเอนไซม์ PME บริเวณ AZ ของดอกตูมพันธุ์มีสทีนมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ pectin ให้อยู่ในรูปองค์ประกอบ demethylated polygalacturonic acid ที่พร้อมให้เอนไซม์ PG เข้าทำงานมากกว่าในดอกตูมพันธุ์เยลโลริเวอร์

การร่วงของดอกกล้วยไม้สกุลหวายที่แตกต่างกันดังผลการทดลองที่กล่าวมา เกิดจากระดับความเข้มข้นของเอทิลีนที่ได้รับจากภายนอก ซึ่งขึ้นอยู่กับพันธุ์ (cultivar) และวัยของดอกในช่อดอก ซึ่งจากผลการทดลองความสัมพันธ์ระหว่างการร่วงของดอกตูมและกิจกรรมเอนไซม์กลุ่ม cell wall hydrolase พบว่าเอทิลีนจากภายนอกทำให้เนื้อเยื่อบริเวณ AZ ของดอกตูมของกล้วยไม้มีความไวต่อเอทิลีนเพิ่มขึ้น และเอทิลีนดังกล่าวส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมเอนไซม์กลุ่ม cell wall hydrolases เพื่อการย่อยสลายผนังเซลล์บริเวณเนื้อเยื่อ AZ ซึ่งนำไปสู่การแยกตัวของเซลล์จนก่อให้เกิดการร่วง แต่บทบาทและลำดับการเข้าทำงานของเอนไซม์แต่ละชนิดในเนื้อเยื่อ AZ ของดอกตูมในกล้วยไม้ทั้งสองพันธุ์แตกต่างกัน ในกรณีของกล้วยไม้พันธุ์มีสทีนเริ่มจากการที่เอนไซม์ PME มีการทำงานตัดหมู่ methyl บนโครงสร้างของ pectin polymer ที่อยู่บริเวณผนังเซลล์ชั้นปฐมภูมิและ middle lamella ตามปกติในภาวะที่ช่อดอกไม่ได้รับเอทิลีน เมื่อช่อดอกได้รับเอทิลีนจากภายนอก เอทิลีนดังกล่าวส่งผลให้มีการแสดงออกของยีน β-1,4-glucanase มากขึ้นและมีการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมเอนไซม์ β-1,4-glucanase ทันที ซึ่งการเข้าทำงานของเอนไซม์ β-1,4-glucanase นี้ส่งผลให้โครงสร้างของผนังเซลล์ชั้นปฐมภูมิที่มี cellulose และ hemicellulose เป็นองค์ประกอบเกิดอ่อนตัวลง จากนั้นกิจกรรมจะลดลง เมื่อเริ่มมีการร่วงของดอกจะพบการเพิ่มขึ้นของกิจกรรม β-1,4-glucanase อีกครั้งพร้อมกับการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมเอนไซม์ PME และ PG ซึ่งการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมทั้งสามนี้นำไปสู่การย่อย

สลายโครงสร้างของผนังเซลล์บริเวณ midle lamella ทำให้เกิดรอยแยกของเซลล์ นำไปสู่การร่วงในที่สุดส่วนร่วงของดอกตูมกล้วยพันธุ์เยลโลริเวอร์นั้นเริ่มจากการที่เอนไซม์ทั้งสามชนิดนั้นมีการทำงานอย่างต่อเนื่องตามปกติในเนื้อเยื่อของดอกกล้วยไม้พันธุ์นี้ที่ไม่ได้รับเอทิลีน แต่เมื่อช่อดอกได้รับเอทิลีนจากภายนอก เอทิลีนกระตุ้นให้มีการแสดงออกของยีน β-1,4-glucanase รวมทั้งมีการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมเอนไซม์ β-1,4-glucanase และ PG เพียงเล็กน้อยในช่วงดอกเสื่อมสภาพ ซึ่งผลของการทำงานของเอนไซม์ทั้งสามชนิดนี้ทำให้เกิดการแยกของเซลล์บริเวณ AZ ในวันที่ 6 ซึ่งเป็นวันที่ดอกตูมกล้วยไม้พันธุ์เยลโลริเวอร์เริ่มมีการร่วง สอดคล้องกับ van Doorn and Stead (1997) รายงานว่าจากหลักฐานการพิสูจน์ทางสรีรวิทยา พบว่าระหว่างย่อยสลายผนังเซลล์ในกระบวนการสุกของผลมีการเพิ่มขึ้นทั้งกิจกรรมเอนไซม์ β-1,4-glucanase และ PG อย่างเด่นชัด ส่วนกิจกรรมของเอนไซม์อื่น ๆ อาจเข้ามามีบทบาทร่วม ได้แก่ PME แต่ในกระบวนการร่วงยังไม่มีข้อมูลที่แน่ชัด ซึ่ง Burns *et al*. (1998) รายงานว่ากิจกรรมของเอนไซม์ PG จะเกิดขึ้นพร้อมกับกิจกรรมเอนไซม์ β-1,4-glucanase ก่อนการร่วงของใบส้ม

จากผลการทดลองบทบาทของ cell wall hydrolases ที่มีผลต่อการร่วงของดอกตูมและไม่ร่วงของดอกบานในกล้วยไม้พันธุ์มสทีนที่ได้รับเอทิลีน สามารถเสนอแบบจำลองได้ดังนี้ คือ ช่อดอกกล้วยไม้ที่ไม่ได้รับเอทิลีนจากภายนอก (control) พบว่ากิจกรรมเอนไซม์ β- 1,4-glucanase และ PG มีน้อย ขณะที่กิจกรรมเอนไซม์ PME มีมากในเนื้อเยื่อ AZ ของดอกตูม แสดงว่าการทำงานของกิจกรรมเอนไซม์ PME เพียงอย่างเดียวในเนื้อเยื่อ AZ ไม่สามารถชักนำให้เกิดการร่วงของดอกตูมได้ (ภาพผนวกที่ 1A) เมื่อมีการให้เอทิลีนจากภายนอก จึงกระตุ้นให้มีการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมเอนไซม์ β-1,4-glucanase และ PG ขณะที่กิจกรรมเอนไซม์ PME ยังคงมีมากเช่นเดิม ผลจากการทำงานของเอนไซม์ทั้งสามชนิดในบริเวณ AZ ของดอกตูมทำให้เกิดการแยกตัวของเซลล์บริเวณดังกล่าวซึ่งนำไปสู่การร่วงของดอกตูม (ภาพผนวกที่ 1B) ในกรณีที่ไม่เกิดการร่วงของดอกบานสามารถเสนอแบบจำลองได้ดังนี้ ช่อดอกกล้วยไม้ที่ไม่ได้รับเอทิลีน พบกิจกรรมของเอนไซม์ β-1,4-glucanase และ PG มีน้อย ขณะที่กิจกรรมเอนไซม์ PME มีมากในเนื้อเยื่อ AZ ของดอกบาน และไม่พบการร่วงของดอกบาน (ภาพผนวกที่ 2A) แต่เมื่อช่อดอกกล้วยไม้ได้รับเอทิลีน เอทิลีนดังกล่าวไม่สามารถเพิ่มกิจกรรมเอนไซม์ β-1,4-glucanase และ PG ให้เพิ่มมากขึ้น รวมทั้งกิจกรรมเอนไซม์ PME ยังคงไม่เปลี่ยนแปลง ผลจากการทำงานของเอนไซม์ทั้งสามชนิดในเนื้อเยื่อ AZ ของดอกบานนั้นไม่เพียงพอต่อการทำให้เกิดการย่อยสลายผนังเซลล์บริเวณ AZ ได้ จึงทำให้ดอกบานไม่ร่วง (ภาพผนวกที่ 2B) จากรูปแบบการจำลองดังกล่าว ยืนยันว่าทั้งเอนไซม์ β-1,4-glucanase และ PG มีบทบาทต่อการร่วงทั้งในดอกตูมและดอกบานของกล้วยไม้พันธุ์มสทีน ส่วนที่ดอกบานไม่ตอบสนองต่อเอทิลีนนั้น อาจมีสาเหตุจาก 1) เนื้อเยื่อ AZ ของดอกบานมีการสังเคราะห์โปรตีนตัวรับเอทิลีนมากกว่าเนื้อเยื่อ AZ ของดอกตูม สืบเนื่องจากผลของการ

ทดลองที่พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอทิลีนเป็น 4 μL $L^{-1}$ ทำให้ดอกบานร่วงได้ 2) เนื้อเยื่อ AZ ของดอกบานมีออกซินมากทำให้เนื้อเยื่อดังกล่าวมีความไวต่อเอทิลีนต่ำ จากรายงานการทดลองของ กาญจนา, (2550) พบว่าออกซินบริเวณ AZ ที่ถูกส่งมาจากตัวดอกทำให้เนื้อเยื่อ AZ บริเวณก้านดอกย่อยไม่ตอบสนองต่อเอทิลีนจากภายนอก

เมื่อพิจารณาการแสดงออกของยีน β-1,4-glucanase (*Den-Cel*) ในการทดลองครั้งนี้ทำให้ข้อมูลของลำดับการเข้าทำงานของเอนไซม์ β-1,4-glucanase มีความแม่นยำมากขึ้น แต่การทดลองครั้งนี้ไม่สามารถยืนยันลำดับการเข้าทำงานของเอนไซม์ PG และ PME ดังที่เสนอในรูปแบบจำลองการร่วง เนื่องจากไม่สามารถโคลนยีน PG ในเนื้อเยื่อของดอกกล้วยไม้ ดังนั้นเพื่อให้การอธิบายกลไกการร่วงเป็นไปอย่างสมบูรณ์ ควรมีการทดลองเกี่ยวกับการแสดงออกของยีน *PG* และ PME จึงจะสามารถอธิบายลำดับและกลไกการทำงานของเอนไซม์ cell wall hydrolases ในกระบวนการร่วงของดอกได้ดียิ่งขึ้น ประกอบกับควรมีการทดลองเกี่ยวกับยีนตัวรับเอทิลีน (responsive gene หรือ receptor gene) เพื่อสนับสนุนข้อมูลจากการทดลองที่มีอยู่เดิมให้มีความชัดเจนมากขึ้น

# สรุป

การศึกษาบทบาทของ cell wall hydrolases และการแสดงออกของยีนต่อการร่วงของดอกตูมกล้วยไม้สกุลหวายที่ตอบสนองต่อเอทิลีน สามารถสรุปผลดังต่อไปนี้

1. ช่อดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ วรรณา ลีน่า มีสทีน วิลลี่ ปอมปาดัวร์ โซเนีย และเยลโลริเวอร์ ที่ได้รับเอทิลีนที่ระดับความเข้มข้น 0.4 $\mu L\ L^{-1}$ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีการตอบสนองต่อเอทิลีนโดยแสดงการร่วงของดอกแตกต่างกันขึ้นกับความไวของเนื้อเยื่อบริเวณ AZ ที่มีต่อเอทิลีน สามารถจำแนกพันธุ์กล้วยไม้ออกเป็นกลุ่มต่าง ๆ ตามความไวของเนื้อเยื่อบริเวณ AZ ของดอกต่อเอทิลีน โดยกลุ่มแรกเป็นกลุ่มที่ทั้งเนื้อเยื่อ AZ ของดอกตูมและดอกบานมีความไวต่อเอทิลีนมาก ได้แก่ กล้วยไม้พันธุ์ลีน่า และวรรณา ทำให้มีเปอร์เซ็นต์การร่วงทั้งดอกตูมและดอกบานมาก กลุ่มที่สองเนื้อเยื่อ AZ ของดอกตูมและดอกบานมีความไวต่อเอทิลีนระดับปานกลาง ได้แก่ กล้วยไม้พันธุ์ปอมปาดัวร์ โซเนีย และเยลโลริเวอร์ มีเปอร์เซ็นต์การร่วงของดอกตูมและดอกบานปานกลาง และกลุ่มที่สามเป็นกลุ่มที่เนื้อเยื่อ AZ ของดอกตูมมีความไวต่อเอทิลีนมากและเนื้อเยื่อ AZ ของดอกบานไม่ไวต่อเอทิลีน ได้แก่กล้วยไม้พันธุ์ วิลลี่ และมีสทีน ทำให้พบการร่วงของดอกตูมมากขณะที่ดอกบานไม่ร่วง

2. ดอกตูมของกล้วยไม้หวายพันธุ์มีสทีนมีความไวต่อเอทิลีนแบบ most sensitive จึงมีการร่วงมากกว่าดอกตูมของกล้วยไม้หวายพันธุ์เยลโลริเวอร์ซึ่งมีความไวต่อเอทิลีนแบบ least sensitive การให้สาร 1-MCP ที่ความเข้มข้น 500 $nL\ L^{-1}$ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง กับช่อดอกกล้วยไม้หวายพันธุ์มีสทีน หรือ การให้สาร 1-MCP ก่อนการให้เอทิลีน สามารถยับยั้งการร่วงของดอกตูมของกล้วยไม้หวายพันธุ์มีสทีนได้อย่างสมบูรณ์ ส่วนการให้สาร 1-MCP หรือการให้สาร 1-MCP ก่อนการให้เอทิลีนไม่สามารถยับยั้งการร่วงของดอกตูมกล้วยไม้พันธุ์เยลโลริเวอร์ได้อย่างสมบูรณ์

3. เอทิลีนจากภายนอกกระตุ้นให้มีกิจกรรมเอนไซม์ β-1,4-glucanase เพิ่มมากขึ้นในเนื้อเยื่อ AZ ทั้งก่อนและระหว่างการร่วง ส่วนกิจกรรมเอนไซม์ PG ในเนื้อเยื่อ AZ เพิ่มมากขึ้นก่อนและระหว่างการร่วงของดอกตูมของกล้วยไม้พันธุ์มีสทีน ขณะที่เอนไซม์ PME มีมากในเนื้อเยื่อ AZ ของดอกตูมตลอดระยะเวลาการทดลอง แต่เมื่อให้สาร 1-MCP กับช่อดอก สามารถลดกิจกรรมเอนไซม์ β-1,4-glucanase และ PG แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์ PME และไม่พบการร่วงของดอกตูม ดังนั้นการร่วงของดอกตูมกล้วยไม้พันธุ์มีสทีนจึงสัมพันธ์กับกิจกรรมของเอนไซม์ β-1,4-glucanase และ PG สำหรับดอกบานพบว่ากิจกรรมเอนไซม์ β-1,4-glucanase และ

PG ในเนื้อเยื่อ AZ ของดอกบานมีการเพิ่มขึ้นหลังได้รับเอทิลีน และลดลงเมื่อได้รับสาร 1-MCP ส่วนกิจกรรมเอนไซม์ PME ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อได้รับเอทิลีนหรือสาร 1-MCP ประกอบกับการให้เอทิลีนหรือสาร 1-MCP ไม่พบการร่วงของดอกบาน ดังนั้นกิจกรรมเอนไซม์ทั้งสามชนิดไม่สัมพันธ์กับการร่วงของดอกบานกล้วยไม้พันธุ์มีสทีน

4. เอทิลีนจากภายนอกไม่สามารถกระตุ้นให้มีกิจกรรมเอนไซม์ β-1,4-glucanase PG และ PME เพิ่มขึ้นในกล้วยไม้พันธุ์เยลโลริเวอร์ ทั้งในดอกตูมและดอกบาน และการให้สาร 1-MCP กับช่อดอกไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ทั้งสามชนิด แต่กิจกรรมที่มีมากในเนื้อเยื่อ AZ ตั้งแต่เริ่มทำการทดลองทำให้เกิดการร่วงได้ทั้งในดอกตูมและดอกบาน

5. การให้เอทิลีนจากภายนอกแก่กล้วยไม้พันธุ์มีสทีนกระตุ้นให้มีการแสดงออกของยีน β-1,4-glucanase (*Den-Cel*) โดยพบการสะสมปริมาณ mRNA ของยีน *Den-Cel* ในเนื้อเยื่อ AZ ของดอกตูมที่ได้รับเอทิลีนมากกว่าในเนื้อเยื่อ AZ ของดอกตูมที่ไม่ได้รับเอทิลีน การให้สาร 1-MCP หรือการให้สาร 1-MCP ก่อนการให้เอทิลีน ทำให้มีการสะสมปริมาณ mRNA ของยีน *Den-Cel* ในเนื้อเยื่อ AZ ของดอกตูมไม่แตกต่างจากเนื้อเยื่อ AZ ของดอกตูมที่ไม่ได้รับเอทิลีน การให้เอทิลีน การให้สาร 1-MCP หรือการให้สาร 1-MCP ก่อนการให้เอทิลีนไม่ทำให้มีการสะสม mRNA ของ ยีน *Den-Cel* ในเนื้อเยื่อ AZ แตกต่างจากเนื้อเยื่อ AZ ที่ไม่ได้รับเอทิลีนของดอกตูมกล้วยไม้พันธุ์เยลโลริเวอร์

6. เนื้อเยื่อ AZ ของดอกตูมพันธุ์มีสทีนที่ได้รับเอทิลีนมีการแสดงออกของยีน *Den-Cel* มากกว่าเนื้อเยื่อ AZ ของดอกตูมพันธุ์เยลโลริเวอร์ที่ได้รับเอทิลีน เนื่องจากพบปริมาณการสะสม mRNA ของยีน *Den-Cel* ในเนื้อเยื่อ AZ ของดอกตูมพันธุ์มีสทีนมากกว่าพันธุ์เยลโลริวอร์ที่ได้รับเอทิลีน