

บทที่ 5

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของพันธุ์ลำไยด้วยการใช้ molecular markers ซึ่งเทคนิคที่เลือก ได้แก่ HAT-RAPD และ AFLP เนื่องมาจากเทคนิคทั้ง 2 นี้มีพื้นฐานของการใช้ปฏิกิริยา PCR เพื่อเพิ่มขยายดีเอ็นเอให้มีปริมาณมาก โดยที่เทคนิค HAT-RAPD เป็นเทคนิคที่ใช้เพียงปฏิกิริยา PCR ที่อาศัยการจับของ primer กับดีเอ็นเอต้นแบบ (template DNA) แล้วนำผลผลิตจากปฏิกิริยา (PCR products) มาตรวจสอบด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส ซึ่งเป็นการทำให้ดีเอ็นเอเคลื่อนที่ผ่านในสนามไฟฟ้าจากขั้วลบไปขั้วบวกในตัวกลางคือ agarose gel พบว่าดีเอ็นเอขนาดใหญ่น้ำหนักโมเลกุลมากจะเคลื่อนที่ผ่านรูพรุนของ gel ได้ช้า จึงปรากฏแถบดีเอ็นเออยู่ตอนบนของ gel ส่วนดีเอ็นเอขนาดเล็กมีน้ำหนักโมเลกุลน้อยจะเคลื่อนที่ผ่านรูพรุนของ gel ได้เร็วกว่า จึงปรากฏแถบดีเอ็นเอบริเวณตอนล่างของ gel แต่ถ้าดีเอ็นเอมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากันก็จะปรากฏแถบดีเอ็นเอในตำแหน่งเดียวกัน (อาภัสรา, 2537 ; วาสนา, 2539) ในเทคนิค AFLP เป็นเทคนิคที่ใช้การตัดด้วย restriction enzymes และวิธีการของปฏิกิริยา PCR รวมเข้าไปใช้ในการตรวจสอบ โดยมี 3 ขั้นตอนการทำปฏิกิริยา ขั้นตอนแรกเป็นการใช้ 2 เอนไซม์ ตัด genomic DNA แล้วต่อเชื่อมกับ adapter ขั้นตอนที่ 2 เป็นการใส่ไพรเมอร์จับกับ fragment ที่เกิดจากขั้นตอนแรก โดยการทำปฏิกิริยา PCR และขั้นตอนสุดท้ายเป็นการทำปฏิกิริยา PCR อีกครั้ง เพื่อคัดเลือก fragment ให้มีจำนวนน้อยลงเพื่อง่ายต่อการวิเคราะห์ แล้วนำ PCR product จากขั้นตอนสุดท้ายมาตรวจสอบด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส โดยการเคลื่อนที่ของดีเอ็นเอในสนามไฟฟ้าจากขั้วลบไปขั้วบวกผ่านตัวกลางคือ polyacrylamide gel ซึ่งดีเอ็นเอขนาดใหญ่น้ำหนักโมเลกุลมากจะเคลื่อนที่ผ่านรูพรุนของ gel ได้ช้า จึงปรากฏแถบดีเอ็นเอ อยู่ตอนบนของ gel ส่วนดีเอ็นเอขนาดเล็กมีน้ำหนักโมเลกุลน้อยจะเคลื่อนที่ผ่านรูพรุนของ gel ได้เร็วกว่า จึงปรากฏแถบดีเอ็นเอบริเวณตอนล่างของ gel แต่ถ้าดีเอ็นเอมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากันก็จะปรากฏแถบดีเอ็นเอในตำแหน่งเดียวกัน

ในการศึกษาครั้งนี้ได้แบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลอง

การทดลองแรก การศึกษาเปรียบเทียบลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ของลำไย เป็นการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไยพันธุ์คอจากเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ได้แก่ ใบ เนื้อ เปลือกผล และเมล็ด จากการใช้เทคนิค HAT-RAPD โดยการใช้ 3ไพรเมอร์ พบว่า ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของแต่ละเนื้อเยื่อจากส่วนต่างๆ ไม่มีความแตกต่างกัน (ภาพ 5) แต่มี intensity หรือ density ของลายพิมพ์

ดีเอ็นเอในแต่ละเนื้อเยื่อนั้นมีความแตกต่างกัน การเกิดซ้ำของลายพิมพ์ดีเอ็นเอมีความเหมือนเดิมทุกครั้ง และมี resolution สูง

การเปรียบเทียบลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ มีการทดลองของ Cheng *et al.* (1997) ได้ใช้วิธีการสกัดดีเอ็นเอกับเนื้อเยื่อจากหลายๆ ส่วนในพืชพวก woody species และการทดลองของ Lin and Walker, (1997) ได้สกัดดีเอ็นเอจาก cambium ของ grape rootstocks พบว่าคุณภาพดีเอ็นเอที่ได้มีเท่าๆ กันกับการใช้ใบ ซึ่งใช้ได้ในบางกรณีที่ต้องการเก็บรักษาด้านต่อพันธุ์และไม่สามารถใช้ใบที่กำลังอยู่ในระยะพักตัว (dormancy) ของพืช มาใช้วิเคราะห์ทาง molecular หรือประโยชน์ทางด้านอื่นๆ ได้ เช่นเดียวกับการทดลองในครั้งนี้ที่ได้ใช้วิธีการสกัดดีเอ็นเอจากเนื้อเยื่อต่างชนิดกัน

การทดลองเปรียบเทียบลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ จะมีประโยชน์เป็นอย่างมากเนื่องจากลำไยจะเกิดติดผลจนได้ผลผลิตคือปีละครั้งตามฤดูกาล และใช้เวลาหลายเดือนกว่าผลจะโตเต็มที่ ในกรณีของใบอ่อนก็เช่นเดียวกันกัน ซึ่งในแต่ละพันธุ์ของลำไยจะมีการติดผลและแตกใบอ่อนไม่พร้อมกัน ทำให้ในการจะจัดเก็บเอาเนื้อเยื่อจากส่วนใดส่วนหนึ่งที่ต้องการเฉพาะมาทำการทดลองไม่สะดวก ในทางปฏิบัติจริงของการทดลองต้องมีการเก็บตัวอย่างต้องมีการทำผลซ้ำ (repeat) เพื่อความแน่ใจและน่าเชื่อถือมากยิ่งขึ้น เพื่อจะได้ใช้เนื้อเยื่อต่างชนิดทดแทนกันได้เมื่อมีการขาดแคลน

จากการทดลองของ Chen *et al.* (1997) ได้ใช้เทคนิค RAPD กับถั่วเหลืองเพื่อตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากใบและราก พบว่า จากการใช้ 40 ไพรมเมอร์ มีเพียง 10 ไพรมเมอร์ ที่สังเคราะห์ดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน โดยให้เหตุผลว่าอาจจะไปเกี่ยวข้องกับลักษณะพัฒนาการที่เกิดเฉพาะเนื้อเยื่อแต่ละส่วนและได้ให้ข้อคิดว่าการเลือกเนื้อเยื่อเฉพาะส่วนมาวิเคราะห์ต้องมีการคัดเลือกเอาจากแหล่งที่เป็น physiologically uniform tissue เดียวกันจริงๆ เพื่อผลการทดลองที่ได้จะสอดคล้องไปในทิศทางเดียวกัน แต่ในการทดลองครั้งนี้ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันเนื่องจากใช้จำนวนไพรมเมอร์น้อยกว่ามาก

จากการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไยพันธุ์ดอจากเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ได้แก่ ใบ เนื้อ เปลือกผล และเมล็ด ด้วยการใช้นาฬิกาโมเลกุลด้วยเทคนิค AFLP โดยใช้ 1 คู่ไพรมเมอร์ พบว่า ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเนื้อเยื่อส่วนแต่ละส่วน มีแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน และเมื่อได้ตรวจสอบการเกิดซ้ำของแถบลายพิมพ์ดีเอ็นเอมีเหมือนเดิมทุกครั้ง ซึ่งมีผลการทดลองสอดคล้องกับการศึกษาของ Donini *et al.* (1997) ได้ศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากเนื้อเยื่อส่วนใบ และเมล็ดของข้าวสาลี พบว่าแถบลายพิมพ์ดีเอ็นเอมีการเกิดซ้ำเหมือนเดิมทุกครั้ง และมีแถบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน โดยได้ให้เหตุผลว่าแถบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างที่เกิดขึ้นอาจจะได้มาจากการ

ปนเปื้อนของเชื้อโรค และการเกิด DNA methylation ที่จะส่งผลให้เกิดความแตกต่างของแถบลายพิมพ์ดีเอ็นเอเฉพาะในแต่ละเนื้อเยื่อ

จากผลการทดลองของทั้ง 2 เทคนิค ให้ข้อเสนอแนะว่า หากจะใช้ตัวอย่างจากเนื้อเยื่อส่วนใดของพืช เลือกเฉพาะเนื้อเยื่อชนิดเดียวกันมาวิเคราะห์ทางพันธุกรรม เพราะหากเลือกจากต่างเนื้อเยื่อกันแล้วอาจทำให้การวิเคราะห์ผลผิดพลาดได้ โดยไม่จำเป็นว่าเลือกใช้การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคหรือวิธีการใดก็ตาม

การทดลองที่สอง การเปรียบเทียบลายพิมพ์ดีเอ็นเอในลำไย 9 พันธุ์ ระหว่างเทคนิค HAT-RAPD และ AFLP โดยเทคนิค HAT-RAPD ด้วยการใช้ 6 ไพรมเมอร์ ซึ่งได้แก่ OPAK10 OPAK14 OPAS10 OPD20 OPG13 และ OPH13 (ภาพ 7) และนำข้อมูลที่ได้ (ตาราง 1 ภาคผนวก) เพื่อเสนอเป็น dendrogram (ภาพ 8) จำแนกพันธุ์ลำไยออกเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ได้แก่ พันธุ์ เบี้ยวเขียว ลิ้นจี่ พวงทอง แห้ว สีมพู และฮกเกี้ยน

ในกลุ่มที่ 1 ออกแบ่งเป็น 4 กลุ่มย่อย ดังนี้

กลุ่มย่อยที่ 1.1 ได้แก่พันธุ์เบี้ยวเขียว และสายพันธุ์ลิ้นจี่

กลุ่มย่อยที่ 1.2 ได้แก่พันธุ์ พวงทอง และแห้ว

กลุ่มย่อยที่ 1.3 ได้แก่พันธุ์ สีมพู

กลุ่มย่อยที่ 1.4 ได้แก่พันธุ์ ฮกเกี้ยน

กลุ่มที่ 2 ได้แก่พันธุ์ เพชรสาคร เวียดนาม และปิงปอง

ในกลุ่มที่ 2 ยังแบ่งเป็น 2 กลุ่มย่อย ดังนี้

กลุ่มย่อยที่ 2.1 ได้แก่พันธุ์เพชรสาคร และสายพันธุ์เวียดนาม

กลุ่มย่อยที่ 2.2 ได้แก่สายพันธุ์ปิงปอง

จากผลการศึกษาโดยเทคนิค AFLP ด้วยการใช้ 1 คู่ไพรมเมอร์ ได้แก่ E+ACT/M+CAT (ภาพ 9) และนำข้อมูลที่ได้ (ตาราง 2 ภาคผนวก) เพื่อเสนอเป็น dendrogram (ภาพ 10) จำแนกพันธุ์ลำไยออกเป็น 2 กลุ่มดังนี้

กลุ่มที่ 1 ได้แก่ พันธุ์ แห้ว สีมพู พวงทอง เบี้ยวเขียว ฮกเกี้ยน และลิ้นจี่

ในกลุ่มที่ 1 แบ่งออกเป็น 4 กลุ่มย่อย ดังนี้

กลุ่มย่อยที่ 1.1 ได้แก่พันธุ์ แห้ว และสีมพู

กลุ่มย่อยที่ 1.2 ได้แก่พันธุ์ พวงทอง และเบี้ยวเขียว

กลุ่มย่อยที่ 1.3 ได้แก่พันธุ์ ฮกเกี้ยน

กลุ่มย่อยที่ 1.4 ได้แก่พันธุ์ ลิ้นจี่

กลุ่มที่ 2 ได้แก่พันธุ์ เพชรสาคร เวียดนาม และปิงปอง

ในกลุ่มที่ 2 แบ่งออก 2 กลุ่มย่อย ดังนี้

กลุ่มย่อยที่ 2.1 ได้แก่พันธุ์เพชรสาคร และสายพันธุ์เวียคนาม

กลุ่มย่อยที่ 2.2 ได้แก่สายพันธุ์ ปิงปอง

จาก dendrogram (ภาพ 8 และภาพ 10) พบว่า ทั้ง 2 เทคนิคแสดงความสัมพันธ์ทางด้านพันธุกรรมของลำไยทั้ง 9 พันธุ์ โดยจำแนกออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ สอดคล้องไปในทิศทางเดียวกัน แต่จะแตกต่างกันในการจัดกลุ่มย่อยภายในกลุ่มที่ 1 เช่น พันธุ์ลิ้นจี่ โดยตามประวัติเป็นสายพันธุ์ที่เกิดจากการเพาะจากเมล็ดของพันธุ์เปี้ยวเขียว ซึ่งผลจากการวิเคราะห์มีการจัดกลุ่มแตกต่างกันระหว่างทั้ง 2 เทคนิค ไปคล้ายคลึงกับการศึกษาของ Sharma *et al.* (1995 ; 1996) ทดลองเปรียบเทียบผลดีเอ็นเอระหว่างทั้ง 2 เทคนิคในถั่วแขก การศึกษาของ Gaiotto *et al.* (1997) ทดลองเปรียบเทียบทั้ง 2 เทคนิคกับยูคาลิปตัส การศึกษาของ Russell *et al.* (1997) ทดลองเปรียบเทียบกับหลายๆ เทคนิคในข้าวบาร์เลย์ การศึกษาของ Costa *et al.*, (2000) ทดลองเปรียบเทียบทั้ง 2 เทคนิคพร้อมกับเทคนิค protein marker ในสนทะเล และการศึกษาของ Cabrita *et al.*, (2001) ทดลองเปรียบเทียบระหว่างทั้ง 2 เทคนิค ในการจำแนกสายต้นของมะเดื่อ จากการทดลองเปรียบเทียบระหว่างเทคนิค RAPD และ AFLP ของกลุ่มผู้ทดลองหลายๆ กลุ่ม พบว่า เทคนิคที่ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันจำนวนมาก (high polymorphic bands) จะสามารถจัดกลุ่มได้รายละเอียดชัดเจน ถูกต้อง และสอดคล้องกับประวัติพันธุ์

จากการทดลองนี้ได้เลือกใช้เทคนิค HAT-RAPD ซึ่งเป็นเทคนิคที่ปรับปรุงมาจากเทคนิค RAPD โดยทั่วไป ที่มีการใช้อุณหภูมิในขั้นตอน annealing ที่อุณหภูมิ 35-42°C เพิ่มขึ้นมาเป็น 46-62°C โดยเทคนิคนี้ให้ high resolution, reproducibility, และ polymorphism (Anuntalabhochai *et al.*, 2000) ดังนั้นจึงเลือกใช้ HAT-RAPD มาใช้ในการศึกษาในการทดลองที่ 3 เพราะมีความสะดวก รวดเร็ว และประหยัดค่าใช้จ่าย

การทดลองที่สาม การศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของลำไย 20 พันธุ์ ด้วยเทคนิค HAT-RAPD จากการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค HAT-RAPD โดยการใช้ 10 ไพรเมอร์ ได้แก่ OPA13 OPAK10 OPB18 OPG13 OPT15 OPW06 OPW09 OPX01 OPX15 และ OPZ01 (ภาพ 11 และภาพ 14-16) และเมื่อนำข้อมูล (ตาราง 3 ภาคผนวก) ด้วยการวิเคราะห์ cluster analysis และแสดงความสัมพันธ์ด้วยวิธี UPGMA เสนอเป็น dendrogram (ภาพ 17) พบว่าสามารถจำแนกความแตกต่างลำไยทั้ง 20 พันธุ์ได้ โดยมีการแบ่งกลุ่มออกตามลำดับความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ได้แก่กลุ่มพันธุ์คอทั้งหมด มีจำนวน 10 พันธุ์
แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อยดังนี้

กลุ่มย่อยที่ 1.1 ได้แก่พันธุ์ คอนครพนม คอน่าน คอ คอลำพูน 01
คอเซียงราย 13 และสีชมพู

กลุ่มย่อยที่ 1.2 ได้แก่พันธุ์ เหั่ว คอหังฉัตร 46 คอหลวง และ สุขุม

กลุ่มที่ 2 แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มย่อย ดังนี้

กลุ่มย่อยที่ 2.1 ได้แก่พันธุ์ สกเกียน

กลุ่มย่อยที่ 2.2 ได้แก่พันธุ์ ลิ่นจี กะทิ และเปี้ยวเขียว

กลุ่มย่อยที่ 2.3 ได้แก่พันธุ์ พวงทอง และพวงทอง 05

กลุ่มสุดท้าย คือ กลุ่มที่ 3 แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อย ดังนี้

กลุ่มย่อยที่ 3.1 ได้แก่สายพันธุ์นราภิรมย์ และพันธุ์เพชรสาคร

กลุ่มย่อยที่ 3.2 ได้แก่พันธุ์ เวียดนาม และปึงปอง

กลุ่มที่ 1 ได้แก่ กลุ่มพันธุ์คอทั้งหมด เนื่องจากพันธุ์คอในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่ได้มีการนำ
กิ่งพันธุ์มาจากแหล่งปลูกเดียวกันคือจากจังหวัดลำพูน และมีการคัดเลือกเพื่อส่งเสริมการปลูกจาก
การประกวดในงานเกษตรประจำปี และได้กระจายไปเก็บรักษาพันธุ์เพาะปลูกตามศูนย์วิจัยพืชสวน
หรือสถานีวิจัยพืชสวนในจังหวัดต่างๆ ต้นลำไยอาจมีการปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมที่ปลูกรวม
ทั้งได้มีการคัดเลือกพันธุ์ของคนในท้องถิ่น จึงมีการตั้งชื่อแยกเป็นพันธุ์ต่างๆ ในภายหลัง เช่น พันธุ์
คอนครพนมและคอน่าน ซึ่งปลูกที่สถานีวิจัยพืชสวนจังหวัดนครพนม และจังหวัดน่าน ดังนั้นจึงมี
การแสดงความใกล้ชิดในระดับพันธุกรรมเป็นอย่างมาก ส่วนพันธุ์เหั่ว ซึ่งไม่สามารถจำแนกออก
จากพันธุ์คอต่างๆ ได้อย่างชัดเจน โดยได้ตรวจสอบประวัติพันธุ์กับนักวิชาการ พบว่าต้นที่เก็บตัว
อย่างมามีลักษณะของใบเหมือนกับใบของพันธุ์คอยอดแดงที่เกษตรกรส่วนใหญ่ไม่นิยมปลูกกัน
แล้ว จึงมีการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอกับพันธุ์คอยอดแดง พบว่า ไม่มีความแตกต่างกัน ซึ่งคาด
ว่าอาจมีความผิดพลาดในการระบุชื่อพันธุ์หรืออาจมีการปะปนมาจากแหล่งปลูก หรือมีการสับสน
ในการจัดการจากแหล่งปลูก เช่นเดียวกับพันธุ์สีชมพู ซึ่งมีลักษณะบางประการคล้ายคลึงกับพันธุ์
คอยอดแดง และมีข้อสันนิษฐานอีกข้อหนึ่งว่าพันธุ์สีชมพู และพันธุ์เหั่วอาจมาจากแหล่งเดียวกัน
เข้ามาในประเทศไทยพร้อมกัน (บุญถม และมนตรี, การติดต่อส่วนตัว)

กลุ่มที่ 2 แบ่งออกเป็นกลุ่มย่อยๆ ได้ 3 กลุ่ม

กลุ่มย่อยที่ 2.1 ได้แก่พันธุ์ สกเกียน เป็นพันธุ์การค้าที่มีต้นกำเนิดมาจากเมืองสกเกียน
ประเทศจีน และนักวิชาการได้นำกิ่งพันธุ์มาปลูกเพื่อเก็บรวบรวมเพื่อศึกษาลักษณะต่างๆ ทางด้าน

สถานวิทยา ลักษณะทางพันธุกรรม เพื่อเปรียบเทียบกับลักษณะสายพันธุ์ลำไยของไทย (บุญแถม และมนตรี, การติดต่อส่วนตัว)

กลุ่มย่อยที่ 2.2 ได้แก่ พันธุ์ ลิ้นจี่ กะทิ และพันธุ์เบี้ยวเขียว เนื่องจาก พันธุ์ลิ้นจี่ และ พันธุ์กะทิ เป็น พันธุ์ที่เกิดมาด้วยการเพาะจากเมล็ดของพันธุ์เบี้ยวเขียว แต่มีลักษณะพิเศษเฉพาะที่แตกต่างกันออกไป พันธุ์กะทินั้นมีลักษณะของเนื้อเหมือนมะพร้าว ส่วน พันธุ์ลิ้นจี่ (ซึ่งปัจจุบันมีอีกชื่อ คือ พันธุ์บ้านโสง 60) มีลักษณะผิวของผลขรุขระคล้ายผิวของผลลิ้นจี่และเวลาลอกเปลือกผลออกจะมีเยื่อเป็นแผ่นบางๆ คล้ายกับในผลของลิ้นจี่ จากลักษณะดังกล่าวจึงมีการตั้งชื่อใหม่ตามลักษณะที่พบเห็น (บุญแถม และมนตรี, การติดต่อส่วนตัว)

กลุ่มย่อยที่ 2.3 ได้แก่พันธุ์ พวงทอง และพวงทอง 05 โดยพวงทอง 05 เกิดจากพันธุ์พวงทองที่มีคัดเลือกพันธุ์ด้วยการเพาะเมล็ด และได้คัดเลือกปรับปรุงพันธุ์ดีไว้เป็นสายต้น และชนะการประกวดในงานเกษตรประจำปี จึงมีการตั้งรหัสหมายเลข 05

และกลุ่มสุดท้าย กลุ่มที่ 3 แบ่งเป็นกลุ่มย่อยๆ ได้ 2 กลุ่ม

กลุ่มย่อยที่ 3.1 ได้แก่ สายพันธุ์นราภิรมย์ และพันธุ์เพชรสาคร พบว่า ไม่มีแถบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลความแตกต่างกัน อีกทั้งลักษณะภายนอก (morphology) เหมือนกันมาก คาดว่า น่าจะเป็นสายพันธุ์เดียวกัน แต่ได้ถูกนำไปปลูกต่างสถานที่ จึงมีการตั้งชื่อใหม่ ทั้งสายพันธุ์นราภิรมย์ และพันธุ์เพชรสาคร เป็นลำไยที่ปลูกมากที่จังหวัดสมุทรสาคร มีลักษณะรูปทรงและขนาดของใบเล็ก มีกลิ่นแรง แต่ขนาดของผลใหญ่กว่า เนื้อฉ่ำน้ำคล้ายลำไยเครือ (รวิ, 2540) โดยมีสภาพพื้นที่ปลูกมีความสูงกว่าระดับน้ำทะเลประมาณ 100 เมตร ส่วนส่วนใหญ่ยกร่องแปลงปลูกสภาพดินปลูกเป็นดินเหนียวจัด ผลผลิตออกนอกฤดู สุกเร็วกว่าลำไยพันธุ์อื่นๆ มีลักษณะที่คล้ายคลึงกับลำไยเวียคนาม คือ มีน้ำมาก เนื้อและ มีกลิ่นแรงกว่าลำไยปกติ และมีการควั่นกิ่งเพื่อเร่งการออกดอก (เปรมปรี, 2538 ; ประทีป, 2540 ; บุญแถม และมนตรี, การติดต่อส่วนตัว)

สำหรับสายพันธุ์ปิงปอง และ พันธุ์เวียคนามนั้น เป็น พันธุ์ที่มีต้นกำเนิดมาจากตอนใต้ของประเทศเวียดนาม โดยสายพันธุ์ปิงปองนี้มีชื่อเดิมที่เกษตรกรและนักวิชาการรู้จักทั่วไปชื่อพันธุ์ ชวงเกิมหว่าง (เปรมปรี, 2540 ; บุญแถม และมนตรี, การติดต่อส่วนตัว) จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางพันธุกรรมของลำไย 20 พันธุ์ โดยใช้เทคนิค HAT-RAPD ด้วยการใช้ในแต่ละไพรเมอร์ พบว่า การมีจำนวนของแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย เช่น ไพรเมอร์ OPA13 มีเพียง 24 แถบ และไพรเมอร์ OPG13 มีเพียง 18 แถบ ทำให้การจำแนกกลุ่มของพันธุ์ลำไยไม่สอดคล้องกับประวัติพันธุ์ จึงต้องเพิ่มปริมาณไพรเมอร์ เพื่อจะได้มีจำนวนของ

แถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่แตกต่างกันมากขึ้น การวิเคราะห์ก็จะสามารถสอดคล้องไปในทิศทางเดียวกับประวัติพันธุ์

จากข้อมูลทั้งหมดที่ได้จากการวิเคราะห์ และแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลำไยเป็น dendrogram ทำให้พบว่า ไม่ว่าจะสุ่มเลือกใช้ไพรเมอร์ OPA13 OPAK10 OPG13 OPB18 OPT15 OPW06 OPW09 OPX15 OPX15 หรือ OPZ01 ก็สามารถแยกความแตกต่างของลำไยทั้ง 20 พันธุ์ได้ และเมื่อนำข้อมูลจำนวนของแถบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันถึง 163 แถบ ในแต่ละไพรเมอร์มาวิเคราะห์ร่วมกัน ได้ทำให้การจัดกลุ่มความสัมพันธ์สอดคล้องตามประวัติพันธุ์ และการเลือกแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน หมายถึง การเลือกเอาแถบดีเอ็นเอที่ไม่มีปรากฏในทุกสายพันธุ์ 1 แถบดีเอ็นเอ ถือว่าเป็นการตัวแทน 1 ลักษณะ (character) ยังมีจำนวนการมีแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันมาก ยิ่งช่วยให้บ่งบอกหรือจำแนกความแตกต่างของ.. พันธุ์ลำไยได้ดีขึ้น ดังนั้นการเพิ่มจำนวนไพรเมอร์มากขึ้น จึงทำให้ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันมีมากขึ้นด้วย ช่วยให้การวิเคราะห์ผลก็จะมีความสอดคล้องกับประวัติพันธุ์ได้ชัดเจน และมีความน่าเชื่อถือมากยิ่งขึ้น

จากผลการศึกษาี้แสดงให้เห็นว่าการใช้ molecular markers สามารถจะช่วยสนับสนุนการจำแนกสายพันธุ์พืชต่างๆ เช่น ลำไยได้ชัดเจน ดังนั้นวิธีการนี้สามารถนำมาใช้สนับสนุนงานด้านอนุกรมวิธานของลำไย หรือพืชชนิดอื่นๆ ที่มีลักษณะภายนอกที่ใกล้เคียงกันมากได้สะดวกขึ้น อย่างไรก็ตาม ไม่สมควรที่จะนำไปใช้ในการบ่งบอกหรือจัดจำแนกพันธุ์พืชที่มีความแตกต่างทางลักษณะภายนอกได้เด่นชัดแล้ว

ประโยชน์ที่ได้รับในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้

1. สามารถบ่งบอกหรือจำแนกความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ลำไยที่นำมาศึกษาได้ในระดับอนุชีวโมเลกุล
2. รวบรวมลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไยแต่ละพันธุ์ที่ได้ เพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุนงานทางด้านอนุกรมวิธาน (Taxonomy) และสำหรับหน่วยงานต่างๆ ที่ต้องการข้อมูลเบื้องต้นเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป
3. กรณีสานด้านการปรับปรุงพันธุ์ สายพันธุ์ที่ใกล้ชิดกันมากเมื่อนำมาผสมพันธุ์กันไม่เกิดลักษณะที่เป็นประโยชน์ สามารถนำมาตรวจสอบได้ก่อน เพื่อลดการระยะเวลา

ข้อเสนอแนะ เนื่องจากวิธีการที่ใช้ในการศึกษาค้นคว้านี้เป็นการบอกความแตกต่างของลำไยต่างพันธุ์ การนำไปใช้ประโยชน์จะมากขึ้น จึงควรมีการทำงานต่อเนื่องต่อไป โดยการหาตัวบ่งชี้ หรือบ่งบอกเจาะจง (probe หรือ genetic markers) เพื่อนำไปใช้ในการตรวจสอบเฉพาะพันธุ์ลำไยต่อไป

สรุปผลการทดลอง

1. การเปรียบเทียบแถบลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ได้แก่ ใบ เนื้อ เปลือกผล และเมล็ด โดยเทคนิค HAT-RAPD ด้วยการใส่ 3 ไพรมเมอร์ ไม่พบแถบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน แต่ผลจากเทคนิค AFLP ด้วยการใส่ 4 คู่ไพรมเมอร์ พบว่า มีแถบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันในแต่ละชนิดของเนื้อเยื่อทั้ง 4
2. เปรียบเทียบผลจากการวิเคราะห์จากลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ระหว่างเทคนิค HAT-RAPD และ AFLP พบว่า ทั้ง 2 เทคนิคสามารถจัดกลุ่มลำไย 9 พันธุ์ ออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ เหมือนกัน แต่ผล การวิเคราะห์จากการใช้เทคนิค HAT-RAPD มีแถบดีเอ็นเอจำนวนมาก สามารถจัดกลุ่มความสัมพันธ์ใกล้ชิดของลำไยได้ชัดเจน มีรายละเอียดถูกต้อง ในขณะที่เมื่อวิเคราะห์ด้วยเทคนิค AFLP ที่ใช้เพียง 1 คู่ไพรมเมอร์ และให้จำนวนแถบดีเอ็นเอน้อยกว่า จึงไม่สอดคล้องกับประวัติ พันธุ์ลำไย
3. เทคนิค HAT-RAPD เลือกใช้ไพรมเมอร์ ได้แก่ OPA13 OPAK10 OPB18 OPG13 OPT15 OPW06 OPW09 OPX01 OPX15 และ OPZ01 สามารถจำแนกลำไย 20 พันธุ์ได้ และสอดคล้องกับประวัติพันธุ์