

บทคัดย่อ

การตาย (Cell death) ของเซลล์พืช มีทั้งการตายแบบไม่โปรแกรม (necrosis) และการตายแบบโปรแกรม (programmed cell death) สิ่งบ่งชี้ที่บ่งบอกถึงการตายแบบโปรแกรมมีหลายสิ่ง หนึ่งในนั้นได้แก่ การที่ DNA ถูกตัดเป็น DNA laddering ขนาด 180 bp ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาการเสื่อมสภาพภายหลังการเก็บเกี่ยวของบรอกโคลีต่อการเกิดการตายแบบโปรแกรม (PCD) พบว่า บรอกโคลีหลังการเก็บเกี่ยว นำมาไว้ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เพื่อตรวจสอบลักษณะการวายและการตายของบรอกโคลี พบว่า บรอกโคลีจะเริ่มปรากฏสีเหลืองในชั่วโมงที่ 48 ของการเก็บรักษา โดยมีค่า L* และ b* สูงขึ้น ในขณะที่ค่า Hue ลดลง ปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลงอย่างรวดเร็วหลังจาก 48 ชั่วโมง โดยมีอัตราการหายใจลดลงตลอด จนกระทั่ง 72 ชั่วโมงของการเก็บรักษา แต่มีการผลิตเอทิลีนและมีการเกิดความเสียหายจาก oxidative damage เพิ่มขึ้น และพบการสลายตัวของดีเอ็นเอ (DNA smear) ที่ 24 ชั่วโมงของการเก็บรักษา โดยไม่พบ DNA fragmentation ขนาด 180 bp ในการศึกษาผลของความร้อนต่อการเกิดการตายแบบโปรแกรม (PCD) โดยใช้ความร้อนในระดับที่ชักนำให้เกิดการตายแบบโปรแกรมในเซลล์พืชชนิดอื่น (55 °C 10 นาที) โดยนำบรอกโคลีมาจุ่มน้ำร้อนที่ 55 °C เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำมาเก็บที่อุณหภูมิ 10 และ 20 องศาเซลเซียส ปรากฏว่า ความร้อนที่ระดับนี้ไม่มีผลในการชักนำให้เกิดการตายแบบโปรแกรม (PCD) โดยไม่ตรวจพบ DNA fragmentation แต่พบ DNA smear ที่เกิดจากการสลายตัวของดีเอ็นเอ ซึ่งเป็นลักษณะบ่งชี้ถึงการตายแบบไม่โปรแกรม (necrosis) และการวาย (senescence) บรอกโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 °C เป็นเวลา 10 นาที ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °C สามารถชะลอการสูญเสียคลอโรฟิลล์ การเปลี่ยนเป็นสีเหลืองของบรอกโคลีได้ และมีอัตราการหายใจต่ำกว่าชุดทดลองอื่น นอกจากนี้ พบว่าบรอกโคลีชุดที่ให้ความร้อนมีการผลิตเอทิลีนเพิ่มขึ้นในช่วง 12 ชั่วโมงหลังจากนั้นจะลดลงตลอดอายุการเก็บรักษา ในขณะที่ชุดที่ไม่ได้ให้ความร้อนมีปริมาณเอทิลีนสูงกว่าหลังจาก 24 ชั่วโมง สำหรับการเกิด oxidative stress พบในบรอกโคลีที่เก็บที่ 20 °C ทั้งที่ให้และไม่ให้ความร้อน โดยบรอกโคลีที่ให้ความร้อนและเก็บที่ 10 °C มีการเกิด oxidative damage น้อยที่สุด และพบการสลายตัวของดีเอ็นเอน้อยกว่าชุดทดลองอื่นด้วย สำหรับการศึกษาผลของ 1-MCP ต่อการเกิดการตายแบบโปรแกรม (PCD) โดยรมบรอกโคลี 200 ml/L 1-MCP หลังจากนั้นนำมาแบ่งเป็นชุดที่ผ่านการให้ความร้อนและไม่ให้ความร้อน แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 10 และ 20 องศาเซลเซียส พบว่า การรมบรอกโคลีด้วย 1-MCP 200 ml/L ร่วมกับการให้ความร้อน 55 °C เป็นเวลา 10 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ สามารถรักษาปริมาณคลอโรฟิลล์และยับยั้งอัตราการหายใจและการผลิตเอทิลีน นอกจากนี้มีการเกิด oxidative damage น้อยกว่าชุดทดลองอื่น ในขณะที่การใช้ 1-MCP ร่วมกับการให้ได้รับความร้อนที่ 55 °C เป็นเวลา 10 นาที ไม่มีผลต่อการชะลอการเสื่อมสภาพของบรอกโคลีเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 °C. การให้ความร้อนยับยั้งการเกิด oxidative damage นอกจากนี้การรมด้วย 1-MCP ร่วมกับการให้ความร้อนที่ 55 °C เป็นเวลา 10 นาที ลดการสลายตัวของดีเอ็นเอ โดยเฉพาะเมื่อเก็บที่ 10 °C มีการสลายตัวของดีเอ็นเอน้อยกว่าที่ 20 °C

คำสำคัญ: บรอกโคลี / การตาย / ความร้อน / วันเมทิลไซโครโพรพีน / ความเสียหายจากออกซิเดชัน

Abstract

Plant cell death can be divided into necrosis and programmed cell death (PCD). One key event of PCD is DNA degradation into 180-200 bp-sized DNA laddering. In this research, postharvest senescence and plant cell death of broccoli (*Brassica oleracea* L. var Italica) was studied. We found that broccoli florets turned to yellowing after 48 hours when it was kept at 20°C. Chlorophyll degradation was found rapidly with increasing of L* b* value and decreasing of Hue value. After harvesting, broccoli had low respiration rate until 72 hours of storage but high ethylene production and oxidative stress. DNA degradation was found at 24 hours of storage at 20°C but the 180 bp DNA laddering was not observed. A 55°C for 10 min of heat treatment is a typical heat to inducible PCD in the other plant cells. To study the effect of heat treatment on plant cell death by dipping broccoli in 55°C hot water for 10 min then kept at 10 and 20°C, the results showed that the 180 bp sized DNA fragmentation was not observed but DNA smear of DNA degradation was clearly detected. This heat treatment did not cause plant cell death in broccoli because DNA fragmentation is a key feature of programmed cell death. Necrosis, on the other hand, is characterized by random DNA fragmentation which forms a "smear" on agarose gels. A 55°C for 10 min treated broccoli then kept at 10°C delayed chlorophyll degradation of broccoli and lower respiration rate than other treatments. Moreover, heat treated broccoli had higher ethylene production until 12 hours of storage then declined until the end of storage. Ethylene production of untreated broccoli was higher than other treatments after 24 hours. Oxidative stress was found in treated and untreated heat broccoli kept at 20°C. Heat treated broccoli then kept at 10°C revealed oxidative damage and DNA degradation less than other treatments. Effect of 1-MCP on cell death of broccoli also was investigated. Broccoli were fumigated with 200 nL/L 1-MCP after that heat and non-heat were applied to broccoli and kept at 10°C and 20°C. We found that 200 nL/L 1-MCP combined with heat treatment at 55 °C for 10 min then kept at 10°C retained chlorophyll content both of chlorophyll a and b, decreased respiration rate and ethylene production than untreated 1-MCP broccoli. Moreover, this treatment showed less oxidative damage than others while as 1-MCP treatment combined with heat treatment then kept at 20°C did not retain chlorophyll content and retarded oxidative damage and senescence.

Keywords: Broccoli / cell death / heat treatment / 1-MCP / oxidative damage