Agricultural Sci. J. 37 : 5 (Suppl.) : 156-159 (2006) ว. วิทย. กษ. 37 : 5 (พิเศษ) : 156-159 (2549)

ผลของเอทีฟอนและกรดแอบไซซิกต่อปริมาณแอนโทไซยานินและแอคติวิตีของฟีนิลอะลานีนแอมโมเนีย–ไลเอส ในเปลือกผลมะม่วงพันธุ์มหาชนก

Effects of Ethephon and Abscisic Acid on the Anthocyanin Content and Phenylalanine Ammonia–Lyase Activity in “Mahajanaka” Mango Fruit Exocarp

ธนาภรณ์ ศรีศิริพันธุ์[1] ยุทธนา จันทร์ซารา[1] จำนงค์ อุทัยบุตร[1]และ กอบเกียรติ แสงนิล[1]
Tanaporn Srisiripan[1], Yuttana Chanchara[1], Jamnong Uthaibutra[1] and Kobkiat Saengnil[1]

Abstract

The outstanding quality of the mature fruit of Mahajanaka mango (*Mangifera indica* L. cv. Mahajanaka, Anacardiaceae) is its beautiful red coloration, thick exocarp, and pleasant scent. Some plant growth regulators influence the red coloration as well anthocyanin accumulation and the activity of phenylalanine ammonia–lyase (PAL), a key enzyme in the biosynthesis of anthocyanin in the fruit. The purpose of this study was to investigate the effects of Ethephon and ABA on the anthocyanin content and PAL activity for influencing the desirable red color of the mango fruit during fruit development (98–133 days after flowering; DAF). The fruits on the trees at 98 DAF were treated with Ethephon or ABA solutions at concentrations of 200 and 400 ppm. It was found that Ethephon and ABA had no effects on the levels of anthocyanin and PAL activity in fruit exocarp. The maximum anthocyanin level and PAL activity in ABA treatments were higher than in the Ethephon treatments.

Keywords : mango, phenylalanine ammonia–lyase (PAL), anthocyanin

บทคัดย่อ

คุณสมบัติที่โดดเด่นของมะม่วงพันธุ์มหาชนก (*Mangifera indica* L. cv. Mahajanaka) คือเปลือกของผลแก่มีสีแดงสวยงาม หนา และมีกลิ่นหอม โดยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชบางชนิดมีบทบาทสำคัญต่อการเกิดสีแดง การสะสมแอนโทไซยานิน และแอคติวิตีของฟีนิลอะลานีน แอมโมเนีย–ไลเอส (PAL) ซึ่งเป็นเอนไซม์สำคัญเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการสังเคราะห์แอนโทไซยานินในผล วัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้เพื่อศึกษาผลของเอทีฟอนและกรดแอบไซซิกต่อปริมาณแอนโทไซยานินและแอคติวิตีของเอนไซม์ PAL ในเปลือกผลในระหว่างการเจริญของผล (98–133 DAF) เพื่อให้เปลือกผลมีสีแดงตามที่ต้องการ โดยการให้ผลบนต้นที่มีอายุ 98 DAF ได้รับเอทีฟอนหรือ ABA ที่ระดับความเข้มข้น 200 และ 400 ppm พบว่าเอทีฟอนและ ABA ไม่ได้มีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินและแอคติวิตีของเอนไซม์ PAL ของเปลือกผล อย่างไรก็ตามชุดที่ได้รับ ABA มีปริมาณแอนโทไซยานินและแอคติวิตีของเอนไซม์ PAL ที่สูงกว่าชุดที่ได้รับเอทีฟอน

คำสำคัญ : มะม่วง, ฟีนิลอะลานีน แอมโมเนีย-ไลเอส, แอนโทไซยานิน

คำนำ

สีแดงที่ปรากฏในเปลือกผลมะม่วงพันธุ์มหาชนกมีอิทธิพลอย่างมากต่อการเลือกซื้อของผู้บริโภค โดยสีแดงที่ปรากฏนี้เกิดจากการสร้างและการสะสมของรงควัตถุแอนโทไซยานิน ซึ่งมักพบในเปลือกผลตั้งแต่ผลแก่ถึงผลสุก โดยปัจจัยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชบางชนิดมีบทบาทสำคัญต่อการส่งเสริมการสังเคราะห์แอนโทไซยานินหรือการเกิดสีแดงของเปลือกผล ซึ่งในการสังเคราะห์แอนโทไซยานินมีเอนไซม์สำคัญที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาคือฟีนิลอะลานีนแอมโมเนีย-ไลเอส (phenylalanine ammonia-lyase; PAL) (Camm and Towers, 1973; Saure, 1990) มีรายงานการศึกษาในผลไม้หลายชนิดที่แสดงให้เห็นถึงผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการสะสมแอนโทไซยานิน การเกิดสีแดงและแอคติวิตีของเอนไซม์ PAL รวมทั้งกลไกในการควบคุมการเกิดสีแดงในพืชเหล่านี้ได้แก่ มะม่วงพันธุ์เคนท์ แอปเปิ้ล และมังคุด เป็นต้น (วารุณี, 2543; Coombe and Hale, 1973; สุจิตรา, 2541) ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมุ่งเน้นเพื่อศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชบางชนิดต่อการ

[1]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200
[1]Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

ทำงานของเอนไซม์ PAL และการเกิดสีแดงบนเปลือกผลของมะม่วงพันธุ์มหาชนกซึ่งนับว่าเป็นประโยชน์อย่างยิ่งและสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในด้านการปรับปรุงเพื่อพัฒนาสีแดงของเปลือกผลให้มีคุณภาพดีและเป็นที่ต้องการของตลาดมากยิ่งขึ้นต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการเลือกต้นมะม่วงพันธุ์มหาชนกที่สมบูรณ์อายุประมาณ 5 ปี และติดป้ายแสดงเครื่องหมายช่อดอกเพื่อทราบอายุของผลที่จะนำมาใช้ในการศึกษาในครั้งนี้ เมื่อผลอายุได้ 98 วันหลังดอกบาน ทำการจุ่มผลดังกล่าวที่อยู่บนต้นด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชแตกต่างกัน 5 วิธีคือ น้ำกลั่น สารละลาย ABA ความเข้มข้น 200 ppm สารละลาย ABA ความเข้มข้น 400 ppm สารละลายเอทีฟอนความเข้มข้น 200 ppm และสารละลายเอทีฟอน 400 ppm โดยในแต่ละวิธีการทำการจุ่มผลเป็นเวลานาน 60 วินาที จากนั้นปล่อยให้ผลบนต้นมีการเจริญเติบโตเต็มที่ซึ่งมีอายุประมาณ 133 วันหลังดอกบาน โดยในระหว่างนี้ทุก 7 วันทำการสุ่มเก็บตัวอย่างผลจากทั้ง 5 วิธีการดังกล่าวจำนวน 12 ผล (ซ้ำ) ของในแต่ละวิธีการมาวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของเปลือกผลในเรื่องต่อไปนี้

พื้นที่สีแดงของเปลือกผล ประเมินพื้นที่สีแดงของเปลือกผล (red blush) ด้วยสายตา โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ที่มีสีแดงปรากฏบนเปลือกผลต่อพื้นที่เปลือกผลทั้งหมด

แอคติวิตีของเอนไซม์ฟีนิลอะลานีน แอมโมเนีย-ไลเอส (PAL) ทำการสกัดและวิเคราะห์แอคติวิตีของเอนไซม์ PAL ดัดแปลงวิธีการของ Faragher and Chalmers (1977) และ Arakawa *et al*. (1986)

ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด ทำการสกัดและการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดโดยวิธี estimation of total anthocyanin method (Ranganna, 1997)

การประเมินวิเคราะห์ผล โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (Statistical Packages for the Social Science) วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance : ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย LSD

ผล

ในระหว่างการเจริญเติบโตของผลพบว่าในเปลือกผลทุกชุดการทดลองมีการเกิดสีแดงที่เปลือกผลเพิ่มขึ้นตามอายุที่เพิ่มขึ้น โดยในวันที่ 133 หลังดอกบาน ผลที่ได้รับ ABA 200 ppm มีเปอร์เซ็นต์การเกิดพื้นที่สีแดงสูงสุดและมีความแตกต่างกันทางสถิติจากชุดการทดลองอื่นๆ อย่างไรก็ตามผลที่ได้รับเอทีฟอน 400 ppm มีเปอร์เซ็นต์การเกิดสีแดงสูงเช่นกันแต่เกิดขึ้นในวันที่ 120 (Figure1A)

เมื่อผลมีอายุมากขึ้นผลที่ได้รับสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชดังกล่าวมีปริมาณแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในทั้งชุดที่ได้รับ ABA และเอทีฟอนทุกระดับความเข้มข้น อย่างไรก็ตามเปลือกผลที่ได้รับ ABA มีปริมาณแอนโทไซยานินค่อนข้างสูงกว่าชุดที่ได้รับเอทีฟอนและชุดควบคุม (Figure 1B)

เปลือกผลที่ได้รับสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชทั้งสองชนิดทุกระดับความเข้มข้นมีแอคติวิตีของเอนไซม์ PAL เพิ่มขึ้น แล้วลดต่ำลงในตอนปลาย โดยผลที่ได้รับ ABA 200 ppm มีแอคติวิตีของเอนไซม์ PAL สูงที่สุด เมื่ออายุผล 112 วันหลังดอกบานซึ่งแตกต่างกันทางสถิติกับชุดทดลองอื่น อย่างไรก็ตามในช่วงเวลาอื่นพบว่าแอคติวิตีของทุกชุดการทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติ (Figure 1C)

วิจารณ์ผล

ผลที่ได้รับ ABA และเอทีฟอนในระดับที่เหมาะสมสามารถส่งเสริมการเกิดสีแดงที่เปลือกผลมะม่วงได้ สอดคล้องกับการทดลองในผลแอปเปิ้ลพันธุ์ Jonathan และองุ่นพันธุ์ Cabernet Sauvignon ซึ่งพบว่าการฉีดพ่นแอทีฟอนและ ABA ความเข้มข้น 15 ไมโครลิตรต่อลิตร และ 60 มิลลิโมลาร์ส่งเสริมให้เปลือกผลมีสีแดงเพิ่มขึ้น (Faragher and Brohier, 1984; Pirie and Mullins, 1976) อย่างไรก็ตามผลของเอทีฟอนและ ABA ต่อการเกิดสีแดงในการทดลองนี้ไม่เด่นชัด ทั้งนี้อาจเป็นเพราะระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่ให้สารทั้งสองแก่ผลยังไม่เหมาะสม

ทั้ง ABA และเอทีฟอนที่ระดับความเข้มข้น 200 และ 400 ppm ไม่มีผลเพิ่มการสะสมแอนโทไซยานินในเปลือกผลมะม่วงพันธุ์นี้ ในขณะที่ในผลอีกหลายชนิดมีการรายงานได้ผลดีดังเช่น การให้ ABA มีผลกระตุ้นการสร้างแอนโทไซยานินในผลองุ่นพันธุ์ Cabernet Sauvignon เมื่อให้ร่วมกับน้ำตาลซูโครส (Pirie and Mullins, 1976) และในผลองุ่นบางสายพันธุ์การให้ ABA ทำให้มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงกว่าชุดทดลองอื่น ๆ โดยระดับความเข้มข้นที่ 10 และ 2.5 % มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงที่สุด (Hiratsuka *et al*., 2001) แต่ในผลแอปเปิ้ลพันธุ์ McIntosh การฉีดพ่น ABA แก่ผล 2 สัปดาห์หรือ 1 เดือนก่อนการเก็บ

เกี่ยวไม่ได้มีผลส่งเสริมให้เปลือกผลมีปริมาณแอนโทไซยานินและการเกิดสีแดงเพิ่มขึ้น และไม่มีความแตกต่างจากชุดควบคุม (Hegazi and Plich, 1980) โดยทั่วไปฮอร์โมนในกลุ่มนี้มีผลส่งเสริมการสังเคราะห์แอนโทไซยานินเมื่อใช้ในระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสม ในการทดลองนี้อาจใช้สภาพดังกล่าวไม่เหมาะสมจึงทำให้ปริมาณแอนโทไซยานินไม่แตกต่างจากชุดควบคุม

ในทำนองเดียวกันทั้ง ABA และเอทีฟอนไม่มีผลส่งเสริมแอคติวิตีของเอนไซม์ PAL ในระหว่างการเจริญของผลมะม่วงพันธุ์นี้เช่นกัน ซึ่งพืชแต่ละชนิดอาจมีการตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตแต่ละชนิดในเรื่องแอนโทไซยานินและ PAL แตกต่างกันไป เช่น ในผลองุ่นบางสายพันธุ์การให้ ABA ความเข้มข้น 1,000 ppm แก่ผลบนต้นสามารถเพิ่มแอคติวิตีของเอนไซม์ PAL ได้มากกว่าผลที่ไม่ได้รับ ABA (Jeong *et al*., 2004) แต่ในผลแอปเปิ้ลพันธุ์ McIntosh ที่ได้รับการฉีดพ่น ABA 2–4 สัปดาห์ก่อนการเก็บเกี่ยวไม่ได้ส่งเสริมให้มีการเพิ่มแอคติวิตีของเอนไซม์ PAL ในเปลือกผล (Hegazi and Plick, 1980) สำหรับเอทิลีนสามารถเพิ่มแอคติวิตีของเอนไซม์ PAL ได้เช่นกัน ดังในแอปเปิ้ลพันธุ์ Jonathan ในระหว่างการสุกของผลจะมีการสร้างเอทิลีนเพิ่มขึ้น ซึ่งเอทิลีนที่เพิ่มขึ้นมีผลเพิ่มแอคติวิตีของเอนไซม์ PAL ในเปลือกผลให้มีกิจกรรมที่เพิ่มสูงขึ้นส่งผลทำให้เกิดการสะสมแอนโทไซยานินอย่างรวดเร็วด้วย (Faragher and Brohier, 1984) อย่างไรก็ตามยังไม่ทราบกลไกที่แน่นอนถึงผลของ ABA และเอทีฟอนในการส่งเสริมการทำงานของเอนไซม์ PAL แต่สันนิษฐานว่าสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชบางชนิดอาจชักนำให้มีการ transcription mRNA ของยีนที่เกี่ยวข้องกันการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน เช่น *PAL, CHI, CHS gene* ให้มีปริมาณที่สูง ซึ่งมีผลทำให้สร้างเอนไซม์เหล่านี้และแอนโทไซยานินเพิ่มสูงขึ้นด้วย โดยพืชแต่ละชนิดมีการตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ต่างกัน (Ju *et al*., 1995)

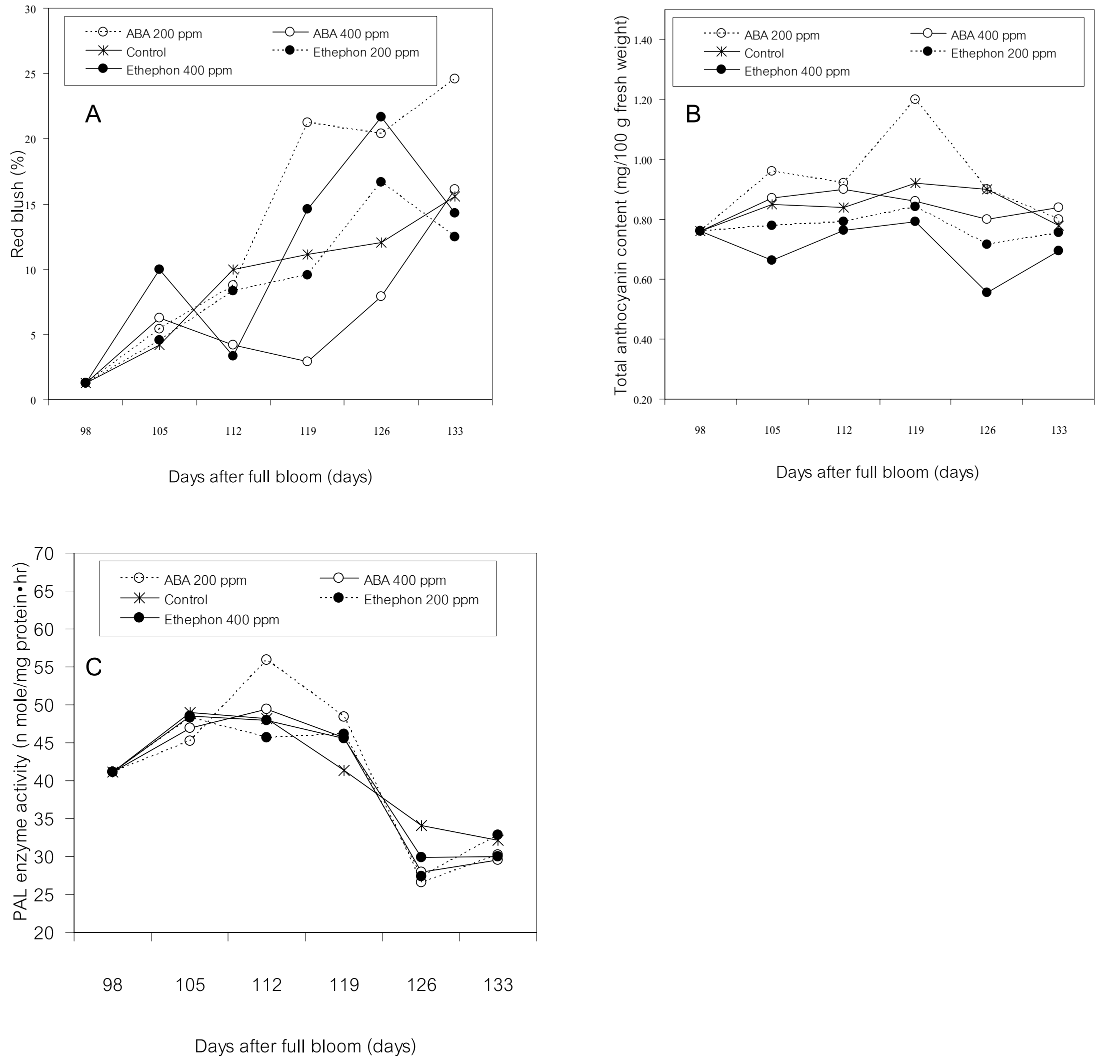

Fig 1 Effects of ABA and Ethephon on changes of (A) red blush (B) total anthocyanin content (C) PAL enzyme activity during fruit development

สรุป

ABA และเอทีฟอนที่ระดับความเข้มข้น 200 และ 400 ppm ไม่ได้มีผลส่งเสริม แอคติวิตีของเอนไซม์ PAL และปริมาณแอนโทไซยานินของเปลือกผลในระหว่างการเจริญของผล

เอกสารอ้างอิง

วารุณี วงศ์ชมภู. 2543. ผลของแสงและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชบางชนิดต่อแอคติวิตีของเอนไซม์ฟีนิลอะลานีนแอมโมเนีย–ไลเอส และการพัฒนาสีแดงในเปลือกผลมะม่วงพันธุ์เคนท์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่. 154 น.

สุจิตรา รตนะมโน. 2541. ผลของแสงและอุณหภูมิต่อปริมาณรงควัตถุและแอคติวิตีของเอนไซม์ฟีนิลอลานีน แอมโมเนีย–ไลเอส ในเปลือกผลมังคุด. วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่. 114 น.

Arakawa, O., Hori, Y. and Ogata, R. 1986. Characteristics of color development and relationship between anthocyanin synthesis and phenylalanine ammonia–lyase activity in Starking Delicious, Fuji and Mutsu apple fruits. J. Jpn. Soc. Hort. Sci. 54 : 424–430.

Camm, E.L. and Towers, G.H.N. 1973. Phenylalanine ammonia–lyase. Phytochem. 12 : 961–973.

Coombe, B.G. and Hale, C.R. 1973. The hormone content of ripening grape berries and the effects of growth substance treatments. Plant Physiol. 51 : 629–634.

Farager, J.D. and Chalmer, D.J. 1977. Regulation of anthocyanin synthesis in apple skin. III. Involvement of phenylalanine ammonia–lyase. Aust. J. Plant Physiol. 4 : 133–141.

Faragher, J.D. and Brohier, R.L. 1984. Anthocyanin accumulation in apple skin during ripening : regulation by ethylene and phenylalanine ammonia–lyase. Sci. Hort. 22 : 89–96.

Hegazi, E.S. and Plich, H. 1980. The effect of gibberellin, auxin, cytokinin and abscisic acid on ethylene production and some other symptoms of fruit ripening in apples. Bull. Acad. Polon. Sci. Ser. Sci. Biol. 28 : 253–258.

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

Jeong, S.T., Yamamoto, G.N., Kobayashi, S. and Esaka, M. 2004. Effects of plant hormones and shading on the accumulation of anthocyanins and the expression of anthocyanin biosynthetic genes in grape berry skins. Plant Sci. 167 : 247–252.

Ju, Z., Liu, C. and Yuan, Y. 1995. Activities of chalcone synthase and UDPGal : flavonoid–3–o–glycosyltransferase in relation to anthocyanin synthesis in apple. Sci. Hort. 63 : 175–185.

Pirie, A. and Mullins, M.G. 1976. Changes in anthocyanin and phenolics content of grapevine leaf and fruit tissues treated with sucrose, nitrate, and abscisic acid. Plant Physiol. 58 : 468–472.

Ranganna, S. 1977. Plant Pigment. *In* S. Ranganna (ed). Manual of Analysis of Fruit and Vegetable. Producter Tata McGraw–Hill Publishing Co., Ltd, New Delhi. pp. 72–93.

Saure, M.C. 1990. External control of anthocyanin formation in apple. Sci. Hort. 42 : 181–218.