ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ผลของแสงและน้ำตาลต่อการสะสมแอนโทไซยานินและการเกิดสีแดงในเปลือกผลมะม่วงพันธุ์มหาชนก (*Mangifera indica* Linn. cv. Mahajanaka)

ผู้เขียน นางสาว กัญญารัตน์ เหลืองประเสริฐ

ปริญญา วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (ชีววิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผศ. ดร. จำนงค์ อุทัยบุตร	ประธานกรรมการ
ผศ. ดร. กอบเกียรติ แสงนิล	กรรมการ
ศ. ดร. โอซามุ อะราคาวะ	กรรมการ

บทคัดย่อ

สีแดงของเปลือกผลมะม่วงพันธุ์มหาชนกเป็นเอกลักษณ์ที่สำคัญซึ่งมีผลต่อคุณภาพของผลมะม่วงและการยอมรับของผู้บริโภค สีแดงเกิดจากการสะสมของแอนโทไซยานิน ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการสังเคราะห์และสะสมแอนโทไซยานินคือ แสงและน้ำตาล ดังนั้นในการทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์ดังนี้ 1) เพื่อศึกษาผลของแสงอาทิตย์ต่อการสะสมแอนโทไซยานินและการเกิดสีแดงในเปลือกผลมะม่วงพันธุ์มหาชนก 2) เพื่อศึกษาผลของแสงและน้ำตาลหลายชนิดต่อการสะสมแอนโทไซยานินและการเกิดสีแดงของเปลือกผลมะม่วงพันธุ์มหาชนกระหว่างการพัฒนา และ 3) เพื่อศึกษาการเกิดสีแดงและการกระจายตัวของแอนโทไซยานินในเปลือกผลมะม่วงพันธุ์มหาชนกระหว่างการพัฒนา

การศึกษาผลของแสงอาทิตย์ต่อการสะสมแอนโทไซยานินและการเกิดสีแดงในเปลือกผลมะม่วงพันธุ์มหาชนก โดยแบ่งเปลือกผลเป็น 3 กลุ่มตามสภาวะแสงที่แตกต่างกันคือ 1) กลุ่มที่ได้รับแสงอาทิตย์ (เปลือกผลด้านที่หันไปรับแสงอาทิตย์) 2) กลุ่มในร่ม (เปลือกผลด้านที่หันหนีจากแสงอาทิตย์) และ 3) กลุ่มที่ไม่ได้รับแสง (เปลือกผลที่ได้จากผลที่ได้รับการห่อด้วยถุงกระดาษ 2 ชั้น) เก็บผลทุก 7 วันตั้งแต่ผลอายุ 70 วันหลังดอกบานจนกระทั่งผลแก่ที่อายุ 126 วันหลังดอกบาน จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเปลือกผลด้านที่รับแสงอาทิตย์มีการเพิ่มขึ้นของแอคติวิตีของเอนไซม์ฟีนิลอะลานีนแอมโมเนีย-ไลเอส ปริมาณน้ำตาลภายใน (น้ำตาลรีดิวส์ และน้ำตาลทั้งหมด)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

และการสะสมของแอนโทไซยานินมากกว่าเปลือกผลด้านที่ไม่ได้รับแสงอาทิตย์และด้านในร่มแสงอาทิตย์ไม่มีผลต่อรูปแบบของแถบโปรตีนของเปลือกผลมะม่วงพันธุ์มหาชนกทั้งด้านที่ได้รับแสงอาทิตย์ ด้านในร่ม และด้านที่ไม่ได้รับแสงตลอดการพัฒนาของผล

การศึกษาผลของแสงอาทิตย์ร่วมกับการให้น้ำตาลหลายชนิดต่อการสะสมของแอนโทไซยานินและการเกิดสีแดงของเปลือกผลมะม่วงพันธุ์มหาชนกในระหว่างการพัฒนา โดยแบ่งผลมะม่วงเป็น 9 กลุ่มคือ ได้รับน้ำตาลที่แตกต่างกัน 4 ชนิดคือ ซูโครส ฟรักโทส กลูโคส และกาแล็กโทส ชนิดละ 2 ความเข้มข้นคือ 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักโดยปริมาตรและชุดควบคุม ผลมะม่วงได้รับสารละลายน้ำตาลเมื่อผลอายุ 77, 84 และ 91 วันหลังดอกบาน และเริ่มเก็บผลทุก 7 วันตั้งแต่ผลอายุ 98-119 วันหลังดอกบาน แบ่งเปลือกผลมะม่วงเป็น 2 ส่วนตามสภาวะที่ได้รับแสง คือ 1) ด้านที่ได้รับแสงอาทิตย์ 2) ด้านในร่ม เพื่อนำไปวิเคราะห์ผล จากผลการทดลองพบว่าแสงอาทิตย์ชักนำการเพิ่มแอคติวิตีของเอนไซม์ฟีนิลอะลานีนแอมโมเนีย-ไลเอส ขณะที่การให้น้ำตาลเพิ่มการสะสมของน้ำตาลภายในเปลือกผล โดยชุดการทดลองที่ส่งผลให้มีการเพิ่มขึ้นของการเกิดสีแดง แอคติวิตีของเอนไซม์ฟีนิลอะลานีนแอมโมเนีย-ไลเอส ปริมาณน้ำตาลภายใน และการสะสมของแอนโทไซยานิน คือ ชุดการทดลองที่ให้น้ำตาลฟรักโทส 10 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักโดยปริมาตร รองลงมาคือ ซูโครส 10 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักโดยปริมาตร และ ฟรักโทส 5 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักโดยปริมาตรตามลำดับ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเปลือกผลด้านที่ได้รับแสงอาทิตย์มีการตอบสนองในการสร้างสีแดงดีกว่าเปลือกผลด้านในร่ม นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์ระหว่างการสะสมของแอนโทไซยานินกับการเพิ่มขึ้นของปริมาณฟลาโวนอลในเปลือกผลด้านที่ได้รับแสงมากกว่าในเปลือกผลด้านในร่ม อย่างไรก็ดีแสงอาทิตย์และน้ำตาลจากภายนอกไม่ส่งผลต่อรูปแบบของโปรตีนของเปลือกมะม่วงเมื่อเทียบกับชุดควบคุม

จากการติดตามการเกิดสีแดงและการกระจายตัวของแอนโทไซยานินในเปลือกผลมะม่วงพันธุ์มหาชนกระหว่างการเจริญของผล โดยแบ่งเปลือกผลเป็น 3 กลุ่มตามสภาวะแสงที่แตกต่างกัน (เช่นเดียวกับการทดลองที่ผ่านมา) คือ 1) กลุ่มที่ได้รับแสงอาทิตย์ 2) กลุ่มในร่ม และ 3) กลุ่มที่ไม่ได้รับแสงอาทิตย์ เก็บผลทุก 7 วันในระหว่างที่ผลมีอายุ 70 ถึง 126 วันหลังดอกบาน จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่ารงควัตถุของแอนโทไซยานินมีการกระจายตัวเฉพาะในด้านที่ได้รับแสงอาทิตย์เท่านั้น โดยเปลือกผลเริ่มสะสมแอนโทไซยานินตั้งแต่อายุ 84 วันหลังดอกบานและมีการสะสมเพิ่มมากที่สุดเมื่อผลอายุ 112 วันหลังดอกบาน ซึ่งเมื่อนำเนื้อเยื่อเปลือกผลที่ตัดตามขวางไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดเลนส์ประกอบพบว่ามีการกระจายตัวของแอนโทไซยานินอยู่ที่บริเวณ 1-3 แถวชั้นนอก ซึ่งประกอบด้วยเอพิเดอร์มิสและเซลล์พาเรนไคมา เมื่อนำเนื้อเยื่อเปลือก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ผลที่ตัดตามยาวมาศึกษาพบว่าเซลล์ที่มีการกระจายตัวของแอนโทไซยานินมีมากถึง 68.3 เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตรเมื่อผลอายุ 112 วันหลังดอกบาน โดยเปลือกผลด้านในร่มและด้านที่ไม่ได้รับแสงอาทิตย์ไม่พบการเกิดสีแดงตลอดการพัฒนาของผล

จากผลการทดลองทั้งหมดของการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า แสงอาทิตย์เพิ่มการพัฒนาสีแดงของเปลือกผล โดยชักนำการเพิ่มแอคติวิตีของเอนไซม์ฟีนิลอะลานีนแอมโมเนีย-ไลเอส ซึ่งเป็นเอนไซม์หลักของการสังเคราะห์แอนโทไซยานินโดยตรง รวมทั้งแสงอาทิตย์เพิ่มการสะสมของน้ำตาลภายใน ซึ่งชักนำให้เกิดการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน การให้น้ำตาลจากภายนอกมีผลโดยอ้อมต่อการพัฒนาสีแดงของเปลือกผล โดยน้ำตาลจากภายนอกไปเพิ่มการสะสมของน้ำตาลภายในซึ่งอาจจะไปชักนำการแสดงออกของยีนของเอนไซม์ฟีนิลอะลานีนแอมโมเนีย-ไลเอส และการเพิ่มของปริมาณแอนโทไซยานิน สำหรับการให้แสงอาทิตย์ควบคู่กับน้ำตาลจากภายนอกทำให้มีการสร้างสีแดงได้ดีกว่าการให้แสงอาทิตย์หรือน้ำตาลจากภายนอกเพียงอย่างเดียว ทั้งนี้การพัฒนาสีแดงสามารถสังเกตเห็นในเปลือกผลมะม่วงพันธุ์มหาชนกด้านที่ได้รับแสงอาทิตย์เท่านั้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title Effects of Light and Sugars on Anthocyanin Accumulation and Red Coloration in the Exocarp of Mahajanaka Mango (*Mangifera indica* Linn. cv. Mahajanaka)

Author Miss Kanyarat Lueangprasert

Degree Doctor of Philosophy (Biology)

Thesis Advisory Committee
Asst. Prof. Dr. Jamnong Uthaibutra — Chairperson
Asst. Prof. Dr. Kobkiat Saengnil — Member
Prof. Dr. Osamu Arakawa — Member

ABSTRACT

The red color of the 'Mahajanaka' mango fruit exocarp is a unique characteristic that affects its quality and consumer acceptance. The red color is caused by anthocyanin accumulation. Important factors affecting anthocyanin synthesis and subsequent accumulation are light and available sugars. Therefore, the objectives of this experiment are as follows: 1) to study the effects of sunlight on anthocyanin accumulation and red coloration in 'Mahajanaka' mango fruit exocarp, 2) to study the effects of light and various types of sugars on anthocyanin accumulation and red coloration in 'Mahajanaka' mango fruit exocarp during development, and 3) to study the red color appearance and anthocyanin distribution in 'Mahajanaka' mango fruit exocarp during development.

The effects of sunlight on anthocyanin accumulation and red coloration in 'Mahajanaka' mango fruit exocarp were examined. Mango exocarps from three different light condition groups; 1) exposed group; exocarp sample taken from the side of a fruit facing towards the sunlight, 2) shaded group; exocarp sample taken from the side of a fruit facing away from the sunlight and 3) non-exposed group; exocarp sample taken from the side of a fruit bagging with two layers paper bag were used for this study. Mango fruits were harvested at 7 day intervals starting 70 days after full bloom (DAFB) until fruit maturity at 126 DAFB. The results of this experiment expressed that the exposed side of the fruit exocarp had higher increases of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) activity, endogenous sugars content (reducing sugar and total sugar) and anthocyanin accumulation than the non-exposed and shaded sides. Sunlight did not affect protein patterns of the exposed, shaded and non-exposed sides of 'Mahajanaka' mango fruit exocarp throughout fruit development.

The combined effects of sunlight and various sugar applications on anthocyanin accumulation and red coloration in 'Mahajanaka' mango fruit exocarp during development were studied. Mango fruits were divided into 9 groups,

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

comprised of four different sugar type treatments (sucrose, fructose, glucose and galactose) at 2 different concentrations (5 and 10 % (weight by volume; w/v)) with non-treated fruit as the control. The fruits were dipped once at 77, 84 and 91 DAFB and exocarp samples were analyzed at 7 day intervals from 98 to 119 DAFB. The exocarp of each fruit was divided into two parts based on light exposure: 1) exposed side and 2) shaded side, for data analysis. It was found that, sunlight induced an increase of PAL enzyme activity while sugar applications enhanced the endogenous sugar accumulation within the fruit exocarp. The most effective exogenous sugar treatments for increasing red coloration, PAL activity, all endogenous sugar contents and anthocyanin accumulation were; 10 % (w/v) fructose, 10 % (w/v) sucrose and 5 % (w/v) fructose, respectively. In particular, the response of red coloration on the exposed fruit exocarp was greater than the shaded fruit exocarp. Moreover, a distinct correlation between anthocyanin accumulation and an increase of flavonol content was observed in the exposed fruit exocarp more than in shaded fruit exocarp. However, sunlight and exogenous sugars did not affect protein patterns of mango fruit exocarp when compared to the control.

Red color appearance and anthocyanin distribution in ‘Mahajanaka’ mango fruit exocarp during fruit development were investigated. The fruit exocarps were divided into three different light condition groups (the same as the previous experiment); 1) exposed group, 2) shaded group and 3) non-exposed group. Sample fruits were harvested at 7 day intervals between 70 and 126 DAFB. These results demonstrated that anthocyanin pigment was distributed only on the exposed side. Anthocyanin began to accumulate when the fruit age was 84 DAFB and increased to the highest amount at 112 DAFB. Under compound microscopic study of fruit exocarp cross sections, it was found that the anthocyanin distribution could be found within the outer 1-3 rows, consisting of epidermis and parenchyma cells. In longitudinal section, the number of anthocyanin containing cells of exposed exocarp was 68.3 cell mm^{-2} at 112 DAFB. Furthermore, the shaded and non-exposed sides of fruit exocarps did not develop red color formation throughout fruit development.

The overall results of this study suggested that, sunlight increased red color development of the fruit exocarp by directly inducing an increase of PAL activity, which was the key enzyme of anthocyanin synthesis. Further, sunlight also enhanced endogenous sugar accumulation which induced the anthocyanin biosynthesis pathway. Exogenous sugar application showed an indirect effect on the red color development of fruit exocarp. The exogenous sugars increased endogenous sugar accumulation, which probably induced the gene expression of PAL enzyme and the increase of anthocyanin content. The application of sunlight concurrently with exogenous sugars caused greater red color formation than sunlight or exogenous sugar application alone. Red color development was only observed in the exposed side of ‘Mahajanaka’ mango fruit exocarp.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved