

ผลของสารควบคุมการเจริญของพืชต่อการเปลี่ยนแปลงหลังการเก็บเกี่ยวของปทุมมาตัดดอกบางพันธุ์

Effects of plant growth regulators on the postharvest changes of some cultivars of cut patumma flowers.

อุษาวดี ชนสูตร¹ สายสุรีย์ ยอดสะอี่² และ เรืองวิทย์ พ่อเรือน²
Usawadee Chanasut¹, Saisuree Yodsae² and Ruangwit Porruan²

Abstract

Five cultivars of cut patumma flowers, Chiang Mai Pink, Queen Pink, Khoa Doi Tung, Snow White and Yu-Yee were sprayed with plant growth regulator (PGR) solutions. The solutions were 50ppm gibberellic acid (GA_3), 50ppm Benzyladenine (BA) and 25ppm mixture solution of GA_3 and BA. The vase life of all cultivars was extended after sprayed with the mixture solution. The treatment also delayed the withering of stem and the discoloration of bract. However, the colorful coma bracts of patumma turned green shade and the number of true flower opening of some cultivars after harvested reduced. The discoloration of coma bract may cause early terminating the vase life of the pink cultivars such as Chiang Mai Pink and Queen Pink prior any sign of wilting.

บทคัดย่อ

เมื่อฉีดพ่นช่อดอกปทุมมา 5 พันธุ์คือ พันธุ์เชียงใหม่สีชมพู พันธุ์เชียงใหม่สีชมพูอ่อน พันธุ์ขาวดอยตุง พันธุ์สโนไวท์ และพันธุ์ยูยี ด้วยสารละลายจิบเบอเรลลิน (GA_3) ความเข้มข้น 50ppm สารละลาย benzyladenine (BA) ความเข้มข้น 50ppm และสารละลายผสมของ GA_3 และ BA ความเข้มข้น 25ppm พบว่า การฉีดพ่นช่อดอกด้วยสารละลาย GA_3 ผสมกับ BA สามารถยืดอายุปักแจกันของช่อดอกปทุมมาพันธุ์ได้ทุกพันธุ์ ชะลอการเกิดก้านลีบและการเสื่อมสภาพของ bract การฉีดพ่นสารควบคุมการเจริญของพืชทำให้ coma bract มีสีเขียวขึ้นและทำให้จำนวนดอกจริงที่บานหลังตัดลดจำนวนลงในบางพันธุ์ การเปลี่ยนแปลงสีของ coma bract ในพันธุ์สีชมพูอาจเป็นสาเหตุทำให้อายุการใช้งานของดอกสั้นลงได้ก่อนที่ช่อดอกจะมีการเสื่อมสภาพลงอย่างแท้จริง

บทนำ

ปทุมมาเป็นไม้ดอกที่มีการปรับปรุงพันธุ์จนมีความหลากหลาย มีลักษณะช่อดอกและสีของใบประดับแตกต่างกันไป แม้ว่าปัจจุบันการผลิตปทุมมาจะเน้นที่หัวพันธุ์มากกว่าการผลิตเพื่อตัดดอกสด แต่มีแนวโน้มที่จะมีการพัฒนาเพื่อผลิตปทุมมาให้เป็นไม้ตัดดอกสดเพื่อการส่งออกมากขึ้น ปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่สีชมพูเป็นพันธุ์ที่มีการผลิตเพื่อตัดดอกสด และมีจำหน่ายในตลาดท้องถิ่นมากที่สุด แต่ยังมีปทุมมาอีกหลายพันธุ์ที่ปรับปรุงพันธุ์ขึ้นมา เช่น ปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่สีชมพูอ่อน พันธุ์เชียงใหม่สีชมพูเข้ม พันธุ์ขาวดอยตุง พันธุ์สโนไวท์ พันธุ์ยูยี และพันธุ์อื่นๆ ที่มีลักษณะช่อดอก สีสด และอายุการใช้งานเหมาะสมในการพัฒนาให้เป็นไม้ตัดดอกสด เนื่องจากช่อดอกปทุมมาไวต่อการขาดน้ำมาก (สุรวิช, 2537; กนกพร, 2541) ทำให้ช่อดอกเหี่ยวและเสื่อมสภาพการใช้งานอย่างรวดเร็ว มีการทดลองใช้สารละลายปักแจกันที่มีส่วนผสมของสารเคมีเพื่อยืดอายุการใช้งาน เช่น น้ำตาลซูโครส (กนกพร, 2541) สารฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (อรอุมา, 2538) หรือกรดอินทรีย์บางชนิด (เรืองวิทย์, 2547) ไม่สามารถยืดอายุช่อดอกปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่สีชมพู แต่การให้ GA_3 ในสารละลายปักแจกันสามารถชะลอการเกิดก้านลีบของปทุมมาพันธุ์เดียวกันได้ (กนกพร, 2541) และเมื่อให้ด้วยวิธีฉีดพ่นจะสามารถยืดอายุการปักแจกันและชะลอการเกิดก้านลีบได้ดีกว่า (เรืองวิทย์, 2547) ดังนั้นการศึกษาวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญ GA_3 และ BA ต่อคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวของช่อดอกปทุมมาพันธุ์ต่างๆ เพื่อใช้เป็นแนวทางในพัฒนาวิธีปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

ดอกปทุมมา 4 พันธุ์คือ พันธุ์เชียงใหม่สีชมพู (Chiang Mai Pink - CMP) พันธุ์เชียงใหม่สีชมพูอ่อน (Queen Pink - QP) พันธุ์ขาวดอยตุง (Khoa Doi Tung - KDT) พันธุ์สโนไวท์ (Snow White - SNW) และพันธุ์ยูยี (YuYee - YY) จากสวนของ

¹ สถานีวิจัยการหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200

Postharvest Technology Institute, Chiang Mai University, Ming, Chiang Mai 50200

² ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200

Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University, Meung, Chiang Mai 50200

กลุ่มเกษตรกรผู้ปลูกปทุมมา อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ ที่มีดอกจริงบาน 3-4 ดอกถูกตัดในช่วงเช้า แขน้ำสะอาดและขนส่งมายังห้องปฏิบัติการสรีรวิทยาหลังการเก็บเกี่ยว ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ในช่วงระยะเวลาไม่เกิน 3 ชั่วโมง ก่อนเริ่มการทดลอง ก้านช่อดอกจะถูกตัดได้น้ำอีกครั้งให้มีความยาวก้าน 30 เซนติเมตร แขน้ำสะอาดและเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิที่ 24 ± 1 องศาเซลเซียส

เตรียมสารละลาย GA_3 ความเข้มข้น 50ppm และสารละลาย BA ความเข้มข้น 50ppm และนำสารละลายทั้งสองมาผสมกันจนได้สารละลายผสมที่มีความเข้มข้น 25ppm นำมาผสมกับสารจับใบแล้วฉีดพ่นช่อดอกปทุมมาทุกพันธุ์ โดยฉีดพ่นให้ห่างจาก bract และ coma bract ประมาณ 15 เซนติเมตร และพ่นจนคลุมทั่วพื้นผิว ผึ่งทิ้งไว้ให้แห้งก่อนนำไปปักในน้ำกลั่นและนำไปเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิที่ 24 ± 1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย 75% และมีความสว่าง $250 \mu EM^2 s^{-1}$ วันละ 14 ชั่วโมง ชุดทดลองควบคุมจะฉีดพ่นช่อดอกด้วยน้ำกลั่นผสมสารจับใบ ในแต่ละชุดทดลองจะมีจำนวน 5 ช้ำ ช้ำละ 2 ดอก บันทึกอายุการปักแจกัน จำนวนวันที่เริ่มแสดงอาการก้านลีบ จำนวนดอกจริงที่บาน การเปลี่ยนแปลงสีของ bract และ coma bract และลักษณะการเสื่อมสภาพอื่นๆ ที่ปรากฏ

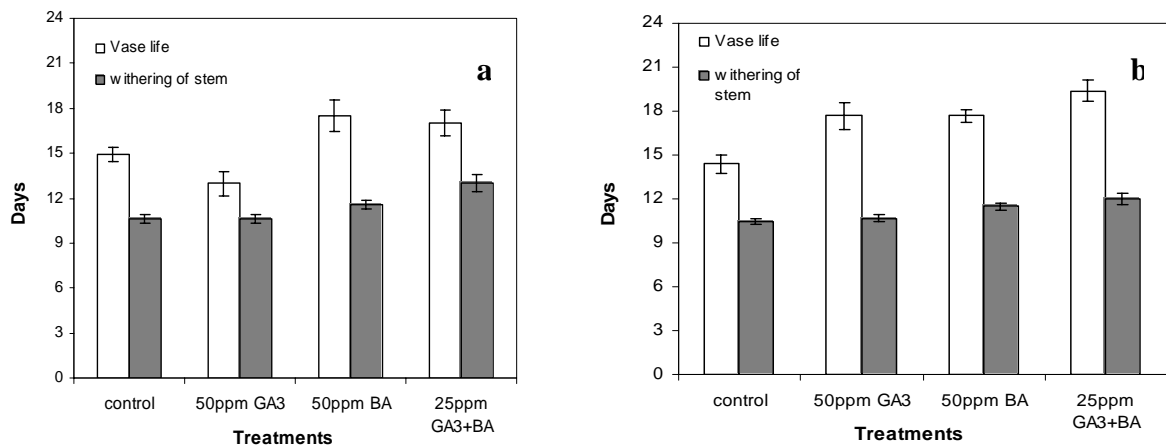


Figure 1 Vase life and a period of time that the withering of stem had occurred of cut patumma flowers (a) Chiang Mai Pink and (b) Queen Pink after treated with PGR solutions ($n = 10 \pm SE$).

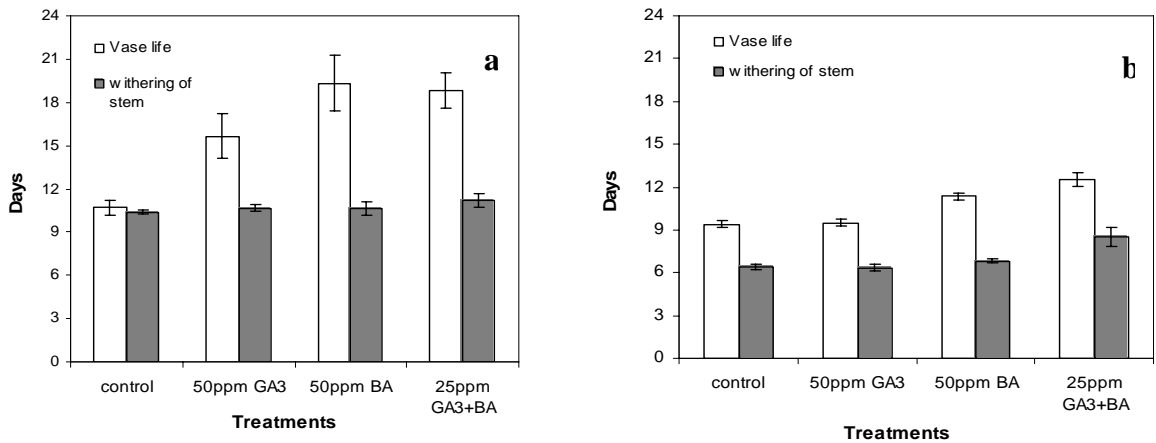


Figure 2 Vase life and a period of time that the withering of stem had occurred of cut patumma flowers (a) Khoa Doi Tung and (b) Snow White after treated with PGR solutions ($n = 10 \pm SE$).

ผลการทดลอง

การฉีดพ่นช่อดอกปทุมมาด้วยสารละลายควบคุมการเจริญของพืชให้ผลแตกต่างกันไปตามพันธุ์ เมื่อให้สารละลายที่มีส่วนผสมของ BA จะช่วยยืดอายุการปักแจกันได้ดีกว่าการให้สารละลาย GA_3 เพียงอย่างเดียว การให้สารละลายผสมของ GA_3 และ BA จะยืดอายุการใช้งานของช่อดอกปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่สีชมพูอ่อน (Fig 1b) พันธุ์สโนไวท์ (Fig 2b) และพันธุ์ยูยี (Fig 3) ได้ดีที่สุด แต่ผลไม่แตกต่างกันเมื่อฉีดพ่นช่อดอกปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่สีชมพู (Fig 1a) และพันธุ์ขาวดอยตุง (Fig 2b)

อาการก้านช่อดอกลีบที่ปรากฏในบางพันธุ์เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ช่อดอกปทุมมาหมดอายุการใช้งาน การฉีดพ่นช่อดอกด้วยสารละลาย GA_3 , BA และ GA_3 ผสมกับ BA จะลดอาการก้านลีบได้ (Fig 1a, 2b และ 3a) แม้ว่าวันที่ก้านช่อดอกเริ่ม

ลิบของบางพันธุ์ไม่แตกต่างจากชุดทดลองควบคุม (Fig 1b และ 2a) แต่ก้านไม่ลิบแบนมากเมื่อนำไปเปรียบเทียบกัน และทำให้อ่อดอกมีอายุปักแจกันนานขึ้น จำนวนดอกจริงที่บานเพิ่มขึ้นหลังการเก็บเกี่ยวของดอกปทุมมาบางพันธุ์เช่น พันธุ์ขาวดอยตุง และพันธุ์สโนไวท์มีจำนวนลดลงหลังจากฉีดพ่นด้วยสารละลาย GA₃+BA (Fig 3b) แต่พันธุ์อื่นๆ มีจำนวนไม่แตกต่างกัน

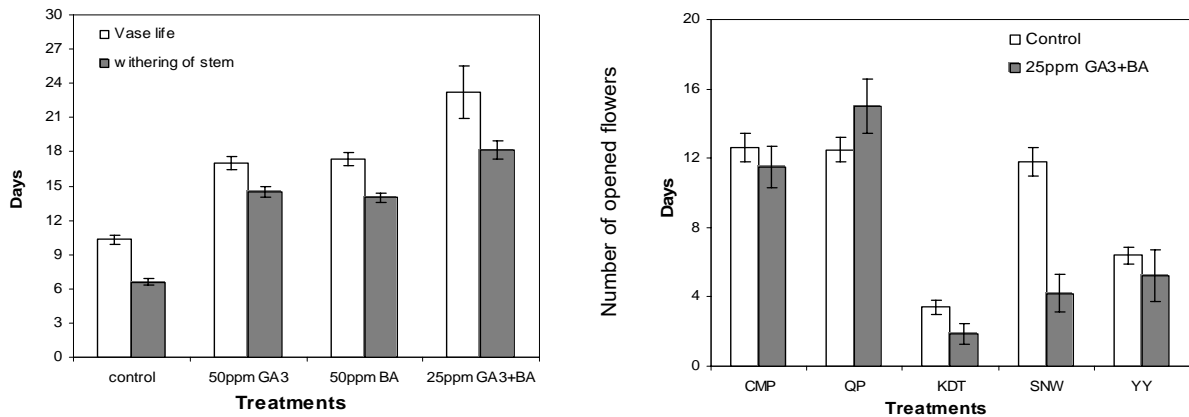


Figure 3 (a) Vase life and a period of time that the withering of stem had occurred of cut patumma flowers cv. Yu-Yee after treated with PGR solutions and (b) the number of true flower opening after harvested of the various cultivars of patumma when treated with 25ppm mixture solution of GA₃ and BA. (n = 10 ± SE).

การเปลี่ยนแปลงสีของ bract และ coma bract จะเริ่มสังเกตได้หลังจากฉีดพ่นสารละลายที่มีส่วนผสมของ BA ประมาณ 1 สัปดาห์ สี coma bract ของพันธุ์เชียงใหม่สีชมพู และพันธุ์เชียงใหม่สีชมพูอ่อนจะเริ่มมีสีเขียว และสีเขียวเข้มขึ้น เมื่อเวลาผ่านไป bract มีสีเขียวและไม่เกิดการเหี่ยวแห้งตอนปลายเหมือนชุดทดลองควบคุม ส่วนพันธุ์สีขาวคือ พันธุ์ขาวดอยตุง และพันธุ์สโนไวท์ coma bract จะมีสีเขียวขึ้นเช่นกัน แต่ coma bract จะมีสีเขียวอ่อนออกเหลือง bract มีสีเขียวเข้มขึ้นและไม่แสดงอาการเหี่ยวหรือเปลี่ยนเป็นสีเหลือง สีของ coma bract ของพันธุ์ยูอี้ไม่มีการเปลี่ยนแปลง bract และก้านช่อดอกมีสีเขียวเข้มขึ้น และไม่ปรากฏอาการก้านช่อดอกลิบแบนเหมือนชุดทดลองควบคุม

วิจารณ์ผล

สารควบคุมการเจริญของพืชในกลุ่มไซโตไคนินเช่น BA หรือ กลุ่มจิบเบอเรลลิน เช่น GA₃ ได้ถูกนำมาใช้ชะลอการเสื่อมสภาพและยืดอายุการใช้งานของไม้ตัดใบและไม้ตัดดอกบางชนิด (Hicklenton, 1991; Han, 1995; Paull and Chantrachit, 2001; Philosoph-Hadas *et al.*, 1996) กนกพร (2541) รายงานว่าการใช้ GA₃ และ BA ผสมลงในสารละลายปักแจกัน พบว่า GA₃ ช่วยชะลอการเกิดก้านลิบของปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่สีชมพู แต่ไม่มีผลต่ออายุปักแจกัน แต่หากใช้ GA₃ ร่วมกับสาร 1-methylcyclopropane จะช่วยยืดอายุการปักแจกันได้นานขึ้น (ธนวัฒน์, 2544) เรืองวิทย์ (2547) ได้ฉีดพ่นสารละลาย BA และ BA ร่วมกับ GA₃ สามารถยืดอายุการปักแจกันและชะลอการเกิดก้านลิบของปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่สีชมพูได้ ตามปกติการใช้ BA จะให้ประสิทธิภาพในการยืดอายุใช้งานของไม้ตัดใบได้ดีเมื่อใช้วิธีจุ่มหรือฉีดพ่น (D'Hont *et al.*, 1991) จากผลการศึกษาพบว่า การฉีดพ่นสารละลายที่มีส่วนผสมของสารควบคุมการเจริญของพืช ให้ผลการทดลองที่แตกต่างกันออกไป ตั้งแต่ลดอายุการปักแจกันลง 11% ในพันธุ์เชียงใหม่สีชมพูเมื่อฉีดพ่น GA₃ หรือเพิ่มอายุการใช้งานได้นานขึ้น 226% ในพันธุ์ยูอี้เมื่อฉีดพ่นด้วยสารละลาย GA₃ ผสมกับ BA และการฉีดพ่นสารละลายที่มีส่วนผสมของ BA ให้ผลที่ดีกว่าการใช้สาร GA₃ เพียงอย่างเดียว ประมาณ 1 สัปดาห์หลังเริ่มทดลองช่อดอกที่ปักในน้ำกลั่นจะเริ่มแสดงอาการก้านช่อดอกลิบ และรุนแรงมากขึ้น ในบางดอกก้านจะลิบมากจนไม่สามารถรับน้ำหนักช่อดอกได้และหักล้มลงมา ซึ่งเป็นสาเหตุให้ดอกหมดอายุการใช้งาน การฉีดพ่นช่อดอกด้วยสารละลาย GA₃ และ BA จะชะลอการเกิดก้านลิบได้ และในบางพันธุ์ เช่นพันธุ์ยูอี้ จะไม่เกิดก้านลิบ ส่วนพันธุ์เชียงใหม่สีชมพูอ่อนและพันธุ์สโนไวท์ อาการก้านช่อดอกลิบจะเริ่มสังเกตได้ในระยะเวลาใกล้เคียงกัน แต่ช่อดอกที่ได้รับการฉีดพ่นสารควบคุมการเจริญมีอาการไม่รุนแรง และก้านช่อดอกมีสีเขียวเข้มขึ้น ช่วยยืดอายุการใช้งานของช่อดอกปทุมมาได้

การฉีดพ่นช่อดอกด้วยสารละลายที่มีส่วนผสมของ BA มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสีของ coma bract โดยในพันธุ์ที่มี coma bract สีชมพู เช่น พันธุ์เชียงใหม่สีชมพูและพันธุ์เชียงใหม่สีชมพูอ่อน มีสีเขียวขึ้นหลังจากฉีดพ่นได้ประมาณ 1 สัปดาห์ ส่วนพันธุ์ที่มี coma bract สีขาว เช่น พันธุ์ขาวดอยตุงและพันธุ์สโนไวท์ จะมีสีเหลืองถึงเขียวอ่อน และสีเขียวค่อยๆ เพิ่มขึ้น เนื่องจาก BA และ GA₃ เป็นสารที่นำไปฉีดพ่นเพื่อชะลอการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ในไม้ตัดใบหรือใบของไม้ตัดดอก หรือเพื่อ

ทำให้ใบสร้างคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้น ช่วยชะลอการเกิดใบเหลืองของไม้ตัดใบและใบของไม้ตัดดอก (Jordi *et al.*, 1993; D'Hont *et al.*, 1991) coma bract ของปทุมมาเป็นใบประดับที่มีการพัฒนามาจากใบ ดังนั้นการฉีดพ่นสาร BA และ GA₃ และเก็บไว้ในห้องควบคุมที่มีการให้แสงสว่างวันละ 14 ชั่วโมงอาจกระตุ้นการสร้างคลอโรฟิลล์ที่ coma bract, bract และก้านช่อดอก ทำให้ส่วนต่างๆ ของช่อดอกปทุมมามีสีเขียวเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามการที่ coma bract มีสีเขียวเพิ่มขึ้นในพันธุ์สีชมพูเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ดอกหมดอายุการใช้งาน เนื่องจากสีเปลี่ยนไปจากเดิมมาก แม้ว่าดอกยังไม่แสดงอาการเหี่ยวหรือเสื่อมสภาพ และสีของดอกอาจไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค แต่ลักษณะการเปลี่ยนแปลงสี coma bract ในพันธุ์สีขาวจะทำให้ได้สีที่เข้มข้นและใบมีความแข็งแรงมากขึ้น ซึ่งอาจต้องศึกษาเพิ่มเติมด้านการยอมรับของผู้บริโภคต่อไป แม้ว่าการฉีดพ่น GA₃ และ BA สามารถยืดอายุการใช้งานของช่อดอกปทุมมาพันธุ์ต่างๆ ได้ แต่ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงวิธีการให้สาร ความเข้มข้นของสารและวิธีการเก็บรักษาที่เหมาะสมเพื่อให้ยืดอายุการใช้งานของช่อดอกได้โดยที่สีของ coma bract ไม่เปลี่ยนแปลง

ปทุมมาพันธุ์ยี่สิบสี่สีชมพูอย่างรวดเร็วมื่อปักในน้ำกลั่น ซึ่งมีสาเหตุหลักมาจากการเกิดก้านลีบจนไม่สามารถรับน้ำหนักช่อดอกได้ และทำให้ช่อดอกหักพับลงมา โดยที่ coma bract ยังไม่แสดงอาการเหี่ยวหรือเสื่อมสภาพ การฉีดพ่นสารละลาย GA₃ ผสมกับ BA ช่วยป้องกันการเกิดก้านลีบ และทำให้ bract มีสีเขียวเข้มขึ้น แต่ไม่มีผลต่อสีของ coma bract ช่อดอกจะหมดอายุการใช้งานเมื่อ coma bract เหี่ยวและเสื่อมสภาพในลักษณะเดียวกับชุดทดลองควบคุม

สรุป

การฉีดพ่นช่อดอกปทุมมาด้วยสารละลาย GA₃ ผสมกับ BA ความเข้มข้น 25ppm สามารถยืดอายุการใช้งานของปทุมมาทุกสายพันธุ์ได้ดีที่สุด ชะลอการเกิดก้านลีบ ทำให้ bract มีสีเขียวเข้มแต่มีผลต่อการเปลี่ยนสี ทำให้สีของ coma bract ทุกพันธุ์เขียวขึ้น ยกเว้นพันธุ์ยี่สิบสี่สีชมพู ที่สีของ coma bract ไม่เปลี่ยนแปลง

คำขอขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณป้าบัวไหลและคุณราตรี เคหา ที่เอื้อเฟื้อช่อดอกปทุมมาหลายพันธุ์จากสวนมาให้เป็นวัตถุดิบ ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการสรีรวิทยาของพืช ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัย และสถานวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่สนับสนุนทุนในการเผยแพร่ผลงานครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- กนกพร บุญยอดิชาติ .2541 .การศึกษาแนวทางการยืดอายุปักแจกันและการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาบางประการหลังการเก็บเกี่ยวช่อดอกปทุมมา .วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต .บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ .95 หน้า.
- ธนวัฒน์ ขจรบุญ .2544. ผลของ GA₃ 1-MCP ต่ออายุปักแจกันและคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวของช่อดอกปทุมมา (*Curcuma alismatifolia* Gagnep.) พันธุ์เชียงใหม่ .วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต .บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
- เรืองวิทย์ พ้อเรือน .2547 .ผลของการใช้สารเคมีชนิดต่างๆ ในการยืดอายุปักแจกันของปทุมมา (*Curcuma alismatifolia*) ตัดดอก .ปัญหาพิเศษ วิทยาศาสตรบัณฑิต. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ .63 หน้า.
- สุวิธ วรณโกรโรจน์. 2537. ปทุมมาและกระเจียว .ใน ไม้ตัดดอกเขตร้อน .กองส่งเสริมพืชสวน กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ , กรุงเทพฯ .หน้า 59 – 71.
- อรอุมา เกษมโกสินทร์. 2538. การยืดอายุปักแจกันของช่อดอกปทุมมาโดยใช้สารเคมี 8-hydroxyquinoline sulfate aluminium sulfate และชูโครส .เคหการเกษตร .30: 2 (ก.พ.) .หน้า 59 – 160.
- D'Hont, K., Langeslag, J. and B.L. Dahlhaus. 1991. The effect of different growth regulators and chemical treatments used during postharvest for preserving quality of chrysanthemum. Acta Hort., 298: 21 I-214.
- Hicklenton, P.R. 1991. GA₃ and benzylaminopurine delay leaf yellowing in cut *Alstroemeria* stems. HortScience, 26: 1198-1199.
- Han, S. 1995. Growth regulators delay leaf chlorosis of Easter lily leaves. J. Amer. Soc. Hortic. Sci. 120, 254–258.
- Jordi, W., Dekhuijzen. H.M., Stoopen, G.M. and J.H.M. Overbeek. .1993Role of other plant organs in gibberellic acid-induced delay of leaf senescence in *Alstroemeria* cut flowers. Physiol. Plant., :87 .432-426
- Paull, R.E. and T. Chantrachit. 2001. Benzyladenine and the vase life of tropical ornamentals. Posthar. Biol. Tech. 21. 303-301.
- Philosoph-Hadas, S., Michaeli, R., Reuveni, Y. and S. Meir. 1996. Benzyladenine pulsing retards leaf yellowing and improves quality of goldenrod (*Solidago canadensis*) cut flowers. Posthar. Biol. Tech. 9: 65-73.