Agricultural Sci. J. 46 : 3/1 (Suppl.) : 180-184 (2015) ว. วิทย. กษ. 46 : 3/1 (พิเศษ) : 180-184 (2558)

ผลของแสง LED สีแดงและน้ำเงินต่อการพัฒนาของผลแอปเปิลพันธุ์ Tsugaru

Effects of Red and Blue LED on Developing of Apple Fruit cv. 'Tsugaru'

พรพรรณ เล็กขำ[1] **วาริช ศรีละออง**[1] **และ** Satoru Kondo[2]

Pornpan Lekkham[1], Varit Srilaong[1] and Satoru Kondo[2]

Abstract

This research aimed to study effect of red and blue light-emitting diode (LED) radiation on anthocyanin accumulation in Tsugaru apple. The apple trees were irradiated with red and blue LED light after sunset 3 hours and before sunrise 3 hours 60-142 days from full bloom. The tree without LED radiation treated served as a control. Apple fruits were sampled at 117 until 142 days after full bloom (DAFB). The fruit size, sugar content, activity of sugar biosynthesis related enzymes and anthocyanin content were analyzed. The results showed the fruit size of apple was not significantly different among treatments. Sugar enzymes which involved in anthocyanin accumulation including sucrose phosphate synthase (SPS), sucrose synthase (SS) and neutral invertase (NI) were also not significantly different. Similar non significant finding was found in sucrose, fructose, glucose and sorbitol content. However, anthocyanin content was significantly highest in the skin of red LED-treated fruit, while no effect on anthocyanin content was found with blue LED-treated skin. It is concluded that irradiation with red LED has effect on anthocyanin accumulation in Tsugaru apple skin.

Keywords: LED irradiation, anthocyanin, sugar biosynthesis related enzymes

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการศึกษาผลของแสงสีแดงและสีน้ำเงินจากหลอด light-emitting diode หรือ LED ต่อการสะสมปริมาณแอนโทไซยานินในเปลือกแอปเปิลสายพันธุ์ Tsugaru โดยทำการให้แสง LED สีแดงและแสงสีน้ำเงินแก่ต้นแอปเปิลในช่วงหลังพระอาทิตย์ตกดิน 3 ชั่วโมง และก่อนพระอาทิตย์ขึ้น 3 ชั่วโมง 60-142 วัน นับจากดอกบาน ต้นแอปเปิลที่ไม่ได้รับแสง LED คือชุดควบคุม ทำการเก็บตัวอย่างแอปเปิลในวันที่ 117 ถึงวันที่ 142 วันหลังดอกบาน โดยทำการศึกษาขนาดของผล ปริมาณน้ำตาล กิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตน้ำตาล และปริมาณแอนโทไซยานิน ผลการทดลองพบว่าการให้แสงสีแดงและสีน้ำเงินไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญต่อการเพิ่มขนาดและปริมาณน้ำตาลของผลแอปเปิล นอกจากนี้กิจกรรมเอนไซม์ในกระบวนการสร้างน้ำตาลที่มีความสัมพันธ์กับการสะสมแอนโทไซยานิน ได้แก่ sucrose phosphate synthase (SPS), sucrose synthase (SS) และ neutral invertase (NI) พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเช่นเดียวกันกับปริมาณน้ำตาลซูโครส กลูโคส ฟรุกโตส และซอร์บิทอล แต่อย่างไรก็ตามพบว่าการให้แสงสีแดงทำให้มีการสะสมแอนโทไซยานินในเปลือกของแอปเปิลมากกว่าชุดการทดลองอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนการให้แสงสีน้ำเงินไม่มีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินเช่นเดียวกับชุดควบคุม จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการให้แสง LED สีแดงมีผลต่อการสร้างแอนโทไซยานินในแอปเปิลสายพันธุ์ Tsugaru

คำสำคัญ: การให้แสงด้วยหลอด LED/ แอนโทไซยานิน/ เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์น้ำตาล

บทนำ

แอปเปิล (*Malus domestica*) เป็นผลไม้ชนิดหนึ่งที่มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูง ส่วนใหญ่มักพบในส่วนของเปลือกโดยเฉพาะแอนโทไซยานิน จากการวิจัยที่ผ่านมาพบว่าการสังเคราะห์แอนโทไซนานินในเปลือกแอปเปิลจะขึ้นอยู่กับปัจจัยภายนอกและปัจจัยภายใน เช่น แสง อุณหภูมิ ฮอร์โมน และการสะสมของน้ำตาล (Winkel-Shirley, 2001) โดยน้ำตาลซูโครสเป็นน้ำตาลที่มีความสำคัญต่อการพัฒนาของพืช และถูกใช้ในหลายๆกระบวนการ เช่น glycolysis pathway และ

[1]สาขาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี (บางขุนเทียน) 49 ซอยเทียนทะเล 25 ถนนบางขุนเทียนชายทะเล แขวงท่าข้าม เขตบางขุนเทียน กรุงเทพมหานคร 10150

[1]Division of Postharvest Technology, School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi (Bangkhuntien), 49 Tientalay 25, Thakam, Bangkuntien, Bangkok 10150, Thailand

[2]Graduate School of Horticulture, Chiba University, Matsudo-shi, 271-8510 Japan

anthocyanin biosynthesis pathway เป็นต้น ในการสังเคราะห์และการสลายน้ำตาลซูโครสมีเอนไซม์ที่สำคัญ ได้แก่ sucrose phosphate synthase (SPS) sucrose synthase (SS) และ neutral invertase (NI) โดยกิจกรรมของเอนไซม์เหล่านี้มีการเปลี่ยนแปลงที่ขึ้นอยู่กับระยะการพัฒนาของผลไม้ (Hubbard *et al*., 1989) นอกจากนี้ยังพบน้ำตาลซอร์บิทอลในระยะกำลังสุกของผลแอปเปิลอีกด้วย (Blanco-Gomis *et al*., 1988) ในการเปลี่ยนแปลงเมทาบอลิซึมของน้ำตาลมีรายงานว่ามีความสำคัญต่อการสร้างแอนโทไซยานินในพืช (Solfanelli *et al*., 2006; Vinterhalter *et al*., 2007) นอกจากนี้ปัจจัยที่สำคัญต่อการสร้างแอนโทไซยานินในแอปเปิ้ลคือ แสง (Yamane *et al*., 2006) โดยปัจจุบันได้มีการศึกษาการใช้แสงจากหลอด LED ในอุตสาหกรรมการเกษตรเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากแสงจากหลอด LED สามารถเพิ่มปริมาณผลผลิตและปริมาณสารอาหารหรือสารสำคัญต่างๆในพืชได้ และการให้แสงด้วยหลอด LED ได้รับความนิยมในการนำมาใช้ในการเพาะปลูกพืชชนิดต่างๆในโรงเรือนในปัจจุบัน เช่น มะเขือเทศ องุ่น ผักกาดหอม และข้าว เป็นต้น (Morrow, 2008) อย่างไรก็ตาม การศึกษาการใช้แสงจากหลอด LED ในระหว่างการพัฒนาผลของแอปเปิลยังไม่มีการรายงาน ดังนั้นในงานวิจัยนี้ให้ความสนใจในการใช้แสงจากหลอด LED ต่อการสะสมปริมาณแอนโทไซยานินในเปลือกแอปเปิลสายพันธุ์ Tsugaru

อุปกรณ์และวิธีการ

ต้นแอปเปิลสายพันธุ์ Tsugaru อายุ 8 ปี จำนวน 12 ต้น โดยต้นแอปเปิลแต่ละต้นปลูกอยู่ในกระถางพลาสติกปริมาตร 45 ลิตร ในโรงเรือนที่ถูกคลุมด้วยแผ่นพลาสติกประเภท polyvinyl chloride หรือ PVC (ความสามารถในการส่องผ่านของแสง 90%) ในพื้นที่ศึกษา คณะพืชสวน มหาวิทยาลัยชิบะ วิทยาเขตมัสสึโดะ ประเทศญี่ปุ่น ในการทดลองได้ทำการแบ่งต้นแอปเปิลออกเป็นสามกลุ่มคือ กลุ่มที่ 1 ต้นแอปเปิลได้รับแสงจากหลอด LED สีแดง (ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร) เป็นเวลา 3 ชั่วโมงก่อนพระอาทิตย์ขึ้นและอีก 3 ชั่วโมงหลังจากพระอาทิตย์ตกดิน ตั้งแต่วันที่ 60 ถึง 142 วันหลังดอกบาน กลุ่มที่ 2 ต้นแอปเปิลได้รับแสงจากหลอด LED สีน้ำเงิน (ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร) ในช่วงเวลาเดียวกันกับกลุ่มแรก และกลุ่มที่ 3 คือ ชุดควบคุม ที่ได้รับแสงตามธรรมชาติ โดยต้นแอปเปิลในกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 มีการให้แสงจากด้านข้างโดยใช้หลอด LED จำนวน 8 แถว (ความยาว 147 ซม. กว้าง 4 ซม.) ฟลักซ์ของโฟตอนของการสังเคราะห์แสงของหลอด LED สีแดงและสีน้ำเงิน คือ 50 $\mu mol \cdot m^{-2}s^{-1}$ ที่ระยะห่าง 10 เซนติเมตร จากหลอด LED และทำการเก็บตัวอย่างผลแอปเปิลในวันที่ 117 จนถึง 142 วันหลังดอกบาน โดยทำการวัดขนาดผลแอปเปิล กิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างและการสลายน้ำตาลซูโครส (Hubbard *et al*., 1989) ปริมาณน้ำตาล (Hiratsuka *et al*., 2001) และปริมาณแอนโทไซยานิน (Kondo *et al*., 2014)

ผล

ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางและความยาวของแอปเปิลเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ ตั้งแต่วันที่ 60 ถึง 131 วันหลังดอกบาน และมีขนาดคงที่ถึงวันที่ 142 วันหลังดอกบาน (Figure 1) ซึ่งไม่พบความแตกต่างของขนาดผลในมิติต่างๆ ระหว่างชุดควบคุมและการให้แสง LED ทั้งสีแดงและสีน้ำเงิน

Table 1 แสดงกิจกรรมของเอนไซม์ต่างๆ เปลือกแอปเปิลที่ได้รับแสงจากหลอด LED สีแดงและสีน้ำเงินพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ SPS ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญตั้งแต่วันที่ 60 ถึง 142 วันหลังดอบาน สำหรับเอนไซม์ SS พบว่าเปลือกแอปเปิลที่ได้รับแสงจากหลอด LED สีแดงมีปริมาณสูงสุดและแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญในวันที่ 130 วันหลังดอกบาน ส่วนกิจกรรมเอนไซม์ NI ในแต่ละชุดการทดลองไม่พบความแตกต่างกัน สำหรับปริมาณน้ำตาล ได้แก่ ซูโครส ฟรุกโตส กลูโคส และซอร์บิทอล ในแต่ละชุดการทดลองพบว่ามีปริมาณใกล้เคียงกัน (Table 2)

ปริมาณแอนโทไซยานินในเปลือกแอปเปิลที่ได้รับแสงจากหลอด LED สีแดงพบว่ามีปริมาณมากว่าชุดการทดลองอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ และมีปริมาณสูงสุดในวันที่ 130 วันหลังดอกบานและมีค่าคงที่จนถึงที่วัน 142 วันหลังดอกบาน ในขณะที่แอปเปิลที่ได้รับแสงจากหลอด LED สีน้ำเงินและชุดควบคุมมีปริมาณแอนโทไซยานินน้อยกว่าและไม่แตกต่างกัน (Figure 2)

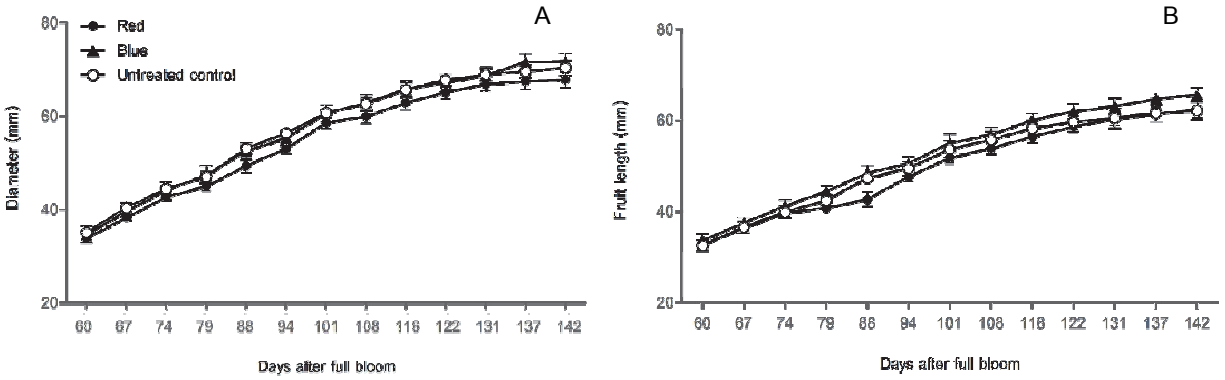

Figure 1 Changes of fruit diameter (A) and fruit length (B) of apple during fruit development from 60 to 142 DAFB.

Table 1 The activities of sugar biosynthesis enzymes (sucrose phosphate synthase (SPS), sucrose synthase (SS) and neutral invertase (NI)) in Tsugaru apple with or without LED treated at 117, 124, 130, 136 and 142 DAFB. Within each row means of the same maturity stage followed by the same letter were not significantly different according to the LSD multiple range test at $p \leq 0.05$.

Enzymes	Enzyme activity (unit mg-1 protein)														
	Control					Red-LED					Blue-LED				
	DAFB					DAFB					DAFB				
	117	124	130	136	142	117	124	130	136	142	117	124	130	136	142
SPS	0.092	0.033	0.156	0.397	0.342	0.344	0.182	0.312	0.406	0.781	0.117	0.372	0.318	0.385	0.786
SS	-4.11	-4.85	-4.63^{b}	-1.40	-0.07	-2.74	-0.99	-0.33^{a}	2.62	-0.179	0.09	-1.09	-0.82^{a}	0.29	-0.672
NI	0.270	0.287	0.291	0.293	0.279^{b}	0.251	0.267	0.267	0.274	0.295^{ab}	0.279	0.257	0.290	0.318	0.310^{a}

Table 2 Sugar contents in peel of Tsugaru apple with or without LED treated at 117, 124, 130, 136 and 142 DAFB. Within each row means followed by the same letter were not significantly different according to the LSD multiple range test at $p \leq 0.05$.

Sugar	Content of sugar (mg/ g FW)														
	Control					Red-LED					Blue-LED				
	DAFB					DAFB					DAFB				
	117	124	130	136	142	117	124	130	136	142	117	124	130	136	142
Sucrose	29.95	55.10^{a}	58.16	66.23	64.25	31.06	38.66^{b}	57.12	55.92	57.82	33.62	49.22^{a}	58.76	64.46	61.57
Fructose	45.16^{b}	49.60	52.48	51.81	54.45	41.89^{c}	47.03	48.81	48.20	56.67	46.68^{a}	50.93	50.45	49.41	54.13
Glucose	9.10^{b}	13.72^{b}	15.03	16.34	21.06^{b}	12.23^{a}	16.42^{ab}	16.81	20.37	29.25^{a}	13.05^{a}	19.91^{a}	17.63	19.13	24.32^{ab}
Sorbitol	4.16	5.81	5.49	6.63^{b}	8.74	4.13	4.56	5.74	5.76^{b}	8.59	4.87	5.52	6.49	8.57^{a}	11.59

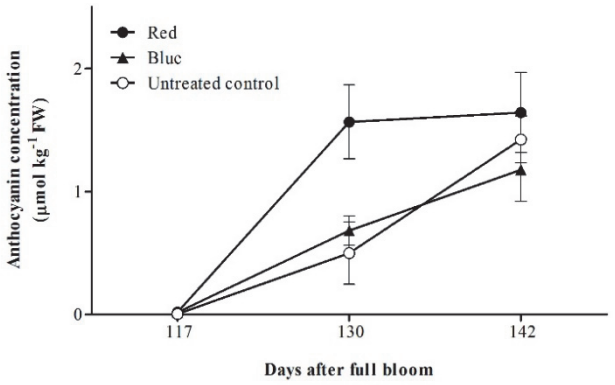

Figure 2. Total anthocyanin concentration in peel of Tsugaru apple treated with or without red or blue LED.

วิจารณ์ผล

เป็นที่ทราบกันดีว่าแสงมีผลต่อการสร้างแอนโทไซยานินในผลไม้ (Kataoka *et al*., 2003; Mori *et al*., 2005) ซึ่งการให้แสงแก่พืชโดยใช้หลอด LED เป็นทางเลือกหนึ่งที่ถูกใช้ในการเพิ่มปริมาณแอนโทไซยานินในผักกาดหอม (Li and Kubota, 2009) และองุ่น (Kondo *et al*., 2014) ในงานวิจัยนี้พบว่าการให้แสงแก่แอปเปิลในระหว่างการพัฒนาผลด้วยหลอด LED สีแดงช่วยกระตุ้นและเร่งให้เกิดการสะสมแอนโทไซยานินในเปลือกแอปเปิลได้ดีกว่า ทำให้เปลือกแอปเปิลมีสีแดงชัดเจนกว่าการให้แสงด้วยหลอด LED สีน้ำเงินและชุดควบคุมที่ยังคงเป็นสีเขียวปนแดงเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าในวันเดียวกัน (130 วันหลังดอกบาน) ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมาที่พบว่าการให้แสง LED มีผลต่อการทำงานของ phytochrome หรือตัวรับแสงสีแดงที่อาจจะมีผลต่อสร้างแอนโทไซยานิน (Mizuno *et al*., 2011) สำหรับกระบวนการสร้างน้ำตาลซูโครสที่เป็นปัจจัยหนึ่งที่ใช้ในการศึกษาการเพิ่มขึ้นของแอนโทไซยานิน เนื่องจากน้ำตาลซูโครสที่มีปริมาณสูงมีความสามารถในการเพิ่มปริมาณแอนโทไซยานินใน Arabidopsis (Ohto *et al*., 2001) และไซเท้าได้ (Hara *et al*., 2004) ในผลการทดลองพบว่ามีค่าสถิติของกิจกรรมเอนไซม์ SS ในวันที่ 130 วันหลังดอกบาน และกิจกรรมเอนไซม์ NI ในวันที่ 142 วันหลังดอกบาน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่มีความแตกต่างกันของน้ำตาลแต่ละชนิดในวันที่ 130 วันหลังดอกบาน และพบว่าปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เพิ่มขึ้นไม่สัมพันธ์กับกิจกรรมเอนไซม์ NI ในวันที่ 142 วันหลังดอกบาน แม้ว่าปริมาณน้ำตาลซูโครส น้ำตาลฟรุกโตส และน้ำตาลกลูโคส มีปริมาณสูงสุดตามลำดับ ตั้งแต่วันที่ 124 ถึง 142 วันหลังดอกบาน และสัมพันธ์กับกิจกรรมเอนไซม์ SS และ NI ที่มีกิจกรรมเอนไซม์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง แต่ไม่พบการลดลงของปริมาณน้ำตาลซูโครส เนื่องจากมีการกิจกรรมเอนไซม์ SPS ที่เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องเช่นกัน โดยที่เอนไซม์ SPS เป็นตัวสร้างน้ำตาลซูโครสจากโมเลกุลของน้ำตาลฟรุกโตสและน้ำตาลกลูโคส (Nguyen-Quoc and Foyer, 2001; Li *et al*., 2012) แสดงให้เห็นว่ากิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างน้ำตาลและปริมาณมาณน้ำตาลชนิดต่างๆไม่มีผลต่อการสร้างแอนโทไซยานินในแอปเปิล

สรุป

การใช้แสง LED สีแดงสามารถกระตุ้นการสังเคราะห์แอนโทไซยานินในเปลือกแอปเปิ้ลพันธุ์ Tsugaru ได้ดีกว่าการใช้แสงสีน้ำเงิน ซึ่งผลการทดลองที่ได้สามารถนำไปใช้ในการช่วยพัฒนาสีเปลือกและช่วยเพิ่มสารสำคัญในผลแอปเปิ้ลได้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณทุน Japan Student Service Organization (JASSO) ที่ให้โอกาสและสนับสนุนในการทำวิจัย มหาวิทยาลัยชิบะ วิทยาเขตมัสสึโดะ ประเทศญี่ปุ่น และขอขอบคุณห้องปฏิบัติการผลไม้ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

Blanco-Gomis, D., M.D.Gutierrez-Alvarez, J.J. Mangas-Alonso and A. Noval- Vallina. 1988. Determination of sugars and alcohols in apple juice and cider by high performance liquid chromatography. Chromatographia 25(8): 701-707.

Hara, M., K. Oki, K. Hoshino and T. Kuboi. 2004. Effects of sucrose on anthocyanin production in hypocotyl of two radish (*Raphanus sativus*) varieties. Plant Biotechnology 21(5): 401–405.

Hiratsuka, S., H. Onodera, Y. Kawai, T. Kubo, H. Itoh and R. Wada. 2001. ABA and sugar effect on anthocyanin formation in grape berry cultured in vitro. Scientia Horticulturae 90: 121–130.

Hubbard, N.L., S.C. Huber and D.M. Pharr. 1989. Sucrose phosphate synthase and acid invertase as determinants of sucrose concentration in developing Muskmelon (*Cucumis melo* L.) fruits. Plant Physiology 91: 1527–1534.

Kataoka, I., A. Sugiyama and K. Beppa. 2003. Role of ultraviolet radiation in accumulation of anthocyanin in berries of 'Gros Colman' grape (*Vitis cinifera* L.). Journal of the Japanese Society for Horticultural Science 72: 1-6.

Kondo, S., H. Tomirama, R. Abhichartbut, K. Okawa, H. Ohara, S. Sugaya, N. Terahara and N. Hirai. 2014. Abscisic acid metabolism and anthocyanin synthesis in grape skin are affected by light emitting diode (LED) irradiation at night. Journal of Plant Physiology 171: 823-829.

Li, Q. and C. Kubota. 2009. Effects of supplemental light quality on growth and phytochemicals of baby leaf lettuce. Environmental and Experimental Botany 67: 59-64.

Li, M.J., F.J. Feng and L.L. Cheng. 2012. Expression patterns of genes involved in sugar metabolism and accumulation during apple fruit development. PLoS ONE 7(3): e33055.

Mizuno, T., A. Wakanori and W. Hiroyuki. 2011. Effects of monochromatic light irradiation by LED on the growth and anthocyanin contents in leaves of cabbage seedlings. Acta horticulturae 907:179-184.

Mori, K., H. Saito, N. Goto-Ymamoto, M. Kitayama, S. Kobayashi , S. Sugaya,H. Gemma and K. Hashizume. 2005. Effects of abscisic acid treatment and night temperatures on anthocyanin composition in Pinot noir grapes. Vitis journal 44: 161-5.

Morrow, R.C. 2008. LED light in horticulture. Horticultural Science 47: 1047-1950.

Nguyen-Quoc, B. and C.H. Foyer. 2001. A Role for 'Futile Cycles' Involving Invertase and Sucrose Synthase in Sucrose Metabolism of Tomato Fruit. Journal of Experimental Botany 52: 881–889.

Ohto, M., K. Onai, Y. Furukawa, E. Aoki, T. Araki and K. Nakamura. 2001. Effects of sugar on vegetative development and floral transition in Arabidopsis. Plant Physiology 127: 252–261.

Solfanelli, C., A. Poggi, E. Loreti, A. Alpi and P. Perata. 2006. Sucrose-specific induction of the anthocyanin biosynthetic pathway in Arabidopsis. Plant Physiology 140: 637-646.

Vinterhalter, B., S. Ninković, B. Kozomara and D. Vinterhalter. 2007. Carbohydrate nutrition and anthocyanin accumulation in light grown and etiolated shoot cultures of carob (*Ceratonia siliqua* L.). Archives of Biological Science Belgrade 59(1): 51-56.

Winkel-Shirley, B. 2001. Flavonoid biosynthesis: A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. Plant Physiology 1126: 485-493.

Yamane, T., S.T. Jeong, N. Goto-Yamamoto, Y. Koshita and S. Kobayashi. 2006. Effects of temperature on anthocyanin biosynthesis in grape berry skins. American Journal of Enology and Viticulture 57:54–9.