

## การเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโต และลักษณะวิทยาของครามฝักตรง (*Indigofera tinctoria* L.), ระหว่างต้นดิพลอยด์ และเตตราพลอยด์

### Comparative of growth rate and morphology of ‘kram phak troung’ (*Indigofera tinctoria* L.), between diploid and tetraploid plant

สุนทรีย์ สุรสร<sup>1\*</sup>

Suntaree Surson<sup>1\*</sup>

**บทคัดย่อ :** การศึกษานี้เป็นการศึกษาเปรียบเทียบลักษณะต้นครามฝักตรงดิพลอยด์ และเตตราพลอยด์ ที่เกิดจากการชักนำด้วยโคลชิซิน เพื่อเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโต และลักษณะทางสัณฐานวิทยา เพื่อพิจารณาลักษณะเบื้องต้นของครามฝักตรง ก่อนที่จะทำการศึกษา และประเมินผลผลิตในสภาพแปลงต่อไปในอนาคต จากการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของต้นเตตราพลอยด์ และต้นดิพลอยด์ จากลักษณะต่าง ๆ พบว่า อัตราการเจริญเติบโตจากลักษณะจำนวนใบประกอบ และจำนวนกิ่ง ของต้นเตตราพลอยด์มีค่ามากกว่าต้นดิพลอยด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่พบว่า อัตราการเจริญเติบโตจากความสูง เส้นรอบวง จำนวนข้อของต้นเตตราพลอยด์ และต้นดิพลอยด์มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตาม มีแนวโน้มว่า อัตราการเจริญเติบโตของต้นเตตราพลอยด์จะมีค่ามากกว่าดิพลอยด์ในทุกลักษณะเมื่อศึกษาลักษณะของต้นครามฝักตรงที่เป็นต้นดิพลอยด์ กับต้นเตตราพลอยด์เปรียบเทียบกันในสัปดาห์ที่ 17 พบว่า ต้นครามฝักตรง ที่เป็นต้นดิพลอยด์ กับต้นเตตราพลอยด์มีความสูง เส้นรอบวงต้น จำนวนข้อ จำนวนกิ่ง จำนวนใบย่อยต่อ 1 ใบประกอบ มีลักษณะไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่พบว่า มีจำนวนใบประกอบแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยใบของต้นดิพลอยด์มีจำนวนใบมากกว่าใบของต้นเตตราพลอยด์ ต้นเตตราพลอยด์มีความกว้าง ใบย่อย และดัชนีใบมากกว่าต้นดิพลอยด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนความยาวใบไม่แตกต่างกัน นอกจากนี้ยังพบว่า น้ำหนักใบประกอบ น้ำหนักใบย่อย พื้นที่ใบย่อย น้ำหนักใบย่อย/พื้นที่ใบย่อย ของต้นเตตราพลอยด์มีแนวโน้มมากกว่าต้นดิพลอยด์

**คำสำคัญ:** คราม, *Indigofera tinctoria* L., เตตราพลอยด์, โพลีพลอยด์, อัตราการเจริญเติบโต

**ABSTRACT:** The study aimed to investigate the characteristics of the diploid and tetraploid *Indigofera tinctoria* L. which were induced by colchicine. Their growth rates and morphological traits were compared before the production from their planting plots would be evaluated in the future. Regarding the growth rates of both the diploids and tetraploids investigated from many features, it was found that the tetraploids, on statistical basis, significantly had higher growth rates in terms of having more leaflets and branches than those of the diploids. However, in terms of their height, circumferences, and number of nodes, both the tetraploids and diploids did not have significant different growth rates at statistical level. Nevertheless, there was a tendency that the growth rates of the tetraploids were higher than those of the diploids in every aspect. When comparing the seventeen-weeks old *Indigofera tinctoria* L. diploids with the tetraploid *Indigofera tinctoria* L.,

<sup>1</sup> คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร อ.เมือง จ.สกลนคร 47000

Faculty of Agriculture Technology Sakon Nakhon Rajabhat University, Sakhon Nakhon, 47000 Thailand

\* Corresponding author: sun\_dawn990@hotmail.com

it was found that their heights, circumferences, node numbers, branch numbers, leaflet numbers per one compound leaf were not statistically different from each other. The numbers of their compound leaves significantly differed from each other at the statistical level, though. That is the diploids had more compound leaves than those of the tetraploids. In the meantime, the tetraploids' leaflets were wider and their leaflet index was significantly higher than those of the diploids at statistical level although their leaf lengths were not statistically different. In addition, the tetraploids tended to have more compound leaf weight, leaflet weight, leaflet area, and leaflet weight/leaflet area than those of the diploids.

**Keywords:** Indigo, *Indigofera tinctoria* L., tetraploid, diploid, growth rate

## บทนำ

การชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ (polyploidy) ในพืชมีประโยชน์หลายอย่าง หากพิจารณาอย่างกว้าง ๆ คือ ในพืชบางชนิดมีลักษณะทางปริมาณดีขึ้น บางชนิดมีลักษณะทางคุณภาพดีขึ้น หรือ บางชนิดมีลักษณะทั้งสองอย่างดีขึ้น การเกิดโพลีพลอยด์โดยทั่วไปหมายถึง การที่พืชมีชุดโครโมโซมเพิ่มมากกว่าปกติมากกว่า 2 ชุดโครโมโซม โดยพืชปกติที่เป็นดิพลอยด์ หากได้รับสารชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ มักจะมีชุดโครโมโซมเพิ่มเป็น 2 เท่า เป็นเตตราพลอยด์ (tetraploid) แต่ในหลายรายงานพบว่า การชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ อาจพบว่ามี มิกโซพลอยด์ (mixoploid) (มีชุดโครโมโซม 2 แบบ คือ ดิพลอยด์ปนอยู่กับเตตราพลอยด์) และ ออกตาพลอยด์ (octaploid) เกิดขึ้นด้วย การชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์สามารถทำได้หลายวิธี หากพิจารณาถึงสภาพการชักนำแล้วสามารถแบ่งวิธีการชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ได้ 2 วิธีการหลัก คือ การชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในห้องปฏิบัติการในสภาพปลอดเชื้อ และไม่ปลอดเชื้อมากนัก และอีกวิธีการหนึ่ง คือ การชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ภายนอกห้องปฏิบัติการ ซึ่งทำในเรือนทดลอง หรือทำในสภาพแปลง ส่วนใหญ่การชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์มักทำได้โดยการใช้สารเคมี ซึ่งสารที่ใช้ในการชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์มีหลายชนิด เช่น oryzalin, trifluralin, amiprofos-methyl, N<sub>2</sub>O gas และ colchicine (Blakeslee and Avery, 1937 ; Taylor et al., 1976; Tuyl et al., 1992; Bouvier et al., 1994) สำหรับประสิทธิภาพของสารเคมีที่ใช้นั้น

แตกต่างกัน สารที่ได้รับการยอมรับและใช้กันอย่างแพร่หลาย และได้ผลมาก คือ โคลชิซิน โคลชิซินเป็นสารอัลคาลอยด์ (alkaloid) ที่สกัดจากต้น meadow saffron (*Colchicum autumnale* L.) เป็นสารยับยั้งการแบ่งเซลล์ (antimitotic) ใช้ในการชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ (polyploidy induction) (Planchais et al., 2000) ในช่วงปี 1930s ได้มีการทดลองโดยใช้โคลชิซินอย่างแพร่หลาย สำหรับวิธีการในการทรีตโคลชิซินระดับความเข้มข้น และเวลาที่ใช้โคลชิซินในพืชนั้นแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับวิธีการ ชนิด อายุ และชิ้นส่วนพืชที่ทำการทรีต

ลักษณะของพืชที่เป็นโพลีพลอยด์มีข้อดีหลายอย่าง เช่น มีผลผลิตมากขึ้น มีชีวมวลมากขึ้น มีองค์ประกอบทางเคมีมากขึ้น เช่น มีน้ำตาลบางชนิดเพิ่มขึ้น โปรตีนมากขึ้น ในไม้ยืนต้นหลายชนิดมีขนาดของต้นขนาดใหญ่ขึ้น มีคุณภาพของชีวมวลดีกว่า ดิพลอยด์ เช่น ใน *Centella asiatica* (L.) Urban พบว่า ต้นที่เป็นเตตราพลอยด์ และเป็นมิกโซพลอยด์ มีแนวโน้มที่จะให้ชีวมวล (biomass) เพิ่มขึ้น (Thong-on et al., 2014) จากการศึกษาการเจริญเติบโตของส้มเขียวหวานที่เป็นเตตราพลอยด์ จากความสูง เส้นรอบวง จำนวนข้อ และจำนวนใบ พบว่า อัตราการเจริญเติบโตของเตตราพลอยด์ มีแนวโน้มดีกว่า ดิพลอยด์ในเกือบทุกลักษณะ ยกเว้น อัตราการเจริญเติบโตจากลักษณะเส้นรอบวง ที่พบว่า อัตราการเจริญของดิพลอยด์มีค่ามากกว่าเตตราพลอยด์เล็กน้อย (สุนทรีย์, 2560)

บางชนิดมีสารสำคัญมีฤทธิ์ทางเภสัชกรรมมากขึ้น เช่น ใน *Panax ginseng* C.A. Meyer ที่เป็นออกติพลอยด์ที่มีปริมาณสารสำคัญทุติภูมิ (secondary metabolite) เพิ่มขึ้น (Kim et al., 2004) ใน *Artemisia annua* L. (clone YUT16) พบว่า รากที่มีชุดโครโมโซมเป็นเตตราพลอยด์ อายุ 14 วัน มีปริมาณสาร artemisinin (ยาสมุนไพรจีนมีฤทธิ์ต้านมาเลเรีย) มากกว่าในรากที่เป็นดิพลอยด์ (De Jesus-Gonzalez and Weathers, 2003) ใน *Centella asiatica* (L.) Urban พบว่า ต้นที่เป็นเตตราพลอยด์ และเป็นมิโกโซพลอยด์มีแนวโน้มที่จะให้ชีวมวล (biomass) และการผลิตสาร triterpenoid (ช่วยในการสมานแผล และรักษาความผิดปกติทางความคิด และอารมณ์ของผู้สูงอายุ) เพิ่มขึ้น ใน *Hyoscyamus muticus* L. เตตราพลอยด์มีสาร scopolamine มากกว่าดิพลอยด์ ถึง 200 เปอร์เซ็นต์ (Dehghan et al., 2012)

บางชนิดมีลักษณะทางสรีรวิทยาดีขึ้น เช่น สังเคราะห์แสงได้ดีขึ้น ทนเค็ม ทนแล้ง ทนหนาวเย็น หรือทนร้อนได้ดีขึ้น จากการศึกษาของ Wang et al. (2013) พบว่า ใน *Robinia pseudoacacia* L. ที่เป็นเตตราพลอยด์ มีความทนทานต่อเกลือได้ดีกว่าดิพลอยด์ จากการศึกษาใน *Coccinia palmata* และ *Lagenaria sphaerica* พบว่า เตตราพลอยด์มีปริมาณคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้น และทนทานต่อความเครียดจากการขาดน้ำได้ดีกว่าดิพลอยด์ (Ntuli and Zobolo, 2008) ทนทานต่อความเครียดทางสภาพแวดล้อมโดยเฉพาะการขาดน้ำ ทนทานต่อศัตรูพืช และมีผลต่ออัตราการเจริญเติบโต (growth rate) อีกด้วย (Otto and Whitton, 2000) Zhang et al. (2015) พบว่า แอปเปิ้ลที่เป็นเตตราพลอยด์ มีความทนทานต่อความแห้งแล้งมากกว่าดิพลอยด์สอดคล้องกับการศึกษาของ Laere et al. (2011) ที่พบว่า *Spathiphyllum wallisii* ที่เป็นเตตราพลอยด์ทุกจีโนไทป์ที่ศึกษาทนทานต่อความแห้งแล้งมากกว่าต้นดิพลอยด์ของมัน อีกทั้งโพลีพลอยด์ของพืชบางชนิดยังทนทานต่อโรค และแมลงที่สำคัญบางชนิดอีกด้วย

การชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในक्रमงอพืชที่มีลักษณะใกล้เคียงกับक्रमงอที่ตรงพบว่า ต้นक्रमงอที่เป็นดิพลอยด์ มิโกโซพลอยด์ และเตตราพลอยด์พบว่า มีความแตกต่างกันในหลาย ๆ ลักษณะ ได้แก่ ความสูง จำนวนกิ่ง จำนวนใบประกอบ ดัชนีใบ จำนวนใบย่อย/ใบ และพื้นที่ใบ โดยลักษณะใบของดิพลอยด์ และเตตราพลอยด์มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน นอกจากนี้ยังพบว่า ลักษณะของक्रमงอมีหลายลักษณะที่มีความสัมพันธ์กันทางบวก และหลายลักษณะที่มีความสัมพันธ์กันทางลบ (สุนทรีย์ และคณะ, 2559)

สุนทรีย์ (2560ข) ได้ชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในक्रमงอที่ตรง พบว่า ทริตเมนต์ที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์โดยเฉพาะเตตราพลอยด์ในक्रमงอที่ตรง คือ ทริตเมนต์ที่ได้รับโคลชิซินความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงเกิดขึ้นเพื่อเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโต และลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพื่อพิจารณาลักษณะเบื้องต้นของक्रमงอที่ตรงเพื่อพิจารณาศักยภาพผลผลิตของक्रमงอที่ตรงที่เป็นเตตราพลอยด์ ก่อนที่จะทำการศึกษา และตรวจสอบเพื่อประเมินผลผลิตในสภาพแปลงต่อไปในอนาคต

## วิธีการการศึกษา

### ต้นक्रमงอที่นำมาศึกษา

ต้นक्रमงอที่นำมาศึกษาเกิดจากการชักนำให้เกิดเตตราพลอยด์ในक्रमงอที่ตรง โดยใช้โคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 0.1, 0.2 และ 0.4 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 6 และ 12 ชั่วโมง (สุนทรีย์, 2560ข)

### การเปรียบเทียบลักษณะของต้นक्रमงอที่ตรงดิพลอยด์ และเตตราพลอยด์

ต้นกล้าक्रमงอที่ตรงที่ได้รับการจำแนกให้เป็นดิพลอยด์ 20 ต้น และเตตราพลอยด์ 20 ต้น ถูกปลูกในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 30 เซนติเมตร สูง 23.5 เซนติเมตร ที่บรรจุวัสดุปลูก

เป็นดิน 1 ส่วน พีทมอส 2 ส่วน และปุ๋ยคอก 1 ส่วน ณ มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร เริ่มทำการเก็บข้อมูลในลักษณะความสูง จำนวนข้อ เส้นรอบวงต้น จำนวนใบประกอบ/ต้น และจำนวนกิ่ง/ต้น เมื่ออายุ 5 สัปดาห์ และเก็บข้อมูลอย่างต่อเนื่องทุก ๆ 2 สัปดาห์ จนถึงกล้าความฝักตรงอายุ 17 สัปดาห์ และส่วนการศึกษาอัตราการเจริญเติบโต ศึกษาจากลักษณะความสูง จำนวนข้อ เส้นรอบวงต้น จำนวนใบประกอบ/ต้น และจำนวนกิ่ง/ต้น ในสัปดาห์ที่ 5-13 เป็นเวลา 60 วัน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยลักษณะต่าง ๆ ของต้นความดีพลอยด์ และเตตราพลอยด์โดยวิธี t-test ดังนี้

1. **ลักษณะลำต้น** การศึกษาลักษณะลำต้นทำได้โดยการวัดจาก ความสูงต้น เส้นรอบวงต้น จำนวนข้อ/ต้น และจำนวนกิ่ง/ต้น

- 1) ความสูงต้น ความสูงต้นวัดจากเหนือวัสดุปลูก 1 เซนติเมตรจนถึงยอด
- 2) เส้นรอบวง วัดบริเวณโคนต้นเหนือวัสดุปลูก พีทมอส 1 เซนติเมตร
- 3) จำนวนข้อต่อต้น นับจำนวนข้อของลำต้น จากส่วนของ main stem จากโคนถึงยอด
- 4) จำนวนกิ่ง นับจำนวนกิ่งที่แตกกิ่งจากส่วนของ main stem จากโคนถึงยอด

2. **ลักษณะใบ** ลักษณะใบทำการศึกษ จำนวนใบ/ต้น, น้ำหนักสดของใบประกอบ, จำนวนใบย่อย/ใบประกอบ 1 ใบ, ความยาวใบย่อย, ความกว้างใบย่อย, ดัชนีใบ, น้ำหนักสดใบย่อย, พื้นที่ใบย่อย และน้ำหนักสดใบย่อย/พื้นที่ใบย่อย

- 1) จำนวนใบต่อต้น หาได้จากการนับทุกใบบนต้น
- 2) จำนวนใบย่อย/ใบประกอบ 1 ใบ นับใบย่อยจากใบประกอบลำดับใบที่ 4 จากยอด
- 3) ความยาวใบย่อย วัดจากใบย่อยของใบประกอบลำดับใบที่ 4 หาค่าเฉลี่ยจากทุกใบ โดยวัดจากโคนใบย่อยถึงปลายใบย่อย
- 4) ความกว้างใบย่อย วัดจากใบย่อยของใบประกอบลำดับใบที่ 4 หาค่าเฉลี่ยจากทุกใบ โดยวัดจากกึ่งกลางของใบย่อย
- 5) ดัชนีใบ คำนวณจากสูตร (Liu et al., 2007)

คือ ดัชนีใบ = ความยาวใบ/ความกว้างใบ โดยวัดจากใบย่อยของใบประกอบลำดับที่ 4 จากยอด

6) น้ำหนักสดใบย่อย วัดจากการชั่งน้ำหนักสดใบย่อยจากใบประกอบลำดับที่ 4 จากยอด

7) พื้นที่ใบย่อยวัดโดยใช้วิธีการของ Gravimetric method (Daughtry, 1990) จากใบย่อยจากใบประกอบลำดับที่ 4 จากยอด

8) น้ำหนักสดใบย่อย/พื้นที่ใบย่อย ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) คำนวณจากน้ำหนักสดใบย่อยของลำดับใบประกอบที่ 4 จากยอดหารด้วยพื้นที่ใบย่อยจากประกอบที่ 4 จากยอด

3. **อัตราการเจริญเติบโต** จากความสูง เส้นรอบวงของลำต้น จำนวนข้อ จำนวนกิ่ง และจำนวนใบประกอบ ของต้นความดีพลอยด์จากสัปดาห์ที่ 5-13 เป็นเวลา 60 วัน นำมาวิเคราะห์อัตราการเจริญเติบโตจากสูตรที่ดัดแปลงจาก He et al. (2012)

$$\frac{\text{อัตราการเจริญเติบโต (\%)}}{\text{ค่าที่วัดวันสุดท้าย} - \text{ค่าที่วัดวันเริ่มต้น}} \times 100 = \frac{\text{จำนวนวันที่วัด} \times \text{ค่าที่วัดวันเริ่มต้น}}$$

### การวิเคราะห์ผลการทดลอง

การเปรียบเทียบลักษณะต้นความดีพลอยด์ที่เป็นดิพลอยด์ และเตตราพลอยด์ ทำการเปรียบเทียบลักษณะต่าง ๆ ของต้นความดีพลอยด์ที่เป็นต้นดิพลอยด์และต้นเตตราพลอยด์ 2 กลุ่มประชากร กลุ่มละ 20 ต้น วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม SAS version 9.1 (1998) โดยเปรียบเทียบลักษณะต่าง ๆ ของแต่ละทรีตเมนต์ ใช้วิธีการเปรียบเทียบแบบ t-test

### ผลการศึกษา และวิจารณ์

หลังจากการตรวจสอบความเป็นโพลีพลอยด์ของต้นกล้าความดีพลอยด์ ทำการศึกษาเปรียบเทียบลักษณะความสูง จำนวนข้อ เส้นรอบวงต้น จำนวนใบประกอบ/ต้น และจำนวนกิ่ง/ต้น อัตราการเจริญเติบโตของต้นความดีพลอยด์ดิพลอยด์ และเตตราพลอยด์ได้ผลการศึกษาดังต่อไปนี้

### ความสูงของต้นครามฝักตรง

การศึกษาเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความสูงโดยวิธี t-test ของต้นครามฝักตรงดิพลอยด์ และต้นกล้าครามฝักตรงเตตราพลอยด์ ในระยะเวลา 12 สัปดาห์ ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 5-15 พบว่า มีความสูงเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติ (Table 1) สอดคล้องกับการศึกษาในส้มเขียวหวานที่พบว่า ความสูงของต้นเตตราพลอยด์ ไม่แตกต่างจากดิพลอยด์ (สุนทรีย์, 2560ก) แตกต่างจากพืชหลาย ๆ ชนิด ที่พบว่า ต้นเตตราพลอยด์มีลักษณะต้นเตี้ยกว่าต้นพืชที่เป็นดิพลอยด์ เช่น *Platanus acerifolia* (Liu et al., 2007) *Echinacea purpurea* L. (Chen et al., 2016)

### เส้นรอบวงต้น

การศึกษาลักษณะเส้นรอบวงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 5-15 โดยเริ่มเก็บข้อมูลในสัปดาห์ที่ 5 และเก็บข้อมูลอย่างต่อเนื่องทุก ๆ 2 สัปดาห์ พบว่า ในสัปดาห์แรกที่ทำการเก็บข้อมูล (ต้นครามฝักตรงอายุ 5-7 สัปดาห์) ขนาดของต้นครามฝักตรงดิพลอยด์ และเตตราพลอยด์มีขนาดของเส้นรอบวงต้นไม่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามมีแนวโน้มว่าต้นเตตราพลอยด์จะมีขนาดเส้นรอบวงใหญ่กว่าดิพลอยด์ ในช่วงสัปดาห์ที่ 9-11 พบว่าขนาดของเส้นรอบวงของต้นดิพลอยด์ และเตตราพลอยด์มีขนาดแตกต่างกันทางสถิติ โดยพบว่า ขนาดของต้นเตตราพลอยด์มีขนาดเส้นรอบวงใหญ่กว่าดิพลอยด์ ทั้ง 2 ช่วง ต่อมาในสัปดาห์ที่ 13 และ 15 พบว่าขนาดของเส้นรอบวงของต้นเตตราพลอยด์ และดิพลอยด์ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตามมีแนวโน้มว่าค่าเฉลี่ยเส้นรอบวงของต้นเตตราพลอยด์จะมีขนาดใหญ่มากกว่าต้นดิพลอยด์ (Table 2) สอดคล้องกับการศึกษาของ สุนทรีย์ (2560ก) ในส้มเขียวหวานที่พบว่าเส้นรอบวงของต้นดิพลอยด์ และเตตราพลอยด์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มีแนวโน้มว่าต้นเตตราพลอยด์มีแนวโน้มที่จะมีขนาดเส้นรอบวงใหญ่กว่าดิพลอยด์

### จำนวนกิ่ง

การศึกษาลักษณะจำนวนกิ่ง/ต้น ของต้นครามฝักตรงที่เป็นต้นดิพลอยด์เปรียบเทียบกับต้นดิพลอยด์ที่ 5-15 พบว่า ในสัปดาห์ที่ 5 จำนวนกิ่งของต้นดิพลอยด์มีจำนวนมากกว่าต้นเตตราพลอยด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ต่อมาในสัปดาห์ที่ 7-9 จำนวนกิ่งของต้นดิพลอยด์ยังคงมากกว่าต้นเตตราพลอยด์ แต่ในสัปดาห์ท้าย ๆ ของการเก็บข้อมูล จากสัปดาห์ที่ 11, 13 และ 15 กลับพบว่าจำนวนกิ่งของต้นเตตราพลอยด์กลับเพิ่มจำนวนมากกว่าต้นดิพลอยด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 3) ตรงข้ามกับการศึกษาของ Liu et al. (2007) ที่พบว่า ใน *Platanus acerifolia* ที่เป็นเตตราพลอยด์มีจำนวนกิ่งน้อยกว่าดิพลอยด์ อย่างไรก็ตาม สัปดาห์ที่ 17 กลับพบว่า ครามตรงที่เป็นดิพลอยด์กับเตตราพลอยด์มีจำนวนกิ่งไม่แตกต่างกัน

### จำนวนใบประกอบ/ต้น

การศึกษาลักษณะจำนวนใบประกอบของต้นครามฝักตรงดิพลอยด์ และเตตราพลอยด์ พบว่า ในสัปดาห์ที่ 5, 7 และ 9 มีแนวโน้มว่า ต้นครามฝักตรงเตตราพลอยด์มีจำนวนใบน้อยกว่าดิพลอยด์ แม้ว่าในสัปดาห์ที่ 7 จะมีจำนวนใบประกอบไม่แตกต่างกันทางสถิติก็ตาม (Table 4) ในสัปดาห์ที่ 11 และ 13 พบว่า ต้นครามเตตราพลอยด์มีจำนวนใบประกอบมากกว่าต้นครามดิพลอยด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 4) อย่างไรก็ตาม ในสัปดาห์ที่ 15 กลับพบว่าต้นครามฝักตรงดิพลอยด์ และเตตราพลอยด์มีจำนวนใบประกอบ/ต้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตาม พบว่า จำนวนใบของเตตราพลอยด์ของครามฝักตรงมีแนวโน้มว่าจะมีจำนวนใบน้อยกว่าต้นดิพลอยด์ สอดคล้องกับ Kaensaksiri et al. (2011) ที่พบว่า ใบของ *Centella asiatica* (L.) Urban ที่เป็นต้นเตตราพลอยด์มีจำนวนใบน้อยกว่าต้นดิพลอยด์ เช่นเดียวกับในส้มเขียวหวาน (สุนทรีย์, 2560ก) ซึ่งพบว่าต้นเตตราพลอยด์มีจำนวนใบน้อยกว่าต้นดิพลอยด์

Table 1 Plant height (mean±SE) between *Indigofera tinctoria* L. diploid and tetraploid plant at 5-15 weeks

Age of plant (wk)	Plant height (cm)		t-test
	Diploid	Tetraploid	
5	10.34 ± 1.20	8.02 ± 0.74	ns
7	28.11 ± 2.11	29.43 ± 2.04	ns
9	46.30 ± 1.60	48.18 ± 2.37	ns
11	59.66 ± 1.62	58.65 ± 2.65	ns
13	66.82 ± 2.02	68.20 ± 2.93	ns
15	80.01 ± 1.84	76.18 ± 2.42	ns

\* , \*\* Represents significant at the P = 0.05 level and P = 0.01 level, respectively

ns not significant df = 19

Table 2 Plant circumference (mean±SE) between *Indigofera tinctoria* L. diploid and tetraploid plant at 5-15 weeks

Age of plant (wk)	Plant circumference (cm)		t-test
	Diploid	Tetraploid	
5	0.69 ± 0.04	0.62 ± 0.04	ns
7	1.42 ± 0.07	1.50 ± 0.05	ns
9	1.84 ± 0.07	2.19 ± 0.06	**
11	2.25 ± 0.05	2.57 ± 0.07	**
13	2.77 ± 0.05	2.88 ± 0.07	ns
15	3.07 ± 0.06	3.11 ± 0.09	ns

\* , \*\* Represents significant at the P = 0.05 level and P = 0.01 level, respectively

ns not significant df = 19

Table 3 Numbers of branching/plant (mean±SE) between *Indigofera tinctoria* L. diploid and tetraploid plant at 5-15 weeks

Age of plant (wk)	Numbers of branching/plant (branches)		t-test
	Diploid	Tetraploid	
5	2.75 ± 0.29	1.75 ± 0.27	*
7	5.55 ± 0.64	3.55 ± 0.51	*
9	5.65 ± 0.52	3.65 ± 0.55	*
11	2.90 ± 0.24	5.90 ± 0.62	**
13	3.25 ± 0.35	6.70 ± 0.58	**
15	4.10 ± 0.38	7.50 ± 0.71	**

\* , \*\* Represents significant at the P = 0.05 level and P = 0.01 level, respectively

ns not significant df = 19

**Table 4** Number of compound leaf/plant (mean±SE) between *Indigofera tinctoria* L. diploid and tetraploid plant at 5-15 weeks

Age of plant (wk)	Number of compound leaf/plant		t-test
	Diploid	Tetraploid	
5	37.50 ± 5.36	17.95 ± 2.16	**
7	79.60 ± 12.18	55.35 ± 5.73	ns
9	148.00 ± 10.88	112.40 ± 9.90	*
11	84.00 ± 7.19	185.00 ± 10.58	**
13	157.35 ± 14.01	259.55 ± 20.55	**
15	450.90 ± 23.53	410.05 ± 16.95	ns

\* , \*\* Represents significant at the P = 0.05 level and P = 0.01 level, respectively

ns not significant df = 19

### อัตราการเจริญเติบโตของต้นครามฝักตรง

การศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของต้นครามดิพลอยด์ และเตตราพลอยด์ในลักษณะต่าง ๆ (ความสูง เส้นรอบวงต้น จำนวนข้อ จำนวนใบ และจำนวนกิ่ง) พบว่า อัตราการเจริญเติบโตในลักษณะความสูง เส้นรอบวง และจำนวนข้อ ของต้นครามดิพลอยด์ และเตตราพลอยด์มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่อัตราการเจริญเติบโตจากจำนวนใบ/ต้น และจำนวนกิ่ง/ต้น ของต้นครามฝักตรงเตตราพลอยด์มีค่ามากกว่าดิพลอยด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 5) เมื่อพิจารณาอัตราการเจริญเติบโตโดย

รวมจากทุกลักษณะ พบว่า อัตราการเจริญเติบโตของต้นเตตราพลอยด์มีแนวโน้มว่าจะมีค่ามากกว่าดิพลอยด์ในทุกลักษณะ (Table 5) สอดคล้องกับการศึกษาในส้มเขียวหวานที่พบว่า อัตราการเจริญเติบโตของเตตราพลอยด์ดีกว่าดิพลอยด์เกือบทุกลักษณะ (สุนทรีย์, 2560ก) นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการศึกษาของ Kaensaksiri et al. (2011) ที่พบว่า น้ำหนักสด/ต้น และน้ำหนักแห้ง/ต้น ของ *Centella asiatica* (L.) Urban ที่เป็นต้นเตตราพลอยด์มีน้ำหนักมากกว่าดิพลอยด์ ส่งผลให้สารสำคัญบางอย่างในต้นเตตราพลอยด์มากกว่าต้นดิพลอยด์

**Table 5** Growth rate (mean±SE) of plant characteristics between *Indigofera tinctoria* L. diploid and tetraploid plant at 12 weeks

Growth rate	Growth rate of plant characteristics (%)		t-test
	Diploid	Tetraploid	
Growth rate of height plant	13.45 ± 2.31	15.11 ± 1.76	ns
Growth rate of circumference	5.57 ± 0.61	6.71 ± 0.56	ns
Growth rate of node	1.61 ± 0.41	2.91 ± 0.56	ns
Growth rate of leaf number	12.81 ± 3.65	29.27 ± 4.59	**
Growth rate of branch number	0.85 ± 0.38	6.46 ± 0.95	**

\* , \*\* Represents significant at the P = 0.05 level and P = 0.01 level, respectively

ns not significant df = 19

การศึกษาลักษณะอัตราการเจริญเติบโตของ ต้นครามฝักตรงที่เป็นดิพพลอยด์ เปรียบเทียบกับ ต้นเตตราพลอยด์ พบว่า อัตราการเจริญเติบโตของ ต้นครามฝักตรงที่เป็นเตตราพลอยด์มีแนวโน้มที่จะ เจริญเติบโตดีกว่าดิพพลอยด์ในเกือบทุกลักษณะ ส่วน การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นครามฝัก ตรงดิพพลอยด์ และเตตราพลอยด์เปรียบเทียบกัน เมื่อพิจารณาด้วยสายตา พบว่า สามารถจำแนก ต้นครามทั้งสองออกจากกันได้อย่างชัดเจน โดยเฉพาะ เมื่อพิจารณาจากลักษณะลำต้น และใบ ใบของต้น เตตราพลอยด์จะมีขนาดใหญ่ มีความกว้างใบมากเมื่อ จับดูรู้สึกได้ว่าใบของต้นเตตราพลอยด์มีความหนา กว่าใบของดิพพลอยด์ เมื่อชั่งน้ำหนักใบประกอบ พบว่า น้ำหนักใบประกอบของเตตราพลอยด์มีค่า มากกว่าใบประกอบของต้นดิพพลอยด์อย่างมี นัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามในสปีดาร์ที่หายๆ ของ การวัดค่า พบว่า จำนวนใบของต้นดิพพลอยด์มีจำนวน มากกว่า แต่เป็นที่น่าเสียดายว่า ไม่ได้ชั่งน้ำหนักทั้งต้น ของต้นครามเตตราพลอยด์ และต้นครามดิพพลอยด์ เปรียบเทียบกัน ซึ่งอาจพบว่า น้ำหนักโดยรวมทั้ง ต้นของดิพพลอยด์หรือต้นดิพพลอยด์มีค่ามากกว่ากัน จากประเด็นนี้เอง น่าจะได้ทำการศึกษาวิจัย เพื่อเปรียบเทียบผลผลิตอย่างละเอียดในสภาพไร่ และ ในสภาพกระถางในอนาคต หากผลผลิตหรือคุณภาพ ในการย้อมผ้าดีขึ้น สามารถนำครามพันธุ์นี้ไปใช้ แนะนำให้เกษตรกรทดลองปลูกเพื่อใช้ในการย้อม ผ้าต่อไป

### ลักษณะของต้นครามฝักตรงดิพพลอยด์ และ เตตราพลอยด์

สปีดาร์ที่ 17 ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบ ต้นครามฝักตรงดิพพลอยด์ และต้นครามฝักตรง เตตราพลอยด์ พบว่า ต้นครามฝักตรงดิพพลอยด์มี ความสูง เส้นรอบวง จำนวนข้อ จำนวนกิ่ง ไม่แตกต่าง จากต้นเตตราพลอยด์ (Figure 1) ส่วนในลักษณะใบ

พบว่า จำนวนใบย่อย/1 ใบประกอบ ความยาวใบย่อย ของต้นดิพพลอยด์ไม่แตกต่างจากต้นเตตราพลอยด์ ส่วนความกว้างใบย่อย และดัชนีใบของดิพพลอยด์ และเตตราพลอยด์มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมี นัยสำคัญยิ่ง (Figure 2) โดย ดิพพลอยด์มีความกว้าง ใบย่อยน้อยกว่าเตตราพลอยด์ และดัชนีใบของ ดิพพลอยด์มีค่ามากกว่าเตตราพลอยด์ ทำให้ใบของ เตตราพลอยด์มีลักษณะกลม และแผ่กางมากกว่า ดิพพลอยด์ (Table 6) จากการศึกษาลักษณะใบของ แพชชันฟรุทพบว่า ต้นเตตราพลอยด์มีรูปร่างใบใน ลักษณะดัชนีใบไม่แตกต่างจากดิพพลอยด์ ต่างจาก การศึกษาในครามฝักตรง แต่อย่างไรก็ตามพบว่า ต้นแพชชันฟรุทที่เป็นเตตราพลอยด์มีขนาดความกว้าง และความยาวใบมากกว่าในต้นดิพพลอยด์อย่างมี นัยสำคัญทางสถิติ (Rego et al., 2011) สอดคล้องกับ การศึกษาในครั้งนี้ จากการศึกษาใน *Platanus acerifolia* (Liu et al., 2007) พบว่า ความกว้าง และ ความยาวใบของต้นดิพพลอยด์ และเตตราพลอยด์ไม่ แตกต่างทางสถิติ แต่อย่างไรก็ตาม พบว่า ความยาวใบ ของดิพพลอยด์มีแนวโน้มยาวกว่าใบของเตตราพลอยด์ ต่างจากการทดลองในครามฝักตรง ส่วนความยาวใบ ของดิพพลอยด์มีแนวโน้มสั้นกว่าเตตราพลอยด์ และพบ ว่าใบของเตตราพลอยด์มีความหนากว่าดิพพลอยด์ สอดคล้องกับการศึกษาในครามฝักตรงในครั้งนี้ สุนทรีย์ (2560ก) ได้ทำการเปรียบเทียบลักษณะใบ สัมเชื้อหวานที่เป็นต้นดิพพลอยด์กับต้นเตตราพลอยด์ พบว่า สัมเชื้อหวานที่เป็นเตตราพลอยด์มีใบกว้างกว่า ดิพพลอยด์อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ต้นเตตราพลอยด์มี ความยาวใบมากกว่าดิพพลอยด์แต่พบว่า ไม่แตกต่าง ทางสถิติ ส่วนค่าดัชนีใบของต้นเตตราพลอยด์มีค่า น้อยกว่าดิพพลอยด์อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ใบมี ลักษณะแผ่กางค่อนข้างกลมกว่าดิพพลอยด์ สอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ นอกจากนี้ใน การศึกษาใบสัมเชื้อหวานยังพบว่าเตตราพลอยด์ มีใบหนาอีกด้วย



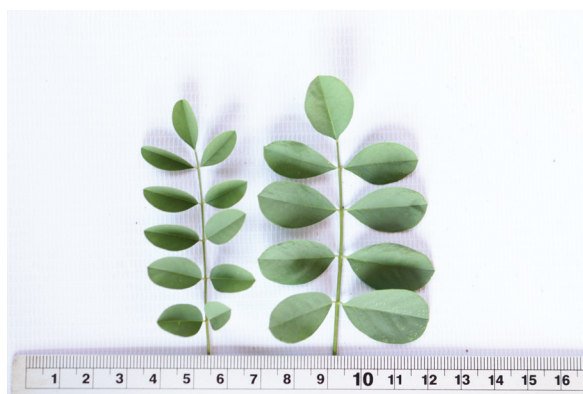
**Table 6** Morphological characteristic of *Indigofera tinctoria* L. between diploid and tetraploid plant at 17 weeks

Characteristic of <i>Indigofera tinctoria</i> L.	Morphological characteristic		t-test
	Diploid	Tetraploid	
Plant heights (cm)	93.53 ± 1.93	88.19 ± 2.14	ns
Plant circumference (cm)	3.44 ± 0.06	3.58 ± 0.08	ns
Number of node/plant	20.50 ± 0.77	20.00 ± 0.77	ns
Numbers of branching/plant	12.55 ± 0.37	13.50 ± 0.47	ns
Numbers of compound leaves/plant	696.45 ± 27.86	488.75 ± 21.25	**
Numbers of leaflets/a compound leaf	11.25 ± 0.29	10.80 ± 0.17	ns
Width of a leaflet(cm)	1.11 ± 0.03	1.36 ± 0.03	**
Length of a leaflet(cm)	1.95 ± 0.05	2.06 ± 0.04	ns
Leaf index	1.76 ± 0.03	1.52 ± 0.04	**
Fresh weight of a compound leaf (g)	0.34 ± 0.02	0.51 ± 0.02	**
Fresh weight of a leaflet (g)	0.030 ± 0.002	0.048 ± 0.002	**

\*, \*\* Represents significant at the P = 0.05 level and P = 0.01 level, respectively  
ns not significant df = 19



**Figure 1** Plant characteristic of *Indigofera tinctoria* L. between diploid plant (left) and tetraploid plant (right) at 12 weeks



**Figure 2** The 4th compound leaf characteristic of *Indigofera tinctoria* L. from apex of plant between diploid plant (left) and tetraploid plant (right)

## สรุป

เมื่อเปรียบเทียบลักษณะต้นครามผักตรงที่เป็นต้นดิพลอยด์และเตตราพลอยด์พบว่าต้นเตตราพลอยด์มีอัตราการเจริญเติบโตจากเกือบทุกลักษณะดีกว่าต้นดิพลอยด์ และจากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานของต้นครามผักตรง ในสัปดาห์ที่ 17 พบว่า ต้นครามผักตรงเตตราพลอยด์และต้นดิพลอยด์ มีลักษณะความสูง เส้นรอบวงต้น จำนวนข้อ จำนวนกิ่ง จำนวนใบย่อย/1ใบประกอบ และความยาวใบย่อยไม่แตกต่างกันทางสถิติ ต้นเตตราพลอยด์มีจำนวนใบประกอบน้อยกว่าต้นดิพลอยด์ แต่พบว่า ต้นเตตราพลอยด์มีความกว้างใบ ดัชนีใบ น้ำหนักใบประกอบ และน้ำหนักใบย่อยมากกว่าต้นครามผักตรงดิพลอยด์ หากได้เปรียบเทียบผลผลิตในสภาพการปลูกจริงแล้ว พบว่าครามผักตรงที่เป็นเตตราพลอยด์มีศักยภาพในการให้ผลผลิตและมีคุณภาพการย้อมผ้าที่เหมาะสม ครามผักตรงที่เป็นเตตราพลอยด์น่าจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งให้เกษตรกรใช้ปลูกต่อไป

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณคณะเทคโนโลยีการเกษตร และสถาบันวิจัย มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนครที่ให้การสนับสนุน และให้ความอนุเคราะห์วัสดุอุปกรณ์ และสถานที่ เพื่อการวิจัยในครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

สุนทรีย์ สุวรร, ศุภสิทธิ์ สิทธิพานิช และณัฐพงษ์ วงษ์มา. 2559. รายงานการวิจัยการเพิ่มจำนวนโครโมโซม “ครามงอ” (*Indigofera suffruticosa*) โดยใช้การใช้โคลชิซิน เพื่อการสนับสนุนภูมิปัญญาของจังหวัดสกลนครสกลนคร : คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร.

สุนทรีย์ สุวรร. 2560ก. การตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานของส้มเขียวหวาน (*Citrus reticulata* Blanco) ดิพลอยด์ และเตตราพลอยด์. ว. วิทย์. กษ. 48: 100–107.

สุนทรีย์ สุวรร. 2560ข. รายงานการวิจัยการสร้างครามโพลีพลอยด์พันธุ์ผักตรง (*Indigofera tinctoria* L.) : คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร.

Blakeslee A. F., and A. G. Avery. 1937. Method of inducing doubling of chromosome in plants by treatment with colchicine. J. Herd. 28:393-411.

Bouvier, L., F.R. Fillon, and Y. Lespinasse. 1994. Oryzalin as efficient and cytological characters of triploid pineapples. Cytologia. 4:248-256.

Chen, R., W. Jiang, Q. Li, X. Li, X. Chen, Y. Yang, and H. Wu, 2016. Comparison of seven colchicine-induced tetraploid clones with their original diploid clones in purple coneflower (*Echinacea purpurea* L.). Euphytica. 207: 387-399.

Daughtry, C.S.T. 1990. Direct measurements of canopy structure. Remote Sens. Rev. 5: 45–60.

De Jesus-Gonzalez L., and P.J. Weathers. 2003. Tetraploid *Artemisia annua* hairy roots produce more artemisinin than diploids. Plant Cell Rep. 21: 809-813.

Dehghan, E., S. T. Hakkinen, K. Oksman-Caldentey, and F. S. Ahmadi. 2012. Production of tropane alkaloids in diploid and tetraploid plants and in vitro hairy root cultures of Egyptian henbane (*Hyoscyamus muticus* L.). Plant Cell Tiss Organ Cult. 110: 35–44.

- He, L.Y., Z. Ding, F. Jiang, B. Jin, W. Li, X. Ding, J. Sun, and G. Li. 2012. Induction and identification of hexadecaploid of *Pinellia ternate*. *Euphytica*. 186: 479–488.
- Ling, J.T., and M. Iwamasa. 1994. Somatic Hybridization between *Citrus reticulata* and *Citropsis gabunnensis* through Electrofusion. *Plant Cell Rep.* 13: 493–497.
- Kaensaksiri, T., P. Soontornchainaksaeng, N. Soonthornchareonnon, and S. Prathanturug. 2011. In vitro induction of polyploidy in *Centella asiatica* (L.) Urban. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 107: 187–194.
- Kim, Y., E. Hahn, H.N. Murthy, and K. Paek. 2004. Effect of polyploidy induction on biomass and ginsenoside accumulations in adventitious roots of ginseng. *Journal of Plant Biology.* 47: 356-360.
- Laere, K.V., S.C. Franca, H. Vansteenkiste, J.V. Huylenbroeck, K. Steppe, and M.V. Labeke. 2011. Influence of ploidy level on morphology, growth and drought susceptibility in *Spathiphyllum wallisii*. *Acta Physiol Plant.* 33: 1149–1156.
- Liu, G., Z. Li, and M. Bao. 2007. Colchicine induced chromosome doubling in *Platanus acerifolia* and its effect on plant morphology. *Euphytica.* 157: 145–154.
- Ntuli N.R., and A.M. Zobolo. 2008. Effect of water stress on growth of colchicine induced polyploid *Coccinia palmata* and *Lagenaria sphaerica* plants. *Afr. J. Biotechnol.* 7: 3648-3652.
- Otto, S. P., and J. Whitton. 2000. Polyploid induce and evolution. *Annu. Rev. Genet.* 2000. 34: 401–37
- Planchais S. N. Glab, D. Inze, and C. Bergonioux. 2000. Chemical inhibitors : a tool for plant cell cycle studies. *FEBS Lett.* 476: 78-83.
- Rego, M.M., E.R. Rego, C.H. Bruckner, F.L. Finger, and W.C. Otoni. 2011. In vitro induction of autotetraploids from diploid yellow passion fruit mediated by colchicine and oryzalin. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 107: 451-471.
- SAS., 1998. SAS/STAT User's Guide. Version 6, SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA.
- Serapiglia, M. J., F. E. Gouker, and L. B. Smart. 2014. Early selection of novel triploid hybrids of shrub willow with improved biomass yield relative to diploids. *BMC Plant Biology.* 14: 1-12.
- Taylor, N. L., K.H. Anderson, K.H. Wuesenberry, and C. Watson. 1976. Doubling the chromosome number of trifolium species using nitrus oxide. *Crop Sci.* 16: 516-518.
- Thong-on, W., P. Arimatsu, S. Pitiporn, N. Soonthornchareonnon, and S. Prathanturug. 2014. Field evaluation of in vitro-induced tetraploid and diploid *Centella asiatica* (L.) Urban. *J. Nat Med.* 68: 267-273.

- Tuyl, J.M.V., B. Meijer, and M.P. Van Dien. 1992. The use of oryzalin as alternative for colchicine in in vitro chromosome doubling of Lium and Nerine. Acta Hort. 325: 625-629.
- Wang, Z., M.Wang, L.Liu, and F. Meng. 2013. Physiological and Proteomic Responses of Diploid and Tetraploid Black Locust (*Robinia pseudoacacia* L.) Subjected to Salt Stress. Int. J. Mol. Sci. 14: 20299-20325.
- Zhang, F., H. Xue, X. Lu, B. Zhang, F. Wang, Y. Ma, and Z. Zhang. 2015. Autotetraploidization enhances drought stress tolerance in two apple cultivars. Trees. 29: 1773–1780.