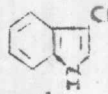
หอสมุดกลาง
จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

ฮอร์โมนเป็นสารเคมีที่เซลหรือกลุ่มของเซลสร้างขึ้น มีผลทางสรีระวิทยาเฉพาะอย่างต่อระบบต่าง ๆ ของสิ่งที่มีชีวิต ฮอร์โมนมีโครงสร้างทางเคมีเป็นโปรตีน อนุพันธ์ (derivative) ของโปรตีนและกรดอะมิโน (Guytom, 1971) ฮอร์โมนปริมาณเพียงเล็กน้อย ก็สามารถทำให้เกิดผลทางสรีระวิทยาที่เห็นได้ชัด Charles Darwin ได้กล่าวถึงการเจริญเติบโตของพืช และฮอร์โมนของพืชไว้ในหนังสือ The Power of Movement in Plants ซึ่งเป็นครั้งแรกของการกล่าวถึงวิทยาการด้านนี้ และ Went ค้นพบฮอร์โมนธรรมชาติของพืชจำพวกแรกคือ auxin ตั้งแต่ปี 1928 เขาได้ทดลองเกี่ยวกับบทบาทของ auxin ต่อการเจริญของพืชไว้มาก จนในที่สุดได้มีการตั้งทฤษฎีพื้นฐานของ auxin ขึ้นมา ตลอดจนพบเทคนิคที่จะสะกัด auxin และเทคนิคในการวิเคราะห์ปริมาณของ auxin จากพืช (Leopold, 1955)

Leopold และ Kriedemann (1975) รายงานว่า auxin ควบคุมการเจริญหลายอย่างในพืช เช่น การเจริญและเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซล ควบคุมการแตกตาข้าง มีอิทธิพลต่อระบบสืบพันธุ์ เช่น การออกดอก ติดผล การเจริญเติบโตของผล และการเจริญของต้นอ่อนที่อยู่ภายในเมล็ด ควบคุมการร่วงของใบ ดอก หรือผลได้ และที่เห็นชัดก็คือ auxin ควบคุมทิศทางการเจริญของส่วนต่าง ๆ ของพืช และปริมาณของ auxin ก็เป็นสิ่งสำคัญที่จะกระตุ้น หรือยับยั้งการเจริญที่กล่าวมาแล้วได้

Indole acetic acid หรือชื่อย่อว่า IAA เป็นฮอร์โมนที่สำคัญตัวหนึ่งที่พบในพวก auxin มีสูตรเคมี  พบได้ในเนื้อเยื่อเจริญต่าง ๆ ของพืช วิเคราะห์ได้โดยใช้คุณสมบัติทาง Chromatography ทดสอบสี และการสะกัดโดยการตกผลึก นอกจาก indole acetic acid แล้ว ยังมี indole auxin อื่น ๆ อีก ที่สามารถเปลี่ยนไปเป็น indole acetic acid ได้ เช่น indole acetaldehyde indole acetonitrile และ ethyl indole acetate สารพวก indole auxin เหล่านี้ จะกระตุ้นการเจริญของพืชได้ก็ต่อเมื่อถูกเปลี่ยนไปเป็น indole acetic acid แล้ว (Bidwell, 1974)

ได้มีการศึกษาถึงผลของ indole acetic acid ต่อการเจริญของพืชกันมานานกว่า 40 ปี แล้ว พบว่า indole acetic acid มีผลต่อพืชได้หลายอย่าง เช่น มีผลต่อผนังเซล การลำเลียงน้ำเข้าเซล ขบวนการเผาผลาญอาหาร การสังเคราะห์แสง ตลอดจนการขยายตัวของเซล (Bidwell, 1974)

Andreae และ Ysselstein (1956) ได้ศึกษากับชิ้นส่วนที่อยู่เหนือใบเลี้ยงของ Alaska pea พบว่าชิ้นส่วนพืชสามารถดูด IAA เข้าในเนื้อเยื่อได้ และบางส่วนจะถูกเปลี่ยนไปเป็นอนุพันธ์ของ IAA ตัวที่สำคัญได้แก่ 3-indole acetyl aspartic acid และ 3-indole acetamide และเขายังเชื่อว่าการสร้างอนุพันธ์เหล่านี้ เป็นขบวนการลดอันตราย (detoxification) จาก IAA เนื่องจากถ้ามี IAA ในเนื้อเยื่อมากเกินไป จะเป็นอันตรายต่อพืช

Haber (1961) ทำการทดลองกับเมล็ดผักกาด (Lactuca sativa L., cultivar New York) ที่กำลังอยู่ในระยะพักตัว และเมล็ดข้าวสาลี (Triticum vulgare) โดยเพาะให้งอกแล้วใช้ส่วนต่าง ๆ ของต้นอ่อนไปทดลอง ผลการทดลองทำให้เขาคิดว่า ผนังเซลไม่น่าจะเป็นจุดเดียวที่สำคัญที่สุดของปฏิกริยาของ IAA และได้สรุปว่า IAA สามารถที่จะมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชทั้งต้นได้ 2 อย่าง คือ อาจช่วยกระตุ้นหรือยับยั้งการเจริญของพืช ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของ IAA โดยทำให้เซลยืดตัวโดยไม่เกี่ยวข้องกับการแบ่งเซล หรือ IAA อาจจะไปมีผลต่อการกระตุ้นหรือยับยั้งการแบ่งเซล โดยที่ไม่เกี่ยวข้องกับการยืดตัวของเซลเลยก็ได้

Wright (1961) ศึกษาการตอบสนองของเยื่อหุ้มยอดอ่อนข้าวสาลี ต่อ gibberellic acid, kinetin และ IAA พบว่าเยื่อหุ้มยอดอ่อนข้าวสาลีอายุ 18, 30, 54และ66 ชั่วโมงจะตอบสนองได้สูงสุดต่อ gibberellic acid เป็นอันดับแรกที่อายุ 18 ชั่วโมง ต่อมาจะตอบสนองต่อ kinetin ที่อายุ 30 ชั่วโมง และตอบสนองต่อ IAA ความเข้มข้น 10^{-4} M เป็นอันดับสุดท้ายที่อายุ 54 ชั่วโมง

Wright (1966) ศึกษาเยื่อหุ้มยอดอ่อนข้าวสาลีอย่างละเอียดอีกครั้งหนึ่ง ก็ได้ผลเช่นเดียวกับเมื่อปี 1961 เขาจึงสรุปว่าเยื่อหุ้มยอดอ่อนข้าวสาลีที่ยังอ่อนอยู่ ซึ่งมีอัตราการเจริญต่ำ จะตอบสนองต่อ gibberellic acid และ kinetin ได้ดี ส่วนเยื่อหุ้มยอดอ่อนที่มีอายุมากขึ้น ซึ่งมีอัตราการเจริญสูง

จะตอบสนองต่อ IAA ได้ดี และพบอีกว่าสารที่แพร่ออกจากใบแรกของเยื่อหุ้มยอดอ่อนข้าวสาลีที่ติดอยู่กับชิ้นส่วนเยื่อหุ้มยอดอ่อนที่ใช้ในการทดลอง ไม่มีผลต่อการตอบสนองต่อฮอร์โมนต่าง ๆ ของเยื่อหุ้มยอดอ่อน

Wada และพวก (1968) ทำการทดลองกับข้าวโอ๊ต (Avena sativa) โดยนำเยื่อหุ้มยอดอ่อนข้าวโอ๊ตไปใส่ในสารละลายที่มี enzyme β-1, 3-glucanase ซึ่งเตรียมจาก รา Sclerotinia libertiana ปรากฏว่า enzyme นี้ สามารถชักนำให้เกิดการยืดตัวของเยื่อหุ้มยอดอ่อนข้าวโอ๊ตได้ ทำให้เขาเข้าใจว่าการย่อย hemicellulosic polysaccharides บางตัว ซึ่งอาจจะเป็น β-1, 3-glucan อาจนำไปสู่การทำให้ force หรือ bond ต่าง ๆ ใน cell wall matrix อ่อนแรงลง และทำให้เกิดการยืดตัวออกไปได้

Rayle (1973) ได้ทำการทดลองเกี่ยวกับการที่ IAA ชักนำให้เกิดการ secrete ไฮโดรเจนอิออน ออกมาของเยื่อหุ้มยอดอ่อนข้าวโอ๊ต เขาพบว่าการใช้เยื่อหุ้มยอดอ่อนข้าวโอ๊ตที่ลอกเอา epidermis ซึ่งมี cuticle อยู่ออก ทำให้ IAA สามารถกระตุ้นให้เกิดการ secrete ไฮโดรเจนอิออน ออกมาได้เร็วขึ้น (ภายในเวลา 20-30 นาที) ซึ่งเพียงพอที่จะทำให้เกิดการขยายตัวของเซลขึ้นได้อย่างรวดเร็ว

Durand และ Rayle (1973) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการที่ IAA ชักนำให้เกิดการ secrete ไฮโดรเจนอิออน ในส่วนที่เกี่ยวข้องกับ epidermis พบว่าเยื่อหุ้มยอดอ่อนข้าวโอ๊ตที่ลอกเอา epidermis ออกแล้ว จะตอบสนองต่อ IAA เฉพาะเมื่อใช้ buffer ที่มีความเข้มข้นน้อยกว่า 5mM ที่ pH 6.2 ซึ่งการยับยั้งการชักนำให้เกิดการเจริญของ IAA นี้ เขาคิดว่าขึ้นอยู่กับ buffer capacity และการ secrete ไฮโดรเจนอิออน สำคัญต่อการชักนำให้เกิดการอ่อนตัวลงของผนังเซล (cell wall loosening) ของ IAA

Gawlik และ Shen-Miller (1974) พบว่าเมื่อแช่เยื่อหุ้มยอดอ่อนข้าวโอ๊ตใน IAA-sucrose phosphate buffer จะทำให้จำนวน dictyosomes ในเซลที่กำลังยืดตัวลดลง เพราะ IAA ไปทำให้ กิจกรรม ของ dictyosomes เพิ่มขึ้น

Nakamura และพวก (1975) ทำการทดลองกับ Alaska pea hook โดยใช้เทคนิค stress-relaxation analysis พบว่า IAA จะไปเพิ่มการขยายตัวของ ผนังเซล และกระตุ้นการยืดตัวของ hook section

Nevins (1975) พบว่าการให้ IAA กับเยื่อหุ้มยอดอ่อนข้าวโอ๊ต จะทำให้สารประกอบประเภท glucose ซึ่งไม่ใช่ cellulose ของ ผนังเซล ลดลง

Beasley (1977) พบว่า ovule ของฝ้ายที่ยังไม่ได้ผสม ซึ่งเลี้ยงในอาหารเหลวจะสร้างเส้นใยเมื่อมี IAA ในอาหารเหลวนั้นด้วย และ ovule จะตอบสนองต่อ IAA ความเข้มข้น 5 uM แตกต่างกันตั้งแต่ 0 เปอร์เซ็นต์ที่ 28 องศาเซลเซียสถึง 100 เปอร์เซ็นต์ที่ 34 องศาเซลเซียส

การทดลองต่าง ๆ ที่ผ่านมา ส่วนมากจะพบว่า IAA ทำให้เกิดการยืดตัวของส่วนที่ได้รับสารนี้ มากกว่าส่วนที่ไม่ได้รับ แต่การศึกษาทางกายวิภาคของส่วนที่ได้รับ IAA ยังไม่กว้างขวางเท่าที่ควร

วิทยานิพนธ์นี้จึงมีจุดมุ่งหมายที่จะศึกษาถึงกายวิภาคของการเจริญเติบโตของเยื่อหุ้มยอดอ่อน โดยเลือกใช้ข้าวโพดพันธุ์โบกอร์ 2 (Zea mays L.cultivar Bogor2) ซึ่งยังไม่พบรายงานการทดลอง การทดลองส่วนมากที่พบมักจะใช้ข้าวสาลี ข้าวโอ๊ต และพืชตระกูลถั่ว นอกจากนี้การใช้ส่วนที่เป็นเยื่อหุ้มยอดอ่อนทดลองในการศึกษาครั้งนี้ เนื่องจากเยื่อหุ้มยอดอ่อนเป็นอวัยวะที่ไม่ซับซ้อน จึงสะดวก และเหมาะสมสำหรับการศึกษาและสามารถเห็นผลได้ชัด การศึกษาเกี่ยวกับ IAA แบ่งหัวข้อการทดลองดังต่อไปนี้

1. ศึกษาอัตราการเจริญของเยื่อหุ้มยอดอ่อนข้าวโพดที่อายุต่าง ๆ กัน เพื่อหาอายุที่เหมาะสมที่จะใช้ทดลอง

2. หาสภาพที่เหมาะสม (optimal condition) สำหรับการทดลองด้วย IAA ได้แก่

   2.1 สภาพความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมของสารละลายที่ใช้แช่เยื่อหุ้มยอดอ่อนข้าวโพดในการทดลอง

   2.2 ความเข้มข้นที่เหมาะสมของ IAA

   2.3 ช่วงเวลาทดลองที่เหมาะสม

นอกจากนี้ยังได้ศึกษาทางกายวิภาคของเยื่อหุ้มยอดอ่อนข้าวโพดโดยวิธีลอก epidermis ตัด section ตามยาว และวัดขนาดของเซลด้วย