

## การเจริญของส้มจุกบนต้นต่อลูกผสมสามใบที่ได้จากเพาะเมล็ด และปักชำกิ่ง

มงคล แซ่หลิม<sup>1</sup> สมปอง เตชะโต<sup>2</sup> และ สุธีรา ถาวรรัตน์<sup>3</sup>

### Abstracts

Lim, M., Te-chato, S. and Thavorat, S.

**The growth of Neck orange (*Citrus reticulata* Blanco) scion on seedling and cutting of trifoliolate orange hybrid rootstocks**

Songklanakarin J. Sci. Technol., 2003, 25(6) : 715-727

The growth of Neck orange (*Citrus reticulata* Blanco) on seedling and cutting of trifoliolate orange hybrid rootstocks was studied at the Department of Plant Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University in order to select the appropriate rootstock. The stem cross section, growth characteristic and isozyme pattern of Neck orange scion were investigated. One-year-old seedlings and cuttings (both with 0.3-0.4 mm stem diameter) of Troyer citrange, Swingle citrumelo and Neck orange were used as root stock for grafting with Neck orange scions. The diameter of upper and lower graft union, number of branches and leaves, height, root length, shoot and root dry weight and shoot: root dry weight ratio of grafted plants were measured at 24 weeks after grafting. The results showed that the structure of stem cross section of Troyer citrange and Neck orange i.e. the size of periderm, vascular bundle and pith, were similar to that of Neck orange. The vascular bundle of Swingle citrumelo was larger than that of the two rootstocks. Troyer citrange rootstock gave the best results in all growth parameters of Neck orange. The study of isozymes recorded an extra locus (Est 3) of Swingle citrumelo rootstock occurred in Neck orange at 24 and 48 weeks after grafting.

**Key words :** neck orange, rootstock, grafting, growth, isozyme

Department of Plant Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112, Thailand.

<sup>1</sup>M.S.Agr.(Horticulture),รองศาสตราจารย์, <sup>2</sup>Ph.D.(Plant Cell Technology), รองศาสตราจารย์ <sup>3</sup>วท.ม.(พืชศาสตร์), คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90112

รับต้นฉบับ 21 พฤษภาคม 2546      รับลงพิมพ์ 4 สิงหาคม 2546

## บทคัดย่อ

มงคล แซ่หลิม สมปอง เตชะโต และ สุธีรา ถาวรรัตน์  
 การเจริญของส้มจุกบนต้นตอลูกผสมส้มสามใบที่ได้จากเพาะเมล็ดและปักชำกิ่ง  
 ว. สงขลานครินทร์ วทท. 2546 25(6) : 715-727

การเจริญของส้มจุกบนต้นตอลูกผสมส้มสามใบที่ได้จากเพาะเมล็ดและปักชำกิ่ง ทำการทดลองที่ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ เพื่อหาชนิดของต้นตอที่เข้ากันได้กับส้มจุก โดยทำการศึกษาโครงสร้างของลำต้น การเจริญเติบโตหลังการต่อกิ่ง และการทดสอบลำต้นเหนือและใต้รอยต่อทางชีวเคมีโดยเทคนิคทางไอโซไซม์ ใช้ต้นตอส้มพันธุ์ทรอยเยอร์ซีเตรน สวิงเกิลชิตรูมิโล และส้มจุก แบบเพาะเมล็ดที่มีขนาดลำต้น 0.3-0.4 มม. อายุ 1 ปี และกิ่งปักชำที่มีขนาดเดียวกัน ทำการเสียบยอดส้มจุกนาน 12 สัปดาห์ จึงนำมาศึกษาการเติบโตของขนาดลำต้น จำนวนกิ่ง จำนวนใบ พื้นที่ใบ ความสูง ความยาวราก น้ำหนักแห้งต้นและราก และสัดส่วนของน้ำหนักต้น: น้ำหนักแห้งราก เป็นเวลา 24 สัปดาห์ ผลการศึกษาโครงสร้างลำต้นของส้มจุกและต้นตอทั้งสองชนิดพบว่าทรอยเยอร์ซีเตรนมีขนาดของชั้นเนื้อเยื่อเพอริเคิร์ม ท่อน้ำท่ออาหาร และแกนไม้ใกล้เคียงกับต้นส้มจุก ต้นตอพันธุ์สวิงเกิลชิตรูมิโลมีขนาดท่อน้ำท่ออาหารใหญ่กว่าส้มจุกและทรอยเยอร์ซีเตรน ผลการศึกษาการเจริญของกิ่งพันธุ์ส้มจุกพบว่าส้มจุกบนต้นตอส้มพันธุ์ ทรอยเยอร์ซีเตรนมีการเพิ่มจำนวนกิ่ง จำนวนใบ พื้นที่ใบ ความสูง ความยาวราก น้ำหนักแห้งต้นและราก และสัดส่วนของน้ำหนักต้น: น้ำหนักแห้งรากสูงสุด ผลการศึกษารูปแบบไอโซไซม์พบแถบเอนไซม์เอสเทอร์เอส (Est 3) เพิ่มขึ้นที่ส้มจุกที่ 24 และ 48 สัปดาห์ หลังการต่อกิ่ง ในตำแหน่งที่ใกล้เคียงกับแถบเอนไซม์ที่พบในต้นตอสวิงเกิลชิตรูมิโล

การฟื้นฟูการปลูกส้มจุกในภาคใต้ควรให้เกษตรกรมีการเลือกใช้ต้นพันธุ์เพื่อแก้ปัญหาการปลูก เช่น ต้นพันธุ์จากการขยายพันธุ์ด้วยต้นตอที่แข็งแรงและเข้ากันได้ดีกับส้มจุก ทำให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพดี ให้ผลดกและทนต่อโรคระบาด เป็นต้น การใช้ต้นพันธุ์ส้มจุกเพื่อปลูกที่อำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา ปัจจุบันยังนิยมใช้ต้นพันธุ์จากการเพาะเมล็ดซึ่งค่อนข้างปลอดภัยในระยะแรกปลูก และเริ่มแสดงอาการทรุดโทรมหลังจากปลูกไปแล้วระยะหนึ่ง เนื่องจากแมลงพาหะนำโรคและการรักษาความสะอาดเครื่องมือเครื่องใช้ทำให้เกิดการระบาดของโรคจากต้นพันธุ์เก่าที่ยังให้ผลผลิตอยู่และยังไม่มีมีการปลูกแทน (มงคล และคณะ, 2536) เกษตรอำเภอจะนะได้ทดลองนำต้นมะสังมาใช้เป็นต้นตอส้มจุกระยะหนึ่ง แต่ยังไม่มีการนำเข้ามาถึงผลสำเร็จในการทดลองนี้ ปี พ.ศ.2538 ได้มีการนำเข้าต้นตอลูกผสมส้มสามใบบางพันธุ์จากต่างประเทศที่ได้รับการทดสอบแล้วว่ามีความสัมพันธ์ทนต่อโรคลำต้นทรุดโทรมและเข้ากันได้ดีกับส้มแมนดาริน ตลอดจนไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพผลผลิตเพื่อใช้เป็นต้นตอส้มเขียวหวานและส้มชนิดอื่นๆ อย่างไร

ก็ตาม ยังไม่มีรายงานยืนยันว่าพันธุ์ของต้นตอที่นำเข้าดังกล่าวมีผลต่อคุณภาพผลผลิตส้มที่ปลูกในสภาพแวดล้อมทางภาคใต้ของประเทศไทยแต่ประการใด มงคล และคณะ (2542) เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นส้มจุกที่ต่อกิ่งบนต้นตอมะนาว ส้มเขียวหวาน และส้มโอ โดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง จำนวนกิ่ง จำนวนใบ พื้นที่ใบ พื้นที่ราก ความสูง น้ำหนักแห้งรากและใบ พบว่าต้นที่ต่อบนต้นตอส้มเขียวหวานมีการเจริญสูงกว่าต้นที่ต่อบนต้นตอมะนาวและส้มโอ และมีสัดส่วนระหว่างรากกับต้นสมดุลกัน ต้นตอที่ดีควรส่งเสริมความแข็งแรง ส่งเสริมความต้านทานต่อโรคระบาดในแต่ละท้องถิ่น และไม่ส่งผลกระทบต่อผลผลิต Davies และ Albrigo (1994) ได้รายงานถึงชนิดของส้มที่นิยมนำมาใช้เป็นต้นตอมี 7 ชนิด ซึ่งในแต่ละสกุลรวมลูกผสมไว้ด้วย ได้แก่ 1) รัฟเลมอน (Rough lemon: *Citrus jambhiri* Lush.) 2) ซาวอเรนจ์ (Sour orange: *Citrus aurantium* L.) 3) สวีทออเรนจ์ (Sweet orange: *Citrus sinensis* (L.) Osb.) 4) เกรฟฟรุต (Grapefruit: *Citrus paradisi*) 5) สวีทไลม์ (Sweet lime: *Citrus*

*aurantifolia*) 6) แมนดารินหรือแทนเจอริน (Mandarin or tangerine: *Citrus reticulata*) เป็นต้นตอชนิดที่นิยมใช้ในทางการค้า เพราะเป็นต้นตอที่ต้านทานต่อการเกิดโรคทริสโตเซาไวรัส โรครากเน่าโคนเน่า แต่ไม่สามารถต้านทานต่อโรคแคงเกอร์ และยังเป็นต้นตอที่ไม่ทนต่อสภาพความแห้งแล้ง ส้มกลุ่มนี้ ได้แก่ ส้มคลีโอพัตราแมนดาริน และ 7) ไตรโฟลีโอทออเรนจ์ (Trifoliate orange: *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.) และลูกผสม ได้แก่ พันธุ์มอร์ตัน (Morton) เบนทอน ซี-35 (Benton C-35) ซาเวจ (Savage) คาร์ริโซซิเตรน (Carrizo citrange) ทรอยเยอร์ซิเตรน (Troyer citrange) และสวิงเกิลซิทรูมิโล (Swingle citrumelo) ซึ่งส้มเหล่านี้เป็นที่นิยมใช้เป็นต้นตอมากที่สุด เพราะใช้ปลูกได้ทั้งในเขตกึ่งร้อนและเขตหนาวเย็น สามารถทนต่อสภาพอากาศเย็นจัดได้ ทนทานต่อโรคใบเหลืองต้นโทรมที่เกิดจากทริสโตเซาไวรัส โรครากเน่าโคนเน่า แต่อ่อนแอต่อโรคแคงเกอร์ และช่วยส่งเสริมคุณภาพผลผลิตของกิ่งพันธุ์ดีอีกด้วย วิธีการขยายพันธุ์พืชโดยการชำกิ่งเป็นวิธีที่ทำได้ง่ายและรวดเร็ว (นันทิยา, 2542) หากนำมาใช้กับการเตรียมต้นตอจะได้ต้นตอจำนวนมากและย่นระยะเวลาในการเตรียมต้นตอ และในพืชตระกูลส้มโดยเฉพาะมะนาว สามารถชำกิ่งออกรากได้ง่าย หากใช้ต้นตอปักชำกิ่งจะเตรียมต้นตอได้ง่าย รวดเร็ว และได้ต้นตอจำนวนมาก ดังนั้นจึงได้ทดลองใช้ต้นตอที่ขยายพันธุ์โดยการปักชำกิ่งเปรียบเทียบกับต้นตอที่ได้จากการเพาะเมล็ด

ไอโซไซม์ คือ เอนไซม์ชนิดต่างๆ ในสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่ง ทำหน้าที่กระตุ้นหรือทำปฏิกิริยาอย่างเดียวกันแต่มีรูปแบบหรือมวลต่างกัน และมีความจำเพาะต่อเนื้อเยื่อหรือเซลล์ ความแตกต่างดังกล่าวเกิดจากกลไก 2 ประการ คือ พันธุกรรม ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและทางเคมีของโพลีเพปไทด์ในกระบวนการแปลรหัสข้อมูลทำให้รูปแบบเอนไซม์เปลี่ยนไป และสภาพแวดล้อม ซึ่งเกิดภายหลังจากการแปลรหัสพันธุกรรมเป็นสายโพลีเพปไทด์ ตำแหน่งของไอโซไซม์ในเซลล์ส่วนใหญ่อยู่ในไซโตพลาสซึมหรืออาจอยู่ในของเหลวภายในเซลล์หรืออยู่ติดกับเซลล์เมมเบรน ไอโซไซม์ของพืชชั้นสูงค่อนข้างคงที่ ไอโซไซม์ในไซโตพลาสซึมมักมีความผันแปรมากกว่าไอโซไซม์ในอวัยวะที่จำเพาะ (Markert and Moller, 1959 อ้างโดย

ธีระชัย, 2540) จากรูปแบบไอโซไซม์ที่แตกต่างกันในพืชแต่ละชนิดสามารถนำมาใช้ในการจำแนกสายพันธุ์พืชได้ สมปอง และคณะ (2538) ทำการตรวจสอบพันธุ์ *Lansium domesticum* Correa. 4 ชนิด คือ ลองกอง ลางสาด ดูกู และดุกูแปร์เมอร์ของอำเภอนาทวีและอำเภอสะเดา จังหวัดสงขลา พบว่าไอโซไซม์ 4 ระบบ คือ เปอร้ออกซิเดส แอซิดฟอสฟาเตส เอสเตอเรส และฟอสโฟกลูโคไอโซเมอเรส มีรูปแบบไอโซไซม์ชัดเจนที่สุด King และคณะ (1996) ได้ทำการแยกสายพันธุ์ส้มในประเทศออสเตรเลีย กลุ่มดิบบลอยด์ และทริบบลอยด์ พบว่า ไอโซไซม์ 4 ระบบ คือ มาเลทดีไฮโดรจีเนส 6-ฟอสโฟกลูโคเนทดีไฮโดรจีเนส ซิติเมทดีไฮโดรจีเนส และฟอสโฟกลูโคไอโซเมอเรส สามารถใช้จำแนกกลุ่มของส้มได้ชัดเจน Elisaria และคณะ (1999) ได้ทำการศึกษาสายพันธุ์ต้นกำเนิดของส้มแมนดารินสายพันธุ์คาร์วอลเฮียส ซึ่งเป็นพันธุ์ผสมจากส้ม 12 ชนิด พบว่า ไอโซไซม์ 6 ระบบ คือ มาเลทดีไฮโดรจีเนส ไอโซซิเทรตดีไฮโดรจีเนส กลูตาเมทออกซาลิอะซิเตท ทรานซามิเนส ฟอสโฟกลูโคมิวเตส ฟอสโฟกลูโคไอโซเมอเรส และลิซีนเอมีนเปปติเดส สามารถใช้แยกสายพันธุ์ส้มแมนดารินและลูกผสมได้ดีที่สุด สำหรับการใช้ไอโซไซม์เพื่อตรวจสอบการเข้ากันได้ของต้นตอนั้นยังมีการศึกษากันน้อยมาก มาลี (2541) ได้ศึกษาเป็นคนแรกโดยนำไอโซไซม์ 4 ระบบ คือ เปอร้ออกซิเดส เอสเตอเรส แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสและฟอสโฟกลูโคมิวเตส ใช้ทดสอบการเจริญของต้นส้มไซกุนที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้ม 8 ชนิด คือ ส้มเขียวหวาน มะสัง ส้มพริ้มองต์ มะกรูด ส้มซ่า ส้มโอ มะขวิดและมะนาว เป็นเวลา 5 เดือน พบว่าระบบเปอร้ออกซิเดสมีรูปแบบเอนไซม์ชัดเจนและสามารถบ่งชี้การมีอิทธิพลของต้นตอได้ และจากทฤษฎีของความสัมพันธ์ระหว่างเซลล์เมื่อมีการต่อกิ่งและมีการประสานตัวของรอยต่อระหว่างเซลล์ที่ต่างกันย่อมส่งผลถึงการแสดงออกในระดับโมเลกุล และแปลรหัสพันธุกรรมออกมาในรูปของโปรตีนหรือเอนไซม์ที่สามารถตรวจสอบได้ การใช้ไอโซไซม์เป็นตัวบ่งชี้การเข้ากันได้ระหว่างต้นตอกับกิ่งเลี้ยงนับว่ามีศักยภาพสูงมาก

ดังนั้นในการศึกษานี้จึงใช้เทคนิคไอโซไซม์ร่วมกับข้อมูลการเจริญเติบโตในการตรวจสอบอิทธิพลและความสัมพันธ์ระหว่างต้นตอกับกิ่งพันธุ์ดี

## วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

### การเตรียมต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี

ต้นตอ (rootstock) จากการปักชำกิ่ง โดยใช้กิ่งส้มจุกขนาดอายุ 2 ปี และกิ่งส้มทรอยเยอร์ซีเตรน สวิงเกิล-ซีทรูมิโล ที่มีขนาด 0.3 -0.4 ซม. (จากอำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่) กรีดโคนกิ่งยาว 1.5 ซม. จุ่มสารฮอร์โมนเร่งราก NAA ความเข้มข้น 1,000 ppm นาน 15 นาที ปักชำในกระบะพ่นหมอกที่มีทรายและขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 เป็นวัสดุชำ ใช้เวลานาน 8 สัปดาห์ จึงย้ายกิ่งชำที่มีรากงอกแล้ว ลงปลูกในถุงดำขนาด 5×8 นิ้ว นาน 4 สัปดาห์ จึงใช้เป็นต้นตอสำหรับขยายพันธุ์

ใช้กิ่งพันธุ์ (scion) จากต้นส้มจุกขนาดอายุ 2 ปี มีการดูแลรักษาโดยการให้น้ำปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 5 กรัม/ต้น/เดือน ทำการฉีดพ่นสารเคมีป้องกันกำจัดหนอนชอนใบ และเพลี้ยอ่อนในช่วงแตกใบอ่อน เพื่อให้ต้นพันธุ์แข็งแรงและปลอดโรค

### การตรวจสอบเอนไซม์

#### การสกัดเอนไซม์

ตัดแยกเปลือกลำต้นส่วนเหนือและใต้รอยต่อกว้าง 0.30×0.30 ซม. มาบดร่วมกับสารละลายบัฟเฟอร์ (โกร่งเย็น) ซึ่งประกอบด้วย Tris-HCl เข้มข้น 0.5 โมลาร์ (pH 7.5), polyvinyl-pyrrolidone (PVP) เข้มข้น 2%, 2-mercapthoethanol เข้มข้น 1% (ปริมาตร/ปริมาตร), disodiummethylenediaminetetraacetate (Na<sub>2</sub>EDTA) เข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 30 เท่าของน้ำหนักพืช จากนั้นเทตัวอย่างพืชที่บดละเอียดใส่หลอดเอพเพนดอร์ฟนำไปหมุนเหวี่ยงตกตะกอนที่ความเร็ว 12,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที ที่ 4°C ตามวิธีการที่รายงานโดย มาลี (2541) เก็บสารละลายใสตอนบนไปใช้แยกไอโซไซม์ต่อไป

#### การเตรียมอะครีลาไมด์เจล

ในการศึกษานี้ใช้อะครีลาไมด์เจลชนิดไม่ต่อเนื่อง โดยแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ เจลตอนบน ประกอบด้วยอะครีลาไมด์ความเข้มข้น 3% และเจลส่วนล่างที่มีความเข้มข้นของอะครีลาไมด์ 10%

#### การวิเคราะห์รูปแบบเอนไซม์

ดูดสารละลายส่วนใสใส่หลอดเอพเพนดอร์ฟใหม่

แล้วนำไปแยกเอนไซม์ด้วยเครื่องอิเล็กโตรโฟรีซิสแบบแนวตั้ง ด้วยการดูดสารละลายพีซีทีสกัดได้ 15 ไมโครลิตร ผสมกับ bromphenol blue 2 ไมโครลิตร ใส่ในร่องหวีแผ่นเจลภายใต้กระแสไฟฟ้าคงที่ 100 โวลต์ ตามวิธีการของ Hame และ Rickwood (1981) อ้างโดย สมปอง และคณะ (2538) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง (หรือสังเกตจากแถบ bromphenol blue เคลื่อนมาถึงขอบล่างเจล)

#### การย้อมสีเอนไซม์

ย้อมสีเอนไซม์ด้วยระบบเอสเตอเรส โดยนำแผ่นเจลที่ผ่านการแยกเอนไซม์ข้างต้นไปแช่ในสารละลายที่เป็นสารตั้งต้น (substrate) ของเอนไซม์เอสเตอเรส นำไปเขย่าบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 80 ครั้งต่อนาที (เพื่อเร่งปฏิกิริยา และป้องกันการจับตัวของสารเกิดเป็นตะกอน ทำให้ความชัดเจนของแถบเอนไซม์ลดลง) รอจนเห็นแถบเอนไซม์ชัดเจนหรือแถบสีคงที่ไม่เปลี่ยนแปลง นำมาล้างสีด้วยน้ำกลั่น 2-3 ครั้ง

### 1. ลักษณะและขนาดโครงสร้างของลำต้นตัดขวางส้มจุกและต้นตอ

ทำการศึกษาโครงสร้างของลำต้นตัดขวางของส้มจุกและต้นตอที่ยังไม่มีการต่อกิ่งคือ ทรอยเยอร์ซีเตรน และสวิงเกิลซีทรูมิโล ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น 0.25 ซม. ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (scanning electron microscopy: SEM) โดยตัดลำต้นหนา 0.20 ซม. ดองในขวดดองตัวอย่างที่บรรจุสารละลายรักษาสภาพเซลล์ FAA ซึ่งประกอบด้วยฟอร์มอลิน:กรดอะซิติก:แอลกอฮอล์ 50% ในอัตราส่วน 1:1:18 ส่วน แล้วนำไปดูดอากาศด้วยเครื่องดูดสุญญากาศ (vacuum pump) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เพื่อช่วยให้สารละลายรักษาสภาพเซลล์แทรกเข้าสู่เนื้อเยื่อได้ดีขึ้นเนื่องจากตัวอย่างพืชเป็นไม้เนื้อแข็ง วางแช่ตัวอย่างในสารละลาย FAA เป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นรินสารละลาย FAA ออก แล้วตั้งน้ำด้วยแอลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้น 70, 80, 95 และ 100% ตามลำดับ แต่ละความเข้มข้นแช่เป็นเวลา 30 นาที 2 ครั้ง จากนั้นทำให้แห้งด้วยเครื่อง critical point drying (CPD) แล้วนำตัวอย่างพืชติดบนแท่นทองเหลือง (stub) แล้วฉาบด้วยโมเลกุลของโลหะ เช่น พาลาเดียมผสมทองคำ (Au-Pd) ตามวิธีการของเวคิน (2524) และนำมาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์

อิเล็กทรอนิกส์แบบส่องกราด และทำการตรวจสอบโครงสร้างและขนาดส่วนต่างๆ ของลำต้นตัดขวางต้นส้ม บันทึกภาพในแต่ละชนิดต้นตอ

## 2. การเจริญของต้นสัณฐานบนต้นตอจากการขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเมล็ดและปักชำกิ่ง

ใช้ต้นตอเพาะเมล็ดโดยคัดเลือกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางต้นเท่ากับต้นตอจากกิ่งปักชำจำนวน 30 ต้น วางแผนการทดลองแบบแฟกทอเรียล จัดการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design) มี 2 ปัจจัย โดยปัจจัยที่ 1 คือ แบบการขยายพันธุ์ของต้นตอ ประกอบด้วยต้นตอจากการเพาะเมล็ด และต้นตอจากการปักชำกิ่ง ปัจจัยที่ 2 คือ พันธุ์ของต้นตอ ประกอบด้วย ส้มจุก ทรอยเยอร์ซีเตรน และสวิงเกิลซีตรูมิโล มี 6 สิ่งทดลอง (treatment combinations) 5 ซ้ำ ดังนี้

- สิ่งทดลองที่ 1 ต้นตอส้มจุกเพาะเมล็ด
- สิ่งทดลองที่ 2 ต้นตอทรอยเยอร์ซีเตรนเพาะเมล็ด
- สิ่งทดลองที่ 3 ต้นตอสวิงเกิลซีตรูมิโลเพาะเมล็ด
- สิ่งทดลองที่ 4 ต้นตอส้มจุกปักชำกิ่ง
- สิ่งทดลองที่ 5 ต้นตอทรอยเยอร์ซีเตรนปักชำกิ่ง
- สิ่งทดลองที่ 6 ต้นตอสวิงเกิลซีตรูมิโลปักชำกิ่ง

ประเมินผลโดยวัดการเจริญเติบโตต้นสัณฐานที่ต่อกิ่งบนต้นตอชนิดต่างๆ คือ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นบริเวณเหนือและใต้รอยต่อ 1 ซม. นับจำนวนกิ่ง จำนวนใบ ความสูง และพื้นที่ใบ ทุกเดือน วัดความยาวราก ชั่งน้ำหนักแห้งใบและรากในสัปดาห์ที่ 24 หลังการเสียบยอด

## 3. การศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของสัณฐานและต้นตอภายหลังการต่อกิ่ง

ทำการศึกษารูปแบบไอโซไซม์จากแถบเอนไซม์เหนื่อและใต้รอยต่อของต้นสัณฐานที่ต่อกิ่งบนต้นตอ 3 ชนิด คือ ส้มสามใบลูกผสมสายพันธุ์ทรอยเยอร์และสายพันธุ์สวิงเกิล โดยการสกัดเอนไซม์ วิเคราะห์รูปแบบและย้อมสีเอนไซม์ตามวิธีการที่กล่าวแล้วข้างต้น จากนั้นตรวจสอบรูปแบบไอโซไซม์ของกิ่งพันธุ์สัณฐานและต้นตอแต่ละชนิด บันทึกภาพเปรียบเทียบการเกิดแถบเอนไซม์ของสัณฐานที่ต่อกิ่งบนต้นตอทั้ง 3 ชนิด

## ผลการทดลอง

### 1. ลักษณะและขนาดโครงสร้างของลำต้นตัดขวางสัณฐานและต้นตอ

การตรวจสอบลักษณะและขนาดโครงสร้างภายในลำต้นด้านตัดขวางของสัณฐานและต้นตอด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กทรอนิกส์แบบส่องกราด แบ่งแยกได้เป็น 3 ชั้น ได้แก่ เนื้อเยื่อเพอริเดิร์ม (periderm) ซึ่งเป็นโครงสร้างอพิเคอร์มิส (epidermis) และคอร์เทก (cortex) ประกอบด้วยพาเร็นไคมา (parenchyma) ชั้นกลาง หรือระบบลำเลียง (vascular system) ประกอบด้วย ท่อลำเลียงอาหาร (phloem) และท่อลำเลียงน้ำ (xylem) และชั้นใน ประกอบด้วย แกนไม้ (pith) ซึ่งเป็นเซลล์พื้นที่อยู่ส่วนกลางของลำต้น การเปรียบเทียบขนาดของโครงสร้างลำต้นชั้นต่างๆ การเปรียบเทียบขนาดโครงสร้างลำต้นพบว่าต้นตอทรอยเยอร์มีชั้นของเนื้อเยื่อเพอริเดิร์ม ท่อน้ำท่ออาหาร และส่วนของแกนไม้ใกล้เคียงกับสัณฐาน และต้นตอสวิงเกิลซีตรูมิโลมีขนาดของเนื้อเยื่อท่อน้ำและท่ออาหารใหญ่กว่าสัณฐานและทรอยเยอร์ซีเตรน (Table 1) ลักษณะโครงสร้างชั้นต่างๆ มีดังนี้

ต้นสัณฐาน มีเซลล์ชั้นนอกกว้างเฉลี่ย 0.147 มม. โดยแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ เพอริเดิร์มและคอร์เทก ที่มีขนาดกว้างเฉลี่ย 0.052 และ 0.095 มม. ตามลำดับ เซลล์ชั้นกลาง มีความกว้างเฉลี่ยเท่ากับ 0.645 มม. แบ่งได้เป็น 2 ส่วน คือ ท่ออาหารและท่อน้ำ ที่มีความกว้างเฉลี่ยเท่ากับ 0.144 และ 0.501 มม. ตามลำดับ และเซลล์ชั้นในหรือส่วนของแกนไม้ มีความกว้างเฉลี่ย 0.496 มม. และเมื่อเทียบอัตราส่วนความกว้างระหว่างชั้นนอก:ชั้นกลาง:ชั้นใน มีอัตราส่วนเท่ากับ 1:4.39:3.38 เท่าของรัศมีลำต้น (Figure 1A) และเมื่อพิจารณาเฉพาะลักษณะของท่อลำเลียงน้ำตัดขวาง พบว่าไซเลมเรย์มีการจัดเรียงตัวไม่เป็นระเบียบปรากฏเป็นช่วงสั้นๆ และพอร์ (pore) ซึ่งมีลักษณะเป็นทอกลม เป็นเซลล์เดี่ยวๆ ขนาดใหญ่ การจัดเรียงตัวกระจาย ส่วนพอร์ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเล็กจะอยู่ใกล้แกนไม้ และพอร์ขนาดใหญ่จะอยู่ใกล้บริเวณคอร์เทก สำหรับจำนวนพอร์ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 12.5 ไมโครเมตร มีจำนวนเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 43 พอร์/

Table 1. Stem cross section of the Neck orange and root stocks.

Plant type	Stem structure (mm)					Pore/mm <sup>2</sup>	pore/xylem size
	periderm	cortex	phloem	xylem	Pith		
Neck orange	0.0523b	0.0945b	0.1436b	0.5009c	0.4962b	43a	135.02
Troyer citrange	0.0598a	0.1080a	0.1641ab	0.5725b	0.5671a	25b	89.88
Swingle citrumelo	0.0344c	0.0347c	0.1787a	0.6868a	0.3618c	26b	112.06
F test	**	**	**	**	**	**	
C.V. (%)	12.90	8.48	2.97	1.96	5.56	25.1	

\*\* significant difference at  $P \leq 0.01$

Means followed by the same letter within column are not significantly different at  $P \leq 0.01$  by DMRT

ม.ม<sup>2</sup> แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งจากส้มชนิดอื่น ๆ และมีจำนวนพอร์ต่อพื้นที่หน้าตัดชั้นท่อลำเลียงน้ำสูงสุด เท่ากับ 135.02 พอร์ (Figure 1B and Table 1)

ส้มสามใบลูกผสมสายพันธุ์ทรอยเออร์ซิเตรน มีเซลล์ชั้นนอกกว้างเฉลี่ย 0.168 มม. โดยแบ่งเป็นส่วนของเพอริเดิร์ม 0.06 มม. คอร์เทก 0.108 มม. ชั้นกลางมีความกว้างเฉลี่ยเท่ากับ 0.737 มม. ซึ่งเป็นส่วนของท่ออาหาร 0.164 มม. และท่อน้ำ 0.573 มม. และชั้นในหรือแกนไม้มีความกว้างเฉลี่ยเท่ากับ 0.567 มม. (Table 1) ไชเลมเรย์มีการจัดเรียงตัวไม่เป็นระเบียบ ปรากฏเป็นช่วงสั้น ๆ และพอร์ในชั้นท่อลำเลียงน้ำมีการจัดเรียงตัวไม่เป็นระเบียบ มีทั้งแบบกระจายเป็นท่อเดี่ยวๆ และแบบต่อเนื่องเป็นแถวยาว 2-3 พอร์ โดยพอร์ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางเล็กจะอยู่ใกล้แกนไม้และพอร์ขนาดใหญ่อยู่ใกล้คอร์เทกซ์ และมีจำนวนพอร์เฉลี่ยเท่ากับ 25 พอร์/ม.ม<sup>2</sup> และมีจำนวนพอร์ต่อพื้นที่หน้าตัดชั้นท่อลำเลียงน้ำเท่ากับ 89.9 พอร์ (Table 1 and Figure 1D)

ส้มสามใบลูกผสมสายพันธุ์สวิงเกิล มีเซลล์ชั้นนอกกว้างเฉลี่ย 0.069 มม. โดยแบ่งเป็นส่วนเพอริเดิร์ม 0.034 มม. และคอร์เทก 0.035 มม. ชั้นกลางมีความกว้างเฉลี่ยเท่ากับ 0.866 มม. ซึ่งเป็นส่วนของท่ออาหาร 0.179 มม. และท่อน้ำ 0.687 มม. และชั้นในหรือแกนไม้มีความกว้างเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 0.362 มม. (Table 1) ไชเลมเรย์ในท่อลำเลียงน้ำมีการจัดเรียงตัวไม่เป็นระเบียบ ปรากฏเป็นช่วงสั้นๆ พอร์มีการจัดเรียงตัวไม่เป็นระเบียบและรูปแบบไม่แน่นอน มีทั้งแบบเป็นท่อเดี่ยวๆ เกาะกันเป็นกลุ่ม 2-5 พอร์ และแบบเรียงต่อกันเป็นแถวยาว 2-3 พอร์ และมี

จำนวนพอร์เฉลี่ยเท่ากับ 26 พอร์/ม.ม<sup>2</sup> และมีจำนวนพอร์ต่อพื้นที่หน้าตัดชั้นท่อลำเลียงน้ำเท่ากับ 112.06 พอร์ (Table 1 and Figure 1E, F)

## 2. การเจริญของต้นส้มจุกบนต้นตอจากการขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเมล็ดและปักชำกิ่ง

ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเหนือรอยต่อของต้นส้มจุกภายหลังการต่อกิ่ง การเปรียบเทียบระหว่างชนิดของต้นตอพบว่ากิ่งพันธุ์ส้มจุกทั้งเพาะเมล็ดและปักชำกิ่งบนต้นตอสวิงเกิลซิตรูมิโล มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 0.26 ซม. ส่วนแบบของการขยายพันธุ์คือต้นตอปักชำกิ่งทำให้ส้มจุกมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นเพิ่มขึ้นมากกว่าต้นตอเพาะเมล็ดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างแบบของการขยายพันธุ์และชนิดของต้นตอ พบว่ามีความสัมพันธ์ในทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยต้นตอสวิงเกิลซิตรูมิโลส่งเสริมให้กิ่งส้มจุกมีการเจริญสูงสุด และมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางต้นเพิ่มขึ้นเท่ากับ 0.39 ซม. และต้นตอทรอยเออร์ซิเตรนเป็นอันดับรองลงมา มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.18 ซม. (Table 2)

ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางใต้รอยต่อ การเปรียบเทียบระหว่างชนิดของต้นตอ พบว่ากิ่งพันธุ์ส้มจุกบนต้นตอสวิงเกิลซิตรูมิโลแบบเพาะเมล็ดและปักชำกิ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางใต้รอยต่อเฉลี่ยสูงกว่าต้นตอส้มจุกและต้นตอทรอยเออร์ซิเตรน การเปรียบเทียบแบบของการขยายพันธุ์พบว่าต้นตอแบบปักชำกิ่งให้ค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางใต้รอยต่อสูงกว่าต้นตอเพาะเมล็ด นอกจากนี้แบบของการ

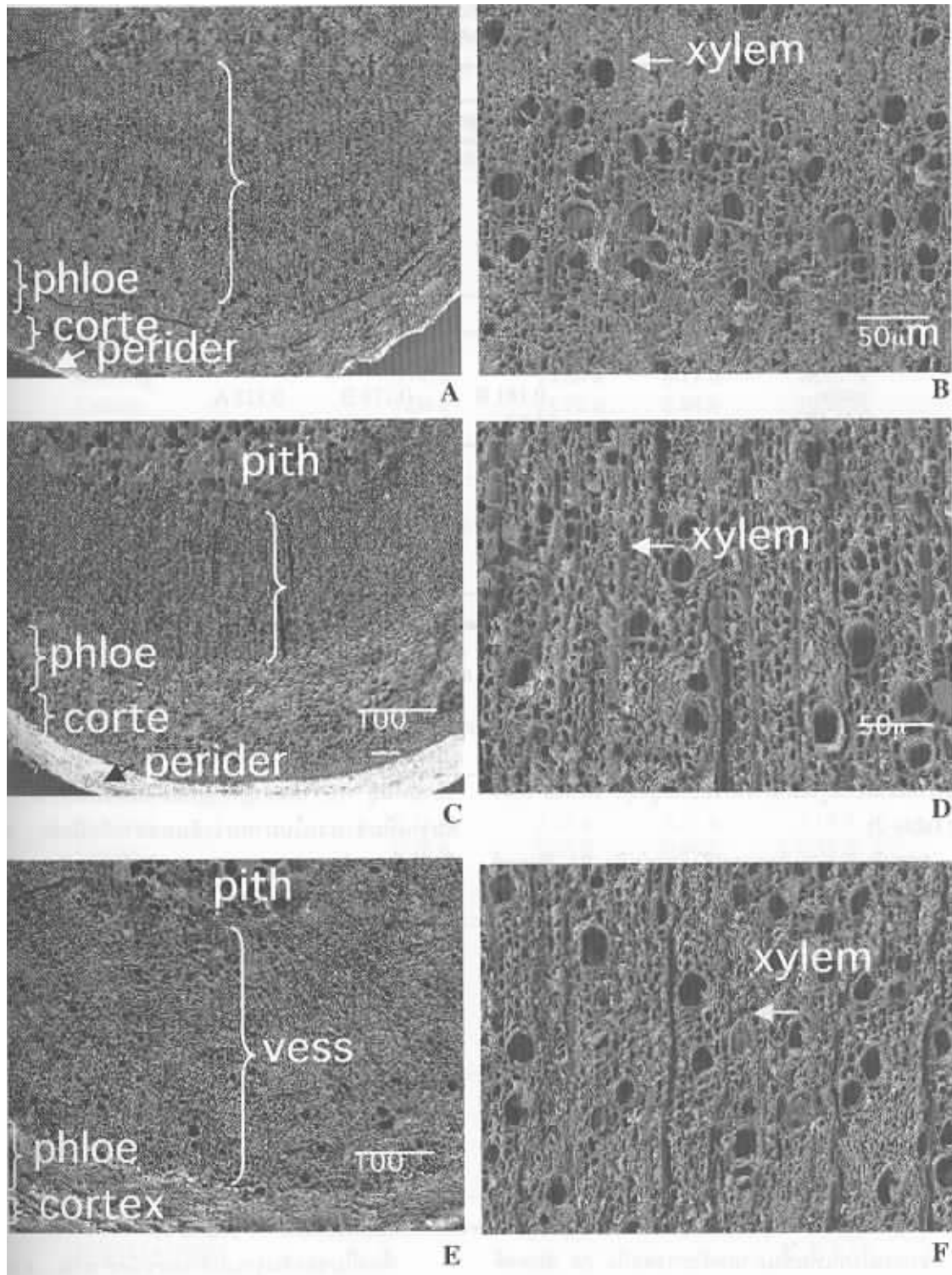


Figure 1. The stem cross section of Neck orange (A, B) Troyer citrange (C, D) and Swingle citrumelo (E, F) (370 X)

**Table 2. Effect of propagation type and rootstocks on the Neck orange upper and lower stem diameter (cm) and branches at 24 weeks after grafting.**

Propagation Type	Rootstock			means
	Neck orange	Troyer	Swingle	
Upper stem diameter (cm)				
Seedling	0.069 d	0.128 c	0.124 c	0.107 B
Cutting	0.138 c	0.18 b	0.392 a	0.236 A
means	0.104 B	0.154 B	0.258 A	
C.V. (%)	8.309			
Lower stem diameter (cm)				
Seedling	0.155 b	0.145 b	0.132 b	0.144 B
Cutting	0.207 b	0.120 b	0.491 a	0.303 A
means	0.181 B	0.178 B	0.312 A	
C.V. (%)	34.63			
Branches				
Seedling	3.9 bc	8.2 a	5.6 b	5.9 A
Cutting	3.5 c	8.9 a	4.8 bc	5.7 A
means	3.7 C	8.6 A	5.2 B	
C.V. (%)	26.46			

Means followed by the same letter within row and column are not significantly different at  $P \leq 0.01$  by DMRT

ขยายพันธุ์และชนิดของต้นตอมีความสัมพันธ์กันที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % และต้นตอสวิงเกิลซิตรูมิโลแบบปักชำกิ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางใ้รอยต่อสูงสุด เท่ากับ 0.49 ซม. (Table 2)

การเพิ่มจำนวนกิ่งภายหลังการต่อกิ่ง 24 สัปดาห์ การเปรียบเทียบระหว่างชนิดของต้นตอ พบว่ากิ่งพันธุ์ส้มจุกบนต้นตอทรอยเออร์ซิเตรนมีการเพิ่มจำนวนกิ่งโดยเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 8.5 กิ่ง แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งในทางสถิติ การเปรียบเทียบระหว่างแบบของการขยายพันธุ์ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ และการเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างแบบของการขยายพันธุ์และชนิดของต้นตอ พบว่ามีความสัมพันธ์กันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยต้นส้มจุกที่ต่อกิ่งบนต้นตอทรอยเออร์ซิเตรนปักชำกิ่งมีจำนวนกิ่งเพิ่มขึ้นในช่วง 24 สัปดาห์หลังเสียบยอดสูงสุดเท่ากับ 8.9 กิ่ง (Table 2)

จำนวนใบที่เพิ่มขึ้นภายหลังการต่อกิ่ง 24 สัปดาห์ การเปรียบเทียบระหว่างชนิดของต้นตอ พบว่าต้นตอทรอยเออร์ซิเตรนส่งผลให้กิ่งพันธุ์ส้มจุกมีจำนวนใบเพิ่มขึ้น

แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติจากต้นตอสวิงเกิลซิตรูมิโลและต้นตอส้มจุก การเปรียบเทียบระหว่างแบบของการขยายพันธุ์ พบว่าต้นตอเพาะเมล็ดมีแนวโน้มทำให้กิ่งพันธุ์ส้มจุกเพิ่มจำนวนใบมากกว่าต้นตอจากกิ่งปักชำ ความสัมพันธ์ระหว่างแบบของการขยายพันธุ์และชนิดของต้นตอพบว่าไม่มีความสัมพันธ์กัน (Table 3)

ความสูงกิ่งส้มจุกที่ต่อบนต้นตอชนิดต่างกัน จากการเปรียบเทียบระหว่างชนิดของต้นตอพบว่า ต้นตอทรอยเออร์ซิเตรนส่งผลให้กิ่งพันธุ์ส้มจุกมีความสูงเพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 14.7 ซม. แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับต้นตอส้มจุกและสวิงเกิลซิตรูมิโล การเปรียบเทียบระหว่างแบบของการขยายพันธุ์ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ และการเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของต้นตอกับแบบของการขยายพันธุ์พบว่ามีสัมพันธ์กันทางสถิติที่ระดับ 99% (Table 3)

พื้นที่ใบของส้มจุกบนต้นตอชนิดต่างกัน จากการเปรียบเทียบระหว่างชนิดของต้นตอ พบว่าต้นตอทรอยเออร์ซิเตรนส่งผลให้กิ่งพันธุ์ส้มจุกมีพื้นที่ใบเพิ่มขึ้นสูงสุด



**Table 3. Effect of propagation type and rootstocks on the Neck orange leaf numbers, height (cm), leaf area (cm<sup>2</sup>) root length (cm), stem and root dry weight (g) and shoot: root ratio at 24 weeks after grafting.**

Propagation Type	Rootstock			means
	Neck orange	Troyer	Swingle	
<b>Leaf numbers</b>				
Seedling	19.40 a	67.90 a	27.30 a	38.20 A
Cutting	17.40 a	66.60 a	24.50 a	36.17 A
means	18.40 C	67.25 A	25.90 B	
C.V. (%)	29.39			
<b>Height (cm)</b>				
Seedling	9.06 b	14.60 a	8.17 b	10.61 A
Cutting	7.04 c	14.72 a	8.84 b	10.20 A
means	8.05 B	14.66 A	8.50 B	
C.V. (%)	8.12			
<b>Leaf area (cm<sup>2</sup>)</b>				
Seedling	91.47 ab	133.38 a	105.73 a	110.20 A
Cutting	51.38 b	94.65 ab	51.72 b	65.92 B
means	71.43 B	144.02 A	78.73 B	
C.V. (%)	31.73			
<b>Root length (cm)</b>				
Seedling	227.12 a	239.04 a	177.75 ab	214.64 A
Cutting	30.16 c	119.00 bc	139.05 ab	96.07 B
means	128.64 A	179.02 A	158.40 A	
C.V. (%)	38.92			
<b>Stem dry weight (g)</b>				
Seedling	2.11 a	2.25 a	2.21 a	2.19 A
Cutting	0.28 b	0.36 b	0.40 b	0.35 B
means	1.195 A	1.31 A	1.31 A	
C.V. (%)	41.05			
<b>Root dry weight (g)</b>				
Seedling	1.362 a	1.304 a	1.274 a	1.313 A
Cutting	0.100 a	0.303 a	0.142 a	0.181 B
means	0.730 A	0.800 A	0.710 A	
C.V. (%)	34.25			
<b>Root: shoot ratio</b>				
Seedling	1.55:1	1.73:1	1.69:1	1.66:1
Cutting	2.80:1	1.18:1	2.80:1	2.26:1
means	2.18:1	1.46:1	2.25:1	

Means followed by the same letter with in row and column are not significantly different at P=0.01 by DMRT

เท่ากับ 144.0 ซม.<sup>2</sup> และต้นตอสวิงเกิลชิตรูมิโลรองลงมาเท่ากับ 78.7 ซม.<sup>2</sup> การเปรียบเทียบระหว่างแบบของการขยายพันธุ์พบว่าต้นตอจากการเพาะเมล็ดมีพื้นที่ใบเพิ่มขึ้นมากกว่าต้นตอจากกิ่งปักชำ และการเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของต้นตอกับแบบของการขยายพันธุ์พบว่ามีความสัมพันธ์กันในทางสถิติที่ระดับ 99% โดยกิ่งพันธุ์ส้มจุกที่ต่อกิ่งบนต้นตอทรอยเยอร์ชิตเรนนทั้งที่ได้จากการเพาะเมล็ดมีพื้นที่ใบเพิ่มขึ้นสูงสุด เท่ากับ 133.4 ซม.<sup>2</sup> (Table 3)

ความยาวรากของต้นตออายุ 24 สัปดาห์ หลังการเสียบยอด จากการเปรียบเทียบระหว่างชนิดของต้นตอพบว่าต้นตอทรอยเยอร์ชิตเรนนส่งผลให้กิ่งพันธุ์ส้มจุกมีความยาวรากเพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 179.0 ซม. และการเปรียบเทียบระหว่างแบบของการขยายพันธุ์ พบว่าต้นตอจากการเพาะเมล็ดมีความยาวรากเพิ่มขึ้นมากกว่าต้นตอจากการปักชำกิ่ง การเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของต้นตอและแบบของการขยายพันธุ์ พบว่ามีความสัมพันธ์กันในทางสถิติที่ระดับ 99% โดยกิ่งพันธุ์ส้มจุกที่ต่อกิ่งบนต้นตอทรอยเยอร์ชิตเรนนมีความยาวรากเพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 239.0 ซม. (Table 3)

น้ำหนักแห้งต้นของต้นส้มจุกโดยนับจากรอยต่อขึ้นไปส่วนบนลำต้น อายุ 24 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง พบว่าแบบของการขยายพันธุ์และชนิดของต้นตอมีความสัมพันธ์กันในทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยต้นส้มจุกที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มสวิงเกิลชิตรูมิโลแบบปักชำมีน้ำหนักแห้งต้นสูงสุดเท่ากับ 5.01 กรัม และต้นส้มจุกที่ต่อกิ่งบนต้นตอคลีโอพัตราแมนดารินเพาะเมล็ด ต้นตอทรอยเยอร์ชิตเรนนเพาะเมล็ด และต้นตอทรอยเยอร์ชิตเรนนปักชำกิ่ง มีน้ำหนักแห้งต้นต่ำสุดเท่ากับ 0.29, 0.36 และ 0.4 กรัม ตามลำดับ (Table 3)

น้ำหนักแห้งรากของต้นส้มจุก จากการเปรียบเทียบระหว่างชนิดของต้นตอ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ และการเปรียบเทียบระหว่างแบบของการขยายพันธุ์พบว่ากิ่งพันธุ์ส้มจุกบนต้นตอแบบเพาะเมล็ดมีน้ำหนักแห้งรากสูงกว่าต้นตอแบบปักชำกิ่ง มีความแตกต่างกันในทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง นอกจากนี้การเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างแบบของการขยายพันธุ์และชนิดของต้นตอพบว่าไม่มีความสัมพันธ์กัน (Table 3)

อัตราส่วนน้ำหนักแห้งต้น:ราก แสดงให้เห็นถึง

ความสมดุลระหว่างต้นตอราก (shoot:root ratio) การเปรียบเทียบระหว่างชนิดของต้นตอ พบว่าต้นส้มจุกที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มจุกและสวิงเกิลชิตรูมิโลแบบเพาะปักชำมีสัดส่วนของน้ำหนักแห้งต้น:ราก แตกต่างกันอย่างมากกว่าต้นตอทรอยเยอร์ชิตเรนน การเปรียบเทียบระหว่างแบบของการขยายพันธุ์ พบว่าต้นตอแบบปักชำกิ่งส่งผลให้กิ่งพันธุ์ส้มจุกมีอัตราส่วนน้ำหนักแห้งต้นและรากแตกต่างกันมากกว่าต้นตอแบบเพาะเมล็ด และต้นตอทรอยเยอร์ชิตเรนนแบบปักชำกิ่งมีอัตราส่วนของน้ำหนักแห้งต้น:ราก เท่ากับ 1.18:1 เป็นสัดส่วนที่ใกล้เคียงกันมากที่สุด (Table 3)

### 3. การศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของส้มจุกและต้นตอภายหลังการต่อกิ่ง

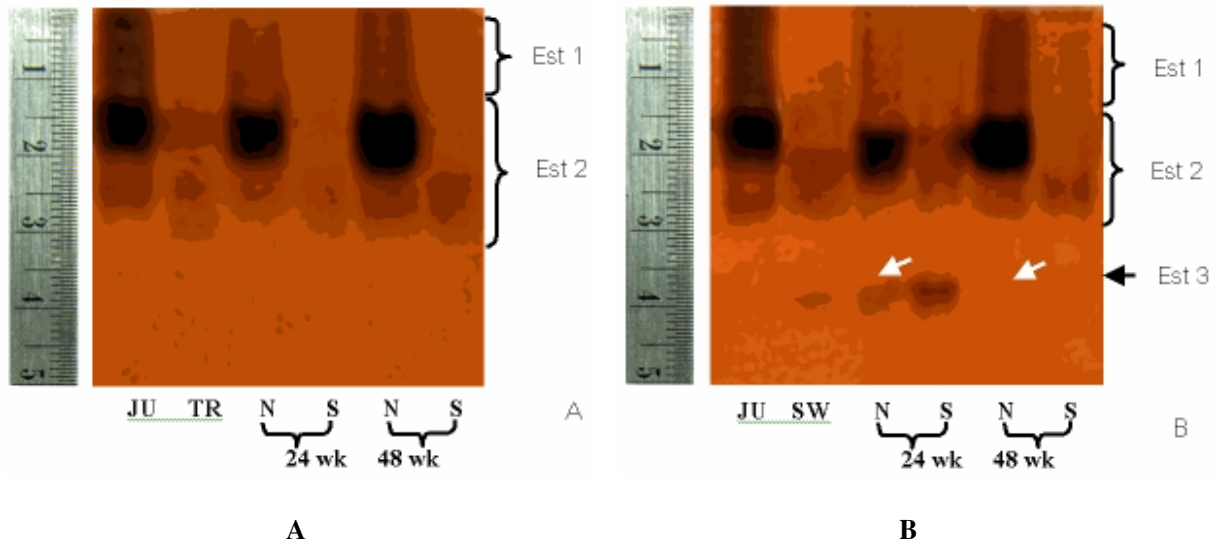
จากการศึกษารูปแบบไอโซไซม์ส่วนเหนือ (N) และใต้ (S) รอยต่อของต้นส้มจุกที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้ม 3 ชนิดที่อายุ 24 และ 48 สัปดาห์หลังเสียบยอด ทดสอบด้วยระบบเอนไซม์เอสเตอเรส ดังนี้

รูปแบบไอโซไซม์ของต้นส้มจุกที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มจุก และส้มสามใบลูกผสมสายพันธุ์ทรอยเยอร์ ให้รูปแบบไอโซไซม์เหนือรอยต่อและใต้รอยต่อที่ 24 และ 48 สัปดาห์ มีรูปแบบคงที่ไม่เปลี่ยนแปลงคือ รูปแบบไอโซไซม์ส่วนเหนือรอยต่อมี 2 โซน (Est 1 และ Est 2) และส่วนใต้รอยต่อมี 1 โซน (Est 2) (Figure 2A)

รูปแบบไอโซไซม์ของต้นส้มจุกที่ต่อกิ่งบนต้นตอส้มสามใบลูกผสมสายพันธุ์สวิงเกิลชิตรูมิโล ปรากฏรูปแบบไอโซไซม์ส่วนเหนือรอยต่อของกิ่งพันธุ์ส้มจุกที่ 24 และ 48 สัปดาห์ มีแถบเอนไซม์เพิ่มขึ้น 1 ตำแหน่ง (Est 3) และส่วนใต้รอยต่อมีรูปแบบใกล้เคียงกับรูปแบบไอโซไซม์ของส้มสามใบลูกผสมสายพันธุ์สวิงเกิลชิตรูมิโล คือมีแถบเอนไซม์ 2 โซน (Est 2 และ Est 3) (Figure 2B)

### วิจารณ์

การใช้ต้นตอเพาะเมล็ดและต้นตอปักชำทั้งสองชนิดต่อกิ่งกับส้มจุก พบว่าสวิงเกิลชิตรูมิโลส่งผลให้กิ่งส้มจุกเพิ่มขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นเหนือและใต้รอยต่อสูงสุด (Table 2) และพบว่าการใช้ต้นตอจากการเพาะเมล็ดทำให้กิ่งพันธุ์ส้มจุกมีอัตราการเพิ่มของพื้นที่ใบ ความยาวราก



**Figure 2. Esterase zymogram of Neck orange on Troyer citrange (A) and Swingle citrumelo (B) at 24 and 48 weeks after grafting.**

**JU = Neck orange**  
**TR = Troyer citrange**  
**SW = Swingle citrumelo**  
**N, S = Upper and lower position of the graft-union**

น้ำหนักแห้งต้น และน้ำหนักแห้งราก เฉลี่ยสูงกว่าการใช้ต้นตอกิ่งปักชำ เนื่องจากต้นตอเพาะเมล็ดมีระบบรากที่แข็งแรงกว่าการใช้ต้นตอจากการปักชำกิ่ง (นันทิยา, 2542 และสนั่น, 2522) ดังนั้นผลจากการเปรียบเทียบแบบของการขยายพันธุ์ในการทดลองครั้งนี้ สรุปได้ว่าการใช้กิ่งปักชำเพื่อเป็นต้นตอในส้มจุกทำให้เพิ่มขนาดลำต้นได้เท่านั้น และมีการเจริญช้ากว่าการใช้ต้นตอเพาะเมล็ดอาจใช้ประโยชน์ได้ในการทำเป็นไม้ผลกระถาง หรือการปลูกไม้ผลระยะชิดที่ไม่ต้องการให้มีทรงพุ่มขนาดใหญ่

การเปรียบเทียบชนิดของต้นตอ พบว่าการใช้ต้นตอทรอยเยอร์ซีเตรนส่งผลให้กิ่งพันธุ์ส้มจุกมีการเจริญสูงกว่าต้นตอส้มจุกและและสวีงเกิดซีตรูมิโล ซึ่งปรากฏชัดเจนทุกส่วนของลำต้น (Table 2-3) โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้ต้นตอทรอยเยอร์ซีเตรนทำให้มีสัดส่วนของน้ำหนักแห้งต้นและรากใกล้เคียงกัน (Table 3) เป็นการบ่งบอกถึงความสมดุลของต้นและราก ที่ใช้เป็นปัจจัยสำคัญปัจจัยหนึ่งในการวัดความเข้ากันได้ของต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี (Georgiou, 2000; Hartmann *et al.*, 1997) และจากผลการศึกษา

โครงสร้างลำต้นตัดขวางต้นส้มทั้งสามชนิดด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่กำลังขยาย 70 เท่า และลักษณะพอร์ของท่อลำเลียงน้ำที่กำลังขยาย 370 เท่า (Figure 1) พบว่าต้นส้มสามใบลูกผสมสายพันธุ์ทรอยเยอร์ซีเตรนมีรัศมีชั้นนอกคือเพอริเดิร์มและคอร์เทก และชั้นในคือแกนไม้กว้างที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับต้นส้มจุกและสวีงเกิดซีตรูมิโล ซึ่งทั้งสองส่วนเปรียบเสมือนโครงสร้างเสริมความแข็งแรงให้กับต้นส้ม เนื่องจากโครงสร้างชั้นนอกมีหน้าที่ป้องกันเนื้อเยื่อภายในและชั้นในทำหน้าที่เป็นเนื้อเยื่อแกนของลำต้น (เทียมใจ, 2542) ดังนั้นต้นส้มสามใบลูกผสมสายพันธุ์ทรอยเยอร์ซีเตรนในช่วงการเจริญระยะนี้ จึงน่าจะมีความแข็งแรงมากกว่าส้มจุกและส้มสวีงเกิดซีตรูมิโล

การศึกษารูปแบบไอโซไซม์หรือการเคลื่อนที่โมเลกุลของเอนไซม์ ด้วยการย้อมสีปฏิกิริยาจำเพาะ และใช้ในวัตถุประสงค์ที่แตกต่างกันออกไป อาทิเช่น จำแนกสายพันธุ์ลำไย (ปนัดดา, 2541) และส้ม (Lee *et al.*, 1993) เป็นต้น และเพื่อตรวจสอบสายพันธุ์ลูกผสม เช่น พืชในสกุล *Prunus* (Hancock and Lezzoni, 1988) พืชสกุล

*Lansium* (วันทนา, 2538) เป็นต้น แต่การนำเทคนิคไอโซไซม์มาใช้เพื่อการศึกษาการเข้ากันได้ระหว่างกิ่งพันธุ์กับต้นตอยังมีการศึกษาไม่มาก อย่างไรก็ตาม การเปลี่ยนแปลงรูปแบบของเอนไซม์ต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีหลังจากต่อกิ่งสันนิษฐานในขั้นต้นว่าอาจมีปฏิกริยาสัมพันธ์ระหว่างกันเมื่อเซลล์ของกิ่งพันธุ์ดีและต้นตอเกิดเชื่อมต่อกันเป็นต้นพืชต้นเดียวกัน ตามหลักทฤษฎีของการพัฒนาการของเซลล์พืช เซลล์พืชใกล้เคียงกันจะมีการรับและส่งสัญญาณข้อมูลต่างๆ ทางพันธุกรรมซึ่งกันและกัน เพื่อให้เซลล์ที่เกิดขึ้นใหม่เข้ากันได้และเจริญเติบโตต่อไปได้โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ หรือโปรตีนต่างๆ ในทางตรงกันข้ามหากเข้ากันไม่ได้ก็จะทำให้เกิดปฏิกิริยาต่อต้านในระดับโมเลกุลหรือชีวเคมี ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ หรือโปรตีนขึ้นภายในเซลล์พืช (Fosket, 1994) ดังผลการทดลองที่พบแถบเอนไซม์ในโซน 3 ของต้นตอสวิงเกิลซิตรูมิโล่ ปรากฏที่ส้มจุกใน 24 และ 48 สัปดาห์หลังการต่อกิ่ง (Figure 2) แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของต้นตอสวิงเกิลซิตรูมิโล่ที่มีต่อกิ่งพันธุ์ดีที่สามารถประเมินได้ในระยะแรก แต่ไม่อาจจะระบุชัดเจนได้ว่าเป็นอิทธิพลจากคุณสมบัติในข้อใดของต้นตอสวิงเกิลซิตรูมิโล่

จากผลการศึกษาลักษณะโครงสร้างของลำต้น และการเจริญของกิ่งพันธุ์ส้มจุกบนต้นตอสวิงเกิลซิตรูมิโล่พบว่ามีท่อลำเลียงอาหารกว้างกว่าส้มจุกและทรอยเยอร์ (Table 1) และมีการเพิ่มขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นเร็ว (Table 2) และมีการเปลี่ยนแปลงเอนไซม์บนกิ่งพันธุ์ดีหลังการต่อกิ่ง เป็นข้อพิสูจน์ในเบื้องต้นได้ว่าต้นตอสวิงเกิลซิตรูมิโล่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของส้มจุก และอาจเป็นตัวบ่งชี้ถึงลักษณะของการเข้ากันไม่ได้ภายหลังการต่อกิ่งระหว่างส้มจุกกับต้นตอสวิงเกิลซิตรูมิโล่ ดังนั้นการใช้ต้นตอทรอยเยอร์ซึ่งตรงกับกิ่งพันธุ์ส้มจุกจึงน่าจะเหมาะสมกว่า อย่างไรก็ตามควรมีการประเมินผลต่อไปจนถึงระยะให้ผลผลิต

### กิติกรรมประกาศ

งานวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินรายได้มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ได้รับความอนุเคราะห์

ต้นตอบางส่วนจากบริษัทธนาร จำกัด และศูนย์วิจัยพืชสวนจังหวัดตรัง คณะผู้วิจัยขอขอบคุณอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

### เอกสารอ้างอิง

- ธีระชัย ธนานันท์. 2540. การจำแนกพันธุ์พืชโดยเทคนิคทางชีวโมเลกุล. กรุงเทพฯ: ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.
- เทียมใจ คมกฤต. 2542. กายวิภาคของพฤษภ. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- นันทิยา วรธนะภุติ. 2542. การขยายพันธุ์พืช. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. กรุงเทพฯ.
- ปนัดดา กาญจนะ. 2541. การจำแนกพันธุ์ลำไยโดยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสและเซลล์พันธุศาสตร์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ มหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- มาลี สะสมศักดิ์. 2541. การเจริญเติบโตและการพัฒนาการของส้มโชกุน (*Citrus reticulata* Blanco cv. Shogun) บนต้นตอส้มบางชนิด วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ สงขลา.
- มงคล แซ่หลิม, จรัสศรี นวลศรี, สุมาลี สุทธิประดิษฐ์, วิชัย พันธะหิรัญ และสุทธิรักษ์ แซ่หลิม. 2536. ธาตุอาหารในดินปลูกส้มจุก. ว.เกษตรศาสตร์ 27: 412-420.
- มงคล แซ่หลิม, สมปอง เตชะโต และสุภาณี ชนะวีวรรณ. 2542. การเจริญเติบโตของส้มจุก (*Citrus reticulata* Blanco) และส้มโชกุน (*Citrus reticulata* Blanco) บนต้นตอส้มบางชนิด. ว.สงขลานครินทร์ 21: 415-423.
- เวคิน นพินิตย์. 2524. มารูจัก Scanning Electron Microscopy (SEM). ว.วิทยาศาสตร์ 35: 71-76.
- วันทนา นวรั้งสรร์. 2538. การจำแนกพันธุ์ *Lansium domesticum* Correa. โดยใช้ไอโซไซม์และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- สนั่น ขำเลิศ. 2522. หลักและวิธีการขยายพันธุ์พืช. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สมปอง เตชะโต, วันทนา นวรั้งสรร์ และมงคล แซ่หลิม. 2538. การตรวจสอบ *Lansium domesticum* Correa. โดยเทคนิคไอโซไซม์. ว.สงขลานครินทร์ 17: 355-361.
- Davies, F.S. and Albrigo, L.G. 1994. *Citrus* spp. CAB International. Inc. Ltd., Wallingford, UK.

- Elisiaria, P.J., Santos, G.G., Guerreiro, A.R., Ollitrant-luro, P.F. and Leitao, J.M. 1999. Isozyme analysis revealed that the Portuguese mandarin 'Carvalhais' originated as a single clone. *Scientia Horticulturae* 82: 145-152.
- Fosket, D.E. 1994. *Plant Growth and Development: A Molecular Approach*. Academic Press. Inc., California.
- Georgiou, A. 2000. Performance of 'Nova' mandarin on eleven rootstocks in Cyprus. *Scientia Hort.* 84: 115-126.
- Hancock, A.M. and Iezzoni, A.F. 1988. Malate dehydrogenase isozyme pattern in seven *Prunus* species. *HortScience* 23: 381-383.
- Hartmann, H.T., Kester, D.E., Davies, F.T. and Geneve, R.L. 1997. *Plant Propagation: Principles and Practices*. Prentice Hall International, Inc. Ltd., New Jersey.
- King, B.J., Lee, L.S. and Scott, P.T. 1996. Identification of triploid Citrus by isozyme analysis. *Euphytica* 90: 223-231.
- Lee, M.L., Ryn, Y.J., Chung, T.V. and Park, Y.H. 1993. Identification of *Citrus* spp. In cheju using isozymes, RFLP and RAPD markers. *J. of Agri. Sci. Biotech.* 35: 193-197.