รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560
โครงการวิจัยที่ 3025-3920(0731)

เรื่อง การสร้างสายพันธุ์กีวีฟรุ้ทโดยใช้สารเคมีเพิ่มชุดโครโมโซม

Production of Kiwifruit (*Actinidia* spp.) Cultivars
by Chemical Polyploid Breeding

หัวหน้าโครงการวิจัย

รองศาสตราจารย์ ดร.สห ตุลพงศ์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

คณะวิจัย

นายวิรัตน์ ปราบทุกข์	**สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน)**
นายวิพัฒน์ ดวงโภชน์	**มูลนิธิโครงการหลวง**
นายชยาณ์ ไชยประสพ	**มูลนิธิโครงการหลวง**
ว่าที่ร้อยตรีหญิงกชกร พุทธะ	**สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน)**

ได้รับทุนวิจัยสนับสนุนจากมูลนิธิโครงการหลวง

เดือนกันยายน 2560

บทคัดย่อ

เนื่องจากผลกีวีฟรุ้ท มีคุณสมบัติดีต่อผู้บริโภคเพราะอุดมไปด้วยวิตามิน ซี อี โปรแทสเซียม แมกนีเซียม สังกะสี โฟลเลต และเส้นใยธรรมชาติ ฉะนั้นการพัฒนาพันธุ์ให้เหมาะกับพื้นที่ปลูกเพื่อเพิ่มปริมาณและคุณภาพผลผลิต โดยเฉพาะบนพื้นที่ต่ำ มีความสำคัญต่อการปลูกและผลิตกีวีฟรุ้ทในอนาคตอย่างยิ่ง

การทดลองที่ 1. การให้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลินต่างความเข้มข้นหุ้มตาข้างกิ่งเพื่อเพิ่มชุดโครโมโซมของกีวีฟรุ้ท 5 พันธุ์ได้ ถ้าไม่มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วและต่อเนื่องของสภาพแวดล้อมทางธรรมชาติ จากฝนลูกเห็บและความแห้งแล้ง จึงทำให้ยังไม่สามารถได้กิ่งที่ต้องการตามวัตถุประสงค์ เนื่องจากต้นกีวีฟรุ้ทเป็นพืชที่มีการฟื้นตัวอย่างช้าๆ ใช้เวลา และทยอยตายไปในธรรมชาติจากผลกระทบอย่างรุ่นแรงข้างต้น

การทดลองที่ 2. การให้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลินต่างความเข้มข้นแช่เมล็ดกีวีฟรุ้ท 7 พันธุ์ เพื่อผลิตต้นกล้ากีวีฟรุ้ทให้มีการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซม จาก 2n = 2x = 58 ไปเป็น 2n = 4x = 116 ได้ แต่เนื่องจากต้นกีวีฟรุ้ทในธรรมชาติมักมีระบบรากอ่อนแอ จึงต้องมีการปลูกบนต้นตอที่มีระบบรากดีเป็นพิเศษ เช่น พันธุ์บรูโน และลักษณะพืช 2n = 4x = 116 จะมีระบบรากแก้วใหญ่ อวบ สั้น และมีพัฒนาการของรากแขนงน้อยมาก จนต้นกล้าไม่สามารถเจริญและพัฒนาต่อไปจนเป็นต้นกล้า และต้นกล้ากีวีฟรุ้ทที่สมบูรณ์จนใช้ปลูกและผลิตได้

การพัฒนาต้นกีวีฟรุ้ทที่มีชุดโครโมโซม 2n = x = 29 ให้เป็นพันธุ์แท้(2n = 2x = 58)และยังสามารถพัฒนาต่อไปจนได้ต้นกีวีฟรุ้ทที่เป็น 2n = 4x = 116 ได้โดยการให้สารโครชิซีนร่วมกับการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในห้องปฏิบัติการ

คำสำคัญ: กีวีฟรุ้ท การปรับปรุงพันธุ์ การเพิ่มชุดโครโมโซม โคลชิซีน ไตรฟลูราลิน

Abstract

Due to the fruits of Kiwifruit (*Actinidia* spp.) are very good to consumers as there are rich in vitamin C & E, Potassium, Magnesium, Zinc, Folate, and natural fibre. So cultivar improvements for the future production on new and particular producing areas especially, low altitude cultivars are very importance.

Experiment 1. Doubling of Kiwifruit chromosome sets can be done by wrapping of different concentrations of Colchicine and Trifluralin on axillary buds and there are not be able to find the clear changes in this experiment because nearly, all of the Kiwifruit plants are died by sudden and continuous fluctuation of natural environmental condition changes ie. hail storm and drought, and there are slowly rehabilitability in nature.

Experiment 2. To producing initial tetraploid Kiwifruit seedlings can be done by soaking the seeds in different concentrations and durations of Colchicine and Trifluralin but there are failed to produced perfect tetraploid seedlings due to it very poor in natural root producing system (short, fat and plump tap root, and little numbers of lateral root production) that resulted in slowly died off.

Pure breed and tetraploid Kiwifruit plants can be produced by Chromosome set doublings of 2n = x = 29 to 2n = 2x = 58 and then 2n = 4x = 116 plants by Colchicine treatment through biotechnological technique.

Keyword: Kiwifruit, Cultivar Improvement, Doubling of Chromosome Set, Colchicine, Trifluralin

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณมูลนิธิโครงการหลวงที่ได้พิจารณาให้ทุนสนับสนุนการศึกษาวิจัยเรื่อง "การสร้างสายพันธุ์กีวีฟรุ้ทโดยใช้สารเคมีเพิ่มชุดโครโมโซม" ในปี พ.ศ. 2560 และขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่มูลนิธิโครงการหลวง ฝ่ายวิจัยและศึกษาดูงานต่างประเทศ เจ้าหน้าที่ประสานงานโครงการวิจัยที่ให้คำแนะนำในการดำเนินการวิจัยและขั้นตอนการจัดทำเอกสาร รวมถึงการแจ้งข่าวสารที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัย เจ้าหน้าที่การเงินและธุรการที่ช่วยตรวจสอบเอกสารและให้คำแนะนำในการจัดส่งเอกสารและเจ้าหน้าที่ประจำสถานีเกษตรหลวงปางดะ ที่อำนวยความสะดวกในการทำวิจัย

คณะผู้วิจัย
กันยายน 2560

สารบัญเนื้อหา

	หน้า
บทคัดย่อ	(1)
กิตติกรรมประกาศ	(3)
สารบัญเนื้อหา	(4)
สารบัญตาราง	(5)
สารบัญภาพ	(6)
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ทฤษฎี และแนวคิดที่เกี่ยวข้อง	2
บทที่ 3 กรรมวิธีทดลอง (อุปกรณ์และวิธีการ)	5
บทที่ 4 ผลการวิจัย	11
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ	47
เอกสารอ้างอิง	52

มูลนิธิ โครงการหลวง ROYAL PROJECT FOUNDATION

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1.1 การแตกยอด จำนวนดอก การติดผล และลักษณะกิ่งกีวีฟรุ้ทพันธุ์ Babykiwi หลังให้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลิน	12
1.2 การแตกยอด จำนวนดอก การติดผล และลักษณะกิ่งกีวีฟรุ้ทพันธุ์ 15-1-8 หลังให้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลิน	13
1.3 การแตกยอด จำนวนดอก การติดผล และลักษณะกิ่งกีวีฟรุ้ทพันธุ์ 13-1-13 หลังให้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลิน	14
1.4 การแตกยอด จำนวนดอก การติดผล และลักษณะกิ่งกีวีฟรุ้ทพันธุ์ 10-1-9 หลังให้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลิน	15
1.5 การแตกยอด จำนวนดอก การติดผล และลักษณะกิ่งกีวีฟรุ้ทพันธุ์ KS หลังให้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลิน	16
1.6 ความหนาใบ ขนาดของใบและจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ของกีวีฟรุ้ทพันธุ์ Babykiwi หลังให้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลิน	17
1.7 ความหนาใบ ขนาดของใบและจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ของกีวีฟรุ้ทพันธุ์ 15-1-8 หลังให้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลิน	18
1.8 ความหนาใบ ขนาดของใบและจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ของกีวีฟรุ้ทพันธุ์ 13-1-13 หลังให้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลิน	19
1.9 ความหนาใบ ขนาดของใบและจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ของกีวีฟรุ้ทพันธุ์ 10-1-9 หลังให้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลิน	20

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1.1 ปากใบของกีวีฟรุ้ท 10 พันธุ์และลักษณะของใบกีวีฟรุ้ทพันธุ์ KS ที่ใช้ศึกษาจำนวนปากใบและเม็ดคลอโรพลาสต์	23
1.2 ผลกีวีฟรุ้ทพันธุ์ KS ซ้าย) ไม่ได้รับสารเคมี ขวา) ให้สารโคลชีซีน 0.05%	26
1.3 ผลกีวีฟรุ้ทพันธุ์ 15-1-8 ซ้าย) ไม่ได้รับสารเคมี และขวา) ให้สารโคลชิซีน 0.20%	27
1.4 ผลกีวีฟรุ้ทพันธุ์ 13-1-13 ซ้าย) ไม่ได้รับสารเคมี ขวา) ให้สารโคลชิซีน 0.05%	27
1.5 ผลกีวีฟรุ้ทพันธุ์ 10-1-9 ซ้าย) ไม่ได้รับสารเคมี ขวา) ให้สารโคลชิซีน 0.20%	27
2.1 ต้นกล้ากวีฟรุ้ท พันธุ์ 10-1-9 และ River West, China#4,Tall Green	39
2.2 การใช้ Flow Cytometry กับกีวีฟรุ้ทมีโครโมโซม 2n= 2x= 58	40
2.3 การใช้ Flow cytometry บนซ้ายและขวา) กับกีวีฟรุ้ทพันธุ์อ่างขางเป็น standard และ 2n=2x= 58 Tall Green ล่างซ้าย) ใบของ Tall Green ล่างขวา) จำนวนโครโมโซม Tall Green 2n=2x=58 (scale 1 ช่อง=2.6 µm)	41
2.4 การใช้ Flow cytometry กับกีวีฟรุ้ทพันธุ์ River West และ มีจำนวนชุดโครโมโซม 2n=3x=87	41
2.5 ลักษณะต้น ลำต้น ใบและผลของกีวีฟรุ้ทพันธุ์ 10-1-9 มีจำนวนชุดโครโมโซม 2n=3x=87	42
2.6 การใช้ Flow cytometry กับกีวีฟรุ้ทพันธุ์อ่างขางเป็น standard 2n= 2x= 58 และพันธุ์ KS มีจำนวนชุดโครโมโซม 2n=2x=58	43
2.7 ลักษณะต้น ลำต้น และใบของต้นกล้ากีวีฟรุ้ท KS มีจำนวนชุดโครโมโซม 2n=2x=58	44
2.8 การใช้ Flow Cytometry และลักษณะต้น ลำต้น และใบของต้นกล้ากีวีฟรุ้ทพันธุ์ KS มีจำนวนชุดโครโมโซม 2n=x=29	44
2.9 ลักษณะต้น ลำต้น และใบของต้นกล้ากีวีฟรุ้ทพันธุ์ China#4 มีจำนวนชุดโครโมโซม 2n=2x=58	45
2.10 การแตกยอดของกีวีฟรุ้ทหลังเสียบกิ่งบนต้นตอ	45

ภาพที่ **หน้า**

2.9 การออกดอกของกีวีฟรุ๊ท china#4 ดอกเพศผู้ หลังเสียบกิ่งบนต้นตอ 46

2.10 การติดผลของกีวีฟรุ๊ท china#4 หลังเสียบกิ่งบนต้นตอ 46

มูลนิธิโครงการหลวง ROYAL PROJECT FOUNDATION

บทที่ 1: บทนำ

1. ที่มาและความสำคัญของปัญหา

กีวีฟรุ้ทเป็นไม้เขตกึ่งร้อนที่มีนิสัยคล้ายไม้ผลเขตหนาวขนาดเล็กที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของโลก (มีการปลูกและผลิตมากในประเทศฝรั่งเศส อิตาลี่ นิวซีแลนด์ ชิลี กรีซ สเปน แอฟริกาใต้ คอสตริกา ญี่ปุ่น จีน สหรัฐอเมริกา ฯลฯ) และประเทศไทย (มีปลูกบนภูเขาสูงตามจังหวัดต่าง ๆ ของประเทศที่มีความสูง 1000 เมตร จากระดับน้ำทะเลปานกลางขึ้นไป) จากความสำคัญดังกล่าว จึงมีการนำเข้าปีละมากกว่า 80 ล้านบาทและสามารถสร้างรายได้ให้เกษตรกรที่เพาะปลูกบนพื้นที่ของมูลนิธิโครงการหลวง แต่เกษตรกรจะมีรายได้เพิ่มมากขึ้นและผู้บริโภคสามารถหาผลผลิตกีวีฟรุ้ทที่มีคุณภาพของผลผลิตดีขึ้น (โดยการเพิ่มขนาดและคุณภาพทางเคมีภายในผล) มีราคาถูกลง อีกทั้งยังได้สายพันธุ์ใหม่ที่มีคุณภาพดีและเพื่อนำไปขยายพันธุ์ให้กับเกษตรกรในอนาคตได้โดยการใช้สารโคลชิซีนและสารไตรฟลูราลินความเข้มข้นที่เหมาะสม ทั้งสายพันธุ์ใหม่ยังสามารถปลูกบนพื้นที่ที่มีความหนาวเย็นต่ำหรือพื้นที่ที่มีความสูงจากระดับน้ำทะเลปานกลาง 700 เมตร หรือน้อยกว่าจากระดับน้ำทะเลของจังหวัดในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยได้

2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

2.1 เพื่อเพิ่มสายพันธุ์กีวีฟรุ้ทสำหรับปลูกในพื้นที่มูลนิธิโครงการหลวง

2.2 เพื่อสร้างสายพันธุ์กีวีฟรุ้ทที่มีคุณภาพดีและเหมาะสมเพื่อการปลูกและผลิตในพื้นที่ของมูลนิธิโครงการหลวง

2.3 เพื่อเพิ่มความต้องการปลูกและผลิตกีวีฟรุ้ทเป็นการค้า

2.4 เพื่อเพิ่มความหลากหลายในสายพันธุ์ปลูกกีวีฟรุ้ทในประเทศไทย

3. ประโยชน์หรือผลที่คาดว่าจะได้รับ

3.1 ได้ Clones ที่ให้ผลกีวีฟรุ้ทมีขนาดใหญ่ขึ้น

3.2ได้ Clones กีวีฟรุ้ทที่เป็น Polyploids หรือเพิ่มความเป็น polyploidy

3.3 ได้ Clones ที่ให้ผลกีวีฟรุ้ทมีรสชาติและมีคุณสมบัติทางเคมีดีขึ้น

บทที่ 2: ทฤษฎี และแนวคิดที่เกี่ยวข้อง

1. ทฤษฎี และแนวคิดที่เกี่ยวข้อง

กีวีฟรุ้ท (Chinese Gooseberry) เป็นผลไม้ที่มีการพัฒนาพันธุ์และเผยแพร่เข้าสู่ตลาดโลกได้ไม่นานมานี้ (สห, 2553; Ferguson and Ballard, 1990; Ferguson and Huang, 2007) มีผลผลิตประมาณ 1.5-1.6 ล้านตัน (ประเทศอิตาลี 25 นิวซีแลนด์ 20 และ ชิลี 7.5% แต่มีการส่งออกไปจำหน่าย 66, 94, และ 88% ตามลำดับ ส่วนจีนสามารถผลิตได้ประมาณ 340,000 ตัน ในปี 2002) (Ferguson and Seal, 2008) กีวีฟรุ้ทมีถิ่นกำเนิดแถบลุ่มน้ำแยงซีเกียงของจีน จนศตวรรษที่ 19 นำเข้าไปพัฒนาเป็นพันธุ์ปลูกและมีการส่งเสริมการขายจนเป็นที่รู้จักและนิยมบริโภคกันไปทั่วโลกโดยชาวนิวซีแลนด์เพราะเป็นผลไม้ที่มีวิตามินสูงที่สุดหรือมีคุณภาพมากกว่าส้ม มะม่วง เกรฟฟรุ้ท และมะละกอ หรือประมาณ 105 (mg/100 gm.) ของวิตามินซี มีฤทธิ์ป้องกันข้อเข่าและเนื้อเยื่อโดยรอบเสื่อม ลดอาการปวดและผิดปกติของไขกระดูก ใช้รับประทานผลสด ทำสลัด ไวน์ สุรา ของหวานใช้กวน ผสมผลิตภัณฑ์นมและเจลาติน ผลแช่แข็ง บรรจุกระป๋อง นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติลดความเหนียวของเนื้อสัตว์เพราะมีเอนไซม์ย่อยโปรตีน 'Actinidin' เช่นเดียวกับ 'Papain' ในมะละกอ และมีการเปลี่ยนชื่อมาเป็นกีวีฟรุ้ท (Kiwifruit) เฉกเช่นในปัจจุบัน กีวีฟรุ้ทที่ใช้ปลูกเป็นการค้าได้ดี จะมีการปรับปรุงพันธุ์มาจากกีวีฟรุ้ท 2 ชนิด (*Actinidia chinensis* Planch. ราว 15% และ *A. deliciosa* (A. Chev.) C.F. Liang et A.R. Ferguson ราว 85%) ที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกัน มีผลขนาดใหญ่ ซึ่งได้จากการคัดเลือกจากพันธุ์ป่าหรือจากต้นที่ได้จากการเพาะเมล็ดมากกว่าการผสมพันธุ์ แต่เมื่อมีแผนการปรับปรุงพันธุ์มักเน้นให้ผลมีลักษณะดีตามความต้องการของมนุษย์ เช่น ให้มีรสชาติดี มีขนาดใหญ่ตามความต้องการ ระยะเวลาของการเก็บเกี่ยว สีของเนื้อผล ความมีขนและไม่มีขน ระยะเวลาการเก็บรักษาหลังการเก็บเกี่ยว การปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อม และความสามารถในการให้เถา ลักษณะที่ได้รับต่อไปสามารถนำไปขยายพันธุ์ได้โดยวิธี clonal propagation (Zhu *et al*, 2002) กีวีฟรุ้ทที่ผลิตเป็นการค้าเกือบทั้งหมดอยู่นอกประเทศจีนและมีเนื้อผลสีเขียว แต่ปัจจุบันพบว่าพันธุ์ (*A. deliciosa*) ที่มีเนื้อสีเหลือง จะมีรสชาติหวานกว่าและเป็นสินค้าระดับนานาชาติที่สำคัญ (Ferguson and Seal, 2008) ปี 2544 นิวซีแลนด์ปรับปรุงพันธุ์กีวีฟรุ้ทให้มีเนื้อผลสีเหลืองจัด (Zespri Gold) เพื่อส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศมีมูลค่าสุทธิถึง 100 ล้านเหรียญนิวซีแลนด์ ส่วนประเทศไทยมีการนำเข้ามาปลูกเป็นครั้งแรกในปี 2519 โดยโครงการเกษตรที่สูง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ณ สถานี

เกษตรหลวงอ่างขางตามโครงการปลูกพืชทดแทนฝิ่นของชาวไทยภูเขาบนที่สูง (สห, 2553ก และ หมอเกษตร ทองกวาว, 2554)

การปรับปรุงพันธุ์ไม้ผลโดยใช้เทคนิคการกลายพันธุ์ (Mutation Breeding) จะทำให้ต้นไม้ผลมีความแข็งแรง (Stebbin, 1971) มีดอกขนาดใหญ่ (De Nettancourt, 1997) มีเมล็ดใหญ่ (ศิริพร, 2527) และมีรสชาติดีเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ยังทำให้ลำต้นมีโครงสร้างแข็งแรงขึ้น การบานของดอกอาจช้าหรือเร็วกว่าปกติ แต่ทำให้ลำต้น เกสรตัวผู้ และใบ หนา กว้าง ยาวมากขึ้น มีสีเขียวเข้มขึ้น ผลมีส่วนประกอบของน้ำมากขึ้น มีความเป็น heterozygosity และ heterosis สูง (De Nettancourt, 1977) ชัยฤกษ์ (2525) ยังได้กล่าวไว้ว่าพืชที่ได้จะมีเซลล์ขนาดใหญ่ขึ้น แต่ปริมาณไซโตพลาสซึมเท่าเดิมย่อมทำให้มีช่องว่างใหญ่ขึ้น เป็นผลให้ปริมาณน้ำในเซลล์เพิ่มขึ้น ปริมาณสารอินทรีย์ เช่น โปรตีน คลอโรฟิลล์ เซลลูโลส น้ำตาล วิตามินเปลี่ยนแปลงสูงขึ้นไปตามขนาดของเซลล์ที่ใหญ่ขึ้น และสามารถทำได้หลายวิธี ไม่ว่าจะเป็นการผสมเกสร การทำให้พืชเกิดการผ่าเหล่า (mutation breeding) ได้โดยการทำให้พืชได้รับความร้อนหรือเย็นมากกว่าปกติ (shock by heat or cold) การตัดและต่อยอด (decapitated and grafting) การฉายรังสี (irradiation) การใช้สารเคมี (chloral hydrate, ethyl mercury-chloride, sulfanilamide, trifluralin, colchicines applications) เป็นต้น

2. ขอบเขตการวิจัยและจุดเน้น

การวิจัยจะเป็นการปรับปรุงพันธุ์เพื่อเพิ่มขนาดและคุณภาพของผลกีวีฟรุ้ทประมาณ 8 โคลน (clones) หรือ 8 สายพันธุ์ ('China #4', 'Yellow Joy', 'Babykiwi', 'KS', '10-1-9' '15-1-8', 'Tall Green' และ'River West') ที่ปลูกและให้ผลผลิตที่สถานีเกษตรหลวงปางดะ มูลนิธิโครงการหลวง อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่

3. กรอบแนวคิดในการวิจัย

การวิจัยจะเน้นการก่อให้เกิดกลายพันธุ์ (Chemical Plant Mutation) โดยการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมของกีวีฟรุ้ทกับตาข้าง (axillary buds) และเมล็ด (seeds) อันจะมีผลทำให้ผลมีขนาดใหญ่ขึ้น มีรสชาติดีขึ้น คุณสมบัติทางเคมีของผลเปลี่ยนแปลงไปในทางที่ดีขึ้น มีผลผลิตเพิ่มมากขึ้น (อาจเพิ่มเป็นน้ำหนักและ/หรือจำนวนผลต่อต้น/ต่อพื้นที่เพิ่มมากขึ้น) เนื่องจากการกลายพันธุ์ในพืชมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในลักษณะโครงสร้างของยีนหรือโครโมโซมหรือลักษณะที่เกี่ยวข้องกับทางพันธุกรรมและการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา ทั้งยังสามารถถ่ายทอดไปยังลูกหลานชั่วต่อ ๆ ไปได้ในจำนวนที่มากและใช้ระยะเวลาสั้น ส่วนเกศินี (2522) วิชชุดา, (2537) Przywara *et al.*, (1988) ได้โดยใช้สาร Colchicine และ Trifluralin หรือ Oryzalin เช่นเดียวกับการปฏิบัติและตรวจสอบได้ผลดีในพืช

เช่น ข้าว (กาญจนาและคณะ, 2537) ข้าวโพดและฝ้าย (Amato *et al.*, 1965) คะน้าและหอมแดง (จักรกฤษณ์, 2545) พริก (วิมลและอนันต์, 2537) หอม (Bayer *et al.*, 1967) หอมและข้าวสาลี (Lignowski and Scott, 1971) ส้ม (นิมมานรดีและคณะ, 2548; สถาพรและคณะ, 2554; กชกร, 2554; Gmitter *et al.*,1991; Toolapong, 2008; Wakana *et al.*, 2005) ปาล์มน้ำมัน (Madon *et al.*, 2005) ถั่ว *Lespedeza formosa* (Wei *et al.*, 2007) ฝรั่ง (นิศาชล, 2555; Myint, 2011) *Alyssum maritimum* (Bali and Tandon, 1959) *Micrasterias denticulate* (Kiermayer, 1972) Rhododendron (Vainola, 2000) ฯลฯ

การเพิ่มขนาดของผลกีวีฟรุ้ทและการพัฒนา/ปรับปรุงรสชาติให้มีการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีในผลโดยการใช้สารเคมี เช่น สารโคลชิซีน (Colchicine) และสารไตรฟลูราลินหรืออออริซาลิน (Trifluralin or Oryzalin) เพื่อเพิ่มจำนวนชุดของเซลล์ร่างกายให้มีจำนวนชุดของโครโมโซมเพิ่มมากขึ้น ซึ่งการนำสารเคมีเข้ามาใช้จะเป็นการเพิ่มโอกาสในการเป็น Polyploids ในต้น ตา หรือยอด ตลอดจนถึงดอกและผลของกีวีฟรุ้ท โดยธรรมชาติของต้นกีวีฟรุ้ทสามารถเกิด Tetraploids ขึ้นได้เองตามธรรมชาติ (spontaneous mutation) จากการไม่ลดจำนวนลง (unreduced gametes) ของเซลล์สืบพันธุ์ ซึ่งพบใน *A. chinensis* (Yan *et al.*, 1997) และเกิดการกลายพันธุ์ที่ตา (Bud Mutation) ในพันธุ์ Hort 16 A ขณะที่ต้นแม่เป็น Diploid (*A. chinensis*) (Ferguson and Seal, 2008) การหาระดับของ ploidy ในกีวีฟรุ้ทได้โดยวัดขนาดของปากใบ (Przywara *et al.* 1988) ซึ่งมีการนำวิธีนี้ไปใช้กับกาแฟ (Mishra *at al.*, 1997) และเจอราเนียม (Cramer, 1999) สำเร็จมาแล้วเช่นกัน

บทที่ 3: กรรมวิธีทดลอง (อุปกรณ์และวิธีการ)

3.1 สถานที่ทดลอง ระยะเวลาการทดลอง

สถานที่ดำเนินการวิจัย	ระยะเวลาทดลอง
สถานีเกษตรหลวงปางดะ อ.สะเมิง	2555-2559
สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง	2558-2559
สถานีเกษตรหลวงอินทนนท์	2558-2559
ไม้ผล คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้	2555-2559

3.2 วัตถุทดลองที่ใช้ (พันธุ์พืชที่ใช้ ที่มาของพันธุ์พืช ลักษณะเด่นที่แตกต่างจากพันธุ์ปกติ คุณค่าทางเศรษฐกิจ ปริมาณการปลูกในพื้นที่โครงการหลวงและในประเทศไทย)

พันธุ์พืชที่ใช้ (กีวีฟรุ้ท)	ที่มาของพันธุ์	ลักษณะเด่นและคุณค่าทางเศรษฐกิจ	ปริมาณการปลูกในพื้นที่
1. KS	พันธุ์ลูกผสม (*A.arguta* x *A.deliciosa* 'Matua')	เก็บเกี่ยวผลผลิตได้เร็วกว่าพันธุ์ Hayward	ยังปลูกไม่มากที่ที่สถานีปางดะ
2.Babykiwi [*A. arguta* (Siebold & Zucc.) Planch. ex Miq หรือ Grape kiwi	พันธุ์ นำเข้ามาจากประเทศญี่ปุ่น	ต้องการความหนาวเย็น 200 ชั่วโมง สามารถให้ผลผลิตได้ดี ผลมีขนาดเล็ก น้ำหนัก 6-14 กรัม ผิวผลไม่เรียบ ไม่มีขน รับประทานได้ทั้งเปลือก รสชาติหวาน มีกลิ่นหอม ปริมาณวิตามินซีประมาณ 70-100 มิลลิกรัมต่อเนื้อผล 100 กรัม	ยังปลูกเป็นการค้าไม่มากนัก

3.Yellow Joy	นำเข้ามาจากประเทศญี่ปุ่น	เนื้อผลมีสีเหลือง ต้องการความหนาวเย็นสั้น มีโอกาสปลูกเป็นการค้าได้ในประเทศไทย	ยังปลูกไม่มากที่ที่สถานีปางดะ
4. 10-1-9	พันธุ์ลูกผสมของโครงการหลวง (วิรัตน์, 2548)	ผลกลมปลายผลเรียว น้ำหนักประมาณ 104.9 กรัม เนื้อผลสีเหลือง รสชาติหวาน มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้เฉลี่ย 15.21°Brix	ยังปลูกไม่มากที่ที่สถานีปางดะ
5. 15-1-8	พันธุ์ลูกผสมของโครงการหลวง (วิรัตน์, 2548)	ผลกลมปลายผลเรียว น้ำหนักประมาณ 58.72 กรัม เนื้อผลสีเหลือง รสชาติหวาน มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้เฉลี่ย 12.45 °Brix	ยังปลูกไม่มากที่ที่สถานีปางดะ
6. China # 4			
7.Tall Green			
8. River West			

(วิรัตน์, 2556)

3.3 วิธีทดลองที่ใช้ การบันทึกข้อมูล วิธีการวิเคราะห์ข้อมูล

3.3.1 งานทดลองที่ 1 การเพิ่มชุดโครโมโซมกับตาข้างของกีวีฟรุ้ทโดยการใช้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลิน

ก) วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD ประกอบด้วย 2 ปัจจัย คือสารโคลชิซีนและไตรฟลูราลิน ความเข้มข้น 0.00, 0.05, 0.10, 0.15 และ 0.20% (2 x 5 = 10 กรรมวิธี) จำนวน 5 ความเข้มข้นๆ และ 3 ซ้ำ กับกีวีฟรุ้ทพันธุ์ 'Babykiwi','15-1-8' และ'13-1-13 และ 5 ซ้ำกับกีวีฟรุ้ทพันธุ์ 'KS' และ '10-1-9,

ข) ทำการให้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลินกับตา (axillary buds) กีวีฟรุ้ทหลังการตัดแต่งกิ่ง (ก่อนการแตกตา) นาน 7 วัน ณ สถานีเกษตรหลวงปางดะ อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่และนำตาหรือชิ้นส่วนของกิ่งกีวีฟรุ้ทที่ผ่านการให้สารเคมีไปติดตาหรือต่อกิ่งบนต้นตอ เพื่อเก็บรักษา รวบรวม ทดสอบ นำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

ค) การเก็บข้อมูลลักษณะผลกีวีฟรุ้ท น้ำหนัก ความกว้างและสูง สีเนื้อ เปอร์เซ็นต์ความหวาน Total Soluble Solid เป็น °Brix ,Total Organic Acid และปริมาณวิตามินซี (มิลลิกรัม/100g) โดยวิธี Titration

วิธีหาปริมาณกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) หรือวิตามินซี (AOAC, 2000)

การเตรียมสารละลาย

ก) การเตรียมสารละลาย metaphosphoric acid ความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ โดยชั่ง metaphosphoric acid 4 กรัม ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร

ข) การเตรียมสารละลายอินโดฟีนอล โดยชั่ง 2,6-dichorophenol indophenols (sodium salt) 50 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่นที่มี Sodium bicarbonate ละลายอยู่ 42 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 200 มิลลิลิตร กรองผ่านกระดาษกรอง เก็บบรรจุในขวดสีชาและเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นได้ประมาณ 1 สัปดาห์

ค) การเตรียมสารละลายกรดแอสคอร์บิกมาตรฐาน (1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) เตรียมโดยชั่งกรดแอสคอร์บิกบริสุทธิ์ 50 มิลลิกรัม ละลายในสารละลาย metaphosphoric acid ที่เตรียมไว้แล้วในข้อ (ก) ปริมาตร 40 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ใน volumetric flask ด้วยสารละลาย metaphosphoric acid จะสารละลายวิตามินซีมาตรฐานที่ได้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

วิธีการวิเคราะห์วิตามินซีมาตรฐาน

ปิเปตกรดแอสคอบิกมาตรฐาน (สารเคมีในข้อ ค) ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร ใส่ฟลาสค์ เติม metaphosphoric acid 5 มิลลิลิตร นำไปไตเตรทกับ 2,6-dichorophenol Sodium bicarbonate จนได้จุดยุติซึ่งเป็นสีชมพูอ่อนที่ไม่จางหายไป (รอดูผลในเวลา 15 วินาที) บันทึกปริมาณของ 2,6-dichorophenol Sodium bicarbonate ที่ใช้ เพื่อนำไปคำนวณหาอัตราส่วนที่สารทั้งสองทำปฏิกิริยาพอดีกัน

เนื่องจาก สารละลายกรดแอสคอร์บิคมาตรฐานมีความเข้มข้น 1 มก./มล.

ดังนั้น สารละลายกรดแอสคอร์บิคมาตรฐาน 0.5 มล.มีกรดแอสคอร์บิค 0.5 มก

1 มิลลิกรัมอินโดฟีนอลสมมูลกับวิตามินซี = 0.5/ปริมาตรของอินโดฟีนอลที่ใช้ไตเตรท

วิธีการวิเคราะห์เนื้อกีวีฟรุ้ท

นำเนื้อกีวีฟรุ้ทมาปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องบดอาหาร นำเนื้อกีวีฟรุ้ทปั่นจำนวน 5 กรัม เติมสารละลาย metaphosphoric acid แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร ใน volumetric flask นำสารละลายที่เตรียมไว้มา 1 มิลลิลิตร ไทเตรทกับสารละลายอินโดฟีนอล จดได้จุดยุติเป็นสีชมพูอ่อนที่คงตัว วิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณวิตามินซีของตัวอย่างต่อ 100 กรัม ของน้ำหนักสดโดยเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานดังนี้

ปริมาณวิตามินซีในตัวอย่าง (มิลลิกรัม/100 กรัม) = A * B *100 / V2*W

โดยที่ A = ปริมาตรของสารละลายอินโดฟีนอลที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B = จำนวนมิลลิกรัมของกรดแอสคอร์บิกที่สมมูลกับอินโดฟีนอล 1 มิลลิกรัม

V1 = ปริมาตรของตัวอย่างที่เตรียม (มิลลิลิตร)

V2 = ปริมาตรของตัวอย่างของเหลวที่ใช้ไตเตรท (มิลลิลิตร)

W = น้ำหนักของตัวอย่างเนื้อกีวีฟรุ้ทบด (กรัม)

การวิเคราะห์ร้อยละของกรดหรือ %acidity (AOAC, 2000)

นำเนื้อกีวีฟรุ้ทที่บดละเอียดด้วยเครื่องบด 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรให้ครบ 50 มิลลิลิตร นำสารละลายน้ำกีวีฟรุ้ทมา 10 มิลลิลิตรและไตเตรทจนได้ end point สีชมพู โดยมี Phenophthalene เป็น indicator และนำปริมาตร Sodium Hydroxide (NaOH) ที่ใช้ไปเพื่อทำให้สารละลายน้ำกีวีฟรุ้ทเป็นสีชมพูมาคำนวณตามสูตร

%acidity (as citric acid) =(N*V*0.07*100)/ V2*W

เมื่อ N = ความเข้มข้นเป็นนอร์มอล(N)ที่แน่นอนของสารละลาย NaOH, (0.1)

V = ปริมาตร (มิลลิลิตร)ของสารละลาย NaOH ที่ใช้ไตเตรทกับสารละลายตัวอย่าง

V2 = ปริมาตรของตัวอย่างของเหลวที่ใช้ไตเตรท (10 มิลลิลิตร)

W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

3.3.2 **งานทดลองที่** 2. การเพิ่มซุดโครโมโซมกับเมล็ดกีวีฟรุ้ทโดยการใช้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลิน

ก) วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD ประกอบด้วย 2 ปัจจัย คือแช่เมล็ดในสารโคลชิซีนและไตรฟลูราลินความเข้มข้น 0.00, 0.02, 0.04, 0.06 และ 0.08% (2 x 5 = 10 กรรมวิธี) นาน 48 ชั่วโมง จำนวน 5 ซ้ำ กับกีวีฟรุ้ท 4 พันธุ์ ('China #4', 'Tall Green', 'River West' และ'10-1-9') จากผลที่เก็บเกี่ยวได้ในเดือนกันยายน-พฤศจิกายน 2556 ณ สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง

ข) ผลผลิตกีวีฟรุ้ทที่เก็บเกี่ยวในปี 2556 นำเมล็ดมาล้างทำความสะอาดคัดเลือกเฉพาะเมล็ดที่สมบูรณ์เพื่อทำ stratification ที่อุณหภูมิ 4-8 องศา ในตู้เย็นนาน 2 เดือน

ค) เมล็ดกีวีฟรุ้ทที่ผ่านการทำ stratification มาแช่ในสารโคลชิซีนและไตรฟลูราลินตามระยะเวลาและความเข้มข้นที่กำหนด และนำเมล็ดไปเพาะใน petri dishes บรรจุด้วยกระดาษซับให้น้ำเพื่อให้กระดาษซับมีความชื้นอยู่เสมอ เมื่อเมล็ดกีวีฟรุ้ทงอกมีรากยาวประมาณ 2 เซนติเมตร ย้ายปลูกในดินมีเดียคราสแมน

ง) การเก็บข้อมูล โดยตรวจสอบลักษณะทาง Morphological, Anatomical Characteristics ของพืชทดลอง และการเพิ่มขึ้นของชุดโครโมโซม

จ) ยอดหรือชิ้นส่วนของต้นกล้ากีวีฟรุ้ทที่มีจำนวนชุดโครโมโซมเพิ่มขึ้นนำไปติดตาหรือต่อกิ่งบนต้นตอ เพื่อเก็บรักษา รวบรวม ศึกษา ทดสอบ เผยแพร่ นำไปใช้ประโยชน์ และการทดสอบสายพันธุ์และความยั่งยืน (stabilities) ของพืชที่ได้ จะใช้วิธีการขยายพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ (ติดตาหรือเสียบกิ่ง) ณ สถานีเกษตรหลวงปางดะ สถานีเกษตรหลวงอินทนนท์และสถานีเกษตรหลวงอ่างขางและขึ้นทะเบียนพันธุ์ต่อไป

<u>การวิเคราะห์จำนวนชุดโครโมโซมโดยใช้ Flow cytometry</u> (Pfosser *et al.* 1995)

การวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง Flow Cytometer ของ Guava Flow Cytometer PI (Cell Cycle reagent , Merck Millipore Cat no. MCH100106) ประเทศสหรัฐอเมริกา โดยมีวิธีการดังนี้

ก. คัดเลือกยอดอ่อนกีวีฟรุ้ท โดยใช้กรรไกรตัดโดยมีใบอ่อนประมาณ 2-3 ใบ ต่อยอดและนำไปเก็บในกล่องเก็บความเย็นที่บรรจุบลูเจลทันที เพื่อรักษาความสดของยอด

ข. นำใบอ่อนมาตัดประมาณ 1 ตารางเซนติเมตร วางใน petri dish เติม Chopping buffer และใช้ใบมีดโกนสับให้ละเอียด (Tris.$MgCl_2$ Buffer: 200 mM Tris, 4 mM $MgCl_2 6H_2O$ 0.05%(v/v), Triton-X100, pH7.5 (Pfosser *et al.* 1995)

ค. หลังจากนั้น นำใบอ่อนของกีวีฟรุ้ทที่สกัดด้วย buffer มากรองด้วย Nylon Net Filter, Hydrophilic, 41 µm, 25 mm. จะได้นิวเคลียสที่อยู่ในสารละลายบัฟเฟอร์

ง. เติมสีย้อมสารเรืองแสง (Guava cell cycle reagent) ในอัตราส่วน1:1 (นิวเคลียสในสารละลายบัฟเฟอร์200 uL + สีย้อมเรืองแสง 200 uL)

จ. นำไป Incubate ด้วยความเย็น 10 นาที หลังจากนั้นนำไปเข้าเครื่อง Flow cytometry ยุพเยาว์ (2558) เครื่องจะดูดนิวเคลียสทีละอันผ่าน capillary เข้าไป จากนั้นจะมีแสงเลเซอร์ยิงเข้ามาเพื่อกระตุ้นให้สารเรืองแสงปล่อยพลังงานแสงออกมาแล้วจะมีการวิเคราะห์ปริมาณแสงที่ปล่อยออกมานี้โดยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ เพื่อประมวลผลปริมาณดีเอ็นเอทั้งหมดที่อยู่ในนิวเคลียสนั้นๆ (หมายเหตุ: ขนาดของ capillary ของเครื่อง Flow cytometry แต่ละรุ่นจะไม่เท่ากัน ก่อนทำการทดลองควรศึกษาขนาดของนิวเคลียสที่ต้องการศึกษาว่าสามารถผ่านเข้าไปใน capillary ได้หรือไม่ ถ้านิวเคลียสใหญ่เกินไปจะไปอุด capillary ทำให้ไม่สามารถใช้งานได้)

อุปกรณ์และสารเคมี

1. A glass petri dish (diameter – 5cm)
2. Chopping buffer:
   a) TRIS,OMNIPUR (Merck Millipore Cat no. 9210)
   b) MAGNESIUM CHLORIDE 500GM (Merck Millipore Cat no. 5980)
   c) TRITON (TM) X-100 1L (Merck Millipore Cat no. 9410)
3. Nylon filters (pore size, 40 μm) or cell strainer (40 or 60 μm) (Merck Millipore Cat no. NY4102500)
4. Microcentrifuge tube
5. Micropipettes and tips
6. Cold room/ Ice bath
7. Instrument : Flow Cyotmetry

3.4 การจดบันทึก/เก็บและรวบรวมผลการทดลองดังนี้

3.4.1. Morphological Characters (ขนาด รูปร่าง สี กิ่ง ก้าน ใบ ปากใบ และผล – ลักษณะภายนอก ภายในและคุณสมบัติเชิงคุณภาพของผลที่ได้ ฯลฯ) ของสิ่งทดลอง

3.4.2. การนับจำนวนโครโมโซม (จากปลายรากหรือใบ) จำนวน NORs or Nucleoli (จากปลายราก) และตรวจสอบจำนวนชุดโครโมโซมด้วยเครื่อง Flow Cytometry

3. 4.3 การหาปริมาณกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) หรือวิตามินซีดัดแปลงจาก (AOAC, 2000)

3.4.4 การวิเคราะห์ร้อยละของกรดหรือ %acidity (AOAC, 2000)

3.4.5 การวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม SAS 9.0

บทที่ 4: ผลการวิจัย

การทดลองที่ 1 การเพิ่มชุดโครโมโซมกับตาข้างของกีวีฟรุ้ทโดยการใช้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลิน

การให้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลินความเข้มข้นความเข้มข้น 0.00 (control), 0.05, 0.10, 0.15 และ 0.20% กับกีวีฟรุ้ทพันธุ์ 'Babykiwi', '15-1-8', '13-1-13', 'KS' และ '10-1-9 พบว่าไม่มีผลกระทบต่อการเจริญของตาข้างและการเจริญเติบโตของกีวีฟรุ้ทที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ กีวีฟรุ้ททั้ง 5 สายพันธุ์มีการเจริญของตาข้างระหว่าง 1-3 ยอด และให้ดอกระหว่าง 1-8 ดอก และมีการติดผลระหว่าง 1-5 ผล (ตารางที่ 1.1-1.5)

จำนวนตาข้างที่เจริญออกมาใหม่สามารถพัฒนาไปเป็นกิ่ง ได้ 3 แบบ ได้แก่ กิ่งแบบ short spur (มีความยาวกิ่งไม่เกิน 10 เซนติเมตร) กิ่งแบบ long spur (มีความยาวตั้งแต่ 11 – 20 เซนติเมตร) และกิ่งแบบ cane (มีความยาวกิ่งมากกว่า 20 เซนติเมตร) กีวีพันธุ์ Babykiwi และ 15-1-8 ไม่พบว่ามีการเจริญไปเป็นกิ่งแบบ cane ส่วนกีวีฟรุ้ทพันธุ์ 13-1-13, KS และ 10-1-9 พบว่ากิ่ง cane มีความยาวอยู่ระหว่าง 32.5 – 290 เซนติเมตร กิ่งแบบ short spur มีความยาวกิ่งอยู่ระหว่าง 1.5 – 9.69 เซนติเมตร และกิ่งแบบ long spur มีความยาวกิ่งระหว่าง 11 – 20 เซนติเมตร และมีอัตราส่วนระหว่างกิ่ง short spur: long spur:cane ระหว่าง 1 - 2.5:0-1:0-1 (ตารางที่1.1-1.5)

ความหนาใบพบว่ามีความหนาใบอยู่ระหว่าง 0.43 – 0.90 มิลลิเมตร ขนาดของปากใบพบว่าประกอบด้วย 3 ขนาด ได้แก่ ขนาดเล็ก ขนาดใหญ่และจัมโบ้ และไม่พบปากใบขนาดจัมโบ้กับกิ่งที่ไม่ได้รับสารเคมี(control) และกีวีฟรุ้ทพันธุ์ Babykiwi และ 13-1-13 ความกว้างของปากใบขนาดเล็กพบว่าอยู่ระหว่าง 11.70 – 18.20 µm ความกว้างของปากใบขนาดใหญ่พบว่าอยู่ระหว่าง 14.30 – 28.60 µm ความกว้างของปากใบขนาดจัมโบ้พบว่ามีความกว้างอยู่ระหว่าง 20.28 – 36.40 µm ความยาวของปากใบขนาดเล็กพบว่าอยู่ระหว่าง 15.60 – 26.14 µm ความยาวของปากใบขนาดใหญ่พบว่าอยู่ระหว่าง 22.10 – 35.75 µm ความยาวของปากใบขนาดจัมโบ้พบว่าอยู่ระหว่าง 32.93 – 41.60 µm จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์สามารถแบ่งได้เป็น 4 กลุ่ม แต่มีกีวีฟรุ้ทพันธุ์ Babykiwi และ 13-1-13 ที่มีจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์เพียง 3 กลุ่มเท่านั้น โดยจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์กลุ่มที่ 1 อยู่ระหว่าง 8.92 – 11.50 เม็ด จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์กลุ่มที่ 2 อยู่ระหว่าง 13.50 – 18.87 เม็ด จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์กลุ่มที่ 3 อยู่ระหว่าง 18.25 – 29.00 เม็ด จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์กลุ่มที่ 4 อยู่ระหว่าง 29.00 – 35.75 เม็ด (ตารางที่ 1.6-1.10)

ตารางที่ 1.1 การแตกยอด จำนวนดอก การติดผล และลักษณะกิ่งกีวีฟรุทพันธุ์ Babykiwi หลังให้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลิน

สารเคมี	ความเข้มข้น (%)	แตกยอด (ยอด)	จำนวนดอก	ติดผล	short spur		long spur		cane		อัตราส่วนกิ่ง short spur:long spur:cane
					จำนวน (ตา)	เฉลี่ย (ซม.)	จำนวน (ตา)	เฉลี่ย (ซม.)	จำนวน (ตา)	เฉลี่ย (ซม.)	
โคลชิซีน	0.00	2.50	3	-	2.00	6.13	1	15.00	-	-	2:1:0
	0.05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	0.10	1.00	-	-	1.00	6.00	1	11.00	-	-	1:1:0
	0.15	3.00	1	-	2.00	4.06	-	-	-	-	2:0:0
	0.20	2.50	8	1	1.50	7.00	1	12.00	-	-	1.5:1:0
ไตรฟลูราลิน	0.00	1.50	-	-	-	-	1	13.75	-	-	0:1:0
	0.05	2.00	-	-	1.00	2.00	1	17.00	-	-	1:1:0
	0.10	2.50	-	-	1.50	6.75	-	-	-	-	1.5:0:0
	0.15	3.00	4	-	2.33	3.81	-	-	-	-	2.33:0:0
	0.20	2.00	-	-	1.00	5.25	1	14.67	-	-	1:1:0

ตารางที่ 1.2 การแตกยอด จำนวนดอก การติดผล และลักษณะกิ่งกีวีฟรุทพันธุ์ 15-1-8 หลังให้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลิน

สารเคมี	ความเข้มข้น (%)	แตกยอด (ยอด)	จำนวนดอก	ติดผล	short spur		long spur		cane		อัตราส่วนกิ่ง short spur:long spur:cane
					จำนวน (ตา)	เฉลี่ย (ซม.)	จำนวน (ตา)	เฉลี่ย (ซม.)	จำนวน (ตา)	เฉลี่ย (ซม.)	
โคลชิซีน	0.00	1.33	1.50	-	2.00	4.88	1	20	-	-	2:1:0
	0.05	2.67	2.00	1	2.00	3.64	-	-	-	-	2:0:0
	0.10	2.00	3.00	1	2.00	5.00	-	-	-	-	2:0:0
	0.15	1.67	2.00	-	1.50	3.75	1	11	-	-	1.5:1:0
	0.20	2.00	3.50	1	1.00	3.00	1	15.75	-	-	1:1:0
ไตรฟลูราลิน	0.00	1.33	1.33	-	1.33	5.75	-	-	-	-	1.33:0:0
	0.05	2.67	2.50	-	2.50	2.44	1	11	-	-	2.5:1:0
	0.10	2.00	1.00	-	1.00	2.17	-	-	-	-	1:0:0
	0.15	2.50	-	-	1.00	2.00	-	-	-	-	1:0:0
	0.20	2.00	1.00	-	1.00	4.00	-	-	-	-	1:0:0

ตารางที่ 1.3 การแตกยอด จำนวนดอก การติดผล และลักษณะกิ่งกีวีฟรุ๊ทพันธุ์ 13-1-13 หลังให้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลิน

สารเคมี	ความเข้มข้น (%)	แตกยอด (ยอด)	จำนวนดอก	ติดผล	short spur		long spur		cane		อัตราส่วนกิ่ง short spur:long spur:cane
					จำนวน (ตา)	เฉลี่ย (ซม.)	จำนวน (ตา)	เฉลี่ย (ซม.)	จำนวน (ตา)	เฉลี่ย (ซม.)	
โคลชิซีน	0:00	2.00	6.00	2	2	7.34	1	16.00	-	-	2:1:0
	0:05	1.50	-	-	2	1.50	-	-	1	22.00	2:0:1
	0:10	1.00	2.00	-	1	5.50	-	-	-	-	1:0:0
	0:15	1.33	3.50	1	2	2.75	1	17.00	1	290	2:1:1
	0:20	1.00	2.00	1	1	3.00	-	-	-	-	1:0:0
ไตรฟลูราลิน	0:00	1.33	2.00	1	1	4.83	1	13.50	1	60	1:1:1
	0:05	1.00	-	-	1	2.75	-	-	-	-	1:0:0
	0:10	1.00	-	-	1	1.50	-	-	-	-	1:0:0
	0:15	2.00	-	-	1	2.00	-	-	-	-	1:0:0
	0:20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ตารางที่ 1.4 การแตกยอด จำนวนดอก การติดผล และลักษณะกิ่งกีวีฟรุ๊ทพันธุ์ 10-1-9 หลังให้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลิน

สารเคมี	ความเข้มข้น (%)	แตกยอด (กิ่ง)	จำนวนดอก	ติดผล	short spur		long spur		cane		อัตราส่วนกิ่ง short spur:long spur:cane
					จำนวน (ตา)	เฉลี่ย (ซม.)	จำนวน (ตา)	เฉลี่ย (ซม.)	จำนวน (ตา)	เฉลี่ย (ซม.)	
โคลชิซีน	0:00	1.25	4.75	2.33	1.00	4.75	-	-	1	32.5	1:0:1
	0:05	1.50	4.40	2.00	1.50	5.19	1	17	-	-	1.5:1:0
	0:10	1.50	5.60	5.00	1.50	3.95	1	14	1	42.5	1.5:1:1
	0:15	1.67	10.00	2.50	1.67	3.42	-	-	-	-	1.67:0:0
	0:20	1.25	4.40	2.00	1.33	4.00	1	18	1	165	1.33:1:1
ไตรฟลูราลิน	0:00	1.50	5.25	3.00	1.33	6.00	-	-	1	108	1.33:0:1
	0:05	2.00	3.50	2.33	2.40	4.48	1	14	-	-	2.40:1:0
	0:10	2.20	3.00	2.00	1.60	2.90	-	-	-	-	1.6:0:0
	0:15	1.00	2.50	2.00	1.25	2.69	1	14	-	-	1.25:1:0
	0:20	1.00	1.33	2.50	1.00	2.10	-	-	-	-	1:0:0

ตารางที่ 1.5 การแตกยอด จำนวนดอก การติดผล และลักษณะกิ่งกีวีฟรุ๊ทพันธุ์ KS หลังให้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลิน

สารเคมี	ความเข้มข้น (%)	แตกยอด (กิ่ง)	จำนวนดอก	ติดผล	short spur		long spur		cane		อัตราส่วนกิ่ง short spur:long spur:cane
					จำนวน (ตา)	เฉลี่ย (ซม.)	จำนวน (ตา)	เฉลี่ย (ซม.)	จำนวน (ตา)	เฉลี่ย (ซม.)	
โคลชิซีน	0.00	1.80	1.50	-	1.25	3.75	1	11.00	1	75.5	1.25:1:1
	0.05	1.40	3.50	1	1.25	9.69	-		1	165.5	1.25:0:1
	0.10	1.33	1.00	-	1.33	4.00	-	-	-	-	1.33:0:0
	0.15	1.80	-	-	1.67	3.00	-	-	-	-	1.67:0:0
	0.20	2.33	3.00	-	2.00	4.50	-	-	-	-	2:0:0
ไตรฟลูราลิน	0.00	1.75	2.00	-	1.33	6.83	2	16.00	-	-	1.33:2:0
	0.05	1.67	1.33	1	1.75	2.63	1	12.50	-	-	1.75:1:0
	0.10	1.25	-	-	1.33	4.83	-	-	1	140	1.33:0:1
	0.15	2.00	-	-	2.00	3.50	1	19.00	1	22.5	2:1:1
	0.20	1.40	-	-	1.40	4.40	-	-	-	-	1.4:0:0

ตารางที่ 1.6 ความหนาใบ ขนาดของใบและจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ของกีวีฟรุ้ทพันธุ์ Babykiwi หลังให้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลิน

สารเคมี	ความเข้มข้น (%)	ความหนาใบ (mm)	ขนาดปากใบ(μm)				จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์/ปากใบ		
			เล็ก		ใหญ่				
			กว้าง X ยาว		กว้าง X ยาว		1	2	3
โคลชิซีน	0.00	0.43	13.43	26.14	19.93	34.45	10.0	17.33	-
	0.05	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.10	0.43	11.70	25.57	18.85	33.80	10.5	13.50	-
	0.15	0.45	13.00	25.13	23.40	33.80	11.0	16.00	-
	0.20	0.45	13.00	24.92	18.20	32.50	-	13.75	-
ไตรฟลูราลิน	0.00	0.43	13.00	-	19.50	31.20	10.5	14.67	-
	0.05	0.45	14.30	26.00	19.50	35.75	10.0	15.25	-
	0.10	0.45	13.65	24.70	18.85	31.20	10.3	14.42	27.00
	0.15	-	14.30	27.30	14.30	32.50	10.5	17.13	24.00
	0.20	0.47	14.30	24.70	21.67	33.80	-	18.13	-

ตารางที่ 1.7 ความหนาใบ ขนาดของใบและจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ของกีวีฟรุ๊ทพันธุ์ 15-1-8 หลังให้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลิน

พันธุ์ 15-1-8	ความเข้มข้น (%)	ความหนาใบ (mm)	ขนาดปากใบ(µm) เล็ก กว้าง X ยาว		ใหญ่ กว้าง X ยาว		จับโบ้ กว้าง X ยาว		จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์/ปากใบ 1	2	3	4
โคลชิซีน	0.00	0.77	13.43	16.47	21.23	24.12	-	-	9.50	17.28	-	-
	0.05	0.88	13.00	17.55	18.20	23.40	-	-	11.50	14.75	-	-
	0.10	0.85	15.60	16.90	15.60	22.10	-	-	11.00	15.00	-	-
	0.15	0.80	15.82	18.20	15.82	23.40	-	-	10.75	17.25	-	-
	0.20	0.83	13.65	18.20	19.50	24.70	-	-	11.00	15.40	24.50	-
ไตรฟลูราลิน	0.00	0.82	14.30	18.20	18.85	22.75	-	-	9.50	18.87	-	-
	0.05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.10	0.80	13.00	15.60	22.10	22.10	-	-	9.67	14.63	25.00	-
	0.15	0.60	14.30	15.60	20.80	24.38	31.20	39.00	10.00	14.25	25.50	-
	0.20	0.60	13.65	17.55	21.67	26.00	36.40	38.13	12.00	17.34	-	29.00

ตารางที่ 1.8 ความหนาใบ ขนาดของใบและจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ของกีวีฟรุ๊ทพันธุ์ 13-1-13 หลังให้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลิน

สารเคมี	ความเข้มข้น (%)	ความหนาใบ (mm)	ขนาดปากใบ(μm) เล็ก กว้าง X ยาว		ใหญ่ กว้าง X ยาว		จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์/ปากใบ 1	2	3
โคลชิซีน	0.00	0.83	12.57	20.37	18.63	26.00	10.17	13.25	-
	0.05	0.85	14.30	20.80	18.20	26.00	11.00	14.67	-
	0.10	0.90	13.00	18.20	18.20	26.00	10.25	13.09	-
	0.15	0.83	13.65	20.80	19.50	26.00	10.00	14.18	20.00
	0.20	0.88	13.00	20.15	19.50	26.65	9.75	13.42	-
ไตรฟลูราลิน	0.00	0.82	13.65	19.50	18.20	26.00	10.25	13.84	-
	0.05	0.85	13.00	-	20.80	29.90	-	15.00	19.00
	0.10	0.73	14.30	20.15	22.10	27.30	9.00	13.96	18.25
	0.15	0.93	14.30	19.50	20.80	29.25	10.50	14.25	-
	0.20	-	-	-	-	-	-	-	-

ตารางที่ 1.9 ความหนาใบ ขนาดของใบและจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ของกีวีฟรุ้ทพันธุ์ 10-1-9 หลังให้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลิน

สารเคมี	ความเข้มข้น (%)	ความหนาใบ (mm)	ขนาดปากใบ(µm)						จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์/ปากใบ			
			เล็ก		ใหญ่		จัมโบ้					
			กว้าง X ยาว		กว้าง X ยาว		กว้าง X ยาว		1	2	3	4
โคลชิซีน	0.00	0.67	14.63	16.47	20.80	24.05	-	-	11.00	14.96	-	-
	0.05	0.66	14.56	17.42	23.40	23.40	26.00	39.00	10.10	15.12	29.00	-
	0.10	0.70	15.60	16.58	28.60	25.74	-	-	10.03	16.02	-	-
	0.15	0.72	13.87	16.47	17.34	22.10	-	-	9.73	15.17	26.52	-
	0.20	0.66	13.87	17.16	21.13	23.83	-	-	10.44	16.26	-	-
ไตรฟลูราลิน	0.00	0.77	14.73	16.03	16.25	24.27	-	-	10.22	16.00	-	-
	0.05	0.74	14.04	17.16	22.10	23.92	-	-	10.27	15.18	-	-
	0.10	0.73	14.30	17.55	22.75	24.38	22.10	32.93	10.83	17.13	25.72	34.00
	0.15	0.65	14.82	16.90	22.10	23.92	20.28	33.15	10.58	18.22	-	35.50
	0.20	0.62	14.95	16.58	24.27	26.09	21.45	32.24	9.75	18.68	26.33	35.75

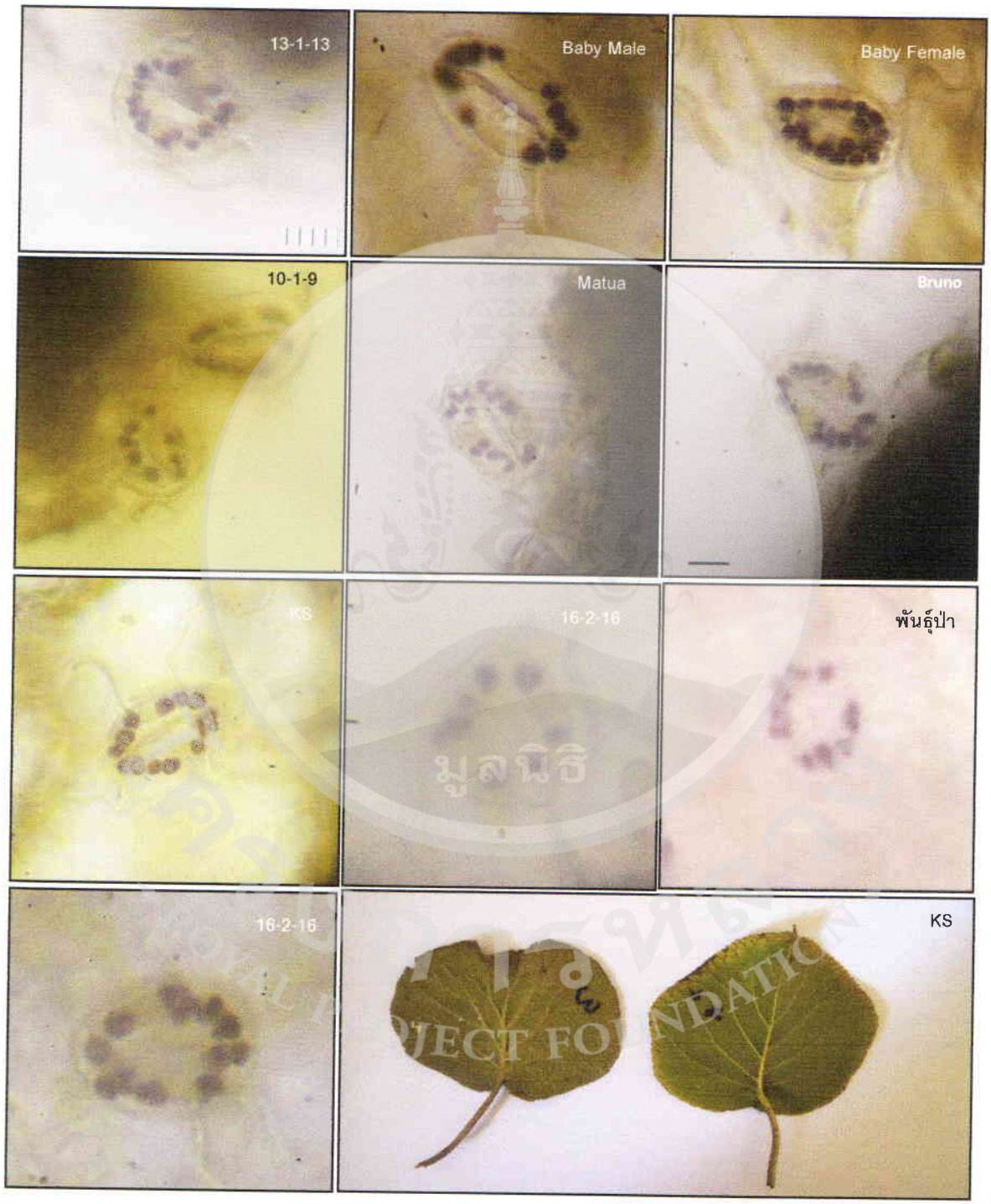
ตารางที่ 1.10 ความหนาใบ ขนาดของใบและจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ของกีวีฟรุ๊ทพันธุ์ KS หลังให้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลิน

สารเคมี	ความเข้มข้น (%)	ความหนาใบ (mm)	ขนาดปากใบ(μm)						จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์/ปากใบ			
			เล็ก		ใหญ่		จัมโบ้					
			กว้าง X ยาว		กว้าง X ยาว		กว้าง X ยาว		1	2	3	4
โคลชิซีน	0.00	0.63	16.73	19.18	18.20	26.00	-	-	10.67	18.40	-	-
	0.05	0.74	15.21	17.94	23.40	27.04	-	-	8.92	14.08	24.00	-
	0.10	0.65	17.12	18.20	27.95	26.29	22.88	40.20	12.00	14.50	25.25	31.00
	0.15	0.67	16.90	19.50	21.23	26.43	-	-	-	19.00	-	-
	0.20	0.73	18.20	18.20	18.20	27.30	-	-	10.00	16.25	-	-
ไตรฟลูราลิน	0.00	0.73	15.60	18.20	23.40	26.00	-	-	10.50	14.83	-	-
	0.05	0.77	14.52	17.77	15.60	25.13	-	-	10.13	15.38	-	
	0.10	0.86	16.90	16.90	23.4	29.90	20.80	33.80	9.50	-	-	-
	0.15	0.82	15.17	18.20	26.87	24.84	26.65	41.60	9.25	14.00	23.50	-
	0.20	0.75	17.71	20.80	26.00	29.58	24.70	40.95	-	16.00	-	33.00

การศึกษาขนาดปากใบของกีวีฟรุ้ทพันธุ์ป่าและพันธุ์ที่ใช้ในการทดลองเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐาน พบว่าพันธุ์ป่านำมาจากสถานีเกษตรหลวงอ่างขางและพันธุ์ 12-6-12 นำมาจากสถานีเกษตรหลวงปางดะ ซึ่งเป็นพันธุ์เพศผู้ มีความกว้างและความยาวปากใบ 1 กลุ่ม คือปากใบขนาดเล็ก ซึ่งมีความกว้างปากใบอยู่ระหว่าง 14.30-19.50 µm ความยาวปากใบอยู่ระหว่าง 20.80-22.10 µm และพันธุ์ 16-2-16 มีจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ 10.00 เม็ด/ปากใบ พันธุ์ป่ามีจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ 2 กลุ่มคือ 8.50 และ 13.00 เม็ดต่อปากใบส่วนพันธุ์ Babykiwi Male, Babykiwi Female, Bruno, Matua, KS, 10-1-9, 15-1-8, และ 13-1-13 มีความกว้างและความยาวปากใบแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 มีความกว้างปากใบอยู่ระหว่าง 12.57-16.73 µm มีความกว้างปากใบอยู่ระหว่าง 18.20-25.13 µm และกลุ่มที่ 2 มีความยาวปากใบอยู่ระหว่าง 16.47-23.40 µm และ มีความยาวปากใบอยู่ระหว่าง 24.05-33.15 µm จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มเช่นกัน คือมีจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในกลุ่มที่ 1 อยู่ระหว่าง 9.20-11.33 เม็ด/ปากใบและกลุ่มที่ 2 อยู่ระหว่าง 13.25-18.67เม็ด/ปากใบ (ตารางที่ 1.11 และ ภาพที่ 1.1)

ตารางที่ 1.11 ขนาดปากใบและจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ต่อปากใบของกีวีฟรุ้ท

พันธุ์	ขนาดปากใบ(µm)				จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์/ปากใบ	
	เล็ก		ใหญ่			
	กว้าง X ยาว		กว้าง X ยาว		1	2
พันธุ์ป่า	19.50	22.10	-	-	8.50	13.00
12-6-12	14.30	20.80	-	-	10.00	-
Babykiwi Male	15.60	23.40	25.13	33.15	9.20	17.50
Babykiwi Female	14.30	23.40	20.80	32.07	11.00	18.00
Bruno	15.60	22.10	24.70	28.60	11.33	16.67
Matua	15.60	22.10	25.13	31.20	10.00	18.67
KS	16.73	19.18	18.20	26.00	10.00	17.33
10-1-9	14.63	16.47	20.80	24.05	11.00	14.96
15-1-8	13.43	16.47	21.23	24.12	9.50	17.28
13-1-13	12.57	20.37	18.63	26.00	10.17	13.25



ภาพที่ 1.1 ปากใบของกีวีฟรุ้ท 10 พันธุ์และลักษณะของใบกีวีฟรุ้ทพันธุ์ KS ที่ใช้ศึกษาจำนวนปากใบและเม็ดคลอโรพลาสต์

การวิเคราะห์คุณภาพผลกีวีฟรุ้ท

กีวีฟรุ้ทที่ให้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลิน นำผลมาบ่มจนมีค่าความแน่นแข็งของผลอยู่ในระดับ 3 จึงนำมาทำการวิเคราะห์คุณภาพผลได้แก่ น้ำหนักผล ขนาดผล ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS^{0}Brix), ปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ (TA%), TSS/TA และวิตามินซี (mg/100g) กีวีฟรุ้ทพันธุ์ KS, 15-1-8 ,13-1-13, 10-1-9 โดยมีน้ำหนักผลอยู่ระหว่าง 7.92–51.05 กรัม ความกว้างผลระหว่าง 2.37-4.34 เซนติเมตร ความสูงของผลระหว่าง 2.70-5.19 เซนติเมตร มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ 12.80-18.30 ^{0}Brix ปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ระหว่าง 0.19-0.88 % ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้/กรดที่ไตเตรทได้ระหว่าง 17.05–75.79 และมีปริมาณวิตามินซีระหว่าง 5.13 – 98.40 mg/100g เนื้อกีวีฟรุ้ทมีสีเขียวอ่อน-เขียวเข้ม (ตารางที่ 1.12 -1.15 และ ภาพที่ 1.2-1.5)

ตารางที่ 1.12 คุณภาพผลของกีวีฟรุ้ทพันธุ์ KS ที่ได้รับสารโคลชิซีนและไตรฟลูราลิน

สารเคมี	ความเข้มข้น	ขนาดผล			TSS ^{0}Brix	TA %	TSS/TA %	วิตามินซี (mg/100g)
		น้ำหนักผล (กรัม)	กว้าง (ซม.)	สูง (ซม.)				
โคลชิซีน	0.00	43.72	4.34	5.16	16.40	0.37	44.32	32.19
	0.05	44.71	3.89	5.18	18.30	0.28	65.36	28.01
	0.10	-	-	-	-	-	-	-
	0.15	-	-	-	-	-	-	-
	0.20	-	-	-	-	-	-	-
ไตรฟลูราลีน	0.00	-	-	-	-	-	-	-
	0.05	32.99	3.58	4.89	15.00	0.88	17.05	35.06
	0.10	-	-	-	-	-	-	-
	0.15	-	-	-	-	-	-	-
	0.20	-	-	-	-	-	-	-
	เฉลี่ย	40.47	3.94	5.08	16.57	0.51	42.24	31.75

ตาราง 1.13 คุณภาพผลของกีวีฟรุ้ทพันธุ์ 15-1-8 ที่ได้รับสารโคลชิซีน

สารเคมี	ความเข้มข้น	ขนาดผล			TSS °Brix	TA %	TSS/TA %	วิตามินซี (mg/100)
		น้ำหนักผล (กรัม)	กว้าง (ซม.)	สูง (ซม.)				
โคลชิซีน	0.00	51.05	3.55	5.39	17.60	0.36	48.89	41.41
	0.05	9.12	2.42	3.05	15.00	0.47	31.91	55.72
	0.10	7.92	2.46	2.70	12.80	0.38	33.68	27.87
	0.15	-	-	-	-	-	-	-
	0.20	33.31	3.90	4.56	16.00	0.35	45.71	56.98
	เฉลี่ย	25.35	3.08	3.93	15.35	0.39	40.05	45.50

ตาราง 1.14 คุณภาพผลของกีวีฟรุ้ทพันธุ์ 13-1-13 ที่ได้รับสารโคลชีซิน

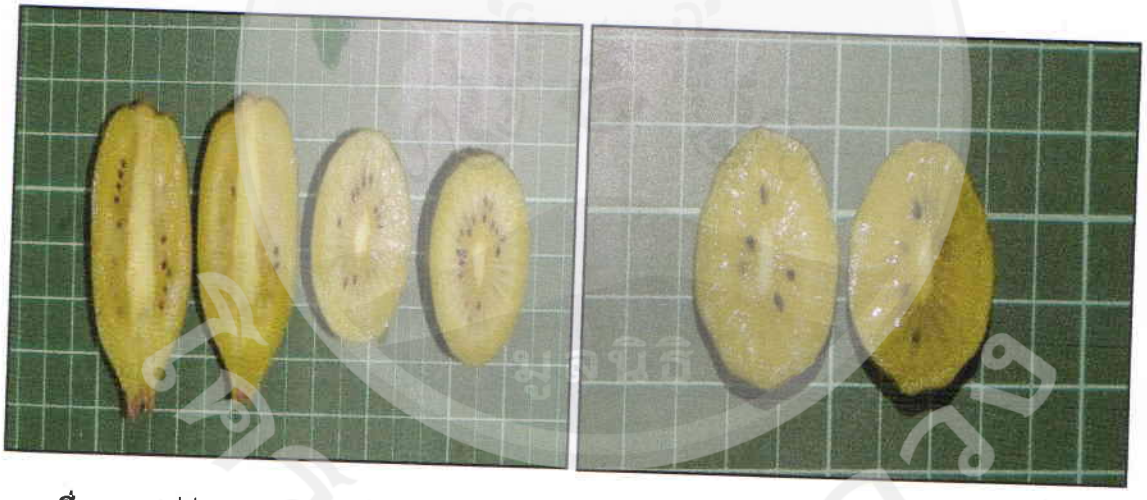
สารเคมี	ความเข้มข้น	ขนาดผล			TSS °Brix	TA %	TSS/TA %	วิตามินซี (mg/100)
		น้ำหนักผล (กรัม)	กว้าง (ซม.)	สูง (ซม.)				
โคลชิซีน	0.00	32.22	3.59	5.19	15.60	0.40	39.00	98.40
	0.05	14.49	3.10	3.12	16.60	0.20	66.67	28.57
	0.10	-	-	-	-	-	-	-
	0.15	29.66	3.55	4.82	17.80	0.63	28.25	22.68
	0.20	9.20	2.37	2.88	13.50	0.24	56.25	6.82
	เฉลี่ย	21.39	3.15	4.00	15.88	0.37	47.54	39.12

ตาราง 1.15 คุณภาพผลของกีวีฟรุ้ทพันธุ์ 10-1-9 ที่ได้รับสารโคลชีซินและไตรฟลูราลิน

สารเคมี	ความเข้มข้น	ขนาดผล			TSS	TA	TSS/	วิตามินซี
		น้ำหนักผล (กรัม)	กว้าง (ซม.)	สูง (ซม.)	°Brix	%	TA %	(mg/100)
โคลชิซีน	0.00	35.40	3.86	4.53	16.80	0.38	44.21	57.54
	0.05	27.99	3.42	4.04	14.40	0.19	75.79	5.13
	0.10	37.40	4.05	4.57	15.00	0.34	44.12	34.61
	0.15	-	-	-	-	-	-	-
	0.20	34.01	4.01	3.90	16.20	0.39	41.54	50.31
ไตรฟลูราลิน	0.00	-	-	-	-	-	-	-
	0.05	26.78	3.53	4.13	15.20	0.39	38.97	17.61
	0.10	14.73	2.82	3.14	13.80	0.41	33.66	24.07
	0.15	15.33	3.11	3.04	15.00	0.26	57.69	67.20
	0.20	-	-	-	-	-	-	-
	เฉลี่ย	27.38	3.54	3.91	15.20	0.34	48.00	36.64

ภาพที่ 1.2 ผลกีวีฟรุ้ทพันธุ์ KS ซ้าย) ไม่ได้รับสารเคมี ขวา) ให้สารโคลชีซีน 0.05%

ภาพที่ 1.3 ผลกีวีฟรุ๊ทพันธุ์ 15-1-8 ซ้าย) ไม่ได้รับสารเคมี และขวา) ให้สารโคลชิซีน 0.20%



ภาพที่ 1.4 ผลกีวีฟรุ๊ทพันธุ์ 13-1-13 ซ้าย) ไม่ได้รับสารเคมี ขวา) ให้สารโคลชิซีน 0.05%

ภาพที่ 1.5 ผลกีวีฟรุ๊ทพันธุ์ 10-1-9 ซ้าย) ไม่ได้รับสารเคมี ขวา) ให้สารโคลชิซีน 0.20%

การทดลองที่ 2 การเพิ่มชุดโครโมโซมกับเมล็ดของกีวีฟรุ้ทโดยการใช้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลิน

การเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมโดยใช้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลินความเข้มข้น (0.00, 0.02, 0.04,0.06, และ 0.08 %) กับเมล็ดกีวีฟรุ้ทจำนวน 4 พันธุ์ได้แก่ china#4, 10-1-9, Tall Green, และ River West พบว่าสารเคมีทั้งสองชนิดไม่มีผลต่อการงอกของเมล็ด เมล็ดงอกได้ดี แต่พบว่ามีการรอดชีวิตต่ำ เนื่องจากกีวีฟรุ้ทมีระบบรากที่ไม่แข็งแรง ประกอบกับต้นกล้าที่ได้รับสารเคมี จะมีรากสั้น มีการเกิดรากน้อย ต้นกล้าที่มีการเพิ่มขึ้นของจำนวนชุดโครโมโซมจึงตายก่อนที่จะได้รับการตรวจสอบจำนวนชุดโครโมโซม ตารางที่ 2.1 -2.4 และภาพที่ 2.1 และเมื่อนำกีวีฟรุ้ทจำนวน 7 พันธุ์ ได้แก่ KS, Yellow Joy, 10-1-9, 15-1-8, China #4, Tall Green, และ River West ได้ตรวจนับจำนวนนิวคลีโอลี จำนวนชุดโครโมโซม และศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ของต้นกล้าทั้งหมดที่รอดชีวิตมีจำนวนทั้งสิ้น 59 ต้น นำไปเสียบกิ่งบนต้นตอที่สถานีเกษตรหลวงปางดะ อ.สะเมิง จ.เชียงใหม่ 7 พันธุ์ และเมื่อต้นกล้าแตกยอดอ่อน นำยอดมาวิเคราะห์ด้วย Flow Cytometry (FCM) โดยใช้พันธุ์ป่า ซึ่งปลูกที่สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง เป็น standard 2n= 2x= 58 (ภาพที่ 2.2) ผลการวิเคราะห์ได้ต้นกล้าที่มีโครโมโซม 2n= 2x= 58 จำนวน 47 ต้น ต้นกล้าที่มีโครโมโซม 2n= 3x= 87 จำนวน 4 ต้น และต้นกล้าที่มีโครโมโซม 2n= x= 29 จำนวน 1 ต้น มีต้นกล้ารอดชีวิตทั้งหมดจำนวน 33 ต้น ที่เสียบยอดอยู่บนต้นตอ ณ สถานีเกษตรหลวงปางดะ ดังตารางที่ 2.5

การรอดชีวิตของต้นกล้าพบว่า China#4 มีกิ่งที่รอดชีวิตหลังเสียบบนต้นตอจำนวน 13 กิ่ง และกิ่งทั้งหมดมีโครโมโซม 2n= 2x= 58 เป็นกิ่งเพศผู้ จำนวน 2 กิ่ง และกิ่งเพศเมีย 1 กิ่ง กิ่งเพศเมียมีการติดผล จำนวน 2 ผล ดังตารางที่ 2.5 และ ตารางที่ 2.6

การรอดชีวิตของต้นกล้าพบว่า Yellow Joy มีกิ่งที่รอดชีวิตหลังเสียบบนต้นตอจำนวน 1 กิ่ง และกิ่งมีโครโมโซม 2n= 2x= 58 ไม่พบว่ามีการออกดอกติดผล ดังตารางที่ 2.5 และ ตารางที่ 2.7

การรอดชีวิตของต้นกล้าพบว่า KS มีกิ่งที่รอดชีวิตหลังเสียบบนต้นตอจำนวน 4 กิ่ง และกิ่งมีโครโมโซม 2n= 2x= 58 จำนวน 3 กิ่ง และกิ่งที่มีจำนวนโครโมโซม n= x= 29 จำนวน 1 กิ่ง ไม่พบว่ามีการออกดอกติดผล ดังตารางที่ 2.5 และ ตารางที่ 2.8

การรอดชีวิตของต้นกล้าพบว่า 10-1-9 มีโครโมโซม 2n= 2x= 58 จำนวน 19 กิ่ง และกิ่งที่มีจำนวนโครโมโซม 2n= 3x= 87 จำนวน 2 กิ่ง มีการออกดอกและเป็นดอกเพศผู้ 1 กิ่ง มีกิ่งที่รอดชีวิตบนต้นตอที่มีโครโมโซม 2n= 2x= 58 จำนวน 11 กิ่ง ดังตารางที่ 2.5 และ ตารางที่ 2.9

การรอดชีวิตของต้นกล้าพบว่า 15-1-8 มีโครโมโซม 2n= 2x= 58 จำนวน 1 กิ่ง และกิ่งที่มี มีกิ่งที่รอดชีวิตบนต้นตอ จำนวน 1 กิ่ง ดังตารางที่ 2.5 และ ตารางที่ 2.10

การรอดชีวิตของต้นกล้าพบว่า Tall Green มีโครโมโซม 2n= 2x= 58 จำนวน 7 กิ่ง และมีกิ่งที่รอดชีวิตบนต้นตอ จำนวน 4 กิ่ง ดังตารางที่ 2.1 และ ตารางที่ 2.5 และภาพที่ 2.11

การรอดชีวิตของต้นกล้าพบว่า River West มีโครโมโซม 2n= 2x= 58 จำนวน 3 กิ่ง และมีโครโมโซม 2n= 3x= 87 กิ่ง มีกิ่งที่รอดชีวิตบนต้นตอ จำนวน 1 กิ่ง เป็นกิ่งที่มีโครโมโซม 2n= 3x= 87 ดังตารางที่ 2.1 และ ตารางที่ 2.5 ภาพที่ 2.12

มูลนิธิ โครงการหลวง ROYAL PROJECT FOUNDATION

ตารางที่ 2.1 การงอกของเมล็ดกีวีฟรุ๊ทพันธุ์ China #4 จำนวนต้นกล้า และจำนวน NORS หลังแช่สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลิน นาน 48 ชั่วโมง

พันธุ์ China #4	ความเข้มข้น (%)	จำนวนเมล็ด	เมล็ดงอก (%)	จำนวนต้นกล้า ต.ค. 57(%)	จำนวนต้นกล้าศึกษา NORs	จำนวน NORS							จำนวนต้นกล้าดับเบิ้ลโครโมโซม
						1	2	3	4	5	6	รวม	
โคลชิซีน	0.00	325	246(75.69)	29(11.79)	5	1471	69	3	-	-	-	1543	-
	0.02	325	227(69.85)	8(3.52)	5	942	64	-	-		-	1006	-
	0.04	325	245(75.38)	5(2.04)	4	661	44	7	-		-	712	-
	0.06	325	173(53.23)	12(6.94)	11	1316	100	32	4		-	1452	2
	0.08	325	190(58.46)	14(7.37)	6	1699	108	8	4		-	1819	1
ไตรฟลูราลิน	0.00	325	251(77.23)	8(3.19)	8	1437	64	1	-		-	1502	-
	0.02	325	293(90.15)	48(16.38)	38	6724	414	4	-		-	7142	-
	0.04	325	276(84.92)	76(27.53)	51	7869	663	65	16		3	8616	3
	0.06	325	242(74.46)	34(14.05)	28	4505	196	8	7		-	4716	3
	0.08	325	281(86.46)	3(1.07)	2	298	23	3	-		-	324	-
รวม(%)		3250	2424(74.58)	237(9.78)	158	26922(93.38)	1745(6.05)	131(0.45)	31(0.11)		3(0.01)	28832	9

ตารางที่ 2.2 การงอกของเมล็ดกีวีฟรุ๊ทพันธุ์ 10-1-9 จำนวนต้นกล้า และจำนวน NORS หลังแช่สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลิน นาน 48 ชั่วโมง

พันธุ์ 10-1-9	ความเข้มข้น (%)	จำนวนเมล็ด	เมล็ดงอก (%)	จำนวนต้นกล้า ต.ค. 57(%)	จำนวนต้นกล้าศึกษา NORs	จำนวน NORS						จำนวนต้นกล้าดับเบิ้ลโครโมโซม
						1	2	3	4	5	รวม	
โคลชิซีน	0.00	300	150(50.00)	20(13.33)	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.02	300	139(46.33)	47(33.81)	34	1931	333	80	31	2	2377	8
	0.04	300	139(46.33)	13(9.35)	9	565	107	46	10	-	728	4
	0.06	300	138(46.00)	20(14.49)	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.08	300	112(37.33)	4(3.57)	-	-	-	-	-	-	-	-
ไตรฟลูราลิน	0.00	300	108(36.00)	11(10.19)	2	114	17	-	-	-	131	-
	0.02	300	126(42.00)	1(0.79)	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.04	300	164(54.67)	27(16.46)	8	1158	115	20	5	-	1298	3
	0.06	300	117(39.00)	16(13.68)	4	224	38	10	2	-	274	
	0.08	300	96(32.00)	18(18.75)	4	271	72	12	1	-	356	1
รวม(%)		3000	1289(42.97)	177(13.73)	61	4263(82.55)	682(13.21)	168(3.25)	49(0.95)	2(0.04)	5164	16

ตารางที่ 2.3 การงอกของเมล็ดกีวีฟรุ๊ทพันธุ์ Tall Green จำนวนต้นกล้า และจำนวน NORS หลังแช่สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลิน นาน 48 ชั่วโมง

พันธุ์ Tall Green	ความเข้มข้น (%)	จำนวนเมล็ด	เมล็ดงอก (%)	จำนวนต้นกล้า ต.ค. 57(%)	จำนวนต้นกล้าศึกษา NORs	จำนวน NORS					จำนวนต้นกล้าดับเบิ้ลโครโมโซม
						1	2	3	4	รวม	
โคลชิซีน	0.00	300	35(11.66)	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.02	300	44(14.67)	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.04	300	38(12.67)	3(7.89)	-	-	-	-	-	-	-
	0.06	300	26(80.67)	1(3.84)	-	-	-	-	-	-	-
	0.08	300	24(08.00)	8(33.33)	7	857	65	1	-	923	-
ไตรฟลูราลิน	0.00	300	29(09.67)	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.02	300	24(08.00)	10(41.67)	9	825	75	4	2	906	1
	0.04	300	25(08.33)	5(20)	4	458	46	-	2	506	1
	0.06	300	32(10.67)	6(18.75)	3	317	26	-	-	343	
	0.08	300	30(10.00)	8(26.67)	5	1050	115	-	2	1167	1
รวม(%)		3000	307(10.23)	41(13.36)	28	3507(91.21)	327(8.50)	5(0.13)	6(0.16)	3845	3

ตารางที่ 2.4 การงอกของเมล็ดกีวีฟรุ๊ทพันธุ์ River West จำนวนต้นกล้า และจำนวน NORS หลังแช่สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลิน นาน 48 ชั่วโมง

พันธุ์ River West	ความเข้มข้น (%)	จำนวนเมล็ด	เมล็ดงอก (%)	จำนวนต้นกล้า ต.ค. 57(%)	จำนวนต้นกล้าศึกษา NORs	จำนวน NORS					จำนวนต้นกล้าดับเบิลโครโมโซม
						1	2	3	4	รวม	
โคลชิซีน	0.00	100	19(19.00)	7(36.84)	1	86	-	-	-	86	-
	0.02	100	18(18.00)	1(5.56)	-	-	-	-	-	-	-
	0.04	100	21(21.00)	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.06	100	20(20.00)	1(5)	-	-	-	-	-	-	-
	0.08	100	20(20.00)	-	-	-	-	-	-	-	-
ไตรฟลูราลิน	0.00	100	09(9.00)	3(33.33)	1	130	6	-	-	136	-
	0.02	100	18(18.00)	3(16.67)	2	132	33	-	-	165	-
	0.04	100	21(21.00)	3(14.29)	2	29	26	6	3	64	1
	0.06	100	20(20.00)	3(15)	4	336	19	5	1	361	1
	0.08	100	23(23.00)	13(56.52)	7	1527	68	23	7	1625	3
รวม(%)		1000	189(18.90)	34(17.99)	17	2154(91.62)	152(6.47)	34(1.45)	11(0.46)	2351	4

ตารางที่ 2.5 สรุปจำนวนต้นกล้าหลังจากการเพิ่มชุดโครโมโซมกับเมล็ดของกีวีฟรุ๊ทโดยการใช้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลิน

ที่	พันธุ์	ต้นกล้าทั้งหมด ปี 2556	ต้นกล้าทั้งหมด ปี 2557	ต้นกล้าดับเบิลโครโมโซม 2556(NORs)	ต้นกล้าดับเบิลโครโมโซม 2557(NORs)	รวมดับเบิลโครโมโซม 2557(NORs)	ผลการวิเคราะห์ด้วย (FCM)			รอดชีวิต (ต.ค.) 2560)	กิ่งที่ให้ผลในปี 2560	ดอก
							2n=2x	2n=3x	2n=1x			
1	China#4	30	158	6	9	15	13	-	-	13(2x)	1	เพศผู้ 2 เพศเมีย 1
2	Yellow Joy	9	-	4	-	4	1	-	-	1(2x)	-	-
3	KS	4	-	4	-	4	3	-	1	3(2x) 1(x)	-	-
4	10-1-9	12	61	6	16	22	19	2	-	11(2x)	-	เพศผู้ 1
5	15-1-8	9	-	2	-	2	1	-	-	1(2x)	-	-
6	Tall Green	-	28	-	7	7	7	-	-	4(2x)	-	-
7	River West	-	17	-	5	5	3	2	-	1(3x)	-	-
	รวม	**64**	**264**	**22**	**37**	59	**47**	**4**	**1**	**33**	**1**	**4**

ตารางที่ 2.6 จำนวน Ploidy levels ศึกษาจาก Flow cytometry ของพันธุ์ China#4 ขนาดใบและกิ่งหลังเสียบ ยอดบนต้นตอ

ลำดับที่	ความเข้มข้น	Ploidy level By (FCM)	ใบ			กิ่ง	
			กว้าง (ซม.)	ยาว (ซม.)	หนา (มม.)	ความยาวข้อ ปี 58 (ซม.)	เส้นผ่านศูนย์กลางต้น (มม.)
1	control	2x	12.67	15.00	0. 50	3.40	1.10
2	control	2x	11.07	13.20	0.60	6.33	0.99
3	control	2x	15.43	15.07	0.60	3.57	0.96
4	control	2x	14.33	14.90	0.50	2.57	0.64
5	control	2x	12.53	13.67	0.70	5.50	1.30
6	control	2x	7.50	9.70	0.70	3.63	0.64
7	control	2x	13.17	17.87	0.50	3.33	0.97
8	control	2x	11.90	13.27	0.70	4.17	0.62
9	control	2x	13.63	13.27	0.60	5.13	1.00
10	control	2x	6.93	7.80	0.60	3.50	0.55
12	T 0.08	2x	10.53	15.00	0.50	3.50	1.23
13	C0.04	2x	14.25	13.54	0.60	3.45	0.90

ตารางที่ 2.7 จำนวน Ploidy levels ศึกษาจาก Flow cytometry ของพันธุ์ Yellow Joy ขนาดใบและกิ่งหลังเสียบยอดบนต้นตอ

ลำดับที่	ความเข้มข้น	Ploidy level By (FCM)	ใบ			กิ่ง	
			กว้าง (ซม.)	ยาว (ซม.)	หนา (มม.)	ความยาวข้อ ปี 58 (ซม.)	เส้นผ่านศูนย์กลางต้น (มม.)
1	T0.08	2x	15.32	15.60	0. 60	3.20	1.50

ตารางที่ 2.8 จำนวน Ploidy levels จาก Flow cytometry ของพันธุ์ KS ขนาดใบและกิ่งหลังกิ่งเสียบยอดบนต้นตอ

ลำดับที่	ความเข้มข้น	Ploidy level by (FCM)	ใบ			กิ่ง	
			กว้าง (ซม.)	ยาว (ซม.)	หนา (มม.)	ความยาวข้อ ปี 58 (ซม.)	เส้นผ่านศูนย์กลางต้น (มม.)
1	C0.06	2x	10.60	10.23	0.53	1.40	0.92
2	T0.06	2x	9.73	14.83	0.50	5.26	1.40
3	T0.08	2x	11.10	13.20	0.53	4.83	0.98
4	T0.08	x	3.23	7.00	0.60	1.40	1.25

ตารางที่ 2.9 จำนวน Ploidy levels จาก Flow cytometry ของพันธุ์ 10-1-9 ขนาดใบและกิ่งหลังเสียบบนต้นตอ

ที่	ความเข้มข้น	Ploidy level By (FCM)	ใบ			กิ่ง	
			กว้าง (ซม.)	ยาว (ซม.)	หนา (มม.)	ความยาวข้อ ปี 58 (ซม.)	เส้นผ่านศูนย์กลางต้น (มม.)
1	control	2x	13.20	18.60	0.50	9.17	0.69
2	control	2x	12.70	15.40	0.40	0.55	0.55
3	C0.02	2x	10.90	15.73	0.60	5.17	0.98
4	C0.02	2x	15.50	20.50	0.50	3.30	0.71
5	C0.02	2x	12.83	14.53	0.40	8.33	1.15
6	C0.02	2x	13.50	14.53	0.60	5.83	0.75
7	C0.02	2x	14.10	17.45	0.60	3.57	0.94
8	C0.02	**3x**	15.00	17.07	0.50	10.40	1.55
9	C0.02	2x	11.60	16.57	0.50	6.67	1.10
10	C0.02	2x	16.37	19.10	0.60	7.00	1.45
11	C0.02	2x	14.26	17.20	0.60	3.50	1.50
12	C0.02	2x	14.10	18.93	0.50	9.43	1.10
13	C0.04	2x	16.20	21.27	0.70	4.90	0.96

(ต่อ)ตารางที่ 2.9 จำนวน Ploidy levels จาก Flow cytometry ของพันธุ์ 10-1-9 ขนาดใบและกิ่งหลังเสียบบนต้นตอ

ลำดับที่	ความเข้มข้น	Ploidy level By (FCM)	ใบ			กิ่ง	
			กว้าง (ซม.)	ยาว (ซม.)	หนา (มม.)	ความยาวข้อ ปี 58 (ซม.)	เส้นผ่านศูนย์กลางต้น (มม.)
14	C0.06	2x	14.67	20.30	0.80	2.17	0.62
15	C0.06	2x	12.07	16.73	0.60	1.80	0.65
16	C0.06	2x	14.00	16.95	0.60	5.73	0.63
17	C0.06	2x	14.53	18.86	0.50	2.03	0.73
18	T0.04	2x	13.33	15.20	0.60	1.33	0.61
19	T0.04	2x	8.77	11.97	0.60	5.07	1.12
20	T0.06	3x	18.30	18.90	0.70	4.47	1.19
21	T0.08	2x	14.33	17.83	0.50	6.33	0.92

ตารางที่ 2.10 จำนวน Ploidy levels ศึกษาจาก Flow cytometry ของพันธุ์ 15-1-8 ขนาดใบและกิ่งหลังเสียบยอดบนต้นตอ

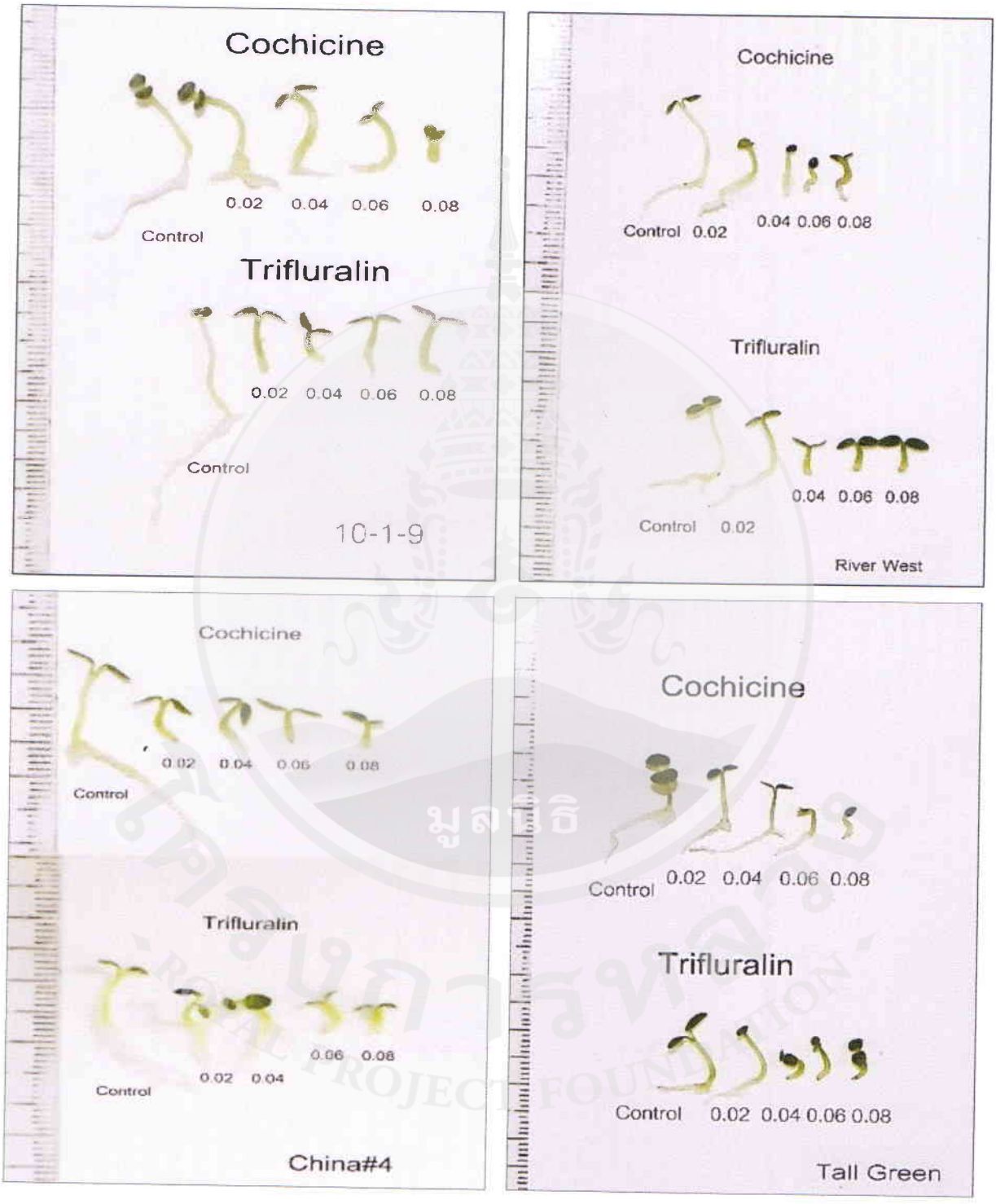
ลำดับที่	ความเข้มข้น	Ploidy level By (FCM)	ใบ			กิ่ง	
			กว้าง (ซม.)	ยาว (ซม.)	หนา (มม.)	ความยาวข้อ ปี 58 (ซม.)	เส้นผ่านศูนย์กลางต้น (มม.)
1	T0.02	2x	13.30	14.25	0. 50	1.67	1.78

ตารางที่ 2.11 จำนวน Ploidy levels จาก Flow cytometry ของพันธุ์ Tall Green ขนาดใบและกิ่ง หลังเสียบบนต้นตอ

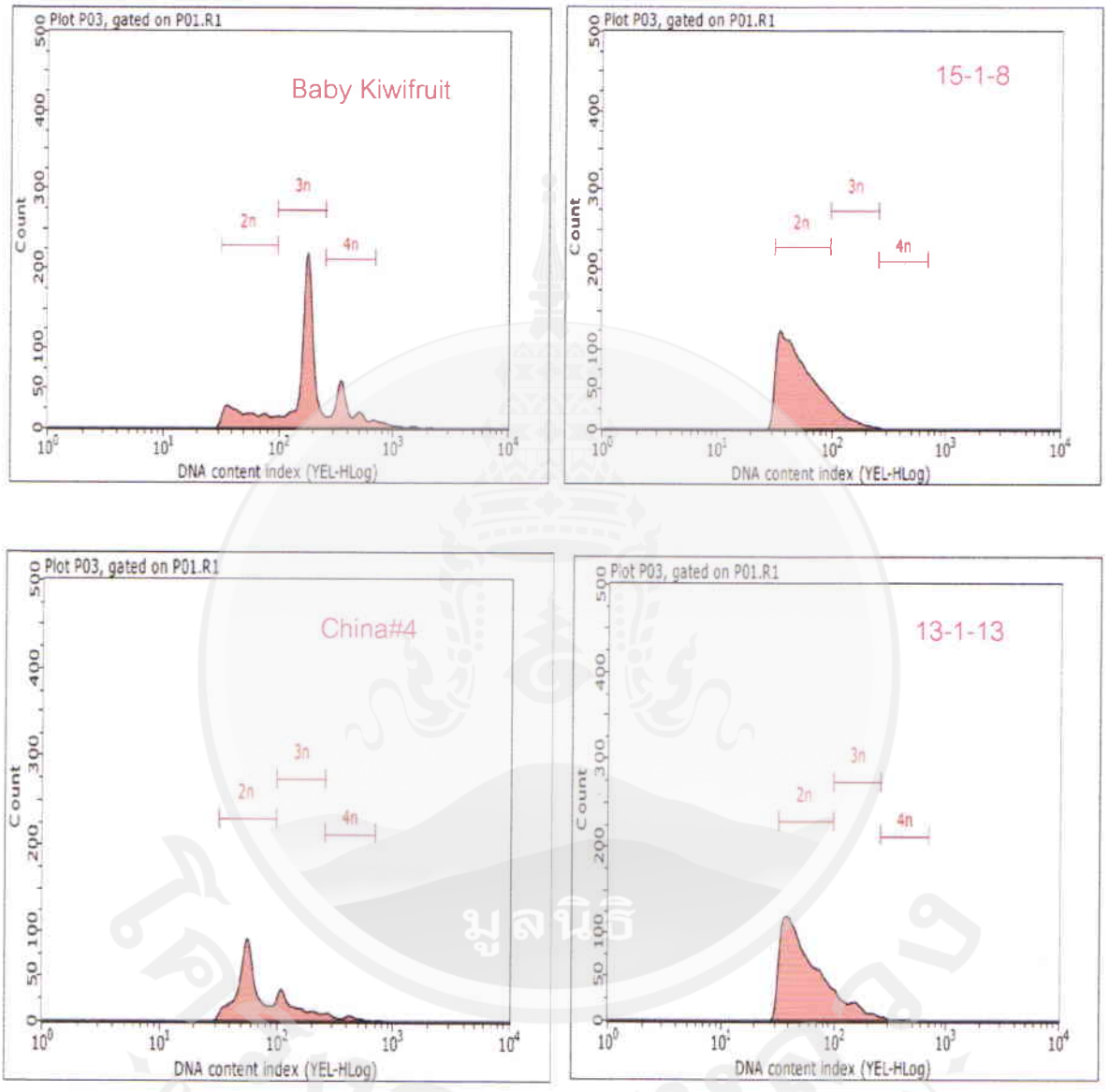
ลำดับที่	ความเข้มข้น	Ploidy level by(FCM)	ใบ			กิ่ง	
			กว้าง(ซม.)	ยาว(ซม.)	หนา (มม.)	ความยาวข้อ (ซม.)	เส้นผ่านศูนย์กลางต้น (มม.)
1	control	2x	12.93	16.73	0.60	1.40	0.55
2	control	2x	12.93	13.57	0.50	1.60	0.50
3	control	2x	7.56	11.81	0.70	2.07	0.55
4	C0.08	2x	12.26	15.70	0.80	3.07	0.65
5	T0.02	2x	11.66	14.33	0.60	3.17	0.45
6	T0.02	2x	10.93	14.87	0.70	1.10	0.60
7	T0.02	2x	9.16	11.37	0.70	0.08	0.55
8	T0.04	2x	4.83	6.53	0.50	1.13	0.40
9	T0.06	2x	7.56	9.90	0.60	2.20	0.50
10	T0.08	2x	8.66	13.33	0.60	1.43	0.56
11	T0.08	2x	9.16	12.80	0.60	1.10	0.60

ตารางที่ 2.12 จำนวน Ploidy levels จาก Flow cytometry ของพันธุ์ River West ขนาดใบและกิ่งหลังเสียบบนต้นตอ

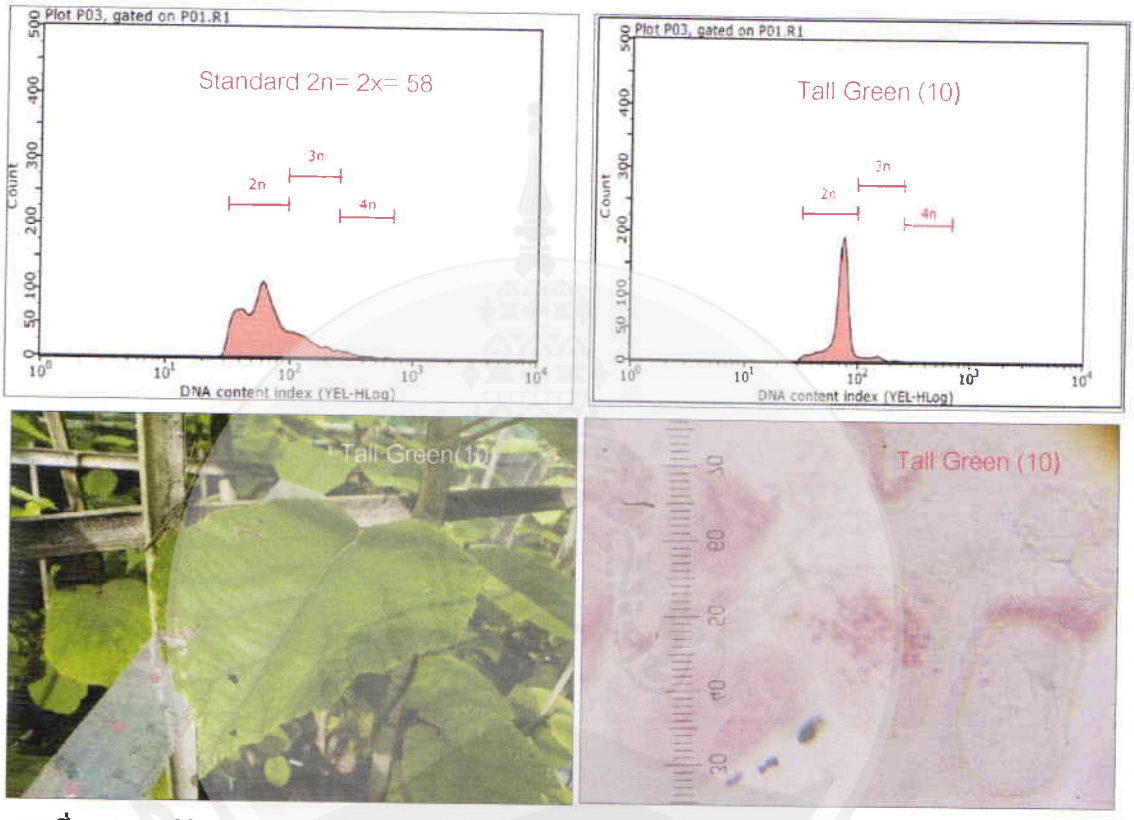
ลำดับที่	ความเข้มข้น	Ploidy level By (FCM)	ใบ			กิ่ง	
			กว้าง (ซม.)	ยาว (ซม.)	หนา (มม.)	ความยาวข้อ ปี 58 (ซม.)	เส้นผ่านศูนย์กลางต้น (มม.)
1	control	2x	17.20	20.23	0.70	3.83	0.65
2	control	2x	7.76	12.10	0.60	0.90	0.61
3	C0.02	3x	12.57	17.57	0.60	6.70	1.00
4	T0.06	2x	14.60	19.77	0.60	9.00	0.97
5	T0.08	3x	14.13	17.27	0.80	6.90	0.65



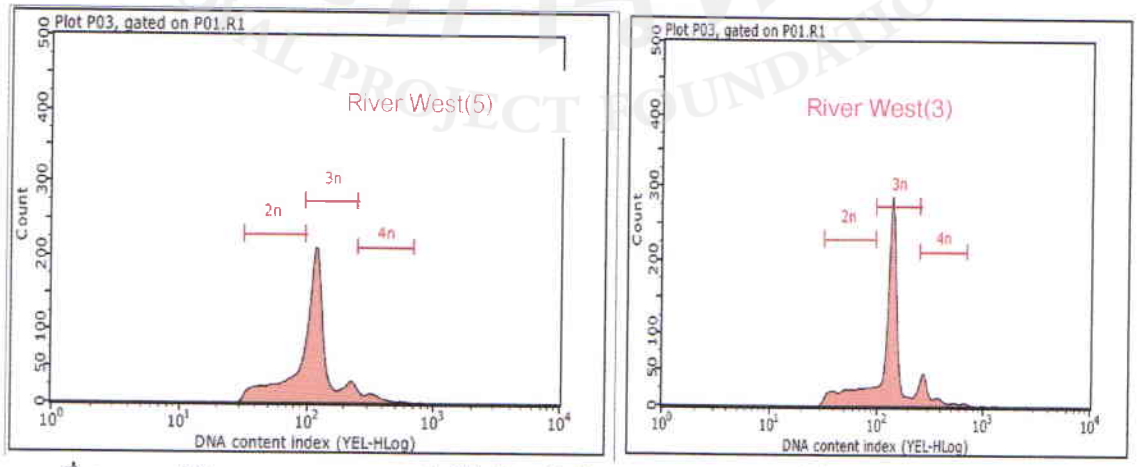
ภาพที่ 2.1 ต้นกล้ากวีฟรุ้ท พันธุ์ 10-1-9 และ River West, China#4,Tall Green



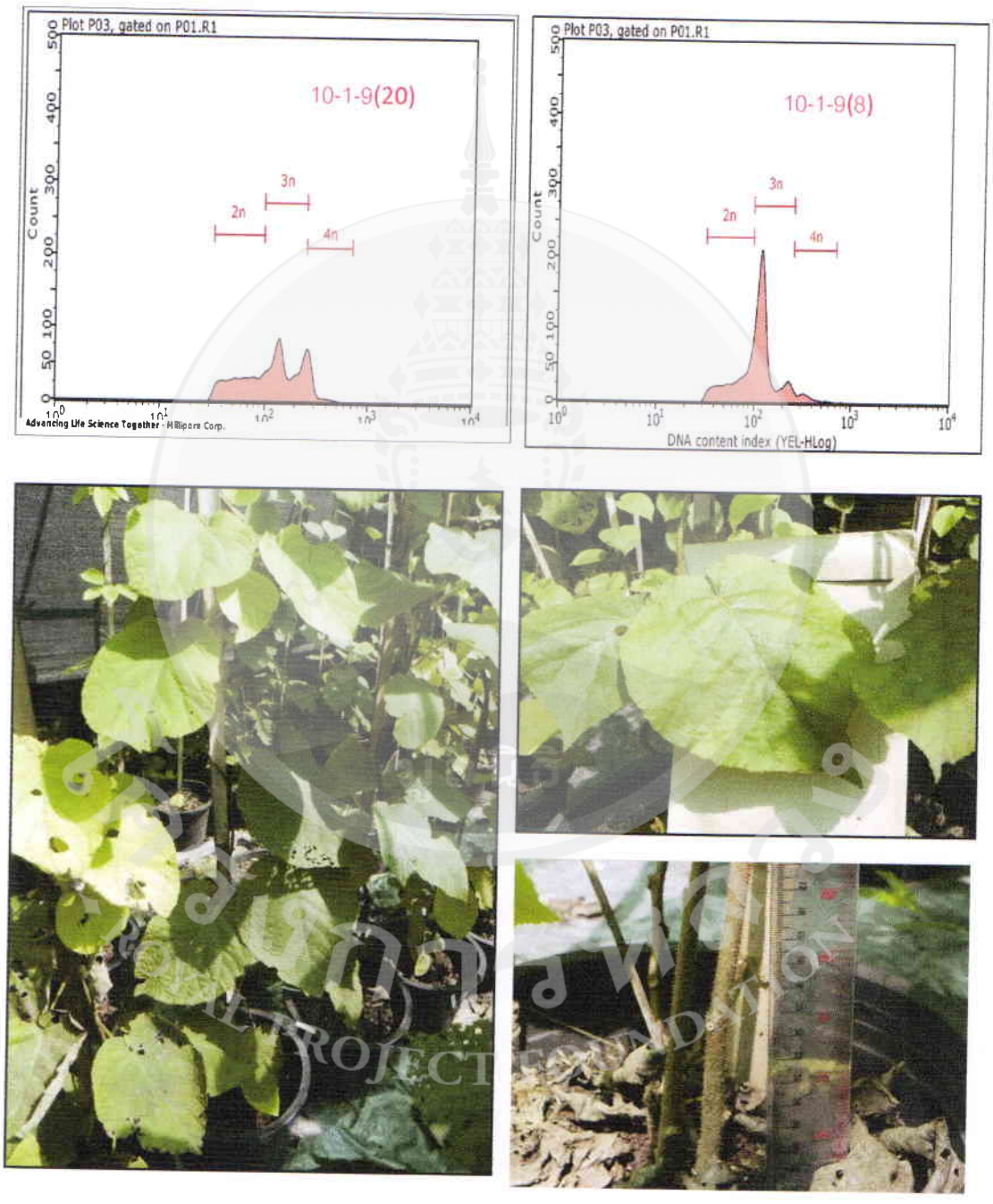
ภาพที่ 2.2 การใช้ Flow Cytometry กับกีวีฟรุ๊ทมีโครโมโซม 2n= 2x= 58



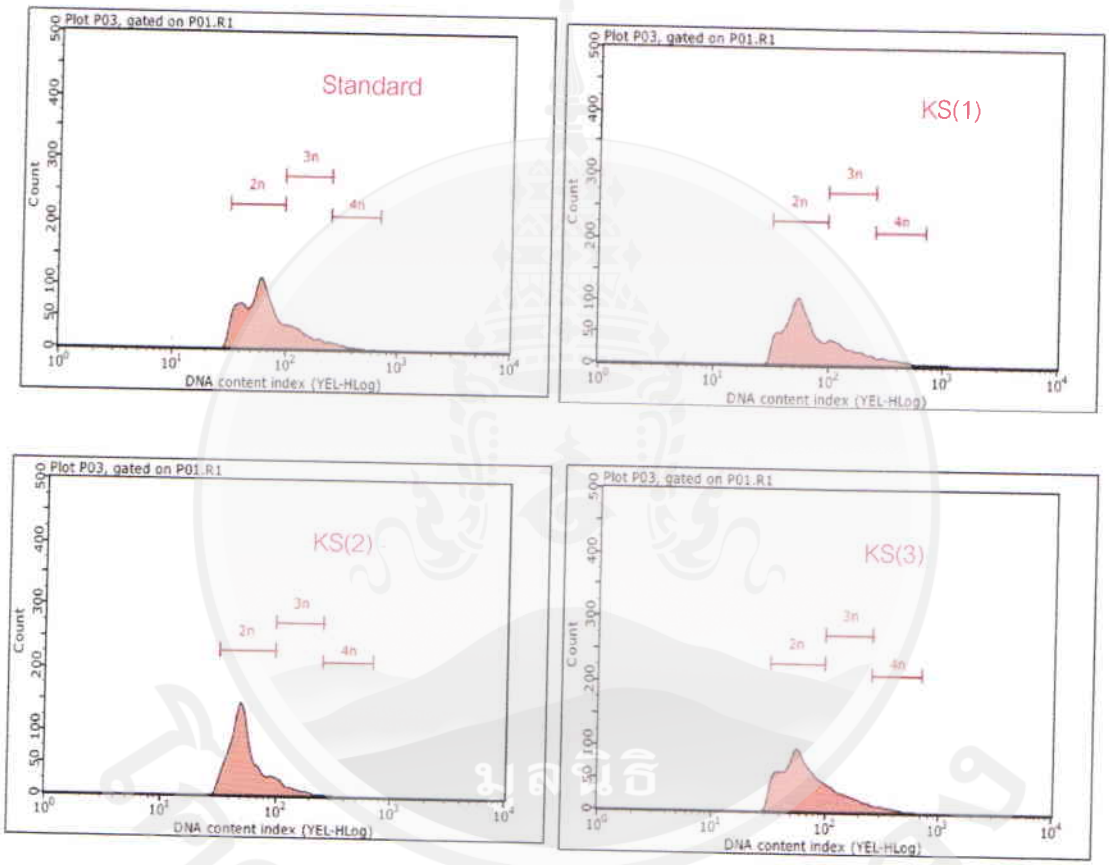
ภาพที่ 2.3 การใช้ Flow cytometry บนซ้ายและขวา) กับกีวีฟรุ๊ทพันธุ์อ่างขางเป็น standard และ 2n=2x= 58 Tall Green ล่างซ้าย) ใบของ Tall Green ล่างขวา) จำนวนโครโมโซม Tall Green 2n=2x=58 (scale 1 ช่อง=2.6 µm)



ภาพที่ 2.4 การใช้ Flow cytometry กับกีวีฟรุ๊ทพันธุ์ River West และ มีจำนวนชุดโครโมโซม 2n=3x=87

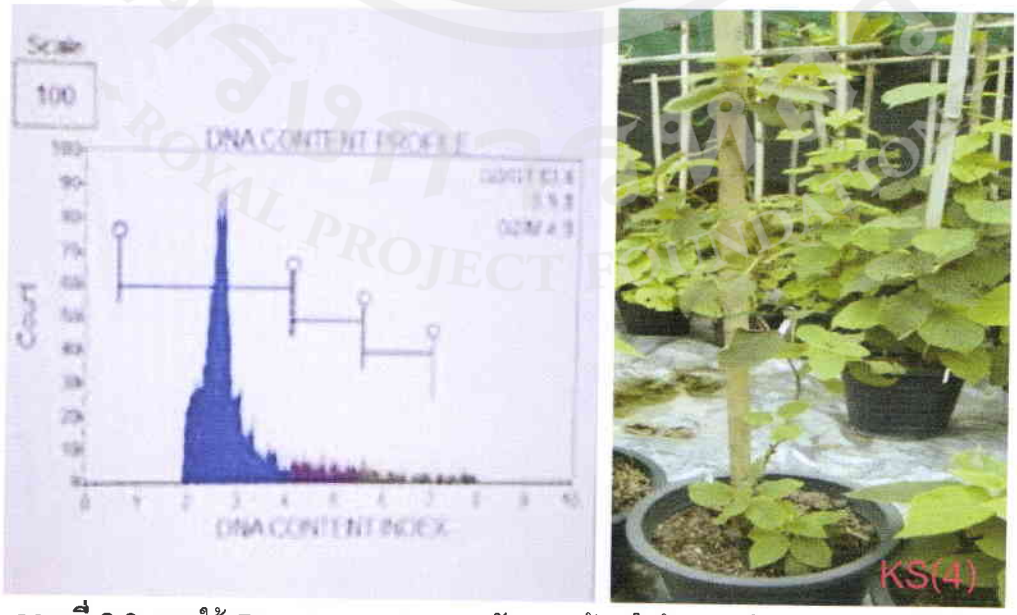


ภาพที่ 2.5 ลักษณะต้น ลำต้น ใบและผลของกีวีฟรุ้ทพันธุ์ 10-1-9 มีจำนวนชุดโครโมโซม 2n=3x=87

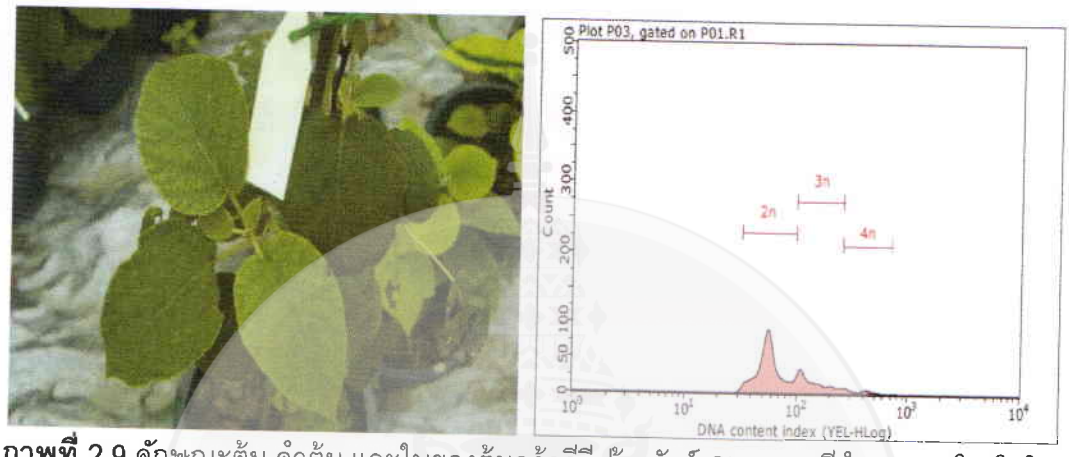


ภาพที่ 2.6 การใช้ Flow cytometry กับกีวีฟรุ๊ทพันธุ์อ่างขางเป็น standard 2n= 2x= 58 และพันธุ์ KS มีจำนวนชุดโครโมโซม 2n=2x=58

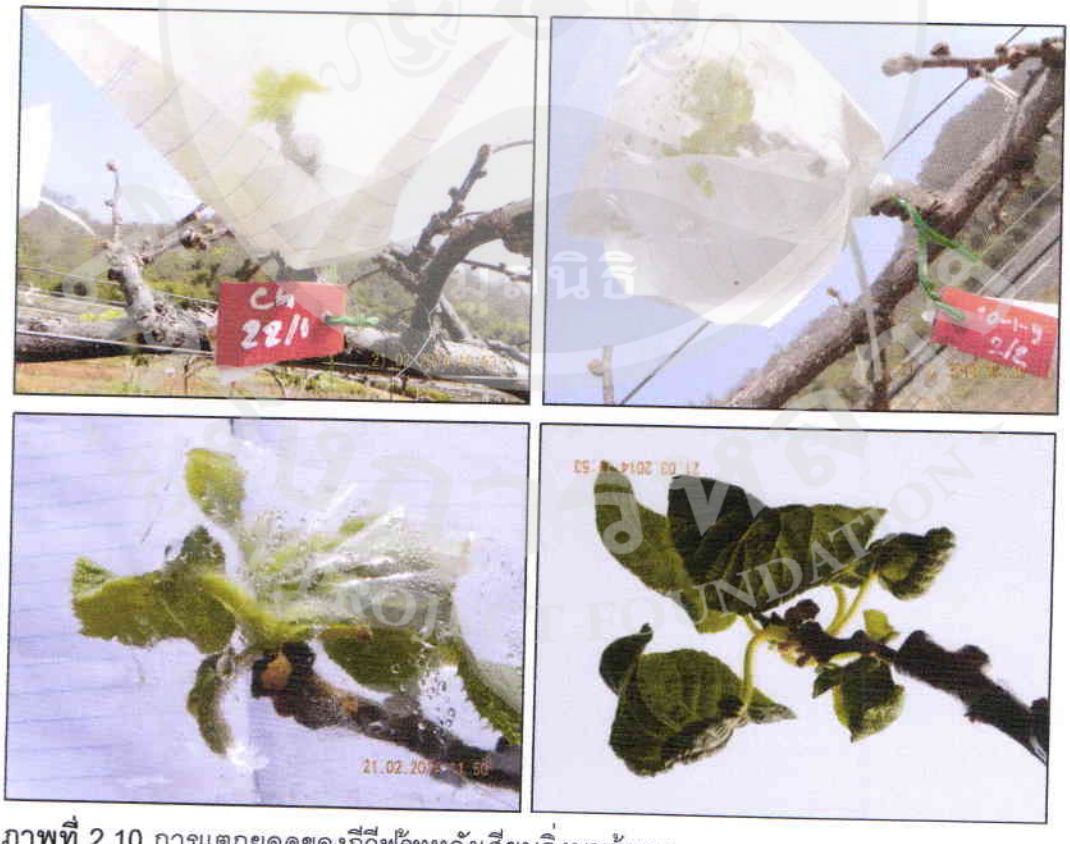
ภาพที่ 2.7 ลักษณะต้น ลำต้น และใบของต้นกล้ากีวีฟรุ้ท KS มีจำนวนชุดโครโมโซม 2n=2x=58



ภาพที่ 2.8 การใช้ Flow Cytometry และลักษณะต้น ลำต้น และใบของต้นกล้ากีวีฟรุ้ทพันธุ์ KS มีจำนวนชุดโครโมโซม 2n=x=29



ภาพที่ 2.9 ลักษณะต้น ลำต้น และใบของต้นกล้ากีวีฟรุ้ทพันธุ์ China#4 มีจำนวนชุดโครโมโซม 2n=2x=58



ภาพที่ 2.10 การแตกยอดของกีวีฟรุ้ทหลังเสียบกิ่งบนต้นตอ

ภาพที่ 2.9 การออกดอกของกีวีฟรุ้ท china#4 ดอกเพศผู้ หลังเสียบกิ่งบนต้นตอ

มูลนิธิ
โครงการหลวง
ROYAL PROJECT FOUNDATION

ภาพที่ 2.10 การติดผลของกีวีฟรุ้ท china#4 หลังเสียบกิ่งบนต้นตอ

บทที่ 5: สรุปผลและข้อเสนอแนะ

วิจารณ์ผลการทดลอง

งานทดลองที่ 1 การเพิ่มชุดโครโมโซมกับตาข้างของกีวีฟรุ้ทโดยการใช้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลิน

การให้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลินความเข้มข้น 0.00 (control), 0.05, 0.10, 0.15 และ 0.20 % กับตาข้างของกีวีฟรุ้ทพันธุ์ Babykiwi, 15-1-8,13-1-13, 10-1-9 และ KS พบว่าไม่มีผลกระทบต่อการเจริญของตาข้าง โดยมีการเจริญของตาข้างระหว่าง 1-3 ยอด และให้ดอกอยู่ระหว่าง1-8 ดอก จำนวนตาข้างที่เจริญออกมาใหม่สามารถพัฒนาไปเป็นกิ่ง 3 แบบ ได้แก่กิ่งแบบ short spur (กิ่งมีความยาวไม่เกิน 10 เซนติเมตร) กิ่ง long spur (กิ่งมีความยาว 11-20 เซนติเมตร) และกิ่งแบบ cane (กิ่งมีความยาวมากกว่า 20 เซนติเมตร) ยังพบว่ากีวีฟรุ้ทมีการออกดอกได้ดีบนกิ่งแบบ short spur ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองศึกษาลักษณะของกิ่งกีวีฟรุ้ท 3 พันธุ์ 10-1-9, 15-1-8 และ KS ของวิรัตน์ (2556) พบว่ากิ่ง spur ที่มีความยาว 10 เซนติเมตร จะให้จำนวนดอกมากแต่มีการแตกตาข้ากว่ากิ่งแบบ cane ยาว 50 และ 80 เซนติเมตร ซึ่งสอดคล้องกับ Volz *et al*., (1991) ขนาดของกิ่งมีผลต่อการพัฒนาของดอกและการให้ผลผลิต และการให้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลินทุกความเข้มข้นมีการออกดอกและติดผลได้ และไม่สามารถเก็บผลมาทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีได้ เนื่องจากผลกระทบจากการเกิดลูกเห็บในเดือนพฤษภาคม 2556 ทำให้กิ่งกีวีฟรุ้ทไม่สมบูรณ์และยังพบกับสภาพอากาศร้อนและแห้งแล้ง แม้ว่าจะทำการทดลองซ้ำในปี 2557 แต่การออกดอกติดผลก็ยังไม่สมบูรณ์เช่นเดิม เนื่องจากสภาพอากาศที่แปรปรวนอย่างรุนแรงและรวดเร็วในปัจจุบัน ทำให้ต้นประสบกับปัญหาภัยแล้งต่อเนื่อง (สุนทรีและพรชัย, 2017) ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของพืช การรายงานของวิรัตน์ (2544) พบว่าการพัฒนาของตาดอกกีวีฟรุ้ทจะสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตของกิ่ง การเจริญเติบโตที่เหมาะสมจะทำให้กิ่งมีการพัฒนาตาดอกและแตกตาออกมาได้ยอดใหม่ที่สมบูรณ์ มีดอกผลได้ดี

การศึกษาความหนาใบของกีวีฟรุ้ททั้ง 5 สายพันธุ์ พบว่า Babykiwi มีความหนาใบน้อยที่สุดอยู่ระหว่าง 0.43 – 0.47 มิลิเมตร และใบของกีวีฟรุ้ทพันธุ์ 13-1-13 มีความหนาใบมากที่สุด 0.73 – 0.93 มิลลิเมตร เช่นเดียวกับให้สารโคลชิซีนกับมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พร พบว่ากิ่งที่ได้รับสารโคลชิซีนมีความหนาใบมาก และใบหยิกมากกว่าการไม่ให้สารเคมี (นคร, 2550)

ปากใบและจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์กีวีฟรุ้ท 5 พันธุ์ พบว่า Babykiwi และ13-1-13 ไม่พบปากใบขนาดจิ๋มโบ้และไม่พบปากใบขนาดจัมโบ้ในกิ่งที่ไม่ได้รับสารเคมี สารเคมีทั้งสองชนิดไม่สามารถเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมในกีวีฟรุ้ทพันธุ์ Babykiwi และ13-1-13 ได้ แต่พบปากใบขนาดจิ๋มโบ้

กับกีวีฟรุ้ทพันธุ์ 15-1-8, 10-1-9 และ KS เมื่อให้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลินความเข้มข้น 0.05, 0.10,0.15 และ 0.20เป็นไปได้ว่ากีวีฟรุ้ทที่ได้รับสารเคมีความเข็มข้นดังกล่าว อาจมีการเพิ่มขึ้นของจำนวนชุดโครโมโซม ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Przywara *et al.* (1988) พบว่าขนาดของปากใบกีวีฟรุ้ทจะมีการขนาดเพิ่มขึ้นตามจำนวนชุดของโครโมโซมที่เพิ่มขึ้น ส่วนจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์แบ่งได้เป็น 3 กลุ่มในกีวีฟรุ้ทพันธุ์ Babykiwi และ 13-1-13 และแบ่งได้เป็น 4 กลุ่มในพันธุ์ 15-1-8, 10-1-9 และ KS เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาขนาดของปากใบในกิ่งที่ไม่ได้รับสารเคมีพันธุ์อื่นๆและพันธุ์ป่า จะพบจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในกลุ่มที่ 3และ 4 เฉพาะกิ่งที่ได้รับสารเคมี ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Sari (1999) และนิตย์ศรีและอำไพ (2541) เมื่อพืชมีการเพิ่มขึ้นของจำนวนชุดโครโมโซมจะมีขนาดของปากใบหรือจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์เพิ่มขึ้นตามไปด้วย กีวีฟรุ้ทที่ติดผลมีขนาดของผลเล็ก โดยมีขนาดของผล 7.82 – 51.05 กรัม เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหนักผลที่ได้มีการศึกษาไว้เมื่อปี 2551 โดยวิรัตน์และคณะ (2552) พบว่าน้ำหนักผลของกีวีฟรุ้ทพันธุ์ 10-1-9, 15-1-8 และ KS มีน้ำหนักผล 104.9, 58.72 และ 46.57 กรัม ตามลำดับและมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ 15.51, 12.45 และ 14.36 ^{0}Brix ตามลำดับ กีวีฟรุ้ทในกลุ่มพันธุ์ที่มีเนื้อสีเหลืองที่ปลูกในพื้นที่มีความหนาวเย็นต่ำจะมีผลขนาดใหญ่ น้ำหนักประมาณ 100-150 กรัม มีปริมาณวิตามินซี 100-200 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักผล 100 กรัม เช่นเดียวกับการทดลองเพิ่มชุดโครโซมในกีวีฟรุ้ทพันธุ์ Hort16A (*A. chinensis*) ซึ่งเดิมมีโครโมโซม 2n=2x=58 หลังการใช้สารโคลชิซีนชักนำให้เกิด Autotetraploid กับตาข้างได้สำเร็จจำนวนชุดโครโมโซมเพิ่มขึ้นเป็น 2n=4x=116 และเมื่อนำไปติดตาบนต้นตอพันธุ์ Brono อายุ 2 ปี สามารถให้ผลผลิตได้ในปีที่ 3 (Wu *et al.*, 2012) การทดลองให้สารเคมีกับตาข้างของกิ่งกีวีฟรุ้ทในครั้งนี้ ไม่สามารถวิเคราะห์ได้ว่ากิ่งที่ให้สารเคมีมีการเพิ่มขึ้นของจำนวนชุดโครโมโซมเป็น 2n=4x=116 เช่นเดียวกับการชักนำให้เกิด Autotetraploid กับกีวีฟรุ้ทพันธุ์ Hort16A เนื่องจากกิ่งที่ให้สารไม่มีการแตกยอดใหม่ และมีกิ่งที่ตายจากสภาพอากาศร้อนและโทรมจากผลของลูกเห็บ ทำให้ไม่สามารถนำยอดอ่อนมาทำการวิเคราะห์ด้วย Flow Cytometry หรือหาโครโมโซมได้ การเพิ่มชุดโครโมโซมในกีวีฟรุ้ทหรือการศึกษาการเพิ่มขึ้นของจำนวนชุดโครโมโซมนิยมทำกับเซลล์พืชที่ยังอ่อนเช่นเดียวกับการทำการปรับปรุงพันธุ์กีวีฟรุ้ทโดยการนำก้านใบมาทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อชักนำให้เกิดเป็นต้นอ่อนแล้วจึงทำการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมของ Wu *et al.* (2011)

งานทดลองที่ 2 การแช่เมล็ดกีวีฟรุ้ทด้วยสารโคลชิซีนและไตรฟลูราลินต่างความเข้มข้น

การงอกของเมล็ดพบว่าสารเคมีทั้งสองชนิดไม่มีผลต่อการงอกของเมล็ดหลังแช่เมล็ดนาน 48 ชั่วโมง เมล็ดสามารถงอกได้ดี แต่พบว่ามีการรอดตายต่ำ เนื่องจากกีวีฟรุ้ทเป็นพืชที่มีระบบรากที่ไม่สมบูรณ์แข็งแรงในธรรมชาติ ต้องนำยอดไปเสียบบนต้นตอที่มีความแข็งแรงในธรรมชาติ เช่น พันธุ์ Brono (Wu *et al.*, 2012) หลังศึกษาจำนวน นิวคลิโอลี (Nors) ซึ่งใช้จำแนกลักษณะของ polyploidy ในพืชตระกูลส้ม ฝรั่ง กล้วยไม้ (Toolapong, 1999; นิสาชล, 2555; กชกร, 2556 และศิรินทร์, 2554)พบต้นกล้าที่มีจำนวนนิวคลีโอลี 4 นิวคลีโอลีหรือมากกว่าซึ่งเป็นการอนุมานเบื้องต้นว่ามีการเพิ่มขึ้นของจำนวนชุดโครโมโซม ต้นกล้าที่ได้ดูแลรักษาให้มีการเจริญเติบโตทางลำต้นเป็นเวลา 1 ปี (vegetative growth) และการเจริญเติบโตเพื่อการสืบพันธุ์บนต้นแม่เป็นเวลา 1 ปี (reproductive growth) ตามลักษณะการเจริญเติบโตของกีวีฟรุ้ท (Ferguson, 1990) หลังจากนั้นนำยอดของกีวีฟรุ้ทไปหาจำนวนชุดโครโมโซมโดยใช้ Flow Cytometry ตามวิธีของ (Wu *et al.*, 2011) และใช้พันธุ์ป่า ซึ่งปลูกที่สถานีเกษตรหลวงอ่างขางเป็นพันธุ์มาตรฐาน พบว่ากีวีฟรุ้ททั้ง 7 พันธุ์ สามารถนำมาวิเคราะห์และอ่านค่าจาก Flow Cytometry ได้จำนวน 58 ต้น เป็น 2n =2x =58 จำนวน 47 ต้น 2n = 3x = 87 จำนวน 4 ต้น และ n = x=29 จำนวน 1 ต้น ซึ่งไม่พบจำนวนชุดโครโมโซม 2n = 4x=116 ต้นกล้าที่มีจำนวนชุดโครโมโซม 2n = 4x = 116 ไม่สามารถแยกความแตกต่างออกจากต้นกล้าธรรมดาได้ เพื่อความรวดเร็วจึงต้องอาศัย Flow Cytometry ในการจำแนกก่อนที่ต้นกล้าจะตายไปเสียก่อน เนื่องจากต้นกล้าจะมีระบบรากที่ไม่สมบูรณ์แข็งแรง (Wu *et al.*, 2011) ในการทดลองนี้ต้นกล้าที่รอดชีวิตและมีโครโมโซมแตกต่างไปจากปกติ คือ มีจำนวนชุดโครโมโซม 2n = 3x = 87 จำนวน 4 ต้น และ 2n = x=29 จำนวน 1 ต้นนั้น เกิดจากเมล็ดได้รับการผสมจากละอองเรณูที่มีการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสที่มีความผิดปกติหรือจากต้นที่เป็น 2n = 4x = 116 จึงได้เมล็ดที่มีโครโมโซม 2n = 3x = 87 และไม่ได้รับการผสมเกสร (Toolapong *et al.*, 1996) จึงได้ 2n = x=29 ดังกล่าว ซึ่งไม่ได้เกิดจากการเพิ่มขึ้นของจำนวนชุดโครโมโซมที่เกิดจากสารเคมีในการทดลองนี้

ต้นกล้ากีวีฟรุ้ทที่ได้รับสารโคลชิซีนและไตรฟลูราลิน นำมาเสียบบนต้นตอ ณ สถานีเกษตรหลวงปางดะ พบว่ากิ่งกีวีฟรุ้ทพันธุ์ China#4 จำนวน 3 กิ่ง เจริญเติบโตเป็นกิ่งเพศผู้จำนวน 2 กิ่ง และกิ่งเพศเมีย จำนวน 1 กิ่ง และติดผลจำนวน 2 ผล ส่วนกิ่งกีวีฟรุ้ทพันธุ์ 10-1-9 พบว่าเจริญเป็น

กิ่งเพศผู้จำนวน 1 กิ่ง ส่วนกีวีฟรุ้ทพันธุ์ KS ที่มีจำนวนชุดโครโมโซม 2n = x=29 พบว่ามีการเจริญเติบโตช้าเมื่อนำไปเสียบยอดบนต้นตอ มีลักษณะข้อสั้น ใบมีขนาดเล็ก เมื่อมีการแตกยอดอ่อนจะได้นำส่วนของก้านใบมาทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อให้ห้องปฏิบัติการและทำการเพิ่มชุดโครโมโซม ให้ได้เป็นพันธุ์แท้หรือพัฒนาต่อไปเป็นพืช 2n = 4x = 116 ตามวิธีการของ Wu *et al*., (2011) ต่อไปได้

สรุปผลการทดลอง

การทดลองที่ 1. การให้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลินความเข้มข้น 0.00 (control), 0.05, 0.10, 0.15 และ 0.20 % หุ้มตาข้างของกีวีฟรุ้ทพันธุ์ Babykiwi, 15-1-8,13-1-13, 10-1-9 และ KS พบว่าสารเคมีที่ใช้ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญของตาข้างและการเจริญของกีวีฟรุ้ททั้ง 5 พันธุ์ มีการเจริญของตาข้างอยู่ระหว่าง 1-3 ยอด และให้ดอกอยู่ระหว่าง 1-8 ดอก การออกดอกและติดผลจะออกดอกและติดผลได้ดีบนกิ่ง short spur (คือกิ่งมีความยาวไม่เกิน 10 เซนติเมตร) มีการติดผลอยู่ระหว่าง 1-5 ผล ทั้งที่ได้รับผลกระทบจากลูกเห็บและภัยแล้งต่อเนื่อง

การทดลองที่ 2. หลังจากนั้นนำยอดของกีวีฟรุ้ทไปหาจำนวนชุดโครโมโซมโดยใช้ Flow Cytometry และใช้พันธุ์ป่า ซึ่งปลูกอยู่ที่สถานีเกษตรหลวงอ่างขางเป็นพันธุ์มาตรฐาน พบว่ากีวีฟรุ้ททั้ง 7 พันธุ์ สามารถนำมาวิเคราะห์และอ่านค่าจาก Flow Cytometry ได้จำนวน 58 ตัวอย่าง เป็น 2n =2x = 58 จำนวน 47 ตัวอย่าง 2n = 3x = 87 จำนวน 4 ตัวอย่าง และ 2n = x = 29 จำนวน 1 ตัวอย่าง ซึ่งไม่พบจำนวนชุดโครโมโซม 2n = 4x = 116 ในการทดลองครั้งนี้ เพราะลักษณะด้อยของระบบรากในธรรมชาติและผลของสารเคมีทั้ง 2 ชนิด

ข้อเสนอแนะ

งานทดลองที่ 1.

สภาพแวดล้อมที่ร้อนและแห้งแล้งและกิ่งกีวีฟรุ้ทได้รับความเสียหายจากพายุลูกเห็บในปี 2556 เป็นต้นมา ทำให้ส่งผลต่อการเจริญและพัฒนาการของกิ่งกีวีฟรุ้ทที่ใช้ในการทดลองและกิ่งกีวีฟรุ้ทและต้นกีวีฟรุ้ทล้มตายเป็นจำนวนมาก ทำให้บางตัวอย่างไม่สามารถเก็บผลมาวิเคราะห์ทางสถิติได้ จึงควรมีการทดลองซ้ำและมีการควบคุมสิ่งที่จะเป็นปัญหาของต้นไม้ได้ ในการทดลองครั้งต่อไป ควรเลือกใช้ต้นหรือกิ่งพันธุ์ที่มีความแข็งแรงและสมบูรณ์มากกว่านี้

งานทดลองที่ 2.

การทดลองนี้จะไม่ได้ต้นกล้าหรือกิ่งพันธุ์กีวีฟรุ้ทที่เพิ่มขึ้นของจำนวนชุดโครโมโซม ที่เป็น 2n = 2x = 116 ได้ เพราะผลของสารเคมีทั้ง 2 ชนิด ที่มีผลต่อธรรมชาติของระบบราก ในต้นกีวีฟรุ้ท ส่วนต้นกีวีฟรุ้ทพันธุ์ KS 2n = x = 29 สามารถนำไปพัฒนาต่อให้เป็นพันธุ์แท้และพัฒนาต่อไปเป็นต้นที่มี 2n = 2x = 116 โดยใช้ขบวนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอนาคตได้

มูลนิธิโครงการหลวง ROYAL PROJECT FOUNDATION

เอกสารอ้างอิง

กชกร พุทธะและสห ตุลพงศ์. 2554. การเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมในต้นกล้าคัมควอทผลรีโดยใช้สารโคลชิซีนและไตรฟลราลิน. หน้า 17-26. *ใน* การประชุมวิชาการประจำปี 2554 วันที่ 1-2 ธันวาคม 2554ณ ศูนย์การเรียนรู้และฝึกอบรมนานาชาติ สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่.

กชกร พุทธะ. 2556. โคลชิซีนและไตรฟลูราลินกับการเพิ่มชุดโครโมโซมส้มจี๊ดเปรี้ยว-หวานและคัมควอท.วิทยานิพนธ์ปริญญาโท (พืชสวน). มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่.

กาญจนา กล้าแข็ง ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ สาธิต ทยาพัชร เผดิม ระติสุนทร พรรณี รอดแรงบุญ งามชื่น คงเสรี เครือวัลย์ อัตตะวิริยะสุขและกัมปนาท มุขดี. 2537. การผลิตข้าว polyploidy และลักษณะบางประการ. ว. วิทย. กษ. 27(5-6): 159-165.

เกศิณี ระมิงค์วงศ์. 2522. การปรับปรุงพันธุ์โดยการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางพันธุกรรม. หน้า 210-215. *ใน* หลักการปรับปรุงพันธุ์ไม้ผล. ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่.

จักรกฤษณ์ ภารการ. 2545. รายงานการวิจัยเรื่องเทคนิคการตรวจนับและเพิ่มจำนวนโครโมโซมของพืชด้วยสารโคลชิซินเพื่อการพัฒนาพันธุ์พืช. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสารคาม มหาสารคาม.

ชัยฤกษ์ มณีพงษ์. 2525. เซลล์พันธุศาสตร์. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กทม. 205 หน้า.

นิมมานรดี พรหมทอง สห ตุลพงศ์ ประสิทธิ์ โนรีและทุเรียน ทาเจริญ. 2548. การผลิตต้นกล้าส้มสายน้ำผึ้งไร้เมล็ดโดยการใช้สาร Colchicine และ Trifluralin. หน้า 66-72. *ใน* รายงานการประชุมทางวิชาการครั้งที่ 6 ภาคบรรยาย วันที่ 19-20 พฤษภาคม 2548 ณ ศูนย์การศึกษาและฝึกอบรมนานาชาติ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่.

นคร สารวัตร์ และ จรัสศรี นวลศรี. 2550. "การชักนำการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมในมะนาวฝรั่ง" (Citrus limon (L.) Burm. F.)". ว. วิชาการเกษตร 25(3): 240-253.

นคร สารวัตร์. 2550. ผลของสารโคลชิซีนต่อความงอกของเมล็ด การพัฒนาของต้นกล้าและการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมในมะนาวฝรั่ง [*Citrus limon* (L.) Burm. F.] โดยใช้สารโคลชิซีน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 77 น.

นิศาชล อ้นเชื้อจีน. 2555. ความถี่และการเกิดพอลิพลอยด์ในฝรั่งพันธุ์เจินจูหลังการให้สารโคลชิซีน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท (พืชสวน). มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่.

นิตศรี แสงเดือน และ อำไพ สินพัฒนานนท์. 2541. การชักนำให้เกิดหม่อนเททราพลอยด์โดยใช้สารโคลชิซีนร่วมกับเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วิทยาศาสตร์เกษตรศาสตร์(วิทย์.) 32: 424-43

ยุพเยาว์ คบพิมาย. 2558. การศึกษาชุดโครโมโซมในเซลล์พืชด้วยเครื่อง Flow Cytometry "Plant DNA Ploidy Analysis with Flow Cytometry" . บทความ. ที่มา http://www.e-manage.mju.ac.th /acticle Detail.aspx?qid=358& (9 ตุลาคม 25858)

วิชชุดา รุ่งเรือง. 2537. ผลของโคลชิซีนและรังสีแกมม่าที่มีต่อการกลายพันธุ์ของหน้าวัวพันธุ์ Double Spathe ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตร ศาสตร์ กทม.

วิมล ขวัญเกื้อและอนันต์ พู่พิทยาสถาพร. 2537. การชักนำให้เกิดโพลี่พลอยด์ในพริกโดยการใช้สารโคลชิซีน. ว. วิชาการเกษตร 7: 488-492.

วิรัช ปราบทุกข์. 2544.การจัดทรงต้นและการตัดแต่งกิ่งกีวีฟรุต. จุลสารไม้ผลมูลนิธิโครงการหลวง. ฉบับที่ 4(1) : หน้า 23-27.

วิรัช ปราบทุกข์. 2548.กีวีฟรุ๊ทไม้ผลบนที่สูงที่น่าสนใจ. วารสารโครงการหลวง. ฉบับที่ 9(4) : หน้า 41-42.

วิรัช ปราบทุกข์ กุลทินี ผิวนิล ชยาณ์ ไชยประสพ และสุธาสินี มณีทอน. 2552. การเปรียบเทียบกีวีฟรุ๊ทสายพันธุ์ที่คัดเลือกใหม่ในพื้นที่มีความหนาวเย็นต่ำ.ว. วิทย. กษ. 40(3)(พิเศษ): 375-379.

วิรัช ปราบทุกข์. 2556. พื้นที่และการผลิตกีวีฟรุ๊ท. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท (พืชสวน). มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่.

ศิริพร เหล่าเทอดพงษ์. 2527. เอกสารประกอบการบรรยายวิชาปรับปรุงพันธุ์พืช. คณะผลิตกรรมการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีการเกษตรแม่โจ้ เชียงใหม่. 125 หน้า.

ศิรินทร์ จันทโพธิ์. 2554. ความถี่ของการเพิ่มชุดโครโมโซมพื้นฐานในกล้วยไม้บางชนิด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 156 น.

สห ตุลพงศ์. 2553. กีวีฟรุต. หน้า 122-139. ใน ไม้ผลเขตหนาว : ไม้ผลบนที่สูง. คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่.

สห ตุลพงศ์ วิรัตน์ ปราบทุกข์ วิพัฒน์ ดวงโภชน์ ชยาณ์ ไชยประสพและกชกร พุทธะ. 2556. การสร้างสายพันธุ์กีวีฟรุ๊ทโดยใช้สารเคมีเพิ่มชุดโครโมโซม. รายงานวิจัยประจำปี 2556. มูลนิธิโครงการหลวง. 37 หน้า.

สถาพร มณี สห ตุลพงศ์ สุรีย์พร เจรียงประเสริฐ และเศรษฐา ศิริพินท์. 2554. การเพิ่มชุดโครโมโซมและการผลิตต้นกล้าที่มีโครโมโซม 3 ชุด ของมะนาวน้ำหอม มะนาวแป้นทะวายและคัมควอทโดยการใช้สารโคลชิซินและไตรฟลูราลิน. หน้า 105. ใน การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัย

ระดับบัณฑิตศึกษา ครั้งที่ 12 วันที่ 28 มกราคม 2554 ณ อาคารวิทยาลัยการปกครองท้องถิ่น มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น.

สุนทรี ยิ่งชัชวาลย์ และพรชัย ไพบูลย์. 2560. ตัวอย่างความสำเร็จของเกษตรกรในการปรับสภาพโรงเรือนตามค่า VPD_{air} .ข่าวสารเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร. ฉบับที่ 2(9) : หน้า 5-12.

หมอเกษตร ทองกวาว. 2554. กีวีฟรุตกำเนิดที่จีนกลับไปรุ่งโรจน์ที่นิวซีแลนด์. เทคโนโลยีชาวบ้าน 23: (496) 80-81.

Amato, V. A., R. R. Hoverson and J. Hacskaylo. 1965. Microanatomical and morphological responses of corn and cotton to trifluralin. Proc. Assoc. Southern Agri. Workers Inc. 62: 234.

Bali, P. N. and S. L. Tandon. 1959 Morphological and cytological studies of the induced polyploidy in *Alyssum maritimum* Lam. Genetics 7:(2) 129-139.

Bayer, D. E., C. L. Foy and E. G. Cutter. 1967. Morphological and histological effects of trifluralin on root development. Amer. J. Bot. 54: 945-952.

Cramer, C. S. 1999. Laboratory techniques for determining ploidy in plants. Hortechnology 9:(4) 594-596.

De Nettancourt, D, 1997. Incompatibility in angiosperms. Sex Plant Reproduction 10: 185-199.

Ferguson, A. R. and A. G. Seal. 2008. Kiwifruit. pp. 235-264. *In* J. F. Hancock (ed.) Temperate Fruit Crop Breeding: Germplasm to Genomics. Springer Science+Business Media B.V., East Lansing, Oregon, USA.

Ferguson, A. R. and E. G. Ballard. 1990. Domestication of the kiwifruit. pp. 165-246. *In* I. J. Warrington and G. C. Weston (eds.) Kiwifruit: Science and Management. Ray Richards Publisher and NZ Soc. Hort. Sci. Auckland, New Zealand.

Ferguson, A. R. and H. W. Huang. 2007. Genetic resources of kiwifruit: Domestication and breeding. Hort. Rev. 33: 1-121.

Gmitter, F. G., Jr., X. B. Ling, C. Y. Cai, and J. W. Grosser. 1991 Colchicine induce polyploidy in *Citrus* embryogenic culture, somatic embryos and regenerated plant. Plant Science 74: 135-141.

Jackson, W. G. and D. SA. Steller. 1973. Regulation of mitosis. IV. An *in vitro* and ultrastructure study of effects of trifluralin. Can. J. Bot. 51: 1513-1516.

Wu J.H, A. R. Ferguson and B. G. Murray. 2011. Manipulation of ploidy for kiwifruit breeding : in vitro chromosome doubling in diploid *Actinidia chinensis* Planch. Plant Cell Tiss Organ Cult.106: 503 –511.

Wu J.H, A. R. Ferguson, B. G. Murray, Y. Jia, P. M. Datson and J. Zhang. 2012. Induced polyploidy dramatically increases the size and alters the shape of fruit in *Actinidia chinensis.* Annals of Botany.109: 169 –179.

1Kiermayer, O. 1972. Beeinflussung der postmitotischen Kernmigration von Micrasterias denticulate Brob. Ducrch das Herbizid Trifluralin. Protoplasma 75: 421-426.

Lignowski, E. M. and E. G. scott. 1971. Trifluralin and root growth. Plant Cell Physiol. Tokyo 12: 701-708.

Love, A. and D. Love. 1975. Plant chromosomes. Germany: Strauss & Cramer. Gmb H, D-6901 Leutershausen. 184 p.

Madon, M., M. M. Clyde, H. Hashim, M. Yusuf, H. Mat, and S. Saratha. 2005. Polyploid induction of oilpalm through colchicines and oryzalin treatments. J. Oilpalm Res. 17: 110-123.

Mishra, M. K. 1997. Stomatal characteristics at different ploidy level in *Coffea* L. Ann. Bot. 80: 689-692.

Myint, T. 2011. Frequency and occurrences of polyploid guava (*Psidium guajava* Linn.) seedling progenies by trifluralin application. Master's thesis, Maejo University, Chiang Mai, Thailand.

Oiyama, I. 1992. Studies on polyploidy breeding in citrus with special reference to the production of tetraploid citrus breeding. Fruit Tree Res. Stn. Bull., Ext. No. 3, p. 68.

Przywara, L., K. K. Pandey, and P. M. Sanders. 1988. Length of stomata as an indicator of ploidy level in Actinidia deliciosa. New Zealand J. Bot. 26: 179-182.

Sari, N., Abak and M. Pitrat. 1999. Comparison of ploid level screening methods in watermelon: *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum and Nakai. Scientia Horticulturae 82: 265-277.

Stebbin, G. 1971. Chromosome evolution of higher plant. Edward Arnold, London.

Toolapong.P., H. Komatsu and M. Iwamasa. 1995. "Triploid from small seed of polyembryonic citrus cultivars". **Proc. Sch. Agric. Kyushu Tokai Univ.** 14: 1-8.

Toolapong.P., H. Komatsu and M. Iwamasa. 1996. "Triploid and Haploid Progenies from small seeds of 'Banpeiyu a Pummelo', Crossed with 'Ruby Red' Grapefruit. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 65(2) : 255 – 260.

Toolapong, P. 1999. Relationship between nucleoli numbers and ploidy level in citrus hybrids progenies. Thai J. Agri. Sci. 32(2): 179-185.

Toolapong, S. 2008. Effect of trifluralin on production of male bicellular cells in "Sai Num Phueng" mandarin (*Citrus reticulata*), calamondin (*Citrofortunella mitis*) and "Paen" lime (*Citrus aurantifolia*). Mj. Int. J. Sci. Tech. 2:(02) 483-488.

Tripathi, A. M., S. Toolapong, S. Jariangprasert, and S. Siripin. 2008. Production of triploid seedling progenies from sweet and sour calamondin (*xCitrofortunella mitis* Ingram & Moore) by chemical. p. 48. *In* The 16th National Graduate Research Conference on March 11, 2008. at Maejo University, Chiang Mai.

Vainola, V. 2000. Polyploidization and early screening of *Rhododendron* hybrids. Euphytica 112: 239-44.

Volz, R., H. M. Gibbs and G. B. Luton. 1991. Varietion in fruitfulness among kiwifruit repiacement canes. pp. 443-449. In Seed International Symposium on Kiwifruit. Vol 2. Palmerston North: International Society for Horticultural Science.

Wakana, A., N. Hanada, S. M. Park, I. Fukudome, and K. Kajiwara. 2005. Production of tetraploid forms of acid citrus cultivars by top grafting of shoots with sprouting axillary buds treated with colchicines. J. Fac. Agri., Kyushu Uni. 50:(1) 93-102.

Wei, L., H. Dong-Nan, L. Hui, and C. Xiao-Yang. 2007. Polyploid induction of *Lespedeza formosa* by colchicines treatment. For. Stud. China 9:(4) 283-286.

Yan, G. J., A. R. Furguson, M. A. McNeilage, and B. G. Murray. 1997. Numerically unreduced (2n) gametes and sexual polyploidization in *Actinidia*. Euphytica 96: 267-272.

Zhu, D. Y., G. S. Lawes and I. L. Gordon. 2002. Estimates of genetic variability and heritability for vegetative and reproductive characters of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). Euphytica 124: 93-98.