บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ในปัจจุบันพุทราพันธุ์บอมแอปเปิ้ลกำลังเป็นที่นิยมของท้องตลาด ตลอดจนส่งออกไปจำหน่ายยังตลาดต่างประเทศ โดยเฉพาะ จีน ไต้หวัน อินโดนีเซีย ฮ่องกง แคนาดาและยุโรป ทั้งนี้เนื่องจากพุทราพันธุ์บอมแอปเปิ้ลมีผลขนาดใหญ่ สีเขียวสวยงาม มีทรงผลที่โดดเด่น รสชาติดีคล้ายแอปเปิ้ล เกษตรกรไทยสามารถปลูกพุทราได้ผลดี เนื่องจากสภาพอากาศเหมาะสม นอกจากนี้พุทรายังมีศัตรูธรรมชาติน้อย ราคาดี ให้ผลผลิตทั้งปี

สำหรับปัญหาที่พบกับผลพุทราได้แก่ การเสื่อมสภาพไปอย่างรวดเร็ว (ประมาณ 2-5 วัน) เช่นการเหี่ยว นิ่ม สีผลเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและเน่าจากการเข้าทำลายของเชื้อจุลินทรีย์ ผลพุทราเป็นผลไม้ที่เกิดการชอกช้ำและบาดแผลได้ง่าย เนื่องจากมีเปลือกค่อนข้างบาง อย่างไรก็ตามการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำและความชื้นสัมพัทธ์สูงเป็นวิธีหนึ่งที่สามารถชะลอการเสื่อมสภาพดังกล่าวได้ แต่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำเกินไปส่งผลให้เกิดอาการสะท้านหนาว (Chilling injury; CI) และถ้าความชื้นสัมพัทธ์สูงทำให้เชื้อราชนิดต่าง ๆ เจริญเติบโตได้ดี ซึ่งเป็นข้อจำกัดการขนส่งและการเก็บรักษาของพุทรา ดังนั้นหากสามารถยับยั้งหรือลดการเกิดอาการสะท้านหนาว และการเน่าเสียรวมทั้งการเสื่อมสภาพไปอย่างรวดเร็วของผลพุทราหลังการเก็บเกี่ยวได้ก็จะสามารถลดปัญหาดังกล่าว

การลดอาการสะท้านหนาวสามารถทำได้ด้วยการใช้สารเมทิลจัสโมเนส ซึ่งมีรายงานใน มะม่วง อะโวกาโด มะละกอ และแตงกวา (Wang และ Buta, 1994;Meir และคณะ, 1998; González-Aguilar และคณะ, 2000; González-Aguilar และคณะ, 2003) รวมทั้งการใช้สาร Salicylic acid ซึ่งมีรายงานว่าสามารถลดอาการสะท้านหนาวในมะเขือเทศ (Ding และคณะ, 2002) และกล้วย (Kang และคณะ, 2003) และยับยั้งการสังเคราะห์หรือการทำงานของเอทิลีนในกล้วย(Srivartava และ Dwivedi, 2000) และกีวี (Zhang และคณะ, 2003) รวมทั้งควบคุมการเกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยว ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาถึงการใช้ สาร methyl jasmonate และ salicylic acid เพื่อลดอาการสะท้านหนาวของผลพุทรา ซึ่งช่วยส่งเสริมให้เกษตรกรไทยมีศักยภาพในการส่งไปจำหน่ายยังตลาดที่อยู่ห่างไกลรวมไปถึงส่งออกไปยังต่างประเทศได้อย่างมีประสิทธิภาพมากที่สุด

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของสารเมทิลจัสโมเนสต่ออาการสะท้านหนาวในผลพุทรา

2. เพื่อศึกษาผลของสารซาลิคไซลิกต่ออาการสะท้านหนาวในผลพุทรา

ขอบเขตของโครงการวิจัย

1. ศึกษาผลของพุทราที่รมด้วยสารเมทิลจัสโมเนสความเข้มข้น 0 0.1 และ 1.0 ไมโครโมลาร์ นาน 8 ชั่วโมง ต่ออาการสะท้านหนาวในผลพุทรา

2. ศึกษาผลของการจุ่มด้วยสารซาลิคซาลิกความเข้มข้น 0 2.0 มิลลิโมลต่อลิตร และเก็บรักษาที่ 10 และ 20 องศาเซลเซียส ต่ออาการสะท้านหนาวในผลพุทรา

วิธีการดำเนินการวิจัยโดยสรุป

1. นำผลพุทราที่ผ่านการเตรียมเบื้องต้น มาแบ่งชุดการทดลอง โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 10 และ 25 องศาเซลเซียสทำการบันทึกผลการทดลองทางกายภาพและทางชีวเคมีทุก 3 วัน

2. นำผลพุทราที่ผ่านการเตรียมเบื้องต้นมาแบ่งชุดทดลอง รมด้วยเมทิลจัสโมเนทความเข้มข้น 0 0.1 และ 1.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นนำมาเก็บรักษาที่ 10 องศาเซลซียส ทำการบันทึกผลการทดลองทางกายภาพและทางชีวเคมีทุก 3 วัน

3. นำผลพุทราที่ผ่านการเตรียมเบื้องต้นมาแบ่งชุดทดลอง ทำการจุ่มด้วยสารซาลิคไซลิกความเข้มข้น 0 และ 2.0 มิลลิโมลต่อลิตร เป็นเวลา 3 นาที หลังจากนั้นนำมาเก็บรักษาที่ 10 และ 20 องศาเซลซียส ทำการบันทึกผลการทดลองทางกายภาพและทางชีวเคมีทุก 3 วัน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับเทคโนโลยีการใช้สารเมทิลจัสโมเนทและกรดซาลิคไซลิกในการลดอาการสะท้านหนาวของผลพุทรา ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ

2. ได้คู่มือหรือเอกสารประกอบการของโครงการวิจัยนี้

3. ได้เผยแพร่ความรู้จากงานวิจัยแก่นักศึกษาและนักวิชาการ ให้มีความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับการยืดอายุและการเก็บรักษาพุทราในระหว่างการเก็บรักษาโดยการใช้สารเมทิลจัสโมเนทและกรดซาลิคไซลิก

ตรวจเอกสาร

พุทรา (*Zizyphus mauritiana* Lamk.) เป็นไม้ผลยืนต้นเขตร้อนขนาดกลางที่ปลูกง่ายในดินทุกชนิด มีความทนทานต่อความแห้งแล้งและบริเวณฝนตกชุกได้ดี ให้ผลเร็วกว่าไม้ผลชนิดอื่นหลายชนิดและให้ผลผลิตสูง ในประเทศไทยปลูกกันมากในแถบอำเภอดำเนินสะดวก อำเภอสวนผึ้ง อำเภอจอมบึง จังหวัดราชบุรี และอำเภอเมือง จังหวัดสมุทรสงคราม ผลผลิตที่ได้นอกจากบริโภคภายในประเทศแล้ว ยังมีการส่งไปจำหน่ายในต่างประเทศ คือ มาเลเซีย อาหรับอิมิเรตส์ และประเทศในแถบยุโรป (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2545) ปัจจุบันพุทราพันธุ์บอมแอปเปิ้ล หรือจัมโบ้ เป็นพันธุ์ที่ผลมีขนาดใหญ่ น้ำหนักมากกว่า 100 กรัมขึ้นไป มีเนื้อมาก และกรอบ ผลแก่จัดมีสีเหลือง เป็นพันธุ์ที่ได้รับความนิยมมากชนิดหนึ่งในปัจจุบัน

การเสื่อมคุณภาพของผลพุทราเป็นไปอย่างรวดเร็ว (ประมาณ 2 – 5 วัน) หลังจากเก็บเกี่ยว โดยลักษณะที่ปรากฏได้แก่ การเหี่ยวนิ่ม สีผลเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและผลเน่าจากการเข้าทำลายของเชื้อจุลินทรีย์ พุทราเป็นผลไม้ที่ชอกช้ำและเกิดบาดแผลได้ง่าย เนื้อเยื่อบริเวณเซลล์ผิวชั้นนอกสุดของผลไม้คือ Epidermis เป็นเซลล์ที่มีการติดต่อกับสิ่งแวดล้อมภายนอก บนผนังเซลล์ด้านนอกจะมีสารพวกคิวติน (cutin) ซึ่งเป็นสารคล้ายขี้ผึ้งฉาบอยู่เพื่อป้องกันการระเหยของน้ำ เรียกว่าคิวติเคิล (cuticle) (เทียมใจ คมกฤส, 2541) แต่เซลล์ Epidermis และ cuticle ของพุทราค่อนข้างบาง เมื่อเทียบกับผลไม้ชนิดอื่น การใช้อุณหภูมิต่ำเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพวิธีการหนึ่งในการชะลอการเน่าเสียและยืดอายุการเก็บรักษาผลไม้ (จริงแท้, 2538) นอกจากอุณหภูมิต่ำแล้ว การเก็บรักษาในสภาพที่มีความชื้นสัมพัทธ์สูงจะทำให้เชื้อราชนิดต่างๆ ที่มีอยู่บนผิวผลไม้เจริญเติบโตได้ดีส่งผลให้ผลไม้เน่าเสียได้ง่าย แต่หากเก็บในสภาพที่มีความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ ผลไม้จะเกิดการสูญเสียน้ำซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญอย่างหนึ่งที่ทำให้ผู้บริโภคไม่ยอมรับเนื่องจากผลจะเหี่ยวนิ่มและทำให้มีการสูญเสียน้ำหนักมากขึ้นตามไปด้วย พุทราเป็นผลไม้ในเขตร้อน ซึ่งถ้าอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่ำกว่าอุณหภูมิในการเก็บที่เหมาะสม แต่สูงกว่าจุดเยือกแข็งสามารถทำให้ผลไม้เกิดความเสียหาย หรือเกิดอาการผิดปรกติทางสรีระวิทยา หรือที่เรียกว่า อาการสะท้านหนาว (Chilling injury, CI) ซึ่งการเกิดอาการสะท้านหนาวเป็นปัญหาหลังการเก็บเกี่ยวที่สำคัญมากต่อการเสื่อมคุณภาพของผลไม้เขตร้อน และเขตกึ่งร้อน อาการผิดปกติจากอาการสะท้านหนาว ได้แก่ การเกิดรอยแผลสีน้ำตาล หรือ ดำ (discoloration) รอยบุ๋ม (pitting) เนื่องจากเซลล์บริเวณนั้นตายไป เนื้อเยื่อถูกทำลาย (breakdown of tissue) เนื้อเยื่อฉ่ำน้ำ

สาเหตุของการเกิดอาการสะท้านหนาว สันนิษฐานว่าเนื่องจากองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์หรือเยื่อหุ้มออร์แกเนลล์บางส่วนเกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพขึ้นเมื่ออุณหภูมิลดต่ำลงคือ fatty acid side chain ของ phospholipids ในเยื่อหุ้มเหล่านี้แตกต่างกัน ซึ่งพวกที่เกิดอาการสะท้านหนาวได้ง่ายจะเป็นพวกที่มีกรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acid) เป็นองค์ประกอบของ phospholipids ของเยื่อหุ้มต่าง ๆ และจะเปลี่ยนสภาพทางกายภาพจากลักษณะที่อ่อนตัว (liquid crytaline) มาเป็นลักษณะแข็ง (solid gel) ทำให้การทำงานของเยื่อหุ้มนั้นผิดปกติ ส่งผลให้เกิดความไม่สมดุลของกระบวนการทางสรีระวิทยาภายในเซลล์ขึ้น การควบคุมการผ่านเข้าออกของสารต่างๆ จะเสื่อมลง ทำให้ substrate ต่าง ๆ มีโอกาสสัมผัสกับเอนไซม์ได้โดยขาดการควบคุม ส่งผลให้เซลล์ขาดสมดุลและตายในที่สุด ส่วนในผลิตผลที่ทนต่ออุณหภูมิต่ำจะมีกรดไขมันประเภทไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) เป็นส่วนใหญ่ เมื่ออุณหภูมิต่ำลงก็ยังคงรักษาสถานะที่อ่อนตัวอยู่ได้ (จริงแท้, 2538) นอกจากนี้อาการสะท้านหนาวยังเกิดจากขบวนการออกซิเดชัน (oxidative damage) อีกด้วย

การเกิดออกซิเดชัน (oxidation damage) เป็นการตอบสนองอีกอย่างหนึ่งของพืชเมื่อเกิดอาการสะท้านหนาว (Horiyadi และคณะ, 1991) โดยเกิดจากออกซิเจนในรูปแอคทีฟ (active form of oxygen) ได้แก่ superoxide radical (O_2^-) hydrogen peroxide (H_2O_2) hydroxyl radical (OH) ซึ่งเกิดจากการปลดปล่อยระหว่างที่เซลล์เกิดกระบวนการเมแทบอลิซึม และพบว่ามีการสะสมในระดับที่สูงเมื่อเกิดความเครียด (Bowler และคณะ, 1992) superoxide radical จะมีการเพิ่มขึ้นโดยมีความสัมพันธ์กับการเกิดอาการสะท้านหนาว โดยออกซิเจนที่อยู่ในรูปแอคทีฟเหล่านี้สามารถทำให้เกิดการออกซิเดชันทำลายพันธะคู่ของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์ในเยื่อหุ้มเซลล์ (Wang, 1995)

ระบบการป้องกันอันตรายโดยการเกิดออกซิเดชัน โดยปกติพืชจะมีระบบป้องกันการทำงานโดยการเกิดออกซิเดชันดังกล่าว โดยการทำงานร่วมกันของระบบเอนไซม์ได้แก่ Superoxide dismutase (SOD) จะทำงานร่วมกับเอนไซม์ catalase โดยเอนไซม์ SOD ทำการเปลี่ยนรูป superoxide radical เป็น hydrogen peroxide จากนั้นเอนไซม์ catalase จะทำการเปลี่ยน hydrogen peroxide ไปเป็นโมเลกุลของน้ำ และออกซิเจน ในขณะที่เอนไซม์ peroxidase มีกลไกแตกต่างจากเอนไซม์ catalase โดยจะปลดปล่อย free radical แทน ออกซิเจน (Burris, 1960)

$2O_2^-$ (superoxide) + 2H+ SOD $\longrightarrow$ H_2O_2 (hydrogen peroxide) + O_2

$2H_2O_2$ $\xrightarrow{\text{catalase}}$ $2H_2O + O_2$

$2H_2O_2RH_2$ peroxidase $2H_2O$ + R (free radical)

สาร Methyl jasmonate เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตมีบทบาทสำคัญในการเจริญเติบโตของพืช และการพัฒนาของผล การสุก และการตอบสนองต่อสภาวะความเครียด (Creelman และ Mullet, 1997) มีรายงานการใช้สาร Methyl jasmonate ในการลดการเกิดโรค และอาการสะท้านหนาวในพืชหลายชนิด รวมทั้ง มะเขือเทศ ฝรั่ง และลูกพีช (Ding และคณะ, 2002; Feng และคณะ, 2003;González-Aguilar และคณะ,2004) จากการศึกษาของ Jin และคณะ (2009) พบว่าการรม Methyl jasmonate ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลต่อลิตร ที่ 38 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมงในผลพีชมีคุณภาพสูง และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดอาการสะท้านหนาวต่ำ นอกจากนี้ Cao และคณะ (2007) ทำการทดลองด้วยการรม Methyl jasmonate ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลต่อลิตร สามารถลดอาการสะท้านหนาวในผล loquat ได้

ส่วนสาร Salicylic acid (SA) สามารถลดความรุนแรงในการเกิดอาการสะท้านหนาว โดยเพิ่มความทนทานให้พืช และผลิตผลด้วยการช่วยลดการสูญเสียน้ำ ปรับปรุงองค์ประกอบของเมมเบรนลิปิด และเพิ่มกิจกรรมของแอนติออกซิแดนซ์ โดยสาร Salicylic acid เป็นกลุ่มหนึ่งของสารประกอบ Phenolic ที่นิยมใช้ในพืชและมีบทบาทสำคัญในการควบคุมการเจริญเติบโตและการพัฒนาของพืช มีการนำสาร Salicylic acid มาใช้เพิ่มความต้านทานอาการสะท้านหนาวในข้าวโพด(Janda และคณะ, 1999) มะเขือเทศ (Ding และคณะ, 2002) และกล้วย (Kang และคณะ, 2003) นอกจากนี้ สาร Salicylic acid ยังมีบทบาทในการยับยั้งเอนไซม์ catalase และมีความสัมพันธ์กับกระบวนการสังเคราะห์และการทำงานของเอทิลีน โดยพบว่ามีการใช้สาร Salicylic acid ในการชะลอการสุกของกล้วย และกีวี โดยไปยับยั้งการทำงานของเอทิลีน (Srivartava และ Dwivedi, 2000; Zhang และคณะ, 2003) จากการศึกษาของ Xu และคณะ (2000) พบว่า Salicylic acid มีผลในการลดกิจกรรมของเอนไซม์ Lipoxygenase (LOX) ในชิ้นเนื้อของกีวีฟรุ้ต ซึ่งมีผลทำให้ปริมาณของ free radical และการผลิตเอทิลีนลดลง และจากการศึกษาในข้าวโพด โดยการใช้ Salicylic มีผลทำให้ลดอัตราการสังเคราะห์แสงภายใต้สภาพแวดล้อมปกติ ส่งผลต่อการกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวกับการกำจัดอนุมูลอิสระ (antioxidant enzyme,

peroxidase) ส่งผลให้ข้าวโพดมีความต้านทานต่ออุณหภูมิต่ำ 2 องศาเซลเซียส ได้เพิ่มมากขึ้น (Janda และคณะ, 1999) รวมทั้งมีบทบาทควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวของพืช โดยมีผลทำให้มีปริมาณของ H_2O_2เพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจาก H_2O_2 จัดเป็นปฏิกิริยาตอบสนองอื่น ๆ ที่ต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา (Lamb และDixon, 1997)

ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นไปที่การใช้สาร Methyl jasmonate และ Salicylic acid เพื่อลดอาการสะท้านหนาวของผลพุทราในช่วงการขนส่ง และการเก็บรักษา ซึ่งช่วยส่งเสริมให้เกษตรกรไทยมีศักยภาพในการส่งไปจำหน่ายยังตลาดที่อยู่ห่างไกลรวมไปถึงส่งออกไปยังต่างประเทศได้