วารสารแก่นเกษตร THAIJO

Content List Available at ThaiJo

Khon Kaen Agriculture Journal

Journal Home Page : https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agkasetkaj



อิทธิพลของวิธีการต่อกิ่ง และอิทธิพลชนิดของต้นตอในส้มโอพันธุ์เนื้อสีแดง ภายใต้สภาวะความเครียดจากการขาดน้ำที่รุนแรงที่มีผลต่อการชักนำการออกดอกของกิ่งพันธุ์ดีที่ปลูกในสภาพกระถาง

The effects of grafting techniques and type of rootstocks in red-flesh pummelo at severe water stress to induce the highest flowering of scion under container-grown

ประวิทย์ ธรรมทะ[1], ชานนท์ ลาภจิตร[1,2], ธัญญารัตน์ ตาอินต๊ะ[1,2], สังคม เตชะวงค์เสถียร[1,3] และ สุชีลา เตชะวงค์เสถียร[1,2]*

Prawit Thammatha[1], Chanon Lapjit[1,2], Tanyarat Tarinta[1,2], Sungcom Techawongstien[1,3] and Suchila Techawongstien[1,2]*

[1] สาขาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002
[1] Horticulture Section, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University 40002
[2] ศูนย์วิจัยปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อการเกษตรที่ยั่งยืน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002
[2] Plant Breeding Research Center for Sustainable, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University 40002
[3] กลุ่มวิจัยไม้ผลสำหรับภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
[3] Research Group for Fruit Crops in the Northeast, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand

บทคัดย่อ: การขยายพันธุ์ด้วยวิธีการต่อกิ่งมีความสำคัญต่อการผลิตส้มโอในเชิงการค้า อย่างไรก็ตามข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการชักนำการออกดอกของส้มโอที่มีวิธีการต่อกิ่งและชนิดของต้นตอที่แตกต่างกันนั้นมีจำกัด การศึกษานี้จึงมีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาอิทธิพลของวิธีการต่อกิ่ง และอิทธิพลของชนิดของต้นตอในส้มโอพันธุ์เนื้อสีแดง ภายใต้สภาวะความเครียดจากการขาดน้ำที่รุนแรงที่มีผลต่อการชักนำการออกดอกของกิ่งพันธุ์ดีที่ปลูกในสภาพกระถาง การทดลองแบบ 2x3 แฟกทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบล็อก (RCBD) จำนวน 3 ซ้ำ ๆ ละ 3 ต้น ปัจจัย A คือ วิธีการต่อกิ่ง 2 วิธี ปัจจัย B คือ ต้นตอ 3 ชนิด พบว่าอิทธิพลวิธีการต่อกิ่ง ชนิดต้นตอและปฏิสัมพันธ์ระหว่างวิธีการต่อกิ่งกับชนิดต้นตอให้ค่าเฉลี่ยของทั้ง 10 ลักษณะที่ศึกษามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ปัจจัยของการต่อกิ่งด้วยวิธีการเสียบข้างบนต้นตอที่ปลูกจากกิ่งตอนภายใต้สภาวะความเครียดที่รุนแรงให้ค่าเฉลี่ยจำนวนดอกของกิ่งพันธุ์ดีสูงที่สุด (13.00 ดอก/ต้น) เป็นผลมาจากการตอบสนองที่ต่อเนื่องดังต่อไปนี้ คือ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด การชักนำของปากใบ และประสิทธิภาพการใช้แสงของใบในต้นตอลดลง (1.53% 54.36 mmol/m^2/s และ 0.41 Fv/Fm ตามลำดับ) ขณะที่ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้าง และอัตราส่วนของ C:N เพิ่มขึ้น (177.17 mg/g DW และ 10.20% DW ตามลำดับ) และการแสดงออกของ *CiFT CsAP1* และ *SOC1* RNA ของกิ่งพันธุ์ดีเพิ่มขึ้น (16.66 21.70 และ0.91 AU ตามลำดับ) จึงส่งผลให้มีการออกดอกของกิ่งพันธุ์ดีได้สูงที่สุด

คำสำคัญ: การแสดงออกของยีน; การชักนำดอก; แล้ง; ต้นตอที่ปลูกจากกิ่งตอน; การต่อกิ่งแบบเสียบข้าง

ABSTRACT: Grafting propagation techniques is important for commercial pummelo production. However, information relating to flowering induction of pummelo with different grafting techniques and rootstock types are limited. The experiment was studied on the effects of grafting techniques (GT) and rootstock (RS) “KKU-105” at severe water stress to induce the highest flowering of scion under container-grown. Experiments were conducted

* Corresponding author: suctec@kku.ac.th

Received: date; August 11, 2022 Accepted: date; October 4, 2022 Published: date; March 8, 2023

under container-grown using a 2 × 3 factorial experiment in a randomized complete block design (RCBD) with three replications. Factor A consisted of two grafting techniques, while factor B consisted of three types of rootstock. The GT, RS, and GT x RS interactions were significantly different among the ten characteristics studied. Although a consistent tendency was observed for the interaction GT x RS of all characteristics, side–veneer grafting (SV) on air layering rootstock (RS1) had more flowers under higher water stress conditions (13.00 flowers/plant). This result may imply that decreases in total nitrogen, stomatal conductance, and chlorophyll fluorescence (1.53%, 54.36 mmol/m^2/s and 0.41 Fv/Fm, respectively) the increase of total non-structural carbohydrates and C:N ratio (177.17 mg/g DW and 10.20% DW, respectively) and upregulation of *CiFT, CsAP1*, and *SOC1* RNA in bud of scion (16.66, 21.70, and 0.91 AU, respectively) may induce the highest flowering of scion.
Keywords: gene expression; floral induction; drought stress; air layering rootstock; side–veneer grafting

บทนำ

การต่อกิ่งเป็นวิธีการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศในพืชยืนต้น โดยเฉพาะไม้ผลที่ใช้สำหรับการเพิ่มจำนวนต้นพร้อมทั้งปรับปรุงคุณภาพพืชผลทางการเกษตร (Ahsan et al., 2019; Zhao et al., 2020) อีกทั้งยังเป็นกระบวนการต่อกิ่งก้านหรือตาข้างจากส่วนหนึ่งของพืช (กิ่งพันธุ์ดี; scion) ต่อกิ่งเข้ากับพืชอีกชนิดหนึ่ง (ต้นตอ; rootstock) เพื่อให้ทั้งสองส่วนเติบโตไปด้วยกัน (Nawaz et al., 2016; Rasool et al., 2020) วิธีนี้มีประโยชน์อย่างมากในการขยายพันธุ์พืช การทนทานต่อความเครียดจากสิ่งไม่มีชีวิตและสิ่งมีชีวิต การเพิ่มความต้านทานโรคและแมลงศัตรูพืช และการลดระยะเยาว์วัย ฯลฯ (Harada, 2010; Goldschmidt, 2014) ปัจจุบันได้คัดเลือกชนิดของต้นตอให้เหมาะสมกับการนำไปใช้ประโยชน์ เช่น ต้นตอที่ปลูกจากการเพาะเมล็ด (direct seedling) และต้นตอที่ปลูกจากต้นที่ต่อกิ่ง (inter-rootstock) เพื่อป้องกันการเข้ากันไม่ได้ของต้นตอกับกิ่งพันธุ์ดี โดยต้นตอที่ปลูกจากต้นเพาะเมล็ดนิยมใช้ในการผลิตไม้ผลในเชิงธุรกิจ เนื่องจากเป็นต้นตอที่ดีขนส่งธาตุอาหารสู่กิ่งพันธุ์ดีได้ในปริมาณมาก ส่งผลให้กิ่งพันธุ์มีการเจริญเติบโตทางกิ่งใบได้ดี นอกจากนี้ต้นตอที่ปลูกจากกิ่งตอน (air layering rootstock) หรือการใช้กิ่งตอนปลูกในปัจจุบันได้รับความนิยมกันอย่างแพร่หลายเนื่องจากการปลูกด้วยกิ่งตอนจะมีการให้ผลผลิตที่รวดเร็วกว่าการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการอื่น ๆ และมีการตอบสนองที่ดีต่อการงดการให้น้ำส่งผลให้มีการออกดอกในปริมาณที่เหมาะสมต่อการผลิตส้มโอ จึงมีความเหมาะสมกับงานปรับปรุงพันธุ์พืชที่มีความต้องการชนิดของต้นตอและวิธีการที่สามารถย่นระยะเวลาและเร่งกระบวนการการออกดอกของไม้ผล

เทคนิคการต่อกิ่งในงานปรับปรุงพันธุ์นิยมใช้เพื่อย่นระยะเยาว์วัยให้พืชสามารถออกดอก เพื่อกระชับระยะเวลาการประเมินลูกผสมพันธุ์ใหม่ของไม้ผลให้เร็วขึ้น นอกจากนี้ต้นตอที่นิยมใช้ คือ ต้นตอที่เคยให้ผลผลิตแล้วหรือต้นตอระยะเต็มวัย (mature stage) เพื่อให้อิทธิพลของต้นตอชักนำให้กิ่งลูกผสมหรือกิ่งที่ยังไม่พร้อมออกดอกสามารถออกดอกได้ เนื่องจากต้นตอที่เคยให้ผลผลิตมีระยะการชักนำดอกในส่วนของเนื้อเยื่อเจริญ (Meristematic tissue) เปลี่ยนแปลงเป็นเนื้อเยื่อตาดอก (Floral primordia) (Zeevaart, 2006) นอกจากนี้ยังเป็นผลมาจากรอยต่อกิ่งถูกพัฒนาเปลี่ยนเป็นท่อน้ำและท่ออาหาร (Koepke and Dhingra, 2013) ทำหน้าที่แลกเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรต กรดอะมิโน และสารอาหารอื่น ๆ ระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี (Lucas et al., 2001; Kehr and Buhtz, 2008; Kragler, 2010) จากนั้นโมเลกุลอาร์เอ็นเอชนิด *Citrus FLOWERING LOCUS T (CiFT)* มีบทบาทที่สำคัญต่อกระบวนของการออกดอกในสกุลส้มโดยเฉพาะส้มโอ (Blázquez, 2000; Li et al., 2011; Nishikawa et al., 2017) ที่สร้างขึ้นที่ใบของต้นตอเคลื่อนที่ผ่านท่อลำเลียงอาหาร (Jin et al., 2021; Liu et al., 2021) สู่ท่อลำเลียงอาหารของกิ่งพันธุ์ดี และท่อลำเลียงอาหารของกิ่งพันธุ์ดีไปยังตายอดของกิ่งพันธุ์ดี (phloem to bud) นอกจากนี้เมื่อได้รับปัจจัยการชักนำดอกจากการแสดงออกของ อาร์เอ็นเอชนิด *CiFT* RNA จะทำหน้าที่กระตุ้นการแสดงออกของ *SOC1* และ *CsAP1* RNA ที่เกี่ยวกับการพัฒนาตาดอก (Soares et al., 2020)

อิทธิพลของความเครียดมีบทบาทสำคัญในการควบคุมการออกดอกของพืช (Shanker et al., 2014; Kazan and Lyons, 2016) ความเครียดจากการขาดน้ำหรือแล้ง เป็นอิทธิพลหลักที่ส่งผลกระทบต่อการออกดอกและการควบคุมการแสดงออกของอาร์เอ็นเอ (Chica, et al., 2013; Riboni et al., 2014) นอกจากนี้ระดับการแสดงออกของ *CiFT* RNA ยังพบว่ามีความสัมพันธ์กับสภาวะความเครียดจากการขาดน้ำ (Kazan and Lyons, 2016) และการแสดงออกของ *CiFT* RNA ที่เพิ่มสูงขึ้นจะส่งผลให้การออกดอกในปริมาณที่มากโดยมีความสัมพันธ์เชิงบวกสูง เมื่อเปรียบเทียบกับการได้รับความเครียดจากน้ำเล็กน้อย (Thammatha et al., 2021) การตอบสนองต่อความเครียดจากการขาดน้ำที่รุนแรงในลักษณะสัณฐานวิทยาการปิดปากใบเป็นสัญญาณบ่งชี้ว่าพืชได้รับความเครียดที่

รุนแรง (Sirault et al., 2015) ขณะที่การปิดปากใบและการลดไนโตรเจนเป็นสาเหตุหลักของกิจกรรมการสังเคราะห์แสงที่ลดลงภายใต้ความเครียดจากการขาดน้ำ (Luo et al., 2016; Yang et al., 2021) รวมถึงคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้างที่เพิ่มสูงขึ้นเป็นที่ยอมรับโดยทั่วไปว่าเป็นเกณฑ์สำคัญสำหรับการเริ่มต้นหรือส่งเสริมการออกดอก (Monerri et al., 2011; Pingping et al., 2017) และปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ลดต่ำจะเร่งการสะสมคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้างเพิ่มสูงขึ้นและส่งผลให้เกิดการลดโปรตีนสังเคราะห์แสง (photosynthetic proteins) รวมถึงรูบิสโก (Rubisco) และส่งผลย้อนกลับให้ปริมาณไนโตรเจนและความสามารถในการสังเคราะห์แสงลดลงต่ำมากกว่าเดิม ด้วยกลไกเหล่านี้ส่งผลให้เพิ่มการสะสมอัตราส่วนของ C:N สูงขึ้น และอัตราส่วนของ C:N ที่สูงขึ้นยังส่งผลต่อการยับยั้งการสังเคราะห์แสง (Araya et al., 2010) เมื่อมีการให้น้ำกลับคืนจะเกิดกระบวนการการย่อยสลายของคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้างเป็นโมเลกุลซูโครสในใบเพิ่มสูงขึ้น (Corbesier et al., 2002) โดยเฉพาะอย่างยิ่งซูโครสที่เพิ่มสูงขึ้นนั้น บางส่วนได้ทำหน้าที่สำคัญในการเพิ่มการแสดงออกของ *FT* (Cho et al., 2017) อย่างไรก็ตามข้อมูลเกี่ยวกับการตอบสนองทางสรีรวิทยาที่เกี่ยวข้องกับการแสดงออกของอาร์เอ็นเอที่เกี่ยวข้องกับการออกดอก และความสัมพันธ์ระหว่างกระบวนขนส่งสัญญาณระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีภายใต้สภาพความเครียดที่รุนแรงยังมีจำกัด และการศึกษานี้จะเป็นประโยชน์ต่อการนำไปใช้ย่นระยะเยาว์วัยของพืชสกุลส้มและเป็นข้อมูลกลไกที่สำคัญอย่างยิ่งต่อนักปรับปรุงพันธุ์ไม้ผลที่จะนำไปปรับใช้กับไม้ผลเศรษฐกิจอื่น ๆ ดังนั้นจุดมุ่งหมายของการศึกษานี้คือศึกษาอิทธิพลของวิธีการต่อกิ่ง และอิทธิพลของชนิดของต้นตอส้มโอเนื้อสีแดงพันธุ์ ‘KKU-105’ ภายใต้สภาวะความเครียดจากการขาดน้ำที่รุนแรงที่มีผลต่อการชักนำการออกดอกของกิ่งพันธุ์ดีที่ปลูกในสภาพกระถาง

วิธีการศึกษา

วัสดุพืชพันธุ์และการต่อกิ่ง

ต้นตอ (rootstock); พันธุ์ ‘KKU-105’ เป็นส้มโอเนื้อสีแดงพันธุ์ใหม่ แบ่งเป็นต้นตอ 3 แบบ คือ ต้นตอที่ปลูกจากกิ่งตอน (air layering rootstock; RS1) และต้นตอที่ปลูกจากต้นต่อกิ่ง (Inter-stock; RS2) และต้นตอปลูกจากต้นเพาะเมล็ด (direct seedling rootstock; RS3) ย้ายปลูกลงในกระถางพลาสติกขนาด 1000 มล. (0.53 ม. × 0.72 ม.; ก × ย) ที่มีวัสดุปลูก แกลบดิบ: แกลบดำ: พีทมอส: ขี้วัว (2:1:1:0.5) เมื่อเดือนเมษายน 2557 ดูแลรักษาต่อเนื่องจนต้นตออายุครบ 5 ปี โดยได้ความสูงต้นของต้นตอประมาณ 2 ม. และความกว้างทรงพุ่มประมาณ 1 ม. **กิ่งพันธุ์ดี (Scion);** พันธุ์ ‘ทับทิมสยาม’ เป็นส้มโอเนื้อสีแดงที่ได้รับนิยมปลูกจำนวนมากในพื้นที่อำเภอปากพนัง จังหวัดนครศรีธรรมราช อายุกิ่ง/ตาที่ใช้ระยะ 5 เดือน **การต่อกิ่ง (grafting);** ทำการเปิดเปลือกกิ่งตามแนวตั้งประมาณ 5 ซม. เลือกการต่อกิ่ง 2 วิธีการ ได้แก่ 1) การเสียบข้าง (side-veneer grafting; SV) การเตรียมกิ่งพันธุ์ดี ให้เฉือนโคนกิ่งเป็นรูปลิ่มยาวประมาณ 5.08 ซม. และเฉือนด้านเปลือกที่อยู่ตรงข้ามออกเล็กน้อย เสียบกิ่งเข้าไปในแผลที่เตรียมไว้บนต้นตอ และ 2) การติดตา (bud grafting; BG) เฉือนแผ่นตาจากกิ่งพันธุ์ดีและแกะเนื้อไม้ออกจากตาพันธุ์ดี หลังจากนั้นติดตาบนแผลของต้นตอ ทั้งสองวิธีการพันด้วยพาราฟิล์มเพื่อลดการคายน้ำ หลังจากการต่อกิ่งระยะเวลา 6 เดือน โดยให้ความเครียดจากการขาดน้ำจำนวน 18 วัน **(Figure 1)** เมื่อครบตามกำหนดดำเนินการให้น้ำกลับคืนจนถึงระดับความจุความชื้นสนาม ทำการศึกษาที่หมวดไม้ผล สาขาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น (latitude16° N21.145’, longitude 101° E48.916’) ระหว่างเดือนสิงหาคม 2561 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ 2562 แบ่งเป็น 2 ช่วง คือ 1) การต่อกิ่งช่วงเดือนสิงหาคม-ธันวาคม 2561 2) ช่วงของการงดน้ำเดือนมกราคม-กุมภาพันธ์ 2562 สภาพภูมิอากาศค่าเฉลี่ยของอุณหภูมิสูงสุด-ต่ำสุด, ค่าเฉลี่ยความชื้นสัมพันธ์, ปริมาณน้ำฝน (40°C 15°C 58% และ 13.9 มม. ตามลำดับ) การทดลองแบบ 2x3 แฟกทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบล็อก (randomized complete block design; RCBD) ปัจจัย A ประกอบด้วยต้นตอ 3 ชนิด (ต้นตอที่ปลูกจากกิ่งตอน ต้นตอที่ปลูกต้นต่อกิ่ง และต้นตอที่ปลูกจากต้นเพาะเมล็ด) ปัจจัย B ประกอบด้วยวิธีการต่อกิ่ง 2 วิธีการ (เสียบข้างและติดตา) จำนวน 3 ซ้ำ ๆ ละ 3 ต้น **(Figure 2)** บันทึกข้อมูลทุกวันก่อนและหลังการให้ความเครียดจากการขาดน้ำ 2 สัปดาห์ เวลา 10.00- 14.00 น.

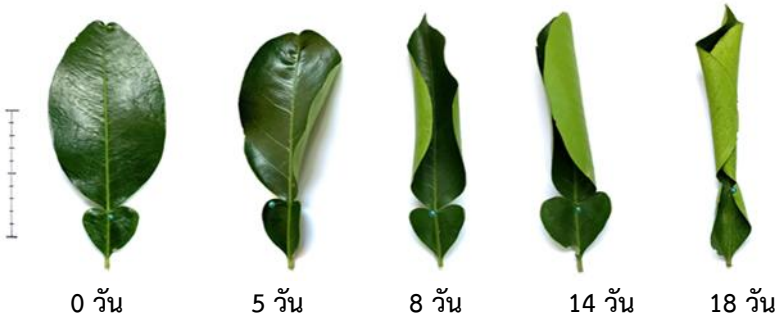


Figure 1 The flowering induction of scion red-flesh pummelo cultivars by severe water stress (18 days).

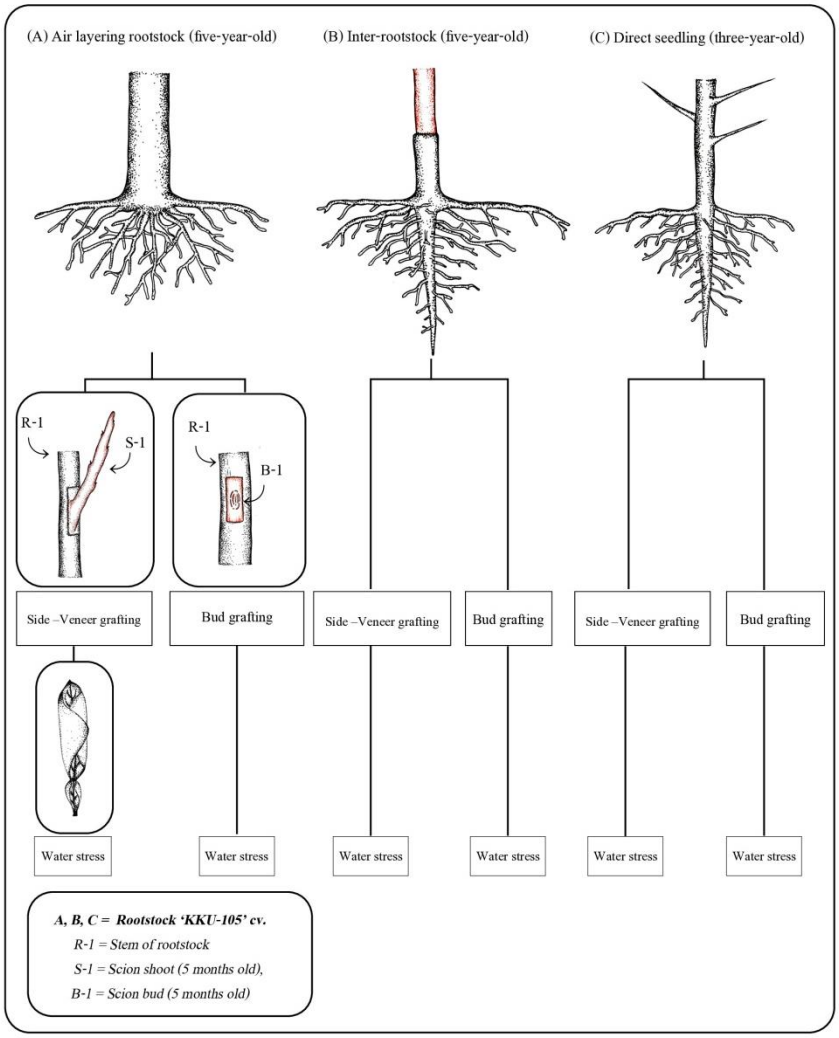


Figure 2 The schematic procedure for flowering induction of scion red-flesh pummelo cultivars by two different grafting techniques and three different types of rootstock under container grown at severe water stress.

การเก็บข้อมูลและบันทึกข้อมูลลักษณะทางสรีรวิทยา

การเจริญเติบโต (จำนวนดอกของต้นตอ และจำนวนดอกของกิ่งพันธุ์ดี; จำนวนดอกย่อยของแต่ละต้นตอและกิ่ง) ค่าการชักนำของปากใบ (การเปิดปิดปากใบ) โดยเครื่องพารามิเตอร์ (leaf porometer; Model AP4, Delta-T Devices Ltd., UK) ค่าประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุด (คลอโรฟิลฟลูเรสเซนต์) วัดปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสง photosystem II (Fv/Fm และ Fv/F0) เครื่อง

fluorometer (Hansatech, Kings Lynn, UK) ธาตุอาหารในใบ (ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Total nitrogen; TN) สกัดตามวิธีการของ Solorzano (1969) และวิเคราะห์ตามวิธีการของ Novozamsky et al. (1983) ปริมาณคาร์โบไฮเดรตไม่ใช่โครงสร้าง (Total non-structural carbohydrate; TNC) สกัดตามวิธีการของ Ross (1978) และวิเคราะห์ตามวิธีการของ Smith et al. (1964) และสัดส่วนของไนโตรเจนต่อคาร์โบไฮเดรตไม่ใช่โครงสร้าง) การเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ TN TNC และ C:N ratio ด้วยการเก็บใบแก่เต็มที่ อายุประมาณ 5 เดือน จำนวน 100 ก. ด้วยวิธีอบแห้งเยือกแข็งใช้ระบบสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ -50 °C ด้วยเครื่อง Freeze dry (Scanvac cool safe 55-9 Model) เวลาประมาณ 48 ชม. จนตัวอย่างมีความชื้นสุดท้ายประมาณ 5-10% และทำการบดตัวอย่างด้วยเครื่องบดตัวอย่าง เก็บรักษาตัวอย่างโดยการบรรจุใส่ถุงซิปล็อคปิดผนึกที่อุณหภูมิ -20 °C รอทำการสกัดตัวอย่าง

การเก็บข้อมูลและการบันทึกข้อมูลทางพันธุกรรม

การสกัดอาร์เอ็นเอและการสังเคราะห์ cDNA; การสกัดอาร์เอ็นเอจากตัวอย่างของใบ ลำต้น และตายอดของส้มโอเนื้อสีแดงตามวิธีการของ Sánchez et al. (2017) โดยใช้ชุดสกัด PureLink® Plant RNA Reagent (Thermo Fisher Scientific) ปฏิกิริยาการสังเคราะห์ cDNA ดำเนินการโดยใช้ ReverTra Ace®qPCR RT Master Mix กับ gDNA Remover (TOYOBO, Japan) เก็บตัวอย่างที่ -20°C **การวิเคราะห์การแสดงออกของยีน;** ระดับของการแสดงออกยีนถูกวัดด้วยระบบ PCR แบบเรียลไทม์ StepOnePlus (Thermo Fisher Scientific) โดยวิธี CT เปรียบเทียบ การเพิ่มจำนวนยีนโดยใช้ 10 ng ของ cDNA แต่ละตัวอย่างประกอบด้วย cDNA 2 uL, THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix 10 uL (TOYOBO, Japan), 6.8 uL ของน้ำที่ปราศจาก RNase-free, 0.6 uL ของไพร์เมอร์ (forward) และ 0.6 uL ของไพรเมอร์ (reverse) ไพร์เมอร์ที่ใช้ศึกษาประกอบด้วย CiFT (aCL6275Contig1); CsAP1 (aCL9055Contig1; CsLFY (aC34107C06EF_c); และ SOC1 (aCL2263Contig1) EST code คือ รายการฐานข้อมูลที่มีอยู่ใน Citrus Functional Genomics Project (CFGP; http://bioinfo.ibmcp.upv.es/genomics/cfgpDB/) (Muñoz-Fambuena et al., 2011) ยีนอ้างอิง (reference genes) ที่นำมาใช้ คือ FBOX และ SAND จาก Mafra et al. (2012) ด้วยความเข้มข้นของไพร์เมอร์สุดท้ายที่เจือจางสี่เท่า ปฏิกิริยาควบคุมเชิงลบประกอบปฏิกิริยาชุดตัวอย่าง RT-qPCR และใช้น้ำ RNase-free แทน cDNA สำหรับพารามิเตอร์สำหรับปฏิกิริยาถูกกำหนดไว้ดังนี้: 1 รอบของ pre-denaturation ที่ 95 °C เป็นเวลา 20 s; 40 รอบ ของ denaturation ที่ 95 °C เป็นเวลา 20 s, annealing ที่ 60°C เป็นเวลา 20 s, และ extension ที่ 72°C เป็นเวลา 40 s

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) การทดลองแบบ 2x3 แฟกทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบล็อก และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของลักษณะต่าง ๆ ด้วยวิธี least significant difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการศึกษา

ผลการศึกษาอิทธิพลของวิธีการต่อกิ่งที่แตกต่างกัน 2 วิธี และอิทธิพลของต้นตออายุ 5 ปี ที่แตกต่างกัน 3 ชนิด ปลูกในสภาพกระถาง ภายใต้สภาวะความเครียดของการขาดน้ำที่รุนแรง พบมีการตอบสนองของลักษณะสรีรวิทยา และการตอบสนองของลักษณะพันธุกรรมดังนี้

การตอบสนองของลักษณะสรีรวิทยา

ผลการศึกษาอิทธิพลวิธีการต่อกิ่ง (Grafting techniques; GT) ปลูกในสภาพกระถาง ภายใต้สภาวะความเครียดจากการขาดน้ำที่รุนแรง พบว่าลักษณะทางสรีรวิทยาทั้ง 7 ลักษณะที่ศึกษามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง **(Table 1)** โดยการต่อกิ่งด้วยวิธีเสียบข้างให้ค่าเฉลี่ยการชักนำของปากใบ ประสิทธิภาพการใช้แสงของใบ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของต้นตอต่ำที่สุด คือ 71.62 mmol/m^2/s 0.48 Fv/Fm และ 2.30% ตามลำดับ นอกจากนี้ยังให้ค่าเฉลี่ยปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้างของต้นตอ อัตราส่วน C:N ของต้นตอ จำนวนดอกของต้นตอ และจำนวนดอกของกิ่งพันธุ์ดีสูงที่สุด คือ 155.39 mg/g DW 8.29% DW 91.00 ดอก/ต้น และ 8.00 ดอก/ต้น ตามลำดับ อิทธิพลของชนิดต้นตอ (Rootstock; RS) อายุ 5 ปี ที่ปลูกในสภาพกระถาง ภายใต้สภาวะความเครียดจากการขาดน้ำที่รุนแรง พบว่าลักษณะทางสรีรวิทยาทั้ง 7 ลักษณะที่ศึกษามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยพบว่าต้นตออายุ 5 ปี ที่ปลูกจากกิ่งตอนให้ค่าเฉลี่ยการชักนำของปากใบ ประสิทธิภาพการใช้แสงของใบ และปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ของใบของต้น

ตอต่ำที่สุด คือ 61.20 mmol/m^2/s 0.49 Fv/Fm และ 1.70% ตามลำดับ นอกจากนี้ยังให้ค่าเฉลี่ยปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้างของต้นตอ อัตราส่วน C:N ของต้นตอ จำนวนดอกของต้นตอ และจำนวนดอกของกิ่งพันธุ์ดีสูงที่สุด คือ 171.43 mg/g DW 10.20% DW 156.00 ดอก/ต้น และ 13.00 ดอก/ต้น ตามลำดับ

อย่างไรก็ตามปฏิสัมพันธ์ระหว่างวิธีการต่อกิ่งกับชนิดต้นตอ (GT x RS) ปลูกในสภาพกระถาง ภายใต้สภาวะความเครียดจากการขาดน้ำที่รุนแรง พบว่าลักษณะทางสรีรวิทยาทั้ง 7 ลักษณะที่ศึกษามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ซึ่งหมายถึงวิธีต่อกิ่งแต่ละวิธีให้ค่าเฉลี่ยทั้ง 7 ลักษณะที่ศึกษาแตกต่างกันบนต้นตอแต่ละชนิดที่แตกต่างกัน ทั้งนี้การต่อกิ่งด้วยวิธีเสียบข้างบนต้นตออายุ 5 ปี ที่ปลูกจากกิ่งตอนให้ค่าเฉลี่ยการชักนำของปากใบ ประสิทธิภาพการใช้แสงของใบ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของต้นตอต่ำที่สุด คือ 54.36 mmol/m^2/s 0.41 Fv/Fm และ 1.53% ตามลำดับ และยังให้ค่าเฉลี่ย ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้างของต้นตอ อัตราส่วน C:N ของต้นตอ จำนวนดอกของต้นตอ และจำนวนดอกของกิ่งพันธุ์ดีสูงที่สุด คือ 177.17 mg/g DW 11.58% DW 169.00 ดอก/ต้น และ 15.00 ดอก/ต้น ตามลำดับ

Table 1 Stomatal conductance, chlorophyll fluorescence, total nitrogen, total non-structural carbohydrates, total non-structural carbohydrates per total nitrogen (C: N ratio) flower of rootstock, and flower of scion by two different grafting techniques and three different types of rootstock under container grown at severe water stress

Treatments	Stomatal conductance (mmol/ m^{-2}/s)	Chlorophyll fluorescence (Fv/Fm)	Total non-structural carbohydrates (mg/g DW)	Total nitrogen (%)	C: N ratio (% DW)	Flower of rootstock (flower/plant)	Flower of scion (flower/plant)
grafting techniques (GT)							
Side-veneer; SV	71.62$^{b/x}$	0.48^{b}	155.39^{a}	2.03^{b}	8.29^{a}	91.00^{a}	8.00^{a}
Bud; BG	83.49^{a}	0.59^{a}	145.60^{b}	2.28^{a}	6.63^{b}	79.67^{b}	3.66^{b}
rootstock (RS)							
Air layering; RS1	61.20^{c}	0.49^{c}	171.43^{a}	1.70^{c}	10.20^{a}	156.00^{a}	13.00^{a}
Inter-stock; RS2	79.78^{b}	0.51^{b}	145.01^{b}	2.02^{b}	7.25^{b}	52.00^{b}	4.50^{b}
Direct seedling; RS3	91.70^{a}	0.60^{a}	135.05^{c}	2.73^{a}	4.93^{c}	0.00^{c}	0.00^{c}
Interaction RS x GT							
SV RS1	54.36^{c}	0.41^{c}	177.17^{a}	1.53^{d}	11.58^{a}	169.00^{a}	15.00^{a}
RS2	69.86^{b}	0.42^{c}	153.93^{c}	1.84^{c}	8.33^{b}	104.00^{c}	9.00^{c}
RS3	90.63^{a}	0.60^{ab}	135.10^{d}	2.71^{a}	4.98^{d}	0.00^{d}	0.00^{d}
BG RS1	68.03^{b}	0.57^{b}	165.70^{b}	1.87^{c}	8.83^{b}	143.00^{b}	11.00^{b}
RS2	89.70^{a}	0.61^{a}	136.10^{d}	2.20^{b}	6.17^{c}	96.00^{c}	0.00^{d}
RS3	92.76^{a}	0.61^{a}	135.00^{d}	2.75^{a}	4.89^{d}	0.00^{d}	0.00^{d}
GT	**	**	**	**	**	**	**
RS	**	**	**	**	**	**	**
GT x RS	**	**	*	*	*	**	**
CV%	2.39	3.10	2.00	4.27	5.27	15.43	17.98

[x] Means within a column followed by the same common letter are not significantly different (at P ≤ .05) by LSD

การตอบสนองของลักษณะทางพันธุกรรม

ผลการศึกษาอิทธิพลวิธีการต่อกิ่ง (GT) ที่ปลูกในสภาพกระถาง ภายใต้สภาวะความเครียดจากการขาดน้ำที่รุนแรง การแสดงออกของอาร์เอ็นเอทั้ง 3 ชนิด (*CiFT* (a_1), *CsAP1* (a_2) และ *SOC1* RNA (a_3) ในชิ้นส่วนพืชที่ต่างกัน 2 ชิ้นส่วน (ใบของต้นตอ; b_1 และตายอดกิ่งพันธุ์ดี; b_2) พบว่าการแสดงออกของ *CiFT* RNA (a_1b_2) และ *SOC1* RNA (a_3b_1) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ **(Figure 2)** แต่มีผลต่อการแสดงออกของ *CiFT* (a_1b_1), *CsAP1* (a_2b_1 และ a_2b_2) และ *SOC1* RNA(a_3b_2) มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยการต่อกิ่งด้วยวิธีเสียบข้างให้ค่าเฉลี่ยการแสดงออกของอาร์เอ็นเอทั้ง 3 ชนิด พบในทั้งสองชิ้นส่วนพืชสูงกว่าการต่อกิ่งด้วยวิธีการติดตา นอกจากนี้การต่อกิ่งด้วยวิธีเสียบข้างยังให้ค่าเฉลี่ยการแสดงออกของอาร์เอ็นเอทั้ง 3 ชนิด ในชิ้นส่วน b_2 สูงกว่าชิ้นส่วน b_1 คือ การแสดงออกของ *CiFT* RNA (10.50 และ 6.45 AU ตามลำดับ) *CsAP1* RNA (12.52 และ 0.86 AU ตามลำดับ) และ *SOC1* RNA (0.67 และ 0.17 AU ตามลำดับ) สำหรับอิทธิพลชนิดต้นตอ (RS) อายุ 5 ปี ที่ปลูกในสภาพกระถาง ภายใต้สภาวะความเครียดจากการขาดน้ำที่รุนแรง พบว่าการแสดงออกของอาร์เอ็นเอทั้ง 3 ชนิด ในทั้งสองชิ้นส่วนพืชมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยพบว่าต้นตอชนิดที่ปลูกจากต้นเพาะเมล็ดให้ค่าเฉลี่ยการแสดงออกของอาร์เอ็นเอทั้ง 3 ชนิด ในทั้งสองชิ้นส่วนพืชต่ำที่สุด แต่ต้นตอชนิดที่ปลูกจาก

กิ่งตอนให้ค่าเฉลี่ยการแสดงออกของอาร์เอ็นเอทั้ง 3 ชนิด ในทั้งสองชิ้นส่วนพืชสูงที่สุด นอกจากนี้ยังให้ค่าเฉลี่ยการแสดงออกของอาร์เอ็นเอทั้ง 3 ชนิด ในชิ้นส่วน b_2 สูงกว่าชิ้นส่วน b_1 คือ การแสดงออกของ *CiFT* RNA (16.66 และ 10.30 AU ตามลำดับ) *CsAP1* RNA (20.80 และ1.29 AU ตามลำดับ) และ *SOC1* RNA (0.90 และ 0.35 AU ตามลำดับ)

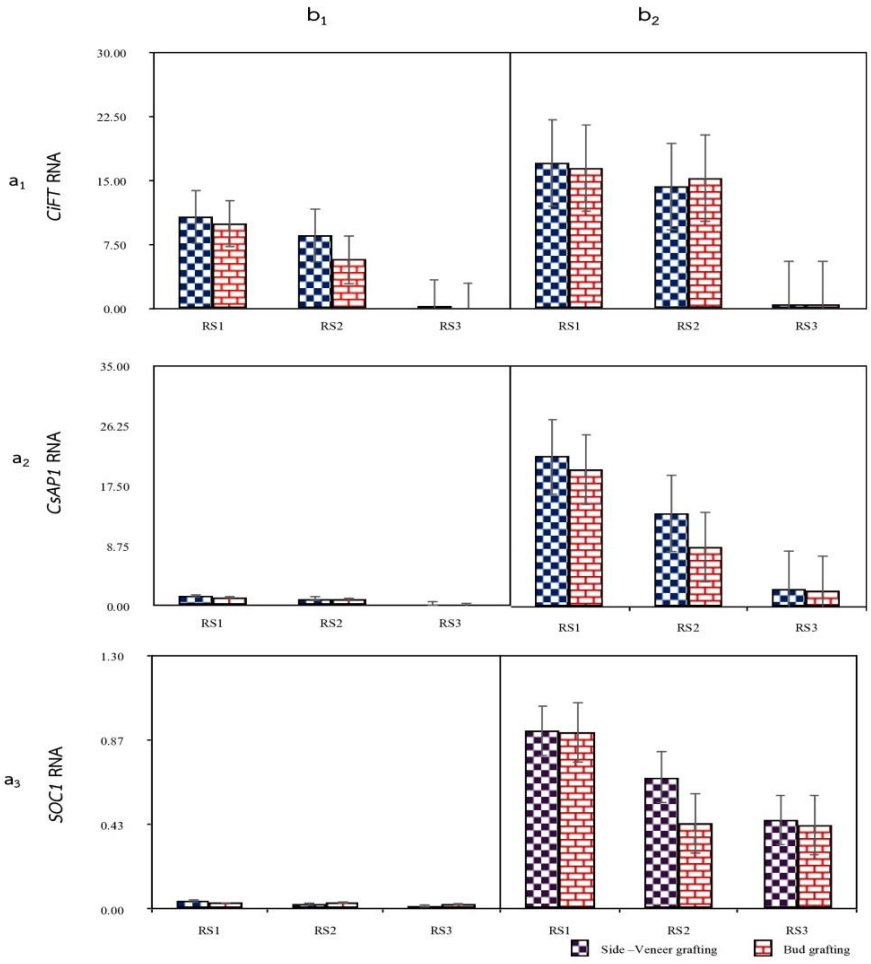


Figure 3 The expression of 3 RNA; *CiFT* (a_1), *CsAP1* (a_2), and *SOC1* RNA(a_3) in leaves of rootstock (b_1) and scion (b_2) by two different grafting techniques and three different types of rootstock under container grown at severe water stress.

อย่างไรก็ตามปฏิสัมพันธ์ระหว่างวิธีการต่อกิ่งกับชนิดของต้นตอ (GT x RS) อายุ 5 ปี ปลูกในสภาพกระถางภายใต้สภาวะความเครียดจากการขาดน้ำที่รุนแรง พบว่าการแสดงออกของอาร์เอ็นเอทั้ง 3 ชนิด *(CiFT CsAP1* และ *SOC1* RNA) พบในทั้งสองชิ้นส่วนพืชมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ซึ่งหมายถึงวิธีต่อกิ่งแต่ละวิธีให้ค่าเฉลี่ยการแสดงออกของอาร์เอ็นเอทั้ง 3 ชนิด ในทั้งสองชิ้นส่วนพืชแตกต่างกันบนต้นตอที่แตกต่างกัน โดยพบว่าการต่อกิ่งด้วยทั้งสองวิธีการบนต้นตอชนิดที่ปลูกจากต้นเพาะเมล็ดให้ค่าเฉลี่ยการแสดงออกของอาร์เอ็นเอทั้ง 3 ชนิด ทั้งสองชิ้นส่วนพืชต่ำที่สุด แต่บนต้นตอชนิดที่ปลูกจากกิ่งตอนให้ค่าเฉลี่ยการแสดงออกของอาร์เอ็นเอทั้ง 3 ชนิด ในทั้งสองชิ้นส่วนพืชสูงที่สุด นอกจากนี้ยังให้ค่าเฉลี่ยการแสดงออกของอาร์เอ็นเอทั้ง 3 ชนิด ในชิ้นส่วน b_2 สูงกว่าชิ้นส่วน b_1 คือ การแสดงออกของ *CiFT* RNA (17.01 และ 10.70 AU ตามลำดับ) *CsAP1* RNA (21.70 และ1.40 AU ตามลำดับ และ *SOC1* RNA (0.91 และ 0.41 AU ตามลำดับ)

วิจารณ์

การปลูกส้มโอในกระถางภายใต้สภาวะความเครียดจากการขาดน้ำที่รุนแรงให้การออกดอกของกิ่งพันธุ์ดีสูงที่สุดด้วยการต่อกิ่งแบบเสียบข้างบนต้นตอที่ปลูกจากกิ่งตอน เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการอื่น ๆ สามารถอธิบายได้จากการตอบสนองทางสรีรวิทยา และการแสดงออกของอาร์เอ็นเอจาก 3 กระบวนการที่ต่อเนื่องกัน ดังนี้ โดยปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด การชักนำของปากใบ และประสิทธิภาพการใช้แสงของใบในต้นตอที่ปลูกจากกิ่งตอนลดลงมากที่สุด; ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้างและอัตราส่วนของ C:N ของต้นตอที่ปลูกจากกิ่งตอนเพิ่มขึ้นมากที่สุด; และการแสดงออกของอาร์เอ็นเอทั้ง 3 ชนิด ของกิ่งพันธุ์ดีบนต้นตอที่ปลูกจากกิ่งตอนเพิ่มขึ้นมากที่สุด และส่งผลถึงการออกดอกมากที่สุดของกิ่งพันธุ์ดีบนต้นตอที่ปลูกจากกิ่งตอนเท่านั้น ซึ่งสามารถอธิบายในแต่ละกระบวนการดังรายละเอียดต่อไปนี้

การลดลงของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด การชักนำของปากใบ และประสิทธิภาพการใช้แสงของใบในกิ่งพันธุ์ดีที่ต่อกิ่งด้วยวิธีแบบเสียบข้างบนต้นตอที่ปลูกจากกิ่งตอน เมื่อเปรียบเทียบกับหน่วยทดลองอื่น สามารถอธิบายได้ว่า ต้นตอที่มาจาก กิ่งตอน ต่อกิ่ง และเพาะเมล็ดที่แม้จะมีอายุของต้นตอ 5 ปีที่เท่ากัน แต่มีความแตกต่างทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และชีวเคมี โดยเฉพาะความแข็งแรงของระบบราก ลำต้น และใบ โดยต้นตอที่มาจากกิ่งตอนเป็นต้นตอที่อยู่ในระยะโตเต็มวัย (Mauro et al., 2020) จึงมีการดูดซึมและการสะสมปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเข้าสู่ต้นในปริมาณที่น้อย ทั้งนี้เพราะมีความต้องการใช้ไนโตรเจนเพื่อการพัฒนากิ่งใบในปริมาณที่ต่ำ (Sorgonà et al., 2005) เมื่อได้รับความเครียดจากการขาดน้ำที่รุนแรง การดูดซึมน้ำและไนโตรเจนลดลงชัดเจนส่งผลให้การปิดปากใบเพิ่มสูงขึ้น (การชักนำของปากใบต่ำ) และการลดการสังเคราะห์ด้วยแสง (ประสิทธิภาพการใช้แสงของใบต่ำ) ของกิ่งพันธุ์ นำไปสู่การสะสมคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้างและเพิ่มอัตราส่วน C:N แสดงถึงต้นตอระยะโตเต็มวัยเริ่มมีการเตรียมความพร้อมสู่การออกดอก (Aminifard et al., 2012; Trenti et al., 2021) นอกจากนี้ปัจจัยวิธีการต่อกิ่งวิธีแบบเสียบข้างมีผลต่อปริมาณไนโตรเจนลดลงมากกว่าวิธีการติดตา เป็นผลมาจากวิธีการติดตาเกิดกระบวนการการกลับคืนสู่ระยะเยาว์วัย (re-juvenile) ของกิ่งพันธุ์ดีจึงมีการสะสมไนโตรเจนในปริมาณที่สูงเพื่อใช้ในการเจริญกิ่งใบ (Basheer-Salimia, 2007; Nurhazwani et al., 2021) และเมื่อใช้วิธีการเสียบข้างบนต้นตอที่ปลูกจากกิ่งตอนการลดลงของทั้งปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด การชักนำของปากใบ และประสิทธิภาพการใช้แสงของใบ จึงมีความรุนแรงมากกว่าหน่วยทดลองอื่น อย่างไรก็ตามในทั้งต้นตอต่อกิ่งและต้นตอเพาะเมล็ดจะอยู่ในระยะเยาว์วัยพบการสะสมปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดยังคงมีปริมาณที่สูงเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตกิ่งใบ (Sorgonà et al., 2005) และเมื่อให้ความเครียดจากการขาดน้ำปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่สูงจะช่วยให้กระบวนการชักนำของปากใบ และประสิทธิภาพการใช้แสงของใบยังคงสามารถดำเนินต่อได้ (Yang et al., 2021)

การเพิ่มขึ้นของปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้าง และอัตราส่วนของ C:N ในกิ่งพันธุ์ดีที่ต่อกิ่งด้วยวิธีแบบเสียบข้างบนต้นตอที่ปลูกจากกิ่งตอน เมื่อเปรียบเทียบกับหน่วยทดลองอื่น สามารถอธิบายได้ว่าต้นตอมีชนิดที่แตกต่างกันแม้จะมีอายุของต้นตอ 5 ปีที่เท่ากันเมื่อให้ความเครียดจากการขาดน้ำโดยต้นตอระยะโตเต็มวัย โดยเฉพาะต้นตอที่ปลูกจากกิ่งตอนให้การสะสมคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้างและเพิ่มอัตราส่วน C:N ที่สูงขึ้นสอดคล้องกับการลดลงปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด การชักนำของปากใบ และประสิทธิภาพการใช้แสงของใบ เนื่องจากเริ่มต้นการสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้างที่มีความสัมพันธ์กับปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ลดต่ำจะเร่งการสะสมคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้าง และการเพิ่มการสะสมคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้างในใบจะส่งผลให้ไนโตรเจนทั้งหมดในใบลดลงและการยับยั้งประสิทธิภาพการใช้แสงของใบ (Araya et al., 2010; Boussadia et al., 2010) เมื่อมีการลดลงของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่รุนแรงและการเพิ่มขึ้นของคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้างส่งผลให้อัตราส่วนของ C:N จึงเพิ่มสูงขึ้นตาม นอกจากนี้จะพบว่าทั้งต้นตอต่อกิ่งและต้นตอเพาะเมล็ดมีการสะสมคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้างได้ต่ำ เนื่องจากต้นตอระยะเยาว์วัยยังคงให้ค่าปริมาณไนโตรเจนที่สูง และส่งผลให้กระบวนสังเคราะห์แสงยังสามารถเกิดขึ้นใกล้เคียงสภาพปกติและยังคงมีการพัฒนาของกิ่งใบได้ จึงไม่เกิดการสะสมคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้างและอัตราส่วนของ C:N (Serodio et al., 2021) จึงไม่สามารถยับยั้งการสังเคราะห์แสงเหมือนในต้นตอระยะเต็มวัยได้ (Araya et al., 2010) อย่างไรก็ตามปัจจัยวิธีการต่อกิ่งยังส่งผลให้มีการสะสมของปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้างที่แตกต่างกัน โดยวิธีการต่อกิ่งมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงกระบวนการสรีรวิทยา และชีวเคมี เนื่องจากเกิดการแลกเปลี่ยนระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ของฮอร์โมน ชีวเคมี และตัวส่งสัญญาณที่สำคัญ (Kragler, 2010) ทั้งนี้วิธีการเสียบข้างบนต้นตอที่ปลูกจากกิ่ง

ตอนจะมีการแลกเปลี่ยนและสะสมคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้างที่สูงเป็นผลมาจากการต่อกิ่งวิธีเสียบข้าง ในส่วนของกิ่งพันธุ์ดีไม่มีการกลับคืนสู่ระยะเยาว์วัยหรือพัฒนากิ่งใบที่ต่ำเหมือนวิธีการติดตา และปัจจัยของต้นตอมีอิทธิพลมากที่สุดสำหรับการเพิ่มการสะสมปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้างและอัตราส่วนของ C:N ที่มีผลต่อการชักนำการออกดอก (Foster et al., 2014; Bennici et al., 2021)

การเพิ่มขึ้นของการแสดงออกของอาร์เอ็นเอทั้ง 3 ชนิด (*CiFT CsAP1* และ *SOC1* RNA) ในกิ่งพันธุ์ดีต่อกิ่งด้วยวิธีแบบเสียบข้างบนต้นตอที่ปลูกจากกิ่งตอน เมื่อเปรียบเทียบกับหน่วยทดลองอื่น สามารถอธิบายได้ว่าต้นตอทั้ง 3 ชนิดถึงแม้จะมีอายุของต้นตอที่เท่ากัน แต่เมื่อให้ความเครียดจากการขาดน้ำพบว่าต้นตอระยะโตเต็มวัย โดยเฉพาะต้นตอที่ปลูกจากกิ่งตอนให้การแสดงออกของอาร์เอ็นเอสูงที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการสะสมคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้าง และอัตราส่วน C:N ที่สูงขึ้น เมื่อมีการให้น้ำอีกครั้งการแสดงออกของ *CiFT* RNA เพิ่มสูงขึ้นในใบของต้นตอระยะโตเต็มวัยจะถูกลำเลียงผ่านท่อลำเลียงอาหารไปยังเนื้อเยื่อปลายยอดของกิ่งพันธุ์ดี โดยผ่านรอยต่อของการต่อกิ่ง (Graft Union) กระบวนการนี้เกิดขึ้นหลังจากการต่อกิ่งของต้นตอและกิ่งพันธุ์เข้ากันได้อย่างสมบูรณ์ โดยวิธีการต่อกิ่งที่แตกต่างกันจะมีการผสานกันของรอยต่อเป็นแคลลัสที่พัฒนาเป็นท่อน้ำและท่ออาหารที่แตกต่างกัน (Koepke and Dhingra, 2013) การทำหน้าที่เป็นทางผ่านของการตอบสนองต่อความเครียดจากการขาดน้ำที่รุนแรงจากต้นตอไปสู่กิ่งพันธุ์ดีจึงแตกต่างกัน (Valverdi et al., 2021) สำหรับการแสดงออกของอาร์เอ็นเอทั้ง 3 ชนิด ของกิ่งพันธุ์ดีที่ต่อกิ่งด้วยวิธีแบบเสียบข้างบนต้นตอที่ปลูกจากกิ่งตอนที่เพิ่มขึ้นมีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการสุดท้ายในการสร้างตาดอก (Nishikawa et al., 2007; Kim et al., 2020) ทั้งนี้การแสดงออกของ *CiFT* RNA จะทำหน้าที่กระตุ้นการแสดงออกของ *SOC1* และ *CsAP1* RNA ซึ่งเป็นอาร์เอ็นเอชนิดที่เกี่ยวกับการพัฒนาตาดอก (Soares et al., 2020) อย่างไรก็ตามการต่อกิ่งบนต้นระยะเยาว์วัย พบว่ามีการย่อยสลายของคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้างเป็นโมเลกุลซูโครสในใบของทั้งต้นตอต่อกิ่งและต้นตอเพาะเมล็ดเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย จึงมีผลต่อการแสดงออกของ *CiFT* RNA ในปริมาณที่ต่ำ ทำให้ไม่สามารถชักนำการออกดอกได้ (Cho et al., 2017)

สรุปการปลูกส้มโอในกระถางภายใต้สภาวะความเครียดจากการขาดน้ำที่รุนแรง พบว่าให้การออกดอกของกิ่งพันธุ์ดีสูงที่สุดด้วยการต่อกิ่งวิธีแบบเสียบข้างบนต้นตอที่ปลูกจากกิ่งตอน เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการอื่น ๆ สามารถอธิบายได้จากการตอบสนองทางสรีรวิทยา และการแสดงออกของอาร์เอ็นเอโดยเป็นผลมาจาก 3 กระบวนการที่ต่อเนื่องกัน คือ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด การชักนำของปากใบ และประสิทธิภาพการใช้แสงของใบของต้นตอที่ปลูกจากกิ่งตอนลดลงมากที่สุด ส่งผลให้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้างและอัตราส่วนของ C:N ของต้นตอที่ปลูกจากกิ่งตอนเพิ่มขึ้นมากที่สุดนำไปสู่การแสดงออกของอาร์เอ็นเอทั้ง 3 ชนิดของกิ่งพันธุ์ดีบนต้นตอที่ปลูกจากกิ่งตอนเพิ่มขึ้นมากที่สุด โดยพบว่ากระบวนการสรีรวิทยาและการแสดงออกของอาร์เอ็นเอที่เกิดขึ้นส่งผลถึงการออกดอกมากที่สุดของกิ่งพันธุ์ดีบนต้นตอที่ปลูกจากกิ่งตอนเท่านั้น

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณทุนวิจัยโครงการปริญญาเอกกาญจนาภิเษก (คปก.) รุ่นที่ 19 สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) สำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.) กลุ่มวิจัยไม้ผลสำหรับภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ศูนย์วิจัยปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อการเกษตรที่ยั่งยืน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และ Division of Agronomy and Horticultural Science, Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Japan ที่ได้สนับสนุนงบประมาณสำหรับการดำเนินการวิจัยและอำนวยความสะดวกในการทำวิจัยอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

Ahsan, M.U., A. Hayward, M. Alam, J.H. Bandaralage, B. Topp, C.A. Beveridge, and N. Mitter. 2019. Scion control of miRNA abundance and tree maturity in grafted avocado. BMC plant biology. 19(1): 1-11.

Aminifard, M.H., H. Aroiee, H. Nemati, M. Azizi, and M. Khayyat. 2012. Effect of nitrogen fertilizer on vegetative and reproductive growth of pepper plants under field conditions. Journal of plant nutrition. 35(2): 235-242.

Araya, T., K. Noguchi, and I. Terashima. 2010. Effect of nitrogen nutrition on the carbohydrate repression of photosynthesis in leaves of *Phaseolus vulgaris* L. Journal of Plant Research. 123(3): 371-379.

Basheer-Salimia, R. 2007. Juvenility, maturity, and rejuvenation in woody plants. Hebron Univ Res J. 3(1): 17-43.

Bennici, S., G. Las Casas, G. Distefano, A. Gentile, G. Lana, M.D. Di Guardo, E. Nicolosi, S. La Malfa, and A. Continella. 2021. Rootstock affects floral induction in citrus engaging the expression of the flowering locust (Cift). Agriculture. 11(2): 140.

Blázquez, M.A. 2000. Flower development pathways. Journal of Cell Science. 113(20): 3547-3548.

Boussadia, O., K. Steppe, H. Zgallai, S.B. El Hadj, M. Braham, R. Lemeur, and M.C. Van Labeke. 2010. Effects of nitrogen deficiency on leaf photosynthesis, carbohydrate status and biomass production in two olive cultivars ‘Meski’and ‘Koroneiki’. Scientia Horticulturae. 123(3): 336-342.

Chica, E.J., and L.G. Albrigo. 2013. Expression of flower promoting genes in sweet orange during floral inductive water deficits. Journal of the American Society for Horticultural Science. 138(2): 88-94.

Cho, L.H., J. Yoon, and G. An. 2017. The control of flowering time by environmental factors. The Plant Journal. 90(4): 708-719.

Corbesier, L., G. Bernier, and C. Périlleux. 2002. C: N ratio increases in the phloem sap during floral transition of the long-day plants Sinapis alba and Arabidopsis thaliana. Plant and Cell Physiology. 43(6): 684-688.

Foster, T.M., P.A. McAtee, C.N. Waite, H.L. Boldingh, and T.K. McGhie. 2017. Apple dwarfing rootstocks exhibit an imbalance in carbohydrate allocation and reduced cell growth and metabolism. Horticulture research. 4.

Goldschmidt, E.E. 2014. Plant grafting: new mechanisms, evolutionary implications. Frontiers in plant Science. 5: 727.

Harada, T. 2010. Grafting and RNA transport via phloem tissue in horticultural plants. Scientia Horticulturae. 125(4): 545-550.

Jin, S., Z. Nasim, H. Susila, and J.H. Ahn. 2021, January. Evolution and functional diversification of *FLOWERING LOCUS T/TERMINAL FLOWER 1* family genes in plants. In Seminars in cell & developmental biology. 109: 20-30.

Kazan, K., and R. Lyons. 2016. The link between flowering time and stress tolerance. Journal of experimental botany. 67(1): 47-60.

Kehr, J., and A. Buhtz. 2008. Long distance transport and movement of RNA through the phloem. Journal of experimental botany. 59(1): 85-92.

Kim, D.H. 2020. Current understanding of flowering pathways in plants: focusing on the vernalization pathway in Arabidopsis and several vegetable crop plants. Horticulture, Environment, and Biotechnology. 61(2): 209-227.

Koepke, T., and A. Dhingra. 2013. Rootstock scion somatogenetic interactions in perennial composite plants. Plant cell reports. 32(9): 1321-1337.

Kragler, F. 2010. RNA in the phloem: A crisis or a return on investment?. Plant Science. 178(2): 99-104.

Li, C., M. Gu, N. Shi, H. Zhang, X. Yang, T. Osman, Y. Liu, H. Wang, M. Vatish, S. Jackson, and Y. Hong. 2011. Mobile FT mRNA contributes to the systemic florigen signalling in floral induction. Scientific reports. 1(1):1-6.

Liu, L., L. Xuan, Y. Jiang, and H. Yu. 2021. Regulation by *FLOWERING LOCUS T* and *TERMINAL FLOWER 1* in

flowering time and plant architecture. Small Structures. 2(4): 2000125.

Lucas, W.J., B.C. Yoo, and F. Kragler. 2001. RNA as a long-distance information macromolecule in plants. Nature Reviews Molecular Cell Biology. 2(11): 849-857.

Luo, H.H., Y.L. Zhang, and W.F. Zhang. 2016. Effects of water stress and rewatering on photosynthesis, root activity, and yield of cotton with drip irrigation under mulch. Photosynthetica. 54(1): 65-73.

Mauro, R.P., M. Agnello, M. Distefano, L. Sabatino, A. San Bautista Primo, C. Leonardi, and F. Giuffrida. 2020. Chlorophyll fluorescence, photosynthesis and growth of tomato plants as affected by long-term oxygen root zone deprivation and grafting. Agronomy. 10(1): 137.

Monerri, C., A. Fortunato-Almeida, R.V. Molina, S.G. Nebauer, A. Garcia-Luis, and J.L. Guardiola. 2011. Relation of carbohydrate reserves with the forthcoming crop, flower formation and photosynthetic rate, in the alternate bearing 'Salustiana'sweet orange (*Citrus sinensis* L.). Scientia Horticulturae. 129(1): 71-78.

Nawaz, M. A., M. Imtiaz, Q. Kong, F. Cheng, W. Ahmed, Y. Huang, and Z. Bie. 2016. Grafting: a technique to modify ion accumulation in horticultural crops. Frontiers in plant science. 7: 1457.

Nishikawa, F., T. Endo, T. Shimada, H. Fujii, T. Shimizu, M. Omura, and Y. Ikoma. 2007. Increased *CiFT* abundance in the stem correlates with floral induction by low temperature in Satsuma mandarin (*Citrus unshiu Marc*.). Journal of experimental botany. 58(14): 3915-3927.

Nishikawa, F., M. Iwasaki, H. Fukamachi, and T. Endo. 2017. Predicting the number of flowers in Satsuma mandarin (*Citrus unshiu Marc*.) trees based on *Citrus FLOWERING LOCUS T* mRNA levels. The Horticulture Journal, OKD-031.

Novozamsky, I., V.J.G. Houba, R. Van Eck, and W. Van Vark. 1983. A novel digestion technique for multi-element plant analysis. Communications in soil science and plant analysis. 14(3): 239-248.

Nurhazwani, M., I. Saifuddin, and B. Muhammad Syakir. 2021. Effect of Different Rootstock Age on Grafting Success and Growth Performance of Garcinia atroviridis. Emerging Trends of Plant Physiology in Changing Environment. 71.

Pingping, W.U., W.U. Chubin, and Z.H.O.U. Biyan. 2017. Drought stress induces flowering and enhances carbohydrate accumulation in Averrhoa Carambola. Horticultural Plant Journal. 3(2): 60-66.

Rasool, A., S. Mansoor, K.M. Bhat, G.I. Hassan, T.R. Baba, M.N. Alyemeni, A.A. Alsahli, H.A. El-Serehy, B.A. Paray, and P. Ahmad. 2020. Mechanisms underlying graft union formation and rootstock scion interaction in horticultural plants. Frontiers in Plant Science. 1778.

Riboni, M., A. Robustelli Test, M. Galbiati, C. Tonelli, and L. Conti. 2014. Environmental stress and flowering time: the photoperiodic connection. Plant Signaling & Behavior. 9(7): 29036.

Ross, D.J. 1978. Influence of methods of determination, and time of day, on contents of nonstructural carbohydrates in grazed ryegrass-clover herbage from a nitrogen-fertilised pasture. New Zealand Journal of Agricultural Research. 21(2): 223-229.

Sánchez, E., D. Tricon, R. Mora, D. Quiroz, V. Decroocq, and H. Prieto. 2017. A fast and efficient protocol for small RNA extraction in Japanese plum and other Prunus species. Electronic Journal of Biotechnology. 30: 103-109.

Serôdio, J., and D.A. Campbell. 2021. Photoinhibition in optically thick samples: Effects of light attenuation on chlorophyll fluorescence-based parameters. Journal of Theoretical Biology. 513: 110580.

Sirault, X.R.R., A.G. Condon, J.T. Wood, G.D. Farquhar, and G.J. Rebetzke. 2015. “Rolled-upness”: phenotyping leaf rolling in cereals using computer vision and functional data analysis approaches. Plant Methods. 11(1): 1-11.

Smith, D., G.M. Paulsen, and C.A. Raguse. 1964. Extraction of total available carbohydrates from grass and legume tissue. Plant Physiology. 39(6): 960.

Soares, J.M., K.C. Weber, W. Qiu, D. Stanton, L.M. Mahmoud, H. Wu, P. Huyck, J. Zale, K. Al Jasim, J.W. Grosser, and M. Dutt. 2020. The vascular targeted *Citrus FLOWERING LOCUS T3* gene promotes non-inductive early flowering in transgenic Carrizo rootstocks and grafted juvenile scions. Scientific reports. 10(1): 1-18.

Solorzano, L. 1969. Determination of ammonia in natural waters by the phenolhypochlorite method 11 This research was fully supported by US Atomic Energy Commission Contract No. ATS (11-1) GEN 10, PA 20. Limnology and oceanography. 14(5): 799-801.

Sorgonà, A., M.R. Abenavoli, and G. Cacco. 2005. A comparative study between two citrus rootstocks: effect of nitrate on the root morphotopology and net nitrate uptake. Plant and Soil. 270(1): 257-267.

Thammatha, P., C. Lapjit, T. Tarinta, S. Techawongstien, and S. Techawongstien. 2021. The responses of physiological characteristics and flowering related gene to the different water stress levels of red-flesh pummelo cultivars (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) own-rooted by air layering propagation under two growing conditions. Horticulturae. 7(12): 579.

Trenti, M., S. Lorenzi, P.L. Bianchedi, D. Grossi, O. Failla, M.S. Grando, and F. Emanuelli. 2021.Candidate genes and SNPs associated with stomatal conductance under drought stress in Vitis. BMC plant biology. 21(1): 1-21.

Valverdi, N.A., and L. Kalcsits. 2021. Rootstock affects scion nutrition and fruit quality during establishment and early production of ‘Honeycrisp’apple. HortScience. 56(2): 261-269.

Yang, X., M. Lu, Y. Wang, Y. Wang, Z. Liu, and S. Chen. 2021. Response mechanism of plants to drought stress. Horticulturae. 7: 50.

Zeevaart, J.A.D. 2006. Florigen coming of age after 70 years. Plant Cell. 18: 1783–1789.

Zhao, D., G.Y. Zhong, and G.Q. Song. 2020. Transfer of endogenous small RNAs between branches of scions and rootstocks in grafted sweet cherry trees. PLoS One. 15: e0236376.