

การศึกษาความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลลำไย



ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาพืชสวน

มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พ.ศ. 2562

การศึกษาความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลลำไย



อังคณา เปี่ยมพร้อม

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาพืชสวน

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พ.ศ. 2562

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

การศึกษาความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลลำไย

อังคณา เปี่ยมพร้อม

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาพืชสวน

พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วินัย วิริยะอลงกรณ์)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นพพร บุญปลอด)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรพินธุ์ สฤกษ์ดีนำ)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

ประธานอาจารย์ผู้รับผิดชอบหลักสูตร

(รองศาสตราจารย์ ดร.ธีรณัฐ เจริญกิจ)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการรับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ดร.ญาณิน โอภาสพัฒนกิจ)

รักษาการแทนรองอธิการบดี ปฏิบัติการแทน

อธิการบดีมหาวิทยาลัยแม่โจ้

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

ชื่อเรื่อง	การศึกษาความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลลำไย
ชื่อผู้เขียน	นางสาวอังคณา เปี่ยมพร้อม
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วินัย วิริยะอลงกรณ์

บทคัดย่อ

ลำไยเป็นพืชเศรษฐกิจหลักทางภาคเหนือของไทย คุณภาพผลผลิตเป็นที่ต้องการของตลาดต่างประเทศโดยเฉพาะประเทศจีน ตั้งแต่มีการค้นพบสารโพแทสเซียมคลอเรตที่ชักนำการออกดอกได้โดยไม่ต้องการอากาศหนาวเย็น ทำให้มีการขยายพื้นที่ปลูกลำไยออกไปทั่วประเทศ ทั้งที่มีคุณภาพและไม่มีคุณภาพโดยเฉพาะลำไยในทางภาคเหนือเริ่มแสดงอาการผิดปกติทางสีผิวเปลือกของผลทำให้ผลผลิตลำไยด้อยคุณภาพ งานวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลลำไยสายพันธุ์ดอ สาขาไม้ผลบ้านโป่ง อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ พบว่าลำไยมีอาการผิดปกติทางสรีรวิทยาด้านสีผิวเปลือกของผลลำไยซึ่งมีลักษณะสีผิวเปลือกค่อนข้างแดงระหว่างการเจริญเติบโตของผลลำไย ทำให้ผลผลิตลดลงการเจริญเติบโตของผลผิดปกติทำให้ลำไยไม่มีคุณภาพจึงได้วิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลและใบลำไย พบว่า ลำไยที่ผิดปกติมีสีผิวเปลี่ยนเป็นสีแดง ผิวขรุขระการเจริญเติบโตของผลช้ากว่าลำไยปกติและพบโปรตีน 14-3-3 family (29.5 KDa) และ โปรตีน NBS-LRR protein NBSS54 (93.5 KDa) ซึ่งโปรตีนทั้งสองชนิดนี้ได้แสดงออกเพิ่มขึ้นในลำไยที่ผิดปกติส่วนลำไยปกติแสดงโปรตีน acetyl-coenzyme A carboxylase carboxyl transferase subunit beta (59.5 KDa) และ transport inhibitor response 1-like (72.9 KDa) 20 และ 30 สัปดาห์หลังติดผล ในระยะ 30 สัปดาห์ พบโปรตีน 3 ชนิด ได้แก่ APX (37.4 KDa), WRKY transcription factor 72-3 (61.0 KDa) และ ramorin-4 (52.5 KDa) ที่สำคัญโปรตีน 14-3-3 family (29.5 KDa) เป็นโปรตีนที่รับรู้สารอาหาร (Nutrient sensing) จากงานทดลองนี้พบว่าเมื่อผลต่อการขาดธาตุสังกะสีและโบรอนในใบลำไยอย่างชัดเจน

คำสำคัญ : ลำไย ความผิดปกติทางสรีรวิทยา อิเล็กโทรโฟรีซิส

Title	THE STUDY OF PHYSIOLOGICAL DISORDER IN LONGAN FRUITS (<i>Dimocarpus longan</i> Lour.)
Author	Miss Angkana pimporn
Degree	Master of Science in Horticulture
Advisory Committee Chairperson	Assistant Professor Dr. Winai Wiriyaalongkorn

ABSTRACT

Longan (*Dimocarpus longan*, Lour.) is a major economical crops in Northern Thailand. Based on its quality attributes Thai longan has a good international market potential with China being the most relevant export market. Formerly, longan production depended on a cold weather stimulus for flower induction and was, thus, restricted to the Northern part of Thailand. However, off-season production is associated with a series of problems about fruit quality, especially altered undesirable skin colour. The objective of this research project was to study the morphology of longan. The study took place at Ban Bong, Sansai District, Chiang Mai Province. It was found that disorders in skin colour, making fruit reddish, caused lower yields and negatively affect the quality of the harvest. In order to identify the reasons for this the physical morphology of longan fruits and leaves was analysed. It was documented that the affected fruits exhibited a red skin colour and more rough than normal. Moreover, fruit growth was reduced. The results showed protein 14-3-3 family (29.5 KDa) and NBS-LRR protein NBSS54 (93.5 KDa) were causes longan disease. Actyl-coenzyme A carboxylase carboxyl transferase (59.5 KDa) and transport inhibitor response 1-like (72.9 KDa). Three proteins, APX (37.4 KDa), WRKY transcription factor 72-3 (61.0 KDa) and Ramorin-4 (52.5 KDa), the protein 14-3-3 family (29.5 KDa) are nutrient sensing protein. In this study, obvious affects were zinc and boron deficiency in leaves.

Keywords : Longan; Physiological disorder; Electrophoresis

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วินัย วิริยะอลงกรณ์ ประธานกรรมการที่ปรึกษาที่กรุณาให้คำแนะนำ คำปรึกษาในการวางแผนดำเนินงานทดลอง ตลอดจนช่วยเหลือในการตรวจแก้ไขเล่มวิทยานิพนธ์จนกระทั่งสำเร็จเป็นวิทยานิพนธ์ ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นพพร บุญปลอด ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรพินธุ์ สฤชดี้นำ และ ดร.เอกวิทย์ ตรีเนตร ที่ให้ความอนุเคราะห์ทั้งในด้านการศึกษาแนวคิดตลอดจนแนะนำการแก้ไขข้อบกพร่องจนสำเร็จเป็นวิทยานิพนธ์ได้อย่างสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ที่สนับสนุนทุนการศึกษาระดับปริญญาโทในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อประเสริฐ เปี่ยมพร้อม และคุณแม่สมจิตร เปี่ยมพร้อม ผู้ให้กำเนิดที่มอบโอกาสในการศึกษา รวมทั้งขอขอบคุณท่านที่ไม่ได้เอ่ยนามมาในครั้งนี้ที่คอยช่วยเหลือตลอดระยะเวลาในการศึกษา

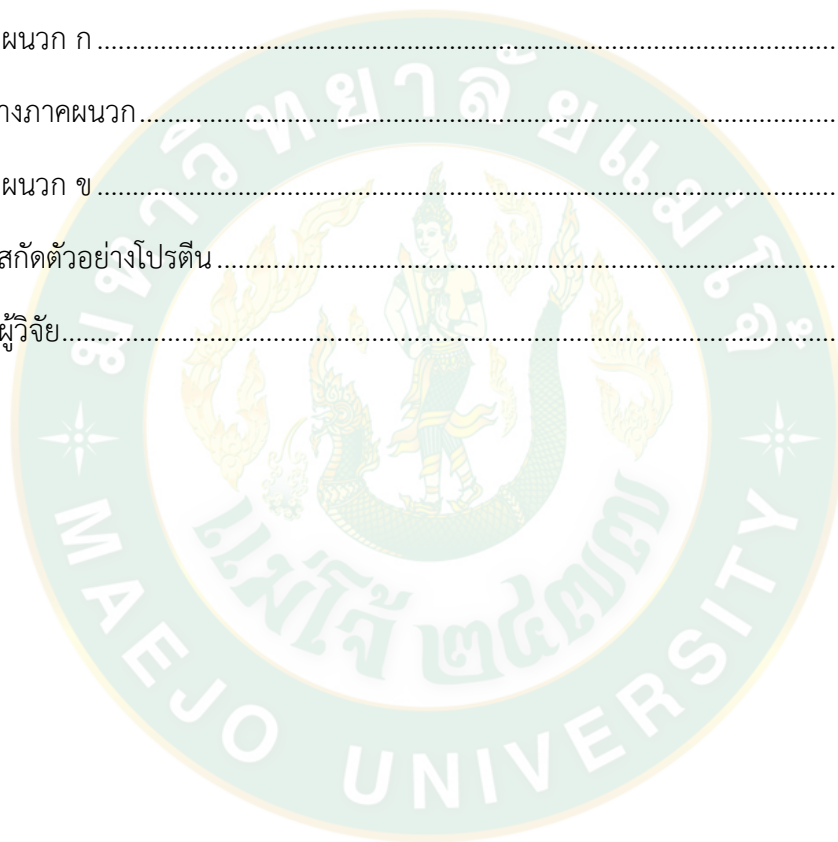
อังคณา เปี่ยมพร้อม



สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ง
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
ขอบเขตการศึกษา.....	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร.....	3
ถิ่นกำเนิดและการแพร่กระจาย.....	3
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของลำไย.....	4
ธาตุอาหารพืช.....	9
ความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลลำไย.....	19
บทที่ 3 วิธีการวิจัย	22
สถานที่ทำการทดลอง.....	22
พันธุ์ลำไย.....	22
วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี.....	22
วิธีการทดลอง	22
การทดลองที่ 1. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผล.....	22
การทดลองที่ 2. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของธาตุอาหารสังกะสีและโบรอนในใบลำไยที่ผลปกติ และผลผิดปกติ(เปลือกสีแดง)	23

การทดลองที่ 3. ศึกษาระดับโปรตีนเพื่อบ่งชี้อาการผิดปกติของผลลำไยปกติและผิดปกติ (เปลือกสีแดง).....	24
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์.....	25
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	38
บรรณานุกรม.....	39
ภาคผนวก.....	46
ภาคผนวก ก	47
ตารางภาคผนวก.....	47
ภาคผนวก ข	50
การสกัดตัวอย่างโปรตีน.....	50
ประวัติผู้วิจัย.....	64



บทที่ 1

บทนำ

ลำไยเป็นไม้ผลเขตกึ่งร้อน (subtropical fruit) อยู่ในวงศ์ Sapindaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Dimocarpus longan* Lour. (พาวัน และคณะ, 2546) และเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของไทยมีพื้นที่ปลูกที่สำคัญได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน เชียงราย พะเยา ลำปาง น่าน ตาก และมีการกระจายพื้นที่ปลูกในจันทบุรี ลักษณะทั่วไปของลำไยเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลางถึงขนาดใหญ่สูง 10-20 เมตร เปลือกต้นสีน้ำตาลหรือน้ำตาลเข้ม ใบย่อยมี 3-4 ใบ ใบแกมีสีเขียวเข้มปลายใบค่อนข้างแหลม ผลสดมีลักษณะกลมหรือแป้นเล็กน้อย เปลือกผลบางมีสีน้ำตาลปนเหลือง เมื่อผลสุกเนื้อสีขาวขุ่นและค่อนข้างเหนียว มีรสหวาน มีเมล็ดสีน้ำตาลเข้มเรียบเป็นมัน 1 เมล็ดต่อผล

ตั้งแต่มีค้นพบสารโพแทสเซียมคลอเรตในการชักนำการออกดอกของลำไยทำให้การผลิตลำไยในประเทศไทยไม่ต้องพึ่งพาอากาศหนาวเย็นและสามารถผลิตลำไยได้ตลอดทั้งปี และทุกภูมิภาคของไทย ต่อมา มีการขยายพื้นที่ปลูกออกไปทั่วประเทศผลผลิตลำไยมีคุณภาพและไม่มีคุณภาพหลายปีที่ผ่านมาเกษตรกรประสบปัญหาเรียกว่าลำไยผลแดง โดยเปลือกลำไยเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีแดง มีผลให้ผลลำไยแฉะแกร็นไม่ได้คุณภาพสร้างความเสียหายให้กับเกษตรกรระดับหนึ่งอาการดังกล่าวน่าจะเรียกว่าอาการผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลลำไย (physiological disorder syndromes) ซึ่งเป็นอาการที่ผลลำไยมีลักษณะสีผลค่อนข้างแดงในระหว่างการเจริญเติบโตของผลลำไย ทำให้ผลของลำไยนั้นมีการหลุดร่วงลักษณะของเปลือกผลแตกไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นผลขนาดใหญ่ได้ เนื่องจากยังไม่พบสาเหตุที่แน่ชัดของความผิดปกตินี้ จึงได้ทำการศึกษาต่างๆ เช่น สันฐานวิทยาของผล การจัดการธาตุอาหารที่เกี่ยวข้องกับอาการดังกล่าว นอกจากนี้กิจกรรมการทำงานภายในเซลล์ความสำคัญของการเจริญเติบโตของพืชโดยกระบวนการเมตาบอลิซึมภายในเซลล์จะแสดงออกในรูปของการเปลี่ยนแปลงโปรตีนซึ่งน่าจะมีผลกระทบต่ออาการดังกล่าว

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาการเจริญเติบโตของผลลำไย ตั้งแต่ติดผลถึงเก็บเกี่ยวในลำไยที่มีลักษณะผลปกติและลำไยผิดปกติ(เปลือกสีแดง) ในระหว่างการเจริญเติบโตของผลลำไย
2. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของธาตุอาหารไนโบลำไยที่มีลักษณะผลปกติและลำไยผิดปกติ (เปลือกสีแดง) ในระหว่างการเจริญเติบโตของผลลำไย
3. ศึกษาระดับโปรตีนเพื่อบ่งชี้อาการผิดปกติของผลลำไยเปลือกสีแดงในระหว่างการเจริญเติบโตของผลลำไย

ขอบเขตการศึกษา

1. ศึกษาสมบัติทางชีวภาพและตรวจสอบเอกลักษณ์ทางเคมี ของตัวบ่งชี้ทางชีวภาพด้านโปรตีนในผลลำไยที่เป็นกลุ่มอาการความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลลำไยได้
2. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงธาตุอาหารสังกะสีและโบรอนในใบลำไยพันธุ์ดอในอาการความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลลำไย
3. ศึกษาแบบแผนโปรตีนของเมล็ดลำไยพันธุ์ดอที่เป็นปกติและที่มีอาการความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลลำไย ด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิสในการแยกโปรตีนใน 2 มิติ (2-DE)

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของผลลำไย ตั้งแต่ติดผลถึงเก็บเกี่ยว ในลำไยที่มีลักษณะผลปกติและเปลือกสีแดงในระหว่างการเจริญเติบโตของผลลำไย
2. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของธาตุอาหารสังกะสีและโบรอนในใบลำไยที่มีลักษณะเปลือกสีแดงในระหว่างการเจริญเติบโตของผลลำไย
3. เพื่อศึกษาและพัฒนากระบวนการหาตัวบ่งชี้ชีวภาพด้านโปรตีนจากส่วนของเมล็ดลำไยที่มีอาการของกลุ่มอาการความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลลำไย

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

ลำไยจัดเป็นผลไม้ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและยังเป็นผลไม้ที่ให้พลังงานสูง เพราะมีน้ำตาลทั้ง 3 ชนิดคือ กลูโคส ฟรุคโตส และซูโครส รวมทั้งแร่ธาตุที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย (ตารางที่ 1) นอกจากนี้ (วีรชัย, 2538) พบว่าทางการแพทย์แผนจีนโบราณใช้ลำไยแห้งเป็นยาบำรุงหัวใจ บำรุงเลือด บำรุงประสาท และเป็นอาหารบำรุงกำลังจึงเหมาะสมสำหรับผู้ที่มีร่างกายอ่อนแอ

ตารางที่ 1 คุณค่าทางอาหารของลำไย

ข้อมูลทางโภชนาศาสตร์	ลำไยสด	ลำไยแห้ง
ความชื้น (%)	81.10	7.80
ไขมัน(%)	0.11	0.04
เส้นใย (%)	0.28	1.60
โปรตีน (%)	0.97	4.60
คาร์โบไฮเดรต (%)	16.98	72.70
ความร้อน (กิโลกรัม/100 กรัม)	305.70	1,310.00
แคลเซียม (มิลลิกรัม/100 กรัม)	5.70	27.70
เหล็ก (มิลลิกรัม/100 กรัม)	0.35	2.39
ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม/100 กรัม)	35.30	59.50
วิตามินซี (มิลลิกรัม/100 กรัม)	69.20	137.80
โซเดียม (มิลลิกรัม/100 กรัม)	3.00	4.50
โพแทสเซียม (มิลลิกรัม/100 กรัม)	170.00	2,012.00
ไนอาซีน (มิลลิกรัม/100 กรัม)	-	3.03
วิตามินบี 2 (มิลลิกรัม/100 กรัม)	-	0.375

ที่มา: (Tongdee, 1997)

ถิ่นกำเนิดและการแพร่กระจาย

สันนิษฐานว่าอยู่ในประเทศจีนตอนใต้ นิยมปลูกกันมากในมณฑลฝูเจี้ยน จากนั้นได้แพร่กระจายเข้าไปสู่อินเดีย ลังกา พม่า ฟิลิปปินส์ ยุโรป สหรัฐอเมริกา สำหรับในประเทศไทยนั้นพบที่จังหวัดเชียงใหม่ แต่เดิมเป็นไม้พื้นถิ่นมีปลูกเฉพาะทางภาคเหนือของประเทศไทย เนื่องจากลำไยเป็นพืชที่ต้องการอากาศหนาวเย็นในการชักนำให้ออกดอก ต่อมาได้ค้นพบสารโพแทสเซียมโครเรตที่

สามารถทดแทนความหนาวเย็นของอากาศได้ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2541 (พาวัน และคณะ, 2547) พื้นที่ปลูก ลำไยก็ได้กระจายออกไปทั่วประเทศเพิ่มมากขึ้น แม้จะมีพื้นที่ปลูกไปได้ทั่วประเทศ แต่ลำไยทั้ง 8 จังหวัดทางภาคเหนือ รวม 851,814 ไร่ เพิ่มขึ้นจากปี 2561 ร้อยละ 1.35 ผลผลิตรวม 703,335 ตัน เพิ่มขึ้นร้อยละ 4.42 แยกเป็นลำไยในฤดู 436,801 ตัน เพิ่มขึ้นร้อยละ 9 และลำไยนอกฤดูจะมี ผลผลิตรวมประมาณ 266,534 ตัน ลดลงร้อยละ 2.31 ผลผลิตต่อเนื้อที่ให้ผล 826 กิโลกรัม/ไร่ เพิ่มขึ้น ร้อยละ 3.12 โดยแยกเป็นลำไยในฤดู 691 กิโลกรัม/ไร่ เพิ่มขึ้นร้อยละ 10.74 และลำไยนอกฤดู ประมาณ 1,213 กิโลกรัม/ไร่ ลดลงร้อยละ 11.78 ผลผลิตลำไยนอกจากจะจำหน่ายภายในประเทศ แล้วยังส่งออกในลักษณะต่างๆเป็นจำนวนมาก ทั้งลำไยสด ลำไยอบแห้ง ลำไยแช่แข็งและผลิตภัณฑ์ ลำไย ขณะที่ตลาดส่งออกลำไยสดที่สำคัญ ได้แก่ จีน อินโดนีเซีย ฮองกง เวียดนาม แคนาดา มาเลเซีย สิงคโปร์ และฟิลิปปินส์ ส่วนลำไยอบแห้งมีตลาดใหญ่ที่สุด คือ ฮองกง และจีน (สำนักงานเศรษฐกิจ การเกษตร, 2562)

ลำไยพันธุ์ดอเป็นพันธุ์ที่มีการออกดอกและเก็บผลผลิตก่อนพันธุ์อื่น เจริญเติบโตได้ดี ทนแล้ง เปลือกผลหนา ออกดอกติดผลค่อนข้างสม่ำเสมอ ทรงผลกลมแป้น ผิวผลสีน้ำตาล มีกระหรือตาห่าง เนื้อค่อนข้างเหนียว สีขาวขุ่น เมล็ดใหญ่ปานกลาง ลำไยพันธุ์ดอแบ่งออกตามสีของยอดอ่อนคือ พันธุ์อีดอยอดแดงและพันธุ์อีดอยอดเขียว แต่พันธุ์อีดอยอดแดงไม่ค่อยนิยมปลูกเพราะออกดอกติดผล ไม่ค่อยดี ส่วนพันธุ์อีดอยอดเขียวออกดอก ติดผลง่าย นอกจากนี้ลำไยพันธุ์ดอแบ่งตามลักษณะของข้อ ผลคือ อีดอก้านอ่อนมีเปลือกผลบาง และอีดอก้านแข็งเปลือกผลหนาขนาดผลค่อนข้างใหญ่ความยาว ประมาณ 2.5 เซนติเมตร ความกว้าง 2.6 เซนติเมตร ความหนา 2.3 เซนติเมตร และปริมาณของแข็ง ละลายน้ำ 18 เปอร์เซ็นต์บริกซ์ (พาวัน และคณะ, 2547)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของลำไย

ลำไยเป็นพืชเขตร้อนอยู่ในวงศ์ Sapindaceae เดิมมีชื่อวิทยาศาสตร์ *Euphoria longana* Lamk. และต่อมาได้เปลี่ยนชื่อเป็น *Dimocarpus longan* Lour. มีพืชตระกูลเดียวกับลำไยได้แก่ เงาะ (Rambutan: *Nephelium lappaceum* L.) ลิ้นจี่ (Lychee, Litchi: *Litchi chinensis* Sonn., *Nephelium litchi* Camb., *Scytalia chinensis* Gaerth., *Dimocarpus litchi* Lour.) (เกศินี, 2546)

ลำต้น

ต้นลำไยมีการเจริญเติบโตเต็มที่ที่มีความสูงประมาณ 12-15 เมตรหรือสูงกว่าขึ้นอยู่กับสายพันธุ์และการจัดการทรงพุ่ม การเจริญเติบโต ออกดอกและติดผลขึ้นอยู่กับการจัดการสวนและ

สภาพแวดล้อมด้วย ระยะเวลาตั้งแต่ออกดอกจนถึงเก็บเกี่ยวใช้เวลาประมาณ 12-17 เดือน หลังจากเก็บเกี่ยวควรตัดแต่งกิ่งและบำรุงต้นเพื่อที่จะให้ผลผลิตในครั้งหน้ามีคุณภาพดีด้วย (พาวิน, 2543)

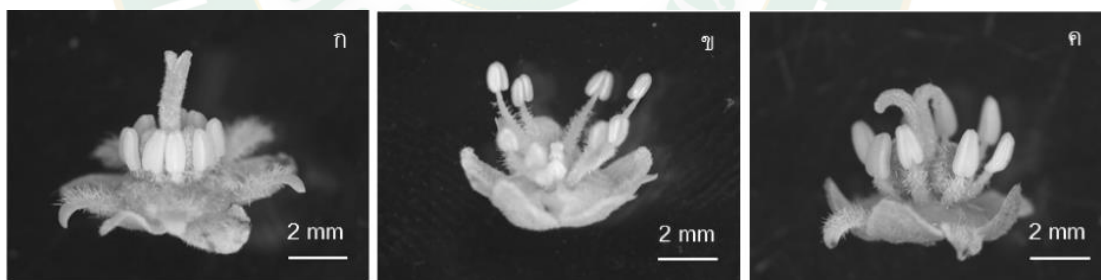
ใบ

ใบลำไยประกอบด้วยใบย่อยอยู่บนก้านใบรวม (pinnately compound leaves) รูปร่างใบเป็นรูปรีหรือรูปหอก ส่วนปลายใบและฐานใบค่อนข้างป้าน ขอบใบเรียบไม่หยักมีคลื่นเล็กน้อยและเห็นเส้นใบแขนง ด้านบนใบมีสีเขียวเข้มกว่าด้านล่าง ผิวด้านบนเรียบและมันมากกว่าหลังใบ (พาวิน, 2543)

ดอก

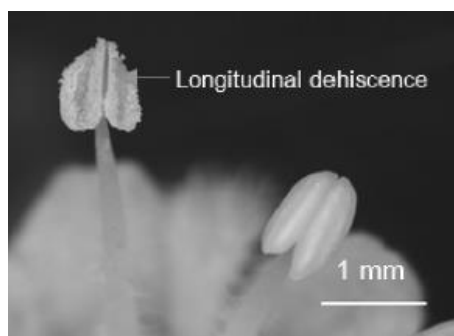
ช่อดอก (Inflorescens) ลำไยเป็นช่อดอกแบบแยกแขนง ดอกด้านล่างจะบานก่อนดอกที่อยู่ด้านบนทำให้ช่อดอกบานไม่พร้อมกัน

ชนิดของดอกลำไยประกอบด้วย 3 ชนิดคือ ดอกเพศเมีย (pistillate flower) ดอกเพศผู้ (staminate flower) และดอกสมบูรณ์เพศ (perfect flower) ดังภาพที่ 1 ทั้งสามดอกนั้นมีลักษณะคล้ายคลึงกัน คือ มีกลีบเลี้ยงจำนวน 5 กลีบ ลักษณะของกลีบเลี้ยงมีขนปกคลุม กลีบดอกมี 5 กลีบ สีขาวชุ่นมีขนาดเล็กกว่ากลีบเลี้ยง

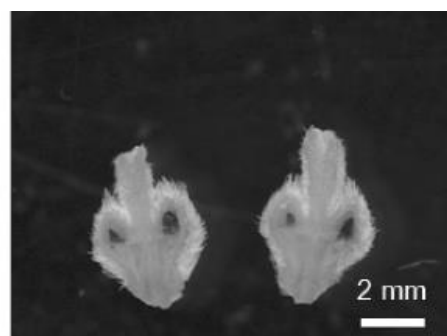


ภาพที่ 1 ลักษณะของดอกลำไย ดอกเพศเมีย (ก) ดอกเพศผู้ (ข) ดอกสมบูรณ์เพศ (ค) (สเกล=2 มิลลิเมตร) (วัชรินทร์ และคณะ, 2559)

ดอกลำไยมีขนาดเส้นผ่าน ศูนย์กลาง 6.4 มิลลิเมตร และพบว่า 1 ดอกมีจำนวนเกสรเพศผู้จำนวน 8 อัน อับละอองเรณู 8 อับมีสีขาวยาวชุ่นภายในมีอับละอองเรณู (pollen) เมื่อเจริญเต็มที่ผนังกันระหว่างโพรงแต่ละอันมีการแตกตามความยาวของอับละอองเรณู ดังภาพที่ 2 ในดอกเพศผู้มียอดเกสรเพศเมียและรังไข่ฝอดังภาพที่ 3 ส่วนปลายยอดเกสรเพศเมียแยกออกจากกัน ก้านชูเกสรเพศผู้มี ความยาวมากที่สุด 2.4 เซนติเมตร (วัชรินทร์ และคณะ, 2559)



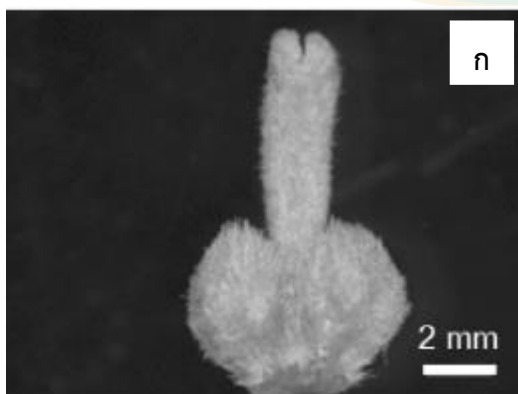
ภาพที่ 2 ลักษณะการแตกของอับ
ละอองเรณู (สเกล = 1 มิลลิเมตร)



ภาพที่ 3 ลักษณะรังไข่ที่ไม่พัฒนาของ
ดอกเพศผู้ (สเกล = 1 มิลลิเมตร)

ส่วนดอกเพศเมียมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.7 มิลลิเมตร อับละอองเรณูสีขาวขุ่น ไม่มีก้านชู อับละอองเรณูเรียงตัวรอบบริเวณรังไข่มีจำนวน 8 ละอองเรณู นอกจากนี้ยังพบว่าอับละอองเรณูไม่สามารถสร้างละอองเรณู (pollen grain) คือการเป็นหมันเมื่อรังไข่ได้ปฏิสนธิอับละอองเรณูจะแห้งและหลุดร่วง ในหนึ่งดอกแบ่งเป็น 3 ส่วนคือ รังไข่ ก้านชูเกสรเพศเมีย และยอดเกสรเพศเมียเมื่อมีการปฏิสนธิแล้วจะแยกเป็น 2 แฉกเพื่อรับละอองเรณู ก้านชูเกสรเพศเมียมีความยาวที่สุด 10.4 มิลลิเมตร ดังภาพที่ 4ก รังไข่มีลักษณะเป็นกระเปาะประกอบด้วย 2 พู แต่ละพูจะมีช่องและออวุลอยู่ภายในดังภาพที่ 4ข บริเวณด้านนอกมีขนปกคลุม ยอดเกสรเพศเมียจะบานเต็มที่พร้อมสำหรับการปฏิสนธิ

ดอกสมบูรณ์เพศเป็นดอกที่มีทั้งเกสรเพศผู้และเกสรเพศเมียอยู่ในดอกเดียวกัน มีขนาดรังไข่เล็ก และมียอดสั้นกว่าดอกเพศเมีย ก้านชูอับละอองมีความยาวไม่สม่ำเสมอระหว่าง 1.5-3.0 มิลลิเมตร สามารถติดผลได้แต่โดยทั่วไปจะพบในลำไยน้อยมาก อาจพบเพียง 1-2 ดอกต่อข้อ (วัชรินทร์ และคณะ, 2559)



ภาพที่ 4 ลักษณะองค์ประกอบต่างๆ ของเพศเมียและการเปิดของปลายยอดเกสรตัวเมียพันธุ์ดอ
รังไข่ (ก) (วัชรินทร์ และคณะ, 2559)

การบานของดอกและการผสมเกสร

ระยะเวลาที่เริ่มเห็นช่อดอกจนถึงดอกเริ่มบานประมาณ 3-4 สัปดาห์ ลักษณะการบานของดอกจะบานจากโคนช่อไปปลายช่อในระยะแรกของการบานของดอก ดอกเพศผู้จะบานมากกว่าดอกเพศเมียใช้เวลาบานประมาณ 1-1.5 เดือน โดยดอกจะบานอยู่สองแบบ แบบที่หนึ่งดอกเพศผู้จะบานก่อนโดยบานตั้งแต่ดอกแรกถึงดอกสุดท้ายระยะเวลา 25-28 วัน ดอกเพศเมียจะบานหลังดอกเพศผู้เริ่มบาน 14 วัน ใช้ระยะเวลาการบาน 5-7 วัน แบบที่สองดอกเพศเมียจะบานก่อนสองช่วงแต่ละช่วงใช้นะยาการบาน 4-7 วัน หลังจากดอกชุดแรกบาน 4-6 วัน ดอกเพศผู้เริ่มบานอย่างต่อเนื่อง 15-24 วัน ดอกเพศเมียที่บานเต็มที่จะมีลักษณะพร้อมรับละอองเรณู (พาวิน และคณะ, 2547)

การติดผล

สำหรับลำไยใช้เวลาออกดอกถึงผลแก่ประมาณ 6-7 เดือน ในปีที่มีลำไยผลตกอาหารที่สะสมจะถูกใช้ไปในปริมาณมากและลำไยมีเวลาพักฟื้นกับสะสมอาหารสำหรับการติดผลในปีถัดมานั้นลำไยจะออกดอกติดผลน้อย ดังนั้นควรปลิดช่อดอกออกประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ และหลังการติดผลปลิดออก 10 เปอร์เซ็นต์ (พาวิน และคณะ, 2547)

หลังดอกบานได้ประมาณ 2 สัปดาห์จะเกิดการติดผล ดอกเพศเมียจะมีการเหี่ยวของกลีบดอกในระยะ 3-4 วัน หลังจากการถ่ายละอองเรณู ปัจจัยในการติดผลมากหรือน้อยนั้นมิตั้งนี้

1. ความสมบูรณ์ของต้นพืชหากต้นไม่สมบูรณ์การติดผลจะลดลง เพราะการติดผลต้องอาศัยสารอาหารเป็นจำนวนมาก หากอาหารภายในต้นไม่เพียงพอจะทำให้เกิดการแย่งอาหารกัน การหลุดร่วงของผลจึงมีสูง ดังนั้นจำเป็นต้องเตรียมความพร้อมก่อนการออกดอกเสมอ (รวี, 2540)

2. เพศและสัดส่วนของเพศดอก การที่ดอกจะเจริญเป็นผลได้ดอกเพศเมียและดอกเพศผู้ต้องเกิดการปฏิสนธิ สัดส่วนเพศดอกที่เหมาะสมถ้าจำนวนดอกเพศเมียในช่อมากโอกาสติดผลก็มีมากตามด้วย จำนวนเพศดอกทั้งสองอาจผันแปรตามสภาพต้นและสภาพแวดล้อม (พาวิน และคณะ, 2547)

3. ลำดับการบานของดอก ถ้าดอกเพศเมียบานก่อนโดยไม่มีดอกเพศผู้จากช่ออื่นภายในต้นหรือจากต้นอื่นที่บานดอกเพศเมียจะร่วงหล่นทั้งหมดเนื่องไม่มีการปฏิสนธิแต่ถ้ามีดอกเพศผู้บานและมีแมลงช่วยผสมทำให้ดอกเพศเมียบานก่อน 2 รุ่นและเกิดการติดผลอยู่ใน 2 รุ่นช่อเดียวกัน (พาวิน และคณะ, 2547)

4. แมลงผสมเกสร โดยธรรมชาติจะเกิดการผสมได้ 2 กรณี คือผสมข้ามดอกภายในต้นเดียวกันหรือผสมข้ามดอกและข้ามต้น การผสมทั้งสองกรณีจะสมบูรณ์ก็ต่อเมื่ออาศัยแมลงเป็นตัวผสม ส่วนลมและแรงดึงดูดโลกนั้นอาจมีบทบาทอยู่บ้างแต่ค่อนข้างน้อย (วัฒนา, 2511) การนำผึ้งพันธุ์ *Apis mellifera* L. เข้ามาช่วยผสมในสวนลำไยอายุ 9 ปี ในระยะดอกบานเพื่อช่วยผสมเกสร พบว่าต้นลำไยติดผล 16.7 ผลต่อช่อ ส่วนต้นที่ไม่มีแมลงช่วยในการผสมเกสรติดผลเพียง 1.09 ผลต่อช่อ

(พิชัย และคณะ, 2536) สำหรับฝั้งในการผสมเกสรนั้นฝั้งจะดูดน้ำหวานจากเกสรเพศผู้ ละอองเรณูของดอกลำไยจะติดที่ขนบริเวณส่วนหัวและส่วนอกของฝั้งเมื่อฝั้งบินไปยังดอกเพศเมียละอองเกสรจะตกลงบนยอดเกสรตัวเมีย การถ่ายละอองเกสรจึงเกิดขึ้นดังนั้นจึงไม่ควรพ่นสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงในระยะที่ดอกลำไยบานเพราะจะเป็นอันตรายต่อฝั้งและแมลงชนิดอื่นๆ ที่ทำหน้าที่ช่วยในการผสมเกสรให้กับลำไย (พาวิณ และคณะ, 2547)

5. สภาพภูมิอากาศ เป็นตัวแปรสำคัญต่อการติดผลลำไยแต่ถ้าเกิดความแปรปรวนของสภาพอากาศส่งผลให้ลำไยมีการเจริญเติบโตผิดปกติ เช่น การแตกใบอ่อนที่ช้าลงเนื่องจากการขาดน้ำ ฝนไม่ตกตามฤดูกาล อากาศหนาวช้าและช่วงอากาศหนาวน้อยเกินไป (วินัย, 2559) อิทธิพลของสภาพภูมิอากาศที่มีผลต่อการติดผลของลำไยมีดังนี้

5.1 อุณหภูมิ ในขณะที่ดอกกำลังพัฒนาและดอกกำลังบานอุณหภูมิของอากาศจะต้องไม่สูงหรือต่ำเกินไป ซึ่งมีผลต่อเกสรเพศผู้และเกสรเพศเมีย (รวิ, 2540) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการงอกของละอองเกสรอยู่ในระหว่าง 25-30 องศาเซลเซียส แต่ถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส การงอกของละอองเรณูจะลดลง

5.2 ฝน หากฝนตกในขณะที่ดอกลำไยบานฝนจะไปชะล้างน้ำ ที่เป็นอาหารของละอองเกสรเพศเมีย ในขณะที่ถ่ายละอองเกสรทำให้ละอองเกสรไม่สามารถเกาะติด ยังส่งผลให้ดอกลำไยร่วงและการผสมเกสรลดลง ในสภาวะที่มีความชื้นสัมพัทธ์สูงทำให้การปล่อยละอองเรณูช้ากว่าปกติได้ เช่นเดียวกันหากมีความชื้นสัมพัทธ์สูงตลอดทั้งวันอาจจะไม่มีการปลดปล่อยละอองเรณูและในทางตรงกันข้ามถ้าความชื้นสัมพัทธ์ต่ำหรือแห้งมากทำให้ดอกสูญเสียน้ำ ยอดเกสรแห้งและมีโอกาสหลุดร่วง (พาวิณ และคณะ, 2547)

5.4 แสง ต้นลำไยใช้แสงในการสังเคราะห์ด้วยแสงจึงต้องการแสงตลอดเวลา ดังนั้นการปลูกลำไยควรปลูกในที่โล่งแจ้งถ้าหากอยู่ในที่ที่บดบังแสงน้อยจะส่งผลให้ลำไยแทงช่อดอกได้น้อยและให้ผลผลิตน้อย นอกจากนี้แสงยังมีความสัมพันธ์กับความชื้นสัมพัทธ์หากมีแสงแดดอุณหภูมิจะสูงมากในทางตรงกันข้ามความชื้นสัมพัทธ์จะลดลง

6. โรคและแมลงศัตรู ลำไยที่เป็นโรคพุ่มไม้กวาดจะติดผลได้น้อยกว่าปกติ คือช่อดอกหนึ่งช่ออาจให้ผลผลิตเพียง 4-5 ผลต่อช่อ ในระยะการออกดอกและดอกบานถ้าเกิดการระบาดของเชื้อรามีผลทำให้ดอกลำไยร่วงได้ ส่วนแมลงศัตรูที่พบ เช่น เพลี้ยไฟ หนอนคืบ หนอนกินดอกลำไย หนอนม้วนใบ เพลี้ยหอยและมวนลำไยจะระบาดในช่วงลำไยแทงช่อดอกถ้ามีการระบาดมากๆ ก็จะมีผลทำให้ลำไยติดผลน้อยลง (พาวิณ และคณะ, 2547)

7. การดูแลรักษา ในช่วงที่ลำไยออกดอกควรให้น้ำและปุ๋ยอย่างพอเพียง ถ้าลำไยขาดน้ำและปุ๋ยเป็นสาเหตุทำให้การติดผลน้อย นอกจากนี้น้ำช่วยในการละลายธาตุอาหารให้พืชนำไปใช้ประโยชน์ได้ และช่วยทำให้พืชมีการติดผลโดยสมบูรณ์ (พาวิณ และคณะ, 2547)

การพัฒนาของผลลำไย

การเติบโตของผลลำไยสำหรับพันธุ์อู๋อู๋ใช้เวลาประมาณ 21 สัปดาห์ หลังการติดผล จึงจะโตเต็มที่ (ดาวเรือง, 2530) การเติบโตของผลลำไยแบ่งออกเป็น 3 ระยะดังนี้

ระยะที่ 1 ตั้งแต่สัปดาห์ที่เริ่มติดผลถึงสัปดาห์ที่ 10 ระยะนี้เป็นการพัฒนาของเปลือกและเมล็ด เมื่ออายุผลประมาณ 6 สัปดาห์มีการเจริญเติบโตช้าๆ

ระยะที่ 2 สัปดาห์ที่ 10-21 หลังการติดผลในระยะผลลำไยมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะเนื้อของผลจะเจริญเติบโตในสัปดาห์ที่ 8-14 หลังจากนั้นเมล็ดจะมีขนาดโตเกือบเต็มที่

ระยะที่ 3 สัปดาห์ที่ 21 เป็นต้นไปจะเป็นช่วงระยะที่มีการเจริญเติบโตของผลช้าลงเพราะเนื้อและเมล็ดลำไยมีการเจริญเติบโตเกือบคงที่ (พาวิน และคณะ, 2547)

ขนาดของผล

โดยทั่วไปขนาดของผลอยู่ในช่วง 2.4-3.5 เซนติเมตร (ขนาดผลขึ้นอยู่กับสายพันธุ์) น้ำหนักผล 10-20 กรัมต่อผล

การแตกของผล

ผลแตกหรือ fruit cracking เกิดจากการขยายตัวของเนื้อกับเปลือกที่มีการเจริญเติบโตไม่สมดุลกัน ในส่วนของเนื้อผลเป็นเซลล์อ่อนนุ่มมีความยืดหยุ่นได้มาก ขณะที่เปลือกมีความยืดหยุ่นต่ำกว่าส่วนเนื้อถ้าเปลือกมีการพัฒนาที่ไม่ดีการขยายเพื่อรองรับเนื้อไม่ได้จึงเกิดการดันและเปลือกแตก สำหรับการแตกของผลเกิดขึ้นได้กับต้นที่มีผลดก ผิวเปลือกบาง สาเหตุเกิดจากการขาดน้ำ แร่ธาตุอาหารในระยะเริ่มการพัฒนาของเปลือกส่งผลให้เปลือกผลพัฒนาไม่ดีเมื่อถึงระยะการสร้างเนื้อผลจึงเกิดแรงดันขึ้น เมื่อเปลือกขยายไม่ทันจึงเกิดอาการแตกของผล การแตกของผลมักจะเกิดระยะที่ผลลำไยใกล้เก็บเกี่ยวการป้องกันควรให้น้ำอย่างสม่ำเสมอตั้งแต่ระยะออกดอกจนกระทั่งเก็บเกี่ยว (พาวิน และคณะ, 2547)

ธาตุอาหารพืช

ธาตุอาหารมีบทบาทในกระบวนการเมแทบอลิซึม เมื่อพืชขาดธาตุอาหารจะเกิดการชะงักการเจริญเติบโตของพืชได้ ธาตุอาหารพืชที่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืชพิจารณาได้ดังนี้

1. ถ้าพืชขาดธาตุอาหารแล้วจะแสดงอาการผิดปกติ
2. ธาตุอาหารมีหน้าที่เฉพาะเจาะจง ไม่สามารถทดแทนกันได้
3. ธาตุอาหารเกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึม เป็นองค์ประกอบของเอนไซม์ หรือเป็นส่วนประกอบในเมแทบอลิซึม (ศุภลักษณ์, 2549)

การที่พืชจะนำไปใช้ประโยชน์ได้นั้นต้องอยู่ในรูปที่พืชใช้ประโยชน์ได้คือ ต้องมีโครงสร้างโมเลกุลที่สามารถแตกตัวเป็นอนุพลหรือไอออนละลายน้ำได้พร้อมให้พืชนำไปใช้ได้ทันที ส่วนรูปแบบธาตุอาหารที่พืชใช้ประโยชน์ไม่ได้ต้องผ่านการย่อยสลายให้มีขนาดเล็กเมื่อพืชดูดธาตุเข้าไปแล้วพืชจะเปลี่ยนเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่จำเป็นต่อพืชแต่บางส่วนยังคงอยู่ในรูปไอออนอิสระในเซลล์พืชเพื่อกระตุ้นเอนไซม์ เช่น โฟสเฟตเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม แมงกานีส สังกะสี ทองแดง และคลอรีน บางธาตุเป็นตัวควบคุมความสมดุลในเซลล์พืช เช่น โฟสเฟตเซียมและคลอรีน (ศุภลักษณ์, 2549)

การจำแนกธาตุอาหารพืช

ธาตุอาหารพืชจำแนกได้หลายวิธีเช่น ปริมาณที่พืชใช้ บทบาทของธาตุอาหารในเมแทบอลิซึม และความเหมาะสมในด้านนิเวศวิทยา

ธาตุอาหารพืชแบ่งได้เป็น 2 จำพวกตามปริมาณที่พืชต้องการคือ ธาตุอาหารมหัพภาค (macronutrient element) และธาตุอาหารจุลภาค (micronutrient element)

ธาตุอาหารมหัพภาคหรือธาตุอาหารหลัก เป็นธาตุที่พืชต้องการในปริมาณมากได้แก่ คาร์บอน (C), ไฮโดรเจน (H), และออกซิเจน (O), ไนโตรเจน (N), ฟอสฟอรัส (P), โพแทสเซียม (K), แคลเซียม (Ca), แมกนีเซียม (Mg) และกำมะถัน (S)

ธาตุอาหารจุลภาคหรือธาตุอาหารรอง เป็นธาตุที่พืชต้องการในปริมาณน้อยแต่มีประโยชน์ต่อพืชได้แก่ โบรอน (B), คลอรีน (Cl), ทองแดง (Cu), เหล็ก (Fe), แมงกานีส (Mn), โมลิบดีนัม (Mo) และสังกะสี (Zn) (ยงยุทธ, 2546)

หน้าที่ของธาตุอาหารหลัก

คาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน เป็นองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรต ไขมัน และสารประกอบอินทรีย์อื่นๆเป็นองค์ประกอบของกลุ่มคาร์บอกซิลิกทำปฏิกิริยาในกระบวนการชีวเคมีพื้นฐานทั้งภายในพืช

ธาตุไนโตรเจน พืชมีธาตุไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบอยู่ 2-5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง จะอยู่ในคลอโรพลาสต์ของพืชในลักษณะเป็นองค์ประกอบของกรดอะมิโน โปรตีน กรดนิวคลีอิก และเอนไซม์ต่างๆ การดูดใช้ธาตุไนโตรเจนในรูปไนเตรตไอออน (NO_3^-) และแอมโมเนียมไอออน (NH_4^+) โดยปกติพืชจะดูดไนเตรตมากกว่าแอมโมเนียม สำหรับยูเรียพืชจะดูดไนโตรเจนโดยตรงแต่สารนี้มีอยู่ในธรรมชาติน้อยพืชดูดใช้มากเฉพาะในกรณีที่มีการใส่ปุ๋ยยูเรียสังเคราะห์เท่านั้น

อาการขาดไนโตรเจน แสดงอาการที่ใบอ่อนมีสีเหลืองไม่สม่ำเสมอทั้งเนื้อใบและเส้นใบ

ธาตุอาหารฟอสฟอรัส พืชมีฟอสฟอรัสอยู่ประมาณ 0.3-0.5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง พืชจะดูดในรูปของไฮโดรเจนฟอสเฟตไอออน (H_2PO_4^-) เป็นส่วนใหญ่ ถ้าการเผาผลาญคาร์โบไฮเดรตมาก

พืชจะดูดฟอสฟอรัสมากขึ้น การเคลื่อนย้ายเกิดขึ้นทั้งในท่อน้ำและท่ออาหารส่วนใหญ่จะเคลื่อนไปที่ใบอ่อนเพื่อสร้างสารประกอบอินทรีย์ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต (ศุกลักษณ์, 2549)

อาการขาดฟอสฟอรัส มีการเปลี่ยนแปลงอยู่ 2 ประการคือ ใบขยายช้าลงและจำนวนใบน้อยลงสาเหตุเพราะชั้นผิวไม่ค่อยขยายตัวเมื่อฟอสฟอรัสที่ผิวใบต่ำและการดูดน้ำของรากลดลง แต่ปริมาณและคลอโรฟิลล์ต่อหน่วยพื้นที่ใบลดลงเพียงเท่านั้นจึงทำให้ใบมีสีเขียวเข้มแต่อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงลดลง (ยงยุทธ, 2546) การขาดฟอสฟอรัสทำให้คาร์โบไฮเดรตลงมาอยู่ที่รากด้วยเหตุนี้รากพืชที่ขาดฟอสฟอรัสยังสามารถยึดหนึดตัวได้ในขณะที่ส่วนเหนือดินชะงักการเจริญเติบโตแล้วแสดงว่าพืชรักษาสภาพให้รากมีความสามารถหาธาตุอาหารที่ขาดแคลนมาเพิ่มเติม (Smith *et al.*, 1990) และการขาดธาตุนี้ยังส่งผลกระทบต่ออาการเจริญพันธุ์เช่น ออกดอกช้า จำนวนผลและเมล็ดน้อยลง (Barry *et al.*, 1989)

ธาตุอาหารโพแทสเซียม พืชต้องการในปริมาณมาก ไม่มีองค์ประกอบของอินทรีย์โมเลกุลใหญ่ในพืชจึงอยู่ในเซลล์พืชในรูปไอออนอิสระ (K^+) ที่ละลายน้ำได้เคลื่อนย้ายในต้นพืชได้ดีจะเคลื่อนย้ายจากใบแก่ไปยังเนื้อเยื่อเจริญ และอยู่ในท่ออาหารถึง 80 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณไอออนบวกในท่ออาหารและช่วยกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ในกระบวนการสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรตและการหายใจ ควบคุมการเปิด-ปิดของปากใบ ควบคุมการเต่งของเซลล์ (ศุกลักษณ์, 2549)

อาการขาดธาตุโพแทสเซียม พืชจะเหี่ยวเฉาเมื่อความชื้นในดินที่มีอยู่จำกัดจึงไม่มีความต้านทานต่อการขาดน้ำเหมือนพืชที่มีโพแทสเซียมเพียงพอ พืชที่ขาดธาตุนี้มักเป็นโรคง่ายเนื่องจาก การเปลี่ยนแปลงการทำงานของเอนไซม์และปริมาณอินทรีย์สารมีผลทำให้พืชนั้นอ่อนต่อเชื้อโรค (Marschner, 1995)

ธาตุอาหารแคลเซียม เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์พืช ทำให้เนื้อเยื่อพืชและต้นพืชคงความแข็งแรง ซึ่งพืชใบเลี้ยงคู่ต้องการแคลเซียมมากกว่าพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและถูกควบคุมโดยพันธุกรรม การดูดซึมแคลเซียมเกิดบริเวณปลายรากเท่านั้นทำให้มีความสัมพันธ์กับอัตราการคายน้ำส่งผลให้ถ้าพืชดูดมีการคายน้ำน้อยการดูดซึมรากก็น้อยลงด้วย การที่ทำให้การเจริญของรากหยุดการชะงัก เช่น การระบายน้ำได้ไม่ดี อุณหภูมิต่ำ เป็นต้น พืชจะดูดแคลเซียมผ่านท่ออาหารไปยังส่วนต่างๆของพืช (ศุกลักษณ์, 2549)

อาการขาดธาตุแคลเซียม พืชที่ขาดจะแสดงอาการที่บริเวณเนื้อเยื่อที่กำลังเจริญเติบโตมีทั้งปลายราก ยอด ตา และช่อดอก โดยจะแสดงอาการแห้งตายเป็นสีดำอาการที่พบบ่อยคืออาการก้นดำของผลมะเขือเทศและพริกหวาน อาการยอดดำในผักกาดหอมและยอดอ่อนที่แห้งตายรากสั้นหา ออกดอกน้อยในพืชตระกูลถั่ว (ศุกลักษณ์, 2549)

ธาตุอาหารแมกนีเซียม ส่วนมากอยู่ในหินและแร่เมื่อสลายตัวจะปลดปล่อยแมกนีเซียมออกมา นอกจากนี้ยังมีแมกนีเซียมอยู่ในรูปแบบของไอออนอิสระในสารละลายดินซึ่งมีจำนวนน้อยกว่ามากเมื่อเทียบกับในรูปแคตไอออนแลกเปลี่ยนได้ แมกนีเซียมที่อยู่ในดินมี 3 รูปคือ

1. แมกนีเซียมไอออนในสารละลายดิน
2. แมกนีเซียมแลกเปลี่ยนได้ซึ่งดูดซับอยู่กับผิวคอลลอยด์ดิน พืชสามารถนำไปใช้ได้ทั้งสองรูปนี้เป็นประโยชน์ได้ง่าย
3. เป็นองค์ประกอบของเกลือและแร่ธาตุในดินการปลดปล่อยแมกนีเซียมขึ้นอยู่กับสภาพละลายได้ของเกลือกับความยากง่ายของสลายของแร่ ความเป็นกรด-ด่างของดินมีอิทธิพลต่อความเป็นประโยชน์ในดินมาก ไม่ว่าจะเป็นกลางหรือด่างการดูดแมกนีเซียมของพืชมีปฏิสัมพันธ์กับ K^+ , NH_4^+ , Ca^{2+} , Mn^{2+} และ H^+ หากในดินมีความเข้มข้นสูงจะทำให้อัตราการดูดแมกนีเซียมลดลง (ยงยุทธ, 2546)

อาการขาดแมกนีเซียม จะแสดงอาการที่ใบแก่ก่อนเนื้อใบสีเหลืองแต่เส้นใบยังสีเขียว และฐานใบยังคงสีเขียวเป็นรูปสามเหลี่ยมจากนั้นใบจะร่วง (ศุกลักษณ์, 2549) หากพืชขาดแมกนีเซียมในช่วงแรกๆ และได้รับการแก้ไขอาจไม่ทำให้ผลผลิตลดลงแต่ใบพืชที่มีการขาดจะมีการสะสมแป้งมากขึ้นทำให้การสังเคราะห์ด้วยแสงมีน้อยกว่าเมื่อเทียบกับการย่อยแป้งในคลอโรพลาสต์ (ยงยุทธ, 2546)

ธาตุอาหารกำมะถัน อยู่ในรูปของซัลเฟตไอออน (SO_4^{2-}) แล้วลำเลียงขึ้นส่วนบนของพืช เป็นส่วนประกอบของกรดอะมิโนคือ ซิสเทอีนและเมไทโอนีนมีความจำเป็นต่อการสังเคราะห์โปรตีน และส่วนประกอบของโคเอนไซม์เอ็มบีทบาทในการเคลื่อนย้ายหมู่เอซิล ธาตุกำมะถันยังเป็นส่วนประกอบของน้ำมันหอมระเหยพบในกระเทียม หอม กุยช่าย เป็นต้น มีองค์ประกอบของกำมะถันอยู่ถึง 80 เปอร์เซ็นต์ ยังมีบทบาทในการสังเคราะห์ด้วยแสง (ศุกลักษณ์, 2549)

อาการขาดธาตุกำมะถัน พืชที่ขาดมีการเปลี่ยนแปลงด้านเมแทบอลิซึมดังนี้ กระบวนการสังเคราะห์โปรตีนถูกยับยั้งมีการสะสมสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจนที่ละลายได้ในสัดส่วนที่มาก และมีการสะสมไนเตรตเมื่อเพิ่มปุ๋ยซัลเฟตแก่พืชที่ขาดธาตุกำมะถัน พบว่าปริมาณซัลเฟตในเนื้อเยื่อเพิ่มขึ้นและการสังเคราะห์โปรตีนได้น้อยลงจึงส่งผลต่อคลอโรฟิลล์ในใบอาการที่ปรากฏคือใบแก่และใบอ่อนจะเหลือง (Freney *et al.*, 1978)

หน้าที่ของธาตุอาหารรอง

ธาตุอาหารรอง เป็นกลุ่มธาตุที่พืชมีความต้องการน้อยแต่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืช หากขาดแคลนธาตุใดธาตุหนึ่งพืชอาจชะงักการเจริญเติบโตได้

ธาตุอาหารคลอรีน มีมากในธรรมชาติทั้งในดิน น้ำ และอากาศ คลอรีนละลายได้ง่ายในน้ำฝนที่ตกลงมาในแต่ละช่วงฤดูฝนคลอรีนในดินมีปริมาณสูงกว่าความต้องการพืช พืชสามารถดูดใช้ได้

อย่างรวดเร็วในปริมาณมากจึงพบอาการเป็นพิษมากกว่าอาการขาดธาตุคลอรีนต่อการสังเคราะห์ด้วยแสงการสะสมคลอรีนพบในคลอโรพลาสต์มากกว่า คลอรีนช่วยในเมแทบอลิซึมในสภาพออกซิไดส์ที่เหมาะสมต่อการปลดปล่อยออกซิเจนในปฏิกิริยาฮิลล์ของระบบแสง II คลอรีนต่อการเปิดปิดปากใบแม้ว่าธาตุโพแทสเซียมมีบทบาทหลักแต่พืชก็ต้องการคลอรีนมาช่วยควบคุมไอออนในเซลล์พืชเพื่อให้มีความสมดุลของปากใบ (ศุภลักษณ์, 2549)

อาการขาดธาตุคลอรีน พืชจะเหี่ยวง่าย ใบมีสีซีด และมีบางส่วนแห้งตาย พืชที่ปลูกในดินปูนจะไม่แสดงอาการขาดอย่างชัดเจน แต่ถ้าเพิ่มคลอรีนจะช่วยให้การเจริญเติบโตดีขึ้นตามลำดับจนมีธาตุนี้ในเนื้อเยื่อไม่เกิน 10 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (Singh *et al.*, 1990)

ธาตุอาหารทองแดง เป็นส่วนประกอบของโปรตีนพลาสโตไซยานินทำหน้าที่เคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนจากระบบแสง II ไปยังระบบแสง I โดยในคลอโรพลาสต์มีทองแดงอยู่ 50 เปอร์เซ็นต์ และเป็นองค์ประกอบของเอนไซม์ยังมีบทบาทในเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต บทบาทในการสร้างลิกนินเพราะทองแดงเป็นองค์ประกอบของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสมีหน้าที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารฟีนอลเป็นสารตั้งต้น (ศุภลักษณ์, 2549)

อาการขาดธาตุทองแดง ที่ชัดเจนในพืชยืนต้นคือ ต้นแกรีน ใบอ่อนบิดเบี้ยว เยื่อเจริญที่ยอดตาย ใบอ่อนสีซีดเหลืองและปลายกิ่งแห้งแล้วลูกกลมใบที่โคนกิ่ง (Robson *et al.*, 1981) อาการที่อาจพบได้คือใบอ่อนเหี่ยวเพราะท่อน้ำ (xylem) มีลิกนินไม่เพียงพอจึงทำให้การลำเลียงน้ำไปยังส่วนอื่นๆ ได้น้อยและไม่เพียงพอหรือผนังเซลล์ของใบอ่อนนั้นไม่แข็งแรงเนื่องจากการสะสมแคลเซียม น้อย เมื่อพืชขาดทองแดงทำให้การเคลื่อนย้ายแคลเซียมไปยังใบอ่อนน้อยลงมีผลต่อการสร้างผนังเซลล์ไม่สมบูรณ์ (Brown, 1979)

ธาตุเหล็ก พืชดูดใช้ในรูปของเฟอร์รัสไอออน (Fe^{2+}) หรือคีเลตเป็นส่วนใหญ่ การดูดธาตุเหล็กจะแข่งขันแมงกานีส ทองแดง แคลเซียม แมกนีเซียม โพแทสเซียม และสังกะสี ทำให้พืชมีการขาดธาตุเหล็กแม้ว่าปริมาณเหล็กในดินเพียงพอแล้ว ธาตุนี้เคลื่อนย้ายในท่ออาหารได้น้อยหน้าที่สำคัญคือเป็นส่วนประกอบของคลอโรพลาสต์ โปรตีนและเป็นส่วนประกอบของเอนไซม์หลายชนิด

อาการขาดธาตุเหล็ก ใบพืชจะมีการเหลืองซีดและมีขนาดเล็กหยุดการพัฒนาคลอโรพลาสต์ จะแสดงอาการที่ใบอ่อนก่อนถ้าการขาดธาตุรุนแรงใบที่เกิดใหม่อาจเป็นสีขาว มักพบในดินด่างหรือดินที่มีฟอสฟอรัสสูง (ศุภลักษณ์, 2549)

ธาตุแมงกานีส มีสารละลายในรูปของแมงกานีสไอออน (Mn^{+2}) มีบทบาทสำคัญในการเคลื่อนย้ายในท่ออาหาร และเป็นส่วนประกอบของแมงกานีสโปรตีนในระบบแสง II ของกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง แมงกานีสยังช่วยป้องกันคลอโรพลาสต์จากพิษได้

อาการขาดธาตุแมงกานีส จะแสดงที่ใบอ่อนก่อนใบจะซีดเหลืองระหว่างเส้นใบ เนื้อใบเป็นจุด พบได้ในดินทราย ดินด่าง อาการจะแสดงรุนแรงในอากาศแห้งและเย็น (ศุภลักษณ์, 2549)

ธาตุอาหารโมลิบดีนัม เป็นสารเร่งปฏิกิริยาในการเปลี่ยนไนเตรทเป็นไนไตรท์ซึ่งมีความจำเป็นในพืชบางชนิด พืชตระกูลถั่วที่อยู่ร่วมกับแบคทีเรียไม่สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศมาใช้ได้ ในเมื่อขาดโมลิบดีนัม นอกจากนั้นยังมีความสำคัญในการสร้างโปรตีนบทบาทและหน้าที่ของธาตุโมลิบดีนัมในพืชนั้น จึงทำให้การทำงานของธาตุไนโตรเจนในพืชสมบูรณ์ขึ้นนอกจากนี้ยังจำเป็นสำหรับกระบวนการสร้างสารสีเขียวและน้ำย่อยภายในพืชบางชนิดด้วย

อาการขาดธาตุโมลิบดีนัม จะแสดงอาการที่ใบแก่ก่อนเนื่องจากเคลื่อนย้ายในต้นพืชได้ปานกลาง ใบแสดงอาการเหลืองสม่ำเสมอทั้งเนื้อใบและเส้นใบคล้ายอาการขาดธาตุไนโตรเจนแต่การขาดโมลิบดีนัมจะเกิดการตายของเนื้อเยื่อตามขอบใบ (ศุกลักษณ์, 2549)

ธาตุโบรอน เป็นธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตของพืช โดยพืชต้องการในปริมาณที่น้อยมากและมีความแตกต่างกันออกไปตามชนิดพืช

หน้าที่ของโบรอนในพืช โบรอนที่พืชดูดซึมขึ้นไปใช้ประโยชน์ในรูปของกรดบอริก (H_3BO_3) เป็นหลัก โบรอนเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นอย่างมากต่อการเจริญเติบโตของพืชทุกชนิดที่มีท่อลำเลียงอาหาร (vascular plants) ส่วนพืชชั้นต่ำ เช่น เชื้อรา หรือสาหร่ายน้ำจืด ดูเหมือนว่าพืชเหล่านี้ไม่มีความต้องการโบรอน (Marschner, 1986) สำหรับกลุ่มธาตุอาหารพวกจุลธาตุซึ่งเป็นกลุ่มธาตุอาหารที่พืชต้องการในปริมาณน้อยต่อการเจริญเติบโตของพืชถ้ามีปริมาณมากเกินไปจะทำให้เกิดความเป็นพิษโดยมีช่วงความแตกต่างที่น้อยมากสำหรับโบรอนเป็นธาตุอาหารเพียงธาตุเดียวที่ให้ผลตอบสนองสูงมากเมื่อให้พืชในปริมาณที่น้อยแต่เมื่อใส่โบรอนในปริมาณที่สูงกว่าอัตราแนะนำแม้เพียงเล็กน้อยก็ตามโบรอนจะทำให้เกิดความเสียหายได้ (Davidescu et al., 1982)

ลักษณะการดูดโบรอนของรากพืช ไอออนที่เคลื่อนย้ายจากสารละลายดินหรือสารละลายอาหารเข้าสู่รากจะทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์กลุ่มที่มีประจุลบในผนังเซลล์ ถึงแม้ปฏิกิริยานี้อาจมีผลต่อการดูดไอออนเข้าไปสู่ภายในรากพืชแต่ลักษณะการดูดไอออนของรากพืชถูกกำหนดโดยเยื่อ membrane ที่ไอออนผ่านโดยเฉพาะเยื่อ plasma membrane คุณสมบัติเยื่อ membrane มีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลาแต่สมบัติทางเคมีและกายภาพของไอออนโดยเฉพาะขนาดและวาเลนซ์ของไอออนเป็นตัวกำหนดอัตราการถ่ายเทไอออนผ่านเยื่อ membrane องค์ประกอบของเยื่อ membrane โดยเฉพาะ phospho และ sulfolipids และโปรตีนมีส่วนที่เป็นกลุ่มที่มีประจุไฟฟ้า ไอออนจึงทำปฏิกิริยากับกลุ่มเหล่านี้ตามกฎโดยทั่วไปความรุนแรงของปฏิกิริยานี้เพิ่มขึ้นตามลำดับ (Marschner, 1986)

การดูดธาตุโบรอนของพืชสัมพันธ์กับ pH และความเข้มข้นของธาตุนี้ในสารละลายเมื่อพืชดูดแล้วก็เคลื่อนย้ายสู่ส่วนเหนือดินทางท่อน้ำ ต่อจากนั้นก็เคลื่อนย้ายทางท่ออาหารได้ด้วย

การศึกษาบทบาทของโบรอนมีความยุ่งยากกว่าธาตุอาหารจุลภาคอื่นๆ เนื่องจากธาตุนี้ไม่ได้เป็นองค์ประกอบในเอนไซม์ชนิดใดชนิดหนึ่งโดยเฉพาะข้อมูลที่ได้จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทาง

สรีระเมื่อพืชขาดโบรอน ความบกพร่องด้านสรีระและชีวเคมีที่พบคือ การสร้างเซลล์ การสังเคราะห์ ลิกนิน โครงสร้างเซลล์เมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต RNA IAA ฟีนอล วิตามินซี และการหายใจ ข้อมูลยังไม่ชัดเจนว่าเป็นผลทางอ้อมของธาตุนี้

อย่างไรก็ตามบทบาทที่เด่นชัดเจนของโบรอนมีสองด้านคือ การสังเคราะห์และสร้างความสมบูรณ์ให้ผนังเซลล์ อันเนื่องจากการสังเคราะห์สารเชิงซ้อนโบรอนกับสารเพกทิน และบูรณาภาพของเยื่อเกี่ยวข้องกับการรวมตัวของโบรอนกับไกลโคลิพิดในเยื่อ (Shelp, 1993)

ปริมาณโบรอนในพืชเป็นค่าที่บอกถึงปริมาณโบรอนที่พืชดูดขึ้นมาใช้ โดยทั่วไปปริมาณธาตุอาหารในพืชอาจบอกได้เป็น 2 รูปแบบคือ บอกเป็นความเข้มข้นของธาตุอาหารหรือบอกเป็นปริมาณธาตุอาหารที่พืชดูดขึ้นทั้งหมด ในกรณีหลังนี้เป็นปริมาณธาตุอาหารทั้งหมดที่พืชสามารถดูดขึ้นมาใช้แล้วเก็บไว้ในต้นพืชหากเป็นอย่างกรณีแรกความเข้มข้นของธาตุอาหารจะขึ้นกับน้ำหนักแห้ง ในทางปฏิบัติจึงนิยมบอกความเข้มข้นของธาตุอาหารในเนื้อเยื่อส่วนใดส่วนหนึ่งของพืช เมื่อได้ปริมาณโบรอนในพืชแล้วนำมาเปรียบเทียบกับค่าวิกฤติซึ่งค่าวิกฤติเป็นค่าปริมาณโบรอนในพืชหรือส่วนใดส่วนหนึ่งของพืชที่บอกสถานะภาพของโบรอนในพืชนั้นๆ (เพิ่มพูน, 2546)

บทบาทของโบรอนที่มีต่อการเจริญเติบโตของพืช

1. พืชดูดธาตุอาหารโบรอนในรูปแบบของกรดบอริกและในรูปของบอเรทไอออนผ่านทางระบบราก ผ่านทางท่อน้ำเช่นเดียวกับแคลเซียมไอออน
2. พืชต้องการโบรอนในปริมาณน้อยแต่ขาดไม่ได้เพราะพืชต้องการเจริญเติบโตและยังพบว่าโบรอนมีส่วนสำคัญในกระบวนการสร้างโปรตีน แป้ง กระบวนการหายใจของพืช และกระบวนการสร้างฮอร์โมนต่างๆ ของพืช
3. โบรอนมีส่วนสำคัญในการพัฒนาเซลล์ของพืช ถ้าขาดโบรอนเซลล์ของพืชจะไม่พัฒนา
4. โบรอนมีส่วนสำคัญในกระบวนการสร้างแป้งและน้ำตาล กระบวนการออกดอก กระบวนการเคลื่อนย้ายฮอร์โมนพืชต่างๆ ถ้าพืชขาดโบรอนจะทำให้ดอกและติดผลลดลง
5. โบรอนจะช่วยเคลื่อนย้ายแป้งและน้ำตาลจากใบไปสู่ผล ถ้าขาดโบรอนแป้งและน้ำตาลก็จะถูกสะสมมากไว้ที่ใบพืชจะทำให้ใบหนาและสีเขียวเข้ม
6. โบรอนมีส่วนสำคัญช่วยให้เซลล์ของพืชยาวขึ้น พืชที่ขาดโบรอนจะเกิดจุดขาวดำที่ใบและขอบใบจะเป็นสีน้ำตาลม้วนงอและแห้งตายในที่สุด
7. โบรอนช่วยในการสังเคราะห์ด้วยแสงเพื่อสร้างแป้งและน้ำตาล พืชที่ขาดโบรอนจะทำให้ผนังเซลล์ของท่ออาหารเปราะบางในหัวมันฝรั่ง ถ้าขาดโบรอนเวลาผ่าจะเกิดสีน้ำตาลที่เนื้อเร็วขึ้นซึ่งไม่เหมาะสำหรับกระบวนการอุตสาหกรรม (ในผลไม้บางชนิดก็แสดงอาการเช่นนี้) พืชที่ขาดโบรอน

จะทำให้กระบวนการสร้างกรดนิวคลีอิก (nucleic acid) ลดลง กรดนิวคลีอิกมีส่วนสำคัญในการพัฒนาเซลล์พืช

8. โบรอนช่วยเสริมสร้างวิตามินบี 1, วิตามินซี, ไบโอดีนและแคโรทีนในผลไม้ พืชต้องการโบรอนมากในช่วงออกดอกเพื่อสร้างความแข็งแรงของท่อเกสรดอก (pollen tube) และกระบวนการผสมเกสรของดอก (pollination)

9. โบรอนมีความสำคัญในการติดผล (fruit setting) ในพืชตระกูลถั่ว โบรอนมีความสำคัญในกระบวนการสะสมไนโตรเจน (nitrogen fixation) ในปมราก (nodule)

10. โบรอนช่วยให้พืชมีความทนทานต่อสภาพอากาศหนาวเย็น

อาการขาดธาตุโบรอนในพืช

ลักษณะการขาดธาตุอาหารของโบรอนที่พืชแสดงออกนั้น จะแสดงออกที่ส่วนอ่อนที่สุดของพืช เพราะโบรอนเป็นธาตุที่ไม่เคลื่อนย้ายในพืช อาการที่พืชขาดโบรอนมีดังนี้

1. ทำให้ยอดหรือส่วนที่อ่อนที่สุดของพืชชะงักการเจริญเติบโต จึงทำให้พืชแคระแกรนและยอดที่ชะงักการเจริญเติบโตนี้จะมีสีแดงหรือสีเหลือง

2. เกิดจุดสีน้ำตาลหรือดำในส่วนต่างๆ ของพืชโดยเฉพาะพืชหัว (Root crop) กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก กะหล่ำปม และพืชตระกูลกะหล่ำอื่นๆ

3. เกิดเป็นจุดสีน้ำตาลหรือเป็นดวงสีน้ำตาลคล้ายๆ อาการโรค Cankers หรือ Lesions ปรากฏอยู่ภายในส่วนต่างๆ ของพืชโดยเฉพาะพืชหัว และพวกไม้ผล เช่น ส้ม แอปเปิล นอกจากนั้นยังพบว่า ส้มมีเปลือกหนาผิดปกติอีกด้วย

4. พืชตระกูลถั่วจะเกิดคลอโรซิสที่ใบ ส่วนพวกเซอเลอริจะมีลำต้นแตกเป็นร่อง พืชที่ใช้หัวที่รากหัวก็แตกเป็นร่อง และไม้ผลก็มีผลแตก ส่วนไม้ยืนต้นไม้พุ่มรวมทั้งไม้ดอกจะมีอาการซึ่งสังเกตได้คือ ตาที่ยอดอ่อน (terminal bud) เห้งและตายไป

5. ทำให้เซลล์ในเนื้อเยื่อเจริญผิดปกติและการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อในกลุ่มท่อลำเลียง (Vascular tissue) ไม่เป็นปกติและเกิดเนโครติคที่ท่อน้ำ (xylem) และท่ออาหาร (phloem)

6. ข้าวโพดจะเกิดคลอโรซิส ถ้าขาดตอนต้นฤดูจะเป็นอันตรายต่อการออกดอกเพศผู้ และเพศเมีย การติดฝัก และละอองเรณูจะมีลักษณะผิดปกติจะพบในใบแก่เกิดการเหลืองบริเวณกลางใบถึงยอดและที่ใบอ่อนไหวต่อการเป็นพิษของโบรอน ได้แก่ สตรอเบอรี่ องุ่น ถั่ว ฝ้าย เป็นต้น (Usahakaset, 2548)

หากพืชขาดโบรอนผลกระทบทางตรงและทางอ้อมที่เกิดขึ้นในระยะเจริญพันธุ์คือ ดอกไม่สมบูรณ์ ละอองเรณูเป็นหมัน ยอดเกสรเพศเมียไม่พร้อมที่จะรับละอองเรณู ละอองเรณูไม่เกิดการงอกของหลอดเรณูภายในก้านเกสรเพศเมียไม่สมบูรณ์จึงไม่ปฏิสนธิทำให้ไม่มีเมล็ดหรือติดผล

เมล็ดไม่พัฒนาจึงเป็นเมล็ดลีบ (Dell *et al.*, 1997) และทำให้ผนังเซลล์มีความยืดหยุ่นลดลง (Hu *et al.*, 1996) ธาตุโบรอนมีหน้าที่ควบคุมการสะสมสารฟีนอลิกและควิโนนไม่ให้มากเกินไปจนเป็นอันตรายต่อเซลล์และช่วยลดปริมาณของอนุมูลอิสระ เช่น ออกซิเจนรูปที่เป็นพิษและมีฤทธิ์ทำลายโครงสร้างของเยื่อเมือพืชที่ได้รับแสงที่มีความเข้มข้นสูง (Cakmak *et al.*, 1997)

อาการขาดธาตุโบรอนในมะละกอเกิดขึ้นในช่วงระยะออกดอกและให้ผลผลิต อาการที่เด่นชัดคือ รูปทรงผิดปกติบิดเบี้ยว ผิวไม่เรียบถ้าอาการรุนแรงมากจะมีน้ำยางสีขาวไหลออกมาและเมื่อผ่าดูข้างในจะพบเมล็ดสีน้ำตาลปนขาวและเมล็ดลีบ นอกจากนี้สีน้ำหนักรวมยังลดลงกว่าปกติ (มังคล และคณะ, 2546)

อาการขาดธาตุโบรอนในมะม่วงเกิดขึ้นในช่วงระยะการเจริญเติบโตของผลส่งผลให้ผลมะม่วงแตกและการขาดธาตุโบรอนทำให้เกิดความผิดปกติทางสรีรวิทยาในช่วงการพัฒนาผลมะม่วงอาการที่เห็นได้ชัดคือ การพัฒนาสีเขียวส่วนปลายของผลและการเกิดสีน้ำตาลในเมล็ดและเนื้อเยื่อชั้นกลางของเปลือกผลมะม่วง (Sarun *et al.*, 2011) นอกจากนี้สภาวะที่ทำให้ขาดธาตุโบรอนคือ สภาพภูมิอากาศสูงหรือแดดจัดส่งผลให้ขาดธาตุโบรอนได้และยังทำให้คุณภาพผลผลิตต่ำ การตอบสนองของธาตุโบรอนที่พ่นในมะม่วงพบว่าการใช้ธาตุโบรอนที่พ่นทางใบมีการตอบสนองดีกว่าการใช้ทางดิน (Somanahalli *et al.*, 2005)

สภาพแวดล้อมที่พืชขาดธาตุโบรอน

โบรอนเป็นธาตุที่สามารถซึมผ่านดินได้ง่ายกว่าธาตุอื่นๆ โบรอนมักมีข้อบกพร่องกับพื้นที่ที่มีปริมาณน้ำฝนสูงและสภาพดินที่เป็นกรดเนื่องจากโบรอนสามารถละลายน้ำได้มากจึงมีการชะล้างลงไปที่ใต้รากของพืช นอกจากนี้การทำงานของโบรอนจะลดลงภายใต้สภาวะแห้งแล้งส่งผลให้ความเป็นต่างของดินเพิ่มขึ้น ดินที่ระดับอินทรีย์วัตถุต่ำมีแนวโน้มที่จะขาดธาตุโบรอนเพราะเมื่ออินทรีย์วัตถุสลายตัวโบรอนจะถูกปลดปล่อยออกมาด้วย (Marschner, 1995) พืชที่กำลังแตกกิ่งก้านหรือกำลังออกดอกส่งผลให้พืชขาดโบรอนได้ง่าย (Dear *et al.*, 2004)

ธาตุสังกะสี

ธาตุสังกะสีมีบทบาทสำคัญในการสังเคราะห์โปรตีนและการแสดงออกของยีนในพืช (Cakmak, 2010) พบว่าการทำหน้าที่ต่างๆ ของโปรตีนในพืชต้องการธาตุสังกะสีในการทำหน้าที่ร่วมด้วย (Andreini *et al.*, 2006) และสังกะสียังทำหน้าที่เป็นเอนไซม์ร่วมในการทำหน้าที่ของเอนไซม์ชนิดต่างๆ มากกว่า 300 ชนิดในพืช (Coleman, 1998) และที่สำคัญธาตุสังกะสีในพืชยังมีบทบาทสำคัญในการกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการงอกอีกด้วย (Cakmak *et al.*, 1993)

การสังเคราะห์โปรตีนมีกรดอะมิโนและอะไมด์ (amides) เหลือตกค้างและสะสมอยู่มากกว่าปกติ การขาดสังกะสีทำให้การสังเคราะห์โปรตีนลดลงเนื่องจากสาเหตุ 3 ประการคือ

1. สังกะสีเป็นองค์ประกอบสำคัญของเอนไซม์อาร์เอ็นเอพอลิเมอเรส (RNA polymerase) เอนไซม์หนึ่งโมเลกุลต้องมีสังกะสี 2 อะตอม เมื่อถึงธาตุนี้ออกไปกิจกรรมของเอนไซม์จะแยกออก
2. สังกะสีมีบทบาทในการช่วยให้ไรโบโซมดำรงโครงสร้างที่ดีไว้ได้ อาร์เอ็นเอไรโบโซมในเซลล์ของยูกลีนาปกติมีสังกะสี 650-1280 ไมโครกรัม ในอาร์เอ็นเอหนึ่งกรัม แต่ถ้าขาดธาตุนี้ไรโบโซมจะแตกสลายแต่กลับมารวมกันใหม่เมื่อได้รับธาตุอาหารนี้เพียงพอ (Prask *et al.*, 1971)
3. พืชที่ขาดสังกะสี RNA จะสลายตัวเร็วกว่าปกติเนื่องจากเมื่อขาดธาตุนี้กิจกรรมของเอนไซม์ไรโบนิวคลีเอสจะสูงขึ้น เอนไซม์นี้เร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของอาร์เอ็นเอเมื่อเพิ่มสังกะสีให้พืชอย่างเพียงพอกิจกรรมของไรโบนิวคลีเอสก็ลดลง ขณะเดียวกันปริมาณโปรตีนในพืชก็สูงขึ้น การขาดธาตุสังกะสีมีผลต่อเอนไซม์รวดเร็วมากเนื่องจากกิจกรรมของเอนไซม์ดังกล่าวลดลงก่อนที่จะมีอาการขาดธาตุนี้ปรากฏให้เห็น (Johnson *et al.*, 1979)

การขาดธาตุสังกะสีในพืช

พืชอาจขาดธาตุสังกะสีทั้งในดินกรดที่สลายตัวอย่างมาก (highly weathered acid soils) และดินปูน ในกรณีที่สองพืชอาจมีอาการขาดสังกะสีผสมผสานกับอาการขาดธาตุเหล็ก การขาดธาตุสังกะสีในดินมีสาเหตุจากดินมีค่าความกรด-ด่างสูง ความเป็นประโยชน์ของสังกะสีจะลดลง เนื่องจากไอออนของธาตุนี้ดูดซับกับดินเหนียวหรือแคลเซียมคาร์บอเนต ส่วนที่อยู่ในรูป $Zn(OH)_2$ และ $ZnCO_3$ นั้นละลายได้เล็กน้อย อีกสาเหตุคือสารละลายดินมีไบคาร์บอเนตไอออน (HCO_4^-) สูง ซึ่งมีอิทธิพลยับยั้งการดูดสังกะสีที่รากและการเคลื่อนย้ายจากรากสู่ส่วนเหนือดินคล้ายกับอิทธิพลของไบคาร์บอเนตไอออนต่อเหล็กแม้ธาตุอาหารหลักจะเป็นธาตุอาหารที่พืชต้องการปริมาณมากเมื่อเทียบกับธาตุอาหารรองแต่การได้รับธาตุอาหารรองปริมาณต่ำกว่าความต้องการสามารถทำให้พืชแสดงอาการขาดธาตุและส่งผลต่อการเจริญเติบโตได้ ดังนั้นการรักษาความสมดุลระหว่างธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองจึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง ทั้งนี้การขาดธาตุอาหารรองมักจะพบในดินที่ไม่ผ่านการเพาะปลูกมาก่อน บริเวณผิวดินที่มีระดับน้ำสูงพื้นที่ที่เป็นดินทรายและดินต่าง (Zekri *et al.*, 2003)

การใช้สังกะสีแก่พืชโดยวิธีการใส่ปุ๋ยทางดินหรือฉีดพ่นทางใบในดินที่ขาดธาตุสังกะสีพบว่าสามารถเพิ่มการเจริญเติบโตของพืชและผลผลิตได้ (Rengel *et al.*, 1995) ธาตุสังกะสีที่มีอยู่ในดินสามารถนำมาใช้ได้โดยตรง ทั้งที่อยู่ในรูปสารประกอบอินทรีย์และอนินทรีย์ เช่น ZnO , $ZnEDTA$ และ $Zn\text{-oxysulfate}$ นอกจากนี้ยังพบว่า ธาตุสังกะสีที่อยู่ในรูปสารประกอบซัลเฟต ($ZnSO_4$) นำมาใช้อย่างแพร่หลายเช่นกัน เนื่องจากสามารถละลายน้ำได้ดีและมีราคาถูก (Ishimaru *et al.*, 2011) ในดินที่ขาดธาตุสังกะสีพบว่า การใส่ปุ๋ยทางดินร่วมกับการฉีดพ่นทางใบสามารถเพิ่มผลผลิตเมล็ดและ

ปริมาณความเข้มข้นของธาตุสังกะสีในเมล็ดได้ดีมากกว่าการใส่ทางดินเพียงอย่างเดียว เนื่องจากพืชนำไปใช้ได้อย่างรวดเร็วเทียบกับการให้ทางดิน (Cakmak, 2010) ในบรรดาธาตุอาหารรองธาตุสังกะสีเป็นธาตุที่ขาดมากที่สุดในไม้ผลเช่น ทุเรียนและมังคุด ในทุเรียนอาการขาดธาตุสังกะสีที่พบคือใบมีขนาดเล็ก สีเขียวอ่อนหรือมีจุดสีเหลือง ขอบใบหยัก ในมังคุดจะพบใบเรียวเล็กกว่าปกติ ใบหนาแข็งกระด้าง พื้นที่ระหว่างเส้นใบมีสีเหลือง (สมิตรา, 2544)

การขาดธาตุสังกะสีในลิ้นจี่พบว่า ใบของลิ้นจี่พับหงิกงอ มีผลขนาดเล็กและความหวานของลิ้นจี่ลดลง ยังส่งผลให้การติดผลลดลงและยับยั้งการเจริญเติบโตของผล (Roygrong *et al.*, 2016) การขาดธาตุสังกะสีในมะม่วงพบว่า ใบมีขนาดเล็กกว่าปกติและผิดปกติของใบเป็นกระจุกที่ปลายยอด (Oppenheimer *et al.*, 1961) ดังนั้นธาตุอาหารพืชจึงมีความสำคัญต่อพืชเช่นเดียวกับที่อาหารมีความสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตทั่วไป ถ้าพืชได้รับธาตุอาหารที่จำเป็นครบทุกธาตุและในสัดส่วนที่เหมาะสมพืชจะมีการเจริญเติบโตได้ดีแต่ในทางตรงกันข้ามถ้าพืชได้รับธาตุอาหารไม่เพียงพอหรืออยู่ในสัดส่วนที่ไม่เหมาะสมจะแสดงอาการผิดปกติหรือการเจริญเติบโตลดลงและอาจถึงตายในที่สุด

ความเป็นพิษจากสังกะสี

พืชที่ไม่ทนต่อสังกะสีหากได้รับธาตุนี้มากจะเป็นพิษ ระดับความเป็นพิษของสังกะสีในใบพืชทั่วไปพืชทั่วไปมีค่าตั้งแต่ 100 จนถึงสูงกว่า 400-500 มก./กก. ใบแห้ง และอาการแรกที่เด่นชัดคือ รากหยุดการยืดตัว นอกจากนั้นใบอ่อนจะเหลืองซีดซึ่งอาการขาดเหล็กในภาวะที่มีสังกะสีมากเกินไป ทั้งนี้เพราะทั้งสองธาตุมีขนาดของไฮดรตไอออนใกล้เคียงกันจึงเป็นปฏิปักษ์ต่อการดูดที่ราก และรากพืชดูดเหล็กมาได้น้อยลง วิธีลดความเป็นพิษอันเกิดจากสังกะสีทำได้คือใส่ปูนเพื่อยกระดับความเป็นกรดต่างของดิน และปลูกพืชที่ทนต่อพิษของสังกะสี (Boardman *et al.*, 1990)

ลักษณะของผลลำไยที่มีความผิดปกติ(เปลือกสีแดง)

ปัญหาที่พบของผลลำไยคือลำไยมีลักษณะเปลือกสีแดงซึ่งปกติแล้วเปลือกของผลลำไยจะมีลักษณะสีเปลือกของผลลำไยมีสีน้ำตาลปนเหลืองลักษณะนี้เป็นที่ต้องการของตลาดและผู้บริโภค การที่เกษตรกรพบเจอปัญหานี้ทำให้ผลผลิตเกิดความเสียหาย คุณภาพผลผลิตลดลงและไม่เป็นที่ต้องการของตลาดจนทำให้เป็นปัญหาอย่างมาก

ความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลลำไย

ความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลลำไย (physiological disorder syndromes) หรือที่เกษตรกรบางพื้นที่เรียกว่า “โรคลำไยผลแดง” หรือมีชื่อเรียกอื่นๆ เป็นอาการที่ผลลำไยมีลักษณะผลสีค่อนข้างแดงในระหว่างการเจริญเติบโตของผล ทำให้ผลของลำไยผลนั้นหรือช่อผลนั้นมีลักษณะผลที่

เล็กไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นผลขนาดใหญ่ได้ ทำให้เกิดความเสียหายเกิดขึ้นกับผลผลิตของเกษตรกร โดยเฉพาะหากมีการระบาดในหลายพื้นที่ที่มีการเพาะปลูกลำไย อย่างไรก็ตามแม้จะเรียกว่าเป็นความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลลำไยแต่การระบาดในแต่ละพื้นที่จะมีการแสดงออกของกลุ่มอาการที่มีลักษณะที่แตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ โดยมีลักษณะในการแสดงลักษณะของความผิดปกติเช่น ลักษณะสีผิวของเปลือกที่มีลักษณะสีเข้มขึ้นหรือจางลงแล้วแต่ละพื้นที่เพาะปลูก นอกจากนี้ลักษณะเนื้อของผลลำไยที่เป็นกลุ่มอาการนี้ก็มีลักษณะแห้งและมีสีเปลือกที่แตกต่างไปจากลักษณะลำไยปกติ สำหรับสาเหตุของอาการผิดปกติยังไม่สามารถระบุสาเหตุที่แน่นอน แต่มีรายงานว่าเกิดจากผลกระทบทางสรีรวิทยาของต้นลำไยที่ถูกชักนำโดยหลายปัจจัยเช่น การใช้ธาตุอาหารหลักเป็นจำนวนมากติดต่อกันเป็นเวลานาน การใช้สารเคมีในการเร่งกระบวนการต่างๆในต้นลำไย ความผิดปกติของบางสายพันธุ์ลำไยที่อาจเกิดกลุ่มอาการนี้ได้ง่าย และสภาพแวดล้อมของแหล่งเพาะปลูก อย่างไรก็ตามยังไม่สามารถตรวจพบว่ากลุ่มอาการเหล่านี้เกิดจากเชื้อโรคใด อาจจะไม่ใช่โรคลำไย แต่เป็นกลุ่มอาการหนึ่งของผลผลิตของผลลำไยที่ไม่สามารถเจริญเติบโตได้เต็มที่ และเนื่องจากไม่ใช่โรคที่มีสาเหตุโดยตรงหรือชัดเจน การยับยั้งป้องกันหรือการควบคุมอาการแสดงออกของโรค จึงอาจทำได้ยากเพราะต้องอาศัยการควบคุมหลายๆปัจจัย (เอกวิทย์ และคณะ, 2560)

สำหรับการศึกษาอาการกลุ่มอาการนี้ในผลลำไย ส่วนหนึ่งได้จากการศึกษาปัญหาลำไยอาการผลแตกหรือ Fruit cracking เกิดจากความไม่สมดุลของการขยายตัวของส่วนเนื้อและส่วนเปลือกโดยส่วนของเนื้อมีลักษณะเป็นเซลล์อ่อนนุ่ม (spongy parenchyma) ซึ่งมีความสามารถในการยืดหดตัวได้สูงในขณะที่เปลือกมีความยืดหยุ่นตัวต่ำกว่า ดังในกรณีที่ส่วนของเนื้อผลมีการขยายปริมาตรอย่างรวดเร็วนั้นเกิดแรงดันจากการขยายตัวของเนื้อผลทำให้เปลือกผลแตกได้ (พาวัน และคณะ, 2547) อาการทางกายภาพของลำไยที่แตกสาเหตุที่แท้จริงเกิดจากผลลำไยที่อยู่ในระยะการเจริญเติบโตนั้นกระทบกับสภาพแล้ง อุณหภูมิสูง หรือขาดน้ำมาก่อน จากนั้นได้รับน้ำในปริมาณหรือเกิดจากการขาดช่วงฝนจึงได้รับน้ำไม่สม่ำเสมอส่งผลให้ผลแตกและหลุดร่วงได้ ปัจจัยที่เกี่ยวข้องคือสภาพภูมิอากาศแปรปรวนและการจัดการน้ำที่ไม่เหมาะสม อีกปัจจัยหนึ่งคือสภาพแวดล้อมภายในต้นลำไยมักพบว่าต้นลำไยที่ติดผลดก ผลมีขนาดเล็กและเปลือกบางมักจะถูกชักนำให้แสดงอาการผลแตกได้ง่ายสามารถแก้ไขได้โดยการให้น้ำลำไยอย่างสม่ำเสมอและเพียงพอ การดูแลเรื่องธาตุอาหารเสริมโดยเฉพาะแคลเซียมอาจจะช่วยลดความเสียหายที่อาจจะเกิดกับสวนลำไยได้ (ศูนย์วิจัยเศรษฐกิจและพยากรณ์ทางการเกษตร, 2553)

แต่อย่างไรก็ตามผลการศึกษาในแง่ของกระบวนการทางชีวเคมีและโมเลกุล ตลอดจนเมแทบอลิซึมและธาตุอาหารชนิดอื่นนี้ยังไม่ปรากฏผลที่ชัดเจน นอกจากนี้การควบคุมปริมาณผลต่อต้นและต่อช่อที่มากเกินไปทั้งจำนวนผลต่อต้นและต่อช่ออาจเป็นอีกหนึ่งสาเหตุที่ทำให้ลำไยมีผลขนาดเล็กและเกิดความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลได้ เพราะต้นลำไยที่ติดผลดกเกิดการแย่งอาหารที่ใบ

สร้างขึ้นและอาหารที่สะสมในต้นทำให้ไม่เพียงพอต่อผลลำไย โดยสรุปสาเหตุกลุ่มอาการความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลลำไยอาจมีสาเหตุได้หลายปัจจัยและยังหาบทสรุปที่ชัดเจนยังไม่ได้ ดังนั้นการวินิจฉัยกลุ่มอาการความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลลำไยก่อนที่จะแสดงลักษณะออกมาจึงเป็นสิ่งที่จำเป็นอย่างมาก ในการยับยั้งป้องกันและควบคุมการระบาดของกลุ่มอาการความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลลำไยได้ (เอกวิทย์ และคณะ, 2560)

นอกจากนี้ยังพบว่าองค์ประกอบหลักในลำไยจะประกอบด้วย โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต สำหรับโปรตีนที่พบในผลลำไยแม้ว่าจะเป็นส่วนชีวโมเลกุลที่มีสัดส่วนไม่มากเมื่อเทียบกับสารชีวโมเลกุลชนิดอื่น แต่เนื่องจากโปรตีนมีหน้าที่สำคัญต่อสิ่งมีชีวิตโดยเฉพาะกระบวนการต่างๆที่นำมาสู่การพัฒนาของผลลำไย (อรุณญา, 2555)



บทที่ 3

วิธีการวิจัย

สถานที่ทำการทดลอง

การศึกษาความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลลำไยทำการศึกษาที่สวนลำไย สาขาไม้ผล บ้านโป่ง อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ และห้องปฏิบัติการภาควิชาเคมี มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่

พันธุ์ลำไย



วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1. เก็บตัวอย่างต้นลำไยที่ปกติและต้นลำไยที่มีลักษณะผิดปกติ(เปลือกสีแดง) โดยแบ่งระยะการเก็บหลังติดผลแล้วทุกๆ 5, 10, 15, 20, 25, 30 สัปดาห์ และทำการเก็บตัวอย่างผลลำไยกับตัวอย่างใบลำไยตำแหน่งที่ 3, 4 จากยอด (ยุทธนา และคณะ, 2545)
2. เครื่องมือและอุปกรณ์แสดงตารางผนวกที่ 1
3. สารเคมีในการทดลองศึกษาทางสรีรวิทยาของผลลำไย และการแสดงออกของโปรตีนในผลลำไยโดยใช้เทคนิค 2-DE electrophoresis ได้มีการใช้สารเคมีแสดงตารางผนวกที่ 2

วิธีการทดลอง

การวิจัยแบ่งออกเป็น 3 การทดลองดังนี้

การทดลองที่ 1.ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผล

โดยมีการวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) ของทุกสวนที่ทำการทดลอง โดยเริ่มเก็บตัวอย่างสัปดาห์ที่ 5 หลังการติดผลทั้งต้นปกติ

และต้นผิตปกติ(เปลือกสีแดง) จากนั้นเว้นระยะเก็บตัวอย่างเป็น 7 ระยะ คือระยะติดผลที่ 5 สัปดาห์, 10 สัปดาห์, 15 สัปดาห์, 20 สัปดาห์, 25 สัปดาห์, 30 สัปดาห์ และ 35 สัปดาห์หรือระยะเก็บเกี่ยว แต่ละระยะเก็บข้อมูลอย่างละ 3 ซ้ำๆละ 1 ต้น ต้นละ 20 ผล

วิธีดำเนินการ

1) เก็บผลลำไยทั้งต้นปกติ 3 ต้น และต้นผิตปกติ(เปลือกสีแดง) 3 ต้น จำนวนต้นละ 20 ผล ดังนั้นจะได้ผลจากต้นปกติ 60 ผล จากนั้นทำการสุ่มออกมาจำนวน 20 ผล ทั้งต้นปกติและต้นผิตปกติ(เปลือกสีแดง)

2) ลักษณะผล ทำการเก็บข้อมูล ดังนี้
วัดขนาดผลความกว้างและความยาวทำการวัดโดยใช้ Vernier Caliper, วัดค่าสีโดยใช้เครื่องวัดสี Color Meter (Portable) : ยี่ห้อ Minolta รุ่น CR-10 ผลิตที่ประเทศจีน

- ชั่งน้ำหนัก
- ทำการเก็บข้อมูลแล้ว นำผลลำไยแช่ตู้ -20 องศาเซลเซียส เพื่อทำการทดลองที่ 3 ต่อ
- ส่วนผลที่เหลือ วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH), ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (total soluble solid) และวิตามินซี

3) วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA)

การทดลองที่ 2. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของธาตุอาหารสังกะสีและโบรอนในใบลำไยที่ผลปกติและผลผิตปกติ(เปลือกสีแดง)

เก็บตัวอย่างใบจากต้นทดลองที่ 1 ตามระยะเวลา 5 สัปดาห์, 15 สัปดาห์, 25 สัปดาห์ และ 35 สัปดาห์หรือหลังการติดผล โดยการเก็บตัวอย่างใบลำไยตำแหน่งที่ 3, 4 จากยอด ทั้งต้นปกติและผิตปกติ(เปลือกสีแดง)

วิธีดำเนินการ

1) ลักษณะผล ทำการเก็บข้อมูล ดังนี้

- วัดขนาดใบ (กว้าง x ยาว), วัดค่าสี
- เก็บใบลำไยอบที่อุณหภูมิ 70 องศา เป็นเวลา 2 วัน เพื่อบริวิเคราะห์ธาตุอาหารในใบลำไย

2) วิเคราะห์ธาตุอาหารใบโดยวิเคราะห์สังกะสีและโบรอน

การทดลองที่ 3. ศึกษาระดับโปรตีนเพื่อบ่งชี้อาการผิดปกติของผลลำไยปกติและผิดปกติ (เปลือกสีแดง)

1. นำผลลำไยที่เก็บต้นเดียวกับการทดลองที่ 1 นำมาแยกส่วนเนื้อ เปลือกและเมล็ด
2. ทำการล้างให้สะอาด แล้วตัดให้เป็นชิ้นเพื่อนำไปบดจนละเอียดในโกร่งโดยใช้ไนโตรเจนเหลว
3. นำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20°C เพื่อใช้ในการสกัดด้วย extraction solution แสดงดังภาคผนวก ข.



บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการทดลองที่ 1. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผล

สำหรับการศึกษาลำไยปกติและลำไยที่มีความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผล ช่วงระยะการเจริญเติบโตของผลลำไยได้ศึกษาวิจัยที่สวนลำไย สาขาไม้ผล บ้านโป่ง สำนักฟาร์มมหาวิทยาลัยแม่โจ้ อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ พบว่าการเจริญเติบโตของผลลำไยในสัปดาห์ที่ 5-15 หลังการติดผล ไม่พบอาการผิดปกติทางสรีรวิทยาของผล เริ่มพบอาการผิดปกติของผลที่สัปดาห์ที่ 20-30 หลังการติดผลโดยความผิดปกติที่พบคือผิวเปลือกเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีแดงต่อมาเกิดการร่วงหล่นของผลลำไย (ภาพที่ 5)



A. 5 weeks



B. 10 weeks



C. 15 weeks



D. 20 weeks



E. 25 weeks



F. 30 weeks



G. 20 weeks



H. 25 weeks



I. 30 weeks

ภาพที่ 5 ลักษณะผลลำไยปกติ (A ถึง F) และลำไยผิดปกติทางสรีรวิทยา (G ถึง I) ที่ระยะเวลา 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 สัปดาห์หลังการติดผล

ความกว้าง ความยาว และน้ำหนักของใบลำไยปกติและใบลำไยผิดปกติ(เปลือกสีแดง)

พบว่าใบลำไยปกติและใบลำไยผิดปกติ(เปลือกสีแดง) มีการเจริญเติบโตด้านความกว้าง ความยาว และน้ำหนักใบตามกระบวนการพัฒนาของใบแต่ละสัปดาห์ โดยสัปดาห์ที่ 5 ถึงสัปดาห์ที่ 30 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งคือสัปดาห์ที่ 5 มีค่าความกว้าง ความยาว และน้ำหนักของใบเท่ากับ 4.21, 12.15 เซนติเมตรและ 0.05 กรัมตามลำดับ เช่นเดียวกับในใบลำไยผิดปกติ(เปลือกสีแดง) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งในสัปดาห์ที่ 5 มีค่าความกว้าง ความยาว และน้ำหนักของใบเท่ากับ 4.23, 12.33 เซนติเมตรและ 0.07 กรัมตามลำดับ (ตารางที่ 2) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะต้นลำไยที่ให้ผลผลิตและมีอายุมากจะผลิใบประมาณ 1-2 ครั้งหลังการเก็บเกี่ยวผลผลิตประมาณ 3-4 สัปดาห์ และมีการผลิใบอีกครั้ง (ตระกูล, 2533) สำหรับลำไยที่มีอายุมากกว่า 30 ปีพบว่าการผลิใบครั้งเดียวก็สามารถออกดอกได้ ส่วนใหญ่ต้นที่มีอายุน้อยจะผลิใบประมาณ 2 ครั้งก่อนออกดอก (พาวิณ และคณะ, 2547)

ตารางที่ 2 ลักษณะทางกายภาพของความกว้าง ความยาว และน้ำหนักของใบลำไยปกติและใบลำไยผิดปกติ (เปลือกสีแดง)

สัปดาห์ที่	ความกว้าง ความยาว และน้ำหนักใบของลำไยปกติและผิดปกติสัปดาห์ที่ 5-30					
	ใบลำไยปกติ			ใบลำไยผิดปกติ (เปลือกสีแดง)		
	ความกว้าง (ซม.)	ความยาว (ซม.)	น้ำหนัก (กรัม)	ความกว้าง (ซม.)	ความยาว (ซม.)	น้ำหนัก (กรัม)
5	4.21e	12.15d	0.05d	4.23e	12.33de	0.07e
10	3.97e	11.29d	0.25d	4.09e	11.40e	0.33de
15	4.86d	11.58d	0.78d	4.73d	13.16d	1.01d
20	4.58c	16.10c	1.99c	4.46c	15.59c	2.24c
25	4.66b	18.69b	4.40b	5.63b	18.84b	4.80b
30	6.36a	21.86a	6.56a	5.20a	21.14a	5.77a
F-test	**	**	**	**	**	**
CV(%)	11.04	9.41	35.13	8.98	7.90	23.63

หมายเหตุ ** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่น 99% เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ลักษณะทางกายภาพสีใบภายนอกของลำไยปกติและลำไยผิดปกติ(เปลือกสีแดง)

ลักษณะสีของใบพบว่าสีใบลำไยปกติและสีใบลำไยผิดปกติ(เปลือกสีแดง) ในสัปดาห์ที่ 20 ถึงสัปดาห์ที่ 30 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยลำไยผิดปกติที่เริ่มพบว่ามีมีความผิดปกติในสัปดาห์ที่ 20 มีค่าความสว่าง (L^*) ค่าสีแดง (a^*) และค่าสีเหลือง (b^*) เท่ากับ 32.64, -3.70 และ 14.74 ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ความผิดปกติของสีใบอาจเป็นเพราะค่าสีของใบเป็นดัชนีที่บ่งบอกถึงคุณภาพของต้นลำไยมีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณคลอโรฟิลล์ (Ma *et al.*, 2009) ในลำไยผิดปกติ(เปลือกสีแดง) มีค่าสี L^* , a^* , และ b^* สูงกว่าลำไยปกติ แต่ทั้งสองลักษณะยังอยู่ในช่วงของสีเขียวความเปลี่ยนแปลงของสีใบขึ้นอยู่กับปัจจัยทั้งภายในและภายนอก ซึ่งได้แก่อุณหภูมิ การเกิดบาดแผล การขาดน้ำ และการขาดแสงมีผลกระทบต่อความเครียดส่งผลให้เยื่อหุ้มเซลล์ต่างๆเสื่อมสภาพและปัจจัยอื่นๆขึ้นอยู่กับอายุใบ กระบวนการชราภาพ และสารอาหารเช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และแร่ธาตุต่างๆจะเคลื่อนไปยังใบอ่อน (Buchanan, (1997)

ตารางที่ 3 ลักษณะทางกายภาพของสีใบลำไยปกติและใบลำไยผิดปกติ (เปลือกสีแดง)

สัปดาห์ที่	ลักษณะทางกายภาพ: สีใบภายนอก					
	ใบลำไยปกติ			ใบลำไยผิดปกติ (เปลือกสีแดง)		
	(L^*)	(a^*)	(b^*)	(L^*)	(a^*)	(b^*)
5	32.90ab	-6.03c	18.19a	N/A	N/A	N/A
10	33.45a	-4.54b	20.39a	N/A	N/A	N/A
15	29.80c	-5.20bc	14.76c	N/A	N/A	N/A
20	30.77c	-3.18a	13.17b	32.64a	-3.70a	14.74a
25	31.11bc	-5.61bc	13.70b	29.80b	-5.20b	15.76a
30	30.28c	-4.67b	12.35b	31.39ab	-4.51ab	14.01a
F-test	**	**	**	**	**	**
CV(%)	5.31	-22.02	14.49	5.39	-19.46	16.99

หมายเหตุ ** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่น 99% เปรียบเทียบ

โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

N/A ไม่มีการประเมินเพราะยังไม่เกิดความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผล

ค่าความกว้าง ความยาว และน้ำหนักของผลลำไยปกติและใบลำไยผิดปกติ(เปลือกสีแดง)

ลักษณะทางกายภาพของผลพบว่าผลลำไยปกติและผลลำไยผิดปกติ(เปลือกสีแดง) มีการเจริญเติบโตของผลตามกระบวนการพัฒนาของผลในแต่ละสัปดาห์ โดยสัปดาห์ที่ 5 ถึงสัปดาห์ที่ 30 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งคือสัปดาห์ที่ 30 ของผลลำไยผิดปกติ(เปลือกสีแดง) มีค่าความกว้าง ความยาว และน้ำหนักเท่ากับ 24.03, 21.95 มิลลิเมตรและ 7.68 กรัม ซึ่งมากกว่าผลลำไยปกติในสัปดาห์ที่ 30 ซึ่งผลที่ผิดปกติ(เปลือกสีแดง) มีแนวโน้มสูงกว่าผลลำไยปกติตั้งแต่สัปดาห์ที่ 25 (ตารางที่ 4) เพราะค่าลักษณะทางกายภาพของผลลำไยปกติต่ำกว่าผลลำไยผิดปกติ(เปลือกสีแดง) ในระยะสัปดาห์ที่ 25 เป็นต้นไป ซึ่งโดยปกติในสัปดาห์นี้เป็นระยะการเจริญเติบโตผลช้าลง เพราะส่วนของเนื้อลำไยและเมล็ดมีการเจริญเติบโตเกือบจะคงที่ (พาวัน และคณะ, 2547) ปัจจัยหนึ่งที่ทำให้น้ำหนักของผลลดลงคือ การแย่งอาหารหรือนำไปซ่อมแซมบาดแผลทำให้ผลลำไยมีน้ำหนักและขนาดผลน้อยลง การนำสารที่ช่วยเพิ่มความหนาของเนื้อและน้ำหนักของผลลื่นจีและลำไยเพิ่มขึ้นได้ (Peng *et al.*, 2004)

ตารางที่4 ลักษณะทางกายภาพน้ำหนัก และขนาดผลของลำไยปกติเทียบกับลำไยผิดปกติ(เปลือกสีแดง) ในระยะการเจริญเติบโตต่างๆ (ตั้งแต่ 5 ถึง 30 สัปดาห์)

สัปดาห์	ลักษณะทางกายภาพ ขนาดของผลลำไย					
	ลำไยผลปกติ			ลำไยผิดปกติ(เปลือกสีแดง)		
	ความกว้าง (มม.)	ความยาว (มม.)	น้ำหนัก (กรัม)	ความกว้าง (มม.)	ความยาว (มม.)	น้ำหนัก (กรัม)
5	3.53f	4.79e	0.02d	4.49f	5.67f	0.06e
10	6.41e	8.38d	0.24cd	7.56e	10.35e	0.32bc
15	10.57d	11.46c	0.76c	10.83d	13.11d	0.84d
20	14.97c	15.57b	2.23b	14.06c	15.24c	2.15c
25	16.44b	16.44b	2.63b	18.50b	17.82b	4.11b
30	21.12a	20.07a	5.36a	24.03a	21.95a	7.68a
F-test	**	**	**	**	**	**
CV(%)	8.30	8.57	30.50	8.68	8.44	21.73

หมายเหตุ ** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ตามการ

เปรียบเทียบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ลักษณะทางกายภาพสีผลภายนอกของลำไยปกติและลำไยผิดปกติ(เปลือกสีแดง)

ลักษณะสีของผลภายนอกพบว่ามีสีผลลำไยปกติและสีผลลำไยผิดปกติ(เปลือกสีแดง) ในสัปดาห์ที่ 20 ถึงสัปดาห์ที่ 30 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยลำไยผิดปกติที่เริ่มพบว่ามี ความความผิดปกติที่สัปดาห์ที่ 20 ซึ่งในสัปดาห์ที่ค่าสี L^* a^* และ b^* ในผลลำไยปกติมีค่ามากกว่าผล ลำไยผิดปกติ(เปลือกสีแดง) มีค่าเท่ากับ 48.43, 7.80, และ 32.15 ตามลำดับ (ตารางที่ 5) เพราะว่า โดยปกติและผลของลำไยจะมีสีเหลืองอมเขียวจึงเป็นที่ต้องการของตลาด การทำให้ผิวลำไยสวยและ คุณภาพดีควรตัดแต่งกิ่งในลำไยอยู่ในทรงพุ่ม การป้องกันแมลงจำพวกปากดูดซึ่งส่งผลต่อถึงคุณภาพ ผล (พาวิณ และคณะ, 2547) และการแก้ไขพืชขาดธาตุที่ส่งผลให้เกิดความผิดปกติทางสรีรวิทยานี้ใน ช่วงเวลาที่เหมาะสม (Li *et al.*, 2001) จะเห็นได้ว่าคุณภาพผลผลิตขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยถ้ามีการ จัดการที่ดี หาสาเหตุของความผิดปกตินี้ได้เร็วและแก้ไขทันเวลา ก็จะส่งผลให้มีผลผลิตที่มีคุณภาพ (พาวิณ และคณะ, 2547)

ตารางที่ 5 ลักษณะทางกายภาพสีผลของผลลำไยปกติและผลลำไยผิดปกติ(เปลือกสีแดง) ในระยะ การเจริญเติบโตตั้งแต่ 5 ถึง 30 สัปดาห์

สัปดาห์ที่	ลักษณะทางกายภาพ สีผลภายนอก					
	ผลลำไยปกติ			ผลลำไยผิดปกติ (เปลือกสีแดง)		
	(L^*)	(a^*)	(b^*)	(L^*)	(a^*)	(b^*)
5	43.46b	1.45c	24.68b	N/A	N/A	N/A
10	42.06b	8.64a	32.32ab	N/A	N/A	N/A
15	43.09b	4.70bc	26.94ab	N/A	N/A	N/A
20	48.43a	7.80ab	32.15ab	44.93a	7.74a	31.30a
25	41.38b	6.79ab	32.94ab	39.97b	7.59a	30.43a
30	42.06b	5.14b	34.90a	43.72a	8.46a	29.40a
F-test	**	**	**	**	**	**
CV(%)	4.78	49.92	24.07	2.38	24.93	5.95

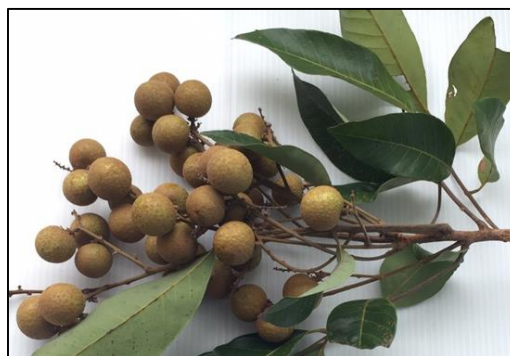
หมายเหตุ ** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ตามการ

เปรียบเทียบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

N/A ไม่มีการประเมินเพราะยังไม่เกิดความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผล



ผลลำไยปกติ (A)



ผลลำไยผิดปกติ(เปลือกสีแดง) (B)

ภาพที่ 6 ลักษณะผลลำไยปกติ (A) และผลลำไยผิดปกติ(เปลือกสีแดง) (B)

ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ความเป็นกรด-ด่าง และวิตามินซี

ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้พบว่า ลำไยปกติและลำไยผิดปกติ(เปลือกสีแดง) ในสัปดาห์ที่ 25 ถึงสัปดาห์ที่ 30 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเท่ากับ 15.22 และ 7.52 องศาบริกซ์ ตามลำดับ แต่มีความแตกต่างทางสถิติกับสัปดาห์ที่ 20 หลังการติดผลทั้งลำไยปกติและลำไยผิดปกติเท่ากับ 5.45 และ 6.54 องศาบริกซ์ ตามลำดับ ส่วนค่าความเป็นกรด-ด่างของลำไยปกติและลำไยผิดปกติ(เปลือกสีแดง) ในสัปดาห์ที่ 25 ถึงสัปดาห์ที่ 30 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเท่ากับ 7.48 และ 7.19 9 ตามลำดับ แต่มีความแตกต่างทางสถิติกับสัปดาห์ที่ 20 หลังการติดผลทั้งลำไยปกติและลำไยผิดปกติเท่ากับ 7.33 และ 6.99 ตามลำดับ และปริมาณวิตามินซีของลำไยปกติและลำไยผิดปกติ(เปลือกสีแดง) ในสัปดาห์ที่ 20 ถึงสัปดาห์ที่ 30 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเท่ากับ 0.01 และ 0.01 มิลลิกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 6) เพราะว่าปริมาณของแข็งละลายน้ำได้พบว่าลำไยปกติมีค่ามากกว่า ลำไยผิดปกติ(เปลือกสีแดง) อาจจะมาจากการใช้โพแทสเซียมคลอเรตจะเกิดการสลายตัวของสารคลอไรท์และไฮโปคลอไรท์ ซึ่งจะแสดงความเป็นพิษต่อทุกเซลล์ ทำให้การใช้ไนโตรเจนลดลงปกติ ไนโตรเจนจำเป็นต่อการสังเคราะห์กรดอะมิโน กรดนิวคลีอิก อาร์เอ็นเอ และดีเอ็นเอ (Hewitt *et al.*, 1956) เมื่อไนโตรเจนลดลงส่งผลให้น้ำตาลและคาร์โบไฮเดรตลดลงด้วยซึ่งจะถูกส่งไปยังส่วนต่างๆของพืชรวมทั้งผล ทำให้อาหารที่สะสมในผลลำไยมีปริมาณลดลงและปริมาณของแข็งละลายน้ำได้ในผลลำไยลดลงตามไปด้วย (ยงยุทธ, 2543) สำหรับการหาวิตามินซีจะช่วยให้การบ่งบอกถึงคุณภาพของลำไย (ศิริโสภา, 2555) การสูญเสียปริมาณวิตามินซีของผลผลิตเกิดจากการทำงานของเอนไซม์หลายชนิดเช่น ascorbic acid oxidase, polyphenol oxidase และ peroxidase (Bourton, 1982)

ตารางที่ 6 สมบัติทางเคมีของลำไยปกติและลำไยผิดปกติ(เปลือกสีแดง) ที่ระยะการเจริญเติบโต 20-30 สัปดาห์หลังติดผล

สัปดาห์	ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (°Brix)		ปริมาณวิตามินซี (mg)/100g.	
	ลำไยปกติ	ลำไยผิดปกติ (เปลือกสีแดง)	ลำไยปกติ	ลำไยผิดปกติ (เปลือกสีแดง)
20	5.45b	6.54b	0.01	0.01
25	15.22a	7.52a	0.01	0.01
30	15.22a	7.52a	0.01	0.01
F-test	**	**	ns	ns
CV(%)	1.48	1.40	34.23	33.54

หมายเหตุ ** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ผลการทดลองที่ 2. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของธาตุสังกะสีและโบรอนในใบลำไยที่มีลักษณะปกติและผิดปกติ(เปลือกสีแดง)

การเปลี่ยนแปลงธาตุอาหารสังกะสีและโบรอนในใบลำไยพบว่าสัปดาห์ที่ 5 หลังการติดผล ธาตุอาหารสังกะสีอยู่ระหว่างปริมาณธาตุอาหารที่เหมาะสม แต่ธาตุอาหารโบรอนต่ำกว่าค่าธาตุอาหารที่เหมาะสมมีค่าเท่ากับ 16 และ 4.6 ppm ตามลำดับ แต่ในสัปดาห์ที่ 15 ถึงสัปดาห์ที่ 35 หลังการติดผลพบว่าธาตุอาหารสังกะสีและโบรอนมีค่าต่ำกว่าปริมาณธาตุอาหารที่เหมาะสมมีค่าเท่ากับ 14, 3.9 ppm ตามลำดับ (ตารางที่ 7) เพราะว่าจากผลการศึกษาค่าปริมาณธาตุอาหารของแต่ละสัปดาห์ค่อนข้างต่ำกว่าปริมาณธาตุอาหารที่เหมาะสมดังตารางที่ 8 (ยุทธนา และคณะ, 2545) ส่งผลทำให้คุณภาพของผลผลิตลำไยลดลงแต่ถ้ามีการฉีดพ่นธาตุสังกะสีและโบรอนจะทำให้คุณภาพของผลลำไยดีขึ้น (WiriyaAlongkorn *et al.*, 2007) การเก็บใบในตำแหน่งที่ 3 และ 4 จากยอดนำมาวิเคราะห์พบว่าปริมาณของธาตุอาหารสังกะสีในต้นลำไยโทรมมีปริมาณสังกะสีค่อนข้างต่ำกว่าเมื่อเทียบกับสวนที่สมบูรณ์และขนาดของใบมีขนาดเล็กลงเมื่อได้รับธาตุสังกะสีไม่เพียงพอ (ยุทธนา และคณะ, 2545) จากการศึกษาของ (Menzel *et al.*, 1988) พบว่าสิ่งที่มีผลต่อการติดผลมากทำให้ธาตุอาหารสังกะสีลดลงไปด้วย และระยะที่ลำไยสร้างเนื้อความต้องการธาตุอาหารสังกะสีค่อนข้างมากและความต้องการของสังกะสีลดลงเมื่อผลผลิตเริ่มแก่ แต่การลดลงของปริมาณธาตุสังกะสีในใบอาจจะเกี่ยวข้องกับอายุของใบที่มากขึ้น (Menzel *et al.*, 1987) ปริมาณโบรอนที่ต่ำส่งผลให้ปริมาณ

ผลผลิตลดลงและขนาดผลเล็กในพลับที่มีการพ่นสารแล้วทำให้ผลผลิตมีปริมาณเพิ่มขึ้นและมีขนาดใหญ่อย่างชัดเจน (Thongjoo *et al.*, 2016) การฉีดพ่นโบรอนทางใบในระยะเวลาพัฒนาของใบลำไยพบว่าโบรอนสามารถลดอัตราการสูญเสียน้ำหนักของผลลำไยจึงทำให้ผลลำไยมีน้ำหนักผลดีมีคุณภาพ (Wei *et al.*, 2007) และพืชในระยะเจริญพันธุ์จะมีอัตราการสังเคราะห์โปรตีนสูงนอกจากนี้ยังพบว่าธาตุสังกะสีมีความเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์อาร์เอ็นเอและการลดลงของธาตุสังกะสีอาจเป็นผลมาจากพืชมีการใช้ธาตุสังกะสีในการสังเคราะห์โปรตีนระหว่างการออกดอกติดผล (Taiz *et al.*, 2006) แม้พืชจะต้องการธาตุอาหารรองในปริมาณน้อย แต่ธาตุอาหารรองก็มีความสำคัญต่อพืชจะขาดธาตุใดธาตุหนึ่งไม่ได้ (ยุทธนา และคณะ, 2548) เพราะพืชต้องการธาตุอาหารทุกชนิดในปริมาณที่เพียงพอจึงจะเจริญเติบโตได้ดี (สันติ และคณะ, 2548)

ตารางที่ 7 ผลวิเคราะห์ตัวอย่างใบลำไยติดปกติ(เปลือกสีแดง)

ใบลำไย/สัปดาห์	สังกะสี (Zn) ppm	โบรอน (B) ppm
5 สัปดาห์	16	4.6
15 สัปดาห์	14	3.9
25 สัปดาห์	8	3.8
35 สัปดาห์	11	7.5

ตารางที่ 8 ปริมาณธาตุอาหารที่เหมาะสมของสังกะสีและโบรอนในใบลำไย (ค่ามาตรฐาน)
(ยุทธนา และคณะ, 2554)

ธาตุอาหาร	ค่าที่เหมาะสม (ppm)
สังกะสี (Zn)	16.99 - 24.29
โบรอน (B)	22.30 - 45.58

ผลการทดลองที่ 3. ศึกษาระดับโปรตีนเพื่อบ่งชี้อาการผิดปกติของผลลำไยเปลือกสีแดง

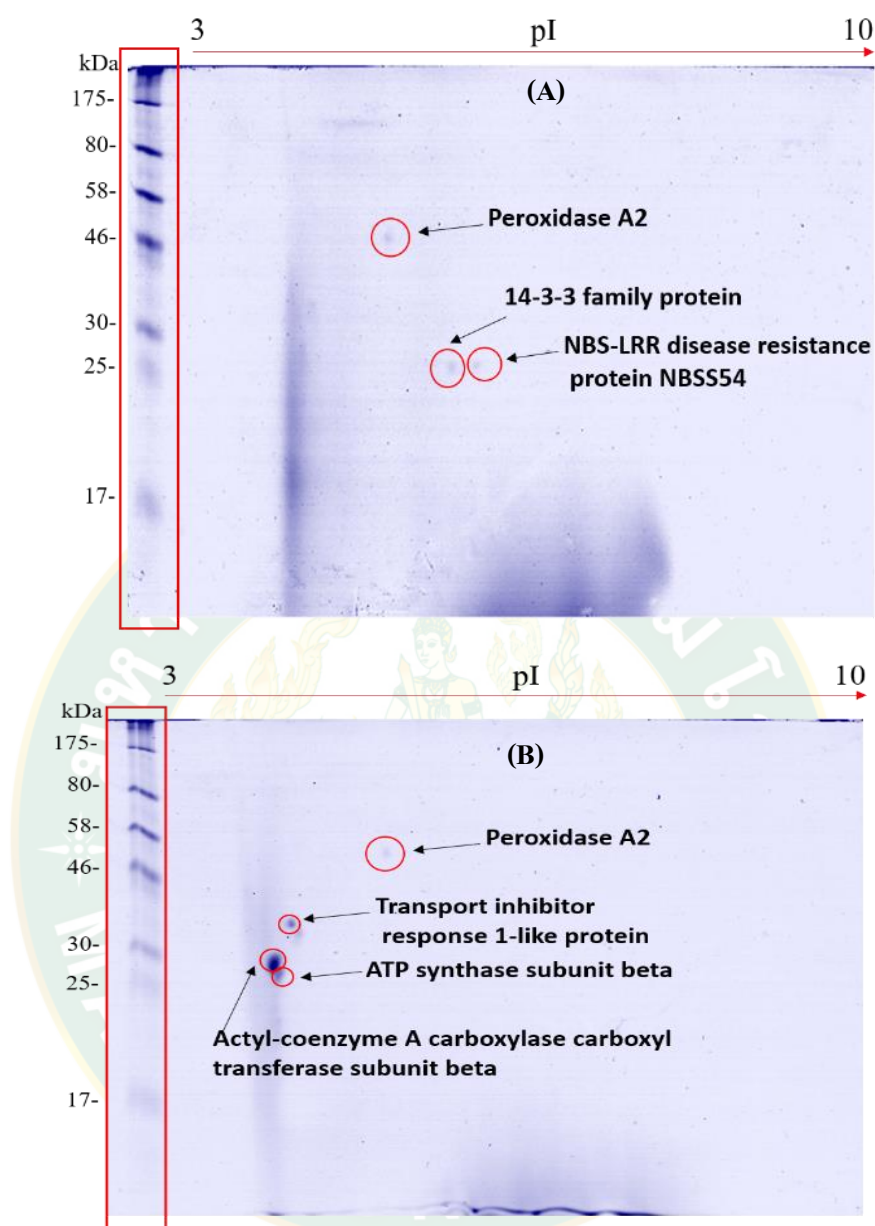
ผลการวิเคราะห์โปรตีนด้วยเทคนิค 2D-gel ตามด้วยเทคนิค mass spectrometry ที่สามารถบ่งชี้ระยะการเจริญเติบโตของลำไยหลังการติดผลเป็นระยะเวลา 30 สัปดาห์ นำตัวอย่างเมล็ดในระยะการเจริญเติบโตของผลลำไย 20 และ 30 สัปดาห์หลังการติดผล มาทำอิเล็กโตรโฟรีซิสแบบ 2D-gel เนื่องจากระยะนี้สามารถแยกส่วนเปลือก เนื้อและเมล็ดออกจากกันได้ ผลการวิจัย 2D-gel ดังแสดงในภาพที่ 8-9 และระบุลักษณะของโปรตีนที่แสดงออกดังตารางที่ 9 พบว่ามีการแสดงออกของโปรตีนน้อยกว่าที่ควรจะเป็นเพราะปกติแล้วการทำเทคนิค 2D-gel มักพบโปรตีนมาก อาจเนื่องจากระยะการเก็บรักษาตัวอย่างนานถึง 8 เดือนนับหลังจากการเก็บตัวอย่าง และเก็บตัวอย่างที่ศึกษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C โปรตีนที่อยู่ในเมล็ดบางส่วนอาจเกิดสภาวะการเสื่อมสภาพทำให้พบโปรตีนได้น้อย อีกประเด็นหนึ่งโปรตีนที่แสดงออกในเจลนี้อาจจะเป็นโปรตีนที่ทนต่อการเสื่อมสภาพของตัวอย่างก็เป็นไปได้ (ชนิษฐา, 2558) อย่างไรก็ตาม 2D-gel ในระยะ 20 และ 30 สัปดาห์หลังการติดผล พบโปรตีน peroxidase A2 (32.3 KDa) ทั้งระยะ 20 และ 30 สัปดาห์หลังการติดผล ทั้งลำไยที่มีความผิดปกติทางสรีรวิทยาและลำไยปกติโดยไม่มีความแตกต่างในการแสดงออก หมายความว่าโปรตีนนี้น่าจะเป็นโปรตีนทั่วไปของตัวอย่าง

ส่วนโปรตีนชนิดอื่นที่น่าจะเป็นตัวบ่งชี้ความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลใน 2 ลักษณะ หนึ่งเป็นตัวบ่งชี้อาการผิดปกติตลอดระยะเวลาการเจริญเติบโตของผลโดยโปรตีนชนิดนี้จะปรากฏที่มีความแตกต่างระหว่างลำไยที่เป็นโรคความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลและลำไยปกติทั้งระยะ 20 และ 30 สัปดาห์หลังการติดผล คือ โปรตีนชื่อ 14-3-3 family protein (29.5 KDa) ซึ่งเป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องหลายกระบวนการ (Muslin *et al.*, 2004) เช่น การเจริญเติบโต (developmental pathway) กระบวนการรับรู้สารอาหาร (nutrient sensing) และกระบวนการอยู่รอดของเซลล์ (cell survival pathways) และ โปรตีนชื่อ NBS-LRR disease resistance protein NBSS54 (93.5 KDa) ซึ่งเป็นโปรตีนด้านการเป็นโรคของพืช (Belkhadir *et al.*, 2004) โดยโปรตีนทั้งสองชนิดนี้ได้แสดงออกในลำไยที่เป็นโรคความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลแต่ไม่แสดงออกในลำไยปกติในระยะเริ่มเกิดอาการของโรคที่สามารถตรวจสอบได้จากการแสดงลักษณะทางกายภาพของผลใน 20 สัปดาห์หลังการติดผล และเมื่อมีการบำรุงรักษาสวนจนลักษณะทางกายภาพของผลไม่แตกต่างระหว่างลำไยที่มีความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลและลำไยปกติใน 30 สัปดาห์หลังการติดผล โปรตีนทั้งสองชนิดนี้จะปรากฏในลำไยทั้งที่มีความผิดปกติและลำไยปกติ แต่ในลำไยที่มีความผิดปกติจะมีการแสดงออกที่มากกว่า นอกจากนี้ในทางกลับกันโปรตีน acetyl-coenzyme A carboxylase carboxyl transferase subunit beta (59.5 KDa) ซึ่งเป็นเอ็นไซม์โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมทาบอลิซึมของไขมัน (lipid metabolism) ในวิถีการสร้าง malonyl-CoA (UniProt, 2018a) และ Transport inhibitor response 1-like protein (72.9 KDa) ซึ่งเป็น

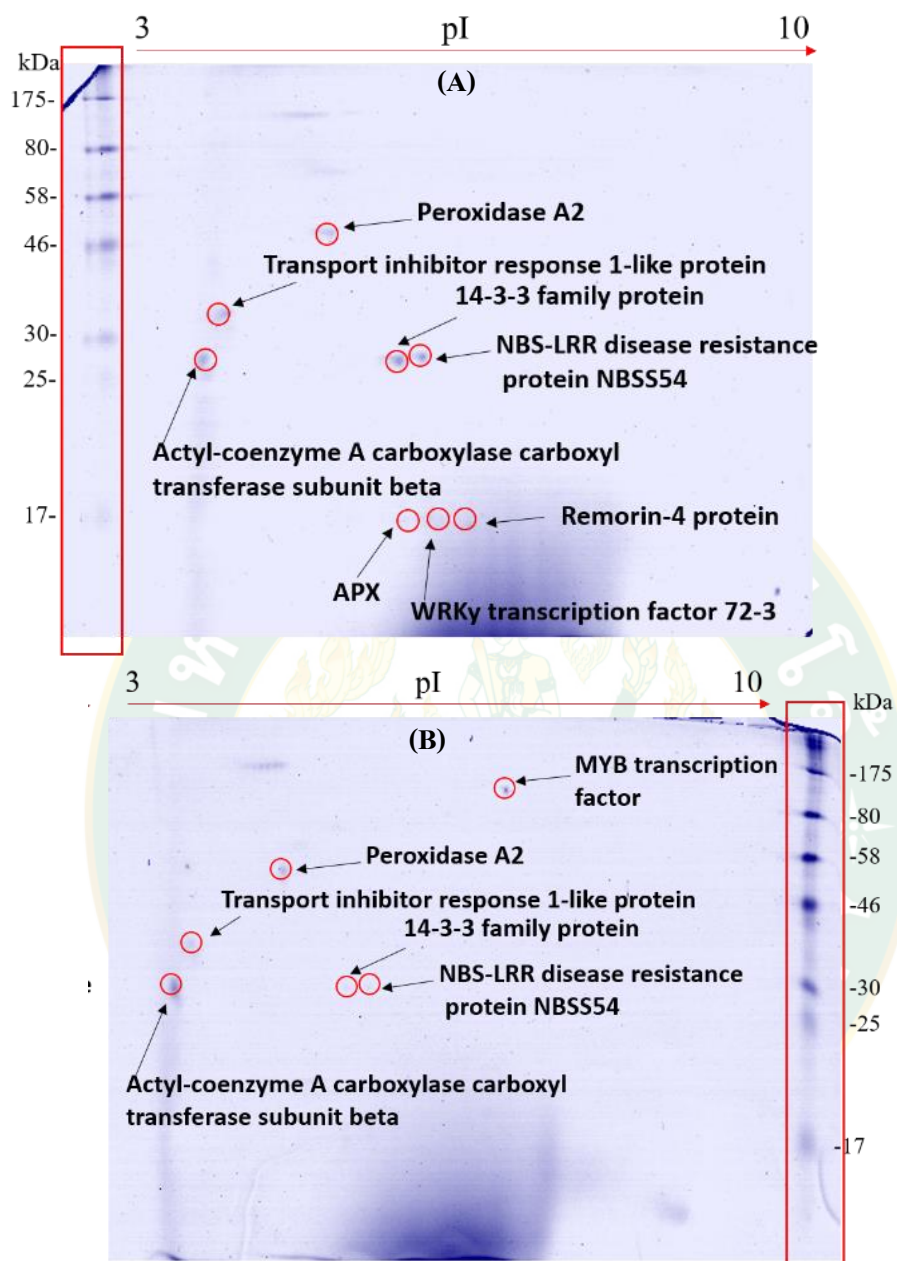
โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับขบวนการ ubiquitination ที่เป็นการเติม ubiquitin ให้กับโปรตีนเป้าหมาย เพื่อให้โปรตีนนั้นถูกกำจัดต่อไป (UniProt, 2018d) โดยโปรตีนทั้งสองชนิดนี้มีการแสดงออกในลำไยปกติแต่ไม่แสดงออกในลำไยที่มีความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลในระยะ 20 สัปดาห์หลังการติดผล และการแสดงออกของโปรตีนทั้งสองชนิดนี้ในลำไยในระยะ 30 สัปดาห์หลังการติดผล ทั้งที่เป็นโรคและลำไยปกติ ดังนั้นสิ่งบ่งชี้โปรตีนทั้งสองชนิดดังกล่าวน่าจะเกี่ยวข้องกับการพัฒนาของความผิดปกติในระยะการเจริญเติบโตของผลได้

การเป็นโรคชนิดเฉพาะเจาะจงต่อระยะเวลาการเจริญเติบโตของผล โดยโปรตีนชนิดนี้จะปรากฏในลักษณะที่แตกต่างระหว่างลำไยที่มีความผิดปกติของผลและลำไยปกติเฉพาะระยะ 20 หรือ 30 สัปดาห์หลังการติดผลเท่านั้น จากผลการศึกษาพบว่าในระยะ 20 สัปดาห์หลังการติดผล พบโปรตีน ATP synthase subunit beta (53.5 KDa) เฉพาะในลำไยปกติเท่านั้นขณะที่ในระยะ 30 สัปดาห์หลังการติดผล พบโปรตีน APX (37.4 KDa) ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีบทบาทสำคัญในการกำจัด hydrogen peroxide (UniProt, 2018b) โปรตีน WRKY transcription factor 72-3 (61.0 KDa) ซึ่งเป็นโปรตีนช่วยในขบวนการ DNA transcription (UniProt, 2018e) และ Remorin-4 protein (52.5 KDa) ซึ่งเป็นโปรตีนที่ยังไม่สามารถระบุหน้าที่ที่แน่ชัด (UniProt, 2018c) โดยโปรตีนทั้ง 3 ชนิดนี้พบได้เฉพาะในลำไยที่มีความผิดปกติเท่านั้น

จากการศึกษาด้านโปรตีโอมิกส์ในเมล็ดของลำไยมีการแสดงออกของโปรตีนน้อยและการศึกษาด้วยเทคนิคนี้ยังไม่แพร่หลายเท่าที่ควรในของลำไย รายงานของ Liu *et al.*, 2010. ได้นำเทคนิค 2D-gel มาศึกษาการฝ่อของเมล็ดลำไยพบว่ามีโปรตีนบ่งชี้ 43 ชนิด โปรตีนที่พบส่วนใหญ่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ metabolism, programmed cell death, antioxidative processes, chaperonin, cell division, amino acid metabolism, secondary metabolism นอกจากนี้ยังมีรายงานของอัญชนา 2556 พบโปรตีนชื่อ vegetative storage protein ในความผิดปกติทางสรีรวิทยาของลำไยระยะผลอ่อนเป็นโปรตีนที่มีความสำคัญทางเมแทบอลิซึม เกี่ยวข้องกับการสะสมอาหารของพืชเพื่อเข้าสู่การเปลี่ยนฤดูกาล โปรตีนในพืช *Sapindus mukorossi* ซึ่งอยู่ในวงศ์เดียวกับลำไยโปรตีนที่พบมีความเกี่ยวข้องในการยับยั้งเอนไซม์โปรตีเอสซึ่งพบโปรตีนชนิดนี้มีการลดลงช่วงการพัฒนาราก (Liu *et al.*, 2009) และในการเจริญเติบโตของผลมีความเกี่ยวข้องกับโปรตีนชนิดนี้ (Franceschi *et al.*, 1983) (Staswick, 1989) หมายความว่าหากโปรตีนชนิดนี้โดนรบกวนจะทำให้การสะสมอาหารของพืชที่ใช้ในกระบวนการเจริญเติบโตของผลและเมล็ดลดลงทำให้พืชไม่สามารถเจริญเติบโต (Dhont *et al.*, 2006)



ภาพที่ 7 โปรตีนในเมล็ดของผลลำไยที่มีความผิดปกติทางสรีรวิทยา (A) และลำไยปกติ (B) ในระยะ 20 สัปดาห์หลังการติดผล ด้วยการวิเคราะห์ 2D-gel ในสภาวะ IPG strip pH 3-10 NL ขนาด 7 ซม., 12.5% เจล เทคนิคการย้อม Coomassie brilliant blue R-250 ปริมาณโปรตีน 300 μ g และชนิดโปรตีนที่วิเคราะห์ด้วยเทคนิค LC-MS/MS



ภาพที่ 8 โปรตีนในเมล็ดของผลลำไยที่มีความผิดปกติทางสรีรวิทยา (A) และลำไยปกติ (B) ในระยะ 30 สัปดาห์หลังการติดผล ด้วยการวิเคราะห์ 2D-gel ในสภาวะ IPG strip pH 3-10 NL ขนาด 7 ซม., 12.5% เจล เทคนิคการย้อม Coomassie brilliant blue R-250 ปริมาณโปรตีน 300 μ g และชนิดโปรตีนที่วิเคราะห์ด้วยเทคนิค LC-MS/MS

ตารางที่ 9 ผลการวิเคราะห์ระบุชนิดโปรตีนจากเมสิตดล่ายในระยะเวลา 20 และ 30 สัปดาห์หลังการติด
ข้อผลด้วยวิธี 2D-gel และเทคนิค LC-MS/MS

Types	Accession	Calculated MW (kDa)	Score	Sequence s	Matches	Expression in physiological disorder syndrome
ATP synthase subunit beta	ATPB NICRU	53.5 kDa	43	2(1)	4(2)	decrease
Peroxidase A2	PERA2 ARMRU	32.3 kDa	79	2(1)	6(4)	-
APX [<i>Dimocarpus longan</i>]	AFF18848.1	37.4 kDa	21	1(1)	3(1)	-
WRKY transcription factor 72-3 [<i>Dimocarpus longan</i>]	AEO31479.2	61.0 kDa	19	2(1)	2(1)	increase
Ramorin-4 protein [<i>Dimocarpus longan</i>]	AGC39090.1	52.5 kDa	18	6(1)	8(1)	
MYB transcription factor [<i>Dimocarpus longan</i>]	AEK05512.1	23.2 kDa	26	3(1)	3(1)	increase
Actyl-coenzyme A carboxylase transferase subunit beta	ACCD_CUCSA	59.5 kDa	42	2(1)	2(1)	
Transport inhibitor response 1-like protein	AKN10574.1	72.9 kDa	21	6(1)	6(1)	
NBS-LRR disease resistance protein NBSS54 [<i>Dimocarpus longan</i>]	AKE49469.1	93.5 kDa	20	5(1)	5(1)	
14-3-3 family protein [<i>Dimocarpus longan</i>]	ADD79961.1	29.5 kDa	18	8(1)	7(1)	
Transport inhibitor response 1-like protein [<i>Dimocarpus longan</i>]	AKN10574.1	72.9 kDa	21	6(1)	6(1)	

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลลำไยโดยการบันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยาและทางสรีรวิทยาของผลมีความแตกต่างกันระหว่างลำไยปกติและลำไยผิดปกติ(เปลือกสีแดง) ของน้ำหนักของผลลำไย ขนาดของผล ขนาดของใบ และสีผลอย่างชัดเจน ปริมาณธาตุสังกะสีและธาตุโบรอนมีความเกี่ยวข้องกับการแสดงออกของความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลตั้งแต่มีก่อนเกิด ความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลในสัปดาห์ที่ 5 หลังการติดผลพบว่ามีค่าโบรอนและสังกะสีต่ำกว่าค่าเกณฑ์มาตรฐาน จนถึงเก็บเกี่ยวและยังเชื่อมโยงกับโปรตีนบ่งชี้ที่พบคือโปรตีน 14-3-3 family protein ซึ่งเป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการรับรู้สารอาหาร (nutrient sensing) สำหรับค่าโปรตีนที่แสดงออกพบชนิดของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเจริญเติบโต โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการต้านทานโรคของพืช และโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการรับรู้สารอาหาร ในระยะที่เกิดลำไยผิดปกติใน 20-30 สัปดาห์หลังการติดผล ดังนั้นโดยสรุปกระบวนการที่เกิดขึ้นภายในมีส่วนสัมพันธ์กับการแสดงออกภายนอกของลำไยที่ผิดปกติ(เปลือกสีแดง) ได้โดยปริมาณธาตุอาหารในใบของพืชมีส่วนสำคัญในการบ่งชี้การเกิดโรคได้ก่อนการบ่งชี้ด้วยการแสดงออกของโปรตีน

บรรณานุกรม

- เกศิณี ระมิงค์วงศ์. 2546. **การจัดจำแนกไม้ผล**. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่.
- ชนิษฐา ชำนาญ. 2558. **การศึกษากระบวนการสกัดโปรตีนจากเมล็ดลำไยสายพันธุ์ต่อเพื่อการวิเคราะห์ด้านโปรตีโอมิกส์**. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- ดาวเรือง ศรีกอก. 2530. **ดัชนีการเก็บเกี่ยวและการเก็บรักษาผลลำไยพันธุ์ต่อ**. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่.
- ตระกูล ต้นสุวรรณ. 2533. **วิธีการเก็บเกี่ยวลำไยให้ได้คุณภาพและการปฏิบัติดูแลรักษาต้นลำไยหลังการเก็บเกี่ยว**. รายงานการสัมมนาการจัดการเพื่อพัฒนาและแก้ไขปัญหาการผลิตการตลาดลำไย ปี 2533. ณ. สำนักงานเกษตรภาคเหนือ เชียงใหม่.
- พาวิณ มะโนชัย. 2543. **ลำไย**. สิรินาฏการพิมพ์. เชียงใหม่.
- พาวิณ มะโนชัย ยุทธนา เขาสุเมรุ ชิตี ศรีตันทิพย์ และสันติ ช่างเจรจา. 2546. **เทคโนโลยีการผลิตลำไย**. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ฟิสิกส์เซ็นเตอร์.
- พาวิณ มะโนชัย ยุทธนา เขาสุเมรุ ชิตี ศรีตันทิพย์ และสันติ ช่างเจรจา. 2547. **เทคโนโลยีการผลิตลำไย**. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ.
- พิชัย คงพิทักษ์ พงษ์เทพ อัครธนกูล และสาวิตรี มาลัยพันธ์. 2536. **การผสมเกสรของลำไยโดยใช้ผึ้งเป็นตัวถ่ายละอองเกสร**. การประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 31. น. 640-648.
- เพิ่มพูน กิรติกสิกร. 2546. **โบรอน-จุลธาตุอาหารพืช**. ภาควิชาทรัพยากรที่ดินและสิ่งแวดล้อม คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- มงคล ต๊ะอุ่น สันติภาพ ปัญจพรรค พชรี ธีรจินดาจรร และสุทธิพงศ์ เป็รื่องคำ. 2546. **แนวทางการจัดการธาตุอาหารโบรอนของมะละกอในแปลงเกษตรกรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ**. วารสารศูนย์บริการวิชาการ. 11(3): 32-36.
- ยงยุทธ โอสธสภ. 2543. **ธาตุอาหารพืช**. ภาควิชาปฐพี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- ยงยุทธ โอสธสภ. 2546. **การให้ปุ๋ยทางใบ**. ภาควิชาปฐพีวิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- ยงยุทธ โอสธสภ. 2546. **ธาตุอาหารพืช**. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

- ยุทธนา เขาสุเมรุ ชิตี ศรีตันทิพย์ และสันติ ช่างเจรจา. 2545. **การแก้ไขปัญหาด้านโทรมของลำไย: ความสัมพันธ์ระหว่างระดับธาตุอาหารในดินและต้นลำไยกับการแสดงอาการต้นโทรม**. รายงานฉบับสมบูรณ์ สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล.
- ยุทธนา เขาสุเมรุ ชิตี ศรีตันทิพย์ และสันติ ช่างเจรจา. 2548. **ผลของปุ๋ยไนโตรเจนต่อการเจริญเติบโต การออกดอกและคุณภาพผลผลิตของลำไย**. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. น. 338-341.
- รวี เสธฐักดี. 2540. **การติดผลและการเจริญเติบโตของลิ้นจี่และลำไย**. เอกสารประกอบการฝึกอบรม หลักสูตรเทคโนโลยียุคใหม่ในการผลิตลิ้นจี่และลำไย. สำนักส่งเสริมและฝึกอบรมและศูนย์วิจัยและพัฒนาไม้ผลเขตร้อนและกึ่งร้อน. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. น. 19-41.
- วัชรินทร์ จันทวรรณ ธีรณัฐ เจริญกิจ พาวิน มะโนชัย และยุวลี อันพาพรหม. 2559. **การศึกษาลักษณะ สัณฐานวิทยาของดอกลำไย 5 สายพันธุ์**. วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร. น. 131-140.
- วัฒนา เสถียรสวัสดิ์. 2511. **การศึกษาวิธีการผสมเกสรของลำไย**. รายงานความก้าวหน้าประจำปี พ.ศ. 2511. โครงการวิจัยศึกษาปัญหาการออกดอกของลำไย. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. น. 23-30.
- วินัย วิริยะอลงกรณ์. 2559. **คู่มือการผลิตลำไยสู่ภัยแล้ง**. สาขาไม้ผล คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้. จังหวัดเชียงใหม่.
- วีรชัย มาศฉมาดล. 2538. **อาหารก็เป็นยาได้ “ผลไม้”**. นานมีบุ๊คส์จำกัด. กรุงเทพฯ.
- ศิริโสภา อินขะ. 2555. **ผลของการใช้ความร้อนต่อโปรตีนในเปลือกผลลำไยระหว่างการสะท้อน**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ พิษณุวน มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ศุภลักษณ์ สิงหนุต. 2549. **โรคขาดธาตุอาหารพืช**. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.
- ศูนย์วิจัยเศรษฐกิจและพยากรณ์ทางการเกษตร. 2553. **ผลการสำรวจความคิดเห็นเรื่อง “เสียงสะท้อนชาวสวนก่อนผลผลิตลำไยออกสู่ตลาด**. คณะเศรษฐศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- สันติ ช่างเจรจา ยุทธนา เขาสุเมรุ และชิตี ศรีตันทิพย์. 2548. **ผลของไนโตรเจนต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของผลลำไยนอกฤดู**. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 35(5-6): 409-412.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2562. **เคาะผลพยากรณ์ ลิ้นจี่-ลำไย ภาคเหนือ เผย ผลผลิตเพิ่มเล็กน้อย เริ่มแทงช่อ-ออกดอกแล้ว**. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.oae.go.th/download/prcai/farmcrop/longan.pdf>. (14/09/2560).

- สุมิตรา ภู่วโรตม. 2544. การปฏิวัติการใช้ปุ๋ยในไม้ผลการจัดการธาตุอาหารทุเรียน. ภาควิชา
ปฐพีวิทยา คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
อรัญญา ศรีบุศราคม. 2555. คุณค่าของลำไย ไม่ใช่แค่ความหวาน. สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะ
เภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- อัญญา จรรยา. 2556. การวิเคราะห์แบบแผนโปรตีนที่แสดงความผิดปกติทางสรีรวิทยาของลำไยใน
ระยะผลอ่อนด้วยเทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบหนึ่งมิติ. มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่.
- เอกวิทย์ ตรีเนตร อัจฉรา แก้วกล้า วินัย วิริยะอลงกรณ์ และอดิศักดิ์ จูมวงษ์. 2560. รายงานวิจัยฉบับ
สมบูรณ์ การประเมินตัวบ่งชี้โปรตีนสำหรับการระบุกลุ่มอาการจากความผิดปกติทาง
สรีรวิทยาของผลลำไย. สำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.).
- Andreini, C., L. Banci and A. Rosato. 2006. Zinc through the three domains of life.
J. Proteome Res. 5: 3173–3178.
- Barry, D.A. and M.H. Miller. 1989. Phosphorus nutrition requirement of maize
seedlings from maximum yield. Agron. J. 81: 95-99.
- Belkhadir, Y., R. Subramaniam and J.L. Dangl. 2004. Plant disease resistance protein
signaling: NBS-LRR proteins and their partners. Curr Opin Plant Biol.
7(4): 391-399.
- Boardman, R. and D.O. Mcguire. 1990. The role of Zine in forest environment,
ecosystems and tree nutrition. EForest Ecol. Mgmt. 37:167-205.
- Bourton, W.G. 1982. Postharvest physiology of food crops. Longman group London.
- Brown J.C. 1979. Role of calcium in micronutrient stresses of plants. Commun. Soil
Sci. Plant Anal. 10: 459-472.
- Buchanan-Wollaston, V. 1997. The molecular biology of leaf senescence. J. Exp. Bot.
48(2) 181-199.
- Cakmak I. 2010. Role of zine in protecting plant cells from reactive oxygen species.
New phytol. 146: 185-205.
- Cakmak, I., D. Strbac and H. Marschner. 1993. Activities of hydrogen peroxide-
scavenging enzymes in germinating wheat seeds. J. Exp. Bot. 44: 127–132.
- Cakmak, I. and V. Romheld. 1997. Boron deficiency-induced impairments of cellular
functions in plants. Plant Soil. 193 : 71-83.
- Coleman, J. E. 1998. Zinc enzymes. Curr. Opin. Chem Biol. 2: 222–234.

- Davidescu, D. and V. Davidescu. 1982. **Evaluation of fertility by Plant and Soil Analysis**. Editura Academiei Romania and Abacus Press England.
- Dear, B.S. and R.G. Weir. 2004. **Boron deficiency in pastures and field crops**. Agfact New South Wales agriculture. 2nd edition. pp. 1-8.
- Dell, B. and L. Huang. 1997. **Physiological response of plant to low boron**. Plant and Soil. 193:103-120.
- Dhont, C., Y. Castonguay, J.C. Avice, and F.P. Chalifour. 2006. **VSP accumulation and cold-inducible gene expression during autumn hardening and overwinter of alfalfa**. J. Exp. Bot. 57: 2325-2337.
- Franceschi, V. R., V.A. Vittenbach and R.T. Giaquinta. 1983. **Paraveinal mesophyll of soybean leaves in relation to assimilate transfer and compartmentation. Immunohistochemical localization of specific glycopeptides in the vacuol after depodding**. Plant Physio. 72: 568-589.
- Freney J.K., K. Spencer and M.B. Jones. 1978. **The diagnosis of sulfur deficiency in wheat**. Aust. J. Agric. 29: 727-738.
- Hewitt, E. J., E.G. Fisher and M.C. Candela. 1956. **Factors affecting the activity of nitrate reductase in cauliflower plants**. Ann. Rep. Long Ashton Aes. Sta. 1955:202.
- Hu, H., P.B. Brown and J.M. Labavitch. 1996. **Species variability in boron requirement in correlated with cell wall pectin**. J.Exp. Bot. 47: 227-232.
- Ishimaru, Y., K. Bashir and N.K. Nishizawa. 2011. **Zn uptake and translocation in rice plants**. J.Exp. Bot. 45: 1829-1835.
- Johnson, A.D. and J.G. Simons. 1979. **Diagnostic indices of Zine deficiency in tropical legumes**. J. Plant nutr. 1: 123-149.
- Li, Y., X.H. Liu, and W.M. Zhuang. 2001. **Effect of magnesium deficiency on nitrogen metabolism of longan (*Dimocarpus longana* Lour.) seedlings**. J. Plant Nutr. 7: 218-222.
- Liu, S.B., X.C. Wang, M.J. Shi, Y. Chen, Z.H. Hu, and W.M. Tian. 2009. **Vegetative storage protein with trypsin inhibitor activity occurs in *Sapindus mukorassi* Sapindaceae Deciduous Tree**. J Integr Plant Biol. 51: 352-359.

- Ma, G., R. Wang, C.R.Wang, M. Kato, K. Yamawaki and F.X. Qin. 2009. **Effect of 1 - methylcyclopropene on expression of genes for ethylene biosynthesis enzymes and ethylene receptors in post-harvest broccoli.** Plant Growth Regulation. 57(3): 223-232.
- Marschner H. 1986. **Mineral Nutrition f Higher Plants.** London p. 674.
- Marschner H. 1995. **Mineral Nutrition of Higher Plants.** 2nd edition, Academic Press. New York. pp. 201-312.
- Menzel, C. M., M.L. Carseldine and D.R. Simpson. 1987. **The effect of leaf age on nutrient composition of non fruiting litchi (*Litchi chinensis* Sonn.).** J. Hort. Sci. 62(2): 273-279.
- Menzel, C. M., M.L. Carseldine and D.R. Simpson. 1988. **The effect of fruiting status on nutrient composition of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) during the flowering and fruiting season.** J. Hort. Sci. 63(3): 547-556.
- Muslin, A. J. and J.M.C Lau. 2004. **Differential Functions of 1 4 -3 -3 Isoforms in Vertebrate Development.** Curr. Top. Dev. Biol. 65: 211-228.
- Oppenheimer, C. and S. Gazit. 1961. **Zinc deficiency in mango groves in Israel and its correction.** Hort. Adv. 5: 1-12.
- Peng, S.J., J.E. Huang, R. CnSheehy, R.M. Laza, X. Visperas, G.S. Zhong, G.S. Centeno and K.G. Cassman. 2004. **Rice yields decline with higher night temperature from global warming.** Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 101 (27): 9971-9975.
- Prask, J.A. and D.J. Plocks. 1971. **A role of Zine in the structural integrity of the cytoplasmic ribosomes of *Euglena gracilis*.** Plant Physiol. 48: 150-155.
- Rengel, Z. and R.D. Graham. 1995. **Importance of seed Zn content for wheat growth on Zn-deficient soil.** Vegetative growth. Plant Soil. 173: 259-266.
- Robson, A.D. and D.J. Reuter. 1981. **Dignosis of copper deficiency and toxicity.** In Copper in soil and plant. Academic Press, London. pp. 287-312.
- Roygrong, S., W. Spreer and V. Romheld. 2016. **Role of boron and zinc in flower induction of Lychee (*Litchi chinensis* Sonn.).** International symposium. Chiang mai. Thailand. pp. 519-536.

- Sarun, P.L. and K. Ratan. 2011. **Boron deficiency disorders in mango (*Mangifera indica*) field screening nutrient composition and amelioration by boron application.** Indian J. Agri. Sci. 81 (6): pp. 506–10.
- Shelp, B.J. 1993. **Physiology and biochemistry of boron in plants.** In Boron and Its Role in Crop Production. pp. 53-85.
- Singh, B., Y.p. Dang and S.C. Mehta. 1990. **Influence of nitrogen on the behaviour of nickel in wheat.** Plant Soil 127: pp. 213-218.
- Smith, F.W., W.A. Jackson and P.J. Van. 1990. **Internal phosphorus flows during development of phosphorus stress in *Stylosanthes hamata* Aust. J. Plant Physiol. 17: pp. 451-464.**
- Somanahalli, C., Anil Kumar and Y. Raju. 2005. **Boron Deficiency in Mango (*Mangifera indica* L.) A Cause Delineation Study in Acidic Soils of Maharashtra, India.** Soil Sci. and Plant Nutr. 51(5): 751-754.
- Staswick, P. E. 1989. **Developmental regulation and the influence of plant sinks on vegetative storage protein gene expression in soybean leaves.** Plant Physiol. 89: 309-315.
- Taiz, L. and E. Zeiger. 2006. **Plant physiology.** Sinauer A. Sunderland U.S.A.
- Thongjoo, C., W. Mektrong, B. Ya-oop, O. Tuntawiroon, W. Kijsonporn, and W. Yeesawat. 2016. **Effect of Calcium-Boron Application on Leaf Nutrient Concentrations and Yield in 'Xichu' and 'Fuyu' Persimmons (*Diospyros kaki* L.).** Agricultural research and Technology Transfer Center Faculty of Agriculture Kasetsart University. pp. 1-9.
- Tongdee, S.C. 1997. **Longan.** In S.K. Mitra(ed) **Postharvest physiology and storage of tropical and subtropical fruits.** CAB International. New York.
- UniProt. 2018a. **Acetyl-coenzyme A carboxylase carboxyl transferase subunit beta.** [Online]. Available <https://www.uniprot.org/uniprot/QHZA7>. (5/12/2019).
- UniProt. 2018b. **L-Ascorbate peroxidase 1.** [Online]. Available <https://www.uniprot.org/uniprot/Q7XVM8>. (5/12/2019).
- UniProt. 2018c. **Remorin-4 protein.** [Online]. Available <https://www.uniprot.org/uniprot/Q7XVM8>. (5/10/2019).

- Uniprot. 2018d. **Transport inhibitor response 1-like protein** β . [Online]. Available <https://www.uniprot.org/uniprot/Q7XVM8>. (5/10/2019).
- Uniprot. 2018e. **WRKY transcription factor 72-3**. [Online]. Available <https://www.uniprot.org/uniprot/G3FF82>. (5/10/2019).
- Usahakaset. 2005. **Boron**. [Online]. Available <http://www.usahakaset.com/boron.html>. (5/10/2019).
- Wei, Jianfeng., W.D. Liang and S. Chuanzhi. 2007. **Effects of Spraying Potassium Combined with Calcium and Boron on Quality and Storability of Longan Fruits**. J. Agri. Sc. 35(13): 3986-3987.
- Wiriyaalongkorn, W., S. Roygrongb, W. Spreerc, S. Ongprasertd, V. Romheldb and T. Müller. 2007. **Effectiveness of micro-nutrient fertilization in off season longan production in Northern Thailand**. Conference on International Agricultural Research for Development. Tropentag University of Kassel-Witzenhausen and University of Göttingen. pp. 1-6.
- Zekri, M. and T.A. Obreza. 2003. **Micronutrient Deficiencies in Citrus: Iron, Zine and Manganese**. UF/IFAS Extension. University of Florida. pp. 1-3.



ภาคผนวก



ตารางผนวกที่ 1 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

อุปกรณ์	รุ่น	ยี่ห้อ	ประเทศ
Analytical balance	PB 1502-S	Mettler Toledo	Switzerland
Cuvette quartz cell	-	Perkin Elmer	U.S.A
Electrophoresis power supply	EPS601	Amersham Biosciences	Sweden
Ettan IPG Strip holder	7 cm	Amersham Biosciences	Sweden
Image Scanner	UTA-1120	Amersham Biosciences	Sweden
Immobilin Drystrip pH 3-10 NL	7 cm	Amersham Biosciences	Sweden
Isoelectric focusing system	Ettan IPG phor II	Amersham Biosciences	Sweden
Lambda 25 UV/VIS spectrometer	-	Perkin Elmer	U.S.A
Microcentrifuge	MIKRO 20	Hettich Zentrifugen	Germany
Microcentrifuge tube	1.5 ml	Hycon	U.S.A
Micropipette	0.5-10 μ l	Thermo	U.S.A
Micropipette	5-50 μ l	Thermo	U.S.A
Micropipette	100-1000 μ l	Thermo	U.S.A
Micropipette	1-5 ml	Thermo	U.S.A
Orbital shaker	S03	-	U.K
Pipette tip	-	Axygen	U.S.A
Platform stirrer	STR 8	Stuart Scientific	England
Micropipette	100-1000 μ l	Thermo	U.S.A
Refrigerator (-20°C)	SNH-0163D11A	Sandenintercool	Thailand
pH meter	713	Metrohm	Switzerland
Vertex	VTX-3000L	-	Japan
1D Gel Electrophoresis (8x9 cm, gel thick hand-cast 1 mm)	AE-6530 mPAGE	Atto	Japan
Amersham ECL Gel Box	-	GE	Sweden

ตารางผนวกที่ 2 สารเคมีใช้ในการทดลอง

สารเคมี	ความบริสุทธิ์	บริษัทผู้ผลิต	ประเทศ
Acrylamide(C_3H_5NO)	99.0%	Merck	Germany
Ammonium persulfate	98.5%	Fluka	Fluka
Acetic acid	99.9%	Merck	Germany
Aluminiumsulphate octadecahydrate	51.0-59.0%	Loba	India
Bromophenol blue	-	Fluka	Switzerland
β -mercaptoethanol	99.0%	Acros	U.S.A
Bovin serum albumin	97.0%	Fluka	Switzerland
CHAPS	-	U.S.B	U.S.A
Copper(II)sulfatepentahydrate	98.0%	Univar	Australia
Coomassie brilliant blue R 250	-	Fluka	Switzerland
Dithiothreitol, DTT	-	U.S.B	U.S.A
Ethanol	99.9%	Merck	Germany
Ethylenediaminetetraacetic acid			
Folin-ciocalteau's phenol	-	Merck	Germany
Formaldehyde			
Glycerol	-	Carlo Erba	Italy
Glycine	-	Fisher	U.K
Hydrochloric acid	37%	Carlo Erba	Italy
Iodoacetamide, IAA	-	Amersham biosciences	
IPG buffer pH 3-10NL	-	Amersham biosciences	
Methanol	99.8%	Loba	India
N,N,N',N'-tetramethylethylenediamine	98.5%	Fluka	Switzerland
N,N'-methylenebisacrylamide	98.0%	Fluka	Switzerland
Silver nitrate			
Sodium dodecyl sulfate, SDS	-	Sigma	U.S.A
Sodium hydroxide	99.9%	Merck	Germany
2D Clean-up kit	-	GE	Sweden
2D Quant kit	-	GE	Sweden



การสกัดตัวอย่างโปรตีนในส่วนต่างๆของเมล็ดลำไย เพื่อเข้าสู่เทคนิคโปรตีโอมิกส์ โดยการสกัดโปรตีนในแต่ละส่วนของลำไยประกอบด้วย extraction solution

ก. สารสกัดเมล็ด สกัดด้วย extraction solution คือ 100 mM tris-HCl pH 8.0, 50 mM L-ascorbic acid, 100 mM KCl, 50 mM disodium tetraborate decahydrate, 1% (v/v) TritonX-100, 2% (v/v) β -mercaptoethanol และ 1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF)

1. นำผงเมล็ดลำไย ชั่ง 1.00XX g ลงใน extraction solution 4 ml
2. นำสารละลายมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 15,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที
3. นำส่วนของสารละลายใสเหวี่ยงออกจนหมด เติม 0.1 mM ammonium acetate/methanol 10 ml จากนั้นนำไปเก็บไว้ที่ -20°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
4. นำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 15,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที
5. เก็บส่วนของตะกอนมาล้างด้วย methanol และ β -mercaptoethanol ใน acetone
6. นำไปอบที่ 60°C เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติม 0.25% SDS ปริมาตร 250 μl และเก็บรักษาไว้ที่ตู้แช่ -20°C เพื่อใช้ในการทดลองขั้นตอนต่อไป

การเตรียมโปรตีนตัวอย่างด้วย 2D-คลีนอัพ (Clean-up)

ปิเปต supernatant ปริมาตร 50 μl ลงในหลอด microcentrifuge ขนาด 1.5 ml เติม precipitant ลงไป 300 μl ผสมให้เข้ากันแล้วบ่มในน้ำแข็งเป็นเวลา 15 นาที เติม co-precipitant ปริมาตร 300 μl ผสมให้เข้ากันแล้วปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที ปิเปตส่วน supernatant ที่ทิ้งไป จากนั้นค่อยๆเติม co-precipitant ลงไป 40 μl เพื่อปิดผิวหน้าตะกอน ระวังก่อนให้ตะกอนถูกรบกวน นำหลอด microcentrifuge ไปบ่มในน้ำแข็งเป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อกำจัดของเหลวที่อยู่ในหลอดปิเปตน้ำปราศจากไอออนที่ผ่านการฆ่าเชื้อลงไป 25 μl ผสมให้เข้ากัน ตะกอนควรกระจายแต่ไม่ละลายน้ำ เติม wash buffer 1 ml ตามด้วย wash additive 5 μl ผสมให้เข้ากันจนกระทั่งตะกอนกระจายตัวอย่างสมบูรณ์ แล้วนำไปบ่มที่ -20°C เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นทำการปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 10 นาทีปิเปตส่วน supernatant ที่ทิ้งไป แล้วเติม rehydration solution ละลายโปรตีนเก็บรักษาไว้ที่ตู้แช่ -20°C เพื่อใช้ในการทดลองขั้นตอนต่อไป

การวัดปริมาณโปรตีนจากเมล็ดลำไยด้วยวิธี 2D-ควอนท์ (2D-Quant)

การทำกราฟมาตรฐานโปรตีนและการหาปริมาณโปรตีนด้วย 2D-ควอนท์

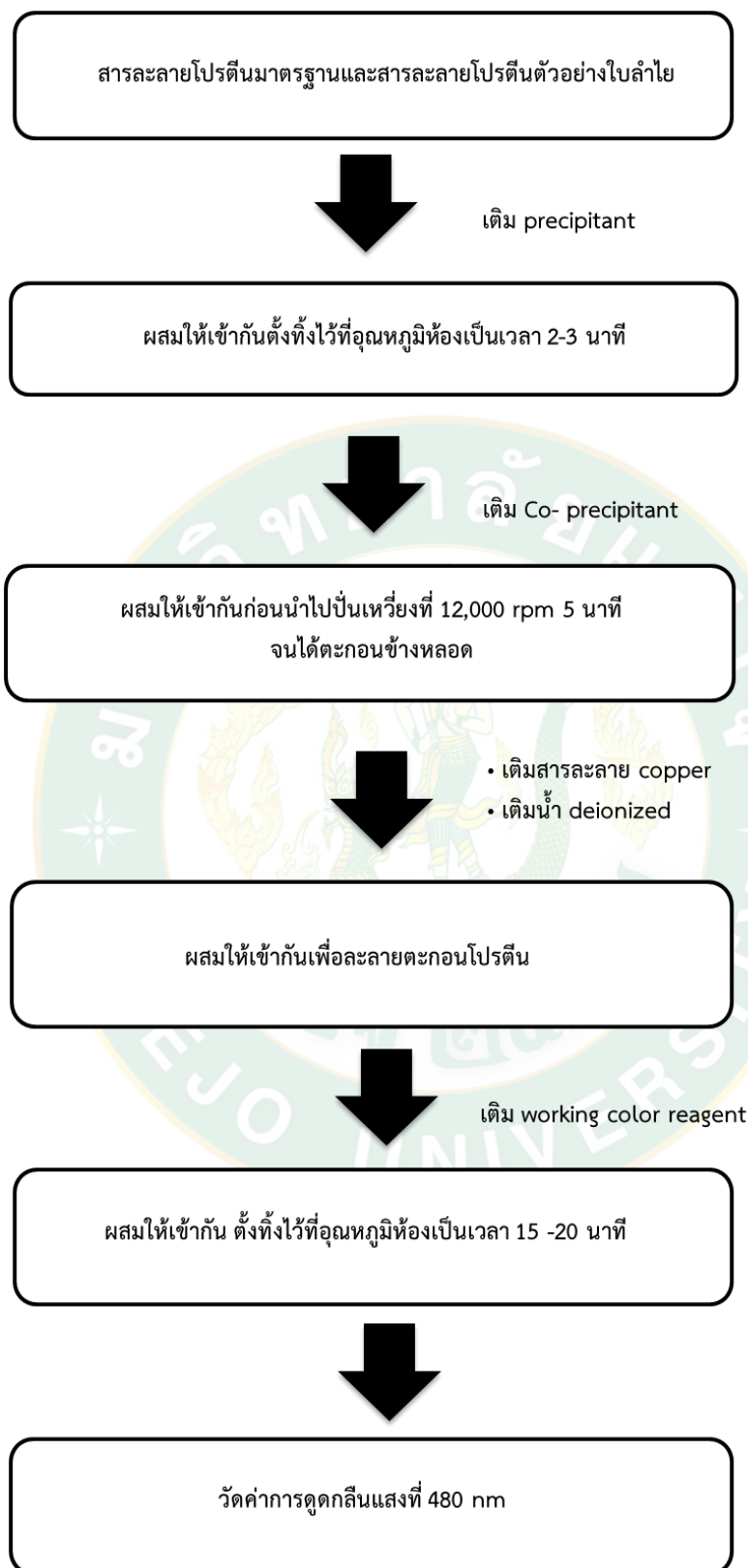
การทำกราฟมาตรฐานโปรตีนเริ่มโดยเตรียมหลอด microcentrifuge ขนาด 1.5 ml จำนวน 8 หลอด โดยหลอดที่ 1 ไม่เติมสารละลาย BSA (2 mg/ml) ส่วนหลอดที่ 2-6 เติมปริมาตร 5, 10, 15, 20 และ 25 μL ตามลำดับ สำหรับการหาปริมาณโปรตีนของสารตัวอย่างของลำไยใช้หลอดที่ 7 และหลอดที่ 8 เติมสารละลายโปรตีนตัวอย่างของเมล็ดลำไยที่เตรียมได้จาก ปริมาตร 4 และ 16 μL ตามลำดับดังแสดงในตารางที่ 10.

ตารางที่ 10 ปริมาณของสารละลายโปรตีนมาตรฐานและโปรตีนตัวอย่างของเมล็ดลำไยที่นำมาปริมาณโปรตีนด้วยวิธี 2D-Quantification

สารละลาย	BSA (2 μg / μL)						สารละลายโปรตีน	
หลอดที่	1	2	3	4	5	6	7	8
ปริมาณ (μL)	0	5	10	15	20	25	4	16
ความเข้มข้น (μg / μL)	0	10	20	30	40	50	-	-

*หมายเหตุ – หมายถึง ไม่ทราบความเข้มข้น

หลังจากนั้นในขั้นตอนการศึกษาการหาปริมาณโปรตีนด้วยวิธี 2D-ควอนท์ สารละลายโปรตีนมาตรฐานและสารละลายโปรตีนตัวอย่างเมล็ดลำไย นำมาเติม precipitant ปริมาตร 500 μL ลงในทุกหลอดผสมให้เข้ากันไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-3 นาที แล้วเติม co-precipitant ปริมาตร 500 μL ผสมให้เข้ากันก่อนนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm 5 นาที เพื่อตกตะกอนโปรตีนซึ่งจะเห็นเป็นตะกอนเล็กๆ สีขาวที่ข้างหลอดเทของเหลวที่อยู่ในหลอดทิ้งอย่างรวดเร็วเพื่อป้องกันการละลายกลับของตะกอน อาจปั่นเหวี่ยงอีกครั้งเพื่อกำจัดของเหลวออกให้หมด จากนั้นเติมสารละลาย copper ปริมาตร 100 μL ลงไปตามด้วยน้ำ deionized ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ปริมาตร 400 μL ผสมให้เข้ากันเพื่อละลายตะกอนโปรตีน แล้วเติม working color reagent (เตรียมได้จากการผสม color reagent A กับ color reagent B ในสัดส่วน 100:1) โดยเติมหลอดละ 1 ml ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15-20 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 480 nm โดยใช้น้ำกลั่นเป็นค่า Blank แสดงดังในรูปภาพที่ 9.



รูปภาพที่ 9 ขั้นตอนการศึกษาหาปริมาณโปรตีนด้วยวิธี 2D-ควอนท์ (2D-Quant)

การเปรียบเทียบหาสภาวะที่เหมาะสมของการกระจายตัวของโปรตีนในเมลต์ล่ายพ่นธุดเพื่อใช้ในการศึกษารูปแบบของโปรตีนในการเข้าสู่การวิเคราะห์โปรตีนโอมิกส์ โดยเปรียบเทียบสภาวะเจล 3 เจื่อนไข

เจื่อนไขของเจลเล็กโทรโฟรีซิสแบบเนทีฟกับนอน-เนทีฟ

การเตรียม slab gel

1. ต่อชุดแผ่นแก้วสำหรับทำ slab gel ใช้ specers เป็นตัวปรับความหนาของเจลตามความต้องการ (0.75-1.00 ml) คำนวณปริมาณของเจลที่จะใช้โดยที่จะใส่ stacking gel (upper) ที่มีความสูงประมาณ 1 เซนติเมตร เหนือ separating gel (lower) ประกอบชุดติดตั้งเจลแล้วนำแผ่นกระจกที่เตรียมได้ มาทำการ pack ในชุดแต่งตั้งนี้โดยวางกระจกให้ด้านที่เป็นแผ่นกระจกขนาดใหญ่อยู่ด้านใน ส่วนด้านที่เป็นแผ่นกระจกอยู่ด้านนอกเป็นแผ่นกระจกขนาดเล็กแล้วจึงทำการทดสอบการรั่วมาทดสอบการ pack ว่ามีรั่วหรือไม่ด้วยการเติมน้ำลงในชุดติดตั้ง

2. เตรียมสารละลายของเจล (separating gel) ความเข้มข้น 7.5%, 12.5% และ 15% ที่ยังไม่พอลิเมอร์ โดยผสมสารต่างๆ ดังตารางที่ 11.

ตารางที่ 11 สูตรสำหรับ SDS-PAGE (separating gel 7.5%, 12.5% และ 15%) ต่อ 1 เจล

สารเคมี	ความเข้มข้นเจล (ml)		
	7.5%	12.5%	15%
Monomer solution (ready gel solution)	4.7	8.0	9.4
4X running gel buffer	6.3	6.3	6.3
10% SDS	1.0	1.0	1.0
Distilled water	14	10.6	9.0
10% ammonium persulphate* (APS)	0.125	0.125	0.125
TEMED	0.0083	0.0083	0.0083

*เตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้

หมายเหตุ การเตรียมสภาวะเจลเล็กโทรโฟรีซิสแบบเนทีฟ จะไม่เติมองค์ประกอบที่เป็น 10% SDS

3. ค่อยๆ ผสม APS และ TEMED ลงในสารละลายเจลที่ดูดอากาศออกแล้ว ใช้ปิเปตดูดสารละลายเจนนีใส่ลงระหว่างแผ่นแก้วที่เตรียมไว้ จากนั้นค่อยๆ หยดน้ำกลั่นให้คลุมผิวของเจลทิ้งไว้ให้เจลแข็งตัว ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 30 นาที เมื่อเจลแข็งตัวจะเห็นรอยต่อระหว่างเจลและน้ำกลั่นที่คลุมผิวเจลอยู่อย่างชัดเจน

4. เตรียมสารละลาย stacking gel 4% จำนวน 10 ml โดยผสมสารดังตารางที่ 12 เข้าด้วยกันดูอากาศออกจากสารละลายประมาณ 10 นาที

ตารางที่ 12 สูตรสำหรับ SDS-PAGE (stacking gel 4%) ต่อ 1 เจล

สารเคมี	ปริมาตร (ml)
Monomer solution	0.450
4X stacking gel buffer	0.750
10% SDS	0.030
Distilled water	1.75
10% ammonium persulphate (APS)	0.025
TEMED	0.010

หมายเหตุ การเตรียมสภาวะเจลอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบแนทีฟ จะไม่เติมองค์ประกอบที่เป็น 10 % SDS

5. ค่อยๆ ล้างส่วนของ gel ด้วยน้ำกลั่นและดูดน้ำออกให้แห้ง สอดหัว (comb) ขนาด 10 หลุม และความหนา 1.00 mm ลงในเจล plate

6. ใส่ 10% APS จำนวน 50 μ l และ TEMED จำนวน 5.0 μ l ในสารละลายของ stacking gel ที่ดูดอากาศออกแล้วผสมให้เข้ากันแล้วเทลงบน separating gel ระวังอย่าให้มีฟองอากาศเกิดในช่อง comb ทิ้งไว้ให้เจลแข็งตัวจะใช้เวลาประมาณ 30-45 นาที

7. ดึง comb ออกจาก stacking gel จะเห็นช่อง (well) สำหรับใส่สารที่ต้องการแยกบนเจล หยอดน้ำกลั่นลงในช่องเพื่อล้างอีกครั้งหนึ่งจากนั้นดูดน้ำออกจนเห็นเป็นช่องๆ

การเตรียมสารโปรตีนมาตรฐาน

การทดลองนี้ใช้ standart protein marker ชนิด chromatein prestained protein ladder โดยมีรายละเอียด ดังนี้

Code:	PR0602
Lot No:	7008, 7009
Expiry date:	August, 2015
Pack size:	2x250

ทำการแยกใส่ effendrop tube ในปริมาณ 100 μ l จำนวน 2 หลอดแล้วนำไปเก็บไว้ที่ -20°C โดยเหลือในหลอดไว้เพียง 50 μ l เพื่อใช้ในการทดลองครั้งนี้ (หลังใช้เสร็จให้ทำการเก็บไว้)

ที่ -20°C พันที) การเก็บรักษา (storage condition) ทำการเก็บรักษาไว้ที่ -20°C เพื่อใช้ในการทดลอง 1 ปีสำหรับ recommended load volume ในงานวิจัยครั้งนี้ใช้ $4\ \mu\text{l}$

การเตรียมสารละลายตัวอย่างโปรตีนจากเมล็ดลำไยเพื่อใช้ในการเข้า SDS-PAGE

การเตรียม stock SDS sample buffer สำหรับตัวอย่างชนิด reducing protein solution ดังตารางที่ 13

ตารางที่ 13 สูตรสำหรับ stock SDS sample buffer สำหรับตัวอย่างชนิด reducing protein solution

สารเคมี	ปริมาตร (ml)
Distilled water	4.8
0.5 M Tris-HCl pH 6.8	1.2
10% SDS	2.0
Glycerol	2.0
0.5% Bromophenol blue	0.8
β -mercaptoethanol	0.050

หมายเหตุ การเตรียมสภาวะตัวอย่างแบบนอน-รีดิวซิง จะใช้การเตรียมเหมือนในตารางไม่มีการเติม β -mercaptoethanol และการเติมเจลาอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบเนทีฟ จะไม่เติมองค์ประกอบที่เป็น 10 % SDS

ขั้นตอนการเตรียมผสมสารละลายตัวอย่างโปรตีนเมล็ดลำไยกระทำโดย นำโปรตีนที่สกัดได้และผ่านขั้นตอน clean-up จำนวน $50\ \mu\text{l}$ (โดยไม่ผ่านการเจือจาง) มาผสมกับใน loading buffer ใน $50\ \mu\text{l}$ อัตราส่วน 1:1 ในหลอด centrifuge tube ทำการปิดฝาหลอด จากนั้นทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วทำการปั่นเหวี่ยงตะกอน 1 นาทีที่ความเร็วรอบต่อนำสารละลายที่ได้เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20°C

การทำอิเล็กโทรโฟรีซิส

1. ต่อชุดอิเล็กโทรโฟรีซิสทั้งหมดเข้าด้วยกัน เติม tank buffer (0.025 M Tris, 0.192 M glycine, 0.1% SDS pH 8.3) ลงใน chamber
2. ใส่โปรตีนที่คำนวณได้ลงในช่องบน stacking gel โดยทำการใส่ standard protein หลุมปลายด้านซ้าย $4\ \mu\text{l}$ แล้วเว้นระยะไว้ 1 หลุม ส่วนหลุมถัดมาใส่สารละลาย egg

albumen ส่วนหลุมถัดปัสสารละลายตัวอย่างโปรตีนจากใบและเปลือกทั้ง 2 เงื่อนไขได้แก่ รีตวซิงกับนอน-รีตวซิง ตามลำดับ หลุมละ 20 μg (ส่วนปริมาตรจะใช้แต่ละหลุมได้จากการคำนวณ)

3. ต่อขั้วบวกกับ chamber ล่าง และขั้วลบเข้า chamber บน เปิดสวิทช์ของเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า โดยใช้กระแสคงที่ที่ 20 mA (สำหรับเจลเดี่ยวถ้า 2 เจลใช้ 40 mA) โดยการปรับค่า V ไว้ที่ 250 ที่อุณหภูมิห้อง

4. ปิดเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้าเมื่อเห็นสีของ bromophenol blue เคลื่อนที่มาจากปลายล่างของเจลซึ่งใช้เวลาประมาณ 1.5 ชั่วโมง

5. นำแผ่นแก้วออกจาก chamber และนำแผ่นเจลที่อยู่ระหว่างแผ่นแก้วออกมาวางบนถาดเพื่อตรวจสอบหาตำแหน่งและปริมาณของโปรตีนต่อไป

การย้อมสีโปรตีนในเจล

หลังจากสิ้นสุดการทำอิเล็กโตรโฟรีซิสนำแผ่นเจลแช่ในสารละลายย้อมโปรตีนโดยวิธีการย้อมสีโดยวิธี coomassie brilliant blue R-250

วิธีนี้เป็นวิธีมาตรฐานและใช้กันแพร่หลายสำหรับโปรตีนทั่วไป แถบที่มีโปรตีน 0.1-1 μg จะให้สีน้ำเงินที่ชัดเจน มีวิธีการดังนี้

1. ตริंगโปรตีนในเจลด้วยสารละลาย (50% methanol, 10% acetic acid) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

2. เตรียม staining solution คือ coomassie brilliant blue R-250 1.25 g, methanol 250 ml, acetic acid 50 ml ในน้ำกลั่น 200 ml เมื่อสีละลายกรองด้วยกระดาษกรอง สารละลายนี้เมื่อใช้แล้วสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้อีก

3. ค่อยๆ นำเจลบนแผ่นแก้วมาใส่ในถาดที่มี staining solution ทิ้งไว้ประมาณ 15 นาที แล้วนำไปล้างด้วยน้ำกลั่นก่อน 3 ครั้งก่อนล้างสี

4. ล้างสี ด้วยสารละลาย 25% methanol, 7% acetic acid เปลี่ยน สารละลายที่ใช้ล้างสีหลายๆครั้ง จนเห็นแถบสีน้ำเงินของโปรตีนอย่างชัดเจน

เงื่อนไขเจลอิเล็กโตรโฟรีซิสแบบต่อเนื่องกับไม่ต่อเนื่อง

สำหรับการเตรียมเจลอิเล็กโตรโฟรีซิสแบบต่อเนื่องใช้วิธีการเตรียมเจลตามวิธีดัดแปลงของ John และคณะ (2002) โดยมีขั้นตอนต่อไปนี้

แบบที่ 1 การเตรียม slab gel อิเล็กโทรโฟรีซิสแบบต่อเนื่องชนิด manual

1. เตรียมเครื่องมือ slab gel
2. เตรียมสารละลายของเจลแบบ gradient SDS-PAGE โดยใช้สารละลาย A และ B ที่ยังไม่ polymerize โดยผสมสารต่างๆ ดังตารางที่ 14

ตารางที่ 14 สูตรสำหรับเจลแบบ gradient SDS-PAGE โดยใช้สารละลาย A และ B ต่อ 1 เจล

สารเคมี	สารละลาย A (ml)	สารละลาย B (ml)
Monomer solution (ready gel solution)	2.5	10.0
1.875 M Tris – HCl, pH 8.8	3.0	3.0
Distilled water	9.3	0.6
10% SDS	0.15	0.15
10% ammonium persulphate* (APS)	0.05	0.05
Sucrose (g)	-	2.2

หมายเหตุ การเตรียมสภาวะเจลอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบเนทีฟ จะไม่เติมองค์ประกอบที่เป็น 10 % SDS

3. ค่อยๆ ผสม APS และ TEMED ลงในสารละลายเจลที่เตรียมไว้แล้วทั้งสารละลาย A และสารละลาย B โดยทำการปรับหมุน magnetic bar และเปิดท่อผสมละลายระหว่างสาร A และสาร จากนั้น ดูดสารละลายเจนนีใส่ลงระหว่างแผ่นแก้วที่เตรียมไว้ด้วยเครื่อง peristaltic pump หรือ หากไม่มีเครื่อง peristaltic pump ให้ใช้การปรับอัตราการไหลโดยอาศัยแรงโน้มถ่วงของโลก

4. ปรับอัตราการไหลโดยอาศัยแรงโน้มถ่วงของสารละลายผสม A และ B ให้ได้ อัตรา 5 ml/min ลงในแผ่นกระจกจนได้ระยะ 1 cm จากด้านบน จากนั้นค่อยๆ หยดน้ำกลั่นให้คลุมผิวเจลทิ้งไว้ให้เจลแข็งตัว ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 30 นาทีเพื่อให้เจลแข็งตัวเกิดสภาวะ gradient gel จะเห็นรอยต่อระหว่างเจลและน้ำกลั่นที่คลุมผิวเจลอยู่ชัดเจน

5. เตรียมสารละลาย stacking gel 4% เหมือนในตารางที่ 2.5 ค่อยๆ ล้างส่วนของ gel ด้วยน้ำกลั่นและดูดน้ำออกให้แห้ง สอด comb ขนาด 10 หลุม และความหนา 0.75 mm ลงในเจล plate

6. ใส่ 10% APS จำนวน 50 μ l และ TEMED จำนวน 5.0 μ l ในสารละลายของ stacking gel ที่ดูดอากาศออกแล้วผสมให้เข้ากันแล้วเทลงบน separating gel ระวังอย่าให้มีฟองอากาศเกิดในช่อง comb ทิ้งไว้ให้เจลแข็งตัวจะใช้เวลาประมาณ 30-45 นาที

7. ดึง comb ออกจาก stacking gel จะเห็นช่อง (well) สำหรับใส่สารที่ต้องการ แยกบนเจล หยอดน้ำกลั่นลงในช่องเพื่อล้างอีกครั้งหนึ่งจากนั้นดูดน้ำออกจนเห็นเป็นช่องๆ

8. สำหรับการใส่สารละลายโปรตีนตัวอย่างเมล็ดลำไยทั้งในเงื่อนไข reducing และ non-reducing

แบบที่ 2 การเตรียม slab gel อิเล็กโทรโฟรีซิสแบบต่อเนื่องชนิดชนิด ready

สำหรับการเตรียม slab gel แบบ continuous electrophoresis ชนิด ready มีขั้นตอนดังนี้

1. เตรียม 1xrunning buffer โดยเจือจาง 19 ml Amersham ECL gel running buffer, 10x ในน้ำ 171 ml ซึ่ง buffer ที่เตรียมได้นี้เพียงพอสำหรับหนึ่งเจล
2. เติม 90 ml ของ 1xrunning buffer ลงไปไปยังแต่ละข้างของ Amersham ECL box ทำการเปิดถุงเจลสำเร็จ Amersham ECL 4-20%
3. วางเจล Amersham ECL ลงในน้ำกลั่นและแกะเทปด้านข้างของเจลออก
4. วาง Amersham ECL เจลใน Amersham ECL gel box เพื่อให้ทั้งด้านข้างของหน้าเจลที่มีต่อขั้วลบ (-) และอีกข้างหนึ่งต่อกับขั้วบวก (+)
5. ทำการปิดฝาด้านบนของ Amersham ECL gel เชื่อมต่อกับแหล่งจ่ายไฟ โดยตั้งค่าเริ่มต้นใช้ศักย์ไฟฟ้าต่อหนึ่งเจล 12 นาทีที่ 160 V เมื่อรันเสร็จปิดเครื่องพร้อมสำหรับใส่ตัวอย่าง
6. ทำการแกะ comb สำเร็จออกจากเจลสำเร็จแล้วเติม 6 ml 1xrunning buffer ใน well container
7. ผสมตัวอย่างกับ sample buffer loading 1:1 ในปริมาณ 20 μ g พร้อม standard protein marker 5 μ l
8. ทำการปิดฝาด้านบนของ Amersham ECL gel เชื่อมต่อกับแหล่งจ่ายไฟ โดยตั้งค่าเริ่มต้นใช้ศักย์ไฟฟ้าต่อหนึ่งเจล 60 นาทีที่ 160 V เมื่อรันเสร็จจึงทำการปิดเครื่อง

เงื่อนไขเปรียบเทียบอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบ 1 มิติ กับ 2 มิติ

สำหรับการเตรียมเจลอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบ 2 มิติ (2D-gel) เพื่อใช้เปรียบเทียบกับผลเจลอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบ 1 มิติ (1D-gel) ใช้วิธีการเตรียมเจลตามวิธีการดัดแปลงของ GE healthcare และคณะ (2004) โดยมีขั้นตอนต่อไปนี้

การแยกโปรตีนในมิติที่ 1 ด้วยวิธี IEF

เตรียมสารละลายสำหรับทำ IEF ปริมาตร 125 μ l ซึ่งประกอบด้วยโปรตีนตัวอย่าง 100 μ g, 20 mM DTT, 0.8% v/v IPG buffer และ rehydration stock solution (การคำนวณ

แสดงไว้ในภาคผนวก ข) หลังจากผสมองค์ประกอบทั้งหมดแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงแบบ quick spin 20 วินาที ปิเปตสารละลายที่เตรียมไว้ลงไปใน strip holder ขนาด 7 cm โดยค่อยๆปล่อยสารละลายจากหัวบวกลงไปหัวลบจนได้ระยะทาง 2 ใน 3 ของ strip holder ระวังอย่าให้มีฟองอากาศ

เตรียม IPG strip (pH 3-10 NL ขนาด 7 cm) โดยใช้ forceps ลอกพลาสติกที่ติดอยู่กับ IPG strip ออก (ลอกจากบวกลงไปหาลบ) ระวังอย่าจับส่วนที่เป็นเจล วาง strip ลงใน strip holder โดยคว่ำหน้าเจลลง (ต้องอ่านตัวเลขที่อยู่บน IPG strip ได้) ระวังอย่าให้เกิดฟอง ปิดผิวหน้า strip ด้วย dry strip cover fluid เพื่อป้องกันการระเหยและตกผลึกของยูเรีย ระหว่างทำ IEF จากนั้นปิดฝาของ strip holder แล้วนำไปวางบนเครื่อง Ettan IPGphor II

ตรวจสอบให้แน่ใจว่าหัวบวและหัวลบของ electrode ใน strip holder อยู่ตรงกับพื้นที่หัวบวและหัวลบของ electrode ในเครื่อง IPGphor II จากนั้นปิดฝาเครื่อง แล้วตั้งโปรแกรมทำ IEF ดังนี้

Prot#1	7 cm	pH 3-10 NL
Rehydration	12:00 hr.	@ 20°C
IEF	@ 20°C	50 μ A/strip
2		strips 5 steps

Step 1 step and hold	150 V	200 V/hr.
Step 2 step and hold	300 V	200 V/hr
Total		11,700 V/hr
Step 3 Gradient	1000 V	300 V/hr
Step 4 Gradient	5000 V	4500 V/hr
Step 5 step and hold	5000 V	6500 V/hr

เมื่อเริ่มทำ IEF ให้กดปุ่ม start หน้าจอเครื่อง IPGphor II จะปรากฏข้อความดังนี้

Running Prot#1	
Rehydration for	12:00 hr
0:00 hr.	Elapsed
Rehydration at 20°C	

และเมื่อเสร็จสิ้นการทำ IEF หน้าจอเครื่อง IPGphor II จะปรากฏข้อความดังนี้

Run ended at		
5000 V	11,701 Vhr	total
28 μ A	5:33 hrs	total
Press STOP to reset		

กดปุ่ม Stop แล้วเปิดฝาเครื่องเพื่อนำ strip ออกจาก strip holder ไปทำการแยกโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE ต่อไป

การแยกโปรตีนในมิติที่ 2 ด้วยวิธี SDS-PAGE

1. การเตรียมเจลสำหรับทำ SDS-PAGE

ประกอบอุปกรณ์ของเครื่อง Atto AE-6530 โดยเริ่มจากการประกบ plain glass plate กับ 1 mm glass plate เข้าด้วยกัน แล้ววางลงใน module โดยให้แผ่น 1 mm glass plate อยู่ด้านใน จากนั้นจัดกระจกทั้งสองให้ขอบเท่ากันก่อนที่จะยกที่ยึด (clips) ทั้งสองด้านมาอยู่ในตำแหน่งด้านข้าง ทดสอบการตั้งของแผ่นกระจกกับพื้นและอาจเติมน้ำกลั่นลงไปในช่วงว่างระหว่างกระจกทั้งสองเพื่อตรวจสอบการรั่วของ module

ปีเปต acrylamide solution ความเข้มข้น 15% แบบ ready gel ดังตาราง 2.4 ที่เตรียมไว้ใส่ลงในช่องว่างระหว่างกระจกทั้งสองจนกระทั่งระดับของสารละลายอยู่ต่ำกว่าขอบกระจกด้านบนประมาณ 1 cm (ระวังอย่าให้มีฟองอากาศ) จากนั้นปิดผิวหน้าเจลทันทีด้วยน้ำ deionized แล้วตั้งทิ้งไว้ให้เจลแข็งตัวประมาณ 1 ชั่วโมง ก่อนเทน้ำออกเพื่อนำเจลไปใช้ทำ SDS-PAGE หรือเก็บเจลไว้ใช้ภายหลังโดยปิดผิวหน้าเจลด้วย gel storage solution แล้วนำไปไว้ที่อุณหภูมิ 4-8 °C

2. การ equilibrate IPG strip ก่อนทำ SDS-PAGE

เตรียมหลอด centrifuge ขนาด 15 ml 2 หลอด โดยหลอดที่ 1 มี 0.05 g DTT และหลอดที่ 2 มี 1.25 g IAA จากนั้นเติม SDS equilibration buffer 5 ml ลงไปในแต่ละหลอดเพื่อละลายสารที่อยู่ในหลอด นำ IPG strip ที่ผ่านการทำ IEF แล้ว มาใส่ในหลอดที่ 1 โดยหันด้านพลาสติกแนบกับข้างหลอดด้านในแล้วนำไปวางบนเครื่องโยกเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นย้าย IPG strip มาใส่ในหลอดที่ 2 แล้วนำไปวางบนเครื่องโยกเป็นเวลา 15 นาที

3. การนำ strip ใส่เครื่อง Atto AE-6530 และทำ SDS-PAGE

แช่ IPG strip ที่ได้จาก 2 ใน 1X SDS electrophoresis running buffer (tank buffer) เป็นเวลา 5-10 นาที เพื่อล้าง glycerol ที่เป็นองค์ประกอบใน SDS equilibration buffer

ออก แล้ววาง strip ลงบนเจลที่เตรียมไว้ (จากข้อ 1) โดยให้ด้านพลาสติกแนบติดกับกระจกด้านนอก (rectangular plate) และให้ด้านบวกอยู่ซ้าย (ต้องอ่านตัวเลขบน IPG strip ได้) เตรียม protein marker ปริมาตร 6.0 μ l ลงบนกระดาษกรอง (ขนาด 3x5 mm) แล้วทิ้งไว้จนแห้ง จากนั้นวางกระดาษกรองลงตรงช่องว่างด้านซ้ายของ IPG strip แล้วปิดผิวหน้า IPG strip ด้วย agarose sealing solution

ปลดล็อก sealing plate ของ module ให้อยู่ในระดับล่างสุดก่อนนำมาใส่ใน electrophoresis chamber เติม 1X SDS electrophoresis running buffer ในช่องว่างของ module ให้ท่วมขอบบนกระจกด้านใน แล้วเติม buffer ชนิดเดียวกันลงใน chamber ให้อยู่เหนือขีดที่บอกระดับต่ำสุด กำจัดฟองอากาศที่อยู่ขอบกระจกทั้งด้านบนและล่าง ตรวจสอบขั้วกระแสไฟของ module ว่าแห้งสนิทก่อนการปิดฝา ต่อสายไฟเข้ากับเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า (power supply) แล้วติดตั้งโปรแกรมการทำ SDS-PAGE ดังนี้

Step 1: current 10 mA/gel 0:15 hr.

Step 2: current 20 mA/gel 1:30 hr.

Max 150 V and 100 W

เมื่อตั้งโปรแกรมทั้ง 2 ขั้นตอนเสร็จ หน้าจอเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้าจะปรากฏข้อความตามลำดับดังนี้

SET:	P1 ^A	0:15 hr.
150 V	10 mA	100 W

และ

SET:	P2 ^A	1:30 hr
150 V	20 mA	100 W

กดปุ่ม Run เพื่อเริ่มทำการ SDS-PAGE ในขั้นตอนแรก เมื่อเสร็จสิ้นตามเวลาที่กำหนด ให้กดปุ่ม stop ตามด้วย set เพื่อเปลี่ยนโปรแกรมเข้าสู่ขั้นตอนที่ 2 ซึ่งในขั้นตอนนี้ให้สังเกตแถบของ bromophenol blue (tracking dye) หรือแถบสีน้ำเงินแรกของโปรตีนมาตรฐานชนิด pre-stain เคลื่อนลงมาห่างจากขอบเจลด้านล่าง 5 mm ให้กดปุ่ม stop เพื่อหยุดการทำงานของเครื่องซึ่งจะปรากฏข้อความบนหน้าจอเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้าดังนี้

END:	P2 ^A	1:02 hr.
150 V	34.5 mA	11 W

จากนั้นปิดเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้าแล้วนำเจลออกจากเครื่อง Atto AE-6530 ใส่กล่องพลาสติกใสสำหรับย้อมสีเจลด้วยวิธี coomassie brilliant blue R-250 เพื่อตรวจหาจุดโปรตีนบนเจลต่อไป (ย้อมโปรตีนในเจลเหมือนขั้นตอนการทำอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบ 1 มิติ) แล้วจึงนำเจลที่ได้ไปสแกนเพื่อวิเคราะห์ภาพเจลต่อไป

การบันทึกข้อมูล

การวิเคราะห์เจลสำหรับเทคนิค 2D-gel

สำหรับการวิเคราะห์เจลด้วยเทคนิค 2D-gel จะมีการวิเคราะห์ 2 ส่วนคือค่า pI ของโปรตีน จะอาศัยการประมาณในตำแหน่งแนวแกนนอนของเจลที่มีช่วง pH 3-10 ส่วนการประมาณค่าน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนจะใช้วิธีเหมือน 1D-gel โดยการวัดผลเจล 2 วิธีดังนี้
การวัดผลของเจลโดยวิธีคำนวณ

1. นำเจลมาวัดระยะทางของ tracking dye จากบริเวณเริ่มต้นก่อนการย้อมสี หลังจากย้อมสีแล้วจึงวัดระยะทางการเคลื่อนที่ของโปรตีน นำระยะทางการเคลื่อนที่มาคำนวณหาค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ (relative migration, R_f) ของโปรตีนแต่ละชนิด

$$R_f = \frac{\text{ระยะทางการเคลื่อนที่ของโปรตีนจากจุดเริ่มต้น}}{\text{ระยะทางการเคลื่อนที่ของ tracking dye จากจุดเริ่มต้น}}$$

2. นำค่า R_f ของโปรตีนมาตรฐาน และค่า $\log_{10}$ มวลโมเลกุลของโปรตีนมาตรฐาน มาเขียนกราฟมาตรฐาน จากนั้นนำค่า R_f ที่วัดได้จากตัวอย่างไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานจะสามารถทราบมวลโมเลกุลของโปรตีนจากใบล่ายที่เราทำการวิเคราะห์ได้

การวิเคราะห์เจลสำหรับเทคนิค 2D-Gel ด้วยเครื่องมือ

เจลที่ได้จากการศึกษาโปรตีนในใบล่ายสายพันธุ์ด้วยเทคนิค 1D-gel จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือ Gel documentation system และหาคุณสมบัติของโปรตีนในเจล (ค่า MW) ด้วยโปรแกรม Image Quant TL version 2.0

ส่วนการศึกษาด้วยเทคนิค 2D-gel ไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือ Image Sanner และหาคุณสมบัติของโปรตีนในเจล (ค่า pH และ MW) ด้วยโปรแกรม Image Master 2D Platinum version 5.0

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล

อังคณา เปี่ยมพร้อม

เกิดเมื่อ

18 มกราคม 2537

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2559 วิทยาศาสตรบัณฑิต(เทคโนโลยีการเกษตร) สาขา
เทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี
พ.ศ. 2555 มัธยมศึกษาตอนปลาย ณ โรงเรียนสตรีมารดาพิทักษ์
อ.เมือง จ.จันทบุรี

