



การปรับปรุงพันธุ์สตรอว์เบอร์รีเพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการผลิตแอนโทไซยานินและการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ



มงคล ศิริจันทร์

วิทยานิพนธ์เสนอบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยนเรศวร
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา หลักสูตรปรัชญาดุษฎีบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร
ปีการศึกษา 2563
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยนเรศวร

การปรับปรุงพันธุ์สตรอว์เบอร์รีเพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการผลิตแอนโทไซยานินและการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ



วิทยานิพนธ์เสนอบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยนเรศวร
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา หลักสูตรปรัชญาดุษฎีบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร
ปีการศึกษา 2563
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยนเรศวร

วิทยานิพนธ์ เรื่อง "การปรับปรุงพันธุ์สตรอว์เบอร์รีเพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการผลิตแอนโทไซยานินและการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ"

ของ มงคล ศิริจันทร์

ได้รับการพิจารณาให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พีระวุฒิ วงศ์สวัสดิ์)

..... ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พีระศักดิ์ ฉายประสาท)

..... กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กวี สุจิตฺติ)

..... กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

(ดร.ณรงค์ชัย พิพัฒน์ธนวงศ์)

..... กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายใน

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บุญส่ง แสงอ่อน)

อนุมัติ

.....
(ศาสตราจารย์ ดร.ไพศาล มุณีสว่าง)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อเรื่อง	การปรับปรุงพันธุ์สตรอว์เบอร์รีเพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการผลิตแอนโทไซยานินและการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
ผู้วิจัย	มงคล ศิริจันทร์
ประธานที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พิระศักดิ์ ฉายประสาธ
กรรมการที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กวี สุจิตฺติ ดร.ณรงค์ชัย พิพัฒน์ธนวงศ์
ประเภทสารนิพนธ์	วิทยานิพนธ์ ปร.ด. สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร, มหาวิทยาลัยนเรศวร, 2563
คำสำคัญ	สตรอว์เบอร์รี, เครื่องหมายดีเอ็นเอ, ปรับปรุงพันธุ์, แอนโทไซยานิน, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ, การแสดงออกของยีน, เมตาโบลอมิกส์

บทคัดย่อ

สตรอว์เบอร์รี (*Fragaria × ananassa* Duch.) เป็นไม้ผลเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่นิยมปลูกกันมากโดยเฉพาะในเขตพื้นที่ภาคเหนือ เนื่องจากสตรอว์เบอร์รีเป็นผลไม้ที่มีรูปทรงสวยงาม มีรสชาติหวานฉ่ำ และอุดมไปด้วยคุณค่าทางสารอาหารซึ่งทำให้เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค แต่ปัญหาหนึ่งพบว่า สตรอว์เบอร์รีที่ปลูกเป็นสายพันธุ์ทางการค้าในประเทศไทยยังคงมีข้อจำกัดบางประการ เช่น มีปริมาณสารแอนโทไซยานินที่ต่ำ รวมทั้งยังมีข้อบกพร่องในด้านลักษณะประจำพันธุ์ วิธีการขยายพันธุ์ การแสดงออกของยีน และการเปลี่ยนแปลงของสารเมตาโบไลต์ภายในเซลล์ ดังนั้นแนวทางหนึ่งที่จะประสบความสำเร็จ คือ ทำการปรับปรุงพันธุ์ ร่วมกับการตรวจสอบลักษณะประจำพันธุ์ด้วยเทคนิค RAPD ศึกษาการขยายพันธุ์ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ศึกษาการแสดงออกของยีนด้วยเทคนิค qRT-PCR และศึกษาชนิดสารเมตาโบไลต์ด้วยเทคนิค GC-MS, LC-MS และ SPME-GC-MS เป็นต้น จากการศึกษาการจำแนกลักษณะประจำพันธุ์สตรอว์เบอร์รี จำนวน 6 สายพันธุ์ ได้แก่ สตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 50 พันธุ์พระราชทาน 70 พันธุ์พระราชทาน 72 พันธุ์พระราชทาน 80 พันธุ์ 329 และพันธุ์ Akihime ด้วยเทคนิค RAPD ผลการทดลองพบว่า จากการทดสอบทั้งหมด 25 ไพรเมอร์ ซึ่งทุกไพรเมอร์ให้จำนวนแถบผลผลิตพีซีอาร์ทั้งหมด 263 แถบ หรือเฉลี่ยเท่ากับ 10.52 แถบต่อไพรเมอร์ เพอร์เซ็นต์ polymorphic มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 87.85% เพอร์เซ็นต์ monomorphic มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 13.48% และขนาดผลผลิตพีซีอาร์มีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 200-5000 bp นอกจากนี้ยังพบว่า มีเพียง 19 ไพรเมอร์ ที่ให้ขนาดผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะ (specific bands) จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสตรอว์เบอร์รีจำนวน 6 สายพันธุ์ พบว่าสามารถจำแนกสตรอว์เบอร์รีได้ทั้งหมด 3 กลุ่มโดยกลุ่มที่ 1 ได้แก่ สตรอว์เบอร์รีพันธุ์ 329 พันธุ์

พระราชทาน 80 พันธุ์พระราชทาน 50 และพันธุ์พระราชทาน 70 กลุ่มที่ 2 ได้แก่ พันธุ์ Akihime และกลุ่มที่ 3 ได้แก่ พันธุ์พระราชทาน 72 ซึ่งแสดงให้เห็นว่า สตรอว์เบอร์รี่กลุ่มที่ 1 และ 2 มีความใกล้เคียงทางพันธุกรรมมากกว่าสตรอว์เบอร์รี่กลุ่มที่ 3 จากนั้นจึงนำสตรอว์เบอร์รี่สายพันธุ์พ่อแม่ จำนวน 6 สายพันธุ์ มาทำการปรับปรุงพันธุ์เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการผลิตสารแอนโทไซยานิน ผลการทดลองพบว่า จากการปลูกทดสอบสตรอว์เบอร์รี่เมล็ดลูกผสม F1 คู่ผสมละ 300 เมล็ดพบว่า ทุกคู่ผสมมีการรอดชีวิตทั้งสิ้น 2,540 ต้น จากนั้นจึงทำการคัดเลือก ผลการทดลองพบว่าสามารถคัดเลือกต้นสตรอว์เบอร์รี่สายพันธุ์ลูกผสม F1 ที่มีศักยภาพในการผลิตสารแอนโทไซยานินได้ปริมาณสูงกว่าสายพันธุ์พ่อแม่จำนวนทั้งหมด 35 ต้น โดยพบว่าสตรอว์เบอร์รี่คู่ผสมระหว่างพันธุ์ Akihime x พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 66 มีแนวโน้มการเจริญเติบโตทางด้านลำต้น การเจริญเติบโตทางด้านกรสีบพันธุ์ คุณสมบัติทางเคมีกายภาพและปริมาณแอนโทไซยานิน เช่น ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดเฉลี่ยเท่ากับ 52.21 mg/100g FW, Cyanidin-3-glucoside มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 29.90 mg/kg FW และ Pelargonidin-3-glucoside มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 554.89 mg/kg FW ซึ่งมากกว่าสตรอว์เบอร์รี่สายพันธุ์ลูกผสม F1 อื่นๆ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 ในสภาพปลอดเชื้อ ผลการทดลองพบว่า การพอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด (apical meristem) ด้วยสารละลายคลอโรกซ์ (NaOCl) ที่ระดับความเข้มข้น 3% เป็นระยะเวลา 20 นาที มีความเหมาะสมมากที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมากถึง 80% จากนั้นนำชิ้นส่วนที่มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมากที่สุดมาชักนำให้เกิดแคลลัส ผลการทดลองพบว่า อาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 1.0 mg/L + BA 1.5 mg/L สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้มากที่สุด โดยพบว่า แคลลัสมีขนาดความกว้างเฉลี่ยเท่ากับ 2.10 เซนติเมตร และความยาวเฉลี่ยเท่ากับ 2.74 เซนติเมตร หลังจากนั้นจึงนำแคลลัสจากสูตรอาหารที่มีการเจริญเติบโตดีที่สุดมาชักนำให้เกิดยอด ผลการทดลองพบว่า อาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 2.0 mg/L สามารถชักนำให้แคลลัสพัฒนาเป็นยอดได้ดีที่สุด โดยพบว่า มีจำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 38.95 ยอดต่อชิ้นส่วน และความสูงยอดเฉลี่ยเท่ากับ 7.24 เซนติเมตร จากนั้นจึงนำยอดจากสูตรอาหารที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 2.0 mg/L มาชักนำให้เกิดราก พบว่า อาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA (ชุดควบคุม) มีประสิทธิภาพในการชักนำให้ยอดพัฒนาเป็นรากได้ดีที่สุด โดยมีจำนวนรากเฉลี่ยเท่ากับ 16.93 รากต่อยอด และความยาวรากเฉลี่ยเท่ากับ 4.31 เซนติเมตร หลังจากนั้นจึงทำการคัดเลือกต้นสตรอว์เบอร์รี่ที่มีสภาพต้นสมบูรณ์ออกปลูก ผลการทดลองพบว่า วัสดุปลูก ได้แก่ ดินลำดวน : ทราย อัตราส่วน 1:1 (v/v) มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตและการเจริญเติบโตทางด้านลำต้นดีที่สุดในทุกๆ ด้าน โดยพบว่าที่ระยะเวลา 3 เดือน มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมากถึง 91% ความ

สูงทรงพุ่มเฉลี่ยเท่ากับ 15.77 เซนติเมตร ความกว้างทรงพุ่มเฉลี่ยเท่ากับ 20.65 เซนติเมตร จำนวนใบเฉลี่ยเท่ากับ 13.79 ใบต่อต้น จำนวนไหลเฉลี่ยเท่ากับ 5.36 ไหลต่อต้น และจำนวนกอเฉลี่ยเท่ากับ 7.35 กอต่อต้น จากการศึกษาการแสดงออกของยีน *F3'H* ในวิธีการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน ด้วยเทคนิค qRT-PCR ของสตอร์วเบอร์รี่ทั้งสองสายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 โดยศึกษาทั้งหมด 4 ระยะ ได้แก่ ระยะผลสีเขียว (G; 15 วันหลังดอกบาน) ระยะผลสีขาว (W; 20 วันหลังดอกบาน) ระยะผลสีชมพู (T; 25 วันหลังดอกบาน) และระยะผลสีแดง (R; 30 วันหลังดอกบาน) ผลการทดลองพบว่า ปริมาณ Cyanidin-3-glucoside ในสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 มีค่ามากที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 16.78 mg/kg FW นอกจากนี้เมื่อพิจารณาการแสดงออกของยีน *F3'H* ผลการทดลองพบว่า สตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 ยังคงมีปริมาณการแสดงออกของยีน *F3'H* มากที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 10.26 เท่า โดยพบมากที่สุดในระยะผลสีชมพู และจะลดลงในระยะผลสุก จากผลการทดลองสามารถบ่งชี้ได้ว่า ยีน *F3'H* จะทำหน้าที่ควบคุมการแสดงออกของสาร Cyanidin-3-glucoside และยังพบว่าระยะที่เหมาะสมสำหรับการบริโภคผลสตอร์วเบอร์รี่ควรเป็นระยะผลสีชมพู (25 วันหลังดอกบาน) เนื่องจากให้ปริมาณสารแอนโทไซยานินสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับระยะผลอื่น ๆ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการศึกษาสารเมตาโบไลต์ในใบสตอร์วเบอร์รี่ จำนวน 6 สายพันธุ์ พบว่า สามารถจำแนกสตอร์วเบอร์รี่ได้ทั้งหมด 3 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 ได้แก่ สตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 พันธุ์พระราชทาน 50 และพันธุ์ 329 กลุ่มที่ 2 ได้แก่ สตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 และกลุ่มที่ 3 ได้แก่ สตอร์วเบอร์รี่พันธุ์ Akihime และพันธุ์พระราชทาน 72 เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลทางด้านพันธุกรรม และสารเมตาโบไลต์ในใบสตอร์วเบอร์รี่ พบว่า มีความคล้ายคลึงกัน โดยสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 50 และพันธุ์พระราชทาน 70 มีความเหมือนกันมากที่สุด ในขณะที่สตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 72 มีความเหมือนกันน้อยที่สุด เมื่อพิจารณาชนิดของสารเมตาโบไลต์ในผลพบว่า สตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 มีสารเมตาโบไลต์ที่สำคัญ ได้แก่ myo-inositol, TCA cycle, sucrose, Vitamin C และ phenolic compounds ซึ่งสามารถบ่งชี้ได้ว่า สตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 มีค่าความหวานและสามารถต้านทานต่อโรคและแมลงได้ดีกว่าสตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์ Akihime ในขณะที่สตอร์วเบอร์รี่พันธุ์ Akihime มีสารเมตาโบไลต์ที่สำคัญ ได้แก่ fatty acid และ amino acids ในปริมาณมาก ซึ่งสามารถบ่งชี้ได้ว่า สตอร์วเบอร์รี่พันธุ์นี้มีกลิ่นที่หอมกว่าสตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์พระราชทาน 80

Title	IMPROVEMENT OF STRAWBERRY FOR POTENTIAL ANTHOCYANIN PRODUCING CULTIVARS THROUGH CROSSING AND MICROPROPAGATION OF STRAWBERRY
Author	MONGKON SIRIJAN
Advisor	Assistant Professor Peerasak Chaiprasart, Ph.D.
Co-Advisor	Assistant Professor Kawee Sujipuli, Ph.D. , Narongchai Pipattanawong, Ph.D.
Academic Paper	Thesis Ph.D. in Agricultural Biotechnology, Naresuan University, 2020
Keywords	Strawberry, DNA markers, Breeding programs, Anthocyanins, Tissue culture, Gene expression, Metabolomics

ABSTRACT

Strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) are one of the most economically important fruit crops in the north of Thailand. As it has a berry shape, sweetness, juicy and they are rich in natural antioxidants, which is required to meet the consumer demand. However, strawberry cultivars in Thailand generally have a low anthocyanin content, there has not been information that specifically focuses on identification, propagation, gene expression, and metabolomics. Therefore, the aim of this study was to determine the strawberry breeding programs alongside with study assesses the ability of RAPD marker, tissue culture, qRT-PCR, and metabolomics techniques such as GC-MS, LC-MS and SPME-GC-MS. RAPD markers were used to identify and assess the genetic diversity of six strawberry cultivars included Praratchatan No. 50, Praratchatan No. 70, Praratchatan No. 72, Praratchatan No. 80, No. 329, Akihime. The results revealed the total 25 primers were found 263 bands (10.52 bands to primer), of which 87.85% were polymorphic and 13.48% were monomorphic. The PCR products were between 200-5000 bp, 19 primers revealed cultivar specific PCR bands. The phylogenetic relationships of the six strawberry cultivars could be clearly distinguished three groups included No. 329, Praratchatan No. 80, Praratchatan No. 50, Praratchatan No. 70 (group I); Akihime (group II) and

Praratchatan No. 72 (group III). The results showed the genetics similarity was higher between group I and II than group III. This research aimed to generate a series of strawberry hybrids population through selection of potential of anthocyanin-rich cultivars for breeding intervention. Six parental cultivars were crossed by complete diallel with a mix of the same breed and mixed breed. The results showed we selected a total number of 300 seeds for each pair for germination test. From the initial seeds, 2,540 vigorous hybrids were selected for growing on. Thirty-five plants were found to have anthocyanin concentrations higher than their parents ($p < 0.05$). Our results illustrated vegetative growth, reproductive growth, physico-chemical and anthocyanin content included total anthocyanin content (52.21 mg/100g FW), Cyanidin-3-glucoside (29.90 mg/kg FW) and Pelargonidin-3-glucoside (554.89 mg/kg FW) were typically significantly higher in Akihime \times Praratchatan No. 80 line 66 than in other hybrid pairs ($p < 0.05$). The study of sterilization and effect of NAA and BA on callus, shoots and roots of the strawberry cultivar Praratchatan No.80. The results showed the sterilized explant by Clorox[®] (NaOCl) level 3% for 20 min had the highest survival rate (80%). The most of survival rates of explant on callus induction were grown on medium supplemented with different concentration of NAA and BA. The results showed MS medium supplemented with 1.0 mg/L NAA + 1.5 mg/L BA was the best medium to induce callus tissue with a maximum width and length of 2.10 cm and 2.74 cm, respectively. The callus grown on MS medium supplemented with 2.0 mg/L BA generated explants with the highest number of shoots (38.9 shoots/explant) and length of shoot (7.24 cm). The explants from MS supplemented with 2.0 mg/L BA grown on MS without NAA generated the highest numbers of roots (16.9 roots/shoot) and root length (4.31 cm). *In vitro* young plantlets were transplanted and grown on different planting materials for 3 months. The results showed soil : sand (1:1 v/v) had the highest of percentage survival (91%), canopy height (15.77 cm), canopy width (20.65 cm), no. of leaves (13.79 leaves/plant), no. of runners (5.36 runner/plant) and no. of clusters (7.35 cluster/plant). The objectives of this research were to study the correlation between type and amounts of anthocyanins and expression levels of the *F3'H* gene at four fruit developmental stages in two strawberry cultivars; Praratchatan No. 70 and Praratchatan No. 80. The results showed

both Cyanidin-3-glucoside (16.78 mg/kg FW) and gene expression of *F3'H* (10.26 fold) in Praratchatan No. 70 were typically higher than that Praratchatan No. 80 ($p < 0.05$). This difference gradually increased to the stage when the maximum concentration occurred (T, 25 day after anthesis; DAA), and then decreased slightly at the ripe red stage (R; 30 DAA). The results indicated *F3'H* gene will control the quantity of Cyanidin-3-glucoside in pathway of anthocyanin of strawberry fruits. The bright red stage of fruit development, 25 DAA, was found to be the optimal time to harvest the fruit for healthy consumption. The aim of this study was to measure metabolite composition of six strawberry cultivars. The results showed metabolite diversity of strawberry leaf could be clearly distinguished into three groups included No. 329, Praratchatan No. 50, Praratchatan No. 70 (group I); Praratchatan No. 80 (group II) and Praratchatan No. 72, Akihime (group III). Both genetics and metabolite compounds were higher in Praratchatan No. 70 and Praratchatan No. 50 than Praratchatan No. 70 and Praratchatan No. 72. Metabolite changes of strawberry fruit development was found myo-inositol, TCA cycle, sucrose, Vitamin C and phenolic compounds in Praratchatan No. 80 were typically higher than Akihime. This suggests that the resistant Praratchatan No.80 also has a higher nutritional quality. Contrary to this, Akihime showed a steady accumulation of amino acids and fatty acids levels. The products of this reaction can be used as precursors for biosynthesis of volatile esters, which were higher in Akihime than Praratchatan No. 80.

ประกาศคุณูปการ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงในความกรุณาของ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พิระศักดิ์ ฉายประสาธ ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ดร.ณรงค์ชัย พิพัฒน์ธนวงศ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กวี สุจิตฺติ กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ Prof. Paul D. Fraser ณ มหาวิทยาลัย Royal Holloway University of London ที่กรุณาสละเวลาอันมีค่ามาเป็นทีปรึกษา พร้อมทั้งให้คำแนะนำ ตลอดระยะเวลาในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ และขอกราบขอบพระคุณคณะกรรมการวิทยานิพนธ์อัน ประกอบไปด้วย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พิระวุฒิ วงศ์สวัสดิ์ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. บุญส่ง แสงอ่อน กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายใน และคณาจารย์สาขาวิชา วิทยาศาสตร์การเกษตรและสาขาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรทุกท่าน ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องของวิทยานิพนธ์ด้วยความเอาใจใส่ จนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ อย่างสมบูรณ์ จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงในความกรุณาของอาจารย์ทุกท่านมา ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณ นายสุทิน เสงคร รองหัวหน้าศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรที่สูง เพชรบูรณ์ (เขาค้อ) จังหวัดเพชรบูรณ์ และนางสาว วรกร แซ่จาง ผู้ประกอบการธุรกิจการผลิต สตรอว์เบอร์รี่ ในตำบลลาวี อำเภอแม่สรวย จังหวัดเชียงราย เป็นอย่างสูง ที่ได้กรุณาให้ความ อนุเคราะห์พื้นที่สำหรับการปรับปรุงพันธุ์และปลูกทดสอบ เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการ ผลิตสารแอนโทไซยานิน ขอขอบพระคุณผู้ควบคุมดูแลโรงเรือนปรับปรุงพันธุ์ของศูนย์วิจัย และ พัฒนาการเกษตรที่สูงเพชรบูรณ์ (เขาค้อ) จังหวัดเพชรบูรณ์ และโรงเรือนปลูกทดสอบสายพันธุ์ สตรอว์เบอร์รี่ ในตำบลลาวี อำเภอแม่สรวย จังหวัดเชียงราย ทุกท่านที่ให้ความร่วมมือและอำนวยความสะดวกแก่ผู้วิจัยเป็นอย่างดีในการเข้าไปทำวิจัยและเก็บข้อมูลในแปลงปลูก

ขอขอบพระคุณ นางสาว ศิวาภรณ์ หยองอ่อน นักวิชาการเกษตร งานไม้ผล ฝ่ายวิจัยและ พัฒนา มูลนิธิโครงการหลวง นางอัมรา หล้าวงษา นักวิจัยสถานีวิจัยดอยปุย คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และนางสาว จิรนนท์ แสงโชติ นักวิชาการเกษตร สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง รวมถึงบุคลากรในสถานีเกษตรหลวงอ่างขางและศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่แฮ ทุกท่านที่ให้ความ อนุเคราะห์พื้นที่สำหรับปลูกทดสอบ และขยายพันธุ์สตรอว์เบอร์รี่ลูกผสมที่มีศักยภาพในการผลิตสาร แอนโทไซยานิน

นอกจากนี้ ขอขอบพระคุณ โครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) ระดับปริญญาเอก สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) โครงการ Newton Fund – PhD Placement for Scholars 2018/19 และมูลนิธิโครงการหลวง ที่ให้ความ อนุเคราะห์เงินทุนและต้นพันธุ์สตรอว์เบอร์รี่สำหรับการทำวิจัยในครั้งนี้

เหนือสิ่งอื่นใดขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และญาติ ของผู้วิจัยทุกท่านที่ให้ความสนใจและให้การสนับสนุนในทุก ๆ ด้านอย่างดีที่สุดเสมอมา

ท้ายสุดนี้ขอขอบคุณ ดร. นุชนาฏ ภักดี อาจารย์ประจำภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร นายพุทธพงษ์ สร้อยเพชรเกษม นักวิชาการเกษตรชำนาญการ นิสิตปริญญาเอก สาขาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร นิสิตปริญญาโท สาขาวิทยาศาสตร์การเกษตรและอุตสาหกรรม การเกษตร และนิสิตปริญญาตรี สาขาวิทยาศาสตร์การเกษตร ผู้ช่วยวิจัย และเจ้าหน้าที่คณะ เกษตรศาสตร์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวรทุกท่าน รวมทั้งสถานวิจัยเพื่อ ความเป็นเลิศทางวิชาการด้านเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยนเรศวร ศูนย์นวัตกรรม เทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว ภาควิชาวิทยาลัยนเรศวร และสำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา ที่ช่วยเหลือการทำวิจัยและสนับสนุนอุปกรณ์เครื่องมือสำหรับการทำวิจัยในครั้งนี้

คุณค่าและคุณประโยชน์อันพึงจะมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบและอุทิศแด่ผู้มี พระคุณทุก ๆ ท่าน ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่า วิทยานิพนธ์เล่มนี้จะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในงาน ด้านการจำแนกลักษณะประจำพันธุ์ การปรับปรุงพันธุ์ การขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ การแสดงออกของยีน F3'H ในวิธีการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน และการศึกษาในระดับเมตาโบโลมิกส์ ของสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ต่าง ๆ ทั้งในและต่างประเทศได้เป็นอย่างดี

มงคล ศิริจันทร์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ฉ
ประกาศคุุณูปการ.....	ฌ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ณ
สารบัญภาพ.....	ถ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาของปัญหา.....	1
จุดมุ่งหมายของการศึกษา.....	3
ขอบเขตของงานวิจัย.....	4
ข้อตกลงเบื้องต้น.....	4
นิยามศัพท์เฉพาะ.....	5
สมมติฐานของการวิจัย.....	7
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	8
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์สตรอว์เบอร์รี.....	8
สายพันธุ์สตรอว์เบอร์รี.....	12
ประวัติสตรอว์เบอร์รีในประเทศไทย.....	14
คุณค่าทางอาหารในสตรอว์เบอร์รี.....	20
แอนโทไซยานิน (Anthocyanin).....	24

การเกิดและโครงสร้างของแอนโทไซยานิน.....	24
ชีวสังเคราะห์ของแอนโทไซยานิน.....	26
แอนโทไซยานินในผล.....	29
ประโยชน์ของแอนโทไซยานินที่มีต่อมนุษย์.....	29
การปรับปรุงพันธุ์พืช.....	30
การปรับปรุงพันธุ์พืชในประเทศไทย.....	30
หลักการทั่วไปของการผสมเกสรสตรอว์เบอร์รี.....	31
เครื่องหมายดีเอ็นเอและการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA markers and DNA fingerprinting).....	35
การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยวิธีพีซีอาร์.....	36
เทคนิค Random amplified polymorphic DNA (RAPD).....	36
เทคนิค Real Time Polymerase Chain reaction (Real-time PCR).....	37
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Plant Tissue Culture).....	41
เมตาโบลอมิกส์ (Metabolomics).....	56
เครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์เมตาโบลอมิกส์.....	56
การประยุกต์ใช้เมตาโบลอมิกส์ทางการเกษตรและอาหาร (food metabolomics)..	57
สารเมตาโบลิต์ปฐมภูมิ และสารเมตาโบลิต์ทุติยภูมิ.....	57
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	63
วัสดุพันธุ์พืช.....	63
อุปกรณ์วิทยาศาสตร์.....	63
สารเคมี.....	66
วิธีการทดลอง.....	68

การทดลองที่ 1 ศึกษาการจำแนกลักษณะประจำพันธุ์และความสัมพันธ์ทาง พันธุกรรมของสตอร์วเบอร์รี่ด้วยเทคนิคเครื่องหมายดีเอ็นเอ.....	68
การทดลองที่ 2 ศึกษาการปรับปรุงพันธุ์สตอร์วเบอร์รี่เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่มี ศักยภาพในการผลิตสารแอนโทไซยานิน.....	69
การทดลองที่ 3 ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80...76	
การทดลองที่ 4 ศึกษาการแสดงออกของยีน <i>F3'H</i> ในวิธีการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน ด้วยเทคนิค qRT-PCR.....	80
การทดลองที่ 5 ศึกษาชนิดสารเมตาโบไลต์ปฐมภูมิและทุติยภูมิที่มีผลต่อการ เปลี่ยนแปลงภายในเซลล์สตอร์วเบอร์รี่ (metabolomics).....	81
การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ.....	83
สถานที่ทำการทดลอง.....	83
ระยะเวลาทำการทดลอง.....	84
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	85
ผลการทดลองที่ 1 ศึกษาการจำแนกลักษณะประจำพันธุ์และความสัมพันธ์ทาง พันธุกรรมของสตอร์วเบอร์รี่ด้วยเทคนิคเครื่องหมายดีเอ็นเอ.....	85
ผลการทดลองที่ 1.1 การทดสอบไพรมอร์สำหรับใช้จำแนกลักษณะประจำ พันธุ์สตอร์วเบอร์รี่ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี (Random Amplified Polymorphic DNA).....	85
ผลการทดลองที่ 1.2 ศึกษาความจำเพาะของไพรมอร์ที่มีต่อสตอร์วเบอร์รี่ จำนวน 6 สายพันธุ์.....	93
ผลการทดลองที่ 1.3 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของสตอร์วเบอร์รี่จำนวน 6 สาย พันธุ์.....	95
ผลการทดลองที่ 2 ศึกษาการปรับปรุงพันธุ์สตอร์วเบอร์รี่เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่มี ศักยภาพในการผลิตสารแอนโทไซยานิน.....	97

ผลการทดลองที่ 2.1 การปรับปรุงพันธุ์สตอร์วเบอร์รี่ด้วยวิธีการแบบดั้งเดิม (conventional breeding).....	97
ผลการทดลองที่ 3 ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 ..	142
ผลการทดลองที่ 3.1 การฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด (apical meristem) สตอร์วเบอร์รี่ พันธุ์พระราชทาน 80 ด้วยสารละลายคลอโรกซ์ (NaOCl) ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2, 3 และ 4% ที่ระยะเวลา 5, 10, 15, 20 และ 25 นาที	142
ผลการทดลองที่ 3.2 การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BA ที่มี ผลต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสของสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 จาก ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด	143
ผลการทดลองที่ 3.3 การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่มีผลต่อ การชักนำให้เกิดยอดสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 จากเนื้อเยื่อแคลลัส	151
ผลการทดลองที่ 3.4 การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่มีผลต่อ การชักนำให้เกิดรากสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 จากชิ้นส่วนของ ยอด	156
ผลการทดลองที่ 3.5 การศึกษาผลของวัสดุปลูกที่มีผลต่อการรอดชีวิตและการ เจริญเติบโตของต้นสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80.....	162
ผลการทดลองที่ 4 ศึกษาการแสดงออกของยีน $F3'H$ ในวิธีการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน ด้วยเทคนิค qRT-PCR	167
ผลการทดลองที่ 4.1 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์ พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80	167
ผลการทดลองที่ 4.2 การวิเคราะห์การแสดงออกของยีน $F3'H$ ในแต่ละระยะของ การพัฒนาผิวผลของสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์ พระราชทาน 80.....	180

ผลการทดลองที่ 5 ศึกษาชนิดสารเมตาโบไลต์ปฐมภูมิและทุติยภูมิที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์สตรอว์เบอร์รี (metabolomics).....	184
ผลการทดลองที่ 5.1 การตรวจสอบสารเมตาโบไลต์จากใบสตรอว์เบอร์รีด้วยเทคนิค GC-MS.....	184
ผลการทดลองที่ 5.2 การตรวจสอบสารเมตาโบไลต์จากผลสตรอว์เบอร์รีด้วยเทคนิค GC-MS และ LC-MS.....	187
ผลการทดลองที่ 5.3 การตรวจสอบสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่าย (volatile organic compounds) จากผลสตรอว์เบอร์รีด้วยเทคนิค SPME-GC-MS.....	194
บทที่ 5 บทสรุป.....	197
สรุปผลการวิจัย.....	197
อภิปรายผล.....	200
ข้อเสนอแนะ.....	216
บรรณานุกรม.....	218
ภาคผนวก.....	240
ประวัติผู้วิจัย.....	310

สารบัญตาราง

	หน้า
ตาราง 1 คุณค่าทางสารอาหารในผลสตรอว์เบอร์รี.....	20
ตาราง 2 กลุ่มของสารประกอบฟีนอลที่เป็นส่วนประกอบในผลสตรอว์เบอร์รี.....	22
ตาราง 3 สีและการดูดกลืนแสงของแอนโทไซยานิน.....	26
ตาราง 4 สารเคมีที่นิยมใช้ในการพอกฆ่าเชื้อ.....	44
ตาราง 5 สูตรของ Murashige, & Skoog (1962, pp. 473-497).....	46
ตาราง 6 ตัวทำลายและสภาพการเก็บรักษาที่เหมาะสมสำหรับสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชบางชนิด.....	49
ตาราง 7 คู่ผสมสตรอว์เบอร์รีจำนวน 36 คู่ผสม.....	72
ตาราง 8 ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80.....	77
ตาราง 9 ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80.....	78
ตาราง 10 ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดรากสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80.....	78
ตาราง 11 ชนิดของวัสดุปลูกที่มีผลต่อการรอดชีวิตและการเจริญเติบโตของต้นสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ พระราชทาน 80.....	79
ตาราง 12 ไพรเมอร์ซึ่งใช้สำหรับจำแนกลักษณะประจำพันธุ์สตรอว์เบอร์รีจำนวน 6 สายพันธุ์.....	87
ตาราง 13 จำนวนแถบผลผลิตพีซีอาร์ทั้งหมด ผลผลิตพีซีอาร์ (No. of polymorphic bands, No. of monomorphic bands) เปอร์เซ็นต์ polymorphic และขนาดของผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้รับจากเทคนิคอาร์เอพีดี.....	91

ตาราง 14 ขนาดผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะในแต่ละสายพันธุ์สตรอว์เบอร์รีที่ได้รับจากเทคนิคอาร์เอพีดี	94
ตาราง 15 ค่าดัชนีความเหมือน (similarity index) ของสตรอว์เบอร์รีจำนวน 6 สายพันธุ์	96
ตาราง 16 เปอร์เซ็นต์ลักษณะรูปทรงผลสตรอว์เบอร์รีลูกผสม	98
ตาราง 17 ความกว้าง ความยาว และน้ำหนักผลสตรอว์เบอร์รีลูกผสม	108
ตาราง 18 เปอร์เซ็นต์การงอกและการรอดชีวิตของเมล็ดสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1	112
ตาราง 19 การเปรียบเทียบปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมด (total anthocyanin content) ของสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์พ่อแม่ (6 ต้น) และต้นลูกผสม F1 ที่ได้จากการคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการผลิตสารแอนโทไซยานิน (35 ต้น)	115
ตาราง 20 การเจริญเติบโตทางด้านลำต้นและการสีบพันธุ์ของต้นสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1	120
ตาราง 21 คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์พ่อแม่และสายพันธุ์ลูกผสม F1	128
ตาราง 22 สีผิวผลของสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์พ่อแม่และสายพันธุ์ลูกผสม F1	133
ตาราง 23 สีเนื้อผลของสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์พ่อแม่และสายพันธุ์ลูกผสม F1	136
ตาราง 24 ชนิดและปริมาณแอนโทไซยานินของสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์พ่อแม่และสายพันธุ์ลูกผสม F1	139
ตาราง 25 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดความกว้างแคลลัสของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80	145
ตาราง 26 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดความยาวแคลลัสของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80	148
ตาราง 27 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดจำนวนยอดจากชิ้นส่วนเนื้อเยื่อแคลลัสของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80	152

ตาราง 28 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดความสูง ยอดจากชิ้นส่วนเนื้อเยื่อแคลลัสของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80	154
ตาราง 29 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดจำนวนราก จากชิ้นส่วนยอดของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80.....	158
ตาราง 30 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดความยาว รากจากชิ้นส่วนยอดของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80.....	160
ตาราง 31 ลักษณะทางกายภาพของต้นสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 ที่ได้รับจากการ เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หลังจากย้ายปลูกลงในวัสดุปลูกที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 3 เดือน	164
ตาราง 32 การเปลี่ยนแปลงค่าสีผิว สีเนื้อ และค่า pH ในแต่ละระยะของการพัฒนาผิวผล ของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80.....	169
ตาราง 33 การเปลี่ยนแปลงปริมาณ Cyanidin-3-glucoside ในแต่ละระยะของการพัฒนา ผิวผลของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80	179
ตาราง 34 ไพรเมอร์ที่ใช้สำหรับวิเคราะห์ยีน F3'H และ GAPDH ด้วยเทคนิค qRT-PCR	181
ตาราง 35 การเปลี่ยนแปลงปริมาณการแสดงออกของยีน F3'H ในแต่ละระยะของการ พัฒนาผิวผลของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80.....	183
ตาราง 36 Linear gradient ของสารละลาย A และ B.....	245
ตาราง 37 อาหารสูตรสังเคราะห์ MS สำหรับสตรอว์เบอร์รี	247

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพ 1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของต้นสตอร์วเบอร์รี่.....	9
ภาพ 2 รูปทรงผลสตอร์วเบอร์รี่	11
ภาพ 3 โครงสร้างของเกลือเฟลวิเลียม	24
ภาพ 4 การแทนที่ของแอนโทไซยานิน.....	25
ภาพ 5 วิธีการสังเคราะห์แอนโทไซยานินในพืช	28
ภาพ 6 การตรวจวัด PCR product ด้วย SYBR Green	38
ภาพ 7 Hydrolysis Probe (Taqman) เป็น oligonucleotide probe ติดฉลาก fluorochrome 2 ชนิด คือ Reporter dye และ Quencher dye (A, B) เมื่อสาย oligo probe ถูกย่อยด้วย Taq DNA polymerase จากนั้น Reporter dye จะถูกปลดปล่อยให้เป็นอิสระและสามารถถูกกระตุ้นให้คายพลังงานออกมาในรูปของแสง fluorescence ได้ (C, D).....	39
ภาพ 8 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิก.....	59
ภาพ 9 โครงสร้างทางเคมีของฟลาโวนอยด์.....	60
ภาพ 10 โรงเรือนปรับปรุงพันธุ์รูปตัว ก. ขนาด 6 × 20 เมตร ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรที่สูงเพชรบูรณ์ (เขาค้อ) จังหวัดเพชรบูรณ์.....	70
ภาพ 11 ชั้นวางต้นพันธุ์สตอร์วเบอร์รี่ ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรที่สูงเพชรบูรณ์ (เขาค้อ) จังหวัดเพชรบูรณ์.....	71
ภาพ 12 ต้นพันธุ์สตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์พ่อแม่ ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรที่สูงเพชรบูรณ์ (เขาค้อ) จังหวัดเพชรบูรณ์	72
ภาพ 13 โรงเรือนปรับปรุงพันธุ์สตอร์วเบอร์รี่ ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรที่สูงเพชรบูรณ์ (เขาค้อ) จังหวัดเพชรบูรณ์	85
ภาพ 14 ลักษณะใบอ่อนของต้นสตอร์วเบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์.....	86

ภาพ 15 จีโนมิกส์ดีเอ็นเอสตอร์วเบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ ได้แก่ (1) พันธุ์พระราชทาน 50 (2) พันธุ์พระราชทาน 70 (3) พันธุ์พระราชทาน 72 (4) พันธุ์พระราชทาน 80 (5) พันธุ์ 329 (6) พันธุ์ Akihime.....87

ภาพ 16 แผนภูมิต้นไม้ (phylogenetic tree) ซึ่งแสดงถึงสัมพันธ์ของสตอร์วเบอร์รี่ จำนวน 6 สายพันธุ์ ที่ได้รับจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี96

ภาพ 17 ผลสตอร์วเบอร์รี่ลูกผสม จำนวน 36 คู่ผสม; คู่ผสมที่ 1= พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 50, คู่ผสมที่ 2= พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 70, คู่ผสมที่ 3= พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 72, คู่ผสมที่ 4= พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 80, คู่ผสมที่ 5= พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์ 329, คู่ผสมที่ 6= พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์ Akihime, คู่ผสมที่ 7= พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 50, คู่ผสมที่ 8= พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 70, คู่ผสมที่ 9= พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 72, คู่ผสมที่ 10= พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80, คู่ผสมที่ 11= พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์ 329 และคู่ผสมที่ 12= พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์ Akihime 102

ภาพ 18 ผลสตอร์วเบอร์รี่ลูกผสม จำนวน 36 คู่ผสม; คู่ผสมที่ 13= พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 50, คู่ผสมที่ 14= พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 70, คู่ผสมที่ 15= พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 72, คู่ผสมที่ 16= พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80, คู่ผสมที่ 17= พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์ 329, คู่ผสมที่ 18= พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์ Akihime, คู่ผสมที่ 19= พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50, คู่ผสมที่ 20= พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 70, คู่ผสมที่ 21= พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 72, คู่ผสมที่ 22= พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 80, คู่ผสมที่ 23= พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์ 329 และ คู่ผสมที่ 24= พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์ Akihime 103

ภาพ 19 ผลสตอร์วเบอร์รี่ลูกผสม จำนวน 36 คู่ผสม; คู่ผสมที่ 25= พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 50, คู่ผสมที่ 26= พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 70, คู่ผสมที่ 27= พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 72, คู่ผสมที่ 28= พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80, คู่ผสมที่ 29= พันธุ์

329 × พันธุ์ 329, คู่ผสมที่ 30= พันธุ์ 329 × พันธุ์ Akihime, คู่ผสมที่ 31= พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 50, คู่ผสมที่ 32= พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 70, คู่ผสมที่ 33= พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 72, คู่ผสมที่ 34= พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80, คู่ผสมที่ 35= พันธุ์ Akihime × พันธุ์ 329 และ คู่ผสมที่ 36= พันธุ์ Akihime × พันธุ์ Akihime 104

ภาพ 20 เปอร์เซนต์การรอดชีวิตของเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด (apical meristem) ที่พอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอโรกซ์ (NaOCl) ที่ระดับความเข้มข้น และระยะเวลาที่แตกต่างกัน 143

ภาพ 21 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดความกว้างแคลลัสของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 146

ภาพ 22 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดความยาวแคลลัสของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 149

ภาพ 23 ลักษณะแคลลัส (callus) ของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 ที่เลี้ยงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 42 วัน 150

ภาพ 24 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดจำนวนยอดจากชิ้นส่วนเนื้อเยื่อแคลลัสของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 153

ภาพ 25 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดความสูงยอดจากชิ้นส่วนเนื้อเยื่อแคลลัสของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 155

ภาพ 26 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 ที่ระยะเวลา 140 วัน 156

ภาพ 27 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดจำนวนรากจากชิ้นส่วนยอดของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 159

ภาพ 28 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดความยาวรากจากชิ้นส่วนยอดของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 161

ภาพ 29 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดรากสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 ที่ระยะเวลา 56 วัน.....	162
ภาพ 30 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นสตรอว์เบอร์รีที่ได้รับจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหลังจากย้ายปลูกลงในวัสดุปลูกที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 3 เดือน.....	163
ภาพ 31 ความสูงทรงพุ่มของต้นสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 ที่ได้รับจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หลังจากย้ายปลูกลงในวัสดุปลูกที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 3 เดือน.....	164
ภาพ 32 ความกว้างทรงพุ่มของต้นสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 ที่ได้รับจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หลังจากย้ายปลูกลงในวัสดุปลูกที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 3 เดือน.....	165
ภาพ 33 จำนวนใบของต้นสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 ที่ได้รับจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หลังจากย้ายปลูกลงในวัสดุปลูกที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 3 เดือน....	165
ภาพ 34 จำนวนไหลของต้นสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 ที่ได้รับจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หลังจากย้ายปลูกลงในวัสดุปลูกที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 3 เดือน....	166
ภาพ 35 จำนวนกอของต้นสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 ที่ได้รับจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หลังจากย้ายปลูกลงในวัสดุปลูกที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 3 เดือน....	166
ภาพ 36 ลักษณะทางกายภาพของต้นสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 ที่ได้รับจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หลังจากย้ายปลูกลงในวัสดุปลูกที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 3 เดือน.....	167
ภาพ 37 ลักษณะทางกายภาพของพันธุ์พระราชทาน 70 (A) และพันธุ์พระราชทาน 80 (B); ผลสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 (C) และพันธุ์พระราชทาน 80 (D) ทั้ง 4 ระยะของการพัฒนาผิวผล โดยกำหนดให้ G คือ ระยะสีเขียว (15 วันหลังดอกบาน), W คือ ระยะสีขาว (20 วันหลังดอกบาน), T คือ ระยะสีชมพู (25 วันหลังดอกบาน) และ R คือ ระยะสีแดง (30 วันหลังดอกบาน).....	168

ภาพ 38 การเปลี่ยนแปลงค่าสีผิว (L^*) ของผลสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 หลังจากเก็บเกี่ยวที่ระยะเวลาหลังดอกบานต่างกัน 171

ภาพ 39 การเปลี่ยนแปลงค่าสีเนื้อ (L^*) ของผลสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 หลังจากเก็บเกี่ยวที่ระยะเวลาหลังดอกบานต่างกัน 171

ภาพ 40 การเปลี่ยนแปลงค่าสีผิว (a^*) ของผลสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 หลังจากเก็บเกี่ยวที่ระยะเวลาหลังดอกบานต่างกัน 173

ภาพ 41 การเปลี่ยนแปลงค่าสีเนื้อ (a^*) ของผลสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 หลังจากเก็บเกี่ยวที่ระยะเวลาหลังดอกบานต่างกัน 173

ภาพ 42 การเปลี่ยนแปลงค่าสีผิว (b^*) ของผลสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 หลังจากเก็บเกี่ยวที่ระยะเวลาหลังดอกบานต่างกัน 175

ภาพ 43 การเปลี่ยนแปลงค่าสีเนื้อ (b^*) ของผลสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 หลังจากเก็บเกี่ยวที่ระยะเวลาหลังดอกบานต่างกัน 175

ภาพ 44 การเปลี่ยนแปลงค่าสีผิว (H°) ของผลสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 หลังจากเก็บเกี่ยวที่ระยะเวลาหลังดอกบานต่างกัน 177

ภาพ 45 การเปลี่ยนแปลงค่าสีเนื้อ (H°) ของผลสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 หลังจากเก็บเกี่ยวที่ระยะเวลาหลังดอกบานต่างกัน 177

ภาพ 46 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ของผลสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 หลังจากเก็บเกี่ยวที่ระยะเวลาหลังดอกบานต่างกัน 178

ภาพ 47 การเปลี่ยนแปลงปริมาณ Cyanidin-3-glucoside ของผลสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 หลังจากเก็บเกี่ยวที่ระยะเวลาหลังดอกบานต่างกัน 180

ภาพ 48 อาร์เอ็นเอที่ได้จากการสกัดผลสตรอว์เบอร์รี ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง 1 ถึง 4 คือ อาร์เอ็นเอที่ได้จากการสกัดในแต่ละระยะของการพัฒนาผิวผลของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์

พระราชทาน 70 และช่อง 5 ถึง 8 คือ อาร์เอ็นเอที่ได้จากการสกัดในแต่ละระยะของการพัฒนาผิวผลของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80	181
ภาพ 49 แถบผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะที่ได้จากการสกัดจากผลสตรอว์เบอร์รี ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง 1 ถึง 8 คือ ผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะเมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ GAPDH (ยีนควบคุม) ในแต่ละระยะของการพัฒนาผิวผลของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 ช่อง 9 ถึง 16 คือ ผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะเมื่อทดสอบกับไพรเมอร์ F3'H (ยีนเป้าหมาย) ในแต่ละระยะของการพัฒนาผิวผลของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80.....	182
ภาพ 50 การเปลี่ยนแปลงปริมาณการแสดงออกของยีน F3'H ของผลสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 หลังจากเก็บเกี่ยวที่ระยะเวลาหลังดอกบานต่างกัน	183
ภาพ 51 แผนภูมิต้นไม้ (phylogenetic tree) ซึ่งแสดงถึงความคล้ายคลึงกันระหว่างสารพันธุกรรม ที่ได้รับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี (RAPD) (A) และสารเมตาโบไลต์ด้วยเทคนิค GC-MS (B) ของสตรอว์เบอร์รีจำนวน 6 สายพันธุ์ (C).....	185
ภาพ 52 การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (PCA analysis) ของสารเมตาโบไลต์ด้วยเทคนิค GC-MS ซึ่งสกัดจาก polar และ non-polar ของใบสตรอว์เบอร์รีจำนวน 6 สายพันธุ์ โดย (A) คือ score plot และ (B) คือ loading plot	186
ภาพ 53 ระยะการพัฒนาผิวผลสตรอว์เบอร์รีทั้ง 8 ระยะของสายพันธุ์ Akihime (A) และพันธุ์พระราชทาน 80 (B) การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (PCA analysis) ของสารเมตาโบไลต์ด้วยเทคนิค GC-MS และ LC-MS ซึ่งสกัดจาก polar และ non-polar ของผลสตรอว์เบอร์รีทั้ง 8 ระยะ (C).....	188
ภาพ 54 ความแตกต่างของสารเมตาโบไลต์ในกลุ่ม TCA cycle, glucose, fructose, sucrose และ Vitamin C (ascorbic acid) โดยแบ่งเป็นระยะ 7, 10, 13, 16, 19, 22, 25 และ 28 วันหลังดอกบาน ของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 และพันธุ์ Akihime	189

ภาพ 55 ความแตกต่างของสารเมตาโบไลต์ในกลุ่ม fatty acids โดยแบ่งเป็นระยะ 7, 10, 13, 16, 19, 22, 25 และ 28 วันหลังดอกบาน ของสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 และ พันธุ์ Akihime..... 190

ภาพ 56 ความแตกต่างของสารเมตาโบไลต์ในกลุ่ม ellagitannins และ condensed tannins โดยแบ่งเป็นระยะ 7, 10, 13, 16, 19, 22, 25 และ 28 วันหลังดอกบาน ของสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 และพันธุ์ Akihime 191

ภาพ 57 ความแตกต่างของสารเมตาโบไลต์ในกลุ่ม phenolic compounds โดยแบ่งเป็นระยะ 7, 10, 13, 16, 19, 22, 25 และ 28 วันหลังดอกบาน ของสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 และพันธุ์ Akihime 192

ภาพ 58 ความแตกต่างของวิธีการสังเคราะห์สารเมตาโบไลต์ของสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 และพันธุ์ Akihime ที่ระยะเวลา 25 วันหลังดอกบาน โดยกำหนดให้ปริมาณสารเมตาโบไลต์มีค่า >1 (สีฟ้า); <1 (สีแดง); ไม่เปลี่ยนแปลง (สีเทา); ตรวจไม่พบ (สีขาว)..... 193

ภาพ 59 การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (PCA analysis) ของสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่าย (volatile organic compounds) ด้วยเทคนิค SPME-GC-MS จากผลสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 และพันธุ์ Akihime โดย (A) คือ score plot และ (B) คือ loading plot. 195

ภาพ 60 Heatmap ของสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่าย (volatile organic compounds) ของสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 และพันธุ์ Akihime โดยแบ่งออกเป็น 4 ระยะ ได้แก่ ระยะ 7, 16, 22 และ 28 วันหลังดอกบาน 196

ภาพ 61 ขั้นตอนการผสมเกสรสตอร์วเบอร์รี่ 241

ภาพ 62 การสร้างกราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์วิตามินซี..... 243

ภาพ 63 การสร้างกราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ Pelargonidin-3-glucoside..... 246

ภาพ 64 การสร้างกราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ Cyanidin-3-glucoside 246

ภาพ 65 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตอร์วเบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPB14 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3

คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์
พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-
18 คือ พันธุ์ Akihime 251

ภาพ 66 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตรอว์เบอร์รีจำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์
OPV07 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดี
เอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3
คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์
พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-
18 คือ พันธุ์ Akihime 252

ภาพ 67 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตรอว์เบอร์รีจำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์
OPV15 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดี
เอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3
คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์
พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-
18 คือ พันธุ์ Akihime 253

ภาพ 68 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตรอว์เบอร์รีจำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์
OPX06 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดี
เอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3
คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์
พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-
18 คือ พันธุ์ Akihime 254

ภาพ 69 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตรอว์เบอร์รีจำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์
OPX11 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดี
เอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3
คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์

พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime	255
ภาพ 70 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตรอว์เบอร์รีจำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPX18 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime	256
ภาพ 71 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตรอว์เบอร์รีจำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPB05 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime	257
ภาพ 72 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตรอว์เบอร์รีจำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPD20 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime	258
ภาพ 73 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตรอว์เบอร์รีจำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPE07 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime	259

เอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime..... 264

ภาพ 79 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตรอว์เบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPJ09 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime..... 265

ภาพ 80 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตรอว์เบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPJ04 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime..... 266

ภาพ 81 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตรอว์เบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPJ16 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime..... 267

ภาพ 82 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตรอว์เบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPJ17 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์

พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime.....	268
ภาพ 83 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตรอว์เบอร์รีจำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPJ18 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime.....	269
ภาพ 84 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตรอว์เบอร์รีจำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPJ05 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime.....	270
ภาพ 85 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตรอว์เบอร์รีจำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPG02 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime.....	271
ภาพ 86 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตรอว์เบอร์รีจำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPF07 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime.....	272

ภาพ 87 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตรอว์เบอร์รีจำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPG05 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime..... 273

ภาพ 88 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตรอว์เบอร์รีจำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPA04 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime..... 274

ภาพ 89 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตรอว์เบอร์รีจำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPB07 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime..... 275

ภาพ 90 ต้นสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 (1A; พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 7, 2A; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 24, 3A; พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 20, 4A; พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 127, 5A; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 5, 6A; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 38)..... 276

ภาพ 91 ต้นสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 (7A; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 4, 8A; พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 107, 9A; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 72 ต้นที่ 10, 10A; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่

26, 11A; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 20, 12A; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 56)..... 277

ภาพ 92 ต้นสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 (13A; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 54, 14A; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์ Akihime ต้นที่ 3, 15A; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 44, 16A; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 10, 17A; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 9, 18A; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 10)..... 278

ภาพ 93 ต้นสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 (19A; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 1, 20A; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 33, 21A; พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์ 329 ต้นที่ 2, 22A; พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 66, 23A; พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 5, 24A; พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 17) 279

ภาพ 94 ต้นสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 (25A; พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 4, 26A; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 12, 27A; พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 24, 28A; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 13, 29A; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์ 329 ต้นที่ 19, 30A; พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 17) 280

ภาพ 95 ต้นสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 (31A; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 21, 32A; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 25, 33A; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 26, 34A; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 6, 35A; พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 6)..... 281

ภาพ 96 ผลสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 (1B; พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 7, 2B; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 24, 3B; พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 20, 4B; พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 127, 5B; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 5, 6B; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 38) 282

ภาพ 97 ผลสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 (7B; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 4, 8B; พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 107, 9B; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 72 ต้นที่ 10, 10B; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 26, 11B; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 20, 12B; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 56)..... 283

ภาพ 98 ผลสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 (13B; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 54, 14B; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์ Akihime ต้นที่ 3, 15B; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 44, 16B; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 10, 17B; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 9, 18B; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 10) 284

ภาพ 99 ผลสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 (19B; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 1, 20B; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 33, 21B; พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์ 329 ต้นที่ 2, 22B; พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 66, 23B; พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 5, 24B; พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 17) 285

ภาพ 100 ผลสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 (25B; พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 4, 26B; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 12, 27B; พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 24, 28B; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 13, 29B; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์ 329 ต้นที่ 19, 30B; พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 17) 286

ภาพ 101 ผลสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 (31B; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 21, 32B; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 25, 33B; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 26, 34B; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 6, 35B; พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 6)..... 287

ภาพ 102 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์พ่อแม่ (1C; พันธุ์พระราชทาน 50, 2C; พันธุ์พระราชทาน 70) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-

glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown	288
ภาพ 103 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์พ่อแม่ (3C; พันธุ์พระราชทาน 72, 4C; พันธุ์พระราชทาน 80) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown	289
ภาพ 104 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์พ่อแม่ (5C; พันธุ์ 329, 6C; พันธุ์ Akihime) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown	290
ภาพ 105 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ลูกผสม F1 (7C; พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 7, 8C; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 24) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown	291
ภาพ 106 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ลูกผสม F1 (9C; พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 20, 10C; พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 127) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown	292
ภาพ 107 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ลูกผสม F1 (11C; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 5, 12C; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 38) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown...	293
ภาพ 108 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ลูกผสม F1 (13C; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 4, 14C; พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 107) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown	294

ภาพ 109 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ลูกผสม F1 (15C; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 72 ต้นที่ 10, 16C; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 26) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown.... 295

ภาพ 110 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ลูกผสม F1 (17C; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 20, 18C; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 56) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown... 296

ภาพ 111 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ลูกผสม F1 (19C; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 54, 20C; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์ Akihime ต้นที่ 3) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown 297

ภาพ 112 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ลูกผสม F1 (21C; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 44, 22C; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 10) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown... 298

ภาพ 113 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ลูกผสม F1 (23C; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 9, 24C; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 10) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown... 299

ภาพ 114 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ลูกผสม F1 (25C; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 1, 26C; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 33) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown... 300

ภาพ 115 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ลูกผสม F1 (27C; พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์ 329 ต้นที่ 2, 28C; พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 66)

- ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown..... 301
- ภาพ 116 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ลูกผสม F1 (30C; พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 5, 30C; พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 17) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown 302
- ภาพ 117 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ลูกผสม F1 (31C; พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 4, 32C; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 12) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown 303
- ภาพ 118 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ลูกผสม F1 (33C; พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 24, 34C; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 13) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown 304
- ภาพ 119 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ลูกผสม F1 (35C; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์ 329 ต้นที่ 19, 36C; พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 17) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown..... 305
- ภาพ 120 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ลูกผสม F1 (37C; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 21, 38C; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 25) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown... 306
- ภาพ 121 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ลูกผสม F1 (39C; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 26, 40C; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 6) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown... 307

ภาพ 122 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตรอว์เบอร์รี่สายพันธุ์ลูกผสม F1 (41C; พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 6) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown

..... 308



บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาของปัญหา

สตรอว์เบอร์รี (*Fragaria × ananassa* Duch.) เป็นไม้ผลทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่ยิยมปลูกกันมากทั่วโลก (Biswas et al., 2007, pp. 49-54) เนื่องจากมีรสชาติที่หวาน หอม และอุดมไปด้วยคุณค่าทางสารอาหาร ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภคอย่างมาก (Hannum, 2004, pp. 1-17; Giampieri et al., 2012, pp. 9-19) โดยสตรอว์เบอร์รีที่ปลูกเป็นพันธุ์การค้าในปัจจุบันนี้เกิดจากการผสมพันธุ์กันระหว่าง *Fragaria × chiloensis* Duch. กับ *Fragaria × virginiana* Duch. (Sakila et al., 2007, pp. 151-154) สตรอว์เบอร์รีจัดเป็นพืชเขตหนาวที่อยู่ในแถบอเมริกาเหนือและอเมริกาใต้ ซึ่งจัดอยู่ในวงศ์ Rosaceae (Naruhashi, & Iwata, 1988, pp. 59-64) และอยู่ในกลุ่มของ perennial และ herbaceous โดยพืชกลุ่มนี้จะใช้ไหล (stolon or runner) ในการขยายพันธุ์ (Karim et al., 2011, pp. 29-36) นอกจากนี้สตรอว์เบอร์รีที่ปลูกเป็นการค้าในปัจจุบันจะมีโครโมโซมเป็นแบบ Octoploids ($2n = 8x = 56$) (Darrow, 1966)

ปัจจุบันประเทศไทยมีการเพาะปลูกสตรอว์เบอร์รีมาก โดยเฉพาะในเขตภาคเหนือ เช่น จังหวัดเชียงใหม่ โดยในปี พ.ศ. 2560-2561 เกษตรกรมีพื้นที่ปลูกสตรอว์เบอร์รีถึง 5,835 ไร่ โดยมีผลผลิตรวมเฉลี่ย 14,393 ตันต่อปี (สำนักงานเกษตรจังหวัดเชียงใหม่, 2561) ซึ่งเกษตรกรส่วนใหญ่จะเริ่มปลูกในช่วงเดือนกันยายนถึงตุลาคม และเก็บเกี่ยวผลผลิตในช่วงเดือนธันวาคมถึงมีนาคมของปีถัดไป แต่ปัจจุบันนี้ในเขตภาคเหนือตอนล่าง เช่น จังหวัดเพชรบูรณ์ เริ่มมีการเพาะปลูกสตรอว์เบอร์รีมากขึ้น ซึ่งปัจจุบันในปี พ.ศ. 2563 เกษตรกรในจังหวัดเพชรบูรณ์มีพื้นที่ปลูกสตรอว์เบอร์รีประมาณ 250 ไร่ มีผลผลิตรวมเฉลี่ย 188 ตันต่อปี (ระบบสารสนเทศการผลิตทางการเกษตร, 2563) อย่างไรก็ตามผลผลิตสตรอว์เบอร์รีในประเทศไทยส่วนใหญ่จะถูกนำมาจำหน่ายภายในประเทศ ทั้งในรูปผลสดและการแปรรูป เช่น แยม น้ำผลไม้ และโยเกิร์ต เป็นต้น (Sirijan et al., 2019a, pp. 355-363)

ในอดีตประเทศไทยมีการนำสายพันธุ์สตรอว์เบอร์รีจากต่างประเทศมาปลูกเพื่อเป็นการค้า ได้แก่ พันธุ์พระราชทาน 13 (Cambridge Favorite), พระราชทาน 16 (Tioga), พระราชทาน 20 (Sequoia), พระราชทาน 50 (B5), พระราชทาน 70 (Toyonoka), พระราชทาน 72 (Tochiotome), พันธุ์ 329 (Yale) และพันธุ์ Akihime (ณรงค์ชัย พิพัฒน์ธนวงศ์, 2543) และต่อมามีการปรับปรุงพันธุ์จนได้สายพันธุ์ที่ดีและสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมของประเทศไทยได้ เช่น พันธุ์พระราชทาน

60 ได้ถูกคัดเลือกครั้งแรกในปี พ.ศ. 2544-2545 ที่แปลงทดลองของสถานีวิจัยดอยปุย อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ โดยเป็นการผสมข้ามระหว่างพันธุ์ Rosa Linda และ Tochiotome ลักษณะเด่นของสายพันธุ์นี้ คือ ผลมีน้ำหนักเฉลี่ย 10-15 กรัม ผลสุกมีสีแดงเข้ม และมีกลิ่นหอม (ฐานข้อมูลพันธุ์กรรมพืชสวน, 2557) ต่อมาได้มีการพัฒนาสายพันธุ์พระราชทาน 80 ขึ้น ซึ่งสายพันธุ์นี้ได้ถูกคัดเลือกครั้งแรกในปี 2545 โดยการนำเมล็ดพันธุ์ลูกผสมจากประเทศญี่ปุ่นเข้ามาเพาะและปลูกทดสอบที่แปลงทดลองของสถานีวิจัยดอยปุย อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ ลักษณะเด่นของสายพันธุ์นี้ คือ ผลเป็นรูปทรงแหลมถึงทรงกลมปลายแหลม น้ำหนักผลเฉลี่ย 12-15 กรัมต่อผล มีความแน่นเนื้อผลสูงถึง 1.21 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร มีความหวานเฉลี่ย 12.85% เมื่อเริ่มสุกผลมีกลิ่นหอมรสชาติหวาน เนื้อผลแน่น ผลสุกมีสีแดงจัด จึงเหมาะสำหรับการรับประทานผลสด (ณรงค์ชัย พิพัฒน์ธวัช และคณะ, 2554) ปัจจุบัน มูลนิธิโครงการหลวงได้มีการพัฒนาสายพันธุ์ใหม่ และมีการจดทะเบียนตั้งชื่อพันธุ์ดังกล่าวว่า พันธุ์พระราชทาน 88 เป็นสายพันธุ์ที่มีการผสมและปลูกทดสอบเมื่อปี พ.ศ. 2552-2559 ซึ่งเป็นลูกผสมระหว่างพันธุ์พระราชทาน 80 และพันธุ์พระราชทาน 60 ลักษณะเด่นของสายพันธุ์นี้ คือ ผลมีน้ำหนักเฉลี่ย 17-20 กรัม ลักษณะผลเป็นรูปทรงแหลมถึงทรงกลมปลายแหลม ผิวผลสีส้มแดงถึงแดงเข้ม เนื้อผลมีสีแดงสลับขาว มีความแน่นเนื้อสูง ผลมีกลิ่นหอมรสชาติหวาน และละลายในปาก (กรมวิชาการเกษตร, 2559)

เนื่องจาก สตรอว์เบอร์รีเป็นผลไม้ที่มีรูปทรงสวยงาม ผิวผลมีสีแดงสด มีรสชาติหวานฉ่ำ ซึ่งเป็นที่ต้องการของผู้บริโภค อย่างไรก็ตามภายในผลสตรอว์เบอร์รียังอุดมไปด้วยคุณค่าทางสารอาหารหลากหลายชนิด เช่น วิตามินซี วิตามินเค กรดโฟลิก (folic acid) และแร่ธาตุที่จำเป็นในปริมาณที่สูง รวมถึงเป็นแหล่งที่ให้เส้นใยอาหาร (fiber) อย่างดี (Tulipani et al., 2008, pp. 696-704; Giampieri et al., 2012, pp. 9-19) อย่างไรก็ตามในผลสตรอว์เบอร์รียังเป็นแหล่งรวบรวมของสารเมตาโบไลต์ทุติยภูมิจำนวนมาก (secondary metabolites) ที่เป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภค ซึ่งส่วนใหญ่เป็นสารประกอบฟีนอล (phenolic compounds) ได้แก่ สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เช่น แอนโทไซยานิน (anthocyanin) ฟลาโวนอล (flavonols) และฟลาวานอล (flavanols) เป็นต้น ซึ่งสารเหล่านี้จะมีคุณสมบัติหลัก คือ เป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระ (Srivastava et al., 2007, pp. 3180-3185; Tulipani et al., 2008, pp. 696-704) โดยเฉพาะสารแอนโทไซยานิน (anthocyanins) ซึ่งพบมากในผลสตรอว์เบอร์รี นอกจากจะมีคุณสมบัติเป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระแล้ว ยังพบว่ามีความสามารถเด่นในด้านอื่น ๆ เช่น ช่วยป้องกันการอักเสบ ช่วยปกป้องหลอดเลือด กระตุ้นการไหลเวียนของเลือดให้ดีขึ้น ช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจ ช่วยลดปริมาณคอเรสเตอรอล และป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง (Seeram, 2008, pp. 630-635; Huntley, 2009, pp. 297-301; Basu et al., 2010, pp. 168-177; Giampieri et al., 2012, pp. 9-19) จากเหตุผลดังกล่าวข้างต้น ส่งผลทำให้ผู้บริโภคมีความต้องการที่จะบริโภคผลสตรอว์เบอร์รีเป็นจำนวนมาก แต่ปัญหานี้พบว่าสตรอว์เบอร์รี

บางสายพันธุ์ที่ปลูกเป็นการค้าในประเทศไทยนั้น ยังคงมีลักษณะด้อยบางประการ เช่น มีปริมาณแอนโทไซยานินที่ต่ำ รวมทั้งยังมีข้อบกพร่องของข้อมูลในด้านลักษณะประจำพันธุ์ วิธีการขยายพันธุ์ การแสดงออกของยีน และการเปลี่ยนแปลงของสารเมตาโบไลต์ภายในเซลล์ (Sirijan et al., 2019a, pp. 355-363; 2019b, pp. 73-80) ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นเพื่อที่จะพัฒนาสายพันธุ์สตอร์ว์เบอร์รี่ในประเทศไทยให้มีลักษณะบางประการที่ดีขึ้น เช่น มีปริมาณคุณค่าทางโภชนาการที่สูง โดยมุ่งเน้นในด้านปริมาณสารแอนโทไซยานิน ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภคอย่างมาก

ดังนั้นแนวทางหนึ่งที่จะประสบความสำเร็จ คือ ทำการปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิม (conventional breeding) (Diamanti et al., 2012, pp. 1-16) ร่วมกับการตรวจสอบลักษณะประจำพันธุ์ด้วยเทคนิคเครื่องหมายดีเอ็นเอ (Gaafar and Saker, 2006, pp. 29-36; Morales et al., 2011, pp. 665-670) ศึกษาการขยายพันธุ์ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Biswas et al., 2010, pp. 75-80; Ara et al., 2012, pp. 93-100) ศึกษาการแสดงออกของยีน $F3'H$ ในวิธีการสังเคราะห์แอนโทไซยานินด้วยเทคนิค real-time polymerase chain reaction (Zhang et al., 2012, pp. 1185-1189; Thill et al., 2013, pp. 72-78) ศึกษาชนิดสารเมตาโบไลต์ปฐมภูมิและทุติยภูมิที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์สตอร์ว์เบอร์รี่ด้วยเทคนิค GC-MS, LC-MS และ SPME-GC-MS (Zhang et al., 2011, pp. 1103-1118) เป็นต้น ดังนั้น เมื่องานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จ จะสามารถส่งเสริมสตอร์ว์เบอร์รี่พันธุ์ใหม่ที่มีศักยภาพในการผลิตสารแอนโทไซยานินให้กับเกษตรกรของมูลนิธิโครงการหลวง และผู้ที่สนใจ เพื่อนำไปปลูกและสร้างรายได้ต่อไป

จุดมุ่งหมายของการศึกษา

1. เพื่อตรวจสอบลักษณะประจำพันธุ์ และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสตอร์ว์เบอร์รี่ด้วยเทคนิค RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)
2. เพื่อศึกษาการปรับปรุงพันธุ์สตอร์ว์เบอร์รี่ และคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการผลิตสารแอนโทไซยานิน
3. เพื่อศึกษาการขยายพันธุ์สตอร์ว์เบอร์รี่ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (tissue culture)
4. เพื่อศึกษาการแสดงออกของยีน $F3'H$ ในวิธีการสังเคราะห์แอนโทไซยานินของผลสตอร์ว์เบอร์รี่ด้วยเทคนิค real-time polymerase chain reaction
5. เพื่อศึกษาชนิดสารเมตาโบไลต์ปฐมภูมิและทุติยภูมิที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์สตอร์ว์เบอร์รี่ (metabolomics)

ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาและวิเคราะห์การจำแนกลักษณะประจำพันธุ์สตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 50 พระราชทาน 70 พระราชทาน 72 พระราชทาน 80 พันธุ์ 329 และพันธุ์ Akihime โดยใช้เทคนิค RAPD-PCR เพื่อเป็นการยืนยันลักษณะเฉพาะของสตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์ดังกล่าวข้างต้น เพื่อนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์

ศึกษาการปรับปรุงพันธุ์สตอร์วเบอร์รี่แบบดั้งเดิม (conventional breeding) โดยการผสมข้ามสายพันธุ์ (cross-pollination) ระหว่างสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 50 พระราชทาน 70 พระราชทาน 72 พระราชทาน 80 พันธุ์ 329 และพันธุ์ Akihime ร่วมกับการผสมสลับ (reciprocal) จากนั้นจึงทำการคัดเลือกลูกผสมที่มีลักษณะดีเด่นในด้านปริมาณสารแอนโทไซยานิน โดยการปลูกทดสอบพันธุ์ และตรวจสอบลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยา เคมีและกายภาพ เป็นต้น

ศึกษาวิธีการขยายพันธุ์สตอร์วเบอร์รี่ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (tissue culture) จากชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด (apical meristem) โดยเปรียบเทียบกับสูตรอาหารสังเคราะห์ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส ยอด ราก และพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ จากนั้นจึงย้ายออกปลูกในวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ ภายในโรงเรือนเพื่ออนุบาลต้นกล้าให้แข็งแรงต่อไป

ศึกษาและวิเคราะห์การแสดงออกของยีน (gene expression) ในวิธีการสังเคราะห์แอนโทไซยานินของผลสตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์พ่อแม่ 2 สายพันธุ์ ซึ่งจะทำการศึกษาทั้งหมด 4 ระยะของการพัฒนาผิวผล ได้แก่ ระยะผลสีเขียว (15 วันหลังดอกบาน) ผลสีขาว (20 วันหลังดอกบาน) ผลสีชมพู (25 วันหลังดอกบาน) และผลสีแดง (30 วันหลังดอกบาน) โดยจะศึกษาการแสดงออกของยีน *F3'H* ด้วยเทคนิค Real-time polymerase chain reaction

ศึกษาชนิดสารเมตาโบไลต์ปฐมภูมิและทุติยภูมิที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์สตอร์วเบอร์รี่ โดยทำการศึกษาในส่วนของใบสตอร์วเบอร์รี่ทั้งหมด 6 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์พระราชทาน 50 พระราชทาน 70 พระราชทาน 72 พระราชทาน 80 พันธุ์ 329 และพันธุ์ Akihime และระยะของการพัฒนาผิวผลซึ่งจะทำการศึกษาทั้งหมด 8 ระยะ ได้แก่ ระยะเวลา 7, 10, 13, 16, 19, 22, 25 และ 28 วันหลังดอกบาน ของสตอร์วเบอร์รี่ 2 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์พระราชทาน 80 และพันธุ์ Akihime

ข้อตกลงเบื้องต้น

การปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิม (conventional breeding) การตรวจสอบลักษณะประจำพันธุ์ด้วยเทคนิคเครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker) การขยายพันธุ์สตอร์วเบอร์รี่ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (tissue culture) การศึกษาการแสดงออกของยีน *F3'H* ในวิธีการสังเคราะห์

แอนโทไซยานินด้วยเทคนิค real-time polymerase chain reaction และการศึกษาชนิดสารเมตาโบไลต์ปฐมภูมิและทุติยภูมิที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์สตรอว์เบอร์รี (metabolomics) ซึ่งวิธีการทั้งหมดเหล่านี้จะเป็นการพัฒนาให้เกิดสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ใหม่ และเป็นการพัฒนาสายพันธุ์ดั้งเดิมที่มีอยู่ให้ดียิ่งขึ้น ซึ่งส่งผลทำให้ประเทศไทยนั้น มีข้อมูลสายพันธุ์สตรอว์เบอร์รีต่าง ๆ อย่างครบถ้วน และข้อมูลเหล่านี้ยังสามารถนำไปพัฒนาหรือต่อยอดในงานวิจัยด้านอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาสายพันธุ์สตรอว์เบอร์รี ซึ่งจะส่งผลดีต่องานวิจัยโดยรวม

นิยามศัพท์เฉพาะ

เครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker) คือ ดีเอ็นเอที่ใช้เป็นเครื่องหมายบ่งชี้ความจำเพาะของสิ่งมีชีวิตตัวหนึ่ง สายพันธุ์หนึ่ง สปีชีส์หนึ่ง หรือในระดับต่างสปีชีส์ เป็นดีเอ็นเอที่อยู่ตำแหน่งหนึ่ง ๆ บนโครโมโซม (nuclear DNA) หรือดีเอ็นเอในออร์แกเนลล์ (mitochondrial DNA หรือ chloroplast DNA)

Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) คือ เทคนิคการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ไพรเมอร์ขนาดสั้นเพียง 10-12 นิวคลีโอไทด์ เพียงชนิดเดียวเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในหลายตำแหน่งพร้อม ๆ กัน

Polymerase Chain Reaction (PCR) คือ เทคนิคที่ใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอภายในหลอดทดลองโดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ดีเอ็นเอพอลิเมอเรส (DNA polymerase) เพื่อให้ได้ดีเอ็นเอปริมาณมากเป็นทวีคูณ

การปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิม (conventional breeding) คือ เป็นกระบวนการผสมตัวเองของพืช (self-fertile) หรือการผสมข้ามระหว่างพืช (cross-pollination) ที่มีคุณสมบัติที่ต้องการเพื่อให้ลักษณะที่ต้องการนั้นแสดงออกมาในรุ่นลูก (F1)

แอนโทไซยานิน (anthocyanin) คือ รงควัตถุที่ละลายน้ำได้ ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ เป็นสารให้สีตามธรรมชาติ โดยสีของแอนโทไซยานินจะเปลี่ยนแปลงไปตามสภาวะความเป็นกรด-ด่าง สามารถพบแอนโทไซยานินได้ทั่วไปในแควคิวโอล และเซลล์เนื้อเยื่อชั้นนอกของดอก ผล และใบของพืชดอก (angiosperms) แอนโทไซยานินมีโครงสร้างเป็น แบบ C6-C3-C6 ซึ่งเป็นไกลโคไซด์ของ 2-phenylbenzopyrylium หรือ flavylium cation ที่มีด้วยกันหลายชนิด แต่มีอยู่ 6 ชนิดเท่านั้นที่พบบ่อย ได้แก่ Pelargonidin, Cyanidin, Delphinidin, Peonidin, Petunidin และ Malvidin

ผลสตรอว์เบอร์รีลูกผสม คือ ผลที่ได้จากการผสมระหว่างต้นพ่อพันธุ์และต้นแม่พันธุ์

เมล็ดสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 คือ เมล็ดที่ได้จากการผสมระหว่างต้นพ่อพันธุ์ และต้นแม่พันธุ์ในชั่วรุ่นที่ 1 (F1)

ต้นสตอร์วเบอร์รี่ลูกผสม F1 คือ การที่เมล็ดสตอร์วเบอร์รี่ลูกผสม F1 มีการเจริญเติบโตเป็นต้นที่สมบูรณ์ และพร้อมให้ผลผลิตต่อไป

ผลสตอร์วเบอร์รี่ลูกผสม F1 คือ การที่ต้นสตอร์วเบอร์รี่ลูกผสม F1 ให้ผลผลิต

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (tissue culture) คือ การขยายพันธุ์พืชแบบไม่อาศัยเพศภายในหลอดทดลอง (*In vitro*) ซึ่งสามารถเพิ่มปริมาณได้แบบทวีคูณอย่างรวดเร็ว และได้ต้นกล้าที่ปลอดโรค และยังคงลักษณะที่ดีของสายต้น

เนื้อเยื่อเจริญปลายยอด (apical meristem) คือ เนื้อเยื่อที่ประกอบไปด้วยเซลล์ที่กำลังแบ่งตัวแบบไมโทซิส (mitosis) โดยเซลล์แต่ละเซลล์จะมีขนาดเล็ก ผนังเซลล์บาง นิวเคลียสมีขนาดใหญ่ เมื่อเทียบกับไซโทพลาสซึม และเป็นเซลล์ที่มีเมแทบอลิซึมสูง

ยีน (gene) คือ ส่วนหนึ่งของโครโมโซม หรือส่วนหนึ่งของดีเอ็นเอ ที่สามารถถอดรหัส (transcription) เป็นเอ็มอาร์เอ็นเอ (mRNA) แล้วนำเอ็มอาร์เอ็นเอ (mRNA) ที่ได้มาแปลรหัส (translation) เป็นสายโพลีเปปไทด์ (polypeptide) ซึ่งจะถูกนำไปสร้างเป็นเอนไซม์ต่อไป นอกจากนี้ ยีนยังทำหน้าที่เป็นตัวกำหนดลักษณะทางพันธุกรรมต่าง ๆ ของสิ่งมีชีวิตอีกด้วย

Real-time polymerase chain reaction คือ เป็นเทคนิคหนึ่ง que พัฒนามาจากเทคนิคพีซีอาร์แบบดั้งเดิม (conventional PCR) แต่มีการเพิ่มส่วนของ fluorometer ซึ่งประกอบด้วยแหล่งกำเนิดแสง เพื่อให้สามารถตรวจสอบปริมาณผลผลิตพีซีอาร์ได้ โดยการวิเคราะห์ผลจะวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป ซึ่งทำให้ได้ผลที่รวดเร็ว และมีความถูกต้องแม่นยำสูง

เมตาโบโลมิกส์ (Metabolomic) คือ การวิเคราะห์สารเมตาโบไลต์ (metabolite analysis) หรือ การรวบรวมข้อมูลสารเมตาโบไลต์ (metabolite profiling) ซึ่งเน้นศึกษาเกี่ยวกับสารชีวโมเลกุลขนาดเล็กที่สังเคราะห์ได้จากสิ่งมีชีวิต เช่น นิวคลีโอไทด์ กรดนิวคลีอิก กรดอะมิโน ไขมัน น้ำตาล วิตามิน สารประกอบแอลกอฮอล์ สารประกอบคาร์บอนิล กรดอินทรีย์ สารประกอบซัลเฟอร์ สารประกอบฟีนอลิก สารประกอบอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน และสารชีวโมเลกุลอื่น ๆ เป็นต้น

GC-MS (Gas chromatography-mass spectrometry) คือ เทคนิคที่สามารถทำนายชนิดขององค์ประกอบที่มีอยู่ในสารได้อย่างค่อนข้างแม่นยำโดยอาศัยการเปรียบเทียบ fingerprint ของเลขมวล (mass number) ของสารตัวอย่างนั้น ๆ กับข้อมูลที่มีอยู่ใน library ซึ่งสามารถใช้วิเคราะห์ได้ทั้งในเชิงปริมาณ (quantitative analysis) และเชิงคุณภาพ (qualitative analysis) เป็นต้น

LC-MS (Liquid chromatography-mass spectrometry) คือ เทคนิคการวิเคราะห์สารชนิดหนึ่งโดยอาศัยหลักการเกี่ยวกับการตรวจวัดเชิงมวลของสารในรูปของไอออน ข้อมูลที่ได้จาก MS/MS ion จากเครื่อง Mass spectrometer จะถูกนำไปเปรียบเทียบกับข้อมูลที่มีอยู่ใน library เพื่อใช้ทำนายความเป็นไปได้ที่จะเป็นสารชนิดใด

SPME-GC-MS (Solid phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry) คือ เทคนิคในการเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์สารในระดับปริมาณน้อย (trace analysis) สำหรับแก๊สโครมาโทกราฟี (GC) เป็นเทคนิคที่ง่ายต่อการใช้งาน เป็นการเตรียมตัวอย่างที่ไม่ต้องใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ (solventless) ในการสกัดสารตัวอย่าง จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์กับ library ซึ่งสามารถทำนายได้ทั้งเชิงปริมาณและคุณภาพ

สมมติฐานของการวิจัย

1. เทคนิคเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบ RAPD สามารถจำแนกลักษณะประจำพันธุ์ และหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 50 พระราชทาน 70 พระราชทาน 72 พระราชทาน 80 พันธุ์ 329 และพันธุ์ Akihime ได้ โดยวิเคราะห์จากแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏบนแผ่นเจลอะกาโรส (agarose gel) ที่ผ่านการแยกขนาดดีเอ็นเอโดยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส (electrophoresis) จากนั้นจึงนำข้อมูลที่ได้ไปหาความสัมพันธ์ด้วยโปรแกรม Free Tree และ Tree View

2. เทคนิคการปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิม (conventional breeding) สามารถปรับปรุงพันธุ์และคัดเลือกสายพันธุ์สตอร์วเบอร์รี่ที่มีศักยภาพในการผลิตสารแอนโทไซยานินได้ โดยวิธีการผสมตรง (direct-pollination) ผสมสลับ (reciprocal) และการผสมตัวเอง (self-fertilized) ระหว่างสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 50 พระราชทาน 70 พระราชทาน 72 พระราชทาน 80 พันธุ์ 329 และพันธุ์ Akihime

3. เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (tissue culture) เป็นเทคนิคที่สามารถขยายพันธุ์สตอร์วเบอร์รี่ได้ในปริมาณมาก รวดเร็ว และได้ต้นพันธุ์ที่มีคุณภาพดี ปราศจากไวรัส และมีลักษณะพันธุกรรมตรงตามสายพันธุ์

4. เทคนิค Real-time polymerase chain reaction สามารถวิเคราะห์หาปริมาณการแสดงออกของยีน *F3'H* ในวิธีการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน ในแต่ละระยะของการพัฒนาผิวผลของสตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์พ่อแม่ได้

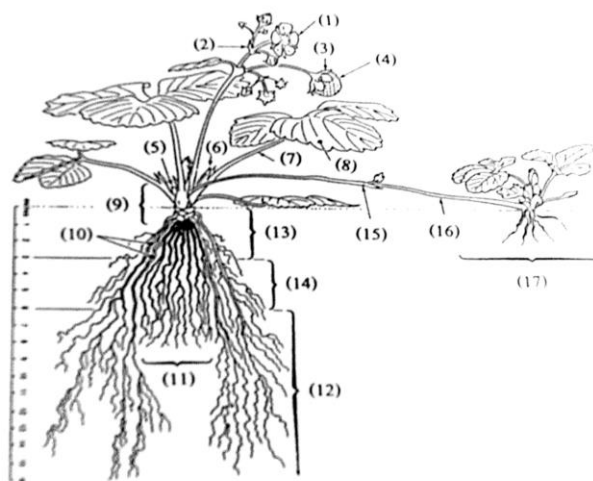
5. เทคนิค GC-MS, LC-MS และ SPME-GC-MS สามารถวิเคราะห์ถึงชนิดสารเมตาโบไลต์ปฐมภูมิและทุติยภูมิที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์สตอร์วเบอร์รี่ ทั้งในส่วนของใบ และระยะของการพัฒนาผิวผลได้อย่างถูกต้องแม่นยำ

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์สตรอว์เบอร์รี

สตรอว์เบอร์รีมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Fragaria × ananassa* Duch. ซึ่งเป็นพืชหลายฤดู (herbaceous perennial) จัดอยู่ในวงศ์ Rosaceae โดยสตรอว์เบอร์รีที่ปลูกเป็นเชิงการค้าในปัจจุบันนี้เป็นพันธุ์ลูกผสม (hybrid) ระหว่าง *F. chiloensis* กับ *F. virginiana* ที่มีจำนวนโครโมโซมเป็น 8 ชุด ($2n=8x=56$) โดยมีโครโมโซมพื้นฐาน (basic chromosome number) $n = 7$ (Darrow, 1966) ลักษณะการเจริญเติบโตของต้นสตรอว์เบอร์รี คือ ลำต้นมีการแตกกอ ใบแตกออกเป็นกลุ่ม ลักษณะของใบเป็นแบบใบประกอบ มี 3 ใบย่อย (trifoliolate) รูปร่างของแผ่นใบย่อยมีลักษณะเป็นรูปไข่ ช่อดอกมักมีความยาวใกล้เคียงกับก้านใบ ช่อดอกจะแตกแขนงแบบ cymose ก้านดอกย่อยจะมีขนาดเล็ก ดอกมีสีขาว ออกดอกเป็นช่อแบบ compound cymes การบานของดอกจะเริ่มบานจากดอกที่อยู่ตรงกลาง ซึ่งเป็นดอกที่มีขนาดใหญ่ที่สุด กลีบดอกมีสีขาว ผลเป็นแบบผลกลุ่ม (aggregate fruit) มีเมล็ดหรือ achene ติดอยู่บริเวณผิวผล เมื่อผลสุกจะมีสีแดงเข้ม และมีกลิ่นหอม (สังคม เตชะวงศ์เสถียร, 2532) โดยลักษณะทางพฤกษศาสตร์สตรอว์เบอร์รีทั้งหมดแสดง (ภาพ 1)



ภาพ 1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของต้นสตรอว์เบอร์รี

- หมายเหตุ: (1) กลีบดอก (flower petal) (2) ใบประดับ (bract)
 (3) วงกลีบเลี้ยง (calyx) (4) ผล (developing fruit)
 (5) ตาบริเวณซอกใบ (axillary bud) (6) หูใบ (stipule)
 (7) ก้านใบ (petiole) (8) แผ่นใบ (blade)
 (9) ลำต้น (crown) (10) รากใหม่ (new roots)
 (11) รากเดิม (old roots) (12) 10–50% ของระบบราก
 (13) 25–50% ของระบบราก (14) 25–40% ของระบบราก
 (15) ข้อแรก (first node) (16) เส้นไหล (runner)
 (17) ต้นไหล (daughter plant)

ที่มา: Hancock, 1999

ปัจจุบันสตรอว์เบอร์รีสกุล *Fragaria* พบว่ามีมากกว่า 20 ชนิด (species) ได้แก่ diploid ($2n = 4$), tetraploid ($2n = 28$), pentaploid ($2n = 35$), hexaploidy ($2n = 42$), octoploid ($2n = 56$) และ dactaploid ($2n = 70$) เป็นต้น โดยลักษณะทางพฤกษศาสตร์ที่สำคัญของสตรอว์เบอร์รีมีดังนี้

ลำต้น

สตรอว์เบอร์รีนั้นมีถิ่นกำเนิดในแถบอเมริกาเหนือและอเมริกาใต้ โดยมีลำต้นกลมและสั้น เรียกว่า crown ซึ่ง crown คือส่วนของลำต้น โดยปกติจะมีขนาดยาวประมาณ 2.5 เซนติเมตร ซึ่งส่วนนอกจะถูกปกคลุมไปด้วย หูใบ (stipules) ซึ่ง crown เป็นส่วนที่ผลิตใบตรงตำแหน่งบริเวณ ความยาวของ stem axis ผลิตดอกตรงปลายของ stem axis และผลิตรากตรงฐานของ crown (ณรงค์ชัย พิพัฒน์ธนวงศ์, 2543)

ราก

ความแตกต่างของสายพันธุ์ (varieties) และสภาพแวดล้อม (environment) ของ สตรอว์เบอร์รีจะมีผลต่อระบบรากที่แตกต่างกันไป โดยต้นสตรอว์เบอร์รีที่มีความสมบูรณ์จะมีระบบ รากประมาณ 20-30 ราก ซึ่งอาจจะเป็น primary root ได้ถึง 100 ราก และรากแขนงเล็ก ๆ เป็น จำนวนมาก (ณรงค์ชัย พิพัฒน์ธนวงศ์, 2543) ลักษณะลำต้นสตรอว์เบอร์รีที่อยู่สูงจากพื้นดิน รากที่ เกิดใหม่อาจจะไม่มีการเจริญเติบโตหรือแห้งตายก่อนที่จะถึงผิวดิน รวมทั้งรากอาจเป็นอันตรายถ้าพบ กับสภาพอากาศที่หนาวเย็นเกินไป แต่ถ้าหากมีดินอยู่รอบ ๆ ลำต้น จะพบว่า primary root ที่เกิด ใหม่จะสามารถเจริญขึ้นมาเพื่อทดแทนรากเดิมที่สูญเสียไป นอกจากนี้ยังพบว่า บริเวณปลายราก แขนงย่อยซึ่งมีสีขาว จะช่วยทำหน้าที่ในการลำเลียงน้ำและแร่ธาตุเข้าสู่ต้นพืชได้ดียิ่งขึ้น โดยพบว่าราก แขนงย่อยที่แตกออกมาก่อนจะมีประสิทธิภาพน้อยกว่ารากแขนงที่เพิ่งแตกออกมา ซึ่งจะมีลักษณะ เป็นสีขาวเข้ม นอกจากนี้รากสตรอว์เบอร์รียังสามารถเป็นที่เก็บสะสมอาหารเมื่อต้นสตรอว์เบอร์รี เข้าสู่ระยะพักตัวในช่วงฤดูหนาวอีกด้วย (Bringhurst et al., 1960, pp. 373-381)

ใบ

ใบสตรอว์เบอร์รีเป็นแบบใบประกอบ (compound leaf) โดยมีการเรียงกันแบบสลับ (alternate) ประกอบด้วยใบย่อย 3 ใบ (trifoliate) โดยแผ่นใบเป็นลักษณะรูปไข่กลับ (obovate) มีก้านใบยาว 15-30 เซนติเมตร แต่บางครั้งอาจพบต้นสตรอว์เบอร์รีที่มีใบย่อย 1 หรือ 5 ใบ ซึ่งขึ้นอยู่กับลักษณะประจำพันธุ์และอายุของต้นสตรอว์เบอร์รีด้วยเช่นกัน และพบว่าที่ผิวของใบและ ก้านใบจะมีขนปกคลุม โดยขอบใบมีลักษณะหยักคล้ายฟันเลื่อย มีการจัดเรียงของใบ (phyllotaxy) 2/5 โดยรอบส่วนของลำต้น ใบที่ 6 จะเวียนรอบและอยู่เหนือใบที่ 1 เป็นเช่นนี้สลับกันไป (Darrow, 1966)

ไหล

ไหล (runner) ใช้เป็นส่วนขยายพันธุ์ของสตรอว์เบอร์รี ซึ่งไหลเป็นส่วนที่เจริญจากตา บริเวณโคนของก้านใบ หรือบริเวณมุมก้านใบ โดยไหลจะประกอบไปด้วยเนื้อเยื่อที่สามารถลำเลียงน้ำ และแร่ธาตุในปริมาณที่มาก โดยสามารถผ่านไปทั้งสองทิศทาง คือ จากต้นแม่ไปยังไหล หรือ จากไหล มายังต้นแม่ เป็นต้น นอกจากนี้พบว่าไหลจะประกอบไปด้วย ข้อ 2 ข้อ และปล้อง 2 ปล้อง โดยข้อที่

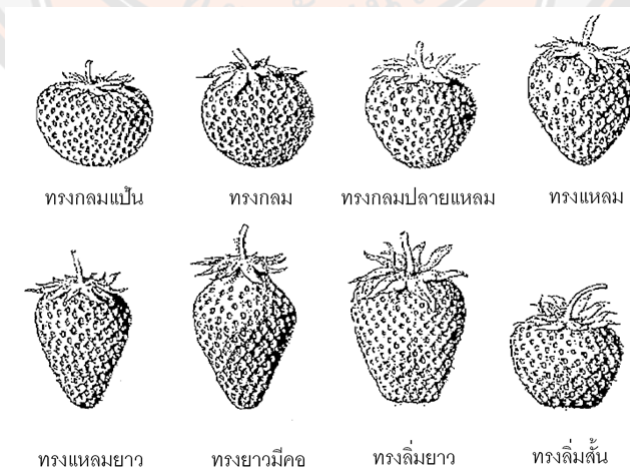
1 จะเกิดการพักตัวและไม่มีการเจริญเติบโตเป็นเส้นไหลอีกเส้นหนึ่ง แต่พบว่าในข้อที่ 2 จะมีการเจริญเติบโตเป็นต้นไหล (daughter plant หรือ runner plant) โดยพบว่าความสมบูรณ์ของเส้นไหลขึ้นอยู่กับต้นแม่พันธุ์รวมถึงลักษณะประจำพันธุ์และสภาพแวดล้อม ซึ่งพบว่าต้นแม่ที่สมบูรณ์จะให้เส้นไหลมากถึง 10-15 เส้น (ณรงค์ชัย พิพัฒน์ธนวงศ์, 2543)

ดอก

ดอกสตรอว์เบอร์รีเป็นดอกสมบูรณ์เพศ โดยช่อดอกของสตรอว์เบอร์รี คือ ส่วนของลำต้นที่เปลี่ยนแปลงไป ซึ่งการพัฒนาของดอกพบว่า กลีบเลี้ยงจะพัฒนามาก่อน ถัดไปเป็นกลีบดอก เกสรเพศผู้และสุดท้ายเป็นเกสรเพศเมียตามลำดับ โดยในต้นสตรอว์เบอร์รีจะพบดอกประมาณ 10-15 ดอก/ช่อ กลีบเลี้ยงสีเขียวประมาณ 5 กลีบ และกลีบดอกสีขาวประมาณ 5-15 กลีบ นอกจากนี้เกสรเพศผู้และเกสรเพศเมียกระจายอยู่เหนือฐานรองดอกซึ่งจะเจริญเป็นผล (fruit) ต่อไป (ณรงค์ชัย พิพัฒน์ธนวงศ์, 2543)

ผลของสตรอว์เบอร์รี

สตรอว์เบอร์รีมีลักษณะเป็นผลกลุ่ม (aggregate fruit) ซึ่งเจริญมาจากดอก ๆ เดียว แต่มีหลายรังไข่ แต่ละรังไข่ให้เมล็ด 1 เมล็ด แต่ละเมล็ดคือ ผลที่แท้จริงของสตรอว์เบอร์รีที่เรียกว่า 'achenes' ซึ่งในเมล็ดจะประกอบไปด้วยโปรตีน ไขมัน แต่ไม่พบส่วนของแป้ง (Darrow, 1966) โดยเปลือกนอกของเมล็ดมีลักษณะแข็ง และชั้นถัดไปเป็นเปลือกนุ่มขาวหุ้มเมล็ด โดยชั้นในเป็นส่วนของ endosperm ห่อหุ้มส่วนของรังไข่ไว้ ซึ่งอาหารจะถูกเก็บสะสมอยู่ใน cotyledon (พรชัย ปรีชาปัญญา, 2523; ณรงค์ชัย พิพัฒน์ธนวงศ์, 2543) รูปร่างผลสตรอว์เบอร์รีที่พบส่วนใหญ่มี 8 ลักษณะ (ภาพ 2)



ภาพ 2 รูปร่างผลสตรอว์เบอร์รี

ที่มา: ชูพงษ์ สุขุมลันนันทน์, 2531

สายพันธุ์สตอร์วเบอร์รี่

สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ โดยพิจารณาในด้านการตอบสนองต่ออุณหภูมิและช่วงแสงในการสร้างตาดอกเป็นหลัก ดังนี้ (ประสาทพร สมิตะมาน, 2538; ณรงค์ชัย พิพัฒน์ธนวังศ์, 2543)

1. June-bearing cultivars คือ สายพันธุ์สตอร์วเบอร์รี่ที่สร้างตาดอกเมื่อได้รับช่วงวันสั้น (short day) หรือตอบสนองในระยะช่วงแสงต่ำกว่า 10 ชั่วโมงต่อวัน ได้แก่

1.1 พันธุ์ Guardian เป็นพันธุ์ที่มีผลขนาดใหญ่ รูปทรงกรวย ผลสีแดงอ่อน มีกลิ่นหอม และให้ผลผลิตสูง เหมาะสำหรับการบริโภคสดและแปรรูป และนอกจากนี้ยังทนต่อโรค verticillium wilt และโรค red stele

1.2 พันธุ์ Robinson เป็นพันธุ์ที่ให้ผลขนาดใหญ่ รูปทรงกรวย มีกลิ่นหอมปานกลาง มีความคงทนต่อโรค verticillium wilt และสภาพภูมิอากาศที่อุณหภูมิสูงได้เป็นอย่างดี แต่ไม่ทนต่อโรค red stele

1.3 พันธุ์ Sequoia เป็นพันธุ์ที่ให้ผลขนาดใหญ่ สีแดงเข้ม อายุเก็บเกี่ยวนาน เหมาะสำหรับการบริโภคสด และสามารถแช่แข็งที่อุณหภูมิต่ำได้ มีความคงทนต่อโรค red stele และสภาพภูมิอากาศที่อุณหภูมิสูงได้

1.4 พันธุ์ Surecrop เป็นพันธุ์ที่ให้ผลขนาดปานกลางถึงใหญ่ ลักษณะผลเป็นทรงกลม และทรงแหลม กลิ่นและรสชาติดี เหมาะสำหรับการบริโภคสดและสามารถแช่แข็งที่อุณหภูมิต่ำได้ นอกจากนี้ต้นพันธุ์สามารถทนต่อสภาพภูมิอากาศที่แห้งแล้งได้ค่อนข้างสูง และมีความคงทนต่อโรค verticillium wilt และโรค red stele ได้เป็นอย่างดี

1.5 พันธุ์ Tioga เป็นพันธุ์ที่ให้ผลขนาดปานกลางถึงใหญ่ ลักษณะผลเป็นทรงกลม กลิ่นและรสชาติดี มีคุณภาพในการทำเป็นของหวานและแช่แข็งสูง มีความคงทนต่อสภาพภูมิอากาศที่อุณหภูมิสูงได้ แต่ไม่ทนต่อโรค red stele

1.6 พันธุ์ Turfs เป็นพันธุ์ที่ให้ผลขนาดยาวและใหญ่ ลักษณะผลเป็นทรงกลม ผลผลิตสูง แต่มีข้อจำกัด คือ ไม่ทนต่อโรค red stele

นอกจากนี้ ยังรวมถึงสายพันธุ์ในประเทศไทย ได้แก่ พันธุ์พระราชทาน 70 พันธุ์พระราชทาน 80 และพันธุ์เนียวโฮ (Nhoho) เป็นต้น

2. Everbearing cultivars คือ สายพันธุ์สตอร์วเบอร์รี่ที่สร้างตาดอกเมื่อได้รับช่วงวันยาว (long day) หรือตอบสนองในระยะช่วงแสงมากกว่า 12 ชั่วโมงต่อวัน ได้แก่

2.1 พันธุ์ Fort Laramie เป็นพันธุ์ที่ให้ผลขนาดใหญ่ ผลมีสีแดงสด มีกลิ่นหอม รสชาติดี เหมาะสำหรับการบริโภคสดและแปรรูป

2.2 พันธุ์ Gem Everbearing (Superfaction) เป็นพันธุ์ที่ให้ผลขนาดใหญ่ ผลมีสีแดงสด เหมาะสำหรับการบริโภคสด

2.3 พันธุ์ Ogallala เป็นพันธุ์ที่ให้ผลขนาดใหญ่ เหมาะสำหรับการบริโภคสด มีความคงทนต่อสภาพอากาศที่แห้งแล้งและอุณหภูมิต่ำได้เป็นอย่างดี

2.4 พันธุ์ Ozark Beauty เป็นพันธุ์ที่ให้ผลขนาดใหญ่ เนื้อผลแข็ง ลักษณะผลเป็นทรงกลม มีกลิ่นหอม รสชาติดี เหมาะสำหรับการบริโภคสดและแปรรูป แต่มีข้อจำกัด คือ ไม่ทนต่อโรค verticillium wilt และโรค red stele

2.5 พันธุ์ Quinault เป็นพันธุ์ที่ให้ผลขนาดใหญ่ ผลผลิตสูง เหมาะสำหรับการบริโภคสดและแปรรูป

3. Day-neutral คือ สายพันธุ์สตอร์วเบอร์รี่ที่ไม่ตอบสนองต่อช่วงแสงในการสร้างตาดอก โดยสามารถออกดอกได้ทั้งสภาพวันสั้นและสภาพวันยาว ได้แก่

3.1 พันธุ์ Fern เป็นพันธุ์ที่ให้ผลขนาดใหญ่ เนื้อผลแข็ง มีรสชาติดหวาน และให้ผลผลิตต่อไร่สูง

3.2 พันธุ์ Selva เป็นพันธุ์ที่ต้องการอากาศหนาวเย็นในการสร้างตาดอก ผลมีรูปร่างเป็นทรงแหลมยาว มีขนาดปานกลางถึงใหญ่ เนื้อผลมีสีแดงสด มีความแน่นเนื้อสูง รสชาติดหวานอมเปรี้ยว ดังนั้นพันธุ์นี้จึงเหมาะแก่การแปรรูป

3.3 พันธุ์ Tribute เป็นพันธุ์ที่ให้ผลขนาดปานกลางถึงใหญ่ ลักษณะผลเป็นทรงแหลม มีสีแดงสด รสชาติดี เหมาะสำหรับการบริโภคสดและแปรรูป นอกจากนี้ยังมีความคงทนต่อโรค red stele ได้เป็นอย่างดี

3.4 พันธุ์ Trista เป็นพันธุ์ที่ให้ผลขนาดปานกลาง ลักษณะผลเป็นทรงแหลม มีสีแดงเข้ม รสชาติดี เหมาะสำหรับการบริโภคสดและแปรรูป

ปัจจุบันนี้สตอร์วเบอร์รี่จึงถูกพิจารณาจัดเป็นพืชเศรษฐกิจชนิดใหม่ซึ่งสามารถช่วยยกฐานะความเป็นอยู่ของเกษตรกรผู้ปลูกให้ดีขึ้นทั้งในพื้นที่ราบและพื้นที่สูง ซึ่งในปัจจุบันนี้ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกสตอร์วเบอร์รี่ส่วนใหญ่อยู่ทางภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่และเชียงราย และในพื้นที่บางจังหวัดของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ อำเภอกุเวร์ จังหวัดเลย และในเขตภาคเหนือตอนล่าง เช่น อำเภอลำปาง จังหวัดเพชรบูรณ์ เป็นต้น และในบางพื้นที่ของภาคกลางที่สามารถเพาะปลูกได้ เช่น อำเภอดอนเจดีย์ และอำเภอสองพี่น้อง จังหวัดกาญจนบุรี เป็นต้น

ประวัติสตรอว์เบอร์รีในประเทศไทย

ในปี พ.ศ. 2512 พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวภูมิพลอดุลยเดชฯ ได้ทรงก่อตั้งโครงการหลวง ซึ่งปัจจุบันนี้ใช้ชื่อว่า มูลนิธิโครงการหลวง หลังจากพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวภูมิพลอดุลยเดชฯ เสด็จสวรรคต พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวมหาชิราลงกรณ บดินทรเทพยวรางกูร ได้ทรงสืบสานพระราชกรณียกิจของพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวภูมิพลอดุลยเดชฯ ซึ่งการก่อตั้งมูลนิธิโครงการหลวง นั้นมีวัตถุประสงค์หลัก เพื่อหยุดยั้งการปลูกฝิ่นของชาวไทยภูเขา โดยการปลูกพืชอื่นทดแทนและยังเป็นการช่วยยกระดับการครองชีพ ตลอดจนความเป็นอยู่ของชาวไทยภูเขาให้ดีขึ้น ซึ่งพืชที่นำเข้ามาปลูกทดสอบ ได้แก่ สตรอว์เบอร์รี เนื่องจากพื้นที่เพาะปลูกและสภาพภูมิอากาศในเขตภาคเหนือของประเทศไทยมีความเหมาะสม โดยทำการปลูกทดสอบตามสถานีทดลองเกษตรที่ระดับความสูงต่างกัน รวมทั้งมีการศึกษาเรื่องของโรค แมลง การจัดการหลังการเก็บเกี่ยว การบรรจุหีบห่อ และการตลาด เป็นต้น อย่างไรก็ตามสายพันธุ์สตรอว์เบอร์รีทั้งหมดที่ถูกนำเข้ามาปลูกทดสอบในประเทศไทย มีดังนี้

1. พันธุ์เนียวโฮ (Nyoho) เป็นพันธุ์ที่ถูกผสมขึ้นที่ Tochigi Prefecture Agricultural Experiment Station ในประเทศญี่ปุ่น ซึ่งเกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่าง Kei 210 × Reiko ผลมีขนาดปานกลาง รูปทรงผลเป็นแบบทรงแหลม (conic) รสชาติหวานอมเปรี้ยว มีกลิ่นหอม เนื้อผลแข็ง จึงเหมาะต่อการขนส่ง ซึ่งพันธุ์นี้ได้รับการรับรองในปี ค.ศ.1981 (ประสาทร สมิตะมาน และदनัย บุญเกียรติ, 2542; ณรงค์ชัย พิพัฒน์ธนวรงค์, 2543)
2. พันธุ์ Rosa Linda เป็นสตรอว์เบอร์รีจาก Florida Agricultural Experiment Station มีลักษณะเด่น คือ ให้ผลผลิตที่เร็วในต้นฤดู ผลมีขนาดใหญ่ เนื้อผลมีสีแดงสด จึงเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคทั่วไป (ฐานข้อมูลพันธุ์กรรมพืชสวน, 2557)
3. พันธุ์ Tochinomine เป็นพันธุ์ที่ถูกผสมขึ้นในประเทศญี่ปุ่น ซึ่งเกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่าง Kei 511× Nyoho ซึ่งพันธุ์นี้ได้รับการรับรองในปี ค.ศ.1993 (ฐานข้อมูลพันธุ์กรรมพืชสวน, 2557)
4. พันธุ์ Oso Grande เป็นพันธุ์ที่เกิดจากการผสมในรัฐ California ประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งเกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่าง Parker × (Tioga × Pajaro) ซึ่งพันธุ์นี้ได้รับการรับรองในปี ค.ศ. 1987 (ฐานข้อมูลพันธุ์กรรมพืชสวน, 2557)
5. พันธุ์เซลวา (Selva) เป็นพันธุ์ที่มีเนื้อสีแดงหรือสีส้มแดง เนื้อแข็งรสออกเปรี้ยว แต่จะหวานเมื่อเก็บช่วงแก่จัด ผลขนาดปานกลางถึงใหญ่ เหมาะแก่การบริโภคสด (ประสาทร สมิตะมาน และदनัย บุญเกียรติ, 2542)
6. พันธุ์พระราชทาน 13 (Cambridge Favorite) เป็นพันธุ์ที่ถูกผสมขึ้นที่ประเทศสหรัฐอเมริกา โดยผลมีขนาดปานกลาง สีแดงเข้ม ปัจจุบันนี้ไม่นิยมปลูก (ณรงค์ชัย พิพัฒน์ธนวรงค์, 2543)

7. พันธุ์พระราชทาน 16 (Tioga) เป็นพันธุ์ที่ถูกผสมขึ้นที่ประเทศสหรัฐอเมริกา โดยพันธุ์พระราชทาน 16 นี้ มีลักษณะที่ดี คือ เป็นพันธุ์ที่ไม่ต้องการความหนาวเย็นมากนักในการสร้างตาดอก ผลมีขนาดเล็กถึงปานกลาง ผิวเป็นมัน รูปร่างของผลเป็นทรงแหลม (conic) หรือลิ่มสั้น (short wedge) ให้ผลดก เนื้อผลมีสีขาว ผิวผลมีสีแดง และยังทนทานต่อโรคที่เกิดจากไวรัส (สังคม เตชะวงศ์เสถียร, 2532) แต่มีข้อจำกัดคือ ขั้วผลหลุดง่าย เนื้อแข็ง รสชาติเปรี้ยว จึงเหมาะแก่การแปรรูป (ประสาทร สมิตะมาน, และदनัย บุญเกียรติ, 2542)

8. พันธุ์พระราชทาน 20 (Sequoia) เป็นพันธุ์ที่ถูกผสมขึ้นในประเทศสหรัฐอเมริกา โดยสายพันธุ์นี้ชอบสภาพอากาศที่หนาวเย็น เพื่อชักนำให้เกิดตาดอก โดยผลมีขนาดใหญ่กว่าพันธุ์พระราชทาน 16 ผิวผลมีสีแดงเข้ม รสชาติหวาน มีความต้านทานต่อโรคไวรัสได้เป็นอย่างดี แต่ไม่ต้านทานต่อโรครากเน่า ซึ่งพันธุ์นี้นิยมบริโภคสด แต่มีข้อจำกัด คือ ผิวค่อนข้างบางจึงง่าย ทำให้มีปัญหาในการขนส่ง (ประสาทร สมิตะมาน และदनัย บุญเกียรติ, 2542)

9. พันธุ์พระราชทาน 50 (B5) เป็นพันธุ์ที่เกิดจากการผสมในสหรัฐอเมริกา ถูกนำเข้ามาคัดเลือกพันธุ์โดยการผสมตัวเอง เป็นพันธุ์ที่ต้องการอุณหภูมิต่ำในการชักนำให้เกิดตาดอก สามารถปลูกได้ทั่วไปทั้งที่ราบ และพื้นที่สูง โดยพบว่า ขนาดผลมีตั้งแต่ปานกลางถึงใหญ่ น้ำหนักผลเฉลี่ยเท่ากับ 12-18 กรัม ลักษณะผลเป็นแบบทรงแหลมยาว (long conic) มีความแน่นเนื้อสูง ผิวและเนื้อมีสีแดงถึงแดงเข้ม เนื้อผลกลวง รสชาติหวานอมเปรี้ยว และมีกลิ่นหอม นอกจากนี้ยังพบว่ามีความสามารถต้านทานต่อโรคราแป้งได้เป็นอย่างดี แต่ไม่สามารถต้านทานต่อไรได้ (ประสาทร สมิตะมาน และदनัย บุญเกียรติ, 2542)

10. พันธุ์พระราชทาน 60 หรือ รหัส 003-00 ได้ถูกคัดเลือกครั้งแรกในฤดูการผลิตปี พ.ศ. 2544/2545 ที่แปลงทดลองของสถานีวิจัยดอยปุย อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ เป็นสตรอว์เบอร์รีลูกผสมสายพันธุ์แรกที่เกิดขึ้นในประเทศไทยอย่างเป็นทางการ โดยเป็นการผสมข้ามพันธุ์ระหว่างพันธุ์ Rosa Linda และ Tochiotome ในปีพ.ศ.2543 ตามโปรแกรมการผสมพันธุ์ของโครงการวิจัยการผสมพันธุ์และคัดเลือกสตรอว์เบอร์รี (รหัสโครงการที่ 3025-3038 ระหว่างปี พ.ศ.2541-2545 งบประมาณวิจัยของมูลนิธิโครงการหลวง) จากนั้นกรมวิชาการเกษตรได้ออกหนังสือรับรองพันธุ์พืช ซึ่งขึ้นทะเบียนตามพระราชบัญญัติพันธุ์พืช พ.ศ. 2518 (ร.พ. 2) เลขที่ 276/2549 ลงวันที่ 16 กันยายน พ.ศ. 2549 โดยสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 60 มีลักษณะเด่น คือ ใบมีสีเขียวปานกลางถึงเข้ม รูปทรงยาวรี ขอบใบหยักลึกคล้ายฟันเลื่อย ผลมีขนาดใหญ่ เป็นรูปทรงแหลม (conic) ถึงทรงกลมปลายแหลม (globose conic) น้ำหนักผลเฉลี่ยเท่ากับ 10-15 กรัม ความหวานมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 10.7% เมื่อผลสุกมีกลิ่นหอม เนื้อผลมีสีแดงสด ผิวเป็นเงามัน และให้ผลผลิตต่อต้นค่อนข้างสูง นอกจากนี้ยังทนทานต่อโรคราแป้ง โรครากเน่า ไรสองจุด และเพลี้ยอ่อน (aphids) (ฐานข้อมูลพันธุ์กรรมพืชสวน, 2557)

11. พันธุ์พระราชทาน 70 (Toyonoka) เป็นพันธุ์ที่ได้รับการรับรองในปีค.ศ.1983 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ถูกผสมขึ้นที่ Kurume branch of National Horticultural Institute ในประเทศญี่ปุ่น ซึ่งเป็นการผสมระหว่างพันธุ์ Himiko x Harunoka จากนั้นจึงนำเข้ามาปลูกทดสอบในประเทศไทย โดยมูลนิธิโครงการหลวง ซึ่งพันธุ์พระราชทาน 70 (Toyonoka) มีลักษณะเด่น คือ เป็นพันธุ์ที่ผลมีขนาดใหญ่ มีความแน่นเนื้อสูง ผลเป็นทรงกลมสวย ผิวค่อนข้างบางและมันวาว มีกลิ่นหอม รสชาติหวาน แต่มีข้อจำกัด คือ ไม่ต้านทานต่อโรคราแป้ง เพลี้ยไฟและไร เป็นต้น (ประสาทพร สมิตะมาน และदनัย บุญเกียรติ, 2542; ณรงค์ชัย พิพัฒน์ธนวนศ์, 2543)

12. พันธุ์พระราชทาน 72 (Tochiotome) เป็นพันธุ์ที่ได้รับการรับรองในปี ค.ศ.1996 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่เกิดจากการผสมในประเทศญี่ปุ่น ระหว่างพันธุ์ Kurume 49 x Tochinomine จากสถาบัน Tochigi Prefectural Agricultural Experiment Station โดยพันธุ์พระราชทาน 72 (Tochiotome) มีลักษณะเด่น คือ ผลมีขนาดปานกลางถึงใหญ่ โดยพบว่าน้ำหนักผลมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 14 กรัมต่อผล มีความแน่นเนื้อมากกว่าผลของพันธุ์พระราชทาน 70 แต่มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้น้อยกว่าเล็กน้อย คือ พันธุ์พระราชทาน 70 และ 72 มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้เฉลี่ยเท่ากับ 9.6% และ 9.3% ตามลำดับ รสชาติผลหวานอมเปรี้ยว ผลสุกมีกลิ่นหอม เนื้อผลมีสีขาว มีความเงามันของผิวผล ผลสุกเต็มที่จะมีสีแดงถึงแดงจัด จึงเหมาะแก่การบริโภคสด นอกจากนี้ยังมีความทนทานต่อการขนส่ง (ชัยพิชิต เชื้อเมืองพาน, 2548)

13. พันธุ์ 329 (Yale) เป็นพันธุ์ลูกผสมระหว่างพันธุ์ Oso Grande x Dorit ถูกพัฒนา โดย Eva Izsak, Shamai Izhari จากสถาบัน The agricultural research organization, the volcanic center, bet dagan สังกัด State of Israel, ministry of agriculture research organization ประเทศอิสราเอล จากนั้นจึงมีการนำพันธุ์เข้ามาปลูกทดสอบและคัดเลือก เพื่อให้สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมในประเทศไทย โดยลักษณะเด่นของสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์ 329 คือ ใบมีขนาดใหญ่ ก้านใบยาว ผิวใบมัน สีใบเข้ม เนื้อใบค่อนข้างหยาบ จักใบห่าง ผลมีขนาดใหญ่ รูปร่างทรงแหลม (conic) และทรงกลมปลายแหลม (globose conic) ผิวผลมีสีแดงสดมัน กลีบเลี้ยงกลุ่มผล เมล็ดอยู่ต่ำกว่าผิวผล ลักษณะเนื้อผลแน่น มีกลิ่นหอม รสชาติหวานอมเปรี้ยว อายุการวางจำหน่ายประมาณ 6-7 วัน มีความทนทานต่อการขนส่ง เนื่องจากผิวไม่เสีงง่ายเมื่อถึงปลายทางสามารถเก็บไว้ได้นาน นอกจากนี้ยังสามารถต้านทานต่อโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia* spp. และ *Fusarium oxysporum* รวมทั้งไรสองจุด (Two - spotted spider mite) ได้เป็นอย่างดี (สุทิน เสงคร, 2551; สุภาวดี ศรีวงศ์เพชร, 2557)

14. พันธุ์ Akihime เป็นพันธุ์ลูกผสมจากประเทศญี่ปุ่น โดยการผสมกันระหว่างพันธุ์ Kunohwase และ Nyoho ปัจจุบันมีการนำเข้ามาปลูกทดสอบในประเทศไทย ณ แปลงปลูก วาวีสตรอว์เบอร์รี่ไฮส์ ตำบลวาวี อำเภอเมือง จังหวัดเชียงราย และได้กระจายไปในพื้นที่ต่าง ๆ ของ

ประเทศไทย รวมถึงในเขตภาคเหนือตอนล่าง เช่น จังหวัดเพชรบูรณ์ โดยสายพันธุ์นี้สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมในประเทศไทยได้เป็นอย่างดี พันธุ์นี้มีลักษณะเด่น คือ ผลมีลักษณะทรงกลม (conic) และทรงกลมยาว (long conic) ขนาดผลปานกลางถึงใหญ่ ผิวผลมีสีแดงอมชมพู เนื้อผลมีสีขาว รสชาติหวาน ผิวมีลักษณะมันวาว ผลสุกมีกลิ่นหอม แต่มีข้อจำกัด คือ ผิวบาง ง่าย จึงไม่เหมาะต่อการขนส่ง และไม่ต้านทานต่อโรคราแป้ง เป็นต้น

ต่อมาในปี พ.ศ. 2545 ที่แปลงทดลองของสถานีวิจัยดอยปุย (พิกัดที่ตั้ง $18^{\circ} 48' 39''$ N, $98^{\circ} 53' 5''$ E) สังกัดสถาบันค้นคว้าและพัฒนากระบวนการเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์) อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ ได้นำเมล็ดพันธุ์ลูกผสมจากประเทศญี่ปุ่นเข้ามาเพาะและปลูกทดสอบ ตามโปรแกรมการผสมพันธุ์และคัดเลือกสตอร์วเบอร์รี่จนได้สายพันธุ์ที่เหมาะสมและสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมในประเทศไทยได้เป็นอย่างดี ได้แก่ สตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 จากนั้นมูลนิธิโครงการหลวงจึงทำการส่งเสริมให้เกษตรกรปลูกและขยายพันธุ์เป็นจำนวนมาก ซึ่งเป็นการสร้างรายได้ให้กับเกษตรกรและยังเป็นการค้นพบสายพันธุ์สตอร์วเบอร์รี่ใหม่ของประเทศไทยอีกด้วย ซึ่งสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 มีลักษณะเด่นดังนี้

ราก

ลักษณะต้นที่สมบูรณ์จะมีรากหลักประมาณ 20-30 ราก และอาจมีรากที่เรียกว่า primary root ได้ถึง 100 ราก และมีรากแขนงเล็ก ๆ (rootlet) เป็นจำนวนพันรากซึ่งถือว่าเป็นต้นพันธุ์ที่มีระบบรากที่ดี

ลำต้น

เป็นส่วนที่สั้นโดยปกติมีขนาดยาวประมาณ 2 เซนติเมตร และส่วนนอกจะถูกปกคลุมโดยการซ้อนกันของส่วนที่เรียกว่าหูใบ (stipules) โดยมีความสูงทรงพุ่มเฉลี่ยเท่ากับ 20-30 เซนติเมตร และความกว้างทรงพุ่มเฉลี่ยเท่ากับ 27 เซนติเมตร

ใบ

ระยะเวลาการเกิดของใบจะใช้เวลาประมาณ 8-12 วัน โดยพบว่า ขนาดของใบที่มีการเจริญเติบโตเต็มที่ใช้เวลาประมาณ 2-3 สัปดาห์ โดยใบจะมีชีวิตอยู่ได้นาน 1-3 เดือน โดยใบส่วนใหญ่มีลักษณะ 3 ใบย่อย (trifoliate) รูปร่างกลม และขอบใบหยักคล้ายฟันเลื่อย โดยในต้นสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 พบว่ามีจำนวนใบมากกว่า 25 ใบต่อต้น และยังพบว่ามีการใบหนาและยาว

ดอก

ช่อดอกที่สมบูรณ์ประกอบด้วย 1 ดอกของดอก primary, 2 ดอกของดอก secondary, 4 ดอกของดอก tertiary และ 8 ดอกของดอก quaternary แต่อาจพบช่อดอกหลาย ๆ รูปแบบ ซึ่งดอกเกือบทั้งหมดเป็นดอกสมบูรณ์เพศ โดยพบว่าเส้นผ่านศูนย์กลางของดอกมีขนาด 2.2-3.0

เซนติเมตร และเกสรเพศเมียถูกจัดเรียงแบบเวียนอย่างมีระเบียบบนส่วนของฐานรองดอก ซึ่งจะสังเกตได้จากลักษณะของเมล็ดที่อยู่บนผลถูกจัดเวียนอย่างมีระเบียบด้วยเช่นกัน นอกจากนี้ยังพบว่า ละอองเกสรเพศผู้มีความทนทานต่อสภาพเย็นปานกลาง โดยเกสรเพศผู้นั้นจะมีจำนวนเฉลี่ยเท่ากับ 25-29 อัน กลีบเลี้ยงสีเขียวมีจำนวนเฉลี่ยเท่ากับ 5 กลีบ และกลีบดอกสีขาวมีจำนวนเฉลี่ยเท่ากับ 5-15 กลีบ

ผล

ฐานรองดอก หรือ receptacle ซึ่งส่วนนี้จะถูกพัฒนาไปเป็นเนื้อของผลซึ่งสามารถรับประทานได้ ส่วนเมล็ดจะอยู่ที่ผิวซึ่งจะอยู่ระดับเดียวกันเสมอ ผลมีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 12-15 กรัม ขนาดกว้างและยาวเฉลี่ยมากกว่า 3 เซนติเมตร รูปร่างของผลสวยงาม (berry shape) โดยทั่วไปเป็นรูปทรงแหลม (conic) ถึงทรงกลมปลายแหลม (globose conic) ไม่พบผลที่เป็นลักษณะขรุขระและรูปทรงแบนเหมือนหงอนไก่ (fasciation) เนื้อผลมีสีแดง ความแน่นของเนื้อผลเฉลี่ยเท่ากับ 1.21 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร และยังพบว่ามีรสชาติหวาน เมื่อผลสุกจะมีกลิ่นหอม

เมล็ด

เกสรเพศเมียถูกจัดเรียงแบบเวียนอย่างเป็นระเบียบบนส่วนของฐานรองดอก ซึ่งสังเกตจากลักษณะของเมล็ดที่อยู่บนผลถูกจัดเวียนอย่างมีระเบียบเช่นกัน achene ซึ่งมักถูกเรียกว่า เมล็ด (seed) ได้เจริญพัฒนาเต็มที่ก่อนผลแก่หลายวัน เนื่องจากผลค่อนข้างใหญ่และมีรูปร่างปกติจึงมีจำนวนเมล็ดต่อผลมาก ทำให้ช่องว่างของผิวระหว่างเมล็ดค่อนข้างแคบ ทำให้มีความทนทานต่อการขนส่ง

นอกจากนี้ยังพบว่า สตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 ยังคงมีลักษณะอื่น ๆ ที่สำคัญ คือ เป็นสตรอว์เบอร์รี่ประเภทวันสั้น (short day) คือ ต้องการความหนาวเย็นอุณหภูมิเฉลี่ยประมาณ 15-18 °C เพื่อใช้ในการสร้างตาดอก และใช้ระยะเวลาในการเกิดตาดอกประมาณ 20-30 วัน นอกจากนี้ยังพบว่า จากระยะเวลาดอกบานจนถึงระยะเก็บเกี่ยวผลผลิตจะใช้เวลาทั้งหมด 70 วัน โดยให้ผลผลิตต่อต้นสูงสุด 400 กรัม หรือประมาณ 3 ต้นต่อไร่ (คำนวณจากการปลูก 10,000 ต้นต่อไร่) อย่างไรก็ตามสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์นี้ เมื่อผลสุกจะมีกลิ่นหอม มีความแน่นเนื้อผลสูง และเนื้อผลสวย สามารถผลิตไหลต่อต้นได้ประมาณ 60-80 ต้นไหลต่อต้นแม่หนึ่งต้น และยังพบว่าสามารถต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนส (anthracnose) และราแป้ง (powdery mildew) ได้เป็นอย่างดี อย่างไรก็ตามสตรอว์เบอร์รี่สายพันธุ์นี้สามารถปลูกเป็นการค้าได้ในพื้นที่ที่มีความสูงจากระดับน้ำทะเลตั้งแต่ 800 เมตรขึ้นไป (ณรงค์ชัย และคณะ, 2554, หน้า 22-28)

นอกจากสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 แล้ว ปัจจุบันนี้มีมูลนิธิโครงการหลวงยังประสบความสำเร็จในการปรับปรุงพันธุ์และคัดเลือกสายพันธุ์สตรอว์เบอร์รี่ จนได้สายพันธุ์ใหม่ที่สามารถปรับตัวได้ดีในประเทศไทย โดยตั้งชื่อพันธุ์ดังกล่าวว่า พันธุ์พระราชทาน 88 (พระบาทสมเด็จพระ

เจ้าอยู่หัวภูมิพลอดุลยเดชมหาราช มีพระชนมพรรษาครบ 88 พรรษา) โดยพันธุ์นี้เป็นลูกผสมระหว่าง พันธุ์พระราชทาน 80 และพันธุ์พระราชทาน 60 นอกจากนี้สายพันธุ์ดังกล่าวยังมีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ที่สำคัญ ได้แก่

ราก

ต้นที่สมบูรณ์จะพบรากหลักประมาณ 20-30 ราก และมีรากแขนงเล็ก ๆ เป็นจำนวนมาก ซึ่งถือว่าเป็นต้นที่มีระบบรากที่ดี นอกจากนี้ยังพบว่า รากพิเศษ (adventitious root) จะเริ่มเจริญจากส่วนของลำต้นอย่างรวดเร็วจนอาจมีความยาวหลายนิ้ว ซึ่งโดยทั่วไปรากจะมีอายุประมาณ 1 ปี

ลำต้น

สตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์นี้将有ความยาวของลำต้นเฉลี่ยประมาณ 2 เซนติเมตร และส่วนนอกจะถูกปกคลุมโดยการซ้อนกันของส่วนที่เรียกว่า หูใบ (stipules) โดยมีความสูงทรงพุ่มเฉลี่ยเท่ากับ 25-30 เซนติเมตร ความกว้างทรงพุ่มเฉลี่ยเท่ากับ 20-30 เซนติเมตร

ใบ

ใบจะมีลักษณะเป็นรูปทรงรี ขอบใบหยักคล้ายฟันเลื่อย โดย 1 ก้านใบ จะประกอบไปด้วย 3 ใบย่อย (trifoliate) ใบมีสีเขียวปานกลางถึงเขียวเข้ม ขนาดใบย่อยกว้าง 4-6 เซนติเมตร ยาว 5-7 เซนติเมตร ทั้งต้นพบจำนวนใบมีมากกว่า 40 ใบต่อต้น

ดอก

ช่อดอกมีการแตกแขนงจำนวนมาก โดยพบว่าใน 1 ต้น มีจำนวนดอกเฉลี่ยเท่ากับ 1-15 ดอก ซึ่งอาจพบช่อดอกได้ในหลาย ๆ รูปแบบ ดอกเกือบทั้งหมดเป็นดอกสมบูรณ์เพศ (perfect-flowered หรือ hermaphrodite) ช่อดอกตั้งตรง โผล่พ้นจากทรงพุ่ม พบจำนวนช่อดอกมีมากกว่า 10 ช่อต่อต้น เส้นผ่านศูนย์กลางดอกเฉลี่ยเท่ากับ 2-3 เซนติเมตร เกสรเพศเมียถูกจัดเรียงแบบเวียนอย่างมีระเบียบบนส่วนของฐานรองดอก ซึ่งสังเกตจากลักษณะของเมล็ดที่อยู่บนฐานรองดอกถูกจัดเวียนอย่างมีระเบียบเช่นกัน สีของกลีบดอกเป็นสีขาว กลีบเลี้ยงมีสีเขียวอ่อนถึงเขียวเข้มและมีขนาดใหญ่ โดยพบว่ากลีบดอกมีจำนวนเฉลี่ยเท่ากับ 10-12 กลีบ เกสรเพศผู้มีจำนวนเฉลี่ยเท่ากับ 20-25 อัน นอกจากนี้ยังพบว่า ละอองเรณูมีความทนทานต่อสภาพอากาศร้อนและเย็นได้ดี

ผล

ฐานรองดอก (receptacle) ซึ่งพัฒนาไปเป็นส่วนที่สามารถรับประทานได้ โดยพบว่า ผลมีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 17-20 กรัม ขนาดความกว้างและยาวของผลเฉลี่ยมากกว่า 2.5 เซนติเมตร โดยทั่วไปผลมีลักษณะเป็นรูปทรงแหลม (conic) ถึงทรงกลมปลายแหลม (globose conic) ผิวผลมีสีส้มแดงถึงแดงเข้ม เนื้อผลมีสีแดงสลับขาว มีความแน่นเนื้อผลสูง รสชาติหวาน และหอม

ลักษณะอื่น ๆ

จัดเป็นสตรอว์เบอร์รีประเภทวันสั้น (short day) และเป็นพันธุ์ที่ต้องการความหนาวเย็นปานกลาง อุณหภูมิเฉลี่ยเท่ากับ 15-18 °C เป็นเวลา 20-30 วัน เพื่อกระตุ้นให้เกิดการสร้างตาออกของเนื้อเยื่อเจริญที่บริเวณปลายยอดของลำต้น นอกจากนี้ยังพบว่าสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์นี้มีระยะเวลาตั้งแต่ดอกบานจนถึงเก็บเกี่ยวผลผลิตประมาณ 60 วัน (กรมวิชาการเกษตร, 2559)

คุณค่าทางอาหารในสตรอว์เบอร์รี

ปัจจุบันนี้ผู้บริโภคส่วนใหญ่นิยมรับประทานผลไม้เพื่อสุขภาพเป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะสตรอว์เบอร์รี เนื่องจากสตรอว์เบอร์รีเป็นผลไม้ที่มีรูปทรงสวยงาม ผิวผลมีสีแดงสด ผลมีขนาดปานกลางถึงใหญ่ และที่สำคัญคือ มีรสชาติหวานฉ่ำ ยิ่งไปกว่านั้นในผลสตรอว์เบอร์รียังมีคุณค่าทางสารอาหารหลากหลายชนิด เช่น วิตามินเอ วิตามินบี วิตามินซี วิตามินอี กรดฟอลิก (folic acid) เส้นใยอาหาร (fiber) และแร่ธาตุชนิดต่าง ๆ (ตาราง 1) ยิ่งไปกว่านั้นในผลสตรอว์เบอร์รียังคงมีคุณค่าทางโภชนาการในด้านอื่น ๆ ที่สำคัญและเป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภคอย่างมาก เช่น มีสารประกอบฟีนอล (phenolic compounds) ในปริมาณที่สูง (ตาราง 2) จากเหตุผลดังกล่าวข้างต้น จึงส่งผลทำให้สตรอว์เบอร์รีเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคมากขึ้น (Giampieri et al., 2012, pp. 9-19)

ตาราง 1 คุณค่าทางสารอาหารในผลสตรอว์เบอร์รี

Type	Nutrient	Per 100 g
Proximates	Water (g)	90.95
	Energy (kcal)	32
	Protein (g)	0.67
	Ash (g)	0.40
	Total lipid (g)	0.30
	Carbohydrate (g)	7.68
	Dietary fiber (g)	2.0
	Sugars (g)	4.89
	Sucrose (g)	0.47
	Glucose (g)	1.99
	Fructose (g)	2.44
	Minerals	Calcium (mg)

Type	Nutrient	Per 100 g
Vitamin	Iron (mg)	0.41
	Magnesium (mg)	13
	Phosphorus (mg)	24
	Potassium (mg)	153
	Sodium (mg)	1
	Zinc (mg)	0.14
	Copper (mg)	0.048
	Manganese (mg)	0.386
	Selenium (µg)	0.4
	Vitamin C (mg)	58.8
	Thiamin (mg)	0.024
	Riboflavin (mg)	0.022
	Niacin (mg)	0.386
	Pantothenic acid (mg)	0.125
	Vitamin B6 (mg)	0.047
	Folate (µg)	24
	Choline (mg)	5.7
	Betaine (mg)	0.2
	Vitamin B12 (µg)	0
	Vitamin A, RAE (µg)	1
	Lutein + zeaxanthin (µg)	26
	Vitamin E, α -tocopherol (mg)	0.29
	β -tocopherol (mg)	0.01
	γ -tocopherol (mg)	0.08
δ -tocopherol (mg)	0.01	
Vitamin K, phylloquinone (µg)	2.2	

หมายเหตุ: ดัดแปลงจาก U.S. Department of Agriculture, Agriculture Research Service

ที่มา: Giampieri et al., 2012, pp. 9-19

ตาราง 2 กลุ่มของสารประกอบฟีนอลที่เป็นส่วนประกอบในผลสตรอว์เบอร์รี

Class	Group	Compound
Flavonoids	Anthocyanins	Cyanidin-3-glucoside
		Cyanidin-3-rutinoside
		Cyanidin-3-malonylglucoside
		Cyanidin-3-malonylglucosyl-5-glucoside
		Pelargonidin-3-galactoside
		Pelargonidin-3-glucoside
		Pelargonidin-3-rutinoside
		Pelargonidin-3-arabinoside
		Pelargonidin-3,5-diglucoside
		Pelargonidin-3-malylglucoside
		Pelargonidin-3-malonylglucoside
		Pelargonidin-3-acetylglucoside
		Pelargonidin-dissacharide (hexose + pentose) acylated with acetic acid
		5-pyranopelargonidin-3-glucoside
		Flavonols
	Quercetin-3-malonyglucoside	
	Quercetin-rutinoside	
	Quercetin-glucoside	
	Quercetin-glucuronide	
	Flavanols	Kaempferol-3-glucoside
Kaempferol-3-malonyglucoside		
Kaempferol-coumaroyl-glucoside		
Kaempferol-glucunoride		
Proanthocyanidin B1 (EC-4,8-C)		
Proanthocyanidin trimer (EC-4,8-EC-4,8-C)		
Proanthocyanidin B3 (C-4,8-C)		
(+)-catechin		

Class	Group	Compound
Phenolic acids	Hydroxycinnamic acids	p-coumaroyl hexose
Hydrolyzable tannins	Ellagitannins	Ellagitannin Bis-HHDP-glucose Galloyl-HHDP-glucose HHDP-galloyl-glucose Galloyl-bis-HHDP-glucose Dimer of galloyl-bis-HHDP Sanguin H-6 Methyl-EA-pentose conjugates Ellagic acid pentoside Ellagic acid

หมายเหตุ: EA = ellagic acid; HHDP = galloylbis-hexahydroxydiphenoyl

ที่มา: Giampieri et al., 2012, pp. 9-19

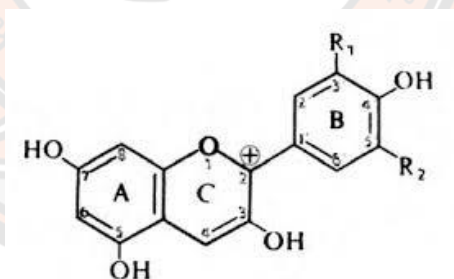
จากการรายงานความสำเร็จของ Giampieri et al. (2012, pp. 9-19) รายงานว่าการบริโภคผลสตอร์ว์เบอร์รี่สด 250 กรัม สามารถให้ฟอลเลท (folate) ได้ถึง 60 ไมโครกรัม หรือประมาณ 30% ซึ่งนับได้ว่าเพียงพอต่อร่างกายของคนเราในวันหนึ่ง ๆ และยังพบว่าการบริโภคผลสตอร์ว์เบอร์รี่สดขนาดกลางจำนวน 8 ผลนั้น จะทำให้ได้รับวิตามินซีสูงถึง 160% แมงกานีส 20% โพแทสเซียม 5% กรดฟอลิก 20% และเส้นใย 16% และแร่ธาตุชนิดอื่น ๆ เช่น ไอโอดีน แมกนีเซียม คอปเปอร์ ไอออน และฟอสฟอรัส รวมทั้งยังให้พลังงานถึง 45 แคลลอรี่ โดยไม่พบส่วนของไขมันในผลสตอร์ว์เบอร์รี่ นอกจากนี้จะมีส่วนประกอบของแร่ธาตุ วิตามิน ในปริมาณที่สูงแล้ว ยังพบสารประกอบฟีนอล (phenolic compound) ซึ่งเป็นสารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิที่เป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภคอีกเช่นกัน เช่น สารในกลุ่ม flavonoids ได้แก่ anthocyanin, flavonols, flavanols สารในกลุ่ม Hydrolyzable tannins เช่น ellagitannins และ gallotannins และสารในกลุ่ม phenolic acids เช่น hydroxybenzoic acids และ hydroxycinnamic acids เป็นต้น (Kahkonen et al., 2001, pp. 4076-4082; Maatta-Riihinen et al., 2004, pp. 6178-6187; Aaby et al., 2005,

pp. 4032-4040; Giampieri et al., 2012, pp. 9-19) ซึ่งการที่ผลสตรอว์เบอร์รี่มีปริมาณแอนโทไซยานินที่สูงจะมีประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภค เช่น ช่วยให้ระบบการไหลเวียนของของสารสื่อประสาทดีขึ้น ช่วยลดการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจตีบตัน (cardiovascular disease; CVD) โดยจะช่วยขยายหลอดเลือด ช่วยลดไขมัน (LDL) ที่มีผลต่อการสร้างคลอเรสเตอรอล และเพิ่มการไหลเวียนของเลือด ทำให้เลือดสามารถไหลไปเลี้ยงหัวใจได้ดีขึ้น ช่วยลดการอักเสบ ลดความเสี่ยงของการเกิดโรคมะเร็ง และต้านไวรัส (Youdim et al., 2000, pp. 51-60; Mazza, 2007, pp. 369-374; Basu et al., 2010, pp. 168-177; Tulipani et al., 2011, pp. 180-186; Giampieri et al., 2012, pp. 9-19)

แอนโทไซยานิน (Anthocyanin)

แอนโทไซยานินเป็นรงควัตถุที่พบในผัก ผลไม้ ดอกไม้ ซึ่งสารแอนโทไซยานินให้สีแดง - ม่วง - น้ำเงิน โดยแอนโทไซยานิน มีรากศัพท์มาจากภาษากรีก คือ anthos หมายถึง ดอกไม้ และ kyanos หมายถึง สีน้ำเงิน ดังนั้นแอนโทไซยานิน จึงหมายถึง สารสีที่ให้สีน้ำเงินของดอกไม้ แต่ยังคงพบว่าสารแอนโทไซยานินสามารถพบได้ทั้งในใบ ผล และรากของพืชชนิดต่าง ๆ อีกด้วย (จริงแท้ ศิริพานิช, 2549)

แอนโทไซยานิน เป็นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ซึ่งเป็นสารที่มีโครงสร้างหลักประกอบไปด้วยวงแหวนเบนโซไพแรน (benzopyran) 2 วงต่อกับวงแหวนฟีนิล (phenyl ring) เป็นอนุพันธ์ของเกลือเฟลวีเลียม (flavylium salt) (ภาพ 3)



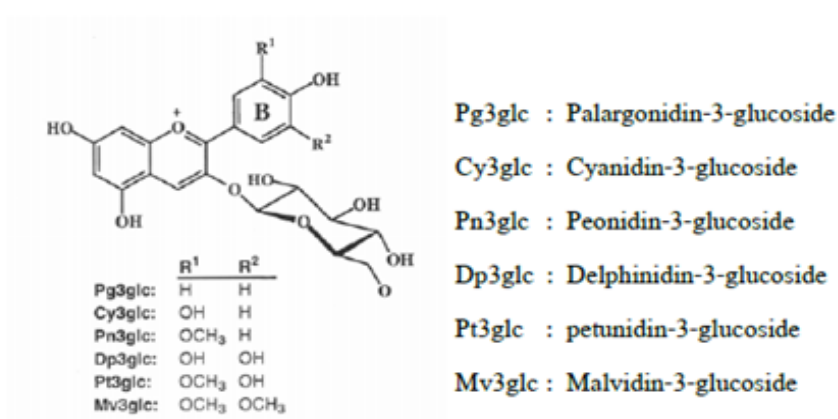
ภาพ 3 โครงสร้างของเกลือเฟลวีเลียม

ที่มา: Chen, & Hrazdina, 1981, pp. 297-303

การเกิดและโครงสร้างของแอนโทไซยานิน

โครงสร้างแอนโทไซยานินประกอบด้วยส่วนที่สำคัญ ได้แก่ อะไกลโคน (aglycone) น้ำตาล (sugar) และหมู่เอซิล (acyl group) แอนโทไซยานิน ปัจจุบันมีการค้นพบเป็นจำนวนมากแต่พบว่าโครงสร้างส่วนใหญ่ของแอนโทไซยานินจะมีโครงสร้างหลักที่เรียกว่า แอนโทไซยานิดิน

(anthocyanidins) หรือ อะไกลโคโคน (aglycone) ซึ่งโครงสร้างของแอนโทไซยานินประกอบไปด้วยคาร์บอน 15 อะตอมอยู่ในโมเลกุล คือ มีโครงสร้างเป็นแบบ C6-C3-C6 ซึ่งเป็นไกลโคไซด์ (glycoside) ของ 2-phenylbenzopyrylium หรือ flavylum cation (ภาพ 4) จากการศึกษพบว่าแอนโทไซยานินสามารถเกิดได้ถึง 20 ชนิด แต่ส่วนใหญ่ที่พบมีอยู่ 6 ชนิดเท่านั้น ได้แก่ Pelargonidin (Pg) คิดเป็น 18 % Cyanidin (Cy) คิดเป็น 30 % Delphinidin (Dp) คิดเป็น 22 % และ Peonidin (Pn) Petunidin (Pt) และ Malvidin (Mv) คิดเป็น 20 % (ศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 2553; Carkeet et al., 2008, pp. 897-902)



ภาพ 4 การแทนที่ของแอนโทไซยานิน

ที่มา: Cabrita et al., 2000, pp. 101-107

นอกจากนี้ ยังพบว่าโมเลกุลของน้ำตาลส่วนใหญ่ที่ต่อกับโครงสร้างแอนโทไซยานิน ได้แก่ กลูโคส (glucose) กาแลกโตส (galactose) แรมโนส (rhamnose) อะราบินโนส (arabinose) (Hong, & Wrolstad, 1990, pp. 698-708; Bridle, & Garcia-Viguera, 1997; Lopes da Silva et al., 2007, pp. 374-382) และนอกจากนี้ ยังพบว่า แอนโทไซยานินแต่ละชนิดจะมีสีและค่าการดูดกลืนแสงที่แตกต่างกันด้วย (ตาราง 3)

ตาราง 3 สีและการดูดกลืนแสงของแอนโทไซยานิดิน

กลุ่มของรงควัตถุ (Pigment class)	ชนิดโครงสร้าง (Structural type)	การให้สี (Colour)	การดูดกลืนแสง (นาโนเมตร)
Cyanidin glycoside	แอนโทไซยานิดิน	ส้ม-แดง	535
Delphinidin glycoside	แอนโทไซยานิดิน	น้ำเงิน-แดง	546
Malvidin glycoside	แอนโทไซยานิดิน	น้ำเงิน-แดง	542
Pelargonidin glycoside	แอนโทไซยานิดิน	ส้ม	520
Peonidin glycoside	แอนโทไซยานิดิน	ส้ม-แดง	532
Petunidin glycoside	แอนโทไซยานิดิน	น้ำเงิน-แดง	543

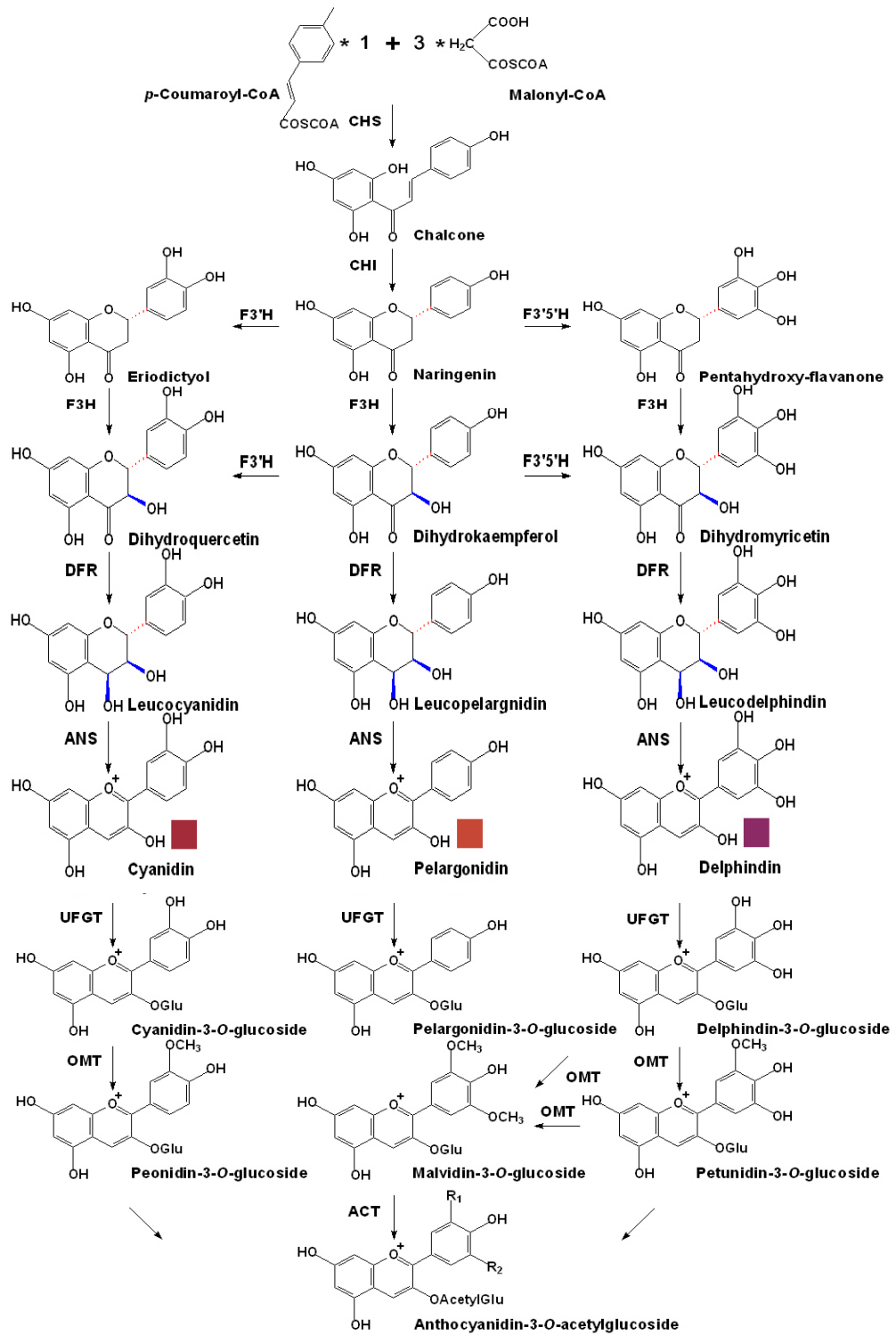
ที่มา: Kidmose et al., 2002

ชีวสังเคราะห์ของแอนโทไซยานิน

ในวิถีการสังเคราะห์แอนโทไซยานินเกี่ยวข้องกับยีนโครงสร้างหลายยีน เพื่อเปลี่ยนกรดอะมิโน ฟีนิลอะลานีนไปเป็นแอนโทไซยานิน ยีนโครงสร้างที่สำคัญ ได้แก่ ยีนสร้างเอนไซม์ chalcone synthase (*CHS*), chalcone isomerase (*CHI*), flavanone-3-hydroxylase (*F3H*), dihydroflavonol-4-reductase (*DFR*), anthocyanidin synthase (*ANS*), flavonoid-3-glucosyl-transferase (*3GT*) และ phenylalanine ammonia lyase (*PAL*) (Schijlen et al., 2004, pp. 2631-2648)

กระบวนการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน เริ่มต้นจากสารตั้งต้นของการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน คือ malonyl-CoA และ 4-coumaroyl-CoA โดย malonyl-CoA ได้มาจากการกระบวนการ carboxylation โมเลกุลของ acetyl-CoA และ 4-coumaroyl-CoA ได้จากการกระบวนการ phenylpropanoid pathway ในการสังเคราะห์ฟลาโวนอยด์เอนไซม์ตัวแรกในปฏิกิริยาที่ทำงาน คือ chalcone synthase (*CHS*) เร่งปฏิกิริยาให้ malonyl-CoA 3 โมเลกุล รวมกับ 4-coumaroyl-CoA ได้เป็น chalcone จากนั้นมีการเปลี่ยนรูป (isomerization) ของ chalcone ไปเป็น flavanone (naringenin) โดยเอนไซม์ chalcone isomerase (*CHI*) นอกจากนี้แล้ว naringenin อาจถูกเปลี่ยนไปเป็นสารประกอบฟลาโวน (flavone) หรือ apigenin ซึ่งเป็นฟลาโวนอยด์ที่สำคัญกลุ่มหนึ่ง ด้วยเอนไซม์ flavone synthase (*FNS*) หรืออาจจะถูกเปลี่ยนไปเป็น dihydrokaempferol (dihydroflavonol) ด้วยเอนไซม์ flavanone-3-hydroxylase (*F3H*) จากนั้น

dihydrokaempferol อาจถูกเปลี่ยนไปเป็น ฟลาโวนอลด้วยเอนไซม์ flavonol synthase (*FLS*) ซึ่งเป็นฟลาโวนอยด์ที่สำคัญอีกกลุ่มหนึ่ง จากนั้นเอนไซม์ flavonoid 3'-hydroxylase (*F3'H*) เร่งปฏิกิริยาการเติมหมู่ OH (hydroxylation) ที่ตำแหน่ง 3' หรือทั้งตำแหน่งที่ 3' และ 5' ของ B-ring ทำให้เปลี่ยน dihydrokaempferol (*DHK*) ไปเป็น dihydroquercetin (*DHQ*) ที่จะถูกเปลี่ยนไปเป็น cyanidin อีกทั้งสามารถเปลี่ยนรูป *DHK* ไปเป็น dihydromyricetin (*DHM*) ด้วยเอนไซม์ flavonoid-3',5'-hydroxylase (*F3'5'H*) สำหรับการสร้าง delphinidin จากนั้นเอนไซม์ dihydroflavonol-4-reductase (*DFR*) เร่งปฏิกิริยา reduction โดยเปลี่ยน dihydroflavonoid ได้เป็น leucoanthocyanidins (flavan-3,4-diol) โดยใช้ NADPH เป็น co-factor ซึ่ง leucoanthocyanidins เป็นสารตั้งต้นโดยตรงสำหรับการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน โดยเอนไซม์ anthocyanidin synthase (*ANS*) เปลี่ยน leucoanthocyanidins ไปเป็น anthocyanidins และเอนไซม์ flavonoid-3-glucosyl-transferase (*3GT/FGT/GT*) จะเร่งปฏิกิริยาการขนส่งกลูโครสจาก UDP glucose ไปยัง hydroxyl group ในตำแหน่งที่ 3 ของ C-ring ซึ่งเป็นขั้นตอนสุดท้ายที่ทำให้ anthocyanidins มีความเสถียร ซึ่ง *3GT* เป็นเอนไซม์ที่จำเป็นสำหรับวิถีการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน (จริงแท้ ศิริพานิช, 2549; Schijlen et al., 2004, pp. 2631-2648) อย่างไรก็ตามวิถีการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน แสดง (ภาพ 5)



ภาพ 5 วิธีการสังเคราะห์แอนโทไซยานินในพืช

ที่มา: He et al., 2010, pp. 9057-9091

แอนโทไซยานินในผล

ชนิดและปริมาณของแอนโทไซยานินในผลไม้จะแตกต่างกันไปตามชนิดของพืช ซึ่งความแตกต่างของแอนโทไซยานินนั้นขึ้นอยู่กับน้ำตาลที่มาเกาะกับ aglycone (anthocyanidin) และน้ำตาลส่วนใหญ่ที่มาเกาะกับ aglycone เหล่านี้ คือ น้ำตาลกลูโคส ซึ่งจะเกาะที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 โดยพบมากในผลไม้เขตหนาว สำหรับปริมาณของแอนโทไซยานินในผล โดยเฉลี่ยจะพบประมาณ 50 mg/100g FW โดยอาจจะผันแปรอยู่ระหว่าง 16-400 mg/100g FW ซึ่งส่วนใหญ่จะพบสะสมในแวคิวโอลของเปลือกหรือผิวของผลไม้ (จริงแท้ ศิริพานิช, 2549) มีรายงานพบว่า แอนโทไซยานินส่วนใหญ่ที่มีการสะสมอยู่มากในผลสตรอว์เบอร์รี่ ได้แก่ Pelargonidin-3-glucoside และ Cyanidin-3-glucoside นอกจากนี้ยังพบว่า ปริมาณสารแอนโทไซยานินมีการเปลี่ยนแปลงไปตามลักษณะทางพันธุกรรมและสภาพแวดล้อมอีกด้วย (Lukton et al., 1955, pp. 790; Hong, & Wrolstad, 1990, pp. 698-708; Bridle, & Garcia-Viguera, 1997, pp. 299-304)

การเปลี่ยนแปลงปริมาณแอนโทไซยานินในผลไม้ พบว่าจะมีการสังเคราะห์แอนโทไซยานินเพิ่มสูงขึ้นเมื่อผลไม้เข้าใกล้วัยบริบูรณ์หรือแก่ และจะเพิ่มขึ้นสูงสุดเมื่อผลสุกเต็มที่ นอกจากนี้ยังพบว่า ปัจจัยที่มีผลต่อสีผลไม้ คือ พันธุกรรม (จริงแท้ ศิริพานิช, 2549) ส่วนปัจจัยภายนอกที่มีผลต่อการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน เช่น ความเป็นกรด-ด่าง โดยแอนโทไซยานิน จะมีสีแดงเมื่อมีค่าความเป็นกรด จะมีสีม่วงน้ำเงินเมื่อเป็นกลาง และจะมีสีเขียวหรือเหลืองเมื่อมีค่าความเป็นด่าง ดังนั้นค่า pH ในแวคิวโอล ที่แตกต่างกันจะส่งผลทำให้สีแอนโทไซยานินมีความแตกต่างด้วยเช่นกัน นอกจากนี้ อุณหภูมิ แสง co-pigment ล้วนมีผลต่อสีและความคงตัวของแอนโทไซยานิน โดยมีรายงานพบว่า อุณหภูมิที่สูงและแสงมากเกินไปสามารถทำลายโมเลกุลของแอนโทไซยานินได้ ในทางตรงกันข้าม โมเลกุลของน้ำตาล co-pigment และ metal ions ช่วยให้โมเลกุลของแอนโทไซยานินมีความคงตัวมากยิ่งขึ้น (Grotewold, 2006, pp. 761-780)

ประโยชน์ของแอนโทไซยานินที่มีต่อมนุษย์

แอนโทไซยานินมีบทบาทที่สำคัญ คือ ช่วยปกป้องจากรังสี UV-B อีกทั้งยังเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นประโยชน์ต่อมนุษย์ในการป้องกันโรคมะเร็งและเส้นเลือดอุดตัน (Sharma, 2001, pp. 92-101; Geekiyanage et al., 2007, pp. 11-18) รวมทั้งมีฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ ด้านจุลินทรีย์ ป้องกันการอักเสบ และป้องกันความดันโลหิตสูง (Hope Smith et al., 2004, pp. 450-455; Lim, & Ha, 2013, pp. 391-398) ช่วยเพิ่มการมองเห็น สามารถช่วยปกป้องหลอดเลือด ช่วยกระตุ้นการไหลเวียนของเลือด และช่วยให้เกิดการเชื่อมโยงของเกล็ดเลือดเข้าด้วยกันทำให้เกิดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดมาอุดบริเวณที่มีการฉีกขาดของหลอดเลือด (Tamas et al., 2000, pp. 202-210) นอกจากนี้ Cyanidin และ Delphinidin ช่วยในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้องอก บริเวณหลอด

อาหาร ลำไส้ใหญ่ และตับ เป็นต้น (Liu et al., 2005, pp. 3909-3915) ช่วยกระตุ้นให้ตับอ่อนมีการผลิตอินซูลินมากขึ้น (Jayaprakasam et al., 2005, pp. 28-31) และช่วยป้องกันการถูกทำลายของเนื้อเยื่อตับ (Wang et al., 2000, pp. 411-416) สารแอนโทไซยานินที่พบในผลสตรอว์เบอร์รี่ยังสามารถช่วยให้ผู้ที่เป็นโรค Parkinson's และ Alzheimer's มีระบบการไหลเวียนของสารสื่อประสาทที่ดี เนื่องจากสารแอนโทไซยานินจะไปกระตุ้นให้มีการหลั่งของสารโดปามีน (dopamine) มากขึ้น (Lau et al., 2007, pp. 299-318; Joseph et al., 2003, pp. 153-162) นอกจากนี้สารแอนโทไซยานินยังสามารถช่วยลดความเครียด และต้านไวรัสได้อีกด้วย (ศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 2553)

การปรับปรุงพันธุ์พืช

ขั้นตอนของการปรับปรุงพันธุ์พืช มีดังนี้

1. การรวบรวมพันธุ์พืช (plant introduction) คือ การเก็บรวบรวมแหล่งพันธุกรรมของลักษณะที่ต้องการปรับปรุงพันธุ์ ซึ่งแหล่งพันธุกรรมนั้นอาจมาจากพันธุ์ป่า หรือจากแหล่งรวบรวมพันธุกรรม (germplasm collection)
2. การคัดเลือก (selection) เป็นขั้นตอนที่จะทำให้พืชที่นำเข้ามาจากแหล่งอื่น หรือพืชที่มีอยู่แล้วได้รับการคัดเลือกเพื่อให้มีลักษณะต่าง ๆ ดีขึ้น
3. การผสมพันธุ์ (hybridization) ในกรณีสายพันธุ์หรือประชากรที่นำมาคัดเลือคนั้น ให้สายพันธุ์ที่มีลักษณะดีบางลักษณะ จึงนำลักษณะดีของแต่ละพันธุ์มารวมกันโดยการผสมพันธุ์
4. ทำให้กลายพันธุ์ (mutation breeding) และเพิ่มชุดโครโมโซม (polyploid breeding) ซึ่งเป็นวิธีทำให้เกิดลักษณะใหม่โดยใช้สารเคมีหรือรังสี วิธีการนี้นักปรับปรุงพันธุ์จะใช้เป็นวิธีสุดท้ายหลังจากที่ดำเนินการตามสามวิธีข้างต้นแล้วไม่ประสบความสำเร็จ
5. ใช้เทคโนโลยีชีวภาพ เช่น นำยีนควบคุมลักษณะที่ต้องการเข้าสู่เซลล์พืชโดยตรง จากนั้นนำเซลล์มาเพาะเลี้ยงจนได้ต้นที่สมบูรณ์ และสุดท้ายนำไปปลูกทดสอบในแปลงปลูก (นพพร คล้ายพงษ์พันธุ์, 2546)

การปรับปรุงพันธุ์พืชในประเทศไทย

ปัจจุบัน ประเทศไทยประสบความสำเร็จในการปรับปรุงพันธุ์ข้าว ได้แก่ พันธุ์ข้าวหอมมะลิ 105 เป็นพันธุ์ข้าวที่ได้รับความนิยมมากที่สุดในประเทศ พันธุ์นี้มีรสชาติอ่อนนุ่มและหอม ทำให้พันธุ์ข้าวนี้มีชื่อเสียงไปทั่วโลก นอกจากนี้ประเทศไทยยังประสบความสำเร็จในด้านการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพด โดยศาสตราจารย์ ดร. สุจินต์ จินายน และคณะ ได้ทำการคัดเลือกข้าวโพด 36 สายพันธุ์ผสมรวมกันเป็นพันธุ์ Thai Composite#1 ต่อมาในปี พ.ศ. 2512 เนื่องจากปัญหาโรคราน้ำค้างระบาด

มาก จึงได้ทำการผสมพันธุ์ด้านทานจากฟิลิปปินส์ และทำการคัดเลือกพันธุ์ด้านทาน จนได้พันธุ์ที่รู้จักกันอย่างแพร่หลายคือ พันธุ์สุวรรณ 1 และสุวรรณ 2 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ต้านทานต่อโรคราน้ำค้างได้เป็นอย่างดีและยังพบว่าเป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงอีกด้วย (สุทัศน์ ศรีวัฒนพงศ์, 2553)

ตัวอย่างความสำเร็จในการปรับปรุงพันธุ์พืชในประเทศไทย เช่น การผลิตถั่วเหลือง ได้แก่ พันธุ์ สจ.1 สจ.2 สจ.4 และ สจ.5 พันธุ์ถั่วเขียว ได้แก่ พันธุ์กำแพงแสน 1 และกำแพงแสน 2 พันธุ์ถั่วลิสง ได้แก่ พันธุ์ สข.38 ลำปาง ไทนาน 9 พันธุ์ฝ้าย ได้แก่ ศรีสำโรง 2 และตากฟ้า 1 และในมันสำปะหลัง เช่น พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 (สุทัศน์ ศรีวัฒนพงศ์, 2553) นอกจากนี้ ยังพบในสตรอว์เบอร์รีที่ประสบความสำเร็จในการปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีการคัดเลือก (selection) สายพันธุ์ที่สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมในประเทศไทยได้เป็นอย่างดี ได้แก่ พันธุ์พระราชทาน 80 และพันธุ์พระราชทาน 88 เป็นต้น (ณรงค์ชัย พิพัฒน์ธนวงศ์, 2543)

หลักการทั่วไปของการผสมเกสรสตรอว์เบอร์รี

1. การคัดเลือกพันธุ์ที่จะใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์

หลักการคัดเลือกพันธุ์ นักปรับปรุงพันธุ์จะต้องมีการกำหนดวัตถุประสงค์ว่าต้องการปรับปรุงพันธุ์ให้มีคุณลักษณะแบบใด ถ้าลักษณะที่ต้องการปรับปรุงสามารถถ่ายทอดผ่านทางไซโตพลาสซึม นักปรับปรุงพันธุ์จะต้องมีการพิจารณาในการเลือกสายพันธุ์พ่อแม่ด้วยเช่นกัน (นพพร คล้ายพงษ์พันธุ์, 2546) นอกจากนี้ ณรงค์ชัย พิพัฒน์ธนวงศ์ (2543) รายงานว่า การคัดเลือกต้นพ่อแม่พันธุ์สตรอว์เบอร์รี ต้องมีลักษณะต้านทานต่อโรคต่าง ๆ ให้ผลผลิตสูง มีละอองเกสรมารวมทั้งต้องมีการเจริญเติบโตของต้นที่สมบูรณ์ และต้นแม่พันธุ์ ควรมีขนาดผลที่ใหญ่ พื้นที่ว่างระหว่างเมล็ดน้อย มีตำแหน่งเมล็ดเสมอผิวผล สีสผิวผลสวยงาม มีความแน่นเนื้อผลสูง ผลมีรสชาติหวานฉ่ำ เป็นต้น

2. การเลือกระยะดอกที่เหมาะสมในการเตรียมเป็นต้นแม่พันธุ์

การเลือกดอกที่จะเตรียมเป็นต้นแม่พันธุ์ ให้พิจารณาจากลักษณะภายนอกของดอก เช่น การใช้ดอกแม่พันธุ์ที่แก่เกินไปอาจทำให้เกิดการผสมตัวเองในดอกขึ้นก่อนได้ นอกจากนี้ตำแหน่งของดอกบนต้น ก็ต้องถูกพิจารณาด้วยเช่นกัน ซึ่งพบว่าในต้นสตรอว์เบอร์รีดอกที่ใช้ในการผสมเกสรต้องเป็นดอกแรก เนื่องจากจะทำให้ผลมีขนาดใหญ่และจำนวนเมล็ดมากขึ้น (ณรงค์ชัย พิพัฒน์ธนวงศ์, 2543)

3. เวลาที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมดอกแม่พันธุ์

การเตรียมดอกแม่พันธุ์จะต้องสัมพันธ์กับการเตรียมเกสรเพศผู้ที่จะมาผสม ซึ่งการเตรียมสามารถทำได้ ดังนี้

3.1 การเตรียมดอกทั้งพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ก่อนที่จะทำการผสม 1 วัน หรือมากกว่า โดยการเตรียมดอกแม่พันธุ์ไว้ตอนเช้า และตอนสายทำการผสมดอกที่เตรียมไว้ในวันก่อน ตอนเย็นก็จะเตรียมดอกแม่พันธุ์ต่อ และทำการคลุมช่อดอกต้นพ่อไว้เพื่อผสมในวันต่อมา ซึ่งวิธีการนี้จะลดเปอร์เซ็นต์การผสมตัวเองได้ดี เนื่องจากทำการขจัดเกสรเพศผู้ที่ยังแก่ไม่เต็มที่ยังออก ก่อนที่อับละอองเกสรเพศผู้จะแตก (นพพร คล้ายพงษ์พันธุ์, 2546) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ ณรงค์ชัย พิพัฒน์ธนะวงศ์ (2543) รายงานว่า การผสมพันธุ์ระหว่างดอกเกสรเพศผู้และเพศเมียของสตรอว์เบอร์รี ต้นแม่พันธุ์ควรเลือกดอกชุดแรกที่กลับดอกยังไม่บาน จากนั้นทำการดึงเกสรเพศผู้ ออก แล้วคลุมด้วยถุงกระดาษไขสีขาว พร้อมกับเย็บกระดาษปิดบริเวณปากถุง แล้วปล่อยให้ทิ้งไว้ 3-4 วัน เพื่อให้เกสรเพศเมียมีการเจริญเติบโตเต็มที่และพร้อมสำหรับการผสม

3.2 การเตรียมดอกทั้งพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ทันทีเมื่อต้องการผสม ซึ่งมีข้อดี คือ ทำให้มีการติดเมล็ดดีกว่า เนื่องจากเกสรเพศเมียยังมีความสดอยู่ แต่พบข้อเสีย คือ อาจส่งผลทำให้ดอกมีการผสมตัวเองเป็นที่เรียบร้อยแล้ว

4. วิธีการเตรียมดอกแม่พันธุ์

ในการเตรียมดอกแม่พันธุ์จะต้องระวังไม่ให้เกิดการผสมจากเกสรที่ไม่ต้องการ ซึ่งเกสรที่ไม่ต้องการนั้น สามารถมาได้จากการปลิวของลม แมลง รวมถึงแรงโน้มถ่วงของโลก ซึ่งวิธีการเตรียมดอกแม่พันธุ์ มีดังนี้

4.1 เตรียมโดยไม่ต้องทำการขจัดเกสรเพศผู้ เนื่องจากพืชบางชนิดเกสรเพศผู้เป็นหมันหรือพืชที่เกสรเพศผู้ปกติแต่เกสรเพศเมียพร้อมจะผสมอย่างน้อย 1 วัน ก่อนละอองเกสรเพศผู้แก่

4.2 การขจัดเกสรเพศผู้โดยวิธีธรรมดา วิธีการนี้เป็นการใช้เครื่องมือหรือเทคนิคในการนำอับละอองเกสรเพศผู้ ออก โดยวิธีการจะเปลี่ยนแปลงไปในแต่ละชนิดของพืช แต่ส่วนใหญ่จะนิยมใช้ปากคีบ (forceps) ที่มีขนาดพอเหมาะกับดอกในการดึงเกสรเพศผู้ ออก

4.3 การขจัดเกสรเพศผู้โดยใช้กรรไกร วิธีการนี้จะเหมือนกับวิธีธรรมดา แต่เป็นการใช้เครื่องมือคนละชนิด ซึ่งในที่นี้จะใช้กรรไกรในการตัดเกสรเพศผู้

4.4 การขจัดเกสรเพศผู้โดยใช้ความร้อน วิธีการนี้เป็นการใช้ความร้อนในการทำลายละอองเกสรเพศผู้ ซึ่งความร้อนที่ใช้ส่วนใหญ่ได้จากไอร้อน ไอร้อนชื้น หรือน้ำร้อน เป็นต้น

4.5 การขจัดเกสรเพศผู้โดยใช้เครื่องดูด เป็นวิธีการหนึ่งที่อยู่อาศัยแรงลมจากเครื่องปั๊มลมขนาดใหญ่ในการดูดละอองเกสรเพศผู้ ออกมา

4.6 การขจัดเกสรเพศผู้โดยใช้แอลกอฮอล์ เนื่องจากแอลกอฮอล์สามารถทำลายละอองเกสรเพศผู้ได้ จึงถูกนำมาใช้ในการเตรียมดอกต้นแม่พันธุ์

4.7 การขจัดเกสรเพศผู้โดยการควบคุมการแตกของอับเกสรเพศผู้ เช่น การคลุมช่อดอกด้วยถุงกระดาษ หรือถุงโพลีเอทิลีน เป็นต้น (นพพร คล้ายพงษ์พันธุ์, 2546)

5. การเลือกดอกต้นพ่อพันธุ์และการเก็บเกสรเพศผู้

ควรเลือกดอกที่มีละอองเกสรเพศผู้มาก เพื่อให้ง่ายต่อการผสมกับดอกแม่พันธุ์ และการทราบระยะที่เหมาะสมในการเก็บละอองเกสรเพศผู้ จะทำให้ได้เกสรเพศผู้ที่มีประสิทธิภาพสูง นอกจากนี้ยังพบว่า การแก่ของละอองเกสรเพศผู้มีหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้อง เช่น ลักษณะจีโนไทป์ (genotype) สปีชีส์ (species) สถานที่ วันและช่วงเวลา เป็นต้น ซึ่งวิธีการเก็บเกสรเพศผู้ นั้น สามารถทำได้หลายวิธี ดังนี้

5.1 วิธีการเคาะช่อดอก เพื่อให้ละอองเกสรเพศผู้ร่วงลงมา

5.2 วิธีการเก็บมาทั้งดอก โดยนำไปไว้ในห้องที่มีความชื้นสูง ไม่มีแมลง เพื่อบรรเทาให้ยับเยิน แล้วนำมาผสมกับเกสรเพศเมีย (นพพร คล้ายพงษ์พันธุ์, 2546)

6. วิธีการผสมเกสร

คือ การนำละอองเกสรเพศผู้มายังดอกต้นแม่พันธุ์ โดยดอกแม่พันธุ์ที่ใช้ในการผสมอาจเตรียมไว้ก่อนหรือเตรียมทันทีเมื่อต้องการผสม ซึ่งวิธีการนำเกสรเพศผู้มายังดอกแม่พันธุ์สามารถทำได้ 2 วิธี คือ

6.1 Direct pollen application เป็นการนำเกสรเพศผู้มายังดอกต้นแม่โดยตรง โดยการใช้เครื่องมือและเทคนิคที่ต่างกันไปในแต่ละพืช เช่น การใช้ปากคีบดึงเกสรเพศผู้ออก การเก็บละอองเกสรเพศผู้ไว้ในถุงกระดาษแล้วนำมาเทลงบนยอดเกสรเพศเมีย หรือการนำดอกเพศผู้มาถูกับดอกเพศเมีย

6.2 Indirect pollen application เป็นวิธีการนำช่อดอกของต้นพ่อพันธุ์และต้นแม่พันธุ์มาไว้ใกล้กันพอที่เกสรเพศผู้จะฟุ้งกระจายไปยังช่อดอกของต้นแม่พันธุ์ได้ หรืออาจจะใช้วิธีการเปิดถุงคลุมช่อดอกต้นแม่ออก แล้วนำมาใส่ไว้ในถุงช่อดอกต้นพ่อพันธุ์ จากนั้นปิดถุงแล้วเคาะให้ละอองเกสรเพศผู้ฟุ้งกระจายเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผสม (นพพร คล้ายพงษ์พันธุ์, 2546)

จากการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการปรับปรุงพันธุ์สตรอว์เบอร์รี ณรงค์ชัย พิพัฒน์ณรงค์ (2543) รายงานว่า หลักการปรับปรุงพันธุ์สตรอว์เบอร์รีเพื่อให้ประสบความสำเร็จนั้นมีขั้นตอนที่สำคัญดังนี้ 1) ต้นแม่พันธุ์ ควรเลือกดอกชุดแรกที่กลีบดอกยังไม่บาน และไม่ควรถูกเลือกดอกที่มีขนาดเล็ก เพราะจะทำให้ได้ผลและเมล็ดที่น้อยตามไปด้วย หลังจากนั้นทำการเด็ดกลีบดอกและเกสรเพศผู้ออก แล้วคลุมด้วยกระดาษไขสีขาว เพื่อป้องกันแมลง ลม ที่จะนำเกสรเพศผู้จากดอกอื่นมาผสม แล้วเย็บกระดาษปิดบริเวณปากถุงทั้งสองข้างให้สนิท 2) ต้นพ่อพันธุ์ หลังจากที่ได้ดอกของต้นแม่ที่เตรียมไว้พร้อมสำหรับการผสมให้ทำการเด็ดดอกที่เห็นว่าอับละอองเกสรเพศผู้แล้วของต้นพ่อพันธุ์มาทำการผสมกับดอกต้นแม่พันธุ์ที่เตรียมไว้ แล้วคลุมถุงด้วยกระดาษไขสีขาว จากนั้นเย็บกระดาษปิดบริเวณปากถุงทั้งสองข้างพร้อมกับติดป้ายเล็ก ๆ ในแต่ละผล เพื่อให้ทราบชื่อของสองสายพันธุ์ที่ใช้ผสมกัน แล้วทิ้งไว้ประมาณ 30-40 วัน จนผลสุกมีสีแดงจัด 3) นำผลสุกของสตรอว์เบอร์รีลูกผสม

ที่ได้จากการผสมพันธุ์ มาทำการแยกเมล็ดออกจากเนื้อของผล 4) นำเมล็ดที่ได้จากการคัดแยกมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °C ในสภาพที่ไม่มีควมชื้น เป็นระยะเวลา 3-4 สัปดาห์ ก่อนที่จะทำการเพาะ 5) เตรียมภาชนะโดยวัสดุปลูกที่ใช้ ได้แก่ Vermiculite โดยนำเมล็ดโรยให้ทั่ว แล้วนำไปไว้ในโรงอนุบาลพลาสติกขนาดเล็กพร้อมติดตั้งระบบน้ำแบบพ่นหมอก โดยอุณหภูมิภายในโรงพลาสติกควรอยู่ในช่วงระหว่าง 22-25 °C และมีความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย 70-100% ซึ่งระยะนี้จะใช้เวลาอย่างน้อย 30 วัน ในการพัฒนาเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์ 6) นำต้นกล้าย้ายปลูกลงในกระถางปลูกพลาสติกโดยมีวัสดุปลูก ได้แก่ ดินปลูกที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อ จากนั้นปล่อยให้ต้นเจริญเติบโตเต็มที่ แล้วนำไปบังคับให้เกิดตาดอกต่อไป 7) การปลูกต้นทดสอบ ถ้าหากพบว่าต้นใดให้ลักษณะเป็นที่ต้องการแล้ว ให้ทำการขยายไหลจากต้นพันธุ์เหล่านั้นเพื่อใช้เป็นต้นแม่พันธุ์ต่อไป นอกจากนี้ Diamanti et al. (2012, pp. 1-16) ทำการศึกษาการปรับปรุงพันธุ์สตรอว์เบอร์รีเพื่อเพิ่มรสชาติและคุณค่าทางสารอาหาร โดยทำการผสมพันธุ์แบบ conventional breeding ระหว่างสตรอว์เบอร์รีทั้งหมด 8 กลุ่ม โดยกลุ่มแรกประกอบไปด้วยสตรอว์เบอร์รี 2 กลุ่มย่อย ได้แก่ *F. × ananassa* intra-species crossing กลุ่มที่สองประกอบไปด้วยสตรอว์เบอร์รี 3 กลุ่มย่อย ได้แก่ back-crossing of F1-FVG × *F. × ananassa* และกลุ่มสุดท้ายประกอบไปด้วยสตรอว์เบอร์รี 3 กลุ่มย่อย ได้แก่ back-crossing of BC1-FVG × *F. × ananassa* จากผลการทดลองพบว่า สตรอว์เบอร์รี back-crossing of BC1-FVG × *F. × ananassa* ให้ปริมาณคุณค่าทางสารอาหารที่สูงซึ่งมากกว่าสตรอว์เบอร์รีกลุ่มอื่น ๆ ได้แก่ ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด ซึ่งอยู่ในรูปของ Pelargonidin-3-glucoside มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 484.34 (21.1) (mg PEL-3-GLU/kg FW) ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1708.72 (46.74) (mg GA/kg FW) และปริมาณสารต่อต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 21.42 (1.09) (mmol TE/kg FW) เป็นต้น นอกจากนี้ Fredericks et al. (2013, pp. 846-852) ประสบความสำเร็จจากการปรับปรุงพันธุ์สตรอว์เบอร์รีเพื่อเพิ่มปริมาณสารแอนโทไซยานิน ผลการทดลองพบว่า สายพันธุ์ 2006-221-8 ที่ได้จากการปรับปรุงพันธุ์ให้ปริมาณ TAC (Total anthocyanins) มากที่สุด ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1010 ± 52 (mg/kg FW) นอกจากนี้ยังพบว่า แนวนุ่มสายพันธุ์ที่ได้จากการปรับปรุงพันธุ์ทั้งหมด 5 สายพันธุ์ มีค่าปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าสายพันธุ์ทางการค้า นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Jing (2012, pp. 526-530) ทำการศึกษาการปรับปรุงพันธุ์สตรอว์เบอร์รีเพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการผลิตสารแอนโทไซยานินของสตรอว์เบอร์รี 4 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 เป็นสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ป่า ได้แก่ *F. chiloensis* และ *F. virginiana* และกลุ่มที่ 3 เป็นสตรอว์เบอร์รี สายพันธุ์ทางการค้า ได้แก่ *F. × ananassa* และกลุ่มที่ 4 เป็นสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ลูกผสม (F1) ระหว่าง *F. chiloensis* × *F. virginiana* ผลการทดลองพบว่า สตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ *F. chiloensis* × *F. virginiana* ให้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงกว่าสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ป่า *F. chiloensis* และ *F. virginiana* และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณแอนโทไซยานินระหว่างสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ป่า ได้แก่

F. chiloensis รหัส UNHC-2 กับ สตรอว์เบอร์รี่พันธุ์ลูกผสม (F1) ได้แก่ *F. chiloensis* × *F. virginiana* รหัส UNHH-5 ผลการทดลองพบว่า สตรอว์เบอร์รี่พันธุ์ลูกผสม (F1) รหัส UNHH-5 ให้ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดมากถึง 405 µg/g fresh wt โดยมี Pelargonidin ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 313 µg/g fresh wt และ Cyanidin ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 92 µg/g fresh wt แต่ในขณะที่ สตรอว์เบอร์รี่พันธุ์ป่า *F. chiloensis* รหัส UNHC-2 ให้ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดเพียง 173 µg/g fresh wt โดยมี Pelargonidin ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 43 µg/g fresh wt แต่พบว่า Cyanidin มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 130 µg/g fresh wt ซึ่งสูงกว่า สตรอว์เบอร์รี่พันธุ์ลูกผสม (F1) รหัส UNHH-5 เป็นต้น นอกจากนี้ Capocasa et al. (2008b, pp. 872-878) ทำการคัดเลือกสายพันธุ์ สตรอว์เบอร์รี่ที่มีศักยภาพในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ จาก สตรอว์เบอร์รี่ทั้งหมด 20 สายพันธุ์ โดยแบ่งเป็น สตรอว์เบอร์รี่สายพันธุ์ทางการค้า 16 สายพันธุ์ สายพันธุ์ *Fragaria* × *ananassa* จำนวน 3 สายพันธุ์ และสายพันธุ์ *F. × ananassa* × *F. virginiana* spp. *Glauca* จำนวน 1 สายพันธุ์ ผลการทดลองพบว่า สตรอว์เบอร์รี่สายพันธุ์ Sveva และ Cifrance ซึ่งเป็นสายพันธุ์ทางการค้ามี ปริมาณ TEAC และ TPH มากที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 18.4 lmoles trolox eq/g FW และ 3.2 mg GAE/g FW ตามลำดับ ดังนั้น สตรอว์เบอร์รี่ทั้งสองสายพันธุ์นี้ จึงเหมาะสมที่จะนำไปเป็นสายพันธุ์พ่อแม่ในการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

เครื่องหมายดีเอ็นเอและการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA markers and DNA fingerprinting)

เครื่องหมายดีเอ็นเอ หมายถึง ดีเอ็นเอที่ใช้เป็นเครื่องหมายบ่งชี้ความจำเพาะของสิ่งมีชีวิตตัวหนึ่ง สายพันธุ์หนึ่ง สปีชีส์หนึ่ง หรือในระดับต่างสปีชีส์ เป็นดีเอ็นเอที่อยู่ตำแหน่งหนึ่ง ๆ บน โครโมโซม (nuclear DNA) หรือดีเอ็นเอในออร์แกเนลล์ (mitochondrial DNA หรือ chloroplast DNA) การที่สามารถใช้ดีเอ็นเอเป็นเครื่องหมายได้ เนื่องจากเกิดความแปรปรวน (variation) ของ นิวคลีโอไทด์ในโมเลกุลของดีเอ็นเอ หรือเกิดพอลิมอร์ฟิซึม (polymorphism) ของลำดับเบสในโมเลกุลของดีเอ็นเอ

วิธีตรวจสอบพอลิมอร์ฟิซึมของดีเอ็นเอ (DNA polymorphism) ทำได้โดยการหาลำดับเบสในโมเลกุลของดีเอ็นเอ (DNA sequencing) หรือตรวจสอบโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ ซึ่งปัจจุบันพบว่า มีการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเออย่างแพร่หลายในงานวิจัย เนื่องจากเป็นเทคนิคที่มีความเหมาะสมและแม่นยำสูง (สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, 2552)

การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยวิธีพีซีอาร์

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยวิธีพีซีอาร์ จะใช้ไพรเมอร์ 2 ชนิดที่จำเพาะกับช่วงดีเอ็นเอหรือ ยีนหนึ่ง ๆ โดยต้องทราบลำดับเบสของดีเอ็นเอเป้าหมายก่อนเพื่อเป็นข้อมูลในการสังเคราะห์ไพรเมอร์ แล้วจึงใช้ไพรเมอร์ 2 ชนิดนั้นเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายเพื่อตรวจสอบยืนยันว่ามียีนดังกล่าว เช่น ในการถ่ายยีน หรือตรวจสอบพอลิมอร์ฟิซึมระหว่างพืชหรือสัตว์ เป็นวิธีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเพียง ตำแหน่งเดียว (single-locus) ถ้าหากต้องการตรวจสอบดีเอ็นเอจากหลายตำแหน่งโดยวิธีพีซีอาร์ ทำได้โดยใช้ไพรเมอร์แบบสุ่ม เช่น RAPD และไมโครแซทเทลไลท์ เป็นต้น (สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, 2552)

เทคนิค Random amplified polymorphic DNA (RAPD)

เป็นการประยุกต์เทคนิคพีซีอาร์ โดยใช้ไพรเมอร์ขนาดสั้นเพียงชนิดเดียว สุ่มเพิ่มปริมาณ ดีเอ็นเอจากหลายตำแหน่งพร้อม ๆ กัน ซึ่งจะใช้ไพรเมอร์ขนาดสั้นเพียง 10-12 นิวคลีโอไทด์ ทำให้มี โอกาสที่จะเข้าจับกับดีเอ็นเอต้นแบบ (template) ได้หลายตำแหน่ง และถ้าตำแหน่งใดมีไพรเมอร์จับ กับดีเอ็นเอต้นแบบ 2 ทิศทาง แบบที่ปลาย 3' หันเข้าหากันและไม่อยู่ห่างกันมากนัก จะสามารถเพิ่ม ปริมาณดีเอ็นเอส่วนนั้นได้แบบทวีคูณ ไพรเมอร์ที่ใช้สำหรับ RAPD นั้นจะสังเคราะห์ขึ้นแบบสุ่ม ซึ่งไม่จำเป็นต้องทราบข้อมูลลำดับเบสของสิ่งมีชีวิตที่ต้องการศึกษามาก่อน นอกจากนี้เครื่องหมาย RAPD (RAPD marker) ยังสามารถตรวจสอบดีเอ็นเอได้ครั้งละหลายตำแหน่งพร้อมกัน โดยความ แตกต่างจะพบเป็นแบบการปรากฏมีและไม่มีแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งหนึ่ง ๆ (สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, 2552)

จากการศึกษาวิจัยของ Gaafar, & Saker (2006, pp. 29-36) รายงานว่า การใช้ เทคนิค RAPD-PCR ในการตรวจสอบลักษณะประจำพันธุ์สตรอว์เบอร์รี่ทั้งหมด 7 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ Camarosa, Chandler, Osogrande, Kabetula, Selected, Rosalinda และ Laguna ที่มี การเพาะปลูกในประเทศอียิปต์ ผลการทดลองพบว่า การใช้ไพรเมอร์ 20 ชนิด ในการตรวจสอบ ผล ปรากฏว่ามีเพียงไพรเมอร์ 4 ชนิดเท่านั้น ได้แก่ OPK6, OPK7, OP11, OP03 ที่สามารถจำแนก ลักษณะประจำพันธุ์สตรอว์เบอร์รี่สายพันธุ์ดังกล่าวข้างต้นได้ โดยให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 44 แถบ โดย ในแต่ละไพรเมอร์ให้แถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นประมาณ 8-13 แถบ และพบว่าดีเอ็นเอทั้งหมดมีขนาดอยู่ ในช่วง 200 ถึง 2800 bp นอกจากนี้ Zebrowska, & Tyrka (2003, pp. 115-117) รายงานว่า เทคนิค RAPD-PCR สามารถจำแนกลักษณะประจำพันธุ์สตรอว์เบอร์รี่ทั้งหมด 9 สายพันธุ์ ได้แก่ สาย พันธุ์ Ambryo, Cambridge Favourite, Elsanta, Hapil, Honeoye, Redgauntlet, Teresa, Rapella และ Senga Sengana โดยใช้ไพรเมอร์ 6 ชนิด ได้แก่ E20, D4, D5, D6, D7 และ D17 ผลการทดลองพบว่า ไพรเมอร์ E20, D6 และ D7 ให้ polymorphic มากที่สุด โดยพบว่า ไพรเมอร์

E20 ให้ความแตกต่าง (polymorphic) ถึง 10 แถบ โดยมีขนาดตั้งแต่ 520-2,540 bp ไพรเมอร์ D6 ให้ความแตกต่าง (polymorphic) ถึง 12 แถบ โดยมีขนาดตั้งแต่ 370-2,800 bp และไพรเมอร์ D7 ให้ความแตกต่าง (polymorphic) ถึง 16 แถบ โดยมีขนาดตั้งแต่ 460-2,600 bp นอกจากนี้ Thongthieng, & Smitamana (2003, pp. 1-5) ได้ทำการทดลองวิเคราะห์ความสัมพันธ์ไอโซไซม์ ทั้งหมด 4 ชนิด ได้แก่ LAP, MDH, ME และ DIA ในสตอร์วเบอร์รี่ที่ปลูกในประเทศไทย เช่น พันธุ์พระราชทาน 50 พันธุ์เนียวโฮ (Nyoho) พันธุ์ควอสต้า (Questa) และพันธุ์ลูกผสม NB 5, NB 24, NB 38, BN 36, BN 43, BN 60, BN 63, BN 70, NQ4, NQ5, NQ14 และ NQ16 ด้วยเทคนิค RAPD-PCR โดยในการทดลองใช้ไพรเมอร์ทั้งหมด 10 ชนิด ได้แก่ A1, A5, A13, B7, B11, B14, C6, C16, D7 และ D11 ผลการทดลองพบว่า ไพรเมอร์ C6 (GAACGGACTC) ให้ความแตกต่าง (polymorphic) ของแถบดีเอ็นเอมากที่สุดถึง 17 แถบ และพบว่าไพรเมอร์ D7 (TTGGCACGGG) ให้ความแตกต่าง (polymorphic) ของแถบดีเอ็นเอน้อยที่สุดเพียง 7 แถบ และ Morales et al. (2011, pp. 665-670) รายงานความสำเร็จการใช้ RAPD markers เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของ สตอร์วเบอร์รี่ทั้งหมด 11 สายพันธุ์ ได้แก่ Aromas, Camarosa, Camino Real, Campinas, Diamante, Dover, Oso Grande, Sweet Charlie, Toyonoka, Tudla และ Ventana ซึ่งใช้ไพรเมอร์ ทั้งหมด 11 ชนิด ผลการทดลองพบว่า ไพรเมอร์ OPB19 (ACCCCGAAG) และ OPA15 (TTCCGAACCC) ให้ความแตกต่าง (polymorphic) ของแถบดีเอ็นเอมากที่สุด คิดเป็น 100% ($p^b = \text{Percentage of polymorphism}$) ซึ่งมากกว่าไพรเมอร์ชนิดอื่น ๆ นอกจากนี้ Gidoni et al. (1994, pp. 339-342) ได้ศึกษาการใช้เทคนิค RAPD ในการตรวจสอบลักษณะประจำพันธุ์สตอร์วเบอร์รี่ทั้งหมด 8 สายพันธุ์ ได้แก่ Ofra, Dorit, Douglas, Chandler, Oso Grande, Dover, Nurit และ Parker ผลการทดลองพบว่า มีเพียง 4 ไพรเมอร์เท่านั้น จากทั้งหมด 41 ไพรเมอร์ที่สามารถจำแนกความแตกต่างของสตอร์วเบอร์รี่ ทั้ง 8 สายพันธุ์ได้แตกต่างกัน ได้แก่ ไพรเมอร์ OG-2 (GGCACTGAGG) OF-7 (CCGATATCCC), OG-5 (CTGAGACGGA) และ 1037 (AATCGGGCTG) โดยพบว่าไพรเมอร์เหล่านี้สามารถให้ polymorphic เฉลี่ย 4-12 แถบต่อไพรเมอร์

เทคนิค Real Time Polymerase Chain reaction (Real-time PCR)

หลักการของ Real time PCR

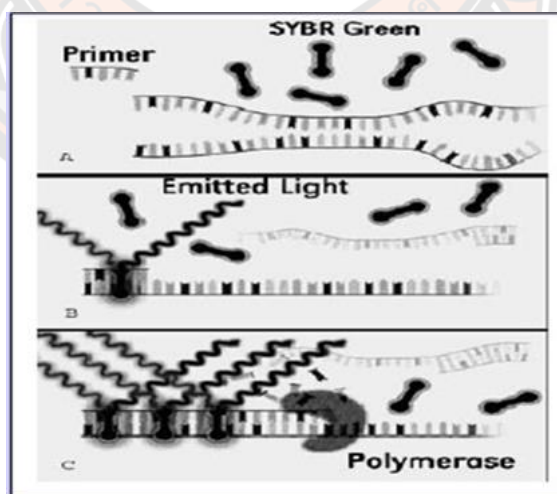
เป็นเทคนิคการเพิ่มขยายปริมาณดีเอ็นเอที่จำเพาะ โดยอาศัยหลักการเดียวกับหลักการ พีซีอาร์แบบดั้งเดิม โดยความสำเร็จของเทคนิค Real time PCR เกิดจากการพัฒนาเทคโนโลยี 2 ส่วนใหญ่ ๆ คือ 1) การพัฒนาเทคโนโลยีในการตรวจหา PCR product ในสารละลายโดยใช้สารเรืองแสง (fluorescence reporters) ชนิดต่าง ๆ และ 2) การพัฒนาเครื่อง thermocycle ซึ่งแต่เดิมเป็นแค่เครื่องควบคุมอุณหภูมิขึ้นลงตามระยะเวลาที่กำหนด มาเป็นเครื่อง real time thermocycle

โดยเพิ่มส่วนที่เป็นแหล่งกำเนิดแสงเพื่อให้เกิดการเรืองแสงของ PCR product ดังนั้นการทำ real time PCR จึงเป็นการทำเพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยที่เราสามารถตรวจวัดปริมาณ PCR product ที่เกิดขึ้นจริง ณ เวลานั้น ๆ ซึ่งต่างจาก conventional PCR ซึ่งตรวจ PCR product จะกระทำหลังจากปฏิกิริยาการเพิ่มขยายสิ้นสุดลง (วีระพงศ์ ลุฑิตานนท์, 2557)

เคมีสัญญาณเรืองแสงในเทคนิค Real time PCR

ปัจจุบันการตรวจวัดสัญญาณเรืองแสงในปฏิกิริยา Real time PCR จะมีอยู่ด้วยกันหลายระบบ แต่มีเพียง 2 ระบบเท่านั้นที่นิยมใช้ ได้แก่ ระบบการตรวจวัดด้วยสี SYBR Green ซึ่งเป็นสีย้อมประเภท intercalating dye และระบบการตรวจวัดโดยใช้ hydrolysis probe ได้แก่ Taqman เป็นต้น

1. SYBR Green เป็นระบบที่ง่ายและราคาถูกเมื่อเปรียบเทียบกับระบบการตรวจวัดสัญญาณเรืองแสงชนิดอื่น ๆ โดยหน้าที่ของสี SYBR Green จะจับร่องขนาดเล็ก (minor groove) ของดีเอ็นเอสายคู่ จากนั้นจะปล่อยสัญญาณเรืองแสงออกมา (ภาพ 6) ดังนั้น เมื่อมีการสะสมผลผลิตพีซีอาร์มาก สี SYBR Green ก็จะไปเรืองแสงเพิ่มขึ้นตามปริมาณผลผลิตพีซีอาร์ที่เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามแม้สี SYBR Green จะมีราคาถูกและใช้งานได้ง่าย แต่ก็มีข้อจำกัด คือ สี SYBR Green สามารถจับกับดีเอ็นเอสายคู่ได้ทั้งหมด รวมทั้งไพเมอร์ไดเมอร์ (primer-dimer) และผลผลิตพีซีอาร์ที่ไม่จำเพาะ (non-specific product) ส่งผลทำให้การประเมินผลผลิตพีซีอาร์เป้าหมายเกินจริงหากปฏิกิริยาพีซีอาร์ไม่จำเพาะต่อเป้าหมายจริง แต่อย่างไรก็ตามถ้าหากมีการออกแบบไพเมอร์ที่จำเพาะกับดีเอ็นเอเป้าหมายแล้ว สี SYBR Green จะทำงานได้มีประสิทธิภาพมาก (คำรพ รัตนสุด, 2561)



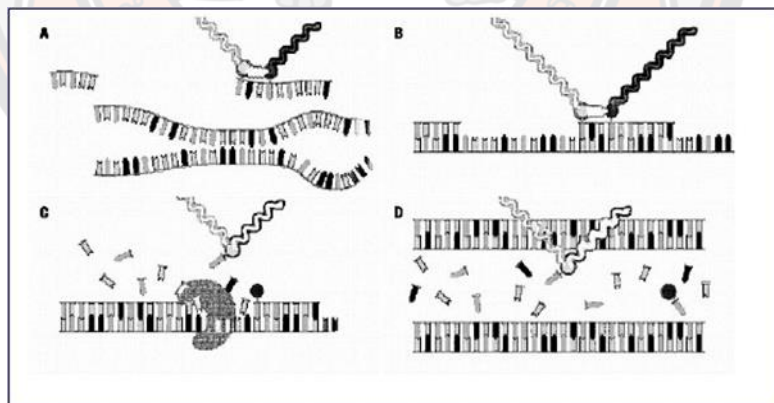
ภาพ 6 การตรวจวัด PCR product ด้วย SYBR Green

ที่มา: วีระพงศ์ ลุฑิตานนท์, 2557

2. Hydrolysis probe

ในบางกรณีมีความจำเป็นต้องการความจำเพาะสูงสุด เช่น การระบุถึงตำแหน่ง single nucleotide mutation ของดีเอ็นเอเป้าหมาย สามารถทำได้โดยการติด fluorochrome 2 ประเภท เข้าไปยัง specific probe ดังนั้น เมื่อถูกกระตุ้นด้วยแสงพลังงานสูง fluorochrome ตัวแรก คือ Quencher จะดูดซับพลังงานเอาไว้ และถ่ายทอดพลังงานให้ fluorochrome ตัวที่สอง คือ Reporter dye จากนั้นเมื่อ Reporter molecule ได้รับพลังงานจาก Quencher จะปลดปล่อยพลังงานออกสู่ภายนอกในรูปของแสง ซึ่งปฏิกิริยาดังกล่าว เรียกว่า Fluorescence Resonance Energy Transfer (FRET) (ภาพ 7)

การตรวจวัดวิธีนี้ใช้ฟลูออโรโพรเมอร์หนึ่งคู่และ Taqman probe โดยที่ probe เป็น ดีเอ็นเอสายสั้น ๆ (DNA oligonucleotides) ที่ถูกออกแบบมาให้จับกับผลผลิตฟลูออโรเป้าหมาย โดยที่ probe จะมีการติดฉลากเรืองแสง Quencher และ Reporter ซึ่งอยู่ในสภาพติดกัน ดังนั้นจึงไม่เกิดการปล่อยสารเรืองแสง (FRET) จากนั้นเมื่อปฏิกิริยาฟลูออโรทำงานโพรเมอร์และ probe จะเข้า จับกับดีเอ็นเอแม่แบบตรงตำแหน่งที่จำเพาะจากนั้น Taq DNA polymerase จะสร้างสาย ดีเอ็นเอสายใหม่ต่อจากโพรเมอร์ เมื่อ Taq DNA polymerase สร้างสายดีเอ็นเอจนถึง probe หลังจากนั้น probe จะถูกย่อยด้วย Taq DNA polymerase ซึ่งมีคุณสมบัติ 5' nuclease ดังนั้นจึงมีการ ปลดปล่อยแสงออกมาให้เครื่อง Real time PCR ตรวจวัดได้ (คำรพ รัตน์สุด, 2561)



ภาพ 7 Hydrolysis Probe (Taqman) เป็น oligonucleotide probe ติดฉลาก fluorochrome 2 ชนิด คือ Reporter dye และ Quencher dye (A, B) เมื่อสาย oligo probe ถูกย่อยด้วย Taq DNA polymerase จากนั้น Reporter dye จะถูกปลดปล่อยให้เป็นอิสระและสามารถถูกกระตุ้นให้คายพลังงานออกมาในรูปของแสง fluorescence ได้ (C, D)

ที่มา: วีระพงษ์ ลุกลิตานนท์, 2557

จากการศึกษางานวิจัยของ Almeida et al. (2007, pp. 61-71) ทำการศึกษาการแสดงออกของยีนแอนโทไซยานิน ได้แก่ ยีน *PAL*, *C4H*, *4CL*, *MYB1*, *CHS1*, *CHS2*, *CHS3*, *CHS5*, *CHI*, *FHT*, *DFR*, *ANS*, *FLS*, *LAR*, *ANR* และ *FGT* ด้วยเทคนิค qRT-PCR จากเนื้อเยื่อบริเวณราก กลีบเลี้ยง ใบ และผล ของสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ Queen Elisa ผลการทดลองพบว่า ยีนแอนโทไซยานิน มีการแสดงออกในผลมากกว่าเนื้อเยื่อบริเวณอื่น โดยพบมากในยีน *MYB1*, *CHS1*, *CHS3*, *CHI*, *FHT*, *DFR*, *ANS* และ *FGT* นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาการแสดงออกของยีนในผลสตรอว์เบอร์รี ทั้งหมด 4 ระยะ ได้แก่ G1 (early green), G2 (intermediate green), W (white), T (turning) และ R (ripe red) ด้วยเทคนิค qRT-PCR พบว่า การแสดงออกของยีน *PAL*, *C4H* และ *4CL* มีการแสดงออกน้อยในระยะ White (W) และเมื่อพิจารณาการแสดงออกของยีน *CHS1*, *CHS2*, *CHS3*, *CHS5*, *CHI*, *FHT*, *ANS*, *LAR* และ *ANR* พบว่าระยะ turning มีการแสดงออกมากที่สุด และเมื่อพิจารณาการแสดงออกของยีน *FLS*, *FGT*, *DFR* และ *MYB1* พบว่า มีการแสดงออกมากในระยะ ripe red เป็นต้น นอกจากนี้ Xu et al. (2014, pp. 289-298) ทำการศึกษาการแสดงออกของยีนแอนโทไซยานิน ได้แก่ ยีน *FvCHS1/3*, *FvCHS2/4*, *FvCHI1*, *FvF3H1*, *FvFLS1*, *FvFLS2*, *FvDFR1*, *FvDFR2*, *FvANS1*, *FvUGT1*, *FvUGT2*, *FvUGT3*, *FvUGT4*, *FvUGT5*, *FvUGT6*, *FvUGT7*, *FvUGT8*, *FvLAR1*, *FvANR1* ในผลสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ป่า (woodland strawberry) 2 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ Ruegen F7-4, YW5AF7 โดยแบ่งระยะผลออกเป็น 3 ระยะ ได้แก่ ระยะ green, turning และ Ripe จากนั้นทำการวิเคราะห์ผลด้วยเทคนิค qRT-PCR ผลการทดลองพบว่า ยีน *FvCHS1/3*, *FvCHS2/4*, *FvCHI1*, *FvF3H1* มีแนวโน้มแสดงออกมากทั้ง 3 ระยะในสตรอว์เบอร์รี ทั้งสองสายพันธุ์ เมื่อพิจารณายีน *FvFLS1*, *FvFLS2* พบว่า มีแนวโน้มแสดงออกมากในระยะ green และเมื่อพิจารณายีน *FvDFR1*, *FvDFR2* พบว่า มีแนวโน้มแสดงออกมากในระยะ turning และเมื่อพิจารณายีน *FvANS1*, *FvUGT1* พบว่า มีแนวโน้มแสดงออกมากในระยะ turning และ ripe และเมื่อพิจารณายีน *FvUGT2*, *FvUGT3*, *FvUGT4*, *FvUGT5*, *FvUGT6*, *FvUGT7*, *FvUGT8*, *FvLAR1*, *FvANR1* พบว่า มีแนวโน้มแสดงออกมากในระยะเริ่มต้นคือ ระยะ green ซึ่งพบน้อยมากในระยะ turning และ ripe และยังพบว่าสายพันธุ์ Ruegen F7-4 มีปริมาณการแสดงออกของยีนแอนโทไซยานิน มากกว่าสายพันธุ์ YW5AF7 นอกจากนี้ Salvatierra et al. (2010, pp. 1839-1847) ทำการศึกษาการแสดงออกของยีนแอนโทไซยานิน ได้แก่ ยีน *PAL*, *C4H*, *4CL*, *CHS*, *CHI*, *F3H*, *DFR*, *ANS*, *UGT*, *ANR*, *LAR*, *FLS* ในผลสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ *F. chiloensis* ssp. *Chiloensis* (*F. chiloensis* และ *F. patagonica*) โดยแบ่งออกเป็น 4 ระยะ ได้แก่ S1 (C1 และ P1) S2 (C2 และ P2) S3 (C3 และ P3) S4 (C4 และ P4) ด้วยเทคนิค qRT-PCR ผลการทดลองพบว่า ยีน *PAL* มีแนวโน้มแสดงออกมากในระยะ S4 และเมื่อพิจารณายีน *C4H*, *4CL* พบว่ามีแนวโน้มแสดงออกมากในระยะ S1 และเมื่อพิจารณายีน *CHS*, *CHI*, *F3H*, *DFR*, *ANS*, *UGT* พบว่ามีแนวโน้มแสดงออกมากในระยะ

S3 และ S4 เมื่อพิจารณาใน ANR, LAR, FLS พบว่า มีแนวโน้มแสดงออกมากในระยะ S1 และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์ *F. chiloensis* และ *F. patagonica* พบว่า สายพันธุ์ *F. patagonica* มีแนวโน้มให้ปริมาณการแสดงออกของยีนแอนโทไซยานินทั้งหมดมากกว่าสายพันธุ์ *F. chiloensis* นอกจากนี้ Thill et al. (2013, pp. 72-78) ทำการศึกษาการแสดงออกของยีน $F3'H$ ของผลสตรอว์เบอร์รี 2 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ลูกผสม *F. × ananassa* และสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ป่า *F. vesca* ผลการทดลองพบว่า สตรอว์เบอร์รีพันธุ์ป่า *F. vesca* มีแนวโน้มของการแสดงออกของยีน $F3'H$ มากกว่าสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ลูกผสม *F. × ananassa* ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ป่า *F. vesca* มีปริมาณของแอนโทไซยานินชนิด Cyanidin ที่สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ลูกผสม *F. × ananassa* แต่ในทางตรงกันข้ามเมื่อพิจารณาปริมาณของแอนโทไซยานินชนิด Pelargonidin จะพบในสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ลูกผสม *F. × ananassa* มากกว่าสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ป่า *F. vesca* เป็นต้น

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Plant Tissue Culture)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หมายถึง การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืช รวมถึงการเพาะเลี้ยงเซลล์ หรือการเพาะเลี้ยงอวัยวะด้วยเช่นกัน ภายใต้สภาวะอาหารสังเคราะห์ซึ่งประกอบไปด้วย เกลือแร่ น้ำตาล วิตามิน และสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดต่าง ๆ ในสภาวะแวดล้อมที่อุณหภูมิและแสงสว่างเหมาะสม รวมทั้งปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ ดังนั้น ต้นพืชจึงจะสามารถพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ (สมพร ประเสริฐสงสกุล, 2552)

ประวัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเริ่มมาจากที่ คศ. 1902 Gottlieb Haberlandt ซึ่งประสบความสำเร็จโดยการนำเซลล์จากใบเลี้ยงมาทำการทดลอง โดยทำให้เซลล์เกิดการแบ่งตัว และเจริญเติบโตเป็นพืชต้นใหม่ได้ทั้งต้นโดยอาศัยคุณสมบัติโททิโปเทนซี (totipotency) แต่ Haberlandt ยังไม่ประสบความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเซลล์จากใบพืช เนื่องจากยังไม่สามารถค้นพบสารควบคุมการเจริญเติบโตของเซลล์พืชได้ ต่อจากนั้นในปี คศ. 1934 White ได้รายงานความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงปลายรากของมะเขือเทศ โดยสามารถทำให้ปลายรากเจริญเติบโตได้ภายใต้การควบคุมในอาหารสังเคราะห์ ซึ่งประกอบไปด้วย ยีสต์สกัด เกลืออนินทรีย์ และน้ำตาลซูโครส เป็นต้น จนกระทั่งในปี คศ. 1939 เป็นต้นมา สามารถเลี้ยงอวัยวะของพืชได้หลายชนิด นับแต่นั้นเป็นต้นมาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีการพัฒนาไปอย่างกว้างขวาง ปัจจุบันสามารถเลี้ยงเซลล์เดี่ยวและโปรโตพลาสหรือเซลล์ไร้มิ่งของพืชหลายชนิด รวมทั้งการใช้เทคโนโลยีชีวภาพ เช่น การตัดต่อยีน หรือการถ่ายยีนเข้ามาร่วมด้วย เพื่อประโยชน์ในด้านการศึกษาทางชีวเคมีพันธุศาสตร์ และการปรับปรุงพันธุ์พืช (สมพร ประเสริฐสงสกุล, 2552)

ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

1. สามารถผลิตต้นพันธุ์พืชได้ปริมาณมากในระยะเวลาอันรวดเร็ว
2. ต้นพืชที่ผลิตได้มีโอกาสปลอดโรค และไวรัสสูง
3. ต้นพืชที่ผลิตได้มีลักษณะพันธุกรรมเหมือนต้นแม่
4. ต้นพืชที่ได้จะมีขนาดสม่ำเสมอ ผลผลิตมีมาตรฐาน
5. เป็นการเก็บรักษาพันธุ์พืช

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในหลอดทดลอง (*In vitro*)

เมื่อนำชิ้นส่วนพืชมาเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง ชิ้นส่วนของพืชอาจมีการพัฒนาเป็นแคลลัส หรือมีการพัฒนาเป็นต้นพืชต้นใหม่โดยผ่าน 2 กระบวนการ ได้แก่

1. กระบวนการออร์แกโนเจเนซิส (organogenesis) คือ การเกิดส่วนใด ๆ ของพืช เช่น การเกิดยอด การเกิดราก ซึ่งเป็นการเกิดที่อิสระไม่ขึ้นต่อกัน ซึ่งขึ้นอยู่กับว่าเนื้อเยื่อหรือเซลล์ได้รับการกระตุ้นให้เจริญเป็นยอด หรือราก ภายใต้การควบคุม 2 ปัจจัย ได้แก่

- 1.1 ปัจจัยภายใน เช่น ฮอรโมน พันธุกรรม ซึ่งเป็นปัจจัยที่อยู่ในชิ้นส่วนของพืชเอง

- 1.2 ปัจจัยภายนอก เช่น ปัจจัยทางกายภาพ ได้แก่ แสง อุณหภูมิ เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีปัจจัยทางเคมี ได้แก่ ฮอรโมนพืช เช่น ออกซิน และไซโตไคนิน

2. กระบวนการเอมบริโอเจเนซิส (embryogenesis) คือ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อผ่านการเกิดแคลลัส ซึ่งบางส่วนของแคลลัสมีการพัฒนาค่ายคัพพะ (embryo) ซึ่งจะสามารถพัฒนาเป็นยอด และรากต่อไปได้ แคลลัสที่สามารถพัฒนาเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์โดยผ่านการเปลี่ยนแปลงลักษณะนี้ เรียกว่า embryogenic callus สังเกตได้จากเซลล์มีรูปร่างกลม มีไซโตพลาสซึมเข้มข้น และมีนิวเคลียสใหญ่ ส่วนแคลลัสที่ไม่สามารถพัฒนาเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ได้ เรียกว่า non embryogenic callus สังเกตได้จากรูปร่างของเซลล์จะมีลักษณะยาว มีแวคิวโอลใหญ่ และไซโตพลาสซึมไม่เข้มข้น ซึ่งลักษณะแคลลัสทั้งสองประเภทนี้ เมื่อถูกตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดจะให้เห็นความแตกต่างของลักษณะเซลล์ทั้งสองประเภทนี้ได้อย่างชัดเจน (สมพร ประเสริฐสงสกุล, 2552)

ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชประกอบด้วย 4 ขั้นตอน ดังนี้

1. ชิ้นส่วนของพืชที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

เนื้อเยื่อนำมาเพาะเลี้ยงแล้วมีโอกาสประสบความสำเร็จส่วนใหญ่จะเป็นเนื้อเยื่อเจริญ (meristems) ได้แก่ เนื้อเยื่อเจริญปลายยอด และปลายราก เนื่องจากเนื้อเยื่อเหล่านี้ประกอบด้วยเซลล์ที่กำลังเจริญ เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารที่ประกอบด้วยแร่ธาตุที่อุดมสมบูรณ์จึงสามารถเจริญเติบโตได้ดี สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสตรอว์เบอร์รี่ชิ้นส่วน (explants) ที่เหมาะสมที่สุด คือ เนื้อเยื่อบริเวณจุดเจริญ (apical meristem) เนื่องจากส่วนนี้ยังเป็นส่วนที่ยังไม่มีท่อลำเลียง และมีความเหมาะสมที่สุดสำหรับนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (อัมพา และคณะ, 2546)

2. เทคนิคปลอดเชื้อจุลินทรีย์ (aseptic techniques)

2.1 วิธีการทำให้ปลอดเชื้อ

ห้องย้ายเนื้อเยื่อควรเป็นห้องที่ค่อนข้างสงบ สะอาด และได้รับการดูแลให้อยู่ในสภาพปลอดเชื้อ หรือมีระบบป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อเป็นอย่างดี นอกจากนี้ฝ้าผนังเพดานและพื้นห้องควรเป็นพื้นเรียบมันเพื่อให้ทำความสะอาดได้ง่ายไม่เป็นที่สะสมของฝุ่นละออง ส่วนห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อหรือห้องวางขวดเนื้อเยื่อ ควรเป็นห้องที่สะอาดปราศจากเชื้อโรค และสามารถควบคุมแสง อุณหภูมิ และความชื้นได้ โดยทั่วไปมักใช้ห้องที่ค่อนข้างมืดชิดมีเครื่องปรับอากาศเพื่อควบคุมอุณหภูมิภายในห้องได้ ซึ่งปกติอุณหภูมิจะอยู่ที่ 25-27 °C และมีชั้นติดตั้งหลอดไฟให้แสงสว่างแก่พืช โดยความเข้มของแสงมีค่าเฉลี่ย 2,500-3,000 ลักซ์ โดยปกติแล้วจะให้แสงแก่พืชติดต่อกันเป็นเวลานาน 16 ชั่วโมงต่อวัน

ตู้ถ่ายเนื้อเยื่อ (laminar air flow cabinet) ควรเป็นตู้ที่มีอากาศถ่ายเทผ่านแผ่นกรองซึ่งสามารถกรองจุลินทรีย์ได้ตลอดเวลาทำให้อากาศภายในตู้ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ และควรมีการติดตั้งหลอดอัลตราไวโอเล็ตเพื่อใช้สำหรับฆ่าเชื้อโรค ซึ่งก่อนปฏิบัติงานควรมีการเช็ดฝุ่นละอองต่าง ๆ ภายในตู้ จากนั้นฉีดพ่นแอลกอฮอล์ 70% ให้ทั่วภายในตู้ และเช็ดพื้นตู้ให้แห้ง จากนั้นจึงเปิดแสงอัลตราไวโอเล็ต (ultraviolet, UV) ไว้ประมาณ 30 นาที ก่อนลงมือปฏิบัติงาน นอกจากนี้ต้องสำรวจหากพบมีการปนเปื้อนเชื้อราหรือแบคทีเรีย ต้องรีบนำออกจากห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อทันที ถ้าปล่อยทิ้งไว้จะทำให้สปอร์แพร่กระจายออกจากขวดและทำให้แพร่ระบาดในห้องได้ ดังนั้น ควรนำขวดเนื้อเยื่อที่มีการปนเปื้อนไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ระดับความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 20 นาที เพื่อป้องกันการระบาดของเชื้อจุลินทรีย์ จากนั้นล้างขวดให้สะอาดด้วยผงซักฟอกและผึ่งให้แห้ง (นิพิจ พินิจผล, 2551)

2.2 การฟอกฆ่าเชื้อที่ผิว (surface sterilization)

ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์ (2546) รายงานว่า ภายในเนื้อเยื่อพืชบางครั้งอาจมีการปนเปื้อนเช่นกัน ซึ่งไม่สามารถมองเห็นได้จากภายนอก แต่จะแสดงให้เห็นเมื่อนำไปเพาะเลี้ยงได้ ระยะเวลาหนึ่ง การปนเปื้อนภายในนี้ไม่สามารถล้างออกโดยการใช้น้ำยาทำความสะอาดที่ผิวได้ ซึ่งอาจหลีกเลี่ยงได้โดยการใช้ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดที่ยังไม่มีต่อลำเสี่ยงในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หรือในกรณีที่มีการปนเปื้อนภายในเนื้อเยื่อและมีความจำเป็นจะต้องนำชิ้นส่วนดังกล่าวมาเพาะเลี้ยง ควรปฏิบัติดังนี้

1. ควรจะมีการเตรียมต้นพันธุ์ด้วยการฉีดพ่นด้วยยาฆ่าเชื้อราและแบคทีเรียก่อนตัดเนื้อเยื่อออกจากต้นพันธุ์

2. ควรแช่ชิ้นส่วนพืชในยาปฏิชีวนะ 1 คีน หรือใส่ยาปฏิชีวนะลงในอาหารเพาะเลี้ยง เช่น คาร์เบนซิลลิน สเตรปโตไมซิน ริแฟมพิซิน เป็นต้น แต่การใส่ยาปฏิชีวนะความเข้มข้นสูงในอาหารมักจะยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชหรือเกิดเป็นพิษต่อพืชได้ด้วย

การฟอกฆ่าเชื้อผิวของพืชแต่ละชนิดไม่สามารถเฉพาะเจาะจงได้ว่าสารชนิดใดดีที่สุด ดังนั้นการใช้สารฆ่าเชื้อมีทั้งผลดีและผลเสีย ดังนั้นจึงต้องเลือกใช้สารแต่ละชนิดอย่างเหมาะสมและต้องคำนึงถึงความปลอดภัยอีกด้วย (ตาราง 4)

ตาราง 4 สารเคมีที่นิยมใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ

ที่	ชนิด	ความเข้มข้น (%)	การล้างออก	ระยะเวลา (นาที)	ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อ	ข้อแนะนำ
1	แคลเซียมไฮโปคลอไรท์ (CaCl ₂ O ₂)	9-10	ง่าย	5-30	ดีมาก	ต้องใช้ภายใน 6 ชั่วโมงหลังเตรียม และควรเก็บในที่มืด
2	โซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Na(OCl))	0.5-5	ง่าย	5-30	ดีมาก	สลายตัวได้ง่ายเมื่อถูกความร้อน ควรเก็บในที่มืด
3	ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H ₂ O ₂)	3-10	ง่าย	5-15	ดี	เก็บในที่มืด
4	สารละลายโบรมีน (Bromine water)	1-2	ง่าย	2-10	ดีมาก	-
5	ซิลเวอร์ไนเตรท (AgNO ₃)	1	ยาก	5-30	ดี	-
6	เมอร์คิวริกคลอไรด์ (HgCl ₂)	0.1-1.0	ยาก	2-10	ปานกลาง	ไอระเหยของสารปรอทเป็นพิษต่อผิวหนังและสุขภาพ โดยเฉพาะเมื่ออยู่ในที่จำกัด
7	กรดกำมะถัน	20-70	ง่าย	5-20	ดีมาก	-
8	เอทิลแอลกอฮอล์	70-95	ง่าย	5-30	ดี	-
9	ยาปฏิชีวนะ (Antibiotics)	4-50 mg/L	-	30-60	ค่อนข้างดี	-

ที่มา: นิพิจ พิณิจผล, 2551

สารฟอกฆ่าเชื้อที่นิยมใช้ส่วนใหญ่ คือ โซเดียมไฮโปคลอไรท์ (sodium hypochloride, NaOCl) หรือคลอโรกซ์ (Clorox) ซึ่งมีส่วนผสมของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 6% ซึ่งสารนี้มีประสิทธิภาพค่อนข้างสูงในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ และยังเป็นสารที่สามารถหาซื้อได้ทั่วไป ราคาไม่สูง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Mahmood et al. (1994, pp. 54-59) รายงานว่า การนำ ชิ้นส่วนของไหล (runner) สตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ Toro ขนาด 0.2-0.5 เซนติเมตร มาล้างด้วย น้ำประปาเป็นระยะเวลา 15 นาที และฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (hypochlorite) ที่ระดับความเข้มข้น 1% เป็นเวลา 15 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น 4 ครั้ง จากนั้น นำไปเลี้ยงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS (Murashige, & Skoog medium, 1962, pp. 473-497) พบว่า ชิ้นส่วนมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงถึง 70-80% นอกจากนี้ประสิทธิภาพของสารฟอกฆ่าเชื้อจะ ได้ผลดีมากขึ้นหากเติม polyoxyethylene sorbitan monolaurate (Tween-20) (ประมาณ 1-2 หยดต่อสารละลาย 100 มิลลิลิตร) ขณะฟอกฆ่าเชื้อเพื่อลดแรงตึงผิวระหว่างน้ำกับเนื้อเยื่อพืช ส่งผล ให้สารฟอกฆ่าเชื้อสามารถแทรกเข้าไปทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Biswas et al. (2010, pp. 75-80) ทำการฟอกฆ่าเชื้อสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ Rabi-01, Rabi-02 และ Rabi-03 จากชิ้นส่วนของไหล ด้วยสารละลายเมอร์คิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) ที่ระดับความเข้มข้น 0.1% (W/V) พร้อมกับมีการเติม Tween-20 เพื่อช่วยลดแรงตึงผิว ส่งผลให้ชิ้นส่วนพืชนั้นมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตที่สูง นอกจากนี้การฉีดพ่น หรือแช่ด้วยแอลกอฮอล์ 50-70% กับชิ้นส่วนตัวอย่างที่ระยะเวลา 1 นาที ก่อนทำการฟอกฆ่าเชื้อ จะช่วยลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ได้เป็นอย่างดี ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ara et al. (2012, pp. 93-100) รายงานว่า ก่อนการฟอกฆ่าเชื้อได้ทำการแช่ชิ้นส่วนไหลสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ JP-2 ในแอลกอฮอล์ 50% เป็นเวลา 1 นาที พบว่าชิ้นส่วนสตรอว์เบอร์รีมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงที่สุด

3. การเตรียมอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยง

อาหารทุกสูตรมีองค์ประกอบและปริมาณธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง และสารที่พืช ต้องการในปริมาณที่มากและน้อยแตกต่างกัน โดยทั่วไปสูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ประกอบด้วยกลุ่มธาตุอาหารหลัก ๆ ดังนี้ (ตาราง 5)

ตาราง 5 สูตรของ Murashige, & Skoog (1962, pp. 473-497)

สารเคมี	ปริมาณ (mg/L)
NH_4NO_3	1,650
KNO_3	1,900
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370
KH_2PO_4	170
H_3BO_3	6.2
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	6.9
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	6.14
KI	0.83
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025
$\text{Na}_2\text{-EDTA}$	37.25
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.85
Glycine	2.0
Nicotinic acid	0.5
Pyridoxine-HCl	0.5
Thiamine-HCl	0.1
Sucrose	30,000

ที่มา: รังสฤษดิ์ กาวิต๊ะ, 2545

1. ธาตุอาหารกลุ่มอนินทรีย์ (inorganic component) สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

1.1 มหาธาตุ หรือ ธาตุอาหารหลัก (macro element) คือ เป็นธาตุอาหารที่พืชต้องการใช้ในปริมาณที่มาก ได้แก่ ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) โพแทสเซียม (K) แคลเซียม (Ca) แมกนีเซียม (Mg) ไฮโดรเจน (H) กำมะถัน (S) คาร์บอน (C) และ ออกซิเจน (O) โดยธาตุอาหาร

เหล่านี้เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ เนื้อเยื่อ โครงสร้าง รวมถึงการสังเคราะห์โปรตีนของพืช เป็นต้น

1.2 จุลธาตุ (micro element) คือ ธาตุอาหารรองที่พืชจำเป็นต้องนำไปใช้ในการเจริญเติบโต แต่มีการใช้ในปริมาณที่น้อย ได้แก่ โมลิบดีนัม (Mo) โบรอน (B) แมงกานีส (Mn) โคบอลต์ (Co) สังกะสี (Zn) ทองแดง (Cu) และ เหล็ก (Fe) ซึ่งหน้าที่สำคัญของธาตุอาหารรอง คือ เป็นโคแฟกเตอร์ (cofactor) ของเอนไซม์

2. ธาตุอาหารกลุ่มสารอินทรีย์ (organic component) เป็นธาตุอาหารที่มีองค์ประกอบของคาร์บอน (C) ไฮโดรเจน (H) และ ออกซิเจน (O) เป็นองค์ประกอบหลัก แบ่งออกได้ดังนี้

2.1 น้ำตาล (sugar) เป็นสารที่ให้พลังงานแก่เนื้อเยื่อ เนื่องจากเนื้อเยื่อพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงจะไม่สามารถสังเคราะห์อาหารเองได้ ซึ่งจะต้องใช้น้ำตาลซูโคส (sucrose) เพราะสามารถแตกตัวเป็นกลูโคส (glucose) และ ฟรุคโตส (fructose) ซึ่งเซลล์พืชจะนำกลูโคสไปใช้ก่อน และตามด้วยฟรุคโตส ซึ่งซูโครสจะแตกตัว (hydrolysis) ได้มากเมื่อผ่านความร้อนขณะนึ่งฆ่าเชื้อและอยู่ร่วมกับสารประกอบอื่น ๆ ซึ่งโดยทั่วไปปริมาณน้ำตาลที่ใช้ในสูตรอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช จะใช้ในปริมาณ 20-30 กรัม ซึ่งจะให้ความเข้มข้น ประมาณ 2-3% (นิพิจ พินิจผล, 2551)

2.2 วิตามิน (vitamins) เป็นสารประกอบที่เป็นส่วนหนึ่งของเอนไซม์ หรือโคแฟกเตอร์ (cofactor) ที่จำเป็นสำหรับกระบวนการเมแทบอลิซึม ซึ่งวิตามินทั้งหมดที่พบในอาหาร ได้แก่ วิตามินบี 1 (thiamine) ทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์ ร่วมกับวัฏจักร Kreb's ในกระบวนการหายใจ ในอานีน (niacine) หรือนิโคตินิกแอซิด (nicotinic acid) เป็นวิตามินที่รู้จักในชื่อ วิตามินบี 3 ทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์ในปฏิกิริยาแสง ไพริดอกซิน (pyridoxine) หรือวิตามินบี 6 ทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์ในกระบวนการเมแทบอลิซึม แพนโทเทนิคแอซิด (pantothenic acid) หรือวิตามินบี 5 ทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์ในเมแทบอลิซึมของไขมัน กรดโฟลิก (folic acid) ทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์ให้กับเนื้อเยื่อพืช โคลีน (choline) ทำหน้าที่เป็นสารแอลคาลอยด์ในเนื้อเยื่อพืช นอกจากนี้ยังพบวิตามินชนิดอื่น ๆ เช่น ไบโอติน (biotin) หรือวิตามินเอช ไรโบฟลาวิน (riboflavin) หรือวิตามินบี 2 และ แอสคอร์บิกแอซิด (ascorbic acid) หรือวิตามินซี เป็นต้น (ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์, 2546; สมพร ประเสริฐส่งสกุล, 2552)

2.3 myo-inositol เป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ ซึ่งหน้าที่ของ myo-inositol ใช้สำหรับการสังเคราะห์ฟอสโฟลิพิด (phospholipid) ผนังเซลล์ (cell wall) และระบบของเยื่อหุ้มเซลล์ในไซโทพลาซึม ซึ่งความเข้มข้นที่ใช้ประมาณ 0.1-1.0 กรัมต่อลิตร

2.4 กรดอะมิโน กรดอะมิโนที่มีการเติมลงไปในสูตรอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีหน้าที่ช่วยเร่งการเจริญเติบโตของเซลล์พืช ซึ่งกรดอะมิโนที่ใช้ส่วนใหญ่ ได้แก่ กลูตามีน (glutamine) แอสพาราจีน (asparagine) ซีรีน (serine) และโพรลีน (proline) เนื่องจากจะสามารถ

ช่วยลดไนโตรเจน และสามารถช่วยชักนำให้เกิด somatic embryogenesis นอกจากนี้ ไกลซีน (glycine) ยังคงเป็นกรดอะมิโนชนิดหนึ่งที่มีความจำเป็นต่อพืช เนื่องจากช่วยในการสังเคราะห์ เพียวรีน (purine) และเป็นส่วนหนึ่งของ porphyrin ที่เป็นโครงสร้างของคลอโรฟิลล์ (สมพร ประเสริฐสงสกุล, 2552)

2.5 อาหารเสริม (growth supplement) อาหารเสริมที่ได้จากสารประกอบ อินทรีย์อื่น ๆ ซึ่งส่วนใหญ่ได้จากพืชที่อยู่ในธรรมชาติ ได้แก่ น้ำมะพร้าวอ่อน (coconut water) ซึ่งในน้ำมะพร้าวจะมีสารจำพวก myo-inositol, 1-3-diphenylurea และ leucoanthocyanins ซึ่งมีคุณสมบัติในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์ ส่งเสริมให้เกิดแคลลัส และสามารถชักนำเป็นต้นใหม่ต่อไป ได้ ซึ่งจะใช้ความเข้มข้นประมาณ 10-20 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร แต่ทั้งนี้พบว่า ในน้ำมะพร้าวจะมีความแตกต่างกันระหว่างผลแก่และผลอ่อน หรือแม้แต่ผลที่มีอายุเท่ากัน ซึ่งการใช้ควรเลือกใช้ น้ำมะพร้าวที่ได้จากผลอ่อนและสด ซึ่งจะดีกว่าน้ำมะพร้าวที่ได้จากผลแก่

2.6 สารไม่ออกฤทธิ์ (inert materials) ได้แก่ ผงวุ้น (agar) เป็นสารที่ได้จากการ สกัดจากสาหร่ายสีแดงหลายชนิด ซึ่งผงวุ้นจัดเป็นสารพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) ซึ่งมีมวล โมเลกุลสูง เมื่อละลายกับน้ำจะมีสภาพเป็นเจล ซึ่งความบริสุทธิ์ของผงวุ้นนั้นมีความสำคัญมาก โดยเฉพาะผงวุ้นที่ราคาถูกมักจะมี ความบริสุทธิ์ต่ำ ซึ่งจะมีธาตุบางชนิดตกค้างอยู่ ได้แก่ แคลเซียม แมกนีเซียม แบเรียม ซิลิกา คอลไรด์ ซัลเฟต และโซเดียม โดยเฉพาะโซเดียมจะตกค้างอยู่มาก ซึ่งจะมี ผลต่อปริมาณธาตุอาหารในสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ในทางตรงกันข้ามผงวุ้นที่มีความบริสุทธิ์สูง จะมีสารพิษตกค้างเหลืออยู่น้อย ซึ่งการเติมผงวุ้นลงไป ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จะช่วยทำให้อาหาร นั้นแข็งตัวและช่วยให้ต้นพืชสามารถยึดลำต้นได้ แต่ถ้าใส่ไปในปริมาณมากจะทำให้อาหารนั้นแข็งตัวมาก พืชจะดูดสารอาหารไปใช้ได้ น้อย โดยทั่วไปจะมีการเติมผงวุ้นในอาหารประมาณ 0.5-0.8 เปอร์เซ็นต์ และ ค่า pH ควรอยู่ในช่วง 5.6-5.8 ซึ่งถ้าค่า pH อยู่ต่ำกว่า 5.0 ส่งผลทำให้อาหารนั้นไม่แข็ง

2.7 น้ำกลั่น ใช้สำหรับเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช นอกจากนี้ยังใช้สำหรับ ล้างชิ้นส่วนเนื้อเยื่อนำมาเพาะเลี้ยง ซึ่งน้ำกลั่นที่ใช้จะต้องเป็นน้ำกลั่นที่ผ่านการกรอง (คิวพงศ์ จำรัสพันธุ์, 2546; นิพิจ พินิจผล, 2551)

3. สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth regulator) เป็นสารที่ช่วยเร่ง การการเจริญเติบโตของราก ยอด และช่วยกระตุ้นการแบ่งเซลล์ โดยสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ สำคัญในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช มีดังนี้ (ตาราง 6)

ตาราง 6 ตัวทำละลาย และสภาพการเก็บรักษาที่เหมาะสมสำหรับสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชบางชนิด

กลุ่มสาร	ชื่อสาร	ตัวทำละลาย	การเก็บ
ออกซิน	IAA	indole-3-acetic acid	1N NaOH 0 °C
	IBA	indole butyric acid	1N NaOH 0-5 °C
	NAA	1-naphthalene acetic acid	1N NaOH อุณหภูมิห้อง
	2,4-D	2,4-dichlorophenoxyacetic acid	50% EtOH อุณหภูมิห้อง
	2,4,5-T	2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid	50% EtOH อุณหภูมิห้อง
ไซโตไคนิน	BA	6-Benzyladenine	1N NaOH อุณหภูมิห้อง
	-	Kinetin	1N NaOH 0 °C
	-	zeatin	1N NaOH 0 °C
	2iP	N ⁶ -Isopentenyladenine	1N NaOH 0 °C
สารควบคุมการเจริญเติบโตอื่น ๆ	ABA	abscisic acid	1N NaOH 0 °C
-	daminozide	50% EtOH อุณหภูมิห้อง	
-	picloram	0.2M KOH 0 °C	

ที่มา: รังสฤษดิ์ กาวีตะ, 2545

3.1 กลุ่มออกซิน (auxin) ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

3.1.1 ออกซินที่พืชสร้างขึ้นเองตามธรรมชาติ (natural auxin) ได้แก่ IAA (Indol-3- acetic acid) ซึ่งสร้างมากที่บริเวณปลายยอด ปลายราก ผลอ่อน และบริเวณที่มีเนื้อเยื่อเจริญ (meristematic tissue) ซึ่งปริมาณ IAA ภายในเนื้อเยื่อพืชแต่ละส่วนจะมีมากน้อยแตกต่างกันไป ซึ่งความเข้มข้นที่ใช้ส่วนใหญ่ประมาณ 0.01-10 มิลลิกรัมต่อลิตร

3.1.2 ออกซินที่สังเคราะห์ขึ้น (synthetic auxin) ได้แก่ NAA (1-naphthalene acetic acid) ส่วนใหญ่จะใช้กับไม้เนื้ออ่อน ส่วน IBA (indole butyric acid) จะใช้กับไม้เนื้อแข็ง และ 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) จะนิยมใช้ในการกระตุ้นให้พืชเกิดแคลลัส เป็นต้น ซึ่งสารในกลุ่มนี้จะใช้ที่ระดับความเข้มข้นประมาณ 0.001-10 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยออกซินจะมีคุณสมบัติ ดังนี้

ช่วยกระตุ้นให้เซลล์ยืดตัว (cell elongation)

กระตุ้นให้มีการเกิดราก (root initiation)

กระตุ้นให้เนื้อเยื่อพืชขยายตัวเพิ่มมากขึ้น

ชักนำให้เกิดเอ็มบริโอเจเนซิส (embryogenesis)

3.2 กลุ่มไซโตไคนิน (cytokinin) ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

3.2.1 ไซโตไคนินที่พืชสร้างขึ้นเองตามธรรมชาติ (natural cytokinin) ได้แก่ Zeatin [6-(4-Hydroxy-3-methylbut-2-enylamino)purine] และ 2ip (N⁶-Isopentenyladenine) หรือ 6-(γ,γ-dimethylallylamino)purine)

3.2.2 ไซโตไคนินที่สังเคราะห์ขึ้น (synthetic cytokinin) ซึ่งนิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้แก่ BAP (6-benzylaminopurine) หรือ BA (6-benzyladenine) และ kinetin (6-furfuryl aminopurine) ระดับความเข้มข้นที่ใช้นั้นขึ้นอยู่กับชนิดของพืช โดยทั่วไปแล้วใช้ความเข้มข้นประมาณ 0.001-10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยไซโตไคนินจะมีคุณสมบัติ ดังนี้

ช่วยกระตุ้นให้เกิดการแบ่งเซลล์ (cell division) เมื่ออยู่ร่วมกับออกซิน

ช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตทางลำต้น และตาข้าง

ช่วยกระตุ้นการสร้างยอด

ช่วยกระตุ้นแคลลัสให้เจริญไปเป็นต้นพืช

ความสัมพันธ์ของออกซินและไซโตไคนินต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืช พบว่าถ้าปริมาณของออกซินในสูตรอาหารมีสูงกว่าปริมาณของไซโตไคนินจะชักนำให้เกิดราก ในทางตรงกันข้าม ถ้าปริมาณของไซโตไคนินในสูตรอาหารสูงและปริมาณออกซินต่ำจะชักนำให้พืชเกิดยอด หรือแตกตาข้าง (ศิวกพงศ์ จำรัสพันธุ์, 2546)

3.3 จิบเบอเรลลิน (Gibberellins) ปัจจุบันค้นพบ 65 ตัว คือ GA₁ ถึง GA₆₅ ซึ่ง GA แต่ละตัวมีโครงสร้างของโมเลกุลคล้ายกัน แต่ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชไม่ค่อยนิยมใช้มากนัก มีใช้เพียงบางตัวเท่านั้น เช่น GA₃ ซึ่งมีคุณสมบัติดังนี้

ช่วยกระตุ้นให้ส่วนของปล้องพืชยืดยาวขึ้น

ช่วยชักนำให้เกิดการออกดอก

3.4 สารยับยั้งการเจริญเติบโต (inhibitors) สารกลุ่มนี้มักให้ผลในทางตรงข้าม และไม่ค่อยนิยมใช้มากในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช มีใช้เพียงบางตัวเท่านั้น คือ abscisic acid (ABA) มีคุณสมบัติดังนี้

ช่วยกระตุ้นการยืดยาวของปล้อง (internodes)

ในบางกรณีกระตุ้นให้เกิดแคลลัส ยอด ราก หรืออวัยวะอื่น ๆ

3.5 เอทิลีน (ethylene) เป็นฮอร์โมนชนิดเดียวที่อยู่ในรูปของก๊าซ จึงไม่นิยมใช้ เนื่องจากควบคุมได้ยาก

4. สารประกอบอื่น ๆ

ได้แก่ ผงถ่าน (activated charcoal) ใช้เติมในสูตรอาหารระดับความเข้มข้นประมาณ 0.2-0.3% การใส่ผงถ่านในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีข้อดี ดังนี้

1. ช่วยดูดซับสารที่ยับยั้งการเจริญของเนื้อเยื่อ หรือสารพิษที่เนื้อเยื่อปลดปล่อยออกมาในขวดเพาะเลี้ยง ซึ่งส่วนมากเป็นสารประกอบฟีนอล และเมลานินซึ่งมีสีดำหรือสีน้ำตาล นอกจากนี้ยังช่วยดูดซับสารที่ไม่มีสีซึ่งเป็นพิษ จึงทำให้เนื้อเยื่อพืชมีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น
2. ช่วยดูดซับสารอินทรีย์บางชนิด เช่น abscisic acid (ABA) ซึ่งเป็นสารชะลอการเจริญเติบโต
3. ทำให้อาหารมีสีดำหรือเกิดสภาพมืด ซึ่งจะช่วยชักนำให้เกิดรากและทำให้รากเจริญเติบโตได้ดีขึ้น (นิพิง พิณิจผล, 2551)

4. การพัฒนาของเนื้อเยื่อ

คือ การที่พืชเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงจากชิ้นส่วนเริ่มต้น และพัฒนาไปเป็นเนื้อเยื่อต่าง ๆ เช่น แคลลัส ยอด และราก ซึ่งการที่พืชจะมีการพัฒนาเป็นเนื้อเยื่อเหล่านั้นได้มีหลายปัจจัยที่เป็นตัวกำหนดการพัฒนาของเนื้อเยื่อ คือ สารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดต่าง ๆ เช่น ออกซินและไซโตไคนิน สายพันธุ์ (genotype) ขนาดชิ้นส่วน และอายุของชิ้นส่วนพืช เป็นต้น ดังนั้นการพัฒนาเนื้อเยื่อจะประกอบไปด้วย 4 ขั้นตอนที่สำคัญ ดังนี้

1. การชักนำให้เกิดแคลลัส
2. การขยายพันธุ์เพิ่มปริมาณต้น
3. การชักนำให้เกิดราก
4. การย้ายออกปลูก

ณรงค์ชัย พิพัฒน์ธนวงศ์ (2543) รายงานว่า การตัดเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดของสตรอว์เบอร์รีที่มีความยาว 0.5 มิลลิเมตร หรือน้อยกว่า จะช่วยทำให้มีเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อไวรัสลดลง หลังจากนั้นประมาณ 60 วัน เนื้อเยื่อเจริญจะปรากฏกลุ่มของเนื้อเยื่อแคลลัส (callus) ให้ทำการย้ายแคลลัสลงในอาหารวุ้นใหม่ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของยอด หลังจากนั้นอีกประมาณ 40-50 วัน จะพบส่วนของลำต้นเกิดขึ้น โดยพบส่วนของก้านใบและใบเล็ก ๆ เป็นจำนวนมาก จากนั้นให้ทำการแบ่งออกเป็นต้นเล็ก ๆ แล้วย้ายต้นเหล่านั้นลงในอาหารวุ้นที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของราก หลังจากนั้นประมาณ 20 วัน จะพบส่วนของรากเกิดขึ้น เมื่อสังเกตพบต้นที่มีระบบรากสมบูรณ์ ให้นำต้นเหล่านั้นออกจากขวด แล้วล้างทำความสะอาดวุ้นด้วยน้ำประปาแบบไหลผ่าน จากนั้นจึงย้ายปลูกลงในกระบะเพาะชำซึ่งใช้วัสดุปลูก ได้แก่ Vermiculite เมื่อย้ายปลูกเสร็จ นำต้นสตรอว์เบอร์รีดังกล่าวอนุบาลภายในโรงพลาสติก โดยมีอุณหภูมิภายในเฉลี่ยเท่ากับ 22-25 °C และควรพรางแสงให้ตลอดช่วงภายในโรงเรือน หลังจากนั้นประมาณ 30 วันจึงทำการย้าย

ต้นแม่พันธุ์เหล่านี้ลงในกระถางเล็กที่ใส่ดินผสมกับวัสดุปลูก โดยนำไปวางบนชั้นภายในโรงเรือนกันแมลง เมื่อได้ต้นพันธุ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแล้ว (foundation stock plant: G1) ให้ทำการขยายไหลแบบวิธีปกติเพื่อให้ได้ไหลรุ่น G2 G3 และ G4 ต่อไป

4.1 การชักนำให้เกิดแคลลัส

คือ การนำชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเจริญ (apical meristem) มาทำการเพาะเลี้ยงภายใต้อาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดต่าง ๆ เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัสขึ้น อย่างไรก็ตามพบว่า การเกิดแคลลัสจากเนื้อเยื่อพืชนั้นจะต้องอาศัยสารควบคุมการเจริญเติบโต ออกซิน (auxin) และ ไซโตไคนิน (cytokinin) ในปริมาณที่เท่ากัน (Letham, 1974, pp. 66-70; Akiyoshi et al., 1983, pp. 407-411; Popescu et al., 1997, pp. 89-96) หรืออาจมีออกซินในปริมาณที่สูงเพียงชนิดเดียว ก็สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้เช่นกัน (ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์, 2546) จากการศึกษาของ Biswas et al. (2010, pp. 75-80) รายงานว่า การนำชิ้นส่วนของใบ (leaf) ข้อ (node) และไหล (runner) จากสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ Rabi-01, Rabi-02, Rabi-03 มาทำการชักนำให้เกิดแคลลัสภายใต้อาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BA ผลการทดลองพบว่า การใช้ชิ้นส่วนของไหล (runner) ในสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ Rabi-01 ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 4 mg/L + BA 1.5 mg/L ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสสูงสุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 90% Biswas et al. (2007, pp. 49-54) รายงานว่าการใช้ชิ้นส่วนของใบ (leaf) และปล้อง (internode) จากสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ pbjel-2000 เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส ผลการทดลองพบว่า อาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 4 mg/L สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้มากที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 86.1% และ 89.3% จากชิ้นส่วนของใบและปล้อง ตามลำดับ Ara et al. (2012, pp. 93-100) รายงานว่า การใช้ชิ้นส่วน ใบอ่อน ใบแก่ และปล้อง จากสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ JP-2 เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส ผลการทดลองพบว่า ชิ้นส่วนใบแก่ เมื่อถูกนำมาเลี้ยงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D 1 mg/L + BAP 0.1 mg/L สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้มากที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 75% ซึ่งมากกว่าชิ้นส่วนของใบอ่อนและปล้อง Karim et al (2011, pp. 29-36) รายงานว่าการนำชิ้นส่วนของใบสตรอว์เบอร์รีมาทำการชักนำให้เกิดแคลลัส ผลการทดลองพบว่า อาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 2 mg/L + BA 0.5 mg/L สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้มากที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 93.33%

4.2 การขยายพันธุ์เพิ่มปริมาณต้น

คือ การนำชิ้นส่วนเนื้อเยื่อพืชย้ายลงในสูตรอาหารใหม่ ซึ่งอาหารนั้นมีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดไซโตไคนิน เพื่อกระตุ้นให้เกิดตายอดเป็นจำนวนมาก จากการศึกษาของ Skoog, & Miller (1957, pp. 118-130) รายงานว่า อัตราส่วนระหว่างออกซินต่อ

ไซโตไคนินเป็นตัวกำหนดลักษณะการเกิดอวัยวะ (organogenesis) การที่ปลายยอดจะพัฒนาไปเป็นต้นได้นั้น ขึ้นอยู่กับความสมดุลระหว่างออกซินและไซโตไคนิน อาหารที่มีไซโตไคนินระดับความเข้มข้นสูงและออกซินระดับความเข้มข้นต่ำจะส่งเสริมการเจริญส่วนยอด เนื่องจากไซโตไคนินมีผลต่อการขยายขนาดของเซลล์ซึ่งจะช่วยให้พัฒนายอดได้เป็นอย่างดี Biswas et al. (2010, pp. 75-80) รายงานว่า หลังจากมีการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนของ ใบ ช่อ และไหลของสตรอร์วเบอร์รีสายพันธุ์ Rabi-01, Rabi-02 และ Rabi-03 ผลการทดลองพบว่า ชิ้นส่วนของไหล (runner) ในสตรอร์วเบอร์รีสายพันธุ์ Rabi-01 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสสูงสุด จากนั้นนำแคลลัสที่เกิดจากชิ้นส่วนของ ใบ ช่อ และไหล มาทำการชักนำให้เกิดยอด ผลการทดลองพบว่า แคลลัสที่เกิดจากชิ้นส่วนของใบ ที่เลี้ยงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 3.0 mg/l พบว่า มีจำนวนยอดมากที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 45% รองลงมาคือ อาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 6.0 mg/l และ 1.5 mg/l ตามลำดับ Ara et al. (2012, pp. 93-100) รายงานว่า หลังจากนำชิ้นส่วนของใบอ่อน ใบแก่ และปล้องมาทำการชักนำให้เกิดแคลลัส จากนั้นนำแคลลัสที่เกิดจากชิ้นส่วนพืชทั้ง 3 ชนิด มาทำการชักนำให้เกิดยอด ผลการทดลองพบว่า แคลลัสที่เกิดจากชิ้นส่วนของใบแก่ ที่เลี้ยงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP 2.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด 63.3% และให้จำนวนยอดเฉลี่ยมากถึง 7 ยอด Karim et al. (2011, pp. 29-36) รายงานว่า หลังจากนำชิ้นส่วนของใบสตรอร์วเบอร์รี มาทำการชักนำให้เกิดแคลลัส จากนั้นนำแคลลัสที่ได้มาชักนำให้เกิดยอด ผลการทดลองพบว่า อาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 1.5 mg/L + NAA 0.75 mg/L สามารถชักนำให้แคลลัสเจริญเติบโตเป็นยอดได้มากที่สุด ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดมากถึง 55.6% และมีจำนวนยอดเฉลี่ยมากถึง 15.6 ยอด Rahman et al. (2015, pp. 1244-1250) พบว่า แคลลัสที่เกิดจากชิ้นส่วนของใบสตรอร์วเบอร์รี เมื่อนำมาชักนำให้เกิดยอด ผลการทดลองพบว่า อาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP 3 mg/L + GA₃ 0.5 mg/L สามารถชักนำให้แคลลัสมีการเจริญเติบโตเป็นยอดได้มากที่สุด ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดมากถึง 93.33% มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากถึง 15 ยอด และความสูงยอดเฉลี่ยมากถึง 8 เซนติเมตร โดยใช้ระยะเวลาการเกิดยอดเพียง 8 วัน ซึ่งพบว่าสูตรอาหารนี้ให้ผลดีกว่าสูตรอาหารอื่น ๆ ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน และ Zobayer et al. (2011, pp. 69-72) รายงานว่า จากการนำชิ้นส่วนไหล (runner) ของสตรอร์วเบอร์รีพันธุ์ RABI มาทำการชักนำให้เกิดยอด ผลการทดลองพบว่า อาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต KIN 2.0 mg/L สามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดมากถึง 80% และมีความสูงยอดเฉลี่ยมากถึง 7 เซนติเมตร เป็นต้น

4.3 การชักนำให้เกิดราก

คือ การนำขึ้นส่วนยอดที่ได้จากการเพิ่มปริมาณเพียงพอแล้ว มาเลี้ยงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของราก หรืออาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (hormone-free) จากการศึกษาของ Ashrafuzzaman et al. (2013, pp. 467-472) รายงานว่า หลังจากมีการชักนำให้เกิดยอดของสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์ BARI ภายใต้สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ผลการทดลองพบว่า อาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 mg/L ให้จำนวนยอดเฉลี่ยมากถึง 7 ยอด ความสูงยอดเฉลี่ยมากถึง 3.34 เซนติเมตร และมีจำนวนใบเฉลี่ย 5 ใบต่อต้น จากนั้นนำยอดที่ได้มาทำการชักนำให้เกิดราก ภายใต้สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน ผลการทดลองพบว่า อาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 mg/L ให้จำนวนรากเฉลี่ยมากถึง 6 ราก ความยาวรากเฉลี่ยมากถึง 3.05 เซนติเมตร และใช้เวลาในการเกิดรากเพียง 8-10 วัน Ara et al. (2013, pp. 1194-1199) รายงานว่า จากการศึกษาการชักนำให้เกิดยอดและรากของสตรอว์เบอร์รี่ทั้ง 7 สายพันธุ์ ได้แก่ AOG, JP-2, JP-3, Camarosa, Sweet charly, Giant Mountain และ Festival ผลการทดลองพบว่า อาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 1.5 mg/L + KIN 0.5 mg/L ในสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์ AOG มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดมากถึง 88% จากนั้นนำยอดมาชักนำให้เกิดราก ผลการทดลองพบว่า อาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA 1.0 mg/L ในสตรอว์เบอร์รี่สายพันธุ์ AOG ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดรากมากถึง 95% โดยมีจำนวนรากเฉลี่ยมากถึง 12 ราก ความยาวรากเฉลี่ยมากถึง 2.2 เซนติเมตร และพบว่าใช้ระยะเวลาการเกิดรากเพียง 7-10 วัน Sakila et al. (2007, pp. 151-154) รายงานว่า จากการนำขึ้นส่วนของข้อ (nodal) มาทำการชักนำให้เกิดยอดและราก ผลการทดลองพบว่า อาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 1.5 mg/L + KIN 0.5 mg/L สามารถชักนำให้ข้อมีการพัฒนาเป็นยอดได้มากที่สุดถึง 88% จากนั้นนำยอดมาชักนำให้เกิดราก ผลการทดลองพบว่า อาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA 1.0 mg/L สามารถชักนำให้เกิดรากได้มากที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากถึง 90% จำนวนรากเฉลี่ยมากถึง 5 ราก ความยาวรากเฉลี่ยมากถึง 3.68 เซนติเมตร ซึ่งใช้ระยะเวลาการเกิดรากเพียง 8-10 วัน และจากงานวิจัยของ Ara et al. (2012, pp. 93-100) รายงานว่า การชักนำให้เกิดรากของสตรอว์เบอร์รี่ สายพันธุ์ JP-2 บนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA, IBA และสูตรอาหารสังเคราะห์ MS (ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต) และ ½ MS ผลการทดลองพบว่า การเกิดรากของสตรอว์เบอร์รี่สายพันธุ์ JP-2 มีมากที่สุด บนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS (ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต) ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากมากถึง 100% มีจำนวน

รากเฉลี่ยมากถึง 24.5 ราก และความยาวรากเฉลี่ยมากถึง 5.3 เซนติเมตร รองลงมา คือ อาหารสูตร 1/2 MS ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากมากถึง 96% มีจำนวนรากเฉลี่ยมากถึง 18.5 ราก และความยาวรากเฉลี่ยถึง 4.2 เซนติเมตร เป็นต้น

4.4 การนำพืชออกปลูกในสภาพธรรมชาติ

การอนุบาลพืช

4.4.1 คัดเลือกต้นพืชที่มีใบสมบูรณ์ และมีระบบรากที่แข็งแรงภายในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อนำมาปรับสภาพกับสภาวะแวดล้อมภายนอก เป็นระยะเวลาอย่างน้อย 7 วัน

4.4.2 นำต้นพืชเหล่านี้ออกจากขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยใช้ปากคีบ (forceps) แล้วล้างอาหารรุ้นที่ติดอยู่บริเวณรากพืชออกให้หมด ด้วยน้ำประปาแบบไหลผ่าน

4.4.3 จากนั้นนำต้นพืชแช่สารป้องกันกำจัดเชื้อราและแบคทีเรียเป็นเวลา 10 นาที ก่อนปลูก เพื่อป้องกันโรครากเน่า และโคนเน่า

4.4.4 หลังจากนั้นนำมาอนุบาลในถาดเพาะชำ โดยมีวัสดุปลูก ได้แก่ ทราย และพีทมอส ในอัตราส่วนที่เหมาะสม

4.4.5 นำต้นพืชเหล่านี้นมาเพาะเลี้ยงภายใต้กระโจมพลาสติก ร่วมกับการควบคุมปัจจัยต่าง ๆ เช่น อุณหภูมิควรอยู่ในช่วง 25-30 °C ความเข้มแสงไม่ควรเกิน 60% พร้อมกับใช้ตาข่ายพรายแสงในระยะ 1-2 สัปดาห์แรกของการย้ายปลูก ความชื้นสัมพัทธ์ควรอยู่ในช่วง 85-90% นอกจากนี้การให้น้ำ ควรมีการให้บ่อยครั้งหรือพิจารณาจากความชื้นที่ผิวดินเป็นหลัก รวมถึงการให้ปุ๋ย เนื่องจากวัสดุปลูกดังกล่าวจะมีองค์ประกอบของธาตุอาหารน้อยมาก ดังนั้นจึงจำเป็นต้องให้ปุ๋ยทางใบ โดยเฉพาะไนโตรเจนเพื่อการเจริญเติบโตทางด้านลำต้น ซึ่งการอนุบาลครั้งที่ 1 นี้จะใช้ระยะเวลาไม่ต่ำกว่า 30 วันตั้งแต่ย้ายปลูก (อัมพา ว่องวิษกร และคณะ, 2546)

จากการศึกษางานวิจัยของ Biswas et al. (2007, pp. 49-54) รายงานว่าการใช้วัสดุปลูกที่ประกอบด้วย peat moss และ vermiculite ในอัตราส่วน (3:1 v/v) พบว่าต้นสตรอว์เบอร์รีมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตถึง 100% รองลงมาคือ วัสดุปลูกดินและทราย ในอัตราส่วน (1:1 v/v) พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดชีวิต 90-95% นอกจากนี้ Ara et al. (2013, pp. 1194-1199) รายงานว่า หลังจากต้นสตรอว์เบอร์รีมีระบบรากและต้นที่สมบูรณ์แล้ว จึงทำการย้ายปลูกในกระถางพลาสติกขนาดเล็ก โดยมีวัสดุปลูกได้แก่ ดินร่วนและปุ๋ยคอก ในอัตราส่วน (3:1 v/v) พบว่าต้นสตรอว์เบอร์รีมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงที่สุด

เมตาโบลอมิกส์ (Metabolomics)

เมตาโบลอมิกส์ คือ การวิเคราะห์สารเมแทบอลิต์ (metabolite analysis) หรือ การรวบรวมข้อมูลสารเมแทบอลิต์ (metabolite profiling) ซึ่งเป็นศาสตร์ทางวิทยาศาสตร์อีกแขนงหนึ่งที่เน้นศึกษาเกี่ยวกับสารชีวโมเลกุลขนาดเล็ก ที่สังเคราะห์จากสิ่งมีชีวิตหรือเป็นองค์ประกอบส่วนหนึ่งของสิ่งมีชีวิตทางชีวภาพ เช่น นิวคลีโอไทด์ กรดนิวคลีอิก กรดอะมิโน เพปไทด์สายสั้น กรดไขมัน ไตแซคคาไรด์ โอลิโกแซคคาไรด์ วิตามิน สารประกอบแอลกอฮอล์ สารประกอบคาร์บอนิล กรดอินทรีย์ สารประกอบซัลเฟอร์ สารประกอบฟีนอลิก สารประกอบอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน และสารชีวโมเลกุลอื่น ๆ (ภาณุวัฒน์ โคตรสมบัติ และคณะ, 2562, น. 298-302) ปัจจุบันการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีเมตาโบลอมิกส์ได้ครอบคลุมถึงสาขาทางด้านเกษตรศาสตร์ วิทยาศาสตร์การอาหาร และโภชนาการ ซึ่งการนำเทคโนโลยีนี้มาประยุกต์ใช้ ต้องอาศัยการบูรณาการกับนักวิจัยที่มีความเชี่ยวชาญในต่างสาขา โดยเฉพาะทางด้านเคมีวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือขั้นสูง (high-throughput chemical analysis) เพื่อให้ได้ข้อมูลสารเมตาโบลิต์ทั้งหมด (metabolome) ของสิ่งมีชีวิตตามที่ต้องการ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้เกิดความเข้าใจในกลไกเชิงหน้าที่และอันตรกิริยาระหว่างสารชีวโมเลกุลเหล่านั้น รวมทั้งหาความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลดังกล่าวต่อลักษณะปรากฏ (phenotype) หรือคุณลักษณะเฉพาะ (characteristics) ของสิ่งมีชีวิตหรือระบบชีวภาพนั้น ๆ ภายใต้สภาวะที่สนใจ ซึ่งการนำเทคโนโลยีเมตาโบลอมิกส์มาใช้ศึกษานั้น มีข้อดี คือ เป็นการวิเคราะห์แบบไม่จำเพาะ จึงสามารถลดขั้นตอนและความยุ่งยากในการเตรียมตัวอย่าง และผลที่ได้จะอยู่ในรูปแบบข้อมูลการวิเคราะห์สารเมตาโบลิต์โดยรวม หรือที่เรียกว่า “เมตาโบลอม” (metabolome) (ศานต์ เศรษฐชัยมงคล และมยุรี เหลืองวิสัย, 2560, หน้า 1-16; Ren et al., 2015, pp. 1492-1513)

เครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์เมตาโบลอมิกส์

ความก้าวหน้าของเทคโนโลยีการวิเคราะห์เมตาโบลอมิกส์นั้น ช่วยให้สามารถจำแนกชนิด (identification) และตรวจหาปริมาณ (quantification) สารเมตาโบลิต์ ที่เป็นองค์ประกอบในระบบชีวภาพได้ โดยเทคนิคทางเคมีวิเคราะห์ที่นิยมใช้ในการศึกษาทางเมตาโบลอมิกส์ ได้แก่ นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy) (Laghi et al., 2014, pp. 93-102; Trimigno et al., 2015, pp. 99-104) และแมสสเปกโตรเมตรี (mass spectrometry: MS) ซึ่งนิยมใช้ร่วมกับเทคนิคการแยกสาร เช่น แก๊สโครมาโตกราฟี/แมสสเปกโตรเมตรี (gas chromatography/mass spectrometry: GC/MS) หรือ ลิกวิดโครมาโตกราฟี/แมสสเปกโตรเมตรี (liquid chromatography/mass spectrometry: LC/MS) (Herrero et al., 2012, pp. 49-69; Castro-Puyana, & Herrero, 2013, pp. 74-87)

โดยเทคนิคเหล่านี้มีข้อดี คือ สามารถวิเคราะห์สารเมตาโบไลต์แบบไม่จำเพาะเจาะจง (non-targeted analysis) หรือสารที่เป็นชนิด Unknown ได้อย่างมีประสิทธิภาพ จึงสามารถลดขั้นตอนและความยุ่งยากในการเตรียมตัวอย่าง และมีความละเอียดสูงจึงให้ข้อมูลครอบคลุมชนิดของสารที่เป็นองค์ประกอบจำนวนมาก (high-throughput data) ในรูปแบบของเมตาโบลอม (Cuadros-Rodríguez et al., 2016, pp. 9-23) จากนั้นข้อมูลที่ได้จะถูกนำมาวิเคราะห์ในรูปแบบความสัมพันธ์และเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลเมตาโบลอมระหว่างกลุ่มตัวอย่าง ด้วยวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร เช่น การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (principal component analysis: PCA) หรือการวิเคราะห์แบบจัดกลุ่ม (cluster analysis) (Ebbels, & De Iorio, 2011)

การประยุกต์ใช้เมตาโบลอมิกส์ทางด้านการเกษตรและอาหาร (food metabolomics)

ปัจจุบันได้มีการนำเทคโนโลยีโอมิกส์มาประยุกต์ใช้ในการวิจัยทางด้านการเกษตรและอาหารเพื่อให้ได้ข้อมูลที่เรียกว่า foodomics ซึ่งหมายถึง การนำเทคโนโลยี จีโนมิกส์ (genomics) ทรานสคริปโตมิกส์ (transcriptomics) โปรตีโอมิกส์ (proteomics) และเมตาโบลอมิกส์ (metabolomics) มาประยุกต์ใช้ในการวิจัยด้านการเกษตร อาหาร และโภชนาการ เพื่อให้ได้ข้อมูลเชิงลึกที่เป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภค ทั้งในเชิงคุณภาพของวัตถุดิบ การเปลี่ยนแปลงในระหว่างกระบวนการแปรรูปและเก็บรักษาอาหาร สมบัติทางโภชนาการและการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารอาหาร รวมทั้งระดับการปนเปื้อนของสารพิษและความปลอดภัยของอาหาร (ศานต์ เศรษฐชัยมงคล, และมยุรี เหลืองวิสัย, 2560, น. 1-16; Cifuentes, 2013) โดยวัตถุประสงค์หลักของการศึกษาเมตาโบลอมิกส์ในพืชนั้น จะมุ่งเน้นไปที่การศึกษาในระดับสารเมตาโบไลต์ปฐมภูมิ (primary metabolite) และสารเมตาโบไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) ซึ่งสารเหล่านี้จะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและหน้าที่ของพืชนอกจากนี้สารเหล่านี้ยังสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (biomarker) สัมพันธ์กับสมบัติด้านการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive property) ของพืชแต่ละชนิดได้อีกด้วย

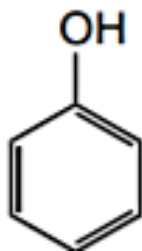
สารเมตาโบไลต์ปฐมภูมิ และสารเมตาโบไลต์ทุติยภูมิ

ในธรรมชาติพืชสามารถสร้างสารเหล่านี้ได้ โดยหน้าที่ของสารแต่ละชนิดก็จะมี ความแตกต่างกัน แต่อย่างไรก็ตามสารเหล่านี้ล้วนมีผลต่อการดำรงชีวิตของพืชทั้งสิ้น โดยสารเมตาโบไลต์ปฐมภูมิที่พบในพืช ได้แก่ กรดอะมิโน (amino acids) กรดไขมัน (fatty acids) นิวคลีโอไทด์ (nucleotides) และน้ำตาล (sugar) ซึ่งสารเมตาโบไลต์ปฐมภูมินั้นจะทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้น (building blocks/ precursors) ในการผลิตสารเมตาโบไลต์ทุติยภูมิต่อไป อย่างไรก็ตาม สารเมตาโบไลต์ทุติยภูมิเป็นสารกลุ่มหนึ่งในสารประกอบทางเคมี (phytochemistry) ที่เกิดจาก

กระบวนการชีวสังเคราะห์ (biosynthesis) ภายในพืช (Banthorpe, 1994, pp. 303-328) ซึ่งการสังเคราะห์สารดังกล่าวจะเกิดขึ้นในเซลล์พืชที่มีความจำเพาะเจาะจงและยังต้องสัมพันธ์กับระยะเวลาการเจริญเติบโตของพืชอีกด้วย (Raghuvier et al., 2015, pp. 287-305) ซึ่งพบว่าในพืชจะมีปริมาณสารเมตาโบไลต์ทุติยภูมิในปริมาณที่น้อย เนื่องจากสารเหล่านี้ไม่ได้มีผลต่อการเจริญเติบโต แต่มีผลต่อการป้องกันพืช เพื่อต้านจุลชีพ รวมถึงแมลงและสัตว์ต่าง ๆ ที่มารบกวนต่อการเจริญเติบโต จึงส่งผลทำให้พืชเหล่านี้สามารถดำรงชีวิตภายในธรรมชาติได้ อย่างไรก็ตามมีการค้นพบสารเมตาโบไลต์ทุติยภูมิจำนวนมาก เช่น สเตียรอยด์ (steroid) ฟีนอลิก (phenolics) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) อัลคาลอยด์ (alkaloids) เทอร์พีนอยด์ (terpenoids) และน้ำมันหอมระเหย เป็นต้น (Collin, 2001, pp. 119-134) จากการศึกษาทางวิจัยพบว่า ในส่วนของผล และใบสตอร์วเบอร์รี่จะพบสารเมตาโบไลต์ทุติยภูมิที่สำคัญ ซึ่งอยู่ในกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) เช่น ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เป็นต้น (Giampieri et al., 2012, pp. 9-19)

สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds)

มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนอะโรมาติก (aromatic ring) ที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) อย่างน้อย 1 หมู่ (ภาพ 8) ซึ่งรวมตัวอยู่กับโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ หรือรวมตัวกับสารประกอบอื่น ๆ เช่น กรดคาร์บอกซิลิก กรดอินทรีย์ หมู่อะมิโน และไขมัน (Sato et al., 1996, pp. 37-41) สารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืชมีหลายชนิด ได้แก่ ฟีนอล (phenols) ฟลาโวน (flavones) กรดฟีนอลิก (phenolic acids) กรดเอลลาจิก (ellagic acid) แอนโทไซยานิน (anthocyanins) แคโรทีนอยด์ (carotenoids) คูมาริน (coumarins) กรดไฮดรอกซีซินนามิก (hydroxycinnamic acids) สารลิกนิน (lignin) กรดแกลลิก (gallic acids) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เป็นต้น (Rice-Evans et al., 1997, pp. 152-159; Cowan, 1999, pp. 564-582; Helmja et al., 2007, pp. 172-186) อย่างไรก็ตาม สารประกอบฟีนอลิกนั้นมีหน้าที่ที่สำคัญ ได้แก่ เป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) ป้องกันการอักเสบ ลดความเครียด ป้องกันการเกิดโรคหัวใจ ป้องกันการเกิดโรคมะเร็งและลดการขยายตัวของเซลล์เนื้องอก ป้องกันการเกิดโรคเบาหวาน ลดระดับคอเลสเตอรอล และช่วยในการทำงานของสารสื่อประสาท (Pajk et al., 2006, pp. 376-384; Henning et al., 2010, pp. 116-122; Tulipani et al., 2011, pp. 180-186; Giampieri et al., 2012, pp. 9-19)

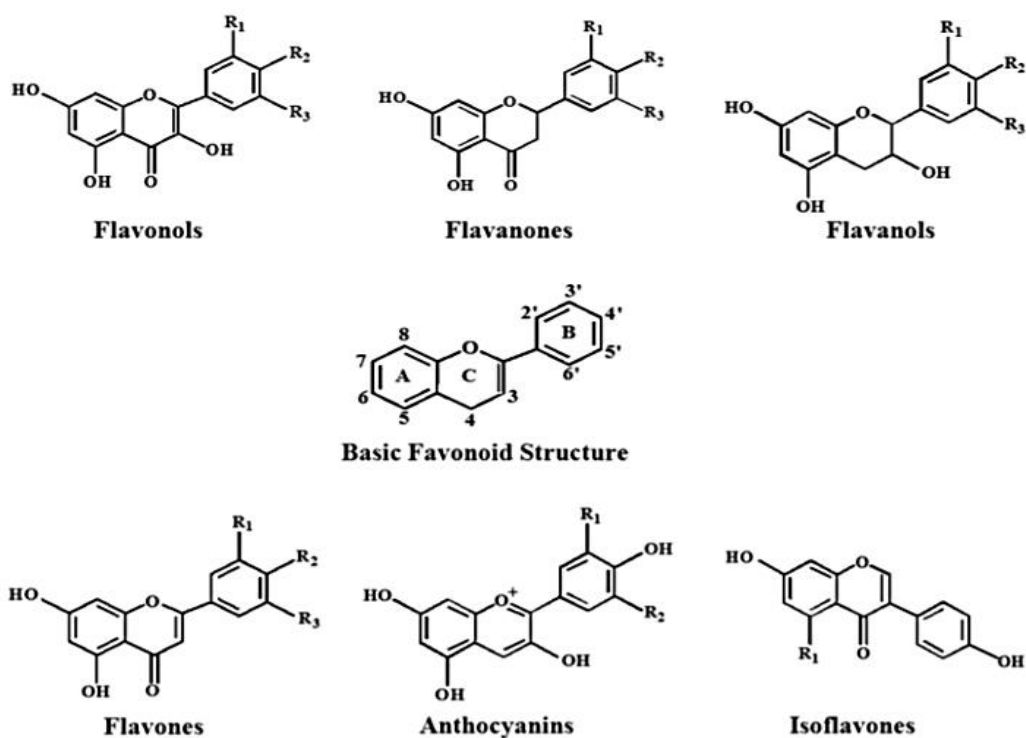


ภาพ 8 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิก

ที่มา: Lattanzio, 2013

สารฟลาโวนอยด์ (flavonoid compounds)

สารฟลาโวนอยด์จัดเป็นสารประกอบฟีนอลิกประเภทโพลีฟีนอล มีโครงสร้างเคมีเป็น ฟีนิลเบนโซไพโรน (phenylbenzopyrones) ประกอบด้วยวงแหวนคาร์บอน 3 วง ได้แก่ วงแหวน เบนซีน 2 วง และวงแหวนไพแรน (heterocyclic pyran ring) 1 วง มักพบอยู่รวมกับน้ำตาลในรูป ของสารประกอบไกลโคไซด์ (ภาพ 9) สารเมตาโบไลต์ทุติยภูมิกลุ่มนี้สามารถแบ่งออกได้ 6 กลุ่มย่อย ตามโครงสร้างเคมี ได้แก่ ฟลาโวนอล (flavonols) ฟลาวาโนน (flavanones) ฟลาวานอล (flavanols) ฟลาโวน (flavones) แอนโทไซยานิน (anthocyanins) และไอโซฟลาโวน (isoflavones) เป็นต้น ซึ่งสารฟลาโวนอยด์เหล่านี้มีหน้าที่ที่สำคัญ ได้แก่ เป็นสารให้สีที่สำคัญในพืช ช่วยในการตรึงไนโตรเจน และป้องกันพืชจากแมลงหรือเชื้อโรคเข้าทำลาย (Ferreyra et al., 2012, pp. 1-15) นอกจากนี้ยังสามารถมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านมะเร็ง ช่วยลดระดับของคอเลสเตอรอลในเลือด ป้องกันการ อักเสบ ป้องกันการเกิดโรคเบาหวาน และมีฤทธิ์ปรับการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน (Wang et al., 2005, pp. 4187-4193; Seeram, 2008, pp. 630-635; Giampieri et al., 2012, pp. 9-19)



ภาพ 9 โครงสร้างทางเคมีของฟลาโวนอยด์

ที่มา: Pandey, & Rizvi, 2009, pp. 270-278

จากการศึกษางานวิจัยเมตาโบโลมิกส์ Zhang et al. (2011, pp. 1103-1118) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงสารเมตาโบไลต์ในผลสตรอว์เบอร์รี่สายพันธุ์ Toyonoka โดยแบ่งผลออกเป็น 3 ระยะ ได้แก่ ระยะ division (10 และ 15 วันหลังดอกบาน) ระยะ expansion (20, 25, 30 วันหลังดอกบาน) และระยะ ripening (35, 40 วันหลังดอกบาน) ผลการทดลองพบว่า เมื่อใช้เทคนิค GC-MS และ HPLC ในการตรวจสอบสารเมตาโบไลต์ พบการเปลี่ยนแปลงอย่างเห็นได้ชัดในระยะ 30, 35 และ 40 วันหลังดอกบาน โดยพบว่าในระยะ 35 วันหลังดอกบาน เป็นระยะที่บ่งชี้ถึงการเปลี่ยนแปลงของสารเมตาโบไลต์ได้เป็นอย่างดี โดยพบว่า ระดับน้ำตาลเริ่มมีการสะสมตั้งแต่ระยะ 10 วันหลังดอกบาน และจะเพิ่มสูงขึ้นไปจนถึงระยะ 35 วันหลังดอกบาน และเริ่มคงที่ในระยะ 40 วันหลังดอกบาน โดยชนิดของน้ำตาลที่พบมากที่สุดในระยะ 35 วันหลังดอกบาน ได้แก่ ฟรุคโตส (1.2 เท่า) ซูโครส (1.3 เท่า) กาแลกโตส (1.5 เท่า) นอกจากนี้ยังพบกรดอินทรีย์ชนิดอื่น ๆ เช่น กรดซิตริก (1.5 เท่า) กรดมาลิก (1.5 เท่า) เพิ่มสูงขึ้นในระยะนี้ ในขณะที่เดียวกัน กรดอะมิโนจะพบน้อยมากในระยะ division และ expansion แต่จะเริ่มเพิ่มสูงขึ้นในระยะ ripening ซึ่งกรดอะมิโนที่

พบ ได้แก่ เซอริน (serine), ซิสเทอีน (cysteine), ลิวซีน (leucine), โพลีน (proline), แอสพาเทส (aspartate), อาร์จินีน (arginine) และไลซีน (lysine) เนื่องจาก กรดอะมิโนเหล่านี้มีหน้าที่จำเป็นสำหรับการย่อยสลายของผนังเซลล์ภายในผล จึงทำให้ระยะผลสุกมีการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำตาลและกรดอะมิโน Karlund et al. (2014, pp. 4592-4600) รายงานว่า การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในใบสตรอว์เบอร์รี ด้วยเทคนิค UPLC-DAD-MS/MS และ HPLC-ESI-QTOF-MS ผลการทดลองพบว่า เมื่อกระตุ้นด้วยสาร 2 ชนิด ได้แก่ S-methylbenzo-1,2,3-thiadiazole-7-carbothiate (BTH) และ birch wood distillate พบว่า ใบสตรอว์เบอร์รีเมื่อถูกกระตุ้นด้วยสาร BTH ใบจะมีการผลิตสารประกอบฟีนอลิกออกมามากถึง 32 ชนิด โดยพบว่ามี 21 ชนิดเป็นสารประกอบในกลุ่มของ ellagitannins และเมื่อได้รับการกระตุ้นจากสาร birch wood distillate พบว่า ใบสตรอว์เบอร์รีมีการผลิตสารในกลุ่ม chlorogenic acid ออกมา จากผลการทดลองจึงสรุปได้ว่า สารประกอบฟีนอลิกที่พืชสร้างขึ้นมานั้นมีผลต่อการป้องกันตัวของพืชเอง และยังสามารถต้านจุลชีพ ส่งผลทำให้พืชสามารถดำรงชีวิตต่อไปได้ Fait et al. (2008, pp. 730-750) ได้ทำการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างเมล็ด (achene) และฐานรองดอก (receptacle) ในแต่ละระยะของการพัฒนาผลสตรอว์เบอร์รี ด้วยเทคนิค GC-MS และ LC-MS ผลการทดลองพบว่า ฐานรองดอกมีการสะสมของน้ำตาลเพิ่มมากขึ้นในแต่ละระยะของการพัฒนาผล ในขณะที่เมล็ดมีการสะสมน้อยลงของระดับคาร์บอนและไนโตรเจน ยกเว้นน้ำตาลแรฟฟิโนส (raffinose) ที่ยังคงพบในทุกๆระยะของการพัฒนาผล นอกจากนี้ยังพบว่า ฐานรองดอก ในระยะเริ่มต้นของการพัฒนาผลมีการสะสม proanthocyanidins และ flavonol ในขณะที่ผลเริ่มเข้าสู่ระยะการสุก พบการสะสมของสารแอนโทไซยานิน (anthocyanin) มากยิ่งขึ้น อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาเมล็ด พบว่ามีการสะสมของสาร ellagitannin และ flavonoids ตลอดระยะของการพัฒนาผล จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ฐานรองดอกและเมล็ดนั้นมีความสัมพันธ์กันอย่างมาก ซึ่งการทดลองบ่งชี้ได้ว่าการพัฒนาของเมล็ดในแต่ละระยะของการพัฒนาผลจะเป็นตัวกำหนดสารเมตาโบไลต์ที่เกิดขึ้นในฐานรองดอก Perez et al. (2002, pp. 4037-4042) ศึกษาถึงสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่าย (volatile organic compounds) ในผลสตรอว์เบอร์รี ด้วยกระบวนการสังเคราะห์กรดอะมิโน (amino acids) ผ่านเทคนิค SPME (Solid-Phase Microextraction) ผลการทดลองพบว่า เมื่อนำผลสตรอว์เบอร์รีมาบ่มด้วยกรดอะมิโนชนิด L-isoleucine พบว่า ผลสตรอว์เบอร์รีมีการผลิตสารระเหยมากขึ้นถึง 14 ชนิด โดยพบว่า ส่วนใหญ่เป็นสารประกอบในกลุ่มเอสเทอร์ (esters) เช่น 2-methylbutanoate esters ซึ่งเพิ่มขึ้นมากถึง 7 เท่า หรือประมาณ 94%, ethyl 2-methylbutanoate เพิ่มขึ้น 92%, 2-methylbutyl acetate เพิ่มขึ้น 95% และ 2-methylbutyl esters เพิ่มขึ้น 6% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ไม่ได้บ่มด้วย L-isoleucine) จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าการใช้กรดอะมิโนในการบ่มร่วมกับผลสตรอว์เบอร์รีแล้วพบว่า ผลสตรอว์เบอร์รีมีการผลิต

สารเอสเทอร์เป็นจำนวนมากเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม เนื่องจากกรดอะมิโนจะทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้นของปฏิกิริยาเอสเทอร์ โดยเริ่มต้นกรดอะมิโนจะแตกตัวได้เป็น alcohols aldehydes และ acids จากนั้น alcohols และ carboxylic acids จะถูกกระตุ้นด้วยเอนไซม์ alcohol acyltransferase (AAT) เพื่อสร้างเป็นปฏิกิริยาเอสเทอร์ ดังนั้น ผลการทดลองสามารถบ่งชี้ได้ว่า กรดอะมิโนจะเป็นสารสำคัญในการสร้างสารประกอบเอสเทอร์ในกระบวนการสุกของผลสตรอว์เบอร์รี นอกจากนี้ Perez et al. (1992, pp. 2232-2235) ได้ศึกษาถึงส่วนประกอบของกลิ่นและชนิดของกรดอะมิโนที่มีผลต่อการสร้างกลิ่นในผลสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ Chandler ด้วยเทคนิค GC-MS ผลการทดลองพบว่า สารประกอบเอสเทอร์ชนิด ethyl butanoate และ ethyl hexanoate เป็นสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายหลัก ที่พบมากที่สุดในระยะผลสุกของสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ Chandler ยิ่งไปกว่านั้นยังพบว่ามีการดอะมิโน 3 ชนิด ได้แก่ Asparagine glutamine และ alanine ซึ่งจะทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้นหลักในกระบวนการสังเคราะห์เอสเทอร์ (Ester biosynthesis) ดังนั้น ผลการทดลองจึงบ่งชี้ได้ว่า ชนิดของกรดอะมิโนและกลิ่นจะมีความสัมพันธ์กันโดยตรง



บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

วัสดุพันธุ์พืช

คัดเลือกพันธุ์สตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์ละ 70 ต้น โดยพันธุ์พระราชทาน 50 และพันธุ์พระราชทาน 70 ได้รับจากแปลงปลูกสตอร์วเบอร์รี่ของศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรที่สูงเพชรบูรณ์ (เขาค้อ) จังหวัดเพชรบูรณ์ พันธุ์พระราชทาน 72 พระราชทาน 80 และพันธุ์ 329 ได้รับจากเกษตรกรผู้จำหน่ายต้นพันธุ์ในอำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ ซึ่งต้นพันธุ์ทั้งหมดเหล่านี้ได้มาจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จากสถานีวิจัยดอยปุย จังหวัดเชียงใหม่ และพันธุ์ Akihime ได้รับจากเกษตรกรผู้จำหน่ายต้นพันธุ์ ในตำบลาวี อำเภอแม่สรวย จังหวัดเชียงราย ซึ่งเป็นต้นพันธุ์ที่นำเข้ามาจากประเทศญี่ปุ่น ซึ่งต้นพันธุ์เหล่านี้มีอายุ 4 เดือน มีลักษณะต้นที่สมบูรณ์ แข็งแรง ปราศจากการเข้าทำลายของโรคและแมลงต่าง ๆ โดยนำมาอนุบาลภายในโรงเรือนปรับปรุงพันธุ์ ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรที่สูงเพชรบูรณ์ (เขาค้อ) จังหวัดเพชรบูรณ์

อุปกรณ์วิทยาศาสตร์

เครื่องแยกสารพันธุกรรม (gel electrophoresis equipment) ของบริษัท Fisher Scientific ประเทศสหราชอาณาจักร

เครื่องถ่ายภาพเจล รุ่น SmartView Pro 1200 Image System บริษัท Major Science ประเทศไต้หวัน

เครื่องวัดปริมาณสารพันธุกรรม รุ่น Nanodrop ND-1000 ของบริษัท Labtech ประเทศสหราชอาณาจักร

เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (PCR) รุ่น T100TM Thermal Cycler ของบริษัท BIO-RAD ประเทศสหรัฐอเมริกา

เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมในสถานะจริง (real-time PCR cycler) รุ่น qTOWER³G Touch ของบริษัท Analytik Jena ประเทศเยอรมัน

Micropipette ขนาด 10 μ L, 20 μ L, 200 μ L, 1000 μ L รุ่น Accumax SMART ของบริษัท Drifon ประเทศเดนมาร์ค

เครื่องเขย่าสาร (vortex) รุ่น ZX3 ของบริษัท VELP Scientifica ประเทศสหรัฐอเมริกา

เครื่องวัดความแน่นเนื้อ (fruits hardness tester) รุ่น Brookfield QTS 25 ของประเทศสหรัฐอเมริกา โดยมีหัวกดแบบเข็ม (TA 39, 2 mm) กดลงบนตัวอย่าง โดยให้หัววัดกดลงบริเวณกึ่งกลางของตัวอย่างทั้งหมดโดยใช้ความเร็ว 10 mm/s ความลึก 5 mm

เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (digital refractometer) รุ่น PAL-1 ของบริษัท ATAGO ประเทศญี่ปุ่น อ่านค่าได้ในช่วง 0-45%

เครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 2 ตำแหน่ง รุ่น GF-A Series ของบริษัท นิวอิงฮั่ว ประเทศไทย และแบบทศนิยม 4 ตำแหน่ง รุ่น BMB Series ของบริษัท PNP scale and instrument ประเทศไทย

เครื่องปั่นน้ำผลไม้ (blender) รุ่น HR1823/70 ของบริษัท Philips ประเทศไทย

เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง (pH meter) รุ่น Docu pH Meter ของบริษัท Sartorius ประเทศเยอรมัน

เครื่องไทเทรตอัตโนมัติ (automatic titrators) รุ่น EasyPlus™ Titration-Mettler Toledo ของบริษัท พีพีเคมิคอล ประเทศไทย

เครื่องกวนสารเคมีด้วยแท่งแม่เหล็กและให้ความร้อน (Magnetic stirrer with heating) รุ่น AM4 ของบริษัท มอร์ แดน เซลส์ แอนด์ เซอร์วิส จำกัดประเทศไทย

เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV-Vis spectrophotometer) รุ่น UV mini-1240 ของบริษัท Shimadzu Corporation ประเทศญี่ปุ่น

เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอนแบบความเร็วรอบสูง (centrifuge) รุ่น TG16A-WS ของบริษัท ซายน์ซิติ ประเทศไทย หมุนเหวี่ยงด้วยความเร็วสูงสุดที่ 16000 รอบต่อนาที

อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) รุ่น WNB14 with Slope Cover ของบริษัท เมริทเทค จำกัด ประเทศไทย

เครื่องวัดสี (chromameter) รุ่น CR-20 ของบริษัท Minolta ประเทศญี่ปุ่น ซึ่งวัดสีออกมาเป็นค่า L^* , a^* , b^* , chroma และ hue angle โดยมีรายละเอียด ดังนี้

ค่า L^* เมื่อมีค่าใกล้ 100 แสดงว่าวัตถุมีสีขาว และเมื่อเข้าใกล้ 0 แสดงว่าวัตถุมีสีดำ

ค่า a^* ที่เป็นบวกแสดงว่าวัตถุมีสีแดง และเป็นลบแสดงว่าวัตถุมีสีเขียว โดยค่า a^* มีค่าอยู่ในช่วง -60 ถึง +60

ค่า b^* ที่เป็นบวกแสดงว่าวัตถุมีสีเหลือง และเป็นลบแสดงว่าวัตถุมีสีน้ำเงิน โดยค่า b^* มีค่าอยู่ในช่วง -60 ถึง +60

นำค่า a^* และ b^* ที่ได้มาคำนวณหาค่า chroma (C^*) จากสมการดังนี้

$$\text{chroma } (C^*) = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$$

hue angle = $\arctangent(b^*/a^*)$ เมื่อ $a^* > 0$ และ $b^* \geq 0$

$\arctangent(b^*/a^*) + 180^\circ$ เมื่อ $a^* < 0$

$\arctangent(b^*/a^*) + 360^\circ$ เมื่อ $a^* > 0$ และ $b^* < 0$

โดยค่า C^* มีค่าเข้าใกล้ 0 เมื่อวัตถุมีสีเทา และมีค่าเข้าใกล้ 60 เมื่อวัตถุมีสีเข้ม

ค่า hue angle แสดงช่วงของสีวัตถุอยู่ระหว่าง $0-360^\circ$ ดังนี้

0° สีของวัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีแดง

90° สีของวัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีเหลือง

180° สีของวัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีเขียว

270° สีของวัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีน้ำเงิน

360° สีของวัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีม่วง

เวอร์เนีย (vernier caliper) ของบริษัทโปรโทรนิคส์ จำกัด ประเทศไทย

ตู้เย็น (refrigerator) อุณหภูมิ $0-5^\circ\text{C}$ รุ่น YPM-165P ของบริษัท สหะชัยมอเตอร์ ประเทศไทย

ตู้แช่แข็ง (freezer) อุณหภูมิ -20°C รุ่น FZ-269GYNN ของบริษัท สหะชัยมอเตอร์ ประเทศไทย

ตู้แช่แข็ง (freezer) อุณหภูมิ -80°C รุ่น Hier Ultra Low Temperature Freezer ของบริษัท Haier Medical and Laboratory Products Co., Ltd. ประเทศจีน

ปากคีบ (forceps)

ฟู่กัน

แร็ควางหลอดทดลอง (test tube rack stainless)

เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ (autoclave) รุ่น HICLAVE™ HVE-50 ของบริษัท พีพี เคมีคอล ประเทศไทย

จานเพาะเชื้อ (petri dish)

หลอดไฟ LED สีแดง (warm light) และสีขาว (day light) ขนาดกำลังไฟฟ้า 12 วัตต์

เตาอบไมโครเวฟ รุ่น GE711K/XST ของบริษัท Sumsung ประเทศไทย

กล้องถ่ายรูป รุ่น DMC-TZ20 ของบริษัท Panasonic ประเทศไทย

กระดาษกรอง Whatman No. 1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 110 mm ของบริษัทเวซกิจ เคมีภัณฑ์ ประเทศไทย

ที่กรองสำหรับไซริงค์ (nylon syringe filter) ขนาดรู 0.45 μm เส้นผ่านศูนย์กลาง 13 mm

เข็มฉีดยา (plastic syringe) ขนาด 1 mL และ 5 mL

เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dry) รุ่น Gramma 2-16 LSC ของบริษัท Martin Christ ประเทศเยอรมัน

เครื่องทำแห้งแบบระเหย (evaporator) รุ่น Labconco centrivap 7812000 ของบริษัท Labconco Corporation ประเทศสหรัฐอเมริกา

เครื่อง High performance liquid chromatography (HPLC) ของบริษัท Shimadzu Corporation ประเทศญี่ปุ่น

เครื่อง Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) ของบริษัท Agilent ประเทศสหรัฐอเมริกา

เครื่อง Liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) ของบริษัท Agilent ประเทศสหรัฐอเมริกา

เครื่อง Solid phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry (SPME-GC-MS) ของบริษัท Agilent ประเทศสหรัฐอเมริกา

เครื่องแก้ว

บีกเกอร์ (beaker)

ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask)

ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask)

ปิเปต (pipette)

กระบอกตวง (cylinder)

แท่งแก้วคนสารละลาย (stirrer)

กรวยกรอง

ช้อนตักสารเคมี

ขวดแก้วเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 8 Oz.

ขวด Screw thread headspace vial (amber) ขนาด 20 mL

ขวด Transparent screw chromatographic bottle autosampler headspace vials ขนาด 2 mL

สารเคมี

แอลกอฮอล์ 100% (absolute alcohol) บริษัท เวชกิจเคมีภัณฑ์ ประเทศไทย

สารละลายคลอโรกซ์ (NaOCl) บริษัท เวชกิจเคมีภัณฑ์ ประเทศไทย

Tween-20 (polyoxyethylene sorbitan monolaurate) บริษัท เวชกิจเคมีภัณฑ์ ประเทศไทย

DNA kit ของบริษัท Qiagen ประเทศสหรัฐอเมริกา

RNA kit PureLink[®] ของบริษัท Invitrogen ประเทศสหรัฐอเมริกา
 cDNA Synthesis Kit ของบริษัท Bioline ประเทศสหราชอาณาจักร
 SensiFast[™] SYBR[®] No-ROX Kit ของบริษัท Bioline ประเทศสหราชอาณาจักร
 ผงวุ้น (agarose gel)
 RedSafe[™] ของบริษัท iNtRON Biotechnology ประเทศเกาหลี
 1X TAE, TBE buffer
 Marker ขนาด 1 kp Plus DNA Ladder ของบริษัท GeneRuler ประเทศสหราชอาณาจักร
 PCR kit รุ่น Illustra puReTaq Ready-to-Go PCR beads บริษัท GE Healthcare Life
 Sciences ประเทศสหราชอาณาจักร
 Primers ของบริษัท Operon Technologies ประเทศสหรัฐอเมริกา
 สูตรอาหารสังเคราะห์ MS บริษัท เวชกิจเคมีภัณฑ์ ประเทศไทย
 สารควบคุมการเจริญเติบโต 1-naphthaleneacetic acid (NAA) และ 6-benzyladenine (BA)
 บริษัท เวชกิจเคมีภัณฑ์ ประเทศไทย
 Cyanidin-3-glucoside ของบริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
 Pelargonidin-3-glucoside ของบริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
 น้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ, Molecular water และ DEPC water
 Water (HPLC grade)
 Ortho-phosphoric acid (HPLC grade)
 Methanol (HPLC grade)
 Ethanol (HPLC grade)
 Acetonitrile (HPLC grade)
 Chloroform
 Potassium dihydrogen phosphate
 HCl และ NaOH
 Meta-phosphoric acid
 Ascorbic acid
 Myristic-d₂₇ acid, Succinic acid-2,2,3,3-d₄, Genistein, Acetophenone- β , β , β -d₃,
 Pyridine และ N-Methyl-N-(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (MSTFA), Methoxyamine
 hydrochloride (MEOX)

วิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาการจำแนกลักษณะประจำพันธุ์และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสตรอว์เบอร์รีด้วยเทคนิคเครื่องหมายดีเอ็นเอ

การทดลองที่ 1.1 การทดสอบไพรเมอร์สำหรับใช้จำแนกลักษณะประจำพันธุ์สตรอว์เบอร์รีด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี (Random Amplified Polymorphic DNA)

1. เก็บรวบรวมตัวอย่างใบอ่อนสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์พ่อแม่ ได้แก่ พันธุ์พระราชทาน 50 พระราชทาน 70 พระราชทาน 72 พระราชทาน 80 พันธุ์ 329 และพันธุ์ Akihime จากโรงเรียนปรับปรุงพันธุ์ ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรที่สูงเพชรบูรณ์ (เขาค้อ) จังหวัดเพชรบูรณ์

2. สกัดดีเอ็นเอจากใบอ่อนสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์พ่อแม่ ด้วยชุด Qiagen DNeasy plant mini kit (Qiagen Ltd., Crawley, UK)

3. ตรวจสอบคุณภาพของดีเอ็นเอ ด้วยวิธี agarose gel electrophoresis จากนั้นทำการถ่ายรูปลงด้วยเครื่อง U: Genius3 (UK)

4. คัดเลือกไพรเมอร์จากลำดับนิวคลีโอไทด์บนฐานข้อมูลเว็บไซต์ NCBI (National Center for Biotechnology Information) และ Universal primer (Operon Technologies, USA)

5. ทดสอบความสามารถไพรเมอร์ในการจำแนกลักษณะประจำพันธุ์สตรอว์เบอร์รีด้วยเทคนิคปฏิกิริยาพีซีอาร์ โดยใช้ชุด illustra™ -Puretaq™ ready-to-go™ PCR beads kit จากนั้นเติม 1 μM primer ปริมาตร 1 μL, DNA template ความเข้มข้น ~50 ng ปริมาตร 1 μL และ Molecular water 23 μL ลงไปภายในหลอดทดลอง illustra™ PCR beads kit ซึ่งมีปริมาตรสุดท้ายคือ 25 μL

6. แยกขนาดผลผลิตพีซีอาร์ด้วยวิธี electrophoresis บนแผ่น agarose gel จากนั้นทำการถ่ายรูปลงด้วยเครื่อง U: Genius3

7. วิเคราะห์แถบดีเอ็นเอบนแผ่น agarose gel ที่ให้ความแตกต่างระหว่างตัวอย่างของสตรอว์เบอร์รีในแต่ละสายพันธุ์

8. บันทึกและสรุปผลการทดลอง

การทดลองที่ 1.2 ศึกษาความจำเพาะของไพรเมอร์ที่มีต่อสตรอว์เบอร์รีจำนวน 6 สายพันธุ์

1. คัดเลือกไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะ (specific primer) ต่อสตรอว์เบอร์รีจำนวน 6 สายพันธุ์ พร้อมกับระบุขนาดผลผลิตพีซีอาร์ที่เกิดขึ้น

2. บันทึกและสรุปผลการทดลอง

การทดลองที่ 1.3 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของสตรอร์เบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์

1. หาความสัมพันธ์สตรอร์เบอร์รี่ในแต่ละสายพันธุ์ โดยวิเคราะห์จากค่าความเหมือน (similarity index) ด้วยวิธี Nei-Li similarity index (Nei, & Li, 1979, pp. 5269-5273) โดยกำหนดให้ ค่า “1” คือ พบแถบผลผลิตพีซีอาร์ และค่า “0” คือ ไม่พบแถบผลผลิตพีซีอาร์ จากนั้นนำค่าที่กำหนดได้เหล่านี้มาวิเคราะห์เพื่อสร้างแผนภูมิต้นไม้ (phylogenetic tree) โดยวิเคราะห์ร่วมกับ unweight pair-group method with arithmetic average (UPGMA) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Free tree และ Tree view X 1.0 software (Pavlicek et al., 1999, pp. 97-99) โดยกำหนดให้ค่า bootstrap เท่ากับ 5,000

2. บันทึกและสรุปผลการทดลอง

การทดลองที่ 2 ศึกษาการปรับปรุงพันธุ์สตรอร์เบอร์รี่เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการผลิตสารแอนโทไซยานิน

การทดลองที่ 2.1 การปรับปรุงพันธุ์สตรอร์เบอร์รี่ด้วยวิธีการแบบดั้งเดิม (conventional breeding)

1. การสร้างโรงเรือนปรับปรุงพันธุ์สตรอร์เบอร์รี่

สร้างโรงเรือนพลาสติก รูปตัว ก. ขนาด 6 × 20 เมตร โดยหลังคามุงด้วยพลาสติกใส สีขาวโดยมีความหนาของพลาสติก 200 ไมโครเมตร และด้านข้างมุงด้วยตาข่ายขนาด 20 mesh เพื่อใช้สำหรับการปรับปรุงพันธุ์สตรอร์เบอร์รี่ (ภาพ 10)



ภาพ 10 โรงเรือนปรับปรุงพันธุ์รูปตัว ก. ขนาด 6 × 20 เมตร ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตร
ที่สูงเพชรบูรณ์ (เขาค้อ) จังหวัดเพชรบูรณ์

2. การเตรียมชั้นวางต้นพันธุ์สตรอว์เบอร์รี

โดยแบ่งความสูงเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 100 เซนติเมตร 120 เซนติเมตร และ 140 เซนติเมตร โดยมีความยาวชั้นละ 15 เมตร รวมทั้งหมด 3 ชั้น พร้อมติดตั้งระบบน้ำหยด (ภาพ 11)



ภาพ 11 ชั้นวางต้นพันธุ์สตอร์วเบอร์รี่ ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรที่สูงเพชรบูรณ์ (เขาค้อ)
จังหวัดเพชรบูรณ์

3. การเตรียมต้นพันธุ์สตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์พ่อแม่

พันธุ์พระราชทาน 50 และพันธุ์พระราชทาน 70 จากแปลงปลูกสตอร์วเบอร์รี่ของศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรที่สูงเพชรบูรณ์ (เขาค้อ) จังหวัดเพชรบูรณ์ ซึ่งเป็นต้นพันธุ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จากสถานีวิจัยดอยปุย จังหวัดเชียงใหม่ จำนวนสายพันธุ์ละ 70 ต้น

พันธุ์พระราชทาน 72 พระราชทาน 80 และพันธุ์ 329 จากเกษตรกรผู้จำหน่ายต้นพันธุ์ในอำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ ซึ่งเป็นต้นพันธุ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จากสถานีวิจัยดอยปุย จังหวัดเชียงใหม่ จำนวนสายพันธุ์ละ 70 ต้น

พันธุ์ Akihime จากเกษตรกรผู้จำหน่ายต้นพันธุ์ ในตำบลลาวี อำเภอแม่สรวย จังหวัดเชียงราย ซึ่งเป็นต้นพันธุ์ที่นำเข้ามาจากประเทศญี่ปุ่น จำนวน 70 ต้น

จากนั้นนำต้นพันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตอยู่ในถุงพลาสติก เปลี่ยนใส่กระถางพลาสติกขนาด 8 นิ้ว โดยมีวัสดุปลูกได้แก่ ดินร่วน: ขุยมะพร้าว: ถ่านแกลบ อัตราส่วน 1: 2: 1 (ภาพ 12)



ภาพ 12 ต้นพันธุ์สตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์พ่อแม่ ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรที่สูงเพชรบูรณ์ (เขาค้อ) จังหวัดเพชรบูรณ์

4. การปรับปรุงพันธุ์สตอร์วเบอร์รี่ด้วยวิธี Conventional breeding

ในการศึกษาครั้งนี้ จะทำการผสมพันธุ์แบบ Conventional breeding ด้วยวิธีผสมตรง (direct cross) และผสมสลับ (indirect cross) โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized designed: CRD) จำนวน 36 คู่ผสม ๆ ละ 30 ซ้ำ ๆ ละ 1 ดอก (ตาราง 7)

ตาราง 7 คู่ผสมสตอร์วเบอร์รี่จำนวน 36 คู่ผสม

คู่ผสม	สายพันธุ์
1	พระราชทาน 50 × พระราชทาน 50
2	พระราชทาน 50 × พระราชทาน 70
3	พระราชทาน 50 × พระราชทาน 72
4	พระราชทาน 50 × พระราชทาน 80
5	พระราชทาน 50 × พันธุ์ 329
6	พระราชทาน 50 × พันธุ์ Akihime
7	พระราชทาน 70 × พระราชทาน 50
8	พระราชทาน 70 × พระราชทาน 70
9	พระราชทาน 70 × พระราชทาน 72
10	พระราชทาน 70 × พระราชทาน 80
11	พระราชทาน 70 × พันธุ์ 329

คู่ผสม	สายพันธุ์
12	พระราชทาน 70 × พันธุ์ Akihime
13	พระราชทาน 72 × พระราชทาน 50
14	พระราชทาน 72 × พระราชทาน 70
15	พระราชทาน 72 × พระราชทาน 72
16	พระราชทาน 72 × พระราชทาน 80
17	พระราชทาน 72 × พันธุ์ 329
18	พระราชทาน 72 × พันธุ์ Akihime
19	พระราชทาน 80 × พระราชทาน 50
20	พระราชทาน 80 × พระราชทาน 70
21	พระราชทาน 80 × พระราชทาน 72
22	พระราชทาน 80 × พระราชทาน 80
23	พระราชทาน 80 × พันธุ์ 329
24	พระราชทาน 80 × พันธุ์ Akihime
25	พันธุ์ 329 × พระราชทาน 50
26	พันธุ์ 329 × พระราชทาน 70
27	พันธุ์ 329 × พระราชทาน 72
28	พันธุ์ 329 × พระราชทาน 80
29	พันธุ์ 329 × พันธุ์ 329
30	พันธุ์ 329 × พันธุ์ Akihime
31	พันธุ์ Akihime × พระราชทาน 50
32	พันธุ์ Akihime × พระราชทาน 70
33	พันธุ์ Akihime × พระราชทาน 72
34	พันธุ์ Akihime × พระราชทาน 80
35	พันธุ์ Akihime × พันธุ์ 329
36	พันธุ์ Akihime × พันธุ์ Akihime

นำผลสตรอว์เบอร์รี่ที่ได้จากการผสมพันธุ์จำนวน 36 คู่ผสม มาวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ โดยเลือกเก็บคู่ผสมละ 30 ผล พร้อมกับบันทึกผล ดังนี้

ลักษณะรูปทรงของผล เช่น กลมแบน กลม กลมปลายแหลม แหลม แหลมยาว ยาวมีคอ ลีมนยาว และลีมนสั้น เป็นต้น พร้อมคำนวณเปอร์เซ็นต์ลักษณะผลดี (ตรงตามลักษณะรูปทรง) และผลเสีย (ไม่ตรงตามลักษณะรูปทรง)

ความกว้าง ความยาวผล และน้ำหนักผล

5. การประเมินการงอกและการรอดชีวิตของเมล็ดสตอร์วเบอร์รี่ลูกผสม F1

ทำการสุ่มเลือกเมล็ดจำนวน 300 เมล็ดของแต่ละคู่ผสม จากนั้นนำมาเพาะลงบนวัสดุปลูกพีทมอส พร้อมบันทึกเปอร์เซ็นต์การงอกเมล็ด โดยนับเฉพาะต้นกล้าที่มีลักษณะปกติ ได้แก่ ต้นกล้าที่มีใบเลี้ยง (cotyledon) 2 ใบ และใบคลีออกเต็มที่แล้ว โดยใช้ระยะเวลาเพาะเมล็ดทั้งสิ้น 6 เดือน ซึ่งคำนวณจากสูตรเปอร์เซ็นต์การงอกเมล็ด ดังนี้

$$\frac{\text{จำนวนเมล็ดที่งอก}}{\text{จำนวนเมล็ดทั้งหมดที่เพาะ}} \times 100$$

หลังจากนั้น จึงทำการประเมินเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต โดยนับเฉพาะต้นกล้าที่มีการเจริญเติบโตเป็นต้นที่สมบูรณ์ โดยมีความสูงประมาณ 10 เซนติเมตร มีใบแท้ (foliage leaf) 3-5 ใบ ซึ่งคำนวณจากสูตรเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต ดังนี้

$$\frac{\text{จำนวนเมล็ดที่รอดชีวิต}}{\text{จำนวนเมล็ดที่งอก}} \times 100$$

6. การปลูกทดสอบและคัดเลือกต้นสตอร์วเบอร์รี่ลูกผสม F1 ที่มีศักยภาพในการผลิตสารแอนโทไซยานิน

นำต้นกล้าที่รอดชีวิตทั้งหมดของทุกคู่ผสม และต้นไหลสตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์พ่อแม่จำนวน 6 สายพันธุ์ (สายพันธุ์ละ 20 ต้น) มาปลูกทดสอบลงบนวัสดุปลูกขุยมะพร้าว ภายในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง ในตำบลลาวี อำเภอแม่สรวย จังหวัดเชียงราย พร้อมกับบันทึกผลการทดลอง ดังนี้

1. ประเมินการเจริญเติบโตทางด้านลำต้นของต้นสตอร์วเบอร์รี่ลูกผสม F1

1.1 ความกว้างทรงพุ่ม

1.2 ความสูงทรงพุ่ม

1.3 พื้นที่ใบ โดยคำนวณจากสูตร พื้นที่ใบ = (ความกว้างใบ × ความยาวใบ × 0.75) × (3) × (จำนวนใบต่อต้น) ตามวิธีการของ Darrow (1966)

1.4 จำนวนกอดต่อต้น

1.5 จำนวนไหลต่อต้น

2. ประเมินการเจริญเติบโตทางด้านการสืบพันธุ์ของต้นสตรอว์เบอร์รี่ลูกผสม F1

2.1 จำนวนดอกต่อต้น

2.2 จำนวนช่อดอกต่อต้น

2.3 จำนวนผลผลิตต่อต้น

2.4 ระยะเวลาดอกแรกบาน

3. ประเมินคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของต้นสตรอว์เบอร์รี่ลูกผสม F1 และสายพันธุ์พ่อแม่

3.1 ความกว้างผล

3.2 ความยาวผล

3.3 น้ำหนักผลสด

3.4 ความแน่นเนื้อ (firmness)

3.5 ค่าสีผิวและสีเนื้อ (colour analysis)

3.6 ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (total soluble solids; TSS)

3.7 ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ (titratable acidity; TA) ตามวิธีการของ AOAC (2000)

3.8 ค่า pH

3.9 อัตราส่วนระหว่างปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ต่อปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ (TSS/TA)

3.10 วิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี (ascorbic acid) ด้วยเทคนิค HPLC ตามวิธีการของ Tulipani et al. (2008, pp. 696-704)

3.11 วิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (total anthocyanin content) ตามวิธีการของ Ranganna (1986)

3.12 วิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานิน ได้แก่ Pelargonidin-3-glucoside และ Cyanidin-3-glucoside ด้วยเทคนิค HPLC ตามวิธีการของ Palapol et al. (2009, pp. 349-353)

โดยทำการเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตของต้นสตรอว์เบอร์รี่ลูกผสม F1 ทุกต้นของแต่ละคู่ผสม โดยจะเก็บทุก ๆ 14 วัน เป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 3 เดือน ยกเว้นสายพันธุ์พ่อแม่จำนวน 6 สายพันธุ์ และนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย (Mean) นอกจากนี้การเก็บข้อมูลในด้านคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของผลสตรอว์เบอร์รี่ จะทำการเก็บจำนวน 10 ซ้ำ ๆ ละ 1 ผลต่อต้นของแต่ละคู่ผสม

ในขณะที่สายพันธุ์พ่อแม่ จะทำการเก็บจำนวน 10 ซ้ำ ๆ ละ 1 ผลของแต่ละสายพันธุ์ จากนั้นคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการผลิตสารแอนโทไซยานิน แล้วนำสายพันธุ์เหล่านั้นมาวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย (Mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) พร้อมกับบันทึกผลการทดลอง

การทดลองที่ 3 ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80

การทดลองที่ 3.1 การฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด (apical meristem) สตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 ด้วยสารละลายคลอโรกซ์ (NaOCl) ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2, 3 และ 4% ที่ระยะเวลา 5, 10, 15, 20 และ 25 นาที

1. การคัดเลือกต้นพันธุ์สตรอว์เบอร์รีสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

- 1.1 ลักษณะลำต้นสมบูรณ์แข็งแรง ให้ผลผลิตปริมาณมาก
- 1.2 ปราศจากการเข้าทำลายของโรคและแมลง

2. การฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด

2.1 ตัดบริเวณปลายไหล (runner) ขนาด 2-3 เซนติเมตร จากต้นแม่พันธุ์ที่ทำการคัดเลือกลักษณะที่ดีแล้ว พร้อมกับตัดแต่งใบขนาดเล็กบริเวณปลายไหลออก

2.2 จากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำประปาแบบไหลผ่านเป็นเวลา 45 นาที

2.3 นำปลายไหลแช่ลงในสารละลายคลอโรกซ์ (NaOCl) ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2, 3 และ 4% ที่ระยะเวลา 5, 10, 15, 20 และ 25 นาที ซึ่งภายในมีการเติมสารละลาย Tween-20 ปริมาณ 1-2 หยด

2.4 หลังจากนั้นนำไปล้างด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้วทั้งหมด 4 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที ซึ่งทำภายในตู้ปลอดเชื้อ พร้อมกับตัดแต่งใบบริเวณปลายไหลอีกครั้งหลังจากฟอกฆ่าเชื้อ

2.5 นำปลายไหล มาตัดภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (stereo microscope) เพื่อทำการตัดส่วนของเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด (apical meristem) ให้มีขนาด 0.5 มิลลิเมตร

2.6 นำเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดขนาด 0.5 มิลลิเมตร ที่ได้จากการตัดภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ วางลงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS (Murashige, & Skoog medium, 1962, pp. 473-497) ซึ่งประกอบไปด้วย น้ำตาลปริมาณ 30 g/L ผงวุ้น (agar) 8 g/L และสารควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่ ออกซิน (NAA) และไซโตไคนิน (BA) ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน จากนั้นทำการปรับสูตรอาหารให้มีค่า pH เท่ากับ 5.8 แล้วนำไปผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที

2.7 นำเนื้อเยื่อพืชไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25-27 °C ความเข้มแสงที่ 2,500 ลักซ์ ในสภาพที่มีแสงสว่าง 16 ชั่วโมง และสภาพมืด 8 ชั่วโมง

2.8 ทำการเปลี่ยนอาหารทุก ๆ 3 สัปดาห์ พร้อมบันทึกผลการทดลองเมื่อครบ 2 สัปดาห์ โดยบันทึกเป็นเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของชิ้นส่วนพืช

การทดลองที่ 3.2 การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสของสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 จากชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด

ตาราง 8 ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสของสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80

กรรมวิธี	สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA + BA (mg/L)
สูตรอาหาร A	0.0 + 0.0 (ชุดควบคุม)
สูตรอาหาร B	0.0 + 1.0
สูตรอาหาร C	0.0 + 1.5
สูตรอาหาร D	0.0 + 2.0
สูตรอาหาร E	1.0 + 0.0
สูตรอาหาร F	1.0 + 1.0
สูตรอาหาร G	1.0 + 1.5
สูตรอาหาร H	1.0 + 2.0
สูตรอาหาร I	2.0 + 0.0
สูตรอาหาร J	2.0 + 1.0
สูตรอาหาร K	2.0 + 1.5
สูตรอาหาร L	2.0 + 2.0

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized designed: CRD) จำนวน 12 กรรมวิธี ๆ ละ 15 ซ้ำ ๆ ละ 1 ขวด จากนั้นนำเนื้อเยื่อพืชไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25-27 °C โดยมีความเข้มแสงที่ 2,500 ลักซ์ ในสภาพที่มีแสงสว่าง 16 ชั่วโมง และสภาพมืด 8 ชั่วโมง โดยทำการเปลี่ยนอาหารทุก ๆ 3 สัปดาห์ และบันทึกผลการทดลอง ได้แก่ ความกว้างแคลลัส ความยาวแคลลัส เป็นต้น

การทดลองที่ 3.3 การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 จากเนื้อเยื่อแคลลัส

ตาราง 9 ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80

กรรมวิธี	สารควบคุมการเจริญเติบโต BA (mg/L)
สูตรอาหาร A	0.0 (ชุดควบคุม)
สูตรอาหาร B	1.0
สูตรอาหาร C	1.5
สูตรอาหาร D	2.0

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized designed: CRD) จำนวน 4 กรรมวิธี ๆ ละ 20 ซ้ำ ๆ ละ 1 ขวด จากนั้นนำเนื้อเยื่อพืชไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25-27 °C ความเข้มแสงที่ 2,500 ลักซ์ ในสภาพที่มีแสงสว่าง 16 ชั่วโมง และสภาพมืด 8 ชั่วโมง โดยทำการเปลี่ยนอาหารทุก ๆ 3 สัปดาห์ และบันทึกผลการทดลอง ได้แก่ จำนวนยอด ความสูงยอด เป็นต้น

การทดลองที่ 3.4 การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดรากสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 จากชิ้นส่วนของยอด

ตาราง 10 ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดรากสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80

กรรมวิธี	สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA (mg/L)
สูตรอาหาร A	0.0 (ชุดควบคุม)
สูตรอาหาร B	0.1
สูตรอาหาร C	0.2
สูตรอาหาร D	0.3
สูตรอาหาร E	0.4
สูตรอาหาร F	0.5

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized designed: CRD) จำนวน 6 กรรมวิธี ๆ ละ 20 ซ้ำ ๆ ละ 1 ขวด จากนั้นนำเนื้อเยื่อพืชไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25-27 °C ความเข้มแสงที่ 2,500 ลักซ์ ในสภาพที่มีแสงสว่าง 16 ชั่วโมง และสภาพมืด 8 ชั่วโมง โดยจะทำการเปลี่ยนอาหารทุก ๆ 3 สัปดาห์ และบันทึกผลการทดลอง ได้แก่ จำนวนราก ความยาวราก เป็นต้น

การทดลองที่ 3.5 การศึกษาผลของวัสดุปลูกที่มีผลต่อการรอดชีวิตและการเจริญเติบโตของต้นสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80

1. คัดเลือกต้นสตรอว์เบอร์รีที่มีสภาพต้นสมบูรณ์แข็งแรง โดยมีจำนวนใบอย่างน้อย 3 ใบ ความสูงลำต้น 4-8 เซนติเมตร และมีจำนวนรากไม่ต่ำกว่า 4 ราก ความยาวรากอยู่ระหว่าง 3-5 เซนติเมตร โดยนำมาปรับสภาพภายในโรงเรือนอนุบาลเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์
2. จากนั้นนำต้นสตรอว์เบอร์รีออกจากขวดแล้วทำการล้างรากด้วยน้ำสะอาดให้ปราศจากฝุ่น แล้วนำต้นสตรอว์เบอร์รีแช่ลงในสารป้องกันกำจัดเชื้อรา ได้แก่ เมตาแลกซิล (metalaxyl) เป็นระยะเวลา 10 นาที
3. นำต้นสตรอว์เบอร์รีปลูกลงในวัสดุปลูก ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

ตาราง 11 ชนิดของวัสดุปลูกที่มีผลต่อการรอดชีวิตและการเจริญเติบโตของต้นสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80

กรรมวิธี	วัสดุปลูก
1	ดินลำตวน : ทราย อัตราส่วน (1:1 v/v)
2	ดินลำตวน : ขุยมะพร้าว อัตราส่วน (1:2 v/v)
3	ดินลำตวน : พีทมอส อัตราส่วน (2:1 v/v)

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized designed: CRD) จำนวน 3 กรรมวิธี ๆ ละ 100 ซ้ำ ๆ ละ 1 ต้น จากนั้นนำไปปรับสภาพภายในโรงเรือนอนุบาลเป็นระยะเวลา 3 เดือน ซึ่งภายในโรงเรือนมีความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย 85-90% อุณหภูมิเฉลี่ย 22-25 °C พร้อมบันทึกเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต และการเจริญเติบโตทางด้านลำต้น (vegetative growth) ได้แก่ ความสูงทรงพุ่ม ความกว้างทรงพุ่ม จำนวนใบต่อต้น จำนวนไหลต่อต้น และจำนวนกอต่อต้น ทุก ๆ 1 เดือน เป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 3 เดือน

การทดลองที่ 4 ศึกษาการแสดงออกของยีน *F3'H* ในวิธีการสังเคราะห์แอนโทไซยานินด้วยเทคนิค qRT-PCR

การทดลองที่ 4.1 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80

1. เก็บรวบรวมตัวอย่างผลสตรอว์เบอร์รี่ 4 ระยะ ได้แก่ ระยะผลสีเขียว (G; 15 วันหลังดอกบาน) ผลสีขาว (W; 20 วันหลังดอกบาน) ผลสีชมพู (P; 25 วันหลังดอกบาน) และผลสีแดง (R; 30 วันหลังดอกบาน) จาก 2 สายพันธุ์พ่อแม่ที่มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงและต่ำที่สุดจากข้อมูลการทดลองที่ 2 โดยในแต่ละระยะจะเก็บผลสตรอว์เบอร์รี่จำนวน 36 ซ้ำ ๆ ละ 1 ผล โดยแบ่งเป็น 30 ซ้ำ ๆ ละ 1 ผล เพื่อวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ และ 6 ซ้ำ ๆ ละ 1 ผล เพื่อวิเคราะห์การแสดงออกของยีน *F3'H*

2. นำผลสตรอว์เบอร์รี่ทั้ง 4 ระยะ ของทั้ง 2 สายพันธุ์ มาวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ ได้แก่

ค่าสีผิวและสีเนื้อ (colour analysis)

ค่า pH

3. นำตัวอย่างสตรอว์เบอร์รี่มาทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dried) และทำการสกัดตามวิธีการของ Palapol et al. (2009, pp. 349-353) จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง High performance liquid chromatography (HPLC) และนำข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์มาสร้างแผนภูมิเพื่อศึกษาแนวโน้มปริมาณของ Cyanidin-3-glucoside ในแต่ละระยะของการพัฒนาผิวผล

4. บันทึกและสรุปผลการทดลอง

การทดลองที่ 4.2 การวิเคราะห์การแสดงออกของยีน *F3'H* ในแต่ละระยะของการพัฒนาผิวผลของสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80

1. นำตัวอย่างผลสตรอว์เบอร์รี่สด 4 ระยะ ซึ่งในแต่ละระยะแบ่งออกเป็น 6 ซ้ำ ๆ ละ 1 ผล จากนั้นนำมาสกัดอาร์เอ็นเอด้วยชุดสกัด Plant RNA extraction kit (PureLink® RNA, Invitrogen, USA)

2. ตรวจสอบปริมาณของอาร์เอ็นเอ ด้วยเครื่อง Nanodrop ND-1000 และวิเคราะห์คุณภาพอาร์เอ็นเอด้วยวิธี agarose gel electrophoresis จากนั้นทำการถ่ายรูปรูปด้วยเครื่อง SmartView Pro 1200 Image System (Major Science, Taiwan)

3. นำ RNA ที่สกัดได้มาทำการสังเคราะห์สาย cDNA ด้วย Tetro cDNA Synthesis Kit (Bioline, UK) เพื่อนำไปวิเคราะห์ร่วมกับไพรเมอร์ของยีนเป้าหมาย (target gene) และยีนควบคุม (housekeeping gene)

4. สืบค้นหาลำดับของยีนในวิธีการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน ได้แก่ ยีน flavonoid-3'-hydroxylase (*F3'H*) (ยีนเป้าหมาย) และ housekeeping gene (*GAPDH* หรือ *Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase*) (ยีนควบคุม) จากฐานข้อมูล National Center for Biotechnology Information (NCBI) จากนั้นจึงทำการออกแบบไพรเมอร์เพื่อให้มีความจำเพาะกับยีนเป้าหมาย และยีนควบคุม

5. ตรวจสอบการแสดงออกของยีน flavonoid-3'-hydroxylase (*F3'H*) และ housekeeping gene (*GAPDH*) ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ เพื่อเป็นการหาสถานะที่เหมาะสมก่อนวิเคราะห์ด้วยเครื่อง qRT-PCR จากนั้นจึงทำการวิเคราะห์คุณภาพการแสดงออกของยีนด้วยวิธี agarose gel electrophoresis และถ่ายรูปด้วยเครื่อง SmartView Pro 1200 Image System (Major Science, Taiwan) หลังจากนั้นนำสถานะที่เหมาะสมดังกล่าวมาทดสอบด้วยเทคนิค qRT-PCR ร่วมกับไพรเมอร์ที่ออกแบบไว้ โดยมีการเติมน้ำยาชุด qRT-PCR ได้แก่ SensiFast™SYBR®No-ROX Kit (Bioline, UK) ซึ่งการวิเคราะห์การแสดงออกของยีนจะใช้โปรแกรมสำเร็จรูป qTOWER³G Touch (Analytik Jena, Germany)

6. จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณการแสดงออกของยีน โดยมีวิธีคำนวณดังสูตรต่อไปนี้

$$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct (TNF\alpha_{treat} - GAPDH_{treat}) - \Delta Ct (TNF\alpha_{control} - GAPDH_{control})$$

โดยจะกำหนดให้ระยะผลสี่เขียว (G) ของแต่ละสายพันธุ์เป็นชุดควบคุม

7. บันทึกและสรุปผลการทดลอง

การทดลองที่ 5 ศึกษาชนิดสารเมตาโบไลต์ปฐมภูมิและทุติยภูมิที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์สตรอว์เบอร์รี่ (metabolomics)

การทดลองที่ 5.1 การตรวจสอบสารเมตาโบไลต์จากใบสตรอว์เบอร์รี่ด้วยเทคนิค GC-MS

1. เก็บรวบรวมตัวอย่างใบอ่อนสตรอว์เบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์พระราชทาน 50 พระราชทาน 70 พระราชทาน 72 พระราชทาน 80 พันธุ์ 329 และพันธุ์ Akihime ซึ่งในแต่ละสายพันธุ์จะมีการเก็บตัวอย่างใบจำนวน 6 ซ้ำ ๆ ละ 1 ใบ (3 ใบย่อย) ต่อต้น

2. นำตัวอย่างไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dried) และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80 °C

3. นำตัวอย่างใบ (10 ± 0.5 mg) สกัดกับสารละลายเมทานอลและคลอโรฟอร์มตามวิธีการของ Nogueira et al. (2013, pp. 4560-4579) ซึ่งตัวอย่างที่สกัดได้จะแบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ polar และ non-polar โดย polar จะถูกนำมาละลายกับ internal standard ของ succinic acid-2,2,3,3-d₄ (5 µg) และ non-polar จะนำมาละลายกับ internal standard ของ Myristic-d₂₇ (10 µg) ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS ตามวิธีการของ Enfissi et al. (2010,

pp. 1190-1215) จากนั้นนำข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS มาเปรียบเทียบกับแหล่งข้อมูล (library) เพื่อจำแนกและวิเคราะห์คุณสมบัติเฉพาะตัวของสารชีวโมเลกุล ร่วมกับการวิเคราะห์ด้วยซอฟต์แวร์ Simca P 13.0.3.0 (Umetrics, Sweden) และ Metaboanalyst (Xia, & Wishart, 2016, pp. 14.10.1-14.10.91) เพื่อสร้างข้อมูลองค์ประกอบหลัก (principal component analysis; PCA) และ Heatmap ของสารเมตาโบไลต์ในสตรอว์เบอร์รี

4. บันทึกและสรุปผลการทดลอง

การทดลองที่ 5.2 การตรวจสอบสารเมตาโบไลต์จากผลสตรอว์เบอร์รีด้วยเทคนิค GC-MS และ LC-MS

1. เก็บรวบรวมตัวอย่างผลสตรอว์เบอร์รีทั้ง 8 ระยะ ของสตรอว์เบอร์รี 2 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์พระราชทาน 80 และพันธุ์ Akihime ณ วาวิสตรอว์เบอร์รีเฮ้าส์ จังหวัดเชียงราย โดยเริ่มเก็บตั้งแต่ระยะผลดิบถึงระยะผลสุกจัด โดยแบ่งเป็นระยะ 7, 10, 13, 16, 19, 22, 25 และ 28 วันหลังดอกบาน ซึ่งในแต่ละระยะจะมีการเก็บตัวอย่างผลจำนวน 6 ซ้ำ ๆ ละ 3 ผลต่อต้น

2. นำตัวอย่างไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dried) และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80°C

3. นำตัวอย่างผลสตรอว์เบอร์รี (10 ± 0.5 mg) สกัดกับสารละลายเมทานอลและคลอโรฟอร์มตามวิธีการของ Nogueira et al. (2013, pp. 4560-4579) และนำตัวอย่างที่สกัดได้ซึ่งได้แก่ polar และ non-polar มาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS และ LC-MS โดยแบ่งเป็น

polar จะถูกนำมาละลายกับ internal standard ของ succinic acid-2,2,3,3-d₄ (5 μg) และ non-polar จะนำมาละลายกับ internal standard ของ Myristic-d₂₇ (10 μg) ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS ตามวิธีการของ Enfissi et al. (2010, pp. 1190-1215)

polar จะถูกนำมาละลายกับ internal standard ของ genistein (5 μg) จากนั้นนำมากรองผ่าน nylon membrane ขนาด 0.45 μm ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค LC-MS ตามวิธีการของ Drapal et al. (2019, pp. 986-993)

จากนั้นนำข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS และ LC-MS มาเปรียบเทียบกับแหล่งข้อมูล (library) เพื่อจำแนกและวิเคราะห์คุณสมบัติเฉพาะตัวของสารชีวโมเลกุล ร่วมกับการวิเคราะห์ด้วยซอฟต์แวร์ Simca P 13.0.3.0 (Umetrics, Sweden) และ Metaboanalyst (Xia, & Wishart, 2016, pp. 14.10.1-14.10.91) เพื่อสร้างข้อมูลองค์ประกอบหลัก (principal component analysis; PCA) และ Heatmap ของสารเมตาโบไลต์ในสตรอว์เบอร์รี

4. บันทึกและสรุปผลการทดลอง

การทดลองที่ 5.3 การตรวจสอบสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่าย (volatile organic compounds) จากผลสตรอว์เบอร์รีด้วยเทคนิค SPME-GC-MS

1. เก็บรวบรวมตัวอย่างผลสตรอว์เบอร์รีทั้ง 8 ระยะ ของสตรอว์เบอร์รี 2 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์พระราชทาน 80 และพันธุ์ Akihime ณ วาวิสตรอว์เบอร์รีเฮ้าท์ จังหวัดเชียงราย โดยเริ่มเก็บตั้งแต่ระยะผลดิบถึงระยะผลสุกจัด โดยแบ่งเป็นระยะ 7, 10, 13, 16, 19, 22, 25 และ 28 วันหลังดอกบาน ซึ่งในแต่ละระยะจะมีการเก็บตัวอย่างผลจำนวน 6 ซ้ำ ๆ ละ 3 ผลต่อต้น โดยในการทดลองนี้จะเลือกใช้เพียง 4 ระยะ ได้แก่ ระยะ 7 (ผลสีเขียว), 16 (ผลสีขาว), 22 (ผลสีชมพู) และ 28 (ผลสีแดง) วันหลังดอกบาน

2. นำตัวอย่างไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dried) และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80°C

3. นำตัวอย่างผลสตรอว์เบอร์รี (100 ± 0.5 mg) สกัดกับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride) 10% จากนั้นนำไป sonicate เป็นระยะเวลา 1 นาที เมื่อครบกำหนดเวลาแล้วจึงนำตัวอย่างมาละลายกับ internal standard (Acetophenone- β , β , β - d_3) ภายในขวด screw cap head space vial ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง SPME-GC-MS ตามวิธีการของ de Boishbert et al. (2006, pp. 13-23) จากนั้นนำข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง SPME-GC-MS มาเปรียบเทียบกับแหล่งข้อมูล (library) เพื่อจำแนกและวิเคราะห์คุณสมบัติเฉพาะตัวของสารชีวโมเลกุล ร่วมกับการวิเคราะห์ด้วยซอฟต์แวร์ Simca P 13.0.3.0 (Umetrics, Sweden) และ Metaboanalyst (Xia, & Wishart, 2016, pp. 14.10.1-14.10.91) เพื่อสร้างข้อมูลองค์ประกอบหลัก (principal component analysis; PCA) และ Heatmap ของสารเมตาโบไลต์ในสตรอว์เบอร์รี

4. บันทึกและสรุปผลการทดลอง

การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ SPSS version 19 วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P < 0.05$)

สถานที่ทำการทดลอง

1. ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรที่สูงเพชรบูรณ์ (เขาค้อ) จังหวัดเพชรบูรณ์
2. โรงเรียนปลูกทดสอบสตรอว์เบอร์รี ในตำบลลาวี อำเภอมะสรวย จังหวัดเชียงราย
3. ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่แฮ จังหวัดเชียงใหม่

4. ห้องปฏิบัติการคณะเกษตรศาสตร์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัย
นเรศวร

5. สถานวิจัยเพื่อความเป็นเลิศทางวิชาการด้านเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัย
นเรศวร

ระยะเวลาทำการทดลอง

ระยะเวลา 7 ปี



บทที่ 4

ผลการวิจัย

ผลการทดลองที่ 1 ศึกษาการจำแนกลักษณะประจำพันธุ์และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของ
สตอร์วเบอร์รี่ด้วยเทคนิคเครื่องหมายดีเอ็นเอ

ผลการทดลองที่ 1.1 การทดสอบไพรเมอร์สำหรับใช้จำแนกลักษณะประจำพันธุ์
สตอร์วเบอร์รี่ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี (Random Amplified Polymorphic DNA)

เก็บรวบรวมตัวอย่างใบอ่อนสตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์พ่อแม่ ได้แก่ พันธุ์พระราชทาน 50
พระราชทาน 70 พระราชทาน 72 พระราชทาน 80 พันธุ์ 329 และพันธุ์ Akihime จากโรงเรียน
ปรับปรุงพันธุ์ ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรที่สูงเพชรบูรณ์ (เขาค้อ) จังหวัดเพชรบูรณ์
(ภาพ 13 และ 14)

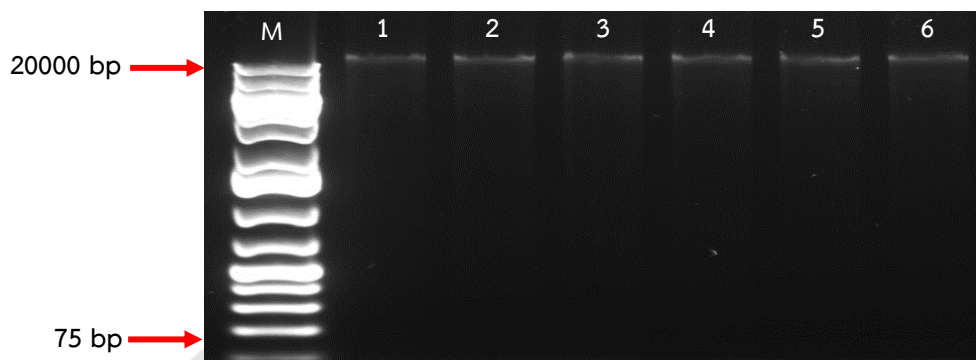


ภาพ 13 โรงเรียนปรับปรุงพันธุ์สตอร์วเบอร์รี่ ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรที่สูงเพชรบูรณ์
(เขาค้อ) จังหวัดเพชรบูรณ์



ภาพ 14 ลักษณะใบอ่อนของต้นสตรอว์เบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์

นำใบอ่อนสตอร์วเบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ มาสกัดดีเอ็นเอ ผลการทดลองพบว่า ขนาดของจีโนมิกส์ดีเอ็นเอ (Genomic DNA) มีขนาดความยาวมากกว่า 20000 bp (ภาพ 15)



ภาพ 15 จีโนมิกส์ดีเอ็นเอสตอร์วเบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ ได้แก่ (1) พันธุ์พระราชทาน 50 (2) พันธุ์พระราชทาน 70 (3) พันธุ์พระราชทาน 72 (4) พันธุ์พระราชทาน 80 (5) พันธุ์ 329 (6) พันธุ์ Akihime

จากนั้นนำ จีโนมิกส์ดีเอ็นเอและไพรเมอร์ (ตาราง 12) ไปทดสอบด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ในสภาวะ ดังนี้

1. Pre-denature: 94 °C นาน 4 นาที
 2. Denature: 94 °C นาน 30 วินาที
 3. Annealing: 35 °C นาน 30 วินาที
 4. Extension: 72 °C นาน 2 นาที
 5. Final-extension: 72 °C นาน 5 นาที
- } 34 cycles

ตาราง 12 ไพรเมอร์ซึ่งใช้สำหรับจำแนกลักษณะประจำพันธุ์สตอร์วเบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์

ไพรเมอร์	ลำดับนิวคลีโอไทด์ (5'-3')
OPB14	TCCGCTCTGG
OPV07	GAAGCCAGCC
OPV15	CAGTGCCGGT
OPX06	ACGCCAGAGG

ไพรเมอร์	ลำดับนิวคลีโอไทด์ (5'-3')
OPX11	GGAGCCTCAG
OPX18	GACTAGGTGG
OPB05	TGCGCCCTTC
OPD20	ACCCGGTCAC
OPE07	AGATGCAGCC
OPG09	CTGACGTCAC
OPG11	TGCCCGTCGT
OPJ07	CCTCTCGACA
OPJ06	TCGTTCCGCA
OPJ14	CACCCGGATG
OPJ09	TGAGCCTCAC
OPJ04	CCGAACACGG
OPJ16	CTGCTTAGGG
OPJ17	ACGCCAGTTC
OPJ18	TGGTCGCAGA
OPJ05	CTCCATGGGG
OPG02	GGCACTGAGG
OPF07	CCGATATCCC
OPG05	CTGAGACGGA
OPA04	AATCGGGCTG
OPB07	GGTGACGCAG

จากนั้นจึงทำการตรวจสอบแถบและขนาดของผลผลิตพีซีอาร์ (PCR product) ของแต่ละไพรเมอร์ บนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE ผลการทดลอง พบว่า

จำนวนแถบผลผลิตพีซีอาร์ทั้งหมด (Total number of bands)

จากการทดลองพบว่า ผลผลิตแถบพีซีอาร์ทั้งหมดที่เกิดจาก 25 ไพรเมอร์ มีค่าเท่ากับ 263 แถบ หรือเฉลี่ยเท่ากับ 10.52 แถบต่อไพรเมอร์ นอกจากนี้ยังพบว่า ไพรเมอร์ OPB05 ให้แถบผลผลิตพีซีอาร์มากที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 16 แถบ รองลงมา คือ ไพรเมอร์ OPD20, OPE07 ให้แถบผลผลิตพีซีอาร์เท่ากับ 14 แถบ ไพรเมอร์ OPX18, OPG09, OPJ09 ให้แถบผลผลิตพีซีอาร์

เท่ากับ 13 แถบ ไพรมอร์ OPV07, OPG11, OPJ06, OPJ14 ให้แถบผลผลิตพีซีอาร์เท่ากับ 12 แถบ ไพรมอร์ OPJ18, OPA04, OPB07 ให้แถบผลผลิตพีซีอาร์เท่ากับ 11 แถบ ไพรมอร์ OPB14, OPX06, OPX11, OPJ04 ให้แถบผลผลิตพีซีอาร์เท่ากับ 10 แถบ ไพรมอร์ OPV15, OPJ07, OPJ16 ให้แถบผลผลิตพีซีอาร์เท่ากับ 9 แถบ ไพรมอร์ OPG05 ให้แถบผลผลิตพีซีอาร์เท่ากับ 8 แถบ ไพรมอร์ OGJ05 ให้แถบผลผลิตพีซีอาร์เท่ากับ 7 แถบ ไพรมอร์ OPJ17, OPF07 ให้แถบผลผลิตพีซีอาร์เท่ากับ 6 แถบ และไพรมอร์ OPG02 ให้แถบผลผลิตพีซีอาร์เท่ากับ 5 แถบ (ตาราง 13)

จำนวนแถบผลผลิตพีซีอาร์ที่แตกต่าง (No. of polymorphic bands)

จากผลการทดลองพบว่า จำนวน polymorphic ที่เกิดจาก 25 ไพรมอร์ มีค่าเท่ากับ 228 แถบ หรือเฉลี่ยเท่ากับ 9.12 แถบต่อไพรมอร์ นอกจากนี้ยังพบว่า ผลผลิตพีซีอาร์ที่เกิดจาก ไพรมอร์ OPX18, OPJ09 ให้แถบ polymorphic มากที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 13 แถบ รองลงมา คือ ไพรมอร์ OPB05, OPG11, OPJ06, OPJ14 ให้แถบ polymorphic 12 แถบ ไพรมอร์ OPE07, OPG09, OPA04 ให้ แถบ polymorphic 11 แถบ ไพรมอร์ OPB14, OPB07 ให้ แถบ polymorphic 10 แถบ ไพรมอร์ OPD20, OPJ07, OPJ16, OPJ18 ให้แถบ polymorphic 9 แถบ ไพรมอร์ OPV07, OPX11, OPJ04, OPG05 ให้แถบ polymorphic 8 แถบ ไพรมอร์ OPJ05 ให้ แถบ polymorphic 7 แถบ ไพรมอร์ OPJ17, OPF07 ให้แถบ polymorphic 6 แถบ ไพรมอร์ OPX06, OPG02 ให้แถบ polymorphic 5 แถบ และไพรมอร์ OPV15 ให้แถบ polymorphic 4 แถบ (ตาราง 13)

จำนวนแถบผลผลิตพีซีอาร์ที่เหมือน (No. of monomorphic bands)

จากผลการทดลองพบว่า จำนวน monomorphic ที่เกิดจาก 25 ไพรมอร์ มีค่าเท่ากับ 35 แถบ หรือเฉลี่ยเท่ากับ 1.40 แถบต่อไพรมอร์ นอกจากนี้ยังพบว่า ผลผลิตพีซีอาร์ที่เกิดจาก ไพรมอร์ OPV15, OPX06, OPD20 ให้แถบ monomorphic มากที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 5 แถบ ไพรมอร์ OPV07, OPB05 ให้แถบ monomorphic 4 แถบ ไพรมอร์ OPE07 ให้แถบ monomorphic 3 แถบ ไพรมอร์ OPX11, OPG09, OPJ04, OPJ18 ให้แถบ monomorphic 2 แถบ ไพรมอร์ OPB07 ให้แถบ monomorphic 1 แถบ และไพรมอร์ OPB14, OPX18, OPG11, OPJ07, OPJ06, OPJ14, OPJ09, OPJ16, OPJ17, OPJ05, OPG02, OPF07, OPG05, OPA04 ไม่พบแถบ monomorphic (ตาราง 13)

เปอร์เซ็นต์ผลผลิตพีซีอาร์ที่แตกต่าง (%polymorphic)

จากผลการทดลองพบว่า เปอร์เซ็นต์ polymorphic ที่เกิดจาก 25 ไพรมอร์ มีค่าเฉลี่ย เท่ากับ 87.85% นอกจากนี้ยังพบว่าผลผลิตพีซีอาร์ที่เกิดจากไพรมอร์ OPB14, OPX18, OPG11, OPJ07, OPJ06, OPJ14, OPJ09, OPJ16, OPJ17, OPJ05, OPG02, OPF07, OPG05, OPA04 ให้เปอร์เซ็นต์ polymorphic มากที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 100% รองลงมา คือ ไพรมอร์ OPB07

ให้เปอร์เซ็นต์ polymorphic 90.90% ไพรเมอร์ OPG09 ให้เปอร์เซ็นต์ polymorphic 84.61% ไพรเมอร์ OPJ18 ให้เปอร์เซ็นต์ polymorphic 81.81% ไพรเมอร์ OPX11, OPJ04 ให้เปอร์เซ็นต์ polymorphic 80% ไพรเมอร์ OPE07 ให้เปอร์เซ็นต์ polymorphic 78.57% ไพรเมอร์ OPB05 ให้เปอร์เซ็นต์ polymorphic 75% ไพรเมอร์ OPV07 ให้เปอร์เซ็นต์ polymorphic 66.67% ไพรเมอร์ OPD20 ให้เปอร์เซ็นต์ polymorphic 64.28% ไพรเมอร์ OPX06 ให้เปอร์เซ็นต์ polymorphic 50% และไพรเมอร์ OPV15 ให้เปอร์เซ็นต์ polymorphic 44.44% (ตาราง 13)

ขนาดผลผลิตพีซีอาร์ (band size)

จากผลการทดลองพบว่า ขนาดผลผลิตพีซีอาร์ที่เกิดจาก 25 ไพรเมอร์ มีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 200-5000 bp นอกจากนี้ยังพบว่าผลผลิตพีซีอาร์ที่เกิดจากไพรเมอร์ OPJ06 ให้ความแตกต่างของขนาดผลผลิตพีซีอาร์มากที่สุดเท่ากับ (300-5000 bp) รองลงมา คือ ไพรเมอร์ OPX06 (300-4000 bp), ไพรเมอร์ OPB07 (350-4000 bp), ไพรเมอร์ OPG05 (700-4000 bp), ไพรเมอร์ OPJ17 (900-4000 bp), ไพรเมอร์ OPV07 (200-3000 bp), ไพรเมอร์ OPG11 (300-3000 bp), ไพรเมอร์ OPX18 (350-3000 bp), ไพรเมอร์ OPB14 (350-3000 bp), ไพรเมอร์ OPB05 (400-3000 bp), ไพรเมอร์ OPJ09 (400-3000 bp), ไพรเมอร์ OPJ05 (400-3000 bp), ไพรเมอร์ OPG09 (390-2900 bp), ไพรเมอร์ OPJ16 (400-2900 bp), ไพรเมอร์ OPJ18 (500-3000 bp), ไพรเมอร์ OPA04 (450-2900 bp), ไพรเมอร์ OPJ14 (600-2800 bp), ไพรเมอร์ OPD20 (390-2500 bp), ไพรเมอร์ OPV15 (400-2500 bp), ไพรเมอร์ OPJ04 (450-2500 bp), ไพรเมอร์ OPE07 (300-2100 bp), ไพรเมอร์ OPX11 (400-2000 bp), ไพรเมอร์ OPJ07 (400-2000 bp), ไพรเมอร์ OPF07 (400-2000 bp) และไพรเมอร์ OPG02 ให้ความแตกต่างของขนาดผลผลิตพีซีอาร์น้อยที่สุดเท่ากับ (700-2000 bp) (ตาราง 13)

ตาราง 13 จำนวนแถบผลผลิตพีซีอาร์ทั้งหมด ผลผลิตพีซีอาร์ (No. of polymorphic bands, No. of monomorphic bands) เปอร์เซ็นต์ polymorphic และขนาดของผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้รับจากเทคนิคอาร์เอพีดี

ไพรเมอร์	ลำดับนิวคลีโอไทด์ (5' -3')	จำนวนแถบผลผลิตพีซีอาร์ทั้งหมด (Total number of bands)	ผลผลิตพีซีอาร์ (Product)		เปอร์เซ็นต์ Polymorphic	ขนาดผลผลิต พีซีอาร์ (bp)
			No. of polymorphic bands	No. of monomorphic bands		
OPB14	TCCGCTCTGG	10	10	0	100	350-3000
OPV07	GAAGCCAGCC	12	8	4	66.67	200-3000
OPV15	CAGTGCCGGT	9	4	5	44.44	400-2500
OPX06	AGCCAGAGG	10	5	5	50	300-4000
OPX11	GGAGCCTCAG	10	8	2	80	400-2000
OPX18	GACTAGGTGG	13	13	0	100	350-3000
OPB05	TGCGCCCTTC	16	12	4	75	400-3000
OPD20	ACCCGGTCAC	14	9	5	64.28	390-2500
OPE07	AGATGCAGCC	14	11	3	78.57	300-2100
OPG09	CTGACGTCAC	13	11	2	84.61	390-2900
OPG11	TGCCCGTCGT	12	12	0	100	300-3000
OPJ07	CCTCTCGACA	9	9	0	100	400-2000
OPJ06	TCGTTCCGCA	12	12	0	100	300-5000
OPJ14	CACCCGGATG	12	12	0	100	600-2800
OPJ09	TGAGCCTCAC	13	13	0	100	400-3000
OPJ04	CCGAACACGG	10	8	2	80	450-2500
OPJ16	CTGCTTAGGG	9	9	0	100	400-2900

ไพรเมอร์ ลำดับนิวคลีโอไทด์ (5'-3')	จำนวนแถบผลผลิต พีซีอาร์ทั้งหมด (Total number of bands)	ผลผลิตพีซีอาร์ (Product)		เปอร์เซ็นต์ Polymorphic	ขนาดผลผลิต พีซีอาร์ (bp)
		No. of polymorphic bands	No. of monomorphic bands		
OPJ17	6	6	0	100	900-4000
OPJ18	11	9	2	81.81	500-3000
OPJ05	7	7	0	100	400-3000
OPG02	5	5	0	100	700-2000
OPF07	6	6	0	100	400-2000
OPG05	8	8	0	100	700-4000
OPA04	11	11	0	100	450-2900
OPB07	11	10	1	90.90	350-400
Total	263	228	35	-	200-5000
Average	10.52	9.12	1.4	87.85	-

ผลการทดลองที่ 1.2 ศึกษาความจำเพาะของไพรเมอร์ที่มีต่อสตรอว์เบอร์รี จำนวน 6 สายพันธุ์

จำนวนแถบผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะ (No. of specific bands)

จากการทดลองพบว่า ผลผลิตพีซีอาร์ที่เกิดจากไพรเมอร์ OPJ06, OPJ14 ให้แถบผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะมากที่สุดซึ่งมีค่าเท่ากับ 4 แถบ โดยไพรเมอร์ OPJ06 ให้แถบผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะขนาด 800 bp, 1000 bp, 1300 bp และ 5000 bp ซึ่งพบในสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 50, พันธุ์ Akihime, พันธุ์พระราชทาน 80 และไพรเมอร์ OPJ14 ให้แถบผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะขนาด 1400 bp, 1500 bp, 1900 bp, 2500 bp ซึ่งพบในสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70, พระราชทาน 50, พระราชทาน 80, พันธุ์ Akihime เป็นต้น รองลงมาคือ ไพรเมอร์ OPB14, OPJ04, OPB07 ให้แถบผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะ 3 แถบ โดยไพรเมอร์ OPB14 ให้แถบผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะขนาด 350 bp, 500 bp, 3000 bp ซึ่งพบในสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 50, พันธุ์พระราชทาน 80 และพันธุ์ 329 ไพรเมอร์ OPJ04 ให้แถบผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะขนาด 450 bp, 1800 bp, 1900 bp ซึ่งพบในสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80, พันธุ์พระราชทาน 50 และไพรเมอร์ OPB07 ให้แถบผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะขนาด 350 bp, 600 bp, 2900 bp ซึ่งพบในสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 50, พันธุ์พระราชทาน 80 รองลงมาคือ ไพรเมอร์ OPX06, OPG09, OPJ17 ให้แถบผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะ 2 แถบ โดยไพรเมอร์ OPX06 ให้แถบผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะขนาด 700 bp, 900 bp ซึ่งพบในสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ Akihime และพันธุ์พระราชทาน 50 ไพรเมอร์ OPG09 ให้แถบผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะขนาด 1300 bp, 1700 bp ซึ่งพบในสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70, พันธุ์พระราชทาน 50 และไพรเมอร์ OPJ17 ให้แถบผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะขนาด 900 bp, 4000 bp ซึ่งพบในสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 รองลงมาคือ ไพรเมอร์ OPV07, OPV15, OPX18, OPB05, OPE07, OPG11, OPJ07, OPJ16, OPJ18, OPF07, OPA04 ให้แถบผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะ 1 แถบ โดยไพรเมอร์ OPV07 ให้แถบผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะขนาด 400 bp ซึ่งพบในสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 50 ไพรเมอร์ OPV15 ให้แถบผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะขนาด 1300 bp ซึ่งพบในสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 ไพรเมอร์ OPX18 ให้แถบผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะขนาด 1000 bp ซึ่งพบในสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ Akihime ไพรเมอร์ OPB05 ให้แถบผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะขนาด 1500 bp ซึ่งพบในสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ 329 ไพรเมอร์ OPE07 ให้แถบผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะขนาด 1600 bp ซึ่งพบในสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 72 ไพรเมอร์ OPG11 ให้แถบผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะขนาด 750 bp ซึ่งพบในสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 ไพรเมอร์ OPJ07 ให้แถบผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะขนาด 500 bp ซึ่งพบในสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ 329 ไพรเมอร์ OPJ16 ให้แถบผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะขนาด 800 bp ซึ่งพบในสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 ไพรเมอร์ OPJ18 ให้แถบผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะขนาด

700 bp ซึ่งพบในสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 50 ไพรเมอร์ OPF07 ให้แถบผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะขนาด 400 bp ซึ่งพบในสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 50 และไพรเมอร์ OPA04 ให้แถบผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะขนาด 650 bp ซึ่งพบในสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์ 329 รองลงมา คือ ไพรเมอร์ OPX11, OPD20, OPJ09, OPJ05, OPG02, OPG05 ไม่พบแถบผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะ นอกจากนี้ยังพบว่าสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 50 พบจำนวนแถบผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะมากที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 13 แถบ รองลงมาคือ สตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 พบ 8 แถบ สตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 พันธุ์ 329 และพันธุ์ Akihime พบ 4 และสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 72 พบน้อยที่สุดเพียง 1 แถบ เป็นต้น (ตาราง 14)

ตาราง 14 ขนาดผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะในแต่ละสายพันธุ์สตอร์วเบอร์รี่ที่ได้รับจากเทคนิคอาร์เอพีดี

ไพรเมอร์	ขนาด ผลผลิต พีซีอาร์ (bp)	พระราชทาน 50	พระราชทาน 70	พระราชทาน 72	พระราชทาน 80	พันธุ์ 329	พันธุ์ Akihime
OPB14	3000	-	-	-	+	-	-
	500	-	-	-	-	+	-
	350	+	-	-	-	-	-
OPV07	400	+	-	-	-	-	-
OPV15	1300	-	-	-	+	-	-
OPX06	900	+	-	-	-	-	-
	700	-	-	-	-	-	+
OPX18	1000	-	-	-	-	-	+
OPB05	1500	-	-	-	-	+	-
OPE07	1600	-	-	+	-	-	-
OPG09	1700	+	-	-	-	-	-
	1300	-	+	-	-	-	-
OPG11	750	-	+	-	-	-	-
OPJ07	500	-	-	-	-	+	-
OPJ06	5000	-	-	-	+	-	-
	1300	+	-	-	-	-	-
	1000	-	-	-	-	-	+
OPJ14	800	+	-	-	-	-	-
	2500	-	-	-	-	-	+
	1900	-	-	-	+	-	-
	1500	+	-	-	-	-	-
	1400	-	+	-	-	-	-

ไพรเมอร์	ขนาด ผลผลิต พีซีอาร์ (bp)	พระราชทาน 50	พระราชทาน 70	พระราชทาน 72	พระราชทาน 80	พันธุ์ 329	พันธุ์ Akihime
OPJ04	1900	+	-	-	-	-	-
	1800	+	-	-	-	-	-
	450	-	-	-	+	-	-
OPJ16	800	-	+	-	-	-	-
OPJ17	4000	-	-	-	+	-	-
	900	-	-	-	+	-	-
OPJ18	700	+	-	-	-	-	-
OPF07	400	+	-	-	-	-	-
OPA04	650	-	-	-	-	+	-
OPB07	2900	-	-	-	+	-	-
	600	+	-	-	-	-	-
	350	+	-	-	-	-	-
รวม		13	4	1	8	4	4

หมายเหตุ: + = พบผลผลิตพีซีอาร์ (presence of PCR product) ; - = ไม่พบผลผลิตพีซีอาร์ (absent of PCR product)

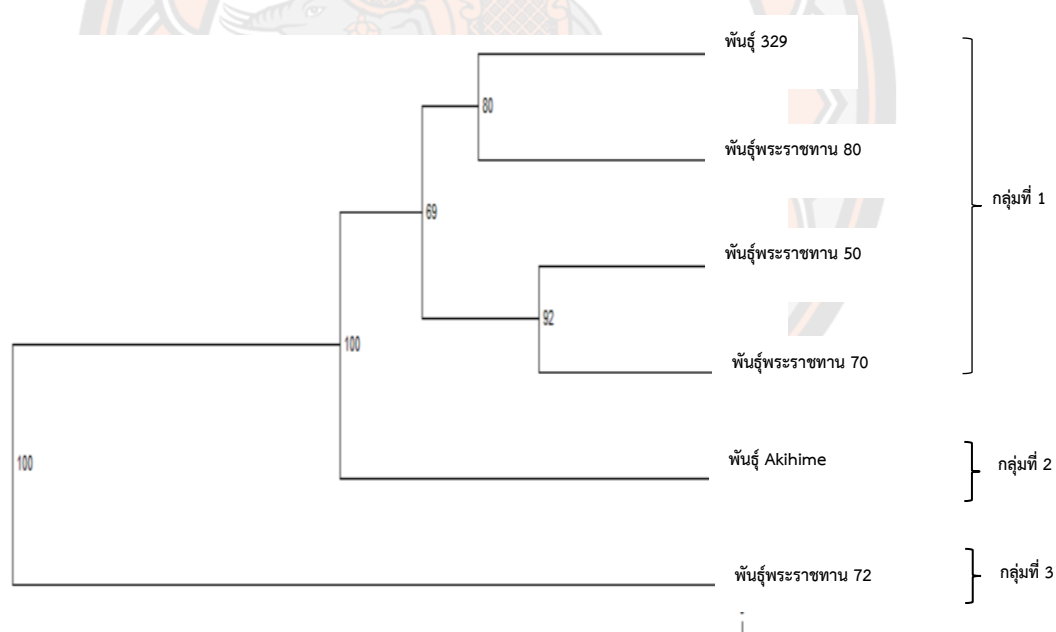
ผลการทดลองที่ 1.3 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของสตรอร์เบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์

ผลการทดลองการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของสตรอร์เบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ พบว่าสามารถจำแนกค่าความเหมือน (similarity index) ของสตรอร์เบอร์รี่ ได้ดังนี้ สตรอร์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 50 มีค่าความเหมือนกับสตรอร์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 พันธุ์พระราชทาน 72 พันธุ์พระราชทาน 80 พันธุ์ 329 และพันธุ์ Akihime ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.83, 0.36, 0.71, 0.70 และ 0.62 ตามลำดับ สตรอร์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 มีค่าความเหมือนกับสตรอร์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 72 พันธุ์พระราชทาน 80 พันธุ์ 329 และพันธุ์ Akihime ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.35, 0.74, 0.79 และ 0.62 ตามลำดับ สตรอร์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 72 มีค่าความเหมือนกับสตรอร์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 พันธุ์ 329 และพันธุ์ Akihime ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.40, 0.40 และ 0.51 ตามลำดับ สตรอร์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 มีค่าความเหมือนกับสตรอร์เบอร์รี่พันธุ์ 329 และพันธุ์ Akihime ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.22 และ 0.26 ตามลำดับ (ตาราง 15) นอกจากนี้ผลการทดลองยังพบว่าสามารถจำแนกสตรอร์เบอร์รี่ได้ทั้งหมด 3 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 ได้แก่ สตรอร์เบอร์รี่พันธุ์ 329, พันธุ์พระราชทาน 80, พันธุ์พระราชทาน 50 และพันธุ์พระราชทาน 70 กลุ่มที่ 2 ได้แก่ พันธุ์ Akihime

และกลุ่มที่ 3 ได้แก่ พันธุ์พระราชทาน 72 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า สตรอว์เบอร์รี่กลุ่มที่ 1 และ 2 มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมากกว่าสตรอว์เบอร์รี่กลุ่มที่ 3 (ภาพ 16)

ตาราง 15 ค่าดัชนีความเหมือน (similarity index) ของสตรอว์เบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์

สายพันธุ์	พระราชทาน 50	พระราชทาน 70	พระราชทาน 72	พระราชทาน 80	พันธุ์ 329	พันธุ์ Akihime
พระราชทาน 50	1.00					
พระราชทาน 70	0.83	1.00				
พระราชทาน 72	0.36	0.35	1.00			
พระราชทาน 80	0.71	0.74	0.40	1.00		
พันธุ์ 329	0.70	0.79	0.40	0.78	1.00	
พันธุ์ Akihime	0.62	0.62	0.51	0.74	0.70	1.00



ภาพ 16 แผนภูมิต้นไม้ (phylogenetic tree) ซึ่งแสดงถึงสัมพันธ์ของสตรอว์เบอร์รี่ จำนวน 6 สายพันธุ์ ที่ได้รับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี

ผลการทดลองที่ 2 ศึกษาการปรับปรุงพันธุ์สตอร์วเบอร์รี่เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการผลิตสารแอนโทไซยานิน

ผลการทดลองที่ 2.1 การปรับปรุงพันธุ์สตอร์วเบอร์รี่ด้วยวิธีการแบบดั้งเดิม (conventional breeding)

เปอร์เซ็นต์ลักษณะรูปทรงผลสตอร์วเบอร์รี่ลูกผสม

จากการปรับปรุงพันธุ์ ผลการทดลองพบว่า เมื่อกำหนดให้สตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 50 เป็นสายพันธุ์พ่อพบว่า ลูกผสมที่เกิดขึ้น จะมีลักษณะรูปทรงผล 5 ลักษณะ ได้แก่ ทรงแหลมยาว ทรงแหลม ทรงกลมปลายแหลม ทรงกลม และทรงกลมแป้น โดยพบว่า คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 50 คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 70 และคู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์ Akihime มีเปอร์เซ็นต์ผลเสียมากที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 40% รองลงมาคือ คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 72 และคู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 80 มีเปอร์เซ็นต์ผลเสีย ซึ่งมีค่าเท่ากับ 20% และคู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์ 329 มีเปอร์เซ็นต์ผลเสียน้อยที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 10% (ตาราง 16 ภาพ 17)

เมื่อกำหนดให้สตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 เป็นสายพันธุ์พ่อพบว่า ลูกผสมที่เกิดขึ้น จะมีลักษณะรูปทรงผล 6 ลักษณะ ได้แก่ ทรงแหลมยาว ทรงแหลม ทรงกลมปลายแหลม ทรงกลม ทรงกลมแป้น และทรงกลมสั้น โดยพบว่า คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 70 มีเปอร์เซ็นต์ผลเสียมากที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 50% รองลงมาคือ คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์ 329 และคู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์ Akihime มีเปอร์เซ็นต์ผลเสียเท่ากับ 40% รองลงมาคือ คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 72 มีเปอร์เซ็นต์ผลเสียเท่ากับ 30% รองลงมาคือ คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 50 มีเปอร์เซ็นต์ผลเสียเท่ากับ 20% และคู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80 มีเปอร์เซ็นต์ผลเสียน้อยที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 10% (ตาราง 16 ภาพ 17)

เมื่อกำหนดให้สตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 72 เป็นสายพันธุ์พ่อพบว่า ลูกผสมที่เกิดขึ้น จะมีลักษณะรูปทรงผล 7 ลักษณะ ได้แก่ ทรงแหลมยาว ทรงแหลม ทรงกลมปลายแหลม ทรงกลม ทรงกลมแป้น และทรงกลมสั้น และทรงยาวมีคอ โดยพบว่า คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 70 มีเปอร์เซ็นต์ผลเสียมากที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 50% รองลงมาคือ คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 50 และคู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์ 329 มีเปอร์เซ็นต์ผลเสียเท่ากับ 30% รองลงมาคือ คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 72 คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80 และคู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์ Akihime มีเปอร์เซ็นต์ผลเสียน้อยที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 10% (ตาราง 16 ภาพ 18)

เมื่อกำหนดให้สตรอร์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 เป็นสายพันธุ์พ่อพบว่า ลูกผสมที่เกิดขึ้น จะมีลักษณะรูปทรงผล 6 ลักษณะ ได้แก่ ทรงแหลมยาว ทรงแหลม ทรงลิ่มสั้น ทรงลิ่มยาว ทรงกลม ปลายแหลม และทรงกลม โดยพบว่า คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 70 มีเปอร์เซ็นต์ผลเสียมากที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 40% รองลงมาคือ คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์ 329 คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์ Akihime มีเปอร์เซ็นต์ผลเสียเท่ากับ 20% และคู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 72 ซึ่งพบว่า ไม่พบเปอร์เซ็นต์ผลเสีย (ตาราง 16 ภาพ 18)

เมื่อกำหนดให้สตรอร์เบอร์รี่พันธุ์ 329 เป็นสายพันธุ์พ่อพบว่า ลูกผสมที่เกิดขึ้น จะมีลักษณะรูปทรงผล 6 ลักษณะ ได้แก่ ทรงแหลมยาว ทรงแหลม ทรงลิ่มสั้น ทรงยาวมีคอก ทรงกลมปลายแหลม และทรงกลม โดยพบว่า คู่ผสมพันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 50 มีเปอร์เซ็นต์ผลเสียมากที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 30% รองลงมาคือ คู่ผสมพันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 70 และคู่ผสมพันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 72 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ผลเสียเท่ากับ 20% รองลงมาคือ คู่ผสมพันธุ์ 329 × พันธุ์ 329 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ผลเสียเท่ากับ 10% รองลงมาคือ คู่ผสมพันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80 และคู่ผสมพันธุ์ 329 × พันธุ์ Akihime พบว่า ไม่พบเปอร์เซ็นต์ผลเสีย (ตาราง 16 ภาพ 19)

เมื่อกำหนดให้สตรอร์เบอร์รี่พันธุ์ Akihime เป็นสายพันธุ์พ่อพบว่า ลูกผสมที่เกิดขึ้นจะมีลักษณะรูปทรงผล 6 ลักษณะ ได้แก่ ทรงแหลม ทรงกลม ทรงลิ่มสั้น ทรงกลมปลายแหลม ทรงกลมแป้น และทรงยาวมีคอก โดยพบว่า คู่ผสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 70 มีเปอร์เซ็นต์ผลเสียมากที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 50% รองลงมาคือ คู่ผสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 50 และคู่ผสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์ 329 มีเปอร์เซ็นต์ผลเสียเท่ากับ 30% รองลงมาคือ คู่ผสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 72 และคู่ผสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 มีเปอร์เซ็นต์ผลเสียเท่ากับ 20% และคู่ผสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์ Akihime พบว่าไม่พบเปอร์เซ็นต์ผลเสีย (ตาราง 16 ภาพ 19)

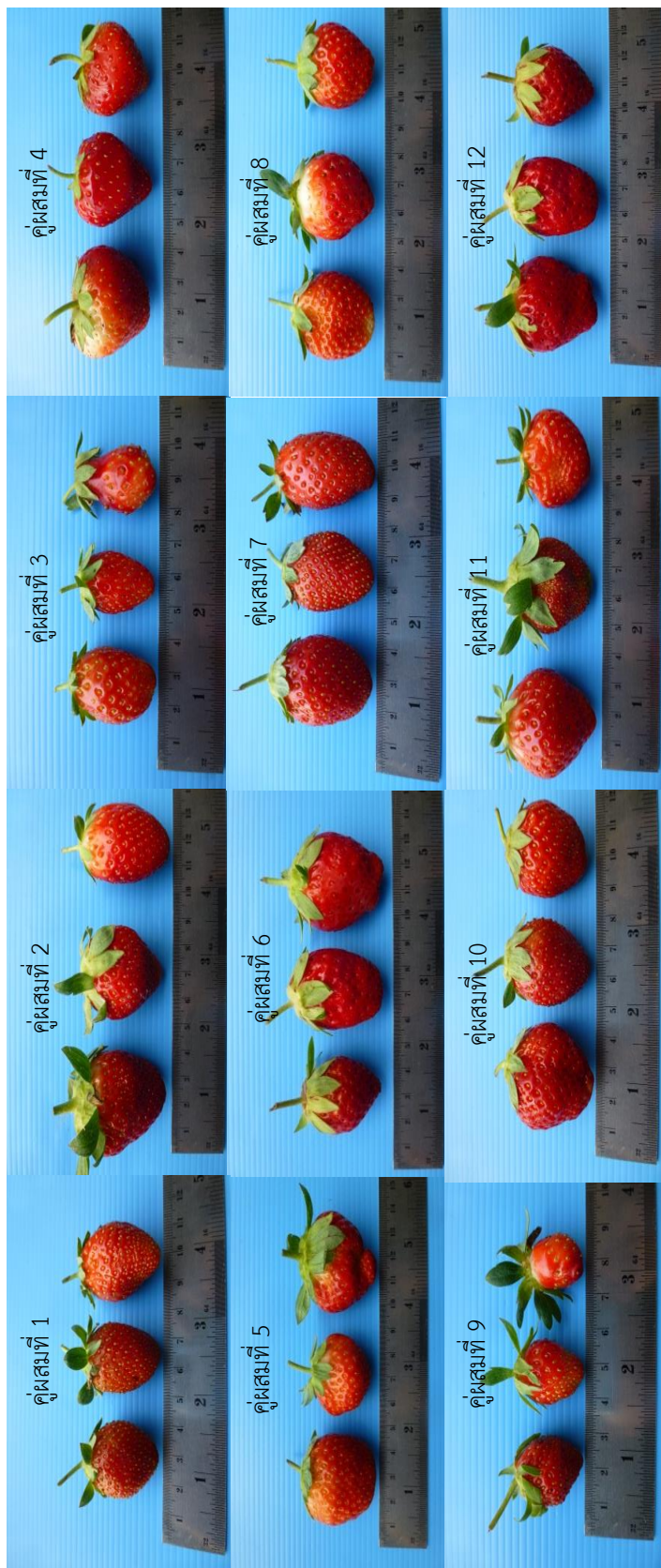
ตาราง 16 เปอร์เซ็นต์ลักษณะรูปทรงผลสตรอร์เบอร์รี่ลูกผสม

คู่ผสม	เปอร์เซ็นต์ลักษณะรูปทรงผล	เปอร์เซ็นต์ผลเสีย
1. พระราชทาน 50 × พระราชทาน 50	ทรงแหลมยาว = 40% และทรงแหลม = 20%	40%
2. พระราชทาน 50 × พระราชทาน 70	ทรงกลมปลายแหลม = 30% ทรงแหลม = 30%	40%
3. พระราชทาน 50 × พระราชทาน 72	ทรงกลม = 10% ทรงแหลม = 70%	20%

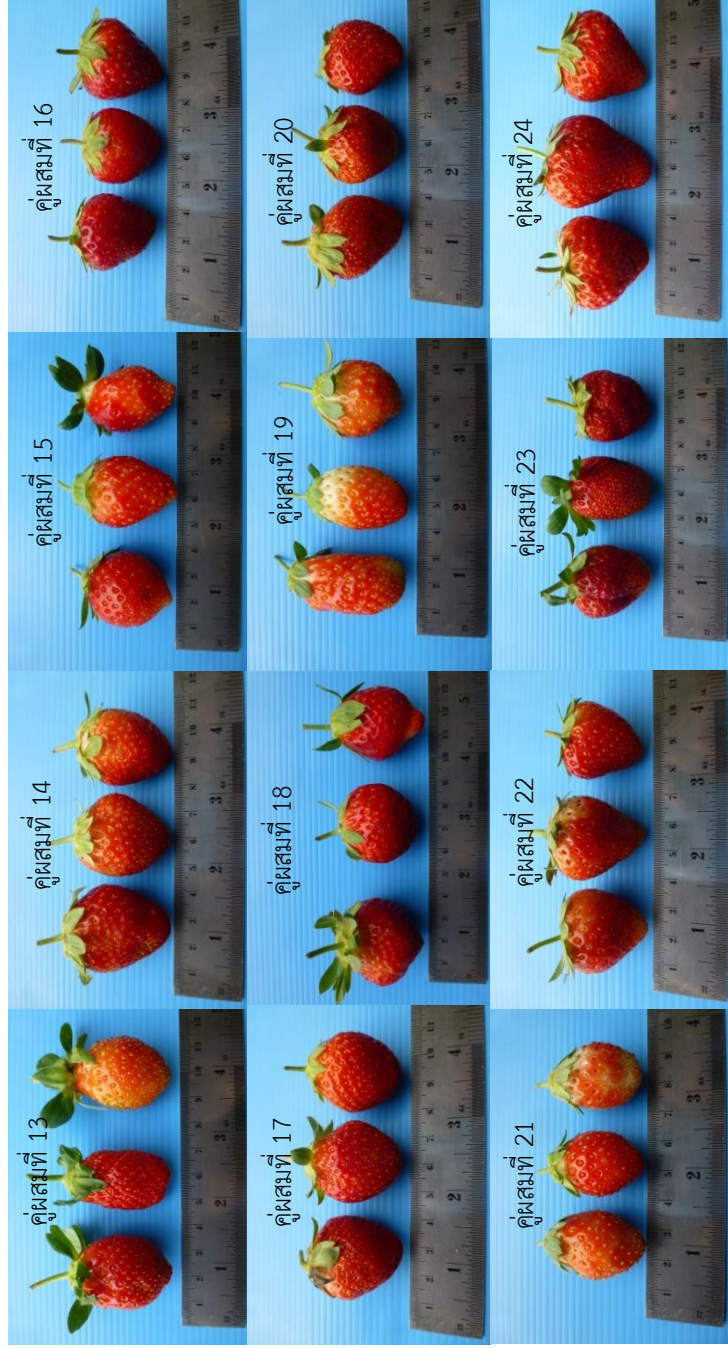
คู่ผสม	เปอร์เซ็นต์ลักษณะรูปทรงผล	เปอร์เซ็นต์ผลเสีย
4. พระราชทาน 50 × พระราชทาน 80	ทรงกลมปลายแหลม = 40% ทรงแหลม = 20% ทรงกลมแป้น = 20%	20%
5. พระราชทาน 50 × พันธุ์ 329	ทรงกลมปลายแหลม = 70% ทรงกลมแป้น = 20%	10%
6. พระราชทาน 50 × พันธุ์ Akihime	ทรงแหลม = 60%	40%
7. พระราชทาน 70 × พระราชทาน 50	ทรงแหลม = 40% ทรงแหลมยาว = 40%	20%
8. พระราชทาน 70 × พระราชทาน 70	ทรงกลมปลายแหลม = 50%	50%
9. พระราชทาน 70 × พระราชทาน 72	ทรงแหลม = 50% ทรงแหลมยาว = 10% ทรงกลม = 10%	30%
10. พระราชทาน 70 × พระราชทาน 80	ทรงกลมแป้น = 10% ทรงลิ่มสั้น = 20% ทรงกลม = 10% ทรงกลมปลายแหลม = 40% ทรงแหลม = 10%	10%
11. พระราชทาน 70 × พันธุ์ 329	ทรงแหลม = 10% ทรงกลมปลายแหลม = 50%	40%
12. พระราชทาน 70 × พันธุ์ Akihime	ทรงแหลม = 50% ทรงกลม = 10%	30%
13. พระราชทาน 72 × พระราชทาน 50	ทรงยาวมีคอ = 40% ทรงกลม = 10% ทรงแหลม = 10% ทรงกลมปลายแหลม = 10%	30%
14. พระราชทาน 72 × พระราชทาน 70	ทรงลิ่มสั้น = 10% ทรงกลม = 20% ทรงแหลม = 20%	50%
15. พระราชทาน 72 × พระราชทาน 72	ทรงกลมปลายแหลม = 80% ทรงยาวมีคอ = 10%	10%
16. พระราชทาน 72 × พระราชทาน 80	ทรงกลมปลายแหลม = 60% ทรงแหลม = 20% ทรงกลมแป้น = 10%	10%

คู่ผสม	เปอร์เซ็นต์ลักษณะรูปทรงผล	เปอร์เซ็นต์ผลเสีย
17. พระราชทาน 72 × พันธุ์ 329	ทรงกลมแป้น = 10% ทรงแหลม = 10% ทรงกลมปลายแหลม = 40% ทรงลิ่มสั้น = 10%	30%
18. พระราชทาน 72 × พันธุ์ Akihime	ทรงยาวมีคอ = 10% ทรงแหลมยาว = 10% ทรงแหลม = 40% ทรงกลมปลายแหลม = 30%	10%
19. พระราชทาน 80 × พระราชทาน 50	ทรงแหลมยาว = 30% ทรงแหลม = 30% ทรงลิ่มสั้น = 10% ทรงลิ่มยาว = 10%	20%
20. พระราชทาน 80 × พระราชทาน 70	ทรงกลมปลายแหลม = 50% ทรงกลม = 10%	40%
21. พระราชทาน 80 × พระราชทาน 72	ทรงแหลมยาว = 50% ทรงกลม = 40% ทรงแหลม = 10%	-
22. พระราชทาน 80 × พระราชทาน 80	ทรงกลมปลายแหลม = 70% ทรงแหลม = 20%	10%
23. พระราชทาน 80 × พันธุ์ 329	ทรงกลมปลายแหลม = 60% ทรงแหลม = 20%	20%
24. พระราชทาน 80 × พันธุ์ Akihime	ทรงแหลมยาว = 30% ทรงยาวมีคอ = 10% ทรงแหลม = 40%	20%
25. พันธุ์ 329 × พระราชทาน 50	ทรงแหลมยาว = 50% ทรงแหลม = 10% ทรงกลม = 10%	30%
26. พันธุ์ 329 × พระราชทาน 70	ทรงแหลม = 20% ทรงกลมปลายแหลม = 10% ทรงกลม = 40% ทรงลิ่มสั้น = 10%	20%
27. พันธุ์ 329 × พระราชทาน 72	ทรงแหลม = 50% ทรงยาวมีคอ = 10% ทรงกลม = 20%	20%

คู่ผสม	เปอร์เซ็นต์ลักษณะรูปทรงผล	เปอร์เซ็นต์ผลเสีย
28. พันธุ์ 329 × พระราชทาน 80	ทรงกลมปลายแหลม = 70% ทรงแหลม = 20% ทรงกลม = 10%	–
29. พันธุ์ 329 × พันธุ์ 329	ทรงกลม = 30% ทรงกลมปลายแหลม = 60%	10%
30. พันธุ์ 329 × พันธุ์ Akihime	ทรงยาวมีคอ = 10% ทรงแหลม = 80% ทรงแหลมยาว = 10%	–
31. พันธุ์ Akihime × พระราชทาน 50	ทรงแหลม = 60% ทรงกลม = 10%	30%
32. พันธุ์ Akihime × พระราชทาน 70	ทรงลิ่มสั้น = 10% ทรงแหลม = 20% ทรงกลม = 10% ทรงกลมปลายแหลม = 10%	50%
33. พันธุ์ Akihime × พระราชทาน 72	ทรงกลมปลายแหลม = 60% ทรงกลม = 10% ทรงกลมแป้น = 10%	20%
34. พันธุ์ Akihime × พระราชทาน 80	ทรงกลมปลายแหลม = 30% ทรงแหลม = 40% ทรงลิ่มสั้น = 10%	20%
35. พันธุ์ Akihime × พันธุ์ 329	ทรงลิ่มสั้น = 40% ทรงแหลม = 20% ทรงกลมปลายแหลม = 10%	30%
36. พันธุ์ Akihime × พันธุ์ Akihime	ทรงแหลม = 70% ทรงยาวมีคอ = 30%	–



ภาพ 17 ผลสตอร์วเบอร์รี่ลูกผสม จำนวน 36 คูลผสม; คูลผสมที่ 1= พันธุ์พระราชทาน 50, คูลผสมที่ 2= พันธุ์พระราชทาน 50 x พันธุ์พระราชทาน 70, คูลผสมที่ 3= พันธุ์พระราชทาน 50 x พันธุ์พระราชทาน 72, คูลผสมที่ 4= พันธุ์พระราชทาน 50 x พันธุ์พระราชทาน 80, คูลผสมที่ 5= พันธุ์พระราชทาน 50 x พันธุ์ 329, คูลผสมที่ 6= พันธุ์พระราชทาน 50 x พันธุ์ Akihime, คูลผสมที่ 7= พันธุ์พระราชทาน 70 x พันธุ์พระราชทาน 50, คูลผสมที่ 8= พันธุ์พระราชทาน 70 x พันธุ์พระราชทาน 70, คูลผสมที่ 9= พันธุ์พระราชทาน 70 x พันธุ์พระราชทาน 72, คูลผสมที่ 10= พันธุ์พระราชทาน 70 x พันธุ์พระราชทาน 80, คูลผสมที่ 11= พันธุ์พระราชทาน 70 x พันธุ์ 329 และคูลผสมที่ 12= พันธุ์พระราชทาน 70 x พันธุ์ Akihime



ภาพ 18 ผลสตอร์วเบอร์รี่ลูกผสม จำนวน 36 คู่ผสม; คู่ผสมที่ 13= พันธุ์พระราชทาน 72 x พันธุ์พระราชทาน 50, คู่ผสมที่ 14= พันธุ์พระราชทาน 72 x พันธุ์พระราชทาน 70, คู่ผสมที่ 15= พันธุ์พระราชทาน 72 x พันธุ์พระราชทาน 72, คู่ผสมที่ 16= พันธุ์พระราชทาน 72 x พันธุ์พระราชทาน 80, คู่ผสมที่ 17= พันธุ์พระราชทาน 72 x พันธุ์ 329, คู่ผสมที่ 18= พันธุ์พระราชทาน 72 x พันธุ์ Akihime, คู่ผสมที่ 19= พันธุ์พระราชทาน 80 x พันธุ์พระราชทาน 50, คู่ผสมที่ 20= พันธุ์พระราชทาน 80 x พันธุ์พระราชทาน 70, คู่ผสมที่ 21= พันธุ์พระราชทาน 80 x พันธุ์พระราชทาน 72, คู่ผสมที่ 22= พันธุ์พระราชทาน 80 x พันธุ์พระราชทาน 80, คู่ผสมที่ 23= พันธุ์พระราชทาน 80 x พันธุ์ 329 และ คู่ผสมที่ 24= พันธุ์พระราชทาน 80 x พันธุ์ Akihime



ภาพ 19 ผลสตอร์วเบอร์ลูกผสม จำนวน 36 คู่ผสม; คู่ผสมที่ 25= พันธุ์ 329 x พันธุ์พระราชทาน 50, คู่ผสมที่ 26= พันธุ์ 329 x พันธุ์พระราชทาน 70, คู่ผสมที่ 27= พันธุ์ 329 x พันธุ์ 329 x พันธุ์พระราชทาน 72, คู่ผสมที่ 28= พันธุ์ 329 x พันธุ์ 329 x พันธุ์ 329, คู่ผสมที่ 29= พันธุ์ 329 x พันธุ์ 329 x พันธุ์ 329 x พันธุ์ Akihime, คู่ผสมที่ 30= พันธุ์ Akihime x พันธุ์พระราชทาน 50, คู่ผสมที่ 31= พันธุ์ Akihime x พันธุ์พระราชทาน 70, คู่ผสมที่ 32= พันธุ์ Akihime x พันธุ์พระราชทาน 70, คู่ผสมที่ 33= พันธุ์ Akihime x พันธุ์พระราชทาน 72, คู่ผสมที่ 34= พันธุ์ Akihime x พันธุ์พระราชทาน 80, คู่ผสมที่ 35= พันธุ์ Akihime x พันธุ์ 329 และ คู่ผสมที่ 36= พันธุ์ Akihime x พันธุ์ Akihime

เมื่อพิจารณาระดับที่ 6 ได้แก่ ความกว้างผลเฉลี่ยตั้งแต่ 4.0-4.5 เซนติเมตร ผลการทดลองพบว่า พบกลุ่มจำนวน 1 กลุ่มที่มีความกว้างผลอยู่ในระดับที่ 6 ได้แก่ กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์ Akihime (ตาราง 17)

เมื่อพิจารณาระดับที่ 7 ได้แก่ ความกว้างผลเฉลี่ยตั้งแต่ 4.6-5.1 เซนติเมตร ผลการทดลองพบว่า พบกลุ่มจำนวน 1 กลุ่มที่มีความกว้างผลอยู่ในระดับที่ 7 ได้แก่ กลุ่มสมพันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80 (ตาราง 17)

ความยาวผลสตรอว์เบอร์รี่ลูกผสม

ผลการทดลองพบว่า สามารถจำแนกลักษณะความยาวผลสตรอว์เบอร์รี่ลูกผสม ได้ทั้งหมด 9 ระดับ โดยแบ่งเป็น ระดับที่ 1 ได้แก่ ความยาวผลเฉลี่ยตั้งแต่ 1.0-1.5 เซนติเมตร ผลการทดลองพบว่า ไม่พบกลุ่มที่มีขนาดผลอยู่ในช่วงระดับที่ 1 (ตาราง 17)

เมื่อพิจารณาระดับที่ 2 ได้แก่ ความยาวผลเฉลี่ยตั้งแต่ 1.6-2.1 เซนติเมตร ผลการทดลองพบว่า พบกลุ่มจำนวน 2 กลุ่มที่มีความยาวผลอยู่ในระดับที่ 2 ได้แก่ กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์ 329 และกลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์ Akihime (ตาราง 17)

เมื่อพิจารณาระดับที่ 3 ได้แก่ ความยาวผลเฉลี่ยตั้งแต่ 2.2-2.7 เซนติเมตร ผลการทดลองพบว่า พบกลุ่มจำนวน 12 กลุ่มที่มีความยาวผลอยู่ในระดับที่ 3 ได้แก่ กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 72, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 80, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์ 329, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 70, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์ 329, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 70, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 80, กลุ่มสมพันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 50, กลุ่มสมพันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 70 และกลุ่มสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 72 (ตาราง 17)

เมื่อพิจารณาระดับที่ 4 ได้แก่ ความยาวผลเฉลี่ยตั้งแต่ 2.8-3.3 เซนติเมตร ผลการทดลองพบว่า พบกลุ่มจำนวน 17 กลุ่มที่มีความยาวผลอยู่ในระดับที่ 4 ได้แก่ กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 50, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 70, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์ Akihime, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 72, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์ Akihime, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 50, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 70, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์ 329, กลุ่มสมพันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 72, กลุ่มสมพันธุ์ 329 × พันธุ์ 329, กลุ่มสมพันธุ์ 329 × พันธุ์ Akihime, กลุ่มสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 50, กลุ่มสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 70, กลุ่มสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80, กลุ่มสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์ 329 และกลุ่มสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์ Akihime (ตาราง 17)

เมื่อพิจารณาระดับที่ 5 ได้แก่ ความยาวผลเฉลี่ยตั้งแต่ 3.4-3.9 เซนติเมตร ผลการทดลองพบว่า พบกลุ่มสมจำนวน 1 กลุ่มที่มีความยาวผลอยู่ในระดับที่ 5 ได้แก่ กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พระราชทาน 50 (ตาราง 17)

เมื่อพิจารณาระดับที่ 6 ได้แก่ ความยาวผลเฉลี่ยตั้งแต่ 4.0-4.5 เซนติเมตร ผลการทดลองพบว่า พบกลุ่มสมจำนวน 2 กลุ่มที่มีความยาวผลอยู่ในระดับที่ 6 ได้แก่ กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 72 × พระราชทาน 72 และกลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พระราชทาน 72 (ตาราง 17)

เมื่อพิจารณาระดับที่ 7 ได้แก่ ความยาวผลเฉลี่ยตั้งแต่ 4.6-5.1 เซนติเมตร ผลการทดลองพบว่า พบกลุ่มสมจำนวน 1 กลุ่มที่มีความยาวผลอยู่ในระดับที่ 7 ได้แก่ กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์ Akihime (ตาราง 17)

เมื่อพิจารณาระดับที่ 8 ได้แก่ ความยาวผลเฉลี่ยตั้งแต่ 5.2-5.7 เซนติเมตร ผลการทดลองพบว่า ไม่พบกลุ่มสมที่มีความยาวผลอยู่ในระดับที่ 8 (ตาราง 17)

เมื่อพิจารณาระดับที่ 9 ได้แก่ ความยาวผลเฉลี่ยตั้งแต่ 5.8-6.3 เซนติเมตร ผลการทดลองพบว่า พบกลุ่มสมจำนวน 1 กลุ่มที่มีความยาวผลอยู่ในระดับที่ 9 ได้แก่ กลุ่มสมพันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80 (ตาราง 17)

น้ำหนักรูปลูกผสม

ผลการทดลองพบว่า สามารถจำแนกน้ำหนักรูปลูกผสม ได้ทั้งหมด 4 ระดับ โดยแบ่งเป็น ระดับที่ 1 ได้แก่ น้ำหนักรูเฉลี่ยตั้งแต่ 0-3.0 เซนติเมตร ผลการทดลองพบว่า ไม่พบกลุ่มสมที่มีน้ำหนักรูอยู่ในช่วงระดับที่ 1 (ตาราง 17)

เมื่อพิจารณาระดับที่ 2 ได้แก่ น้ำหนักรูเฉลี่ยตั้งแต่ 3.5-6.5 เซนติเมตร ผลการทดลองพบว่า พบกลุ่มสมจำนวน 21 กลุ่มสม ที่มีน้ำหนักรูอยู่ในระดับที่ 2 ได้แก่ กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 50, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 72, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์ 329, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์ Akihime, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 70, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 72, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์ 329, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์ Akihime, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 50, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 72, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์ 329, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์ Akihime, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 72, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์ 329, กลุ่มสมพันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 50, กลุ่มสมพันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 72, กลุ่มสมพันธุ์ 329 × พันธุ์ 329, กลุ่มสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 72 และกลุ่มสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์ Akihime (ตาราง 17)

เมื่อพิจารณาระดับที่ 3 ได้แก่ น้ำหนักผลเฉลี่ยตั้งแต่ 7.0-10.0 เซนติเมตร ผลการทดลองพบว่า พบกลุ่มสมจำนวน 11 กลุ่มสม ที่มีน้ำหนักผลอยู่ในระดับที่ 3 ได้แก่ กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 70, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 80, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 50, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 70, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 80, กลุ่มสมพันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 70, กลุ่มสมพันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80, กลุ่มสมพันธุ์ 329 × พันธุ์ Akihime, กลุ่มสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 50 และกลุ่มสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 (ตาราง 17)

เมื่อพิจารณาระดับที่ 4 ได้แก่ น้ำหนักผลเฉลี่ยตั้งแต่ 10.5-13.5 เซนติเมตร ผลการทดลองพบว่า พบกลุ่มสมจำนวน 4 กลุ่มสม ที่มีน้ำหนักผลอยู่ในระดับที่ 4 ได้แก่ กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 70, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์ Akihime, กลุ่มสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 70 และกลุ่มสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์ 329 (ตาราง 17)

ตาราง 17 ความกว้าง ความยาว และน้ำหนักผลสตรอว์เบอร์รี่ลูกผสม

กลุ่มสม	ความกว้างผล (เซนติเมตร)	ความยาวผล (เซนติเมตร)	น้ำหนักผล (กรัม)
1. พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 50	1.98	2.84	5.98
2. พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 70	2.62	3.04	9.48
3. พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 72	1.96	2.44	4.62
4. พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 80	2.34	2.39	7.04
5. พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์ 329	2.44	2.61	4.08
6. พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์ Akihime	2.20	2.91	5.47
7. พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 50	2.35	3.40	8.68
8. พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 70	2.88	2.70	6.50
9. พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 72	1.75	2.82	5.07
10. พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80	2.34	2.20	7.08
11. พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์ 329	2.27	2.44	4.78
12. พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์ Akihime	2.21	2.83	6.50
13. พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 50	2.02	2.82	6.50
14. พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 70	2.64	2.64	10.50

คู่ผสม	ความกว้างผล (เซนติเมตร)	ความยาวผล (เซนติเมตร)	น้ำหนักผล (กรัม)
15. พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 72	3.21	4.39	4.31
16. พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80	2.57	2.63	6.41
17. พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์ 329	2.00	2.10	4.70
18. พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์ Akihime	1.93	2.02	5.98
19. พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50	2.30	2.83	6.50
20. พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 70	2.70	2.80	7.80
21. พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 72	3.69	4.27	5.87
22. พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 80	2.48	2.63	7.61
23. พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์ 329	2.68	3.25	6.50
24. พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์ Akihime	4.23	5.19	12.51
25. พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 50	1.94	2.58	5.07
26. พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 70	2.80	2.63	9.86
27. พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 72	2.08	2.94	4.18
28. พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80	5.02	6.03	7.01
29. พันธุ์ 329 × พันธุ์ 329	2.51	3.14	5.01
30. พันธุ์ 329 × พันธุ์ Akihime	2.20	3.09	7.39
31. พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 50	2.41	3.23	7.39
32. พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 70	2.81	2.91	10.66
33. พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 72	1.77	2.31	3.84
34. พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80	2.57	2.86	9.11
35. พันธุ์ Akihime × พันธุ์ 329	2.70	3.30	10.70
36. พันธุ์ Akihime × พันธุ์ Akihime	2.08	3.01	4.90

หมายเหตุ: 1. กำหนดให้ระดับความกว้างผลสตรอว์เบอร์รี่ลูกผสม มีทั้งหมด 7 ระดับ ดังนี้
ระดับที่ 1 = 1.0-1.5 เซนติเมตร, ระดับที่ 2 = 1.6-2.1 เซนติเมตร, ระดับที่ 3 = 2.2-2.7 เซนติเมตร, ระดับที่ 4 = 2.8-3.3 เซนติเมตร, ระดับที่ 5 = 3.4-3.9 เซนติเมตร, ระดับที่ 6 = 4.0-4.5 เซนติเมตร, ระดับที่ 7 = 4.6-5.1 เซนติเมตร

2. กำหนดให้ระดับความยาวผลสตรอว์เบอร์รี่ลูกผสม มีทั้งหมด 9 ระดับ ดังนี้
ระดับที่ 1 = 1.0-1.5 เซนติเมตร, ระดับที่ 2 = 1.6-2.1 เซนติเมตร, ระดับที่ 3 = 2.2-

2.7 เซนติเมตร, ระดับที่ 4 = 2.8-3.3 เซนติเมตร, ระดับที่ 5 = 3.4-3.9 เซนติเมตร, ระดับที่ 6 = 4.0-4.5 เซนติเมตร, ระดับที่ 7 = 4.6-5.1 เซนติเมตร, ระดับที่ 8 = 5.2-5.7 เซนติเมตร, ระดับที่ 9 = 5.8-6.3 เซนติเมตร

3. กำหนดให้ระดับน้ำหนักผลสตรอว์เบอร์รี่ลูกผสม มีทั้งหมด 4 ระดับ ดังนี้
ระดับที่ 1 = 0-3 เซนติเมตร, ระดับที่ 2 = 3.5-6.5 เซนติเมตร, ระดับที่ 3 = 7.0-0.0 เซนติเมตร, ระดับที่ 4 = 10.5-13.5 เซนติเมตร

เปอร์เซ็นต์การออกเมล็ดของสตรอว์เบอร์รี่ลูกผสม F1

ผลการทดลองพบว่า สามารถจำแนกเปอร์เซ็นต์การออกเมล็ดสตรอว์เบอร์รี่ลูกผสม F1 ได้ทั้งหมด 5 ระดับ โดยแบ่งเป็น ระดับที่ 1 การออกตั้งแต่ 0-20% ผลการทดลองพบว่า พบกลุ่มสมจำนวน 2 กลุ่ม ที่มีเปอร์เซ็นต์การออกเมล็ดอยู่ในระดับที่ 1 ได้แก่ กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 50 และกลุ่มสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์ Akihime (ตาราง 18)

เมื่อพิจารณาระดับที่ 2 ได้แก่ การออกตั้งแต่ 20.5-40.5% ผลการทดลองพบว่า ไม่พบกลุ่มสมที่มีเปอร์เซ็นต์การออกเมล็ดอยู่ในระดับที่ 2 (ตาราง 18)

เมื่อพิจารณาระดับที่ 3 ได้แก่ การออกตั้งแต่ 41– 61% ผลการทดลองพบว่า พบกลุ่มสมจำนวน 29 กลุ่ม ที่มีเปอร์เซ็นต์การออกเมล็ดอยู่ในระดับที่ 3 ได้แก่ กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 70, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 72, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 80, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์ 329, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์ Akihime, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 50, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 70, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 72, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์ 329, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์ Akihime, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 70, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 72, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์ 329, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์ Akihime, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 70, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 72, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 80, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์ 329, กลุ่มสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์ Akihime, กลุ่มสมพันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 70, กลุ่มสมพันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 72, กลุ่มสมพันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80, กลุ่มสมพันธุ์ 329 × พันธุ์ 329, กลุ่มสมพันธุ์ 329 × พันธุ์ Akihime, กลุ่มสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 70, กลุ่มสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 72 และกลุ่มสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์ 329 (ตาราง 18)

พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50, คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 72, คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 80, คู่ผสมพันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 50, คู่ผสมพันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 72, คู่ผสมพันธุ์ 329 × พันธุ์ 329, คู่ผสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 50, คู่ผสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 70, คู่ผสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 72, คู่ผสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 และคู่ผสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์ 329 (ตาราง 18)

ตาราง 18 เปอร์เซนต์การงอกและการรอดชีวิตของเมล็ดสตอร์วเบอร์รี่ผสม F1

คู่ผสม	การงอกเมล็ด (%)	การรอดชีวิต (%)
1. พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 50	0	0
2. พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 70	52.33	90.45
3. พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 72	51.00	75.82
4. พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 80	51.67	88.39
5. พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์ 329	51.00	81.05
6. พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์ Akihime	52.67	83.54
7. พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 50	51.00	90.20
8. พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 70	57.00	83.63
9. พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 72	50.67	88.82
10. พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80	50.00	86.00
11. พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์ 329	52.33	91.08
12. พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์ Akihime	54.33	73.62
13. พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 50	62.00	79.57
14. พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 70	54.67	82.32
15. พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 72	51.00	71.24
16. พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80	54.33	74.23
17. พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์ 329	52.67	65.82
18. พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์ Akihime	55.67	88.62
19. พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50	66.67	98.00
20. พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 70	52.00	73.72

คู่ผสม	การงอกเมล็ด (%)	การรอดชีวิต (%)
21. พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 72	50.00	82.67
22. พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 80	55.00	88.48
23. พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์ 329	52.67	68.35
24. พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์ Akihime	56.33	79.88
25. พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 50	62.00	95.70
26. พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 70	52.00	75.00
27. พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 72	50.67	82.24
28. พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80	52.33	80.89
29. พันธุ์ 329 × พันธุ์ 329	50.00	84.00
30. พันธุ์ 329 × พันธุ์ Akihime	51.00	79.74
31. พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 50	65.67	98.98
32. พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 70	50.67	88.82
33. พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 72	51.33	92.21
34. พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80	64.33	98.96
35. พันธุ์ Akihime × พันธุ์ 329	50.00	89.33
36. พันธุ์ Akihime × พันธุ์ Akihime	0	0

หมายเหตุ: กำหนดให้ระดับเปอร์เซ็นต์การงอกและการรอดชีวิตของเมล็ดสตอร์วเบอร์รี่ลูกผสม F1 มีทั้งหมด 5 ระดับ ดังนี้
 ระดับที่ 1 = 0-20%, ระดับที่ 2 = 20.5-40.5%, ระดับที่ 3 = 41-61%, ระดับที่ 4 = 61.5-81.5%, ระดับที่ 5 = 82-100%

การปลูกทดสอบและคัดเลือกต้นสตอร์วเบอร์รี่ลูกผสม F1 ที่มีศักยภาพในการผลิตสารแอนโทไซยานิน

ผลการทดลองพบว่า เมื่อนำเมล็ดที่มีการรอดชีวิตของแต่ละคู่ผสมมาปลูกทดสอบ พบว่าทุกคู่ผสมมีการรอดชีวิตจำนวนทั้งหมด 2,540 ต้น จากนั้นจึงทำการคัดเลือก ผลการทดลองพบว่าสามารถคัดเลือกต้นสตอร์วเบอร์รี่ลูกผสม F1 ที่มีศักยภาพในการผลิตสารแอนโทไซยานินได้ปริมาณสูงกว่าสายพันธุ์พ่อแม่จำนวนทั้งหมด 35 ต้น โดยพบว่า มีต้นสตอร์วเบอร์รี่ลูกผสม F1 จำนวน 27 ต้น ได้แก่ คู่ผสมพันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 7 (40.83 mg/100g FW), คู่ผสมพันธุ์

พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 24 (31.20 mg/100g FW), คู่ผสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 20 (40.98 mg/100g FW), คู่ผสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 127 (37.95 mg/100g FW), คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 5 (38.49 mg/100g FW), คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 38 (36.53 mg/100g FW), คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 4 (40.98 mg/100g FW), คู่ผสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 107 (30.70 mg/100g FW), คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 26 (31.43 mg/100g FW), คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 20 (32.79 mg/100g FW), คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 56 (32.08 mg/100g FW), คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 54 (31.42 mg/100g FW), คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 44 (31.72 mg/100g FW), คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 10 (41.24 mg/100g FW), คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 10 (38.21 mg/100g FW), คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 33 (31.54 mg/100g FW), คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์ 329 ต้นที่ 2 (31.61 mg/100g FW), คู่ผสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 66 (52.21 mg/100g FW), คู่ผสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 5 (33.94 mg/100g FW), คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 17 (32.10 mg/100g FW), คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 12 (30.83 mg/100g FW), คู่ผสมพันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 24 (30.60 mg/100g FW), คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 13 (33.55 mg/100g FW), คู่ผสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 17 (31.00 mg/100g FW), คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 26 (31.67 mg/100g FW), คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 6 (37.45 mg/100g FW) และคู่ผสมพันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 6 (40.87 mg/100g FW) โดยมีปริมาณแอนโทไซยานินสูงกว่าสตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์พ่อแม่จำนวน 6 สายพันธุ์ (ได้แก่ พันธุ์พระราชทาน 50, พันธุ์พระราชทาน 70, พันธุ์พระราชทาน 72, พันธุ์พระราชทาน 80, พันธุ์ 329 และพันธุ์ Akihime ซึ่งมีปริมาณแอนโทไซยานินเฉลี่ยเท่ากับ 20.80, 21.80, 18.02, 29.42, 30.17 และ 15.57 mg/100g FW ตามลำดับ)

นอกจากนี้ยังพบว่า มีต้นสตอร์วเบอร์รี่ลูกผสม F1 จำนวน 1 ต้น ได้แก่ คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์ Akihime ต้นที่ 3 (29.52 mg/100g FW) โดยมีปริมาณแอนโทไซยานินสูงกว่าสตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์พ่อแม่ 5 สายพันธุ์ (พันธุ์พระราชทาน 50, พันธุ์พระราชทาน 70, พันธุ์พระราชทาน 72, พันธุ์พระราชทาน 80 และพันธุ์ Akihime ซึ่งมีปริมาณแอนโทไซยานินเฉลี่ยเท่ากับ 20.80, 21.80, 18.02, 29.42 และ 15.57 mg/100g FW ตามลำดับ) และยังพบว่า

มีต้นสตอร์วเบอร์รี่ลูกผสม F1 จำนวน 7 ต้น ได้แก่ คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 72 ต้นที่ 10 (29.24 mg/100g FW), คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 9 (26.78 mg/100g FW), คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 1 (28.99 mg/100g FW), คู่ผสมพันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 4 (27.84 mg/100g FW), คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์ 329 ต้นที่ 19 (27.82 mg/100g FW), พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 21 (27.21 mg/100g FW) และคู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 25 (28.01 mg/100g FW) โดยมีปริมาณแอนโทไซยานินสูงกว่าสตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์พ่อแม่ 4 สายพันธุ์ (พันธุ์พระราชทาน 50, พันธุ์พระราชทาน 70, พันธุ์พระราชทาน 72 และพันธุ์ Akihime ซึ่งมีปริมาณแอนโทไซยานินเฉลี่ยเท่ากับ 20.80, 21.80, 18.02 และ 15.57 mg/100g FW ตามลำดับ) อย่างไรก็ตามพบว่า ต้นสตอร์วเบอร์รี่ลูกผสม F1 จำนวน 35 ต้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์พ่อแม่ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 19)

ตาราง 19 การเปรียบเทียบปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมด (total anthocyanin content) ของสตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์พ่อแม่ (6 ต้น) และต้นลูกผสม F1 ที่ได้จากการคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการผลิตสารแอนโทไซยานิน (35 ต้น)

สายพันธุ์	ต้น	ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (mg/100g FW)
พ่อแม่		
พันธุ์พระราชทาน 50	–	20.80±0.10m
พันธุ์พระราชทาน 70	–	21.80±0.13m
พันธุ์พระราชทาน 72	–	18.02±0.25n
พันธุ์พระราชทาน 80	–	29.42±0.17hijk
พันธุ์ 329	–	30.17±0.21ghij
พันธุ์ Akihime	–	15.57±0.11o
ลูกผสม		
พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80	7	40.83±0.21b
พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 70	24	31.20±0.24efghi
พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80	20	40.98±0.30b
พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80	127	37.95±0.17c

สายพันธุ์	ต้น	ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (mg/100g FW)
พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 50	5	38.49±0.21c
พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80	38	36.53±0.13c
พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 80	4	40.98±0.27b
พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80	107	30.70±0.14fghi
พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 72	10	29.24±0.22hijk
พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80	26	31.43±0.26efghi
พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 70	20	32.79±0.31def
พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50	56	32.08±0.12defg
พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50	54	31.42±0.18efghi
พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์ Akihime	3	29.52±0.23hijk
พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80	44	31.72±0.15defgh
พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80	10	41.24±0.28b
พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50	9	26.78±0.33l
พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 70	10	38.21±0.16c
พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 70	1	28.99±0.25ijkl
พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50	33	31.54±0.12defgh
พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์ 329	2	31.61±0.29defgh
พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80	66	52.21±0.23a
พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80	5	33.94±0.34d
พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 70	17	32.10±0.17defg
พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80	4	27.84±0.24jkl
พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80	12	30.83±0.21fghi
พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 50	24	30.60±0.26fghi
พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50	13	33.55±0.13de
พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์ 329	19	27.82±0.22jkl
พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80	17	31.00±0.15fghi
พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50	21	27.21±0.19kl
พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80	25	28.01±0.21jkl

สายพันธุ์	ต้น	ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (mg/100g FW)
พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 50	26	31.67±0.25defgh
พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80	6	37.45±0.13c
พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80	6	40.87±0.18b

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การเจริญเติบโตทางด้านลำต้นและการสืบพันธุ์ของต้นสตอร์วเบอร์รี่ลูกผสม F1

จากต้นสตอร์วเบอร์รี่ลูกผสม F1 ที่มีศักยภาพในการผลิตสารแอนโทไซยานิน จำนวน 35 ต้น ผลการทดลองพบว่า ความกว้างทรงพุ่ม กลุ่มผสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์ Akihime ต้นที่ 3 มีขนาดความกว้างทรงพุ่มมากที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 29.50 เซนติเมตร และกลุ่มผสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 26 มีขนาดความกว้างทรงพุ่มน้อยที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 12.70 เซนติเมตร (ตาราง 20)

ความสูงทรงพุ่ม ผลการทดลองพบว่า กลุ่มผสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 21 มีขนาดความสูงทรงพุ่มมากที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 18.33 เซนติเมตร และกลุ่มผสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 54 มีขนาดความสูงทรงพุ่มน้อยที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 10.00 เซนติเมตร (ตาราง 20)

พื้นที่ใบ ผลการทดลองพบว่า กลุ่มผสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 9 มีขนาดพื้นที่ใบมากที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 1627.40 ตารางเซนติเมตร และกลุ่มผสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 26 มีขนาดพื้นที่ใบน้อยที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 248.14 ตารางเซนติเมตร (ตาราง 20)

จำนวนกอล ผลการทดลองพบว่า กลุ่มผสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 107, กลุ่มผสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 9, กลุ่มผสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 66 และกลุ่มผสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 17 มีจำนวนกอลมากที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 4 กอต่อต้น และกลุ่มผสมพันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 7, กลุ่มผสมพันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 5, กลุ่มผสมพันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 38, กลุ่มผสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 26 และกลุ่มผสมพันธุ์

ระยะเวลาดอกแรกบาน ผลการทดลองพบว่า คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 13 มีระยะเวลาดอกแรกบานเร็วที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 41 วัน หลังย้ายปลูก และ คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 26, คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 56 มีระยะเวลาดอกแรกบานช้าที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 116 วัน หลังย้ายปลูก (ตาราง 20)



ตาราง 20 การเจริญเติบโตทางด้านลำต้นและการสืบพันธุ์ของต้นสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1

คุณสมบัติ	ต้น	ความกว้าง ทรงพุ่ม (เซนติเมตร)	ความสูง ทรงพุ่ม (เซนติเมตร)	พื้นที่ใบ (ตาราง เซนติเมตร)	จำนวนกอ (กอต่อต้น)	จำนวน ไหล ต่อต้น	จำนวน ดอก (ดอก ต่อต้น)	จำนวนช่อ ดอก (ช่อ ต่อต้น)	จำนวน ผลผลิต (ผลต่อต้น)	ระยะเวลา
พันธุ์ 329 x พันธุ์ พระราชทาน 80	7	18.40	10.30	466.65	1	9	13	2	11	61
พันธุ์พระราชทาน 70 x พันธุ์พระราชทาน 70	24	18.30	11.58	720.83	2	5	13	2	11	47
พันธุ์ Akihime x พันธุ์ พระราชทาน 80	20	17.30	11.33	503.69	2	15	12	1	10	83
พันธุ์ Akihime x พันธุ์ พระราชทาน 80	127	19.80	12.33	571.34	2	5	14	1	13	81
พันธุ์พระราชทาน 72 x พันธุ์พระราชทาน 50	5	19.30	11.25	710.26	1	4	18	1	14	47
พันธุ์พระราชทาน 72 x พันธุ์พระราชทาน 80	38	18.90	12.60	431.09	1	3	13	2	11	70
พันธุ์พระราชทาน 80 x พันธุ์พระราชทาน 80	4	18.40	12.17	695.84	2	0	14	1	12	106
พันธุ์ Akihime x พันธุ์ พระราชทาน 80	107	17.80	10.83	587.21	4	2	22	1	15	72

คุณสมบัติ	ต้น	ความกว้าง ทรงพุ่ม (เซนติเมตร)	ความสูง ทรงพุ่ม (เซนติเมตร)	พื้นที่ใบ (ตาราง เซนติเมตร)	จำนวนกอ (กอต่อต้น)	จำนวน ไหล ต่อต้น)	จำนวน ดอก (ดอก ต่อต้น)	จำนวนช่อ ดอก (ช่อ ต่อต้น)	จำนวน ผลผลิต (ผลต่อต้น)	ระยะเวลา ดอกแรก บาน (วัน)
พันธุ์พระราชทาน 70 x 72	10	23.80	17.17	1384.18	2	5	15	2	10	71
พันธุ์พระราชทาน 70 x 80	26	12.70	12.75	248.14	1	5	14	1	12	116
พันธุ์พระราชทาน 72 x 70	20	22.80	14.10	894.46	1	5	13	1	10	89
พันธุ์พระราชทาน 80 x 50	56	21.40	11.20	1539.11	5	8	14	1	10	116
พันธุ์พระราชทาน 80 x 70	54	15.50	10.00	365.78	1	1	16	1	13	83
พันธุ์ Akihime	3	29.50	18.38	1094.16	3	3	17	2	13	51
พันธุ์พระราชทาน 72 x 80	44	19.80	10.80	839.45	1	6	13	2	11	77
พันธุ์พระราชทาน 72 x 80	10	20.00	11.75	508.99	1	9	23	1	15	96
พันธุ์พระราชทาน 80 x 50	9	21.20	18.25	1627.40	4	5	14	3	12	76

คุณสมบัติ	ต้น	ความกว้าง ทรงพุ่ม (เซนติเมตร)	ความสูง ทรงพุ่ม (เซนติเมตร)	พื้นที่ใบ (ตาราง เซนติเมตร)	จำนวนกอ (กอดอกต้น)	จำนวน ไหล ต่อต้น)	จำนวน ดอก (ดอก ต่อต้น)	จำนวนช่อ ดอก (ช่อ ต่อต้น)	จำนวน ผลผลิต (ผลต่อต้น)	ระยะเวลา ดอกแรก บาน (วัน)
พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 70	10	18.30	11.67	936.36	2	4	21	2	16	61
พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 70	1	20.70	13.67	957.46	2	8	32	1	18	59
พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50	33	18.30	12.83	635.51	3	0	40	1	19	44
พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์ 329	2	21.60	17.20	1296.21	3	1	14	2	10	55
พันธุ์ Akhime × พันธุ์พระราชทาน 80	66	16.80	13.75	918.76	4	16	23	2	20	84
พันธุ์ Akhime × พันธุ์พระราชทาน 80	5	21.8	13.67	738.36	3	0	39	2	17	48
พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 70	17	20.70	12.17	497.66	1	4	19	1	11	73
พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80	4	21.90	16.24	1052.4	2	2	28	1	13	70
พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80	12	21.70	14.33	903.65	2	4	22	2	14	58

คุณสมบัติ	ต้น	ความกว้าง ทรงพุ่ม (เซนติเมตร)	ความสูง ทรงพุ่ม (เซนติเมตร)	พื้นที่ใบ (ตาราง เซนติเมตร)	จำนวนกอ (กอต่อต้น)	จำนวน ไหล ต่อต้น)	จำนวน ดอก (ดอก ต่อต้น)	จำนวนช่อ ดอก (ช่อ ต่อต้น)	จำนวน ผลผลิต (ผลต่อต้น)	ระยะเวลา ดอกแรก บาน (วัน)
พันธุ์ 329 x พันธุ์ พระราชทาน 50	24	18.33	12.67	559.47	1	5	14	1	13	102
พันธุ์พระราชทาน 80 x พันธุ์พระราชทาน 50	13	18.70	14.17	806.62	3	0	42	2	18	41
พันธุ์พระราชทาน 70 x พันธุ์ 329	19	14.70	10.25	411.65	1	3	15	1	10	87
พันธุ์ Akihime x พันธุ์ พระราชทาน 80	17	22.20	13.00	609.65	4	6	18	2	14	68
พันธุ์พระราชทาน 80 x พันธุ์พระราชทาน 50	21	26.00	18.33	947.95	2	6	23	2	15	75
พันธุ์พระราชทาน 70 x พันธุ์พระราชทาน 80	25	17.80	15.50	650.32	2	3	14	2	12	72
พันธุ์พระราชทาน 72 x พันธุ์พระราชทาน 50	26	19.00	10.33	725.23	3	4	20	2	15	62
พันธุ์พระราชทาน 72 x พันธุ์พระราชทาน 80	6	19.20	12.50	747.75	2	1	47	2	19	47
พันธุ์ 329 x พันธุ์ พระราชทาน 80	6	17.70	10.67	642.51	2	2	14	1	10	112

คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของต้นสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1

จากต้นสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 ที่มีศักยภาพในการผลิตสารแอนโทไซยานินจำนวน 35 ต้น ผลการทดลองพบว่า ความกว้างผลของสตรอว์เบอร์รีลูกผสมพันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 4 มีความกว้างผลมากที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 3.60 เซนติเมตร และคู่ผสมพันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 7 มีความกว้างผลเฉลี่ยน้อยที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 2.00 เซนติเมตร นอกจากนี้ยังพบว่า ความกว้างผลสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 นั้น ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความกว้างผลสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์พ่อแม่ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 21)

ความยาวผล

ผลการทดลองพบว่า คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์ 329 ต้นที่ 2 มีความยาวผลมากที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 6.13 เซนติเมตร และคู่ผสมพันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 7 มีความยาวผลน้อยที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 2.20 เซนติเมตร นอกจากนี้ยังพบว่า ความยาวผลสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 นั้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความยาวผลสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์พ่อแม่ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 21)

น้ำหนักผล

ผลการทดลองพบว่า พันธุ์พระราชทาน 50 มีน้ำหนักผลมากที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 20.02 กรัม และคู่ผสมพันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 7 มีน้ำหนักผลน้อยที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 13.23 กรัม นอกจากนี้ยังพบว่า น้ำหนักผลสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 นั้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับน้ำหนักผลสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์พ่อแม่ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 21)

ความแน่นเนื้อ

ผลการทดลองพบว่า คู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 24 มีความแน่นเนื้อผลมากที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 7.06 นิวตัน และพันธุ์พระราชทาน 50 มีความแน่นเนื้อผลน้อยที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 1.20 กรัม นอกจากนี้ยังพบว่า ความแน่นเนื้อผลสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 นั้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความแน่นเนื้อผลสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์พ่อแม่ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 21)

อัตราส่วนระหว่างปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ต่อปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ (TSS/TA)

ผลการทดลองพบว่า คู่ผสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 5 มีอัตราส่วนระหว่างปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ต่อปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้มากที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 21.30 และพันธุ์พระราชทาน 70 มีอัตราส่วนระหว่างปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ต่อปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้น้อยที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 5.36 นอกจากนี้ยังพบว่า อัตราส่วนระหว่างปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ต่อปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ของสตรอว์เบอร์รีลูกผสม

F1 นั้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับอัตราส่วนระหว่างปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ ต่อปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ของผลสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์พ่อแม่ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 21)

วิตามินซี

ผลการทดลองพบว่า คู่ผสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 66 มีปริมาณวิตามินซีมากที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 399.44 mg/kg FW และพันธุ์พระราชทาน 50 มีปริมาณวิตามินซีน้อยที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 113.85 mg/kg FW นอกจากนี้ยังพบว่า ปริมาณวิตามินซีของผลสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 นั้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับปริมาณวิตามินซีของผลสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์พ่อแม่ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 21)

pH

ผลการทดลองพบว่า คู่ผสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 66 มีค่า pH มากที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 3.83 และพันธุ์ Akihime มีค่า pH น้อยที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 3.16 นอกจากนี้ยังพบว่า ค่า pH ของผลสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 นั้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับค่า pH ของผลสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์พ่อแม่ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 21)

ค่าความสว่าง (L*) (สีผลสตรอว์เบอร์รี)

การเปลี่ยนแปลงค่าสีของผลสตรอว์เบอร์รี แสดงโดยค่า L* ซึ่งหมายถึง ค่าความสว่างมีค่าเป็น 0 จะแสดงถึงสีดำและค่าความสว่างมีค่าเป็น 100 จะแสดงถึงสีขาว ผลการทดลองพบว่า การเปลี่ยนแปลงค่าสีผิวของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ Akihime มีค่าความสว่าง (L*) มากที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 39.20 และคู่ผสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 66 มีค่าความสว่าง (L*) น้อยที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 28.38 นอกจากนี้ยังพบว่า ค่าความสว่าง (L*) บริเวณสีผิวของผลสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 นั้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับค่าความสว่าง (L*) บริเวณสีผิวของผลสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์พ่อแม่ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 22)

ค่าสีแดง-เขียว (a*)

การเปลี่ยนแปลงค่าสีของผลสตรอว์เบอร์รี แสดงโดยค่า a* หมายถึง เมื่อ a มีค่าเป็นบวก จะแสดงถึงสีแดง เมื่อ a* มีค่าเป็นลบจะแสดงถึงสีเขียว และค่า a* มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง -60 ถึง +60 ผลการทดลองพบว่า การเปลี่ยนแปลงค่าสีผิวของสตรอว์เบอร์รีคู่ผสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 66 มีค่าสีแดงมากที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 43.15 และพันธุ์พระราชทาน 70 มีค่าสีแดงน้อยที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 28.07 นอกจากนี้ยังพบว่า ค่าสีแดงบริเวณสีผิวของผลสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 นั้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับค่าสีแดงบริเวณสีผิวของผลสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์พ่อแม่ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 22)

ค่าสีเหลือง-น้ำเงิน (b^*)

การเปลี่ยนแปลงค่าสีของผลสตรอว์เบอร์รี แสดงโดยค่า b^* หมายถึง เมื่อ b^* มีค่าเป็นบวก จะแสดงถึงสีเหลือง เมื่อ b^* มีค่าเป็นลบจะแสดงถึงสีน้ำเงิน และค่า b^* มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง -60 ถึง +60 ผลการทดลองพบว่า การเปลี่ยนแปลงค่าสีผิวของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 72 มีค่าสีเหลืองมากที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 29.39 และคู่ผสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 66 มีค่าสีเหลืองน้อยที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 13.11 นอกจากนี้ยังพบว่า ค่าสีเหลืองบริเวณสีผิวของผลสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 นั้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับค่าสีเหลืองบริเวณสีผิวของผลสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์พ่อแม่ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 22)

ค่ามุม Hue angle (H°)

เป็นค่าที่แสดงสีที่แท้จริงของวัตถุ มีค่าอยู่ระหว่าง 0-360 ถ้าค่า H° มีค่าเท่ากับ 0 องศา สีของวัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีแดง มีค่าเข้าใกล้มุม 90 องศา สีของวัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีเหลือง มีค่าเข้าใกล้ 180 องศา สีของวัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีเขียว มีค่าเข้าใกล้ 270 องศา สีของวัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีน้ำเงินและ มีค่าเข้าใกล้ 360 องศา สีของวัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีม่วง ผลการทดลองพบว่า การเปลี่ยนแปลงค่าสีผิวของสตรอว์เบอร์รีคู่ผสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 66 มีค่าสีแดงมากที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 23.76 และพันธุ์พระราชทาน 72 มีค่าสีเดงน้อยที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 35.30 นอกจากนี้ยังพบว่า ค่าสีแดงบริเวณสีผิวของผลสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 นั้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับค่าสีแดงบริเวณสีผิวของผลสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์พ่อแม่ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 22)

ค่าความสว่าง (L^*) (สีเนื้อสตรอว์เบอร์รี)

การเปลี่ยนแปลงค่าสีของผลสตรอว์เบอร์รี แสดงโดยค่า L^* ซึ่งหมายถึง ค่าความสว่างมีค่าเป็น 0 จะแสดงถึงสีดำและค่าความสว่างมีค่าเป็น 100 จะแสดงถึงสีขาว ผลการทดลองพบว่า การเปลี่ยนแปลงค่าสีเนื้อของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ Akihime มีค่าความสว่าง (L^*) มากที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 72.20 และ คู่ผสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 66 มีค่าความสว่าง (L^*) น้อยที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 53.21 นอกจากนี้ยังพบว่า ค่าความสว่าง (L^*) บริเวณสีเนื้อของผลสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 นั้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับค่าความสว่าง (L^*) บริเวณสีเนื้อของผลสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์พ่อแม่ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 23)

ค่าสีแดง-เขียว (a^*)

การเปลี่ยนแปลงค่าสีของผลสตรอว์เบอร์รี แสดงโดยค่า a^* หมายถึง เมื่อ a^* มีค่าเป็นบวก จะแสดงถึงสีแดง เมื่อ a^* มีค่าเป็นลบจะแสดงถึงสีเขียว และค่า a^* มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง -60 ถึง +60 ผลการทดลองพบว่า การเปลี่ยนแปลงค่าสีเนื้อของสตรอว์เบอร์รีคู่ผสมพันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 20 มีค่าสีแดงมากที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 41.97 และพันธุ์พระราชทาน 50 มีค่าสีแดงน้อยที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 30.33 นอกจากนี้ยังพบว่า ค่าสีแดงบริเวณสีเนื้อของผลสตรอว์เบอร์รี

ลูกผสม F1 นั้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับค่าสีแดงบริเวณสีเนื้อของผลสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์พ่อแม่ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 23)

ค่าสีเหลือง-น้ำเงิน (b^*)

การเปลี่ยนแปลงค่าสีของผลสตรอว์เบอร์รี แสดงโดยค่า b^* หมายถึง เมื่อ b^* มีค่าเป็นบวก จะแสดงถึงสีเหลือง เมื่อ b^* มีค่าเป็นลบจะแสดงถึงสีน้ำเงิน และค่า b^* มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง -60 ถึง +60 ผลการทดลองพบว่า การเปลี่ยนแปลงค่าสีเนื้อของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ 329 มีค่าสีเหลืองมากที่สุด เฉลี่ยเท่ากับ 27.40 และคู่ผสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 66 มีค่าสีเหลืองน้อยที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 15.87 นอกจากนี้ยังพบว่า ค่าสีเหลืองบริเวณสีเนื้อของผลสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 นั้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับค่าสีเหลืองบริเวณสีเนื้อของผลสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์พ่อแม่ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 23)

ค่ามุม Hue angle (H°)

เป็นค่าที่แสดงสีที่แท้จริงของวัตถุ มีค่าอยู่ระหว่าง 0-360 ถ้าค่า H° มีค่าเท่ากับ 0 องศา สีของวัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีแดง มีค่าเข้าใกล้มุม 90 องศา สีของวัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีเหลือง มีค่าเข้าใกล้ 180 องศา สีของวัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีเขียว มีค่าเข้าใกล้ 270 องศา สีของวัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีน้ำเงิน และมีค่าเข้าใกล้ 360 องศา สีของวัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีม่วง ผลการทดลองพบว่า การเปลี่ยนแปลงค่าสีเนื้อของสตรอว์เบอร์รีคู่ผสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 66 มีค่าสีแดงมากที่สุด เฉลี่ยเท่ากับ 33.98 และพันธุ์ Akihime มีค่าสีแดงน้อยที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 58.57 นอกจากนี้ยังพบว่า ค่าสีแดงบริเวณสีเนื้อของผลสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 นั้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับค่าสีเนื้อของผลสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์พ่อแม่ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 23)

ค่า Cyanidin-3-glucoside

ผลการทดลองพบว่า คู่ผสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 66 มีปริมาณ Cyanidin-3-glucoside มากที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 29.90 mg/kg FW และพันธุ์พระราชทาน 80 มีปริมาณ Cyanidin-3-glucoside น้อยที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 5.08 mg/kg FW นอกจากนี้ยังพบว่า ค่า Cyanidin-3-glucoside ของผลสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 นั้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับค่า Cyanidin-3-glucoside ของผลสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์พ่อแม่ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 24)

ค่า Pelargonidin-3-glucoside

ผลการทดลองพบว่า คู่ผสมพันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 66 มีปริมาณ Pelargonidin-3-glucoside มากที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 554.89 mg/kg FW และพันธุ์ Akihime มีปริมาณ Pelargonidin-3-glucoside น้อยที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 98.10 mg/kg FW นอกจากนี้ยังพบว่า ค่า Pelargonidin-3-glucoside ของผลสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 นั้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับค่า Pelargonidin-3-glucoside ของผลสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์พ่อแม่ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 24)

ตาราง 21 คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์พ่อแม่และสายพันธุ์ลูกผสม F1

สายพันธุ์	ต้น	ความกว้าง ผล (เซนติเมตร)	ความยาวผล (เซนติเมตร)	น้ำหนักผล (กรัม)	ความแน่นเนื้อ (นิวตัน)	อัตราส่วน ระหว่าง TSS/TA	วิตามินซี (mg/kg FW)	พีเอช
พ่อแม่								
พันธุ์พระราชทาน 50	-	3.03±0.22a	5.53±0.24ab	20.02±0.13a	1.20±0.24j	6.38±0.46ij	113.85±0.36v	3.34±0.23u
พันธุ์พระราชทาน 70	-	2.60±0.34a	3.32±0.15cde	13.79±0.21de	1.92±0.17ij	5.36±0.51j	146.58±0.09t	3.42±0.51s
พันธุ์พระราชทาน 72	-	2.38±0.12a	3.13±0.33cde	13.30±0.04de	3.18±0.26fghi	10.52±0.48h	138.38±0.25tu	3.30±0.62v
พันธุ์พระราชทาน 80	-	2.71±0.35a	3.47±0.42cde	14.24±0.45de	3.06±0.32ghi	9.35±0.22h	160.06±0.37s	3.22±0.11w
พันธุ์ 329	-	2.88±0.07a	3.97±0.21bcde	15.33±0.31cd	3.43±0.42efghi	7.57±0.36i	144.61±0.44t	3.40±0.53t
พันธุ์ Akihime	-	2.70±0.17a	4.37±0.34abcd	14.12±0.46de	2.64±0.15hij	12.20±0.41g	130.53±0.51u	3.16±0.44x
ลูกผสม								
พันธุ์ 329 × พันธุ์ พระราชทาน 80	7	2.00±0.45a	2.20±0.35e	13.23±0.21e	4.22±0.15bcdefgh	14.91±0.17def	205.75±0.09f	3.52±0.34lmn
พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 70	24	2.60±0.22a	4.00±0.31bcde	13.40±0.26de	7.06±0.22a	13.34±0.34fg	166.23±0.31qrs	3.61±0.26i
พันธุ์ Akihime × พันธุ์ พระราชทาน 80	20	2.50±0.18a	3.20±0.22cde	13.45±0.45de	3.63±0.51defghi	18.99±0.22b	189.80±0.19ijkl	3.47±0.25pq
พันธุ์ Akihime × พันธุ์ พระราชทาน 80	127	2.60±0.24a	2.50±0.08de	14.10±0.11de	4.99±0.35bcdefg	16.59±0.13cd	193.61±0.27ghijk	3.58±0.39j

สายพันธุ์	ต้น	ความกว้าง ผล (เซนติเมตร)	ความยาวผล (เซนติเมตร)	น้ำหนักผล (กรัม)	ความแน่นเนื้อ (นิวตัน)	อัตราส่วน ระหว่าง TSS/TA	วิตามินซี (mg/kg FW)	พีเอช
พันธุ์พระราชทาน 72 x พันธุ์พระราชทาน 50	5	3.20±0.33a	4.67±0.37abc	16.33±0.21bc	4.12±0.25bcdefgh	14.73±0.16def	165.94±0.22qrs	3.45±0.14qr
พันธุ์พระราชทาน 72 x พันธุ์พระราชทาน 80	38	2.27±0.41a	2.67±0.11cde	13.67±0.23de	3.85±0.27bcdefgh	14.04±0.21efg	185.56±0.29klmn	3.53±0.22lm
พันธุ์พระราชทาน 80 x พันธุ์พระราชทาน 80	4	2.25±0.27a	3.00±0.31cde	13.50±0.29de	5.29±0.41abcde	13.75±0.52efg	173.68±0.54opqr	3.55±0.15kl
พันธุ์ Akihime x พันธุ์พระราชทาน 80	107	2.50±0.22a	2.90±0.31cde	13.45±0.26de	5.37±0.57abcde	13.30±0.41fg	174.83±0.33nopq	3.44±0.11rs
พันธุ์พระราชทาน 70 x พันธุ์พระราชทาน 72	10	3.00±0.26a	4.17±0.15bcde	17.33±0.27b	5.85±0.35ab	13.42±0.16efg	163.02±0.07rs	3.53±0.26lm
พันธุ์พระราชทาน 70 x พันธุ์พระราชทาน 80	26	2.55±0.25a	3.10±0.29cde	13.62±0.32de	5.54±0.24abcd	13.67±0.57efg	165.05±0.23pqrs	3.58±0.42j
พันธุ์พระราชทาน 72 x พันธุ์พระราชทาน 70	20	3.00±0.14a	3.90±0.26bcde	13.49±0.23de	4.85±0.15bcdefg	14.71±0.27def	179.27±0.34lmnop	3.79±0.36bc
พันธุ์พระราชทาน 80 x พันธุ์พระราชทาน 50	56	2.93±0.35a	3.33±0.11cde	13.33±0.05de	5.16±0.10abcdef	13.34±0.21fg	236.20±0.40e	3.71±0.31fg
พันธุ์พระราชทาน 80 x พันธุ์พระราชทาน 50	54	2.63±0.41a	3.17±0.32cde	14.21±0.40de	4.90±0.33bcdefg	13.86±0.25efg	180.36±0.35lmnop	3.62±0.27i

สายพันธุ์	ต้น	ความกว้าง ผล (เซนติเมตร)	ความยาวผล (เซนติเมตร)	น้ำหนักผล (กรัม)	ความแน่นเนื้อ (นิวตัน)	อัตราส่วน ระหว่าง TSS/TA	วิตามินซี (mg/kg FW)	พีเอช
พันธุ์พระราชทาน 70 x พันธุ์ Akihime	3	3.03±0.12a	3.63±0.35bcde	14.00±0.28de	4.02±0.46bcdefgh	17.97±0.27bc	179.71±0.11lmnop	3.61±0.22i
พันธุ์พระราชทาน 72 x พันธุ์พระราชทาน 80	44	2.53±0.34a	2.80±0.30cde	14.12±0.09de	4.57±0.15bcdefgh	14.67±0.26def	266.84±0.34c	3.49±0.25op
พันธุ์พระราชทาน 72 x พันธุ์พระราชทาน 80	10	2.10±0.29a	3.20±0.17cde	13.89±0.41de	4.70±0.35bcdefg	15.43±0.16de	397.55±0.33a	3.75±0.30de
พันธุ์พระราชทาน 80 x พันธุ์พระราชทาน 50	9	2.30±0.27a	4.10±0.19bcde	14.07±0.28de	4.90±0.20bcdefg	14.88±0.15def	185.63±0.38klmno	3.75±0.35de
พันธุ์พระราชทาน 80 x พันธุ์พระราชทาน 70	10	2.11±0.12a	3.25±0.27cde	13.96±0.31de	4.71±0.30bcdefg	15.43±0.07de	201.92±0.22fgh	3.52±0.09mn
พันธุ์พระราชทาน 72 x พันธุ์พระราชทาน 70	1	2.93±0.18a	4.10±0.27bcde	14.89±0.06cde	3.98±0.11bcdefgh	13.59±0.28efg	193.55±0.39ghijkl	3.53±0.15lm
พันธุ์พระราชทาน 80 x พันธุ์พระราชทาน 50	33	2.75±0.45a	3.20±0.30cde	13.95±0.09de	3.64±0.21defghi	15.14±0.33def	198.30±0.31fghi	3.75±0.10de
พันธุ์พระราชทาน 50 x พันธุ์ 329	2	2.33±0.37a	6.13±0.28a	14.00±0.41de	4.97±0.33bcdefg	13.91±0.36efg	186.88±0.29jklm	3.77±0.08cd
พันธุ์ Akihime x พันธุ์พระราชทาน 80	66	3.12±0.10a	3.50±0.21cde	17.83±0.07b	4.26±0.14bcdefgh	19.18±0.22b	399.44±0.04a	3.83±0.13a

สายพันธุ์	ต้น	ความกว้าง ผล (เซนติเมตร)	ความยาวผล (เซนติเมตร)	น้ำหนักผล (กรัม)	ความแน่นเนื้อ (นิวตัน)	อัตราส่วน ระหว่าง TSS/TA	วิตามินซี (mg/kg FW)	พีเอช
พันธุ์ Akhime x พันธุ์ พระราชทาน 80	5	2.37±0.27a	3.37±0.31cde	13.88±0.11de	3.79±0.10cdefghi	21.30±0.16a	196.42±0.21fghij	3.77±0.23cd
พันธุ์พระราชทาน 50 x พันธุ์พระราชทาน 70	17	3.10±0.25a	3.80±0.17bcde	14.25±0.22de	4.80±0.08bcdefg	13.27±0.13fg	194.80±0.29fghijk	3.50±0.30no
พันธุ์ 329 x พันธุ์ พระราชทาน 80	4	3.60±0.40a	3.10±0.22cde	16.33±0.43bc	5.75±0.13abc	13.56±0.21efg	226.52±0.14e	3.81±0.33ab
พันธุ์พระราชทาน 70 x พันธุ์พระราชทาน 80	12	3.30±0.17a	2.80±0.26cde	13.38±0.23de	4.41±0.18bcdefgh	13.49±0.11efg	184.12±0.27klmno	3.72±0.32f
พันธุ์ 329 x พันธุ์ พระราชทาน 50	24	2.70±0.19a	4.13±0.40bcde	13.97±0.41de	5.78±0.15abc	14.84±0.20def	202.47±0.16fgh	3.82±0.12a
พันธุ์พระราชทาน 80 x พันธุ์พระราชทาน 50	13	2.77±0.25a	3.63±0.21bcde	13.68±0.17de	4.48±0.05bcdefgh	14.24±0.10ef	176.36±0.22mnopq	3.54±0.14lm
พันธุ์พระราชทาน 70 x พันธุ์ 329	19	3.55±0.07a	3.28±0.12cde	14.05±0.34de	5.59±0.31abcd	13.86±0.30efg	192.76±0.21hijk	3.57±0.22jk
พันธุ์ Akhime x พันธุ์ พระราชทาน 80	17	3.40±0.13a	3.70±0.06bcde	18.00±0.15b	5.24±0.29abcde	13.23±0.22fg	359.27±0.32b	3.66±0.27h
พันธุ์พระราชทาน 80 x พันธุ์พระราชทาน 50	21	2.20±0.24a	2.77±0.41cde	13.53±0.27de	5.26±0.34abcde	14.45±0.28ef	204.47±0.30fg	3.58±0.15j

สายพันธุ์	ต้น	ความกว้าง ผล (เซนติเมตร)	ความยาวผล (เซนติเมตร)	น้ำหนักผล (กรัม)	ความแน่นเนื้อ (นิวตัน)	อัตราส่วน ระหว่าง TSS/TA	วิตามินซี (mg/kg FW)	พีเอช
พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80	25	3.00±0.26a	3.15±0.19cde	13.50±0.20de	5.78±0.42abc	14.97±0.40def	179.97±0.28lmnop	3.62±0.11i
พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 50	26	2.93±0.36a	4.27±0.38bcd	13.67±0.26de	4.15±0.29bcdefgh	14.78±0.21def	179.15±0.19lmnop	3.73±0.26ef
พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80	6	2.53±0.18a	3.60±0.09bcde	14.08±0.03de	5.55±0.10abcd	14.42±0.20ef	263.49±0.11c	3.62±0.05i
พันธุ์ 329 × พันธุ์ พระราชทาน 80	6	2.70±0.21a	2.67±0.06cde	14.33±0.12de	5.68±0.23abc	14.05±0.17efg	250.31±0.25d	3.69±0.41g

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตาราง 22 สีผิวผลของสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์พ่อแม่และสายพันธุ์ลูกผสม F1

พ่อแม่/คู่ผสม	สีผิว				
	ต้น	L*	a*	b*	Hue angle (°)
พ่อแม่					
พันธุ์พระราชทาน 50	-	31.93±0.22cd	38.80±0.32jkl	18.92±0.24c	26.20±0.29d
พันธุ์พระราชทาน 70	-	32.07±0.35c	28.07±0.31n	15.70±0.40d	28.33±0.37c
พันธุ์พระราชทาน 72	-	35.57±0.45b	38.13±0.51kl	29.39±0.60a	35.30±0.48a
พันธุ์พระราชทาน 80	-	30.87±0.30cdef	39.63±0.27jkl	15.40±0.21de	25.77±0.30de
พันธุ์ 329	-	31.50±0.46cde	31.30±0.50m	15.79±0.41d	26.17±0.43d
พันธุ์ Akihime	-	39.20±0.52a	36.93±0.42l	24.93±0.38b	33.60±0.22b
คู่ผสม					
พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80	7	30.65±0.27cdef	41.24±0.12abcdefgh	14.58±0.23def	24.85±0.22de
พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 70	24	30.40±0.21cdefg	42.36±0.34abcde	14.98±0.16def	25.01±0.24de
พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80	20	30.12±0.31cdefg	41.25±0.28abcdefgh	15.09±0.19def	25.64±0.25de
พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80	127	29.88±0.37efg	40.35±0.26efghij	15.02±0.12def	25.27±0.09de
พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 50	5	30.19±0.30cdefg	42.56±0.21abcd	14.37±0.20def	24.68±0.17de
พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80	38	30.09±0.40cdefg	41.85±0.37abcdefg	15.05±0.31def	25.43±0.38de
พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 80	4	30.57±0.27cdef	42.12±0.56abcde	14.29±0.41def	24.90±0.39de
พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80	107	29.15±0.25fg	39.89±0.17ghijk	14.93±0.26def	25.22±0.22de
พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 72	10	29.49±0.18efg	40.37±0.10efghij	14.86±0.04def	25.05±0.13de

พอมเม/ตุผลม		สีผิว			
ต้น		L*	a*	b*	Hue angle (°)
พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80	26	30.18±0.24cdefg	42.95±0.29ab	15.08±0.31def	25.26±0.18de
พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 70	20	30.26±0.09cdefg	41.17±0.18abcdefgh	13.26±0.21f	23.88±0.23e
พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50	56	29.89±0.27efg	41.38±0.21abcdefgh	13.99±0.20def	25.13±0.19de
พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50	54	30.55±0.06cdef	40.82±0.12cdefgh	15.01±0.40def	24.66±0.38de
พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์ Ahihime	3	29.39±0.42fg	40.09±0.51fghij	14.78±0.39def	25.53±0.20de
พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80	44	30.12±0.39cdefg	39.92±0.30ghijk	14.77±0.42def	25.21±0.45de
พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80	10	30.82±0.47cdef	39.78±0.52hijk	13.98±0.46def	25.71±0.39de
พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50	9	29.54±0.41efg	41.76±0.31abcdefgh	14.39±0.27def	25.22±0.20de
พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 70	10	30.13±0.20cdefg	40.36±0.31efghij	14.54±0.28def	25.24±0.22de
พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 70	1	30.27±0.26cdefg	41.94±0.34abcdef	14.89±0.19def	24.83±0.29de
พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50	33	29.48±0.36efg	41.82±0.11abcdefg	14.56±0.27def	24.28±0.25de
พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์ 329	2	30.26±0.22cdefg	42.73±0.16abc	13.38±0.12ef	25.65±0.06de
พันธุ์ Ahihime × พันธุ์พระราชทาน 80	66	28.38±0.25g	43.15±0.13a	13.11±0.08f	23.76±0.14e
พันธุ์ Ahihime × พันธุ์พระราชทาน 80	5	29.87±0.16efg	42.18±0.21abcde	14.29±0.26def	24.90±0.25de
พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 70	17	30.46±0.45cdef	41.22±0.37abcdefgh	14.82±0.41def	24.21±0.03de
พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80	4	30.20±0.14cdefg	42.25±0.35abcde	15.01±0.27def	25.27±0.29de
พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80	12	30.11±0.26cdefg	43.13±0.07a	13.99±0.36def	24.93±0.45de
พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 50	24	29.97±0.41efg	40.11±0.35fghij	14.67±0.11def	24.87±0.26de
พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50	13	30.30±0.35cdefg	41.26±0.26abcdefgh	14.82±0.28def	25.61±0.31de
พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์ 329	19	30.79±0.25cdef	43.12±0.28a	14.76±0.11def	25.13±0.34de

พอลิเมอ/ตุผลสม	ต้น	สีผิว			
		L*	a*	b*	Hue angle (°)
พินธุ์ Akihime x พินธุ์พระราชทาน 80	17	30.55±0.09cdef	42.74±0.14abc	14.04±0.20def	25.06±0.21de
พินธุ์พระราชทาน 80 x พินธุ์พระราชทาน 50	21	29.88±0.11efg	41.36±0.22abcdefgh	14.27±0.25def	24.98±0.27de
พินธุ์พระราชทาน 70 x พินธุ์พระราชทาน 80	25	30.12±0.14cdefg	42.44±0.07abcd	14.97±0.16def	25.27±0.23de
พินธุ์พระราชทาน 72 x พินธุ์พระราชทาน 50	26	30.56±0.35cdef	41.57±0.42abcdefgh	14.65±0.15def	25.34±0.26de
พินธุ์พระราชทาน 72 x พินธุ์พระราชทาน 80	6	30.29±0.38cdefg	40.95±0.25bcdefgh	15.09±0.14def	24.86±0.37de
พินธุ์ 329 x พินธุ์พระราชทาน 80	6	30.14±0.26cdefg	40.67±0.17defghi	14.90±0.03def	25.67±0.11de

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

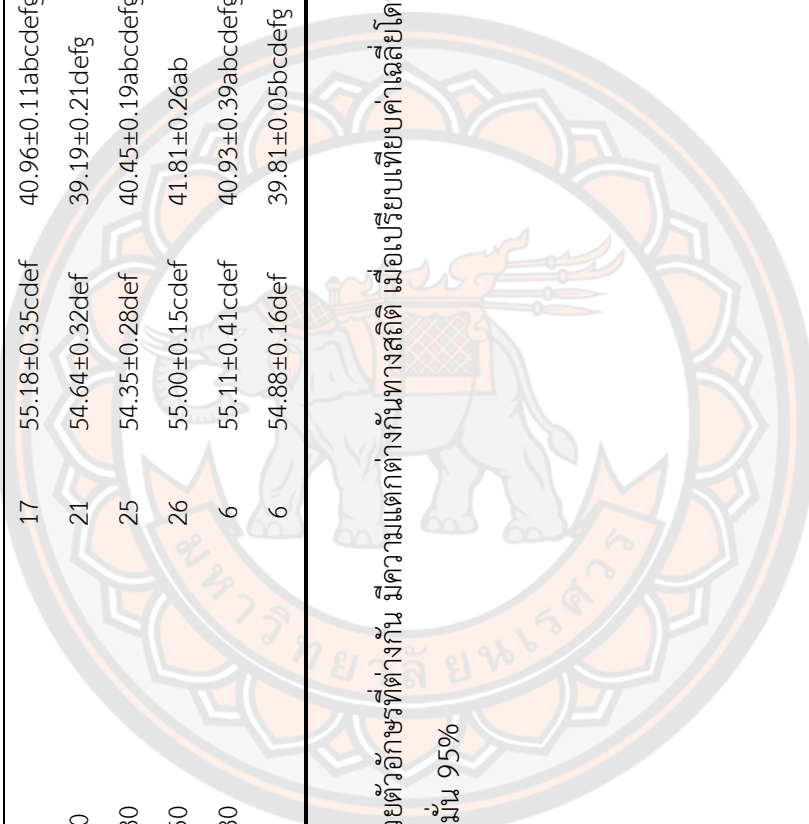
ตาราง 23 สีเนื้อผลของสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์พ่อแม่และสายพันธุ์ลูกผสม F1

	พ่อแม่/คู่ผสม		สีเนื้อ		
	ต้น	L*	a*	b*	Hue angle (°)
พ่อแม่					
พันธุ์พระราชทาน 50	-	56.60±0.45cde	30.33±0.56i	25.13±0.35bc	39.00±0.23b
พันธุ์พระราชทาน 70	-	56.07±0.46cd	36.10±0.27h	23.77±0.32c	36.30±0.38cd
พันธุ์พระราชทาน 72	-	57.93±0.21b	36.22±0.41h	25.90±0.43ab	36.03±0.29cde
พันธุ์พระราชทาน 80	-	55.20±0.32cdef	38.97±0.26g	17.26±0.37de	35.33±0.22cdef
พันธุ์ 329	-	57.00±0.37bc	37.13±0.39h	27.40±0.28a	36.43±0.19c
พันธุ์ Akihime	-	72.20±0.27a	36.95±0.31h	18.83±0.36d	58.57±0.44a
คู่ผสม					
พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80	7	54.98±0.22def	39.12±0.25efg	16.15±0.55e	35.12±0.47cdef
พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 70	24	54.57±0.34def	40.33±0.44abcdefg	17.01±0.37de	34.87±0.59cdef
พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80	20	55.11±0.16cdef	40.56±0.06abcdefg	17.11±0.23de	35.24±0.32cdef
พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80	127	54.98±0.19def	41.21±0.26abcd	16.55±0.45e	34.87±0.11cdef
พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 50	5	55.09±0.28cdef	39.90±0.17bcdefg	16.87±0.51de	35.22±0.25cdef
พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80	38	55.13±0.48cdef	39.04±0.23fg	17.03±0.06de	34.67±0.51cdef
พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 80	4	54.87±0.46def	40.15±0.53abcdefg	17.21±0.52de	34.97±0.41cdef
พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80	107	54.02±0.49ef	41.46±0.56ab	16.43±0.11e	35.24±0.27cdef
พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 72	10	55.09±0.58cdef	40.98±0.28abcdefg	16.98±0.29de	34.64±0.44cdef

ชื่อเนื้อ	สีเนื้อ				
	ต้น	L*	a*	b*	Hue angle (°)
พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80	26	54.78±0.13def	41.57±0.16ab	17.11±0.33de	34.66±0.40cdef
พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 70	20	55.17±0.52cdef	41.97±0.10a	16.90±0.21de	35.25±0.20cdef
พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50	56	54.13±0.37def	39.09±0.25efg	17.16±0.30de	34.33±0.18def
พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50	54	55.12±0.44cdef	41.44±0.23ab	16.99±0.12de	35.27±0.09cdef
พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์ Akihime	3	54.88±0.38def	40.43±0.42abcdefg	17.17±0.16de	34.46±0.55cdef
พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80	44	55.19±0.33cdef	39.08±0.15fg	16.41±0.43e	34.51±0.46cdef
พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80	10	54.49±0.54def	40.36±0.41abcdefg	17.12±0.50de	35.21±0.44cdef
พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50	9	54.86±0.30def	41.01±0.21abcdef	17.00±0.52de	35.03±0.11cdef
พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 70	10	55.11±0.27cdef	40.28±0.36abcdefg	16.80±0.07e	34.71±0.10cdef
พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 70	1	55.14±0.45cdef	39.79±0.51bcdefg	17.09±0.22de	35.25±0.29cdef
พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50	33	54.33±0.32def	39.38±0.27cdefg	16.25±0.13e	34.31±0.28def
พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์ 329	2	55.03±0.43cdef	40.39±0.34abcdefg	17.05±0.37de	35.10±0.29cdef
พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80	66	53.21±0.10f	39.01±0.15fg	15.87±0.21e	33.98±0.03f
พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80	5	54.90±0.23def	40.91±0.31abcdefg	17.22±0.35de	35.11±0.27cdef
พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 70	17	55.19±0.41cdef	39.03±0.27fg	16.27±0.11e	34.16±0.08ef
พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80	4	55.02±0.43cdef	41.11±0.41abcde	16.39±0.38e	35.19±0.29cdef
พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80	12	54.39±0.50def	40.38±0.53abcdefg	16.99±0.41de	35.22±0.13cdef
พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 50	24	55.17±0.51cdef	40.71±0.27abcdefg	17.15±0.36de	34.16±0.33ef
พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50	13	54.84±0.31def	41.28±0.06abc	16.58±0.12e	34.76±0.10cdef
พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์ 329	19	54.38±0.36def	40.14±0.42abcdefg	17.11±0.46de	34.48±0.50cdef

พอลิเมอ/ตุยสม	ต้น	สีเนื้อ			
		L*	a*	b*	Hue angle (°)
พันธุ์ Akihime x พันธุ์พระราชทาน 80	17	55.18±0.35cdef	40.96±0.11abcdefg	16.59±0.24e	34.77±0.38cdef
พันธุ์พระราชทาน 80 x พันธุ์พระราชทาน 50	21	54.64±0.32def	39.19±0.21defg	16.38±0.25e	34.82±0.18cdef
พันธุ์พระราชทาน 70 x พันธุ์พระราชทาน 80	25	54.35±0.28def	40.45±0.19abcdefg	17.00±0.13de	35.29±0.22cdef
พันธุ์พระราชทาน 72 x พันธุ์พระราชทาน 50	26	55.00±0.15cdef	41.81±0.26ab	17.25±0.14de	35.22±0.26cdef
พันธุ์พระราชทาน 72 x พันธุ์พระราชทาน 80	6	55.11±0.41cdef	40.93±0.39abcdefg	16.55±0.27e	34.69±0.33cdef
พันธุ์ 329 x พันธุ์พระราชทาน 80	6	54.88±0.16def	39.81±0.05bcdefg	17.24±0.30de	34.66±0.19cdef

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



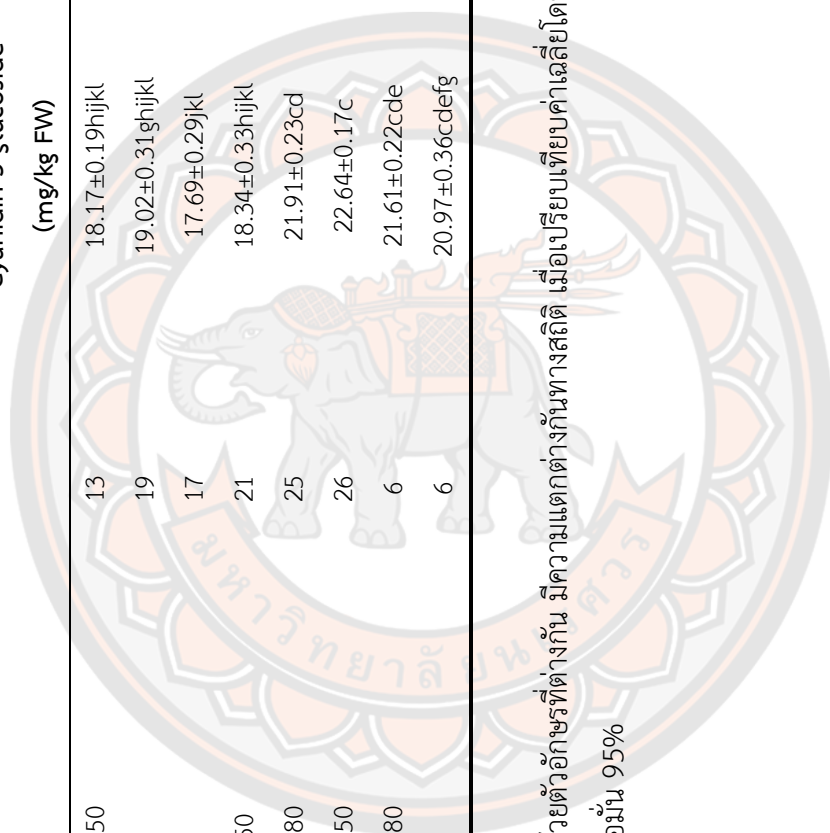
ตาราง 24 ชนิดและปริมาณแอนโทไซยานินของสตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์พ่อแม่และสายพันธุ์ลูกผสม F1

พ่อแม่/คู่ผสม	ต้น	ชนิดแอนโทไซยานิน	
		Cyanidin-3-glucoside (mg/kg FW)	Pelargonidin-3-glucoside (mg/kg FW)
พ่อแม่			
พันธุ์พระราชทาน 50	-	10.89±0.45n	191.18±0.36p
พันธุ์พระราชทาน 70	-	17.38±0.37klm	271.08±0.26no
พันธุ์พระราชทาน 72	-	17.09±0.41lm	137.64±0.55q
พันธุ์พระราชทาน 80	-	5.08±0.43o	101.08±0.28r
พันธุ์ 329	-	15.71±0.26m	254.46±0.31o
พันธุ์ Akihime	-	10.11±0.52n	98.10±0.44r
คู่ผสม			
พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80	7	20.05±0.23defgh	484.26±0.31efghi
พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 70	24	17.67±0.30jkl	475.97±0.27efghi
พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80	20	17.58±0.34jkl	482.13±0.45efghi
พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80	127	19.42±0.36fghij	477.60±0.12efghi
พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 50	5	17.61±0.29jkl	478.63±0.24efghi
พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80	38	20.93±0.19cdefg	486.91±0.26efgh
พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 80	4	20.11±0.34defgh	488.28±0.29efgh
พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80	107	19.22±0.17ghijk	478.57±0.22efghi

พอลิเมอ/สุผสม	ต้น	ชนิดแอนโทไซยานิน	
		Cyanidin-3-glucoside (mg/kg FW)	Pelargonidin-3-glucoside (mg/kg FW)
พินธุ์พระราชทาน 70 × พินธุ์พระราชทาน 72	10	20.62±0.24defg	485.64±0.05efghi
พินธุ์พระราชทาน 70 × พินธุ์พระราชทาน 80	26	17.39±0.11klm	493.49±0.16def
พินธุ์พระราชทาน 72 × พินธุ์พระราชทาน 70	20	24.40±0.23b	532.79±0.07ab
พินธุ์พระราชทาน 80 × พินธุ์พระราชทาน 50	56	18.63±0.13hijkl	520.90±0.25bcd
พินธุ์พระราชทาน 80 × พินธุ์พระราชทาน 50	54	17.88±0.37jkl	542.14±0.41ab
พินธุ์พระราชทาน 70 × พินธุ์ Ahihime	3	19.30±0.50ghijkl	498.92±0.10cde
พินธุ์พระราชทาน 72 × พินธุ์พระราชทาน 80	44	17.40±0.38klm	474.72±0.27efghi
พินธุ์พระราชทาน 72 × พินธุ์พระราชทาน 80	10	21.30±0.33cdef	472.55±0.39efghi
พินธุ์พระราชทาน 80 × พินธุ์พระราชทาน 50	9	18.30±0.04hijkl	492.81±0.13defg
พินธุ์พระราชทาน 80 × พินธุ์พระราชทาน 70	10	19.21±0.27ghijk	464.22±0.35efghi
พินธุ์พระราชทาน 72 × พินธุ์พระราชทาน 70	1	18.03±0.30ijkl	457.81±0.20ghi
พินธุ์พระราชทาน 80 × พินธุ์พระราชทาน 50	33	19.91±0.41efghi	468.22±0.07efghi
พินธุ์พระราชทาน 50 × พินธุ์ 329	2	19.10±0.29ghijk	528.75±0.11abc
พินธุ์ Ahihime × พินธุ์พระราชทาน 80	66	29.90±0.09a	554.89±0.13a
พินธุ์ Ahihime × พินธุ์พระราชทาน 80	5	17.90±0.21jkl	527.75±0.26abc
พินธุ์พระราชทาน 50 × พินธุ์พระราชทาน 70	17	19.88±0.10efghi	479.79±0.29efghi
พินธุ์ 329 × พินธุ์พระราชทาน 80	4	20.03±0.45defgh	453.88±0.23hi
พินธุ์พระราชทาน 70 × พินธุ์พระราชทาน 80	12	19.41±0.28fghij	332.61±0.16l
พินธุ์ 329 × พินธุ์พระราชทาน 50	24	18.45±0.27hijkl	350.19±0.11kl

พ่อแม่/คู่ผสม	ต้น	ชนิดแอนโทไซยานิน	
		Cyanidin-3-glucoside (mg/kg FW)	Pelargonidin-3-glucoside (mg/kg FW)
พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50	13	18.17±0.19hijkl	293.27±0.07mn
พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์ 329	19	19.02±0.31ghijkl	303.43±0.22m
พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80	17	17.69±0.29jkl	365.59±0.17k
พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50	21	18.34±0.33hijkl	284.61±0.31mno
พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80	25	21.91±0.23cd	415.03±0.19j
พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 50	26	22.64±0.17c	451.10±0.25i
พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80	6	21.61±0.22cde	462.45±0.34fghi
พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80	6	20.97±0.36cdefg	470.95±0.15efghi

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

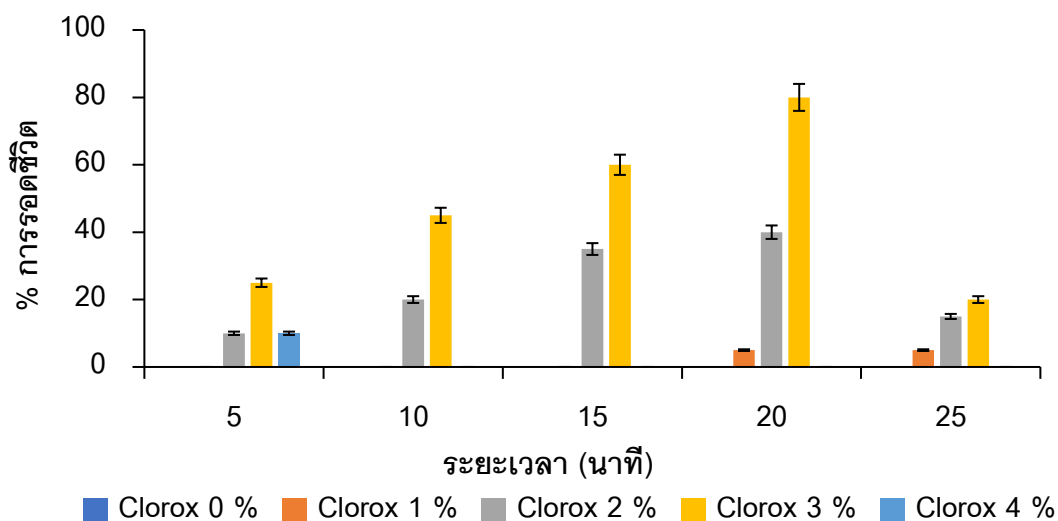


ผลการทดลองที่ 3 ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80

ผลการทดลองที่ 3.1 การฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด (apical meristem) สตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 ด้วยสารละลายคลอโรกซ์ (NaOCl) ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2, 3 และ 4% ที่ระยะเวลา 5, 10, 15, 20 และ 25 นาที

เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด

จากการฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด (apical meristem) ของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 ด้วยสารละลายคลอโรกซ์ (NaOCl) ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2, 3 และ 4% ที่ระยะเวลา 5, 10, 15, 20 และ 25 นาที ผลการทดลองพบว่า สารฟอกฆ่าเชื้อที่ระดับความเข้มข้น 0% ชิ้นส่วนสตรอว์เบอร์รีมีการติดเชื้อของแบคทีเรียทั้งหมดทุกระยะเวลาของการฟอกฆ่าเชื้อ สารฟอกฆ่าเชื้อที่ระดับความเข้มข้น 1% พบว่า มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของชิ้นส่วนเพียง 5% โดยเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตพบมากที่ระยะเวลา 20 และ 25 นาที สารฟอกฆ่าเชื้อที่ระดับความเข้มข้น 2% พบว่า การฟอกฆ่าเชื้อที่ระยะเวลา 5, 10, 15 และ 20 นาที มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของชิ้นส่วนที่สูงขึ้น โดยเริ่มตั้งแต่ 10, 20, 35 และ 40% แต่พบว่าที่ระยะเวลา 25 นาที มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของชิ้นส่วนที่ต่ำลง ซึ่งมีค่าเท่ากับ 15% สารฟอกฆ่าเชื้อที่ระดับความเข้มข้น 3% พบว่า มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของชิ้นส่วนที่สูงกว่าระดับความเข้มข้นอื่น ๆ โดยพบว่าที่ระยะเวลา 5, 10, 15 และ 20 นาที มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงถึง 25, 45, 60 และ 80% แต่ขณะที่ระยะเวลา 25 นาที มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของชิ้นส่วนที่ต่ำลง โดยมีค่าเท่ากับ 20% และสารฟอกฆ่าเชื้อที่ระดับความเข้มข้น 4% พบว่า ที่ระยะเวลาการฟอกฆ่าเชื้อ 5 นาที มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของชิ้นส่วนเพียง 10% และที่ระยะเวลาการฟอกฆ่าเชื้อ 10, 15, 20 และ 25 นาที พบว่า ไม่พบเปอร์เซ็นต์ การรอดชีวิตของชิ้นส่วนจากการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอโรกซ์ (NaOCl) (ภาพ 20)



ภาพ 20 เปอร์เซนต์การรอดชีวิตของเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด (apical meristem) ที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอโรกซ์ (NaOCl) ที่ระดับความเข้มข้น และระยะเวลาที่แตกต่างกัน

ผลการทดลองที่ 3.2 การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสของสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 จากชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด

จากผลของการฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด (apical meristem) ด้วยสารละลายคลอโรกซ์ (NaOCl) ที่ระดับความเข้มข้น 3% ระยะเวลา 20 นาที พบว่า ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด มีเปอร์เซนต์การรอดชีวิตสูงที่สุดถึง 80% ดังนั้น จึงนำชิ้นส่วนดังกล่าวมาเลี้ยงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันดังนี้ สูตรอาหาร A (NAA 0.0 mg/L + BA 0.0 mg/L) (ชุดควบคุม) สูตรอาหาร B (NAA 0.0 mg/L + BA 1.0 mg/L) สูตรอาหาร C (NAA 0.0 mg/L + BA 1.5 mg/L) สูตรอาหาร D (NAA 0.0 mg/L + BA 2.0 mg/L) สูตรอาหาร E (NAA 1.0 mg/L + BA 0.0 mg/L) สูตรอาหาร F (NAA 1.0 mg/L + BA 1.0 mg/L) สูตรอาหาร G (NAA 1.0 mg/L + BA 1.5 mg/L) สูตรอาหาร H (NAA 1.0 mg/L + BA 2.0 mg/L) สูตรอาหาร I (NAA 2.0 mg/L + BA 0.0 mg/L) สูตรอาหาร J (NAA 2.0 mg/L + BA 1.0 mg/L) สูตรอาหาร K (NAA 2.0 mg/L + BA 1.5 mg/L) และ สูตรอาหาร L (NAA 2.0 mg/L + BA 2.0 mg/L) จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25-27 °C ความเข้มแสงที่ 2,500 ลักซ์ ในสภาพที่มีแสงสว่าง 16 ชั่วโมง และสภาพมืด 8 ชั่วโมง โดยจะทำการเปลี่ยนอาหารทุก ๆ 3 สัปดาห์ พบว่าเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด มีการเจริญเป็นแคลลัส (callus) โดยมีขนาดความกว้าง ความยาว และ

อัตราการเจริญเติบโต ซึ่งในแต่ละกรรมวิธีมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ความกว้างแคลลัส

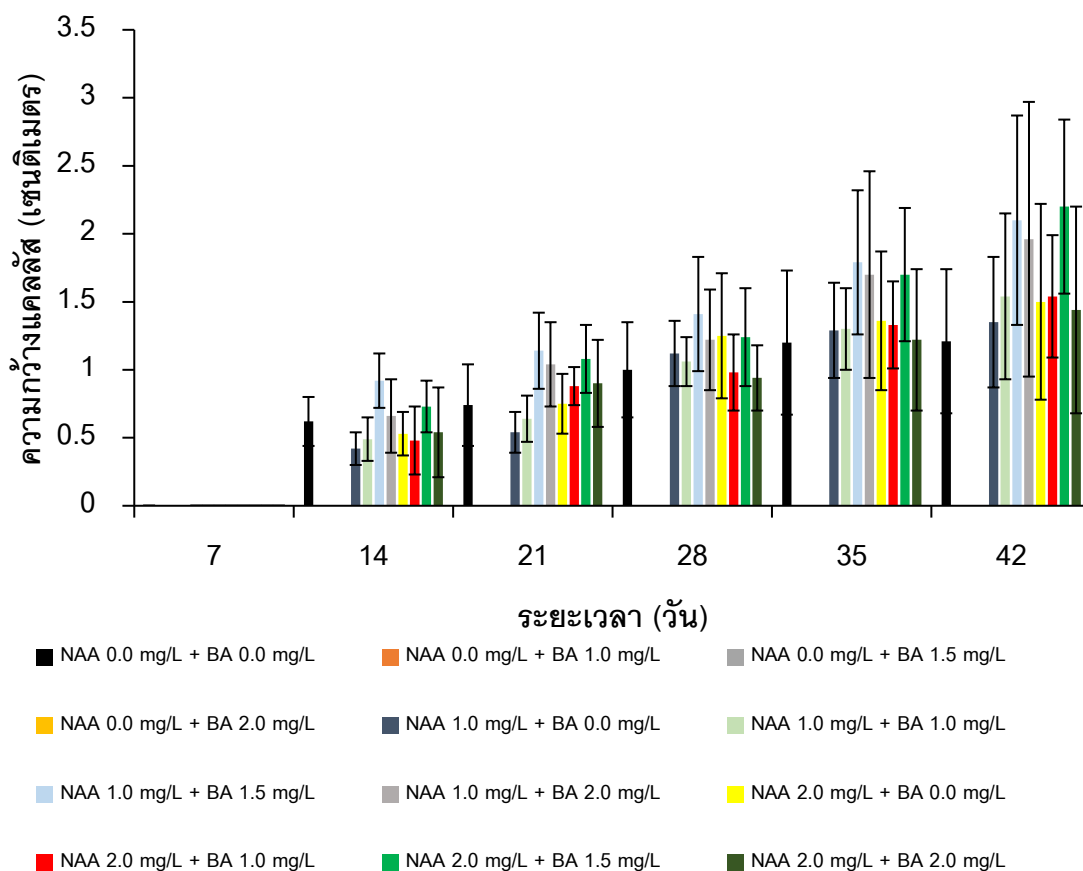
ผลการทดลอง พบว่า ที่ระยะเวลา 14 วัน ในสูตรอาหารทุกกรรมวิธี เนื้อเยื่อเจริญปลายยอดเริ่มพัฒนาเป็นแคลลัส จากนั้นเมื่อพิจารณาที่ระยะเวลา 42 วัน พบว่าสูตรอาหาร G (NAA 1.0 mg/L + BA 1.5 mg/L) มีแนวโน้มของการพัฒนาเป็นแคลลัสมากที่สุด โดยมีขนาดความกว้างแคลลัสเท่ากับ 2.10 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสูตรอาหาร A (NAA 0.0 mg/L + BA 0.0 mg/L) (ชุดควบคุม) ซึ่งมีขนาดความกว้างแคลลัสเฉลี่ยเท่ากับ 1.21 เซนติเมตร, สูตรอาหาร B (NAA 0.0 mg/L + BA 1.0 mg/L), สูตรอาหาร C (NAA 0.0 mg/L + BA 1.5 mg/L), สูตรอาหาร D (NAA 0.0 mg/L + BA 2.0 mg/L) ซึ่งไม่พบการเจริญเติบโตของแคลลัส, สูตรอาหาร E (NAA 1.0 mg/L + BA 0.0 mg/L) ซึ่งมีขนาดความกว้างแคลลัสเฉลี่ยเท่ากับ 1.35 เซนติเมตร, สูตรอาหาร F (NAA 1.0 mg/L + BA 1.0 mg/L) ซึ่งมีขนาดความกว้างแคลลัสเฉลี่ยเท่ากับ 1.54 เซนติเมตร, สูตรอาหาร I (NAA 2.0 mg/L + BA 0.0 mg/L) ซึ่งมีขนาดความกว้างแคลลัสเฉลี่ยเท่ากับ 1.50 เซนติเมตร, สูตรอาหาร J (NAA 2.0 mg/L + BA 1.0 mg/L) ซึ่งมีขนาดความกว้างแคลลัสเฉลี่ยเท่ากับ 1.54 เซนติเมตร และสูตรอาหาร L (NAA 2.0 mg/L + BA 2.0 mg/L) ซึ่งมีขนาดความกว้างแคลลัสเฉลี่ยเท่ากับ 1.44 เซนติเมตร อย่างไรก็ตามพบว่า สูตรอาหาร G (NAA 1.0 mg/L + BA 1.5 mg/L) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสูตรอาหาร H (NAA 1.0 mg/L + BA 2.0 mg/L) ซึ่งมีขนาดความกว้างแคลลัสเฉลี่ยเท่ากับ 1.96 เซนติเมตร และ สูตรอาหาร K (NAA 2.0 mg/L + BA 1.5 mg/L) ซึ่งมีขนาดความกว้างแคลลัสเฉลี่ยเท่ากับ 2.20 เซนติเมตร (ตาราง 25 ภาพ 21 และภาพ 23)

ตาราง 25 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดความกว้างแคลลัสของสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80

กรรมวิธี	ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง							ระดับขนาดของแคลลัส
	สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA + BA (mg/L)	7 วัน	14 วัน	21 วัน	28 วัน	35 วัน	42 วัน	
สูตรอาหาร A	0.0+0.0	0±0a	0.62±0.18bcd	0.74±0.30cd	1.00±0.35c	1.20±0.53b	1.21±0.53b	++
สูตรอาหาร B	0.0+1.0	0±0a	0±0f	0±0f	0±0d	0±0c	0±0c	-
สูตรอาหาร C	0.0+1.5	0±0a	0±0f	0±0f	0±0d	0±0c	0±0c	-
สูตรอาหาร D	0.0+2.0	0±0a	0±0f	0±0f	0±0d	0±0c	0±0c	-
สูตรอาหาร E	1.0+0.0	0±0a	0.42±0.12e	0.54±0.15e	1.12±0.24bc	1.29±0.35b	1.35±0.48b	++
สูตรอาหาร F	1.0+1.0	0±0a	0.49±0.16de	0.64±0.17de	1.06±0.18bc	1.30±0.30b	1.54±0.61b	++
สูตรอาหาร G	1.0+1.5	0±0a	0.92±0.20a	1.14±0.28a	1.41±0.42a	1.79±0.53a	2.10±0.77a	+++
สูตรอาหาร H	1.0+2.0	0±0a	0.66±0.27bc	1.04±0.31ab	1.22±0.37ab	1.70±0.76a	1.96±1.01a	++
สูตรอาหาร I	2.0+0.0	0±0a	0.53±0.16cde	0.75±0.22cd	1.25±0.46ab	1.36±0.51b	1.50±0.72b	++
สูตรอาหาร J	2.0+1.0	0±0a	0.48±0.25de	0.88±0.14c	0.98±0.28c	1.33±0.32b	1.54±0.45b	++
สูตรอาหาร K	2.0+1.5	0±0a	0.73±0.19b	1.08±0.25a	1.24±0.36ab	1.70±0.49a	2.20±0.64a	+++
สูตรอาหาร L	2.0+2.0	0±0a	0.54±0.33cde	0.90±0.32bc	0.94±0.24c	1.22±0.52b	1.44±0.76b	++

หมายเหตุ: 1. ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 25 ภาพ 21)

2. - = ไม่พบการเจริญเติบโตของแคลลัส, + = ขนาดแคลลัสเท่ากับ 0-1 เซนติเมตร, ++ = ขนาดแคลลัสเท่ากับ 1.1-2 เซนติเมตร, +++ = ขนาดแคลลัสเท่ากับ 2.1-3 เซนติเมตร (ตาราง 25)



ภาพ 21 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดความยาวแคลลัสของสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80

ความยาวแคลลัส

เมื่อพิจารณาที่ระยะเวลา 42 วัน พบว่าสูตรอาหาร G (NAA 1.0 mg/L + BA 1.5 mg/L) มีแนวโน้มของการพัฒนาเป็นแคลลัสมากที่สุด โดยมีขนาดความยาวแคลลัสเฉลี่ยเท่ากับ 2.74 เซนติเมตร และระดับขนาดการเจริญเติบโตของแคลลัสเฉลี่ยเท่ากับ 2.1-3.0 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสูตรอาหาร A (NAA 0.0 mg/L + BA 0.0 mg/L) (ชุดควบคุม) ซึ่งมีขนาดความยาวแคลลัสเฉลี่ยเท่ากับ 1.60 เซนติเมตร, สูตรอาหาร B (NAA 0.0 mg/L + BA 1.0 mg/L), สูตรอาหาร C (NAA 0.0 mg/L + BA 1.5 mg/L), สูตรอาหาร D (NAA 0.0 mg/L + BA 2.0 mg/L) ซึ่งไม่พบการเจริญเติบโตของแคลลัส, สูตรอาหาร E (NAA 1.0 mg/L + BA 0.0 mg/L) ซึ่งมีขนาดความยาวแคลลัสเฉลี่ยเท่ากับ 1.65 เซนติเมตร, สูตรอาหาร F (NAA 1.0 mg/L + BA 1.0 mg/L) ซึ่งมีขนาดความยาวแคลลัสเฉลี่ยเท่ากับ 2.16 เซนติเมตร, สูตรอาหาร I (NAA 2.0 mg/L + BA 0.0 mg/L) ซึ่งมีขนาดความยาวแคลลัสเฉลี่ยเท่ากับ 1.98 เซนติเมตร, สูตรอาหาร J (NAA 2.0 mg/L +

BA 1.0 mg/L) ซึ่งมีขนาดความยาวแคลลัสเฉลี่ยเท่ากับ 2.08 เซนติเมตร และสูตรอาหาร L (NAA 2.0 mg/L + BA 2.0 mg/L) ซึ่งมีขนาดความยาวแคลลัสเฉลี่ยเท่ากับ 2.01 เซนติเมตร อย่างไรก็ตามพบว่า สูตรอาหาร G (NAA 1.0 mg/L + BA 1.5 mg/L) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสูตรอาหาร H (NAA 1.0 mg/L + BA 2.0 mg/L) ซึ่งมีขนาดความยาวแคลลัสเฉลี่ยเท่ากับ 2.54 เซนติเมตร และสูตรอาหาร K (NAA 2.0 mg/L + BA 1.5 mg/L) ซึ่งมีขนาดความยาวแคลลัสเฉลี่ยเท่ากับ 2.90 เซนติเมตร (ตาราง 26 ภาพ 22 และภาพ 23)

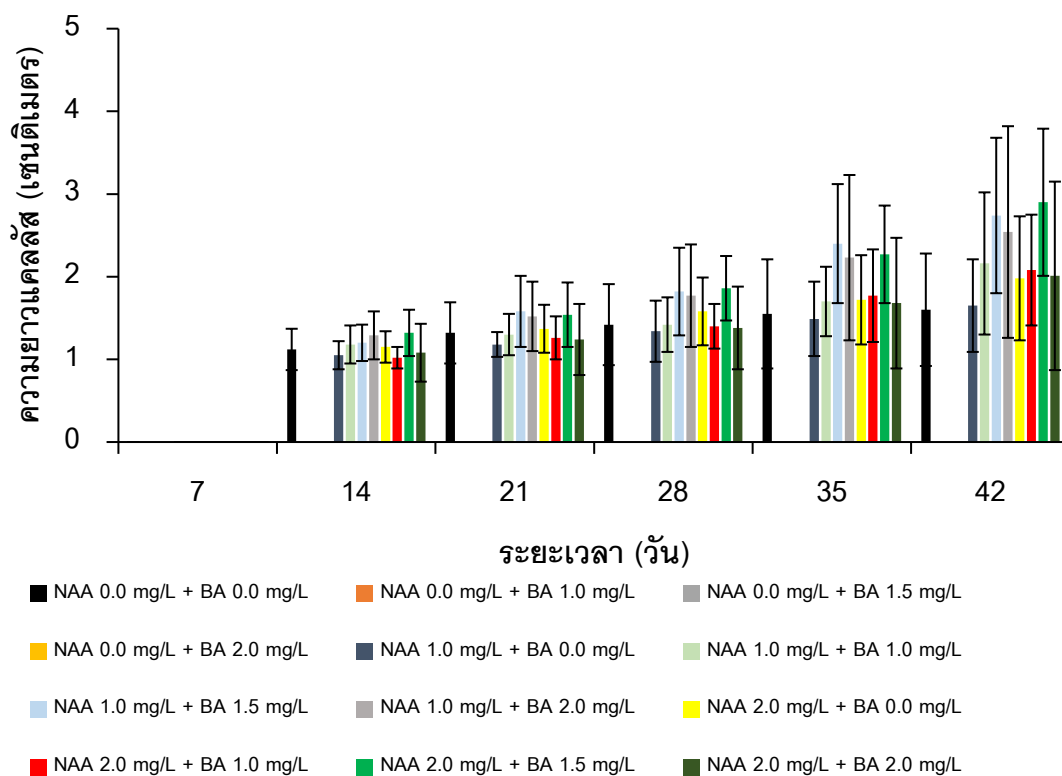


ตาราง 26 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดความยาวแคลลัสของสตรอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80

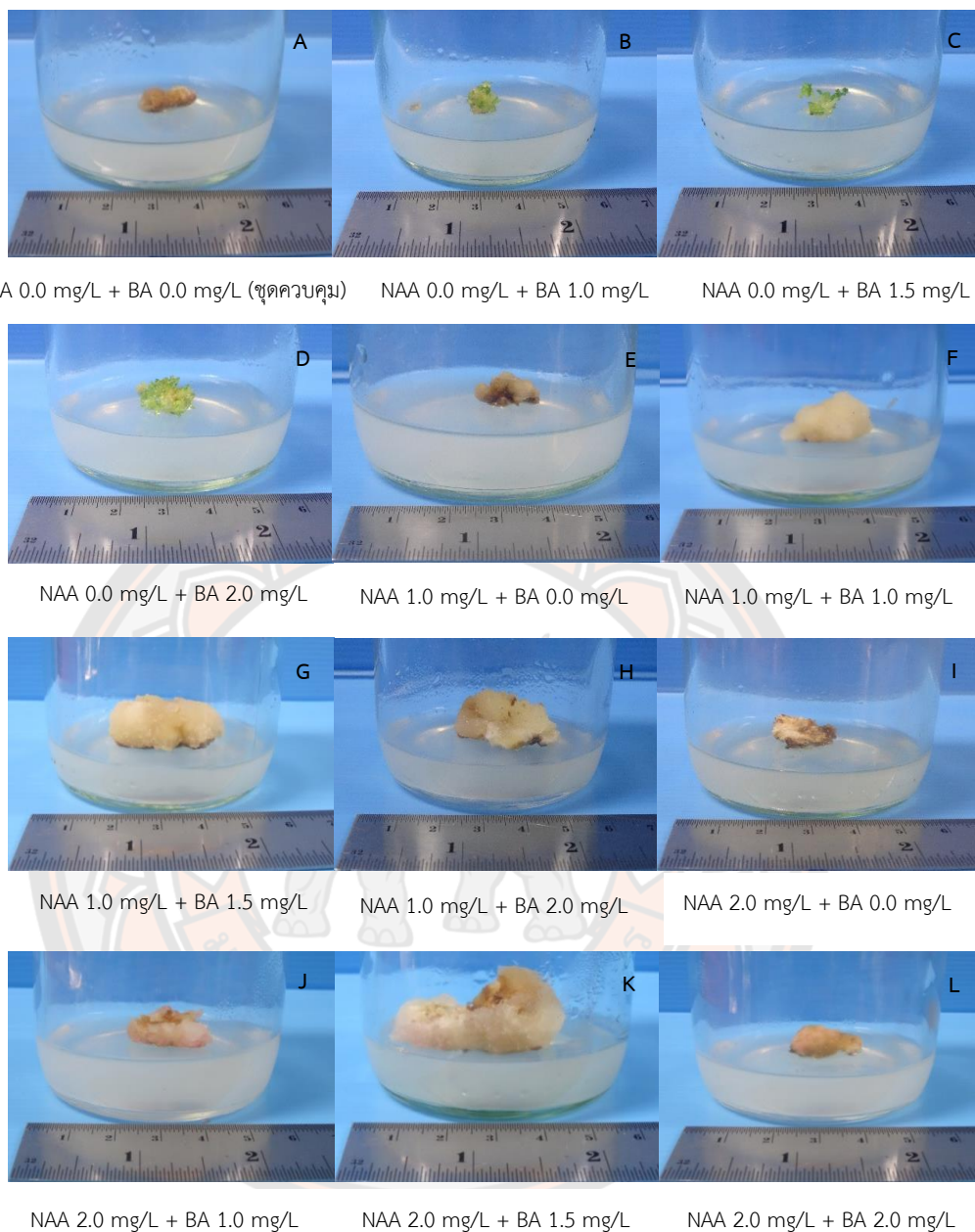
กรรมวิธี	ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง							ระดับขนาดของแคลลัส
	7 วัน	14 วัน	21 วัน	28 วัน	35 วัน	42 วัน		
สูตรอาหาร A	0±0a	1.12±0.25cd	1.32±0.37bc	1.42±0.49b	1.55±0.66b	1.60±0.68c	++	
สูตรอาหาร B	0±0a	0±0e	0±0d	0±0c	0±0c	0±0d	-	
สูตรอาหาร C	0±0a	0±0e	0±0d	0±0c	0±0c	0±0d	-	
สูตรอาหาร D	0±0a	0±0e	0±0d	0±0c	0±0c	0±0d	-	
สูตรอาหาร E	0±0a	1.05±0.17cd	1.18±0.15c	1.34±0.37b	1.49±0.45b	1.65±0.56c	++	
สูตรอาหาร F	0±0a	1.18±0.23abc	1.30±0.25bc	1.42±0.33b	1.70±0.42b	2.16±0.86bc	+++	
สูตรอาหาร G	0±0a	1.20±0.22abc	1.58±0.43a	1.82±0.53a	2.40±0.72a	2.74±0.94a	+++	
สูตรอาหาร H	0±0a	1.29±0.29ab	1.52±0.42ab	1.77±0.62a	2.23±1.00a	2.54±1.28ab	+++	
สูตรอาหาร I	0±0a	1.15±0.19bcd	1.37±0.29abc	1.58±0.41ab	1.72±0.54b	1.98±0.75bc	++	
สูตรอาหาร J	0±0a	1.02±0.13d	1.26±0.26c	1.40±0.27b	1.77±0.56b	2.08±0.67bc	++	
สูตรอาหาร K	0±0a	1.32±0.28a	1.54±0.39ab	1.86±0.39a	2.27±0.59a	2.90±0.89a	+++	
สูตรอาหาร L	0±0a	1.08±0.35cd	1.24±0.43c	1.38±0.50b	1.68±0.79b	2.01±1.14bc	++	

หมายเหตุ: 1. ค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 26 ภาพ 22)

2. - = ไม่พบการเจริญเติบโตของแคลลัส, + = ขนาดแคลลัสเท่ากับ 0-1 เซนติเมตร, ++ = ขนาดแคลลัสเท่ากับ 1.1-2 เซนติเมตร, +++ = ขนาดแคลลัสเท่ากับ 2.1-3 เซนติเมตร (ตาราง 26)



ภาพ 22 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดความยาว
แคลลัสของสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80



ภาพ 23 ลักษณะแคลลัส (callus) ของสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 ที่เลี้ยงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 42 วัน

ผลการทดลองที่ 3.3 การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดสตรีออร์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 จากเนื้อเยื่อแคลลัส

จากการศึกษาผลของสูตรอาหารที่มีความเหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัส พบว่าสูตรอาหาร G ซึ่งประกอบไปด้วย อาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 1.0 mg/L + BA 1.5 mg/L สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ในปริมาณมากที่สุด จากนั้นจึงนำแคลลัสจากสูตรอาหารดังกล่าวมาชักนำให้เกิดยอด โดยเลี้ยงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ดังนี้ สูตรอาหาร A (BA 0.0 mg/L) (ชุดควบคุม), สูตรอาหาร B (BA 1.0 mg/L), สูตรอาหาร C (BA 1.5 mg/L) และ สูตรอาหาร D (BA 2.0 mg/L) จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25-27 °C ความเข้มแสงที่ 2,500 ลักซ์ ในสภาพที่มีแสงสว่าง 16 ชั่วโมง และสภาพมืด 8 ชั่วโมง โดยจะทำการเปลี่ยนอาหารทุก ๆ 3 สัปดาห์ พบว่าแคลลัสในสูตรอาหาร G (NAA 1.0 mg/L + BA 1.5 mg/L) มีการพัฒนาเป็นส่วนของยอด โดยมีจำนวนยอด และความสูงยอด ซึ่งในแต่ละกรรมวิธีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

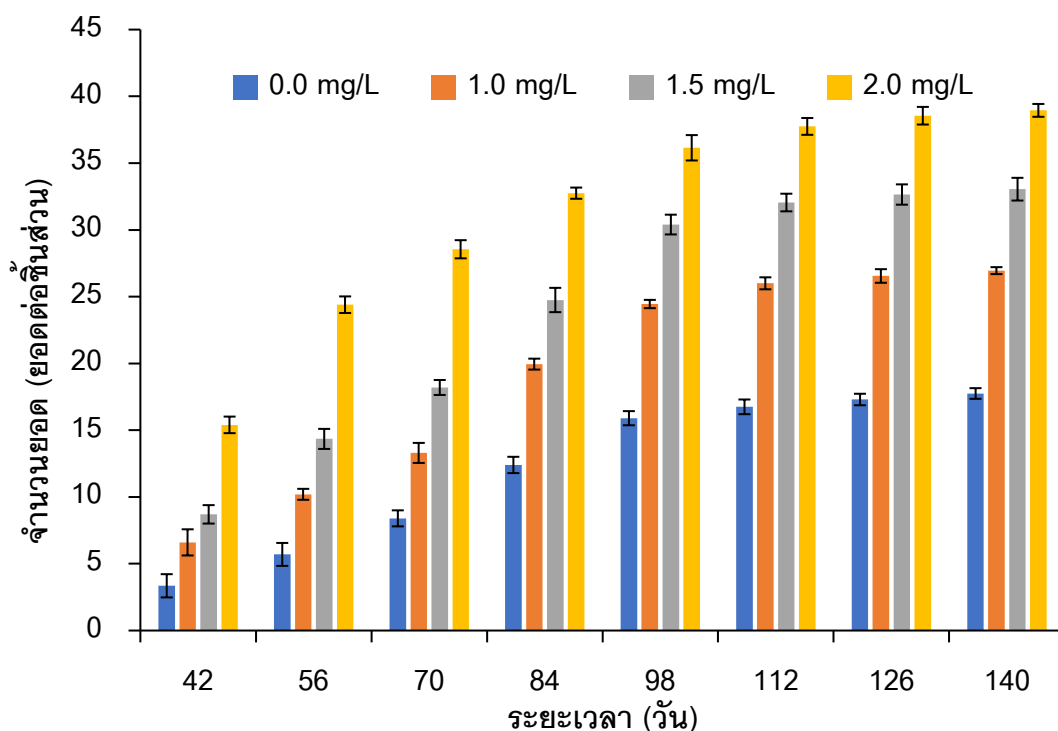
จำนวนยอด

ผลการทดลองพบว่า ที่ระยะเวลา 42 วัน ในสูตรอาหารทุกกรรมวิธี แคลลัสเริ่มพัฒนาเป็นชิ้นส่วนของยอด จากนั้นเมื่อพิจารณาที่ระยะเวลา 140 วัน พบว่า สูตรอาหาร D (BA 2.0 mg/L) สามารถชักนำให้แคลลัสพัฒนาเป็นยอดได้มากที่สุด โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 38.95 ยอดต่อชิ้นส่วน ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสูตรอาหาร A (BA 0.0 mg/L) (ชุดควบคุม) ซึ่งมีจำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 17.75 ยอดต่อชิ้นส่วน สูตรอาหาร B (BA 1.0 mg/L) มีจำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 26.95 ยอดต่อชิ้นส่วน และสูตรอาหาร C (BA 1.5 mg/L) มีจำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 33.05 ยอดต่อชิ้นส่วน (ตาราง 27 ภาพ 24 และภาพ 26)

ตาราง 27 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดจำนวนยอดจากชิ้นส่วนเนื้อเยื่อแคลลัสของสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80

กรรมวิธี	สารควบคุม การเจริญเติบโต BA (mg/L)	42 วัน	56 วัน	70 วัน	84 วัน	98 วัน	112 วัน	126 วัน	140 วัน
สูตรอาหาร A	0.0	3.35±0.87c	5.70±0.86d	8.40±0.60d	12.40±0.61d	15.90±0.53d	16.75±0.55d	17.30±0.43d	17.75±0.40d
MS (ชุดควบคุม)									
สูตรอาหาร B	1.0	6.60±0.98b	10.20±0.41c	13.30±0.75c	19.95±0.41c	24.45±0.31c	26.00±0.45c	26.55±0.51c	26.95±0.26c
สูตรอาหาร C	1.5	8.70±0.69b	14.35±0.75b	18.20±0.56b	24.75±0.91b	30.40±0.74b	32.05±0.66b	32.65±0.76b	33.05±0.85b
สูตรอาหาร D	2.0	15.40±0.62a	24.40±0.62a	28.55±0.68a	32.75±0.42a	36.15±0.95a	37.75±0.63a	38.55±0.66a	38.95±0.48a

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพ 24 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดจำนวนยอดจากชิ้นส่วนเนื้อเยื่อแคลล์ของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80

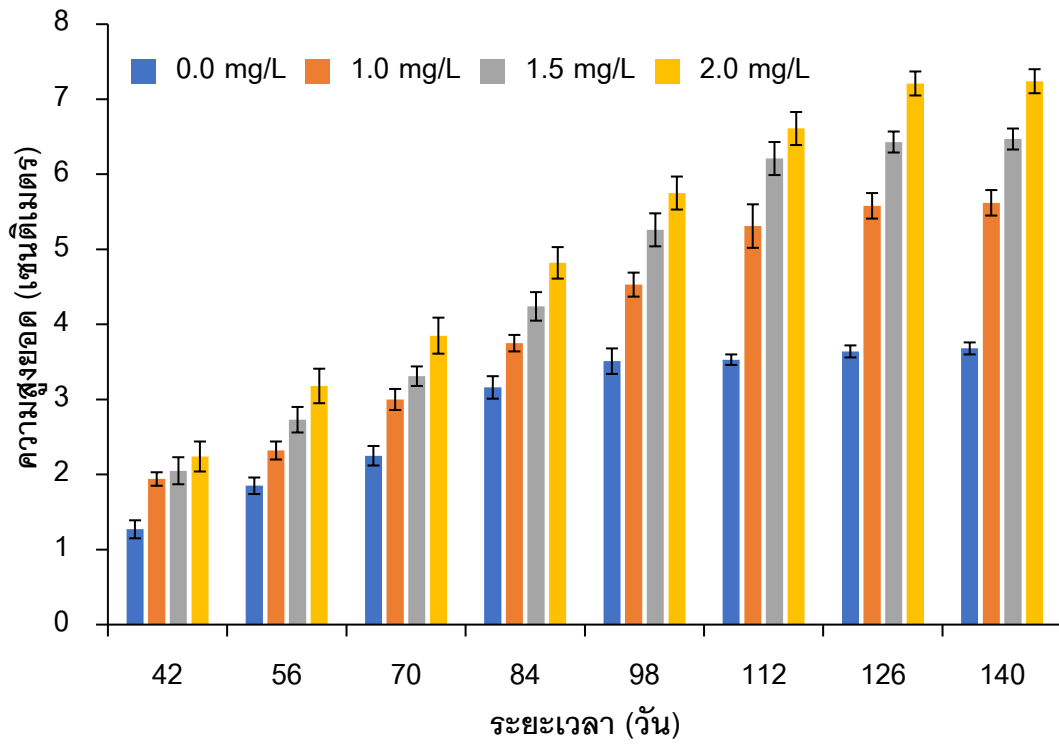
ความสูงยอด

เมื่อพิจารณาที่ระยะเวลา 140 วัน พบว่า สูตรอาหาร D (BA 2.0 mg/L) สามารถชักนำให้แคลล์พัฒนาเป็นยอดได้มากที่สุด โดยมีความสูงยอดเฉลี่ยเท่ากับ 7.24 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสูตรอาหาร A (BA 0.0 mg/L) (ชุดควบคุม) ซึ่งมีความสูงยอดเฉลี่ยเท่ากับ 3.68 เซนติเมตร สูตรอาหาร B (BA 1.0 mg/L) มีความสูงยอดเฉลี่ยเท่ากับ 5.62 เซนติเมตร และสูตรอาหาร C (BA 1.5 mg/L) มีความสูงยอดเฉลี่ยเท่ากับ 6.47 เซนติเมตร (ตาราง 28 ภาพ 25 และภาพ 26)

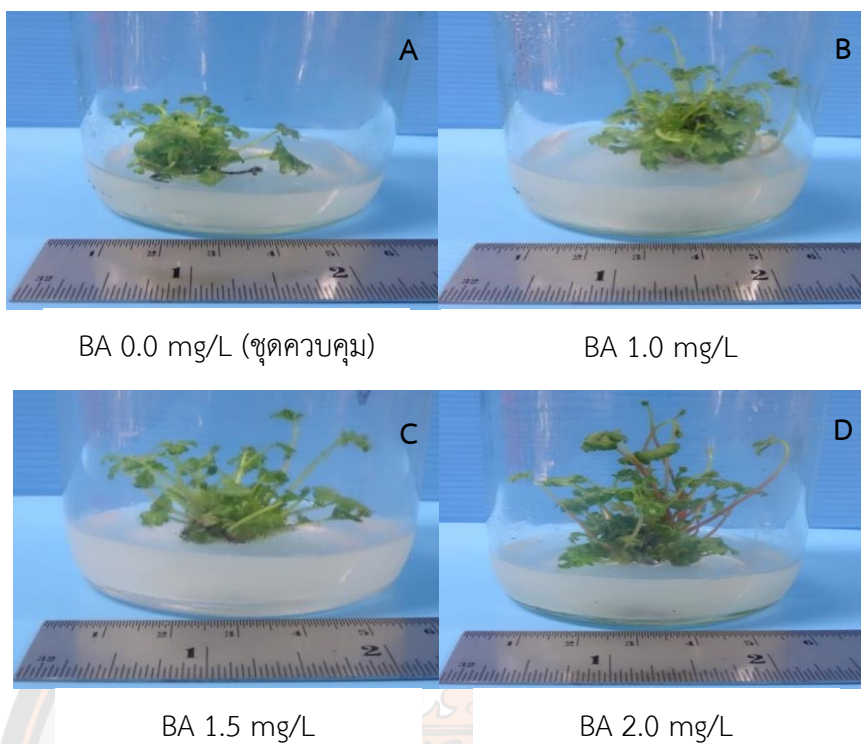
ตาราง 28 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดความสูงยอดจากชิ้นส่วนเนื้อเยื่อแคลลัสของสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80

กรรมวิธี	สารควบคุม การเจริญเติบโต BA (mg/L)	42 วัน	56 วัน	70 วัน	84 วัน	98 วัน	112 วัน	126 วัน	140 วัน
สูตรอาหาร A	0.0	1.27±0.12d	1.85±0.11d	2.25±0.13d	3.16±0.15d	3.51±0.17d	3.53±0.07d	3.64±0.08d	3.68±0.08d
MS (ชุดควบคุม)									
สูตรอาหาร B	1.0	1.94±0.09c	2.32±0.12c	3.00±0.14c	3.75±0.11c	4.53±0.16c	5.31±0.29c	5.58±0.17c	5.62±0.17c
สูตรอาหาร C	1.5	2.05±0.18b	2.73±0.17b	3.31±0.13b	4.24±0.19b	5.26±0.22b	6.21±0.22b	6.43±0.14b	6.47±0.14b
สูตรอาหาร D	2.0	2.24±0.20a	3.18±0.23a	3.85±0.24a	4.82±0.21a	5.75±0.22a	6.61±0.22a	7.21±0.16a	7.24±0.16a

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพ 25 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดความสูงยอดจาก
ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อแคลลัสของสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80



ภาพ 26 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 ที่ระยะเวลา 140 วัน

ผลการทดลองที่ 3.4 การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดรากสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 จากชิ้นส่วนของยอด

จากการศึกษาผลของสูตรอาหารที่มีความเหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดพบว่า สูตรอาหาร D ซึ่งประกอบไปด้วย อาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 2.0 mg/L สามารถชักนำให้เกิดยอดสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 ได้มากที่สุด จากนั้นจึงนำยอดจากสูตรอาหารดังกล่าวมาชักนำให้เกิดราก โดยเลี้ยงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ดังนี้ สูตรอาหาร A (NAA 0.0 mg/L) (ชุดควบคุม), สูตรอาหาร B (NAA 0.1 mg/L), สูตรอาหาร C (NAA 0.2 mg/L), สูตรอาหาร D (NAA 0.3 mg/L), สูตรอาหาร E (NAA 0.4 mg/L) และสูตรอาหาร F (NAA 0.5 mg/L) จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25-27 °C ความเข้มแสงที่ 2,500 ลักซ์ ในสภาพที่มีแสงสว่าง 16 ชั่วโมง และสภาพมืด 8 ชั่วโมง โดยจะทำการเปลี่ยนอาหารทุก ๆ 3 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนยอดในสูตรอาหาร D (BA 2.0 mg/L) มีการพัฒนาเป็นส่วนของราก โดยมีจำนวนราก และความยาวราก ซึ่งในแต่ละกรรมวิธีมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จำนวนราก

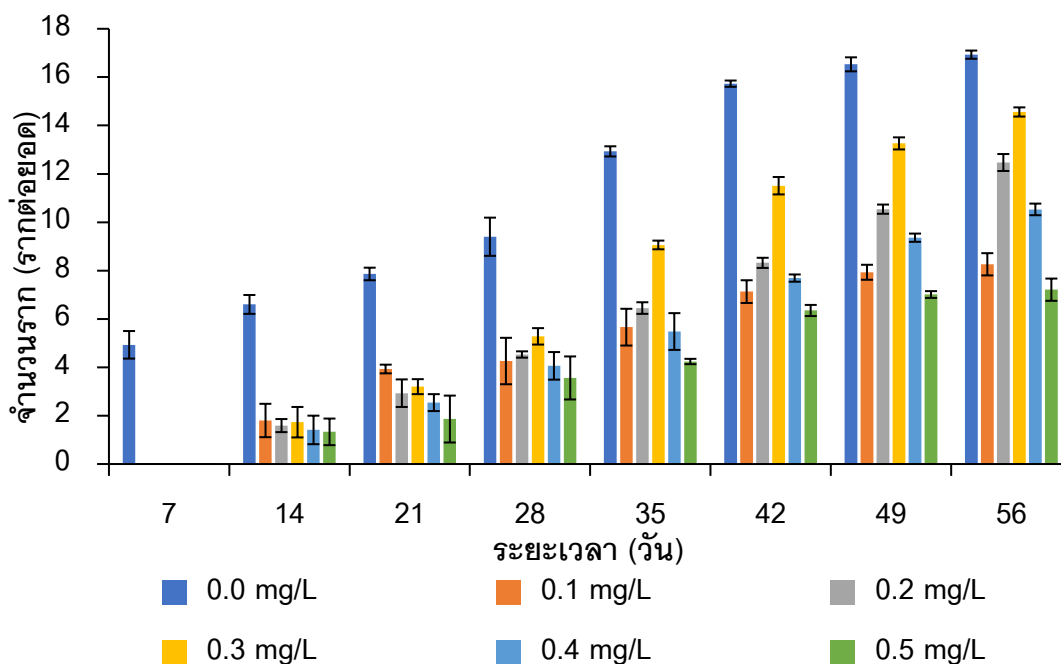
ผลการทดลองพบว่า สูตรอาหาร A (NAA 0.0 mg/L) (ชุดควบคุม) ที่ระยะเวลา 7 วัน เริ่มพบการเจริญเติบโตของราก โดยพบว่ามีจำนวนรากเฉลี่ยมากถึง 4.93 รากต่อยอด และเมื่อพิจารณาที่ระยะเวลา 56 วัน พบว่า สูตรอาหาร A (NAA 0.0 mg/L) (ชุดควบคุม) ยังสามารถชักนำให้ชิ้นส่วนยอดพัฒนาเป็นรากได้มากที่สุด โดยมีจำนวนรากเฉลี่ยมากถึง 16.93 รากต่อยอด ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสูตรอาหาร B (NAA 0.1 mg/L) ซึ่งมีจำนวนรากเฉลี่ยเท่ากับ 8.26 รากต่อยอด สูตรอาหาร C (NAA 0.2 mg/L) มีจำนวนรากเฉลี่ยเท่ากับ 12.47 รากต่อยอด สูตรอาหาร D (NAA 0.3 mg/L) มีจำนวนรากเฉลี่ยเท่ากับ 14.56 รากต่อยอด สูตรอาหาร E (NAA 0.4 mg/L) มีจำนวนรากเฉลี่ยเท่ากับ 10.53 รากต่อยอด และสูตรอาหาร F (NAA 0.5 mg/L) มีจำนวนรากเฉลี่ยเท่ากับ 7.21 รากต่อยอด (ตาราง 29 ภาพ 27 และภาพ 29)



ตาราง 29 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดจำนวนรากจากชิ้นส่วนยอดของสตรีงอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80

กรรมวิธี	สารควบคุม การเจริญเติบโต NAA (mg/L)	7 วัน	14 วัน	21 วัน	28 วัน	35 วัน	42 วัน	49 วัน	56 วัน
สูตรอาหาร A	0.0	4.93±0.57a	6.60±0.39a	7.86±0.26a	9.40±0.79a	12.93±0.21a	15.73±0.13a	16.53±0.29a	16.93±0.17a
MS (ชุดควบคุม)									
สูตรอาหาร B	0.1	0±0b	1.80±0.69b	3.93±0.18b	4.26±0.96d	5.66±0.76d	7.13±0.47e	7.93±0.31e	8.26±0.46e
สูตรอาหาร C	0.2	0±0b	1.59±0.27d	2.93±0.57d	4.53±0.13c	6.45±0.24c	8.32±0.21c	10.54±0.19c	12.47±0.35c
สูตรอาหาร D	0.3	0±0b	1.73±0.63c	3.20±0.31c	5.28±0.34b	9.06±0.18b	11.51±0.36b	13.26±0.25b	14.56±0.19b
สูตรอาหาร E	0.4	0±0b	1.41±0.59e	2.54±0.35e	4.06±0.57e	5.48±0.76e	7.69±0.15d	9.36±0.17d	10.53±0.24d
สูตรอาหาร F	0.5	0±0b	1.33±0.55f	1.86±0.97f	3.56±0.89f	4.24±0.11f	6.35±0.23f	7.01±0.14f	7.21±0.46f

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพ 27 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดจำนวนรากจากชิ้นส่วนยอดของสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80

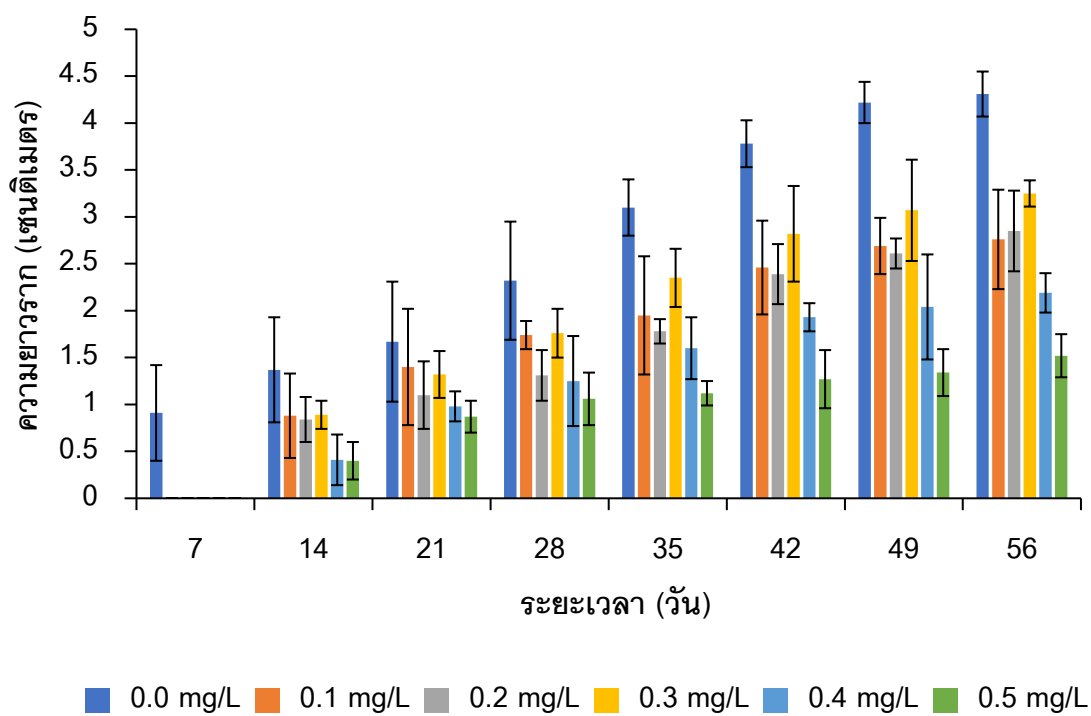
ความยาวราก

ผลการทดลองพบว่า สูตรอาหาร A (NAA 0.0 mg/L) (ชุดควบคุม) ที่ระยะเวลา 7 วัน เริ่มพบการเจริญเติบโตของราก โดยพบว่ามีความยาวรากเฉลี่ยมากถึง 0.91 เซนติเมตร และเมื่อพิจารณาที่ระยะเวลา 56 วัน พบว่า สูตรอาหาร A (NAA 0.0 mg/L) (ชุดควบคุม) ยังสามารถชักนำให้ชิ้นส่วนยอดพัฒนาเป็นรากได้มากที่สุด โดยมีความยาวรากเฉลี่ยมากถึง 4.31 เซนติเมตร ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสูตรอาหาร B (NAA 0.1 mg/L) ซึ่งมีความยาวรากเฉลี่ยเท่ากับ 2.76 เซนติเมตร สูตรอาหาร C (NAA 0.2 mg/L) มีความยาวรากเฉลี่ยเท่ากับ 2.85 เซนติเมตร สูตรอาหาร D (NAA 0.3 mg/L) มีความยาวรากเฉลี่ยเท่ากับ 3.25 เซนติเมตร สูตรอาหาร E (NAA 0.4 mg/L) มีความยาวรากเฉลี่ยเท่ากับ 2.19 เซนติเมตร และสูตรอาหาร F (NAA 0.5 mg/L) มีความยาวรากเฉลี่ยเท่ากับ 1.52 เซนติเมตร (ตาราง 30 ภาพ 28 และภาพ 29)

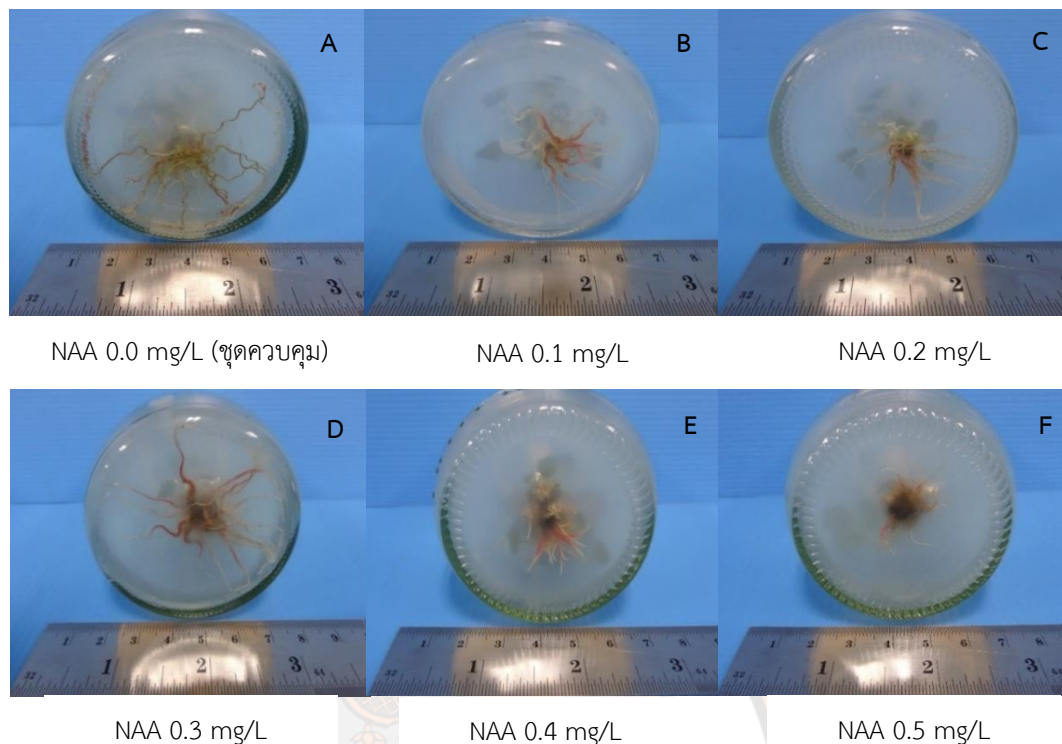
ตาราง 30 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดความยาวรากจากชิ้นส่วนยอดของสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80

กรรมวิธี	สารควบคุมการเจริญเติบโต	7 วัน	14 วัน	21 วัน	28 วัน	35 วัน	42 วัน	49 วัน	56 วัน
สูตรอาหาร A	0.0	0.91±0.51a	1.37±0.56a	1.67±0.64a	2.32±0.63a	3.10±0.30a	3.78±0.25a	4.22±0.22a	4.31±0.24a
MS (ชุดควบคุม)									
สูตรอาหาร B	0.1	0±0b	0.88±0.45b	1.40±0.62b	1.74±0.15c	1.95±0.63c	2.46±0.50c	2.69±0.30c	2.76±0.53d
สูตรอาหาร C	0.2	0±0b	0.84±0.24c	1.10±0.36d	1.31±0.27d	1.78±0.13d	2.39±0.32d	2.61±0.16d	2.85±0.43c
สูตรอาหาร D	0.3	0±0b	0.89±0.15b	1.32±0.25c	1.76±0.26b	2.35±0.31b	2.82±0.51b	3.07±0.54b	3.25±0.14b
สูตรอาหาร E	0.4	0±0b	0.41±0.27d	0.98±0.16e	1.25±0.48e	1.60±0.33e	1.93±0.15e	2.04±0.56e	2.19±0.21e
สูตรอาหาร F	0.5	0±0b	0.40±0.20d	0.87±0.17f	1.06±0.28f	1.12±0.13f	1.27±0.31f	1.34±0.25f	1.52±0.23f

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพ 28 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดความยาวรากจาก
ชิ้นส่วนยอดของสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80

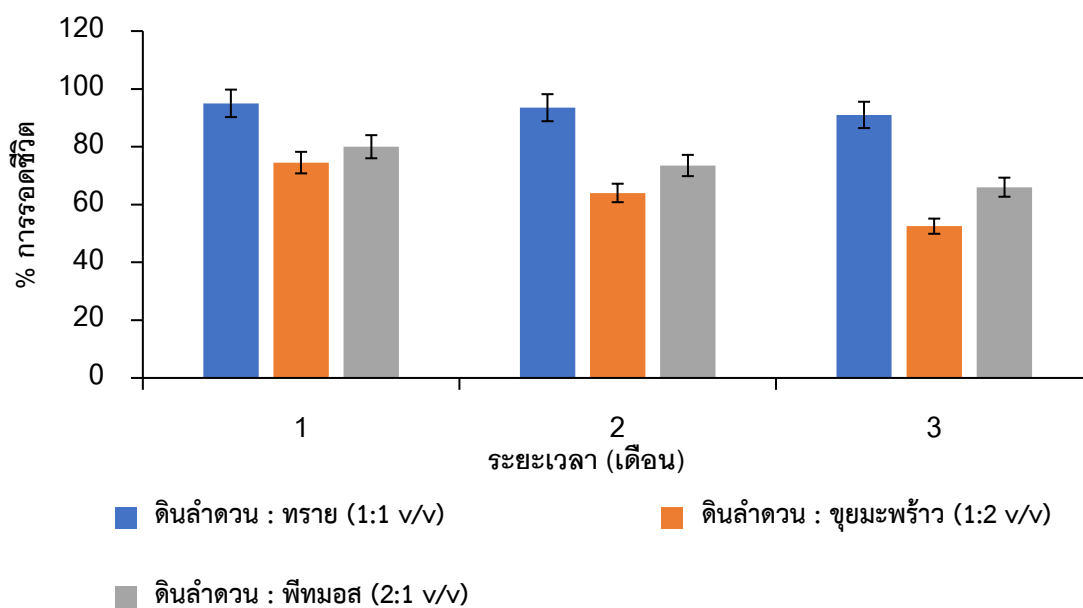


ภาพ 29 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดรากสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 ที่ระยะเวลา 56 วัน

ผลการทดลองที่ 3.5 การศึกษาผลของวัสดุปลูกที่มีผลต่อการรอดชีวิตและการเจริญเติบโตของต้นสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80

เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นสตรอว์เบอร์รี

จากการศึกษาวัสดุปลูกที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 ซึ่งในการทดลองสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 วัสดุปลูก ได้แก่ ดินลำดวน : ทราย อัตราส่วน (1:1 v/v) ดินลำดวน: ขุยมะพร้าว อัตราส่วน (1:2 v/v) และดินลำดวน : พีทมอส อัตราส่วน (2:1 v/v) ผลการทดลองพบว่า ดินลำดวน : ทราย อัตราส่วน (1:1 v/v) มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นสตรอว์เบอร์รีมากที่สุดตั้งแต่เดือนที่ 1-3 โดยในเดือนที่ 1 พบว่า ต้นสตรอว์เบอร์รีมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมากถึง 95% ในเดือนที่ 2 พบว่า ต้นสตรอว์เบอร์รีมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมากถึง 93.5% และในเดือนที่ 3 พบว่า ต้นสตรอว์เบอร์รีมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมากถึง 91% และพบเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตน้อยที่สุดตั้งแต่เดือนที่ 1-3 ในวัสดุปลูกซึ่งประกอบไปด้วย ดินลำดวน : ขุยมะพร้าว อัตราส่วน (1:2 v/v) ซึ่งในเดือนที่ 1 มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเพียง 74.5% เดือนที่ 2 มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเพียง 64% และในเดือนที่ 3 มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเพียง 52.5% (ภาพ 30)



ภาพ 30 เปอร์เซนต์การรอดชีวิตของต้นสตอร์วเบอร์รี่ที่ได้รับจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หลังจากย้ายปลูกลงในวัสดุปลูกที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 3 เดือน

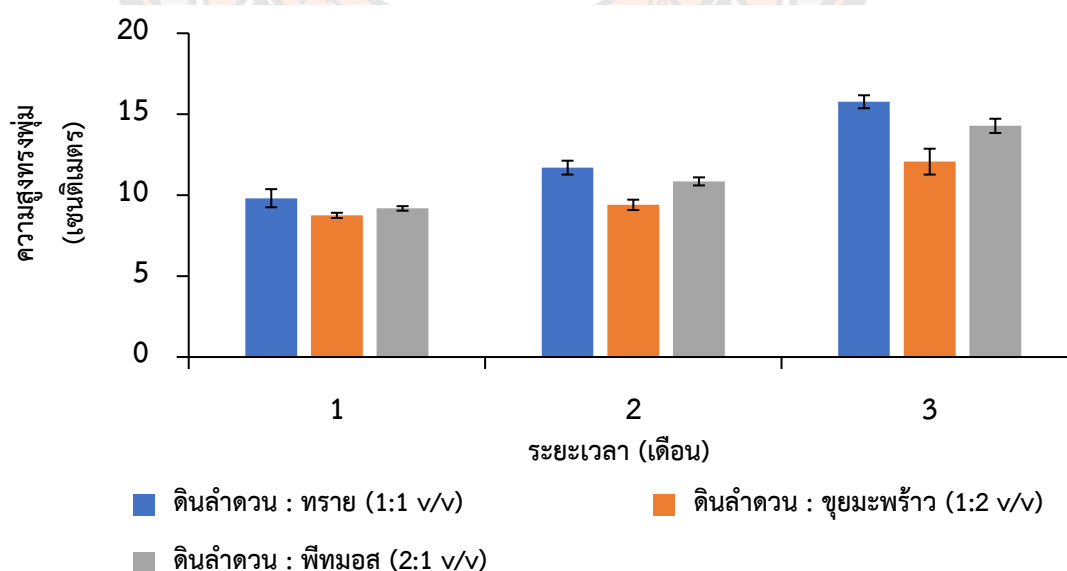
การเจริญเติบโตทางด้านลำต้น (vegetative growth)

จากการทดลองพบว่า ดินลำตวน : ทราย อัตราส่วน (1:1 v/v) ที่ระยะเวลา 1-3 เดือน มีการเจริญเติบโตทางด้านลำต้น (vegetative growth) ดีที่สุดในทุก ๆ ด้าน โดยพบว่าที่ระยะเวลา 3 เดือน วัสดุปลูกดังกล่าวมีความสูงทรงพุ่มเฉลี่ยเท่ากับ 15.77 เซนติเมตร ความกว้างทรงพุ่มเฉลี่ยเท่ากับ 20.65 เซนติเมตร จำนวนใบเฉลี่ยเท่ากับ 13.79 ใบต่อต้น จำนวนไหลเฉลี่ยเท่ากับ 5.36 ไหลต่อต้น และจำนวนกอลเฉลี่ยเท่ากับ 7.35 กอต่อต้น และพบว่า ดินลำตวน : ขุยมะพร้าว อัตราส่วน (1:2 v/v) มีการเจริญเติบโตทางด้านลำต้นน้อยที่สุดตั้งแต่เดือนที่ 1-3 โดยพบว่า ในเดือนที่ 3 วัสดุปลูกดังกล่าวมีความสูงทรงพุ่มเฉลี่ยเท่ากับ 12.07 เซนติเมตร ความกว้างทรงพุ่มเฉลี่ยเท่ากับ 15.70 เซนติเมตร จำนวนใบเฉลี่ยเท่ากับ 10.86 ใบต่อต้น จำนวนไหลเฉลี่ยเท่ากับ 2.00 ไหลต่อต้น และจำนวนกอลเฉลี่ยเท่ากับ 4.65 กอต่อต้น นอกจากนี้ยังพบว่า ในแต่ละวัสดุปลูกที่ระยะเวลา 3 เดือน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 31 ภาพ 31-36)

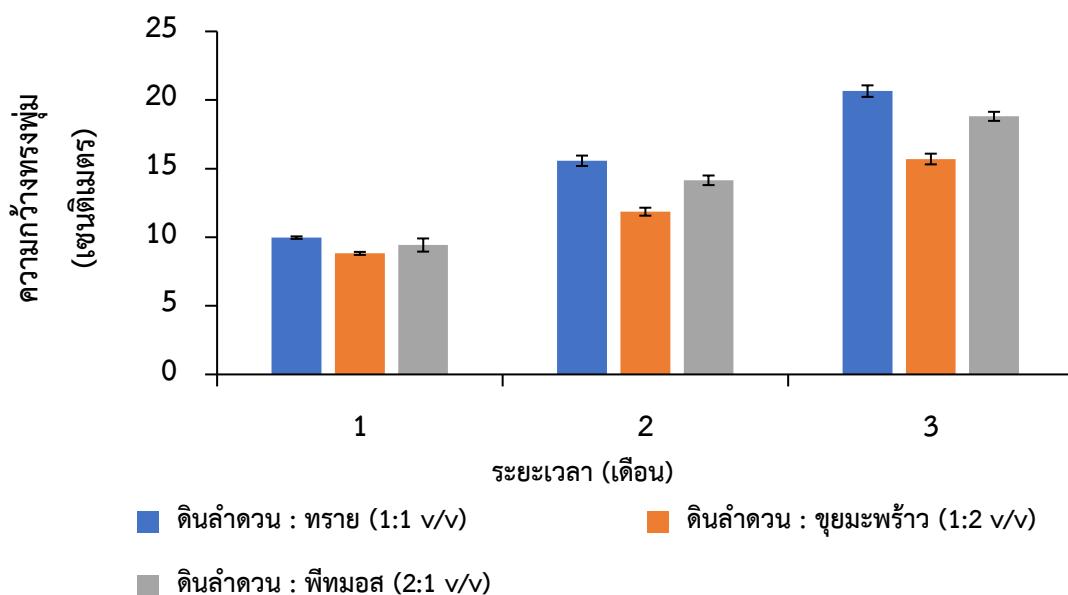
ตาราง 31 ลักษณะทางกายภาพของต้นสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 ที่ได้รับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หลังจากย้ายปลูกลงในวัสดุปลูกที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 3 เดือน

เดือน	วัสดุปลูก	ความสูงทรงพุ่ม (เซนติเมตร)	ความกว้างทรงพุ่ม (เซนติเมตร)	จำนวนใบ (ใบต่อต้น)	จำนวนไหล (ไหลต่อต้น)	จำนวนกอ (กอต่อต้น)
1	ดินลำคาน : ทราย	9.81±0.56a	9.97±0.09a	7.36±0.20a	0±0a	0±0a
	ดินลำคาน : ขุยมะพร้าว	8.75±0.16b	8.82±0.11b	5.98±0.12c	0±0a	0±0a
	ดินลำคาน : พีทมอส	9.18±0.14ab	9.43±0.48a	6.63±0.45b	0±0a	0±0a
2	ดินลำคาน : ทราย	11.70±0.43a	15.57±0.38a	10.45±0.05a	3.36±0.57a	4.54±0.61a
	ดินลำคาน : ขุยมะพร้าว	9.40±0.32c	11.86±0.29c	8.85±0.16c	0±0c	2.67±0.35b
	ดินลำคาน : พีทมอส	10.85±0.25b	14.15±0.35b	9.48±0.20b	1.35±0.45b	3.39±0.59ab
3	ดินลำคาน : ทราย	15.77±0.40a	20.65±0.42a	13.79±0.31a	5.36±0.43a	7.35±0.68a
	ดินลำคาน : ขุยมะพร้าว	12.07±0.80c	15.70±0.39c	10.86±0.51c	2.00±0.76c	4.65±0.24c
	ดินลำคาน : พีทมอส	14.28±0.44b	18.81±0.33b	12.56±0.29b	3.57±0.23b	5.42±1.02b

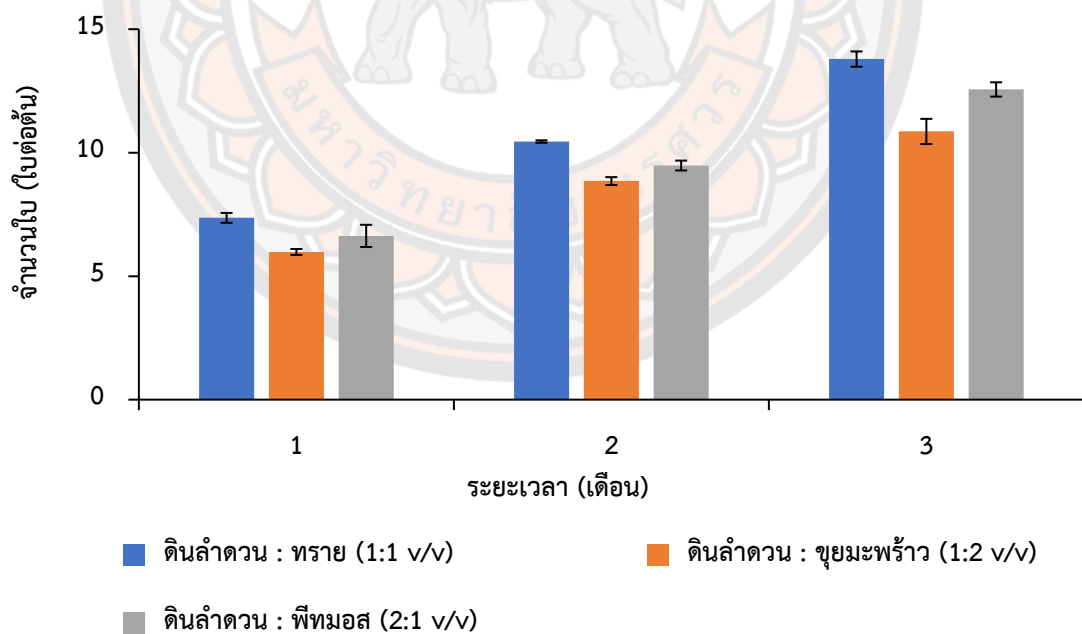
หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



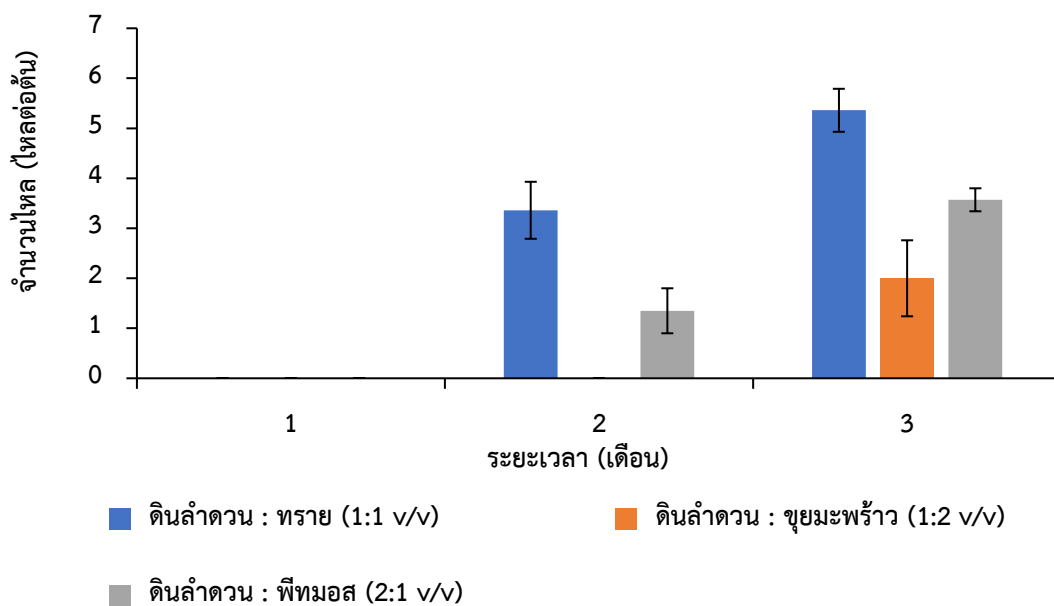
ภาพ 31 ความสูงทรงพุ่มของต้นสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 ที่ได้รับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หลังจากย้ายปลูกลงในวัสดุปลูกที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 3 เดือน



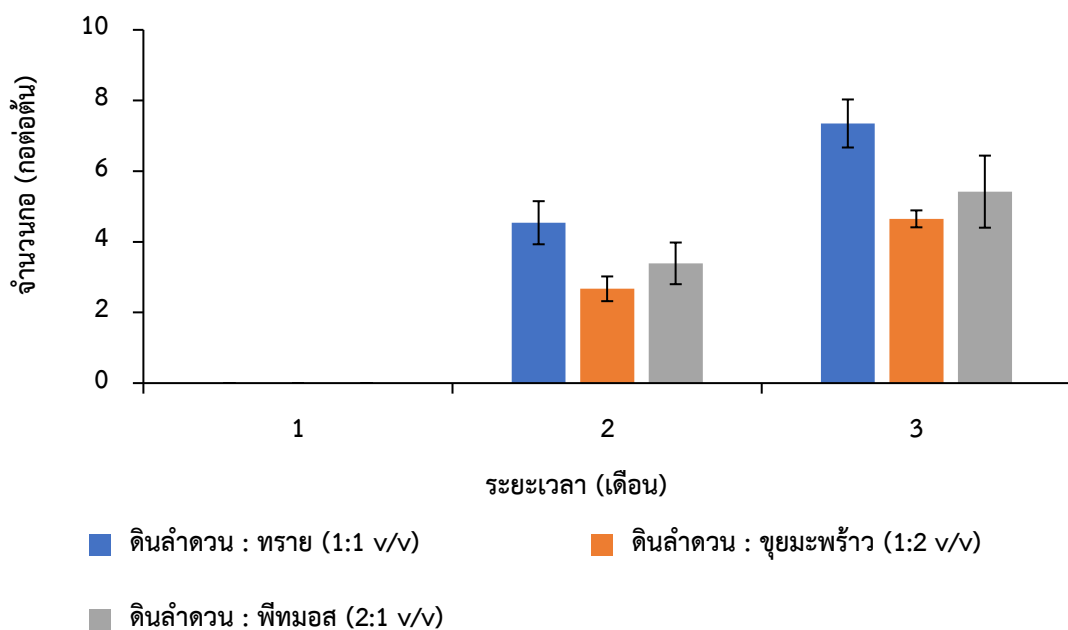
ภาพ 32 ความกว้างทรงพุ่มของต้นสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 ที่ได้รับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หลังจากย้ายปลูกลงในวัสดุปลูกที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 3 เดือน



ภาพ 33 จำนวนใบของต้นสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 ที่ได้รับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หลังจากย้ายปลูกลงในวัสดุปลูกที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 3 เดือน



ภาพ 34 จำนวนไทลของต้นสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 ที่ได้รับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หลังจากย้ายปลูกลงในวัสดุปลูกที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 3 เดือน



ภาพ 35 จำนวนกอกของต้นสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 ที่ได้รับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หลังจากย้ายปลูกลงในวัสดุปลูกที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 3 เดือน



ดินลำดวน : ททราย อัตราส่วน (1:1 v/v)



ดินลำดวน : ขุยมะพร้าว อัตราส่วน (1:2 v/v)



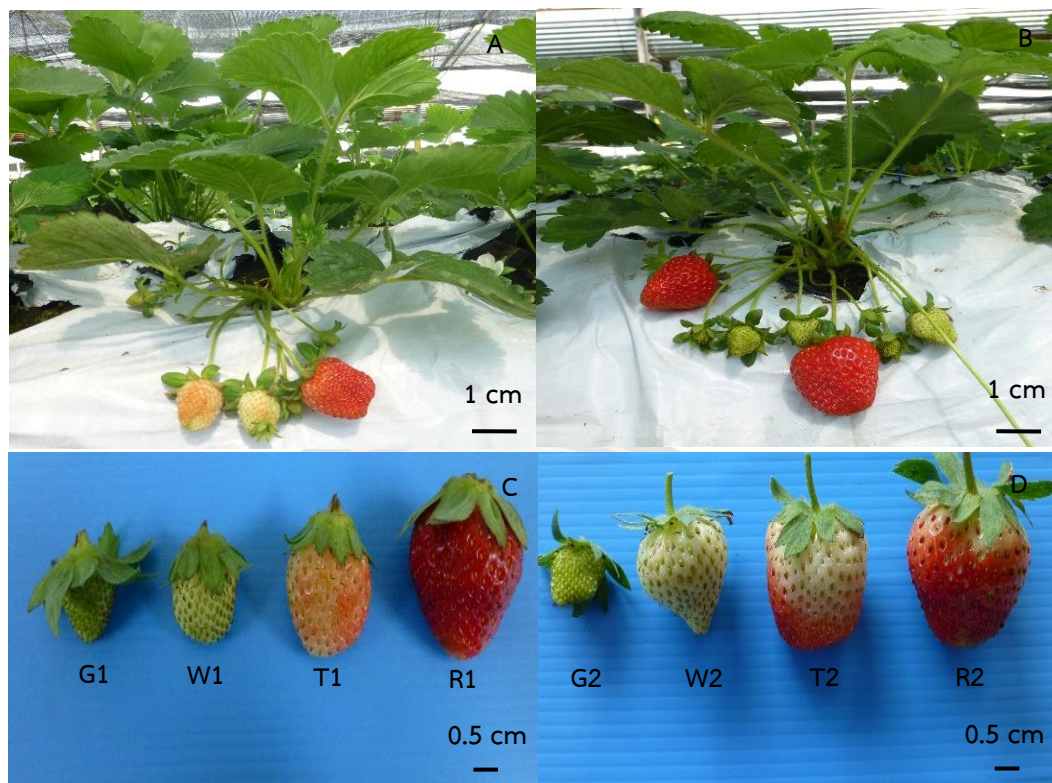
ดินลำดวน : พีทมอส อัตราส่วน (2:1 v/v)

ภาพ 36 ลักษณะทางกายภาพของต้นสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 ที่ได้รับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หลังจากย้ายปลูกลงในวัสดุปลูกที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 3 เดือน

ผลการทดลองที่ 4 ศึกษาการแสดงออกของยีน *F3'H* ในวิธีการสังเคราะห์แอนโทไซยานินด้วยเทคนิค qRT-PCR

ผลการทดลองที่ 4.1 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80

เก็บรวบรวมตัวอย่างผลสตรอว์เบอร์รี 4 ระยะ ได้แก่ ระยะผลสีเขียว (G; 15 วันหลังดอกบาน) ผลสีขาว (W; 20 วันหลังดอกบาน) ผลสีชมพู (T; 25 วันหลังดอกบาน) และผลสีแดง (R; 30 วันหลังดอกบาน) ของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 (ภาพ 37)



ภาพ 37 ลักษณะทางกายภาพของพันธุ์พระราชทาน 70 (A) และพันธุ์พระราชทาน 80 (B); ผลสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 (C) และพันธุ์พระราชทาน 80 (D) ทั้ง 4 ระยะของการพัฒนาผิวผล โดยกำหนดให้ G คือ ระยะสีเขียว (15 วันหลังดอกบาน), W คือ ระยะสีขาว (20 วันหลังดอกบาน), T คือ ระยะสีชมพู (25 วันหลังดอกบาน) และ R คือ ระยะสีแดง (30 วันหลังดอกบาน)

จากนั้นจึงนำผลสตอร์วเบอร์รี่ในแต่ละระยะของการพัฒนาผิวผลของทั้ง 2 สายพันธุ์มาวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ (ตาราง 32)

ตาราง 32 การเปลี่ยนแปลงค่าสีผิว สีเนื้อ และค่า pH ในแต่ละระยะของการพัฒนาผิวผลของสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80

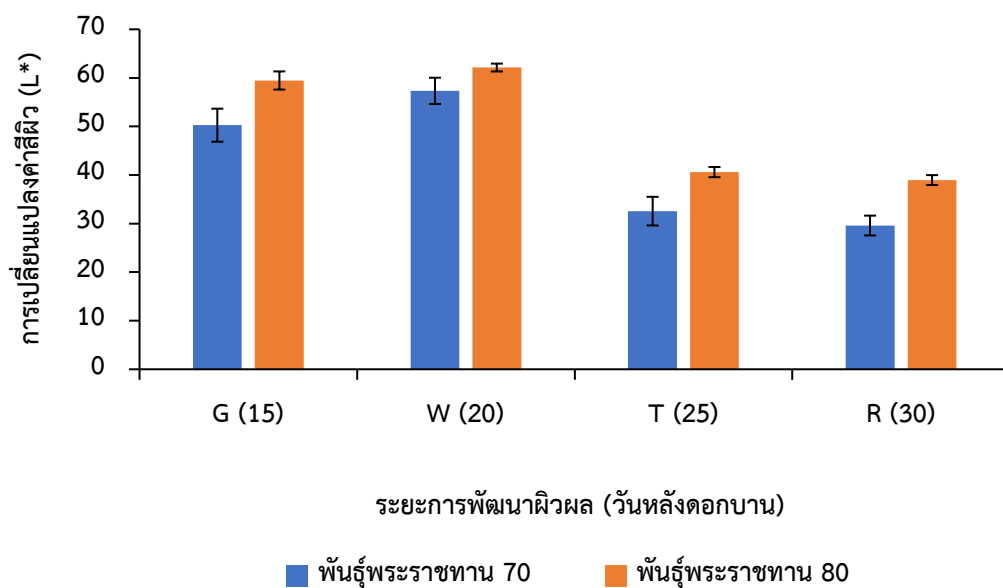
ค่าสี/ค่า pH	พันธุ์พระราชทาน 70				พันธุ์พระราชทาน 80			
	G (15 วัน)	W (20 วัน)	T (25 วัน)	R (30 วัน)	G (15 วัน)	W (20 วัน)	T (25 วัน)	R (30 วัน)
L*	50.26±3.40b	57.33±2.70a	32.56±2.95c	29.60±2.04c	59.46±1.87b	62.13±0.81a	40.60±1.05c	38.96±1.02c
a*	-1.50±0.98d	3.00±0.62c	32.13±1.50a	28.13±1.44b	-2.90±0.20c	1.83±0.30b	24.73±0.55a	25.00±0.62a
b*	27.66±2.47a	21.03±2.49b	18.36±1.96b	12.66±1.84c	32.13±2.21a	28.53±1.15b	20.63±0.61c	17.40±0.55d
Hue angle	93.03±1.93a	81.90±0.65b	29.63±1.91c	24.10±2.10d	94.65±1.95a	84.41±2.45b	32.70±1.11c	27.40±0.78d
L*	68.43±0.23a	68.36±1.70a	61.53±1.12b	57.00±2.66c	74.43±1.17a	71.83±0.45b	71.86±0.20b	68.86±0.56c
a*	-1.40±0.17c	-0.53±0.20c	16.83±1.56b	21.83±3.26a	-2.33±0.25c	-1.16±0.15b	13.23±0.85a	13.80±0.65a
b*	22.26±0.58a	13.43±1.05c	14.30±0.85bc	15.90±1.70b	29.03±1.09a	17.96±0.47c	20.70±1.40b	17.30±0.78c
Hue angle	93.56±0.37a	90.23±2.90b	40.40±1.21c	36.16±1.20d	94.25±1.62a	91.57±1.65b	42.19±0.91c	38.63±0.75d
pH	4.29±0.20a	2.53±0.52d	2.59±0.28c	2.76±0.32b	4.43±0.66a	2.68±0.30d	2.78±0.20c	2.90±0.45b

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

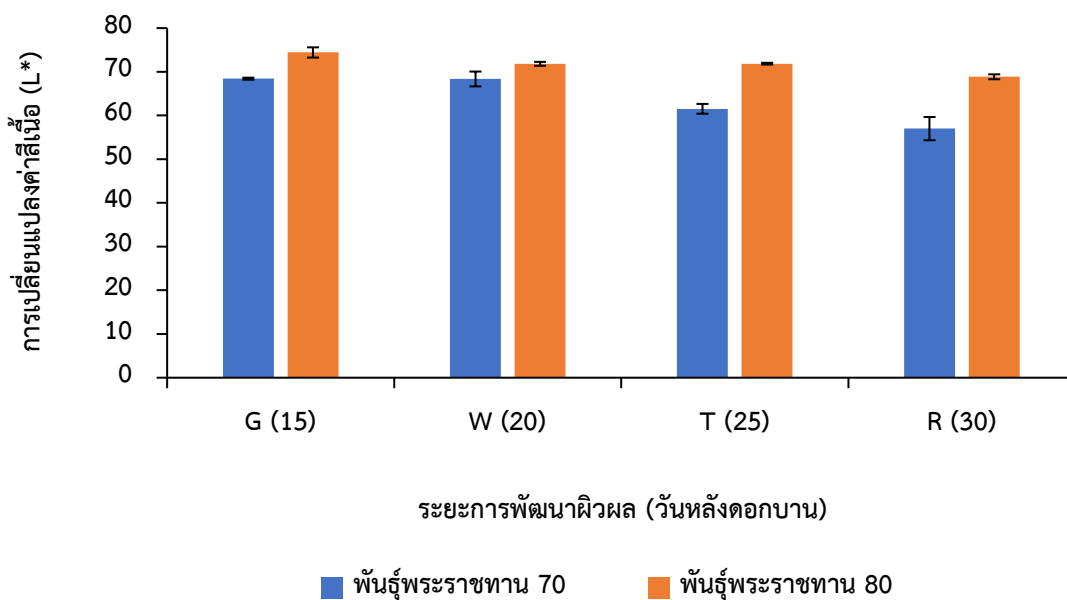
ค่าความสว่าง (L^*)

การเปลี่ยนแปลงค่าสีของผลสตรอว์เบอร์รีทั้งสองสายพันธุ์ แสดงโดยค่า L^* ซึ่งหมายถึง ค่าความสว่างมีค่าเป็น 0 จะแสดงถึงสีดำและค่าความสว่างมีค่าเป็น 100 จะแสดงถึงสีขาวสุด (สีขาว) จากผลการทดลองพบว่า การเปลี่ยนแปลงค่าสีผิวในแต่ละระยะของการพัฒนาผิวผล ได้แก่ ระยะ G, W, T และ R ในผลสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 50.26, 57.33, 32.56 และ 29.60 ตามลำดับ และผลสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 59.46, 62.13, 40.60 และ 38.96 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ในระยะ G, W, T และ R ของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 มีค่าความสว่างน้อยกว่าค่าสีผิวของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 และยังพบว่า ค่าความสว่างจะลดลงมากเมื่อถึงระยะ R เนื่องจาก สตรอว์เบอร์รีมีกระบวนการสุกจึงส่งผลทำให้สีผิวคล้ำลง นอกจากนี้ยังพบว่า ค่าสีผิวในระยะ G และ W มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% แต่ค่าสีผิวในระยะ T และ R ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ในสตรอว์เบอร์รีทั้งสองสายพันธุ์ (ตาราง 32 ภาพ 38)

ค่าสีเนื้อ ผลการทดลองพบว่า การเปลี่ยนแปลงค่าสีเนื้อในระยะ G, W, T และ R ในผลสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 68.43, 68.36, 61.53 และ 57.00 ตามลำดับ และในผลสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 74.43, 71.83, 71.86 และ 68.86 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ค่าสีเนื้อในระยะ G, W, T และ R มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงค่า L^* ซึ่งสอดคล้องกับค่าสีผิวผล นอกจากนี้ยังพบว่า แนวโน้มค่าสีเนื้อในแต่ละระยะของการพัฒนาผิวผลของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 32 ภาพ 39)



ภาพ 38 การเปลี่ยนแปลงค่าสีผิว (L*) ของผลสตอร์ว้เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 หลังจากเก็บเกี่ยวที่ระยะเวลาหลังดอกบานต่างกัน

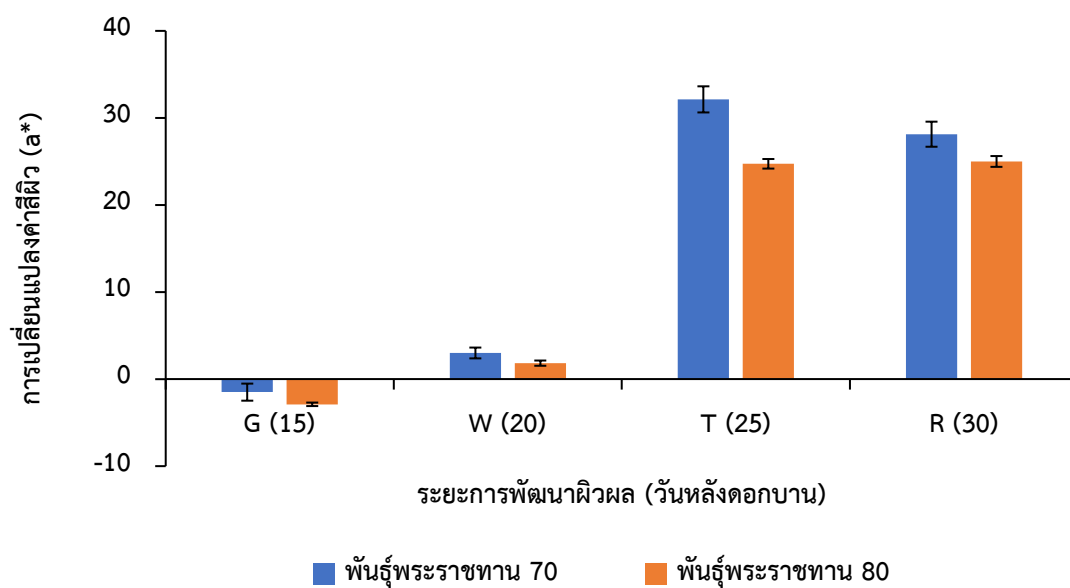


ภาพ 39 การเปลี่ยนแปลงค่าสีเนื้อ (L*) ของผลสตอร์ว้เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 หลังจากเก็บเกี่ยวที่ระยะเวลาหลังดอกบานต่างกัน

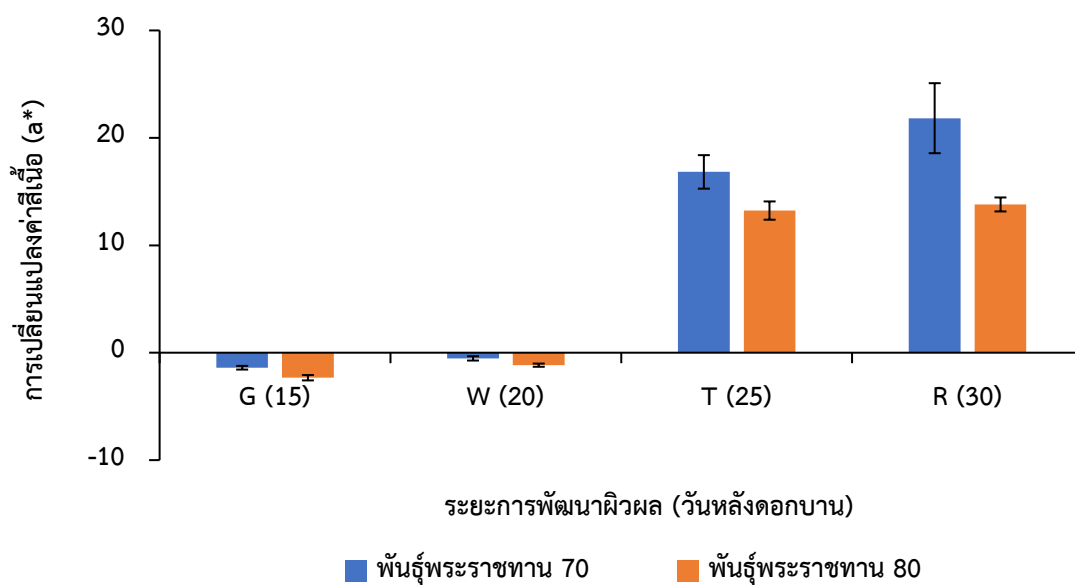
ค่าสีแดง-เขียว (a^*)

การเปลี่ยนแปลงค่าสีของผลสตรอว์เบอร์รี่ทั้งสองสายพันธุ์ แสดงโดยค่า a^* หมายถึง เมื่อ a^* มีค่าเป็นบวกจะแสดงถึงสีแดง เมื่อ a^* มีค่าเป็นลบจะแสดงถึงสีเขียว และค่า a^* มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง -60 ถึง +60 จากผลการทดลองพบว่า การเปลี่ยนแปลงค่าสีผิวในแต่ละระยะของการพัฒนาผิวผล ได้แก่ ระยะ G, W, T และ R ในผลสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ -1.50, 3.00, 32.13 และ 28.13 ตามลำดับ และในผลสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ -2.90, 1.83, 24.73 และ 25.00 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ในระยะ G ของสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 มีลักษณะสีผิวผลที่เขียวกว่าสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 และเมื่อพิจารณาระยะ W, T และ R พบว่า สตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 ยังคงมีลักษณะสีผิวผลที่แดงกว่าสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 เช่นกัน นอกจากนี้ยังพบว่า แนวโน้มค่าสีผิวในแต่ละระยะของการพัฒนาผิวผลของสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 32 ภาพ 40)

ค่าสีเนื้อ ผลการทดลอง พบว่า การเปลี่ยนแปลงค่าสีเนื้อในระยะ G, W, T และ R ในผลสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ -1.40, -0.53, 16.83 และ 21.83 ตามลำดับ และในผลสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ -2.33, -1.16, 13.23 และ 13.80 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ในระยะ G และ W ของสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 มีลักษณะสีเนื้อที่เขียวกว่าสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 และเมื่อพิจารณาระยะ T และ R พบว่า สตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 มีลักษณะสีเนื้อที่แดงกว่าสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 นอกจากนี้ยังพบว่า แนวโน้มค่าสีเนื้อในแต่ละระยะของการพัฒนาผิวผลของสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 32 ภาพ 41)



ภาพ 40 การเปลี่ยนแปลงค่าสีผิว (a*) ของผลสตอร์ว้เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 หลังจากเก็บเกี่ยวที่ระยะเวลาหลังดอกบานต่างกัน

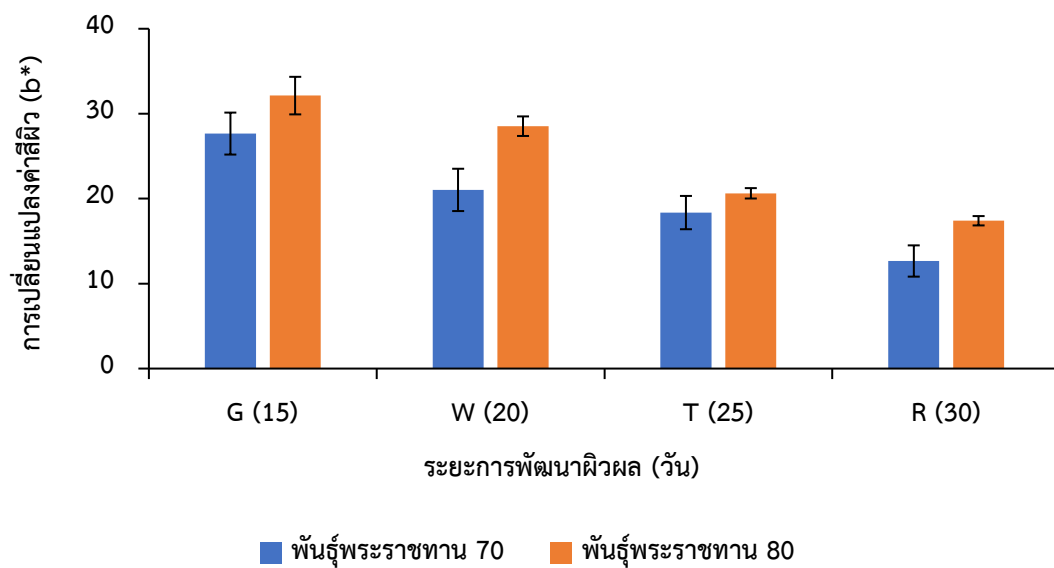


ภาพ 41 การเปลี่ยนแปลงค่าสีเนื้อ (a*) ของผลสตอร์ว้เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 หลังจากเก็บเกี่ยวที่ระยะเวลาหลังดอกบานต่างกัน

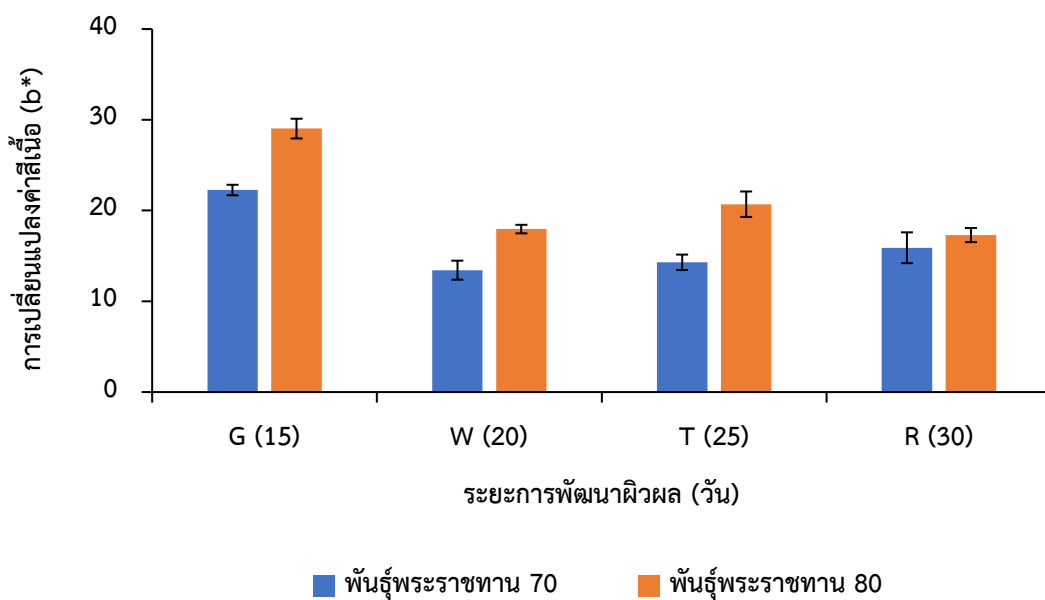
ค่าสีเหลือง-น้ำเงิน (b^*)

การเปลี่ยนแปลงค่าสีของผลสตรอร์เบอร์รี่ทั้งสองสายพันธุ์ แสดงโดยค่า b^* หมายถึง เมื่อ b^* มีค่าเป็นบวกจะแสดงถึงสีเหลือง เมื่อ b^* มีค่าเป็นลบจะแสดงถึงสีน้ำเงิน และค่า b^* มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง -60 ถึง +60 จากผลการทดลองพบว่า การเปลี่ยนแปลงค่าสีผิวในแต่ละระยะของการพัฒนาผิวผล ได้แก่ ระยะ G, W, T และ R ในผลสตรอร์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 27.66, 21.03, 18.36 และ 12.66 ตามลำดับ และในผลสตรอร์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 32.13, 28.53, 20.63 และ 17.40 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ในระยะ G, W, T และ R ของสตรอร์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 มีลักษณะสีผิวผลที่เป็นสีเหลืองน้อยกว่าสตรอร์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 และยิ่งเมื่อผลสุกขึ้น ค่า b^* จะยิ่งลดลงตามลำดับ ซึ่งหมายถึงสตรอร์เบอร์รี่มีกระบวนการสุกมากขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่า แนวโน้มค่าสีผิวในแต่ละระยะของการพัฒนาผิวผลของสตรอร์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 32 ภาพ 42)

ค่าสีเนื้อ ผลการทดลองพบว่า การเปลี่ยนแปลงค่าสีเนื้อในระยะ G, W, T และ R ในผลสตรอร์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 22.26, 13.43, 14.30 และ 15.90 ตามลำดับ และในผลสตรอร์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 29.03, 17.96, 20.70 และ 17.30 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ค่าสีเนื้อในระยะ G, W, T และ R มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงค่า b^* ซึ่งสอดคล้องกับสีผิวผล นอกจากนี้ยังพบว่า แนวโน้มค่าสีเนื้อในแต่ละระยะของการพัฒนาผิวผลของสตรอร์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 32 ภาพ 43)



ภาพ 42 การเปลี่ยนแปลงค่าสีผิว (b*) ของผลสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 หลังจากเก็บเกี่ยวที่ระยะเวลาหลังดอกบานต่างกัน

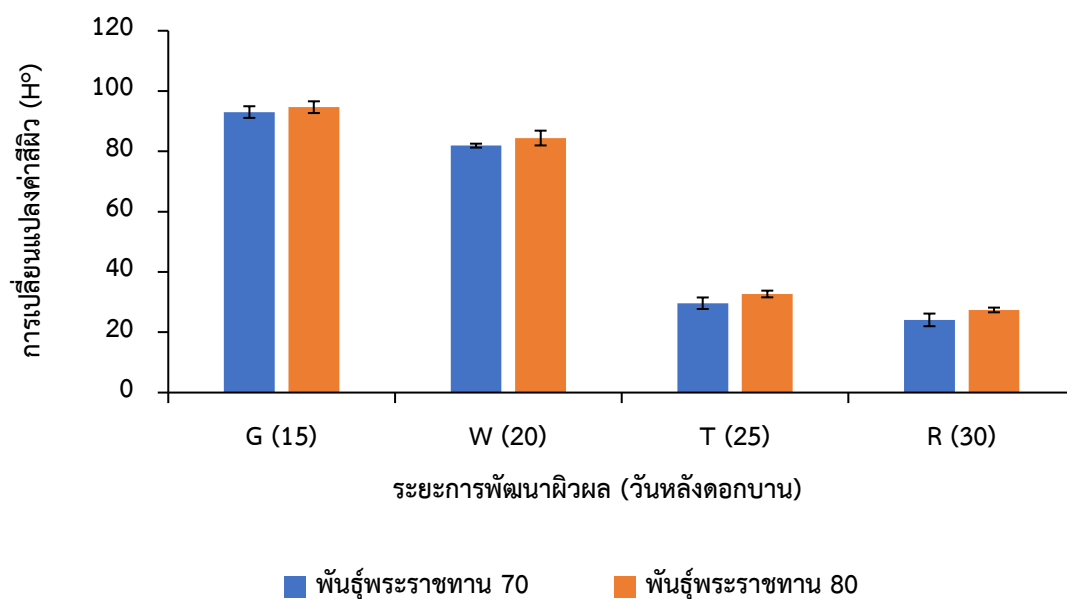


ภาพ 43 การเปลี่ยนแปลงค่าสีเนื้อ (b*) ของผลสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 หลังจากเก็บเกี่ยวที่ระยะเวลาหลังดอกบานต่างกัน

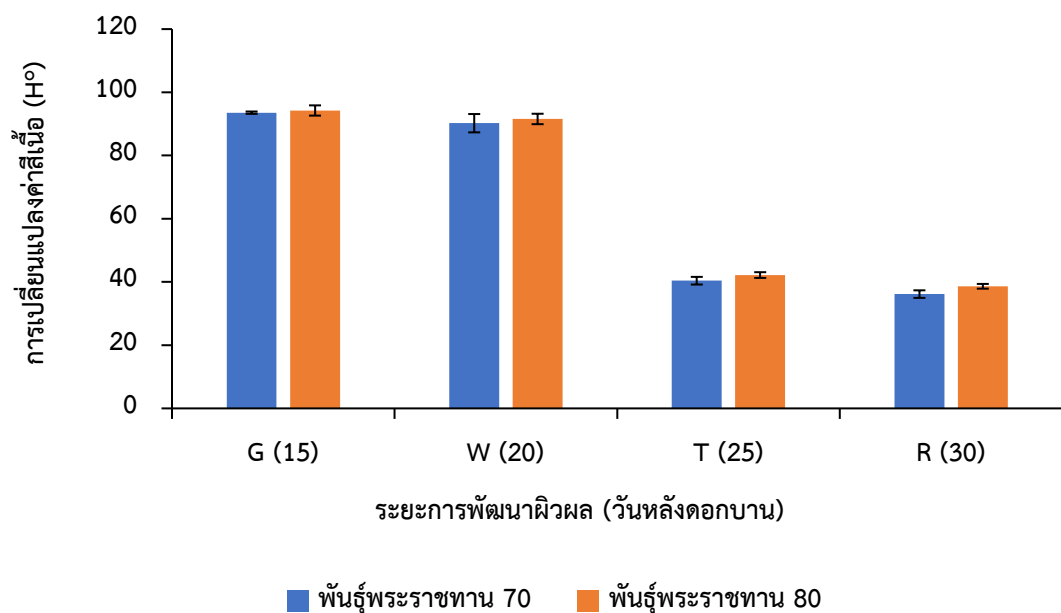
ค่ามุม Hue angle (H°)

ค่า H° เป็นค่าที่แสดงสีที่แท้จริงของวัตถุ มีค่าอยู่ระหว่าง 0-360 ถ้าค่า H° มีค่าเท่ากับ 0 องศา สีของวัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีแดง มีค่าเข้าใกล้มุม 90 องศา สีของวัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีเหลือง มีค่าเข้าใกล้ 180 องศา สีของวัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีเขียว มีค่าเข้าใกล้ 270 องศา สีของวัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีน้ำเงิน และมีค่าเข้าใกล้ 360 องศา สีของวัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีม่วง จากผลการทดลอง พบว่าการเปลี่ยนแปลงค่าสีผิวในแต่ละระยะของการพัฒนาผิวผล ได้แก่ ระยะ G, W, T และ R ในผลสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 93.03, 81.90, 29.63 และ 24.10 ตามลำดับ และในผลสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 94.65, 84.41, 32.70 และ 27.40 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ในระยะ G และ W ในสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 สีผิวผลมีลักษณะเหลืองน้อยกว่าสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 และยังพบว่าระยะ T และ R ของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 ยังคงมีลักษณะสีผิวผลที่เป็นสีแดงมากกว่าสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 เช่นกัน นอกจากนี้ยังพบว่า ค่าสีผิวในแต่ละระยะของการพัฒนาผิวผลของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 32 ภาพ 44)

ค่าสีเนื้อ ผลการทดลองพบว่า การเปลี่ยนแปลงค่าสีเนื้อในระยะ G, W, T และ R ในผลสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 93.56, 90.23, 40.40 และ 36.16 ตามลำดับ และในผลสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 94.25, 91.57, 42.19 และ 38.63 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ค่าสีเนื้อในระยะ G, W, T และ R มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงค่า Hue angle ซึ่งสอดคล้องกับค่าสีผิวผล นอกจากนี้ยังพบว่า ค่าสีเนื้อในแต่ละระยะของการพัฒนาผิวผลของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 32 ภาพ 45)



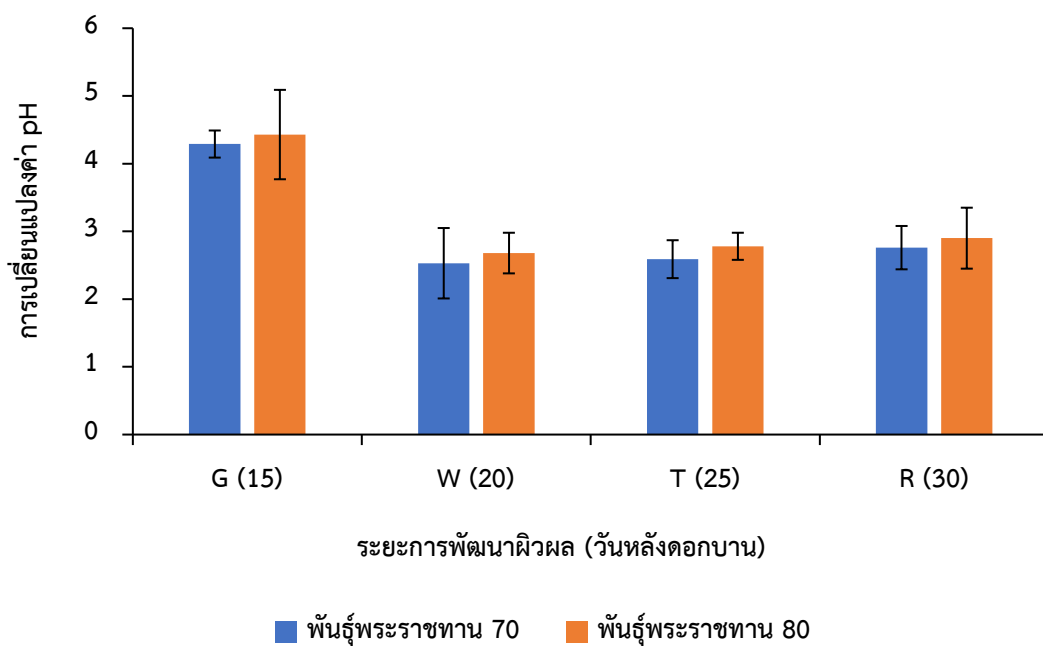
ภาพ 44 การเปลี่ยนแปลงค่าสีผิว (H°) ของผลสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 หลังจากเก็บเกี่ยวที่ระยะเวลาหลังดอกบานต่างกัน



ภาพ 45 การเปลี่ยนแปลงค่าสีเนื้อ (H°) ของผลสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 หลังจากเก็บเกี่ยวที่ระยะเวลาหลังดอกบานต่างกัน

ค่า pH

ผลการทดลองพบว่า การเปลี่ยนแปลงค่า pH ในระยะ G, T, W และ R ในผลสตอร์ว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.29, 2.53, 2.59 และ 2.76 ตามลำดับ และในผลสตอร์ว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.43, 2.68, 2.78 และ 2.90 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าในทุกๆระยะของการพัฒนาผิวผล สตอร์ว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 มีค่าปริมาณ pH น้อยกว่าสตอร์ว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสตอร์ว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 มีค่าความเป็นกรดมากกว่าสตอร์ว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 นอกจากนี้ยังพบว่า ค่า pH ในแต่ละระยะของการพัฒนาผิวผลของสตอร์ว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 32 ภาพ 46)



ภาพ 46 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ของผลสตอร์ว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 หลังจากเก็บเกี่ยวที่ระยะเวลาหลังดอกบานต่างกัน

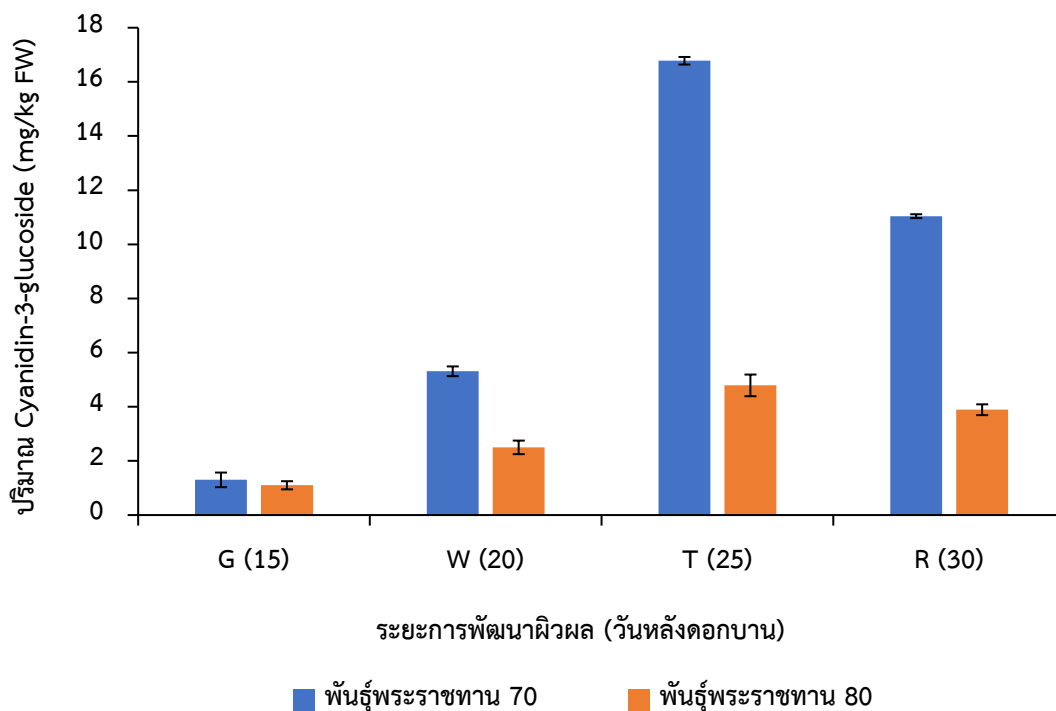
ค่า Cyanidin-3-glucoside

ผลการทดลองพบว่า การเปลี่ยนแปลงปริมาณ Cyanidin-3-glucoside ในระยะ G, T, W และ R ในผลสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.30, 5.31, 16.78 และ 11.04 mg/kg FW ตามลำดับ และในผลสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.10, 2.50, 4.79 และ 3.89 mg/kg FW ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า สตรอว์เบอร์รี่ทั้งสองสายพันธุ์มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณ Cyanidin-3-glucoside ตั้งแต่ระยะ G ถึงระยะ T และจะลดลงเมื่อถึงระยะ R อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบระหว่างทั้งสองสายพันธุ์ในทุกระยะพบว่า สตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 มีปริมาณ Cyanidin-3-glucoside สูงกว่าสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 และพบมากที่สุดในระยะ T นอกจากนี้ยังพบว่า ทุกระยะของการพัฒนาผิวผลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 33 ภาพ 47)

ตาราง 33 การเปลี่ยนแปลงปริมาณ Cyanidin-3-glucoside ในแต่ละระยะของการพัฒนาผิวผลของสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80

พันธุ์	ระยะของการพัฒนาผิวผล (วันหลังดอกบาน)			
	G (15)	W (20)	T (25)	R (30)
พระราชทาน 70	1.30±0.27d	5.31±0.18c	16.78±0.14a	11.04±0.07b
พระราชทาน 80	1.10±0.15d	2.50±0.25bc	4.79±0.40a	3.89±0.20b

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพ 47 การเปลี่ยนแปลงปริมาณ Cyanidin-3-glucoside ของผลสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 หลังจากเก็บเกี่ยวที่ระยะเวลาหลังดอกบานต่างกัน

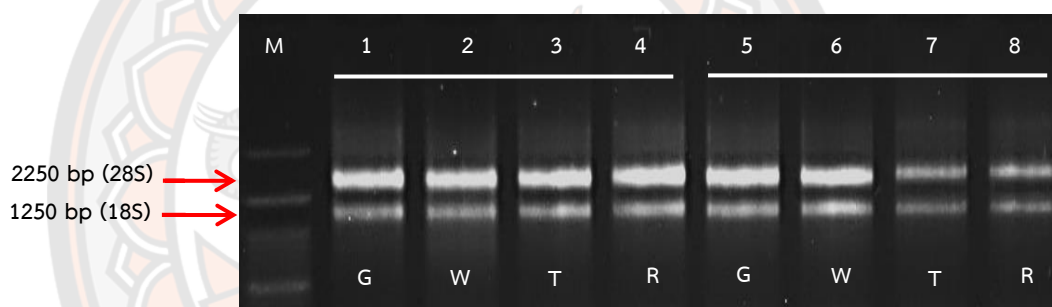
ผลการทดลองที่ 4.2 การวิเคราะห์การแสดงออกของยีน *F3'H* ในแต่ละระยะของการพัฒนาผิวผลของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80

นำผลสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 ในแต่ละระยะของการพัฒนาผิวผล ได้แก่ ระยะผลสีเขียว (G; 15 วันหลังดอกบาน) ผลสีขาว (W; 20 วันหลังดอกบาน) ผลสีชมพู (T; 25 วันหลังดอกบาน) และผลสีแดง (R; 30 วันหลังดอกบาน) มาสกัดอาร์เอ็นเอ (RNA) และสังเคราะห์สายซีดีเอ็นเอ (cDNA) จากนั้นนำไปทดสอบด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ (PCR) ร่วมกับไพรเมอร์ (ตาราง 34) เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสม จากนั้นจึงนำไปวิเคราะห์หาปริมาณการแสดงออกของยีน *F3'H* ด้วยเทคนิคควอาร์ทีพีซีอาร์ (qRT-PCR)

ตาราง 34 ไพรเมอร์ที่ใช้สำหรับวิเคราะห์ยีน *F3'H* และ *GAPDH* ด้วยเทคนิค qRT-PCR

ยีน	คำอธิบาย	ลำดับ (5'-3')	อ้างอิง
<i>F3'H</i>	Forward	ATGTTTCTCATAGCAGCGATCACCT	(Thill et al., 2013)
	Reverse	TTAAGATGATGAAGTTTTATAAGCATGTGGGG	
<i>GAPDH</i>	Forward	TCCATCACTGCCACCCAGAAGACTG	(Salvatierra et al., 2010)
	Reverse	AGCAGGCAGAACCTTTCCGACAG	

จากผลการทดลองพบว่า การสกัดอาร์เอ็นเอในทุกระยะของการพัฒนาผิวผลพบแถบอาร์เอ็นเอ ซึ่งประกอบไปด้วย 18S และ 28S rRNA มีขนาดเท่ากับ 1250 bp และ 2250 bp ตามลำดับ (ภาพ 48)

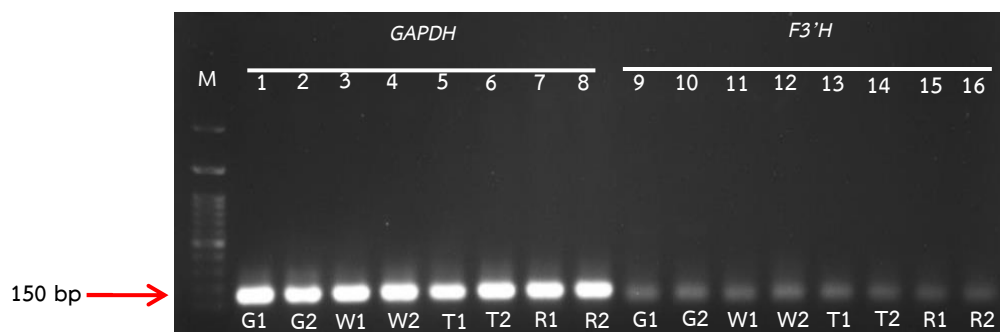


ภาพ 48 อาร์เอ็นเอที่ได้จากการสกัดผลสตรอว์เบอร์รี่ ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง 1 ถึง 4 คือ อาร์เอ็นเอที่ได้จากการสกัดในแต่ละระยะของการพัฒนาผิวผลของสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 และช่อง 5 ถึง 8 คือ อาร์เอ็นเอที่ได้จากการสกัดในแต่ละระยะของการพัฒนาผิวผลของสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80

จากนั้น นำซีดีเอ็นเอ (cDNA) และไพรเมอร์ไปทดสอบด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ในสภาวะดังนี้

1. Pre-denature: 94 °C ระยะเวลา 1 นาที
 2. Denature: 94 °C ระยะเวลา 30 วินาที
 3. Annealing: 62 °C (*F3'H*, *GAPDH*) ระยะเวลา 1 นาที
 4. Extension: 72 °C ระยะเวลา 1 นาที
 5. Final-extension: 72 °C ระยะเวลา 10 นาที
- } 44 cycles

ผลการทดลอง พบว่า ในทุกระยะของการพัฒนาผิวผลของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 พบแถบผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะ (PCR product) เพียง 1 แถบ ซึ่งมีขนาดเท่ากับ 150 bp ในยีน *GAPDH* (ยีนควบคุม) และยีน *F3'H* (ยีนเป้าหมาย) (ภาพ 49)



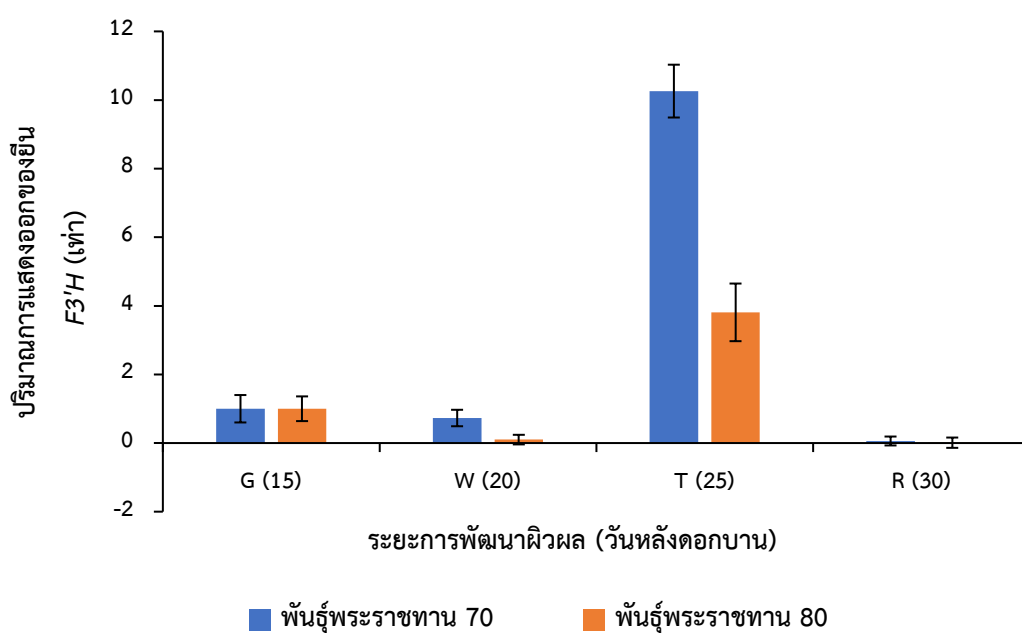
ภาพ 49 แถบผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะที่ได้จากการสกัดจากผลสตรอว์เบอร์รี ซึ่งตรวจสอบบน เจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง 1 ถึง 8 คือ ผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะเมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ *GAPDH* (ยีนควบคุม) ในแต่ละระยะของการพัฒนาผิวผลของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 ช่อง 9 ถึง 16 คือ ผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะ เมื่อทดสอบกับไพรเมอร์ *F3'H* (ยีนเป้าหมาย) ในแต่ละระยะของการพัฒนาผิวผลของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80

จากนั้น นำสถานะที่เหมาะสมจากปฏิกิริยาพีซีอาร์ ไปใช้วิเคราะห์ปริมาณการแสดงออกของยีน *F3'H* ด้วยเทคนิค qRT-PCR ผลการทดลองพบว่า ยีน *F3'H* มีการแสดงออกมากในระยะผลสีชมพู (T; 25 วันหลังดอกบาน) และจะลดลงเมื่อผลสตรอว์เบอร์รีพัฒนาเข้าสู่ระยะผลสีแดง (R; 30 วันหลังดอกบาน) นอกจากนี้ยังพบว่า ผลสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 ในทุกระยะของการพัฒนาผิวผล มีปริมาณการแสดงออกของยีน *F3'H* มากกว่าสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 (ตาราง 35 ภาพ 50)

ตาราง 35 การเปลี่ยนแปลงปริมาณการแสดงออกของยีน $F3'H$ ในแต่ละระยะของการพัฒนาผิวผลของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80

พันธุ์	ระยะการพัฒนาริผิวผล (วันหลังดอกบาน)			
	G (15)	W (20)	T (25)	R (30)
พระราชทาน 70	1.00±0.40b	0.73±0.24c	10.26±0.77a	0.06±0.13d
พระราชทาน 80	1.00±0.36b	0.10±0.14c	3.81±0.84a	0.01±0.15d

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



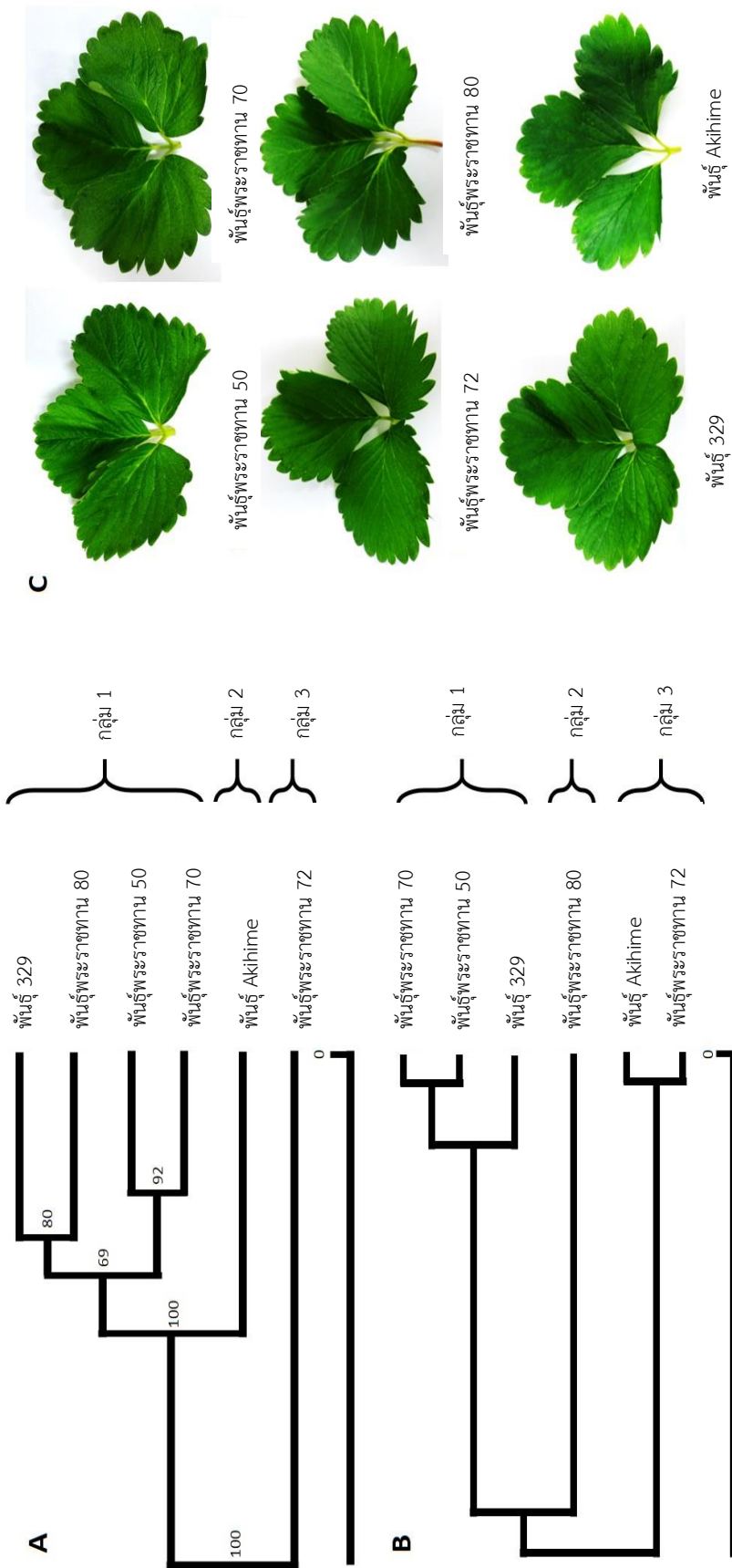
ภาพ 50 การเปลี่ยนแปลงปริมาณการแสดงออกของยีน $F3'H$ ของผลสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 หลังจากเก็บเกี่ยวที่ระยะเวลาหลังดอกบานต่างกัน

ผลการทดลองที่ 5 ศึกษาชนิดสารเมตาโบไลต์ปฐมภูมิและทุติยภูมิที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์สตรอว์เบอร์รี (metabolomics)

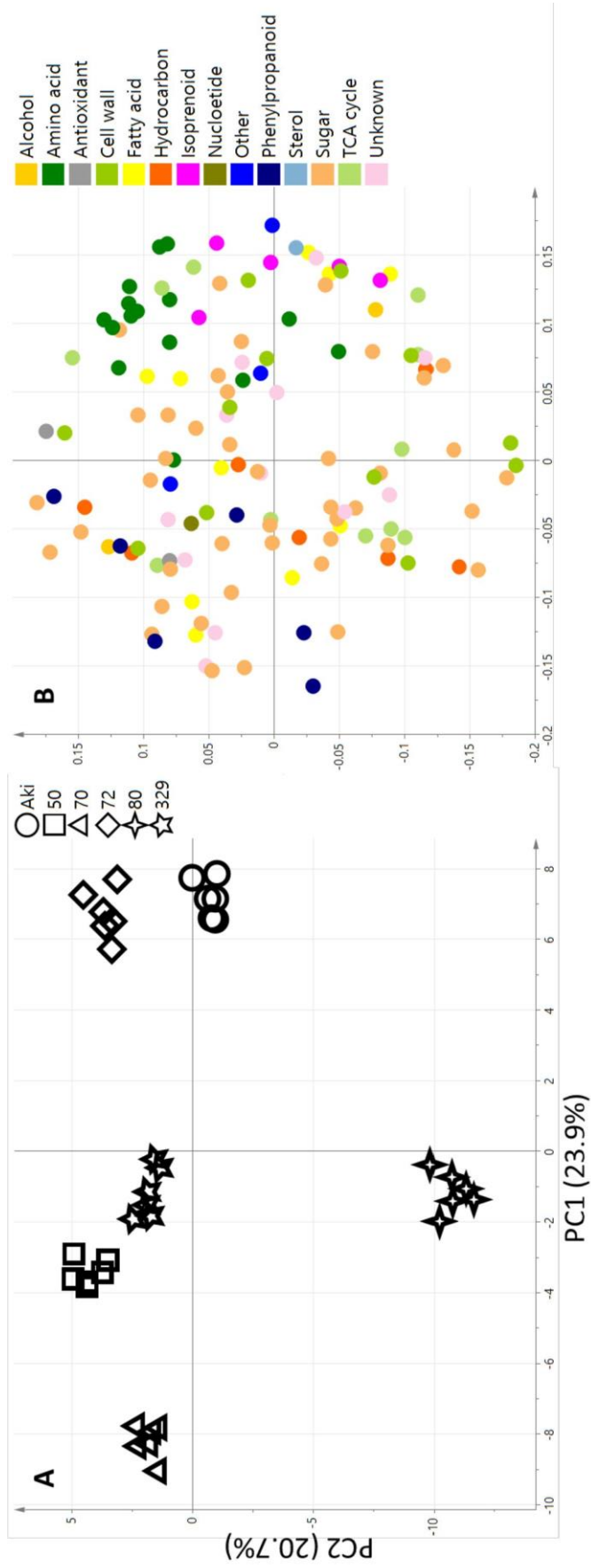
ผลการทดลองที่ 5.1 การตรวจสอบสารเมตาโบไลต์จากใบสตรอว์เบอร์รีด้วยเทคนิค GC-MS

ผลการทดลองพบว่า การวิเคราะห์สารเมตาโบไลต์จากใบสตรอว์เบอร์รีจำนวน 6 สายพันธุ์สามารถจำแนกสตรอว์เบอร์รีได้ทั้งหมด 3 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 ได้แก่ สตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 พันธุ์พระราชทาน 50 และพันธุ์ 329 กลุ่มที่ 2 ได้แก่ สตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 และกลุ่มที่ 3 ได้แก่ สตรอว์เบอร์รีพันธุ์ Akihime และพันธุ์พระราชทาน 72 (ภาพ 51B) นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารพันธุกรรมและสารเมตาโบไลต์ของสตรอว์เบอร์รีจำนวน 6 สายพันธุ์ (ภาพ 51C) พบว่า สตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 50 และพันธุ์พระราชทาน 70 มีความเหมือนกันมากที่สุด ในขณะที่สตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 72 มีความเหมือนกันน้อยที่สุด (ภาพ 51A, B)

เมื่อพิจารณา การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (PCA analysis) ของสารเมตาโบไลต์ ผลการทดลองพบว่า สามารถจำแนกสายพันธุ์สตรอว์เบอร์รีได้ทั้งหมด 3 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 ได้แก่ สตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 พันธุ์พระราชทาน 50 และพันธุ์ 329 กลุ่มที่ 2 ได้แก่ พันธุ์พระราชทาน 80 และกลุ่มที่ 3 ได้แก่ สตรอว์เบอร์รีพันธุ์ Akihime และพันธุ์พระราชทาน 72 (ภาพ 52A) โดยพบว่า สตรอว์เบอร์รีกลุ่มที่ 1 มีชนิดสารเมตาโบไลต์ที่สำคัญ ได้แก่ phenylpropanoids กลุ่มที่ 2 ได้แก่ myo-inositol, glycerol, glycerol-hexose, fatty acid C26: 0 และกลุ่มที่ 3 ได้แก่ amino acids, isoprenoids, α -tocopherol, phytol และ squalene เป็นต้น (ภาพ 52B)



ภาพ 51 แผนภูมิต้นไม้ (phylogenetic tree) ซึ่งแสดงถึงความคล้ายคลึงกันระหว่างสารพันธุกรรม ที่ได้รับจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี (RAPD) (A) และสารเมตาโบไลต์ด้วยเทคนิค GC-MS (B) ของสตอร์วเบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ (C)



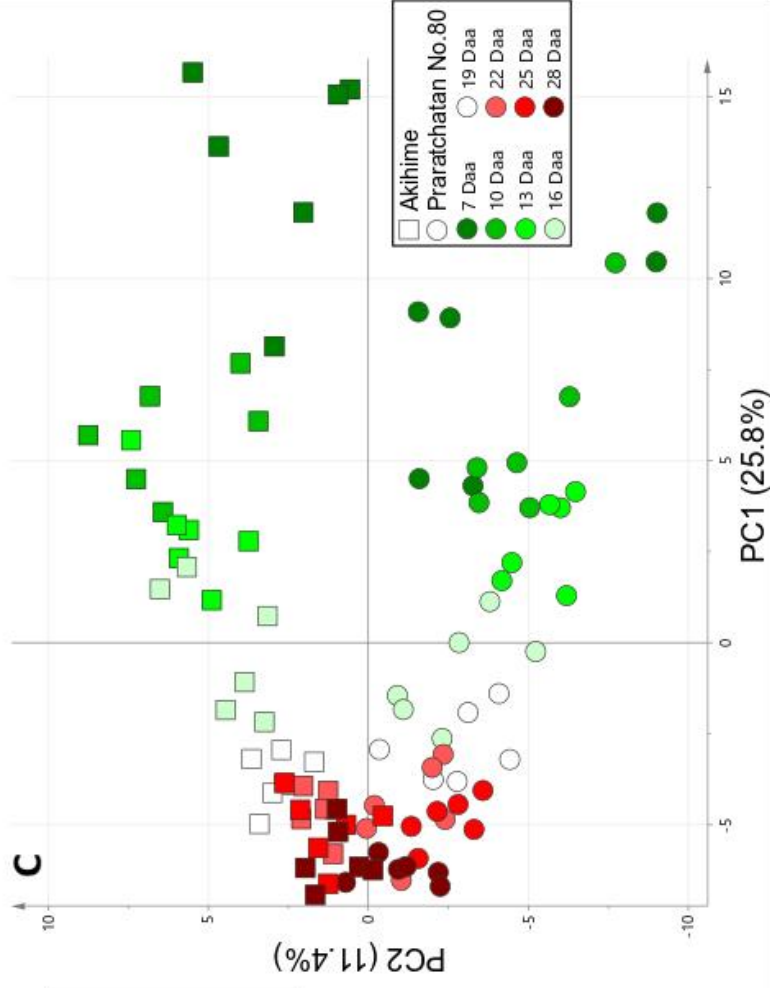
ภาพ 52 การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (PCA analysis) ของสารเมตาโบไลต์ด้วยเทคนิค GC-MS ซึ่งสกัดจาก polar และ non-polar ของใบเสตอร่าเบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ โดย (A) คือ score plot และ (B) คือ loading plot



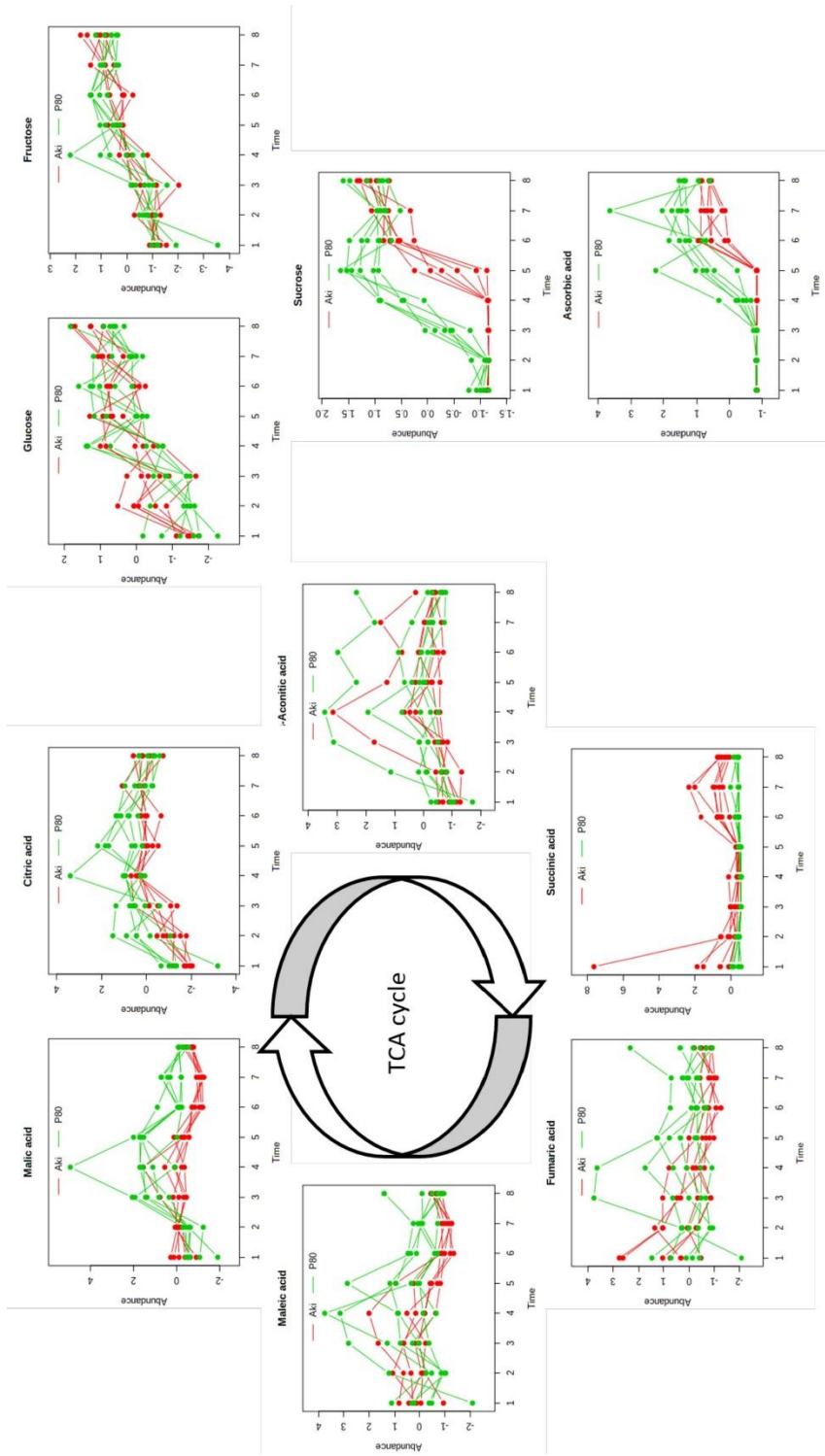
ผลการทดลองที่ 5.2 การตรวจสอบสารเมตาโบไลต์จากผลสตรอว์เบอร์รีด้วยเทคนิค GC-MS และ LC-MS

ผลการทดลองพบว่า การเปลี่ยนแปลงสารเมตาโบไลต์ในระยะผลดิบ (7-16 วันหลังดอกบาน) ของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ Akihime (ภาพ 53A) และพันธุ์พระราชทาน 80 (ภาพ 53B) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยพบว่าที่ระยะเวลา 16 วันหลังดอกบาน เป็นระยะที่มีการเปลี่ยนแปลงสารเมตาโบไลต์มากที่สุด (ภาพ 53C) ซึ่งสามารถพิจารณาได้จากชนิดของสารเมตาโบไลต์ในกลุ่ม TCA cycle ผลการทดลองพบว่า ที่ระยะเวลา 16 วันหลังดอกบาน สตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 มีปริมาณกรด malic acid, citric acid, aconitic acid, fumaric acid และ maleic acid มากกว่าสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ Akihime (ภาพ 54) และเมื่อพิจารณาสารเมตาโบไลต์ในกลุ่มของน้ำตาล เช่น sucrose รวมถึงกลุ่มของปริมาณวิตามินซี (ascorbic acid) พบว่าสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 ยังคงมีปริมาณสารดังกล่าวมากที่สุด โดยพบมากในระยะผลสุก (25 วันหลังดอกบาน) (ภาพ 54) เมื่อพิจารณาสารเมตาโบไลต์ในกลุ่มของ fatty acids เช่น C16:0 และ C18:0 พบว่า มีมากในสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ Akihime โดยพบมากในระยะผลดิบ ตั้งแต่ระยะเวลา 7-16 วันหลังดอกบาน และจะเริ่มลดลงเมื่อถึงระยะเวลา 19 วันหลังดอกบาน (ภาพ 55)

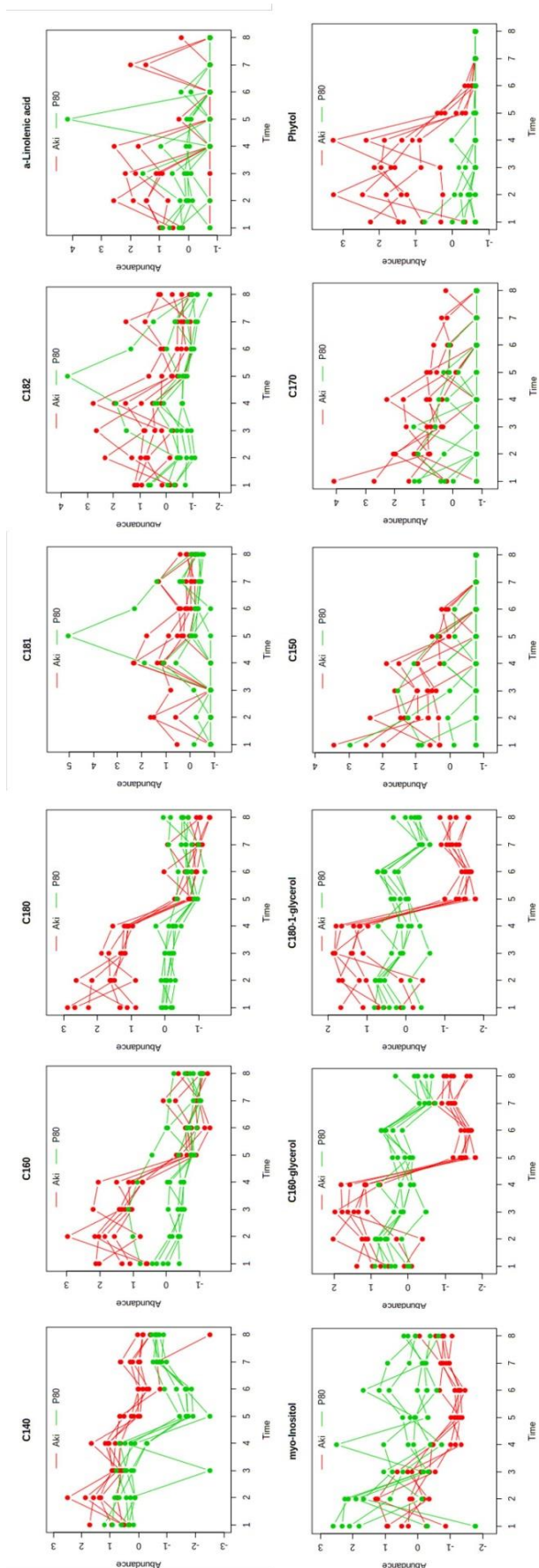
เมื่อพิจารณาสารเมตาโบไลต์ในกลุ่มของสาร ellagitannins และ condensed tannins เช่น ellagic acid pentoside I, II, III, bis-HHDP-glucose I, II, III, catechin, procyanidin B1, B3 และ proanthocyanidin trimer พบว่า มีมากที่สุด ในสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 โดยพบในระยะผลดิบ (7-16 วันหลังดอกบาน) และจะลดลงในระยะผลสุก (19-28 วันหลังดอกบาน) (ภาพ 56) และเมื่อพิจารณาสารเมตาโบไลต์ในกลุ่มของสาร phenolic compound เช่น kaempferol-glucoside I, II, pelargonidin-glucoside และ solidroside I, II พบว่า มีมากที่สุด ในสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 โดยพบในระยะผลสุก 25 วันหลังดอกบาน (ภาพ 57) นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารเมตาโบไลต์ที่ระยะผลสุก 25 วันหลังดอกบาน ในสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 และพันธุ์ Akihime พบว่า สตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 มีปริมาณสารประกอบฟีนอล (phenol compounds) และสารประกอบฟลาโวนอยด์ (flavonoids) มากที่สุด ถึง 3-9 เท่า นอกจากนี้ยังพบว่า ที่ระยะเวลาเดียวกันสารเมตาโบไลต์ชนิด pelargonidin-glucoside และ solidroside ยังคงพบมากถึง 2 เท่า กว่าสายพันธุ์ Akihime (ภาพ 58)



ภาพ 53 ระยะการพัฒนามีวผลสตอร์อ์เบอร์รี่ทั้ง 8 ระยะของสายพันธุ์ Akihime (A) และพันธุ์พระราชทาน 80 (B) การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (PCA analysis) ของสารเมตาโบไลต์ด้วยเทคนิค GC-MS และ LC-MS ซึ่งสกัดจาก polar และ non-polar ของผลสตอร์อ์เบอร์รี่ทั้ง 8 ระยะ (C)

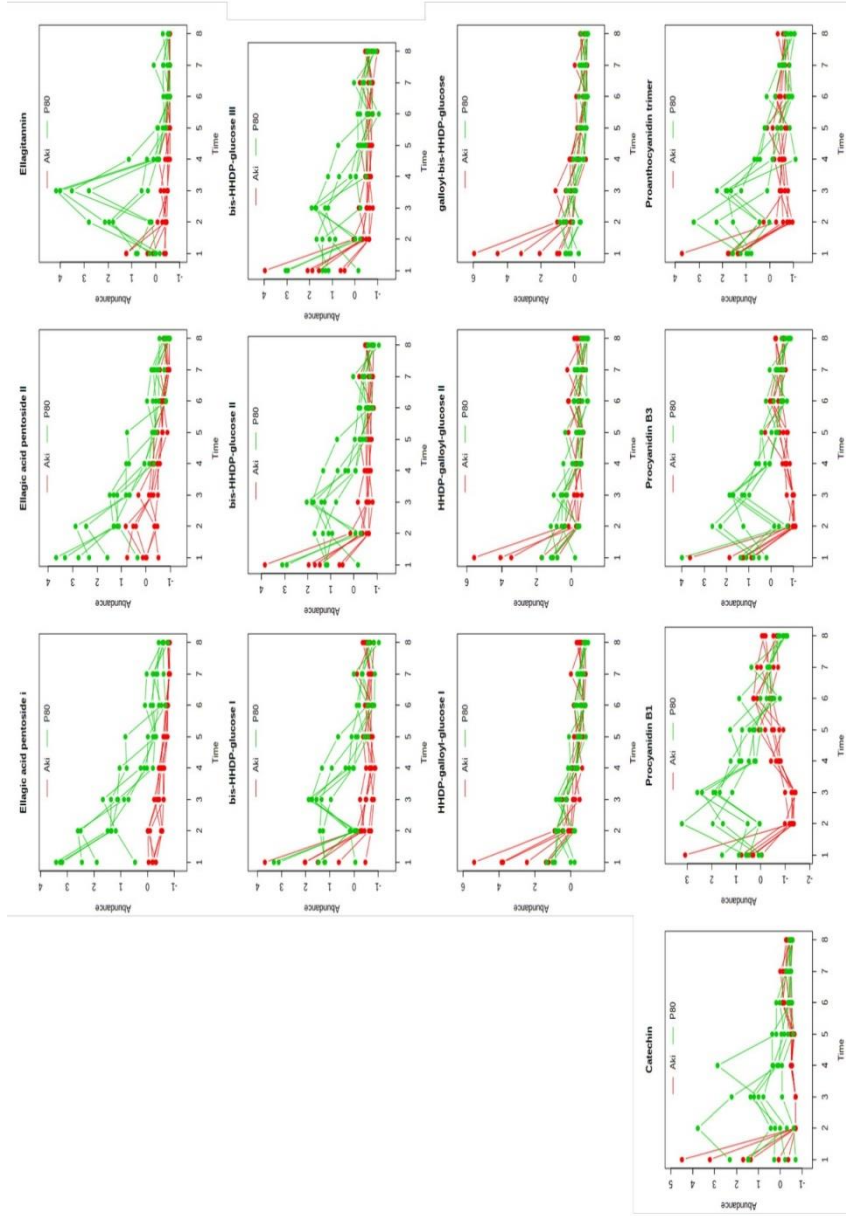


ภาพ 54 ความแตกต่างของสารเมตาโบไลต์ในกลุ่ม TCA cycle, glucose, fructose, sucrose และ Vitamin C (ascorbic acid) โดยแบ่งเป็นระยะ 7, 10, 13, 16, 19, 22, 25 และ 28 วันหลังดอกบาน ของสตรีพันธุ์พระราชทาน 80 และพันธุ์ Akihime

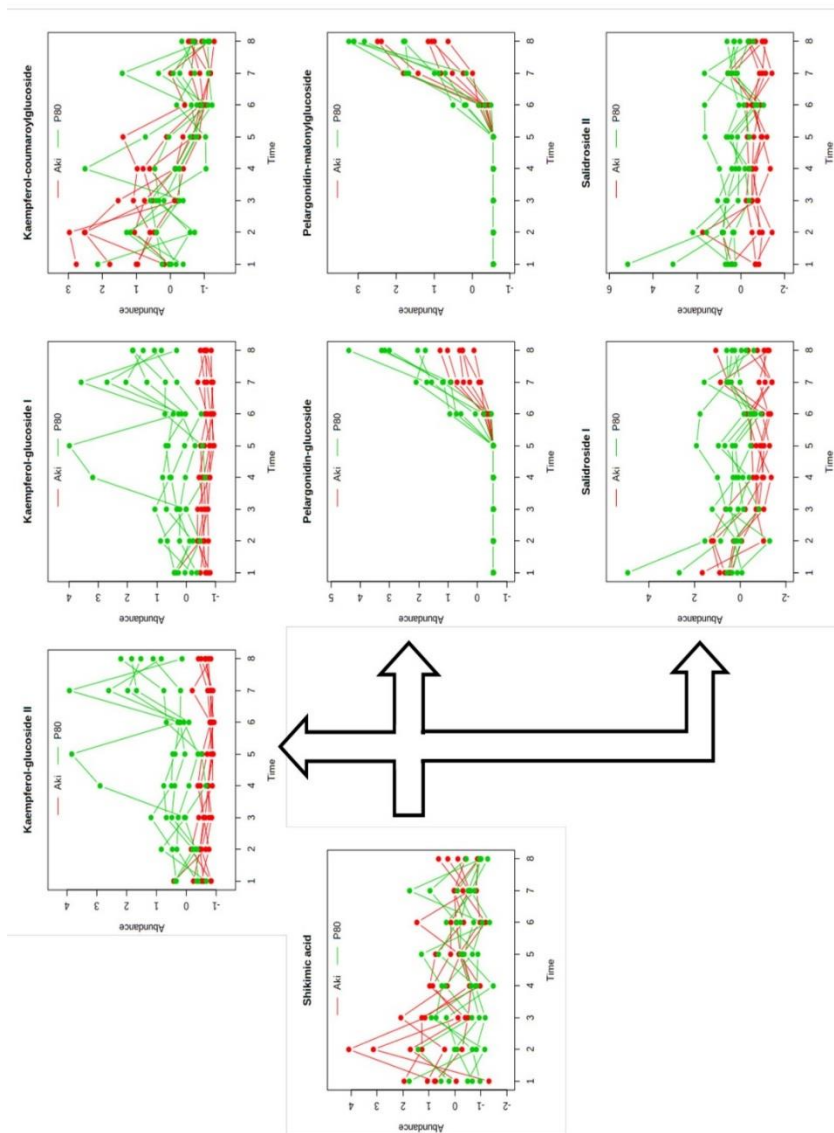


ภาพ 55 ความแตกต่างของสารเมตาโบไลต์ในกลุ่ม fatty acids โดยแบ่งเป็นระยะ 7, 10, 13, 16, 19, 22, 25 และ 28 วันหลังตอกบานของสตรีวัยเบอริที่พันธุ์พระราชทาน 80 และพันธุ์ Akihime

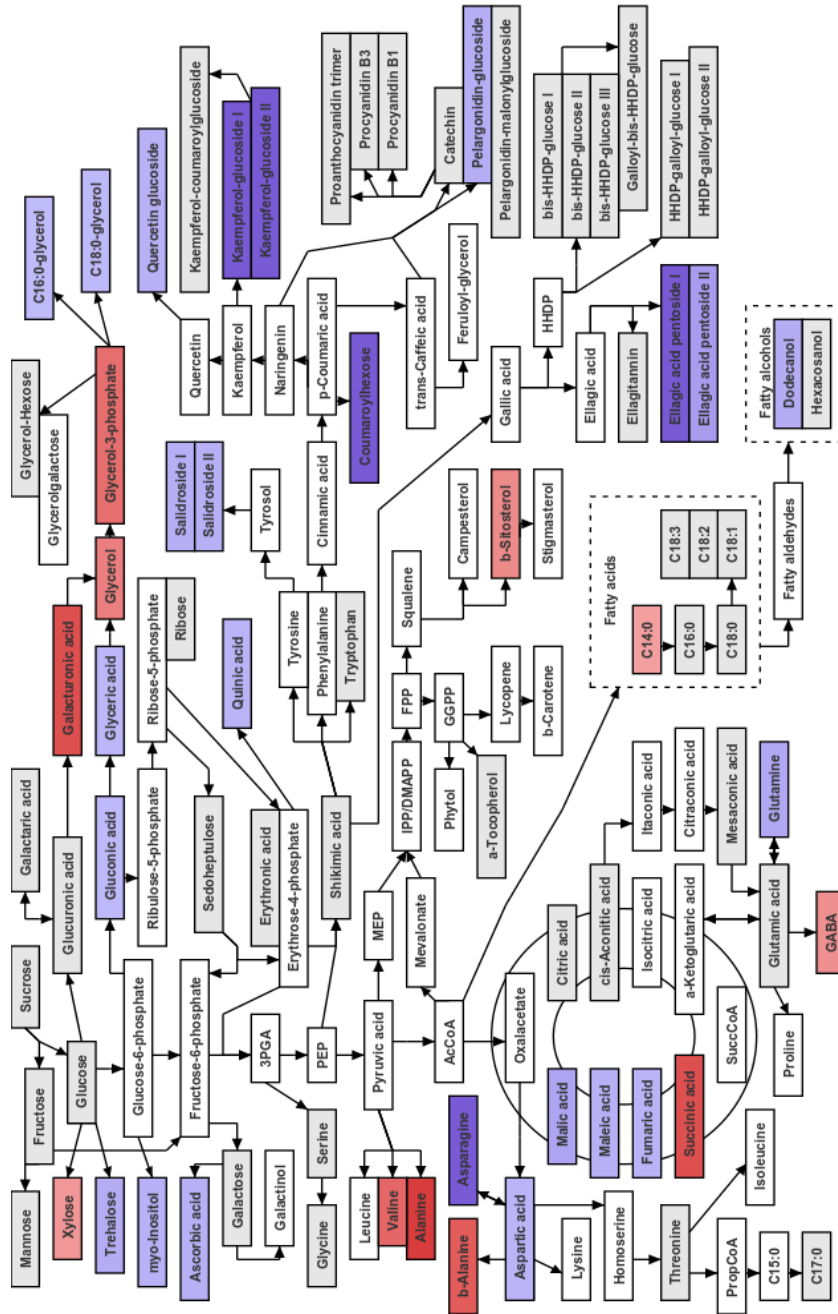




ภาพ 56 ความแตกต่างของสารเมตาโบไลต์ในกลุ่ม ellagitannins โดยแบ่งเป็นระยะ 7, 10, 13, 16, 19, 22, 25 และ 28 วันหลังดื่อกบาน ของสตรีดื่อกบาน 80 และพื้นที่ Akihime



ภาพ 57 ความแตกต่างของสารเมตาโบไลต์ในกลุ่ม phenolic compounds โดยแบ่งเป็นระยะ 7, 10, 13, 16, 19, 22, 25 และ 28 วันหลังดอกบาน ของสตรีอวเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 และพันธุ์ Akihime

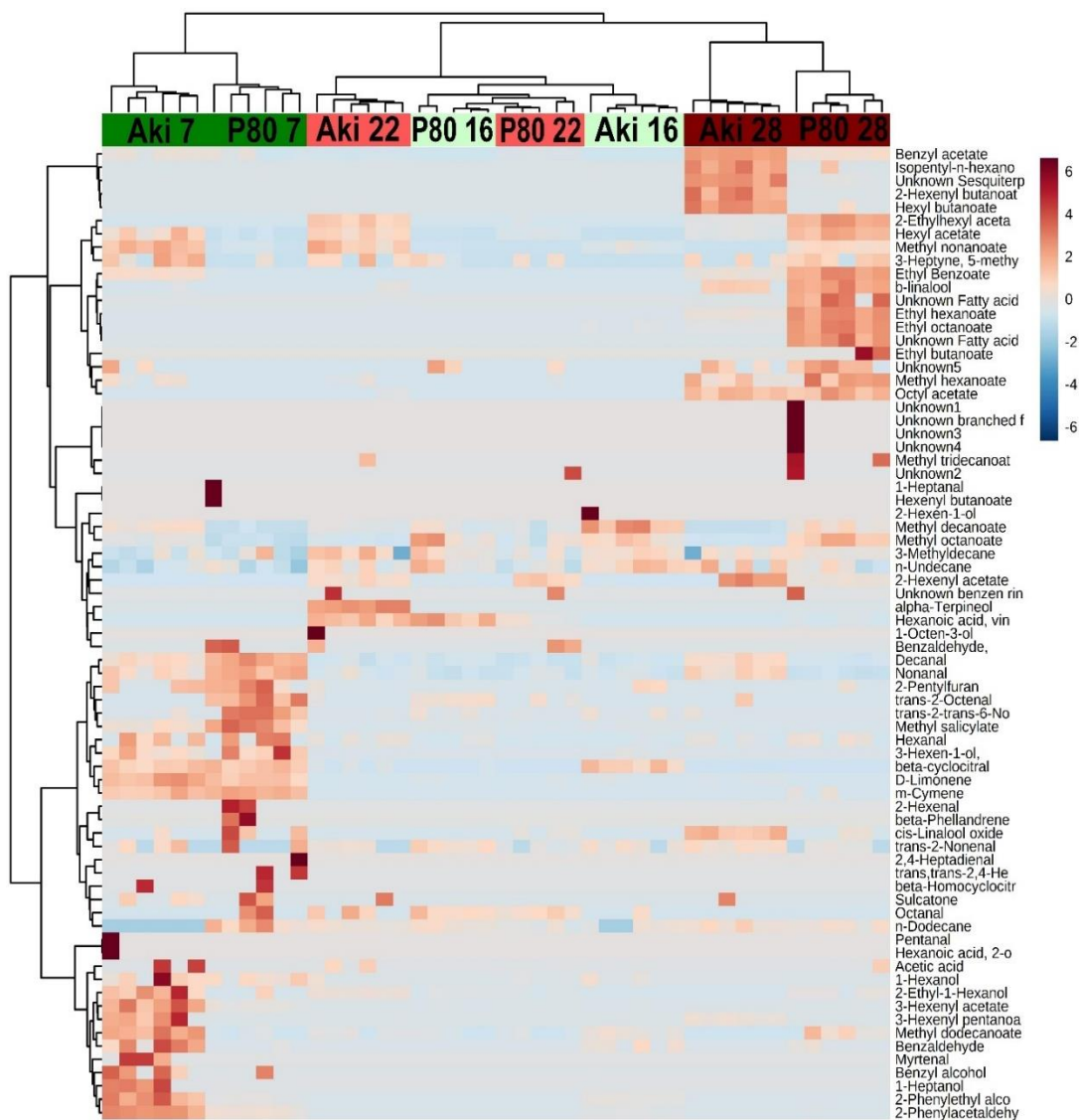


ภาพ 58 ความแตกต่างของวิธีการสังเคราะห์สารเมตาโบไลต์ของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 และพันธุ์ Akihime ที่ระยะเวลา 25 วันหลังดอกบาน โดยกำหนดให้ปริมาณสารเมตาโบไลต์ที่มีค่า >1 (สีฟ้า); <1 (สีฟ้า); ไม่เปลี่ยนแปลง (สีเทา); ตรวจสอบพบ (สีขาว)

ผลการทดลองที่ 5.3 การตรวจสอบสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่าย (volatile organic compounds) จากผลสตรอร์วเบอร์รี่ด้วยเทคนิค SPME-GC-MS

ผลการทดลองพบว่า สามารถจำแนกระยะเวลาการเปลี่ยนแปลงสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายของสตรอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 และพันธุ์ Akihime ได้ทั้งหมด 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ 1 ระยะเวลา 7 วันหลังดอกบาน กลุ่มที่ 2 ระยะเวลา 16 และ 22 วันหลังดอกบาน และกลุ่มที่ 3 ระยะเวลา 28 วันหลังดอกบาน (ภาพ 59A) นอกจากนี้ยังพบว่า ในระยะเวลา 7-16 วันหลังดอกบาน พบสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายในกลุ่มของ alcohol และ aldehydes ในขณะที่ระยะเวลา 22-28 วันหลังดอกบาน พบสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายในกลุ่มของ esters (ภาพ 59B และภาพ 60) ซึ่งสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายในกลุ่มของ alcohol จะพบมากในระยะเวลา 7 วันหลังดอกบานของสตรอร์วเบอร์รี่พันธุ์ Akihime ในทางตรงกันข้ามที่ระยะเวลาเดียวกันจะพบสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายในกลุ่มของ aldehydes และ GPP derived มากในสตรอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 (ภาพ 60)





ภาพ 60 Heatmap ของสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่าย (volatile organic compounds) ของสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 และพันธุ์ Akihime โดยแบ่งออกเป็น 4 ระยะ ได้แก่ ระยะ 7, 16, 22 และ 28 วันหลังดอกบาน

บทที่ 5

บทสรุป

สรุปผลการวิจัย

การทดลองที่ 1 ศึกษาการจำแนกลักษณะประจำพันธุ์และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสตรอว์เบอร์รีด้วยเทคนิคเครื่องหมายดีเอ็นเอ

จากการศึกษาการจำแนกลักษณะประจำพันธุ์สตรอว์เบอร์รีจำนวน 6 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์พระราชทาน 50 พันธุ์พระราชทาน 70 พันธุ์พระราชทาน 72 พันธุ์พระราชทาน 80 พันธุ์ 329 และพันธุ์ Akihime ด้วยเทคนิค RAPD ผลการทดลองพบว่า จากการทดสอบด้วยไพรเมอร์จำนวน 25 ไพรเมอร์ ซึ่งทุกไพรเมอร์ให้จำนวนแถบผลผลิตพีซีอาร์ทั้งหมด 263 แถบ หรือเฉลี่ยเท่ากับ 10.52 แถบต่อไพรเมอร์ จำนวน polymorphic มีค่าเท่ากับ 228 แถบ หรือเฉลี่ยเท่ากับ 9.12 แถบต่อไพรเมอร์ จำนวน monomorphic มีค่าเท่ากับ 35 แถบ หรือเฉลี่ยเท่ากับ 1.40 แถบต่อไพรเมอร์ เปอร์เซ็นต์ polymorphic มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 87.85% และขนาดผลผลิตพีซีอาร์มีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 200-5000 bp นอกจากนี้ยังพบว่า มีเพียง 19 ไพรเมอร์ ที่ให้ขนาดผลผลิต พีซีอาร์ที่จำเพาะ (specific bands) ในแต่ละสายพันธุ์สตรอว์เบอร์รี โดยพบในสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 50 มากถึง 13 แถบ และน้อยสุดในสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 72 พบเพียง 1 แถบนอกจากนี้ การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของสตรอว์เบอร์รีจำนวน 6 สายพันธุ์ พบว่า สามารถจำแนกสตรอว์เบอร์รีได้ทั้งหมด 3 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 ได้แก่ สตรอว์เบอร์รีพันธุ์ 329, พันธุ์พระราชทาน 80, พันธุ์พระราชทาน 50 และ พันธุ์พระราชทาน 70 กลุ่มที่ 2 ได้แก่ พันธุ์ Akihime และกลุ่มที่ 3 ได้แก่ พันธุ์พระราชทาน 72 ซึ่งแสดงให้เห็นว่า สตรอว์เบอร์รีกลุ่มที่ 1 และ 2 มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมากกว่าสตรอว์เบอร์รีกลุ่มที่ 3 เป็นต้น

การทดลองที่ 2 ศึกษาการปรับปรุงพันธุ์สตรอว์เบอร์รีเพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการผลิตสารแอนโทไซยานิน

จากการศึกษาการปรับปรุงพันธุ์สตรอว์เบอร์รีเพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการผลิตสารแอนโทไซยานิน ผลการทดลองพบว่า จากการปลูกทดสอบสตรอว์เบอร์รีเมล็ดลูกผสม F1 จำนวน 36 คู่ผสมละ ๆ 300 เมล็ดพบว่า ทุกคู่ผสมมีการรอดชีวิตทั้งสิ้น 2,540 ต้น จากนั้นจึงทำการคัดเลือก ผลการทดลองพบว่า สามารถคัดเลือกต้นสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 ที่มีศักยภาพในการผลิตสารแอนโทไซยานินได้ปริมาณสูงกว่าสายพันธุ์พ่อแม่จำนวนทั้งหมด 35 ต้น โดยพบว่าทุกต้นมีแนวโน้มในด้านคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ และปริมาณสารแอนโทไซยานิน (Cyanidin-3-glucoside

และ Pelargonidin-3-glucoside) มากกว่าสตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์พ่อแม่จำนวน 6 สายพันธุ์ (พันธุ์พระราชทาน 50 พันธุ์พระราชทาน 70 พันธุ์พระราชทาน 72 พันธุ์พระราชทาน 80 พันธุ์ 329 และพันธุ์ Akihime) ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาสตอร์วเบอร์รี่ลูกผสม F1 ทั้งหมด 35 ต้น พบว่า สตอร์วเบอร์รี่คู่ผสมพันธุ์ Akihime x พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 66 มีแนวโน้มการเจริญเติบโตทางด้านลำต้น การเจริญเติบโตทางด้าน การสืบพันธุ์ คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ และปริมาณแอนโทไซยานิน เช่น ปริมาณสารแอนโทไซยานิน ทั้งหมดเฉลี่ยเท่ากับ 52.21 mg/100g FW, Cyanidin-3-glucoside มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 29.90 mg/kg FW และ Pelargonidin-3-glucoside มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 554.89 mg/kg FW ซึ่งมากกว่าต้นสตอร์วเบอร์รี่ ลูกผสม F1 อื่น ๆ จากผลการทดลองสามารถบ่งชี้ได้ว่า ต้นสตอร์วเบอร์รี่ลูกผสม F1 จำนวน 35 ต้น มีศักยภาพในการผลิตสารแอนโทไซยานิน โดยเฉพาะคู่ผสมพันธุ์ Akihime x พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 66 ดังนั้น สตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์ลูกผสมเหล่านี้จึงเหมาะแก่การนำไปพัฒนาเป็นสายพันธุ์ทางการค้าในประเทศไทยต่อไป

การทดลองที่ 3 ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 ในสภาพปลอดเชื้อ ผลการทดลองพบว่า การฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด (apical meristem) ด้วยสารละลายคลอโรกซ์ (NaOCl) ที่ระดับความเข้มข้น 3% เป็นระยะเวลา 20 นาที มีความเหมาะสมมากที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมากถึง 80% จากนั้นนำชิ้นส่วนที่มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมากที่สุดมาชักนำให้เกิดแคลลัส ผลการทดลองพบว่า อาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 1.0 mg/L + BA 1.5 mg/L สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้มากที่สุด โดยพบว่า แคลลัสมีขนาดความกว้างเฉลี่ยเท่ากับ 2.10 เซนติเมตร และความยาวเฉลี่ยเท่ากับ 2.74 เซนติเมตร หลังจากนั้นจึงนำแคลลัสจากสูตรอาหารที่มีการเจริญเติบโตดีที่สุดมาชักนำให้เกิดยอด ผลการทดลองพบว่า อาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 2.0 mg/L สามารถชักนำให้แคลลัสพัฒนาเป็นยอดได้ดีที่สุด โดยพบว่ามีจำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 38.95 ยอด/ชิ้นส่วน และความสูงยอดเฉลี่ยเท่ากับ 7.24 เซนติเมตร จากนั้นจึงนำยอดจากสูตรอาหารที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 2.0 mg/L มาชักนำให้เกิดราก พบว่าสูตรอาหาร MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA (ชุดควบคุม) มีประสิทธิภาพในการชักนำให้ยอดพัฒนาเป็นรากได้ดีที่สุด โดยมีจำนวนรากเฉลี่ยเท่ากับ 16.93 ราก/ยอด และความยาวรากเฉลี่ยเท่ากับ 4.31 เซนติเมตร หลังจากนั้นจึงทำการคัดเลือกต้นสตอร์วเบอร์รี่ที่มีสภาพต้นสมบูรณ์ เพื่อออกปลูก ผลการทดลองพบว่า วัสดุปลูก ได้แก่ ดินลำดวน : ทราย อัตราส่วน (1:1 v/v) มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตและการเจริญเติบโตทางด้านลำต้นดีที่สุดในทุก ๆ ด้าน โดยพบว่าที่ระยะเวลา 3 เดือน มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมากถึง 91% ความสูงทรงพุ่มเฉลี่ยเท่ากับ 15.77

เซนติเมตร ความกว้างทรงพุ่มเฉลี่ยเท่ากับ 20.65 เซนติเมตร จำนวนใบเฉลี่ยเท่ากับ 13.79 ใบต่อต้น จำนวนไหลเฉลี่ยเท่ากับ 5.36 ไหลต่อต้น และจำนวนกอลเฉลี่ยเท่ากับ 7.35 กอลต่อต้น อย่างไรก็ตาม จากผลการทดลองทั้งหมดของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 ในสภาพปลอดเชื้อพบว่า สูตรอาหารทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การทดลองที่ 4 ศึกษาการแสดงออกของยีน *F3'H* ในวิธีการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน ด้วยเทคนิค qRT-PCR

จากการศึกษาการแสดงออกของยีน *F3'H* ในวิธีการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน ด้วยเทคนิค qRT-PCR ของสตรอว์เบอร์รีทั้งสองสายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 80 โดยเปรียบเทียบการแสดงออกของยีน *F3'H* ในแต่ละระยะของการพัฒนาผิวผล ได้แก่ ระยะผลสีเขียว (G; 15 วันหลังดอกบาน) ระยะผลสีขาวยุคแรก (W; 20 วันหลังดอกบาน) ระยะผลสีชมพู (T; 25 วันหลังดอกบาน) และระยะผลสีแดง (R; 30 วันหลังดอกบาน) ผลการทดลองพบว่า ปริมาณ Cyanidin-3-glucoside ในสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 มีค่ามากที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 16.78 mg/kg FW นอกจากนี้เมื่อพิจารณาการแสดงออกของยีน *F3'H* ผลการทดลองพบว่า สตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 ยังคงมีปริมาณการแสดงออกของยีน *F3'H* มากที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 10.26 เท่า โดยผลการทดลองดังกล่าวถูกพบมากที่สุดในระยะผลสีชมพู (T; 25 วันหลังดอกบาน) อย่างไรก็ตาม ผลการทดลองยังแสดงให้เห็นว่า ยีน *F3'H* จะเริ่มแสดงออกตั้งแต่ระยะผลสีเขียวจนถึงระยะผลสีชมพู และจะลดลงในระยะผลสุก ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่า ระยะที่เหมาะสมสำหรับการบริโภคผลสตรอว์เบอร์รีควรเป็นระยะผลสีชมพู (T; 25 วันหลังดอกบาน) เนื่องจากให้ปริมาณสารแอนโทไซยานินสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับระยะผลอื่น ๆ และจากผลการทดลองยังบ่งชี้ได้ว่า ยีน *F3'H* ยังทำหน้าที่ควบคุมการแสดงออกของสารแอนโทไซยานินชนิด Cyanidin-3-glucoside นอกจากนี้ยังพบว่าค่าสี (a^* และ hue angle) ยังคงมีความสัมพันธ์กับปริมาณ Cyanidin-3-glucoside อีกด้วย อย่างไรก็ตามทุกระยะของการพัฒนาผิวผลของสตรอว์เบอร์รีทั้งสองสายพันธุ์พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การทดลองที่ 5 ศึกษาชนิดสารเมตาโบไลต์ปฐมภูมิและทุติยภูมิที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์สตรอว์เบอร์รี (metabolomics)

จากการศึกษาสารเมตาโบไลต์ในสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 50 พันธุ์พระราชทาน 70 พันธุ์พระราชทาน 72 พันธุ์พระราชทาน 80 พันธุ์ 329 และพันธุ์ Akihime ที่บริเวณใบและผล ผลการทดลองพบว่า เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารเมตาโบไลต์ในใบสตรอว์เบอร์รีจำนวน 6 สายพันธุ์พบว่า สามารถจำแนกสตรอว์เบอร์รีได้ทั้งหมด 3 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 ได้แก่ สตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 พันธุ์พระราชทาน 50 และพันธุ์ 329 กลุ่มที่ 2 ได้แก่ สตรอว์เบอร์รีพันธุ์

พระราชทาน 80 และกลุ่มที่ 3 ได้แก่ สตรอว์เบอร์รีพันธุ์ Akihime และพันธุ์พระราชทาน 72 เมื่อนำข้อมูลเหล่านี้มาเปรียบเทียบกับผลการทดลองที่ 1 พบว่า ข้อมูลทางด้านพันธุกรรมและสารเมตาโบไลต์มีความคล้ายคลึงกัน โดยพบว่า สตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 50 และพันธุ์พระราชทาน 70 มีความเหมือนกันมากที่สุด ในขณะที่สตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 72 มีความเหมือนกันน้อยที่สุด เมื่อพิจารณาชนิดสารเมตาโบไลต์ในใบสตรอว์เบอร์รีจำนวน 6 สายพันธุ์ พบว่ามีสตรอว์เบอร์รี 2 สายพันธุ์ที่มีลักษณะเด่น ได้แก่ สตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 และสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ Akihime โดยพบว่าสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 มีสารเมตาโบไลต์ที่สำคัญ ได้แก่ myo-inositol, glycerol, glycerol-hexose และ fatty acid C26:0 ในขณะที่สตรอว์เบอร์รีพันธุ์ Akihime พบสารเมตาโบไลต์ชนิดกรดอะมิโน (amino acids) ในปริมาณมาก นอกจากนี้เมื่อพิจารณาชนิดสารเมตาโบไลต์ในผลสตรอว์เบอร์รีทั้ง 8 ระยะเวลาของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 และพันธุ์ Akihime พบว่า สตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 มีสารเมตาโบไลต์ในกลุ่มของ TCA cycle, sucrose, Vitamin C (ascorbic acid) และ phenolic compounds มากกว่าสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ Akihime ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% นอกจากนี้เมื่อพิจารณาสารเมตาโบไลต์ในกลุ่มสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายในผลสตรอว์เบอร์รีทั้ง 4 ระยะเวลาของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 และพันธุ์ Akihime พบว่า ในระยะผลดิบสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ Akihime มีการสร้างสารเมตาโบไลต์ในกลุ่มของ alcohol ในขณะที่สตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 มีการสร้างสารเมตาโบไลต์ในกลุ่มของ aldehydes และ GPP derived และในระยะผลสุกของทั้งสองสายพันธุ์ พบว่ามีการสร้างสารเมตาโบไลต์ในกลุ่มของ esters เป็นต้น

อภิปรายผล

การทดลองที่ 1 ศึกษาการจำแนกลักษณะประจำพันธุ์และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสตรอว์เบอร์รีด้วยเทคนิคเครื่องหมายดีเอ็นเอ

จากผลการทดลองบ่งชี้ได้ว่า การใช้เทคนิค RAPD markers ในการจำแนกลักษณะประจำพันธุ์ของสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ในประเทศไทยพบว่ามีโอกาสประสบความสำเร็จสูง จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การใช้ไพรเมอร์จำนวน 25 ไพรเมอร์ สามารถจำแนกความแตกต่างของผลผลิตพอลิมอร์ฟิก (polymorphic) ได้จำนวนมาก ซึ่งเพียงพอสำหรับการนำไปวิเคราะห์ค่าดัชนีความเหมือนทางพันธุกรรม จากผลการทดลองพบว่า ไพรเมอร์ OPB05 (TGCGCCCTTC) มีจำนวนผลผลิตพอลิมอร์ฟิกมากที่สุดเท่ากับ 16 แถบ ในขณะที่ไพรเมอร์ OPG02 (GGCACTGAGG) ให้จำนวนผลผลิตพอลิมอร์ฟิกน้อยที่สุดเท่ากับ 5 แถบ (ตาราง 13) จากผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sugimoto et al. (2005, pp. 498-501) รายงานว่า ไพรเมอร์ OPB05-1 (TGCGCCCTTC) สามารถจำแนกความแตกต่างของสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 ได้ดีที่สุดในเมื่อเปรียบเทียบกับไพรเมอร์ชนิดอื่น ๆ

นอกจากนี้ Gidoni et al. (1994, pp. 339-342) รายงานว่า ไพรเมอร์ OG-2 (GGCACTGAGG) สามารถจำแนกสตรอร์เบอร์รี่ได้ทั้งหมด 8 สายพันธุ์ โดยในแต่ละสายพันธุ์ให้ผลผลิตพีซีอาร์มากที่สุดเท่ากับ 5 แถบ นอกจากนี้ผลการทดลองยังพบว่า ผลผลิตพีซีอาร์ทั้งหมดจาก 25 ไพรเมอร์ มีค่าเท่ากับ 263 แถบ หรือเฉลี่ยเท่ากับ 10.52 แถบต่อไพรเมอร์ และ No. of polymorphic bands ซึ่งมีค่าเท่ากับ 228 แถบ (87.85%) และ No. of monomorphic bands ซึ่งมีค่าเท่ากับ 35 แถบ (13.48%) (ตาราง 13) อย่างไรก็ตาม Radmann et al. (2006, pp. 84-87) รายงานว่า RAPD markers เป็นเทคนิคที่ดี เนื่องจากสามารถให้จำนวน No. of polymorphic bands มาก ซึ่งทำให้เห็นความแตกต่างของสตรอร์เบอร์รี่แต่ละสายพันธุ์ นอกจากนี้ผลการทดลองยังพบว่า มีจำนวน 14 ไพรเมอร์จากจำนวนทั้งหมด 25 ไพรเมอร์ ให้เปอร์เซ็นต์ polymorphism 100% โดยพบค่าเฉลี่ยของแถบผลผลิตพีซีอาร์อยู่ระหว่าง 200-5000 bp (ตาราง 13) ดังนั้น จากผลการทดลองบ่งชี้ได้ว่า ไพรเมอร์ จำนวน 25 ไพรเมอร์ เพียงพอสำหรับใช้จำแนกลักษณะประจำพันธุ์สตรอร์เบอร์รี่ จำนวน 6 สายพันธุ์ในประเทศไทย

เมื่อพิจารณาไพรเมอร์ที่จำเพาะ (specific primers) จากทั้งหมด 25 ไพรเมอร์ ผลการทดลองพบว่า ไพรเมอร์ OPJ14 (CACCCGGATG) มีความจำเพาะกับสตรอร์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 50, พันธุ์พระราชทาน 70, พันธุ์พระราชทาน 80 และพันธุ์ Akihime นอกจากนี้ยังพบว่าไพรเมอร์ OPE07 มีความจำเพาะกับสตรอร์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 72 และไพรเมอร์ OPB05, OPJ07 และ OPA04 มีความจำเพาะกับสตรอร์เบอร์รี่พันธุ์ 329 นอกจากนี้เมื่อพิจารณาจำนวนขนาดผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะทั้งหมด (total no. size of specific bands) พบว่า สตรอร์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 50 มีจำนวนขนาดผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะมากที่สุดเท่ากับ 13 แถบ เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์อื่น ๆ (ตาราง 14) ผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Garcia et al. (2002, pp. 76-80) รายงานว่า ไพรเมอร์ OPJ06 (TCGTTCCGCA), OPJ14 (CACCCGGATG) และ OPJ09 (TGAGCCTCAC) มีจำนวนขนาดผลผลิตพีซีอาร์ที่จำเพาะกับสายพันธุ์สตรอร์เบอร์รี่ที่ได้ทำการศึกษาเท่ากับ 7, 1 และ 2 แถบ ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาถึงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสตรอร์เบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ ผลการทดลองพบว่า สตรอร์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 50 และสตรอร์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 มีความเหมือนกันมากถึง 83% และพบว่าสตรอร์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 และสตรอร์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 72 มีความเหมือนกันน้อยที่สุด 35% (ตาราง 15) ผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Morales et al. (2011, pp. 665-670) รายงานว่าค่าดัชนีความเหมือนของสตรอร์เบอร์รี่จะอยู่ในช่วงระหว่าง 30% (พันธุ์ Ventana และ พันธุ์ Tudla) และ 67% (พันธุ์ Camarosa, พันธุ์ Diamante, พันธุ์ Oso พันธุ์ Grande และ พันธุ์ Aromas) นอกจากนี้ Zebrowska and Tyrka. (2003, pp. 115-117) รายงานว่า ค่าดัชนีความเหมือนในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของสตรอร์เบอร์รี่

พบว่า อยู่ในช่วงระหว่าง 32-77% จากผลการทดลองพบว่า เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของ สตรอว์เบอร์รี จำนวน 6 สายพันธุ์ สามารถจำแนกสตรอว์เบอร์รีได้ทั้งหมด 3 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 ได้แก่ สตรอว์เบอร์รีพันธุ์ 329, พันธุ์พระราชทาน 80, พันธุ์พระราชทาน 50 และพันธุ์พระราชทาน 70 กลุ่ม ที่ 2 ได้แก่ พันธุ์ Akihime และกลุ่มที่ 3 ได้แก่ พันธุ์พระราชทาน 72 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า สตรอว์เบอร์รีกลุ่มที่ 1 และ 2 มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมากกว่าสตรอว์เบอร์รีกลุ่มที่ 3 (ภาพ 16) จากผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Morales et al. (2011, pp. 665-670) รายงานว่า เทคนิค RAPD markers สามารถใช้จำแนกความแตกต่างของสตรอว์เบอร์รีที่ทำการศึกษาได้ทั้งหมด 3 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 ได้แก่ พันธุ์ Aromas, พันธุ์ Oso Grande, พันธุ์ Campinas, พันธุ์ Toyonoka, พันธุ์ Dover, พันธุ์ Camino Real และ พันธุ์ Tudla กลุ่มที่ 2 ได้แก่ พันธุ์ Camarosa, พันธุ์ Diamante และ พันธุ์ Ventana กลุ่มที่ 3 ได้แก่ พันธุ์ Sweet Charlie นอกจากนี้ Radmann et al. (2006, pp. 84-87) รายงานว่า เทคนิค RAPD markers สามารถจำแนกความแตกต่างของ สตรอว์เบอร์รีได้ 1 กลุ่ม ได้แก่ พันธุ์ Dover, พันธุ์ Campinas, พันธุ์ Tudla, พันธุ์ Aromas, พันธุ์ Camarosa, พันธุ์ Oso Grande และ พันธุ์ Sweet Charlie ซึ่งแสดงให้เห็นว่าภายในกลุ่มมีความใกล้ชิดกันมาก

จากค่าความเหมือนดังกล่าว สามารถอธิบายได้ว่า สตรอว์เบอร์รีเหล่านี้มีบรรพบุรุษร่วมกัน ดังนั้น จึงจัดอยู่ภายในกลุ่มเดียวกัน (Morales et al., 2011, pp. 665-670) จากผลการทดลองยัง แสดงให้เห็นว่า สตรอว์เบอร์รีพันธุ์ 329 และพันธุ์พระราชทาน 72 มีความเหมือนหรือความใกล้ชิดค่อนข้างน้อย เนื่องจากสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ 329 เป็นพันธุ์ลูกผสมระหว่างพันธุ์ Oso Grande x Dorit ซึ่งมีถิ่นกำเนิดมาจากประเทศอิสราเอล ในขณะที่สตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 72 เป็นพันธุ์ลูกผสมระหว่างพันธุ์ Kurume 49 x Tochinomine ซึ่งมีถิ่นกำเนิดมาจากประเทศญี่ปุ่น ดังนั้นลักษณะทาง พันธุกรรมของทั้งสองสายพันธุ์จึงมีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Darrow (1966) รายงานว่า ความแตกต่างของแหล่งพันธุกรรม มีผลทำให้การจำแนกและการจัดกลุ่มสายพันธุ์สตรอว์เบอร์รีแตกต่างกัน

ดังนั้น จากผลการทดลองการจำแนกลักษณะประจำพันธุ์สตรอว์เบอร์รีด้วยเทคนิค RAPD พบว่า เทคนิคนี้มีความเหมาะสมอย่างมาก ซึ่งจะเป็นประโยชน์สำหรับนักปรับปรุงพันธุ์สตรอว์เบอร์รี ในอนาคต ในการนำข้อมูลทางพันธุกรรมมาใช้พัฒนาสายพันธุ์ที่ดีต่อไป (Parent, & Page, 1995, pp. 221-224; Morales et al., 2011, pp. 665-670) นอกจากนี้ จากการศึกษาเทคนิค RAPD พบว่า เป็นเทคนิคที่เหมาะสมกับงานวิจัยที่ไม่ทราบข้อมูลทางด้านพันธุกรรมของพืชชนิดนั้น ๆ มาก่อน และยังเป็นเทคนิคที่ทำได้ง่าย ได้ผลรวดเร็ว มีความแม่นยำ และยังให้ผลผลิตพีซีอาร์จำนวนมาก (polymorphism) แต่อย่างไรก็ตามเทคนิค RAPD ยังคงมีข้อจำกัด คือ การทำซ้ำ (Congiu et al., 2000, pp. 229-232; Gaafar, & Saker, 2006, pp. 29-36) ดังนั้นในการศึกษารั้งต่อไป ควรมีการ

นำเทคนิคอื่น ๆ มาทดสอบ เช่น AFLP, RFLP, SCAR หรือ SRAP เพื่อเป็นการยืนยันผลการทดลอง เนื่องจากเทคนิคเหล่านี้จะมีความแม่นยำสูงกว่าเทคนิค RAPD แต่ก็ยังคงมีข้อจำกัด คือ ค่าใช้จ่ายในการตรวจสอบค่อนข้างสูง (Tyrka et al. 2002, pp. 273-280; Hussein et al., 2008, pp. 677-680; Kiran et al., 2010, pp. 969-976) แต่อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาครั้งนี้ผลการทดลองสามารถจำแนกลักษณะประจำพันธุ์สตอร์วเบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ในประเทศไทยได้ ซึ่งจะเป็นประโยชน์อย่างมากในการอนุรักษ์สายพันธุ์เพื่อให้พันธุ์เหล่านี้เป็นพันธุ์ที่บริสุทธิ์ และนักปรับปรุงพันธุ์ยังสามารถนำพันธุ์เหล่านี้ไปใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ได้อย่างถูกต้อง อาจนำมาซึ่งสายพันธุ์ใหม่ในอนาคตต่อไป

การทดลองที่ 2 ศึกษาการปรับปรุงพันธุ์สตอร์วเบอร์รี่เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการผลิตสารแอนโทไซยานิน

ในอดีตการปรับปรุงพันธุ์สตอร์วเบอร์รี่มุ่งเน้นไปที่การสร้างสายพันธุ์ที่ต้านทานต่อโรค แมลง และการเพิ่มปริมาณผลผลิตทางการเกษตร แต่ในปัจจุบันพบว่า นักปรับปรุงพันธุ์มุ่งเน้นไปที่การเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของสตอร์วเบอร์รี่เพื่อเป็นประโยชน์สำหรับผู้บริโภค (Diamanti et al., 2012, pp. 1-16; Fredericks et al., 2013, pp. 846-852; Capocasa et al., 2008a, pp. 67-72) จากผลการทดลองพบว่า สามารถคัดเลือกต้นสตอร์วเบอร์รี่ลูกผสม F1 ที่มีศักยภาพในการผลิตสารแอนโทไซยานินได้จำนวนทั้งสิ้น 35 ต้น (สายพันธุ์) (ตาราง 19) ซึ่งทุกต้นมีปริมาณสารแอนโทไซยานินสูงกว่าสายพันธุ์พ่อแม่ (พันธุ์พระราชทาน 50, พันธุ์พระราชทาน 70, พันธุ์พระราชทาน 72, พันธุ์พระราชทาน 80, พันธุ์ 329 และพันธุ์ Akihime) ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% อย่างไรก็ตามพบว่า สตอร์วเบอร์รี่ที่ได้จากการปรับปรุงพันธุ์ครั้งนี้ยังคงมีปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมดสูงกว่าสตอร์วเบอร์รี่ 2 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ Marlate และพันธุ์ Carisma ซึ่งมีปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมดเฉลี่ยเท่ากับ 8.5 และ 11.0 mg/100g FW ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ได้จากการปรับปรุงพันธุ์ในประเทศนอร์เวย์ (Aaby et al., 2012, pp. 86-97) นอกจากนี้ยังพบว่าสตอร์วเบอร์รี่เหล่านี้ยังมีปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมดสูงถึง 2 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับสตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์ลูกผสมรหัส SJ9332-7 โดยมีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดเฉลี่ยเท่ากับ 19.10 mg/100g FW ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ได้จากการปรับปรุงพันธุ์ในประเทศแคนาดา (Yu et al., 2011, pp. 59-67) และยังคงมากกว่าสตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์ทางการค้า (Camarosa, Festival, Joy, Rubygem, Sugarbaby) และพันธุ์ที่ได้จากการปรับปรุงพันธุ์ (BL 2005-180, BL 2005-188, BL 2006-221-1, BL 2006-221-8, BL 2006-221-22) ซึ่งมีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดเฉลี่ยเท่ากับ 239-1010 mg/kg FW (Fredericks et al., 2013, pp. 846-852) และยิ่งมากกว่าสตอร์วเบอร์รี่ 15 สายพันธุ์ที่มีการปลูกเป็นการค้าในประเทศสเปน (Buendia et al., 2010, pp. 3916-3926) รวมทั้งยังคงมากกว่าพันธุ์ทางการค้า เช่น พันธุ์ Clery, Maya, Alba, Miss,

Camarosa, Queen Elisa และ Elsanta ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 114.76-327.39 mg/kg (Voca et al., 2008, pp. 292-298) เป็นต้น

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า สตรอว์เบอร์รีลูกผสมดังกล่าวยังคงมีการเจริญเติบโตทางด้านลำต้นและการสืบพันธุ์อยู่ในแนวโน้มที่ดี (ตาราง 20) โดยเฉพาะสตรอว์เบอร์รีคู่ผสมระหว่าง พันธุ์ Akihime x พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 66 ซึ่งมีจำนวนกอ จำนวนไหล และผลผลิตที่ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับต้นสตรอว์เบอร์รีลูกผสมอื่น ๆ (ตาราง 20) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Masny et al. (2008, pp. 133-152) รายงานว่า การปรับปรุงพันธุ์สตรอว์เบอร์รีเพื่อสร้างความแปรปรวนทางพันธุกรรม เพื่อให้ลูกผสมมีลักษณะดีเด่นกว่าสายพันธุ์พ่อแม่ (heterosis หรือ hybrid vigor) ผลการทดลองพบว่า ลูกผสมที่ได้มีความต้านทานต่อโรคราสีเทา โรคใบจุด โรคราแป้ง รวมทั้งการเจริญทางด้านลำต้นและการสืบพันธุ์ดีกว่าสายพันธุ์พ่อแม่ เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบว่า ผลสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 ที่เกิดจากการผสมระหว่างพันธุ์ Akihime x พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 66 ยังคงมีลักษณะผลเหมือนกับสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์พระราชทาน 80 ซึ่งเป็นต้นแม่พันธุ์ โดยผลผลิตส่วนใหญ่จะมีลักษณะเป็นทรงกลมปลายแหลม (globose conic) และทรงแหลม (conic) จากผลการทดลองดังกล่าว สามารถอธิบายได้ว่า ในต้นสตรอว์เบอร์รีจะมียีนที่ควบคุมลักษณะเฉพาะของตัวเองซึ่งอยู่ในไซโตพลาสซึมของเซลล์ไข่ (สมชาย วัฒนโยธิน, 2549) ดังนั้นเมื่อใช้สตรอว์เบอร์รีพันธุ์ใดเป็นต้นแม่พันธุ์ ลักษณะของต้นแม่พันธุ์ที่ถูกควบคุมโดยยีนเหล่านั้นจะถ่ายทอดไปยังรุ่นลูกเสมอ เช่น รูปทรงผล สีผิวผล ขนาดของผล ตำแหน่งเมล็ดบนผิวผล เป็นต้น

เมื่อพิจารณาคูณสมบัติทางเคมีกายภาพ โดยเฉพาะความแน่นเนื้อ อัตราส่วนระหว่าง TSS/TA วิตามินซี และ pH ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้จะใช้เป็นตัวกำหนดคุณภาพของผลสตรอว์เบอร์รี จากผลการทดลองพบว่า ต้นสตรอว์เบอร์รีลูกผสมจำนวน 35 ต้น มีลักษณะดังกล่าวดีกว่าสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์พ่อแม่ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 21)

จากผลการทดลองพบว่า ค่าความแน่นเนื้อของผลสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 โดยเฉพาะสตรอว์เบอร์รีคู่ผสมระหว่างพันธุ์ Akihime x พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 66 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.26 นิวตัน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Diamanti et al. (2012, pp. 1-16) รายงานว่า สตรอว์เบอร์รีที่ได้จาก BC1 (Inter-specific Back Crossing), BC2 (Inter-specific Back Crossing) และ IS (Intra-specific Crossing) มีค่าความแน่นเนื้อเฉลี่ยเท่ากับ 3.29, 3.23 และ 3.73 นิวตัน ตามลำดับ Mahmood et al. (2012, pp. 1380-1392) รายงานว่า อัตราส่วนระหว่าง TSS/TA จะเป็นตัวกำหนดคุณภาพผลสตรอว์เบอร์รี เนื่องจากค่า TSS/TA จะทำหน้าที่ควบคุมความสมดุลระหว่างค่าความหวานและความเป็นกรด และรสชาติภายในผล ซึ่งจะทำให้ผลสตรอว์เบอร์รีเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค จากการทดลองพบว่า สตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 เหล่านี้ยังคงมีค่า TSS/TA มากกว่าสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ Camarosa Seyhun และ Osmanli ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.28, 8.54

และ 5.95 ตามลำดับ (Kelebek, & Selli, 2011, pp. 1-10) และยังคงมากกว่าสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ Clery, Maya, Alba, Miss, Camarosa, Queen Elisa และ Elsanta ซึ่งมีปริมาณ TSS/TA เฉลี่ยเท่ากับ 8.10, 6.00, 7.01, 7.01, 9.01, 8.01 และ 10.01 ตามลำดับ (Voca et al., 2008, pp. 292-298) เมื่อพิจารณาค่าวิตามินซีของผลสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 โดยเฉพาะสตรอว์เบอร์รีคู่ผสมระหว่างพันธุ์ Akihime x พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 66 พบว่ามีปริมาณวิตามินซีสูงสุดซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 399.44 mg/kg FW อย่างไรก็ตาม ผลการทดลองมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Voca et al. (2008, pp. 292-298) รายงานว่า สตรอว์เบอร์รีพันธุ์ Miss มีปริมาณวิตามินซีเฉลี่ยเท่ากับ 440.88 mg/kg FW นอกจากนี้ Cordenunsi et al. (2005, pp. 113-121) รายงานว่า สตรอว์เบอร์รีพันธุ์ Oso Grande และ Campineiro มีปริมาณวิตามินซีเฉลี่ยเท่ากับ 470 ถึง 800 mg/kg FW ตามลำดับ

ค่า pH ยังคงเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อชนิดและปริมาณสารแอนโทไซยานินในผลสตรอว์เบอร์รี ซึ่ง Wahyuningsih et al. (2016, pp. 1-9) รายงานว่า ปริมาณสารแอนโทไซยานินชนิด Cyanidin ในผลสตรอว์เบอร์รีมีแนวโน้มมาก จะพบค่า pH ที่น้อย หรือ pH อยู่ในสภาพความเป็นกรด ซึ่งส่งผลทำให้ผลสตรอว์เบอร์รีมีสีแดงเข้มขึ้น ในทางตรงกันข้าม ค่า pH สูงขึ้น หรือ pH อยู่ในสภาพความเป็นด่าง จะพบปริมาณสารแอนโทไซยานินชนิด Pelargonidin มีแนวโน้มที่มาก และผลสตรอว์เบอร์รีจะมีสีส้มแดง จากผลการทดลองพบว่า สตรอว์เบอร์รีคู่ผสมระหว่างพันธุ์ Akihime x พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 66 มีค่า pH สูงที่สุด ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสตรอว์เบอร์รีลูกผสมดังกล่าวมีปริมาณ pelargonidin-3-glucoside สูงกว่าสตรอว์เบอร์รีลูกผสมอื่น ๆ แต่อย่างไรก็ตาม สตรอว์เบอร์รีลูกผสมดังกล่าวยังคงให้ปริมาณ Cyanidin-3-glucoside สูงด้วย ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่า ปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งชนิด Cyanidin-3-glucoside และ Pelargonidin-3-glucoside ไม่ได้ขึ้นอยู่กับค่า pH เพียงปัจจัยเดียว ซึ่งอาจจะขึ้นอยู่กับค่าสี L^* , a^* , b^* และ hue angle ด้วยเช่นกัน

เมื่อพิจารณาค่าสีผิวและสีเนื้อผลสตรอว์เบอร์รี ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า สตรอว์เบอร์รีลูกผสมทั้งหมดมีค่าสี L^* , a^* , b^* และ hue angle แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ สตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์พ่อแม่ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อพิจารณาสตรอว์เบอร์รีคู่ผสมระหว่างพันธุ์ Akihime x พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 66 พบว่า สตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ดังกล่าวมีค่า L^* , b^* และ hue angle น้อยที่สุดที่บริเวณผิวผลและเนื้อผล นอกจากนี้ยังพบว่าสตรอว์เบอร์รีลูกผสมดังกล่าวมีค่า a^* มากที่สุดที่บริเวณผิวผล ดังนั้น อาจกล่าวได้ว่าสตรอว์เบอร์รีลูกผสมดังกล่าวมีผลสีแดงเข้ม ซึ่งอาจส่งผลทำให้มีปริมาณแอนโทไซยานินชนิด Cyanidin-3-glucoside สูงขึ้นด้วยเช่นกัน (ตาราง 24) นอกจากนี้ Voca et al. (2014, pp. 10370-10385) รายงานว่าสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ Arosa มีค่าสี L^* และ hue angle น้อยที่สุด ส่งผลทำให้ผลสตรอว์เบอร์รีมีสีแดงเข้ม Ngo et al. (2007, pp. C025-C032) รายงานว่า จากการเปรียบเทียบปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมดของ

สตอร์วเบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์พบว่า สตอร์วเบอร์รี่พันธุ์ Ovation < Puget Reliance < 2384-1 < 2273-1 < Totem < 1723-2 ดังนั้น แสดงให้เห็นว่าสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์ 1723-2 มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์อื่น ๆ เมื่อพิจารณาค่าสีพบว่าสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์ 1723-2 มีค่า L* และ hue angle น้อยที่สุด ในขณะที่พันธุ์ Ovation มีค่าสี L* และ hue angle สูงที่สุด นอกจากนี้ Fredericks et al. (2013, pp. 846-852) รายงานว่า ค่า hue angle มีความสัมพันธ์กับปริมาณสารแอนโทไซยานิน โดยพบว่าค่า hue angle สามารถทำนายแนวโน้มปริมาณสารแอนโทไซยานินที่เกิดขึ้นได้

อย่างไรก็ตาม ชนิดของสารแอนโทไซยานินในผลสตอร์วเบอร์รี่ที่ถูกพบมากที่สุดประกอบด้วย 2 ชนิดหลัก ได้แก่ Cyanidin-3-glucoside และ Pelargonidin-3-glucoside ซึ่งสารแอนโทไซยานินเหล่านี้จะทำหน้าที่เป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระ และจะเป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภค (Giampieri et al., 2012, pp. 9-19) ดังนั้น เมื่อพิจารณาสตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์ลูกผสม F1 พบว่า คู่ผสมระหว่างพันธุ์ Akihime x พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 66 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีการผลิตสารแอนโทไซยานินสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ลูกผสม F1 ที่เหลือจำนวน 34 ต้น ผลการทดลองพบว่า สตอร์วเบอร์รี่ลูกผสมดังกล่าวมีปริมาณ Cyanidin-3-glucoside เฉลี่ยเท่ากับ 29.90 mg/kg FW ซึ่งมีค่ามากถึง 5 เท่ากว่าสตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์ Sugarbaby (Fredericks et al., 2013, pp. 846-852) นอกจากนี้ยังพบว่า สตอร์วเบอร์รี่ลูกผสมดังกล่าวมีปริมาณ Cyanidin-3-glucoside มากกว่าสตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์ Camarosa, Seyhun และ Osmanli เฉลี่ยเท่ากับ 6, 15, 30 เท่าตามลำดับ (Kelebek, & Selli, 2011, pp. 1-10) อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาปริมาณ Pelargonidin-3-glucoside ในสตอร์วเบอร์รี่ลูกผสมดังกล่าว พบว่ามีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 554.89 mg/kg FW ซึ่งยังคงมากกว่าสตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์ Camarosa, Seyhun และ Osmanli อีกเช่นกัน (Kelebek, & Selli, 2011, pp. 1-10) อย่างไรก็ตามมีรายงานพบว่า ปริมาณสารแอนโทไซยานินดังกล่าวยังขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ เช่น สายพันธุ์ ระยะการเก็บเกี่ยวผล สภาพภูมิอากาศ อุณหภูมิ และการเปลี่ยนแปลงของค่า pH (Stapleton et al., 2001, pp. 61-65; Bakowska et al., 2003, pp. 349-355; Crecente-Campo et al., 2012, pp. 23-30; Ornelas-Paz et al., 2013, pp. 372-381) ดังนั้น จากผลการทดลองบ่งชี้ได้ว่า สตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์ลูกผสม F1 จำนวน 35 ต้น มีศักยภาพในการผลิตสารแอนโทไซยานิน รวมทั้งมีแนวโน้มที่ดีในด้านคุณสมบัติทางเคมีกายภาพกว่าสายพันธุ์พ่อแม่ที่มีการเพาะปลูกในประเทศไทย ดังนั้นสตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์ลูกผสมเหล่านี้จึงเหมาะแก่การนำไปขยายพันธุ์และจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ต่อไป

การทดลองที่ 3 ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80

การทดลองนี้จะเลือกใช้สตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 เป็นพืชต้นแบบในการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 ผลการทดลองพบว่า การใช้สารละลายคลอโรกซ์ (NaOCl) ที่ระดับความเข้มข้น 3% ระยะเวลา 20 นาที ในการฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด (apical meristem) พบว่า ชิ้นส่วนมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมากที่สุดถึง 80% รองลงมาคือ ที่ระดับความเข้มข้น 2% ที่ระยะเวลาเดียวกัน จากผลการทดลองมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Elkichaoui (2014, pp. 619-627) รายงานว่า การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนของไหล (runner) ด้วยสารละลายคลอโรกซ์ (NaOCl) ที่ระดับความเข้มข้น 2.5% ระยะเวลา 20 นาที พบว่า ชิ้นส่วนมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมากที่สุด นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Danial et al. (2016, pp. 164-169) รายงานว่า การใช้สารละลายคลอโรกซ์ (NaOCl) ที่ระดับความเข้มข้น 3.75% ระยะเวลา 15 นาที ในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนไหล ส่งผลทำให้ชิ้นส่วนไหลมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงที่สุดเช่นเดียวกัน และ Cappelletti et al. (2016, pp. 117-124) รายงานว่า การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนของข้อ (node) ด้วยสารละลายคลอโรกซ์ (NaOCl) ที่ระดับความเข้มข้นน้อยกว่า 5% ระยะเวลา 20 นาที สามารถทำให้ชิ้นส่วนมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูง และชิ้นส่วนยังคงสามารถพัฒนาเป็นต้นได้อย่างสมบูรณ์

จากผลการทดลองพบว่า อาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 1.0 mg/L + BA 1.5 mg/L มีความเหมาะสมมากที่สุดในการชักนำให้ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดพัฒนาเป็นแคลลัส ซึ่งผลการทดลองมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Biswas et al. (2010, pp. 75-80) รายงานว่า การใช้อาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 1.0 mg/L + BA 1.5 mg/L สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนใบ ข้อ และไหลของต้นสตรอว์เบอร์รีมีการพัฒนาเป็นแคลลัสได้สมบูรณ์ที่สุด แต่อย่างไรก็ตามผลการทดลองไม่สอดคล้องกับงานวิจัยของ Karim et al. (2015, pp. 977-986) ซึ่งรายงานว่ อาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 2.0 mg/L + BA 0.5 mg/L สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนของใบสตรอว์เบอร์รีพัฒนาเป็นแคลลัสได้ดีที่สุด จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 แสดงให้เห็นว่าเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนี้มีโอกาสน้อยที่ทำให้ต้นสตรอว์เบอร์รีเกิดความแปรปรวนทางพันธุกรรม เนื่องจากในแต่ละกรรมวิธีมีการ subculture เพียง 1 ครั้ง ดังนั้นต้นพันธุ์ทุกต้นจะยังคงมีลักษณะเหมือนต้นแม่พันธุ์ทุกประการ จากผลการทดลองดังกล่าว มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ López-Aranda et al. (1994, pp. 625-637) รายงานว่า การ subculture จำนวนน้อยกว่า 10 ครั้งต่อต้น จะไม่ส่งผลทำให้เกิดความแปรปรวนทางพันธุกรรมในต้นพืช ในขณะที่ Biswas et al. (2009, pp. 409-416) และ Sen, & Dhawan (2010, pp. 345-348) รายงานว่าการ subculture เฉลี่ยประมาณ 12-15 ครั้งต่อต้น จะส่งผลทำให้ต้นพันธุ์สตรอว์เบอร์รี

ที่ได้ (somatic embryogenesis) มีโอกาสเกิดความแปรปรวนทางพันธุกรรมสูง จากผลการทดลอง ยังพบว่า อาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น แตกต่างกันดังนี้ (NAA 0.0 mg/L + BA 1.0 mg/L, NAA 0.0 mg/L + BA 1.5 mg/L, NAA 0.0 mg/L + BA 2.0 mg/L) จะไม่สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดพัฒนาเป็นแคลลัสได้ (ตาราง 25-26) เนื่องจาก สารไซโตไคนิน (BA) จะทำหน้าที่แบ่งเซลล์ (cell division) และกระตุ้น การเจริญเติบโตทางลำต้น และยอด (Boxus, 1974, pp. 209-210) นอกจากนี้ Landi, & Mezzetti (2006, pp. 281-288) รายงานว่า การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตออกซินและไซโตไคนินที่ อัตราส่วนที่เท่ากัน จะสามารถชักนำให้ชิ้นส่วนสตรอว์เบอร์รีมีการพัฒนาเป็นแคลลัสได้ดีที่สุด Biswas et al. (2010, pp. 75-80) และ Karim et al. (2011, pp. 29-36) รายงานว่า การใช้สารควบคุม การเจริญเติบโต NAA ร่วมกับ BA สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีกว่าการใช้สารควบคุม การเจริญเติบโตชนิดอื่น ๆ แต่อย่างไรก็ตามยังพบว่า การชักนำให้เกิดแคลลัสนั้นยังมีปัจจัยด้านอื่น ๆ เป็นตัวกำหนดอีกด้วย เช่น พันธุกรรม (Liu, & Sanford, 1988, pp. 1057-1059; Passey et al., 2003, pp. 397-401) ชนิดและตำแหน่งชิ้นส่วนพืช (Biswas et al., 2010, pp. 75-80; Kumar, & Reddy, 2011, pp. 61-72) รวมถึงปัจจัยภายนอก ได้แก่ แสง อุณหภูมิ ความชื้น ซึ่งทั้งหมดเหล่านี้ ล้วนมีผลต่อการเกิดแคลลัสทั้งสิ้น (Pierik, 1987)

จากผลการทดลองพบว่า อาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 2.0 mg/L สามารถชักนำให้แคลลัสพัฒนาเป็นยอดได้มากที่สุด ซึ่งสอดคล้อง กับงานวิจัยของ Ara et al. (2012, pp. 93-100) รายงานว่า การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP (6-benzylaminopurine) ที่ระดับความเข้มข้น 2.0 mg/L ในการชักนำให้เกิดยอดของสตรอว์เบอร์รี พันธุ์ JP-2 พบว่า สูตรอาหารดังกล่าวสามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 40% หรือ 5.3 ยอดต่อชิ้นส่วน Danial et al. (2016, pp. 164-169) รายงานว่า การใช้สารควบคุม การเจริญเติบโต BAP ที่ระดับความเข้มข้น 2.0 mg/L สามารถชักนำให้ต้นสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ Kurdistan เจริญเป็นยอดได้ดีที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 3.16 ยอดต่อชิ้นส่วน Zobayer et al. (2011, pp. 69-72) รายงานว่า การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 2.0 mg/L พบว่า ไม่สามารถชักนำให้ต้นสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ RABI Strawberry-3 พัฒนาเป็นยอดได้ Boxus (1999) รายงานว่า อาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความ เข้มข้น 0.5 mg/L เพียงพอสำหรับการชักนำให้เกิดยอดสตรอว์เบอร์รี Marcotrigiano et al. (1984, pp. 23-25) รายงานว่า การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.3 mg/L สามารถชักนำให้เกิดยอดสตรอว์เบอร์รีได้ดีกว่าที่ระดับความเข้มข้น 1.0 และ 3.0 mg/L Simpson, & Bell (1989, pp. 225-234) รายงานว่า การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความ เข้มข้น 1.0 mg/L สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีในสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ Sweet Charlie นอกจากนี้

Cappelletti et al. (2016, pp. 117-124) รายงานว่า การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 3.0 mg/L สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 10.30 ยอดต่อชิ้นส่วน ในสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ Selva จากผลการทดลองดังกล่าวสามารถบ่งชี้ได้ว่า สายพันธุ์สตรอว์เบอร์รี มีผลอย่างมากเมื่อร่วมกับการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตทั้งชนิดไซโตไคนิน และออกซิน ซึ่งจะมีผลต่อการพัฒนาเป็นส่วนต่าง ๆ ของต้นสตรอว์เบอร์รีอย่างมาก (Passey et al., 2003, pp. 397-401) นอกจากนี้ความแตกต่างของสายพันธุ์ และตำแหน่งชิ้นส่วนของต้นสตรอว์เบอร์รีที่นำมาขยายพันธุ์นั้น จะมีความแตกต่างของสารชนิดต่าง ๆ ภายในเซลล์ ดังนั้นสารเหล่านี้จึงมีผลกระทบต่อการใช้ร่วมกับ สารควบคุมการเจริญเติบโตทั้งชนิดไซโตไคนิน และออกซิน (NAA และ BA) ซึ่งอาจส่งผลทำให้ ต้นสตรอว์เบอร์รีไม่มีการพัฒนาหรือพัฒนาเป็นส่วนต่าง ๆ ได้ช้ากว่าปกติ เป็นต้น (Youssief, 2009).

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า อาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนของยอดพัฒนาเป็นรากได้ดีที่สุด จากผลการทดลองดังกล่าว สอดคล้องกับงานวิจัยของ Ara et al. (2012, pp. 93-100) รายงานว่า อาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA สามารถชักนำให้เกิดรากได้ 100% ในสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ JP-2 ElKichaoui (2014, pp. 619-627) รายงานว่า อาหารสูตรสังเคราะห์ Full-MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA สามารถชักนำให้ยอดพัฒนาเป็นรากได้ดีที่สุด นอกจากนี้ Emara (2008, pp. 191- 212) และ Youssief (2009) รายงานว่า การใช้อาหารสูตรสังเคราะห์ Full-MS สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีกว่าการใช้ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BA เป็นต้น

นอกจากนี้ ผลการทดลองยังแสดงให้เห็นว่า วัสดุปลูกซึ่งประกอบด้วย ดินลำดวน : ทราย อัตราส่วน (1:1 v/v) มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต และการเจริญเติบโตทางด้านลำต้นของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 ดีที่สุด ซึ่งผลการทดลองแตกต่างกับงานวิจัยของ Medina et al. (2007, pp. 28-32) รายงานว่า การใช้วัสดุปลูก ได้แก่ พีทมอสและเพอร์ไลท์ อัตราส่วน (1:1 v/v) พบว่า ต้นสตรอว์เบอร์รีมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมากที่สุด นอกจากนี้ Haddadi et al. (2010, pp. 453-456) รายงานว่า การใช้วัสดุปลูก ได้แก่ เพอร์ไลท์ เวอร์มิคูไลท์ และขุยมะพร้าว อัตราส่วน (2:1:2 v/v) พบว่า ต้นสตรอว์เบอร์รีมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมากถึง 90%

ดังนั้น จากผลการทดลองสามารถบ่งชี้ได้ว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต (NAA และ BA) ตำแหน่งชิ้นส่วนพืช ความแตกต่างของสารเคมีภายในเซลล์ ชนิดของวัสดุปลูก ความชื้น อุณหภูมิ และแสง ล้วนมีผลอย่างมากต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส ยอด ราก และการออกปลูก ดังนั้น สูตรอาหารและวัสดุปลูกที่เหมาะสมดังกล่าวข้างต้นสามารถที่จะนำไปพัฒนาและปรับใช้เพื่อขยายพันธุ์สตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 ที่มีศักยภาพในการผลิตสารแอนโทไซยานิน และสายพันธุ์อื่น ๆ ทั้งในประเทศและต่างประเทศต่อไป

การทดลองที่ 4 ศึกษาการแสดงออกของยีน *F3'H* ในวิถีการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน ด้วยเทคนิค qRT-PCR

ปัจจุบันสารแอนโทไซยานินมีการศึกษาอย่างมาก เนื่องจากสารนี้สามารถพบได้ในผักและผลไม้ โดยเฉพาะในผลไม้ที่มีสีส้ม-แดง เช่น สตรอว์เบอร์รี และสารแอนโทไซยานินนี้ยังสามารถทำหน้าที่เป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ซึ่งจะเป็นประโยชน์อย่างมากสำหรับผู้บริโภค (He, & Giusti, 2010, pp. 163-187; Petroni, & Tonelli, 2011, pp. 219-229; Jaakola, 2013, pp. 477-483) อย่างไรก็ตามนอกจากสารแอนโทไซยานินที่อยู่ภายในผลแล้ว ยังพบว่าสีผลยังคงมีความสำคัญและเป็นที่ยึดติดสำหรับผู้บริโภคอีกด้วย (Schlangen et al., 2010, pp. 40-45; Hoffmann et al., 2006, pp. 818-826) จากการศึกษาการแสดงออกของยีน *F3'H* ในวิถีการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน ด้วยเทคนิค qRT-PCR ผลการทดลองพบว่า สตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 มีค่าสี hue angle ในระยะผลสุก (R; 30 วันหลังดอกบาน) ที่บริเวณสีผิวและสีเนื้อน้อยกว่าสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 ซึ่งแสดงให้เห็นว่า สตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 ในระยะนี้มีสีแดงเข้มกว่า และยังคงมีแนวโน้มเป็นสายพันธุ์ที่มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงกว่าพันธุ์พระราชทาน 80 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Voca et al. (2014, pp. 10370-10385) รายงานว่าการเปลี่ยนแปลงค่าสีผลสตรอว์เบอร์รีขึ้นอยู่กับค่าสี a^* และ hue angle โดยพบว่าถ้าค่าสี a^* มีค่ามาก และค่า hue angle มีค่าน้อย จะส่งผลทำให้สตรอว์เบอร์รีมีสีแดงเข้ม และมีผลต่อปริมาณสารแอนโทไซยานิน โดยเฉพาะแอนโทไซยานินชนิด Cyanidin-3-glucoside เป็นต้น อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาปริมาณสารแอนโทไซยานินในผลสตรอว์เบอร์รี ผลการทดลองพบว่า สตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 ที่ระยะผลสีชมพู (T; 25 วันหลังดอกบาน) มีปริมาณสารแอนโทไซยานินชนิด Cyanidin-3-glucoside สูงที่สุด (ตาราง 33) ดังนั้นผลการทดลองสามารถบ่งชี้ได้ว่า สตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 ที่ระยะผลสีชมพูมีความเหมาะสมมากที่สุดในการบริโภคเพื่อสุขภาพ เนื่องจากระยะนี้มีการผลิตสารแอนโทไซยานินในปริมาณมาก เมื่อเปรียบเทียบกับระยะการพัฒนาดอกผลอื่น ๆ นอกจากนี้เมื่อพิจารณาค่าสี L^* , a^* , b^* และ hue angle ระหว่างสีผิวและสีเนื้อ ผลการทดลองพบว่า บริเวณสีผิวผลจะมีสีที่แดงเข้มกว่าบริเวณสีเนื้อผล โดยพบมากที่บริเวณสีผิวผลของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 ดังนั้น ผลการทดลองนี้อาจยืนยันได้ว่า สตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 70 มีปริมาณสารแอนโทไซยานินชนิด Cyanidin-3-glucoside สูงกว่าสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Giomaro et al. (2014, pp. 1-10) และ Yin et al. (2016, pp. 219-226) รายงานว่า เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารแอนโทไซยานินระหว่างผิวผลและเนื้อผลของแอปเปิ้ลและมันฝรั่ง ผลการทดลองพบว่า สารแอนโทไซยานินจะถูกพบมากที่สุดที่บริเวณผิวผล เป็นต้น

นอกจากนี้ยังมีรายงานพบว่า ค่าสี b^* จะมีความสัมพันธ์กับค่า hue angle โดยพบว่า ถ้าค่าสี b^* มีมาก จะส่งผลทำให้ค่า hue angle สูงด้วยเช่นกัน ซึ่งค่า b^* จะระบุถึงสีเหลือง เนื่องจากค่าสีเหลืองในผลไม้จะบ่งชี้ถึงสาร primarily flavonoids เช่น phytoene, z-carotene, lycopene, a-carotene, lutein, β -carotene, β -cryptoxanthin, zeaxanthin, all-trans-violaxanthin และ 3-cis-violaxanthin โดยพบว่า ผลสตอร์เบอร์รี่จะพบสารชนิด β -carotene ในปริมาณมาก ซึ่งสารนี้จะมีประโยชน์ต่อผู้บริโภคในด้านสุขภาพ (Yano et al., 2005, pp. 13-18) ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า สตอร์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 มีค่าสี hue angle สูงที่สุดทั้งบริเวณสีผิวและสีเนื้อ ซึ่งสามารถบ่งชี้ได้ว่าสตอร์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 มีสาร β -carotene มากกว่าสตอร์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 ดังนั้นอาจเป็นทางเลือกหนึ่งสำหรับผู้บริโภคในการคัดเลือกสายพันธุ์เพื่อการบริโภคในอนาคต เป็นต้น

จากการศึกษาพบว่า ค่า pH เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อค่าสี ซึ่งจะมีผลต่อชนิดของสารแอนโทไซยานิน (Turturica et al., 2015, pp. 9-24; Khoo et al., 2017, pp. 1-21) จากผลการทดลองพบว่า สตอร์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 มี pH ต่ำกว่าสตอร์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 ดังนั้น จึงบ่งชี้ได้ว่า สตอร์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 มีผลที่มีลักษณะเป็นสีแดงเข้มกว่าสตอร์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 จากการศึกษาวิจัยของ Torskangerpoll, & Andersen (2005, pp. 427-440) รายงานว่า ถ้าค่า pH < 3 จะบ่งบอกถึงผลมีสีแดงเข้ม (ปริมาณ Cyanidin-3-glucoside สูง) ค่า pH 7-8 ผลมีสีม่วง และค่า pH > 11 ผลมีสีฟ้า (ปริมาณ Cyanidin-3-glucoside ต่ำ) จากผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Khoo et al. (2012) รายงานว่า ค่า pH ที่ต่ำ ส่งผลให้ปริมาณ Cyanidin สูงในผลสตอร์เบอร์รี่ ซึ่งปรากฏผลมีสีแดงเข้ม อย่างไรก็ตามจากการทดลองพบว่า ค่า pH มีการเปลี่ยนแปลงจากระยะผลสีเขียว (15 วันหลังดอกบาน) ซึ่งมี pH~4 ไปสู่ระยะผลสีชมพู (25 วันหลังดอกบาน) ซึ่งมี pH < 3 โดยแสดงให้เห็นว่าสตอร์เบอร์รี่ในระยะผลสีชมพูนี้มีปริมาณสาร Cyanidin-3-glucoside มากที่สุด และระยะนี้ผลเริ่มที่จะเปลี่ยนเป็นสีแดงพร้อมจะเข้าสู่ระยะผลสุก นอกจากนี้ Zhang et al. (2012, pp. 1185-1189) รายงานว่า ค่า pH ในผลสตอร์เบอร์รี่มีการเปลี่ยนแปลงจาก pH=4 ไปยัง pH<3 ส่งผลทำให้ผลสตอร์เบอร์รี่มีการเปลี่ยนแปลงจากผลสีเขียวเป็นสีแดง และพบว่าทุกระยะเริ่มมีการสะสมสาร Cyanidin (proanthocyanin) โดยเฉพาะในระยะผลสีเขียว (G; 15 วันหลังดอกบาน) ซึ่งจะพบ Cyanidin ในปริมาณมาก และเมื่อสตอร์เบอร์รี่เข้าสู่ระยะผลสีชมพู (T; 25 วันหลังดอกบาน) จะพบปริมาณแอนโทไซยานินชนิด Cyanidin-3-glucoside มากที่สุด เป็นต้น

จากผลการทดลองพบว่า ปริมาณ Cyanidin-3-glucoside มีมากที่สุดในระยะผลสีชมพู (T; 25 วันหลังดอกบาน) และจะลดลงเมื่อเข้าสู่ระยะผลสีแดง (R; 30 วันหลังดอกบาน) ในสตรอว์เบอร์รี่ทั้ง 2 สายพันธุ์ แต่พบว่าสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 มีปริมาณ Cyanidin-3-glucoside สูงกว่าสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 นอกจากนี้ยังพบว่า สตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 ยังคงมีปริมาณ Cyanidin-3-glucoside มากกว่าสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์ Carisma และ Oso Grande (Lopes da Silva et al., 2007, pp. 374-382) รวมถึงพันธุ์ BL 2005-180, BL 2005-188, BL 2006-221-22, Joy, Rubygem และ Sugarbaby (Fredericks et al., 2013, pp. 846-852) ดังนั้น จากผลการทดลองจึงบ่งชี้ได้ว่า สตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 มีศักยภาพในการผลิตสารแอนโทไซยานินมากกว่าสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 ดังนั้นสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์นี้จึงเหมาะแก่การบริโภคเพื่อสุขภาพและเป็นแหล่งพันธุกรรม เพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

จากการทดลองพบว่า การแสดงออกของยีน *F3'H* มีการแสดงออกมากในระยะผลสีชมพู (T; 25 วันหลังดอกบาน) เมื่อเปรียบเทียบกับระยะผลสีเขียว (15 วันหลังดอกบาน) ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Thill et al. (2013, pp. 72-78) รายงานว่า สตรอว์เบอร์รี่ *F. vesca* สายพันธุ์ Red Wonder เริ่มมีการแสดงออกของยีน *F3'H* ตั้งแต่ระยะผลสีเขียว (green fruits) จนถึงระยะผลสีชมพู (late turning-stage fruits) ซึ่งมีการแสดงออกมากที่สุด และจะลดลงเล็กน้อยในระยะผลสุกสีแดง (full-ripe red fruits) ในขณะที่สตรอว์เบอร์รี่ *F. × ananassa* สายพันธุ์ Elsanta พบว่า มีการแสดงออกมากในระยะผลสีเขียว (green fruits) และจะเริ่มลดลงจนถึงระยะผลสุก (full-ripe red fruits) เป็นต้น Zhang et al. (2012, pp. 1185-1189) รายงานว่า นอกจากความแตกต่างของสายพันธุ์แล้ว การแสดงออกของยีน *F3'H* ยังขึ้นอยู่กับ การเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมอีกด้วย Carbone et al. (2009, pp. 1117-1131) รายงานว่า ในระยะสตรอว์เบอร์รี่ผลสีเขียวถึงระยะก่อนผลสุกพบว่า มีการสะสมสาร pro-anthocyanin มาก จึงส่งผลทำให้ยีน *F3'H* มีการสังเคราะห์มากขึ้น ในทางตรงกันข้ามเมื่อสตรอว์เบอร์รี่เข้าสู่ระยะผลสุก ยีน *F3'H* จะมีการแสดงออกลดลง Thill et al. (2013, pp. 72-78) รายงานว่า ยีน *F3'H* มีความสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์สารแอนโทไซยานิน และจะพบยีนชนิดนี้แสดงออกมากในระยะก่อนผลสุก ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่ายีน *F3'H* จะทำหน้าที่ควบคุม B-ring dihydroxylated flavonoids ในระยะก่อนผลสุก ส่งผลทำให้ผลสตรอว์เบอร์รี่มีการผลิตสาร pro-anthocyanin มากในระยะนี้ นอกจากนี้ Carbone et al. (2009, pp. 1117-1131) และ Xu et al. (2014, pp. 289-298) รายงานว่า ยีน *F3'H* เป็นยีนที่มีความสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์สารแอนโทไซยานิน ซึ่งยีนนี้จะมีการแสดงออกตามการเปลี่ยนแปลงของระยะการพัฒนาผิวผลสตรอว์เบอร์รี่ นอกจากนี้ยังพบว่า ยีน *F3'H* ยังทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการสังเคราะห์สารแอนโทไซยานิน โดยจะทำหน้าที่เปลี่ยนสาร dihydrokaempferol (DHK) ไปเป็นสาร

dihydroquercetin (DHQ) ซึ่งนำไปสู่กระบวนการสังเคราะห์สาร Cyanidin ต่อไป (Stotz et al., 1985, pp. 300-305; Holton, & Cornish, 1995, pp. 1071-1083; Carbone et al. 2009, pp. 1117-1131; Thill et al. 2013, pp. 72-78).

การทดลองที่ 5 ศึกษาชนิดสารเมตาโบไลต์ปฐมภูมิและทุติยภูมิที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์สตรอว์เบอร์รี่ (metabolomics)

จากการศึกษาสารเมตาโบไลต์ในใบสตรอว์เบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ พบว่า สามารถจำแนกสตรอว์เบอร์รี่ได้ทั้งหมด 3 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 ได้แก่ สตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 พันธุ์ พระราชทาน 50 และพันธุ์ 329 กลุ่มที่ 2 ได้แก่ สตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 และกลุ่มที่ 3 ได้แก่ สตรอว์เบอร์รี่พันธุ์ Akihime และพันธุ์พระราชทาน 72 และเมื่อนำข้อมูลเหล่านี้มาเปรียบเทียบกับผลการทดลองที่ 1 พบว่า ข้อมูลทางด้านพันธุกรรมและสารเมตาโบไลต์มีความคล้ายคลึงกัน โดยพบว่า สตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 50 และพันธุ์พระราชทาน 70 มีความเหมือนกันมากที่สุด ในขณะที่สตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์พระราชทาน 72 มีความเหมือนกันน้อยที่สุด เมื่อพิจารณาชนิดของสารเมตาโบไลต์ในใบสตรอว์เบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ พบว่า สตรอว์เบอร์รี่กลุ่มที่ 1 มีสารเมตาโบไลต์ที่สำคัญ ได้แก่ phenylpropanoid จึงสามารถบ่งชี้ได้ว่า สตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 70 พันธุ์พระราชทาน 50 และพันธุ์ 329 เป็นสายพันธุ์ที่มีการเปลี่ยนแปลงทางด้านสรีรวิทยาของพืชอย่างมาก เช่น การสังเคราะห์แสง การหายใจระดับเซลล์ และการสังเคราะห์โปรตีน เป็นต้น และยังพบว่าเป็นสายพันธุ์ที่มีความแข็งแรงเมื่ออยู่ในสภาวะแวดล้อมที่จำกัด (Winkel-Shirley, 2001, pp. 485-493; Kliebenstein, 2004, pp. 675-684; Deng, & Lu, 2017, pp. 257-290) สตรอว์เบอร์รี่กลุ่มที่ 2 มีสารเมตาโบไลต์ที่สำคัญ ได้แก่ myo-inositol, glycerol, glycerol-hexose และ fatty acid C26:0 ซึ่งสามารถบ่งชี้ได้ว่า สตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 สามารถต้านทานต่อโรคและแมลงได้มากกว่าสตรอว์เบอร์รี่สายพันธุ์อื่น ๆ เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของสารเมตาโบไลต์ดังกล่าวสามารถช่วยเสริมสร้างความแข็งแรงของผนังเซลล์ ทำให้เซลล์สามารถต้านทานต่อโรคและแมลงที่เข้ามาทำลายได้ดีขึ้น (Miedes et al., 2014, pp. 358) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ ณรงค์ชัย พิพัฒน์วงศ์ (2554, น. 22-28) รายงานว่าสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 เป็นสายพันธุ์ที่มีความต้านทานสูงต่อโรคแอนแทรคโนส ราแป้ง เพลี้ยไฟและไรสองจุด เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบว่า สตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 ยังคงมีระดับปริมาณน้ำตาลที่สูง โดยชนิดของสารเมตาโบไลต์ที่พบ คือ sucrose, glucose, fructose และ galactose ซึ่งสารเมตาโบไลต์เหล่านี้ จะทำหน้าที่เป็นแหล่งสร้างฮอร์โมนพืช การสังเคราะห์แสง และการพัฒนากระบวนการทางสรีรวิทยา เป็นต้น (Rolland, & Sheen, 2005, pp. 269-271; Aksic et al., 2019, pp. E205) ดังนั้น อาจกล่าวได้ว่าสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 เป็นสตรอว์เบอร์รี่ที่มีความหวานมากกว่าสตรอว์เบอร์รี่สายพันธุ์อื่น ๆ ในประเทศไทย (Sirijan et al., 2019a, pp. 355-363) และเมื่อพิจารณาสตรอว์เบอร์รี่

กลุ่มที่ 3 มีสารเมตาโบไลต์ที่สำคัญ ได้แก่ amino acids, isoprenoids, α -tocopherol, phytol และ squalene ซึ่งสามารถบ่งชี้ได้ว่า สตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 72 และพันธุ์ Akihime เป็นสายพันธุ์ที่สามารถต้านทานต่อสภาวะความเครียดจากสภาพแวดล้อมที่จำกัดได้ดีกว่าสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์อื่น ๆ เนื่องจาก amino acids และ isoprenoids มีหน้าที่หลัก คือ เป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระภายในเซลล์พืช (Dixon, 2001, pp. 843-847; Kliebenstein, 2004, pp. 675-684; Turhan, & Eris, 2009, pp. 3280-3294) ดังนั้น จากผลการทดลองสามารถบ่งชี้ได้ว่า เทคนิค RAPD จากการทดลองที่ 1 เป็นเทคนิคที่สามารถใช้ระบุส่วนใดส่วนหนึ่งของจีโนมได้ ซึ่งบริเวณเหล่านั้นจะทำหน้าที่ควบคุมการแสดงออกของสารเมตาโบไลต์ชนิดต่าง ๆ และยังพบว่าการใช้เทคนิค RAPD ร่วมกับการวิเคราะห์สารเมตาโบไลต์ด้วยเทคนิค GC-MS สามารถใช้เป็นข้อมูลในการคัดเลือกพันธุ์และปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

เมื่อพิจารณาสารเมตาโบไลต์ในผลสตรอว์เบอร์รีทั้ง 8 ระยะ พบว่า สตรอว์เบอร์รีระยะผลดิบ (7-16 วันหลังดอกบาน) ของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ Akihime และพันธุ์พระราชทาน 80 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าที่ระยะเวลา 16 วันหลังดอกบาน เป็นระยะที่มีการเปลี่ยนแปลงสารเมตาโบไลต์มากที่สุด เนื่องจากระยะนี้เป็นระยะที่มีสารเมตาโบไลต์ปฐมภูมิ (primary metabolites) เช่น glycolysis, amino acids และ TCA cycle เริ่มมีการทำงานมากขึ้นเพื่อเข้าสู่กระบวนการสุกของผล (ระยะ 19-28 วันหลังดอกบาน) นอกจากนี้ในระยะนี้จะพบการเปลี่ยนแปลงของผนังเซลล์ โดยเซลล์จะมีการขยายขนาดใหญ่ขึ้น เป็นต้น อย่างไรก็ตามผลการทดลองพบว่า ในระยะผลผลดิบ (7-16 วันหลังดอกบาน) พบสารเมตาโบไลต์ชนิด amino acids และ fatty acids โดยชนิด amino acids ที่พบมากที่สุด ได้แก่ glutamic acid, aspartic acid, asparagine และ GABA (Burroughs, 1970) เนื่องจาก amino acids ในระยะผลดิบ จะทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการดูดซึมนไนโตรเจนและการสังเคราะห์กรดอะมิโนโดยผ่าน TCA cycle เป็นต้น (Galili et al., 2008) อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบ amino acids ในระยะผลดิบและผลสุกพบว่า ระยะผลดิบ (7-16 วันหลังดอกบาน) มี amino acids บางชนิดที่มีปริมาณน้อยกว่าในระยะผลสุก (28 วันหลังดอกบาน) โดย amino acids ที่พบมากในระยะผลสุก ได้แก่ serine, leucine, alanine และ valine ซึ่งถูกพบมากในสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ Akihime ดังนั้น ผลการทดลองอาจบ่งชี้ได้ว่า ในระยะผลสุก amino acids เหล่านี้จะทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์กลิ่นในผลสตรอว์เบอร์รี (Tressl, & Drawert, 1973, pp. 560-565; Perez et al., 1992, pp. 2232-2235)

เมื่อพิจารณาสารเมตาโบไลต์ในกลุ่มของน้ำตาล เช่น sucrose ของสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 และพันธุ์ Akihime ผลการทดลองพบว่า สตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 เริ่มมีการสะสมปริมาณน้ำตาล sucrose ตั้งแต่ระยะเวลา 10 วันหลังดอกบาน และจะพบมากในระยะเวลา 19 วันหลังดอกบาน จากนั้นจะคงที่ และลดลงในระยะเวลา 25 วันหลังดอกบาน และเพิ่มขึ้นปริมาณ

เล็กน้อยในระยะเวลา 28 วันหลังดอกบาน ในขณะที่สตรอว์เบอร์รีพันธุ์ Akihime เริ่มมีการสะสมน้ำตาล sucrose ในระยะเวลา 16-28 วันหลังดอกบาน ผลการทดลองสามารถบ่งชี้ได้ว่าการเพิ่มขึ้นของปริมาณน้ำตาล sucrose มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของผลสตรอว์เบอร์รีในแต่ละสายพันธุ์ เป็นต้น (Hancock, 1999; Basson et al., 2010, pp. 1156-1162; Zhang et al., 2011, pp. 1103-1118; Jia et al., 2013, pp. 453-465) เมื่อพิจารณาสารเมตาโบไลต์ในกลุ่ม TCA cycle ผลการทดลองพบว่า ที่ระยะเวลา 16 วันหลังดอกบาน สตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 มีปริมาณกรด malic acid, citric acid, aconitic acid, fumaric acid และ maleic acid มากกว่าสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ Akihime และเมื่อพิจารณาสารเมตาโบไลต์ในกลุ่มของสารวิตามินซี (ascorbic acid) พบว่า สตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 ยังคงมีปริมาณสารดังกล่าวมากที่สุด โดยพบมากในระยะผลสุก (25 วันหลังดอกบาน) เป็นต้น

นอกจากนี้เมื่อพิจารณาสารเมตาโบไลต์ในกลุ่มของสาร ellagitannins และ condensed tannins เช่น ellagic acid pentoside I, II, III, bis-HHDP-glucose I, II, III, catechin, procyanidin B1, B3 และ proanthocyanidin trimer ผลการทดลองพบว่า สตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 มีปริมาณสารดังกล่าวมากที่สุดในระยะผลดิบ (7-16 วันหลังดอกบาน) และจะลดลงในระยะผลสุก (19-28 วันหลังดอกบาน) ผลการทดลองสามารถบ่งชี้ได้ว่าการเพิ่มขึ้นของสาร ellagitannins และ condensed tannins ในระยะผลดิบ มีผลทำให้สตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 มีรสชาติฝาด ซึ่งส่งผลทำให้เป็นการป้องกันการเข้าทำลายของแมลงและสัตว์ที่ต้องการบริโภคผล สตรอว์เบอร์รีในระยะนี้ (Dixon et al., 2005, pp. 9-28; Almeida et al., 2007, pp. 61-71; Landmann et al., 2007, pp. 417-428) ยิ่งไปกว่านั้นเมื่อพิจารณาสารเมตาโบไลต์ในกลุ่มของสาร phenolic compound เช่น kaempferol-glucoside I, II, pelargonidin-glucoside และ solidroside I, II ผลการทดลองพบว่า สตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 ยังคงมีปริมาณสารเมตาโบไลต์ดังกล่าวมากที่สุดในระยะผลสุก 25 วันหลังดอกบาน ซึ่งมากกว่าสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ Akihime จากผลการทดลองสามารถบ่งชี้ได้ว่า สตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 มีความต้านทานต่อโรคและแมลงได้ดีกว่าสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ Akihime เนื่องจาก สตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80 มีปริมาณสารเมตาโบไลต์ในกลุ่มของ phenolic compound สูง ตั้งแต่ระยะผลดิบ (7-16 วันหลังดอกบาน) จนถึงระยะผลสุก (19-28 วันหลังดอกบาน) ดังนั้นจึงส่งผลทำให้สตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ดังกล่าวมีความต้านทานต่อโรคและแมลงได้ดี รวมไปถึงการมีคุณค่าทางโภชนาการที่สูง ซึ่งจะเป็นประโยชน์สำหรับผู้บริโภคอย่างมาก (Capocasa et al., 2008a, pp. 67-72; ณรงค์ชัย พิพัฒน์ธนวงศ์, 2554, น. 22-28; Sirijan et al., 2019a, pp. 355-363; Kallscheuer et al., 2019, pp. 01074.2018)

เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่าย (volatile organic compounds) ผลการทดลองพบว่า สามารถจำแนกระยะเวลาการเปลี่ยนแปลงสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายของสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 และพันธุ์ Akihime ได้ทั้งหมด 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ 1 ระยะเวลา 7 วันหลังดอกบาน กลุ่มที่ 2 ระยะเวลา 16 และ 22 วันหลังดอกบาน และกลุ่มที่ 3 ระยะเวลา 28 วันหลังดอกบาน โดยที่ระยะเวลา 7-16 วันหลังดอกบาน พบสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายในกลุ่มของ alcohol และ aldehydes ในขณะที่ระยะเวลา 22-28 วันหลังดอกบาน พบสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายในกลุ่มของ esters ผลการทดลองสามารถบ่งชี้ได้ว่า ในระยะผลดิบ (7-16 วันหลังดอกบาน) สตอร์วเบอร์รี่ทั้งสองสายพันธุ์เริ่มมีการสะสมปริมาณสาร alcohol และ aldehydes เนื่องจากสารเหล่านี้จะถูกนำไปใช้เป็นส่วนตั้งต้นในกระบวนการสังเคราะห์กลิ่น (volatile) ในระยะผลสุก (22-28 วันหลังดอกบาน) ของสตอร์วเบอร์รี่ ดังนั้น จึงเห็นได้ว่า สตอร์วเบอร์รี่ทั้งสองสายพันธุ์มีปริมาณสาร ester ที่น้อยในระยะผลดิบ และมากขึ้นในระยะผลสุก (Perez et al., 1992, pp. 2232-2235; Yamashita et al., 1977, pp. 1165-1168; Forney et al., 2000, pp. 1022-1026; Jetty et al., 2007, pp. 487-496) อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาสารเมตาโบไลต์ในกลุ่ม fatty acids ของสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 และพันธุ์ Akihime ผลการทดลองพบว่า สตอร์วเบอร์รี่พันธุ์ Akihime มีปริมาณสารเมตาโบไลต์ในกลุ่ม fatty acids สูง เช่น C16:0 และ C18:0 โดยพบมากในระยะผลดิบตั้งแต่ระยะเวลา 7-16 วันหลังดอกบาน และจะเริ่มลดลงเมื่อถึงระยะเวลา 19 วันหลังดอกบาน (ภาพ 55) ผลการทดลองสามารถบ่งชี้ได้ว่า สตอร์วเบอร์รี่พันธุ์ Akihime มีปริมาณสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายหรือมีกลิ่นที่หอมกว่า สตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 เนื่องจากสารเมตาโบไลต์ในกลุ่ม fatty acids จะทำหน้าที่เป็นส่วนตั้งต้นในกระบวนการสังเคราะห์กลิ่น หรือการเกิดปฏิกิริยา ester biosynthesis ดังนั้น การมีปริมาณสารเมตาโบไลต์ในกลุ่ม fatty acids มาก จะส่งผลต่อการเกิดกลิ่นในผลสตอร์วเบอร์รี่มากขึ้นด้วยเช่นกัน (Osorio et al., 2010)

ข้อเสนอแนะ

1. จากการศึกษาการจำแนกลักษณะประจำพันธุ์และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสตอร์วเบอร์รี่ด้วยเทคนิค RAPD markers พบว่า เทคนิคนี้ยังคงมีข้อจำกัดบางประการ เช่น การทำซ้ำ ซึ่งอาจจะทำให้ผลการทดลองมีการเปลี่ยนแปลง ดังนั้นควรมีการศึกษาเทคนิคอื่น ๆ เพิ่มเติม เช่น เทคนิค AFLP, RFLP, SCAR หรือ SRAP เพื่อเป็นการยืนยันความถูกต้องของข้อมูลที่ได้จากเทคนิค RAPD

2. จากการศึกษาการปรับปรุงพันธุ์สตอร์วเบอร์รี่เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการผลิตสารแอนโทไซยานินพบว่า สามารถคัดเลือกต้นพันธุ์สตอร์วเบอร์รี่ลูกผสม F1 ที่มีศักยภาพในการผลิตสารแอนโทไซยานินที่สูงได้สำเร็จ แต่อย่างไรก็ตาม ควรมีการปลูกทดสอบต่อไปอย่างน้อย 4-5 รุ่นที่ระดับความสูงของพื้นที่ต่างกัน เพื่อให้ต้นสตอร์วเบอร์รี่ลูกผสมดังกล่าวสามารถปรับตัวได้ดีในสภาพแวดล้อมที่ต่างกัน และยังเป็นการทำให้สายพันธุ์ลูกผสมดังกล่าวไม่เกิดความแปรปรวนทางด้านพันธุกรรม

3. จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 พบว่า สามารถทราบอาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตไซโตไคนิน (BA) และออกซิน (NAA) ที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัส ยอด และราก รวมถึงวัสดุปลูกที่เหมาะสมหลังย้ายปลูก แต่อย่างไรก็ตาม ควรมีการศึกษาอาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดอื่น ๆ เพิ่มเติม เช่น 2,4-D, IBA, BAP และ TDZ รวมถึงวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ เพื่อให้ทราบข้อมูลที่หลากหลายและสามารถนำไปเลือกใช้ได้อย่างถูกต้องและเกิดประโยชน์สูงสุด

4. จากการศึกษาการแสดงออกของยีน $F3'H$ ในวิธีการสังเคราะห์แอนโทไซยานินด้วยเทคนิค qRT-PCR สามารถบ่งชี้ได้ว่ายีน $F3'H$ จะทำหน้าที่ควบคุมการแสดงออกของสารแอนโทไซยานินชนิด Cyanidin-3-dlucoside แต่อย่างไรก็ตาม ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมกับยีนชนิดอื่น ๆ ในวิธีการสังเคราะห์สารแอนโทไซยานิน เช่น ยีน *PAL*, *C4H*, *4CL*, *CHS*, *CHI*, *DFR*, *ANS*, *UFGT*, *FLS*, *LAR* และ *ANR* เป็นต้น เพื่อให้ทราบถึงกระบวนการสังเคราะห์สารแอนโทไซยานิน และปริมาณยีนที่แสดงออกทั้งหมดในแต่ละระยะของการพัฒนาผิวผล

5. จากการศึกษาชนิดสารเมตาโบไลต์ปฐมภูมิและทุติยภูมิที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์สตอร์วเบอร์รี่ (metabolomics) พบว่า สตอร์วเบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์มีลักษณะทางพันธุกรรมและสารเมตาโบไลต์ที่คล้ายคลึงกัน ซึ่งสามารถตรวจวิเคราะห์ได้ด้วยเทคนิค RAPD และเทคนิค GC-MS, LC-MS และ SPME-GC-MS เป็นต้น และเมื่อพิจารณาชนิดของสารเมตาโบไลต์พบว่า สตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 มีความสามารถในการต้านทานต่อโรคและแมลงได้ดีกว่าสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์ Akihime ในขณะที่สตอร์วเบอร์รี่พันธุ์ Akihime มีปริมาณสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายหรือมีกลิ่นที่หอมกว่าสตอร์วเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 ใด ๆ อย่างไรก็ดี ควรมีการศึกษาสตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์อื่น ๆ ในประเทศไทยเพิ่มเติม เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการคัดเลือกพันธุ์ สำหรับการปรับปรุงพันธุ์สตอร์วเบอร์รี่ต่อไป

บรรณานุกรม



บรรณานุกรม

- กรมวิชาการเกษตร. (2559). สตรอเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 88. ใน *หนังสือรับรองพันธุ์พืชขึ้นทะเบียนตามพระราชบัญญัติ พ.ศ. 2518*. กรุงเทพฯ: กรมวิชาการเกษตร.
- คำรพ รัตนสุด. (2561). *พันธุศาสตร์โมเลกุลพื้นฐานจำเป็นสำหรับงานวิจัยด้านพืช*. พิษณุโลก: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยนเรศวร.
- จรัสแท้ ศิริพานิช. (2549). *ชีววิทยาหลังการเก็บเกี่ยวและการวางของพืช*. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.
- ชัยพิชิต เชื้อเมืองพาน. (2548). *คุณภาพทางกายภาพและเคมีหลังการเก็บเกี่ยวของผลสตรอเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 72 (วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต)*. เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ชูพงษ์ สุขุมลันนันทน์. (2531). *สตรอเบอร์รี่*. กรุงเทพฯ: ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ฐานข้อมูลพันธุ์กรรมพืชสวน. (2557). *สตรอเบอร์รี่*. สืบค้น 30 มิถุนายน 2563, จาก <http://www.hort.ezathai.org>
- ณรงค์ชัย พิพัฒน์ธนวศ์, เบ็ญจารัตน์ ทองยี่น, เวช เต๋จ๊ะ, สาวิตรี ทิววงศ์, และHiroshi Akagi. (2554). สตรอเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80. *ข่าวสารเกษตรศาสตร์*, 56(1), 22-28.
- ณรงค์ชัย พิพัฒน์ธนวศ์. (2543). *สตรอเบอร์รี่: พืชเศรษฐกิจใหม่*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- นพพร คล้ายพงษ์พันธุ์. (2546). *เทคนิคการปรับปรุงพันธุ์พืช*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน คณะเกษตร ภาควิชาพืชไร่.
- นิพิจ พิณิจผล. (2551). *การพัฒนาเทคนิควิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยน้ำว้ามะลิอ่อน (วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต)*. พิษณุโลก: มหาวิทยาลัยนเรศวร.
- ประสาทร สมิตะมาน, และดนัย บุญเกียรติ. (2542). *สตรอเบอร์รี่: โครงการถ่ายทอด เทคโนโลยีเพื่อการผลิต ส่วนขยายพันธุ์พืชคุณภาพดี*. กรุงเทพฯ: ศูนย์พันธุ์วิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ.
- ประสาทร สมิตะมาน. (2538). *เอกสารประกอบการอบรม การเพิ่มผลผลิตสตรอเบอร์รี่สำหรับงานอุตสาหกรรม*. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่: เชียงใหม่.
- พรชัย ปรีชาปัญญา. (2523). *การปลูกสตรอเบอร์รี่*. กรุงเทพฯ: กองอนุรักษ์ต้นน้ำ กรมป่าไม้กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

- ภาณุวัฒน์ โคตรสมบัติ, รุจิกร ตรีริยะ, และจุฑาทรพ เพชรบุรณิน. (2562). เมแทโบโลมิกส์ในการวิจัยและวินิจฉัยทางคลินิก. *ศรีนครินทร์เวชสาร*, 34(3), 298-302.
- ระบบสารสนเทศการผลิตทางการเกษตร. (2563). *รายงานข้อมูลภาวะการผลิตพืช*. สืบค้น 30 มิถุนายน 2563, จาก <http://www.phetchabun.doae.go.th>
- รังสฤษดิ์ กาวิต๊ะ. (2545). *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช: หลักการและเทคนิค* (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วีระพงษ์ ลulitanนท์. (2557). *เทคนิคเรียลไทม์พีซีอาร์*. กรุงเทพฯ: ดีทีริโอ.
- ศานต์ เศรษฐชัยมงคล, และมยุรี เหลืองวิลัย. (2560). การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ในการศึกษาข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุล ของน้ำนมและผลิตภัณฑ์นม. *วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม*, 12(1), 1-16.
- ศิวพงศ์ จารัสพันธ์. (2546). *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช*. กรุงเทพฯ: คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏอุดรธานี.
- ศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. (2553). *แอนโทไซยานิน*. กรุงเทพฯ: สำนักหอสมุดและศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี กรมวิทยาศาสตร์บริการ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.
- สมชาย วัฒนโยธิน. (2549). การปลูกมะพร้าว. ใน *เอกสารวิชาการเทคโนโลยีการผลิตมะพร้าวน้ำหอม ศูนย์วิจัยระบบนิเวศเกษตร สถาบันค้นคว้าและพัฒนาระบบนิเวศเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ร่วมกับสำนักงานเกษตรจังหวัดสมุทรสาคร* (น. 1-36). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สมพร ประเสริฐสงสกุล. (2552). *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเกี่ยวกับการปรับปรุงพันธุ์พืช* (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: โฟร์เพช.
- สังคม เตชะวงศ์เสถียร. (2532). *สตรอเบอรี่*. วิทยาลัยอุบลราชธานี มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- สำนักงานเกษตรจังหวัดเชียงใหม่. (2561). *งานข้อมูล กลุ่มยุทธศาสตร์และสารสนเทศ*. สืบค้น 30 มิถุนายน 2563, จาก <http://www.chiangmai.doae.go.th>.
- สุทัศน์ ศรีวัฒนพงศ์. (2553). *การปรับปรุงพันธุ์พืช* (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สุทิน เสงคร. (2551). *การศึกษาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของสตรอเบอรี่จากต้นแม่พันธุ์ที่เก็บในสภาพอุณหภูมิต่ำและการปลูกจากต้นไหล* (วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต). พิษณุโลก: มหาวิทยาลัยนเรศวร.

- สุภาวดี ศรีวงศ์เพชร. (2557). *ผลของดัชนีเก็บเกี่ยวและบรรจุภัณฑ์แอททีฟต่อคุณภาพทางเคมี
กายภาพของผลสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 และพันธุ์ 329* (วิทยานิพนธ์ปริญญา
มหาบัณฑิต). เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. (2552). *เครื่องหมายดีเอ็นเอ: จากพื้นฐานสู่การประยุกต์*. กรุงเทพฯ:
สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อัมพา ว่องวิษกร, ปริญญารัตน์ ภูศิริ, และวรรณัฐ ศรีพาเพลิน. (2546). *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเกี่ยวกับ
การขยายพันธุ์*. กรุงเทพฯ: กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- AOAC. (2000). *Official Method of Analysis of AOAC International* (17th ed.). Virginia.
USA: Association of Official Analytical Chemists, Inc.
- Aaby, K., Skrede, G., & Wrolstad, R.E. (2005). Phenolic composition and antioxidant
activities in flesh and achenes of strawberries (*Fragaria × ananassa*). *Journal
of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4032-4040.
- Aaby, K., Mazur, S., Nes, A., & Skrede, G. (2012). Phenolic compounds in strawberry
(*Fragaria × ananassa* Duch.) fruits: Composition in 27 cultivars and changes
during ripening. *Food Chemistry*, 132(1), 86-97.
- Aksic, F. M., Tosti, T., Sredojevic, M., Milivojevic, J., Meland, M. and Natic, M. (2019).
Comparison of sugar profile between leaves and fruits of blueberry and
strawberry cultivars grown in organic and integrated production system.
Plants, 8, E205.
- Akiyoshi, D. E., Morris, R. O., Hinz, R., Mischke, B. S., Kosuge, T., Garfinkel, D. J., Gordon
M. P., & Nester, E. W. (1983). Cytokinin/auxin balance in crown gall tumors is
regulated by specific loci in the T-DNA. *Proceedings of the National
Academy of Sciences of the United States of America*, 80(2), 407-411.
- Almeida, J. R., D'Amico, E., Preuss, A., Carbone, F., de vos, C. H., Deiml, B., ..., & Rosati,
C. (2007). Characterization of major enzymes and genes involved in
flavonoid and proanthocyanidin biosynthesis during fruit development in
strawberry (*Fragaria × ananassa*). *Archives of Biochemistry and Biophysics*,
465(1), 61-71.
- Ara, T., Karim, R., Karim, M. R., Islam, R., & Hossain, M. (2012). Callus induction and
shoot regeneration in strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.). *International
Journal of Biosciences*, 2, 93-100.

- Ara, T., Karim, M. R., Aziz, M. A., Karim, R., Islam, R. and Hossain, M. (2013). Micropropagation and field evaluation of seven strawberry genotypes suitable for agro-climatic condition of Bangladesh. *African Journal of Agricultural Research*, 8(13), 1194-1199.
- Ashrafuzzaman, M., Faisal, S.M., Yadav, D., Khanam, D. and Raihan, F. (2013). Micropropagation of Strawberry (*Fragaria × ananassa*) through runner culture. *Bangladesh Journal of Agricultural Research*, 38(3), 467-472.
- Bakowska, A., Kucharska, A. Z., & Oszmiański, J. (2003). The effects of heating, UV irradiation, and storage on stability of the anthocyanin-polyphenol copigment complex. *Food Chemistry*, 81(3), 349-355.
- Banthorpe, B. V. (1994). Secondary metabolism in plant tissue culture: scope and limitations. *Natural Product Reports*, 11, 303-328.
- Basson, C., Groenewald, J. H., Kossmann, J., Cronjé, C., & Bauer, R. (2010). Sugar and acid-related quality attributes and enzyme activities in strawberry fruits: Invertase is the main sucrose hydrolysing enzyme. *Food Chemistry*, 121, 1156-1162.
- Basu, A., Rhone, M. and Lyons, T. J. (2010). Berries: emerging impact on cardiovascular health. *Nutrition Reviews*, 68, 168-177.
- Biswas, M.K., Islam, R. and Hossain, M. (2007). Somatic embryogenesis in strawberry (*Fragaria* sp.) through callus culture. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 90, 49-54.
- Biswas, M. K., Dutt, M., Roy, U. K., Islam, R., & Hossain, M. (2009). Development and evaluation of in vitro somaclonal variation in strawberry for improved horticultural traits. *Scientia Horticulturae*, 122(3), 409-416.
- Biswas, M. K., Roy, U. K., Islam, R., & Hossain, M. (2010). Callus culture from leaf blade, nodal, and runner segments of three strawberry (*Fragaria* sp.) clones. *Turkish Journal of Biology*, 34(1), 75-80.
- Boxus, P. H. (1974). The production of strawberry plants by *in vitro* micropropagation. *Horticultural Science*, 49, 209-210.

- Boxus, P. H. (1999). Micropropagation of strawberry via axillary shoot proliferation. In R.D. Hall (Eds.), *Plant Cell Culture Protocols. Methods in Molecular Biology. Part III. Plant Propagation in vitro* (pp. 103-114). Totowa, NJ, USA: Humana Press.
- Bridle, P., & Garcia-Viguera, C. (1997). Analysis of anthocyanins in strawberries and elderberries. A comparison of capillary zone electrophoresis and HPCL. *Food Chemistry*, *59*, 299-304.
- Bringhurst, R. S., Voth, V. and Van Hook, D. (1960). Relationship of root starch content and chilling history to performance of California strawberries. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*, *75*, 373-381.
- Buendia, B., Gil, M. I., Tudela, J. A., Gady, A. L., Medina, J. J., Soria, C., López, J. M., & Tomás-Barberán, F. A. (2010). HPLC-MS analysis of proanthocyanidin oligomers and other phenolics in 15 strawberry cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *58*(7), 3916-3926.
- Burroughs, L.F. (1970). Amino acids. In A.C. Hulme (Eds.), *The biochemistry of fruits and their products* (pp. 119-146). London and New York: Academic Press.
- Cabrita, L., Fossen, T., & Oyvind, M. A. (2000). Colour and Stability of the six common anthocyanidin-3-glucoside in aqueous solutions. *Food Chemistry*, *68*(1), 101-107.
- Capocasa, F., Diamanti, J., Tulipani, S., Battino, M., & Mezzetti, B. (2008a). Breeding strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch) to increase fruit nutritional quality. *BioFactors*, *34*, 67-72.
- Capocasa, F., Scalzo, J., Mezzetti, B. and Battino, M. (2008b). Combining quality and antioxidant attributes in the strawberry: The role of genotype. *Food Chemistry*, *111*, 872-878.
- Cappelletti, R., Sabbadini, S. and Mezzetti, B. (2016). The use of TDZ for the efficient *in vitro* regeneration and organogenesis of strawberry and blueberry cultivars. *Scientia Horticulturae*, *207*, 117-124.
- Carbone, F., Preuss, A., De Vos, R. C., D'Amico, E., Perrotta, G., Bovy, A. G., Martens, S., & Rosati, C. (2009). Developmental, genetic and environmental factors affect the expression of flavonoid genes, enzymes and metabolites in strawberry fruits. *Plant, Cell & Environment*, *32*, 1117-1131.

- Carkeet, C., Clevidence, B. A., & Novotny, J. A. (2008). Anthocyanin excretion by humans increases linearly with increasing strawberry dose. *The Journal of nutrition*, 138(5), 897-902.
- Castro-Puyana, M. and Herrero, M. (2013). Metabolomics approaches based on mass spectrometry for food safety, quality and traceability. *TrAC-Trends in Analytical Chemistry*, 52, 74-87.
- Chan, L. J. and Hrazdina, G. (1981). Structural aspects of anthocyanin-flavonoid complex formation and its role in plant colour. *Phytochemistry*, 20(2), 297-303.
- Cifuentes, A., (2013). Foodomics: principles and applications. In A. Cifuentes (Ed.), *Foodomics: Advanced mass spectrometry in modern food science and nutrition* (pp. 1-13). New Jersey: John Wiley & Sons.
- Collin, H. A. (2001). Secondary product formation in plant tissue cultures. *Plant Growth Regulation*, 34, 119-134.
- Congiu, L., Chicca, M., Cella, R., Rossi, R., & Bernacchia, G. (2000). The use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers to identify strawberry varieties: A forensic application. *Molecular Ecology*, 9(2), 229-232.
- Cordenunsi, B. R., Genovese, M.I., Joao, R. O., Hassimotto, N. A., Santos, R. J., & Lajolo, F. M. (2005). Effects of temperature on the chemical composition and antioxidant activity of three strawberry cultivars. *Food Chemistry*, 91(1), 113-121.
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 564-582.
- Crecente-Campo, J., Nunes-Damaceno, M., Romero-Rodríguez, M. A., & Vázquez-Odériz, M. L. (2012). Color, anthocyanin pigment, ascorbic acid and total phenolic compound determination in organic versus conventional strawberries (*Fragaria × ananassa* Duch, cv Selva). *Journal of Food Composition and Analysis*, 28(1), 23-30.
- Cuadros-Rodríguez, L., Ruiz-Samblás, C., Valverde-Som, L., Pérez-Castaño, E., & González-Casado, A. (2016). Chromatographic fingerprinting: An innovative approach for food 'identification' and food 'authentication'-a tutorial. *Analytica Chimica Acta*, 909, 9-23.

- Darrow, G. M. (1966). *The Strawberry: History, Breeding and Physiology*. New York: Holt, Rinehart & Winston.
- Danial, G. H., Ibrahim, D. A., & Omer, M. S. (2016). Response of running shoot tips of strawberry (*Fragaria × ananasa*) for in vitro propagation in Kurdistan region of Iraq. *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology*, 1(2), 164-169.
- de Boishebert, V., Giraudel, J-L., & Montury, M. (2006). Characterization of strawberry varieties by SPME-GC-MS and Kohonen self-organizing map. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 80(1), 13-23.
- Deng, Y., & Lu, S. (2017). Biosynthesis and regulation of phenylpropanoids in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 36, 257-290.
- Diamanti, J., Capocasa, F., Balducci, F., Battino, M., Hancock, J., & Mezzetti, B. (2012). Increasing strawberry fruit sensorial and nutritional quality using wild and cultivated germplasm. *Plos One*, 7(10), 1-16.
- Dixon, R. A. (2001). Natural products and plant disease resistance. *Nature*, 411, 843-847.
- Dixon, R. A., Xie, D.-Y., & Sharma, S. B. (2005). Proanthocyanidins: A final frontier in flavonoid research?. *New Phytologist*, 165, 9-28.
- Drapal, M., Barros de Carvalho, E., Ovalle Rivera, T. M., Becerra Lopez-Lavalle, L. A., & Fraser P. D. (2019). Capturing biochemical diversity in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) through the application of metabolite profiling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(3), 986-993.
- Ebbels, T. M. D. and De Iorio, M. (2011). Statistical data analysis in metabolomics. In M. Stumpf, D.J. Balding, & M. Girolami (Eds.), *Handbook of statistical systems biology* (pp. 163-180). West Sussex: John Wiley & Sons, Ltd.
- ElKichaoui, A. Y. (2014). *In vitro* propagation of strawberry (*Fragaria × annanasa* Duch.) through organogenesis via runner tips. *Annals of Plant Sciences*, 3, 619-627.
- Emara, H. (2008). Factors affecting propagation of strawberry (*Fragaria* spp.) through tissue culture techniques. *Journal of Productivity and Development*, 13(1), 191-212.

- Enfissi, E. M. A., Barneche, F., Ahmed, I., Lichtle, C., Gerrish, C., McQuinn, R. P., ... & Fraser, P. D. (2010). Integrative Transcript and Metabolite Analysis of Nutritionally Enhanced DE-ETIOLATED1 Downregulated Tomato Fruit. *The Plant Cell*, *22*, 1190-1215.
- Fait, A., Hanhineva, K., Beleggia, R., Dai, N., Rogachev, I., Nikiforova, V.J., ... & Aharoni, A. (2008). Reconfiguration of the achene and receptacle metabolic networks during strawberry fruit development. *Plant Physiology*, *148*(2), 730-750.
- Ferreira, M. L. F., Rius, S. P., & Casati, P. (2012). Flavonoids: Biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. *Frontiers in Plant Science*, *3*, 1-15.
- Forney, C., Kalt, W., & Jordan, M. (2000). The composition of strawberry aroma is influenced by cultivar, maturity, and storage. *HortScience*, *35*, 1022-1026.
- Fredericks, C. H., Fanning, K.J., Gidley, M. J., Netzel, G., Zabarar, D., Herrington, M., & Netzel, M. (2013). High-anthocyanin strawberries through cultivar selection. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *93*(4), 846-852.
- Gaafar, R. M., & Saker, M. M. (2006). Monitoring of Cultivars Identity and Genetic Stability in Strawberry Varieties Grown in Egypt. *World Journal of Agricultural Sciences*, *2*(1), 29-36.
- Garcia, M. G., Ontivero, M., Diaz Ricci, J. C., & Castagnaro, A. (2002). Morphological traits and high resolution RAPD markers for the identification of the main strawberry varieties cultivated in Argentina. *Plant Breeding*, *121*(1), 76-80.
- Geekiyana, S., T. Takase, Y. Ogura, & Kiyosue, T. (2007). Anthocyanin production by overexpression of grape transcription factor gene *VlmybA2* in transgenic tobacco and *Arabidopsis*. *Plant Biotechnology Reports*, *1*, 11-18.
- Giampieri, F., Tulipani, S., Suarez, J. M. A., Quiles, J. L., Mezzetti, B., & Battino, M. (2012). The strawberry: Composition, nutritional quality, and impact on human health. *Nutrition*, *28*, 9-19.
- Gidoni, D., Rom, M., Kunik, T., Zur, M., Izsak, E., Izhar, S., & Firon, N. (1994). Strawberry-cultivar identification using randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Plant Breeding*, *113*, 339-342.

- Giomaro, G., Karioti, A., Bilia, A. R., Bucchini, A., Giamperi, L., Ricci, D., & Fraternali, D. (2014). Polyphenols profile and antioxidant activity of skin and pulp of a rare apple from Marche region (Italy). *Chemistry Central Journal*, 8, 1-10.
- Galili, S., Amir, R., & Galili, G. (2008). Genetic engineering of amino acid metabolism in plants. In N, Lewis (Eds.), *Bioengineering and molecular biology of plant pathways* (pp. 49-80). Pergamon.
- Grotewold, E. (2006). The genetics and biochemistry of floral pigments. *The Annual Review of plant Biology*, 57, 761-780.
- Haddadi, F., Aziz, M. A., Saleh, G., Rashid, A. A. and Kamaladini, H. (2010). Micropropagation of strawberry cv. Camarosa: prolific shoot regeneration from *In Vitro* shoot tips using thidiazuron with N6-benzylamino-purine. *HortScience*, 45, 453-456.
- Hancock, J. F. (1999). *Strawberries*. Wallingford, United Kingdom: CABI Publishing.
- Hannum, S. M. (2004). Potential impact of strawberries on human health: A review of the science. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44, 1-17.
- He, F., Mu, L., Yan, G. L., Liang, N. N., Pan, Q. H., Wang, J., Reeves, M. J., & Duan, C. Q. (2010). Biosynthesis of anthocyanins and their regulation in colored grapes. *Molecules*, 15, 9057-9091.
- He, J., & Giusti, M. M. (2010). Anthocyanins: natural colorants with health-promoting properties. *Annual Review of Food Science and Technology*, 1, 163-187.
- Helmja, K., Vaher, M., Gorbatoeva, J., & Kaljurand, M. (2007). Characterization of bioactive compounds contained in vegetables of the Solanaceae family by capillary electrophoresis. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences, Chemistry*, 56(4), 172-186.
- Henning, S. M., Seeram, N. P., Zhang, Y., Li, L., Gao, K., Lee, R. P.,..., & Heber, D. (2010). Strawberry consumption is associated with increased antioxidant capacity in serum. *Journal of medicinal food*, 13(1), 116-122.
- Herrero, M., Simo, C., Garcia-Canas, V., Ibanez, E., & Cifuentes, A. (2012). Foodomics: MS-based strategies in modern food science and nutrition. *Mass SpectrometryReviews*, 31(1), 49-69.

- Hoffmann, T., Kalinowski, G., & Schwab, W. (2006). RNAi-induced silencing of gene expression in strawberry fruit (*Fragaria × ananassa*) by agroinfiltration: a rapid assay for gene function analysis. *The Plant Journal*, *48*(5), 818-826.
- Holton, T. A., & Cornish, E. C. (1995). Genetics and biochemistry of anthocyanin biosynthesis. *The Plant Cell*, *7*(7), 1071-1083.
- Hong, V., & Wrolstad, R. E. (1990). Characterization of anthocyanin containing colorants in fruits juices by HPLC-photodiode array detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *38*, 698-708.
- Hope Smith, S., Tate, P. L., Huang, G., Magee, J. B., Meepagala, K. M., Wedge, D. E., & Larcom, L. L. (2004). Antimutagenic activity of berry extracts. *Journal of medicinal food*, *7*(4), 450-455.
- Huntley, A. L. (2009). The health benefits of berry flavonoids for menopausal women: Cardiovascular disease, cancer and cognition. *Maturitas*, *63*(4), 297-301.
- Hussein, T. S., Tawfik, A. A., & Khalifa, M. A. (2008). Molecular identification and genetic relationships of six strawberry varieties using ISSR markers. *International Journal of Agriculture and Biology*, *10*(6), 677-680.
- Jaakola, L. (2013). New insights into the regulation of anthocyanin biosynthesis in fruits. *Trends in Plant Science*, *18*(9), 477-483.
- Jayaprakasam, B., Vareed, S. K., Olson, L. K., & Nair, M. G. (2005). Insulin secretion by bioactive anthocyanins and anthocyanidins present in fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *53*(1), 28-31.
- Jetti, R. R., Yang, E., Kurnianta, A., Finn, C., & Qian, M.C. (2007). Quantification of selected aroma-active compounds in strawberries by headspace solid-phase microextraction gas chromatography and correlation with sensory descriptive analysis. *Journal of Food Science*, *72*, 487-496.
- Jia, H., Wang, Y., Sun, M., Li, B., Han, Y., Zhao, Y., ..., & Jia, W. (2013). Sucrose functions as a signal involved in the regulation of strawberry fruit development and ripening. *New Phytologist*, *198*, 453-465.
- Jing, J. (2012). Breeding a better strawberry fruit by selecting superior germplasm via assaying anthocyanin pigment composition. *Proceedings of the National Conference on Undergraduate Research (NCUR)*, 2012, 526-530.

- Joseph, J. A., Denisova, N. A., Arendash, G., Gordon, M., Diamond, D., Shukitt-Hale, B., & Morgan D. (2003). Blueberry supplementation enhances signaling and prevents behavioral deficits in an Alzheimer disease model. *Nutritional neuroscience*, 6(3), 153-162.
- Kahkonen, M. P., Hopia, A. I., & Heinonen, M. (2001). Berry phenolics and their antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(8), 4076-4082.
- Kallscheuer, N., Menezes, R., Foito, A., Henriques da Silva, M. D., Braga, A., Dekker, W., ..., & Marienhagen, J. (2019). Identification and microbial production of the raspberry phenol salidroside that is active against Huntington's disease. *Plant Physiology*, 1, 1074
- Karim, M. R., Aziz, M. A., Roy, U. K., Hoque, M. A., & Hossain, M. M. (2011). *In vitro* response of strawberry (*Fragaria × ananassa* Dutch.) for callus induction and shoot regeneration. *International Journal of Agronomy and Agricultural Research*, 1, 29-36.
- Karim, R., Ahmed, F., Roy, U. K., Ara, T., Islam, R., & Hossain, M. (2015). Varietal improvement of strawberry (*Fragaria × ananassa* Dutch.) through somaclonal variation using *in vitro* techniques. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 17(4), 977-986.
- Karlund, A., Salminen, J. P., Koskinen, P., Ahern, J. R., Karonen, M., Tiilikkala, K., & Karjalainen, R. O. (2014). Polyphenols in strawberry (*Fragaria × ananassa*) leaves induced by plant activators. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(20), 4592-4600.
- Kelebek, H., & Selli, S. (2011). Characterization of phenolic compounds in strawberry fruits by RP-HPLC-DAD and investigation of their antioxidant capacity. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 34(20), 1-10.
- Khoo, H. E., Chew, L. Y., Ismail, A., & Azlan, A. (2012). Anthocyanins in purple-colored fruits. In J. Sun, K. N. Prasad, A. Ismail, B. Yang, X. You, & L. Li (Eds.), *Polyphenols: chemistry, dietary sources and health benefits* (pp. 133–152). New York: Nova Science Publisher.

- Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T., and Lim, S. M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food & Nutrition Research*, 61(1), 1-21.
- Kidmose, U., Edelenbos, M., Nørbæk, R., & Christensen, L.P. (2002). Colour stability in vegetables. In D.B. MacDougall (Eds.), *Colour in food: Improving quality* (pp. 179-232). Boca Raton: CRC Press.
- Kiran, U., Khan, S., Mirza, K. J., Ram, M., & Abdin, M. Z. (2010). SCAR markers: A potential tool for authentication of herbal drugs. *Fitoterapia*, 81(8), 969-976.
- Kliebenstein, D. J. (2004). Secondary metabolites and plant/environment interactions: a view through *Arabidopsis thaliana* tinged glasses. *Plant, Cell & Environment*, 27, 675-684.
- Kumar, N., & Reddy, M. P. (2011). *In vitro* plant propagation. *Journal of Forest Science*, 27, 61-72.
- Landmann, C., Fink, B., & Schwab, W. (2007). FaGT2: A multifunctional enzyme from strawberry (*Fragaria × ananassa*) fruits involved in the metabolism of natural and xenobiotic compounds. *Planta*, 226, 417-428.
- Laghi, L., Picone, G., & Capozzi, F. (2014). Nuclear magnetic resonance for foodomics beyond food analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 59, 93-102.
- Landi, L., & Mezzetti, B. (2006). TDZ, auxin and genotype effects on leaf organogenesis in *Fragaria*. *Plant Cell Reports*, 25(4), 281-288.
- Lattanzio, V. (2013). Phenolic Compounds: Introduction. In K.G. Ramawat, & J.M. Me´rillon (Eds.), *Natural products* (pp. 1543-1580). Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Lau, F. C., Shukitt-Hale, B., & Joseph, J. A. (2007). Nutritional intervention in brain aging: reducing the effects of inflammation and oxidative stress. *Sub cellular biochemistry*, 42, 299-318.
- Letham, D. S. (1974). Regulators of cell division in plant tissues. XX. The cytokinins of coconut milk. *Physiologia Plantarum*, 32(1), 66-70.
- Lim, S. H., & Ha, S. H. (2013). Marker development for the identification of rice seed color. *Plant Biotechnology Reports*, 7, 391-398.

- Liu, Z. R., & Sanford, J. C. (1988). Plant regeneration by organogenesis from strawberry leaf and runner tissue. *Horticultural Science*, 23, 1057-1059.
- López-Aranda, J. M., Pliego-Alfaro, E., López-Navidad, I., & Barceló-Muñoz, E. (1994). Micropropagation of strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.). Effect of mineral salts, benzyl adenine levels and number of subcultures on the in vitro and field behavior of the obtained microplants and the fruiting capacity of their progeny. *Journal of Horticultural Science*, 69, 625-637.
- Lopes da Silva, F., Escribano-Bailon, M. T., Perez Alonso, J. J., Rivas-Gonzalo, J., Santos-Buelga, C. (2007). Anthocyanin pigments in strawberry. *Food Science and Technology*, 40, 374-382.
- Liu, Z., Schwimer J., Liu, D., Greenway, F. L., Anthony, C. T., & Woltering, E. A. (2005). Black raspberry extract and fractions contain angiogenesis inhibitors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 3909-3915.
- Lukton, A., Chichester, C. O. and MacKiney, G. (1955). Characterization of a second pigment in strawberries. *Nature*, 176, 790.
- Maatta-Riihinen, K. R., Kamal-Eldin, A., & Törrönen, A. R. (2004). Identification and quantification of phenolic compounds in berries of *Fragaria* and *Rubus species* (family Rosaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 6178-6187.
- Marcotrigiano, M., Swartz, H. J., Gray, S. E., Tokarcik, D., & Popenoe, J. (1984). The effect of benzylaminopurine on the in vitro multiplication rate and subsequent field performance of tissue culture-propagated strawberry plants. *Advance in Strawberry Production*, 3, 23-25.
- Mahmood, S., Rashid, H., Quraishi, A., Iqbal, N., Arjumand, S. S., & Malik, M. N. (1994). Clonal propagation of strawberry through tissue culture. *Pakistan Journal of Agricultural Research*, 15(1), 54-59.
- Mahmood, T., Anwar, F., Abbas, M., Boyee, M. C., & Saari, N. (2012). Compositional variation in sugars and organic acids at different stages in selected small fruits from Pakistan. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(2), 1380-1392.

- Masny, A., Madry, W., & Zurawicz, E. (2008). Combining ability for important horticultural traits in medium- and late-maturing strawberry cultivars. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 16, 133-152.
- Mazza, G. (2007). Anthocyanins and heart health. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanita*, 43(4), 369-374.
- Medina, J. J., Clavero-Ramirez, I., Gonzalez-Benito, M. E., Galvez-Farfan, J., Lopez-Aranda, J. M., & Soria, C. (2007). Field performance characterization of strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) plants derived from cryopreserved apices. *Scientia Horticulturae*, 113(1), 28-32.
- Miedes, E., Vanholme, R., Boerjan, W., & Molina, A. (2014). The role of the secondary cell wall in plant resistance to pathogens. *Frontiers in Plant Science*, 5, 358.
- Morales, R. G. F., Resende, J. T. V., Faria, M. V., Andrade, M. C., Resende, L. V., Delatorre, C. A., & Silva, P. R. D. (2011). Genetic similarity among strawberry cultivars assessed by RAPD and ISSR markers. *Scientia Agricola*, 68, 665-670.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures. *Physiologia Plantarum*, 15, 473-497.
- Ngo, T., Wrolstad, R. E., & Zhao, Y. (2007). Color quality of Oregon strawberries-Impact of genotype, composition, and processing. *Journal of Food Science*, 72(1), C025- C032.
- Naruhashi, N., & Iwata, T. (1988). Taxonomic re-evaluation of *Fragaria nipponica* Makino and allied species. *Journal of Phytogeography and Taxonomy*, 36, 59-64.
- Nei, M. and Li, W. H. (1979). Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 76(10), 5269-5273.
- Nogueira, M., Mora, L., Enfissi, E. M., Bramley, P. M., & Fraser, P.D. (2013). Subchromoplast sequestration of carotenoids affects regulatory mechanisms in tomato lines expressing different carotenoid gene combinations. *The Plant Cell*, 25, 4560-4579.

- Ornelas-Paz, Jde. J., Yahia, E. M., Ramírez-Bustamante, N., Pérez-Martínez, J. D., Escalante-Minakata, Mdel. P., Ibarra-Junquera, V.,..., & Ochoa-Reyes, E. (2013). Physical attributes and chemical composition of organic strawberry fruit (*Fragaria × ananassa* Duch, Cv. Albion) at six stages of ripening. *Food Chemistry*, 138(1), 372-381.
- Osorio, S., Muñoz, C., & Valpuesta, V. (2010). Physiology and biochemistry of fruit flavors. In: Y.H. Hui (Eds.), *Handbook of Fruit and Vegetables Flavors* (pp. 25-43). Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons.
- Pajk, T., Rezar, V., Levart, A., & Salobir, J. (2006). Efficiency of apples, strawberries, and tomatoes for reduction of oxidative stress in pigs as a model for humans. *Nutrition*, 22(4), 376-384.
- Palapol, Y., Ketsa, S., Stevenson, D., Cooney, J. M., Allan, A. C., & Ferguson, I. B. (2009). Colour development and quality of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) fruit during ripening and after harvest. *Postharvest Biology and Technology*, 51(3), 349-353.
- Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), 270-278.
- Parent, J., & Pagé, D. (1995). Authentification des 13 cultivars de fraisier du programme de certification du Québec par l'analyse d'ADN polymorphe amplifié au hasard (RAPD). *Canadian Journal of Plant Science*, 75, 221-224.
- Passey, A. J., Barrett, K. J., & James, D. J. (2003). Adventitious shoot regeneration from seven commercial strawberry cultivars (*Fragaria × ananassa* Duch.) using a range of explant types. *Plant Cell Reports*, 21(5), 397-401.
- Pavlíček, A., Hrdá, S., & Flegl, J. (1999). FreeTree-freeeware program for construction of phylogenetic trees on the basis of distance data and bootstrap jackknife analysis of the tree robustness. Application in the RAPD analysis of genus *Frenkelia*. *Folia Biologica*, 45(3), 97-99.
- Perez, A. G., Rios, J. J., Sanz, C., & Olías, J. M. (1992). Aroma components and free amino acids in strawberry variety Chandler during ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 2232-2235.

- Perez, A. G., Olías, R., Luaces, P., & Sanz, C. (2002). Biosynthesis of strawberry aroma compounds through amino acid metabolism. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 4037-4042.
- Petroni, K., & Tonelli, C. (2011). Recent advances on the regulation of anthocyanin synthesis in reproductive organs. *Plant Science*, 181(3), 219-229.
- Pierik, R. L. M. (1987). *In vitro culture of higher plants*. Dordrecht, Netherlands: Martinus Nijhoff Publisher.
- Popescu, A. N., Isac, V. S., Coman, M. S., & Radulescu, M. S. (1997). Somaclonal variation in plants regenerated by organogenesis from callus culture of strawberry (*Fragaria × ananassa*). *Acta Horticulturae*, 439, 89-96.
- Radmann, E. B., Bianchi, V. J., Oliveira, R. P., & Fachinello, J. C. (2006). Characterization and genetic diversity of strawberry cultivars. *Horticultura Brasileira*, 24(1), 84-87.
- Raghuvver, I., Anurag, K., Anumalik, Y., Nitika, G., Swadesh, K., Nikhil, G., ..., & Himanshu, G. (2015). Metabolites in plants and its classification. *World Journal of Pharmaceutical Sciences*, 4(1), 287-305.
- Rahman, W., Zohora, S., Talukder, A. I., & Kayess, O. (2015). Effect of different hormone combinations on callus induction and plant regeneration of strawberry. *International Journal of Advanced Research*, 3(6), 1244-1250.
- Ranganna, S. (1986). *Handbook of analysis and quality control for fruit and vegetables products*. New Delhi: TataMcGraw-Hill.
- Ren, S., Hinzman, A. A., Kang, E. L., Szczesniak, R. D., & Lu, L. J. (2015). Computational and statistical analysis of metabolomics data. *Metabolomics*, 11(6), 1492-1513.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compound. *Trends in Plant Science*, 2(4), 152-159.
- Rolland, F. and Sheen, J. (2005). Sugar sensing and signalling networks in plants. *Biochemical Society Transactions*, 33, 269-271.

- Sakila, S., Ahmed, M. B., Roy, U. K., Biswas, M. K., Karim, R., Razvy, M. A., ..., & Hoque, A. (2007). Micropropagation of strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) A newly Introduced crop in Bangladesh. *American-Eurasian Journal of Scientific Research*, 2, 151-154.
- Salvatierra, A., Pimentel, P., Moya-Leon, M. A., Caligari, P. D., & Herrera, R. (2010). Comparison of transcriptional profiles of flavonoid genes and anthocyanin contents during fruit development of two botanical forms of *Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis*. *Phytochemistry*, 71(16), 1839-1847.
- Sato, M., Ramarathnam, N., Suzuki, Y., Ohkubo, T., Takeuchi, M., & Ochi, H. (1996). Varietal differences in the phenolic content and superoxide radical scavenging potential of wines from different sources. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(1), 37-41.
- Schijlen, E. G., Vos, C. R., Tunen, A. J., & Bovy, A. G. (2004). Modification of flavonoid biosynthesis in crop plants. *Phytochemistry*, 65(19), 2631-2648.
- Schlangen, K., Miosic, S., & Halbwirth, H. (2010). Allelic variants from *Dahlia variabilis* encode flavonoid 3'-hydroxylases with functional differences in chalcone 3-hydroxylase activity. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 494(1), 40-45.
- Seeram, N. P. (2008). Berry fruits for cancer prevention: current status and future prospects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(3), 630-635.
- Sen, S., & Dhawan, V. (2010). Molecular analysis of micropropagated strawberry plants using ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) markers for ascertaining clonal fidelity. *Acta Horticulturae*, 865, 345-348.
- Sharma, R. (2001). Impact of solar UV-B on tropical ecosystems and agriculture. Case study: Effect of UV-B on rice. *Proceedings of SEAWIT98 and SEAWPIT2000*, 1, 92-101.
- Simpson, D. W., & Bell, J. A. (1989). The response of different genotypes of *Fragaria* × *ananassa* and their seedling progenies to *in vitro* micropropagation and the effects of varying the concentration of 6-benzylaminopurine in the proliferation medium. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 17, 225-234.

- Sirijan, M., Pipattanawong, N., & Chaiprasart, P. (2019a). Effect of 1-naphthalene acetic acid and 6-benzyladenine on micropropagation of strawberry cultivar 'Praratchatan No.80'. *Agriculture and Natural Resources*, *53*, 355-363.
- Sirijan, M., Sujipuli, K., Pipattanawong, N., & Chaiprasart, P. (2019b). Generation of strawberry hybrids population through selection potential of anthocyanin-rich cultivars for breeding intervention. *Acta Horticulturae*, *1265*, 73-80.
- Skoog, F., & Miller, C.O. (1957). Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured *in vitro*. *Symposia of the Society for Experimental Biology*, *11*, 118-130.
- Srivastava, A., Akoh, C. C., Fischer, J. and Krewer, G. (2007). Effect of anthocyanin fractions from selected cultivars of Georgia-grown blueberries on apoptosis and phase II enzymes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *55*(8), 3180-3185.
- Stapleton, S. C., Chandler, C. K., Legard, D. E., Price, J. F., & Sumler Jr, J. C. (2001). Transplant source affects fruiting performance and pests of 'sweet Charlie' strawberry in Florida. *HortTechnology*, *11*(1), 61-65.
- Stotz, G., de Vlaming, P., Wiering, H., Schram, A. W., & Forkmann, G. (1985). Genetic and biochemical studies on flavonoid 3'-hydroxylation in flowers of *Petunia hybrida*. *Theoretical and Applied Genetics*, *70*(3), 300-305.
- Sugimoto, T., Tamaki, K., Matsumoto, J., Yamamoto, Y., Shiwaku, K., & Watanabe, K. (2005). Detection of RAPD markers linked to the everbearing gene in Japanese cultivated strawberry. *Plant Breeding*, *124*(5), 498-501.
- Tamas, M., Oniga, I., & Crisan, G. (2000). Recherches sur quelques produits avec des anthocyanes. *Proceedings of the XV-th edition of Balkan medical days*, *1*, 202-210.
- Thill, J., Miosic, S., Gotame, T. P., Mikulic-Petkovsek, M., Gosch, C., Veberic, R., ..., & Halbwirth, H. (2013). Differential expression of flavonoid 3' hydroxylase during fruit development establishes the different B-ring hydroxylation patterns of flavonoids in *Fragaria × ananassa* and *Fragaria vesca*. *Plant Physiology and Biochemistry*, *72*, 72-78.

- Thongthieng, T., & Smitamana, P. (2003). Genetic relationship in strawberry cultivars and their progenies analyzed by isozyme and RAPD. *Science Asia*, *29*, 1-5.
- Torskangerpoll, K., & Andersen, Ø. M. (2005). Colour stability of anthocyanins in aqueous solutions at various pH values. *Food Chemistry*, *89*(3), 427-440.
- Tressl, R., & Drawert, F. (1973). Biogenesis of banana volatiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *21*, 560-565.
- Trimigno, A., Marincola, F. C., Dellarosa, N., Picone, G., & Laghi, L. (2015). Definition of food quality by NMR-based foodomics. *Current Opinion in Food Science*, *4*, 99-104.
- Tulipani, S., Mezzetti, B., Capocasa, F., Bompadre, S., Beekwilder, J., de Vos, C. H. R., ..., & Battino, M. (2008). Antioxidants, phenolic compounds, and nutritional quality of different strawberry genotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *56*(3), 696-704.
- Tulipani, S., Alvarez-Suarez, J. M., Busco, F., Bompadre, S., Mezzetti, B., & Battino, M. (2011). Strawberries improve plasma antioxidant status and erythrocyte resistance to oxidative hemolysis. *Food Chemistry*, *128*(1), 180-186.
- Turhan, E., & Eris, A. (2009). Changes of growth, amino acids, and ionic composition in strawberry plants under salt stress conditions. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, *40*, 3280-3294.
- Turturica, M., Oancea, A. M., Râpeanu, G., & Bahrim, G. (2015). Anthocyanins: naturally occurring fruit pigments with functional properties. *Annals of the University Dunarea de Jos of Galati*, *39*(1), 9-24.
- Tyrka, M., Dziadczyk, P., & Hortynski, J. A. (2002). Simplified AFLP procedure as a tool for identification of strawberry cultivars and advanced breeding lines. *Euphytica*, *125*, 273-280.
- Voca, S., Dobricevic, N., Dragovic-Uzelac, V., Duralija, B., Druzic, J., Cmelik, Z., & Babojelic, M.S. (2008). Fruit quality of new early ripening strawberry cultivars in Croatia. *Food Technology and Biotechnology*, *46*(3), 292-298.
- Voca, S., Zlabur, J. S., Dobricevic, N., Jakobek, L., Seruga, M., Galic, A., & Pliestic, S. (2014). Variation in the bioactive compound content at three ripening stages of strawberry fruit. *Molecules*, *19*(7), 10370-10385.

- Wahyuningsih, S., Wulandari, L., Wartono, M. W., Munawaroh, H., & Ramelan, A. H. (2016). The effect of pH and color stability of anthocyanin on food colorant. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 193(1), 1-9.
- Wang, C. J., Wang, J. M., Lin, W. L., Chu, C. Y., Chou, F. P., & Tseng, T. H. (2000). Protective effect of Hibiscus anthocyanins against tert-butyl hydroperoxide-induced hepatic toxicity in rats. *Food and chemical toxicology*, 38(5), 411-416.
- Wang, S. Y., Feng, R. T., Lu, Y. J., Bowman, L., & Ding, M. (2005). Inhibitory effect on activator protein-1, nuclear factor-kappaB, and cell transformation by extracts of strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4187-4193.
- Winkel-Shirley, B. (2001). Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. *Plant Physiology*, 126, 485-493.
- Xia, J. and Wishart, D. S. (2016). Using MetaboAnalyst 3.0 for comprehensive metabolomics data analysis. *Current Protocols in Bioinformatics*, 55,14.10.1-14.10.91.
- Xu, W., Peng, H., Yang, T., Whitaker, B., Huang, L., Sun, J., & Chen, P. (2014). Effect of calcium on strawberry fruit flavonoid pathway gene expression and anthocyanin accumulation. *Plant Physiology and Biochemistry*, 82, 289-298.
- Yamashita, I., Iino, K., Nemoto, Y., & Yoshikawa, S. (1977). Studies on flavor development in strawberries. 4. Biosynthesis of volatile alcohol and esters from aldehyde during ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 25, 1165-1168.
- Yano, M., Kato, M., Ikoma, Y., Kawasaki, A., Fukazawa, Y., Sugiura, M., ..., & Ogawa, K. (2005). Quantitation of carotenoids in raw and processed fruits in Japan. *Food Science and Technology Research*, 11(1), 13-18.
- Yin, L., Chen, T., Li, Y., Fu, S., Li, L., Xu, M., & Niu, Y. (2016). A comparative study on total anthocyanin content, composition of anthocyanidin, total phenolic content and antioxidant activity of pigmented potato peel and flesh. *Food Science and Technology Research*, 22(2), 219-226.

- Youdim, K. A., Martin, A., & Joseph, J. A. (2000). Incorporation of the elderberry anthocyanins by endothelial cells increases protection against oxidative stress. *Free Radical Biology & Medicine*, 29(1), 51-60.
- Youssief, E. Y. (2009). *In vitro propagation of strawberry (Fragaria × annanasa Duch.) through organogenesis via runner tips* (Master's thesis). Palestine: University of Gaza.
- Yu, C., Ranieri, M., Deguo, Lv., Zhang, M., Charles, M. T., Tsao, R., Rekika, D., & Khanizadeh, S. (2011). Phenolic composition and antioxidant capacity of newlydeveloped strawberry lines from British Columbia and Quebec. *International Journal of Food Properties*, 14(1), 59-67.
- Zebrowska, J. I., & Tyrka, M. (2003). The use of RAPD markers for strawberry identification and genetic diversity studies. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 1(1),115-117.
- Zhang, X., Chen, Q., Yu, H., Zhou, S., & Tang, H. (2012). Expression analysis of the ANS gene in *Fragaria × ananassa* cv. Toyonaka. *Journal of Life Sciences*, 6, 1185-1189.
- Zhang, J., Wang, X., Yu, O., Tang, J., Gu, X., Wan, X., & Fang, C. (2011). Metabolic profiling of strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) during fruit development and maturation. *Journal of Experimental Botany*, 62(3), 1103-1118.
- Zobayer, N., Prodhan, S. H., Sikdar, S. U., Azim, F., & Ashrafuzzaman, M. (2011). Study of shoot multiplication of strawberry (*Fragaria × ananassa*). *International Journal of Agricultural Research, Innovation and Technology*, 1(1&2), 69-72.



ภาคผนวก

ภาคผนวก ก วิธีการเตรียมสารเคมี

1. ศึกษาการจำแนกลักษณะประจำพันธุ์และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของ สตรอว์เบอร์รีด้วยเทคนิคเครื่องหมายดีเอ็นเอ

1.1 การเตรียมปฏิกิริยาพีซีอาร์

genomic DNA	1 μ L (~50 ng/L)
forward primer	1 μ L (10 μ M)
DEPC water	23 μ L
illustra puReTaq Ready-to-Go PCR beads	0 μ L (master mix)
ปริมาตรรวม	25 μ L

2. ศึกษาการปรับปรุงพันธุ์สตรอว์เบอร์รีเพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการผลิต สารแอนโทไซยานิน

2.1 วิธีการผสมเกสรสตรอว์เบอร์รี



ภาพ 61 ขั้นตอนการผสมเกสรสตรอว์เบอร์รี

2.2 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี

2.2.1 ปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมด

สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานิน

กรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 1.5 N เตรียมโดยใช้กรดไฮโดรคลอริก ปริมาตร 62.10 mL เติมน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 500 mL

เอทานอลิกไฮโดรคลอริก (เอทานอล : กรดไฮโดรคลอริก) เตรียมโดยผสม เอทานอล และกรดไฮโดรคลอริก 1.5 N ในอัตราส่วน 85:15 แล้วเก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 °C

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานิน มีดังนี้

1. นำผิวผลสตอร์เบอร์รี่ที่ล้างแล้วให้ละเอียดประมาณ 1 g
2. เติมน้ำเอทานอลิกไฮโดรคลอริกปริมาตร 25 mL
3. เปลี่ยนสารละลายทุก ๆ 3 ชั่วโมง จนผิวผลสตอร์เบอร์รี่ไม่มีสี
4. นำสารละลายที่ได้มารวมกัน
5. กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 1
6. ปรับปริมาตรด้วยสารละลายเอทานอลิกไฮโดรคลอริกให้ได้ปริมาตร 100 mL
7. วัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV-Vis spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 535 nm

จากนั้นนำค่าที่ได้ ไปแทนค่าในสูตรหาปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมด มีหน่วยเป็น mg/100g FW

สูตรที่ใช้คำนวณ คือ

$$\text{Total absorbance} = \frac{\text{Absorbance at 535 nm} \times \text{final volume} \times 100}{\text{Weight sample}}$$

$$\text{Total anthocyanin content} = \frac{\text{Total absorbance}}{98.2}$$

2.2.2 ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้

1) นำน้ำสตอร์เบอร์รี่ที่ได้จากการปั่น ปริมาตร 2 mL มาผสมกับน้ำกลั่น ปริมาตร 40 mL ภายในภาชนะที่จำเพาะกับเครื่องไทเทรตอัตโนมัติ จากนั้นทำการไทเทรตกับ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 N (NaOH) โดยเครื่องจะแสดงค่า VEP และค่า R จากนั้นนำค่า VEP (mL of NaOH) มาแทนในสูตร ดังต่อไปนี้

$$\% \text{Titratable acidity} = \frac{(\text{mL of NaOH}) (\text{N of NaOH}) (\text{meq. wt. acid}) \times 100}{\text{Sample (mL)}}$$

2.2.3 ปริมาณวิตามินซี

การเตรียมสารละลาย สามารถทำได้ดังนี้

- 1) 0.35% (v/v) Ortho-phosphoric acid

ดูดสารละลาย Ortho-phosphoric acid เข้มข้น 85% v/v มา 4.12 mL ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 1,000 mL ด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว

- 2) 3 mM Potassium dihydrogen phosphate

ชั่ง Potassium dihydrogen phosphate มา 0.41 g แล้วละลายด้วย 0.35% (v/v) Ortho-phosphoric acid ในขวดปรับปริมาตรขนาด 1,000 mL

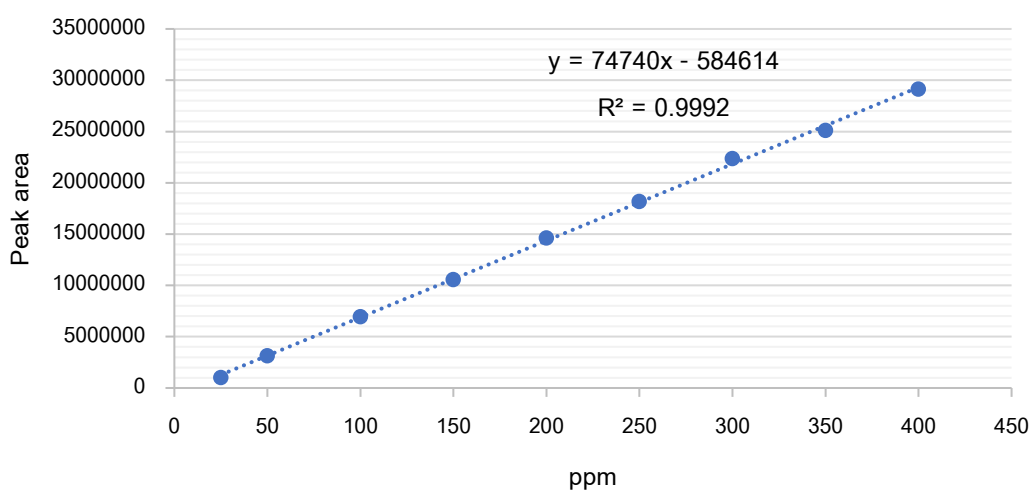
- 3) 3% Meta-phosphoric acid

ชั่ง Meta-phosphoric acid มา 30 g ละลายด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อ ในขวดปรับปริมาตรขนาด 1,000 mL

- 4) สารละลายมาตรฐานวิตามินซี (L-ascorbic acid) ความเข้มข้น 1,000 ppm

ชั่ง L-ascorbic acid มา 0.1 g แล้วละลายด้วย 3% Meta-phosphoric acid ภายในขวดปรับปริมาตรขนาด 1,000 mL

- 5) สารละลายมาตรฐานวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 25, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350 และ 400 ppm ดังภาพ 62



ภาพ 62 การสร้างกราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์วิตามินซี

การเตรียมสารตัวอย่าง สามารถทำได้ดังนี้

- 1) ชั่งผลสตอร์ว์เบอร์รีสด 10 g แล้วคั้นน้ำสตอร์ว์เบอร์รีดังกล่าวปริมาณ 2 mL ใส่ในขวดปรับปริมาตร 25 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลาย 3% Meta-phosphoric acid
- 2) นำสารละลายข้อ 1 กรองด้วย nylon syringe filter ขนาดรู 0.45 μm
- 3) จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC โดยกำหนดใช้สภาวะดังนี้
Detector: Photodiode array detector (PDA) ที่ความยาวคลื่น 244-262 nm

Inertsil[®]ODS-3 5 μm , 4.6 \times 150 mm, guard column
Inertsil[®]ODS-3 4.0 \times 10 mm

Mobile phase ประกอบด้วย

Line A: 3 mM Potassium dihydrogen phosphate ในสารละลาย 0.35% Ortho-phosphoric acid

Line B: Water

Line C: Methanol

อัตราการไหลผ่าน 0.8 mL/min

อุณหภูมิ column 40 $^{\circ}\text{C}$

Retention time 10 min

Injection volume 60 μL

2.2.4 ชนิดและปริมาณแอนโทไซยานิน

- 1) นำผลสตอร์ว์เบอร์รีแห้ง (freeze-dried strawberry) ปริมาณ 0.1 g มาสกัดกับสารละลายเมทานอล (0.1% HCL in MeOH) ปริมาตร 5 mL
- 2) นำสารละลายข้อ 1 มาทำการระเหย (evaporation) ที่อุณหภูมิ 30 $^{\circ}\text{C}$ เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง
- 3) นำตัวอย่างข้อ 2 มาละลายเข้ากับสารละลายเมทานอล (0.1% HCL in MeOH) ปริมาตร 1000 μL อีกครั้ง จากนั้นกรองผ่านด้วย nylon syringe filter ขนาดรู 0.45 μm แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC โดยกำหนดใช้สภาวะดังนี้

Detector: Photodiode array detector (PDA) ที่ความยาวคลื่น 520 nm

Column: Inertsil[®]ODS-3 5 μm , 4.6 \times 250 mm, guard column
Inertsil[®]ODS-3 4.0 \times 10 mm

Mobile phase ประกอบด้วย

Line A: Acetonitrile + 0.1% Formic acid (99.9:0.1)

Line B: Acetonitrile + Water + Formic acid (5:94.9:0.1)

Line C: Water

Line D: Methanol

อัตราการไหลผ่าน 0.8 mL/min

อุณหภูมิ column 35 °C

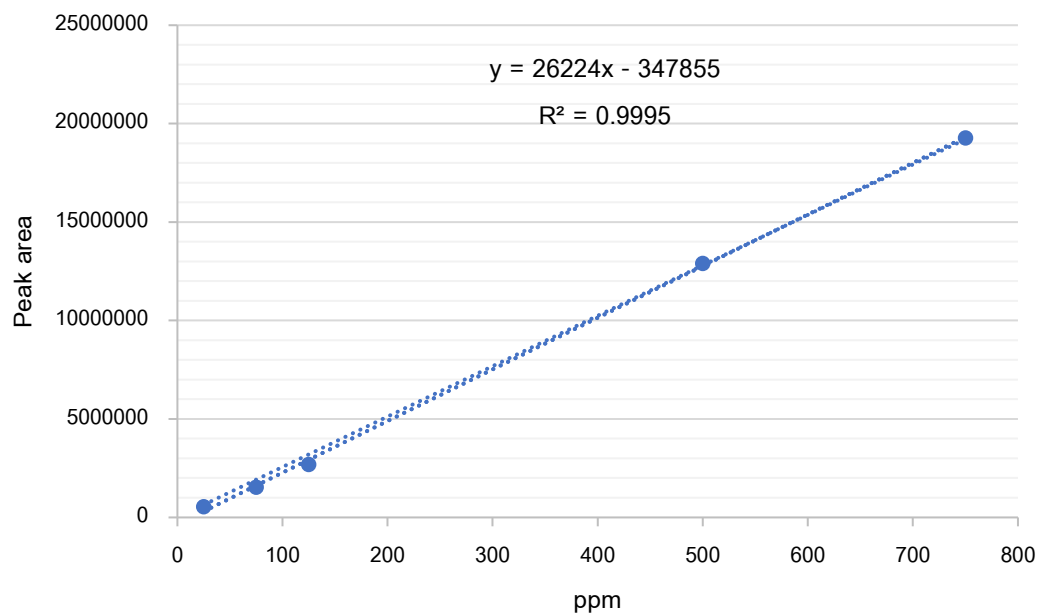
Retention time 35 min

Injection volume 60 µL

ตาราง 36 Linear gradient ของสารละลาย A และ B

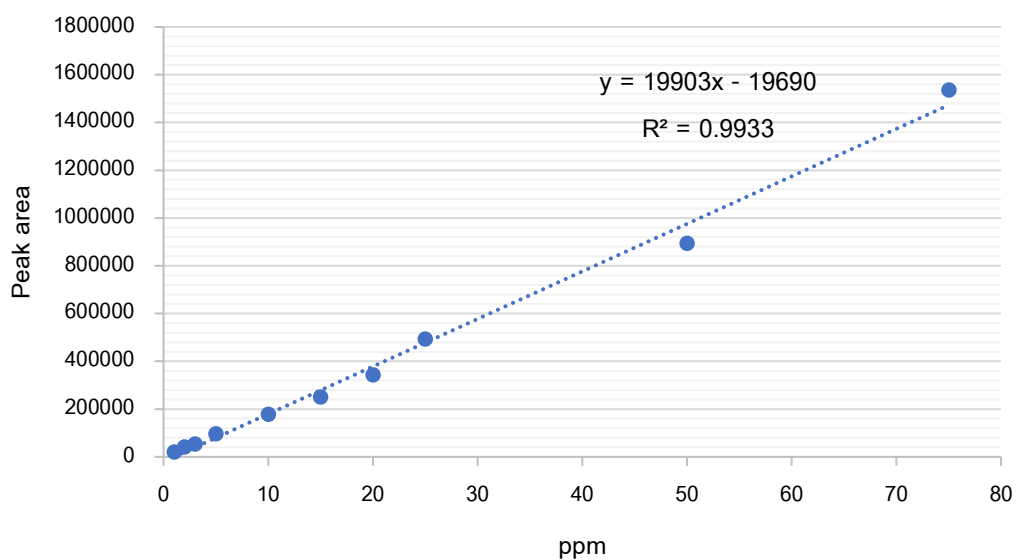
Time	Line: A%	Line: B%
0	0	100
20	20	80
26	30	70
28.5	50	50
28.5	50	50
32	95	5
35	95	5
36	0	100
42	0	100

4) สารละลายมาตรฐาน Pelargonidin-3-glucoside ที่ระดับความเข้มข้น 25, 75, 125, 250, 500 และ 750 ppm ดังภาพ 63



ภาพ 63 การสร้างกราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ Pelargonidin-3-glucoside

5) สารละลายมาตรฐาน Cyanidin-3-glucoside ที่ระดับความเข้มข้น 1, 2, 3, 5, 10, 15, 20, 25, 50 และ 75 ppm ดังภาพ 64



ภาพ 64 การสร้างกราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ Cyanidin-3-glucoside

3. ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทาน 80

ตาราง 37 อาหารสูตรสังเคราะห์ MS สำหรับสตรอว์เบอร์รี

Stock	สารเคมี	ปริมาณสารที่ใช้ (g/L) (100x)	ปริมาตรที่ใช้ (mL/L)
Stock 1	NH ₄ NO ₃	165	10
	KNO ₃	190	
Stock 2	MgSO ₄ •7H ₂ O	37	10
	MnSO ₄ •7H ₂ O	1.69	
	ZnSO ₄ •7H ₂ O	0.86	
	CuSO ₄ •5H ₂ O	0.0025	
Stock 3	CoCl ₂ •6H ₂ O	44	10
	KI	0.083	
	CoCl ₂ •6H ₂ O	0.0025	
Stock 4	KH ₂ PO ₄	17	10
	H ₃ BO ₃	0.62	
	Na ₂ •MoO ₄ •2H ₂ O	0.025	
Stock 5	FeSO ₄ •7H ₂ O	2.784	10
	Na ₂ -EDTA	3.724	
Stock 6	Thiamine-HCl	0.10	10
	Nicotinic acid	0.05	
	Pyridoxine-HCl	0.05	
	Glycine	0.20	
Stock 7	Myo-inositol	10	10
	KH ₂ PO ₄	170	

3.1 การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

3.1.1 ดูดสารละลายจาก stock solution ของอาหารสูตรสังเคราะห์ MS อย่างละ 10 mL ลงในขวดปรับปริมาตร 1,000 mL ซึ่งภายในขวดปรับปริมาตรนั้นมีน้ำกลั่นละลายอยู่ ปริมาตร 300 mL

3.1.2 เติมน้ำตาลซูโครส 30 g/L จากนั้นคนน้ำตาลจนละลายเข้ากัน แล้วเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (plant growth regulator) ตามชนิดสูตรอาหาร แล้วจึงคนสารละลายทั้งหมดให้เข้ากันอีกครั้ง

3.1.3 ปรับปริมาตรสารละลายให้ครบ 1,000 mL ด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อ

3.1.4 ปรับค่าความเป็นกรดต่างด้วยกรดเกลือ (HCl 1N) และโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH 1N) ให้ได้ค่า pH เป็น 5.6-5.8

3.1.5 เติมน้ำ (agar) 8 g/L (ในกรณีที่เตรียมอาหารแข็ง) จากนั้นนำไปต้มเพื่อให้วุ้นละลาย

3.1.6 เทอาหารลงในภาชนะที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อ เช่น ขวดแก้วเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ขนาด 8 ออนซ์

3.1.7 นำอาหารไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 เซลเซียส นาน 15 นาที แล้วทิ้งไว้ให้เย็นลง เมื่อวุ้นแข็งตัว (กรณีอาหารแข็ง) จึงนำอาหารเหล่านี้ไปใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อไป

4. ศึกษาการแสดงออกของยีน *F3'H* ในวิธีการสังเคราะห์แอนโทไซยานินด้วยเทคนิค qRT-PCR

4.1 การเตรียมปฏิกิริยาเรียลไทม์พีซีอาร์

2x SensiFAST SYBR [®] No-ROX Mix	10 µL
10 µM forward primer	0.8 µL
10 µM reverse primer	0.8 µL
cDNA (1 µg)	2 µL
DEPC water	6.4 µL
Final volume	20 µL

4.2 สภาวะปฏิกิริยาพีซีอาร์

Pre-denature:	94 °C	นาน 4 นาที	} 44 cycles
Denature:	94 °C	นาน 30 วินาที	
Annealing:	35 °C	นาน 30 วินาที	
Extension:	72 °C	นาน 2 นาที	
Final-extension:	72 °C	นาน 5 นาที	

โดยกำหนดให้ ระยะเวลา G เป็นชุดควบคุม โดยคำนวณจากสูตร ดังนี้

$$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct (TNF\alpha_{\text{treat}} - GAPDH_{\text{treat}}) - \Delta Ct (TNF\alpha_{\text{control}} - GAPDH_{\text{control}})$$

จากนั้นนำค่า $\Delta\Delta Ct$ ที่วิเคราะห์ได้มาคำนวณหาค่า Relative transcript abundance จากสูตร ดังต่อไปนี้

$$\text{Relative transcript abundance} = 2^{-\Delta\Delta Ct}$$

5. ศึกษาชนิดสารเมตาโบไลต์ปฐมภูมิและทุติยภูมิที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์สตรอว์เบอร์รี่ของแต่ละสายพันธุ์ (metabolomics)

5.1 การสกัดสาร polar และ non-polar เพื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS และ LC-MS

5.1.1 ชั่งตัวอย่างใบและผลแห้งสตรอว์เบอร์รี่ (freeze-dried strawberry) ปริมาณ 10 mg ลงในหลอด Eppendorf ขนาด 2 mL

5.1.2 นำสารละลายเมทานอล (Methanol) และน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ อัตราส่วน 400:400 μL ใส่ลงในตัวอย่างข้อ 5.1.1

5.1.3 นำตัวอย่าง และสารละลายในข้อ 5.1.2 เขย่าที่ระดับความเร็ว 250 rpm เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง

5.1.4 หลังจากนั้นทำการเติมสารละลายคลอโรฟอร์ม (Chloroform) ปริมาตร 800 μL ลงในตัวอย่าง พร้อมกับ vortex เพื่อให้สารละลายผสมเข้ากันทั้งหมด จากนั้นจึงนำตัวอย่างดังกล่าวไปทำการปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ระดับความเร็ว 14,800 rpm เป็นระยะเวลา 5 นาที

5.1.5 หลังจากนั้นจะเห็นสารละลายมีการแบ่งชั้น โดยจะแบ่งออกเป็น 2 ชั้น ซึ่งชั้นบนจะเป็นส่วนของ polar และชั้นล่างเป็นส่วนของ non-polar

5.1.6 ทำการดูดสารละลายดังกล่าวออก โดยแบ่งใส่ในขวด Transparent screw chromatographic bottle autosampler headspace vials ขนาด 2 mL ซึ่งส่วนของ polar จะเลือกดูดเพียง 20 μL (จากส่วนผลแห้ง) หรือ 150 μL (จากส่วนใบแห้ง) จากนั้นจึงนำสารละลายดังกล่าวผสมเข้ากับ Succinic acid-2,2,3,3- d_4 (internal standard) สำหรับ non-polar จะถูกดูดเพียง 700 μL (ทั้งส่วนของผลและใบแห้ง) แล้วนำมาผสมกับ Myristic- d_{27} acid (internal standard) จากนั้นจึงนำตัวอย่างทั้ง polar และ non-polar ไปทำระเหย (evaporation) เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง

5.1.7 หลังจากนั้นนำตัวอย่างดังกล่าวไปผสมเข้ากับสารละลาย Methoxyamine hydrochloride (MEOX) ปริมาตร 30 μL ที่อุณหภูมิ 40 $^{\circ}\text{C}$ เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อตัวอย่างละลายเข้ากันดีแล้ว จึงนำตัวอย่างดังกล่าวผสมเข้ากับสารละลาย N-Methyl-N-(trimethylsilyl) trifluoroacetamide (MSTFA) ปริมาตร 70 μL แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 40 $^{\circ}\text{C}$ เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง

5.1.8 เมื่อครบกำหนดแล้ว จึงนำตัวอย่างดังกล่าวไปวิเคราะห์หาสารเมตาโบไลต์ ด้วยเทคนิค GC-MS ต่อไป

หมายเหตุ: สำหรับการวิเคราะห์หาสารเมตาโบไลต์ด้วยเทคนิค LC-MS จะเลือกใช้ เฉพาะส่วนของ polar เท่านั้น ทั้งส่วนของผลและใบแห้งสตรอว์เบอร์รี่ โดยจะดูดสารละลายเพียง 400 μ L แล้วกรองตัวอย่างด้วย nylon syringe filter ขนาดรู 0.45 μ m จากนั้นนำมาผสมเข้ากับ genistein (internal standard) เพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป

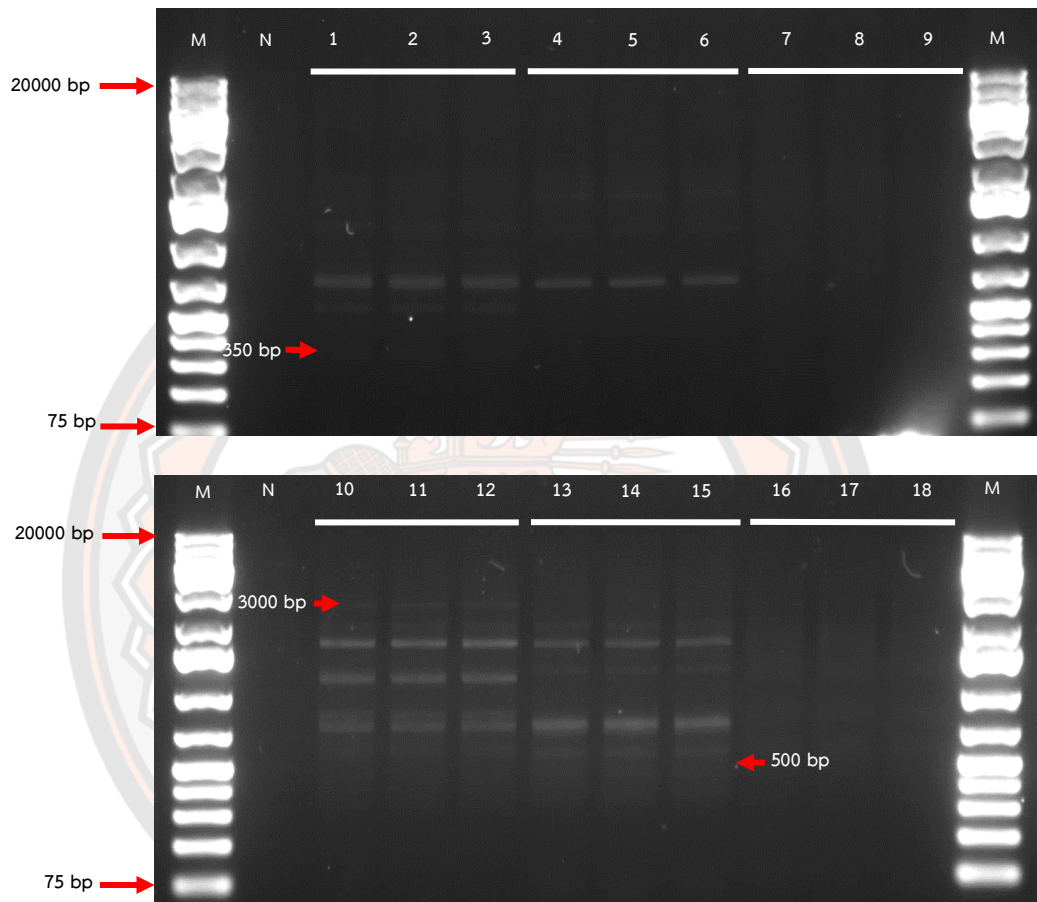
5.2 การสกัดสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่าย (volatiles) เพื่อนำไปวิเคราะห์ด้วย เทคนิค SPME-GC-MS

5.2.1 ชั่งตัวอย่างผลแห้งสตรอว์เบอร์รี่ (freeze-dried strawberry) ปริมาณ 100 mg ลงในขวด Screw thread headspace vial (amber) ขนาด 20 mL

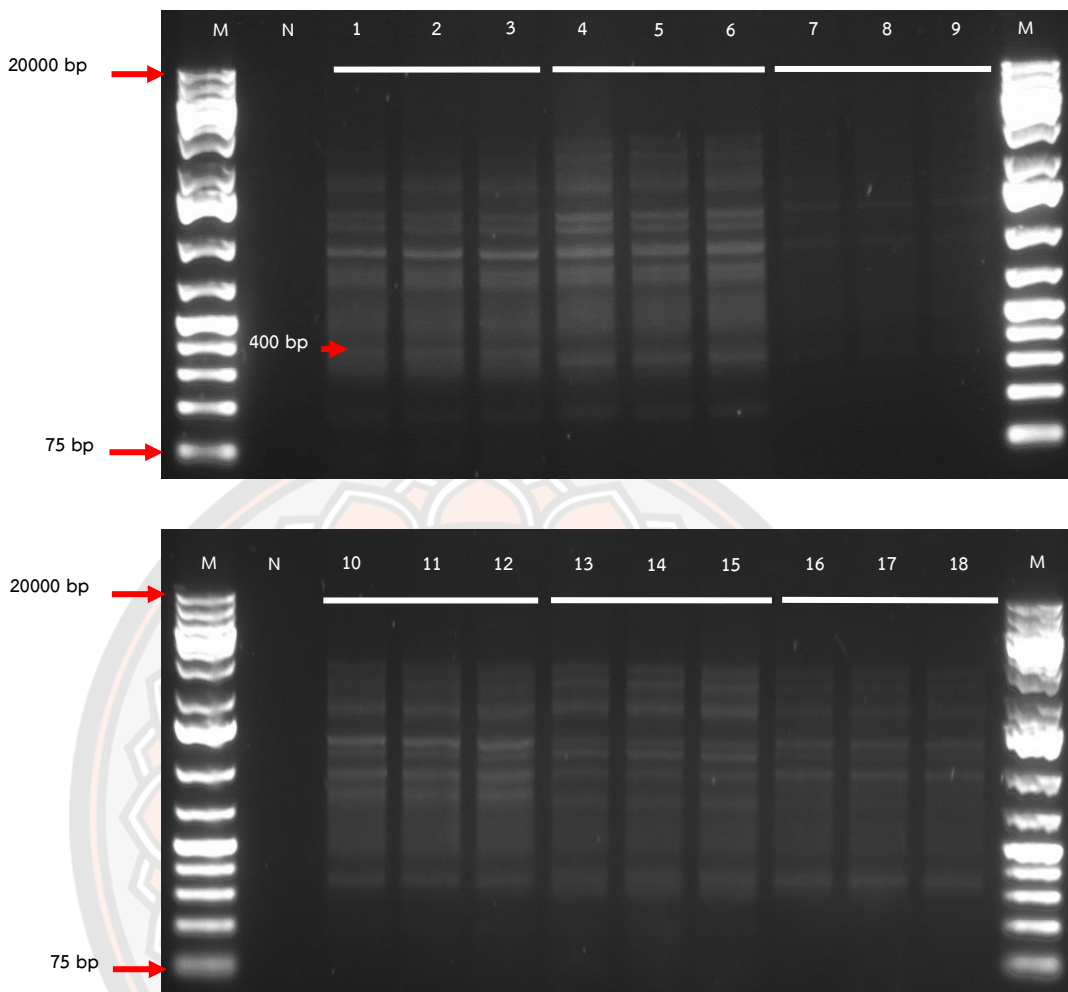
5.2.2 นำตัวอย่างผสมเข้ากับ 10% โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ปริมาตร 2 mL และ นำไป sonicate เป็นระยะเวลา 1 นาที จากนั้นนำ Acetophenone- β , β , β -d₃ (internal standard) ปริมาตร 50 μ L ผสมเข้ากับตัวอย่างดังกล่าวอีกครั้ง จากนั้นจึงนำตัวอย่างไปวิเคราะห์หา สารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายด้วยเทคนิค SPME-GC-MS ต่อไป

ภาคผนวก ข รูปภาพประกอบ

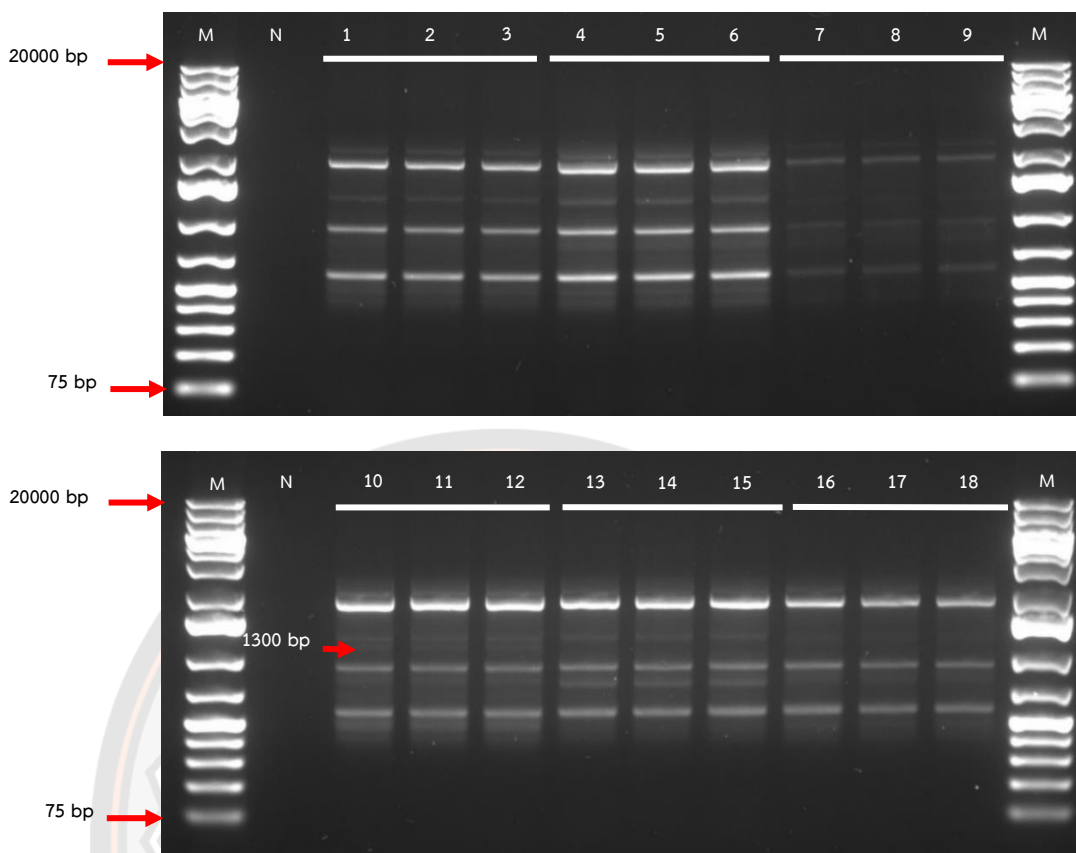
1. ศึกษาการจำแนกลักษณะประจำพันธุ์และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของ สตอร์วเบอร์รี่ด้วยเทคนิคเครื่องหมายดีเอ็นเอ



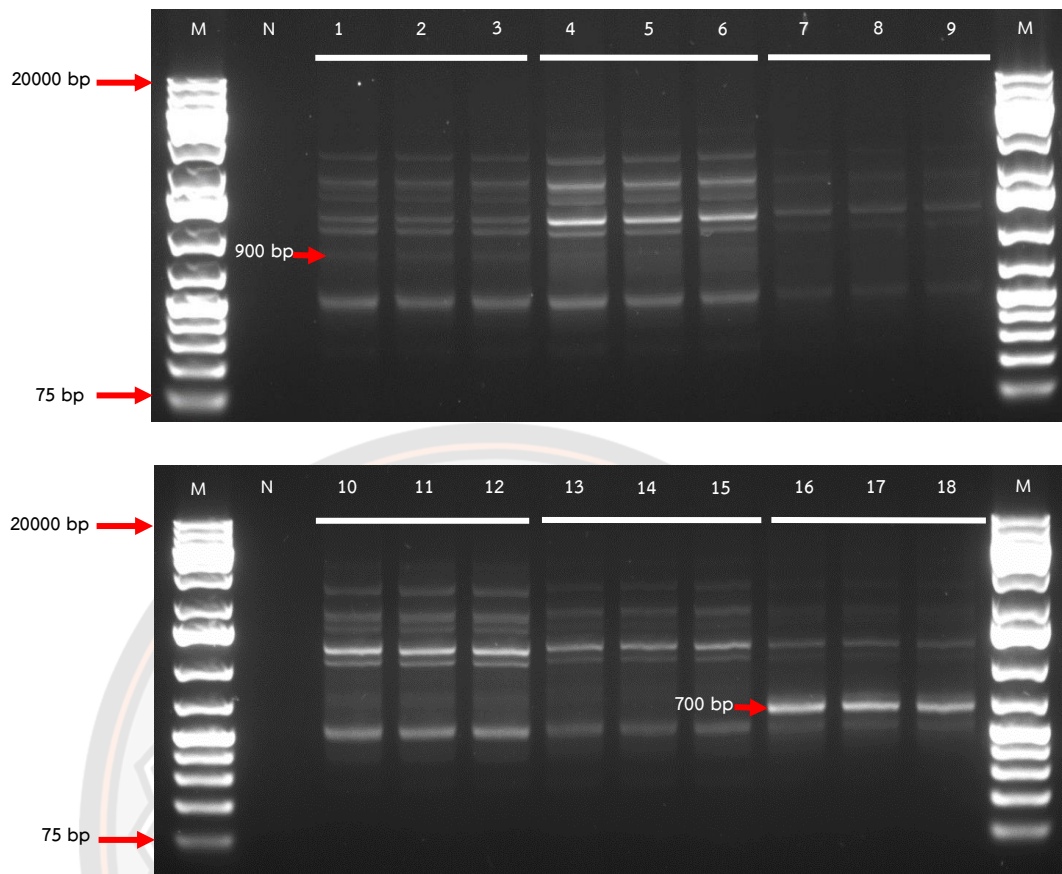
ภาพ 65 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตอร์วเบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPB14 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime



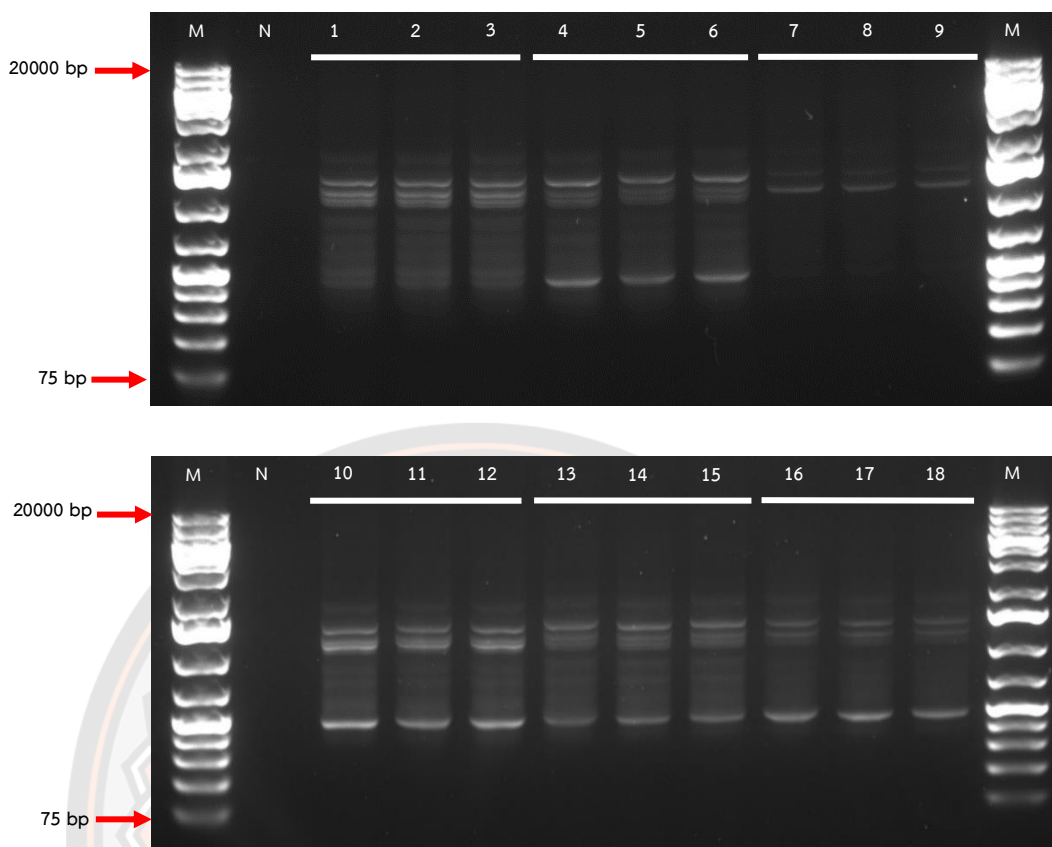
ภาพ 66 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตรอว์เบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPV07 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime



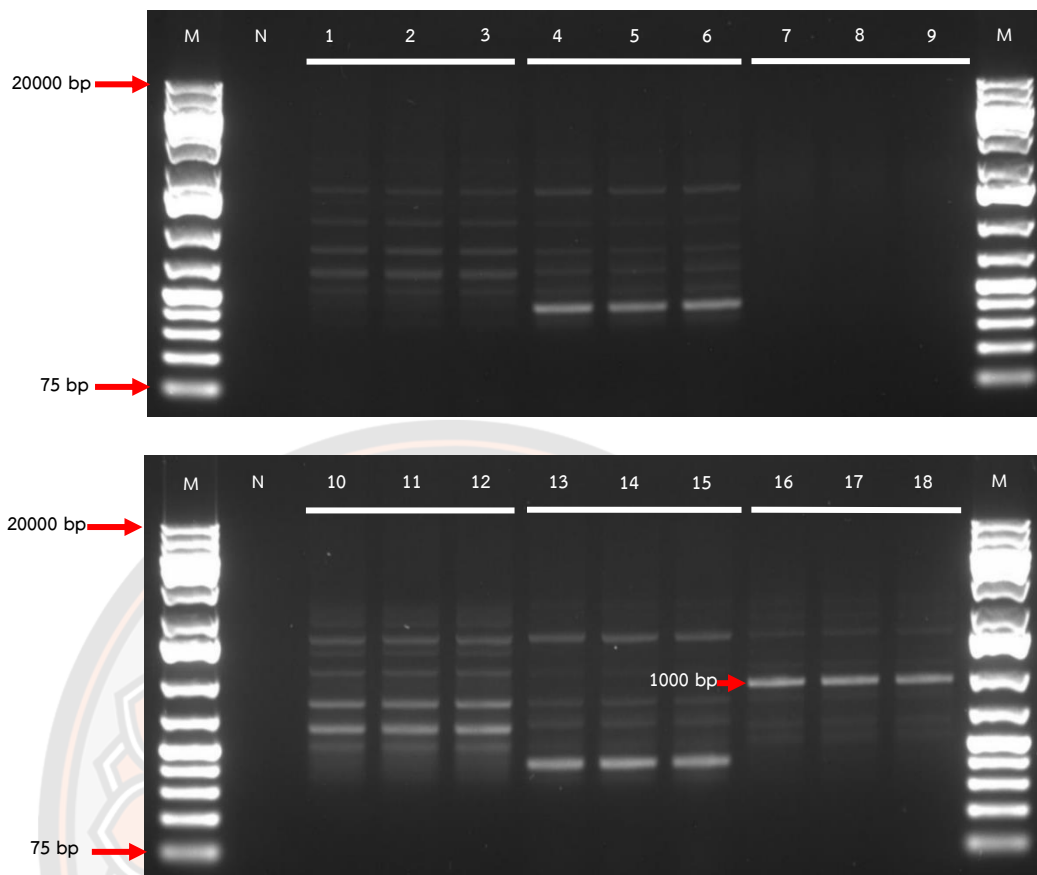
ภาพ 67 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตรัวเบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPV15 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime



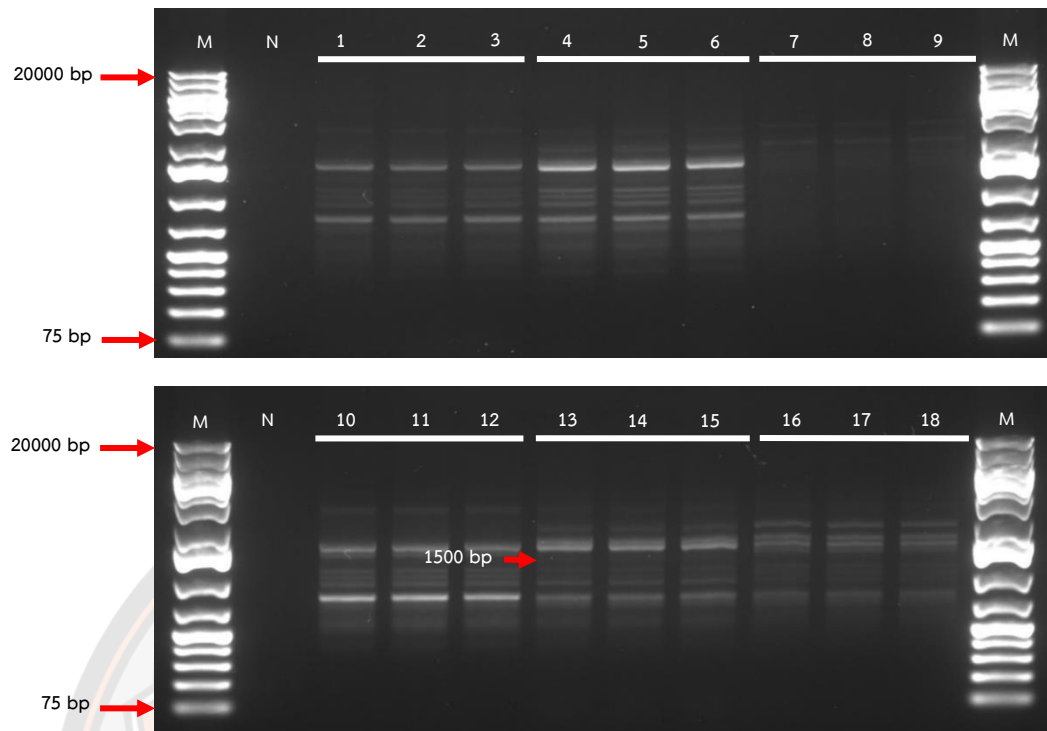
ภาพ 68 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตรอว์เบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPX06 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime



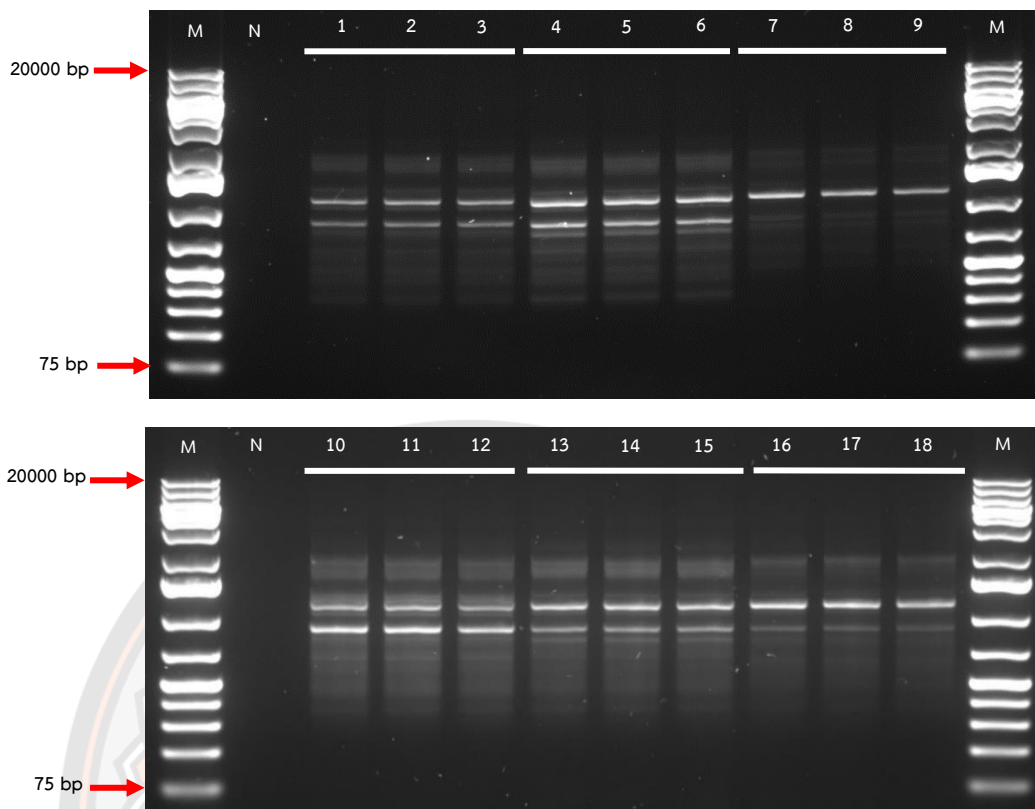
ภาพ 69 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตอร์วเบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPX11 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime



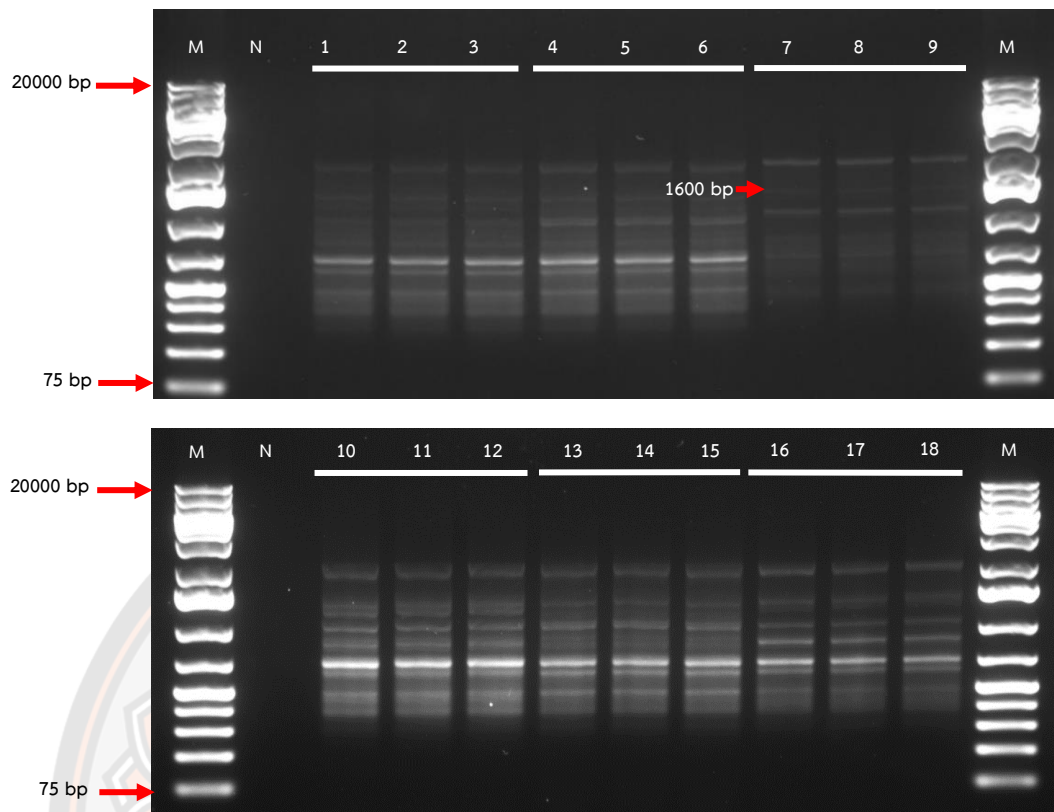
ภาพ 70 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตรอว์เบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPX18 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime



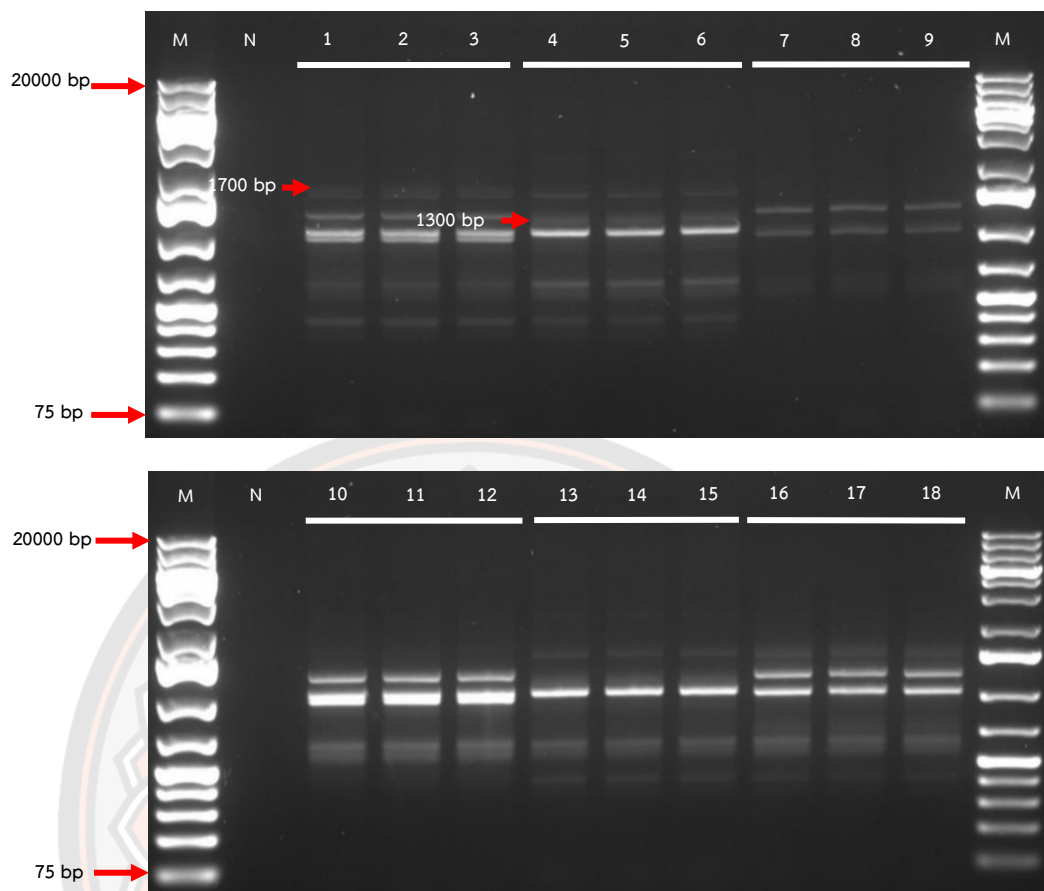
ภาพ 71 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตอร์วเบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPB05 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime



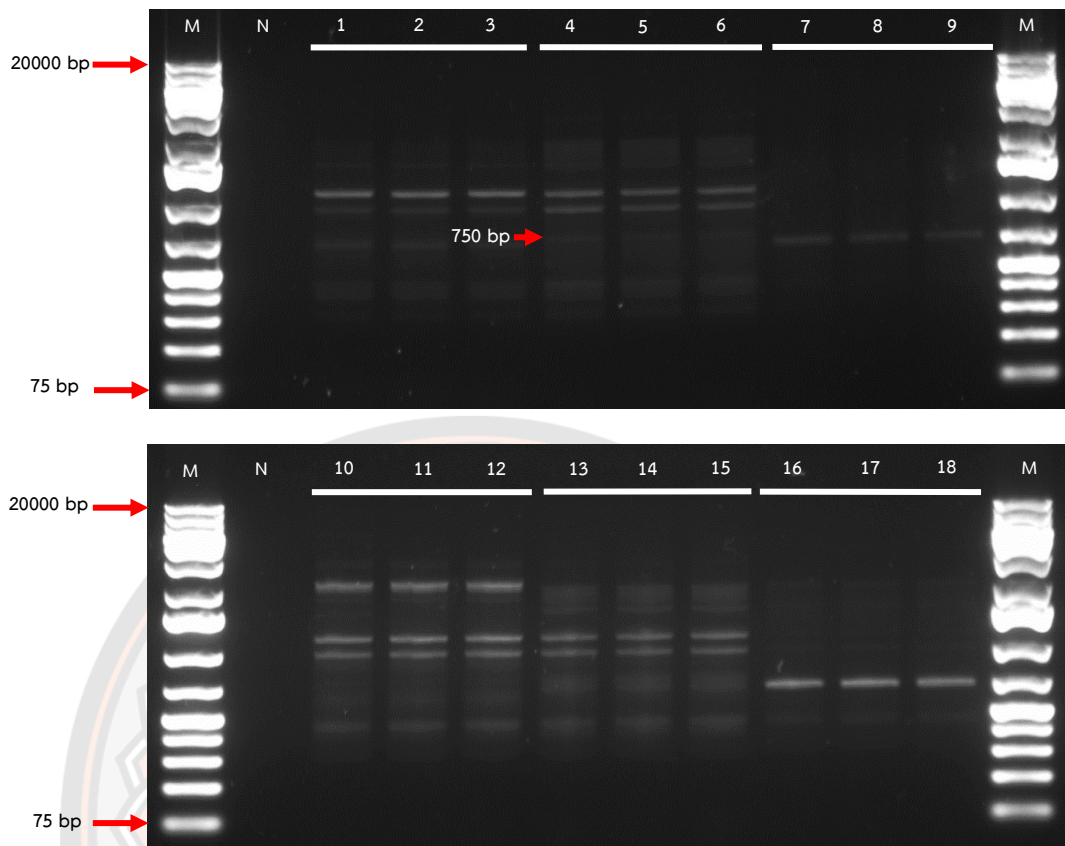
ภาพ 72 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตรอว์เบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPD20 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime



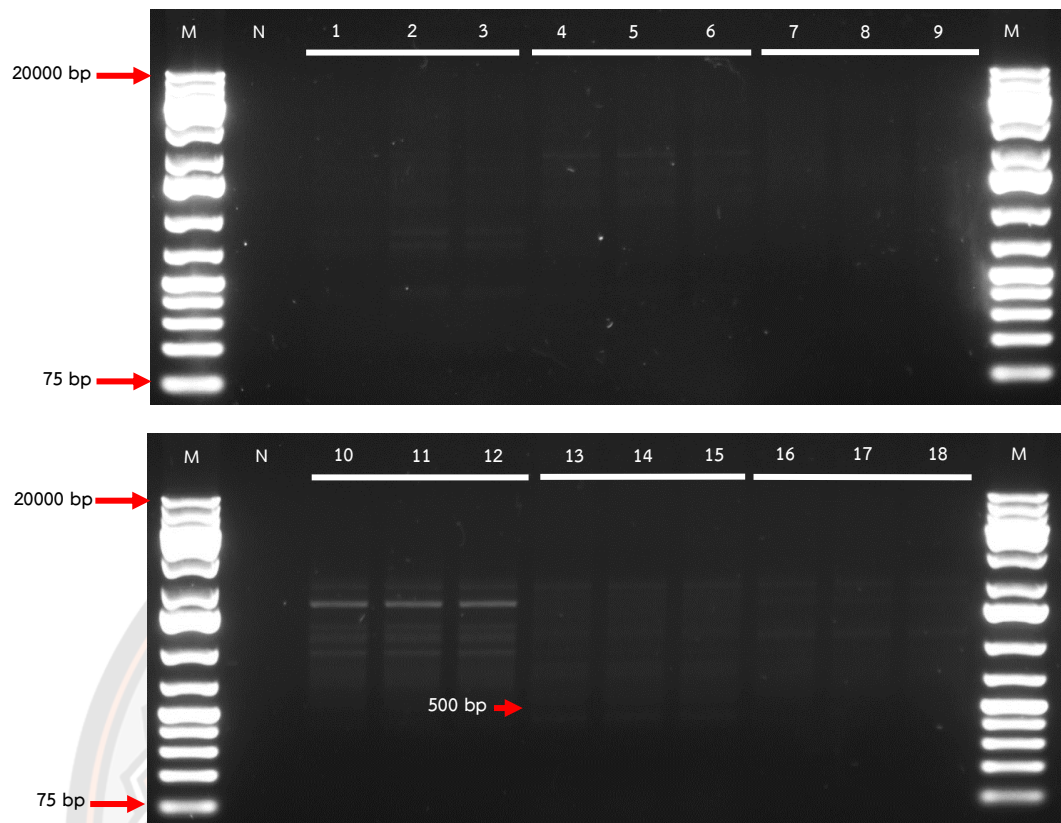
ภาพ 73 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตรอว์เบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPE07 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime



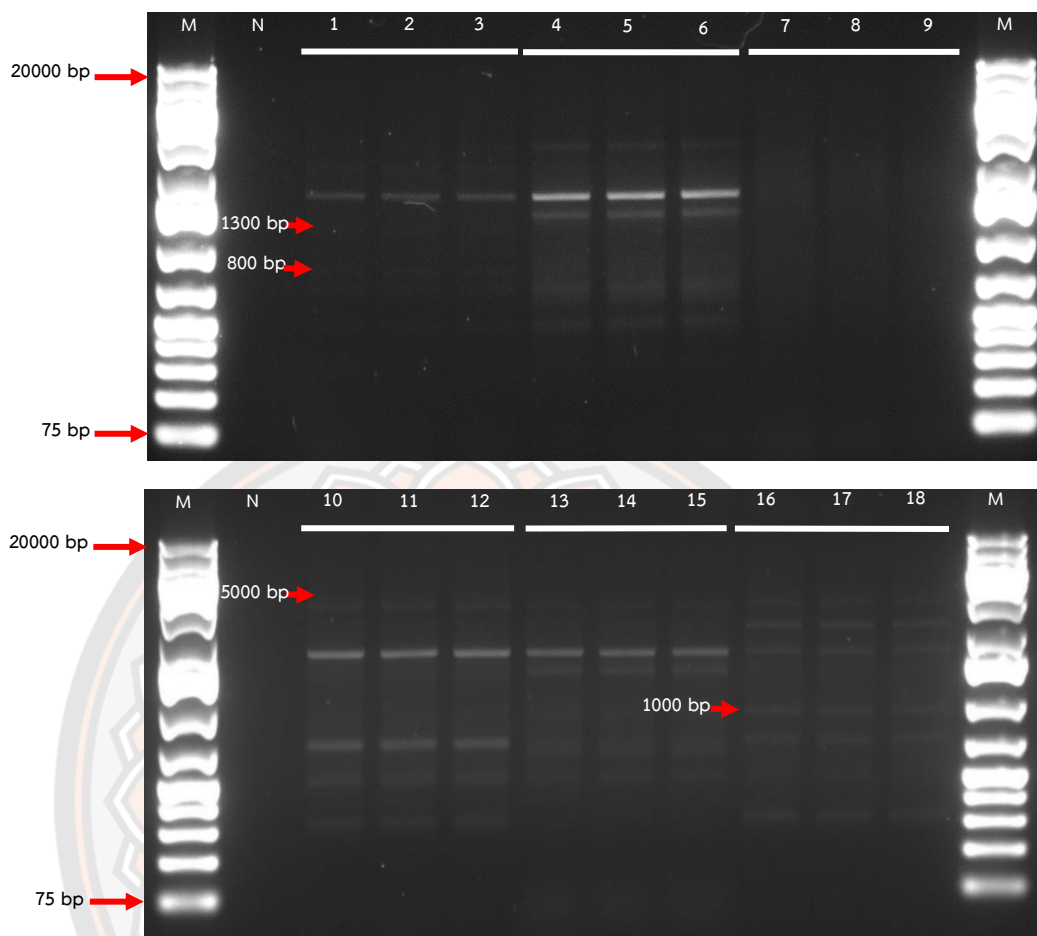
ภาพ 74 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตอร์วเบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPG09 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime



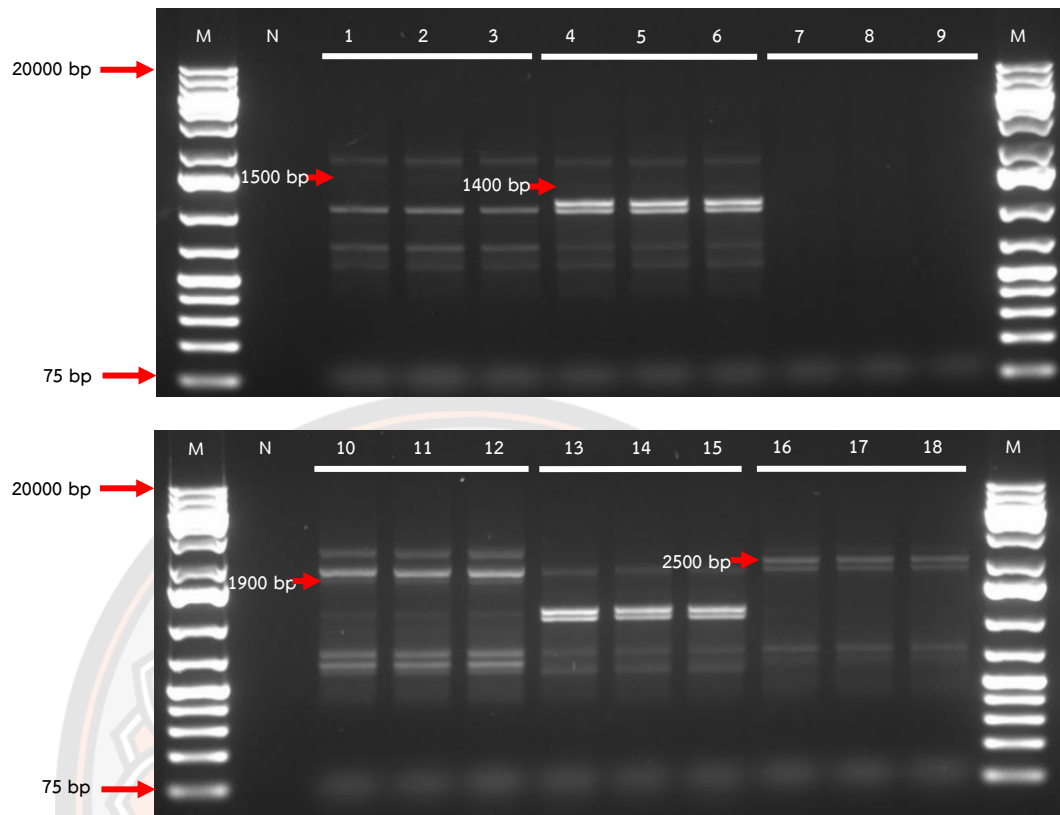
ภาพ 75 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตรอว์เบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPG11 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime



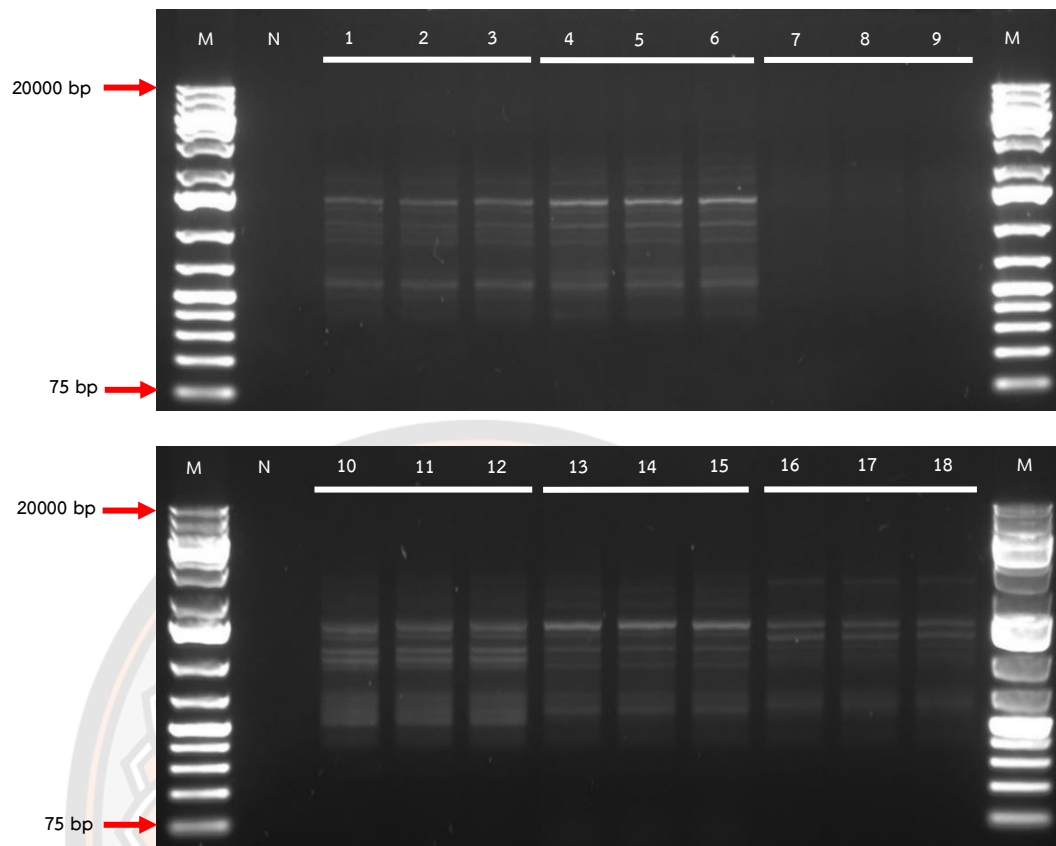
ภาพ 76 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตรอร์วเบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPJ07 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime



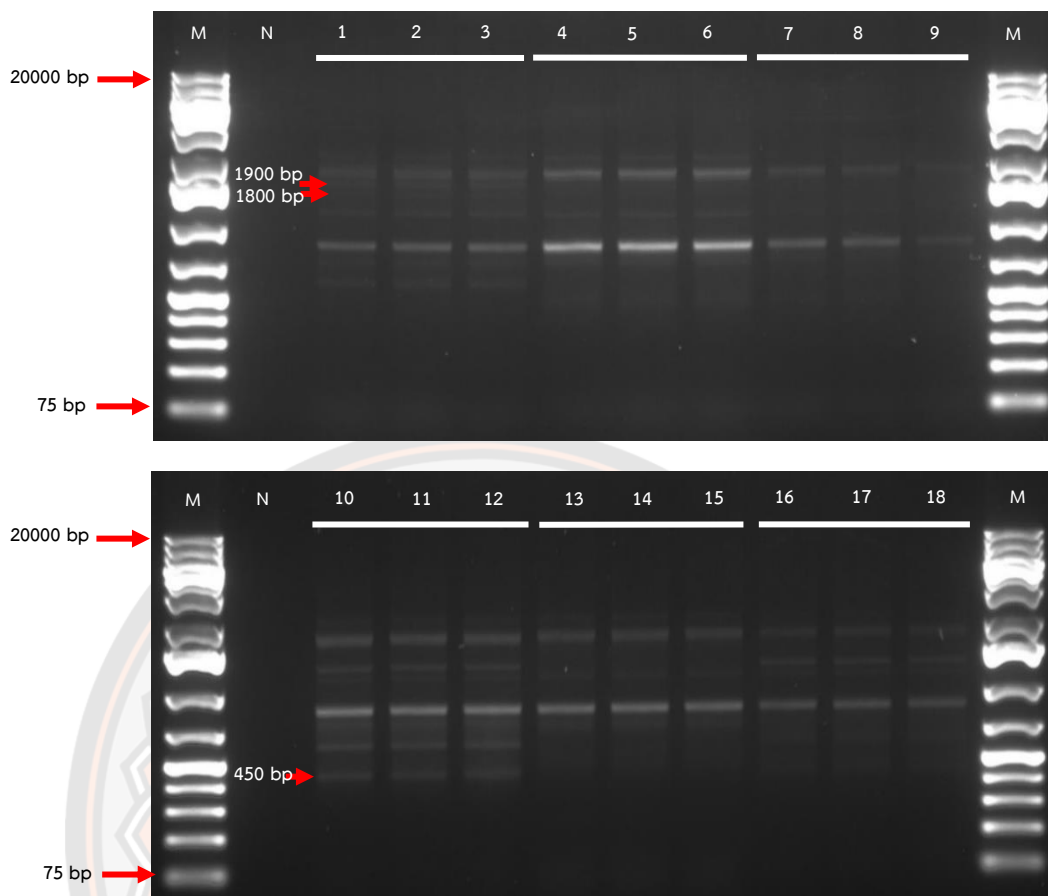
ภาพ 77 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตอร์วเบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPJ06 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime



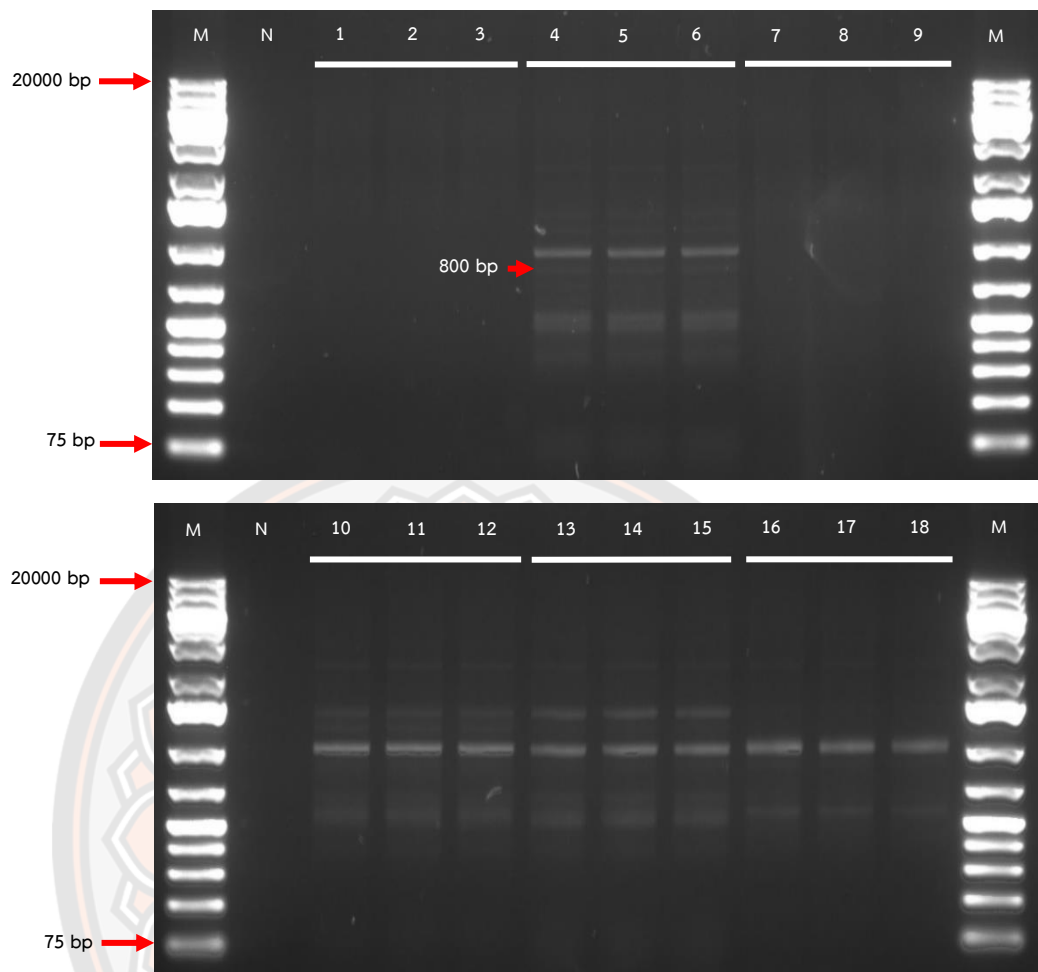
ภาพ 78 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตอร์วเบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPJ14 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime



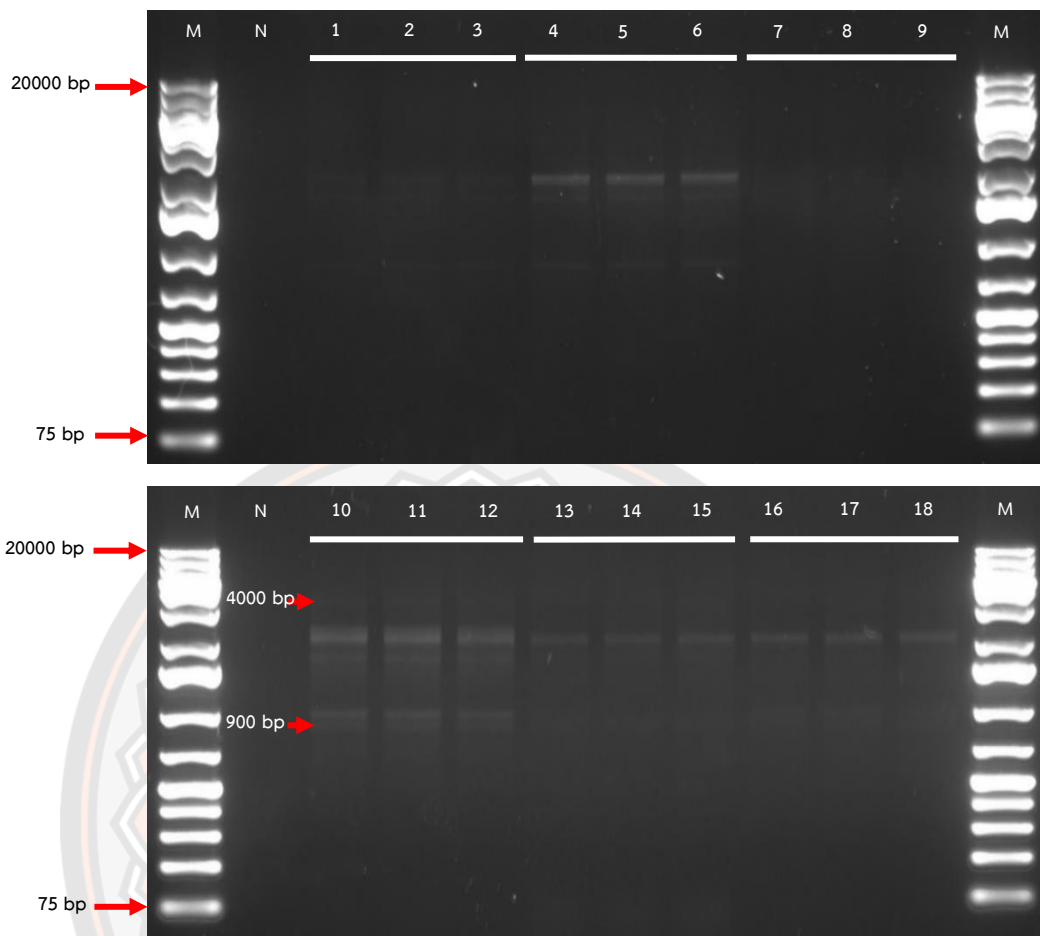
ภาพ 79 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตอร์วเบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPJ09 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime



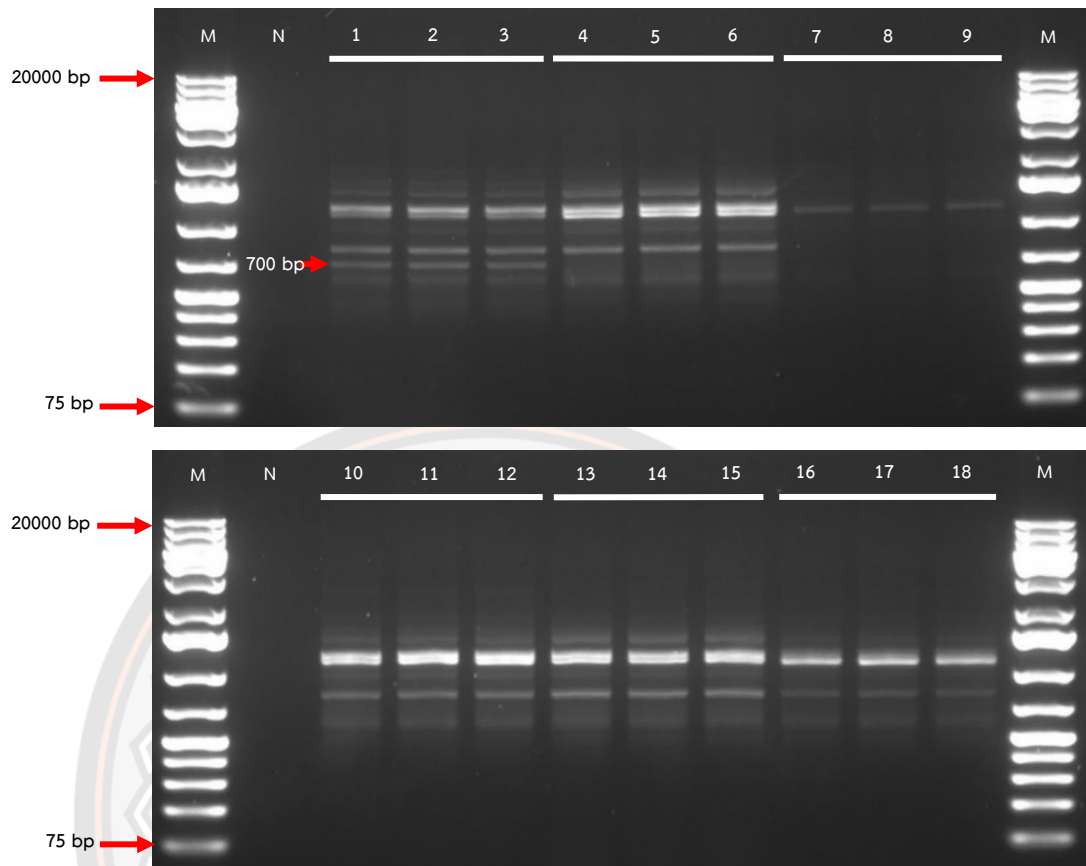
ภาพ 80 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตรอว์เบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPJ04 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime



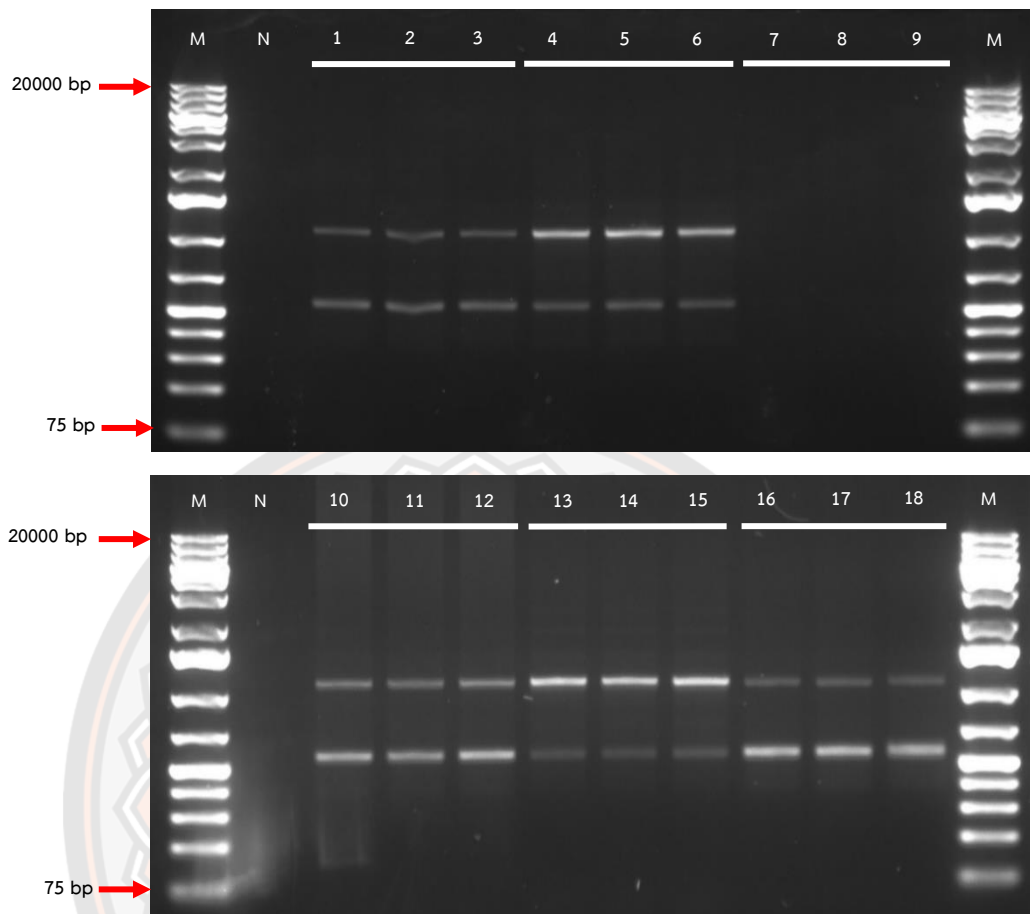
ภาพ 81 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตรอร์เบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPJ16 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime



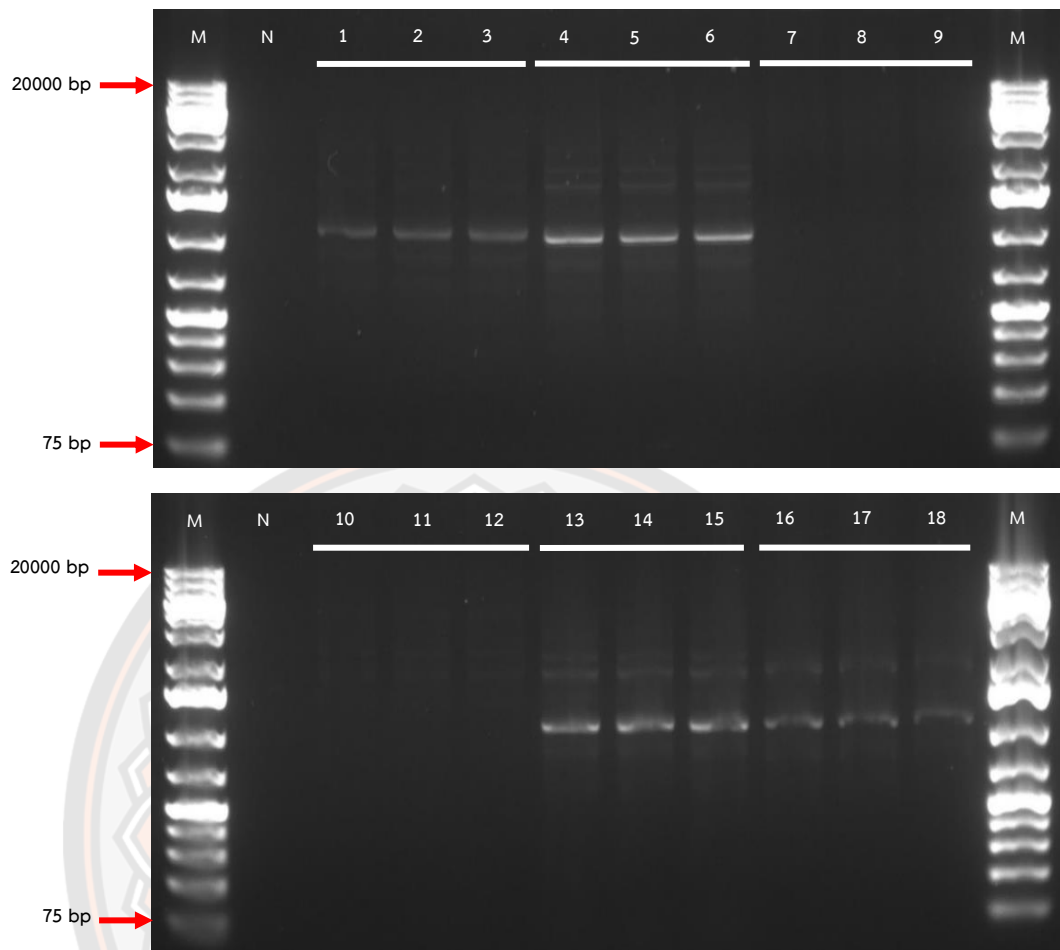
ภาพ 82 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตรอร์วเบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPJ17 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime



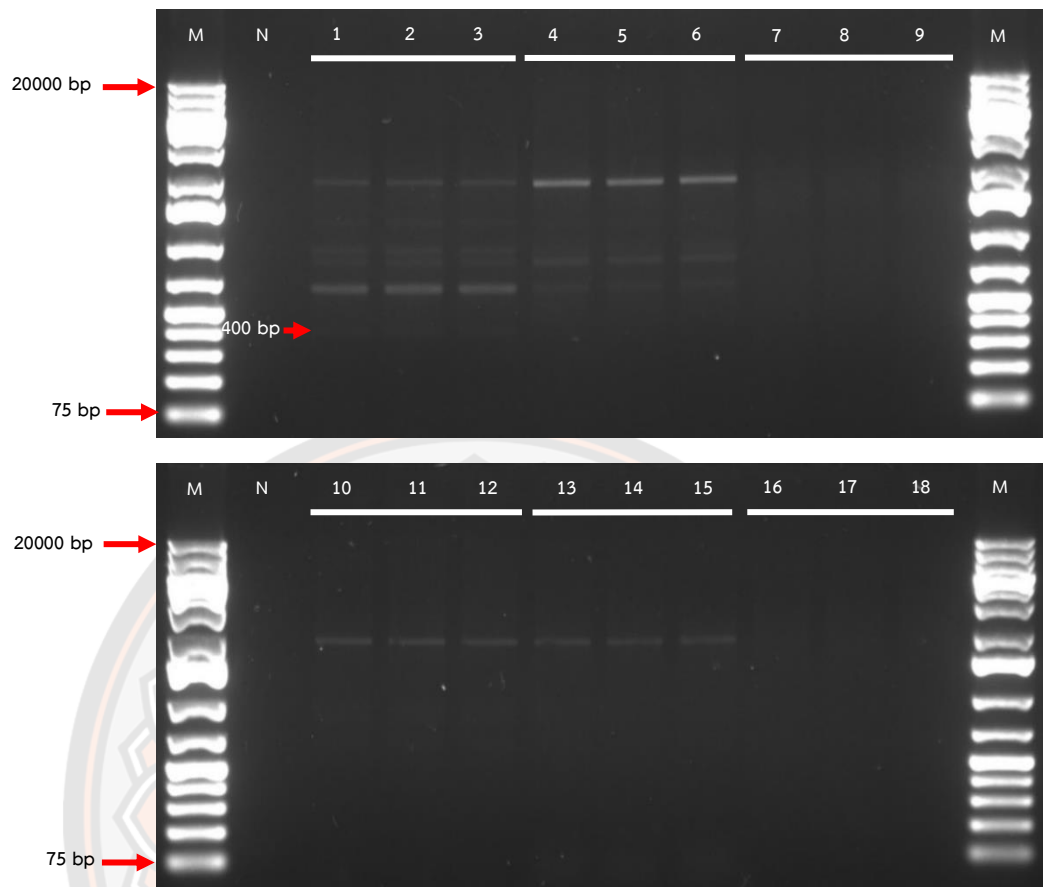
ภาพ 83 ผลผลิตพีซีอาร์ของสเตรปโตมอว์เบอร์รีจำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPJ18 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime



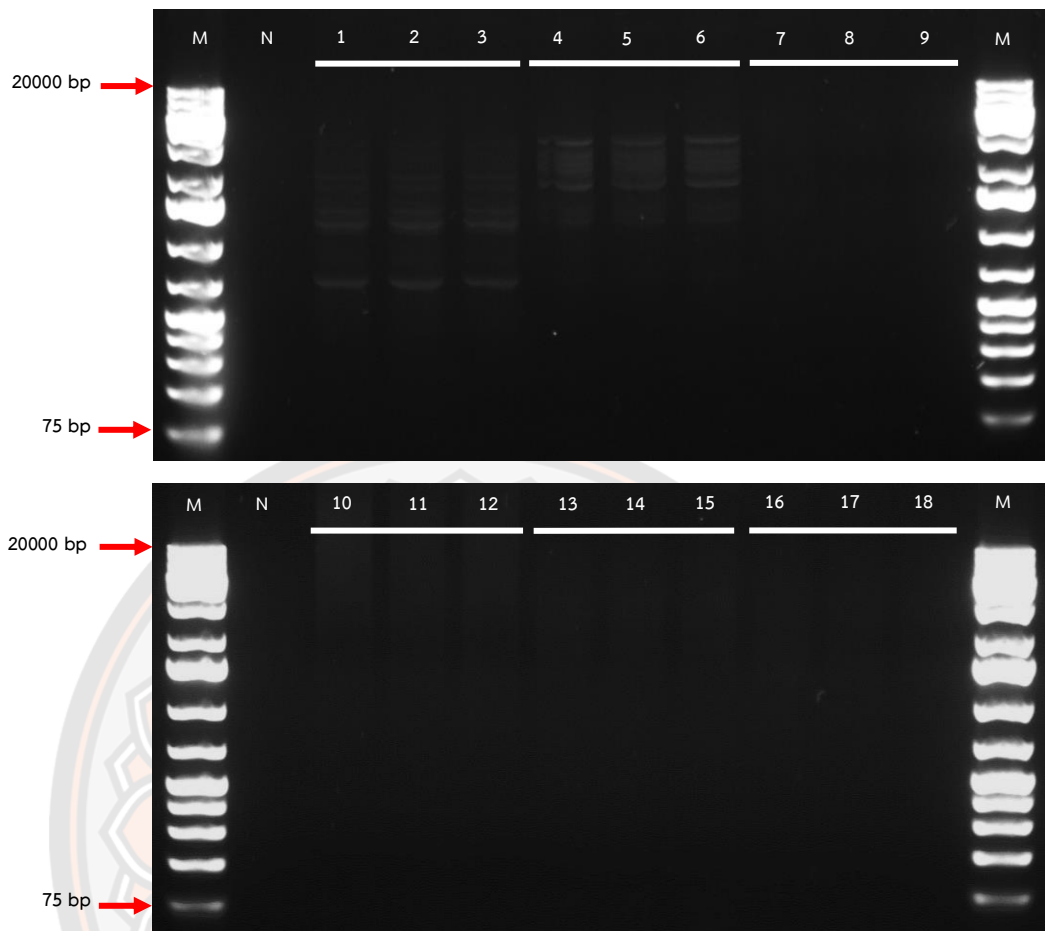
ภาพ 84 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตอร์วเบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPJ05 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime



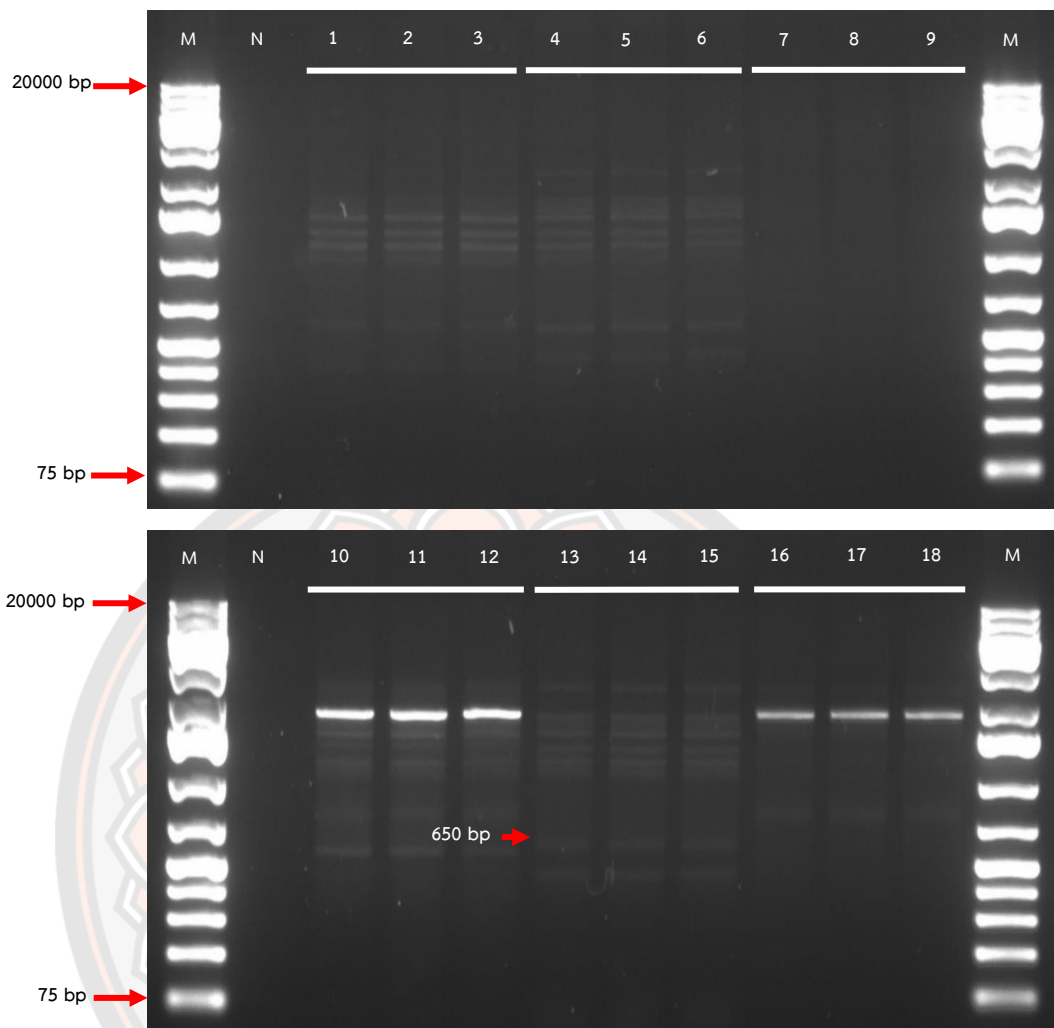
ภาพ 85 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตอร์วเบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPG02 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime



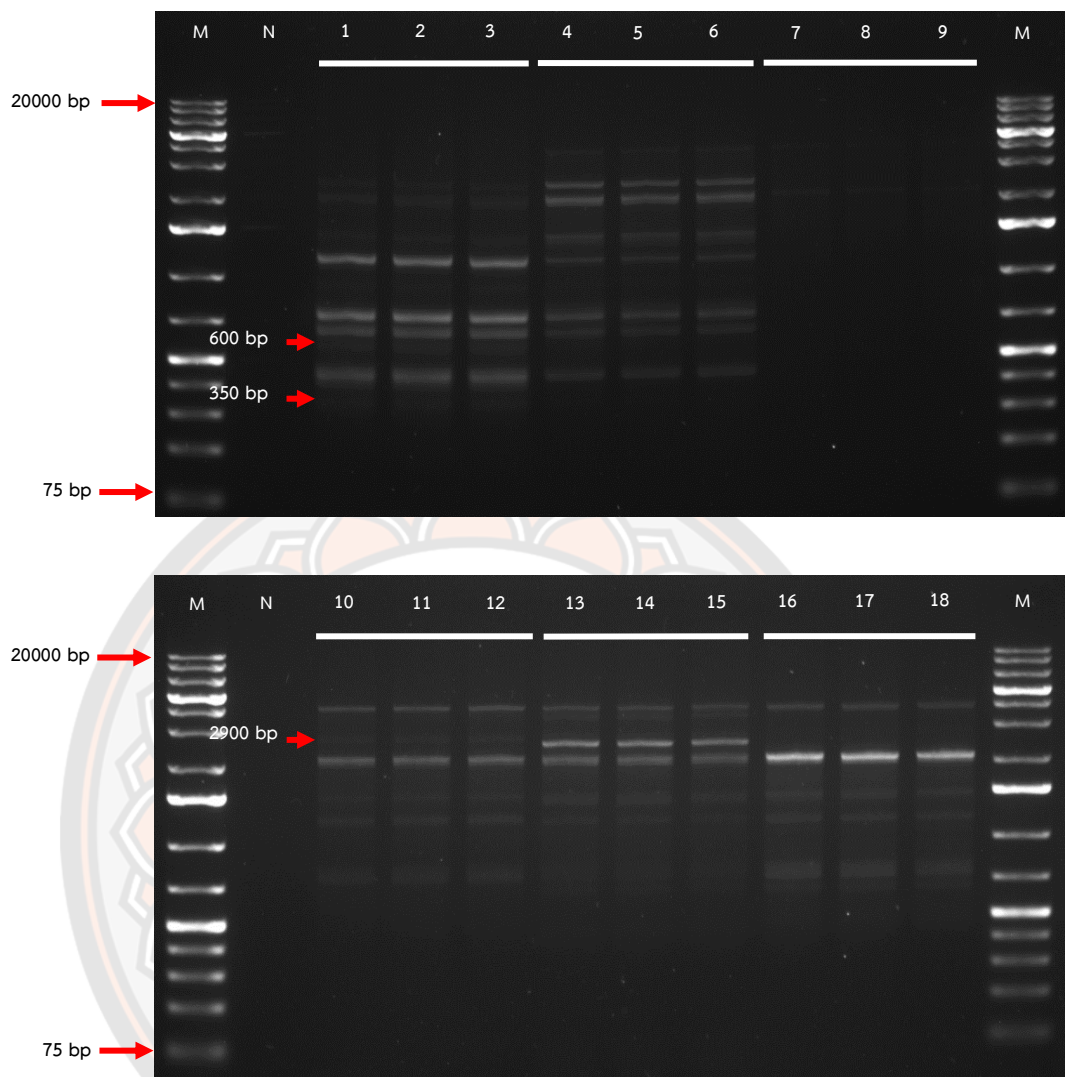
ภาพ 86 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตรอร์เบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPF07 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime



ภาพ 87 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตรอว์เบอร์รีจำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPG05 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime



ภาพ 88 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตรอว์เบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPA04 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime



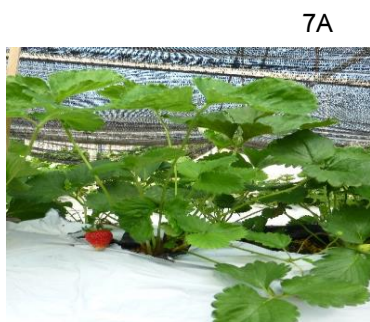
ภาพ 89 ผลผลิตพีซีอาร์ของสตอร์วเบอร์รี่จำนวน 6 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยไพรเมอร์ OPB07 ซึ่งตรวจสอบบนเจลอะกาโรส 1% ในบัฟเฟอร์ TAE โดยช่อง M คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ 1 Kb plus DNA ladder; ช่อง N คือ ชุดควบคุมแบบลบ (Negative control); ช่อง 1-3 คือ พันธุ์พระราชทาน 50; ช่อง 4-6 คือ พันธุ์พระราชทาน 70; ช่อง 7-9 คือ พันธุ์พระราชทาน 72; ช่อง 10-12 คือ พันธุ์พระราชทาน 80; ช่อง 13-15 คือ พันธุ์ 329; ช่อง 16-18 คือ พันธุ์ Akihime

2. ศึกษาการปรับปรุงพันธุ์สตรอว์เบอร์รีเพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการผลิตสารแอนโทไซยานิน

2.1 ลักษณะต้นพันธุ์ ผล และปริมาณสารแอนโทไซยานิน (Pelargonidin-3-glucoside และ Cyanidin-3-glucoside) ของต้นสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 จำนวน 35 ต้นที่มีศักยภาพในการผลิตสารแอนโทไซยานิน



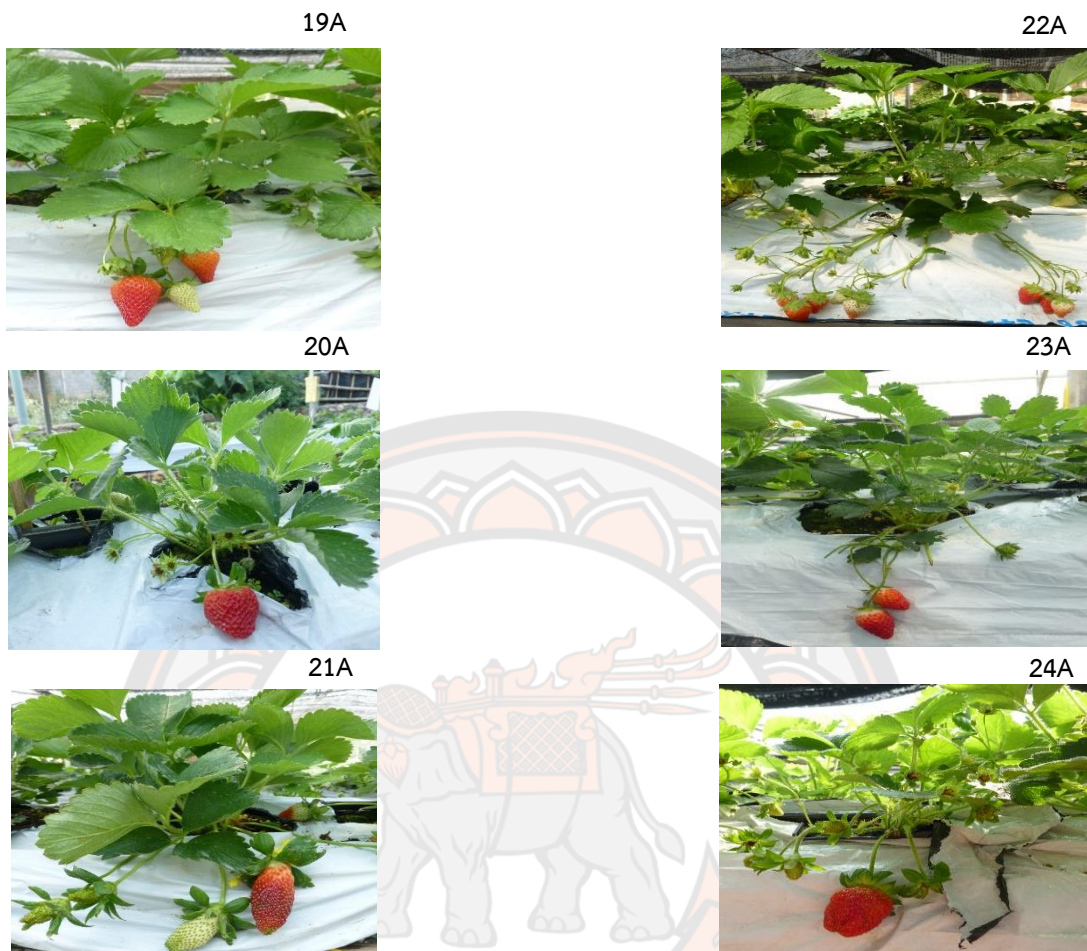
ภาพ 90 ต้นสตรอว์เบอร์รีลูกผสม F1 (1A; พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 7, 2A; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 24, 3A; พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 20, 4A; พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 127, 5A; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 5, 6A; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 38)



ภาพ 91 ต้นสตอร์วเบอร์รี่ลูกผสม F1 (7A; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 4, 8A; พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 107, 9A; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 72 ต้นที่ 10, 10A; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 26, 11A; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 20, 12A; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 56)



ภาพ 92 ต้นสตอร์วี่เบอร์รี่ลูกผสม F1 (13A; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 54, 14A; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์ Akihime ต้นที่ 3, 15A; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 44, 16A; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 10, 17A; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 9, 18A; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 10)



ภาพ 93 ต้นสตอร์วเบอร์รี่ลูกผสม F1 (19A; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 1, 20A; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 33, 21A; พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์ 329 ต้นที่ 2, 22A; พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 66, 23A; พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 5, 24A; พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 17)



ภาพ 94 ต้นสตรอว์เบอร์รี่ลูกผสม F1 (25A; พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 4, 26A; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 12, 27A; พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 24, 28A; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 13, 29A; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์ 329 ต้นที่ 19, 30A; พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 17)

31A



34A



32A



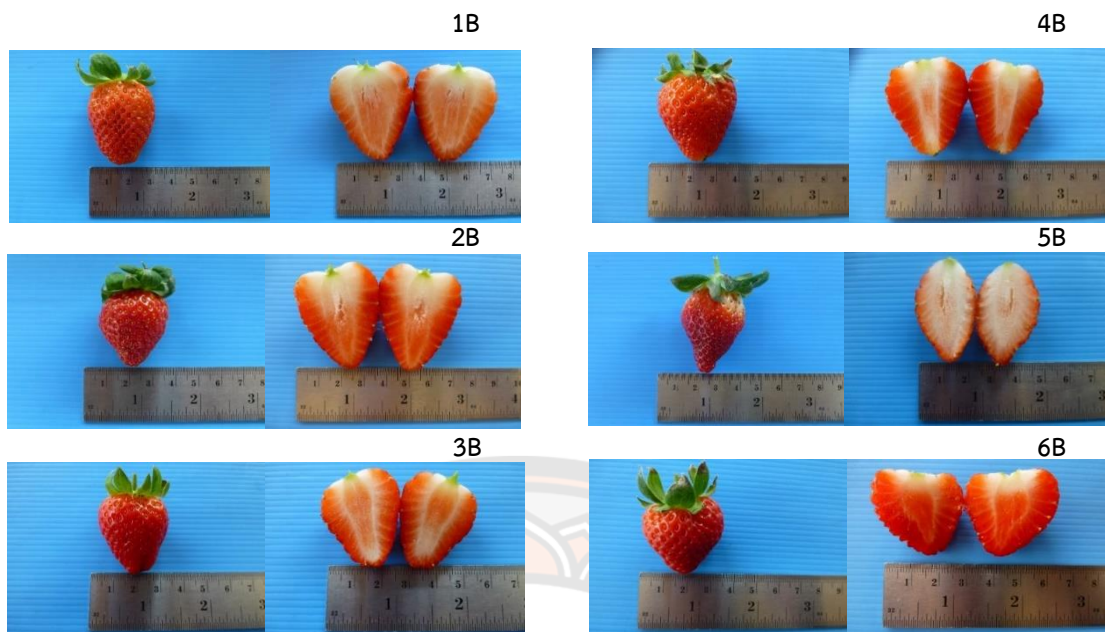
35A



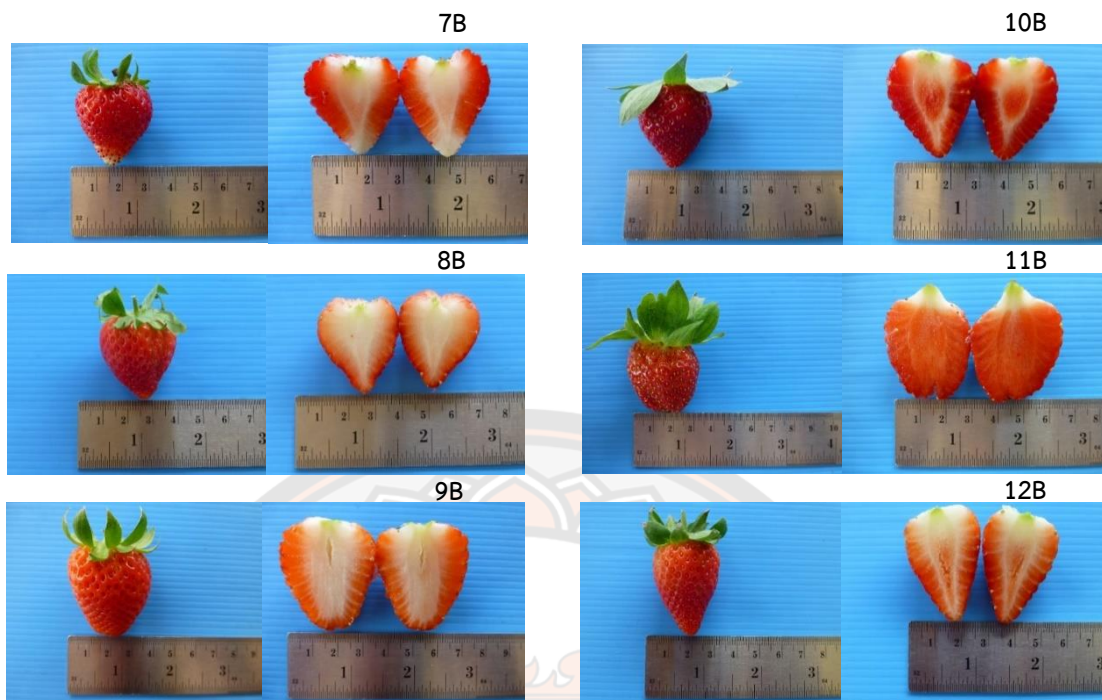
33A



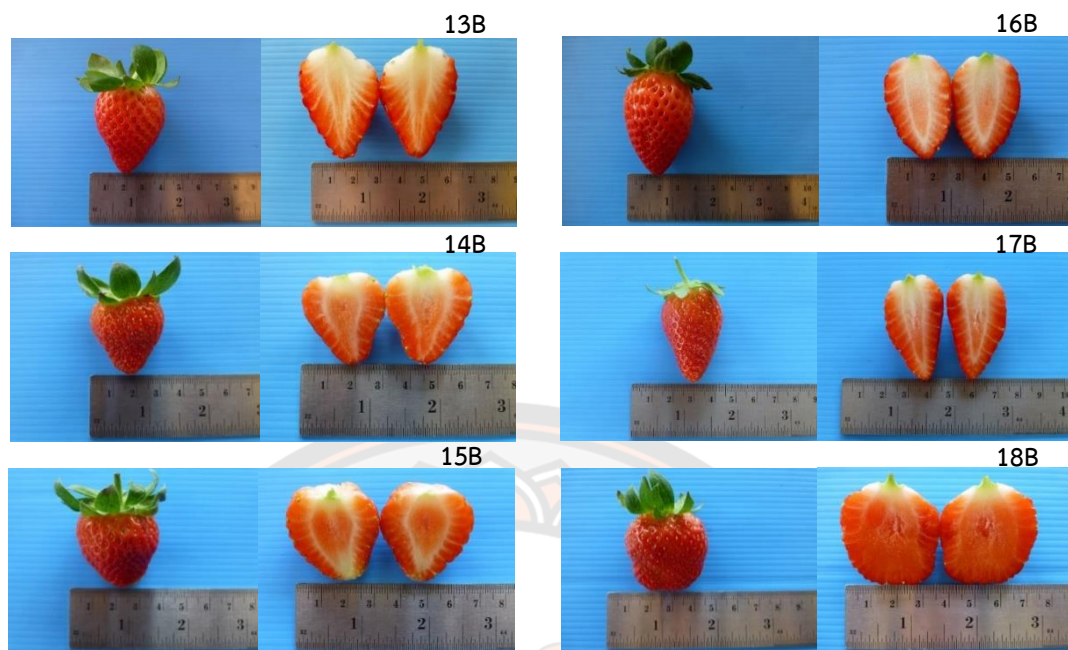
ภาพ 95 ต้นสตอร์วเบอร์รี่ลูกผสม F1 (31A; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 21, 32A; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 25, 33A; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 26, 34A; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 6, 35A; พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 6)



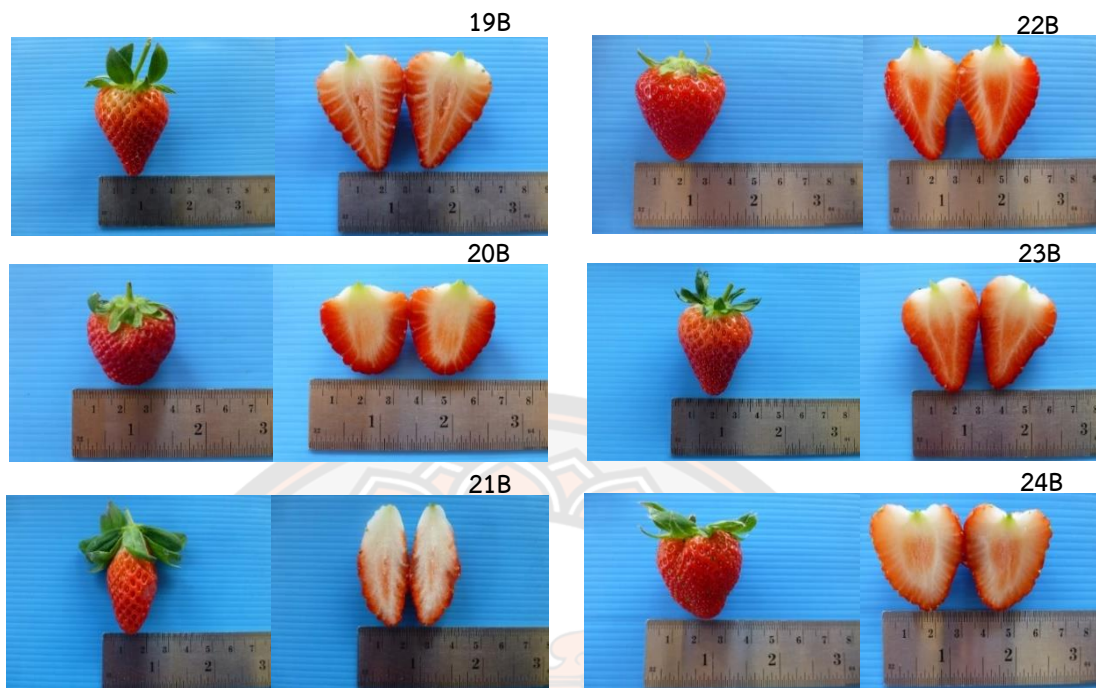
ภาพ 96 ผลสตอร์วเบอร์รี่ลูกผสม F1 (1B; พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 7, 2B; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 24, 3B; พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 20, 4B; พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 127, 5B; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 5, 6B; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 38)



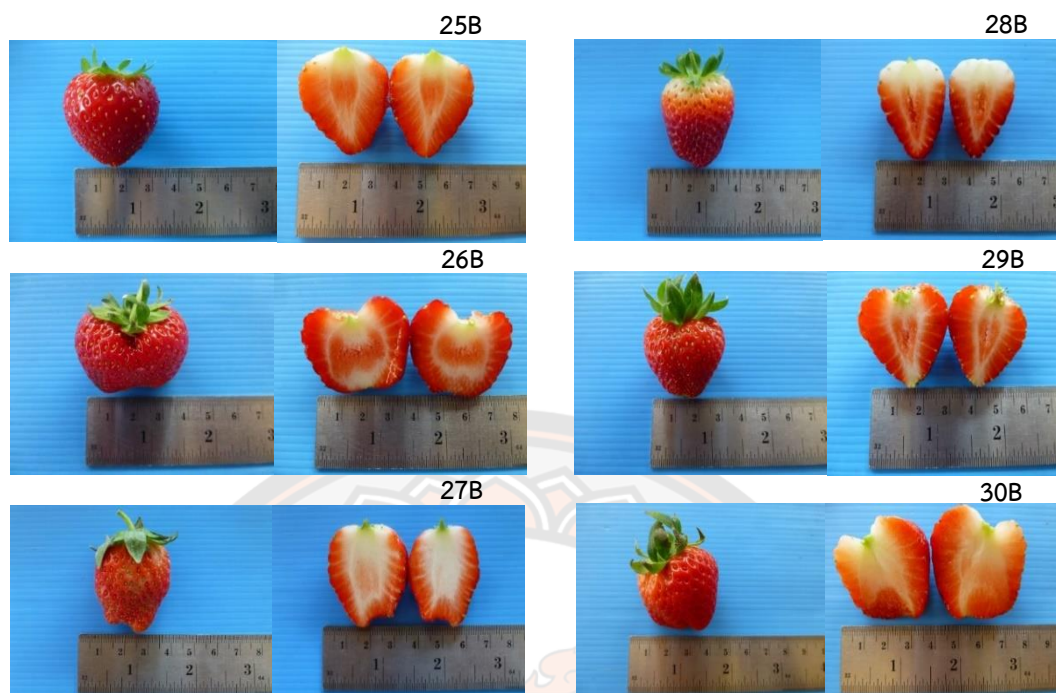
ภาพ 97 ผลสตอร์วเบอร์รี่ลูกผสม F1 (7B; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 4, 8B; พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 107, 9B; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 72 ต้นที่ 10, 10B; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 26, 11B; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 20, 12B; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 56)



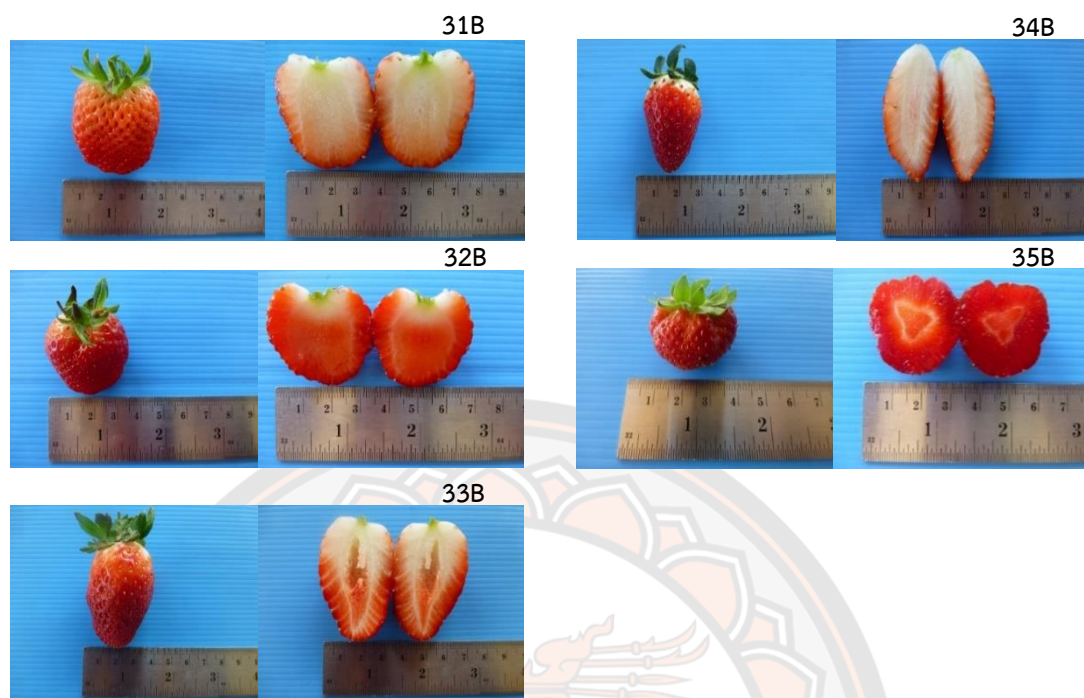
ภาพ 98 ผลสตอร์วี่เบอร์รี่ลูกผสม F1 (13B; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 54, 14B; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์ Akihime ต้นที่ 3, 15B; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 44, 16B; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 10, 17B; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 9, 18B; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 10)



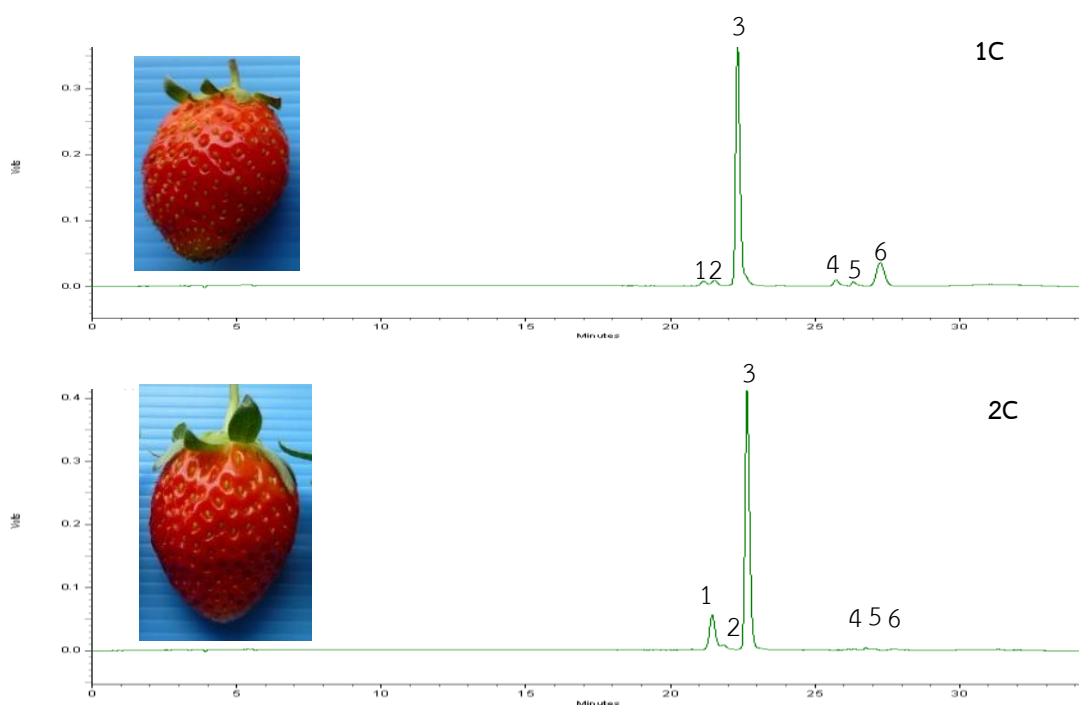
ภาพ 99 ผลสตอร์ว้เบอริริลูกผสม F1 (19B; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 1, 20B; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 33, 21B; พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์ 329 ต้นที่ 2, 22B; พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 66, 23B; พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 5, 24B; พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 17)



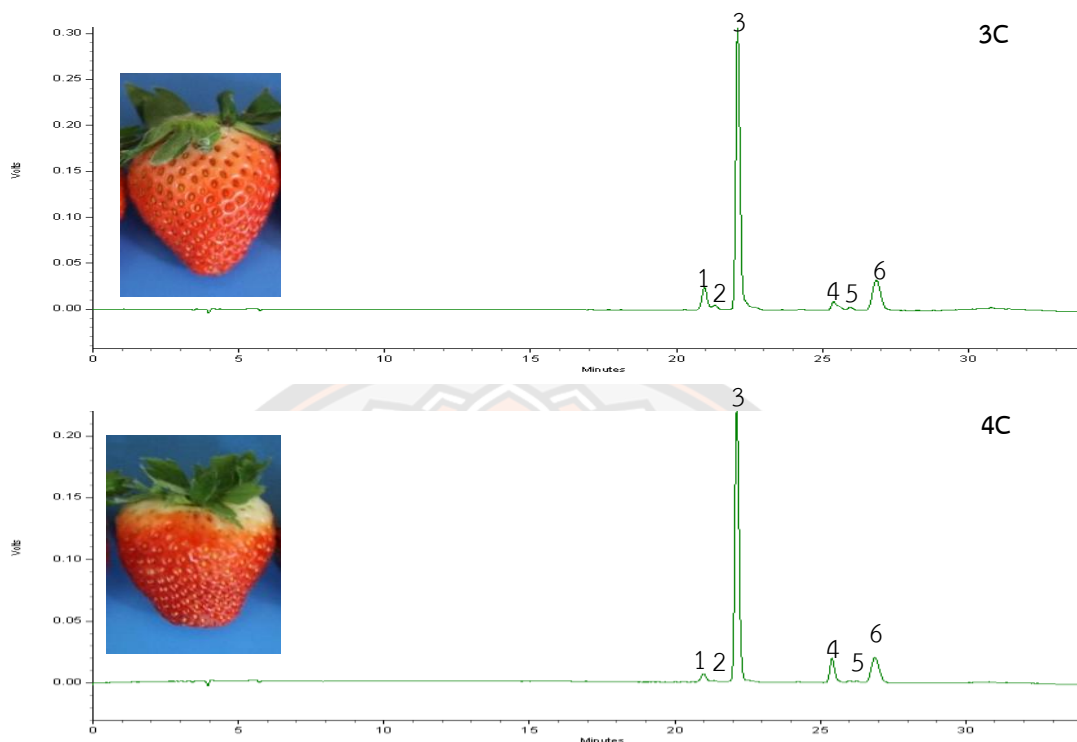
ภาพ 100 ผลสตอร์วเบอร์รี่ลูกผสม F1 (25B; พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 4, 26B; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 12, 27B; พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 24, 28B; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 13, 29B; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์ 329 ต้นที่ 19, 30B; พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 17)



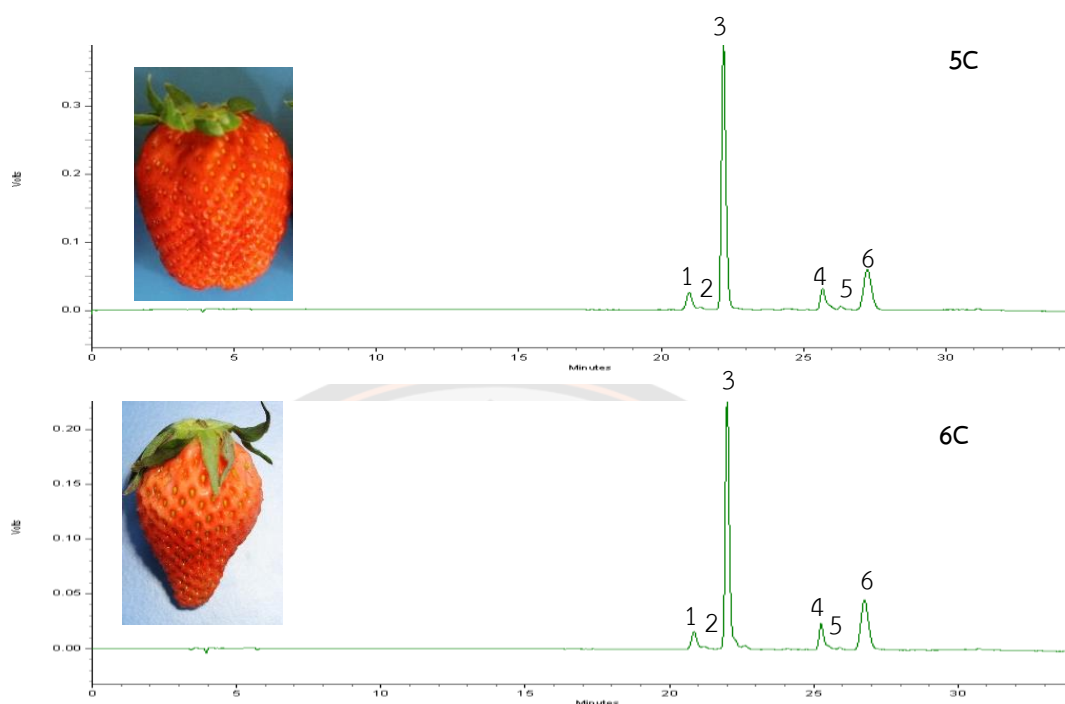
ภาพ 101 ผลสตอร์วเบอร์รี่ลูกผสม F1 (31B; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 21, 32B; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 25, 33B; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 26, 34B; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 6, 35B; พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 6)



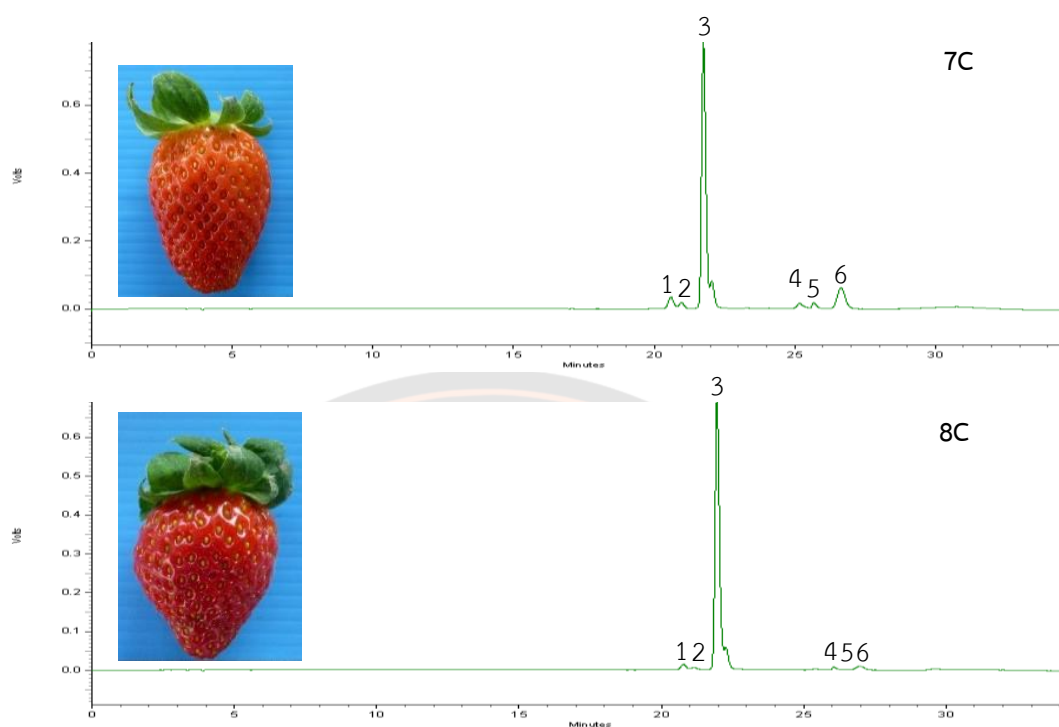
ภาพ 102 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตรอว์เบอร์รี่สายพันธุ์พอมเม่ (1C; พันธุ์พระราชทาน 50, 2C; พันธุ์พระราชทาน 70) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown



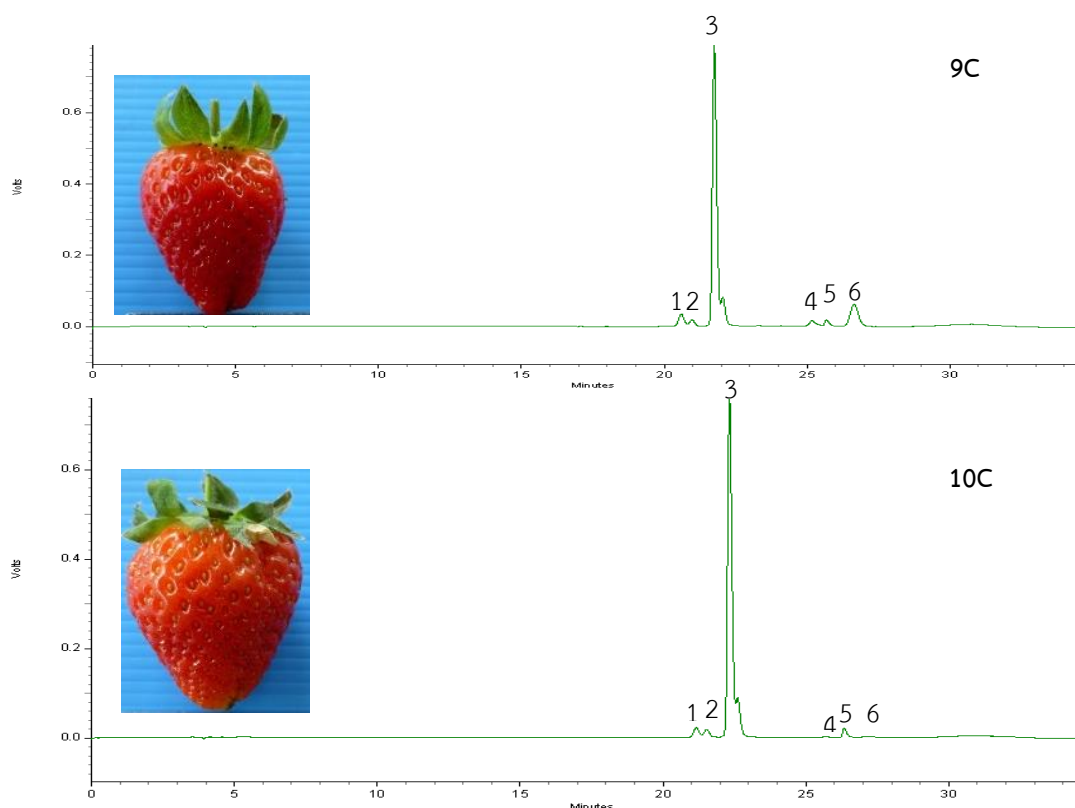
ภาพ 103 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตรอว์เบอร์รี่สายพันธุ์พุ่มแม่ (3C; พันธุ์พระราชทาน 72, 4C; พันธุ์พระราชทาน 80) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown



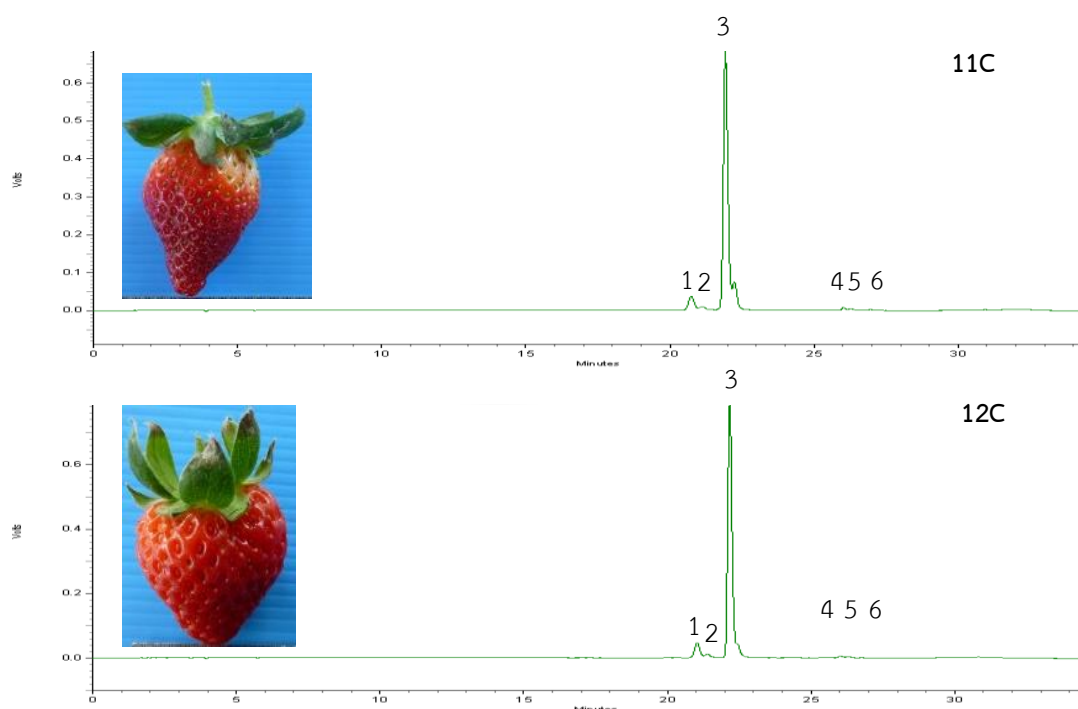
ภาพ 104 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตรอว์เบอร์รี่สายพันธุ์ฟอแม (5C; พันธุ์ 329, 6C; พันธุ์ Akihime) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown



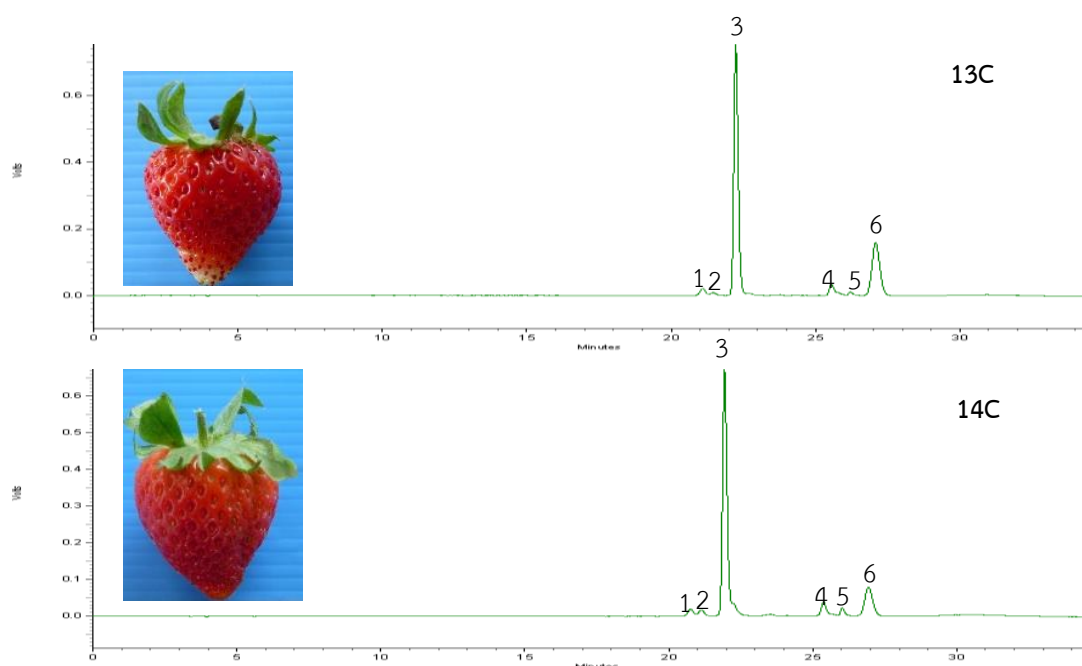
ภาพ 105 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตรอว์เบอร์รี่สายพันธุ์ลูกผสม F1 (7C; พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 7, 8C; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 24) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown



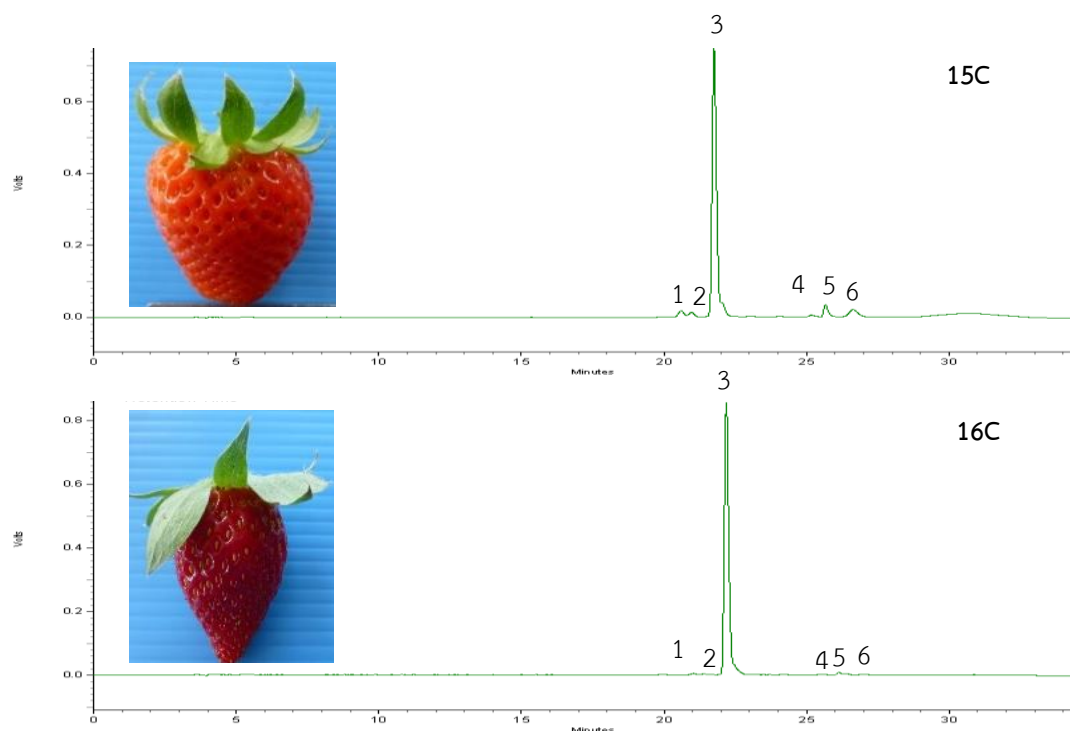
ภาพ 106 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตรอว์เบอร์รี่สายพันธุ์ลูกผสม F1 (9C; พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 20, 10C; พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 127) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown



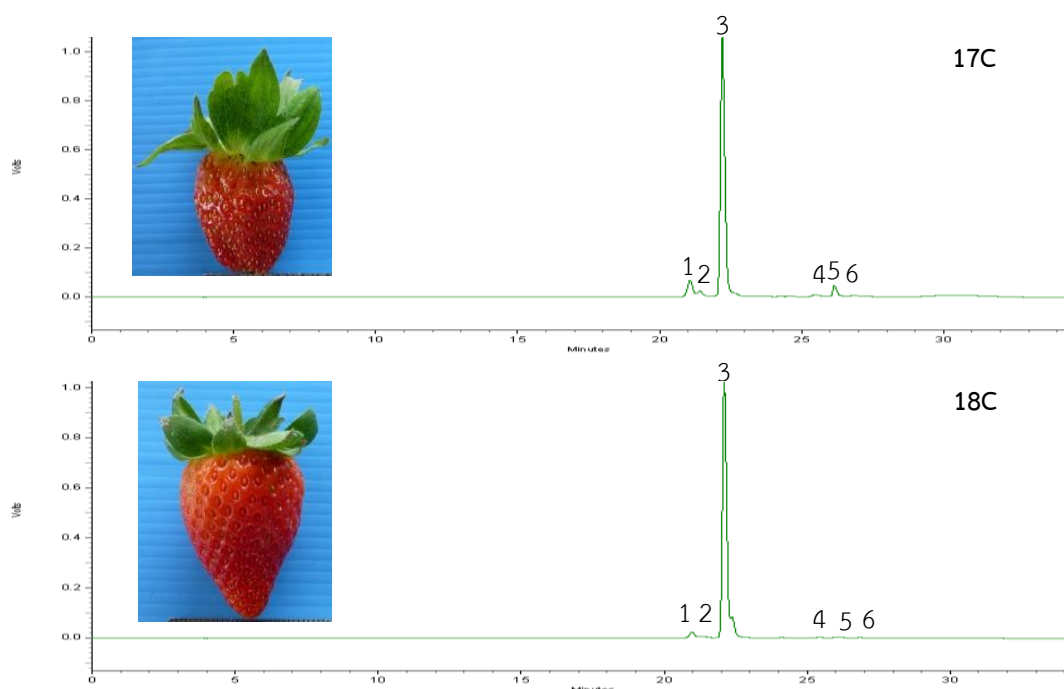
ภาพ 107 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ลูกผสม F1 (11C; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 5, 12C; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 38) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown



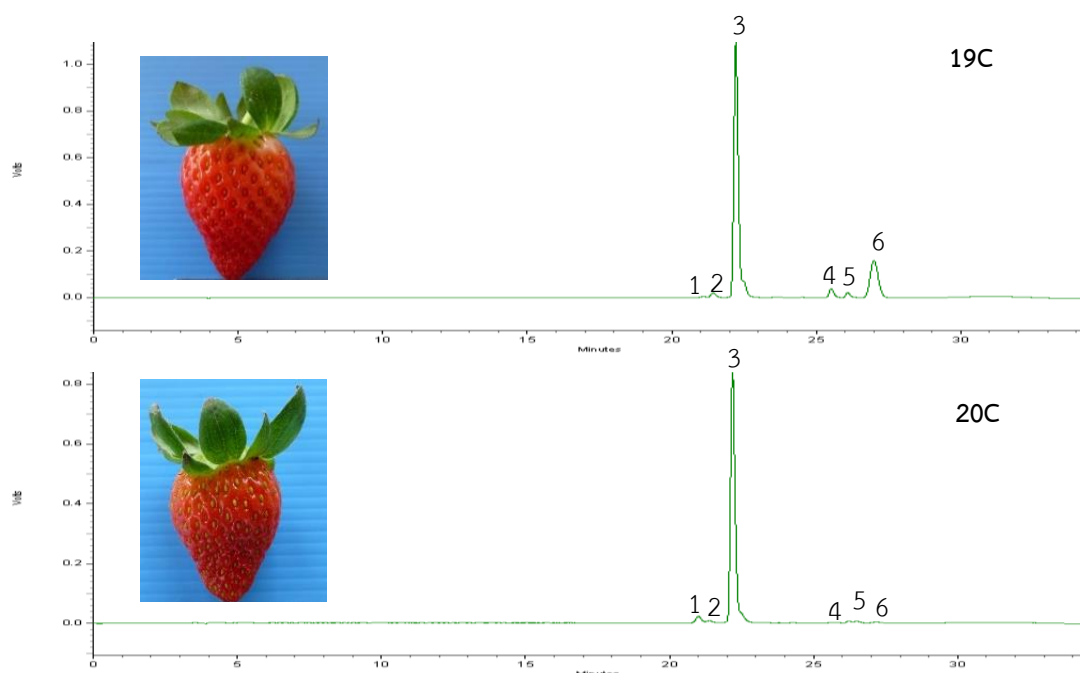
ภาพ 108 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์ลูกผสม F1 (13C; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 4, 14C; พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 107) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown



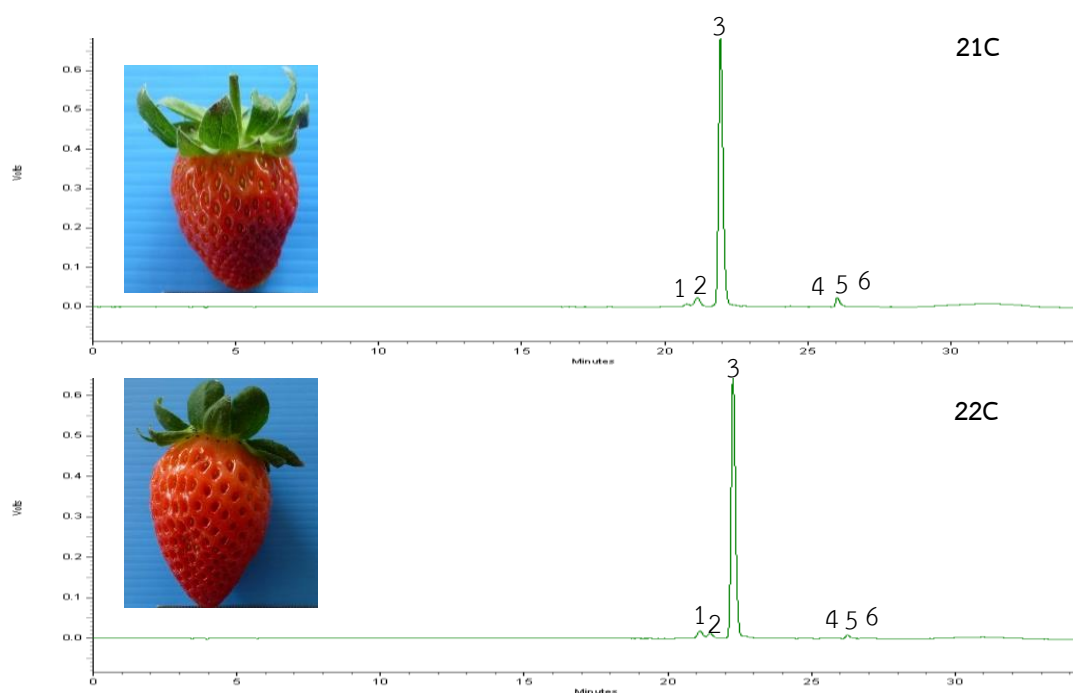
ภาพ 109 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์ลูกผสม F1 (15C; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 72 ต้นที่ 10, 16C; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 26) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown



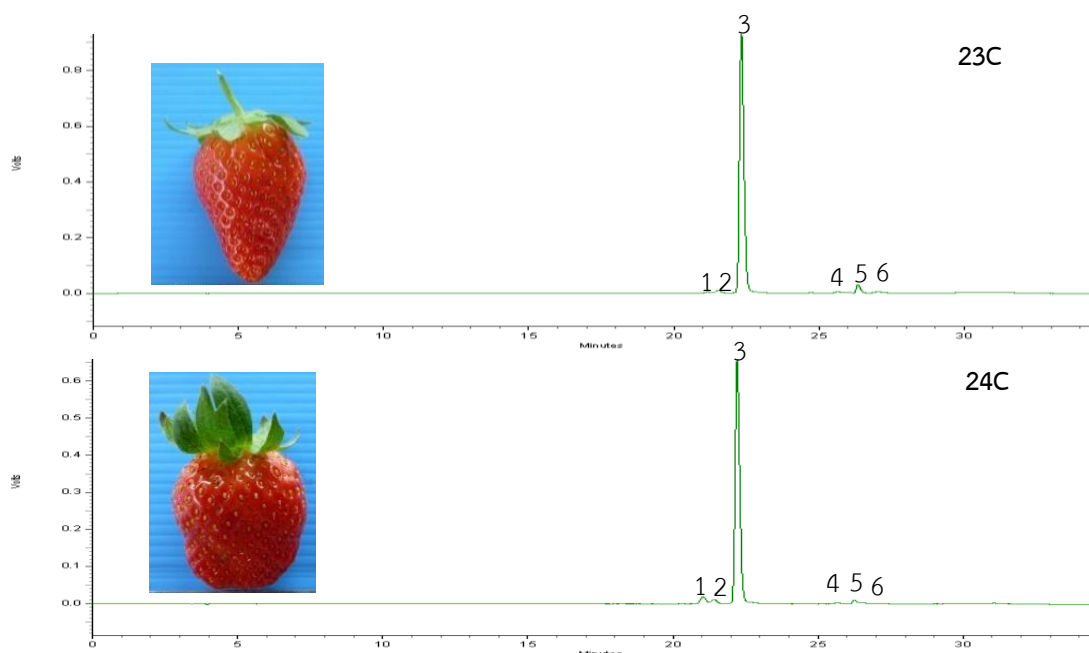
ภาพ 110 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์ลูกผสม F1 (17C; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 20, 18C; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 56) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown



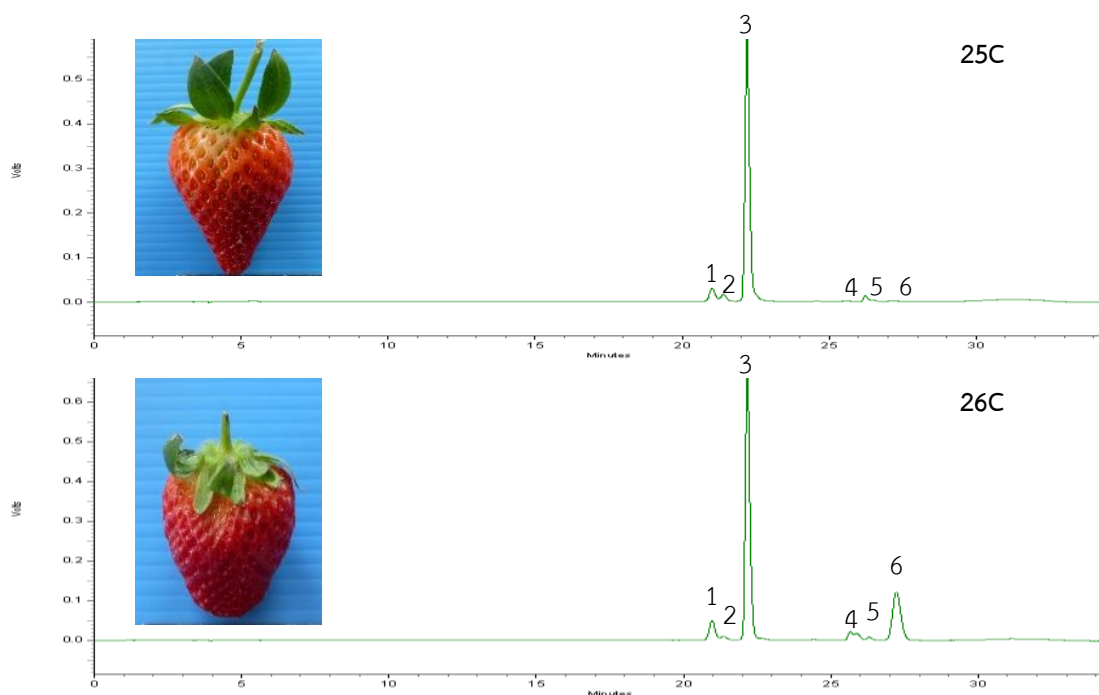
ภาพ 111 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์ลูกผสม F1 (19C; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 54, 20C; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์ Akihime ต้นที่ 3) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown



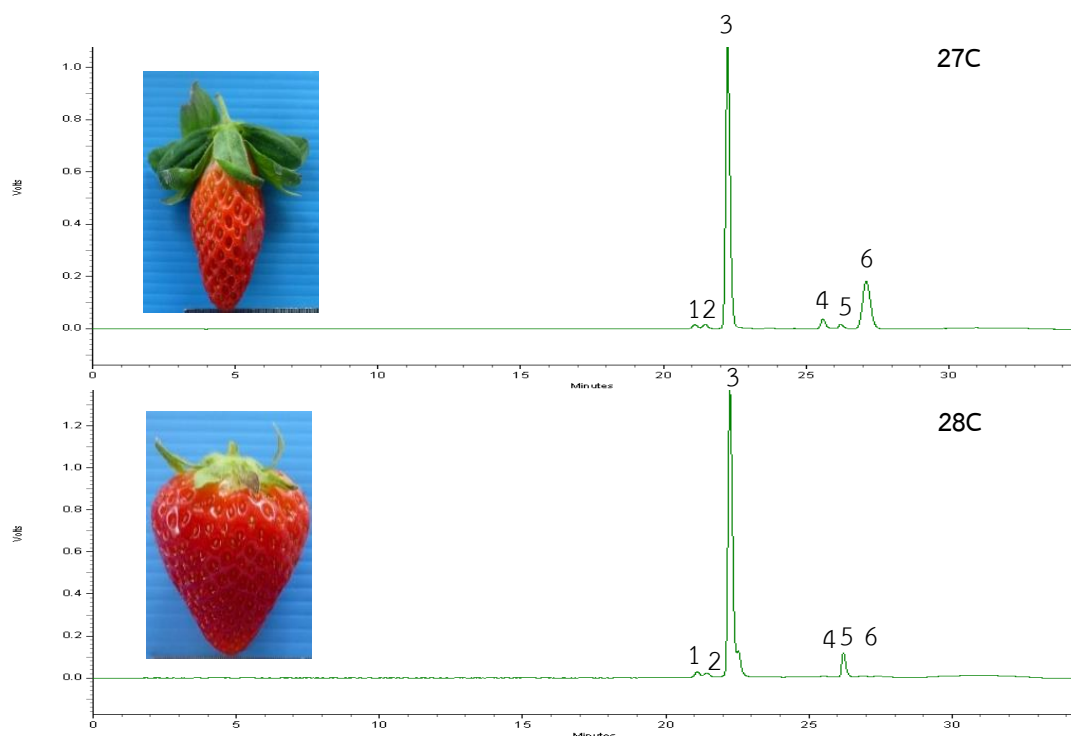
ภาพ 112 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ลูกผสม F1 (21C; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 44, 22C; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 10) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown



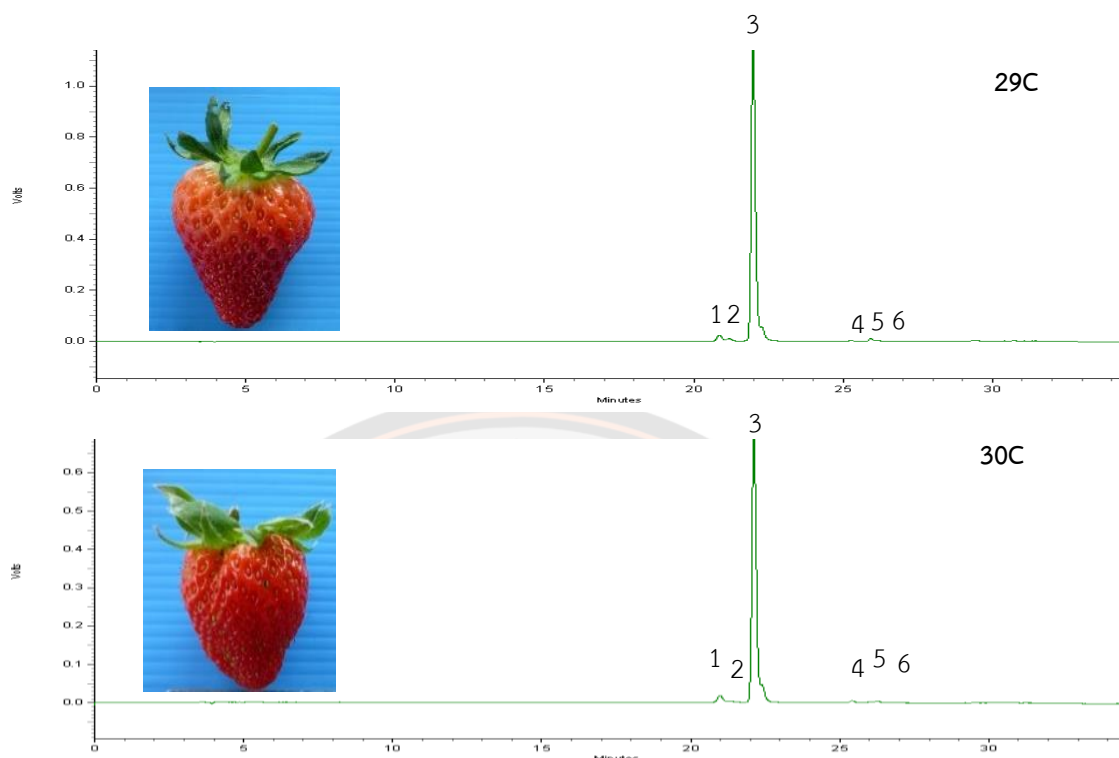
ภาพ 113 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ลูกผสม F1 (23C; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 9, 24C; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 10) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown



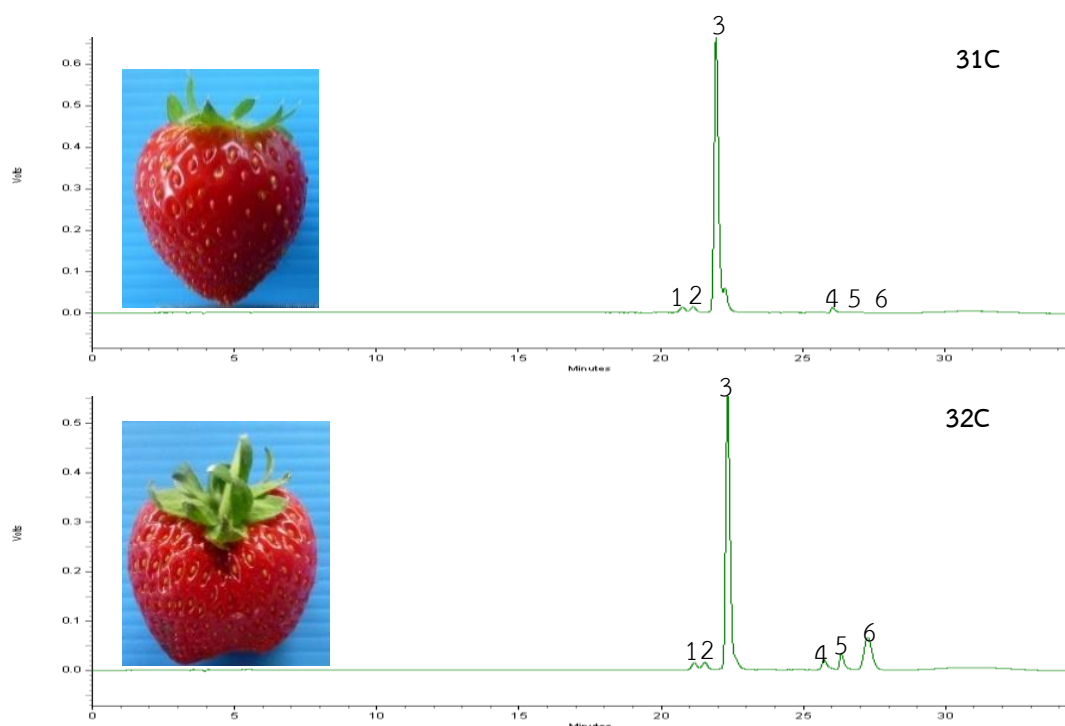
ภาพ 114 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์ลูกผสม F1 (25C; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 1, 26C; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 33) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown



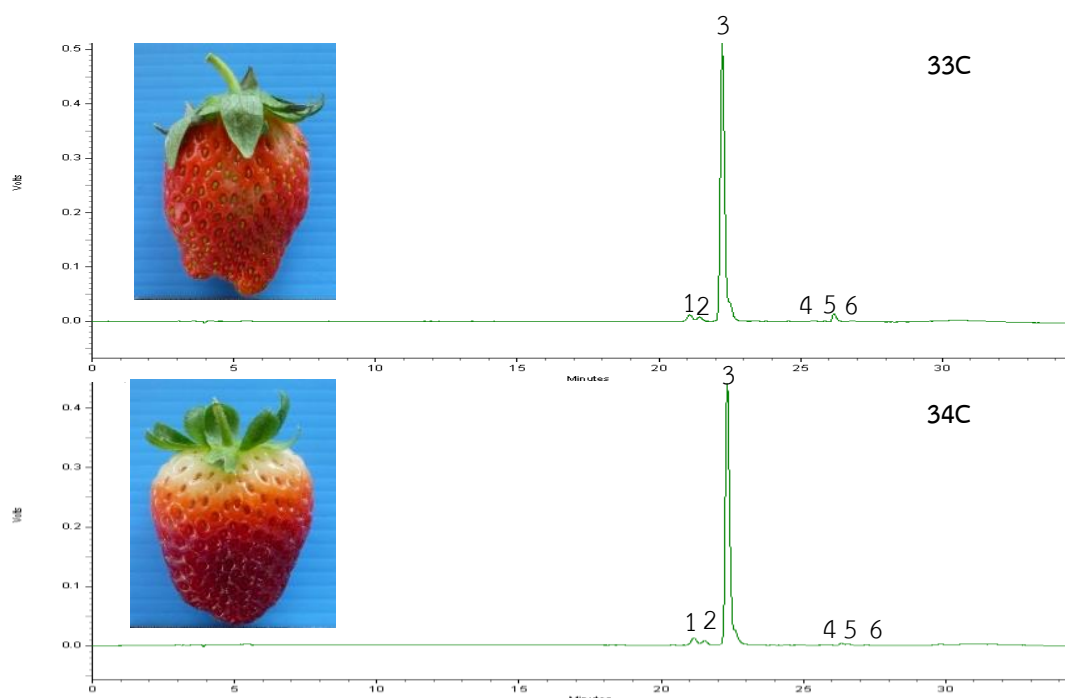
ภาพ 115 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์ลูกผสม F1 (27C; พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์ 329 ต้นที่ 2, 28C; พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 66) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown



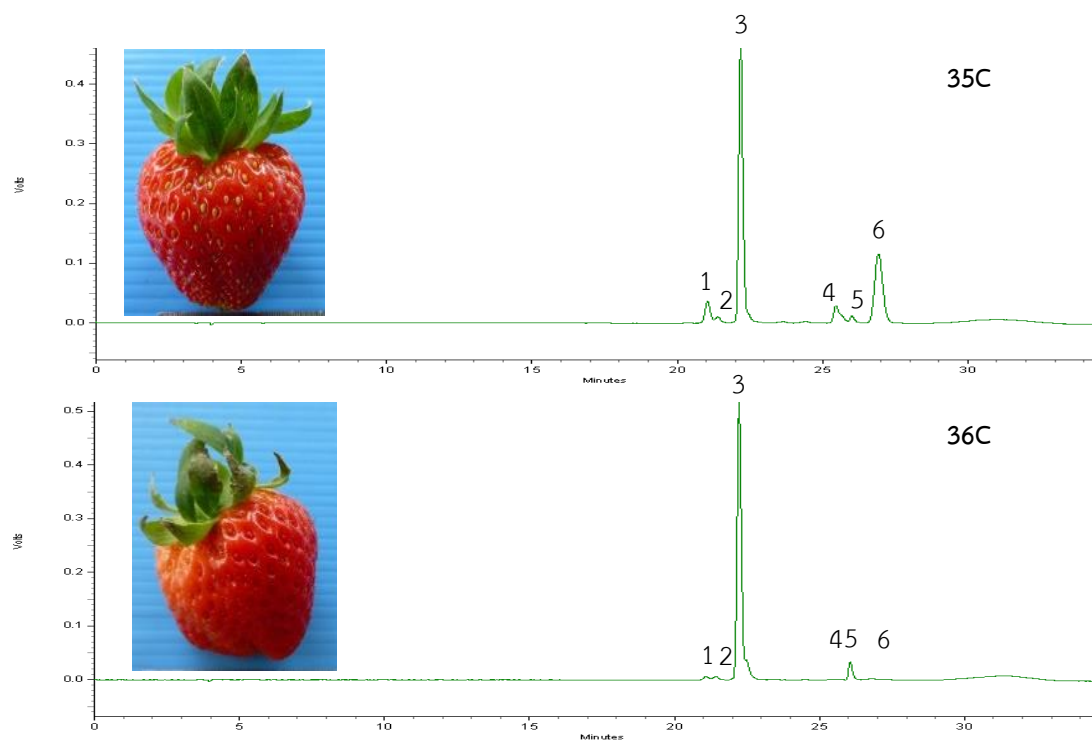
ภาพ 116 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์ลูกผสม F1 (30C; พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 5, 30C; พันธุ์พระราชทาน 50 × พันธุ์พระราชทาน 70 ต้นที่ 17) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown



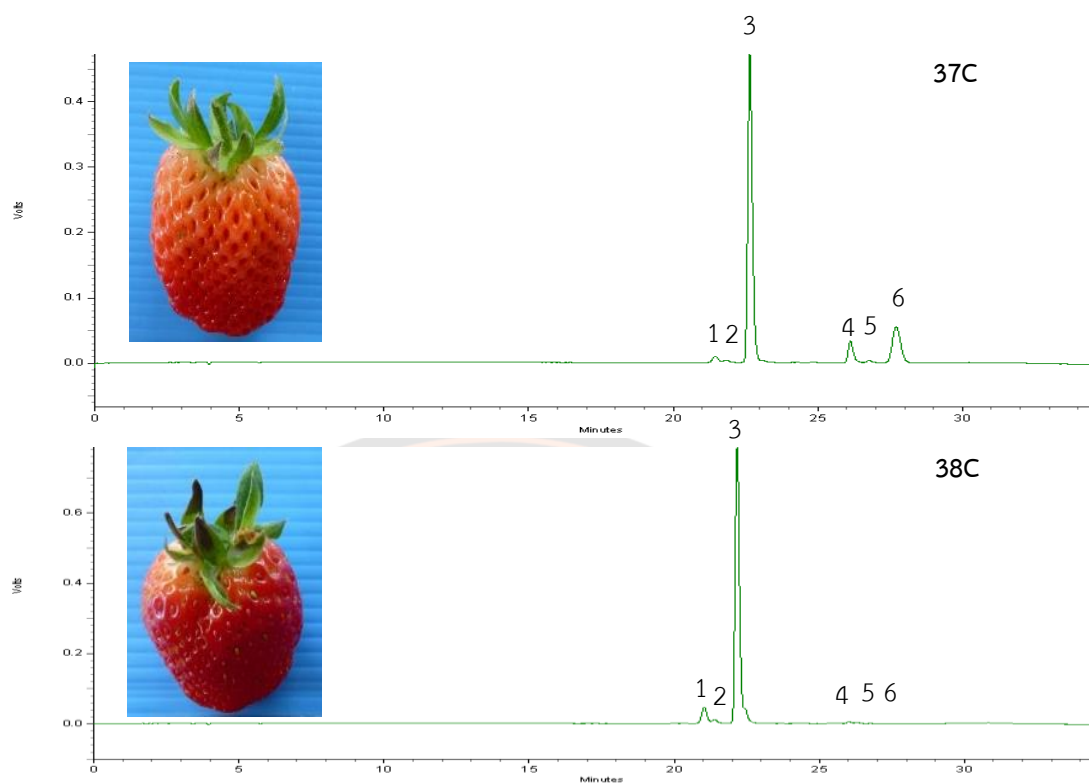
ภาพ 117 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ลูกผสม F1 (31C; พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 4, 32C; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 12) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown



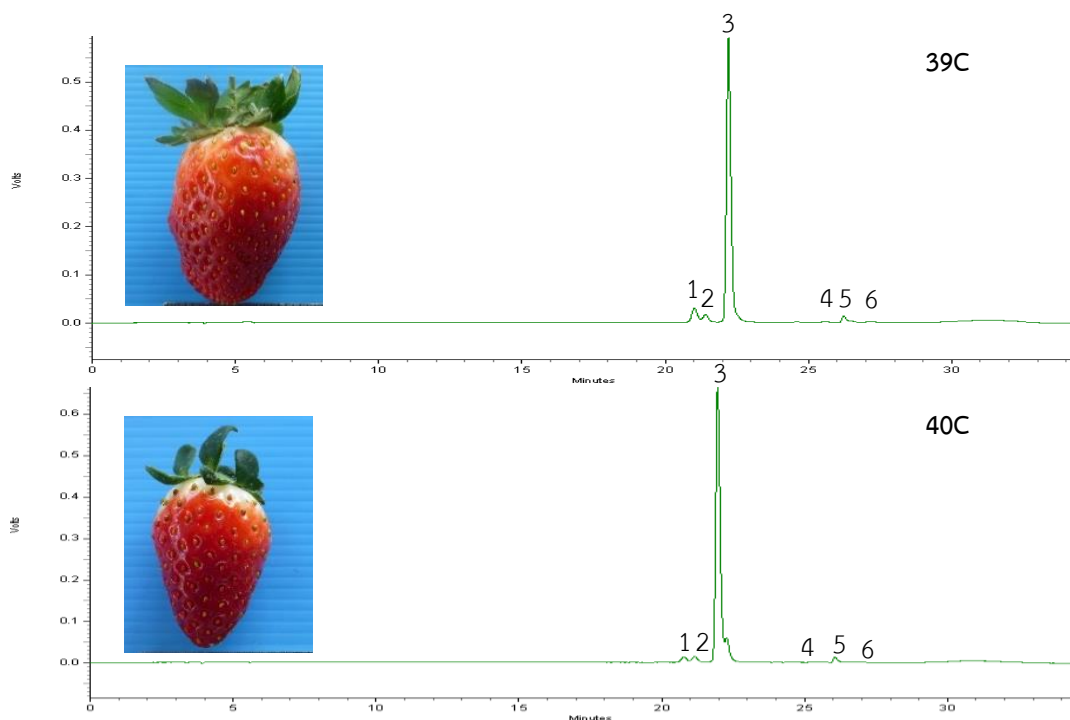
ภาพ 118 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตรอว์เบอร์รีสายพันธุ์ลูกผสม F1 (33C; พันธุ์ 329 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 24, 34C; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 13) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown



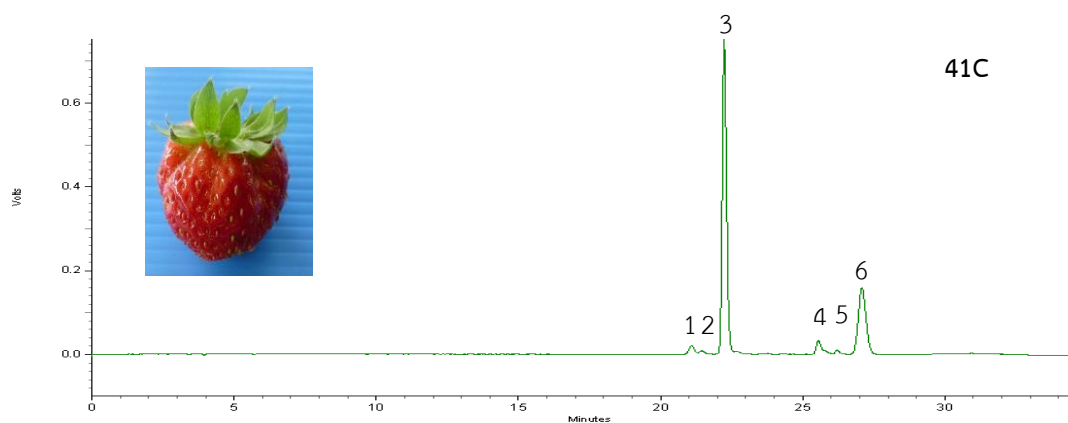
ภาพ 119 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์ลูกผสม F1 (35C; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์ 329 ต้นที่ 19, 36C; พันธุ์ Akihime × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 17) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown



ภาพ 120 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตรอว์เบอร์รี่สายพันธุ์ลูกผสม F1 (37C; พันธุ์พระราชทาน 80 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 21, 38C; พันธุ์พระราชทาน 70 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 25) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown



ภาพ 121 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตอร์วเบอร์รี่สายพันธุ์ลูกผสม F1 (39C; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 50 ต้นที่ 26, 40C; พันธุ์พระราชทาน 72 × พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 6) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown



ภาพ 122 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสตรอว์เบอร์รี่สายพันธุ์ลูกผสม F1 (41C; พันธุ์ 329 x พันธุ์พระราชทาน 80 ต้นที่ 6) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC; (1) Cyanidin-3-glucoside, (2) Unknown, (3) Pelargonidin-3-glucoside, (4) Unknown, (5) Unknown, (6) Unknown



ประวัติผู้วิจัย

มหาวิทยาลัยสุรินทร์

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-นามสกุล	มงคล ศิริจันทร์
วัน เดือน ปี เกิด	11 มกราคม 2536
ที่อยู่ปัจจุบัน	112 หมู่ 8 ตำบลหนองยาง อำเภอหนองฉาง จังหวัดอุทัยธานี 61110
ที่ทำงานปัจจุบัน	พ.ศ. 2556 ผู้ช่วยวิจัยในหัวข้อเรื่อง “การพัฒนาการถ่ายยีนเข้าสู่เอ็มบริโอของข้าวโดยใช้ sonication”
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2556 วท.บ. (ชีววิทยา; เกียรตินิยมอันดับ 2) มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผลงานตีพิมพ์	มงคล ศิริจันทร์ พุทธพงษ์ สร้อยเพชรเกษม สุทิน เสละคร กวี สุจิตฺติ ฌรงค์ชัย พิพัฒน์ธนวงศ์ และพีระศักดิ์ ฉายประสาธ. (2558). ผลของปุ๋ยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80. The fourth higher education research promotion congress (Herp congress IV), 323. มงคล ศิริจันทร์ กวี สุจิตฺติ ฌรงค์ชัย พิพัฒน์ธนวงศ์ และพีระศักดิ์ ฉายประสาธ. (2559). ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และคุณภาพทางกายภาพและเคมีหลังการเก็บเกี่ยวของผลสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 พระราชทาน 70 และพันธุ์ 329 ในอำเภอเขาฉกรรจ์ จังหวัดเพชรบูรณ์. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 47(3), 127-130. มงคล ศิริจันทร์ ฌรงค์ชัย พิพัฒน์ธนวงศ์ และพีระศักดิ์ ฉายประสาธ. (2560). การสร้างประชากรสตรอว์เบอร์รี่ลูกผสมเพื่อเพิ่มศักยภาพด้านปริมาณสารแอนโทไซยานิน. Proceedings in Thailand Research Symposium 2017, 580-590. มงคล ศิริจันทร์ กวี สุจิตฺติ ฌรงค์ชัย พิพัฒน์ธนวงศ์ และพีระศักดิ์ ฉายประสาธ. (2561). การสร้างประชากรสตรอว์เบอร์รี่ลูกผสมเพื่อเพิ่มศักยภาพในด้านความหวานและความแน่นเนื้อของผล. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 49(1), 362-367. Sirijan, M., Sujipuli, K., Pipattanawong, N. and Chairasart, P. (2019). Generation of strawberry hybrids population through selection potential of anthocyanin-rich cultivars for breeding

intervention. *Acta Horticulturae*, 1265, 73-80.

Sirijan, M., Pipattanawong, N. and Chaiprasart, P. (2019). Effect of 1-naphthalene acetic acid and 6-benzyladenine on micropropagation of strawberry cultivar 'Praratchatan No.80'. *Agriculture and Natural Resources*, 53, 355-363.

Sirijan, M., Pipattanawong, N., Saeng-on, B. and Chaiprasart, P. (2020). Anthocyanin content, bioactive compounds and physico-chemical characteristics of potential new strawberry cultivars rich in-anthocyanins. *Journal of Berry Research*, 10, 397-410.

Sirijan, M., Drapal, M., Chaiprasart, P. and Fraser, P. (2020). Characterisation of Thai strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) cultivars with RAPD markers and metabolite profiling. *Phytochemistry*, 180, 112522.

