

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการวิจัย

การทดลองที่ 1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแอนโทไซยานิน สารประกอบฟีนอลิกและแอกทิวิตีของฟีนอละลาโนน แอมโมเนีย-ไลเอส (PAL) ในเปลือกผลระหว่างการเจริญของผล

1. การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ

ในระหว่างการเจริญของผล ผลมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นตามอายุที่เพิ่มขึ้นโดยเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในระยะกลางของการเจริญของผล (28–63 วันหลังจากดอกบาน) หลังจากนั้นในระยะปลายของการเจริญน้ำหนักผลมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยหรือเกือบคงที่ตลอดระยะเวลาจนกระทั่งผลเจริญเต็มที่ การเจริญของผลมะม่วงพันธุ์นี้เป็นแบบ single sigmoid ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 ระยะของการเจริญเติบโต โดยในระยะแรกเป็นช่วงที่ผลมีการแบ่งเซลล์สูงแต่มีการขยายขนาดไม่มากนักจึงมีการเติบโตอย่างช้า ๆ ส่วนในระยะที่ 2 เป็นช่วงที่มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วโดยมีการขยายขนาดอย่างรวดเร็ว และในระยะที่ 3 เป็นช่วงที่มีการเจริญเติบโตคงที่ ซึ่งมีการขยายขนาดของเซลล์เพิ่มขึ้นน้อยมากแต่มีการสังเคราะห์และสะสมสารประกอบต่าง ๆ เพิ่มขึ้น โดยแบบแผนการเจริญเติบโตของมะม่วงพันธุ์นี้มีลักษณะคล้ายกับในผลมะม่วงพันธุ์ไทยหลายสายพันธุ์ เช่น มะม่วงพันธุ์หนังกลางวัน พันธุ์ทองดำ และพันธุ์โชคอนันต์ (วุฒิกุล, 2530; สายชล และคณะ, 2534; นิพนธ์, 2534) รวมทั้งยังมีแบบแผนการเจริญเติบโตคล้ายกับมะม่วงพันธุ์ต่างประเทศบางสายพันธุ์ เช่น พันธุ์ Alphonso และพันธุ์ Carabao (Lakshminarayana *et al.*, 1970; Mendoza, 1984) อย่างไรก็ตามการเจริญเติบโตของผลยังขึ้นกับสภาพแวดล้อมอื่น ๆ เช่น แสง อุณหภูมิ ปริมาณน้ำ ความชื้นสัมพัทธ์ และการปฏิบัติดูแลต่อต้น เป็นต้น (Kays, 1991)

ในระหว่างการเจริญของผล ผลมะม่วงพันธุ์นี้มีการเกิดสีแดงของเปลือกผล 2 ครั้ง ในครั้งแรกเมื่อผลยังอ่อน (ผลมีอายุได้ประมาณ 35–42 วันหลังจากดอกบาน) หลังจากนั้นการเกิดสีแดงของเปลือกผลลดต่ำลงและเพิ่มขึ้นอีกครั้งเมื่อผลเข้าสู่ระยะการแก่ (อายุ 70 วันหลังจากดอกบานเป็นต้นไปจนกระทั่งผลเจริญเต็มที่) ซึ่งการเกิดสีแดงที่เปลือกผลเป็นผลมาจากการสะสมรงควัตถุแอนโทไซยานิน โดยในการเกิดสีแดงครั้งแรกเกิดขึ้นหลังการติดผลไม่นานซึ่งในช่วงนี้จะมีการแบ่งเซลล์ภายในผลสูง รวมทั้งมีการขยายขนาดของเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว สาเหตุยังไม่ทราบแน่

ชัดแต่สันนิษฐานว่าในระยะนี้ผลชนิดนี้อาจมีความอ่อนแอเนื่องจากแบ่งเซลล์และเซลล์ที่เกิดขึ้นใหม่ยังไม่แข็งแรง จึงมีการสร้างรงควัตถุชนิดนี้ขึ้นมาสะสมและปกคลุมเพื่อป้องกันอันตรายให้เนื้อเยื่อของเปลือกผล ส่วนการเพิ่มขึ้นของสีแดงที่เปลือกผลในครั้งที่ 2 ซึ่งเกิดขึ้นในช่วงที่ผลเข้าสู่ระยะการแก่หรือเสื่อมสภาพนั้นในช่วงนี้ไม่มีการขยายขนาดของเซลล์เพิ่มขึ้นอีกแต่จะเริ่มมีการเสื่อมสภาพหรือการอ่อนนุ่มของเนื้อผลซึ่งถูกทำลายได้ง่าย ดังนั้นจึงสันนิษฐานว่าการเกิดสีแดงสูงในระยะนี้เพื่อป้องกันอันตรายจากรังสีอุลตราไวโอเลตของดวงอาทิตย์เมื่อผลเริ่มเข้าสู่การเสื่อมสภาพซึ่งการเกิดสีแดงนี้มักสัมพันธ์กับปริมาณแสงอาทิตย์ที่ได้รับด้วย (Palmer, 1995)

การเกิดสีเหลืองของเปลือกผลเกิดขึ้นในระยะปลายของการเจริญของผล (ผลมีอายุ 98 วัน) หลังจากดอกบานเป็นต้นไปจนกระทั่งเจริญเต็มที่) ซึ่งในระยะนี้ผลได้เข้าสู่ระยะการแก่และเสื่อมสภาพ โดยในระยะนี้มีการสร้างและสะสมรงควัตถุแคโรทีนอยด์เพิ่มสูงขึ้นเรื่อย ๆ และมีการหายไปของสีเขียวของคลอโรฟิลล์ซึ่งเกิดขึ้นจากการทำลายคลอโรฟิลล์โดยการทำงานของเอนไซม์คลอโรฟิลล์เลส สภาพแสง และสภาพกรด-ด่างที่ไม่เหมาะสม (จริงแท้, 2538)

2. การเปลี่ยนแปลงปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด

ในระหว่างการเจริญของผล ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดมีการเพิ่มขึ้น 2 ครั้ง โดยครั้งแรกในระยะกลางของการเจริญของผล (42 วันหลังจากดอกบาน) ซึ่งปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดเพิ่มสูงขึ้นแต่ไม่สูงนัก หลังจากนั้นปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดค่อย ๆ เพิ่มขึ้นอีกครั้งในช่วงปลายของการเจริญเติบโตเป็นต้นไปจนกระทั่งระยะเสื่อมสภาพซึ่งสอดคล้องกับการเกิดสีแดงที่เปลือกผลดังกล่าวข้างต้น โดยทั่วไปปริมาณแอนโทไซยานินในเปลือกผลมีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลาในระหว่างการเจริญของผล โดยมีปัจจัยที่ควบคุมทั้งภายในผล เช่น อายุของผล ยีน และฮอร์โมนภายในพืช เป็นต้น และปัจจัยภายนอกผล เช่น แสง อุณหภูมิ และสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช เป็นต้น (Saure, 1990) ในการทดลองนี้แอนโทไซยานินมีปริมาณเพิ่มขึ้น 2 ครั้ง โดยการเพิ่มขึ้นในครั้งแรกเกิดขึ้นหลังการติดผลซึ่งในช่วงนี้จะมีการแบ่งเซลล์ภายในผลสูง รวมทั้งมีการขยายขนาดของเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยการเพิ่มขึ้นของสารประกอบแอนโทไซยานินในระยะนี้เกิดขึ้นเนื่องจากเซลล์มีการแบ่งตัวสูงซึ่งผลอาจอ่อนแอต่อสภาพแวดล้อมภายนอก ดังนั้นเซลล์จึงสร้างสารประกอบแอนโทไซยานินแล้วเก็บไว้ที่แวคิวโอลเพื่อป้องกันอันตรายอันเนื่องมาจากสภาพแวดล้อมภายนอก ส่วนปริมาณแอนโทไซยานินที่เพิ่มสูงขึ้นในครั้งที่ 2 นั้น เกิดจากการสะสมตั้งแต่ช่วงกลางของการเจริญของผลและเพิ่มสูงขึ้นในช่วงที่ผลเข้าสู่ระยะการแก่หรือเสื่อมสภาพซึ่งในช่วงนี้เซลล์ไม่มีการขยายขนาดของเซลล์เพิ่มขึ้นอีก สันนิษฐานว่าเป็นการสะสมเพื่อนำไปใช้ในการสร้างสี กลิ่น และสารประกอบอื่น ๆ เช่น ลิกลิน

แทนนินในกระบวนการสุกแก่ รวมทั้งสันนิษฐานว่าเพื่อการป้องกันอันตรายจากรังสีอัลตราไวโอเลตของดวงอาทิตย์เมื่อผลเริ่มเข้าสู่การเสื่อมสภาพ (Palmer, 1995; Blee *et al.*, 2003)

3. การเปลี่ยนแปลงสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ในระหว่างการเจริญของผล สารประกอบฟีนอลิกในเปลือกผลมีการเพิ่มสูงขึ้น 2 ครั้ง เช่นเดียวกันกับสารประกอบแอนโทไซยานินทั้งหมด คือในระยะต้น ๆ และระยะปลายของการเจริญของผล โดยการเพิ่มขึ้นในครั้งแรกเกิดขึ้นหลังการติดผลซึ่งในระยะนี้มีการแบ่งเซลล์ภายในผลสูงมาก รวมทั้งมีการขยายขนาดของเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งต้องใช้สารประกอบฟีนอลิกอันเป็นสารประกอบพื้นฐานที่สำคัญของโครงสร้างของเซลล์ในการเจริญเติบโต (Saure, 1990) ส่วนสารประกอบฟีนอลิกที่เพิ่มสูงขึ้นในครั้งที่ 2 ในช่วงที่ผลเข้าสู่ระยะการแก่หรือเสื่อมสภาพ ซึ่งในช่วงนี้เซลล์ไม่มีการขยายขนาดของเซลล์เพิ่มขึ้นอีกและผลเริ่มเข้าสู่การเสื่อมสภาพในช่วงนี้ผลจะมีอัตราการหายใจที่สูง มีการอ่อนนุ่มของเนื้อและเปลือกผล และมีการสลายตัวของแป้งทำให้มีปริมาณน้ำตาลในผลสูง ซึ่งทำให้ง่ายต่อการเข้าทำลายของโรคและแมลง ดังนั้นจึงสันนิษฐานว่าผลมีการสร้างสารประกอบฟีนอลิกขึ้นมาเพื่อป้องกันอันตรายจากโรคและแมลงบางอย่าง (Ju, *et al.*, 1995 b; Palmer, 1995)

4. การเปลี่ยนแปลงแอกทิวิตีของฟีนอละลาโนน แอมโมเนีย-ไลเอส (PAL)

ในระหว่างการเจริญของผล แอกทิวิตีของเอนไซม์ PAL ค่อย ๆ มีการเพิ่มสูงขึ้นตามอายุผลที่เพิ่มขึ้น โดยทั่วไปการเปลี่ยนแปลงแอกทิวิตีของเอนไซม์ PAL ในระหว่างการเจริญของผลมีปัจจัยที่ควบคุมทั้งภายในผล เช่น อายุของผล ยีน และฮอโมน เป็นต้น และปัจจัยภายนอกผล เช่น แสง อุณหภูมิ และสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช เป็นต้น (Saure, 1990) แอกทิวิตีของเอนไซม์ PAL มักเพิ่มสูงขึ้นตามอายุของผลที่เพิ่มขึ้นจนกระทั่งผลเข้าสู่ระยะการแก่หรือเสื่อมสภาพ ทั้งนี้เนื่องมาจากเอนไซม์ตัวนี้เป็นเอนไซม์สำคัญตัวแรกในกระบวนการสังเคราะห์ฟลาโวนอยด์และฟีนิลโพรพานอยด์เพื่อเร่งปฏิกิริยาทำให้มีการสร้างสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์แทนนิน ลิกนิน และแอนโทไซยานิน เป็นต้น ซึ่งล้วนเป็นสารประกอบที่จำเป็นในระหว่างการเจริญของผลทั้งในระยะผลอ่อน ๆ และผลที่สุกแก่ โดยปริมาณของสารประกอบเหล่านี้อาจแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดและอายุของผล (Ju *et al.*, 1995 b) ในการทดลองนี้พบว่าแอกทิวิตีของเอนไซม์ PAL เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ตามอายุผลเช่นกัน สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงแอกทิวิตีของเอนไซม์ PAL ในผลแอปเปิ้ลพันธุ์ Starking Delicious และ Golden Delicious ที่เพิ่มสูงในระยะการติดผลและเมื่อผลเข้าสู่ระยะการแก่หรือเสื่อมสภาพ (Kobo *et al.*, 1988) นอกจากนี้ยังมีรายงานพบว่าการ

เพิ่มขึ้นของระดับเอนไซม์ PAL ในผลแอปเปิ้ลพันธุ์ Starkrimson Delicious ซึ่งสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของปริมาณการผลิตเอทิลีนในระหว่างที่ผลเข้าสู่ระยะการแก่หรือเสื่อมสภาพซึ่งในระยะนี้เปลือกผลมีการเปลี่ยนสีอย่างเด่นชัด (Bankenship and Unrath, 1988)

5. การเปลี่ยนแปลงอัตราการผลิตเอทิลีนของผล

ในระหว่างการเจริญของผล อัตราการผลิตเอทิลีนของผลในระยะแรกมีในปริมาณที่สูง หลังจากนั้นลดต่ำลงอย่างรวดเร็วและมีอัตราการผลิตเอทิลีนที่คงที่และต่ำมากตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง ซึ่งโดยทั่วไปในผลไม้บางชนิดในขณะที่ผลยังอ่อนมักมีอัตราการผลิตเอทิลีนในปริมาณที่สูงแต่เมื่อเข้าสู่ระยะที่ผลแก่เต็มที่จะมีอัตราการผลิตเอทิลีนในปริมาณที่ต่ำ (Wills *et al.*, 1998) ซึ่งสอดคล้องกับอัตราการผลิตเอทิลีนในผลมะม่วงพันธุ์ Alphonso ที่มีในปริมาณที่สูงมากในระหว่างการติดผล ภายหลังจากเมื่อผลเจริญเติบโตขึ้นอัตราการผลิตเอทิลีนมีการลดลงอย่างรวดเร็วจนกระทั่งผลแก่ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในระหว่างที่มีการผสมเกสรทำให้เกิดบาดแผลขึ้นและทำให้มีออกซินในปริมาณที่สูงซึ่งเร่งให้มีการผลิตเอทิลีนขึ้นมา โดยการเร่งให้มีการสังเคราะห์เอนไซม์ ACC synthase ในขั้นตอนการเปลี่ยน SAM ไปเป็น ACC ทำให้มีการสร้างเอทิลีนเพิ่มมากขึ้นมีผลทำให้มีอัตราการหายใจในปริมาณที่สูงขึ้นเพื่อการแบ่งเซลล์ และเมื่อการแบ่งเซลล์หยุดลงการผลิตเอทิลีนจึงลดลง (Mendoza, 1984) เช่นเดียวกับที่พบในผลแอปเปิ้ลพันธุ์ Red apple (Ernest and Theodore, 1973) นอกจากนี้มีบางรายงานพบว่าเอทิลีนที่เกิดขึ้นภายในผลสามารถส่งเสริมการทำงานของเอนไซม์ PAL การสะสมแอนโทไซยานิน รวมทั้งเร่งการเกิดสีแดงในเปลือกผลไม้บางชนิดในระหว่างการเจริญของผลได้ (Saure, 1990)

อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่ามะม่วงจะจัดเป็นผลไม้ประเภท climacteric อัตราการผลิตเอทิลีนที่วัดได้เป็นของผลที่อยู่บนต้นที่ยังอยู่ในระหว่างการเจริญเติบโตและยังไม่ได้เข้าสู่กระบวนการสุกที่สมบูรณ์ ดังนั้นอัตราการผลิตเอทิลีนจึงยังมีไม่มากนัก เช่นเดียวกันกับที่พบในผลมะม่วงพันธุ์ Golek (Lakshminarayana, 1973) และพันธุ์ Alphonso (Mendoza, 1984) แต่ก็มีรายงานว่าในบางพืชการเพิ่มขึ้นของระดับเอนไซม์ PAL สัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของการผลิตเอทิลีน ซึ่งการเพิ่มขึ้นของแอกทิวิตีของเอนไซม์ PAL และปริมาณเอทิลีนมักเกิดขึ้นในระหว่างที่ผลเข้าสู่ระยะการแก่หรือเสื่อมสภาพ โดยในระยะนี้เปลือกผลจะเริ่มเปลี่ยนสีอย่างเด่นชัด เช่นในผลแอปเปิ้ลพันธุ์ Starkrimson Delicious (Bankenship and Unrath, 1988) และพบว่าเอทิลีนสามารถส่งเสริมการทำงานของเอนไซม์ PAL ในเซลล์แขวนลอยของรากแครอทได้ (Chalutz, 1973) ในขณะที่ในพืชบางชนิดการเพิ่มขึ้นของเอทิลีนไม่มีผลเกี่ยวข้องกับการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ PAL เลย (Bankenship and Unrath, 1988)

การทดลองที่ 2 ผลของแสงต่อปริมาณแอนโทไซยานินและแอกทิวิตีของฟีนอละลาโนน แอมโมเนีย-ไลเอส (PAL) ในเปลือกผลระหว่างการเจริญของผล

การทดลองที่ 2.1 ผลของแสงต่อปริมาณแอนโทไซยานินและแอกทิวิตีของฟีนอละลาโนน แอมโมเนีย-ไลเอส (PAL) ในเปลือกผลระหว่างการเจริญของผล ในสภาพ *in vivo*

1. การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ

ในระหว่างการเจริญของผล ผลมีน้ำหนักผลเพิ่มสูงขึ้นตามอายุของผลที่เพิ่มขึ้นและเริ่มคงที่ในระยะปลายของการเจริญในทั้ง 3 สภาพแสงที่ได้รับ อย่างไรก็ตามผลที่อยู่ในสภาพที่ได้รับแสงคือ แสงอาทิตย์ และแสงอาทิตย์ร่วมกับแผ่นสะท้อนแสงมีน้ำหนักผลสูงกว่าผลที่ไม่ได้รับแสง ทั้งนี้เพราะแสงมีผลโดยตรงกับการสังเคราะห์แสงเพื่อการผลิตอาหารภายในต้นและภายในผลเพื่อการเจริญเติบโต ดังนั้นเมื่อต้นหรือผลที่ได้รับแสงไม่เพียงพอที่จะส่งผลให้มียีนน้ำหนักผลต่ำกว่าปกติหรือชะลอหรือยับยั้งการเจริญเติบโต (Singh *et al.*, 1999; Kasperbauer, 1987) เช่นเดียวกับมะม่วงพันธุ์ Kensington ที่พบว่าแสงมีบทบาทสำคัญต่อน้ำหนักและการแก่ของผล โดยผลที่อยู่ส่วนบนของต้นซึ่งได้รับแสงมากกว่าส่วนล่างของต้นมีน้ำหนักผลสูงและแก่เร็วกว่าผลที่อยู่ส่วนล่างของลำต้น รวมทั้งการขาดน้ำของผลมีผลต่อน้ำหนักและขนาดผลอีกด้วย (McLauchlan, 1998)

ในระหว่างการเจริญของผลภายใต้การได้รับสภาพแสง 3 กรรมวิธี พบว่ามีการเกิดสีแดงของเปลือกผลในผลที่ได้รับแสงอาทิตย์เท่านั้น โดยผลที่ได้รับแสงอาทิตย์เพิ่มจากแผ่นสะท้อนแสงมีเปอร์เซ็นต์การเกิดพื้นที่สีแดงสูงกว่าผลที่ได้รับแสงอาทิตย์ในสภาพปกติ ในขณะที่ผลที่ไม่ได้รับแสงอาทิตย์ไม่มีการเกิดสีแดงที่เปลือกผลเกิดขึ้นเลยตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง ทั้งนี้เนื่องจากแสงจากดวงอาทิตย์มีรังสีต่าง ๆ ได้แก่ แสงอุลตราไวโอเลต (UV-A : 315–400 nm; UV-B : 280–315 nm; UV-C : 100–280 nm) แสงสีขาว (white light : 380–780 nm) และแสงอินฟราเรด (700–2,400 nm) (กรมอุตุนิยมหาวิทยาลัย, 2548) ที่มีผลกระตุ้นการสร้างและสะสมแอนโทไซยานิน รวมทั้งกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ต่าง ๆ ที่อยู่ในกระบวนการสร้างแอนโทไซยานิน ทั้งนี้อาจแตกต่างกันไปตามชนิด และพันธุ์พืช (Palmer, 1995) นอกจากนี้แสงยังมีผลต่อการควบคุมการแสดงออกของยีนที่สร้างเอนไซม์ที่อยู่ในกระบวนการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน ซึ่งเมื่อได้รับแสงที่เหมาะสมทำให้สามารถชักนำให้มีการสร้างและการสะสม rRNA และ mRNA ของเอนไซม์ที่อยู่ในกระบวนการสังเคราะห์แอนโทไซยานินได้ (Tobin and Silverthorne, 1985) เช่นในผลแอปเปิ้ลที่มีเปลือกสีแดงหลายสายพันธุ์ที่ผลไม่ได้รับแสง

ตลอดเวลาไม่มีการเกิดสีแดงที่เปลือกผลเกิดขึ้นเลย แต่จะเกิดขึ้นภายหลังจากที่ให้ผลนั้นได้รับแสงเป็นเวลาอย่างน้อย 12 ชั่วโมง (Endt *et al.*, 2002) และผลแอปเปิ้ลพันธุ์ Fuji ที่ไม่ได้รับแสงตลอดเวลาไม่มีการเกิดสีแดงที่เปลือกผลเกิดขึ้นเลยเช่นกัน (Siegelman and Hendricks, 1958) ส่วนในผลมะม่วงพันธุ์เคนท์ที่ได้รับแสงเพิ่มขึ้นโดยการใช้แผ่นสะท้อนแสงสามารถทำให้มีพื้นที่สีแดงที่เปลือกผลเพิ่มสูงกว่าการได้รับแสงอาทิตย์อย่างเดียวหรือไม่ได้รับแสงเลย (ศิสร, 2541) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของวารุณี (2543) ที่ให้ผลเช่นเดียวกันในมะม่วงพันธุ์เคนท์ โดยการกระตุ้นให้เกิดการสร้างสีแดงเพิ่มสูงขึ้นกว่าปกตินี้สันนิษฐานว่าผลของพืชอาจได้รับแสงในปริมาณที่มากกว่าปกติอาจทำอันตรายต่อพืชได้เช่นกัน โดยอาจทำให้เกิดการเสียหายของไทลาคอยด์ (thylakoid) ในคลอโรพลาสต์ส่งผลให้เกิดการสลายของคลอโรฟิลล์และเกิดความผิดปกติขึ้นกับการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ในกลไกของวัฏจักรคัลวิน ซึ่งแม้แต่พืชที่ชอบขึ้นในที่โล่งแจ้งหรือต้องการแสงในปริมาณที่มากก็ยังสามารถทนต่อแสงที่มากเกินไปได้เช่นกันจึงมีการสร้างสารประกอบแอนโทไซยานินขึ้นมาสะสมบริเวณผิวผลเพื่อป้องกันอันตราย (Tobin and Silverthorne, 1985) รวมทั้งรังสีอัลตราไวโอเลตในแสงอาทิตย์สามารถทำให้เกิดความเสียหายต่อเยื่อหุ้มเซลล์ เยื่อหุ้มออร์แกเนลล์ต่าง ๆ และโปรตีนพลาสมาได้ รวมทั้งทำให้เกิดความผิดปกติกับโมเลกุลของโปรตีน และกรดนิวคลีอิกภายในเซลล์ได้อีกด้วย พืชอาจมีการปรับตัวเพื่อลดภาวะเครียดที่เกิดจากแสงที่มากเกินไปได้หลายวิธี เช่นสังเคราะห์รงควัตถุแอนโทไซยานินเพิ่มมากขึ้นเพื่อช่วยกรองแสงที่จะเข้าไปสู่เซลล์ในชั้นมีโซฟิลล์ของใบหรือผลได้ในระดับหนึ่งซึ่งเป็นการลดอันตรายที่อาจเกิดกับเซลล์ได้ (Anterola and Lewis, 2002; Singh *et al.*, 1999)

ส่วนการเกิดสีเหลืองของเปลือกผลในระหว่างการเจริญของผลจากทั้ง 3 กรรมวิธีที่ได้รับแสง พบว่าทุกชุดการทดลองมีการเกิดสีเหลืองของเปลือกผลเกิดขึ้นหลังจากที่มีสีแดงของเปลือกผลเกิดขึ้นแล้ว เมื่อผลเข้าสู่ระยะการแก่เป็นต้นไปจนกระทั่งเสื่อมสภาพ ทั้งนี้เนื่องจากการสลายตัวของรงควัตถุคลอโรฟิลล์ทำให้มีการปรากฏตัวของสีเหลืองเกิดขึ้นมารวมทั้งมีการสังเคราะห์และสะสมเพิ่มขึ้น ทั้งนี้แสงไม่ได้มีผลเกี่ยวข้องในการสร้างรงควัตถุชนิดนี้ (จรัสแท้, 2538; ดนัย, 2539) รวมทั้งสารตัวกลางบางชนิดได้จากการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์มีผลลดการเข้าทำลายของโรคและแมลงบางชนิดได้ นอกจากนี้แคโรทีนอยด์ยังช่วยลดพลังงานส่วนเกินที่เกิดจากพลังงานแสงที่พืชได้รับมากเกินไปไม่ให้เป็นอันตรายกับเซลล์ด้วย (Anterola and Lewis, 2002)

2. การเปลี่ยนแปลงปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด

ในระหว่างการเจริญของผลแอนโทไซยานินมีปริมาณที่สูงเฉพาะในผลที่ได้รับแสงอาทิตย์ ทั้ง 2 กรรมวิธีเท่านั้น โดยผลที่ได้รับแสงอาทิตย์เพิ่มจากแผ่นสะท้อนแสงมีปริมาณแอนโทไซยานินสูงกว่าผลที่ได้รับแสงอาทิตย์ในสภาพปกติ ในขณะที่ผลที่ไม่ได้รับแสงอาทิตย์มีปริมาณแอนโทไซยานินที่ต่ำตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง แสดงให้เห็นว่าแสงเป็นปัจจัยที่สำคัญที่ควบคุมการสังเคราะห์แอนโทไซยานินในผลมะม่วงพันธุ์มหาชนกนี้ ซึ่งโดยทั่วไปแสงมีผลกระตุ้นการสร้างแอนโทไซยานินในพืชซึ่งอาจให้ผลแตกต่างกันไปตามชนิดของพืช รวมทั้งปัจจัยของแสงในเรื่องชนิด ความเข้ม และระยะเวลาที่ได้รับแสงด้วย (Saure, 1990; Palmer, 1995) ดังในรายงานในต้นกล้าหรือเซลล์แขวนลอยของแครอต *Centaurea cyanus* และ *Perilla frutescens* ที่พบว่าชนิดของแสง ความเข้มแสง และระยะเวลาที่ได้รับแสงต่าง ๆ ได้แก่ แสงสีแดง แสงเหนือแดง แสงอุลตราไวโอเลต และแสงสีน้ำเงินมีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินภายในพืชต่างกัน (Godoy-Hernandez and Lozoya-Gloria, 1999) ในเนื้อเยื่อใบของยาสูบและ *Arabidopsis* การฉายแสงอุลตราไวโอเลตหรือแสงสีน้ำเงินมีผลส่งเสริมทำให้มีปริมาณแอนโทไซยานินในปริมาณที่สูงขึ้น (Mancinelli, 1991) ขณะเดียวกันการที่ผลไม่ได้รับแสงก็ส่งผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินด้วย ดังในผลแอปเปิ้ลพันธุ์ Delicious ที่ถูกห่อผลตั้งแต่ผลมีอายุ 30 วันหลังจากดอกบานจนกระทั่งผลมีอายุ 62 วันหลังจากดอกบาน ในระยะนี้ไม่มีการสะสมแอนโทไซยานินเกิดขึ้นเลย แต่หลังจากที่ให้ผลได้รับแสงเพียง 1 วันปริมาณแอนโทไซยานินค่อย ๆ เพิ่มสูงขึ้นทันทีและเพิ่มขึ้นสูงสุดเมื่อเวลาผ่านไปแล้ว 6 วัน (Ju, 1998) ในผลลิ้นจี่พันธุ์ Tai So ผลที่อยู่ทางด้านทิศตะวันออกเฉียงเหนือของทรงพุ่มซึ่งเป็นทิศที่ได้รับแสงต่อวันในปริมาณมากมีการสังเคราะห์แอนโทไซยานินได้มากและมีการเกิดสีแดงมากกว่าผลที่อยู่ทางด้านทิศตะวันตกเฉียงเหนือของทรงพุ่มซึ่งได้รับแสงต่อวันในปริมาณที่น้อยกว่า รวมทั้งในกระบวนการสังเคราะห์ฟลาโวนอยด์ต้องการน้ำตาลที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสงเพื่อเกิดเป็น phosphoenolpyruvate และ erythrose-4-phosphate ที่เป็นแหล่งของคาร์บอนในวงแหวน B และเป็นแหล่งของกลุ่มอะซีเตทซึ่งอยู่ในวงแหวน A (Tay et al., 1998) ซึ่งในสภาพที่มีแสงจะเร่งให้เกิดการไฮโดรไลซ์โปรตีนและมีการใช้ phenylalanine ในการสร้างวงแหวน B แสงมีผลควบคุมขั้นตอนแรกในการเปลี่ยน phenylalanine ให้เกิดเป็นวงแหวน B ขั้นตอนนี้ต้องการเอนไซม์ PAL และแสงกระตุ้นแอคติวิตีของเอนไซม์นี้ในพืชหลายชนิด รวมทั้งเอนไซม์ชนิดอื่น ๆ ซึ่งเกี่ยวข้องกับฟลาโวนอยด์ก็ถูกกระตุ้นโดยแสง (กนกวรรณ, 2548; Mohr and Herrel, 1983; Tobin and Silverthorne, 1985) ในเปลือกผลแอปเปิ้ลพันธุ์ Fuji สภาพการได้รับแสงและไม่ได้รับแสงมีผลต่อการสะสมปริมาณแอนโทไซยานิน ซึ่งสภาพที่ไม่ได้รับแสงไม่มีการสังเคราะห์แอนโทไซยานินเกิดขึ้น แต่การ

สังเคราะห์แอนโทไซยานินเกิดขึ้นหลังจากที่ได้รับแสงอาทิตย์เป็นเวลา 1 วัน (Siegelman and Hendricks, 1958) ในเปลือกผลของบางสายพันธุ์การที่ผลไม่ได้รับแสงอาทิตย์ตลอดเวลาที่มีปริมาณแอนโทไซยานินที่ต่ำมากเมื่อเทียบกับชุดที่ได้รับแสงอาทิตย์ (Jeong *et al.*, 2004) ทั้งนี้แสงไม่ได้มีผลต่อการสังเคราะห์แอนโทไซยานินโดยตรง แต่แสงมีผลผ่านระบบไฟโตโครมและ photoreceptor ซึ่งส่งผลต่อการสังเคราะห์แอนโทไซยานินในทางอ้อม (Singh *et al.*, 1999) ดังนั้นการมีปริมาณแอนโทไซยานินเพิ่มสูงขึ้นโดยแสง อาจเป็นเพราะแสงมีผลกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาในกระบวนการสร้างแอนโทไซยานิน (Saure, 1990) ซึ่งจะได้กล่าวต่อไป รวมทั้งมีผลกระตุ้นการแสดงออกในระดับยีนของเอนไซม์เหล่านี้ (Yamamoto, 1990) อย่างไรก็ตามในพืชบางชนิดแสงอาจไม่ได้มีผลส่งเสริมต่อการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน ดังในเปลือกผลมังคุดที่ไม่ได้รับแสงโดยการห่อผลบนต้นตลอดเวลาพบว่าปริมาณแอนโทไซยานินไม่แตกต่างกับผลที่ได้รับแสงในสภาพปกติจนกระทั่งเก็บเกี่ยวผล (สุจิตรา, 2541)

3. การเปลี่ยนแปลงแอกทิวิตีของฟีนอละลานีน แอมโมเนีย-ไลเอส (PAL)

แอกทิวิตีของเอนไซม์ PAL ในเปลือกผลในระหว่างการเจริญของผลภายใต้ 3 สภาพแสงค่อย ๆ เพิ่มสูงขึ้นตามอายุผลที่เพิ่มขึ้น โดยสูงสุดช่วงปลายระยะการเจริญของผล PAL เป็นเอนไซม์ตัวแรกในกระบวนการสังเคราะห์สารประกอบฟีนิลโพรพานอยด์ เช่น ฟลาโวนอยด์ ลิกนิน และสารประกอบฟีนอลิกอื่น ๆ ซึ่งพบในพืชชั้นสูงทั่วไปและถูกกระตุ้นการทำงานโดยปัจจัยสำคัญ คือแสง (Camm and Towers, 1973; Jones, 1984) โดยผลที่ได้รับแสงอาทิตย์เพิ่มจากแผ่นสะท้อนแสงมีแอกทิวิตีสูงกว่าผลที่ได้รับแสงอาทิตย์ในสภาพปกติและผลที่ไม่ได้รับแสงอาทิตย์ ทั้งนี้สันนิษฐานว่าในสภาพที่มีแสง แสงช่วยกระตุ้นหรือส่งเสริมการทำงานของเอนไซม์ PAL และส่งเสริมการสร้างแอนโทไซยานินได้ดีกว่าในที่สภาพที่ไม่ได้รับแสง โดยสันนิษฐานว่าในระดับเอนไซม์แสงช่วยเปลี่ยนโครงรูปของเอนไซม์ PAL จากรูปที่ non-active เป็นรูปที่ active หรือรูปที่ active เป็น more active ยิ่งขึ้น ในระดับยีนสันนิษฐานว่าแสงมีผลส่งเสริมการแสดงออกของ *PAL gene* รวมทั้งยีนอื่น ๆ ในกระบวนการสร้างแอนโทไซยานิน โดยยีนเหล่านี้ที่มีแสงกระตุ้นการแสดงออกเพื่อการควบคุมการสร้างแอนโทไซยานิน ได้แก่ *CHS gene*, *F3H gene* และ *DFR gene* เป็นต้น (Palmer, 1995) ดังในการศึกษาในข้าวโพด ลิ้นมังกร (*Antirrhinum majus*) และพิทูเนีย (*Petunisa hybrida*) ซึ่งพบว่า *CHS gene* ในข้าวโพด ส่วน *F3H* และ *DFR gene* ในลิ้นมังกรและพิทูเนียเป็นยีนสำคัญที่ควบคุมการสร้างแอนโทไซยานินตามลำดับ โดยส่วนมากในกระบวนการสังเคราะห์แอนโทไซยานินมีขั้นตอนการสร้างเอนไซม์มากกว่า 2 ยีนขึ้นไป (Boss *et al.*, 1996; Godoy-Hernandez and Lozoya-Gloria, 1999) นั้น

แสดงให้เห็นว่าในกระบวนการสังเคราะห์แอนโทไซยานินมีเอนไซม์หลายตัวเข้ามาเกี่ยวข้องและร่วมเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการนี้ ในกระบวนการสังเคราะห์แอนโทไซยานินในเปลือกผลองุ่นพันธุ์ Shiraz นอกจากมี *PAL gene* แล้วยังมียีนอื่นที่มีผลต่อการสร้างเอนไซม์เพื่อเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน เช่น *CHI*, *CHS*, *F3H*, *DFR*, *LDOX* และ *UDPGulT gene* เป็นต้น ในขณะที่ไม่พบยีนเหล่านี้อยู่ในเนื้อผล (Boss *et al.*, 1996) โดยการแสดงของเอนไซม์ยีนที่สภาพยังไม่ได้รับแสงจะไม่สามารถถ่ายทอดข้อมูลบางอย่างได้ แต่ในสภาพมีแสงมีผลต่อไฟโตโครมซึ่งส่งผลทำให้มีการเพิ่มขึ้นของทั้งระดับการสร้างและการสะสม RNA ส่งผลทำให้มี rRNA และ mRNA ของเอนไซม์ที่อยู่ในกระบวนการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน เช่น *CHI*, *CHS*, *F3H*, *DFR*, *LDOX* และ *UDPGulT gene* ให้มีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นดังพบในพืชหลายชนิด (Tobin and Silverthorne, 1985) นอกจากนี้พบว่าเกิดการเกิดแอนโทไซยานินในส่วนใต้ใบเลี้ยงของมัสตาร์ดถูกควบคุมโดยไฟโตโครมและเกี่ยวข้องกับเอนไซม์ยีนหลายชนิดซึ่งจะไม่สามารถถ่ายทอดข้อมูลได้หากต้นอ่อนของมัสตาร์ดนั้นไม่ได้รับแสง ยิ่งไปกว่านั้นการถ่ายทอดข้อมูลของยีนยังเกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์เอนไซม์และการทำงานของเอนไซม์ ซึ่งจากการศึกษาพบว่าไฟโตโครมควบคุมการสังเคราะห์โปรตีนได้ทั้งในช่วง transcription และ translation หรืออาจควบคุมกิจกรรมของเอนไซม์ซึ่งปรากฏอยู่ในเซลล์แล้วก็ได้ ซึ่งใช้ในการสังเคราะห์แอนโทไซยานินในต้นอ่อนของมัสตาร์ด แสงสีแดงเท่านั้นกระตุ้นให้เอนไซม์หลายชนิดโดยเฉพาะ PAL ที่มีอยู่เดิมเกิดมีเอกทิวติเพิ่มขึ้นมากกว่าที่จะสังเคราะห์เอนไซม์ใหม่ ในขณะที่แสงเหนือแดงมีผลตรงข้าม (Tong and Schopfer, 1978) ในผลแอปเปิ้ลพันธุ์ Jonathan การได้รับแสงมีผลต่อเอกทิวติของเอนไซม์ PAL โดยเอกทิวติของเอนไซม์ PAL ในสภาพที่ได้รับแสงมีการเพิ่มขึ้นสูงสุด ในขณะที่สภาพการไม่ได้รับแสงไม่มีการเพิ่มขึ้นของเอกทิวติของเอนไซม์ PAL เลย (Wang *et al.*, 2000) นอกจากนี้สภาพการได้รับแสงมีผลต่อปริมาณ mRNA ของ *PAL gene* ในระหว่างการเจริญของผลองุ่นบางสายพันธุ์ด้วย ซึ่งสภาพที่ไม่ได้รับแสงไม่พบการแสดงออกของ *PAL gene* แต่เมื่อได้รับแสงอาทิตย์จึงเริ่มมีการแสดงออกของ *PAL gene* เกิดขึ้น (Jeong *et al.*, 2004) และในการแสดงออกของ *PAL gene* รวมทั้งยีนอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์รงควัตถุแอนโทไซยานินแต่ละช่วงอายุของผล หรือพืชแต่ละชนิดก็มีการแสดงออกที่ไม่เท่ากัน (Yu *et al.*, 2003) โดยในผลที่อ่อนและผลที่แก่เท่านั้นของแอปเปิ้ลพันธุ์ Delicious ที่มีปริมาณ mRNA ของ *PAL gene* เกิดขึ้นในระดับที่สูงกว่า (Ju *et al.*, 1995 b)

อย่างไรก็ตามการที่มีเอกทิวติของเอนไซม์ PAL สูงไม่ได้ส่งผลให้มีการสะสมแอนโทไซยานินสูงเสมอไป ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเหตุผลคือผลิตภัณฑ์ที่ได้จากเอนไซม์ PAL อาจถูกนำไปสร้างเป็นสารประกอบฟีนอลิกอื่น ๆ นอกจากแอนโทไซยานินก็ได้ หรืออาจเนื่องมาจากเอนไซม์สำคัญบาง

ตัวในขั้นตอนถัดไปของกระบวนการสร้างแอนโทไซยานินถูกจำกัด เช่น CHI, CHS หรือ *UFGluT* ไม่ทำงานหรือถูกยับยั้งโดยปัจจัยอื่น ๆ ก็ส่งผลต่อการสร้างแอนโทไซยานินลดลงได้เช่นกัน (Alokam *et al.*, 2002) ดังในการเกิดสีแดงของเปลือกผลแอปเปิ้ล 3 กลุ่มสายพันธุ์ คือ พันธุ์ Jonathan เป็นกลุ่มที่มีสีแดงมาก พันธุ์ Fuji เป็นกลุ่มที่มีสีแดงในระดับปานกลางและพันธุ์ Orin เป็นกลุ่มที่ไม่มีสีแดง แอปเปิ้ลทุกกลุ่มสายพันธุ์มีการแสดงออกของ *PAL*, *CHS*, *F3H*, *DFR*, *ANS* และ *UFGluT gene* ในปริมาณที่สูงเมื่อผลเข้าสู่ระยะการแก่ ในขณะที่แอปเปิ้ลพันธุ์ Orin ซึ่งเป็นกลุ่มที่ไม่มีสีแดงไม่มีการแสดงออกของ *UFGluT gene* เกิดขึ้นเลยทำให้ไม่มีการสะสมแอนโทไซยานินรวมทั้งไม่มีสีแดงเกิดขึ้น นั่นคือ *UFGluT gene* ถือว่าเป็นยีนที่มีผลควบคุมการสร้างแอนโทไซยานินมากกว่ายีนอื่น ๆ รวมทั้ง *PAL gene* (Honda *et al.*, 2002)

การทดลองที่ 2.2 ผลของแสงต่อปริมาณแอนโทไซยานินและเอกทิวติสของฟีนอละลาโนน แอมโมเนีย-ไลเอส (PAL) ในเปลือกผลระหว่างการเจริญของผล ในสภาพ *in vitro*

1. การเปลี่ยนแปลงสีเปลือก

จากการวัดการเปลี่ยนแปลงสีขึ้นเปลือกผลของผลอายุ 80, 90 และ 100 วัน ที่ทำการเก็บที่ อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน ภายใต้การได้รับสภาพแสงต่างกัน 3 กรรมวิธี พบว่าขึ้นเปลือกผลที่ไม่ได้รับแสงตลอดเวลา มีค่า L^* สูงที่สุด รองลงมาคือได้รับแสงอุตราไวโอเลต และแสงฟลูออเรสเซนต์ โดยค่า L^* value ทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มที่ลดต่ำลงตามเวลาที่เพิ่มขึ้น นั่นคือความสว่างของเปลือกผลลดลงโดยมีการเกิดสีน้ำตาลที่เปลือกผลเกิดมากขึ้น แสดงให้เห็นถึงการเสื่อมสภาพของเปลือกผล ในขณะที่ค่า a^* value ทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นตามเวลาที่เพิ่มขึ้นแสดงว่าขึ้นเปลือกผลมีสีแดงเกิดขึ้น อย่างไรก็ตามการเพิ่มสีแดงมีเพียงเล็กน้อยและไม่แตกต่างกันทั้ง 3 กรรมวิธี ทั้งนี้การที่มองไม่เห็นสีแดงที่เปลือกผลอาจเนื่องจากมีสีของรงควัตถุชนิดอื่นปรากฏอยู่จึงทำให้สีแดงซึ่งเป็นรงควัตถุของแอนโทไซยานินไม่สามารถปรากฏชัดขึ้นมาได้ (กนกวรรณ, 2548) โดยขึ้นเปลือกผลที่ได้รับแสงฟลูออเรสเซนต์มีค่า a^* สูงที่สุด รองลงมาคือขึ้นเปลือกผลที่ได้รับแสงอุตราไวโอเลต และไม่ได้รับแสงตลอดเวลา สำหรับค่า b^* value ทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นตามเวลาที่เพิ่มขึ้น โดยการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นน้อยมากเช่นเดียวกับค่า a^* แสดงว่าขึ้นเปลือกผลมีสีเหลืองเกิดเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในขณะที่เปลือกผลเสื่อมสภาพ โดยขึ้นเปลือกผลที่ไม่ได้รับแสงตลอดเวลามีค่า b^* สูงที่สุด รองลงมาคือขึ้นเปลือกผลที่ได้รับแสงฟลูออเรสเซนต์ และแสงอุตราไวโอเลต ตามลำดับ ซึ่งการที่เปลือกผลมีสีเหลือง

เกิดขึ้นทั้งนี้เนื่องมาจากการสลายตัวของคลอโรฟิลล์จึงทำให้มีการปรากฏตัวของรงควัตถุแคโรทีนอย์เกิดเพิ่มสูงขึ้น (จ่านงค์, ไม่ระบุปีที่พิมพ์)

2. การเปลี่ยนแปลงปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด

ปริมาณแอนโทไซยานินทุกชุดการทดลองทั้ง 3 อายุและทั้ง 3 สภาพแสงมีแนวโน้มที่ลดต่ำลงตามเวลาที่เพิ่มขึ้นโดยชุดที่ได้รับแสงตลอดเวลาทั้งแสงอุตราไวโอเลตและฟลูออเรสเซนซ์มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงกว่าชุดที่มีด โดยทั่วไปในเนื้อเยื่อพืชภายหลังถูกตัดออกมาและเก็บรักษานานขึ้นมักมีการสังเคราะห์แอนโทไซยานินต่ำกว่าการสลายตัวของแอนโทไซยานิน ทั้งนี้การลดลงของแอนโทไซยานินเกิดจากการถูกนำไปสร้างสารประกอบบางอย่างในกระบวนการฟีนอลิโพรพานอยด์ เช่น ลิควิน แทนนิน เป็นต้น เพื่อป้องกันอันตรายจากบาดแผลที่เกิดขึ้น (Ju *et al.*, 1995) ดังพบในชิ้นเนื้อเยื่อของผลไม้พร้อมรับประทานบางชนิดที่ถูกตัดให้เป็นแผลพบว่าการสะสมของสารประกอบพวกลิควินและแทนนินเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วพร้อมกับการลดลงของสารประกอบแอนโทไซยานิน (Saltveit, 2000) ในการทดลองนี้พบว่าชิ้นเปลือกผลมะม่วงมีการเปลี่ยนสีเปลือกจากสีเขียวเป็นสีเหลืองทั้งนี้เนื่องมาจากเมื่อเกิดบาดแผลเนื้อเยื่อจะมีการสร้างเอทิลีนเพิ่มสูงขึ้นซึ่งเอทิลีนจะไปเร่งการทำงานของเอนไซม์คลอโรฟิลล์เลสให้เพิ่มขึ้นส่งผลทำให้มีการหายไปของสีเขียวของคลอโรฟิลล์พร้อมกับคลอโรพลาสต์ถูกทำลายหรือพบการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและหน้าที่ของคลอโรพลาสต์ กลายเป็นโครโมพลาสต์ที่มีสีเหลือง (จริงแท้, 2538) โดยการเปลี่ยนโครงสร้างของคลอโรพลาสต์ส่งผลต่อกระบวนการสังเคราะห์แอนโทไซยานินซึ่งน้ำตาลที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสงเป็นองค์ประกอบหลักที่เมื่อรวมกับ anthocyanidin แล้วจึงจะได้เป็นแอนโทไซยานินโดยมีสีแดงเกิดขึ้นมา เมื่อเกิดมีการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ กระบวนการสังเคราะห์แสงและแอนโทไซยานินจึงลดลงด้วย (Craker and Wetherbee, 1973)

3. การเปลี่ยนแปลงแอกทิวิตีของฟีนอลอะลานีน แอมโมเนีย-ไลเอส (PAL)

แอกทิวิตีของเอนไซม์ PAL ในชิ้นเปลือกผลที่มีอายุ 80, 90 และ 100 วันหลังจากดอกบานในสภาพ *in vitro* ทุกชุดการทดลองทั้ง 3 สภาพแสงมีแนวโน้มที่เพิ่มสูงขึ้นตามเวลา โดยชุดที่ได้รับแสงอุตราไวโอเลตมีแอกทิวิตีของเอนไซม์ PAL สูงกว่าชุดที่ได้รับแสงฟลูออเรสเซนซ์และไม่ได้รับแสง สันนิษฐานว่าแอกทิวิตีที่เพิ่มขึ้นของเอนไซม์ PAL เกิดขึ้นเนื่องมาจากแสงอุตราไวโอเลตซึ่งกระตุ้นการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน รวมทั้งยังกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์อื่นๆ ในกระบวนการสร้างแอนโทไซยานินด้วยจึงทำให้มีการเกิดสีแดงที่เปลือกผลสูง (Palmer,

1995) โดยแสงอุลตราไวโอเลตมีผลดีที่สุดสำหรับมะม่วงพันธุ์มหาชนก นอกจากนี้สภาพที่รับแสงอาจมีผลดีต่อการควบคุมการแสดงออกของยีนที่อยู่ในกลุ่มการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน (Tobin and Silverthorne, 1985) ซึ่งในสภาพที่ไม่ได้รับแสงอาจไม่สามารถชักนำให้มีการเพิ่มขึ้นทั้งระดับและการสะสม rRNA และ mRNA ของเอนไซม์ที่อยู่ในกระบวนการสังเคราะห์แอนโทไซยานินได้ ดังในผลแอปเปิ้ลที่มีเปลือกสีแดงหลายสายพันธุ์ที่ผลไม่ได้รับแสงตลอดเวลาไม่มีการเกิดสีแดงที่เปลือกผลเกิดขึ้น แต่จะเกิดขึ้นภายหลังจากที่ให้ผลนั้นได้รับแสงเป็นเวลาอย่างน้อย 12 ชั่วโมง (Endt *et al.*, 2002) ในผลแอปเปิ้ลพันธุ์ Fuji ที่ไม่ได้รับแสงตลอดเวลาก็ไม่มีการเกิดสีแดงที่เปลือกผลเกิดขึ้นเลยเช่นกัน (Siegelman and Hendricks, 1958) Engelsma (1974) ได้อธิบายถึงการทำงานของเอนไซม์ PAL ว่าถูกกระตุ้นโดยแสงอุลตราไวโอเลตและแสงสีน้ำเงินหรือสีอื่น ๆ ขึ้นอยู่กับชนิดพืช ทั้งนี้แสงอุลตราไวโอเลตแต่ละชนิดก็มีผลส่งเสริมแตกต่างกันในเรื่องนี้ในพืชแต่ละชนิดเช่นกัน โดยในผลแอปเปิ้ลหลาย ๆ พันธุ์พบว่าแสง UV-A มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ PAL น้อยกว่าแสง UV-B ดังในผลแอปเปิ้ลพันธุ์ Starking Delicious, Fuji และ Mutsu (Arakawa *et al.*, 1985) ส่วนผลแอปเปิ้ลพันธุ์ Golden Delicious พบว่าแสง UV-C ส่งเสริมการทำงานของเอนไซม์ PAL มากขึ้นกว่าแสง UV-B (Chalmers and Faragher, 1977 a; Faragher and Chalmers, 1977) นอกจากนี้ในเปลือกผลแอปเปิ้ลพันธุ์ Royal Gala สภาพการได้รับแสงอุลตราไวโอเลต แอททิวิตีของเอนไซม์ PAL มีการสูงขึ้นเรื่อย ๆ ตามระยะเวลาที่ได้รับแสงอุลตราไวโอเลตเช่นกันกับการทดลองในผลมะม่วงพันธุ์มหาชนกนี้ โดยผลที่ได้รับแสงอุลตราไวโอเลตเป็นเวลายาวนานมีแอททิวิตีของเอนไซม์ PAL สูงที่สุด นั้นแสดงว่าแอททิวิตีของเอนไซม์ PAL มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาที่ได้รับแสงอุลตราไวโอเลตเพิ่มขึ้น (Dong *et al.*, 1995) ในขณะที่ในดอกของ *Viola ornuta* ในระยะที่กลีบดอกยังอ่อนและมีสีขาวการได้รับแสงฟลูออเรสเซนต์ส่งเสริมให้กลีบดอกนั้นมีปริมาณ mRNA ของ *PAL gene* และยีนอื่น ๆ ในปริมาณที่สูงกว่าชุดที่ไม่ได้รับแสงฟลูออเรสเซนต์ รวมทั้งมีปริมาณแอนโทไซยานินซึ่งมีสีม่วงเกิดขึ้นที่สูงกว่าอีกด้วย (Farzad *et al.*, 2003) ส่วนในเซลล์แขวนลอยของยาสูบและ *Arabidopsis* การฉายด้วยแสงอุลตราไวโอเลตและแสงสีน้ำเงินมีผลทำให้มีแอททิวิตีของเอนไซม์ PAL มีระดับที่สูงซึ่งส่งผลให้มีปริมาณแอนโทไซยานินในปริมาณที่สูงกว่าการฉายแสงด้วยแสงสีแดงและแสงเหนือแดงตามลำดับ (Mancinelli, 1991) นอกจากนี้การให้แสงสีขาว และแสงอุลตราไวโอเลตมีผลส่งเสริมการทำงานของเอนไซม์ PAL และการสะสมปริมาณรงควัตถุแอนโทไซยานินได้ดีกว่าแสงจากธรรมชาติเพียงอย่างเดียว ซึ่งในการทดลองของ Dong *et al.*, (1995) โดยเก็บเกี่ยวผลแอปเปิ้ลพันธุ์ Royal Gala ที่ห่อผลไว้จนกระทั่งอายุ 106 วัน และมาให้ได้รับแสง 3 ชนิด คือ แสงสีขาว แสงอุลตราไวโอเลต และแสงจากธรรมชาติ ที่อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส เป็นเวลา

5 สัปดาห์ พบว่าผลที่ได้รับแสงอุลตราไวโอเลตมีแอกทิวิตีของเอนไซม์ PAL และการสะสมปริมาณแอนโทไซยานินสูงกว่าผลที่ได้รับแสงสีขาวและแสงธรรมชาติตามลำดับ

การทดลองที่ 3 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชบางชนิดต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอนโทไซยานินและแอกทิวิตีของฟีนอลอะลานีน แอมโมเนีย-ไลเอส (PAL) ในเปลือกผลระหว่างการเจริญของผล

การทดลองที่ 3.1 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชบางชนิดต่อปริมาณแอนโทไซยานินและแอกทิวิตีของฟีนอลอะลานีน แอมโมเนีย-ไลเอส (PAL) ในเปลือกผลระหว่างการเจริญของผลในสภาพ *in vivo*

1. การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ

ในระหว่างการเจริญของผล ผลที่ได้รับเอทีฟอนและ ABA ทั้ง 5 กรรมวิธีมีน้ำหนักผลเพิ่มสูงขึ้นตามอายุของผลที่เพิ่มขึ้นและเริ่มคงที่ในระยะปลายของการเจริญ โดยผลที่ได้รับเอทีฟอนความเข้มข้น 200 ppm มีน้ำหนักสูงที่สุดและสูงกว่าทุกชุดการทดลอง โดยทั่วไปในระยะการเจริญของผลจะมีการสังเคราะห์ฮอร์โมนที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตตลอดเวลา ซึ่งมักมีปริมาณสูงในระยะต้นของการเจริญ ในขณะที่ระยะปลายของการเจริญมักมีปริมาณลดลงในขณะเดียวกันก็มีการสังเคราะห์ฮอร์โมนที่มีผลเร่งการเสื่อมสภาพเพิ่มมากขึ้นในระยะนี้ การฉีดพ่นสารควบคุมการเจริญเติบโตจากภายนอกเข้าสู่ผลมีผลส่งเสริมหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของผลได้ขึ้นอยู่กับชนิด ระดับความเข้มข้นของสารนั้น ๆ ในการทดลองนี้ให้เอทีฟอนซึ่งเมื่อเปลี่ยนโครงสร้างแล้วจะให้อนุพันธ์ของเอทีลินโดยมีผลต่อการสุกและเร่งการเสื่อมสภาพของพืช นอกจากนี้ยังมีผลต่อการยับยั้งการเคลื่อนย้ายออกซินซึ่งมีผลกระตุ้นการขยายขนาดของเซลล์และการแบ่งเซลล์ ทำให้พืชมีการเจริญเติบโตที่ลดลงซึ่งมีผลต่อการขนาดของผลและน้ำหนักผลด้วย และสารอีกตัวคือ ABA มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชคล้ายกับเอทีฟอนโดยมีผลยับยั้งการแบ่งเซลล์ นอกจากนี้ยังมีผลในด้านอื่นเช่น ทำให้มีปistónสั้น ใบมีขนาดเล็ก เร่งการหลุดร่วงของใบ เป็นต้น (จริงแท้, 2538) โดยในการทดลองนี้เอทีฟอนมีน้ำหนักของผลสูงที่สุด อาจเนื่องมาจากระดับฮอร์โมนพืชในกลุ่มออกซิน จิบเบอเรลลิน และไซโตไคนินภายในผลมีมากเพียงพอที่จะต้านฤทธิ์ของเอทีฟอนและ ABA ทำให้ผลเสื่อมสภาพช้าลง

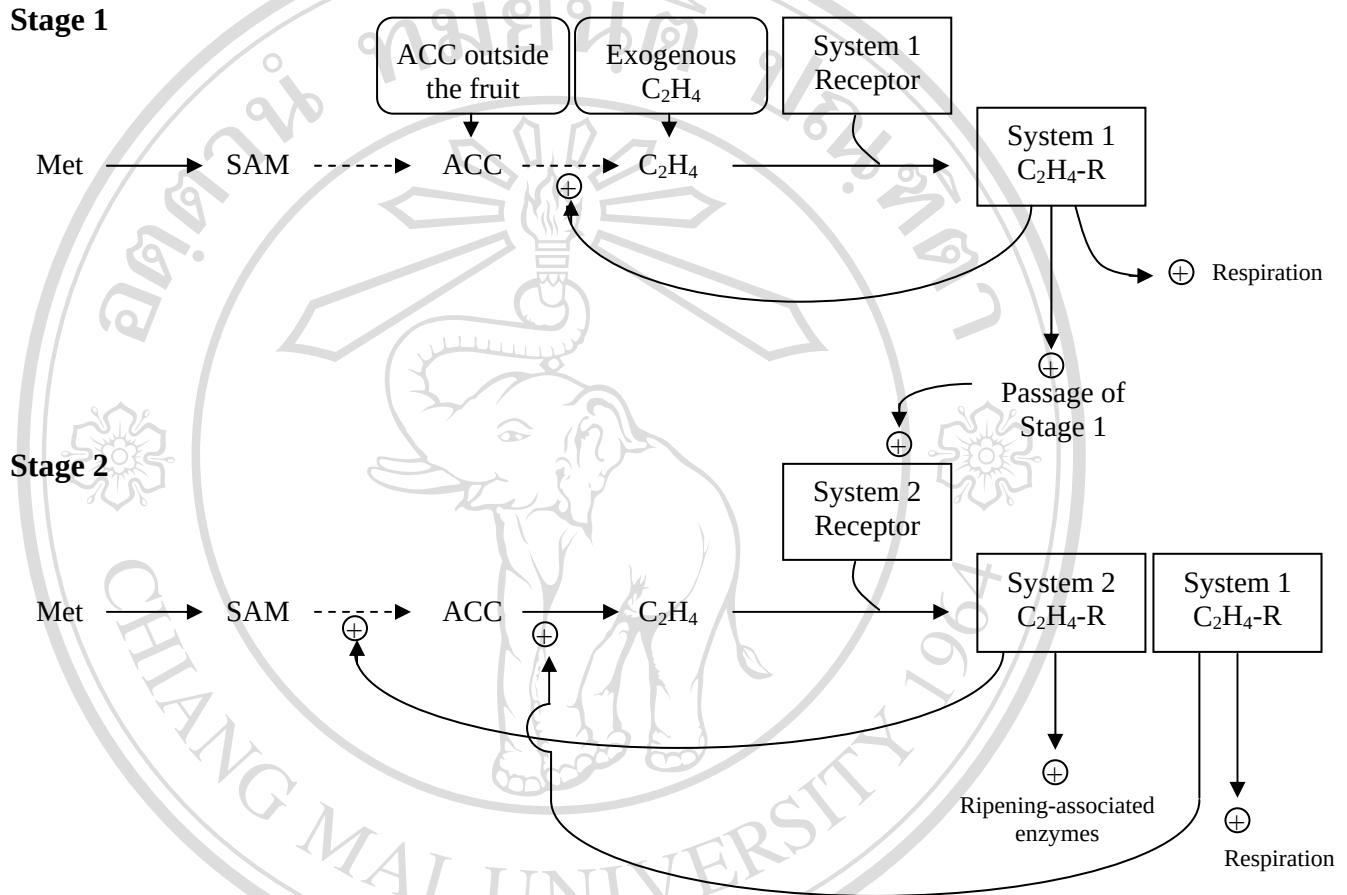
การเกิดสีแดงในเปลือกผลเกิดเพิ่มสูงขึ้นตามอายุที่เพิ่มขึ้นในทุกกรรมวิธี ซึ่งการเกิดพื้นที่สีแดงของเปลือกผลสังเกตเห็นได้ในระยะปลายของการเจริญของผลจนกระทั่งผลเจริญเต็มที่ โดย

ผลที่ได้รับ ABA 200 ppm มีเปอร์เซ็นต์การเกิดพื้นที่สีแดงสูงกว่าทุกชุดการทดลอง รองลงมาคือ ABA 400 ppm น้ำกลั่น เอทิลฟอน 400 ppm และเอทิลฟอน 200 ppm ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาในพืชบางชนิด เช่น แอปเปิ้ลพันธุ์ Jonathan ซึ่งพบว่าทำให้เอทิลฟอนความเข้มข้น 15 ไมโครลิตรต่อลิตรหรือในผลองุ่นพันธุ์ Cabernet Sauvignon ที่ได้รับเอทิลฟอนหรือ ABA ความเข้มข้น 60 หรือ 20 มิลลิโมลสามารถส่งเสริมให้เกิดสีแดงที่เปลือกผลได้ดียิ่งขึ้น (Faragher and Brohier, 1984; Pirie and Mullins, 1976) และยังสอดคล้องกับการทดลองของ Jeong *et al.* (2004) ที่พบว่ามีเพียง ABA เท่านั้นที่มีผลเพิ่มการเกิดสีแดงที่เปลือกผลองุ่นได้ ในขณะที่ NAA ไม่มีผลเพิ่มพื้นที่การเกิดสีแดงดังกล่าว อย่างไรก็ตามผลของเอทิลฟอนและ ABA ในการทดลองนี้ไม่เห็นเด่นชัดเหมือนปัจจัยเรื่องแสงทั้งนี้อาจเป็นเพราะระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่ให้สารทั้งสองแก่ผลยังไม่เหมาะสม

ส่วนพื้นที่การเกิดสีเหลืองของเปลือกผลจากทั้ง 5 กรรมวิธี พบว่าทุกชุดการทดลองมีการเกิดสีเหลืองของเปลือกผลเกิดขึ้นหลังจากที่มีสีแดงของเปลือกผลเกิดขึ้นแล้ว ในผลที่ได้รับเอทิลฟอนเกิดขึ้นก่อน ABA โดยเอทิลฟอน 400 ppm มีพื้นที่การเกิดสีเหลืองสูงกว่าทุกชุดการทดลอง รองลงมาคือ เอทิลฟอน 200 ppm, ABA 200 ppm, น้ำกลั่น และ ABA 400 ppm ตามลำดับ โดยเอทิลฟอนและ ABA เป็นฮอร์โมนพืชที่มีบทบาทในการยับยั้งการเจริญเติบโต หรือการพัฒนาของส่วนต่างๆ ของพืชและมีบทบาทต่อการสุกของผลไม้ที่มีการหายใจเพิ่มขึ้นเมื่อเริ่มสุก รวมทั้งการร่วงของใบ ดอก และผล ซึ่งทั้งเอทิลฟอนและ ABA ช่วยเร่งให้เกิดการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ที่มีสีเขียวทำให้มีการปรากฏของสีเหลืองซึ่งเป็นรงควัตถุแคโรทีนอยด์ขึ้นมา (จริงแท้, 2538; ดนัย, 2540) และนอกจากนี้ เอทิลินยังส่งเสริมการสูญเสียสีเขียว โดยเอทิลินกระตุ้นให้เกิดการเสื่อมสลายตัวของคลอโรฟิลล์ในพืชบางชนิด เช่น ในผลส้มซึ่งสามารถทำให้เปลือกผลที่เดิมมีสีเขียวเปลี่ยนเป็นมีสีเหลือง (degreening) (จ่านงค์, ไม่ระบุปีที่พิมพ์)

จากการทดลองนี้จะเห็นได้ว่าผลที่ได้รับเอทิลฟอนมีพื้นที่การเกิดสีเหลืองเกิดขึ้นในปริมาณที่สูงกว่าผลชุดควบคุม ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเอทิลฟอนเมื่อสลายตัวจะให้อนุพันธ์ของเอทิลินซึ่งมีผลกระตุ้นให้ผลมะม่วงพันธุ์นี้เกิดการสังเคราะห์เอทิลินแบบ autocatalytic ethylene producing system เพิ่มสูงขึ้นได้ถึงแม้ในขณะที่ผลยังไม่สุกแก่ก็ตาม (Wills *et al.*, 1998) โดยเอทิลินจากภายนอกแม้มีระดับที่ต่ำๆ ก็สามารถกระตุ้นให้ผลเกิดการสร้างเอทิลินขึ้นได้ ซึ่งในระยะที่ 1 เอทิลินมีผลเร่งให้เกิดการทำงานของ ACC synthase และ ACC oxidase ส่งผลให้มีการเพิ่มขึ้นของเอทิลินที่จะกระตุ้นให้มีการสังเคราะห์เอทิลินระยะที่ 2 เพิ่มสูงและเร่งให้มีอัตราการหายใจเพิ่มสูงขึ้นและกระตุ้นให้มีการสร้างเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสุกเพิ่มขึ้น (ภาพ 5.1) (Oetiker and Yang, 1995) นอกจากนี้ยังพบว่าเอทิลินมีผลกระตุ้นการสร้างเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสซึ่งมีผล

ทำลายคลอโรฟิลล์เช่นกัน ดังในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้และพันธุ์ทองดำพบว่าเอนไซม์คลอโรฟิลล์เลสและเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสมีปริมาณที่เพิ่มขึ้นพร้อมกับการเพิ่มขึ้นของปริมาณเอทิลีนซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณคลอโรฟิลล์ที่ลดลงในระหว่างการสุกของผล (Ketsa *et al.*, 1999)



ภาพ 5.1 กระบวนการสังเคราะห์เอทิลีนของผลในระหว่างการสุก (Oetiker and Yang, 1995)

2. การเปลี่ยนแปลงปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด

เมื่อผลมีอายุเพิ่มขึ้นเปลือกผลที่ได้รับสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชดังกล่าวยังคงมีปริมาณแอนโทไซยานินที่เกือบคงที่ในทั้ง ABA และเอทิลีนทุกระดับความเข้มข้น โดยเปลือกผลที่ได้รับ ABA มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงกว่าเอทิลีนซึ่ง ABA 200 ppm มีปริมาณแอนโทไซยานินที่สูงที่สุด รองลงมาคือ น้ำกลั่น, ABA 400 ppm, เอทิลีน 200 ppm และเอทิลีน 400 ppm ตามลำดับ ซึ่งโดยทั่วไปฮอร์โมนในกลุ่มนี้มีผลส่งเสริมการสังเคราะห์แอนโทไซยานินเมื่อใช้ในระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสม ในการทดลองอาจใช้สภาพดังกล่าวไม่เหมาะสมจึงทำให้แอนโทไซยานินมีปริมาณไม่แตกต่างจากชุดควบคุม มีบางรายงานระบุว่าทำให้

ABA มีผลกระตุ้นการสร้างแอนโทไซยานินในผลองุ่นพันธุ์ Cabernet Sauvignon เมื่อให้ร่วมกับ น้ำตาลซูโครส (Pirie and Mullins, 1976) และในผลองุ่นบางสายพันธุ์การให้ ABA ร่วมกับ น้ำตาลแรมโนสทำให้มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงกว่าชุดทดลองอื่น ๆ โดยระดับความเข้มข้นที่ 10 และ 2.5 % มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงที่สุด (Hiratsuka *et al.*, 2001 a) ในขณะที่ในผลไม้ ชนิดอื่น เช่น แอปเปิ้ลพันธุ์ McIntosh การฉีดพ่น ABA แก่ผล 2 สัปดาห์หรือ 1 เดือนก่อนการเก็บเกี่ยวไม่ได้มีผลส่งเสริมให้เปลือกผลมีปริมาณแอนโทไซยานินและการเกิดสีแดงเพิ่มขึ้น และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากชุดควบคุม (Hegazi and Plick, 1980) นอกจากนี้เอทิลีนยังเป็นฮอร์โมนพืชที่มีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาและชีวเคมีของพืชและผลไม้ค่อนข้างมาก รวมทั้งมีผลต่อการเพิ่มอัตราการสะสมของแอนโทไซยานินและเร่งการทำงานของเอนไซม์ PAL ดังมีรายงานในผลองุ่น (*Vitis vinifera*) (Hale *et al.*, 1970) และแอปเปิ้ล (Chalmers and Faragher, 1977 b) โดยเอทิลีนมีผลกระตุ้นการสร้างแอนโทไซยานินทั้งนี้สันนิษฐานว่ามีผล กระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ PAL โดยพบว่าผลแอปเปิ้ลพันธุ์ Jonathan ที่เด็ดออกจากต้นจะ เกิดความเครียด (stress) มากกว่าผลที่ติดอยู่บนต้นทำให้มีการสร้างเอทิลีนเพิ่มมากขึ้นและเอทิลีน ที่สร้างขึ้นนี้จะกระตุ้นทำให้การทำงานของเอนไซม์ PAL เพิ่มขึ้นส่งผลให้แอปเปิ้ลที่เด็ดจาก ต้นมีการสังเคราะห์แอนโทไซยานินได้เร็วและมากกว่าผลที่ติดอยู่บนต้น (Faragher and Brohier, 1984) และมีบางรายงานระบุว่าเอทิลีนภายในผลที่ถูกสร้างขึ้นในระหว่างการเจริญของผลองุ่นพันธุ์ Carbernet Sauvignon มีผลกระตุ้นการสะสมแอนโทไซยานินได้ โดยเอทิลีนมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้น เมื่อผลอายุได้ 5 สัปดาห์ และเพิ่มขึ้นสูงสุดในสัปดาห์ที่ 7 หลังจากนั้นค่อย ๆ ลดลง ในขณะที่เปลือก ของผลมีการเกิดของสีม่วงอย่างช้า ๆ ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 5 และเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วในสัปดาห์ที่ 9 และ 10 (Chervin *et al.*, 2005) ส่วนในแอปเปิ้ลพันธุ์ Tsugaru Senshu และ Fuji การเพิ่มขึ้น ของปริมาณแอนโทไซยานินในเปลือกผลเพิ่มสูงขึ้นควบคู่กับการเพิ่มขึ้นของเอทิลีนภายในผล (Kondo *et al.*, 1991) เช่นเดียวกันกับในแอปเปิ้ลพันธุ์ Jonathan ในระหว่างการสุกของผลจะมีการสร้างเอทิลีนเพิ่มขึ้น ซึ่งเอทิลีนที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้เกิดการสะสมแอนโทไซยานินอย่างรวดเร็ว โดยเพิ่มแอกทิวิตีของเอนไซม์ PAL ในเปลือกผลให้มีกิจกรรมที่เพิ่มสูงขึ้น (Faragher and Brohier, 1984)

สารควบคุมการเจริญเติบโตมีผลส่งเสริมการสร้างแอนโทไซยานินโดยกระตุ้นผ่าน เอนไซม์และการควบคุมระดับยีนเช่นกัน มีรายงานว่า 2, 4-D และ gibberellins (GA) มีผลต่อการ สังเคราะห์แอนโทไซยานินในระดับ transcription โดยเพิ่มการสร้างเอนไซม์ CHS, CHI, DFR และ ANS ทำให้มีปริมาณแอนโทไซยานินในระดับที่สูงตามไปด้วย ดังในแคลลัสและเซลล์ แว่นลอยของกลีบดอกกระเจี๊ยบ (*Hibiscus sabdariffa*) และกลีบดอกของพิทูเนีย

(Pollak *et al.*, 1993) นอกจากนี้ในเปลือกผลงุ่นบางสายพันธุ์เมื่อได้รับ ABA สามารถชักนำให้มีปริมาณแอนโทไซยานินในปริมาณที่สูง ซึ่งเมื่อวิเคราะห์พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของปริมาณ mRNA ของ *PAL gene* ในเปลือกผลที่ได้รับ ABA ในขณะที่เมื่อให้ NAA พบว่ามีปริมาณการสะสมแอนโทไซยานินในระดับต่ำกว่า ABA มากและพบอีกว่าเมื่อเปลือกผลได้รับ NAA มีการลดลงของระดับ mRNA ของ *PAL*, *CHI*, *CHS*, *F3H*, *DFR*, *LDOX* และ *UFGluT gene* ซึ่งส่งกระทบผลต่อกระบวนการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน (Jeong *et al.*, 2004) ซึ่งการเพิ่มขึ้นของแอนโทไซยานินจากการได้รับเอทิลีนหรือ ABA อาจเกิดจากสารทั้งสองช่วยเร่งให้เซลล์สลายแป้งกลายเปลี่ยนน้ำตาล ซึ่งน้ำตาลสามารถกระตุ้นให้มีการสร้างแอนโทไซยานินได้ (Kawabata *et al.*, 2005) โดยทั่วไปสารประกอบคาร์โบไฮเดรตมีบทบาทสำคัญ 2 ประการในการกระตุ้นการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน ประการแรกเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญของการสังเคราะห์สารประกอบฟลาโวนอยด์และกระบวนการฟีนิลโพรพานอยด์โดยผ่านทาง shikimic acid และประการที่สองสันนิษฐานว่าช่วยชักนำให้เกิดมีการแสดงออกของยีนที่อยู่ในกระบวนการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน ซึ่งในกระบวนการสังเคราะห์แอนโทไซยานินมีขั้นตอนที่ควบคุมการสร้างอยู่หลายตัว เช่น *PAL*, *CHS*, *CHI* และ *DFR* เป็นต้น ซึ่งการให้น้ำตาลจากภายนอกสามารถกระตุ้นให้มีการแสดงออกของ *CHS gene* ในพิทูเนียได้ (Pollak *et al.*, 1993) และมีการแสดงออกของ *CHS gene* และ *DFR gene* ในใบโอวี (Kawabata *et al.*, 2005)

3. การเปลี่ยนแปลงแอกทิวิตีของฟีนิลอะลานีน แอมโมเนีย-ไลเอส (PAL)

เปลือกผลที่ได้รับสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชทุกระดับความเข้มข้นทั้ง 5 กรณวิธีมีแอกทิวิตีของเอนไซม์ PAL เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ตลอดการทดลอง โดยผลที่ได้รับ ABA 200 ppm มีแอกทิวิตีของเอนไซม์ PAL สูงที่สุด รองลงมาคือผลที่ได้รับ ABA 400 ppm, น้ำกลั่น, เอทิลฟอน 400 ppm และเอทิลฟอน 200 ppm ตามลำดับ ซึ่งพืชแต่ละชนิดมีการตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตแต่ละชนิดในเรื่องแอนโทไซยานินและ PAL แตกต่างกันไป เช่น ในผลงุ่นบางสายพันธุ์การให้ ABA ความเข้มข้น 1,000 mg/l แก่ผลบนต้นสามารถเพิ่มแอกทิวิตีของเอนไซม์ PAL ได้มากกว่าผลที่ไม่ได้รับ ABA (Jeong *et al.*, 2004) และแอปเปิ้ลพันธุ์ McIntosh การฉีดพ่น ABA แก่ผล 2-4 สัปดาห์ก่อนการเก็บเกี่ยวไม่ได้ส่งเสริมให้มีการเพิ่มแอกทิวิตีของเอนไซม์ PAL ในเปลือกผล (Hegazi and Plick, 1980) สำหรับเอทิลีนสามารถเพิ่มแอกทิวิตีของเอนไซม์ PAL ได้เช่นกัน ดังในแอปเปิ้ลพันธุ์ Jonathan ในระหว่างการสุกของผลจะมีการสร้างเอทิลีนเพิ่มขึ้น ซึ่งเอทิลีนที่เพิ่มขึ้นมีผลเพิ่มแอกทิวิตีของเอนไซม์ PAL ในเปลือกผลให้มีกิจกรรมที่เพิ่มสูงขึ้นส่งผลทำให้เกิดการสะสมแอนโทไซยานินอย่างรวดเร็วด้วย (Faragher and Brohier, 1984)

และในผลแอปเปิ้ลพันธุ์ Red Delicious มีเอทิลีนภายในผลและแอคติวิตีของเอนไซม์ PAL เพิ่มขึ้นตามอายุที่เพิ่มขึ้นควบคู่กับการเพิ่มขึ้นของแอนโทไซยานิน (Blankenship *et al.*, 1988) ในขณะที่ผลแอปเปิ้ลพันธุ์ Golden Delicious มีปริมาณเอทิลีนภายในผลที่ไม่คงที่ตลอดทั้งการทดลองและแอคติวิตีของเอนไซม์ PAL เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อผลอายุได้ 131 วันหลังจากดอกบาน และเพิ่มสูงสุดเมื่อผลเจริญเต็มที่ซึ่งอายุได้ 145 วันหลังจากดอกบานหลังจากนั้นแอคติวิตีของเอนไซม์ PAL ลดต่ำลงอย่างทันที โดยไม่มีการเกิดสีแดงที่เปลือกของผลเกิดขึ้นเลย (Blankenship *et al.*, 1988)

อย่างไรก็ตามยังไม่ทราบกลไกที่แน่นอนถึงผลของ ABA และเอทิลีนในการส่งเสริมการทำงานของเอนไซม์ PAL แต่สันนิษฐานว่าสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชบางชนิดอาจชักนำให้มีการ transcription mRNA ของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน เช่น *PAL*, *CHI*, *CHS gene* ให้มีปริมาณที่สูง ซึ่งมีผลทำให้สร้างเอนไซม์เหล่านี้และแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้นด้วย โดยพืชแต่ละชนิดมีการตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ต่างกัน (Ju *et al.*, 1995 a) ซึ่ง Endt *et al.* (2002) ได้อธิบายกลไกในการทำงานของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชบางชนิด เช่น กรดจัสโมนิคต่อการทำงานของเอนไซม์ที่อยู่ในขั้นตอนของการสังเคราะห์สารประกอบในกลุ่มฟีนิลโพรพานอยด์ว่า การทำงานถูกควบคุมทั้งในระดับ transcription และ posttranscription ซึ่งในการทำงานของเอนไซม์ต้องมีการเปลี่ยนโครงสร้างและ/หรือมีการทำงานร่วมกันกับเอนไซม์ตัวอื่นโดยผ่านกลไก phosphorylation/dephosphorylation system โดยเมื่อได้รับกรดจัสโมนิคจะมีการเปลี่ยนรูปเป็น methyl jasmonate (MeJA) ซึ่งส่งผลให้มีการสะสม ORCA (Octadecanoid-Responsive catharanthus AP2/ERF-domain) mRNA อย่างรวดเร็วแต่เกิดขึ้นเพียงชั่วคราวเท่านั้นซึ่ง ORCA mRNA ที่ได้จะไปกระตุ้นให้มีการสร้างเอนไซม์ในกลุ่ม terpenoid indole alkaloids (TIA) อีกด้วย (ภาพ 5.2) นอกจากนี้ Endt *et al.* (2002) ได้อธิบายถึงขั้นตอนของกระบวนการสังเคราะห์แอนโทไซยานินว่าในแต่ละปฏิกิริยาของการสร้างถูกควบคุมโดย enzyme gene ที่ต่างกันอีกด้วย (ภาพ 5.3) ซึ่งในการทำงานของเอนไซม์ PAL หรือเอนไซม์อื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์แอนโทไซยานินพืชจะตอบสนองต่อชนิด ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารควบคุมการเจริญของพืชที่ต่างกันไปทั้งนี้แล้วแต่ชนิดของพืช อายุของพืช รวมทั้งชิ้นส่วนของพืชด้วย (Palmer, 1995) รวมทั้งในการแสดงออกของยีนในแต่ละช่วงอายุของผล หรือพืชแต่ละชนิดก็มีการแสดงออกที่ไม่เท่ากัน เช่น พบว่ามีการ transcription mRNA ของ *PAL gene* ที่สูงเฉพาะในช่วงที่ผลยังอ่อน และผลเข้าสู่ระยะแก่เท่านั้น (Dong *et al.*, 1995) ทั้งนี้ยังไม่มีรายงานการศึกษาในผลมะม่วงของประเทศไทยเลย

The diagram illustrates the flavonoid biosynthetic pathway in *Arabidopsis thaliana*. The pathway begins with phenylalanine, which is converted to cinnamate by PAL (orange arrow), to p-coumarate by C4H (purple arrow), and then to p-coumaroyl-CoA by 4CL (green arrow). p-coumaroyl-CoA can be converted to sinapate esters (dashed arrow) or enter the chalcone pathway. In the chalcone pathway, p-coumaroyl-CoA and 3x malonyl CoA are converted to chalcone by CHS (orange arrow). Chalcone is then converted to flavanones by CHI (purple arrow). Flavones are converted to flavan-4-ols by F3H (green arrow), which are then converted to phlobaphes by DFR (dashed arrow). Flavones are also converted to dihydroflavanols by DFR (orange arrow). Dihydroflavanols are converted to leucoanthocyanidins by DFR (purple arrow). Leucoanthocyanidins are converted to 3-OH-anthocyanidins by LDOX (orange arrow), which are then converted to anthocyanins by UFGT (orange arrow). Leucoanthocyanidins can also be converted to flavan-3-ols by LAR (orange arrow), which are then converted to condensed tannins (dashed arrow). The pathway is regulated by several MYB transcription factors: AtMYB4 (purple box) regulates the early steps (PAL, C4H, 4CL); C1 (MYB) and R (bHLH) (orange box) regulate the chalcone pathway (CHS, CHI); PAP1 (MYB) (purple box) regulates the flavanone pathway (F3H, DFR); and TT2 (MYB) and TT8 (bHLH) (orange box) regulate the anthocyanin pathway (LDOX, UFGT).

```

graph TD
    Phenylalanine -- PAL --> Cinnamate
    Cinnamate -- C4H --> pCoumarate[p-coumarate]
    pCoumarate -- 4CL --> pCoumaroylCoA[p-coumaroyl-CoA]
    pCoumaroylCoA --> SinapateEsters[sinapate esters]
    pCoumaroylCoA + 3xMalonylCoA[3x malonyl CoA] -- CHS --> Chalcone
    Chalcone -- CHI --> Flavanones
    Flavanones -- F3H --> Flavan4ols[Flavan-4-ols]
    Flavan4ols --> Phlobaphes[Phlobaphes]
    Flavanones -- DFR --> Dihydroflavanols
    Dihydroflavanols -- DFR --> Leucoanthocyanidins
    Leucoanthocyanidins -- LDOX --> Anthocyanidins[3-OH-Anthocyanidins]
    Anthocyanidins -- UFGT --> Anthocyanins
    Leucoanthocyanidins -- LAR --> Flavan3ols[Flavan-3-ols]
    Flavan3ols --> CondensedTannins[Condensed tannins]

```

Key regulatory factors and their target steps are indicated in colored boxes:

- AtMYB4** (purple box) regulates the early steps (PAL, C4H, 4CL).
- C1 (MYB) R (bHLH)** (orange box) regulates the chalcone pathway (CHS, CHI).
- PAP1 (MYB)** (purple box) regulates the flavanone pathway (F3H, DFR).
- TT2 (MYB) TT8 (bHLH)** (orange box) regulates the anthocyanin pathway (LDOX, UFGT).

ภาพ 5.3 กระบวนการสังเคราะห์แอนโทไซยานินเมื่อถูกควบคุมโดย enzyme gene ที่ต่างกันในระหว่างการเกิดปฏิกิริยา (Endt *et al.*, 2002)

**การทดลองที่ 3.2 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชบางชนิดต่อแอกทิวิตี
ของพินิลอะลานีน แอมโมเนีย-ไลเอส (PAL) ในสภาพ *in vitro***

จากการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตบางชนิดต่อการเปลี่ยนแปลงแอกทิวิตีของเอนไซม์ PAL ที่สกัดจากเปลือกผลที่มีอายุ 100, 110 และ 120 วันหลังจากดอกบาน ในสภาพ *in vitro* โดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชแตกต่างกัน 2 ชนิด คือ ABA และเอทีฟอน ที่มีระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน 6 ระดับ คือ 0, 25, 50, 100, 200 และ 400 ppm พบว่าเอทีฟอน และ ABA ทุกความเข้มข้นไม่มีผลเพิ่มแอกทิวิตีของเอนไซม์ PAL จากเปลือกผลอายุ 100 และ 110 วัน ยกเว้น ABA 200 ppm มีผลเพิ่มแอกทิวิตีของเอนไซม์ PAL ที่สกัดจากผลที่มีอายุ 120 วัน ซึ่งในเปลือกผลของบางสายพันธุ์ ในสภาพ *in vitro* การให้ ABA ความเข้มข้นที่ต่างกันมีผลต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์ PAL ที่ต่างกันด้วย (Hiratsuka *et al.*, 2001 a) สำหรับในเปลือกผลมะม่วงพันธุ์มหาชนกผลการทดลองที่ได้ไม่เด่นชัด อาจเป็นเพราะระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชทั้ง 2 ยังไม่เหมาะสม รวมทั้งอาจไม่ตอบสนองในสภาพที่ผลมีอายุ 100–120 วันก็ได้ ซึ่งในการทำงานของเอนไซม์ PAL หรือเอนไซม์อื่น ๆ พืชจะตอบสนองต่อชนิดความเข้มข้นและระยะเวลาที่ได้รับสารควบคุมการเจริญของพืชที่ต่างกันไปทั้งนี้แล้วแต่ชนิดของพืช อายุของพืชรวมทั้งชิ้นส่วนของพืชดังได้กล่าวมาแล้วข้างต้น (Palmer, 1995)