Agricultural Sci. J. 41 : 1 (Suppl.) : 35-38 (2010) ว. วิทย. กษ. 41 : 1 (พิเศษ) : 35-38 (2553)

การใช้สารยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ peroxidase ในการชะลอการอุดตันของท่อลำเลียงดอกเบญจมาศ
Use of an Inhibitor of Peroxidase in Delaying Xylem Occlusion of Cut Chrysanthemum

มัณฑนา บัวหนอง[1], เฉลิมชัย วงษ์อารี และ ศิริชัย กัลยาณรัตน์[1]
Mantana Buanong[1], Chalermchai Wongs-Aree[1] and Sirichai Kanlayanarat[1]

Abstract

Effect of an inhibitor of peroxidase on delaying water occlusion of cut chrysanthemum was investigated by pulsing flowers in 0 (control), 1, 3, 5 and 10 µM catechol for 5 h. After pulsing, flowers were placed in the distilled water throughout experimental period. The results showed that treatments of 1-5 µM catechol for 5 h delayed the decrease of fresh weigh, water uptake, total chlorophyll contents as compared to flowers pulsed with distilled water (control) while increasing concentration of catechol to 10 µM did not show further improvement in the quality and vase life of flowers. Additionally, phytotoxicity was observed in flowers pulsed with 10 µM catechol showing peduncle blackening and leaf wilting. Cut chrysanthemum pulsed with 1 µM had the longest vase life (9.3 d) while flowers pulsed with 10 µM had the shortest vase life (5.4 d). Scanning Electron Microscopy (SEM) was used to characterize the microstructural changes of xylem tissue of cut chrysanthemum. It was found that the xylem tissue of the control at d7 became larger and looser than that of the control at the initial day, as well as treatments of catechol at higher concentrations.

Key word: chrysanthemum, xylem occlusion, chlorophyll, an inhibitor of peroxidase, vase life

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของสารยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ peroxidase ในการชะลอการอุดตันของท่อลำเลียงดอกเบญจมาศ โดยพัลซิ่งดอกเบญจมาศด้วยสารละลาย catechol ที่ระดับความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม) 1 3 5 และ 10 µM เป็นเวลา 5 ชั่วโมง แล้วย้ายมาปักในน้ำกลั่นตลอดระยะเวลาการทดลอง พบว่า การพัลซิ่งดอกเบญจมาศด้วยสารละลาย catechol ที่ระดับความเข้มข้น 1-5 µM นาน 5 ชั่วโมง สามารถชะลอการลดลงของการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักสด อัตราการดูดน้ำ ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ในขณะที่การพัลซิ่งด้วยสารละลาย catechol ที่ระดับความเข้มข้น 10 µM ไม่ได้ช่วยให้ดอกเบญจมาศมีคุณภาพและอายุการปักแจกันเพิ่มขึ้น โดย catechol ที่ระดับความเข้มข้น10 µM ทำให้เกิดความเป็นพิษต่อพืช (phytotoxicity) โดยเฉพาะก้านดอกซึ่งมีลักษณะเป็นสีดำและใบเหี่ยว ดอกเบญจมาศที่พัลซิ่งด้วยสารละลาย catechol ที่ระดับความเข้มข้น 1 µM มีอายุการปักแจกันนานที่สุด เท่ากับ 9.3 วัน ในขณะที่ดอกเบญจมาศที่พัลซิ่งด้วยสารละลาย catechol ที่ระดับความเข้มข้น 10 µM มีอายุการปักแจกันสั้นที่สุด เท่ากับ 5.4 วัน การตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงลักษณะเนื้อเยื่อท่อลำเลียงดอกเบญจมาศโดยใช้ Scanning Electron Microscopy (SEM) พบว่า ท่อลำเลียงของดอกเบญจมาศในชุดควบคุมมีลักษณะยุ่ยและรูพรุนมีขนาดใหญ่ขึ้นในวันที่ 7 ของการปักแจกัน ส่วนสารละลาย catechol ที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้น ยิ่งทำให้เนื้อเยื่อภายในท่อลำเลียงมีลักษณะเป็นรูพรุนที่มีขนาดใหญ่กว่าปกติ

คำสำคัญ ดอกเบญจมาศ, การอุดตันของท่อลำเลียง, คลอโรฟิลล์, สารยับยั้งเอนไซม์ peroxidase, อายุการปักแจกัน

คำนำ

เบญจมาศเป็นไม้ตัดดอกที่มีการซื้อขายปริมาณมากเป็นอันดับ 2 ในตลาดประมูลดอกไม้ที่ประเทศเนเธอร์แลนด์ ประเทศผู้ผลิตรายใหญ่ได้แก่ เนเธอร์แลนด์ แอฟริกาใต้ สเปน อิสราเอล สหรัฐอเมริกาและญี่ปุ่น สำหรับประเทศไทยปัจจุบันมีพื้นที่ปลูกเบญจมาศประมาณ 1400 ไร่ โดยนิยมปลูกเบญจมาศดอกช่อมากกว่าดอกเดี่ยว เนื่องจากดูแลรักษาง่ายกว่า (ปรัชญา รัศมีธรรมวงศ์, ไม่ระบุปีพิมพ์) การอุดตันของท่อลำเลียงน้ำในดอกเบญจมาศเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิด water stress ซึ่งทำให้อายุการใช้งานสั้นลง โดยพบว่าการอุดตันของท่อลำเลียงน้ำที่ถูกชักโดยบาดแผลที่ปลายก้านจะเกิดกับดอกเบญจมาศ

[1] สายวิชาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี กรุงเทพฯ 10140
[1] Division of Postharvest Technology , School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangkok 10140.

มากกว่าการอุดตันของฟองอากาศในท่อลำเลียง ทำให้เกิดอาการใบเหี่ยวซึ่งเป็นสาเหตุหลักที่พบในเบญจมาศตัดดอก (Van Doorn and Vaslier, 2002) นอกจากนั้นการอุดตันของท่อลำเลียงน้ำที่ถูกชักนำโดยบาดแผลยังเกี่ยวข้องกับกิจกรรมของ

เอนไซม์ peroxidase และ phenoloxidase เนื่องจากการเกิดบาดแผลในเนื้อเยื่อพืชต่าง ๆ มีผลทำให้กิจกรรมของ oxidative enzymes เพิ่มขึ้น เช่นเอนไซม์ peroxidase (Kawaoka et al., 1994) และ phenoloxidase (Vámos-Vigiázó, 1981) เป็นต้น เอนไซม์เหล่านี้จะมีบทบาทสำคัญในการเกิดบาดแผล และการอุดตันท่อลำเลียงน้ำในดอกเบญจมาศเป็นการตอบสนองต่อบาดแผลที่เกิดจากการตัดปลายก้าน (van Doorn and Vaslier, 2002) และยังสัมพันธ์กับการสังเคราะห์ lignin (Okey et al., 1997; Blee et al., 2001) และ suberin ที่เพิ่มขึ้น (Botella et al., 1994) peroxidase เกิดอยู่ในบริเวณ tylose ซึ่งเป็น cell parenchyma ที่เจริญเติบโตผิดปกติ มีลักษณะเหมือนลูกบอลลูน ยื่นเข้าไปใน lumen ของท่อลำเลียง (Smith et al., 1994) การเกิด tylose ตอบสนองต่อการเกิดบาดแผลและยังเป็นปัญหาที่สำคัญของการอุดตันของท่อลำเลียง (Tyree and Zimmerman, 2002) ดังนั้นจึงเป็นที่มาของงานวิจัยนี้โดยศึกษาการใช้สาร catechol ซึ่งอยู่ในกลุ่มสารยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ peroxidase ในการลดการอุดตันของท่อลำเลียงของดอกเบญจมาศ

อุปกรณ์และวิธีการ

เบญจมาศชนิดดอกช่อ พันธุ์ขาวกระดุม เก็บเกี่ยวจากสวนที่ปลูกเป็นการค้าในอำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดชัยภูมิ โดยเก็บเกี่ยวในระยะที่ดอกบานประมาณ 70% ขนส่งมาที่ห้องทดลองของสายวิชาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี วางทิ้งไว้ในห้องทดลองเป็นระยะเวลา 5 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำตัดปลายก้านดอกให้มีความยาวทั้งช่อประมาณ 45 เซนติเมตร นำมาพัลซิ่งด้วยสารละลาย catechol (pyrocatechol, Fluka) ที่ระดับความเข้มข้น 1 3 5 และ 10 µM เป็นระยะเวลา 5 ชั่วโมง แล้วย้ายมาปักในน้ำกลั่นและวางไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70-80 % ตลอดระยะเวลาการทดลอง วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) โดยใช้เบญจมาศดอกช่อ 5 ก้าน/ชุดการทดลองและทำการทดลอง 2 ซ้ำ

ผลและวิจารณ์

ดอกเบญจมาศที่พัลซิ่งด้วยสารละลาย catechol ที่ระดับความเข้มข้น 1-5 µM มีอัตราการดูดน้ำและการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักสดเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับดอกเบญจมาศที่ปักในน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) (รูป1A, B) ดังนั้นการใช้ catechol จึงสามารถชะลอการเหี่ยวของใบในดอกเบญจมาศได้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Vaslier and Van Doorn (2003) ที่รายงานว่า การพัลซิ่งดอก *Bouvardia* ด้วยสารยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ peroxidase เช่น hydroquinone, p-phynylene diamine และ copper ionsเป็นเวลา 5 ชั่วโมง สามารถชะลออาการใบเหี่ยวได้ ชี้ให้เห็นถึงบทบาทของ peroxidase ต่อการอุดตันของท่อลำเลียง นอกจากนั้น ยังพบว่า การเปลี่ยนแปลงปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดในดอกเบญจมาศมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในวันที่ 2 ของการปักแจกันและจึงลดลงอย่างต่อเนื่องหลังจากนั้น โดยดอกเบญจมาศที่พัลซิ่งในสารละลาย catechol ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 1-5 µm มีปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดมากกว่าดอกเบญจมาศที่ปักในน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) แต่เมื่อพัลซิ่งด้วยสารละลาย catechol ที่ระดับความเข้มข้น 10 µm กลับเร่งการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ และทำให้อายุการปักแจกันสั้นกว่าชุดควบคุม (รูปที่ 1C) ดอกเบญจมาศที่พัลซิ่งด้วยสารละลาย catechol ที่ระดับความเข้มข้น 1 µM มีอายุการปักแจกันนานที่สุด เท่ากับ 9.3 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับดอกเบญจมาศที่พัลซิ่งด้วยสารละลาย catechol ที่ระดับความเข้มข้น 10 µM ที่พบการดำของก้านดอกและใบเหี่ยว มีอายุการปักแจกันสั้นที่สุด เท่ากับ 5.4 วัน ในขณะที่ดอกเบญจมาศที่พัลซิ่งด้วยน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) มีอายุการปักแจกัน 7.8 วัน (รูปที่ 1D) จึงสรุปได้ว่าการใช้สารละลาย catechol ที่ระดับความเข้มข้นสูงนั้นเกิดความเป็นพิษต่อพืช (phytotoxicity) นอกจากนั้นระดับความเข้มข้นของ catechol ที่ใช้ยังขึ้นอยู่กับชนิดและพันธุ์ของดอกเบญจมาศอีกด้วย Van Doorn and Cruz (2000) รายงานว่าบาดแผลชักนำให้เกิดการอุดตันของท่อลำเลียงของดอกเบญจมาศและยังสามารถเกิดขึ้นได้กับดอกที่แช่ในน้ำโดยตรงหลังจากเก็บเกี่ยว แต่การอุดตันของท่อลำเลียงของดอกกุหลาบพันธุ์ Red one และ *Viburnum opulus* พันธุ์ Roseum กลับมีสาเหตุหลักมาจากการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียและสารที่เชื้อแบคทีเรียผลิตขึ้นในท่อลำเลียง จากการตรวจสอบโดยใช้ Scanning Electron Microscopy (SEM) เพื่อศึกษาลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อท่อลำเลียง พบว่า ดอกเบญจมาศที่พัลซิ่งด้วยสารละลาย catechol ที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้น ยิ่งทำให้เนื้อเยื่อภายในท่อลำเลียงมีลักษณะเป็นรูพรุนที่มีขนาดใหญ่กว่าปกติเมื่อเปรียบเทียบกับดอกเบญจมาศที่พัลซิ่งด้วยสารละลาย catechol ที่ระดับความเข้มข้นต่ำและชุดควบคุม (รูปที่ 2) และจากการทำ SEM ไม่พบเชื้อแบคทีเรียในก้านท่อลำเลียงในทุกชุดการทดลอง รวมทั้งชุดควบคุม (ข้อมูลไม่แสดง) ดังนั้น การอุดตันของท่อลำเลียงในก้านดอกเบญจมาศหลังการ

เก็บเกี่ยวในการศึกษานี้ไม่ได้มีสาเหตุมาจากการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยในดอกเบญจมาศ พันธุ์ Vyking (Van Doorn and Cruz, 2000) และดอก Bouvardia พันธุ์ van Zijverden และ ดอก *Astilbe* พันธุ์ Glut และ Erica (Loubaud and Van Doorn, 2004) ที่ไม่พบเชื้อแบคทีเรียในก้านท่อลำเลียงดอกไม้หลังจากทำการพัลซิ่งแล้วเก็บรักษาแบบแห้ง รวมทั้งในชุดควบคุมที่ทำการพัลซิ่งด้วยน้ำกลั่น

สรุป

การพัลซิ่งดอกเบญจมาศด้วย **catechol** ที่ระดับความเข้มข้น 1-5 μM นาน 5 ชั่วโมง ก่อนทำการปักในน้ำกลั่น สามารถชะลอการอุดตันของท่อลำเลียงได้ โดยไปช่วยเพิ่มการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักสด อัตราการดูดน้ำและปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด แต่การพัลซิ่งที่ระดับความเข้มข้น 10 μM ทำให้ดอกเบญจมาศเกิดอาการผิดปกติ และมีอายุการปักแจกันสั้นลง

เอกสารอ้างอิง

ปรัชญา รัศมีธรรมวงศ์. ไม่ระบุปีพิมพ์. ไม้ตัดดอก. สำนักพิมพ์นาคา. 142 หน้า.

Blee, K.A., E.R. Wheatley, V.A. Bonham, G.P. Mitchell, D. Robertson, A.R. Slabas, M.M. Burrell, P. Wojtaszek and G.P. Bolwell. 2001. Proteins in a transformed tobacco cell culture that synthesizes secondary walls as determined by biochemical and morphological parameters. Planta 212: 404-415.

Botella, M.A., M.A. Quesada, M.I. Medina, F. Pliego and V. Valpuesta. 1994. Induction of a tomato peroxidase gene in vascular tissue. FEBS Lett. 347: 195-198.

Kawaoka, A., T. Kawamoto, H. Ohta, M. Sekine, M. Takano and A. Shinmoyo. 1994. Wound-induced expression of horseradish peroxidase. Plant Cell Reports 13: 149-154.

Loubaud, M. and W.G. Van Doorn. 2004. Wound-induced and bacteria-induced xylem blockage in roses, Astilbe and Viburnum. Postharvest Biol. Technol. 32: 281-288.

Okey, E.N., E.J. Duncan, G. Sirju Charran and T.N. Sreenivasan. 1997. *Phytophthora* canker resistance in cacao: role of peroxidase, polyphenoloxidase and phenylalanine ammonialyase. J. Phytopathol. 145: 295-299.

Smith, C.G., M.W. Rodgers, A. Zimmerlin, D. Ferdinando and G.P. Bolwell. 1994. Tissue and subcellular immunolocalisation of enzymes of lignin synthesis in differentiating and wounded hypocotyls tissue of French bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Planta 192: 155-164.

Tyree, M.T. and M.H. Zimmermann. 2002. Xylem structure and the ascent of sap. Springer, Berlin.

Vámos-Vigiázó L. 1981. Polyphenoloxidase and peroxidase in fruits and vegetables. CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 15: 49-127.

Van Doorn, W.G. and P. Cruz. 2000. Evidence for a wounding-induced xylem occlusion in stems of cut chrysanthemum flowers. Postharvest Biol. Technol. 19: 73-83.

Van Doorn, W.G. and N. Vaslier. 2002. Wounding-induced xylem occlusion in stems of cut chrysanthemum flowers: roles of peroxidase and cathechol oxidase. Postharvest Biol. Technol. 26: 275-284.

Vaslier, N. and W.G. Van Doorn. 2003. Xylem occlusion in bouvardia flowers: evidence for a role of peroxidase and cathechol oxidase. Postharvest Biol. Technol. 28: 231-237.

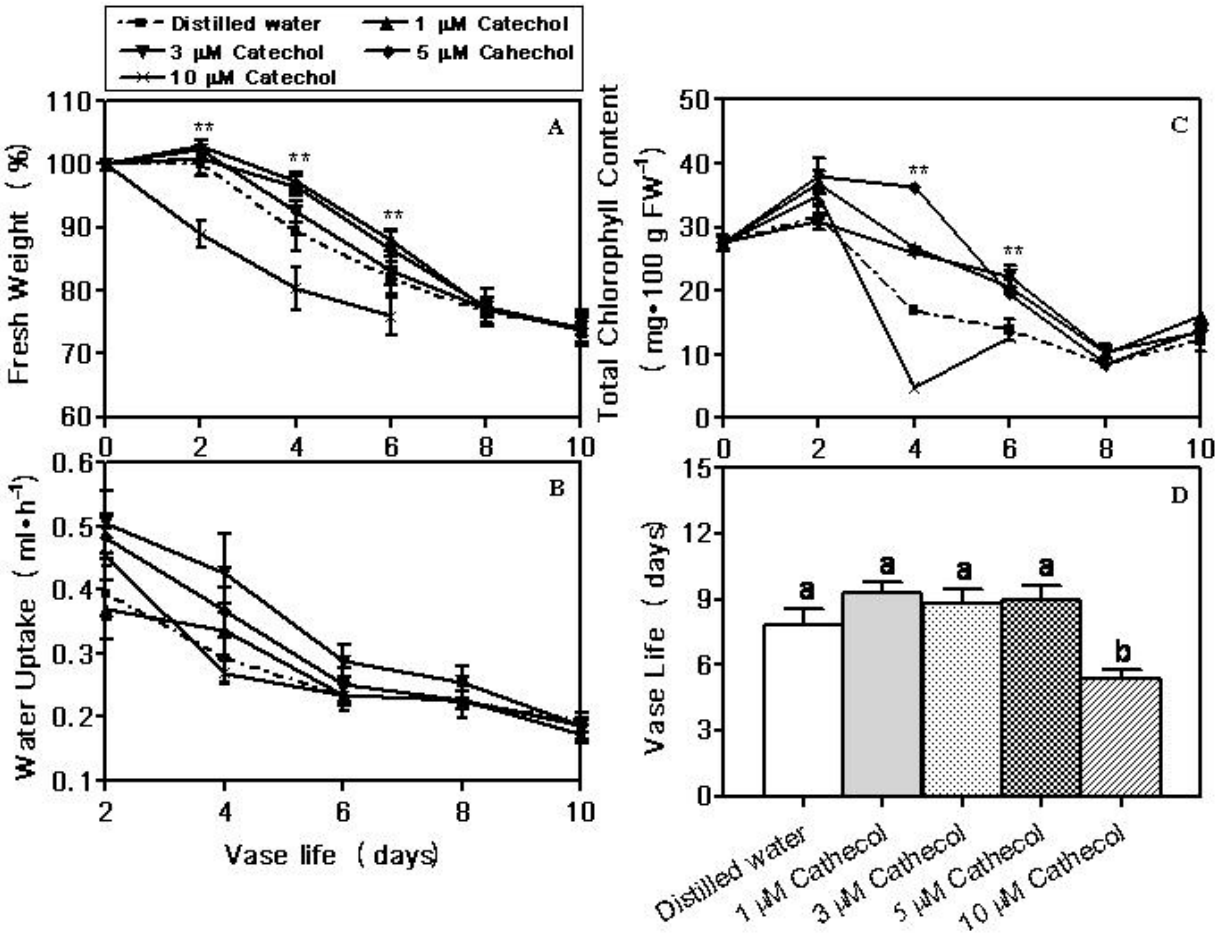

Figure 1 Fresh weight (A); water uptake (B); total chlorophyll content (C) and vase life (D) of cut chrysanthemum pulsed with 0 (control) 1 3 5 และ 10 µM catechol for 5 hours, then transferred to distilled water in an observation room throughout experimental period.

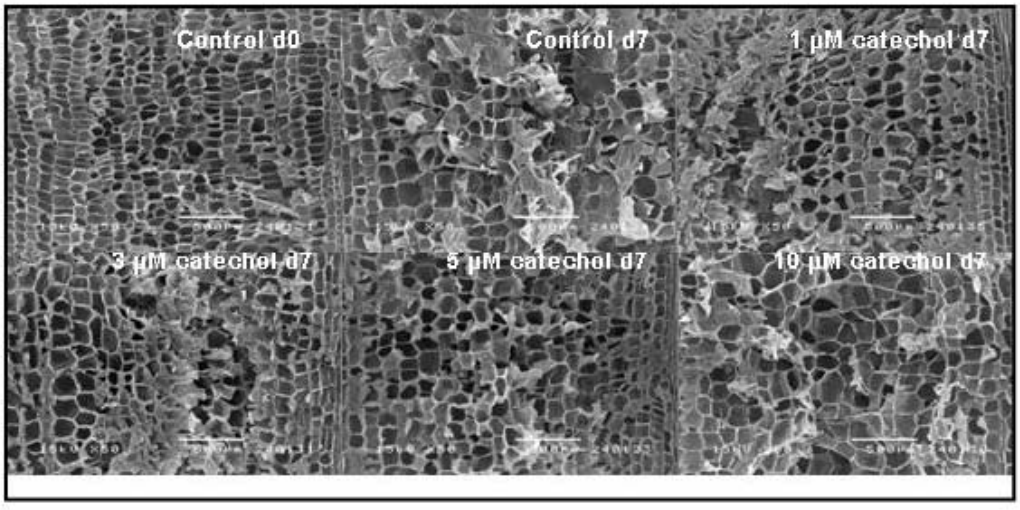

Figure 2 Xylem by scanning electron microscopy (SEM) of cut chrysanthemum pulsed with 0 (control) 1 3 5 and 10 µM catechol for 5 hours, then transferred to distilled water in an observation room throughout experimental period in day 0 and 7