รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การชักนำการออกดอกของลองกองเพื่อการผลิตนอกฤดู
Flower induction for producing off-season longkong
(*Aglaia dookkoo* Griff.)

คณะนักวิจัย
ลดาวัลย์ เลิศเลอวงศ์
กรกช นาคคนอง
อดิเรก รักคง
สุภาณี ชนะวีรวรรณ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดิน
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
ประจำปีงบประมาณ 2557 รหัสโครงการ NAT5702265-1

ชื่อโครงการ การชักนำการออกดอกของลองกองเพื่อการผลิตนอกฤดู

Flower induction for producing off-season longkong (*Aglaia dookkoo* Griff.)

ผู้วิจัย	หน่วยงาน
ผศ.ดร. ลดาวัลย์ เลิศเลอวงศ์	ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
อ.ดร. กรกช นาคคนอง	ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
อ.ดร. อดิเรก รักคง	ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
สุภาณี ชนะวีรวรรณ	ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

สนับสนุนโดย งบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2557
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
สัญญาเลขที่ NAT5702265-1

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
Abstract	ค
สารบัญ	ง
รายการภาพประกอบ	จ
บทนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
วิธีการทดลอง	9
ผลการทดลองและวิจารณ์	16
สรุปผลการทดลอง	22
เอกสารอ้างอิง	23
ข้อคิดเห็นและข้อเสนอแนะสำหรับการวิจัยต่อไป	26

รายการภาพประกอบ

		หน้า
ภาพที่ 1	กระบวนการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน	6
ภาพที่ 2	ปริมาณน้ำฝนและความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศของช่วงการชักนำการออกดอกของลองกองด้วยวิธีการรัดลำต้นและราดสารพาโคลบิวทราโซล (สิงหาคม – ตุลาคม 2557)	19
ภาพที่ 3	จำนวนตาดอกของต้นลองกองที่ได้รับการชักนำให้ออกดอกด้วยวิธีรัดลำต้นและราดสารพาโคลบิวทราโซล	20
ภาพที่ 4	ความยาวตาดอกของต้นลองกองที่ได้รับการชักนำให้ออกดอกด้วยวิธีรัดลำต้นและราดสารพาโคลบิวทราโซล	21
ภาพที่ 5	การแสดงออกของยีน GA_{20}-oxidase ในเปลือกของต้นลองกองที่ได้รับการชักนำให้ออกดอกด้วยวิธีรัดลำต้นและราดสารพาโคลบิวทราโซล	22
ภาพที่ 6	การแสดงออกของยีน GA_{20}-oxidase ในเปลือกของต้นลองกองที่ได้รับการชักนำให้ออกดอกด้วยวิธีรัดลำต้นและราดสารพาโคลบิวทราโซล	23

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยในโครงการ การชักนำการออกดอกของลองกองเพื่อการผลิตนอกฤดู ได้ดำเนินการเป็นระยะเวลา 1 ปีงบประมาณ และสำเร็จตามวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้ระดับหนึ่ง งานวิจัยในครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2557 มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สัญญาเลขที่ NAT5702265-1

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ศ.ดร. สมปอง เตชะโต ผู้อำนวยการสถานวิจัยความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ และนักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษาของห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้ห้องปฏิบัติการและอุปกรณ์เครื่องมือต่างๆ เป็นอย่างดี

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้การสนับสนุนตลอดจนอำนวยความสะดวกในการใช้พื้นที่แปลงทดลอง

บทคัดย่อ

ศึกษาผลของการรัดลำต้นและการใช้สารพาโคลบิวทราโซลต่อการชักนำการออกดอกนอกฤดูและการแสดงออกของยีนในวิถีการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน ดำเนินการรัดลำต้นและราดสารพาโคลบิวทราโซลกับต้นลองกองในระยะใบเพสลาดของใบอ่อนชุดที่ 2 ผลการศึกษาพบว่า ต้นลองกองที่รัดลำต้นและได้รับสารพาโคล-บิวทราโซลมีจำนวนดอกและความยาวดอกมากกว่าต้นลองกองชุดควบคุม การออกดอกเกิดขึ้นภายหลังการให้ทรีทเมนต์ 37 วัน ปริมาณน้ำฝน จำนวนวันฝนตก และการกระจายตัวของวันฝนตกในช่วงชักนำการออกดอกมีผลทำให้ลองกองใช้เวลาในการออกดอกภายหลังได้รับทรีทเมนต์ยาวนานขึ้น การแสดงออกของยีน GA_{20}-oxidase มีความสัมพันธ์กับการออกดอก โดยพบว่า การแสดงออกของยีน GA_{20}-oxidase ก่อนออกดอกของทุกทรีทเมนต์มีแนวโน้มลดลง โดยในเปลือกและใบของต้นลองกองที่รัดลำต้นและได้รับสารพาโคลบิวทราโซลมีการแสดงออกของยีน GA_{20}-oxidase ต่ำกว่าต้นลองกองในชุดควบคุม

Abstract

Effects of trunk strangulation and paclobutrazol application on inducing off-season flowering and expression of gibberellin biosynthetic gene in longkong trees were investigated. Longkong trees were strangulated and drenched with paclobutrazol at young fully expanded leaf of 2^{nd} flushing. Compared with the control, trunk strangulated trees and paclobutrazol treated trees had more number of flowers and length of flower buds. Flower buds are appeared on 37 days after all treatments. Rainfall, number of rainy days and distribution of rainy days during induction period affected on longkong trees required longer time for flowering after treatment. Expression of GA_{20}-oxidase is associated with flowering. The results showed a trend of decreasing expression in all treatments. Transcription levels in bark and leaves of trunk strangulation treatment and paclobutrazol application were lower than control.

บทนำ

ลองกองเป็นไม้ผลเศรษฐกิจที่มีความสำคัญของภาคใต้ แต่ปัญหาในการผลิตลองกองในฤดูกาลคือในปีที่มีสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสม ส่งผลให้ลองกองออกดอกติดผลดีและมีปริมาณผลผลิตสูงแต่มีคุณภาพต่ำ ทำให้กระทบอย่างมากต่อราคาผลผลิตที่ตกต่ำ ตลอดเวลาที่ผ่านมาได้มีการนำเอาวิธีการต่างๆ มาใช้เพื่อชักนำการออกดอกของลองกอง แต่ยังคงไม่มีวิธีการใดที่สามารถชักนำให้ลองกองออกดอกตามที่ต้องการ แนวทางในการแก้ปัญหาการบังคับออกดอกของลองกองอาจแบ่งออกได้เป็น 2 แนวทาง คือ การผลิตลองกองในฤดูกาลปกติให้ได้อย่างสม่ำเสมอทุกปี และการผลิตลองกองนอกฤดู ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีความเข้าใจถึงวิธีการที่ใช้ชักนำเพื่อบังคับให้ลองกองออกดอก เพื่อเป็นประโยชน์ต่อการผลิตลองกองต่อไปในอนาคต วิธีการทางกายภาพต่างๆ เช่น การงดน้ำ การควั่นและรัดกิ่ง การตัดราก และการให้สารเคมีชะลอการเจริญเติบโตพืช ซึ่งได้แก่ พาโคลบิวทราโซล เป็นวิธีการที่มีการศึกษาเพื่อใช้บังคับการออกดอกของไม้ผลยืนต้นหลายชนิด ในกรณีของลองกอง วิธีการดังกล่าวมีผลทำให้ลองกองมีระดับการใช้น้ำภายในต้นลดลง การสะสมอาหารในรูปของคาร์โบไฮเดรทที่ไม่อยู่ในรูปโครงสร้างเพิ่มขึ้น และชักนำให้ลองกองมีการแตกตาดอกเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามวิธีการปฏิบัติยังให้ผลที่ไม่แน่นอน นอกจากนี้วิธีการเหล่านี้เกี่ยวข้องกับการลดบทบาทของจิบเบอเรลลินซึ่งเป็นฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตทางด้านกิ่งใบของพืช ส่งผลทำให้ไม้ผลบางชนิดสามารถออกดอกได้ อย่างไรก็ตามจากการศึกษาเบื้องต้นในการใช้วิธีทางกายภาพ (การรัดกิ่ง) และสารเคมีควบคุมการเจริญเติบโตพืช (พาโคลบิวทราโซล) เพื่อชักนำการออกดอกของลองกองพบว่าประสบผลสำเร็จในระดับหนึ่ง แต่ยังเป็นเพียงแนวทางที่ได้จากการวิเคราะห์และสรุปผลจากการทดลองเบื้องต้นเท่านั้น ดังนั้น จึงควรมีการศึกษาต่อยอดจากงานวิจัยเดิมและให้ได้วิธีการปฏิบัติที่ชัดเจนเพื่อนำไปใช้ในการผลิตลองกองนอกฤดู ซึ่งสามารถช่วยแก้ปัญหาราคาผลผลิตในฤดูกาลตกต่ำต่อไป และนอกเหนือจากการประยุกต์ใช้วิธีการดังกล่าวแล้วควรมีการศึกษาในระดับชีวโมเลกุลควบคู่ไปด้วย เพื่อให้ทราบถึงการตอบสนองของลองกองต่อวิธีการที่ใช้ในการบังคับให้ออกดอกเพื่อเป็นฐานข้อมูลความรู้ในเชิงลึกของลองกองซึ่งเป็นการศึกษาเพื่อให้เข้าใจปัจจัยภายในของต้นลองกองที่มีผลต่อการจำกัดการเจริญเติบโตทางด้านกิ่งใบและกระตุ้นการออกดอก เพื่อควบคุมการออกดอกของลองกองให้ได้ตามความต้องการอย่างเหมาะสมต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาวิธีการชักนำการออกดอกของลองกองเพื่อผลิตนอกฤดู
2. เพื่อศึกษาการตอบสนองของต้นลองกองที่ถูกชักนำให้ออกดอกในระดับชีวโมเลกุล

การตรวจเอกสาร

ลองกอง (*Aglaia dookkoo* Griff.) เป็นไม้ผลเศรษฐกิจสำคัญของภาคใต้ แต่ปัจจุบันผลผลิตลองกองยังคงไม่เพียงพอกับความต้องการของผู้บริโภคภายในประเทศและต่างประเทศ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2554) อีกทั้งปัญหาผลผลิตในฤดูกาลที่มากเกินไปซึ่งเกิดขึ้นเนื่องจากมีปัจจัยทางภูมิอากาศที่เหมาะสมต่อการออกดอกในฤดูกาลนั้นๆ และยังส่งผลทำให้ฤดูกาลต่อมาลองกองให้ผลผลิตน้อยหรือไม่สามารถออกดอกนอกฤดูได้

โดยทั่วไปการออกดอกของลองกองในภาคใต้จะเริ่มประมาณเดือนมีนาคมถึงเมษายน (เปรมปรี, 2541) ลองกองเป็นไม้ผลเมืองร้อนที่ปลูกได้ดีในสภาพร้อนชื้น ความชื้นสูง ฝนตกชุก ปริมาณน้ำฝนสม่ำเสมอ จึงสามารถเจริญเติบโตได้ดีในแถบภาคใต้ตอนล่างของประเทศไทยในเขต จ.นราธิวาสและเขตใกล้เคียง สภาพแวดล้อมเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีอิทธิพลต่อปริมาณและระยะเวลาการออกดอกของลองกอง สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมกับการเจริญของลองกองได้มาจากการสังเกตและยังไม่มีข้อมูลที่ชัดเจนจากการทดลอง โดยปัจจัยที่มีผลต่อการออกดอกของลองกองคือปัจจัยภายนอก ได้แก่ ปริมาณน้ำฝนในรอบปี ลักษณะโครงสร้างดิน และการจัดการสวน (มงคลและคณะ, 2544) และปัจจัยภายใน ได้แก่ ลักษณะทางพันธุกรรม และฮอร์โมนพืช (พีรเดช, 2537; สมบุญ, 2548)

การศึกษาพัฒนาการในรอบปีของลองกองมีความจำเป็นสำหรับการจัดการปัจจัยทางสรีรวิทยาอื่นๆ เพื่อให้ออกดอกติดผลตามต้องการ (Lim and Yong, 1996) หากแบ่งปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อพัฒนาการในรอบปีของไม้ผลอาจแบ่งออกได้เป็น 2 ปัจจัย ดังนี้

1. ปัจจัยภายนอก

ปัจจุบันประเทศไทยมีสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปในแต่ละปี ทำให้เกิดผลกระทบต่อพัฒนาการในรอบปีของลองกอง ซึ่งสภาพแวดล้อมเป็นปัจจัยภายนอกที่ไม่สามารถควบคุมได้ แต่มีอิทธิพลโดยตรงต่อการออกดอกของพืช (ลดาวัลย์, 2556) โดยปัจจัยดังกล่าวได้แก่ ปริมาณน้ำฝน ความชื้น ช่วงแล้ง และอุณหภูมิ

1.1 ปริมาณน้ำฝน

โดยทั่วไปช่วงระยะการแตกใบอ่อนของไม้ผลยืนต้นจะเป็นระยะที่มีการเจริญเติบโตทางด้านกิ่งใบ และส่วนใหญ่จะตรงกับช่วงหลังฤดูฝน (มงคล และคณะ, 2544) และจากความแตกต่างของช่วงเวลาการสร้างตาดอกซึ่งมีความสัมพันธ์กับความแห้งแล้งของสภาพดินที่ทำให้เกิดสภาวะเครียดน้ำในช่วงก่อนสร้างตาดอก ซึ่งปัจจัยดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับปริมาณน้ำฝนประจำปี โดยพบว่าในช่วงที่มีการกระจายตัวของฝนเป็นปกติ ฝนทิ้งช่วงในฤดูร้อน จะทำให้ลองกองออกดอกและให้ผลผลิตเป็นปกติ แต่หากในปีใดมีความแปรปรวนของสภาพอากาศคือ มีฝนตกในช่วงฤดูร้อน ส่งผลให้ต้นลองกองไม่ได้รับสภาวะขาดน้ำหรือไม่เครียดน้ำ จะทำให้ลองกองไม่มีการออกดอกในช่วงดังกล่าว นอกจากนี้ปริมาณน้ำฝนยังมีผลต่อเนื่องไปจนกระทั่งในระยะการให้ผลผลิตอีกด้วย โดยในช่วงที่มีการพัฒนาของผลจนใกล้ถึงระยะเก็บเกี่ยว ลองกองจะมีความต้องการน้ำอย่างต่อเนื่อง แต่หากฝนทิ้งช่วงในเวลาที่ผลกำลังพัฒนา จะทำให้คุณภาพของผลไม่ดีเท่าที่ควร โดยปริมาณน้ำฝนที่เหมาะสมคือ 2,000 – 3,000 มิลลิเมตรต่อปี จำนวนวันที่ฝนตก 150 - 200 วันต่อปี และควรมีฝนตกกระจายอย่างสม่ำเสมอ (นิพนธ์, 2554) อย่างไรก็ตาม ปริมาณน้ำฝนที่มากเกินไปส่งผลต่อการออกดอกที่ลดลงของลองกอง โดยพบว่าฝนตกชุกอย่างต่อเนื่องซึ่งเกิดจากสภาพภูมิอากาศมีความแปรปรวนเนื่องจากได้รับอิทธิพล

จากปรากฏการณ์เอลนิโญ (El Nino) ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2540 – 2541 และในช่วงปี พ.ศ. 2542 – 2543 ได้รับอิทธิพลจากปรากฏการณ์ลานิญา (La Nina) ส่งผลให้ลองกองที่ปลูกในภาคใต้หลายจังหวัดไม่ออกดอก (โนรี และสายัณห์, 2548)

1.2 ความชื้น

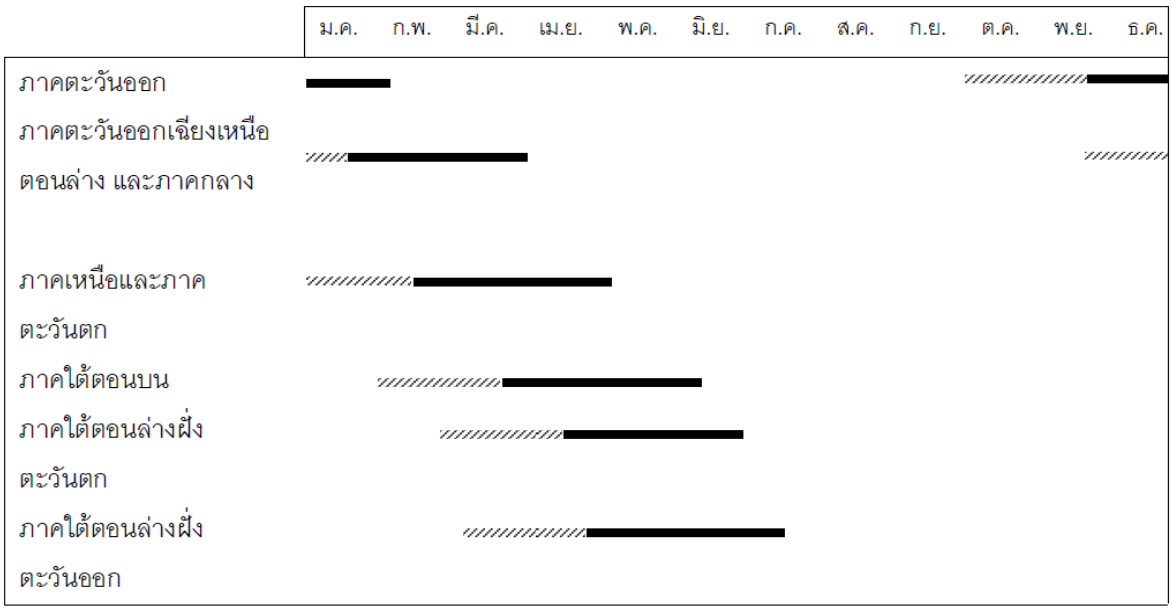
ความชื้นที่เกี่ยวข้องกับสภาพแวดล้อมการออกดอกมี 2 ชนิด คือ ความชื้นภายในดิน และความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ สำหรับความชื้นดินจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณฝนที่ตกลงมาในช่วงแล้งก่อนการออกดอกของไม้ผล ดินจะมีความชื้นลดต่ำลงทำให้ต้นไม้ผลเกิดสภาวะเครียดน้ำ (มงคล และคณะ, 2544) โดยลองกองในระยะก่อนออกดอกดินต้องมีความชื้นต่ำ เนื่องจากน้ำในดินที่มากเกินไปมีผลเร่งการแตกใบอ่อนของลองกอง (จำเป็น และคณะ, 2537) ส่วนความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณน้ำฝนด้วยเช่นเดียวกัน โดยความชื้นในอากาศจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปริมาณน้ำฝนและวันที่ฝนตก (นิพนธ์, 2554) โดยทั่วไปลองกองเป็นพืชที่ต้องการความชื้นสูงประมาณ 70-80 เปอร์เซ็นต์ซึ่งเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและให้ผลผลิต สวนลองกองในพื้นที่ภาคใต้มีรูปแบบการปลูกที่เรียกว่าสวนสมรม ซึ่งเป็นการปลูกลองกองร่วมกับพืชอื่นๆ หลายชนิด ทำให้มีลักษณะสภาพแวดล้อมที่มีความชื้นสูงและมีร่มเงา ทำให้ลองกองสามารถเจริญเติบโตได้ดีและทำให้ลองกองสามารถออกดอกได้เร็วขึ้น (มงคล และคณะ, 2522)

1.3 ช่วงแล้ง

การเปลี่ยนแปลงของพัฒนาการในรอบปีส่วนใหญ่มีผลเนื่องมาจากจำนวนวันของช่วงแล้งที่เพิ่มมากขึ้น (Apiratikorn *et al.*, 2012) ลองกองเป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดและแหล่งปลูกอยู่ในภูมิอากาศแบบร้อนชื้น (รวี, 2543ก) ดังนั้น จึงมีนิสัยการออกดอกคล้ายคลึงกับไม้ผลยืนต้นในเขตร้อนชื้นอื่นๆ เช่น มังคุด ทุเรียน เงาะ ฯลฯ ที่ต้องการสภาพแล้งหรือสภาพเครียดที่เกิดจากการขาดน้ำในฤดูแล้ง (drought stress) เพื่อทำให้การเจริญเติบโตทางด้านกิ่งใบหยุดชะงักและมีการสะสมอาหารก่อนชักนำให้เกิดดอก (Poerwanto *et al*., 2006) โดยเมื่อต้นลองกองผ่านช่วงแล้ง (drought period) ไปแล้วระยะหนึ่งจะทำให้เกิดการหยุดการเจริญเติบโตทางด้านกิ่งใบรวมทั้งสะสมอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรทแล้วจึงออกดอก (มงคล และคณะ, 2544) ลองกองมีความต้องการช่วงแล้งต่อเนื่องกันนานประมาณ 40-50 วัน ซึ่งมีผลทำให้ค่าศักย์ของน้ำ (water potential) ในใบลดต่ำลงจนถึงระดับประมาณ 25 บาร์ (-2.5 MPa) จึงทำทำให้ต้นลองกองเกิดสภาวะเครียดเนื่องจากขาดน้ำ (สุรกิตติ และคณะ, 2539) และยังพบว่าลองกองมีอัตราการใช้น้ำในระยะก่อนออกดอกอยู่ในระดับต่ำ โดยมีอัตราการไหลของน้ำต่ำสุดหรือมีความต้องการใช้น้ำต่ำที่สุด และศักย์ของน้ำในใบ (leaf potential) และ ค่าการชักนำปากใบ (stomatal conductance) ของลองกองมีค่าลดลงอย่างชัดเจน Sdoodee and Wongwongaree (2002) สอดคล้องกับลดาวัลย์ (2556) ได้รายงานถึงช่วงแล้งก่อนการออกดอกของลองกองที่ปลูกในภาคต่างๆของประเทศไทย ดังแสดงในตารางที่ 3 ที่พบว่ามีความแตกต่างกันของช่วงแล้งที่ส่งผลต่อพัฒนาการในรอบปีโดยเฉพาะระยะการออกดอก โดยในรอบปีหนึ่งๆ ลองกองทางภาคตะวันออกจะเริ่มต้นออกดอกก่อนภาคใต้ สาเหตุเนื่องมาจากภาคตะวันออกมีฤดูแล้งเกิดขึ้นเร็วกว่าภาคใต้ประมาณ 1 เดือน กล่าวคือเริ่มต้นตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน – ธันวาคม ในขณะที่ภาคใต้เริ่มในเดือนมกราคม – กุมภาพันธ์ และยังพบอีกด้วยว่าลองกองที่ปลูกในภาคฝั่งตะวันตกจะออกดอกเร็วกว่าฝั่งตะวันออก (นพรัตน์, 2536; เปรมปรี, 2541; กวิศร์, 2547) นอกจากนี้แม้แต่ลองกองที่ปลูกอยู่ในพื้นที่เดียวกัน หรือเป็นต้นจากสวนเดียวกัน หรือภายในต้นเดียวกัน มักพบว่า ต้นลองกองมีการแตกกิ่งใหม่ แตกใบอ่อน และออกดอกไม่สม่ำเสมอพร้อมกัน ในบางกิ่งอาจจะไม่มีการแตกกิ่งหรือออกดอกเลยก็ได้ (นพรัตน์, 2536) นอกจากนี้ หากสภาพ

ภูมิอากาศมีความแห้งแล้งมากเกินไปก็จะส่งผลให้ตาดอกลองกองไม่สามารถพัฒนาไปเป็นช่อได้ ตาดอกที่สร้างขึ้นมาแล้วจะมีลักษณะแห้งและไม่มีโอกาสเจริญออกมาอีก (รวี, 2543ข)

ตารางที่ 3 ช่วงแล้ง (▨) และช่วงเวลาการออกดอก (▬) ของลองกองที่ปลูกในภาคต่างๆของประเทศไทย



ที่มา : ลดาวัลย์ (2556)

1.4 อุณหภูมิ

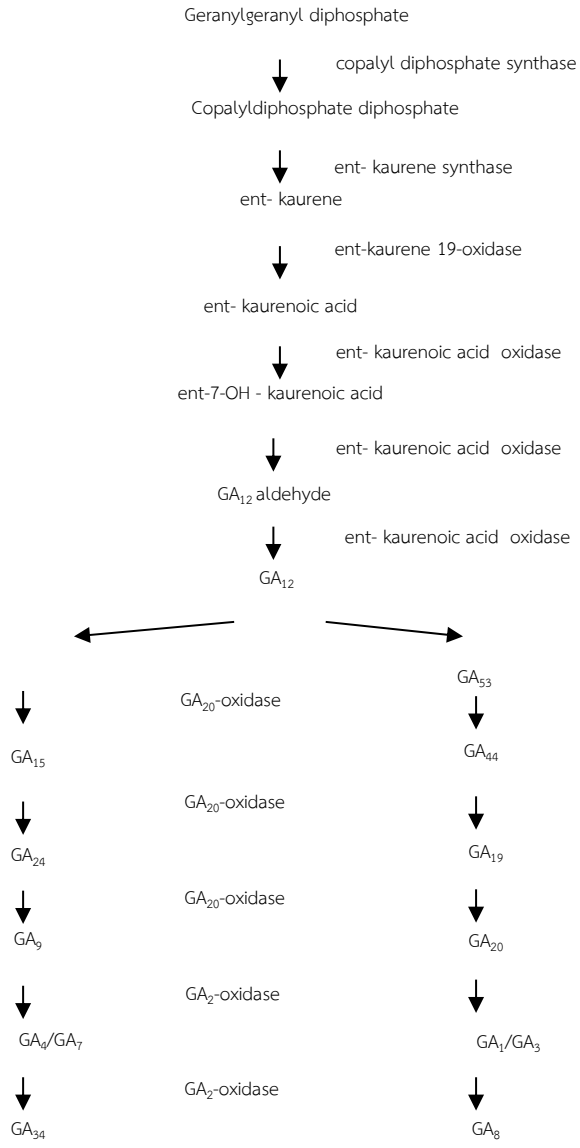
ลองกองเป็นไม้ผลเมืองร้อน ดังนั้น จึงมีความต้องการอุณหภูมิสูงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและออกดอก โดยอยู่ในช่วงระหว่าง 20 – 30 องศาเซลเซียส (นิพนธ์, 2554) ที่ผ่านมามีการเสนอแนะในการปรับสภาพแวดล้อมเพื่อให้ได้อุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของลองกอง ซึ่งสามารถทำได้โดยการปลูกลองกองร่วมกับพืชอื่นๆ เพื่อให้ต้นได้รับร่มเงาหรือพรางแสง และเป็นการเพิ่มความชื้นในดินด้วย เช่น การปลูกลองกองแซมในสวนมะพร้าว ปาล์มน้ำมัน เป็นต้น (นิพนธ์, 2554; นพรัตน์, 2536; เปรมปรี, 2541) ถึงแม้ว่าจะมีการศึกษาเกี่ยวกับอุณหภูมิเฉลี่ยในช่วงพัฒนาการในรอบปีของลองกองดังในรายงานของมงคล และคณะ (2544) แต่การศึกษาที่ผ่านมายังไม่มีการชี้ชัดต่อผลของอุณหภูมิเฉลี่ยที่มีต่อการออกดอกของลองกอง

2. ปัจจัยภายใน

ฮอร์โมนพืชเป็นปัจจัยภายในที่มีความสำคัญค่อนข้างมากและมีบทบาทในการควบคุมการออกดอกของพืช (สมบุญ, 2538) ฮอร์โมนส่วนใหญ่ถูกสร้างขึ้นที่ใบแล้วจึงเคลื่อนย้ายลงไปสะสมในส่วนของต้นที่จะมีการออกดอก (Chailakhyan, 1968) สำหรับในลองกองยังไม่เคยมีรายงานการศึกษาที่เกี่ยวกับอิทธิพลของฮอร์โมนภายในต่อการเจริญเติบโตทางกิ่งใบและการออกดอก ดังนั้น การศึกษาจากรายงานที่เกี่ยวข้องในไม้ผลยืนต้นชนิดอื่นๆ อาจใช้เป็นแนวทางในการศึกษากับลองกองต่อไป (ลดาวัลย์, 2556) สมมติฐานของสรีรวิทยาการออกดอกที่เกี่ยวข้องกับฮอร์โมนพืช อาจอธิบายได้เป็น 2 แนวทาง คือ ฮอร์โมนพืชถูกสังเคราะห์ขึ้นมาจนถึงระดับที่เหมาะสม (endogenous hormone) ต่อการกระตุ้นให้พืชออกดอก และอีกแนวทางหนึ่งคือสมดุลฮอร์โมน (hormone balance) (พีรเดช, 2537)

2.1 จิบเบอเรลลิน

การออกดอกของไม้ผลยืนต้นหลายชนิดถูกควบคุมโดยปริมาณจิบเบอเรลลิน (gibberellin) ที่พืชสร้างขึ้น ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตทางด้านกิ่งใบ จึงเป็นผลทำให้การออกดอกลดลงหรือไม่ออกดอกเลย (Chailakhyan, 1968; พีรเดช, 2537) ปัจจุบันจิบเบอเรลลินถูกค้นพบว่ามีกว่า 136 ชนิด (Sponsel and Hadden, 2004) กระบวนการสังเคราะห์จิบเบอเรลลินเริ่มต้นจาก geranylgeranyldiphosphate (GGDP) และเกิดกระบวนการออกซิเดชัน จนได้เป็น GA_{12} (Yamaguchi, 2008) และจาก GA_{12} เปลี่ยนไปเป็น GA_s ได้นั้นจะต้องอาศัยการออกซิเดชั่นจาก GA $_{20}$-oxidase เป็นส่วนใหญ่ (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 กระบวนการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน
ที่มา : ดัดแปลงจาก Yamaguchi (2008)

ปริมาณจิบเบอเรลลินมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงจากการเจริญเติบโตทางลำต้นไปเป็นการออกดอก โดยส่วนใหญ่ในไม้ผลยืนต้นหลายชนิด มักพบว่า ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินจะมีปริมาณสูงก่อนออกดอก และจะลดต่ำลงเรื่อยๆจนกระทั่งออกดอก ซึ่งเป็นช่วงที่เนื้อเยื่อเจริญที่ปลายยอดพัฒนาจากการเจริญเติบโตทางกิ่งใบเป็นการเจริญทางการเจริญพันธุ์ และพบว่าปริมาณของจิบเบอเรลลินจะมีมากในช่วงตายอดเปลี่ยนไปเป็นใบ และลดต่ำลงในช่วงพักตัว ช่วงการแตกช่อดอกและช่วงออกดอก (สุรนันต์, 2526) ทั้งนี้การเปลี่ยนแปลงของปริมาณจิบเบอเรลลินยังมีความสัมพันธ์กับสภาพภูมิอากาศด้วย กล่าวคือ หลังฤดูฝนไม้ผลมีการแตกใบอ่อน ในช่วงนี้จะพบปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินสูง และจะลดลงตามลำดับ ตัวอย่างของไม้ผลเขตร้อนที่มีรูปแบบการเปลี่ยนแปลงของจิบเบอเรลลินที่ลดลงในช่วงก่อนการออกดอก ได้แก่ ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย (ดรุณี และคณะ, 2542) และมะปรางพันธุ์ทูลเกล้า (สุธาสินี และธนะชัย, 2544) เป็นต้น

การศึกษาเกี่ยวกับปริมาณของจิบเบอเรลลินในลองกองนั้น ได้มีรายงานการศึกษาปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลิน (gibberellin-like substances) ซึ่งวัดปริมาณด้วยชีววิธี (bioassay) โดยเปรียบเทียบปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินจากส่วนเปลือกและใบของต้นลองกองใน 2 ระยะ ได้แก่ ระยะใบแก่ และเพสลาด โดยจากการทำการทดลอง 2 ครั้ง ซึ่งเก็บตัวอย่างในฤดูการออกดอกปกติของลองกอง (เดือนเมษายน) และนอกฤดูกาล (เดือนสิงหาคม) พบว่า ต้นลองกองที่อยู่ในระยะใบแก่มีปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินสูงกว่าต้นลองกองในระยะใบเพสลาด และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารระหว่างในส่วนของเปลือกและส่วนของใบ พบว่าจิบเบอเรลลินในส่วนของเปลือกมีปริมาณมากกว่าในส่วนของใบทั้ง 2 ระยะ นอกจากนี้ยังพบอีกด้วยว่าปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในตัวอย่างลองกองในฤดูกาลปกติมีมากกว่าช่วงนอกฤดูประมาณ 2 เท่า (ลดาวัลย์ และสุภาณี, 2556) ต่อมา สายทิพย์ (2557) ได้ศึกษาผลของวิธีการชักนำการออกดอกลองกองต่อปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลิน พบว่า ปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินในลองกองมีปริมาณที่ลดลงตั้งแต่ 2 สัปดาห์ก่อนออกดอก การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินนี้เป็นเช่นเดียวกับในต้นที่มีการชักนำการออกดอก แต่ในต้นที่ไม่ได้รับการชักนำจะมีปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินมากกว่าต้นที่ได้รับการชักนำการออกดอกด้วยการรัดกิ่งและ/หรือการราดสารพาโคลบิวทราโซล จากรายงานเหล่านี้ จึงคาดว่าจิบเบอเรลลินอาจเป็นฮอร์โมนสำคัญที่ควบคุมการออกดอกของลองกอง ข้อมูลเหล่านี้ช่วยให้เข้าใจถึงกลไกการออกดอกของลองกองได้ดีขึ้น และสามารถนาไปปรับเพื่อจัดการให้ลองกองมีการออกดอกอย่างเหมาะสมต่อไป (ลดาวัลย์, 2556)

การแสดงออกของยีนในช่วงการออกดอกของไม้ผลยืนต้น

การออกดอกเป็นกระบวนการที่ซับซ้อนทั้งทางด้านสรีรวิทยาและสัณฐานวิทยา และมีปัจจัยภายนอกและภายในต่างๆ มาเกี่ยวข้อง ปัจจัยทางพันธุกรรมที่ควบคุมกระบวนการออกดอกในไม้ผลหลายชนิดจึงจำเป็นต้องศึกษาเพิ่มเติมให้มากขึ้น การศึกษาทางด้านชีวโมเลกุลจะเป็นเครื่องมือที่ช่วยย่นระยะเวลาในการศึกษาแบบเดิมที่ผ่านมาให้เร็วขึ้น และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ต่อไป โดยเพิ่มประสิทธิภาพของเทคนิคและวิธีการชักนำให้เกิดการออกดอก ชะลอการเจริญเติบโตด้านกิ่งใบโดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช (Hanke *et al*., 2007) ตัวอย่างของการศึกษาการแสดงออกของยีนในวิถีการสังเคราะห์จิบเบอเรลลินในช่วงการออกดอกของไม้ผลยังมีไม่มากนัก เช่น การศึกษาของ Nakagawa *et al*. (2012) พบว่าต้นที่ให้ผลผลิตมาก (high crop load) จะมีการแสดงออกของยีนในวิถีการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน (Gibberellin oxidase) ที่ปลายยอด คือ Gibberellin 2 - oxidase ($MiGA_2$-ox) ต่ำกว่าต้นที่ไม่ให้ผลผลิต ในขณะที่พบกว่าตรงข้ามกับยีน Gibberellin 3 - oxidase ($MiGA_3$-ox) และ Gibberellin 20 - oxidase ($MiGA_{20}$-ox)

การชักนำการออกดอกของลองกอง

การชักนำการออกดอกของลองกองที่เคยมีการศึกษามีอยู่ 3 วิธีการ ได้แก่ การงดน้ำ การควั่นหรือรัดกิ่ง และการใช้สารพาโคลบิวทราโซล ซึ่งสามารถสรุปย่อของวิธีการต่างๆ ได้ดังนี้

การงดน้ำ

จากการที่ลองกองต้องการช่วงแล้งเพื่อสะสมอาหารก่อนออกดอก ดังนั้น การงดน้ำจึงเป็นการลดความชื้นในดินเพื่อให้พืชเกิดการขาดน้ำ ซึ่งทำให้เกิดสภาพเครียดกับต้นพืชและมีการสะสมอาหารไว้ภายในต้น เพราะการเจริญเติบโตทางกิ่งใบได้ลดลง (พีรเดช, 2537) ส่วนใหญ่เกษตรกรผู้ปลูกลองกองจะชักนำให้ลองกองออกดอกด้วยการงดน้ำ 20 – 45 วัน (เปรมปรี, 2541; รวี, 2543) โดยต้นลองกองที่ถูกชักนำด้วยการงดน้ำนี้จะทำให้ต้นเกิดสภาพเครียด จนทำให้ค่าความต่างศักย์ของน้ำในใบลดลง ทำให้ใบสูญเสียความเต่ง ส่งผลทำให้ค่าการชักนำปากใบลดลง (Sdoodee and Singhabumrung, 1996) นอกจากการตอบสนองของต้นลองกองที่แสดงออกทางสรีรวิทยาต่างๆ เหล่านี้แล้ว เกษตรกรสามารถสังเกตได้จากใบลองกองที่เกิดอาการสลด หรือใบร่วงประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ของพุ่มต้น (เปรมปรี, 2541) จึงสิ้นสุดเวลาในการชักนำการออกดอก

การควั่นหรือรัดกิ่ง

การควั่นและรัดกิ่งเป็นวิธีการทางกายภาพที่ส่งเสริมการออกดอกของต้นไม้ผลหลายชนิด การควั่นกิ่ง (girdling) เป็นการตัดท่อลำเลียงอาหารโดยไม่ทำลายไปจนถึงชั้นของแคมเบียม ทำให้มีการสะสมอาหารบริเวณเหนือรอยควั่น ซึ่งสามารถชักนำให้ไม้ผลออกดอกได้ (Theron and Steyn, 2008) ดังนั้นการควั่นกิ่งจึงเป็นเทคนิคหนึ่งที่มีการนำมาใช้ในไม้ผลยืนต้นหลายชนิด โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อบังคับการออกดอก เพิ่มผลผลิต และปรับปรุงคุณภาพผล เป็นต้น (Poerwanto *et al*., 2008) จากการศึกษาในลองกอง พบว่าการควั่นกิ่งลองกองก่อนออกดอก 1 เดือน ทำให้ลองกองมีจำนวนช่อดอก ความยาวช่อดอก จำนวนผลเฉลี่ยต่อช่อ ความยาวช่อผลเฉลี่ยสูงกว่าการควั่นกิ่ง 2 เดือน และไม่ควั่น นอกจากนี้ การชักนำการออกดอกของลองกองด้วยการรัดกิ่ง (limb strangulation) ก่อนออกดอก 1 เดือน มีผลทำให้ลองกองสามารถออกดอกได้ (โนรีและสายัณห์, 2547) และจากรายงานการศึกษาการชักนำการออกดอกของลองกองด้วยวิธีการควั่นหรือรัดกิ่งก็ให้ผลเช่นเดียวกัน คือสามารถเพิ่มจำนวนตาดอกทั้งตาดอกเดี่ยวและกลุ่มตาดอกของลองกองที่ปลูกในบล็อคซีเมนต์และปลูกในแปลงได้ (ลดาวัลย์ และสุภาณี, 2556; Lerslerwong *et al*., 2014)

การใช้สารพาโคลบิวทราโซล

สารพาโคลบิวทราโซล (Paclobutrazol; PBZ) จัดอยู่ในสารชะลอการเจริญเติบโตพืชที่ได้รับความนิยมใช้อย่างแพร่หลายเพื่อบังคับให้ไม้ผลยืนต้นออกดอกนอกฤดู โดยสารพาโคลบิวทราโซลมีชื่อทางเคมีคือ [(2RS,3RS)-1-1(4-chlorophenyl)-4, 4-dimethyl-2-(1H-1, 2, 4-triazol-1-yl) pentan-3-0-ol] สารพาโคลบิวทราโซลมีผลในการยับยั้งการสังเคราะห์จิบเบอเรล-ลินภายในพืช โดยยับยั้งกระบวนการการเกิดออกซิเดชั่นจาก kaurene ไปเป็นกรด kaurenoic โดยไปยับยั้งการทำงานของ cytochrome P450 ซึ่งเป็น coenzyme ในการทำงานของเอนไซม์ oxygenase ซึ่งเป็นเอนไซม์ในกระบวนการเปลี่ยนแปลง kaurene ไปเป็นกรด kaurenoic จึงทำให้ปริมาณจิบเบอเรลลินจึงลดลง (หิรัญ และคณะ, 2534) ทำให้พืชหยุดการเจริญเติบโตทางด้านกิ่งก้านสาขา ส่งผลให้พืชชะลอการเจริญเติบโตและมีการสะสมอาหารมากขึ้นจึงมีโอกาสที่จะส่งเสริมให้พืชออกดอกเพิ่มขึ้น (พีรเดช, 2537; Poerwanto *et al*., 2008) โดยสารเคมีชนิดนี้มีผลทำให้

การเจริญเติบโตทางด้านกิ่งใบลดลง และส่งเสริมให้เกิดการออกดอกมากขึ้นในไม้ผลยืนต้นร้อนชื้นหลายชนิด เช่น ทุเรียน (Chandraparnik *et al*., 1992; Subhadrabandhu and Kaiviparkbunyay, 1998) มังคุด (Poerwanto *et al*., 2008) เป็นต้น ในกรณีของลองกอง มีรายงานการศึกษาการใช้สารพาโคลบิวทราโซลชักนำการออกดอกในต้นลองกองอายุ 10 ปี และพบว่าสารพาโคลบิวทราโซลมีผลทำให้อัตราการไหลของน้ำในต้นลองกองลดลง ทำให้เกิดสภาวะเครียดน้ำและมีแนวโน้มทำให้ปริมาณไนโตรเจนในใบลดลงจนสามารถกระตุ้นให้ต้นลองกองออกดอกได้เพิ่มขึ้น (โนรีและสายัณห์, 2548) และยังมีรายงานการศึกษาการใช้สารพาโคลบิวทราโซลร่วมกับการควั่นกิ่งต่อการออกดอกของลองกอง พบว่าการราดสารพาโคลบิวทราโซลร่วมกับการควั่นกิ่ง 2 เดือน ก่อนการออกดอก ทำให้ลองกองมีเปอร์เซ็นต์การแตกตาดอกเฉลี่ยเพิ่มสูงขึ้น (อังคณา, 2550) และรายงานล่าสุดการใช้สารพาโคลบิวทราโซลเพียงอย่างเดียวและใช้ร่วมกับการควั่น/รัดกิ่ง สามารถกระตุ้นให้ต้นลองกองสามารถออกดอกได้มากกว่าต้นลองกองในชุดควบคุม (ลดาวัลย์ และสุภาณี, 2556; Lerslerwong *et al*., 2014)

วิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 ผลของการรัดลำต้นและสารพาโคลบิวทราโซลต่อการชักนำการออกดอกของลองกอง นอกฤดู

ดำเนินการทดลองกับต้นลองกองอายุประมาณ 18 ปี ณ ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา ต้นมีขนาดทรงพุ่มใกล้เคียงกันในแต่ละซ้ำหรือบล็อก วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกอย่างสมบูรณ์ (Randomization Complete Block Design ; RCBD) ทำ 5 ซ้ำ (1 ซ้ำ คือ 1 ต้น) ประกอบด้วย 3 กรรมวิธี (treatment) ดังนี้ คือ ชุดควบคุม (control) การรัดลำต้น และการรัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซล โดยการให้ทรีทเมนต์ทำเมื่อใบอ่อนชุดที่ 2 หลังจากเก็บเกี่ยวในฤดูกาลปกติ ต้นอยู่ในระยะใบเพสลาด

การรัดลำต้น

ทำโดยรัดลวดที่ลำต้นตรงตำแหน่งสูงจากพื้นดิน 30 เซนติเมตร ใช้เลื่อยมือควั่นเป็นแนวรอบกิ่งกว้างประมาณ 2 มิลลิเมตร ใช้ลวดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.6 มิลลิเมตร รัดรอบรอยควั่น แกะลวดออกภายหลังการรัด เมื่อเริ่มสังเกตเห็นตาดอกที่แตกออกมา

การราดสารพาโคลบิวทราโซล

ก่อนราดสารรดน้ำจนชุ่มทั่วรัศมีทรงพุ่ม ผสมสารพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้น 10% WP 4 กรัมต่อต้นต่อน้ำ 10 ลิตร แล้วราดทางดินรอบโคนต้นห่างจากโคนต้นประมาณ 20 เซนติเมตร ในรัศมีทรงพุ่ม

การบันทึกผล

1. การออกดอก บันทึกผลทุกสัปดาห์ โดยบันทึกวันที่เริ่มแตกตาดอก จำนวนตาดอก ได้แก่ ตาดอกเดี่ยว กลุ่มตาดอก ความยาวของตาดอกและช่อดอก (โดยช่อดอกหมายถึงตาดอกที่สามารถเจริญยืดออกมาเป็นช่อที่มีความยาวเกิน 1 เซนติเมตร) จำนวนวันที่ช่อดอกเจริญ

2. สภาพอากาศปริมาณน้ำฝน ความชื้นสัมพัทธ์ อุณหภูมิสูงสุดและต่ำสุด ในช่วงชักนำการออกดอก ขอความอนุเคราะห์ข้อมูลจากสถานีตรวจอากาศของกรมอุตุนิยมวิทยา จากสถานีอุตุนิยมวิทยาคอหงส์ ตำบลคอหงส์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

การทดลองที่ 2 ผลของการรัดลำต้นและการราดสารพาโคลบิวทราโซลเพื่อชักนำการออกดอกของลองกองต่อการแสดงออกของยีน GA_{20}-oxidase

1. การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างเปลือกต้นที่ระดับความสูงประมาณ 50 เซนติเมตรเหนือพื้นดิน เก็บให้ได้น้ำหนักประมาณ 1 กรัม โดยใช้อุปกรณ์สำหรับเจาะจุกคอร์กขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะส่วนเปลือกต้นลองกองเพื่อเป็นตัวแทนของแต่ละต้น นำเปลือกมาบดให้ละเอียดด้วยไนโตรเจนเหลว และเก็บรักษาไว้ที่ตู้แช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอสกัด RNA และนำไปสังเคราะห์ cDNA เพื่อใช้สำหรับการโคลนยีน GA_{20}-oxidase ต่อไป

2. การสกัด RNA

สกัด RNA จากตัวอย่างเปลือกที่บดแล้วด้วยวิธี CTAB ซึ่งทำตามวิธีการดัดแปลงจาก Chang *et al*. (1993) โดย CTAB RNA extraction buffer ประกอบด้วย Tris-HCL 100 มิลลิโมลาร์ pH 8.2, CTAB 2%, pvp 4%, NaCl 2 โมลาร์ และEDTA 25 มิลลิโมลาร์ pH 8.0 และก่อนนำ CTAB RNA extraction buffer ไปใช้สกัดให้เติม β-mercaptoethanol ในอัตรา 1 มิลลิลิตร ต่อ CTAB RNA extraction buffer 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปอุ่นรอที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส จากนั้นตักผลตัวอย่างแช่แข็งที่บดแล้วจำนวน 250 ไมโครกรัม ใส่ลงในหลอดเซนตริฟิวส์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เขย่าให้สารละลายเข้าผสมกับเนื้อเยื่อและนำไปบ่มที่ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ผสมสารให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex ก่อนนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6,500 รอบต่อนาที นาน 30 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ดูดส่วนใสใส่หลอดเซนตริฟิวส์ขนาด 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 และให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับลิเธียมคลอไรด์ 2 โมลาร์ นำหลอดตัวอย่างไปวางที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 คืน เพื่อตกตะกอน RNA หลังจากนั้นนำหลอดตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงที่ 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาทีที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วเทส่วนใสทิ้ง ล้างตะกอน RNA ด้วยเอทานอลเย็น 70% ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ที่ 4 องศาเซลเซียส ทิ้งให้ตะกอนแห้งที่อุณหภูมิห้อง ละลายตะกอน RNA ที่แห้งใน DEPC-treated H_2O 10 ไมโครลิตร

3. การวัดปริมาณ RNA

โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร โดยเจือจางสารละลาย RNA 50 เท่า โดยใช้น้ำ DEPC-treated เป็นตัวทำละลายอัตราส่วนดังนี้ RNA ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ต่อน้ำ DEPC-treated ปริมาตร 50 ไมโครลิตร โดยมีน้ำ DEPC-treated เป็นตัวเปรียบเทียบ (blank) คำนวณหาความเข้มข้นของสารละลาย RNA จากสูตร

$$\text{ความเข้มข้นของ RNA (µg/µl)} = \frac{\text{A260} \times \text{dilution factor} \times 40}{1000}$$

เมื่อ A260 คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากการวัดสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

Dilution factor = 50

40 µg/ml คือ ค่าคงที่ของปริมาณ RNA เมื่อวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 260 นาโนเมตร ได้ = 1

4. การสังเคราะห์ cDNA

สังเคราะห์ cDNA โดยใช้ชุด kit ของ Superscript® III First-Strand Synthesis system เตรียม cDNA ต่อ 1 reaction (total RNA ปริมาตร 2 ไมโครลิตร, Oligo $(dT)_{20}$ ความเข้มข้น 50 µM ปริมาตร 1 ไมโครลิตร, dNTP mix ความเข้มข้น 10 µM ปริมาตร 1 ไมโครลิตร DEPC-treated water ปริมาตร 6 ไมโครลิตร ปริมาตรรวมทั้งหมด 10 ไมโครลิตร) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แล้วแช่น้ำแข็งทันที 1 นาที จากนั้นเตรียม mix cDNA (10x RT buffer ปริมาตร 2 ไมโครลิตร, $Mgcl_2$ ความเข้มข้น 25 mM ปริมาตร 4 ไมโครลิตร, DTT ความเข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 2 ไมโครลิตร, RNase OUT™ (40 U/µl) ปริมาตร 1 ไมโครลิตร, SuperScript™ III RT (200U/µl) ปริมาตร 1 ไมโครลิตร) เติมส่วนของ cDNA mix กับ RNA/primer mixture ปริมาตร 10 ไมโครลิตร หมุนเหวี่ยงให้สารละลายเข้ากันแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 50 นาที จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แล้วแช่น้ำแข็งทันทีเพื่อเป็นการหยุดปฏิกิริยา เติม RNaseH ในแต่ละ reaction ปริมาตร 1 ไมโครลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เก็บ cDNA ไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส

5. การโคลนยีน GA_{20}- oxidase

5.1 ออกแบบไพรเมอร์ universal จากลำดับเบสของยีน 18S rRNA จากมังคุด (*Garcinia mangostana* Linn) โดยมีลำดับเบสเส้น upstream (forward) 5'-TTGGTGTGCACCTGTCATCT -3' และเส้น downstream (reverse) 5'-TCATTACTCCGATCCCGAAG -3' ขนาด 196 bp ไพรเมอร์ของยีน GA_{20}-oxidase ชนิดไม่จำเพาะ(degenerate primer) ในไม้ผลยืนต้นชนิดต่างๆ ได้แก่ แอปเปิ้ล (*Malus domestica*; GA_{20}ox accession number KC493633) สาลี่ (*Pyrus comunis*; GA_{20}ox accession number HQ83358) ส้ม (*Citrus sinensis*; GA_{20}ox1 accession number EU834067) อัลมอนด์ (*Prunus dulcis*; GA_{20}ox accession number JQ412172) โดยสืบค้นจาก http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ และใช้โปรแกรมในการออกแบบไพรเมอร์คือ ClustalX2 และ GENEDOC ในการออกแบบไพรเมอร์ ออกแบบยีน GA_{20}-oxidase มีลำดับเบสเส้น upstream (forward) ดังนี้ 5'-AGTTCATATGGCCYGATGA -3' และเส้น downstream (reverse) ดังนี้ 5' -AGCCTCATTATCGAATCATT -3'ขนาด 559 bp

5.2 เพิ่มจำนวน cDNA ของยีน GA_{20}- oxidase โดยนำไพรเมอร์ที่ได้จากการออกแบบในข้อ 6.1 มาใช้ในการเพิ่มปริมาณ cDNA ของยีน GA_{20}- oxidase ด้วยวิธี PCR (PCR HelixAmp *Taq*) ปริมาตร 25 ไมรโครลิตร 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

5.การสังเคราะห์ First-Strand cDNA

ก่อนการสังเคราะห์ First-Strand cDNA เพื่อนำไปใช้ในการศึกษาการแสดงออกของยีนต่อไป นำ total RNA มากำจัดเอนไซม์ DNase I ออกจากตัวอย่าง โดยใช้ชุดสำเร็จรูป DNase I, RNase-free (Fermentus, Canada)

สังเคราะห์ cDNA สายแรกจาก DNasel – treated RNA โดยใช้ ชุดสำเร็จรูป SuperScript® III First-Strand Synthesis System for RT-PCR (Invitrogen, USA)

หลังการสังเคราะห์นำ cDNA ไปตรวจสอบด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (Polymeras Chain Reaction ; PCR) โดยใช้ชุดทำ PCR ของ PremiumTaq® DNA Polymerase (Invitrogen, USA) และใช้ไพรเมอร์ Gm 18S rRNA ซึ่งมีส่วนผสมของแต่ละปฏิริยา ดังนี้

ส่วนผสม	ปริมาตร (50 ไมโครลิตร)	
10x PCR buffer minus Mg	5	ไมโครลิตร
10 mM dNTP mixture	1	ไมโครลิตร
50 mM $MgCl_2$	1.5	ไมโครลิตร
Primer mix (10 µM each)	1	ไมโครลิตร
Template DNA (cDNA)	1	ไมโครลิตร
Platinum® *Taq* DNA Polymerase	0.2	ไมโครลิตร
Distilled water	40.3	ไมโครลิตร

นำไปทำปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสโดยใช้เครื่อง PCR ของ Bio-Rad (USA) รุ่น T100™ Thermal Cycler

โดยปรับตั้งสภาพในการทำปฏิกิริยา PCR ดังนี้

1. Denature 94 องศาเซลเซียส 30 วินาที
2. Denature 94 องศาเซลเซียส 30 วินาที
3. Anneal 55 องศาเซลเซียส 30 วินาที
4. Extend 72 องศาเซลเซียส 1 นาที

ทำซ้ำขั้นตอนที่ 2 – 4 จำนวน 30 รอบ

5. คงอุณหภูมิของปฏิกิริยาไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส

นำ cDNA ที่เพิ่มปริมาณแล้วไปตรวจสอบโดยเทคนิคอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซิส เช่นเดียวกับการตรวจสอบคุณภาพ RNA

ตั้งค่าอุณหภูมิเวลาสำหรับทำปฏิกิริยาของยีน 18S rRNA ดังนี้

ช่วงที่ 1 อุณหภูมิ 95 °ซ นาน 30 วินาที

ช่วงที่ 2 อุณหภูมิ 95 °ซ นาน 30 วินาที
อุณหภูมิ 50 °ซ นาน 30 วินาที
อุณหภูมิ 72 °ซ นาน 1 นาที
ทำซ้ำจำนวน 30 รอบ

ช่วงที่ 3 อุณหภูมิ 72 °ซ นาน 5 นาที
อุณหภูมิ 4 °ซ ไม่จำกัดเวลา

ตั้งค่าอุณหภูมิและเวลาสำหรับทำปฏิกิริยาของยีน GA_{20}- oxidase ดังนี้

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

นำผลผลิตที่ได้ไปตรวจสอบโดยวิธีอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีส โดยชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จะถูกแยกขนาดในอะกาโรสเจลความเข้มข้น 1 % ชิ้นดีเอ็นเอที่ได้ต้องมีขนาดใกล้เคียงกับไพรเมอร์ที่ได้ออกแบบไว้

5.3 การทำ cDNA ให้บริสุทธิ์จากอะกาโรสเจล โดยทำบริสุทธิ์ผลผลิตพีซีอาร์ของยีน GA_{20}- oxidase โดยนำเจลที่ได้มาตัดเฉพาะแถบออกโดยใช้ใบมีดโกนตัดเฉพาะแถบของ DNA ที่มีขนาดเดียวกันกับที่ไพรเมอร์ครอบคลุมอยู่ นำชิ้นส่วนเจลที่ตัดมาทำให้บริสุทธิ์ด้วยชุดสกัดสำเร็จรูป ((PureLink™ Quick Gel Extraction Kit) โดยตัดชิ้นส่วนเจลที่มีชิ้นดีเอ็นเอขนาดที่เราต้องการมาชั่งน้ำหนัก แล้วใส่เจลลงในหลอดไมโครเซนติฟิวส์ 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 isopropanol ลงในเจลที่ละลายปริมาตร 1 ไมโครลิตร แล้วผสมให้เข้ากันจากนั้นทำขั้นตอน Purification โดยดูดสารละลายเจลที่ผสมกับ DNA แล้วลงในคอลัมน์ หมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 RCF เป็นเวลา 1 นาที เติม wash buffer ที่มี ethanol ปริมาตร 700 ไมโครลิตร หมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 RCF เป็นเวลา 1 นาที แล้วเทสารทิ้ง หมุนเหวี่ยงอีกครั้งด้วยความเร็วสูงสุด เป็นเวลา 2-3 นาที เพื่อชะ wash buffer และ ethanol ออกให้หมด ทิ้ง wash tube และวางคอลัมน์ลงในหลอดไมโครเซนติฟิวส์ จากนั้นเติม elution buffer ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงตรงกลางคอลัมน์บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 นาที หมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 RCF เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นตรวจสอบ cDNA ด้วยวิธีอากาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีสอีกครั้งก่อนนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปใช้

3.3.5.4 การทำ DNA ligation โดยนำ cDNA ที่ได้มาเชื่อมต่อกับเวคเตอร์ ด้วยชุดสำเร็จรูป pGEM®-T Easy vector (2x Rapid Ligation Buffer, T4 DNA Ligase 5 µl, pGEM®-T Easy vector (50ng) 1 µl, PCR product x µl, T4 DNA Ligwqase (3 Weiss units/ µl) 1 µl; total 10 µl) ผสมสารให้เข้ากันด้วย ปิเปต บ่ม ligation ที่อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมง แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ข้ามคืน นำส่วนผสมไปหมุนเหวี่ยงเป็นเวลาสั้นๆ แล้ววางบนน้ำแข็ง ก่อนถ่ายยีนเข้าสู่เชื้อแบคทีเรียในขั้นตอนต่อไป

3.3.5.5 การถ่ายยีนเข้าสู่เชื้อแบคทีเรีย นำเซลล์คอมพีเทนต์ *E. coli* สายพันธุ์ JM109 (High-Efficiency Competent Cells) ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส มาวางที่อุณหภูมิห้องจนกระทั่งคอมพีเทนต์ละลาย (ประมาณ 5 นาที) เติมส่วนผสมของ ligation จากข้อ 3.3.5.4 ลงในหลอดเซลล์คอมพีเทนต์ ปริมาตร 5 ไมโครลิตร แล้วผสมด้วยการดูดขึ้นลงด้วยปิเปตเบาๆ ตั้งทิ้งไว้บนน้ำแข็งนาน 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

3.3.5.6 การสกัดพลาสมิด และ sequencing โดยเก็บโคโลนีสีขาวจากจานเลี้ยงเชื้อด้วยไม้จิ้มฟัน แล้วนำส่วนปลายไม้จิ้มฟันที่มีโคโลนีติด จุ่มลงในหลอดอาหารเหลว LB ที่มีแอมพิซิลีน (ampicillin 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร/ 1 โคโลนี นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็วรอบ 200 rpm เป็นเวลา 1 คืน จากนั้นนำออกมาสกัดพลาสมิดที่มียีน GA_{20}- oxidase ด้วยชุดสกัดสำเร็จรูป E.Z.N.A.® Plasmid DNA Miniprep Kit I ก่อนการทำพลาสมิดนำ solution II และ solution III ไปบ่มที่อุณหภมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นนำเชื้อที่เลี้ยงในอาหาร LB ไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 RCF นาน 1 นาที เทส่วนใสทิ้ง จากนั้นเติม solution I ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ผสมสารด้วยปิเปตเบาๆ แล้วเติม solution II ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยกลับหลอดไปมาไม่ต้องเขย่า บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 3 นาที เติม solution III ปริมาตร 350 ไมโครลิตร กลับหลอดไปมาไม่ต้องเขย่าจนกระทั่งสารละลายเข้ากัน หมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 13,000 RCF นาน 10 นาที จากนั้นดูดส่วนใสลงใน spin column นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 13,000 RCF นาน 1 นาที แล้วเทส่วนใสทิ้ง เติม HBC buffer ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงในคอลัมน์ นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 13,000 RCF นาน 1 นาที แล้วเทสารละลายทิ้ง เติม wash buffer ปริมาตร 700 ไมโครลิตร ลงในคอลัมน์ นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 13,000 RCF นาน 1 นาที แล้วเทสารละลายทิ้ง ล้างด้วย wash buffer ปริมาตร 700 ไมโครลิตร หมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 13,000 RCF นาน 1 นาที อีกครั้งเทสารละลายทิ้ง นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 13,000 RCF นาน 2 นาที อีกครั้งเพื่อชะเอา wash buffer ออกให้หมดแล้วเทสารละลายทิ้ง จากนั้นนำ spin column ไปวางลงในหลอดไมโครเซนติฟิวส์ เติม Elution ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงตรงกลางคอลัมน์ แล้วบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 นาที นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 13,000 RCF นาน 1 นาที แล้วนำไปเก็บที่ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการตรวจสอบชิ้น DNA ในขั้นตอนต่อไป

3.3.5.7 นำสารละลาย DNA ที่ได้จากขั้นตอน 3.3.5.6 ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดไมโครเซนติฟิวส์ที่มีชุดสารละลายเอนไซม์ตัดจำเพาะ EcoRI ดังนี้ (RE 10x buffer ปริมาตร2 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) นำหลอดสารผสมไปวางที่ตู้บ่มอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง จากนั้นตรวจสอบชิ้น DNA ด้วยวิธีอิเลคโทรโฟริซิส โดยจะปรากฏจำนวนชิ้น DNA 2 แถบ แถบบนสุดจะเป็นชิ้น DNA ของพลาสมิด ส่วนแถบล่างจะเป็นชิ้น DNA เป้าหมายซึ่งต้องมีขนาดใกล้เคียงกับที่ได้จากการออกแบบไพรเมอร์ไว้ จากนั้นนำ DNA ที่ได้ไป sequencing เพื่อหาลำดับเบสของยีน GA_{20}- oxidase

นำลำดับเบสของ GA_{20}-oxidase ไปเปรียบเทียบกับข้อมูลของยีน GA_{20}-oxidase ของพืชอื่นๆ ในฐานข้อมูล NCBI จากเวปไซต์ http://www.ncbi.nhm.nih.gov/

3.3.5.8 การออกแบบไพรเมอร์จำเพาะของยีน GA_{20}- oxidase หลังตรวจสอบลำดับเบสของยีนและพบว่าคือยีน GA_{20}-oxidase จากตัวอย่างของลองกอง จึงนำลำดับเบสทั้งหมดไปออกแบบไพรเมอร์

เฉพาะของยีนนี้ โดยโปรแกรมสำหรับการออกแบบไพรเมอร์เฉพาะ เพื่อนำไปใช้ในการศึกษาการแสดงออกของยีนต่อไป

6. การศึกษาการแสดงออกของยีน GA_{20}- oxidase

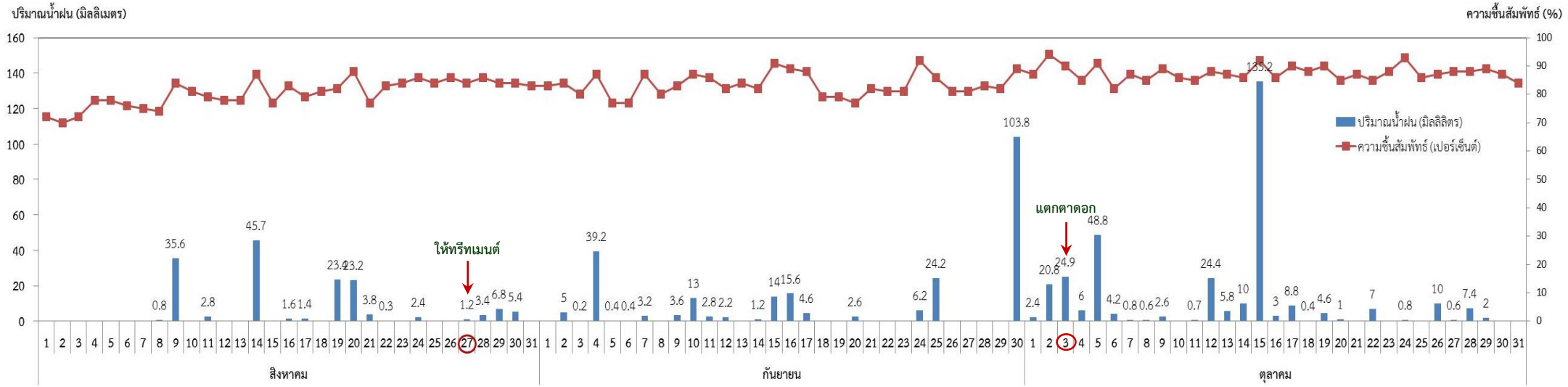
ศึกษาการแสดงออกของยีนโดยใช้วิธีการ Quantitative real-time PCR โดยใช้ไพรเมอร์เฉพาะ (specific primer) GA_{20}- oxidase ที่ได้จากการโคลนยีนในข้อ 5 โดยศึกษาการแสดงออกของยีน GA_{20}-oxidase ตั้งแต่ก่อนและหลังให้ทรีทเมนต์ชักนำการออกดอกทุกสัปดาห์จนกว่าจะออกดอก เปรียบเทียบกับ housekeeping gene คือ 18S rRNA ที่ได้จากการโคลนวิธีการเช่นเดียวกับข้อ 5

ผลการทดลองและวิจารณ์

การทดลองที่ 1 ผลของการรัดลำต้นและสารพาโคลบิวทราโซลต่อการชักนำการออกดอกของลองกองนอกฤดู

สภาพภูมิอากาศ

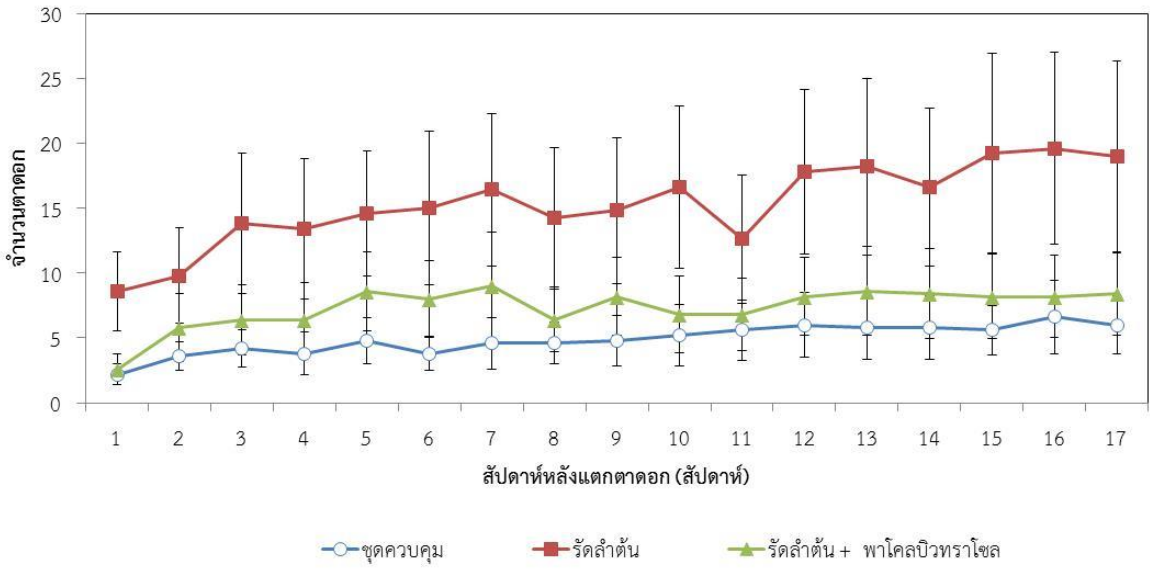
การรัดลำต้นและการราดสารพาโคลบิวทราโซลมีผลชักนำให้ลองกองแตกตาดอก 37 วัน (รัดลำต้นและราดสารพาโคลบิวทราโซลวันที่ 27 สิงหาคม 2557 และสังเกตพบตาดอกในวันที่ 2 ตุลาคม 2557) จากภาพที่ 2 เป็นข้อมูลสภาพภูมิอากาศในช่วงชักนำการออกดอกนอกฤดู พบว่า มีปริมาณน้ำฝนรวม 307.1 มิลลิเมตร และจำนวนวันที่ฝนตก 22 วัน โดยทั่วไปลองกองสามารถปลูกและเจริญเติบโตได้ดีในสภาพพื้นที่ที่มีฝนตกชุกและปริมาณน้ำฝนสม่ำเสมอประมาณ 2000 – 3000 มิลลิเมตรต่อปี และจำนวนวันที่ฝนตก 150 – 200 วันต่อปี และในช่วงก่อนออกดอกประมาณ 1-2 เดือน ต้นลองกองไม่ต้องการฝน (นพรัตน์, 2556 ; เปรมปรี, 2541) แต่อย่างไรก็ตาม ยังไม่เคยมีรายงานถึงปริมาณน้ำฝนและจำนวนวันที่ฝนตกในช่วงก่อนการออกดอก เมื่อพิจารณาสภาพภูมิอากาศในช่วงที่ทดลอง พบว่า วันที่มีฝนตกเกินกว่า 100 มิลลิเมตร มีเพียง 1 วัน คือ วันที่ 30 กันยายน 2557 หรือก่อนหน้าที่ต้นลองกองจะออกดอก 2 วัน ดังนั้น จึงคาดว่าลองกองที่ถูกชักนำโดยวิธีการต่างๆ สามารถออกดอกได้เพราะเลยช่วงของการชักนำไปแล้ว ถึงแม้ในวันอื่นๆ ที่มีฝนตก แต่ถือว่ามีปริมาณน้อยมากและไม่ส่งผลกระทบต่อการชักนำการออกดอก หรือต้นลองกองได้รับช่วงแล้งที่เพียงพอที่จะส่งเสริมการออกดอกได้ จากรายงานของ Lerslerwong และคณะ (2014) พบว่า การชักนำการออกดอกด้วยวิธีการรัดลำต้นและราดสารพาโคลบิวทราโซลจะสามารถทำให้ลองกองที่ปลูกในบล็อคซีเมนต์ กว้างx ยาวxสูง 1x1x1 เมตร ในพื้นที่ตำบลคอหงส์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา ออกดอกได้ภายในเวลา 19 วัน โดยพบว่าในขณะที่ทดลองมีจำนวนวันที่ฝนตก 7 วัน (แต่ไม่เกิน 100 มิลลิเมตร) ในขณะที่ การบังคับให้ออกดอกโดยให้ทรีทเมนต์เช่นเดียวกันกับต้นลองกองที่ปลูกในแปลงของพื้นที่อำเภอเทพา จังหวัดสงขลา และมีฝนตกในปริมาณเล็กน้อย 1 วัน ได้พบว่าใช้เวลาชักนำให้ออกดอกได้ภายใน 11 วัน แสดงให้เห็นว่าต้นลองกองจะออกดอกช้าลง เมื่อมีฝนตกในช่วงแล้ง ดังนั้น จึงมีความเป็นไปได้ว่า ปัจจัยสภาพภูมิอากาศที่เกี่ยวข้องกับการชักนำการออกดอกนอกเหนือจากช่วงแล้งและปริมาณน้ำฝนแล้ว จำนวนวันที่ฝนตกและการกระจายตัวของวันที่ฝนตกน่าจะมีส่วนด้วยเช่นกัน โดยพบว่า จำนวนวันที่ฝนตกในระหว่างการชักนำให้ออกดอกในการทดลองนี้มีถึง 22 วัน จึงส่งผลให้ต้นลองกองใช้เวลาในการออกดอกนานขึ้นภายหลังถูกชักนำ และจากจำนวนวันฝนตกที่เพิ่มขึ้น (ถึงแม้จะมีปริมาณน้อยมากก็ตาม) ทำให้ช่วงเวลาการชักนำต้นลองกองให้ออกดอกมีความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศสูงถึง 84.8% ซึ่งโดยทั่วไป ลองกองสามารถเจริญเติบโตได้ดีเมื่อมีความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศเฉลี่ยต่อปีสูงประมาณ 70-90% (นพรัตน์, 2556 ; เปรมปรี, 2541)



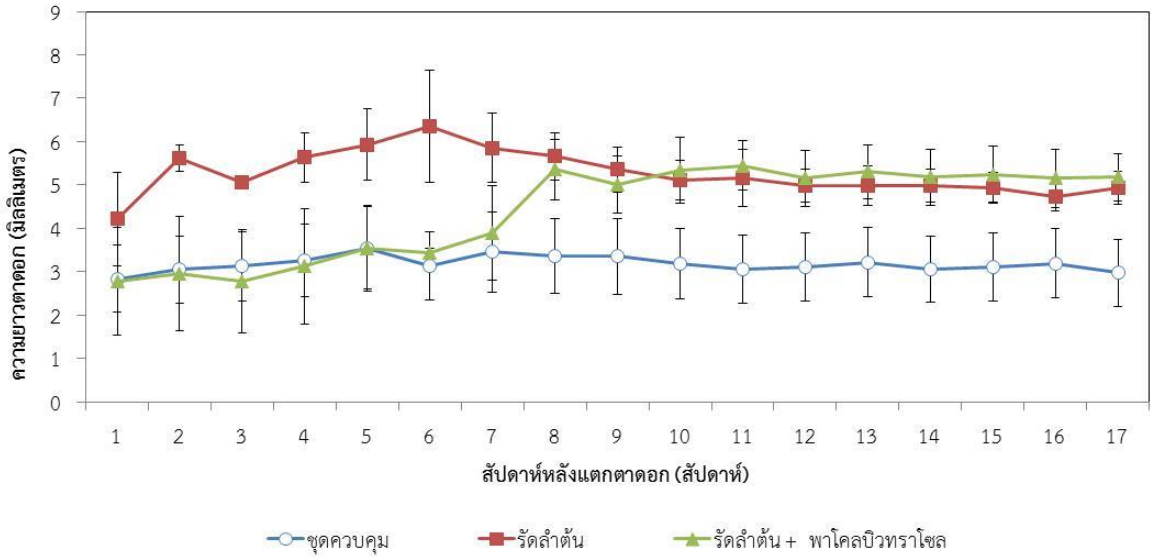
ภาพที่ 2 ปริมาณน้ำฝนและความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศของช่วงการชักนำการออกดอกของลองกองด้วยวิธีการรัดลำต้นและราดสารพาโคลบิวทราโซล (สิงหาคม – ตุลาคม 2557)

การออกดอก

จากภาพที่ 3 แสดงผลการชักนำการออกดอกของลองกองด้วยวิธีรัดลำต้นและการใช้สารพาโคลบิว-ทราโซล ผลการศึกษาพบว่า ในสัปดาห์ที่ 17 ภายหลังการให้ทรีทเมนต์ การรัดลำต้นให้ผลดีที่สุดในการชักนำการแตกตาดอก โดยมีจำนวนตาดอกทั้งหมดประมาณ 19 ตา ในขณะที่การรัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซลชักนำให้ต้นลองกองออกดอกได้ประมาณ 9 ตา มากกว่าต้นลองกองในชุดควบคุมซึ่งมีอยู่ประมาณ 6 ตา นอกจากนี้ เมื่อเปรียบเทียบความยาวดอกเฉลี่ยแล้ว พบว่า การรัดลำต้นทั้งที่ให้สารพาโคลบิวทราโซลและไม่ให้สารมีผลทำให้ดอกลองกองมีความยาวประมาณ 5.2 และ 4.9 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าความยาวดอกของต้นลองกองในชุดควบคุมที่มีความยาวประมาณ 3.0 มิลลิเมตร (ภาพที่ 4) ผลการทดลองสอดคล้องกับรายงานของสายทิพย์และลดาวัลย์ (2557) ที่พบว่าการรัดลำต้นและการราดสารพาโคลบิวทราโซลสามารถชักนำให้ลองกองออกดอกได้มากกว่าต้นลองกองที่ไม่ได้รับการชักนำ อย่างไรก็ตาม ถึงแม้จะเป็นการชักนำการออกดอกนอกฤดูเหมือนกัน แต่ปริมาณการออกดอกของการทดลองในครั้งนี้มีน้อยกว่าในรายงานของสายทิพย์และลดาวัลย์ (2557) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะช่วงแล้งที่ได้รับมีไม่มากเท่ากับในรายงานดังกล่าว



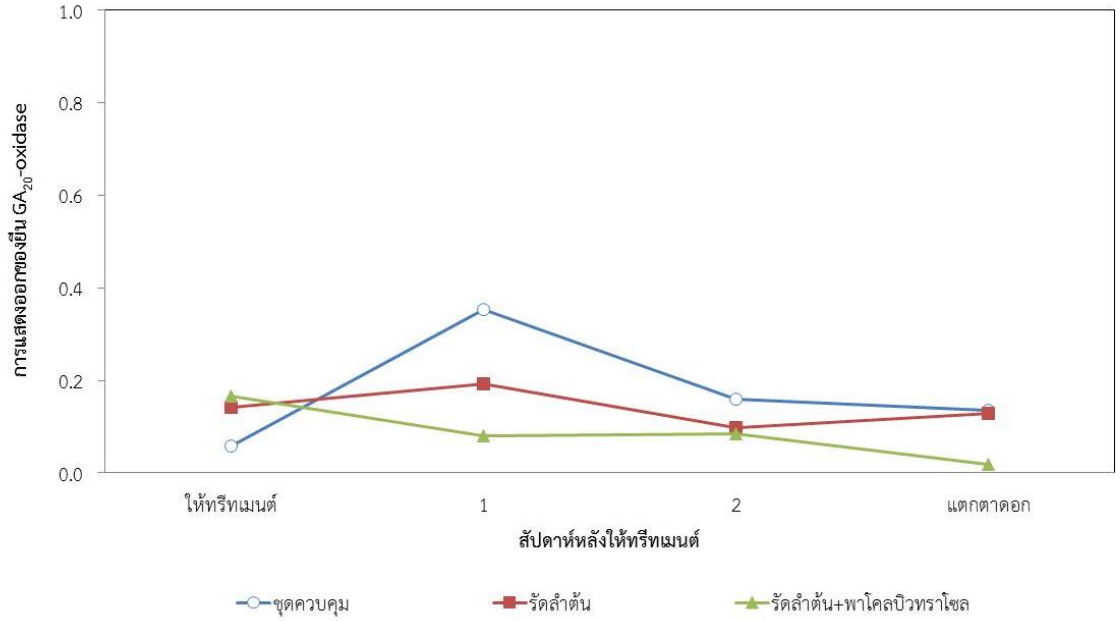
ภาพที่ 3 จำนวนตาดอกของต้นลองกองที่ได้รับการชักนำให้ออกดอกด้วยวิธีรัดลำต้นและราดสารพาโคลบิวทราโซล



ภาพที่ 4 ความยาวตาดอกของต้นลองกองที่ได้รับการชักนำให้ออกดอกด้วยวิธีรัดลำต้นและราดสารพาโคลบิวทราโซล

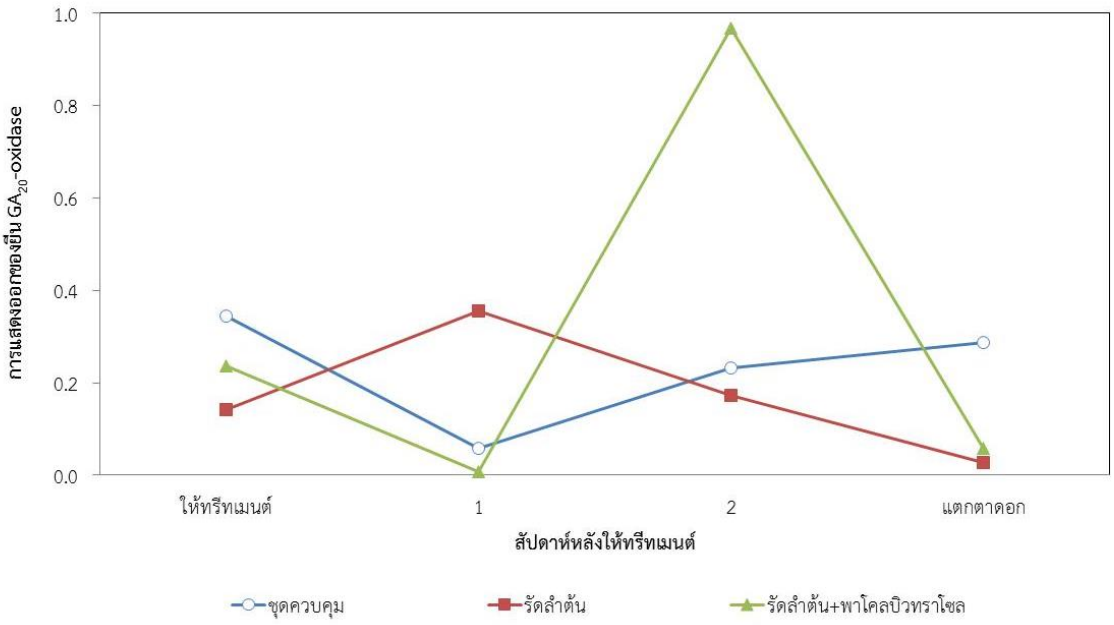
การทดลองที่ 2 ผลของการรัดลำต้นและการราดสารพาโคลบิวทราโซลเพื่อชักนำการออกดอกของลองกองต่อการแสดงออกของยีน GA_{20}-oxidase

การชักนำการออกดอกของลองกองด้วยวิธีรัดลำต้นและราดสารพาโคลบิวทราโซลมีผลต่อการแสดงออกของยีน GA_{20}-oxidase ซึ่งเป็นยีนสำคัญในวิถีการสังเคราะห์จิบเบอเรลลินภายในพืช ดังแสดงในภาพที่ 5 โดยพบว่า การแสดงออกของยีน GA_{20}-oxidase ก่อนออกดอกของทุกทรีทเมนต์มีแนวโน้มลดลง การรัดลำต้นทั้งราดและไม่ราดสารพาโคลบิวทราโซล การแสดงออกของยีน GA_{20}-oxidase ในเปลือกลำต้นของลองกองมีการแสดงออกต่ำกว่าต้นลองกองชุดควบคุมตั้งแต่หลังการให้ทรีทเมนต์ 1 และ 2 สัปดาห์ อย่างไรก็ตาม ในสัปดาห์ที่ออกดอก พบว่า การแสดงออกของยีนในต้นลองกองที่ถูกชักนำให้ออกดอกด้วยวิธีรัดลำต้นมีค่าเท่ากับการแสดงออกของยีนในต้นลองกองชุดควบคุม ในขณะที่ต้นลองกองที่ถูกชักนำให้ อกดอกด้วยการรัดลำต้นและราดสารพาโคลบิวทราโซลมีการแสดงออกของยีน GA_{20}-oxidase ต่ำสุด



ภาพที่ 5 การแสดงออกของยีน GA_{20}-oxidase ในเปลือกของต้นลองกองที่ได้รับการชักนำให้ออกดอกด้วยวิธีรัดลำต้นและราดสารพาโคลบิวทราโซล

สำหรับการแสดงออกของยีน GA_{20}-oxidase ในใบ พบว่า ภายหลังให้ทรีทเมนต์ 1 สัปดาห์ ต้นลองกองในชุดควบคุมและต้นลองกองที่ถูกชักนำให้ออกดอกด้วยการรัดลำต้นและราดสารพาโคลบิวทราโซลมีการแสดงออกลดลงและต่ำกว่าต้นลองกองที่ถูกชักนำด้วยการรัดลำต้น ภายหลังการให้ทรีทเมนต์ 2 สัปดาห์ กลับพบว่า มีการแสดงออกของยีน GA_{20}-oxidase ในใบลองกองที่ถูกชักนำด้วยการรัดลำต้นและราดสารพาโคลบิวทราโซลเพิ่มสูงขึ้น ในขณะที่ต้นลองกองที่ได้รับการชักนำให้ออกดอกด้วยการรัดลำต้นมีการแสดงออกของยีนเท่ากับต้นลองกองในชุดควบคุม และในสัปดาห์ที่ออกดอก กลับพบว่าการแสดงออกของยีน GA_{20}-oxidase ในต้นลองกองที่ได้รับการชักนำให้ออกดอกด้วยวิธีรัดลำต้นทั้งที่ได้และไม่ได้ราดสารพาโคลบิว-ทราโซลมีค่าเท่ากัน และอยู่ในระดับที่ต่ำกว่าต้นลองกองในชุดควบคุม (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 การแสดงออกของยีน GA_{20}-oxidase ในใบของต้นลองกองที่ได้รับการชักนำให้ออกดอกด้วยวิธีรัดลำต้นและราดสารพาโคลบิวทราโซล

จากผลการทดลอง จะเห็นได้ว่า การแสดงออกของยีน GA_{20}-oxidase ในเปลือกของต้นลองกองที่ถูกชักนำให้ออกดอกด้วยการรัดลำต้นและราดสารพาโคลบิวทราโซลมีรูปแบบการเปลี่ยนแปลงที่สัมพันธ์กับการออกดอกมากกว่าการแสดงออกของยีน GA_{20}-oxidase ในใบ ซึ่งเป็นหลักฐานแรกของการศึกษาในไม้ผลเขตร้อนที่รายงานถึงการแสดงออกของยีนในช่วงออกดอก ในการทดลองนี้เป็นการยืนยันว่า วิธีการชักนำการออกดอกของลองกองด้วยการรัดลำต้นและการราดสารพาโคลบิวทราโซลนั้นมีผลต่อปริมาณจิบเบอเรลลินภายในต้นที่ลดลงก่อนการออกดอก โดยสืบเนื่องมาจากการแสดงออกของยีน GA_{20}-oxidase และจะเห็นได้ว่า การราดสารพาโคลบิวทราโซลซึ่งเป็นสารชะลอการเจริญเติบโตของพืชที่ไปยับยั้งการสังเคราะห์จิบเบอเรลลินจนมีปริมาณลดลงและทำให้ลองกองออกดอกได้มากขึ้น เป็นผลอันเนื่องมาจากการให้สารพาโคลบิวทราโซลไปมีผลต่อการแสดงออกของยีน GA_{20}-oxidase และเมื่อเปรียบเทียบการแสดงออกของยีนนี้ในต้นลองกองที่ถูกชักนำให้ออกดอกด้วยการรัดลำต้น ก็จะเห็นได้ว่ามีการแสดงออกของยีน GA_{20}-oxidase ที่ต่ำกว่า ทั้งนี้อาจเป็นเพราะสารพาโคลบิวทราโซลเป็นสารยับยั้งการสังเคราะห์จิบเบอเรลลินในพืชโดยตรง ในขณะที่การรัดลำต้นนั้นจะไปมีผลทำให้ต้นลองกองเกิดสภาวะเครียดที่เกิดจากการควั่นและรัดลำต้น แล้วไปมีผลต่อปริมาณจิบเบอเรลลินที่ลดลงโดยทางอ้อม

สรุป

การชักนำให้ลองกองออกดอกนอกฤดูด้วยวิธีรัดลำต้น และรัดลำต้นร่วมกับการราดสารพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้น 10% WP 4 กรัมต่อต้นต่อน้ำ 10 ลิตร โดยดำเนินการกับต้นลองกองในระยะใบเพสลาด ผลการศึกษาสรุปได้ดังนี้

การทดลองที่ 1 ผลของการรัดลำต้นและสารพาโคลบิวทราโซลต่อการชักนำการออกดอกของลองกองนอกฤดู

1.1 การชักนำการออกดอกนอกฤดูของลองกองด้วยวิธีรัดลำต้นให้ผลดีที่สุด รองลงมาคือวิธีการรัดลำต้นร่วมกับการใช้สารพาโคลบิวทราโซล

1.2 สภาพภูมิอากาศมีผลต่อการชักนำการออกดอกนอกฤดูของลองกอง โดยช่วงแล้ง ปริมาณน้ำฝน จำนวนวันที่ฝนตก และการกระจายตัวของวันที่ฝนตก มีผลต่อระยะเวลาในการออกดอก

การทดลองที่ 2 ผลของการรัดลำต้นและการราดสารพาโคลบิวทราโซลเพื่อชักนำการออกดอกของลองกองต่อการแสดงออกของยีน GA_{20}-oxidase

2.1 การแสดงออกของยีน GA_{20}-oxidase ของต้นลองกองทุกทรีทเมนต์มีแนวโน้มลดลงก่อนการออกดอก

2.1 การชักนำการออกดอกของลองกองด้วยวิธีรัดลำต้นและราดสารพาโคลบิวทราโซลมีผลต่อการแสดงออกของยีน GA_{20}-oxidase โดยการรัดลำต้นทั้งราดและไม่ราดสารพาโคลบิวทราโซลมีการแสดงออกของยีน GA_{20}-oxidase ในเปลือกลำต้นของลองกองมีการแสดงออกต่ำกว่าต้นลองกองชุดควบคุม

เอกสารอ้างอิง

กวิศร์ วานิชกุล. 2547. สภาพแวดล้อมกับการผลิตไม้ผลเขตร้อน. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 184 หน้า.

จำเป็น อ่อนทอง บุญส่ง ไกรศรพรสรร พิรุณ ติระพัฒน์ และสายใจ กิ้มสงวน. 2549. ความสัมพันธ์ระหว่างคาร์โบไฮเดรตและธาตุอาหารและคาร์โบไฮเดรตที่เหมาะสมกับ การออกดอกของลองกอง. ว. วิทยาศาสตร์เกษตร. 37(3) : 203-212.

นพรัตน์ บำรุงรัตน์. 2536. พืชหลักปักษ์ใต้. บริษัท ปิรามิด จัดพิมพ์, กรุงเทพฯ. 184 น.

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

โนรี อิสมะแอ และ สายัณห์ สดุดี. 2547. ผลของการตัดรากและรัดกิ่งต่อการตอบสนองทางสรีรวิทยาและการพัฒนาของตาลองกอง. ว. สงขลานครินทร์ วทท. 26(4): 455-466.

โนรี อิสมะแอ และ สายัณห์ สดุดี. 2548. ผลของการใช้สารพาโคลบิวทราโซลต่อการตอบสนองทางสรีรวิทยาการออกดอกและคุณภาพผลของลองกอง. ว. สงขลานครินทร์ วทท. 25: 691-700.

เปรมปรี ณ สงขลา. 2541. รวมกลยุทธ์ ลองกอง. เจริญรัฐการพิมพ์, กรุงเทพฯ. 84 น.

พีรเดช ทองอำไพ. 2537. ฮอร์โมนพืชและสารสังเคราะห์ แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย. ไดนามิคการพิมพ์, กรุงเทพฯ. 196 น.

มงคล ศรีวัฒนวรชัย, พิมพรรณ ตันสกุล และไพรัตน์ นาควิโรจน์. 2522. การศึกษาสภาวะการออกดอกติดผลและคุณภาพผลของลองกองบางพันธุ์ในภาคใต้. รายงานการวิจัยประจาปี 2520-2522 ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

มงคล หลิม, สายัณห์ สดุดี, สุภาณี ชนะวีรวรรณ และ จำเป็น อ่อนทอง. 2544. รูปแบบการเจริญเติบโตและพัฒนาการในรอบปีของลองกองในภาคใต้. ว. สงขลานครินทร์ วทท. 23(4): 462-478.

รวี เสรฐภักดี. 2543ก. การปลูกและการจัดทรงพุ่มลองกอง. **ใน :** เทคโนโลยีการผลิตลองกอง. เอกสารประกอบคำบรรยายการอบรมเทคโนโลยีการผลิตลองกอง. ภาควิชาเทคโนโลยีและการอุตสาหกรรม. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี. หน้า 21-24.

รวี เสรฐภักดี. 2543ข. การออกดอก การเพิ่มผลผลิตและคุณภาพของลองกอง. **ใน :** เทคโนโลยีการผลิตลองกอง. เอกสารประกอบคำบรรยายการอบรมเทคโนโลยีการผลิตลองกอง. ภาควิชาเทคโนโลยีและการอุตสาหกรรม. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี. หน้า 27-32.

ลดาวัลย์ เลิศเลอวงศ์. 2556. ปัจจัยควบคุมและแนวทางการชักนำการออกดอกของลองกอง. ว.เกษตรพระจอมเกล้า 31 (2): 102 - 111.

ลดาวัลย์ เลิศเลอวงศ์ และ สุภาณี ชนะวีรวรรณ. 2556. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ การศึกษาอิทธิพลของเขตกรรมและสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อสรีรวิทยาการออกดอกเพื่อเป็นแนวทางในการผลิตลองกองนอกฤดู. ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่.

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2548. สรีรวิทยาของพืช. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 234 น.

สุรกิตติ ศรีกุล, วรวิทย์ พันธุ์ยางน้อย และชาย โฆรวิส. 2539. เทคโนโลยีการผลิตลองกองให้มีคุณภาพ. ศูนย์วิจัยพืชสวน สุราษฎร์ธานี สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 13 น.

สุรนันต์ สุภัทรพันธุ์. 2526. สรีรวิทยาการเจริญเติบโตของพืชสวน. ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 135น.

สายทิพย์ ทิพย์ปาน และลดาวัลย์ เลิศเลอวงศ์. 2557. ผลของการรัดกิ่งและสารพาโคลบิวทราโซลต่อการออกดอกและปริมาณคาร์โบไฮเดรทที่ไม่ใช่โครงสร้างของลองกอง (*Aglaia dookkoo* Griff.). ว. พืชศาสตร์สงขลา 1(1): 28-33.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2554. ข้อมูลพื้นฐานเศรษฐกิจการเกษตรปี 2554. เข้าถึงได้ที่ http://www.oae.go.th/download/download_journal/fundamation-2554.pdf

หิรัญ หิรัญประดิษฐ์, สุขวัฒน์ จันทรปรรนิก และเสริมสุข สลักเพ็ชร์. 2546. เทคโนโลยีการผลิตทุเรียน. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 206 หน้า.

อังคนา ทิวาเวทย์. 2550. ผลของการใช้สารเคมี และการควั่นกิ่งต่อการออกดอกของลองกอง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

Apiratikorn, S., Sdoodee, S., Lerslerwong, L. and S. Rongsawat. 2012. The impact of climate variability on the phonological change, yield and quality of mangosteen in Phattalung Province, Southern Thailand. Kasetsart J. (Nat. Sci.) 46: 1-9.

Chailakhyan, M.K. 1968. Internal factors of plant flowering. Ann. Rev. Plant Physiol. 19 : 1 – 37.

Chandraparnik, S., Hiranpradit, H., Punnachit, U. and Salakpetch, S. 1992. Paclobutrazol influences flower induction in durian, *Durio zibethinus* Murr. Acta Hort. 321: 282 – 290.

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) : 1 – 20.

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

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

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 Hort. 139 : 108 – 117.

Poerwanto, R., Efendi, D., Widodo, W.D., Susanto, S. and Purwoko, B.S. 2006. Off-season production of tropical fruits. Acta Hort. 772: 127-133.

Sponsel, V.M. and Hedden, P. 2004. Gibberellin biosynthesis and inactivation. *In* : Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action. 3rd Edition, 63 – 94.

Sdoodee, S. and S. Singhabumrung. 1996. Physiological responses of longkong (*Aglaia dookkoo* Griff.) to water deficit. *In*: Proc. Int. Con. Tropical Fruits (Vol. III), Kuala Lumpur, Malaysia, Jul. 23-26, 1996: 297-304.

Sdoodee, S. and N. Wongwongaree. 2002. Assessment of the effect of water deficit on sapflow of longkong trees by heat-pulse method. Songklanakarin J. Sci. Technol. 24: 189 – 195.

Subhadrabandhu, S. and K. Kaiviparkbunyay, K. 1998. Effect of paclobutrazol on flowering, fruit setting and fruit quality of durian (*Durio zibethinus* Murr.) cv. Chanee. Kasetsart J. (Nat. Sci.) 32 : 73-83.

Theron, K.I. and Steyn, W.J. 2008. Girdling: science behind the age-old technique. Acta Hort. 800: 51-60.

Yamaguchi, S. 2008. Gibberellin metabolism and its regulation. Annu. Rev. Plant Biol. 59: 225 – 251.

ข้อคิดเห็นและข้อเสนอแนะสำหรับการวิจัยต่อไป

1. การทดลองที่ 3 ผลของการรัดกิ่งและสารพาโคลบิวทราโซลเพื่อชักนำการออกดอกของลองกองต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณจิบเบอเรลลิน ไม่สามารถดำเนินการได้ เนื่องจากประสบปัญหาของการเก็บตัวอย่างเปลือกลำต้นลองกอง โดยการสกัด 1 ตัวอย่างจะต้องใช้เปลือกลำต้นน้ำหนักถึง 3 กรัม และเป็นการเก็บตัวอย่างแบบต่อเนื่องทุกสัปดาห์จนกว่าดอกจะมีความยาวมากกว่าหรือเท่ากับ 1 เซนติเมตร จึงไม่สามารถใช้สกัดฮอร์โมน GAs แล้ววิเคราะห์ปริมาณโดยใช้เทคนิค Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ได้ จึงไม่แนะนำให้ศึกษาหาปริมาณจิบเบอเรลลินด้วยวิธีการดังกล่าว
2. การศึกษาการแสดงออกของยีน GA_{20}-oxidase เป็นเพียงยีนตัวหนึ่งที่อยู่ในวิถีการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน แต่ยังมียีนอื่น เช่น GA_2-oxidase และ GA_3-oxidase เป็นต้น ที่มีรายงานในไม้ผลยืนต้นบางชนิด เช่น ส้ม มะม่วง และพบว่ามีบทบาทในช่วงการชักนำตาดอกด้วยเช่นกัน จึงมีข้อแนะนำให้มีการวิจัยต่อไปในประเด็นนี้