การเจริญเติบโตและพัฒนาการของส้มโชกุน (*Citrus reticulata* Blanco cv. Shogun) บนต้นตอส้มบางชนิด

Growth and Development of Shogun (*Citrus reticulata* Blanco cv. Shogun) on some Rootstock Species

มาลี สะสมศักดิ์

Malee Sasomsak

Order Key 20426
BIB Key 161205

เลขหมู่ QK1660 .M64
เลขทะเบียน 35411 ว. 2
8 ก.ค. 2542

วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Master of Science Thesis in Plant Science
Prince of Songkla University
2541

ชื่อวิทยานิพนธ์ การเจริญเติบโตและพัฒนาการของส้มโชกุน(*Citrus reticulata* Blanco cv. Shogun) บนต้นตอส้มบางชนิด

ผู้เขียน นางสาวมาลี สะสมศักดิ์

สาขาวิชา พืชศาสตร์

คณะกรรมการที่ปรึกษา

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์มงคล แซ่หลิม)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. สมปอง เตชะโต)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์มงคล แซ่หลิม)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. สมปอง เตชะโต)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.สายัณห์ สดุดี)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทวีศักดิ์ ศักดิ์นิมิต)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร. ก้าน จันทร์พรหมมา)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์ การเจริญเติบโตและพัฒนาการของส้มโชกุน (*Citrus reticulata* Blanco cv. Shogun) บนต้นตอส้มบางชนิด

ผู้เขียน นางสาวมาลี สะสมศักดิ์

สาขาวิชา พืชศาสตร์

ปีการศึกษา 2541

บทคัดย่อ

ทำการต่อกิ่งส้มโชกุนบนต้นตอส้ม 8 ชนิด คือ ส้มเขียวหวาน (*Citrus reticulata* Blanco.) มะสัง (*Feroniella lucida* Swing.) ส้มฟรีมองต์ (*Citrus reticulata* Blanco.), มะกรูด (*Citrus hystrix* DC.) ส้มซ่า (*Citrus aurantium* Linn.) ส้มโอ (*Citrus maxima* Merr.) มะขวิด (*Feronia limonia* Swing.) และมะนาว (*Citrus aurantifolia* Swing.) ศึกษาเปอร์เซ็นต์ความสำเร็จในการต่อกิ่ง การเจริญของส้มโชกุนภายหลังการต่อกิ่งเป็นเวลา 5 เดือน โดยวัดจำนวนใบ จำนวนกิ่ง เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น ความสูงของลำต้น ศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ ที่ระยะ 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง และศึกษาอิทธิพลของต้นตอที่มีต่อกิ่งเลี้ยงส้มโชกุนหลังการต่อกิ่งโดยใช้ระบบไอโซไซม์ 4 ระบบ คือ เปอร์ออกซิเดส เอสเตอเรส แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส และฟอสโฟกลูโคมิวเทส บนตัวกลางเจลอะคริลาไมด์ความเข้มข้น 7, 10 และ 12 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองพบว่า ส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มเขียวหวาน มะสัง ส้มฟรีมองต์ มะกรูด ส้มซ่า ส้มโอ มะขวิด และมะนาว มีเปอร์เซ็นต์ความสำเร็จในการต่อกิ่งเท่ากับ 96, 88, 90, 90, 94, 94, 90 และ 68 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จำนวนใบและเส้นผ่าศูนย์กลางส้มโชกุนบนต้นตอมะสังมีค่าเฉลี่ยสูงสุด 5.02 ใบ และ 1.82 มิลลิเมตร ตามลำดับ ความสูงของส้มโชกุนบนต้นตอมะกรูดมีค่าเฉลี่ยสูงสุด 2.06 เซนติเมตร ต้นตอส้มเขียวหวานให้จำนวนกิ่งส้มโชกุนสูงสุด 2.2 กิ่ง

การศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของรอยต่อ พบว่า ส้มโชกุนบนต้นตอส้มเขียวหวานและส้มฟรีมองต์ มีการสร้างแคลลัสได้ดีที่สุดในเวลา 2 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง ส้มโชกุนบนต้นตอส้มโชกุนเกิดแคลลัสและมีการพัฒนาการไปเป็นเนื้อเยื่อเจริญได้ดีที่สุดในเวลา 4 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง รอยต่อของต้นตอส้มซ่า ส้มโอ มะขวิด และมะนาว มีการพัฒนาของแคลลัส

ไปเป็นเนื้อเยื่อเจริญใหม่ในเวลา 6 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง และส้มโชกุนบนต้นตอส้มทุกชนิดมีพัฒนาการของเนื้อเยื่อเจริญใหม่ตรงรอยต่ออย่างสมบูรณ์ ในขณะที่ต้นตอส้มเขียวหวานมีพัฒนาการของเนื้อเยื่อเจริญและเริ่มมีการสร้างท่อน้ำใหม่ในเวลา 8 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง

การศึกษาระบบไอโซไซม์ 4 ระบบ คือ เปอร์ออกซิเดส เอสเตอเรส แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส และฟอสโฟกลูโคมิวเทส พบว่า ระบบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสเหมาะสมที่สุดในการใช้บ่งชี้ถึงอิทธิพลของต้นตอต่อกิ่งเลี้ยงส้มโชกุนที่นำมาต่อกิ่ง ความเข้มข้นของเจลอะคริลาไมด์ 10 เปอร์เซ็นต์มีความเหมาะสมที่สุด หลังการต่อกิ่งที่ระยะเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ สามารถตรวจสอบความแตกต่างของไซโมแกรมได้ในต้นตอมะสัง ส้มฟรีมองต์ และส้มซ่า ในขณะที่ระยะเวลา 6 และ 8 สัปดาห์ มีความแตกต่างของเอนไซม์ชัดเจน แสดงว่า มีอิทธิพลของต้นตอต่อกิ่งเลี้ยงเห็นได้ชัดเจน โดยต้นตอมะกรูดมีรูปแบบเอนไซม์เปลี่ยนแปลงหลังจากการต่อกิ่งกับส้มโชกุน ส่วนต้นตอมะขวิดทำให้กิ่งเลี้ยงส้มโชกุนมีรูปแบบเอนไซม์เปลี่ยนแปลงไปหลังการต่อกิ่ง ในขณะที่ต้นตอมะสัง ส้มฟรีมองต์ และส้มซ่ามีรูปแบบเอนไซม์เปลี่ยนแปลงไปทั้งส่วนของกิ่งเลี้ยง(ส้มโชกุน) และส่วนใต้รอยต่อ(ต้นตอ) ซึ่งแสดงถึงปฏิสัมพันธ์ของทั้งต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีที่มีต่อกัน

Thesis Title	Growth and Development of Shogun (*Citrus reticulata* Blanco cv. Shogun) on some Rootstock Species
Author	Miss Malee Sasomsak
Major Program	Plant Science
Academic Year	1998

Abstract

Grafting of shogun was carried out on eight rootstock species, Som Khieo Wann (*Citrus reticulata* Blanco.), Ma Sang (*Feroniella lucida* Swing.), Fremont (*Citrus reticulata* Blanco.), Ma Kruut (*Citrus hystrix* DC.), Som Sa (*Citrus aurantium* Linn.), Pomelo (*Citrus maxima* Merr.), Ma Khwit (*Feronia limonia* Swing.) and Lime (*Citrus aurantifolia* Swing.). The percentage of grafting success and development of Shogun after 5 months of grafting were measured by determining leaf and branch number, stem diameter and height on the rootstocks. Histological study of graft union of Shogun on various rootstock species at 2, 4, 6 and 8 weeks after grafting was also investigated. An effect of rootstock on scion of Shogun was studied by using four isozyme systems, (1. peroxidase, 2. esterase, 3. alcoholdehydrogenase and 4. phosphoglucomutase) on acrylamide gel at the concentrations of 7, 10 and 12 %.

The results showed that the percentage of grafting success of Shogun on Som Khieo Wann, Ma Sang, Fremont, Ma Kruut, Som Sa, Pomelo, Ma Khwit and Lime was 96, 88, 90, 90, 94, 94, 90 and 68 % ,respectively. The average number of leaves and stem diameter of Shogun on Ma Sang rootstock were 5.02 leaves and 1.82 mm, respectively. The height of Shogun on Ma Kruut rootstock was the greatest (2.06 cm). Som Khieo Wann rootstock provided the best result with the number of Shogun branches of 2.2.

Histological study revealed that Shogun on Som Khieo Wann and Fremont showed the best result in callus formation at 2 weeks after grafting. The Shogun on Shogun rootstock produced the best of callus and developed new cambium at 4 weeks after grafting. Graft union of Shogun on Som Sa, Pomelo, Ma Khwit and Lime rootstock developed the new cambium at 6 weeks after grafting. Shogun scion on all rootstocks developed the new cambium completely while Som Khieo Wann developed the cambium and ready to produce secondary xylem at 8 weeks after grafting.

The study of four systems of isozyme showed that peroxidase gave the best result in indicating the effect of rootstock on Shogun scion. Furthermore the results also showed that acrylamide gel at concentration of 10% gave the best resolution of the enzyme. At 2 and 4 weeks after grafting there was different in zymogram patterns of the enzyme on Ma Sang Fremont and Som Sa rootstock. At 6 and 8 weeks after grafting zymogram patterns of the enzyme showed clearly different, indicating that rootstock play significant role on scion. The zymogram patterns of Ma Kruut rootstock and Shogun on Ma Khwit rootstock were altered after grafting. While the zymogram patterns of both Shogun itself and Ma Sang, Fremont and Som Sa used as rootstock were altered, indicating the interaction between rootstock and scion.

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์มงคล แซ่หลิม ประธานกรรมการที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร. สมปอง เตชะโต กรรมการที่ปรึกษา ที่กรุณาให้คำแนะนำในการค้นคว้าวิจัยและการเขียนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สายัณห์ สดุดี กรรมการผู้แทนคณะทรัพยากรธรรมชาติ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ทวีศักดิ์ ศักดิ์นิมิต กรรมการผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่กรุณาให้คำแนะนำและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อคุณแม่ คุณตาคุณยายและคุณย่า ที่เป็นกำลังใจในการศึกษาวิทยานิพนธ์ ขอขอบคุณพี่และน้องๆ ทุกคน ขอขอบคุณ คุณกฤษดา ดาวัลย์ ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์สนับสนุนเงินทุนในการวิจัย ตลอดจนเจ้าหน้าที่ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือเป็นอย่างดี

มาลี สะสมศักดิ์

สารบาญ

หน้า

บทคัดย่อ.....(3)
Abstract.....(5)
กิตติกรรมประกาศ.....(7)
สารบาญ.....(8)
รายการตาราง.....(9)
รายการภาพ.....(10)
บทที่
1 บทนำ.....1
บทนำต้นเรื่อง.....1
การตรวจเอกสาร.....3
วัตถุประสงค์.....9
2 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ.....10
3 ผล.....16
4 วิจารณ์ผลการทดลอง.....67
5 บทสรุป.....72
เอกสารอ้างอิง.....74
ภาคผนวก.....79
ประวัติผู้เขียน.....93

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ส่วนประกอบและความเข้มข้นของเจลอะคริลาไมด์ที่ใช้ในการศึกษาระบบเอนไซม์	15
2	ความสำเร็จในการต่อกิ่งส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ	16
3	ค่าเฉลี่ยจำนวนใบของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆในเวลา 5 เดือน	19
4	ค่าเฉลี่ยจำนวนกิ่งส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆในเวลา 5 เดือน	21
5	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆในเวลา 5 เดือน	23
6	ค่าเฉลี่ยความสูงของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆในเวลา 5 เดือน	26
7	การพัฒนาของเซลล์ตรงรอยต่อส้มโชกุนบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ	53
8	รูปแบบเอนไซม์จากเปลือกของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอ มะสัง.มะขวิด และส้มโอ	57

รายการภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ความสำเร็จในการต่อกิ่งส้มโชกุนบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ	17
2	ค่าเฉลี่ยจำนวนใบที่เพิ่มขึ้นของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ	20
3	ค่าเฉลี่ยจำนวนกิ่งที่เพิ่มขึ้นส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ	22
4	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นที่เพิ่มขึ้นของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ	24
5	ค่าเฉลี่ยความสูงที่เพิ่มขึ้นของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ	27
6	ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอส้มโชกุน (ก) และส้มเขียวหวาน (ข) อายุ 2 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง (X100)	29
7	ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอมะสัง (ก) และส้มฟรีมองต์ (ข) อายุ2 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง (X100)	30
8	ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอมะกรูด (ก) และส้มซ่า (ข) อายุ 2 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง (X100)	31
9	ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอส้มโอ (ก) และมะขวิด (ข) อายุ 2 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง (X100)	32
10	ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอมะนาว อายุ 2 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง (X100)	33
11	ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอส้มโชกุน (ก) และส้มเขียวหวาน (ข) อายุ 4 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง (X100)	35
12	ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอมะสัง (ก) และส้มฟรีมองต์ (ข) อายุ 4 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง (X100)	36

รายการภาพ(ต่อ)

ภาพที่ หน้า

13 ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอมะกรูด (ก) และส้มซ่า (ข) อายุ 4 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง (X100).....37

14 ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอส้มโอ (ก) และมะขวิด (ข) อายุ 4 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง (X100).....38

15 ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอมะนาว อายุ 4 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง (X100).....39

16 ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอส้มโชกุน (ก) และส้มเขียวหวาน (ข) อายุ 6 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง (X100).....41

17 ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอมะสัง (ก) และส้มฟรีมองต์ (ข) อายุ 6 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง (X100).....42

18 ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอมะกรูด (ก) และส้มซ่า (ข) อายุ 6 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง (X100).....43

19 ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอส้มโอ (ก) และมะขวิด (ข) อายุ 6 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง (X100).....44

20 ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอมะนาว อายุ 6 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง (X100).....45

21 ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอส้มโชกุน (ก) และส้มเขียวหวาน (ข) อายุ 8 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง (X100).....47

22 ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอมะสัง (ก) และส้มฟรีมองต์ (ข) อายุ 8 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง (X100).....48

23 ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอมะกรูด (ก) และส้มซ่า (ข) อายุ 8 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง (X100).....49

24 ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอส้มโอ (ก) และมะขวิด (ข) อายุ 8 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง (X100).....50

รายการภาพ(ต่อ)

ภาพที่ หน้า

25 ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอมะนาว
อายุ 8 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง (X100).....51

26 รูปแบบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส (ก) เอสเตอเรส (ข)
และอัลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส (ค) ของเปลือกลำต้นส้มโชกุนที่ต่อกิ่ง
บนต้นตอมะสัง (FR) มะขวิด (KU) และส้มโอ (PU)
อายุ 2 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง.....58

27 รูปแบบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสของเปลือกลำต้นส้มโชกุน
และต้นตอส้มเขียวหวาน (MA) มะกรูด (KR) และมะขวิด (KU)
อายุ 2 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง โดยทำการแยกเอนไซม์บนเจลความเข้มข้น
7 เปอร์เซ็นต์(ก) 10 เปอร์เซ็นต์(ข) และ 12 เปอร์เซ็นต์ ค).....60

28 รูปแบบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสของเปลือกลำต้นส้มโชกุน
และต้นตอมะสัง (FR) ส้มฟรีมองต์ (FE) และส้มซ่า (SA)
อายุ 2 สัปดาห์ หลังการต่อกิ่ง โดยทำการแยกเอนไซม์บนเจลความเข้มข้น
7 เปอร์เซ็นต์ (ก) 10 เปอร์เซ็นต์(ข) และ 12 เปอร์เซ็นต์(ค).....61

29 รูปแบบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสของเปลือกลำต้นส้มโชกุนและต้นตอ
ก) ส้มเขียวหวาน(MA) มะกรูด (KR) มะขวิด (KU)
ข) มะสัง (FR) ส้มฟรีมองต์ (FE) ส้มซ่า (SA)
ภายหลังการต่อกิ่งที่อายุ 2 สัปดาห์.....63

30 รูปแบบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสของเปลือกลำต้นส้มโชกุนและต้นตอ
ก) ส้มเขียวหวาน(MA) มะกรูด (KR) มะขวิด (KU)
ข) มะสัง (FR) ส้มฟรีมองต์ (FE) ส้มซ่า (SA)
ภายหลังการต่อกิ่งที่อายุ 4 สัปดาห์.....64

รายการภาพ(ต่อ)

ภาพที่ หน้า

31 รูปแบบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสของเปลือกลำต้นส้มโชกุนและต้นตอ
ก) ส้มเขียวหวาน(MA)มะกรูด (KR) มะขวิด (KU)
ข) มะสัง (FR) ส้มฟรีมองต์ (FE) ส้มซ่า (SA)
ภายหลังการต่อกิ่งที่อายุ 6 สัปดาห์.....65

32 รูปแบบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสของเปลือกลำต้นส้มโชกุนและต้นตอ
ก) ส้มเขียวหวาน(MA) มะกรูด (KR) มะขวิด (KU)
ข) มะสัง (FR) ส้มฟรีมองต์ (FE) ส้มซ่า (SA)
ภายหลังการต่อกิ่งที่อายุ 8 สัปดาห์.....66

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ส้ม (*Citrus* spp.) อยู่ในตระกูล Rutaceae มีแหล่งกำเนิดแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และแคว้นอัสสัมในประเทศอินเดีย ต่อมาได้แพร่กระจายไปยังแหล่งอื่นๆของโลก ส้มเป็นพืชตระกูลค่อนข้างใหญ่มีถึง 130 สกุลและ 1,500 ชนิด ผลผลิตมากเป็นอันดับสองรองจากองุ่น (มงคล แซ่หลิม, 2535 ; Samson, 1980) ส้มมีการเจริญเติบโตได้ดีในเขตร้อนและเขตกึ่งร้อนกึ่งหนาว ประเทศไทยจึงปลูกส้มได้ดี ประเทศที่ปลูกส้มเป็นอุตสาหกรรม ได้แก่ สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย และอิสราเอล เป็นต้น และปลูกได้ดีในบริเวณเส้นรุ้งที่ 45 องศาเหนือจนถึง 35 องศาใต้ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตประมาณ 25 องศาเซลเซียส ชอบดินร่วนปนทรายและมีอินทรีย์วัตถุสูง การระบายน้ำดี ดินควรเป็นกรดเล็กน้อย (นพรัตน์ บำรุงรักษ์, 2536) พืชตระกูลส้มที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย ได้แก่ ส้มเขียวหวานซึ่งปลูกมากที่จังหวัดปทุมธานี สระบุรี และแพร่ มะนาวปลูกมากที่จังหวัดเพชรบุรี สมุทรสาคร และนครศรีธรรมราช ส้มจุกปลูกมากที่จังหวัดสงขลาและนครศรีธรรมราช ส้มโชกุนปลูกมากที่จังหวัดยะลาและกระบี่ ส้มโอปลูกมากที่จังหวัดนครปฐม อุทัยธานี และชุมพร (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2540) ตลาดต่างประเทศที่สำคัญคือ ฮ่องกง สิงคโปร์ และมาเลเซีย การส่งออกส้มโอนำรายได้เข้าสู่ประเทศเป็นมูลค่า 56.1 ล้านบาทในปี พ.ศ. 2538 (เปรมปรี ณ สงขลา, 2540) และเพิ่มเป็น 66.4 ล้านบาทในปี พ.ศ. 2539 (นิวัตร์ ธรรมภิบาล และ ขนิษฐา วิเมศ, 2540)

ส้มโชกุน (*Citrus reticulata* Blanco cv. Shogun) จัดอยู่ในกลุ่มแมนดาริน เป็นส้มเขียวหวานพันธุ์หนึ่งที่กลายพันธุ์จากการปลูกด้วยเมล็ด พบครั้งแรกทางภาคใต้ของประเทศไทยที่จังหวัดยะลา จึงเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า เพชรยะลา ลักษณะทั่วไปมีขนาดผลใหญ่กว่าส้มเขียวหวานบางมดเล็กน้อย ลักษณะพิเศษคือ มีคุณภาพผลดี สีเนื้อเป็นสีส้ม เนื้อนิ่ม มีกลิ่นหอม และมีเปอร์เซ็นต์น้ำส้มสูง (มงคล แซ่หลิม, 2535) เป็นที่นิยมบริโภคกันมากในปัจจุบัน แต่ปัญหาหลักในการปลูกส้มโดยทั่วไปคือ โรคและแมลงทำความเสียหายแก่ต้นส้ม โดยเฉพาะปัญหาเรื่องโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส เช่น โรคทริสเตซาและโรคกรีนนิ่ง โดยมีแมลงพาหะ

คือ เพลี้ยอ่อน (อำไพวรรณ ภราดร์นุวัฒน์ และคณะ, 2526) ทำให้ต้นส้มทรุดโทรมและตายในที่สุด มีการนำวิธีการต่างๆมาใช้ป้องกันและกำจัดการเกิดโรคที่เกิดจากเชื้อดังกล่าว เช่น การคัดเลือกกิ่งพันธุ์ที่ปราศจากโรคโดยมีการตรวจสอบก่อน การป้องกันกำจัดแมลงที่เป็นพาหะนำโรค เช่น เพลี้ยอ่อนและเพลี้ยไฟ นอกจากนี้ได้มีการใช้ต้นตอที่มีความต้านทานต่อโรค

การต่อกิ่ง เสียบกิ่ง เสียบยอด (grafting) คือ ศิลปะการต่อชิ้นเนื้อเยื่อของพืชสองชิ้นเข้าด้วยกันโดยวิธีต่างๆ เมื่อแผลเชื่อมสนิทแล้วเจริญเติบโตเป็นต้นเดียวกันได้ การต่อกิ่งพันธุ์ดีบนต้นตอใช้เป็นประโยชน์ในการขยายพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ และสามารถปรับปรุงพืชสวนได้ สำหรับพืชบางชนิด เช่น แอปเปิล แพร์ องุ่น และส้ม (Rom and Carlson, 1987 อ้างโดย Wang *et al.*, 1994) การที่พืชมีระบบรากอ่อนแอเมื่อนำไปต่อบนต้นตอพืชอีกชนิดหนึ่งที่จะทำให้ได้ต้นใหม่ที่ดีขึ้น ต้นตอนั้นต้องสามารถทนสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น ทนต่อดินเค็มและสภาพน้ำขัง ทนต่อโรค และแมลงได้ดี สำหรับต้นตอพืชบางชนิดสามารถลดขนาดลำต้นของกิ่งเลี้ยงให้เตี้ยแคระหรือเพิ่มขนาดลำต้นให้สูงใหญ่ได้ ต้นตอบางชนิดทำให้ผลมีขนาดใหญ่ขึ้นและมีคุณภาพของผลดีกว่าเมื่อใช้ต้นตอชนิดอื่นๆ แต่บางครั้งต้นตออาจทำให้ได้ผลผลิตมีลักษณะไม่เป็นที่ต้องการ และมีนิสัยการเติบโตที่เปลี่ยนไปคือ พืชทั้งสองเข้ากันไม่ได้ (นันทิยา วรรธนะภูติ, 2538) ดังนั้นการคัดเลือกต้นตอจึงเป็นส่วนสำคัญในกระบวนการเจริญเติบโตของพืชที่มีการขยายพันธุ์แบบติดตาต่อกิ่ง โดยเฉพาะพืชตระกูลส้ม การศึกษาเพื่อหาชนิดต้นตอที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาการของส้มโชกุนจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจ เพื่อนำไปปรับปรุงใช้ในการผลิตส้มชนิดอื่นที่มีประสิทธิภาพ

การตรวจเอกสาร

1. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของพืชตระกูลส้ม

ขนาดของทรงพุ่มของพืชตระกูลส้มมีตั้งแต่ 15 - 30 ฟุต การเจริญเติบโตของเนื้อไม้ในต้นส้มเป็น secondary growth เหมือนกับต้นไม้ทั่วไป ใบส้มเป็นใบเดี่ยว ยกเว้นส้มสามใบและลูกผสมของส้มสามใบ รูปทรงและขนาดของใบแตกต่างกันออกไปตามแต่ชนิดของส้ม สีของใบมีตั้งแต่สีเขียวอมเหลือง เช่น ใบเลมมอน จนถึงสีเขียวเข้มออกดำ เช่น ส้มโอ สวีทออเรนซ์ ผิวใบด้านบนเป็นมัน ด้านใต้ใบเป็นสีตองอ่อน ขอบใบบางชนิดเรียบบางชนิดเป็นหยัก บนแผ่นใบและก้านใบมีต่อมน้ำมันเต็มไปหมด ส้มให้ดอกเมื่ออายุประมาณ 3 ปี และลำต้นผ่านความแห้งแล้งมาช่วงหนึ่งก่อน หลังจากนั้นตาที่พักตัวอยู่ก็จะแตกออกเป็นกิ่งอ่อน ตาที่ยอดของกิ่งอ่อนเกิดตาดอก ตาดอกของส้มมี 2 ชนิด คือ ตายอดและตาข้าง ส้มมีดอกแบบสมบูรณ์เพศ ผลส้มจัดเป็นพวกเบอรี่ มีชื่อเรียกว่า hesperidium เจริญจากรังไข่โดยตรงมีประมาณ 10 พู เชื่อมติดกันเป็นวงกลมล้อมรอบแกนที่เรียกว่า central axis ผลส้มแบ่งเป็น 3 ส่วน ได้แก่ เปลือกผล (ovary wall) ผนังกั้นและแกนผล (septa and central axis) และถุงน้ำหวาน (juice sac) ผลส้มใช้เวลาสุกแก่ประมาณ 6 - 7 เดือนหลังจากกลีบดอกร่วง เมล็ดส้มมีลักษณะเป็น polyembryony โดยองค์ประกอบภายในเมล็ดแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ใบเลี้ยง (cotyledon) และคัพภะ (embryo) เมล็ดที่มีคัพภะเพียง 1 คัพภะมีใบเลี้ยงที่มีขนาดใกล้เคียงกันทั้ง 2 ซีก เรียกว่า monoembryony ถ้ามีหลายคัพภะมักจะพบความผิดปกติเกิดขึ้นเสมอ คือ อาจมีใบเลี้ยง 3 - 4 ใบ และขนาดรูปร่างของคัพภะก็แตกต่างกันด้วย ส่วนของคัพภะอาจมีหนึ่งหรือหลายคัพภะ ลักษณะของเมล็ดส้มที่มีจำนวนมากกว่า 1 คัพภะต่อเมล็ด เรียกว่า polyembryony คัพภะมี 2 ชนิดคือ คัพภะที่เกิดจากการผสมพันธุ์ของเซลล์สืบพันธุ์เจริญเติบโตเป็นไซโกตเรียกว่า gametophytiic embryo หรือ zygotic embryo และคัพภะที่เกิดจากการพัฒนาการของเซลล์นิวเซลลัสตรงบริเวณใกล้กับเซลล์ไข่อ่อนเรียกคัพพะชนิดนี้ว่า nucellar embryo รากส้มส่วนใหญ่อยู่ต่ำจากผิวดินประมาณ 2 ฟุต การแผ่กระจายของรากส้มและการเจริญเติบโตของรากจะสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตของทรงพุ่มที่อยู่เหนือดิน เช่น ส้มที่มีลำต้นสูงชะลูดแสดงว่าส้มนั้นมีรากแก้วแทงดิ่งในแนวลึก และมีรากแขนงเป็นจำนวนน้อย ในทางตรงข้ามถ้าส้มมีทรงพุ่มแผ่กว้างออกไป แสดงว่า ส้มต้นนั้นมีรากแขนงเป็นจำนวนมากแผ่ออกไปในระดับตื้นและมีรากแก้วตื้น (มงคล แซ่หลิม, 2535)

2. ต้นตอส้มที่ใช้ในการต่อกิ่ง

มงคล แซ่หลิม (2535) ได้รายงานชนิดของต้นตอที่ใช้ในส้ม ได้แก่ ซาวออเรนซ์ สวีทออเรนซ์ แมนดารินมีพันธุ์คลีโอพัตรา ซันไก และแลงเพอร์ ส้มสามใบ และซิเตรนซ์ซึ่งเป็นลูกผสมระหว่างสวีทออเรนซ์กับส้มสามใบ สำหรับในประเทศไทยมีการใช้ต้นตอเพื่อการขยายพันธุ์น้อยมาก ส่วนมากใช้วิธีการตอนกิ่ง ข้อเสียเปรียบของการตอนกิ่งอาจจำกัดอยู่กับส้มบางพันธุ์ที่ไม่ทนต่อโรครากเน่าและโคนเน่า เพื่อแก้ปัญหาข้างต้นจึงต้องใช้ต้นตอที่มีความแข็งแรงนำมาใช้เสียบยอดแทน มีรายงานการใช้ต้นตอส้มสามใบเป็นต้นตอในประเทศไทยแต่ต้องสั่งนำเข้าจากประเทศออสเตรเลีย (พนา วัฒนุวรรณ, 2540) ไพโรจน์ ผลประสิทธิ์ (2516) ได้ศึกษาการติดตาส้มตราบนต้นตอมะขวิด พบว่า ต้นตอมะขวิดมีผลทำให้ส้มตราแคระและออกผลเร็ว การติดตาส้มตราบนต้นตอมะขวิดที่มีอายุมาก (2, 3 และ 4 ปี) ได้ผลดีกว่าการติดตาเมื่อต้นตออายุยังน้อย (ไม่เกิน 1 ปี)

การต่อกิ่งพืชซึ่งมีลักษณะทางพันธุกรรมต่างกันเข้าด้วยกัน โดยส่วนหนึ่งทำหน้าที่เป็นลำต้นส่วนบน (top) อีกส่วนหนึ่งทำหน้าที่เป็นราก (rootstock) หลังการต่อกิ่งอาจทำให้นิสัยการเติบโตแตกต่างจากต้นเดิมที่ยังไม่มีการต่อกิ่ง โดยกิ่งพันธุ์ดีหรือต้นตอมีคุณสมบัติพิเศษที่ไม่พบในอีกฝ่ายเช่น ความต้านทานโรค แมลง หรือทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม มีผลต่อการเปลี่ยนขนาด การเจริญเติบโต ปริมาณ และคุณภาพผลผลิต ซึ่งในทางปฏิบัติยากที่จะแยกว่าเป็นอิทธิพลใดเมื่อต่อกิ่งพืชคู่หนึ่งในสภาพแวดล้อมหนึ่งๆ (Hartmann *et al.*,1997)

3. การเจริญเติบโตและพัฒนาการของแคลลัส

กระบวนการในการเกิดรอยต่อนั้นจะเกิดขึ้นทันทีหลังจากการติดตาต่อกิ่งแล้ว ขั้นตอนแรกมีการสร้างแคลลัสจากต้นตอและกิ่งพันธุ์เพื่อประสานตัวกัน เกิดแนวเนื้อเยื่อเจริญของแคลลัสและกิ่งพันธุ์ดีเชื่อมกัน มีเนื้อเยื่อเปลือกและเนื้อไม้จากเยื่อเจริญที่เกิดขึ้นใหม่ (สนั่น ชำเลิศ, 2541) เทียมใจ คมกฤส (2539) กล่าวถึงการเชื่อมต่อกันระหว่าง ต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีว่า บริเวณรอยตัดของทั้งต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีมีชั้นของเซลล์ที่ตายอยู่ เรียกว่า necrotic layer เซลล์ที่อยู่ติดกันจะขยายใหญ่ขึ้น มีการแบ่งตัวและสร้างแคลลัสเกิดขึ้นจนเต็มช่องว่างที่อยู่ระหว่างต้นตอกับกิ่งพันธุ์ดี แคลลัสที่สร้างจะเปลี่ยนไปเป็นแคมเบียมและ

สร้างเนื้อเยื่อขั้นสองขึ้น แคลลัสอาจเกิดจากเซลล์ที่มีชีวิตต่างๆของเนื้อเยื่อลำเลียง ซึ่งส่วนมากเป็นเซลล์ท่ออาหาร (phloem) และท่อน้ำ (xylem) ที่ยังไม่เจริญเต็มที่ Asante และ Barnett (1997) ศึกษาการเกิดรอยต่อในมะม่วง (*Mangifera indica* L.) โดยใช้กล้องจุลทรรศน์พบว่า แคลลัสเริ่มแรกเกิดจากส่วนของต้นตอ มีทั้งพาเรนไคมาเซลล์ที่คอเทกซ์ (cortex) แกนกลางลำต้น (pith) ท่อน้ำและท่ออาหารเกี่ยวข้องกับการเกิดแคลลัสและสร้างแคมเบียมบริดจ์ระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี

การใช้ต้นตอในการติดตาต่อกิ่งในบางกรณีทำให้กิ่งพันธุ์ดีมีการเจริญเติบโตผิดปกติ ซึ่งสาเหตุอาจเกิดจากการเข้ากันไม่ได้ของต้นตอกับกิ่งพันธุ์ดี ความเข้ากันได้ของรอยต่อจะประสบผลสำเร็จมากน้อยขึ้นกับความสามารถในการพัฒนาของเนื้อเยื่อแคลลัสไปเป็นท่อน้ำท่ออาหาร Mosse (1962) กล่าวถึงลักษณะอาการของความเข้ากันไม่ได้ของรอยต่อโดยแบ่งออกเป็น 3 ลักษณะคือ Translocated Incompatibility, Localized Incompatibility และ Virus-induced Incompatibility Moreno และคณะ (1993) ได้ศึกษาการต่อกิ่งท้อ *Prunus persica* กับ *Prunus cerasifera* พบว่า มีการแสดงลักษณะอาการความเข้ากันไม่ได้ในการต่อกิ่งแบบ Translocated Incompatibility Fahn (1982) รายงานว่า กรณีของความเข้ากันไม่ได้ของต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีเกิดจากความบกพร่องของการประสานกันของรอยต่อ มีการจัดเรียงตัวของท่อน้ำผิดปกติ และมีไฟเบอร์เป็นตัวประสานเชื่อมรอยต่อแทน พัฒนาการของเนื้อเยื่อเจริญของท่อน้ำท่ออาหารและกิจกรรมของเนื้อเยื่อเจริญตรงรอยต่อหยุดชะงัก ท่ออาหารมีเซลล์ที่ตายเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ส่วนอาการเข้ากันไม่ได้ภายนอกที่สังเกตเห็นได้ เช่น เปอร์เซ็นต์ความสำเร็จในการติดตาต่อกิ่งต่ำ ต้นตายภายใน 1 - 2 ปีหลังการต่อกิ่ง และการเกิดรอยแยกตรงรอยต่อ (Hartmann and Davies, 1975) Randhawa และ Kishore (1981) ได้ศึกษาความสามารถเข้ากันได้ในแอปเปิลและแพร์กับต้นตอพันธุ์พื้นเมืองชนิดต่างๆ พบว่า ความสำเร็จในการต่อกิ่งแอปเปิลพันธุ์ Starking Delicious (*Malus pumila*) บนต้นตอ *Crataegus crenulata* และ *Malus baccata* เท่ากับ 77 เปอร์เซ็นต์ ต้นตอชนิดอื่นๆอยู่ในช่วง 13 - 50 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญเติบโตและการประสานตัวของรอยต่อในการต่อกิ่งต่ำ และมีชั้นของเนื้อไม้ที่ตาย ความสำเร็จในการต่อกิ่งแพร์ (*Pyrus pashia)* บนต้นตอ *Docynia hookeriana* เท่ากับ 80 เปอร์เซ็นต์ ต่ำสุดบนต้นตอ *Sorbus lanata* เท่ากับ 33.33 เปอร์เซ็นต์ และบนต้นตอ *Cotoneaster multiflora* เท่ากับ 60 เปอร์เซ็นต์ การเจริญเติบโตของต้นแพร์ที่ต่อกิ่งบนต้นตอ *Pyrus pashia* พบว่ามีการเจริญเติบโตได้ดี ในขณะที่ต้นตอชนิดอื่นมี

เปอร์เซ็นต์ความสำเร็จในการต่อกิ่งต่ำมาก การทดสอบการรวมกันได้ของการต่อกิ่งที่ปรากฏให้เห็นพบว่ามีชั้นของเนื้อไม้ที่ตายปรากฏในส่วนของรอยต่อ ยกเว้นส่วนที่มีการรวมกันได้ของรอยต่อบนต้นตอ *Pyrus pashia*

มงคล แซ่หลิม และคณะ (2533) ได้ศึกษาหาพันธุ์พืชที่เหมาะสมสำหรับทำต้นตอมังคุดเพื่อให้ขึ้นได้ในที่แห้งแล้งและความอุดมสมบูรณ์ของดินต่ำในภาคใต้ โดยตัดเฉพาะรอยต่อมาตรวจดูลักษณะการเจริญเติบโตโดยวิธีทางไมโครเทคนิค พบว่า การต่อกิ่งมังคุดบนต้นตอมังคุดนั้น ส่วนของรอยต่อมีการสร้างเซลล์พวกพาเรนไคมาหรือแคลลัสได้ดี รอยต่อตรงส่วนของท่อน้ำท่ออาหารมีพัฒนาของแคลลัสไปเป็นเนื้อเยื่อเจริญพร้อมที่จะสร้างท่อน้ำต่อไป ส่วนการต่อกิ่งมังคุดบนต้นตอมะพูดพบว่า มีการแยกของรอยต่อชัดเจนและมีการสร้างแคลลัสได้ดี แต่ไม่มีการพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญตรงระหว่างรอยต่อ

Richardson และคณะ (1996) ศึกษาการเกิดรอยต่อของแอปเปิลในหลอดทดลองทั้งในต้นต่อกิ่งที่เหมือนกันและแตกต่างกัน พบว่าการเกิดรอยต่อในต้นตอกับกิ่งพันธุ์ดีที่แตกต่างกันช้ากว่าต้นที่เหมือนกัน ในระหว่าง 1 - 4 วันหลังการต่อกิ่งมีการเกิดใบตรงปลายยอดกิ่งพันธุ์ดีแต่ไม่ได้บ่งชี้ว่าการต่อกิ่งสำเร็จ เมื่อกิ่งพันธุ์ดีมีการเจริญเติบโตและพัฒนาต่อไปจนสามารถบ่งชี้ได้ว่าการต่อกิ่งสำเร็จจะอยู่ในช่วง 10 - 14 วันหลังการต่อกิ่ง จากการศึกษาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์พบการเกิดแคลลัสเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในวาสคิวลาแคมเบียมและแกนกลางลำต้นภายใน 10 วันหลังการต่อกิ่ง มีการพัฒนาการของเนื้อเยื่อเจริญระหว่างวาสคิวลาของต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีในระหว่าง 20 - 40 วันหลังการต่อกิ่ง ท่อลำเลียงใหม่ในต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีสร้างโดยรอบในเวลา 40 วัน และวาสคิวลามีการพัฒนาต่อเนื่องกันจนกระทั่งสมบูรณ์ภายหลังจากการต่อกิ่งเป็นเวลา 6 เดือน

Schmid และ Feucht (1981) ศึกษาการเกิดท่อน้ำท่ออาหารในการต่อกิ่งเชอรี่ *Prunus avium* กับ *P. cerasus* และ *P. fruticosa* กับ *Prunus avium* F12/1 พบว่า กิ่งที่เข้ากันไม่ได้มีจำนวนการสร้างท่อน้ำท่ออาหารต่ำและมีสารคล้ายลิกนินเป็นแผ่นบางๆ ปิดกั้นตรงท่อน้ำท่ออาหาร

4. การตรวจสอบและการจำแนกพันธุ์ไม้ผลโดยใช้ไอโซไซม์

ไอโซไซม์หรือไอโซเอนไซม์คือ โปรตีนชนิดต่างๆที่พบในสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งๆ ทำ หน้าที่ในการกระตุ้นหรือทำปฏิกิริยาอย่างเดียวกัน แต่มีขนาดและรูปร่างโมเลกุลแตกต่างกันออกไป ไอโซไซม์มีความจำเพาะกับเนื้อเยื่อ ระยะการเจริญเติบโตและชนิดของสิ่งมีชีวิต โปรตีนดังกล่าวควบคุมการสร้างโดยยีน ซึ่งเป็นตัวที่มีส่วนสำคัญในการกำหนดลักษณะทางพันธุกรรม และสามารถสกัดออกมาตรวจสอบได้ พืชสายพันธุ์เดียวกันมีรูปแบบไอโซไซม์เหมือนกัน หากมีความแตกต่างของไอโซไซม์แสดงว่า พืชชนิดนั้นเป็นสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน การตรวจสอบหรือแยกความแตกต่างของเอนไซม์โดยทั่วไปนิยมใช้เทคนิคอิเลคโตรฟอรีซีส ในอดีตการจำแนกไม้ผลโดยใช้เอนไซม์ยังมีการศึกษาน้อย เนื่องจากมีข้อจำกัดคือ การสกัดเอนไซม์ที่ต้องการในเนื้อเยื่อนั้นทำได้ยาก เพราะสารประกอบพวกโพลีฟีนอลหรือมิวโคโพลีแซคคาไรด์เป็นตัวขัดขวางการสกัดเอนไซม์ในเนื้อเยื่อพืช (Arulsekar *et al.*, 1985)

การตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานต้องใช้ระยะเวลานานและไม่สามารถใช้จำแนกความแปรปรวนของพันธุ์ที่เกิดขึ้นได้ทั้งหมด เนื่องจากปัจจัยสภาพแวดล้อมมีผลต่อการแสดงออกของลักษณะดังกล่าว การตรวจสอบรอยต่อโดยใช้ระบบไอโซไซม์เพื่อการทำนายความเข้ากันไม่ได้ของรอยต่อยังมีรายงานน้อยมาก เช่น การนำเทคนิคอิเลคโตรฟอรีซีสมาใช้สำหรับทดสอบระบบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสของแคมเบียม เพื่อหารูปแบบของแถบของกิ่งพันธุ์ดีและต้นตอในต้นเกาลัด ต้นโอ๊ค และต้นเมเปิล (Hartmann *et al.*, 1997)

Protopapadakis (1987) ตรวจสอบความแตกต่างของ *Citrus medica* 5 สายพันธุ์ที่ต่อกิ่งบนต้นตอ 4 ชนิดโดยใช้ระบบไอโซไซม์ 4 ระบบ คือ แอซิดฟอสฟาเตส (ACP) แบบเร็วและแบบช้า เอสเตอเรส (EST) และเปอร์ออกซิเดส (PER) พบว่า ระบบเอนไซม์เอสเตอเรสแยกความแตกต่างของสายพันธุ์ได้ดี ส่วนรูปแบบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสมีสีเข้มคมชัดสามารถตรวจสอบการเข้ากันได้ของกิ่งพันธุ์ดีกับต้นตอได้ชัดเจน

Schmid และ Feucht (1980) ตรวจสอบการเข้ากันได้ของการต่อกิ่งเชอรี่ โดยทำการหาปริมาณของโปรตีนและเอนไซม์ 3 ระบบคือ โพลีฟีนอลออกซิเดส เปอร์ออกซิเดสและเอสเตอเรสในท่ออาหารชุดที่สองจากการต่อกิ่ง *Prunus avium* กับ *P. avium*, *P. avium* กับ *P. fruticosa* และ *P. avium* กับ *P. cerasus* โดยใช้เทคนิค isoelectrofocusing ในฤดู

หนาวและใบไม้ผลิ พบว่า เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสไม่ควรใช้ในการตรวจสอบ เอนไซม์เอสเตอเรสบางแถบมีขนาดเล็ก และเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสมีแถบติดสีคมชัด

Moreno และคณะ (1994) รายงานการศึกษาปริมาณโปรตีนและกรดอะมิโนในต้นตอที่เข้ากันได้ และเข้ากันไม่ได้ในการต่อกิ่งท้อบนต้นตอพลัม โดยการต่อกิ่ง *Prunus persica cv. Springtime* กับ *P. cerasifera cv. myrobalan* P2032 ซึ่งเป็นต้นตอที่สามารถเข้ากันได้ และต่อกิ่ง *P.persica cv. Springtime* กับ *P. cerasifera cv. myrobalan* P18 ซึ่งเป็นต้นตอที่เข้ากันไม่ได้ จากผลการศึกษาในระยะเวลา 3 เดือนพบว่า ช่วงระยะแรกระหว่าง 57 วัน และ 78 วันหลังการต่อกิ่ง โปรตีนที่ละลายน้ำได้และกรดอะมิโนอิสระมีการเคลื่อนย้ายจากต้นตอทั้งในต้นตอที่เข้ากันได้และเข้ากันไม่ได้ ระยะเวลาช่วงที่สองระหว่าง 78 วัน และ 89 วันหลังการต่อกิ่งพบว่า มีปริมาณโปรตีนต่อต้นคงที่ในต้นตอของรอยต่อทั้งที่เข้ากันได้และเข้ากันไม่ได้ ในขณะที่ปริมาณกรดอะมิโนอิสระต่อต้นจะลดลงอย่างต่อเนื่องในต้นตอที่เข้ากันไม่ได้แต่คงที่ในรอยต่อที่เข้ากันได้

วัตถุประสงค์

1 เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและพัฒนาการของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอส้มบางชนิด

2 เพื่อศึกษาเทคนิคและวิธีการทดสอบอิทธิพลระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีที่รวดเร็ว และเชื่อถือได้

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

วัสดุและอุปกรณ์

1. วัสดุ

1.1 วัสดุพืช

ใช้ต้นตอส้มจำนวน 9 ชนิดได้แก่ ส้มโชกุน ส้มโอ ส้มฟรีมองต์ ส้มซ่า มะกรูด ส้มเขียวหวาน มะสัง มะขวิด และมะนาวหลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ต้นตอแต่ละชนิดอายุ 6 - 12 เดือน นำกิ่งส้มโชกุนขนาดอายุ 1 ปี สูงประมาณ 10 ซม. มีตา 3 ตามาต่อกิ่งแบบเสียบลิ่มกับต้นตอ รักษาความชื้นโดยใช้ถุงพลาสติกคลุมและวางไว้ในที่ร่มนาน 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์ จึงนำต้นที่เสียบกิ่งแล้วไปใช้ในการทดลองดังนี้

- ศึกษาความสำเร็จในการต่อกิ่งใช้ต้นตอ 9 ชนิดๆ ละ 50 ต้น รวม 450 ต้น
- ศึกษาการเจริญเติบโตเบื้องต้นใช้ต้นตอ 7 ชนิดๆ ละ 25 ต้น รวม 175 ต้น
- ศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของรอยต่อใช้ต้นตอ 9 ชนิดๆ ละ 3 ต้น 4 ช่วงเวลา รวม 108 ต้น
- ศึกษาระบบเอนไซม์ที่เหมาะสมใช้ต้นตอ 3 ชนิดๆ ละ 3 ต้น รวม 9 ต้น
- ศึกษาความเข้มข้นของเจลอะคริลาไมด์ใช้ต้นตอ 6 ชนิดๆ ละ 3 ต้น รวม 18 ต้น
- ศึกษาผลของเวลาการต่อกิ่งต่อการเข้ากันได้ของต้นตอกับกิ่งเลี้ยงใช้ต้นตอ 6 ชนิดๆ ละ 3 ต้น 4 ช่วงเวลา รวม 72 ต้น

1.2 วัสดุสารเคมี

1.2.1 สารเคมีที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวร น้ำยารักษาสภาพเซลล์ (formalin acetic acid : FAA) เอธิลแอลกอฮอล์ กรดกลาเซียลอะซิติค ฟอร์มาลีน ไซลีน สีแซฟรานิน สีฟาสท์กรีน และน้ำยาปิดแผ่นสไลด์ (cadanabalsum)

1.2.2 สารเคมีที่ใช้ในการแยกเอนไซม์ประกอบด้วย tris - hydroxymethyl aminomethane(tris-HCl), polyvinylpyrrolidon(PVP), 2-mercapthoethanol และ disodium ethylenediaminetetraacetate (Na_2EDTA)

2. อุปกรณ์

2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการขยายพันธุ์

- กรรไกรตัดแต่งกิ่ง
- มีดผ่าตัด
- พาราฟิล์ม
- ถุงพลาสติกขนาดกว้าง 6 นิ้ว ยาว 12 นิ้ว

2.2 อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับการสกัดเอนไซม์

- กระติกน้ำแข็ง
- โกร่งสำหรับบดตัวอย่างพืช
- เครื่องปั่นตกตะกอนพร้อมหลอดเอพเพนด๊อฟ

2.3 อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับการแยกไอโซไซม์

- เครื่องอิเลคโตรฟอรีซีสชนิดแนวตั้ง Midgel Multicast รุ่น 2050 - 200
- เครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า Pharmacia รุ่น GPS 200/400

2.4 อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยา

- แท่งพลาสติกสำหรับยึดตัวอย่างที่ฝังในพาราพลาสต์
- ตู้อบปรับอุณหภูมิได้
- เครื่องตัดเนื้อเยื่ออัตโนมัติ (microtome)
- เครื่องอุ่นสไลด์ (slide warmer)
- กล้องจุลทรรศน์แบบอินเวอร์เตด (inverted microscope) พร้อมกล้องถ่ายรูป
- กล้องจุลทรรศน์แบบสองตา (compound microscope) พร้อมกล้องถ่ายรูป

วิธีการ

1 การศึกษาการเจริญเติบโตและพัฒนาการของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ

ในการศึกษาใช้ต้นตอส้ม 7 ชนิดคือ ส้มโอ ส้มฟรีมองต์ ส้มซ่า มะกรูด ส้มเขียวหวาน มะสัง และมะขวิด หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ต้นตอแต่ละชนิดอายุ 6 - 12 เดือน นำกิ่งพันธุ์ส้มโชกุนมาต่อบนต้นตอทั้ง 7 ชนิดด้วยวิธีเสียบลิ่ม แล้วคลุมด้วยถุงพลาสติกเพื่อรักษาความชื้น วางเลี้ยงในที่ร่มพรางแสงด้วยซาแลนกรองแสง 70 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วทำการคัดเลือกต้นที่ทำการเสียบยอดสำเร็จให้มีขนาดใกล้เคียงกันชนิดละ 25 ต้น เพื่อทำการย้ายลงถุงพลาสติกให้มีขนาดใหญ่กว่าเดิมจากนั้นทำการศึกษาสัณฐานวิทยาคือ จำนวนใบ จำนวนกิ่ง ความสูง เส้นผ่าศูนย์กลาง พื้นที่ใบ และน้ำหนักแห้งของต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี 7 ชนิดข้างต้นเปรียบเทียบกันหลังจากย้ายลงถุงใหญ่เป็นเวลา 6 เดือน โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด Completely Randomized Design (CRD) โดยแต่ละชนิดของต้นตอทำ 25 ซ้ำ วิเคราะห์ผลทางสถิติโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Statistical Analysis System (SAS)

1.1 นับจำนวนกิ่งที่ต่อไม่ติดและคัดออกเพื่อหาความสำเร็จในการต่อกิ่งหลังจากต่อกิ่งเป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยทำการนับจำนวนต้นที่ต่อกิ่งสำเร็จ และรายงานผลความสำเร็จเป็นร้อยละ โดยคำนวณดังนี้

$$\text{ความสำเร็จการต่อกิ่ง(\%)} = \frac{\text{จำนวนต้นที่ต่อกิ่งสำเร็จ}}{\text{จำนวนต้นที่ต่อกิ่งทั้งหมด}} \times 100$$

1.2 ประเมินผลการเจริญเติบโต ดังนี้

โดยนับจำนวนกิ่ง จำนวนใบ วัดความสูงของลำต้น และวัดเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นที่เพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ยแต่ละเดือนของส้มโชกุนบริเวณเหนือรอยต่อ 1 นิ้ว ทุก 1 เดือน เป็นเวลา 6 เดือน

2 การศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ

นำส่วนของรอยต่อส้มโชกุนบนต้นตอส้มทั้ง 7 ชนิดที่มีอายุ 2, 4, 6, และ 8 สัปดาห์ มาแช่ในน้ำยารักษาสภาพเซลล์ (FAA) ซึ่งประกอบด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ 18 ส่วน กรดอะซิติค 1 ส่วนและฟอร์มาลิน 1 ส่วน เป็นเวลา 1 เดือน จึงนำตัวอย่างไปทำการดึงน้ำออกจากเซลล์ (dehydration) โดยเทน้ำยา FAA ออก แล้วแช่ในสารละลายเพื่อดึงน้ำออกจากเซลล์ (ภาคผนวกที่ 1) จากนั้นฝังชิ้นส่วนพืชในพาราฟิน (embedding) นำชิ้นส่วนตัวอย่างพืชที่ฝังในพาราฟินแล้วนั้นไปเชื่อมติดกับแท่งพลาสติก จึงตัดชิ้นส่วนพืชด้วยเครื่องตัดเนื้อเยื่ออัตโนมัติให้มีความหนาประมาณ 8 - 12.5 ไมครอน ติดตัวอย่างเนื้อเยื่อที่ได้จากการตัดลงบนแผ่นสไลด์ (affixing) แล้วย้อมสี (staining) ดังรายละเอียดตามวิธีการของภูวดล บุตรรัตน์ (2528) ซึ่งแสดงในภาคผนวกที่ 1 หลังจากนั้นบันทึกภาพและประเมินผลการประสานตัวของรอยต่อ (graft union) โดยศึกษาการเจริญและพัฒนาการของแคลลัส (callus) การพัฒนาเนื้อเยื่อเจริญใหม่ (new cambium) และพัฒนาการส่วนของท่อน้ำท่ออาหารใหม่ (secondary xylem and secondary phloem) ด้วยกล้องจุลทรรศน์เพื่อเปรียบเทียบกันในแต่ละชนิดต้นตอ

3. การศึกษารูปแบบของไอโซไซม์ของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ

3.1 การศึกษารูปแบบเอนไซม์ที่เหมาะสม

นำตัวอย่างเปลือกลำต้น (bark) ส้มโชกุนที่ปลูกจากเมล็ดโดยที่ยังไม่มีการต่อกิ่งและต่อกิ่งแล้วบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ อายุ 2 - 8 สัปดาห์ โดยลอกเปลือกที่บริเวณส่วนเหนือรอยต่อและใต้รอยต่อของต้นตอความยาวประมาณ 4 เซนติเมตร น้ำหนัก 0.5 - 1.0 กรัม มาสกัดเอนไซม์ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ 0.5 - 1.0 มิลลิลิตรในโกร่งแช่เย็นบัฟเฟอร์ที่ใช้ประกอบด้วย Tris-HCl ความเข้มข้นต่างๆ ที่ pH 7.5 PVP ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ Na_2EDTA ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ และ 2-mercaptoethanol ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) เทสารละลายที่ได้ใส่หลอดเอพเพนด๊อฟ แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงตกตะกอนโดยเครื่องปั่นตกตะกอน ที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 20 นาทีที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ดูดสารละลายใสส่วนบนใส่หลอดเอพเพนด๊อฟใหม่ที่สะอาด (ในกรณีที่ยังไม่ใช้ทันทีเติมกลีเซอรอลเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ลงไปในสารละลายเอนไซม์ เก็บไว้ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -30 องศา

เซลเซียส) ดูดสารละลายที่สกัดได้ 15 ไมโครลิตร หยดลงบนแผ่นเจลอะคริลาไมด์ชนิดไม่ต่อเนื่อง ซึ่งประกอบด้วยเจลตอนบนความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ และเจลตอนล่าง ความเข้มข้น 7, 10 และ 12 เปอร์เซ็นต์ (องค์ประกอบของเจลแสดงดังตารางที่ 1) ทำการแยกเอนไซม์ภายใต้แรงเคลื่อนกระแสไฟฟ้าคงที่ 100 โวลต์ ที่อุณหภูมิ 5±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำเจลที่ได้มาย้อมสีเอนไซม์ระบบต่างๆ 4 ระบบคือ เปอร์ออกซิเดส เอสเตอเรส แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส และฟอสโฟกลูโคมิวเทส ตามวิธีการของ Laemmli (1970) เปรียบเทียบความชัดเจนของเอนไซม์ในแต่ละระบบ และคัดเลือกไว้ใช้ในการตรวจสอบต้นตอส้มต่อไป

3.2 การศึกษาความเข้มข้นของเจลอะคริลาไมด์

สกัดเอนไซม์จากเปลือกของลำต้นส้มโชกุนที่ไม่มีการต่อกิ่ง เปลือกส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอชนิดต่างๆ และเปลือกต้นตอส้มเขียวหวาน มะกรูด มะขวิด มะสัง ส้มฟรีมองต์ และส้มซ่า ที่ทำการต่อกิ่งด้วยส้มโชกุนเป็นเวลา 2 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง มาสกัดเอนไซม์ตามวิธีการในข้อ 3.1 ตรวจสอบเอนไซม์บนเจลอะคริลาไมด์โดยใช้เจลส่วนล่างความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 7, 10 และ 12 (ตารางที่ 1) ทำการแยกเอนไซม์ที่สกัดได้ในแต่ละหน่วยทดลองภายใต้แรงเคลื่อนไฟฟ้าคงที่ 100 โวลต์ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นใช้สีย้อมเอนไซม์ระบบที่ชัดเจนที่สุดจากการศึกษาที่ข้อ 3.1 เพื่อศึกษาความเข้มข้นของเจลที่มีความเหมาะสม

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบและความเข้มข้นของเจลอะคริลาไมด์ที่ใช้ในการศึกษาระบบเอนไซม์

องค์ประกอบเจล	ความเข้มข้นของเจล			
	ตอนล่าง			ตอนบน
	7%	10%	12%	3%
30 % acrylamide + 0.8 % bisacrylamide (ml)	2.04	3.00	3.60	0.30
1.5 M Tris-HCl pH 8.8 (ml)	2.15	2.15	2.15	-
0.5 M Tris-HCl pH 6.8 (ml)	0.75	0.75	0.75	-
1 % ammoniumpersulfate (µl)	225	225	225	120
น้ำกลั่น (ml)	3.58	2.62	2.02	1.83
TEMED (µl)	5.00	5.00	5.00	5.00
ปริมาตรรวม (มล)	8.75	8.75	8.75	2.26

3.3 การศึกษาเวลาการต่อกิ่งต่อการเข้ากันได้ของต้นตอกับกิ่งเลี้ยง

สกัดเอนไซม์จากเปลือกลำต้นส้มโชกุนที่ไม่มีการต่อกิ่ง เปลือกส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอชนิดต่างๆ และเปลือกต้นตอส้มเขียวหวาน มะกรูด มะขวิด มะสัง ส้มฟรีมองต์ และส้มซ่า ที่ทำการต่อกิ่งด้วยส้มโชกุนเป็นเวลา 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์หลังการต่อกิ่งมาสกัดเอนไซม์และตรวจสอบเอนไซม์บนเจลอะคริลาไมด์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ แยกเอนไซม์ภายใต้แรงเคลื่อนไฟฟ้าคงที่ 100 โวลต์ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นย้อมเจลด้วยสีของระบบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสในที่มืดจนเจลย้อมติดสีชัดเจน แล้วตรึงเอนไซม์ในสารละลายตรึงเอนไซม์ ล้างสีส่วนเกินออกและเก็บในสารละลายเก็บเจล บันทึกภาพไซโมแกรมของเอนไซม์แต่ละระบบที่ปรากฏในแต่ละเวลาของการต่อกิ่งเปรียบเทียบกันในต้นตอแต่ละชนิด เพื่อตรวจสอบอิทธิพลของต้นตอที่มีต่อกิ่งเลี้ยงและการเข้ากันได้หรือไม่ได้กับกิ่งเลี้ยง

บทที่ 3

ผล

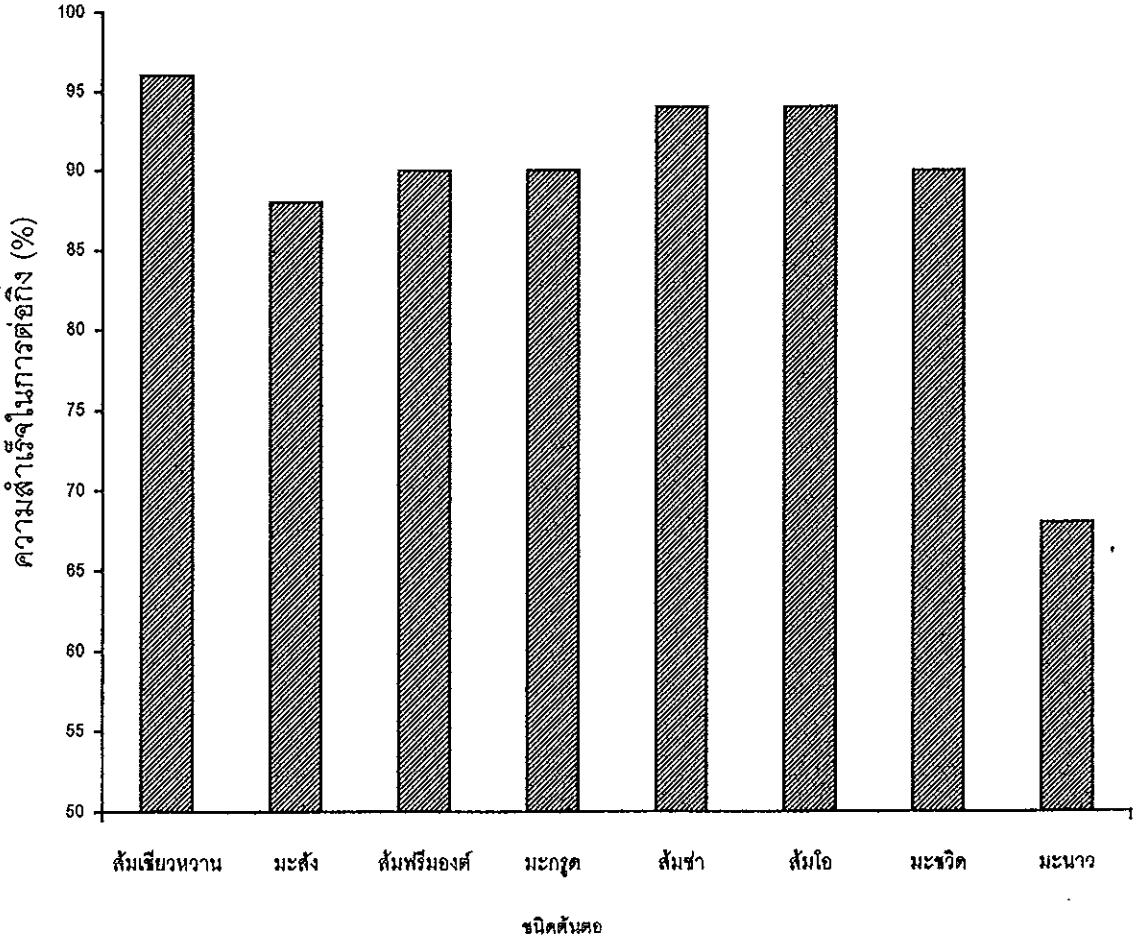
1. การศึกษาการเจริญเติบโตและพัฒนาการของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ

จากการศึกษาเปอร์เซ็นต์ความสำเร็จในการต่อกิ่งส้มโชกุนบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ พบว่า ส้มโชกุนบนต้นตอส้มเขียวหวาน มะสัง ส้มฟรีมองต์ ส้มซ่า ส้มโอ และมะขวิด มีความสำเร็จในการต่อกิ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เท่ากับ 96, 88, 90, 94, 94, และ 90 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในขณะที่มะกรูดมีความสำเร็จในการต่อกิ่งเพียง 82 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับความสำเร็จในการต่อกิ่งส้มโชกุนบนต้นตอมะสัง ส้มฟรีมองต์ และมะขวิด แต่แตกต่างทางสถิติ ($P \leq 0.05$) กับความสำเร็จในการต่อกิ่งส้มโชกุนบนต้นตอส้มเขียวหวาน ส้มซ่า ส้มโอ และมะนาว โดยมะนาวมีเปอร์เซ็นต์ความสำเร็จในการต่อกิ่งต่ำกว่าต้นตอชนิดอื่นเท่ากับ 68 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2 และภาพที่ 1) ดังนั้นจึงไม่ใช้มะนาวในการศึกษาสันฐานวิทยาในข้อต่อไป

ตารางที่ 2 ความสำเร็จในการต่อกิ่งส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ

ต้นตอ	ความสำเร็จการต่อกิ่ง (%)
ส้มเขียวหวาน	96a
มะสัง	88ab
ส้มฟรีมองต์	90ab
มะกรูด	82b
ส้มซ่า	94a
ส้มโอ	94a
มะขวิด	90ab
มะนาว	68c
F-test	*
CV.(%)	8.54

อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)



ภาพที่ 1 ความสำเร็จในการต่อกิ่งส้มโชกุนบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ

1.1 จำนวนใบ

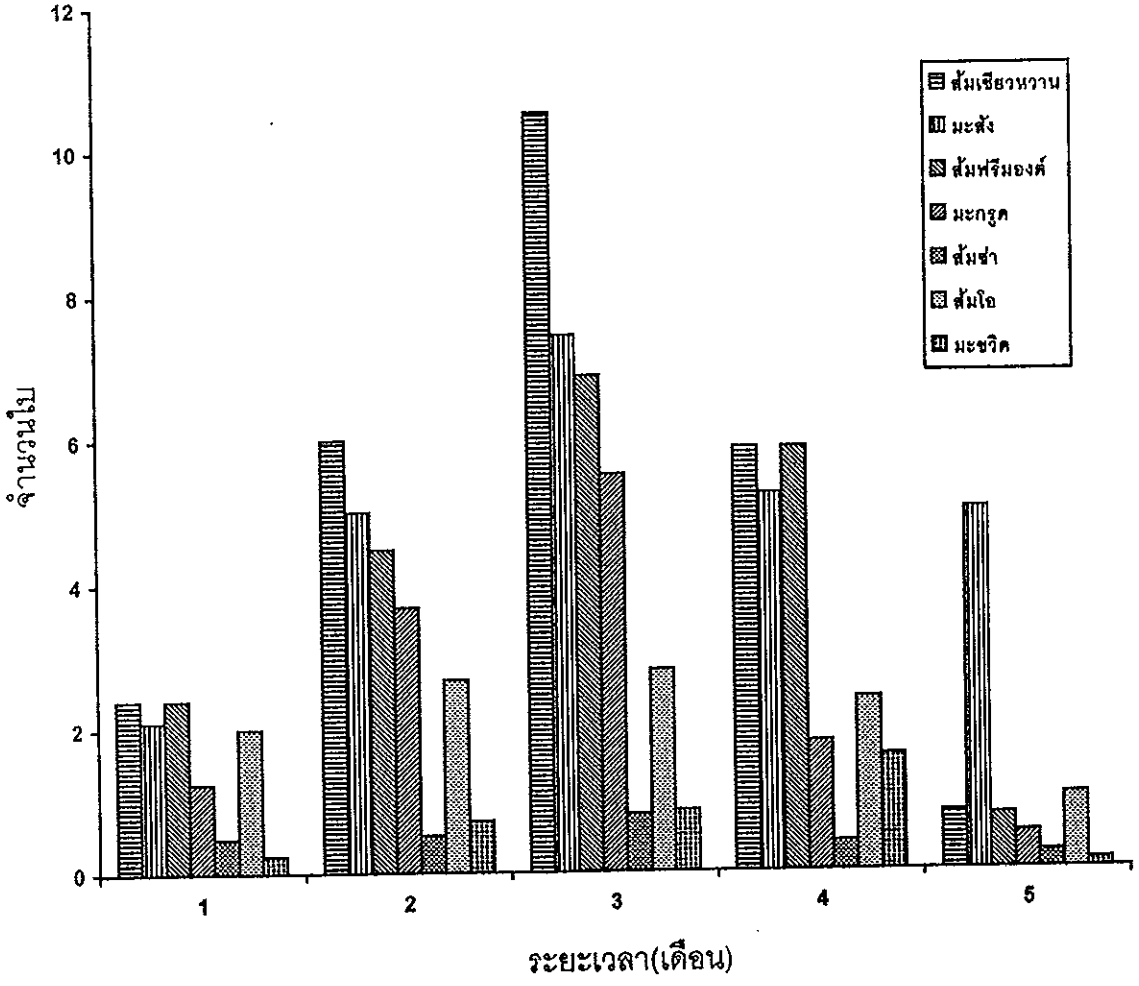
จากการศึกษาพบว่า จำนวนใบที่เพิ่มขึ้นของส้มโชกุนบนต้นตอส้มเขียวหวานและส้มฟรีมองต์เท่ากับ 2.40 ใบในเดือนที่ 1 และไม่แตกต่างทางสถิติกับจำนวนใบบนต้นตอมะสังซึ่งมีเปอร์เซ็นต์จำนวนใบ 2.10 ใบ ในขณะที่ส้มโอมีจำนวนใบเท่ากับ 2.00 ใบ และไม่แตกต่างทางสถิติกับมะสัง ส่วนมะกรูดมีจำนวนใบ 1.24 ใบ และแตกต่างทางสถิติ ($P \leq 0.05$) กับจำนวนใบของส้มโชกุนบนต้นตอส้มชนิดอื่นๆ ส่วนจำนวนใบของส้มซ่า และมะขวิดไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 0.48 และ 0.24 ใบ ส่วนในเดือนที่ 2, 3, 4 และ 5 พบว่า จำนวนใบในเดือนที่ 2 และ 3 ของส้มโชกุนที่ต่อบนต้นตอส้มเขียวหวานมีค่าเฉลี่ยสูงที่สุดเท่ากับ 6.00 และ 10.52 ใบ ในเดือนที่ 4 จำนวนใบส้มโชกุนที่ต่อบนต้นตอส้มเขียวหวาน มะสัง และฟรีมองต์มีค่าเฉลี่ยสูงสุดไม่แตกต่างกันทางสถิติเท่ากับ 5.88, 5.24 และ 5.88 ใบ ตามลำดับ ส่วนในเดือนที่ 5 พบว่า จำนวนใบของส้มโชกุนที่ต่อบนต้นตอมะสังมีค่าสูงสุด 5.02 ใบ จำนวนใบของส้มโชกุนที่ต่อบนต้นตอส้มซ่าและมะขวิดมีค่าต่ำสุดในเดือนที่ 1 - 5 โดยบนต้นตอส้มซ่ามีจำนวนใบในเดือนที่ 1 - 5 เท่ากับ 0.48, 0.52, 0.80, 0.40 และ 0.24 ใบ ตามลำดับ และบนต้นตอมะขวิดมีค่า 0.24, 0.72, 0.84, 1.60 และ 0.12 ใบ ตามลำดับ (ตารางที่ 3 และภาพที่ 2)

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยจำนวนใบที่เพิ่มขึ้นของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ ใน เวลา 5 เดือน

	ระยะเวลาหลังการต่อกิ่ง (เดือน)				
ชนิดต้นตอ	1	2	3	4	5
ส้มเขียวหวาน	2.40a	6.00a	10.52a	5.88a	0.88bc
มะสัง	2.10ab	5.00b	7.44b	5.24a	5.02a
ส้มฟรีมองต์	2.40a	4.48c	6.88b	5.88a	0.76bc
มะกรูด	1.24c	3.68d	5.52c	1.80b	0.52cd
ส้มซ่า	0.48d	0.52f	0.80e	0.40c	0.24d
ส้มโอ	2.00b	2.68e	2.80d	2.40b	1.04b
มะขวิด	0.24d	0.72f	0.84e	1.60c	0.12d
F-test	*	*	*	*	*
C.V.(%)	15.81	10.63	10.06	15.85	26.51

อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

CENTRAL LIBRARY
PRINCE OF ... UNIVERSITY



ภาพที่ 2 ค่าเฉลี่ยจำนวนใบที่เพิ่มขึ้นของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ

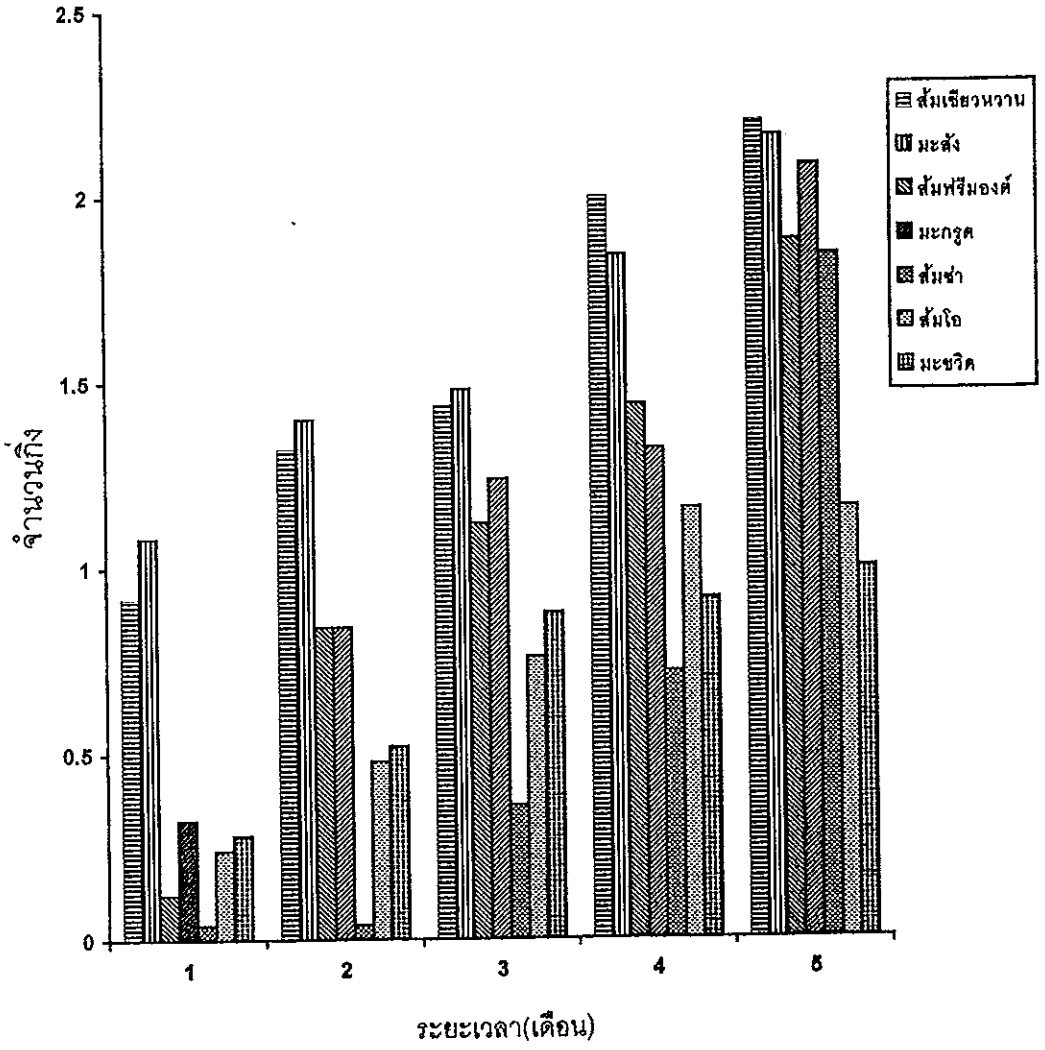
1.2 จำนวนกิ่ง

จำนวนกิ่งที่เพิ่มขึ้นของส้มโชกุนที่ต่อบนต้นตอส้มเขียวหวานและมะสังในเดือนที่ 1 - 5 ไม่แตกต่างทางสถิติ และมีค่าสูงกว่าบนต้นตอชนิดอื่น จำนวนกิ่งของส้มโชกุนที่ต่อบนต้นตอส้มเขียวหวานเดือนที่ 1 - 5 เท่ากับ 0.92, 1.32, 1.44, 2.00 และ 2.20 กิ่ง ตามลำดับ จำนวนกิ่งส้มโชกุนบนต้นตอมะสังเท่ากับ 1.08, 1.40, 1.48, 1.84 และ 2.16 กิ่ง ตามลำดับ ในขณะที่จำนวนกิ่งของส้มโชกุนที่ต่อบนต้นตอส้มซ่าเดือนที่ 1, 2, 3 และ 4 เท่ากับ 0.04, 0.04, 0.36 และ 0.72 กิ่ง ตามลำดับ ซึ่งมีค่าต่ำกว่าบนต้นตอชนิดอื่น ในเดือนที่ 5 พบว่าจำนวนกิ่งของส้มโชกุนที่ต่อบนต้นตอส้มโอและมะขวิดมีค่าต่ำกว่าบนต้นตอส้มซ่าโดยมีค่าเท่ากับ 1.16 และ 1.00 อย่างไรก็ตามพบว่า จำนวนกิ่งของส้มโชกุนที่ต่อบนต้นตอทุกชนิดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในเดือนที่ 1 - 5 (ตารางที่ 4 และภาพที่ 3)

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยจำนวนกิ่งที่เพิ่มขึ้นของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆใน เวลา 5 เดือน

	ระยะเวลาหลังการต่อกิ่ง (เดือน)				
ชนิดต้นตอ	1	2	3	4	5
ส้มเขียวหวาน	0.92a	1.32a	1.44a	2.00a	2.20a
มะสัง	1.08a	1.40a	1.48a	1.84a	2.16a
ส้มฟรีมองต์	0.10cd	0.84b	1.12b	1.44b	1.88c
มะกรูด	0.32b	0.84b	1.24ab	1.32bc	2.08ab
ส้มซ่า	0.04d	0.04d	0.36d	0.72e	1.84c
ส้มโอ	0.24bc	0.48c	0.76c	1.16c	1.16d
มะขวิด	0.28bc	0.52c	0.88c	0.92d	1.00d
F-test	*	*	*	*	*
C.V.(%)	30.03	19.45	17.35	11.25	8.80

อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)



ภาพที่ 3 ค่าเฉลี่ยจำนวนกิ่งที่เพิ่มขึ้นของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ

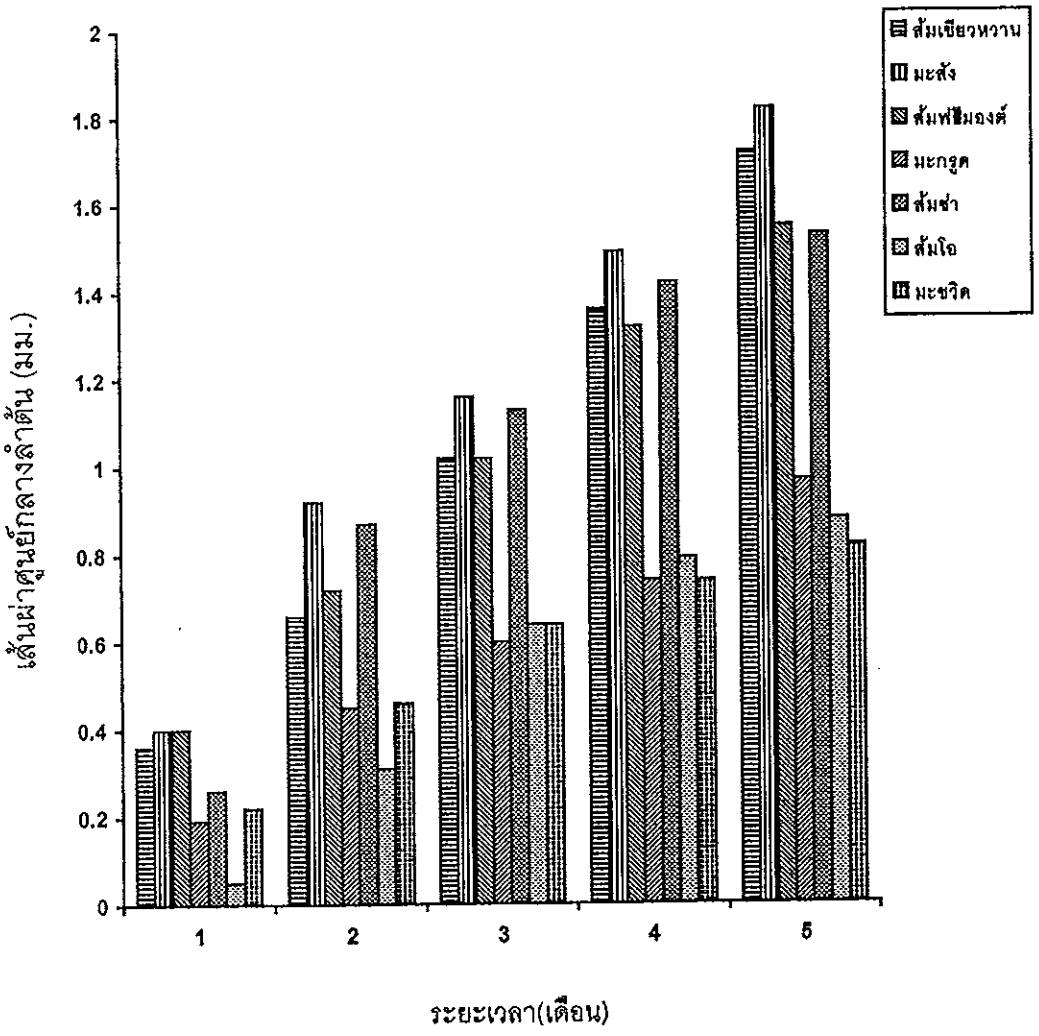
1.3 เส้นผ่าศูนย์กลางต้น

ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นส้มโชกุนที่เพิ่มขึ้นบนต้นตอส้มเขียวหวาน มะสัง ส้มฟรีมองต์ มะกรูด ส้มซ่า ส้มโอ และมะขวิด ในเดือนที่ 1 เท่ากับ 0.36, 0.40, 0.40, 0.19, 0.26, 0.05 และ 0.22 มม.ตามลำดับ โดยเส้นผ่าศูนย์กลางส้มโชกุนบนต้นตอส้มเขียวหวาน มะสัง และส้มฟรีมองต์ไม่แตกต่างกัน เดือนที่ 2 พบว่าต้นตอมะสังมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 0.92 มม. สูงกว่าบนต้นตอส้มโอที่มีค่าเส้นผ่าศูนย์กลางต้น 0.31 มม. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P \leq 0.05$) เส้นผ่าศูนย์กลางในเดือนที่ 3 ของมะสังเท่ากับ 1.16 มม. ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับบนต้นตอมะกรูดที่มีค่าเท่ากับ 0.60 มม.ส่วนในเดือนที่ 4 และ 5 พบว่า เส้นผ่าศูนย์กลางของส้มเขียวหวาน มะสัง ส้มฟรีมองต์ และส้มซ่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยสูงกว่าเส้นผ่าศูนย์กลางส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอมะกรูด ส้มโอ และมะขวิด อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 5 และภาพที่ 4)

ตารางที่ 5 ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น(มม.) ที่เพิ่มขึ้นของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆในเวลา 5 เดือน

	ระยะเวลาหลังการต่อกิ่ง (เดือน)				
ชนิดต้นตอ	1	2	3	4	5
ส้มเขียวหวาน	0.36ab	0.66ab	1.02abc	1.36a	1.72a
มะสัง	0.40a	0.92a	1.16a	1.49a	1.82a
ส้มฟรีมองต์	0.40a	0.72ab	1.02abc	1.32a	1.55a
มะกรูด	0.19c	0.45ab	0.60c	0.74b	0.97b
ส้มซ่า	0.26bc	0.87ab	1.13ab	1.42a	1.53a
ส้มโอ	0.05d	0.31b	0.64bc	0.79b	0.88b
มะขวิด	0.22c	0.46ab	0.64bc	0.74b	0.82b
F-test	*	*	*	*	*
C.V.(%)	37.02	61.98	40.70	33.92	29.80

อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)



ภาพที่ 4 ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นที่เพิ่มขึ้นของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ

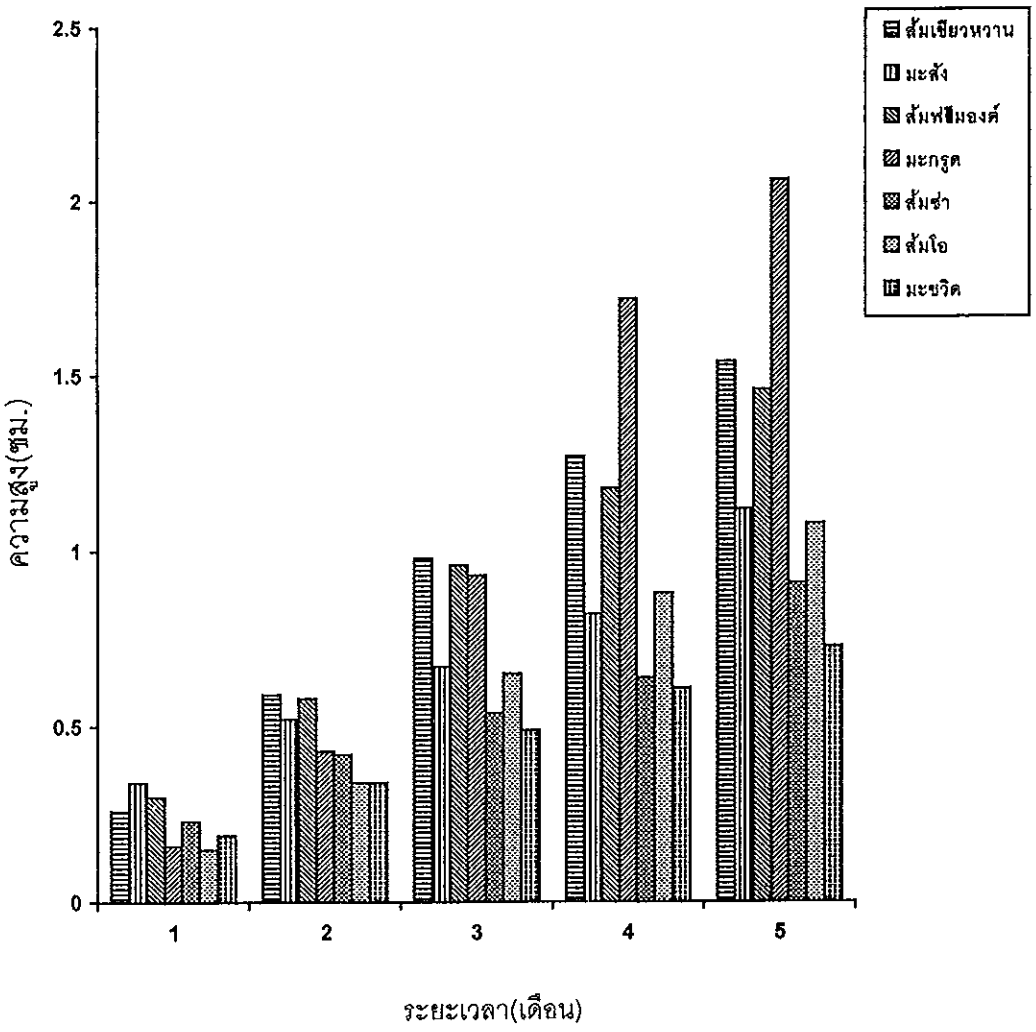
1.4 ความสูง

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ความสูงที่เพิ่มขึ้นของส้มโชกุนบนต้นตอมะสังในเดือนที่ 1 มีค่า 0.34 ซม. ซึ่งสูงกว่าบนต้นตอชนิดอื่น แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับต้นตอส้มฟรีมองต์ที่มีค่าเท่ากับ 0.30 ซม. ส่วนต้นตอมะกรูด ส้มโอ และมะขวิดในเดือนที่ 1 มีค่าต่ำกว่าต้นตอชนิดอื่นโดยมีค่าเท่ากับ 0.16, 0.15 และ 0.19 ซม. ตามลำดับ ในเดือนที่ 2 ต้นตอส้มเขียวหวานและส้มฟรีมองต์มีค่า 0.59 และ 0.58 ซม. ไม่แตกต่างทางสถิติ และมีค่าสูงกว่าบนต้นตอมะกรูด ส้มซ่า ส้มโอ และมะขวิดที่มีค่าความสูง 0.43, 0.42, 0.34 และ 0.34 ซม. ตามลำดับ ความสูงของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มเขียวหวาน ส้มฟรีมองต์ และมะกรูดมีค่าเฉลี่ยสูงที่สุดในเดือนที่ 3 เท่ากับ 0.98, 0.96 และ 0.96 ซม. ตามลำดับ ในขณะที่ต้นตอมะสัง ส้มซ่า ส้มโอ และมะขวิดมีค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าเท่ากับ 0.67, 0.54, 0.65 และ 0.49 ซม. ตามลำดับ ในเดือนที่ 4 พบว่าความสูงของส้มโชกุนบนต้นตอมะกรูดมีค่าเฉลี่ยสูงที่สุดเท่ากับ 1.72 ซม. ส่วนส้มโชกุนบนต้นตอส้มซ่าและมะขวิดมีค่าเฉลี่ยต่ำสุดเท่ากับ 0.64 และ 0.61 ซม. และในเดือนที่ 5 พบว่า ความสูงส้มโชกุนบนต้นตอมะกรูดมีค่าเฉลี่ยสูงที่สุดเท่ากับ 2.06 ซม. ในขณะที่ต้นตอมะขวิดมีค่าต่ำสุดเท่ากับ 0.73 ซม. จากผลที่ได้พบว่า ความสูงส้มโชกุนบนต้นตอส้มทุกชนิดเพิ่มขึ้นในช่วง 1 - 5 เดือน (ตารางที่ 6 และภาพที่ 5)

ตารางที่ 6 ค่าเฉลี่ยความสูง(ซม.) ที่เพิ่มขึ้นของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ ในเวลา 5 เดือน

	ระยะเวลาหลังการต่อกิ่ง (เดือน)				
ชนิดต้นตอ	1	2	3	4	5
ส้มเขียวหวาน	0.26bc	0.59a	0.98a	1.27b	1.54b
มะสัง	0.34a	0.52ab	0.67b	0.82c	1.12c
ส้มฟรีมองต์	0.30ab	0.58a	0.96a	1.18b	1.46b
มะกรูด	0.16e	0.43bc	0.93a	1.72a	2.06a
ส้มซ่า	0.23cd	0.42bc	0.54b	0.64d	0.91d
ส้มโอ	0.15e	0.34c	0.65b	0.88c	1.08c
มะขวิด	0.19de	0.34c	0.49b	0.61d	0.73e
F-test	*	*	*	*	*
C.V.(%)	17.87	19.48	17.57	12.42	9.02

อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

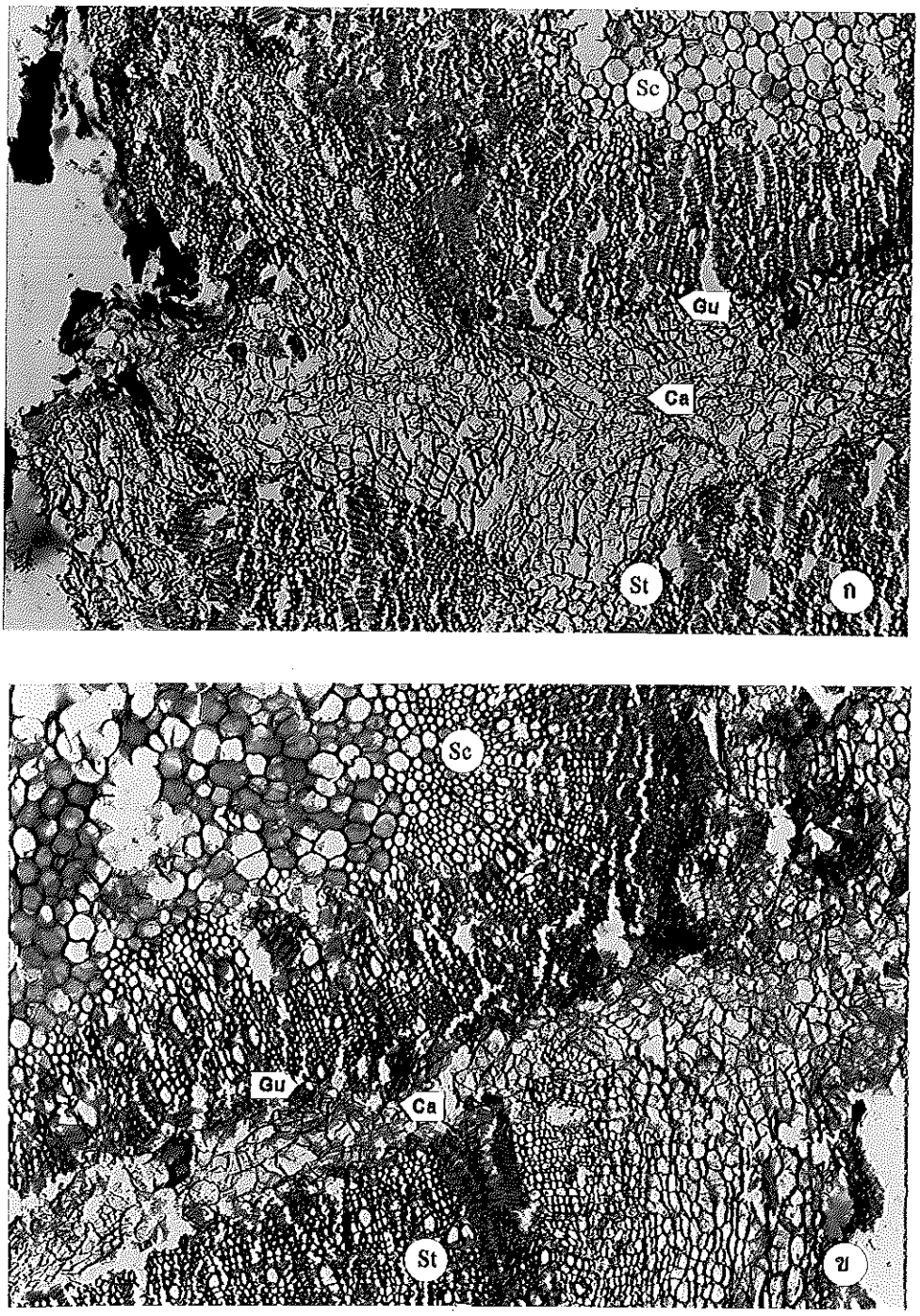


ภาพที่ 5 ค่าเฉลี่ยความสูงที่เพิ่มขึ้นของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ

2 การศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ

2.1 การศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของรอยต่อส้มโชกุนบนต้นตอส้มชนิดต่างๆที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง

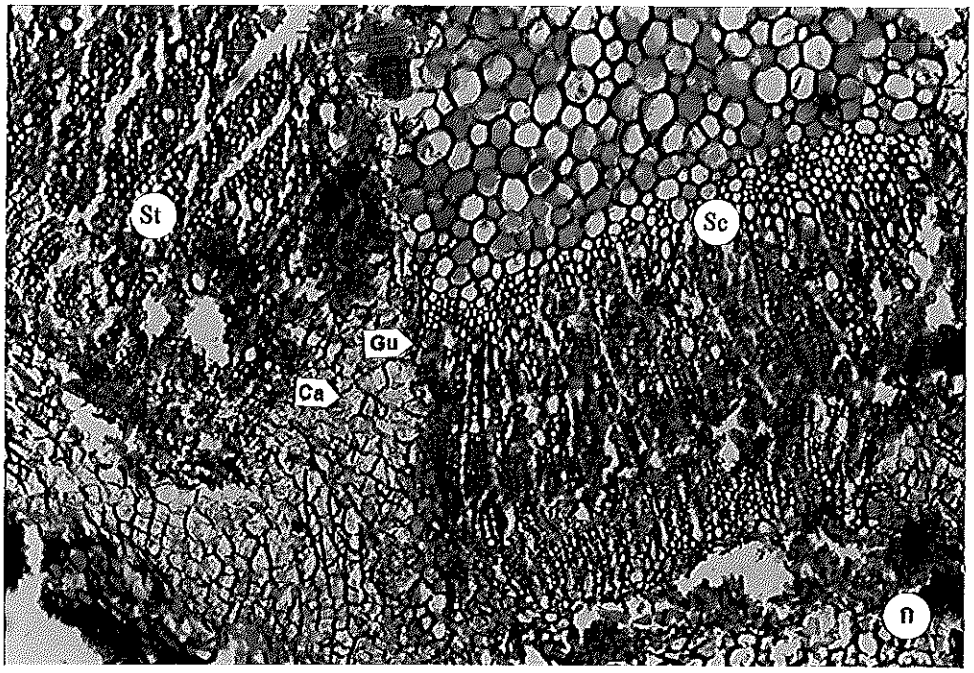
จากการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของรอยต่อส้มโชกุนบนต้นตอส้มโชกุน ส้มเขียวหวาน มะสัง ส้มฟรีมองต์ มะกรูด ส้มซ่า ส้มโอ มะขวิด และมะนาวที่ระยะเวลา 2, 4, 6, และ 8 สัปดาห์หลังการต่อกิ่งพบว่า ที่ 2 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง ระหว่างกิ่งเลี้ยงส้มโชกุนกับต้นตอส้มโชกุน (ภาพที่ 6ก) ส้มเขียวหวาน (ภาพที่ 6ข) และส้มฟรีมองต์ (ภาพที่ 7ข) ส่วนของรอยต่อมีเซลล์ที่ตายน้อยมาก มีการสร้างแคลลัสจากทั้งต้นตอ และกิ่งเลี้ยงเชื่อมรอยต่อได้สมบูรณ์ดี เซลล์มีขนาดและรูปร่างใกล้เคียงกัน แต่ยังไม่มีพัฒนาการไปเป็นเนื้อเยื่อเจริญใหม่ตรงรอยต่อ ส่วนส้มโชกุนบนต้นตอ มะสัง (ภาพที่ 7ก) ส้มซ่า (ภาพที่ 8ข) ส้มโอ (ภาพที่ 9ก) และมะนาว (ภาพที่ 10) ส่วนของรอยต่อมีการสร้างแคลลัสจากต้นตอเชื่อมรอยต่อได้ดี แต่มีเซลล์ที่ตายจากกิ่งเลี้ยงมากกว่าต้นตอส้มโชกุน ส้มเขียวหวาน และส้มซ่า ทำให้สร้างแคลลัสได้น้อยกว่า แคลลัสตรงรอยต่อไม่มีพัฒนาการไปเป็นเนื้อเยื่อเจริญใหม่ ในขณะที่การต่อกิ่งระหว่างส้มโชกุนกับต้นตอมะกรูด (ภาพที่ 8ก) และมะขวิด (ภาพที่ 9ข) พบว่ามีการสร้างแคลลัสจากต้นตอและกิ่งเลี้ยงน้อยมาก ระหว่างรอยต่อพบว่าแคลลัสยังไม่มีพัฒนาการไปเป็นเนื้อเยื่อเจริญใหม่



ภาพที่ 6 ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอส้มโชกุน (ก) และ ส้มเขียวหวาน (ข) อายุ 2 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง (x100)

St = ต้นตอ Sc = กิ่งพันธุ์ดี

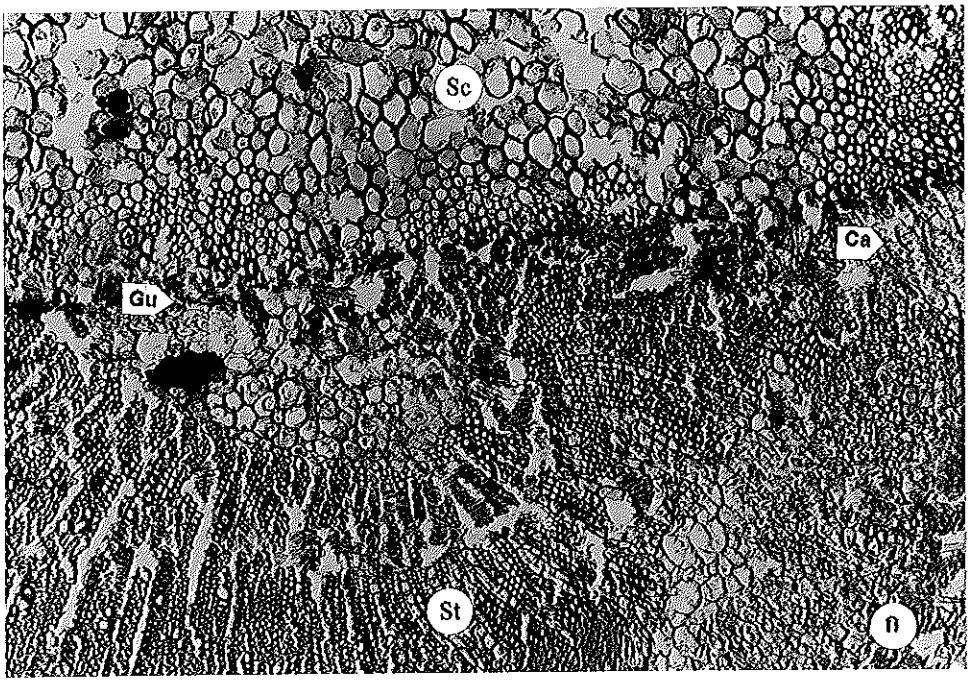
Ca = แคลลัส Gu = รอยต่อ

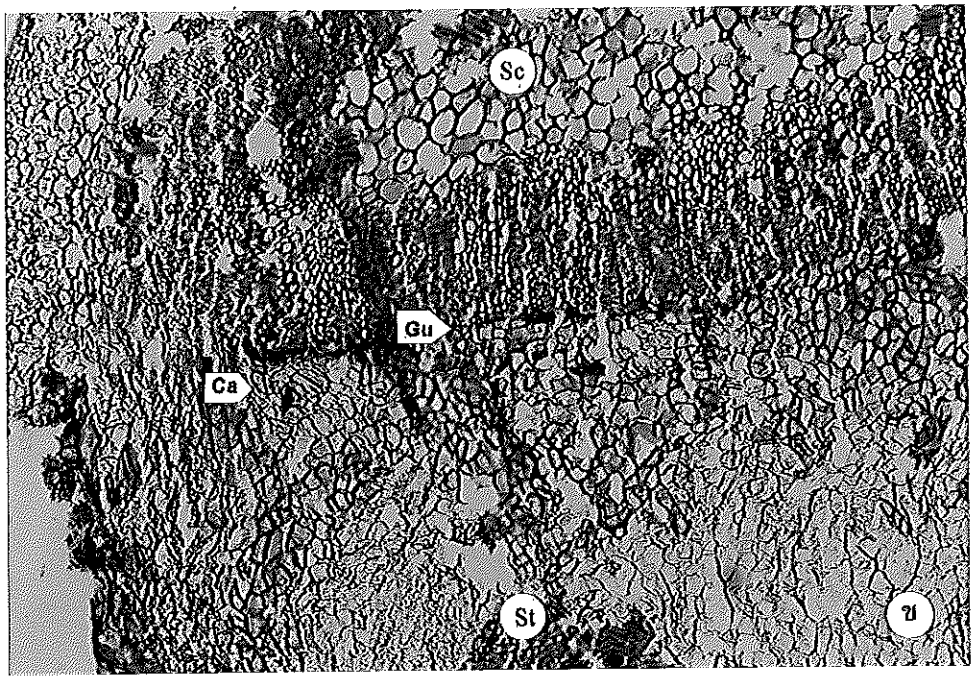


ภาพที่ 7 ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอมะสัง (ก) และ ส้มฟรีมองต์ (ข) อายุ 2 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง (x100)

St = ต้นตอ Sc = กิ่งพันธุ์ดี

Ca = แคลลัส Gu = รอยต่อ

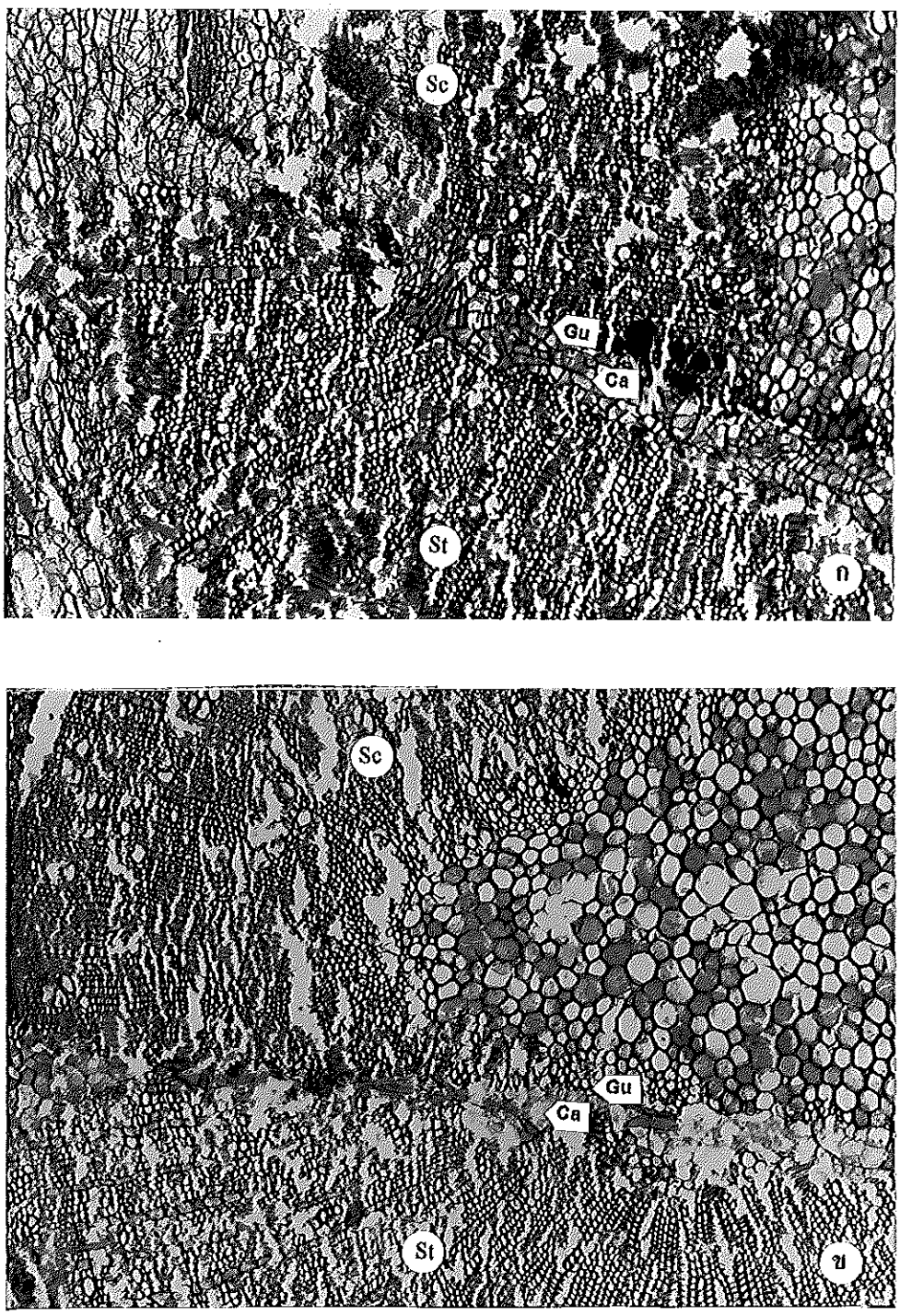




ภาพที่ 8 ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอมะกรูด (ก) และ ส้มซ่า (ข) อายุ 2 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง (x100)

St = ต้นตอ Sc = กิ่งพันธุ์ดี

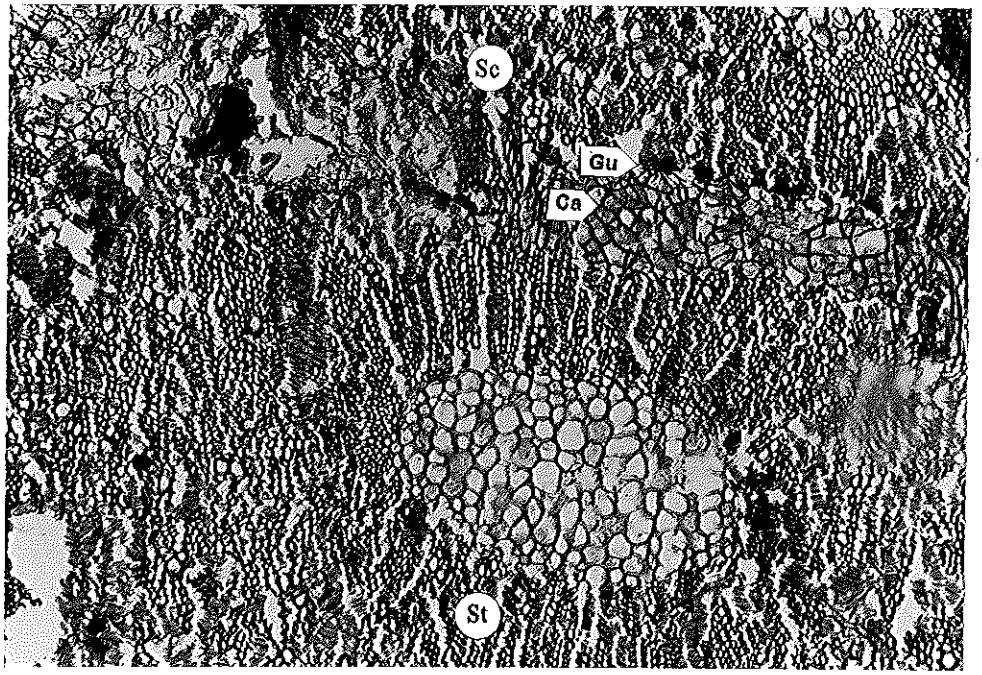
Ca = แคลลัส Gu = รอยต่อ



ภาพที่ 9 ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอส้มโอ (ก) และมะขวิด (ข) อายุ 2 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง (x100)

St = ต้นตอ Sc = กิ่งพันธุ์ดี

Ca = แคลลัส Gu = รอยต่อ



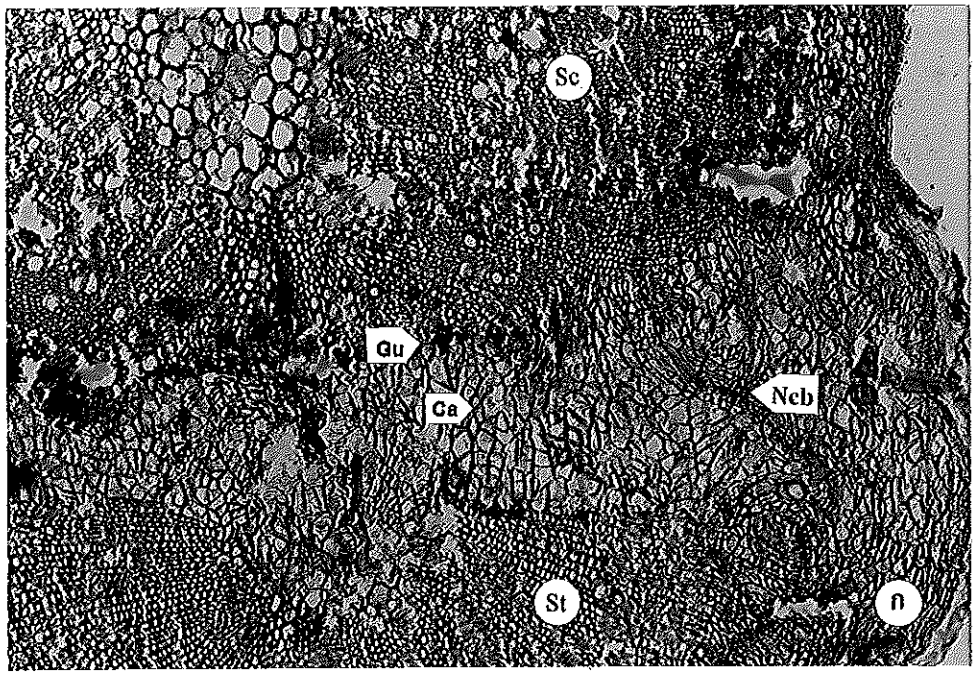
ภาพที่ 10 ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอมะนาว อายุ 2 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง (x100)

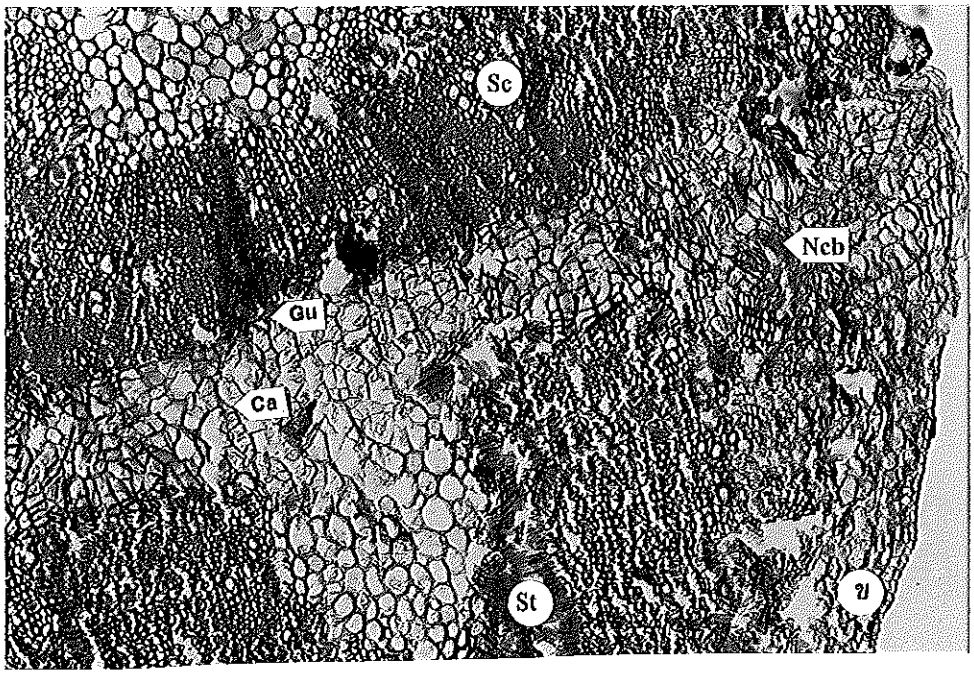
St = ต้นตอ Sc = กิ่งพันธุ์ดี

Ca = แคลลัส Gu = รอยต่อ

2.2 การศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของรอยต่อส้มโชกุนบนต้นตอส้มชนิดต่างๆที่ระยะ เวลา 4 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง

ลักษณะเนื้อเยื่อวิทยาของรอยต่อส้มโชกุนบนต้นตอส้มชนิดต่างๆที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง พบว่ารอยต่อระหว่างส้มโชกุนกับส้มโชกุนมีการสร้างแคลลัสจากทั้งต้นตอและกิ่งเลี้ยงได้สมบูรณ์ดีขึ้น ขนาดและรูปร่างเซลล์ใกล้เคียงกัน แคลลัสระหว่างรอยต่อมีพัฒนาการไปเป็นเนื้อเยื่อเจริญใหม่เชื่อมต่อระหว่างแคมเบียมจากต้นตอและกิ่งเลี้ยงตรงส่วนรอยต่อได้ดี (ภาพที่ 11ก) ส่วนรอยต่อส้มโชกุนบนต้นตอส้มเขียวหวาน (ภาพที่ 11ข) มะสัง (ภาพที่ 12ก) ส้มฟรีมองต์ (ภาพที่ 12ข) ส้มซ่า (ภาพที่ 13ข) ส้มโอ(ภาพที่ 14ก) มะขวิด (ภาพที่ 14ข) และมะนาว (ภาพที่ 15) พบว่า ตรงรอยต่อในส่วนกิ่งเลี้ยงมีเซลล์ที่ตายมากกว่าส่วนของต้นตอ แคลลัสส่วนมากจึงสร้างจากต้นตอ และแคลลัสจากต้นตอเชื่อมรอยต่อได้ดี แคลลัสเริ่มมีพัฒนาการไปเป็นเนื้อเยื่อเจริญใหม่ระหว่างรอยต่อ ในขณะที่รอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอมะกรูด (ภาพที่ 13ก) รอยต่อมีเซลล์ที่ตายจำนวนมากทำให้สร้างแคลลัสได้น้อยกว่าต้นตอส้มชนิดอื่นๆ ตรงระหว่างรอยต่อแคลลัสไม่มีพัฒนาการไปเป็นเนื้อเยื่อเจริญใหม่

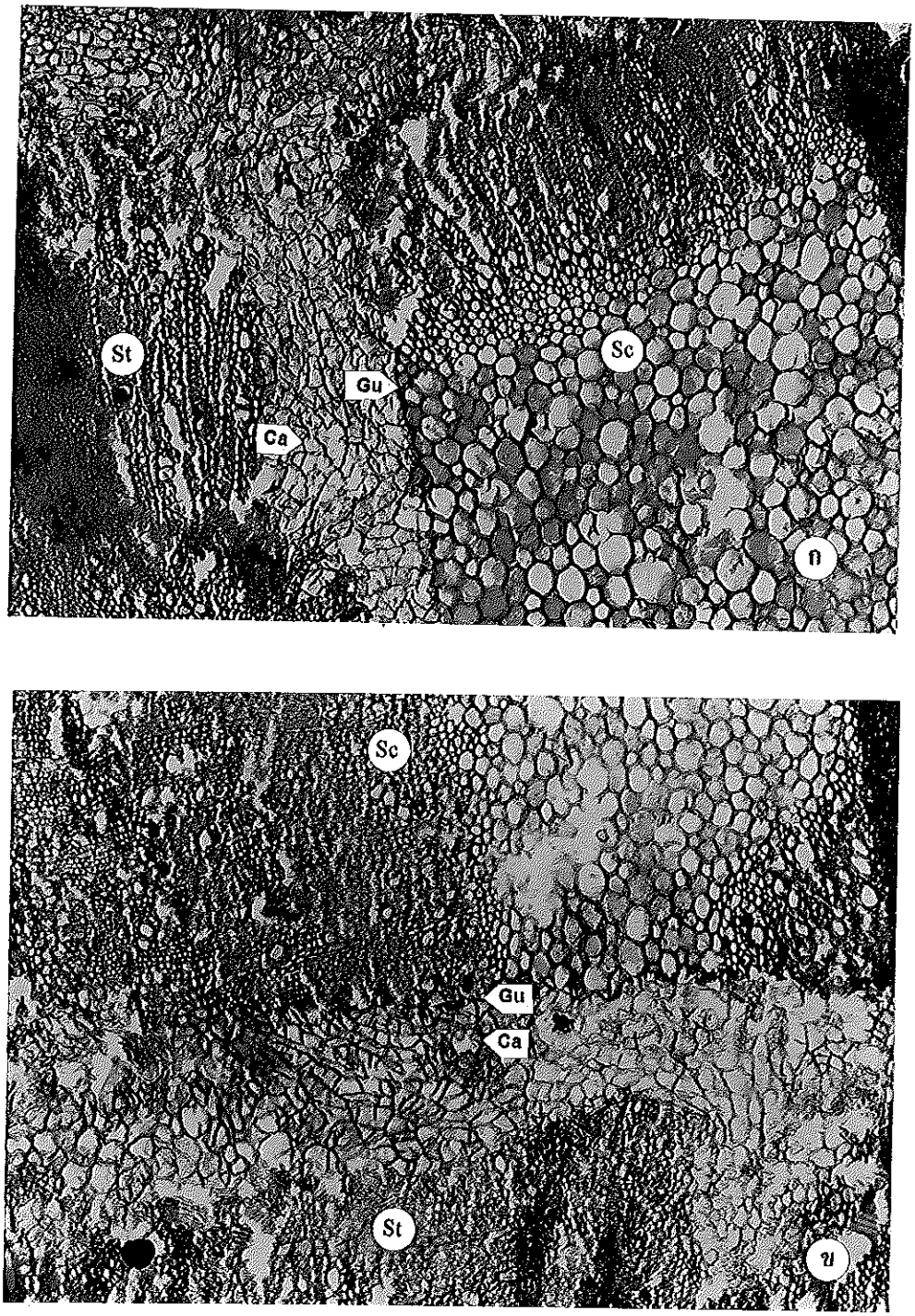




ภาพที่ 11 ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอส้มโชกุน (ก) และ ส้มเขียวหวาน (ข) อายุ 4 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง

St = ต้นตอ Sc = กิ่งพันธุ์ดี Ncb = แนวเนื้อเยื่อเจริญใหม่

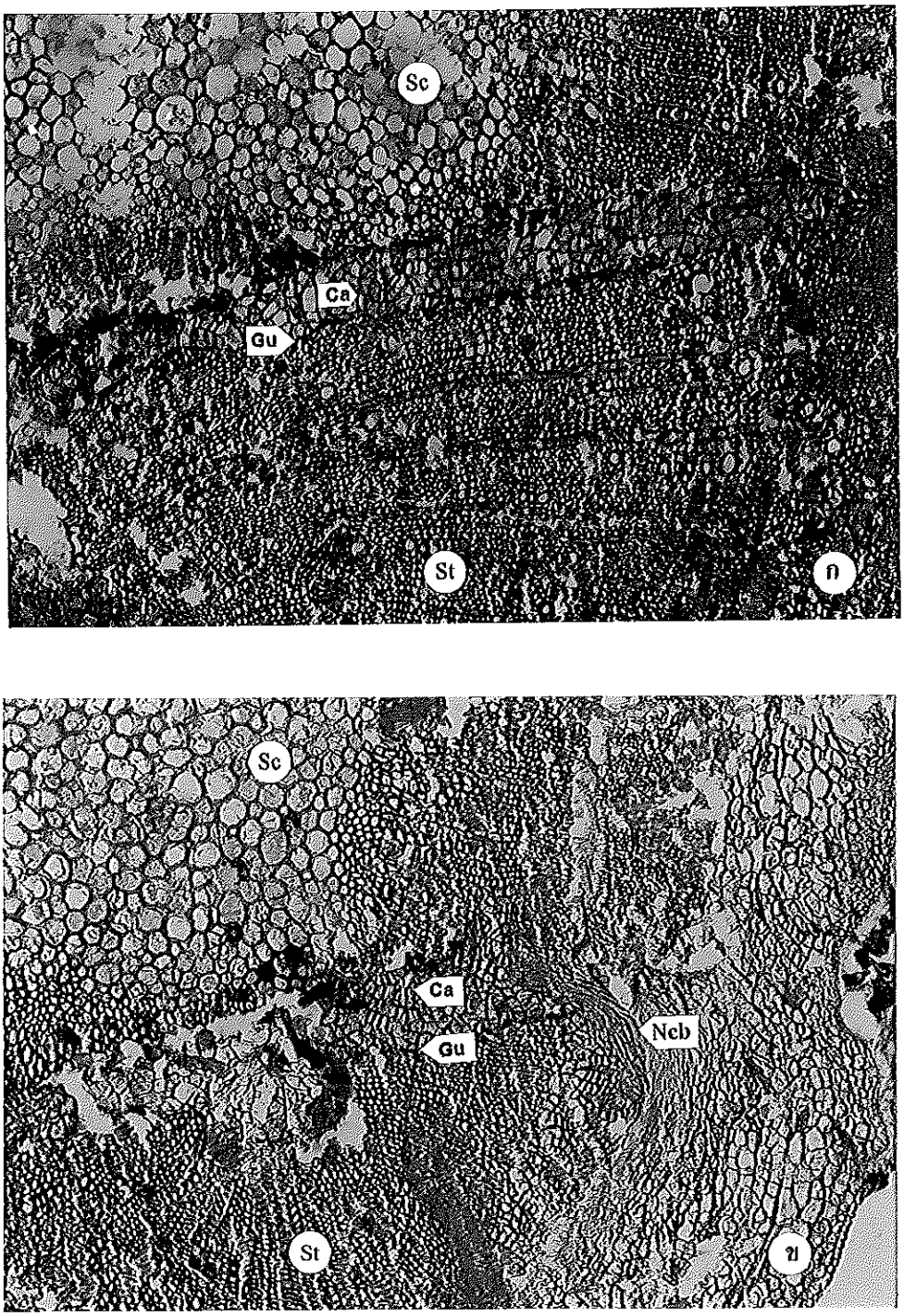
Ca = แคลลัส Gu = รอยต่อ



ภาพที่ 12 ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอมะสัง (ก) และ ส้มฟรีมองต์ (ข) อายุ 4 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง

St = ต้นตอ Sc = กิ่งพันธุ์ดี

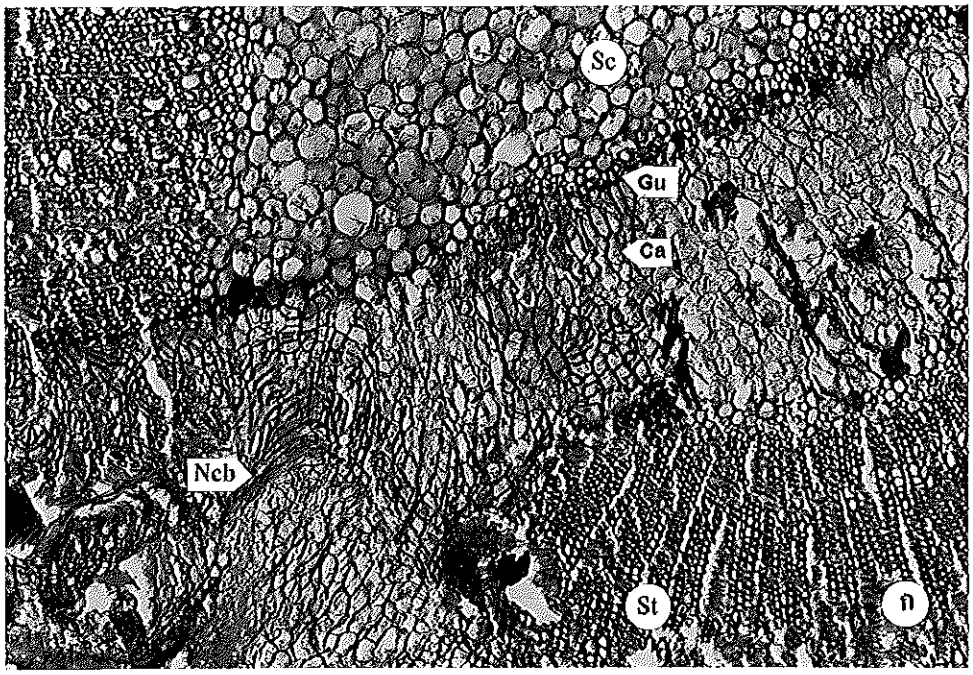
Ca = แคลลัส Gu = รอยต่อ

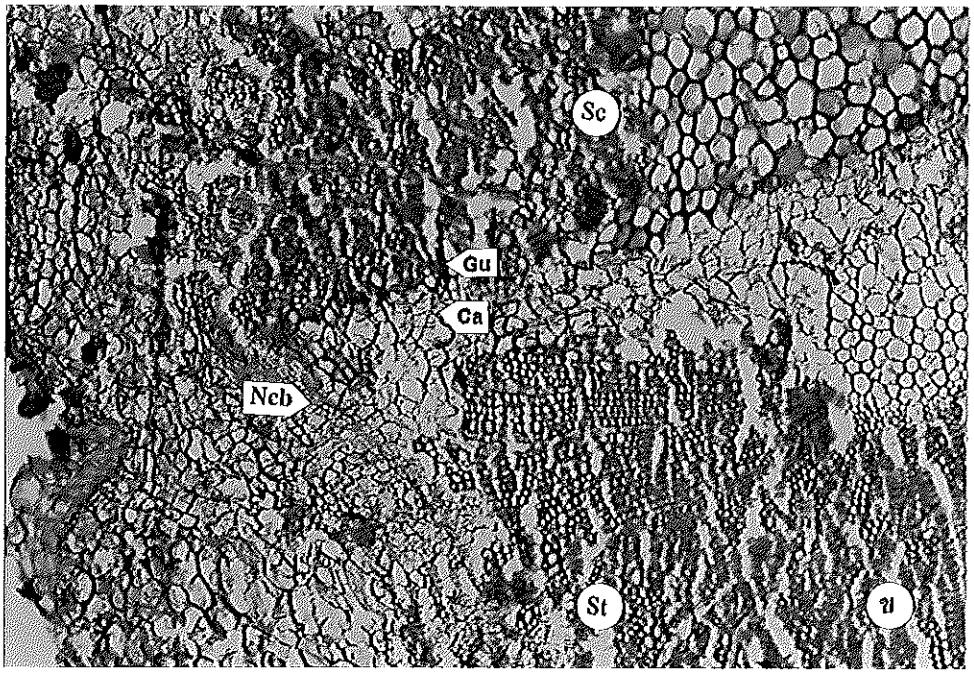


ภาพที่ 13 ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอมะกรูด (ก) และ ส้มซ่า (ข) อายุ 4 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง

St = ต้นตอ Sc = กิ่งพันธุ์ดี Ncb = แนวเนื้อเยื่อเจริญใหม่

Ca = แคลลัส Gu = รอยต่อ

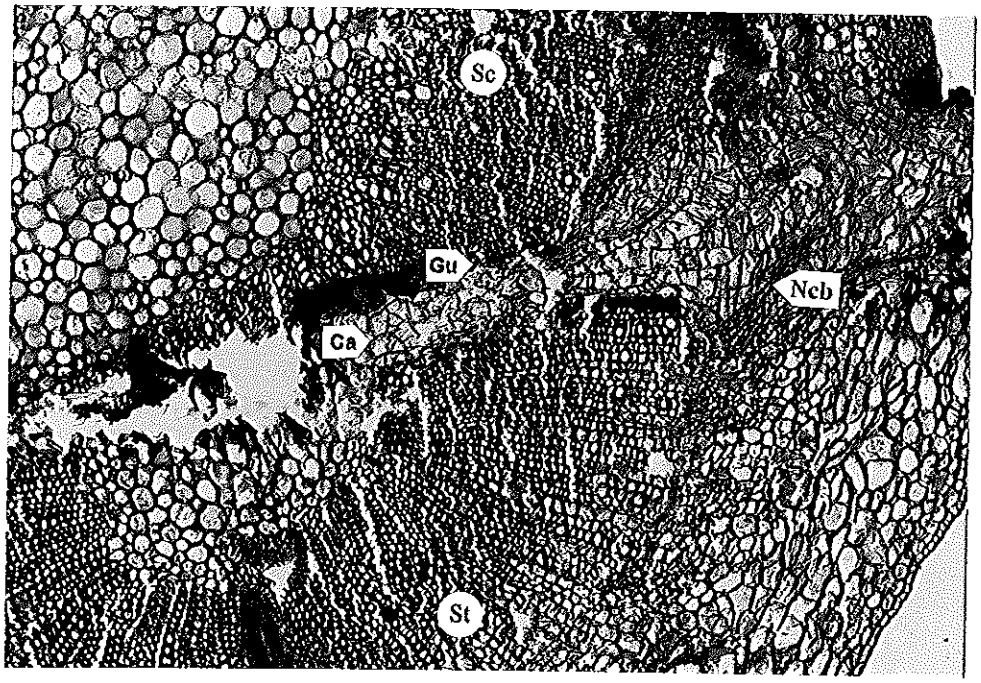




ภาพที่ 14 ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอส้มโอ (ก) และ มะขวิด (ข) อายุ 4 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง

St = ต้นตอ Sc = กิ่งพันธุ์ดี Ncb = แนวเนื้อเยื่อเจริญใหม่

Ca = แคลลัส Gu = รอยต่อ



ภาพที่ 15 ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอมะนาว

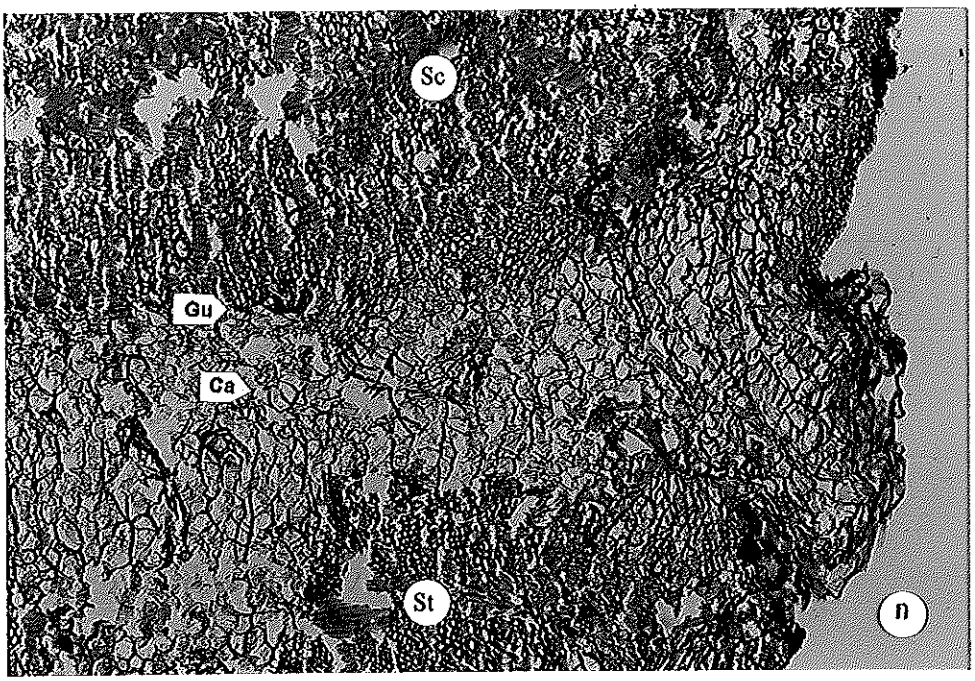
อายุ 4 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง

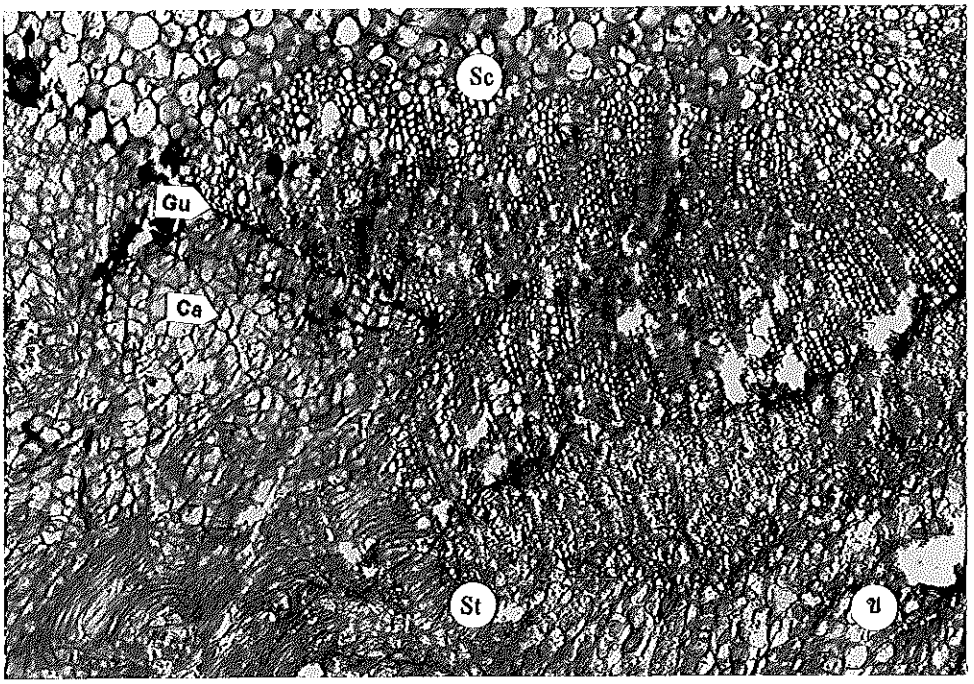
St = ต้นตอ Sc = กิ่งพันธุ์ดี Ncb = แนวเนื้อเยื่อเจริญใหม่

Ca = แคลลัส Gu = รอยต่อ

2.3 การศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของรอยต่อส้มโชกุนบนต้นตอส้มชนิดต่างๆที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง

ลักษณะเนื้อเยื่อวิทยาของรอยต่อส้มโชกุนบนต้นตอส้มชนิดต่างๆภายหลังการต่อกิ่งเป็นเวลา 6 สัปดาห์พบว่า รอยต่อส้มโชกุนบนต้นตอส้มโชกุนมีการสร้างแคลลัสจากต้นตอเชื่อมรอยต่อได้ดี ขนาด และรูปร่างเซลล์ใกล้เคียงกัน แต่แคลลัสที่ติดกับท่อน้ำท่ออาหารยังไม่มีการพัฒนาไปเป็นเนื้อเยื่อเจริญใหม่ (ภาพที่ 16ก) ในทำนองเดียวกันกับส้มฟรีมองต์ (ภาพที่ 17ข) พบว่า ลักษณะเซลล์ระหว่างรอยต่อเชื่อมตัวกันค่อนข้างสมบูรณ์ ส่วนส้มโชกุนบนต้นตอมะสัง (ภาพที่ 17ก) มีการสร้างแคลลัสจากกิ่งเลี้ยงเชื่อมรอยต่อได้ดีแต่แคลลัสตรงระหว่างรอยต่อยังไม่มีพัฒนาการไปเป็นเนื้อเยื่อเจริญใหม่ ในขณะที่รอยต่อส้มเขียวหวาน (ภาพที่ 16ข) มะกรูด (ภาพที่ 18ก) ส้มซ่า (ภาพที่ 18ข) ส้มโอ (ภาพที่ 19ก) และมะนาว (ภาพที่ 20) มีการสร้างแคลลัสจากต้นตอเชื่อมรอยต่อได้ดี มีการพัฒนาของแคลลัสไปเป็นเนื้อเยื่อเจริญตรงบริเวณระหว่างรอยต่อ ในขณะที่ส้มโชกุนบนต้นตอมะขวิดมีการสร้างแคลลัสจากต้นตอเชื่อมรอยต่อได้ดี และแคลลัสมีพัฒนาการไปเป็นเนื้อเยื่อเจริญใหม่ชัดเจน (ภาพที่ 19ข)

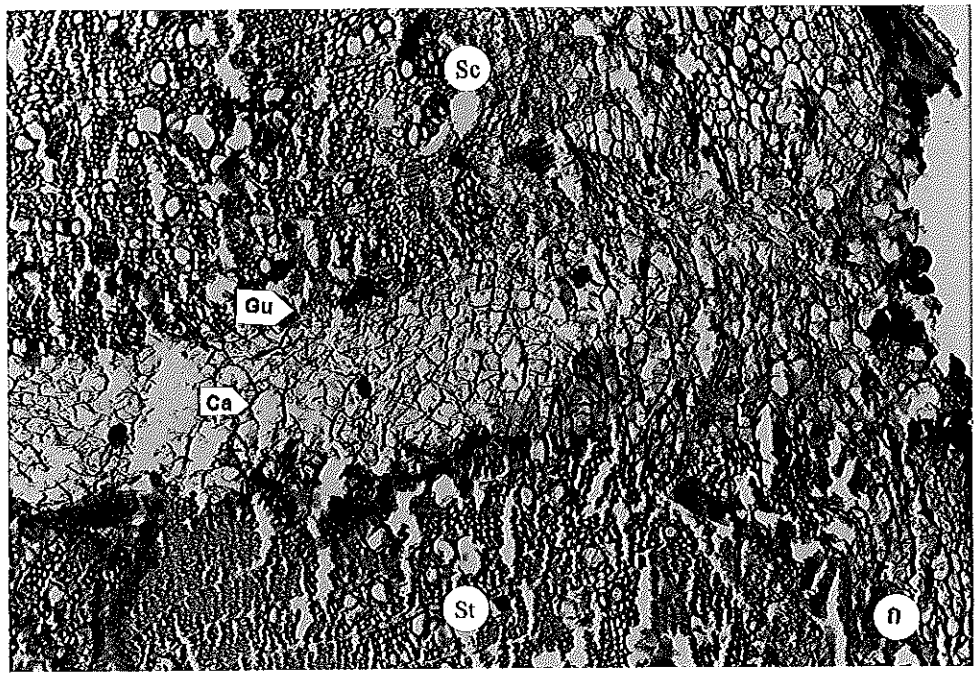


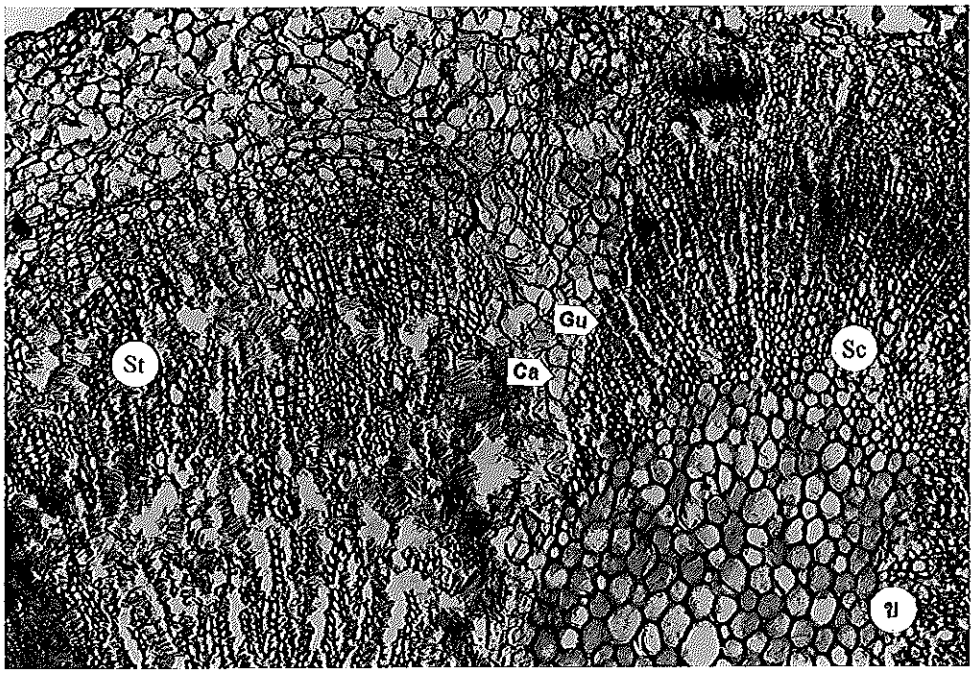


ภาพที่ 16 ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอส้มโชกุน (ก) และส้มเขียวหวาน (ข) อายุ 6 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง (x100)

St = ต้นตอ Sc = กิ่งพันธุ์ดี

Ca = แคลลัส Gu = รอยต่อ

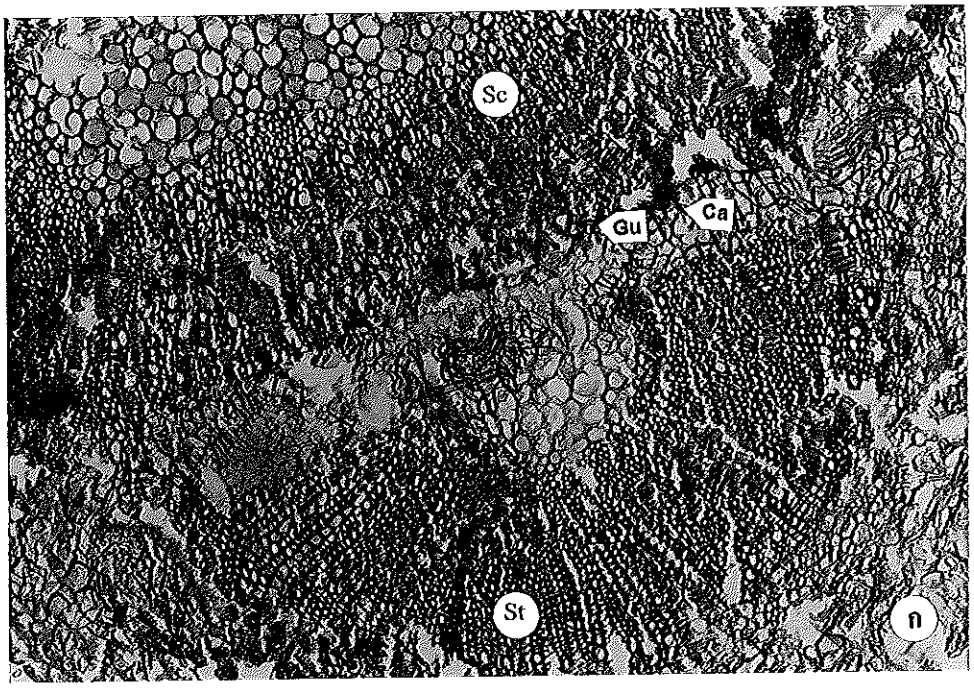


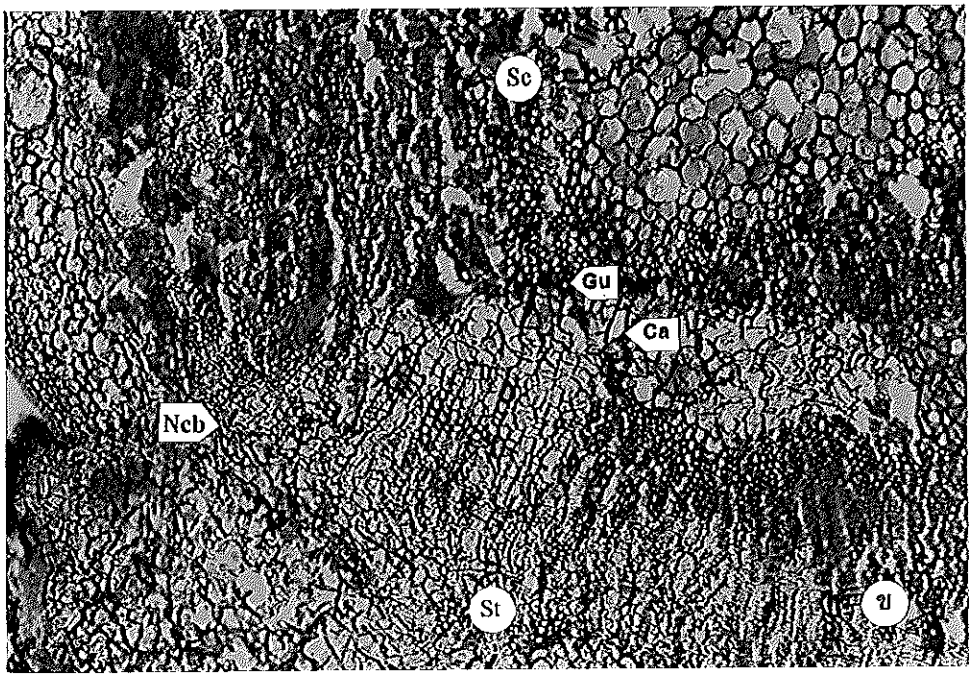


ภาพที่ 17 ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอมะสัง (ก) และส้มฟรีมองต์ (ข) อายุ 6 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง (x100)

St = ต้นตอ Sc = กิ่งพันธุ์ดี

Ca = แคลลัส Gu = รอยต่อ

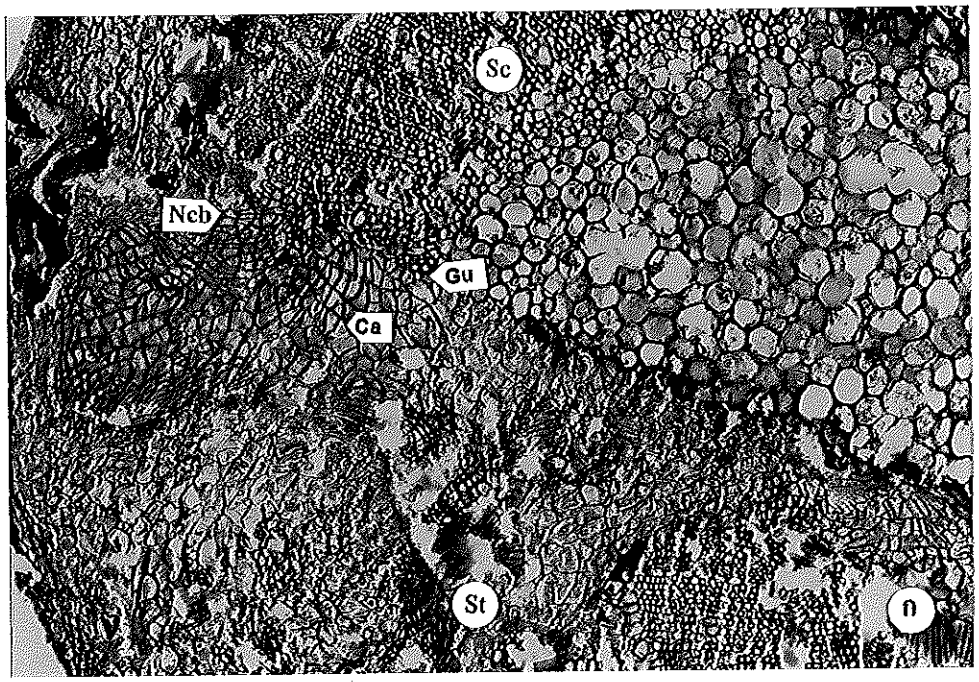


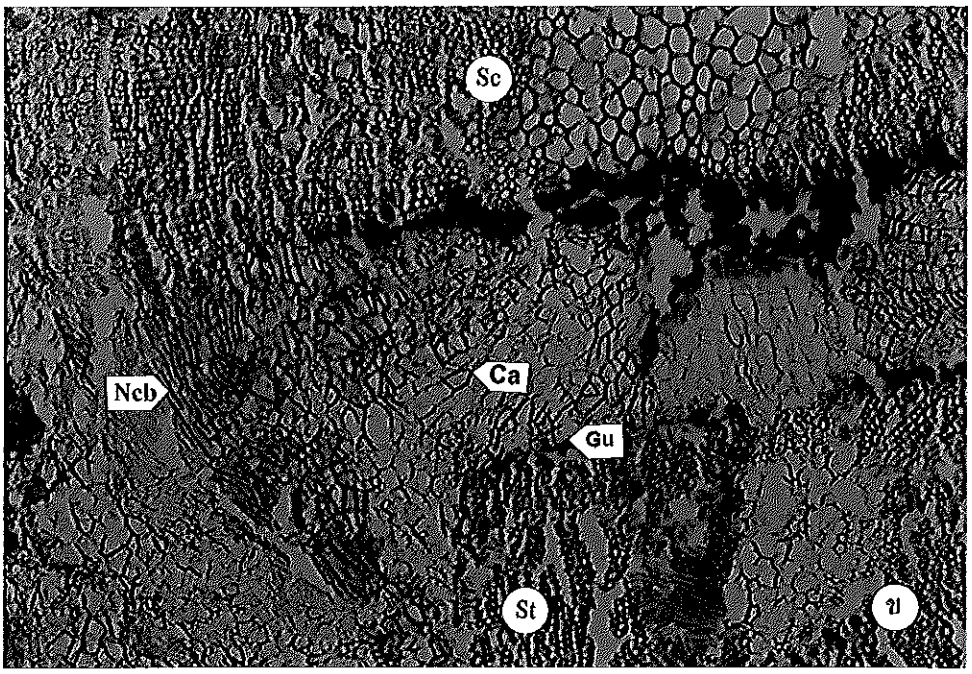


ภาพที่ 18 ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอมะกรูด (ก) และ ส้มซ่า (ข) อายุ 6 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง (x100)

St = ต้นตอ Sc = กิ่งพันธุ์ดี Ncb = แนวเนื้อเยื่อเจริญใหม่

Ca = แคลลัส Gu = รอยต่อ

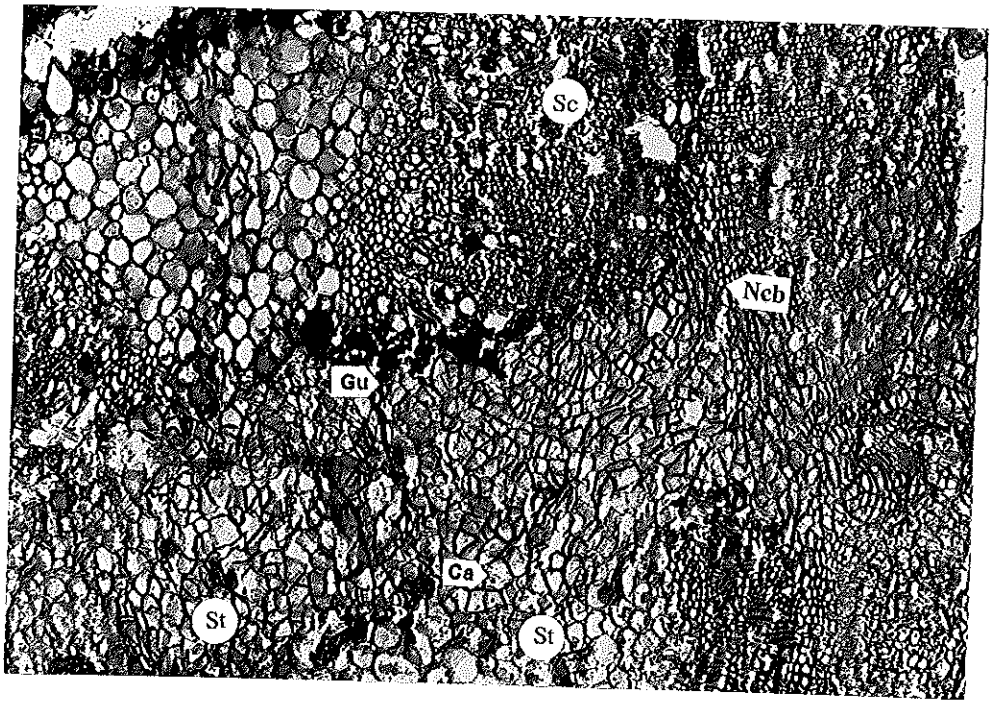




ภาพที่ 19 ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอส้มโอ (ก) และ มะขวิด (ข) อายุ 6 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง (x100)

St = ต้นตอ Sc = กิ่งพันธุ์ดี Ncb = แนวเนื้อเยื่อเจริญใหม่

Ca = แคลลัส Gu = รอยต่อ



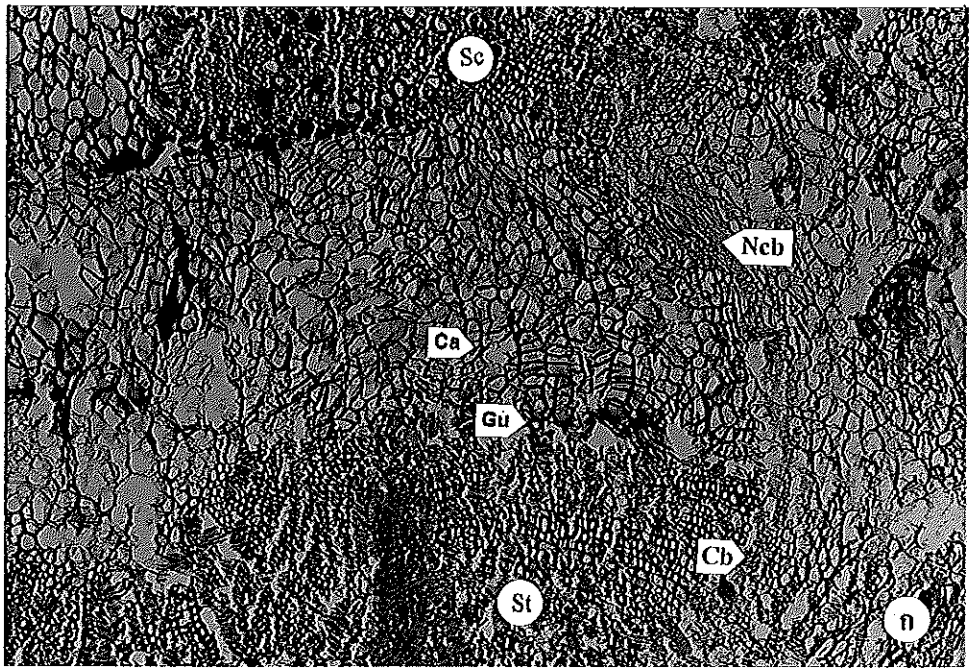
ภาพที่ 20 ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอมะนาว
อายุ 6 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง (x100)

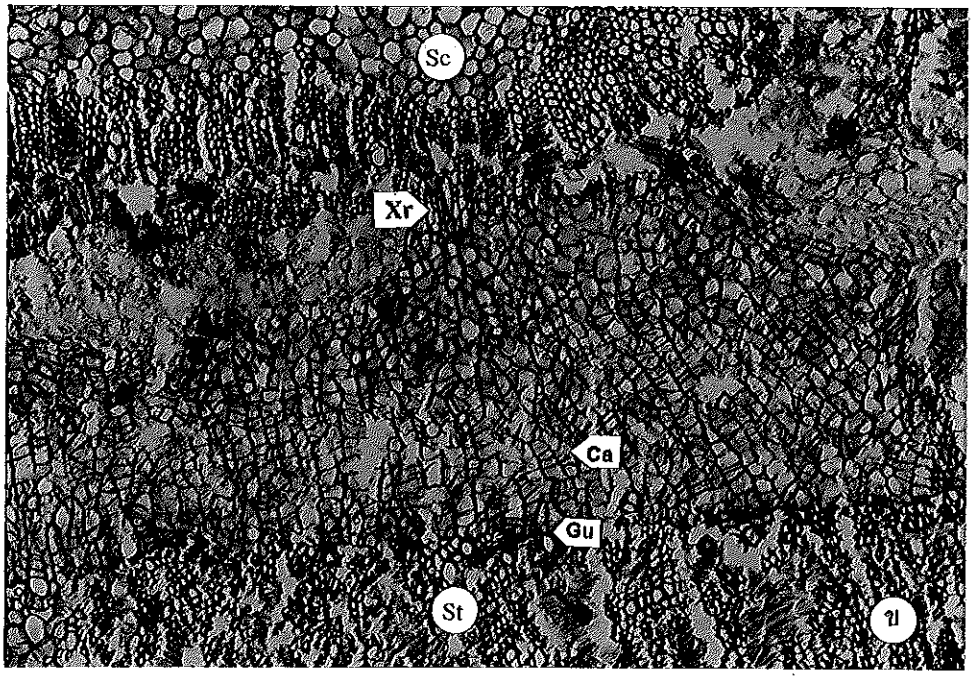
St = ต้นตอ Sc = กิ่งพันธุ์ดี Ncb = แนวเนื้อเยื่อเจริญใหม่

Ca = แคลลัส Gu = รอยต่อ

2.4 การศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของรอยต่อส้มโชกุนบนต้นตอส้มชนิดต่างๆที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง

ลักษณะเนื้อเยื่อวิทยาของรอยต่อส้มโชกุนบนต้นตอส้มชนิดต่างๆภายหลังการต่อกิ่งเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ต้นตอส้มโชกุนมีการสร้างแคลลัสจากต้นตอเชื่อมรอยต่อได้ดี ลักษณะและขนาดของเซลล์ใกล้เคียงกัน. แคลลัสระหว่างรอยต่อมีพัฒนาการไปเป็นเนื้อเยื่อเจริญใหม่เชื่อมต่อระหว่างต้นตอและกิ่งเลี้ยง (ภาพที่ 21ก) ในทำนองเดียวกันกับต้นตอมะสัง (ภาพที่ 22ก) ส้มฟรีมองต์ (ภาพที่ 22ข) ส้มโอ (ภาพที่ 24ก) มะขวิด (ภาพที่ 24ข) และมะนาว (ภาพที่ 25) พบว่า แคลลัสตรงระหว่างรอยต่อมีพัฒนาการไปเป็นเนื้อเยื่อเจริญใหม่ ส่วนต้นตอมะกรูด (ภาพที่ 23ก) ตรงรอยต่อมีเซลล์ที่ตายมากทำให้สร้างแคลลัสได้น้อย แต่แคลลัสตรงระหว่างรอยต่อที่ติดตรงส่วน cortex ลำต้น มีการพัฒนาไปเป็นเนื้อเยื่อเจริญใหม่เช่นเดียวกันกับต้นตอชนิดอื่นๆ ส่วนรอยต่อระหว่างต้นตอส้มโชกุนกับส้มซ่ามีการสร้างแคลลัสทั้งจากต้นตอและกิ่งเลี้ยงเชื่อมรอยต่อได้ดี ลักษณะเซลล์ของรอยต่อเชื่อมตัวกันค่อนข้างสมบูรณ์ (ภาพที่ 23ข) ในขณะที่รอยต่อของส้มเขียวหวานมีการสร้างแคลลัสได้ดี ลักษณะของเซลล์มีขนาดและรูปร่างใกล้เคียงกันมาก ส่วนท่อน้ำท่ออาหารมีพัฒนาการของแคลลัสไปเป็นเนื้อเยื่อเจริญพร้อมที่จะสร้างท่อน้ำต่อไป (ภาพที่ 21ข)



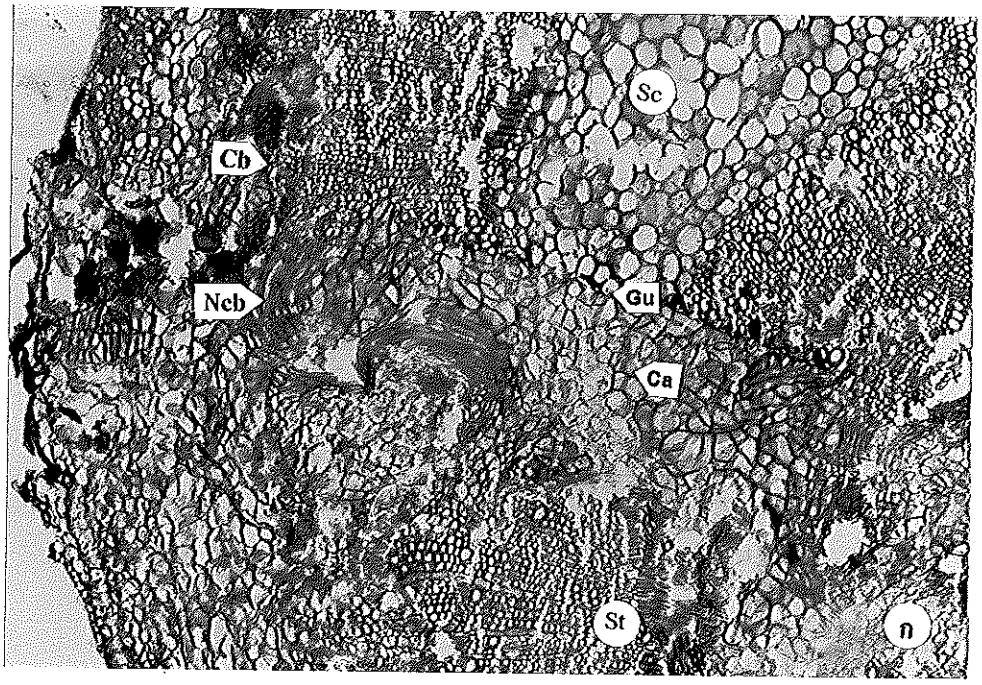


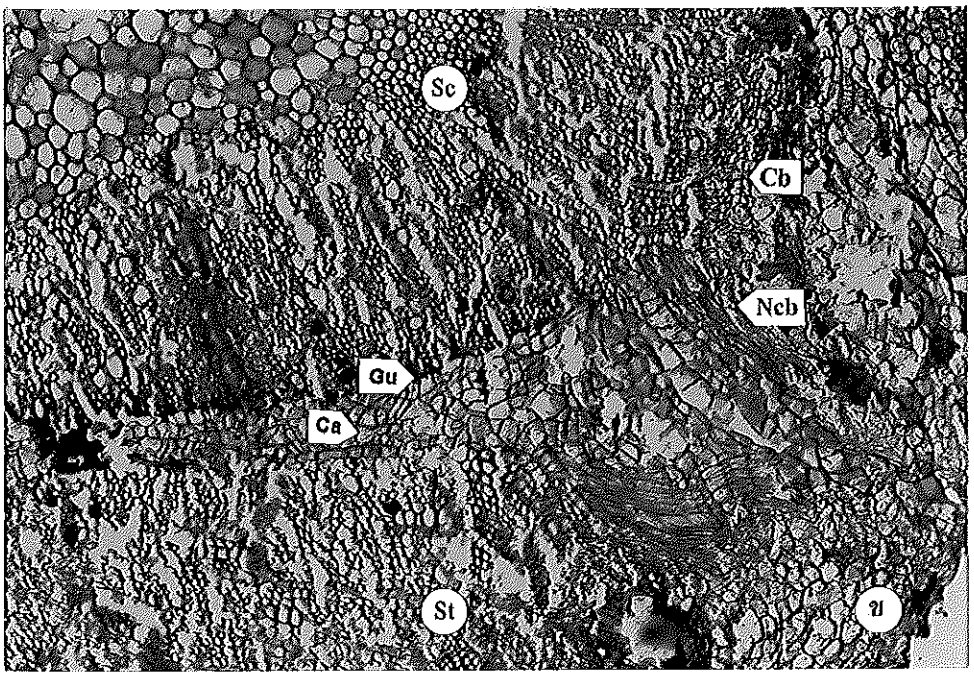
ภาพที่ 21 ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอส้มโชกุน (ก) และ ส้มเขียวหวาน (ข) อายุ 8 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง (x100)

St = ต้นตอ Sc = กิ่งพันธุ์ดี Cb = เนื้อเยื่อเจริญ

Ca = แคลลัส Gu = รอยต่อ Ncb = แนวเนื้อเยื่อเจริญใหม่

Xr = ไซเลมเรย์

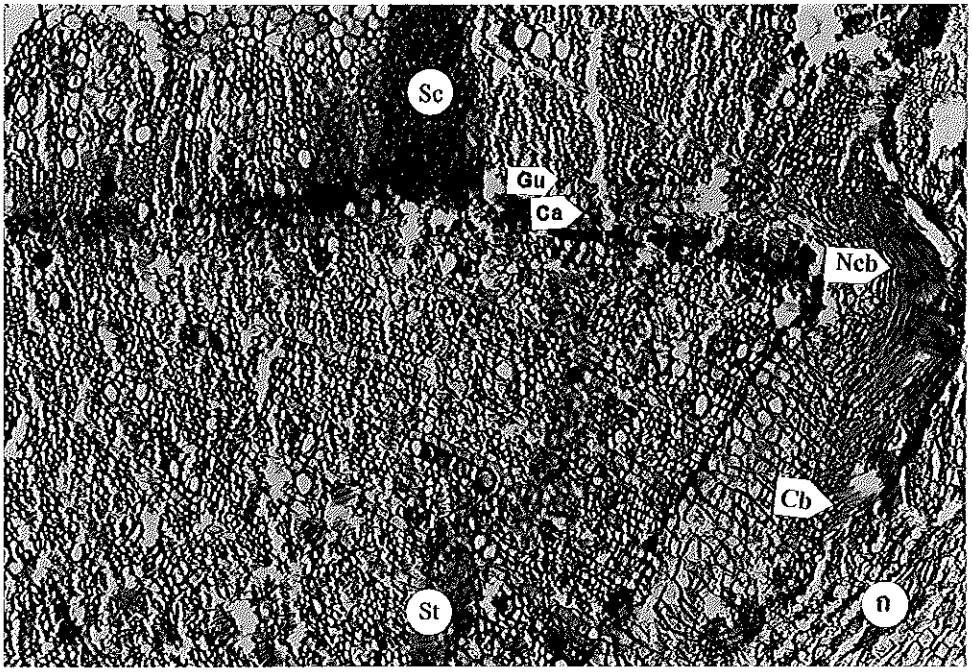


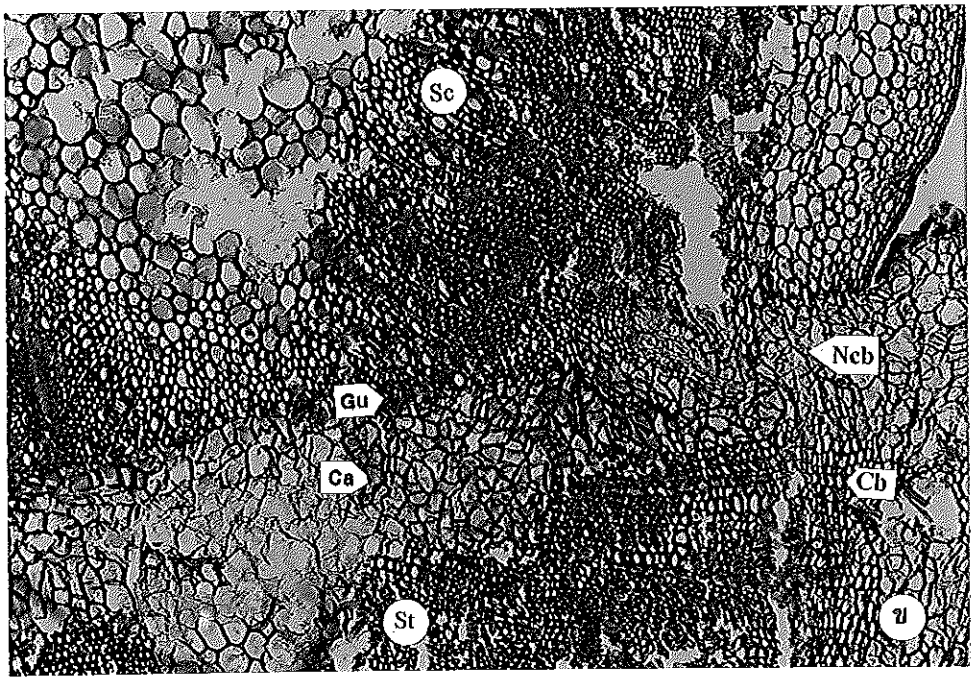


ภาพที่ 22 ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอมะสัง (ก) และ ส้มฟรีมองต์ (ข) อายุ 8 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง (x100)

St = ต้นตอ Sc = กิ่งพันธุ์ดี Cb = เนื้อเยื่อเจริญ

Ca = แคลลัส Gu = รอยต่อ Ncb = แนวเนื้อเยื่อเจริญใหม่

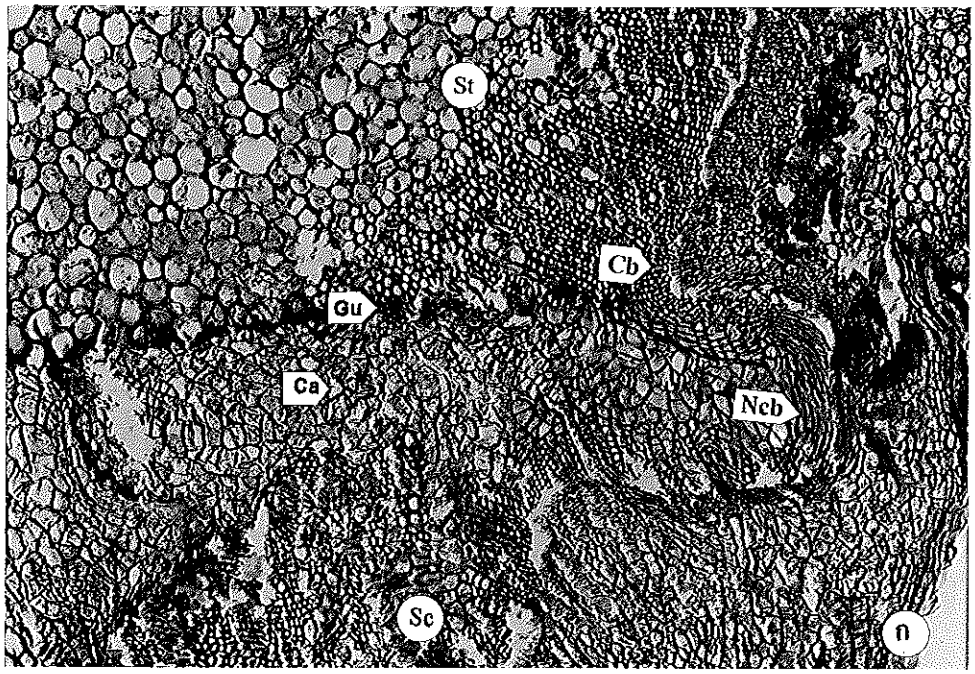


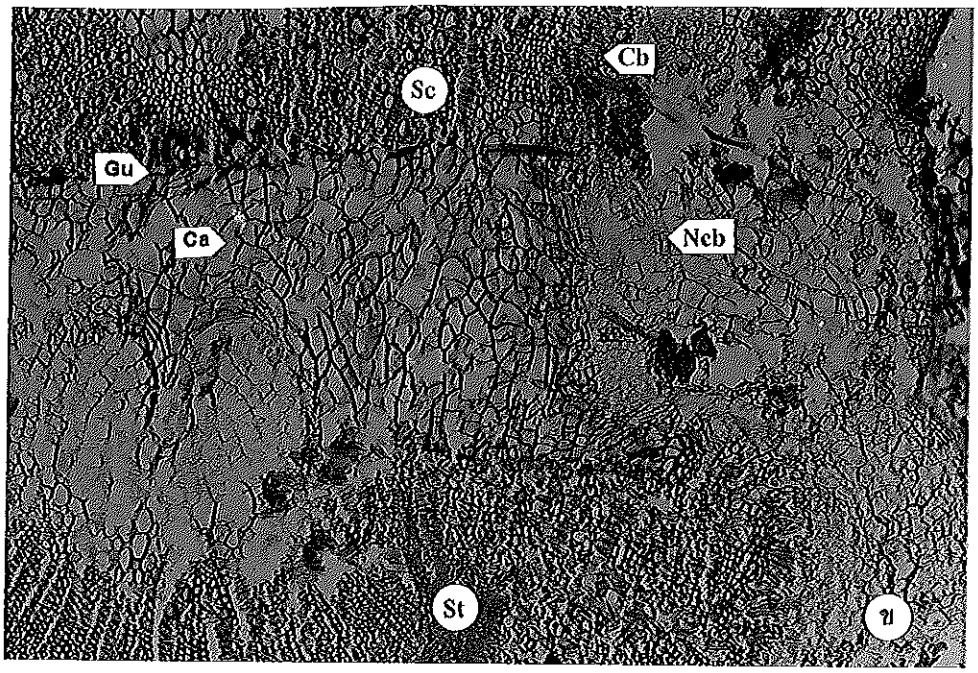


ภาพที่ 23 ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอมะกรูด (ก) และ ส้มซ่า (ข) อายุ 8 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง (x100)

St = ต้นตอ Sc = กิ่งพันธุ์ดี Cb = เนื้อเยื่อเจริญ

Ca = แคลลัส Gu = รอยต่อ Ncb = แนวเนื้อเยื่อเจริญใหม่

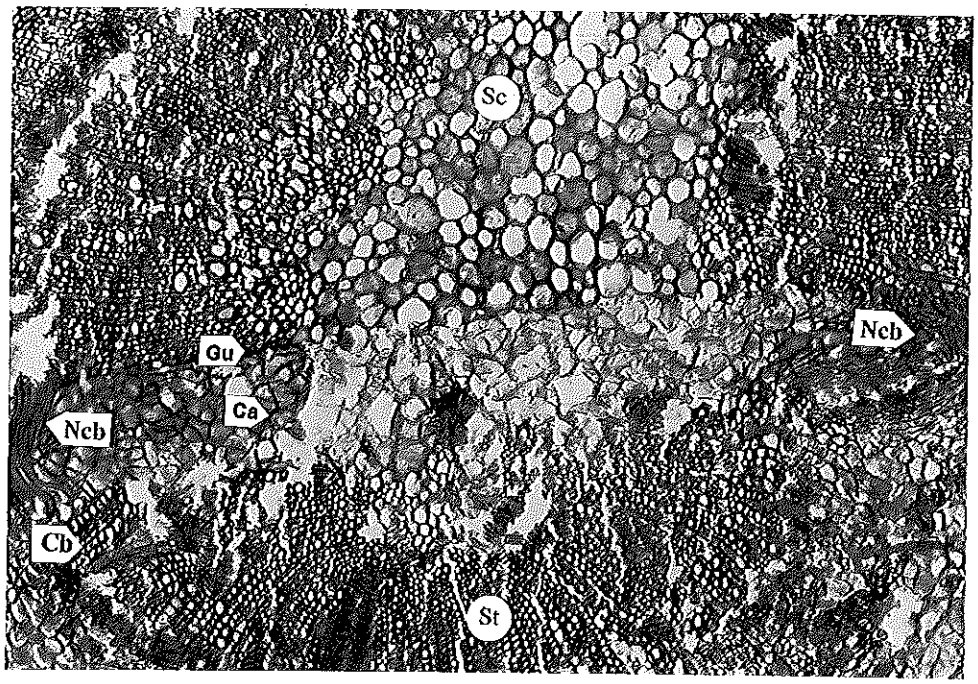




ภาพที่ 24 ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอส้มโอ (ก) และ มะขวิด (ข) อายุ 8 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง (x100)

St = ต้นตอ Sc = กิ่งพันธุ์ดี Cb = เนื้อเยื่อเจริญ

Ca = แคลลัส Gu = รอยต่อ Ncb = แนวเนื้อเยื่อเจริญใหม่



ภาพที่ 25 ภาพตัดตามขวางของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอมะนาว
อายุ 8 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง (x100)

St = ต้นตอ Sc = กิ่งพันธุ์ดี Cb = เนื้อเยื่อเจริญ

Ca = แคลลัส Gu = รอยต่อ Ncb = แนวเนื้อเยื่อเจริญใหม่

จากการศึกษาลักษณะเนื้อเยื่อวิทยาของรอยต่อส้มโชกุนบนต้นตอส้มโชกุน ส้มเขียวหวาน มะสัง ส้มฟรีมองต์ มะกรูด ส้มซ่า ส้มโอ มะขวิด และมะนาว (ตารางที่ 7) พบว่า ที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์หลังการต่อกิ่งเริ่มมีการสร้างแคลลัสจากต้นตอเป็นส่วนมาก และแคลลัสยังไม่มีพัฒนาการไปเป็นเนื้อเยื่อเจริญใหม่ทุกชนิดของต้นตอ ที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์หลังการต่อกิ่งมีการสร้างแคลลัส แต่มีเพียงรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอส้มโชกุน ส้มซ่า และส้มโอที่เกิดเนื้อเยื่อเจริญใหม่ ในขณะที่ต้นตอส้มชนิดอื่นๆ แคลลัสยังไม่มีพัฒนาการไปเป็นเนื้อเยื่อเจริญใหม่ และที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง รอยต่อส้มโชกุนบนต้นตอส้มซ่า ส้มโอ มะขวิด และมะนาวเกิดพัฒนาการของเนื้อเยื่อเจริญใหม่ แต่ยังไม่เกิดไซเลมเรย์และโฟลเอม ในขณะที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง ต้นตอทุกชนิดเกิดเนื้อเยื่อเจริญใหม่ และส้มเขียวหวานเกิดไซเลมเรย์

ตารางที่ 7 การพัฒนาของเซลล์ตรงรอยต่อส้มโชกุนบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ

ชนิดต้นตอ	การพัฒนาของเซลล์ตรงรอยต่อ			
	แคลลัส		แคมเบียมใหม่	ไซเลมเรย์
	จากต้นตอ	จากกิ่งเลี้ยง		
ระยะเวลา 2 สัปดาห์				
ส้มโชกุน	+3	+3	-	-
ส้มเขียวหวาน	+3	+3	-	-
มะสัง	+3	+2	-	-
ส้มฟรีมองต์	+3	+3	-	-
มะกรูด	+1	+1	-	-
ส้มซ่า	+3	+2	-	-
ส้มโอ	+2	+2	-	-
มะขวิด	+1	+1	-	-
มะนาว	+3	+2	-	-
ระยะเวลา 4 สัปดาห์				
ส้มโชกุน	+3	+3	✔	-
ส้มเขียวหวาน	+3	+3	-	-
มะสัง	+3	+3	-	-
ส้มฟรีมองต์	+3	+2	-	-
มะกรูด	+2	+1	-	-
ส้มซ่า	+2	+2	✔	-
ส้มโอ	+3	+2	✔	-
มะขวิด	+3	+2	-	-
มะนาว	+3	+2	-	-

+3 = ดี

+2 = พอใช้

+1 = น้อย

ตารางที่ 7(ต่อ)

ชนิดต้นตอ	การพัฒนาของเซลล์ตรงรอยต่อ			
	แคลลัส		แคมเบียมใหม่	ไซเลมเรย์
	จากต้นตอ	จากกิ่งเลี้ยง		
ระยะเวลา 6 สัปดาห์				
ส้มโชกุน	+3	+3	-	-
ส้มเขียวหวาน	+3	+2	-	-
มะสัง	+1	+3	-	-
ส้มฟรีมองต์	+3	+3	-	-
มะกรูด	+3	+3	-	-
ส้มซ่า	+2	+1	✔	-
ส้มโอ	+3	+2	✔	-
มะขวิด	+3	+1	✔	-
มะนาว	+3	+1	✔	-
ระยะเวลา 8 สัปดาห์				
ส้มโชกุน	+3	+3	✔	-
ส้มเขียวหวาน	+3	+3	✔	✔
มะสัง	+3	+3	✔	-
ส้มฟรีมองต์	+3	+2	✔	-
มะกรูด	+2	+1	✔	-
ส้มซ่า	+2	+2	✔	-
ส้มโอ	+3	+2	✔	-
มะขวิด	+3	+2	✔	-
มะนาว	+3	+2	✔	-

+3 = ดี

+2 = พอใช้

+1 = น้อย

3 การศึกษารูปแบบของไอโซไซม์ของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ

3.1 การศึกษารูปแบบเอนไซม์ที่เหมาะสม

จากการศึกษาเอนไซม์ 4 ระบบ ที่สกัดเอนไซม์จากเปลือกของต้นกิ่งพันธุ์ดี ส้มโชกุนที่ไม่ต่อกิ่ง และต่อกิ่งบนต้นตอส้มเขียวหวาน มะกรูด มะขวิด มะสัง ส้มฟรีมองต์ และส้มซ่า จากส่วนเหนือรอยต่อและใต้รอยต่ออายุ 2 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง พบว่า ต้นตอทุกชนิดให้รูปแบบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสและเอสเตอเรสที่สามารถจำแนกความแตกต่างได้ชัดเจนที่สุด เอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสสามารถย้อมติดสีเอนไซม์ของต้นตอส้มโอที่ไม่ได้ต่อกิ่ง มะสัง มะขวิด ส้มโอเหนือรอยต่อ และมะขวิดใต้รอยต่อ สำหรับฟอสโฟกลูโคมิวเทสย้อมไม่ติดสีเอนไซม์ทุกชนิดของต้นตอ (ตารางที่ 8 ภาพที่ 26)

เมื่อพิจารณาถึงรูปแบบไอโซไซม์ที่เปลือกของกิ่งพันธุ์ส้มโชกุนและเปลือกต้นตอบริเวณเหนือรอยต่อและใต้รอยต่อของต้นตอมะสัง มะขวิด และส้มโอสามารถแยกรูปแบบไอโซไซม์ได้ดังนี้

ระบบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส

รูปแบบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสของส้มโชกุนที่ไม่ได้ต่อกิ่งสามารถแยกไซโมแกรมได้เพียง 2 แถบ ส่วนรูปแบบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสของต้นตอของมะสังมีเพียงแถบเดียว ในขณะที่ต้นตอมะกรูดและส้มโอมี 2 แถบเหมือนกับส้มโชกุน

เมื่อพิจารณารูปแบบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสเหนือรอยต่อ พบว่า การเคลื่อนที่ของไซโมแกรมของส้มโชกุนไม่มีการเปลี่ยนแปลง (ภาพที่ 26ก) แสดงว่า ต้นตอไม่มีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงของกิ่งเลี้ยง ในขณะที่กิ่งเลี้ยงมีอิทธิพลต่อรูปแบบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสใต้รอยต่อในต้นตอมะขวิด ซึ่งมีไซโมแกรมเพียงแถบเดียวแทนที่จะเป็น 2 แถบ (ภาพที่ 26ก)

ระบบเอนไซม์เอสเตอเรส

รูปแบบของเอนไซม์เอสเตอเรสของส้มโชกุนที่ไม่มีการต่อกิ่งและต้นตอที่ไม่มีการต่อกิ่งทั้ง 3 ชนิด มีรูปแบบไซโมแกรมแตกต่างกันชัดเจน โดยพบว่าทั้งมะสัง มะขวิด และส้มโอ มีอิทธิพลทำให้ไซโมแกรมของส้มโชกุนเหนือรอยต่อแตกต่างไปจากเดิมอย่างชัดเจน ในขณะเดียวกันกิ่งเลี้ยงส้มโชกุนก็มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปแบบไซโมแกรมของต้นตอมะขวิดและส้มโอ แต่ไม่มีผลต่อมะสัง(ภาพที่ 26ข)

ระบบเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส

รูปแบบของเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสของส้มโชกุนที่ไม่ได้ต่อกิ่งย้อมไม่ติดสี ในทำนองเดียวกับต้นตอมะสังและมะขวิด ส่วนต้นตอส้มโอที่ไม่มีการต่อกิ่งให้ไซโมแกรมเพียงโซนเดียวที่ย้อมติดสี สำหรับรูปแบบของเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสเหนือรอยต่อพบไซโมแกรม 2 แถบในต้นตอมะขวิด ส่วนต้นตอมะสังและส้มโอย้อมติดสีเพียง 1 แถบ สีที่ติดจางมาก ส่วนรูปแบบเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสใต้รอยต่อนั้น พบไซโมแกรม 2 แถบในต้นตอมะขวิดเท่านั้น(ภาพที่ 26ค)

ระบบเอนไซม์ฟอสโฟกลูโคมิวเทส

ระบบเอนไซม์ฟอสโฟกลูโคมิวเทสของส้มโชกุนที่ไม่มีการต่อกิ่ง ต้นตอที่ไม่มีการต่อกิ่ง บริเวณเหนือรอยต่อและใต้รอยต่อของต้นตอที่ต่อกิ่ง ย้อมเจลไม่ติดสีจึงไม่สามารถตรวจสอบผลได้

ตารางที่ 8 รูปแบบเอนไซม์จากเปลือกของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอ มะสัง มะขวิด และส้มโอ

ต้นที่ไม่ต่อกิ่ง	ต้นต่อกิ่ง		ระบบเอนไซม์			
	SN	SS	PER	EST	ADH	PGM
SH			+A	+	-	-
FR			+A	+	-	-
KU			+B	+	-	-
PU			+B	+	+	-
	FR		+B	+B	+	-
	KU		+B	+B	+	-
	PU		+B	+B	+	-
		FR	+A	+	-	-
		KU	+A	+	+	-
		PU	+B	+	-	-

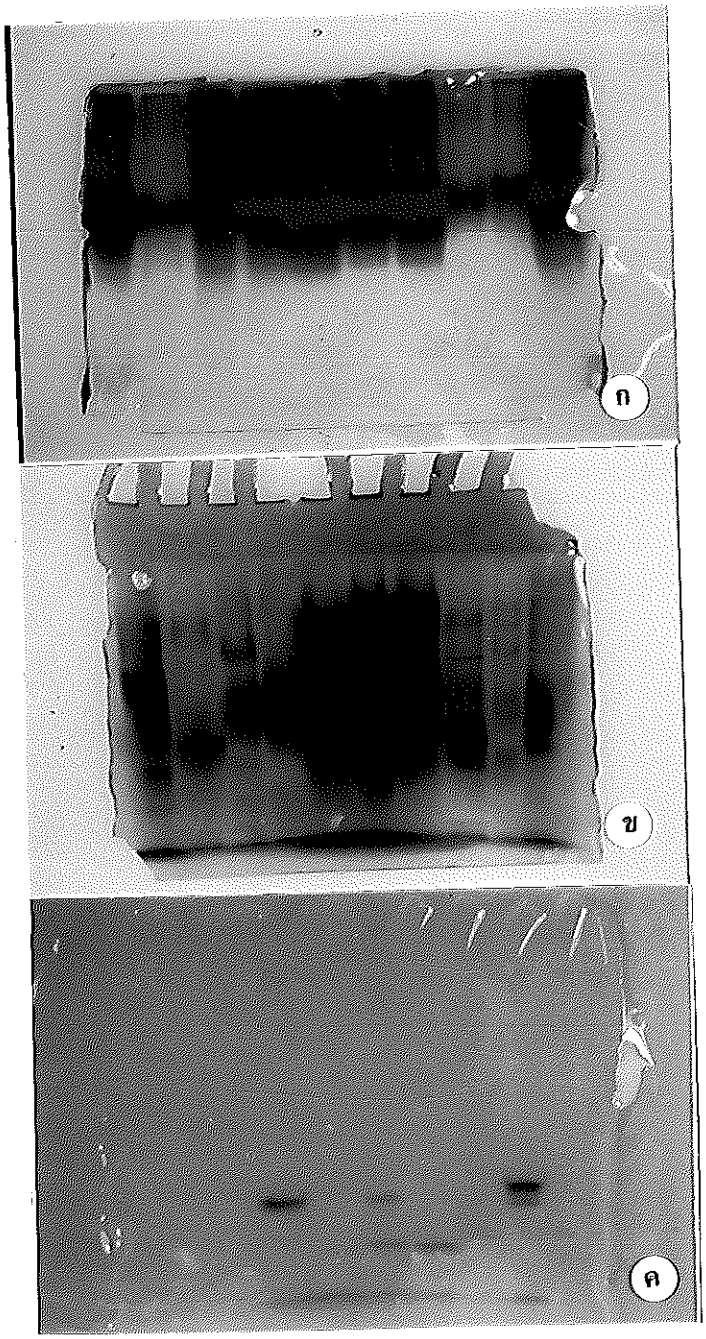
PER : เปอร์ออกซิเดส + : ติดสี SH : ส้มโชกุน

EST : เอสเตอเรส - : ไม่ติดสี FR : มะสัง

ADH : แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส A : คมชัด KU : มะขวิด

PGM : ฟอสโฟกลูโคมิวเทส B : เป็นปื้น PU : ส้มโอ

ST : ต้นตอยังไม่ต่อกิ่ง SN : เปลือกเหนือรอยต่อ SS : เปลือกใต้รอยต่อ

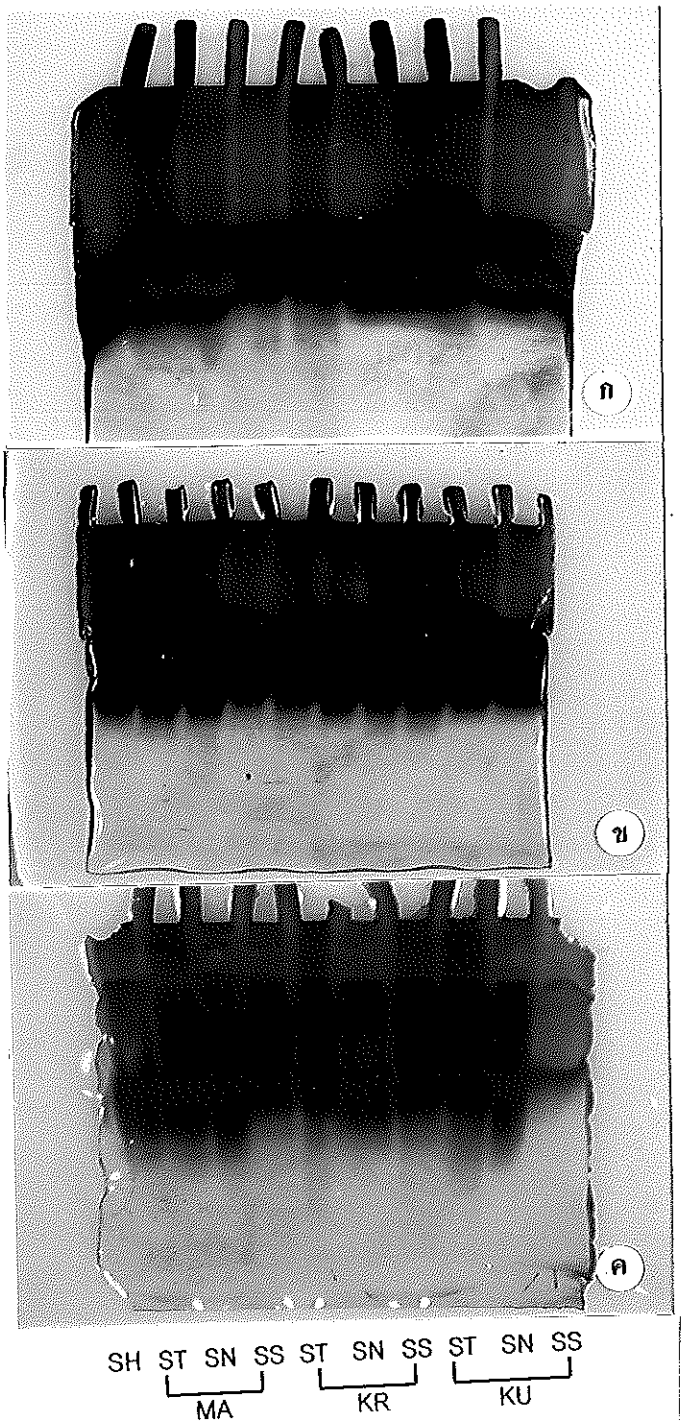


ภาพที่ 26 รูปแบบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส(ก) เอสเตอเรส(ข) และแอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส (ค) ของเปลือกลำต้นส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอมะสัง (FR) มะขวิด (KU) และส้มโอ (PU) อายุ 2 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง

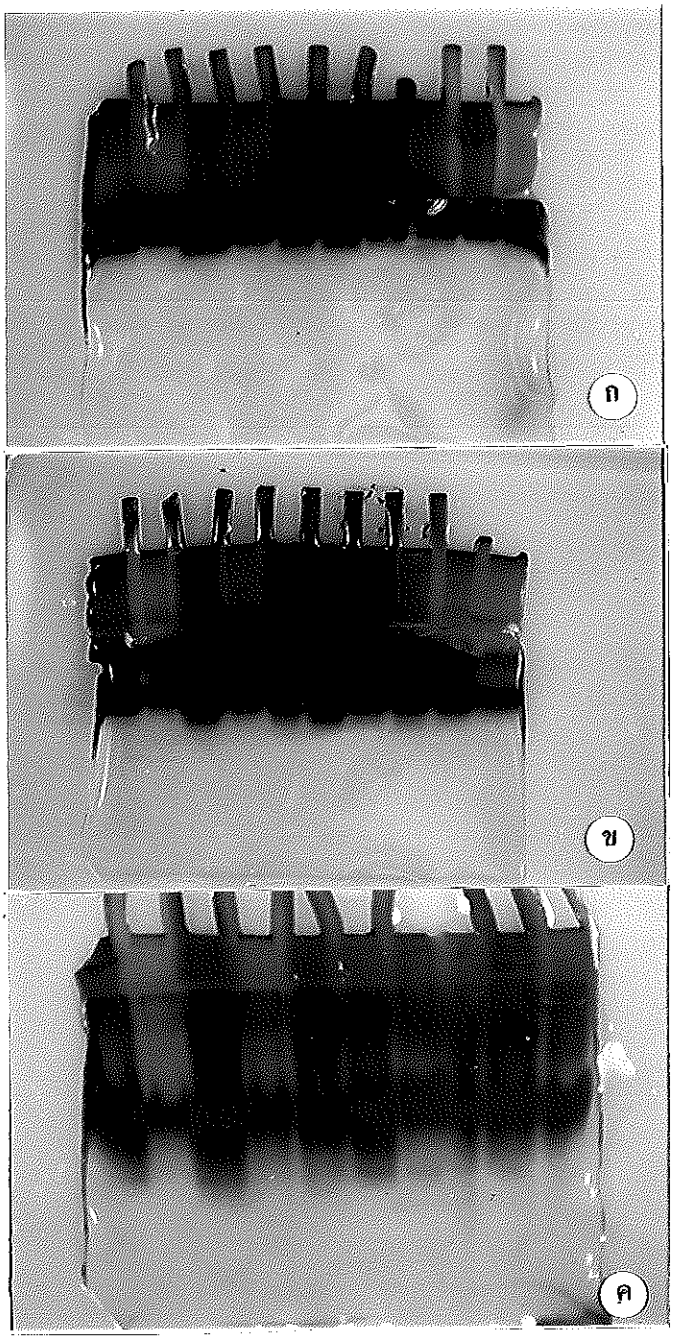
3.2. การศึกษาความเข้มข้นของเจลอะคริลาไมด์

จากการนำเปลือกของกิ่งพันธุ์ดีของส้มโชกุน และเปลือกของต้นตอส้มเขียวหวาน มะกรูด มะขวิด มะสัง ส้มฟรีมองต์ และส้มซ่าอายุ 2 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง มาสกัดด้วยบัฟเฟอร์ นำมาแยกเอนไซม์บนเจลอะคริลาไมด์ความเข้มข้นต่างกัน 7, 10 และ 12 เปอร์เซ็นต์ แล้วย้อมด้วยสีย้อมเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส พบว่า เจลอะคริลาไมด์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์สามารถแยกไซโมแกรมได้คมชัดที่สุด (ภาพที่ 27 ข) รองลงมาคือที่ความเข้มข้น 7 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 27 ก). และความเข้มข้น 12 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 27 ค) ตามลำดับ

เจลอะคริลาไมด์ความเข้มข้น 7 เปอร์เซ็นต์ ให้รูปแบบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสของส้มโชกุนที่ไม่ได้ต่อกิ่ง ต้นตอที่ไม่ได้ต่อกิ่ง และต้นตอที่ต่อกิ่ง โดยแยกไซโมแกรมได้ 2 แถบ ส่วนส้มโชกุนที่ต่อบนต้นตอส้มเขียวหวาน มะกรูด และมะขวิด พบว่า การเคลื่อนที่ของไซโมแกรมของส้มโชกุนไม่มีการเปลี่ยนแปลง (ภาพที่ 27ก) เช่นเดียวกับเจลความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่า มีรูปแบบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสเหมือนกับที่ความเข้มข้น 7 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 27ข) ในขณะที่การใช้เจลอะคริลาไมด์ความเข้มข้น 12 เปอร์เซ็นต์ พบไซโมแกรมเพียงแถบเดียว แทนที่จะมี 2 แถบ (ภาพที่ 27ค) แสดงให้เห็นว่ากิ่งเลี้ยงมีอิทธิพลต่อรูปแบบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสของต้นตอมะขวิด ส่วนส้มโชกุนที่ไม่ได้ต่อกิ่ง ต้นตอที่ไม่ได้ต่อกิ่ง และต้นตอที่ต่อกิ่งสามารถแยกไซโมแกรมได้ 2 แถบ ส้มโชกุนที่ต่อกับต้นตอมะสัง ส้มฟรีมองต์ และส้มซ่าสามารถแยกไซโมแกรมได้ 2 แถบเช่นเดียวกัน โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงรูปแบบเอนไซม์ (ภาพที่ 28ก) ส่วนที่ความเข้มข้นเจล 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอมะสังและส้มซ่าทำให้ต้นมีรูปแบบเอนไซม์เปลี่ยนไป ส่วนส้มฟรีมองต์มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปแบบเอนไซม์ในกิ่งเลี้ยง (ภาพที่ 28ข) การใช้เจลอะคริลาไมด์ความเข้มข้น 12 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ส้มโชกุนที่ไม่ได้ต่อกิ่งและต้นตอที่ไม่ได้ต่อกิ่งสามารถแยกแถบไซโมแกรมได้ 2 แถบ ส้มโชกุนที่ต่อกิ่งกับมะสัง ส้มฟรีมองต์ และส้มซ่าแยกไซโมแกรมได้ 2 แถบ เหมือนกับส้มโชกุนที่ไม่ได้ต่อกิ่งซึ่งมีรูปแบบเอนไซม์ไม่เปลี่ยนแปลง (ภาพที่ 28ค)



ภาพที่ 27 รูปแบบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสของเปลือกลำต้นส้มโชกุนและต้นตอส้มเขียวหวาน (MA) มะกรูด (KR) และมะขวิด (KU) อายุ 2 สัปดาห์หลังการต่อกิ่งโดยทำการแยกเอนไซม์บนเจลความเข้มข้น 7 เปอร์เซ็นต์(ก) 10 เปอร์เซ็นต์(ข) และ 12 เปอร์เซ็นต์(ค)



ภาพที่ 28 รูปแบบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสของเปลือกลำต้นส้มโชกุนและต้นตอมะสัง (FR) ส้มฟรีมองต์ (FE) และส้มซ่า (SA) อายุ 2 สัปดาห์ หลังการต่อกิ่ง โดยทำการแยกเอนไซม์บนเจลความเข้มข้น 7 เปอร์เซ็นต์(ก) 10 เปอร์เซ็นต์(ข) และ 12 เปอร์เซ็นต์(ค)

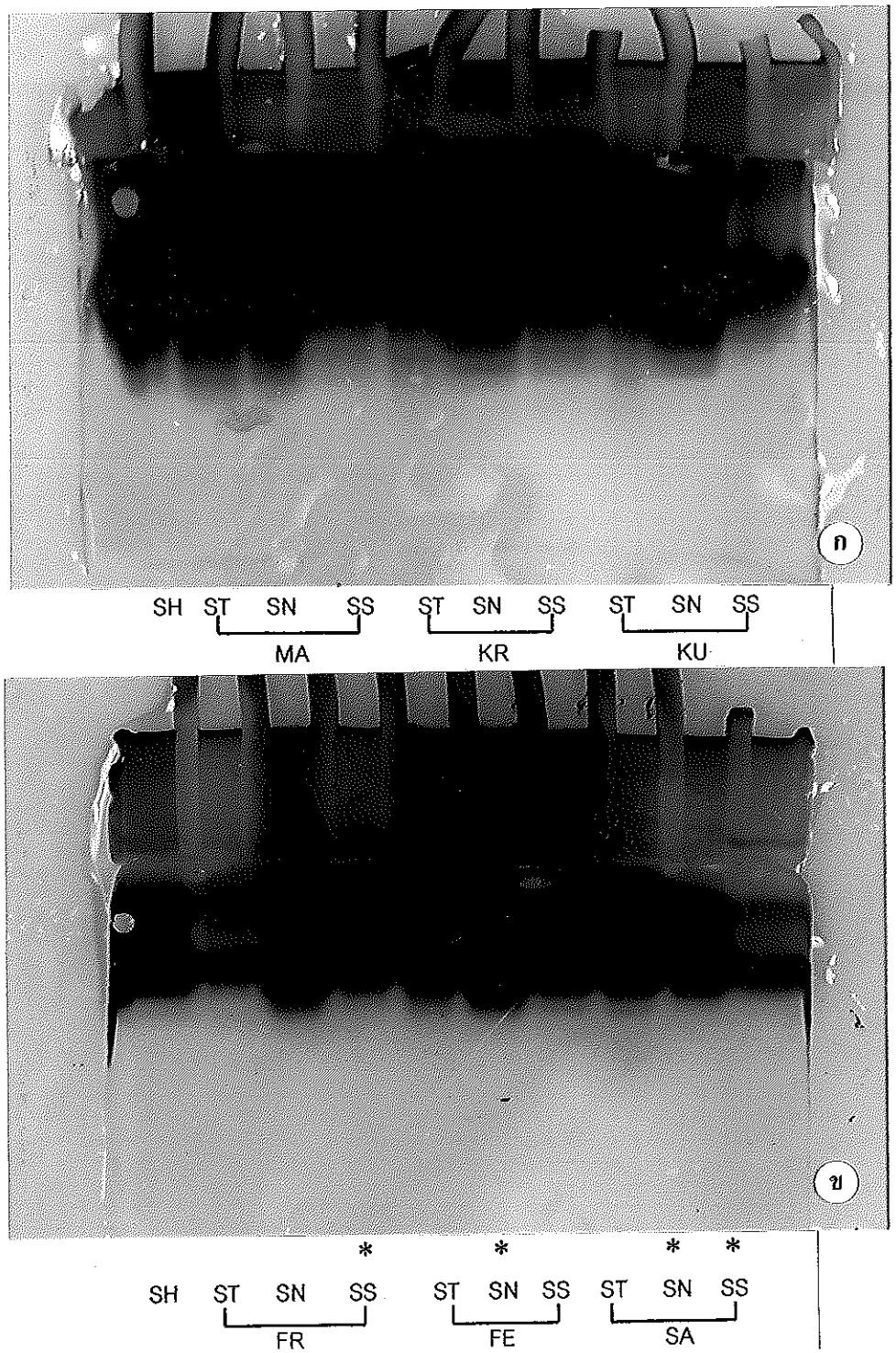
3.3 การศึกษาผลของเวลาการต่อกิ่งต่อการเข้ากันได้ของต้นตอกับกิ่งเลี้ยง

จากการนำเปลือกกิ่งพันธุ์ดีของส้มโชกุนและต้นตอส้มเขียวหวาน มะกรูด มะขวิด มะสัง ส้มฟรีมองต์ และส้มซ่าภายหลังการต่อกิ่ง 2, 4, 6, และ 8 สัปดาห์ มาสกัดเอนไซม์ นำมาแยกเอนไซม์บนเจลอะคริลาไมด์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ แล้วย้อมด้วยสีย้อมเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสพบว่า รูปแบบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสภายหลังการต่อกิ่ง 2 สัปดาห์สามารถแยกไซโมแกรมได้ 2 แถบ ทั้งในส้มโชกุน ต้นตอส้มเขียวหวาน มะกรูด และมะขวิดโดยไม่มีความแตกต่างทั้งเหนือรอยต่อและใต้รอยต่อ (ภาพที่ 29ก) ในขณะที่ส้มโชกุนที่ต่อบนมะสังและส้มซ่าทำให้รูปแบบเอนไซม์ของต้นตอเปลี่ยนไป ส่วนต้นตอส้มฟรีมองต์มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปแบบของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสในกิ่งเลี้ยงส้มโชกุน (ภาพที่ 29ข)

รูปแบบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสภายหลังการต่อกิ่ง 4 สัปดาห์สามารถแยกไซโมแกรมได้เพียง 2 แถบ ทั้งในส้มโชกุน ต้นตอส้มเขียวหวาน มะกรูด และมะขวิดไม่มีความแตกต่างทั้งเหนือรอยต่อและใต้รอยต่อ (ภาพที่ 30ก) ในขณะที่ส้มโชกุนที่ต่อกิ่งกับมะสังทำให้ต้นตอมีรูปแบบเอนไซม์เปลี่ยนไป ส่วนส้มฟรีมองต์และส้มซ่ามีรูปแบบเอนไซม์ไม่เปลี่ยนแปลง(ภาพที่ 30ข)

รูปแบบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสภายหลังการต่อกิ่งเป็นเวลา 6 สัปดาห์สามารถแยกไซโมแกรมได้ 3 แถบในส้มโชกุนที่ไม่ต่อกิ่ง ส่วนส้มโชกุนที่ต่อกิ่งกับต้นตอส้มเขียวหวานทำให้ต้นมีรูปแบบเอนไซม์เปลี่ยนแปลง ในขณะที่มะกรูดและมะขวิดมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปแบบเอนไซม์ในต้นตอและกิ่งเลี้ยง (ภาพที่ 31ก) ส่วนส้มโชกุนที่ต่อกับมะสังพบว่า ทั้งกิ่งเลี้ยงและต้นตอมีรูปแบบเอนไซม์ไม่เปลี่ยนแปลง ในขณะที่ส้มโชกุนที่ต่อบนต้นตอส้มฟรีมองต์และส้มซ่า ทำให้ต้นตอมีรูปแบบเอนไซม์ที่เปลี่ยนแปลงไป (ภาพที่ 31ข)

รูปแบบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสภายหลังการต่อกิ่งเป็นเวลา 8 สัปดาห์สามารถแยกไซโมแกรมได้ 2 แถบ ในส้มโชกุนที่ไม่ได้ต่อกิ่งและส้มโชกุนที่ต่อกิ่งกับส้มเขียวหวานมีรูปแบบเอนไซม์ไม่เปลี่ยนแปลง ส่วนส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอมะกรูดไปมีผลทำให้รูปแบบเอนไซม์ของกิ่งเลี้ยงและต้นตอเปลี่ยนไป ส้มโชกุนที่ต่อกับมะขวิดมีรูปแบบเอนไซม์เปลี่ยนไปจากส้มโชกุนที่ไม่ได้ต่อกิ่ง(ภาพที่ 32ก) ในขณะที่ส้มโชกุนที่ต่อบนมะสัง ส้มฟรีมองต์และส้มซ่าทำให้ต้นตอและกิ่งเลี้ยงมีรูปแบบเอนไซม์เปลี่ยนไป(ภาพที่ 32ข)

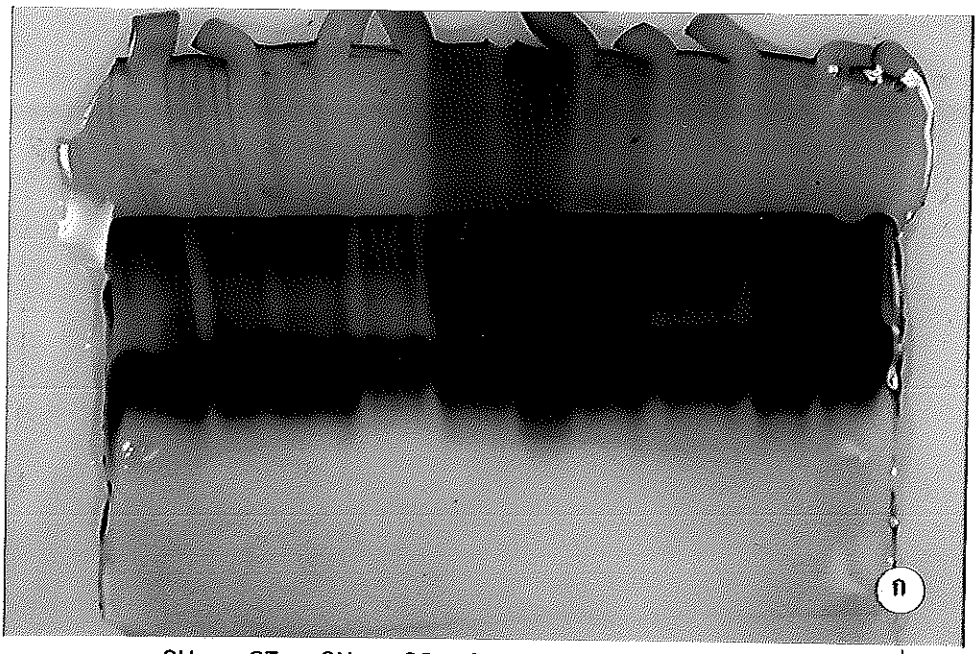


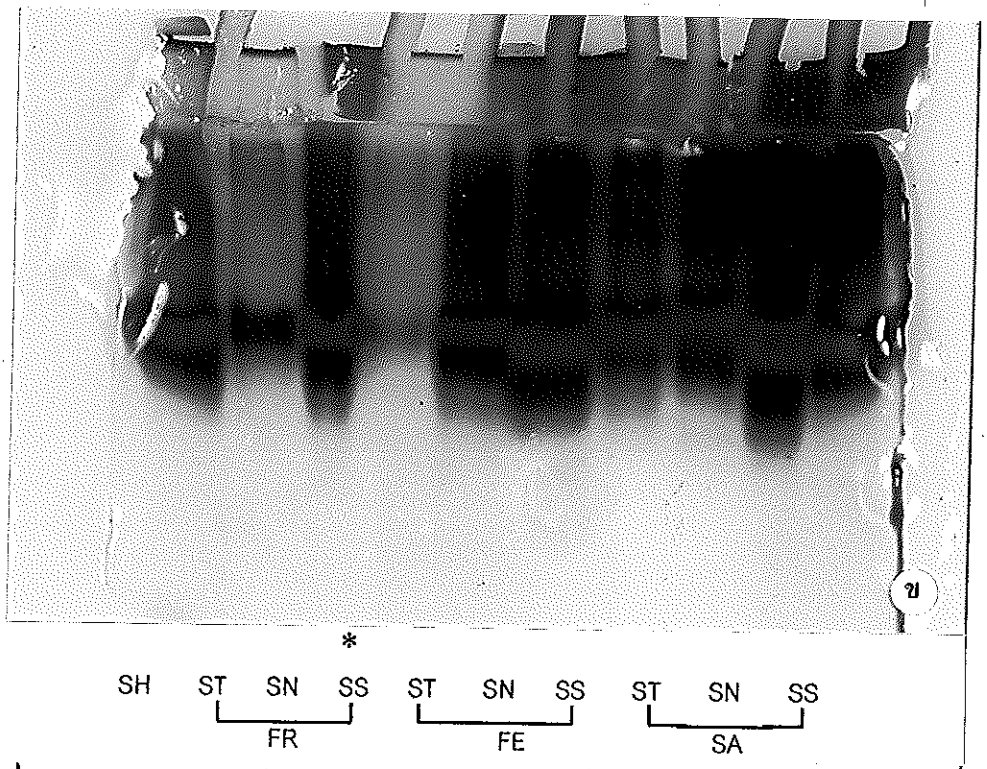
ภาพที่ 29 รูปแบบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสของเปลือกลำต้นส้มโชกุนและต้นตอที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มพันธุ์ต่างๆ ที่อายุ 2 สัปดาห์

ก) ส้มเขียวหวาน(MA) มะกรูด (KR) มะขวิด (KU)

ข) มะสัง (FR) ส้มฟรีมองต์ (FE) ส้มซ่า (SA)

หมายเหตุ * = รูปแบบเอนไซม์ที่เปลี่ยนแปลงไปหลังการต่อกิ่ง



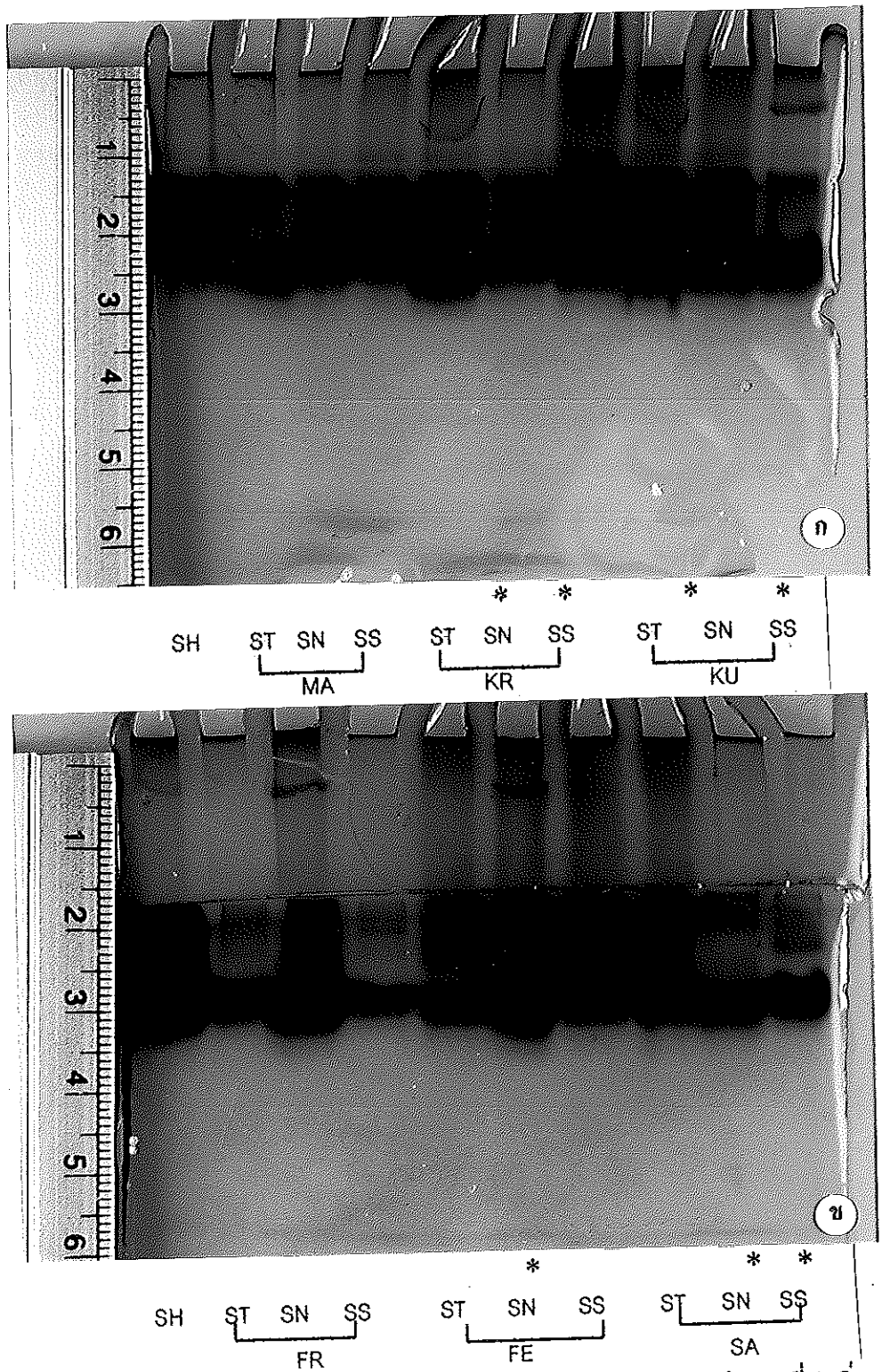


ภาพที่ 30 รูปแบบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสของเปลือกลำต้นส้มโชกุนและต้นตอที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มพันธุ์ต่างๆ ที่อายุ 4 สัปดาห์

ก) ส้มเขียวหวาน(MA) มะกรูด (KR) มะชวิด (KU)

ข) มะสัง (FR) ส้มฟรีมองต์ (FE) ส้มซ่า (SA)

หมายเหตุ * = รูปแบบเอนไซม์ที่เปลี่ยนแปลงไปหลังการต่อกิ่ง

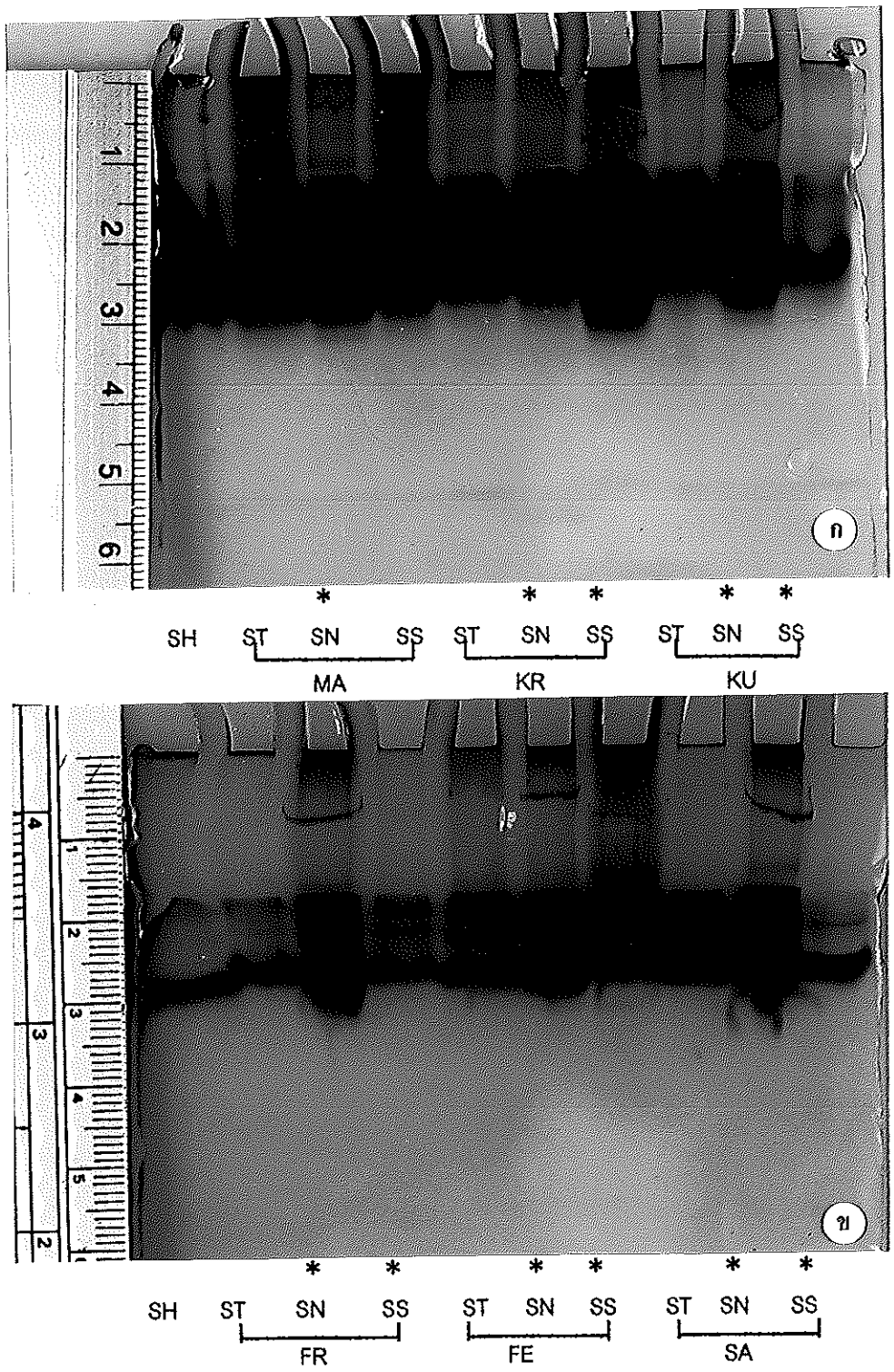


ภาพที่ 31 รูปแบบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสของเปลือกลำต้นส้มโชกุนและต้นตอที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มพันธุ์ต่างๆ ที่อายุ 6 สัปดาห์

ก) ส้มเขียวหวาน(MA)มะกรูด (KR) มะขวิด (KU)

ข) มะสัง (FR) ส้มฟรีมองต์ (FE) ส้มซ่า (SA)

หมายเหตุ * = รูปแบบเอนไซม์ที่เปลี่ยนแปลงไปหลังการต่อกิ่ง



ภาพที่ 32 รูปแบบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสของเปลือกลำต้นส้มโชกุนและต้นตอที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มพันธุ์ต่างๆ ที่อายุ 8 สัปดาห์

ก) ส้มเขียวหวาน(MA) มะกรูด (KR) มะขวิด (KU)

ข) มะสัง (FR) ส้มฟรีมองต์ (FE) ส้มซ่า (SA)

หมายเหตุ * = รูปแบบเอนไซม์ที่เปลี่ยนแปลงไปหลังการต่อกิ่ง

บทที่ 4

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาเปอร์เซ็นต์ความสำเร็จในการต่อกิ่งส้มโชกุนบนต้นตอเชียวหวาน มะสัง ส้มฟรีมองต์ มะกรูด ส้มซ่า ส้มโอ มะขวิด และมะนาว พบว่า มีความสำเร็จในการต่อกิ่งอยู่ในช่วง 68 - 96 เปอร์เซ็นต์ ทำนองเดียวกันกับการทดลองในแพร์บนต้นตอพื้นเมืองชนิดต่างๆ ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ความสำเร็จในการต่อกิ่งอยู่ในช่วง 30 - 80 เปอร์เซ็นต์ (Randhawa and Kishore, 1981) และการศึกษาสัณฐาณวิทยาพบว่า จำนวนใบ จำนวนกิ่ง เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น และความสูงในแต่ละเดือนเพิ่มขึ้น แต่ใบมีอัตราการเพิ่มขึ้นลดลงหลังจากเดือนที่ 3 ซึ่งน่าจะเป็นผลมาจากสภาพแวดล้อมในช่วงดังกล่าวมีปริมาณฝนมากทำให้เกิดการระบาดของเชื้อรา หรืออาจเป็นได้ว่าการประสานรอยต่อยังไม่สมบูรณ์การส่งผ่านน้ำและอาหารไม่เพียงพอทำให้ใบร่วง และจากการทดลองต้นตอส้มชนิดต่างๆ สามารถเข้ากันได้กับส้มโชกุน จึงศึกษาว่ามีอิทธิพลต่อกันอย่างไร ซึ่งจากผลการทดลองเห็นได้ว่า ต้นตอส้มเชียวหวานมีการเติบโตดีที่สุด แต่เป็นที่ทราบกันทั่วไปว่า ส้มเชียวหวานอ่อนแอต่อโรค ดังนั้นทางเลือกอื่นสำหรับใช้เป็นต้นตอคือ ส้มซ่า การใช้มะสังเป็นต้นตอก็ทำให้ส้มโชกุนมีการเจริญเติบโตได้ดี แต่ควรมีการตรวจสอบคุณภาพผลผลิตด้วย ในการศึกษาการเจริญเติบโตเบื้องต้นนี้ต้นตอส้มเชียวหวาน มะสัง และส้มซ่ามีการเจริญเติบโตช่วงสั้นๆ ดีกว่าต้นตอส้มชนิดอื่นๆ แต่ควรมีการสังเกตจนถึงให้ผลผลิต เพราะยังมีอิทธิพลอย่างอื่นเข้ามาเกี่ยวข้องด้วย

จากการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของรอยต่อส้มโชกุนบนต้นตอส้มโชกุน ส้มเชียวหวาน มะสัง ส้มฟรีมองต์ มะกรูด ส้มซ่า ส้มโอ มะขวิด และมะนาว ที่ระยะเวลา 2, 4, 6,และ 8 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง พบว่าที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์มีการสร้างแคลลัสและมีชั้นของเซลล์ที่ตายตรงรอยต่อ และที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์หลังการต่อกิ่งส้มโชกุนบนต้นตอส้มโชกุนมีการสร้างเนื้อเยื่อเจริญใหม่ระหว่างรอยต่อ ที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์หลังการต่อกิ่งส้มโชกุนบนต้นตอส้มโอมีการสร้างเนื้อเยื่อเจริญใหม่มีลักษณะเป็นวง (loop) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของรอยต่อของการต่อกิ่งแพร์กับแพร์ และแพร์กับควินซ์ในระยะเริ่มแรก จากการทดลองของ Ermel และคณะ (1997) พบว่า มีการแบ่งเซลล์ครั้งแรก 3 วัน หลังจากติดตา และมีการสร้างแคลลัสตรงรอยต่อ และพัฒนาเป็นเนื้อเยื่อเจริญระหว่าง 10 - 15 วันหลังจากติดตา การติดตาแพร์กับควินซ์การพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญตรงรอยต่อช้า ซึ่งเป็นลักษณะ

เฉพาะอย่างหนึ่งในการต่อกิ่งที่เข้ากันไม่ได้ และเนื้อเยื่อเจริญของกิ่งเลี้ยงจัดเรียงตัวไม่สม่ำเสมอไม่เป็นระเบียบคดไปมาก่อนที่จะเชื่อมต่อกับเนื้อเยื่อเจริญ ในขณะที่การต่อกิ่งที่เข้ากันได้เนื้อเยื่อเจริญของกิ่งเลี้ยงมีลักษณะเป็นวง ในส่วนของแคลลัสตรงรอยต่อก่อนที่จะเชื่อมต่อกันไปยังเนื้อเยื่อเจริญของต้นตอ Errea และคณะ (1994) รายงานว่า การต่อกิ่งที่เข้ากันได้นั้น แคลลัสพัฒนาไปเป็นเนื้อเยื่อเจริญและท่อน้ำท่ออาหารอย่างรวดเร็ว แต่การต่อกิ่งที่เข้ากันไม่ได้นั้น การเกิดแคลลัสมีการพัฒนาที่ไม่สมบูรณ์ การศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของรอยต่อ 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง จากผลการทดลองเห็นได้ว่าที่ 2 และ 4 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง บริเวณตรงรอยต่อเริ่มมีการสร้างแคลลัส และมีการพัฒนาการไปเป็นเนื้อเยื่อเจริญใหม่เชื่อมต่อระหว่างต้นตอกับกิ่งเลี้ยงของส้มโชกุน ส้มซ่า และส้มโอ (ตารางที่ 8) ในขณะที่สัปดาห์ที่ 6 และ 8 หลังการต่อกิ่ง มีการพัฒนาการของรอยต่อค่อนข้างสมบูรณ์ โดยเฉพาะในสัปดาห์ที่ 8 รอยต่อเกิดเนื้อเยื่อเจริญใหม่เชื่อมรอยต่อระหว่างต้นตอทุกชนิดกับกิ่งเลี้ยงได้ค่อนข้างสมบูรณ์ และรอยต่อของต้นตอส้มเขียวหวานที่มีการสร้างท่อน้ำท่ออาหารใหม่อย่างสมบูรณ์ (ตารางที่ 23ข) จึงมีการศึกษาการเจริญเติบโตของกิ่งเลี้ยงที่ 8 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง

จากการศึกษาระบบไอโซไซม์และปัจจัยที่มีผลต่อรูปแบบเอนไซม์ของเปลือกในการต่อกิ่งส้มโชกุนบนต้นตอส้มเขียวหวาน มะกรูด มะขวิด มะสัง ส้มฟรีมองต์ และส้มซ่า พบว่าระบบไอโซไซม์ที่เหมาะสมที่สุดคือ เปอร์ออกซิเดส เนื่องจากไซโมแกรมที่ปรากฏบนแผ่นเจลคมชัด สามารถแยกความแตกต่างของไซโมแกรมได้ชัดเจน รองลงมาคือ ระบบไอโซไซม์เอสเตอเรส และระบบไอโซไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส ขณะที่ระบบไอโซไซม์ฟอสโฟกลูโคมิวเทสย้อมไม่ติดสีในต้นตอทุกชนิด ซึ่งสอดคล้องกับการจำแนกส้ม *Citrus medica* 5 สายพันธุ์ที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้ม 4 ชนิด ซึ่ง Protopapadakis (1987) ได้ศึกษาเอนไซม์ระบบอื่นๆ พบว่า ระบบไอโซไซม์เปอร์ออกซิเดสมีความคมชัดและใช้ตรวจสอบการเข้ากันได้ของรอยต่อในทำนองเดียวกับ Schmid และ Feucht (1980) รายงานว่า ระบบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสให้ผลในการตรวจสอบการเข้ากันได้ของการต่อกิ่งเซอรี่ได้ดีที่สุด ในทำนองเดียวกับการตรวจสอบพันธุ์มะขามเปรี้ยว และมะขามหวาน ซึ่ง เสาวณี สุริยาภณานนท์ (2535) รายงานว่ารูปแบบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสสามารถใช้ตรวจสอบสายพันธุ์มะขามได้ดีที่สุด และ วันทนา นวรังสรรค์ (2538) ตรวจสอบพันธุ์ลองกอง ลางสาด และดูกู พบว่า รูปแบบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสสามารถจำแนกได้ดีที่สุด

จากการศึกษาความเข้มข้นเจลอะคริลาไมด์ พบว่า ความเข้มข้นเจลมีผลต่อการเคลื่อนที่ของเอนไซม์ หากเจลมีความเข้มข้นสูงการเคลื่อนที่ของเอนไซม์ต้องใช้เวลานาน ในการศึกษานี้พบว่าความเข้มข้น 12 เปอร์เซ็นต์ ใช้ระยะเวลาในการเคลื่อนที่นานกว่า 10 และ 7 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากความเข้มข้นสูงมีความพรุนหรือมีช่องว่างน้อยทำให้เอนไซม์เคลื่อนที่ช้ากว่าในกรณีที่ใช้ความเข้มข้นต่ำ เมื่อพิจารณารูปแบบของเอนไซม์พบว่าสามารถแยกได้เพียงโซนเดียวทั้ง 3 ความเข้มข้น แต่การใช้ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์สามารถติดสีคมชัดกว่าและสามารถจำแนกได้ดีกว่า ทำนองเดียวกันกับการทดลองในมังคุด ซึ่งพบว่าการใช้เจลความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์สามารถแยกไซโมแกรมโดยใช้เอนไซม์เปอร์ออกซิเดสได้คมชัดกว่าที่ความเข้มข้น 7 และ 12 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (วิทยา พรหมมี, 2541) นอกจากนี้ Protopapadakis (1987) รายงานการใช้ความเข้มข้นเจล 10 เปอร์เซ็นต์ในการจำแนกส้ม *Citrus medica* 5 สายพันธุ์ที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้ม 4 ชนิดว่าให้ผลดีกว่าที่ความเข้มข้นอื่นๆ

จากการศึกษารูปแบบของไอโซไซม์หลังการต่อกิ่งที่ระยะเวลาต่างกันพบว่าที่ระยะเวลา 2 และ 4 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง ต้นตอและกิ่งเลี้ยงของต้นตอมะสัง ส้มฟรีมองต์ และส้มซ่ามีรูปแบบเอนไซม์เปลี่ยนแปลงไปแสดงว่าเริ่มมีอิทธิพลต่อกัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาที่ระยะเวลาเดียวกันข้างต้น ที่พบว่ารอยต่อของต้นตอส้มซ่ามีการพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญใหม่เชื่อมต่อระหว่างต้นตอกับกิ่งเลี้ยงที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง ดังนั้นเมื่อศึกษารูปแบบของไอโซไซม์ที่ระยะเวลา 2 และ 4 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง พบว่าต้นตอและกิ่งเลี้ยงเริ่มมีผลต่อกัน ในขณะที่ระยะเวลา 6 และ 8 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง สามารถเห็นอิทธิพลดังกล่าวได้จากความแตกต่างของรูปแบบเอนไซม์ที่ปรากฏ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาที่ระยะเวลาเดียวกัน ระหว่างรอยต่อมีการพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญใหม่ และมีการสร้างท่อน้ำเชื่อมต่อระหว่างต้นตอกับกิ่งเลี้ยง เกิดการเคลื่อนย้ายเอนไซม์ระหว่างต้นตอกับกิ่งเลี้ยงทำให้ส่งผลต่อกัน ดังนั้นเมื่อศึกษารูปแบบของไอโซไซม์ที่ระยะเวลา 6 และ 8 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง พบว่าต้นตอและกิ่งเลี้ยงมีผลต่อกันอย่างเด่นชัด โดยเฉพาะที่อายุ 8 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Schmid และ Feucht (1985) โดยใช้ระบบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสศึกษาส่วนเหนือรอยต่อและใต้รอยต่อที่ระยะเวลา 1 - 8 สัปดาห์หลังการต่อกิ่งเชอรี่หวานสายพันธุ์ Sam (*Prunus avium*) ที่ต่อกิ่งบนต้นตอ *P. cerasus* พบว่า ในสัปดาห์ที่ 1 และ 2 หลังการต่อกิ่ง แถบที่ปรากฏมีรูปแบบกระจาย แต่ที่ระยะเวลา 3 และ 4 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง มีปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น และที่ระยะเวลา 5 และ 6 สัปดาห์หลังการ

ต่อกิ่ง มีแถบขนาดเล็กย้อมติดสีชัดเจนทั้ง 3 ส่วน และที่ระยะเวลา 7 และ 8 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง มีปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นอย่างมาก ในขณะที่ Moreno และคณะ (1994) รายงานการหาปริมาณโปรตีนและกรดอะมิโนของการต่อกิ่งท้อบนต้นตอ พลัม พบว่า กรดอะมิโนอิสระต่อต้นลดลงอย่างต่อเนื่องในช่วงหลังของการต่อกิ่ง Mowrey และ Werner (1990) รายงานว่า รูปแบบของไอโซไซม์แตกต่างกันขึ้นกับระยะการเจริญเติบโตของพืช และสามารถแยกความแตกต่างได้ชัดเจนมากขึ้นตามอายุของต้นที่เพิ่มขึ้น แต่ในการทดลองนี้พบว่ารูปแบบเอนไซม์ที่มีการเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมในลักษณะที่แตกต่างกันนั้น เป็นอิทธิพลมาจากต้นตอและกิ่งเลี้ยง โดยจากการเปรียบเทียบรูปแบบของเอนไซม์เพื่อศึกษาอิทธิพลของต้นตอและกิ่งเลี้ยงที่มีต่อกันพบว่า ในระยะเวลา 8 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง ต้นตอทั้ง 6 ชนิดมีรูปแบบเอนไซม์ที่เปลี่ยนแปลง โดยต้นตอส้มเขียวหวานทำให้รูปแบบเอนไซม์ของกิ่งเลี้ยงติดสีเข้มขึ้น แสดงถึงอิทธิพลของต้นตอที่มีต่อกิ่งเลี้ยง (Moreno, *et al.*,1994) จากการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของรอยต่อของส้มโชกุนบนต้นตอมะขวิดมีชั้นของแคลลัสบาง เมื่อตรวจสอบเอนไซม์พบว่ามีรูปแบบเปลี่ยนแปลงไป สำหรับการพบการเปลี่ยนแปลงแถบของเอนไซม์ตรงส่วนเปลือกใต้รอยต่อของมะขวิด แถบที่ปรากฏอาจเป็นผลมาจากอิทธิพลของกิ่งเลี้ยงส้มโชกุนที่นำมาต่อ และตามที่ไพโรจน์ ผลประสิทธ์ (2516) ได้ศึกษาผลของต้นตอมะขวิดที่ทำให้กิ่งส้มตราแสดงอาการเตี้ยแคระและออกดอกผลเร็ว ต้นตอที่เตี้ยแคระพบว่า ท่อน้ำมีขนาดเล็กกว่าปกติและสร้างชิดกับเนื้อเยื่อต้นตอ ในขณะที่ต้นตอที่กิ่งเตี้ยแคระต้นตอจะสร้างท่อน้ำตามปกติ แต่ภายหลังท่อน้ำสั้นขรุขระทำให้เกิดการขัดขวางการส่งผ่านน้ำและแร่ธาตุอาหารไปกิ่งเลี้ยงทำให้เกิดเตี้ยแคระ (Soumelidou *et al.*, 1994) จึงเป็นที่สังเกตได้ว่า ลักษณะของแถบ จำนวนแถบ และความเข้มของแถบสีของเอนไซม์ที่ย้อมได้นี้มีความสัมพันธ์กับลักษณะอาการเตี้ยแคระและให้ผลผลิตเร็วของกิ่งเลี้ยง ซึ่งอาจใช้ต้นตอชนิดอื่นเปรียบเทียบได้เช่น ลักษณะของแถบเอนไซม์ส่วนเหนือและใต้รอยต่อในต้นตอมะสัง ส้มฟรีมองต์ และส้มซ่า พบว่า ต้นตอมะสังมีแถบเอนไซม์เพิ่มขึ้นหลังการต่อกิ่ง แต่ต้นตอส้มฟรีมองต์ และส้มซ่ามีลักษณะการเปลี่ยนแปลงความเข้มของแถบสีของเอนไซม์เพิ่มขึ้นหรือจางลงตรงส่วนเหนือและใต้รอยต่อ ซึ่งอิทธิพลดังกล่าวต้องศึกษาจากลักษณะทางสันฐานวิทยาของกิ่งเลี้ยงและลักษณะเนื้อเยื่อวิทยาของรอยต่อประกอบกัน แต่ขณะนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นยังไม่เห็นผลชัดเจนต้องใช้เวลาในการศึกษาต่อไปจนถึงให้ผลผลิตดูอิทธิพลจนถึงขั้นสุดท้าย

จากการศึกษาสันฐาณวิทยาของส้มโชกุนบนต้นตอส้มชนิดต่างๆในระยะเวลาสั้นๆมีแนวโน้มว่าส้มซ่าใช้เป็นต้นตอได้ดี โดยพิจารณาจากการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของรอยต่อ ซึ่งเซลล์ของรอยต่อเชื่อมตัวกันค่อนข้างสมบูรณ์ อย่างไรก็ตาม ต้นตอที่ดีและมีการคัดเลือกอย่างสมบูรณ์ ควรได้รับการทดสอบการทนต่อโรคที่สำคัญที่มีการแพร่ระบาดในประเทศในปัจจุบันด้วย และการเลือกใช้ต้นตอแตกต่างกันไปตามพันธุกรรมของกิ่งพันธุ์ที่ใช้ สภาพพื้นที่ สภาพภูมิอากาศ รวมทั้งการปฏิบัติดูแลรักษาแต่ละแหล่งไม่เหมือนกัน ทำให้ยากต่อการระบุชี้ชัดถึงต้นตอที่เหมาะสม

บทที่ 5

บทสรุป

1. ความสำเร็จในการต่อกิ่งส้มโชกุนบนต้นตอส้มเขียวหวาน มะสัง ส้มฟรีมองต์ มะกรูด ส้มซ่า ส้มโอ มะขวิด และมะนาว มีความสำเร็จในการต่อกิ่งเท่ากับ 96, 88, 90, 90, 94, 94, 90 และ 68 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

2. ในเดือนที่ 5 จำนวนใบที่เพิ่มขึ้นของส้มโชกุนบนต้นตอมะสังมีค่าเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 5.02 ใบ และต่ำสุดในส้มโชกุนที่บนต้นตอมะขวิดเท่ากับ 0.12 ใบ จำนวนกิ่งที่เพิ่มขึ้นของส้มโชกุนบนต้นตอส้มเขียวหวานมีค่าเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 2.2 กิ่ง และต่ำสุดในส้มโชกุนบนต้นตอมะขวิดเท่ากับ 1 กิ่ง เส้นผ่าศูนย์กลางที่เพิ่มขึ้นของส้มโชกุนบนต้นตอมะสังมีค่าเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 1.82 มิลลิเมตร และต่ำสุดในส้มโชกุนบนต้นตอมะขวิดเท่ากับ 0.82 มิลลิเมตร ความสูงที่เพิ่มขึ้นของส้มโชกุนบนต้นตอมะกรูดมีค่าเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 2.06 เซนติเมตร และต่ำสุดในส้มโชกุนบนต้นตอมะขวิดเท่ากับ 0.73 เซนติเมตร

3. การศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของรอยต่อที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์หลังการต่อกิ่งส้มโชกุนบนต้นตอส้มเขียวหวาน และส้มฟรีมองต์ มีการสร้างแคลลัสได้ดีกว่าต้นตอชนิดอื่นๆ ส่วนระยะเวลา 4 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง ต้นตอส้มโชกุนมีการสร้างแคลลัสได้ดี มีการพัฒนาของแคลลัสไปเป็นเนื้อเยื่อเจริญใหม่ ที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง ต้นตอส้มซ่า ส้มโอ มะขวิด และมะนาวรอยต่อมีการพัฒนาของแคลลัสไปเป็นเนื้อเยื่อเจริญใหม่ ส่วนระยะเวลา 8 สัปดาห์ ต้นตอส้มโชกุนและต้นตอส้มชนิดอื่นๆมีพัฒนาการของรอยต่อค่อนข้างสมบูรณ์ ต้นตอส้มเขียวหวานเกิดไซเลมเรย์ตรงรอยต่อ

4. ระบบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสเหมาะสมที่สุดสำหรับตรวจสอบเอนไซม์ของเปลือกกิ่งพันธุ์ดีของส้มโชกุนที่ไม่ได้ต่อกิ่งและต่อกิ่งบนต้นตอส้มเขียวหวาน มะกรูด มะขวิด มะสัง ส้มฟรีมองต์ และส้มซ่า โดยรูปแบบเอนไซม์มีการเคลื่อนที่ของไอโซแกรมเพียงโซนเดียว

5. การใช้เจลความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ให้รูปแบบไอโซไซม์คมชัดที่สุด สามารถตรวจสอบความแตกต่างของไซโมแกรมได้ดีกว่าที่ความเข้มข้น 7 และ 12 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

6. รูปแบบเอนไซม์หลังการต่อกิ่งระยะเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ พบอิทธิพลของต้นตอที่มีต่อกิ่งเลี้ยงในต้นตอมะสัง ส้มฟรีมองต์ และส้มซ่า ในขณะที่ระยะเวลา 6 และ 8 สัปดาห์ เห็นอิทธิพลดังกล่าวได้ชัดเจน ในสัปดาห์ที่ 8 ต้นตอส้มโชกุนที่ต่อบนส้มเขียวหวานมีผลทำให้รูปแบบเอนไซม์ของกิ่งเลี้ยงเปลี่ยนไปเช่นเดียวกันกับมะขวิด ส่วนส้มโชกุนที่ต่อกิ่งกับมะกรูด มะสัง ส้มฟรีมองต์ และส้มซ่ามีผลทำให้รูปแบบเอนไซม์ของต้นและกิ่งเลี้ยงมีรูปแบบเปลี่ยนไป

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2540. สถิติการปลูกไม้ผลไม้ยืนต้นปี 2537. ฝ่ายข้อมูลส่งเสริมการเกษตร กองแผนงาน กรมส่งเสริมการเกษตร.

เทียมใจ คมกฤส. 2539. กายวิภาคของพฤกษ์. กรุงเทพฯ : ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นพรัตน์ บำรุงรักษ์. 2536. พืชหลักปักษ์ใต้. กรุงเทพฯ : ปีรามิด.

นันทิยา วรรธนะภูติ. 2538. การขยายพันธุ์พืช. เชียงใหม่ : ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

นิวัตร์ ธรรมภิบาล และ ชนิษฐา วิเมศ. 2540. ส้ม ธุรกิจหมื่นล้านพัฒนาอย่างไรให้ยั่งยืน วารสารเคหการเกษตร 5 : 42 - 76.

เปรมปรี ณ สงขลา. 2540. ส้มโอ ไม้ผลทางเลือกที่ยังมีอนาคตดี วารสารเคหการเกษตร 2 : 85 - 91.

พนา วัฒนุวรรณ. 2540. ศาสตร์แห่งส้ม. กรุงเทพฯ : บ.พิมเณศพริ้นท์ติ้ง เซนเตอร์ จำกัด.

ไพโรจน์ ผลประสิทธิ์. 2516. ส้มตราบนตอมะขวิด. วารสารกสิกร. 46 : 167 - 171.

ภูวดล บุตรรัตน์. 2528. เทคนิคทางพฤกษศาสตร์. ปัตตานี : ภาควิชาวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี.

มงคล แซ่หลิม. 2535. การผลิตส้ม. สงขลา : ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

มงคล แซ่หลิม สายัณห์ สดุดี สมปอง เตชะโต พิมพรรณ ตันสกุล และ อรุณี ม่วงแก้วงาม. 2533. การหาพันธุ์พืชที่เหมาะสมสำหรับทำต้นตอมังคุดเพื่อให้ขึ้นได้ในพื้นที่แห้งแล้งและความอุดมสมบูรณ์ของดินต่ำในภาคใต้. รายงานวิจัย ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

วันทนา นวรังสรรค์. 2538. การจำแนกพันธุ์พืชในสกุล *Lansium* โดยใช้ไอโซไซม์และการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

วิทยา พรหมมี. 2541. การปรับปรุงพันธุ์มังคุด(*Garcinia mangostana* L.)โดยใช้สิ่งก่อกลายพันธุ์ในหลอดทดลอง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สนั่น ขำเลิศ. 2541. หลักและวิธีปฏิบัติการขยายพันธุ์พืช : กรุงเทพฯ : ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เสาวณี สุริยาภณานนท์. 2535. การตรวจสอบสายพันธุ์มะขามโดยใช้ไอโซไซม์. วารสารเคหเกษตร. 19 : 119 – 122.

อำไพวรรณ ภราดร์นุวัฒน์ วิชัย ก่อประดิษฐ์สกุล สุพัฒน์ อรรถธรรม และ นิพนธ์ ทวีชัย. 2526. โรคส้มในประเทศไทย. กรุงเทพฯ : ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Arulsekar, S., Parfitt, D. E. and McGranahan, G. H. 1985. Isozyme gene markers in *Juglans* species. Journal of Heredity 76 : 103 - 106.

Asante, A. K. and Barnett, J. R. 1997. Graft union formation in mango (*Mangifera indica* L.) Journal of Horticultural Science 72 : 781 - 790.

Deloire, A. and Hebant, C. 1982. Peroxidase activity and lignification at the interface between stock and scion of compatible and incompatible grafts of *Capsicum* on *Lycopersicum*. Annals of Botany 49 : 887 - 891.

Ermel, F. F., Poessel, J. L., Faurobert, M. and Catesson, A. M. 1997. Early scion / stock junction in compatible and incompatible pear / pear and pear / quince grafts : a histo - cytological study. Annals of Botany 79 : 505 - 515.

Errea, P., Felipe, A. and Herrero, M. 1994. Graft establishment between compatible and incompatible Prunus sp. Journal of Experimental Botany 45 : 393 - 401.

Fahn, A. 1982. Plant Anatomy. New York : Pergamon Press.

Hartmann, H. T. and Davies, F. T. 1975. Plant Propagation:Principles and Practices. New Jersey : Prentice Hall - Inc.

Hartmann, H. T., Kester, D. E., Davies, F. T. and Geneve, R. L. 1997. Plant Propagation : Principles and Practices. New Jersey : Prentice Hall - Inc.

Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227 : 680.

Moreno , M. A.,Moing, A.,Lansac M.,Gaudillere J.P.and Salesses G. 1993. Peach/myrobalan plum graft incompatability inn the nursery. Journal of Horticultural Science 68 : 705 - 714.

Moreno , M. A.,Gaudillere,J. P.and Moing, A. 1994. Protein and amino acid content in compatible and incompatible peach/plum grafts. Journal of Horticultural Science 69 : 955 - 962.

Mosse, B. 1962. Graft-incompatibility in fruit trees. Kent : Common - wealth Agriculture Buureaux, Farnham Royal, Bucks.

Mowrey, B. D. and Werner, D. J. 1990. Inheritance of isocitrate dehydrogenase, malate dehydrogenase and shikimate dehydrogenase in peach and peach x almond hybrids. Journal American Society of Horticultural Science 115 : 312 - 319.

Protopapadakis, E. E. 1987. Identification by isoenzymes of five cultivars of *Citrus medica* grafted on four rootstocks. Journal of Horticultural Science 62 : 413 - 419.

Randhawa, S. S., and Kishore, D. K. 1981. A note on the graft compatability of native wild species. I. with apple and pear. Journal of Horticultural Science 56 : 369 - 371.

Richardson, F. V. M., tSaoir, S. M. A. and Harvey, B. M. R. 1996. A story of the graft union in in vitro micrografted apple. Plant Growth Regulation 20 : 17 - 23.

Samson, J. A. 1980. Tropical Fruit : New York : Longman Group Ltd.

Schmid, P. P. S. and Feucht, W. 1980. Isoelectic focusing of proteins and some enzymes from secondary phloem of cherry grafting-combination. III. Enzymes,especially peroxidases. Scientia Horticulturae 12 : 69 - 75.

Schmid, P. P. S. and Feucht, W. 1981. Differentiation of sieve tubes in compatible and incompatible prunus grafting. Scientia Horticulturae 15 : 349 - 354.

Schmid, P. P. S. and Feucht, W. 1985. Compatibility in *Prunus avium / Prunus cerasus* graftings during the initial phase. III. isoelectro focusing of proteins, peroxidases and acid phosphatases during union formation. Journal of Horticultural Science 60 : 311 - 318.

Soumelidou, K., Battey, N. H., John, P. and Barnett, J. R. 1994. The anatomy of the developping bud union and its relationship to dwarfing in apple. Annal of Botany. 74 : 605 - 611.

Wang, Z. Y., Patterson, K. J., Gould, K. S., and Lowe, R. G. 1994. Rootstock effect on budburst and flowering in kiwifruit. Scientia Horticulturae 57 : 187 - 199.

ภาคผนวก

ภาคผนวกที่ 1

การเตรียมสไลด์ถาวรเพื่อศึกษาลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยา ตามวิธีการของ ภูวดล บุตรรัตน์ (2528)

1. **การเตรียมน้ำยารักษาสภาพเซลล์** (FAA)

ประกอบด้วย formalin : acetic acid : alcohol อัตราส่วน 1 : 1 : 18 โดยปริมาตร

2. **การดึงน้ำออกจากเซลล์**

แช่สารละลายตามขั้นตอนต่อไปนี้

สารขวดที่	น้ำ (มล)	95%ETOH (มล)	buthyl alcohol (มล)	ระยะเวลา (ชม)
1.	50	40	10	2
2.	30	50	20	24
3.	15	50	35	2
4.	5	40	55	2
5.	0	25	75	2
6.	pure buthyl alcohol + eosin/fastgreen (100+5 ml)			24
7.	pure buthyl alcohol			2
8.	buthyl alcohol + paraffin oil (50 + 50 cc.)			2
9.	paraplast 1			2
10.	paraplast 2			2
11.	paraplast 3			24
12.	paraplast 4			24
13.	paraplast 5			2

3.การติดสไลด์

สารเคมีที่ใช้ในการติดสไลด์

1. formalin 3 % (ต้องไม่ตกตะกอน)

2. Haupt's adhesive ประกอบด้วย

2.1 plain knox gelatin	1	กรัม
2.2 น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร
2.3 phenol crystal	2	กรัม
2.4 glycerin	15	มิลลิลิตร

เตรียมได้โดยละลายสารข้อ 2.1 ใน 2.2 ที่อุณหภูมิ 35 - 40 องศาเซลเซียส เมื่อละลายแล้วเติมสารในข้อ 2.3 และ 2.4 ลงไป เมื่อละลายเข้ากันแล้วให้กรองสารละลายดังกล่าวเก็บไว้

4. การเตรียมสีย้อม

การเตรียมสี fastgreen

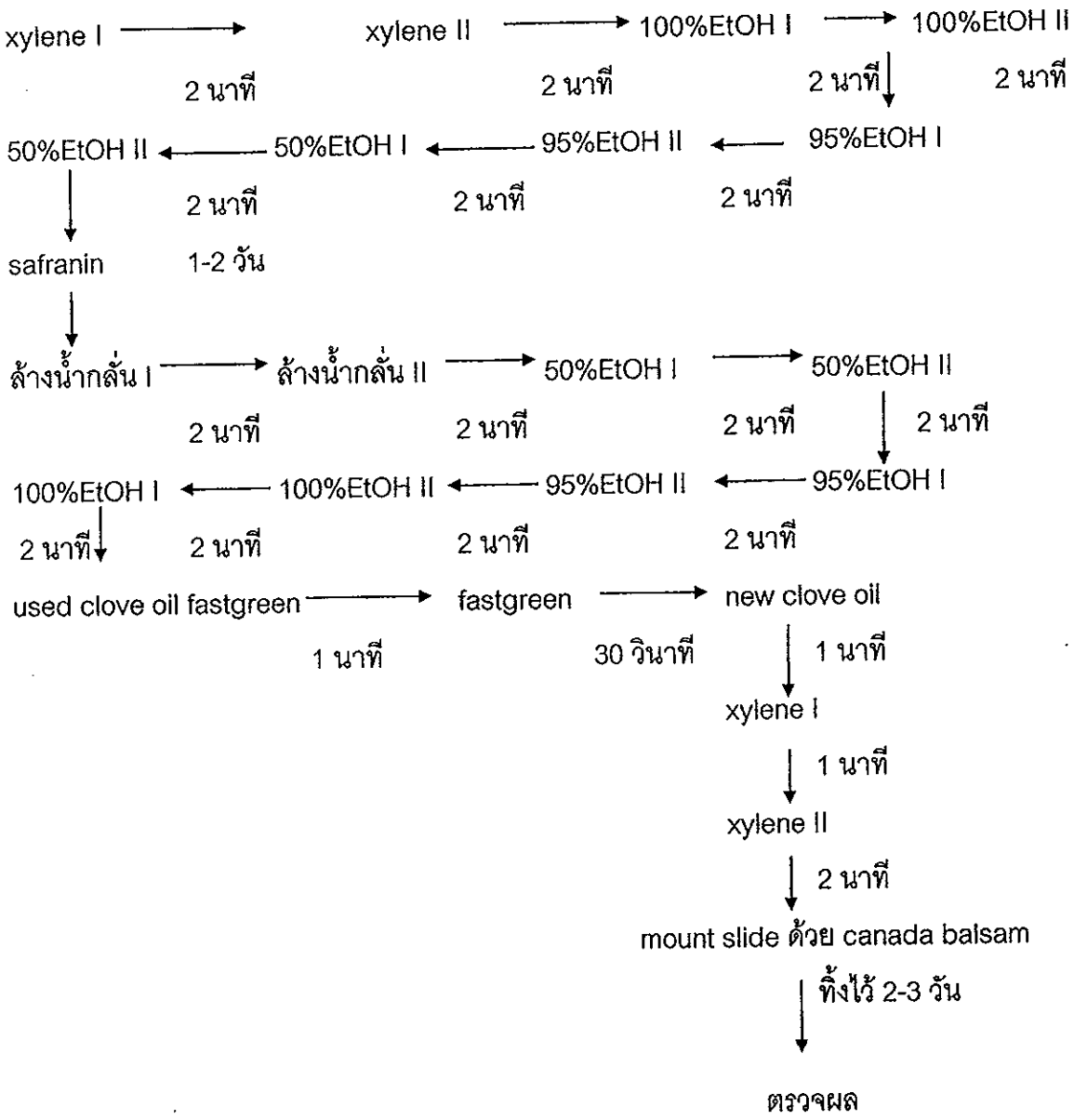
1. methyl cellosolve	50	มิลลิลิตร
2. absolute alcohol	50	มิลลิลิตร
3. clove oil	50	มิลลิลิตร
4. สี fastgreen	0.5	กรัม

การเตรียมสี safranin

1. สี safranin o	4	กรัม
2. methyl cellosolve (1-acetoxy-2-methoxy-ethane)	200	มิลลิลิตร
3. 95% ethyl alcohol	100	มิลลิลิตร
4. sodium acetate	4	กรัม
5. formalin	8	มิลลิลิตร

* สีที่เตรียมต้องนำมากรองทุกครั้งด้วยกระดาษกรอง 2-3 ครั้ง ก่อนการใช้งาน

5. วิธีการย้อมสี


xylene I
2 นาที
xylene II
2 นาที
100%EtOH I
2 นาที
100%EtOH II
2 นาที
95%EtOH I
2 นาที
95%EtOH II
2 นาที
50%EtOH I
2 นาที
50%EtOH II
safranin
1-2 วัน
ล้างน้ำกลั่น I
2 นาที
ล้างน้ำกลั่น II
2 นาที
50%EtOH I
2 นาที
50%EtOH II
2 นาที
95%EtOH I
2 นาที
95%EtOH II
2 นาที
100%EtOH II
2 นาที
100%EtOH I
2 นาที
used clove oil fastgreen
1 นาที
fastgreen
30 วินาที
new clove oil
1 นาที
xylene I
1 นาที
xylene II
2 นาที
mount slide ด้วย canada balsam
ทิ้งไว้ 2-3 วัน
ตรวจผล

ภาคผนวกที่ 2

การเตรียมเจลและการแยกโมเลกุลเอนไซม์

เตรียมเจลโดยใช้เครื่องอิเลคโตรโฟรีซีสชนิด slab gel เตรียมเจลแบบไม่ต่อเนื่อง (DISC:discontinuous)ใช้ตัวกลางเป็นเจลโพลีอะคริลาไมด์ (polyacrylamide gel) ซึ่งประกอบด้วย stacking gel เจลตอนบน ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ และส่วนเจลตอนล่าง separating gel ใช้ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ดูดสารละลายเอนไซม์ที่สกัดได้ 15 ไมโครลิตร หยดลงบนแผ่นเจลอะคริลาไมด์ ทำการแยกเอนไซม์ภายใต้แรงเคลื่อนกระแสไฟฟ้าคงที่ 100 โวลต์ ภายใต้อุณหภูมิ 5±1 องศาเซลเซียส ตามวิธีการของ Laemmli (1970) นำเจลที่ได้มาย้อมสี

วิธีการเตรียมเจลและการแยกโมเลกุลเอนไซม์เพื่อศึกษารูปแบบเอนไซม์

1 **การเตรียม** separating gel solution 30 **เปอร์เซ็นต์**

ชั่งอะคริลาไมด์จำนวน 29.2 กรัมและบิสอะคริลาไมด์ จำนวน 0.8 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน กรองด้วยกระดาษกรอง (Whatman) เบอร์ 4 เก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สามารถเก็บไว้ได้นาน 2 สัปดาห์

2 **การเตรียมบัฟเฟอร์** Tris-HCl **ความเข้มข้น** 1.5 M pH 8.9

ชั่ง Tris-HCl จำนวน 18.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับ pH 8.9 โดยใช้กรดไฮโดรคลอริค และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สามารถเก็บได้นาน 1 เดือน

3 **การเตรียมบัฟเฟอร์** Tris-HCl **ความเข้มข้น** 0.5 M pH 6.8

ใช้วิธีเดียวกับการเตรียมบัฟเฟอร์ Tris-HCl ความเข้มข้น 1.5 M แต่ชั่ง Tris-HCl เพียง 6.13 gm/ml. กรัม และปรับ pH 6.8

4 การเตรียมแอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟต ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์

ชั่งแอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟตจำนวน 0.1 กรัม ละลายน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สามารถเก็บได้นาน 1 สัปดาห์

5 การเตรียมอิเลคโตรดบัฟเฟอร์

ชั่ง Tris-HCl จำนวน 3.03 กรัม รวมกับไกลซีนจำนวน 14.4 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับ pH เป็น 8.3 โดยใช้ไกลซีน ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

ภาคผนวกที่ 3

การเตรียมสีย้อมเอนไซม์ สารละลายตรึงเอนไซม์ สารละลายล้างสีส่วนเกิน และสารละลายเก็บเจล

การเตรียมสีย้อมเอนไซม์

1 สีย้อมเปอร์ออกซิเดส (E.C. 1.11.1.7)

สารเคมี Stock A

1. 3-amino-9-ethylcarbazole	420	มิลลิกรัม
2. β-napthol	290	มิลลิกรัม
3. acetone	200	มิลลิลิตร

สารเคมี Stock B (0.0125 M Tris-HCl buffer, pH 4.0)

1. tris-HCl	1.5	กรัม
2. acetic acid	1.7	มิลลิลิตร
3. น้ำกลั่น	1	ลิตร

สารเคมี Stock C (3 % hydrogen peroxide (H_2O_2))

1. 30 % H_2O_2	0.1	มิลลิลิตร
2. น้ำกลั่น	0.9	มิลลิลิตร

วิธีการ

ใช้ Stock A : B : C เท่ากับ 20 : 80 : 1 ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันก่อนย้อมเจล ย้อมเจลในที่มืดที่อุณหภูมิห้องประมาณ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 - 60 นาที

2 **การเตรียมสารละลายตรึงเอนไซม์**

ใช้กลีเซอรอล 100 มิลลิลิตร รวมกับกรดซิตริก 70 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น เก็บที่อุณหภูมิห้องประมาณ 30 องศาเซลเซียส

3 **การเตรียมสารละลายล้างสีส่วนเกินหลังย้อมเจล**

ใช้ methanol จำนวน 400 มิลลิลิตร รวมกับ glacial acetic acid 70 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น เก็บที่อุณหภูมิห้องประมาณ 30 องศาเซลเซียส

4 **การเตรียมสารละลายเก็บเจล**

ใช้ methanol จำนวน 100 มิลลิลิตร รวมกับ glacial acetic acid 70 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น เก็บที่อุณหภูมิห้องประมาณ 30 องศาเซลเซียส

ภาคผนวกที่ 4

ตารางผนวกที่ 1 วิเคราะห์ความแปรปรวนค่าเฉลี่ยจำนวนใบของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ อายุ 1 เดือนหลังการต่อกิ่ง

Source of Variance	DF	Sum of Squares	Mean of Squares	F-Value	Pr > F
Treatment	6	24.4274	4.0712*	67.85	0.0001
Error	28	1.6800	0.0600		(0.05)
Corrected Total	34	26.1074			

C.V. (%) = 15.81

ตารางผนวกที่ 2 วิเคราะห์ความแปรปรวนค่าเฉลี่ยจำนวนใบของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ อายุ 2 เดือนหลังการต่อกิ่ง

Source of Variance	DF	Sum of Squares	Mean of Squares	F-Value	Pr > F
Treatment	6	132.4297	22.0716*	179.6584	0.0001
Error	28	3.4400	0.1229		(0.05)
Corrected Total	34	135.8697			

C.V. (%) = 10.63

ตารางผนวกที่ 3 วิเคราะห์ความแปรปรวนค่าเฉลี่ยจำนวนใบของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ อายุ 3 เดือนหลังการต่อกิ่ง

Source of Variance	DF	Sum of Squares	Mean of Squares	F-Value	Pr > F
Treatment	6	400.0434	66.6739*	266.39	0.0001
Error	28	7.0080	0.25028		(0.05)
Corrected Total	34	407.0514			

C.V. (%) = 10.06

ตารางผนวกที่ 4 วิเคราะห์ความแปรปรวนค่าเฉลี่ยจำนวนใบของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ อายุ 4 เดือนหลังการต่อกิ่ง

Source of Variance	DF	Sum of Squares	Mean of Squares	F-Value	Pr > F
Treatment	6	190.7474	31.7912*	130.91	0.0001
Error	28	6.8000	0.2428		(0.05)
Corrected Total	34	197.5474			

C.V. (%) = 15.85

ตารางผนวกที่ 5 วิเคราะห์ความแปรปรวนค่าเฉลี่ยจำนวนใบของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ อายุ 5 เดือนหลังการต่อกิ่ง

Source of Variance	DF	Sum of Squares	Mean of Squares	F-Value	Pr > F
Treatment	6	99.0674	16.5112*	145.93	0.0001
Error	28	3.1680	0.1131		(0.05)
Corrected Total	34	102.2354			

C.V. (%) = 26.51

ตารางผนวกที่ 6 วิเคราะห์ความแปรปรวนค่าเฉลี่ยจำนวนกิ่งของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ อายุ 1 เดือนหลังการต่อกิ่ง

Source of Variance	DF	Sum of Squares	Mean of Squares	F-Value	Pr > F
Treatment	6	4.9074	0.8179*	49.36	0.0001
Error	28	0.4640	0.0165		(0.05)
Corrected Total	34	5.3714			

C.V. (%) = 30.03

ตารางผนวกที่ 7 วิเคราะห์ความแปรปรวนค่าเฉลี่ยจำนวนกิ่งของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ อายุ 2 เดือนหลังการต่อกิ่ง

Source of Variance	DF	Sum of Squares	Mean of Squares	F-Value	Pr > F
Treatment	6	6.9417	1.1569*	50.62	0.0001
Error	28	0.6400	0.0228		(0.05)
Corrected Total	34	7.5817			

C.V. (%) = 19.45

ตารางผนวกที่ 8 วิเคราะห์ความแปรปรวนค่าเฉลี่ยจำนวนกิ่งของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ อายุ 3 เดือนหลังการต่อกิ่ง

Source of Variance	DF	Sum of Squares	Mean of Squares	F-Value	Pr > F
Treatment	6	4.8320	0.8053*	24.73	0.0001
Error	28	0.9120	0.0325		(0.05)
Corrected Total	34	5.7440			

C.V. (%) = 17.35

ตารางผนวกที่ 9 วิเคราะห์ความแปรปรวนค่าเฉลี่ยจำนวนกิ่งของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ อายุ 4 เดือนหลังการต่อกิ่ง

Source of Variance	DF	Sum of Squares	Mean of Squares	F-Value	Pr > F
Treatment	6	6.4457	1.0742*	47.00	0.0001
Error	28	0.6400	0.0228		(0.05)
Corrected Total	34	7.0857			

C.V. (%) = 11.25

ตารางผนวกที่ 10 วิเคราะห์ความแปรปรวนค่าเฉลี่ยจำนวนกิ่งของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ อายุ 5 เดือนหลังการต่อกิ่ง

Source of Variance	DF	Sum of Squares	Mean of Squares	F-Value	Pr > F
Treatment	6	7.0720	1.1786*	49.11	0.0001
Error	28	0.6720	0.0240		(0.05)
Corrected Total	34	7.7440			

C.V. (%) = 8.80

ตารางผนวกที่ 11 วิเคราะห์ความแปรปรวนค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ อายุ 1 เดือนหลังการต่อกิ่ง

Source of Variance	DF	Sum of Squares	Mean of Squares	F-Value	Pr > F
Treatment	6	0.4958	0.0826*	8.54	0.0001
Error	28	0.2710	0.0096		(0.05)
Corrected Total	34	0.7668			

C.V. (%) = 37.02

ตารางผนวกที่ 12 วิเคราะห์ความแปรปรวนค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ อายุ 2 เดือนหลังการต่อกิ่ง

Source of Variance	DF	Sum of Squares	Mean of Squares	F-Value	Pr > F
Treatment	6	1.5666	0.2611*	1.73	0.0001
Error	28	4.2268	0.1509		(0.05)
Corrected Total	34	5.7935			

C.V. (%) = 61.98

ตารางผนวกที่ 13 วิเคราะห์ความแปรปรวนค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ อายุ 3 เดือนหลังการต่อกิ่ง

Source of Variance	DF	Sum of Squares	Mean of Squares	F-Value	Pr > F
Treatment	6	1.8812	0.3135*	2.40	0.0001
Error	28	3.6588	0.1306		(0.05)
Corrected Total	34	5.7440			

C.V. (%) = 40.70

ตารางผนวกที่ 14 วิเคราะห์ความแปรปรวนค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ อายุ 4 เดือนหลังการต่อกิ่ง

Source of Variance	DF	Sum of Squares	Mean of Squares	F-Value	Pr > F
Treatment	6	3.5861	0.5976*	4.12	0.0001
Error	28	4.0662	0.1452		(0.05)
Corrected Total	34	7.6523			

C.V. (%) = 33.92

ตารางผนวกที่ 15 วิเคราะห์ความแปรปรวนค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ อายุ 5 เดือนหลังการต่อกิ่ง

Source of Variance	DF	Sum of Squares	Mean of Squares	F-Value	Pr > F
Treatment	6	5.2595	0.8765*	5.57	0.0001
Error	28	4.4102	0.1575		(0.05)
Corrected Total	34	9.6698			

C.V. (%) = 29.80

ตารางผนวกที่ 16 วิเคราะห์ความแปรปรวนค่าเฉลี่ยความสูงของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มซนิดต่างๆ อายุ 1 เดือนหลังการต่อกิ่ง

Source of Variance	DF	Sum of Squares	Mean of Squares	F-Value	Pr > F
Treatment	6	0.1433	0.0238*	13.75	0.0001
Error	28	0.0486	0.0017		(0.05)
Corrected Total	34	0.1919			

C.V. (%) = 17.87

ตารางผนวกที่ 17 วิเคราะห์ความแปรปรวนค่าเฉลี่ยความสูงของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มซนิดต่างๆ อายุ 2 เดือนหลังการต่อกิ่ง

Source of Variance	DF	Sum of Squares	Mean of Squares	F-Value	Pr > F
Treatment	6	0.3360	0.0560*	6.99	0.0001
Error	28	0.2243	0.0080		(0.05)
Corrected Total	34	0.5603			

C.V. (%) = 19.48

ตารางผนวกที่ 18 วิเคราะห์ความแปรปรวนค่าเฉลี่ยความสูงของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มซนิดต่างๆ อายุ 3 เดือนหลังการต่อกิ่ง

Source of Variance	DF	Sum of Squares	Mean of Squares	F-Value	Pr > F
Treatment	6	1.2959	0.2159*	12.65	0.0001
Error	28	0.4780	0.0170		(0.05)
Corrected Total	34	1.7739			

C.V. (%) = 17.57

ตารางผนวกที่ 19 วิเคราะห์ความแปรปรวนค่าเฉลี่ยความสูงของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ อายุ 4 เดือนหลังการต่อกิ่ง

Source of Variance	DF	Sum of Squares	Mean of Squares	F-Value	Pr >F
Treatment	6	4.7639	0.7939*	49.86	0.0001
Error	28	0.4459	0.0159		(0.05)
Corrected Total	34	5.2098			

C.V. (%) = 12.42

ตารางผนวกที่ 20 วิเคราะห์ความแปรปรวนค่าเฉลี่ยความสูงของส้มโชกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ อายุ 5 เดือนหลังการต่อกิ่ง

Source of Variance	DF	Sum of Squares	Mean of Squares	F-Value	Pr > F
Treatment	6	6.0214	1.0035*	64.30	0.0001
Error	28	0.4370	0.0156		(0.05)
Corrected Total	34	6.4584			

C.V. (%) = 9.02

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นางสาวมาลี สะสมศักดิ์

วันเดือนปีเกิด 5 มิถุนายน 2514

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
เทคโนโลยีการเกษตรบัณฑิต (พืชศาสตร์)	มหาวิทยาลัยแม่โจ้	2536