

**ผลของ Ethephon ต่อคุณภาพผลและกิจกรรมของเอนไซม์ Sucrose Synthase
ในสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย (*Ananas comosus* (L.) Merr.)**

**Effect of Ethephon on Fruit Quality and Sucrose Synthase Activity
in Pattavia Pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr.)**

คำนำ

สับปะรด (*Ananas comosus* (L.) Merr.) เป็นผลไม้ที่มีความสำคัญเป็นอันดับ 3 ของโลกรองจากกล้วยและมะม่วง สับปะรดสามารถนารายได้เข้าสู่ประเทศปีละไม่ต่ำกว่า 10,000 ล้านบาท สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์รายงานว่าระยะเวลาตั้งแต่เดือนมกราคม-กันยายน 2548 ประเทศไทยส่งออกสับปะรดและผลิตภัณฑ์ปริมาณ 0.488 ล้านตัน คิดเป็นมูลค่า 13,922 ล้านบาท จากปริมาณการผลิตและการส่งออกในแต่ละปีทำให้ประเทศไทยถูกจัดเป็นแหล่งผลิตและส่งออกสับปะรดอันดับต้นของโลก สับปะรดที่เกษตรกรในประเทศไทยนิยมปลูกเพื่อจำหน่ายทั้งผลสดและส่งโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปสับปะรดมีเพียงพันธุ์เดียว คือ พันธุ์ปัตตาเวีย เนื่องจากมีคุณภาพที่ดีที่สุดเมื่อเทียบกับพันธุ์อื่นๆ (สมบัติและคณะ, 2537-2538; ประธาน, 2544)

สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียเป็นไม้ผลอุตสาหกรรมซึ่งต้องมีการผลิตในปริมาณมาก มีผลผลิตสม่ำเสมอตลอดปี และมีคุณภาพตามมาตรฐานของโรงงานอุตสาหกรรม เนื่องจากความไม่สม่ำเสมอในการออกดอกของสับปะรดจึงทำให้ผลผลิตออกสู่ตลาดมากเกินความต้องการในบางฤดูและขาดแคลนในบางฤดู ด้วยเหตุนี้เกษตรกรจึงใช้สาร ethylene ชักนำให้สับปะรดออกดอกพร้อมกัน แต่การใช้ ethylene เป็นก๊าซทำให้ไม่สะดวกต่อการใช้ ดังนั้นจึงใช้ ethephon ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่สลายให้ ethylene แทน แม้ ethephon สามารถเร่งให้สับปะรดออกดอกได้พร้อมกัน แต่ผลสับปะรดก็ยังไม่พร้อมกัน ทำให้ต้องใช้เวลานานหลายสัปดาห์ในการเก็บเกี่ยวผลภายในแปลงหนึ่งๆ เป็นเหตุให้สิ้นเปลืองแรงงานและค่าใช้จ่าย ในต่างประเทศเช่นสหรัฐอเมริกาและออสเตรเลียจึงมีการใช้ ethephon เร่งให้ผลสับปะรดสุกเพื่อส่งโรงงานอุตสาหกรรม โดยมีคำแนะนำและระเบียบวิธีการใช้ ethephon ในการเร่งสุกของผลสับปะรดอย่างชัดเจน (Anonymous, 1977; Paull and Chen, 2003; Smith, 1991) แต่กฎระเบียบดังกล่าวยังไม่ปรากฏในประเทศไทย การนำ

กฎระเบียบการใช้ ethephon จากต่างประเทศมาใช้กับประเทศไทยโดยตรงมีข้อจำกัดเนื่องจากสภาพภูมิประเทศและภูมิอากาศที่แตกต่างกัน และการศึกษาในเรื่องของระยะเวลาในการให้สารและความเข้มข้นที่เหมาะสมของ ethephon ต่อคุณภาพผลในประเทศไทยมีอยู่น้อยมาก

คุณภาพของผลสับปะรดมีความสำคัญต่อการบริโภคผลสดและคุณภาพของผลผลิตจากโรงงานอุตสาหกรรม คุณภาพผลจึงเป็นสิ่งที่โรงงานคำนึงถึงมากและมีการกำหนดเกณฑ์การรับซื้อไว้แน่นอน ดังนั้นเกษตรกรจึงต้องปลูกสับปะรดให้ได้คุณภาพที่ดี ถึงแม้ว่าสับปะรดที่ปลูกในประเทศไทยเพื่อใช้แปรรูปในโรงงานอุตสาหกรรมมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) ซึ่งบ่งชี้ถึงความหวานและเป็นดัชนีที่สัมพันธ์กับคุณภาพด้านการบริโภคมากที่สุด (Smith, 1988) อยู่ในเกณฑ์ที่ใช้ในโรงงานอุตสาหกรรม แต่ยังพบปัญหาเรื่องปริมาณกรดต่ำจนทำให้ทางโรงงานต้องเติมกรดซิตริกเพิ่ม (Bartholomew *et al.*, 2003)

Ethylene มีบทบาทหลากหลายภายในพืช สำหรับสับปะรดมีรายงานว่า การให้ ethylene แก่ผลสามารถทำให้อัตราการหายใจเพิ่มขึ้นได้ โดยเฉพาะเมื่อยังมีคลอโรฟิลล์อยู่ที่เปลือก (Dull *et al.*, 1967) ทั้งนี้ในองุ่นซึ่งเป็นผลประเภท non-climacteric เช่นเดียวกับสับปะรดพบว่า ethylene มีผลทำให้เกิดการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจน (Tesniere *et al.*, 2004) ethylene สามารถเร่งการทำลายผนังและเยื่อหุ้มเซลล์ของพืชได้ (จริงแท้, 2544; คณัย, 2540; Borochoy *et al.*, 1997; Ferrarese *et al.*, 1995; Heldt, 2005; Saltveit, 1999; Yu *et al.*, 2003) ในสับปะรดการให้ ethylene สามารถทำให้ปริมาณ TSS และปริมาณกรดที่ไเตรทได้ (TA) เปลี่ยนแปลง (ปิยะ, 2522; สุภาพรและคณะ, 2542) ดังนั้นการให้ ethylene แก่ผลสับปะรดจึงอาจมีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ sucrose synthase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างและสลายน้ำตาลซูโครส การสร้างผนังเซลล์ และการหายใจ (Amor *et al.*, 1995; Avigad and Dey, 1997; Konishi *et al.*, 2001; Noel and Pontis, 2000; Nguyen-Quoc and Foyer, 2001; Salnikov *et al.*, 2001) Chen and Paull (2000) รายงานผลการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ sucrose synthase ในเนื้อสับปะรดเป็นครั้งแรกโดยกล่าวว่าเอนไซม์ sucrose synthase อาจมีบทบาทในการสะสมน้ำตาลซูโครสในผล เอนไซม์ sucrose synthase ในพืชมีหลายไอโซฟอร์ม และจากข้อมูลของยีน sucrose synthase ที่พบในพืชหลายชนิดพบว่ามากกว่า 1 ไอโซฟอร์ม และแต่ละไอโซฟอร์มมีหน้าที่แตกต่างกันไป ทั้งนี้พืชแต่ละชนิดมีการแสดงออกและบทบาทของแต่ละไอโซฟอร์มของเอนไซม์ sucrose synthase ที่แตกต่างกันและเป็นลักษณะจำเพาะของพืช อย่างไรก็ตามไม่พบรายงานการศึกษาเกี่ยวกับยีน sucrose synthase ในสับปะรดและผลของ ethephon ที่มีต่อกิจกรรมของเอนไซม์ sucrose synthase

วัตถุประสงค์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นของ ethephon ซึ่งพ่น
 ขณะสับปะรดอายุต่างกัน และระยะเวลาการเก็บเกี่ยวภายหลังการพ่นสาร ที่มีต่อคุณภาพผล
 โดยเฉพาะขนาดและน้ำหนัก ปริมาณน้ำตาลและกรด รวมถึงกิจกรรมของเอนไซม์ sucrose
 synthase เพื่อให้ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อการนำไปใช้ในการปรับปรุงคุณภาพของสับปะรด ซึ่ง
 เป็นผลไม้ที่ทำรายได้ให้ประเทศอย่างมากในแต่ละปี นอกจากนี้ได้โคลนและศึกษาลำดับเบส
 บางส่วนของ sucrose synthase ในสับปะรดเพื่อใช้เป็นข้อมูลที่สามารถก่อให้เกิดประโยชน์ต่อ
 การศึกษาลำดับเบสทั้งหมดของยีน sucrose synthase รวมทั้งบทบาทและหน้าที่ของเอนไซม์
 sucrose synthase ต่อไป

การตรวจเอกสาร

1. การออกดอกและการพัฒนาผลสับปะรด

สับปะรดเป็นผลไม้เขตร้อนที่สำคัญระดับ 3 ของโลกรองจากกล้วยและมะม่วง สับปะรดส่วนใหญ่ปลูกเพื่อการบริโภคผลสดหรือส่งเข้าสู่โรงงานอุตสาหกรรมผลไม้กระป๋องและน้ำผลไม้ สับปะรดเป็นแหล่งผลิตเพียงแหล่งเดียวของเอนไซม์บรอมีเลน (bromelain) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้ในทางเภสัชกรรมและทำให้เนื้อนุ่ม สับปะรดเป็นพืชประเภทใบเลี้ยงเดี่ยว เป็นดิพลอยด์ ($2n=50$) (Moyle *et al.*, 2005a) และเป็นพืชประเภท CAM (Crassulacean acid metabolism) ซึ่งเป็นกลุ่มของพืชที่สามารถทนความแห้งแล้งได้ โดยเปิดปากใบเพื่อรับก๊าซในเวลากลางคืนและนำก๊าซโดยเฉพาะก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เก็บในรูปของกรดมาลิกไว้ที่แวคิวโอล (vacuole) ในเวลากลางคืน และปล่อยออกในเวลากลางวันเพื่อใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสง (Taiz and Zeiger, 1998; Hong *et al.*, 2004)

สับปะรด (*Ananas comosus* (L.) Merr.) ที่ใช้ปลูกเป็นการค้าแบ่งเป็น 5 กลุ่มตามรูปร่างของใบและผล คือ Cayenne, Queen, Pernambuco, Spanish และ Mordilona (จินดารัฐ, 2541) สำหรับในประเทศไทยพบว่าสับปะรดกลุ่ม Cayenne เป็นกลุ่มที่นิยมปลูกเพื่อใช้บริโภคผลสดและใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมสับปะรดกระป๋อง โดยเฉพาะกลุ่ม Smooth Cayenne เช่น พันธุ์ปัตตาเวีย พันธุ์นางแลและพันธุ์ลักกะตา สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียซึ่งใช้ในการศึกษารุ่นนี้เป็นพันธุ์เดียวในประเทศไทยที่ปลูกเพื่อจำหน่ายผลสดและส่งเข้าโรงงานอุตสาหกรรมสับปะรดกระป๋อง เนื่องจากมีคุณภาพดีที่สุด ประเมินจากการนำมาบรรจุกระป๋องแล้วเนื้อไม่เละ มีความฉ่ำ ลักษณะเนื้อแน่นไม่เป็นโพรงเมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์อื่นๆ (สมบัติและคณะ, 2537-2538; ประธาน, 2544) สับปะรดพันธุ์นี้ปลูกมากบริเวณจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ชลบุรี เพชรบุรี และ ลำปาง การที่ผลสดมีรสหวานจำดูรสนิยมของคนไทยจึงนิยมรับประทานในรูปผลสด

สับปะรดสามารถออกดอกได้เองตามธรรมชาติ เมื่อดำเนินเจริญเติบโตจนมีขนาดเหมาะสม สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมที่สุดในการออกดอกคือ อุณหภูมิต่ำและช่วงวันสั้น ทั้งนี้สับปะรดจะทยอยออกดอกผลตลอดปี แต่จะให้ผลมาก 2 ช่วง คือ ช่วงแรกประมาณเดือนธันวาคมถึงเดือนกุมภาพันธ์และเก็บผลในเดือนเมษายนถึงเดือนมิถุนายน ช่วงที่สองจะออกดอกประมาณเดือน

มิถุนายนถึงเดือนสิงหาคมและเก็บผลได้ในเดือนตุลาคมถึงเดือนธันวาคม สำหรับสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียส่วนใหญ่จะเริ่มออกผลประมาณเดือนพฤศจิกายนถึงเดือนธันวาคม (จินดารัฐ, 2541)

การออกดอกตามธรรมชาติของสับปะรดมีความเกี่ยวข้องกับปัจจัยต่างๆทั้งภายในต้นและจากสิ่งแวดล้อมภายนอกที่ได้รับในช่วงเวลาดังกล่าว ซึ่งปัจจัยเหล่านี้มีความแปรปรวนตามฤดูกาล การปล่อยให้สับปะรดออกดอกตามธรรมชาติจะทำให้การออกผลไม่สม่ำเสมอ ก่อให้เกิดปัญหาในการเก็บเกี่ยวมาก ทั้งยังสิ้นเปลืองเวลาและค่าใช้จ่ายรวมถึงการเลี้ยวหน่อในรุ่นต่อไป นอกจากนี้ยังทำให้ผลผลิตของสับปะรดมีมากในบางช่วงเวลาและขาดแคลนในบางช่วงเวลาซึ่งไม่สอดคล้องกับความต้องการของผู้บริโภค (จินดารัฐ, 2541) และส่งผลให้ราคาสับปะรดตกต่ำในบางช่วงเวลา เป็นเหตุให้เกษตรกรบ่งคับกับการออกดอกของสับปะรดเพื่อเก็บผลตามกำหนด

สารเคมีที่ใช้บังคับการออกดอก (forcing agent) มีหลายชนิด แต่ละชนิดมีความสะดวกในการใช้แตกต่างกัน และมีประสิทธิภาพในการชักนำให้ต้นสับปะรดออกดอกได้แตกต่างกันในแต่ละสภาพแวดล้อม สารเคมีที่มีประสิทธิภาพสูงและนิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในทางการค้าและอุตสาหกรรมการผลิตสับปะรดมี 4 ชนิด คือ acetylene หรือ calcium carbide, ethylene, ethephon และ naphthalene acetic acid (NAA) สารเคมีข้างต้นยกเว้นก๊าซ ethylene มีความสัมพันธ์กับ ethylene โดยทางตรงหรือทางอ้อม โดย acetylene มีสูตรโครงสร้างคล้ายกับ ethylene สารในกลุ่ม auxin สามารถกระตุ้นให้เนื้อเยื่อพืชสร้าง ethylene สำหรับ ethephon เป็นสารสังเคราะห์ที่สามารถสลายตัวให้ ethylene ได้จึงทำให้สับปะรดสามารถออกดอกได้เมื่อถูกกระตุ้น (จารุพันธ์, 2526; จินดารัฐ, 2541)

ดอกของสับปะรดไม่มีการร่วงแต่ก้านเกสรเพศเมีย (style) เกสรเพศผู้ (stamens) และกลีบดอก (petal) จะเหี่ยวเมื่อมีการพัฒนาของผล (จินดารัฐ, 2542; Collins, 1960) โดยทั่วไปตามลักษณะทางกายวิภาค ผลไม้เจริญจากรังไข่ หลังจากเกิดการปฏิสนธิ จากนั้นจึงมีการขยายขนาดขึ้นโดยการแบ่งเซลล์ และเพิ่มขนาดของเซลล์ (White, 2002) แต่สำหรับการพัฒนาของผลสับปะรดสามารถเกิดขึ้นโดยไม่ต้องผ่านการผสมเกสร (parthenocarp) ผลสับปะรดจัดเป็นผลรวม (multiple fruit) ที่เกิดจากผลย่อยซึ่งเจริญมาจากดอกย่อยมาเชื่อมติดกับผลย่อยที่อยู่ข้างเคียงด้วยเนื้อเยื่อพาราคิมา (parenchyma) ที่เจริญมาจากส่วนฐานของวงกลีบเลี้ยง (calyx) และใบประดับ (bract) การเจริญของผลในระยะแรกเป็นการเพิ่มจำนวนเซลล์โดยการแบ่งตัวของเซลล์ การแบ่งตัวสิ้นสุดลงที่ระยะดอกบาน (ประมาณ 60 วันหลังการเร่งดอก) หลังจากระยะนี้จนถึงผลสุก

เป็นระยะที่ผลมีการเพิ่มขนาดขึ้นจากการขยายขนาดของเซลล์ที่แบ่งตัวไว้ในระยะแรก (จินดารัฐ, 2542; Collins, 1960; Coppens d'Eeckenbrugge and Leal, 2003) ระหว่างการเพิ่มขนาดนี้พบว่าผนังเซลล์จะบางลงด้วย (Collins, 1960; Coppens d'Eeckenbrugge and Leal, 2003) อย่างไรก็ตาม หลังจากเร้งดอกแล้ว จะมีการเปลี่ยนแปลงต่างๆภายในสัปดาห์ทำให้มีการหยุดการเจริญเติบโตทางด้านลำต้นและใบ แต่จะเริ่มมีการสร้างดอกที่ปลายยอดประมาณ 25 วันหลังการเร้งดอก สมศักดิ์ (2535) สรุปการพัฒนาและการเจริญเติบโตของผลสัปดาห์ออกเป็น 8 ระยะ ได้แก่ ระยะดอกแดง ดอกตูม ดอกบาน ดอกโรย ตาขาว ตาดำ ตาขยายและตาเปิด ซึ่งมีอายุ 25-30, 40-45, 50-60, 70-75, 85-90, 115-120, 130-135 และ 145-150 วันหลังการเร้งดอก ตามลำดับ (ตารางผนวกที่ 1)

ระยะเวลาในการพัฒนาของผลสามารถเปลี่ยนแปลงได้ถ้าอุณหภูมิเปลี่ยนแปลง ซึ่งส่งผลต่อระยะเวลาการเก็บเกี่ยวด้วย Bartholomew *et al.* (2003) กล่าวว่า การเร้งดอกในเดือนมิถุนายนและกันยายน จะใช้เวลาเก็บเกี่ยวต่างกันคือ 274 และ 204 วันตามลำดับ Singleton (1965) พบว่า น้ำหนักของผลเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องระหว่างที่ผลพัฒนา ปริมาณของแข็งที่ละลายได้เริ่มเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วประมาณ 2 เดือนก่อนผลสุกโดยการเพิ่มขึ้นนี้เกิดจากซูโครส ขณะที่น้ำตาลรีดิซังค์ที่แต่เพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อผลสุก โดยผลที่เก็บเกี่ยวในฤดูร้อนมีปริมาณ TSS ก่อนข้างมากกว่าการเก็บในฤดูอื่น ปริมาณ TA ใน 6 สัปดาห์แรกหลังออกดอกมีปริมาณต่ำจากนั้นจึงเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆเมื่อผลพัฒนาขึ้น และประมาณ 2 เดือนก่อนผลสุกปริมาณ TA จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนกระทั่ง 1-2 สัปดาห์สุดท้ายก่อนการสุก ทั้งนี้กรดที่พบส่วนใหญ่คือกรดซิตริกไม่ใช่อกรดมาลิกเนื่องจากกรดมาลิกมีการเปลี่ยนแปลงตามสภาวะแวดล้อมโดยเฉพาะแสง ส่วนความเป็นกรด-เบส (pH) ของน้ำคั้นลดลงเมื่อผลพัฒนาขึ้น โดยลดจาก 5.5 จนกระทั่ง 3.3 ในเวลา 1-2 สัปดาห์สุดท้ายก่อนการสุก (Singleton and Gortner, 1965) ปริมาณโปรตีนในผลเพิ่มขึ้นในระหว่าง 1 สัปดาห์หลังจากดอกโรย และลดลงตลอดเวลาระหว่างที่ผลพัฒนา โดยพบว่าในระหว่างสัปดาห์แรกหลังดอกโรยแทบจะไม่พบกิจกรรมของเอนไซม์ protease แต่หลังจากนั้นกิจกรรมของเอนไซม์ดังกล่าวเพิ่มมากขึ้นในระหว่างการพัฒนาของผล และลดลงเล็กน้อยเมื่อผลใกล้สุก สำหรับกิจกรรมของเอนไซม์ peroxidase มีอยู่สูงในขณะผลอ่อน จะลดลงจนกระทั่งต่ำสุดเมื่อผลสุก (Gortner and Singleton, 1965) Paull and Chen (2003) กล่าวว่าระดับของคลอโรฟิลล์ในเปลือกของสัปดาห์มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยจนกระทั่ง 10-15 วันก่อนที่เปลือกจะเป็นสีเหลืองทั้งลูก ซึ่งช่วงเวลาดังกล่าวปริมาณคลอโรฟิลล์จะลดลง สำหรับแคโรทีนอยด์ในเปลือกจะค่อนข้างคงที่ตลอดการพัฒนาของผลซึ่งจะลดลงเล็กน้อยในเวลาสั้นประมาณ 10-20 วันก่อนการสุกเต็มที่จากนั้นจะเพิ่ม

สูงขึ้นเมื่อเข้าสู่ระยะเสื่อมสภาพ (senescences) แต่ปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อซึ่งมีอยู่ในระดับต่ำจะเพิ่มอย่างรวดเร็วในระหว่าง 10 วันก่อนที่ผลจะสุกเต็มที่ นอกจากนี้ Dull *et al.* (1967) พบว่าในขณะที่ผลเจริญขึ้นและมีการสุกนั้น ทั้งน้ำหนักรับประทานได้และกรดเพิ่มขึ้น ส่วนเอสเทอร์จะเกิดขึ้นในระยะก่อนสุกท้ายของการเจริญเติบโตโดยจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วมาก

2. การสุกของผลสับปะรด

การสุกของผลไม้โดยทั่วไปมี 2 แบบคือ climacteric และ non-climacteric ตัวอย่างของผลไม้ที่มีกลไกการสุกแบบ climacteric เช่น มะเขือเทศ อะโวคาโด แอปเปิ้ล กีวี ถั่วลิสง มะม่วง มะละกอ และทุเรียน ซึ่งมีการสังเคราะห์ ethylene สูงขึ้นและมีการเพิ่มการหายใจระหว่างการสุก ขณะที่ผลไม้ประเภท non-climacteric ไม่มีกระบวนการดังกล่าว และการให้ ethylene จากภายนอกไม่สามารถทำให้กระบวนการสุกเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วเช่นเดียวกับผลประเภท climacteric ได้ (Moyle, *et al.*, 2005a; White, 2002) ตัวอย่างของผลประเภท climacteric นี้ได้แก่ สตรอเบอร์รี่ องุ่น ส้ม และสับปะรด การสุกของผลไม้เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นในระยะท้ายๆ ของกระบวนการเจริญเติบโตและพัฒนาจนกระทั่งถึงตอนต้นของกระบวนการเสื่อมสภาพ (จริงแท้, 2544; คณัย, 2540) การสุกของผลไม้เป็นปรากฏการณ์ที่มีความซับซ้อนและมีการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพและสรีรวิทยาเกิดขึ้นในเวลาสั้น โดยเปลี่ยนแปลงเพื่อให้ผลไม้สามารถรับประทานได้ (จริงแท้, 2544; คณัย, 2540; Taiz and Zeiger, 1998)

ภาพรวมของการสุกของผลไม้ประกอบด้วย การเปลี่ยนแปลงต่างๆ ที่เกิดขึ้นในผล สามารถสรุปได้ดังนี้

- ก. เกิดการเปลี่ยนแปลงสีโดยการสะสมของคลอโรฟิลล์ แอนโทไซยานินและแคโรทีนอยด์ โดยคลอโรฟิลล์เสื่อมสลายขณะที่แอนโทไซยานินและแคโรทีนอยด์ถูกสร้างขึ้น
- ข. เกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เนื้อผล โครงสร้างของผนังและเยื่อหุ้มเซลล์และ/หรือเมมเบรนโอลิซึมของผนังและเยื่อหุ้มเซลล์ (จริงแท้, 2544; Giovannoni, 2004) โดยมีความเกี่ยวข้องกับ ethylene ซึ่งเห็นได้ชัดจากดอกคาร์เนชั่นที่ ethylene ทำให้ mRNA ของ lipase มีการแสดงออกมากขึ้น การสลายของเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้สารผ่านเข้าออกให้มากขึ้น นอกจากนี้ทำให้เซลล์สูญเสีย ionic gradient จากการลดหน้าที่ของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการนำไอออนเข้าออกเซลล์ (Hong *et al.*, 2000) นั่นคือการสุกทำให้การควบคุมสารในการผ่านเข้าออกของเซลล์ในผลลดน้อยลง ทั้งนี้ในผลแอปเปิ้ลพบว่าการเข้าออกของน้ำตาลผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เพิ่มขึ้นเมื่อผลเจริญเต็มที่ (Yamaki and

Ino, 1992) นอกจากนี้ยังพบว่าทำให้ ethylene จากภายนอกทำให้ผลกีวีสุกได้โดยการสลายเยื่อหุ้มเซลล์ จากกิจกรรมของเอนไซม์ lipoxygenase ที่เพิ่มสูงขึ้น และพบว่า salicylic acid ลดลงระหว่างการสุกของผล salicylic acid เป็นสารยับยั้งการทำงานของ ethylene ในกระบวนการสุกและเสื่อมสภาพ (Yu *et al.*, 2003) ในการสุกพบว่า cellulase และ polygalacturonase เพิ่มขึ้นซึ่งไปเร่งการสลาย cellulose และ pectin ที่เป็นองค์ประกอบหลักของผนังเซลล์ (Taiz and Zeiger, 1998) นอกจากกิจกรรมของเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้น การสังเคราะห์ฮอร์โมนเอทิลีนของโปรตีนบางชนิดที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาเคมีที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสารต่างๆในกระบวนการสุกเพิ่มขึ้นในระหว่างที่เกิดการสุกของผลไม้ เช่นการสุกของสตอเบอรี่ พบว่าการสังเคราะห์ยีน *Cell* และ *Cel2* ซึ่งเป็นยีนในการสังเคราะห์ β -1,4-glucanase เพิ่มขึ้น ดังนั้นการสุกของผลไม้จึงสังเกตได้จากเนื้อที่นุ่มกว่าผลไม้ที่ไม่สุก (Llop-Tous *et al.*, 1999)

ค. เกิดการเปลี่ยนของน้ำตาล กรดและสารระเหยต่างๆระหว่างการสุก ทำให้คุณภาพทางโภชนาการ รสชาติและกลิ่นเปลี่ยนไป (Giovannoni, 2004; White, 2002) การเปลี่ยนคุณภาพของรสชาติโดยการสุกที่ทำให้ผลไม้มีรสหวานขึ้น เกิดจากการที่แป้งเปลี่ยนเป็นน้ำตาล หรือน้ำตาลชนิดหนึ่งเปลี่ยนเป็นน้ำตาลอีกชนิดหนึ่ง ผลไม้ที่มีคาร์โบไฮเดรตต่ำในช่วงแรกพบว่าการสะสมน้ำตาลในระหว่างการสุกเกิดจากการดึงอาหารมาจากต้นแม่ ไม่ได้เกิดขึ้นจากการสลายหรือเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตในผล เช่นผลองุ่นซึ่งมีความสามารถในการสะสมน้ำตาลได้สูงสุดถึง 25% ของน้ำหนัก ดังนั้นถ้าเก็บองุ่นก่อนที่จะแก่จัดจะได้ผลองุ่นที่ไม่หวานเนื่องจากยังไม่ได้รับน้ำตาลจากต้นแม่ ผลไม้ที่มีลักษณะการสะสมน้ำตาลในรูปแบบเดียวกับองุ่นมักจะพบได้ในพืชที่มีการเจริญของผลแบบ multiple fruit รวมทั้งสับปะรดซึ่งอาจมีการสะสมน้ำตาลในรูปแบบเดียวกัน โดยทั่วไปปริมาณกรดในผลระหว่างการสุกจะลดลง กรดอินทรีย์ในผลอยู่ในแวคิวโอลของเซลล์และเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ผลไม้มีรสเปรี้ยว กรดในผลไม้มีน้ำตาลว่าเกิดจากกรดที่ได้จากกระบวนการหายใจใน tricarboxylic acid cycle หรืออาจเกิดจากการลำเลียงกรดจากส่วนอื่นๆมาเก็บสะสมไว้ในเซลล์ อย่างไรก็ตามในระหว่างการสุกของผลพบว่าปริมาณกรดจะลดลงจากการถูกดึงไปใช้ในกระบวนการหายใจ แต่ในพืชบางชนิดเช่นกล้วยกลับพบว่า ขณะที่กล้วยกำลังสุกจะมีการสังเคราะห์กรดอินทรีย์มากขึ้น จึงทำให้ความเป็นกรดในเนื้อเยื่อสูงขึ้น (จริงแท้, 2544; ดนัย, 2540) การเกิดกลิ่นของผลไม้เป็นสิ่งที่บอกได้ว่าการสุกเกิดขึ้น เช่นที่พบในสับปะรด (จริงแท้, 2544; ดนัย, 2540)

ง. การสุกทำให้ผลไม้สามารถรับเชื้อต่างๆได้ง่าย โดยอาจเกิดจากการที่ผนังเซลล์สูญเสียความสมบูรณ์ไป

จ. ปริมาณช่องอากาศ (lenticel) มีมากขึ้นเมื่อผลไม้แก่ขึ้น มีการสะสมไขมันของเปลือกผลมากขึ้น

ฉ. เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาโดยเฉพาะการหายใจ ซึ่งเป็นผลมาจากกระบวนการเมแทบอลิซึมภายในเซลล์ โดยระหว่างการเจริญเติบโตนั้นกระบวนการเมแทบอลิซึมจะมีทิศทางไปทางการสังเคราะห์สารมากกว่าการสลาย ซึ่งเซลล์ต้องใช้พลังงานที่สูงจึงมีอัตราการหายใจที่สูงด้วย แต่เมื่อการเจริญลดลงพบว่าอัตราการหายใจก็ลดลงต่ำด้วยเช่นกัน (จริงแท้, 2544; ดนัย, 2540; Salunkhe and Desai, 1984)

การเปลี่ยนแปลงของผลไม้ระหว่างการสุกที่กล่าวมาข้างต้นพบได้ในผลไม้ทั้งแบบ climacteric หรือ non-climacteric (Giovannoni, 2004; White, 2002) อย่างไรก็ตามการสุกที่เพิ่มมากขึ้นทำให้ระยะเวลาในการวางจำหน่ายผลิตภัณฑ์ (shelf-life) สั้นลง และยังทำให้ยากต่อการขนส่งและเก็บรักษา เนื่องจากเนื้อผลนิ่มลง จุลชีพต่างๆสามารถเข้าทำลายได้ง่าย (Giovannoni, 2004) ดังนั้นการสุกและระยะเวลาการเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมจึงมีความสำคัญ

เนื่องจากผลไม้ประเภท climacteric และ non-climacteric มีความแตกต่างกันทางชีวโมเลกุล ดังนั้นกลไกในการสุกจึงแตกต่างกัน มีความพยายามนำพืชซึ่งมีความชิดใกล้เคียงกันทางสายพันธุ์เช่นพืชประเภทแดงซึ่งมีทั้งผลประเภท climacteric และ non-climacteric มาทำการศึกษา แต่ยังไม่ทราบถึงกลไกในกระบวนการสุกได้ อย่างไรก็ตามจากการศึกษาในสตรอเบอรี่พบ MADSbox ซึ่งคล้ายกับ MADSbox ที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสุกในมะเขือเทศ จึงคาดกันว่า MADSbox เป็นกลไกพื้นฐานของกระบวนการสุกของผลไม้ทั้ง 2 แบบ การที่สตรอเบอรี่เป็นผลไม้ประเภท non-climacteric จึงมีการศึกษาเกี่ยวกับกลไกต่างๆของผลประเภท non-climacteric โดยเฉพาะที่เกี่ยวข้องกับการสุก ทั้งนี้ส่วนมากเป็นการศึกษาเกี่ยวกับยีนที่ควบคุมเมแทบอลิซึมของผนังเซลล์ ลี และกลีโคลิน เช่นพบว่ามีการแสดงออกของยีน *Cell1* และ *Cel2* ซึ่งเป็นยีนในการสังเคราะห์ β -1,4-glucanase ในผลสตรอเบอรี่ (Llop-Tous *et al.*, 1999) แต่เนื่องจากสตรอเบอรี่เป็น octaploid ทำให้ยากต่อการศึกษา จึงเริ่มมีการศึกษาในส้มแทนแต่ก็พบอุปสรรคในเรื่องของฤดูกาลในการออกดอก ติดผล ซึ่งทำให้เกิดข้อจำกัดในการศึกษามาก และเพื่อที่จะทำให้เข้าใจระบบการสุกของผลประเภท climacteric และ non-climacteric ให้ดีขึ้นจึงมีการจัดทำ expressed sequence tags (EST) libraries เพื่อเป็นแหล่งข้อมูลที่ทำหน้าที่ในกระบวนการสุก ซึ่งทำเป็น cDNA libraries ตัวอย่างของ EST ในผลประเภท climacteric ได้แก่มะเขือเทศ (Fei *et al.*, 2004) สำหรับผลประเภท non-climacteric ได้แก่เก๋อย่างุ่น (Terrier *et al.*, 2001) และต้นป๊อ

สำหรับสับปะรดเริ่มมีการประกาศจัดทำ EST ขึ้นเมื่อ ค.ศ. 2005 (Moyle *et al.*, 2005b) เพื่อทำความเข้าใจเกี่ยวกับกระบวนการสุก

การสุกของสับปะรดสังเกตจากลักษณะภายนอกที่ปรากฏคือตาแบน มีไขที่เปลือกเพิ่มขึ้น และในขณะที่มีการสุกเปลือกของผลมีการเปลี่ยนสีเป็นสีเหลืองโดยเริ่มจากฐานของผลไปยังยอด (Bartholomew *et al.*, 2003) การเปลี่ยนแปลงทางเคมีภายในผลสับปะรดจะเป็นไปอย่างช้าๆและเกิดขึ้นมากที่สุดในระยะเวลา 3-7 สัปดาห์ก่อนผลสุก (จินดารัฐ, 2541) สำหรับอัตราการหายใจของสับปะรดระหว่างการสุกตามธรรมชาติพบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลง ซึ่งเป็นลักษณะของผลไม้ชนิดที่สุกอยู่กับต้น สังเคราะห์ ethylene น้อย แต่การให้ ethylene จากภายนอกสามารถกระตุ้นอัตราการหายใจของผลประเภท non-climacteric ให้สูงขึ้นได้ (दनัย, 2540) การที่สับปะรดมีการหายใจแบบ non-climacteric ในระหว่างการสุกนั้น อาจเกิดจากการที่สับปะรดเป็นผลรวมซึ่งมีการพัฒนาของแต่ละผลย่อยในเวลาที่แตกต่างกันจึงทำให้ไม่พบการหายใจแบบ climacteric (Bartholomew *et al.*, 2003) ดนัย (2540) สรุปการเปลี่ยนแปลงของผลสับปะรดระหว่างการเจริญเต็มที่และการเสื่อมสภาพไว้ดังนี้คือ น้ำหนักจะค่อยๆเพิ่มขึ้นจนกระทั่งอายุ 75 วันหลังการออกดอก จากนั้นน้ำหนักผลจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนกระทั่งผลมีอายุ 150 วัน ส่วนประกอบทางเคมีส่วนใหญ่ในผลสับปะรดเช่น แป้ง น้ำตาล จะพบอยู่ในปริมาณน้อยในระยะก่อนที่ผลจะสุก (दनัย, 2540) ก่อนการสุกประมาณ 70 วันปริมาณ TSS ในเนื้อเริ่มเพิ่มขึ้น และเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วในระยะ 60 วันก่อนผลสุก ซึ่งน้ำตาลส่วนใหญ่เป็นซูโครส ส่วนน้ำตาลรีดิคัลค่อนข้างคงที่ยกเว้นสัปดาห์สุดท้ายก่อนผลสุกน้ำตาลรีดิคัลจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อย (Singleton and Gortner, 1965) สำหรับการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ซึ่งเป็นตัวบอกความแก่ของสับปะรดนั้นพบว่าหลังจากสับปะรดติดผลแล้วประมาณ 135 วัน ปริมาณคลอโรฟิลล์จะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงสุกแก่ของผล คาร์โรทีนอยด์ในเปลือกจะสูงขึ้น แต่อย่างไรก็ตามการเหลืองของเปลือกเกิดขึ้นจากการสลายตัวของคลอโรฟิลล์มากกว่าการเกิดการสังเคราะห์โรทีนอยด์ ซึ่งการสลายคลอโรฟิลล์ที่เปลือกเพิ่มมากขึ้นพบได้ในส้ม แต่มีการสังเคราะห์โรทีนอยด์เพิ่มขึ้นด้วย (Lelievre *et al.*, 1997) สำหรับเนื้อช่วงที่เกิดการเสื่อมสภาพของสับปะรดพบว่าปริมาณคาร์โรทีนอยด์เพิ่มขึ้นถึง 4 เท่าตัว (दनัย, 2540)

การที่พืชส่วนใหญ่ออกดอกไม่พร้อมกัน เป็นเหตุให้การเจริญเต็มที่ของผล (maturation) เกิดขึ้นไม่พร้อมกัน และแม้ว่าพืชจะออกดอกพร้อมกันหรือในเวลาใกล้เคียงกันจากการใช้หรือไม่ใช้สารบังคับก็ตาม พบว่าแต่ละผลมีอัตราการเจริญเติบโตที่ต่างกัน ซึ่งขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการที่ยังไม่ทราบแน่ชัด ดังนั้นอัตราการเจริญที่ต่างกันเป็นสาเหตุให้การสุกแก่เกิดขึ้นไม่พร้อมกันและ

ทำให้ต้องเก็บเกี่ยวผลผลิตหลายครั้ง (จริงแท้, 2544) ในสัปดาห์พบว่าถึงแม้ใช้สารเร่งดอกแต่เนื่องจากสัปดาห์แต่ละต้นในแปลงตอบสนองต่อสารเร่งดอกไม่พร้อมกัน จึงทำให้เกิดปัญหาเรื่องเวลาที่ต้องใช้ในการเก็บเกี่ยวโดยต้องทำการเก็บเกี่ยวหลายครั้งในหนึ่งแปลง จึงมีการศึกษาการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตโดยเฉพาะ ethylene ซึ่งมีสมบัติช่วยเร่งการสุกของผลไม้เพื่อแก้ปัญหาดังกล่าว ตามปกติ ethylene เป็นสารที่สามารถเร่งกระบวนการสุกของผลไม้ได้ แต่คุณภาพของผลที่ผ่านการเร่งสุกโดย ethylene ขึ้นอยู่กับคุณภาพของผลที่เริ่มใช้สารเร่ง นั่นคือคุณภาพของผลผ่านการเร่งสุกจะไม่ดีถ้าคุณภาพของผลที่เร่งสุกโดย ethylene ไม่ดี (Saltveit, 1999) ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษาความเข้มข้นและเวลาที่เหมาะสมที่จะใช้ ethylene ในการเร่งการสุกของสัปดาห์โดยไม่กระทบต่อคุณภาพของผล

3. Ethylene

กระบวนการสุกของผลไม้เกิดขึ้นไม่ได้ถ้าไม่มี ethylene และในระหว่างการสุกก็ต้องมี ethylene ร่วมอยู่ด้วย ไม่เช่นนั้นการสุกจะเกิดขึ้นได้ไม่สมบูรณ์ (จริงแท้, 2544) ethylene เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนชนิดไม่อิ่มตัว มีสถานะเป็นก๊าซที่อุณหภูมิปกติ มีสูตรโครงสร้างโมเลกุลเป็น C_2H_4 มีน้ำหนักโมเลกุล 28 (คณัย, 2540) ethylene หรือที่เรียกว่า olefin สลายตัวได้ง่ายโดยการเกิดออกซิเดชัน เป็น ethylene oxide ซึ่งจะถูกลอกซิไดซ์ไปเป็น ethylene glycol การสลายตัวของ ethylene ในพืชส่วนมากจะสลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์อย่างสมบูรณ์ ethylene ออกจากเนื้อเยื่อพืชสู่ภายนอกได้ง่ายในรูปของก๊าซ โดยผ่านทางช่องว่างระหว่างเซลล์ (Taiz and Zeiger, 1998) ethylene จัดอยู่ในกลุ่มของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชและเป็นชนิดเดียวที่มีสถานะเป็นก๊าซ การที่จัด ethylene เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชเนื่องจาก ethylene ในปริมาณที่น้อยมากสามารถออกฤทธิ์ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกับพืชได้ (คณัย, 2540; Taiz and Zeiger, 1998) พืชสามารถสังเคราะห์ ethylene ขึ้นภายในเนื้อเยื่อส่วนมาก โดยอัตราการสังเคราะห์ขึ้นอยู่กับชนิดและระยะการพัฒนาของเนื้อเยื่อ โดยทั่วไปพบการสังเคราะห์ ethylene มากที่บริเวณเนื้อเยื่อเจริญและข้อ และ ethylene ถูกสังเคราะห์ขึ้นมากเมื่อจะเกิดการหลุดร่วงของใบ เกิดการเสื่อมสภาพของดอก หรือผลไม้สุก (Taiz and Zeiger, 1998)

Yang and Hoffmann (1984) พบวิถีการสังเคราะห์ ethylene ในพืช สารตั้งต้นที่พืชใช้ในการสังเคราะห์ ethylene คือ S-adenosylmethionine (SAM) SAM ถูกสังเคราะห์จากกรดอะมิโน methionine โดยเอนไซม์ SAM synthase ขั้นตอนนี้ต้องใช้ ATP จากนั้น SAM จะถูกเปลี่ยนไป

เป็น aminocyclopropane carboxylate (ACC) โดยเอนไซม์ ACC synthase ขั้นตอนนี้มีความสำคัญในการสังเคราะห์ ethylene โดยจัดเป็น rate limiting step 1 ACC ที่ได้จะถูกเอนไซม์ ACC oxidase เปลี่ยนเป็น ethylene ซึ่งขั้นตอนนี้ต้องการออกซิเจน นอกจากจะได้ ethylene แล้วยังได้คาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ และ HCN ซึ่งจะถูกเปลี่ยนเป็น β -cyanoalanine ทันทีเพื่อกำจัดความเป็นพิษของ HCN มีการค้นพบยีนที่ใช้ในการสังเคราะห์เอนไซม์ ACC synthase และ ACC oxidase ในพืชหลายชนิดรวมถึงสับปะรด (Cazzonelli *et al.*, 1998) ในผลประเภท climacteric พบว่ามีปริมาณ ethylene สูงและมีการแสดงออกของยีนที่ใช้ในการสังเคราะห์ ACC synthase และ ACC oxidase มากในระหว่างการสุก สำหรับพืชผลประเภท non-climacteric ซึ่งโดยทั่วไปไม่พบว่ามี การสร้าง ethylene เพิ่มขึ้นในระหว่างการสุก โดยในพืชบางชนิดพบว่าไม่มีการแสดงออกของยีนที่สังเคราะห์ ethylene ในระหว่างการสุก แต่ในพืชอีกหลายชนิด เช่น แตงเมลอนพันธุ์ *chinensis* และ Earl's Favorite พบว่าถ้าให้ ethylene จากภายนอกเข้าไปทำให้เกิดการแสดงออกของยีน *ACO1* ซึ่งสังเคราะห์ ACC oxidase (Perin *et al.*, 2002; Shiomi *et al.*, 1999) นอกจากนี้พบว่าการแสดงออกของยีนที่ควบคุมการสังเคราะห์เอนไซม์ ACC synthase และ ACC oxidase เพิ่มขึ้นระหว่างการสุกของสับปะรด โดยพบว่า *acacc-1* ซึ่งสังเคราะห์ ACC synthase มีการแสดงออกมากถึง 16 เท่าในสับปะรดที่สุกเมื่อเทียบกับผลอ่อนที่เปลือกยังเป็นสีเขียว และพบว่าการเกิดบาดแผลสามารถทำให้ *acaco-1* ซึ่งสังเคราะห์ ACC oxidase มีการแสดงออกเพิ่มมากขึ้น แต่การสุกไม่ได้ทำให้ *acaco-1* มีการแสดงออกมากขึ้น (Cazzonelli *et al.*, 1998) งานวิจัยชิ้นนี้สอดคล้องกับที่ Paull and Chen (2003) กล่าวไว้ คือปกติสับปะรดมีการผลิต ethylene มากขึ้นระหว่างการสุก แต่ ปริมาณของ ethylene ที่ผลิตขึ้นไม่ทำให้เกิด climacteric peak

การที่ ethylene มีบทบาทมากมายในเซลล์พืช โดยมีบทบาทต่อการสุกของผลไม้ประเภท climacteric ทุกชนิดและมีผลต่อผลไม้ประเภท non-climacteric บางชนิด รวมทั้งสับปะรด (Hepton, 2003) นอกจากนี้ ethylene มีบทบาทในการควบคุมกระบวนการทางสรีรวิทยาและชีวเคมีต่างๆ ตั้งแต่ระยะการเจริญเติบโต การพัฒนา การแก่ การสุกและการเสื่อมสภาพในใบ ดอกและผล เช่นเร่ง การสลายคลอโรฟิลล์ กระตุ้นกระบวนการหายใจ เร่งการเสื่อมสภาพ ยับยั้งการสังเคราะห์ ethylene ในเนื้อเยื่อทั่วไปและในผลประเภท non-climacteric และยับยั้งการลำเลียง auxin รวมทั้งทำให้ microfibrils ที่ผนังเซลล์เรียงตัวผิดปกติไป (จริงแท้, 2544; ดนัย, 2540; Heldt, 2005; Saltveit, 1999) นอกจากนี้ยังพบว่าในขณะที่พืชมีการเจริญเติบโตโดยเฉพาะในช่วงของการแบ่งเซลล์ มีการสังเคราะห์ ethylene สูงมาก แต่ยังไม่ทราบสาเหตุที่แน่ชัดว่าเหตุใดพืชจึงมีอัตราการสังเคราะห์ ethylene สูง (ดนัย, 2540) สำหรับกรณีที่ ethylene สามารถเร่งการเสื่อมสภาพได้ เกิดจากการที่

ethylene ไปกระตุ้นกระบวนการหายใจให้สูงขึ้น (Lance, 1981) จึงเป็นการเร่งอัตราการเสื่อมสภาพของพืชให้เกิดขึ้น (จริงแท้, 2544) บทบาทต่างๆของ ethylene นี้ไม่ได้เกิดจากโมเลกุลของ ethylene เข้าไปทำหน้าที่โดยตรงในเซลล์พืช แต่ ethylene ทำหน้าที่เป็นตัวกระตุ้นเท่านั้น โดยเมื่อ ethylene เข้าสู่เซลล์พืชจะมีตัวรับ (receptor) มารับทันที ตัวรับนี้ประกอบไปด้วย dimer ของเอนไซม์ histidine receptor kinase โดยพบ histidine อยู่ทางด้านปลายคาร์บอกซี (carboxy terminus) สำหรับปลายทางด้านอะมิโน (amino terminus) จะมี cysteine อยู่ซึ่งทำให้เกิดพันธะ disulfide ethylene receptor นี้มีทองแดง (copper, Cu) เป็น cofactor ดังนั้นเมื่อ ethylene ไปจับกับ ethylene receptor โดยการช่วยเหลือของทองแดง จะลดกิจกรรมของเอนไซม์ CRT1 kinase ลง ทำให้ไม่มีการเติมหมู่ฟอสเฟตลงไปที่โปรตีนเป้าหมายต่างๆ โดยเฉพาะ transcription factor ซึ่งทำหน้าที่กำหนดการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับ ethylene เช่นยีน *GST1* ของคาร์เนชันซึ่งเป็นยีนในกระบวนการ senescence และยีน *E4* ในมะเขือเทศซึ่งเป็นยีนในกระบวนการสุก จึงเป็นเหตุให้ ethylene สามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่างๆอย่างมากภายในพืช (Heldt, 2005)

เนื่องจาก ethylene มีบทบาทในการควบคุมกระบวนการทางสรีรวิทยาและชีวเคมีต่างๆในพืช จึงมีการให้ ethylene จากภายนอกเพื่อวัตถุประสงค์ต่างๆ โดยเฉพาะเร่งกระบวนการสุก แต่สถานะปกติของ ethylene คือก๊าซ ดังนั้นการนำ ethylene ไปใช้จึงค่อนข้างมีปัญหา เช่นต้องทำให้ ethylene ละลายน้ำก่อนด้วยอุปกรณ์พิเศษ ทำให้เกษตรกรไม่นิยมใช้ ethylene ในรูปแบบก๊าซ แต่หันมานิยมสารสังเคราะห์ที่ก่อให้เกิด ethylene หรือทำให้พืชสร้าง ethylene มากขึ้น โดยเฉพาะ ethephon (จินดารัฐ, 2541) ethephon สังเคราะห์ขึ้นครั้งแรกโดยนักเคมีชาวรัสเซีย จาก General Anitine Filen Corporation's Central Research Laboratory และออกสู่ท้องตลาดครั้งแรกในชื่อของ Amchem 66-329 (Cooke and Randall, 1968) ปัจจุบันมีการผลิต ethephon เป็นการค้าโดยใช้ชื่อต่างๆกัน เช่น Ethrel (21.7% w/v), Prep (55.4% w/v) และ Florel (21.7% w/v) เป็นต้น ethephon มีชื่อทางเคมีว่า 2-chloroethylphosphonic acid มีสูตรโครงสร้างดังนี้ $\text{Cl}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{PO}_3\text{H}_2$ สารนี้มีสภาพเป็นกรดสูง เป็นผลึกสีขาว จุดหลอมเหลว $74-75^\circ\text{C}$ มีน้ำหนักโมเลกุล 144.5 ละลายได้ง่ายในน้ำ alcohol acetone propylene glycol และตัวทำละลายที่มีขั้วชนิดอื่นๆ แต่ละลายได้น้อยในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วเช่น benzene หรือ toluene สารนี้จะคงตัวอยู่ในสารละลายที่มี pH ต่ำกว่า 3.5 แต่ถ้า pH สูงกว่า 3.5 โมเลกุลของสาร ethephon จะแตกตัวออกเป็นก๊าซ ethylene, chloride และ phosphate ion ดังสมการ



อัตราการแตกตัวของ ethephon จะเพิ่มขึ้นตาม pH เช่นเมื่อ ethephon อยู่ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 6 จะมีค่าครึ่งชีวิตอยู่ที่ 96 ชั่วโมง แต่ถ้าอยู่ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ethephon สลายเป็น ethylene ถึง 80% ทั้งนี้อุณหภูมิก็มีผลต่อค่าครึ่งชีวิตเช่นกัน โดยพบว่าค่าครึ่งชีวิตของ ethephon ที่ pH 7 เมื่ออยู่ในอุณหภูมิ 15 และ 35°C คือ 100 และ 4 ชั่วโมงตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าแสงอัลตราไวโอเลตยังสามารถทำลาย ethephon ได้ด้วย ความเป็นกรด-ด่างมีผลต่อการแตกตัวของ ethephon โดยการพ่นสาร ethephon ที่อยู่ในสภาวะกรดเกิดการแตกตัวไม่สมบูรณ์ เมื่อ ethephon เข้าสู่ไซโทพลาสซึมของเนื้อเยื่อสับปะรดซึ่งมีค่าความเป็นกรด-ด่างประมาณ 4.2-4.5 จึงสามารถแตกตัวเป็น ethylene และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ขึ้นได้ เช่น ชักนำการออกดอก การเร่งการสุกแก่เป็นต้น (จารุพันธ์, 2526; จินดารัฐ, 2541; จริงแท้, 2544; Collins, 1960; Cooke and Randall, 1968; Turnbull *et al.*, 1999) การแตกตัวของ ethephon ในพืชต่างชนิดกันจะแตกต่างกัน แต่โดยทั่วไปพบว่าการแตกตัวส่วนใหญ่เกิดขึ้นที่ผิว และอีกส่วนหนึ่งถูกดูดซึมเข้าภายในพืช และสลายตัวให้ ethylene ออกมา (จริงแท้, 2544) เนื่องจากอุณหภูมิและแสงอัลตราไวโอเลตมีผลต่อการสลายตัวของ ethephon รวมทั้งอัตราการเข้าสู่ใบของ ethephon ต้องใช้เวลาที่ค่อนข้างมากคือ 30% ของ ethephon เข้าสู่ใบภายใน 4 ชั่วโมงและมากกว่า 60% เข้าสู่ใบภายในเวลา 24 ชั่วโมง และการเข้าสู่เนื้อเยื่อภายในใบของ ethephon ยังขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ ความเป็นกรด-ด่างของสารละลายภายใน และพื้นที่ผิวที่สารเกาะอยู่ (Turnbull *et al.*, 1999) ดังนั้นการให้ ethephon กับสับปะรดในขณะที่อากาศร้อนจัดผิดปกติทำให้ผลที่เกิดจากการใช้ ethephon ลดลงเช่น การออกดอกของสับปะรดลดลง จึงมีการใช้ยาจับใบซึ่งสามารถช่วยชะลอการสลายตัวของ ethephon ก่อนเข้าสู่เซลล์ (จริงแท้, 2544) หรือใช้ยูเรียร่วมกับ ethephon แทนยาจับใบ เพื่อช่วยชะลอการสลายตัวของ ethephon โดยพบว่ายูเรียเข้มข้น 5% จะทำให้ความเป็นกรด-ด่างเพิ่มจาก 2.7 เป็น 3.0 ได้ และทำให้ ethephon มีค่าครึ่งชีวิตเพิ่มขึ้นเป็น 75,000 ชั่วโมง (Bartholomew *et al.*, 2003) ethephon เคลื่อนเข้าสู่เซลล์โดยผ่านชั้นคิวตินของใบและบางครั้งก็เคลื่อนที่ผ่านรูที่ปากใบ (stomata) ในรูปที่เป็นก๊าซและในรูปของสารละลาย (Beaudry and Kays, 1988) ดังนั้นการใช้ ethephon เพื่อให้เกิดผลเต็มที่ควรเลือกเวลาให้เหมาะสม เช่นการเร่งดอกเพื่อให้เกิดดอกได้ สม่าเสมอควรพ่นในเวลาเย็นและควรหลีกเลี่ยงการพ่นในวันที่อากาศร้อน (Turnbull *et al.*, 1999) การใช้สาร ^{14}C ติดตามการเคลื่อนที่ ethephon และพ่นสับปะรดพบว่า ethephon ที่ ถ้าเลี้ยงในพืชอยู่ในรูป ethephon จนกระทั่งสลายเป็น ethylene phosphate และ chloride ion (Anonymous, 1977) ในการพ่นสาร ethephon ในสหรัฐอเมริกา มีข้อกำหนดว่าห้ามเข้าสู่แปลงที่พ่น ethephon เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และถ้าเป็นพื้นที่ที่มีปริมาณน้ำฝนต่ำกว่า 25 นิ้วต่อปีให้เพิ่มเวลาในการห้ามเข้าสู่แปลงเป็น

72 ชั่วโมง (United States Environmental Protection Agency, 1995) ในกรณีของสับปะรดห้ามเก็บเกี่ยวผลผลิตหลังจากพ่นสารเป็นเวลา 2 วัน (Pesticide Management Education Program, 1988)

ethephon เป็นสารที่มีพิษค่อนข้างต่ำและสลายตัวได้ง่าย จากการศึกษาทางพิษวิทยาพบว่ามนุษย์สามารถรับ ethephon ได้ในปริมาณ 0-0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวันโดยไม่เป็นอันตรายต่อร่างกาย (Larsen, 1993) ethephon ถูกใช้เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในหลายประเทศเช่น สหรัฐอเมริกา แคนาดา นิวซีแลนด์ สหราชอาณาจักร ฝรั่งเศส ออสเตรเลีย และเนเธอร์แลนด์ โดยในประเทศสหรัฐอเมริกามีการใช้ ethephon กับพืชหลายชนิดโดยมีวัตถุประสงค์ต่างกันออกไป เช่นใช้เพื่อเร่งให้เกิดการเจริญเต็มวัย เร่งการเปลี่ยนสี หรือเร่งการร่วง (abscission) ใน เชอรี่ แบลคเบอร์รี่ บลูเบอร์รี่ แครนเบอร์รี่ แคนตาลูป มะเดื่อ มะนาวฝรั่ง พริกไทย ส้ม วอลนัท มะเขือเทศ แอปเปิ้ล และสับปะรด (Anonymous, 1977) ทั้งนี้มีการใช้ ethephon สำหรับเร่งการร่วงของฝ้าย (จริงแท้, 2544; Taiz and Zeiger, 1998) มีการใช้ ethephon ในพืชชนิดอื่นเพื่อวัตถุประสงค์อื่นด้วย เช่นเร่งการสุกของกาแฟก่อนการเก็บเกี่ยว เร่งการไหลของน้ำยางจากต้นยาง เร่งการเจริญของใบในยาสูบ และช่วยให้หญ้าพืช และข้าวโพด มีเมล็ดเต็มรวงหรือเต็มฝัก เป็นต้น (Taiz and Zeiger, 1998) การใช้ ethephon กับสับปะรดในประเทศสหรัฐอเมริกามีข้อกำหนดอัตราส่วนการใช้ในการชักนำให้เกิดตาดอก คือใช้สาร 6.72 กิโลกรัมต่อ 6.25 ไร่ ก่อนการเก็บเกี่ยว 6-8 เดือน และใช้ ethephon 1.12 กิโลกรัมต่อ 6.25 ไร่ ก่อนการเก็บเกี่ยว 1 สัปดาห์ เพื่อให้สุกเสมอกันทั้งแปลง (Anonymous, 1977) สำหรับในประเทศไทยยังไม่มีระเบียบที่ชัดเจนในการควบคุมการใช้ ethephon แต่พออนุโลมได้ว่ามีความปลอดภัยถ้าใช้ ethephon กับพืชที่ไม่รับประทานเปลือก (จริงแท้, 2544) ซึ่งสับปะรดก็เป็นพืชชนิดหนึ่งที่ผู้บริโภคไม่รับประทานเปลือกมีการศึกษาพบว่า ethephon ที่มีอยู่ในสับปะรดสามารถสลายได้เมื่อมีการล้าง การปรุง (cook) หรือการเตรียมสับปะรด ซึ่งวิธีการเหล่านี้ทำให้ระดับของ ethephon ในสับปะรดลดลง ทำให้พบ ethephon ในปริมาณน้อยมากหรือไม่พบ ethephon ในสินค้าที่ผลิตขึ้นจากสับปะรดที่ใช้สาร ethephon (Anonymous, 1977) ทั้งนี้มีข้อเสนอแนะจาก Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues [JMPR] (1994) ว่าสาร ethephon ตกค้างในสับปะรดไม่ควรเกิน 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และจากการทดลองศึกษา ethephon ตกค้างในสับปะรดที่ปลูกในสภาพภูมิอากาศแตกต่างกันตั้งแต่ปี พ.ศ. 1970-1990 โดยใช้ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.56, 1.12, 2.24 และ 4.48 กิโลกรัมของสารสำคัญต่อ 6.25 ไร่ ซึ่งความเข้มข้น 1.12 กิโลกรัมของสารสำคัญต่อ 6.25 ไร่ เป็นความเข้มข้นสูงสุดที่ได้ให้คำแนะนำในการใช้ที่สหรัฐอเมริกา โดยภาพรวมแล้วสารตกค้างลดลงเมื่อพ่นก่อนเก็บเกี่ยวนานขึ้น ทั้งนี้จากผลที่ได้ของสารตกค้างในผลของสับปะรดที่เก็บหลังการพ่นสาร 7-8 วัน มีสารตกค้าง

อยู่น้อยกว่า 0.02-0.32 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และในเนื้อไม้สารตกค้างอยู่ 0.06-0.33 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทั้งนี้รายละเอียดของผลการศึกษาแสดงในเว็บไซต์ <http://www.fao.org/WAICENT/FAOINFO/AGRICULT/AGP/AGPP/Pesticide/JMPR/Download/94-eva/ethephon.pdf>

ผลของ ethylene สามารถก่อให้เกิดทั้งประโยชน์และผลเสียต่อพืช โดยประโยชน์บางประการของ ethylene ในพืชชนิดหนึ่งอาจเป็นผลเสียต่อพืชชนิดอื่นได้ เช่นในมะนาวฝรั่ง (lemon) ซึ่ง ethylene ไปเร่งการสลายสีเขียว แต่ถ้านำไปใช้กับมะนาว (lime) จะทำให้เกิดผลเสียคือมีอายุการเก็บรักษาที่สั้นลง (Saltveit, 1999) ethylene สามารถเปลี่ยนเพศของดอกในพืชประเภทแตกจากเพศผู้เป็นเพศเมีย (Saltveit, 1999; Taiz and Zeiger, 1998) ในสัปดาห์พบว่า ethylene เป็นสารที่มีประสิทธิภาพสูงในการชักนำให้สัปดาห์เกิดการออกดอกได้เช่นเดียวกับในมะม่วง (Salisbury and Ross, 1992; Taiz and Zeiger, 1998) นอกจากนี้ ethylene ยังสามารถทำให้ดอกไม้หลายชนิดเหี่ยวเร็วขึ้น เช่น ดอกคาร์เนชัน (จริงแท้, 2544) จากการศึกษาพบว่า ethylene ทำให้เกิดการสลายของลิพิดที่เยื่อหุ้มเซลล์ของกลีบดอกฟิวเนีย (Borochoy *et al.*, 1997) และผลกีวี (Yu *et al.*, 2003) โดย Yu *et al.* (2003) พบว่าการให้ ethylene จากภายนอกแก่ผลกีวีทำให้เกิดกิจกรรมของเอนไซม์ lipoxygenase เพิ่มขึ้น และ salicylic acid ลดลง ซึ่งมีผลต่อการสลายเยื่อหุ้มเซลล์ ethylene สามารถกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ pectinase และ cellulase ในพืชบางชนิดเช่นแตงโมจึงทำให้เนื้อผลเปลี่ยนแปลงไป (จริงแท้, 2544) นอกจากนี้ ethylene ทำให้เกิดการแสดงออกของ cellulase (β -1,4-glucanase) mRNA มากขึ้นในผลพริกไทยซึ่งเป็นผลประเภท non-climacteric (Ferrarese *et al.*, 1995) ผลของ ethylene ที่สำคัญประการหนึ่งคือการเร่งการสุก ซึ่งประสิทธิภาพดังกล่าวนี้ทำให้มีการใช้ ethylene เพื่อเร่งการสุกของผลไม้ต่างๆรวมทั้งสัปดาห์ ทั้งนี้เพราะ ethylene เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่ออัตราการหายใจ ผลไม้ทุกชนิดเมื่อมีการสุกจะสังเคราะห์ก๊าซ ethylene ออกมาในปริมาณที่แตกต่างกัน ผลไม้ประเภท climacteric ที่ระหว่างการเจริญเติบโตมีการผลิต ethylene และมีความเข้มข้นของ ethylene ภายในผลต่ำแต่เมื่อผลเริ่มสุกจะมีการสังเคราะห์ ethylene เพิ่มขึ้นหลายเท่าตัว ทำให้ความเข้มข้นภายในของ ethylene สูงขึ้นมาก (จริงแท้, 2544; White, 2002; Wills *et al.*, 1981) ผลไม้ประเภทนี้ส่วนใหญ่มีการปลดปล่อย ethylene ออกมามากกว่าผลไม้ประเภท non-climacteric (Wills *et al.*, 1981) การให้ ethylene จากภายนอกเพียง 0.1-1.0 ไมโครลิตรต่อลิตร 1 วันกับผลไม้ประเภท climacteric สามารถทำให้เกิดการสุกได้เร็วขึ้น นั่นคือสามารถเลื่อน climacteric peak ให้เกิดเร็วขึ้นได้ ทั้งนี้ความเร็วในการสุกขึ้นกับความเข้มข้นของ ethylene ที่ให้ (Wills *et al.*, 1981) แต่ความเข้มข้นของ ethylene ที่เพิ่มขึ้นไม่มีผลต่อการเพิ่มอัตราการหายใจหรือไม่สามารถทำให้จุดสูงสุดของ climacteric peak สูงขึ้น (दनัย, 2540; Biale and Young, 1981;

Salunkhe and Desai, 1984) ในผลไม้ประเภท non-climacteric นี้ตามปกติอัตราการผลิตและความเข้มข้นภายในของ ethylene จะต่ำอยู่ตลอดการพัฒนาและการเจริญของผล (จริงแท้, 2544) การให้ ethylene จากภายนอกกับผลไม้ประเภท non-climacteric พบว่าสามารถเพิ่มอัตราการหายใจให้สูงขึ้น (Biale and Young, 1981) ดังนั้นถ้าให้ ethylene ในปริมาณที่สูงขึ้นก็จะทำให้อัตราการหายใจสูงขึ้นจนเกิดเป็น climacteric peak ได้เช่นเดียวกับผลไม้จำพวก climacteric (คณัย, 2540) นั่นคือการเพิ่มขึ้นของอัตราการหายใจของผลไม้ประเภท non-climacteric ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของ ethylene ที่ใช้ (Salunkhe and Desai, 1984) ในองุ่นซึ่งเป็น non-climacteric นั้นพบว่าการสุกมีการผลิต ethylene ในปริมาณที่ต่ำ (Coombe and Hale, 1973) แต่ถ้าให้ ethephon กับผลองุ่นในแต่ละระยะเวลาของการพัฒนาการของผลองุ่น ทำให้ผลองุ่นมีการเจริญต่างกัน โดยถ้าให้ ethephon ตอนที่ผลกำลังพัฒนาในช่วงที่มีการเจริญเติบโตจะทำให้องุ่นสุกเร็วขึ้น แต่ถ้าให้ในช่วงที่ผลองุ่นกำลังพัฒนาอย่างรวดเร็วหรือในระยะที่เริ่มเข้าสู่ช่วงการพัฒนาช้าจะทำให้ผลองุ่นสุกช้ากว่าปกติ (Hale *et al.*, 1970) Tesniere *et al.* (2004) พบว่าการให้ ethylene กับผลองุ่นทำให้ยีน *VvADH2* แสดงออกมากขึ้น ดังนั้นเอนไซม์ alcohol dehydrogenase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญขององุ่นในกระบวนการสุกจึงมีกิจกรรมเพิ่มขึ้น จากการศึกษาี้แสดงให้เห็นว่าการเกิดกระบวนการเมแทบอลิซึมแบบไม่ใช้ออกซิเจนไม่จำเป็นต้องเกิดขึ้นจากการที่พืชมีปริมาณออกซิเจนต่ำ แต่กระบวนการเมแทบอลิซึมแบบไม่ใช้ออกซิเจนอาจทำหน้าที่ในการลดการใช้พลังงานลงในบางสถานการณ์ได้ (Geigenberger, 2003; Tesniere *et al.*, 2004) สำหรับสับปะรดซึ่งเป็นผลไม้ประเภท non-climacteric นั้น Dull *et al.* (1967) พบว่าการให้ ethylene จากภายนอกสามารถกระตุ้นอัตราการหายใจของสับปะรดให้เพิ่มขึ้นได้ โดยอัตราการหายใจของผลสับปะรดผันแปรไปตามปริมาณ ethylene และระยะของการพัฒนาของสับปะรด ทั้งนี้การใช้ ethylene มีผลมากเมื่อเปลือกของสับปะรดยังมีคลอโรฟิลล์อยู่ ดังนั้นถ้าให้ ethylene ในขณะที่ผลยังอ่อนจะทำให้อัตราการหายใจสูงขึ้นกว่าผลที่ไม่ได้ให้ ethylene แต่ถ้าให้ ethylene กับผลที่เปลือกเปลี่ยนเป็นสีเหลืองตั้งแต่ 12% ขึ้นไปจะไม่มีผลต่ออัตราการหายใจของผลสับปะรดเมื่อเทียบกับผลที่ไม่ได้ให้ ethylene

ประสิทธิภาพของการตอบสนองต่อ ethylene ในเนื้อเยื่อแต่ละชนิดขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการพอสรุปได้ดังนี้

ก. ปัจจัยทางด้านอายุของพืช ความไวในการตอบสนองต่อ ethylene ในแต่ละเนื้อเยื่อซึ่งเนื้อเยื่อที่ยังอ่อนอยู่มีการตอบสนองต่อ ethylene ได้ไม่ดีเท่าเนื้อเยื่อที่เจริญเต็มที่แล้ว (จริงแท้, 2544; Saltveit, 1999)

ข. ปัจจัยเรื่องความเข้มข้นของ ethylene หรือ ethephon ที่ใช้ ซึ่งขึ้นกับชนิดพืชด้วย ตัวอย่างเช่นการเร่งการสุกของผลไม้ทั่วไปจะใช้ ethephon เข้มข้นไม่เกิน 600 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่สำหรับทุเรียนต้องใช้ ethephon เข้มข้นถึง 2,400 มิลลิกรัมต่อลิตร (จริงแท้, 2544) ในแบบคเคอเรนท์ (*Riber nigum*) พบว่าการให้ ethephon เข้มข้น 257 มิลลิกรัมต่อลิตร ก่อนการเก็บเกี่ยว 2 วันจะทำให้ผลร่วงระหว่างการเก็บเกี่ยวถึง 98% และอัตราการร่วงของผลและใบก่อนเวลาเก็บเกี่ยวน้อยลง แต่ถ้าเพิ่มความเข้มข้นขึ้นเป็น 500 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าการเก็บเกี่ยวเช่นกันพบว่าถึงแม้การร่วงของผลในระหว่างการเก็บเกี่ยวจะมีมากก็ตามแต่อัตราการร่วงของผลและใบก่อนการเก็บเกี่ยวจริงมากกว่าการใช้ ethephon ที่ระดับ 257 มิลลิกรัมต่อลิตร (Zhang *et al.*, 2003)

ค. ปัจจัยในเรื่องของระยะเวลาที่พืชสัมผัสกับ ethylene (Saltveit, 1999) ตัวอย่างเช่นการใช้ ethephon เข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตรพ่นก่อนอายุ 21 ปี จำนวน 2 ครั้งที่ 20 และ 10 วันก่อนการเก็บเกี่ยวทำให้ผลร่วงง่ายกว่าการพ่นเพียง 1 ครั้งที่อยู่ 20 วันก่อนการเก็บเกี่ยว (Morris and Cawthon, 1991)

ง. ปัจจัยในเรื่องของอุณหภูมิระหว่างการให้ ethylene ปริมาณก๊าซออกซิเจนในบรรยากาศที่สูงกว่า 10% และคาร์บอนไดออกไซด์ในบรรยากาศที่ต่ำกว่า 1% ถ้าปริมาณออกซิเจนต่ำกว่าและคาร์บอนไดออกไซด์สูงกว่าข้างต้น ประสิทธิภาพของ ethylene จะน้อยลง (Saltveit, 1999)

4. การใช้ ethephon กับสับปะรด

ethephon เป็นสารที่ผู้ปลูกสับปะรดทั้งรายใหญ่และรายย่อยนิยมนำมาใช้ในการเร่งดอก (จินดารัฐ, 2541) ethephon มีบทบาทในการเร่งการสุกและสามารถทำให้เกษตรกรลดจำนวนครั้งในการเก็บเกี่ยวผลผลิตในแปลงปลูกได้ (Hepton, 2003) ใน Queensland ประเทศออสเตรเลีย มีการใช้ ethephon เร่งการสุกและลดค่าใช้จ่ายในการเก็บเกี่ยวผลสับปะรดพันธุ์ Smooth Cayenne ที่ผ่านการเร่งดอกพร้อมกัน เพื่อใช้ในโรงงานอุตสาหกรรมสับปะรดกระป๋องมาตั้งแต่ปี ค.ศ. 1980 โดยพ่นสาร ethephon เมื่อผลเริ่มเปลี่ยนสีแล้ว 1 สัปดาห์ ทำให้สามารถเก็บผลได้ใน 1 ครั้งแทนที่จะเป็น 3-5 ครั้งในหลายสัปดาห์ (Smith, 1991) ในฮาวายมีคำแนะนำในการใช้ ethephon เพื่อช่วยลดจำนวนครั้งของการเก็บเกี่ยวลง โดยให้เก็บเกี่ยวผลที่สุกเร็วที่สุดออกจากแปลงปลูกก่อน จากนั้นจึงค่อยพ่น ethephon เข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอัตรา 1000 ลิตรต่อ 6.25 ไร่ (1 เฮกตาร์) ซึ่งจะทำให้ลดการเก็บเกี่ยวลงเหลือเพียง 2-3 ครั้ง และมีระยะเวลาในการเก็บเกี่ยวห่างกันเพียง 7-10 วันเท่านั้น วิธีที่แนะนำนี้เป็นวิธีที่มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลน้อยที่สุดด้วย (จินดารัฐ, 2541)

Paull and Chen (2003) กล่าวว่าเกษตรกรใช้ ethephon พ่นสับประรดก่อนการเก็บเกี่ยวเป็นเวลา 48 ชั่วโมงหรือก่อนหน้านั้นเพื่อเร่งให้เกิดกระบวนการสลายสีเขียวที่เปลือก และเป็นการเร่งการสุกของสับประรดด้วย ethephon สามารถเร่งการสลายสีเขียวที่เปลือกได้เนื่องจากคุณสมบัติของ ethylene ในการเร่งการสลายคลอโรฟิลล์ที่เปลือก ซึ่งประโยชน์ที่ผู้บริโภครู้เห็นได้ชัดเจนคือเปลือกของสับประรดที่บรรจุอยู่ในภาชนะเพื่อจำหน่ายจะมีสีสวยเท่ากัน ด้วยเหตุนี้วิธีการในการพ่นสารจึงมีความสำคัญโดยต้องพ่นให้ผลได้รับสารอย่างสม่ำเสมอทั่วถึงกันเพื่อให้สีเหลืองเกิดขึ้นอย่างสม่ำเสมอ นอกจากนี้ปียะ (2522) ใช้ ethephon เข้มข้น 0, 1500, 3000, 4500 และ 6000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 30-35 มิลลิลิตรต่อผล พ่นรอบผลสับประรดในกลุ่ม Smooth Cayenne ที่มีอายุ 84, 98, 112, 126 และ 140 วันนับจากวันเร่งดอก พบว่าสามารถเก็บเกี่ยวสับประรดที่พ่น ethephon ได้เร็วกว่าสับประรดไม่ได้พ่นประมาณ 4 สัปดาห์ โดยเฉพาะการพ่นผลอายุ 112 วันหลังการเร่งดอก ทั้งนี้การให้ความเข้มข้นของ ethephon ที่สูงขึ้นจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงต่างๆทุกช่วงเวลาที่ใช้ โดยทำให้ได้เปอร์เซ็นต์น้ำตาลน้อยกว่าในผลปกติ และทำให้ความแน่นของผลมีมากกว่าผลปกติ การที่ ethephon สามารถร่นระยะเวลาการเก็บเกี่ยวให้เร็วขึ้นนี้สุภาพรและคณะ (2542) ซึ่งใช้ ethephon เข้มข้นเพียง 250 มิลลิกรัมต่อลิตร พ่นรอบผลสับประรดในปริมาตร 425 ลิตรต่อ 8500 ต้น (50 มิลลิลิตรต่อต้น) ก่อนการเก็บเกี่ยวประมาณ 2 สัปดาห์ พบว่าสามารถเก็บผลสับประรดได้เร็วขึ้น 6-11 วันและเก็บผลจากแปลงปลูกได้ทั้งหมดภายใน 1-2 ครั้งจากปกติที่ต้องเก็บ 3-4 ครั้ง Wee and Ng (1971) พ่น ethephon เข้มข้น 2000-8000 มิลลิกรัมต่อลิตรแก่สับประรดพันธุ์ Singapore Spanish อายุ 133 วันหลังการเร่งดอก พบว่าสามารถเก็บผลที่สุก 1 ใน 3 ของลูกได้เมื่อผลมีอายุ 147 วันหลังการเร่งดอก โดยใช้การเก็บเพียง 1 ครั้ง ต่างกับต้นปกติซึ่งต้องรอให้ถึงอายุ 175 วันหลังการเร่งดอก และต้องใช้เวลาเก็บนาน 3 สัปดาห์ ผลที่พ่น ethephon ไม่มีการเปลี่ยนแปลงทั้งขนาดและน้ำหนักเมื่อเทียบกับผลปกติ แต่ความยาวลูกลดลงเมื่อใช้ความเข้มข้นสูง โดยเฉพาะที่ 8000 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบการพ่นสารที่อายุ 105-133 วันหลังการเร่งดอก พบว่าการพ่นขณะผลอายุน้อยทำให้ปริมาณ TSS เพิ่มขึ้นแต่ความเป็นกรดของผล (%citric) ไม่เปลี่ยนแปลง Norman (1978) พบว่าการใช้ ethephon กับสับประรดพันธุ์ Singapore Spanish อายุ 70 วันหลังการเร่งดอกทำให้สับประรดสุกอย่างสม่ำเสมอและเก็บได้ภายใน 1 ครั้งแทนที่จะเป็น 3 ครั้งจากปกติ โดยปริมาณน้ำตาลภายในผลเพิ่มขึ้นขณะที่กรดไม่มีการเปลี่ยนแปลง สำหรับ Nanayakkara *et al.* (2005) พบว่าถ้าพ่น ethephon เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ K_2SO_4 เข้มข้น 5% ให้แก่สับประรดพันธุ์ Mauritius ที่ 28 วันก่อนการเก็บเกี่ยว พบว่าคุณภาพผลซึ่งได้แก่ ปริมาณ TSS ปริมาณ TA และอัตราส่วนของ TSS:TA เพิ่มขึ้น

การใช้ ethephon เพื่อเร่งการสุกและลดจำนวนครั้งในการเก็บเกี่ยวสับปะรด พบว่ามีปัจจัยที่ส่งผลถึงการทำงานของ ethephon อยู่ 2 ปัจจัยคือ ระยะเวลาการให้สาร ethephon และความเข้มข้นของ ethephon ที่ใช้ กล่าวคือการใช้สาร ethephon กับผลสับปะรดเร็วเกินไป ทำให้น้ำหนักของผลและคุณภาพของผลลดลง โดยพบว่าความยาวตัวของเซลล์และการสะสมน้ำตาลรวมถึงสีของเนื้อเกิดขึ้นไม่ดีเท่าที่ควร (Hepton, 2003) ถ้าให้สาร ethephon กับผลสับปะรดในระยะ 1-6 สัปดาห์ก่อนผลจะสุกตามปกติ พบว่า ethephon สามารถช่วยให้สับปะรดสุกเร็วขึ้นและสุกสม่ำเสมอขึ้น แต่มีผลเสียคือคุณภาพของผลลดลงโดยมีสภาพใกล้เคียงกับผลที่พัฒนามาถึงช่วงเวลาที่ให้สาร ethephon แสดงว่าผลสับปะรดมีแนวโน้มที่จะหยุดการพัฒนาคุณภาพหลังจากได้รับสาร ethephon (จินดารัฐ, 2541) ทั้งนี้ Audinay (1970) พบว่า ethylene สามารถเร่งการสุกของสับปะรดให้เร็วขึ้น แต่จะส่งผลให้เปอร์เซ็นต์น้ำตาลในผลลดลงและปริมาณกรดภายในผลเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ Paull and Chen (2003) กล่าวว่าถ้าให้ ethephon กับผลสับปะรดเร็วเกินไปจะทำให้กรดในผลสับปะรดเพิ่มขึ้น 10% แต่น้ำตาลลดลง 5% เมื่อเทียบกับผลที่ไม่ได้ให้สาร ethephon ดังนั้นระยะเวลาการให้สาร ethephon หรือระยะเวลาการเจริญของสับปะรด จึงมีความสำคัญและอาจสัมพันธ์กับหน้าที่ของ ethylene ในการเร่งการเสื่อมสภาพของผล ดังนั้นเพื่อป้องกันการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพผล Paull and Chen (2003) จึงแนะนำให้พ่นสาร ethephon เมื่อผลสับปะรดเริ่มมีสีเหลืองเกิดขึ้นที่ฐานของผลตามธรรมชาติ นอกจากระยะเวลาการให้สารแล้วความเข้มข้นของ ethephon สามารถทำให้คุณภาพและขนาดเปลี่ยนแปลงได้ ดังเช่นกรณีที่ใช้สาร ethephon ในเวลาเดียวกันแต่ใช้ความเข้มข้นของสารต่างกัน พบว่าความเข้มข้นที่สูงกว่าจะทำให้อัตราการสลายสีเขียวที่เปลือกเกิดขึ้นได้เร็ว แต่ผลเสียคือความเข้มข้นดังกล่าวจะไปลดผลผลิตต่อแปลงของสับปะรด (Hepton, 2003) ซึ่งปิยะ (2522) พบว่าการพ่น ethephon เข้มข้น 3000 มิลลิกรัมต่อลิตรให้กับผลอายุ 112 วันหลังการเร่งดอก สามารถเก็บผลได้เร็วกว่าปกติ 7 วัน แต่เมื่อใช้ความเข้มข้นเพิ่มขึ้นคือ 6000 มิลลิกรัมต่อลิตร พ่นผลอายุเท่ากัน จะสามารถเก็บผลได้เร็วขึ้นกว่าปกติ 19 วัน แต่น้ำหนักผลก็ลดลงอย่างเห็นได้ชัดเจน ซึ่งแสดงว่าการใช้ ethephon ความเข้มข้นสูงทำให้ขนาดผลขนาดจุกและเส้นผ่านศูนย์กลางแกนผลลดลง ซึ่งเป็นสิ่งที่โรงงานต้องการ นอกจากนี้ผลที่พ่นด้วย ethephon จะมีความหนาแน่นมากกว่าผลปกติซึ่งเป็นผลดีต่อการขนส่งโดยทำให้สับปะรดบอบช้ำยากขึ้น คุณภาพภายในผลของสับปะรดที่พ่นสารก็เกิดการเปลี่ยนแปลงโดย ปริมาณกรดเพิ่มขึ้นและปริมาณน้ำตาลลดลง แต่การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวนี้ขึ้นกับความเข้มข้นที่ใช้ด้วย อย่างไรก็ตามปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นและปริมาณน้ำตาลที่ลดลงยังอยู่ในเกณฑ์ที่โรงงานรับซื้อได้ การใช้ ethephon เข้มข้น 250 มิลลิกรัมต่อลิตร (สุภาพรและคณะ, 2542) ทำให้น้ำหนักและความกว้างของจุกลดลง แต่ความยาวไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับผลที่ไม่ได้พ่นสาร ethephon ปริมาณ TSS ในเนื้อเพิ่มขึ้น

ปริมาณ TA และอัตราส่วนระหว่าง TSS:TA ไม่แตกต่างจากผลที่ไม่ได้พ่นสาร นอกจาก ethephon จะส่งผลต่อผลสับปะรดแล้วยังส่งผลกระทบต่อถึงลูกสับปะรดด้วย ดังที่ Paull and Chen (2003) กล่าวว่า ethephon สามารถทำลายลูกของสับปะรดได้ Nanayakkara *et al.* (2005) ใช้ ethephon 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ K_2SO_4 เพิ่มขึ้น 5% พ่นผลสับปะรดก่อนการเก็บเกี่ยว ไม่ทำให้ขนาดของผลสับปะรดแตกต่างไปจากปกติ แต่ถ้าใช้ ethephon 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ K_2SO_4 เพิ่มขึ้น 5% สามารถเพิ่มปริมาณ TSS และเพิ่มอัตราส่วนระหว่าง TSS:TA ได้ อย่างไรก็ตามคุณภาพที่เปลี่ยนไป เช่น การลดลงของปริมาณ TSS ที่เกิดจากผลของ ethephon ที่ถูกใช้ก่อนเวลาสมควร สามารถแก้ไขได้โดยการเติมน้ำเชื่อมลงในผลิตภัณฑ์ของสับปะรด (Smith, 1991)

5. คุณภาพของผลสับปะรด

คุณภาพของผลสับปะรดมีความสำคัญต่อโรงงานอุตสาหกรรมสับปะรดกระป๋อง คุณภาพผลที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมี ทางกายภาพ และทางสรีรวิทยาถูกกำหนดตั้งแต่วัยบนต้นแม่ (จินดารัฐ, 2541) ดังนั้นการเก็บเกี่ยวผลสับปะรดก่อนการสุกจะทำให้คุณภาพของผลต่ำ โดยเฉพาะขนาดความหวานเนื่องจากสับปะรดที่เก็บเกี่ยวแล้วจะไม่เกิดกระบวนการสุกต่อหรือไม่หวานขึ้น ทั้งนี้เพราะสับปะรดไม่มีการสะสมแป้งในผลซึ่งจะเปลี่ยนเป็นน้ำตาลต่อไปได้ (Moyle *et al.*, 2005a) ดังนั้นในการเก็บเกี่ยวผลโดยเฉพาะเพื่อส่งเข้าสู่โรงงานอุตสาหกรรมจึงควรให้สับปะรดสุกก่อนเพื่อให้เนื้อสับปะรดมีสีเข้ม มีกลิ่นและรสชาติดี แต่ไม่ควรเก็บสับปะรดที่สุกมากเข้าสู่โรงงานอุตสาหกรรมเนื่องจากผลดังกล่าวจะเสียหายระหว่างกระบวนการแปรรูป นอกจากนี้การเก็บเพื่อจำหน่ายผลสดไม่นิยมเก็บผลที่สุกเต็มที่เนื่องจากอายุการวางจำหน่ายสั้นและมีความเสียหายระหว่างการขนส่งได้ง่าย (Hepton and Hodgson, 2003)

คุณภาพผลของสับปะรดสามารถจำแนกได้ตามวัตถุประสงค์ของการบริโภค โดยคุณภาพสำหรับส่งเข้าโรงงานจะต่างจากคุณภาพผลที่จำหน่ายเพื่อบริโภคผลสด การบริโภคผลสดต้องการปริมาณน้ำตาลที่สูง มีความฉ่ำ ขนาดใหญ่ มีกลิ่นหอม (ประธาน, 2544) ส่วนคุณภาพสำหรับการส่งเข้าสู่โรงงานสับปะรดกระป๋องนั้นมีความจำกัดในเรื่องของคุณภาพมากกว่าโดยมีความสำคัญใกล้เคียงกับการจำหน่ายผลสด ถึงแม้ว่ากระบวนการแปรรูปสามารถปรุงสิ่งต่างๆได้ตามความต้องการ (สมบัติ และคณะ, 2539) จากรายงานการวิเคราะห์ผลสับปะรดหนึ่งผลที่หนักประมาณ 2,414 กรัม ประกอบด้วย จุก 495 กรัม เปลือก 655 กรัม เนื้อ 647 กรัม แกน 235 กรัม ไวตามินซี 7.45 มิลลิกรัม/100 กรัม (เนื้อ) กรดในน้ำคั้น 0.59% และ pH ของน้ำคั้น เท่ากับ 3.50 (กนกมณฑล,

2530) คุณภาพของผลสับปะรดสามารถแบ่งออกได้เป็นคุณภาพภายนอกและคุณภาพภายในซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

5.1 คุณภาพภายนอกของสับปะรด

คุณภาพภายนอกของสับปะรดที่มีการนำไปใช้ศึกษาหรือรับซื้อสินค้ามีหลายรูปแบบ ทั้งนี้ผู้ซื้อนิยมพิจารณาขนาดและน้ำหนักของผลเป็นหลัก อย่างไรก็ตามจุกมีความสำคัญต่อคุณภาพผล (Coppens d'Eeckenbrugge and Leal, 2003; Hepton and Hodgson, 2003) จุกของสับปะรดมีการเจริญเติบโตตามอายุของผลสับปะรด ดังนั้นเกษตรกรจึงนิยมทำลายเนื้อเยื่อเจริญบริเวณจุกโดยการแคะหรือไขจุก เพื่อให้ผลสับปะรดมีขนาดและน้ำหนักเพิ่มขึ้น Hepton (2003) กล่าวว่า การแคะจุกสามารถทำให้น้ำหนักเพิ่มขึ้น 6-10 % แต่ Paull and Chen (2003) กล่าวว่า การแคะจุกหรือทำลายจุกไม่ทำให้น้ำหนักของผลเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามไม่ควรแคะจุกสับปะรดที่ปลูกในดินที่มีไนเตรทสูง เนื่องจากจะทำให้ไนเตรทสะสมอยู่ในเนื้อของสับปะรดโดยเฉพาะบริเวณส่วนบนของผล สับปะรดเพราะไม่มีเนื้อเยื่อเจริญบริเวณจุกที่จะนำไนเตรทไปใช้ในการเจริญเติบโต (Hepton, 2003) การที่มีไนเตรทในเนื้อสับปะรดเป็นสิ่งที่โรงงานระวังเป็นอย่างยิ่งและจะปฏิเสธการรับสับปะรดที่มีไนเตรทเกินกว่า 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (บริษัท โดลไทยแลนด์ จำกัด, ม.ป.ป.) แต่ในบางแห่งมีปริมาณไนเตรทได้ถึง 25 มิลลิกรัมต่อลิตร (อาภัสรา, 2535) ทั้งนี้การมีไนเตรทปนเปื้อนในสับปะรดจะส่งผลกระทบต่อผลิตภัณฑ์ โดยไนเตรทจะไปกีดกร่อนดินบุกที่เคลือบกระป๋องให้หลุดร่วงเมื่อเก็บไว้นานๆเป็นเหตุให้อายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์สั้นลง กระป๋องจึงมีสีดำและดินบุกที่หลุดร่วงยังเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค (เดช, 2536) ด้วยเหตุนี้กรมวิชาการเกษตร (2545) จึงห้ามไม่ให้เกษตรกรทำลายจุกสับปะรดเพื่อป้องกันการตกค้างของไนเตรท นอกจากนี้บริษัท โดลไทยแลนด์ จำกัด (ม.ป.ป.) ไม่แนะนำให้แคะจุกทั้งนี้เพราะจุกสามารถให้ร่มเงาบังลูก เป็นการป้องกันแดดเผาเปลือก การที่ผลสับปะรดถูกแดดเผาจะทำให้เกิดรอยแผลที่สามารถเป็นช่องทางที่เชื้อโรคสามารถเข้าทำลายเนื้อทำให้ผลสับปะรดเน่าได้ และรอยแผลที่เกิดขึ้นอาจเป็นที่อยู่อาศัยของมดและแมลงตัวเล็กๆซึ่งอาจปนเปื้อนลงกระป๋องผลิตภัณฑ์ได้ ดังนั้นการไม่แคะจุกจึงเป็นการประหยัดค่าใช้จ่ายและเวลาในการคลุมผลสับปะรดในฤดูแล้ง รวมถึงลดอันตรายที่จะเกิดขึ้นกับสับปะรดได้ นอกจากนี้เกษตรกรยังสามารถนำจุกที่ไม่ถูกทำลายเนื้อเยื่อเจริญไปใช้ในการปลูกสับปะรดในคราวต่อไปได้ ซึ่งเป็นการประหยัดค่าใช้จ่ายทางด้านลงทุนเรื่องหน่อพันธุ์ได้ด้วย Paull and Reyes (1996) พบว่าถ้าผลมีจุกขนาดใหญ่จะมีโอกาสที่จะเกิดเนื้อใส่น้ำ (translucent) น้อย ทั้งนี้เพราะการไม่มีจุกบังแดดจะทำให้อุณหภูมิภายในผลสูงขึ้น เป็นการเร่งให้ผลสุกแก่เร็วขึ้น จึงเกิดปรากฏการณ์

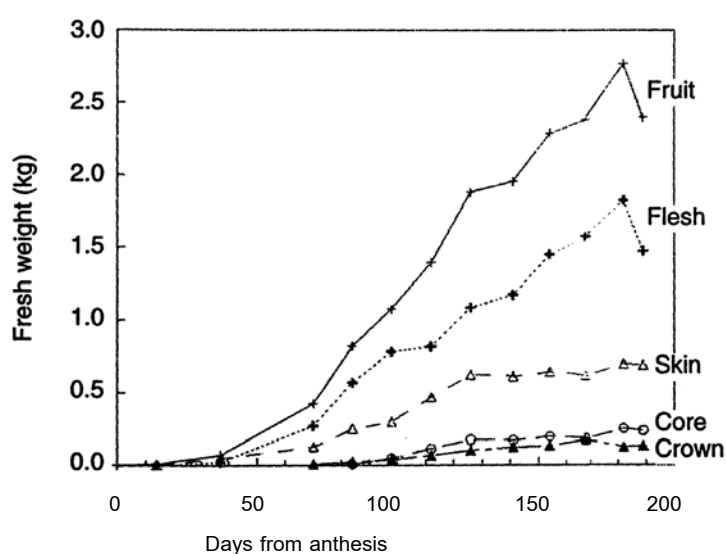
เนื้อใสน้ำหรือการสุกเร็วในสัปดาห์แรก ในการจำหน่ายผลเพื่อบริโภคผลสด Paull (1997) กล่าวว่า ขนาดของจุกมีความสำคัญโดยผลสดที่รับซื้อต้องมีสัดส่วนของความยาวจุกและความยาวผล ประมาณ 0.33-1.5 ทั้งนี้สัดส่วนที่น้อยหมายถึงการมีคุณภาพผลสดที่ดี จุกมีความสำคัญในการขนส่งเพื่อการจำหน่ายด้วยโดยต้องระมัดระวังไม่ให้จุกโคนทำลาย นอกจากนี้จุกยังเป็นจุดเริ่มต้นของการสูญเสียน้ำหนักภายหลังการเก็บเกี่ยว เพราะปากใบบนจุกเปิดค้างอยู่ตลอดเวลาจึงทำให้เกิดการสูญเสียน้ำอยู่ตลอดเวลาตนเอง

การเจริญของจุกเริ่มขึ้นหลังจากผลมีการเจริญไปแล้ว 45 วัน (Paull and Reyes, 1996) และ เจริญสูงสุดในระยะที่ผลใกล้เวลาเก็บเกี่ยว โดยจุกมีความยาว น้ำหนักและจำนวนใบสูงสุด ต่อจากนั้นจุกจะอยู่ในสภาวะพักตัว และหมดระยะพักตัวเมื่อถูกตัดออกจากผล ซึ่งเป็นเหตุให้จุกที่ตัดออกมาใหม่ๆเมื่อนำไปปลูกจะมีรากออกมาเร็ว มีรายงานน้อยมากในเรื่องเกี่ยวกับปัจจัยต่างๆ ที่ส่งผลกระทบต่อ การเจริญของจุก ในกรณีของสารเคมีที่มีผลต่อการเจริญของจุกนั้นพบว่าสาร NAA (naphthalene acetic acid) และ 3-CPA (chlorophenoxy propionic acid) ซึ่งใช้เพิ่มขนาดของผล ทำให้จุกมีขนาดและน้ำหนักลดลง โดยเฉพาะสาร 3-CPA ซึ่งถ้าใช้ในปริมาณสูงจะทำให้จุกเสียหาย ไม่สามารถนำไปใช้ปลูกได้ต่อไป (Bartholomew *et al.*, 2003) ในกรณีของ ethephon นั้นปิยะ (2522) พบว่าถ้าใช้ ethephon ที่เข้มข้นตั้งแต่ 1,500 มิลลิกรัมต่อลิตรขึ้นไปบนผลสัปดาห์แรกตั้งแต่อายุ 84 วันหลังการเร่งดอก จะทำให้ความกว้าง ความยาวและน้ำหนักจุกลดลง สุภาพรและคณะ (2542) ใช้ ethephon เข้มข้น 250 มิลลิกรัมต่อลิตรบนผลสัปดาห์แรกก่อนการเก็บเกี่ยวประมาณ 2 สัปดาห์ พบว่าจุกของผลที่พ่นด้วย ethephon มีความกว้างและน้ำหนักของจุกน้อยกว่าจุกของผลที่พ่นด้วย น้ำเปล่า แต่ ethephon ที่ความเข้มข้นดังกล่าวไม่มีผลต่อความยาวจุก

ขนาดและน้ำหนักของผลสัปดาห์แรกเป็นสิ่งที่เกษตรกรคำนึงถึงเนื่องจากการจำหน่าย สัปดาห์แรกให้โรงงานอุตสาหกรรมสัปดาห์แรกประกอบมีหลักเกณฑ์ในการรับซื้อและประเมินราคา ผลผลิตให้แก่เกษตรกรตามขนาดและน้ำหนัก ดังนั้นเกษตรกรจึงผลิตสัปดาห์แรกให้ได้ตามเกณฑ์ที่ โรงงานกำหนดเพื่อเป็นการประกันว่าผลผลิตสามารถจำหน่ายได้ เช่นบริษัท โดลไทยแลนด์ จำกัด (ม.ป.ป.) จะรับซื้อผลสัปดาห์แรกที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 4 นิ้ว (10 เซนติเมตร) ขึ้นไปและมี น้ำหนักประมาณ 1.0-1.5 กิโลกรัม ผลที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 4-5.5 นิ้ว เป็นขนาดที่โรงงาน นิยมนำไปใช้ ทั้งนี้เนื่องมาจากขนาดดังกล่าวมีความสูญเสียเนื้อที่ติดไปกับเปลือกในขั้นตอนการ กำจัดเปลือกและแกนโดยเครื่องปอกเปลือกและกระทุ้งแกน (Ginaca) น้อยที่สุด สำหรับสัปดาห์แรก ที่มีขนาดเล็กกว่าเกณฑ์นี้ทางบริษัทไม่สามารถนำไปแปรรูปเป็นสัปดาห์แรกแวนได้ แต่ถ้าผลสัปดาห์แรก

มีขนาดใหญ่กว่าเกณฑ์ โดยเฉพาะผลที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 6 นิ้วนั้นเหมาะที่จะใช้จำหน่ายเป็นผลสดมากกว่านำไปแปรรูป เพราะทางโรงงานต้องใช้คนงานในการปอกเปลือกเพื่อมิให้เกิดการสูญเสียเนื้อไปกับเปลือกมากเกินไป นอกจากนี้ผลขนาดใหญ่ส่วนมากจะมีเส้นผ่านศูนย์กลางแกนผลขนาดใหญ่ ซึ่งถ้าใหญ่มากก็ไม่สามารถกำจัดโดยใช้เครื่องกระทุ้งแกนได้ จึงเป็นการสิ้นเปลืองแรงงานและค่าใช้จ่ายในการแปรรูปผลสับปะรดขนาดใหญ่ (จารุพันธ์, 2526)

น้ำหนักและส่วนประกอบอื่นๆของผลรวมถึงแกนผลมีอัตราการเพิ่มขึ้นระหว่างการเจริญเติบโตแบบ sigmoid curve (ภาพที่ 1) (Bartholomew *et al.*, 2003; Paull and Chen, 2003) โดยในการเจริญของผลสับปะรดแบ่งเป็น 2 ระยะ ระยะแรกเกิดขึ้นในช่วงที่สับปะรดออกดอกในระยะก่อนดอกบาน (อายุประมาณ 60 วันหลังการเร่งดอก) การเจริญในระยะนี้เกิดขึ้นจากเซลล์ของผลสับปะรดมีการแบ่งตัว ส่วนการเจริญในระยะถัดมาเป็นการเจริญที่เกิดขึ้นจากเซลล์ส่วนใหญ่ขยายตัวและเซลล์จะขยายตัวจนระยะใกล้สุกแก่ (จินดารัฐ, 2541; Purseglove, 1972)



ภาพที่ 1 การเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักจากส่วนต่างๆของผลสับปะรดภายหลังการออกดอก (ที่มา: Paull and Chen, 2003)

จากการศึกษาในเรื่องปัจจัยที่สามารถควบคุมการเจริญเติบโตของขนาดและน้ำหนักของผลพบว่า มีอยู่ 3 ปัจจัยด้วยกันซึ่งได้แก่ ปัจจัยทางด้านสภาวะแวดล้อม ปัจจัยด้านระบบการปลูก และปัจจัยทางด้านพันธุกรรม (Chan *et al.*, 2003; Bartholomew *et al.*, 2003) กล่าวคือถ้าสับปะรดอยู่ในสภาวะที่ขาดน้ำเป็นเวลานานจะทำให้ผลสับปะรดมีน้ำหนักลดลง ปริมาณแสงมีความสำคัญต่อ

ขนาดของสับปะรดโดยผ่านทางอัตราการสังเคราะห์แสง ซึ่งในประเทศออสเตรเลียและมลรัฐฮาวาย ซึ่งอยู่ในแถบ subtropical พบว่าการเร่งดอกในฤดูหนาวจะทำให้ได้ผลที่มีขนาดเล็กกว่าผลที่เร่งใน ฤดูร้อน (Bartholomew *et al.*, 2003) สำหรับปัจจัยทางระบบการปลูกพบว่าขนาดของผลสามารถ ควบคุมได้จากจำนวนผลที่ปลูกในแต่ละแถวของแปลงปลูก ถ้าจำนวนต้นต่อแถวหนาแน่นมากจะ ทำให้ขนาดและน้ำหนักผลลดลง (Bartholomew *et al.*, 2003; Hepton, 2003) นอกจากนี้ขนาดของ ต้นสับปะรดขณะทำการเร่งดอกก็มีผลต่อน้ำหนักและขนาดของผลสับปะรดเช่นกัน (Hepton, 2003) บริษัท โคลไทยแลนด์ จำกัด (ม.ป.ป.) ให้คำแนะนำไว้ว่าน้ำหนักต้นในการบังคับดอกในปีแรกควร หนักประมาณ 2.5-3.0 กิโลกรัมต่อต้น และ 1.3-1.8 กิโลกรัมต่อต้นในแปลงปีที่ 2 สำหรับปัจจัย ทางด้านพันธุกรรมนั้นพบว่าสับปะรดพันธุ์ Smooth Cayenne มีความแปรปรวนของความยาวผลใน ระหว่างที่ผลกำลังพัฒนา (Bartholomew *et al.*, 2003)

นอกจากทั้ง 3 ปัจจัยที่กล่าวมาข้างต้นแล้วยังมีรายงานว่าสารเคมีบางชนิดสามารถ ส่งผลกระทบต่อขนาดและน้ำหนักของผลสับปะรด โดยพบว่าถ้าใช้ NAA, β -naphthoxyacetic acid และ 3-CPA กับผลสับปะรดภายหลังการออกดอกจะทำให้ขนาดและน้ำหนักของผลสับปะรด เพิ่มขึ้นได้ โดยสารเหล่านี้ไปมีผลต่อการขยายขนาดของเซลล์สับปะรด ทั้งนี้พบว่ามีแต่สาร 3-CPA เท่านั้นที่มีการใช้กับสับปะรดพันธุ์ Queen ซึ่งปลูกเป็นการค้าในประเทศมาเลเซีย แต่สารเคมีเหล่านี้ ก็ก่อให้เกิดผลเสียต่อสับปะรดด้วย โดยจะทำให้การเก็บเกี่ยวช้าลง ผลที่เก็บเกี่ยวมีอายุการนำไปวาง จำหน่าย (shelf-life) สั้นกว่าปกติ จุกของผลถูกทำลาย ปริมาณ TSS ลดลง เนื้อของสับปะรดมีสีซีด มีความเสี่ยงต่อการติดโรคร้ายกว่าและเนื้อผลภายในสุกแต่เปลือกยังคงมีสีเขียวอยู่ (Bartholomew *et al.*, 2003) นอกจากนี้สารเคมีทั้ง 3 ตัวที่กล่าวมาก็พบว่า ethephon เป็นสารเคมีอีกชนิดหนึ่งที่ส่งผล ต่อขนาดและน้ำหนักของผลสับปะรด

5.2 คุณภาพภายในของสับปะรด

คุณภาพภายในของสับปะรดเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการบ่งชี้คุณภาพ ของสับปะรดและมีความชัดเจนมากกว่าคุณภาพภายนอก คุณภาพภายในที่ผู้บริโภคและโรงงาน อุตสาหกรรมตรวจสอบนั้นมีความละเอียดในการตรวจสอบไม่เท่ากัน สำหรับผู้บริโภคผลสด แล้วเนื่องจากผู้บริโภคแต่ละท้องถิ่นหรือแต่ละบุคคลมีรสนิยมในการบริโภคสับปะรดที่แตกต่างกัน ออกไปโดยเฉพาะความชอบทางด้านรสชาติ อย่างไรก็ตามคุณภาพที่ถูกนำมาใช้เพื่อตรวจสอบ สับปะรดโดยเน้นในเรื่องรสชาติเป็นหลักได้แก่ ปริมาณ TSS ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณความชื้นใน

เนื้อ (moisture content) ปริมาณ TA pH ของน้ำคั้น และสัดส่วนระหว่าง TSS:TA เป็นต้น ดัชนีบ่งชี้คุณภาพที่ทำการตรวจวัดนี้ใช้กับผลไม้ชนิดอื่นด้วยเช่นแตงเมลอน ซึ่งในแตงเมลอนนี้ดัชนีเหล่านี้ยังสามารถใช้บอกการพัฒนาการของแตงเมลอนด้วย โดยสามารถประเมินว่าแตงเมลอนมีการเจริญเต็มวัยจากปริมาณน้ำตาล (TSS) การที่จะประเมินว่าแตงเมลอนสุกหรือไม่ใช้ดัชนีคือสัดส่วนระหว่าง TSS:TA (Villanueva *et al.*, 2004) ในทำนองเดียวกันคุณภาพด้านการบริโภคของแตง muskmelon ได้แก่ความเข้มข้นของน้ำตาลหรือความหวาน (Yamaguchi *et al.*, 1977) สำหรับสับปะรดพบว่าปริมาณ TSS สัมพันธ์กับคุณภาพด้านการบริโภคมากที่สุด (Smith, 1988) โดยภาพรวมจากดัชนีทางด้านรสชาติในสับปะรดจะเห็นว่าสับปะรดที่มีคุณภาพสูงสุดจะมีปริมาณ TSS ที่สูงและมีปริมาณ TA ค่อนข้างต่ำ คือน้อยกว่า 1% citric acid แต่ต้องไม่ต่ำเกินไปมิเช่นนั้นสับปะรดจะมีคุณภาพต่ำโดยเฉพาะทำให้รสชาติของสับปะรดจืดชืดไม่มีรสชาติ โดยเฉพาะกับผู้ที่นิยมสับปะรดที่มีรสเปรี้ยว (Bartholomew *et al.*, 2003; Paull and Chen, 2003)

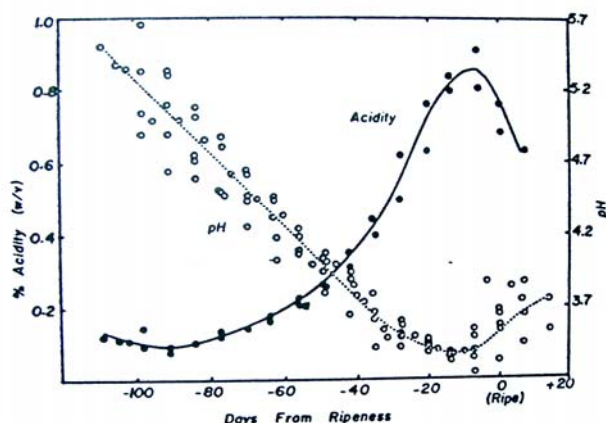
Smith (1988) กล่าวว่าคุณภาพทางด้านการบริโภค (eating quality) มีความสัมพันธ์สูงสุดกับปริมาณ TSS จึงมีการใช้ปริมาณ TSS เป็นดัชนีที่วัดคุณภาพได้ทั้งปี และถูกนำไปใช้เป็นดัชนีบ่งบอกถึงการสุกและการเจริญเติบโตของสับปะรด (Hepton and Hodgson, 2003; Paull and Chen, 2003) ทั้งนี้กรมวิชาการเกษตร (2545) ได้กำหนดมาตรฐานของคุณภาพขั้นต่ำเพื่อจำหน่ายสับปะรดไว้ว่าต้องมีความหวานที่บริเวณกึ่งกลางผลไม่น้อยกว่า 11°Brix อย่างไรก็ตามเจริญศักดิ์และคณะ (2537) พบว่าโรงงานอุตสาหกรรมต้องการสับปะรดที่มีปริมาณน้ำตาลประมาณ 12-14°Brix ปริมาณ TSS นี้สามารถวัดได้โดยใช้อุปกรณ์ที่เรียกว่า refractometer ซึ่งเป็นการวัดความสัมพันธ์ระหว่างการหักเหของแสงผ่านสารละลาย ดังนั้นจึงสามารถวัดสารประกอบต่างๆที่ละลายน้ำได้หรือปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้รวมทั้งกรดอินทรีย์ได้ ค่าของปริมาณ TSS ที่ได้จากผลไม้ที่มีรสเปรี้ยวและมีกรดอินทรีย์สะสมอยู่มากจึงเป็นค่าที่ไม่ถูกต้องนักในการบ่งชี้ถึงความหวานหรือปริมาณน้ำตาลในน้ำคั้น (จริงแท้, 2544) ทั้งนี้ Holcroft and Kader (1999) ยังกล่าวว่าปริมาณ TSS เป็นค่าที่ได้จากน้ำตาล กรดอินทรีย์ สาร pectin ที่ละลายได้และสารประกอบอื่นๆ การเปลี่ยนแปลงปริมาณ TSS ขึ้นอยู่กับ พันธุกรรม ฤดูกาล และระยะของการเจริญ ขณะที่สับปะรดผลอ่อนจะมีปริมาณ TSS ต่ำ พอใกล้แก่จะมีปริมาณ TSS เพิ่มขึ้น (Kelley, 1911) นั่นคือเมื่อเจริญเต็มวัยมากขึ้นเท่าไรหรือสุกมากขึ้นเท่าไร สับปะรดก็จะมีปริมาณ TSS มากขึ้นตาม ตำแหน่งภายในผลเดียวกันมีปริมาณ TSS ต่างกัน โดยบริเวณโคนผลจะมีปริมาณ TSS ที่สูงกว่าบริเวณปลายผล ในกรณีที่เปลือกของสับปะรดมีสีเหลืองมากกว่า 30% ตามธรรมชาติจะพบว่าปริมาณ TSS จะเริ่มลดลง และเมื่อทำการเก็บเกี่ยวผลสับปะรดจะทำให้ปริมาณ TSS ลดลงเล็กน้อยเท่านั้นโดยไม่

การเปลี่ยนแปลงอย่างเด่นชัดของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด เพราะเหตุที่สับปะรดเป็นผลไม้ที่ไม่มีการสะสมแป้งในขณะที่ผลสุก แม้ว่าจะมีแป้งอยู่ในปริมาณมากในระยะแรกของการเจริญของผลก็ตาม (Paull and Chen, 2003)

ระหว่างการเจริญเติบโตของผล พบว่า ผลจะมีการคายน้ำอยู่ตลอดเวลาเพื่อระบายความร้อนที่เกิดจากการหายใจ นอกจากนี้ภายในผลมีความชื้นสูงกว่าความชื้นภายนอก ดังนั้นน้ำจึงมีศักยภาพที่จะสูญเสียน้ำออกจากผลตลอดเวลา แม้ว่าจะมีโครงสร้างต่างๆ เช่น cutin, epidermis หรือไข (wax) เคลือบผิวเพื่อป้องกันการระเหยของน้ำก็ตาม แต่ก็มีช่องเปิดที่สามารถติดต่อกับภายนอกได้ เช่น ปากใบ และ lenticel ความชื้นสัมพันธ์กับคุณภาพโดยเฉพาะปริมาณของแข็งละลายได้ทั้งหมดมีความสัมพันธ์กัน เช่นกรณีของส้มพบว่าน้ำตาลจะมีความเข้มข้นสูงขึ้นเมื่อมีการสูญเสียน้ำออกไป เช่นเดียวกับมังคุดที่พบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและปริมาณ TA สูงขึ้นในผลที่ผิวลาย ซึ่งลายของผิวมังคุดคือ lenticel ที่มีการสร้างขึ้นในปริมาณมากจากการที่มีเปลือยไฟเข้าทำลายขณะที่มังคุดเป็นดอกอยู่ การที่มี lenticel มากทำให้ผลมังคุดเกิดการสูญเสียน้ำมากกว่ามังคุดที่มีผิวปกติ (จริงแท้, 2544)

กรดอินทรีย์ที่มีอยู่มากในผลไม้ส่วนใหญ่คือกรดซิตริกและกรดมาลิก ซึ่งจะถูกระดมไว้ในแวคิวโอลของเซลล์ (Ulrich, 1970) ในสับปะรดและมะนาวมีกรดซิตริกมากกว่ากรดมาลิก (จริงแท้, 2544; คณัย, 2540) โดยเฉพาะกรดซิตริกซึ่งพบว่ามีปริมาณสูงสุดก่อนที่ผลจะสุกแก่เต็มที่ (จินดารัฐ, 2541) ในสับปะรดพบว่ากรดส่วนใหญ่ประมาณ 65-70% อยู่ในรูปของกรดอิสระ (จินดารัฐ, 2541) กรดอินทรีย์นี้ในบางกรณีพบว่าจะไปรวมกับสารอื่นๆ ได้และเกิดเป็นเกลือเอสเตอร์ หรือ glycoside ได้ กรดอินทรีย์จะมีผลต่อรสชาติของผลไม้และเป็นแหล่งที่สำคัญของการเริ่มต้นในกระบวนการหายใจด้วย (จริงแท้, 2544; คณัย, 2540; Ulrich, 1970) นอกจากนี้กรดอินทรีย์ยังเป็นต้นกำเนิดของโมเลกุลอื่นๆ อีกเช่น กรดอะมิโนชนิดต่างๆ เป็นต้น โดยทั่วไปขณะผลอ่อนจะมีปริมาณกรดสูงทำให้ pH ภายในของเนื้อต่ำจึงไม่เหมาะกับการรับประทาน และไม่เหมาะต่อการเข้าทำลายของเชื้อโรคด้วย ดังนั้นกรดจึงทำหน้าที่ช่วยป้องกันรักษาผลไม้ไม่ให้ถูกทำลายในระหว่างการเจริญได้ สำหรับปริมาณกรดที่พบในสับปะรดซึ่งถูกจัดว่าเป็นผลไม้ที่มีรสเปรี้ยวชนิดหนึ่งนั้นตรงกันข้ามคือ Kelley (1911) พบว่าสับปะรดผลอ่อนจะมีปริมาณกรดต่ำ แต่เมื่อผลใกล้แก่จะมีกรดเพิ่มขึ้น pH ของน้ำคั้นในสับปะรดจะตรงกันข้าม โดยในผลอ่อนจะมีค่า pH ของน้ำคั้นสูง จากนั้นจะลดต่ำลงเมื่อผลเจริญเติบโตขึ้นและลดลงต่ำสุดเมื่อผลใกล้สุก จากนั้น pH

ของน้ำคั้นจะเพิ่มสูงขึ้นอีกครั้ง ซึ่งแสดงว่าผลสุกดังแสดงในภาพที่ 2 (จินดารัฐ, 2541; Singleton and Gortner, 1965)



ภาพที่ 2 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดและ pH ของน้ำคั้นสับปะรด (ที่มา: Singleton and Gortner, 1965)

กรดอินทรีย์ในผลไม้แม้ต่างชนิดกันแต่การตรวจวัดกรดอินทรีย์ทำได้โดยวิธีเดียวกัน คือ การไตเตรทน้ำคั้นด้วยสารละลายต่างมาตรฐาน จากนั้นนำมาคำนวณเป็นปริมาณ TA (จริงแท้, 2544) Miller and Hall (1953) พบว่าปริมาณกรดคาร์บอนิกของผลสับปะรดสัมพันธ์กับปริมาณ TA การเปลี่ยนแปลงของปริมาณ TA ขึ้นอยู่กับ พันธุกรรม ฤดูกาล ระยะของการเจริญเติบโต เช่นปริมาณ TA ของสับปะรดที่เปลือกมีสีเหลืองเกือบทั้งผล ความเป็นกรด-ด่างจะลดจาก 3.9 เป็น 3.7 และเพิ่มขึ้นอีกครั้งเมื่อผลใกล้เสื่อมสภาพ ทั้งนี้ปริมาณ TA จะตรงข้ามกับ pH ของน้ำคั้น นอกจากนี้ตำแหน่งต่างกันบนผลเดียวกันก็มีปริมาณ TA ต่างกัน โดยบริเวณโคนผลจะมีปริมาณ TA ต่ำกว่าบริเวณปลายผล (Paull and Chen, 2003) เนื้อบริเวณใกล้แกนผลจะมีปริมาณกรดน้อยกว่าเนื้อบริเวณเปลือก (จินดารัฐ, 2541) อุณหภูมิมีผลต่อปริมาณ TA โดยอากาศเย็นทำให้สับปะรดมีปริมาณ TA สูง ส่วนอากาศร้อนทำให้สับปะรดมีปริมาณ TA ต่ำ ซึ่งจะตรงข้ามกับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Paull and Chen, 2003) ในสวាយพบว่าปริมาณ TA ในสับปะรดพันธุ์ Smooth Cayenne ผันแปรจากปริมาณต่ำ (0.85%) ในผลที่เก็บเกี่ยวช่วงฤดูร้อน เพิ่มขึ้นเป็น 1.25% ในฤดูหนาว ดังนั้นสับปะรดในสวายที่เก็บเกี่ยวในฤดูหนาวจึงไม่เหมาะแก่การจำหน่ายเพื่อบริโภคผลสด สำหรับในประเทศไทยซึ่งปลูกสับปะรดพันธุ์ Smooth Cayenne เป็นหลัก พบว่าการที่มีอุณหภูมิเฉลี่ยสูงทำให้ปริมาณกรดต่ำ เป็นสาเหตุให้โรงงานอุตสาหกรรมต้องมีการเติม กรดซิตริก (Bartholomew *et al.*, 2003) ซึ่งสับปะรดที่ส่งเข้าสู่โรงงานสับปะรดกระป๋องในประเทศไทยมีปริมาณ TA ประมาณ 0.4-0.6% (จารุพันธุ์, 2526; เจริญศักดิ์และคณะ, 2537; สุภาพรและคณะ,

2542) เมื่อนำปริมาณ TA ไปเปรียบเทียบกับรสชาติ พบว่าสับปะรดที่มีปริมาณ TA ต่ำ จะมีรสชาติค่อนข้างไปทางหวานแหลม แต่ถ้าสับปะรดมีปริมาณ TA สูงจะมีรสชาติไปทางหวานอมเปรี้ยว (สมบัติและคณะ, 2539)

อัตราส่วนระหว่าง TSS:TA นี้ใช้มากในโรงงานอุตสาหกรรมเพื่อประเมินผลผลิตที่ได้จากการแปรรูป (Camara *et al.*, 1995) ค่าของอัตราส่วนระหว่าง TSS:TA มีความสัมพันธ์กับคุณภาพด้านการบริโภคน้อย และมีความแปรปรวนสูงโดยขึ้นกับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและปริมาณ TA ซึ่งค่าที่ได้ถึงแม้จะเป็นค่าเดียวกันแต่อาจมาจากค่าของปริมาณ TSS และปริมาณ TA คนละค่า ทำให้รสชาติต่างกัน อย่างไรก็ตามอัตราส่วนระหว่าง TSS:TA จะค่อนข้างคงที่หลังจากสับปะรดเจริญเต็มวัยแล้ว (Paull and Chen, 2003) ในผลที่มีความใสจาง (translucent) พบว่าค่าของอัตราส่วนระหว่าง TSS:TA เพิ่มขึ้นมาก โดยพบว่าเกิดจากปริมาณ TA ลดลงขณะที่ค่า pH ของน้ำคั้นเพิ่มสูงขึ้น ทั้งนี้อัตราส่วนระหว่าง TSS:TA มากขึ้นทำให้น้ำหนักของผลก็เพิ่มขึ้น (Paull, 1997)

6. น้ำตาลในผลสับปะรด

น้ำตาลในผลไม้มีบทบาทอย่างมากต่อรสชาติของผลไม้ (จริงแท้, 2544; Genard and Souty, 1996; Paull and Chen, 2003) และมีบทบาทในระหว่างการพัฒนาของผล ดังเช่นในมะเขือเทศ (Yelle *et al.*, 1988) น้ำตาลในผลไม้โดยมากมี 3 ชนิดได้แก่ซูโครส กลูโคส และฟรุกโตส (จินดารัฐ, 2541; จริงแท้, 2544; Genard and Souty, 1996; Paull and Chen, 2003) น้ำตาลแต่ละชนิดให้ความหวานแตกต่างกัน โดยฟรุกโตสจะให้ความหวานมากที่สุด รองลงมาได้แก่ซูโครส และกลูโคส ตามลำดับ (Pangborn, 1963; Yamaguchi *et al.*, 1970) ในผลไม้แต่ละชนิดจะมีสัดส่วนของแตกต่างกันไป บางชนิดมีซูโครสมาก บางชนิดก็ไม่มีซูโครส แต่สำหรับสับปะรดพบว่าซูโครสเป็นน้ำตาลชนิดหลักซึ่งมีปริมาณสูงสุด ทั้งนี้ขณะที่ผลเจริญเต็มที่ซูโครสจะมากขึ้นและมากกว่ากลูโคส และฟรุกโตส (จินดารัฐ, 2541; จริงแท้, 2544; Genard and Souty, 1996; Chen and Paull, 2000)

การลำเลียงน้ำตาลในพืชมี 2 รูปแบบคือ apoplast และ symplast ซูโครสที่ผ่านมาทางวิถี apoplast เมื่อกลับเข้าสู่ sieve element หรือเนื้อเยื่อสะสมจะมีการสลายโดย 2 กระบวนการคือ ถูกสลายเป็นกลูโคสและฟรุกโตส โดยเอนไซม์ invertase หรือเกิดกระบวนการ transglycosylation

โดยเอนไซม์ sucrose synthase ซึ่งย้ายกลูโคสในโมเลกุลของซูโครส ไปยัง UDP ซึ่งจะทำได้ UDP-glucose และฟรุกโตสในที่สุด (Heldt, 2005; Quick and Schaffer, 1996) น้ำตาลชนิดหลักที่ใช้ลำเลียงภายในพืชได้แก่ซูโครส (Heldt, 2005; Huber and Akazawa, 1986; Lalonde *et al.*, 1999; Walker and Ho, 1977) แต่ในพืชบางชนิดพบว่าการลำเลียงน้ำตาลในรูปอื่น ได้แก่ น้ำตาล แอลกอฮอล์ หรือ tri- หรือ tetra-saccharide ที่อยู่ในรูปของ galactosyl-sucrose (Heldt, 2005; Quick and Schaffer, 1996; Salisbury and Ross, 1992) เช่นพืชในวงศ์ Rosaceae ใช้ sorbitol ซึ่งเป็นน้ำตาล แอลกอฮอล์ ในการลำเลียงออกจากใบ ส่วนพืชที่เป็นไม้ผลัดใบหลายชนิด เช่น เฮเซลนัทและต้นมะกอกมีการลำเลียงน้ำตาลในรูป oligosaccharide ที่จัดอยู่ในกลุ่มของ raffinose (Heldt, 2005; Salisbury and Ross, 1992) ถึงแม้ว่าในการลำเลียงสารจะใช้น้ำตาลในรูปแบบใดก็ตามท้ายสุดจะเปลี่ยนกลับมาเป็นซูโครส ดังเช่นพืชในวงศ์ Cucurbitaceae ซึ่งใช้ galactosyl-sucrose (raffinose และ stachyose) เป็นสารในการลำเลียงมากกว่าการใช้ซูโครส แต่พบว่าเมื่อเข้าสู่ภายในเซลล์แล้วจะเกิดการเปลี่ยนเป็นซูโครส (Gross and Pharr, 1982) ทั้งนี้ในการลำเลียงสารไม่พบว่าพืชใช้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเช่นกลูโคส ถึงแม้ว่าจะพบกลูโคสและฟรุกโตสเป็นจำนวนมากในเซลล์ก็ตาม และถึงแม้ว่ามีรายงานการพบกลูโคสและฟรุกโตสในท่อลำเลียง แต่น้ำตาลทั้ง 2 ชนิดที่พบนี้เกิดขึ้นจากการสลายซูโครสโดยกระบวนการ hydrolysis ระหว่างการลำเลียงเท่านั้น ไม่ใช่เป็นรูปแบบของน้ำตาลที่ลำเลียงในพืช (Salisbury and Ross, 1992) กลูโคสและฟรุกโตสที่พบในเซลล์จะมีบทบาทหน้าที่แตกต่างกันไป เช่นกลูโคสมีบทบาทมากในการแบ่งเซลล์ (Lalonde *et al.*, 1999) นอกจากนี้ Wang *et al.* (2002) พบว่ากลูโคสเพิ่มการสลายของ EIN3 ซึ่งเป็น transcription factor สำคัญในการควบคุมการแสดงออกของ ethylene ดังนั้นจึงทำให้พบว่ากลูโคสสามารถยับยั้งผลของ ethylene ในการยับยั้งการยืดยาวของเซลล์ สำหรับสาเหตุในการลำเลียงน้ำตาลในรูปของน้ำตาลนอน-รีดิวซ์ ไม่ใช่ น้ำตาลรีดิวซ์ หรือน้ำตาลรีดิวซ์ ที่อยู่ในรูปของอนุพันธ์ฟอสเฟต (phosphate derivative) นั้นยังไม่ชัดเจน (Salisbury and Ross, 1992) แต่คาดว่าอาจมาจากการที่น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวไม่เสถียร สามารถถูก oxidized ได้ง่าย เช่นกลูโคสซึ่งมีหมู่ aldehyde สามารถถูก oxidized ไปเป็นหมู่ carboxyl ได้ง่าย หรืออาจมีสาเหตุมาจากการที่น้ำตาลชนิดนอน-รีดิวซ์ ไม่มีความไวต่อการถูกทำลายโดยเอนไซม์ที่อยู่ใน sieve element จึงทำให้สลายตัวได้ยากกว่า เป็นเหตุให้น้ำตาลรีดิวซ์ ไม่เหมาะสมในการเป็นสารที่ลำเลียงภายในพืช นอกจากนี้ น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวยังไม่เหมาะสมในการใช้สะสมในพืชด้วย เนื่องจากน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวจะทำให้เกิดแรงดัน osmotic ในเซลล์สูงเกินไปทำให้เซลล์เสียหายได้ พืชส่วนใหญ่จึงมีการสะสมน้ำตาลในรูปซูโครสหรือแป้งแทน (Heldt, 2005)

น้ำตาลในผลไม้สามารถประมาณค่าได้จากการหาปริมาณ TSS แต่ค่าที่ได้ของปริมาณ TSS ไม่ใช่จะมีแต่น้ำตาลเท่านั้น ยังมีสารอื่นเช่นกรดอินทรีย์ปนอยู่ด้วย (Holcroft and Kader, 1999) อย่างไรก็ตาม Smith (1988) กล่าวว่าคุณภาพทางการบริโภคของสับปะรดขึ้นอยู่กับการปริมาณ TSS จากการศึกษาก่อนของ Chen and Paull (2000) พบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ TSS ในสับปะรดกับปริมาณของน้ำตาลทั้ง 3 ชนิดซึ่งได้แก่ซูโครส กลูโคส และฟรุกโตส โดยพบว่าในขณะที่ผลเจริญเติบโตในระยะแรกซึ่งเป็นระยะที่ผลยังอ่อนอยู่จะมีปริมาณ TSS ต่ำ แต่เมื่อผลเจริญขึ้นปริมาณ TSS เพิ่มขึ้น ปริมาณ TSS ในผลอ่อนพบว่ามีกลูโคสและฟรุกโตสเป็นน้ำตาลหลัก โดยปริมาณของกลูโคสจะมากกว่าฟรุกโตส สำหรับซูโครสนั้นพบว่ามีอยู่ในปริมาณที่น้อยกว่าน้ำตาลทั้ง 2 ชนิดดังกล่าวมาก ขณะที่ผลเจริญขึ้นปริมาณ TSS สูงขึ้นแต่กลูโคสยังคงค่อนข้างคงที่เช่นเดียวกับในขณะที่ยังอ่อนอยู่ แสดงให้เห็นว่าปริมาณกลูโคสไม่ค่อยเปลี่ยนแปลงตลอดอายุการเจริญของผลจนถึงระยะเวลาการเก็บเกี่ยวผลผลิตเข้าสู่โรงงานอุตสาหกรรม สำหรับปริมาณของฟรุกโตสพบว่าเพิ่มขึ้นในช่วง 1-2 สัปดาห์ก่อนการเก็บเกี่ยว แต่ซูโครสซึ่งพบในปริมาณต่ำในระยะแรกนั้นกลับเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อผลเจริญถึงระยะ 6 สัปดาห์ก่อนการเก็บเกี่ยว โดยเพิ่มขึ้นจนมีปริมาณสูงกว่ากลูโคสและฟรุกโตสมาก ดังนั้นในสับปะรดสุกจึงมีปริมาณซูโครสมากที่สุดเมื่อเทียบกับน้ำตาลชนิดอื่น (จริงแท้, 2544; จินดารัฐ, 2541; Paull and Chen, 2003)

7. เอนไซม์ sucrose synthase

เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์และสลายซูโครสแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ เอนไซม์ในการสังเคราะห์ซูโครสได้แก่ เอนไซม์ sucrose phosphate synthase (E.C. 2.4.1.14) และ sucrose synthase (E.C. 2.4.1.13) เอนไซม์ sucrose phosphate synthase เป็นเอนไซม์ที่มีหลายไอโซฟอร์ม ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาระหว่าง UDP-glucose กับ fructose-6-phosphate ไปเป็น sucrose-6-phosphate และ UDP ดังสมการ



ถึงแม้ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นสามารถย้อนกลับได้แต่เนื่องจาก sucrose-6-phosphate เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ซูโครสโดยเอนไซม์ sucrose phosphatase (E.C. 3.1.3.24) ซึ่งดำเนินปฏิกิริยาแบบไม่ย้อนกลับ ดังสมการ

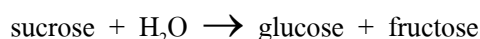


จึงเป็นเหตุให้ปฏิกิริยาการสังเคราะห์ซูโครส โดยเอนไซม์ sucrose phosphate synthase ดำเนินแบบไม่ย้อนกลับ สำหรับเอนไซม์ sucrose synthase ทำหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยาระหว่าง UDP-glucose กับ fructose ไปเป็น sucrose และ UDP ดังสมการ



เอนไซม์ในการสลายซูโครสมีอยู่ 2 ชนิดคือ sucrose synthase และ invertase (E.C.

3.2.1.26) เอนไซม์ sucrose synthase สลายซูโครสโดยการย้ายกลุ่ม glycosyl ไปยัง UDP สำหรับเอนไซม์ invertase สลายซูโครสผ่านกระบวนการ hydrolysis ได้ glucose และ fructose ดังสมการ



เอนไซม์ sucrose synthase และ invertase มีหลาย ไอโซฟอร์ม เอนไซม์ sucrose synthase พบภายในเซลล์พืช 2 รูปคืออยู่ติดกับเยื่อหุ้มเซลล์หรือออร์แกเนลล์ และอยู่ในไซโทพลาซึม สำหรับ invertase พบว่าอยู่ที่ผนังเซลล์ ไซโทพลาซึม และภายในแวคิวโอล (Avigad and Dey, 1997; Heldt, 2005; Salisbury and Ross, 1992; Sturm and Tang, 1999; Taiz and Zeiger, 1998)

การที่เอนไซม์ sucrose synthase สามารถดำเนินปฏิกิริยาแบบย้อนกลับได้ จึงมีบทบาททั้งการสังเคราะห์และสลายซูโครสในเซลล์ ในการสลายซูโครสพบว่าเอนไซม์ sucrose synthase สามารถใช้ ADP แทน UDP เพื่อสังเคราะห์ ADP-glucose ได้ เช่นในข้าว (Avigad and Dey, 1997) ผลผลิตจากการสลายซูโครสตามปกติคือ UDP-glucose และฟรุกโตสถูกนำไปใช้ประโยชน์ต่างๆ ภายในเซลล์ต่อไป โดยเฉพาะ UDP-glucose ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์สารหลายชนิดต่อไป เช่น cellulose, callose, pectin แป้ง และ สาร glycoside อื่นๆ (Amor *et al.*, 1995; Avigad and Dey, 1997; Noel and Pontis, 2000; Nguyen-Quoc and Foyer, 2001) UDP-glucose และฟรุกโตสถูก phosphorylated โดยเอนไซม์ hexokinase เพื่อเข้าสู่วิถี glycolysis หรือวิถี oxidative pentose phosphate pathway ซึ่งในวิธีนี้จะทำให้ได้สาร phosphoenol pyruvate (PEP) ซึ่ง PEP จะถูกเปลี่ยนไปเป็น oxaloacetic acid และ malate โดยเอนไซม์ PEP carboxylase และ malate dehydrogenase ตามลำดับ (Gordon *et al.*, 1999)

7.1 สมบัติของเอนไซม์ sucrose synthase

เอนไซม์ sucrose synthase มี Enzyme Classification number (EC) คือ 2.4.1.13 ชื่ออื่นๆ ได้แก่ UDP-glucose-fructose glucosyltransferase และ sucrose-UDP glucosyltransferase มีโครงสร้างเป็น tetramer ประกอบด้วย monomer 4 หน่วย ขนาดประมาณ 90 kD มวลโมเลกุลรวมอยู่ในช่วง 280-400 kD เอนไซม์ sucrose synthase มีหลายไอโซฟอร์มซึ่งมีขนาดต่างกันเล็กน้อย ประกอบด้วยกรดอะมิโนประมาณ 807 residues ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของพืชและชนิดของไอโซฟอร์ม เอนไซม์ sucrose synthase มีค่า pI เท่ากับ 5.6 จัดอยู่ในกลุ่ม glycosyl transferase protein family มีค่าครึ่งชีวิตอยู่ที่ 30 ชั่วโมง สภาวะที่เหมาะสมต่อการเกิดกิจกรรมของเอนไซม์ sucrose synthase ในทิศทางสลายโมเลกุลของซูโครสคือที่ pH 6.0-8.5 อุณหภูมิ 50-55°C และสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์ซูโครสคือที่ pH 8.5-9.5 อุณหภูมิ 35°C (Claussen, 1983)

เอนไซม์ sucrose synthase ในพืชพบ 2 ไอโซฟอร์ม คือรูป soluble form ในไซโทพลาซึมและรูป membrane-bound ซึ่งอยู่ติดกับ glucan synthase (cellulose synthase) ใน plasma membrane หรือ actin skeleton ของเซลล์ที่สังเคราะห์และไม่สังเคราะห์แสง (Winter *et al.*, 1998, Winter and Huber, 2000) ทั้ง 2 ไอโซฟอร์มมีลำดับของกรดอะมิโนและสมบัติทางชีวเคมีที่คล้ายกันมาก แต่การควบคุมการแสดงออกของยีนทั้ง 2 ไอโซฟอร์มต่างกัน (Martinez de Ilarduya, 1993) จากการศึกษาลำดับกรดอะมิโนของเอนไซม์ sucrose synthase ทั้ง 2 ไอโซฟอร์มจากรากของ sugarbeet พบว่า มีลำดับกรดอะมิโนคล้ายกันแต่ปริมาณของกรดอะมิโน alanine, glycine, isoleucine และ lysine ต่างกัน และจากการศึกษาพบว่า isoform I ประกอบด้วย subunit ขนาด 84 kDa จำนวน 2 subunit รวมกับ subunit ขนาด 86 kDa จำนวน 2 subunit และ isoform II ประกอบด้วย subunit ขนาด 86 kDa ทั้ง 4 subunit ขนาดของไอโซฟอร์มที่ต่างกันทำให้สมบัติการเร่งปฏิกิริยาต่างกันเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีความเป็นกรด-ด่างต่างกัน ดังนั้นความเป็นกรด-ด่างภายในเซลล์ จึงมีบทบาทในการกำหนดบทบาทของเอนไซม์ sucrose synthase แต่ละไอโซฟอร์ม (Klotz *et al.*, 2003) เอนไซม์ sucrose synthase แต่ละไอโซฟอร์มถูกควบคุมโดยยีนต่างชนิดกัน ดังนั้นแต่ละไอโซฟอร์มจึงอาจทำหน้าที่ต่างกันและแสดงออกในบริเวณที่ต่างกันในเซลล์ เช่นในข้าวโพด SS-1 ไอโซไซม์มาจากยีน *Shrunken-1* (*Sh-1*) และ SS-2 ไอโซไซม์มาจากยีน *Sus-1* ซึ่งเอนไซม์ในรูป SS-2 พบมากที่ใบและเนื้อเยื่อที่กำลังเจริญ และพบกระจายอยู่ในส่วนต่างๆของพืชมากกว่า SS-1 เอนไซม์ในรูปของ SS-1 พบมากในเนื้อเยื่อที่สะสมแป้ง และในเอนโดสเปิร์มของ

ข้าวโพด (Koch *et al.*, 1992) สำหรับเอนไซม์ sucrose synthase ทั้ง 3 ไอโซฟอร์มที่พบในถั่ว นั้น พบว่าแต่ละไอโซฟอร์มทำหน้าที่ต่างกันภายในเซลล์ (Barratt *et al.*, 2001)

เอนไซม์ sucrose synthase สามารถพบได้ในเนื้อเยื่อหลายชนิด เช่นเนื้อเยื่อลำเลียง โดยพบที่ท่อลำเลียง (sieve tube) และเซลล์ประกบ (companion cell) ภายในใบที่เป็นแหล่งผลิตซูโครส โดยมีบทบาทในการลำเลียงซูโครส (Kurt and Karen, 1993; Avigad and Dey, 1997) Nolte and Koch (1993) พบเอนไซม์ sucrose synthase มากที่เซลล์ประกบของเนื้อเยื่อลำเลียงอาหารใน ข้าวโพดและส้ม ซึ่งอาจทำหน้าที่รักษาระดับสมดุลของท่อลำเลียง หรือเป็นแหล่งให้สารสำหรับ กระบวนการหายใจ หรืออาจเป็นแหล่งของ callose เอนไซม์ sucrose synthase อยู่ที่ผนังของ ออร์แกเนลล์ต่างๆในเซลล์เช่น cytoskeleton (Winter *et al.*, 1998; Azama *et al.*, 2003) ใน golgi (Buckeridge *et al.*, 1999) และ tonoplast (Ettxeberria and Gonzalea, 2003) นั้นทำหน้าที่แตกต่างกัน ไป เช่นเอนไซม์ sucrose synthase ที่เยื่อหุ้มเซลล์ทำหน้าที่ในการสร้าง cellulose และ callose เพื่อ สะสมไว้ที่ผนังเซลล์ (Konishi *et al.*, 2001; Salnikov *et al.*, 2001) ขณะที่เอนไซม์ sucrose synthase ซึ่งพบในเยื่อหุ้มแวคิวโอล (tonoplast) ทำหน้าที่ในการลำเลียงและใช้ซูโครส (Ettxeberria and Gonzalea, 2003) Pozueta-Romero *et al.* (2004) พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ sucrose synthase บนเยื่อหุ้มเซลล์ของ sycamore (*Acer pseudoplatanus*) ลดลงส่งผลให้ลดการสะสม cellulose ที่ผนัง เซลล์ ซึ่งจะทำให้เซลล์หยุดการเจริญ การที่เอนไซม์ sucrose synthase ยึดกับเยื่อหุ้มเซลล์หรือ ออร์แกเนลล์ได้นั้นคาดว่าเกิดขึ้นจากกระบวนการ phosphorylation (Hardin *et al.*, 2004) อย่างไรก็ตามองค์ประกอบของลิพิดและ/หรือโปรตีนบนเยื่อหุ้มเซลล์มีความสำคัญในการยึดเกาะ เช่นกัน

ขณะที่เกิด post-translation modification ของเอนไซม์ sucrose synthase จะเกิด กระบวนการ phosphorylation ที่ตำแหน่ง Ser-15 ทางปลายอะมิโน (N-terminus) กระบวนการ post-translation modification มีบทบาทต่อกิจกรรมของเอนไซม์ sucrose synthase โดย Hardin *et al.* (2004) พบว่าในสภาวะที่มีความเป็นกรด-ด่างต่ำในเซลล์ จะเร่งกิจกรรมของเอนไซม์ sucrose synthase ในการสลายซูโครส Tanase *et al.* (2002a) พบว่าเอนไซม์ sucrose synthase 2 ไอโซฟอร์ม คือ SSI และ SSII พบในอายุต่างกันและมีหน้าที่ต่างกันโดย SSI (ในรูป phosphorylated) พบในผล อ่อนที่ยังไม่เจริญเต็มที่ ทำหน้าที่สลายซูโครสเพื่อใช้ในการสะสมแป้งและสร้างผนังเซลล์ แต่ SSII ซึ่งอยู่ในรูปของ non-phosphorylate พบเฉพาะในผลที่เจริญเต็มที่ ทำหน้าที่สังเคราะห์ซูโครส การ ที่เอนไซม์ sucrose synthase สามารถสังเคราะห์ซูโครสขึ้นมาใหม่เป็นลักษณะเฉพาะของผลแพร์

ญี่ปุ่นที่ยังไม่พบในผลไม้ชนิดอื่น ซึ่งต่อมา Tanase *et al.* (2002b) พบว่า การเกิด phosphorylation ทำให้เพิ่มความสามารถในการจับ UDP ได้ดีขึ้นกว่าเมื่ออยู่ในรูปของ dephosphorylated ในทางกลับกันเมื่อเอนไซม์ sucrose synthase อยู่ในรูป dephosphorylated พบว่าจับกับ UDP-glucose ได้ดีกว่า

ออกซิเจนสามารถควบคุมการแสดงออกของยีนในการสังเคราะห์เอนไซม์ sucrose synthase โดยพบว่าการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจนสามารถกระตุ้นการแสดงออกของยีน SS-1 ในข้าวโพดและยีน RSS-1 ในข้าว ซึ่งคาดการณ์ว่าการที่มีออกซิเจนมากสามารถยับยั้งที่ขึ้นตอนการสังเคราะห์ mRNA มากกว่าการแปลรหัสเป็นโปรตีน จึงเป็นไปได้ว่าในพืชที่กำลังเจริญเติบโตและอยู่ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนตามปกติการสังเคราะห์เอนไซม์ sucrose synthase เช่น SS-1 ไอโซไซม์มีการแสดงออกยังไม่เต็มที่ แต่เมื่อมีความแตกต่างกันของระดับออกซิเจนมาเกี่ยวข้อง เช่นการเกิดสภาวะเครียดอาจส่งผลต่อรูปแบบและอัตราการสร้างและสลายซูโครส โดยควบคุมที่ระดับของปฏิกิริยาของเอนไซม์ sucrose synthase ตัวอย่างเช่นในเมล็ดที่กำลังงอกซึ่งอยู่ภายใต้สภาวะบางอย่างเช่นน้ำท่วมจะมีการนำซูโครสจาก scutellum มาสู่เอ็มบริโอ โดยอาจเกิดจากการที่มีเอนไซม์ sucrose synthase ในระดับสูง และเอนไซม์นี้ไปสลายซูโครสเพื่อทำให้เกิดสารที่จะเข้าสู่กระบวนการไกลโคไลซิสและใช้สำหรับการเจริญของเซลล์ (Avigad and Dey, 1997)

ซูโครสเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ควบคุมการแสดงออกของยีน sucrose synthase โดยซูโครสทำหน้าที่เป็น ตัวเหนี่ยวนำ (inducer) ที่สำคัญของยีนนี้ แต่ความแตกต่างของการตอบสนองต่อระดับของซูโครสในแต่ละ isomeric gene นั้นแตกต่างกัน โดยจากการศึกษาในข้าวโพดหรือข้าว พบว่า SS-1 เอนไซม์เพิ่มขึ้น 10 เท่าเมื่อมีปริมาณของคาร์โบไฮเดรตสูง แต่เหตุการณ์เช่นนี้จะไม่เกิดขึ้นกับยีน *Sh-1* เนื่องจากกรณีนี้ซูโครสทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้งการทำงาน (Avigad and Dey, 1997)

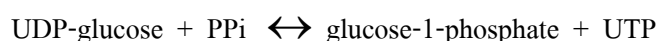
7.2 บทบาทหน้าที่ของเอนไซม์ sucrose synthase มีส่วนร่วมในกระบวนการต่างๆภายในเซลล์ ซึ่งสรุปได้ดังนี้

7.2.1 เอนไซม์ sucrose synthase มีส่วนร่วมในกระบวนการสลายและสังเคราะห์ซูโครส โดยกิจกรรมส่วนมากมีทิศทางไปทางการสลายมากกว่าการสังเคราะห์ เช่นในข้าวโพด (Echeverria and Humphreys, 1984) สำหรับในอ้อยพบว่าในขณะที่ข้อของอ้อยกำลังยึดมีกิจกรรมของเอนไซม์ sucrose synthase สูงและลดลงเมื่อข้อยึดเต็มที่แล้ว (Lingle, 1999) ทั้งนี้เอนไซม์

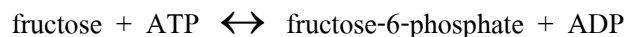
sucrose synthase มีบทบาทในขั้นตอนแรกของกระบวนการสลายซูโครส เพื่อเข้าสู่กระบวนการ glycolysis ซึ่งช่วยให้เซลล์ประหยัดการใช้ ATP ในช่วงต้นของกระบวนการ glycolysis (Amthor, 1989) โดยเมื่อเปรียบเทียบจำนวน ATP ในการสลายซูโครสเพื่อให้ได้ triose-phosphate ระหว่างเอนไซม์ sucrose synthase และ invertase พบว่าในการสลายซูโครสไปเป็น triose-phosphate โดยเอนไซม์ invertase ใช้ 4 ATP แต่เอนไซม์ sucrose synthase ใช้ 3 ATP (Huber and Akazawa, 1986) Bologa *et al.* (2003) พบว่าเอนไซม์ sucrose synthase มีบทบาทสำคัญในการสลายน้ำตาลในหัวมันฝรั่งเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีออกซิเจนต่ำเนื่องจากต้องการลดการใช้ออกซิเจนของเซลล์ลง ในขณะเดียวกันก็เป็นการป้องกันการเกิดกระบวนการหมัก (fermentation) และการสะสมสารพิษที่อาจเกิดขึ้นเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีออกซิเจนต่ำ มีการศึกษาพบว่าเอนไซม์ sucrose synthase ใน sweet melon (*C. melon* cv Galia และ cv Noy Yizre'e) มีบทบาททั้งการสร้างและการสลายซูโครส (Schaffer *et al.*, 1987) อย่างไรก็ตามในผลแพร์ญี่ปุ่น (Tanase *et al.*, 2002a) และในหัวสะสมอาหารของ Jerusalem artichoke (Keller *et al.*, 1988; Noel and Pontis, 2000) พบว่าเอนไซม์ sucrose synthase ทำหน้าที่สังเคราะห์ซูโครส

7.2.2 เอนไซม์ sucrose synthase มีบทบาทในการผลิต UDP-glucose ซึ่งเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญในการสังเคราะห์ cellulose ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของผนังเซลล์ ทั้งนี้เอนไซม์ cellulose synthase ทำหน้าที่แยกกลูโคสออกจาก UDP และนำไปต่อเข้ากับสายยาวของกลูโคสที่เรียกว่า glucan โดยพันธะที่เชื่อมต่อโมเลกุลของกลูโคสเข้าด้วยกันคือ β -1,4-glycosidic ดังนั้นเนื้อเยื่อที่กำลังเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วและเนื้อเยื่อที่กำลังพัฒนาจึงพบกิจกรรมของเอนไซม์ sucrose synthase ที่สูงมาก เช่นการพบกิจกรรมของเอนไซม์ sucrose synthase ที่สูงในผลมะเขือเทศระหว่างช่วงแรกของการพัฒนา (Wang *et al.*, 1993b) นอกจากนี้ Nakai *et al.* (1999) พบว่าเอนไซม์ sucrose synthase ใน *Acetobacter xylinum* ทำหน้าที่ในการสังเคราะห์ cellulose เช่นเดียวกับสายซึ่งเอนไซม์ sucrose synthase มีบทบาทสำคัญในการสังเคราะห์ cellulose เพื่อใช้ในการผลิตเส้นใย โดยผ่านการสลายซูโครส (Ruan *et al.*, 2003)

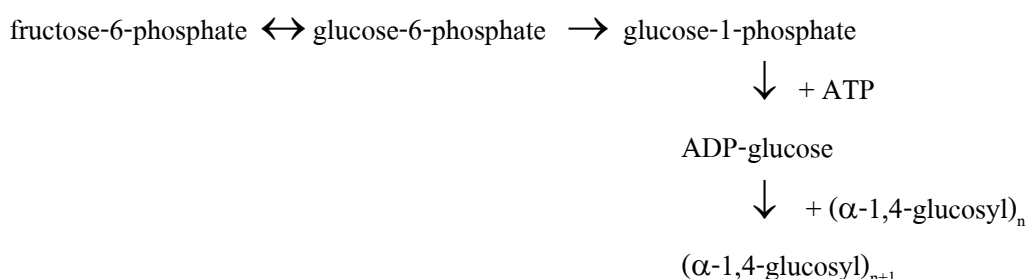
7.2.3 เอนไซม์ sucrose synthase มีบทบาทในการสังเคราะห์แป้ง โดย UDP-glucose และฟรุกโตสที่ได้จากการสลายซูโครสเข้าสู่กระบวนการเปลี่ยนเป็นแป้ง โดยเอนไซม์ UDP-pyrophosphorylase และ fructokinase ซึ่งเปลี่ยน UDP-glucose และฟรุกโตสเป็น hexose phosphates ซึ่งเอนไซม์ UDP-pyrophosphorylase ทำให้เกิดปฏิกิริยาดังสมการ



สำหรับเอนไซม์ fructokinase ทำให้เกิดปฏิกิริยาดังสมการ



สาร glucose-1-phosphate และ fructose-6-phosphate ถูกส่งเข้าสู่พลาสติดเพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตแป้ง โดยเอนไซม์ hexose phosphate isomerase, phosphoglucomutase, ADP-glucose-pyrophosphorylase และ starch synthase ซึ่งมีลำดับสมการดังนี้



ตัวอย่างของเอนไซม์ sucrose synthase ที่มีบทบาทในการสังเคราะห์แป้งพบได้ในมะเขือเทศ (D'Aoust *et al.*, 1999, Wang *et al.*, 1993b; Yelle *et al.*, 1988)

7.2.4 เอนไซม์ sucrose synthase มีบทบาทในการกำหนดความสามารถของเนื้อเยื่อในการนำอาหารมาสะสมไว้นอกเหนือจากเอนไซม์ invertase ซึ่งพืชแต่ละชนิดจะมีเอนไซม์ที่มีบทบาทในการสะสมต่างกัน เช่นในผลไม้มะเขือเทศ (Sun *et al.*, 1992) เมล็ดของ lima bean (Xu *et al.*, 1989) หัวของมันฝรั่ง (Zrenner *et al.*, 1995) ซึ่งพบว่าเอนไซม์ sucrose synthase มีบทบาทในการกำหนดการนำเข้าของสารสู่แหล่งสะสม ในมะละกอพบว่าทั้งเอนไซม์ sucrose synthase และ invertase มีบทบาทในการนำสารเข้าสู่ผล (Zhou and Paull, 2001) นอกจากนี้บทบาทในการสะสมอาหารแล้วจากการที่พบกิจกรรมของเอนไซม์ sucrose synthase ที่สูงในปมรากถั่ว จึงคาดว่าเอนไซม์ sucrose synthase มีบทบาทสำคัญในการจับไนโตรเจนที่ปมรากถั่ว (Gordon *et al.*, 1999)

7.3 การศึกษาเอนไซม์ sucrose synthase ในผล

เอนไซม์ sucrose synthase ในผลแต่ละชนิดมีหน้าที่แตกต่างกันไป กรณีที่กิจกรรมของเอนไซม์ sucrose synthase สูงขณะผลอ่อนโดยส่วนใหญ่พบว่าเอนไซม์ sucrose synthase ทำหน้าที่ในการสลายซูโครส อาจมีบทบาทสำคัญในการเจริญและพัฒนาของผล ตัวอย่างเช่นที่พบใน

มะเขือเทศ (Sun *et al.*, 1992; Wang *et al.*, 1993b; D'Aoust *et al.*, 1999; N'tchobo *et al.*, 1999) สับปะรด (Chen and Paull, 2000) มะละกอ (Zhou and Paull, 2001) และแพร์ญี่ปุ่น (Tanase *et al.*, 2002a,b) สำหรับการพบกิจกรรมของเอนไซม์ sucrose synthase สูงขณะผลเจริญเต็มที่ พบว่า เอนไซม์ sucrose synthase ทำหน้าที่ในการสังเคราะห์ซูโครสเช่นในผลแพร์ (Tanase *et al.*, 2002a,b) ทั้งนี้มีการศึกษาเอนไซม์ sucrose synthase ของผลส้ม และพบว่าแต่ละไอโซฟอร์มทำหน้าที่แตกต่างกันในแต่ละช่วงเวลา (Komatsu *et al.*, 2002) ทั้งนี้การศึกษาเอนไซม์ sucrose synthase ในผลที่กล่าวนี้มีรายละเอียดดังนี้

การศึกษาเอนไซม์ sucrose synthase ในพืชประเภทแตงพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ sucrose synthase เพิ่มขึ้นทั้งการสังเคราะห์และการสลายซูโครสใน sweet melon ระหว่างช่วงที่มีการสะสมซูโครสในผล ทำให้ Schaffer *et al.* (1987) คาดว่าเอนไซม์ sucrose synthase อาจมีส่วนในกระบวนการสะสมซูโครสในผลเช่นเดียวกับในรากสะสมอาหารของ sugar beet ใน muskmelon Hubbard *et al.* (1989) พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ sucrose synthase และ neutral invertase ค่อนข้างต่ำและมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยเท่านั้นตลอดเวลาที่ผลพัฒนา และพบว่า sucrose phosphate synthase และ acid invertase มีกิจกรรมที่สัมพันธ์กับการสะสมซูโครสในผลมากกว่าเอนไซม์ sucrose synthase

Hubbard *et al.* (1990) พบว่าภายหลังจากการพ่นด้วย ethylene เป็นเวลา 4 วัน แป้งในกล้วยลดความเข้มข้นลงขณะที่น้ำตาลมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นซึ่งสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมของเอนไซม์ sucrose phosphate synthase ต่อมา Cordenunsi and Lajolo (1995) รายงานว่า เอนไซม์ sucrose synthase และ sucrose phosphate synthase เป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญในกระบวนการ sucrose metabolism ในผลกล้วยที่เก็บเกี่ยวแล้ว โดยอัตราส่วนของเอนไซม์ sucrose synthase ต่อ sucrose phosphate synthase ในผลกล้วยที่ตัดออกจากต้นจะมีค่าที่สูงกว่าอัตราส่วนดังกล่าวขณะที่ผลกล้วยติดอยู่ที่ต้น นอกจากนี้กล้วยที่ตัดออกจากต้นจะสุกเร็วกว่ากล้วยที่ติดอยู่กับต้นถึง 60 วัน สำหรับ Purgatto *et al.* (2001) พบว่า indole-3-acetic acid (IAA) มีผลลดอัตราการหายใจในผลกล้วย (*Musa acuminata* AAA, cv Nanicao) ซึ่งเป็นผลที่มีการสุกแบบ climacteric และมีผลลดการสลายแป้งและการสร้างน้ำตาลโดยไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมและการแสดงออกของเอนไซม์ sucrose synthase และ sucrose phosphate synthase ทั้งนี้การที่ซูโครสลดลงเนื่องมาจาก IAA ไปลดการสลายแป้งลง โดย IAA อาจจะส่งผลให้เกิดการลดกิจกรรมและการแสดงออกของ β -amylase ซึ่งมีหน้าที่ในการสลายแป้ง Nascimento *et al.* (2003) รายงานว่า

ชิ้น cDNA ขนาด 936 คู่เบสของยีนที่กำหนดการสร้างเอนไซม์ sucrose synthase ทั้ง 2 ไอโซฟอร์มมีลำดับเบสที่คล้ายกันมาก นอกจากนี้การแสดงออกของยีนมีความสำคัญในการควบคุมกิจกรรมของเอนไซม์ sucrose synthase และเอนไซม์นี้มีความสำคัญในช่วงการสะสมแป้งมากกว่าการสะสมน้ำตาลในระหว่างการสุก

ในมะเขือเทศ Sun *et al.* (1992) พบว่าเอนไซม์ sucrose synthase มีความสัมพันธ์กับน้ำหนักผลของมะเขือเทศทั้งสายพันธุ์ป่าและสายพันธุ์ทางการค้า โดยกิจกรรมของเอนไซม์ sucrose synthase เป็นไปในทิศทางตรงกันข้ามกับ Stommel (1992) ศึกษาปริมาณน้ำตาลและของแข็งที่ละลายได้รวมทั้งกิจกรรมของเอนไซม์ invertase เอนไซม์ sucrose synthase และ sucrose phosphate synthase ในระหว่างการเจริญของผลมะเขือเทศ 2 ชนิด คือ *Lycopersicon esculentum* Mill. และพันธุ์ผลเขียว (*L. peruvianum*) พบว่าผลของมะเขือเทศผลเขียวมีการสะสมซูโครส ขณะที่ผลของ *L. esculentum* มีการสะสม hexose เบอร์เชินต์ของแข็งที่ละลายได้ในผลสุกของ *L. peruvianum* มีมากกว่า *L. esculentum* ถึง 2 เท่า เนื่องจากการสะสมซูโครสในปริมาณที่สูง การเจริญของผลมะเขือเทศ *L. peruvianum* ในระยะสุดท้ายพบว่าการแสดงออกของเอนไซม์ invertase และ sucrose synthase มีระดับต่ำ ซึ่งตรงข้ามกับกิจกรรมของ sucrose phosphate synthase ที่เพิ่มขึ้น ดังนั้นเอนไซม์ sucrose phosphate synthase จึงสัมพันธ์กับการสะสมซูโครสในผล Wang *et al.* (1993b) ศึกษาการทำงานของเอนไซม์ sucrose synthase และ acid invertase ในระหว่างการเจริญของผลมะเขือเทศ (*L. esculentum* Mill cv-UC82B) พบว่าเอนไซม์ sucrose synthase เป็นเอนไซม์ที่มีความสัมพันธ์กับการเจริญและปริมาณแป้งในเนื้อเยื่อส่วนเพอริคาร์ป (pericarp) ของผล โดยในระหว่างการพัฒนาของผลนั้นเอนไซม์ sucrose synthase เป็นเอนไซม์หลักในการใช้ซูโครสที่นำเข้ามาสู่ผล ดังนั้นกิจกรรมของเอนไซม์ sucrose synthase จึงเกี่ยวกับการพัฒนาของผลมะเขือเทศและการสะสมแป้งในระยะแรกของการพัฒนาผล D' Aoust *et al.* (1999) ศึกษาบทบาทของเอนไซม์ sucrose synthase ในผลมะเขือเทศแปลงพันธุ์ (transgenic tomato) ซึ่งใช้ antisense fragment ที่จำเพาะต่อเอนไซม์ sucrose synthase อาร์เอ็นเอ (TOMSSF) ภายใต้การควบคุมของ cauliflower mosaic virus 35S promoter พบว่า antisense อาร์เอ็นเอดังกล่าวไปยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ sucrose synthase ในดอกและเนื้อเยื่อส่วนเพอริคาร์ปของผล แต่ไปยับยั้งเพียงเล็กน้อยในเอนโดสเปิร์ม สำหรับอิทธิพลต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตในผลที่ยังเล็กนั้นพบว่าการสะสมแป้งลดลงเพียงเล็กน้อย จากการศึกษาการนำซูโครสเข้าสู่ผลที่อายุต่างๆหลังดอกบาน พบว่าในผลที่อายุ 7 วันมีการนำซูโครสเข้าลดลงมากเมื่อกิจกรรมของเอนไซม์ sucrose synthase ต่ำ ขณะที่ผลอายุ 23 วันมีการนำซูโครสเข้าและอัตราการสังเคราะห์แป้งจากซูโครสที่นำเข้ามาไม่ลดลงตามการลดลง

ของเอนไซม์ sucrose synthase ซึ่งลดลงถึง 98% นอกจากนี้การติดผลของมะเขือเทศแปลงพันธุ์ลดลงจึงทำให้ผลผลิตต่อต้นต่ำ และผลที่เกิดขึ้นมีอัตราการเจริญเติบโตที่ต่ำมากในสัปดาห์แรก ดังนั้นจึงคาดว่าเอนไซม์ sucrose synthase มีส่วนในการควบคุมประสิทธิภาพของการนำซูโครสเข้าสู่ผลที่ยังอ่อนและกำหนดการติดผลและการพัฒนาของผล N'tchobo *et al.* (1999) รายงานว่าผลมะเขือเทศ 2 ชนิด คือ *L. esculentum* และ *L. chmielewskii* มีกิจกรรมของเอนไซม์ sucrose synthase สูงมากในผลที่เก็บเกี่ยวภายใน 20 วันหลังดอกบาน (day after anthesis) นอกจากนี้การนำซูโครสไปเลี้ยงผลและกิจกรรมของเอนไซม์ sucrose synthase มีความสัมพันธ์กันน้อยในมะเขือเทศทั้ง 2 ชนิด Nguyen-Quoc and Foyer (2001) รวบรวมและรายงานว่าเอนไซม์ sucrose synthase เป็นเอนไซม์ชนิดหนึ่งที่มีหน้าที่เกี่ยวกับกระบวนการสร้างและสลายซูโครสระหว่าง cytosol, vacuole และ apoplast ในผลมะเขือเทศ โดยเอนไซม์ sucrose synthase อาจเป็นเอนไซม์หลักที่ทำหน้าที่ทั้งสลายและสังเคราะห์ซูโครสในไซโทพลาซึมและทำให้เกิดการสะสมน้ำตาลในบริเวณดังกล่าว

ในสัปดาห์แรก Chen and Paull (2000) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลและกิจกรรมของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการกระบวนการสร้างและสลายน้ำตาลในเนื้อของผลสับปะรด (*Ananas comosus* (L.) Merr.) พบว่าระยะแรกในการพัฒนาของผลมีกลูโคสและฟรุกโตสเป็นน้ำตาลหลัก ซูโครสเริ่มสะสมมากขึ้นในช่วง 6 สัปดาห์ก่อนการเก็บเกี่ยว โดยสะสมในเนื้อผลย่อย (fruitlet) มากกว่าบริเวณระหว่างเนื้อผล (interfruitlet) บริเวณเนื้อผลในผลอ่อนมีกิจกรรมของเอนไซม์ sucrose synthase และ invertase สูง โดยเอนไซม์ sucrose synthase มีกิจกรรมที่สูงกว่า invertase แต่จะลดลงเมื่อผลมีการพัฒนาขึ้นและลดต่ำที่สุดในช่วง 6 สัปดาห์ก่อนการเก็บเกี่ยวซึ่งเป็นเวลาเดียวกับที่เริ่มมีการสะสมซูโครส ทั้งนี้การยอมให้สารผ่านเข้าออกของเยื่อหุ้มเซลล์เพิ่มขึ้นเมื่อผลเข้าสู่กระบวนการสุก จึงเป็นไปได้ที่เอนไซม์ sucrose synthase อาจเป็นสัญญาณทำให้เกิดการสะสมน้ำตาลในสับปะรด และอาจมีบทบาทในการกำหนดการพัฒนาและการเจริญของผลในระยะแรกเช่นเดียวกับมะเขือเทศ สำหรับ cell-wall invertase ที่เพิ่มขึ้นในเดือนสุดท้ายก่อนการเก็บเกี่ยว นั้น เกี่ยวข้องกับการใส่น้ำ (translucence) ของสับปะรดและการนำน้ำตาลเข้าโดยผ่านทาง apoplast (Chen and Paull, 2000)

Zhou and Paull (2001) พบว่าเอนไซม์ sucrose synthase ในผลมะละกอมีปริมาณมากขณะที่ผลอ่อน และลดลงขณะผลเจริญขึ้น นอกจากนี้ปริมาณคาร์บอนที่นำเข้าสู่ผลสัมพันธ์กับกิจกรรมของเอนไซม์ sucrose synthase ดังนั้นเอนไซม์ sucrose synthase อาจทำหน้าที่สลาย

ซูโครสเป็น UDP-glucose เพื่อใช้ในการสังเคราะห์สารที่จำเป็นสำหรับการเจริญเช่นเดียวกับในมะเขือเทศ

Tanase *et al.* (2002a,b) รายงานว่าในผลแพร์ญี่ปุ่นมีเอนไซม์ sucrose synthase อยู่ 2 ไอโซฟอร์ม คือไอโซฟอร์มที่เกิดและไม่เกิด phosphorylation เอนไซม์ sucrose synthase ทั้ง 2 ไอโซฟอร์มนี้มีระดับที่ต่างกันในช่วงเวลาที่ต่างกันคือ phosphorylated sucrose synthase พบในระดับสูงขณะที่ผลอ่อนและลดลงเมื่อผลเริ่มมีขนาดใหญ่ขึ้น ส่วนเอนไซม์ sucrose synthase ที่ไม่มีการ phosphorylated มีระดับสูงเมื่อผลเจริญเต็มที่ จึงเป็นไปได้ว่าสมบัติและหน้าที่ของเอนไซม์ sucrose synthase ที่เกิดขึ้นในระหว่างการพัฒนาของผลแพร์ญี่ปุ่นอาจถูกควบคุมโดยการเกิด phosphorylation ของเอนไซม์ sucrose synthase ภายหลังจากการแปลรหัส

การศึกษาเอนไซม์ sucrose synthase ในส้ม Komatsu *et al.* (2002) พบว่าปริมาณของ *CitSUS1* mRNA ลดลงตลอดการพัฒนาของผล ดังนั้นยีน *CitSUS1* อาจมีบทบาทกำหนดการสร้างเอนไซม์ sucrose synthase ที่ทำหน้าที่สลายซูโครส เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตและสร้างผนังเซลล์ของผลส้ม ขณะที่ *CitSUS4* mRNA มีปริมาณเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจแสดงว่ายีน *CitSUS4* กำหนดการสร้างเอนไซม์ sucrose synthase ที่ทำหน้าที่สลายซูโครส เพื่อให้ได้สารตั้งต้นในการสังเคราะห์ซูโครสขึ้นมาใหม่โดยเอนไซม์ sucrose phosphate synthase

8. การศึกษายีน sucrose synthase ในพืช

เนื่องจากเอนไซม์ sucrose synthase เป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องเกี่ยวกับกระบวนการต่างๆ มากมายในพืชดังที่กล่าวมาข้างต้น ดังนั้นนอกจากจะมีความรู้ทางด้านชีวเคมีเกี่ยวกับเอนไซม์ sucrose synthase แล้ว ยังมีความรู้ทางด้านชีววิทยาระดับโมเลกุลและพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุลที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ sucrose synthase ด้วยเพื่อให้เข้าใจบทบาทของเอนไซม์ให้ดียิ่งขึ้น การศึกษายีน sucrose synthase ในระยะแรกๆ นั้นทำการศึกษาในพืชที่มีการสะสมแป้งก่อนเช่น ข้าวโพด (Werr *et al.*, 1985) มันฝรั่ง (Salanoubat and Belliard, 1987) ข้าวบาร์เลย์ (Sanchez de la Hoz *et al.*, 1992) ข้าว (Yu *et al.*, 1992) ถั่วเขียว (Arai *et al.*, 1992) และถั่วลิสง (Pisum sativum) (Buchner *et al.*, 1998) เป็นต้น ระยะต่อมาก็เริ่มมีการศึกษาพืชที่มีการสะสมซูโครส และน้ำตาลที่ประกอบด้วยคาร์บอน 6 อะตอม เช่น sugar beet (Heim *et al.*, 1993) และมะเขือเทศ (Wang *et al.*, 1993a) สำหรับ *Arabidopsis* ซึ่งเป็นพืชต้นแบบที่ใช้ในการศึกษาเรื่องราวต่างๆ ในพืชนั้นก็มีการ

นำมาศึกษาใน sucrose synthase ด้วยเช่นกัน (Chopra *et al.*, 1992) แต่จากการตรวจสอบเอกสารไม่พบรายงานเกี่ยวกับการศึกษาใน sucrose synthase ในสับปะรดซึ่งเป็นพืชที่มีการสะสมซูโครส และเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญอันดับ 3 ของโลก

การศึกษาใน sucrose synthase ของพืชในระยะเริ่มแรกนั้นพบว่าใน sucrose synthase มีเพียงไอโซฟอร์มเดียว แต่จากการศึกษาในระยะต่อมาพบว่าพืชชนิดเดิมนั้นมีมากกว่า 1 ไอโซฟอร์ม เช่น ในแคโรท Sebko *et al.* (1995) พบเพียง 1 ไอโซฟอร์ม ซึ่งต่อมา Tang and Sturm (1999) ก็พบว่าใน 2 ไอโซฟอร์ม ในพืชชนิดอื่นเช่นข้าวโพดก็มีการค้นพบไอโซฟอร์มใหม่ๆในทำนองเดียวกัน จะมีเพียงยีน sucrose synthase (*MtSucS1*) ซึ่งพบในปมรากของ *Medicago truncatula* ที่รายงานว่าเป็นยีนที่มีเพียงชุดเดียว (single-copy gene) (Hohnjec and Becker, 1999) อย่างไรก็ตามจากการศึกษาพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่หลายๆชนิดนั้นส่วนใหญ่แล้วพบว่าใน sucrose synthase เป็น multigene family กลุ่มเล็กๆ (Komatsu *et al.*, 2002) โดยกลุ่มใหญ่สุดที่พบนั้นพบใน *Arabidopsis* โดยพบถึง 6 ไอโซฟอร์มด้วยกัน (Baud *et al.*, 2004) ในพืชใบเลี้ยงคู่ชนิดอื่นเช่น ถั่วลิ้นเตา (Paul Barratt *et al.*, 2001) และส้ม (Komatsu *et al.*, 2002) พบ 3 ไอโซฟอร์ม ในมันฝรั่ง (Fu and Park, 1995) มะเขือเทศ (Chengappa *et al.*, 1998) และแพร์ญี่ปุ่น (Tanase and Yamaki, 2000a) พบ 2 ไอโซฟอร์มเป็นต้น ทั้งนี้พืชใบเลี้ยงเดี่ยวนั้นส่วนใหญ่พบเพียง 2-3 ไอโซฟอร์ม เช่น ในข้าว (Wang *et al.*, 1992; Huang *et al.*, 1996) ข้าวโพด (Carlson *et al.*, 2002) พบ 3 ไอโซฟอร์ม ขณะที่ข้าวบาร์เลย์พบ 2 ไอโซฟอร์ม (Martinez de Ilarduya *et al.*, 1993) เป็นต้น

การที่พืชมียีน sucrose synthase หลายไอโซฟอร์มนั้นมีรายงานว่าแต่ละไอโซฟอร์มสามารถแสดงออกได้แตกต่างกันตามแหล่ง อายุ และสภาวะของเนื้อเยื่อที่ใช้เป็นตัวอย่าง นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าแต่ละไอโซฟอร์ม สามารถทำหน้าที่แตกต่างกันโดยสัมพันธ์กับการแสดงออกของแต่ละไอโซฟอร์มในเนื้อเยื่อที่ศึกษา ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของพืชด้วย ดังตัวอย่างเช่น ข้าวโพดซึ่งพบว่า *SS1* หรือ *Sh* จะมีการแสดงออกที่เอนโดสเปิร์ม ขณะที่ *SS2* (*SUS*) พบได้ในหลายเนื้อเยื่อเช่น ยอด ราก เอ็มบริโอ รวมถึงเอนโดสเปิร์มของข้าวโพดด้วย (Chourey *et al.*, 1986) ในข้าวบาร์เลย์พบว่าใน *Ss1* มีการแสดงออกที่สูงมากในเอนโดสเปิร์มของเมล็ดที่กำลังพัฒนา และมีการแสดงออกน้อยในเนื้อเยื่อหุ้มยอดแรกเกิด (coleoptile) และแอลิวโรน (aleurone) แต่ไม่สามารถพบได้ในราก สำหรับยีน *Ss2* นั้นพบว่ามีการแสดงออกที่สูงมากในเอนโดสเปิร์ม และพบได้น้อยในแอลิวโรน แต่ไม่สามารถพบได้ในราก และ เนื้อเยื่อหุ้มยอดแรกเกิด (Martinez de Ilarduya *et al.*, 1993) สำหรับข้าวพบว่า *RSuS3* แสดงออกเฉพาะในเมล็ดข้าวและมีการแสดงออกที่สูงมากกว่า *RSuS1* ซึ่ง

พบในเมล็ดข้าวเช่นกัน ในขณะที่ *RSuS2* เป็น house keeping gene จากการทำให้ข้าวอยู่ในสภาวะที่มีการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic) พบว่าการแสดงออกของยีน *RSuS2* และ 3 จะเพิ่มขึ้น แต่สภาวะดังกล่าวนี้จะไปขัดขวางการแสดงออกของ *RSuS1* (Huang *et al.*, 1996) ในแครอทพบว่า *SuSy*Dc1* เกิดการสร้าง mRNA ในเนื้อเยื่อสะสม (sink organ) เช่น ราก และ ก้านใบ ในระหว่างที่แครอทมีการพัฒนา ส่วน *SuSy*Dc2* mRNA นั้นพบได้เฉพาะในดอกเท่านั้น (Tang and Sturm, 1999) สำหรับไอโซฟอร์มของ sucrose synthase ที่พบในผลแพร์ญี่ปุ่นนั้นพบว่า SSI พบมากขณะที่ผลยังอ่อนแต่ SSII พบได้เมื่อผลโตเต็มที่แล้ว ทั้งนี้เมื่อทำการศึกษาสมบัติทางชีวเคมีของเอนไซม์ที่ได้จากแต่ละไอโซฟอร์มของ sucrose synthase ในแพร์ญี่ปุ่นพบว่า SSI มีค่า K_m สำหรับ UDP-Glucose เท่ากับ UDP แต่ SSII มีค่า K_m สำหรับ UDP-Glucose น้อยกว่า UDP ดังนั้น SSII จึงเร่งปฏิกิริยาไปในทางสังเคราะห์ซูโครส มากกว่าการสลายซูโครส เมื่อเปรียบเทียบกับ SSI (Tanase and Yamaki, 2000a) ในส้ม Komatsu *et al.* (2002) พบว่ายีน *CitSUS1* และ *CitSUS4* ซึ่งมีการแสดงออกที่เปลือกกับเนื้อส่วนที่รับประทานได้นั้นมีการแสดงออกในปริมาณที่แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด โดยปริมาณของ *CitSUS1* mRNA จะลดลงตลอดการพัฒนาของผล ขณะที่ *CitSUS4* mRNA กลับมีปริมาณเพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงว่า *CitSUS1* อาจมีบทบาททำให้เอนไซม์ sucrose synthase ทำหน้าที่สลายซูโครส เพื่อให้ได้ UDP-glucose ซึ่งนำไปใช้ในการเจริญเติบโตและสร้างผนังเซลล์ของผลส้ม สำหรับ *CitSUS4* อาจมีบทบาทในการทำให้เอนไซม์ sucrose synthase ทำหน้าที่สลายซูโครส เช่นกันแต่เป็นการสลายเพื่อนำ UDP-glucose และฟรุกโตส ไปเป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์ซูโครสกลับขึ้นมาใหม่โดยเอนไซม์ sucrose phosphate synthase ซึ่งเป็นการชี้ให้เห็นว่าเอนไซม์ sucrose synthase มีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการสร้างและสลายน้ำตาล ในรากของ sugar beet พบว่า sucrose synthase ทั้ง 2 ไอโซฟอร์มมีการตอบสนองต่ออุณหภูมิเช่นเดียวกัน แต่มีการตอบสนองต่อ pH ต่างกันซึ่งอาจเป็นสาเหตุที่ส่งผลต่อบทบาทในการควบคุมเมแทบอลิซึมของซูโครสที่ต่างกันออกไป (Klotz *et al.*, 2003) สำหรับพืชต้นแบบคือ *Arabidopsis thaliana* ที่พบถึง 6 ไอโซฟอร์ม คือ *AtSUS1-6* นั้น Baud *et al.* (2004) พบว่า mRNA ของ *AtSUS1* และ *AtSUS4* มีปริมาณสูงเมื่อ *Arabidopsis* อยู่ในสภาวะที่เกิดการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic) *AtSUS2* พบเฉพาะในเมล็ดโดยพบมากเมื่อเมล็ดอายุ 12 วันหลังดอกบาน *AtSUS3* พบว่าจะมีการแสดงออกเมื่ออยู่ในสภาวะขาดน้ำ และ 2 ไอโซฟอร์ม สุดท้ายคือ *AtSUS5* และ *AtSUS6* มีการแสดงออกในเกือบทุกส่วนของพืชและไม่ตอบสนองต่อสภาวะเครียดต่างๆที่เกิดขึ้นกับ *Arabidopsis*

การศึกษายีน sucrose synthase จนกระทั่งทราบว่ามีย่อยหลายไอโซฟอร์ม และมีการแสดงออกอย่างไรนั้นวิธีหนึ่งคือการศึกษาลำดับเบสของยีน sucrose synthase โดยลำดับเบสจากการตรวจ

เอกสารข้างต้นนั้นส่วนใหญ่เริ่มจากการศึกษาลำดับเบสบางส่วนของ sucrose synthase cDNA ก่อน หลังจากนั้นจึงมีการศึกษาเพิ่มมากขึ้นทำให้ทราบลำดับเบสของ cDNA ทั้งสาย (full-length cDNA) และลำดับเบสในจีโนม (genomic DNA) ในที่สุด การที่จะได้ cDNA เพื่อศึกษาลำดับเบสนั้น จะต้องสกัดอาร์เอ็นเอออกจากเนื้อเยื่อตัวอย่างที่ศึกษาก่อน ดังนั้นเนื้อเยื่อนำมาศึกษาจึงต้องเป็นเนื้อเยื่อที่มีการแสดงออกของยีนนั้นๆ คือมีการสังเคราะห์ mRNA ของยีนที่สนใจ ในกรณีปกติพบว่าปริมาณของ mRNA จะมีเพียง 1-5% ของปริมาณอาร์เอ็นเอทั้งหมด (Teakle *et al.*, 2002) ซึ่งเป็นปริมาณที่น้อยมาก นอกจากนี้การสกัดอาร์เอ็นเอจากเนื้อเยื่อพืชยังต้องคำนึงถึงปัจจัยต่างๆ ที่มีอยู่ในเนื้อเยื่อพืชซึ่งอาจส่งผลถึงปริมาณและคุณภาพของอาร์เอ็นเอที่ได้ โดยในพืชชนิดเดียวกันเนื้อเยื่อบางส่วนจะได้อาร์เอ็นเอที่มีคุณภาพสูงแต่เนื้อเยื่อจากส่วนอื่นจะสกัดได้อาร์เอ็นเอที่มีคุณภาพต่ำ เนื้อเยื่อบางชนิดเช่นใบเมื่อนำมาสกัดอาร์เอ็นเอจะได้อาร์เอ็นเอในปริมาณที่มากกว่าเมื่อเทียบกับเนื้อเยื่อจาก ราก และลำต้น ยิ่งไปกว่านั้นการที่เนื้อเยื่อตัวอย่างที่จะนำมาสกัดอาร์เอ็นเอมีสารบางชนิดเช่น แป้ง สารฟีนอลิก สารแอนโทไซยานิน และสารเมแทบอลิท์อื่นๆ อยู่จะไปรบกวนทำให้คุณภาพหรือปริมาณของ อาร์เอ็นเอ ในตัวอย่างลดลงอย่างเห็นได้ชัด (Teakle *et al.*, 2002) ในกรณีของสับปะรดซึ่งเป็นพืชทดลองนี้พบว่าเป็นพืชที่มีสารฟีนอลิก และการโบไฮเดรตเป็นจำนวนมาก (Cazzonelli *et al.*, 1998; Gehrig *et al.*, 2000) จึงเป็นอุปสรรคในการสกัดอาร์เอ็นเอ (Cazzonelli *et al.*, 1998) ดังนั้นการเลือกตัวอย่างเพื่อจะใช้ในการศึกษาอาร์เอ็นเอจึงต้องคำนึงถึงสิ่งต่างๆ เหล่านี้ด้วย

เมื่อสกัดอาร์เอ็นเอออกจากเนื้อเยื่อได้ปริมาณและคุณภาพที่ดีแล้วจึงนำไปเพิ่มปริมาณ cDNA ที่สนใจด้วยเทคนิค reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) โดยทำ reverse transcription ของอาร์เอ็นเอให้ได้เป็น cDNA ก่อน จากนั้นจึงเพิ่มปริมาณ cDNA ของยีนที่ต้องการศึกษาให้มีปริมาณเพิ่มมากขึ้นโดยการทำ PCR เทคนิค RT-PCR นี้เป็นเทคนิคที่มีความไวสูงมากในการตรวจจับการแสดงออกของยีนที่สนใจ จากตัวอย่างเพียงเล็กน้อยหรือแม้กระทั่งเซลล์เพียงเซลล์เดียวก็สามารถใช้เทคนิคนี้ในการตรวจ (Richert *et al.*, 1996) ซึ่งในการศึกษาลำดับเบสของ sucrose synthase ในพืชหลายชนิดเช่น มันฝรั่ง (Fu and Park, 1995) ข้าว (Huang *et al.*, 1996) ถั่วลิสง (Pisum sativum) (Dejardin *et al.*, 1997) แครอท (D'Aoust *et al.*, 1999) ส้ม (Komatsu *et al.*, 2002) และ Arabidopsis (Baud *et al.*, 2004) ก็ใช้วิธี RT-PCR นี้เช่นกัน หลังจากได้ cDNA ของยีนที่ต้องการแล้ว จะมีการโคลนเข้าสู่เวกเตอร์ที่เหมาะสมเพื่อนำไปใช้ต่อไปได้ เช่นศึกษาลำดับเบสเป็นต้น ทั้งนี้สามารถนำชิ้นส่วน cDNA ที่ได้จากการทำ PCR ไปหาลำดับเบสได้โดยตรงเช่นกัน อย่างไรก็ตามลำดับเบสที่ได้จะต้องนำไปเปรียบเทียบกับข้อมูลของลำดับเบสของ sucrose

sucrose synthase cDNA ในฐานะข้อมูลเพื่อตรวจสอบว่าลำดับเบสจาก cDNA ที่ได้เป็นลำดับเบสของยีนที่ต้องการศึกษาหรือไม่

หลังจากได้ชิ้นส่วนและข้อมูลพื้นฐานของ cDNA ดังกล่าวสามารถนำชิ้นส่วนและข้อมูลเบื้องต้นนี้ไปใช้ประโยชน์ต่อได้หลายรูปแบบเช่น การโคลนศึกษาลำดับเบสของ full-length cDNA ของ sucrose synthase ซึ่งทำได้โดยใช้เทคนิคต่างๆเช่น การใช้เทคนิค rapid amplification of cDNA ends (RACE) และ gene walking ในการศึกษา full-length cDNA ของยีน sucrose synthase ในข้าว (Huang *et al.*, 1996) และ อ้อย (Kumer *et al.*, 1992) Kuster *et al.* (1993) ศึกษา full-length cDNA ของ sucrose synthase โดยใช้ลำดับเบสบางส่วนจากปลายด้าน 5' ของ sucrose synthase cDNA ที่สกัดจาก *Vicia faba* มาสังเคราะห์เป็น probe ในการตรวจหาและแยก full-length cDNA ของ sucrose synthase จาก cDNA library การศึกษาจำนวนไอโซฟอร์มของยีนก็สามารถทำได้โดยใช้ชิ้นส่วนของ cDNA ที่แยกได้ไปใช้ประโยชน์อีกรูปแบบหนึ่ง ทั้งนี้ในการศึกษาจำนวนไอโซฟอร์มของยีน sucrose synthase โดยเทคนิค Southern blot hybridization มีการศึกษาในแครอท (Sebkova *et al.*, 1995) ถั่วลิ้นเตา (Dejardin *et al.*, 1997; Paul Barratt *et al.*, 2001) และในสั้ม (Komatsu *et al.*, 2002) เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถนำข้อมูลของลำดับเบสจากชิ้นส่วนของ cDNA มาใช้เพื่อศึกษาการแสดงออกของแต่ละไอโซฟอร์มของยีนที่สนใจได้โดยผ่านการทำ Northern blot analysis วิธี semiquantitative RT-PCR หรือ วิธี real time-PCR ซึ่งการศึกษการแสดงออกของยีน sucrose synthase ดังกล่าวมีผู้นำมาใช้ในพืชหลายชนิด เช่น วิธี Northern blot analysis ในข้าว (Huang *et al.*, 1996) ถั่วลิ้นเตา (Dejardin *et al.*, 1997) ข้าวโพด (Carlson, *et al.*, 2002) สั้ม (Komatsu *et al.*, 2002) วิธี semiquantitative RT-PCR ใช้ในการศึกษการแสดงออกของยีน sucrose synthase ในสั้ม (Komatsu *et al.*, 2002) ส่วนวิธี real time-PCR ใช้ใน *Arabidopsis* (Baud *et al.*, 2004) ทั้งนี้ การศึกษาผลของการแสดงออกของยีนที่สนใจที่มีต่อลักษณะสัณฐานและสรีรวิทยา หรือแม้กระทั่งวิถีการสังเคราะห์ทางชีวเคมี (biochemical pathway) โดยเฉพาะกระบวนการเมแทบอลิซึมต่างๆของพืชที่ศึกษานั้น สามารถศึกษาโดยการผลิตพืชดัดแปลงพันธุกรรม (transgenic plant) (Ferne *et al.*, 2002) สำหรับการผลิตพืชดัดแปลงพันธุกรรมเพื่อศึกษาบทบาทของเอนไซม์ sucrose synthase ในพืชนั้น จากการตรวจเอกสารพบว่าส่วนใหญ่จะทำการออกแบบโครงสร้างยีน sucrose synthase แบบ antisense เข้าสู่ expression vector ซึ่งมีโปรโมเตอร์ที่ทำให้ยีนที่ถ่ายเข้าไปสามารถแสดงออกในพืชได้ เช่นใน มันฝรั่ง (Zrenner *et al.*, 1995) แครอท (Tang and Sturm, 1999; D' Aoust *et al.*, 1999) และมะเขือเทศ (Chengappa *et al.*, 1999) นอกจากนี้ Nakai *et al.* (1999) ยังได้ศึกษาผลของเอนไซม์ sucrose synthase ที่มีต่อการสังเคราะห์เซลลูโลส โดยทำการถ่ายยีน sucrose synthase เข้าสู่

Acetobacter xylinum ซึ่งไม่มียีน sucrose synthase อยู่ จากการทดลองพบว่า *A. xylinum* สามารถผลิตเอนไซม์ sucrose synthase ได้และเอนไซม์นี้สามารถนำคาร์บอนจากซูโครสไปสังเคราะห์เซลลูโลสได้โดยตรงและช่วยให้เกิดการนำ UDP กลับมาใช้ประโยชน์ด้วย ทำให้ช่วยประหยัด ATP ที่ *A. xylinum* จะต้องใช้ในการสร้างเซลลูโลสได้

จากการศึกษาลำดับเบสของยีน sucrose synthase ในพืชต่างๆ เช่น ถั่วปากอ้า (Kuster *et al.*, 1993) แครอท (Sebkova *et al.*, 1995) sugar beet (Hesse *et al.*, 1996) ถั่วเหลือง (Zhang *et al.*, 1997) มะเขือเทศ (Chengappa *et al.*, 1998) ถั่วลิสง (Buchner *et al.*, 1998) ส้ม (Komatsu *et al.*, 2002) แพร่ญี่ปุ่น (Tanase *et al.*, 2002b) และข้าว (Kikuchi *et al.*, 2003) สามารถสรุปได้ว่า full-length cDNA ของยีน sucrose synthase มีขนาดประมาณ 2700-2900 คู่เบส ซึ่งสามารถแปลรหัสได้เป็นกรดอะมิโน 805-812 residues มีน้ำหนักโมเลกุล 91-93 กิโลดาลตัน สำหรับการศึกษาความแตกต่างของลำดับเบสในแต่ละไอโซฟอร์มนั้นพบว่ามีความแตกต่างกันมากบริเวณปลาย 3' ที่ไม่มีการแปลรหัส (3' non-coding region)

9. การศึกษายีนในสับปะรด

ถึงแม้ว่าสับปะรดจะเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญระดับโลกก็ตามแต่มีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับพันธุศาสตร์โมเลกุลในสับปะรดอยู่เพียง 2 รายงานเท่านั้น โดยเป็นการศึกษาเกี่ยวกับยีนซึ่งเป็นเอนไซม์สำคัญในวิถีการสังเคราะห์เอซิลิน คือ 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) synthase (*acacc-1*) และ ACC oxidase (*acaco-1*) โดย Cazzonelli *et al.*, 1998 และยีน Cu/Zn-Superoxide dismutase โดย Lin *et al.*, 2000 การศึกษายีนทั้ง 3 ยีนนี้ได้จากการสกัดอาร์เอ็นเอจากเนื้อของสับปะรด ซึ่ง Cazzonelli *et al.*, 1998 กล่าวว่าในเนื้อสับปะรดมีกรด สารฟีนอลิก และ คาร์โบไฮเดรต สูงทำให้เกิดปัญหาในการสกัดอาร์เอ็นเอจึงต้องปรับปรุงวิธีการในการสกัดอาร์เอ็นเอเพื่อจะได้นำอาร์เอ็นเอไปใช้ในศึกษาต่อไปได้ แต่ Lin *et al.*, 2000 สามารถใช้ Trizol ในการสกัดอาร์เอ็นเอจากเนื้อของสับปะรดได้ การศึกษายีน ACC synthase และ ACC oxidase ในสับปะรดทำให้เกิดข้อมูลที่น่าสนใจคือ สับปะรดซึ่งเป็นพืชที่มีการสุกของผลเป็นแบบ non-climacteric แต่มีการแสดงออกของ ACC synthase และ ACC oxidase ยีนในระหว่างการสุกของสับปะรด โดยเฉพาะ ACC synthase จะเพิ่มมากขึ้นถึง 16 เท่าเมื่อเทียบกับผลที่ไม่สุก ซึ่งการแสดงออกของ ACC synthase ที่มากขึ้นนี้เป็นไปในทำนองเดียวกับมะเขือเทศ ซึ่งเป็นผลแบบ climacteric การเพิ่มขึ้นของยีนทั้ง 2 นี้ทำให้คณะผู้วิจัยยังไม่สามารถสรุปได้ถึงเหตุผลเนื่องจากยังไม่มีรายงาน

เกี่ยวกับเหตุการณ์เช่นนี้ แต่คาดว่าอาจจะมีกระบวนการควบคุมยีนทั้ง 2 ภายหลังจากถอดรหัสเป็นอาร์เอ็นเอคืออาจเกิดกระบวนการ post-transcriptional หรือ post-translational modification ได้