ผลของการรัดลำต้นและสารพาโคลบิวทราโซลต่อการชักนำการออกดอกและการแสดงออกของยีน *GA20-oxidase* ของลองกอง (*Aglaia dookkoo* Griff.)

The Effects of Trunk Strangulation and Paclobutrazol on Floral Induction and *GA20-Oxidase* Gene Expression in Longkong (*Aglaia dookkoo* Griff.)

สายทิพย์ ทิพย์ปาน

Saithip Thippan

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Master of Science in Plant Science
Prince of Songkla University
2558

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลของการรัดลำต้นและสารพาโคลบิวทราโซลต่อการชักนำการออกดอกและการแสดงออกของยีน *GA20-oxidase* ของลองกอง

ผู้เขียน นางสาวสายทิพย์ ทิพย์ปาน

สาขาวิชา พืชศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	**คณะกรรมการสอบ**
.....	.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ลดาวัลย์ เลิศเลอวงศ์)	(ดร.ระวี เจียรวิภา)
	.....กรรมการ
	(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วชิรญา อิ่มสบาย)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล ศรีชนะ)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ.....
(ผศ.ดร.ลดาวัลย์ เลิศเลอวงศ์)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ลงชื่อ.....
(นางสาวสายทิพย์ ทิพย์ปาน)
นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และไม่ได้ถูกนำไปในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....

(นางสาวสายทิพย์ ทิพย์ปาน)

นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลของการรัดลำต้นและสารพาโคลบิวทราโซลต่อการชักนำการออกดอกและการแสดงออกของยีน *GA20-oxidase* ของลองกอง

ผู้เขียน นางสาวสายทิพย์ ทิพย์ปาน

สาขาวิชา พืชศาสตร์

ปีการศึกษา 2557

บทคัดย่อ

วิธีการชักนำการออกดอกมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณจิบเบอเรลลินในช่วงก่อนออกดอกของไม้ผลยืนต้น การทดลองครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการรัดลำต้นและการราดสารพาโคลบิวทราโซลต่อการออกดอกผลผลิต การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลิน และการแสดงออกของยีนในวิถีการสังเคราะห์จิบเบอเรลลินของลองกอง ดำเนินการทดลองกับต้นลองกองเสียบยอดบนต้นตอดูกูอายุ 15 ปี ระยะใบเพสลาด วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกอย่างสมบูรณ์ ประกอบด้วย 4 ทรีทเมนต์ ได้แก่ 1) ชุดควบคุม 2) การรัดลำต้น 3) การราดสารพาโคลบิวทราโซลอัตรา 4 กรัมต่อต้น (สารออกฤทธิ์ 10%) และ 4) การรัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซล ทำ 5 ซ้ำ ดำเนินการให้ทรีทเมนต์ วันที่ 3 กรกฎาคม 2555 (นอกฤดู) ผลการทดลอง พบว่า ต้นลองกองออกดอกหลังให้ทุกทรีทเมนต์ประมาณ 3 สัปดาห์ โดยการรัดลำต้นและการราดสารพาโคลบิวทราโซล สามารถชักนำให้ลองกองออกดอกได้ 80 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนต้นทั้งหมด ในขณะที่ลองกองชุดควบคุมออกดอกเพียง 60 เปอร์เซ็นต์ ของจำนวนต้นทั้งหมด การชักนำการออกดอกทุกวิธีการทำให้ลองกองมีจำนวนตาดอกทั้งหมดต่อต้นมากกว่าชุดควบคุม แต่ต้นลองกองที่รัดลำต้นและราดสารพาโคลบิวทราโซลมีความยาวดอกเฉลี่ยไม่แตกต่างจากลองกองชุดควบคุม ด้านปริมาณและคุณภาพผลผลผลิตเมื่อเก็บเกี่ยว การรัดลำต้นและการราดสารพาโคลบิวทราโซลไม่มีผลต่อปริมาณผลผลิต จำนวนผลต่อช่อ น้ำหนักผลต่อช่อ น้ำหนักเปลือกต่อผล ความหนาเปลือก ความตึงผิวเปลือก ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (TA) และอัตราส่วน TSS/TA นอกจากนี้ การรัดลำต้นและการราดสารพาโคลบิวทราโซลเพียงอย่างเดียว ทำให้ลองกองมีน้ำหนักผลไม่แตกต่างจากลองกองชุดควบคุม ในขณะที่การรัดลำต้นและการราดสารพาโคลบิวทราโซล ทำให้ลองกองมีน้ำหนักเนื้อต่อผล และเส้นผ่านศูนย์กลางผลมากกว่าในชุดควบคุม และช่อผลของลองกองที่รัดลำต้นมีความยาวมากกว่าที่สุด วิธีการชักนำการออกดอกทั้ง 3 วิธี มีผลทำให้ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินน้อยกว่าชุดควบคุม โดยลองกองที่ได้รับการราดสารพาโคลบิวทราโซลมีปริมาณต่ำสุด สอดคล้องกับการ

แสดงออกของยีน *GA20-oxidase* ซึ่งต้นลองกองที่ได้รับการรัดลำต้นและราดสารพาโคลบิวทราโซลมีการแสดงออกของยีน *GA20-oxidase* ในเปลือกลดลง 2 สัปดาห์ หลังการให้ทรีทเมนต์ ในขณะที่การให้ทรีทเมนต์ทุกวิธีการ ไม่สัมพันธ์กับการแสดงออกของยีน *GA20-oxidase* ในใบ นอกจากนี้ การชักนำการออกดอกทุกวิธีการไม่มีผลต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้างที่เพิ่มขึ้นในช่วงก่อนออกดอก

Thesis Title The Effects of Trunk Strangulation and Paclobutrazol on Floral Induction and *GA20-Oxidase* Gene Expression in Longkong

Autho Miss Saithip Thippan

Major Program Plant Science

Academic Year 2014

ABSTRACT

In fruit trees, the method of floral induction has an effect on changes of gibberellin level during flowering. This research aimed to study the effects of trunk strangulation and paclobutrazol drench on flowering, yield, gibberellin-like substances and the expression of gibberellins-related gene in longkong (*Aglaia dookkoo* Griff.). The experiment was carried out with the fifteen-year-old of cleft grafting of longkong scion grafted onto duku (*Lasium domesticum var.duku*) rootstock at stage of young fully expanded leaf. The following treatments were arranged in a randomized completed block design with 5 replications: (i) no trunk strangulation and no paclobutrazol drench (control), (ii) trunk strangulation, (iii) paclobutrazol drench at concentration 4 gram/tree (10% a.i.), and (iv) trunk strangulation with paclobutrazol drench. All treatments were conducted on July 3, 2012 (of-season). The results showed that flower buds were appeared in three weeks after all treatments. Trunk strangulation with and without paclobutrazol drench resulted in percentage flowering at 80% of total trees, while control trees gave flowering only 60% of total trees. Comparing to the control, all floral induced methods had more number of flower bud/tree. However, a difference in length of flower bud of trunk stranguled- and paclobutrazol drenched trees was not found. Regarding fruit yield and quality at harvest, there were no significant difference among all treatment: yields, number of fruit/bunch, fruit weight/bunch, peel weight/fruit, thickness of peel, peel firmness, total soluble solids (TSS), titratable acid (TA), and TSS : TA ratio. Furthermore, individual fruit weight of trunk strangulated- and paclobutrazol treated-trees were not significantly difference compared with control. Meanwhile, pulp weight/fruit and fruit diameter of trunk strangulated- and paclobutrazol drencher treated-

trees were greater than control. The length of fruit bunch of trunk strangulated- tree was the longest bunch. Treatment of trunk strangulation with and without paclobutrazol drench apparently reduced the contents of gibberellin-like substances as lower than control and trees drenched with paclobutrazol gave the lowest levels of gibberellin-like substances. This result related with the expression of *GA20-oxidase*, the of gibberellin biosynthetic genes. It was found that trunk strangulation and paclobutrazol drench suppressed the expression *GA20-oxidase* in longkong bark from two weeks after treatment. However, relationship between the *GA20-oxidase* expression and treatments of trunk strangulation with and without paclobutrazol was not found in leave. Furthermore, all methods of floral induction of longkong were not related to an increase of total non-structural carbohydrate prior to flowering.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความอนุเคราะห์ของ ผศ.ดร.ลดาวัลย์ เลิศเลอวงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ขอกราบขอบคุณอาจารย์ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือในหลายๆเรื่อง ตั้งแต่การคิดหัวข้อวิจัย การหาทุนสนับสนุนในการทำงานวิจัย ให้ความรู้ ชี้แนะ และคำปรึกษา ในการแก้ปัญญาและอุปสรรคต่างๆในการทำวิจัย รวมทั้งการใช้ชีวิตในสังคมประจำวัน การฝึกให้รู้จักมีความอดทนไม่ย่อท้อต่ออุปสรรค ตลอดจนการตรวจทานเล่มวิทยานิพนธ์และปรับปรุงแก้ไขข้อผิดพลาดต่างๆ ติดตามงานทำให้งานสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดีจนกระทั่งวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ ขอกราบขอบคุณ ดร.ระวี เจียรวิภา ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และ ผศ.ดร.วชิรญา อิ่มสบาย กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์เป็นอย่างดี เพื่อให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณทุนสนับสนุนในการวิจัยจากสถานวิจัยความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินรายได้มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ขอขอบคุณความอนุเคราะห์ในการทำวิจัยจากทุกห้องปฏิบัติการในภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ

ขอขอบคุณคณาจารย์ภาควิชาพืชศาสตร์ทุกท่านที่ให้ความรู้ ขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาพืชศาสตร์ที่ให้ความช่วยเหลือในเรื่องต่างๆ ขอบคุณเพื่อนๆ และน้องๆในแลปที่ให้ความช่วยเหลือและให้กำลังใจในการทำวิจัย และขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ ปริญญาโทและปริญญาเอกภาควิชาพืชศาสตร์ที่มีส่วนช่วยเหลือในทุกๆด้านในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

สุดท้ายนี้กราบขอบพระคุณ พ่อ แม่ เป็นอย่างสูงที่ให้การสนับสนุนในการศึกษาและเป็นกำลังใจให้ลูกคนนี้ตลอดมาจนสำเร็จการศึกษาปริญญาโท

สายทิพย์ ทิพย์ปาน

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(5)
Abstract	(7)
กิตติกรรมประกาศ	(9)
สารบัญ	(10)
รายการตาราง	(11)
รายการภาพประกอบ	(12)
บทที่	
1 บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
การตรวจเอกสาร	2
วัตถุประสงค์	23
2 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ	24
วัสดุ อุปกรณ์	24
วิธีการ	27
3 ผล	44
4 วิจารณ์	71
5 สรุป	76
เอกสารอ้างอิง	79
ภาคผนวก	89
ประวัติผู้เขียน	111

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1	พัฒนาการในรอบปีของลองกอง	3
2	กระบวนการพัฒนาดอกจนกระทั่งติดผลของลองกอง	6
3	ปัจจัยและตัวแปรที่มีผลต่อการออกดอกของไม้ผล	7
4	การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินช่วงก่อนการออกดอกในไม้ผล	12
5	การใช้สารชะลอกระตุ้นการออกดอกในไม้ผลยืนต้นชนิดต่างๆ	19
6	ผลของการรัดลำต้นและสารพาโคลบิวทราโซลต่อการออกดอกของลองกองหลังจากให้ทรีทเมนต์	43
7	น้ำหนักผลผลิตของต้นลองกองที่มีการรัดลำต้น การราดสารพาโคลบิวทราโซล และการรัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซล	52
8	ผลผลิตของต้นลองกองที่มีการรัดลำต้น การราดสารพาโคลบิวทราโซล และการรัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซล	54
9	คุณภาพผลผลิตของต้นลองกองที่มีการรัดลำต้น การราดสารพาโคลบิวทราโซล และการรัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซล	58
10	ผลของการรัดลำต้น การราดสารพาโคลบิวทราโซล และการรัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซลคุณภาพภายในของลองกอง	59

รายการภาพประกอบ

ภาพที่		หน้า
1	ช่วงแล้งและช่วงเวลาการออกดอกของลองกองที่ปลูกในภาคต่างๆ ของไทย	4
2	สูตรโครงสร้างจิบเบอเรลลิน	8
3	บทบาทของจิบเบอเรลลินระหว่างการยืดยาวของลำต้นและการออกดอกในไม้ล้มลุกและไม้ผลยืนต้น	9
4	กระบวนการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน	10
5	ยีนที่เกี่ยวข้องในกระบวนการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน	15
6	สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารพาโคลบิวทราโซล	19
7	อิทธิพลของพาโคลบิวทราโซลต่อการยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน	20
8	แผนผังแปลงลองกองที่ทดลองโดยมีระยะห่างระหว่างต้น 3×3 เมตร	28
9	วิธีการควั่นกิ่งและรัดลำต้น	29
10	วิธีการราดสารพาโคลบิวทราโซล	30
11	จำนวนตาดอกเดี่ยวภายหลังการรัดลำต้น การราดสารพาโคลบิวทราโซล และการรัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซล เป็นเวลา 12 สัปดาห์	45
12	จำนวนกลุ่มตาดอกภายหลังการรัดลำต้น การราดสารพาโคลบิวทราโซล และการรัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซล เป็นเวลา 12 สัปดาห์	46
13	จำนวนตาดอกทั้งหมดภายหลังการรัดลำต้น การราดสารพาโคลบิวทราโซล และการรัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซล เป็นเวลา 12 สัปดาห์	47
14	ความยาวตาดอกเดี่ยวภายหลังการรัดลำต้น การราดสารพาโคลบิวทราโซล และการรัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซล เป็นเวลา 12 สัปดาห์	48
15	ความยาวตาของกลุ่มตาดอกภายหลังการรัดลำต้น การราดสารพาโคลบิวทราโซลและการรัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซล เป็นเวลา 12 สัปดาห์	49
16	ความยาวตาของตาดอกเฉลี่ยภายหลังการรัดลำต้น การราดสารพาโคลบิวทราโซล และการรัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซล ในสัปดาห์ที่ 12 หลังให้ทรีทเมนต์	50

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
17	ความยาวตาดอกหลังจากให้ทรีทเมนต์ ในช่วงสัปดาห์ที่ 3 ถึงสัปดาห์ที่ 12 ภายหลังการออกดอก	51
18	ความยาวช่อผลของลองกองหลังให้ทรีทเมนต์	52
19	ความยาวช่อผลของลองกองแต่ละทรีทเมนต์	58
20	ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้างในเปลือกและใบของลองกอง	62
21	ผลรวมของปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้างระหว่างใบและเปลือกของลองกอง	63
22	ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในเปลือกลองกอง	65
23	ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในใบลองกอง	66
24	ผลรวมของปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินระหว่างใบและเปลือกของลองกอง	67
25	สัดส่วนการแสดงออกของยีน *GA20- oxidase* เทียบเคียงกับยีนอ้างอิง 18s rRNA ในเปลือกกิ่งลองกอง	68
26	สัดส่วนการแสดงออกของยีน *GA20- oxidase* เทียบเคียงกับยีนอ้างอิง 18s rRNA ในใบลองกอง	69
27	ผลรวมสัดส่วนการแสดงออกของยีน *GA20- oxidase* เทียบเคียงกับยีนอ้างอิง 18s rRNA ในใบและเปลือกลองกอง	70

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ลองกอง (*Aglaia dookkoo* Griff.) เป็นไม้ผลเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ที่มีอัตราการขยายพื้นที่ปลูกอย่างต่อเนื่อง ปัจจุบันเกษตรกรให้ความสนใจในการผลิตลองกองในประเทศไทยจำนวนมาก โดยประเทศไทยมีพื้นที่ผลิตลองกองประมาณ 418,452 ไร่ มีผลผลิตประมาณ 164,141 ตันต่อปี และพบว่าภาคใต้ ได้แก่ จังหวัด นราธิวาส ยะลา ชุมพร นครศรีธรรมราช มีผลผลิตลองกองสูงถึง 102,499 ตัน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2558) โดยปกติลองกองจะแทงช่อดอกหลังจากได้รับช่วงแล้งไปแล้วระยะหนึ่ง ทำให้การเจริญเติบโตทางด้านกิ่งใบหยุดชะงัก และมีการสะสมอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต และการเปลี่ยนแปลงทางสรีระอื่นๆ (เปรมปรี, 2541) แต่ในปัจจุบันสภาพแวดล้อมมีความแปรปรวนสูง ซึ่งมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและการออกดอกติดผลในรอบปีของลองกอง และการมีฝนตกอย่างต่อเนื่องในช่วงฤดูแล้ง ทำให้ไม้ผลหลายชนิดไม่ออกดอกตามฤดูกาล ออกดอกล่าช้า และตาดอกไม่พัฒนา (มงคล และคณะ, 2547) นอกจากนี้ ในไม้ผลยืนต้นส่วนใหญ่พบว่า จิบเบอเรลลินเป็นสารที่ส่งเสริมให้มีการเจริญทางด้านกิ่งใบเพิ่มขึ้น จึงเป็นผลทำให้ชะลอการออกดอก การที่ทำให้พืชสังเคราะห์จิบเบอเรลลินลดลงจึงมีผลทำให้การสร้างดอกเร็วขึ้น (สมบุญ, 2548) ปัจจุบันมีการศึกษาวิธีการต่างๆ เพื่อชักนำการออกดอกในไม้ผล เช่น การตัดแต่งกิ่ง การตัดราก การควั่นกิ่ง และการใช้สารชะลอการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่ม triazole ซึ่งมีผลทำให้พืชสังเคราะห์สารจิบเบอเรลลินลดลง (Adil *et al*., 2011) ดังนั้น วิธีการดังกล่าวจึงถูกนำมาใช้เพื่อบังคับการออกดอกในไม้ผลยืนต้นหลายชนิด เช่น มะม่วง (Calixto *et al*., 2000) ชมพู่ (กฤษฎา, 2544) ทุเรียน มังคุด (Poerwanto *et al*., 2008) และมะกอก (Maria *et al*., 2011) เป็นต้น

ปัญหาการออกดอกของลองกองที่ไม่สม่ำเสมอ และขึ้นอยู่กับปัจจัยสภาพแวดล้อมข้างต้น จึงมีผู้ศึกษาผลของวิธีการชักนำการออกดอกด้วยวิธีกายภาพ เช่น การควั่นกิ่ง (โนรี และสายัณห์, 2547) และวิธีการชักนำโดยใช้สารเคมี เช่น การใช้สารพาโคลบิวทราโซลเพื่อบังคับการออกดอกของลองกอง (อังคณา, 2550; Lerslerwong *et al*., 2011) นอกจากนี้ การใช้วิธีการชักนำการออกดอกแบบต่างๆ มีวัตถุประสงค์เพื่อทำให้พืชสร้างจิบเบอเรลลินลดลง

อย่างไรก็ตาม ที่ผ่านมายังไม่เคยมีการศึกษาผลของการรัดลำต้นและการใช้สารพาโคลบิวทราโซลที่มีต่อการออกดอกและการเปลี่ยนแปลงปริมาณจิบเบอเรลลิน และการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์จิบเบอเรลลินในช่วงเวลาก่อนการออกดอกของลองกอง ซึ่งการศึกษาดังกล่าวทำให้สามารถเข้าใจถึงกลไกการควบคุมการออกดอก ความสัมพันธ์ระหว่างการออกดอกและกระบวนการทำงานของยีนที่เกี่ยวข้องกับการออกดอก เพื่อเป็นแนวทางในการชักนำการออกดอก และการอธิบายกลไกการทำงานในระดับโมเลกุลในการออกดอกของลองกอง งานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาผลของการรัดลำต้นและการใช้สารพาโคลบิวทราโซลที่มีต่อการออกดอก การเปลี่ยนแปลงปริมาณจิบเบอเรลลิน และการแสดงออกของยีนในวิถีการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน รวมทั้งปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้าง เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับนำไปใช้ประโยชน์ และปรับใช้ในการจัดการการออกดอกของลองกองอย่างเหมาะสมต่อไป

การตรวจเอกสาร

1. ข้อมูลทั่วไปของลองกอง

ลองกอง (*Aglaia dookkoo* Griff.) เป็นพืชในตระกูล Meliaceae อันดับ Geranial อยู่ในตระกูลเดียวกับ ลางสาด ดูกู และกระท้อน เป็นต้น มีถิ่นกำเนิดอยู่แถบหมู่เกาะมาลายู ประเทศอินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ และทางตอนใต้ของประเทศไทย (มงคล และคณะ, 2523) สำหรับประเทศไทยเชื่อว่าลองกองมีถิ่นกำเนิดที่บ้านซีโป หมู่ 3 ตำบลท่าเฉลิม อำเภอระแงะ จังหวัดนราธิวาส (อภิชัย, 2541) ลองกองเป็นไม้ผลเขตร้อนชื้น ดังนั้นสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของลองกองต้องเป็นสภาพร่มเงา น้ำไม่ท่วมขัง อุณหภูมิระหว่าง 20-35 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศประมาณ 70-80 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณน้ำฝนที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 2,000-3,000 มิลลิเมตรต่อปี (นิพนธ์, 2554)

2. พัฒนาการในรอบปีของลองกอง

ลองกองที่ให้ผลผลิตแล้วจะมีการเจริญเติบโตในรอบปี 2 ช่วง คือ การเจริญเติบโตทางด้านกิ่งใบ (vegetative growth) และช่วงออกดอกติดผล (reproductive growth) (Lim and Yong, 1996) ลองกองส่วนใหญ่จะมีการแตกใบอ่อน 2 ครั้ง โดยการแตกใบอ่อนครั้งแรกเกิดขึ้นในช่วงปลายเดือนเมษายนถึงกลางเดือนพฤษภาคม และใช้เวลาในการพัฒนาเป็นใบที่สมบูรณ์ประมาณ 20-60 วัน และครั้งที่สองในช่วงต้นเดือนตุลาคมถึงกลางเดือนพฤศจิกายน โดยการแตกใบอ่อนชุดที่ 2 มีปริมาณมากกว่าในชุดแรก ประมาณ 10-15 เปอร์เซ็นต์ ใบอ่อนชุดนี้ใช้ระยะเวลาในการพัฒนาเป็นใบแก่ที่สมบูรณ์ประมาณ 30-50 วัน ซึ่งหลังจากแตกใบอ่อนแล้วลองกองจะมีการพักตัวในช่วงแล้ง คือช่วงเดือนธันวาคมถึงเดือนมีนาคม เพื่อเตรียมการออกดอก (เปรมปรี, 2541) ภายหลังการออกดอกในช่วงเดือนมีนาคมถึงเมษายน ลองกองใช้เวลาในการติดผล 1 สัปดาห์หลังดอกบาน และจะสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ในช่วงเดือนสิงหาคมถึงเดือนกันยายน (มงคล และคณะ, 2544) (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 พัฒนาการในรอบปีของลองกอง

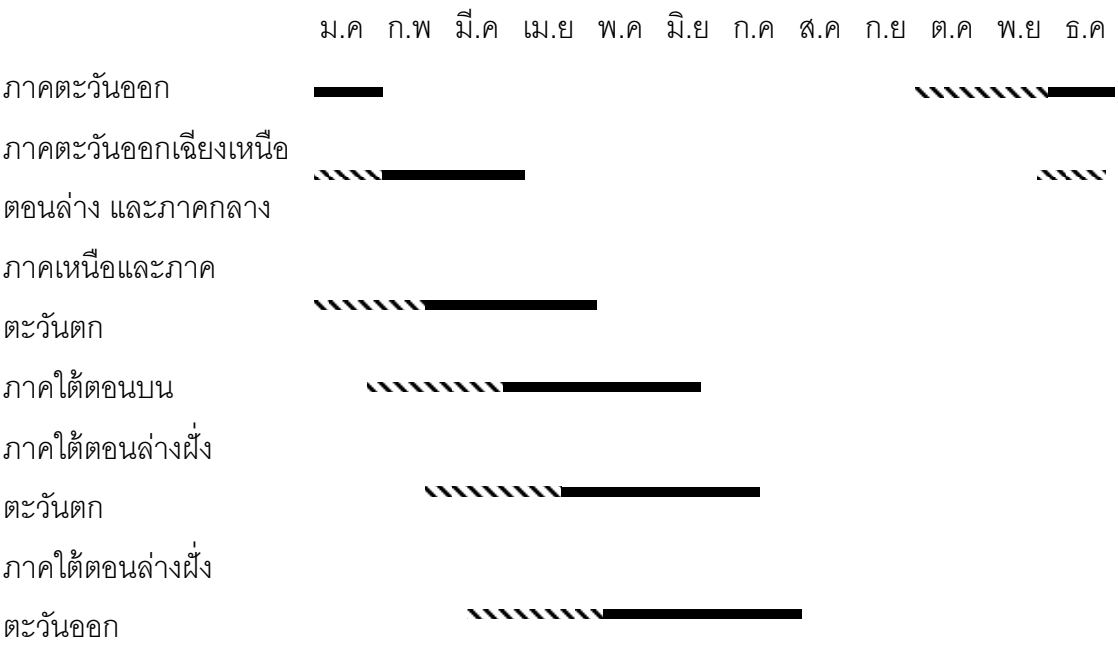
การพัฒนา	ม.ค	ก.พ	มี.ค	เม.ย	พ.ค	มิ.ย	ก.ค	ส.ค	ก.ย	ต.ค	พ.ย	ธ.ค
แตกใบอ่อน												
ออกดอก												
เก็บเกี่ยว												

แตกใบอ่อน ออกดอก เก็บเกี่ยว

ที่มา : มงคล และคณะ (2544)

3. การออกดอกของลองกอง

การออกดอกของลองกองจะผันแปรตามสภาพพื้นที่และฤดูกาลในแต่ละปี ซึ่งในการผลิตลองกองของไทยพบว่า ลองกองในแต่ละพื้นที่ออกดอกไม่พร้อมกัน เนื่องจากมีช่วงแล้งที่แตกต่างกัน เพราะโดยปกติลองกองต้องได้รับช่วงแล้งระยะหนึ่งก่อนการออกดอก (เปรมปรี, 2541) สภาพดังกล่าวทำให้ลองกองมีการออกดอกเร็วขึ้น เปอร์เซ็นต์การเจริญของดอกเพิ่มขึ้น และมีความยาวช่อดอกมากกว่าต้นที่ได้รับน้ำอย่างสม่ำเสมอ (ธีรพงศ์, 2544) ดังนั้น สภาวะช่วงแล้งจึงเป็นวิธีหนึ่งในการบังคับให้เกิดการออกดอก เพราะการขาดน้ำจะทำให้ไม้ผลเกิดสภาพเครียด มีผลทำให้เกิดการสะสมอาหารในต้นเพิ่มมากขึ้น อันเนื่องมาจากการหยุดการเจริญเติบโตทางกิ่งใบ (สุรพล, 2550) สำหรับช่วงแล้งและการออกดอกของลองกองในแต่ละพื้นที่ได้แสดงในภาพที่ 1 (ลดาวัลย์, 2556) ดังนี้



ภาพที่ 1 ช่วงแล้ง ( ) และช่วงเวลาการออกดอก ( ) ของลองกองที่ปลูกในภาคต่างๆ ของไทย

ที่มา : ลดาวัลย์ (2556)

- ภาคตะวันออก มีช่วงแล้งในช่วงเดือนตุลาคมถึงพฤศจิกายน เริ่มออกดอกต้นเดือนธันวาคมถึงกุมภาพันธ์

- ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง และภาคกลาง มีช่วงแล้งในช่วงปลายเดือนพฤศจิกายนถึงต้นเดือนกุมภาพันธ์ เริ่มออกดอกต้นเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนเมษายน

- ภาคเหนือและภาคตะวันตก มีช่วงแล้งในช่วงต้นเดือนมกราคมถึงปลายเดือนกุมภาพันธ์ เริ่มออกดอกปลายเดือนกุมภาพันธ์ถึงพฤษภาคม

- ภาคใต้ตอนบน มีช่วงแล้งในช่วงปลายเดือนมกราคมถึงปลายเดือนมีนาคม เริ่มออกดอกปลายเดือนมีนาคมถึงเดือนมิถุนายน

- ภาคใต้ตอนล่างฝั่งตะวันตก มีช่วงแล้งในช่วงกลางเดือนกุมภาพันธ์ถึงปลายเดือนเมษายน เริ่มออกดอกในเดือนเมษายนถึงกรกฎาคม

- ภาคใต้ตอนล่างฝั่งตะวันออก มีช่วงแล้งในช่วงกลางเดือนมีนาคมถึงต้นเดือนพฤษภาคม เริ่มออกดอกในเดือนพฤษภาคมถึงเดือนสิงหาคม

โดยทั่วไปลองกองจะออกดอกและติดผลบริเวณลำต้นและกิ่งที่มีขนาดใหญ่ ดอกแรกสุดที่แตกออกมามีลักษณะเป็นเส้นยาวประมาณ 15 มิลลิเมตร หนึ่งเส้นคือ หนึ่งช่อดอก และมักจะออกดอกเป็นกระจุกในตำแหน่งใกล้เคียงกัน โดยหนึ่งกระจุกเกิดเป็นช่อดอกได้ 4-10 ช่อ ซึ่งจะทยอยออกดอกไม่พร้อมกัน (วิมัย, 2533) การเจริญเติบโตของช่อดอกลองกอง ตาดอกส่วนใหญ่จะเกิดจากตาที่พักตัวในปีที่ผ่านมา ในระยะแรกจะมีลักษณะเป็นตุ่มเล็กๆ เจริญเป็นช่อดอกทั้งช่อเดี่ยวและช่อกลุ่ม การออกดอกช้าหรือเร็วจะขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ของตาดอกในตำแหน่งของกิ่งนั้นๆ ซึ่งลองกองจะใช้ระยะเวลาในการออกดอกประมาณ 1-2 เดือนจึงจะออกหมดทั้งต้น และมีกระบวนการพัฒนาดอกจนกระทั่งติดผลประมาณ 13-14 สัปดาห์ (นิพนธ์, 2554) (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 กระบวนการพัฒนาดอกจนกระทั่งติดผลของลองกอง

ระยะการพัฒนาดอก	สัปดาห์
แตกตาดอก - ช่อดอกยาวประมาณ 2-3 เซนติเมตร	2-3
ดอกตูม - ดอกแรกบาน	8
ดอกแรกบาน - ดอกสุดท้ายบาน	4-5
ดอกบาน - เก็บเกี่ยวได้	13-14

ที่มา : นิพนธ์ (2554)

4. ปัจจัยการออกดอกของไม้ผลยืนต้น

การออกดอกของไม้ผลถูกควบคุมจากหลายปัจจัย (Bangerth, 2009) และสำหรับลองกองนั้นการออกดอกมีความสัมพันธ์ทั้งปัจจัยภายนอกและภายใน (ลดาวัลย์, 2556) ปัจจัยภายนอกที่มีอิทธิพลต่อการออกดอกของไม้ผล เช่น อุณหภูมิสูงจะช่วยส่งเสริมในการออกดอก การงดน้ำให้แก่ต้นไม้ผลเพื่อให้เกิดความเครียดในต้นทำให้ไม้ผลออกดอกได้ การสังเคราะห์แสงเป็นการสะสมของอาหารของพืชทำให้พืชมีอาหารสะสมเพียงพอต่อการออกดอก และปริมาณน้ำฝนในรอบปีที่เหมาะสมต่อการออกดอก ปัจจัยภายใน ได้แก่ ลักษณะทางพันธุกรรม และฮอร์โมนพืช โดยฮอร์โมนที่มีบทบาทสำคัญต่อพืช ได้แก่ ออกซิน ไซโทไคนิน จิบเบอเรลลิน เอทิลีน และแอบไซซิค แอซิด ในช่วงการออกดอกของไม้ผลไซโทไคนินและเอทิลีนจะเพิ่มสูงขึ้น แต่ออกซินและจิบเบอเรลลินจะลดต่ำลง และหากมีปริมาณจิบเบอเรลลินอยู่สูงในช่วงออกดอกจะทำให้พืชมีการเจริญเติบโตทางด้านกิ่งใบ (Bangerth, 2009) นอกจากนี้ การปฏิบัติทางพืชสวน เช่น การให้ปุ๋ย การควั่นกิ่ง การรัดกิ่ง การตัดแต่งกิ่ง และการตัดราก ยังเป็นวิธีที่ช่วยส่งเสริมให้พืชออกดอกได้ (มงคล และคณะ, 2544; สมบุญ, 2548; Bangerth, 2009) (ตารางที่ 3) ซึ่งปัจจัยดังกล่าวยังส่งผลร่วมกับวิธีการชักนำการออกดอกของลองกอง มีผลทำให้ลองกองตอบสนองต่อช่วงแล้ง และมีผลต่อการตอบสนองทางสรีรวิทยาของลองกอง ทำให้ลองกองมีการออกดอกเพิ่มขึ้น (ลดาวัลย์, 2556)

ตารางที่ 3 ปัจจัยและตัวแปรที่มีผลต่อการออกดอกของไม้ผล

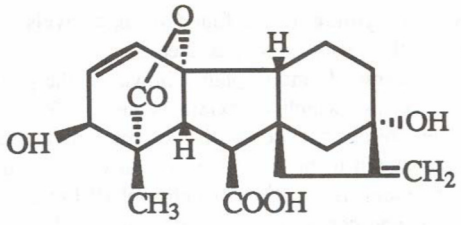
ปัจจัยควบคุม	ตัวแปร	การตอบสนอง
ภายนอก	อุณหภูมิสูง	+
	การงดน้ำ (ในไม้ผลยืนต้น)	+
ภายใน	การสังเคราะห์แสง (การสะสมอาหาร)	+
	การเจริญเติบโตทางด้านกิ่งใบ (ปริมาณจิบเบอเรลลินมีอยู่สูง)	-
การปฏิบัติทางพืชสวน	การให้ปุ๋ย	+
	การควั่นกิ่ง/รัดกิ่ง	+
	การตัดแต่งกิ่ง	+
	การตัดราก	+
ฮอร์โมนพืช	จิบเบอเรลลิน	-
	ออกซิน	-
	ไซโทไคนิน	+
	เอทิลีน	+

+ ส่งเสริมการออกดอก - ยับยั้งการออกดอก

ที่มา : ดัดแปลงจาก Bangerth (2009)

4.1 จิบเบอเรลลิน

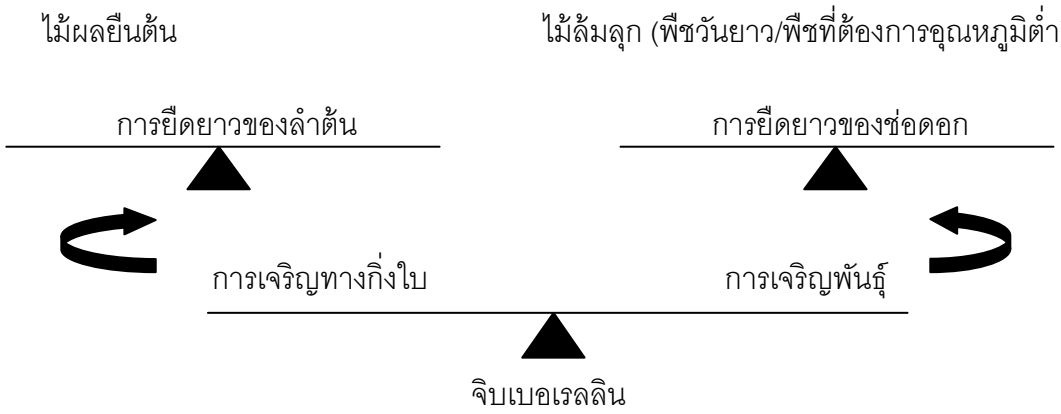
จิบเบอเรลลินเป็นฮอร์โมนที่มีบทบาทต่อการออกดอกของไม้ผลหลายชนิด (Goldschmidt *et al*., 1997) การศึกษาบทบาทของจิบเบอเรลลินต่อการออกดอกในพืช พบว่ามีกลไกการทำงานร่วมกันกับฮอร์โมนพืชกลุ่มอื่นๆ ได้แก่ ออกซิน (auxin) ไซโทไคนิน (cytokinin) เอทิลีน (ethylene) และแอบไซซิค แอซิด (abscisic acid; ABA) (Yasumura *et al*., 2007) โดยในช่วงการออกดอกพบว่าปริมาณจิบเบอเรลลิน จะลดระดับลงและมีการสร้างเอทิลีนมากขึ้น (พีรเดช, 2537) โดยฮอร์โมนพืชกลุ่มจิบเบอเรลลิน (GA_s) จัดเป็นสาร diterprenoid มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบและมีโครงสร้างแบบ ent gibbelliane skeletoln ปัจจุบันพบจิบเบอเรลลินมากกว่า 136 ชนิด (Stephen and Hedden, 2006) จิบเบอเรลลินแต่ละชนิดมีชื่อเรียกเป็นลำดับตัวเลขตามตัวอักษรย่อ GA เช่น GA_1, GA_2, …, GA_{136} เป็นต้น กรดจิบเบอเรลลิค (GA_3) เป็นจิบเบอเรลลินที่มีการนำมาใช้ประโยชน์ในทางการเกษตร โดยสกัดมาจากเชื้อรา *Gibberella fujikuroi* ซึ่งจิบเบอเรลลินแต่ละชนิดแตกต่างกันที่จำนวนและตำแหน่งของพันธะคู่ของหมู่ไฮดรอกซิล (OH^-) (ภาพที่ 2) (David *et al.,* 2002)



ภาพที่ 2 สูตรโครงสร้างจิบเบอเรลลิน
ที่มา : David และคณะ (2002)

แหล่งสร้างจิบเบอเรลลินในพืชที่สำคัญคือ ส่วนปลายยอด ปลายราก และเมล็ด การเคลื่อนย้ายจิบเบอเรลลินในพืชเป็นแบบไม่มีทิศทางแน่นอน สามารถเคลื่อนที่ได้ดีทั้งในท่อน้ำและท่ออาหาร รวมทั้งเคลื่อนที่กลับไปมาระหว่างท่อน้ำและท่ออาหารได้ด้วย (สมบุญ, 2548) บทบาทสำคัญของจิบเบอเรลลินต่อการเจริญเติบโตของพืช เช่น การแบ่งและขยายตัวของเซลล์ และเร่งการเกิดดอกในพืชวันยาว จิบเบอเรลลินมีบทบาทในการส่งเสริมการออกดอกของพืชวันยาว (long day) โดยเฉพาะพืชพุ่มเตี้ยที่ต้องการวันยาว หรือเวอร์นาไลเซชัน (vernalization) ในการเริ่มของดอก และการยืดยาวของก้านดอก (เยาวลักษณ์, 2527) การยืดช่อดอก การแสดงเพศดอก การติดผล และการปรับปรุงคุณภาพผลของพืชบางชนิด และยับยั้งการเกิดดอกในไม้ผล

หลายชนิด และในช่วงการเจริญเติบโตทางด้านกิ่งใบจิบเบอเรลลินจะมีผลในการยืดยาวของลำต้น (พีรเดช, 2537; Goldschmidt *et al.,* 1997) (ภาพที่ 3)



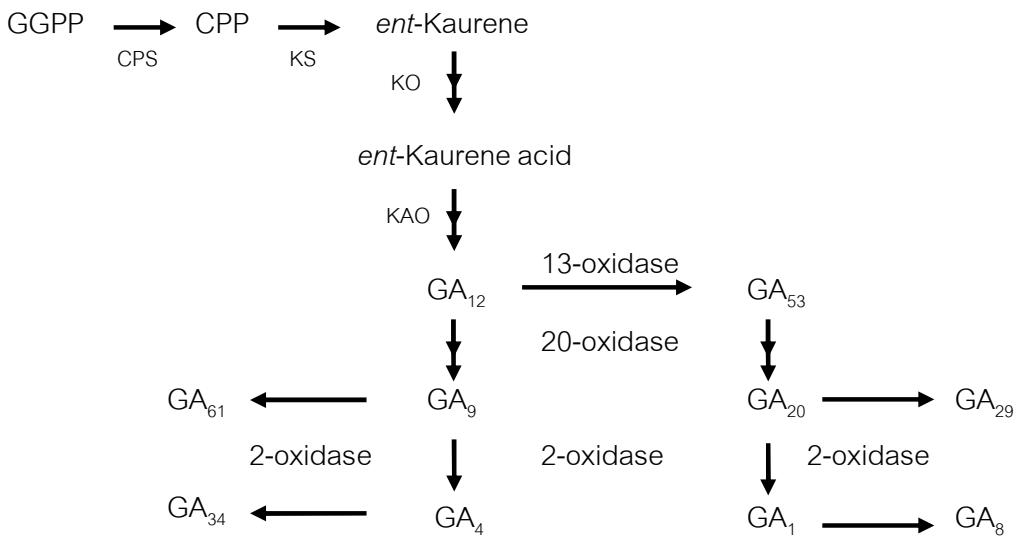
ภาพที่ 3 บทบาทของจิบเบอเรลลินระหว่างการยืดยาวของลำต้นและการออกดอกในไม้ล้มลุกและไม้ผลยืนต้น

ที่มา : ดัดแปลงจาก Goldschmidt และคณะ (1997)

4.1.1 การสังเคราะห์จิบเบอเรลลินในพืช

จิบเบอเรลลินมีโครงสร้างประกอบด้วยคาร์บอน 20 อะตอม มาจาก isoprenoids จำนวน 4 ชนิด สารเริ่มต้นของการสังเคราะห์สารประกอบ terpinoids คือ mevalonic acid (MVA) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของกระบวนการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน สาร MVA นี้มาจากสาร acetyl CoA ในกระบวนการหายใจ เป็นสารที่ประกอบด้วยคาร์บอน 6 อะตอม แล้วเปลี่ยนรูปไปเป็น isopentenyl pyrophosphate โดยกระบวนการ decarboxylation หรือปฏิกิริยากำจัดหมู่ carboxyl (-COOH) ออก โดยอาศัยพลังงาน ATP ซึ่ง isopentenyl pyrophosphate เป็นสารหน่วยแรกของ isoprenoids ในกระบวนการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน สารประกอบ isoprenoids เกิดการรวมกัน เปลี่ยนรูปเป็น geranyl pyrophosphate ซึ่งประกอบด้วยคาร์บอน 10 อะตอม แล้วเปลี่ยนรูปต่อไปเป็นสารประกอบ farnesyl pyrophosphate ซึ่งประกอบด้วยคาร์บอน 15 อะตอม และเปลี่ยนรูปต่อไปเป็น geranylgeranyl pyrophosphate ซึ่งประกอบด้วยคาร์บอน 20 อะตอม และสารนี้สามารถเปลี่ยนรูปไปเป็นสารประกอบ terpinoids ของสารอินทรีย์อื่น ๆ ได้ เช่น steroids carotenoids และ phytol จากนั้นสารเป็น geranylgeranyl pyrophosphate จะเปลี่ยนเป็นสารที่มีสูตรโครงสร้างเริ่มต้นของจิบเบอเรลลิน คือสาร *ent*–kaurene ที่ผ่านกระบวนการ oxidation ใน

endoplasmid recticum (ER) ไปเป็นสารประกอบจิบเบอเรลลินชนิดต่างๆ ได้แก่ kaurenol kaurenal และ kaurenoic acid ตามลำดับ และในขั้นสุดท้ายได้สารประกอบ aldihide ของ GA_{12} ที่ประกอบด้วย คาร์บอน 20 อะตอม ซึ่งสามารถเปลี่ยนรูปไปเป็นจิบเบอเรลลินชนิดอื่นๆ อีกจำนวนมาก (Dalziel and Lawrence, 1984) (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 กระบวนการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน

GGPP คือ geranylgeranyl pyrophosphate

CPS คือ *ent*-copalyl diphosphate synthase

KS คือ *ent*-kaurene synthase

KO คือ *ent*-kaurene oxidase

KAO คือ *ent*-kaurenoic acid oxidase

ที่มา : ดัดแปลงจาก Laura และคณะ (2009)

4.1.2 บทบาทของจิบเบอเรลลินต่อการออกดอกในไม้ผลยืนต้น

จิบเบอเรลลินแต่ละชนิดมีผลต่อการออกดอกที่แตกต่างกัน ซึ่งการให้ GA_3 จะยับยั้งการออกดอกของไม้ผลหลายชนิด เช่น ในแอปเปิล พบว่าเมื่อให้ GA_3 ในอัตรา 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ยับยั้งการออกดอกของแอปเปิล (Luckwill, 1970) สอดคล้องกับรายงานของ Metzger (1987) พบว่าผลของการให้ GA_3 ในระหว่างการชักนำการออกดอกของพืชตาดอกจะถูกยับยั้ง ซึ่งช่วงการออกดอกของไม้ผลปริมาณจิบเบอเรลลินภายในจะลดต่ำลง (Adil *et al*., 2011) และเช่นเดียวกับการศึกษาของ Chen (1987) พบว่า สารคล้ายจิบเบอเรลลินมีปริมาณต่ำ ในระยะที่เกิดตาดอกและในระยะที่ดอกบานเต็มที่ นอกจากนี้ Chen (1990) ได้รายงานการศึกษาใน xylem sap ของปลายยอดลิ้นจี่ พบว่าในช่วงแตกใบอ่อนมีปริมาณจิบเบอเรลลินมาก และปริมาณลดลงในช่วงสร้างตาดอก วรรณวรางค์ และธนัท (2542) พบว่า การเปลี่ยนแปลงสารคล้ายจิบเบอเรลลินในยอดลิ้นจี่ฮงฮวยก่อนการออกดอกมีปริมาณสูงในสัปดาห์ที่ 3 และ 4 ก่อนการออกดอก และมีปริมาณลดลงก่อนออกดอก 2 สัปดาห์ ซึ่ง ดรุณี และคณะ (2542) ได้รายงานเพิ่มเติมว่า ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินจะลดลงในสัปดาห์ที่ 2 ซึ่งเป็นสัปดาห์ที่เริ่มออกดอก จากนั้นปริมาณจะลดลงจากสัปดาห์ที่ 1 จนถึงต่ำสุดในสัปดาห์ที่มีการแทงช่อดอก นอกจากนี้ ยังพบว่าการให้ GA_3 มีผลทำให้ต้นลำไยออกดอกลดลง แต่ทำให้การแตกใบอ่อนเพิ่มขึ้น โดยเปอร์เซ็นต์การออกดอกมีแนวโน้มลดลง ในขณะที่เปอร์เซ็นต์การแตกใบอ่อนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ GA_3 ที่เพิ่มขึ้น (นพพร, 2553) คณพล (2532) พบว่าในช่วงก่อนการออกดอกของยอดมะม่วงพันธุ์เขียวเสวยปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินจะลดลงต่ำสุดในสัปดาห์ที่ออกดอก สำหรับในมะปรางพันธุ์ทูลเกล้า สุธาสินี และธนะชัย (2544) ได้รายงานว่าก่อนออกดอกปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในยอดมะปรางก่อนออกดอกลดลงตามลำดับตั้งแต่สัปดาห์ที่ 8 จนถึงสัปดาห์ที่ 2 ก่อนการออกดอก และเช่นเดียวกับในลองกอง ที่พบว่าปริมาณของสารคล้ายจิบเบอเรลลินลดลงต่ำสุดในช่วงการออกดอก (ลดาวัลย์ และสุภาณี, 2556) ในขณะที่Koshita และ Takahara (2004) รายงานถึงผลของสภาวะเครียดน้ำต่อการชักนำตาดอกและปริมาณจิบเบอเรลลินในส้มแมนดาริน พบว่าระดับจิบเบอเรลลินในใบจะลดลงเมื่ออยู่ในสภาวะเครียดน้ำ การศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลิน สรุปได้ดัง ตารางที่ 4

ตาราง 1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินช่วงก่อนการออกดอกในไม้ผล

ประเภทไม้ผล	ชนิดพืช	การลดลงของจิบเบอเรลลิน	อ้างอิง
เขตหนาว	แอปเปิล	ออกดอก	Chen (1987)
กึ่งร้อน	ลิ้นจี่	ออกดอก	Chen (1990)
		2 สัปดาห์	วรรณวรางค์ และธนัท (2542)
		2 สัปดาห์	ดรุณี และคณะ (2542)
	ลำไย	ออกดอก	นพพร (2553)
	มะม่วง	ออกดอก	คณพล (2532)
เขตร้อน	มะปราง	2 สัปดาห์	สุธาสินี และธนะชัย (2544)
	ลองกอง	ออกดอก	ลดาวัลย์ และสุภาณี (2556)

4.1.3 การวิเคราะห์ปริมาณจิบเบอเรลลิน

การตรวจวัดสารที่มีฤทธิ์คล้ายกับจิบเบอเรลลินด้วยวิธีชีววิธี (bioassay) เป็นวิธีการแรกที่ถูกนำมาใช้ โดยอาศัยหลักการจากการตอบสนองเชิงปริมาณของจิบเบอเรลลินในพืชที่เตี้ยแคระ โดยวิธีที่นิยมใช้มี 3 วิธี คือ (1) the lettuce hypocotyls elongation bioassay (2) the dwarf rice leaf sheath bioassay และ (3) the barley aleurone layer α-amylase bioassay โดยวิธีชีววิธี 2 ชนิดแรกเป็นการตรวจวัดเจริญเติบโตของผักกาดหอมฝรั่งและข้าวที่ตอบสนองต่อจิบเบอเรลลิน ในขณะที่วิธีที่ 3 ตรวจวัดเอนไซม์ amylase ที่ถูกสร้างขึ้นในชั้น aleurone ของข้าวบาร์เลย์ขณะงอก โดยเกิดจากจิบเบอเรลลินเข้าไปกระตุ้น การตรวจวัดปริมาณด้วยชีววิธีไม่สามารถจำแนกชนิดของจิบเบอเรลลินได้

อย่างไรก็ตาม วิธีนี้มีข้อดีคือ (1) มีความไวต่อการตอบสนองจิบเบอเรลลินที่มีปริมาณน้อย (sensitivity) โดยเฉพาะการตรวจวัด GA_1 และ GA_3 มากกว่าจิบเบอเรลลินชนิดอื่นๆ (2) มีความจำเพาะเจาะจงต่อจิบเบอเรลลิน (specificity) และ (3) ในการตรวจสอบขั้นต้นไม่ต้องทำสารสกัดให้บริสุทธิ์มาก นอกจากนี้วิธีการนี้ยังไวต่อการตอบสนองกับสารยับยั้ง ดังนั้นจำเป็นต้องกำจัดสารสกัดจากพืชให้บริสุทธิ์ในระดับหนึ่ง และอาจต้องใช้ขั้นตอน chromatography เพื่อแยกจิบเบอเรลลินต่างชนิดออกจากกัน (พูนพิภพ, 2549) การตรวจสอบโดย

เทคนิคทาง chromatography เป็นอีกวิธีหนึ่งที่นิยมนำมาวิเคราะห์ปริมาณจิบเบอเรลลินในพืช ซึ่งให้ผลดี ความแม่นยำสูง (สมบุญ, 2548)

ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1980 เป็นต้นมา การตรวจวิเคราะห์ปริมาณด้วยเครื่อง high-performance liquid chromatography (HPLC) เพื่อแยกชนิดสารสกัดออกเป็นส่วนต่างๆ เพื่อนำไปทดสอบต่อด้วยชีววิธี และต่อมาจึงใช้เครื่อง gas chromatography (GC) ร่วมกับเครื่อง mass spectrometry (MS) หรือ HPLC-MS ที่มีความไวและความจำเพาะเจาะจงมาก จึงเป็นวิธีที่นิยมใช้ในปัจจุบัน โดยขั้นตอนแรกเครื่อง GC หรือ HPLC ทำหน้าที่แยกชนิดของสารที่มีอยู่รวมกันในสารละลายให้เป็นสารบริสุทธิ์ เพื่อเข้าสู่ขั้นตอนที่สองที่ใช้เครื่อง MS วิเคราะห์จำแนกชนิดของสาร และการใช้เครื่อง HPLC จะมีข้อดีกว่าเครื่อง GC เพราะการใช้เครื่อง HPLC ในการแยกสารไม่จำเป็นต้องมีขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงส่วนประกอบทางเคมี เพื่อให้สารเปลี่ยนสถานะเป็นแก๊สที่จำเป็นต่อการใช้เครื่อง GC วิเคราะห์ โดยเครื่อง HPLC จะมีอุปกรณ์อัตโนมัติแยกตัวทำละลายออกจาการบริสุทธิ์ก่อนเข้าสู่เครื่อง MS (พูนพิภพ, 2549)

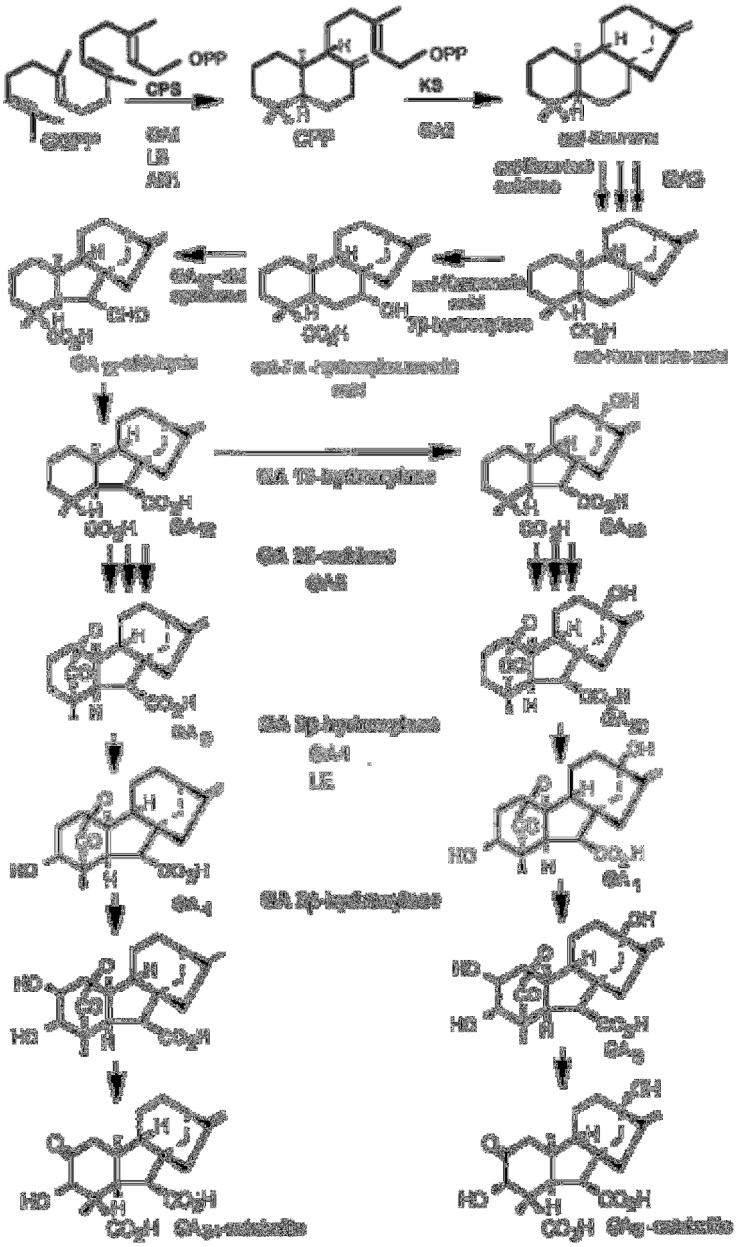
การศึกษาด้านการวัดปริมาณฮอร์โมนพืชในเนื้อเยื่อพืชในประเทศไทยยังมีการศึกษาไม่มากนัก เนื่องจากมีข้อจำกัดคือ ฮอร์โมนในเนื้อเยื่อพืชมีอยู่ในปริมาณที่ต่ำมาก และมีสารอื่นเจือปนสูง และต้องอาศัยเครื่องมือที่มีราคาแพง ดังนั้นจึงมีการเลือกวิธีการที่สามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณจิบเบอเรลลินโดยใช้ภูมิต้านทาน (Immunohistolocalization)มีการใช้กันอย่างกว้างขวางในต่างประเทศ ซึ่งเป็นวิธีที่สามารถวัดปริมาณฮอร์โมนได้ในปริมาณที่ต่ำมาก (ระดับนาโนกรัม) (Bohner and Bangerth, 1998) เช่น เทคนิค Radioimmunoassay (RIA) และเทคนิค Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) โดยวิธีการ RIA เป็นวิธีที่นิยมใช้ในการตรวจวัดปริมาณสารที่มีปริมาณน้อยๆ ซึ่งต้องการความไวสูง มีความจำเพาะเจาะจงสูง ความสำเร็จขึ้นอยู่กับความสามารถในการผลิตแอนติเจนและแอนติบอดีของฮอร์โมนแต่ละชนิด การพัฒนาการวิธี RIA มีขั้นตอนการและกรรมวิธีในการผลิตแอนติเจน (antigen) และแอนติบอดี (antibody) ที่จะนำมาใช้ในการตรวจวัดค่อนข้างซับซ้อน และใช้เวลาในการทำงานในแต่ละขั้นตอน ซึ่งมีแอนติบอดีที่มีความจำเพาะเจาะจงกับแอนติเจนชนิดนั้นๆ ซึ่งเรียกแอนติบอดีชนิดนี้ว่า polyclonal antibody ซึ่งการผลิตแอนติบอดีชนิดนี้จะขึ้นกับสัตว์ทดลองแต่ละตัวมีความสามารถตอบสนองแตกต่างกันไป ส่วนวิธีการ ELISA นิยมใช้ในการตรวจวัดฮอร์โมนชนิดต่างๆ โดยใช้เอนไซม์เป็นสารติดฉลาก มีหลักการคือ การให้แอนติเจนทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีที่ติดฉลากด้วยเอนไซม์นั้น วิธีการนี้มีความสะดวกในการใช้งาน และสามารถซื้อชุดทดสอบได้ง่าย (กนกวรรณ และ ดรุณี, 2551)

4.1.4 การออกดอกกับการตอบสนองในระดับโมเลกุลของไม้ผลยืนต้น

ปัจจุบันมีการศึกษาด้านชีวโมเลกุลถึงบทบาทของจิบเบอเรลลินต่อการออกดอกของพืชกันอย่างแพร่หลาย ซึ่งยีนที่เกี่ยวข้องในกระบวนการสังเคราะห์จิบเบอเรลลินมีหลายชนิด ได้แก่ ยีน *GA20-oxidas (GA20-ox*), *GA3-oxidase (GA3-ox*), *GA2-oxidase (GA2-ox*), *GA1*, *GA2 และ GA4* โดยกระบวนการสังเคราะห์ copatyl diphosphate synthesis (CPS) จะถูกควบคุมโดยยีน *GA1* การสังเคราะห์ ent-kaurene oxidase ถูกควบคุมโดยยีน *GA2* และการสังเคราะห์ GA *3β*-hydroxylase ถูกควบคุมโดยยีน *GA4* ซึ่งยีนทั้งสามตัวมีความสำคัญต่อการออกดอกในพืชชั้นสูง (Hedden and Phillips, 2000) (ภาพที่ 5)

GA_1 และGA_4 เป็นกลุ่มจิบเบอเรลลินที่พบมากในพืชหลายชนิด โดยมีความสัมพันธ์กับกระบวนการการทำงานของ early/non-early 13-hydroxylation ที่ถูกควบคุมโดยการทำงานของยีน *GA* เช่น *GA20-ox*, *GA3-ox* และ *GA2-ox* (Hedden and Phillips, 2000) โดยยีน *GA20-ox* และ *GA3-ox* เป็นยีนที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์และกิจกรรมของจิบเบอเรลลิน (Nakagawa *et al*., 2012) ในการออกดอกการแสดงออกของยีน *GA20-ox* และ *GA3-ox* จะแสดงออกเชิงลบ ส่วน *GA2-ox* จะแสดงออกในเชิงบวก (Yamaguchi, 2000)

จากการศึกษาในข้าว พบว่ายีน *GA20-ox* จะมีรูปแบบการแสดงออกในช่วงการพัฒนาของตาดอกที่แตกต่างกัน ในช่วงแตกตาดอกจะมีการแสดงออกของยีน *GA20-ox* ในระดับต่ำ และจะค่อยๆ เพิ่มสูงขึ้นในช่วงการพัฒนาของดอกจนกระทั่งดอกบาน แต่พบว่าในช่วงดอกบานยีน *GA20-ox* จะมีการแสดงออกลดต่ำลงอย่างรวดเร็ว แต่จะเพิ่มขึ้นอีกครั้งในช่วงการเสื่อมของดอกและช่วงติดผล และในอวัยวะพืชการแสดงออกของยีน *GA20-ox* ก็แตกต่างกันด้วยเช่นกัน โดยยีน *GA20-ox1* จะมีการแสดงออกในลำต้น ใบ ตาดอก และผลที่ยังไม่สุกแก่ แต่จะไม่แสดงออกในราก ส่วน *GA20-ox2* จะพบในตาดอก ในผลที่ยังไม่สุกแก่จะพบในระดับต่ำ และจะพบในราก ลำต้น และใบ สำหรับ *GA20-ox3* จะพบในราก ผลที่ยังไม่สุกแก่ แต่จะมีระดับต่ำมากในตาดอก และพบการแสดงออกของยีน *GA20-ox* ในใบในสูง (Carrera *et al*., 1999) Nakagawa และคณะ (2012) ได้ศึกษาผลของจิบเบอเรลลินต่อการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการออกดอก โดยให้จิบเบอเรลลินกับมะม่วงพบว่าหลังจากวันแรกที่ให้สารมะม่วงมีการแสดงออกของยีนที่อยู่ในวิถีการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน 3 ชนิด ได้แก่ *MiGA2-ox* , *MiGA*3-*ox* และ *MiGA20-ox* และพบว่าปริมาณของจิบเบอเรลลินจะเพิ่มขึ้นพร้อมๆ กับที่มีการแสดงออกของยีน *MiGA3-ox* และ *MiGA20-ox* เพิ่มขึ้น



ภาพที่ 5 ยีนที่เกี่ยวข้องในกระบวนการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน

ที่มา: Hedden และ Phillips (2000)

4.2 อาหารสะสม

ธรรมชาติของลองกองเป็นไม้ผลที่ออกดอกบริเวณกิ่งและลำต้น การออกดอกของลองกองมีความสัมพันธ์ทั้งปัจจัยภายนอกและภายใน (ลดาวัลย์, 2556) อาหารสะสมที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสงเป็นปัจจัยภายในซึ่งมีความสำคัญและความเกี่ยวข้องกับการออกดอกของพืช (Chailakhyan, 1968) ลองกองมีการสะสมอาหารในรูปของคาร์โบไฮเดรตที่ไม่อยู่ในรูปโครงสร้าง (Total Non-Structural Carbohydrate; TNC) โดยจะเพิ่มขึ้นก่อนการออกดอก ซึ่งเกิดขึ้นเนื่องจากในช่วงนี้ต้นลองกองมีอัตราการใช้น้ำต่ำ ส่งผลให้ลองกองเกิดสภาวะเครียดน้ำ และทำให้ศักย์ของน้ำในใบและค่าชักนำปากใบลดลง (สายัณห์ และคณะ, 2546) ในสภาพเช่นนี้ทำให้ต้นลองกองมีการใช้คาร์โบไฮเดรตน้อย จึงเกิดการสะสมอาหารเพิ่มขึ้น (มงคล และคณะ, 2547) การเปลี่ยนแปลงปริมาณ TNC ในเปลือกกิ่งลองกองในช่วงเกิดตาดอกมีเพียงเล็กน้อยและเพิ่มสูงขึ้นในช่วงที่มีการยืดตัวของตาดอก (กานดา, 2535) และต้นลองกองที่ออกดอกจะมีปริมาณ TNC สูงกว่าต้นที่ไม่ออกดอก (จำเป็น และคณะ, 2549)

5. วิธีการชักนำการออกดอกในไม้ผลยืนต้น

5.1 วิธีการทางกายภาพ

5.1.1 การงดน้ำ

น้ำเป็นปัจจัยสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการเกิดดอกในไม้ผล โดยการงดการให้น้ำเป็นการทำให้เกิดช่วงแล้ง ทำให้พืชเกิดสภาพเครียดภายในต้น เป็นสาเหตุหนึ่งที่ช่วยกระตุ้นการเกิดดอก และกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงของสารควบคุมการเจริญเติบโตภายในต้นจนถึงระดับที่เหมาะสมต่อการออกดอก การขาดน้ำในช่วงระยะหนึ่งจะไปมีผลต่อการสะสมอาหารในต้นเนื่องมาจากการหยุดการเติบโตทางกิ่งใบ วิธีงดน้ำจึงเป็นวิธีหนึ่งที่สามารถบังคับให้เกิดดอกตามเวลาที่ต้องการได้ (สุรพล, 2550) ซึ่งมีความแตกต่างกันในไม้ผลแต่ละชนิด เช่น เงาะต้องการช่วงแล้งต่อเนื่องประมาณ 15-30 วัน ในไม้ผลอื่นๆ เช่น มะม่วง ลำไย ลิ้นจี่ จะต้องงดให้น้ำในช่วงระยะเวลาก่อนออกดอก 1-2 เดือน เพื่อสะสมอาหารสร้างดอก (อุดม, 2540) เช่นเดียวกับมังคุดที่ต้องการช่วงแล้งก่อนการออกดอก ปริมาณน้ำมีความสัมพันธ์ต่อการเกิดดอกของมังคุด ซึ่งมังคุดต้องการช่วงแล้งประมาณ 20-30 วัน จึงจะสามารถชักนำให้เกิดการสร้างตาดอกได้ (สายัณห์ และ

คณะ, 2545) นอกจากนี้ การงดน้ำทำให้ส้มจุกออกดอกมากกว่าต้นควบคุมที่ให้น้ำทุกวัน (รัชนีวรรณ, 2547) สอดคล้องกับพรพันธ์ (2530) รายงานว่า การงดน้ำทำให้ส้มเขียวหวานออกดอกมากกว่าต้นที่ไม่ได้งดน้ำ สำหรับลองกองควรงดการให้น้ำประมาณ 1 เดือน จึงสามารถชักนำการออกดอกได้ (วิทยา, 2537) สายัณห์ และคณะ (2546) รายงานว่า ในระยะสะสมอาหารก่อนการออกดอกลองกองมีการใช้น้ำในอัตราต่ำสุด ทำให้ลองกองเกิดสภาวะเครียดเนื่องจากขาดน้ำและมีการใช้น้ำเพิ่มขึ้นในระยะออกดอก นอกจากนี้ การงดน้ำก่อนการออกดอก ร่วมกับการควั่นกิ่งและการใช้สารพาโคลบิวทราโซลทำให้ลองกองมีอัตราการใช้น้ำลดลง มีการลดลงของศักย์ของน้ำในใบและการชักนำปากใบ ทำให้ใบสูญเสียความเต่ง ทำให้ลองกองเกิดสภาพเครียดและสามารถออกดอกได้เร็วขึ้น (ลดาวัลย์, 2556)

5.1.2 การควั่นและรัดกิ่ง/รัดลำต้น

การควั่นกิ่ง เป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถชักนำการออกดอกในไม้ผลบางชนิดได้ (บรรจง, 2541) เนื่องจากการควั่นกิ่งเป็นการตัดท่ออาหาร โดยจะทำให้เกิดการขัดขวางการส่งคาร์โบไฮเดรตจากใบผ่านท่ออาหารไปสู่ระบบราก และไม่สามารถลำเลียงอาหารไปเลี้ยงส่วนอื่น ทำให้มีการสะสมอาหารอยู่บริเวณเหนือรอยควั่น ซึ่งจะกระตุ้นให้เกิดการออกดอกได้ (สุรพล, 2550) นอกจากนี้ การควั่นกิ่งสามารถชักนำให้ไม้ผลอีกหลายชนิดสามารถออกดอกได้ เช่น ลิ้นจี่ (Menzel and Parton, 1986) และส้ม (Erner, 1986) เป็นต้น พาวิน และคณะ (2543) ศึกษาผลของการควั่นกิ่งต่อการออกดอกของลำไยพันธุ์เพชรสาครทวาย พบว่าการควั่นกิ่งมีแนวโน้มทำให้การออกดอกเพิ่มขึ้นและยังทำให้ออกดอกเร็วกว่าต้นที่ไม่ควั่นกิ่งถึง 2 เดือน โนรี และสายัณห์ (2547) ศึกษาผลของการรัดกิ่ง เพื่อกระตุ้นการออกดอกของลองกอง โดยทำการรัดกิ่งก่อนการออกดอก 1 เดือน และ 2 เดือน พบว่าการรัดกิ่งมีผลทำให้ปริมาณการใช้น้ำรายวันและการตอบสนองทางสรีรวิทยาของต้นลองกองลดลง ซึ่งทั้ง 2 วิธี สามารถกระตุ้นให้เกิดการออกดอกได้ แต่การรัดกิ่ง 1 เดือนก่อนออกดอกจะกระตุ้นการเกิดตาดอกได้ดีกว่า เช่นเดียวกับการศึกษา Lerslerwong และคณะ (2011) พบว่า การควั่นลำต้นที่อยู่ตำแหน่งเหนือจากพื้นดิน 30 เซนติเมตรกับต้นลองกองก่อนออกดอก 3 สัปดาห์มีผลทำให้ ลองกองเกิดการออกดอกมากกว่าต้นลองกองที่ไม่ได้ควั่น นอกจากนี้ ในส้มโอพันธุ์หอมหาดใหญ่ พบว่าการควั่นกิ่งและการรัดกิ่งมีผลทำให้จำนวนกิ่งที่ออกดอก จำนวนช่อดอก จำนวนดอก และจำนวนดอกเฉลี่ยต่อช่อมากกว่าการไม่ควั่นและรัดกิ่ง

(วรรณฤดี, 2552) และการศึกษาผลของการรัดกิ่งต่อการออกดอกของมังคุด พบว่าการรัดกิ่งสามารถชักนำให้มังคุดออกดอกได้เร็วกว่าต้นที่ไม่รัดกิ่ง 46 วัน (Poerwanto *et al*., 2008)

5.1.3 การตัดแต่งราก

การตัดแต่งรากเป็นวิธีหนึ่งที่ช่วยบังคับการออกดอกของไม้ผล (พีรเดช, 2537) มีจุดประสงค์เพื่อให้ไม้ผลหยุดการเจริญทางด้านกิ่งใบ โดยจะเป็นการลดปริมาณรากให้น้อยลง ทำให้การดูดซึมแร่ธาตุอาหารน้อยลงทำให้การเจริญทางด้านกิ่งใบมีน้อยลง (สุรพล, 2550) ทำให้เกิดการสะสมอาหารพวกคาร์โบไฮเดรตมากขึ้น (บรรจง, 2541) โนรี และสายัณห์ (2547) ได้ศึกษาผลของการตัดแต่งรากต่อการชักนำการออกดอกของลองกอง พบว่าการตัดรากทำให้ปริมาณการใช้น้ำรายวันและการตอบสนองทางสรีรวิทยาของลองกองลดลง โดยการตัดรากสามารถกระตุ้นให้ลองกองออกดอกได้

5.2 วิธีการใช้สารเคมี

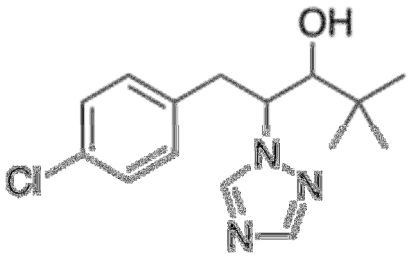
5.2.1 สารควบคุมการเจริญเติบโต

สารควบคุมการเจริญเติบโต (Plant Growth Regulators; PGRs) เป็นสารอินทรีย์ที่ได้จากการสังเคราะห์ขึ้น สามารถกระตุ้น ยับยั้ง หรือเปลี่ยนแปลงสภาพทางสรีรวิทยาของพืชได้ ซึ่งประกอบด้วยสารชนิดต่างๆ มากมาย เช่น ออกซิน จิบเบอเรลลิน ไซโทไคนิน เอทิลีน สารยับยั้งการเจริญเติบโต และสารชะลอการเจริญเติบโต ซึ่งในทางเกษตรมีการใช้สารเหล่านี้อย่างแพร่หลาย (Vivanco and Flores, 2000) ด้านสรีรวิทยาการออกดอกสารควบคุมการเจริญเติบโตจะเกี่ยวข้องกับฮอร์โมนพืชและสมดุลฮอร์โมน (พีรเดช, 2537) การศึกษาที่ผ่านมาได้มีการศึกษาการใช้สารชะลอการเจริญเติบโตในกลุ่ม triazol เพื่อชักนำการออกดอกหลายชนิด (Goldschmidt, 1997) (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 การใช้สารชะลอการเจริญเติบโตเพื่อกระตุ้นการออกดอกในไม้ผลยืนต้นชนิดต่างๆ

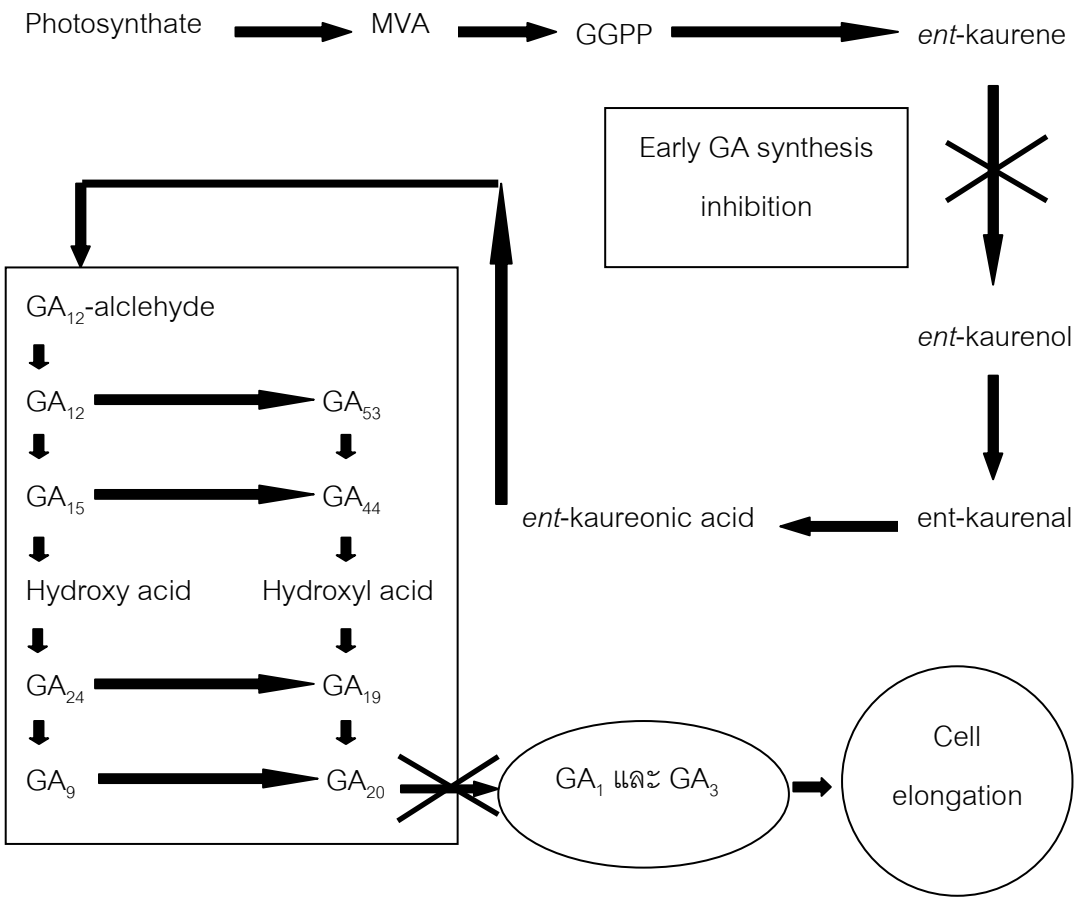
พืช	สารชะลอการเจริญเติบโต	ผู้ศึกษา
แอปเปิล	คลอมิควอท, Alar	Looney (1969)
	พาโคลบิวทราโซล	Bradley และ Crane (1960)
เชอรี่	พาโคลบิวทราโซล	Oliviera and Browning (1993)
ส้ม	คลอมิควอท, Alar	Monselise และคณะ (1966)
	พาโคลบิวทราโซล	มงคล และจรัสศรี (2535)
องุ่น	คลอมิควอท	Srinivasan และ Mullins (1980)
ชมพู่	พาโคลบิวทราโซล	กฤษฎา (2544)
มะม่วง	พาโคลบิวทราโซล	Calixto และคณะ (2000)
		Adil และคณะ (2011)
ลองกอง	พาโคลบิวทราโซล	อังคณา (2550)
		Lerslerwong และคณะ (2011)

ปัจจุบันพบว่าสารพาโคลบิวทราโซล (Paclobutrazol; PBZ) เป็นสารชะลอการเจริญเติบโตที่มีประสิทธิภาพในการชักนำการออกดอกได้ดีที่สุด มีชื่อทางเคมีคือ [(2RS , 3RS)-1-1(4-chlorophenyl)-4, 4-dimethyl-2-(1H-1, 2, 4- triazol-1-yl) pentan-3-0-ol] (หิรัญและคณะ, 2534; พีรเดช, 2537; สมบุญ, 2548) มีสูตรทางเคมี $C_{15}H_{20}ClN_3O$ และมีสูตรโครงสร้างดังนี้ (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารพาโคลบิวทราโซล
ที่มา: Kantharaj (2006)

สารพาโคลบิวทราโซลมีบทบาทในการชะลอการแบ่งเซลล์ และการยืดตัวของเซลล์ ยับยั้งการสังเคราะห์จิบเบอเรลลินภายในพืช โดยยับยั้งการเกิด oxidation จาก *ent*-kaurene ไปเป็น *ent*-kaureonic acid โดยไปยับยั้งการทำงานของ cytochrome P450 ซึ่งเป็น coenzyme ในการทำงานของเอนไซม์ oxygenase ซึ่งเป็นเอนไซม์ในกระบวนการเปลี่ยนแปลง *ent*-kaurene ไปเป็น *ent*-kaureonic acid ทำให้กระบวนการสังเคราะห์จิบเบอเรลลินในพืชถูกยับยั้ง ปริมาณจิบเบอเรลลินในพืชจึงลดลง (หิรัญ และคณะ, 2534) ทำให้พืชหยุดการเจริญเติบโตทางด้านกิ่งก้านสาขา ส่งผลให้พืชชะลอการเจริญเติบโตและมีการสะสมอาหารมากขึ้นจึงมีโอกาสที่จะส่งเสริมให้พืชออกดอกเพิ่มขึ้น (พีรเดช, 2537) (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 อิทธิพลของพาโคลบิวทราโซลต่อการยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน
ที่มา: ดัดแปลงจาก Cummings และคณะ (2002)

สารพาโคลบิวทราโซลสามารถเข้าสู่พืชได้ทั้งทางรากและทางใบ มีการเคลื่อนย้ายได้ดีในท่อลำเลียงน้ำ แต่ไม่พบว่ามีการเคลื่อนย้ายทางท่ออาหาร เมื่อพืชได้รับสารพาโคลบิวทราโซลจะทำให้การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อทั้งที่ลำต้น ปลายยอด และปลายรากช้าลงหรือหยุดชะงักไประยะหนึ่ง และส่งผลให้หยุดชะงักการเจริญเติบโตทางด้านกิ่งใบ (มงคล และคณะ, 2535) แต่การสะสมอาหารทางด้านกิ่งใบทำให้อัตรา C:N เพิ่มขึ้น (Upreti *et al*., 2013) นอกจากนี้ สารพาโคลบิวทราโซลยังช่วยในการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ ทำให้พืชมีใบเขียวเข้ม (นารีรัตน์ และคณะ, 2532) โดยสารพาโคลบิวทราโซลใช้ได้ทั้งการฉีดพ่นและการราดทางดิน แต่การให้สารพาโคลบิวทราโซลโดยวิธีราดทางดินชักนำให้มีปริมาณดอกเริ่มต้นมากกว่าการฉีดทางใบ โดยสารจะดูดซึมทางรากได้ดีกว่าและเร็วกว่า เพราะสารพาโคลบิวทราโซลเคลื่อนย้ายได้ดีในท่อลำเลียงน้ำ และเคลื่อนย้ายไปยังใบและตาดอก (กฤษฎา, 2544) กิตติภูมิ (2533) ใช้สารพาโคลบิวทราโซลพ่นร่วมกับสารจับใบ พบว่าในทุกระยะเวลาที่ให้สารและทุกอายุต้นทุเรียนจะมีเปอร์เซ็นต์กิ่งออกดอกมากกว่าต้นที่ไม่ได้รับสาร เช่นเดียวกับการทดลองของ สุขวัฒน์ และคณะ (2536) พบว่าหลังจากฉีดพ่นสารพาโคลบิวทราโซลให้กับทุเรียนพันธุ์ชะนี สามารถกระตุ้นการออกดอกของทุเรียนได้เร็วกว่าต้นที่ไม่ฉีดพ่นเป็นเวลาประมาณ 50 วัน และนอกจากนี้ยังทำให้จำนวนดอกต่อต้นเพิ่มข้น

มงคล และจรัสศรี (2535) ได้ศึกษาผลของการใช้สารพาโคลบิวทราโซลต่อการออกดอกของส้มจุก พบว่าการให้สารพาโคลบิวทราโซลทางใบ ทำให้การออกดอกของส้มจุกเพิ่มขึ้นและติดผลได้สูงสุด และการให้สารพาโคลบิวทราโซลราดทางดินในอัตรา 1, 2.5 และ 5 กรัมต่อต้น สามารถชะลอการเจริญเติบโตทางลำต้นของส้มจุก ทำให้ออกดอกติดผลได้ก่อนฤดูกาล (รัชนี วรรณ, 2547) นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาผลของสารพาโคลบิวทราโซลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินที่ปลายยอดและการออกดอกของมะม่วงเขียวเสวย พบว่าสารพาโคลบิวทราโซลมีผลทำให้ความยาวกิ่งของมะม่วงลดลง และมีผลในการเพิ่มเปอร์เซ็นต์การออกดอกมากกว่าต้นที่ไม่ได้รับสาร และปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินที่ปลายยอดของกิ่งลดต่ำลง (นาถฤดี, 2533)

Calixto และคณะ (2000) ศึกษาผลของการให้สารพาโคลบิวทราโซลต่อปริมาณการสังเคราะห์จิบเบอเรลลินในรากและยอดของมะม่วงพันธุ์คาราบาว พบว่าหลังจากการให้สารพาโคลบิวทราโซล 2 เดือน ระดับจิบเบอเรลลินในรากและยอดลดลง แต่จะเห็นได้ชัดในช่วง 6 เดือนหลังจากให้สาร และพบว่ามะม่วงจะเริ่มออกดอกในเดือนที่ 6 และจะตอบสนองสูงสุดในเดือนที่ 8 หลังจากการให้สาร ต้นที่ให้สารพาโคลบิวทราโซลมีเปอร์เซ็นต์การออกดอกดีกว่าต้นที่ไม่ได้รับสาร

3 เท่า Phavaphutanon และคณะ (2002) รายงานว่า การให้สารพาโคลบิวทราโซลทำให้การสะสมของปริมาณคาร์โบไฮเดรตในยอดมีปริมาณสูง สามารถชักนำให้มะม่วงออกดอกนอกฤดูกาลได้ และพบว่าปริมาณจิบเบอเรลลินภายในต้นมีความสัมพันธ์กับปริมาณการสะสมคาร์โบไฮเดรตต่อกระบวนการชักนำการออกดอกของมะม่วง ซึ่งมีผลต่อการติดผลในมะม่วง

นอกจากนี้ Poerwanto และคณะ (2008) พบว่าการให้สารพาโคลบิวทราโซลทางใบอัตรา 2.0 กรัมต่อต้น ในมะม่วงสามารถชักนำวันออกดอกได้เร็วที่สุด คือ 36 วัน หลังทำการทดลอง ซึ่งออกดอกเร็วกว่าต้นที่ไม่ได้รับสาร 35 วัน นอกจากนี้ Adil และคณะ (2011) ได้ศึกษาผลของการให้สารพาโคลบิวทราโซลต่อการเปลี่ยนแปลงสมดุลฮอร์โมนในมะม่วงพันธุ์ Miska, Mahmoudi และ Totocombo พบว่าสารพาโคลบิวทราโซลมีผลทำให้ปริมาณการสังเคราะห์ zeatin, zeatin riboside, adenoside, adenine และ abscisic acid เพิ่มขึ้น และทำให้ปริมาณจิบเบอเรลลิน (GA_{1+3+20}) และออกซินในใบและตาของมะม่วงลดลงหลังการให้พาโคลบิวทราโซล 2 เดือน และมะม่วงทั้งสามพันธุ์มีเปอร์เซ็นต์การออกดอก 50% และมีเปอร์เซ็นต์การออกดอกสูงสุด 100% หลังจากได้รับสาร 3 เดือน ในขณะที่ต้นที่ไม่ได้รับสารไม่มีการออกดอก เช่นเดียวกับรายงานของ Upreti และคณะ (2013) พบว่าการให้สารพาโคลบิวทราโซลทำให้ปริมาณการสังเคราะห์แอบไซซิค แอซิด และไซโตไคนินของมะม่วงเพิ่มขึ้นในช่วงแตกตาดอก และทำให้ปริมาณของ GA_1, GA_3, GA_4 และ GA_7 ในช่วงออกดอกทั้งในใบและตาดอกของมะม่วงลดลง

สำหรับในลองกอง พบว่าการใช้สารพาโคลบิวทราโซลในการชักนำการออกดอกสามารถสร้างสภาวะเครียดในพืชได้ พืชมีการใช้น้ำลดลง และมีแนวโน้มทำให้ไนโตรเจนในใบลดลงด้วย ส่งผลกระตุ้นให้ต้นลองกองออกดอกได้ (โนรี และสายัณห์, 2547) นอกจากนี้ การศึกษาผลของการใช้สารพาโคลบิวทราโซลร่วมกับการควั่นกิ่งต่อการออกดอกของลองกอง พบว่าการราดสารพาโคลบิวทราโซลร่วมกับการควั่นกิ่ง 2 เดือน ก่อนการออกดอก ทำให้ลองกองมีเปอร์เซ็นต์การแตกตาดอกเฉลี่ยเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งมีผลทำให้ความเข้มข้นของคาร์โบไฮเดรต สัดส่วน C:N สะสมในใบและเปลือกกิ่งเพิ่มขึ้นในช่วงก่อนการออกดอก และลดลงในช่วงที่มีการพัฒนาของตาดอก (อังคณา, 2550) สอดคล้องกับ Lerslerwong และคณะ (2011) รายงานว่าการควั่นกิ่ง การรัดลำต้น และการราดสารพาโคลบิวทราโซลสามารถชักนำให้ลองกองออกมากกว่าต้นที่ไม่ได้รับทรีทเมนต์

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาผลของการรัดลำต้น และการราดสารพาโคลบิวทราโซลต่อการชักนำการออกดอกและผลผลิตของลองกอง การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลิน ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่อยู่ในรูปโครงสร้าง และการแสดงออกของยีน *GA20-oxidase* ของลองกอง

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

วัสดุ อุปกรณ์

1. วัสดุ

1.1 วัสดุพืช

ต้นลองกองเสียบยอดต้นตอดูกู อายุ 15 ปี โดยมีขนาดเส้นรอบวง 22.5-36.5 เซนติเมตร โดยต้นที่ใช้ศึกษาไม่เคยได้รับทรีทเมนต์ใดๆ มาก่อน

1.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1.2.1 สารเคมีสำหรับการให้ทรีทเมนต์ชักนำการออกดอก

- สารพาโคลบิวทราโซล (สารออกฤทธิ์ 10 % WP) ยี่ห้อเซอร์ไพร้ซ์ 10

1.2.2 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์คุณภาพผล

- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide, Sigma)
- ฟีนอล์ฟทาลีน (phenolphthalein, Merck)

1.2.3 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรทที่ไม่ใช่โครงสร้าง

- กรดเปอร์คลอริก (perchloric acid, Merck) ความเข้มข้น (70% v/v)
- แอนโทรน (anthrone)
- กรดซัลฟิวริก (sulfuric acid)
- กลูโคส (glucose)

1.2.4 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลิน

- เมทานอล (methanol)
- แอมโมเนียมอะซิเตต (ammonium acetate)
- ไอโซโพรพานอล (isopropanal)

- แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (ammonium hydroxide)
- อะซิโตน (acetone)
- จิบเบอเรลลิน (gibberellin) สารออกฤทธิ์ 90%

1.2.5 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์การแสดงออกของยีน

- ซิทิลไตรเมทธิลแอมโมเนียมโบรไมด์ (cetyltrimethyl ammonium bromide)
- ทริสไฮโดรคลอริก (Tris-HCl, Sigma)
- โซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride, Sigma)
- เบต้าเมอร์แคพโทเอทานอล (β-mercaptoethanol)
- คลอโรฟอร์ม (chloroform)
- ไอโซเอมีลแอลกอฮอล์ (isoamylalcohol)
- ลิเซียมคลอไรด์ (lithium chloride)
- เอทานอล (ethanol)
- น้ำ DEPC (DEPC-treated H_2O)
- อะกาโรสเจล (agarose gel)
- ทริสบอร์เรท (Tris borate)
- เอธิเดียมโบรไมด์ (ethidium bromide)
- กรดเอททิลลีนไดเอมีนเททราอะซีติก (ethylenediaminetetraacetic acid)
- โพลีไวนิลไพโรลิโดน (polyvinyl pyrrolidone)
- dNTP
- Superscript® III First-Strand Synthesis system (Invitrogen life technology, USA)
- 10X Taq buffer (Invitrogen life technology, USA)
- *Taq* Polymerase (Invitrogen life technology, USA)
- PureLink™ Quick Gel Extraction Kit (Invitrogen, Carlsbad, CA)
- JM109 High-Efficiency Competent cell (Promega, USA)
- PureLink® Quick plasmid DNA Miniprep Kit (Promega, USA)
- อาหาร LB (Luria Bertani Broth)
- แอมพิซิลีน (amplicilin)
- เอนไซม์ตัดจำเพาะ Eco RI

- pGEM®-T Easy vector (Promega, Madison, WI)

2. อุปกรณ์

2.1 เครื่องแก้ว ประกอบด้วย กระบอกตวง ปิเปต บีกเกอร์ ขวดปรับปริมาตร ขวดรูปชมพู่ จานเพาะ บิวเรต หลอดดูดปริมาตร 3 มิลลิลิตร และหลอดทดลองปริมาตร 15 มิลลิลิตร

2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้เตรียมตัวอย่างพืช ประกอบด้วย เลื่อยมือ คีมตัดลวด บัวรดน้ำ จอบ คอร์กบอเรอร์

2.3 เครื่องมืออุปกรณ์ในการวัดคุณภาพผล

- เครื่อง Hand Refractometer ยี่ห้อ Milwavkee รุ่น MR 32ATC (0-40)
- เครื่องวัดสี ยี่ห้อ Minolta รุ่น Konica Minolta CR 400
- เครื่องวัดความแข็ง ยี่ห้อ Prenetrometer mode FT 001 0-11 Lbs

2.4 เครื่องมืออุปกรณ์ในการวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้าง

- glassinter-filter
- อ่างควบอุณหภูมิ (water bath) ยี่ห้อ Memmert รุ่น WNB22 SC
- เครื่องปั่นละเอียด ยี่ห้อ Sharp EM-11
- เครื่องเขย่า (vortex) ยี่ห้อ Personal Bio รุ่น V-1 plus
- เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (UV-spectropotometer) ยี่ห้อ Pharmaica Biotech รุ่น Ultraspec 3000 UV/Visible
- ตู้อบ ยี่ห้อ Memmert รุ่น UF 750
- ตู้ดูดควัน

2.5 เครื่องมือและอุปกรณ์ในการวิเคราะห์สารคล้ายจิบเบอเรลลิน

- โกร่งบด
- เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary Evapovator) ยี่ห้อ (Buchi, Thailand) รุ่น Rotavapor R-215
- โหลดูดความชื้น
- ตู้กระจกขนาด 20×60×40 เซนติเมตร
- กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1เส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร
- กระดาษโครมาโทแกรม

2.6 **เครื่องมือและอุปกรณ์ในการวิเคราะห์การแสดงออกของยีน**

- เครื่องวัดความเป็นกรด-เบส (pH meter) eutech instruments pH 510
- เครื่องให้ความร้อน (Heater) ยี่ห้อ major science รุ่น md-mini
- ไมโครปิเปต (micropipette) ยี่ห้อ Gilson ขนาด 2, 10, 200 และ 1,000 ไมโครลิตร
- ไมโครปิเปตทิป (micropipette tip) ขนาด 10, 200 และ 1,000 ไมโครลิตร
- หลอดไมโครเซนติฟิวจ์ (microcentrifuge tube) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร
- หลอดพีซีอาร์ (pcr tube)
- เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ยี่ห้อ Hettich Universal รุ่น 320R
- ชุดเซตเจล (electrophoresis) ยี่ห้อ Mupid®-EXU
- เครื่องพีซีอาร์ ยี่ห้อ Bio-Rad รุ่น T100™ Thermal Cycler
- กล่องพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่าง

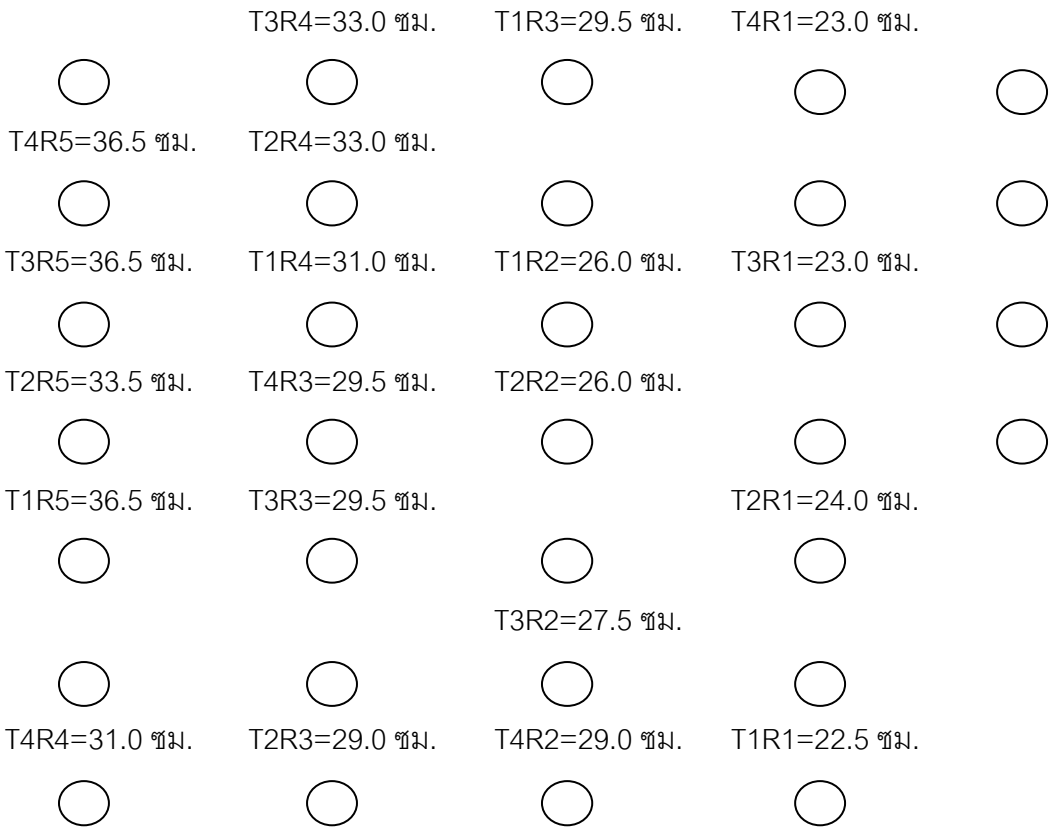
2.7 **เครื่องมือและอุปกรณ์ในการเตรียมสาร** ประกอบด้วยเครื่องชั่ง 2 และ 4 ตำแหน่ง เครื่องกวนสารละลายพร้อมแท่งแม่เหล็ก และกระดาษชั่งสาร

2.8 **เครื่องมือและอุปกรณ์อื่น ๆ** ได้แก่ กระดาษชำระ ผ้าขาวบาง กล่องพลาสติก ถ้วยพลาสติก กล่องโฟม เข็มฉีดยา กล้องถ่ายรูปดิจิตอล ตู้แช่แข็ง -20 และ -80 องศาเซลเซียส ถุงเย็น ขนาด 6×14 นิ้ว เวอร์เนียร์คาร์ลิบเปอร์ เครื่องนับจำนวน (counter)

วิธีการศึกษา

ส่วนที่ 1 ผลของการรัดลำต้นและสารพาโคลบิวทราโซลต่อการชักนำการออกดอกของลองกอง

ทดลองกับต้นลองกองเสียบยอดบนต้นตอดูกู อายุ 15 ปี ในระยะใบเพสลาด ณ แปลงทดลองภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา จำนวน 20 ต้น เลือกต้นที่มีความสมบูรณ์และขนาดทรงพุ่มใกล้เคียงกัน โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกอย่างสมบูรณ์ ทำ 5 ซ้ำ โดย 1 ซ้ำ คือ 1 บล็อก บล็อกละ 1 ต้น โดยคัดเลือกบล็อกจากขนาดเส้นรอบวงที่ใกล้เคียงกัน ในแต่ละซ้ำหรือบล็อก มีขนาดเส้นรอบวง 22.5-36.5 เซนติเมตร ประกอบด้วย 4 ทรีทเมนต์ (ภาพที่ 8) ดังต่อไปนี้



ภาพที่ 8 แผนผังแปลงลองกองที่ทดลองโดยมีระยะห่างระหว่างต้น 3×3 เมตร

ทรีทเมนต์ที่ 1 ชุดควบคุม ไม่รัดลำต้นและไม่ราดสารพาโคลบิวทราโซล
ทรีทเมนต์ที่ 2 การรัดลำต้น
ทรีทเมนต์ที่ 3 การราดสารพาโคลบิวทราโซล
ทรีทเมนต์ที่ 4 การรัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซล

การรัดลำต้น ดำเนินการรัดลำต้นตรงตำแหน่งสูงจากพื้นดิน 30 เซนติเมตร โดยใช้เลื่อยมือคว่ันเป็นแนวรอบกิ่งกว้างประมาณ 2 มิลลิเมตร ใช้ลวดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.6 มิลลิเมตร รัดรอบรอยคว่ัน ทำการรัดต้นในวันที่ 3 กรกฎาคม 2555 และเมื่อสังเกตเห็นตาดอกแตกออกมามีความยาวประมาณ 0.5 เซนติเมตร จึงแกะลวดออก ในวันที่ 31 กรกฎาคม 2555

(ก)

(ข)

(ค)

(ง)

ภาพที่ 9 วิธีการควั่นกิ่งและรัดลำต้น

(ก) ใช้เลื่อยมือควั่นเป็นแนวรอบกิ่ง (ข) แผลขนาด 2 มิลลิเมตร

(ค) ใช้ลวดรัดรอบรอยควั่น (ง) กิ่งที่ควั่นและรัดลำต้นเรียบร้อยแล้ว

การราดสารพาโคลบิวทราโซล ก่อนราดสาร 1 วัน รดน้ำจนชุ่มทั่วรัศมีทรงพุ่ม ผสมสารพาโคลบิวทราโซลอัตรา 4 กรัมต่อน้ำ 10 ลิตรต่อต้น แล้วราดทางดินรอบโคนต้นห่างจากโคนต้นประมาณ 20 เซนติเมตร ในรัศมีทรงพุ่ม ดำเนินการในวันที่ 3 กรกฎาคม 2555

(ก) (ข)

(ค) (ง)

ภาพที่ 10 การราดสารพาโคลบิวทราโซล

(ก) กำจัดหญ้าและเศษใบไม้บริเวณรอบทรงพุ่ม

(ข) รดน้ำให้ชุ่มทั่วรัศมทรงพุ่ม

(ค) ผสมสารพาโคลบิวทราโซล (10% a.i.) อัตรา 4 กรัม/น้ำ 10 ลิตร /ต้น

(ง) ราดสารพาโคลบิวทราโซลบริเวณรัศมีทรงพุ่มห่างจากโคนต้น 20 เซนติเมตร

การปฏิบัติดูแลรักษาต้นลองกองในระหว่างทดลอง

1. การตัดแต่งกิ่ง ดำเนินการตัดแต่งกิ่งเล็กน้อยเลือกตัดเฉพาะกิ่งแห้ง กิ่งตาย กิ่งที่มีจำนวนหนาแน่นเกินไป กิ่งกระโดง หลังการเก็บเกี่ยวผลผลิตฤดูกาลก่อนการทดลอง 1-2 เดือน ในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ และมิถุนายน พ.ศ. 2555 และตัดแต่งอีกครั้งในช่วงออกดอกในเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2555 ตัดแต่งเฉพาะกิ่งที่ติดพื้น และกิ่งตาย

2. การให้น้ำ

ให้น้ำช่วงหลังการตัดแต่งกิ่ง ในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ และมิถุนายน พ.ศ. 2555 โดยหลังตัดแต่งกิ่งลองกองมีการแตกใบอ่อน 2 ครั้ง ในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ และเดือนมิถุนายน การให้น้ำโดยฉีดด้วยสายยางบริเวณรอบโคนต้นจนชุ่ม และงดน้ำประมาณ 10-15 วัน เพื่อให้ลองกองเกิดสภาวะแล้ง หลังจากนั้นให้น้ำอีกครั้งเมื่อลองกองเริ่มแตกตาดอกประมาณ 0.5 เซนติเมตร ในเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2555 โดยให้น้ำอย่างสม่ำเสมอทุกวัน และให้น้ำช่วงลองกองติดผลแล้วในสัปดาห์ที่ 8 หลังดอกบาน ให้น้ำสม่ำเสมอวันเว้นวัน

3. การให้ปุ๋ย

ใส่ปุ๋ยคอก ต้นละ 5 กิโลกรัม ช่วงหลังเก็บเกี่ยวผลผลิต โดยใส่ทุกครั้งเมื่อใส่ปุ๋ยเคมี

ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 อัตรา 300 กรัมต่อต้น 2 ครั้ง คือวันที่ 8 มีนาคม 2555 ช่วงหลังตัดแต่งกิ่งครั้งแรก โดยใบลองกองอยู่ในระยะอ่อน และวันที่ 21 พฤษภาคม 2555 ใบลองกองอยู่ในระยะใบเพสลาด

ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 8-24-24 อัตรา 300 กรัมต่อต้น ช่วงออกดอก (ลองกองมีความยาวดอก 1 เซนติเมตร) ดำเนินการในวันที่ 7 กรกฎาคม 2555

ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 13-13-21 อัตรา 300 กรัมต่อต้น ช่วงพัฒนาของผล (ผลลองกองมีอายุ 8 สัปดาห์หลังดอกบาน ดำเนินการในวันที่ 7 พฤศจิกายน 2555

4. การตัดแต่งช่อดอก

ตัดช่อดอกครั้งแรกเมื่อช่อดอกยาว 3-5 เซนติเมตร เหลือ 1-2 ช่อต่อกลุ่มตาดอก ตัดแต่งช่อดอก ประมาณ 1-3 ครั้ง เว้นระยะการตัดแต่งประมาณ 1 อาทิตย์ โดยตัดแต่งช่อดอกระยะห่าง 10-15 เซนติเมตร ต่อการไว้ช่อดอก 1 ช่อ โดยกิ่งที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 นิ้ว เหลือช่อดอก 3-5 ช่อต่อกิ่ง และกิ่งที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 นิ้วครึ่ง เหลือช่อดอก 10-15 ช่อต่อกิ่ง

5. ตัดแต่งช่อผลและปลิดผล

ตัดแต่งผลช่วงก่อนผลสุกประมาณ 1 เดือน ปลิดผลเน่าเสีย ผลลีบ ผลเล็กบริเวณปลายช่อ

6. การป้องกันกำจัดแมลง จัดการแมลงเมื่อสังเกตพบอาการ โดยกำจัดหนอนชอนเปลือกบริเวณลำต้นออก โดยขูดผิวเปลือกบริเวณที่มีหนอนชอนเปลือกออก และให้ฉีดพ่นสารเคมีเมธามิโดฟอส อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ตามกิ่งและลำต้นให้ทั่วทั้งต้น

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกข้อมูลการออกดอก ได้แก่ วันที่ออกดอก จำนวนตาดอก ตาดอกเดี่ยว (ตาดอกขนาดความยาวประมาณ 0.5 เซนติเมตร) กลุ่มตาดอก (ตาดอกที่แตกออกมาเป็นกระจุก หนึ่งกระจุกเกิดเป็นช่อดอกได้ 4-10 ช่อ) และความยาวตาดอก ช่อดอก (ตาดอกที่มีเท่ากับหรือมากกว่าความยาว 1 เซนติเมตร) วัดความยาวตาดอก/ช่อดอก โดยใช้เวอร์เนียคาลิปเปอร์ เก็บข้อมูลจำนวนและความยาวดอกทุก 2 สัปดาห์ เมื่อสังเกตพบตาดอกลองกอง และเก็บข้อมูลจำนวนและความยาวช่อดอกทุก 1 เดือน เมื่อตาดอกมีความยาวตั้งแต่ 1 เซนติเมตร

2. ปริมาณและคุณภาพผลผลิต ได้แก่ น้ำหนักผลผลิตต่อต้น โดยสุ่มตัวอย่างผลผลิตซ้ำละ 3 ช่อเพื่อวิเคราะห์คุณภาพผล ได้แก่ ความยาวช่อผล จำนวนผล/ช่อ น้ำหนักช่อผล และสุ่มตัวอย่างผลลองกองในแต่ละช่อจำนวน 5 ผล เพื่อวัดน้ำหนักผล น้ำหนักเนื้อ เส้นผ่านศูนย์กลางผล ความหนาเปลือก ความตึงผิวเปลือกโดยใช้เครื่อง Penetrometer และวัดองค์ประกอบเคมีภายในผลลองกอง ดังนี้

2.1 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (Total Soluble Solid : TSS) นำน้ำคั้นจากผลลองกองมาวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ด้วยเครื่อง hand refractometer

2.2 ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (Titratable acidity ; TA) โดยนำน้ำคั้นจากลองกองปริมาตร 3 มิลลิลิตร มาไทเทรตด้วยสารละลายด่างมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล (N) โดยมีสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นอินดิเคเตอร์ นำค่าที่ได้มาคำนวณปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ โดยใช้สูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์กรดซิตริก} = \frac{(\text{NaOH} \times \text{ปริมาตรของ NaOH ที่ใช้ (มล.)} \times \text{meq.wt. ของกรดซิตริก} \times 100}{\text{ปริมาณน้ำคั้นของตัวอย่าง (มล.)}}$$

* meq.wt. ของกรดซิตริก = 0.06404

2.3 อัตราส่วนของปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้และปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (TSS : TA ratio)

3. ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่อยู่ในรูปโครงสร้าง (TNC)

3.1 การเก็บตัวอย่าง

ดำเนินการเก็บตัวอย่างใบและเปลือกบริเวณลำต้นของต้นลองกองที่ได้จากแต่ละทรีทเมนต์ทุกสัปดาห์เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เริ่มตั้งแต่ก่อนให้ทรีทเมนต์จนกระทั่งออกดอก (เห็นตุ่มตาดอกปรากฏและมีความยาวประมาณ 1 เซนติเมตร) เก็บตัวอย่างใบบริเวณรอบนอกทรงพุ่ม โดยเก็บใบย่อยคู่กลางของใบประกอบตำแหน่งที่ 2 นับจากยอด (ใบแก่อายุ 4-5 เดือน) และเก็บตัวอย่างเปลือกต้นที่ระดับความสูงประมาณ 50 เซนติเมตรเหนือพื้นดิน (เหนือรอยรัดลำต้น) สุ่มเก็บต้นละ 4 จุด โดยใช้คอร์กบอเรอร์ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะส่วนเปลือกลำต้นลองกองลึกประมาณ 2 มิลลิเมตร นำตัวอย่างใบและเปลือก อบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง และบดด้วยเครื่องบดจนเป็นผงละเอียด

3.2 การสกัดและวิเคราะห์ปริมาณ TNC

นำตัวอย่างที่บดแล้ววิเคราะห์หาปริมาณ TNC โดยใช้วิธี Manual Clang Anthrone (Osbone and Voogt, 1978) โดยชั่งตัวอย่างพืช 0.1 กรัม ในหลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นและกรดเปอร์คลอริก (52% ปริมาตร/ปริมาตร) อย่างละ 1.00 และ 1.30 มิลลิลิตร (ตามลำดับ) เขย่าสารละลายให้เข้ากัน กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 และปรับปริมาตรด้วยขวดปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ดูดสารละลายที่กรองได้มา 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร และเติมแอนโทรน 0.1% น้ำหนัก/ปริมาตร (ละลายแอนโทรน ในสารละลายกรดซัลฟิวริก เข้มข้น 14 โมลาร์) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำสารละลายไปเขย่าให้เข้ากัน เป็นเวลา 5 นาที นำหลอดไปแช่ในอ่างน้ำร้อนอุณหภูมิประมาณ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วจึงนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร เทียบกับกราฟสารละลายมาตรฐานกลูโคสเข้มข้น 0-550 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่งนำไปทำให้เกิดสีเช่นเดียวกับตัวอย่าง คำนวณปริมาณ TNC โดยการเทียบจากกราฟมาตรฐานกลูโคส (ภาคผนวก ค ที่ 1)

ส่วนที่ 2 ผลของการรัดลำต้นและสารพาโคลบิวทราโซลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในเปลือกและใบลองกอง

1. การสกัดและวิเคราะห์ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในวิธีชีววิธีแบบ Lettuce Hypocotyl Bioassay (LHB)

เก็บตัวอย่างเปลือกและใบตั้งแต่ช่วงก่อนให้ทรีทเมนต์จนกระทั่งออกดอก จากนั้นนำตัวอย่างแช่แข็งด้วยไนโตรเจนเหลว แล้วนำมาเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการสกัด

2. การสกัดตัวอย่าง

โดยนำตัวอย่างพืชที่ทำให้แห้งด้วยความเย็นภายใต้สภาพสุญญากาศมาชั่งน้ำหนักตัวอย่างเปลือกและใบอย่างละ 1 กรัม บดตัวอย่างพืชให้ละเอียดด้วยโกร่ง เติมไนโตรเจนเหลวขณะบด เพื่อรักษาสภาพความเย็น และเติมเมทานอลเย็นที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เก็บสารสกัดใส่ขวดปิดฝาไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง จากนั้นนำสารสกัดมากรองด้วย glassinter-filter ลงในขวดก้นกลม นำสารละลายไประเหยแห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส แล้วล้างสารสกัดในขวดก้นกลมด้วย ammonium acetate ความเข้มข้น 0.01 โมลลาร์ จำนวน 3 ครั้งๆ ละ 4 มิลลิลิตร (ทำใน water bath) จากนั้นเก็บสารละลาย ammonium acetate ที่ได้ทั้ง 12 มิลลิลิตร รวมกัน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง

3. ทำเปเปอร์โครมาโทกราฟีเพื่อแยกสารจิบเบอเรลลิน

เตรียมแผ่นโคมาโทแกรม โดยใช้กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ขนาด 9×28 เซนติเมตร มาขีดเส้นกำหนดจุดเริ่มต้นที่จะ strip สารละลาย ขีดด้วยดินสอดำห่างจากขอบล่าง 2 เซนติเมตร และจุดสุดท้ายที่สารละลายเคลื่อนที่ไปถึง (20 เซนติเมตร วัดจากจุดที่ strip) แล้วใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายจากข้อ 2 มา strip เป็นแนวยาวลงบนแผ่นโครมาโตแกรมโดยใช้ตัวอย่างแผ่นละ 100 ไมโครลิตร แล้วทิ้งไว้ให้แถบสารแห้ง นำแผ่นโครมาโตแกรมแช่ในตัวสารละลายที่มีส่วนผสมของ isopropanal 99.7% : ammonium hydroxide 25% : น้ำกลั่น (10:1:1 โดยปริมาตร) วางในตู้ขนาด 20×60×40 เซนติเมตร โดยแถบอยู่เหนือสารละลาย ทิ้งไว้จนสารละลายเคลื่อนที่ไปจนถึงระยะ 20 เซนติเมตร (ใช้เวลาประมาณ 6-7 ชั่วโมง) ให้นำออกจากตู้แล้วผึ่งให้แห้ง จากนั้นแบ่งแผ่นโครมาโตแกรม เป็น R_f 0.1-1.0 โดยส่วนที่อยู่ใต้แถบสารเป็น R_f 0.0 ส่วน R_f 0.1-1.0 คือส่วนที่อยู่เหนือแถบสารจนถึง solvent front โดยแบ่งเป็น 10 ส่วนเท่าๆกัน แล้วนำแผ่น R_f ที่แบ่งส่วนเรียบร้อยแล้วมาตัดแยก R_f 0.0 – 1.0 นำแต่ละ R_f มาตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ใส่

ขวดแก้วที่มีอะซิโตน 50% (ปริมาตร/ปริมาตร) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เพื่อละลายสารที่อยู่ในแผ่นโครมาโตแกรม

4. การทำกราฟมาตรฐานจิบเบอเรลลิน

เตรียมจิบเบอเรลลินจากสาร GA_3 สารออกฤทธิ์ 90% แต่ละความเข้มข้น 0, 1, 2.5, 5, 10, 25, 50 และ 100 นาโนกรัมต่อลิตร โดยเตรียมจากสารละลายเข้มข้น (stock) 1 มิลลิกรัม/ลิตร นำสารละลายเข้นมข้นที่ได้ไปเจือจางตามความเข้มข้นที่กำหนด จากนั้นเพาะเมล็ดผักกาดลงบนกระดาษเพาะในจานเพาะที่มีสารละลาย GA_3 ความเข้มข้นละ 10 เมล็ด ทำ 5 ซ้ำ จากนั้นนำไปเก็บไว้ในโหลดูดความชื้นที่มีน้ำด้านล่างภาชนะเพื่อรักษาความชื้นภายในโถ วางที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน โดยให้แสง 400 ลักซ์ ตลอดการเพาะ วัดส่วนของความยาว hypocotyl เมล็ดผักกาด

นำเมล็ดผักกาดหอมพันธุ์เบามาเพาะในจานเพาะแต่ละR_f R_f ละ 20 เมล็ด นำสารละลายที่ได้จากข้อ 3 มาหยดลงบนเมล็ดผักกาดปริมาตร 10 ไมโครลิตร/เมล็ด วางจานเพาะไว้ในโหลดูดความชื้นที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน โดยให้แสง 400 ลักซ์ ตลอดการเพาะ วัดส่วนของความยาว hypocotyl เมล็ดผักกาด จำนวน 10 เมล็ดต่อ 1 จานเพาะ จากนั้นนำไปหาปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานในข้อ 4 (ภาคผนวก ค ที่ 2)

ส่วนที่ 3 ผลของการรัดลำต้นและสารพาโคลบิวทราโซลเพื่อชักนำการออกดอกต่อการแสดงออกของยีน *GA20-ox* ในเปลือกและใบลองกอง

1. การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างเปลือกและใบเช่นเดียวกับการสกัดและวิเคราะห์ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลิน นำมาบดให้ละเอียดด้วยไนโตรเจนเหลว และเก็บรักษาไว้ที่ตู้แช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส นาน 4 สัปดาห์

2. การสกัดอาร์เอ็นเอโดยวิธี CTAB

นำตัวอย่างที่แช่แข็งที่บดแล้วจำนวน 0.25 กรัม ใส่หลอดเซนตริฟิวส์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร หลอดเติมสารละลายบัฟเฟอร์ ประกอบด้วย Tris-HCL 100 มิลลิโมลาร์ pH 8.2, CTAB 2%, PVP 4%, NaCl 2 โมลาร์ และ EDTA 25 มิลลิโมลาร์ pH 8.0 โดยเติม β-mercaptoethanol 1 มิลลิลิตร ต่อบัฟเฟอร์ CTAB 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 65 องศาเซลเซียส เริ่มต้นสกัดโดยเติมบัฟเฟอร์ 1200 ไมโครลิตร แล้วนำไปเขย่าให้

สารละลายผสมเข้ากับเนื้อเยื่อ นำไปบ่มที่ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ผสมสารให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex ก่อนนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6,500 รอบต่อนาที นาน 30 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ดูดส่วนใสใส่หลอดเซนตริฟิวจ์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติมคลอโรฟอร์ม : ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ (24 : 1) ปริมาตร 1 เท่าของสารละลาย จากนั้นเขย่าด้วยเครื่อง vortex แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 6,500 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ดูดส่วนใสใส่หลอดเซนตริฟิวส์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร และเติมลิเธียมคลอไรด์ความเข้มข้น 8 โมลาร์ ในแต่ละหลอดและผสมสารให้เข้ากัน เขย่าโดยกลับหลอด 2-3 ครั้งเบาๆ และให้มีความเข้มข้นสุดท้ายของลิเธียมคลอไรด์เท่ากับ 2 โมลาร์ นำหลอดตัวอย่างไปวางที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 คืน เพื่อตกตะกอนอาร์เอ็นเอหลังจากนั้นนำหลอดตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงที่ 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาทีที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วเทส่วนใสทิ้ง ล้างตะกอนอาร์เอ็นเอด้วยเอทานอลเย็น 70% ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทิ้งให้ตะกอนแห้งที่อุณหภูมิห้อง เติมน้ำ DEPC -treated ปริมาตร 10 ไมโครลิตร เพื่อละลายตะกอนอาร์เอ็นเอ

3. การวัดปริมาณอาร์เอ็นเอ

โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร โดยเจือจางสารละลายอาร์เอ็นเอ 50 เท่า โดยใช้น้ำ DEPC-treated เป็นตัวทำละลายอัตราส่วนดังนี้ อาร์เอ็นเอ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ต่อน้ำ DEPC-treated ปริมาตร 50 ไมโครลิตร โดยมีน้ำ DEPC-treated เป็นตัวเปรียบเทียบ (blank) คำนวณหาความเข้มข้นของสารละลายอาร์เอ็นเอจากสูตร

$$\text{ความเข้มข้นของอาร์เอ็นเอ } (\mu g/\mu l) = \frac{A_{260} \times \text{dilution factor} \times 40}{1000}$$

เมื่อ A_{260} คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากการวัดสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

Dilution factor = 50

40 คือ ค่าคงที่ของปริมาณอาร์เอ็นเอ เมื่อวัดค่าดูดกลืนแสงของอาร์เอ็นเอ ที่ 260 นาโนเมตร ได้เท่ากับ 1 มีหน่วยเป็นไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

การตรวจสอบสภาพของอาร์เอ็นเอ ถ้าอ่านค่าดูดกลืนแสง A_{260}/A_{280} อยู่ในช่วง 1.8-2.0 แสดงว่าได้อาร์เอ็นเอที่มีคุณภาพค่อนข้างดี ตรวจสอบอาร์เอ็นเอด้วย agarose gel electrophoresis โดยเตรียมอะกาโรสเจล 0.8% ชั่งอะกาโรสหนัก 0.5 กรัม ผสมกับ 0.5x TBE buffer ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปอุ่นให้สารละลายใส เทอะกาโรสลงในชุดเซตเจลที่ปรับระดับสมดุลและวางหวีไว้แล้ว ตั้งทิ้งไว้จนเจลแข็งตัวแล้วจึงค่อยๆ ดึงหวีออก นำเจลที่ได้ไปวางใน tank จากนั้นเท 0.5x TBE buffer ให้ท่วมแผ่นเจล นำตัวอย่างอาร์เอ็นเอผสมกับ 6X loading dye และผสมตัวอย่างกับ loaded dye ลงในเจล รันตัวอย่างอาร์เอ็นเอที่กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ นาน 25 นาที นำอะกาโรสเจลแช่ในกล่องพลาสติกที่มีสารละลาย ethidium bromide ประมาณ 10 นาที หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น 10 นาที นำอะกาโรสเจลไปส่องดูภายใต้แสงยูวีด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง แล้วถ่ายภาพ อาร์เอ็นเอจะปรากฏแถบแบนที่ 2,500 bp และ 1,500 bp เมื่อเปรียบเทียบกับแถบ DNA มาตรฐาน ขนาด 1 กิโลเบส

4. การสังเคราะห์ cDNA

โดยใช้ชุดสำเร็จรูปของ Superscript® III First-Strand Synthesis System ก่อนใช้นำส่วนของ component แต่ละตัวไปปั่นเหวี่ยงเบาๆ เพื่อให้สารเข้ากัน จากนั้นเตรียม cDNA ต่อ 1 reaction (อาร์เอ็นเอปริมาตร 2 ไมโครลิตร, Oligo $(dT)_{20}$ ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร, dNTP mix ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร น้ำ DEPC-treated ปริมาตร 6 ไมโครลิตร, ปริมาตรรวมทั้งหมด 10 ไมโครลิตร) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แล้วแช่น้ำแข็งทันที 1 นาที จากนั้นเตรียม mix cDNA ประกอบด้วย 10x RT buffer ปริมาตร 2 ไมโครลิตร, $Mgcl_2$ ความเข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 4 ไมโครลิตร, DTT ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 2 ไมโครลิตร, RNase OUT™ (40 U/µl) ปริมาตร 1 ไมโครลิตร, SuperScript™ III RT (200U/µl) ปริมาตร 1 ไมโครลิตร เติมส่วนของ cDNA mix กับ อาร์เอ็นเอ/primer mixture ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยงให้สารละลายเข้ากัน แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 50 นาที จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แล้วแช่น้ำแข็งทันทีเพื่อเป็นการหยุดปฏิกิริยา เติม RNase H ในแต่ละ reaction ปริมาตร 1 ไมโครลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เก็บ cDNA ไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการวิเคราะห์การแสดงออกของยีน *GA20-ox* ต่อไป

5. การโคลนยีน *GA20- oxidase* (*GA20- ox)*

5.1 ออกแบบไพรเมอร์ universal จากลำดับเบสของยีน 18S rRNA จากมังคุด (*Garcinia mangostana* L.) โดยมีลำดับเบสเส้น

Forward 5'-TTGGTGTGCACCTGTCATCT -3'

Reverse 5'-TCATTACTCCGATCCCGAAG -3'

ไพรเมอร์ของยีน *GA20-ox* ชนิดไม่จำเพาะ (degernerate primer) ในไม้ผลยืนต้นชนิดอื่นๆ ได้แก่ แอปเปิล (*Malus domestica*; *GA20-ox* accession number KC493633) สาลี่ (*Pyrus comunis*; *GA20-ox* accession number HQ83358) ส้ม (*Citrus sinensis*; *GA20-ox1* accession number EU834067) อัลมอลด์ (*Prunus dulcis*; *GA20-ox* accession number JQ412172) ได้สืบค้นจาก http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ โดยใช้โปรแกรมที่ใช้ในการออกแบบไพรเมอร์คือ ClustalX2 และ GENEDOC ในการออกแบบ ไพรเมอร์ ออกแบบยีน *GA20-ox* มีลำดับเบสเส้น

Forward 5'-AGTTCATATGGCCYGATGA -3'

Reverse 5' -AGCCTCATTATCGAATCATT -3'

ตารางที่ 8 ไพรเมอร์ยีน 18S rRNA และยีน *GA20-ox* ที่ออกแบบจากไม้ผลชนิดต่างๆ

ยีน	ชนิดพืชที่ออกแบบ	ชนิดพืชที่ออกแบบ	ขนาดยีนหลังออกแบบ
18S rRNA	F 5'-TTGGTGTGCACCTGTCATCT -3' R 5'-TCATTACTCCGATCCCGAAG -3'	มังคุด	196 bp
GA20-ox	F 5'- AGTTCATATGGCCYGATGA -3' R 5' - AGCCTCATTATCGAATCATT -3'	แอปเปิล สาลี่ ส้ม อัลมอลด์	559 bp

5.2 เพิ่มจำนวน cDNA ของยีน *GA20-ox* โดยนำไพรเมอร์ที่ได้จากการออกแบบในข้อ 5.1 มาใช้ในการเพิ่มปริมาณ cDNA ของยีน *GA20- ox* ด้วยวิธีพีซีอาร์ (PCR HelixAmp *Taq*) ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ซึ่งประกอบด้วยสารละลาย (10x buffer 2.5 ไมโครลิตร, 25mM $MgCl_2$ 2.5 ไมโครลิตร, 10 mM dNTP mix 0.5 ไมโครลิตร, 10 µM Forward primer 1 ไมโครลิตร, 10 µM Reverse primer 1 ไมโครลิตร, DNA template 1 ไมโครลิตร, HelixAmp Taq 0.25 ไมโครลิตร, dH_2O 16.75 ไมโครลิตร) นำหลอดพีซีอาร์ที่มีสารผสมใส่เครื่อง PCR โดยตั้งอุณหภูมิและเวลาสำหรับทำปฏิกิริยาของยีน 18S rRNA ดังนี้

ช่วงที่ 1 ใช้อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที
ช่วงที่ 2 ใช้อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที
ใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที
ใช้อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที
ทำซ้ำจำนวน 30 รอบ
ช่วงที่ 3 ใช้อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที
ใช้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ไม่จำกัดเวลา

สำหรับยีน *GA20- ox* ตั้งอุณหภูมิและเวลาสำหรับทำปฏิกิริยา ดังนี้

ช่วงที่ 1 ใช้อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที
ช่วงที่ 2 ใช้อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที
ใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที
ใช้อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที
ทำซ้ำจำนวน 30 รอบ
ช่วงที่ 3 ใช้อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที
ใช้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ไม่จำกัดเวลา

นำผลผลิตที่ได้ไปตรวจสอบโดยวิธีอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีสตามขั้นตอน 3 โดยชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จะถูกแยกขนาดในอะกาโรสเจลความเข้มข้น 1 % ชิ้นดีเอ็นเอที่ได้ต้องมีขนาดใกล้เคียงกับไพรเมอร์ที่ได้ออกแบบไว้

5.3 การทำ cDNA ให้บริสุทธิ์จากอะกาโรสเจล

โดยทำบริสุทธิ์ผลผลิตพีซีอาร์ของยีน *GA20-ox* โดยนำเจลที่ได้มาตัดเฉพาะแถบออกโดยใช้ใบมีดโกนตัดเฉพาะแถบของ DNA ที่มีขนาดเดียวกันกับที่ไพรเมอร์ครอบคลุมอยู่ นำชิ้นส่วนเจลที่ตัดมาทำให้บริสุทธิ์ด้วยชุดสกัดสำเร็จรูป (PureLink™ Quick Gel Extraction Kit) โดยตัดชิ้นส่วนเจลที่มีชิ้นดีเอ็นเอขนาดที่ต้องการมาชั่งน้ำหนัก แล้วใส่เจลลงในหลอดไมโครเซนติฟิวจ์ เติม Gel Solubilization buffer ปริมาตร 1.2 มิลลิลิตร/น้ำหนักเจล 400 มิลลิกรัม นำหลอดไมโครเซนติฟิวส์ที่มีส่วนผสมของเจลและบัพเฟอร์ไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที กลับหลอดไปมาด้วยมือทุก 3 นาที จนเข้ากันและแน่ใจว่าเจลละลาย หลังจากที่เจลละลาย บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาที เติม isopropanal ลงในเจลที่ละลายปริมาตร 1 ไมโครลิตร แล้วผสมให้เข้ากันจากนั้นทำขั้นตอน Purification โดยดูดสารละลายเจลที่ผสมกับดีเอ็นเอแล้วลงในคอลัมน์ ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000×g เป็นเวลา 1 นาที เติม wash buffer ที่มี ethanol ปริมาตร 700 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000×g เป็นเวลา 1 นาที แล้วเทสารทิ้ง ปั่นเหวี่ยงอีกครั้งด้วยความเร็วสูงสุด เป็นเวลา 2-3 นาที เพื่อชะ wash buffer และethanol ออกให้หมด ทิ้ง wash tube และวางคอลัมน์ลงในหลอดไมโครเซนติฟิวส์ จากนั้นเติม elution buffer ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงตรงกลางคอลัมน์บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 นาที ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000×g เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นตรวจสอบ cDNA ด้วยวิธี agarose gel electrophoresis อีกครั้ง ก่อนนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปใช้

5.4 การทำ DNA ligation

โดยนำ cDNA ที่ได้มาเชื่อมต่อกับเวคเตอร์ ด้วยชุดสำเร็จรูป pGEM®-T Easy vector (2x Rapid Ligation Buffer, T4 DNA Ligase ปริมาตร 5 ไมโครลิตร, pGEM®-T Easy vector (50ng) ปริมาตร 1 ไมโครลิตร, PCR product ปริมาตร 3 ไมโครลิตร , T4 DNA Ligase (3 Weiss units/ µl) ปริมาตร 1 ไมโครลิตร; ทั้งหมด 10 ไมโครลิตร) ผสมสารให้เข้ากันด้วยปิเปต บ่ม ligation ที่อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมง แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ข้ามคืน นำส่วนผสมไปปั่นเหวี่ยงเป็นเวลาสั้นๆ แล้ววางบนน้ำแข็ง ก่อนถ่ายยีนเข้าสู่เชื้อแบคทีเรียในขั้นตอนต่อไป

5.5 การถ่ายยีนเข้าสู่เชื้อแบคทีเรีย

นำเซลล์คอมพีเทนต์ *E. coli* สายพันธุ์ JM109 (High-Efficiency Competent Cells) ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส มาวางที่อุณหภูมิห้องจนกระทั่งคอมพีเทนต์ละลาย (ประมาณ 5 นาที) เติมส่วนผสมของ ligation จากข้อ 5.4 ลงในหลอดเซลล์

คอมพีเทนต์ ปริมาตร 5 ไมโครลิตร แล้วผสมด้วยการดูดขึ้นลงด้วยปิเปตเบาๆ ตั้งทิ้งไว้บนน้ำแข็ง นาน 20 นาที จากนั้นนำหลอดส่วนผสมไปทำ heat-shocked ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 42 องศาเซลเซียส นาน 50 วินาที แล้วนำขึ้นมาวางบนน้ำแข็งทันทีเป็นเวลา 2 นาที ดูดส่วนผสมในหลอดใส่ลงในหลอดใหม่ที่มีอาหาร LB ปริมาตร 200 ไมโครลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง 30 นาที โดยเขย่าหลอดที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ตลอดการบ่ม ก่อนนำส่วนผสมไปวางเลี้ยงบนอาหาร LB ที่มีที่มีแอมพิซิลีน (ampicillin 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ให้สเปรทเพลทด้วย X-Gal (20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร นำเพลทไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ตั้งไว้ 1 คืน (ประมาณ14-16 ชั่วโมง) คัดเลือกโคโลนีของเซลล์ที่มีการถ่ายยีน เข้าไปสำเร็จด้วยวิธี blue/white screening โดยเลือกเก็บเฉพาะกลุ่มโคโลนีที่มีสีขาว เพื่อนำไปเลี้ยงเชื้อเพิ่มปริมาณต่อไป

5.6 การสกัดพลาสมิด และ sequencing โดยเก็บโคโลนีสีขาวจากจานเลี้ยงเชื้อด้วยไม้จิ้มฟัน แล้วนำส่วนปลายไม้จิ้มฟันที่มีโคโลนีติดจุ่มลงในหลอดอาหารเหลว LB ที่มีแอมพิซิลีน (ampicillin 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร/ 1 โคโลนี นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 คืน จากนั้นนำออกมาสกัดพลาสมิดที่มียีน *GA20- ox* ด้วยชุดสกัดสำเร็จรูป E.Z.N.A.® Plasmid DNA Miniprep Kit I ก่อนการทำพลาสมิดนำ solution II และ solution III ไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นนำเชื้อที่เลี้ยงในอาหาร LB ไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000×g นาน 1 นาที เทส่วนใสทิ้ง จากนั้นเติม solution I ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ผสมสารด้วยปิเปตเบาๆ แล้วเติม solution II ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยกลับหลอดไปมาไม่ต้องเขย่า บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 3 นาที เติม solution III ปริมาตร 350 ไมโครลิตร กลับหลอดไปมาไม่ต้องเขย่าจนกระทั่งสารละลายเข้ากัน ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 13,000×g นาน 10 นาที จากนั้นดูดส่วนใสลงใน spin column นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 13,000×g นาน 1 นาที แล้วเทส่วนใสทิ้ง เติม HBC buffer ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงในคอลัมน์ นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 13,000×g นาน 1 นาที แล้วเทสารละลายทิ้ง เติม wash buffer ปริมาตร 700 ไมโครลิตร ลงในคอลัมน์ นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 13,000×g นาน 1 นาที แล้วเทสารละลายทิ้ง ล้างด้วย wash buffer ปริมาตร 700 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 13,000×g นาน 1 นาที อีกครั้งเทสารละลายทิ้ง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 13,000×g นาน 2 นาที อีกครั้งเพื่อชะเอา wash buffer ออกให้หมดแล้วเทสารละลายทิ้ง จากนั้นนำ spin column ไปวางลงในหลอดไมโครเซนติฟิวจ์ เติม Elution ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงตรงกลางคอลัมน์ แล้วบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่

ความเร็วรอบ 13,000×g นาน 1 นาที แล้วนำไปเก็บที่ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการตรวจสอบชิ้น DNA ในขั้นตอนต่อไป

5.7 นำสารละลายดีเอ็นเอที่ได้จากขั้นตอน 5.6 ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดไมโครเซนติฟิวจ์ที่มีชุดสารละลายเอนไซม์ตัดจำเพาะ EcoRI ดังนี้ (RE 10x buffer ปริมาตร 2 ไมโครลิตร, acetylated BSA (10 µg/µl) ปริมาตร 0.2 ไมโครลิตร เอนไซม์ EcoRI ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร DNA (1 µg/µl) ปริมาตร 1 ไมโครลิตร น้ำ DEPC ปริมาตร 15.3 ไมโครลิตร) นำหลอดสารผสมไปวางที่ตู้บ่มอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง จากนั้นตรวจสอบชิ้น DNA ด้วยวิธีอิเลคโทรโฟลิซิส โดยจะปรากฏจำนวนชิ้น DNA 2 แถบ แถบบนคือเป็นชิ้น DNA ของพลาสมิด แถบล่างคือเป็นชิ้น DNA เป้าหมายซึ่งต้องมีขนาดใกล้เคียงกับที่ได้จากการออกแบบไพรเมอร์ไว้ จากนั้นนำ DNA ที่ได้ไป sequencing เพื่อหาลำดับเบสของยีน *GA20- ox*

นำลำดับเบสของ *GA20-ox* ไปเปรียบเทียบกับข้อมูลของยีน *GA20-ox* ของพืชอื่นๆ ในฐานข้อมูล NCBI จากเวปไซต์ http://www.ncbi.nhm.nih.gov/

5.8 การออกแบบไพรเมอร์จำเพาะของยีน *GA20- ox* หลังตรวจสอบลำดับเบสของยีนและพบว่าคือยีน *GA20-ox* จากตัวอย่างของลองกอง จึงนำลำดับเบสทั้งหมดไปออกแบบไพรเมอร์เฉพาะของยีนนี้ โดยโปรแกรมสำหรับการออกแบบไพรเมอร์เพื่อการทำ real-time PCR โดยเฉพาะ เพื่อนำไปใช้ในการศึกษาการแสดงออกของยีนต่อไป

6. การออกแบบไพรเมอร์จำเพาะ (specific primers)

นำลำดับเบสของยีน *GA20-ox* ที่ได้จากขั้นตอน 5.8 มาออกแบบไพรเมอร์แบบจำเพาะ โดยยีน *GA20-ox* มีชิ้นยีน 254 bp ลำดับเส้น ดังนี้

Forward 5'-ACTTCAAGTACCACTTATCG-3'

Reverse 5'- CCAGTAAAACTACTGGCATA-3'

7. การศึกษาการแสดงออกของยีน *GA20-ox*

ศึกษาการแสดงออกของยีนโดยใช้วิธีการ Quantitative real-time PCR โดยใช้ไพรเมอร์จำเพาะ (specific primers) *GA20-ox* ที่ได้จากการโคลนยีนในข้อ 6 โดยศึกษาการแสดงออกของยีน *GA20-ox* ตั้งแต่ก่อนและหลังใช้ทรีทเมนต์ชักนำการออกดอกทุกสัปดาห์เปรียบเทียบกับ housekeeping gene คือ 18S rRNA ที่ได้จากการโคลนวิธีการเช่นเดียวกับข้อ 5 โดยใช้ชุด kit ของ SYBR® GreenER™ qPCR SuperMix Universal (Invitrogen, USA) ปริมาตร 10 ไมโครลิตร/1 reaction ซึ่งประกอบด้วยสารละลาย Express SYBR® GreenER™ qPCR SuperMix Universal ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ROX Reference Dye (25 ไมโครโมล) ปริมาตร 0.2

ไมโครลิตร DEPC-treated ปริมาตร 2.2 ไมโครลิตร, 10 μM Forward primer 0.3 ไมโครลิตร, 10 μM Reverse primer 0.3 ไมโครลิตร cDNA ปริมาตร 2 ไมโครลิตร นำไปเข้าเครื่อง real-time PCR รุ่น ABI 7300 โดยตั้งอุณหภูมิและเวลาสำหรับทำปฏิกิริยาของยีน ดังนี้

ช่วงที่ 1 ใช้อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที
ช่วงที่ 2 ใช้อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที
ใช้อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที
ใช้อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที
ทำซ้ำจำนวน 40 รอบ
ช่วงที่ 3 ใช้อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที
ใช้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ไม่จำกัดเวลา

บทที่ 3

ผล

ส่วนที่ 1 ผลของการรัดลำต้นและสารพาโคลบิวทราโซลต่อการชักนำการออกดอกของลองกอง

1. เปอร์เซ็นต์การออกดอก

จากผลการทดลองพบว่า ภายหลังการรัดลำต้นและการราดสารพาโคลบิวทราโซล 3 สัปดาห์ ทุกทรีทเมนต์สามารถชักนำให้ลองกองออกดอกได้ถึง 80 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ต้นลองกองปกติในชุดควบคุมมีเปอร์เซ็นต์การออกดอกเพียง 60 เปอร์เซ็นต์ โดยคิดเปอร์เซ็นต์การออกดอกจากจำนวนต้นที่ออกดอกกับต้นลองกองทั้งหมดในแต่ละทรีทเมนต์ (1 ทรีทเมนต์ มีจำนวน 5 ต้น นับเป็น 100 เปอร์เซ็นต์) (ตารางที่ 6)

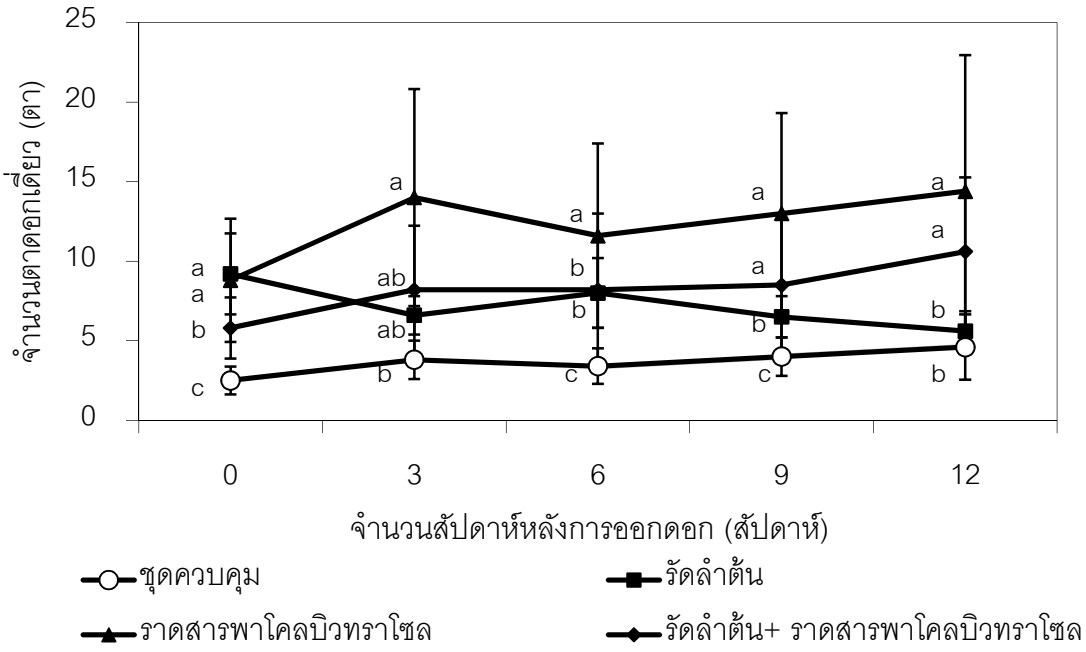
ตารางที่ 6 ผลของการรัดลำต้นและสารพาโคลบิวทราโซลต่อเปอร์เซ็นต์การออกดอกของลองกอง

ทรีทเมนต์	เปอร์เซ็นต์การออกดอก (%)
ชุดควบคุม	60
รัดลำต้น	80
ราดสารพาโคลบิวทราโซล	80
รัดลำต้น + ราดพาโคลบิวทราโซล	80

2. การออกดอก

2.1 จำนวนตาดอกเดี่ยว

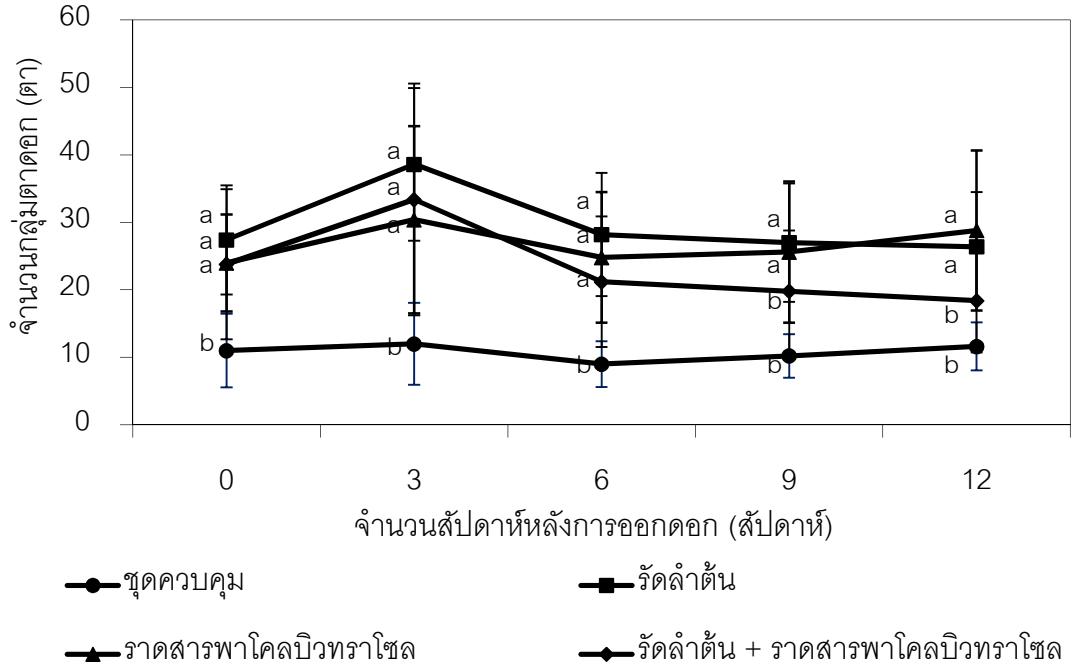
จากการเก็บข้อมูลทุก 3 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า ภายหลังการให้ทรีทเมนต์ 3 สัปดาห์ ต้นลองกองเริ่มมีตุ่มตาดอกแตกออกมาจากต้น และจากการตรวจนับจำนวนตาดอกในสัปดาห์ที่ 12 พบว่า การราดสารพาโคลบิวทราโซลทำให้ต้นลองกองมีจำนวนตุ่มตาดอกเดี่ยวมากที่สุด (14 ตา) รองลงมาคือ ต้นที่รัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซล (10 ตา) ในขณะที่ชุดควบคุมและต้นที่รัดลำต้นเพียงอย่างเดียวมีจำนวนการแตกตาดอกเดี่ยวไม่แตกต่างกัน (4 และ 5 ตา ตามลำดับ) และพบว่าในช่วงสัปดาห์ที่ 6 ถึงสัปดาห์ที่ 12 ต้นที่ให้สารพาโคลบิวทราโซลเพียงอย่างเดียว และต้นที่รัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซลมีจำนวนการแตกตาดอกเดี่ยวเฉลี่ยเพิ่มสูงขึ้น ในขณะที่ชุดควบคุมมีการแตกตาดอกค่อนข้างคงที่ (ภาพที่ 11)



ภาพที่ 11 จำนวนตาดอกเดี่ยวภายหลังการรัดลำต้น การราดสารพาโคลบิวทราโซล และการรัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซล เป็นเวลา 12 สัปดาห์ (บาร์แนวตั้ง = ±S.E.)

2.2 จำนวนกลุ่มตาดอก

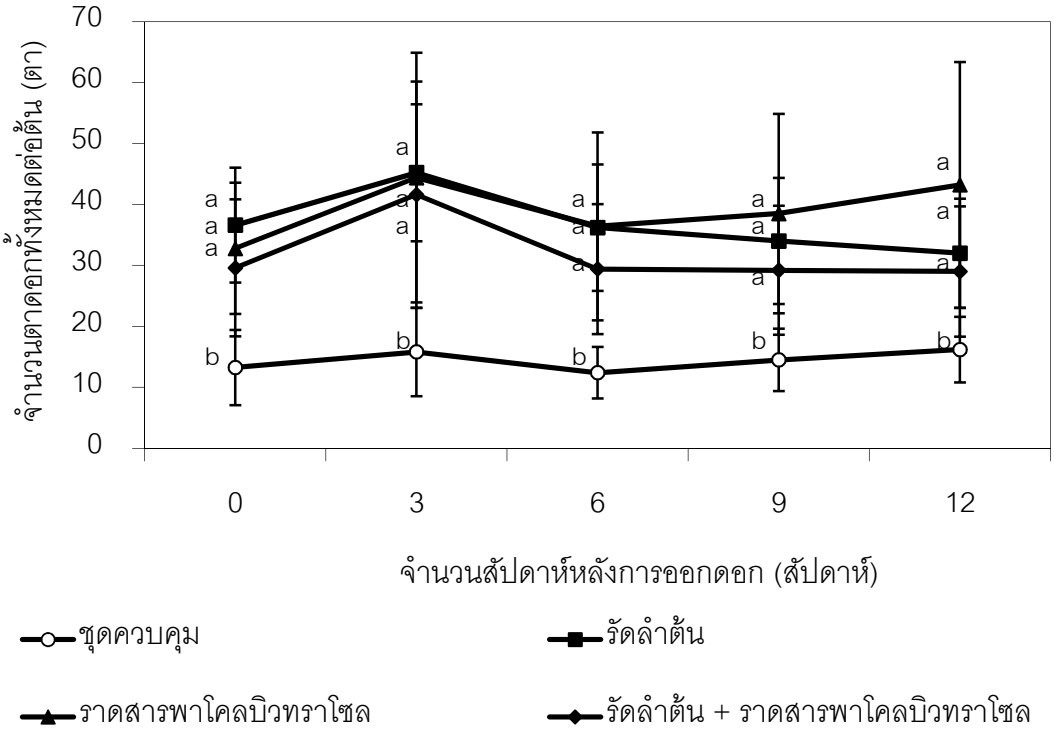
จากผลการทดลองพบว่า ในช่วงสัปดาห์ที่ 0 ถึงสัปดาห์ที่ 3 ต้นลองกองที่ให้ทรีทเมนต์มีจำนวนกลุ่มตาดอกเพิ่มสูงขึ้น ในขณะที่ต้นลองกองชุดควบคุมมีจำนวนกลุ่มตาดอกค่อนข้างคงที่ ในสัปดาห์ที่ 3 ลองกองมีการแตกตาดอกสูงสุด โดยลองกองที่รัดลำต้น ราดสารพาโคลบิวทราโซล และลองกองที่รัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซลมีจำนวนกลุ่มตาดอกใกล้เคียงกัน คือ 38, 30 และ 33 ตา ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมมีจำนวนกลุ่มตาดอกต่ำสุด คือ 12 ตา อย่างไรก็ตามภายหลังสัปดาห์ที่ 3 จนถึงสัปดาห์ที่ 12 กลุ่มตาดอกเฉลี่ยมีจำนวนลดลง เนื่องจากตาดอกที่แตกออกมาไม่พัฒนาและฝ่อไป โดยสัปดาห์สุดท้ายที่ตรวจนับ (สัปดาห์ที่ 12) ต้นลองกองที่รัดลำต้น และต้นลองกองที่ราดสารพาโคลบิวทราโซลเพียงอย่างเดียวมีจำนวนการแตกกลุ่มตาดอกสูงสุด (26 และ 28 ตา ตามลำดับ) รองลงมาคือต้นที่รัดลำต้นร่วมกับราดสารพาโคลบิวทราโซล (18 ตา) ในขณะที่ลองกองในชุดควบคุมมีการแตกจำนวนกลุ่มตาดอกน้อยที่สุด (11ตา) (ภาพที่ 12)



ภาพที่ 12 จำนวนกลุ่มตาดอกภายหลังการรัดลำต้น การราดสารพาโคลบิวทราโซล และการรัดลำต้นร่วมกับ การราดสารพาโคลบิวทราโซล เป็นเวลา 12 สัปดาห์ (บาร์แนวตั้ง = ±S.E.)

2.3 จำนวนตาดอกทั้งหมด/ต้น

จากผลการทดลองพบว่า การชักนำการออกดอกด้วยวิธีการรัดลำต้น และการราดสารพาโคลบิวทราโซลสามารถชักนำให้ลองกองออกดอกได้ โดยมีจำนวนการแตกตาดอกทั้งหมดเพิ่มสูงขึ้นในช่วงสัปดาห์ที่ 6 ถึงสัปดาห์ที่ 12 หลังการออกดอก และพบว่าในสัปดาห์ที่ 3 มีจำนวนการแตกตาดอกลองกองสูงสุด โดยการรัดลำต้น และการราดสารพาโคลบิวทราโซลเพียงอย่างเดียวสามารถชักนำให้ลองกองออกดอกได้มากที่สุด คือ 45 และ 44 ตา ตามลำดับ รองลงมาคือต้นลองกองที่รัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซลสามารถชักนำตาดอกได้ 41 ตา เมื่อเปรียบเทียบกับลองกองในชุดควบคุมซึ่งมีการแตกตาดอกแค่เพียง 15 ตาดอก (ภาพที่ 13)

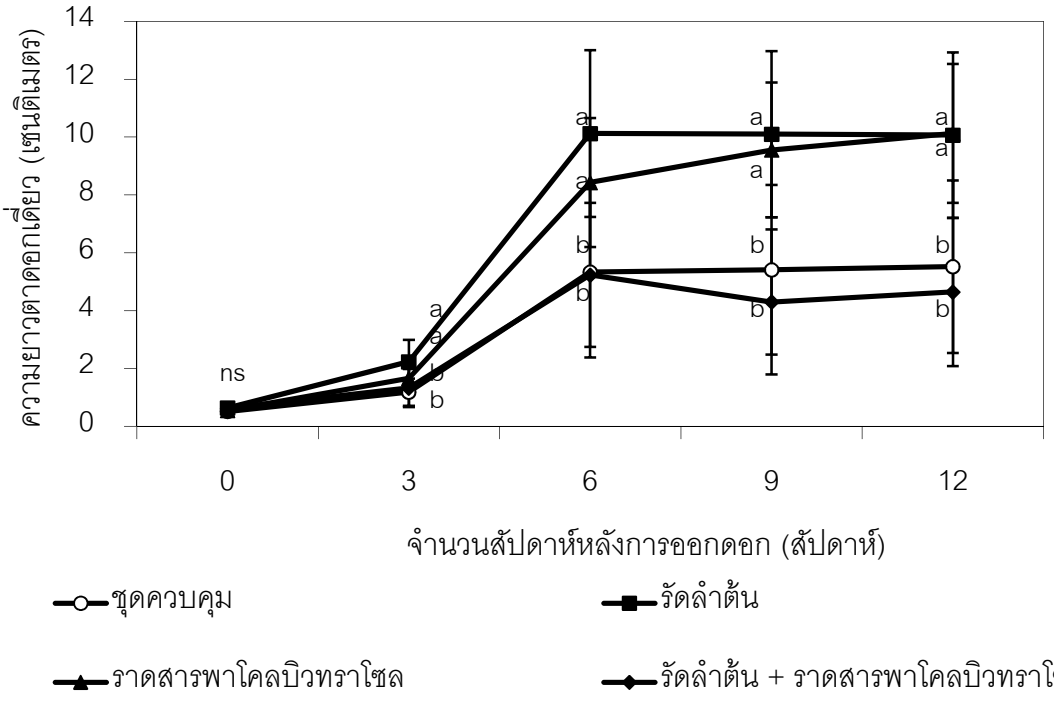


ภาพที่ 13 จำนวนตาดอกทั้งหมดภายหลังการรัดลำต้น การราดสารพาโคลบิวทราโซล และการรัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซล เป็นเวลา 12 สัปดาห์ (บาร์แนวตั้ง = ±SE)

3. ความยาวตาดอก

3.1 ความยาวตาดอกเดี่ยว

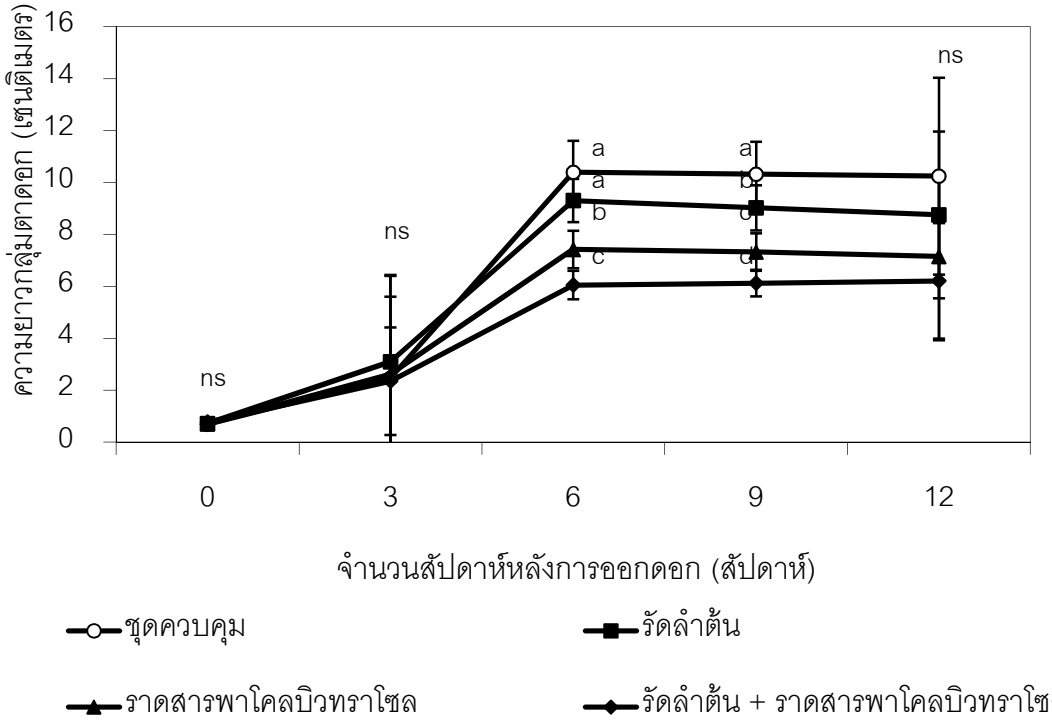
จากผลการทดลองพบว่า ความยาวตาดอกทุกทรีทเมนต์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตั้งแต่สัปดาห์แรก และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงสัปดาห์ที่ 3 จนถึงสัปดาห์ที่ 6 พบว่าลองกองในชุดควบคุม และลองกองที่รัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซลมีความยาวดอกน้อยที่สุด คือ 5.33 และ 5.23 เซนติเมตร ตามลำดับ ในขณะที่การรัดลำต้น การราดสารพาโคลบิวทราโซลมีความยาวดอกใกล้เคียงกัน คือ 11.12 และ 8.43 เซนติเมตร ตามลำดับ และพบว่าในสัปดาห์ที่ 7 ลองกองเริ่มมีการบานของดอก โดยในช่วงนี้พบว่าตาดอกมีความยาวค่อนข้างคงที่จนถึงสัปดาห์ 12 โดยลองกองจะเริ่มติดผลในสัปดาห์ที่ 10 (ภาพที่ 14, 17 และ 18)



ภาพที่ 14 ความยาวตาดอกเดี่ยวภายหลังการรัดลำต้น การราดสารพาโคลบิวทราโซล และการรัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซล เป็นเวลา 12 สัปดาห์
(บาร์แนวตั้ง = ±SE)

3.2 ความยาวกลุ่มตาดอก

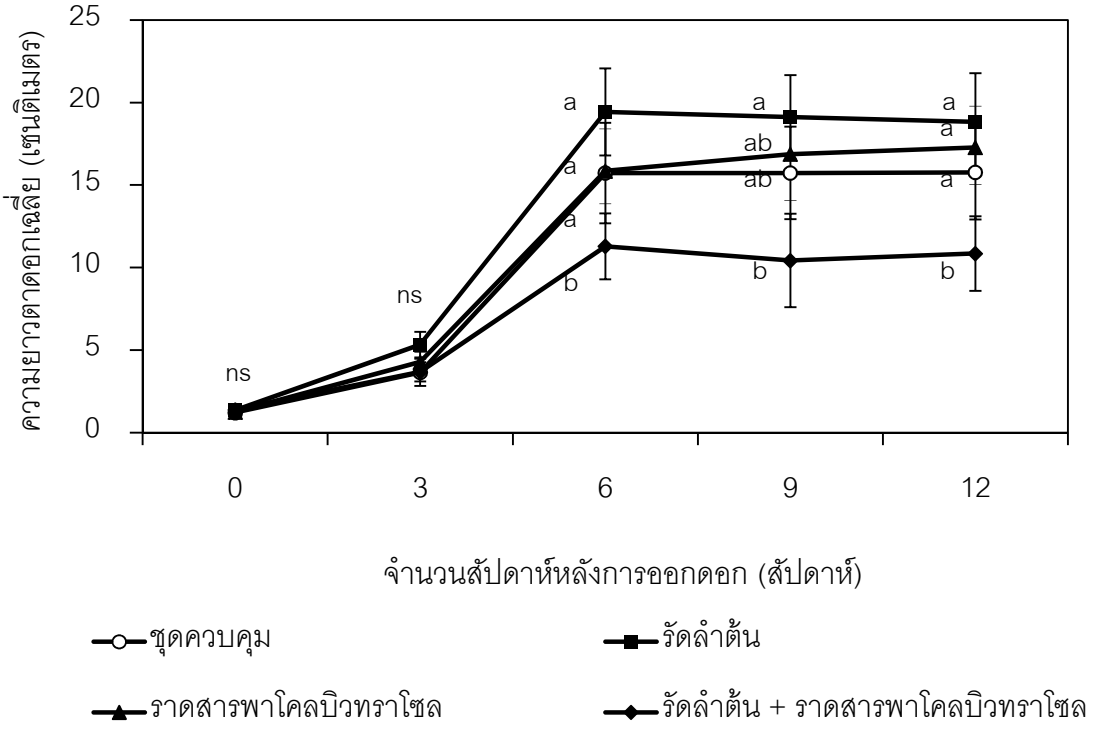
จากผลการทดลอง พบว่าความยาวของกลุ่มตาดอกจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยพบว่าในสัปดาห์แรก ทุกทรีทเมนต์มีความยาวตาดอกใกล้เคียงกัน ในสัปดาห์ที่ 3 จนถึงสัปดาห์ที่ 6 พบว่าความยาวของกลุ่มตาดอกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วโดยต้นลองกองในชุดควบคุมและการรัดลำต้นมีความยาวใกล้เคียงกันคือ 10.39 และ 9.30 เซนติเมตร ตามลำดับรองลงมา คือต้นลองกองที่ราดสารพาโคลบิวทราโซลมีความยาว 7.42 เซนติเมตร ในขณะที่ต้นลองกองที่รัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซลมีความยาวของกลุ่มตาดอกน้อยที่สุด คือ 6.05 เซนติเมตร ความยาวของกลุ่มตาดอกจะเจริญเติบโตคงที่ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 8 จนถึงสัปดาห์ที่ 12 และพบว่าในสัปดาห์ที่ 7 ลองกองเริ่มมีการบานของดอก และเริ่มติดผลในสัปดาห์ที่ 10 เช่นเดียวกับตาดอกเดี่ยว (ภาพที่ 15, 17 และ 18)



ภาพที่ 15 ความยาวตาของกลุ่มตาดอกภายหลังการรัดลำต้น การราดสารพาโคลบิวทราโซล และการรัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซล เป็นเวลา 12 สัปดาห์
(บาร์แนวตั้ง = ±SE)

3.3 ความยาวตาดอกเฉลี่ย

จากผลการทดลอง พบว่าในสัปดาห์แรก ทุกทรีทเมนต์มีความยาวตาดอกใกล้เคียงกัน พบว่าความยาวของตาดอกเฉลี่ยสูงสุดในสัปดาห์ที่ 6 โดยต้นลองกองในชุดควบคุมและลองกองที่ได้รับสารพาโคลบิวทราโซลมีความยาวใกล้เคียงกันคือ 7.80 และ 7.90 เซนติเมตร ตามลำดับ แต่พบว่าต้นลองกองที่รัดลำต้นมีความยาวเฉลี่ยของตาดอกมากที่สุดคือ 10.23 เซนติเมตร ในขณะที่ต้นลองกองที่รัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซลมีความยาวของกลุ่มตาดอกน้อยที่สุด คือ 5.61 เซนติเมตร (ภาพที่ 16, 17 และ 18)



ภาพที่ 16 ความยาวตาของตาดอกภายหลังการรัดลำต้น การราดสารพาโคลบิวทราโซล และการรัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซล เป็นเวลา 12 สัปดาห์
(บาร์แนวตั้ง = ±SE)

(ก)

(ข)

(ค)

(ง)

ภาพที่ 17 ความยาวตาดอกหลังจากให้ทรีทเมนต์ ในช่วงสัปดาห์ที่ 3 ถึงสัปดาห์ที่ 12 ภายหลังการออกดอก

(ก) ชุดควบคุม

(ข) รัดลำต้น

(ค) ราดสารพาโคลบิวทราโซล

(ง) รัดลำต้น + ราดสารพาโคลบิวทราโซล

(ก)

(ข)

(ค)

(ง)

ภาพที่ 18 ความยาวช่อผลของลองกองหลังให้ทรีทเมนต์

(ก) ชุดควบคุม

(ข) รัดลำต้น

(ค) ราดสารพาโคลบิวทราโซล

(ง) รัดลำต้น + ราดสารพาโคลบิวทราโซล

4. คุณภาพผลผลิต

4.1 ปริมาณผลผลิต

ปริมาณผลผลิตลองกอง พบว่าการรัดลำต้น การราดสารพาโคลบิวทราโซล และการรัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซลไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยลองกองมีผลผลิตอยู่ระหว่าง 6.6 - 14.4 กิโลกรัม (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 ผลผลิตของต้นลองกองที่มีการรัดลำต้น การราดสารพาโคลบิวทราโซล และการรัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซล

กลุ่มทดลอง	ปริมาณผลผลิต (กิโลกรัม/ต้น)
ชุดควบคุม	6.6 ± 0.7
รัดลำต้น	13.5 ± 5.5
ราดสารพาโคลบิวทราโซล	14.4 ± 9.8
รัดลำต้น + ราดสารพาโคลบิวทราโซล	7.0 ± 5.7
F-test	ns
C.V. (%)	65.86

ns = ค่าเฉลี่ยตัวเลขในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

4.2 จำนวนผลต่อช่อ

ลองกองทุกทรีทเมนต์มีจำนวนผลต่อช่อไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีจำนวนผลเฉลี่ยต่อช่ออยู่ระหว่าง 27 - 30 ผลต่อช่อ (ตารางที่ 8) ลองกองในชุดควบคุมมีจำนวนผลต่อช่อ 26 ผล ลองกองที่รัดลำต้นมีจำนวนผลต่อช่อ 30 ผล ลองกองที่ราดสารพาโคลบิวทราโซลมีจำนวนผลต่อช่อ 26 ผล และลองกองที่รัดลำต้นร่วมกับราดสารพาโคลบิวทราโซลมีจำนวนผลต่อช่อ 27 ผล

4.3 น้ำหนักผลเฉลี่ย

ลองกองทุกทรีทเมนต์มีน้ำหนักผลเฉลี่ยต่อช่อไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยลองกองในชุดควบคุมมีน้ำหนักผล (437.10 กรัม/ช่อ) ลองกองที่รัดลำต้น (594.50 กรัม/ช่อ) ลองกองที่ราดสารพาโคลบิวทราโซล (466.40 กรัม/ต้น) และลองกองที่รัดลำต้นร่วมกับราดสารพาโคลบิวทราโซล (434.90 กรัม/ต้น) แต่พบว่าน้ำหนักเฉลี่ยต่อผลและน้ำหนักเนื้อผลเฉลี่ยต่อผลมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% โดยพบว่าลองกองที่รัดลำต้นมีแนวโน้มมีน้ำหนักผลเฉลี่ยต่อผลมากที่สุด คือ 25.34 กรัม และพบว่าลองกองในชุดควบคุม และการราดสารพาโคลบิวทราโซลมีน้ำหนักผลเฉลี่ยต่อผลใกล้เคียงกันคือ 20.35 และ 22.37 กรัม ตามลำดับ ในขณะที่การรัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซลมีน้ำหนักผลเฉลี่ยต่อผลน้อยที่สุดคือ 19.26 กรัม สำหรับน้ำหนักเนื้อเฉลี่ยต่อผล พบว่าลองกองที่รัดลำต้นมีน้ำหนักเนื้อเฉลี่ยต่อผลมากที่สุดคือ 18.22 กรัม รองลงมาคือ ลองกองที่ราดสารพาโคลบิวทราโซลคือ 15.61 กรัม ในขณะที่ลองกองในชุดควบคุมและลองกองที่รัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซลมีน้ำหนักเนื้อเฉลี่ยต่อผลใกล้เคียงกันคือ 14.06 และ 15.07 กรัม ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าการรัดลำต้นและการราดสารพาโคลบิวทราโซลไม่มีผลต่อน้ำหนักเปลือกผล โดยลองกองมีน้ำหนักเปลือกเฉลี่ยต่อผลอยู่ระหว่าง 6.06 - 6.96 กรัม (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 ผลของการรัดลำต้น การราดสารพาโคลบิวทราโซล และการรัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซลต่อผลผลิตลองกอง

ทรีทเมนต์	จำนวนผล/ช่อ (ผล)	น้ำหนักผล/ช่อ (กรัม)	น้ำหนัก/ผล (กรัม)	น้ำหนักเปลือก/ผล (กรัม)	น้ำหนักเนื้อ/ผล (กรัม)
ชุดควบคุม	26.10 ± 2.7	437.10 ± 23.0	20.35 ± 0.7 ab	6.06 ± 0.2	14.06 ± 0.3 b
รัดลำต้น	30.10 ± 2.8	594.50 ± 75.7	25.34 ± 1.7 a	6.96 ± 0.4	18.21 ± 1.3 a
พาโคลบิวทราโซล	26.10 ± 2.4	466.40 ± 33.4	22.37 ± 2.0 ab	6.64 ± 0.7	15.60 ± 1.4 ab
รัดลำต้น + พาโคลบิวทราโซล	27.40 ± 2.4	434.90 ± 62.9	19.26 ± 1.5 b	6.07 ± 0.5	15.06 ± 1.3 b
F-test	ns	ns	*	ns	*
C.V. (%)	21.09	27.23	14.71	16.36	10.66

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ค่าเฉลี่ยในแต่ละสดมภ์ที่ตามด้วยอักษรต่างกันมีความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับ $P \leq 0.05$ ด้วยวิธี LSD

4.4 ความหนาเปลือก

ทุกทรีทเมนต์มีความหนาเปลือกไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยลองกองในชุดควบคุมมีความหนาเปลือก 2.45 มิลลิเมตร ลองกองที่รัดลำต้นมีความหนาเปลือก 1.91 มิลลิเมตร ลองกองที่ราดสารพาโคลบิวทราโซลมีความหนาเปลือก 2.05 มิลลิเมตร ลองกองที่รัดลำต้นร่วมกับราดสารพาโคลบิวทราโซลมีความหนาเปลือก 2.17 มิลลิเมตร (ตารางที่ 9)

4.5 ความยาวช่อผล

จากการทดลอง พบว่าความยาวช่อผล มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยพบว่าลองกองที่รัดลำต้นมีความยาวช่อมากที่สุดคือ 20.74 เซนติเมตร ในขณะที่ลองกองในชุดควบคุม การราดสารพาโคลบิวทราโซล และการรัดกิ่งร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซลมีความยาวช่อไม่แตกต่างกันคือ 16.74, 17.58 และ 17.63 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 9 และ ภาพที่ 19)

1.4.6 เส้นผ่านศูนย์กลางผล

เมื่อพิจารณาขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางผลของลองกองพบว่า ต้นลองกองที่รัดลำต้นและต้นลองกองที่ราดสารพาโคลบิวทราโซลมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางผลมากที่สุดคือ 33.09 และ 32.95 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในขณะที่ต้นลองกองในชุดควบคุมและต้นลองกองที่รัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซลมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางผลไม่แตกต่างกันคือ 30.73 และ 30.42 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 9)

4.7 **ความแน่นเนื้อ**

ลองกองทุกทรีทเมนต์มีความแน่นเนื้อไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยลองกองในชุดควบคุมมีความแน่นเนื้อผล 3.31 นิวตัน ต้นที่รัดลำต้นมีความแน่นเนื้อผล 3.74 นิวตัน ต้นที่ราดสารพาโคลบิวทราโซลมีความตึงผิวผล 3.07 นิวตัน และต้นที่รัดลำต้นร่วมกับราดสารพาโคลบิวทราโซลมีความแน่นเนื้อ 3.05 นิวตัน (ตารางที่ 9)

4.8 **ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้** (TSS)

การรัดลำต้นและการให้สารพาโคลบิวทราโซลไม่มีผลต่อปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ โดยลองกองในชุดควบคุมมีปริมาณในเนื้อผล 17.65 องศาบริกซ์ ต้นที่รัดลำต้นมีปริมาณในเนื้อผล 17.74 องศาบริกซ์ ต้นที่ราดสารพาโคลบิวทราโซลมีปริมาณในเนื้อผล 17.74 องศาบริกซ์ และต้นที่รัดลำต้นร่วมกับราดสารพาโคลบิวทราโซลมีปริมาณในเนื้อผล 17.61 องศาบริกซ์ (ตารางที่ 10)

4.9 **ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้** (TA)

การรัดลำต้นและการให้สารพาโคลบิวทราโซลไม่มีผลต่อปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ โดยลองกองในชุดควบคุมมีปริมาณในเนื้อผล 0.92 เปอร์เซ็นต์ ต้นที่รัดลำต้นมีปริมาณในเนื้อผล 0.98 เปอร์เซ็นต์ ต้นที่ราดสารพาโคลบิวทราโซลมีปริมาณในเนื้อผล 0.88 เปอร์เซ็นต์ และต้นที่รัดลำต้นร่วมกับราดสารพาโคลบิวทราโซลมีปริมาณในเนื้อผล 0.84 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 10)

4.10 **สัดส่วนของ** TSS/TA

การรัดลำต้นและการให้สารพาโคลบิวทราโซลไม่มีผลต่อสัดส่วนของ TSS/TA โดยสัดส่วนของ TSS/TA ของลองกองที่ให้ทรีทเมนต์อยู่ในช่วง 19.20-21.00 ลองกองในชุดควบคุมสัดส่วนของ TSS/TA คือ 19.20 ต้นที่รัดลำต้นมีสัดส่วนของ TSS/TA คือ 19.58 ต้นที่ราดสารพาโคลบิวทราโซลมีสัดส่วนของ TSS/TA คือ 20.33 และต้นที่รัดลำต้นร่วมกับราดสารพาโคลบิวทราโซลมีสัดส่วนของ TSS/TA คือ 21.00 (ตารางที่ 10)

(ก)

(ข)

(ค)

(ง)

ภาพที่ 19 ความยาวช่อผลของลองกองแต่ละทรีทเมนต์

(ก) ชุดควบคุม

(ข) การรัดลำต้น

(ค) ราดสารพาโคลบิวทราโซล

(ง) รัดลำต้น + ราดสารพาโคลบิวทราโซล

ตารางที่ 9 ผลของการรัดลำต้น การราดสารพาโคลบิวทราโซล และการรัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซลต่อคุณภาพผลผลิตของลองกอง

กลุ่มทดลอง	ความยาวช่อ (เซนติเมตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางผล (มิลลิเมตร)	ความหนาเปลือก (มิลลิเมตร)	ความแน่นเนื้อ (นิวตัน)
ชุดควบคุม	16.7 ± 0.4 b	30.7 ± 0.1 b	2.5 ± 0.1	3.3 ± 0.3
รัดลำต้น	20.7 ± 0.7 a	33.1 ± 0.7 a	1.9 ± 0.1	3.7 ± 0.5
พาโคลบิวทราโซล	17.6 ± 1.0 b	33.0 ± 0.5 a	2.1 ± 0.3	3.1 ± 0.2
รัดลำต้น + พาโคลบิวทราโซล	17.6 ± 1.0 b	30.4 ± 0.6 b	2.2 ± 0.3	3.1 ± 0.2
F-test	*	*	ns	ns
C.V. (%)	9.42	3.75	14.55	20.44

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ค่าเฉลี่ยในแต่ละสดมภ์ที่ตามด้วยอักษรต่างกันมีความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับ $P \leq 0.05$ ด้วยวิธี LSD

ตารางที่ 10 ผลของการรัดลำต้น การราดสารพาโคลบิวทราโซล และการรัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซลคุณภาพภายในของลองกอง

กลุ่มทดลอง	ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) (° บริกซ์)	ปริมาณกรด ที่ไทเทรตได้ (TA) (%)	TSS/TA
ชุดควบคุม	17.65 ± 0.20	0.92 ± 0.02	19.20 ± 0.59
รัดลำต้น	17.74 ± 0.20	0.98 ± 0.19	19.58 ± 2.52
พาโคลบิวทราโซล	17.74 ± 0.70	0.88 ± 0.05	20.33 ± 1.42
รัดลำต้น + พาโคลบิวทราโซล	17.61 ± 0.40	0.84 ± 0.04	21.00 ± 0.94
F-test	ns	ns	ns
C.V.	3.76	18.85	15.43

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

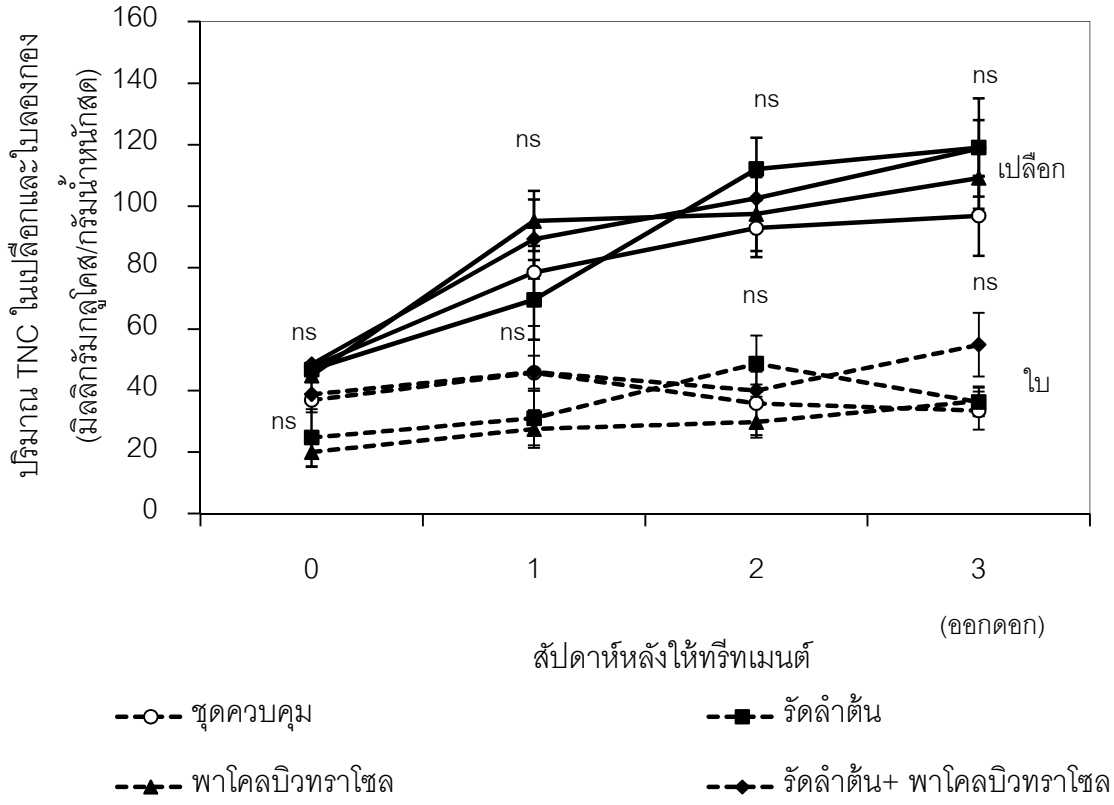
ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้างของลองกอง

1. ในเปลือก

การศึกษาปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่อยู่ในรูปโครงสร้าง (TNC) ในเปลือกลองกองที่มีการรัดลำต้น การราดสารพาโคลบิวทราโซล และการรัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซล โดยวัดปริมาณตั้งแต่ก่อนให้ทรีทเมนต์จนกระทั่งออกดอก จากผลการทดลองพบว่าก่อนให้ทรีทเมนต์ (สัปดาห์ที่ 0) ทุกทรีทเมนต์มีปริมาณของ TNC ในเปลือกลองกองไม่แตกต่างกัน และพบว่าในทุกทรีทเมนต์ในการชักนำการออกดอกส่งผลให้ TNC มีปริมาณเพิ่มขึ้นหลังจากลองกองได้รับทรีทเมนต์จนกระทั่งเริ่มมีตุ่มตาดอก (สัปดาห์ที่ 1-3) และเมื่อพิจารณาถึงระดับของปริมาณคาร์โบไฮเดรตในสัปดาห์สุดท้ายก่อนออกดอก (สัปดาห์ที่ 3) พบว่าชุดควบคุมมีปริมาณ TNC น้อยที่สุด คือ 96.90 มิลลิกรัมกลูโคส/กรัมน้ำหนักสด และการรัดลำต้นมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสะสมมากที่สุด คือ 119.06 มิลลิกรัมกลูโคส/กรัมน้ำหนักสด (ภาพที่ 20)

2. ในใบ

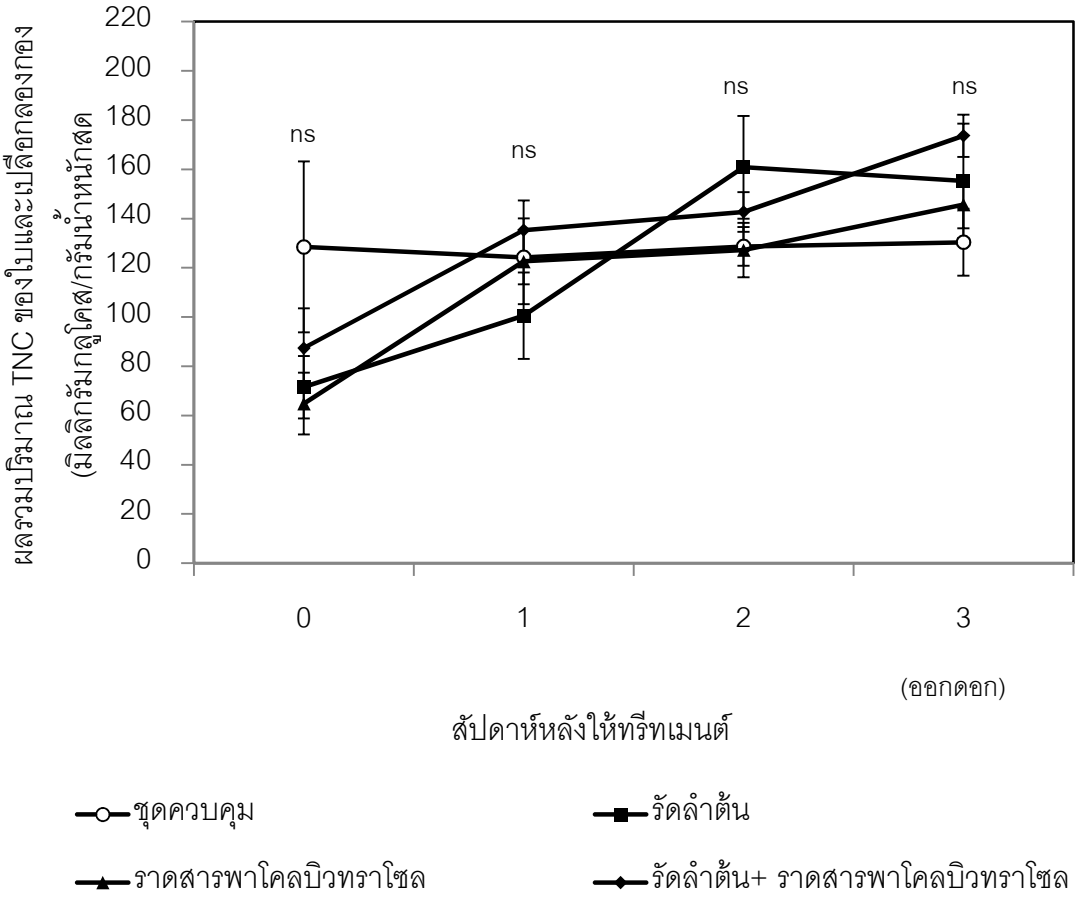
สำหรับปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้างในใบลองกอง พบว่ามีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นตั้งแต่ก่อนให้ทรีทเมนต์จนกระทั่งก่อนแตกตาดอก (สัปดาห์ที่ 0-2) และจะมีปริมาณลดต่ำลงในช่วงที่ลองกองเริ่มแตกตาดอก (สัปดาห์ที่ 3) และเมื่อพิจารณาในแต่ละทรีทเมนต์พบว่าในสัปดาห์สุดท้ายก่อนออกดอกการรัดกิ่งร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซลมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตมากที่สุด คือ 54.93 มิลลิกรัมกลูโคส/กรัมน้ำหนักสด ในขณะที่ชุดควบคุม การรัดลำต้น และการราดสารพาโคลบิวทราโซลมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้างใกล้เคียงกัน คือ 33.47, 36.31 และ 36.54 มิลลิกรัมกลูโคส/กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ (ภาพที่ 20)



ภาพที่ 20 ปริมาณ TNC ในเปลือกและใบ (มิลลิกรัมกลูโคส/กรัมน้ำหนักสด) ของลองกองในช่วงก่อนให้ทรีทเมนต์จนกระทั่งออกดอก (บาร์แนวตั้ง = ±SE)

3. ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้างทั้งหมด

จากการทดลอง พบว่าผลรวมของการเปลี่ยนแปลงปริมาณ TNC ในเปลือกและในใบของต้นลองกองในสัปดาห์แรกก่อนให้ทรีทเมนต์ชุดควบคุมมีปริมาณ TNC สูงที่สุด ในขณะที่ต้นลองกองที่ถูกรัดลำต้นและได้รับสารพาโคลบิวทราโซลทุกทรีทเมนต์มีค่าน้อยกว่าชุดควบคุม (สัปดาห์ที่ 0) แต่เมื่อให้ทรีทเมนต์กับต้นลองกอง พบว่าชุดควบคุมมีผลรวมของการเปลี่ยนแปลงปริมาณ TNC ในเปลือกและในใบคงที่ตลอดการทดลอง (สัปดาห์ที่ 0-3) ในขณะที่ต้นลองกองที่ถูกรัดลำต้นและได้รับสารพาโคลบิวทราโซลทุกทรีทเมนต์มีปริมาณ TNC ค่อยๆ เพิ่มขึ้นจนกระทั่งมีปริมาณมากกว่าชุดควบคุมในสัปดาห์ที่ออกดอก (สัปดาห์ที่ 3) (ภาพที่ 21)



ภาพที่ 21 ผลรวมของปริมาณ TNC ระหว่างใบและเปลือก (มิลลิกรัมกลูโคส/กรัมน้ำหนักสด) ของลองกองในช่วงก่อนให้ทรีทเมนต์จนกระทั่งออกดอก (บาร์แนวตั้ง = ±SE)

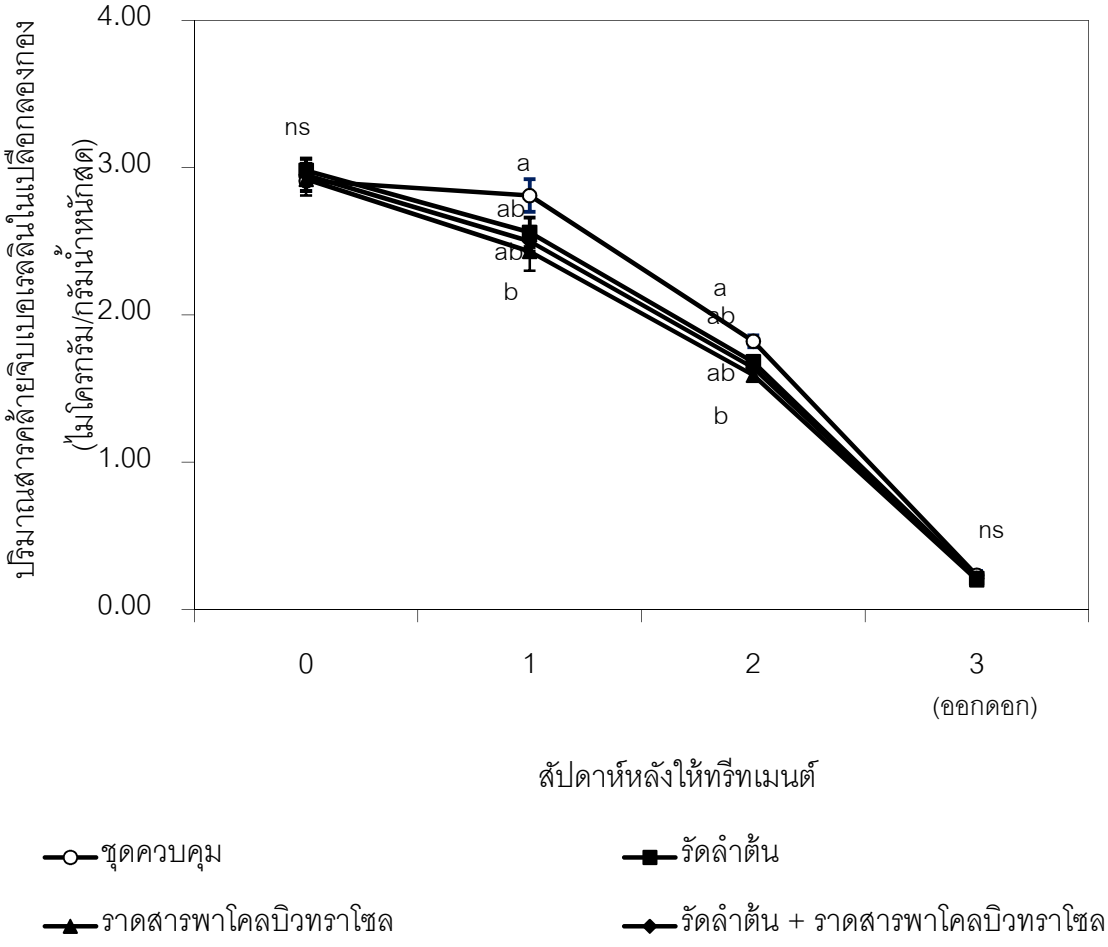
ส่วนที่ 2 ผลของการรัดลำต้นและสารพาโคลบิวทราโซลต่อปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในเปลือกกิ่งและใบลองกองก่อนการออกดอก

1. ในเปลือก

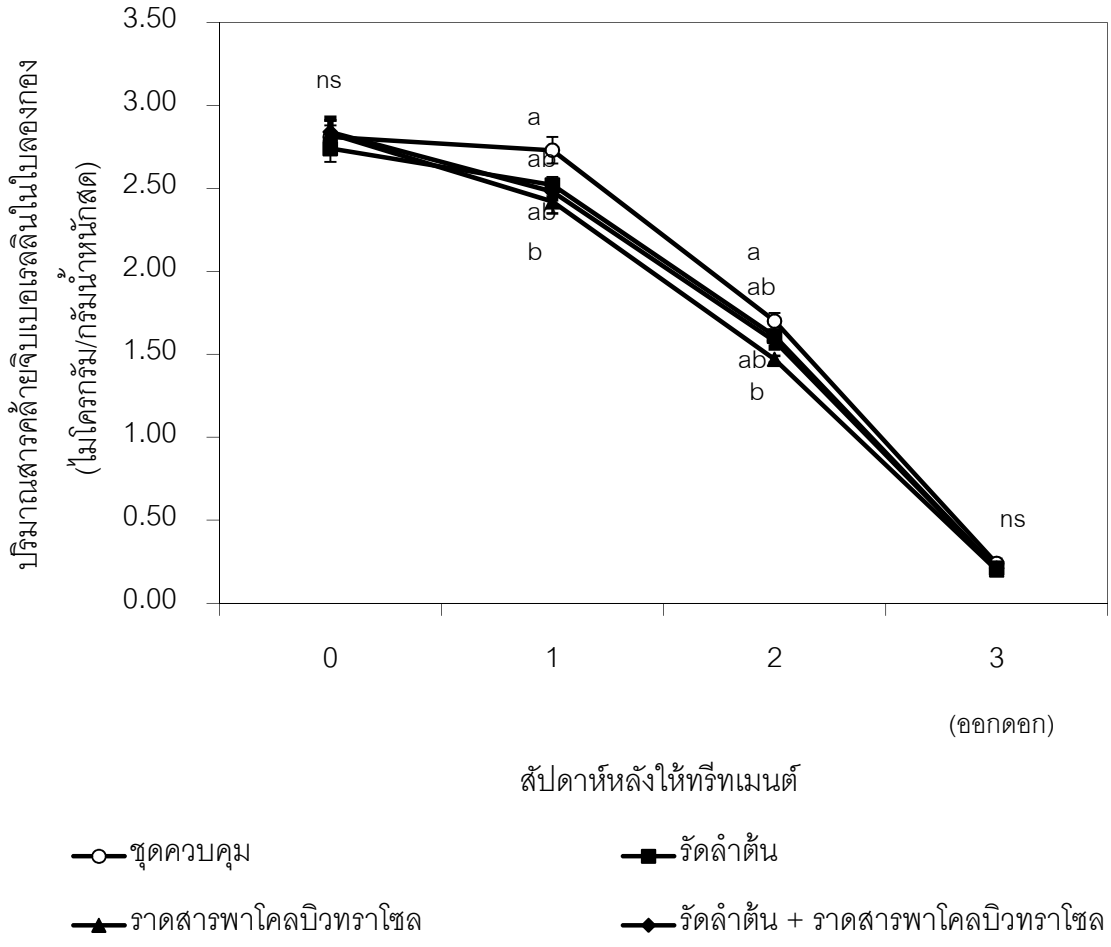
จากผลการทดลอง ในเปลือกกิ่งลองกองพบว่าในสัปดาห์ก่อนการให้ทรีทเมนต์ (สัปดาห์ที่ 0) ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินทุกทรีทเมนต์มีปริมาณไม่แตกต่างกัน และจะเริ่มแตกต่างกันในสัปดาห์แรกหลังการให้ ทรีทเมนต์ (สัปดาห์ที่ 1) โดยพบว่าชุดควบคุมจะมีปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินมากที่สุด คือ 2.81 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด รองลงมาคือลองกองที่รัดลำต้น และลองกองที่รัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซลซึ่งมีปริมาณใกล้เคียงกัน คือ 2.56 และ 2.50 ไมโครกรัมกรัม/กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ และพบว่าการราดสารพาโคลบิวทราโซลทำให้ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินมีการสังเคราะห์น้อยที่สุด คือ 2.43 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด นอกจากนี้ยังพบว่าหลังการให้ทรีทเมนต์ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินจะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงสัปดาห์ที่ 1 และ 2 ก่อนการออกดอก และมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึงสัปดาห์ที่ออกดอก (สัปดาห์ที่ 3) ซึ่งพบว่าในสัปดาห์ที่ออกดอกปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินมีปริมาณไม่แตกต่างกัน (ภาพที่ 22)

2. ในใบ

จากผลการทดลอง ในใบลองกองพบว่าในสัปดาห์ก่อนการให้ทรีทเมนต์ (สัปดาห์ที่ 0) ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินทุกทรีทเมนต์มีปริมาณไม่แตกต่างกันเช่นเดียวกับในเปลือกกิ่ง และให้ผลในทิศทางเดียวกับในเปลือกกิ่งลองกอง โดยปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินจะเริ่มแตกต่างกันหลังให้ทรีทเมนต์ 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 1) พบว่าชุดควบคุมมีปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินคือ 2.73 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด รองลงมาคือลองกองที่รัดลำต้น และลองกองที่ใช้สองวิธีร่วมกันคือ 2.52 และ 2.48 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ และพบว่าการราดสารพาโคลบิวทราโซลทำให้มีปริมาณการสังเคราะห์สารคล้ายจิบเบอเรลลินน้อยที่สุดเช่นเดียวกับในเปลือกกิ่งลองกอง คือ 2.42 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด โดยปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินจะมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องตั้งแต่สัปดาห์หลังให้ทรีทเมนต์จนถึงสัปดาห์ที่ออกดอก (สัปดาห์ที่ 1-3) (ภาพที่ 23)



ภาพที่ 22 ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในเปลือกลองกองในช่วงก่อนให้ทรีทเมนต์จนกระทั่งออกดอก (บาร์แนวตั้ง = ±SE)

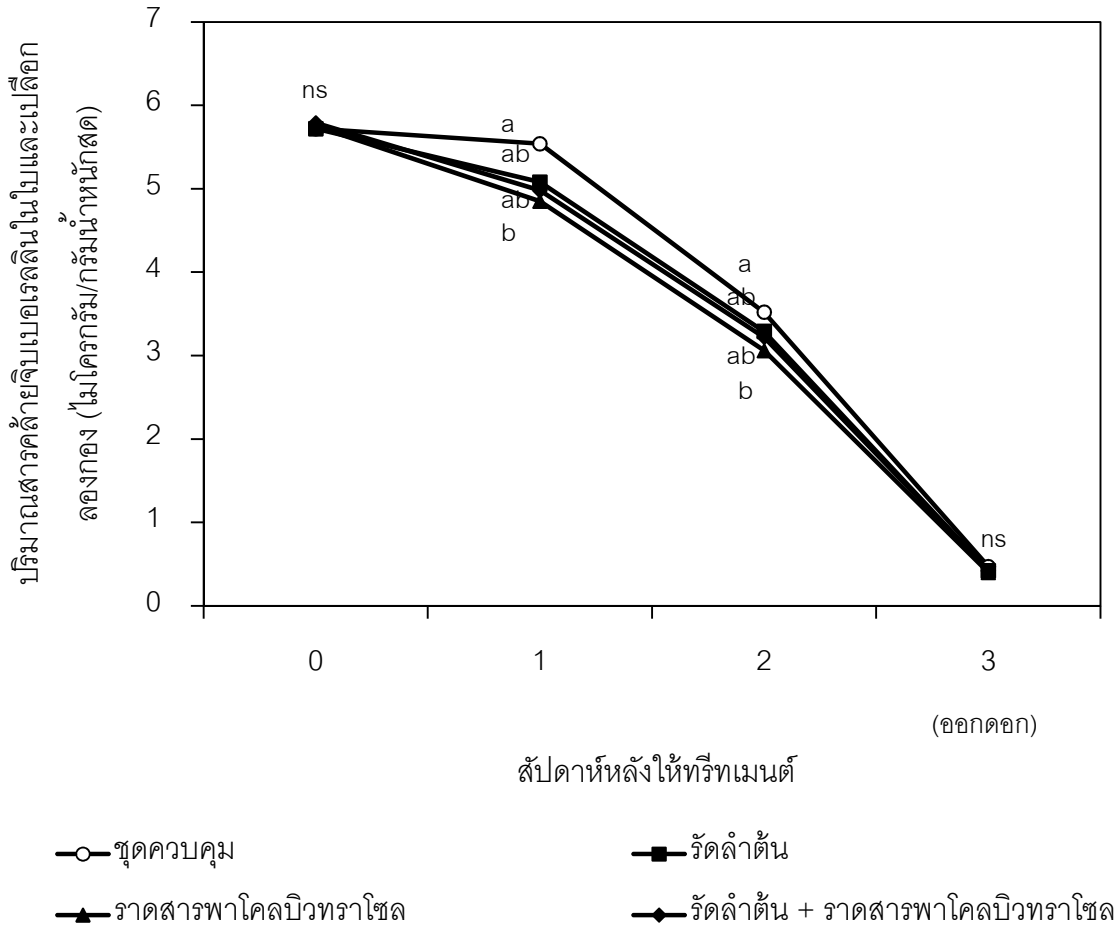


ภาพที่ 23 ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในใบลองกองในช่วงก่อนให้ทรีทเมนต์จนกระทั่งออกดอก (บาร์แนวตั้ง = ±SE)

3. ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินทั้งหมด

จากการทดลอง พบว่าผลรวมของปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในใบและเปลือกลองกอง ในสัปดาห์ก่อนการให้ทรีทเมนต์ (สัปดาห์ที่ 0) ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินทุกทรีทเมนต์มีปริมาณไม่แตกต่างกัน โดยสัปดาห์ที่ 1 หลังให้ทรีทเมนต์ พบว่าชุดควบคุมมีปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินสูงสุดคือ 5.54 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด รองลงมาคือลองกองที่รัดลำต้น และลองกองที่ใช้สองวิธีร่วมกันคือ 5.08 และ 4.98 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ และพบว่าการราดสารพาโคลบิวทราโซลทำให้มีปริมาณการสังเคราะห์สารคล้ายจิบเบอเรลลินน้อยที่สุดคือ 4.85 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด โดยปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินมี

แนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องตั้งแต่สัปดาห์หลังให้ทรีทเมนต์จนถึงสัปดาห์ที่ออกดอก (สัปดาห์ที่ 1-3) (ภาพที่ 24)

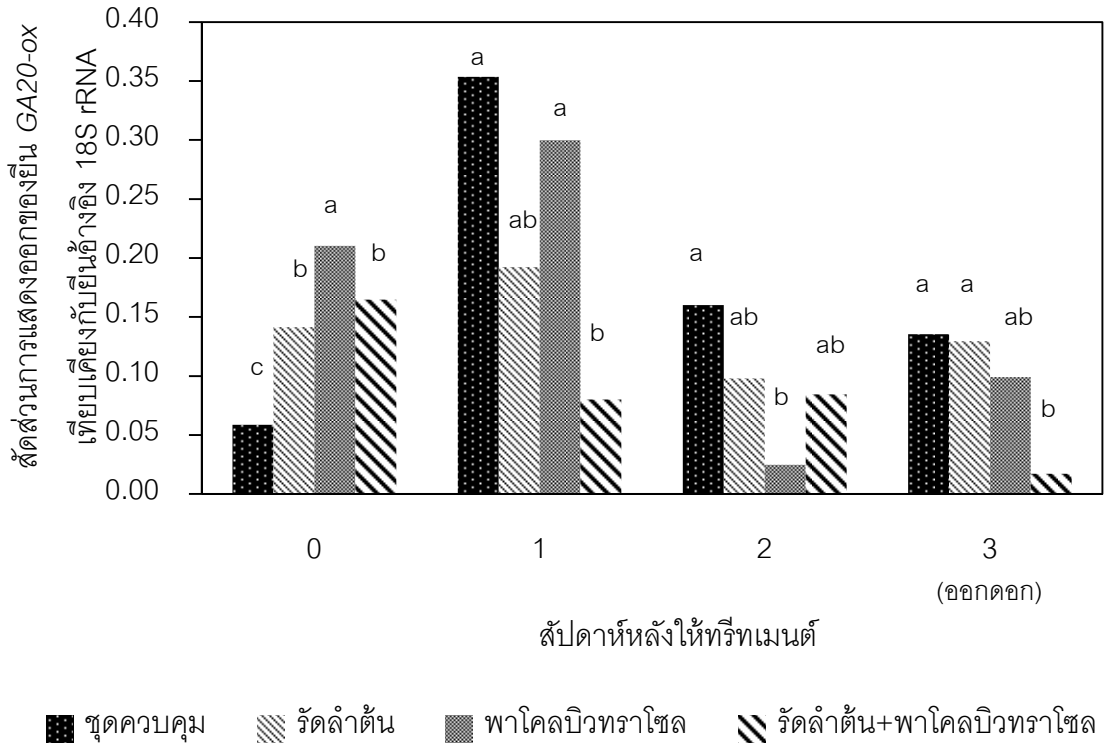


ภาพที่ 24 ผลรวมปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในเปลือกและใบลองกองในช่วงก่อนให้ทรีทเมนต์จนกระทั่งออกดอก (บาร์แนวตั้ง = ±SE)

ส่วนที่ 3 ผลของการรัดลำต้นและสารพาโคลบิวทราโซลต่อการแสดงออกของยีน *GA20- ox* ของลองกอง

1. การแสดงออกของยีน *GA20-ox* ในเปลือกลองกอง

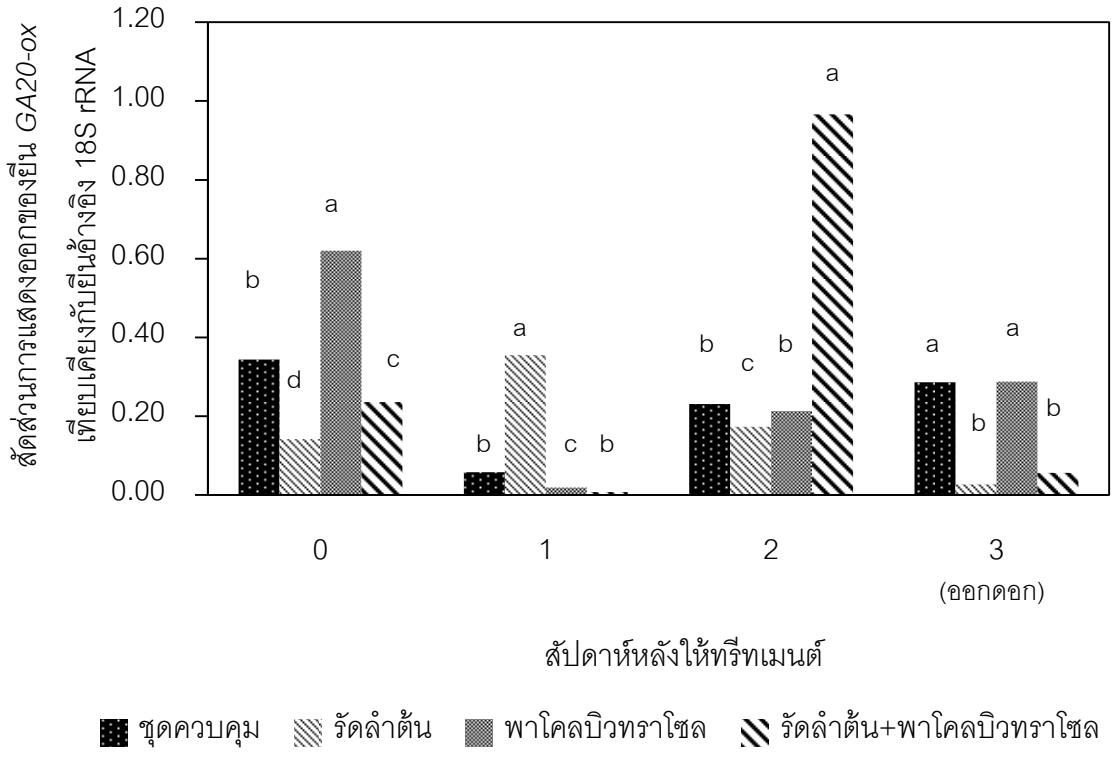
เมื่อวิเคราะห์ระดับการแสดงออกของยีน *GA20-ox* ด้วยวิธี quantitative RT-PCR เทียบเคียงกับยีนอ้างอิง 18s rRNA พบว่าในเปลือกลอง การแสดงออกของยีน *GA20-ox* จะแสดงออกลดลงในช่วงสัปดาห์ที่ 2 หลังจากให้ทรีทเมนต์ และพบว่าการราดสารพาโคลบิวทราโซลเพียงอย่างเดียว ทำให้การแสดงออกของยีน *GA20-ox* ลดลงต่ำสุดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และในสัปดาห์ที่ออกดอกพบว่า ทุกทรีทเมนต์มีผลทำให้การแสดงออกของยีน *GA20-ox* แสดงออกน้อยลง ในขณะที่ชุดควบคุมมีการแสดงออกของยีนมากที่สุด โดยการรัดลำต้นร่วมกับสารพาโคลบิวทราโซล ทำให้การแสดงออกของยีน *GA20-ox* แสดงออกน้อยที่สุด (ภาพที่ 25)



ภาพที่ 25 สัดส่วนการแสดงออกของยีน *GA20-ox* เทียบเคียงกับยีนอ้างอิง 18S rRNA ในเปลือกลองกองในช่วงก่อนให้ทรีทเมนต์จนกระทั่งออกดอก

2. การแสดงออกของยีน *GA20-ox* ในใบลองกอง

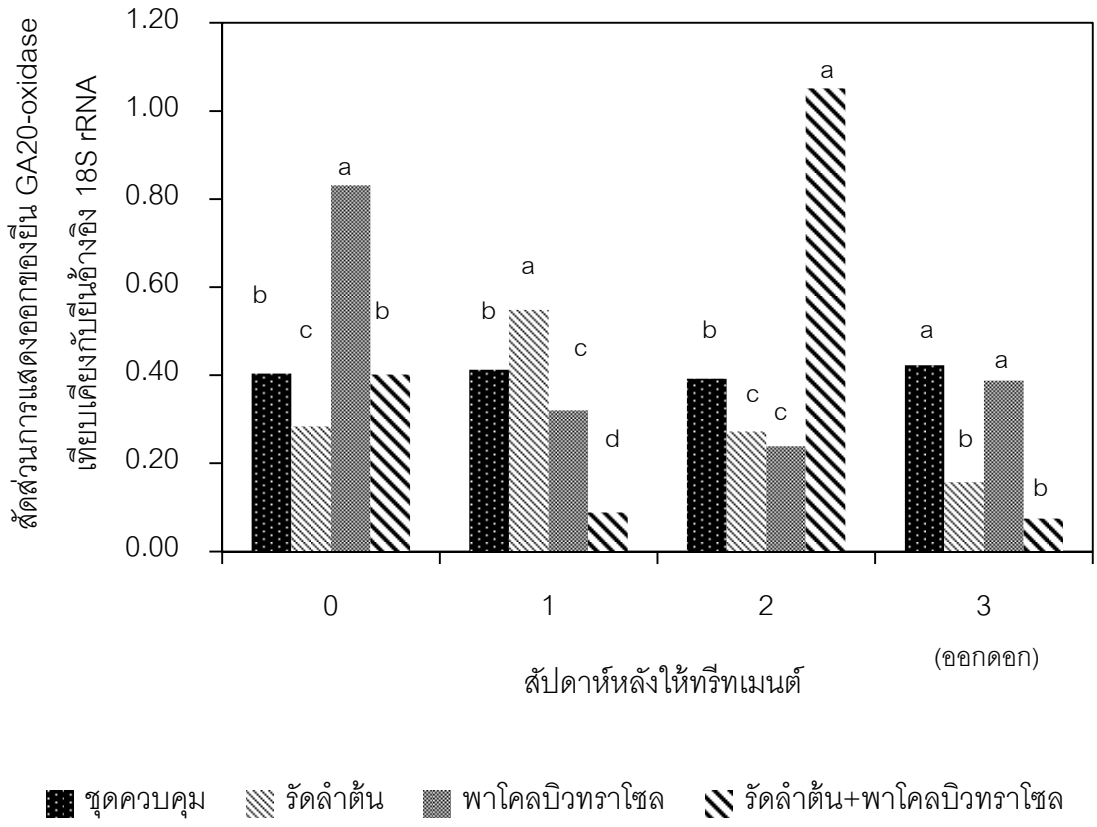
เมื่อวิเคราะห์ระดับการแสดงออกของยีน *GA20-ox* พบว่าในใบลองกอง การแสดงออกของยีน *GA20-ox* จะแสดงออกลดลงในช่วงสัปดาห์ที่ 1 หลังจากให้ทรีทเมนต์ และจะแสดงออกเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 2 หลังให้ทรีทเมนต์ และลดลงอีกครั้งในช่วงออกดอก โดยในสัปดาห์แรกหลังให้ทรีทเมนต์การรัดลำต้นร่วมกับสารพาโคลบิวทราโซลมีการแสดงออกน้อยที่สุด แต่พบว่าต้นลองกองที่รัดลำต้นเพียงอย่างเดียวมีการแสดงออกมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบชุดควบคุม แต่อย่างไรก็ตามการให้ทรีทเมนต์ไม่มีความสัมพันธ์กับการแสดงออกของยีนในใบ (ภาพที่ 26)



ภาพที่ 26 สัดส่วนการแสดงออกของยีน *GA20-ox* เทียบเคียงกับยีนอ้างอิง 18S rRNA ในใบลองกองในช่วงก่อนให้ทรีทเมนต์จนกระทั่งออกดอก

3. การแสดงออกของยีน *GA20-ox* ทั้งในเปลือกและใบลองกอง

จากการทดลอง พบว่าผลรวมของการแสดงออกของยีน *GA20-ox* ในเปลือกและในใบของต้นลองกอง พบว่าการแสดงออกของยีน *GA20-ox* ในชุดควบคุมมีการแสดงออกค่อนข้างคงที่ตั้งแต่ก่อนให้ทรีทเมนต์จนกระทั่งออกดอก (สัปดาห์ที่ 0-3) ในขณะที่การราดสารพาโคลบิวทราโซลเพียงอย่างเดียวทำให้การแสดงออกของยีน *GA20-ox* ลดลงในช่วงสัปดาห์ที่ 1 และ 2 หลังจากให้ทรีทเมนต์เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และจะแสดงออกเพิ่มขึ้นอีกครั้งในช่วงออกดอก (สัปดาห์ที่ 3) และพบว่าการรัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซลทำให้การแสดงออกของยีน *GA20-ox* แสดงออกน้อยที่สุดตั้งแต่สัปดาห์แรกจนกระทั่งออกดอก (ภาพที่ 27)



ภาพที่ 27 สัดส่วนการแสดงออกของยีน *GA20-ox* เทียบเคียงกับยีนอ้างอิง 18S rRNA ในใบและเปลือกลองกองในช่วงก่อนให้ทรีทเมนต์จนกระทั่งออกดอก

บทที่ 4

วิจารณ์

การชักนำการออกดอกของลองกองโดยการรัดลำต้น การราดสารพาโคลบิวทราโซล และการใช้ 2 วิธีร่วมกัน พบว่าการออกดอกของลองกองเกิดขึ้นภายหลังการให้ทรีทเมนต์ 3 สัปดาห์ และออกดอกได้มากกว่าชุดควบคุม 3 เท่า ซึ่งทำการทดลองในช่วงเดือนกรกฎาคมที่เป็นช่วงฤดูฝน โดยปกติลองกองจะออกดอกในช่วงเดือนมีนาคมถึงเมษายน และเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ในช่วงเดือนสิงหาคมถึงกันยายน โดยการออกดอกของลองกองจะต้องผ่านช่วงแล้งไประยะหนึ่งก่อนจึงจะออกดอก (เปรมปรี, 2541) จากการทดลองเห็นได้ว่าถึงแม้จะเป็นการชักนำการออกดอกนอกฤดูการผลิต วิธีการชักนำการออกดอกสามารถทำให้ลองกองออกดอกได้มากกว่าลองกองในชุดควบคุม เนื่องจากลองกองเป็นไม้ผลที่ไม่จำเป็นต้องได้รับช่วงแล้งยาวนานเท่าไม้ผลเขตร้อนชนิดอื่นๆ ก็สามารถออกดอกได้ (ลดาวัลย์ และสุภาณี, 2556) เมื่อพิจารณาข้อมูลปริมาณน้ำฝนที่ฝนไม่ตกหรือช่วงแล้งก่อนทำการทดลองจากกรมอุตุวิทยา พบว่าก่อนทำการทดลองมีช่วงแล้งในวันที่ 11 มิ.ย 2555 ถึง 23 มิ.ย 2555 (ภาคผนวกที่ 3) ประมาณ 13 วัน ซึ่งเป็นสภาพเครียดที่เพียงพอต่อการออกดอกของลองกอง

จากการทดลองของ ลดาวัลย์ และสุภาณี (2556) ที่ชักนำให้ลองกองออกดอกด้วยวิธีการรัดลำต้นและการราดสารพาโคลบิวทราโซล สามารถชักนำให้ลองกองออกดอกได้ภายหลังการให้ทรีทเมนต์เพียง 15 วัน อาจกล่าวได้ว่าการรัดลำต้นและการให้สารพาโคลบิวทรา-โซลสามารถทดแทนความต้องการช่วงแล้งและสภาพเครียดที่เกิดจากการขาดน้ำของพืชได้ นอกจากนี้ จากการทดลองพบว่าการรัดลำต้น และการราดสารพาโคลบิวทราโซลสามารถทำให้ลองกองออกดอกได้ถึง 80 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ต้นลองกองปกติในชุดควบคุมมีเปอร์เซ็นต์การออกดอกเพียง 60 เปอร์เซ็นต์ โดยการราดสารพาโคลบิวทราโซลทำให้ลองกองมีการออกดอกจำนวนมากทั้งจำนวนตาดอกเดี่ยวและจำนวนตากลุ่ม อย่างไรก็ตาม การใช้สารพาโคลบิวทราโซลมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของตาดอก โดยพบว่าทรีทเมนต์ที่ให้สารพาโคลบิวทราโซลทำให้กลุ่มตาดอกสั้น และการยืดยาวช้ากว่าดอกชุดควบคุม และทรีทเมนต์ที่รัดลำต้นเพียงอย่างเดียวทำให้ต้นลองกองโทรมและใบร่วง ภายหลังได้รับสารประมาณ 1 เดือน ซึ่งอาจเกิดจากผลของสารพาโคลบิวทราโซลที่ไปกระตุ้นให้ลองกองเกิดการแตกตาดอก ทั้งดอกเดี่ยวและกลุ่มตาดอกจำนวนมาก ทำให้เกิดการแย่งอาหารที่ได้จากการสังเคราะห์แสงไปเลี้ยงดอกที่ออกดอกมา

(Chailakhyan, 1968) และการราดสารพาโคลบิวทราโซลทางดินซึ่งสัมผัสกับรากของต้นลองกองโดยตรง ซึ่งโดยปกติต้นลองกองจะมีการแผ่กระจายของรากอยู่บริเวณรอบทรงพุ่มระดับผิวดินประมาณ 20 เซนติเมตร (มงคล และคณะ, 2544) รากลองกองจึงสัมผัสกับสารโดยตรง ทำให้ลักษณะการแตกตาดอกของลองกองแตกออกมาเป็นกระจุกหนาแน่น นอกจากนี้ สารพาโคลบิวทราโซลยังมีผลตกค้างของสารภายในต้นพืชยาวนานถึง 6 เดือน (Adil *et al*., 2011) อาจส่งผลให้การเจริญเติบโตและการออกดอกของลองกองในปีถัดไปช้าลง

สำหรับการรัดลำต้นจากการทดลอง พบว่าในการชักนำการออกดอกวิธีการรัดลำต้นให้ผลไม่แตกต่างกับการราดสารพาโคลบิวทราโซล โดยสามารถชักนำให้ลองกองออกดอกได้ถึง 3 เท่าเช่นกันเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม เนื่องจาก ลองกองที่รัดลำต้นทำให้การสะสมปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งในใบและในเปลือกมีปริมาณสูงจึงทำให้การสะสมอาหารเพียงพอต่อการออกดอก เพราะการรัดลำต้นเป็นการตัดท่ออาหาร ทำให้เกิดการขัดขวางการส่งคาร์โบไฮเดรตจากใบผ่านท่ออาหารไปสู่ระบบราก ทำให้มีการสะสมอาหารอยู่บริเวณเหนือรอยควั่น ซึ่งจะกระตุ้นให้เกิดการออกดอกได้ (สุรพล, 2550; Rivas *et al.,* 2006) แต่อย่างไรก็ตาม ทั้งสองวิธีการจะชักนำให้ลองกองออกดอกได้ไม่ต่างกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบสภาพต้นลองกองหลังจากรัดลำต้นกับต้นลองกองที่ได้รับสารพาโคลบิวทราโซล พบว่าต้นลองกองที่รัดลำต้นมีสภาพต้นปกติเช่นเดียวกับชุดควบคุม ในขณะที่ต้นที่ได้รับสารพาโคลบิวทราโซลมีลักษณะโทรม แสดงให้เห็นว่าการรัดลำต้นเป็นวิธีการที่สามารถชักนำการออกดอกของลองกองได้ดีและไม่มีผลกระทบต่อกระบวนการเจริญเติบโตของต้นพืช

ด้านน้ำหนักผลผลิตต่อต้น พบว่าผลผลิตลองกองอยู่ระหว่าง 6.6-14.4 กิโลกรัม โดยลองกองที่รัดลำต้นและลองกองที่ราดสารพาโคลบิวทราโซลเพียงอย่างเดียว สามารถช่วยเพิ่มปริมาณผลผลิตเฉลี่ยต่อต้นของลองกองได้ ด้านคุณภาพผลผลิตจากการทดลอง พบว่าการรัดลำต้นและการราดสารพาโคลบิวทราโซลไม่มีผลต่อจำนวนผลต่อช่อ น้ำหนักผลเฉลี่ยต่อช่อ ความหนาเปลือก ความแน่นเนื้อ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ และปริมาณกรดที่ไตเทรตได้ของลองกอง แต่วิธีการรัดลำต้นมีผลทำให้ลองกองมีคุณภาพผลดีขึ้นทางด้านความยาวช่อ เส้นผ่านศูนย์กลางของผล ทำให้ผลมีขนาดใหญ่ขึ้น มีน้ำหนักผลและน้ำหนักเนื้อผลเพิ่มมากขึ้น และไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพทางด้านรสชาติของลองกองเห็นได้จากสัดส่วน TSS/TA ที่ไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับลองกองในชุดควบคุม โดยสัดส่วน TSS/TA ของลองกองมีสัดส่วนอยู่ในช่วง 19.20-21.00 ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับ เสาวคนธ์ (2549) พบว่าการควั่นกิ่งทำให้คุณภาพผลของลองกองด้านความยาวช่อ ขนาดของผล น้ำหนักผล และจำนวนผลต่อช่อสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบ

กับวิธีการอื่นๆ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากผลจากการรัดลำต้นทำให้ลองกองมีอาหารเพียงพอกับความต้องการของลองกองในระยะการพัฒนาของผล เพราะการรัดลำต้นทำให้มีการสะสมอาหารอยู่บริเวณเหนือรอยควั่น (Rivas *et al.,* 2006) ส่งผลให้การสะสมปริมาณคาร์โบไฮเดรตมีอยู่สูงในช่วงออกดอก (อังคณา, 2550) เห็นได้จากการทดลอง ซึ่งทรีทเมนต์ที่มีการรัดลำต้นจะมีการสะสมปริมาณของ TNC มากที่สุดช่วงออกดอก การรัดลำต้นจึงทำให้ลองกองมีคุณภาพดีกว่าลองกองในชุดควบคุม อย่างไรก็ตามถึงแม้สารพาโคลบิวทราโซลจะสามารถชักนำการออกดอกในผลไม้หลายๆ ชนิดได้ ในการใช้สารพาโคลบิวทราโซลสำหรับการชักนำการออกดอกควรให้ในระดับที่เหมาะสม หากให้สารพาโคลบิวทราโซลในระดับที่สูงเกินไปจะทำให้คุณภาพบางประการของผลผลิตลดลง ได้แก่ น้ำหนักผล ปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ สัดส่วนของแข็งที่ละลายน้ำได้ต่อปริมาณกรดที่ไตเทรตได้ เป็นต้น (รุ่งนภา, 2554)

การสะสมปริมาณ TNC ของลองกอง พบว่าลองกองมีการสะสมปริมาณ TNC ในเปลือกมากกว่าในใบ อาจเนื่องจากธรรมชาติลองกองเป็นผลไม้ที่ออกดอกบริเวณลำต้นการสะสมปริมาณ TNC ในเปลือกกิ่งจึงมีมากกว่าในใบ กล่าวคือ TNC ถูกเคลื่อนย้ายไปสะสมที่กิ่งและต้นในระยะออกดอก (สุรกิตติ และคณะ, 2539) ในการทดลองครั้งนี้พบว่า วิธีการชักนำการออกดอกทำให้ผลรวมของปริมาณ TNC ทั้งในใบและในเปลือกของลองกองเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับลองกองในชุดควบคุม โดยลองกองที่รัดลำต้นร่วมกับการให้สารพาโคลบิวทราโซลมีปริมาณ TNC ทั้งหมดมากที่สุด อาจเกิดจากหลังจากให้สารพาโคลบิวทราโซล 7 วัน สารจะถูกเคลื่อนย้ายอยู่ในลำต้นมากที่สุด รองลงมาคือใบและราก และ 42 วันหลังให้สารพาโคลบิวทราโซล สารจะถูกเคลื่อนย้ายไปยังใบมากที่สุด รองลงมาคือรากและลำต้น (Wang *et al.,* 1986) กล่าวได้ว่าในการทดลองนี้ได้เก็บตัวอย่างเปลือกและใบลองกองในช่วงหลังจากให้สารพาโคลบิวทราโซลจนกระทั่งลองกองออกดอกรวมระยะเวลา 21 วัน ทำให้การวิเคราะห์ปริมาณ TNC ในเปลือกกิ่งมีมากกว่าในใบ อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองปริมาณ TNC ในแต่ละทรีทเมนต์ไม่มีความแตกต่างกันทั้งในใบและในเปลือกลองกอง แต่วิธีการบังคับการออกดอกของลองกองทำให้แนวโน้มของปริมาณ TNC เพิ่มสูงขึ้นทั้งในใบและเปลือกกิ่งลองกองเมื่อเปรียบเทียบกับต้นปกติในชุดควบคุม โดยปริมาณ TNC จะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในทิศทางเดียวกับการออกดอก ซึ่งวิธีการรัดลำต้นและการราดสารพาโคลบิวทราโซลสามารถชักนำให้ลองกองออกดอกได้มากขึ้น ปกติค่า TNC ที่เหมาะสมต่อการออกดอกในใบและเปลือกกิ่งลองกองอยู่ประมาณ 51.70-63.50 และ 136.88-151.75 กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ การทราบค่า TNC ในใบและเปลือกกิ่งลองกองในระยะก่อนออกดอกนั้น ทำให้ทราบว่าต้นลองกองมีอาหารสะสมเพียงพอที่จะทำให้เกิดดอกได้ดีหรือไม่ หากมีค่าต่ำก็จะ

สามารถจัดการให้ลองกองมีการสะสมอาหารเพิ่มขึ้นได้ เช่นการงดน้ำ การตัดแต่งราก เป็นต้น (จำเป็น และคณะ, 2549) ในการทดลองเห็นได้ว่าปริมาณ TNC มีความสัมพันธ์กับการออกดอกในแต่ละทรีทเมนต์ โดยพบว่าต้นที่มีการออกดอกมากจะมีแนวโน้มการสะสมปริมาณ TNC เพิ่มขึ้นด้วยเช่นกันตั้งแต่สัปดาห์ที่ให้สิ่งทดลองจนถึงสัปดาห์ที่ออกดอก (สัปดาห์ที่ 0-3) อย่างไรก็ตามการสะสมอาหารในช่วงแล้งก่อนการออกดอกเป็นเพียงปัจจัยเสริมที่ทำให้ต้นลองกองออกดอกได้ดี แต่ไม่ใช่ปัจจัยที่ควบคุมการออกดอกของลองกองโดยตรง (มงคล และคณะ, 2547) จากผลการทดลองจึงพอที่จะทำให้ทราบถึงแนวโน้มของความเป็นไปได้ในสมมติฐานที่คาดว่าในช่วงการออกดอกพืชต้องมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูง (สุรนันต์, 2526) ซึ่งได้มาจากกระบวนการสังเคราะห์แสงเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตและการออกดอก (Chailakhyan, 1968)

เมื่อพิจารณาถึงผลของการรัดลำต้นและการราดสารพาโคลบิวทราโซลต่อปริมาณจิบเบอเรลลินและยีนที่อยู่ในวิถีการการสังเคราะห์จิบเบอเรลลินคือ ยีน *GA20-ox* พบว่าวิธีการชักนำออกดอกทุกวิธีมีผลทำให้ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินลดลงภายหลังการให้ทรีทเมนต์ 1 สัปดาห์ และพบการลดลงของสารคล้ายจิบเบอเรลลินในชุดควบคุมด้วย โดยจะลดลงจนถึงระดับต่ำสุดในสัปดาห์ที่มีการออกดอก และจะเห็นได้ว่าในทรีทเมนต์ที่ราดสารพาโคลบิวทราโซลเพียงอย่างเดียว การลดลงของปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในสัปดาห์ที่ 1 หลังการให้ทรีเมนต์ ทำให้ลองกองมีการสะสมปริมาณ TNC เพิ่มขึ้นสูงสุด จึงทำให้มีการออกดอกมากที่สุด สอดคล้องกับวรรณวรางค์ และธนัท (2542) พบว่าการเปลี่ยนแปลงสารคล้ายจิบเบอเรลลินในยอดลิ้นจี่ฮงฮวยก่อนการออกดอกมีปริมาณสูงในสัปดาห์ที่ 3 และ 4 ก่อนการออกดอก และมีปริมาณลดลงก่อนออกดอก 2 สัปดาห์ จากการทดลองเห็นได้ว่าทรีทเมนต์ที่ให้สารพาโคลบิวทราโซลมีปริมาณการสังเคราะห์จิบเบอเรลลินต่ำที่สุดทั้งในใบและเปลือกกิ่งลองกอง เนื่องจากสารพาโคลบิวทราโซลมีบทบาทสำคัญในการยับยั้งการทำงานของจิบเบอเรลลิน (หิรัญ และคณะ, 2534) โดยพบว่าปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในส่วนใบลดต่ำกว่าในเปลือกกิ่งลองกอง อาจเนื่องจากฮอร์โมนส่วนใหญ่ถูกสร้างขึ้นที่ใบแล้วเคลื่อนย้ายไปสะสมในส่วนที่มีการออกดอกจึงทำให้ปริมาณจิบเบอเรลลินไปสะสมอยู่ในเปลือกมากกว่าในใบ (Chailakhyan, 1968; สุรนันต์, 2526; Davenport, 2000) แม้จะทราบว่าการชักนำการออกดอกมีผลทำให้ปริมาณการสังเคราะห์จิบเบอเรลลินลดต่ำลง แต่ไม่สามารถทราบว่าวิธีการชักนำการออกดอกมีผลต่อจิบเบอเรลลินชนิดใด เพราะในการทดลองเป็นการหาปริมาณฮอร์โมนด้วยวิธี bioassay ซึ่งเป็นวิธีการวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนเบื้องต้นไม่สามารถจำแนกชนิดของจิบเบอเรลลินได้ (พูนพิภพ, 2549) และจากการผลการทดลองการศึกษาการแสดงออกของยีน *GA20-ox* ในเปลือกลองกอง จะเห็นว่าการ

แสดงออกของยีน *GA20-ox* ทุกวิธีการชักนำจะมีการแสดงออกต่ำกว่าชุดควบคุม แต่จะเห็นชัดที่สุด คือ สัปดาห์ที่ 2 หลังให้ทรีทเมนต์ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะยีน *GA20-ox* จัดเป็น family gene ประกอบด้วย *GA20-ox1*, *GA20-ox2*, *GA20-ox3*, *GA20-ox4* และ *GA20-ox5* (Hedden and Phillips, 2000) แต่ละตัวมีบทบาทต่างกัน โดยการแสดงออกของยีน *GA20-ox1* จะการแสดงออกในลำต้น ใบ ตาดอก และผลที่ยังไม่สุกแก่ แต่จะไม่แสดงออกในราก ส่วน *GA20-ox2* จะพบในตาดอก ราก ลำต้น และใบ รวมทั้งพบในผลที่ยังไม่สุกแก่ และมีระดับต่ำ สำหรับ *GA20-ox3* จะพบในราก ผลที่ยังไม่สุกแก่ แต่จะมีระดับการแสดงออกต่ำมากในตาดอก (Carrera *et al.,* 1999)

อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบเพียงแนวโน้มของผลการชักนำการออกดอกต่อแสดงออกของยีน *GA20-ox* ซึ่งจะเห็นผลชัดเจนในช่วงสัปดาห์ที่ 2 หลังจากให้ทรีทเมนต์ ซึ่งศึกษาเป็นการศึกษาการแสดงออกของยีน *GA20-ox* เพียงชนิดเดียว ไม่สามารถระบุได้ว่ายีนที่แสดงออกเป็นยีน *GA20-ox* ชนิดใด ผลการทดลองจึงทำให้การให้ทรีทเมนต์ต่อการแสดงออกของยีน *GA20-ox* ในใบในไม่สัมพันธ์กันกับทรีทเมนต์ และจากผลการทดลองการที่การแสดงออกของยีน *GA20-ox* แสดงออกชัดเจนเฉพาะในเปลือก อาจเป็นเพราะลักษณะนิสัยการออกดอกของลองกองที่เกิดบริเวณกิ่งหลักและลำต้น (สุรกิตติ และคณะ, 2539) จากผลการทดลองจึงคาดว่ายีน *GA20-ox* ที่แสดงออกอาจจะเป็นยีน *GA20-ox1* เพราะมีการแสดงออกในลำต้นและใบ (Carrera *et al*., 1999)

สรุปได้ว่า ความสัมพันธ์ของการออกดอกต่อปริมาณการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน การแสดงออกของยีน *GA20-ox* และการสะสมปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่อยู่ในรูปโครงสร้าง (TNC) เห็นได้ว่า ถึงแม้วิธีการชักนำการออกดอกให้ผลไม่แตกต่างกัน โดยการรัดลำต้น การราดสารพาโคลบิวทราโซล และการรัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซล สามารถชักนำให้ลองกองออกดอกมากกว่าชุดควบคุม แต่บทบาทการทำงานของแต่ละวิธีการจะมีผลต่อปัจจัยภายในที่แตกต่างกัน โดยการราดสารพาโคลบิวทราโซลจะมีผลโดยตรงต่อปริมาณการสังเคราะห์สารคล้ายจิบเบอเรลลิน โดยไปยับยั้งการทำงานของจิบเบอเรลลินภายในให้อยู่ในระดับต่ำในช่วงก่อนการออกดอก ทำให้ปริมาณการสังเคราะห์สารคล้ายจิบเบอเรลลินลดลง จึงทำให้การแสดงออกของยีน *GA20-ox* ลดลง เป็นผลทำให้การออกดอกเพิ่มมากขึ้น และการเพิ่มขึ้นของปริมาณ TNC จะมีผลเกี่ยวข้องต่อการแสดงออกของยีน *GA20-ox* ทำให้การแสดงออกของยีน *GA20-ox* ลดลง อย่างไรก็ตาม การชักนำการออกดอกทุกวิธีการไม่มีผลต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้างที่เพิ่มขึ้นในช่วงก่อนออกดอกของลองกอง

บทที่ 5

สรุป

1. ผลของการรัดลำต้นและสารพาโคลบิวทราโซลต่อการชักนำการออกดอกของลองกอง

1.1 เปอร์เซ็นต์การออกดอก

การรัดลำต้นและการราดสารพาโคลบิวทราโซลสามารถชักนำให้ลองกองออกดอกได้ดีกว่าชุดควบคุม

1.2 จำนวนตาดอก

1.2.1 การราดสารพาโคลบิวทราโซลสามารถชักนำการแตกตาดอกเดี่ยวได้ดีที่สุด โดยสามารถชักนำให้ลองกองแตกตาเดี่ยวมากกว่าชุดควบคุม 3 เท่า

1.2.2 การรัดลำต้นและการราดสารพาโคลบิวทราโซลมีผลต่อการชักนำการออกดอกของกลุ่มตาดอกและตาดอกทั้งหมด โดยสามารถชักนำให้ลองกองออกดอกได้มากกว่าชุดควบคุมประมาณ 3 เท่า

1.3 ความยาวช่อดอก

1.3.1 การรัดลำต้นและการราดสารพาโคลบิวทราโซลเพียงอย่างเดียว ทำให้ช่อดอกเดี่ยวและกลุ่มช่อดอกของลองกองมีการเจริญเติบโตดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

1.4 คุณภาพผลผลิต

1.4.1 วิธีการรัดลำต้นทำให้ผลผลิตลองกองมีคุณภาพดีที่สุด ได้แก่ ความยาวช่อผล น้ำหนักผล น้ำหนักเนื้อ และเส้นผ่านศูนย์กลางผล

2. ผลของการรัดลำต้นและสารพาโคลบิวทราโซลต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้างของลองกอง

2.1 การรัดลำต้น การราดสารพาโคลบิวทราโซล และการรัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซล ไม่มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่อยู่ในรูปโครงสร้าง (TNC) ก่อนการออกดอก

2.2 ปริมาณ TNC ในเปลือกกิ่งลองกองจะมีมากกว่าในใบ และมีการสะสมเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องภายหลังการให้ทรีทเมนต์จนกระทั่งออกดอก

3. ผลของการรัดลำต้นและสารพาโคลบิวทราโซลตาอปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในเปลือกกิ่งและใบลองกองก่อนการออกดอก

3.1 วิธีการชักนำการออกดอกมีผลทำให้ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินมีระดับลดลงและน้อยกว่าในต้นลองกองชุดควบคุม โดยการราดสารพาโคลบิวทราโซลมีผลทำให้ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินทั้งภายในเปลือกลำต้นและใบมีค่าต่ำสุด

3.2 ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในเปลือกกิ่งจะมีปริมาณมากกว่าในใบ และปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินภายในต้นมีการลดลงก่อนออกดอกประมาณ 2 สัปดาห์

4. ผลของการรัดลำต้นและสารพาโคลบิวทราโซลต่อปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในเปลือกกิ่งและใบลองกองก่อนการออกดอก

4.1 การราดสารพาโคลบิวทราโซลมีผลทำให้การแสดงออกของยีน *GA20-ox* ในเปลือกลองกองลดลงเมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยมีแสดงออกลดลงในช่วงสัปดาห์ที่ 2 หลังจากให้ทรีทเมนต์ และการรัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซลทำให้การแสดงออกของยีน *GA20-ox* แสดงออกน้อยสุดในช่วงออกดอก

4.2 การให้ทรีทเมนต์ไม่มีความสัมพันธ์กับการแสดงออกของยีนในใบ แต่การแสดงออกของยีน *GA20-ox* ในใบลองกองจะมีการแสดงออกน้อยกว่าในเปลือก และจะลดลงจะแสดงออกลดลงในช่วงสัปดาหที่ 1 หลังจากให้ทรีทเมนต์

4.3 การให้ทรีทเมนต์ชักนำการออกดอกไม่สัมพันธ์กับการแสดงออกของยีน *GA20-ox* ในใบลองกอง

ข้อเสนอแนะ

1. การตรวจวัดสารที่มีฤทธิ์คล้ายกับจิบเบอเรลลินด้วยวิธีชีววิธี (bioassay) เป็นการตรวจสอบขั้นต้นซึ่งไม่สามารถจำแนกชนิดของจิบเบอเรลลินได้ ดังนั้นอาจทำการวิเคราะห์หาปริมาณฮอร์โมนด้วยวิธี Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GC-MS) เพื่อแยกชนิดของสารที่มีอยู่รวมกันในสารละลายให้เป็นสารบริสุทธิ์

2. หากมีการทดลองครั้งต่อไปเกี่ยวกับการออกดอกของลองกอง ควรมีการการศึกษาเกี่ยวกับสมดุลฮอร์โมนชนิดต่างๆ ที่มีผลต่อการออกดอก

3. การแนะนำเกษตรกรสำหรับการชักนำการออกดอกของลองกอง ถึงแม้สารพาโคลบิวทราโซลจะได้ผลดีในการชักนำการออกดอก แต่อย่างไรก็ตามยังมีข้อเสียในเรื่องสารตกค้างระยะยาว ในการชักนำการออกดอกของลองกองจึงแนะนำให้ใช้สารพาโคลบิวทราโซลปีเว้นปี เพื่อลดปัญหาการตกค้าง หรือใช้วิธีการรัดลำต้น

เอกสารอ้างอิง

กฤษฎา ทัสนารมณ์. 2544. ผลของการใช้สารพาโคลบิวทราโซลในการผลิตชมพู่พันธุ์ทูลเกล้านอกฤดูกาล. วารสารเคหการเกษตร 25 : 172-174.

กานดา ตันติยวรงค์. 2535. ผลของจิบเบอเรลลิคแอซิคต่อการพัฒนาตาดอกและการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของดอกและผลของลองกอง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 76 น.

กิตติภูมิ กายวิภาคบรรยาย. 2533. อิทธิพลของสารพาโคลบิวทราโซลต่อการออกดอกติดผลและคุณภาพผลของทุเรียนพันธุ์ชะนี. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 85 น.

คณพล จุฑามณี. 2532. การเปลี่ยนแปลงระดับของสารคล้ายจิบเบอเรลลินในช่วงการเจริญเติบโตทางกิ่งใบ และการออกดอกของมะม่วงเขียวเสวย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 64 น.

จำเป็น อ่อนทอง, บุญส่ง ไกรศรพรสรร, พิรุณ ติระพัฒน์ และสายใจ ลิ้มสงวน. 2549. ความสัมพันธ์ระหว่างคาร์โบไฮเดรตและธาตุอาหารและคาร์โบไฮเดรตที่เหมาะสมกับการออกดอกของลองกอง. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 37 : 203-212.

ดรุณี นาพรหม และ กนกวรรณ ศรีงาม. 2551. คู่มือการวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมน. เชียงใหม่ : คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 26 น.

ดรุณี นาพรหม, ชัยวัฒน์ พจนาพิมล และวรรณวรางค์ พัฒนะโพธิ์. 2542. การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารคล้ายไซโตไคนินและจิบเบอเรลลินในยอดลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวยก่อนการออกดอก. วารสารเกษตร 15 : 211-220.

ธีรพงศ์ ชมใจ . 2544. ผลของสภาวะเครียดน้ำ และสารไทโอยูเรียต่อการออกดอกของลองกอง (*Aglaia dookkoo* Griff.). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 84 น.

นพพร บุญปลอด. 2553. ผลของจิบเบอเรลลิคและโพแทสเซียมคลอเรตต่อการออกดอกของลำไย. วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร 25 : 1-4.

นาถฤดี ศุภกิจจารักษ์. 2533. ผลของสารพาโคลบิวทราโซลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินที่ปลายยอด และการออกดอกของมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 64 น.

นารีรัตน์ กุนาศล, สุชาดา ชัยกัมลาศ และประทีป กุนาศล. 2532. อิทธิพลของสารพาโคลบิวทราโซลต่อการออกดอก และติดผลของมะม่วงเขียวเสวย. วารสารวิชาการเกษตร 7 : 34-36.

นิพนธ์ ภิรมย์รักษ์. 2554. การปลูกลองกอง. กรุงเทพฯ : ธนธัชการพิมพ์.160 น.

โนรี อิสมะแอ และ สายัณห์ สดุดี. 2547. ผลของการตัดรากและรัดกิ่งต่อการตอบสนองทางสรีรวิทยาและการพัฒนาของตาลองกอง. วารสารสงขลานครินทร์ วทท. 26 : 455-466.

บรรจง นวลพลับ. 2541. ลู่ทางผลิตไม้ผลนอกฤดู. กรุงเทพฯ : ปราณีเจริญบล็อกและการพิมพ์. 103 น.

เปรมปรี ณ สงขลา. 2541. รวมกลยุทธ์ ลองกอง. กรุงเทพฯ : เจริญรัฐการพิมพ์. 97 น.

พรพันธ์ กิตินันท์ประการ. 2530. ผลของการกักน้ำและ daminozide ต่อการออกดอกและการเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์โบไฮเดรต ไนโตรเจนในใบและกิ่งยอดของส้มเขียวหวาน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 97 น.

พาวิน มะโนชัย, วรินทร์ สุทนต์, วิชัย วิริยะอลงกรณ์, เสกสันต์ อุลสหตานนท์ และนภดล จรัสสำฤทธิ์. 2543. ผลของการควั่นกิ่งต่อการออกดอกของลำไยเพชรสาครทะวาย. วารสารเกษตร 16 : 117-123.

พีรเดช ทองอำไพ. 2537. ฮอร์โมนพืชและสารสังเคราะห์ แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย. กรุงเทพฯ : ไดนามิคการพิมพ์. 177 น.

พูนนิภพ เกษมทรัพย์. 2549. ชีววิทยา 2 : สรีรวิทยาของพืช. โครงการตำราวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ มูลนิธิ สอวน. กรุงเทพฯ : บริษัทด่านสุทธาการพิมพ์ จำกัด. 440 น.

มงคล แซ่หลิม และจรัสศรี นวลศรี. 2535. การศึกษาผลการใช้สารพาโคลบิวทราโซลที่มีผลต่อการติดผลและคุณภาพผลส้มจุก. วารสารวิชาการเกษตร 10 : 68 -72.

มงคล แซ่หลิม, จรัสศรี นวลศรี, สายัณห์ สดุดี, จำเป็น อ่อนทอง, มุทิตา มีนุ่น และสุกัญญา จันทะชุม. 2547. *ใน* การถ่ายทอดเทคโนโลยีการวิจัยและพัฒนาการจัดการระบบการผลิตลองกองในภาคใต้. สงขลา : คณะทรัพยากรธรรมชาติ. 173 น.

มงคล แซ่หลิม, สายัณห์ สดุดี, สุภาณี ชนะวีรวรรณ และ จำเป็น อ่อนทอง. 2544. รูปแบบการเจริญเติบโตและพัฒนาการในรอบปีของลองกองในภาคใต้. วารสารสงขลานครินทร์ วทท. 23 : 462-478.

มงคล ศรีวัฒนวรชัย, พิมพรรณ ตันสกุล และไพรัตน์ นาควิโรจน์. 2523. การศึกษาสภาวะการออกดอกติดผล และคุณภาพผลของลองกองบางพันธุ์ในภาคใต้. สงขลา : รายงานการวิจัย ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ประจำปี 2520-2522.

รวี เสรฐภักดี. 2543. การออกดอก การเพิ่มผลผลิตและคุณภาพของลองกอง. *ใน* เทคโนโลยีการผลิตลองกอง. เอกสารประกอบคำบรรยายการอบรมเทคโนโลยีการผลิตลองกอง. สงขลา : คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

รัชนีวรรณ ชูเชิด. 2547. ผลของการใช้สารพาโคลบิวทราโซลและสภาพเครียดน้ำที่มีผลต่อการออกดอกของส้มจุก. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 64 น.

รุ่งนภา ทวนทอง. 2554. ผลของสารพาโคลบิวทราโซลและไทโอยูเรียต่อการออกดอกและติดผลของส้มโอพันธุ์หอมหาดใหญ่. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 86 น.

ลดาวัลย์ เลิศเลอวงศ์. 2556. ปัจจัยควบคุมและแนวทางการชักนำการออกดอกของลองกอง. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 31: 102-111.

ลดาวัลย์ เลิศเลอวงศ์ และสุภาณี ชนะวีระวรรณ. 2556. การศึกษาอิทธิพลของเขตกรรมและสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อสรีรวิทยาการออกดอก เพื่อเป็นแนวทางในการผลิตลองกองนอกฤดู. สงขลา : รายงานฉบับสมบูรณ์ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 56 น.

วรรณฤดี ทองจันทร์แก้ว. 2552. ผลของการควั่นและการรัดกิ่งต่อการออกดอกและสารจิบเบอเรลลินต่อการติดผลของส้มโอพันธุ์หอมหาดใหญ่. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 51 น.

วรรณวรางค์ พัฒนะโพธิ์ และธนัท ธัญญาภา. 2542. การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารจิบเบอเรลลินในช่วงการออกดอกของยอดลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย. วารสารเกษตร 15 : 65-70.

วิทยา ตั้งก่อสกุล. 2537. หลักการจัดการน้ำในสวนลองกอง. วารสารเกษตรก้าวหน้า 9 : 21-36.

วิมัย สานุวัฒน์. 2533. ลองกอง. วารสารข่าวสารเกษตรศาสตร์ 34 : 43-72.

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2548. สรีรวิทยาของพืช. กรุงเทพฯ : ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 243 น.

สายัณห์ สดุดี, นารี ว่องวงศ์อารี และวิชณีย์ ออมทรัพย์สิน. 2546. การวัดการใช้น้ำของต้นเงาะและลองกองในช่วงการพัฒนาการในรอบปีโดยวิธีพัลส์ความร้อน. วารสารสงขลานครินทร์ วทท. 25 : 9-17.

สายัณห์ สดุดี, สุภาณี ชนะวีระวรรณ, พรพิมล พวงแก้ว และลักษมี สุภัทรา. 2545. เอกสารประกอบการถ่ายทอดเทคโนโลยี การปรับปรุงการผลิตมังคุดในภาคใต้เพื่อการส่งออก. สงขลา : คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สุขวัฒน์ จันทรปรรณิก, อิมพิกา ปุนนจิตม บุญสืบ ศรีสวัสดิ์, หิรัญ หิรัญประดิษฐ์ และจักรพงษ์ เจิมศิริ. 2536. อิทธิพลของสารพาโคลบิวทราโซล และสภาะแวดล้อมต่อการออกดอกติดผลและคุณภาพของทุเรียน. วารสารวิชาการ 11 : 107-113.

สุธาสินี มณีทอน และธนะชัย พันธุ์เกษมสุข. 2544. การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินช่วงก่อนการออกดอกในยอดมะปรางพันธุ์ทูลเกล้า. วารสารเกษตร 17 : 106-112.

สุรกิตติ ศรีกุล, วรวิทย์ พันธุ์ยางน้อย และชาย โฆรวิส. 2539. เทคโนโลยีการผลิตลองกองให้มีคุณภาพ. กรุงเทพฯ: ศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร.

สุรนันต์ สุภัทรพันธุ์. 2526. สรีรวิทยาการเจริญเติบโตของพืชสวน. กรุงเทพฯ: ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุรพล มนัสเสรี. 2550. หลักการไม้ผล. สงขลา : ภาควิชาเกษตรศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2558. ผลผลิตลองกอง (ออนไลน์). สืบค้นจาก : http://www.oae.go.th [10 พฤษภาคม 2558].

เสาวคนธ์ ทิมทอง. 2549. ผลของโพแทสเซียมไนเตรต ไทโอยูเรีย และการควั่นกิ่งต่อการออกดอก ผลผลิต และคุณภาพผลผลิตของลองกอง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 82 น.

หิรัญ หิรัญประดิษฐ์, สุขวัฒน์ จันทรปรรณิก และ เสริมสุข สลักเพ็ชร์. 2534. กรุงเทพฯ : การผลิตทุเรียนก่อนฤดู *ใน* เอกสารทางวิชาการประจำ ปี 2534 กรมวิชาการเกษตร. 85 น.

อภิชัย พันธุมาศ. 2541. การปลูกลองกอง. กรุงเทพฯ : อักษรสยามการพิมพ์. 78 น.

อังคณา ทิวาเวทย์. 2550. ผลของการใช้สารเคมี และการควั่นกิ่งต่อการออกดอกของลองกอง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 106 น.

อุดม โกสัยสุก. 2540. การปลูกไม้ผล. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ทิพยวิสุทธิ์. 62 น.

Adil, O.S., Abdel, R., Osman, M.E. and Fritz, K. B. 2011. Effect of paclocutrazol (PBZ) on floral induction and associated hormonal and metabolic changes of biennially bearing mango (*Mangifera indica* L.) cultivars during off year. ARPN Journal of Agricultural and Biological Science 6 : 55-67.

An, L-j., Jin, L. and Yang, C-q. 2008. Effect and functional Mechanism of the action of exogenous gibberellin on flowering of Peach. Agricultural Sciences in China 7 : 1324-1332.

Anonymous. 2003. Paclobutrazol data sheet. [Online] Available : http:// www.alanwood. net/peticdes/paclobutrazol.html [access on February 15, 2012]

Bangerth, K.F. 2009. Floral induction in mature, perennial angiosperm fruit trees: Similarities and discrepancies with annual/biennial plants and the involvement of plant hormones. Scientia Horticulturae 122 : 153–163.

Blaikie, S.j., Kulkrni, V.J. and Muller, W.J. 2004. Effects of morphactin and paclobutrazol flowering treatments on shoot and root phenology in mango cv. Kensington Pride. Scientia Horticulturae 101 : 51-68.

Bohner J. and Bangerth, F. 1998. Effect of fruit set sequence and defoliation on cell and hormone levels of tomato fruits (*Lycopersicon esculentum* Mill.) within a tree. Plant Growth Regulation 7: 141-155.

Boss, P.K. and Thomas, M.R., 2002. Association and dwarfism and floral induction with a grape ‘green revolution’ mulation. Nature 416 : 847-850.

Bradley, M.V. and Crane, J.C. 1960. Gibberellin-induced inhibition of bud development in some species of *Prunus*. Science 131 : 825-826.

Calixto, M.P., Restituto, D.B.Jr., Julita, Q., Gina, M. and Gerry, P. 2000. Regulation of flowering in ‘Carobao’ mango trees by Paclobutrazol. Crop Science 25 : 27-33.

Carrera, E., Jackson, S.D. and Prat., S. 1999. Feedback control and diurnal regulation of gibberellins 20-oxidase transcript levels in patato. Plant Physiology 119 : 765-773.

Chailakhyan, M.K. 1968. Internal factors of plant flowering. Annual Reviews of Plant Physiology 19 : 1-37.

Chen, W.S. 1987. Endogenous growth substance in relation to shoot growth and flower bud development of mango. American Society for Horticultural Science 112 : 360-363.

Chen, W.S. 1990. Endogenous growth substance in xylem and shoot tip diffusate of lychee in relation to flowering. HortScience 25 : 314-315.

Cummings, H.D., F.H. Yelverton and J.D. Hinton. 2002. Use of gibberellic acid to reverse the effects of gibberellic acid inhibiting plant growth regulator. [Online] Available : http: //www. cropsci. ncsu. edu/turffiles/fredtalks/ pdf, [access on February 18, 2012]

David, W. P., Oliver, E. H., Stewart, B. R. and Lewis, N. M. 2002. Gibberellins in shoots and developing capsules of *Populus* species. Sciencedirect. Phytochemistry 59 : 679-687.

Davenport, T.L. 2000. Processes influencing floral initiation and bloom: the role of phytohormones in a conceptual flowering model. HortTechnology 10 : 733-739.

El-Otmaien, M., Coggins, C.W., Agusti, M. and Lovatt, C.J. 2000. Plant growth regulators in citriculture : World current uses. Critical Reviews in Plant Science 19 : 395-447.

Erner, Y. 1986. Girdling effect on yield over 4 years of citrus trees. HortScience 21 : 679.

Hanke, M.V., Flachowsky, H., Peil, A. and Hättasch, C. 2007. No flower no fruit-genetic potentials to trigger flowering in fruit trees. Genes, Genomes and Genomics 1:1-20.

Hedden, P. and Phillips, A.L., 2000. Gibberellin mestabolism: new insights revaled by the gene. Trends in Plant Science 5 : 523-530.

Goldshmidt, E.E., Tamim, M. and Goren. 1997. Gibberellins and flowering in citrus and other fruit trees : a critical analysis. Acta Horticulturae 463 : 201-208.

Gonzalez-Rossia, D., Reig, C., Juan, M. and Agusti, M. 2007. Horticutural factors regulating effectiveness of GA_3 inhibiting flowering in peaches and nectarines (*Prunus persica* L. Batsch) Scientia Horticulturae 111: 352-357.

Kantharaj, G. R. 2006. Plant Hormones Gibberellins. [Online] Available : http://plantcellbiologymasters.grkraj.org [access on February 18, 2012]

Koshita, Y. and Takahara, T. 2004. Effect of water stress on flower-bud formation and plant hormone content of satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.). Scientia Horticulturae 99 : 301–307.

Lerslerwong, L., Tipparn, S. and Chanaweerawan, S. 2014. Preliminary study to control flowering by trunk girdling and paclobutrazol treatment in longkong. Acta Horticulturae 1024: 211-216.

Levy, Y.Y. and Dean, C. 1998. The transition to flowering. Plant Cell 10 : 1973-1990.

Lim, M. and Yong, S. 1996. The phenology of Longkong (*Aglaia dookkoo* Griff.) in Southern Thailand. Proceeding :Internationnal Conference on Tropical Fruits, Kuala Lumpur, Malaysia, 23 - 26 July 1996, pp. 297 – 304.

Looney, N.E., 1969. Importance of time and concentration of annual application of succinic acid 2,2-dimethyl hydrazide (Alar) to pome fruit. I. McIntosh and Spartan apple.Plant Science 49 : 489-494.

Laura, H., Garcia-Lor, A. and Garcia –Martinez, J.L. 2009. Characterization of gibberellin 20-oxidases in the citrus hybrid. Tree Physiology 29 : 569–577.

Luckwill, L.C. 1970. Control of growth and fruitfulness of apple trees. *In* Physiology of Tree Crops. (ed. Luckwill, L.C. and Cutting, C.V.) pp. 237-254. Academic Press, New York.

Maria, C.M., Adelson, F.O., Dili, L.O. and Joao, V.N. 2011. Flowering and vegetative growth of olive tree submitted to pruning and paclobutrazol application. Brazilian Society of Plant Physiology 23 : 105-111.

Martinez-Fuentes, A., Mesejo, C., Munoz-Fambuena, N., Reig, C., Gonzalez-Mas, M.C., Iglesias, D.J., Primon-Millo, E. and Agusti, M. 2013. Fruit load restricts the flowering promotion effect of paclobutrazol on alternate bearing *Cirus* spp. Scientia Horticulturae 151 : 121-127.

Menzel, C.M. and Parton, B.F. 1986. The effect of cincturing at different stages of vegetative flush maturity on the flowering of Litchi (*Litchi chinensis* Sonn.). HortScience 61 : 135-139.

Metzger, J.D. 1987. Hormones and reproductive development. *In* Plant hormones and their role in plant growth and development. (ed. Davies, P.J.) pp. 431-462. Dordrecht : Kluwer Academic Publishers.

Monselise, S.P., Goren, R., and Halevy, A.H. 1966. Effects of B-nine, cycocel and benzothazole oxyacetate on flower bud induction of lemon trees. Proceedings American Society of HortScience 89 : 195-200.

Munoz-Fambuena, N., Mesejo, C., Gonzalez-Mas, M.C., Iglesias, D.J., Primo-Millo, E. and Agusti, M. 2012. Gibberellin acid reduces flowering intensity in Sweet Orange [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] by repressing *Ci*FT gene expression. Plant Growth Regulation 4 : 529-536.

Nakagawa, M., Honsho, C., Kanzaki, S., Shimizu, K. and Utsunomiya, N. 2012. Isolation and expression analysis FLOWERING LOCUST – like and gibberellin metabolism genes in biennial – bearing mango trees. Scientia Horticulturae 139 : 108-117.

Oliviea, C. and Browning, G. 1993. Gibberellin structure-activity effects on flower initiation in mature tree and on shoot growth in mature and juvenile *Prunus avium*. Plants Growth Regulation 13 : 55-63.

Osborne, D. R. and Voogt, P. 1978. Carbohydrates. The analysis of nutrients in foods. pp. 130 - 154. London : Academic Press.

Phavaphutanon, L., Krisanapook, K., Pichakum, A. and Jutamanee, K., 2000. Changes of total non-structural carbohydrates within shoots of 'Nam Dok Mai' mango after paclobutrazol application. Acta Horticulturae 509 : 559-565.

Poerwanto, R., Efendi, D., Widodo, W.D., Susanto, S., and Purwoke, B.S. 2008. Off-season production of tropical fruit. Acta Horticulturae 772 : 127-133.

Pongsomboon, W., Subhadrabandhu, S. and Stephenson, R.A., 1997. Some aspects of the ecophysiology of flowering intensity of mango (*Mangifera Indica* L.) cv. Nam Dok Mai in a semi-tropical monsoon Asian climate. Scientia Horticulturae 70 : 45-56.

Srinivasan, C. and Mullins, M.G. 1980. Effects of temperature and growth regulators on formation of Analygen, tendrils and inflorescence in *Vitis vinifera* L. Annals of Botany 45 : 439-446.

Stephen, G.T. and Hedden, P. 2006. Gibberellin metabolism and signal transduction. *In* Plant Hormone Signaling. (ed. Stepen, G.T. and Hedden, P.) pp. 147-176. Oxford, United Kingdom : Blackwell Publising Ltd.

Theissen, G., Becker, A., Rosa, A.D., Kanno, A., Kim, J.T., Münster, T., Winter, K-U. and Saedler, H. 2000. A short history of MADS-box genes in plants. Plant molecular Biology 42 : 115-149.

Rivas, F., Erner, Y., Alos, E., Luan, M., Almela, V. and Agusti, M., 2006. Girdling increases carbohydrate availability and fruit-set in citrus cultivars irrespective of parthenocarpic ability. Journal of Horticultural Science and Biotechnology 81 : 289-295.

Upretia, K.K., Reddy, Y.T.N., Shivu Prasad, S.R., Bindua, G.V., Jayarama, H.L. and Rajan, S. 2013. Hormonal changes in response to paclobutrazol induced early flowering in mango cv. Totapuri. Scientia Horticulturae 150 : 414-418.

Vivanco, J.M., and Flores, H.E. 2000. Control of root formation by plant growth regulators. *In* Plant Growth Regulators in Agriculture and Horticulture (ed. Amarjit, S.B.) pp. 1-16. New York : Food Products Press.

Wang, S.Y., Sun, T. and Faust, M. 1986. Translocation of paclobutrazol, a gibberellin bioasynthesis inhibitor, in apple seedlings. Plant Physiology 82 : 11-14.

Yamaguchi, S. 2008. Gibberellin metabolism and its regulation. Annual Reviews Plant Biology 59 : 225- 251.

Yuki, Y., Crumpton-Taylor, M., Fuente, S. and Harberd, N. P. 2007. Step-by-Step acquisition of the gibberellin-DELLA growth-regulatory mechanism during land-plant evolution. Current Biology 17 : 1225-1230.

ภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ 1 ผลของการรัดลำต้นและสารพาโคลบิวทราโซลต่อจำนวนตาดอกเดี่ยวของลองกองหลังจากให้ทรีทเมนต์

	สัปดาห์หลังให้ทรีทเมนต์				
ทรีทเมนต์	0	3	6	9	12
ชุดควบคุม	2.5 ± 0.8c	3.8 ± 1.2b	3.4 ± 1.1c	4.0 ± 1.2c	4.6 ± 2.0 b
รัดลำต้น	9.2 ± 2.5a	6.6 ± 1.2ab	8.0 ± 2.1b	6.5 ± 1.3b	5.6 ± 1.2b
PBZ	8.8 ± 3.8a	14.0 ± 6.8a	11.6 ± 5.8a	13.0 ± 6.3a	14.4 ± 8.5a
รัดลำต้น+PBZ	5.8 ± 1.9b	8.2 ± 4.0ab	8.2 ± 4.7b	8.5 ± 4.b	10.6 ± 4.6a
F-test	*	*	*	*	*
C.V.(%)	70.59	91.99	86.39	80.32	90.57

PBZ = สารพาโคลบิวทราโซล

* แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ค่าเฉลี่ยในแต่ละสดมภ์ที่ตามด้วยอักษรต่างกันมีความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับ $P \leq 0.05$ ด้วยวิธี LSD

ตารางภาคผนวกที่ 2 ผลของการรัดลำต้นและสารพาโคลบิวทราโซลต่อจำนวนกลุ่มตาดอกของลองกองหลังจากให้ทรีทเมนต์

	สัปดาห์หลังให้ทรีทเมนต์				
ทรีทเมนต์	0	3	6	9	12
ชุดควบคุม	11.0 ± 5.4b	12.0 ± 6.0b	9.0 ± 3.3b	10.2 ± 3.2b	11.6 ± 3.5b
รัดลำต้น	27.7 ± 8.0a	38.6 ± 11.3a	28.2 ± 9.1a	27.0 ± 8.7a	26.4 ± 8.0a
PBZ	24.0 ± 7.1a	30.4 ± 13.8a	24.8 ± 9.6a	25.6 ± 10.4a	28.8 ± 11.8a
รัดลำต้น+ PBZ	23.8 ± 11.1a	33.4 ± 17.2a	21.2 ± 9.6a	19.8 ± 8.9ab	18.4 ± 7.6ab
F-test	*	*	*	*	*
C.V.(%)	89.65	89.65	89.86	70.45	83.30

PBZ = สารพาโคลบิวทราโซล

* แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ค่าเฉลี่ยในแต่ละสดมภ์ที่ตามด้วยอักษรต่างกันมีความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับ $P \leq 0.05$ ด้วยวิธี LSD

ตารางภาคผนวกที่ 3 ผลของการรัดลำต้นและสารพาโคลบิวทราโซลต่อจำนวนตาดอกทั้งหมดของลองกองหลังจากให้ทรีทเมนต์

	สัปดาห์หลังให้ทรีทเมนต์				
ทรีทเมนต์	0	3	6	9	12
ชุดควบคุม	13.2±6.1b	15.8±7.2b	12.4±4.2b	14.5±5.1b	16.2±5.3b
รัดลำต้น	36.6±9.4a	45.2±11.2a	36.2±10.3a	34.0±10.3a	32.0±8.9a
PBZ	32.8±10.7a	44.4±20.4a	36.4±15.4a	38.5±16.3a	43.2±20.1a
รัดลำต้น+PBZ	29.6±11.2a	41.6±18.5a	29.4±11.6a	29.2±10.5a	29.0±10.6a
F-test	*	*	*	*	*
C.V. (%)	76.12	92.36	76.78	80.25	83.68

PBZ = สารพาโคลบิวทราโซล

* แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ค่าเฉลี่ยในแต่ละสดมภ์ที่ตามด้วยอักษรต่างกันมีความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับ $P \leq 0.05$ ด้วยวิธี LSD

ตารางภาคผนวกที่ 4 ผลของการรัดลำต้นและสารพาโคลบิวทราโซลต่อความยาวตาดอกเดี่ยวของลองกองหลังจากให้ทรีทเมนต์

	สัปดาห์หลังให้ทรีทเมนต์				
ทรีทเมนต์	0	3	6	9	12
ชุดควบคุม	0.5 ± 0.03	1.1 ± 0.4b	5.3± 2.9b	5.4± 2.9b	5.5 ± 2.9b
รัดลำต้น	0.6 ± 0.05	2.2 ± 0.7a	10.1 ± 2.8a	10.1 ± 2.8a	10.0 ± 2.8a
PBZ	0.5 ± 0.02	1.6 ± 0.4a	8.4 ± 2.2a	9.5 ± 2.3a	10.1 ± 2.4a
รัดลำต้น+PBZ	0.6 ± 0.09	1.3± 0.6ab	5.2± 2.4b	4.3± 2.5b	4.6 ± 2.5b
F-test	ns	*	*	*	*
C.V. (%)	22.65	71.60	66.59	68.74	70.80

PBZ = สารพาโคลบิวทราโซล

* แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ค่าเฉลี่ยในแต่ละสดมภ์ที่ตามด้วยอักษรต่างกันมีความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับ $P \leq 0.05$ ด้วยวิธี LSD

ตารางภาคผนวกที่ 5 ผลของการรัดลำต้นและสารพาโคลบิวทราโซลต่อความยาวกลุ่มตาดอกของลองกองหลังจากให้ทรีทเมนต์

	สัปดาห์หลังให้ทรีทเมนต์				
ทรีทเมนต์	0	3	6	9	12
ชุดควบคุม	0.6 ± 0.10	2.4 ± 3.9	10.3 ± 1.2a	10.3 ± 1.2a	10.2 ± 3.7
รัดลำต้น	0.7 ± 0.03	3.0 ± 3.3	9.3 ± 0.8a	9.0 ±0.8b	8.7 ± 3.2
PBZ	0.6 ± 0.04	2.6 ± 2.9	7.4 ±0.7b	7.3 ±0.7c	7.1 ± 3.2
รัดลำต้น+PBZ	0.7 ± 0.08	2.3 ± 2.0	6.0 ± 0.5c	6.1 ±0.5d	6.2 ± 2.2
F-test	ns	ns	*	*	ns
C.V. (%)	21.73	67.48	65.89	65.78	64.92

PBZ = สารพาโคลบิวทราโซล

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ค่าเฉลี่ยในแต่ละสดมภ์ที่ตามด้วยอักษรต่างกันมีความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับ $P \leq 0.05$ ด้วยวิธี LSD

ตารางภาคผนวกที่ 6 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่อยู่ในรูปโครงสร้าง (TNC) ในเปลือกกิ่งลองกอง ภายหลังการรัดลำต้น การราดสารพาโคลบิวทราโซล และการรัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซล

กลุ่มทดลอง	สัปดาห์			
	0	1	2	3
ชุดควบคุม	58.61 ± 8.65	78.44 ± 9.38	92.84 ± 13.01	96.90 ± 12.55
รัดลำต้น	46.84 ± 12.95	89.52 ± 10.15	112.05 ± 15.97	119.06 ± 28.85
ราดสารพาโคลบิวทราโซล	44.85 ± 9.77	95.15 ± 12.06	97.44 ± 10.00	109.16 ± 10.82
รัดลำต้น + ราดสารพาโคลบิวทราโซล	48.58 ± 12.85	89.27 ± 10.11	102.56 ± 9.23	118.74 ± 11.13
F-test	ns	ns	ns	ns
C.V. (%)	56.14	27.80	27.01	29.50

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ค่าเฉลี่ยในแต่ละสดมภ์ที่ตามด้วยอักษรต่างกันมีความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับ $P \leq 0.05$ ด้วยวิธี LSD

ตารางภาคผนวกที่ 7 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่อยู่ใน รูปโครงสร้าง (TNC) ในใบลองกอง ภายหลังการลำต้น การราดสารพาโคลบิวทราโซลและการรัดลำต้น ร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซล

กลุ่มทดลอง	สัปดาห์			
	0	1	2	3
ชุดควบคุม	36.89 ± 10.09	45.81 ± 15.26	39.85 ± 10.26	33.48 ± 6.18
รัดลำต้น	24.70 ± 9.24	31.01 ± 8.85	48.78 ± 9.16	36.31 ± 4.64
ราดสารพาโคลบิวทราโซล	19.98 ± 4.83	27.47 ± 6.15	29.80 ± 5.12	36.54 ± 4.79
รัดลำต้น + ราดสารพาโคลบิวทราโซล	38.80 ± 5.90	46.02 ± 5.35	40.13 ± 1.94	54.93 ± 10.34
F-test	ns	ns	ns	ns
C.V. (%)	59.05	57.78	44.88	42.74

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ค่าเฉลี่ยในแต่ละสดมภ์ที่ตามด้วยอักษรต่างกันมีความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับ $P \leq 0.05$ ด้วยวิธี LSD

ตารางภาคผนวกที่ 8 ผลของการรัดลำต้นและสารพาโคลบิวทราโซลต่อปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในเปลือกลองกองภายหลังการให้ทรีทเมนต์

ทรีทเมนต์	ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลิน (ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด)			
	จำนวนสัปดาห์ก่อนออกดอก			
	0	1	2	3
ชุดควบคุม	2.91 ± 0.07	2.81 ± 0.11 a	1.82 ± 0.04 a	0.23 ± 0.03
รัดลำต้น	2.98 ± 0.08	2.56 ± 0.10 ab	1.68 ± 0.04 ab	0.21 ± 0.02
พาโคลบิวทราโซล	2.92 ± 0.11	2.43 ± 0.13 b	1.59 ± 0.04 b	0.20 ± 0.02
รัดลำต้น + พาโคลบิวทราโซล	2.95 ± 0.11	2.50 ± 0.07 ab	1.64 ± 0.02 ab	0.21 ± 0.01
F-test	ns	*	**	ns
C.V. (%)	2.07	6.35	2.43	4.74

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

** แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ค่าเฉลี่ยในแต่ละสดมภ์ที่ตามด้วยอักษรต่างกันมีความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับ $P \leq 0.05$ ด้วยวิธี LSD

ตารางภาคผนวกที่ 9 ผลของการรัดลำต้นและสารพาโคลบิวทราโซลต่อปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในใบลองกองภายหลังการให้ทรีทเมนต์

ทรีทเมนต์	ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลิน (ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด)			
	จำนวนสัปดาห์ก่อนออกดอก			
	0	1	2	3
ชุดควบคุม	2.81 ± 0.07	2.73 ± 0.08 a	1.70 ± 0.05a	0.24 ± 0.03
รัดลำต้น	2.74 ± 0.08	2.52 ± 0.05 ab	1.61 ± 0.03 ab	0.21 ± 0.02
พาโคลบิวทราโซล	2.83 ± 0.08	2.42 ± 0.07 b	1.47 ± 0.02 b	0.20 ± 0.02
รัดลำต้น + พาโคลบิวทราโซล	2.84 ± 0.08	2.48 ± 0.04 ab	1.58 ± 0.04 ab	0.21 ± 0.02
F-test	ns	**	**	ns
C.V. (%)	4.86	4.95	3.42	4.74

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

** แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ค่าเฉลี่ยในแต่ละสดมภ์ที่ตามด้วยอักษรต่างกันมีความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับ $P \leq 0.05$ ด้วยวิธี LSD

ตารางภาคผนวกที่ 10 ผลของการรัดลำต้นและสารพาโคลบิวทราโซลต่อการแสดงออกของยีน *GA20-ox* ในเปลือกลองกองภายหลังการให้ทรีทเมนต์

ทรีทเมนต์	สัดส่วนการแสดงออกของยีน *GA20-ox* เทียบเคียงกับยีน 18S rRNA			
	จำนวนสัปดาห์ก่อนออกดอก			
	0	1	2	3
ชุดควบคุม	0.05 ± 0.02 c	0.35 ± 0.10 a	0.16 ± 0.10 a	0.13 ± 0.03 a
รัดลำต้น	0.14 ± 0.02 b	0.19 ± 0.03 ab	0.09 ± 0.03 ab	0.12 ± 0.02 a
พาโคลบิวทราโซล	0.21 ± 0.03 a	0.30 ± 0.10 a	0.02 ± 0.01 b	0.09 ± 0.03 ab
รัดลำต้น + พาโคลบิวทราโซล	0.16 ± 0.03 b	0.08 ± 0.04 b	0.08 ± 0.02 ab	0.01 ± 0.02 b
F-test	*	*	*	*
C.V. (%)	2.36	2.45	3.67	2.11

* แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ค่าเฉลี่ยในแต่ละสดมภ์ที่ตามด้วยอักษรต่างกันมีความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับ $P \leq 0.05$ ด้วยวิธี LSD

ตารางภาคผนวกที่ 11 ผลของการรัดลำต้นและสารพาโคลบิวทราโซลต่อการแสดงออกของยีน *GA20-ox* ในใบลองกองภายหลังการให้ทรีทเมนต์

ทรีทเมนต์	สัดส่วนการแสดงออกของยีน *GA20-ox* เทียบเคียงกับยีน 18S rRNA			
	จำนวนสัปดาห์ก่อนออกดอก			
	0	1	2	3
ชุดควบคุม	0.34 ± 0.10b	0.05 ± 0.03 b	0.23 ± 0.10 b	0.28 ± 0.03 a
รัดลำต้น	0.14 ± 0.03d	0.35 ± 0.10 a	0.17 ± 0.03 c	0.02 ± 0.09 b
พาโคลบิวทราโซล	0.62 ± 0.10 a	0.01 ± 0.01b	0.21 ± 0.02 b	0.28 ± 0.03 a
รัดลำต้น + พาโคลบิวทราโซล	0.23 ± 0.05c	0.007 ± 0.02 c	0.96 ± 0.05 a	0.05 ± 0.10 b
F-test	*	*	*	*
C.V. (%)	1.70	2.46	4.82	3.44

* แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ค่าเฉลี่ยในแต่ละสดมภ์ที่ตามด้วยอักษรต่างกันมีความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับ $P \leq 0.05$ ด้วยวิธี LSD

ตารางภาคผนวกที่ 12 ผลของการรัดลำต้นและสารพาโคลบิวทราโซลต่อการแสดงออกของยีน *GA20-ox* ในเปลือกและใบลองกองภายหลังการให้ทรีทเมนต์

ทรีทเมนต์	สัดส่วนการแสดงออกของยีน *GA20-ox* เทียบเคียงกับยีน 18S rRNA			
	จำนวนสัปดาห์ก่อนออกดอก			
	0	1	2	3
ชุดควบคุม	0.40 ± 0.02 b	0.41 ± 0.03 b	0.39 ± 0.10 b	0.42 ± 0.03 a
รัดลำต้น	0.28 ± 0.05 c	0.54 ± 0.02 a	0.27 ± 0.04 c	0.15 ± 0.10 b
พาโคลบิวทราโซล	0.83 ± 0.04 a	0.31 ± 0.04c	0.23 ± 0.02 c	0.38 ± 0.04 a
รัดลำต้น + พาโคลบิวทราโซล	0.40 ± 0.02 b	0.08 ± 0.01d	1.05 ± 0.05 a	0.07 ± 0.06 b
F-test	*	**	*	*
C.V. (%)	2.31	2.54	3.65	4.87

* แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

** แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ค่าเฉลี่ยในแต่ละสดมภ์ที่ตามด้วยอักษรต่างกันมีความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับ $P \leq 0.05$ ด้วยวิธี LSD

ภาคผนวก ก

วิธีการเตรียมสารเคมี

1. วิธีการเตรียมสารเคมี

1.1 กรดเปอร์คลอริก (52% v/v)

กรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 70% (MW = 100.46) ถ้าต้องการสารละลายกรดเปอร์คลอริก 52% ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร จะต้องเติมกรดปริมาตร 743 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น 257 มิลลิลิตร จะได้สารละลายกรดเปอร์คลอริก 52% ปริมาตร 100 มิลลิลิตร รอให้สารเย็นก่อนนำไปใช้

1.2 แอนโทรน 0.1% (w/v)

แอนโทรน ($C_4H_{10}O$) มีความบริสุทธิ์ 100% ถ้าต้องการเตรียมแอนโทรน 0.1% จะต้องชั่งแอนโทรน 0.1 ใน กรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 14 โมลลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

1.3 กรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 98.08% (98.08 v/v)

เตรียมกรดซัลฟิวริก 760 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น 240 มิลลิลิตร จะได้กรดกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 14 โมลาร์ ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร รอให้สารเย็นก่อนนำไปใช้

1.4 แอมโมเนียมอะซิเตทความเข้มข้น 0.01 โมลลาร์

แอมโมเนียม 1 โมลลาร์ มีมวลโมเลกุล 77.08 กรัมต่อโมล ถ้าต้องการเตรียมแอมโมเนียมอะซิเตทความเข้มข้น 0.01 โมลลาร์ (M) ในน้ำ 1000 มิลลิลิตร จะต้องชั่งแอมโมเนียมอะซิเตทมา

คำนวณจากสูตร

$$g = \frac{MW \times M \times ml}{1000}$$

$$= \frac{77.08 \times 0.01 \times 1000}{1000}$$

$$= 0.77 \text{ กรัม}$$

เพราะฉะนั้นจะต้องชั่งแอมโมเนียมอะซิเตทมา 0.77 กรัม ละลายในน้ำ 1000 มิลลิลิตร

1.5 การเตรียมมาตรฐานกลูโคส

เตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐานช่วง 0 – 2.75 (MW = 198.17 W/V)

โดยเตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่มีกลูโคส 2.75 มิลลิกรัม / 5 มิลลิลิตร เป็น stock solution คำนวณความเข้มข้นโดย

สารละลาย 5 มิลลิลิตร มีกลูโคส 2.75 มิลลิลิตร

สารละลาย 1000 มิลลิลิตร จะมีกลูโคส $\frac{2.75 \text{ มิลลิกรัม} \times 1000 \text{ มิลลิลิตร}}{5 \text{ มิลลิลิตร}}$ = 550 มิลลิกรัม

เพราะฉะนั้นความเข้มข้น 550 มิลลิกรัม/1000 มิลลิลิตร คือความเข้มข้น 550 ส่วนต่อล้าน

เตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่ 0.25 – 2.25 มิลลิกรัม ใน 5 มิลลิลิตร โดยทุกความเข้มข้นจะเตรียม 100 มิลลิลิตร จาก stock solution คำนวณจากสูตร

$$C1V1 = C2V2$$

C1 = ความเข้มข้นของ stock สารละลายกลูโคสมาตรฐาน

C2 = ความเข้มข้นของสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่จะเตรียม

V1= ปริมาตรของ stock สารละลายกลูโคสมาตรฐานที่จะเตรียม

V2= ปริมาตรของสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่จะเตรียม

$$550 \text{ ส่วนต่อล้าน} \times V1 = 450 \text{ ส่วนต่อล้าน} \times 100 \text{ มิลลิลิตร}$$

$$V1 = \frac{450 \times 100}{550}$$

$$V1 = 81.8 \text{ มิลลิลิตร}$$

เพราะฉะนั้นกลูโคสช่วง 2.25 จะต้องดูดสารละลายจาก stock = 81.8 มิลลิลิตร

ความเข้มข้น 350 ส่วนต่อล้าน กลูโคสช่วง 1.75 จะต้องดูดสารละลายจาก stock = 63.6 มิลลิลิตร

ความเข้มข้น 250 ส่วนต่อล้าน ช่วง 1.25 จะต้องดูดสารละลายจาก stock = 45.4 มิลลิลิตร

ความเข้มข้น 150 ส่วนต่อล้าน ช่วง 0.75 จะต้องดูดสารละลายจาก stock = 27.3 มิลลิลิตร

ความเข้มข้น 50 ส่วนต่อล้าน ช่วง 0.25 จะต้องดูดสารละลายจาก stock = 9.1 มิลลิลิตร

1.6 การเตรียม 70% EtOH

abc. EtOH	70 มิลลิลิตร
เติมน้ำ DEPC $2H_2O$	30 มิลลิลิตร

ปริมาตรสุทธิ 100 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

1.7 การเตรียม น้ำ DEPC $2H_2O$

DEPC	1 มิลลิลิตร
เติมน้ำกลั่นจนครบ	1 ลิตร

ทิ้งไว้ 1 คืน เพื่อให้ RNase ในขวดเสียสภาพ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ นาน 30 นาที

1.8 การเตรียม 10X TAE buffer

Tris base	48.4 กรัม
Glacial acetic acid	10.9 มิลลิลิตร
EDTA	2.92 กรัม

ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DEPC $2H_2O$ จนครบ 1000 มิลลิลิตร จากนั้นปรับ pH ด้วย Glacial acetic acid เท่ากับ 8.0 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ นาน 30 นาที

1.9 การเตรียม 5X TBE buffer

Tris Base	54.0 กรัม
Boric acid	27.5 กรัม
0.5 M Na_2 ETDA	20 มิลลิลิตร

ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DEPC $2H_2O$ จนครบ 1000 มิลลิลิตร เจือจาง 0.5X เมื่อนำไปใช้โดยใช้ TBE buffer 10 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำ DEPC $2H_2O$ ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ได้ปริมาตรสุทธิ 100 มิลลิลิตร

2.0 การเตรียม 0.5 M ETDA, pH 8.0

EDTA	14.612 กรัม
เติมน้ำ DEPC $2H_2O$	10 มิลลิลิตร

ปรับปริมาตร pH ด้วย NaOH ให้ได้ pH 8.0 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ นาน 30 นาที

2.1 การเตรียม 1 M Tris-HCl, pH 8.2

Tris-HCl	15.76	กรัม
เติมน้ำ DEPC $2H_2O$	100	มิลลิลิตร

ปรับปริมาตร pH ด้วย KOH ให้ได้ pH 8.2 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ นาน 30 นาที

2.2 การเตรียม CTAB extraction buffer

2% CTAB	2	กรัม
100 mM Tris-HCl, pH 8.2	10	มิลลิลิตร
25 mM ETDA, pH 8.0	5	มิลลิลิตร
2 M NaCl	11.688	กรัม
4% pvp	4	กรัม

2.3 การเตรียม SEVAG (chloroform : Isoamyl alcohol, 24:1)

ตวงสารละลาย chloroform 24 ส่วน และ Isoamyl alcohol 1 ส่วน ผสมให้เข้ากัน ใส่ขวดสีชา เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2.4 การเตรียม 8 M Licl

Licl	33.912	กรัม
เติมน้ำ DEPC $2H_2O$	100	มิลลิลิตร

เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2.5 การเตรียม 6x loading dye

Bromophenol blue	0.25 มิลลิกรัม
Glycerol	3 มิลลิลิตร
5x TAE buffer	1 มิลลิลิตร

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 10 มิลลิลิตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2.6 การเตรียม marker 1 kb

marker	5 ไมโครลิตร
น้ำ DEPC	47.5 ไมโครลิตร
6x loading dry	47.5 ไมโครลิตร

ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2.7 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย LB (Luria Bertaini)

Yeast extract	10 กรัม
Tryptone	10 กรัม
NaCl	5 กรัม
เติมน้ำ DEPC $2H_2O$	1000 มิลลิลิตร

ปรับ pH เป็น 7.0 ด้วย 1N KOH นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ นาน 30 นาที

2.8 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย LB agar

Yeast extract	10 กรัม
Tryptone	10 กรัม
NaCl	5 กรัม
agar 1.8%	18 กรัม
เติมน้ำ DEPC $2H_2O$	1000 มิลลิลิตร

ปรับ pH เป็น 7.0 ด้วย 1N KOH นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ นาน 30 นาที

2.9 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย SOB

Yeast extract	5 กรัม
Tryptone	20 กรัม
NaCl	0.5 กรัม
เติมน้ำ DEPC $2H_2O$	950 มิลลิลิตร

ละลายดีแล้วเติม KCl ความเข้มข้น 250 mM (1.86กรัม/H_2O 100 มิลลิลิตร) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ นาน 30 นาที ก่อนใช้เติม $MgCl_2$ 2 M (19กรัม/H_2O 100 มิลลิลิตร) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร

2.10 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย SOC

เติม 1 M Glucose (18กรัม/H_2O 100 มิลลิลิตร) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ลงในอาหาร SOB หลังจากน้ำตาลลายดีแล้ว กรองด้วยแผ่นแมมเบรนขนาด 0.22 ไมครอน

2.11 การเตรียม X-Gal

X-Gal	20 มิลลิกรัม
Dimethylformamind	1 มิลลิลิตร

เก็บไว้ในหลอดห่อฟลอยด์ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส โดยไม่ต้องกรอง สารละลายที่ดีควรจะเป็นสารละลายใสไม่มีสี

2.12 การเตรียม amplicillin 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ชั่ง amplicillin sodium salt 100 มิลลิกรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น sterile ปริมาตร 1 มิลลิลิตร กรองแล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

ภาคผนวก ข

การ alignment ยีน *GA20-ox* ในแอปเปิ้ล สาลี่ ส้ม แอลมอล

F : 5'ATGGCWRTTGAGTGCATGATCA'3

```
apple      1:ATGGCTGTTGAGTGCATGATCAAA
Prunus     1:ATGGCAATTGAGTGCATGATCACA
Pyrus      1:ATGGCTGTTGAGTGCATGATCAAA

apple     61:CCACAAACGCAGAAAACCCAGCAGCACAAAGAGGTTGACCAGAAACCATTGGTTTTTGAT 120
Prunus    61:TCCCTAAAAACAGAGCACAAACAAGAT------G---ACCAAAAACCATTAGTTTTTGAT 111
Pyrus     61:CCACAAACGCAGAAAACCCAGCAGCACAAAGAGGATGACCAGAAACCATTGGTTTTTGAT 120

apple    121:GCCTCAGTTTTAAGGTATCAAACTGAAATTCCGAGTCAGTTCATATGGCCCGATGACGAA 180
Prunus   112:GCCTCAGTTCTCAGGTACCAGACAGAAATACCAAAACAGTTCATATGGCCTGATGAGGAA 171
Pyrus    121:GCCTCAGTTTTAAGGTACCAAACTGAAATTCCGAGTCAGTTCATATGGCCCGATGACGAA 180

apple    181:AAGCCTTGCAAAAATACTCCCGAGCTCCGAGTCCCACTCATAGACTTGGGAGGCTTTCTC 240
Prunus   172:AAGCCCTGCGCAAACACCCCTGAGCTCCAAGTCCCTCTTATAGACTTGGGTGGTTTTCTC 231
Pyrus    181:AAGCCTTGCAAAAATACTCCCGAGCTCCGAGTCCCACTCATAGACTTGGGAGGCTTTCTC 240

apple    241:TCGGGTGACAAAGAAGCCGCTGCGAAAGCCTCGCAACTTGTAGGAGAGGCATGCCAGAAG 300
Prunus   232:TCTGGAAACAAAAAAGCTGCAACGAAAGCCTCCACAATTGTAGGCGAGGCCTGCCAAAAG 291
Pyrus    241:TCGGGCGACAAAGAAGCTGCTGCGAAAGCATCGCAACTTGTAGGAGAGGCATGCCAGAAG 300

apple    301:CATGGATTTTTCCTCATCGTGAATCATGGCGTCGACAATAAGCTCATCGCGGACGCTCAC 360
Prunus   292:CATGGCTTTTTCCTTGTTGTGAATCATGGTGTTGACAATCAACTCATAGCCGATGCTCAT 351
Pyrus    301:CATGGATTTTTCCTCATCGTGAACCATGGCGTCAACGACAAGCTCATCGCGGACGCTCAC 360

apple    361:TGCTACATGGATGACTTTTTTGGAATGCCACTCTCCGAAAAACAGAGAGCTCAAAGGAAA 420
Prunus   352:CGCTACATGGGTGACTTTTTCGGGTTGCCTCTGTCTGAAAAACAGAGAGCGCAGAGGCTA 411
Pyrus    361:CGCTGCATGGATGACTTTTTTGGAATGCCACTCTCCGAAAAACAGAGAGCTCAAAGGAAA 420

apple    421:GCAGGGGAGAGCTGTGGCTATGCCAGCAGCTTCACTGACAGATTCTCCTCAAAACTCCCG 480
Prunus   412:CTAGGGGAGCACTGTGGCTATGCCAGCAGCTTCACTGGTAGATTCTCGTCAAAACTTCCA 471
Pyrus    421:GCAGGGGAGAGCTGTGGCTATGCCAGCAGCTTCACTGGCAGATTCTCCTCAAAACTCCCG 480

apple    481:TGGAAAGAGACTCTCTCTTTCAGCTACTCCGCCGAAAAAGGCTCAACCAATATTATCCAA 540
Prunus   472:TGGAAGGAGACTCTTTCTTTTCGCTACTCTGCAGACAAAAGGTCATCCAGTATCGTCCAA 531
Pyrus    481:TGGAAAGAGACTCTCTCGTTCAGCTACTCCGCCAAAAAAGGCTCAACCAATATTATCCAA 540

apple    541:GATTATTTTTGCAACAAAATGGGAGAAGAATTCAAGGAATTCGGGAGGGTTTACCAAGAT 600
Prunus   532:GATTATCTCTGCAGTAAAATGGGAGAAGAATTCAAGGAATTCGGGAGGGTGTACCAAGAT 591
Pyrus    541:GATTATTTTTGCAACAAAATGGGAGAAGAATTCAAGGAATTCGGGAGGGTTTACCAAGAT 600

apple    601:TATAGTGAGGCTATGAGCACACTTTCTATTGGGATCATGGAACTTCTGGGACTGAGCCTT 660
Prunus   592:TACAGTGAGGCTATGAGCACTCTTTCTATTGGGATCATGGAGCTTCTGGGATTGAGCCTT 651
Pyrus    601:TATAGTGAGGCGATGAGCACACTTTCTATTGGGATCATGGAACTTCTGGGACTGAGCCTT 660

apple    661:GGAGTCGACAGAGCTTACTTCAAGGAGTTTTTCGAAGACAATGATTCGATAATGAGGCTT 720
Prunus   652:GGAGTTGACAGAGCACATTTCAAGGAATTTTTCGAGGACAATGATTCGATAATGAGGCTG 711
Pyrus    661:GGAGTCGACAGAGCTTACTTCAAGGAGTTTTTCGATGACAATGATTCGATAATGAGGCTT 720

apple    721:AATTACTACCCACCATGCCAGAAACCTGAGCAGACTTTAGGCACTGGCCCTCATTGTGAC 780
Prunus   712:AATTACTGCCCACCGTGCCAGAAACCTGATCAAACTTTAGGCACCGGTCCTCATTGCGAT 771
Pyrus    721:AATTACTACCCACCGTGTCAGAAACCTGAGCAGACTTTAGGCACTGGCCCTCATTGTGAC 780

apple    781:CCAACTTCTTTGACCATTCTTCACCAAGACCAAGTTGGAGGCCTTGAAGTCTTTGTTGAT 840
Prunus   772:CCAACATCTTTAACTATTCTCCACCAAGACCAAGTTGGAGGGCTTGAGGTGTTTGTGGAT 831
Pyrus    781:CCAACTTCTTTGACCATTCTTCACCAAGACCAAGTTGGAGGCCTTGAAGTCTTTGTTGAT 840

apple    841:GATCAATGGCACTCCATTAGCCCTAATTTAAATGCCTTTGTAGTCAACATTGGTGACACC 900
Prunus   832:GATAAATGGCATTCCATTAGCCCAAATTTAAATGCCTTTGTTGTTAACATTGGTGACACT 891
Pyrus    841:GATCAATGGCACTCCATTAGCCCTAATTTAAATGCCTTTGTAGTCAACATTGGTGACACC 900

apple    901:TTCATGGCTCTTTCAAACGGGAAGTACAGGAGCGGGCTGCACAGGGCAGTGGTGAACAGT 960
Prunus   892:TTCATGGCTCTTTCAAACGGGAGGTACAAGAGCTGCTTGCACAGGGCAGTGGTGAACAGC 951
Pyrus    901:TTCATGGCTCTTTCAAACGGGAATTACAAGAGCGGGCTGCACAGGGCAGTGGTGAACAGT 960

apple    961:GAGACACCAAGGAAGTCTCTTGCATTCTTCTTGTGTCCGAGAGACGATAAAGTAGTGAAG 1020
Prunus   952:CAAACACCAAGGAAGTCTCCTGCATTCTTCTTGTGTCCCAGAGATGATAAGGTGGTGAAG 1011
Pyrus    961:GAAACACCAAGGAAGTCTCTTGCATTCTTCTTGTGTCCGAGAGACGATAAAGTCGTGAAG 1020

apple   1021:CCGCCGAGCGGGTTGGTAGATACTTCGAGTCCG---AGAAAATACCCGGATTTCACATGG 1077
```

```
apple          1:ATGGCTGTTGAGTGCATGATCAAACCCAGCAGCATGCAAACCATGGCCCAACCTCCCTCC 60
ox1 Citrus     1:ATGGCAATAGACTGCATAAAAAATATACCCACCATGCTTCATCAACCAAAAGAAGAATAC 60
Prunus         1:ATGGCAATTGAGTGCATGATCACAACAAGAAGAAGCACGCAATCCATGGCTCAACCCCCC 60
Pyrus          1:ATGGCTGTTGAGTGCATGATCAAACCCAGCAGCATGCAAACCATGGCACAACCTCCCTCC 60

apple         61:CCACAAACGCAGAAAACCCAGCAGCACAAAGAGGTTGACCAGAAACCATTGGTTTTTGAT 120
ox1 Citrus    61:AAA-------------------------GATGAACAAAAGC---CACTAGTTTTTGAT 90
Prunus        61:TCCCTAAAAACAGAGCACAAACAAGAT------G---ACCAAAAACCATTAGTTTTTGAT 111
Pyrus         61:CCACAAACGCAGAAAACCCAGCAGCACAAAGAGGATGACCAGAAACCATTGGTTTTTGAT 120

apple        121:GCCTCAGTTTTAAGGTATCAAACTGAAATTCCGAGTCAGTTCATATGGCCCGATGACGAA 180
ox1 Citrus    91:GCCTCAGTGCTTAAACACCAAACCCAAATACCAAAGCAGTTCATATGGCCTGATGATGAA 150
Prunus       112:GCCTCAGTTCTCAGGTACCAGACAGAAATACCAAAACAGTTCATATGGCCTGATGAGGAA 171
Pyrus        121:GCCTCAGTTTTAAGGTACCAAACTGAAATTCCGAGTCAGTTCATATGGCCCGATGACGAA 180

apple        181:AAGCCTTGCAAAAATACTCCCGAGCTCCGAGTCCCACTCATAGACTTGGGAGGCTTTCTC 240
ox1 Citrus   151:AAGCCTTGTGTTAATGCACCGGAGCTTCAAGTACCACTTATCGACTTGGGTGGGTTCCTT 210
Prunus       172:AAGCCCTGCGCAAACACCCCTGAGCTCCAAGTCCCTCTTATAGACTTGGGTGGTTTTCTC 231
Pyrus        181:AAGCCTTGCAAAAATACTCCCGAGCTCCGAGTCCCACTCATAGACTTGGGAGGCTTTCTC 240

apple        241:TCGGGTGACAAAGAAGCCGCTGCGAAAGCCTCGCAACTTGTAGGAGAGGCATGCCAGAAG 300
ox1 Citrus   211:TCCGATGACCCTGTTGCTGCTAAAGAAGCTTCAAGGCTCGTAGGTGAGGCTTGCCGAAAG 270
Prunus       232:TCTGGAAACAAAAAAGCTGCAACGAAAGCCTCCACAATTGTAGGCGAGGCCTGCCAAAAG 291
Pyrus        241:TCGGGCGACAAAGAAGCTGCTGCGAAAGCATCGCAACTTGTAGGAGAGGCATGCCAGAAG 300

apple        301:CATGGATTTTTCCTCATCGTGAATCATGGCGTCGACAATAAGCTCATCGCGGACGCTCAC 360
ox1 Citrus   271:CACGGGTTCTTTCTTGTTGTTAATCATGGAGTTGATTCAAGCCTAATCGCTGATGCTCAC 330
Prunus       292:CATGGCTTTTTCCTTGTTGTGAATCATGGTGTTGACAATCAACTCATAGCCGATGCTCAT 351
Pyrus        301:CATGGATTTTTCCTCATCGTGAACCATGGCGTCAACGACAAGCTCATCGCGGACGCTCAC 360

apple        361:TGCTACATGGATGACTTTTTTGGAATGCCACTCTCCGAAAAACAGAGAGCTCAAAGGAAA 420
ox1 Citrus   331:CGTTACATGGACCATTTCTTTGAGTTGCCACTTAATGAAAAGCAAAGGGCTCGGAGGAAA 390
Prunus       352:CGCTACATGGGTGACTTTTTCGGGTTGCCTCTGTCTGAAAAACAGAGAGCGCAGAGGCTA 411
Pyrus        361:CGCTGCATGGATGACTTTTTTGGAATGCCACTCTCCGAAAAACAGAGAGCTCAAAGGAAA 420

apple        421:GCAGGGGAGAGCTGTGGCTATGCCAGCAGCTTCACTGACAGATTCTCCTCAAAACTCCCG 480
ox1 Citrus   391:CTTGGTGAGCACTGCGGTTATGCTAGTAGCTTCACTGGTAGGTTTTCCTCCAAGCTTCCA 450
Prunus       412:CTAGGGGAGCACTGTGGCTATGCCAGCAGCTTCACTGGTAGATTCTCGTCAAAACTTCCA 471
Pyrus        421:GCAGGGGAGAGCTGTGGCTATGCCAGCAGCTTCACTGGCAGATTCTCCTCAAAACTCCCG 480

apple        481:TGGAAAGAGACTCTCTCTTTCAGCTACTCCGCCGAAAAAGGCTCAACCAATATTATCCAA 540
ox1 Citrus   451:TGGAAAGAGACGTTGTCGTTTCGTTATTCAGCTGAGAAGAGCTTATCAAATAACATTGTT 510
Prunus       472:TGGAAGGAGACTCTTTCTTTTCGCTACTCTGCAGACAAAAGGTCATCCAGTATCGTCCAA 531
Pyrus        481:TGGAAAGAGACTCTCTCGTTCAGCTACTCCGCCAAAAAAGGCTCAACCAATATTATCCAA 540

apple        541:GAT---TATTTTTGCAACAAAATGGGAGAAGAATTCAAGGAATTCGGGAGGGTTTACCAA 597
ox1 Citrus   511:GAAGATTATTTGCTTAACACAATGGGAGATGAATTCAAGCAATTCGGAAGGGTTTATCAG 570
Prunus       532:GAT---TATCTCTGCAGTAAAATGGGAGAAGAATTCAAGGAATTCGGGAGGGTGTACCAA 588
Pyrus        541:GAT---TATTTTTGCAACAAAATGGGAGAAGAATTCAAGGAATTCGGGAGGGTTTACCAA 597

apple        598:GATTATAGTGAGGCTATGAGCACACTTTCTATTGGGATCATGGAACTTCTGGGACTGAGC 657
ox1 Citrus   571:GACTACTGCGAGTCGATGAGCAGACTTTCACTAGGGATTATGGAGCTTTTAGCAATAAGT 630
Prunus       589:GATTACAGTGAGGCTATGAGCACTCTTTCTATTGGGATCATGGAGCTTCTGGGATTGAGC 648
Pyrus        598:GATTATAGTGAGGCGATGAGCACACTTTCTATTGGGATCATGGAACTTCTGGGACTGAGC 657

apple                                                  AGACAATGATTCGATAATGAGG 717
ox1 Citrus   R1: 5' AGCCTCATTATCGAATCATT'3              AGAGAATGATTCGATAATGAGG 690
Prunus                                                 GGACAATGATTCGATAATGAGG 708
Pyrus                                                  TGACAATGATTCGATAATGAGG 717

apple        718:CTTAATTACTACCCACCATGCCAGAAACCTGAGCAGACTTTAGGCACTGGCCCTCATTGT 777
ox1 Citrus   691:CTAAATTACTATCCGCCGTGCCAAAAACCAGAGCTTACTTTAGGGACAGGACCTCACTGC 750
Prunus       709:CTGAATTACTGCCCACCGTGCCAGAAACCTGATCAAACTTTAGGCACCGGTCCTCATTGC 768
Pyrus        718:CTTAATTACTACCCACCGTGTCAGAAACCTGAGCAGACTTTAGGCACTGGCCCTCATTGT 777

apple        778:GACCCAACTTCTTTGACCATTCTTCACCAAGACCAAGTTGGAGGCCTTGAAGTCTTTGTT 837
ox1 Citrus   751:GATCCAACTTCTTTAACAATCCTTCACCAAGACCAAGTGGGTGGTCTTCAGGTGTTTGTA 810
Prunus       769:GATCCAACATCTTTAACTATTCTCCACCAAGACCAAGTTGGAGGGCTTGAGGTGTTTGTG 828
Pyrus        778:GACCCAACTTCTTTGACCATTCTTCACCAAGACCAAGTTGGAGGCCTTGAAGTCTTTGTT 837

apple        838:GATGATCAATGGCACTCCATTAGCCCTAATTTAAATGCCTTTGTAGTCAACATTGGTGAC 897
ox1 Citrus   811:GACAATGAATGGCGCTCAATTAGCCCAAATTTCGAAGCATTTGTCGTTAACATTGGCGAC 870
Prunus       829:GATGATAAATGGCATTCCATTAGCCCAAATTTAAATGCCTTTGTTGTTAACATTGGTGAC 888
Pyrus        838:GATGATCAATGGCACTCCATTAGCCCTAATTTAAATGCCTTTGTAGTCAACATTGGTGAC 897

apple        898:ACCTTCATGGCTCTTTCAAACGGGAAGTACAGGAGCGGGCTGCACAGGGCAGTGGTGAAC 957
ox1 Citrus   871:ACCTTCATGGCGCTTTCAAATGGGAGATACAAGAGTTGTTTGCACCGGGCGGTTGTGAAT 930
Prunus       889:ACTTTCATGGCTCTTTCAAACGGGAGGTACAAGAGCTGCTTGCACAGGGCAGTGGTGAAC 948
Pyrus        898:ACCTTCATGGCTCTTTCAAACGGGAATTACAAGAGCGGGCTGCACAGGGCAGTGGTGAAC 957

apple        958:AGTGAGACACCAAGGAAGTCTCTTGCATTCTTCTTGTGTCCGAGAGACGATAAAGTAGTG 1017
ox1 Citrus   931:AGCCAAACAACAAGAAAATCACTCGCTTTCTTTTTGTGTCCAAAGAATGATAAAGTGGTA 990
Prunus       949:AGCCAAACACCAAGGAAGTCTCCTGCATTCTTCTTGTGTCCCAGAGATGATAAGGTGGTG 1008
Pyrus        958:AGTGAAACACCAAGGAAGTCTCTTGCATTCTTCTTGTGTCCGAGAGACGATAAAGTCGTG 1017

apple       1018:AAGCCGCCGAGCGGGTTGGTAGATACTTCGAGTCCG---AGAAAATACCCGGATTTCACA 1074
```

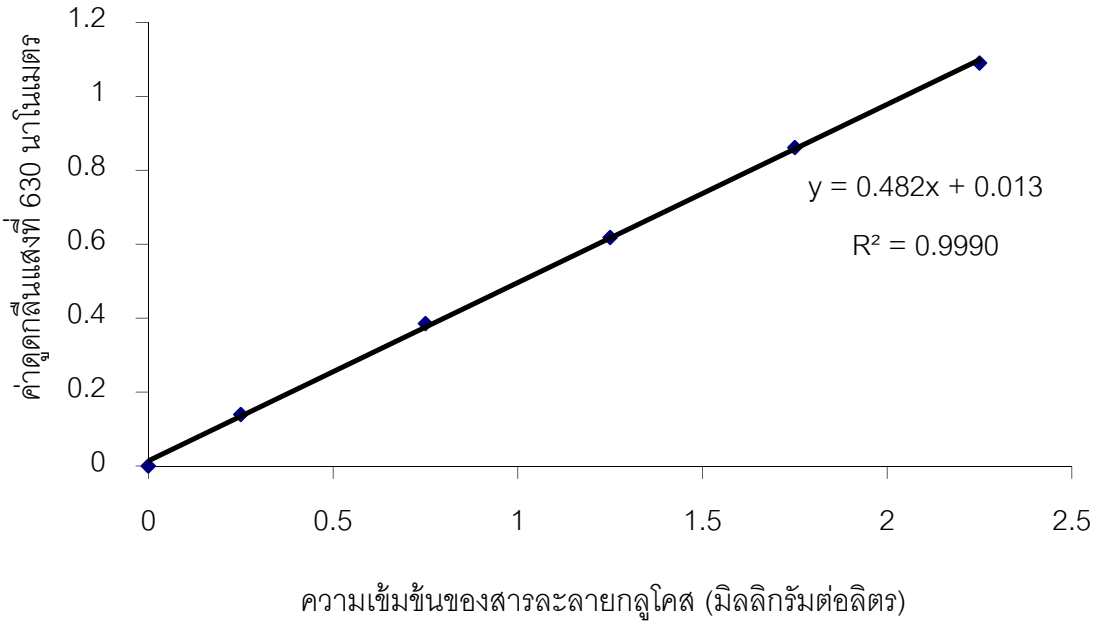
ข้อมูลลำดับเบสของยีน *GA20-ox*

AGTTCATATGGCCTGATGAGGAACAGCCTTGTGCTAATGCTCCCGAACTTCAAGTACCAC 60
TTATCGACTTGGGTGGTTTCCTTTCCGGTGACCCTGTTGCTTCTAAAGAAGCTTCAAGAC 120
TTGTTGGAGAGGCTTGCCGAAAGCATGGTTTCTTTCTTGTTGTTAATCATGGAGTCGATT 180
CAAAACTCATAGCCGAGGCTCATCGTTACATGGACAACTTCTTTGAATTGTCTCTTTCTG 240
AAAAGCAAAGAGCTCAGAGAAAACTTGGTGAGCACTGCGGGTATGCCAGTAGTTTTACTG 300
GTAGGTTTTCCTCTAAACTTCCATGGAAAGAGACGCTTTCTTTTCGCTATTCAGCTGAGA 360
AGAACTTATCAAACATTGTAGAAGAGTATTTTCAAAATACAATGGGAGATGAATTCAAGC 420
AATTTGGGTATGAAACTATATATGCTACCATTTTGATCCCTTCCCACCGTTTTTTATGTT 480
GCTTGATTTCTTGAAACAACTGAAATTAATTCTCTGTTTTTCTTATACATATACAGGAGG 540
GTATTCCAGGAGTACTGCGAGGCTATGAGCACTCTTTCTCTAGGAATCATGGAGCTTTTA 600
GCGATAAGCCTTAGCGTGGACACAGTCTATTTTAAAGAATTTTTTGAAGAAAATGATTCG 660
ATAATGAGGCT 671

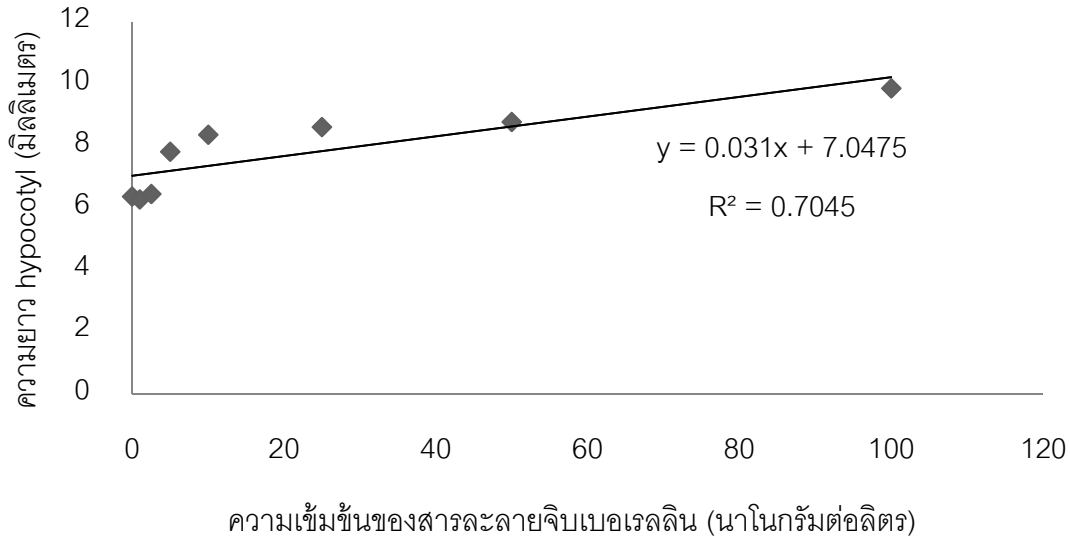
ข้อมูลลำดับเบสของยีน 18S rRNA

TTGGTGTGCACCTGTCATCTCGTCCCTTCTACCGGCGATGCGCTCCTGGCCTTAATTGGC 60
CGGGTCGTGCCTTCGGTGCTGTTACTTTGAAGAAATTAGAGTGCTCAAAGCATGCCTACG 120
CTCTGGATACATTAGCATGGGATAACATCATAGGATTTCGATCCTATTCTGTTGGCCTTC 180
GGGATCGGAGTAATGA 196

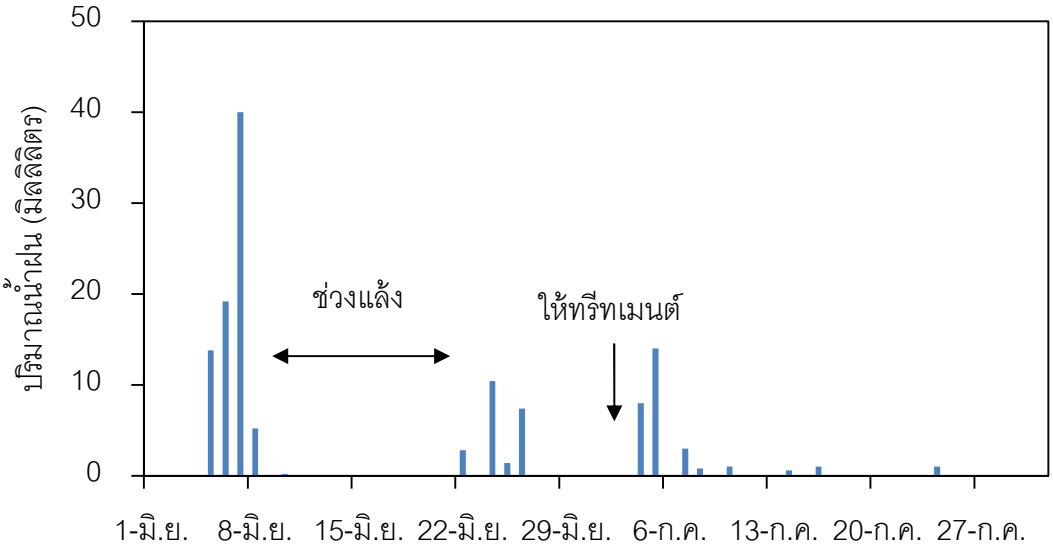
ภาคผนวก ค



ภาพภาคผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐานของความเข้มข้นของสารละลายกลูโคส กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 630 นาโนเมตร



ภาพภาคผนวกที่ 2 กราฟมาตรฐานของความเข้มข้นของสารละลายจิบเบอเรลลิน



ภาพภาคผนวกที่3 ปริมาณน้ำฝน (มิลลิลิตร) จากสถานีอุตุนิยมวิทยา ต.คอหงส์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา และช่วงแล้งก่อนการออกดอกในช่วงการทดลอง (เดือนมิถุนายน-เดือนกรกฎาคม พ.ศ 2555)

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวสายทิพย์ ทิพย์ปาน

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5310620056

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2553

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับระหว่างการศึกษา)

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับทุนสนับสนุนส่วนหนึ่งจากสถานวิจัยความเป็นเลิศ เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร และทรัพยากรธรรมชาติ คณะทรัพยากรธรรมชาตมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินรายได้มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

สายทิพย์ ทิพย์ปาน และ ลดาวัลย์ เลิศเลอวงศ์. 2557. ผลของการรัดกิ่งและสารพาโคลบิวทราโซล ต่อการออกดอกและปริมาณคาร์โบไฮเดรทที่ไม่ใช่โครงสร้างของลองกอง (*Aglaia dookk*o Griff.). วารสาร พืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 1: 28 – 33.

Lerslerwong, L., Tipparn, S. and Chanaweerawan, S. 2014. Preliminary study to control flowering by trunk girdling and paclobutrazol treatment in longkong. Acta Horticulturae 1024: 211-216.