นิพนธ์ต้นฉบับ

ผลของสารเคมีชักนำดอกที่มีต่อการเจริญของดอก และผลสับปะรดพันธุ์ภูเก็ต [*Ananas comosus* (L.) Merr. c.v. Phuket]

ภูวดล บุตรรัตน์ [1] และ อาคม วังเมือง[2]

Abstract

Butrat, P. and Wangmuang, A.
Effects of 'flowering chemicals' application on the development of inflorescence and fruit of pineapple. [*Ananas comosus* (L.) Merr. c.v. Phuket]
Songklanakarin J. Sci. Technol., 2004, 26(3) : 327-337

This comparative study of the effects of three different flowering chemicals, CaC_2, ethephon, and NAA, on the development of inflorescence and fruit of pineapples c.v. Phuket was conducted at Amphoe Talang of Phuket Province, between December 2000 and September 2001. An experiment was arranged as a factorial design in RCB with 2 factors in 3 replications. In the first factor, there were CaC_2 1 g/plant, ethephon 100 mg/l combenation with urea 1.5% 60 ml/plant, NAA 0.5 mg (1 ANAA tablet/plant), and the second factor was application period (one time and two times into the shoot tips of nine-month-old ground suckers). The results showed that the application of ethephon one time or two times led to faster floral development than in plants that received NAA or CaC_2. In fact, the floral development with ethephon application was 5-7 days faster than that in NAA application, and 8-10 days faster than that in CaC_2 application. Apical meristem differentiation took place 3 days after the application of ethephon, followed by complete development of the first floret and stamen within 42-43 days, anthesis within 45-46 days, and pistil within 48-49 days. Maturation of the egg was 5.7-6.3 days later than that of the pollen grains and 2.3-2.6 days after anthesis. In the treatment of NAA application once or twice, the development of the egg cell took a longer period.

Key words : Ananas, pineapple, development, ethephon, NAA, CaC_2, flowering chemicals

Phuket Community College, Prince of Songkla University, Phuket Campus, Amphoe Kathu, Phuket, 83120 Thailand.

[1]วท.ม. (พฤกษศาสตร์) ผู้ช่วยศาสตราจารย์ [2]ทษ.บ. (ประมงน้ำจืด) ฝ่ายวิชาการ วิทยาลัยชุมชนภูเก็ต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตภูเก็ต อำเภอกะทู้ จังหวัดภูเก็ต 83120

Corresponding e-mail: bpuwadon@ratree.psu.ac.th

รับต้นฉบับ 18 กันยายน 2546 รับลงพิมพ์ 11 ธันวาคม 2546

บทคัดย่อ

ภูวดล บุตรรัตน์ และ อาคม วังเมือง

ผลของสารเคมีชักนำดอกที่มีต่อการเจริญของดอก และผลสับปะรดพันธุ์ภูเก็ต [*Ananas comosus* (L.) Merr. c.v. Phuket]

ว. สงขลานครินทร์ วทท. 2547 26(3) : 327-337

การศึกษาเปรียบเทียบผลของสารชักนำดอก 3 ชนิด และจำนวนครั้งที่ให้สาร 1 ครั้งและ 2 ครั้ง โดยใช้สารแคลเซียมคาร์ไบด์ (CaC_2) 1 กรัม/ต้น สารเอทธีฟอน (ethephon) 100 มก./ล. ผสมยูเรีย 1.5% 60 มล./ต้น และสาร NAA 0.5 มก./ต้น (ANAA 1 เม็ด/ต้น) ด้วยวิธีหยอดสารบนยอดสับปะรดพันธุ์ภูเก็ตที่ปลูกด้วยหน่อดินอายุ 9 เดือน วางแผนการทดลองแบบเชิงตัวประกอบ (factorial design) โดยสุ่มในบล็อก มี 2 ปัจจัย จำนวน 3 ซ้ำ ทำการทดลองในแปลงสับปะรด อำเภอถลาง จังหวัดภูเก็ต ตั้งแต่เดือนธันวาคม 2543 ถึงเดือนกันยายน 2544 เพื่อศึกษาขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาควิทยาของปลายยอด ช่อดอก ส่วนประกอบของดอก จนกระทั่งเจริญเป็นผลอ่อน ภายหลังให้สารชักนำดอกแต่ละชนิด พบว่าการให้สาร ethephon 1 หรือ 2 ครั้ง ทำให้การเจริญของช่อดอกเกิดขึ้นเร็วกว่าการให้สาร NAA ประมาณ 5-7 วัน และเร็วกว่าสาร CaC_2 8-10 วัน ปลายยอดมีการเปลี่ยนแปลงหลังให้สาร ethephon เพียง 3 วัน ดอกแรกมีการเจริญเป็นส่วนประกอบของดอกครบและเกสรเพศผู้สมบูรณ์ใช้เวลา 42-43 วัน ดอกแรกบานหลังให้สาร 45-46 วัน และเกสรเพศเมียเจริญสมบูรณ์ใช้เวลา 48-49 วัน ซึ่งช้ากว่าละอองเรณู (pollen grain) ประมาณ 5.7-6.3 วัน และเซลล์ไข่เจริญสมบูรณ์ภายหลังดอกบานประมาณ 2.3-2.6 วัน การให้สาร NAA 1 หรือ 2 ครั้ง มีผลทำให้การเจริญของเซลล์ไข่เจริญสมบูรณ์ช้าลง

สับปะรดพันธุ์ภูเก็ต [*Ananas comosus* (L.) Merr. c.v. Phuket] เป็นสับปะรดในกลุ่มพันธุ์ Queen นิยมใช้บริโภคผลสด มีจุดเด่นหลายประการ โดยเฉพาะคุณภาพของเนื้อผลที่กรอบมีเยื่อใยน้อย รสหวาน กลิ่นหอมจัด ผลขนาดเล็ก เนื้อผลสีเหลืองเข้ม (จารุพันธ์, 2526) จึงถูกนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ร่วมกับพันธุ์อื่นๆ เพื่อให้ได้ลูกผสมที่มีคุณสมบัติตามที่ตลาดต้องการ เช่น ลูกผสมระหว่างพันธุ์ปัตตาเวียกับพันธุ์ภูเก็ต พันธุ์ภูเก็ตกับพันธุ์นางแล เป็นต้น การปรับปรุงพันธุ์ดังกล่าวจะประสบผลสำเร็จจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องทราบถึงขั้นตอนและระยะเวลาของการเจริญส่วนต่างๆ ของดอก โดยเฉพาะการเจริญของเซลล์สืบพันธุ์ทั้งเพศผู้และเพศเมียของสับปะรดพันธุ์นั้นๆ ปกติสับปะรดพันธุ์ภูเก็ตมักจะไม่มีเมล็ดหรือมีเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ทำให้เข้าใจว่าเซลล์สืบพันธุ์ของสับปะรดพันธุ์ภูเก็ตไม่เจริญหรือเป็นหมัน และส่วนหนึ่งเชื่อว่าเป็นผลจากขั้นตอนในการผลิตสับปะรดพันธุ์ภูเก็ตที่มีการชักนำดอกโดยใช้สารเคมี ซึ่งในอดีตใช้ผงแคลเซียมคาร์ไบด์ (CaC_2) แต่สามารถชักนำดอกได้น้อย ผลสับปะรดรูปทรงไม่สวย บิดเบี้ยว จึงเปลี่ยนมาใช้ยาเม็ดมีชื่อการค้าว่า ANAA หรือเนฟธาลีน อะซิติดแอซิด (NAA) ขนาด 0.5 มก./เม็ด ส่วนยาน้ำหรือสาร ethephon ไม่มีการนำมาใช้ในการผลิตสับปะรดพันธุ์ภูเก็ต (ชาลี, 2544) ขณะที่การศึกษาการเจริญของดอกสับปะรดพันธุ์ภูเก็ตในระดับเนื้อเยื่อยังไม่มีผู้ใดศึกษาไว้ นอกจาก Bartholomew (1977), Wee และ Rao (1979) ได้รายงานว่า หลังให้สาร ethephon ชักนำดอกในสับปะรดกลุ่มพันธุ์ Smooth Cayenne ประมาณ 2 วัน ปลายยอดมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขนาดทั้งด้านกว้างและความสูง ประมาณ 8-14 วัน ปลายยอดมีความกว้างสูงสุดและมีการเจริญของดอกย่อย จนกระทั่งถึงระยะ 30-40 วัน ส่วนของดอกย่อยจะถูกสร้างขึ้นทั้งหมด จากนั้นช่อดอกจะเจริญต่อเนื่องไปตามลำดับจนถึงระยะผลสุก การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบผลของสารเคมีชักนำดอก 3 ชนิด และจำนวนครั้งที่ให้สาร 1 ครั้งและ 2 ครั้ง ที่มีผลต่อการเจริญของดอกสับปะรดพันธุ์ภูเก็ต โดยศึกษาขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงทางกายวิภาคและระยะเวลาในการเจริญส่วนต่างๆ ของดอกและผลสับปะรดพันธุ์ภูเก็ต ผลการศึกษาจะเป็นข้อมูลพื้นฐานทางพฤกษศาสตร์ที่สำคัญและเป็นประโยชน์ต่องานปรับปรุง

พันธุ์สับปะรดให้มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้นต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

ทดลองในแปลงสับปะรดภูเก็ตของเกษตรกร อำเภอถลาง จังหวัดภูเก็ต ที่ปลูกด้วยหน่อดินขนาดกลางหลังผ่านการผึ่งหน่อ 2 สัปดาห์ ความกว้างของหน่อเฉลี่ย 3.20 ซม. น้ำหนักเฉลี่ย 350 กรัม มีการดูแลรักษาสม่ำเสมอ อายุประมาณ 9 เดือน เริ่มทำการทดลอง ตั้งแต่เดือนธันวาคม 2543 ถึงเดือนกันยายน 2544 ดังนี้

1. วางแผนการทดลองแบบเชิงตัวประกอบ (factorial design) โดยสุ่มในบล็อก (RCB) มี 2 ปัจจัยคือ

1.1 ชนิดของสารเคมีชักนำการออกดอก 3 ชนิด ได้แก่

1) สารแคลเซียมคาร์ไบด์ (CaC_2) 1 กรัม/ต้น

2) สารเอทธีฟอน (ethephon) 100 มก./ล. ผสมยูเรีย 1.5% หยอดต้นละ 60 มล.

3) NAA 0.5 มก./ต้น (ANAA 1 เม็ด/ต้น)

1.2 จำนวนครั้งที่ให้สาร คือให้ครั้งเดียวและให้สองครั้ง (ครั้งที่สองให้หลังจากครั้งแรก 1 สัปดาห์) ช่วงเวลา 15.00 น.

การทดลองมี 3 ซ้ำ ใช้แปลงใหญ่ 3 แปลง (บล็อก) แต่ละแปลงประกอบด้วย 6 แปลงย่อย ขนาดแปลงละ 9×1 ตร.เมตร ปลูกสับปะรดแถวคู่ ระยะระหว่างต้น 30 ซม. ระหว่างแถว 30 ซม. ได้สับปะรดแปลงละ 60 ต้น

2. สุ่มเก็บตัวอย่าง (ตัด) ปลายยอดต้นสับปะรดจากแปลงย่อยครั้งละ 3 ยอด เริ่มจากก่อนให้สาร ให้สารครั้งแรกและครั้งถัดไปทุกๆ 3-4 วัน จนกระทั่งเจริญเป็นช่อดอกและผลอ่อนเป็นระยะเวลาประมาณ 60 วัน หลังการให้สารชักนำดอก

3. ทุกครั้งที่เก็บตัวอย่างจะลอกใบออกออกจนเหลือส่วนปลายยอดสุด วัดขนาดและบันทึกภาพ นำไปแช่น้ำยารักษาสภาพเซลล์สูตร FAA ที่มีเอทิลแอลกอฮอล์ 50% และดูดอากาศออกจากเซลล์ด้วยเครื่องสูบสุญญากาศ (vacuum pump)

4. ดำเนินตามขั้นตอนการทำสไลด์ถาวร โดยนำไปต้มในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 4% อุณหภูมิ 80ºC เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง (ภูวดล, 2528) ดึงน้ำออกจากเซลล์ด้วย TBA (tertiary butyl alcohol) และฝังใน paraplast นำไปตัดแบบต่อเนื่อง (serial section) ด้วยเครื่อง rotary microtome ความหนา 8-10 ไมครอน ย้อมสี safranin-fastgreen

5. ศึกษาการเจริญของปลายยอด ช่อดอก ส่วนประกอบของดอกจนเจริญเป็นผลอ่อน ในระดับเนื้อเยื่อจากสไลด์ถาวรที่ตัดได้ทุกชิ้นตัวอย่าง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยใช้ดอกย่อยชั้นที่ 1 เป็นตัวแทน บันทึกการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา และกายวิภาควิทยาเปรียบเทียบระหว่างชนิดของสารเคมีชักนำการออกดอก จำนวนครั้งที่ให้สาร ระยะเวลาในการเจริญ ทำการบันทึกภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์ วัดขนาดด้วย Ocular micrometer ชิ้นส่วนที่มีขนาดใหญ่วัดด้วยเวอร์เนียร์ (vernier calipers)

6. นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองด้วยวิธีการของ Duncan's New Multiple Range Test

ผลการศึกษาและวิจารณ์

1. การเจริญของปลายยอดและช่อดอก

ภายหลังให้สารชักนำดอก 3 วัน ปลายยอดมีความยาวเพิ่มขึ้นกลุ่มที่ให้สาร ethephon มีความยาวปลายยอดสูงกว่าทุกกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ความยาวเฉลี่ย 1.8 มม. (Table 1) การให้สาร ethephon 2 ครั้ง มีผลให้ปลายยอดและการเจริญของช่อดอกยืดตัวเร็วและเห็นความแตกต่างกว่ากลุ่มอื่นตั้งแต่วันที่ 11 เป็นต้นไป ถ้าเปรียบเทียบในกลุ่มสารชนิดเดียวกัน พบว่ากลุ่มให้สาร ethephon มีความแตกต่างของความยาวปลายยอดและช่อดอกตั้งแต่ 3 วันหลังให้สารครั้งแรก ส่วนกลุ่มให้สาร NAA และสาร CaC_2 มีความแตกต่างหลังให้สารครั้งแรก 7 วันและ 11 วัน ตามลำดับ (Table 1) ส่วนการเปลี่ยนแปลงทางกายวิภาค พบว่าก่อนให้สารชักนำดอกปลายยอดถูกห่อหุ้มด้วยใบอ่อนหลายชั้น (Figure 1, A) เนื้อเยื่อเจริญส่วนปลาย (apical meristem) ประกอบด้วยชั้นเปลือก (tunica) 2 ชั้น และคอร์ปัส (corpus) 4-5 ชั้น (Figure 1, B, C) หลังให้สาร 3 วัน กลุ่มที่ให้สาร

Table 1. Length (mm.) of shoot tips and inflorescences after chemical application.

Treatments		Number of days after application of chemical						c.v. (%)
		0*	3*	7*	11*	14*	18*	
CaC_2	1 time	0.2 Aa	0.7 Aa	1.1 Aa	2.2 Ba	3.3 Ca	5.3 Da	30.24
(1 g/plant)	2 times	0.2 Aa	0.8 Aa	1.1 Aa	2.2 Ba	3.3 Ca	4.3 Da	25.83
Ethephon	1 time	0.2 Aa	1.8 Bb	3.5 Cb	5.8 Db	8.0 Eb	9.7 Fb	8.71
(100 mg/l + urea 1.5%)	2 times	0.2 Aa	1.8 Bb	3.5 Cb	7.0 Dc	9.7 Ec	13.3 Fc	21.55
NAA	1 time	0.2 Aa	0.7 Aa	1.3 Ba	2.5 Ba	3.3 Ca	5.0 Da	32.96
(0.5 mg/plant)	2 times	0.2 Aa	0.9 Aa	1.4 Ba	2.7 Ca	3.5 Da	5.5 Ea	14.25
c.v. (%)		50	14.29	16.78	13.56	7.18	22.40	

*** Means within the same row followed by different uppercase letters are significantly different by DMRT at 5% level.**
Means within the same column followed by different lowercase letters are significantly different by DMRT at 5% level.

ethephon ปลายยอดโค้งนูน มีการสร้างปุ่มกำเนิดใบประดับ (bract primordia) คู่ที่ 1 บริเวณไหล่ทั้งสองข้าง (Figure 1, D) ส่วนกลุ่มที่ให้สาร NAA และสาร CaC_2 การเปลี่ยนแปลงยังไม่ชัดเจน (Figure 1, E, F) ใกล้เคียงกับที่ Bartholomew (1977), Wee และ Rao (1979) รายงานไว้ หลังให้สาร ethephon 7 วัน มีการสร้างปุ่มกำเนิดใบประดับคู่ที่ 2 และบริเวณซอกใบประดับคู่แรกเริ่มสร้างปุ่มกำเนิดดอกแรก (floral primordia) (Figure 1, G) ขณะที่กลุ่มให้สาร NAA และสาร CaC_2 เริ่มสร้างปุ่มกำเนิดใบประดับคู่แรก (Figure 1, H, I) และสร้างปุ่มกำเนิดดอกแรก ใช้เวลาเฉลี่ย 7.6-7.7 วัน และ 9.2-9.6 วัน ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 2) การให้สาร ethephon 1-2 ครั้ง สามารถกระตุ้นให้ปลายยอดเจริญเป็นช่อดอกที่ประกอบด้วยใบประดับและตาดอกย่อย 4-5 ชั้น ภายในเวลา 11 วัน และ 6-7 ชั้น ในเวลา 14 วัน ซึ่งเร็วกว่าการให้สารอื่น เนื่องจากใบของสับปะรดสามารถดูดซึมสาร ethephon เข้าสู่เนื้อเยื่อใบได้รวดเร็ว จึงมีโอกาสแทรกซึมเข้าไปสู่เนื้อเยื่อปลายยอดได้เร็วและสามารถกระตุ้นตาดอกให้เจริญเร็วกว่าการให้สาร CaC_2 ที่อยู่ในรูปของผงต้องละลายน้ำ และค่อยๆ ปลดปล่อยแก๊สอะเซทธีลีน (Turnbull และคณะ, 1993. อ้างโดย จินดารัฐ, 2541) เช่นเดียวกับการใช้ NAA ในรูปของยาเม็ดต้องละลายน้ำ จึงจะมีผลต่อการชักนำดอก

2. การเจริญของดอก

ต้นสับปะรดที่ได้รับสาร ethephon 1-2 ครั้ง เริ่มสร้างโครงสร้างดอกแรก (F_1) เป็นส่วนของกลีบเลี้ยง (sepal) หลังให้สาร 9.2-9.7 วัน และเจริญจนมีส่วนของกลีบเลี้ยง กลีบดอกครบสมบูรณ์ประมาณวันที่ 14 ขณะที่กลุ่มให้สาร NAA 1-2 ครั้ง เริ่มเจริญเป็นโครงสร้างของดอกแรกประมาณวันที่ 14.2-14.4 ส่วนการให้สาร CaC_2 1-2 ครั้ง เริ่มประมาณวันที่ 15.7-16.2 ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 2) ต่อมาปุ่มกำเนิดเกสรเพศผู้ (stamen primordia) เจริญเป็นส่วนของก้านชูอับเรณู (filament) และอับเรณู (anther) หลังให้สาร ethephon 18 วัน ดอกย่อยดอกแรกของกลุ่มให้สาร ethephon 1-2 ครั้ง สร้างส่วนประกอบของดอกครบทั้งกลีบเลี้ยง กลีบดอก เกสรเพศผู้และเกสรเพศเมีย หลังให้สาร 21 วัน (Figure 2, A) แต่การสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้หรือละอองเรณู (pollen grain) และเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียหรือเซลล์ไข่ยังไม่สมบูรณ์ กลุ่มให้สาร NAA และสาร CaC_2 มีการเจริญเป็นส่วนประกอบของดอกช้ากว่าประมาณ 6-8 วัน (Figure 2, B, C) จะเห็นว่าช่วงอายุ 21-25 วัน หลังให้สารครั้งแรก เป็นช่วงที่มีการแบ่งเซลล์ (cell division) และการเปลี่ยนสภาพเซลล์ (cell differentiation) ค่อนข้างมาก หลังจากนี้กลุ่มเซลล์จะขยายขนาดและเริ่มเจริญส่วนของเซลล์สืบพันธุ์ต่อไป ประมาณ 28-32 วัน

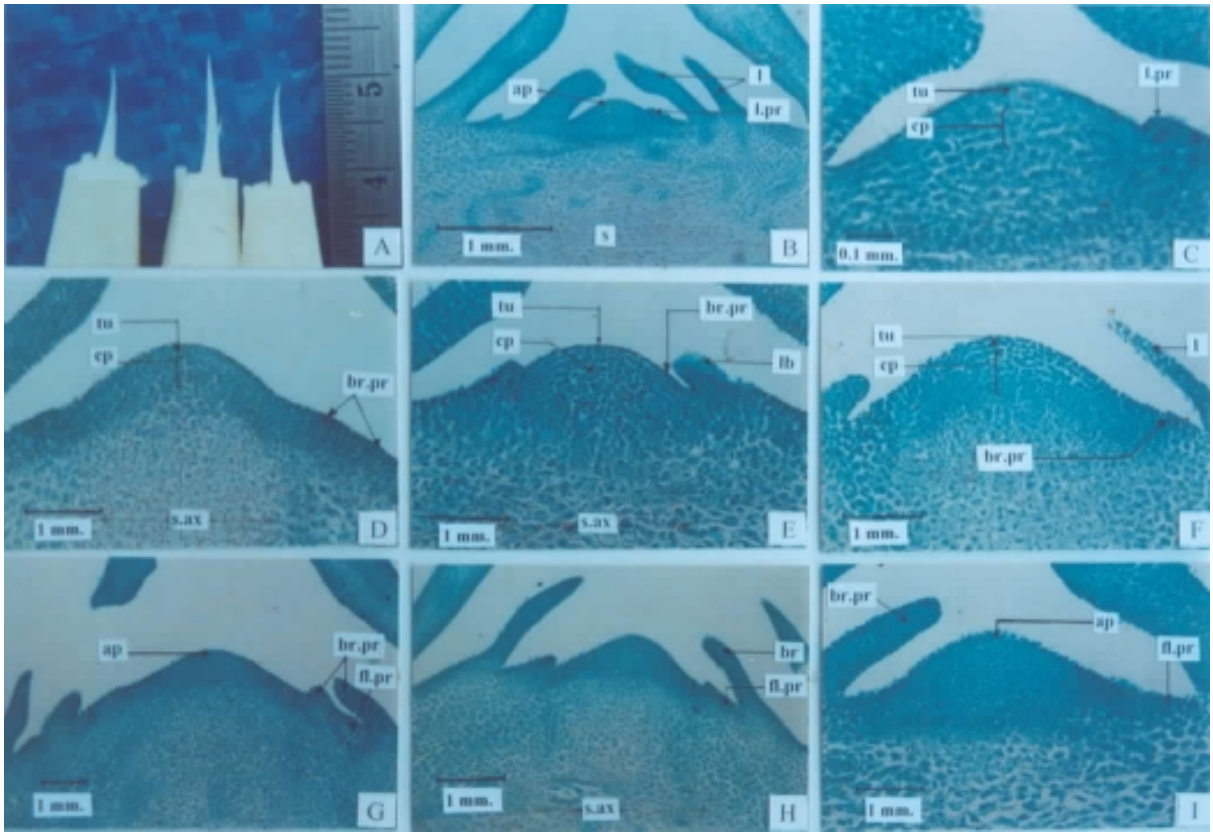

Figure 1. Developmental of shoot tips of the c.v. Phuket Pineapple.
A: Shoots before application of chemical
B, C: Shoot tips (l-s) before application of chemical (B. x100, C. x200)
D: 3 days after 1 application of ethephon (x200)
E: 3 days after 1 application of NAA (x200)
F: 3 days after 1 application of CaC_2 (x200)
G: 7 days after 1 application of ethephon (x100)
H: 7 days after 1 application of NAA (x100)
I: 7 days after 1 application of CaC_2 (x100)
(ap = apical meristem br.p = bract primordia cp = corpus fl.pr = floral primordia l = leaf lb = leaf buttess l.pr = leaf primordia l-s = long section s = stem s.ax = stem axis tu = tunica)

หลังให้สาร ethephon ช่อดอกจะเจริญโผล่ขึ้นมากลางต้นเห็นใบประดับสีแดง (Figure 2, D-F) ขณะที่ดอกย่อยยังไม่บาน ทุกส่วนของดอกถูกห่อหุ้มด้วยกลีบเลี้ยง ก้านช่อดอกมีการยืดตัวมากและรวดเร็ว ถ้าได้รับน้ำมากในระยะนี้จะทำให้ก้านช่อดอกแตก (Figure 2, G)

3. การเจริญของเกสรเพศผู้และเกสรเพศเมีย

การเจริญของเกสรเพศผู้ของดอกย่อยชั้นที่ 1 ในกลุ่มที่ให้สาร ethephon 1-2 ครั้ง ให้ผลไม่แตกต่างกัน พบว่าหลังให้สาร 28 วัน ภายในอับเรณูมีเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์ (microspore mother cell) (Figure 3, A)

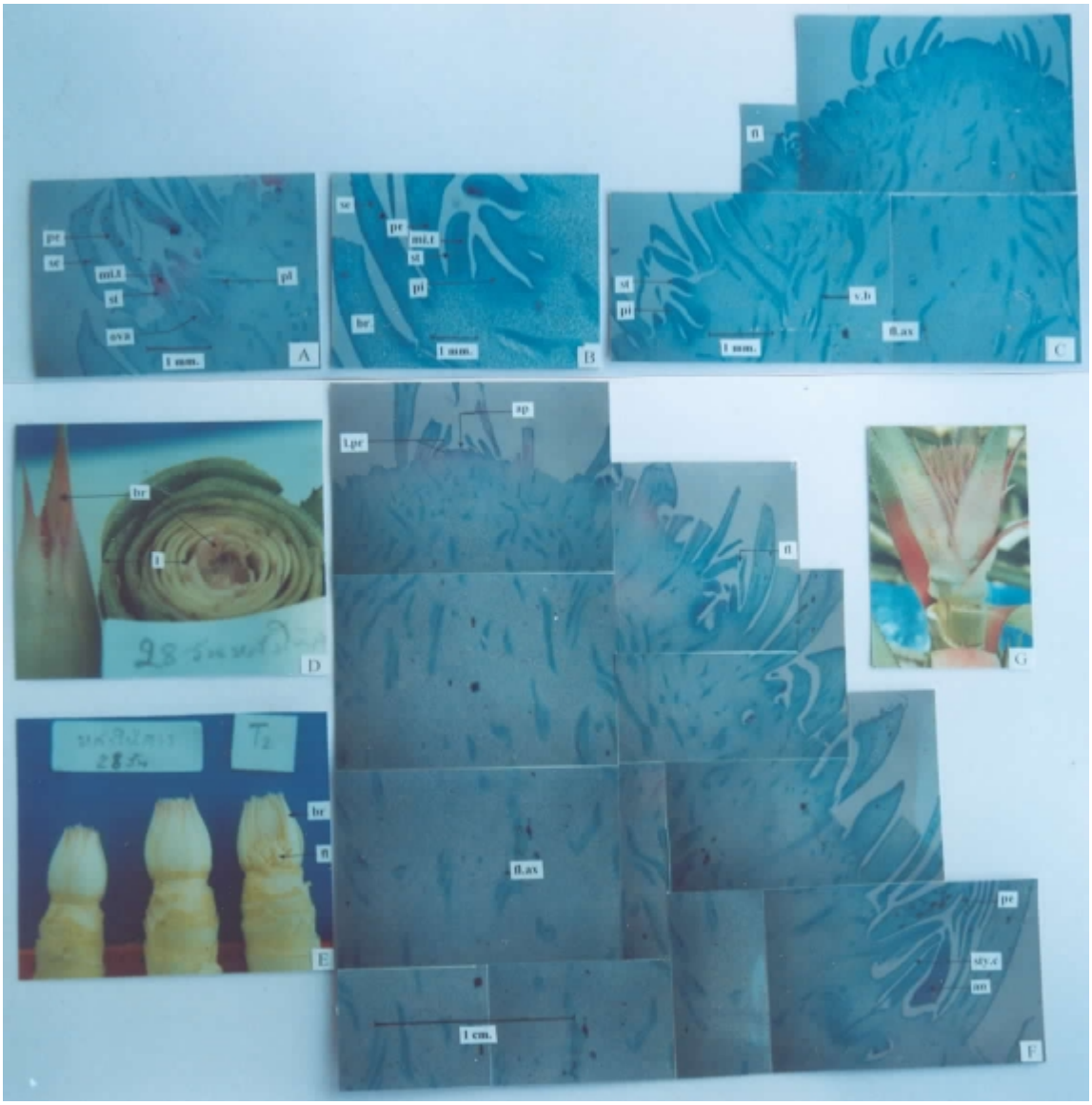

Figure 2. Developmental of the floret and inflorescences at 21 days (A-C), 28 days (D-F) and 32 days (G) after chemical application.
A: 21 days after 1 application of ethephon (x40)
B: 21 days after 1 application of NAA (x100)
C: 21 days after 2nd application of CaC_2 (x40)
D, E: The inflorescences 28 days after 1 application of ethephon
F: The inflorescences (l-s) 28 days after 1 application of ethephon (x40)
G: The incidence of broken peduncle, 32 days after 1 application of ethephon
(an = anther ap = apical meristem br = bract fi = filament fl = floret fl.ax = floral axis l = leaf l.pr = leaf primordia l-s = long section mi.t = microsporogenous tissue ova = ovary pe = petal pi = pistil pl = placenta se = sepal st = stamen sty = style sty.c = stylar canal v.b = vascular bundle)

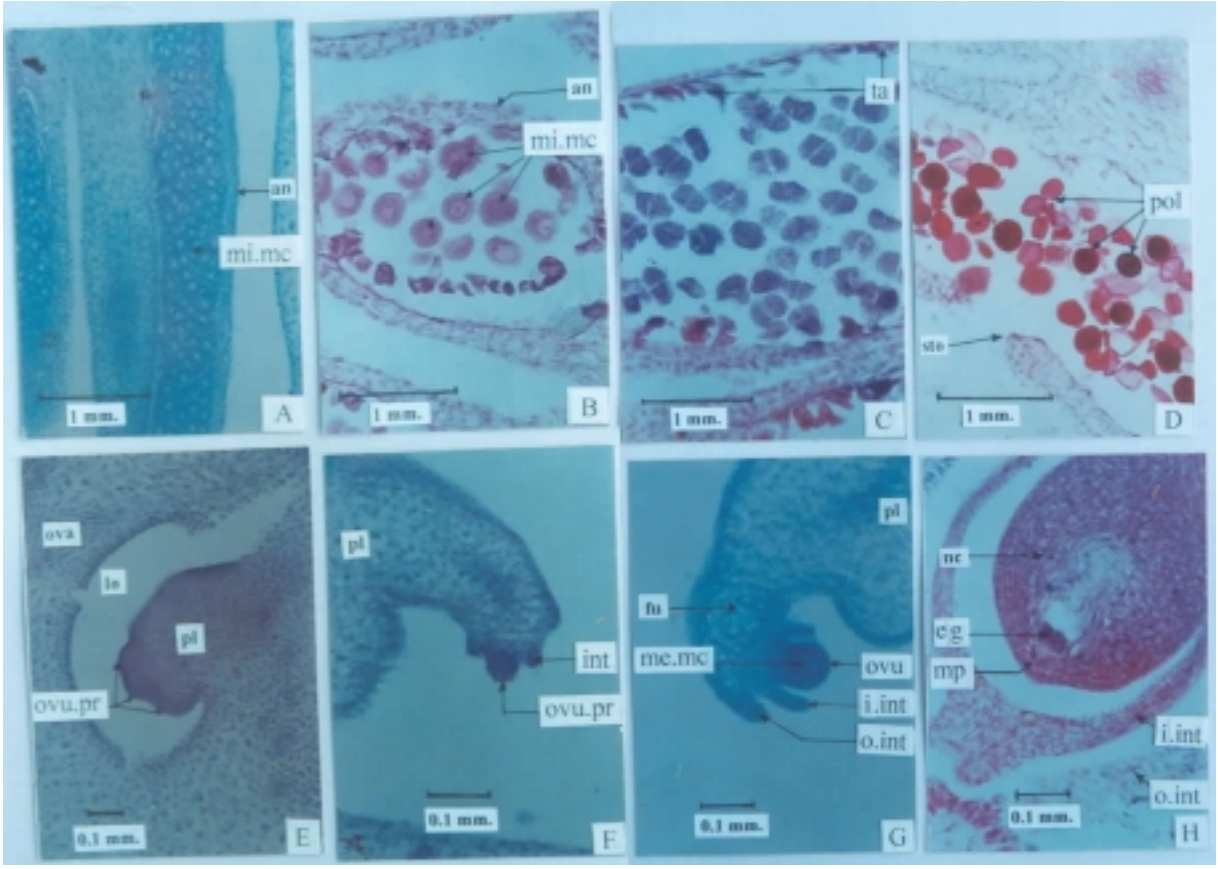

Figure 3. Developmental anatomy of stamen (A-D),and pistil (E-H) of the c.v. Phuket Pineapple, after 1 application of ethephon.
A: anther (l-s), 28 days after application (x400)
B: single cell of microspore mother cell, 32 days after application (x400)
C: diad and tetrad stage, 35 days after application (x400)
D: anthesis, 46 days after application (x200)
E: ovary (l-s), 28 days after application (x200)
F: ovule (l-s), 32 days after application (x400)
G: ovule (l-s), 35 days after application, showing megaspore mother cell (x400)
H: ovule (l-s), 49 days after application, showing megaspore (x400)
(an = anther eg = egg cell fu = funiculus int = integument i.int = inner integument lo = locule l-s = long section me = megaspore me.mc = megaspore mother cell mi = microspore mi.mc = microspore mother cell mp = micropyle nc = nucellus o.int = outer integument ova = ovary ovu = ovule ovu.pr = ovule primordia pl = placenta pol = pollen grain sto = stomium ta = tapetum)

จากนั้นประมาณ 4-6 วัน เริ่มแบ่งตัวแบบไมโอซิส (meiosis) ได้ไมโครสปอร์ (microspore) และเจริญเป็นละอองเรณู การเจริญของเกสรเพศผู้เสร็จสมบูรณ์ (S_1) ช่วงอายุประมาณ 42.3-43.0 วัน (Figure 3, B-D) ต่อมาอับเรณูแตก ซึ่งถือว่าเป็นระยะดอกบาน (anthesis, A_1) ประมาณ 45.7-46.6 วัน หลังให้สาร ซึ่งเร็วกว่ากลุ่มที่ให้สารอื่นอย่าง

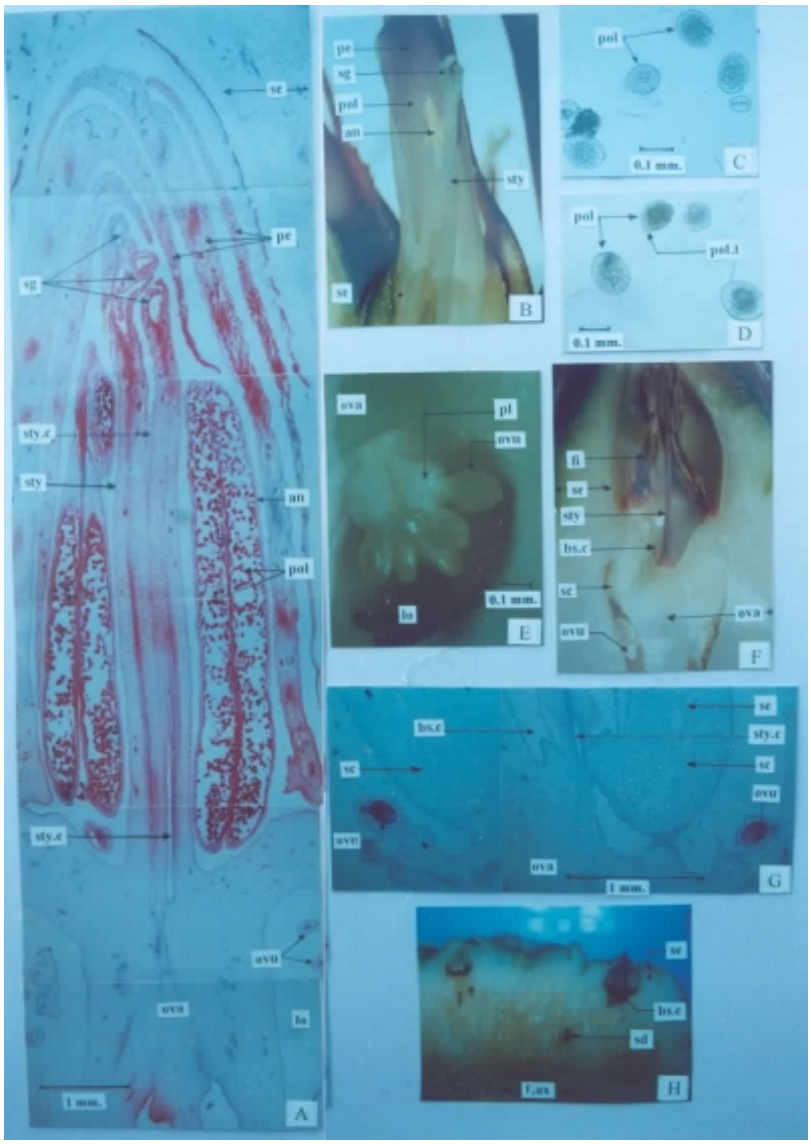

Figure 4. Final stages of maturing of ethephon applied flower.
A: mature floret (l-s), 45 days after application (x40)
B: mature floret and anthesis, 46 days after application
C: pollen grains after pollination, 46 days after application
D: pollen grains showing pollen tube (x200)
E: mature ovule inside withered floret, 49 days after application
F: withered floret (l-s), 49 days after application
G: floret (l-s) 2-3 days after withering (x200)
H: young fruit showing seed
(an = anther br = bract bs.c = blossom cup f.ax = fruit axis fi = filament lo = locule l-s = long section ova = ovary ovu = ovule pe = petal pl = placenta pol = pollen grain pol.t = pollen tube sc = sac se = sepal sd = seed sg = stigma sty = style sty.c = stylar canal)

Table 2. Time (days) after chemical application leading to the different stages of development. First bract initiation (F_0), first floret's structural forming (F_1), first completed stamen (S_1), first completed pistil (P_1) and first floret's anthesis (A_1).

Treatments		F_0*	F_1*	S_1*	P_1*	A_1*
CaC_2	1 time	9.67 c	16.22 c	52.22 d	61.78 c	56.55 d
(1 g/plant)	2 times	9.22 c	15.78 c	50.33 c	59.89 bc	54.44 c
Ethephon	1 time	3.00 a	9.67 a	43.00 a	49.33 a	46.67 a
(100 mg/l + urea 1.5%)	2 times	3.00 a	9.22 a	42.33 a	48.11 a	45.78 a
NAA	1 time	7.78 b	14.44 b	48.11 b	58.67 b	52.67 b
(0.5 mg/plant)	2 times	7.67 b	14.22 b	47.67 b	58.22 b	52.22 b
c.v. (%)		22.52	10.87	3.77	3.09	2.59

*** Means within the same column followed by different lowercase letters are significantly different by DMRT at 5% level.**

มีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 2) ส่วนกลุ่มที่ให้สาร NAA และสาร CaC_2 มีรูปแบบการเจริญเหมือนกับการให้สาร ethephon แต่ระยะเวลาในการเจริญช้ากว่า โดยเฉพาะการให้สาร CaC_2 1 ครั้ง ใช้เวลาประมาณ 52.2 วัน และดอกแรกบานเมื่ออายุประมาณ 56.5 วัน หลังให้สาร ซึ่งช้ากว่าทุกกลุ่ม (Table 2)

การเจริญของเกสรเพศเมีย พบว่าประมาณ 28 วัน หลังให้สาร ethephon ภายในรังไข่มีส่วนของพลาเซนตา (placenta) เจริญขยายขนาดใหญ่ขึ้น มีปุ่มกำเนิดออวุล (ovule primordia) เกิดขึ้นตามขอบของพลาเซนตาเจริญยื่นเข้าไปในช่องของรังไข่ ก่อตัวเป็นออวุล (Figure 3, E) มีการสร้างผนังออวุล (integument) 2 ชั้น จนออวุลมีส่วนประกอบครบเมื่ออายุประมาณ 35 วัน ลักษณะออวุลเป็นแบบออวุลคว่ำ (anatropous) (Figure 3, F, G) การติดของออวุลกับผนังรังไข่เป็นแบบพลาเซนตารอบแกนร่วม (axile placentation) (เทียมใจ, 2542) ออวุลเรียงเป็นสองแถวๆ ละ 6-8 ออวุล ภายในมีเซลล์กำเนิดเมกะสปอร์ (megaspore mother cell) ต่อมาแบ่งไมโอซิส เจริญเป็นเมกะสปอร์ (megaspore) และเจริญต่อไปเป็นเซลล์ไข่ (egg cell) (Figure 3, H) การเจริญของเกสรเพศเมียเสร็จสมบูรณ์ (P_1) พร้อมที่จะเกิดปฏิสนธิกับเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ใช้เวลาประมาณ 48.1-49.3 วัน หลังให้สาร ขณะที่กลุ่มให้สาร NAA 1-2 ครั้ง เซลล์ไข่จะเจริญเสร็จสมบูรณ์ใช้เวลา 58.2-58.6 วัน เร็วกว่าการให้สาร CaC_2 2 ครั้ง ใช้เวลาประมาณ 59.8 วัน ส่วนกลุ่มที่ให้สาร CaC_2 1 ครั้ง ใช้เวลานานที่สุดประมาณ 61.7 วัน หลังให้สารครั้งแรก ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 2)

จะเห็นว่าระยะเวลาในการเจริญของเกสรเพศผู้และเกสรเพศเมียหลังให้สารเคมีชักนำดอกทั้ง 3 ชนิด มีความแตกต่างกัน เช่น ระยะเวลาการเจริญของเกสรเพศผู้ตั้งแต่เริ่มสร้างโครงสร้างดอกแรก จนเจริญเป็นละอองเรณู (Table 3, S_1 - F_1) ของกลุ่มให้สาร ethephon และสาร NAA ใช้เวลาใกล้เคียงกันประมาณ 33.1-33.6 วัน ขณะที่การให้สาร CaC_2 ใช้เวลา 34.5-36.0 วัน และระยะเวลาในการเจริญของเกสรเพศเมียตั้งแต่เริ่มโครงสร้างดอกแรกจนเป็นเซลล์ไข่ที่สมบูรณ์ กลุ่มให้สาร ethephon ใช้เวลาน้อยที่สุดประมาณ 38.8-39.6 วัน ขณะที่กลุ่มอื่นใช้เวลาประมาณ 44.0-45.5 วัน (Table 3, P_1 - F_1) เมื่อเปรียบเทียบระยะห่างในการเจริญของละอองเรณูกับเซลล์ไข่ จะเห็นว่าสาร ethephon ช่วยให้การเจริญของเซลล์ไข่เสร็จสมบูรณ์เร็วกว่า โดยมีระยะเวลาห่างกันประมาณ 5.7-6.3 วัน ขณะที่สาร NAA มีผลให้การเจริญของเกสรเพศเมียสมบูรณ์ช้าลงและใกล้เคียงกับกลุ่มที่ให้สาร CaC_2 คือประมาณ 9.5-10.5 วัน (Table 3, P_1 - S_1) ส่วนการเจริญของละอองเรณูเสร็จสมบูรณ์ก่อนดอกบานใช้เวลาใกล้เคียงกันประมาณ 3.4-4.5 วัน (Table 3, A_1-S_1) เซลล์ไข่เจริญสมบูรณ์หลังดอกบานประมาณ 2.3-2.6 วัน หลังให้สาร ethephon ซึ่งเป็นช่วงที่กลีบดอกเริ่มเหี่ยว ส่วนสารอื่นใช้เวลา 5.2-6.0 วัน

Table 3. Period (days) of each developmental stages after application of chemical. F_1 - F_0 = time from first bract initiation to floret's structural forming, S_1 - F_1 = time of stamen development, P_1 - F_1 = time of pistil development, A_1 - F_1 = time from first floret's structural forming to floret's anthesis, P_1 - S_1 = time taken between development of stamen and development of pisitl A_1 - S_1 = time of stamen development before floret's anthesis, P_1 - A_1 = time of pistil development after floret's anthesis

Treatments		Period (days)						
		F_1 - F_0	S_1 - F_1	P_1 - F_1	A_1 - F_1	P_1 - S_1	A_1 - S_1	P_1 - A_1
CaC_2	1 time	6.55	36.00	45.56	40.33	9.56	4.33	5.23
(1 g/plant)	2 times	6.56	34.55	44.11	38.66	9.56	4.11	5.43
Ethephon	1 time	6.67	33.33	39.66	37.00	6.33	3.67	2.66
(100 mg/l + urea 1.5%)	2 times	6.22	33.11	38.89	36.56	5.78	3.45	2.33
NAA	1 time	6.66	33.67	44.23	38.23	10.56	4.56	6.00
(0.5 mg/plant)	2 times	6.55	33.45	44.00	38.00	10.55	4.55	6.00

(Table 3, P_1 - A_1) เมื่อการเจริญเป็นส่วนประกอบต่างๆ ของดอกครบ (Figure 4, A) ดอกจะบานหลังจากที่ละอองเรณูเจริญสมบูรณ์ อับเรณูแตก แต่กลีบดอกยังคงห่อหุ้มทุกส่วนไว้และเนื่องจากก้านชูอับเรณู (filament) สั้นกว่าก้านเกสรเพศเมีย (style) ทำให้ละอองเรณูหล่นอยู่ตามโคนกลีบดอก (Figure 4, B) โอกาสที่จะเกิดการถ่ายเรณู (pollination) จากดอกอื่นค่อนข้างยากหรือหากเกิดการถ่ายเรณูในดอกเดียวกัน และจากการทดลองเพาะเลี้ยงละอองเรณู พบว่า ละอองเรณูสามารถงอกหลอดเรณู (pollen tube) ได้ (Figure 4, C, D) การปฏิสนธิไม่สามารถเกิดขึ้นได้ เนื่องจากการเจริญของเซลล์ไข่ยังไม่สมบูรณ์ ซึ่งช้ากว่าการเจริญของละอองเรณูประมาณ 6-10 วัน สอดคล้องกับการศึกษาของ Bartholomew (1977) และ Okimoto (1948) ที่ไม่พบการปฏิสนธิในสับปะรด แต่ Okimoto รายงานว่าหลังระยะดอกบานช่องในก้านเกสรเพศเมีย (stylar canal) จะถูกปิดกั้นด้วยเซลล์อิพิเดอร์มีสหรือยางไม้ (gum) ทำให้เกิดการอุดตัน เซลล์สืบพันธุ์เพศผู้จึงไม่สามารถผ่านเข้าไปผสมกับไข่ในออวุลได้ เช่นเดียวกับที่ Bartholomew และ Paull (1986) (อ้างโดย จินดารัฐ, 2541) รายงานว่าการผสมตัวเองของสับปะรดเกิดขึ้นไม่ได้ เนื่องจากหลอดเรณูไม่สามารถงอกผ่านช่องในก้านเกสรเพศเมียไปจนถึงรังไข่ของดอกเดียวกันได้ แต่จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่าช่องในก้านเกสรเพศเมียเป็นท่อเปิดจากปลายยอดเกสรเพศเมีย (stigma) ไปจนถึงรังไข่ (Figure 4, A) ไม่พบสิ่งอุดตันอย่างที่ Okimoto กล่าวไว้ ไม่พบเอ็มบริโอ (embryo) ในออวุล (Figure 4, E, F) และเมื่อไม่เกิดการปฏิสนธิ ออวุลจะฝ่อแห้งไป (Figure 4, G) จากการตรวจหาเมล็ดสับปะรดสุกในการทดลองนี้ส่วนใหญ่ไม่พบเมล็ด มีเพียงบางผลที่พบว่ามี 1-2 เมล็ด (Figure 4, H) และมักเป็นผลย่อยชั้นที่ 2-3 แต่ไม่พบเมล็ดในผลย่อยส่วนปลายผล เมล็ดที่เกิดขึ้นน่าจะเกิดจากละอองเรณูของดอกย่อยช่วงกลางหรือปลายของช่อดอกมีโอกาสผสมกับเซลล์ไข่ของดอกย่อยชั้นล่างที่เจริญสมบูรณ์พร้อมกันพอดี โดยมีแมลงเป็นพาหะถ่ายเรณู (pollinator) เมื่อนำเมล็ดดังกล่าวไปทดลอง เพาะในอาหารวุ้นสูตร MS ที่มีไคนีทิน (kinetin) 1 ppm และ NAA 0.1 ppm พบว่าเมล็ดสามารถงอกได้ตามปกติ จึงเป็นข้อมูลสนับสนุนได้ว่าการปฏิสนธิในสับปะรดพันธุ์ภูเก็ตสามารถเกิดขึ้นได้ แต่มีโอกาสเกิดขึ้นน้อย ต้องช่วยให้เกิดการถ่ายละอองเรณูต่างดอกที่มีเซลล์สืบพันธุ์ของทั้งสองเพศเจริญสมบูรณ์พร้อมกัน จากการสุ่มเก็บตัวอย่างดอกย่อยในการศึกษาครั้งนี้ จึงไม่พบการปฏิสนธิหรือเอ็มบริโอ

4. การเจริญของผลอ่อน

ผลสับปะรดเจริญมาจากดอกย่อยที่เชื่อมกันด้วยเนื้อเยื่อพาเรงคิมาบริเวณส่วนฐานของกลีบเลี้ยงและใบประดับต่อกับผนังรังไข่ โดยเริ่มเจริญจากดอกย่อยส่วนล่างติดตามด้วยดอกย่อยที่อยู่ถัดขึ้นไป ตามลักษณะของช่อดอก

แบบช่อเชิงลดแบบหนาแน่น (dense spike) หลังให้สาร ethephon ครั้งแรกประมาณ 49 วัน มีการขยายตัวของเซลล์และการสะสมอาหารเพื่อเจริญเป็นเนื้อผล ส่วนของใบประดับและกลีบเลี้ยงเชื่อมปิดส่วนของเกสรเพศผู้ และก้านชูเกสรเพศเมีย ซึ่งแห้งติดอยู่กลางแอ่งที่เรียกว่า blossom cup หรือส่วนที่ชาวบ้านเรียกว่า ตาสับปะรด หากส่วนนี้อยู่ลึกต้องเฉือนทิ้งมากขึ้น เป็นอุปสรรคต่อการรับประทาน ใต้ฐานเกสรเพศผู้ด้านในติดกับช่องว่างของรังไข่ มีกลุ่มเซลล์ผนังบางขนาดใหญ่สะสมของเหลวเกิดเป็นถุงน้ำแทรกอยู่เหนือกลุ่มออวุล (Figure 4, F, G) ไม่พบความผิดปกติของเนื้อเยื่อที่เกิดจากการขยายตัวของเซลล์ เพื่อเจริญเป็นเนื้อผล ซึ่งการเจริญเติบโตในช่วงแรกก่อนระยะดอกบาน จะเป็นระยะที่มีการแบ่งเซลล์เป็นส่วนใหญ่ หลังจากดอกบานแล้ว การเจริญเติบโตของผลเกิดจากการขยายตัวของเซลล์ไปจนถึงระยะใกล้สุกแก่ (จินดารัฐ, 2541) สำหรับการเจริญของผลอ่อนในกลุ่มที่ให้สาร NAA และสาร CaC_2 จะสอดคล้องกับระยะการเจริญของช่อดอกซึ่งช้ากว่ากลุ่มที่ให้สาร ethephon ประมาณ 5-7 วัน และ 8-10 วัน ตามลำดับ

สรุป

1. สาร ethephon ทำให้ปลายยอดมีการเปลี่ยนแปลงหลังได้รับสาร 3 วัน การเจริญของช่อดอกและผลอ่อนเกิดขึ้นเร็วกว่าการให้สาร NAA เฉลี่ย 5-7 วัน และเร็วกว่าการให้สาร CaC_2 เฉลี่ย 8-10 วัน ส่วนรูปแบบการเจริญไม่แตกต่างกัน

2. หลังให้สาร ethephon 1-2 ครั้ง จะใช้เวลา 42-43 วัน ในการเจริญเป็นส่วนประกอบของดอกและเกสรเพศผู้หรือละอองเรณู ดอกแรกบานหลังให้สาร 45-46 วัน และเซลล์ไข่เจริญสมบูรณ์ภายหลังดอกบานเฉลี่ย 2.3-2.6 วัน ซึ่งช้ากว่าการเจริญของละอองเรณู 5.7-6.3 วัน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คุณสุริยา แซ่ตัน ตำบลศรีสุนทร อำเภอถลาง จังหวัดภูเก็ต ที่ให้ความเอื้อเฟื้อแปลงสับปะรด และคำแนะนำต่างๆ ขอบคุณวิทยาลัยชุมชนภูเก็ต ที่สนับสนุนและอำนวยความสะดวกห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ให้ทำการวิจัย ขอบคุณมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่สนับสนุนทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2544 สำหรับโครงการวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

จารุพันธ์ ทองแถม. 2526. สับปะรดและอุตสาหกรรมสับปะรดในประเทศไทย. คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

จินดารัฐ วีระวุฒิ. 2541. สับปะรดและสรีรวิทยาการเจริญเติบโตของสับปะรด. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

ชาลี สิตบุศย์. 2544. การผลิตและการตลาดสับปะรดของเกษตรกรในจังหวัดภูเก็ต. รายงานการศึกษา. สำนักงานเกษตรจังหวัดภูเก็ต. กรมส่งเสริมการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

เทียมใจ คมกฤส. 2542. กายวิภาคของพฤกษ์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

ภูวดล บุตรรัตน์. 2528. เทคนิคทางพฤกษศาสตร์. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ปัตตานี.

Bartholomew, D.P. 1977. Inflorescence development of pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.) induced to flower with ethephon. Bot. Gaz. 138: 312-320.

Okimoto, M.C. 1948. Anatomy and histology of the pineapple inflorescence and fruit. Bot. Gaz. 110: 217-231.

Wee, Y.C. and Rao, A.N. 1979. Development of the inflorescence and crown of *Ananas comosus* after treatment with acetylene, NAA and ethephon. Am. J. Bot. 66: 351-360.