



การประเมินการเข้ากันได้ของต้นตอทุเรียนพื้นบ้านภาคใต้กับกิ่งทุเรียนพันธุ์การค้า

**Evaluation of Compatibility between Indigenous Durian Rootstocks in
Southern Thailand and Commercial Varieties**

สุรศักดิ์ พรหมสกุล

Surasak Promsakul

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the

Degree of Master of Science in Plant Science

Prince of Songkla University

2566

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์



การประเมินการเข้ากันได้ของต้นตอทุเรียนพื้นบ้านภาคใต้กับกิ่งทุเรียนพันธุ์การค้า

**Evaluation of Compatibility between Indigenous Durian Rootstocks in
Southern Thailand and Commercial Varieties**

สุรศักดิ์ พรหมสกุล

Surasak Promsakul

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the

Degree of Master of Science in Plant Science

Prince of Songkla University

2566

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การประเมินการเข้ากันได้ของต้นตอทุเรียนพื้นบ้านภาคใต้กับกิ่งทุเรียนพันธุ์
การค้า

ผู้เขียน นายสุรศักดิ์ พรหมสกุล

สาขาวิชา พืชศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.จรัสศรี นวลศรี)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ

(ศาสตราจารย์ ดร.สายัณห์ สดุดี)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.จรัสศรี นวลศรี)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กรกช นาคคนอง)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กรกช นาคคนอง)

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัฐากร วรธัญสิน)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัฐากร วรธัญสิน)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เสาวภา ค้างพาน)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้
เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เอกัง วงศ์ศิริ โชติ)

รักษาการแทนคณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(3)

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ.....

(รองศาสตราจารย์ ดร. จรัสศรี นวลศรี)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ลงชื่อ.....

(นายสุรศักดิ์ พรหมสกุล)

นักศึกษา

(4)

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และไม่ได้
ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....

(นายสุรศักดิ์ พรหมสกุล)

นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์	การประเมินการเข้ากันได้ของต้นตอทุเรียนพื้นบ้านภาคใต้กับกิ่งทุเรียนพันธุ์การค้า
ผู้เขียน	นายสุรศักดิ์ พรหมสกุล
สาขาวิชา	พืชศาสตร์
ปีการศึกษา	2565

บทคัดย่อ

อุปสรรคสำคัญในการเสียบยอดทุเรียนระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีคือการเข้ากันไม่ได้ ซึ่งจะมีผลทำให้ลดการเจริญเติบโตของส่วนยอด และส่งผลกระทบต่อผลผลิต ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจต่อชาวสวนทุเรียน งานวิจัยนี้ทำการศึกษาในทุเรียน 2 ชนิด ได้แก่ *Durio zibethinus* และ *D. lowianus* โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการพัฒนาของรอยต่อ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ปริมาณลิกนิน เปรียบเทียบรูปแบบไอโซไซม์เพอร์ออกซิเดสบริเวณส่วนบนและส่วนล่างรอยต่อ การเจริญเติบโตของกิ่งพันธุ์หมอนทองและชะนีบนต้นตอทุเรียนสายพันธุ์ต่างๆ เพื่อเป็นตัวชี้วัดการเข้ากันได้ระหว่างกิ่งพันธุ์ดีและต้นตอ โดยมีกิ่งพันธุ์หมอนทองเสียบยอดบนต้นตอหมอนทอง และกิ่งพันธุ์ชะนีเสียบยอดบนต้นตอชะนีเป็นตัวเปรียบเทียบ นอกจากนี้ยังได้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของต้นตอทุเรียนและกิ่งพันธุ์ดี โดยใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ ผลการศึกษาพบว่า เปอร์เซ็นต์ความสำเร็จในการเสียบยอดที่อายุ 28 วัน สูงที่สุดเมื่อใช้ต้นตอทุเรียนพื้นบ้านพันธุ์ท้ายเลี่ยม ไอ้ส้ม และลูกกลมที่เสียบยอดด้วยกิ่งพันธุ์ชะนี (100%) รองลงมาคือการใช้กิ่งพันธุ์ชะนี เสียบยอดบนต้นตอชะนี และต้นตอชก (96.67%) หลังการเสียบยอดเป็นเวลา 28 วัน พบว่าทุกต้นมีการพัฒนาของรอยต่อที่สมบูรณ์ไม่แตกต่างกัน ที่ระยะเวลา 12 เดือน หลังการเสียบยอด พบว่า กิ่งพันธุ์ดีหมอนทอง และชะนีที่เสียบยอดบนต้นตอทุเรียนชก และต้นตอขมมีมีการเข้ากันได้ของรอยต่อดีที่สุด เมื่อวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิก และลิกนิน จากตัวอย่างเนื้อเยื่อบริเวณส่วนบน ส่วนล่าง และบริเวณรอยต่อ พบว่า ปริมาณสารฟีนอลิกจะพบมากที่สุดบริเวณเนื้อเยื่อรอยต่อ ส่วนปริมาณสารลิกนินจะพบมากที่สุดบริเวณเนื้อเยื่อส่วนบนรอยต่อ ให้ผลไปในทิศทางเดียวกันในทุกคู่เสียบยอด ปริมาณสารฟีนอลิกเพิ่มขึ้นสูงสุดที่ 21 วันหลังเสียบยอด หลังจากนั้นที่ 45 วันหลังเสียบยอดจะค่อยๆลดลง ในทางตรงกันข้าม ปริมาณสารลิกนิน จะค่อย ๆ เพิ่มขึ้นที่ 45 วันหลังเสียบยอด การศึกษารูปแบบของแถบเอนไซม์เพอร์ออกซิเดส ด้วยการใส่อะคริลาไมด์ เจลอิเล็กโตรโฟรีซิส ที่ระยะเวลา 12 เดือนหลังเสียบยอด พบว่า แถบเอนไซม์มีความแตกต่างกัน พบแถบของเอนไซม์ที่เหมือนกันจากบริเวณต้นตอ บริเวณรอยต่อ และกิ่งพันธุ์ดีในทุกตำแหน่งในกลุ่ม

เสียบยอด 9 คู่ คือ หมอนทอง/หมอนทอง ขมื่น/ชะนี ขมื่น/หมอนทอง ท้ายเลี่ยม/ชะนี ลูกกลม/หมอนทอง ชะนี/ชะนี ชะนี/หมอนทอง นก/หมอนทอง และต้นเขียว/ชะนี มีแถบใกล้เคียงกันมากที่สุด สำหรับการเจริญเติบโตของกิ่งพันธุ์ดีบนต้นตอสายพันธุ์ต่างๆ ที่อายุ 12 เดือนหลังการเสียบยอด พบว่า กิ่งพันธุ์ดีหมอนทองและชะนีเจริญเติบโตได้ดีที่สุดเมื่อเสียบยอดบนต้นตอทุเรียนนก เมื่อศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมของทุเรียนที่ใช้เป็นต้นตอและทุเรียนที่ใช้เป็นกิ่งพันธุ์ดีจำนวน 10 ตัวอย่าง โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลท์ กับไพโรมอร์จำนวน 8 คู่ไพโรมอร์ พบว่าทั้ง 8 ไพโรมอร์ให้แถบแตกต่างกัน ไพโรมอร์แต่ละตำแหน่งให้แถบดีเอ็นเอ 1-4 แถบ (อัลลีล) รวมทั้งสิ้น 28 แถบ เมื่อวิเคราะห์ความใกล้ชิดทางพันธุกรรมด้วยวิธี UPGMA สามารถแบ่งกลุ่มทุเรียนทั้ง 10 ตัวอย่าง ได้เป็น 3 กลุ่ม โดยมีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรม 0.56-0.93 ต้นตอทุเรียนนกมีความแตกต่างทางพันธุกรรมกับทุเรียนสายพันธุ์อื่นมากที่สุด แต่พบการเข้ากันได้ดีระหว่างต้นตอทุเรียนชนิด *D. lowianus* และกิ่งพันธุ์ดีชนิด *D. zibethinus*

Thesis Title	Evaluation of Compatibility between Indigenous Durian Rootstocks in Southern Thailand and Commercial Varieties
Author	Mr. Surasak Promsakul
Major Program	Plant Science
Academic Year	2022

Abstract

The major obstacle in vegetative propagation by grafting in fruit crops is incompatibility between rootstock and scion. Graft incompatibility may occur sometimes and possibly reduced growth and yield of the scion, leading to economic losses. Two species of durian were studied in this research: *Durio zibethinus* and *D. lowianus*. The objective was to study the grafting success of Monthong and Chanee grafted on various indigenous durian rootstocks. The graft union formation after grafting was observed. The phenolic compounds and lignin content above, below and at the graft union were compared. The comparison of isozyme peroxidase patterns and shoot growth of Monthong and Chanee on each rootstock were scored. Monthong and Chanee monografts were included as controls. In addition, genetic diversity of each durian rootstocks and scions were analyzed by microsatellite markers. Results showed that at 28 days after grafting (DAG), the highest successful grafting was recorded in Chanee grafted on indigenous durian namely Tai Liam, I-som and Lookklom (100%) followed by Chanee grafted on Chanee and Nok rootstocks (96.67%). The graft union were seen as well formed within 28 DAG and not significantly differences were found among all grafted plants. At 12 months after grafting (MAG), Monthong and Chanee grafted on Nok and Khamin rootstocks showed good compatibility. The total phenolic compounds and lignin content were analyzed at above, below and graft union. Results revealed significantly higher total phenolic content at the graft union than those above and below graft union in all combinations, while lignin content at above the graft union was higher than other sites. The highest phenolic content was observed at 21 DAG and gradually decrease at 45 DAG. In contrast,

lignin content was getting higher at 45 DAG. The peroxidase profiles were analyzed at 12 MAG and visualized by native polyacrylamide gel electrophoresis. Some differences of peroxidase profiles were detected. The identical peroxidase banding patterns from rootstock, scion and at graft union were observed in 9 grafted combinations: Monthong/Monthong Khamin/Chanee Khamin/Monthong TailLiam/Chanee Lookklom/Monthong, Chanee/Chanee, Chanee/Monthong, Nok/Monthong and Tonkeaw/Chanee. Growth of grafted plants was evaluated during 12 MAG. Results implied that the best combination was obtained when Monthong and Chanee were grafted on Nok rootstock. Genetic variation of 10 samples of durian used as rootstocks and scions was assessed by microsatellite markers with 8 primer pairs. It was found that all 8 primers gave polymorphic bands. Microsatellite amplification showed 1-4 bands (alleles) from each marker with a total of 28 alleles. The genetic distance was analyzed using UPGMA clustering system and 3 groups can be generated with similarity coefficient ranging from 0.56-0.93. It is clearly classified that Nok rootstock is the most genetically distant from other durians used in this study, however good compatibility was obtained between *D. lowianus* and *D. zibethinus*.

กิตติกรรมประกาศ

กราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.จรัสศรี นวลศรี ประธานกรรมการ ที่ปรึกษา วิทยานิพนธ์เป็นอย่างสูง ที่กรุณาให้คำแนะนำในการค้นคว้าวิจัยและแก้ปัญหาต่างๆ รวมทั้งอบรม สั่งสอนแนะแนวทางการวิจัย ตรวจสอบแก้ไขการเขียนวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์ ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กรกช นาคคอง และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัฐากร วรธัญ ลิน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำในการวิจัย และตรวจแก้วิทยานิพนธ์ ฉบับนี้ ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เสาวภา ดั่งปาน กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ให้ คำแนะนำในการวิจัย และคอยตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ และศาสตราจารย์ ดร.สายัณห์ สดุดี กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ซึ่งให้เกียรติเป็นประธานในการสอบ และตรวจแก้วิทยานิพนธ์ ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณทุนสนับสนุนจากศูนย์วิจัยความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและ ทรัพยากรธรรมชาติ ระยะที่ 3 คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สำหรับความ อนุเคราะห์เงินทุน สำหรับการทําวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ บุคลากรภาควิชาพืชศาสตร์ เพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ ทุกคน รวมถึงสมาชิก ห้องปฏิบัติการชีวภาพของพืชปลูก (ชีวโมเลกุล) ทุกคน ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัยครั้งนี้

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และครอบครัว ที่ให้การสนับสนุนช่วยเหลือ ในทุกๆ ด้าน และเป็นกำลังใจให้มาโดยตลอดจนสำเร็จการศึกษา

สุรศักดิ์ พรหมสกุล

สารบัญ

สารบัญ	หน้า
รายการตาราง	(11)
รายการภาพประกอบ	(12)
รายการตารางภาคผนวก	(15)
รายการภาพภาคผนวก	(16)
บทที่	
1. บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
การตรวจเอกสาร	2
วัตถุประสงค์	19
2. วิธีการวิจัย	20
วัสดุและอุปกรณ์	20
วิธีดำเนินการ	25
3. ผล	33
4. บทวิจารณ์	66
5. บทสรุป	75
เอกสารอ้างอิง	77
ภาคผนวก	89
ประวัติผู้เขียน	105

รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
1	20
2	32
3	34
4	43
5	46
6	48
7	49
8	51
9	58
10	59

รายการภาพประกอบ

ภาพที่	หน้า
1 ผลของการต่อกิ่งลี้้นจีพันธุ์ Jingganghongnuo บนต้นตอที่แตกต่างกัน ลักษณะต้นที่เกิดการเข้ากันได้ของการต่อกิ่ง (A) ตำแหน่งที่ต่อกิ่งมีลักษณะเรียบ (C) และใบมีสีเขียวเข้ม (E) ลักษณะต้นที่เกิดการไม่เข้ากันของการต่อกิ่ง (B) มีอาการบวมในตำแหน่งที่ทำการต่อกิ่ง (D) และใบมีสีเหลือง (F)	10
2 ขั้นตอนการเชื่อมต่อระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี	13
3 แสดงลักษณะรอยต่อของต้นทุเรียนที่อายุ 28 วัน หลังการเลียบยอด (a) ประสบความสำเร็จ และ (b) ไม่ประสบความสำเร็จ	33
4 พัฒนาการของรอยต่อระหว่างกิ่งพันธุ์ดีหมอนทองบนต้นตอหมอนทอง (a) ต้นตอชะนี (b) ต้นตอนก (c) ต้นตอขมื่น (d) ต้นตอท้ายเลี่ยม (e) ต้นตอไอ้ส้ม (f) ต้นตอลูกกลม (g) และต้นตอต้นเขียว (h) ที่อายุ 28 วันหลังการเลียบยอด	36
5 พัฒนาการของรอยต่อระหว่างกิ่งพันธุ์ดีชะนีบนต้นตอหมอนทอง (a) ต้นตอชะนี (b) ต้นตอนก (c) ต้นตอขมื่น (d) ต้นตอท้ายเลี่ยม (e) ต้นตอไอ้ส้ม (f) ต้นตอลูกกลม (g) และต้นตอต้นเขียว (h) ที่อายุ 28 วันหลังการเลียบยอด	37
6 พัฒนาการของรอยต่อระหว่างกิ่งพันธุ์ดีหมอนทองบนต้นตอหมอนทอง (a) ต้นตอชะนี (b) ต้นตอนก (c) ต้นตอขมื่น (d) ต้นตอท้ายเลี่ยม (e) ต้นตอไอ้ส้ม (f) ต้นตอลูกกลม (g) และต้นตอลูกเขียว ที่อายุ 12 เดือนหลังการเลียบยอด	39
7 พัฒนาการของรอยต่อระหว่างกิ่งพันธุ์ดีชะนีบนต้นตอหมอนทอง (a) ต้นตอชะนี (b) ต้นตอนก (c) ต้นตอขมื่น (d) ต้นตอท้ายเลี่ยม (e) ต้นตอไอ้ส้ม (f) ต้นตอลูกกลม (g) และต้นตอลูกเขียว ที่อายุ 12 เดือนหลังการเลียบยอด	40
8 แผนภาพไซโมแกรมไอโซไซม์เพอร์ออกซิเดสจากเนื้อเยื่อเปลือกลำต้น บริเวณส่วนบนรอยต่อ (A) บริเวณรอยต่อ (B) และบริเวณส่วนล่างรอยต่อ (C) ของกิ่งทุเรียนพันธุ์การค้าหมอนทอง และชะนี ที่เลียบยอดบนต้นตอทุเรียนสายพันธุ์ต่างๆ	52
9 ค่าเฉลี่ยความสูงของกิ่งพันธุ์ดีหมอนทองและชะนีที่เลียบยอดบนต้นตอทุเรียนพื้นบ้านสายพันธุ์ต่างๆ	53
10 ค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของต้นตอทุเรียนพื้นบ้านพันธุ์ต่างๆ ที่เลียบยอดกับกิ่งพันธุ์ดีหมอนทองและชะนี	54

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
11 ค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของรอยต่อกิ่งพันธุ์ดีหมอนทองและชะนีที่เสียบบนต้นต่อทุเรียนพื้นบ้านพันธุ์ต่างๆ	55
12 ค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของกิ่งพันธุ์ดีหมอนทองและชะนีที่เสียบบนต้นต่อทุเรียนพื้นบ้านพันธุ์ต่างๆ	56
13 ค่าเฉลี่ยจำนวนใบของต้นทุเรียนพื้นบ้านพันธุ์ต่างๆ ที่เสียบยอดกับกิ่งพันธุ์ดีหมอนทองและชะนี ที่ระยะ 12 เดือนหลังการเสียบยอด	57
14 แสดงการเจริญเติบโตของกิ่งพันธุ์ดีหมอนทองบนต้นต่อหมอนทอง (a) ต้นต่อชะนี (c) ต้นตอนก (e) ต้นต่อขมื่น (g) ต้นต่อท้ายเลี่ยม (i) ต้นต่อไอ้ส้ม (k) ต้นต่อลูกกลม (m) และต้นต่อลูกเขียว (o) การเจริญเติบโตของกิ่งพันธุ์ดีชะนีบนต้นต่อหมอนทอง (b) ต้นต่อชะนี (d) ต้นตอนก (f) ต้นต่อขมื่น (h) ต้นต่อท้ายเลี่ยม (j) ต้นต่อไอ้ส้ม (l) ต้นต่อลูกกลม (n) และต้นต่อลูกเขียว (p) ที่ระยะเวลา 12 เดือนหลังการเสียบยอด	60
15 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของทุเรียนพื้นบ้านและทุเรียนพันธุ์การค้าที่ใช้เป็นต้นต่อและกิ่งพันธุ์ดีในการเสียบยอด จำนวน 10 ตัวอย่าง จากการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ด้วยคู่มือ MSICT-5	61
16 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของทุเรียนพื้นบ้านและทุเรียนพันธุ์การค้าที่ใช้เป็นต้นต่อและกิ่งพันธุ์ดีในการเสียบยอด จำนวน 10 ตัวอย่าง จากการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ด้วยคู่มือ MSICT-6	61
17 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของทุเรียนพื้นบ้านและทุเรียนพันธุ์การค้าที่ใช้เป็นต้นต่อและกิ่งพันธุ์ดีในการเสียบยอด จำนวน 10 ตัวอย่าง จากการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ด้วยคู่มือ MSICT-7	62
18 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของทุเรียนพื้นบ้านและทุเรียนพันธุ์การค้าที่ใช้เป็นต้นต่อและกิ่งพันธุ์ดีในการเสียบยอด จำนวน 10 ตัวอย่าง จากการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ด้วยคู่มือ MSICT-9	62
19 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของทุเรียนพื้นบ้านและทุเรียนพันธุ์การค้าที่ใช้เป็นต้นต่อและกิ่งพันธุ์ดีในการเสียบยอด จำนวน 10 ตัวอย่าง จากการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ด้วยคู่มือ MSICT-12	62

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
20 รูปแบบแถบดิเอ็นเอของทุเรียนพื้นบ้านและทุเรียนพันธุ์การค้าที่ใช้เป็นต้นตอและ กึ่งพันธุ์ดีในการเสียบยอด จำนวน 10 ตัวอย่าง จากการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ ด้วยคู่ไพรเมอร์ MS1GT-15	63
21 รูปแบบแถบดิเอ็นเอของทุเรียนพื้นบ้านและทุเรียนพันธุ์การค้าที่ใช้เป็นต้นตอและ กึ่งพันธุ์ดีในการเสียบยอด จำนวน 10 ตัวอย่าง จากการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ ด้วยคู่ไพรเมอร์ MS1AAC-5	63
22 รูปแบบแถบดิเอ็นเอของทุเรียนพื้นบ้านและทุเรียนพันธุ์การค้าที่ใช้เป็นต้นตอและ กึ่งพันธุ์ดีในการเสียบยอด จำนวน 10 ตัวอย่าง จากการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ ด้วยคู่ไพรเมอร์ MS1AAC-19	63
23 แผนภาพเดนโดแกรมแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างทุเรียนพื้นบ้าน และทุเรียนพันธุ์การค้า จำนวน 10 ตัวอย่าง จากการใช้ 8 คู่ไพรเมอร์ โดย เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์	65

รายการตารางภาคผนวก

ตารางที่	หน้า
1 สูตรน้ำยาดังน้ำออกจากเซลล์พืช 12 ลำดับ	91
2 ค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้าน ทุเรียนนกก และทุเรียนพันธุ์การค้า ที่ใช้เป็นต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี จำนวน 10 ตัวอย่าง โดยใช้แถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์	104

รายการภาพภาคผนวก

	หน้า
1 ขั้นตอนการเลียบยอดกิ่งทุเรียนพันธุ์ดิบบนต้นตอพันธุ์ทุเรียนพื้นบ้านภาคใต้ ต้นตอพันธุ์ทุเรียนพื้นบ้านภาคใต้ (a) นำยอดกิ่งทุเรียนพันธุ์ดีที่เตรียมไว้มาตัดใบให้เหลือครึ่งใบ 2-3 ใบ และฝานตรงโคนกิ่งเป็นรูปสี่เหลี่ยมเพื่อใช้เลียบยาว 2-3 เซนติเมตร (b) ตัดยอดต้นตอทิ้ง ให้สูงจากพื้น 10-15 เซนติเมตร และผ่าส่วนบนตรงยอดของต้นตอเพื่อใช้เลียบยอด (c) เลียบยอดกิ่งทุเรียนพันธุ์ดีลงบนต้นตอและพันด้วยพาราฟิล์มให้แน่น (d) ต้นที่เลียบยอดกิ่งทุเรียนพันธุ์ดิบบนต้นตอพันธุ์ทุเรียนพื้นบ้านภาคใต้เรียบร้อยแล้ว (e) เมื่อเลียบยอดเสร็จคลุมด้วยถุงพลาสติกใช้เชือกผูกให้แน่น นำไปวางบนพื้นทรายและคอยรดน้ำเพื่อรักษาความชื้น (f)	89
2 การเก็บตัวอย่างเพื่อนำไปตัด section คูพัฒนาการของรอยต่อ ใช้กรรไกรตัดกิ่งตัดได้และและเนื้อรอยต่อของต้นทุเรียนที่เลียบยอดสำเร็จ (a) ใช้มีดตัดเอาเฉพาะส่วนที่เป็นรอยต่อ (b) ใช้มีดตัดแบ่งตัวอย่างเป็น 2 ชั้น ยาวประมาณ 0.5 เซนติเมตร (c) นำตัวอย่างใส่ในขวดที่มีน้ำยาคงสภาพ (FAAII) อยู่ ปิดฝาให้สนิท (d)	93
3 กราฟมาตรฐานสารละลาย Gallic acid สำหรับคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดในรูปของ GAE (gallic acid equivalent)	95
4 กราฟมาตรฐานสารละลาย Lignin content สำหรับคำนวณปริมาณลิกนิน	97
5 แผนภาพไซโมแกรมไอโซไซม์เพอร์ออกซิเดสจากเนื้อเยื่อเปลือกลำต้น บริเวณส่วนบน (a) ส่วนล่าง (b) และบริเวณรอยต่อ (c) ของกิ่งทุเรียนพันธุ์การค้า หมอนทอง และชะนี ที่เลียบยอดบนต้นตอทุเรียนสายพันธุ์ต่างๆ	102

บทที่ 1

บทนำ

1. บทนำต้นเรื่อง

ทุเรียนจัดอยู่ในวงศ์ Bombacaceae สกุล *Durio* มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Durio zibethinus* Linn. มีถิ่นกำเนิดทางเอเชียแถบหมู่เกาะบอร์เนียว ประเทศอินโดนีเซีย ต่อมาได้แพร่กระจายไปยังแหล่งต่างๆรวมทั้งประเทศไทย ทุเรียนเป็นผลไม้ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ แหล่งผลิตที่สำคัญของประเทศไทยอยู่ในเขตจังหวัดภาคตะวันออกและภาคใต้ ปัจจุบันมีการขยายพื้นที่ปลูกไปยังภาคอื่นๆ ทั่วประเทศ การผลิตทุเรียนมักประสบปัญหา เรื่องศัตรูพืชที่เข้าทำลายตลอดทุกระยะของการเจริญเติบโต โดยเฉพาะ โรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนเป็นปัญหาของเกษตรกรมากที่สุด โดยเฉพาะในช่วงฤดูฝนมีฝนตกชุกทำให้มีการแพร่ระบาดของเชื้อโรครุนแรง ทำให้ต้นทุเรียนในจังหวัดจันทบุรี ได้รับความเสียหายถึงร้อยละ 72.8 (เชษฐา, 2541)

ปัจจุบันทุเรียนถือเป็นผลไม้ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เนื่องจากมีความต้องการทุเรียนที่สูง โดยเฉพาะประเทศจีนที่นิยมบริโภคทุเรียน เกษตรกรจึงหันมาปลูกทุเรียนมากขึ้น พื้นที่ปลูกใหม่มักเป็นทุเรียนพันธุ์ดีที่สำคัญ เช่น หมอนทอง ชะนี แม้กระทั่งมูฮังคิงซึ่งเป็นพันธุ์จากประเทศมาเลเซีย ทุเรียนพื้นบ้านจึงไม่ได้รับความสนใจเท่าที่ควร แต่พบว่าหลายพันธุ์มีลักษณะดีที่สามารถใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์ทุเรียนได้ เช่น ทนต่อสภาวะน้ำขัง ทนต่อสภาวะขาดน้ำ ทนต่อโรครากเน่าโคนเน่า ซึ่งลักษณะดังกล่าวมีความเหมาะสมที่จะใช้เป็นต้นตอทุเรียนพันธุ์ดีได้ การใช้ต้นตอจากทุเรียนพันธุ์พื้นบ้าน หรือทุเรียนป่า เช่น ทุเรียนดอน (*D. malaccensis*) ชาเรียน (*D. mansoni*) และทุเรียนนก (*D. lowianus*) จะทำให้ต้นทุเรียนมีอายุยืนยาวมากขึ้น เนื่องจากทุเรียนเหล่านี้มักทนทานต่อโรค โดยเฉพาะโรครากเน่าโคนเน่าซึ่งเป็นปัญหาสำคัญ นอกจากนี้ มีรายงานว่าทุเรียนพันธุ์พื้นบ้านส่วนใหญ่มีความทนทานโรครากเน่าจึงเหมาะสมสำหรับเป็นต้นตอ (ทรงพล, 2551; สุณี และสุภาพ, 2548) การเสียบยอดถือเป็นวิธีการขยายพันธุ์ทุเรียนที่ได้รับความนิยมมากที่สุด แต่การเสียบยอดระหว่างทุเรียนพันธุ์ดีกับต้นตอพันธุ์พื้นบ้านอาจประสบปัญหาการเข้ากันไม่ได้ สนั่น (2517) รายงานว่าการต่อกิ่งระหว่างทุเรียนพันธุ์ดีกับทุเรียนนกเป็นการต่อข้ามชนิด ดังนั้นความกลมกลืนจะไม่ดีเท่ากับการต่อกิ่งพันธุ์ทุเรียนที่อยู่ในชนิดเดียวกัน และอาจเกิดการเข้ากันไม่ได้ (incompatibility) กับทุเรียนพันธุ์ดี ซึ่งจะส่งผลต่อการให้ผลผลิตของต้นทุเรียนเมื่อนำไปปลูกในแปลง จากการศึกษาการเจริญเติบโตของกิ่งพันธุ์ทุเรียน 8

ชนิด ที่ต่อกิ่งบนต้นตอทุเรียนพื้นบ้าน พบว่าทุเรียนขี้วัด (D. graveolens) ทุเรียนนงมาเลเซีย (D. lowianus) และทุเรียนรากขา (D. kutejensis) มีเปอร์เซ็นต์การต่อกิ่งติดสูงที่สุดคือ 76.19 % ส่วนทุเรียนไม่มีหนาม (Durio sp.) และทุเรียนพันธุ์ชะนี (D. zibethinus) มีเปอร์เซ็นต์การต่อกิ่งติดต่ำที่สุดคือ 33.33 % (ทรงพล, 2530) การเข้ากันไม่ได้ระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์คืออาจต้องใช้ระยะเวลาเวลานานจึงจะแสดงออกให้เห็น ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีตัวบ่งชี้ที่สามารถใช้ในการประเมินการเข้ากันไม่ได้ในระยะเวลาอันสั้น ซึ่งตัวบ่งชี้ของการเข้ากันไม่ได้ระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์คือมีหลายลักษณะ เช่น การสร้างรอยต่อระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ (graft union) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และลิกนินบริเวณรอยต่อ เนื้อและใด้รอยต่อ รูปแบบของไอโซไซม์ เช่น เพอร์ออกซิเดส (peroxidase) การตอบสนองทางสรีรวิทยาต่อความสามารถในการเข้ากันได้ รวมทั้งการเจริญเติบโตของกิ่งพันธุ์ติดบนต้นตอ เป็นต้น ลักษณะดังกล่าวอาจใช้เป็นตัวบ่งชี้วัดความสำเร็จในการขยายพันธุ์ทุเรียนบนต้นตอทุเรียนพื้นบ้านได้

2. ตรวจสอบเอกสาร

2.1 ข้อมูลทุเรียน

ทุเรียน (D. zibethinus) มีแหล่งกำเนิดที่เกาะบอร์เนียวของประเทศอินโดนีเซีย และถือเป็นศูนย์กลางความหลากหลายของพืชสกุลนี้ โดย Kostermans (1992) และ Zeven และ Zhukovsky (1975) อ้างโดย ทรงพล (2551) ได้รายงานว่ามีพืชสกุล Durio แพร่กระจายอยู่ในบริเวณเกาะบอร์เนียว 19 ชนิด ในซามาร์ 14 ชนิด ในซาราวัก 16 ชนิด เกาะสุมาตรา 7 ชนิด และมาเลเซีย 11 ชนิด โดยมี 5 ชนิดที่เป็นพืชท้องถิ่น และมีพืชสกุล Durio อย่างน้อย 6 ชนิดที่รับประทานได้ ได้แก่ ทุเรียนป่า (D. dulcis Becc.) ทุเรียนรากขา (D. kutigensis Becc.) ทุเรียนขี้วัด (D. graveolens Becc.) ทุเรียนขนยาว (D. oxleyanus Griff.) ทุเรียนเต่า (D. kutigensis Becc.) และทุเรียนพื้นบ้าน (D. zibethinus Murr.) ส่วนพืชสกุล Durio ที่รับประทานไม่ได้ เนื่องจากไม่มีเนื้อหรือมีเนื้อหุ้มเมล็ดเพียงเล็กน้อยเท่านั้น จากแหล่งกำเนิดเดิมทุเรียนได้มีการแพร่กระจายไปสู่ประเทศต่าง ๆ ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ได้แก่ บรูไนดารุสซาลาม ฟิลิปปินส์ มาเลเซีย และประเทศไทย นอกจากนี้ยังมีการปลูกในประเทศต่าง ๆ แถบแอฟริกา อเมริกากลาง หมู่เกาะอินดีสตะวันตก หมู่เกาะในมหาสมุทรแปซิฟิก และประเทศออสเตรเลีย เป็นต้น โดยทุเรียนนับเป็นไม้ผลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของหลายประเทศรวมทั้งประเทศไทย ทุเรียนได้ชื่อว่าเป็นราชาแห่งผลไม้ของไทย ทำ

รายได้ไม่ต่ำกว่าหมื่นล้านบาทต่อปี ปัจจุบันมีพื้นที่ปลูกในทุกภูมิภาคของประเทศกว่า 937,607 ไร่ โดยแหล่งผลิต 5 อันดับแรก คือ จังหวัดจันทบุรี ชุมพร ระยอง ยะลา และนครศรีธรรมราช ตามลำดับ และมีพื้นที่ปลูกที่ให้ผลผลิตแล้วจำนวน 724,730 ไร่ โดยที่ จังหวัดจันทบุรี มีพื้นที่ปลูกทุเรียนมากที่สุดจำนวน 225,273 ไร่ ให้ผลผลิต 339,292 ตัน รองลงมา จังหวัดชุมพร มีพื้นที่ปลูก 192,685 ไร่ ให้ผลผลิต 277,729 ตัน และ จังหวัดระยอง มีพื้นที่ปลูก 73,650 ไร่ ให้ผลผลิต 108,093 ตัน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2562) และข้อมูลในปี 2562 มีมูลค่าส่งออกทุเรียนทั้งสิ้น 51,181 ล้านบาท แยกเป็นทุเรียนสด 45,481 ล้านบาท ทุเรียนแช่แข็ง 5,372 ล้านบาท ทุเรียนกวน 131 ล้านบาท และทุเรียนอบแห้ง 197 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2562)

2.2 สายพันธุ์ทุเรียนในประเทศไทย

มีรายงานว่าประเทศไทยพบสายพันธุ์ทุเรียนมากกว่า 200 พันธุ์ แต่พันธุ์ที่นิยมปลูกในปัจจุบันมีเพียงไม่กี่สายพันธุ์ เช่น พันธุ์หมอนทอง ชะนี กระดุม ก้านยาว เป็นต้น ซึ่งการจำแนกพันธุ์ทุเรียนสามารถทำได้โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐาน ซึ่งหิรัญ (2551) ได้จำแนกพันธุ์ทุเรียนตามลักษณะรูปร่างใบ ปลายใบ ฐานใบ ทรงผล และรูปร่างของหนามผล โดยการจำแนกพันธุ์ทุเรียนในประเทศไทย สามารถจำแนกได้เป็น 6 กลุ่ม ดังนี้

1. **กลุ่มกบ** มีลักษณะสำคัญ คือ ใบมีรูปทรงขอบขนาน ปลายใบแหลมโค้ง ฐานใบกลมมน ทรงผลกลมแป้นถึงกลมรี และรูปร่างหนามโค้งงอ จำแนกพันธุ์ได้ 46 พันธุ์ เช่น กบตาขำ กบทองคำ กบแม่เต่า กบก้านเหลือง

2. **กลุ่มลวง** มีลักษณะสำคัญ คือ ใบมีรูปทรงป้อมกลางใบ ปลายใบเรียวแหลม ฐานใบแหลม หรือมน ทรงผลทรงกระบอก หรือรูปรี หนามเว้า จำแนกพันธุ์ได้ 12 พันธุ์ เช่น รวงทอง ชะนี ย่ามะหวด ชมพูศรี

3. **กลุ่มก้านยาว** มีลักษณะสำคัญ คือ ใบมีรูปทรงป้อมปลายใบ ปลายใบเรียวแหลม ฐานใบเรียว ทรงผลรูปไข่กลับ หรือกลม หนามนูน จำแนกพันธุ์ได้ 8 พันธุ์ เช่น ก้านยาว ก้านยาววัด สัก ก้านยาวสีนาก

4. **กลุ่มกำป็น** มีลักษณะสำคัญ คือ รูปทรงใบยาวรี ปลายใบเรียวแหลม ฐานใบแหลมตรง ทรงผลทรงขอบขนาน หนามแหลมตรง จำแนกพันธุ์ได้ 13 พันธุ์ เช่น กำป็นเหลือง กำป็นแดง ปิ่นทอง หมอนทอง

5. **กลุ่มทองย้อย** มีลักษณะสำคัญ คือ ใบรูปทรงป้อม ปลายใบเรียวแหลม ฐานใบมน ทรงผลรูปไข่ หนามนูนปลายแหลม จำแนกพันธุ์ได้ 14 พันธุ์ เช่น ทองย้อยเดิม ทองย้อยจักรทองใหม่

6. **กลุ่มเบ็ดเตล็ด** เป็นทุเรียนที่จำแนกลักษณะพันธุ์ได้ไม่แน่ชัด บางลักษณะอาจเป็นเหมือนกับกลุ่มใดกลุ่มหนึ่ง ขณะเดียวกันก็มีลักษณะที่ผันแปรออกไป มีอยู่ถึง 81 พันธุ์ เช่น กระทะเนื้อขาว กระจุกทอง บางขุนนนท์ อีสิบ พวงมณี หลงลับแล

ในปัจจุบันพบว่า มีทุเรียนมากมายหลายสายพันธุ์เกิดขึ้น เนื่องจากการผสมข้ามในธรรมชาติ ทำให้ได้สายพันธุ์ใหม่ๆ ที่แตกต่างไปจากเดิม โดยเฉพาะทางภาคใต้ของประเทศไทย พบทุเรียนพื้นบ้านหลากหลายสายพันธุ์ โดยชาวสวนทุเรียนนิยมนำเมล็ดทุเรียนพื้นบ้านมาใช้เป็นต้นตอของทุเรียนพันธุ์ดี เพราะมีคุณสมบัติที่ทนทานต่อโรครากเน่า การเจริญเติบโตของระบบรากดี หากอาหารเก่ง นอกจากนี้ยังมีทุเรียนป่า ซึ่งเป็นทุเรียนคนละชนิดกับทุเรียนพันธุ์ดีหรือพันธุ์พื้นบ้าน โดยทุเรียนเหล่านี้ควรได้รับการศึกษาวิจัยเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ ทั้งการใช้เป็นต้นตอ และการปรับปรุงพันธุ์

2.3 การขยายพันธุ์ทุเรียน

วิธีการขยายพันธุ์ทุเรียน สามารถทำได้ 2 แบบ ดังนี้

1) **การขยายพันธุ์แบบอาศัยเพศหรือการขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด** คือ วิธีการนำเมล็ดทุเรียนไปเพาะและปลูกเมื่ออายุเหมาะสม แต่วิธีนี้จะได้ต้นกล้าที่กลายพันธุ์ เนื่องจากทุเรียนเป็นพืชผสมข้าม เมล็ดได้จากการผสมข้ามจากละอองเกสรที่ไม่ทราบที่มา ดังนั้น วัตถุประสงค์หลักจะเป็นวิธีการที่นำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์เพื่อพัฒนาสายพันธุ์ให้ได้พันธุ์ทุเรียนสายพันธุ์ใหม่ๆ เกิดขึ้น ปัจจุบันการขยายพันธุ์ด้วยวิธีดังกล่าวนิยมใช้ในการณีเพาะเมล็ด เพื่อใช้เป็นต้นตอในการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ ส่วนข้อเสียอีกประการหนึ่งของการขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด คือ ให้ผลผลิตช้า ลำต้นสูงใหญ่ ทำให้ไม่สะดวกต่อการดูแลรักษาและการเก็บเกี่ยว

2) **การขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ** เป็นวิธีการขยายพันธุ์เพื่อให้ได้ต้นทุเรียนที่มีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนต้นแม่ทุกประการ ซึ่งวิธีการขยายพันธุ์ทุเรียนที่นิยม มี 2 แบบ ดังนี้

2.1) **การต่อกิ่งแบบเสียบลิ่มหรือการเสียบยอด (cleft grafting)** คือ การนำกิ่งพันธุ์ดีมาต่อกิ่งบนต้นตอที่มีระบบรากที่แข็งแรง นิยมต่อกิ่งกับต้นตอที่มีขนาดเล็ก

2.2) การต่อกิ่งแบบเสียบข้าง (side grafting) คือ การนำกิ่งพันธุ์ดี มาต่อกิ่งบนต้นตอที่มีระบบรากที่แข็งแรง แต่มีข้อแตกต่างจากวิธีการต่อกิ่งแบบเสียบลิ้มหรือการเสียบยอด คือ ไม่ตัดยอดต้นตอออกจนกว่ากิ่งที่ต่อจะติดเชื่อมประสานเรียบร้อยแล้วจึงตัดยอดต้นตอออก นิยมต่อกิ่งกับต้นตอที่มีขนาดใหญ่

ข้อดีของการขยายพันธุ์แบบไม้อาศัยเพศ คือ ทำให้ได้ลักษณะของต้นตรงตามสายพันธุ์ ต้นที่ได้จะให้ผลผลิตเร็วกว่าการขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด ขนาดต้นมีความสม่ำเสมอ ทรงต้นกะทัดรัด ทำให้ง่ายในการปฏิบัติดูแลรักษา และสะดวกในการเก็บเกี่ยวผลผลิต ส่วนข้อเสียของการขยายพันธุ์แบบไม้อาศัยเพศ คือ การขยายพันธุ์ด้วยวิธีนี้จะต้องอาศัยทักษะความชำนาญในการขยายพันธุ์ และต้องใช้วัสดุอุปกรณ์ที่ยุ่งยากกว่าการขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเมล็ด (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2556) ขั้นตอนการขยายพันธุ์แบบไม้อาศัยเพศ โดยวิธีการเสียบยอด มีดังนี้

การเตรียมต้นตอ

1) การคัดเลือกเมล็ด เมล็ดทุเรียนที่ใช้เพาะจะต้องคัดเลือกเมล็ดที่สมบูรณ์ ไม่เล็กลีบ นิยมใช้เมล็ดทุเรียนพื้นบ้าน เพราะจะได้ต้นตอที่แข็งแรง และเจริญเติบโตเร็วกว่าเมล็ดของทุเรียนพันธุ์ดี เมล็ดทุเรียนที่คัดได้จะนำมาทำความสะอาดโดยการล้างน้ำ 2-3 ครั้ง หลังจากนั้นแช่สารป้องกันเชื้อรา และจะต้องรีบเพาะภายใน 1 สัปดาห์ หากเพาะหลังจากนี้เปอร์เซ็นต์ความงอกจะลดลงไปเรื่อยๆ

2) การเตรียมแปลงเพาะ เตรียมแปลงเพาะมีขนาดกว้าง 1 เมตร และความยาวประมาณ 2-4 เมตร ด้านข้างจะมีแผ่นกระดานวางข้างแปลง เพื่อรักษาขอบแปลงไม่ให้พัง วัสดุเพาะด้านล่างจะเป็นดินผสมเกลบหรือเปลือกถั่วสูงประมาณ 15-20 เซนติเมตร และคลุมทับด้วยขุยมะพร้าว แปลงเพาะควรอยู่ในที่มีอากาศถ่ายเทสะดวกและมีร่มเงาพอสมควร หากเมล็ดทุเรียนถูกแดดจัดจะทำให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดลดลง

3) การวางเมล็ด ต้องวางให้ด้านที่มีสีขาวหรือด้านที่ติดกับแกนผลลง วางระยะห่างกันประมาณ 1 นิ้ว และกดให้จมประมาณครึ่งเมล็ด จะทำให้ได้ต้นที่ตรงและแข็งแรง หากวางเมล็ดโดยเอาด้านสีขาวตั้งขึ้นลำต้นที่งอกจะโค้งงอ และรดน้ำให้ชุ่ม ประมาณ 1 สัปดาห์ เมล็ดทุเรียนจะแตกยอดงอกออกมายาว 1-2 นิ้ว เมื่ออายุได้ประมาณ 20-25 วัน ทุเรียนจะสลัดเมล็ดทิ้ง หากยังไม่สลัดทิ้งให้ทำการเด็ดเมล็ดออกเพื่อไม่ให้ต้นทุเรียนโค้งงอ และเมื่อต้นอ่อนมีอายุได้ 2-3 เดือน หรือมีใบจริง 6-8 ใบ ก็เริ่มนำไปเสียบยอดได้

การเตรียมกิ่งพันธุ์ดี

ควรตัดจากต้นที่ให้ผลผลิตดี คุณภาพตรงตามพันธุ์และต้องไม่มีโรคแมลง ติดมาด้วย โดยเลือกกิ่งทุเรียนที่เป็นกิ่งเพศลาด หรือกิ่งกระโดงที่ยังไม่แก่หรืออ่อนเกินไป ซึ่งเป็นกิ่งที่แตกขึ้นภายในพุ่มและมักจะถูกตัดทิ้งหรือจะตายไปเอง เลือกกิ่งที่มีใบคลี่แล้วและเริ่มเป็นสีเขียวอ่อนๆ เนื้อไม้ของกิ่งจะเริ่มแข็ง ตัดใบออก 3 ใน 4 ส่วน วิธีตัดใบควรตัดเฉียงตามแนวนอนของเส้นใบ รวบรวมกิ่งพันธุ์ใส่ถุงพลาสติกและมัดปากถุงให้แน่นป้องกันกิ่งตาเหี่ยวเฉา

วิธีการเสียบยอดทุเรียน มีขั้นตอนดังนี้

- 1) ใช้เชือกฟางตัดยาวประมาณ 10 เซนติเมตร และผูกต้นตอทุกต้นไว้หลวมๆ
- 2) ใช้ใบมีดโกนคมๆ หรือมีดคัตเตอร์ตัดต้นตอที่เพาะไว้ประมาณ 2-3 เดือน ให้ขาดออกจากกัน โดยให้รอยตัดอยู่สูงจากพื้นดิน ประมาณ 15 เซนติเมตร
- 3) ใช้ใบมีดผ่าต้นตอตรงกลางของรอยตัด ให้แผลถลึงลงมา 1.5 เซนติเมตร
- 4) ปาดยอดพันธุ์ดีที่เตรียมไว้ โดยปาดให้เป็นรูปลิ้มทั้ง 2 ด้านที่อยู่ตรงข้ามกัน พยายามให้แผลเรียบและไม่ซ้ำ
- 5) นำกิ่งพันธุ์ดีไปเสียบลงในรอยผ่าของต้นตอ ดึงเชือกฟางที่ผูกไว้ให้แน่น โดยดึงให้ตรงรอยต่อ เพื่อให้รอยแผลของกิ่งพันธุ์ดีกับต้นตอประสานกัน
- 6) หลังจากเสียบยอดจนหมดแปลงแล้ว ก็นำไปใส่ผ้าซีกมาทำเป็นโครงตามแนวแปลง และนำพลาสติกใสมาคลุมทั้งแปลง เพื่อรักษาความชื้นภายในแปลง ซึ่งจะทำให้การเสียบยอดได้ผลดีขึ้น
- 7) ให้ต้นตอที่เสียบยอดแล้วอยู่ในกระโจมประมาณ 1 เดือน หลังจากนั้นก็ค่อยๆ เปิดพลาสติกใสออก หากต้นใดรอยต่อประสานกันดีก็จะถอนขึ้นมาชำในถุงพลาสติก แต่ถ้าต้นใดเสียบไม่ติดก็จะตัดต้นตอลงไปจากเดิม และนำกิ่งพันธุ์ใหม่มาเสียบเหมือนเดิม สามารถตัดต้นตอได้ประมาณ 3 ครั้ง

2.4 อิทธิพลของต้นตอต่อการเจริญเติบโตของกิ่งพันธุ์ดี

Dahal (2013) ระบุว่า ต้นตอที่ดีควรมีลักษณะดังต่อไปนี้ 1) เข้ากันได้ดีกับกิ่งพันธุ์ดี 2) ปรับตัวได้ดีต่อสภาพอากาศที่แปรปรวน หรือสภาพอากาศที่ค่อนข้างรุนแรง 3) ทนทานต่อโรค โดยเฉพาะโรคราก และแมลงศัตรูในพื้นที่ปลูก 4) มีความทนทานต่อสภาพดินที่

มีปัญหา เช่นดินเค็ม สภาพดินในเขตแห้งแล้ง และ 5) มีลักษณะอื่นๆ คือ เช่น มีเปอร์เซ็นต์ความ
 งามสูง เป็นต้น โดยส่วนใหญ่ต้นตอที่ใช้มักเป็นพืชชนิดเดียวกัน แต่ไม่ผลบางชนิดอาจมีการใช้
 ต้นตอต่างชนิดกันได้ เช่น แพร์ พีช (Pereira *et al.*, 2013) เซอร์รี่ (Olmstead *et al.*, 2006) แต่
 บางครั้งมักมีปัญหาการเข้ากันไม่ได้เกิดขึ้น สำหรับทุเรียน ต้นตอที่ใช้แต่ละพันธุ์มีความสามารถ
 ในการเข้ากันได้กับกิ่งพันธุ์ที่แตกต่างกัน ซึ่งในการเสียบยอดอาจเกิดปัญหาของการเข้ากันไม่ได้
 ระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ โดยเฉพาะต้นตอที่มีความห่างไกลทางพันธุกรรมกับทุเรียนพันธุ์ดี มี
 รายงานว่าทุเรียนนกเป็นทุเรียนที่ทนทานต่อโรครากเน่าโคนเน่า (แสวง, 2527) แต่อาจมีปัญหาการ
 เข้ากันได้กับทุเรียนพันธุ์ดีบางพันธุ์ จึงส่งผลต่อการให้ผลผลิตของต้นทุเรียน โดยสนั่น (2517)
 รายงานว่า การต่อกิ่งบนต้นตอทุเรียนนกด้วยกิ่งทุเรียนพันธุ์ดีเป็นการต่อกิ่งข้ามชนิด ดังนั้นอาจจะมี
 ปัญหาในการเข้ากันไม่ได้ไม่เหมือนการต่อกิ่งพันธุ์ทุเรียนที่อยู่ในชนิดเดียวกัน ในปัจจุบันการ
 ขยายพันธุ์ทุเรียนนิยมใช้วิธีการเสียบยอดหรือเสียบข้าง ซึ่งการขยายพันธุ์ทั้ง 2 แบบนิยมใช้ต้นตอที่
 เป็นทุเรียนพื้นบ้าน หรือทุเรียนพื้นเมือง ทรงพล (2530) ได้ทำการศึกษาการเจริญเติบโตของทุเรียน
 ชนิดต่างๆ บนต้นตอทุเรียนพื้นเมือง โดยใช้กิ่งพันธุ์ทุเรียนชนิดต่างๆ 8 ชนิด ได้แก่ ทุเรียนข้าวติด (*D.*
graveolens) ทุเรียนพันธุ์ชะนี (*D. zibethinus*) ทุเรียนขนยาวหรือหนามคอก (*D. oxleyanus*) ทุเรียนนก
 ฝรั่ง (*D. lowianus*) ทุเรียนนกกมาเลเซีย (*D. lowianus*) ชาเรียน (*D. mansoni*) ทุเรียนรากขา (*D.*
kutejensis) และทุเรียนไม่มีหนาม (*Durio* sp.) ต่อกิ่งแบบ cleft grafting บนต้นตอทุเรียนพื้นเมือง
 พบว่า จากการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของรอยต่อ ทุเรียนนกรั้วที่ต่อกิ่งบนต้นตอทุเรียน
 พื้นเมืองมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของรอยต่อเพิ่มขึ้นมากที่สุด คือ 0.3 เซนติเมตร จากการวัดขนาดเส้น
 ผ่านศูนย์กลางของกิ่งพันธุ์เหนือรอยต่อ 1 นิ้ว ชาเรียนที่ต่อกิ่งบนต้นตอทุเรียนพื้นเมืองมีขนาดเส้น
 ผ่านศูนย์กลางของกิ่งพันธุ์เหนือรอยต่อ 1 นิ้ว เพิ่มขึ้นมากที่สุด คือ 0.39 เซนติเมตร ส่วนความยาว
 ของกิ่งพันธุ์ที่เพิ่มขึ้น พบว่า ทุเรียนนกกมาเลเซียที่ต่อกิ่งบนต้นตอทุเรียนพื้นเมืองของไทย มีความยาว
 ของกิ่งพันธุ์เพิ่มขึ้นมากที่สุด คือ 16.7 เซนติเมตร จากการทดลองจะเห็นได้ว่า ทุเรียนนกรั้ว ชา
 เรียน และทุเรียนนกกมาเลเซียที่ต่อกิ่งบนต้นตอทุเรียนพื้นเมืองของไทย ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของ
 กิ่งพันธุ์มากกว่าทุเรียนชนิดอื่น Yuniastuti และคณะ (2017) ทำการศึกษาผลของการใช้ต้นตอทุเรียน
 พื้นบ้าน ต่อกิ่งพันธุ์หมอนทอง เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของกิ่งพันธุ์ดิบต้นตอเหล่านั้น โดยใช้
 ต้นตอทุเรียนพื้นบ้าน 3 สายพันธุ์ คือ Petruk, Brongkol และ Sapuan พบว่า การต่อกิ่งพันธุ์ดี

หมอนทองบนต้นตอพันธุ์ Sapuan ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของกิ่งพันธุ์หมอนทองมากที่สุด แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของต้นตอต่อกิ่งพันธุ์ดี สอดคล้องกับรายงานของ Naim และคณะ (2016) ที่ทดลองในประเทศอินโดนีเซีย โดยทำการต่อกิ่งทุเรียนพันธุ์ดี 3 พันธุ์ คือ Dubang , Reed Extra และ Bumisari บนต้นตอทุเรียนพื้นบ้าน พบว่า กิ่งพันธุ์ Dubang ที่ต่อกิ่งบนต้นตอทุเรียนพื้นบ้านมีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าพันธุ์อื่น ๆ ซึ่งการที่แสดงผลดังกล่าวอาจสืบเนื่องจากต้นตอมีอิทธิพลอย่างมากต่อการเจริญเติบโตของกิ่งพันธุ์ดี ซึ่งผลดังกล่าวอาจเกิดจากความสามารถในการเข้ากันได้ของต้นตอ และกิ่งพันธุ์ดีที่มีพันธุกรรมแตกต่างกัน

2.5 ปัจจัยสำคัญต่อความสำเร็จในต่อกิ่ง ทาบกิ่ง

ปัจจัยที่มีผลต่อความสำเร็จในการต่อกิ่ง ทาบกิ่ง นงพร (2535) ได้อธิบายไว้ดังนี้

ปัจจัยภายใน

- 1) ปริมาณสารฮอร์โมนในกิ่ง ได้แก่ ออกซิน ซึ่งถูกผลิตขึ้นที่ปลายยอดหรือปลายกิ่ง เคลื่อนที่ลงมายังบริเวณรอยเนือของกิ่งพันธุ์ดีหรือต้นตอ ฮอร์โมนจะสะสมอยู่บริเวณนั้นจนมีระดับความเข้มข้นถึงจุดที่เหมาะสมช่วยกระตุ้นให้เนื้อเยื่อบริเวณนั้นแบ่งเซลล์อย่างรวดเร็ว เมื่อมีฮอร์โมนชนิดอื่นๆ ร่วมด้วยก็จะสร้างเป็นราก และเนื้อเยื่ออื่นๆ ที่จำเป็นของพืชต่อไป
- 2) ความอุดมสมบูรณ์และการสะสมอาหารของกิ่งและต้น ต้น และกิ่งที่สมบูรณ์มีอาหารสะสมมาก จะทำให้การเชื่อมประสานของเนื้อเยื่อเกิดขึ้นได้ดีกว่ากิ่งที่ไม่อุดมสมบูรณ์และมีอาหารสะสมน้อย
- 3) อายุของต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี อายุต้นตอที่เหมาะสมในการเสียบยอดทุเรียน ประมาณ 1-3 เดือน หากแก่กว่านี้อาจทำให้การขยายพันธุ์ยากขึ้น ส่วนกิ่งพันธุ์ดีโดยทั่วไปกิ่งอ่อนที่มียอดอ่อนเริ่มแตก จะสามารถประสบความสำเร็จในการเสียบยอดได้ดีกว่ากิ่งแก่
- 4) พันธุกรรมของต้นตอ และกิ่งพันธุ์ดี พันธุกรรมของต้นตอ และกิ่งพันธุ์ดีที่นำมาเสียบยอดควรเป็นพืชที่มีพันธุกรรมใกล้เคียงกัน หรือไม่แตกต่างกันมาก เช่น เป็นพืชที่อยู่ในเดิวกันชนิด หรืออยู่ในสกุลเดียวกัน ถ้ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมมาก โอกาสที่จะประสบความสำเร็จจะยากขึ้น

ปัจจัยภายนอก

1) **ฤดูกาล** โดยทั่วไปการขยายพันธุ์พืชในเขตร้อนโดยการติดต่อกิ่ง ทาบกิ่ง หรือเสียบยอด นิยมทำกันในฤดูฝนซึ่งเป็นช่วงเวลาที่สภาพอากาศมีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืช

2) **อุณหภูมิและความชื้น** หลังจากการขยายพันธุ์ควรจัดให้สภาพแวดล้อมรอบๆ ต้น หรือกิ่งที่ขยายพันธุ์ได้รับอุณหภูมิและความชื้นที่เหมาะสม เพราะจะมีส่วนไปเร่งการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อของส่วนขยายพันธุ์ทำให้การเชื่อมประสานของเนื้อเยื่อเร็วขึ้น

3) **โรคและแมลงศัตรู** ในระยะต้นของการเสียบยอดอาจมีการรบกวนของโรคและแมลง โดยเฉพาะเชื้อราก่อโรค หากสภาพความชื้นสูงจะทำให้เชื้อราพัฒนาได้เร็ว ดังนั้นจึงต้องมีการป้องกัน โดยการใช้ยากันเชื้อราหลังการเสียบยอด

4) **ความชำนาญของผู้ปฏิบัติ** โดยเฉพาะการเสียบยอด ซึ่งจะต้องเลือกเนื้อเยื่อให้เป็นแผล หรือเปิดเนื้อเยื่อออก ผู้ปฏิบัติงานต้องทำการฝึกทักษะจนมีความชำนาญ

2.6 ความสำคัญของการเข้ากันได้ระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี

การต่อกิ่ง เป็นวิธีการขยายพันธุ์พืชโดยไม่ใช้เพศ ที่สามารถทำได้โดยการนำกิ่งพันธุ์ดีมาต่อบนต้นตอ เพื่อให้เนื้อเยื่อทั้งสองส่วนเชื่อมประสานติดกัน (ขวัญหทัย และคณะ, 2558) โดยต้นตอจะทำหน้าที่เป็นระบบราก เพื่อหาอาหารให้กับกิ่งพันธุ์ดี และเพื่อต้องการที่จะใช้ประโยชน์จากต้นตอ เช่น เพื่อควบคุมขนาดของทรงต้นให้สะดวกต่อการจัดการ นอกจากนี้คุณภาพของต้นตอยังส่งผลต่อผลผลิต และคุณภาพของผล รวมถึงมีความสามารถในการต้านทานโรคและสภาพแวดล้อมต่างๆ ได้ การขยายพันธุ์ด้วยวิธีดังกล่าวนี้จะประสบผลสำเร็จมากหรือน้อย ขึ้นอยู่กับความสำเร็จของการต่อกิ่งและปัจจัยต่างๆ เช่น การยอมรับการเชื่อมต่อ หรือการเข้ากันได้ (Compatibility) ของกิ่งพันธุ์และต้นตอ ซึ่งส่วนใหญ่การต่อกิ่งในพันธุ์ไม้ชนิดเดียวกันจะไม่ประสบปัญหาการไม่ยอมรับกันของกิ่งพันธุ์และต้นตอ หรือเรียกว่าการเข้ากันไม่ได้ (Incompatibility) (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2556) โดยจะแสดงอาการผิดปกติบางอย่าง เช่น อาการใบเหลือง หรือเกิดการตายของเนื้อเยื่อที่รอยต่อ และเกิดการเจริญมากกว่าปกติเหนือรอยต่อ (Over growth) ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ผลของการต่อกิ่งลิ้นจี่พันธุ์ Jingganghongnuo บนต้นตอที่แตกต่างกัน ลักษณะต้นที่เกิดการเข้ากันได้ของการต่อกิ่ง (A) ตำแหน่งที่ต่อกิ่งมีลักษณะเรียบ (C) และใบมีสีเขียวเข้ม (E) ลักษณะต้นที่เกิดการไม่เข้ากันของการต่อกิ่ง (B) มีอาการบวมในตำแหน่งที่ทำการต่อกิ่ง (D) และใบมีสีเหลือง (F)

ที่มา : Chen และคณะ (2016)

ความสัมพันธ์ระหว่างต้นตอและยอดพันธุ์ดินนี้มีความสำคัญต่อวงการไม้ผล หากมีการต่อกิ่ง หรือเสียบยอด ถ้าส่วนของต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีไม่สามารถเข้ากันได้ดี จะทำให้มีผลกระทบต่อเจริญเติบโตของต้นพันธุ์ (Hartmann *et al.*, 2002) ต้นตอมีอิทธิพลโดยตรงต่อการดูดน้ำดูดอาหารจากดินเพื่อนำไปเลี้ยงส่วนต่างๆของต้น นอกจากนี้ยังมีความสำคัญต่อรูปร่างทรงพุ่ม และส่วนที่เกี่ยวข้องอื่นๆ เช่น การสังเคราะห์แสง เป็นต้น โดยทั่วไปต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ดจะมีระบบรากเล็ก และมีความแข็งแรงมากกว่าระบบรากที่ได้จากการปักชำ โดยความสัมพันธ์ระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี จะเกี่ยวข้องกับกระบวนการทางสรีรวิทยาที่ซับซ้อน

ทำให้มีผลต่อการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับภาวะเครียด กระบวนการเมทาบอลิซึม และการสังเคราะห์แสง (Yuan, 2011) กรณีของการเข้ากันไม่ได้ของต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี เกิดจากความบกพร่องของการประสานรอยต่อ มีการจัดเรียงของท่อน้ำผิดปกติ และมีไฟเบอร์เป็นตัวประสานเชื่อมรอยต่อแทน พัฒนาการของเนื้อเยื่อเจริญของท่อน้ำ ท่ออาหารและกิจกรรมของเนื้อเยื่อเจริญตรงรอยต่อหยุดชะงัก ท่ออาหารมีเซลล์ตายเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ส่วนอาการเข้ากันไม่ได้ภายนอกที่สังเกตเห็นได้แก่ เปอร์เซ็นต์ความสำเร็จในการติดตาต่อกิ่งต่ำ ต้นตายภายใน 1-2 ปีหลังติดตา ต่อกิ่ง และเกิดรอยแยกตรงรอยต่อ (Hartman *et al.*, 1997)

มีการศึกษาในพืชตระกูลสน พบว่าประมาณ 75 เปอร์เซ็นต์ ของการเข้ากันได้ระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี เกิดจากพันธุกรรมประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ (Donald, 1973) การสร้างแคลลัสเป็นจุดเริ่มต้นของการเชื่อมประสานของเนื้อเยื่อต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี โดยเกิดขึ้นจากการตอบสนองต่อการเกิดบาดแผล ทำให้เกิดการเข้ากันได้และการเข้ากันไม่ได้ของการต่อกิ่งระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี (Moore and Walker, 1982) นอกจากนี้ยังพบว่าการเข้ากันได้ของการต่อกิ่งระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี เป็นผลจากการควบคุมทางพันธุกรรมของยีนจำนวนมาก (Copes, 1978) การต่อกิ่งเกาลัดที่เป็นชนิดเดียวกันจะประสบความสำเร็จได้ดีที่สุด (Oraguzie *et al.*, 1998) นอกจากนี้ Darikova และคณะ (2011) กล่าวว่า ปัญหาของการเข้ากันไม่ได้ของเนื้อเยื่อระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี อาจทำให้เกิดอาการตายจากยอด (dieback) ของต้นพืชหลังจากปลูก โดยพบว่าเมื่อมีการต่อกิ่ง พืชจะมีการกระตุ้นให้ผลิตสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) เนื่องจากการเกิดบาดแผล หากมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากจะส่งผลให้เกิดการตายของเนื้อเยื่อ นำไปสู่การเกิดการเข้ากันไม่ได้ (Errea, 1998)

Andrew และ Matquez (1993) กล่าวว่า การเข้ากันไม่ได้ระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีสามารถแบ่งได้เป็น 3 แบบ ดังนี้

แบบที่ 1 Translocated incompatibility เป็นการเข้ากันไม่ได้ที่เกิดจากการถ่ายทอดสารบางอย่างที่เป็นพิษ ออกมายับยั้งการสร้างเซลล์เชื่อมประสานระหว่างต้นตอกับกิ่งพันธุ์ดี ซึ่งมีผลทำให้ไม่เกิดรอยต่อเลยหรือเกิดรอยต่อที่อ่อนแอ เป็นเหตุให้เกิดการจำกัดการเคลื่อนย้ายของคาร์โบไฮเดรตขึ้นที่รอยต่อ ทำให้เกิดการสะสมสารดังกล่าวที่ส่วนบนของรอยต่อแต่สะสมที่ส่วนล่างน้อย

แบบที่ 2 Localized incompatibility เป็นการเข้ากันไม่ได้ที่เกิดจากการเสื่อมสลายหรือความผิดปกติของเซลล์บริเวณรอยประสานโดยตรง ซึ่งสามารถแก้ไขได้โดยใช้ต้นตอกลาง

แบบที่ 3 Virus-induced incompatibility เป็นการเข้ากันไม่ได้ที่เกิดจากการเข้าทำลายของไวรัส ทำให้รอยประสานเกิดความอ่อนแอ และเจริญผิดปกติ

โดยปัจจัยที่ก่อให้เกิดการเข้ากันไม่ได้ เช่น ชนิดของพืช ซึ่งสุวีรัตน์ และเมืองทอง (2539) กล่าวว่าพืชที่มีเครือญาติใกล้ชิดกันจะสามารถเข้ากันได้ดี นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่น เช่น อายุของต้นตอและกิ่งพันธุ์ สภาพแวดล้อม เช่น ความชื้น อุณหภูมิ และออกซิเจน ปัจจัยเหล่านี้ล้วนมีผลต่อการเชื่อมประสานของรอยต่อ เช่นกัน (รวมพร, 2550)

การเข้ากันไม่ได้ของต้นตอและกิ่งพันธุ์เป็นสิ่งสำคัญ เพราะหากมีการเกิดรอยประสานที่เข้ากันไม่ได้จะส่งผลกระทบต่อความสามารถในการดูดน้ำและธาตุอาหาร ซึ่งจะมีผลต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของกิ่งพันธุ์ได้ในระยะต่อมา (Andrew and Marquez, 1993) โดยการตายของต้นไม้มักรักษาต่อกิ่ง มักจะมีผลเนื่องมาจากการเข้ากันไม่ได้ ส่วนสาเหตุในการเข้ากันไม่ได้ยังคงไม่ทราบแน่ชัด ถึงแม้ว่าบางสมมติฐาน โดยมีสาเหตุมาจาก กระบวนการทางชีวเคมีมากกว่าทางกายวิภาค และการเปลี่ยนแปลงที่บริเวณรอยเชื่อมต่อของแคมเปียม ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้มีผลต่อการแพร่กระจายและการเคลื่อนที่และการแพร่กระจายของสารประกอบฟีนอลิกในพืช ถ้ามีการสะสมสารประกอบฟีนอลิกในบริเวณที่ต่อกิ่งมากจะนำไปสู่การเสื่อมสภาพได้ (Errea, 1998) นอกจากนี้เปอร์เซ็นต์ความสำเร็จในการต่อกิ่ง หรือเปอร์เซ็นต์การตายของกิ่งพันธุ์ที่ติดบนต้นตอ จะเป็นตัวบ่งชี้ถึงการเข้ากันได้หรือการเข้ากันไม่ได้ ซึ่งจำเป็นจะต้องทราบเบื้องต้นก่อนจะทำการขยายพันธุ์เพื่อเป็นการคัดต่อไป (สนั่น, 2526)

2.7 การประเมินการเข้ากันได้ระหว่างต้นตอ และกิ่งพันธุ์ดี

วิธีการในการประเมินผลของการเข้ากันได้ระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีในช่วงระยะแรกของการเจริญเติบโต สามารถทำได้หลายวิธีดังนี้

1) การตรวจสอบทางเนื้อเยื่อวิทยา

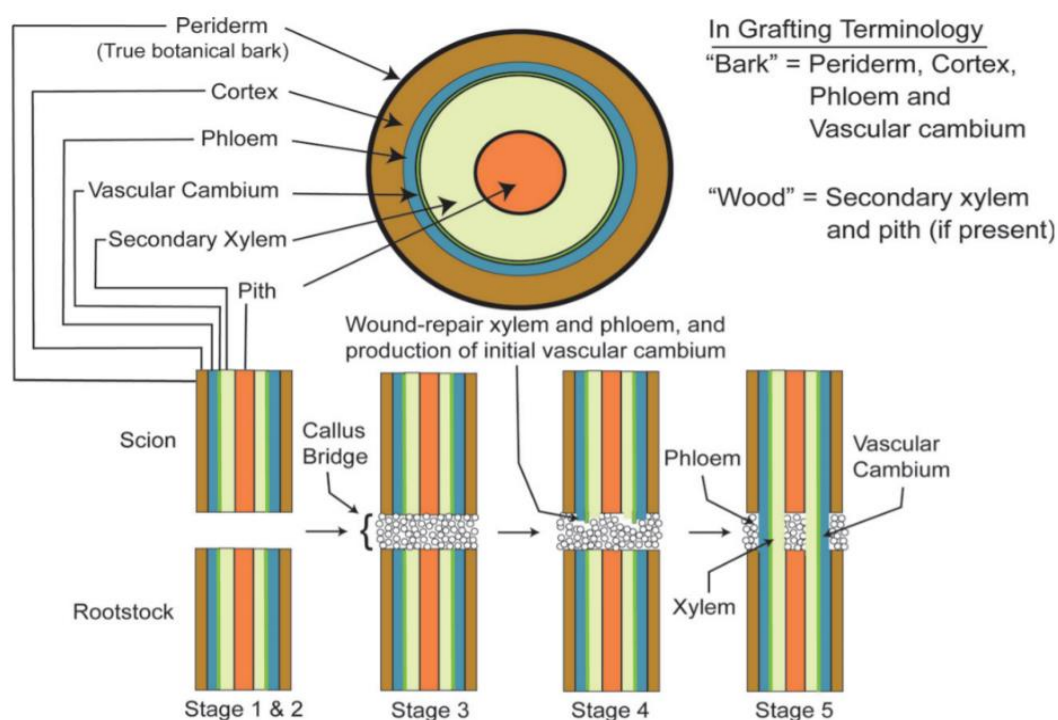
การต่อกิ่งหรือการเสียบยอด เป็นการทำให้เกิดบาดแผลทั้งในส่วนต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี และนำทั้ง 2 ส่วนมาเชื่อมติดกัน การเชื่อมประสานกันของกิ่งพันธุ์ดี กับต้นตอเปรียบได้กับการสมานบาดแผล ขั้นตอนการสมานรอยต่อมีดังนี้ (พิทักษ์ และสุภาลัย, 2553)

1) บริเวณเนื้อเยื่อเจริญ (cambium region) ของทั้งต้นตอ และกิ่งพันธุ์ดี จะสร้าง เซลล์หรือแบ่งเซลล์ที่เรียกว่า แคลลัส มาเชื่อมประสานรอยแผล โดยส่วนใหญ่จะมีการสร้างในต้น ตอมากกว่าในส่วนของกิ่งพันธุ์ดี

2) การเกิดเนื้อเยื่อเจริญใหม่ ระหว่างต้นตอ และกิ่งพันธุ์ ซึ่งเนื้อเยื่อเจริญใหม่นี้จะ เชื่อมต่อกับเนื้อเยื่อเจริญเดิม

3) การพัฒนาท่อน้ำ (xylem) และท่ออาหาร (phloem) จากเนื้อเยื่อเจริญใหม่ หมายถึง การเกิดกลุ่มของท่อน้ำท่ออาหาร (vascular bundle) โดยจะต้องเกิดก่อนที่กิ่งพันธุ์ดีจะแตก ตาเพื่อให้ต้นนั้นเกิดความสมบูรณ์

โดยการเกิดรอยเชื่อมต่อประสานระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีภายในกิ่งพืชมี รายละเอียดของการเกิดรอยเชื่อมที่ระยะต่างๆ 5 ระยะ ดังนี้ (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 ขั้นตอนการเชื่อมต่อระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี

ที่มา: Hartmann และคณะ (2010)

ขั้นตอนที่ 1 เป็นการจัดเรียงท่อน้ำและท่ออาหารของต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี ให้มีเนื้อเยื่อแคมเบียมของต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีตรงกัน

ขั้นตอนที่ 2 เป็นการตอบสนองต่อการรักษาบาดแผลของพืช โดยการสร้างชั้นเนื้อเยื่อสีน้ำตาล (necrotic layer) ซึ่งเกิดจากความเสียหายของเซลล์ภายหลังการได้รับบาดแผลทั้งในส่วนต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี โดยชั้นเนื้อเยื่อสีน้ำตาลจะหายไปภายหลัง หรืออาจจะยังคงอยู่ระหว่างเนื้อเยื่อแคลลัสที่ถูกสร้างขึ้นใหม่อย่างรวดเร็ว

ขั้นตอนที่ 3 เป็นการเชื่อมของแคลลัส ซึ่งเป็นขั้นตอนที่สำคัญสำหรับความสำเร็จในการต่อกิ่ง ระยะนี้จะมีการแบ่งเซลล์เพื่อสร้างแคลลัสอย่างต่อเนื่องจนเต็มช่องว่างระหว่างเซลล์

ขั้นตอนที่ 4 เป็นการซ่อมแซมขนาดแผล ทั้งท่อน้ำและท่ออาหาร โดยการเชื่อมต่อระหว่างวาสคิวลาร์แคมเบียมกับแคลลัส โดยแคลลัสเริ่มมีการพัฒนาไปเป็นท่อลำเลียงอาหารเพิ่มขึ้น จากนั้นวาสคิวลาร์แคมเบียมจะก่อตัวขึ้นระหว่างมัดท่อลำเลียง ซึ่งวาสคิวลาร์แคมเบียมสามารถแบ่งตัวเป็น secondary xylem และ secondary phloem ได้ ซึ่งส่งผลต่อความสำเร็จในการเชื่อมต่อประสานระหว่างรอยต่อ

ขั้นตอนที่ 5 เป็นขั้นตอนที่วาสคิวลาร์แคมเบียม secondary xylem และ secondary phloem ถูกสร้างอย่างสมบูรณ์

การตรวจสอบเนื้อเยื่อวิทยา (histological studies) สามารถใช้ในการจำแนก และศึกษาถึงความแตกต่างระหว่างเนื้อเยื่อพืชที่สามารถเชื่อมต่อกันได้สำเร็จหรือไม่สำเร็จ โดยดูจากลักษณะภายนอกทั่วไป ในกรณีที่เกิดความล้มเหลวในการเกิดรอยเชื่อม ได้แก่ ส่วนของเปลือกไม้เชื่อมต่อกัน ซึ่งเป็นลักษณะหลักที่จะแสดงให้เห็นถึงการทำหน้าที่ผิดปกติของแคมเบียม (Ermel *et al.*, 1998) โดยจากการสังเกตการพัฒนาของเนื้อเยื่อบริเวณรอยต่อ จากการตัดตามขวางของลำต้นบริเวณที่เกิดรอยเชื่อมแล้วนำมาส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบคอมพาวด์ หรือดูการสะสมของฟีนอลิกบริเวณรอยเชื่อมทั้งในเนื้อเยื่อที่เข้ากันได้ และเนื้อเยื่อที่เข้ากันไม่ได้ การต่อกิ่งใน *Uapaca kirkiana* พบว่า เนื้อเยื่อบริเวณรอยต่อมีการเจริญเติบโตมากกว่าปกติ และปรากฏรอยแยกตรงบริเวณรอยต่อในกรณีของการเข้ากันไม่ได้ (Simon *et al.*, 2008) การศึกษาความเข้ากันได้ในต้นตอแพร์และควินซ์ โดยการตรวจสอบทางเนื้อเยื่อวิทยา หลังการทาบกิ่งไปแล้ว 5 เดือน พบเซลล์เนื้อเยื่อตาย (cell necrosis) เล็กน้อยบริเวณรอยต่อของการต่อกิ่งที่เข้ากันไม่ได้ (Ermel *et al.*, 1998) การศึกษาลักษณะการพัฒนาของเนื้อเยื่อใหม่ในมะกอก 6 พันธุ์ หลังการติดตามไปแล้ว 3 เดือน 6 เดือน และ 12 เดือน พบว่า มีการสร้างสารประกอบฟีนอลิกสูง เช่น ferulic acids และ 4-hydroxyphenylacetic acid ในพันธุ์ Ayvalik และ Domat ทำให้เห็นถึงปัญหาความแตกต่างของแคม

เป็ยมและระบบท่อลำเลียงในส่วนที่ต่อกิ่งของพันธุ์ Ayvalik และ Domat (Azimi *et al.*, 2016) การศึกษาการต่อกิ่งพืชและต้นตอพลัม โดยการตรวจสอบทางเนื้อเยื่อวิทยา หลังจากการต่อกิ่งไป แล้ว 5 เดือน พบว่า มีการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ที่ไม่สมบูรณ์บริเวณรอยต่อ เกิดการเสื่อมสภาพของท่อน้ำและท่ออาหาร และมีการสะสมสารฟีนอลในปริมาณสูงของกลุ่มต่อกิ่งที่เกิดการเข้ากันไม่ได้ (Zarrouk *et al.*, 2010) การศึกษาความเข้ากันได้ของต้นตอและกิ่งพันธุ์องุ่น โดยการตรวจสอบทางเนื้อเยื่อวิทยา หลังจากการต่อกิ่งที่ 0, 3, 5, 7, 14 และ 21 วัน พบว่า มีการพัฒนาของรอยต่อโดยการสร้างเนื้อเยื่อแคลลัสที่สม่ำเสมอไม่เกิดรอยแยก และไม่มีความแตกต่างกันในแต่ละกลุ่มต่อกิ่ง (Hao *et al.*, 2017)

2) การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

ในธรรมชาติ พืชจะมีโครงสร้างและกระบวนการบางอย่างสำหรับการป้องกันตัวเองจากเชื้อโรค หรือบาดแผล ซึ่งอาจเป็นลักษณะทางกายภาพ (physical barrier) เช่น ความหนาของผนังเซลล์ปริมาณคิวตินและความเหนียวของผนังเซลล์ด้านนอก และลักษณะทางเคมี (chemical barrier) หรือปฏิกิริยาทางชีวเคมีของเซลล์ และวิธีสำคัญที่เกี่ยวข้องต่อระบบการป้องกันตัวเองของพืช เช่น กระบวนการ phenylpropanoid pathway ซึ่งสารประกอบที่ได้จากกระบวนการดังกล่าวนี้จะเป็นสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านออกซิเดชันที่พบมากในธรรมชาติมีมากกว่า 8,000 ชนิด เป็นสารทุติยภูมิที่สร้างขึ้นโดยพืช โดยมีโครงสร้างประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซีเกาะอยู่กับวงแหวนเบนซีน สามารถจำแนกชนิดของสารประกอบฟีนอลิกเป็นกลุ่มต่างๆ (ลือชัย, 2554) ได้แก่

(1) กลุ่มกรดฟีนอลิกที่มาจาก hydroxybenzoic acids ได้แก่ gallic acid และกรดฟีนอลิกที่มาจาก hydroxycinnamic acid ได้แก่ caffeic, ferulic และ coumaric acid

(2) กลุ่มฟลาโวนอยด์ เป็นกลุ่มใหญ่ ประกอบด้วยกลุ่ม ฟลาโวนส์ ไอโซฟลาโวนส์ ฟลาโวนอลส์ แอนโทไซยานินส์ และฟลาวานอลส์

(3) กลุ่มสติลบิน (stilbenes)

(4) กลุ่มลิกนินและโพลีเมอร์ของลิกนิน

การสร้างสารประกอบฟีนอลิก ที่เกิดขึ้นในกระบวนการ phenylpropanoid pathway สารจะถูกผลิตขึ้นอย่างรวดเร็วหลังจากพืชได้รับตัวกระตุ้นในรูปแบบต่าง ๆ เช่น การเข้าทำลายของ

เชื้อโรค หรือการเกิดบาดแผล สารประกอบฟีนอลิกมีส่วนเกี่ยวข้องในการสร้างลิกนิน สารประกอบเหล่านี้มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตในขั้นตอนของการเชื่อมต่อระหว่างกิ่งพันธุ์ดี และต้นตอ (Herrero *et al.*, 2014) โดยลิกนินมีคุณสมบัติทำให้เนื้อไม้แข็งแรง และเป็นผนังเซลล์ชั้นที่สอง ที่มีผนังเซลล์หนา ซึ่งเกิดจากการพัฒนาของ phloem และ xylem ซึ่งเกี่ยวข้องกับหลายๆ กระบวนการพื้นฐานของการเจริญเติบโตของพืช รวมถึงการแบ่งเซลล์ การขยายตัวของเซลล์ท่อน้ำ ท่ออาหาร (สมจินตนา และคณะ, 2551) มีการระบุว่า การเกิดขึ้นของสารประกอบฟีนอลิกมีความเกี่ยวข้องกับการกระบวนการติดตาระหว่างกิ่งพันธุ์ดีและต้นตออย่างพารา โดยพบว่าการสะสมสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มสูงขึ้นเมื่อต้นตออย่างพาราได้รับการติดตา (Prabpree *et al.*, 2018) จากการศึกษาของ Mng'omba และคณะ (2008) ใน *Uapaca kirkiana* พบว่า มีการสะสมของสารประกอบฟีนอลิกในปริมาณมาก เช่น p -coumaric acid รวมทั้งปรากฏรอยแยกที่ตำแหน่งตอที่เข้ากันไม่ได้ สอดคล้องกับ Cooman และคณะ (1996) ที่รายงานว่าเกิดการสะสมของ p -coumaric acid และ catechin เพิ่มขึ้นในการตอที่เกิดการเข้ากันไม่ได้ ของ *Eucalyptus gunnii* รวมทั้งการศึกษาใน แอฟริคอต (Usenik *et al.*, 2006) โดย Errea และคณะ (2001) พบว่าการสะสมของสารประกอบฟีนอล anthocyanins, flavanones, p -coumaric acid และ hydroxybenzoic acid มีความสัมพันธ์กับการเข้ากันได้ของการตอที่ลดลงในช่วงต้นและช่วงปลาย นอกจากนี้การตรวจสอบสารประกอบฟีนอลิกอื่นๆ เช่น catechins และ protocyanidins ยังอาจช่วยให้เข้าใจความสัมพันธ์ และเป็นตัวบ่งชี้ในการเข้ากันได้หรือไม่ได้ระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีในไม้ผลหลายชนิดอีกด้วย (Errea, 1998)

3) การศึกษาแบบแผนไอโซไซม์

จากที่กล่าวแล้วข้างต้นว่าวิธีการที่จะใช้ประเมินการเข้ากันได้หรือไม่ได้ของการตอที่จะขึ้นอยู่กับลักษณะผิดปกติภายนอก เช่น การไม่เชื่อมกันของรอยต่อ ใบแสดงอาการเป็นสีเหลือง การเจริญเติบโตของส่วนยอดและต้นตอ (Hartmann *et al.*, 2010) ซึ่งแต่ละลักษณะล้วนต้องอาศัยเวลาในการตรวจสอบ แบบแผนไอโซไซม์ (isozyme analyses) สามารถนำมาใช้ในการประเมินการเข้ากันได้ของเนื้อเยื่อได้ในระยะแรก (Santamou, 1983) โดยการใช้เทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิส เพื่อแยกความแตกต่างของแถบเอนไซม์เพอร์ออกซิเดส (peroxidase) จากบริเวณเนื้อเยื่อของกิ่งพันธุ์ดี และต้นตอมาเปรียบเทียบกัน ซึ่งเอนไซม์เพอร์ออกซิเดสมีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการเกิดสารลิกนิน (lignification) ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเซลล์พาราไคมาที่สะสม และทำหน้าที่ในการช่วยลำเลียงธาตุอาหารในต้นพืช ลิกนินที่สะสมในผนังเซลล์จะช่วยเสริมความแข็งแรงให้กับรอยต่อที่เชื่อมระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี และการสร้างเนื้อเยื่อเจริญเมื่อเกิด

บาดแผลแก่ต้นพีช (พวงผกา, 2548) นอกจากนี้กระบวนการเกิดลิกนินเป็นกระบวนการที่จำเป็นต่อกลไกการเกิดรอยเชื่อมต่อกันระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี นำไปสู่ความสำเร็จในการเกิดรอยเชื่อมตามธรรมชาติ (Buchloh, 1960) ซึ่งกระบวนการเกิดสารจำพวกลิกนินถูกควบคุมโดยเอนไซม์เพอร์ออกซิเดส (Harkin and Obst, 1973) โดย Santamou และคณะ (1986) ได้มีศึกษาในเกาลัด และรายงานว่าการวิเคราะห์ไอโซไซม์จากต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีก่อนที่จะมีการต่อกิ่ง สามารถใช้ทำนายผลของการเข้ากันได้ ทฤษฎีที่สนับสนุนการใช้เอนไซม์เพอร์ออกซิเดสในการใช้ประเมินการเข้ากันได้ระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี คือ 1) ลิกนินมีความสำคัญต่อเนื้อเยื่อรอยต่อ 2) เพอร์ออกซิเดสมีส่วนสำคัญในการทำให้ polymerization ของ cinnamic alcohols เปลี่ยนไปเป็นลิกนิน 3) หากแถบเอนไซม์เพอร์ออกซิเดสมีความเหมือนกันระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีจะเป็นผลดีต่อการเข้ากันได้ (Santamou, 1980) ใน *Quercus castanea* พบว่า รูปแบบของเอนไซม์เพอร์ออกซิเดสของต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีที่เหมือนกันจากการต่อกิ่ง มีโอกาสเกิดการเข้ากันได้สูง ในทางตรงกันข้ามหากรูปแบบของเอนไซม์ต่างกัน การประสานของเนื้อเยื่อรอยต่อของต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีจะไม่เกิด (Santamou, 1988) เช่นเดียวกับการศึกษาใน red oak (Santamou, 1988) และคู่ต่อกิ่งระหว่างแพร์และควินน์ (Gulen *et al.*, 2002)

2.8 การใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการศึกษาพันธุกรรมพีช

เครื่องหมายโมเลกุล หมายถึง ชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ใช้ติดตามหน่วยพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต การใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการศึกษาพันธุกรรมพีช เป็นการศึกษาเพื่อใช้เป็นเครื่องมือในการจำแนกสายพันธุ์พีช และนำมาใช้ในการทำแผนที่พันธุกรรม (Lespinasse *et al.*, 2000) เนื่องจากลักษณะที่สังเกตได้จากภายนอกโดยอาศัยลักษณะสัณฐานวิทยาไม่สามารถบอกได้แน่ชัดว่ามีความหลากหลายทางพันธุกรรมมากน้อยเพียงใด การใช้เครื่องหมายโมเลกุลนั้นช่วยจำแนกความแตกต่างของสายพันธุ์พีชได้อย่างสะดวก รวดเร็ว มีความแม่นยำสูง คัดเลือกได้หลายลักษณะ สามารถ และทำได้ทุกระยะการเจริญเติบโตของพีช โดยไม่ทำลายต้นพีช (กัลยา และกรรมกรัง, 2554) เครื่องหมายโมเลกุลที่นิยมใช้ในพีชมีหลายชนิด เช่น RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), AFLP (Amplification Fragment Length Polymorphism), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), SSR (Simple Sequence Repeat) หรือ microsatellite (Bindu and Fahsa, 2004) เป็นต้น

ไมโครแซทเทลไลท์ หรือ SSR (Simple Sequence Repeat) เป็นลำดับเบสที่มีลักษณะซ้ำกันเรียงกันอย่างต่อเนื่องที่ตำแหน่งหนึ่งๆ ในจีโนม ประกอบด้วยลำดับเบสซ้ำ ประมาณ 1-4 คู่เบส พบในสิ่งมีชีวิตทุกชนิด และมีการกระจายตัวอยู่ทั้งจีโนมแต่ไม่สม่ำเสมอ เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์เป็นวิธีที่ใช้ได้ง่าย ใช้ตัวอย่างดีเอ็นเอในปริมาณน้อย ดีเอ็นเอคุณภาพต่ำก็สามารถใช้ได้ อีกทั้งยังให้ผลการตรวจสอบที่แม่นยำ (สุรินทร์, 2552) การตรวจสอบสามารถทำได้หลายวิธี แต่ปัจจุบันนิยมตรวจสอบโดยใช้เทคนิคพีซีอาร์ ซึ่งจำเป็นต้องใช้ไพรเมอร์ 2 ชนิด และต้องใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะกับชนิดของพืช (Wayne *et al.*, 1996) ดังนั้นจึงต้องมีการตรวจสอบดีเอ็นเอของสิ่งมีชีวิตที่ต้องการศึกษาก่อนที่จะนำมาใช้ สำหรับในพืชสกุล *Durio* หรือทุเรียน มีการศึกษาพันธุกรรมโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลชนิดต่างๆ เช่น Kanzaki และคณะ (1998) ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่าง *D. zibethinus* กับพืชสกุล *Durio* ชนิดอื่นที่สามารถกินได้คือ *D. graveolens* *D. kutejensis* และ *D. oxleyanus* โดยใช้เทคนิค RFLP กับ ดีเอ็นเอในคลอโรพลาสต์ พบว่าทุเรียน *D. zibethinus* ไม่ได้มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับทั้งสามชนิดที่กล่าวถึงข้างต้น แต่กลับพบว่า *D. zibethinus* ถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับ *D. griffithii* ซึ่งเป็นพันธุ์ป่า แสดงให้เห็นว่าพืชสกุล *Durio* ชนิดที่รับประทานได้แต่ละชนิดมีวิวัฒนาการที่ไม่ขึ้นต่อกัน ฮูดา (2556) ศึกษาความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านภาคใต้ 67 ตัวอย่าง จาก 5 พื้นที่ในจังหวัดทางภาคใต้ของประเทศไทย ด้วยเทคนิคไมโครแซทเทลไลท์ใช้จำนวน 6 คู่ไพรเมอร์ ซึ่งเป็นไพรเมอร์จากการศึกษาของปิยรัชฎ์ และคณะ (2552) พบว่ามีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.52-0.95 และสามารถจัดกลุ่มได้เป็น 6 กลุ่ม ซึ่งแต่ละกลุ่มตัวอย่างค่อนข้างสัมพันธ์กับแหล่งที่เก็บตัวอย่าง การศึกษาข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอของทุเรียนพื้นบ้านในจังหวัดชุมพร จำนวน 54 สายพันธุ์ โดย อุษณีย์ (2562) พบว่า เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ มีความจำเพาะทางพันธุกรรมในระดับพันธุ์ที่ใช้ระบุพันธุ์พื้นเมืองในการศึกษาได้จากการใช้คู่ไพรเมอร์จำนวน 13 คู่ Siew และคณะ (2018) ศึกษาความหลากหลายของทุเรียนจำนวน 27 ตัวอย่างในประเทศมาเลเซีย โดยใช้เครื่องหมาย SSR จำนวน 7 ไพรเมอร์ และพบว่า 5 ไพรเมอร์สามารถนำมาใช้ในการจำแนกทุเรียนที่ศึกษาได้ 21 สายพันธุ์ จรัสศรี และคณะ (2563) ศึกษาความหลากหลายของทุเรียนพื้นบ้านบริเวณลุ่มน้ำคลองแสง อำเภอบ้านตาขุน จังหวัดสุราษฎร์ธานี จำนวน 143 ตัวอย่าง โดยใช้ลักษณะสัณฐานและเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ 8 คู่ไพรเมอร์ พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มทุเรียนดังกล่าวได้เป็น 4 กลุ่มตามความใกล้ชิดทางพันธุกรรม

3. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาการเชื่อมของรอยต่อระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีหลังการเลียบยอด
2. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของสารประกอบฟีนอลิก และปริมาณลิกนิน รวมถึงแบบแผนไอโซไซม์เปอร์ออกซิเดส ต่อความสามารถในการเข้ากันได้ระหว่างต้นตอทุเรียนพื้นบ้านสายพันธุ์ต่าง ๆ และกิ่งพันธุ์ดีหมอนทอง และชะนี
3. เพื่อศึกษาอิทธิพลของต้นตอทุเรียนที่แตกต่างกันต่อการเจริญเติบโต และการพัฒนาของกิ่งพันธุ์ดีหมอนทอง และชะนีหลังการเลียบยอดบนต้นตอต่างๆ กัน
4. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างต้นตอทุเรียนพื้นบ้านและกิ่งพันธุ์ดี โดยใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์

บทที่ 2

วิธีการวิจัย

วัสดุและอุปกรณ์

1. ตัวอย่างพืช

การศึกษาการเข้ากันได้ของต้นตอทุเรียนพื้นบ้านภาคใต้สายพันธุ์ต่าง ๆ กับกิ่งพันธุ์ดีหอมทองและชะนี โดยเสียบยอดกิ่งพันธุ์ดีหอมทอง และชะนีบนต้นตอทุเรียนพื้นบ้านจำนวน 6 สายพันธุ์ เปรียบเทียบกับกิ่งพันธุ์ดีหอมทองเสียบยอดบนต้นตอหอมทอง และกิ่งพันธุ์ดีชะนีเสียบยอดบนต้นตอชะนี (homograft) เป็นชุดควบคุม (รายละเอียดและแหล่งที่มาของวัสดุพืชดังแสดงในตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ต้นตอทุเรียนพันธุ์การค้าและพันธุ์พื้นบ้าน ที่ใช้ในการศึกษาและแหล่งที่มา

ชื่อพันธุ์ทุเรียนที่ใช้เป็นต้นตอ	แหล่งที่มา
1. หอมทอง	อ. นาหม่อม จ. สงขลา
2. ชะนี	อ. นาหม่อม จ. สงขลา
3. นก (นกครึ่ง)	อ. นาโยง จ. ตรัง
4. ขม้น	อ. เมือง จ. ยะลา
5. ต้นเขียว	อ. เมือง จ. ยะลา
6. ลูกกลม	อ. เหนือคลอง จ. กระบี่
7. ไอ้ส้ม	อ. นาหม่อม จ. สงขลา
8. ท้ายเลี่ยม	อ. นาหม่อม จ. สงขลา

2. สารเคมี

2.1 สารเคมีใช้ในการตัดเนื้อเยื่อวิทยาพืช

- FAA II (formalin-acetic acid-alcohol)
- Glycerol
- Xylene
- Safranin O

- Fast green
- Ethanol
- Cover oil
- Picric acid
- Ammonium hydroxide
- Permunt
- Gelatin
- Paraffin
- Eosin
- Butyl alcohol

2.2 สารเคมีใช้ในการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

- 80% Methanol
- Folin-Ciocalteu's phenol reagent
- 7% Sodium carbonate solution
- Gallic acid

2.3 สารเคมีใช้ในการหาปริมาณลิกนิน

- Potassium phosphate buffer
- Triton X-100
- NaCl
- Acetone
- Acetyl bromide
- NaOH
- Hydroxylamine-HCl

2.4 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดเอ็นไซม์และทำอิเล็กโตรโฟรีซิส

- Tris-HCl
- Tris-base
- Triton X-100
- PVP-40 (Polyvinyl pyrrolidone)

- Acylamide/Bis (30% T, 2.67% C)
- Glycerol
- Glycine
- Bromophenol blue
- Ammonium persulfate
- TEMED (N, N, N', N'-tetramethylenediamine)

2.5 สารเคมีใช้ในการย้อมสีเอ็นไซม์เพอร์ออกซิเดส

- Potassium phosphate buffer, pH 7.0
- Guaiacol
- Hydrogen peroxide
- Glacial acetic acid
- Methanol
- Coomassie blue R-250

2.6 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ

- CTAB (Hexadecyl trimethyl-ammonium bromide)
- β -mercaptoethanol
- PVP-40 (Polyvinyl pyrrolidone)
- NaCl (Sodium chloride)
- Na₂EDTA (Disodium ethylene diaminetetraacetate)
- Tris-HCl pH 8.0
- Chloroform
- Isopropanol
- TE buffer
- Ethanol

2.7 สารเคมีที่ใช้ในการทำพีซีอาร์

- dNTP (dATP, dTTP, dCTP และ dGTP) (Promega, USA)
- Microsatellite primer
- 10X *Taq* buffer

- *Taq* DNA Polymerase (Promega, USA)

2.8 สารเคมีที่ใช้ในการทำ Agarose gel electrophoresis

- LE agarose (FMC Bioproduct, USA)
- Tris-base
- Ethidium bromide
- Loading buffer
- Lamda DNA (DNA)
- 100 bp DNA ladder (Operon, U.S.A.)

3. อุปกรณ์

3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมต้นทุเรียน การเสียบยอด และการเก็บตัวอย่างเปลือกต้นทุเรียน

- ถุงพลาสติก
- กรรไกร
- ปากกาเคมี
- กรรไกรตัดกิ่ง
- มีดคัตเตอร์
- ถุงชำ
- พาราฟิล์ม
- ซ้อนปลูก
- ป้ายชื่อ
- เชือกฟาง
- ถังไนโตรเจน
- อลูมิเนียมฟรอยด์

3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการตัดเนื้อเยื่อ การทำไอโซไซม์ การวัดการเจริญเติบโต การสกัดดีเอ็นเอ การทำอิเล็กโตรโฟรีซิส และการทำพีซีอาร์

- โกร่งบดตัวอย่าง
- ไนโตรเจนเหลว
- หลอดไมโครเซนติฟิวซ์ขนาด 15 มิลลิลิตร

- เครื่องแก้ว กระจกตวง และขวดต่างๆ
- เครื่อง Sonicator
- เครื่อง UV-Vis Spectrophotometer
- เครื่องไมโครเซนติพีพัส
- เครื่องชั่งทศนิยม 3 ตำแหน่ง
- เครื่องคนสารละลายอัตโนมัติ
- เครื่องวัด pH
- เครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า
- เครื่องอิเล็กทรอนิกส์ โตรโพรซิส
- เครื่องพีซีอาร์
- เครื่องไมโครเวฟ
- เครื่องตัดเนื้อเยื่อพืชแบบเลื่อน
- ตู้ดูดควัน
- แผงแม่เหล็ก
- ตู้เย็น และตู้แช่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส
- Pipett และ pipettes tip
- Gel Documentation
- กล้องถ่ายรูป
- คีมคีบ
- ฟู่กัน
- จานแก้ว
- ซ้อนตักสาร
- กระจกทรง
- กระจกป้ายชื่อ
- เครื่องเขย่า (Vortex)
- สายวัด
- เวอร์เนียร์คาลิเปอร์

วิธีการดำเนินการ

1. การเลียบยอดต้นทุเรียนและการเตรียมตัวอย่างในการทดลอง

เก็บรวบรวมเมล็ดทุเรียนพื้นบ้านสายพันธุ์ต่าง ๆ รวมทั้งพันธุ์หมอนทอง และพันธุ์ชะนี มาเพาะเมล็ดเพื่อใช้เป็นต้นตอในการเลียบยอด เมื่อดันกล้าอายุประมาณ 3 เดือน คัดเลือกต้นกล้าที่มีลักษณะลำต้นตรง โคนรากไม่คดงอ ทำการเลียบยอดกับกิ่งพันธุ์หมอนทอง และชะนี ที่ความสูงจากพื้นดิน 15 เซนติเมตร โดยมีรายละเอียดดังนี้ ใช้เชือกฟางผูกต้นตอทุกต้นไว้หลวม ๆ ใช้ใบมีดโกนคมๆ หรือมีดคัดเตอร์ตัดต้นตอให้ขาดออกจากกัน โดยให้รอยตัดอยู่สูงจากพื้นดินประมาณ 15 เซนติเมตร ใช้ใบมีดผ่าต้นตอตรงกลางของรอยตัด ให้แผลถลอกมา 1.5 เซนติเมตร ปาดยอดพันธุ์ที่เตรียมไว้ โดยปาดให้เป็นรูปลิ้มทั้ง 2 ด้านที่อยู่ตรงข้ามกัน พยายามให้แผลเรียบและไม่ฉ่ำ นำกิ่งพันธุ์ดีไปเสียบลงในรอยผ่าของต้นตอ ดึงเชือกฟางที่ผูกไว้ให้แน่น โดยดึงให้ตรงรอยต่อเพื่อให้รอยแผลของกิ่งพันธุ์ดีกับต้นตอประสานกัน หลังจากเลียบยอดจนหมดแล้ว ก็นำไม้ไผ่ผ่าซีกมาทำเป็นโครง และนำพลาสติกใสมาคลุม เพื่อรักษาความชื้น ซึ่งจะทำการเลียบยอดได้ผลดีขึ้นให้ต้นตอที่เลียบยอดแล้วอยู่ในกระโจมประมาณ 1 เดือน หลังจากนั้นก็ค่อยๆ เปิดพลาสติกใสออก หากต้นใดรอยต่อประสานกันดีก็จะถอนขึ้นมาชำในถุงพลาสติก แต่ถ้าต้นใดเลียบไม่ดีก็จะตัดต้นตอลงไปจากเดิม และนำกิ่งพันธุ์ใหม่มาเสียบเหมือนเดิม สามารถตัดต้นตอได้ประมาณ 3 ครั้ง หลังจากนั้นตรวจสอบความสำเร็จของการเลียบยอดที่ 28 วันหลังการเลียบยอด เก็บตัวอย่างบริเวณรอยต่อระหว่างต้นตอกับกิ่งพันธุ์ดี หลังการเลียบยอดที่ 28 วัน เพื่อดูการพัฒนาการของรอยต่อ เก็บตัวอย่างเปลือกของต้นทุเรียนบริเวณด้านบน ด้านล่าง และบริเวณรอยต่อระหว่างต้นตอกับกิ่งพันธุ์ดี หลังการเลียบยอดที่ 0, 7, 21 และ 45 วัน เพื่อใช้ในการตรวจสอบหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิก และปริมาณลิกนิน และเก็บตัวอย่างเปลือกของต้นทุเรียนบริเวณด้านบน ด้านล่าง และบริเวณรอยต่อระหว่างต้นตอกับกิ่งพันธุ์ดี หลังการเลียบยอดที่ 6 เดือน เพื่อศึกษาแบบแผนไอโซไซม์

2. การตรวจสอบเปอร์เซ็นต์ความสำเร็จในการเลียบยอด

หลังการเลียบยอดไปแล้วเป็นเวลา 28 วัน ทำการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของกิ่งพันธุ์ดี โดยพิจารณายอดของกิ่งพันธุ์ดี ถ้ากิ่งและยอดพันธุ์ดีมีสีเขียวแสดงว่าการเลียบยอดสำเร็จ แต่ถ้าส่วนยอดและใบเปลี่ยนเป็นสีดำหรือน้ำตาลแสดงว่าการเลียบยอดไม่สำเร็จ หลังจากนั้นทำการบันทึกเปอร์เซ็นต์ความสำเร็จในการเลียบยอด ตามสมการ

$$\text{Percentage of grafting success} = \frac{\text{Number of successful grafts}}{\text{Total number of grafted rootstocks}} \times 100$$

3. การศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาบริเวณรอยต่อระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี

ทำการศึกษาพัฒนาการของรอยต่อที่อายุ 28 วัน หลังทำการเลียบยอดพันธุ์ดี หมอนทองและชะนีลงบนต้นตอหมอนทอง ชะนี และต้นตอทุเรียนพื้นบ้านสายพันธุ์ต่างๆ สุ่มเก็บตัวอย่างทริทเมนต์ละ 2 ต้น โดยตัดรอยต่อตามขวาง หน้า 0.5 เซนติเมตร จำนวน 3-5 ชิ้นต่อตัวอย่าง มาเก็บรักษาในน้ำยาคงสภาพสูตร FAAlI (formalin-acetic-alcohol) นำชิ้นส่วนพืชไปล้างน้ำออกนอกเซลล์ เพื่อเป็นการทำให้ชิ้นส่วนปราศจากน้ำ โดยใช้ T-butyl alcohol จากความเข้มข้นต่างๆ ไปหาความเข้มข้นสูง นำชิ้นส่วนฝังลงในบล็อกพาราฟิน ทำการตัดแต่งบล็อกพาราฟิน นำชิ้นส่วนของพืชที่อยู่ในบล็อกพาราฟินตัดด้วย เครื่องโรตารีไมโครทอม ให้มีขนาดความหนา 12 ไมโครเมตร ตัดชิ้นบางที่ตัดบนสไลด์แก้ว จากนั้นละลายพาราฟิน และนำชิ้นส่วนบางไปย้อมสี ซึ่งสีที่ใช้ย้อม คือ ซาฟรานีน และฟาสกริน และทำการปิดกระจกปิดสไลด์ โดยใช้ mounting medium เป็นตัวยึด (ละม้าย, 2552) นำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์และถ่ายภาพด้วยกล้องดิจิทัล FUJIFILM

4. การหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

เก็บตัวอย่างเปลือกของลำต้นทุเรียนหลังการต่อกิ่งที่อายุ 0, 7, 21 และ 45 วัน ทำการเก็บตัวอย่างเปลือก (ส่วนเปลือก และเนื้อเยื่อบริเวณแคมเบียม) แบ่งเป็น 3 ส่วน ได้แก่ ส่วนบริเวณด้านล่างรอยต่อ บริเวณรอยต่อ และบริเวณด้านบนบนของรอยต่อ (0.1 กรัม) มาบดด้วยไนโตรเจนเหลวจนละเอียด ใส่หลอดฝาเกลียว 15 มิลลิลิตร ทำการสกัดสารประกอบฟีนอลิกตามวิธีที่ดัดแปลงจาก Marinova และคณะ (2005) เติมสารละลายเมทานอลความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ปิดฝาให้สนิท แช่ในเครื่อง Ultrasonic bath เป็นเวลา 20 นาที ดูดสารละลายใส่หลอดไมโครเซนติฟิวส์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปปั่นแห้งที่ 14,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง นำสารละลายตัวอย่างที่สกัดได้ 0.2 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองฝาเกลียวขนาด 15 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 0.8 มิลลิลิตร และโพลินซิโอแคลทรีเจนต์ 0.1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองแต่ละหลอด ผสมให้เข้ากัน ตั้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 5 นาที (สีของสารละลายมีสีเขียวใส) เมื่อครบเวลาเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 7% ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 2.5 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ผสมให้เข้ากัน วางหลอดในที่มืด ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 90 นาที (สีของสารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ เทียบกับหลอดควบคุม คือ สารละลายเมทานอลความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร แทนสารละลายตัวอย่าง ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด หาได้ จากการนำค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างเทียบกับกราฟมาตรฐานสารละลายกรดแกลลิก

(Gallic acid) ปริมาณที่ได้แสดงในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักเปลือกปริมาณ 1 กรัม (mg g/FW)

5. การหาปริมาณลิกนิน

เก็บตัวอย่างเปลือกของลำต้นทุเรียนหลังการตอกิ่งที่อายุ 0, 7, 21 และ 45 วัน ทำการเก็บตัวอย่างเปลือก (ส่วนเปลือก และเนื้อเยื่อบริเวณแคมเบียม) แบ่งเป็น 3 ส่วน ได้แก่ ส่วนบริเวณด้านล่างรอยต่อ บริเวณรอยต่อ และบริเวณด้านบนของรอยต่อ ทำการสกัดลิกนินโดยนำตัวอย่างเปลือกของลำต้นทุเรียนที่บดละเอียด 2 กรัม มาบดให้ละเอียด หลังจากนั้นทำการดึงโปรตีนออก โดยใช้ตัวอย่างที่บดละเอียด 0.3 กรัม ใส่ในหลอดเช่นติฟิวซ์ เติม 50 mM potassium phosphate buffer 7 มิลลิลิตร นำไปปั่นแห้งที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เทสารละลายทิ้ง ทำแบบเดิม 3 รอบ เติม 1% triton X-100 7 มิลลิลิตร นำไปปั่นแห้งที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เทสารละลายทิ้ง ทำแบบเดิม 3 รอบ เติม 1 M NaCl 7 มิลลิลิตร นำไปปั่นแห้งที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เทสารละลายทิ้ง ทำแบบเดิม 2 รอบ เติม DI water 7 มิลลิลิตร นำไปปั่นแห้งที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เทสารละลายทิ้ง ทำแบบเดิม 2 รอบ เติม Acetone 5 มิลลิลิตร นำไปปั่นแห้งที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เทสารละลายทิ้ง ทำแบบเดิม 2 รอบ หลังจากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณลิกนิน โดยนำ Protein-free cell wall sample 20 มิลลิกรัม ใส่ในหลอดแก้ว screw cap เติม 25% Acetyl bromide 0.5 มิลลิลิตร บ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แช่น้ำแข็งอย่างรวดเร็ว เติม 2 M NaOH 0.9 มิลลิลิตร 5 M Hydroxylamine-HCl 0.1 มิลลิลิตร และ Glacial acetic acid 5 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำไปปั่นแห้งที่ 7,000 rpm เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิห้อง และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 280 nm. และนำค่าที่ได้มาคำนวณหาปริมาณลิกนิน เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ lignin, alkali ที่เตรียมไว้

6. การสกัดเอนไซม์จากตัวอย่างพืช

การเตรียมตัวอย่างพืช เก็บตัวอย่างเปลือกต้นกล้าทุเรียนที่ผ่านการเสียชีวิตเป็นระยะเวลา 1 ปี เก็บตัวอย่างในแปลงปลูกสำหรับนำมาสกัดโปรตีนโดยใช้ไนโตรเจนเหลว ทำการเก็บตัวอย่างเปลือก (ส่วนเปลือก และเนื้อเยื่อบริเวณแคมเบียม) แบ่งเป็น 3 ส่วน ได้แก่ ส่วนบริเวณด้านล่างรอยต่อ บริเวณรอยต่อ และบริเวณด้านบนของรอยต่อ ทำการสกัดโปรตีนในทุเรียนโดยดัดแปลงตามวิธีการของ Gulen และคณะ (2002) โดยใช้ตัวอย่าง 0.2 กรัม บดตัวอย่างบนน้ำแข็งใน

โกร่งด้วยไนโตรเจนเหลวจนละเอียดเป็นผงแป้ง หลังจากนั้นเติม extraction buffer ปริมาตร 1 มล. ผสมตัวอย่างกับ extraction buffer ให้เข้ากันดี ย้ายตัวอย่างใส่หลอดเซนตริฟิวส์ ขนาด 1.5 มล. และ นำตัวอย่างใส่เครื่องเซนตริฟิวส์ หมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที (ถ้าส่วนใสของสารสกัดโปรตีนแยกชั้นไม่ดีให้ทำการหมุนเหวี่ยง 2 รอบ) ดูดส่วนใสที่ได้ใส่หลอดเซนตริฟิวส์ เก็บตัวอย่างไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้สำหรับการศึกษากิจกรรมเอนไซม์เพอร์ออกซิเดส และการทำอิเล็กโตรโฟรีซิสต่อไป

7. การศึกษาแบบแผนไอโซไซม์

การเตรียมเจลโพลีอะคริลาไมด์ โดยการทำความสะอาด และเช็ดกระจกสำหรับการเตรียมเจลให้แห้งด้วย 95% เอทานอล และน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ (ddI water) ประกอบชุดแผ่นกระจกเข้าด้วยกันด้วยตัวล็อกผ่านกระจก และวางบนฐานวางแผ่นกระจก ใส่หวีในช่องสำหรับเทเจลอะคริลาไมด์ สำหรับวัดความยาวจากด้านล่างของซี่หวีลงไป 1 ซม. จัดเส้นทำสัญลักษณ์เพื่อแบ่งพื้นที่ชั้นเจล stacking และ resolving เตรียมเจลชั้น resolving (10%) โดยการผสมสารละลาย อะคลิลาไมด์ 3.3 มิลลิลิตร 1.5 M Tris HCl, pH 8.8 2.5 มิลลิลิตร และ H₂O 4.2 มิลลิลิตร เข้าด้วยกัน และตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 15 นาที หลังจากนั้นเติม 10% APS 50 ไมโครลิตร และ TEMED 5 ไมโครลิตร เพื่อให้เจลแข็งตัว ผสมสารให้เข้ากันโดยใช้ปิเปต และดูดส่วนผสมเติมในช่องของแผ่นกระจกทันที เติมส่วนผสมของเจล resolving จนถึงเส้นที่ขีดไว้ และหล่อหน้าเจลด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ และตั้งทิ้งไว้รอจนกว่าเจลแข็งตัวประมาณ 45.60 นาที เทน้ำที่หล่อบนหน้าเจลชั้น resolving ออก และใช้กระดาษกรองซับน้ำบนหน้าเจลให้แห้ง เตรียมเจลชั้น stacking (5%) โดยการผสมสารละลาย อะคลิลาไมด์ 1.7 มิลลิลิตร 0.5 M Tris HCl, pH 6.8 2.5 มิลลิลิตร และ H₂O 5.8 มิลลิลิตร เข้าด้วยกัน และตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 15 นาที หลังจากนั้นเติม 10% APS 50 ไมโครลิตร และ TEMED 10 ไมโครลิตร เพื่อให้เจลแข็งตัว ผสมสารให้เข้ากันโดยใช้ปิเปต และดูดส่วนผสมเติมในช่องของแผ่นกระจกทันที ต่อจากชั้น resolving จนเต็มช่องของแผ่นกระจก ใส่หวีลงในช่องของแผ่นกระจกทันที และรอให้เจลแข็งตัวประมาณ 45-60 นาที หลังเจลแข็งตัวดีแล้ว แกะกระจกออกจากอุปกรณ์เตรียมเจล และใส่กระจกลงในชุดอุปกรณ์สำหรับการทำอิเล็กโตรโฟรีซิส เติม 1x running buffer ลงใน tank ประมาณ 700 มิลลิลิตร สำหรับ 2 เจล พร้อมกับดึงหวีออกจากเจล นำตัวอย่างโปรตีนของทุเรียนที่สกัด ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมกับ sample buffer 10 ไมโครลิตร ให้เข้ากัน และหยอดตัวอย่างกับ sample buffer ลงในแต่ละช่องของเจล ประกอบชุดอุปกรณ์โพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโตรโฟรีซิส โดยใช้ค่าความต่างศักย์ 75 โวลต์ ในช่วงแรกของการเตรียมเจลใช้กระแสไฟฟ้า 10 mA นาน

ประมาณ 25 นาที หลังจากนั้นในชั้นของเจล stacking ใช้กระแสไฟฟ้า 20 mA นานประมาณ 30 นาที หรือจนกว่าแบนของโปรตีนอยู่ในชั้นของเจล resolving และในชั้นเจล resolving หรือชั้นเจล separating ใช้กระแสไฟฟ้า 40 mA นานประมาณ 30 นาที หรือจนกว่า sample buffer เคลื่อนที่มาถึงขอบล่างของแผ่นกระจก เมื่อตัวอย่างเคลื่อนที่มาถึงขอบล่างของแผ่นกระจก ปิดสวิทช์เครื่อง ถอด Power supply ออก และยกแผ่นกระจกออกจาก tank ทำการแกะแผ่นกระจกที่ประกอบอยู่อย่างระมัดระวัง นำเจลที่ได้ใส่ลงในกล่องพลาสติก และล้างเจลในน้ำกลั่นปริมาตร 200 มิลลิลิตร ต่อเจล 1 แผ่น จำนวน 3 ครั้ง แต่ละครั้งเขย่าบนเครื่องเขย่านาน 5 นาที ย้ายเจลแช่ใน staining solution I เขย่าบนเครื่องเขย่าเป็นเวลานาน 30 นาที ล้างสีย้อมด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 200 มิลลิลิตร และย้ายเจลย้อมใน Coomassie blue solution (staining II) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยเทสีย้อมให้ท่วมเจลเขย่าบนเครื่องเขย่าทิ้งไว้ข้ามคืน (overnight) เทสีย้อมที่มากเกินไปออก พร้อมกับล้างด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 200 มิลลิลิตร เขย่าบนเครื่องเขย่าเป็นเวลานาน 30 นาที เพื่อล้างสีส่วนเกินออก จากนั้นเท destaining solution ลงไปแช่ให้ท่วมเจล ทำซ้ำจนเห็นแบนโปรตีนติดสีขึ้นมา และพื้นหลังติดสีย้อมน้อยที่สุด (เปลี่ยน destaining solution 3 ครั้งๆ ละปริมาตร 200 มิลลิลิตร โดยย้อมเป็นเวลานานประมาณ 3 ชั่วโมง) บันทึกภาพเจลเพื่อนำไปวิเคราะห์ผล zymogram (เจลที่ได้สามารถเก็บรักษาไว้ในน้ำกลั่น แช่ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส) และคำนวณหาระยะทางการเคลื่อนที่ (ตำแหน่ง) จากการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ (relative mobility; Rm) ตามสูตรข้างล่าง (อาภัสสร, 2537)

$$\text{การเคลื่อนที่สัมพัทธ์ (Rm)} = \frac{\text{ระยะการเคลื่อนที่ของแถบสี}}{\text{ระยะทางการเคลื่อนที่ของ marker dye}}$$

8. การตรวจสอบการเจริญเติบโตของต้นเสียบยอดที่ระยะเวลาต่างๆ กัน

ทำการเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตหลังการเสียบยอดสำเร็จ ได้แก่ ความยาวและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของกิ่งพันธุ์ดี ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของรอยต่อ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของต้นตอ และ และจำนวนใบ โดยเก็บข้อมูลทุกเดือน เป็นระยะเวลา 12 เดือนหลังการเสียบยอด

9. การวิเคราะห์พันธุกรรมของต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีโดยใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์

1.การสกัดดีเอ็นเอ

นำตัวอย่างใบมาสกัดดีเอ็นเอโดยประยุกต์จากวิธีการ Doyle และ Doyle (1990) สกัดดีเอ็นเอจากใบต้นทุเรียนที่สุ่มเก็บ โดยใช้สารละลาย CTAB (Hexadecyl Trimethyl Ammonium Bromide) โดยใช้ตัวอย่าง 200 มิลลิกรัม น้ำหนักสดมาล้างทำความสะอาด ซับให้แห้ง

บดใน Extraction Buffer (100 mM Tris, 1.4 M NaCl, 20 mM EDTA, pH8.0, 2%CTAB, 2% β -mercaptoethanol) ปริมาตร 700 ไมโครลิตร ร่วมกับ PVP 50 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักพืช 0.5 กรัม ในโกร่งให้ละเอียด จากนั้นใส่ในหลอดไมโครเซ็นติพีพจ์ เขย่าให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที กลับหลอดไปมาทุก 10 นาที วางให้เย็นที่อุณหภูมิห้องเติมคลอโรฟอร์ม 800 ไมโครลิตร กลับหลอดไปมาเบาๆ ปั่นเหวี่ยงใช้ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที จะได้สารละลายที่แยกชั้นใส ดูดสารละลายส่วนใสใส่หลอดไมโครเซ็นติพีพจ์หลอดใหม่ เติมคลอโรฟอร์ม : ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ (24:1) 800 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ปั่นเหวี่ยงใช้ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ดูดสารละลายส่วนใสใส่หลอดใหม่ เติม 5 โมลาร์ โซเดียมคลอไรด์ครึ่งหนึ่งของปริมาตรสารละลายที่ได้ และเติม เอทานอล 95% ปริมาตร 750 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปแช่ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เทสารละลายทิ้ง และล้างตะกอนด้วย เอทานอล 70% ปริมาตร 750 ไมโครลิตร ผึ่งตะกอนให้แห้ง หลังจากนั้นละลายตะกอนด้วย TE buffer ปริมาตร 70 ไมโครลิตร แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ข้ามคืนเพื่อให้ตะกอนดีเอ็นเอละลายดี จากนั้นนำดีเอ็นเอที่ละลายดีแล้วมาตกตะกอนด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ที่แช่เย็นจัดในปริมาตร 2 เท่าของสารละลายดีเอ็นเอ ผสมกับ โซเดียมอะซิเตรต 3 โมลาร์ ในปริมาตร 1/10 ของสารละลาย กลับหลอดไปมาเพื่อตกตะกอนดีเอ็นเอ หากไม่เห็นตะกอนดีเอ็นเอให้นำไปแช่ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส 1-2 ชั่วโมง หรือข้ามคืน นำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้งที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที เทส่วนใสทิ้ง ล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วยเอทานอล ความเข้มข้น 70% ที่แช่เย็น 3 ครั้ง ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย TE buffer 70 ไมโครลิตร [Tris-HCl (pH 7.5) 10 มิลลิโมลาร์ และ Na₂EDTA (pH 7.0) 1 มิลลิโมลาร์] ที่อุณหภูมิห้องเก็บรักษาดีเอ็นเอที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้

2. การตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอ

ตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้ด้วยการเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน (แลมดาดีเอ็นเอ) โดยการทำอิเล็กโตรโฟรีซิสบนอะกาโรสเจล (LE Agarose, Promega, USA) เข้มข้น 3% แรงเคลื่อนไฟฟ้า 100 โวลต์ ในสารละลาย TAE buffer (Tris Base, Glacial Acetic Acid, EDTA 0.5 โมลาร์ pH 8.0) เป็นเวลา 20 นาที ย้อมแถบดีเอ็นเอที่ได้ด้วย เอธิเดียมโบรไมด์ แล้วนำไปตรวจสอบภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต 260 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Gel Documentation

3. การคัดเลือกไพรเมอร์

ทดสอบหาไพรเมอร์ที่เหมาะสมสำหรับการทำไมโครแซทเทลไลท์ จากไพรเมอร์ที่มีผู้ทำการศึกษามาก่อนในทุเรียน ซึ่งประกอบด้วยไพรเมอร์จำนวน 8 ไพรเมอร์ ได้แก่

MS1CT-5, MS1CT-6, MS1CT-7, MS1CT-9, MS1CT-12, MS1GT-15, MS1AAC-5 MS1AAC-19 จากการศึกษาของ ศศิวิมล และคณะ (2557) นำมาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ไพรเมอร์ ซึ่งเป็น forward และ reward โดยวิธีพีซีอาร์ โดยปฏิกิริยาพีซีอาร์ที่ใช้คือ

อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที 1 รอบ	} 30 รอบ
อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที	
อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที	
อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 1.30 นาที	
อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 7 นาที 1 รอบ	

หลังจากนั้นนำสารละลายดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณแล้ว จำนวน 10 ไมโครลิตร มาตรวจสอบขนาดชิ้นของดีเอ็นเอ ด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิสบนแผ่นวุ้น LE agarose ที่ความเข้มข้น 3% ละลายใน TBE Buffer (Tris Base, Boric acid, Na₂EDTA 0.5 โมลาร์; pH 8.0) ใช้แรงเคลื่อนไฟฟ้า 100 โวลต์ 65 นาที ย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยเอธิเดียมโบรไมด์เข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 20 นาที ล้างน้ำ 10 นาที ตรวจสอบแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต 260 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง geldocumentation คัดเลือกไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณและให้แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่าง(polymorphism) ระหว่างตัวแทนประชากรแต่ละกลุ่ม

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำไพรเมอร์ที่คัดเลือกได้ มาใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของประชากรทั้งหมด คัดเลือกไพรเมอร์ที่ทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างประชากรทั้งหมด หลังจากนั้นทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยแปลงข้อมูลแถบดีเอ็นเอให้ตำแหน่งที่มีแถบดีเอ็นเอมีค่าเท่ากับ 1 และตำแหน่งที่ไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอมีค่าเท่ากับ 0 โดยคิดเฉพาะแถบ DNA ที่มีความชัดเจน และเพิ่มปริมาณได้สม่ำเสมอเมื่อมีการทำพีซีอาร์ซ้ำ วิเคราะห์ความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมด้วยโปรแกรม Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Version-2.1. (NTSYS version 2.1) (Rohlf, 2002)

ตารางที่ 2 คู่ไพรเมอร์ และลำดับเบสของเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ที่ใช้วิเคราะห์ พันธุกรรมของทุเรียนในการศึกษาครั้งนี้

ไพรเมอร์	ลำดับเบส
MS1CT-5F	CCT GCA AAA CCA AAC CAA AT
MS1CT-5R	CAA AGG GAG TAT CCT TCC AG
MS1CT-6F	TAA ACT GGC AAT GAA ACA GC
MS1CT-6R	CCA AAC AGC TAA ACC CAT GA
MS1CT-7F	CAT GGA CAA GAA AGC GAT GA
MS1CT-7R	TGG ATC AGA TGA ATC AGG TTG
MS1CT-9F	CCC TAC GTT ACA TGA TGA TCC A
MS1CT-9R	CCA TTT TGC TCC CTT ACT CTT C
MS1CT-12F	GAC GAC ACC AGC GAT CAA C
MS1CT-12R	ATG GCG TCA TTT TGC TTT TC
MS1GT-15F	CCA AAC AGC TAA ACC CAT G
MS1GT-15R	TGC AAG AGA AGT TGT GTA TCT GG
MS1GT-19F	TGA GTG GCG CAC TAA AAC AC
MS1GT-19R	AGG TGT CTC AGC TGG TTT GC
MS1AAC-5F	AAT CCT TCA ACC CAC ACC AA
MS1AAC-5R	TTC TTT TCG CCA GAA ACA GC

ที่มา: ศศิวิมล และคณะ (2557)

การวิเคราะห์ผลข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) 16 ทรีทเมนต์ จำนวน 3 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ต้น วิเคราะห์ค่าเฉลี่ย และความแปรปรวนของข้อมูลด้วยโปรแกรม R version 2.14.2 และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ทำการทดลอง ณ โรงเรือนทดลองและห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืชปลูก (ชีวโมเลกุล) คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

บทที่ 3

ผล

1. ความสำเร็จของการเสียบยอดทุเรียนหมอนทองและชะนีบนต้นต่อทุเรียนพื้นบ้านสายพันธุ์ต่างๆ

ทำการบันทึกเปอร์เซ็นต์ความสำเร็จในการเสียบยอดกิ่งพันธุ์ดีทุเรียนพันธุ์หมอนทองและชะนี บนต้นต่อทุเรียนพื้นบ้านสายพันธุ์ต่างๆ เปรียบเทียบกับต้นต่อทุเรียนหมอนทองและชะนี โดยบันทึกที่ระยะเวลา 28 วัน หลังการเสียบยอด พบว่า ใบของกิ่งพันธุ์ดีจะยังคงมีสีเขียว บริเวณรอยต่อมีลักษณะเชื่อมติดแน่น และอาจจะมีการพัฒนายอดใหม่เกิดขึ้นเล็กน้อย ดังภาพ 3a แต่หากกิ่งพันธุ์ดีเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลบริเวณยอดหรือสีดำบริเวณรอยต่อ และบริเวณรอยต่อไม่เชื่อมติดกัน จะบ่งบอกว่าการเสียบยอดระหว่างต้นต่อและกิ่งพันธุ์ดีดังกล่าวไม่ประสบความสำเร็จ ดังภาพ 3b



ภาพที่ 3 แสดงลักษณะรอยต่อของต้นทุเรียนที่อายุ 28 วัน หลังการเสียบยอด (a) ประสบความสำเร็จ และ (b) ไม่ประสบความสำเร็จ

จากการประเมินเปอร์เซ็นต์ความสำเร็จภายหลังจากการเสียบยอดทุเรียนที่อายุ 28 วัน พบว่า การใช้กิ่งพันธุ์ดีชะนีเสียบยอดบนต้นต่อท้ายเลี่ยม ไร่ส้ม และต้นต่อลูกกลม ให้เปอร์เซ็นต์

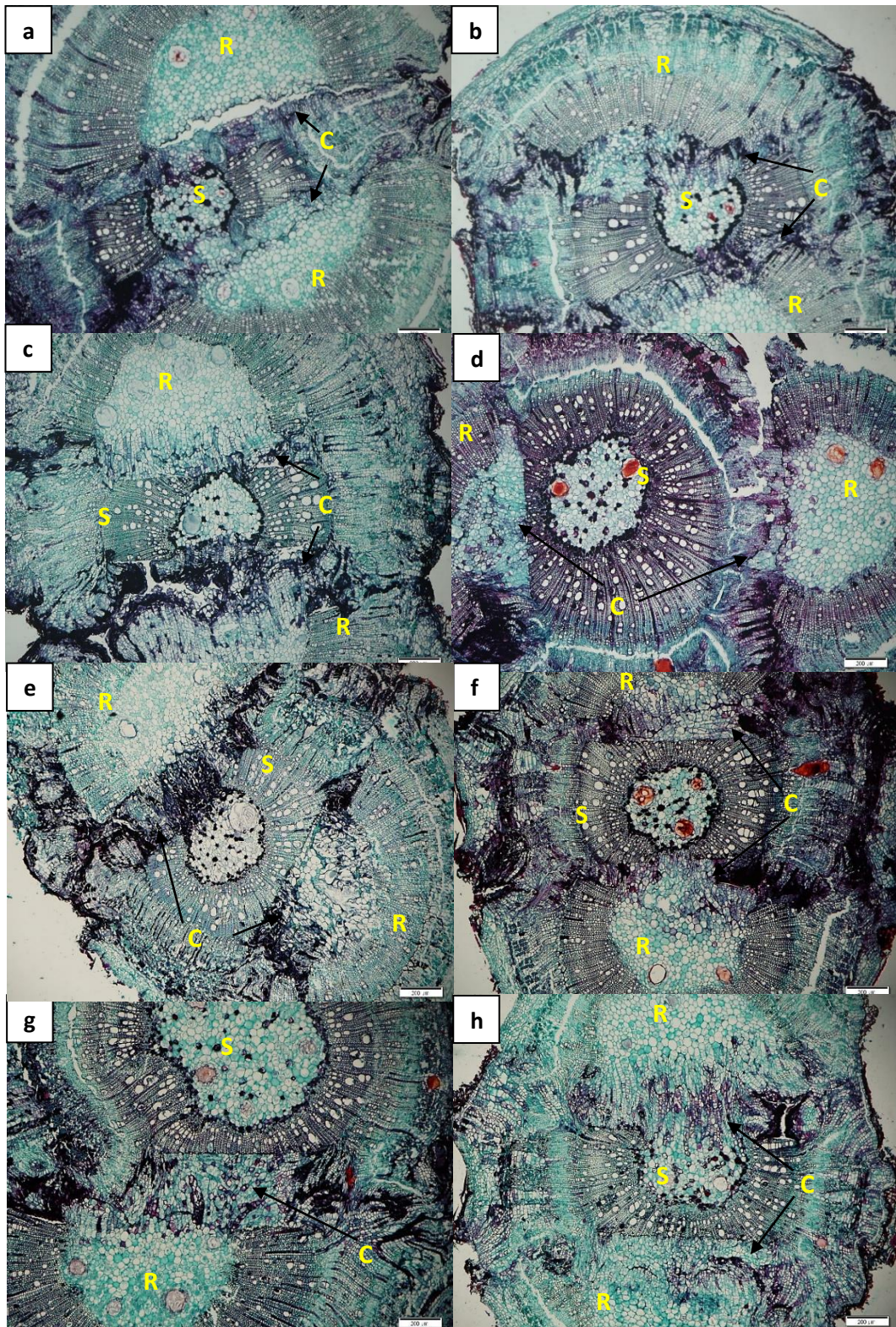
ความสำเร็จของการเย็บยอดสูงที่สุดเท่ากัน คือ 100% รองลงมาคือการใช้กิ่งพันธุ์ชะนี เย็บยอดบนต้นต่อชะนี และต้นตอก คือ 96.67% และเปอร์เซ็นต์ความสำเร็จของการเย็บยอดจะน้อยที่สุดเมื่อใช้กิ่งพันธุ์ดีหอมทองเย็บยอดบนต้นต่อต้นเขียว (76.92%) ซึ่งผลการทดลองดังกล่าว ชี้ให้เห็นว่าการเย็บยอดแบบ heterograft และ homograft ไม่มีความแตกต่างกันจากการทดลองครั้งนี้ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์ความสำเร็จของการเย็บยอดทุเรียนที่อายุ 28 วันภายหลังการเย็บยอด

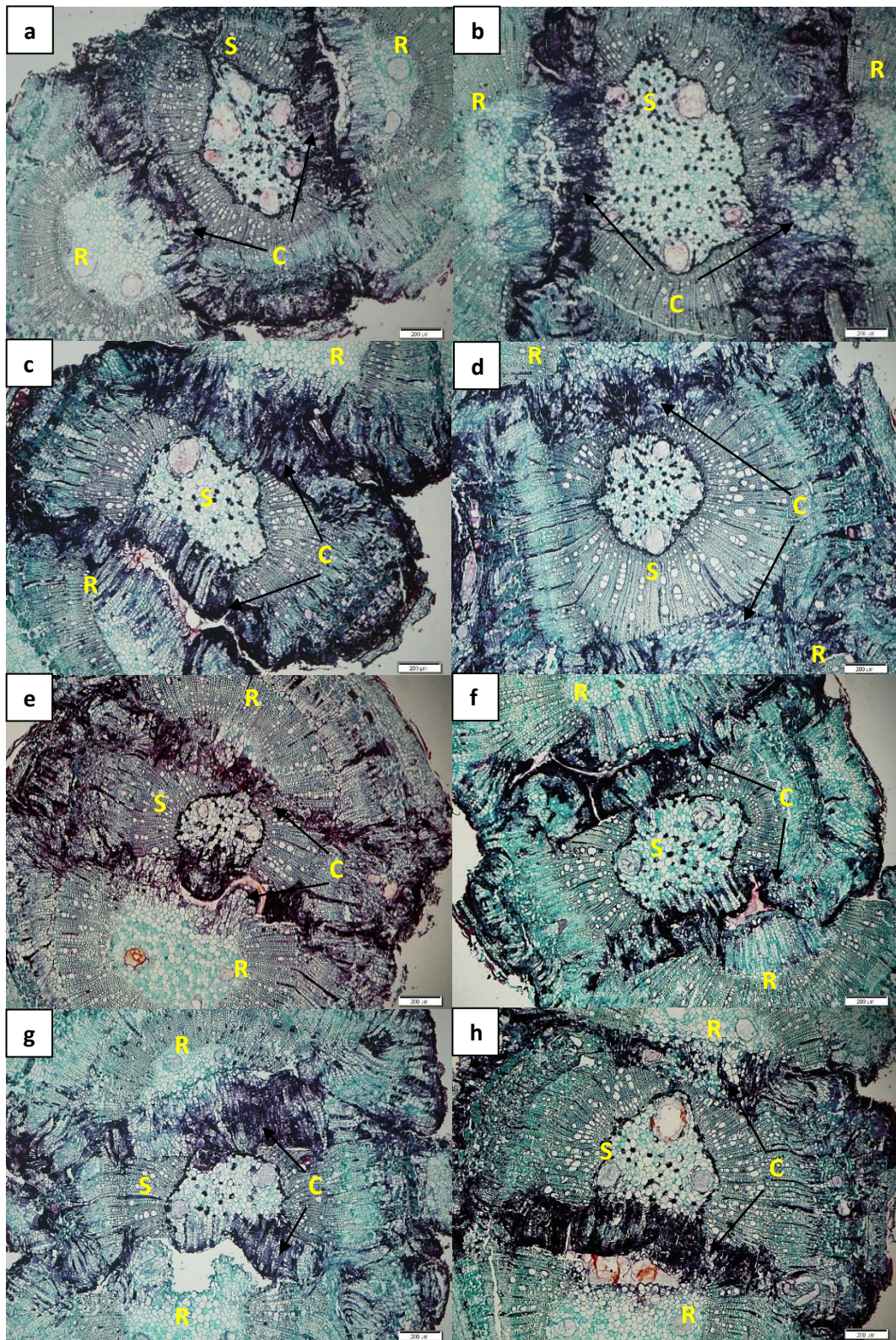
ต้นต่อ/กิ่งพันธุ์ดี	ความสำเร็จในการเย็บยอด (%)
หอมทอง/หอมทอง	80
หอมทอง/ชะนี	90
ชะนี/หอมทอง	80
ชะนี/ชะนี	96.67
นก/หอมทอง	83.33
นก/ชะนี	96.67
ขมื่น/หอมทอง	83.33
ขมื่น/ชะนี	90
ท้ายเลี่ยม/หอมทอง	93.33
ท้ายเลี่ยม/ชะนี	100
ไอ้ส้ม/หอมทอง	86.67
ไอ้ส้ม/ชะนี	100
ลูกกลม/หอมทอง	80
ลูกกลม/ชะนี	100
ต้นเขียว/หอมทอง	76.92
ต้นเขียว/ชะนี	96.15

2. การศึกษาเนื้อเยื่อวิทยา

จากการศึกษาพัฒนาการของรอยต่อระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีในการเสียบยอด ทุเรียนสายพันธุ์ต่างๆ โดยการตัดตามขวางบริเวณรอยต่อ ที่อายุ 28 วันหลังการเสียบยอด พบว่า ในกลุ่มเสียบยอดหอมทองบนต้นตอชะนี (ภาพที่ 4b) หอมทองบนต้นตอขมมัน (ภาพที่ 4d) หอมทองบนต้นตอท้ายเลี่ยม (ภาพที่ 4e) หอมทองบนต้นตอไอ้ส้ม (ภาพที่ 4f) หอมทองบนต้นตอลูกกลม (ภาพที่ 4g) และชะนีบนต้นตอนก (ภาพที่ 5c) มีการพัฒนาของเนื้อเยื่อแคลลัสตรงบริเวณรอยต่อระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีในปริมาณมาก และแทรกเข้าไปในช่องว่างของบาดแผลเกิดเป็นสะพานแคลลัสทำหน้าที่เชื่อมทั้งสองส่วนเข้าด้วยกันอย่างเห็นได้ชัดเจน เนื้อเยื่อแคลลัสถูกสร้างทั้งจากต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี ซึ่งส่วนใหญ่แคลลัสจะเกิดจากกิ่งพันธุ์ดี โดยเนื้อเยื่อแคลลัสบริเวณที่อยู่ใกล้ท่อน้ำ (xylem) ของต้นตอและท่อน้ำของกิ่งพันธุ์ดีเริ่มมีการพัฒนาไปเป็นแคมเบียมแบ่งเซลล์ให้เนื้อเยื่อท่อน้ำใหม่ แต่การพัฒนาท่อน้ำใหม่บริเวณนี้ยังไม่สมบูรณ์ โดยการเสียบยอดระหว่างกิ่งพันธุ์ชะนีบนต้นตอทุเรียนสายพันธุ์ต่าง ๆ จะมีการพัฒนาของแคลลัสที่มากกว่าการเสียบยอดกิ่งพันธุ์ดีหอมทองกับต้นตอทุเรียนสายพันธุ์ต่าง ๆ และมีการเจริญของเนื้อเยื่อแคลลัสแทรกเข้าไปจนเต็มช่องว่างของบาดแผล แต่ในกลุ่มเสียบยอดหอมทองบนต้นตอหอมทอง (ภาพที่ 4a) หอมทองบนต้นตอนก (ภาพที่ 4c) หอมทองบนต้นตอลูกเขียว (ภาพที่ 4h) ชะนีบนต้นตอหอมทอง (ภาพที่ 5a) ชะนีบนต้นตอชะนี (ภาพที่ 5b) ชะนีบนต้นตอขมมัน (ภาพที่ 5d) ชะนีบนต้นตอท้ายเลี่ยม (ภาพที่ 5e) ชะนีบนต้นตอไอ้ส้ม (ภาพที่ 5f) ชะนีบนต้นตอลูกกลม (ภาพที่ 5g) และชะนีบนต้นตอลูกเขียว (ภาพที่ 5h) ยังคงปรากฏช่องว่างระหว่างรอยต่อของต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี แสดงว่าการพัฒนาของเนื้อเยื่อแคลลัสที่ระยะ 28 วันหลังการเสียบยอดยังไม่สมบูรณ์

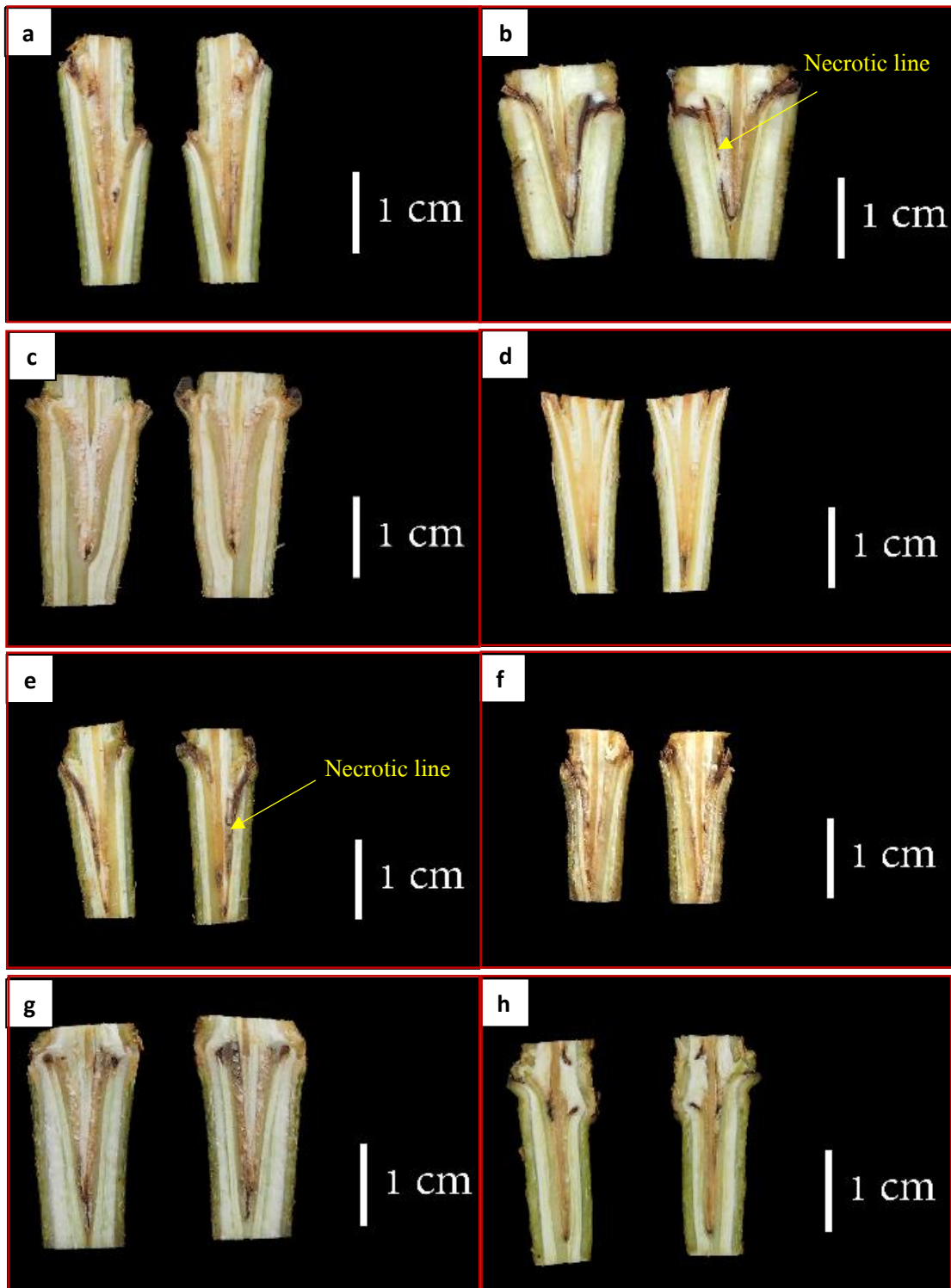


ภาพที่ 4 พัฒนาการของรอยต่อระหว่างกิ่งพันธุ์ดีหมอนทองบนต้นต่อหมอนทอง (a) ต้นต่อชะนี (b) ต้นตอ
 นก (c) ต้นต่อขมิ้น (d) ต้นต่อท้ายเลี่ยม (e) ต้นต่อไอ้ส้ม (f) ต้นตอลูกกลม (g) และต้นตอดันเจียว (h) ที่อายุ
 28 วันหลังการเสียบยอด โดย R: rootstock, S: Scion, C: Callus

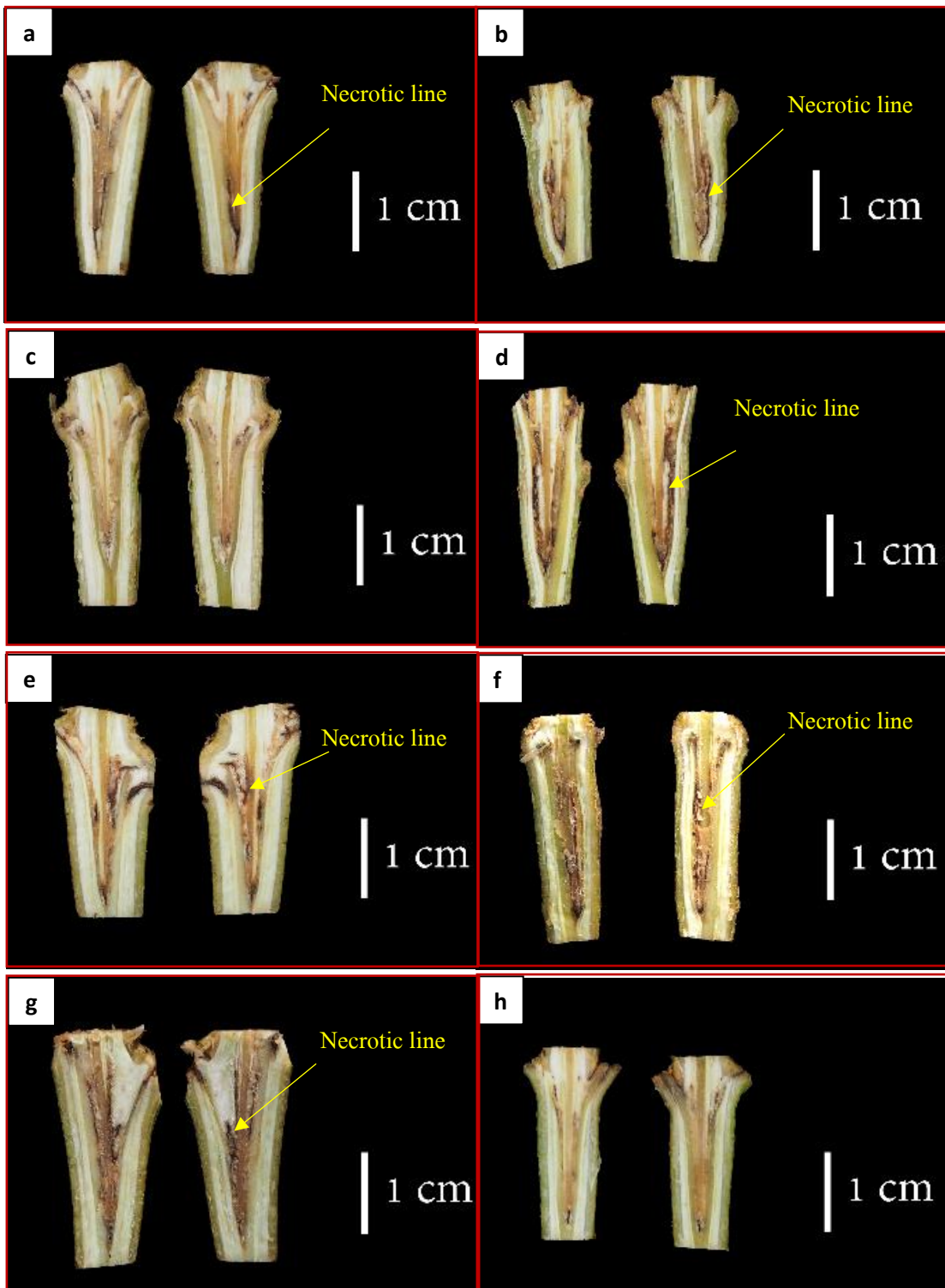


ภาพที่ 5 พัฒนาการของรอยต่อระหว่างกิ่งพันธุ์ดิชะนีบนต้นตอหมอนทอง (a) ต้นตอชะนี (b) ต้นตอнок (c) ต้นตอขมิ้น (d) ต้นตอท้ายเลี่ยม (e) ต้นตอไอ้ส้ม (f) ต้นตอลูกกลม (g) และต้นตอลูกเขียว (h) ที่อายุ 28 วันหลังการเสียบยอด โดย R: rootstock, S: Scion, C: Callus

และจากการศึกษาพัฒนาการของรอยต่อระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีในการเสียบยอดทุเรียนสายพันธุ์ต่าง ๆ โดยการตัดตามยาว ที่อายุ 12 เดือนหลังการเสียบยอด พบว่า ในกลุ่มเสียบยอดหอมทองบนต้นตอหอมทอง (ภาพที่ 6a) หอมทองบนต้นตอนก (ภาพที่ 6c) หอมทองบนต้นตอขมมัน (ภาพที่ 6d) หอมทองบนต้นตอไอ้ส้ม (ภาพที่ 6f) หอมทองบนต้นตอลูกกลม (ภาพที่ 6g) หอมทองบนต้นตอลูกเขียว (ภาพที่ 6h) ชะนิบนต้นตอนก (ภาพที่ 7c) และชะนิบนต้นตอลูกเขียว (ภาพที่ 7h) มีการพัฒนาของเนื้อเยื่อแคลลัสตรงบริเวณรอยต่อระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีอย่างสมบูรณ์ ต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีมีการเชื่อมติดกันแน่น ไม่เกิดช่องว่างระหว่างรอยต่อ มีการพัฒนาของเนื้อเยื่อแคมเบียมไปเป็นท่อน้ำและท่ออาหารได้อย่างสมบูรณ์ ส่งผลให้ต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีมีการเจริญเติบโตที่ดีและมีขนาดใกล้เคียงกัน แต่ในกลุ่มเสียบยอดหอมทองบนต้นตอชะนิ (ภาพที่ 6b) หอมทองบนต้นตอท้ายเลี่ยม (ภาพที่ 6e) ชะนิบนต้นตอหอมทอง (ภาพที่ 7a) ชะนิบนต้นตอชะนิ (ภาพที่ 7b) ชะนิบนต้นตอขมมัน (ภาพที่ 7d) ชะนิบนต้นตอท้ายเลี่ยม (ภาพที่ 7e) ชะนิบนต้นตอไอ้ส้ม (ภาพที่ 7f) และชะนิบนต้นตอลูกกลม (ภาพที่ 7g) พบว่าการพัฒนาของเนื้อเยื่อแคลลัสบริเวณรอยต่อระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดียังคงปรากฏช่องว่างและเกิดแถบของเนื้อเยื่อสีน้ำตาลถึงสีน้ำตาลเข้มเป็นจำนวนมาก ที่เรียกว่า microtic line เพื่อรักษาบาดแผล ส่วนมากจะหายไปเมื่อเกิดการเชื่อมต่อกันดีแล้วหรือยังอยู่ในช่องว่างระหว่างเซลล์ได้ ซึ่งอาจจะไปยับยั้งการสร้างท่อน้ำและท่ออาหาร ทำให้ต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีมีการส่งถ่ายน้ำและอาหารไม่ดี ส่งผลทำให้มีการเจริญเติบโตที่ช้าและช่องว่างระหว่างรอยต่อนี้อาจทำให้ต้นทุเรียนตายได้ในภายหลัง



ภาพที่ 6 ภาพตัดตามยาวลำต้นบริเวณรอยต่อระหว่างกิ่งพันธุ์ดีหมอนทองบนต้นตอต่าง ได้แก่ ต้นตอหมอนทอง (a) ต้นตอชะนี (b) ต้นตอนก (c) ต้นตอขมิ้น (d) ต้นตอท้ายเลี่ยม (e) ต้นตอไอ้ส้ม (f) ต้นตอลูกกลม (g) และต้นตอลูกเขียว ที่อายุ 12 เดือนหลังการเสียบยอด



ภาพที่ 7 ภาพตัดตามยาวลำต้นบริเวณรอยต่อระหว่างกิ่งพันธุ์ดิชะนีบนต้นตอต่างๆ ได้แก่ ต้นตอหมอนทอง (a) ต้นตอชะนี (b) ต้นตอนก (c) ต้นตอขมื่น (d) ต้นตอท้ายเลี่ยม (e) ต้นตอไอ้ส้ม (f) ต้นตอลูกกลม (g) และต้นตอลูกเขียว (h) ที่อายุ 12 เดือนหลังการเสียบยอด

3. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกภายหลังการเสียบยอด ที่ระยะเวลาต่างๆ กัน

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการศึกษาเฉพาะปริมาณสารฟีนอลิกในคู่เสียบยอด 8 คู่ คือ หมอนทอง/หมอนทอง หมอนทอง/ชะนี ชะนี/หมอนทอง ชะนี/ชะนี นก/หมอนทอง นก/ชะนี ขมื่น/หมอนทอง และขมื่น/ชะนี ผลการศึกษามีดังนี้

3.1 การสะสมสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

จากการวิเคราะห์ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิก ภายหลังจากการเสียบยอด ที่ระยะ 0, 7, 21 และ 45 วัน ของต้นต่อทุเรียนพันธุ์หมอนทอง ชะนี นก และขมื่น ที่เสียบยอดด้วยกิ่งพันธุ์ดีหมอนทองและชะนี พบว่าปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกในต้นต่อที่ไม่ได้มีการเสียบยอด (0 วันหลังการเสียบยอด) จะมีปริมาณน้อยเมื่อเทียบกับต้นต่อที่มีการเสียบยอด ต้นต่อทุเรียนพันธุ์ขมื่นจะมีสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด (771.60 มก./ก.) ในขณะที่ต้นต่อชะนีมีปริมาณสารฟีนอลิกน้อยที่สุด (445.51 มก./ก.) ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับต้นต่อพันธุ์หมอนทอง ชะนี และนก ส่วนที่ระยะ 7 วัน ต้นต่อส่วนใหญ่มีแนวโน้มของการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุดที่ระยะ 21 วัน หลังจากนั้นที่ระยะ 45 วัน พบว่าปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกในต้นต่อทั้งหมดจะลดลง

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารฟีนอลิก ณ ตำแหน่งต่างๆ คือ บริเวณรอยต่อบนและล่างรอยต่อ พบปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกที่บริเวณรอยต่อมากที่สุด รองลงมาคือบริเวณส่วนบนรอยต่อ และบริเวณส่วนล่างรอยต่อ ตามลำดับ

ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกบริเวณส่วนบนรอยต่อ พบมีความแตกต่างทางสถิติในแต่ละคู่เสียบยอดทั้งที่ระยะ 7, 21 และ 45 วัน โดย ที่ระยะ 7 วัน ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุดในต้นต่อทุเรียนพื้นบ้านขมื่นที่เสียบยอดด้วยกิ่งพันธุ์ชะนี ที่ระยะ 21 วัน ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุดในต้นต่อทุเรียนพื้นบ้านขมื่นที่เสียบยอดด้วยพันธุ์หมอนทองและชะนี และที่ระยะ 45 วัน ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกพบสูงที่สุดในต้นต่อทุเรียนนกที่เสียบยอดด้วยกิ่งพันธุ์ชะนี โดยในระยะเวลาดังกล่าวพบว่าปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกจะค่อยๆ ลดลง เมื่อเทียบกับที่ระยะ 7 และ 21 วัน

ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกบริเวณส่วนรอยต่อ พบมีความแตกต่างทางสถิติในแต่ละคู่เสียบยอดทั้งที่ระยะ 7, 21 และ 45 วัน โดย ที่ระยะ 7 วัน ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุดในต้นต่อทุเรียนพันธุ์หมอนทองที่เสียบยอดด้วยกิ่งพันธุ์ชะนี ที่ระยะ 21 วัน ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุดในต้นต่อทุเรียนพื้นบ้านขมื่นที่เสียบยอดด้วยกิ่ง

พันธุ์ชะนี และที่ระยะ 45 วัน ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุดในต้นต่อทุเรียนพันธุ์ชะนีที่เลี้ยงขอดด้วยกิ่งพันธุ์ชะนี

ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกบริเวณส่วนล่างรอยต่อ พบมีความแตกต่างทางสถิติระหว่างคู่เลี้ยงขอดที่ระยะ 7 และ 21 วัน โดย ที่ระยะ 7 วัน มีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุดในต้นต่อทุเรียนพื้นบ้านขมื่น และต้นต่อทุเรียนนกที่เลี้ยงขอดด้วยกิ่งพันธุ์ชะนี ที่ระยะ 21 วัน ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุดในต้นต่อทุเรียนพื้นบ้านขมื่นที่เลี้ยงขอดด้วยกิ่งพันธุ์ชะนี ส่วนที่ระยะ 45 วัน พบว่า ในแต่ละคู่เลี้ยงขอดมีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกจะลดลง แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างคู่เลี้ยงขอด (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของต้นตอกก่อนเสียบยอด (ungrafted) บริเวณส่วนบน ส่วนล่าง และบริเวณรอยต่อ ภายหลังจากเสียบยอดที่ระยะเวลา 7, 21 และ 45 วัน

Ungrafted	Total phenolic compounds concentration (mg g ⁻¹ of fresh weight)	Combination (Rootstocks/Scions)	Total phenolic compounds concentration (mg g ⁻¹ of fresh weight)								
			7 DAG			21 DAG			45 DAG		
			Above graft union	At graft union	Below graft union	Above graft union	At graft union	Below graft union	Above graft union	At graft union	Below graft union
Monthong	678.63ab	Monthong/Monthong	908.90abc	770.17b	532.75de	775.41ab	1096.73abc	765.88ab	374.00b	532.75b	345.39a
		Monthong/Chanee	1056.68ab	1211.15a	687.69b	798.77ab	850.73bc	742.04ab	519.88b	659.56ab	392.11a
Chanee	445.51b	Chanee/Monthong	891.26abc	793.53b	650.03bc	677.20b	998.05abc	747.76ab	472.21b	527.03b	404.99a
		Chanee/Chanee	714.86bc	704.38b	475.54e	566.12bc	1031.42abc	597.59bc	522.74b	792.57a	437.88a
Khamin	771.60a	Khamin/Monthong	686.26c	786.37b	579.95cd	921.77a	1206.38ab	590.44bc	488.42b	611.89ab	414.04a
		Khamin/Chanee	1117.23a	945.60ab	932.26a	987.56a	1460.48a	857.89a	450.28b	665.28ab	427.39a
Nok	659.56ab	Nok/Monthong	779.70abc	676.73b	688.17b	418.34c	676.73c	458.86c	492.23b	660.52ab	428.82a
		Nok/Chanee	695.80c	641.92b	892.21a	637.16bc	725.35bc	689.60abc	746.81a	710.10ab	449.32a
F-test	*	F-test	**	**	*	**	**	*	**	*	ns
c.v. (%)	23.23	c.v. (%)	15.62	16.62	21.28	12.50	18.35	18.57	16.22	15.50	18.40

หมายเหตุ : * มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ, ** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง, ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P \leq 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

3.2 การสะสมสารลิกนินภายหลังการเสียบยอด

จากการประเมินปริมาณของสารลิกนิน ภายหลังจากการเสียบยอดที่ระยะ 0, 7, 21 และ 45 วัน ของต้นตอทุเรียนพันธุ์หมอนทอง ชะนี นก และขมื่น ที่เสียบยอดด้วยกิ่งหมอนทอง และชะนี พบว่า ในทุกคู่เสียบยอดมีปริมาณของสารลิกนินที่บริเวณส่วนบนรอยต่อสูงที่สุด รองลงมาคือบริเวณรอยต่อ และบริเวณส่วนล่างรอยต่อ ตามลำดับ โดยปริมาณของสารลิกนินมีน้อย ในทุกต้นตอที่ยังไม่ได้เสียบยอด (0 วันหลังการเสียบยอด) และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนที่ระยะ 7 วัน และ 21 วัน ปริมาณของสารลิกนินจะค่อยๆ เพิ่มขึ้น และเพิ่มมากที่สุด ที่ระยะ 45 วัน หลังการเสียบยอด โดยเฉพาะบริเวณส่วนบนรอยต่อ

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณของสารลิกนิน ณ ตำแหน่ง บริเวณรอยต่อ บนและล่างรอยต่อ พบว่าปริมาณลิกนินพบมากที่สุดบริเวณส่วนบนรอยต่อ ซึ่งเป็นส่วนของกิ่งพันธุ์ดีไม่ว่าจะเป็นหมอนทองหรือชะนี

ปริมาณของสารลิกนินที่เกิดขึ้นบริเวณส่วนบนรอยต่อ พบมีความแตกต่างทางสถิติระหว่างคู่เสียบยอด โดยที่ระยะ 7 วัน มีปริมาณของสารลิกนินสูงที่สุดในต้นตอทุเรียนขมื่น และนกที่เสียบยอดด้วยกิ่งหมอนทอง ในต้นตอทุเรียนพันธุ์ชะนี ขมื่น และนกที่เสียบยอดด้วยกิ่งพันธุ์ชะนี ที่ระยะ 21 วัน ปริมาณของสารลิกนินสูงที่สุดในต้นตอทุเรียนนกที่เสียบยอดด้วยกิ่งพันธุ์หมอนทอง และในต้นตอทุเรียนพันธุ์หมอนทอง ชะนี นก และขมื่นที่เสียบยอดด้วยกิ่งพันธุ์ชะนี และที่ระยะ 45 วัน ปริมาณของสารลิกนินสูงที่สุดในต้นตอทุเรียนพันธุ์ขมื่นทั้งที่เสียบยอดด้วยกิ่งพันธุ์หมอนทอง และชะนี

ปริมาณของสารลิกนินที่เกิดขึ้นบริเวณส่วนรอยต่อ พบมีความแตกต่างทางสถิติระหว่างคู่เสียบยอดที่ระยะ 21 และ 45 วัน โดย ที่ระยะ 7 วัน มีปริมาณของสารลิกนินสูงที่สุดในต้นตอทุเรียนพื้นบ้านขมื่นที่เสียบยอดด้วยกิ่งพันธุ์ชะนี แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับทรีทเมนต์อื่น ส่วนที่ระยะ 21 วัน ปริมาณของสารลิกนินสูงที่สุดในต้นตอทุเรียน นกที่เสียบยอดด้วยกิ่งพันธุ์หมอนทอง และที่ระยะ 45 วัน ปริมาณของสารลิกนินสูงที่สุดในต้นตอทุเรียนพื้นบ้านขมื่นที่เสียบยอดด้วยกิ่งพันธุ์ชะนี

ปริมาณของสารลิกนินที่เกิดขึ้นบริเวณส่วนล่างรอยต่อ พบมีความแตกต่างทางสถิติระหว่างคู่เสียบยอดทุกระยะที่มีการวิเคราะห์ข้อมูล โดย ที่ระยะ 7 วัน มีปริมาณ

ของสารลิกนินสูงที่สุดในต้นตอทุเรียนพื้นบ้านขมื่นที่เสียบยอดด้วยกิ่งพันธุ์หมอนทอง ส่วนที่
ระยะ 21 วัน ปริมาณของสารลิกนินสูงที่สุดในต้นตอทุเรียนนกที่เสียบยอดด้วยกิ่งพันธุ์ชะนี และที่
ระยะ 45 วัน ปริมาณของสารลิกนินสูงที่สุดในต้นตอทุเรียนพื้นบ้านขมื่นที่เสียบยอดด้วยกิ่งพันธุ์
ชะนี

ตารางที่ 5 ปริมาณของสารลิกนินของต้นตอก่อนเสียบยอด (ungrafted) บริเวณส่วนบน ส่วนล่าง และบริเวณรอยต่อ ภายหลังจากการเสียบยอดที่ระยะเวลา 7, 21 และ 45 วัน

Ungrafted	Lignin content (mg g ⁻¹ cell wall)	Combination (Rootstocks/Scions)	Lignin content (mg g ⁻¹ cell wall)								
			7 DAG			21 DAG			45 DAG		
			Above	At	Below	Above	At	Below	Above	At	Below
			graft union	graft union	graft union	graft union	graft union	graft union	graft union	graft union	graft union
Monthong	0.72a	Monthong/Monthong	0.71b	0.66a	0.44b	1.58b	0.79c	0.68d	1.92c	1.46b	0.98c
		Monthong/Chanee	1.02b	0.65a	0.51b	2.26a	1.32ab	0.75d	2.27bc	1.37b	0.90c
Chanee	0.62a	Chanee/Monthong	0.86b	0.71a	0.52b	2.14ab	1.16bc	1.10c	2.24bc	1.75ab	1.20bc
		Chanee/Chanee	1.76a	0.90a	0.79ab	2.60a	1.22b	1.18bc	2.58abc	1.42b	1.33abc
Khamin	0.63a	Khamin/Monthong	1.69a	0.94a	0.95a	2.17ab	1.47ab	1.45abc	3.18a	1.98ab	1.52ab
		Khamin/Chanee	1.41a	1.19a	0.78ab	2.64a	1.33ab	1.53ab	3.38a	2.19a	1.74a
Nok	0.90a	Nok/Monthong	1.61a	1.12a	0.75ab	2.56a	1.66a	1.27bc	2.74abc	1.42b	1.07bc
		Nok/Chanee	1.61a	1.07a	0.67ab	2.63a	1.58ab	1.70a	2.92ab	1.38b	1.27abc
F-test	ns	F-test	**	ns	**	*	**	**	**	*	*
c.v. (%)	26.94	c.v. (%)	10.31	25.57	21.18	14.35	12.55	11.53	13.41	19.84	20.61

หมายเหตุ * มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ, ** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง, ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P \leq 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

4. ผลการศึกษาแบบแผนไอโซไซม์

การศึกษาแบบแผนไอโซไซม์ของส่วนเปลือกทั้ง 3 ตำแหน่ง คือ บริเวณส่วนบน รอยต่อ บริเวณรอยต่อ และบริเวณส่วนล่างรอยต่อ โดยการทำให้โพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโตรโฟรีซิส และย้อมสีไอโซไซม์เพอร์ออกซิเดส ทำการนับจำนวนแถบที่ปรากฏ แล้ววัดระยะทางการเคลื่อนที่ของแถบไอโซไซม์ เพื่อหาค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ (R_m) ของแถบไอโซไซม์ที่ได้จากส่วนเปลือกของทั้ง 3 ตำแหน่ง โดยได้ผลการศึกษาดังนี้

จากการศึกษาแบบแผนไอโซไซม์เพอร์ออกซิเดสโดยการนับจำนวนแถบและค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของไอโซไซม์เพอร์ออกซิเดสตรงบริเวณส่วนบนรอยต่อ พบว่ามีการแสดงแบบแผนที่ปรากฏดังแสดงในตารางที่ 6 พบจำนวนแถบของเอ็นไซม์จำนวน 6 แถบ เมื่อนำมาวัดอัตราการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ (R_m) ของแถบจะได้ตำแหน่งของแถบที่ R_m ดังนี้ 0.24, 0.32, 0.44, 0.47, 0.48 และ 0.50 โดยแต่ละคู่เสียบยอดมีจำนวนแถบ 5-6 แถบ

เมื่อทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบตำแหน่งของแถบแบบแผนไอโซไซม์ที่ปรากฏ โดยมีตำแหน่งที่เหมือนกันของแถบ คือ ตำแหน่งค่า R_m เท่ากับ 0.24, 0.32, 0.44, 0.48 และ 0.50 ปรากฏแถบที่เหมือนกันทุกคู่เสียบยอด และตำแหน่งที่คล้ายคลึงกันน้อยที่สุดคือตำแหน่งค่า R_m เท่ากับ 0.47 โดยมีแถบตรงกัน 8 คู่เสียบยอด

ตารางที่ 6 จำนวนแถบและค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของไอโซไซม์เพอร์ออกซิเดสบริเวณเนื้อเยื่อส่วนบนรอยต่อของกิ่งทุเรียนพันธุ์การคำหมอนทอง และชะนี ที่เสียบยอดบนต้นต่อทุเรียนสายพันธุ์ต่างๆ (1; หมอนทอง/ชะนี, 2; หมอนทอง/หมอนทอง, 3; ขม้น/ชะนี, 4; ขม้น/หมอนทอง, 5; ท้ายเลี่ยม/ชะนี, 6; ท้ายเลี่ยม/ชะนี, 7; ไอ้ส้ม/ชะนี, 8; ไอ้ส้ม/หมอนทอง, 9; ลูกกลม/ชะนี, 10; ลูกกลม/หมอนทอง, 11; ชะนี/ชะนี, 12; ชะนี/หมอนทอง, 13; นก/ชะนี, 14; นก/หมอนทอง, 15; ต้นเขียว/ชะนี และ 16; ต้นเขียว/หมอนทอง) ที่อายุ 12 เดือนหลังการเสียบยอด

No.	จำนวนแถบ	ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ (Rm)
1	5	0.24, 0.32, 0.44, 0.48, 0.50
2	6	0.24, 0.32, 0.44, 0.47, 0.48, 0.50
3	5	0.24, 0.32, 0.44, 0.48, 0.50
4	6	0.24, 0.32, 0.44, 0.47, 0.48, 0.50
5	5	0.24, 0.32, 0.44, 0.48, 0.50
6	6	0.24, 0.32, 0.44, 0.47, 0.48, 0.50
7	5	0.24, 0.32, 0.44, 0.48, 0.50
8	6	0.24, 0.32, 0.44, 0.47, 0.48, 0.50
9	5	0.24, 0.32, 0.44, 0.48, 0.50
10	6	0.24, 0.32, 0.44, 0.47, 0.48, 0.50
11	5	0.24, 0.32, 0.44, 0.48, 0.50
12	6	0.24, 0.32, 0.44, 0.47, 0.48, 0.50
13	5	0.24, 0.32, 0.44, 0.48, 0.50
14	6	0.24, 0.32, 0.44, 0.47, 0.48, 0.50
15	5	0.24, 0.32, 0.44, 0.48, 0.50
16	6	0.24, 0.32, 0.44, 0.47, 0.48, 0.50

จากการศึกษาแบบแผนไอโซไซม์เพอร์ออกซิเดสโดยการนับจำนวนแถบและค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของไอโซไซม์เพอร์ออกซิเดสตรงบริเวณรอยต่อ พบว่ามีการแสดงแบบแผนที่ปรากฏดังแสดงในตารางที่ 7 พบจำนวนแถบของเอ็นไซม์จำนวน 6 แถบ เมื่อนำมาวัดอัตราการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ (Rm) ของแถบจะได้ตำแหน่งของแถบที่ Rm ดังนี้ 0.24, 0.32, 0.44, 0.47, 0.48 และ 0.50 โดยแต่ละคู่เสียบยอดมีจำนวนแถบ 5-6 แถบ

เมื่อทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบตำแหน่งของแถบแบบแผน ไอโซไซม์ที่ปรากฏ โดยมีตำแหน่งที่เหมือนกันของแถบ คือ ตำแหน่งค่า Rm เท่ากับ 0.24, 0.32, 0.44, 0.48 และ 0.50 ปรากฏแถบที่เหมือนกันทุกคู่เสียขอด และตำแหน่งที่คล้ายคลึงกันน้อยที่สุดคือตำแหน่งค่า Rm เท่ากับ 0.47 โดยมีแถบตรงกัน ใน 7 คู่เสียขอด

ตารางที่ 7 จำนวนแถบและค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของไอโซไซม์เพอร์ออกซิเดสบริเวณเนื้อเยื่อ รอยต่อของกิ่งทุเรียนพันธุ์การค้าหมอนทอง และชะนี ที่เสียขอดบนต้นต่อทุเรียนสายพันธุ์ต่างๆ (1; หมอนทอง/ชะนี, 2; หมอนทอง/หมอนทอง, 3; ขมื่น/ชะนี, 4; ขมื่น/หมอนทอง, 5; ท้ายเลี่ยม/ชะนี, 6; ท้ายเลี่ยม/ชะนี, 7; ไอ้ส้ม/ชะนี, 8; ไอ้ส้ม/หมอนทอง, 9; ลูกกลม/ชะนี, 10; ลูกกลม/หมอนทอง, 11; ชะนี/ชะนี, 12; ชะนี/หมอนทอง, 13; นก/ชะนี, 14; นก/หมอนทอง, 15; ต้นเขียว/ชะนี และ 16; ต้นเขียว/หมอนทอง) ที่อายุ 12 เดือนหลังการเสียขอด

No.	จำนวนแถบ	ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ (Rm)
1	6	0.24, 0.32, 0.44, 0.47, 0.48, 0.50
2	6	0.24, 0.32, 0.44, 0.47, 0.48, 0.50
3	5	0.24, 0.32, 0.44, 0.48, 0.50
4	6	0.24, 0.32, 0.44, 0.47, 0.48, 0.50
5	5	0.24, 0.32, 0.44, 0.48, 0.50
6	6	0.24, 0.32, 0.44, 0.47, 0.48, 0.50
7	5	0.24, 0.32, 0.44, 0.48, 0.50
8	5	0.24, 0.32, 0.44, 0.48, 0.50
9	5	0.24, 0.32, 0.44, 0.48, 0.50
10	6	0.24, 0.32, 0.44, 0.47, 0.48, 0.50
11	5	0.24, 0.32, 0.44, 0.48, 0.50
12	6	0.24, 0.32, 0.44, 0.47, 0.48, 0.50
13	5	0.24, 0.32, 0.44, 0.48, 0.50
14	6	0.24, 0.32, 0.44, 0.47, 0.48, 0.50
15	5	0.24, 0.32, 0.44, 0.48, 0.50
16	5	0.24, 0.32, 0.44, 0.48, 0.50

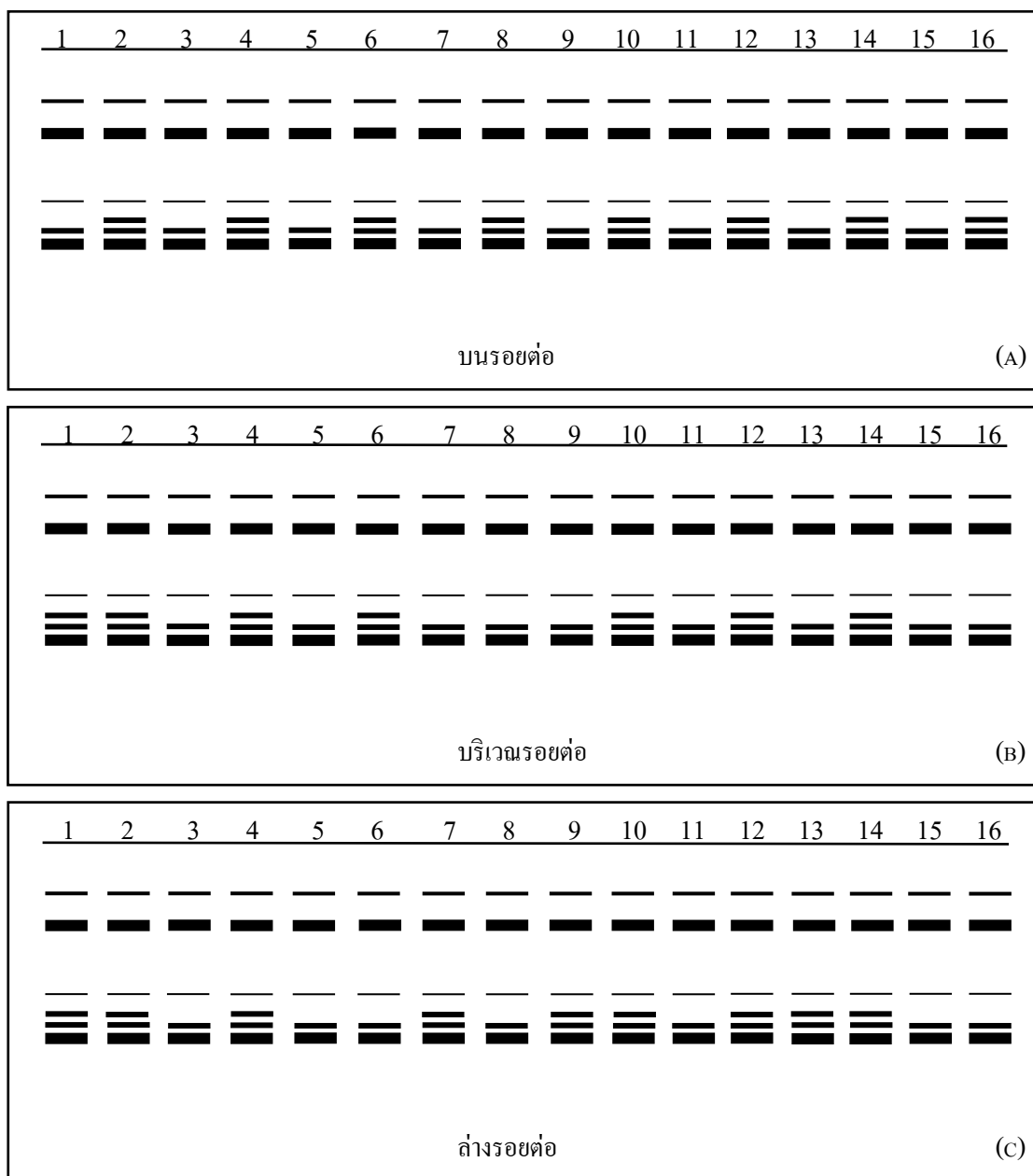
จากการศึกษาแบบแผนไอโซไซม์เพอร์ออกซิเดสโดยการนับจำนวนแถบและค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของไอโซไซม์เพอร์ออกซิเดสตรงบริเวณส่วนล่างรอยต่อ พบว่ามีการแสดงแบบแผนที่ปรากฏดังแสดงในตารางที่ 8 พบจำนวนแถบของเอ็นไซม์จำนวน 6 แถบ เมื่อนำมาวัดอัตราการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ (R_m) ของแถบจะได้ตำแหน่งของแถบที่ R_m ดังนี้ 0.24, 0.32, 0.44, 0.47, 0.48 และ 0.50 โดยแต่ละคู่เสียบยอดมีจำนวนแถบ 5-6 แถบ

เมื่อทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบตำแหน่งของแถบแบบแผนไอโซไซม์ที่ปรากฏ โดยมีตำแหน่งที่เหมือนกันของแถบ คือ ตำแหน่งค่า R_m เท่ากับ 0.24, 0.32, 0.44, 0.48 และ 0.50 ปรากฏแถบที่เหมือนกันทุกคู่เสียบยอด และตำแหน่งที่คล้ายคลึงกันน้อยที่สุดคือตำแหน่งค่า R_m เท่ากับ 0.47 โดยมีแถบตรงกัน 9 คู่เสียบยอด

ตารางที่ 8 จำนวนแถบและค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของไอโซไซม์เพอร์ออกซิเดสบริเวณเนื้อเยื่อส่วนล่างรอยต่อของกิ่งทุเรียนพันธุ์การกำหมอนทอง และชะนี ที่เสียบยอดบนต้นต่อทุเรียนสายพันธุ์ต่างๆ (1; หมอนทอง/ชะนี, 2; หมอนทอง/หมอนทอง, 3; ขมื่น/ชะนี, 4; ขมื่น/หมอนทอง, 5; ท้ายเลี่ยม/ชะนี, 6; ท้ายเลี่ยม/ชะนี, 7; ไอ้ส้ม/ชะนี, 8; ไอ้ส้ม/หมอนทอง, 9; ลูกกลม/ชะนี, 10; ลูกกลม/หมอนทอง, 11; ชะนี/ชะนี, 12; ชะนี/หมอนทอง, 13; นก/ชะนี, 14; นก/หมอนทอง, 15; ต้นเขียว/ชะนี และ 16; ต้นเขียว/หมอนทอง) ที่อายุ 12 เดือนหลังการเสียบยอด

No.	จำนวนแถบ	ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ (Rm)
1	6	0.24, 0.32, 0.44, 0.47, 0.48, 0.50
2	6	0.24, 0.32, 0.44, 0.47, 0.48, 0.50
3	5	0.24, 0.32, 0.44, 0.48, 0.50
4	6	0.24, 0.32, 0.44, 0.47, 0.48, 0.50
5	5	0.24, 0.32, 0.44, 0.48, 0.50
6	5	0.24, 0.32, 0.44, 0.48, 0.50
7	6	0.24, 0.32, 0.44, 0.47, 0.48, 0.50
8	5	0.24, 0.32, 0.44, 0.48, 0.50
9	6	0.24, 0.32, 0.44, 0.47, 0.48, 0.50
10	6	0.24, 0.32, 0.44, 0.47, 0.48, 0.50
11	5	0.24, 0.32, 0.44, 0.48, 0.50
12	6	0.24, 0.32, 0.44, 0.47, 0.48, 0.50
13	6	0.24, 0.32, 0.44, 0.47, 0.48, 0.50
14	6	0.24, 0.32, 0.44, 0.47, 0.48, 0.50
15	5	0.24, 0.32, 0.44, 0.48, 0.50
16	5	0.24, 0.32, 0.44, 0.48, 0.50

เมื่อทำการวิเคราะห์แถบไอโซไซม์เพอร์ออกซิเดสโดยการทำแผนภาพไซโมแกรมของเนื้อเยื่อทั้ง 3 ตำแหน่งคือ บริเวณส่วนบนรอยต่อ บริเวณรอยต่อ และบริเวณส่วนล่างรอยต่อพบว่า มี 9 คู่เสียบยอดที่มีรูปแบบของแถบไอโซไซม์เพอร์ออกซิเดสเหมือนกันในทั้ง 3 ตำแหน่งคือ คู่เสียบยอดหมอนทอง/หมอนทอง, ขมื่น/ชะนี, ขมื่น/หมอนทอง, ท้ายเลี่ยม/ชะนี, ลูกกลม/หมอนทอง, ชะนี/ชะนี, ชะนี/หมอนทอง, นก/หมอนทอง และต้นเขียว/ชะนี (ภาพที่ 8)



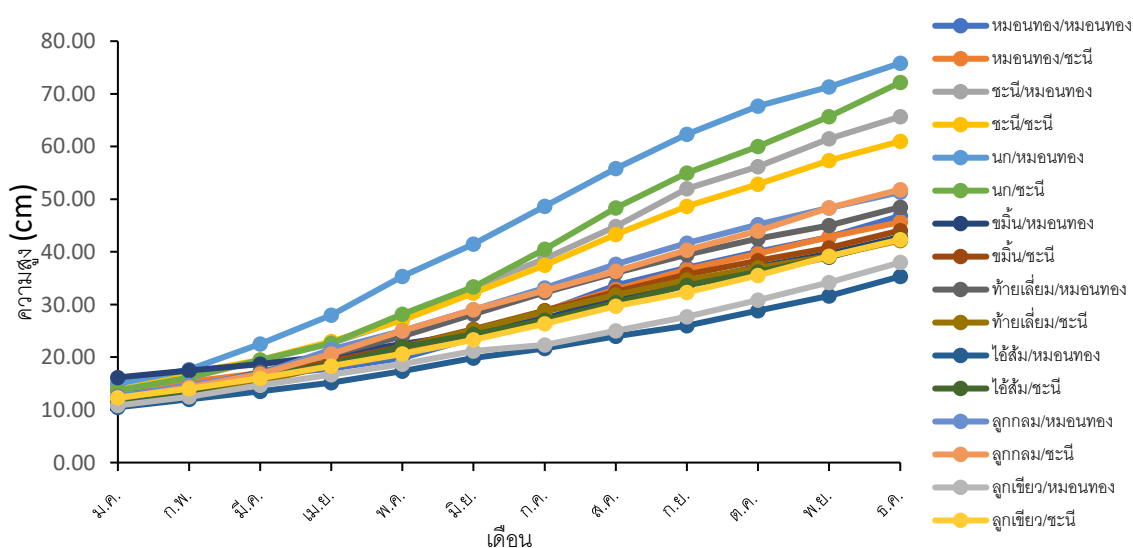
ภาพที่ 8 แผนภาพไซโมแกรมไอโซไซม์เพอร์ออกซิเดสจากเนื้อเยื่อเปลือกลำต้น บริเวณส่วนบน รอยต่อ (A) บริเวณรอยต่อ (B) และบริเวณส่วนล่างรอยต่อ (C) ของกิ่งทุเรียนพันธุ์การค้า หมอนทอง และชะนี ที่เสียบยอดบนต้นต่อทุเรียนสายพันธุ์ต่างๆ (แถบที่ 1; หมอนทอง/ชะนี, แถบที่ 2; หมอนทอง/หมอนทอง, แถบที่ 3; ขมื่น/ชะนี, แถบที่ 4; ขมื่น/หมอนทอง, แถบที่ 5; ท้ายเลี่ยม/ชะนี, แถบที่ 6; ท้ายเลี่ยม/หมอนทอง, แถบที่ 7; ไอ้ส้ม/ชะนี, แถบที่ 8; ไอ้ส้ม/หมอนทอง, แถบที่ 9; ลูกกลม/ชะนี, แถบที่ 10; ลูกกลม/หมอนทอง, แถบที่ 11; ชะนี/ชะนี, แถบที่ 12; ชะนี/หมอนทอง, แถบที่ 13; นก/ชะนี, แถบที่ 14; นก/หมอนทอง, แถบที่ 15; ต้นเขียว/ชะนี และแถบที่ 16; ต้นเขียว/หมอนทอง)

5. การเจริญเติบโตของต้นต่อทุเรียน และกิ่งพันธุ์ดีภายหลังการเสียบยอด

5.1 ความสูงของกิ่งพันธุ์ดี

ความสูงของกิ่งพันธุ์ดีหมอนทอง ที่ทำการเสียบยอดบนต้นต่อทุเรียนพันธุ์หมอนทอง (homograft) และที่ทำการเสียบยอดบนต้นต่อทุเรียนพื้นบ้านและทุเรียนนก พบว่า ส่วนใหญ่ความสูงเฉลี่ยของยอดพันธุ์ดีหมอนทองและชะนีเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง และหลังจากที่ต้นทุเรียนเจริญเติบโตเป็นเวลา 12 เดือน พบว่ากิ่งพันธุ์หมอนทองที่เสียบยอดบนต้นตอнок มีความสูงเฉลี่ยของยอดที่แตกใหม่สูงที่สุดเท่ากับ 75.83 เซนติเมตร รองลงมาคือ กิ่งพันธุ์หมอนทองที่เสียบยอดบนต้นต่อชะนี และกิ่งพันธุ์หมอนทองที่เสียบยอดบนต้นต่อพื้นบ้านลูกกลม มีความสูงเฉลี่ยของยอดที่แตกใหม่เท่ากับ 65.67 และ 51.33 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนกิ่งพันธุ์หมอนทองที่เสียบยอดบนต้นต่อทุเรียนพื้นบ้านไอ้ส้ม มีความสูงเฉลี่ยของยอดที่แตกใหม่น้อยที่สุดเท่ากับ 35.33 เซนติเมตร

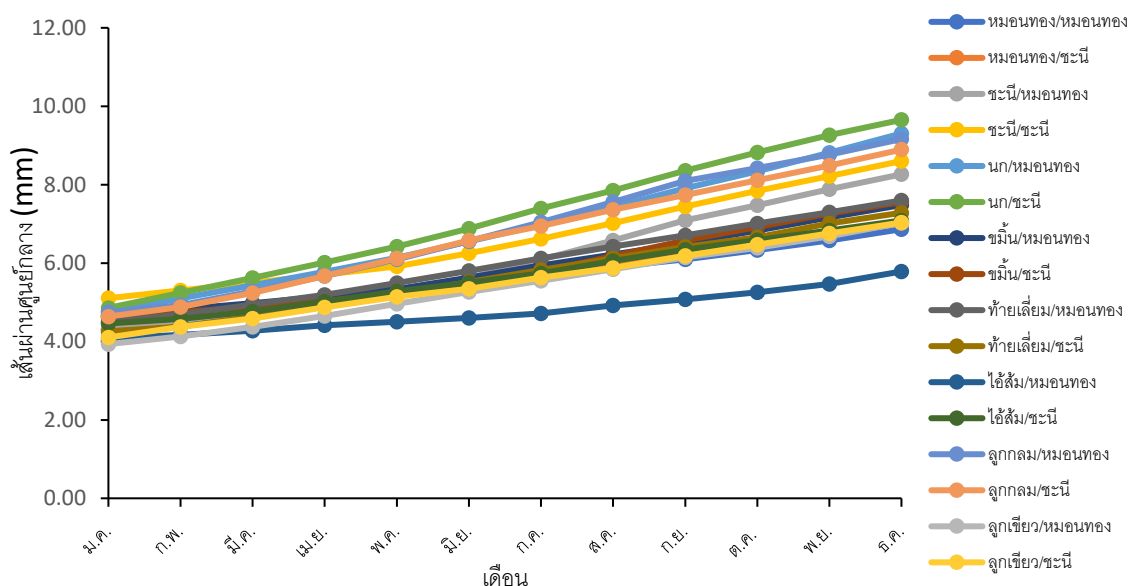
สำหรับยอดชะนีที่ทำการเสียบบนต้นต่อต่างๆ พบว่า ความสูงเฉลี่ยเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องในระยะ 12 เดือนหลังเสียบยอด กิ่งพันธุ์ชะนีที่เสียบยอดบนต้นตอнок มีความสูงเฉลี่ยของยอดที่แตกใหม่สูงที่สุดเท่ากับ 72.17 รองลงมาคือ กิ่งพันธุ์ชะนีที่เสียบยอดบนต้นต่อชะนี และกิ่งพันธุ์ชะนีที่เสียบยอดบนต้นต่อพื้นบ้านลูกกลม มีความสูงเฉลี่ยของยอดที่แตกใหม่เท่ากับ 61.00 และ 51.83 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนกิ่งพันธุ์ชะนีที่เสียบยอดบนต้นต่อทุเรียนพื้นบ้านท้ายเลี่ยม มีความสูงเฉลี่ยของยอดที่แตกใหม่น้อยที่สุดเท่ากับ 42.17 เซนติเมตร (ภาพที่ 9)



ภาพที่ 9 ค่าเฉลี่ยความสูงของกิ่งพันธุ์ดีหมอนทองและชะนีที่เสียบยอดบนต้นต่อทุเรียนสายพันธุ์ต่างๆ

5.2 เส้นผ่านศูนย์กลางของต้นตอ

ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของต้นตอทุเรียนสายพันธุ์ต่างๆ ที่เปรียบเทียบกับกิ่งพันธุ์หมอนทอง และชะนี พบว่า ต้นตอทุเรียนนกที่เปรียบเทียบกับกิ่งพันธุ์ชะนี และหมอนทอง มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของต้นตอเฉลี่ยสูงที่สุด 9.65 และ 9.31 มิลลิเมตร ตามลำดับ ตามด้วยต้นตอลูกกลมเปรียบเทียบกับกิ่งพันธุ์หมอนทอง และชะนี (9.16 และ 8.89 มิลลิเมตร ตามลำดับ) ส่วนต้นตอทุเรียนที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของต้นตอเฉลี่ยน้อยที่สุด คือ ต้นตอไอ้ส้มที่ทำการเปรียบเทียบกับกิ่งพันธุ์หมอนทอง (5.79 มิลลิเมตร) (ภาพที่ 10)

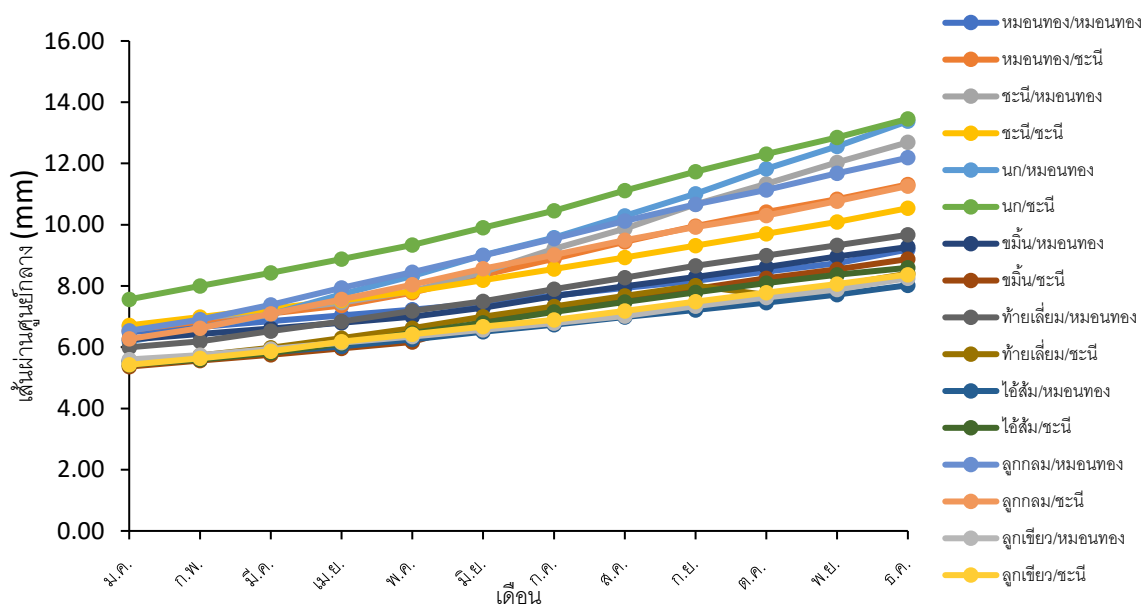


ภาพที่ 10 ค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของต้นตอทุเรียนพื้นบ้านพันธุ์ต่างๆ ที่เปรียบเทียบกับกิ่งพันธุ์ดีหมอนทองและชะนี

5.3 เส้นผ่านศูนย์กลางของรอยต่อ

ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของต้นตอทุเรียนสายพันธุ์ต่างๆ ที่เปรียบเทียบกับกิ่งพันธุ์หมอนทอง และชะนี พบว่า ต้นตอทุเรียนนกที่เปรียบเทียบกับกิ่งพันธุ์ชะนี และหมอนทอง มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของรอยต่อเฉลี่ยสูงที่สุด 13.46 และ 13.38 มิลลิเมตร ตามลำดับ ตามด้วย ต้นตอทุเรียนพันธุ์ชะนี และพันธุ์ลูกกลมที่เปรียบเทียบกับกิ่งพันธุ์หมอนทอง (12.69 และ 12.19 มิลลิเมตร

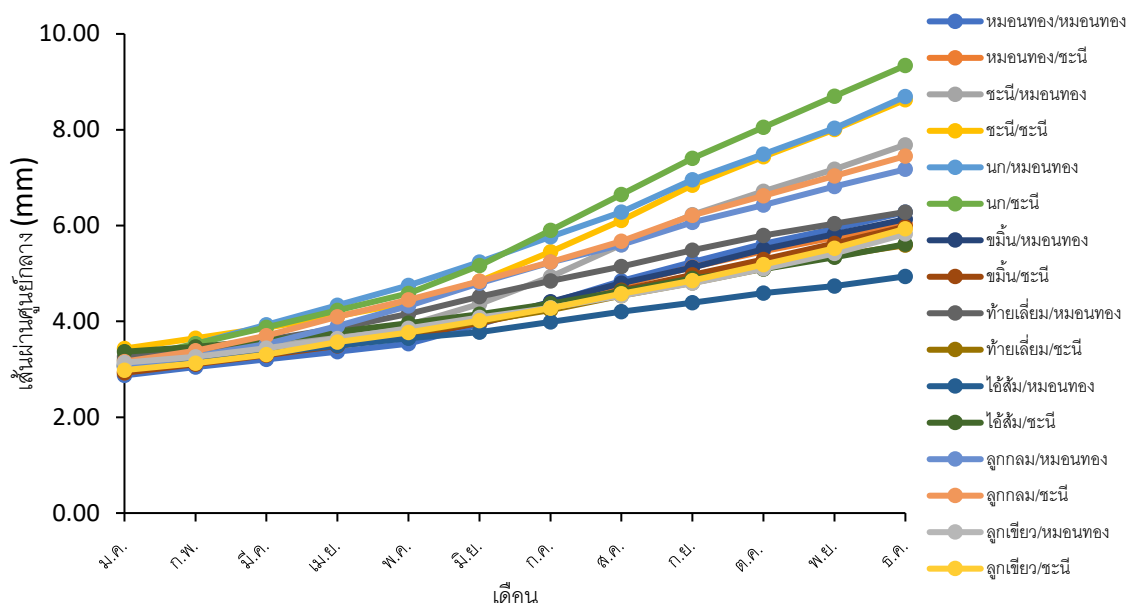
ตามลำดับ) ส่วนต้นตอทุเรียนที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของรอยต่อเฉลี่ยน้อยที่สุด คือ ต้นตอ ไร่ ส้มที่เทียบยอดกับกิ่งพันธุ์หมอนทอง (8.02 มิลลิเมตร) (ภาพที่ 11)



ภาพที่ 11 ค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของรอยต่อกิ่งพันธุ์ดีหมอนทองและชะนีที่เทียบบนต้นตอทุเรียนสายพันธุ์ต่างๆ

5.4 เส้นผ่านศูนย์กลางของกิ่งพันธุ์ดี

ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของกิ่งพันธุ์หมอนทอง และชะนี ที่เทียบยอดบนต้นตอทุเรียนสายพันธุ์ต่างๆ พบว่า กิ่งพันธุ์ชะนี และหมอนทองที่ทำการเทียบยอดบนต้นตอมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของกิ่งพันธุ์ดีเฉลี่ยสูงที่สุด 9.34 และ 8.69 มิลลิเมตร ตามลำดับ ตามด้วยกิ่งพันธุ์ชะนี และหมอนทองที่เทียบยอดบนต้นตอทุเรียนพันธุ์ชะนี (8.63 และ 7.69 มิลลิเมตร ตามลำดับ) ส่วนกิ่งพันธุ์ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยน้อยที่สุด คือกิ่งพันธุ์หมอนทองที่เทียบยอดบนต้นตอทุเรียน ไร่ส้ม (4.14 มิลลิเมตร) (ภาพที่ 12)



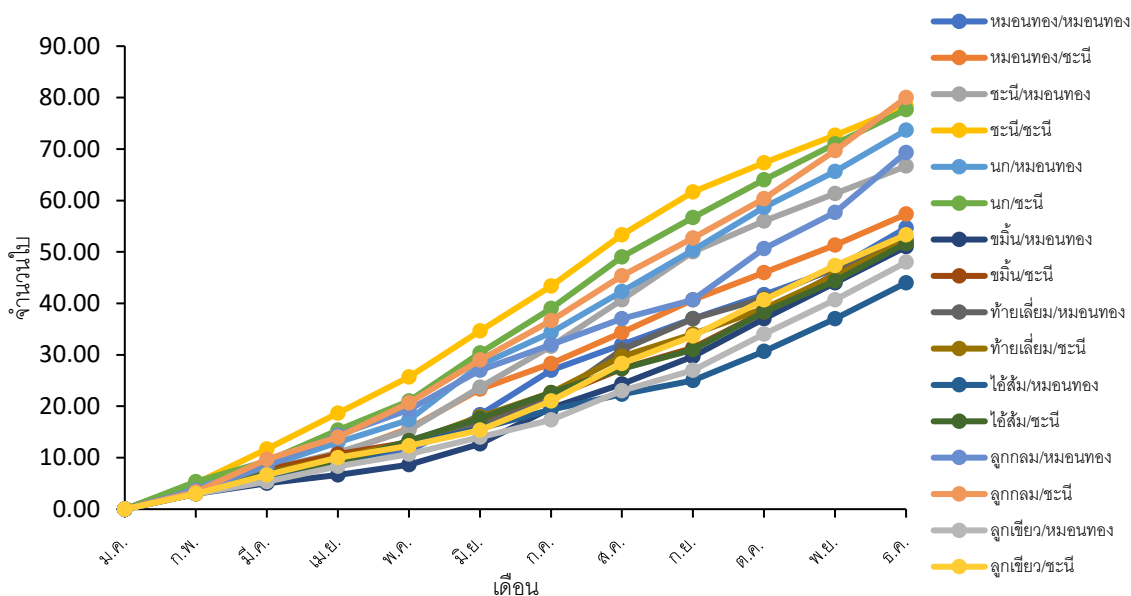
ภาพที่ 12 ค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของกิ่งพันธุ์ดีหมอนทองและชะนีที่เสียบบนต้นต่อทุเรียนสายพันธุ์ต่างๆ

5.5 จำนวนใบ

จำนวนใบของกิ่งพันธุ์ดีหมอนทอง ที่เสียบยอดบนต้นต่อทุเรียนพันธุ์หมอนทอง (homograft) และที่เสียบยอดบนต้นต่อทุเรียนสายพันธุ์ต่างๆ พบว่า จำนวนใบของกิ่งพันธุ์หมอนทองที่เสียบยอดบนต้นต่อทุเรียนสายพันธุ์ต่างๆ มีการเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยในช่วงเดือนที่ 12 พบว่ากิ่งพันธุ์หมอนทองที่เสียบยอดบนต้นตอนอก มีจำนวนใบเฉลี่ยสูงที่สุดเท่ากับ 73.67 ใบ รองลงมาคือ กิ่งพันธุ์หมอนทองที่เสียบยอดบนต้นต่อทุเรียนพื้นบ้านลูกกลม และต้นต่อทุเรียนพันธุ์ชะนี มีจำนวนใบเฉลี่ยเท่ากับ 69.33 และ 66.67 ใบ ตามลำดับ ส่วนกิ่งพันธุ์หมอนทองที่เสียบยอดบนต้นต่อพื้นบ้านไอ้ส้ม มีจำนวนใบเฉลี่ยน้อยที่สุดเท่ากับ 44.00 ใบ

จำนวนใบของกิ่งพันธุ์ดีชะนี ที่เสียบยอดบนต้นต่อทุเรียนพันธุ์ชะนี (homograft) และที่เสียบยอดบนต้นต่อทุเรียนพื้นบ้านสายพันธุ์ต่างๆ พบว่า จำนวนใบของกิ่งพันธุ์ชะนีที่เสียบยอดบนต้นต่อทุเรียนสายพันธุ์ต่างๆ มีการเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยในช่วงเดือนที่ 12 พบว่ากิ่งพันธุ์ชะนีที่เสียบยอดบนต้นต่อพื้นบ้านลูกกลม มีจำนวนใบเฉลี่ยสูงที่สุดเท่ากับ 80.00 ใบ รองลงมาคือ กิ่งพันธุ์ชะนีที่เสียบยอดบนต้นต่อทุเรียนชะนี และต้นต่อทุเรียนนก มีจำนวนใบเฉลี่ยเท่ากับ 78.33

และ 77.67 ใบ ตามลำดับ ส่วนกิ่งพันธุ์ชะนีที่เสียบยอดบนต้นตอพื้นบ้าน ไร่ส้ม มีจำนวนใบเฉลี่ย น้อยที่สุดเท่ากับ 51.67 ใบ (ภาพที่ 13)



ภาพที่ 13 ค่าเฉลี่ยจำนวนใบของต้นทุเรียนสายพันธุ์ต่างๆ ที่เสียบยอดกับกิ่งพันธุ์ดีหมอนทองและ ชะนี

5.6 ขนาดใบ

ทำการวัดขนาดใบที่ระยะ 12 เดือนหลังการเสียบยอด พบว่าขนาดใบของกิ่งพันธุ์ หมอนทองบนต้นตอнок ให้ขนาดใบใหญ่ที่สุด (5.54 x 17.11 ซม.) รองลงมาคือใบทุเรียนพันธุ์ หมอนทองบนต้นชะนี (5.07 x 15.44 ซม.) ในขณะที่ขนาดใบของกิ่งพันธุ์ชะนีบนต้นตอลูกเขียวจะมีขนาดเล็กที่สุด (3.73 x 9.48 ซม.) ดังแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 ค่าเฉลี่ยขนาดใบ (ซม.) ของต้นทุเรียนสายพันธุ์ต่างๆ ที่เปรียบเทียบกับกิ่งพันธุ์ดีหมอนทอง และชะนี ที่ระยะ 12 เดือนหลังการเทียบยอด

(Rootstocks/Scions)	Leaf width (cm)	Leaf length (cm)
หมอนทอง/หมอนทอง	4.40±0.09	13.50±0.34
หมอนทอง/ชะนี	3.58±0.03	9.72±0.12
ชะนี/หมอนทอง	5.07±0.07	15.44±0.11
ชะนี/ชะนี	4.50±0.09	10.76±0.17
นก/หมอนทอง	5.54±0.18	17.11±0.45
นก/ชะนี	5.38±0.13	14.26±0.28
ขม้น/หมอนทอง	4.11±0.07	11.86±0.21
ขม้น/ชะนี	4.14±0.11	9.60±0.38
ท้ายเลี่ยม/หมอนทอง	4.58±0.10	13.86±0.16
ท้ายเลี่ยม/ชะนี	4.32±0.07	10.44±0.20
ไอ้ส้ม/หมอนทอง	3.51±0.16	10.30±0.31
ไอ้ส้ม/ชะนี	3.99±0.07	9.49±0.28
ลูกกลม/หมอนทอง	4.93±0.13	14.82±0.47
ลูกกลม/ชะนี	4.70±0.11	10.64±0.14
ต้นเขี้ยว/หมอนทอง	3.69±0.11	10.83±0.38
ต้นเขี้ยว/ชะนี	3.73±0.10	9.48±0.35

หมายเหตุ : ± แสดงค่า standard deviation ของค่าเฉลี่ยจากตัวอย่างจำนวน 3 ซ้ำ

การเจริญเติบโต

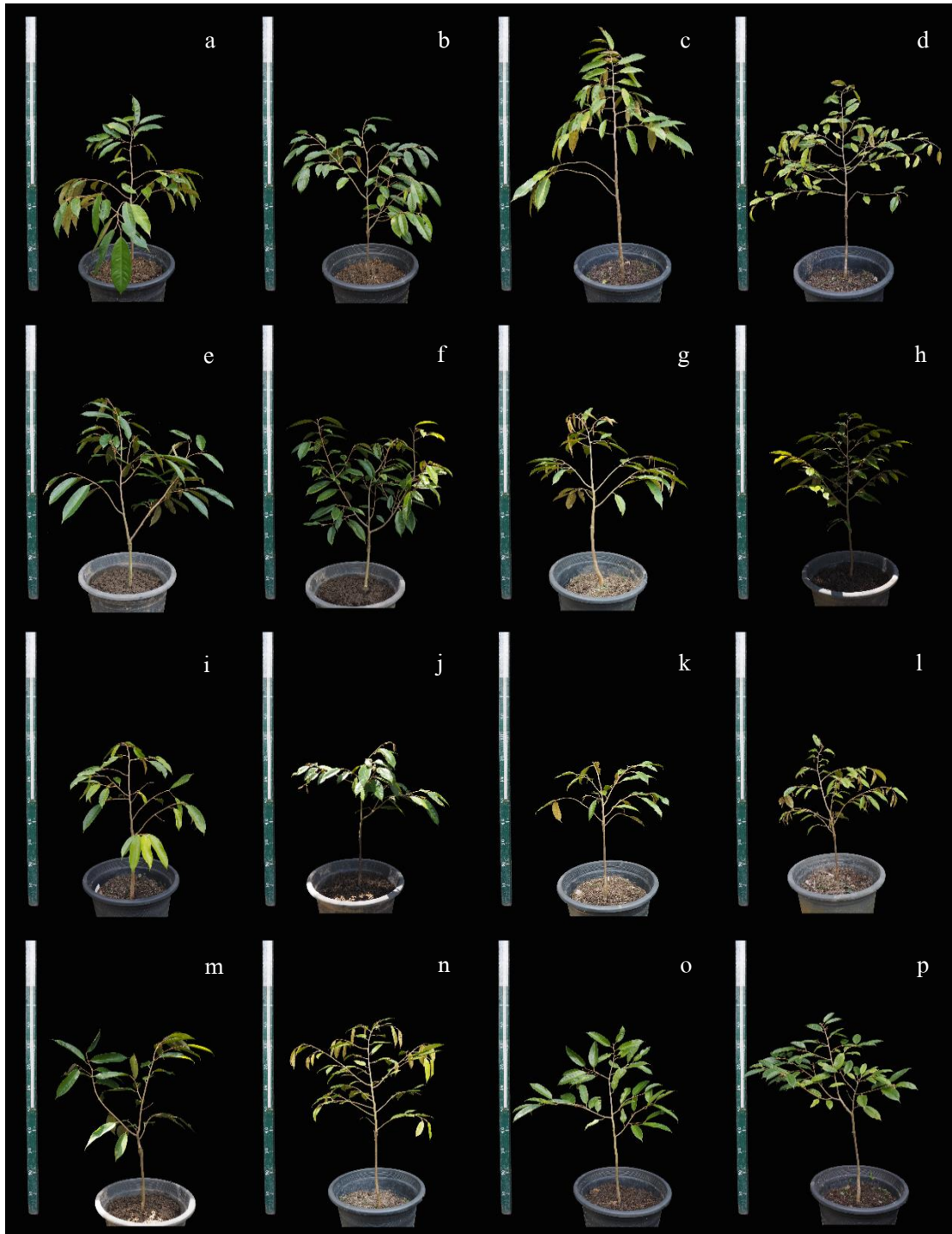
การเจริญเติบโตของต้นทุเรียนที่เพิ่มขึ้นภายหลังการเทียบยอดที่ระยะเวลา 12 เดือน พบว่า ยอดใหม่มีการเจริญเติบโตขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเช่น ทั้งความยาวของกิ่งพันธุ์ดี ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางกิ่งพันธุ์ดี ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางรอยต่อ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางต้นตอ และจำนวนใบ โดยคู่เทียบยอด นก/หมอนทอง มีความยาวของยอด และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางรอยต่อที่เพิ่มขึ้นจากการวัดครั้งแรกสูงที่สุดคือ 60.83 เซนติเมตร และ 7.20 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนคู่เทียบยอด นก/ชะนี มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางกิ่งพันธุ์ชะนี และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางต้นตอ ทุเรียนนกเพิ่มขึ้นจากการวัดครั้งแรกสูงที่สุดคือ 6.14 มิลลิเมตร และ 4.80 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนคู่เทียบยอดลูกกลม/ชะนี ให้จำนวนใบสูงที่สุดคือ 80.00 ใบ ในขณะที่คู่เทียบยอด ไอ้ส้ม/หมอนทอง มีความยาวของยอด เส้นผ่านศูนย์กลางของกิ่งพันธุ์หมอนทอง เส้นผ่านศูนย์กลางของรอยต่อ เส้นผ่านศูนย์กลางของต้นตอ ไอ้ส้ม และจำนวนใบน้อยที่สุดคือ 24.83 เซนติเมตร 1.84 มิลลิเมตร 2.46

มิลลิเมตร 1.71 มิลลิเมตร และ 44.00 ใบ ตามลำดับ จากผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่า การใช้ทุเรียนนกเป็นต้นตอในการเสียบยอดด้วยกิ่งพันธุ์ดีหอมทอง และชะนี มีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าการเสียบยอดบนต้นตอทุเรียนสายพันธุ์อื่น ทั้งๆ ที่ทุเรียนนกเป็น ทุเรียนคนละชนิดกับทุเรียนพันธุ์การค้าหรือทุเรียนพื้นบ้าน ดังแสดงในตารางที่ 10 และภาพที่ 14

ตารางที่ 10 อัตราการเพิ่มขึ้นของความยาวของยอด ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของกิ่งพันธุ์ดี ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของรอยต่อ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของต้นตอ และจำนวนใบ ของคู่เสียบยอดต่างๆ หลังการเสียบยอดที่ระยะเวลา 12 เดือน

(Rootstocks/Scions)	Scion height (cm)	Diameter (mm)			Number of leaves
		scions	unions	rootstocks	
หอมทอง/หอมทอง	33.00de	3.41cdef	2.70b	2.55abc	54.67cd
หอมทอง/ชะนี	31.67de	3.10def	4.76ab	2.37bc	57.33c
ชะนี/หอมทอง	51.83ab	4.50abcd	6.00ab	3.95ab	66.67b
ชะนี/ชะนี	46.00bc	5.19abc	3.83ab	3.50abc	78.33a
นก/หอมทอง	60.83a	5.57ab	7.20a	4.55ab	73.67ab
นก/ชะนี	58.50a	6.14a	5.89ab	4.80a	77.67a
ขมื่น/หอมทอง	26.67de	3.08def	3.02b	2.82abc	51.00cde
ขมื่น/ชะนี	31.06de	3.05def	3.51ab	2.95abc	52.00cde
ท้ายเลี่ยม/หอมทอง	36.17cde	3.02def	3.67ab	3.10abc	51.67cde
ท้ายเลี่ยม/ชะนี	30.83de	2.52def	2.88b	3.02abc	52.33cde
ไอ้ส้ม/หอมทอง	24.83e	1.84f	2.46b	1.71c	44.00e
ไอ้ส้ม/ชะนี	30.67de	2.24ef	3.17b	2.63abc	51.67cde
ลูกกลม/หอมทอง	38.83cd	4.11bcde	5.65ab	4.41ab	69.33b
ลูกกลม/ชะนี	39.67cd	4.29abcd	4.99ab	4.26ab	80.00a
ต้นเขียว/หอมทอง	27.17de	2.68def	2.65b	3.09abc	48.00de
ต้นเขียว/ชะนี	30.00de	2.95def	2.94b	2.93abc	53.33cd
F-test	**	**	**	**	**
C.V. (%)	13.82	21.64	35.51	26.13	5.92

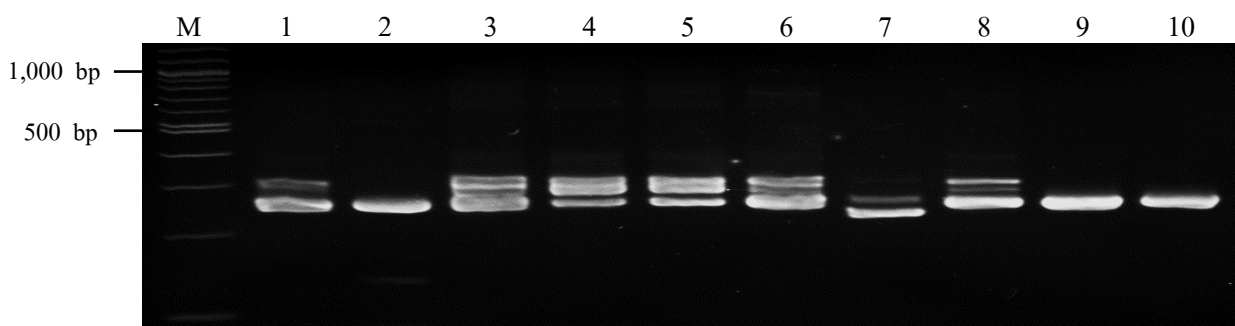
หมายเหตุ ** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P \leq 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)



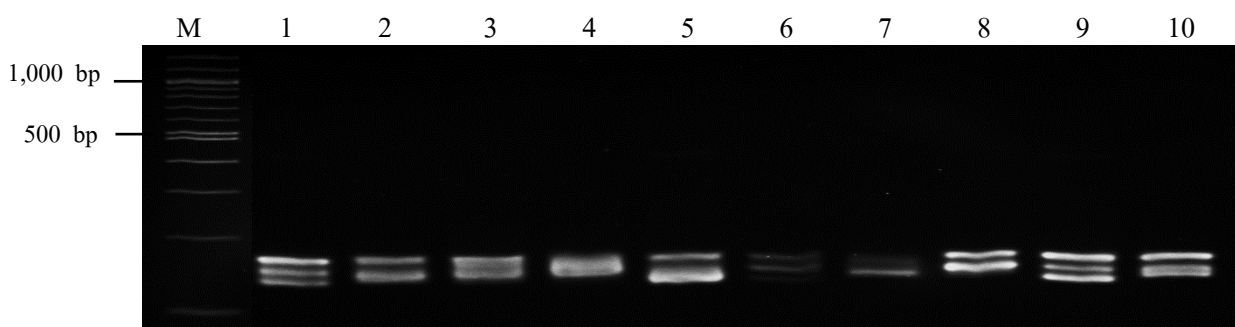
ภาพที่ 14 การเจริญเติบโตของกิ่งพันธุ์ดีหอมทองบนต้นตอต่างๆ คือต้นตอหอมทอง (a) ต้นตอชะนี (c) ต้นตอนก (e) ต้นตอขมมัน (g) ต้นตอท้ายเลี่ยม (i) ต้นตอไอ้ส้ม (k) ต้นตอลูกกลม (m) และต้นตอลูกเขียว (o) การเจริญเติบโตของกิ่งพันธุ์ดีชะนีบนต้นตอหอมทอง (b) ต้นตอชะนี (d) ต้นตอนก (f) ต้นตอขมมัน (h) ต้นตอท้ายเลี่ยม (j) ต้นตอไอ้ส้ม (l) ต้นตอลูกกลม (n) และต้นตอลูกเขียว (p) ที่ระยะเวลา 12 เดือนหลังการเสียบยอด

6. การศึกษาพันธุกรรมของทุเรียนที่ใช้เป็นต้นตอและกิ่งทุเรียนพันธุ์ดี ด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์

จากการวิเคราะห์พันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านทุเรียนนกกและทุเรียนพันธุ์การค้า 10 ตัวอย่าง ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลท์ จำนวน 8 คู่ไพรเมอร์ คือ MS1CT-5, MS1CT-6, MS1CT-7, MS1CT-9, MS1CT-12, MS1GT-15, MS1AAC-5 และ MS1AAC-19 พบว่าไพรเมอร์ทั้ง 8 คู่ให้แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างทั้งหมด ไพรเมอร์แต่ละคู่ให้แถบดีเอ็นเอจำนวน 1-4 แถบ (อัลลีล) รวมทั้งหมด 28 แถบ และมีขนาด ตั้งแต่ 130-500 คู่เบส ในจำนวน 8 คู่ไพรเมอร์ โดยคู่ไพรเมอร์ MS1AAC-5 ให้จำนวนอัลลีลมากที่สุดคือ 4 อัลลีล (ภาพที่ 21)

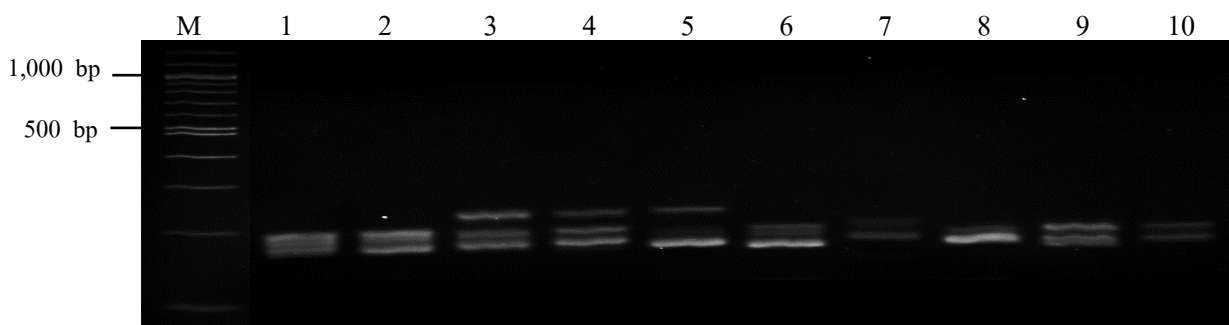


ภาพที่ 15 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของทุเรียนพื้นบ้านและทุเรียนพันธุ์การค้าที่ใช้เป็นต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีในการเสียบยอด จำนวน 10 ตัวอย่าง จากการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ด้วยคู่ไพรเมอร์ MS1CT-5

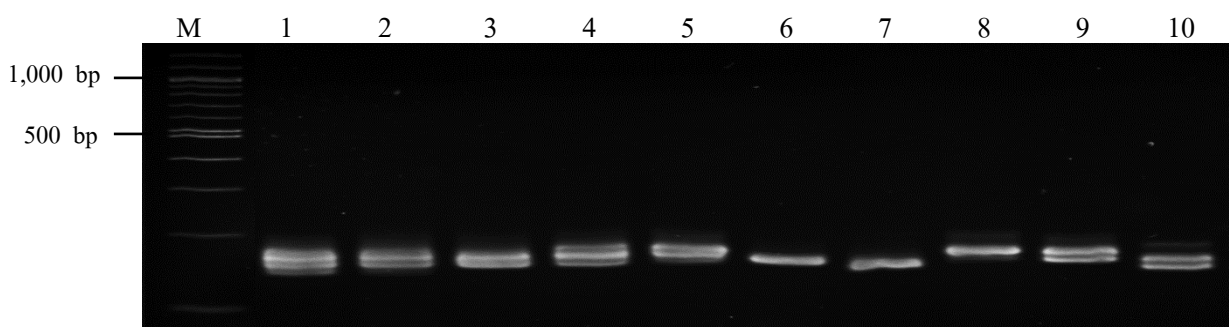


ภาพที่ 16 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของทุเรียนพื้นบ้านและทุเรียนพันธุ์การค้าที่ใช้เป็นต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีในการเสียบยอด จำนวน 10 ตัวอย่าง จากการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ด้วยคู่ไพรเมอร์ MS1CT-6

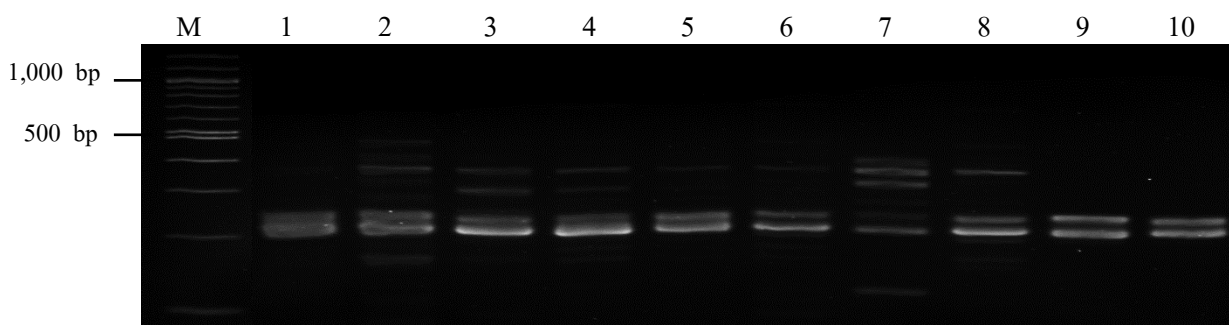
M = เครื่องหมายโมเลกุลมาตรฐาน 100 bp, 1 : ต้นตอหมอนทอง, 2 : ต้นตอชะนี, 3 : ต้นตอขม้น, 4 : ต้นตอท้ายเลี่ยม, 5 : ต้นตอไอ้ส้ม, 6 : ต้นตอตุ๊กกลม, 7 : ต้นตอนก, 8 : ต้นตอต้นเขียว, 9 : กิ่งพันธุ์ดีหมอนทอง, 10 : กิ่งพันธุ์ดีชะนี



ภาพที่ 17 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของทุเรียนพื้นบ้านและทุเรียนพันธุ์การค้าที่ใช้เป็นต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีในการเสียบยอด จำนวน 10 ตัวอย่าง จากการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลต์ด้วยคู่ไพรเมอร์ MS1CT-7

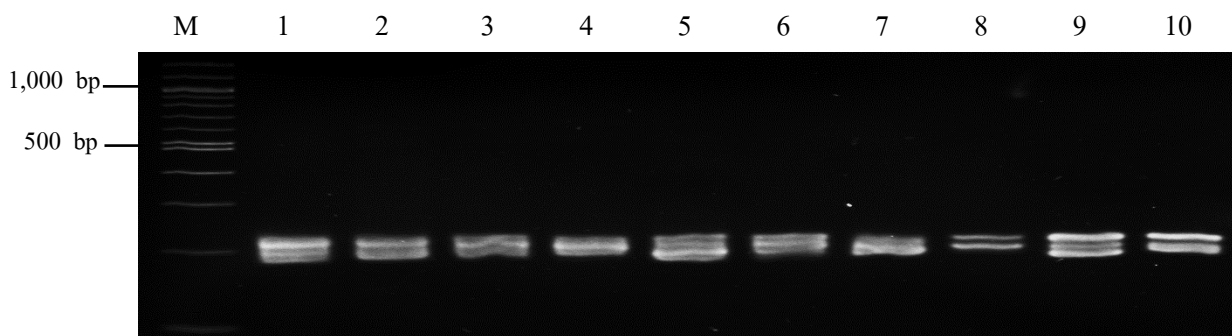


ภาพที่ 18 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของทุเรียนพื้นบ้านและทุเรียนพันธุ์การค้าที่ใช้เป็นต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีในการเสียบยอด จำนวน 10 ตัวอย่าง จากการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลต์ด้วยคู่ไพรเมอร์ MS1CT-9

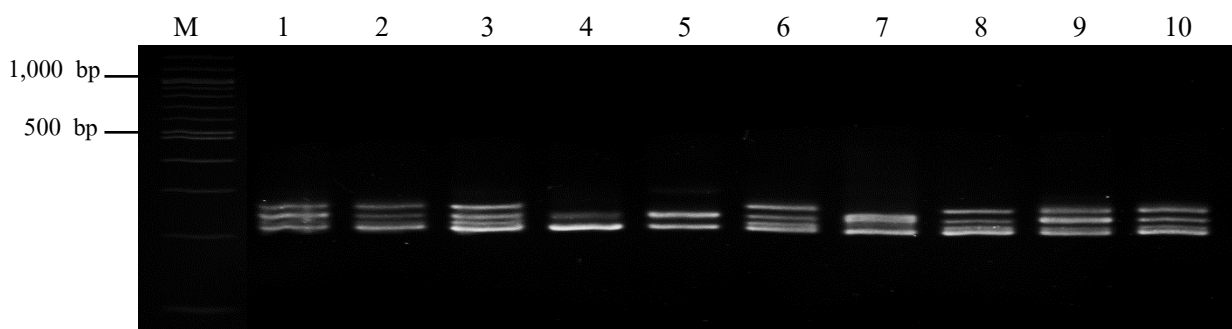


ภาพที่ 19 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของทุเรียนพื้นบ้านและทุเรียนพันธุ์การค้าที่ใช้เป็นต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีในการเสียบยอด จำนวน 10 ตัวอย่าง จากการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลต์ด้วยคู่ไพรเมอร์ MS1CT-12

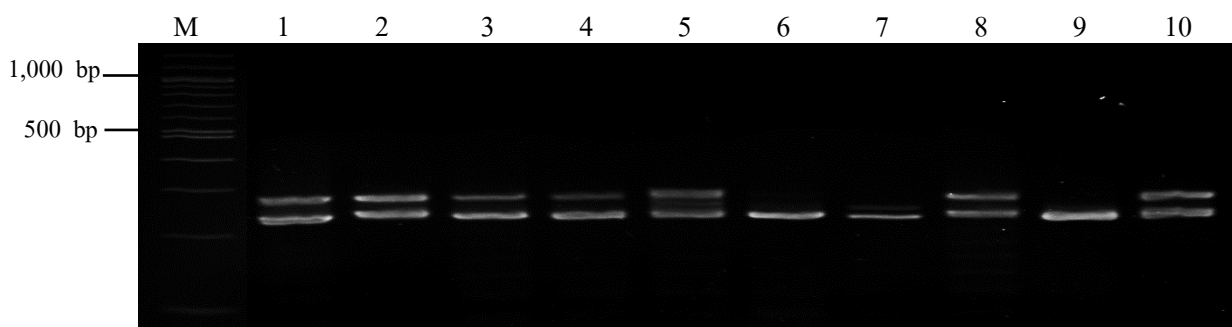
M = เครื่องหมายโมเลกุลมาตรฐาน 100 bp, 1 : ต้นตอหมอนทอง, 2 : ต้นตอชะนี, 3 : ต้นตอขม้น, 4 : ต้นตอท้ายเลี่ยม, 5 : ต้นตอไอ้ส้ม, 6 : ต้นตอลูกกลม, 7 : ต้นตอนก, 8 : ต้นตอต้นเขียว, 9 : กิ่งพันธุ์ดีหมอนทอง, 10 : กิ่งพันธุ์ดีชะนี



ภาพที่ 20 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของทุเรียนพื้นบ้านและทุเรียนพันธุ์การค้าที่ใช้เป็นต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีในการเสียบยอด จำนวน 10 ตัวอย่าง จากการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ด้วยคู่ไพรเมอร์ MS1GT-15



ภาพที่ 21 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของทุเรียนพื้นบ้านและทุเรียนพันธุ์การค้าที่ใช้เป็นต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีในการเสียบยอด จำนวน 10 ตัวอย่าง จากการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ด้วยคู่ไพรเมอร์ MS1AAC-5



ภาพที่ 22 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของทุเรียนพื้นบ้านและทุเรียนพันธุ์การค้าที่ใช้เป็นต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีในการเสียบยอด จำนวน 10 ตัวอย่าง จากการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ด้วยคู่ไพรเมอร์ MS1AAC-19

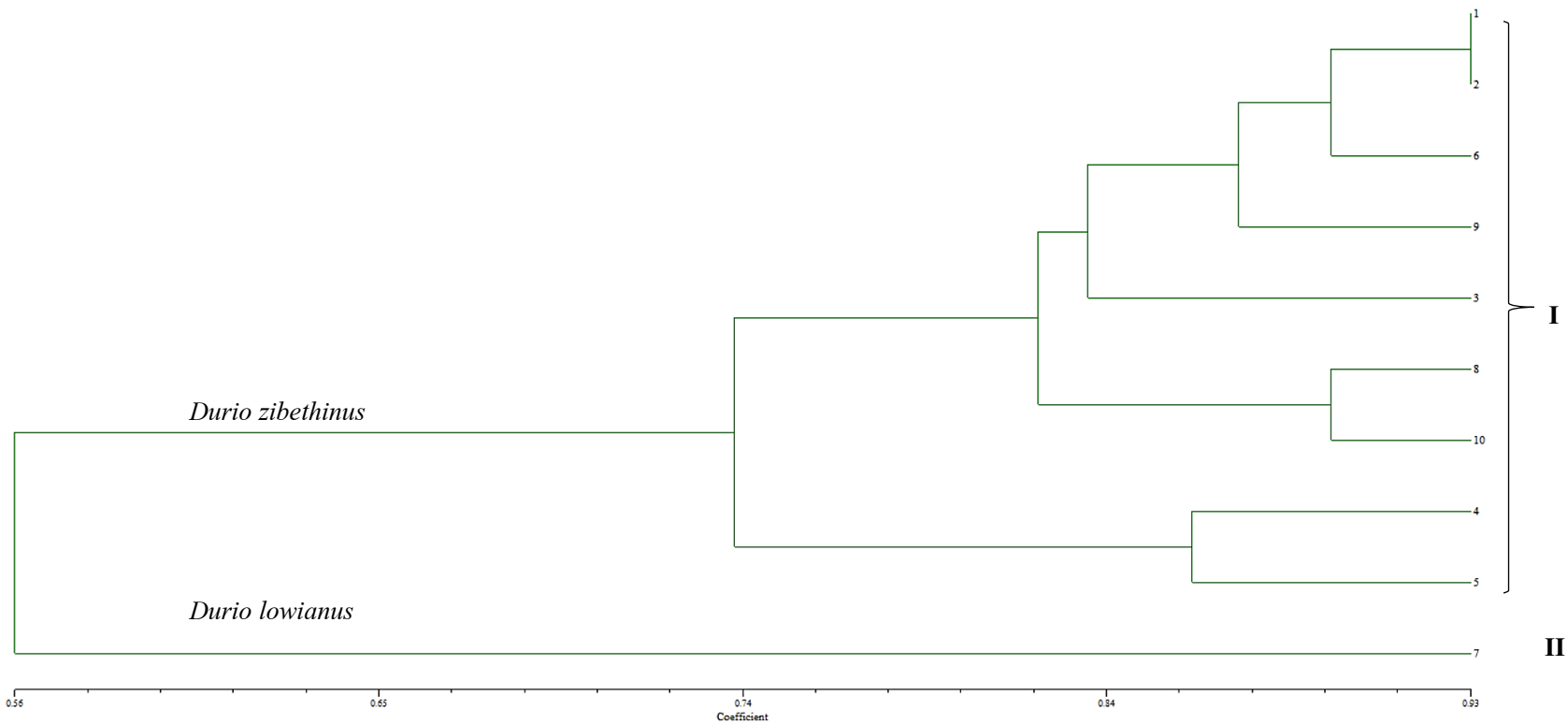
M = เครื่องหมายโมเลกุลมาตรฐาน 100 bp, 1 : ต้นตอหมอนทอง, 2 : ต้นตอชะนี, 3 : ต้นตอขมื่น, 4 : ต้นตอท้ายเลี่ยม, 5 : ต้นตอไอ้ส้ม, 6 : ต้นตอลูกกลม, 7 : ต้นตอนก, 8 : ต้นตอต้นเขียว, 9 : กิ่งพันธุ์ดีหมอนทอง, 10 : กิ่งพันธุ์ดีชะนี

จากการวิเคราะห์ความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของทุเรียน 10 ตัวอย่าง โดยนำแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไมโครแซทเทลไลท์ ทั้งหมด 28 แถบ พบแถบที่ให้ความแตกต่าง 17 แถบ และเมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมด้วยวิธี UPGMA cluster analysis ในโปรแกรม NTSYS (version 2.0) พบว่า มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรม (similarity coefficient) ของทุเรียน จำนวน 10 ตัวอย่าง อยู่ในช่วง 0.56-0.93 และ โดยคู่ที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมสูงที่สุดคือ ต้นตอหอมทองกับต้นตอชะนี และต้นตอหอมทองกับต้นตอลูกกลม มีค่า similarity coefficient เท่ากับ 0.93 และพบค่า similarity coefficient ต่ำที่สุดในคู่ตัวอย่างต้นตอหอมทอง ต้นตอขมื่น กับต้นตอทุเรียนนก มีค่า similarity coefficient เท่ากันคือ 0.56

จากแผนภาพเดนโดแกรมสามารถจัดกลุ่มทุเรียนพื้นบ้าน ทุเรียนพันธุ์การค้าและทุเรียนนก ได้เป็น 2 กลุ่ม โดยมีประชากรกระจายตัวอยู่ในกลุ่มต่างๆ ดังนี้ (ภาพที่ 23)

กลุ่มที่ I ประกอบด้วย 9 สายพันธุ์ ได้แก่ หอมทอง (ต้นตอ) หอมทอง (กิ่งพันธุ์ดี) ชะนี (ต้นตอ) ชะนี (กิ่งพันธุ์ดี) ลูกกลม ขมื่น ต้นเขียว ท้ายเลี่ยม และไอ้ส้ม

กลุ่มที่ II ประกอบด้วย 1 สายพันธุ์ ได้แก่ ทุเรียนนก



ภาพที่ 23 แผนภาพเดนโดแกรมแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างทุเรียนพื้นบ้านและทุเรียนพันธุ์การค้า จำนวน 10 ตัวอย่าง จากการใช้ 8 คู่ไพรเมอร์ โดยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์

หมายเหตุ 1: ต้นตอหมอนทอง, 2: ต้นตอชะนี, 3: ต้นตอขมื่น, 4: ต้นตอท้ายเลียม, 5: ต้นตอไอ้ส้ม, 6: ต้นตอลูกกลม, 7: ต้นตอนก, 8: ต้นตอดันเจียว, 9: กิ่งพันธุ์ดีหมอนทอง, 10: กิ่งพันธุ์ดีชะนี

บทที่ 4

วิจารณ์

การขยายพันธุ์ที่นิยมคือการเสียบยอด โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้ต้นตรงตามพันธุ์ที่ต้องการ และให้พืชสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมต่างๆ ได้ เช่น การต้านทานต่อโรค (Ramírez-Gil *et al.*, 2017) สภาพความเครียดจากภัยแล้ง (Zhou *et al.*, 2018) ความเค็ม (Mehdi-Tounsi *et al.*, 2017) และธาตุอาหารไม่เพียงพอ (Jimines *et al.*, 2018) ซึ่งการเสียบยอดจะมีส่วนที่เกี่ยวข้องสำคัญ 2 ส่วน คือต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี ต้นตอที่นิยมใช้สำหรับการขยายพันธุ์ที่เรียนคือต้นตอทุเรียนพื้นบ้าน เนื่องจากมีความแข็งแรงเจริญเติบโตดี และมักมีความทนทานต่อโรครากเน่าดีกว่าพันธุ์การค้า ปัจจัยที่มีผลต่อความสำเร็จของการเสียบยอด เช่น ชนิดของพืช ความแตกต่างทางพันธุกรรมของต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี ปัจจัยสภาพแวดล้อม ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้น ออกซิเจนในอากาศ ความชำนาญของผู้ปฏิบัติ และลักษณะทางกายวิภาคของพืชที่นำมาเสียบหรือเชื่อมต่อกัน (Hartmann *et al.*, 2002) อย่างไรก็ตามการเสียบยอดหรือการทาบกิ่ง ต่อกิ่ง ระหว่างพืชแต่ละชนิดหรือแต่ละพันธุ์อาจทำให้เกิดการเข้ากันไม่ได้ระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี ซึ่งมีรายงานในไม้ผลหลายชนิด (Errea, 1998) เช่น เชอร์รี่ (Feucht and Christ, 1992) อัลมอนด์ แอฟริคอท (Errea *et al.*, 2001) ส้ม (Caballero *et al.*, 2013; He *et al.*, 2018) พืช และพลัม (Moing *et al.*, 1990) เป็นต้น สำหรับทุเรียนก็เช่นกัน มีรายงานการเจริญเติบโตของกิ่งพันธุ์ดีหมอนทองที่เสียบยอดบนต้นตอทุเรียนพื้นบ้านแต่ละพันธุ์แตกต่างกันชัดเจน (Naim *et al.*, 2016) การศึกษาครั้งนี้ทำการเสียบยอดทุเรียนหมอนทองและชะนี ซึ่งเป็นพันธุ์การค้าหลักของประเทศ กับต้นตอทุเรียนพื้นบ้านสายพันธุ์ต่างๆ ในภาคใต้ รวมทั้งต้นตอทุเรียนนก (*D. lowianus*) ซึ่งเป็นทุเรียนคนละชนิดกับทุเรียนพันธุ์การค้าและทุเรียนพื้นบ้าน (*D. zibethinus*) เพื่อศึกษาความสามารถในการเข้ากัน ได้ของทุเรียนพันธุ์การค้า กับทุเรียนพื้นบ้าน รวมถึงปัจจัยที่เกี่ยวข้อง เพื่อการคัดเลือกต้นตอที่เหมาะสมสำหรับการขยายพันธุ์ทุเรียนพันธุ์การค้าต่อไป ทำการทดลองโดยมีคู่หมอนทองเสียบยอดบนต้นตอหมอนทองและชะนีเสียบยอดบนต้นตอชะนีเป็นคู่เปรียบเทียบ

การศึกษาการพัฒนาของเนื้อเยื่อรอยต่อระหว่างต้นตอทุเรียนต่างๆ และกิ่งพันธุ์ดีหมอนทองและชะนี

วิธีการที่เร็วที่สุดที่จะประเมินว่าต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีเข้ากันได้ดีหรือไม่ ก็คือการพิจารณาจากรอยประสานระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี โดยการตัดเนื้อเยื่อตรงบริเวณรอยต่อภายหลังจากการเสียบยอด ต่อดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการทดลองเสียบยอด

ทุเรียนหอมทองและชะนีบนต้นต่อทุเรียนพื้นบ้านสายพันธุ์ต่างๆ พบว่า ความสำเร็จในการเสียบยอดมีความแตกต่างกันในระยะแรก คือ 28 วันหลังการเสียบยอด โดยคู่เสียบยอด 6 คู่ คือ หอมทองบนต้นต่อชะนี หอมทองบนต้นต่อขมมัน หอมทองบนต้นต่อท้ายเลี่ยม หอมทองบนต้นต่อไอ้ส้ม หอมทองบนต้นต่อลูกกลม และชะนีบนต้นตอнок มีการพัฒนาของเนื้อเยื่อแคลลัสตรงบริเวณรอยต่อระหว่างต้นต่อและกิ่งพันธุ์ดีค่อนข้างมาก มีการสร้างแคลลัสจากรอยต่อทั้งสองส่วนจนเต็มช่องว่างของรอยต่อ เกิดเป็นสะพานแคลลัสและมีการสร้างท่อลำเลียงเชื่อมต่อกัน และที่ระยะเวลา 12 เดือน หลังการเสียบยอด พบว่า ในคู่เสียบยอด 8 คู่ คือ หอมทองบนต้นต่อหอมทอง หอมทองบนต้นตอнок หอมทองบนต้นต่อขมมัน หอมทองบนต้นต่อไอ้ส้ม หอมทองบนต้นต่อลูกกลม หอมทองบนต้นต่อลูกเขียว ชะนีบนต้นตอнок และชะนีบนต้นต่อลูกเขียว มีการพัฒนาของเนื้อเยื่อตรงบริเวณรอยต่ออย่างสมบูรณ์ ต้นต่อและกิ่งพันธุ์ดีมีการเชื่อมติดกันแน่น ไม่เกิดช่องว่างระหว่างรอยต่อ มีการพัฒนาของเนื้อเยื่อแคมเปียมไปเป็นสร้างท่อน้ำและท่ออาหารและเชื่อมประสานได้ ส่งผลให้ต้นต่อและกิ่งพันธุ์ดีมีการเจริญเติบโตที่ดีและมีขนาดใกล้เคียงกัน แต่ปรากฏรอยแยกและเส้น necrotic line ในบางคู่เสียบยอด ขั้นตอนสำคัญที่แสดงให้เห็นถึงการเข้ากันได้ระหว่างต้นต่อและกิ่งพันธุ์ดี มีดังนี้ เกิดการสร้างแคลลัสจากทั้งส่วนต้นต่อและกิ่งพันธุ์ดีจนเนื้อเยื่อจากทั้งสองส่วนมาชิดติดกัน หลังจากนั้นจึงมีการสร้างแคมเปียมใหม่จากเนื้อเยื่อแคลลัสส่วนของแคมเปียมจะเชื่อมต่อกันอย่างต่อเนื่องกันทั้งสองฝ่าย และเริ่มมีการพัฒนาของท่อลำเลียงน้ำและท่ออาหารเชื่อมต่อกันทั้งสองส่วน จนสามารถลำเลียงน้ำจากส่วนของต้นต่อไปยังกิ่งพันธุ์ดี (Andrew and Serrano-Marquez 1993, Pina and Errea 2005) ในขณะที่ Yin และคณะ (2012) อธิบายการพัฒนาการของเนื้อเยื่อรอยต่อระหว่างต้นต่อ และกิ่งพันธุ์ดีดังนี้ 1) มีการชักนำการเกิดบาดแผล 2) การขจัดเซลล์ที่ตาย 3) การสื่อสารกันระหว่าง เซลล์ 4) เกิดการสะสมออกซิน 5) การแบ่งเซลล์และการพัฒนาการของเซลล์ และ 6) การ เชื่อมใหม่ของท่อลำเลียง ความสำเร็จในการเสียบยอดทุเรียนเบื้องต้นในระยะ 28 วันหลังการเสียบยอด ประเมินจากการเชื่อมติดของเนื้อเยื่อทั้งสองส่วนและไปยังคงเป็นสีเขียว พบว่า ความสำเร็จในการเสียบยอดมีความแตกต่างกันในแต่ละคู่เสียบยอด โดยความสำเร็จในการเสียบยอดสูงสุดอยู่ที่ 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเสียบยอดชะนีบนต้นต่อท้ายเลี่ยม ต้นต่อไอ้ส้ม และต้นต่อลูกกลม กิ่งพันธุ์หอมทองให้เปอร์เซ็นต์การเสียบยอดสูงสุด เมื่อเสียบยอดบนต้นต่อท้ายเลี่ยม (93.33 เปอร์เซ็นต์) มีรายงานว่า ความสำเร็จในการขยายพันธุ์แบบไม่ใช้เพศในพืชหลายชนิดขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย นอกเหนือจากการเข้ากันได้หรือไม่ได้ เช่น ชนิดของพืช ความแตกต่างทางพันธุกรรมของต้นต่อและกิ่งพันธุ์ดี วิธีการในการขยายพันธุ์ ฤดูกาล สภาพแวดล้อมในช่วงการปฏิบัติงาน อุณหภูมิ ความชื้น ออกซิเจนในอากาศ (Hartmann *et al.*, 2002) อายุของต้นต่อ (Islam *et al.*, 2004; Nguyen and Yen, 2017) รวมทั้งทักษะในการเสียบยอด

ของผู้ปฏิบัติงาน อย่างไรก็ตามระยะเวลาของการเชื่อมประสานรอยต่อก็มีความแตกต่างกันขึ้นกับชนิดของพืช ตัวอย่างเช่นมะเขือเทศ การเชื่อมของรอยต่อระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ใช้เวลาประมาณ 14 วัน (Fan *et al.*, 2015) ในกรณีพืชยืนต้น เช่น แอปเปิ้ลการเชื่อมของท่อลำเลียงจะมีความสมบูรณ์ใช้เวลาประมาณ 120 วัน (Polat *et al.*, 2010) เป็นต้น

จากการศึกษาการพัฒนาของรอยต่อ และการประสานรอยเชื่อมของท่อลำเลียงของระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ เป็นหนึ่งในสิ่งบ่งชี้ความสำเร็จในการเสียบยอดทุเรียนได้ในระยะแรก อย่างไรก็ตามการเข้ากันไม่ได้หรือไม่ได้ระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ไม่สามารถประเมินจากการเกิดการเชื่อมของรอยต่อของทั้งสองส่วนเพียงอย่างเดียว เนื่องจากการเข้ากันไม่ได้มี 2 แบบ คือ *translocated graft incompatibility* การเข้ากันไม่ได้แบบนี้จะปรากฏให้เห็นในช่วงแรกของการเสียบยอดในระยะเวลาด้านสั้น หรือหลังการเสียบยอดไม่กี่วัน หรืออาจปรากฏให้เห็นในระยะต่อมาหลังจากที่ดูเหมือนการเสียบยอดจะประสบความสำเร็จ โดยการหยุดการเจริญเติบโตหลังเสียบยอดไม่นาน เกิดอาการใบร่วง ใบเหลือง เป็นต้น (Herrero, 1951; Mosse, 1962) ตัวอย่างเช่น การศึกษาการทาบกิ่งระหว่างพืชและพลัม พบการเข้ากันไม่ได้แบบ *translocated graft incompatibility* ซึ่งลักษณะดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีที่ส่วนบริเวณรอยต่อ มีผลทำให้เกิดการปิดเส้นทางของคาร์โบไฮเดรตที่กิ่งพันธุ์เหนือรอยต่อ (Moing and Carde, 1988; Moing *et al.*, 1990) อีกประเภทหนึ่งของการเข้ากันไม่ได้ระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์เรียกว่า *localized graft incompatibility* ประเภทนี้กว่าที่อาการผิดปกติจะแสดงออกใช้เวลานาน เมื่อพืชเจริญเติบโตไปสักระยะ สาเหตุเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของสารชีวเคมีในส่วนเนื้อเยื่อบริเวณรอยต่อที่เกิดขึ้นอย่างช้าๆ ทำให้ยังไม่แสดงอาการในระยะแรก ดังตัวอย่างที่เคยเกิดขึ้นกับเชอร์รี่ และต้นตอพืช/พลัม (Treutter and Feucht, 1991; Salesses and Bonnet, 1992) เกิดอาการผิดปกติตรงบริเวณเนื้อเยื่อรอยต่อ ทำให้การเชื่อมของท่อน้ำและท่ออาหารมีปัญหา เกิดรอยแยกของเนื้อเยื่อต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีหลังจากเจริญเติบโตไปเป็นปีหลังมีการทาบกิ่ง สร้างความเสียหายทางเศรษฐกิจในระยะเวลาดต่อมา (Moing and Carde, 1988; Moing *et al.*, 1990) ส่วนใหญ่ลักษณะ *localized graft incompatibility* มักเกิดขึ้นในกรณีมีการทาบกิ่งหรือเสียบยอดระหว่างพืชคนละชนิด แต่จากการศึกษาครั้งนี้ทุเรียนนกซึ่งเป็นคนละชนิดกับทุเรียนหมอนทองและชะนี กลับไม่ได้เป็นอุปสรรคในการเสียบยอดแต่อย่างใด Hartmann และคณะ (2010) รายงานว่า บางกรณีการเกิดรอยแยกระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี กว่าจะแสดงออกอาจใช้เวลา 10 ปี หรือมากกว่านั้น ในทุเรียนก็เคยปรากฏเหตุการณ์คล้ายคลึงกัน เมื่อมีการเสียบยอดหมอนทองกับชาเรียน (*D. mansonii*) และพบว่าประมาณ 2-3 ปี ต้นจะแสดงลักษณะผิดปกติให้เห็น คือส่วนต้นตอมีขนาดเล็กกว่าส่วนของพันธุ์ดีที่นำมาเสียบมาก (แสวง, 2561 ติดต่อบุคคล) ดังนั้นในการประเมินการเข้ากันได้ระหว่างต้นตอและ

กิ่งพันธุ์นี้อาจต้องอาศัยหลายวิธีร่วมกัน เช่นการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ลิกนิน หรือแบบแผนไอโซไซม์ วิธีการเหล่านี้ถูกนำมาใช้ในการทำนายการเข้ากันได้หรือไม่ได้ในไม้ผลหลายชนิด (Mosse, 1962; Moing and Carde, 1988; Errea, 1998; Pina and Errea, 2005; Hudina *et al.*, 2014; Hartmann *et al.*, 2002) ตั้งแต่ระยะแรกซึ่งจะเป็นประโยชน์อย่างมากในไม้ผลและไม้ยืนต้นที่มีการขยายพันธุ์โดยวิธีการต่อกิ่ง ทาบกิ่ง

การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกและลิกนินบริเวณรอยต่อ เนื้อและใต้อรอยต่อของต้นต่อทุเรียนต่างๆ และกิ่งพันธุ์ดีหมอนทองและชะนี

สาร secondary metabolites เช่น สารฟีนอลิกสามารถพบได้ทั่วไปในพืชชั้นสูง (Harborne, 1994) สารกลุ่มนี้จะเกี่ยวข้องกับกระบวนการเมตาบอลิซึมหลายเส้นทาง เป็นปฏิกิริยาร่วมระหว่างพืชกับสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม หรือเกิดการเข้าทำลายของโรคและแมลงศัตรู เมื่อพืชได้รับอันตราย เกิดภาวะเครียด หรือเกิดบาดแผล พืชจะสร้างสารประกอบฟีนอลิกซึ่งเป็นกลไกการปกป้องตัวเองของพืช (Hart and Hillis, 1972; Loehle, 1988; Bennett and Wallsgrove, 1994) การทาบกิ่ง เสียบยอด ก็เช่นกัน ก่อให้เกิดบาดแผลกับต้นพืชทั้งส่วนต้นต่อและกิ่งพันธุ์ดี จึงมีผลต่อการสร้างสารฟีนอลิก (Usenik *et al.*, 2006; Mng'omba *et al.*, 2008) ดังนั้นปริมาณ และชนิดของสารฟีนอลิกที่พืชสร้างขึ้นเมื่อมีการทาบกิ่งหรือเสียบยอด มีความสัมพันธ์โดยตรงกับการพัฒนาของรอยต่อระหว่างเนื้อเยื่อต้นต่อและกิ่งพันธุ์ดี ส่งผลต่อความสำเร็จในการขยายพันธุ์ (Errea, 1998; Pina and Errea, 2005) ในคู่ต้นต่อและกิ่งพันธุ์ดีที่เข้ากันได้ สารฟีนอลิกจะเคลื่อนจากเวดคิวโกลไปยังไซโตพลาสซึม ทำให้เกิดภาวะเครียดที่บริเวณรอยต่อ มีผลต่อการพัฒนาการของเนื้อเยื่อแคลลัส โดยอาจไปยับยั้งกระบวนการสร้างลิกนิน (Elstner *et al.*, 1994; Hartmann *et al.*, 2002) ทำให้สูญเสียการเชื่อมต่อของเนื้อเยื่อระหว่างต้นต่อและกิ่งพันธุ์ดี (Pina and Errea, 2005).

จากการศึกษาปริมาณสารฟีนอลิกที่สร้างขึ้นหลังการเสียบยอดของทุเรียนหมอนทอง และชะนีบนต้นต่อทุเรียนสายพันธุ์ต่าง ๆ พบว่ามีการสร้างสารฟีนอลิกในส่วนเนื้อรอยต่อเกิดขึ้นมากกว่าใต้อรอยต่อในทุกคู่เสียบยอด โดยพบปริมาณสารฟีนอลิกสูงที่สุดในคู่เสียบยอดหมอนทองบนต้นต่อขมื่น ซึ่งเมื่อพิจารณาจากการเจริญเติบโตของคู่เสียบยอด พบว่า มีความสอดคล้องกัน คือ คู่เสียบยอดขมื่น/หมอนทอง มีการเจริญเติบโตของส่วนยอดไม่ว่าจะเป็นความสูง เส้นผ่านศูนย์กลาง จำนวนใบ ต่ำที่สุด เมื่อเทียบกับคู่เสียบยอดอื่นๆ ผลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ คล้ายคลึงการกับศึกษาในคู่ต่อกิ่งระหว่าง *Prunus avium/P. cerasus* ที่เกิดการเข้ากันได้ แสดงอาการใบเหี่ยวต่างๆ ที่รอยต่อเชื่อมปกติ พบว่ามีปริมาณสารฟีนอลิก กรดคลอโรจีนิกและสารฟลาโวน

นอยด์ ปริมาณสูงในส่วนเนื้อรอยต่อเช่นกัน (Gebhardt and Feucht, 1982) จากการศึกษาการทาบ กิ่งในแพร่บนต้นตอควินน์บางพันธุ์ที่เข้ากันได้ดี พบว่าปริมาณสารฟีนอลิกได้และเนื้อรอยต่อไม่มีความแตกต่างกัน ในขณะที่แพร่พันธุ์ William บน ต้นตอควินน์พันธุ์ MA ซึ่งเข้ากันไม่ได้ พบปริมาณสารฟลาโวนอยด์ซึ่งเป็นหนึ่งในกลุ่มสารประกอบฟีนอลสูงในส่วนต้นตอได้รอยต่อ (Hudina *et al.*, 2014) นอกจากนี้นักวิจัยชุดเดียวกันอธิบายว่าพบสารบางตัว ในส่วนของต้นตอ (ควินน์) ซึ่งไม่พบในแพร่ เช่น cyanogenic glucoside และ prunnasin สารเหล่านี้จะเคลื่อนย้ายไปยัง ท่ออาหารของแพร่บริเวณรอยต่อ และเอนไซม์ในแพร่จะย่อย prunnasin ที่บริเวณรอยต่อ ได้เป็น hydrocyanic acid ซึ่งไปยับยั้งการสร้างแคมเบียมที่บริเวณรอยต่อ และทำลายท่ออาหารเนื้อรอยต่อ จากผลดังกล่าวแสดงว่านอกจากปริมาณแล้ว ชนิดของสารฟีนอลิกยังมีส่วนสำคัญต่อการสร้าง รอยต่อระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี สำหรับทุเรียน มีรายงานชนิดของสารฟีนอลิกบริเวณรอยต่อ ของต้นเสียบยอดหอมทองบนต้นตอหอมทอง ที่อายุ 2 และ 7 เดือน โดยการวิเคราะห์ LC-MS พบว่าที่อายุ 2 เดือนหลังเสียบยอดพบปริมาณของสารฟีนอลิกชนิด Bayogenin และ Maslinic acid ก่อนข้างสูง ส่วนตัวอย่างทุเรียนหลังการเสียบยอด 7 เดือน มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณของ สารประกอบฟีนอลิกโดยพบว่าสาร Bayogenin และ Maslinic acid ลดลง แต่มีสาร 3-trans-p-Coumaroylrotundic acid และ Stearic acid เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน (จรัสศรี, 2563) จากผลการศึกษา แสดงให้เห็นว่าสารฟีนอลิกที่พบในทุเรียนหลังการเสียบยอด มีความแตกต่างกับสารฟีนอลิกที่พบ ในพืชชนิดอื่นๆ เช่น การศึกษาใน องุ่น (*Vitis sp.*) พบสารฟีนอลิกชนิด gallic acid และ catechin ใน ปริมาณสูง และสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ การเข้ากันได้หรือไม่ได้ระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีในองุ่น (Canas *et al.*, 2015) ใน loquat พบว่าในกลุ่มต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีที่เข้ากันไม่ได้จะมีปริมาณสารฟีนอลิกสูง กว่าคู่ที่เข้ากันได้ดี โดยสารฟีนอลิกสูงที่สุดคือ r-coumaric acid ซึ่งสารตัวนี้ร่วมกับสารฟลาโวนอยด์ มีผลทำให้ยับยั้งการสร้างแคลลัสที่บริเวณรอยต่อ (Mng'omba *et al.*, 2008) ใน *Prunus armeniaca* การสะสมของสารฟีนอลิกบางชนิดจะทำให้เกิดปัญหาเกี่ยวกับพัฒนาการของแคลลัสในช่วงต้นของการ ทาบกิ่งหรือเสียบยอด (Errea *et al.*, 1994) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาความแตกต่างของต้นตอและกิ่ง พันธุ์ดี ในพืชตระกูล *Prunus* ต่อลักษณะการเจริญเติบโตหลาย ๆ แบบ ที่เกี่ยวข้องกับ การแสดงออก ของยีน และกิจกรรมของเอนไซม์ PAL หลังจากการทาบกิ่ง 2-3 ปี โดยพบว่ายีน *PAL1* และยีน *PAL2* มีการแสดงออกของยีนสูงส่งผลให้กิจกรรมของเอนไซม์ PAL สูงเช่นกัน ในคู่ที่มีปัญหาการ สร้างรอยเชื่อมระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี (Dos Santos Pereira *et al.*, 2014)

สำหรับปริมาณสารลิกนิน พบว่าสารลิกนินในบริเวณเนื้อรอยต่อมีปริมาณสูง กว่าบริเวณได้รอยต่อและบริเวณรอยต่อในทุเรียนทุกคู่เสียบยอด โดยคู่เสียบยอด หอมทอง/ หอมทอง มีปริมาณลิกนินต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับคู่อื่นๆ ที่มีปริมาณลิกนินใกล้เคียงกัน และพบว่า

ช่วง 7 วันหลังเลียบยอดจะมีปริมาณลิกนินน้อย และปริมาณจะเพิ่มขึ้นที่ 21 วันหลังเลียบยอด หลังจากนั้นที่ 45 วันหลังเลียบยอด ปริมาณลิกนินจะไม่แตกต่างกับที่ระยะเวลา 21 วัน Miao และคณะ (2019) ทำการประเมินปริมาณลิกนินภายหลังการเลียบยอดของแตงกวาบนต้นตอปักทง พบว่าปริมาณลิกนินจะเพิ่มขึ้นสูงสุดที่ 3 วันหลังการเลียบยอด จากนั้นปริมาณของลิกนินจะลดลง จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า ปริมาณการสะสมสารประกอบฟีนอลิกที่สูงจะส่งผลให้การสร้างลิกนินเกิดขึ้นได้น้อย ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Hartmann และคณะ (2002) ที่กล่าวว่า สารประกอบฟีนอลิกจะเคลื่อนย้ายจากแควิวโอลไปยังไซโตพลาสซึม ซึ่งมีผลต่อการยับยั้งการทำงานของกระบวนการสังเคราะห์ลิกนิน (lignin pathway) ทำให้การเชื่อมระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีบกพร่อง (Pina and Errea, 2005) นอกจากนี้ยังพบว่าการที่มีสารฟีนอลิกในปริมาณสูง ยังมีผลไปยับยั้งการสะสมออกซิน อีกด้วย (Pina *et al.*, 2012) ลิกนินมีความสำคัญต่อพัฒนาการ และความแข็งแรงของท่อลำเลียง ความสำเร็จของการเชื่อมต่อระหว่างต้นตอกับกิ่งพันธุ์ดีจะต้องเกิดการเชื่อมของรอยต่อเนื้อเยื่อท่อลำเลียง เพื่อการลำเลียงน้ำและธาตุอาหารผ่านรอยต่อ ซึ่งการสร้างเนื้อเยื่อเหล่านี้จะเกี่ยวข้องกับการสร้างลิกนิน

การศึกษาแบบแผนเอ็นไซม์เพอร์ออกซิเดสกับการเข้ากันได้ระหว่างต้นตอ และกิ่งพันธุ์ดี

การวิเคราะห์รูปแบบของไอโซไซม์ของต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีสามารถใช้ทำนายการเข้ากันได้ของทั้งสองส่วนก่อนที่จะทำการต่อกิ่งระหว่างพันธุ์ดีกับต้นตอพันธุ์ต่างๆ เช่น หากเอ็นไซม์เพอร์ออกซิเดส มีรูปแบบคล้ายคลึงกันแสดงว่าการต่อกิ่งน่าจะเข้ากันได้ดี ดังที่มีการศึกษาในเกาลัด (*Castanea mollissima* Blume) โดย Santamour และคณะ (1986) และใน *Quercus* sp. (Santamour, 1988) จากการศึกษาแถบไอโซไซม์ของเนื้อเยื่อบริเวณรอยต่อ เนื้อ และใด้รอยต่อของคู่เลียบยอดหมอนทอง ชะนีกับต้นตอทุเรียนพื้นบ้าน เทียบกับคู่เลียบยอดหมอนทอง/หมอนทอง พบว่ารูปแบบของแถบไอโซไซม์เพอร์ออกซิเดสระหว่างหมอนทอง/หมอนทอง ขมื่น/ชะนี ขมื่น/หมอนทอง ท้ายเลี่ยม/ชะนี ลูกกลม/หมอนทอง ชะนี/ชะนี ชะนี/หมอนทอง นก/หมอนทอง และต้นเขียว/ชะนี ให้แถบที่ใกล้เคียงกันมากที่สุดทั้งส่วนเนื้อ ใด้ และบริเวณรอยต่อ ซึ่งเมื่อพิจารณาถึงการเจริญเติบโตของคู่เลียบยอดที่กล่าวแล้วข้างต้น ให้ผลสอดคล้องกับรูปแบบของแถบไอโซไซม์ แสดงให้เห็นว่าความเหมือนของแถบไอโซไซม์ของต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีสามารถใช้เป็นสิ่งบ่งชี้การเข้ากันได้ดีของต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีในแต่ละคู่เลียบยอดของทุเรียน โดยเฉพาะแถบไอโซไซม์เพอร์ออกซิเดสของตำแหน่งรอยต่อและเนื้อรอยต่อ Santamour (1988) ตั้งสมมุติฐานเกี่ยวกับการเข้ากันได้ของการต่อกิ่งว่า ต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีมีความแตกต่างของแถบ

ไอโซเพอร์ออกซิเดส จะมีความแตกต่างของปริมาณลิกนิน ซึ่งมีผลต่อการเชื่อมของเซลล์ที่อยู่ติดกัน รวมทั้ง sieve plate ในเนื้อเยื่อท่อลำเลียง จากการวิเคราะห์ไอโซเพอร์ออกซิเดส ในคู่ต่อกิ่งระหว่างควินน์และแพร์หลายคู่ พบว่าคู่ที่เข้ากันได้มีแถบ ไอโซเพอร์ออกซิเดส อย่างน้อย 1-2 แถบร่วมกัน ในขณะที่คู่ที่เข้ากันไม่ได้จะไม่ปรากฏแถบดังกล่าว (Gulen *et al.*, 2002) Guclu และ Koyuncu (2012) พบปริมาณเพอร์ออกซิเดสค่อนข้างสูงในส่วนเหนือรอยต่อของการต่อกิ่งเซอร์รีหวาน และพบปฏิกิริยาของไอโซไซม์เพอร์ออกซิเดสที่แตกต่างกันระหว่างคู่ต่อกิ่งที่เข้ากันได้และไม่ได้ ซึ่งนำไปสู่ความเสียหายจากระบวนการออกซิเดชันและการสร้างลิกนิน นอกจากนี้ Santamour (1982) ยังแสดงให้เห็นว่ามีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญระหว่างรูปแบบของไอโซไซม์เพอร์ออกซิเดสบริเวณแคมเบียตรงรอยเชื่อมต่อของเนื้อเยื่อของต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี จากการศึกษาในแมเปิ้ล

การศึกษาการเจริญเติบโตของกิ่งทุเรียนพันธุ์ดีหมอนทองและชะนี บนต้นตอทุเรียนสายพันธุ์ต่างๆ และศึกษาพันธุกรรมของสายพันธุ์ทุเรียน โดยใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์

การเจริญเติบโตของต้นเสียบยอด โดยเฉพาะกิ่งพันธุ์ดีบนต้นตอ นับเป็นหลักฐานสำคัญที่ชัดเจนในการเข้ากันได้ดีระหว่างคู่เสียบยอด หากในเบื้องต้นการเสียบยอดสำเร็จมีการเชื่อมกันได้ของเนื้อเยื่อรอยต่อของทั้งสองส่วน สามารถทำให้กิ่งพันธุ์ดีเจริญและพัฒนาอย่างรวดเร็ว เพราะท่อลำเลียงน้ำและท่อลำเลียงอาหารเชื่อมต่อสมบูรณ์ แต่ในหลายกรณีแม้จะมีการเชื่อมของรอยต่อสมบูรณ์ในระยะแรก แต่กิ่งพันธุ์ดีเจริญเติบโตไม่ดีหรือเจริญได้ช้ามาก และอาจมีปัญหาในระยะต่อมา จากการบันทึกความสำเร็จในการเสียบยอดกิ่งพันธุ์ดีหมอนทองและชะนี บนต้นตอทุเรียนพื้นบ้านสายพันธุ์ต่างๆ กัน พบว่าคู่เสียบยอด homograft หมอนทอง/หมอนทอง และชะนี/ชะนี ประสบความสำเร็จ 80 และ 96.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในคู่เสียบยอดอื่นๆ ก็ให้ผลสำเร็จใกล้เคียงกัน แต่ที่น่าสนใจคือคู่เสียบยอดที่ใช้ทุเรียนนกเป็นต้นตอ คือ นก/หมอนทอง และนก/ชะนี ก็ให้เปอร์เซ็นต์ความสำเร็จสูงเช่นกัน (96.67 และ 83.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) อีกทั้งคู่เสียบยอดทั้งสองมีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าคู่เสียบยอดอื่นๆ ค่อนข้างชัดเจน ทั้งๆ ที่ทุเรียนนกเป็นทุเรียนคนละชนิดกับทุเรียนพันธุ์การค้าหรือทุเรียนพื้นบ้าน สนั่น (2517) รายงานว่าการเสียบยอดระหว่างทุเรียนพันธุ์ดีกับทุเรียนนกเป็นการเสียบยอดข้ามชนิด ดังนั้นความกลมกลืนจะไม่ดีเท่ากับการต่อกิ่งพันธุ์ทุเรียนที่อยู่ในชนิดเดียวกัน เพราะอาจเกิดการเข้ากันไม่ได้ ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อเจริญเติบโตและให้ผลผลิตของต้นทุเรียนเมื่อนำไปปลูกในแปลง แต่การศึกษาครั้งนี้การเสียบยอดระหว่างกิ่งพันธุ์ดีหมอนทองและชะนี บนต้นตอทุเรียนนกไม่ได้มีอุปสรรคแต่อย่างใด เช่นเดียวกับรายงานจากประเทศอินเดียที่มีการใช้ทุเรียนป่า (*Cullenia excelsa*) (*D. ceylanicus* Gardn.) เป็นต้นตอ สามารถ

ทำให้ต้นทุเรียน (*D. zibethinus*) แข็งแรงและให้ผลผลิตดี (Lim, 1993) สอดคล้องกับการทดลองของ ทรงพล (2530) ที่ได้ทำการศึกษาการเจริญเติบโตของทุเรียนชนิดต่างๆ บนต้นตอทุเรียนพื้นเมือง โดยใช้กิ่งพันธุ์ทุเรียนชนิดต่างๆ 8 ชนิด ได้แก่ ทุเรียนข้าวตอก (*D. graveolens*) ทุเรียนพันธุ์ชะนี (*D. zibethinus*) ทุเรียนขนยาวหรือหนามคอก (*D. oxleyanus*) ทุเรียนนกกตรัง (*D. lowianus*) ทุเรียนนกกมาเลเซีย (*D. lowianus*) ชาเรียน (*D. mansoni*) ทุเรียนรากขา (*D. kutejensis*) และทุเรียนไม่มีหนาม (*Durio* sp.) พบว่า กิ่งพันธุ์ทุเรียนนกกตรัง ทุเรียนนกกมาเลเซีย และชาเรียนสามารถเจริญเติบโตได้ดี บนต้นตอทุเรียนพื้นบ้าน ทุเรียนนกกจัดเป็นชนิด *D. lowianus* ส่วนทุเรียนพันธุ์การก้าไม่ว่าจะเป็น หมอนทองหรือชะนีเป็นชนิด *D. zibethinus* ซึ่งมีความห่างไกลกันทางพันธุกรรมกันค่อนข้างมาก ดังแสดงในผลการวิเคราะห์พันธุกรรมของทุเรียนสายพันธุ์ต่างๆ ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ที่พบว่า เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ จำนวน 8 คู่ โพรเมอร์ ได้แก่ MS1CT-5, MS1CT-6, MS1CT-7, MS1CT-9, MS1CT-12, MS1GT-15, MS1AAC-5 และ MS1AAC-19 (ศศิวิมล และคณะ, 2557) สามารถจัดกลุ่มตัวอย่างทุเรียนพื้นบ้าน และทุเรียนนกกที่ใช้เป็นต้นตอ และกิ่งพันธุ์หมอนทองและชะนีที่ใช้เสียบยอดบนต้นตอต่างๆ ได้เป็น 2 กลุ่ม มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.56-0.93 โดยทุเรียนนกกถูกจัดแยกกลุ่มจากสายพันธุ์อื่นๆ ชัดเจน (ภาพที่ 23) โดยทั่วไปการต่อกิ่งจะประสบความสำเร็จได้มากกว่าหากต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีเป็นพืชชนิดเดียวกัน หรือเป็นกลุ่มที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมสูง (Andrews and Marquez, 1993)

แต่ในทุเรียนแม้จะเป็นชนิดเดียวกันแต่จีโนมไทป์ของต้นตอมีผลต่อการเจริญเติบโตของกิ่งพันธุ์ดี ตัวอย่างเช่น Yuniastuti และคณะ (2017) ทำการศึกษาผลการเจริญเติบโตของกิ่งทุเรียนหมอนทองบนต้นตอทุเรียนพื้นบ้าน 3 สายพันธุ์ คือ Petruk, Brongkol และ Sapuan พบว่า กิ่งพันธุ์ดีหมอนทองบนต้นตอ Sapuan เจริญเติบโตได้ดีที่สุด Naim และคณะ (2016) ทำการเสียบยอดทุเรียนพันธุ์ดี 3 พันธุ์ คือ Dubang, Reed Extra และ Bumisari บนต้นตอทุเรียนพื้นบ้านอินโดนีเซีย พบว่า ต้นตอมีอิทธิพลอย่างมากต่อการเจริญเติบโตของกิ่งพันธุ์ดี ซึ่งผลดังกล่าวอาจเกิดจากความสามารถในการเข้ากันได้ของกลุ่มเสียบยอดที่มีพันธุกรรมแตกต่างกัน โดยกิ่งพันธุ์ Dubang ที่ต่อกิ่งบนต้นตอทุเรียนพื้นบ้านมีการเจริญเติบโตดีกว่าพันธุ์อื่น ๆ ทุเรียนนกก เป็นทุเรียนป่า มีลักษณะผลกลมเล็ก หนามแหลม มีแต่เมล็ด ส่วนของเนื้อน้อยมาก ไม่สามารถรับประทานได้ มีรายงานว่า ทุเรียนนกกมีความทนทานต่อโรครากเน่าโคนเน่า (ขจรศักดิ์ และคณะ, 2520; แสงวง, 2527) ดังนั้นจึงนิยมนำทุเรียนนกกมาเป็นต้นตอ นอกจากนี้ยังพบอีกว่าทุเรียนนกกมีระบบรากยาว และรากเจริญเติบโตเร็ว หากอาหารเก่ง มีการงอกแบบไม่ทิ้งเมล็ดซึ่งเป็นแหล่งอาหารให้กับต้นกล้าในระยะแรก อาจมีผลทำให้มีเปอร์เซ็นต์การเสียบยอดสำเร็จสูง ไม่ว่าจะเสียบกับหมอนทองหรือชะนี เมื่อไม่มีปัญหาเรื่องการเชื่อมของรอยต่อระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี จึงส่งผลให้กิ่งพันธุ์ดีที่นำมา

เสียบขดมีการเจริญเติบโตได้รวดเร็ว อย่างไรก็ตาม คงต้องมีการติดตามการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตในระยะยาวต่อไป

บทที่ 5

สรุป

การประเมินการเข้ากันได้ของทุเรียนหอมทอง และชะนี ที่เสียบยอดบนต้นต่อทุเรียนพื้นบ้านสายพันธุ์ต่างๆ โดยศึกษาการเชื่อมของรอยต่อ ปริมาณการสร้างสารประกอบฟีนอลิก ลิกนิน รูปแบบของไอโซไซม์เพอร์ออกซิเดส และการเจริญเติบโต จำนวน 16 คู่เสียบยอด ได้แก่ หอมทอง/ชะนี ชะนี/หอมทอง นก/หอมทอง นก/ชะนี ขมื่น/หอมทอง ขมื่น/ชะนี ท้ายเลี่ยม/หอมทอง ท้ายเลี่ยม/ชะนี ใฮ้ส้ม/หอมทอง ใฮ้ส้ม/ชะนี ลูกกลม/หอมทอง ลูกกลม/ชะนี ต้นเขียว/หอมทอง และต้นเขียว/ชะนี เปรียบเทียบกับ homograft (หอมทอง/หอมทอง และชะนี/ชะนี) สามารถสรุปผลได้ดังนี้

1. เปรอร์เซ็นต์ความสำเร็จภายหลังการเสียบยอดทุเรียนที่อายุ 28 วัน มีค่า 76.92-100 เปรอร์เซ็นต์ พบว่า การใช้กิ่งพันธุ์ชะนีเสียบยอดบนต้นต่อท้ายเลี่ยม ต้นต่อใฮ้ส้ม และต้นต่อลูกกลม ให้เปอร์เซ็นต์ความสำเร็จของการเสียบยอดสูงที่สุดเท่ากัน คือ 100 เปอร์เซ็นต์ ชะนีและหอมทองที่เสียบยอดบนต้นต่อทุเรียนนกมีเปอร์เซ็นต์ความสำเร็จ 96.67 และ 83.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ homograft หอมทอง/หอมทอง และ ชะนี/ชะนี มีเปอร์เซ็นต์ความสำเร็จ 96.67 และ 80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

2. การศึกษาการพัฒนาของเนื้อเยื่อรอยต่อระหว่างต้นต่อทุเรียนพื้นบ้านและกิ่งพันธุ์ดีหอมทอง และชะนี ที่อายุ 28 วันหลังการเสียบยอด พบว่า ทุกคู่เสียบยอดมีการพัฒนาของเนื้อเยื่อแคลลัสที่ไม่แตกต่างกัน และเมื่อทำการตัดเนื้อเยื่อตามยาวบริเวณรอยต่อของทั้ง 2 ส่วน ที่อายุ 12 เดือนหลังการเสียบยอด พบว่า กิ่งพันธุ์ดีหอมทอง และชะนีที่เสียบยอดบนต้นต่อทุเรียนนก และต้นต่อขมื่น มีการพัฒนาของรอยต่อดีที่สุด

3. จากการประเมินปริมาณการสร้างสารฟีนอลิก และลิกนิน ภายหลังการเสียบยอดที่ระยะ 0, 7, 21 และ 45 วัน ของต้นต่อทุเรียนพันธุ์หอมทอง ชะนี นก และขมื่น ที่เสียบยอดด้วยกิ่งพันธุ์ดีหอมทองและชะนี พบว่า เสียบยอด นก/หอมทอง มีการสร้างสารฟีนอลิกน้อยที่สุด เมื่อเทียบกับคู่อื่นๆ ในขณะที่ คู่เสียบยอด ขมื่น/ชะนี มีการสร้างสารลิกนินมากที่สุด

4. การศึกษารูปแบบของไอโซไซม์เพอร์ออกซิเดสบริเวณรอยต่อ เนื้อเยื่อและได้รอยต่อของแต่ละคู่เสียบยอด ที่อายุ 12 เดือนหลังการเสียบยอด พบว่า รูปแบบของแถบไอโซไซม์ของคู่เสียบยอด จำนวน 9 คู่ ได้แก่ หอมทอง/หอมทอง ขมื่น/ชะนี ขมื่น/หอมทอง ท้ายเลี่ยม/ชะนี ลูกกลม/หอมทอง ชะนี/ชะนี ชะนี/หอมทอง นก/หอมทอง และต้นเขียว/ชะนี ให้แถบไอ

โซโซมเพอร์ออกซิเดสที่เหมือนกันในทุกตำแหน่ง โดยรูปแบบของแถบไอโซโซมเพอร์ออกซิเดสส่วนใหญ่ให้ผลสอดคล้องกับผลการเจริญโตและพัฒนาของกิ่งพันธุ์ดิบต้นตอดังกล่าว

5. การบันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของกิ่งพันธุ์หมอนทอง และชะนี บนต้นต่อทุเรียนพื้นบ้านสายพันธุ์ต่างๆ พบว่าการใช้ทุเรียนนกกเป็นต้นต่อและเสียบยอดด้วยกิ่งพันธุ์ไม่ว่าจะเป็นพันธุ์หมอนทองหรือชะนี มีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับการใช้ต้นต่อทุเรียนพื้นบ้านสายพันธุ์อื่นๆ แสดงให้เห็นว่าแม้จะมีความแตกต่างทางพันธุกรรมกันค่อนข้างมาก จากผลการวิเคราะห์พันธุกรรมของทุเรียนนกกเปรียบเทียบกับทุเรียนพันธุ์หมอนทองและชะนี โดยใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ (ค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรม 0.56) แสดงให้เห็นว่าการเสียบยอดระหว่างทุเรียนคนละชนิดคือ *D. zibethinus* และ *D. lowianus* สามารถเข้ากันได้ดี

เอกสารอ้างอิง

- กรมวิชาการเกษตร. 2542. โรครากเน่าโคนเน่าทุเรียน. รายงานการประชุมวิชาการประจำปี 2542. ณ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 6. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ 29 มีนาคม-2 เมษายน 2542 หน้า 13-18.
- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2556. การขยายพันธุ์พืช. กรุงเทพฯ: กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตร และสหกรณ์ 95 หน้า.
- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2562. การจัดการโรคและแมลงศัตรูทุเรียน กรุงเทพฯ: กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตร และสหกรณ์.
- กัลยา ประพาน และ กรรณิการ์ธีระวัฒนาสุข. 2554. การใช้เทคโนโลยีภาพในการเพิ่มประสิทธิภาพ การปรับปรุงพันธุ์ยาง. เอกสารประกอบการประชุมวิชาการยางพารา ครั้งที่ 1 ประจำปี 2554 ณ โรงแรมเชียงใหม่ฮิลล์.เมือง จ.เชียงใหม่ วันที่ 20-22 กุมภาพันธ์ 2554. หน้า 38-54.
- ขจรศักดิ์ ภาวกุล. 2514. โรครากเน่าของทุเรียน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ขจรศักดิ์ ภาวกุล สุชาติ วิจิตตรานนท์ และสามารถ จิตนาวสาร. 2520. การศึกษาดันตที่ทนทาน โรครากเน่าของทุเรียน. รายงานผลการทดลองและวิจัย. กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ
- ขวัญหทัย ทนงจิตร พินิจ กรินทร์ชญญกิจ กัลยาณี สุวิทวัส เรื่องศักดิ์ กมขุนทด และ พิมพนิภา เฟื่องช่าง. 2558. อิทธิพลของพันธุ์และวิธีการตอกิ่งที่มีผลต่อการขยายพันธุ์อะโวคาโดพันธุ์ปีเตอร์สัน บุษ7 เฟอ์อเท่ และแฮส. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขาพืช 53: 423-430.
- จรัสศรี นวลศรี กรกช นาคคอง เสาวภา ค้วงปาน เจษฎา โสภารัตน์ อมรรัตน์ จันทนาอรพินท์ และ รวิรัชต์ รักขันซ์. 2561. รายงานวิจัยโครงการวิจัยการประเมินความหลากหลายของทุเรียนพื้นบ้านเพื่อการคัดเลือก อนุรักษ์และการขยายพันธุ์ กรณีศึกษา: อ.นาหม่อม จ.สงขลา. คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จ.สงขลา สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.
- จรัสศรี นวลศรี จำเป็น อ่อนทอง กรกช นาคคอง เสาวภา ค้วงปาน ปฎิมาพร ปลอดภัย พันทิพย์ เสนอินทร์ วิชัย เฟื่องจันทร์ สุเทพ เทพสุริวงศ์ และปราโมทย์ บัวแก้ว. 2563. การประเมินความหลากหลายของพันธุ์ทุเรียนพื้นบ้านบริเวณลุ่มน้ำคลองแสง อำเภอบ้านตาขุน จังหวัด

สุราษฎร์ธานี เพื่อการคัดเลือก อนุรักษ์และขยายพันธุ์ รายงานวิจัย คณะทรัพยากรธรรมชาติ และการไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย เชื้อนรัชชประภา จังหวัดสุราษฎร์ธานี.

จรัสศรี นวลศรี กรกช นาคคอง เสาวภา คิ้วปาน ปฎิมาพร ปลอดภัย อมรัตน์ จันทนาอรพินท์ และสุรศักดิ์ พรหมสกุล. 2563. รายงานวิจัยโครงการเรื่องการประเมินการเข้ากันได้ของต้นตอทุเรียนพื้นบ้านภาคใต้กับกิ่งทุเรียนพันธุ์การค้า อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จ.สงขลา สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

เชษฐา กวางทอง. 2541. การใช้เทคโนโลยีการผลิตทุเรียนของเกษตรกรในจังหวัดจันทบุรี : ศึกษาเฉพาะกรณี อำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรี. กรุงเทพฯ: วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ทรงพล สมศรี. 2530. การศึกษาการเจริญเติบโตของทุเรียนชนิดต่างๆ บนต้นตอทุเรียนพื้นเมือง. กรุงเทพฯ: วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ทรงพล สมศรี. 2551. ทุเรียนไทยและการปรับปรุงพันธุ์ : กรณีศึกษาพันธุ์ จันทบุรี 1 จันทบุรี 2 จันทบุรี 3. กรุงเทพฯ : กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

นงพร ลิทธิเจริญชัย. 2535. เทคนิคการขยายพันธุ์พืช. สงขลา: ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่.

ปิรัชฎ์ เจริญทรัพย์ ฐิตาภรณ์ ภูมิไชย์ อินทิตรา จารุเพ็ง อรชร โชติญาณวงษ์ ประไพ โมจรินทร์ และพรชัย จุฑามาศ. 2552. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของทุเรียนโดยใช้ดีเอ็นเอเครื่องหมายชนิดไมโครแซทเทลไลท์. การประชุมวิชาการพันธุศาสตร์ แห่งชาติ ครั้งที่ 16 “พันธุศาสตร์แก้วิกฤตพลังงาน” ณ มหาวิทยาลัย ธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ปทุมธานี วันที่ 25-27 มีนาคม 2552. หน้า 12-16.

พิทักษ์ ใจคง และสุภาลัย ไชยสุด. 2553. การผสมพันธุ์พืช. กรุงเทพฯ: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง.

พวงผกา สุนทรชัยนาคแสง. 2548. กายวิภาคและสัณฐานวิทยาของพืชดอก. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ท็อป.

รวมพร เกษราพงศ์. 2550. การเจริญของรอยประสานจากการติดตา ต่อกิ่ง ของกิ่งปลับบางพันธุ์บนต้นตอกด้วยถ้ำยี่และต้นตอเต้าซื่อ. กรุงเทพฯ: วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ละม้าย ทองบุญ. 2552. เทคนิคพื้นฐานทางเนื้อเยื่อวิทยา. สงขลา. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ลือชัย บุตุคูป. 2554. สารประกอบฟีนอลิก และฤทธิ์ทางชีวภาพ. วารสารวิทยาศาสตร์ และ เทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม 31: 443-455.

ศศิวิมล แสงผล อุษณีย์ พิษกรรม วิษุวัต สงนวล ปวีณา ไตรเพิ่ม ปิรัชญ์ เจริญทรัพย์ สุวิไล เปรมศรีรัตน์ และเกษม กุลประดิษฐ์. 2557. แผนงานวิจัย การอนุรักษ์ทรัพยากรพันธุกรรมทุเรียน และภูมิปัญญาท้องถิ่นของชาวสวนทุเรียนในประเทศไทยเพื่อการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน ตามแนวทางของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี. กรุงเทพฯ: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์).

สนั่น ขำเลิศ. 2517. ความก้าวหน้าและข้อเสนอแนะในการใช้ทุเรียนนกกเป็นต้นตอทนโรคเน่าในทุเรียนสวน. หนังสือจันทบุรี. ชุมนุมนิสิตชาวจันทบุรี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สนั่น ขำเลิศ. 2526. หลักและวิธีการขยายพันธุ์พืช. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: ฟันนี้พับบลิชชิง.

สมจินตนา รุเดอร์แมน พนิดา คงสวัสดิ์วรกุล อัญชिरา สุขมาก และ พเยาว์ ร่มรื่นสุขารมย์. 2551. การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลที่เกี่ยวข้องกับขบวนการสร้างเนื้อไม้ยางพารา. สถาบันวิจัยยาง กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สุนิ ศรีสิงห์, สุภาพ สุนทรนนท์. 2548. ทุเรียนพื้นเมืองพันธุ์ต่างๆ สำหรับใช้ต้นตอทนทานต่อโรครากเน่า. วารสารวิชาการเกษตร 23:45-50.

สุรินทร์ ปิยะโชคคณากุล. 2552. เครื่องหมายดีเอ็นเอ : จากพื้นฐานสู่การประยุกต์. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุริรัตน์ ทวนทวี และ เมืองทอง ทวนทวี. 2539. ขยายพันธุ์พืช. ขยายพันธุ์พืชโดยรูปภาพ. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ทั้งสี่ชิน

แสวง ภูศิริ. 2527. ทุเรียน. ฟาร์มรัตนา. เขาช่อง จังหวัดศรี

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2562. สถิติการส่งออกทุเรียนปี 2562. เข้าถึงได้จาก :

http://impexp.oae.go.th/service/export.php?S_YEAR=2560&E_YEAR=2560&PRODUCT_GROUP=5252&PRODUCT_ID=4977&wf_search=&WF_SEARCH=Y

[สืบค้นเมื่อ 3 มีนาคม 2562].

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2562. ข้อมูลการผลิตทุเรียนปี 2562. เข้าถึงได้จาก :

[http://www.oae.go.th/assets/portals/1/fileups/prcaidata/files/durian62\(1\).pdf](http://www.oae.go.th/assets/portals/1/fileups/prcaidata/files/durian62(1).pdf) [สืบค้นเมื่อ 3 มีนาคม 2562].

- หิรัญ หิรัญประดิษฐ์. 2551. ทูเรียน. สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน ฉบับเสริมการเรียนรู้ เล่ม 10. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ด้านสุขภาพการพิมพ์.
- อุษณีย์ พิษกรรม. 2562. การประเมินความหลากหลายของทูเรียนพื้นบ้านเพื่อการคัดเลือก อนุรักษ์ และขยายพันธุ์ กรณีศึกษา อ.เมือง อ.ทุ่งตะโก อ.หลังสวน และ อ.สวี จ.ชุมพร. แบบฟอร์มสรุปผลงานโครงการวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.
- สุดา แก้วศรีสม. 2556. การศึกษาความหลากหลายของทูเรียนพื้นบ้านภาคใต้โดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี และ ไมโครแซตเทลไลท์. สงขลา: วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่.
- Andrew, P. K. and C. S. Marquez. 1993. Graft in compatibility. *Horticultural Reviews* 15: 123-218.
- Azimi, M., M. T. Ozkaya, H. Colgecen and H. N. Buyukkartal. 2016. Analysis of phenolic compounds for determination of cambium differentiation and tracheal elements in olive graft combinations. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Science* 4: 714-720.
- Baron, D., A. C. E. Amaro, A. Pina and G. Ferreira. 2019. An overview of grafting re-establishment in woody fruit species. *Scientia Horticulturae* 243: 84-91.
- Bennett R, Wallsgrave R. M. 1994. Secondary metabolites in plant defence mechanisms. *New Phytologist* 127: 617-633.
- Bindu, R. N. and K. S. Fahsa. 2004. Isolation and characterization of mucilage from some selected of *Abelmoschus medic* (Malvaceae) and their application in pharmaceutical suspension. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science* 5: 389-402.
- Buchloh, G. 1960. The lignification in stock-scion junctions and its relation to compatibility. *In Phenolics in Plants in Health and Disease*. (ed. J.B. Pidham) Vol.III, pp. 67-71. New York: Pergamon Press.
- Caballero, F., F. García-Sánchez, V. Gimeno, J. P. Syvertsen, V. Martínez and F. Rubio. 2013. High-affinity potassium uptake in seedlings of two citrus rootstocks Carrizo citrange (*Citrus sinensis* [L.] Osb. × *Poncirus trifoliata* [L.] Raf.) and Cleopatra mandarin (*Citrus reshni* Hort. ex Tanaka). *Australian Journal of Crop Science* 7(5): 538-542.
- Canas, S., M. Assunção, J. Brazão, G. Zanol and J. E. Eiras-Dias. 2014. Phenolic compounds involved in grafting incompatibility of *Vitis* spp: development and validation of an analytical method for their quantification. *Phytochemical Analysis* 26(1): 1-7.

- Chen, Z., J. Zhao, Y. Qin and G. Hu. 2016. Study on the graft compatibility between 'Jingganhongnuo' and other litchi cultivars. *Scientia Horticulturae* 199: 56-62.
- Cooman, L. D., E. Everaert, P. Curir and M. Dolci. 1996. The possible role of phenolics in incompatibility expression in *Eucalyptus gunnii* micrografts. *Phytochemical Analysis* 7: 92-96
- Copes, P. 1978. Isozyme activity differ in compatible Douglas- fir graft unions. *Forest Science* 24: 297-303.
- Dahal, H. 2013. Rootstock-scion relationships in fruit crops. Department of Horticulture, Institute of Agriculture and Animal Science, Rampers, Chitawan, Nepal.
- Darikova, J. A., Y. V. Savva, E. A. Vaganov, A. M. Grachev. and G. V. Kuznetsova. 2011. Grafts of woody plants and the problem of incompatibility between scion and rootstock (a review). *Journal of Siberian Federal University. Biology*. 4: 54-63.
- Davis, A. R., P. Veazie, Y. Sakata, S. Galarza, V.J.Maroto, G.S. Lee, C.Y. Huh, Y.Z. Sun, A. Miguel, R. King, R. Cohen and J. M. Lee. 2008. Cucurbit grafting. *Plant Science* 27: 50-74.
- Donald, L. 1973 Inheritance of graft compatibility in Douglas-fir. *Botanical Gazette* 134: 49-52.
- Dos Santos Pereira, I., R. Silva Messias, Â. Diniz Campos, P. Errea, L. E. Corrêa Antunes, J. C. Fachinello and A. Pina. 2014. Growth characteristics and phenylalanine ammonia-lyase activity in peach grafted on different *Prunus* spp. *Biologia Plantarum* 58: 114-120.
- Doyle, J.J. and J. L. Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13-15.
- Elstner, E. F., W. Obwald, R. Volpert and H. Schempp. 1994. Phenolic antioxidants. *Acta Horticulturae* 381: 301-335.
- Ermel, F. F., J. Kervella, A. M. Catesson and J. L. Poëssel. 1998. Localized graft incompatibility in pear/quince (*Pyrus communis*/*Cydonia oblonga*) combinations: multivariate analysis of histological data from 5-month-old grafts. *Tree Physiology* 19: 645-654.
- Ermel, F. F., J. Kervella, A. M. Catesson and J. L. Poëssel. 1999. Localized graft incompatibility in pear/quince (*Pyrus communis*/*Cydonia oblonga*) combinations: multivariate analysis of histological data from 5-month-old grafts. *Tree Physiology* 19(10): 645- 654.
- Errea, P., A. Felipe and M. Herrero. 1994. Graft establishment between compatible and incompatible *Prunus* spp. *Journal of Experimental Botany* 45: 393-40.

- Errea, P., A. Felipe, D. Treutter and W. Feucht. 1994. Flavanol accumulation in apricot grafts as a response to incompatibility stress. *Acta Horticulturae* 381: 498-501.
- Errea, P. 1998. Implications of phenolic compounds in graft incompatibility in fruit tree species. *Scientia Horticulturae* 74: 195-205.
- Errea, P., L. Garayb and J. A. Mari'nb. 2001. Early detection of graft incompatibility in apricot (*Prunus armeniaca*) using in vitro techniques. *Physiologia Plantarum* 112: 135–141.
- Errea, P. and C. Borruey. 2004. Early detection of graft compatibility in apricot/*Prunus* combinations. *Acta Horticulturae* 658: 555–558.
- Fan, J., R. Yang, X. Li, W. Zhao, F. Zhao and S. Wang. 2015. The processes of graft union formation in tomato. *Horticulture, Environment and Biotechnology* 56(5): 569–574.
- Feucht, W., Treutter, D., and Christ, E. (1992). Localization and quantitative determination of catechins and proanthocyanidins in the phloem of elm and cherry. *Tree Physiology* 10(2): 169–177.
- Gebhardt, K. and Feucht, W. 1982. Polyphenol Changes at the Union of *Prunus Avium/Prunus Cerasus* Grafts. *Journal of Horticultural Science* 57(3): 253-258.
- Gebhardt, K. and H. Goldbach. 1988. Establishment, graft union characteristics and growth of *Prunus* micrografts. *Physiologia Plantarum* 72(1): 153–159.
- Guclu, S. F. and Koyuncu, F. 2012. A method for prediction of graft incompatibility in sweet cherry. *Notulae Botanicae Horticultural Agrobotanici* 40: 243-246.
- Gulen, H., Arora, R., Kuden, A., Krebs, S. L. and Postman, J. 2002. Peroxidase isozyme profiles in compatible incompatible pear-quince graft combinations. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 127: 152-157.
- Gulen, H., Rajeev, A., Krebs, S. and Postman, J. 2001. Peroxidase Isozyme Profiles in Compatible and incompatible Pear-C Graft Combination. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 127: 152-157.
- Hao, X. Y., W. L. Bi, Z. H. Cui, C. Pan, Y. Xu and Q. C. Wang. 2017. Development, histological observations and *Grapevine leafroll-associated virus-3* localisation in *in vitro* grapevine micrografts. *Annals of Applied Biology* 170: 379–390.
- Harborne, J. B. 1994. *Flavonoids: Advances in Research Since 1986*. London: Chapman and Hall.

- Harkin, J. M. and J. R. Obst. 1973. Lignification in trees: Indication of exclusive peroxidase participation. *Science* 180: 296-298.
- Hart, J.H. and W. E. Hillis. 1972. Inhibition of wood-rotting fungi by ellagitannins in the heartwood of *Quercus alba*. *Phytopathology* 62: 620–626.
- Hartmann, H. T., D. E. Kester, F. T. Davies and R. L. Geneve. 2002. Plant propagation: principle and practices. New Jersey: Prentice Hall Incorporated. pp. 880
- Hartmann, H. T., D. E. Kester, F. T. Davies and R. L. Geneve. 2010. Principles of grafting and budding. *In* Plant Propagation : Principles and Practices. New Jersey: Prentice Hall. Chapter 11. pp. 415–463.
- He, W., Y. Wang, Q. Chen, B. Sun, H. R. Tang, D. M. Pan and X. R. Wang. 2018. Dissection of the mechanism for compatible and incompatible graft combinations of *Citrus grandis* (L.) Osbeck ('Hongmian Miyou'). *International Journal of Molecular Sciences* 19 (2): 505–5016.
- Herrero, J., A. E. Carrasco and J. M. Zapata. 2014. *Arabidopsis thaliana* peroxidases involved in lignin biosynthesis: in silico promoter analysis and hormonal regulation. *Plant Physiology and Biochemical* 80: 192-202.
- Herrero, J. 1951. Studies of compatible and incompatible graft combinations with special reference to hardy fruit trees. *Journal Horticultural Science and Biotechnology* 26: 186-237.
- Hudina, M., P. Orazem, J. Jakopic and F. Stampar. 2014. The phenolic content and its involvement in the graft incompatibility process of various pear rootstocks (*Pyrus communis* L.). *Journal of Plant Physiology* 171: 76-84.
- Islam, M. N., Rahim, M. A., Naher, M. N. A., Azad, M. I. and Shahjahan, M. 2004. Effect of time of operation and age of rootstock on the success of inserted contact grafting in mango. *Asian Journal of Plant Sciences* 3: 636-641.
- Jimenes, I.M., Mayer, N.A., Dias, C.T.S., Scarpore Filho, J.A., da Silva, S.R., 2018. Influence of clonal rootstocks on leaf nutrient content, vigor and productivity of young 'Sunraycer' nectarine trees. *Science Horticultural Amsterdam* 235: 279–285.
- Kanzaki, S., Yonimori, K., Sugiura, A. and Subhadrabandhu, S. 1998. Phylogenetic relationships of the common durian (*Durio zibethinus* Murray) to other edible fruited *Durio* spp. by

- RFLP analysis of an amplified region of cpDNA. *Horticultural Science and Biotechnology* 73:317-321.
- Lespinasse, L., M. Rodier-Ground, L. Grivet, A. Lecote, H. Legnet and M. Seguin. 2000. A saturate linkage map of rubber tree (*Hevea* spp.) base on RFLP, AFLP, microsatellite and isozyme markers. *Theoretical Analysis and Applied Genetics* 100: 121-138.
- Lim, T. K. and L. G. Chan. 1986. Fruit rot of durian caused by *Phytophthora palmivora*. *Pertanika* 9: 269-276.
- Lim, T. K. 1993. Durian diseases and disorder. Tropical Press, SDN BHD, Kuala Lumpur, Malaysia. 95 p.
- Loehle, C. 1988. Tree life history strategies: the role of defences. *Canadian Journal of Foreest Research* 18: 209–222.
- Mahunu, J. K., P. Y. Adjei and A. K. Asante. 2012. Anatomical studies on graft formation in cashew (*Anacardium occidentale* L.). *Agriculture and Biology Journal of North America* 3: 150–153.
- Marinova, D., F. Ribarova and M. Atanassova. 2005. Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy* 40(3): 255-260.
- Mehdi-Tounsi, H., A. Chelli-Chaabouni, D. Mahjoub-Boujnah and M. Boukhris. 2017. Longterm field response of pistachio to irrigation water salinity. *Agricultural Water Manage.* 185, 1–12.
- Miao, L., S. Li, L. Bai, A. Anwar, Y. Li, C. He and X. Yu. 2019. Effect of grafting methods on physiological change of graft union formation in cucumber grafted onto bottle gourd rootstock. *Scientia Horticulturae* 244: 246-259.
- Moing, A. and J. P. Carde. 1988. Growth, cambial activity and phloem structure in compatible and incompatible peach/plum grafts. *Tree Physiology* 4: 347-359.
- Moing, A., F. Carbonne and J. P. Gaudillere. 1990. Growth and carbon partitioning in compatible and incompatible peach/plum grafts. *Physiologia Plantarum* 79(3): 540–546.

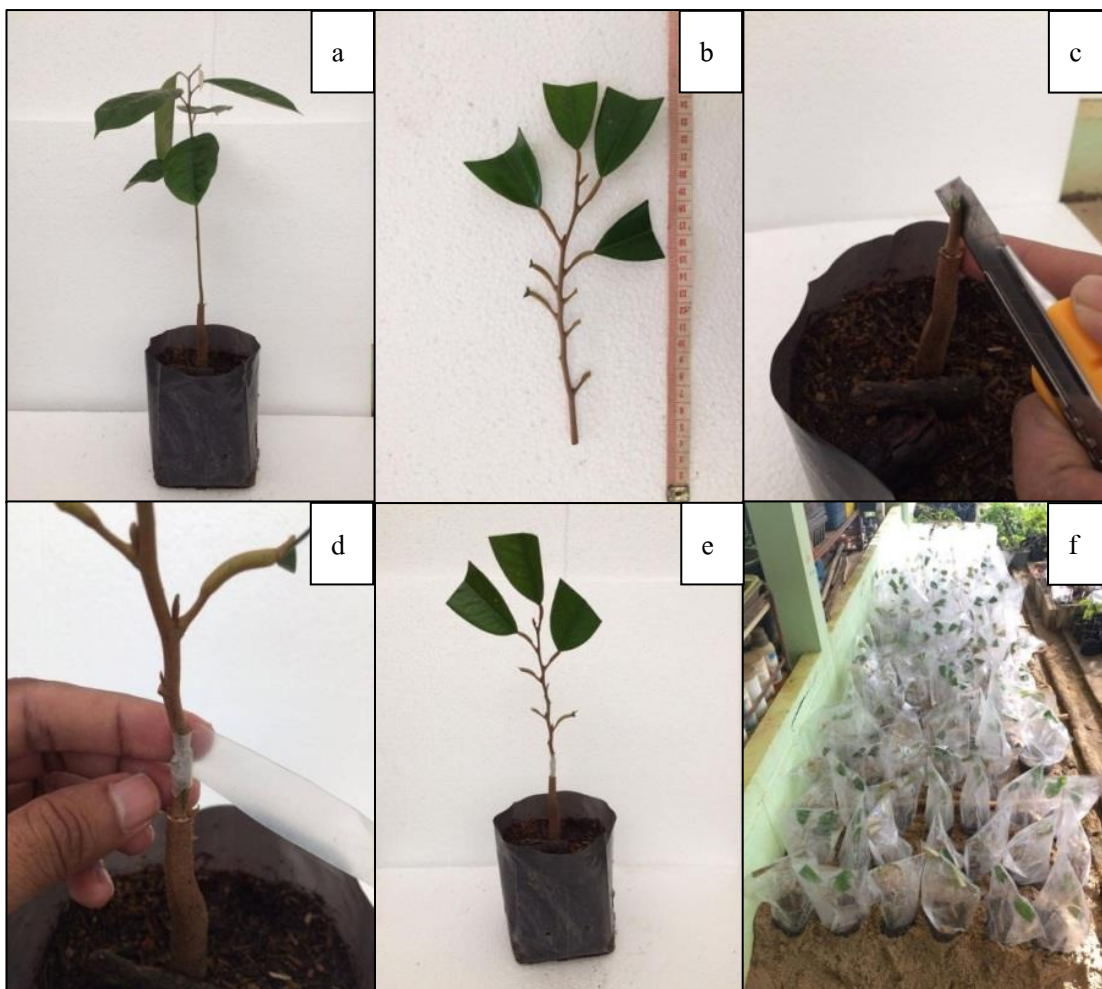
- Moore, R. and D. B. Walker. 1982. A structural study of incompatibility heterograft between *Sedum telephoides* (Crassulaceae) and *Solanum pennilli* (Solanaceae). American Journal of Botany 68: 831-842.
- Moreira-vilar, F.C., R. D. C. Siqueira-Soares, A. Finger-Teixeira, D. M. D. Oliveira, A. P. Ferro, G. J. D. Rocha, M. D. L. Ferrarese, W. D. D. Santos. and O. Ferrarese-Filho. 2014. The acetyl bromide method is faster, simpler and presents best recovery of lignin in different herbaceous tissues than klason and thioglycolic acid methods. PLoS ONE 9: e1 10000.
- Mosse B. 1962. Graft incompatibility in fruit trees. Technical Communication of the Commonwealth Bureau of Horticultural Plant Crops 28: 1-36.
- Mng'omba, S. A., E. S. Toit and F. K. Akinnifesi. 2008. The relationship between graft incompatibility and phenols in *Uapaca kirkiana* Muell Arg. Scientia Horticulturae 117: 212-218.
- Mudge, K., J. Janick, S. Scofield and E. E. Goldschmidt. 2009. A history of grafting. Horticultural Reviews 35: 437-493.
- Naim, A., L. Hakim and S. Indriyani. 2016. The survival rate of grafted-seedling of durian (*Durio zibethinus* Murr.) in the indigenous agroforestry orchards of Osingnese in Banyuwangi, East Java, Indonesia. International Journal of Research Studies in Agricultural Sciences 2: 13-22.
- Nguyen, V. H. and C. R. Yen. 2017. Rootstock age and grafting season affect graft success and plant growth of papaya (*Carica papaya* L.) in greenhouse. Chilean Journal of agricultural Research 78: 59-67.
- Olmstead, M. A., N. S. Lang, F. W. Ewers and S. A. Owens. 2006. Xylem vessel anatomy of sweet cherries grafted onto dwarfing and nondwarfing rootstocks. Journal of the American Society for Horticultural Science 131: 577-585.
- Oraguzie, N. C., D. L. Mcneil. and M. B. Thomas. 1998. Examination of graft failune in New Zealand chestnut (*Castanea* SPP.) selections. Scientia Horticultural 76: 89-103.
- Pereira, I. D. S., C. J. Fachinello, C. E. L. Antunes, D. Â. Campos and A. Pina. 2014. Incompatibilidade de enxertia em *Prunus*. Ciencia Rural 44: 1519-1526.

- Pereira, I. D. S., A. Pina, L. E. C. Antunes, Â. D. Campos and J. C. Fachinello. 2018. Genotypic differences in cyanogenic glycosides levels of compatible *Prunus persica* *P. persica* and incompatible *P. persica* *P. mume* combinations. *Bragantia* 77(1): 1–12.
- Pina, A. and P. Errea. 2005. A review of new advances in mechanism of graft compatible - incompatible in *Prunus* spp. *Scientia Horticulturae* 106: 1-11.
- Pina, A., P. Errea and H. J. Martens. 2012. Graft union formation and cell-to-cell communication via plasmodesmata in compatible and incompatible stem unions of *Prunus* spp. *Scientia Horticulturae* 143: 144-150.
- Polat, M., O. Dolgun, A. Yildirim, M. A. Askin. and Z. Gokbayrak. 2010. Graft union formation of spur apple varieties grafted on different rootstocks. *Journal of Food Agriculture & Environment* 8(2): 490-493.
- Prabpree, A., P. Sangsil, C. Nualsri and K. Nakkanong. 2018. Expression profile of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) and phenolic content during early stages of graft development in bud grafted *Hevea brasiliensis*. *Biocatalysis Agricultural Biotechnology* 14: 88-95.
- Ramírez-Gil, J. G., E. G. Ramelli. and J. G. M. Osorio. 2017. Economic impact of the avocado (cv. Hass) wilt disease complex in Antioquia, Colombia, crops under different technological management levels. *Crop Protection* 101: 103–115.
- Rohlf, F. J. 2002. NTSYS - pc. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Version 2.1. New York: Applied Biostatistics. Pp. 79-90.
- Santamour, Jr. F. S. 1980. How to build a better tree. New horizons from the Horticultural Research Institute. pp. 1-3.
- Santamour, Jr. F. S. 1982. Cambial peroxidase isoenzymes in relation to systematics of *Acer*. *Bulletin of the Torey Botanical Club* 109: 152-161.
- Santamour, Jr. F. S. 1983 . Cambial peroxidase patterns in *Quercus* related to taxonomic classification and graft compatibility. *Bulletin of the Torey Botanical Club* 110:280-286.
- Santamour, Jr. F. S., A. J. McArdle. and R. A. Jaynes. 1986. Cambial isoperoxidase patterns in *Castanea*. *Environmental Horticulture* 4: 16-18.
- Santamour, Jr. F. S. 1988. Graft compatibility in woody plants: an expanded perspective. *Journal Environmental Horticulture* 6(1): 27-32.

- Siew, G. Y., W. L. Ng, S. W. Tan, N. B. Alitheen, S. G. Tan. and S. K. Yeap. 2018. Genetic variation and DNA fingerprinting of durian types in Malaysia using simple sequence repeat (SSR) markers. *PeerJ Publishing* 6: 4266.
- Simon, A. and S. Elsa. 2007. Histological evaluation of early graft compatibility in *Uapaca kirkiana* Muell Arg. scion/stock combinations. *Horticultural Science* 42: 732-736.
- Simon, A., S. Elsa and K. Festus. 2008. Early recognition of graft compatibility in *Uapaca kirkiana* Muell Arg. clones, provenances and species. *Agroforestry Systems* 74: 173-183.
- Salesses, G. and A. Bonnet. 1992. Some physiological and genetic aspects of peach/plum graft incompatibility. *Acta Horticulturae* 315:177-186.
- Schoning, U. and R. Kollmann. 1997. Phloem translocation in regeneration *in vitro*-heterografts of different compatibility. *Journal of Experimental Botany* 48: 289–295.
- Treutter, D. and W. Feucht. 1991. Accumulation of phenolic compounds above the graft union of cherry trees. *Gartenbauwissenschaft* 56:134-137.
- Turnbull, C. G. N. 2010. Grafting as a research tool. *Plant Developmental Biology, Methods in Molecular Biology* 655: 11–26.
- Usenik, V., B. Krska, M. Vican and F. Stampar. 2006. Early detection of graft incompatibility in apricot (*Prunus armeniaca* L.) using phenol analyses. *Scientia Horticulturae* 109: 332-338.
- Yin, H., Yan, B. Sun, J., Jia, P., Zhang, Z., Yan, X. and Liu, H. 2012. Graft-union development: a delicate process that involves cell-cell communication between scion and stock for local auxin accumulation. *Journal of Experimental Botany* 63: 4219-4232.
- Yuan, K. 2011. Proteome analysis of interaction between rootstocks and scions in *Hevea brasiliensis*. *African Journal of Biotechnology* 10: 14816-14825.
- Yuniastuti, E., B. A. Annisa, Nandariyah and Sukaya. 2017. Approach grafting of durian seedling with variation of multiple rootstock. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 23: 232–237.
- Wayne, P., C. M. Gordon and P. Jim. 1996. Polymorphism revealed by simple sequence repeats. *Trends in Plant Science*.

- Wolf, T. K. and R. M. Pool. 1998. Effects of rootstock and nitrogen fertilization on the growth and yield of chardonnay grapevines in New York. *American Journal of Enology and Viticulture* 39: 29-33.
- Zarrouk, O., P. S. Testillano, M. C. Risueno, M. A. Moreno and Y. Gogorcena. 2010. Changes in cell/tissue organization and peroxidase activity as markers for early detection of graft incompatibility in peach/plum combinations. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 135: 9–17.
- Zentmyer, G. A. 1983. The world of *Phytophthora*. In *Phytophthora: Its Biology, Taxonomy, Ecology and Pathology*. (Eds. D.C. Erwin, S. Bartnicki-Garcia and P.H. Tsao). Minnesota: American Phytophthological Society. pp. 1-8.
- Zhou, K., D. Jerszurki, A. Sadka, L. Shlizerman, S. Rachmilevitch, and J. Ephrath. 2018. Effects of photoselective netting on root growth and development of young grafted orange trees under semi-arid climate. *Science Horticultural Amsterdam* 238, 272–280.

ภาคผนวก



ภาพภาคผนวกที่ 1 ขั้นตอนการเสียบยอดกิ่งทุเรียนพันธุ์ดีบนต้นตอพันธุ์ทุเรียนพื้นบ้านภาคใต้ ต้นตอพันธุ์ทุเรียนพื้นบ้านภาคใต้ (a) นำยอดกิ่งทุเรียนพันธุ์ดีที่เตรียมไว้มาตัดใบให้เหลือครึ่งใบ 2-3 ใบ และผ่านตรงโคนกิ่งเป็นรูปลิ้มสามเหลี่ยมเพื่อให้เสียบยาว 2-3 เซนติเมตร (b) ตัดยอดต้นตอทิ้ง ให้สูงจากพื้น 10-15 เซนติเมตร และผ่าส่วนบนตรงยอดของต้นตอเพื่อใช้เสียบยอด (c) เสียบยอดกิ่งทุเรียนพันธุ์ดีลงบนต้นตอและพันด้วยพาราฟิล์มให้แน่น (d) ต้นที่เสียบยอดกิ่งทุเรียนพันธุ์ดีบนต้นตอพันธุ์ทุเรียนพื้นบ้านภาคใต้เรียบร้อยแล้ว (e) เมื่อเสียบยอดเสร็จคลุมด้วยถุงพลาสติกใช้เชือกผูกให้แน่น นำไปวางบนพื้นทรายและคอยรดน้ำเพื่อรักษาความชื้น (f)

สารเคมีที่ใช้ในการตัดเนื้อเยื่อพืช

1) น้ำยาคงสภาพเนื้อเยื่อพืช FAAII (Formalin Acetic Alcohol)

Ethanol 70%	90.0	มิลลิลิตร
Glacial acetic acid	5.0	มิลลิลิตร
Formalin	5.0	มิลลิลิตร

น้ำยาคงสภาพเนื้อเยื่อพืช FAA เป็นที่นิยมใช้มากกว่าน้ำยาคงชนิดอื่น เพราะใช้ได้ดีสำหรับการศึกษาเกี่ยวกับโครงสร้างทั้งภายในและภายนอก สามารถแช่ชิ้นส่วนพืชไว้ในน้ำยาคงชนิดนี้ได้ยาวนานโดยไม่จำกัดเวลาและไม่ทำอันตรายต่อเนื้อเยื่อพืช

2) สีย้อมสี Safranin

Safranin	2.0	กรัม
Methyl cellusolve	100.0	มิลลิลิตร
Ethanol 90%	50.0	มิลลิลิตร
Sodium acetate	2.0	กรัม
Formalin	4.0	มิลลิลิตร

3) สีย้อมสี Fast green

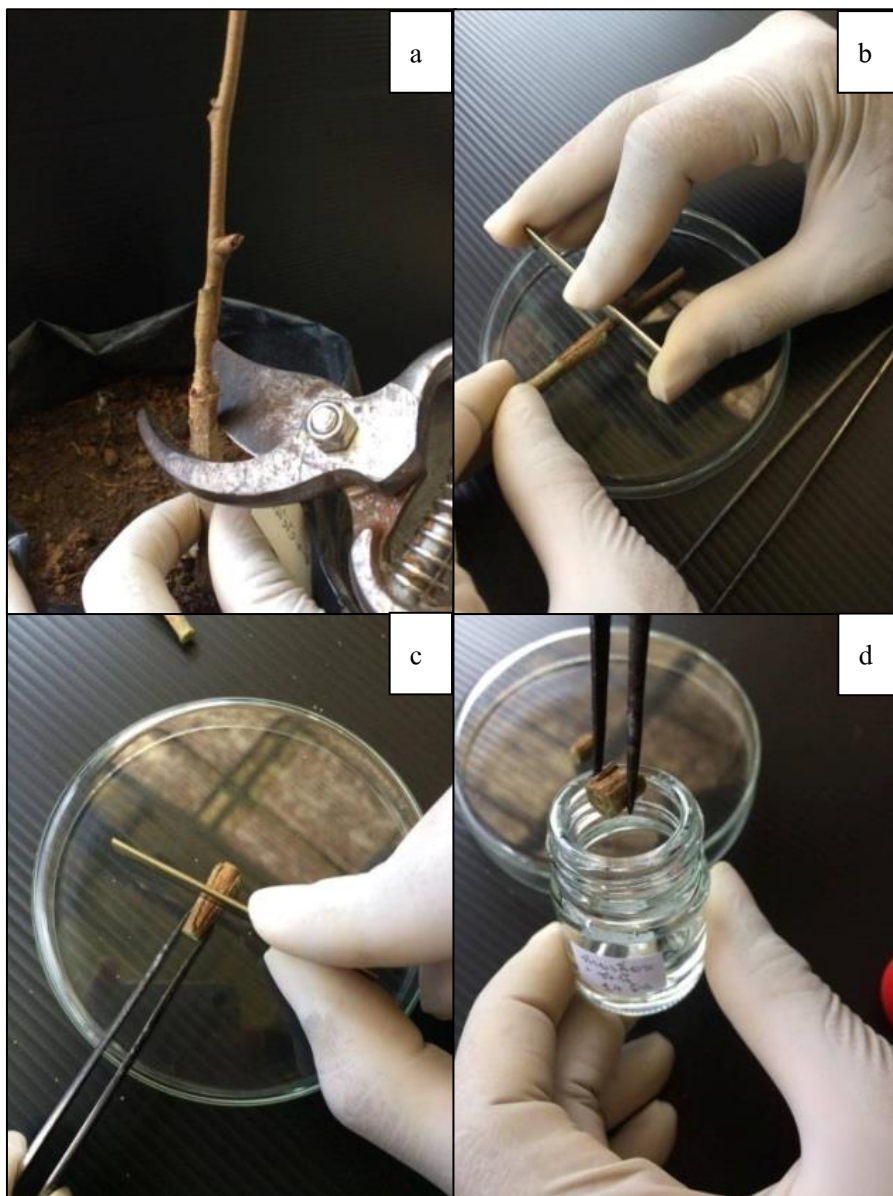
Methyl cellusolve	100.0	มิลลิลิตร
Absolute ethanol	100.0	มิลลิลิตร
Cove oil	100.0	มิลลิลิตร
Fast green	1.5	กรัม

ตารางภาคผนวกที่ 1 สูตรน้ำยาดังน้ำออกจากเซลล์พืช 12 ลำดับ

ลำดับที่	ส่วนผสม	ปริมาณ
1	Water	95.5 มิลลิลิตร
	Ethanol 95%	5.0 มิลลิลิตร
	Butyl alcohol	0.0 มิลลิลิตร
2	Water	90.0 มิลลิลิตร
	Ethanol 95%	10.0 มิลลิลิตร
	Butyl alcohol	0.0 มิลลิลิตร
3	Water	80.0 มิลลิลิตร
	Ethanol 95%	20.0 มิลลิลิตร
	Butyl alcohol	0.0 มิลลิลิตร
4	Water	70.0 มิลลิลิตร
	Ethanol 95%	30.0 มิลลิลิตร
	Butyl alcohol	0.0 มิลลิลิตร
5	Water	50.0 มิลลิลิตร
	Ethanol 95%	40.0 มิลลิลิตร
	Butyl alcohol	10.0 มิลลิลิตร
6	Water	30.0 มิลลิลิตร
	Ethanol 95%	50.0 มิลลิลิตร
	Butyl alcohol	20.0 มิลลิลิตร
7	Water	15.0 มิลลิลิตร
	Ethanol 95%	50.0 มิลลิลิตร
	Butyl alcohol	35.0 มิลลิลิตร
8	Water	5.0 มิลลิลิตร
	Ethanol 95%	40.0 มิลลิลิตร
	Butyl alcohol	55.0 มิลลิลิตร
9	Water	0.0 มิลลิลิตร
	Ethanol 95%	25.0 มิลลิลิตร
	Butyl alcohol	75.0 มิลลิลิตร
10	Butyl alcohol + eosin	
11	Pure butyl alcohol	
12	Butyl alcohol	50.0 มิลลิลิตร
	Paraffin oil	50.0 มิลลิลิตร

วิธีการย้อมสีซาฟรานินและฟาสต์กรีน

1. จัดลำดับชุดน้ำยาสำหรับย้อมสีใ้ในคอปปลีนจาร์ ติดฉลากด้านหน้าให้ชัดเจน เรียงตามลำดับขั้นตอนการย้อมสีซาฟรานินและฟาสต์กรีน
2. ขจัดพาราฟินออกจากชิ้นบางโดยแช่ใน xylene 2 ครั้ง ครั้งละ 2 นาที หลังจากนั้นแช่ใน absolute ethanol : xylene อัตราส่วน 1:1 2 นาที
3. เอนำเข้าสู่เซลล์โดยแช่ใน absolute ethanol 2 ครั้ง ครั้งละ 2 นาที ethanol 95% และ 70% อย่างละ 2 ครั้ง ครั้งละ 2 นาที
4. ย้อมสีที่ 1 โดยแช่สไลด์ชิ้นบางในซาฟรานินเป็นเวลา 30 นาที
5. ล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง โดยแกว่งสไลด์ในน้ำกลั่นเบาๆ
6. ดึงน้ำออกจากเซลล์ด้วยการจุ่มสไลด์ชิ้นลงในสารละลาย picric acid 0.5% ใน ethanol 95% 10 วินาที (10 จุ่ม)
7. จุ่มสไลด์ชิ้นลงในสารละลาย ammonium hydroxide ใน ethanol 95% 10 วินาที
8. จุ่มสไลด์ชิ้นลงใน absolute ethanol 10 วินาที
9. ย้อมสีที่ 2 ด้วยการหยด used clove oil fast green ทับลงบนชิ้นบางแล้วเทออกใส่ในขวด used clove oil fast green เดิม
10. หยดสีฟาสต์กรีนให้ท่วมชิ้นบาง ใช้เวลา 10-15 วินาที
11. เทสีฟาสต์กรีนบนสไลด์ออก พร้อมทั้งหยด used clove oil fast green ให้ไหลผ่านชิ้นบางลงในขวด used clove oil fast green เช่นเดิม
12. หยด new clove oil ล้างสีฟาสต์กรีนที่มากเกินไปออกโดยเทสีลงในขวด used clove oil fast green เช่นเดียวกัน
13. ใช้กระดาษทิชชูซับด้านล่างของแผ่นสไลด์แก้วและรอบๆ ชิ้นบางให้สะอาด
14. ทำให้ใสโดยแช่ในสารละลาย absolute ethanol:xylene อัตราส่วน 1:1 1-2 นาที
15. แช่ใน xylene 2 ครั้ง ครั้งละ 2 นาที
16. ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ วางให้แห้งในที่ราบที่อุณหภูมิห้อง



ภาพภาคผนวกที่ 2 การเก็บตัวอย่างเพื่อนำไปตัด section ดูพัฒนาการของรอยต่อ ใช้กรรไกรตัดกิ่ง ตัดได้และและเนื้อรอยต่อของต้นทุเรียนที่เสียบยอดสำเร็จ (a) ใช้มีดตัดเอา เฉพาะส่วนที่เป็นรอยต่อ (b) ใช้มีดตัดแบ่งตัวอย่างเป็น 2 ชิ้น ยาวประมาณ 0.5 เซนติเมตร (c) นำตัวอย่างใส่ในขวดที่มีน้ำยาคงสภาพ (FAAII) อยู่ ปิดฝาให้สนิท (d)

สารเคมีที่ใช้ในการตรวจสอบการสะสมสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

1) การเตรียม Methanol 80% ปริมาตร 300 มิลลิลิตร

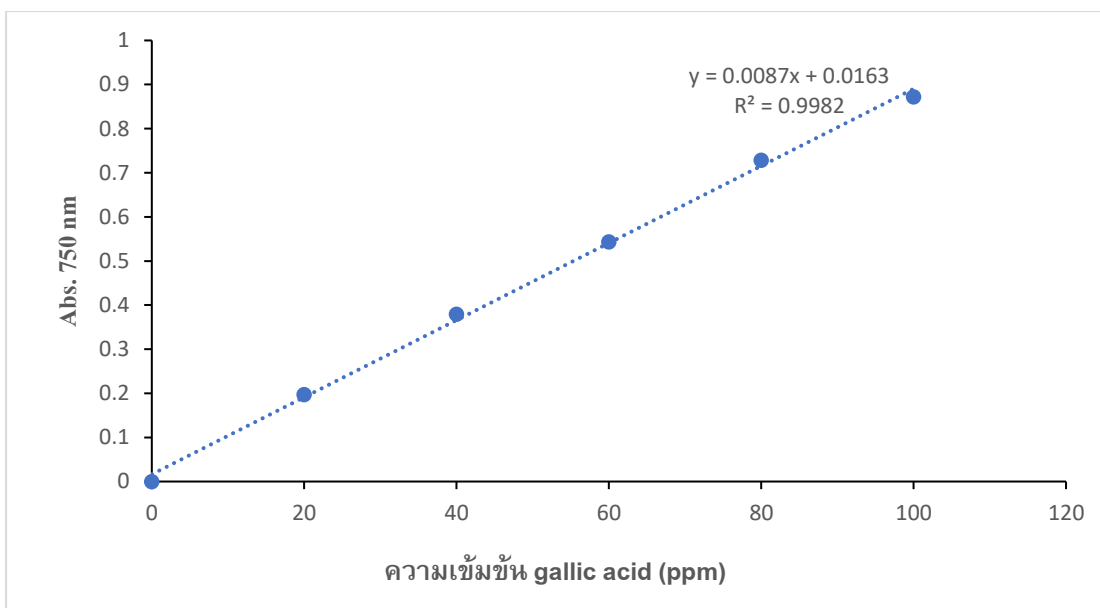
Methanol 80%	240.0	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	60.0	มิลลิลิตร

2) การเตรียม Sodium carbonate (Na_2CO_3) 7% ปริมาตร 200 มิลลิลิตร

ชั่งสาร Na_2CO_3 14 กรัม ในตัวทำละลาย (น้ำกลั่น) 200 มิลลิลิตร

การเตรียมกราฟมาตรฐาน

- เตรียม stock solution ของสารละลาย Gallic acid ที่ ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 200 มิลลิลิตร โดยการชั่งสาร Gallic acid 0.02 กรัม ละลายด้วย 80% methanol 200 มิลลิลิตร คนให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน
- เจือจาง stock solution ให้มีความเข้มข้น 80 60 40 20 และ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร
- นำ stock solution ที่ความเข้มข้นต่างๆ ความเข้มข้นละ 0.2 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองฝาเกลียวขนาด 15 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 0.8 มิลลิลิตร
- เติมโพลินซิโอแคลทิวรีเจนต์ 0.1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองแต่ละหลอด ผสมให้เข้ากัน ตั้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 5 นาที (สีของสารละลายมีสีเขียวใส)
- เมื่อครบเวลาเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 7% ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 2.5 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ผสมให้เข้ากัน วางหลอดในที่มืด ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 90 นาที (สีของสารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน)
- วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์



ภาพภาคผนวกที่ 3 กราฟมาตรฐานสารละลาย Gallic acid สำหรับคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดในรูปของ GAE (gallic acid equivalent)

สารเคมีที่ใช้ในการตรวจสอบการสะสมสารลิกนิน

1) การเตรียม 0.1 M Potassium phosphate buffer (pH 7.0) ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

a. 1 M Potassium phosphate anhydrous (K_2HPO_4)

M.W. = 174.18 g/mol : 500 มิลลิลิตร

Potassium phosphate anhydrous (K_2HPO_4) 87.09 กรัม

น้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร

b. 1 M Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4)

M.W. = 136.09 g/mol : 500 มิลลิลิตร

Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4) 68.04 กรัม

น้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร

2) การเตรียม 50 mM Potassium phosphate buffer (pH 7.0) ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

0.1 M Potassium phosphate buffer	500	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	500	มิลลิลิตร

3) การเตรียม 1% Triton X-100 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

Triton X-100	0.5	มิลลิลิตร
50 mM Potassium phosphate buffer (pH 7.0)	49.5	มิลลิลิตร

4) การเตรียม 1M Sodium chloride ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

Sodium chloride	2.92	กรัม
50 mM Potassium phosphate buffer (pH 7.0)	50	มิลลิลิตร

5) การเตรียม 25% Acetyl bromide ปริมาตร 25 มิลลิลิตร

Acetyl bromide	6.25	มิลลิลิตร
Glacial acetic acid	18.75	มิลลิลิตร

6) การเตรียม 2 M Sodium hydroxide ปริมาตร 30 มิลลิลิตร

Sodium hydroxide	2.4	กรัม
น้ำกลั่น	30	มิลลิลิตร

7) การเตรียม 5 M hydroxylamine-HCl ปริมาตร 20 มิลลิลิตร

hydroxylamine-HCl	6.95	กรัม
น้ำกลั่น	20	มิลลิลิตร

การเตรียม 2M NaOH ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

NaOH	6.0	กรัม
น้ำกลั่น	50.0	มิลลิลิตร

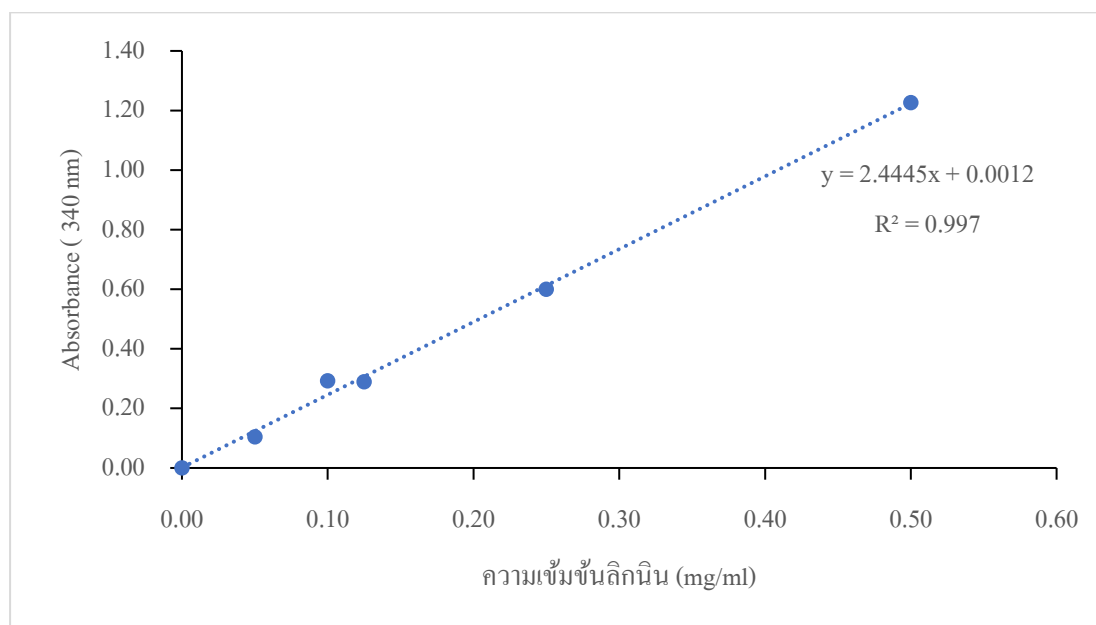
8) การเตรียมกราฟมาตรฐานของ Lignin, alkali ซึ่งมีค่า $d = 1.3 \text{ g/ml}$

- เตรียม stock ความเข้มข้น 8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งสาร Lignin, alkali 0.312 กรัม ละลายด้วย 2 M NaOH 10 มิลลิลิตร
- ทำ serial dilution ที่ความเข้มข้น 1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.1, 0.05, 0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
- ผสมกับตัวทำละลาย

2 M NaOH	0.9	มิลลิลิตร
5 M Hydroxylamine-HCl	0.1	มิลลิลิตร
Glacial acetic acid	5.0	มิลลิลิตร

- วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 340 nm

ผลของ Standard curve



ภาพภาคผนวกที่ 4 กราฟมาตรฐานสารละลาย Lignin content สำหรับคำนวณปริมาณลิิกนิน

สารเคมีที่ใช้สกัดเอ็นไซม์จากพืช

1) Extraction buffer (pH 7.0) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

0.1M Tris-HCL	1.58	กรัม
PVP-40	3.0	กรัม
Triton-x	0.25	มิลลิลิตร

นำ Tris-HCL ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร จนละลายหมด ค่อยๆ เติม PVP-40 จนละลายหมด จากนั้นเติม Triton-x ปรับ pH ให้ได้ 7.0 ด้วย 3M NaOH เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (เตรียมใหม่ทุกครั้งเมื่อต้องการสกัดตัวอย่าง)

2) การเตรียม 3M NaOH ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

NaOH	6.0	กรัม
น้ำกลั่น	50.0	มิลลิลิตร

สารเคมีที่ใช้ในการทำ Gel electrophoresis

1) 0.5M Tris-HCl (pH6.8) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

Tris-base	27.3	กรัม
DI-water	80	มิลลิลิตร

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้ได้ 6.8 ด้วย 6N HCl เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2) 1.5M Tris-HCl (pH8.8) ปริมาตร 150 มิลลิลิตร

Tris-base	6.0	กรัม
DI-water	60	มิลลิลิตร

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 150 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้ได้ 8.8 ด้วย 6N HCl เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3) 6N HCl ปริมาตร 20 มิลลิลิตร

HCl (12N)	10.03	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	9.97	มิลลิลิตร

4) 10x Electrode (running) buffer (pH 8.3) ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

Tris-base	30.3	กรัม
Glycine	144.1	กรัม

นำ Tris-base + Glycine มาละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร (ไม่ต้องปรับ pH) นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นนำ 10x Electrode (running) buffer ปริมาตร 100 มิลลิลิตร มาผสมกับน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร จะได้เป็น 1x Electrode (running) buffer ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร สำหรับทำ gel electrophoresis

5) Sample buffer (loading dye) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

0.5M Tris-HCl (pH6.8)	1.25	มิลลิลิตร
Glycerol	3.0	มิลลิลิตร
Bromophenol Blue 0.5% (w/v)	0.2	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	5.55	มิลลิลิตร

ใช้ Sample buffer (loading dye) ต่อตัวอย่างโปรตีน ในสัดส่วน 1:2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

6) Ammonium persulfate 10% (w/v) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

Ammonium persulfate	0.1	กรัม
---------------------	-----	------

ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1 มิลลิลิตร (ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งเมื่อเตรียมเจล)

สารเคมีที่ใช้ในการทำเจลชั้นบน (Stacking) (สำหรับ 2 แผ่น)

30% Acrylamide	1.7	มิลลิลิตร
0.5M Tris-HCl (pH6.8)	2.5	มิลลิลิตร
TEMED	10.0	ไมโครลิตร
10% APS	50.0	ไมโครลิตร
น้ำกลั่น	5.8	มิลลิลิตร

สารเคมีที่ใช้ในการทำเจลชั้นล่าง (Resolving) (สำหรับ 2 แผ่น)

30% Acrylamide	3.3	มิลลิลิตร
1.5M Tris-HCl (pH8.8)	2.5	มิลลิลิตร
TEMED	5.0	ไมโครลิตร
10% APS	50.0	ไมโครลิตร
น้ำกลั่น	4.2	มิลลิลิตร

สารเคมีที่ใช้ในการย้อมสีเอ็นไซม์เพอร์ออกซิเดส

1) Staining I ปริมาตร 200 มิลลิลิตร (ต่อเจล 1 แผ่น) (เตรียมเมื่อต้องการจะใช้)

0.1M Potassium Phosphate (pH 7.0)	ปริมาตร 200 มิลลิลิตร
Guaiacol	372.3 ไมโครลิตร

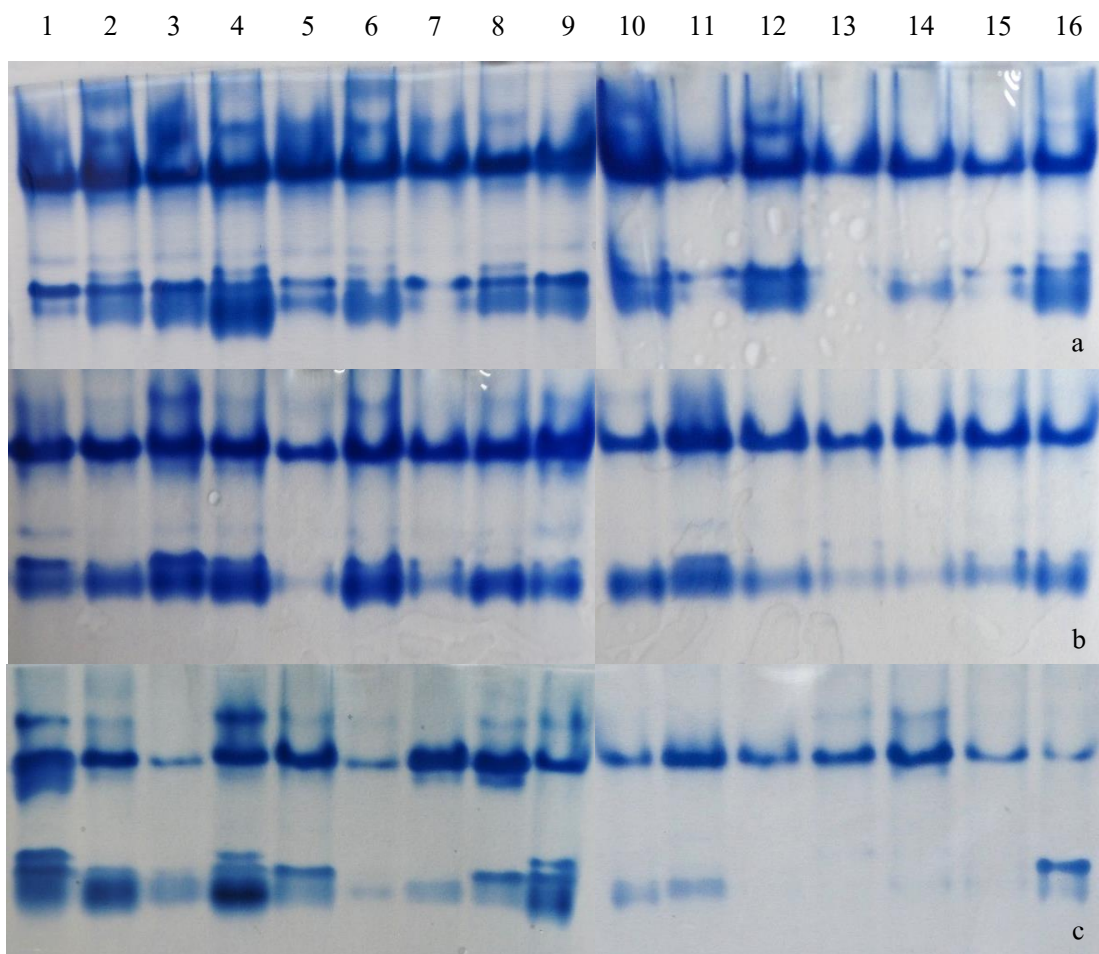
H ₂ O ₂	61.29	ไมโครลิตร
-------------------------------	-------	-----------

2) Staining II (Coomassie blue solution) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร (ต่อเจล 1 แผ่น)

Coomassie blue R-250	0.5	กรัม
Methanol	40.0	มิลลิลิตร
Acetic acid	10.0	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	50.0	มิลลิลิตร

3) Destaining solution ปริมาตร 200 มิลลิลิตร (ต่อเจล 1 แผ่น) (เตรียมเมื่อต้องการจะใช้)

Methanol	50.0	มิลลิลิตร
Acetic acid	20.0	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	130.0	มิลลิลิตร



ภาพภาคผนวกที่ 5 แผนภาพไซโมแกรมไอโซไซม์เพอร์ออกซิเดสจากเนื้อเยื่อเปลือกลำต้น บริเวณส่วนบน (a) ส่วนล่าง (b) และบริเวณรอยต่อ (c) ของกิ่งทุเรียนพันธุ์การค้าหมอนทอง และชะนี ที่เสียบยอดบนต้นต่อทุเรียนสายพันธุ์ต่างๆ (แถบที่ 1; หมอนทอง/ชะนี, แถบที่ 2; หมอนทอง/หมอนทอง, แถบที่ 3; ขมื่น/ชะนี, แถบที่ 4; ขมื่น/หมอนทอง, แถบที่ 5; ท้ายเลี่ยม/ชะนี, แถบที่ 6; ท้ายเลี่ยม/หมอนทอง, แถบที่ 7; ไอ้ส้ม/ชะนี, แถบที่ 8; ไอ้ส้ม/หมอนทอง, แถบที่ 9; ลูกกลม/ชะนี, แถบที่ 10; ลูกกลม/หมอนทอง, แถบที่ 11; ชะนี/ชะนี, แถบที่ 12; ชะนี/หมอนทอง, แถบที่ 13; นก/ชะนี, แถบที่ 14; นก/หมอนทอง, แถบที่ 15; ต้นเขียว/ชะนี และ แถบที่ 16; ต้นเขียว/หมอนทอง)

สารเคมีที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอจากพืช

1) CTAB บัฟเฟอร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

PVP-40	1.0	กรัม
NaCl	8.12	กรัม
0.5M EDTA (pH 8.0)	4.0	กรัม
1.0M Tris-HCl (pH 8.0)	10.0	มิลลิลิตร

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร จากนั้นเติม CTAB ปริมาณ 2 กรัม หลังจากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนกว่าสารละลายได้หมด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ เติมสาร β -mercaptoethanol เข้มข้น 2% ก่อนนำไปใช้

2) TE บัฟเฟอร์ ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

1.0M Tris-HCl (pH 7.5)	500	ไมโครลิตร
0.25M Na ₂ EDTA (pH 7.0)	200	ไมโครลิตร

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 มิลลิลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

สารเคมีที่ใช้ในการทำ Agarose gel electrophoresis

1) TBE บัฟเฟอร์ เข้มข้น 5 เท่า

Tris Base	216.0	กรัม
Boric acid	110.0	มิลลิลิตร
0.5M Na ₂ EDTA (pH 8.0)	80.0	มิลลิลิตร

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 4 ลิตร เจือจางความเข้มข้นเป็น 1 เท่า แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อก่อนนำมาใช้

ตารางภาคผนวกที่ 2 ค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้าน ทุเรียนนกก และทุเรียนพันธุ์การค้า ที่ใช้เป็นต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี จำนวน 10 ตัวอย่าง โดยใช้แถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	1.00									
2	0.93	1.00								
3	0.86	0.86	1.00							
4	0.75	0.75	0.82	1.00						
5	0.75	0.68	0.82	0.86	1.00					
6	0.93	0.86	0.86	0.68	0.75	1.00				
7	0.50	0.57	0.50	0.54	0.54	0.57	1.00			
8	0.86	0.86	0.86	0.82	0.75	0.86	0.57	1.00		
9	0.89	0.89	0.75	0.71	0.71	0.82	0.54	0.82	1.00	
10	0.75	0.82	0.75	0.71	0.64	0.82	0.68	0.89	0.79	1.00

หมายเหตุ 1: ต้นตอหมอนทอง, 2: ต้นตอชะนี, 3: ต้นตอขมื่น, 4: ต้นตอท้ายเลี่ยม, 5: ต้นตอไอ้ส้ม, 6: ต้นตอลูกกลม, 7: ต้นตอนก, 8: ต้นตอดันเจียว, 9: กิ่งพันธุ์ดีหมอนทอง, 10: กิ่งพันธุ์ดีชะนี

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นายสุรศักดิ์ พรหมสกุล

รหัสประจำตัวนักศึกษา 6110620056

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาฟิสิกส์	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2558

ทุนการศึกษา

ทุนศูนย์วิจัยความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ ระยะที่ 3 คณะ
ทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์