

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

สตรอเบอรี่เป็นไม้ผลล้มลุกขนาดเล็กมีอายุหลายปี (สังคม, 2532) เป็นไม้กึ่งที่มีระบบรากค่อนข้างสั้น ประกอบด้วยสองส่วนคือ ส่วนที่อยู่ใต้ดินคือราก และส่วนที่อยู่เหนือดินคือลำต้น ซึ่งประกอบไปด้วยลำต้นที่แท้จริง ใบ ดอก ผล และไหล พันธุ์ที่นิยมปลูกเป็นการค้าเป็นกลุ่มที่มีจำนวนโครโมโซม 8 ชุด (octoploid; $2n=8x=56$) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Fragaria x ananassa* Duch. ซึ่งเกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่างสตรอเบอรี่พันธุ์พื้นเมืองของสหรัฐอเมริกา 2 ชนิดคือ *F. chiloensis* (L.) Duch. กับ *F. virginiana* Duch. อยู่ใน family Rosaceae, sub-family Rosoideae และ Tribe Potentilleae (ชูพงษ์, 2531)

1. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ราก

สตรอเบอรี่เป็นพืชที่มีระบบรากตื้นมาก รากหาอาหารมีขนาดเล็กอยู่ใต้ระดับผิวดินลึกลงไปเล็กน้อยและแผ่ออกเป็นวงรอบๆต้น มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 ฟุตเท่านั้น (สังคม, 2532)

ลำต้น

มีลักษณะสั้น มีหลายข้อที่อยู่ชิดกันมาก ลำต้นมีเนื้อเยื่อกลุ่มของเซลล์ที่อ่อน้ำที่อาหารที่มีลักษณะเป็นรูปทรงกระบอกและโคนก้านใบจะเชื่อมกับท่อน้ำที่อาหาร บริเวณข้อมีตา (bud) อยู่ 3 ชนิด คือตาที่เจริญเติบโตไปเป็นลำต้นใหม่ ตาที่เจริญเติบโตไปเป็นไหล และตาที่เจริญเติบโตไปเป็นดอกและผล (สังคม, 2532)

ใบ

ใบเป็นใบประกอบแบบมี 3 ใบย่อย (trifoliate) รูปร่างของแผ่นใบย่อยมีลักษณะรูปไข่จนถึงค่อนข้างกลม ขอบใบมีลักษณะเป็นหยักซี่ฟัน (dentate) เล็กๆ เกิดที่ปานกลาง ส่วนฐานของใบย่อยมีขอบเรียบ ใบย่อยกลางมีฐานใบเป็นรูปกลม ส่วนใบย่อยข้างๆ มีฐานรูปไข่ (oblique) (วิจิตร, 2526) มีปากใบอยู่ที่ผิวด้านล่างของแผ่นใบ การจัดเรียงตัวของใบ (phyllotaxy) เป็น 2/5 ก้านใบยาว

เกิดขึ้นรอบๆ ต้น (Darrow, 1966) พูใบมีขนาดใหญ่อยู่ที่ฐานของก้านใบ สีนํ้าตาลคล้ำ ทำหน้าที่ปกคลุมราก (Westwood, 1978)

ดอก

ดอกเกิดเป็นช่อ ช่อดอกเป็นแบบช่อกระจุก (cyme) มีการแตกแขนงหลายชั้น โดยมีดอกย่อยเกิดซ้ำซ้อนกัน 3-4 ชั้น ก้านช่อดอกมีความยาวใกล้เคียงกับก้านใบ มีความยาว 6-8 นิ้ว ก้านดอกย่อยยาวเรียว มีขนาดเล็ก (สังคม, 2532; ชูพงษ์, 2531; สุรัชย์, 2535) สดรอเบอร์รี่มีทั้งดอกตัวผู้ ดอกตัวเมีย และดอกสมบูรณ์เพศ ดอกย่อยประกอบด้วย ฐานรองดอก กลีบเลี้ยงสีเขียวมี 2 ชั้น จำนวน 10-12 กลีบ กลีบดอกสีขาวจำนวน 5 กลีบ เกสรตัวผู้มีประมาณ 20 อัน อันเกสรสีเหลืองมีสีเหลืองซีดเมื่อแก่ และหมดสภาพหลังดอกบาน เกสรตัวเมียจัดเรียงอย่างมีระเบียบบนฐานรองดอกประกอบด้วยรังไข่แบบ superior จำนวนมาก ยอดเกสรตัวเมียมีลักษณะหยาบและเหนียว ในสภาพอากาศเย็นสามารถรอรับการผสมเกสรได้นานถึง 10 วัน เมื่อไข่อ่อน (ovule) ได้รับการผสมเกสรจะกระตุ้นให้ฐานรองดอกขยายตัวออกและมีลักษณะนํ้า ที่จะเจริญเป็นผล (สังคม, 2532; Shoemaker, 1955; ชูพงษ์, 2531)

ผล

ผลเกิดจากการเจริญเติบโตของฐานรองดอก (ประสาทร และปัจฉิมา, 2532) แต่ละผลพัฒนามาจากดอกแต่ละดอกเกิดเป็นผลกลุ่ม (aggregate fruits) ผลกลุ่มเป็นผลที่เจริญมาจากดอกเดี่ยวแต่มีหลายรังไข่ สดรอเบอร์รี่ 1 ผลมีรังไข่หลายอัน แต่ละรังไข่มี 1 เมล็ด (ธนัท, 2534) เมล็ดที่อยู่รอบนอกคือผลที่แท้จริง ผลย่อยเป็นแบบ achene ผลย่อยแต่ละผลเจริญมาจากแต่ละรังไข่ที่อยู่บนฐานรองดอก

ผลสดรอเบอร์รี่มีรูปร่างได้หลายแบบ คือ กลมแป้น กลม กลมปลายแหลม แหลม แหลมยาว ยาวมีคอ ลมยาว ลมสั้น เมื่อผลสุกจะมีสีแดงสด ลักษณะนํ้า รสหวานอมเปรี้ยว มีกลิ่นหอม เมล็ดสีเขียวอมเหลือง จนถึงเหลืองอมแดง น้ำหนักประมาณ 8-15 กรัม (พรัช 2523; ประสาทรและปัจฉิมา, 2532)

ไหล

ไหลของสดรอเบอร์รี่เป็นส่วนลำต้นที่มีรูปร่างและทำหน้าที่พิเศษ ไหลแตกออกมาจากตาของลำต้น ตามข้อของไหลแต่ละช่วงจะเกิดมีต้นสดรอเบอร์รี่ต้นลูกที่สามารถแตกรากได้ การสร้างไหลของสดรอเบอร์รี่ควบคุมด้วยสภาพความยาวของวันด้วยกระบวนการเกี่ยวกับการชักนำให้เกิดตา ดอก แต่เกิดขึ้นในลักษณะตรงกันข้าม การสร้างไหลจะตอบสนองกับสภาพวันยาวและอุณหภูมิอบอุ่นในฤดูร้อน โดยจะหยุดการสร้างไหลเมื่อสภาพวันสั้นลงและอุณหภูมิต่ำลงและเปลี่ยนเป็นชักนำให้เกิดตาดอกแทน (สังคม, 2532)

2. พันธุ์ที่ปลูกในประเทศไทย

การเลือกพันธุ์สตรอเบอร์รี่ให้เหมาะสมกับพื้นที่ปลูก เป็นกุญแจสำคัญของความสำเร็จในการปลูกสตรอเบอร์รี่ เดิมพันธุ์สตรอเบอร์รี่ที่ปลูกเป็นพันธุ์พื้นเมือง เป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตต่ำ ผลขนาดเล็ก สีผิวด้าน หรือคล้ายสีปูนแห้ง ข้าง่าย เนื้อผลนุ่มซึ่งเป็นปัจจัยจำกัดการพัฒนาการปลูกสตรอเบอร์รี่ มูลนิธิโครงการหลวงจึงได้มีการนำพันธุ์จากต่างประเทศเข้ามาทดลองปลูก เมื่อปีพ.ศ. 2515 สามารถคัดเลือกพันธุ์ที่มีการปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมของประเทศไทย (แถบเชียงใหม่และเชียงราย) นั้น คือ พันธุ์พระราชทานเบอร์ 13 (Cambridge Favorite) เบอร์ 16 (Tioga) เบอร์ 20 (Sequoia) โดยพันธุ์ Cambridge Favorite และ Sequoia ต้องการอากาศหนาวเย็นยาว เพื่อการพัฒนาตาดอก จึงเหมาะกับอากาศที่อยู่บนที่สูงในระดับความสูงตั้งแต่ 1,300 เมตรเหนือระดับน้ำทะเลขึ้นไป ส่วนพันธุ์ Tioga เป็นพันธุ์ที่เหมาะสมกับอากาศค่อนข้างอบอุ่น จึงเหมาะกับสภาพพื้นราบทางภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่และเชียงราย (ชูพงษ์, 2531; สังคม, 2532)

หลังจากนั้นก็ยังมีการนำพันธุ์ต่างๆเข้ามาทดลองปลูกอีกมากมายทั้งจากอเมริกาและญี่ปุ่น และได้พันธุ์ที่ปรับตัวได้ดีอีก 2 พันธุ์คือ Toyonoka หรือพันธุ์พระราชทาน 70 และพันธุ์ B5 หรือพันธุ์พระราชทาน 50 ปัจจุบันพันธุ์สตรอเบอร์รี่ที่ปลูกกันเป็นการค้าส่วนใหญ่ในบ้านเราจึงมีทั้งพันธุ์พระราชทาน 16, 20, 50 และ 70

พันธุ์ Tioga (พันธุ์พระราชทานเบอร์ 16)

เป็นพันธุ์ที่เหมาะสมสำหรับพื้นที่ราบทั่วไปทางภาคเหนือหรือจังหวัดที่มีอากาศเย็นไม่มากนัก เนื่องจากไม่ต้องการอากาศเย็นในการชักนำให้สร้างตาดอกมากเท่ากับพันธุ์อื่นๆ ลักษณะของพันธุ์คือ ให้ผลดก และมีผลขนาดใหญ่กว่าพันธุ์พื้นเมืองเดิม รูปร่างผลกลม กรวยสั้นถึงกรวยหรือลิ่มสั้น (ประสาทรและคณะ, 2540) ผลมีสีแดงสด ซึ่งเป็นที่นิยมของผู้บริโภค เนื้อผลแข็งแน่น ทำให้ทนทานต่อการบรรจุและการขนส่งสู่ตลาด ราคาดีกว่าพันธุ์พื้นเมือง จำนวนดอกต่อช่อมาก ทำให้ติดผลมาก ผลมีขนาดเล็กปานกลาง น้ำหนักผลระหว่าง 15 ถึง 20 กรัม ผิวสีแดงเป็นมันและเหนียวทำให้ไม่ละลาย เนื้อผลสีขาว รสออกเปรี้ยว คุณภาพในการแปรรูปดีจึงเหมาะที่จะส่งโรงงานและยังทนทานต่อโรคไวรัส (สังคม, 2532) มีถิ่นกำเนิดมาจากประเทศสหรัฐอเมริกา (ชูพงษ์, 2531)

พันธุ์พระราชทานเบอร์ 50

จัดอยู่ในกลุ่มพันธุ์หนัก ออกผลช้ากว่าพันธุ์อื่นที่เป็นพันธุ์เบา ผลขนาดปานกลางถึงใหญ่ เนื้อแข็ง กลิ่นหอม รสออกหวานอมเปรี้ยว หากปลูกในพื้นที่สูงหรือช่วงที่อุณหภูมิต่ำจะมีรสหวาน

มากขึ้น ต้องการอุณหภูมิต่ำพอสมควรในการชักนำให้เกิดการสร้างตาออกในชุดต่างๆ สามารถใช้เพื่อการบริโภคนิสต์และส่งโรงงาน (ประสาทร, 2538) มีถิ่นกำเนิดจากแคลิฟอร์เนีย ประเทศสหรัฐอเมริกา (ประสาทรและคณะ, 2540)

พันธุ์พระราชทาน 70 (Toyonoka)

เป็นพันธุ์ที่มีผลขนาดปานกลาง ทรงเป็นกลมสวย ผิวค่อนข้างบาง เป็นมัน กลิ่นหอม รสออกหวาน หากปลูกในพื้นที่สูงหรือช่วงที่อุณหภูมิต่ำจะมีรสหวานมากขึ้น เหมาะต่อการบริโภค ก่อนข้างอ่อนแอต่อโรและเพลี้ยไฟ (ประสาทร, 2538) มีถิ่นกำเนิดมาจากประเทศญี่ปุ่น (ชูพงษ์, 2531)

พันธุ์ Nyoho

เป็นพันธุ์ที่นำเข้ามาจากประเทศญี่ปุ่น ต้องการอากาศเย็น จึงจะให้ผลผลิตดี จำนวนดอกต่อช่อต่ำกว่าพันธุ์ Tioga เป็นพันธุ์ที่ออกผลเร็ว จึงเหมาะที่จะปลูกเพื่อตลาดบริโภค ประกอบกับความหวานดีกว่าพันธุ์ Tioga ผลสีส้มแดง ลักษณะเป็นกรวย รูปร่างสวย ผิวมัน มีรสหวานน่าเปรี้ยว กลิ่นหอมกว่าพันธุ์อื่นๆ ขนาดปานกลางถึงใหญ่ เนื้อแข็งปานกลาง ทนต่อการขนส่งได้ปานกลาง ข้อด้อยของพันธุ์นี้ คือ ไม่ทนต่อโรแดงและโรคเหี่ยวกับโรคไหม้แดง (ประสาทร, 2538) มีถิ่นกำเนิดมาจากประเทศญี่ปุ่น (ชูพงษ์, 2531)

พันธุ์ Selva

เป็นพันธุ์ที่มีเนื้อสีแดงหรือส้มแดง เนื้อแข็ง รสออกเปรี้ยว แต่จะหวานเมื่อเก็บช่วงแก่จัด ผลขนาดปานกลางถึงใหญ่ เหมาะที่จะทำการแปรรูปชนิดต่างๆ ยังมีการปลูกไม่แพร่หลาย อ่อนแอต่อโรและเพลี้ยไฟมาก ต้องการความเย็นเพื่อการชักนำการสร้างตาออก จึงควรปลูกในพื้นที่ค่อนข้างสูง (ประสาทร, 2538) มีถิ่นกำเนิดจากแคลิฟอร์เนีย ประเทศสหรัฐอเมริกา (Chemda *et al.*, 1998)

พันธุ์ Questa

เป็นพันธุ์ที่มีผิวสีแดง เนื้อสีแดงถึงแดงเข้ม ลักษณะผลเป็นรูปร่างกรวย ถึงกรวยสั้น หรือกลมถึงกลมยาว ขนาดผลเล็กถึงปานกลาง ทรงพุ่มโปร่งมากถึงแน่น มีการแตกไหลน้อย (ประสาทร, 2538) มีถิ่นกำเนิดจากแคลิฟอร์เนีย ประเทศสหรัฐอเมริกา (Chemda *et al.*, 1998)

พันธุ์ป่าผลสีแดง

เป็นพันธุ์ที่บริโภคสด ชอบอากาศเย็น ให้ผลดก ผลมีสีแดง ผลมีขนาดเล็ก ทรงผลเป็นรูปกรวย ปลายผลแหลม มีรสหวาน กลิ่นหอมมาก ลำต้นมีสีแดง มีการปลูกยังไม่แพร่หลายนัก ลักษณะเด่น ไม่แตกไหลแต่แตกกอจำนวนมาก มีถิ่นกำเนิดจากทางยุโรป

พันธุ์ป่าผลสีเหลือง

เป็นพันธุ์ที่บริโภคสด ชอบอากาศเย็น ให้ผลดก ผลมีสีเหลือง ผลมีขนาดเล็ก ทรงผลเป็นรูปกรวย ปลายผลแหลม มีรสหวาน กลิ่นหอมมาก ลำต้นมีสีเหลือง มีการปลูกยังไม่แพร่หลายนัก ลักษณะเด่น ไม่แตกไหลแต่แตกกอจำนวนมาก

3. การตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

เป็นวิธีการที่พัฒนาขึ้นใช้ครั้งแรกโดย Jeffreys *et al.* ในปี ค.ศ. 1985 เพื่อใช้บ่งบอกลักษณะจำเพาะของแต่ละบุคคลด้วยดีเอ็นเอและพบว่าลายพิมพ์ดีเอ็นเอจะเป็นเอกลักษณ์ของแต่ละบุคคล ไม่มีโอกาสที่บุคคลคู่ใดหรือสิ่งมีชีวิตคู่ใดจะมีลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เหมือนกัน ยกเว้นฝาแฝดที่เกิดจากไข่ใบเดียวกัน (monozygotic twins) หรือพืชที่เกิดจากการสืบพันธุ์โดยไม่ใช้เพศ ในปัจจุบันนี้ได้มีการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอในพืชและสัตว์หลายชนิด และเป็นที่ยอมรับกันอย่างกว้างขวาง เนื่องจากดีเอ็นเอที่ปรากฏในลายพิมพ์นั้นมีการถ่ายทอดตามกฎของเมนเดล (สุรินทร์, 2539)

การตรวจสอบในระดับดีเอ็นเอมีข้อได้เปรียบกว่าการตรวจสอบในระดับอื่นๆ เช่น การตรวจสอบโดยอาศัยลักษณะทางกายภาพหรือฟีโนไทป์ของพันธุ์พืชนั้นอาจมีอิทธิพลของสภาพแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้องทำให้การจำแนกสายพันธุ์โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียวทำได้ยาก และอาจเกิดความคลาดเคลื่อนได้ ส่วนการตรวจสอบสายพันธุ์ของสิ่งมีชีวิตในห้องปฏิบัติการด้วยวิธีอื่นๆ ได้แก่ การใช้อิเล็กโทรโฟรีซิส ของไอโซไซม์ (Bassiri, 1976; Stegeman, 1984; สมิต และประวิทย์, 2532) อิเล็กโทรโฟรีซิสของโปรตีนที่สะสมในเมล็ด (Ladizingky and Hymowitz, 1979) และ High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ของโปรตีนในเมล็ด (Burnouf and Bietz, 1987) เทคนิคเหล่านี้จะมีข้อจำกัดตรงที่ไม่สามารถแยกความแตกต่างของสายพันธุ์ที่มีความใกล้ชิดกันทางจีโนไทป์ได้ และเมื่อเปรียบเทียบกับ การตรวจสอบในระดับดีเอ็นเอแล้วจะสามารถวิเคราะห์จากส่วนของพืชก็ได้ โดยจะไม่ขึ้นกับเนื้อเยื่อ ระยะการเจริญเติบโต และสภาพแวดล้อม และสามารถตรวจสอบได้ทั้งส่วนของยีนและส่วนที่ไม่ใช่ยีน โดยการตรวจสอบดีเอ็นเอนี้อาศัยหลักการที่ว่าโมเลกุลดีเอ็นเอสามารถจำลองตัวเองได้อย่างถูกต้องแม่นยำ เพื่อถ่าย

ทอดไปสู่เซลล์ลูกและคงสภาพที่เหมือนเดิมตลอดไป แต่บางครั้งเนื่องจากสภาพแวดล้อมหรือข้อผิดพลาดของเซลล์เองทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสแต่ละตัวภายในสายดีเอ็นเอ หรือเปลี่ยนแปลงชิ้นดีเอ็นเอขนาดใหญ่ หรือเปลี่ยนแปลงในระดับของโครโมโซม เช่น มีชิ้นส่วนดีเอ็นเอหรือโครโมโซมหายไป (deletion) มีบางส่วนของดีเอ็นเอเพิ่มขึ้นมา (insertion) มีการจัดเรียงตัวใหม่ของส่วนดีเอ็นเอภายในโครโมโซม (chromosome rearrangement) หรือมีการเปลี่ยนตำแหน่งของดีเอ็นเอบางส่วนภายในโครโมโซมหรือจากต่างโครโมโซม (transposition) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวนี้ทำให้เกิดความหลากหลายภายในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด (สุรินทร์, 2539)

ในปัจจุบันได้มีการใช้เทคนิคต่างๆ ในการตรวจสอบความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตโดยอาศัยความแตกต่างในระดับดีเอ็นเอ ได้แก่ restriction fragment length polymorphism (RFLP) และ random amplified polymorphic DNA (RAPD) การใช้ RFLP marker ประสบผลสำเร็จสำหรับตรวจพิสูจน์พันธุ์ของพืชหลายๆ ชนิด (Bowers *et al.*, 1993; Hubbard *et al.*, 1992; Lavi *et al.*, 1991; Nybom *et al.*, 1989) แต่ยังเป็นวิธีการที่เสียค่าใช้จ่ายสูง เครื่องมือและอุปกรณ์ในการปฏิบัติงานต้องมีเพียงพอ (พรพันธุ์, 2538) สำหรับ RAPD markers มีรายงานครั้งแรกว่าเป็นลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดย Williams *et al.* (1990) และ Welsh and McClelland (1990) เทคนิคนี้มีการเรียกชื่อแบบอื่นได้อีก คือ AC-PCR หรือ arbitrary primed polymerase chain reaction (Welsh and McClelland, 1990) DAF หรือ DNA amplification fingerprinting (Caetano-Anolles *et al.*, 1991) และ MAAP หรือ multiple arbitrary amplicon profiling แต่ละเทคนิคที่เรียกนี้มีข้อแตกต่างกันบ้างในด้านขนาดของ primer ที่ใช้แต่โดยหลักการไม่แตกต่างกันคือใช้ primer ที่มีขนาดสั้นเพียงชนิดเดียวใน polymerase chain reaction (PCR) เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบสุ่ม (สุรินทร์, 2540) และเมื่อนำเทคนิค RFLP มาเปรียบเทียบกับเทคนิค RAPD พบว่าเครื่องมือที่จำเป็นต้องใช้ในเทคนิค RAPD มีราคาไม่แพงไม่มีการใช้ radioisotopes ปริมาณของดีเอ็นเอที่นำมาใช้น้อยกว่า (Weeden, 1991; William *et al.*, 1990) และมีความเหมาะสมในการศึกษาตัวอย่างที่มีจำนวนมาก (Thormann and Osborn, 1992) ด้วยเหตุนี้การวิเคราะห์ RAPD จึงนำมาใช้ในการพิสูจน์พันธุ์พืชและจุลินทรีย์กันอย่างกว้างขวาง

4. เทคนิค Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) ในการตรวจแยกสายพันธุ์พืช

เทคนิค RAPD สามารถนำไปใช้ประโยชน์หลายด้าน เช่น การสนับสนุนการปรับปรุงพันธุ์ การตรวจสอบความแตกต่างของพันธุ์พืช การจำแนกความแตกต่างระหว่างชนิดพืช การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมพืชเมื่อมีการผสมข้ามระหว่างชนิดพืชและใช้ในการศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของพืช เป็นต้น (ภาณี, 2536)

ในการตรวจสอบความแตกต่าง หรือความหลากหลายของจีโนมดีเอ็นเอ ซึ่งถูกทำให้เพิ่มปริมาณโดยปฏิกิริยา PCR แบบสุ่ม ในการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอของจีโนมที่มีความซับซ้อน RAPD นับเป็นวิธีการที่ง่ายที่สุด โดยการใช้เทคนิค PCR เนื่องจากไม่จำเป็นต้องรู้ข้อมูลลำดับเบสของจีโนมที่กำลังศึกษา กลุ่มของชิ้น arbitrary primer สั้นๆ (ประมาณ 10 เบส) จะถูกเลือกแบบสุ่มมาใช้เป็น primer ในการทำปฏิกิริยา PCR ใช้เพียง primer เดียว ในแต่ละปฏิกิริยา โดยการใช้อุณหภูมิในขั้นตอน annealing ให้ต่ำกว่าปฏิกิริยา PCR ทั่วไป (ประมาณ 36-42 องศาเซลเซียส) primer ที่ใช้เป็นรหัสเริ่มต้นมีขนาดสั้น จึงสามารถเข้ากับเส้นดีเอ็นเอต้นแบบได้หลายตำแหน่ง โดยรูปแบบจำเพาะเจาะจงน้อย (low specific primer) ทั้งทั้งจีโนมที่กำลังศึกษา หากมีทิศทางที่เหมาะสม (5'→3') ระยะห่างระหว่างจุดที่จับของ primer บนจีโนมพอเหมาะ (200-2000 คู่เบส) ก็จะมีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในบริเวณนั้นๆ ซึ่งความแตกต่างของสารดีเอ็นเอเริ่มต้นได้ก่อให้เกิดความแตกต่าง ในความสามารถของการเกิดการจำลองตัว และขนาดชิ้นดีเอ็นเอที่ถูกจำลองตัว เกิดผลเป็นรูปแบบของแถบดีเอ็นเอ หลากหลายรูปแบบ เมื่อนำมาแยกขนาดบนแผ่นวุ้นอะกาโรส (gel electrophoresis) เมื่อรวบรวมข้อมูลของแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการทำปฏิกิริยา PCR โดยใช้ primer จำนวนหนึ่ง ก็จะสามารถนำมาใช้บอกความแตกต่างระหว่างชนิด (species) หรือระหว่างสายพันธุ์ (cultivar) ได้ RAPD มีคุณสมบัติเป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิด dominant marker (สมวงศ์, 2543)

พรพันธุ์ (2538) ได้รายงานประโยชน์ของการใช้เทคนิค RAPD ในการจำแนกพันธุ์พืชไว้ดังนี้

1. สะดวก รวดเร็ว โดยสามารถสกัดดีเอ็นเอจากใบอ่อนของพืช การตรวจสอบสามารถทราบผลได้ทันที ในขณะที่การใช้วิธีการปลูกทดสอบในแปลงปลูกอาจจะต้องรอนกว่าพืชนั้นๆ เจริญเติบโตเต็มที่เสียก่อน
2. สภาพแวดล้อม ไม่มีอิทธิพลต่อดีเอ็นเอของพืช ในขณะที่การใช้เอนไซม์ หรือโปรตีนตรวจสอบ สภาพแวดล้อมจะมีอิทธิพลอย่างมาก
3. วิธีการตรวจสอบไม่ยุ่งยากซับซ้อน การวิเคราะห์ผลอาจพิจารณาจากการปรากฏ หรือไม่ปรากฏของแถบดีเอ็นเอ และสามารถทำการตรวจสอบได้อย่างไม่จำกัด เพียงแค่เปลี่ยน primer โดยที่ส่วนประกอบหรือสภาพแวดล้อมอื่นๆ ของการทดลองจะไม่มีเปลี่ยนแปลงเลย
4. ใช้ตัวอย่างพืชที่จะนำมาตรวจสอบปริมาณน้อยมากโดยเฉพาะพืชผสมตัวเอง ถ้าพืชนั้นมีความสม่ำเสมออยู่แล้ว ใช้ใบอ่อนเพียง 2-3 ใบ ก็เพียงพอที่จะนำมาสกัดดีเอ็นเอ ส่วนพืชผสมข้ามการสุ่มตัวอย่างและความสม่ำเสมอของประชากร เป็นปัจจัยสำคัญในการตรวจสอบ ควรสุ่มตัวอย่างให้มากพอที่จะเป็นตัวแทนของประชากรทั้งหมด

5. เป็นวิธีการทางชีววิธี ที่ไม่ใช่สารกัมมันตภาพรังสี จึงค่อนข้างปลอดภัยสำหรับผู้ปฏิบัติงาน เพียงแต่คอยระวังสารเคมีบางอย่างที่เป็นอันตรายเท่านั้น
6. ไม่จำเป็นต้องใช้ probes ที่เฉพาะเจาะจงของแต่ละพืช เพียงแต่ใช้ primer ซึ่งสามารถนำมาใช้ได้กับพืชทุกชนิด
7. สามารถตรวจสอบได้ทั้ง genome ของพืชซึ่งมีระดับของ polymorphism สูง และทำให้สามารถประเมินการกระจายตัวทางพันธุกรรมของพืชที่นำมาศึกษาได้ อีกทั้งสามารถนำมาตรวจสอบความตรงตามพันธุ์หรือการปลอมปนของพันธุ์ ตลอดจนนำมาประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืช เช่น การหา marker ที่ควบคุมลักษณะที่ต้องการทำให้จัดอิทธิพลของสภาพแวดล้อมออกไปได้ในการคัดเลือกพันธุ์พืช
8. ค่าใช้จ่ายในการตรวจสอบค่อนข้างต่ำ เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้มีไม่มากนักเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการอื่นๆ

5. ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับความสำเร็จของการสังเคราะห์ดีเอ็นเอตามเทคนิค RAPD

1. ความเข้มข้นของ Primer

ความเข้มข้นของ primer ที่พอเหมาะควรอยู่ระหว่าง 0.1- 0.5 μM ถ้าใช้ความเข้มข้นสูงเกินไปจะส่งเสริมให้เกิดการจับคู่ผิดพลาด (mispriming) และมีการสะสมของผลผลิตที่ไม่จำเพาะ (nonspecific products) มากขึ้น (วัชร และมนตรี, 2536)

2. ความเข้มข้นของเอนไซม์ Taq DNA polymerase

เอนไซม์ Taq DNA polymerase เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าที่ซื้อได้จากหลายบริษัทผู้ผลิต ซึ่งอาจมีความแตกต่างในเรื่องของสถานะเหมาะสม (assay condition) และคำนิยามกำหนดหน่วยวัดปฏิกิริยา (unit definition) ดังนั้นเมื่อเริ่มต้นใช้ควรจะทดสอบหาความเข้มข้นที่พอเหมาะของเอนไซม์ ในช่วงตั้งแต่ 0.5-5 ยูนิตต่อ 100 μl และตรวจผลโดยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส (agarose gel electrophoresis) ในการทำ PCR ถ้าใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์สูงเกินไป เป็นผลให้มีการสะสมของผลผลิตที่เป็น nonspecific background เกิดขึ้นมาก แต่ถ้าใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ต่ำเกินไป จะทำให้ได้ผลผลิตที่ต้องการปริมาณน้อย (Saiki and Gelfand, 1989)

3. ความเข้มข้นของ Magnesium ion

ผลของปฏิกิริยา PCR ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของ magnesium ion (Mg^{2+}) ถ้ามีความเข้มข้นในปฏิกิริยามากเกินไป ทำให้มีการเพิ่มขยายผลผลิตที่ไม่จำเพาะเกิดการสะสมมาก แต่ถ้ามีความเข้มข้นน้อยไป จะลดปริมาณผลผลิตที่ต้องการ ทั้งนี้เนื่องจากความเข้มข้นของ Mg^{2+} มีผลต่อการเกิด primer annealing อุณหภูมิที่ทำให้ดีเอ็นเอแม่พิมพ์และผลผลิตจาก PCR แยกออกจากกัน ความจำเพาะของผลผลิตจากแม่พิมพ์ การเกิด primer – dimer artifact และความถูกต้องในการทำงานของเอนไซม์ โดยทั่วไปการทำงานของปฏิกิริยา PCR ต้องการความเข้มข้นของ Mg^{2+} อยู่ระหว่าง 0.5-2.5 mM สำหรับกรณีที่มี dNTP ชนิดละ 200 μ M (Saiki, 1989)

4. ความเข้มข้นของ Deoxynucleotide triphosphates

Deoxynucleotide triphosphates (dNTPs) ที่ใช้ในปฏิกิริยา PCR (dATP, dGTP, dCTP, dTTP) ปกติมีความเข้มข้นของแต่ละชนิดอยู่ระหว่าง 50-200 μ M โดยต้องปรับให้เป็นกลาง (neutralized) ที่ pH 7.0 และวัดความเข้มข้นด้วยเครื่อง UV – spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 260 nm ควรจะเตรียมเป็น primary stock solution มีความเข้มข้นที่ 10 mM แล้วเจือจางเป็น working stock solution มีความเข้มข้น 1 mM แบ่งเป็น aliquots เก็บที่ -20 องศาเซลเซียส เนื่องจาก dNTP สามารถจับกับ Mg^{2+} ดังนั้นความเข้มข้นสุดท้ายของ dNTP ทั้ง 4 ชนิดรวม 0.8 mM ทำให้มีความเข้มข้นของ free Mg^{2+} เหลืออยู่ 0.7 mM จาก 1.5 mM ที่ไม่ได้จับกับ dNTPs ฉะนั้น ถ้าเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ dNTPs มากๆ ควรจะต้องปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของ Mg^{2+} ให้พอเหมาะด้วย dNTPs ทั้ง 4 ชนิดที่มีอยู่ในปฏิกิริยา ควรมีความเข้มข้นของแต่ละชนิดได้สัดส่วนกันอย่างพอเหมาะ เพื่อให้ปฏิกิริยา PCR เกิดขึ้นอย่างจำเพาะถูกต้อง ได้ปริมาณผลผลิตสูงและลดความผิดพลาดในการเรียงลำดับเบสคู่สม (minicorporation errors) (Saiki, 1989)

5. สภาพเหมาะสมของขั้นตอน Primer annealing

อุณหภูมิและระยะเวลาที่ต้องการสำหรับ primer annealing ขึ้นกับลำดับเบส ความยาวและความเข้มข้นของ primer อุณหภูมิสำหรับ annealing ควรเลือกที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ต่ำกว่า T_m ของ primer เนื่องจากเอนไซม์ Taq DNA polymerase ทำงานได้ที่ช่วงอุณหภูมิ 20-85 องศาเซลเซียส ดังนั้นอุณหภูมิในขั้น annealing ที่ให้ผลดีที่สุดคือ 55-72 องศาเซลเซียส การเพิ่มอุณหภูมิในขั้นตอน annealing ช่วยทำให้ไม่การจับคู่ผิดพลาดและลดการเกิด misextension ของนิวคลีโอไทด์ที่ไม่ถูกต้องที่ 3'-end ของ primer ฉะนั้นอุณหภูมิในขั้นตอน annealing ที่ค่อนข้างสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในรอบแรกๆของปฏิกิริยา PCR จะช่วยเพิ่มความจำเพาะ ควรเติม Taq DNA polymerase ลง

ในปฏิกิริยาภายหลังขั้นตอน denaturation ของรอบแรกซึ่งอยู่ในขั้นตอน primer annealing จะทำให้ได้ความจำเพาะสูงสุด อุณหภูมิต่ำในขั้นตอน extension กับความเข้มข้นสูงของ dNTP จะช่วยส่งเสริมให้เกิด misextension ของ primer และเกิดการเรียงต่อลำดับนิวคลีโอไทด์ผิดพลาด (Saiki, 1989)

6. สภาพเหมาะสมของขั้นตอน Primer extension

เวลาในการเกิด extension ขึ้นกับความยาว ความเข้มข้น ลำดับเบสของดีเอ็นเอเป้าหมาย อุณหภูมิที่ใช้เลือก primer extension ตามทฤษฎีควรทำที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส อัตราการต่อลำดับเบสที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 35-100 นิวคลีโอไทด์ต่อวินาที ขึ้นอยู่กับความเป็นกรดเป็นด่างของบัฟเฟอร์ ความเข้มข้นของเกลือและธรรมชาติของดีเอ็นเอแม่พิมพ์ เวลาในการเกิด extension 1 นาที ที่ 72 องศาเซลเซียส นั้นเพียงพอสำหรับสังเคราะห์ผลิตภัณฑ์ที่มีความยาวถึง 2 Kb อย่างไรก็ตามเวลาในการเกิด extension ที่ยาวขึ้นในรอบแรกจะมีประโยชน์ในกรณีความเข้มข้นของ substrate ต่ำ และเวลาในการ extension ที่ยาวขึ้นเป็นสิ่งจำเป็นในรอบหลังของ PCR เมื่อมีความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์สูงเกินความเข้มข้นของเอนไซม์ (Saiki, 1989)

7. สภาพพอเหมาะของขั้นตอน Denaturation

ความล้มเหลวส่วนมากของปฏิกิริยา PCR เกิดจากการ denaturation ของดีเอ็นเอเป้าหมาย และ/หรือ ผลิตภัณฑ์ที่ไม่สมบูรณ์ ภาวะที่กำหนดสำหรับ denature คือที่ 95 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 วินาที หรือ 97 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 วินาที อย่างไรก็ตามอาจกำหนดอุณหภูมิสูงขึ้น โดยเฉพาะกับเป้าหมายที่มี G+C ในอัตราสูง การเกิด denaturation ที่ไม่สมบูรณ์เป็นผลให้ DNA substrate ซึ่งเป็นสายเดี่ยวเข้าจับคู่กันอีก (snapback) ทำให้ได้ผลผลิตลดลง ในทางตรงกันข้ามถ้าขั้นตอน denaturation มีอุณหภูมิสูงเกินไป และหรือใช้เวลานานเกินไป จะนำไปสู่การสูญเสียความสามารถของเอนไซม์เนื่องจากอายุครึ่งชีวิต (half-life) ของ Taq DNA polymerase จะอยู่ประมาณ 2 ชั่วโมง, 40 นาที และ 5 นาที ที่ 92, 95 และ 97.5 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (Saiki, 1989)

8. จำนวนรอบ

จำนวนรอบที่พอเหมาะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นเริ่มต้นของดีเอ็นเอเป้าหมาย ความผิดพลาดที่พบบ่อยคือ ทำจำนวนรอบมากเกินไป ซึ่งเป็นผลให้เกิดการเพิ่มปริมาณและความยุ่งยากของผลผลิตที่เป็น nonspecific background และถ้ามีจำนวนรอบน้อยเกินไป จะสังเคราะห์ผลผลิตได้น้อย (Saiki, 1989)

9. ความบริสุทธิ์ของดีเอ็นเอต้นแบบ

ความบริสุทธิ์ของดีเอ็นเอต้นแบบเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่สำคัญต่อความสำเร็จของการทำปฏิกิริยา PCR โดยในการสกัดดีเอ็นเอมักจะมีสารปนเปื้อนของ polyphenolic compounds, polysaccharide และ/หรือ โปรตีน ซึ่งเป็นอุปสรรคที่สำคัญที่ทำให้ประสิทธิภาพของงาน molecular analysis ลดลง (Murray and Thompson, 1980) โดยทั่วไปมักใช้ ฟีนอลและคลอโรฟอร์ม การหมุนเหวี่ยงในสารละลายซีเชียมคลอไรด์-เอธิเดียมโบรไมด์ CTAB (cetyltrimethyl ammonium bromide), Elutip-d column, Sephadex column หรือ glassmilk เพื่อทำให้ดีเอ็นเอบริสุทธิ์ในขณะที่ทำการสกัดดีเอ็นเอ (Trevors and van Elsas, 1995)

ความแตกต่างของแถบ RAPD หรือ polymorphism ที่เกิดขึ้นระหว่างแต่ละตัวอย่างอาจจะเกิดจาก

1. มีชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาดใหญ่มาสอดแทรกในระหว่างตำแหน่ง 2 ตำแหน่งที่ primer เกาะ ทำให้ primer ทั้ง 2 โมเลกุลอยู่ห่างกันเกินกว่าที่จะเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ จึงไม่เกิดแถบดีเอ็นเอขึ้น
2. ชิ้นส่วนดีเอ็นเอส่วนที่เป็นที่เกาะกับ primer หายไป 1 ตำแหน่งหรือทั้ง 2 ตำแหน่ง ทำให้ไม่เกิดแถบดีเอ็นเอจากบริเวณดังกล่าว
3. มีการแทนที่หรือเปลี่ยนแปลงลำดับเบสบริเวณที่เกาะของ primer ทำให้ primer เกาะกับดีเอ็นเอเป้าหมายไม่ได้ จึงไม่เกิดแถบดีเอ็นเอจากบริเวณดังกล่าว
4. มีชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาดเล็กสอดแทรกเข้ามาหรือหายไป ทำให้ขนาดของแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นเปลี่ยนแปลงไป

โดยทั่วไป polymorphism ของ RAPD มักเกิดขึ้นในลักษณะของการมีหรือไม่มีแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งหนึ่งๆ มากกว่าการเปลี่ยนแปลงขนาดของแถบดีเอ็นเอ เนื่องจากดีเอ็นเอของพืชพบทั้งจากนิวเคลียส คลอโรพลาสต์และไมโทคอนเดรีย ในการสกัดดีเอ็นเอจากเซลล์ทั้งหมดแล้วนำมาวิเคราะห์ RAPD พบว่าแถบดีเอ็นเอบางส่วนประมาณ 5% เกิดจากการเพิ่มปริมาณในส่วนของไมโทคอนเดรียและน้อยกว่า 5% มาจากดีเอ็นเอในคลอโรพลาสต์ แถบดีเอ็นเอส่วนใหญ่จึงมาจากดีเอ็นเอในนิวเคลียสซึ่งได้รับการถ่ายทอดจากพ่อและแม่ แม้ว่าเทคนิค RAPD จะทำได้ง่าย รวดเร็วและให้ข้อมูลได้มากแต่ก็มีข้อเสียในเรื่องการทดลองซ้ำ ซึ่งบางครั้งให้ผลที่ต่างจากเดิม เนื่องจาก RAPD มีความไวต่อการเปลี่ยนสถานะต่างๆ จึงต้องควบคุมสถานะต่างๆ ให้คงที่ และแถบดีเอ็นเอที่เกิดจาก RAPD จะแสดงการข่ม (dominance) ต่อการไม่เกิดแถบดีเอ็นเอ ทำให้ไม่สามารถบอกความแตกต่างระหว่างจีโนไทป์แบบ homozygous dominant และ heterozygous ได้ (สุรินทร์, 2540)

ข้อดีของเทคนิค RAPD

1. สามารถทำ PCR ได้โดยไม่ต้องทราบลำดับเบสที่บริเวณใดเลขของดีเอ็นเอในจีโนมโดยใช้ primer เพียงชนิดเดียว (สุรินทร์, 2536)
2. ใช้ในการตรวจสอบความแตกต่างของดีเอ็นเอได้เหมือนกับการวิเคราะห์ RFLP แต่การตรวจสอบผลทำได้ง่ายและรวดเร็ว (สุรินทร์, 2536)
3. ใช้ปริมาณดีเอ็นเอน้อย (พรพันธุ์, 2538)
4. ค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ต่ำกว่าวิธีอื่นเพราะมีขั้นตอนที่น้อยกว่า (พรพันธุ์, 2538)

ข้อด้อยของเทคนิค RAPD

1. ตรวจสอบได้เฉพาะลักษณะทางพันธุกรรมแบบ Dominance (พรพันธุ์, 2538)
2. ตรวจสอบสายพันธุ์ที่มีความใกล้เคียงกันมากหรือมีความแตกต่างกันของยีนเพียงไม่กี่ตำแหน่งได้ยาก (พรพันธุ์, 2538)
3. การทำซ้ำอาจไม่ได้ผลเหมือนเดิมเนื่องจาก primer จะเข้าไปจับบนดีเอ็นเอต้นแบบโดยสุ่ม ซึ่งอาจไปจับกับตำแหน่งอื่นบนจีโนมทำให้ได้แถบดีเอ็นเอที่เปลี่ยนไป (พรพันธุ์, 2538)

เทคนิค RAPD ได้ถูกนำมาใช้จัดจำแนกพันธุ์พืชชนิดต่างๆอย่างกว้างขวางทั้งไม้ล้มลุกและไม้ยืนต้น ดังตัวอย่างงานวิจัยเหล่านี้

Kresovich *et al.* (1992) ได้ใช้เทคนิค RAPD ในการจำแนกลักษณะทางพันธุกรรมและหาความสัมพันธ์ในพืชตระกูลกะหล่ำ (*Brassica oleracea* L.) โดยใช้ primer ขนาด 10 เมอร์ จำนวน 25 ชนิด ทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอได้ 143 แถบ และพบว่าดัชนีที่ใช้บ่งบอกความเหมือนกันอยู่ในช่วง 0.65-0.94 และในปี 1994 Maier *et al.* ได้จำแนก rapeseed (*Brassica napus* L.) จำนวน 23 พันธุ์ด้วยเทคนิค RAPD โดยใช้ primers จำนวน 100 ชนิด ซึ่งมีขนาด 10 เบส ได้จำนวนแถบดีเอ็นเอจำนวน 70 แถบและแสดง polymorphism จำนวน 22 primers ผลการวิเคราะห์ด้วยวิธี UPGMA cluster analysis พบว่ามีค่าดัชนีความเหมือนภายในชนิดอยู่ในช่วง 0.47-0.97

Wilkie *et al.* (1992) ใช้เทคนิค RAPD ในการจำแนกหัวหอม (*Allium cepa*) และ *Allium* ชนิดอื่นๆ โดยใช้ primers จำนวน 20 ชนิด ซึ่งให้แถบดีเอ็นเอจำนวน 91 แถบ พบว่ามี primers จำนวน 7 ชนิด ที่ทำให้เกิด polymorphism ระหว่างพันธุ์ โดยมีดัชนีความเหมือนภายในชนิดอยู่ในช่วง 0.41-0.77 และในปี 1997 Al-Zahim *et al.* ได้นำการวิเคราะห์ RAPD มาตรวจสอบความแปร

ปรวนทางพันธุกรรมในพันธุ์ของกระเทียม (*Allium sativum* L.) ที่มีการเรียกชื่อของพันธุ์แตกต่างกัน และตรวจสอบความสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์ปลูกหลายๆ ชนิด กับ พันธุ์ *A. longicuspis* ซึ่งเป็นพันธุ์ป่า (wild progenitor) โดยนำกระเทียม 27 พันธุ์ มาวิเคราะห์โดยใช้ primers 26 ชนิด พบว่าให้จำนวน แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 292 แถบ ซึ่งแสดง polymorphic 63 แถบคิดเป็น 21 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทำการ วิเคราะห์ cluster สามารถแบ่งกลุ่มตามความแปรปรวนทางสัณฐานได้ 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีรูปแบบ เป็น blotting กับกลุ่มที่เป็น non-bolting และพบว่า *A. longicuspis* อยู่ในกลุ่มเดียวกับ *A. sativum* var. *ophioscorodon* แสดงว่ามีความสัมพันธ์กันในทางอนุกรมวิธานที่ใกล้ชิดกันมาก

Sharma *et al.* (1995) ใช้เทคนิค RAPD ในการตรวจสอบความสัมพันธ์ระหว่างลินิน (*Linum*) พันธุ์ปลูกและพันธุ์ป่า โดยใช้ primers จำนวน 24 ชนิด สามารถตรวจพบแถบดีเอ็นเอที่เกิด polymorphism จำนวน 88 แถบ มีดัชนีความเหมือนระหว่างชนิดอยู่ในช่วง 0.54-0.90

Ku and Henry (1996) ได้จำแนกคอกไม้ป่าของออสเตรเลียคือ *Ozothamnus diosmifolius* (Vent.) ด้วยเทคนิค RAPD โดยใช้ primers 19 ชนิด พบว่ามี primers จำนวน 16 ชนิดที่ทำให้เกิด polymorphism ได้แถบดีเอ็นเอจำนวน 166 แถบ

สำหรับงานวิจัยที่นำเทคนิค RAPD มาใช้ตรวจสอบพันธุ์ไม้ยืนต้นมีอยู่หลายงานวิจัยเช่น

Shah *et al.* (1994) ได้ตรวจหาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมัน (*Elaeis guineensis*) ด้วยเทคนิค RAPD โดยใช้ primers 20 ชนิด พบว่ามี primers จำนวน 9 ชนิดสามารถ แสดง polymorphism ในช่วง 0.2-2.3 kb และมีค่าดัชนีความเหมือนภายในชนิดอยู่ในช่วง 0.16-0.44

ในปี 1996 Lu *et al.* ได้ตรวจพิสูจน์ต้นต่อท้อ 18 พันธุ์ด้วย RAPD markers โดยใช้ primer ที่มีขนาดของนิวคลีโอไทด์ 10 เมอร์ (mer) ผลปรากฏว่าจาก primers ที่นำมาทดสอบทั้งหมด 80 ชนิด มี 20 ชนิด ให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 40 แถบและมี 6 ชนิด ที่สามารถใช้ตรวจพิสูจน์ต้นต่อท้อทั้ง 18 พันธุ์ได้ และเมื่อทำการวิเคราะห์ cluster จากแถบดีเอ็นเอดังกล่าว สามารถสร้าง Dendrogram แสดง ความสัมพันธ์ทางพันธุ์ทางพันธุกรรมได้สอดคล้องกับพันธุ์ประวัติ ซึ่งแยกต้นต่อของท้อออกเป็น 2 กลุ่ม ตามลักษณะของความต้านทาน และอ่อนแอ ต่อไส้เดือนฝอยรากปม

ในปี 1997 Lopez -Valenzuela *et al.* ทำการตรวจพิสูจน์มะม่วง (*Mangifera indica* L.) 15 พันธุ์ จากต้นอ่อน (embryo type) โดยใช้ RAPD markers ที่ได้จากการใช้ arbitrary primer ที่มีขนาด 10 mer พบว่า primers ที่นำมาทดสอบทั้งหมด 40 ชนิด มี 13 ชนิด ที่สามารถ amplified กับส่วนของ ดีเอ็นเอ ได้ 19 แถบและนำมาเป็นเครื่องหมายแสดงความจำเพาะเจาะจงต่อมะม่วงบางพันธุ์ และเมื่อ ทำการวิเคราะห์ cluster จาก RAPD markers เพื่อสร้าง Dendrogram แสดงความสัมพันธ์ทางพันธุ กรรมของมะม่วง 15 พันธุ์ พบว่า 'Manila' และ 'Carabao' มีความคล้ายคลึงกันมากที่สุดซึ่งสอดคล้อง

คล่องกับประวัติพันธุ์ และสามารถแยกจีโนไทป์ของมะม่วงออกเป็น 4 กลุ่ม ตามภูมิศาสตร์ที่เป็นแหล่งกำเนิด

Koller *et al.* (1993) ทำการจัดจำแนกพันธุ์แอปเปิล (*Pyrus malus*) จำนวน 11 พันธุ์ ด้วยเทคนิค RAPD พบว่าทั้ง 11 พันธุ์มีความแตกต่างกัน และพบว่าความเข้มข้นของดีเอ็นเอที่สกัดได้จะมีผลต่อความชัดเจนของแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้น เทคนิคนี้ยังสามารถใช้ในการวิเคราะห์ความผันแปรทางพันธุกรรมของพีช (*Prunus persica* (L.) Batsch) ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ โดยใช้พืชพันธุ์ปลูกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเปรียบเทียบกับพืชที่ไม่ได้มาจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ใช้ primer ขนาด 10 นิวคลีโอไทด์จำนวน 60 primers ปรากฏว่ามี primers 35 ชนิดทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอได้ แต่มี primers เพียง 10 ชนิดเท่านั้นที่ให้ความแตกต่างระหว่างพีชที่มาจาก การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Hashmi *et al.*, 1997)

นอกจากการศึกษาเพื่อการตรวจพิสูจน์และแสดงความแตกต่างระหว่างพืชทั้งในระดับชนิดพันธุ์หรือสายต้น แล้วยังมีการนำเทคนิค RAPD มาใช้ประโยชน์ในการทำแผนที่ยีนด้วย

Cai *et al.* (1994) ใช้เทคนิค RAPD และ RFLP ในการตรวจหาตำแหน่งของยีนที่ตอบสนองต่อความหนาวเย็น เพื่อช่วยในการสร้างแผนที่ยีนในส้มโอ (*Citrus grandis* L.) โดยใช้ดีเอ็นเอจากลูกผสมกลับชั่วที่ 1 จำนวน 60 ตัวอย่าง ใช้ primers จำนวน 140 ชนิด สามารถแยกได้ 226 ตำแหน่ง การสร้างแผนที่ยีนของ 9 linkage groups ประกอบด้วย RAPD marker จำนวน 109 ชนิด และ RFLP marker จำนวน 51 ชนิด ซึ่งครอบคลุม 70-80 เปอร์เซ็นต์ของจีโนม

ในปี 1996 Sondur *et al.* สร้าง genetic linkage map ของมะละกอ (*Carica papaya* L.) ด้วยเทคนิค RAPD โดยใช้ primers ทั้งหมด 596 ชนิด พบว่า primers จำนวน 96 ชนิด ทำให้เกิด polymorphism โดยสามารถสร้างแผนที่ยีนได้ 11 linkage groups