

บัณฑิตวิทยาลัย พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษปริญญาตรี

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

เรื่อง

การหาปริมาณแอบซิชิก แอซิดที่สกัดจากใบอบเชยไทย

โดยวิธีการไบโอแอสเซย์

Quantitative Determination of Abscisic Acid

From Cinnamom leaves (Cinnamomum iners Blume) Using

ปก.
ส. 239ก

Bioassay Method.

เลขหมู่..... 9530
เลขทะเบียน..... 100523
วัน,เดือน,ปี..... 19 JUN 2009



โดย

นายสมชาย ชีระบุตร

..... ประธานกรรมการอาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สุทธิพร อนันต์สุชาติกุล)

ภาควิชารับรองแล้ว

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สุทธิพร อนันต์สุชาติกุล)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

วันที่..... 19 ..เดือน..... 2553..... พ.ศ. 2530..

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

ชื่อเรื่อง : การหาปริมาณแอบซิชิก แอซิด ที่สกัดจากใบอบเชยไทย โดยวิธีการไบโอแอสเซย์

โดย : นายสมชาย ธีระบุตร

ชื่อปริญญา : วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีการผลิตพืช)

สาขาวิชา : เทคโนโลยีการผลิตพืช

ประธานกรรมการอาจารย์ที่ปรึกษา

(ผศ. สุทธิพร อนันต์สุชาติกุล)

การตรวจหาและประมาณค่า ปริมาณกรดแอบซิชิก ที่สกัดจากใบอบเชยไทย
(*Cinnamomum iners*, Blume) ที่ระยะต่าง ๆ ของ flush cycle แต่ระยะใช้ตัวอย่าง
ใบสดหนัก 2 กรัม การทดลองครั้งนี้เป็นช่วงของการตรวจหา และประมาณค่าปริมาณกรดแอบซิชิกจาก
paper chromatograms ซึ่งได้จากการร่ววิธีการสกัดและทำให้บริสุทธิ์ โดยวิธีของ Goldschmidt
et al. (1973) และทดสอบหาปริมาณกรดแอบซิชิกโดย วิธี bioassay กับ wheat coleoptile

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ปริมาณกรดแอบซิชิกอยู่ในระดับต่ำในระยะใบอ่อน (F-1-F-2)
และเมื่อใบเริ่มพัฒนาเต็มที่ (I-1) ปริมาณ ABA จะเพิ่มมากขึ้นโดยเฉพาะกรดแอบซิชิกในรูป Bound acid
และหลังจากนั้นจะลดลงในระยะที่ใบพัฒนาเต็มที่ และอยู่ในช่วงของการพักตัว (I-1-I-2)
และจะคงอยู่ในระดับต่ำจนถึงก่อนเข้า flush cycle ใหม่ สำหรับใบแก่ที่ระยะทวษออกเริ่มแตกเป็น
ใบใหม่ (F-1PF) ปริมาณแอบซิชิกจะเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย

สรุปได้ว่าใบอบเชยที่พัฒนาเต็มที่แล้ว ทั้งในช่วงก่อนและระหว่าง flush cycle
จะเป็นแหล่งผลิตกรดแอบซิชิกซึ่งเป็นตัวควบคุมให้ตายออกอยู่ในระยะพักตัว

ABSTRACT

TITLE : QUANTITATIVE DETERMINATION OF ABSCISIC ACID FROM CINNAMOM LEAVES (CINNAMOMUM iners.) USING BIOASSAY METHOD

BY : SOMCHAI THEERABUTRA

DEGREE : BACHELOR OF SCIENCE (PLANT PRODUCTION TECHNOLOGY

ADVISOR: (ASSISTANT - PROFESSOR : SUTTIPORN ANANSUCHARTKUL)

Determination and estimation of ABA which were extracted from cinnamom flush leaves according to the method of Goldschmidt et al.(1973) An aliquot of each acid from fraction, equivalent to 2.0 g leaf material, was separated by ascending chromatography (Whatman No.1) in isopropanol/ ammonia/water (10:1:1), then the ABA quantity measured by the wheat coleoptile extension bioassay (Nitsch and Nitsch, 1956)

The results showed that ABA were at low levels during the early stages of leaf development (F-1 to F-2) but were present at high levels in leaves when recently fully expanded (I-1) particular the bound ABA, then declined again during the dormant period (I-1 to I-2) to reach a low level at the start of new cycle and increase a little bit again at F-1PF. It is suggested that both the mature leaves of the current flush and the leaves of the previous flush act as sources of ABA which maintain bud in a stage of dormancy during the latter half of the growth cycle.

สารบัญ

(หน้า)

(3)

สารบัญภาพ

คำนำ

1

การตรวจเอกสาร

5

อุปกรณ์และวิธีการ

25-26

ผลการทดลอง

29

วิจารณ์

35

สรุป

38

เอกสารอ้างอิง

39

ภาคผนวก

46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

(หน้า)

ภาพที่ 1	แสดง Wheat coleoptile bioassay จากตัวอย่างไซบอแซสหนัก 2 กรัม ที่ระยะทาง ๆ ของ flush cycle	32
ภาพที่ 2	แสดงแนวโน้มนการยับยั้งการยืดตัวของ Wheat coleoptile bioassay ของ Standard Solution ที่ ABA ความเข้มข้นต่าง ๆ	33
ภาพที่ 3	แสดง Wheat coleoptile bioassay ของ paper Standard chromatograms ABA ความเข้มข้นต่าง ๆ	34

กิตติกรรมประกาศ

(Acknowledgement)

ปัญหาพิเศษฉบับนี้สามารถสำเร็จได้ด้วยความช่วยเหลือ โดยได้รับความกรุณาจาก ผศ.สุทธิพร อนันต์สุชาติกุล ประธานกรรมการอาจารย์ที่ปรึกษาที่ได้จัดหาสถานที่ วัสดุอุปกรณ์ สารเคมี เพื่อใช้ในการทำการทดลองปัญหาพิเศษครั้งนี้ และแนะนำเทคนิคและขอปฏิบัติบางประการของการทดลอง ตลอดจนจัดหาเอกสารอ้างอิงปรับปรุงและแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ในปัญหาพิเศษฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์ถูกต้องยิ่งขึ้น ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณในความกรุณาของอาจารย์เป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.วรเดช จันทรสร, อาจารย์อรทัย เทียวสมบูรณ์กิจ, อาจารย์ระศิพร หาเรือนกิจ, อาจารย์วิชัย ลิ้มถาดูจนพงศ์, ผศ.มาลินี คันทิยากรณ์ ที่ได้ให้ความกรุณาให้ยืมสถานที่ วัสดุอุปกรณ์ในการทดลอง และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำตึกปฏิบัติการต่าง ๆ ตลอดจนเพื่อน ๆ ที่ช่วยเหลือให้การทดลองครั้งนี้

สมชาย ชีระบุตร

มีนาคม 2530

การหาปริมาณแอบซิซิก แอซิดที่สกัดจากใบอบเชยไทย

โดยวิธีการไบโอแอสเสย์

**Quantitative Determination of Abscisic acid
From Cinnamom leaves (Cinnamomum iners, Blume)
Using Bioassay Method.**

คำนำ

ในทุกวันนี้จะเห็นได้ว่าความต้องการอาหารของพลโลกได้เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เนื่องจากอัตราการเกิดของประชากรเพิ่มขึ้นนั่นเองและอาหารส่วนใหญ่ได้มาจากการกลั่นกรอง ซึ่งส่วนใหญ่ได้แก่ พืชอาหารต่าง ๆ เช่น ข้าว ข้าวโพด มันสำปะหลัง ตลอดจนพืชอื่น ๆ เช่น กาแฟ ชา โกโก้ และไม้อื่น ๆ ซึ่งจะพบว่าการเจริญของพืชในวัฏจักรของการเจริญตัวหนึ่ง ๆ จะมีปัจจัยที่มาเกี่ยวข้องคือ ปัจจัยทางสภาพแวดล้อม เช่น สภาพดิน ความชื้นในดิน ความชื้นในอากาศ อุณหภูมิ ความแห้งแล้ง และอีกปัจจัยหนึ่งคือ ปัจจัยภายในของพืชเอง เช่น ฮอโมนและสารยับยั้งการเจริญต่าง ๆ **Plant growth hormone and Plant growth retardant** ปัจจัยภายในเหล่านี้จะมีความสัมพันธ์และมีบทบาทต่อการเจริญเติบโตของพืช เช่น กาแฟ โกโก้ อบเชย หากสภาพอากาศแห้งแล้งและหนาวเย็น กลไกภายในต้นพืชจะกระตุ้นให้พืชสร้างสารยับยั้งการเจริญออกมาสะสมที่ยอดและใบอ่อน สารดังกล่าวได้แก่ **Abscisic Acid** เป็นคน ซึ่งในบรรดาสารยับยั้งการเจริญของพืชทั้งหลายนั้น **Abscisic Acid (ABA)** นับว่าเป็นสารที่ได้รับความสนใจมาก **ABA** เป็นสารที่มีบทบาทสำคัญในการที่ทำให้พืชสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น ความหนาวเย็นของอากาศมีผลอย่างมากต่อการเจริญเติบโตของพืช พืชหลายชนิด เช่น โกโก้ กาแฟ อโวคาโด และอบเชยไทย ไม่สามารถจะผลิใบ ออกดอก ผลได้ ในฤดูหนาว สภาพเช่นนี้พืชจะสร้าง **ABA** ขึ้นมาเพื่อให้พืชพักตัว อาจเป็นการพักตัวของตา (**bud dormancy**) หรือการพักตัวของเมล็ด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(seed dormancy) เป็นต้น

ABA พบครั้งแรกโดย P.F. Wareing และผู้ร่วมงานในแคว้น Wales ประเทศอังกฤษ ในปี 1965 ซึ่งได้ทำการทดลองเพิ่มเติมว่าทำให้เกิดการพักตัวใน Acer pseudoplatanus (Salisbury, 1973) จากการทดลองของ Wareing พบว่าสาเหตุที่ทำให้เกิดการสร้าง ABA ได้แก่ความยาวของช่วงแสงในตอนปลายฤดูร้อนคล้ายฤดูใบไม้ร่วงต่อมาได้มีการสกัด ABA ออกมาได้ แต่เดิม ABA จะเรียกว่า dormin เพราะเป็นสารที่เกี่ยวข้องกับการชักนำให้เกิดการพักตัว

ในเวลาใกล้เคียงกัน Addicott ได้ทำการสกัดสารที่ส่งเสริมให้มีการร่วงของปลายช่อกิ่ง และให้ชื่อสารนี้ว่า abscisin II แต่จากการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีพบว่าทั้ง dormin และ abscisin II เป็นสารชนิดเดียวกันและเรียกชื่อใหม่ในเวลาต่อมาว่า abscisic acid (ABA)

ABA พบในพืชชั้นสูงแทบทุกชนิด ปริมาณที่พบโดยทั่วไปจะอยู่ระหว่าง 0.1-1 ppm. ซึ่งนับได้ว่าค่อนข้างต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับฮอร์โมนชนิดอื่น ๆ การตรวจสอบหา ABA จึงควรใช้วิธีการที่มีความไวสูง เครื่องมือที่นิยมใช้ ได้แก่ Spectropolarimeter และ Gaschromatography สำหรับการทดสอบทางชีววิทยาที่นิยมใช้มีหลายวิธี เช่น การทำ bioassay กับ coleoptile ของต้นกล้าข้าวสาลีหรือข้าวโอ๊ต การยับยั้งการงอกของเมล็ดและการส่งเสริมการร่วงของก้านใบ

การสังเคราะห์ ABA ถูกสังเคราะห์จาก mevalonic acid เช่นเดียวกับ GA พืชจะสร้างจิบเบอเรลลิน ส่วนช่วงวันสั้น จะสร้าง ABA ขึ้นมาในแถบขอบอนเมื่อดึงฤดูใบไม้ร่วง ซึ่งความยาวของช่วงวันสั้นกว่าปกติ จะทำให้พืชสร้าง ABA ขึ้นมาเพื่อควบคุมให้พืชพักตัวหยุดการแตกตา ในขณะที่เดียวกันก็ส่งเสริมให้เกิดการร่วงของใบช่อกิ่ง แต่เมื่อดึงฤดูใบไม้ผลิซึ่งช่วงวันเริ่มยาวขึ้น พืชจะสร้างจิบเบอเรลลิน ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่จะส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชต่อไป วิธีการสังเคราะห์ ABA อีกวิธีหนึ่งเกิดขึ้นจากการออกซิเดชันของ Xanthophylls จากการทดลองของ

Talor และ Burden (1970) พบว่า **Violaxanthin** ซึ่งเป็น **Xanthophyll** ชนิดหนึ่ง ที่มีโครงสร้างคล้าย **ABA** มากสามารถออกซิโคไซส์ให้เป็น **ABA** ได้โดยขั้นแรก **Violaxanthin** จะเปลี่ยนไปเป็น **Xanthoxin** แล้วจึงมาเปลี่ยนเป็น **ABA** ผลของ **ABA** เนื่องจากเป็นสารที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช เมื่อพืชได้รับ **ABA** ที่มีบริเวณยอดพบว่า ยอดที่กำจัดเจริญเติบโตจะมีการพักตัว ผลของ **ABA** ในคานอื่น เช่น ทำให้พืชมีปมจอสัน ใบมีขนาดเล็ก เซลล์ซึ่งอยู่ในเยื่อเจริญจะหยุดการแบ่งตัว และทำให้เกิดการร่วงของใบ **ABA** จะยับยั้งการแตกใบอ่อนซึ่งเป็นคุณสมบัติตรงกันข้ามกับจิบเบอเรลลิน เป็นที่น่าสังเกตว่าผลของ **ABA** ที่มีต่อพืชบางประการจะมีลักษณะคล้าย ๆ กับผลของช่วงวันสั้นที่มีต่อพืช เช่น ผลการทดลองของ **El-Antaby** และผู้ร่วมงาน (1967) พบว่าการให้พืชได้รับ **ABA** จะทำให้เกิดการยับยั้งการขยายตัวของพืช ในลักษณะที่คล้ายกับการที่พืชได้รับช่วงวันสั้น การทดลองดังกล่าวนี้ช่วยสนับสนุนว่าช่วงวันสั้นทำให้พืชมีการสังเคราะห์ **ABA** ผลของ **ABA** ที่สำคัญอีกประการหนึ่งคือ **ABA** ทำให้พืชวันสั้นบางชนิดออกดอกในสภาพของวันยาวได้ แต่ **ABA** ไม่สามารถทำให้พืชวันยาวออกดอกได้ในสภาพวันสั้น กลไกในการทำงานของ **ABA** จะเกี่ยวข้องกับการทำงานของยีน **ABA** ยับยั้งการสร้างเอนไซม์ α -amylase ซึ่งการยับยั้งในระดับ transcription ซึ่งผลการยับยั้งของ **ABA** จะคล้าย ๆ กันกับการยับยั้ง **RNA Synthesis inhibitors** อื่น ๆ นอกจากนี้ **ABA** อาจเกี่ยวข้องกับ **permeability** ของเซลล์ ทั้งนี้เพราะถ้าให้พืชได้รับ **ABA** ปากใบจะปิดในเวลาไม่ถึง 10 นาที ซึ่งถือว่าเป็นการตอบสนองที่รวดเร็วมาก

การผลิตใบของพืช เช่น โกลโก แม้ว่าสภาพแวดล้อมเช่น ความชื้นในดิน อุณหภูมิ ความชื้นในอากาศ ความเข้มของแสง เป็นการกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นกล้าก็ตาม แต่โดยแท้จริงแล้วพบว่าช่วงการเจริญเติบโตดังกล่าว มีความเกี่ยวข้องกับความสมดุลของสารเร่งการเจริญเติบโตและสารยับยั้งการเจริญเติบโต ซึ่งจะพบอยู่ที่ยอด ควบคุมนี้เอง จึงจำเป็นที่จะต้องศึกษาความสมดุลของสารทั้งสองชนิดเพื่อเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาด้านสรีรวิทยาของการเจริญเติบโตของพืช

ประเภทนี้ ซึ่งพบในเขตร้อนหลายชนิด เช่น โกโก้ กาแฟ ชา ไร่กาแฟ แต่ในการทดลองนี้จะใช้อมเซบไทยมาทำการสกัดสารดังกล่าวและตรวจสอบโดยวิธีการไบโอแอสเซย์

วัตถุประสงค์ เพื่อตรวจสอบปริมาณ **ABA** ที่สกัดจากใบอมเซบไทยในระยะต่างๆของ **flushcycle** โดยวิธีการทำ **Bioassay** กับ **Coleoptile** ของดาวสลัด



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

อบเชย (Cinnamom) ชื่อพื้นเมือง กระแจะโมง โยงหอม (ชลบุรี)
 กระเชียด เขียด กระหังหัน กระตังงา (กาญจนบุรี) รุจามะริค (นครไทย พิษณุโลก)
 กักชีตอ (กะเหรี่ยง เชียงใหม่) เมลมา (กะเหรี่ยง กาญจนบุรี) ฉักดาบ (พิษณุโลก)
 พญาปราบ (นกรราชสีมา) มชาปราบ อบเชยคน (ภาคกลาง) สุรามิค (สุโขทัย)
 ยางแกง (เหนือ) สะวง (ปราจีนบุรี) บอกลอก (ลำปาง) (กรมป่าไม้, 2521)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ อบเชยเป็นพืชในตระกูลลอราซีดี (Lauraceae)
 (บัญญัติ, 2527) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า Cinnamomum iners-Blume (กรมป่าไม้,
 2521) เป็นพืชที่มีลำต้นตั้งตรง เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ สูงประมาณ
 15 เมตรขึ้นไป ไม้ผลัดใบ เรือนยอดเป็นพุ่มกลม รูปเจดีย์ค่า ๆ ทั่ว เปลือกลำต้น
 เรียบสีเทาแก่ หรือเทาปนน้ำตาลใบเป็นใบดกเดี่ยว รูปขอบขนาน เนื้อใบหนา
 เกือบแข็ง และกรอบมีเส้นแขนงจากโคนใบตั้ง 3 เส้น หองใบเป็นกราบขาว ๆ
 (กรมป่าไม้, 2521) ใบมีความยาว 5-7 นิ้ว การเรียงตัวของใบจะเกิดตรงกันกล่าว
 คือ ใบจะเกิดที่ข้อเดียวกันแต่คนละก้านของกิ่งหรือลำต้น (บัญญัติ, 2525) ดอกอบเชย
 มีสีเหลืองอ่อน หรือเขียวอ่อน ออกรวมกันเป็นช่อโต ๆ ตามปลายกิ่ง ผลมีขนาดเล็ก
 แข็งรูปไข่กลีบตามผิวมีกรวยสีขาว ๆ แต่ละผลมีเมล็ดเดี่ยว ลักษณะเนื้อไม้สีน้ำตาลปน
 เหลืองอ่อน เป็นมันลื่น มีกลิ่นหอมคล้ายกระบูน เนื้อหยาบ แตลมาเสมอ แข็งและ
 ทนทานกลาง กอนข้างเหนียวเล็กน้อยไม่ยาก ประโยชน์เนื้อไม้ใช้แกะสลักทำเครื่อง
 เรือน รากและใบใช้เป็นสมุนไพร เปลือกลำต้นเขายาแก้ บำรุงธาโรคบิด ใช้สันนิบาติ
 ใช้ปรุงเครื่องแกงเป็นเครื่องเทศ น้ำมันที่กลั่นได้จากเปลือกใช้หาเชื้อโรคและกันบูดได้
 (กรมป่าไม้, 2521) ถิ่นกำเนิด อบเชยเป็นพืชพื้นเมืองของลังกาและภาคใต้ของ
 อินเดีย (บัญญัติ, 2525) การขึ้นจะขึ้นอยู่ห่าง ๆ กันในป่าดงดิบ (กรมป่าไม้, 2521)
 อบเชยเจริญได้ดีในที่ค่อนข้างชื้น มีฝนตกโดยเฉลี่ย 80-100 นิ้ว อุณหภูมิโดยเฉลี่ย
 27 องศาเซลเซียสชอบดินที่มีอิวมัสมาก (บัญญัติ, 2525)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Abscisic acid

การค้นพบ

ABA ค้นพบครั้งแรกโดย P.F. Wareing และคณะผู้ร่วมงานในแคว้น Wale ประเทศอังกฤษ ในปี 1965 ABA เป็นพวก 15-carbon Sesquiterpene สังเคราะห์มาจาก farnesyl pyrophosphate ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ 3 isopentenyl pyrophosphate unit การสังเคราะห์จะกระทำเช่นเดียวกันกับ จิบเบอเรลลิน Sterols Carotenoids และ isoprenoid compound อื่น การสังเคราะห์จะปรากฏใน Chloroplast ใบ ลำต้น และผลไม้ที่มีสีเขียว บังพวกรากและ endo sperm ของชาวสาคีสามารถสังเคราะห์ ABA ได้ บางครั้งพบว่าฮอร์โมนนี้จะเพิ่มในเนื้อเยื่อและส่วนอื่นของพืช เช่น Plastids หรือ Proplastids (Salisbury, 1973)

เนื้อเยื่อของพืชหลายชนิดพบว่ามียับยั้ง ซึ่งสามารถจะแยกได้จาก Chromatogram ที่ Rf Zone ที่ 0.7 ถึง 0.9 สารตรงช่วงนี้เรียกว่า β - Complex inhibitors (KRISHNAMOORTHY, 1981)

ในฝ่ายมีสารจำนวนมากที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตก่อนที่ผลฝ่ายจะสุกแก่ สาเหตุการไม่แก่ของสมอฝ่ายใดทำการศึกษาโดย Addicott และคณะผู้ร่วมงานได้สกัด Crystalline substance จากผนังของผลแก่ที่แห้งของฝ่าย (*Gossypium hirsutum*) พบว่าสารนี้สามารถเหนี่ยวนำการ abscission เมื่อนำสารที่สกัดได้ไปป้ายบนกดาฝ่าย ตรงก้านใบทำให้ก้านใบฝ่ายร่วง จึงเรียกสารนี้ว่า abscisin สารตัวที่ 2 ที่สกัดจากผลอ่อนของฝ่าย ในรูปผลึกก็มีการเร่งให้เกิด abscission เช่นเดียวกัน จึงเรียกว่า abscisin II และมีรายงานในระยะต่อมา Abscisin ถูกเรียกเป็น abscisin I ทั้ง Abscisin I และ II เป็นสารที่แตกต่างกัน Abscisin II ไม่สามารถจะส่งเสริมการเกิด abscission แต่สามารถยับยั้งอย่างรุนแรงต่อการเจริญเติบโตของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Avena coleoptile (KRISHNAMOORTHY, 1981) ตายอดของพืชหลายชนิด เช่น **Acer, Betula** และพืชอื่น ๆ มีการพักตัวในช่วงเริ่มฤดูใบไม้ร่วงทุกปี และจะเจริญในฤดูใบไม้ผลิ เป็นผลเนื่องมาจากการพักตัวซึ่งมีสาเหตุมาจากตัวยับยั้ง **Wareing** และคณะผู้ร่วมงานได้ทดลองและพบว่า สารยับยั้งเหล่านี้สังเคราะห์มาจากใบแก่ของ **Acer** และ **Betula** ในช่วงระหว่างวันสั้นสูงสุดก่อนที่ใบจะร่วง สารยับยั้งดังกล่าวจะเคลื่อนที่ขึ้นไปตาม **phloem** และไปถึงปลายสุดของส่วนยอด ซึ่งเป็นส่วนที่เซลล์กำลังแบ่งตัวและเจริญ และในที่สุดก็ทำให้ตาเกิดการพักตัวของตา ปลายสุดขณะของเขาก็สามารถจะแยกและทำให้ไลโคบิลของสารดังกล่าวจากใบของ **Acer** ที่เจริญเติบโตในช่วงวันสั้นสารนี้เรียกว่า **dormin** (KRISHNAMOORTHY, 1981)

คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของ **dormin** พบว่ามีลักษณะเช่นเดียวกับ **abscisin II** ดังนั้น สารทั้งสองจึงได้ถูกจัดเป็นสารตัวเดียวกันและได้ตั้งชื่อสามัญว่า **Abscisic acid (ABA)** นอกจากนี้ยังพบว่า ผลิตภัณฑ์สกัดจากผลของ **yellow lupin** ที่สามารถจะชักนำให้เกิด **abscission** และยับยั้งการเจริญเติบโตของ **Coleoptile** เช่นกัน และสารดังกล่าวก็คือ **ABA** ด้วย (KRISHNAMOORTHY, 1981)

การหาปริมาณ **ABA** และการประมาณการทำได้โดยการใช้วิธี เช่น **Chromatography** รวมด้วยกับกับ **electron captor detection** ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมกันแพร่หลาย นอกจากนี้ยังอาจตรวจหาโดยการหา **bioassay** โดยใช้คุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตเร่งการเกิด **abscission** ชักนำให้เกิดการพักตัวแต่อย่างไรก็ตามวิธีการ **bioassay** ไม่สามารถเจาะจงและบอกปริมาณได้แน่นอน ดังนั้นการหาปริมาณและการประมาณจำนวน **ABA** จะกระทำโดยวิธีการทางกายภาพเท่านั้น (KRISHNAMOORTHY, 1981)

การปรากฏของ **ABA** **ABA** จะพบได้ในพืชทั่วไป เช่น มอส เฟิร์น

และใบพืชที่มีกอกและไม่มีการกอกอีกหลายชนิด (KRISHNAMOORTHY, 1981)

ใบพืชพวกเห็บ, horsetail และ moss มีปริมาณ ABA น้อยกึ่ง
ของความเข้มข้นในใบพืชอื่นระหว่าง 0.001 ถึง 1 μM สาหร่ายและ liver
worts จะไม่มี ABA แต่จะมี Lunalaric acid ซึ่งเป็น Inhibitor
ตัวหนึ่งแทน ใบพวกสาหร่ายและสาหร่ายดูเหมือนว่าจะไม่มีทั้ง ABA และ Lunula
acid (Salisbury, 1973)

ABA ยังมีรายงานว่าพบในใบของ Ash (Acer pseudoplatanus)
และ birch (Betula pubescens) พืชหัว เช่น มันฝรั่ง และ Rhizome
ของ Pteridium ผลไม้ที่มี ABA มากที่สุดเช่น กาแฟ มะเขือเทศ
(KRISHNAMOORTHY, 1981)

แนววิธีการ bioassay จะถูกพัฒนาสำหรับใช้ตรวจหา ABA
วิธีทางกายภาพจะใช้หาปริมาณ ABA น้อยเพราะ ABA มีการเพิ่มอย่างจำกัด
ดังนั้น วิธีการวัดปริมาณ ABA โดยวิธีทางกายภาพจะมีเสถียรภาพกว่าการวัดปริมาณ
ABA ด้วยวิธีอื่น ABA จะมีความคงตัวและมีคุณสมบัติทาง electron -
capturing ที่และสามารถถูกกระตุ้น UV (Walton, 1980)

วิธีการตรวจหา ABA ตามปกติมักจะใช้วิธีทางกายภาพในการวัดปริมาณ
ของ ABA แต่ในทุกวันนี้หากจะตรวจหาปริมาณ ABA ซึ่งมีปริมาณต่ำจะใช้วิธี gas
chromatography กับ electron-capture detector วิธีการนี้ จะใช้วัด
หาปริมาณ ABA ในระดับ 25-50 pg. วิธีการดังกล่าวใช้ได้ดีกับการหาปริมาณ
ABA ที่มีปริมาณสูง แต่ปริมาณต่าง ๆ จะใช้โคโคไมตี้ (Walton, 1980)

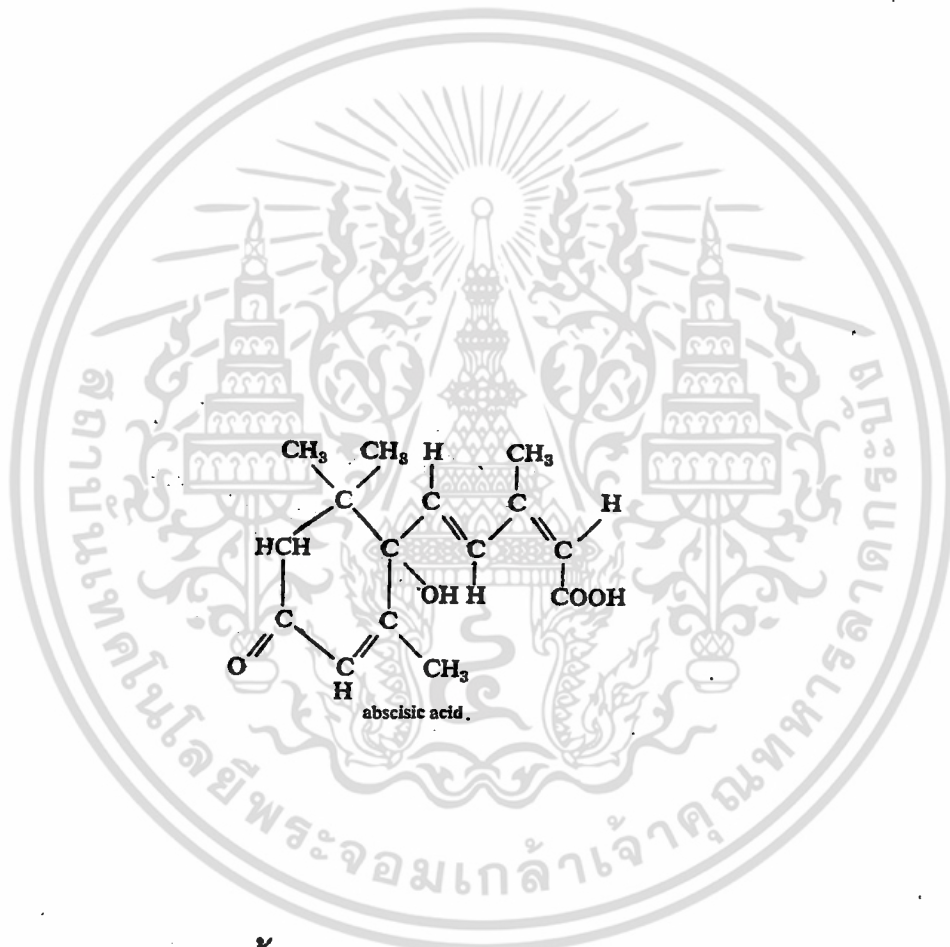
ในหลายปีที่ผ่านมาได้ใช้วิธี high performance liquid
chromatography (HPLC) ซึ่งได้นำไปแยก ABA ให้บริสุทธิ์แทนวิธีการ thin-
layer chromatography (TLC) ในบางครั้งจะใช้ HPLC ร่วมกับ UV
detector ในการวัดปริมาณ ABA (Walton, 1980)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการที่เหมาะสมที่สุดในการใช้จำแนก ABA คือ ต้องร่วมกับ gas Chromatography - mass spectrometry (G C-MS)

Radioimmunoassay (RIA) ซึ่งปัจจุบันได้ใช้หาปริมาณ ABA วิธีการที่มีความไวและสามารถใช้กับตัวอย่างได้จำนวนมากและทำได้ในระยะเวลาอันสั้น (Waltan, 1980)

Milborrow. (1974) กล่าวว่า วิธีการ Bioassay เป็นวิธีที่ไว ก้นกว้างขวาง



โครงสร้างทางเคมีของแอบซิชิก แอซิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คุณสมบัติทางเคมีของ ABA มีลักษณะของ (±)-ABA ตามธรรมชาติจะมีจุดหลอมเหลวที่ 160–161 °C แต่สารสังเคราะห์จะมีจุดเดือดที่ 191 °C (Milborrow, 1974)

ความสามารถในการดูดซับแสงอุลตราไวโอเลต ความยาวช่วงคลื่นและความยาวบานของการดูดซับสูงสุดจะขึ้นกับความเข้มข้นเป็นค่า ในพวกที่เป็นกรดจะดูดซับคลื่นโคตีที่ 268 nm และที่ 240 nm สภาพด่างดูดโคตีที่ 245 nm พวกที่เป็น methyl ester จะตรวจวัดได้ง่ายที่สุดเพราะ pH ไม่มีผลต่อการดูดซับแสงสามารถดูดโคตี ตั้งแต่ 264–265 nm (Milborrow, 1974)

Optical Rotatory Dispersion หรือว่า ORD Spectrum มีผลกระทบจาก pH เช่นกัน และมักจะวัดใน 0.005 NH_2SO_4 หากไม่ต้องการให้ pH มีผลต่อการวัดสามารถจะใช้วิธีที่ใช้รูป ABA เป็น methyl ester (Milborrow, 1974)

ลักษณะโครงสร้างทางเคมี

ABA ถูกสร้างขึ้นจากหน่วยพื้นฐานของ 5- Carbonisoprene ในขณะที่จิบเบอเรลลินมี 4 หน่วยของ Isoprene (diterpene) แต่ ABA จะมี isoprene 3 หน่วย (Sesquiterpene) ดังนั้นโครงสร้างของ ABA จึงมี carbon ทั้งหมด 15 คิว ABA มีหมู่ carboxyl เพียง 1 group และเชื่อม ester ด้วย glucose โมเลกุลของ ABA จะเป็นพวก carbon ที่ไม่สมมาตร ผลอันนี้เองจึงทำให้เกิดเป็น 2 optical isomer สารนี้จะปรากฏในพวก dextrorotatory (+) ABA ในขณะที่สารสังเคราะห์ ABA เป็นส่วนผสมของ racemic ของปริมาณที่เท่ากันของสาร 2 isomers dextro และ laevo form (±) ABA ทั้ง 2 form สามารถแยกออกจากกันได้ยาก นอกจากนั้นโมเลกุลของ ABA ยังอาจมีในรูป geometric isomerism พวกที่มี 2 isomers เรียกว่า 2- tran ABA และ 2- cis ABA (Salisbury,

1973) (KRISHNAMOORTHY, 1981)

การสังเคราะห์ ABA ถูกสังเคราะห์จาก mevalonic acid เช่นเดียวกับจิบเบอเรลลิน ในการสังเคราะห์พบว่าความยาวของช่วงวันที่มีอิทธิพลอย่างมากในสภาพของวันยาวพืชจะสร้าง จิบเบอเรลลิน ส่วนถ้าวันสั้นพืชจะสร้าง ABA ขึ้นมาเพื่อควบคุมให้พืชพักตัว หยุดการแตกตาในขณะที่เดียวกันก็ส่งเสริมให้เกิดการร่วงของใบขึ้น แต่เมื่อถึงฤดูใบไม้ผลิ ซึ่งช่วงวันยาวขึ้น พืชจะสร้างจิบเบอเรลลิน ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่จะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชต่อไป วิธีการสังเคราะห์ ABA อีกวิธีหนึ่ง เกิดขึ้นจากการออกซิเดชันของ Xanthophyll จากการทดลองของ Talor และ Burden (1970) พบว่า Violaxanthin ซึ่งเป็น Xanthophyll ชนิดหนึ่งที่มีโครงสร้างคล้ายกับ ABA มาก สามารถถูกออกซิเดซีให้ไปเป็น ABA ได้โดยขั้นแรก Violaxanthin จะเปลี่ยนไปเป็น Xanthoxin แล้วจึงเปลี่ยนมาเป็น ABA (สัมพันธ, 2527) (สัมพันธ, 2526) (Simpson, 1981)

ตำแหน่งของการสังเคราะห์ ABA เป็นตัวที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับ carotenoid และจะปรากฏในส่วน chloroplast ซึ่งเป็นตำแหน่งที่มีการสังเคราะห์ ABA พบว่าส่วนของ Chloroplast ที่สมบูรณ์จากผลของอโวคาโดก็แสดงการสังเคราะห์ ABA และส่วนของ ABA เช่นเดียวกัน ส่วนของ chroloplast ในใบก็แสดงว่ามีการสังเคราะห์ (KRISHNAMOORTHY, 1981) หากเกิดสภาวะที่มีความเครียด เช่น เกิดความแห้งแล้งจะกระตุ้นให้ ABA มีการสังเคราะห์ที่ใบ (Salisbury, 1973); Wareing (1978) คาดว่ามีการสังเคราะห์ที่ใบแก่และผล

การเคลื่อนย้ายของ ABA ปรากฏทั้งใน xylem และ phloem บางที่อาจพบอยู่นอก Vascular bundle (Salisbury, 1973) นอกจากนี้ยังพบว่า มี ABA อยู่ในส่วนของ coleoptile และลำต้น ซึ่งเกิดการเคลื่อนที่มาจากส่วนอื่นเรียบร้อยแล้ว (KRISHNAMOORTHY, 1981) (Walton, 1980)

เมตาโบลิซึมของ ABA จากการสังเคราะห์โดยทั่วไปของการยับยั้งของพืช
ที่ได้รับ ABA พบว่าใบไม้ชาพืชจะมีการเจริญเติบโตเป็นปกติ ดังนั้นหากใบ ABA
อย่างรวดเร็วจนถึงการยับยั้งก็ระยะเวลาที่ความเครียดจะเป็น ABA ในใบอยู่ใน
รูปที่ไม่ active ใบชาที่ถูกสังเคราะห์ไปได้เนื่องจาก ABA ถูกเชื่อมจาก
abscisylglucoside สาเหตุอันดับ 2 อาจเนื่องมาจาก ABA ในพืชถูก
oxidation ABA ไปเป็น phaseic acid และ dihydrophaseic acid
นอกจากนี้ ABA ยังถูกทำให้คุณสมบัติทางชีววิทยาไม่ active โดยมันถูกเปลี่ยนไป
เป็น 2-trans ABA ยังมีสาเหตุอื่นอีกเช่น ABA ถูกเปลี่ยนไปเป็น methyl
และ ethyl esters (KRISHNAMOORTHY, 1981)

Walton. (1973) กล่าวการเกิดขบวนการ Catabolism ของ ABA
หลัก ๆ เกิดในเนื้อเยื่ออื่น ๆ ของเมล็ด มีขบวนการดังนี้คือ $ABA \rightarrow 6' - hydroxy-$
 $methyl ABA \rightarrow phaseic acid \rightarrow dihydrophaseic acid$ ซึ่ง
Walton พบว่า Phaseic acid มีการยับยั้งการสังเคราะห์แสง

Wareing. (1978) พบว่า หากใช้ $^{14}C-ABA$ กับพืชจะทำให้เกิด
มีการเกาะของ glucose ester ทั้ง ester จะมีความเสถียรมากในพืชทำให้
ABA เสื่อมคุณภาพ

King. (1982) กล่าวว่า การเสื่อมของ ABA อาจพบในเมล็ดและ
อวัยวะอื่น การเสื่อมของ ABA มีดังนี้คือ ABA จะเปลี่ยนไปเป็น Phaseic acid
และ Dihydrophaseic acid (DPA) โดยขั้นแรก ผลิตภัณฑ์ของ ABA
จะถูกเปลี่ยนแปลงไปเป็น 6'-hydroxymethyl ABA ซึ่งไม่เสถียรและจะจัดรูปใหม่
ได้ Phaseic acid และเปลี่ยนไปเป็น DPA กับ epi-DPA นอกจากนี้
6'-hydroxymethyl ABA อาจเปลี่ยนไปเป็น HMG - HO ABA ABA จะถูกเชื่อม
เกาะจากพวก glucose แล้วเปลี่ยนรูปไปเป็น ester คือ C-1 ester-
fication และ C-1 glucosylation

King. (1982) กรูโบสเอสเคอร์ ('bound' ABA) มีปริมาณน้อยมากจาก ABA ทั้งหมด แต่สามารถแสดงผลต่อ เมล็ดได้

กลไกของกิจกรรมของ ABA ABA เป็นฮอร์โมนที่มีความจำเพาะในกรณีนี้ ความเข้มข้นทางสรีรวิทยาจะยับยั้งการงอกของ เมล็ด การเจริญเติบโตของลำต้น และเป็นสาเหตุของการพักตัวในตาออก การยับยั้งการเจริญเติบโตโดย ABA นี้จะยับยั้งทั้งการแบ่งเซลล์และการขยายของเซลล์ การยับยั้งจะมีตัวส่งเสริมกิจกรรมดังกล่าวคือ Nucleus ABA จะยับยั้งการสังเคราะห์ทั้ง DNA และ RNA ซึ่งจะไปยับยั้งการสังเคราะห์ enzyme อย่างน้อยในการงอกของ เมล็ดซึ่งอยู่ที่กอนนอกเป็นต้นกล้า โดย ABA จะยับยั้งการสร้าง hydrolytic enzymes บางชนิด เช่น α -amylase และ protease เพิ่มขึ้น enzyme เหล่านี้สังเคราะห์โดยกลไกภายในของ GA การ Hydrolysis ของอาหารที่เก็บสำรองไปเป็นของเหลวมีความสำคัญมากในช่วงการงอก ABA จะเป็นตัวยับยั้งการงอกโดยหยุดการ hydrolysis อาหารสำรอง ไม่เคยมีรายงานว่าการใช้ GA จะมีผลกระทบบต่อ ABA ไม่มีการแข่งขันกัน ซึ่งคาดหวังว่า โครงสร้างของฮอร์โมนคงไม่เหมือนกัน และการใช้ ABA ก็จะไม่มีผลต่อ GA biosynthesis ในเชื้อรา *Fusarium* ส่วนกรณีอื่น ๆ ABA จะลดระดับของ GA ในพวกผักขมและข้าวโพด และในพืชอื่น เช่น *Betula* และ potato ก็เช่นเดียวกัน การลดลงของ เนื่องจาก GA ถูกเชื่อมโดย Glucoside ซึ่งเป็นเหตุการณ์ที่พบได้ในบางครั้ง การยับยั้งของ ABA คือ α -amylase ในข้าวเบอร์เลย์สามารถเปลี่ยนกลับได้โดยใช้ GA และ ethylene การยับยั้งของ ABA ใน Coleoptile ของข้าวสาลีแก้ได้โดยการใส่ IAA ผลของ ABA สามารถแก้ได้โดยการใส่ auxin, Gibberellin หรือ cytokinin (KRISHNMOORTHY, 1981) (Maguire, 1981)

Salisbury. (1973) กล่าวว่าผลของ ABA มี 3 ประการหลัก คือ มีผลต่อ plasma membrane มีผลต่อการสังเคราะห์ RNA และยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน

Koning. (1986) กล่าวว่าเมื่อมีการใช้ ABA ส่งเสริมการแผ่ของ corolla มันยังคงส่งเสริมการตั้งเพราะ ethylene aminoethoxyvinyl glycine (AVG) และ Cobaltions.

บทบาททางสรีรวิทยาของ ABA

KRISHBAMOORTHY, (1981) กล่าวว่าสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการพักตัวคือ มีการสะสม ABA และลดความเข้มข้นของ GA ลง ดังนั้นการพักตัวของตาจึงอยู่ภายใต้การควบคุมของ ABA และ GA (\pm) ABA (ได้จากการสังเคราะห์) มีศักยภาพในการยับยั้งการงอกของเมล็ด และยับยั้งการเจริญเติบโตในการพักตัวของเมล็ดพืชหลายชนิด ABA ยังสามารถแยกบริสุทธิ์จากเมล็ดพืชหลายชนิด (Milborrow, 1984)

KRISHNAMOORTHY. (1981) กล่าวว่าการใช้ ABA ยับยั้งการงอกได้ในพืชหลายชนิด และ ABA ไม่ใช่จะอยู่เพียงในเมล็ดเท่านั้นยังพบได้ในเปลือกของผลอีก

Milborrow. (1984) กล่าวว่าความสามารถในการค่น้ำของรากแครอทเพิ่มขึ้น เมื่อ ABA เพิ่ม $20\mu\text{g} (\pm)$ - ABA/ml วัดโดยการใส่ THO

Milborrow. (1984) รายงานว่า ABA มีผลกระทบต่อการสร้างกรด nucleic acid , การสังเคราะห์โปรตีน, การสร้าง Enzymes.

Milborrow. (1984) กล่าวว่าในการทำให้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของยาสูบ หากใส่ ABA จะทำให้ยับยั้งการเจริญเติบโตของยาสูบโดย 50 เปอร์เซ็นต์ โดยการใส่ $5\mu\text{g} (\pm)$ - ABA และหากใส่ ABA รูปธรรมชาติคองไซ $50\mu\text{g}$

ผลกระทบของ ABA มีพิสัยกว้างกับขบวนการเจริญเติบโตต่าง ๆ โดยตัวมันเองหรือรวมกับ auxin, gibberellin หรือ cytokinin (Milborrow, 1984)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ABA มีผลกระทบโดยตรงกับการป้องกันการร่วงของเมล็ด การเจริญของเนื้อเยื่ออ่อน ๆ และการชราของส่วนแก่ ๆ ของพืช (Milborrow, 1984)

Walton. (1973) กล่าวว่า การพักตัวของเมล็ดแม่จะทำ 'Stratification' แล้วก็ตาม การลดปริมาณ **ABA** ยังไม่พอเพียง ทำให้พอเพียงได้โดยทำให้เมล็ดอุณหภูมิต่ำที่ 25°C

Meyer. (1973) รายงานว่า **ABA** ส่งเสริมให้เกิดการ **Abscission** ในผลฝ้ายอ่อน ซึ่งเป็นสาเหตุให้คนพบ **ABA** และแสดงให้เห็นว่าการเหนี่ยวนำโดย **ABA** พบได้ในหลายพืช **IAA, ethylene** มีการทำให้เกิด **Abscisen** ร่วมกันกับ **ABA**

Wilkins. (1984) รายงานว่า **ABA** ส่งเสริมให้มีการพักตัวของตาในพืชเมืองหนาวจะมีการพักตัวช่วงระหว่างปลายฤดูร้อนและเริ่มฤดูใบไม้ร่วง ปัจจัยทางสภาพแวดล้อมมีผลเหนี่ยวนำให้เกิดการพักตัวในช่วงที่มีช่วงแสงสั้น แต่ปัจจัยดังกล่าวเป็นสาเหตุให้เกิดกลไกภายในต้นพืชอีกทีคือเมื่อพืชสร้าง **ABA** ที่ใบแก่แล้วจะส่งไปเก็บตรงส่วนยอดทำให้ตาและยอดเกิดการพักตัว พบว่ามีความเข้มข้นเพียง 0.006 ppm. ก็ทำให้ตาพักตัวได้

Wilton. (1980) King. (1982) Milborrow. (1984) รายงานว่า **ABA** มีผลในการยับยั้งการงอกของเมล็ดพืชหลายชนิด และมีผลทำให้เกิดการพักตัวยาวนานขึ้น และ **ABA** ยับยั้งการทำงานของ **GA** และไซโตไคนินในการงอกของผักกาดหอม

การชะลอการเจริญเติบโตและการชราภาพ **ABA** จะชะลอการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืชหลายชนิดและอวัยวะต่าง ๆ เช่น ใบ **coleoptiles**, ลำต้น, **hypocotyl** และราก **ABA** ยังคงยับยั้งการเจริญของเนื้อเยื่อใน Culture

การชราภาพเกิดเพราะ **ABA** เร่งการแยกตัวของ **Chlorophyll**

และเมื่อ Chlorophyll ถูก break down โดยไซโตไคนิน จะทำให้การ
 ทรานสพอร์ทไป (Wilton, 1980)

Wilkins. (1984) รายงานว่า ABA ยังเสริมการตรึงคาร์บอนเมื่อ
 รากถูกตัด จึงเมื่อเรดจินจะมีผลต่อการส่งเสริมการเกิดราก

ABA มีผลต่อการออกดอกคือ จะยับยั้งการออกดอกในพืชวันยาว เช่น
 หน่อไธม์ โดยใช้ ABA 0.1 μg ขณะที่อยู่ในช่วงวันยาว แต่พืชวันยาวอื่น ๆ ไม่
 มีรายงาน (Wilkins, 1984) ABA ไม่มีผลต่อการเกิดเพศหากใช้ตัวมันเดี่ยว ๆ
 แต่หากใช้กับ GA เพื่อให้เกิดดอกตัวผู้บนต้นตัวเมียจะถูกเปลี่ยนเป็นดอกตัวเมียโดย
 ABA (KRISHNAMOORTHY, 1981) ส่วนพืชวันสั้น หาก treat ด้วย ABA จะไม่
 มีผลต่อการยับยั้งการออกดอกพืชพวกนี้เช่น ยาสุม (สตอร์เบอร์) เป็นต้น (Meyer, 1973;
 Wilkins, 1984)

Wilkins. (1984) รายงานว่า การใช้ ABA ในการทำหมันพวก
 กุหลาบป่า สามารถจะทำให้ parthenocapic มีการหัตสนา แต่การทดลองของ
 arditti, Flick และ Jeffrey ในปี 1971 ในผลัดกัน ในการ
 treat ABA ให้กับกล้วยไม้ แต่ Stigma ไม่เปิด

Wilkins. (1981) กล่าวว่า ABA จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วหาก
 พืชอยู่ในสภาพเหี่ยว

Wilkins. (1981) รายงานว่า ปากใบจะปิดหากระดับของ ABA
 เพิ่มขึ้นมาก ซึ่งช่วงที่พืชเหี่ยว

Wilkins. (1981) รายงานว่า การใช้ ABA กับพืชพวก meso-
 phytic จะทำให้พืชต้านทานต่อการเหี่ยวด้วย และ ABA ยังคงป้องกันพืชจากความ
 เป็นพิษของสารอื่น เช่น IAA 50 mgL^{-1} จะทำลาย mesocotyl Segments
 ของข้าวโอ๊ต หากใช้ ABA รวมด้วยจะไม่เกิดความเป็นพิษ

Wilkins. (1981) รายงานว่า McWha และ Jackson (1976) พบว่า ABA ที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 1×10^{-10} ถึง 1×10^{-6} ทำให้การเจริญของ duck weed (Lemna polyrrhiza) จะเพิ่มเมื่อเทียบกับทรงสาวสาที่ใช้ควบคุมโดยการจุ่มรากลงใน carbo wax ในขณะแสดงอาการเหี่ยว โดยทั้งนี้ แต่ระดับของ ABA จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และเมื่อให้ร่วมกับพืชอีกครั้งระดับ ABA ก็ยังคงเพิ่มอยู่ (KRISHNAMOORTHY, 1981) แต่ระดับ ABA จะลดลงหากในน้ำหลายวัน

KRISHNAMOORTHY, (1981) รายงานว่าในฝ่าย ABA ในผลฝ่ายจะเพิ่มเป็น 2 ช่วง ในช่วงระหว่างการพัฒนาของผล ช่วงแรกเป็นช่วงที่เกิด abscission ของผลอ่อนและในช่วง Dehiscence อีกครั้ง

ORCHARD et al. (1981) กล่าวว่ากระบวนการควบคุมกิจกรรมของ flush cycle ที่ยอดของโทโกเกี่ยวข้องกับ การเปลี่ยนแปลงความสมดุลระหว่างสารส่งเสริมการเจริญเติบโตและสารยับยั้งการเจริญเติบโตที่ ยอด แต่จากการทำงานเกี่ยวกับฮอร์โมนพบว่าผลดังกล่าวไม่ควบคุมโดยตรงเสมอไป

ORCHARD et al. (1981) รายงานว่า ช่วงระหว่างการพัฒนาของการเจริญเติบโตของ flush leave หากนำใบมาตรวจดูจะพบปริมาณการเปลี่ยนแปลงของ bound และ free ABA

ORCHARD et al. (1981) รายงานว่า Vogel (1975) ได้สันนิษฐานว่าการเพิ่มขึ้นของระดับ cytokinin ในใบและในตาในระยะ I-2 และ F₂-PF เป็นผลเนื่องมาจากมีปริมาณ ABA ที่ยอดสูง และเขายังกล่าวอีกว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงความสมดุลจากที่ ABA ที่สูง Cytokinin ต่ำไปเป็น ABA สูง: cytokinin ที่สูงที่ ยอด การพักตัวจะหมดไปตาจะแตกออกและการเจริญของ cycle ใหม่ ก็จะเริ่มต้น

100523

Alvim et al. (1974) กล่าวว่าอุณหภูมิที่ต่ำกว่า 25°C เหมาะสมต่อการเกิด **flushing**

Alvim et al. (1974) กล่าวว่าสมมติฐานเกี่ยวกับปฏิกิริยา **hydroperiodic** ของสภาพแวดล้อม ซึ่งจะเกี่ยวข้องกับ การเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมน ก็จะมีการเพิ่มของ **ABA** ในใบแก่

Alvim et al. (1974) กล่าวว่า การเกิดสภาวะความเครียดของน้ำในใบพืชทำให้เกิดการเพิ่มของ **ABA** และ **ABA** จะมีความเกี่ยวข้องกับ การเกิด **Abscission** ต่อจากนั้นจำนวนการเคลื่อนที่ของ **ABA** จากใบไปสู่ปลายยอดจะลดลง

Alvim et al. (1974) รายงานว่าการจำแนก **ABA** ในตาโกโก้สามารถกระทำได้โดย **gas-liquid chromatography** และ **mass spectroscopy**

Gold Schmidt et al. (1972) กล่าวว่า **Free** และ **bound acid** และ **neutral growthinhibitors** สามารถตรวจพบในเปลือกของส้ม โดยการใช่วิธีการ **bioassay** และ **gas Chromatography**

Gold Schmidt et al. (1972) รายงานว่าไม่มีการสุกแก่ของผลไม้มันที่มี **neutral inhibitors** และจะมีความสัมพันธ์กับ **free ABA** และ **bound ABA** ที่ต่ำ หากมีการเก็บผลไม้มันที่มี **ethylene** 50 ไมโครลิตร ต่อลิตร **free** และ **bound acid** จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วใน 24 ชั่วโมง หลังจาก 48 ชั่วโมง **bound ABA** จะเพิ่มมากกว่า **free ABA** และในที่สุดอัตราส่วน **bound : free ABA** จะเป็น 0:1

ORCHARD et al. (1980) กล่าวว่า การเจริญของต้นกล้าที่เจริญเต็มโตภายในสภาพเรือนกระจก ซึ่งไม่มีความเครียด พบว่าช่วงระหว่าง **flush cycle**

ของการเจริญเติบโตของยอดใบที่อยู่ในช่วง flush และก่อน flush เมื่อนำมาทำ bioassay พบว่าในใบอ่อนที่กำลังเจริญ (Stage F-1 ถึง F-2) จำนวนของ free และ Bound acid จะต่ำ และเมื่อใบเจริญเต็มที่ (End of F-1 Stage) ABA ทั้ง 2 รูปจะเพิ่มอีก โดยเฉพาะ Bound ABA จะเพิ่มมาก และจะลดลงอีกครั้งในช่วงระหว่างการพักตัว (I-1 ถึง I-2) และจะลงต่ำมากจนกว่าจะเริ่ม cycle ใหม่ ในใบก่อน flush หรือเป็นระยะเริ่มต้นของ cycle (F-2) พบว่ามีระดับของ free ABA หลังจากนั้นจะลดต่ำลงอีกครั้งและยังคงต่ำอยู่ตลอดช่วงการคงตัวของ cycle ในขณะที่ bound ABA เพิ่มขึ้นในปลาย F-2 และจะลดปริมาณลงเฉพาะในช่วงปลายของระยะนี้เท่านั้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่าทั้งใบแก่และใบที่กำลังอยู่ในระยะ flush และใบก่อน flush จะมี ABA เป็นตัวสภาพการพักตัวของตาในช่วงการพักตัวภายหลังจากครั้งหนึ่งของ growth cycle

ORCHARD et al. (1980) รายงานว่า flush growth และยอดในไม้ยืนต้นเกี่ยวข้องกับรูปแบบของการเจริญเติบโตและการพักตัวของตา ยอดที่เจริญแบบนี้พบในพืชเขตร้อนทั่วไปเช่น โกโก้ และพบว่าสภาพแวดล้อมมีผลต่อการเจริญของพืชนี้ เช่น ความชื้นในดิน อุณหภูมิ เป็นต้น

ORCHARD et al. (1980) รายงานว่า ระดับของสารสังเคราะห์การเจริญเติบโตใน young flush leaves จะสูงกว่า mature flush leaves

ORCHARD et al. (1980) กล่าวว่า ระดับของ ABA ที่ตาจะลดลงเมื่อถึงระยะเริ่ม growth cycle และดังนั้น ABA ในใบแก่ในช่วงระหว่างตาออกพักตัว

ORCHARD et al. (1980) รายงานว่า ตัวอย่างใบที่จะนำมาใช้วิเคราะห์ นำมาจากระยะต่าง ๆ ดังนี้คือ

ระยะ F-1 เป็นระยะที่กำลังงอกรวม ใบแรกกำลังคลี่ตัว

ระยะ F-2 ใบแก่แล้ว ใบมีเม็ดสี anthocyanin บาง ๆ ตายออกพักตัว

ระยะ I-1 ใบแก่เต็มที่ ใบเขียวอย่างรวดเร็ว กายออกหนัก

ระยะ I-2 ใบใหม่ที่เกิดจะมีสีเขียวเข้ม มี **cuticle** หนา กายออกหนัก

และพืชที่ให้น้ำมาให้ทดสอบต้องมีอายุอย่างน้อย 4 เดือน และมี 4 **flush cycle** ดังกล่าวครบ ในหนึ่ง **growth flush**

ORCHARD et al. (1980) กล่าวว่าตัวอย่างใบที่จะนำมาทดสอบควรมีน้ำหนัก 2-15 gm. โดยการนำมาบดในที่เย็นร่วมกับ ethanal กับ Polytron แล้วเก็บทางคืนไว้ที่อุณหภูมิ 5 °C แล้วจึงนำไปสกัดจะได้ free acid, bound acid และ neutral ออกมาแล้วจึงนำไปทำ bioassay กับ Coleoptile ของข้าวสาลีต่อไป

ORCHARD et al. (1980) รายงานว่า free acid ของ flush leave จะมีค่า Rf อยู่ช่วง Rf zone 0.4-0.7 ซึ่งเป็นค่าแห่งของ ABA Rf 0.0-0.3 เป็นช่วงของตัวส่งเสริม ช่วงที่มีการยับยั้งอย่างมีนัยสำคัญที่ Stage early F-2, late F-2, early I-2, late I-2 F-1-PF

ORCHARD et al. (1980) กล่าวว่า ส่วน bound acid ของใบช่วงก่อน flush จะมีการยับยั้งสูงมากในช่วงปลายของ F-2-PF เท่านั้น

ORCHARD et al. (1980) ในใบก่อน flush จะมีการเพิ่มของ free ABA ช่วง F-2 และจะลดลงในช่วง I-1 และต่ำจนถึง I-2 ส่วน Bound ABA จะต่ำในช่วง F-1 และ F-2 แต่จะเพิ่มขึ้นในช่วง I-1 แต่ทั้ง free ABA และ Bound ABA ในช่วง flush leaves จะมีปริมาณต่ำในช่วง F-2 แต่จะมีการเพิ่มของทั้ง 2 รูปอย่างรวดเร็วจนในช่วง I-1

Halevy et al. (1981) รายงานว่า ดอกกุหลาบที่ตัดแล้วหากนำมาจุ่มในสารละลาย ABA ความเข้มข้น 1ppm. หรือ 10 ppm. โดยการจุ่มไว้ 1 วัน จะทำให้มีอายุยาวนาน เพราะ ABA ไปเหนี่ยวนำให้ปากใบปิด แต่ ABA

จะเร่งการสุกของผล

Grierson et al. (1980) กล่าวว่า ฮอร์โมนพืชจะมีการสร้าง **auxin, gibberellin, carbohydrates,** และ **ABA** และ **ABA** จะมีการแข่งขันกับ **GA** **ABA** จะมีการสร้างจากลำต้น ราก ผล หากเกิดสภาพการขาดน้ำ

Grierson et al. (1980) กล่าวว่า ระดับของ **auxin gibberellin cytokinin, ethylene** และ **ABA** จะมีการเปลี่ยนแปลงไปตามช่วงของระยะเวลาการเจริญเติบโตและพัฒนา มีการเห็นว่าการสุกและการสุกของผล

Yadava et al. (1980) กล่าวว่า หากอัตราส่วนของ **ABA** สูงกว่า **GA, CYK** การเจริญของพืชจะถูกยับยั้ง เพราะ **ABA** จะไปมีอิทธิพลต่อการแสดงออกหรือไปเหนี่ยวนำการสร้าง **DNA**

จินดา. (2524) กล่าวว่า การให้ **ABA** จากภายนอกสามารถชักนำการเกิดการพักตัว **GA** และ **Kinetin** สามารถทำให้สภาพ **dormancy** ในธรรมชาติคืนกลับสู่สภาพการเจริญเติบโตใหม่ได้ในไม้หลายชนิด ในการทดลองในตาของไม้ยืนต้น ซึ่งให้ทั้ง **ABA** และ **GA** พร้อมกัน ยังพบว่าการเพิ่มปริมาณ **GA** สามารถเอาชนะผลของ **ABA** ได้ ซึ่งทำให้สรุปได้ว่า **dormancy** ถูกควบคุมโดยสมดุลระหว่างปริมาณ **ABA** และ **GA** ภายในต้นพืช ซึ่งสภาพสัญญาณสิ่งแวดล้อมจะเป็นตัวควบคุมการสร้าง **hormone** ทั้ง 2 ชนิด

Larosa et al. (1985) กล่าวว่า การปรับตัวของยาสูบ **Nicotiana tabacum L. var Wisconsin 38** ต่อ **NaCl** ถูกเร่งโดย (\pm) **abscisic acid (ABA)** ทำให้ยาสูบสามารถทนต่อสภาพความเค็มของเกลือ และเซลล์ที่ปรับตัวต่อสภาพอาหารที่เป็นเกลือ เช่น **Na₂SO₄** สามารถเร่งการเจริญเติบโตโดย **ABA** เช่นกัน

Jacobs. (1979) กล่าวว่า ถ้าหากใช้ **ABA** ในก้านใบที่อ่อนของใบที่แก่แล้ว มันจะเร่งการเกิด **abscission** และลดการเคลื่อน **¹⁴C -IAA** อย่างมีนัยสำคัญ

ห้องสมุด มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีการเกษตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ในวงแคบเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Galston et al. (1970) รายงานว่า ABA สามารถจะเกิดการแตก
 กระจายจากการตัดกิ่ง white ash และเมื่อใช้ ABA กับ black
currant จะทำให้ตายอดกิ่งตัว

CORNISH et al. กล่าวว่า การสะสมของ ABA โดยรากของ
Xanthium strumarium L. และ Lycopersicon esculentum Mill.
 จะมีความสัมพันธ์ต่อการเกิดสภาวะความเครียดของน้ำ (Water Stress) และการ
 สะสม ABA สูงสุดในรากที่ถูก detach ปรากฏว่าน้ำหนักสดหายไป 60-70 เปอร์เซ็นต์
 ก่อนน้ำหนักคน

Keith et al. (1985) รายงานว่า ABA มีผลต่อการทนทานต่อ
 ความเป็นของ Cellus ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของ Lotus corniculatus L.
 โดยผลของอุณหภูมิที่มีต่อการเจริญเติบโต (2°C และ 24°C) ความเข้มข้นของ ABA
 และแสง จะเป็นตัวเหนี่ยวนำให้พืชทนต่อความเป็น

Raikhel et al. (1985) กล่าวว่า ABA เป็นตัวควบคุมการสะสม
Lectin ในต้นกล้าของข้าวสาลีของการเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยพบว่าเมื่อใช้ ABA
 จำนวน 10 ไมโครโมลาร์จะทำให้ข้าวสาลีมี Lectin เพิ่มขึ้น 2-3 เท่าในฐาน
 และปลายยอด

ROBERTSON et al. (1985) กล่าวว่า สภาพความแห้งแล้ง จะทำ
 ให้เกิดเหนี่ยวนำให้ ABA เพิ่มระดับขึ้นในปลายรากของทานตะวัน (Helianthus
annus L. CV Russin Giant) ที่มี ABA ที่ปลายรากประมาณ 3- mm
 เมื่อเกิดสภาพความแห้งแล้งอย่างช้า ๆ

HOREMANS et al. (1984) กล่าวว่า การสกัด ABA เพื่อนำมาใช้
 ทดสอบไม่ให้เสียคุณภาพโดยใช้วิธี GLCECD จะดีที่สุด

STEWART et al. (1985) กล่าวว่า เมื่อเก็บใบที่ 2 ของข้าวบาร์เลย์
 มีอายุ 2 อาทิตย์มา incubated ในสภาพที่ทำให้เกิดการเหี่ยว พบว่า ABA

จะมีระดับเพิ่มขึ้นถึง 0.6 nanomole ต่อน้ำหนักสดที่เวลา 4 ชั่วโมง และจะลดลงประมาณ 0.3 nanomole ต่อกรัม ของน้ำหนักสด และยังคงจะมีระดับคงที่จนกว่าจะถูก rehydrate

Proline จะมีการสะสมโดยการเหี่ยวงอในใบของข้าวบาร์เลย์ ที่มีความเต่ง โดยการเพิ่มของ **ABA**

SNAITH et al. (1984) กล่าวว่า เมื่อมีการใช้ **NAA** และ **ABA** ร่วมกัน จะมีปฏิกริยาร่วมกันช่วยให้ปากใบปิดไ้มากกว่าการใช้แยกกัน

EAMUS et al. (1983) รายงานว่า การไวต่อความหนาวเย็นของพืช **Phaseolus vulgaris** พบว่าที่อุณหภูมิ 22 °C **ABA** จะเหี่ยวงอให้เกิดการเหี่ยวงอการปิดของปากใบ แต่ต้องร่วมกับจำนวนของ CO_2 คอยหาก CO_2 ลกจะทำให้ **ABA** หมกไปควย

Henson (1984) ความเข้มข้นของ **ABA** ในใบของชาวฟางนก จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นหากอยู่ในสภาพแล้ง

ACKERSON (1984) รายงานว่า ortonของถั่วเหลือง จะถูกเหี่ยวงอนำไม้โห่งอกโดย **ABA**

NEILL et al (1984) ความเข้มข้นของ **ABA** สามารถพบไ้ไคที่ยอดคของมะเขือเทศ (**Lycopersicon esculentum Mill cv Ailsa Craig** ซึ่ง เป็นพันธุ์ที่มีการกลายพันธุ์จากการเหี่ยว

Wang (1984) รายงานว่า **Pisum sativum** ที่มีการกลายพันธุ์เป็นพันธุ์ทนแล้ง พบว่าเมื่อนำไปทดสอบการสร้าง **ABA** จะมีการสร้าง **ABA** สูงกว่าพันธุ์อื่น ๆ

VARNER (1976) กล่าวว่า **ABA** จะมีโครงสร้างที่สัมพันธ์กับองค์ประกอบที่แสดงการลดการเจริญของ **Coléoptile** ของข้าวสาลี

ORCHARD (1979) กล่าวว่า ส่วนของ chromatogram จะถูกนำ
มาทดสอบสำหรับปฏิกิริยาทางชีววิทยากับ wheat coleoptile ซึ่ง เป็นวิธีของ
Nitsch และ Nitsch



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัสดุอุปกรณ์

1. Paper chromatograms ในรูป Neutral ABA, Free ABA และ Bound ABA ที่ได้จาก การสกัด ABA จากตัวอย่างในอบเชยสดหนัก 2 กรัมที่ ระยะต่าง ๆ ของ flush cycle ดังนี้

1. early F-2
2. intermediate F-2
3. Late F-2
4. I-1
5. Early I-2
6. Late I-2
7. F₁ -PF

2. Wheat Coleoptiles

3. Bioassay basal medium

4. Over head projectors

5. UV Spectrophotometer

6. Double blade cutter

7. pH meter

8. เครื่องชั่งชนิดละเอียด

9. Shaker

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการทดลอง

การเตรียม **Coleoptile section**

นำเมล็ดข้าวสาลีพันธุ์ **Sonora** (ละเมิง 2) มาทำความสะอาด โดยการล้างควายน้าแล้วแช่ในน้ำกลั่นนานประมาณ 1 ชั่วโมง แล้วนำมาเรียงให้เป็นระเบียบบนกระดาษเพาะเมล็ด รักษาความชื้นในกระบะเพาะให้เหมาะสม ภายใต้แสงสีแดงนาน 10 ชั่วโมง และในสภาพมืดหลังจากนั้นนานประมาณ 60 ชั่วโมง ทั้งนี้จะกระทำในห้องซึ่งควบคุมอุณหภูมิประมาณ 25°C โดยสม่ำเสมอ หลังจากนั้นนำต้นกล้าที่มีความสูงประมาณ 2.8-3.3 เซนติเมตร และมี **Coleoptile** ที่อยู่ในสภาพไม่โค้งงอมาตัดให้โคนความยาว 1 เซนติเมตร โดยห่างจากปลายยอด 4 มิลลิเมตรโดยประมาณ กระทำการตัดโดยใช้ **double blade cutter** ซึ่งกำหนดความยาว 1 เซนติเมตร ใซ้อย่างถาวร การตัด **coleoptile section** กระทำภายใต้แสงสีเขียว แล้วนำ **Coleoptile section** ดังกล่าวแช่ในน้ำกลั่นนาน 1 ชั่วโมง เพื่อซ้ด **endogenous auxin** ก่อนที่จะนำไปทดสอบหาปริมาณ **ABA** จากแต่ละ **refraction** ของ **paper chromatograms** ของ **flush cycle**

การเตรียม **bioassay basal medium**

การทดสอบแต่ละ **refraction** ของ **paper chromatogram** ใซ้ **bioassay basal medium** จำนวน 10 ml. ซึ่งประกอบด้วย 1 ml. ของ 1 mole **sucrose**, 8 ml. ของ 0.01 mole **phosphate buffer at pH 5.5** (เตรียมจากการใซ้ KH_2PO_4 และปรับ pH ควบ Na_2HPO_4) และน้ำกลั่น 1 ml. แต่ในกรณีของการทำ **Standard curve** จะใซ้สารละลาย **ABA** ที่ความเข้มข้นต่างๆ จำนวน 1 ml. แทนน้ำกลั่นในปริมาณ 1 ml. เท่ากัน

การทำ **bioassay**

นำแต่ละ **refraction** ของ **paper chromatogram** ที่ต้องการ

ทดสอบหาปริมาณ ABA มาใช้ใน bioassay basay medium ปริมาณ 10ml.
 แลวนำ Wheate Coleoptile section จำนวน 10 ชิ้น แทรวมด้วยกันใน
 boiling tube ปิดปากหลอดด้วย parafilm แลววางบน Shaker ที่ความ
 เร็วต่ำ ในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิระดับ 25 °C นานประมาณ 24 ชั่วโมง แลวนำเมล็ด
 มาวัดอัตราการยืคตัว (elongation) ของ Coleoptile segment โดยผ่าน
 การขยายโดย over head projector ที่กำหนดกำลังขยายในสภาพที่คงที่
 ตลอดหลังจากนั้นนำค่าเฉลี่ยจาก 10 segments ไปศึกษาหาปริมาณ ABA
 โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของการยืคตัวของ coleoptile segment ในสภาพ
 control (% Control increment) และเปรียบเทียบกับ Standard curve

ที่มาของ paper chromatograms

paper chromatogram ที่ทำการศึกษาหาปริมาณ ABA ในครั้งนี้ได้
 จากการสกัด ABA โดย Suthiporn (1986) โดยนำไบอมเชกสดที่ระยะต่าง ๆ
 ของ flush cycle จำนวน 2 gram มาปั่นใน Cold absolute
 ethanol ให้เป็นเนื้อเดียวกัน คอจากนั้นกรองผ่าน glass wool ในรูป
 Neutral, free และ bound acid หลังจากนั้นระเหยให้แห้งใน
 rotaryevaporator และใช้ ethanol 2.5 ml. ละลายอีกครั้งหนึ่ง เก็บไว้ที่
 อุณหภูมิ 5 °C ก่อนไป purify โดยวิธี paper chromatography ซึ่งใช้
 Whatman NO.1mm paper strips ขนาดกว้าง 6.35 เซนติเมตร แลว
 developed ใน isopopanol : ammonia : water (90:1:9) Solvent system
 จนกระทั่ง the front เคลื่อนที่จากจุดเริ่มต้นประมาณ 25-35 เซนติเมตร แลว
 ึ่งให้แห้ง หลังจากนั้นแบ่งออกเป็น 10 ส่วน (refraction) เท่า ๆ กันแลวนำแต่
 ละส่วนไปทดสอบในขบวนการ bioassay คอไป

ระยะเวลาที่ทำการทดลอง 3 กรกฎาคม - 25 ตุลาคม พ.ศ.2529

สถานที่ทำการทดลอง ห้อง ๓105 คึกกฏบัติการเว็ค คณะเทคโนโลยี-
การเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง กรุงเทพฯ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

ก. ระดับ ABA ที่สกัดจากใบอบเชยที่ระยะต่าง ๆ ของ flush cycle

จากตัวอย่าง paper chromatograms ของ ABA ที่สกัดจากใบอบเชยไทย (Cinnamomum iners. Blume) แล้วนำไปทำ bioassay กับ coleoptile ของข้าวสาลี (Triticum vulgare) โดยใช้ ABA ทั้ง 3 รูปคือ Neutral ABA, Bound ABA, และ Free ABA พบว่าในขณะที่ใบและยอดอบเชยมีการเจริญเติบโตที่อยู่ในระยะ flush cycle ปริมาณของ ABA ที่อยู่ในรูปต่าง ๆ จะมีการเปลี่ยนแปลงในระยะต่าง ๆ ดังนี้คือ

Neutral ABA ในระยะ F-2 ซึ่งเป็นระยะที่ใบอ่อนแก่แล้ว ใบมีเม็ดสี anthocyanin บาง ๆ ตายออกพักตัว มีปริมาณ ABA ค่อย ๆ ลดลงในระยะ Early F-2 (มีเปอร์เซ็นต์ inhibition ในบริเวณ Rf 8.13.91 เปอร์เซ็นต์) และจะลดลงอย่างรวดเร็วในปลาย F-2 (late F-2) โดยจะมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น จะมีการเพิ่มขึ้นอีกครั้งในระยะ I-1 เปอร์เซ็นต์ inhibition ประมาณ 12.5 เปอร์เซ็นต์ ระยะ Early I-2 เพิ่มขึ้นเป็น 14.29 เปอร์เซ็นต์และลดลงอีกในระยะ Late I-2 (เปอร์เซ็นต์ inhibition ประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์)

ปริมาณ ABA ในรูป Neutral จะค่อยเพิ่มอีกครั้งในระยะ F-2 BF (เปอร์เซ็นต์ inhibition ประมาณ 8.5 เปอร์เซ็นต์)

Bound ABA ในระยะ Early F-2 ปริมาณ ABA จะมีปริมาณค่า (เปอร์เซ็นต์ inhibition 14.9 เปอร์เซ็นต์) และลดลงอย่างรวดเร็ว ในระยะ Late F-2 (เปอร์เซ็นต์ inhibition ประมาณ 2.71 เปอร์เซ็นต์) และจะเพิ่มขึ้นในระยะ I-1 (เปอร์เซ็นต์ inhibition ประมาณ 15.5 เปอร์เซ็นต์) ระยะ Early I-2 จะลดปริมาณลงเหลือเปอร์เซ็นต์ การยับยั้งเพียง 14.9 เปอร์เซ็นต์

ต่อมาในระยะ Late I-2 ABA จะลดต่ำลงอย่างรวดเร็วเหลือเปอร์เซ็นต์ inhibition เพียงประมาณ 5.2 เปอร์เซ็นต์ และค่อย ๆ เพิ่มขึ้นอีกครั้งในระยะ F-2 PF ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ inhibition เป็น 11.88 เปอร์เซ็นต์

Free ABA ระยะ Early F-2 จะมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง เป็น 19.96 เปอร์เซ็นต์ ระยะ Late F-2 ปริมาณ ABA มีแนวโน้มลดลง สืบเนื่องจาก เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง เหลือเป็น 18.74 เปอร์เซ็นต์ และลดลงเหลือ 10.5 เปอร์เซ็นต์ ในระยะ I-1

ระยะ Early I-2 ปริมาณ ABA จะเพิ่มขึ้นอีก (เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง 14.37 เปอร์เซ็นต์ และเพิ่มเป็น 19.88 เปอร์เซ็นต์ ในระยะ Late I-2 ส่วนระยะ F-2 PF ลดลงเหลือเพียง 8.0 เปอร์เซ็นต์

ข. ระดับความเข้มข้นของ ABA ที่สกัดจากใบอมเขยที่ระยะต่าง ๆ ของ flush cycle

จากการทำ bioassay ของ Standard solution กับ Coleoptile ของข้าวสาลี เป็นจำนวน 6 ซ้ำ (Replication) ในวันที่ 11 กรกฎาคม, 20 กรกฎาคม, 27 กรกฎาคม, 22 ตุลาคม, 4 สิงหาคม 2529 พบว่าเปอร์เซ็นต์ การยืดยาวของ Coleoptile segment ของข้าวสาลี มีแนวโน้มว่าการยับยั้ง การยืดยาวมากขึ้น ตามความเข้มข้นของ ABA Standard Solution คือที่ ความเข้มข้น 1 ppm. มีความสามารถในการยับยั้ง $> 0.75 \text{ ppm} > 0.50 \text{ ppm} > 0.25 \text{ ppm}$. ตามลำดับ (ภาพที่ 2)

และจากการทำ paper Standard chromatography โดยวิธีการ bioassay กับ Coleoptile ของข้าวสาลีเช่นกัน ณ ความเข้มข้น 1 ppm., 2 ppm. และ 3 ppm. กระทำความเข้มข้นละ 2 ซ้ำพบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง ของ Rf8 มีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นที่ความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับ ABA Standard Solution โดยที่ ABA 3 ppm. มีความสามารถในการยับยั้งได้ ประมาณ 13 เปอร์เซ็นต์ 2 ppm. (3.2 เปอร์เซ็นต์) 1 ppm.

(2.55 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ

ดังนั้น ความเข้มข้นของ ABA ทั้งสามรูปคือ Neutral ABA,

Bound ABA และ Free ABA Rf8 ซึ่งวัดปริมาณ ABA ในรูปค่าเฉลี่ยของ 2 ซ้ำดังนี้

Neutral ABA

Early F-2 (12.25 เปอร์เซ็นต์) I-1 (13.15 เปอร์เซ็นต์) Early I-2 (15.5 เปอร์เซ็นต์) มีความเข้มข้นของ ABA ประมาณ 3 ppm. หรือมากกว่าและ Late F-2 (6 เปอร์เซ็นต์) Late I-2 (5.5 เปอร์เซ็นต์) F-2PF (8 เปอร์เซ็นต์) มีความเข้มข้นของ ABA ประมาณว่าหรือน้อยกว่าหรือเท่ากับ 3 ppm. หรือมากกว่า

Bound ABA

Early F-2 (13 เปอร์เซ็นต์) I-1 (15.5 เปอร์เซ็นต์) Early I-2 (15.2 เปอร์เซ็นต์) F-2-PF มีปริมาณความเข้มข้นของ ABA ที่ Rf8 ประมาณ 3 ppm. หรือมากกว่าและ Late I-2 มีปริมาณ ABA ประมาณ 3 ppm. หรือมากกว่า ส่วน Late I-2 อาจจะมีค่าความเข้มข้นที่น้อยกว่า 2 ppm. หรือเท่ากับมากกว่า 2 ppm.

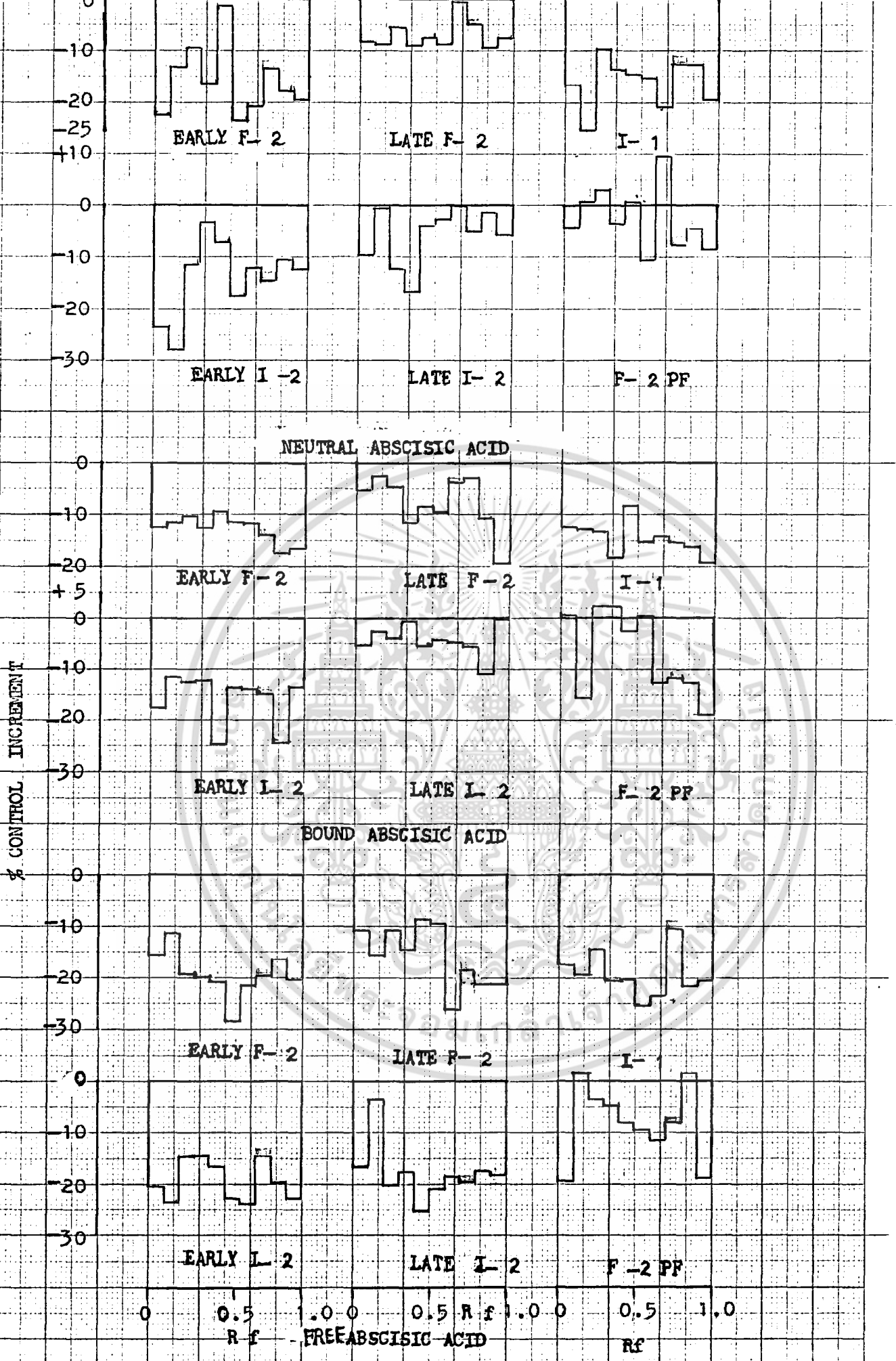
Free ABA

Early F-2 (18 เปอร์เซ็นต์) Late F-2 (19 เปอร์เซ็นต์) I-1 (11.5 เปอร์เซ็นต์) Early I-2 (16 เปอร์เซ็นต์) Late I-2 (20 เปอร์เซ็นต์) มีปริมาณความเข้มข้นของ ABA ประมาณ 3 ppm. หรือมากกว่า ส่วน F-2-PF มีความเข้มข้นที่น้อยกว่า 2 ppm. หรือเท่ากับมากกว่า 2 ppm.

ภาพที่ 1 กราฟแท่งแสดง **Wheat Coleoptile bioassay** จากตัวอย่าง
ไบโอบีโอมสเตรน 2 gm. ที่ระยะต่าง ๆ ของ **flush cycle**
และ **F-2-PF** ใน form **Neutral ABA, Bound ABS** และ
Free ABA

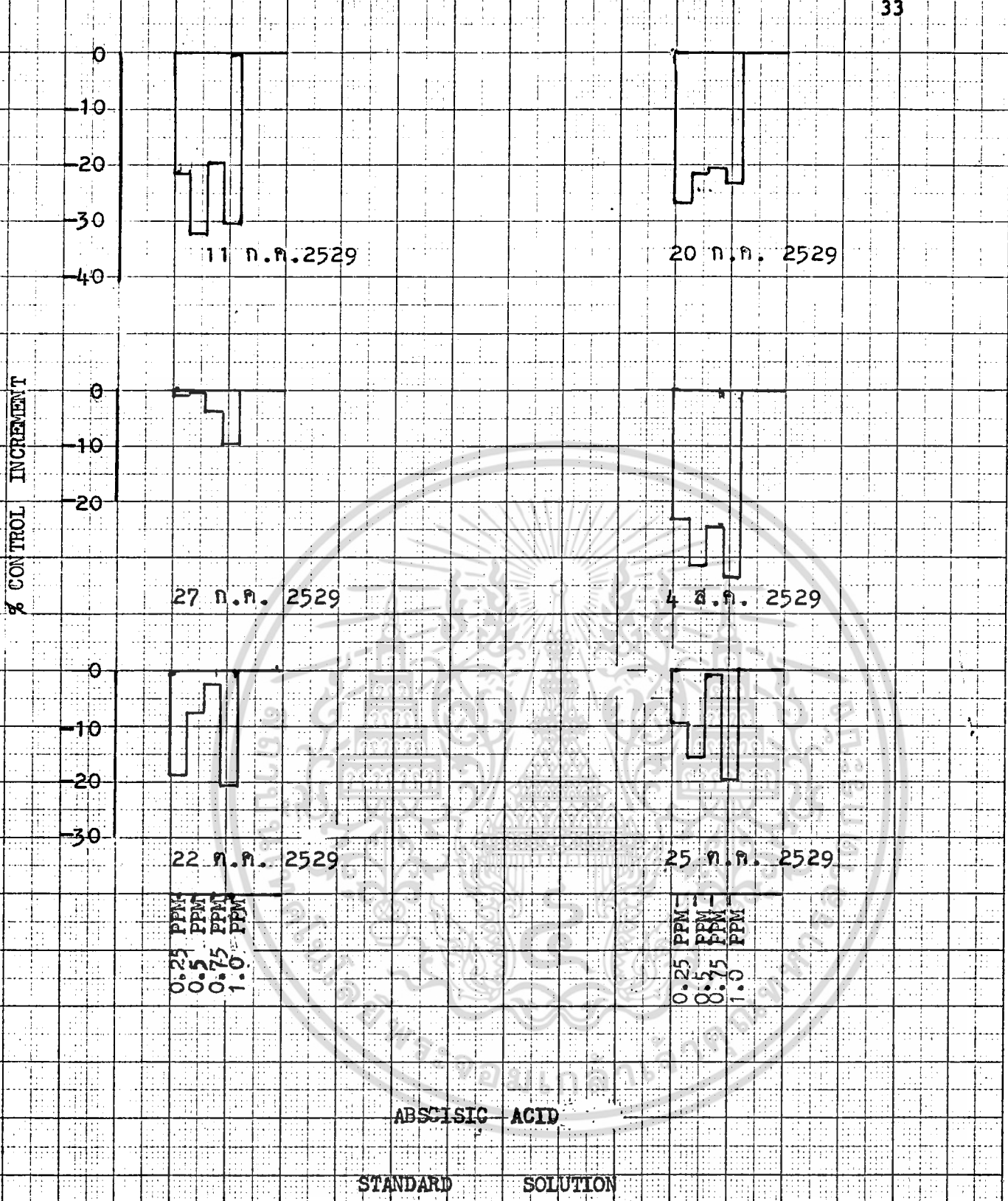


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

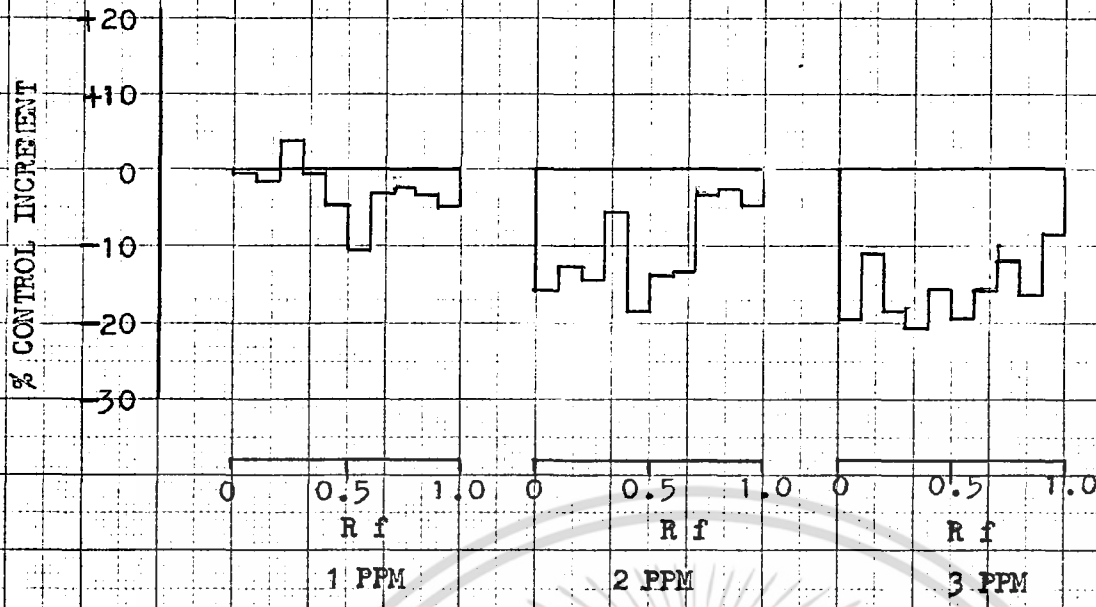


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่กรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศจัดทำขึ้น โดยอนุญาตให้ใช้ประโยชน์ด้านการศึกษา

ไม่วารณใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 กราฟแห่งแสดงแนวโน้การยับยั้งการยืดตัวของ Wheat Coleoptile ของ Standard Solution ที่ความเข้มข้น 0.25, 0.5, 0.75 และ 1 ppm. ตามลำดับที่ทำการทดลองในวันต่าง ๆ ของการทดสอบ bioassay



ABSCISIC ACID
PAPER STANDARD CHROMATOGRAMS

ภาพที่ 3 กราฟแห่งแสดง Wheat Coleoptile bioassay ของ paper Standard Chromatograms ที่ ABA ความเข้มข้น ๑, ๒ และ ๓ ppm. Strip ละ 1 ml. (เฉลี่ยจาก ๒ ทิว)

วิจารณ์

ความสัมพันธ์ของปริมาณ ABA ในใบต่อการเจริญเติบโตของใบอม เชมไทย

การเจริญเติบโตแบบมี **flush cycle** ของพืชพวกไม้ยืนต้นมีความเกี่ยวข้องกับกลไกการสลับรูปแบบของการเจริญและการพักตัวของตาอดซึ่งการเจริญแบบนี้พบในไม้ยืนต้นแถบเขตร้อนหลายชนิด เช่น โกโก้ กาแฟ อมเชมไทย (Orchard; et al. 1980) โดยปกติการเจริญแบบมี **flush cycle** ในพืชพวกนี้ จะเริ่มเกิดขึ้นจากความเครียดของสภาพแวดล้อม เช่น ความชื้นในดิน การเจริญแบบเป็นช่วง ๆ แบบนี้ยังปรากฏใ้ภายใต้สภาวะแวดล้อมที่ปกติก็ ซึ่ง Orchard กล่าวไว้ว่า สภาพแวดล้อมเหล่านั้นจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงภายในของต้นพืช ซึ่งมีสาเหตุหลายอย่างที่เป็นตัวชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโดย Orchard et al. (1980) พบว่าพืชเหล่านี้จะมี 4 **flush cycle** สมบูรณ์เมื่อมีอายุ 4 เดือนขึ้นไป **flush cycle** ดังกล่าวประกอบด้วย

- ระยะ F-1 ตาพองบวม เกิดใบแรกและกำลังคลี่ตัว
- ระยะ F-2 ใบแก่ ใบมี **anthocyanin** อยู่บ้าง ๆ ตาอดพักตัว
- ระยะ I-1 ใบแก่ทั้งแผ่น ใบมีสีเขียวอย่างรวดเร็วกว่า ตาอดพักตัว
- ระยะ I-2 ใบจะมีสีเขียวเข้ม มี **cuticle** หนา ตาอดพักตัว

Orchard et al. (1981) กล่าวว่า ระดับของสารส่งเสริมการเจริญเติบโตจะพบในใบอ่อนสูงกว่าใน **mature flush leaf**

Orchard et al. (1980) ได้ทดลองนำใบโกโก้จำนวน 10 gm. ของน้ำหนักสดมาสกัดเอา ABA มาทดสอบ **bioassay** กับ **Coleoptile** ของข้าวสาลี พบว่าใน ABA ที่สกัดจาก **flush leaf** มีระดับของ **free** และ **bound ABA** ต่ำในช่วงระยะ F-2 และมี การเพิ่มขึ้นอีกครั้งในระยะเวลา (Start of the I-1 phase) การเพิ่มอันนี้จะพบได้ชัดเจนใน **Bound ABA**

แต่สุดท้ายทั้ง 2 form ก็ลดลงในช่วงการพักตัวของตา (ส่วนในใบช่วงก่อน flush cycle, PF) จะมีการเพิ่มขึ้นของ free ABA ช่วงระยะ F-2 และจะลดลงอย่างรวดเร็วใน I-1) คือ ลดลงในระยะ I-2 แล้วค่อย ๆ เพิ่มอีกเล็กน้อยในระยะ F-2-PF ซึ่งผลอันนี้มีส่วนคล้ายกันกับการทดสอบครั้งนี้คือ ABA ในรูป Bound Acid ในช่วง Early F-2 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการยืดตัวของ Coleoptile ของดาวสาเล่เท่ากับ 14.5 เปอร์เซ็นต์ ลดลงเป็น 2.5 เปอร์เซ็นต์ ในระยะ Late F-2 และมีการเพิ่มขึ้นอีกครั้ง ในระยะ I-1 คือเพิ่มเป็น 15.9 เปอร์เซ็นต์ Early I-2 เหลือเพียง 15 เปอร์เซ็นต์ ระยะ Late I-2 เหลือ 5.5 เปอร์เซ็นต์ และเพิ่มขึ้นอีกใน F-2-PF เป็น 11.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งให้ผลใกล้เคียงกับ Suthiporn (1985) ซึ่งทดลองสกัด ABA จาก Cinnamomum iners จำนวน 2 กรัม นำหนักสดเช่นกันคือ ระยะ Early F-2 7.5 เปอร์เซ็นต์ Late F-2 ไม่ยับยั้ง Mid I-1 11 เปอร์เซ็นต์ Mid I-2 10 เปอร์เซ็นต์ และ PF 13.5 เปอร์เซ็นต์

ส่วน Free ABA ในระยะ Early F-2 มีค่าการยับยั้ง 19.8 เปอร์เซ็นต์ Late F-2 18.5 เปอร์เซ็นต์ I-1 11.5 เปอร์เซ็นต์ เพราะจากรายงานของ Orchard พบว่าไม่มีการเพิ่มของ Free ABA ในระยะ I-1 และ ระยะ I-2 โดย Early I-2 14.8 เปอร์เซ็นต์ Late I-2 20 เปอร์เซ็นต์

สาเหตุการเพิ่มขึ้นของ ABA ช่วงนี้ Orchard et al. (1981) สันนิษฐานว่าการเพิ่มระดับของ cytokinin ในใบและตาในระยะ Late I-2 และ F-2-PF และสามารถเอาชนะผลของ ABA ที่สูงได้ แต่เขายังพบอีกว่า หากมีการเปลี่ยนแปลงของระดับ ABA ที่สูงคือ cytokinin ที่สูงเปลี่ยนเป็น ABA มีระดับสูง : cytokinins ที่ต่ำจะทำให้ผลของ ABA แสดงออกมา แต่ในระยะ F-2-PF มีการยับยั้งไคโนนอลง ผลที่ไคของการยับยั้งของ Free ABA ในการทดลองครั้งนี้ให้ผลใกล้เคียงกับการทดลองของ Suthiporn (1985) ซึ่งได้ทดลองใช้ Free ABA ทดสอบกับ Coleoptile ของข้าวโอ๊ตได้ผลดังนี้คือ

Early F-2 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง 14.5 เปอร์เซ็นต์ **Late F-2** 13.8 เปอร์เซ็นต์ **I-2** 21 เปอร์เซ็นต์ และ **PF** 8 เปอร์เซ็นต์

ABA ในรูป **Neutral Suthiporn** (1985) รายงานว่า ระยะ **Early F-2** มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการยืดตัวของ **Coleoptile** ของข้าวโอ๊ต เท่ากับ 16.5 เปอร์เซ็นต์ **Late F-2** 6 เปอร์เซ็นต์ **Mid I-1** 7 เปอร์เซ็นต์ **Mid I-2** 5.5 เปอร์เซ็นต์ และ **PF** 17 เปอร์เซ็นต์ และการทดลองครั้งนี้ให้ ผลค่อนข้างจะใกล้เคียงคือ **Early F-2** 14.5 เปอร์เซ็นต์ **Late F-2** 5 เปอร์เซ็นต์ **I-1** 12.2 เปอร์เซ็นต์ **Early I-2** 5 เปอร์เซ็นต์ และ **F-2 PF** = 7.8 เปอร์เซ็นต์

การหาปริมาณความเข้มข้นของ ABA

จากการทดลองครั้งนี้ คาดว่าปริมาณ **ABA** ทั้ง 3 form จะมีปริมาณ อยู่ระหว่างน้อยกว่า 2 ppm. หรือมากกว่า 3 ppm. โดยสังเกตจากเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของ **ABA** ที่สกัดจากใบอบเชยไทยเปรียบเทียบกับ **paper Standard** ที่ได้จากการเตรียม **ABA** บริสุทธิ์ 99 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบว่า ที่ความเข้มข้นยิ่งสูงก็ยิ่งจะมีเปอร์เซ็นต์ การยับยั้งไคสูงโดยเทียบแนวโน้มนกับ **Standard Solution** ซึ่งมีความเข้มข้น 0.25, 0.5, 0.75 และ 1 ppm. ตามลำดับ การยับยั้งจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นสูงคือจะเพิ่มจาก 0.25 - 1 ppm. ตามลำดับ จินดา (2524) พบว่า **ABA** พบในพืชชั้นสูงทุกชนิด ปริมาณที่พบโดยทั่วไป จะอยู่ระหว่าง 0.1- 1 ppm. ดังนั้นการประมาณในการทดลองครั้งนี้จึงค่อนข้างจะใกล้เคียงโดย อาจจะมีความคลาดเคลื่อนอยู่บ้าง เพราะวิธีการทดสอบแบบนี้ปริมาณ **ABA** ใน **paper chromatograms** อาจเสื่อมสลายไปกว่าครึ่งหนึ่ง และมีรายงานว่า วิธี **Gas Liquid Chromatography** ใหลค่อนข้างเร็วและมีความถูกต้องแม่นยำกว่า (**Accuracy**) วิธีการอื่น ๆ ที่ใช้ไคเนลคือเช่นเดียวกันเช่น **Chromatography - mass spectrometer (GC-MS)** และอีกวิธีหนึ่งคือ **Radio immunoassay (RIA)** วิธีการนี้ใช้กับตัวอย่างจำนวนมากและจะทราบผลไคทันที (**Milborrow, 1974**)

สรุป

จากการศึกษาความสัมพันธ์ของ ABA ที่มีต่อการเจริญเติบโตของอบเชย และทำการประมาณหาปริมาณ ABA ที่สกัดได้จากใบอบเชยไทยระยะต่าง ๆ โดยวิธีการ Bioassay พบว่า ABA ทั้งสามรูปคือ Neutral ABA, Bound ABA และ Free ABA ที่อยู่ในระยะใบอ่อนที่กำลังเจริญ (F-1 F-2) จะมีปริมาณต่ำ คือ ในระยะ Early F-2 จะมีปริมาณ ABA ต่ำจนถึง Late F-2 และจะมีการเพิ่มปริมาณขึ้นสูงอีกครั้งในระยะใบเจริญเต็มที่ (คือตอนปลาย F-2 ต้น I-1) โดยเฉพาะ Bound ABA จะเห็นเด่นชัดมาก ส่วนรูปอื่นไม่ค่อยเห็นชัด และจะยังคงมีปริมาณต่ำ จนถึงก่อน flush cycle ใหม่ (F-2 PF) จะเพิ่มปริมาณขึ้นอีกเล็กน้อย ในการประมาณหาปริมาณ ABA ที่สกัดจากใบอบเชยจะอยู่ในช่วงพิสัยต่ำกว่า 2 ppm. ถึงมากกว่า 3 ppm.

เอกสารอ้างอิง

1. กรมป่าไม้. 2521. ไม้และของป่าบางชนิดในประเทศไทย. เล่มที่หนึ่ง
 อยุธยา กรุงเทพมหานคร : คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
 หน้า 364-365.
2. จินดา ศรศรีวิชัย. 2524. สรีรวิทยาพืช ภาคการเจริญเติบโตและสารควบคุม.
 เชียงใหม่ : ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
 หน้า 129-130.
3. บัญญัติ สุขศรีงาม. 2527. เครื่องเทศที่ใช้เป็นสมุนไพร เล่มสอง. กรุงเทพ
 มหานคร : อมรรการพิมพ์ คลองสาร. หน้า 71-75.
4. สัมพันธ์ คัมภีรานนท์. 2526. สอร์โมนพืช. เล่ม 1 สอร์โมนควบคุมการ
 รวงหลน. กรุงเทพมหานคร : ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์
 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 17-19.
5. สัมพันธ์ คัมภีรานนท์. 2527. หน้า 41-42, 84.
6. ACKERSON C. ROBERT. 1986. Abscisic Acid and Precocious
 Germination in Soybeans. Journal of Experimental.
 Clarendon Press Oxford. 35(152): 414-421.pp
7. AIVIM.K., F.C.T. ALVIM, R. borene and P.F. Saunders. 1974.
 The Possible Role of Absisic Acid and Cytokinins
 in Growth Rhythms of Theobroma cacao L. Formation
 of wood in forest trees. New York. Academic Press.
 4(3): 3-12.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. BLACKMAN P. GAND W.J DAVIES. 1984. Modification of the CO_2 Responses of Maize Stomata by Abscisic Acid and by Naturally-Occurring and Synther Cytokinins. Journal of Experimental Botany. Clarendon press oxford. 35(151) pp. 174-179.
9. CORNISH KATRINA AND JAN A.D. ZEE VAART. 1985. Abscisic Acid Accumulation by Roots of Xanthium Strumarium L. and Lycopersicon esculentum Mill. in Relation to Water Stress. Plant physiol. The American Society to Plant physiologists. 79(1). pp 653-658.
10. EAMUS D. and J.M. WILSON. 1984. A model for the Interaction of Low Temperature, ABA, IAA, and CO_2 in the Control of Stomatal Behaviour. Journal of Experimental Botany. Clarendon Press Oxford. 35(150). pp 91-98.
11. GALSTON W. ARTHUR and PETER J. DAVIES. 1970. Mechanism in Plant development. Prentice-Hall, Inc. Engle Wood Cliffs Newjersey. pp 135-147.
12. GOLDSCHMIDT E.E, R. GOREN, Z. EVEN-CHEN and S. BITTNER. 1973. Increase in Free and Bound Abscisic Acid during Natural and Ethylene-induced Senescence of Citrus Fruit Peel. Plant Physiol. The American Society of plant physiologists. 51. pp 879-882.

13. GRIERSON W., J. SOULE and K. KAWADA. 1982. Beneficial Aspects of Physiological Stress. Horticultural Reviews. The Avi Publishing Company, INC. Westport, Connecticut. pp 273-280.
14. HALEVY H. ABRANHAM and SHIMON MAYAK. 1981. Senescence and Postharvest physiology of cut-flower. Parts. Horticultural Reviews. The Avi Publishing company, INC. Westport, Connecticut. pp 5g.
15. HENSON I.E. 1984. Leaf Abscisic Acid Content and Recovery from Water Stress in Pearl Millet (Pennisetum americanum (L.)). Journal of Experimental Botany. Clarendon Press Oxford. 35(150). pp. 99-109.
16. HOREMANS S, HA VAN ONCKELEN, P. RUDELE-LSHEIM and J.A DEGREF. 1984. Study of Parameters involved in the Determination of IAA and ABA in Plant Material. Journal of experimental: Botany. Clarendon Press Oxford. 35(161). pp 1832-1845.
17. JACOBS P. WILLIAM. 1979. Plant Hormone and Plant Development. New York: Synolics of the Cambridge University Press. USA. pp 186-193.

18. KEITH N. CANDY and BRAN D. MCKERSIE. 1986. The Effect of Abscisic Acid on the Freezing Tolerance of callus cultures of Lotus corniculatus L. Plant Physiol. The American society Plant Physiologists. 80(3). pp 766-770.
19. KONING .E. ROSS. 1986. The Role of Ethylene in Corolla Unfolding in Ipomoea NIL (Convol Vulaceae). Amer.J. Bot. Publiscation of the Botanical Society America. 73(1). pp 152-155.
20. KING R.W. 1982. The physiology and bio chemistry of seed development, dormancy and germination. Elsevier Biomedical Press. pp 157-176.
21. KRISHNAMOORTHY. 1981. Plant Growth Substances. New delhi: Tata Mcgraw-Hill Publishing company Limited. pp 106-120.
22. LAROSA P. CHRIS TOPHER, AVTAR K. HANDA, PAUL M. HASEGAWA, AND RAY A. BXCESSAN. 1985. Abscisic Acid Accelerates Adaptation of cultured Tobacco Cell to Salt. Plant physiol. The American Society of Plant physiologists. 75(138). pp 138-142
23. MAGUIRE. J.E. 1981. Advernce in research and technology Part2. Agricultural Publishing and Docummen tation wegoningen. pp 45-53.

24. MEYERS. BERNARD. 1973. Plant Hormone D. Van Nostrand company
New York. 401-402.
25. MILBORROW B.V. 1974. The Chemistry and Physiology of Abscisic
Acid. Ann. Rev. Plant Physiol. pp 280-297.
26. NEILL S.J. and R. HORGAN. Abscisic Acid Production and Water
Relations in wilted Tomato Mutants Subjected to Water
Deficiency. Journal of Exp. Bot. Clarendon Press
Oxford. 36(169). pp 1222-1231.
27. ORCHARD J.E., H.A. COLLIN, K. HARDWICK. 1981. Biological and
physiological Aspects of leaf Development in cocoa
(Theobroma cacao) V. Changes in Auxins and Cytokinins.
Cacao the. XXV(1) pp 25-28.
28. RAIKHEL V. NA TASHA, BARRIA. PALEVITZ AND CANDAGE H. HAIGLER.
1986. Abscisic Acid control of Lectin Accumulation in
Wheat Seedlings. and Callus Cultures. Plant physiol.
The American Society plant physiologists. 80(1)
29. ROBERTSON J. MASON, RICHARD P. PHARIS, YAN Y. HUANG, DAVID M
REID, and EDWARD C. YEUNG. 1985. Drought-Induced
Increases in Abscisic Acid Level in the Root Apex of
Sunflower Plant physiol. 79(4). pp 1086-1089.

30. SUTTIPORN ANAN SUCHARTKUL. 1983. Relationship between abscisic acid and somphysiological aspects of leaf development in cocoa (Theobroma cacao) and Cinnamon (Cinnamomum iners). A report submitted to the Department of Botany National University of Singapore. For the Colombo Plan Senior Fellowship training Course. 22 pps
31. SALISBURY B. FRANK. 1973. Plant physiology II. Wadsworth Publishing Company, Inc. pp 268-269.
32. SIMPSON. GM. 1981. The Responses of plant to Drought stress. Praeger Publishers. New York. pp 127-129.
33. SNAITH AND .T.A. MANSFIELD. 1984. Studies of inhibition of Stomatal Opening by Naphta-1-ylacetic Acid and Abscisic Acid.
34. STEWART.R. CECIL AND GARY VOETBERG. 1985. Relationship between stress Induced ABA and Proline Accumulation and ABA-Induced Proline Accumulation in Excised Barley leaves.
35. VARNER AND DAVID TUAN-HVAHO. 1978. Hormone Plant Biochemistry Academic Press, Inc. New York. pp 739.

36. WANG L. TREVOR, MARIA E. DONKIN AND E. STEPHEN MARTIN. 1984.
The physiology of a Wilty Pea: Absciscic Acid
Production under Water Stress. Jour of Exp Bot.
Clarendon Press oxford. 35(157). pp 1222-1232.
37. WALTON C. DANIEL. 1980. Biochemistry And Physiology of
Absciscic Acid. Ann. Rev. Plant physio. 31 pp
453-489.
38. WILKINS B. MALCOLM. 1984. Advanced plant physiology. London:
Pliman Publishing Limited. pp 79-104.
39. YADAVA UL. AND S.L. DOUD. 1980. The Short life and Replant
Problems of Deciduous Fruit tree. 2. pp 64.

ภาคผนวก

การเตรียมสารเคมี

การเตรียม stock solution ABA ให้มีความเข้มข้น 10 ppm
จำนวน 1000 CC (ABA 1 หลอดคมีน้ำหนัก 250mg, ai 99 เปอร์เซ็นต์)

วิธีการ	สารละลาย	10 ⁶ CC	มีสาร	อยู่	10 gm
	ถ้า สารละลาย	10 ³ CC	มีสาร	อยู่	$\frac{10 \times 10}{6}$
					10

สาร ABA ที่มีอยู่มิ	ai 99 gm	ในสารทั้งหมด	100 gm	0.01 gm
ถ้า	0.01	ในสารทั้งหมด	$\frac{100 \times 0.01}{99}$	

∴ ABA 0.01 gm + น้ำ 1000 CC 10 ppm.

หมายถึง การเตรียมสารละลาย 1000 cc เพื่อสะดวกในการชั่งสาร
หากเตรียมเพียงจะชั่งสาร ABA ได้ลำบากเพราะสารที่คำนวณมีน้อยมาก

การเตรียม standard solution จาก stock solution
ที่เตรียมได้ ดังนี้คือ

1. ABA standard solution เข้มข้น 0.25 ppm จำนวน 100 CC

วิธีทำจากสูตร $N_1 V_1 = N_2 V_2$

N_1 = ความเข้มข้นของสารละลายตั้งต้น

V_1 = ปริมาตรของสารละลายตั้งต้น

N_2 = ความเข้มข้นของสารละลายที่ต้องการ

V_2 = ปริมาตรของสารละลายที่ต้องการเตรียม

$$N_1 = 10 \text{ ppm}$$

$$V_1 = ?$$

$$N_2 = 0.25 \text{ ppm}$$

$$V_2 = 100 \text{ CC}$$

แทนค่า $10 \times V_1 = 0.25 \times 100 \text{ CC}$

$$V_1 = \frac{0.25 \times 100}{10} \text{ CC}$$

$$V_1 = 2.5 \text{ CC}$$

สารละลาย 0.25 ppm ต้องใช้สารละลายจาก stock solution 2.5 CC + น้ำ 100 CC

2. ABA standard solution เข้มข้น 0.5 ppm จำนวน 100 CC จาก stock solution 10 ppm

$$\text{สูตร} = N_1 V_1 = N_2 V_2$$

$$N_1 = 10 \text{ ppm}$$

$$V_1 = ?$$

$$N_2 = 0.5 \text{ ppm}$$

$$V_2 = 100 \text{ CC}$$

แทนค่า $V_1 = \frac{0.5 \times 100}{10}$

$$V_1 = 5 \text{ CC}$$

∴ ต้องใช้ ABAS 5 cc + น้ำ 100 CC ก็จะได้ความเข้มข้น 0.5 ppm

จำนวน 100 CC

3. ABA standard solution เข้มข้น 0.75 ppm จำนวน 100 CC จาก stock solution

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\begin{aligned} \text{สูตร} &= N_1 V_1 \times N_2 V_2 \\ N_1 &= 10 \text{ ppm} \\ V_1 &= ? \\ N_2 &= 0.75 \text{ ppm} \\ V_2 &= 100 \text{ cc} \\ \text{แทนค่า } V_1 &= \frac{0.5 \times 100}{10} \text{ cc} \end{aligned}$$

$$V_1 = 10 \text{ cc}$$

∴ ต้องใช้ ABA จำนวน 10 cc + น้ำ 100 cc = 0.75 ppm.

4. ต้องการเตรียม standard solution ABA ความเข้มข้น 1 ppm จำนวน 100 cc จาก stock solution

$$\begin{aligned} \text{สูตร} &= N_1 V_1 \times N_2 V_2 \\ N_1 &= 10 \text{ ppm} \\ V_1 &= ? \\ N_2 &= 1 \text{ ppm} \\ V_2 &= 100 \text{ cc} \\ \text{แทนค่า } V_1 &= \frac{1 \times 100}{10} \end{aligned}$$

$$V_1 = 10 \text{ cc}$$

∴ ต้องเติมน้ำ 100 cc + 10 cc ABA จาก stock solution

ก็จะได้ solution 1 ppm.