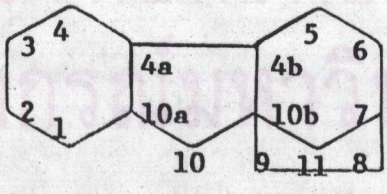
หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1
บทนำ

จิบเบอเรลลิน (Gibberellin) เป็นฮอร์โมนพืชชนิดหนึ่งมีคุณสมบัติในการควบคุมการเจริญเติบโตของพืช นอกจากพืชจะสร้างขึ้นได้เองแล้วยังพบว่ามีเชื้อราบางชนิดสร้างสารนี้ได้ โดยค้นพบครั้งแรกเมื่อปี ค.ศ. 1926 Kurosawa (1) พบว่าสารนี้ผลิตได้โดยเชื้อรา Gibberella fujikuroi และเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคบากานี (Bakanae disease) ซึ่งทำให้ใบและลำต้นของข้าวยืดยาวผิดปรกติและตายไปในที่สุด ต่อมาเขาได้พบว่าสารที่สกัดจากอาหารเลี้ยงเชื้อราดังกล่าว มีผลทำให้เกิดการยืดยาวของลำต้นข้าวและข้าวโพดเช่นเดียวกับโรคที่เกิดขึ้นในต้นข้าว การค้นพบนี้ได้รับความสนใจอย่างกว้างขวางในหมู่นักวิทยาศาสตร์ และนำไปสู่การศึกษาเกี่ยวกับจิบเบอเรลลินต่อมาจนถึงปัจจุบัน

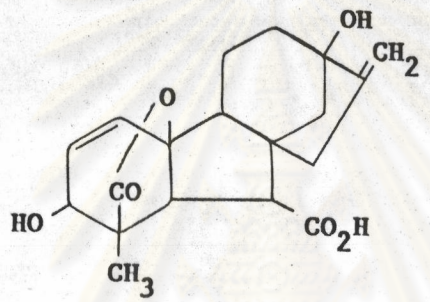
จิบเบอเรลลินมีชื่อทางเคมีว่า 2,4∝,7-trihydroxy-1-methyl-8-methylenegibb-3-ene-1,10 dicarboxylic acid-1,4 ∝ -lactone (2) มีสูตรโครงสร้างทางเคมี ประกอบด้วยแกนที่เรียกว่าเตตรา-คาร์บอกไซลิก จิบบาน (tetra-carboxylic gibbane) ดังแสดงในรูปที่ 1



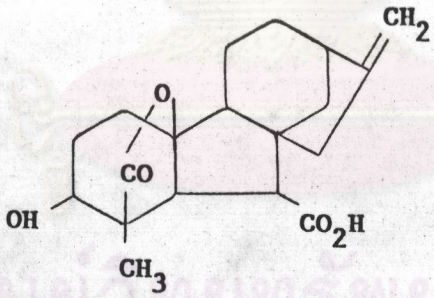
tetra-carboxylic gibbane

รูปที่ 1 สูตรโครงสร้างของเตตรา-คาร์บอกไซลิก จิบบาน (1)

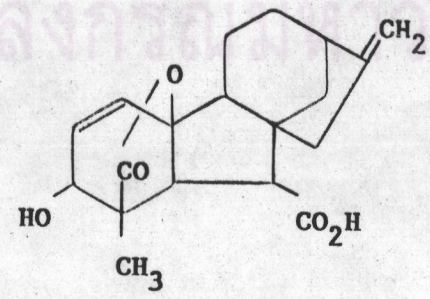
สารในกลุ่มจิบเบอเรลลินเรียกว่าจิบเบอเรลลิน เอ หรือ GA_s ปัจจุบันค้นพบแล้ว 65 ชนิด คือ GA_1 -GA_{65} มีลักษณะโครงสร้างคล้ายกันมากโดยต่างกันเล็กน้อยในการเรียงตัวของบางอะตอมเท่านั้น (3,4,5) จิบเบอเรลลินแต่ละชนิดมีคุณสมบัติในการกระตุ้นการเติบโตของพืชต่างกัน ชนิดที่นิยมใช้ในปัจจุบันมี 3 ชนิดคือ GA_3 GA_4 และ GA_7 จิบเบอเรลลินทั้ง 3 ชนิดดังกล่าวเป็นที่ยอมรับกันโดยทั่วไปว่าเป็นสารที่มีความปลอดภัยในการใช้สูง คือมีค่า LD_{50} มากกว่า 15,000 มก.ต่อน้ำหนักตัวหนูทดลอง 1 กก. (2) สูตรโครงสร้างของจิบเบอเรลลินทั้ง 3 ชนิดแสดงไว้ในรูปที่ 2



GA_3



GA_4



GA_7

รูปที่ 2 สูตรโครงสร้าง GA_3 GA_4 และ GA_7 (1)

นับตั้งแต่ปี ค.ศ. 1926 ซึ่ง Kurosawa (1)ได้ค้นพบจิบเบอเรลลินเป็นครั้งแรกแล้ว ได้มีการศึกษาและวิจัยเพื่อการผลิตจิบเบอเรลลินในเชิงพาณิชย์กันอย่างกว้างขวาง โดยในระยะแรกมุ่งความสนใจไปที่การสกัดจากเมล็ดพืชหลายชนิด แต่เนื่องจากมีปริมาณจิบเบอเรลลินน้อยมากทำให้ต้นทุนการผลิตสูง ชนิดของเมล็ดพืชที่ได้มีการนำมาใช้สกัดจิบเบอเรลลินได้แสดงไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ชนิดของเมล็ดพืชที่มีการศึกษาและวิจัยเพื่อนำมาใช้สกัดจิบเบอเรลลิน

เมล็ดพืช	เอกสารอ้างอิง
เมล็ดแก่ของพืชตระกูลแตง (Cucurbit)	
Sechium edule	3
Cucumis melo	6
Cucumis sativus	6,7
Cucurbita pepo L.	8
เมล็ดอ่อนของ Runner bean	
Phaseolus coccineus	3
Phaseolus multiflorus	9
Phaseolus vulgaris	9

นับตั้งแต่ปีค.ศ.1959 เป็นต้นมา ได้เริ่มมุ่งความสนใจไปที่การผลิตโดยการหมักจุลินทรีย์ในอาหารเหลว โดยใช้กลูโคสเป็นสารแหล่งคาร์บอนหลักร่วมกับสารแหล่งคาร์บอนอื่น ๆ และใช้สารแหล่งไนโตรเจนทั้งที่เป็นสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ มีการใช้แร่ธาตุเสริม การควบคุมอุณหภูมิในระหว่างการหมัก การปรับความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ และการให้อากาศในปริมาณที่เหมาะสมเพื่อให้ผลิตจิบเบอเรลลินได้สูงสุด รายงานการศึกษาการผลิตจิบเบอเรลลินโดย

การหมักได้แสดงไว้ในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 รายงานการศึกษาเกี่ยวกับการผลิตจิบเบอเรลลินโดยการหมักจุลินทรีย์ในอา หารเหลว

เชื้อจุลินทรีย์	สารแหล่งคาร์บอน	สารแหล่งไนโตรเจน	แร่ธาตุเสริม	สภาวะอื่นๆ	ปริมาณผลิตภัณฑ์	วิธีตรวจสอบผลิตภัณฑ์	เอกสารอ้างอิง
Neurospora crassa (wild strain 74A)	ซูโครส	ไม่ใช้	ไม่ใช้	อุณหภูมิ 26° ซ	6.4 นาโนกรัมต่อลิตร	TLC	10
Fusarium moniliforme : Kew No.917	กลีเซอรอล กลูโคสและแลกโตส	น้ำแช่ข้าวโพดและแอมโมเนียมซัลเฟต	ไม่ใช้	อุณหภูมิ 28-30° ซ ความเร็วในการเขย่า 200 รอบต่อนาที	650-880 มก.ต่อลิตร	Photofluoro metry	11
: IOC-3326	กลูโคส	น้ำแช่ข้าวโพดและแอมโมเนียมซัลเฟต	ไม่ใช้	อุณหภูมิ 30° ซ ความเร็วในการเขย่า 200 รอบต่อนาที pH เริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ 5-5.8	997-1196 มก.ต่อลิตร	Titration with NaOH	12
Gibberella fujikuroi : Lilly M-119	กลูโคส	แอมโมเนียมไนเตรต	ชนิด A (ดังภาคผนวกที่ 1.3)	อุณหภูมิ 26° ซ	ไม่มีรายงาน	Bioassay,TLC, Radioactivity measurement	13
: mutant B1-41A of wild type GF-1A	กลูโคสและสเตวิโอล (steviol)	แอมโมเนียมไนเตรต	ชนิด A (ดังภาคผนวกที่ 1.3)	อุณหภูมิ 25° ซ	GA_1 33 มก. GA_{15} 18 มก. GA_{19} 5 มก. (ต่อกรัมสเตวิโอล)	Bioassay	14

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2 (ต่อ)

เชื้อจุลินทรีย์	สารแหล่งคาร์บอน	สารแหล่งไนโตรเจน	แร่ธาตุเสริม	สภาวะอื่นๆ	ปริมาณผลิตภัณฑ์	วิธีตรวจสอบผลิตภัณฑ์	เอกสารอ้างอิง
: wild strain 917	กลูโคส	น้ำแช่ข้าวโพดและกากถั่วเหลืองบด	$ZnSO_3$ และ $FeSO_4$	pH เริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ 3.0	ไม่มีรายงาน	TLC, Infrared Absortion Spectra	15
Gibberella fujikuroi : NRRL 2633	กลูโคส	แอมโมเนียมไนเตรตและสารสกัดจากยีสต์ (yeast extract)	ชนิด B (ดังภาคผนวกที่ 1.4)	อุณหภูมิ 34° ซ อัตราการกวน 400 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 2 ลิตรต่อนาที	GA_3 11 มก. GA_4 210 มก. GA_7 45 มก. (ต่อลิตร)	ไม่มีรายงาน	16
: LM-45-399	กลูโคส	แอมโมเนียมไนเตรตสเตวิโอล(steviol) CCC (2-chloroethyl-trimethylammonium chloride	ชนิด A (ภาคผนวกที่ 1.3)	อุณหภูมิ 30° ซ	ไม่มีรายงาน	Bioassay, Reversed-phase HPLC	17

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เหตุจูงใจในการวิจัย

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมซึ่งกำลังก้าวเข้าสู่การเป็นประเทศกึ่งอุตสาหกรรมในอนาคต อุตสาหกรรมซึ่งใช้วัตถุดิบจากการเกษตรจึงเป็นอุตสาหกรรมที่ได้รับความสนใจอย่างสูงทั้งภาครัฐบาลและเอกชน การพัฒนาการผลิตวัตถุดิบทางการเกษตรดังกล่าวให้มีคุณภาพและปริมาณเหมาะสมโดยใช้ต้นทุนต่ำ จึงเป็นปัจจัยพื้นฐานในการสนับสนุนการพัฒนาอุตสาหกรรมการเกษตรของประเทศ

สำหรับประเทศไทยนั้น เกษตรกรได้รู้จักใช้ประโยชน์จากจิบเบอเรลลินช่วยเพิ่มผลิตผลทางการเกษตรชนิดต่าง ๆ มานานแล้ว โดยใช้ในการผลิตพืชนอกฤดูและผลิตพืชให้มีคุณภาพและปริมาณตามความต้องการของตลาด แต่เนื่องจากจิบเบอเรลลินเป็นสารเคมีที่มีราคาแพง เกษตรกรจึงมักใช้กับผลิตผลที่มีราคาสูงเท่านั้น การใช้จิบเบอเรลลินกับผลิตผลทางการเกษตรในประเทศ[1] ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3 และตารางที่ 4 ส่วนข้อมูลการนำเข้าจิบเบอเรลลินจากต่างประเทศ แสดงไว้ในตารางที่ 5

จากข้อมูลเบื้องต้นแสดงให้เห็นว่าจิบเบอเรลลินมีบทบาทสำคัญในการเพิ่มและควบคุมคุณภาพผลิตผลทางการเกษตร ดังนั้นการพัฒนากระบวนการผลิตจิบเบอเรลลินขึ้นใช้เองในประเทศจึงมีความสำคัญยิ่ง เพื่อทำให้จิบเบอเรลลินมีราคาถูกลงอันจะส่งผลโดยตรง ให้เกษตรกรหันมานิยมใช้สารดังกล่าวเพื่อการผลิตพืชนอกฤดูและปรับปรุงคุณภาพของผลผลิตให้ดีเป็นที่ต้องการของตลาดเพิ่มขึ้น และนำไปสู่การพัฒนาอุตสาหกรรมเกษตรซึ่งใช้ผลผลิตทางการเกษตรดังกล่าวเป็นวัตถุดิบในที่สุด

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาเพื่อคัดเลือกเชื้อรา Gibberella fujikuroi สายพันธุ์ต่างๆที่มีความเหมาะสมในการผลิตจิบเบอเรลลิน และหาแหล่งอาหารและสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตจิบเบอเรลลินโดยเชื้อรา Gibberella fujikuroi C สายพันธุ์ที่คัดเลือกแล้วในระดับขวดเขย่า จุดมุ่งหมายสำคัญคือจะหาสารแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่มีราคาถูกและหาได้ง่ายภายในประเทศ มาใช้เป็นองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อในการผลิตสารดังกล่าว

ตารางที่ 3 การใช้ประโยชน์ของจิบเบอเรลลินกับผลิตผลทางการเกษตรในประเทศไทย (18)

ชนิดของพืช	วิธีใช้	ประโยชน์ที่ได้รับ
1. ผลไม้		
1.1 เงาะ (*Nephelium lappaceum* L.)		
	พ่นที่ผลในระยะที่ผลเริ่มเปลี่ยนสี	เร่งการเปลี่ยนสีผล ทำให้สีผลในช่อเดียวกันสม่ำเสมอ
1.2 มะม่วง (*Mangifera indica* L.)		
	พ่นที่ต้นก่อนออกดอก	ชะลอการออกดอกทำให้เติบโตทางกิ่งใบแทน
	พ่นที่ต้นในระยะออกดอก	ช่วยป้องกันการร่วงของผล เพิ่มการติดผล เพิ่มขนาดและน้ำหนักผล
1.3 สตรอเบอรี่ (*Fragaria* spp.)		
	พ่นที่ต้นอายุ 1-2 ปี	เพิ่มจำนวนไหลต่อต้น
1.4 ส้ม (*Citrus* spp.)		
	พ่นที่ดอกในระยะดอกบานหรือที่ผลระยะผลแก่จัดก่อนการเปลี่ยนสี	ชะลอการเปลี่ยนสีผิว ชะลอการแก่ของผล เพิ่มขนาดของผล ป้องกันผลร่วง
	พ่นที่ต้นในช่วงที่คาดว่าจะออกดอก	ยับยั้งการออกดอกทำให้เกิดดอกได้มากขึ้นในภายหลัง

ตารางที่ 3 (ต่อ)

ชนิดของพืช	วิธีใช้	ประโยชน์ที่ได้รับ
1.5 องุ่น (Vitis venifera L.)		
	พ่นทั่วต้น	ช่วยยืดช่อผล เพิ่มความโปร่งของช่อ ลดการเน่าเสีย
1.6 ลำใย (Euphoria longana Lam.)		
	พ่นที่ช่อผลหลังการติดผล แล้ว 10 วัน	ลดการร่วงของผลอ่อน เพิ่มน้ำหนักของผล
2. พืชผัก		
2.1 ข้าวโพดหวาน (Zea mays var rugosa)		
	แช่เมล็ดก่อนนำไปเพาะ	เพิ่มจำนวนเกสรตัวผู้และช่อดอกตัวผู้มีขนาดใหญ่ขึ้นเป็นประโยชน์ต่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสม
2.2 ปวยเหร็ง (Spinacia oleracea L.)		
	พ่นทั่วต้น	เพิ่มความสูงและทรงพุ่ม เพิ่มน้ำหนักใบและก้าน
2.3 มันฝรั่ง (Solanum tuberosum L.)		
	แช่หัวมันก่อนนำไปปลูก	กระตุ้นการงอกของหัวมัน

นอกเหนือจากการใช้จิบเบอเรลลินกับผลิตผลทางการเกษตรดังแสดงในตารางที่ 3 แล้ว ยังมีข้อมูลแนะนำการใช้จิบเบอเรลลินกับผลิตผลทางการเกษตรอีกหลายชนิด (18,19) ดังแสดงไว้ในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ข้อมูลแนะนำการใช้จิบเบอเรลลินกับผลิตผลทางการเกษตร(18,19)

ชนิดของพืช	วิธีใช้	ประโยชน์ที่ได้รับ
1. ผลไม้		
1.1 มะละกอ (Carica papaya L.)		
	แช่เมล็ดก่อนนำไปเพาะ	เร่งการงอกของเมล็ด
1.2 ลางสาดและลองกอง (Lansium domesticum Corr., Aglaria dookkoo Griff.)		
	พ่นช่อดอกก่อนดอกบาน	เพิ่มการติดผล
	พ่นช่อผลในระยะติดผล	เพิ่มขนาดและน้ำหนักผล
1.3 สับปะรด (Ananas comosus (L.) Merr.)		
	ใช้สารผสมของ GA_4 และ GA_7 พ่นที่ผล	เพิ่มน้ำหนักของผล
1.4 กล้วยหอม	พ่นที่เครือกล้วย	เพิ่มขนาดของผล
1.5 ฝรั่ง	พ่นที่ดอกเมื่อดอกบานเต็มที่หรือหลังดอกบานเต็มที่ 10 วัน	เพิ่มขนาดผลและลดจำนวนเมล็ด
1.6 มะนาว	พ่นทั้งต้นก่อนผลเปลี่ยนสี	ยืดเวลาเก็บเกี่ยว
	ผสมกับขี้ผึ้งใช้จุ่มผลที่เก็บใหม่ๆ	ยืดอายุการเก็บ,จำหน่าย

ตารางที่ 4 (ต่อ)

ชนิดของพืช	วิธีใช้	ประโยชน์ที่ได้รับ
2. พืชผัก		
2.1 แตงกวา (Cucumis sativus L.)		
	ใช้สารผสมของ GA_4 และ GA_7 ทาที่ยอดของต้นกล้า	กระตุ้นให้เกิดดอกตัวผู้
2.2 ผักกาดหอม (Lactuca sativa L.)		
	พ่นทั่วต้น	ชักนำให้เกิดการแทงช่อดอก
2.3 พริก (Capsicum annuum L.)		
	พ่นทั้งต้นเมื่อติดผลครั้งหนึ่ง	เพิ่มขนาดและน้ำหนักผล
2.4 มะเขือเทศ (Lycopersicon esculentum Mill.)		
	พ่นที่ดอกเมื่อดอกที่ 3 บาน	เพิ่มการติดผล เพิ่มขนาดผล
	พ่นที่ช่อผลหลังติดผล	เพิ่มความหนาของเนื้อผล (ผลไม่กลวง)
3. พืชไร่		
3.1 อ้อย (Saccharum officinarum L.)		
	พ่นที่ต้น	เร่งการเติบโตของต้น
3.2 ถั่วเขียว (Phaseolus aureus Roxb.)		
	พ่นทั้งต้นที่ต้นเล็กทุก 14 วัน จนดอกตูม	เพิ่มการติดดอก

ตารางที่ 4 (ต่อ)

ชนิดของพืช	วิธีใช้	ประโยชน์ที่ได้รับ
3.3 ถั่วเหลือง (Glycine max (L.) Merr.)		
	พ่นที่ดอกตูม	เพิ่มขนาดของฝัก

ข้อมูลการนำเข้าจิบเบอเรลลินจากต่างประเทศที่รวบรวมโดยกองระดับราคา กรมศุลกากร กระทรวงการคลังแสดงว่า เฉพาะ GA_3 บริสุทธิ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศมีมูลค่าปีละหลายล้านบาท และมีแนวโน้มการนำเข้าเพิ่มขึ้น นอกจากนี้อาจมีการนำเข้าจิบเบอเรลลินในรูปแบบอื่น เช่น ผสมกับฮอร์โมนพืชชนิดอื่นและจำหน่ายในชื่อทางการค้าต่าง ๆ กัน ซึ่งไม่มีรายงานระบุแน่ชัดในเอกสารการนำเข้าสารดังกล่าวว่ามีจิบเบอเรลลินเป็นองค์ประกอบด้วย สำหรับ GA_3 บริสุทธิ์ ซึ่งมีการนำเข้าและจำหน่ายในประเทศไทยโดยระบุรายละเอียดแน่ชัดนั้นมี 2 แบบคือ

1. ชนิดผงละลายน้ำ (water soluble powder)
   สารออกฤทธิ์: GA_3 3.1%
   ชื่อการค้า : จิบเบอเรลลิน เคียววา (Gibberellin Kyowa)
   ผู้ผลิต : Kyowa Hakko Kogyo (Japan) Co., Ltd.
   ผู้จำหน่าย : Kyowa Hakko Kogyo (Thailand) Co., Ltd.
2. ชนิดสารละลายเข้มข้น (Concentrated solution)
   สารออกฤทธิ์: GA_3 2% และ 4%
   ชื่อการค้า : โปรกิ๊บ (Progibb)
   ผู้ผลิต : Abbott Laboratories Co., Ltd.(USA)
   ผู้จำหน่าย : Yip In Soi Co., Ltd. (Thailand)

ตารางที่ 5 ข้อมูลการนำเข้า GA_3 บริสุทธิ์จากต่างประเทศ
(รวบรวมโดยกองระดับราคา กรมศุลกากร กระทรวงการคลัง)

ปี พ.ศ.	ประเทศที่นำเข้า	มูลค่า (บาท)
2526	ญี่ปุ่น	720,304
2527	ญี่ปุ่น	143,000
2528	ญี่ปุ่น	1,103,220
2529	ญี่ปุ่นและสหรัฐอเมริกา	2,223,000
2530	ญี่ปุ่นและสหรัฐอเมริกา	3,975,884
2531 (มกราคมถึงเมษายน)	ญี่ปุ่นและสหรัฐอเมริกา	1,910,012

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ขั้นตอนการดำเนินงาน

1. เปรียบเทียบวิธีตรวจชนิดและปริมาณของ GA_3 GA_4 และ GA_7

1.1 วิธีทางชีวภาพ (bioassay)

1.2 วิธีทางเคมี (chemical assay)

2. คัดเลือกเชื้อรา Gibberella fukikuroi สายพันธุ์ที่เหมาะสมต่อการผลิตจิบเบอเรลลิน

3. หาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตจิบเบอเรลลิน โดยเชื้อราสายพันธุ์ที่คัดเลือกแล้วในระดับขวดเขย่า รวมทั้งการหาแหล่งอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อที่มีราคาถูกและหาง่ายในประเทศ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย