



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

ปริญญา

พืชสวน

พืชสวน

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การตรวจสอบพันธุ์องุ่น โดยการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาร่วมกับ
การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ด้วยเทคนิคเอเอฟแอลพี

Identification of Grape Cultivars Using Morphological Characteristics and
Amplified Fragment Length Polymorphism DNA Fingerprinting

นามผู้วิจัย นายรัฐพล นัตถบรรยงค์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์สุรศักดิ์ นิลนนท์, Ph.D.)

กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์อนุสาร บัญประกอบ, Ph.D.)

กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ประศาสตร์ เกี่ยมณี, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(รองศาสตราจารย์สุรศักดิ์ นิลนนท์, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์วินัย อางคงหาญ, M.A.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 26 เดือน ๖ มกราคม พ.ศ. 2549

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การตรวจสอบพันธุ์องุ่นโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาร่วมกับ
การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ด้วยเทคนิคเอเอฟแอลพี

**Identification of Grape Cultivars Using Morphological Characteristics and
Amplified Fragment Length Polymorphism DNA Fingerprinting**

โดย

นายรัฐพล นัตถบรรยงค์

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

พ.ศ. 2549

ISBN 974-16-1539-6

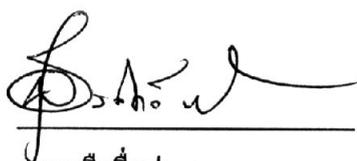
รัฐพล นัตถบรรยงค์ 2549: การตรวจสอบพันธุ์องุ่นโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ร่วมกับการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ด้วยเทคนิคเอเอฟแอลพี ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาพืชสวน ภาควิชาพืชสวน ภาชานกรรมการที่ปรึกษา: รองศาสตราจารย์สุรศักดิ์ นิลนนท์, Ph.D. 117 หน้า ISBN 974-16-1539-6

ปัจจุบันพบว่ามีองุ่นหลายพันธุ์ที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่คล้ายคลึงกันมาก จึงทำให้เกิดข้อสงสัยว่าพันธุ์ดังกล่าวเป็นพันธุ์เดียวกันหรือไม่ ด้วยเหตุนี้จึงได้ทำการตรวจสอบพันธุ์องุ่นที่มีลักษณะคล้ายคลึงกัน โดยการศึกษาลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยา และทำการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค AFLP กับองุ่นที่มีลักษณะคล้ายคลึงกันจำนวน 7 กลุ่ม (15 พันธุ์) ได้แก่ กลุ่มที่ 1 พันธุ์ Ribier กับ Pok Dum กลุ่มที่ 2 พันธุ์ Cardinal กับ Phichit กลุ่มที่ 3 พันธุ์ Black Rose กับ Rachinee Dum กลุ่มที่ 4 พันธุ์ Black Opal กับ Marroo Seedless กลุ่มที่ 5 พันธุ์ Baby Grape, Loose Perlette และ Perlette กลุ่มที่ 6 พันธุ์ Syrah France กับ Shiraz Australia และกลุ่มที่ 7 พันธุ์ Chenin Blanc 16 กับ Chenin Blanc 17 ซึ่งปลูกไว้ในแปลงรวมพันธุ์ของสถานีวิจัยกาญจนบุรี จากการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำนวน 74 ลักษณะพบว่าพันธุ์องุ่นที่นำมาใช้ศึกษาเปรียบเทียบบันั้น มีลักษณะบางประการที่แตกต่างกัน จึงทำให้สามารถแยกความแตกต่างขององุ่นทั้ง 15 พันธุ์นี้ออกจากกันได้ ซึ่งลักษณะที่แตกต่างกันนั้นจะพบอยู่ที่ส่วนของช่อดอก ช่อผล ผล ใบ เมล็ด และเปลือกของกิ่ง สำหรับการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอขององุ่นทั้ง 15 พันธุ์ ด้วยเทคนิค AFLP โดยใช้ไพรเมอร์ 64 คู่ พบว่า องุ่นกลุ่มที่ 3 พบแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน 1 แถบ จากคู่ไพรเมอร์ E-ACT/M-CAC องุ่นกลุ่มที่ 5 พบแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน 4 แถบ จากคู่ไพรเมอร์ E-ACC/M-CAC และ E-AAC/M-CAG ส่วนองุ่นกลุ่มที่ 6 พบแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน 6 แถบ จากคู่ไพรเมอร์ E-ACC/M-CAC, E-AAC/M-CAG, E-ACT/M-CTC และ E-AAC/M-CTT เมื่อนำแถบดีเอ็นเอทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้มาหาค่าความเหมือนทางพันธุกรรม ปรากฏว่า องุ่นทุกกลุ่มที่นำมาใช้เปรียบเทียบบันั้น ในแต่ละกลุ่มมีค่าดัชนีความเหมือนอยู่ในช่วง 0.996-1.000 ซึ่งถือว่ามีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้เคียงกันมาก

จากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า การจัดจำแนกหรือตรวจสอบพันธุ์องุ่นที่มีความคล้ายคลึงกันนั้น ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่มีความละเอียดเพียงพอก็สามารถใช้ตรวจสอบและจัดจำแนกได้ เช่นเดียวกับการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ โดยใช้เทคนิค AFLP พบว่า เทคนิคนี้มีประสิทธิภาพเพียงพอที่จะใช้ในการตรวจสอบพันธุ์องุ่นที่มีความใกล้เคียงทางพันธุกรรมกันมาก ๆ ได้

รัฐพล นัตถบรรยงค์

ลายมือชื่อนิติ



ลายมือชื่อประธานกรรมการ

21 / ๒๖.๕ / 49

Ratthaphon Chatbanyong 2006: Identification of Grape Cultivars Using Morphological Characteristics and Amplified Fragment Length Polymorphism DNA Fingerprinting.
Master of Science (Agriculture), Major Field: Horticulture, Department of Horticulture.
Thesis Advisor: Associate Professor Surasak Nilnond, Ph.D. 117 pages.
ISBN 974-16-1539-6

At present, some grape cultivars have similar morphological characteristics causing difficult to identify the certain traits. Thus, the aim of this study was to distinguish the seven groups (15 varieties) of synonym varieties using morphological characteristics and DNA fingerprinting by AFLP technique. The seven groups consisted of group 1 'Ribier' and 'Pok Dum', group 2 'Cardinal' and 'Phichit', group 3 'Black Rose' and 'Rachinee Dum', group 4 'Black Opal' and 'Marroo Seedless', group 5 'Baby Grape', 'Loose Perlette' and 'Perlette', group 6 'Syrah France' and 'Shiraz Australia' and group 7 'Chenin Blanc 16' and 'Chenin Blanc 17'. All varieties were grown in the field at Kanchanaburi Research Station. The seventy-four morphological and phenological characteristics which were studied, it showed that each group had a few different characters occurring in the parts of inflorescence, cluster, berry, leaf, seed or bark. In addition, the AFLP analyzed data were obtained by using 64 primer pairs in 15 varieties. The result showed that a polymorphic band was detected from E-ACT/M-CAC in group 3, four polymorphic bands were detected from E-ACC/M-CAC and E-AAC/M-CAG in group 5, and six polymorphic bands were detected from E-ACC/M-CAC, E-AAC/M-CAG, E-ACT/M-CTC and E-AAC/M-CTT in group 6. The ranges of genetic similarity index within groups were 0.996-1.00. These results suggested that the genetic relationship within groups was very high.

The results of this study showed that the morphological characteristics could be used for grape cultivar identification. In addition, the DNA fingerprint using AFLP revealed that this technique had an efficiency to distinguish the synonym grapes.

Ratthaphon Chatbanyong

Student's signature

Surasak Nilnond

Thesis Advisor's signature

21 / 4.8. / 49

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.สุรศักดิ์ นิลนนท์ ประธานกรรมการที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อนุรุจ บุญประกอบ กรรมการวิชาเอก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประศาสตร์ เกี่ยมณี กรรมการวิชาการ ที่กรุณาให้คำปรึกษาในด้านการเรียน การทำวิทยานิพนธ์ ตลอดจนให้คำแนะนำและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสิ้นสมบูรณ์ และรองศาสตราจารย์ ดร.สมศักดิ์ อภิสัทธาวิช ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณอาจารย์รัต เห็นพิทักษ์ หัวหน้าสถานีวิจัยกาญจนบุรี ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ สถานที่ในการทดลอง รวมทั้งคุณรินทอง พิลาก คุณเสรี นาราศรี คุณจันทรา ลัญจวัน คุณบัญชา คล้ายสิงห์ และเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง

ขอขอบคุณอาจารย์อัญมณี อาวุชานนท์ คุณเกรียงศักดิ์ ไทยพงษ์ และคุณสุทิน พรหมโชติ ที่กรุณาให้คำแนะนำและคำปรึกษา ตลอดจนสอนเทคนิคการวิเคราะห์ดีเอ็นเอให้

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ได้ให้ทุนอุดหนุนและส่งเสริม วิทยานิพนธ์ เพื่อใช้ในการทำการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณคุณรัชณี ภัทรวาโย คุณชลธิศศักดิ์ ฉัตรบรรยงค์ และคุณอักรยูทธ์ ฉัตรบรรยงค์ ที่คอยเป็นกำลังใจและให้ความช่วยเหลือจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ขอขอบคุณ บรรดาพี่ ๆ เพื่อน ๆ น้อง ๆ ภาควิชาพืชสวนทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือ ให้กำลังใจ ชี้แนะ และสนับสนุนในระหว่างที่ศึกษาและทำวิทยานิพนธ์

ที่สุดขอกราบขอบพระคุณคุณแม่ วารินทร์ ฉัตรบรรยงค์ ที่ช่วยอบรมสั่งสอน ให้การสนับสนุนด้านการศึกษา และคอยเป็นกำลังใจมาโดยตลอด จนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้

รัฐพล ฉัตรบรรยงค์

เมษายน 2549

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ทั่วไปขององุ่น	4
ถิ่นกำเนิดและลักษณะทางพฤกษศาสตร์ขององุ่นบางพันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา	8
การใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาในการตรวจสอบสายพันธุ์องุ่น	12
ข้อมูลพื้นฐานทางด้านชีวโมเลกุลขององุ่น	13
ลายพิมพ์ดีเอ็นเอและการตรวจสอบสายพันธุ์พืช	13
การตรวจสอบสายพันธุ์พืชโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอแบบต่าง ๆ	15
การตรวจสอบพันธุ์องุ่นโดยใช้เทคนิค AFLP เปรียบเทียบกับวิธีอื่น ๆ	22
อุปกรณ์และวิธีการ	24
อุปกรณ์	24
วิธีการ.....	25
การศึกษาลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยาขององุ่น	25
การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ โดยใช้เทคนิค AFLP	29
ผลการทดลอง	41
ผลการศึกษาลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยา	41
ผลการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ โดยใช้เทคนิค AFLP	79
วิจารณ์	91
สรุป	100
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	103

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	รายชื่อตัวอย่างพันธุ์องุ่นที่ใช้ในการศึกษาและเปรียบเทียบ	24
2	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ใช้ในการประเมิน ตำแหน่งที่ใช้ศึกษา และช่วงเวลาที่ใช้ในการศึกษา	25
3	ขั้นตอนการเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอโดยเทคนิค Touch down PCR	37
4	ปริมาณของสารที่ใช้เพื่อเตรียม โพลีอะคริลาไมด์เจลขนาด 15 × 20 เซนติเมตร.....	38
5	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาขององุ่นพันธุ์รับประทานสดชนิดมีเมล็ด ที่ใช้ในการศึกษาจำนวน 6 พันธุ์	50
6	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาขององุ่นพันธุ์รับประทานสดชนิดไม่มีเมล็ด ที่ใช้ในการศึกษาจำนวน 5 พันธุ์	55
7	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาขององุ่นพันธุ์ทำไวน์ที่ใช้ในการศึกษาทั้ง 4 พันธุ์	60
8	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่สามารถใช้บ่งชี้ความแตกต่างของพันธุ์องุ่น ในแต่ละกลุ่ม.....	63
9	คู่ไพรมอร์ที่พบความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอและจำนวนของแถบดีเอ็นเอ ที่มีความแตกต่างกันขององุ่นในแต่ละกลุ่มที่ใช้เปรียบเทียบกัน	79
10	ค่าความเหมือนทางพันธุกรรมที่คำนวณด้วยวิธี Simple Matching (Sokal and Michener, 1958) ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบค่าความคล้าย คลึงกันของแถบดีเอ็นเอขององุ่น 15 ตัวอย่าง จากเทคนิค AFLP.....	89

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะของมือเกาะที่เปลี่ยนแปลงไปเป็นยอดอ่อน ซึ่งพบในองุ่นพันธุ์ Black Rose, Rachinee Dum, Black Opal และ Marroo Seedless.....	66
2	ลักษณะของขนทั้ง 2 ชนิดที่พบในองุ่น โดยภาพ A เป็นขนชนิด prostrate hair และ B เป็นขนชนิด erect hair	67
3	ลักษณะยอดอ่อนขององุ่นทั้ง 15 พันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา	68
4	ลักษณะใบอ่อนขององุ่นทั้ง 15 พันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา	69
5	ลักษณะใบแก่ขององุ่นทั้ง 15 พันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา.....	70
6	ลักษณะก้านใบขององุ่นทั้ง 15 พันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา.....	71
7	ลักษณะข้อปล้องขององุ่นทั้ง 15 พันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา	72
8	ลักษณะเปลือกที่กิ่งแก่และตาขององุ่นทั้ง 15 พันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา	73
9	ลักษณะช่อดอกขององุ่นทั้ง 15 พันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา	74
10	ลักษณะผลอ่อนที่มีอายุ 4 สัปดาห์หลังดอกบาน ขององุ่นทั้ง 15 พันธุ์ ที่ใช้ในการศึกษา	75
11	ลักษณะช่อผลในระยะสุกแก่ขององุ่นทั้ง 15 พันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา	76
12	ลักษณะผลในระยะสุกแก่ขององุ่นทั้ง 15 พันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา	77
13	ลักษณะเมล็ดขององุ่นทั้ง 15 พันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา	78
14	ลายพิมพ์ดีเอ็นเอขององุ่นทั้ง 15 พันธุ์ที่ได้จากเทคนิค AFLP โดยตำแหน่ง ที่ลูกศรชี้ (↖) ในคู่ไพรเมอร์ E-ACT/M-CAC แสดงแถบดีเอ็นเอที่แตกต่าง กันขององุ่นในกลุ่มที่ 3 คือ พันธุ์ Black Rose (ตัวอย่างที่ 5) กับพันธุ์ Rachinee Dum (ตัวอย่างที่ 6) ส่วน M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน.....	82
15	ลายพิมพ์ดีเอ็นเอขององุ่นทั้ง 15 พันธุ์ที่ได้จากเทคนิค AFLP โดยตำแหน่ง ที่ลูกศรชี้ (↖) ในคู่ไพรเมอร์ E-ACC/M-CAC แสดงแถบดีเอ็นเอที่แตกต่าง กันขององุ่นในกลุ่มที่ 5 คือ พันธุ์ Baby Grape (ตัวอย่างที่ 9), Loose Perlette (ตัวอย่างที่ 10) และ Perlette (ตัวอย่างที่ 11) และกลุ่มที่ 6 คือ พันธุ์ Syrah F. (ตัวอย่างที่ 12) กับพันธุ์ Shiraz A. (ตัวอย่างที่ 13) ส่วน M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน.....	83

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
16	ลายพิมพ์ดีเอ็นเอขององุ่นทั้ง 15 พันธุ์ที่ได้จากเทคนิค AFLP โดยตำแหน่ง ที่ลูกศรชี้ (↘) ในคู่ไพรเมอร์ E-AAC/M-CAG แสดงแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน กันขององุ่นในกลุ่มที่ 5 คือพันธุ์ Baby Grape (ตัวอย่างที่ 9), Loose Perlette (ตัวอย่างที่ 10) และ Perlette (ตัวอย่างที่ 11) และกลุ่มที่ 6 คือ พันธุ์ Syrah F. (ตัวอย่างที่ 12) กับพันธุ์ Shiraz A. (ตัวอย่างที่ 13) ส่วน M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน.....	84
17	ลายพิมพ์ดีเอ็นเอขององุ่นทั้ง 15 พันธุ์ที่ได้จากเทคนิค AFLP โดยตำแหน่ง ที่ลูกศรชี้ (↘) ในคู่ไพรเมอร์ E-ACT/M-CTC แสดงแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน กันขององุ่นในกลุ่มที่ 6 คือ พันธุ์ Syrah F. (ตัวอย่างที่ 12) กับพันธุ์ Shiraz A. (ตัวอย่างที่ 13) ส่วน M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน.....	85
18	ลายพิมพ์ดีเอ็นเอขององุ่นทั้ง 15 พันธุ์ที่ได้จากเทคนิค AFLP โดยตำแหน่ง ที่ลูกศรชี้ (↘) ในคู่ไพรเมอร์ E-AAC/M-CTT แสดงแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน กันขององุ่นในกลุ่มที่ 6 คือ พันธุ์ Syrah F. (ตัวอย่างที่ 12) กับพันธุ์ Shiraz A. (ตัวอย่างที่ 13) ส่วน M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน.....	86
19	การจัดจำแนกองุ่นทั้ง 15 พันธุ์ ในลักษณะของ phylogenetic tree จากผล การวิเคราะห์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค AFLP (จากแถบดีเอ็นเอจำนวน 1,367 แถบ) โดยใช้วิธี UPGMA	90

การตรวจสอบพันธุ์องุ่นโดยการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาพร้อมกับ
การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ด้วยเทคนิคเอเอฟแอลพี

**Identification of Grape Cultivars Using Morphological Characteristics and
Amplified Fragment Length Polymorphism DNA Fingerprinting**

คำนำ

องุ่นเป็นไม้ผลชนิดหนึ่งที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายอย่าง เช่น บริโภคผลสด ทำไวน์ คั้นน้ำ ทำแยม บรรจุกระป๋อง และทำลูกเกด เป็นต้น นอกจากนี้แล้วทางด้านการศึกษาวิจัยก็นำเอาสารสกัดจากเมล็ดและเปลือกองุ่น ไปใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตยาสำหรับรักษาโรคด้วย (Shrikhande, 2000) สำหรับองุ่นชนิดที่นิยมปลูกกันมาก ได้แก่ *Vitis labrusca*, *V. aestivalis*, *V. vulpina*, *V. rotundifolia* และ *V. rupestris* แต่ที่นิยมปลูกกันมากที่สุดคือ *V. vinifera* เนื่องจากให้ผลดก มีคุณภาพดี และปลูกได้ง่าย (ปวิณ, 2504; สมาคมพฤกษชาติแห่งประเทศไทย, 2518) สำหรับในประเทศไทยนั้นองุ่นที่ปลูกส่วนใหญ่ใช้เพื่อบริโภคผลสด ปัจจุบันมีพื้นที่ปลูกกระจายอยู่เกือบทั่วทุกภาคของประเทศ สำหรับพื้นที่ที่มีการปลูกองุ่นมากทางภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย และอุตรดิตถ์ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา เลย และบุรีรัมย์ ภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดนครปฐม สมุทรสาคร และสระบุรี ภาคตะวันตก ได้แก่ จังหวัดราชบุรี และกาญจนบุรี ส่วนทางภาคตะวันออกและภาคใต้ก็มีพื้นที่ปลูกองุ่นเช่นกัน ซึ่งได้แก่ จังหวัดจันทบุรี ระยอง ระนอง และประจวบคีรีขันธ์ โดยพื้นที่ปลูกองุ่นทั่วประเทศมีมากถึง 28,742 ไร่ และกำลังมีการขยายพื้นที่ปลูกเพิ่มมากขึ้นเรื่อย ๆ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2548) จากการรายงานของสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2548 ก) พบว่ามีผลผลิตองุ่นบางส่วนจากประเทศไทยที่สามารถส่งไปขายยังต่างประเทศได้ด้วย ซึ่งมีทั้งในรูปแบบผลองุ่นสด องุ่นแห้ง และน้ำองุ่น ซึ่งส่งไปขายยังประเทศจีน ฮองกง ลาว พม่า มาเลเซีย สิงคโปร์ กัมพูชา และแอฟริกาใต้ เป็นต้น แต่ถึงกระนั้นประเทศไทยก็ยังมี การนำเข้าผลองุ่นสดและผลิตภัณฑ์จากองุ่นจากต่างประเทศอยู่ปริมาณมาก โดยพบว่าตั้งแต่ปี 2542 เป็นต้นมาประเทศไทยได้นำเข้าองุ่นและผลิตภัณฑ์จากองุ่นเพิ่มขึ้นทุกปี ทั้งในรูปแบบผลสด ผลแห้ง และน้ำองุ่น โดยในปี 2547 ที่ผ่านมามีการนำเข้าผลองุ่นสดสูงถึง 12,067 ตัน หรือคิดเป็นมูลค่ากว่า 720 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2548 ข) สำหรับในอนาคตมีแนวโน้มว่า โรงงานอุตสาหกรรมใหม่ ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการแปรรูปผลิตผล และการทำไวน์จะเกิดเพิ่มมากขึ้น ซึ่งจะ สามารถเข้ามารองรับผลผลิตองุ่นที่จะเพิ่มมากขึ้นในอนาคตได้

สาเหตุสำคัญประการหนึ่งที่ทำให้ประเทศไทยต้องนำเข้าผลผลิตองุ่นจากต่างประเทศนั้นก็เนื่องมาจากองุ่นที่ปลูกในเชิงการค้าของไทยนั้นยังไม่ค่อยมีความหลากหลายในเรื่องของพันธุ์ ดังนั้นจึงมีบุคคลจากหลายหน่วยงานพยายามหาพันธุ์ใหม่ ๆ ที่มีคุณภาพดี สามารถเจริญเติบโตได้ดี ให้ผลผลิตสูง และทนทานต่อโรคแมลง เข้ามาทดลองปลูก ซึ่งที่สถานีวิจัยกาญจนบุรี สถาบันค้นคว้าและพัฒนาาระบบนิเวศเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ได้รวบรวมองุ่นพันธุ์ต่าง ๆ มาปลูกทดลอง จนกระทั่งปัจจุบันได้องุ่นพันธุ์ที่มีศักยภาพดีพอที่จะใช้ปลูกเป็นการค้าได้หลายพันธุ์ด้วยกัน เช่นพันธุ์ Marroo Seedless และ Perlette เป็นต้น

นับตั้งแต่ปีพุทธศักราช 2499 ที่ประเทศไทยได้เริ่มมีการค้นคว้าเกี่ยวกับเรื่ององุ่นอย่างจริงจัง (กลุ่มเกษตรสัญจร, 2542) จนถึงปัจจุบัน มีการนำองุ่นพันธุ์ใหม่ ๆ เข้ามาปลูกมากมายจนบางครั้งไม่ทราบว่าพันธุ์ใดมาจากแหล่งใด และที่สำคัญบางพันธุ์ก็มีการตั้งชื่อขึ้นมาใหม่ จึงทำให้เกิดความสับสนในเรื่องของชื่อพันธุ์องุ่น โดยพบว่ามีหลายพันธุ์ที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่คล้ายคลึงกันมาก ๆ จึงทำให้เกิดข้อสงสัยว่าพันธุ์ที่มีลักษณะคล้ายคลึงกันนั้นเป็นพันธุ์เดียวกันหรือไม่ ด้วยเหตุดังกล่าวจึงทำให้เกิดงานวิจัยขึ้นนี้ขึ้น

สำหรับวิธีการตรวจสอบพันธุ์พืชนั้น วิธีที่ทำได้ง่ายและใช้การลงทุนต่ำก็คือ การตรวจสอบลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยา (morphological characteristics) โดยการนำเอาแต่ละส่วนมาเปรียบเทียบลักษณะต่าง ๆ เช่น สี ขนาด รูปร่าง และรูปทรงของใบ ช่อดอก ช่อผล และผล เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามถ้าเป็นพันธุ์ที่มีลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยาใกล้เคียงกันมาก ๆ การตรวจสอบด้วยวิธีนี้ก็ไม่สามารถใช้ยืนยันได้ ซึ่งในปัจจุบันได้มีการนำเอาเทคนิคทางชีวโมเลกุลเข้ามาใช้ในการจำแนกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิต เนื่องจากวิธีนี้สามารถจำแนกได้แม้ว่าสิ่งมีชีวิตชนิดนั้นมีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยก็ตาม สำหรับเทคนิคที่นิยมนำมาใช้ในปัจจุบัน เช่น ไมโครแซทเทลไลท์ ดีเอ็นเอ หรือ Simple Sequence Repeat (SSR) เป็นวิธีที่ใช้หาลำดับเบสของดีเอ็นเอชุดซ้ำที่ตำแหน่งหนึ่ง ๆ แต่การวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้มีค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง และต้องทราบลำดับเบสบนสายดีเอ็นเอก่อน นอกจากนี้แล้วยังมีเทคนิค Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) เป็นการวิเคราะห์ความแตกต่างของขนาดความยาวดีเอ็นเอที่ถูกตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ (Restriction enzymes) และ Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) ซึ่งเป็นเทคนิคที่ประยุกต์มาจากเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) อีกวิธีหนึ่งที่นิยมใช้กันคือ Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) มีรายงานว่าให้ผลดีกว่าเทคนิค RAPD และ RFLP เนื่องจากสามารถตรวจสอบดีเอ็นเอในตำแหน่งต่าง ๆ บนโครโมโซมได้มากกว่า ตรวจสอบได้เที่ยงตรงกว่า และใช้ดีเอ็นเอตั้งต้นน้อยกว่า นอกจากนี้แล้วเทคนิค AFLP ยังมีข้อได้เปรียบเทคนิค SSR ตรงที่ลงทุนต่ำกว่า

และพืชที่นำมาตรวจสอบไม่จำเป็นต้องทราบลำดับเบสของดีเอ็นเอก็สามารถวิเคราะห์ได้ เป็นต้น ดังนั้น ในการศึกษาครั้งนี้จึงใช้วิธีการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยา ร่วมกับการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ด้วยเทคนิค AFLP เพื่อที่จะตรวจสอบว่าพันธุ์องุ่นที่สงสัยว่าจะเป็นพันธุ์เดียวกันนั้น ใช่หรือมีใช่พันธุ์เดียวกัน เพื่อใช้เป็นข้อมูลทางด้านสัณฐานวิทยาและใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานทางด้านพันธุกรรมขององุ่นต่อไป

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยาบางประการในส่วนของยอดอ่อน ใบอ่อน ใบแก่ กิ่งอ่อนกิ่งแก่ มือเกาะ ช่อดอก ช่อผล ผล และเมล็ด ขององุ่นจำนวน 15 สายพันธุ์
2. หาคู่ไพโรมอร์ที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอขององุ่น (*Vitis vinifera* L.) ที่ใช้เทคนิคเอฟแอลพี
3. ตรวจสอบสายพันธุ์ขององุ่นที่นำมาศึกษาว่าเป็นพันธุ์เดียวกันหรือไม่

การตรวจเอกสาร

องุ่นจัดเป็นพืชยืนต้นชนิดเถาเลื้อยซึ่งอยู่ในวงศ์ Vitaceae (Ampelidaceae) สกุล *Vitis* ในสกุลนี้ที่รู้จักมีอยู่ประมาณ 60 ชนิด (species) (Winkler, 1974) ทั่วโลกมีอยู่ประมาณ 10,000 สายพันธุ์ (variety) (Chadha and Shikhamany, 1999) แต่ชนิดที่มีปลูกกันมากที่สุดในโลกอยู่ในกลุ่ม *Vitis vinifera* ซึ่งมีมากกว่า 7,000 สายพันธุ์ (Cuisset *et al.*, 1995) องุ่นมีถิ่นกำเนิดอยู่แถบ Asia minor และ Caspian sea basin (ปวีณ, 2504) สามารถเจริญเติบโตได้ดีตั้งแต่เส้นละติจูดที่ 15° ถึง 45° เหนือ และ 15° ถึง 45° ใต้ อุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 15-35 องศาเซลเซียส (Chadha and Shikhamany, 1999) สำหรับพื้นที่ปลูกองุ่นของประเทศไทยจะมีอยู่หนาแน่นในแถบตอนกลางของประเทศ ซึ่งมีอุณหภูมิเฉลี่ยประมาณ 25-30 องศาเซลเซียส ปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยต่อปี 1,300-1,450 มิลลิเมตร ความชื้นสัมพัทธ์ 60-90 เปอร์เซ็นต์ (สุรศักดิ์, 2540) พันธุ์องุ่นที่ปลูกเป็นการค้าในประเทศไทยส่วนมากเป็นพันธุ์ที่ใช้รับประทานผลสดและมีเมล็ด ที่นิยมปลูกมากที่สุด คือ พันธุ์ White Malaga และพันธุ์ Cardinal (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2548) นอกเหนือจากองุ่น 2 พันธุ์ที่ได้กล่าวมาแล้วยังมีพันธุ์อื่น ๆ ที่นิยมปลูก ได้แก่ พันธุ์ Beauty Seedless, Carolina Black Rose, Early Muscat, Flame Seedless, Kyoho, Loose Perlette และ Ruby Seedless ซึ่งใช้รับประทานผลสด และนอกจากนี้ยังมีพันธุ์ที่ใช้ทำไวน์ ซึ่งพันธุ์ทำไวน์แดงที่นิยมปลูกคือ พันธุ์ Shiraz ส่วนพันธุ์ที่ใช้ทำไวน์ขาว คือ พันธุ์ Chenin Blanc (สุรศักดิ์ และ จรัส, 2548; Nilnond, 2001)

หลังจากที่ได้ทดลองนำองุ่นพันธุ์ต่าง ๆ มาปลูกเพื่อทดสอบสายพันธุ์ในประเทศไทยในหลายพื้นที่ ก็พบว่ามีองุ่นอีกหลายพันธุ์ที่มีแนวโน้มว่าให้ผลผลิตดี และสามารถปลูกเป็นการค้าได้ เช่น พันธุ์ Perlette และ Marroo Seedless เป็นต้น (สุรศักดิ์, 2530, 2548)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ทั่วไปขององุ่น

ปวีณ (2504); Chadha and Randhawa (1974); Kerrigan and Nagel, (1998); Shanmugavelu (1998); Hellman (2003); Rieger (2005) ได้อธิบายลักษณะทั่ว ๆ ไปขององุ่น โดยแบ่งออกเป็นส่วนต่าง ๆ ดังนี้

ราก (Root)

ระบบรากขององุ่นส่วนใหญ่จะเป็นระบบรากแขนง (lateral root) ทั้งนี้เนื่องจากนิมมขยายพันธุ์โดยวิธีการตอนหรือปักชำต้นตอ จากนั้นจึงนำตาหรือกิ่งพันธุ์ดีมาติดบนต้นตอ รากส่วนใหญ่จะแผ่ออกทางด้านข้าง ระบบรากที่ห่างจากโคนต้นในระยะ 1 ฟุตจะมีไม่มากนัก แต่จะหนาแน่นมากในระยะ 1-2.5 ฟุต ส่วนระยะที่ไกลกว่า 1.5 ฟุตนั้น จะมีอยู่อย่างกระจัดกระจาย รากขององุ่นจะหยั่งลึกกลงไปในดินประมาณ 2-5 ฟุตจากผิวดิน แต่ในกรณีที่โครงสร้างดินคืออาจหยั่งลึกได้มากกว่านั้น

ลำต้น (Trunk)

องุ่นเป็นพืชเถาเลื้อยชนิดที่มีเนื้อไม้ (woody vine) จะพวงตัวเองโดยใช้มือเกาะ (tendrils) จับต้นไม้หรือสิ่งต่าง ๆ ที่อยู่ข้าง ๆ ลำต้นขององุ่นถ้าปล่อยให้เจริญเติบโตตามธรรมชาติจะสามารถเจริญได้ยาวมาก เพราะฉะนั้นจึงต้องมีการตัดยอดเพื่อให้เกิดกิ่งสาขาและกิ่งแขนง ดังนั้นลำต้นองุ่นจึงหมายถึง ส่วนที่อยู่เหนือระดับพื้นดินขึ้นไปจนถึงบริเวณที่แยกเป็นกิ่งสาขา

กิ่งแขนง หรือกิ่งสาขา (Branch)

กิ่งขององุ่นสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ชนิดตามอายุ คือ แขน (arm) ใช้เรียกกิ่งที่แยกออกจากลำต้น ชนิดที่สองคือ ดอกกิ่ง (spur) และ กิ่งแก่ (cane) เป็นกิ่งที่แยกออกจากกิ่งแขน ซึ่งจะมีอายุ 1 ปีหรือเกือบ 1 ปี ส่วนใหญ่จะมีสีน้ำตาลและเปลือกจะแตก กิ่งชนิดนี้จะให้ดอกและผลมากกว่ากิ่งชนิดอื่น ชนิดที่สามคือ กิ่งอ่อน (shoot) เป็นกิ่งที่ยังมีอายุน้อยอยู่มักมีสีเขียวหรือน้ำตาลอ่อน ๆ เปลือกเรียบไม่ค่อยมีรอยแตก

ใบ (Leaf)

ใบองุ่นมีลักษณะเป็นใบเดี่ยว (simple leaf) รูปแบบการจัดเรียงตัวของใบเป็นแบบสลับ (alternate) แต่ละใบจะมีเส้นใบหลัก (first lateral nerve หรือ vein) จำนวน 5 เส้น กระจายออกจากส่วนปลายของก้านใบ รูปร่างใบมีตั้งแต่รูปหัวใจไปจนถึงมีลักษณะกลม ใบถือเป็นส่วนสำคัญอย่างหนึ่งที่ใช้ในการแยกชนิดและพันธุ์ขององุ่น ซึ่งจะมีความแตกต่างกันไปตามขนาด (size) รูปร่าง

(form) ความหนา (thickness) เนื้อใบ (texture) ความราบเรียบของแผ่นใบ (leaf surface) ขนใบ (indument หรือ hair) รอยเว้า (sinus) ฟัน (tooth) ก้านใบ (petiole) และสี (color) เป็นต้น

มือเกาะ (Tendrils)

มีลักษณะเป็นเส้นกลมเรียวเล็กและเหนียว เมื่อสัมผัสกับสิ่งใดก็จะโอบรัดไว้เพื่อพยุงกิ่งหรือลำต้น ตำแหน่งของมือเกาะจะอยู่ตรงข้ามกับก้านใบ อนุกรมโดยส่วนใหญ่แล้วจะมีรูปแบบของมือเกาะ 2 แบบ คือ ชนิดที่มีมือเกาะอยู่ตรงข้ามทุกก้านใบ (continuous) และชนิดที่มีมือเกาะอยู่ 2 ตำแหน่งติดกันแล้วเว้นไป 1 ตำแหน่ง จากนั้นจึงจะมีอีกสลับกันไปเช่นนี้เรื่อย ๆ (intermittent)

ตา (Bud)

เป็นตาแบบตารวม (compound bud) ซึ่งประกอบด้วย 3 ตาที่อยู่ติดกัน ตาที่อยู่ตรงตำแหน่งกลางจะมีขนาดใหญ่ที่สุด เรียกว่า “ตาเอก” ส่วนตาที่อยู่สองข้างจะมีขนาดเล็กกว่า ตาทั้งสองนี้ทำหน้าที่เป็นตาสำรอง โดยจะเจริญเติบโตเมื่อตาเอกถูกทำลาย

ช่อดอกและดอกย่อย (Inflorescence and floret)

ช่อดอกจะเกิดจากกิ่งใหม่ที่เพิ่งแตกออกมา โดยมักเกิดจากตาตำแหน่งที่ 3-6 นับจากโคนกิ่งใหม่ กิ่งหนึ่ง ๆ จะมีช่อดอกได้ 1-3 ช่อ ช่อดอกเป็นแบบ racemose panicle ตำแหน่งของช่อดอกที่เกิดขึ้นจะอยู่ตรงข้ามกับใบเช่นเดียวกับมือเกาะ รูปร่างของช่อดอกก็จะแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ เช่น ทรงกรวย ทรงกระบอก ทรงมีไหล่ หรือแบบอัดแน่นเป็นก้อนกลม เป็นต้น

ดอกอนุกรมมีขนาดเล็กมากขนาดประมาณ 1/8 นิ้ว แต่ละดอกย่อยมีกลีบเลี้ยง (sepal) อยู่จำนวน 5 กลีบ โดยกลีบเลี้ยงทั้ง 5 จะเชื่อมติดกันตรงบริเวณฐาน จึงมีลักษณะเป็นวงกลีบเลี้ยง เรียกว่า “calyx” ส่วนกลีบดอก (petal) ประกอบด้วย 5 กลีบเช่นกัน แต่กลีบดอกทั้ง 5 เชื่อมติดกันที่ส่วนปลายของกลีบ ทำให้มีลักษณะเป็นวงของกลีบดอก เรียกว่า “corolla” หรือ “calyptra” สำหรับเกสรตัวผู้ (stamen) ประกอบด้วยก้านชูอับละอองเรณู (filament) จำนวน 5 อัน ที่ส่วนปลายของก้านชูอับละอองเรณูนี้มีอับละอองเรณู (anther) ติดอยู่ เกสรตัวเมีย (pistil) ของอนุกรมเกือบทุกพันธุ์จะมีระดับต่ำกว่าอับละอองเรณู รังไข่ (ovary) เจริญอยู่เหนือฐานรองดอก (superior ovary) รังไข่

ประกอบด้วย 2 หรือ 3 ห้อง (locule) ในแต่ละห้องมีเมล็ดอ่อน (ovule) อยู่ 2 เมล็ด ดอกขององุ่นแบ่งเป็น 3 ชนิด คือ ดอกเพศผู้ (staminate flower) ดอกสมบูรณ์เพศ (hermaphrodite flower) และดอกเพศเมีย (pistilate flower) แต่โดยมากมักเป็นดอกสมบูรณ์เพศ (perfect flower) และส่วนใหญ่มีการผสมเกสรภายในดอกเดียวกัน (self-fruitful) ภายหลังจากที่ดอกได้รับการผสมแล้ว ผลองุ่นบางพันธุ์สามารถติดเมล็ดได้ทั้ง 4 หรือ 6 เมล็ด แต่บางพันธุ์ก็ติดเมล็ดเพียง 1, 2 หรือ 3 เมล็ด หรือไม่เจริญไปเป็นเมล็ดก็มี

ผล (Fruit)

ผลองุ่นเป็นผลแบบ berry ซึ่งมีรูปร่างตั้งแต่กลมถึงยาว การเจริญเติบโตของผลนั้นเป็นแบบ double sigmoid curve โดยในระยะแรกนั้นจะเจริญเติบโตเร็วมากจนถึงผลใกล้เปลี่ยนสี ซึ่งในระยะนี้ผลจะมีสีเขียวเหมือนกันหมดทุกพันธุ์ อาจแตกต่างกันที่ความแก่อ่อนของสี และเมื่อเข้าสู่ระยะที่สองนั้นเปลือกของผลจะเปลี่ยนจากสีเขียวไปเป็นสีเหลือง ชมพู แดง ม่วง ดำ หรือสีอื่น ๆ แต่บางพันธุ์ก็ยังคงเป็นสีเขียวอยู่ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิด พันธุ์ และสภาพแวดล้อม

เปลือกผลขององุ่นในแต่ละพันธุ์จะมีความหนาและเหนียวแตกต่างกันไป ซึ่งเป็นข้อสังเกตอีกอย่างหนึ่งที่ใช้ในการแยกชนิดและพันธุ์ขององุ่น สำหรับสิ่งอื่น ๆ ที่ใช้ในการจำแนกพันธุ์ขององุ่นได้แก่ ขนาดผล สี กลิ่น รส รวมถึงระยะเวลาการเจริญเติบโตของผลจนถึงระยะเวลาเก็บเกี่ยว

เมล็ด (Seed)

เมล็ดขององุ่นโดยทั่ว ๆ ไปจะมีรูปร่างแบบ pyriform หรือรูปผลแพร์ บริเวณตรงกลางทางด้านหน้า (ventral หรือ front site) ของเมล็ดจะมีลักษณะนูนเป็นสันขึ้นมา ส่วนด้านหลัง (dorsal หรือ back site) ของเมล็ดมีลักษณะบวมขึ้นมาเป็นขอบรอบเมล็ด ถัดเข้ามาจะมีลักษณะเป็นร่อง 2 ร่องที่อยู่ทางด้านซ้ายและขวาขนาดส่วนตรงกลางซึ่งมีลักษณะนูนเป็นวงกลม ความลึกของร่องทั้งสองนี้จะมากหรือน้อยนั้นขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ สำหรับน้ำหนักของเมล็ดองุ่นที่อยู่ในชนิด *V. vinifera* นี้โดยส่วนใหญ่จะมีน้ำหนักเมล็ดแห้งอยู่ระหว่าง 20 ถึง 50 กรัมต่อ 1,000 เมล็ด (20-50 มิลลิกรัมต่อเมล็ด) แต่มีองุ่นบางพันธุ์ที่เมล็ดมีลักษณะลีบโดยสมบูรณ์ เช่นพันธุ์ Corinth, Loose Perlette และ Thompson Seedless เป็นต้น

ถิ่นกำเนิดและลักษณะทางพฤกษศาสตร์ขององุ่นบางพันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา

พันธุ์ Ribier (Black Ribier หรือ Alphonse Lavallée)

องุ่นพันธุ์นี้มีถิ่นกำเนิดมาจากที่ใดไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่กล่าวกันว่าเป็นพันธุ์ที่ได้จากการเพาะเมล็ดในโรงเรือน (nursery) ของชายคนหนึ่งในเมือง Orléans ของประเทศฝรั่งเศส ราวปีคริสต์ศักราช 1860 (Morton and Adams, 1979) องุ่นพันธุ์นี้เป็นพันธุ์ที่มีความแข็งแรง มีความทนทานต่อโรคแอนแทรกโนสอยู่ในระดับปานกลาง แต่อ่อนแอต่อโรคราน้ำค้างและราแป้ง เปลือกลำต้นขององุ่นพันธุ์นี้มีรอยแยกและเปราะ ขั้วปล้องยาวปานกลาง มือเกาะเป็นแบบ intermittent ตรงปลายมีสีเขียวส่วนตรงโคนมีสีออกม่วง ใบอ่อนมีสีเขียว หรือม่วง และขอบใบเป็นสีน้ำตาล ใบที่เจริญเติบโตเต็มที่จะมี 5 lobe ใบมีขนาดใหญ่ แผ่นใบหนาและไม่เรียบ รอยเว้าระหว่าง lobe (inferior and superior lateral sinus) ก่อนข้างแคบ มีลักษณะเป็นรูปตัววี (V-shape) ส่วนรอยเว้าที่ก้านใบ (petiolar sinus) จะมีลักษณะเปิดเป็นรูปตัวยู (U-shape) ตรงรอยเชื่อมระหว่างก้านใบกับเส้นใบหลักจะเป็นสีแดง

ช่อดอกจะเกิดจากกิ่งอ่อนในข้อที่ 1-5 ช่อผลใหญ่ รูปทรงกรวย ผลค่อนข้างแน่น ผลแก่มีสีดำ ขนาดผลใหญ่มาก รูปร่างมีตั้งแต่รูปทรงกลมจนถึงกลมแบน เนื้อค่อนข้างแข็งและกรอบรสชาติปานกลาง เปลือกผลหนาและมีรสชาติฝาด เปลือกผลติดกับเนื้อ (adherence) เป็นองุ่นชนิดมีเมล็ด โดยมีตั้งแต่ 1-5 เมล็ดต่อผล (เฉลี่ยประมาณ 2-3 เมล็ด) ขนาดค่อนข้างใหญ่ เนื้อบางส่วนจะติดกับเมล็ด เป็นพันธุ์ที่ให้ผลดก ระยะเวลาตั้งแต่ดอกบานจนถึงผลสุกแก่ค่อนข้างนาน (ปวิณ, 2504; Chadha and Randhawa, 1974; Winkler *et al.*, 1974)

พันธุ์ Black Rose

พันธุ์นี้เป็นพันธุ์ลูกผสมเกิดจาก *V. vinifera* แท้ 100 เปอร์เซนต์ ถูกผสมขึ้นโดย Synder and Harmon ในหน่วยงาน USDA (United States Department of Agriculture) ราวปีคริสต์ศักราช 1951 ซึ่งเกิดจากการผสมระหว่างพันธุ์ (Damas Rose × Black Monukka) กับพันธุ์ Ribier (Striem, 2000; Jameson, n.d.) องุ่นพันธุ์นี้เป็นพันธุ์ที่มีความแข็งแรงปานกลาง เปลือกของลำต้นมีรอยแตกเป็นร่องแคบ ๆ ขั้วปล้องยาวปานกลาง มือเกาะเป็นแบบ intermittent และมีสีเขียวอ่อน ใบอ่อนมีสี

ชมพู ส่วนใบที่โตเต็มที่จะมี 3 lobe (เนื่องจาก inferior lateral sinus แคบและตั้งชันจนแทบจะมองไม่เห็น) ใบมีขนาดใหญ่ แผ่นใบหนาปานกลาง รอยเว้าที่ก้านใบเป็นรูปตัววี ก้านใบมีสีม่วง

ช่อดอกจะเกิดจากกิ่งอ่อนในข้อที่ 3-5 ช่อผลใหญ่ รูปทรงกรวย หรือ ทรงมีไหล่ (shoulder) ผลแก่มีสีดำ ขนาดผลใหญ่มาก มีรูปร่างค่อนข้างยาว ด้านก้นผลแหลม เปลือกผลค่อนข้างนุ่ม เนื้อกรอบ เมื่อผลสุกเต็มที่จะมีปริมาณน้ำตาลหรือ total soluble solids (TSS) 18-20 % และปริมาณกรดหรือ titratable acidity (TA) 1 % มีกลิ่นหอมเล็กน้อย เป็นพันธุ์ที่มีเมล็ดซึ่งผลหนึ่งมีประมาณ 1-5 เมล็ด (เฉลี่ยประมาณ 3 เมล็ด) ระยะเวลาตั้งแต่ดอกบานจนถึงผลสุกแก่ยาวนานมาก (ปวิณ, 2504; Vossen, 2006)

พันธุ์ Cardinal

องุ่นพันธุ์ Cardinal เกิดจากการผสมระหว่างพันธุ์ Flame Tokay กับพันธุ์ Ribier โดย Snyder and Harmon ณ สถานีทดลอง United States Horticultural Field Station ที่เมือง Fresno ในรัฐแคลิฟอร์เนีย ราวปีคริสต์ศักราช 1946 (Winkler *et al.*, 1974) องุ่นพันธุ์นี้มีความแข็งแรงปานกลาง อ่อนแอต่อโรคน้ำค้างและราแป้ง ส่วนเปลือกของลำต้นมีลักษณะไม่เรียบและเปราะ ขอบปล้องสั้น มือเกาะเป็นแบบ intermittent มีสีเขียวอ่อนตรงปลาย ส่วนที่โคนมีสีม่วงอ่อน ใบอ่อนมีหลายสี ใบที่โตเต็มที่จะมี 5 lobe แผ่นใบเรียบและบาง ขนาดใหญ่ปานกลาง รอยเว้าระหว่าง lobe ลึกปานกลาง มีลักษณะเป็นรูปตัววี รอยเว้าที่ก้านใบตื้นและเป็นรูปตัวยู ก้านใบมีสีแดง

ช่อดอกจะเกิดจากกิ่งอ่อนในข้อที่ 1-8 ช่อผลค่อนข้างใหญ่ รูปทรงกรวย ผลค่อนข้างแน่น ผลแก่มีสีม่วงแดง ขนาดผลใหญ่ถึงใหญ่มาก มีรูปร่างกลมหรือค่อนข้างรูปไข่ เปลือกผลติดแน่นกับเนื้อ เมื่อผลสุกเต็มที่จะมีกลิ่น muscat เล็กน้อย มีปริมาณน้ำตาล 20-22 % และปริมาณกรด 0.6-0.7 % องุ่นพันธุ์นี้มีเมล็ดตั้งแต่ 0-4 เมล็ดต่อผล (เฉลี่ยประมาณ 2 เมล็ด) เมล็ดมีขนาดปานกลางและไม่ติดกับเนื้อผล เป็นพันธุ์ที่ออกดอกติดผลง่าย และผลแก่เร็ว แต่พันธุ์องุ่นนี้มีข้อเสียตรงที่ผลแตกง่าย โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้ามีฝนตกหนักในช่วงที่ใกล้จะเก็บเกี่ยวผล (ปวิณ, 2504; Chadha and Randhawa, 1974; Morton and Adams, 1979)

พันธุ์ Marroo Seedless

เกิดจากการผสมระหว่างพันธุ์ Carolina Black Rose กับพันธุ์ Ruby Seedless (สุรศักดิ์, 2540) มีถิ่นกำเนิดในประเทศออสเตรเลีย เป็นพันธุ์ที่ทนทานต่อโรคราน้ำค้าง (downy mildew) ได้ดีมาก ช่อผลโปร่งและมีขนาดค่อนข้างใหญ่ เมื่อแก่ผลมีสีม่วงดำหรือดำ ขนาดผลใหญ่ปานกลาง เปลือกผลติดแน่นกับเนื้อ เนื้อค่อนข้างแน่นและกรอบ องุ่นพันธุ์นี้เป็นพันธุ์ที่ไม่มีเมล็ดลีบ (seedless) หรือเมล็ดอ่อนนุ่ม (Dokoozlian, 1998; California Table Grape Commission, 2004)

พันธุ์ Perlette

Dr. Olmo แห่งมหาวิทยาลัยแคลิฟอร์เนีย (University of California, Davis) ได้ผสมพันธุ์นี้ขึ้นมาจากองุ่นพันธุ์ Scolokertek Hiralynoje 26 กับพันธุ์ Sultania Marble ในปีคริสต์ศักราช 1936 (Shanmugavelu, 2003) องุ่นพันธุ์ Perlette เป็นพันธุ์ที่มีความแข็งแรง เปลือกของลำต้นจะมีรอยแตกเป็นช่องแคบ ๆ ขั้วปล้องสั้น มือเกาะเป็นแบบ intermittent โดยตรงส่วนโคนจะมีสีออกม่วง ส่วนอื่นจะมีสีเขียว ใบอ่อนจะมีสีเขียวอมเหลือง ส่วนใบที่โตเต็มที่จะมี 5 lobe ใบขนาดปานกลาง รอยเว้าระหว่าง lobe ค่อนข้างตื้น มีลักษณะเป็นรูปตัววี สำหรับรอยเว้าตรงก้านใบค่อนข้างกว้างมีลักษณะเป็นรูปตัวยู ก้านใบสั้นมีสีเขียวอมชมพู

ช่อดอกจะเกิดในกิ่งอ่อนตำแหน่งที่ 3-4 ของข้อ ช่อผลค่อนข้างใหญ่ ผลค่อนข้างจะอัดตัวกันแน่น รูปร่างช่อผลเป็นทรงกรวย ที่ตอนบนของช่อมีไหล่ (shoulder) เมื่อผลแก่จะมีสีเหลืองอมเขียว หรือสีเหลืองทอง ผลมีรูปร่างเป็นทรงกลม เปลือกผลจะติดแน่นกับเนื้อ ผลที่สุกเต็มที่จะมีปริมาณน้ำตาล 18-20 % และมีปริมาณกรด 0.5-1.0 % องุ่นพันธุ์นี้เป็นพันธุ์เมล็ดลีบหรือพันธุ์ไม่มีเมล็ด ให้ผลผลิตค่อนข้างดี และผลแก่เร็ว (ปวิณ, 2504; Chadha and Randhawa, 1974; Morton and Adams, 1979)

พันธุ์ Loose Perlette

เป็นพันธุ์ที่ได้จากการนำเอาเมล็ดขององุ่นพันธุ์ Perlette ไปฉายรังสี จนได้เป็นพันธุ์กลายซึ่งมีลักษณะบางประการที่แตกต่างไปจากพันธุ์ Perlette คือ มีช่อผลที่โปร่งมากขึ้น (Chadha and Randhawa, 1974; Shanmugavelu, 1998)

พันธุ์ Shiraz (Syrah)

เป็นพันธุ์ที่เก่าแก่มาก มีการปลูกตั้งแต่สมัยโรมัน อยู่ทางตอนเหนือของเมือง Côtes-du-Rhone ประเทศฝรั่งเศส พันธุ์นี้มีความแข็งแรงสูงและสามารถเจริญเติบโตได้ดีในหลายพื้นที่ ใบอ่อนจะถูกปกคลุมไปด้วยขน ด้านหลังใบจะมีสีขาวอมเหลือง ส่วนด้านท้องใบจะมีสีขาวอมชมพู ใบที่โตเต็มที่จะมี 5 lobe รูปร่างค่อนข้างกลม ผิวใบมีลักษณะเป็นคลื่น มีขนขึ้นปกคลุมบริเวณท้องใบมือเกาะมีขนาดเล็ก สำหรับช่อผลนั้นมีขนาดค่อนข้างยาว มีรูปร่างเป็นทรงกระบอก ช่อผลค่อนข้างโปร่ง และมีก้านช่อผลยาว ผลมีขนาดเล็ก รูปทรงไข่ เมื่อผลสุกเต็มที่มีสีดำ เป็นพันธุ์ที่มีเมล็ดนิยมนำไปทำไวน์แดง

องุ่นพันธุ์นี้แตกตาค่อนข้างช้า ไม่ทนทานต่อสภาพแห้งแล้ง แต่เป็นพันธุ์ที่ต้านทานต่อโรคราแป้งได้ดี ผู้ที่ปลูกองุ่นพันธุ์นี้ในประเทศฝรั่งเศสได้จำแนกองุ่นพันธุ์นี้ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 *petite Syrah* และกลุ่มที่ 2 *grosse Syrah* โดยในกลุ่มที่ 2 นี้จะให้ผลผลิตสูงกว่า และมีความแข็งแรงมากกว่า แต่ถ้านำไปทำไวน์จะได้ไวน์ที่คุณภาพต่ำกว่าในกลุ่มแรก (Winkler *et al.*, 1974; Anticliff, 1979; Morton and Adams, 1979)

พันธุ์ Chenin Blanc (Pineau de la Loire หรือ White Pinot)

องุ่นพันธุ์ Chenin Blanc เป็นองุ่นพันธุ์ที่เก่าแก่พันธุ์หนึ่ง ครั้งแรกที่พบปลูกอยู่ที่โบสถ์ Glanfeuil ริมฝั่งแม่น้ำ Loire ในเมือง Anjou ประเทศฝรั่งเศส ราวปีคริสต์ศักราช 845 เป็นพันธุ์ที่มีความแข็งแรงและสามารถแตกตาได้เร็ว แต่ไม่ต้านทานต่อโรคราแป้งและราน้ำค้าง ยอดอ่อนมีสีขาว ใบอ่อนจะถูกปกคลุมไปด้วยขนทำให้มองเห็นเป็นสีbronze ใบที่โตเต็มที่จะมี 3-5 lobe รอยเว้าระหว่าง lobe ค่อนข้างตื้น ใบรูปร่างกลม มีสีเขียวเข้ม แผ่นใบเป็นคลื่นไม่เรียบ บริเวณใต้ท้องใบจะมีขนขึ้นปกคลุม ส่วนหลังใบบริเวณส่วนโคนของเส้นใบหลักจะเป็นสีแดง

ช่อผลมีขนาดปานกลาง รูปทรงกรวย หรือมีปีก (wing) จำนวน 1 อัน ผลภายในช่ออัดกันแน่น ผลมีขนาดเล็ก รูปไข่ เมื่อผลสุกเต็มที่จะมีสีเหลืองทอง และมีการสะสมกรดสูง สำหรับพันธุ์นี้นิยมนำไปทำไวน์ขาว เป็นองุ่นชนิดมีเมล็ด (Winkler *et al.*, 1974; Morton and Adams, 1979; Kerridge and Anticliff, 1996)

การใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาในการตรวจสอบสายพันธุ์องุ่น

ระบบของการจัดจำแนกชนิดและพันธุ์พืชนั้น วิธีพื้นฐาน (ขั้นต้น) ที่ใช้กันโดยทั่ว ๆ ไป คือ การศึกษาจากลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยา (Morton and Adams, 1979) ในการจำแนกความแตกต่างในองุ่นพันธุ์ต่าง ๆ โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยานั้นเรียกว่า Ampelography ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีเก่าแก่ที่ใช้กันมาช้านาน แต่เนื่องจากในสมัยแรก ๆ ยังไม่มีการเก็บข้อมูลแบบเป็นระบบ จึงทำให้มีผู้สนใจน้อย (Merdinoglu *et al.*, 2000) จนกระทั่งในปีคริสต์ศักราช 1951 O.I.V. (Office International de la Vigne et du Vin) ได้ทำการรวบรวมเอาลักษณะต่าง ๆ ที่ใช้ในการจำแนกความแตกต่างขององุ่นขึ้นมา ซึ่งมีทั้งสิ้น 65 ลักษณะ (Pavloušek, 2003) ต่อจากนั้นก็ได้มีการปรับปรุงและเพิ่มเติมลักษณะที่ใช้ศึกษามากขึ้น ๆ เป็นลำดับ จนถึงในยุคปัจจุบันการศึกษาลักษณะทางด้าน Ampelography มีความละเอียดเพิ่มขึ้นมาก ทำให้สามารถจำแนกความแตกต่างขององุ่นทั้งในระดับชนิด และสายพันธุ์ได้ (Mullins *et al.*, 1992) สำหรับข้อดีของการจำแนกด้วยวิธีนี้คือ สามารถทำได้ง่าย สะดวกรวดเร็ว และใช้ต้นทุนในการศึกษาไม่สูง ส่วนข้อเสียของวิธีนี้คือ ลักษณะต่าง ๆ จะแปรผันไปตามสภาพแวดล้อม สภาพพื้นที่ปลูก (Ortiz *et al.*, 2003) รวมถึงทักษะและความชำนาญของผู้ที่ทำการศึกษา (Ferreira Monteiro, 2000)

ผู้ทำการศึกษาโดยส่วนใหญ่นิยมใช้ความแตกต่างในส่วนของยอดอ่อน (young shoot) ใบอ่อน (young leaf) ใบแก่ (mature leaf) ช่อดอกและดอกย่อย (inflorescence and floret) ช่อผลและผล (cluster and berry) กิ่งอ่อนและกิ่งแก่ (shoot and cane) และเมล็ด (seed) ในการศึกษาเพื่อจำแนกชนิดและสายพันธุ์ (Morton and Adams, 1979) นอกจากนี้ที่ได้กล่าวมาแล้วก็ยังมีส่วนอื่น ๆ ที่สามารถใช้จัดจำแนกได้ เช่น ลำต้น (stem) เปลือก (bark) และมือเกาะ (tendrils) เป็นต้น ส่วนในเรื่องของความแข็งแรงทนทานต่อสภาพภูมิอากาศ รวมถึงความทนทานต่อโรคและแมลง ก็สามารถใช้เป็นเกณฑ์ในการจัดจำแนกชนิดและสายพันธุ์ขององุ่นได้เช่นกัน (Chadha and Randhawa, 1974) Ulaovskiy *et al.* (2002) รายงานว่า ในการจำแนกพันธุ์ขององุ่นโดยใช้ลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยานั้น ส่วนใหญ่แล้วผู้ที่จัดจำแนกจะใช้วิธีการศึกษาเลียนแบบวิธีการของ O.I.V. ในปี 1983 ซึ่งจะศึกษาจากลักษณะต่าง ๆ ประมาณ 130 ลักษณะ ในการศึกษาต้องใช้ช่วงเวลาเดียวกัน โดยต้นองุ่นต้องอยู่สภาพแวดล้อมที่เหมือนกัน และมีการเจริญเติบโตเต็มที่แล้ว

Martínez *et al.* (2003) ได้ทำการประเมินความหลากหลายและจำแนกพันธุ์ขององุ่นที่ปลูกในประเทศอาร์เจนตินา ซึ่งประกอบด้วยองุ่นพันธุ์พื้นเมืองของอาร์เจนตินาจำนวน 9 พันธุ์ องุ่นในกลุ่ม European จำนวน 6 พันธุ์ และองุ่นในกลุ่ม American 1 พันธุ์ โดยศึกษาจากเครื่องหมาย

โมเลกุล (AFLP) ร่วมกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำนวน 53 ลักษณะ จาก 10 ส่วนของพืช ซึ่งได้แก่ ยอดอ่อน กิ่งอ่อน ใบอ่อน มือเกาะ ช่อดอก ใบแก่ ช่อผล ผล ก้านดอกย่อย และกิ่งแก่นอกจากนี้ยังใช้ช่วงเวลาของการแตกตา ช่วงเวลาที่ดอกบาน และระยะเวลาที่ผลเจริญจนถึงแก่เต็มที่ (พร้อมเก็บเกี่ยว) มาช่วยในการจำแนกพันธุ์ด้วย เมื่อนำผลที่ได้จากการศึกษาทางด้านสัณฐานวิทยา มาเปรียบเทียบกับการศึกษาโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล (AFLP) ปรากฏว่าทั้ง 2 วิธีสามารถที่จะจำแนกพันธุ์องุ่นทั้ง 3 กลุ่มออกจากกันได้ อีกทั้งยังสามารถใช้ประเมินความหลากหลายของพันธุ์องุ่นได้อีกด้วย

ข้อมูลพื้นฐานทางด้านชีวโมเลกุลขององุ่น

องุ่นเป็นพืชที่มีจีโนม (genome) ขนาดค่อนข้างเล็ก คือ ประมาณ 500 ล้านคู่เบส (Mbp) อย่างเช่นองุ่นพันธุ์ Syrah มีขนาดของจีโนมเท่ากับ 483 Mbp (Arumuganathan and Earle, 1991; Tomkins *et al.*, 2001) โดยธรรมชาติแล้วองุ่นเป็นพืชที่มีโครโมโซมเป็นแบบ diploid แต่มนุษย์ได้พัฒนาสายพันธุ์ใหม่ ๆ ขึ้นมา ทำให้เกิดพันธุ์ที่มีโครโมโซมเป็น triploid และ tetraploid องุ่นแบ่งออกเป็น 2 สกุลย่อย (subgenus) คือ สกุลย่อย *Euvtis* เช่น *V. vinifera* L. มีจำนวนโครโมโซม $2n=38$ หรือ $n=19$ (Lodhi *et al.*, 1995; Dalbó *et al.*, 2000; Falistocco and Antonielli, 2002; Grando *et al.*, 2003) และสกุลย่อย *Muscadinia* เช่น *V. rotundifolia* Michx. มีจำนวนโครโมโซมเป็น $2n=40$ หรือ $n=20$ (Keller, 2000; Grape FAO, 2002; Xu and Lu, 2004)

ลายพิมพ์ดีเอ็นเอและการตรวจสอบสายพันธุ์พืช

ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA Fingerprinting) หมายถึง การตรวจสอบเอกลักษณ์ทางพันธุกรรม โดยการใช้ดีเอ็นเอที่สามารถให้แบบแผนความแตกต่างของดีเอ็นเอในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด วิธีนี้ถูกนำมาใช้ครั้งแรกในปี ค.ศ. 1985 โดย Alec Jeffreys (ยุคสรร, 2542) การตรวจสอบโดยใช้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอนั้น เป็นเทคนิคที่เข้าใจง่ายและไม่ยุ่งยากซับซ้อนมากนัก จึงเป็นเทคโนโลยีชีวภาพแขนงหนึ่งที่มีศักยภาพในการวิจัยและตรวจสอบพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตทุกชนิด สำหรับวิธีตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอสามารถทำได้ 2 วิธีหลัก ๆ คือ การทำไฮบริไดเซชัน (Hybridization) และวิธีเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค PCR (Polymerase Chain Reaction) ซึ่งทั้ง 2 วิธีนี้มีการนำไปประยุกต์แยกย่อยเป็นแบบต่าง ๆ อีกหลายวิธี เช่น

Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)

เป็นวิธีที่ใช้แยกความแตกต่างของขนาดดีเอ็นเอ ที่เกิดจากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ (restriction enzyme) โดยเริ่มจากการย่อยดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ จากนั้นจึงแยกขนาดของชิ้นดีเอ็นเอที่ถูกตัดด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส (electrophoresis) บนแผ่นเจล แล้วย้ายดีเอ็นเอจากแผ่นเจลมาไว้บนแผ่นเมมเบรนฟิลเตอร์ จากนั้นจึงใช้โพรบ (probe) ที่ติดฉลากมาใช้บ่งชี้ความแตกต่างของแต่ละจีโนม โดยใช้วิธี Southern blotting (Meyers, 1995) เทคนิคนี้มีข้อดีตรงที่สามารถใช้ตรวจสอบได้กับทุกส่วนของพืชและชนิดของโพรบมีจำนวนไม่จำกัด แต่ข้อเสียคือวิธีการทำยุ่งยากและมีค่าใช้จ่ายสูง (พัฒนา, 2538; Morgante, 1994) สำหรับชนิดของโพรบที่นิยมใช้มี 2 ชนิด คือ

1. มินิแซตเทลไลท์ดีเอ็นเอ (minisatellite DNA) หรือ Variable Number Tandem Repeat (VNTR) เป็นดีเอ็นเอชุดซ้ำขนาดประมาณ 10-60 คู่เบส (bp) จะมีความต่างกันมากในเรื่องของความยาวเนื่องจากมีจำนวนชุดซ้ำแตกต่างกัน
2. ไมโครแซตเทลไลท์ดีเอ็นเอ (microsatellite DNA) หรือ Simple Sequence Repeat (SSR) เป็นดีเอ็นเอชุดซ้ำขนาดสั้นมาก ๆ มีเพียงไม่เกิน 10 คู่เบส ได้จากของคน สัตว์ พืช รา และแบคทีเรีย หรือสังเคราะห์ขึ้นโดยวิธีทางเคมี แล้วนำมาใช้เป็นโพรบที่เหมาะสมกับพืชหรือสัตว์แต่ละชนิด (สุรินทร์, 2540)

Polymerase Chain Reaction (PCR)

เป็นวิธีการที่ใช้การเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอเฉพาะส่วน เริ่มจากการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างที่ต้องการตรวจสอบ จากนั้นจึงนำชิ้นดีเอ็นเอเป้าหมายมาเพิ่มปริมาณให้มากขึ้นโดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ DNA polymerase (ขั้นตอนนี้จะทำในเครื่อง Thermal Cycler ซึ่งตั้งโปรแกรมไว้ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ) แต่เนื่องจากในการทำ PCR จำเป็นต้องมีองค์ประกอบหลัก 5 อย่าง คือ ดีเอ็นเอต้นแบบ นิวคลีโอไทด์ทั้ง 4 ชนิด ไพริเมอร์ เอนไซม์ DNA polymerase และ buffer จึงจะสามารถทำได้ แต่การทำ PCR มีข้อจำกัดบางประการที่สำคัญ คือ ในการที่จะสังเคราะห์ไพริเมอร์นั้นจำเป็นต้องทราบลำดับเบสของดีเอ็นเอเป้าหมายก่อน (ยุคลธร, 2542) ด้วยสาเหตุนี้จึงมีผู้ประยุกต์เทคนิค PCR ไปใช้ในแบบต่าง ๆ กัน สำหรับวิธีที่นิยมใช้กันอยู่ในปัจจุบัน ได้แก่

1. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) เป็นการนำเอาดีเอ็นเอเริ่มต้นที่เป็นสายเดี่ยวขนาด 8-10 นิวคลีโอไทด์ ที่มีการจัดเรียงลำดับเบสแตกต่างกันและเป็นไปแบบสุ่ม (random primer) ไปผ่านขั้นตอนการทำ PCR หลังจากนั้นก็นำดีเอ็นเอที่ได้ไปแยกขนาดโดยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส ซึ่งพบว่าในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด หรือชนิดเดียวกันแต่คนละสายพันธุ์ จะมีขนาดของดีเอ็นเอที่ผ่านการเพิ่มปริมาณแล้วขนาดไม่เท่ากัน ซึ่งวิธีการนี้สามารถทำได้ง่าย และรวดเร็ว (พัฒนา, 2538)

2. Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) เป็นเทคนิคที่รวมเอาเทคนิค RFLP และ RAPD เข้าด้วยกัน เริ่มจากการสกัดดีเอ็นเอ จากนั้นเอาดีเอ็นเอที่ได้มาตัดด้วยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะ 2 ชนิด ตามด้วยการเชื่อมต่อด้วย adapter ที่ปลายทั้งสองข้างของชิ้นดีเอ็นเอ ที่ปลายของ adapter อีกข้างหนึ่งที่ไม่ได้เชื่อมกับอะอะไรจะเป็นที่สำหรับเกาะของไพรมอร์ ไพรมอร์ที่สังเคราะห์ขึ้นมาจะมีลำดับเบสเหมือนกับส่วนของ adapter ที่เชื่อมกับปลายของชิ้นดีเอ็นเอ ส่วนปลายด้าน 3' ของไพรมอร์มีลำดับเบสที่เป็นส่วนตำแหน่งจดจำของเอ็นไซม์ตัดจำเพาะที่ใช้ และเมื่อเพิ่มเบส 2-3 เบส เข้าที่ปลายด้าน 3' ของไพรมอร์นี้ เพื่อให้เกิดการเลือกจับได้เฉพาะชิ้นดีเอ็นเอที่มีเบสเป็นคู่สมกันเท่านั้น ดังนั้นชิ้นดีเอ็นเอที่สามารถเพิ่มปริมาณได้ จะมีเฉพาะชิ้นดีเอ็นเอที่มีลำดับเบสส่วนที่อยู่ติดกับบริเวณจดจำของเอ็นไซม์เข้าคู่ได้กับไพรมอร์ที่เลือกใช้เท่านั้น จากนั้นจึงนำชิ้นดีเอ็นเอที่ได้มาแยกขนาดโดยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสบน denaturing polyacrylamide gel วิธีนี้สามารถใช้แยกความแตกต่างได้โดยพิจารณาจากขนาดและจำนวนของชิ้นดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน (Vos and Kuiper, 1997)

การตรวจสอบพันธุ์พืชโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอแบบต่าง ๆ

การตรวจสอบโดยใช้เทคนิค RFLP

RFLP เป็นการวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่จำเป็นต้องผ่านขั้นตอนของการทำ Southern hybridization และต้องใช้โพรบ ซึ่งในขั้นตอนของการติดฉลากโพรบนั้น ถ้าใช้สารกัมมันตรังสีสำหรับติดฉลาก อาจก่อให้เกิดอันตรายได้ นอกจากนี้แล้ววิธีนี้ยังทำได้ยากและเสียเวลามากอีกด้วย (สุรินทร์, 2545) ดังนั้นในแง่ของการนำเทคนิคนี้ไปใช้ในการตรวจสอบพันธุ์พืชนั้นจึงมีค่อนข้างน้อย ประกอบกับความสามารถในการตรวจสอบของเทคนิคนี้ค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับเทคนิคอื่น ๆ ตัวอย่างเช่น

ในการศึกษาของ Barysheva *et al.* (1995) ซึ่งใช้เทคนิค RAPD และ RFLP ในการตรวจสอบสายพันธุ์องุ่นในประเทศตุรกี ซึ่งมีทั้งที่อยู่ต่างชนิดกัน และพวกที่อยู่ในชนิดเดียวกันแต่ต่างสายพันธุ์กัน จากการศึกษาพบว่า เทคนิค RAPD สามารถจำแนกสายพันธุ์องุ่นที่อยู่ต่างชนิดและต่างสายพันธุ์กันได้หมดทุกพันธุ์ แต่ในขณะที่เทคนิค RFLP สามารถแยกความแตกต่างได้แค่ระดับชนิดเท่านั้น ส่วนในระดับสายพันธุ์นั้นจำแนกได้เฉพาะบางพันธุ์ โดยพันธุ์ที่มีจีโนมไทป์ใกล้เคียงกันมาก ๆ อย่างเช่น พันธุ์ Muskat Gamburgskiy กับพันธุ์ Muskat Tairovskiy เทคนิคนี้ไม่สามารถใช้จำแนกได้

Bowers *et al.* (1993) ได้ใช้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอในการตรวจสอบองุ่นพันธุ์ Pinot Noir 19 และ Pinot Noir 1 ซึ่งมีลักษณะเหมือนกัน โดยการศึกษาชิ้นนี้ทำขึ้นเพื่อสนับสนุนผลการศึกษาลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยา ซึ่งเขาสันนิษฐานว่า องุ่นทั้งสองพันธุ์นี้น่าจะเป็นพันธุ์เดียวกัน จากการศึกษาโดยใช้เทคนิค RFLP ในการตรวจสอบก็พบว่า ทั้งสองพันธุ์มีรูปแบบของลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เหมือนกัน นอกจากนี้ยังได้นำองุ่นพันธุ์ Pinot Gris ซึ่งเป็นพันธุ์กลายของ Pinot Noir มาใช้ตรวจสอบด้วย ซึ่งก็พบว่ารูปแบบของลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้เหมือนกันอีก จากหลักฐานเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าเทคนิค RFLP น่าจะไม่เหมาะสมสำหรับการตรวจสอบพันธุ์พืชที่มีความใกล้เคียงกันมาก ๆ

แต่อย่างไรก็ดีถ้าเป็นการตรวจสอบพันธุ์พืชที่ไม่ละเอียดมากนัก เทคนิค RFLP ก็สามารถที่จะใช้ตรวจสอบได้ อย่างเช่นในรายงานของ Hubbard *et al.* (1992) และ Rajapakse *et al.* (1992) ซึ่งใช้เทคนิค RFLP ในการจัดจำแนกพันธุ์กุหลาบได้เป็นผลสำเร็จ เช่นเดียวกับ Bowers and Meredith (1996) ที่ใช้เทคนิค RFLP นี้ในการหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม และใช้ในการจัดกลุ่มขององุ่นพันธุ์ทำไวน์บางพันธุ์ในรัฐแคลิฟอร์เนีย ประเทศสหรัฐอเมริกา

การตรวจสอบโดยใช้เทคนิค SSR

แรกเริ่มนั้นการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยวิธีไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ หรือ SSR จะต้องใช้โพรบเป็นตัวจับ แต่เนื่องจากวิธีนี้ทำได้ค่อนข้างลำบาก ดังนั้นจึงเปลี่ยนมาใช้ทำ PCR แทนการใช้โพรบ ซึ่งวิธีนี้มีข้อดีตรงที่สามารถตรวจโพลิมอร์ฟิซึม (polymorphism) ได้ในระดับสูง นอกจากนี้ยังทำได้ง่ายและรวดเร็วอีกด้วย (สุรินทร์, 2545) สำหรับการใช้นี้เทคนิค SSR ในการ

ตรวจสอบและจำแนกพันธุ์พืชมีรายงานว่าเริ่มทำในปี ค.ศ. 1994 โดย Thomas *et al.* หลังจากนั้นก็มีผู้ที่นำวิธีนี้ไปใช้ในการตรวจสอบพันธุ์พืชแพร่หลายมากขึ้น (Sefc *et al.*, 1999)

มีผู้ที่นำเอาเทคนิค SSR หรือ SSRs ไปใช้ในการจำแนกและตรวจสอบพันธุ์พืชในหลายระดับด้วยกัน เช่น ใช้ตรวจสอบรุ่นที่อยู่ต่างชนิดกัน (Sefc *et al.*, 1999; Pollefeys and Bousquet, 2003) หรืออยู่ในชนิดเดียวกันแต่ต่างสายพันธุ์กัน (Regner *et al.* (1996); Lamboy and Alpha, 1998; Sefc *et al.*, 1998; Merdinoglu *et al.*, 2000) จนถึงระดับที่อยู่สายพันธุ์เดียวกันแต่คนละโคลน (clone) (Vignani *et al.*, 1996; Bisztray *et al.*, 2003) ก็มี

จากการศึกษาของ Scott *et al.* (2000b) พบว่าเทคนิค SSR นั้นสามารถที่จะใช้จำแนกออกได้ตั้งแต่ในระดับสกุล (genus) ชนิด (species) สายพันธุ์ (varieties) ลึกลงไปจนถึงระดับโคลน (clone) ก็ได้ และโดยเฉพาะอย่างยิ่งการจำแนกพืชในระดับโคลนนั้น เทคนิค SSR จะมีความเหมาะสมและสามารถตรวจสอบได้แม่นยำมากกว่าเทคนิคอื่น ๆ

มีการรายงานเปรียบเทียบผลการตรวจสอบโดยเทคนิค SSR กับเทคนิคอื่น ๆ ซึ่งบางครั้งก็ให้ผลการพิสูจน์ที่ชัดเจนกว่า เช่น ในการศึกษาของ Labra *et al.* (1999) ที่ใช้ตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยเทคนิค AFLP และ SSR เพื่อการหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมขององุ่นพันธุ์ Anosonica ซึ่งมีถิ่นกำเนิดบนเกาะ Giglio ในเมือง Tuscany ของประเทศอิตาลี กับองุ่นพันธุ์อื่น ๆ จากการศึกษาพบว่าทั้ง 2 เทคนิคให้ข้อสรุปที่เหมือนกัน กล่าวคือ สามารถวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมขององุ่นที่นำมาศึกษาได้เหมือนกัน แต่เทคนิค SSR สามารถวิเคราะห์ผลได้ชัดเจนกว่าในบางกรณี โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่มีพันธุกรรมใกล้เคียงกันมาก ๆ

Scarano *et al.* (2003) ใช้เครื่องหมายโมเลกุล 2 แบบ คือ SSR และ AFLP เพื่อจำแนกและตรวจสอบต้นกล้าของมะนาวลูกผสมพันธุ์ Femminello ซึ่งต้นกล้าเหล่านี้ได้จากการผสมระหว่างต้นแม่ที่มีความทนทานต่อเชื้อ *mal secco* กับต้นพ่อซึ่งมีความทนทานต่อเชื้อเดียวกันนี้ในระดับปานกลาง โดยมีจุดประสงค์เพื่อที่จะคัดเลือกต้นที่มียืนต้านทานต่อโรค *mal secco* จากการศึกษาพบว่า การจำแนกโดยใช้ SSR สามารถตรวจสอบได้ดีและมีประสิทธิภาพสูงกว่าการใช้เทคนิค AFLP ทั้งนี้เนื่องจากลูกผสมเหล่านี้มีความใกล้เคียงกันมากทางพันธุกรรม (มีพ่อ-แม่เหมือนกัน) จึงทำให้การตรวจสอบโดยใช้ AFLP เห็นผลได้ไม่ค่อยชัด ซึ่งต่างกับเทคนิค SSR ซึ่งน่าจะเหมาะสมต่อการจำแนกพืชที่มีความแตกต่างกันในระดับโคลน

นอกจากนี้แล้วยังได้นำเทคนิคนี้ไปใช้ในการหาพื้นที่ควบคุมลักษณะต่าง ๆ ของพืช เช่น ยีนที่ควบคุมคุณภาพของผลผลิต (Palazzetti *et al.*, 2004) ยีนที่ควบคุมในเรื่องความต้านทานต่อเชื้อโรค (Scarano *et al.*, 2003) หรือใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม (Romero *et al.*, 2003; Basu *et al.*, 2004) รวมทั้งใช้เป็นเครื่องมือในการศึกษาเพื่อใช้สำหรับทำแผนที่ยีน (Grando *et al.*, 2000) เป็นต้น

การตรวจสอบโดยใช้เทคนิค RAPD

วิธีนี้บางครั้งถูกเรียกว่า Arbitrarily Primed PCR (AR-PCR), DNA Amplification Fingerprinting (DAF) หรือ Multiple Arbitrary Amplicon Profiling (MAAP) การวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยวิธีนี้เป็นวิธีประยุกต์ของเทคนิค PCR แบบหนึ่ง ซึ่งมีข้อดีตรงที่ไม่จำเป็นต้องทราบข้อมูลเกี่ยวกับลำดับเบสของดีเอ็นเอชิ้นเป้าหมายก่อน เนื่องจากไพรเมอร์ที่ใช้จะเข้าไปจับกับชิ้นดีเอ็นเอแบบสุ่ม ดังนั้นจึงทำให้เทคนิคนี้สามารถทำได้ง่าย และรวดเร็ว แต่การตรวจสอบด้วยวิธีนี้มีความแม่นยำค่อนข้างต่ำ (บางครั้งเมื่อทำซ้ำผลที่ได้ต่างไปจากเดิม) ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากวิธีนี้มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาวะต่าง ๆ (สุรินทร์, 2545) เทคนิคนี้ถูกนำมาใช้ครั้งแรกในปี ค.ศ. 1990 โดย William *et al.* และต่อจากนั้นก็มิได้นำมาใช้กันอย่างแพร่หลายในการตรวจสอบพันธุกรรมพืช ซึ่งเป็นที่นิยมกันจนถึงปัจจุบัน

ในช่วง 5-10 ปีที่ผ่านมา มีรายงานเกี่ยวกับการใช้เทคนิค RAPD ในการตรวจสอบและจัดจำแนกพันธุ์พืชกันค่อนข้างมาก ตั้งแต่ในระดับที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมน้อยไปจนถึงที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมาก อย่างเช่นในรายงานของ Matsumoto and Fukui (1996) ซึ่งเขาใช้เทคนิคนี้ในการจำแนกพันธุ์กุหลาบที่ใช้เป็นพันธุ์การค้าจำนวน 9 พันธุ์ และต้นที่ได้มาจากโคลนเดียวกันอีก 3 โคลน จากผลการศึกษาพบว่า ทุก ๆ พันธุ์ที่ใช้ทดลองสามารถแยกความแตกต่างได้ด้วยเทคนิค RFLP ซึ่งตรวจสอบโดยใช้เพียง 3 ไพรเมอร์เท่านั้น นอกจากนี้ยังมีรายงานเกี่ยวกับการนำเทคนิคนี้ไปใช้ในการจัดจำแนกชนิดของสนด้วย (Nkongolo *et al.*, 2002)

สำหรับในอุ้งนั้นมีการนำเทคนิค RAPD มาช่วยในการจัดแบ่งกลุ่ม เพื่อใช้สนับสนุนการศึกษาลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยา อย่างเช่นในการศึกษาของ Wang *et al.* (1999) ที่นำเทคนิคนี้มาใช้ในการจัดกลุ่มของอุ้งจำนวน 42 พันธุ์ จาก 13 ชนิด ซึ่งได้มาจากศูนย์เก็บรวบรวมเชื้อพันธุ์อุ้งของมหาวิทยาลัย Florida A&M ในประเทศสหรัฐอเมริกา จากการศึกษาสามารถแบ่งอุ้ง

ออกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ กลุ่มของ North American, East Asian และ *V. vinifera* นอกจากนี้แล้วเทคนิค RFLP ยังมีความละเอียดพอที่จะใช้จำแนกพันธุ์องุ่นที่มาจากรัฐฟลอริดาได้ด้วย

นอกจากนี้แล้วเทคนิค RAPD ยังสามารถใช้ตรวจสอบในระดับที่มีความใกล้เคียงกัน มาก ๆ ได้ อย่างเช่น ในรายงานของ Moreno *et al.* (1995) ที่ใช้ในการจัดจำแนกความแตกต่างในระดับพันธุ์ หรือรายงานของ Ye *et al.* (1998) ซึ่งใช้จัดจำแนกความแตกต่างในระดับโคลน นอกจากนี้ยังใช้ในการตรวจสอบพันธุ์เพื่อยืนยันสายพันธุ์ ในกรณีที่พันธุ์ดังกล่าวมีชื่อเดียวกันและมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่เหมือนกัน (Ulanovsky *et al.*, 2002) เป็นต้น

การตรวจสอบโดยใช้เทคนิค AFLP

การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยวิธีนี้เป็นเทคนิคประยุกต์ของ PCR แบบหนึ่ง ซึ่งเทคนิค AFLP นี้ได้รวมเอาข้อดีของ 2 เทคนิคเข้าด้วยกัน คือ เอาความน่าเชื่อถือของเทคนิค RFLP รวมกับประสิทธิภาพของเทคนิค PCR ซึ่งเทคนิค AFLP นี้พัฒนาขึ้นโดย Zabeau and Vos นักวิจัยของบริษัท Keygene N.V. ประเทศเนเธอร์แลนด์ และได้จดสิทธิบัตรในปี ค.ศ. 1993 (สุรินทร์, 2545)

บุคคอร (2542) ประสบความสำเร็จในการใช้เทคนิค AFLP ในการวิเคราะห์จีโนมของมังคุดจำนวน 11 ตัวอย่าง โดยสามารถตรวจพบความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอในมังคุดนนทบุรี มังคุดป่าหวา และมังคุดดวงกมล ในขณะที่มังคุดตัวอย่างอื่น ๆ พบความแตกต่างเพียงเล็กน้อย ซึ่งก็สอดคล้องกับ Yapwattanaphun (2003) ที่รายงานว่าเทคนิค AFLP สามารถใช้ตรวจสอบความผันแปรทางพันธุกรรมของมังคุดได้ ซึ่งเขาได้ทำการตรวจสอบความผันแปรทางพันธุกรรมของมังคุด (*Garcinia mangostana* L.) จำนวน 23 ตัวอย่าง ซึ่งเก็บมาจากประเทศไทย อินโดนีเซีย และมาเลเซีย นอกจากนี้ยังใช้หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของมังคุดชนิดนี้กับอีก 2 ชนิด คือ *G. hombroniana* Pierre และ *G. malaccensis* Hook จากการศึกษพบว่า เทคนิค AFLP ที่ใช้ตรวจสอบมังคุดสามารถตรวจพบแถบของดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน ในบางคู่ไพรเมอร์ ซึ่งเขาสันนิษฐานว่ามังคุดอาจเกิดการกลายพันธุ์แบบ somatic mutant นอกจากนี้ยังพบอีกว่า *G. mangostana* กับ *G. malaccensis* มีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกันมาก และอาจจะเป็นไปได้ว่า *G. malaccensis* เป็นต้นตระกูลของมังคุดที่ปลูกกันอยู่ในปัจจุบัน

นอกจากพืชในสกุลมังคุดแล้วในพืชอื่น ๆ ก็ได้้นำเทคนิคนี้ไปใช้ในการตรวจสอบหรือจำแนกชนิดและพันธุ์ อย่างเช่น ใน *Caladium bicolor* (Loh *et al.*, 1999), *Bambusa sp.* (Loh *et al.*,

2000), *Arabidopsis thaliana* (Polanco and Ruiz, 2002), *Dimocarpus longan* (Janthasri, 2003), *Paspopyrum smithii* (Larson *et al.*, 2003), *Aglaonema sp.* (Chen *et al.*, 2004) และ *Rosa damascena* (Baydar *et al.*, 2004) เป็นต้น

สำหรับองุ่นนั้นเทคนิค AFLP ถูกนำมาใช้ในการจำแนกความแตกต่างในทุกระดับ ตั้งแต่ในระดับวงศ์ สกุล สายพันธุ์ จนถึงในระดับโคลนด้วย ในกรณีที่การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ด้วยวิธีอื่น ๆ ไม่สามารถที่จะใช้ตรวจสอบความแตกต่างระหว่างพันธุ์ได้ ซึ่งมีสาเหตุอันเนื่อง มาจาก พันธุ์เหล่านั้นมีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมาก เช่น เป็นพันธุ์ที่เกิดจากพ่อแม่เดียวกัน หรือขยาย พันธุ์จากชิ้นส่วนขยายพันธุ์ที่ไม่อาศัยเพศแล้วเกิดความผันแปรทางพันธุกรรมขึ้น วิธีการตรวจสอบ ที่จะนำมาใช้จึงจำเป็นต้องมีความละเอียดมาก (Sefc *et al.*, 2001) เทคนิคแรกที่มีรายงานว่าสามารถใช้แก้ปัญหาในองุ่นได้สำเร็จ คือ เทคนิค AFLP ซึ่งรายงานโดย Cervera *et al.* (1998) ใน การศึกษาพันธุ์ขององุ่นในกลุ่ม *V. vinifera* ที่มาจาก line เดียวกัน (พ่อแม่เดียวกัน) ซึ่งทำการปลูก อยู่ในเขต Rioja ของประเทศสเปน โดยเขาใช้เทคนิค AFLP ในการตรวจสอบเพื่อคัดเลือกพันธุ์ และจากนั้นอีกไม่นาน Scott *et al.* (2000a) ได้ใช้เทคนิคนี้ในการจำแนกองุ่นที่เป็น somatic mutant ของพันธุ์ Flame Seedless (มีลักษณะที่แตกต่างไปจากพันธุ์เดิมตรงที่ตาจะแตกก่อน) ออกจากพันธุ์ ดั้งเดิมได้เป็นผลสำเร็จ โดยใช้ไพรมเมอร์ในการตรวจสอบทั้งหมด 64 คู่

ซึ่งก็สอดคล้องกับการศึกษาของ Narváez *et al.* (2000) และ Zulini *et al.* (2003) ที่สามารถ จำแนกโคลนขององุ่นพันธุ์ Carbernet Sauvignon จำนวน 48 โคลน และ Picolit จำนวน 39 โคลน ออกจากกันโดยใช้เทคนิค AFLP จากผลงานเหล่านี้ น่าจะยืนยันได้ว่าเทคนิค AFLP เป็นเทคนิคหนึ่ง ที่มีประสิทธิภาพในการใช้แยกความแตกต่างของพันธุ์พืชที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกันมาก ๆ ได้

แต่ก็มีบางการศึกษา (Sensi *et al.*, 1996; Fanizza *et al.*, 2003) ที่รายงานว่า การใช้เทคนิค AFLP ในการตรวจสอบโดยใช้ไพรมเมอร์ 8 และ 49 คู่ไพรมเมอร์ มีความละเอียดไม่เพียงพอที่จะใช้ ในการตรวจสอบความผันแปรทางพันธุกรรมขององุ่นที่มีความแตกต่างกันในระดับโคลน (somatic mutant และ clonal selection) ทั้งนี้เนื่องมาจากจำนวนคู่ไพรมเมอร์ที่ใช้ในการตรวจสอบนั้นมีไม่มาก พอที่จะใช้จำแนกความแตกต่างในระดับโคลน

การตรวจสอบโดยใช้เทคนิคอื่นๆ

ส่วนเทคนิคอื่นที่มีรายงานว่าถูกนำมาใช้ในการตรวจสอบพันธุ์พืช ได้แก่

เทคนิค SRAP (Sequence-Related Amplified Polymorphism) เป็นวิธีประยุกต์ของเทคนิค PCR อีกวิธีหนึ่ง Ferriol *et al.* (2003) รายงานว่าได้ใช้เทคนิคนี้ในการจำแนกพวกแดงในกลุ่ม *pepo* ออกเป็น 2 ชนิดย่อย (subspecies) คือ *ssp. pepo* และ *ssp. ovifera* ได้สำเร็จ ต่อจากนั้นในปีถัดมา เทคนิคนี้ถูกนำมาใช้ในการจำแนกพันธุ์แดง (*Cucurbita moschata*) จำนวน 250 สายพันธุ์ ที่เก็บรวบรวมอยู่ในศูนย์ Conservation and Breeding of Agricultural Diversity (COMAV) ของประเทศสเปน จากการศึกษาครั้งนั้นพบว่า เทคนิค SRAP สามารถที่จะแยกสายพันธุ์แดงออกเป็นกลุ่ม ๆ ได้ โดยแยกเป็นสายพันธุ์ที่มาจาก South America สายพันธุ์ที่มาจาก Canary และสายพันธุ์พื้นเมืองของสเปน (Ferriol *et al.*, 2004) นอกจากนี้แล้ว จิรพันธ์ (2546) ยังประสบความสำเร็จในการใช้เทคนิค SRAP ในการจำแนกพันธุ์ของกล้วยไข่พันธุ์กลาย (ก.บ.1, ก.บ.2, ก.บ.3, ก.บ.4 และ ก.บ. 5) ที่เกิดจากการฉายรังสี ออกจากกันได้อย่างชัดเจนโดยใช้ไพรเมอร์ A7-B5

เทคนิค SCAR (Sequence-Characterized Amplified Region) เป็นอีกเทคนิคหนึ่งที่ถูกนำมาใช้จำแนกพันธุ์พืช เทคนิคนี้เป็นวิธีประยุกต์ของเทคนิค PCR อีกแบบหนึ่ง Ramage *et al.* (2004) รายงานว่าสามารถใช้เทคนิคนี้ในการตรวจสอบต้นกล้วยหอมเขียว (*Musa ssp. AAA; subgroup Carvendish*) ที่เกิดการกลายพันธุ์เป็นต้นแคะจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (ซึ่งต้นแคะดังกล่าวเป็นลักษณะไม่ที่ต้องการให้เกิดขึ้น) ซึ่งวิธีนี้สามารถตรวจสอบต้นที่เป็นพันธุ์แคะได้ตั้งแต่อายุสภาพหลอดทดลอง (*in vitro*) ดังนั้นจึงไม่ต้องเสียเวลารอ (ปกติต้องนำออกปลูกก่อนจึงจะทราบว่าเป็นพันธุ์แคะหรือไม่) นอกจากนี้ในรายงานของ Das *et al.* (2005) ได้ใช้เทคนิคนี้ในการจำแนกพันธุ์ไผ่ในประเทศอินเดีย จำนวน 16 ชนิด จากผลการทดลองพบว่า เทคนิคนี้สามารถจำแนกไผ่ที่อยู่ในชนิด *Bambusa tulda* และ *B. balcooa* ได้แต่ไม่สามารถจำแนกที่เหลืออีก 14 ชนิดได้

อีกเทคนิคหนึ่งซึ่งถูกนำมาใช้ในการจำแนกพันธุ์พืช คือ เทคนิค S-SAP (Sequence-Specific Amplification Polymorphism) ซึ่งวิธีนี้พัฒนามาจากเทคนิค AFLP ได้มีผู้นำเอาเทคนิคนี้ไปใช้จำแนกพันธุ์อุนจำนวน 16 ตัวอย่าง (ที่มีความแตกต่างทั้งในระดับชนิด และสายพันธุ์) จากการทดลองพบว่า เทคนิคนี้สามารถใช้จำแนกพันธุ์อุนทั้ง 16 ตัวอย่างออกจากกันได้หมด (Pelsey *et al.*, 2003) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Venturi *et al.* (2004) ที่สามารถใช้เทคนิคนี้ในการจำแนกพันธุ์ของแอบเปิ้ลที่มีความแตกต่างกันในระดับโคลนได้

นอกจากที่ได้กล่าวมาแล้วยังมีอีกหลายเทคนิคที่ถูกพัฒนาขึ้นมาจากเทคนิคเก่า ๆ เพื่อใช้ในการตรวจสอบพันธุ์พืชที่มีความใกล้เคียงกันมาก ๆ สำหรับในองุ่นนั้นเนื่องจากการปรับปรุงพันธุ์ใหม่ ๆ เกิดขึ้นมามากมาย ประกอบกับมีการนำเอาสายพันธุ์ไปปลูกกระจายกันไปทั่วโลก ทำให้บางครั้งเกิดความสับสนในเรื่องของชื่อพันธุ์ขึ้น ดังนั้นจึงมีการพัฒนาเทคนิคใหม่ ๆ ขึ้นมาเพื่อให้สามารถตรวจสอบได้แม่นยำและสะดวกยิ่งขึ้น เช่น เทคนิค ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) ที่ถูกนำมาใช้ในการจำแนกพันธุ์ (Herrera *et al.*, 2002) และความแตกต่างในระหว่างโคลนขององุ่น (Regner *et al.*, 2001) เทคนิค MSAP (Methyl-Sensitive Amplified Length Polymorphism) ที่นำมาใช้จำแนกความแตกต่างของโคลนในองุ่นพันธุ์ Traminer (Imazio *et al.*, 2002) เทคนิค SAMPL (Selective Amplification of Microsatellite Polymorphic Loci) ซึ่งถูกนำมาใช้จำแนกพันธุ์ต้นตอขององุ่นที่มีพันธุกรรมใกล้เคียงกันมาก ๆ (Wolf *et al.*, 2003) และเทคนิค StSy-CHS (Stilbenhe synthase-chalcone synthase) ซึ่งใช้บ่งชี้ความแตกต่างในระหว่างโคลนขององุ่นพันธุ์ Touriga Nacional (Faria *et al.*, 2004) ในปัจจุบันเทคนิคต่าง ๆ เหล่านี้กำลังถูกพัฒนาให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น อีกทั้งยังมีการคิดค้นเทคนิคใหม่ ๆ เพิ่มขึ้นอีกด้วย

การตรวจสอบพันธุ์องุ่นโดยใช้เทคนิค AFLP เปรียบเทียบกับวิธีอื่น ๆ

ปัจจุบันเทคนิคที่นิยมนำมาใช้ในการตรวจสอบหรือจำแนกพันธุ์องุ่นนั้น มีอยู่เพียงแค่ 3 เทคนิคหลัก ๆ คือ AFLP, RAPD และ SSR ส่วนเทคนิคอื่น ๆ นั้นไม่ค่อยเป็นที่นิยมเนื่องจากบางวิธีก็ยุ่งยาก บางวิธีก็ใช้ค่าใช้จ่ายสูง หรือบางวิธีก็ตรวจสอบได้ไม่ค่อยแม่นยำ ดังนั้นจึงขอเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการตรวจสอบเฉพาะ 3 เทคนิคนี้เท่านั้น

จากการศึกษาที่ผ่านมาได้ใช้การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคต่าง ๆ เช่น RAPD RFLP และ SSR เข้ามาช่วยในการตรวจสอบและจำแนกพันธุ์ขององุ่นจำนวนมาก ทั้งในระดับชนิด และสายพันธุ์ แต่อย่างไรก็ดีถ้าเป็นการจำแนกในระดับโคลนนั้นวิธีต่าง ๆ เหล่านี้ยังไม่สามารถตรวจสอบได้แน่ชัด ดังนั้นจึงมีผู้ทดลองนำเอาเทคนิค AFLP ซึ่งเป็นเทคนิคใหม่เข้ามาช่วยในการแก้ปัญหา โดยนำวิธีนี้ไปทดลองศึกษาในองุ่นพันธุ์ Grenache, Pinot Blanc และ Pinot Noir ซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้เคียงกันมาก จากการศึกษาพบว่าเทคนิค AFLP สามารถตรวจพบความแตกต่างของลายพิมพ์ดีเอ็นเอในองุ่นทั้ง 3 พันธุ์ได้ แสดงว่าเทคนิคนี้ใช้แยกความแตกต่างขององุ่นในระดับโคลนได้ (Ribaut *et al.*, 1997)

มีการทดลองเปรียบเทียบความสามารถในการตรวจสอบพันธุ์องุ่น จำนวน 57 ตัวอย่าง (49 สายพันธุ์) ที่ปลูกในประเทศชิลี โดยใช้เทคนิค SSRs RAPD และ AFLP สำหรับตรวจสอบ จากการศึกษาพบว่า ทั้ง 3 เทคนิคนี้ สามารถใช้จำแนกความแตกต่างขององุ่นทุกพันธุ์ที่นำมาทดสอบได้ (Hinrichsen *et al.*, 2000)

Narváez *et al.* (2000) เปรียบเทียบประสิทธิภาพของเทคนิค AFLP กับ RAPD ในการจำแนกโคลนขององุ่นพันธุ์ Carbernet Sauvignon จำนวน 48 โคลน จากผลการศึกษาพบว่า เทคนิค AFLP มีประสิทธิภาพสูงกว่าในการตรวจสอบความแตกต่างในระดับโคลน เช่น แยกความแตกต่างของพันธุ์ที่มีชื่อผลแตกต่างกันได้ เป็นต้น นอกจากนี้มีบางรายงานที่สนับสนุนว่าเทคนิค RAPD ไม่สามารถแยกความแตกต่างในระดับโคลนได้ อย่างเช่นในการศึกษาของ Bisztray *et al.* (2003) ซึ่งใช้เทคนิค RAPD ในการตรวจสอบพันธุ์องุ่นในหลายระดับ จากการศึกษาพบว่า เทคนิคนี้ไม่สามารถใช้แยกโคลนขององุ่นพันธุ์ Pinot Gris ได้ แต่สามารถจำแนกพันธุ์และลูกผสม (เกิดจากการผสมภายใน species เดียวกัน) ได้

Imazio *et al.* (2002) ได้ทดลองเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการตรวจสอบพันธุ์องุ่นที่มีความแตกต่างกันในระดับโคลน โดยใช้เทคนิค AFLP และ SSR ในการตรวจสอบองุ่นพันธุ์ Traminer จำนวน 24 โคลน จากการศึกษาพบว่า เทคนิค SSR ไม่สามารถที่จะแยกความแตกต่างของ 24 โคลนนี้ได้ แต่ในขณะที่เทคนิค AFLP สามารถตรวจพบและแยกความแตกต่างของโคลนได้ถึง 16 โคลน ดังนั้นจึงเป็นข้อพิสูจน์ได้ว่าเทคนิค AFLP เป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพอย่างยิ่งในการจำแนกความแตกต่างในระดับโคลน

จากรายงานต่าง ๆ ข้างต้นชี้ให้เห็นว่าเทคนิค AFLP เป็นเทคนิคหนึ่งที่มีประสิทธิภาพและความแม่นยำสูงในตรวจสอบและจำแนกพันธุ์พืช ไม่ว่าจะเป็นในระดับใดก็ตาม และโดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่เป็นการตรวจสอบสายพันธุ์พืชที่มีความใกล้เคียงกันมาก ๆ แล้ว สมควรที่จะนำเอาเทคนิคนี้ไปใช้ทำการศึกษาเป็นอย่างยิ่ง

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บข้อมูลทางด้านสัณฐานวิทยาขององุ่น
2. กล้องถ่ายรูปและฟิล์ม สำหรับบันทึกภาพลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยา
3. ต้นองุ่นอายุ 2 ปี จำนวน 15 พันธุ์ (รายชื่อพันธุ์ในตารางที่ 1) โดยใช้พันธุ์ละ 5 ต้น

ตารางที่ 1 รายชื่อตัวอย่างพันธุ์องุ่นที่ใช้ในการศึกษาและเปรียบเทียบ

พันธุ์องุ่น	แหล่งที่มาของต้นพันธุ์	พันธุ์ที่ใช้เปรียบเทียบกัน
1. ริเบียร์ (Ribier)	California, U.S.A.	} กลุ่มที่ 1
2. ป็อกดำ (Pok Dum)	Nakhon Pathom, Thailand	
3. คาร์ดินัล (Cardinal)	California, U.S.A.	} กลุ่มที่ 2
4. คาร์ดินัล พิจิตร (Phichit)	Phichit, Thailand	
5. แบล็คโรส (Black Rose)	California, U.S.A.	} กลุ่มที่ 3
6. ราซีนีดำ (Rachinee Dum)	Australia	
7. แบล็คโอปอล (Black Opal)	Australia	} กลุ่มที่ 4
8. มาลูซีเดส (Marroo Seedless)	Perth, Australia	
9. เบบี้เกรพ (Baby Grape)	Sing Buri, Thailand	} กลุ่มที่ 5
10. ลูสเพอร์เลต (Loose Perlette)	California, U.S.A.	
11. เพอร์เลต (Perlette)	Perth, Australia	
12. Syrah France (Syrah F.)	Provence, France	} กลุ่มที่ 6
13. Shiraz Australia (Shiraz A.)	Perth, Australia	
14. Chenin Blanc No.17 (CB 17)	Perth, Australia	} กลุ่มที่ 7
15. Chenin Blanc No.16 (CB 16)	Adelaide, Australia	

หมายเหตุ 1. องุ่นทุกพันธุ์ที่ใช้ศึกษาเจริญอยู่บนต้นตอ Solonis × Othello 1613 ซึ่งปลูกอยู่ที่สถานีวิจัยกาญจนบุรี ต. วังคั่ง อ. เมือง จ. กาญจนบุรี

2. ในการแบ่งกลุ่มพันธุ์องุ่นเพื่อใช้ศึกษาเปรียบเทียบนั้น ยึดตามลักษณะทางสัณฐาน

4. เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีในการสกัดดีเอ็นเอ และการวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ด้วยเทคนิค AFLP

วิธีการ

1. การศึกษาลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยา

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของส่วนต่าง ๆ รวม 9 ส่วน ได้แก่ ยอดอ่อน ใบอ่อน ใบแก่ มือเกาะ กิ่ง ช่อดอก ช่อผล ผล และเมล็ด รวมถึงข้อมูลทางด้าน phenology และความต้านทานต่อโรคด้วย โดยใช้วิธีการศึกษาคัดแปลงจาก O.I.V (2001) ซึ่งมีรายละเอียดดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ใช้ในการประเมิน ตำแหน่งที่ใช้ศึกษา และช่วงเวลาที่ใช้ในการศึกษา

ลักษณะที่ใช้ศึกษา	ตำแหน่งที่ศึกษา	ระยะเวลาที่ศึกษา
ยอดอ่อน (young shoot)		
1. สีของปลายยอด	ปลายยอด	เมื่อยอดอ่อนยาว 10-30 ซม.
2. ลักษณะของปลายยอด	ปลายยอด	เมื่อยอดอ่อนยาว 10-30 ซม.
3. ชนิดของขนที่ขึ้นปกคลุม	ปลายยอด	เมื่อยอดอ่อนยาว 10-30 ซม.
4. ความหนาแน่นของขนที่ปลายยอด	ปลายยอด	เมื่อยอดอ่อนยาว 10-30 ซม.
5. สีของข้อปล้อง	ข้อที่ 3 นับจากปลายยอด	ช่วงที่เริ่มเห็นช่อดอก
6. ความหนาแน่นของขนบนข้อปล้อง	ข้อที่ 3 นับจากปลายยอด	ช่วงที่เริ่มเห็นช่อดอก
ใบอ่อน (young leaf)		
7. สีด้านหลังใบ	ใบที่ 4 จากปลายยอด	ก่อนดอกบาน
8. สีด้านท้องใบ	ใบที่ 4 จากปลายยอด	ก่อนดอกบาน
9. ความหนาแน่นของขนด้านหลังใบ	ใบที่ 4 จากปลายยอด	ก่อนดอกบาน
10. ความหนาแน่นของขนด้านท้องใบ	ใบที่ 4 จากปลายยอด	ก่อนดอกบาน
11. ความราบเรียบของแผ่นใบ	ใบที่ 4 จากปลายยอด	ก่อนดอกบาน
12. สีที่บริเวณปลาย lobe	ใบที่ 4 จากปลายยอด	ก่อนดอกบาน

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ลักษณะที่ใช้ศึกษา	ตำแหน่งที่ศึกษา	ระยะเวลาที่ศึกษา
ใบแก่ (mature leaf)		
13. ความกว้างของแผ่นใบ	ใบเหนือช่อดอกแรก	ช่วงติดผลอ่อน
14. ความยาวของแผ่นใบ	ใบเหนือช่อดอกแรก	ช่วงติดผลอ่อน
15. จำนวน lobe	ใบเหนือช่อดอกแรก	ช่วงติดผลอ่อน
16. สีของเส้นใบหลัก (ด้านท้องใบ)	ใบเหนือช่อดอกแรก	ช่วงติดผลอ่อน
17. ความราบเรียบของแผ่นใบ	ใบเหนือช่อดอกแรก	ช่วงติดผลอ่อน
18. ความหนาของแผ่นใบ	ใบเหนือช่อดอกแรก	ช่วงติดผลอ่อน
19. รูปร่างของพิน	ใบเหนือช่อดอกแรก	ช่วงติดผลอ่อน
20. ลักษณะของ petiole sinus	ใบเหนือช่อดอกแรก	ช่วงติดผลอ่อน
21. รูปร่างของ petiole sinus	ใบเหนือช่อดอกแรก	ช่วงติดผลอ่อน
22. ลักษณะพิเศษของ petiole sinus	ใบเหนือช่อดอกแรก	ช่วงติดผลอ่อน
23. รูปร่างของ upper leaf sinuses	ใบเหนือช่อดอกแรก	ช่วงติดผลอ่อน
24. ความลึกของ upper leaf sinuses	ใบเหนือช่อดอกแรก	ช่วงติดผลอ่อน
25. ความลึกของ lower leaf sinuses	ใบเหนือช่อดอกแรก	ช่วงติดผลอ่อน
26. ชนิดของขนที่ปกคลุมแผ่นใบ	ใบเหนือช่อดอกแรก	ช่วงติดผลอ่อน
27. ความหนาแน่นของขนด้านหลังใบ	ใบเหนือช่อดอกแรก	ช่วงติดผลอ่อน
28. ความหนาแน่นของขนด้านท้องใบ	ใบเหนือช่อดอกแรก	ช่วงติดผลอ่อน
29. ความยาวของก้านใบ	ใบเหนือช่อดอกแรก	ช่วงติดผลอ่อน
กิ่งอ่อนและกิ่งแก่ (shoot and cane)		
30. ลักษณะของเปลือก	ข้อที่อยู่เหนือช่อผล	หลังเก็บเกี่ยวผลผลิต
31. สีของกิ่งอ่อน	ข้อที่อยู่เหนือช่อผล	ระยะติดผลอ่อน
32. ความยาวของปล้อง	ข้อที่อยู่เหนือช่อผล	ระยะดอกบาน
33. เส้นผ่านศูนย์กลางของกิ่ง	ข้อที่อยู่เหนือช่อผล	ระยะดอกบาน
มือเกาะ (tendril)		
34. การจัดเรียงตัวของมือเกาะ	ทุกข้อบนกิ่ง	ช่วงติดผลอ่อน
35. การแตกแขนงของมือเกาะ	ตำแหน่งที่มีมือเกาะ	ช่วงติดผลอ่อน
36. ลักษณะพิเศษเฉพาะ (การเปลี่ยนรูปร่าง)	ทุกข้อบนกิ่ง	ช่วงติดผลอ่อน

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ลักษณะที่ใช้ศึกษา	ตำแหน่งที่ศึกษา	ระยะเวลาที่ศึกษา
ช่อดอก (inflorescence)		
37. ตำแหน่งแรกที่เกิดช่อดอก	ตำแหน่งช่อดอกแรก	ช่วงดอกบาน
38. ตำแหน่งที่เกิดช่อดอก	ทุกตำแหน่งที่มีช่อดอก	ช่วงดอกบาน
39. จำนวนช่อดอกต่อยอด	ทุกตำแหน่งที่มีช่อดอก	ช่วงดอกบาน
40. ความกว้างช่อดอก	ช่อดอกแรกที่เกิด	ช่วงดอกบานเต็มที่
41. ความยาวช่อดอก	ช่อดอกแรกที่เกิด	ช่วงดอกบานเต็มที่
42. ความยาวก้านช่อดอก	ช่อดอกแรกที่เกิด	ช่วงดอกบานเต็มที่
43. รูปร่างของช่อดอก	ทุกช่อดอก	ช่วงดอกบานเต็มที่
ช่อผล (cluster)		
44. ความกว้างช่อผล	ช่อที่สมบูรณ์และเป็นปกติ	ผลสุกแก่เต็มที่
45. ความยาวช่อผล	ช่อที่สมบูรณ์และเป็นปกติ	ผลสุกแก่เต็มที่
46. น้ำหนักช่อผล	ช่อที่สมบูรณ์และเป็นปกติ	ผลสุกแก่เต็มที่
47. รูปร่างของช่อผล	ช่อที่สมบูรณ์และเป็นปกติ	ผลสุกแก่เต็มที่
48. ความหนาแน่นของผลในช่อ	ช่อที่สมบูรณ์และเป็นปกติ	ผลสุกแก่เต็มที่
49. จำนวนช่อผลต่อต้น	ทุกช่อ	ผลเปลี่ยนสี
ผล (berry)		
50. ความกว้างผล	ผลจากบริเวณกลางช่อ	ผลสุกแก่เต็มที่
51. ความยาวผล	ผลจากบริเวณกลางช่อ	ผลสุกแก่เต็มที่
52. น้ำหนักผล	ผลจากบริเวณกลางช่อ	ผลสุกแก่เต็มที่
53. รูปทรงผล	ผลที่มีทรงปกติ	ผลสุกแก่เต็มที่
54. สีผิวผล	ผลจากบริเวณกลางช่อ	ผลสุกแก่เต็มที่
55. ลักษณะเนื้อผล	ผลจากบริเวณกลางช่อ	ผลสุกแก่เต็มที่
56. การติดกันของเนื้อกับเปลือกผล	ผลจากบริเวณกลางช่อ	ผลสุกแก่เต็มที่
57. ลักษณะของเปลือกผล	ผลจากบริเวณกลางช่อ	ผลสุกแก่เต็มที่
58. ความแน่นในการยึดติดของขั้วผล	ผลจากบริเวณกลางช่อ	ผลสุกแก่เต็มที่
59. จำนวนเมล็ดต่อผล	ผลจากบริเวณกลางช่อ	ผลสุกแก่เต็มที่
60. total soluble solids (%TSS) ในน้ำองุ่น	สุ่มจากทั้งช่อผล	ผลสุกแก่เต็มที่
61. titratable acidity (%TA) ในน้ำองุ่น	สุ่มจากทั้งช่อผล	ผลสุกแก่เต็มที่

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ลักษณะที่ใช้ศึกษา	ตำแหน่งที่ศึกษา	ระยะเวลาที่ศึกษา
ผล (berry)		
62. ค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ของน้ำองุ่น	สุ่มจากทั้งช่อผล	ผลสุกแก่เต็มที่
63. กลิ่น	ผลจากบริเวณกลางช่อ	ผลสุกแก่เต็มที่
เมล็ด (seed)		
64. ความกว้างเมล็ด	เมล็ดจากผลที่อยู่กลางช่อ	เมล็ดที่ฝังในที่ร่มนาน 2 วัน
65. ความยาวของเมล็ด	เมล็ดจากผลที่อยู่กลางช่อ	เมล็ดที่ฝังในที่ร่มนาน 2 วัน
66. ความหนาของเมล็ด	เมล็ดจากผลที่อยู่กลางช่อ	เมล็ดที่ฝังในที่ร่มนาน 2 วัน
67. น้ำหนักเมล็ด (100 เมล็ด)	เมล็ดจากผลที่อยู่กลางช่อ	เมล็ดที่ฝังในที่ร่มนาน 2 วัน
ลักษณะทาง phenology		
68. ระยะเวลาตั้งแต่ตัดแต่งถึงแตกตา	ตาบริเวณปลายกิ่งที่ตัดแต่ง	เห็นตาเริ่มแตกออกมา
69. ระยะเวลาตั้งแต่ตัดแต่งถึงดอกบาน	ช่อดอกทั้งหมด	ช่อดอกบานได้ 50% ของต้น
70. ระยะเวลาตั้งแต่ตัดแต่งถึงผลเปลี่ยนสี	ช่อผลทั้งหมด	ช่อผลเริ่มเปลี่ยนสี
71. ระยะเวลาตั้งแต่ตัดแต่งถึงเก็บเกี่ยวผล	ช่อผลทั้งหมด	ปริมาณน้ำตาลสูงกว่า 18 %
ความต้านทานต่อโรค		
72. ความต้านทานต่อโรคราน้ำค้าง	ทุกส่วนของต้น	ตลอดฤดูกาล
73. ความต้านทานต่อโรคราแป้ง	ทุกส่วนของต้น	ตลอดฤดูกาล
74. ความต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนส	ทุกส่วนของต้น	ตลอดฤดูกาล

หมายเหตุ 1. ข้อมูลในเชิงปริมาณจะหาจากค่าเฉลี่ยจำนวน 30 ช่อ ยกเว้นน้ำหนักเมล็ดซึ่งจะได้จากค่าเฉลี่ย 100 เมล็ด

2. องุ่นที่นำมาใช้ในการศึกษาเก็บเกี่ยวผลผลิตเมื่อมีอายุดังนี้

- Ribier และ Pok Dum	120 วัน	หลังจากตัดแต่ง
- Cardinal และ Phichit	93 วัน	หลังจากตัดแต่ง
- Black Rose และ Rachinee Dum	140 วัน	หลังจากตัดแต่ง
- Black Opal และ Marroo Seedless	127 วัน	หลังจากตัดแต่ง
- Baby Grape, Loose Perlette และ Perlette	93 วัน	หลังจากตัดแต่ง
- Syrah F. และ Shiraz A.	95 วัน	หลังจากตัดแต่ง
- CB 17 และ CB 16	95 วัน	หลังจากตัดแต่ง

2. การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ โดยใช้เทคนิค AFLP

2.1 การสกัดแยกดีเอ็นเอจากใบอ่อนของงุ่น

ขั้นตอนนี้สำคัญมากเพราะว่าดีเอ็นเอที่ใช้สำหรับเทคนิค AFLP นั้นจำเป็นต้องมีคุณภาพสูง ไม่มีการปนเปื้อนจากสิ่งต่าง ๆ เพื่อป้องกันการตัดดีเอ็นเอที่ไม่สมบูรณ์ ซึ่งอาจก่อให้เกิดความผิดพลาดในการวิเคราะห์ได้ ดังนั้นในการทดลองนี้จึงเลือกใช้วิธีประยุกต์จาก Lodhi *et al.* (1995) โดยมีขั้นตอนดังนี้

คัดเลือกใบอ่อนของงุ่นที่มีความกว้าง 3-5 เซนติเมตร (อายุประมาณ 1-2 สัปดาห์) มาล้างทำความสะอาดและเช็ดให้แห้ง จากนั้นใช้กรรไกรตัดเอาก้านใบและเส้นกลางใบออก

2.1.1 ชั่งใบงุ่นมา 1 กรัม บดในโกรงบดยาพร้อมกับไนโตรเจนเหลวจนละเอียด

2.1.2 ตักตัวอย่างใส่ลงในหลอดขนาด 50 มิลลิลิตร ซึ่งในหลอดนั้นบรรจุ 2X CTAB (cetyltrimethyl ammonium bromide) buffer [1.4 M NaCl, 20 mM EDTA, 100 mM Tris-HCl (pH 8)] ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และ 2-mercaptoethanol 10 ไมโครลิตร

2.1.3 เติม 10% polyvinylpyrrolidone (PVP) 50 ไมโครลิตร ลงในหลอด

2.1.4 นำใบงุ่นในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25 นาที (กลับหลอด 2-3 ครั้ง ทุก 10 นาที) จากนั้นนำหลอดมาไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 5 นาที

2.1.5 เติมสารละลาย CIA [chloroform : isoamyl alcohol = 24 : 1 (v : v)] ลงไป 6 มิลลิลิตร กลับหลอดไปมาเบา ๆ จนผสมเป็นเนื้อเดียวกัน

2.1.6 นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 15,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เพื่อแยกชั้นสารละลาย และคลอโรฟอร์มออกจากกัน หลังจากนั้นดูดสารละลายชั้นบนปริมาตร 4.5-4.8 มิลลิลิตร ใส่หลอดใหม่ที่มีขนาดเท่าเดิม

2.1.7 เติม CIA ลงไป 5 มิลลิลิตร (เพื่อไปล้าง PVP ที่ยังปนเปื้อนอยู่) กลับหลอดไปมาเบา ๆ จนผสมเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 15,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

2.1.8 ดูดสารละลายชั้นบนปริมาตร 3.8-4.0 มิลลิลิตร ใส่หลอดใหม่ เติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (5 M NaCl) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมเบา ๆ ให้เข้ากัน แล้วเติมเอทานอล 95% ที่เย็นจัดลงไป 8 มิลลิลิตร นำไปไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

2.1.9 นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 15,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วเทส่วนน้ำทิ้งไป ระวังอย่าให้ตะกอนที่ติดอยู่กับหลอดหลุดออกมา หลังจากนั้นเติมเอทานอล (Ethanol) 76% ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร เพื่อล้างตะกอนของดีเอ็นเอ

2.1.10 นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 15,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที รินเอาส่วนน้ำออก ล้างตะกอนซ้ำด้วยเอทานอล 76% อีก 1-2 รอบ

2.1.11 ถ่ายตะกอนดีเอ็นเอใส่หลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร ใช้ไมโครปิเปต ดูดเอาเอทานอลส่วนที่เหลือออก ให้เหลือเฉพาะตะกอนดีเอ็นเอ

2.1.12 ปล่อยให้ตะกอนดีเอ็นเอแห้งโดยเปิดฝาหลอดแล้วนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 20-25 นาที หรือปล่อยให้ตะกอนแห้งเองที่อุณหภูมิห้อง

2.1.13 ใส่ TE buffer [10 mM Tris-HCl (pH 8.0), 1 mM EDTA] ปริมาตร 500 ไมโครลิตร แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ประมาณ 3 ชั่วโมง รอนตะกอนของดีเอ็นเอละลายหมด

2.1.14 เติมอาร์เอ็นเอสบัฟเฟอร์ [RNase buffer; 20 mM Tris-HCl (pH 8.0), 15 mM NaCl] และเอ็นไซม์อาร์เอ็นเอส เอ (RNase A) ที่มีความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

2.1.15 สกัดเอ็นไซม์ RNase A และโปรตีนที่หลงเหลืออยู่ออก โดยการดูดเอาสารละลายดีเอ็นเอที่สกัดได้มา 100 ไมโครลิตร เติม TE buffer ปริมาตร 300 ไมโครลิตร แล้วเติมสารละลายฟีนอล : คลอโรฟอร์ม : ไอโซอามิลแอลกอฮอล์ [phenol : chloroform : isoamyl alcohol สัดส่วน 25 : 24 : 1 (v : v : v)] ลงไปใน 400 ไมโครลิตร กลับหลอดไปมาเบา ๆ

2.1.16 นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ดูดสารละลายสีใสชั้นบนมาใส่หลอดใหม่

2.1.17 สกัดซ้ำด้วยสารละลาย CIA ปริมาตร 300 ไมโครลิตร นำไปปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วดูดสารละลายชั้นบนมาใส่หลอดใหม่

2.1.18 เติมสารละลายโซเดียมอะซิเตต (3 M NaOAc) ปริมาตร 3 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน

2.1.19 ใส่เอทานอลเข้มข้น (absolute alcohol) ที่เย็นจัดลงไป 2 เท่าของปริมาตรสารละลาย ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

2.1.20 นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เทสารละลายทิ้งเหลือไว้เฉพาะตะกอนที่ก้นหลอด ระวังอย่าให้ตะกอนที่ก้นหลอดหลุดออกมา

2.1.21 ใส่เอทานอล 76% ลงไป 300 ไมโครลิตร กลั้วเบา ๆ เพื่อล้างตะกอนดีเอ็นเอ นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วเทเอทานอลทิ้งไป (ทำซ้ำขั้นตอนนี้อีก 1 รอบ)

2.1.22 ทำให้ตะกอนแห้งโดยเปิดฝาหลอด แล้วนำไปอบในตู้อบลมร้อน 37 องศาเซลเซียส นาน 15-20 นาที

2.1.23 ใส่ TE buffer ปริมาตร 50 ไมโครลิตร แล้วเก็บสารละลายดีเอ็นเอไว้ในตู้เย็น อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

2.2 การตรวจสอบปริมาณและคุณภาพของสารละลายดีเอ็นเอที่สกัดได้

โดยทั่วไปแล้วสามารถที่จะวิเคราะห์ได้ 2 วิธี คือ 1) การใช้เครื่อง Spectrophotometer เพื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเล็ตของดีเอ็นเอ 2) วัดการเรืองแสงของเอธิเดียมโบรไมด์ (ethidium bromide) ที่แทรกอยู่ในดีเอ็นเอ หลังจากแยกขนาดดีเอ็นเอด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส

ในการศึกษาครั้งนี้เลือกใช้วิธีที่ 2 เพื่อใช้วิเคราะห์ดีเอ็นเอ โดยการทำอิเล็กโตรโฟรีซิส แล้วย้อมด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ โมเลกุลของเอธิเดียมโบรไมด์จะแทรกเข้าไปอยู่ในเกลียวคู่ของสายดีเอ็นเอ และเมื่อนำไปส่องภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตก็จะเกิดการเรืองแสงขึ้น ซึ่งวิธีนี้สามารถที่จะบอกถึงปริมาณของดีเอ็นเอโดยประมาณได้ และใช้ตรวจดูความสะอาดหรือคุณภาพของดีเอ็นเอได้อีกด้วย ขั้นตอนการวิเคราะห์มีดังนี้

2.2.1 เตรียมอะกาโรส 1.0% โดยชั่งผงอะกาโรส 1.0 กรัม ใส่ลงใน 1X TBE buffer [Tris-base, Boric acid, 0.5 M EDTA (pH 8.0)] ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปให้ความร้อนบน hot plate ที่อุณหภูมิสูงกว่า 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-10 นาทีเพื่อละลายผงอะกาโรส

2.2.2 เมื่อผงอะกาโรสละลายหมดให้เอาไปตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง รอจนกระทั่งอุณหภูมิลดลงจนถึง 60 องศาเซลเซียส แล้วค่อย ๆ เทลงในพิมพ์ โดยให้เจลมีความหนาประมาณ 3-5 มิลลิเมตร ระวังอย่าให้มีฟองอากาศและสิ่งแปลกปลอมลงไปปนเปื้อน จากนั้นวางที่เสียบหัววิ่งไปที่ปลายด้านบนของแผ่นเจล เพื่อให้เวลาที่เจลแข็งตัวจะได้มีช่องเล็ก ๆ สำหรับหยอดตัวอย่างสารละลายดีเอ็นเอที่จะใช้วิเคราะห์

2.2.3 ปล่อยให้เจลเย็นลงและแข็งตัวที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งใช้เวลาประมาณ 45 นาที แล้วดึงหัวออกอย่างระมัดระวัง

2.2.4 นำแผ่นเจลใส่ลงในเครื่องอิเล็กโตรโฟรีซิส [เครื่อง Mupid 2 (Cosmo Bio co, LTB; Japan)] ที่มีสารละลาย 1X TBE buffer อยู่ โดยให้วางด้านที่มีช่องอยู่ทางด้านขั้วลบ

2.2.5 ผสมสารละลายดีเอ็นเอกับ โหลดดี้งคาย (loading dye; 0.25% bromophenol blue, 40% sucrose) และสารละลายดีเอ็นเอมาตรฐาน (marker; SibEnzyme DNA marker 1 kbp) กับโหลดดี้งคาย ในอัตราส่วน 1: 1 (สารละลายดีเอ็นเอ หรือ maker ปริมาตร 2 ไมโครลิตร: โหลดดี้งคาย ปริมาตร 2 ไมโครลิตร) จากนั้นค่อย ๆ หยอดสารละลายที่ผสมแล้วลงในช่องของแผ่นเจลด้วยไมโครปิเปต

2.2.6 ปิดฝาเครื่องและเปิดกระแสไฟฟ้าให้วิ่งจากขั้วลบไปขั้วบวกโดยใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ ใช้เวลาประมาณ 30 นาที โพลติ่งคายจะเคลื่อนที่ไปได้ระยะทางที่เหมาะสม (เคลื่อนที่ได้ 1 ใน 4 ส่วนของแผ่นเจล) จากนั้นจึงปิดกระแสไฟฟ้า

2.2.7 นำแผ่นเจลไปย้อมในสารละลายเอธิเดียมโบรไมด์ ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ($\mu\text{g/ml}$) ประมาณ 5 นาที เพื่อให้ดีเอ็นเอติดสีจากเอธิเดียมโบรไมด์

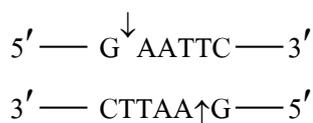
2.2.8 นำแผ่นเจลออกจากสารละลายเอธิเดียมโบรไมด์ นำไปแช่ในภาชนะที่มีน้ำไหล ประมาณ 5-10 นาที เพื่อล้างเอธิเดียมโบรไมด์ที่ค้างอยู่บนแผ่นเจล

2.2.9 นำแผ่นเจลไปส่องดูภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต บันทึกภาพของแผ่นเจลภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต (UV) เพื่อใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพและปริมาณของดีเอ็นเอที่สกัดได้

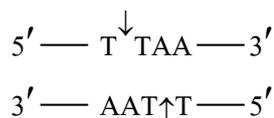
2.2.10 เปรียบเทียบขนาดและความหนาของแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างที่เราสกัดได้กับดีเอ็นเอมาตรฐาน จากนั้นประมาณความเข้มข้นของสารละลายดีเอ็นเอที่เราสกัดได้ นำสารละลายดีเอ็นเอที่สกัดได้มาเจือจางด้วยน้ำกลั่น (deionized water) ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) แล้ว ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 100 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร ($\text{ng}/\mu\text{l}$) นำสารละลายดีเอ็นเอที่เจือจางแล้วไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

2.3 การตัด (digestion) ดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ 2 ชนิด

ความสำเร็จในการใช้เทคนิค AFLP ส่วนหนึ่งขึ้นอยู่กับขั้นตอนการตัดดีเอ็นเออย่างสมบูรณ์ สำหรับเอนไซม์ตัดจำเพาะที่ใช้คือ *EcoRI* และ *MseI* โดยที่ *EcoRI* มีตำแหน่งจดจำ (recognition site) 6 คู่เบสและมีจุดตัด (\downarrow) ดังนี้



และ *MseI* มีตำแหน่งจดจำ 4 คู่เบส และมีจุดตัด (\downarrow) ดังนี้



การตัดดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ เริ่มจากนำดีเอ็นเอที่มีความเข้มข้น 100 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร มาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ โดยผสมสารตามขั้นตอนต่าง ๆ ดังนี้

สารละลายดีเอ็นเอ	2.50	ไมโครลิตร
10X NE Buffer (<i>EcoRI</i>)	2.50	ไมโครลิตร
10X Buffer R ⁺ (<i>MseI</i>)	2.50	ไมโครลิตร
<i>EcoRI</i> (20 ยูนิตต่อไมโครลิตร)	0.125	ไมโครลิตร
<i>MseI</i> (10 ยูนิตต่อไมโครลิตร)	0.25	ไมโครลิตร
น้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ	17.125	ไมโครลิตร
ปริมาตรรวม	25.00	ไมโครลิตร

ผสมสารทั้งหมดลงในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร ปิดฝาหลอดแล้วพันด้วยพาราฟิน (ป้องกันการระเหยของสารละลายภายในหลอด) นำไปไว้ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่ควบคุมไว้ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาโดยนำไปแช่ในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปแช่ในอ่างหรือกระดิกน้ำแข็งทันที

ถ้าต้องการตรวจสอบว่าการตัดของดีเอ็นเอสมบูรณ์หรือไม่ สามารถตรวจสอบได้โดยการนำไปแยกด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟสิซิสบนอะกาโรส (1.0% agarose) แล้วย้อมด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ ถ้าแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏมีลักษณะเป็นแถบจาง ๆ (smear) แบบต่อเนื่อง แสดงว่าตัดสมบูรณ์แล้ว

2.4 การเชื่อมต่อดีเอ็นเอ (ligation)

ดีเอ็นเอที่ถูกตัดสมบูรณ์แล้วจะนำมาเชื่อมต่อกับ *EcoRI* adapter และ *MseI* adapter โดยที่ adapter ทั้ง 2 ที่ต่อเข้าตรงปลายของชิ้นดีเอ็นเอนั้น จะเป็นที่เกาะของไพรเมอร์ในขั้นที่ทำ PCR ดังนั้นวิธีนี้จึงสามารถเพิ่มปริมาณของชิ้นดีเอ็นเอได้ โดยที่ไม่จำเป็นต้องรู้ลำดับเบสบนชิ้นดีเอ็นเอนั้นขั้นตอนในการเชื่อมต่อชิ้นดีเอ็นเข้ากับ adapter มีดังนี้

นำ *EcoRI* adapter และ *MseI* adapter มาเชื่อมต่อกับดีเอ็นเอที่ผ่านการตัดอย่างสมบูรณ์ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะในข้อ 2.3 ดังนี้

ดีเอ็นเอที่ผ่านการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะแล้ว	25.0	ไมโครลิตร
<i>EcoRI</i> adapter (5 พิโคโมลต่อไมโครลิตร)	1.0	ไมโครลิตร
<i>MseI</i> adapter (25 พิโคโมลต่อไมโครลิตร)	2.0	ไมโครลิตร
5X ligase buffer	5.0	ไมโครลิตร
T4 DNA ligase (1 ยูนิตต่อไมโครลิตร)	3.0	ไมโครลิตร

10X PCR buffer	5.0	ไมโครลิตร
MgCl ₂ (50 mM)	1.5	ไมโครลิตร
<i>Taq</i> DNA polymerase (5 ยูนิตต่อไมโครลิตร)	0.3	ไมโครลิตร
น้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ	31.2	ไมโครลิตร
ปริมาตรรวม	50.0	ไมโครลิตร

นำสารละลายไปเข้าเครื่อง PCR [เครื่อง DNA Engine (รุ่น PTC-200); MJ Research, U.S.A.] เพื่อเพิ่มจำนวนชิ้นดีเอ็นเอ ซึ่งมีการตั้งโปรแกรมการทำงานของเครื่องดังนี้

- ขั้นที่ 1 อุณหภูมิ 94 °ซ เป็นเวลา 30 วินาที (ทำให้ดีเอ็นเอต้นแบบคลายเกลียวเป็นสายเดี่ยว)
- ขั้นที่ 2 อุณหภูมิ 56 °ซ เป็นเวลา 60 วินาที (ให้ไพรเมอร์เข้าเกาะกับดีเอ็นเอต้นแบบ)
- ขั้นที่ 3 อุณหภูมิ 72 °ซ เป็นเวลา 60 วินาที (เพื่อให้ *Taq* DNA polymerase สร้างสายดีเอ็นเอคู่สม)

โดยให้ทำงานซ้ำ 30 รอบ หลังจากทำงานครบ 30 รอบจะให้คงอุณหภูมิไว้ที่ 4 °ซ

ตรวจสอบดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ด้วยอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซิสความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ และย้อมด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ ซึ่งดีเอ็นเอที่เหมาะสมควรมีขนาดไม่เกิน 1 กิโลเบส จากนั้นทำการเจือจางสารละลายดีเอ็นเอลง 20 เท่า โดยการดูดสารละลายดีเอ็นเอที่ได้จากขั้น preselective amplification ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดขนาด 200 ไมโครลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 190 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำสารละลายดีเอ็นเอส่วนที่เหลือไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

2.5.2 การเลือกเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนของดีเอ็นเอในขั้น selective amplification

สำหรับไพรเมอร์ที่ใช้ในขั้นตอน selective amplification ประกอบด้วย *Eco*RI ซึ่งเพิ่มเบสเข้าไปทางด้านปลาย 3' อีก 3 เบส จำนวน 8 ไพรเมอร์ (E1-E8) และ *Mse*I ที่เติมเบสเข้าไปที่ปลาย 3' อีก 3 เบส จำนวน 8 ไพรเมอร์ (M1-M8) ซึ่งแต่ละไพรเมอร์มีลำดับเบสดังนี้

*Eco*RI primer+3 (E-ANN)

E1 – GACTGCGTACCAATTCAAG

E2 – GACTGCGTACCAATTC AAC

E3 – GACTGCGTACCAATTCAGG

E4 – GACTGCGTACCAATTCAGC

E5 – GACTGCGTACCAATTC ACT

E6 – GACTGCGTACCAATTC ACC

E7 – GACTGCGTACCAATTCACA

E8 – GACTGCGTACCAATTCACG

*Mse*I primer+3 (M-CNN)

M1 – GATGAGTCCTGAGTAACAT

M2 – GATGAGTCCTGAGTAACTC

M3 – GATGAGTCCTGAGTAACTG

M4 – GATGAGTCCTGAGTAACAG

M5 – GATGAGTCCTGAGTAACAC

M6 – GATGAGTCCTGAGTAACAA

M7 – GATGAGTCCTGAGTAACTT

M8 – GATGAGTCCTGAGTAACTA

จัดคู่ไพรเมอร์เป็น 64 คู่ จากนั้นใส่สารต่าง ๆ ที่ใช้ในขั้น selective amplification ดังนี้

สารละลายเอ็นเอ (ที่เจือจาง 20 เท่า)	5.00	ไมโครลิตร
Primer E-A (5 พิโคโมลต่อไมโครลิตร)	1.00	ไมโครลิตร
Primer M-C (5 พิโคโมลต่อไมโครลิตร)	1.00	ไมโครลิตร
dNTP mix (10 mM)	0.50	ไมโครลิตร
10X PCR buffer	2.00	ไมโครลิตร
MgCl ₂ (50 mM)	0.75	ไมโครลิตร
<i>Taq</i> DNA polymerase (5 ยูนิตต่อไมโครลิตร)	0.20	ไมโครลิตร
น้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ	9.55	ไมโครลิตร
ปริมาตรรวม	20.00	ไมโครลิตร

นำสารละลายไปเข้าเครื่อง PCR โดยจะตั้งโปรแกรมให้มีการลดอุณหภูมิขั้น annealing ลงรอบละ 1 องศาเซลเซียส ทุกรอบที่เรียกว่า Touch down PCR ซึ่งแสดงรายละเอียดในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ขั้นตอนการเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอโดยเทคนิค Touch down PCR

ขั้นที่	Denature		Annealing		Primer extension		จำนวนรอบ
	อุณหภูมิ (°C)	เวลา (วินาที)	อุณหภูมิ (°C)	เวลา (วินาที)	อุณหภูมิ (°C)	เวลา (วินาที)	
1	94	60	65	60	94	90	1
2	94	60	64	60	94	90	1
3	94	60	63	60	94	90	1
4	94	60	62	60	94	90	1
5	94	60	61	60	94	90	1
6	94	60	60	60	94	90	1
7	94	60	59	60	94	90	1
8	94	60	58	60	94	90	1
9	94	60	57	60	94	90	1
10	94	60	56	60	94	90	1
11	94	30	56	30	72	60	22

เมื่อเสร็จสิ้นปฏิกิริยา PCR แล้ว ให้เก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ทำโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิส (polyacrylamide gel electrophoresis) ต่อไป

2.6 การแยกขนาดดีเอ็นเอโดยใช้โพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิส

การแยกขนาดดีเอ็นเอโดยใช้โพลีอะคริลาไมด์เจล สามารถแยกดีเอ็นเอที่มีขนาดต่างกันเพียงแค่ 1 คู่เบสได้ วิธีการเตรียมเจลมี 2 แบบ คือ เจลที่ใช้สำหรับแยกดีเอ็นเอสายคู่ เรียกว่า Nondenaturing polyacrylamide gel และเจลสำหรับใช้แยกดีเอ็นเอสายเดี่ยว ที่เรียกว่า Denaturing polyacrylamide gel ในการทดลองครั้งนี้จะการใช้การเตรียมเจลสำหรับแยกดีเอ็นเอสายเดี่ยว ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

2.6.1 เตรียมกระจกสำหรับใส่เจล ซึ่งประกอบด้วยกระจก 2 แผ่น โดยแผ่นหนึ่งถูกตัดเป็นแอ่งรูปตัว U ฐานเหลี่ยม ส่วนอีกแผ่นหนึ่งเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า ขั้นตอนมีดังนี้

1) ล้างกระจกทั้ง 2 แผ่นให้สะอาดจากนั้นเช็ดด้วยเอทานอล 75% ให้ทั่วทั้งแผ่น รอนจนกระทั่งแผ่นกระจกแห้ง

2) เช็ดกระจกแผ่นที่ถูกตัดเป็นแองรูปตัว U ด้วยน้ำยาเช็ดกระจก (clear view) เพื่อป้องกันไม่ให้เจลดติดกับแผ่นกระจก และเช็ดกระจกรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าด้วย bind silane (bind silane 1 ไมโครลิตร ผสมกับ glacial acetic acid 2.5 ไมโครลิตร และเอทานอล 95% 500 ไมโครลิตร) เพื่อให้เจลดติดกับกระจก

3) นำแผ่นกระจกทั้ง 2 แผ่นวางประกบกัน (หัดด้านที่เช็ดด้วย clear view และ bine silane เข้าประกบกัน) แล้วใช้ spacer ซึ่งเป็นแผ่นพลาสติกแถบยาวขนาดเท่าความยาวของแผ่นกระจก และมีความหนาเท่ากับเจลดที่ต้องการขึ้นที่ตรงขอบด้านข้างของแผ่นกระจก จากนั้นใช้กระดาษกาวติดขอบทั้ง 3 ด้าน ยกเว้นด้านที่มีแองรูปตัว U (เอาไว้สำหรับเสียบหวี) แล้วค่อย ๆ ใช้ตัวหนีบจับที่บริเวณขอบให้แน่นยิ่งขึ้น เพื่อป้องกันการรั่วของสารละลายโพลีอะคริลาไมด์เจลดที่จะเติมลงไป

2.6.2 เตรียมโพลีอะคริลาไมด์เจลดความเข้มข้น 6% โดยการผสมสารละลาย (40% อะคริลาไมด์เจลด, 5X TBE buffer, น้ำกลั่น, 10% ASP และยูเรีย) ลงในบีกเกอร์ ค่อย ๆ คนจนยูเรียละลายหมด จากนั้นจึงค่อยเติม N, N, N', N'- tetramethylenediamine (TEMED) ลงไป ผสมให้เข้ากันอย่างรวดเร็ว (ปริมาณของส่วนผสมที่ใช้ทั้งหมดแสดงในตารางที่ 4)

2.6.3 เทเจลดที่เตรียมไว้ในข้อที่ 2.6.2 ลงบนแผ่นกระจกที่เตรียมไว้ โดยเทเข้าทางแองรูปตัว U ค่อย ๆ เเทะวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ

2.6.4 เมื่อเทเจลดจนเต็มแผ่นแล้วให้สอดหวีเข้าไปในช่องรูปตัว U จัดความตึกของหวีให้เหมาะสม จากนั้นวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 3 ชั่วโมง เพื่อให้เจลดแข็งตัว

ตารางที่ 4 ปริมาณของสารที่ใช้เพื่อเตรียมโพลีอะคริลาไมด์เจลดขนาด 15 × 20 เซนติเมตร

สารเคมี	ปริมาณ
ยูเรีย	13.5 กรัม
40% อะคริลาไมด์เจลด 19 : 1 (acrylamide : bisacrylamid)	4.5 มิลลิลิตร
5X TBE buffer	6.0 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	7.5 มิลลิลิตร
10% แอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟต (ASP)	300.0 ไมโครลิตร
N, N, N', N'- tetramethylenediamine (TEMED)	16.0 ไมโครลิตร

2.6.5 เมื่อเจลแข็งตัว ค่อย ๆ คึงเอาหัวที่เสียบไว้ออก นำแผ่นเจลพร้อมกระจกไปวางในเครื่องอิเล็กโทรโฟรีซิส (Dual Slab Gel Unit รุ่น DSG-200, C.B.S. Scientific Co., California, U.S.A.) เติม 1X TBE buffer ลงในเครื่องจนถึงตำแหน่งที่กำหนดไว้

2.6.6 ใช้เข็มฉีดยาคูด 1X TBE buffer ดังยูเรียที่ตักค้างอยู่ในช่องหัวออกให้หมด จากนั้นจึงต่อกระแสไฟฟ้าเข้ากับเครื่องอิเล็กโทรโฟรีซิส ปล่อยให้กระแสไฟฟ้าวิ่งผ่านจากขั้วบวกไปขั้วลบ โดยใช้กระแสไฟฟ้า 295 โวลต์ (pre-run) เป็นเวลา 30 นาที แล้วจึงปิดเครื่อง

2.6.7 นำสารละลายดีเอ็นเอ 3 ไมโครลิตร กับ AFLP loading buffer (formamide 98%, 10 mM EDTA, bromphenol blue 0.05%, xylene cyanol 0.05%) 3 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร ปิดฝาหลอดแล้วใช้พาราฟินพันทับ (ป้องกันน้ำระเหยเข้ามาในหลอดในขณะที่ให้ความร้อน) นำไปอุ่นในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที เมื่อครบกำหนดเวลาให้รีบเอาขึ้นแล้วแช่ในน้ำแข็งทันที

2.6.8 หยอดตัวอย่างดีเอ็นเอ 3-5 ไมโครลิตรลงในช่องตรงรอยเสียบหัว

2.6.9 ต่อกระแสไฟฟ้าเข้าเครื่องอิเล็กโทรโฟรีซิสอีกครั้ง ปล่อยให้ดีเอ็นเอเคลื่อนที่ไปพอประมาณ โดยดูจากการเคลื่อนที่ของโพลดีคัมบูเฟอร์ ซึ่งใช้เวลาประมาณ 6 ชั่วโมง จากนั้นจึงปิดเครื่องแล้วเอาแผ่นกระจกออก แยกกระจกออกจากกันจะได้แผ่นหนึ่งที่มีเจลติดอยู่

2.7 การย้อมโพลิอะครีลาไมด์เจลด้วยวิธี silver staining

2.7.1 นำกระจกแผ่นที่มีเจลติดอยู่ใส่ถาด จากนั้นเติมน้ำกลั่น deionized (DI) ลงไป 250 มิลลิลิตร เอาไปวางบนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 5 นาที

2.7.2 นำแผ่นเจลใส่ลงในถาดใหม่ซึ่งมีสารละลาย CTAB (CTAB 0.25 กรัม ละลายในน้ำ DI 250 มิลลิลิตร) 0.1% แล้ววางบนเครื่องเขย่า เป็นเวลา 30 นาที

2.7.3 นำแผ่นเจลใส่ลงในถาดใหม่ซึ่งมีสารละลายแอมโมเนีย (แอมโมเนีย 750 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำ DI 250 มิลลิลิตร) 0.3 เปอร์เซ็นต์ แล้ววางบนเครื่องเขย่า เป็นเวลา 15 นาที

2.7.4 นำแผ่นเจลใส่ลงในสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท (silver nitrate 0.4 กรัม ละลายในน้ำ DI 250 มิลลิลิตร จากนั้นเติม NaOH ความเข้มข้น 1 M ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และแอมโมเนีย 1.5 มิลลิลิตร) วางบน shaker เป็นเวลา 35 นาที

2.7.5 นำแผ่นเจลจุ่มในน้ำ DI 4-5 รอบ เพื่อล้างซิลเวอร์ที่ติดอยู่ด้านนอกออก

2.7.6 ใส่แผ่นเจลลงถาดที่มีในสารละลาย Developer (Na_2CO_3 5 กรัม ละลายในน้ำ DI ที่เย็นจัด 250 มิลลิลิตร แล้วเติม formaldehyde 50 ไมโครลิตร) ที่เตรียมใหม่และเย็นจัด วางบน shaker เป็นเวลา 15-20 นาที (หรือจนกว่าจะเห็นแถบดีเอ็นเอชัดเจน)

2.7.7 นำแผ่นเจลล้างด้วยน้ำ DI อย่างรวดเร็ว

2.7.8 หยุดปฏิกิริยาโดยแช่แผ่นเจลลงในน้ำ DI เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเอาสิ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง 2-3 วัน (เจลก็จะแห้งสนิท) ก็สามารถนำไปตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอได้

2.8 การวิเคราะห์ผลของเอฟแอลพี

เปรียบเทียบแถบของลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ปรากฏในตำแหน่งเดียวกันขององุ่นทุกพันธุ์ที่ตรวจสอบ ถ้ามีแถบดีเอ็นเอให้สัญลักษณ์เป็น 1 แต่ถ้าไม่มีแถบดีเอ็นเอให้สัญลักษณ์เป็น 0 แล้วนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรม NTSYS-pc รุ่น 2.01e ซึ่งใช้การคำนวณหาค่าดัชนีความเหมือนด้วยวิธี Simple Matching (Sokal and Michener, 1958) จากนั้นนำค่าดัชนีความเหมือนที่วิเคราะห์ได้ไปทำการจัดกลุ่ม (cluster) โดยใช้วิธี UPGMA (unweighted pair group method using arithmetic average) และแสดงผลในรูปของ Phylogenetic tree

สถานที่ทำการทดลอง

1. แปลงรวบรวมพันธุ์องุ่นของศูนย์วิจัยระบบนิเวศเกษตร สถาบันค้นคว้าและพัฒนา ระบบนิเวศเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ตำบล วังดั่ง อำเภอ เมือง จังหวัด กาญจนบุรี
2. ห้องปฏิบัติการของอาคารเรือนองุ่นปวิณ ปุณศรี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน จังหวัด กรุงเทพมหานคร
3. ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพและปรับปรุงพันธุ์พืช ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัด นครปฐม

ระยะเวลาในการทดลอง

เริ่มทำการทดลอง เดือนตุลาคม พ.ศ. 2547

สิ้นสุดการทดลอง เดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2548

ผลการทดลอง

ผลการศึกษาลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยา

การศึกษาลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยาขององุ่นพันธุ์รับประทานสดจำนวน 11 พันธุ์ ได้แก่พันธุ์ Ribier, Pok Dum, Cardinal, Phichit, Black Rose, Rachinee Dum, Black Opal, Marroo Seedless, Baby Grape, Loose Perlette และ Perlette และองุ่นพันธุ์ทำไวน์อีก 4 พันธุ์ ได้แก่ Syrah F., Shiraz A., CB 17 และ CB 16 (ตารางที่ 1) โดยองุ่นทั้ง 15 พันธุ์เจริญอยู่บนต้นตอ Solonis × Othello 1613 ซึ่งปลูกอยู่ที่สถานีวิจัยกาญจนบุรี ต. วังด้ง อ. เมือง จ. กาญจนบุรี โดยศึกษาในส่วนต่าง ๆ 10 ส่วน ร่วมกับการศึกษาลักษณะทาง phenology และความต้านทานต่อโรค ซึ่งรวมทั้งสิ้นมีจำนวน 74 ลักษณะ โดยทำการศึกษา 2 รอบการเจริญเติบโต (crops) รอบแรกศึกษาตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน 2547 ถึงเดือนพฤษภาคม 2548 และรอบที่สองตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2548 ถึงเดือนพฤศจิกายน 2548 จากการศึกษาได้ผลดังนี้

จากการศึกษาสามารถจัดแบ่งกลุ่มให้อองุ่นทั้ง 15 พันธุ์ตามการใช้ประโยชน์และลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้ดังนี้

I. องุ่นพันธุ์รับประทานสด

II. เป็นชนิดมีเมล็ด

III. ช่อดอกเป็นทรงกระบอก/ทรงกรวย

IV. ผลแก่จัดมีสีดำ..... ‘Ribier’, ‘Pok Dum’ (กลุ่ม 1)

IV. ผลแก่จัดมีสีแดงม่วง/แดงดำ..... ‘Cardinal’, ‘Phichit’ (กลุ่ม 2)

III. ช่อดอกเป็นแบบมีปีก..... ‘Black Rose’, ‘Rachinee Dum’ (กลุ่ม 3)

II. เป็นชนิดไม่มีเมล็ด/เมล็ดลีบ (seedless)

III. ช่อดอกเป็นทรงกระบอก/ทรงกรวย

IV. ผลแก่จัดมีสีดำ/ม่วงดำ..... ‘Black Opal’, ‘Marroo Seedless’ (กลุ่ม 4)

IV. ผลแก่จัดมีสีเขียว/เหลือง..... ‘Baby Grape’, ‘Loose Perlette’

และ ‘Perlette’ (กลุ่ม 5)

I. องุ่นพันธุ์ทำไวน์

II. เป็นชนิดมีเมล็ด

III. ช่อดอกเป็นทรงกระบอก/ทรงกรวย

IV. ผลแก่จัดมีสีดำ..... ‘Syrah F.’, ‘Shiraz A.’ (กลุ่ม 6)

IV. ผลแก่จัดมีสีเขียว/เหลือง..... ‘CB 17’, ‘CB 16’ (กลุ่ม 7)

จากการจัดแบ่งกลุ่มตามการใช้ประโยชน์และลักษณะทางสัณฐานวิทยาแล้ว สามารถแบ่งองุ่นทั้ง 15 พันธุ์ ออกได้เป็น 7 กลุ่ม ซึ่งในแต่ละกลุ่มมีลักษณะต่าง ๆ ดังรายละเอียดต่อไปนี้

กลุ่มที่ 1 พันธุ์ Ribier และ Pok Dum

สามารถเจริญเติบโตในที่แห้งแล้งได้ดีปานกลาง แต่ค่อนข้างอ่อนแอต่อโรคแอนแทรกโนสราแป้ง ราน้ำค้าง ตามีลักษณะเรียวและยาวมาก (ภาพที่ 8) ส่วนบริเวณปลายค่อนข้างแหลม ปลายยอดอ่อนขององุ่นกลุ่มนี้เป็นแบบ half open (กึ่งเปิด) และถูกปกคลุมไปด้วยขนทำให้เห็นยอดเป็นสีขาวอมชมพู ขนที่ขึ้นปกคลุมมี 2 ชนิด (ภาพที่ 2) คือ 1) prostrate hair เป็นขนชนิดที่อ่อนนุ่มและยาว มักจะนอนราบติดกับผิวของยอดและใบ 2) erect hair เป็นขนชนิดที่แข็งและตั้งฉากกับผิวใบและยอด ในระยะที่ยังเป็นยอดอ่อนและใบยังเล็กอยู่นั้น ขนส่วนใหญ่จะเป็นชนิด prostrate hair ใบอ่อนบริเวณด้านหลังใบจะมีสีแดงเข้ม เมื่อใบเจริญจนเป็นใบแก่ขนชนิด prostrate hair จะค่อย ๆ หลุดออกไปจนหมด คงเหลือแต่ขนชนิด erect hair ที่ปกคลุมผิวใบอยู่ โดยทางด้านท้องใบจะมีขนขึ้นปกคลุมอย่างหนาแน่น ส่วนด้านหลังใบมีขนเบาบาง องุ่นในกลุ่มนี้ใบแก่จะมี 5 lobe รอยเว้าระหว่าง lobe ค่อนข้างลึก ใบมีขนาดปานกลาง แผ่นหนาและเป็นคลื่น ฟันหรือรอยหยัก (teeth) ที่ขอบใบค่อนข้างถี่ มีฟันเฉลี่ย 61 ซี่ต่อใบ รอยเว้าระหว่างฟันค่อนข้างลึก รูปร่างของฟันเป็นแบบจั่วปลายแหลม (\wedge) หรือเรียกว่า rectilinear (ขอบเป็นเส้นตรง) เส้นใบหลักส่วนที่ติดกับก้านใบมีสีแดง เช่นเดียวกับก้านใบ

ช่อดอกเป็นรูปทรงกรวย (coniform) หรือทรงกระบอก (cylinder) ช่อดอกเกิดจากกิ่งอ่อนในข้อที่ 3-6 นับจากโคนกิ่ง ส่วนช่อผลมีลักษณะเป็นรูปทรงกระบอก ทรงกรวยหรือทรงมีไหล่ (shoulder) มีขนาดปานกลาง และช่อค่อนข้างโปร่ง ผลมีสีดำขนาดใหญ่เป็นรูปทรงกลม เปลือกผลค่อนข้างหนาและเหนียว เนื้อผลนุ่ม เปลือกและเนื้อผลติดกัน (adherence) แต่ละผลจะมีเมล็ดอยู่ 2-4 เมล็ด เมล็ดมีขนาดใหญ่ เป็นสีน้ำตาลแก่ ผลเมื่อแก่จัดจะมีรสชาติหวานอมเปรี้ยว องุ่นในกลุ่มนี้จะสุกแก่และเก็บเกี่ยวผลได้เมื่อมีอายุประมาณ 120 วัน หลังจากตัดแต่ง

สำหรับองุ่นสองพันธุ์นี้มีข้อแตกต่างอยู่ที่อายุเมื่อผลมีการเปลี่ยนสี (veraison) และผลสุกแก่ (ripening) โดยองุ่นพันธุ์ Pok Dum จะเข้าสู่ระยะผลเปลี่ยนสีและสุกแก่ก่อนพันธุ์ Ribier เล็กน้อย

กลุ่มที่ 2 พันธุ์ Cardinal และ Phichit

ในพื้นที่แห้งแล้งองุ่น 2 พันธุ์นี้สามารถเจริญเติบโตได้ค่อนข้างดี มีความต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนส และราแป้งระดับปานกลาง แต่อ่อนแอต่อโรคราน้ำค้าง ตาขององุ่นกลุ่มนี้มีลักษณะเรียวยาว บริเวณฐานกว้างส่วนตอนปลายแหลม (ภาพที่ 8) ลักษณะของปลายยอดเป็นแบบ open (เปิด) เป็นพันธุ์ที่ไม่มีขน ปลายยอดอ่อนมีสีเหลืองอมเขียว ข้อที่ยอดอ่อนมีสีน้ำตาลแดง ใบอ่อนมีสีน้ำตาลอมม่วง ใบแก่มีขนาดปานกลาง ความกว้างและความยาวของใบมีขนาดใกล้เคียงกัน มี 5 lobe รอยเว้าระหว่าง lobe ค่อนข้างลึก ฟันที่ขอบใบค่อนข้างห่างกัน มีประมาณ 53 ซี่ต่อใบ รอยเว้าระหว่างฟันค่อนข้างลึก รูปร่างของพันธุ์มีลักษณะคล้ายพลั่ว (∧) หรือเรียกว่า convex (ขอบโค้งออกด้านนอก) ก้านใบมีสีแดงและขนาดค่อนข้างยาว โดยเฉพาะอย่างยิ่งพันธุ์ Phichit มีก้านใบที่ยาวมาก (ภาพที่ 6) เส้นใบหลักมีสีแดงเช่นเดียวกับก้านใบ

ช่อดอกมีลักษณะเป็นทรงกระบอก มักเกิดจากกิ่งอ่อนในข้อที่ 4-8 แต่ละช่อสามารถมีช่อดอกได้มากถึง 3 ช่อดอกต่อช่อ ดอกขององุ่นในกลุ่มนี้บานเร็วและสม่ำเสมอมาก ใช้เวลาเพียงแค่ 2 วันดอกก็จะบานหมดทั้งต้น ช่อดอกโดยส่วนใหญ่มีมือเกาะ (tendrils) ปรากฏอยู่ที่ก้านช่อดอก ผลอ่อนมีการเจริญเติบโตเร็วมาก ลักษณะเป็นรูปไข่หรือทรงรี (ภาพที่ 10) ช่อผลมีขนาดปานกลางรูปทรงกระบอก ช่อผลโปร่ง ผลมีขนาดใหญ่สีแดงหรือแดงดำ รูปทรงเป็นทรงรียาว เปลือกผลบางมากและติดแน่นกับเนื้อผล องุ่นกลุ่มนี้มีเนื้อผลที่แน่นและกรอบ ในพันธุ์ Phichit แต่ละผลจะมีเมล็ดอยู่ 2-3 เมล็ด ในขณะที่พันธุ์ Cardinal จะมี 2-4 เมล็ดต่อผล เมล็ดมีขนาดค่อนข้างใหญ่ ลักษณะเรียวยาว มีสีออกแดง (ภาพที่ 13) ผลเมื่อแก่จะมีรสชาติหวานจัด และมีกลิ่น muscat องุ่นทั้ง 2 พันธุ์นี้จะสุกแก่และเก็บเกี่ยวได้เมื่อมีอายุประมาณ 90 วัน หลังจากตัดแต่ง เนื่องจากผลองุ่นในกลุ่มนี้มีเปลือกที่บางมากและเนื้อแน่น จึงทำให้ผลแตกง่ายกว่าพันธุ์อื่น ๆ ดังนั้นในช่วงที่มีฝนตกหนักหรือภาวะที่ต้นองุ่นได้รับน้ำมากเกินไปอาจส่งผลให้ผลองุ่นแตกได้ จึงควรหาทางระวังป้องกัน

ความแตกต่างขององุ่น 2 พันธุ์นี้อยู่ที่ความยาวของก้านใบ (ภาพที่ 6) โดยองุ่นพันธุ์ Phichit มีก้านใบยาวกว่า แต่มีจำนวนเมล็ดต่อผลน้อยกว่า และเปลือกผลบางกว่าพันธุ์ Cardinal ซึ่งแสดงรายละเอียดในตารางที่ 8

กลุ่มที่ 3 พันธุ์ Black Rose และ Rachinee Dum

เมื่อปลูกในสภาพที่แห้งแล้งอุณหภูมิ 2 พันธุ์นี้มีการเจริญเติบโตดี แต่อ่อนแอต่อโรคแอนแทรกคโนส ราน้ำค้าง และราแป้ง ลักษณะของตามีฐานค่อนข้างกว้างและค่อย ๆ เรียวเล็กไปยังส่วนปลายบริเวณส่วนปลายทู่ ปลายยอดมีลักษณะเป็นแบบเปิด มีขนปกคลุมบาง ๆ ที่บริเวณปลายยอดและใบอ่อน ขนที่พบมีทั้งชนิด prostrate hair และ erect hair ปลายยอดอ่อนมีสีเหลือง ใบอ่อนมีสีแดงอุณหภูมิ 2 พันธุ์นี้ถ้ากิ่งใหม่ที่เจริญออกมามีความสมบูรณ์มาก ๆ มือเกาะอาจเปลี่ยนแปลงไปเป็นยอดอ่อนได้ (ภาพที่ 1) ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะพิเศษของอุณหภูมิบางพันธุ์เท่านั้น ใบที่เจริญจนเป็นใบแก่ชนิด prostrate hair จะหลุดออกหมดเหลือเฉพาะชนิด erect hair ซึ่งพบกระจายอยู่ที่ท้องใบตามแผ่นใบและเส้นใบ ใบแบ่งออกเป็น 3 lobe (ภาพที่ 5) มีลักษณะเรียวยาว ขนาดค่อนข้างใหญ่ เมื่อใบแก่จัดบริเวณขอบใบมีลักษณะงุ้มลง แต่ละใบมีพินอยู่ประมาณ 57 คู่ พินมีรูปร่างแบบ convex รอยเว้าระหว่างพินค่อนข้างตื้น ก้านใบมีสีแดงขนาดยาวปานกลาง ในส่วนของเส้นใบหลักมีสีชมพู หรือแดงอมชมพู มือเกาะของอุณหภูมิในกลุ่มนี้จะเริ่มมีอาการแห้งตายภายหลังจากช่อดอกบานเสร็จ (ภาพที่ 7)

ช่อดอกมีลักษณะเป็นปีก (wing) ในแต่ละช่อดอกจะมีปีก 1-2 อัน (ภาพที่ 9) ช่อดอกจะเกิดจากกิ่งอ่อนบนข้อที่ 4-7 นับจากโคนกิ่ง ดอกย่อยจะอยู่ค่อนข้างห่างกัน ระยะเวลาในการบานของดอกใช้เวลาประมาณ 3-4 วัน ที่ก้านช่อดอกจะมีมือเกาะปรากฏอยู่เกือบทุกช่อ มือเกาะดังกล่าวมีขนาดค่อนข้างยาว ช่อดอกมีขนาดใหญ่มาก มีลักษณะค่อนข้างโปร่ง เป็นรูปทรงแบบมีปีกแต่ปีกดังกล่าวแนบขนานไปกับแกนกลางของช่อทำให้ไม่เห็นปีกยื่นออกมา ดังนั้นจึงทำให้มองเห็นช่อดอกเป็นรูปทรงกรวย ผลมีขนาดใหญ่สีดำสนิท ในขณะที่ผลยังไม่จัดจะมีไข (wax) สีขาว เคลือบที่ผิวผลค่อนข้างหนา แต่เมื่อผลแก่จัดไขดังกล่าวจะค่อย ๆ หายไปทำให้ผิวผลมีลักษณะเป็นมันเงา (ภาพที่ 11) ผลเป็นรูปทรงไข่ เปลือกผลค่อนข้างหนาแต่ไม่เหนียว เปลือกผลกับเนื้อผลติดกัน เนื้อผลค่อนข้างแน่น แต่ละผลจะมีเมล็ด 1-3 เมล็ด เมล็ดมีสีน้ำตาลขนาดใหญ่ ลักษณะอ้วนป้อม ผลเมื่อสุกแก่จะมีรสชาติหวานอมเปรี้ยว แต่ถ้าแก่จัดมาก ๆ จะมีรสชาติหวานจัด ผลที่ยังไม่แก่เต็มที่เปลือกผลจะมีรสฝาด อุณหภูมิ 2 พันธุ์นี้อายุเก็บเกี่ยวผลผลิตอยู่ที่ประมาณ 140 วันหลังจากวันตัดแต่ง

ความแตกต่างของอุณหภูมิ 2 พันธุ์นี้อยู่ที่ความยาวก้านช่อดอกและช่อดอก กล่าวคือ อุณหภูมิพันธุ์ Rachinee Dum จะมีความยาวของก้านช่อดอก ก้านช่อดอก และช่อดอก มากกว่าพันธุ์ Black Rose สำหรับลักษณะที่มีความแตกต่างเด่นชัดมาก คือรูปร่างของผล (ภาพที่ 12) โดยผลของอุณหภูมิพันธุ์ Rachinee Dum มีรูปทรงไข่ ด้านบนของผลส่วนที่ติดขั้วผลมีลักษณะแบบหัวตัด ส่วนก้นผลป้าน

(ผลเป็นแบบหัวตัด-ท้ายป้าน) แต่ในขณะที่พันธุ์ Black Rose แม้ว่าผลจะเป็นรูปทรงไข่เหมือนกัน แต่ด้านที่ติดขั้วผลจะมีลักษณะโค้งมน ส่วนด้านก้นผลแหลม (ผลเป็นแบบหัวป้าน-ท้ายแหลม)

กลุ่มที่ 4 พันธุ์ Black Opal และ Marroo Seedless

เป็นพันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตดีมาก ให้ผลผลิตสูง และสามารถต้านทานต่อโรคต่าง ๆ ได้ดี โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคราน้ำค้าง ตามีขนาดค่อนข้างเล็ก ลักษณะเป็นรูปทรงกรวยซึ่งมีบริเวณฐานกว้างและส่วนปลายแหลม ลักษณะปลายยอดอ่อนเป็นแบบเปิด มีสีเหลือง ยอดอ่อนมีขนชนิด prostrate hair ปกคลุมบาง ๆ ใบอ่อนมีสีน้ำตาลอมแดง ยอดที่กำลังเจริญเติบโตบางครั้งอาจพบว่ามือเกาะเปลี่ยนแปลงไปเป็นยอดอ่อน (เช่นเดียวกับพันธุ์ Black Rose และ Rachinee Dum) เมื่อใบเจริญเติบโตขึ้นจนที่ปกคลุมอยู่จะหลุดออกจนหมด ใบแก่มีรูปร่างค่อนข้างกลมขนาดปานกลางค่อนข้างใหญ่ ใบแบ่งออกเป็น 5 lobe อย่างชัดเจน มีการซ้อนทับกันของแต่ละ lobe รอยเว้าระหว่าง lobe ลึกปานกลาง ขอบใบมีฟันถี่มากเฉลี่ย 69 ซี่ รอยเว้าระหว่างฟันลึก รูปร่างของฟันเป็นแบบ rectilinear ในส่วนของก้านใบมีสีแดงอ่อน มีขนาดค่อนข้างใหญ่แต่ไม่ค่อยยาว เส้นใบหลักมีสีเขียว

ช่อดอกโดยส่วนใหญ่มีรูปร่างแบบทรงกรวย ช่อดอกเกิดจากกิ่งอ่อนบนข้อที่ 4-7 ดอกย่อยในช่อดอกอัดกันแน่น แต่ละช่อดอกใช้เวลาประมาณ 3 วันดอกจึงจะบานหมดทั้งช่อ ช่อผลมีขนาดใหญ่ เป็นรูปทรงกรวยแบบมีไหล่ (shoulder) ช่อผลขององุ่น 2 พันธุ์นี้จะมีก้านช่อผลสั้นมาก เมื่อผลโตขึ้นจึงไปหุ้มก้านช่อผลและกิ่งที่อยู่ติดกับช่อจนมิด ดังนั้นเวลาเก็บเกี่ยวผลผลิตบางครั้งจำเป็นต้องตัดกิ่งให้ติดไปกับช่อผลด้วย ผลเมื่อแก่จะมีสีม่วงดำ แต่ถ้าปล่อยให้ย่นแก่จัดจะมีสีดำ ผลมีขนาดใหญ่ปานกลาง เปลือกผลค่อนข้างบางและติดแน่นกับเนื้อผล เนื้อผลค่อนข้างแน่น ผลแก่มีรสชาติค่อนข้างหวาน สำหรับอายุเก็บเกี่ยวขององุ่นสองพันธุ์นี้อยู่ที่ประมาณ 125 วันหลังจากตัดแต่ง

องุ่น 2 พันธุ์นี้มีข้อแตกต่างกันหลายลักษณะ ได้แก่ รูปร่าง ขนาด ของผลและช่อผล โดยองุ่นพันธุ์ Black Opal จะมีช่อผลขนาดใหญ่กว่า ขนาดผลใหญ่กว่าเล็กน้อย และรูปร่างผลเป็นทรงกลมรี ในขณะที่องุ่นพันธุ์ Marroo Seedless ผลมีรูปร่างเป็นทรงกลม นอกจากนี้องุ่นพันธุ์ Black Opal ยังมีเปลือกผลหนากว่าอีกด้วย ถึงแม้ว่าองุ่นในกลุ่มนี้จะเป็นชนิดที่มีเมล็ดลีบก็ตาม แต่ถ้าพิจารณาอย่างละเอียดจะพบว่า ในระหว่างที่เรารับประทานผลสดขององุ่นทั้ง 2 พันธุ์นี้จะมีกากอะไรบางอย่างผสมรวมอยู่ในเนื้อผล ซึ่งที่จริงแล้วกากเหล่านี้คือเมล็ดที่อยู่ในผลนั่นเอง เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกากที่พบในองุ่นทั้ง 2 พันธุ์นี้แล้วพบว่า กากขององุ่นพันธุ์ Marroo Seedless จะมี

มากกว่าพันธุ์ Black Opal และเมื่อแกะเอาเมล็ดมาวัดขนาดและชั่งน้ำหนัก ปรากฏว่าเมล็ดของพันธุ์ Marroo Seedless มีขนาดใหญ่กว่าพันธุ์ Black Opal (ภาพที่ 13) ส่วนในแง่ของการให้ผลผลิตพบว่า องุ่นพันธุ์ Black Opal ให้ผลผลิตต่อต้นสูงกว่าพันธุ์ Marroo Seedless

อีกลักษณะหนึ่งที่เป็นข้อแตกต่างของ 2 พันธุ์นี้ คือ รสชาติ โดยองุ่นพันธุ์ Black Opal จะมีรสชาติหวานจัดอมเปรี้ยว (ผลที่แก่จัดจะมี TSS สูงถึง 20.6 %) แต่ในขณะที่พันธุ์ Marroo Seedless มีรสชาติแบบหวานจัด (ผลแก่จัดมี TSS อยู่ที่ 18.2 %) เมื่อนำผลที่เก็บเกี่ยวพร้อมกันไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล (total soluble solids) และปริมาณกรด (titratable acidity) พบว่า องุ่นพันธุ์ Black Opal มีทั้งปริมาณน้ำตาลและปริมาณกรดสูงกว่าพันธุ์ Marroo Seedless (ตารางที่ 6 ลักษณะที่ 60 และ 61) ดังนั้นจึงทำให้รสชาติโดยรวมขององุ่นพันธุ์ Black Opal ดีกว่า

กลุ่มที่ 5 พันธุ์ Baby Grape, Loose Perlette และ Perlette

เป็นพันธุ์ที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีมากในพื้นที่แห้งแล้ง อีกทั้งยังให้ผลผลิตสูง และผลผลิตมีคุณภาพดี แต่เป็นพันธุ์ที่ถูกโรคต่าง ๆ เข้าทำลายได้ง่าย ทั้งโรคแอนแทรกโนส ราน้ำค้าง และราแป้ง ลักษณะตาขององุ่นในกลุ่มนี้มีรูปทรงเป็นรูปดอกบัว (ภาพที่ 8) ตามีขนาดใหญ่ ปลายยอดอ่อนมีลักษณะเป็นแบบเปิด มีสีเขียวอ่อน ไม่มีขนขึ้นปกคลุมตามส่วนต่าง ๆ ใบอ่อนเป็นสีเขียวอ่อน เมื่อใบแก่ขึ้นสีจะค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นสีเขียวแก่ ใบที่เจริญเติบโตเต็มที่จะมี 5 lobe ส่วนของรอยเว้าระหว่าง lobe ด้านบน (upper leaf sinus) ก่อนข้างลึก แต่ส่วนของรอยเว้าระหว่าง lobe ด้านล่าง (lower leaf sinus) ตื้น ฟันที่อยู่ตามขอบใบมีเฉลี่ย 57 ซี่ต่อใบ รอยเว้าระหว่างฟันต้นมาก รูปร่างของฟันเป็นแบบ convex ก้านใบเป็นสีม่วงเช่นเดียวกับเส้นใบหลัก มือเกาะขององุ่นกลุ่มนี้มีความแตกต่างจากกลุ่มอื่น ๆ ตรงที่มือเกาะมีลักษณะหงิกงอ (ภาพที่ 7)

องุ่นในกลุ่มนี้ช่อดอกโดยส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นรูปทรงกรวย แต่มีบางช่อเป็นรูปทรงกระบอก องุ่นพันธุ์ Loose Perlette ช่อดอกเกิดบนข้อที่ 4-6 ส่วนพันธุ์ Baby Grape และ Perlette จะเกิดบนข้อที่ 4-7 ของกิ่งใหม่ ดอกย่อยในช่อดอกมีลักษณะอัดกันแน่น ที่ก้านช่อดอกมีมือเกาะปรากฏอยู่ ช่อผลมีขนาดปานกลาง มีรูปทรงเป็นทรงกรวยหรือทรงกระบอก ผลภายในช่ออัดกันแน่นมาก ผลเมื่อแก่จัดจะมีสีเหลืองทอง ผลเป็นรูปทรงกลมรี เปลือกผลบางและยึดติดแน่นกับเนื้อผล ผลกรอบเนื้อผลแน่นมาก ขั้วผลหลุดออกจากก้านผลได้ง่าย องุ่นกลุ่มนี้เป็นพันธุ์เมล็ดลีบ (Seedless) ดังนั้นเมล็ดจึงมีขนาดเล็กมาก ๆ เมล็ดที่อยู่ภายในผลแก่จะมีสีเขียวอ่อน (ภาพที่ 13) เมล็ดเหล่านี้เป็นเมล็ดที่อ่อนมาก ดังนั้นเวลารับประทานจึงไม่รู้สึกรู้ว่ามีเมล็ดอยู่ภายในผล

ข้อแตกต่างขององุ่นทั้ง 3 พันธุ์มีดังนี้ ลักษณะของช่อดอกและช่อผลขององุ่นพันธุ์ Baby Grape และ Perlette เป็นรูปทรงกรวยแบบมีปีก แต่ในขณะที่พันธุ์ Loose Perlette เป็นรูปทรงกรวยแบบไม่มีไหล่ ตำแหน่งการเกิดช่อดอกของพันธุ์ Baby Grape โดยส่วนใหญ่จะเกิดบนข้อที่ 4-5 แต่ในขณะที่พันธุ์ Loose Perlette และ Perlette ช่อดอกส่วนใหญ่จะเกิดบนข้อที่ 5-6 องุ่นพันธุ์ Baby Grape มีผลขนาดใหญ่กว่าเล็กน้อย เปลือกผลมีความหนามาก และมีจำนวนเมล็ดมากกว่าอีก 2 พันธุ์ ข้อปล้องขององุ่นพันธุ์ Baby Grape จะสั้นกว่าอีก 2 พันธุ์ เปลือกที่กึ่งแก่ขององุ่นพันธุ์ Loose Perlette จะเกิดรอยแตกก่อนพันธุ์ Baby Grape และ Perlette (ภาพที่ 8)

กลุ่มที่ 6 พันธุ์ Syrah F. และ Shiraz A.

เป็นพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนส ราแป้ง และราน้ำค้างได้ดี สามารถเจริญเติบโตได้ดีในพื้นที่ที่ค่อนข้างแห้งแล้ง และเป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตค่อนข้างสูง ลักษณะของตาเป็นรูปดอกบัวคล้าย ๆ พันธุ์ Perlette แต่ที่ฐานจะกว้างมากกว่า ที่ส่วนปลายของตาจะมีขนสีขาวขึ้นปกคลุม (ภาพที่ 8) ปลายยอดอ่อนมีลักษณะเป็นปลายเปิด มีสีขาว ใบอ่อนมีสีเขียวอมเหลือง ทั้งยอดอ่อน ใบอ่อน ก้านใบ และกึ่งอ่อนถูกปกคลุมไปด้วยขนอย่างหนาแน่น ขนที่ขึ้นปกคลุมมีทั้งชนิด prostrate hair และ erect hair (ภาพที่ 2) เมื่อเจริญจนเป็นใบแก่ก็ยังคงมีขนทั้ง 2 ชนิดขึ้นปกคลุมอยู่ แต่เบาบางลง โดยส่วนท้องใบจะมีขนหนาแน่นกว่าส่วนหลังใบ ขนชนิด prostrate hair ที่อยู่ตามผิวใบจะมารวมกันอยู่เป็นกระจุก ในขณะที่ขนชนิด erect hair จะกระจัดกระจายอยู่ตามผิวใบทั้งหลังและด้านท้องใบ ใบแก่มีขนาดค่อนข้างเล็ก ใบแบ่งเป็น 5 lobe อย่างชัดเจน รอยเว้าระหว่าง lobe ลึก รูปร่างของฟันเป็นแบบ convex แต่ละใบมีฟันเฉลี่ย 58 ซี่ มีรอยเว้าระหว่างฟันลึก ก้านใบถูกปกคลุมไปด้วยขนมีสีส้มแดง ส่วนเส้นใบหลักสีส้มอ่อน

ช่อดอกมีลักษณะเป็นรูปทรงกระบอก มีขนาดค่อนข้างเล็ก ช่อดอกจะเกิดจากกึ่งอ่อนข้อที่ 4-6 นับจากโคนกิ่ง องุ่นพวกนี้จะมีก้านช่อดอกยาวมากและมีขนปกคลุม บริเวณก้านช่อดอกจะมีมือเกาะปรากฏอยู่ ในแต่ละช่อดอกจะใช้เวลาประมาณ 2 วันดอกก็จะบานหมดทั้งช่อ ช่อผลองุ่นพันธุ์ Syrah F. จะมีรูปร่างเป็นทรงกระบอก มีขนาดค่อนข้างเล็ก ส่วนองุ่นพันธุ์ Shiraz A. นั้นช่อผลมีขนาดปานกลาง รูปร่างช่อผลเป็นทรงกระบอกหรือทรงกรวย ผลมีขนาดเล็กสีดำ รูปร่างเป็นทรงรีซึ่งมีก้านผลและขั้วผลแหลม เปลือกผลบางแต่เหนียวมาก เนื้อผลละเอียดและนุ่มมาก ส่วนเปลือกและเนื้อผลไม่ติดกันสามารถแยกออกจากกันได้ง่าย (slip skin) ในแต่ละผลจะมีเมล็ดอยู่ 1-4 เมล็ด ขนาดของเมล็ดค่อนข้างเล็ก มีรูปร่างคล้ายหยดน้ำ ผลเมื่อแก่จะมีรสชาติหวานอมเปรี้ยว ผลขององุ่นในกลุ่มนี้ถ้าปล่อยให้แก่จัดมาก ๆ จะมีปริมาณน้ำตาลสูงถึง 23 เปอร์เซ็นต์ แต่ปริมาณกรดใน

ผลลดลงเพียงเล็กน้อย ทำให้มีสัดส่วนของปริมาณน้ำตาลต่อปริมาณกรด (TSS/TA) ค่อนข้างต่ำ ซึ่งแตกต่างกับพันธุ์รับประทานสดทั้ง 11 พันธุ์ที่ได้ กล่าวข้างต้น เพราะพันธุ์เหล่านั้นเมื่อผลจะแก่จัดมาก ๆ ปริมาณน้ำตาลจะเพิ่มขึ้นสูงมาก แต่ปริมาณกรดจะลดต่ำลงมาก ทำให้มีสัดส่วนของปริมาณน้ำตาลต่อปริมาณกรดอยู่ในระดับที่สูง ผลองุ่นพันธุ์ Syrah F. และ Shiraz A. นี้มีกลิ่นหอมที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัว องุ่นกลุ่มนี้สามารถเก็บเกี่ยวผลได้เมื่อมีอายุประมาณ 100 วันหลังจากตัดแต่ง

องุ่น 2 พันธุ์นี้มีชื่อแตกต่างอยู่ที่ชื่อผล กล่าวคือ พันธุ์ Shiraz A. มีรูปร่างชื่อผลเป็นแบบทรงกรวยและทรงกระบอก ส่วนพันธุ์ Syrah F. นั้นมีเฉพาะชื่อผลแบบทรงกรวยอย่างเดียว นอกจากนี้แล้วองุ่นพันธุ์ Shiraz A. ยังมีขนาดชื่อผลที่ใหญ่กว่าพันธุ์ Syrah F. ประมาณ 20% อีกด้วย

กลุ่มที่ 7 พันธุ์ CB 17 และ CB 16

ในพื้นที่แห่งแล้งองุ่น 2 พันธุ์นี้สามารถเจริญเติบโตได้ดีปานกลาง มีความต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนส และราเน่าค้างได้ระดับปานกลาง แต่สามารถต้านทานต่อโรคราแป้งได้ดี ลักษณะตาขององุ่นกลุ่มนี้เป็นแบบโคม ที่ส่วนปลายมีขนสีขาวปกคลุมอย่างหนาแน่น ตามีขนาดเล็กสำหรับปลายยอดอ่อนเป็นแบบเปิด มีสีขาว ส่วนใบอ่อนมีสีเหลืองอมชมพู อวัยวะส่วนที่ยังอ่อนอยู่จะถูกปกคลุมไปด้วยขนชนิด prostrate hair และ erect hair อย่างหนาแน่น ใบที่เจริญเติบโตเต็มที่จะมี 3 lobe ใบมีขนาดค่อนข้างเล็ก และยังคงมีขนทั้ง 2 ชนิดปกคลุมอยู่ทางด้านท้องใบ แต่โดยส่วนใหญ่จะเป็นขนชนิด erect hair แต่ละใบมีพื้นเฉลี่ยประมาณ 55 ซม² รูปร่างของฟันเป็นแบบ convex ที่มีปลายมน (∩) รอยเว้าระหว่างซี่ฟันลึกปานกลาง (ภาพที่ 5) ก้านใบค่อนข้างสั้นและมีสีแดงอมชมพู ส่วนเส้นใบหลักมีสีชมพู

ช่อดอกขององุ่นในกลุ่มนี้เป็นแบบทรงกรวย แต่ในพันธุ์ CB 17 จะพบช่อดอกที่เป็นทรงแบบมีปีกด้วย ดอกย่อยในช่อดอกอัดตัวกันแน่น ช่อดอกและก้านช่อดอกสั้น ก้านช่อดอกจะมีขนขึ้นปกคลุม ดอกย่อยภายในช่อจะใช้เวลาประมาณ 2 วันจึงจะบานหมดทั้งช่อ ลักษณะของชื่อผลเป็นแบบทรงกรวย แต่ถ้าเป็นพันธุ์ CB 17 ก็จะพบชื่อผลแบบมีปีก ซึ่งมีปีกอยู่ 1-3 อันในแต่ละช่อ ผลองุ่นภายในช่ออัดกันแน่นมาก (ภาพที่ 11) ผลองุ่นที่แก่จัดจะมีสีเหลืองส้ม ผลมีขนาดเล็กเป็นทรงกลมรี ที่ด้านหัวและก้นผลแหลม (คล้ายกับกลุ่มของ Shiraz A.) เปลือกบางแต่เหนียวมาก เนื้อผลละมุน เปลือกและเนื้อสามารถแยกออกจากกันได้ง่าย เมล็ดมีขนาดเล็กรูปร่างค่อนข้างกลมมีเฉพาะส่วนปลายของเมล็ดยึดยาวออกมา ผลเมื่อแก่จัดจะมีปริมาณน้ำตาลสูงถึง 24 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณกรดอยู่ในระดับที่ค่อนข้างสูง คืออยู่ที่ประมาณ 0.7 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้แล้วองุ่น 2 พันธุ์

นี้ยังมีกลิ่นหอมที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะของพันธุ์นี้อีกด้วย สำหรับอายุที่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ อยู่ที่ประมาณ 95 วันหลังจากตัดจากตัดแต่งกิ่ง

พันธุ์ CB 17 และ CB 16 มีลักษณะที่แตกต่างกันตรงที่รอยเว้าระหว่าง lobe (lateral sinus) ในพันธุ์ CB 16 จะค่อนข้างลึกกว่า อีกอย่างหนึ่งที่แตกต่าง คือตำแหน่งช่อดอกขององุ่นพันธุ์ CB 16 ส่วนใหญ่เกิดบนข้อตำแหน่งที่ 4 และ 5 แต่ในขณะที่พันธุ์ CB 17 มักเกิดช่อดอกอยู่บนข้อที่ 5 และ 6 นอกจากนี้ยังพบว่าช่อดอก ช่อผล และผลของพันธุ์ CB 16 มีการเจริญเติบโตและการพัฒนาเร็วกว่าพันธุ์ CB 17 (ภาพที่ 10) อีกลักษณะหนึ่งให้เห็นความแตกต่างอย่างชัดเจน คือรูปร่างของช่อผล เนื่องจากพันธุ์ CB 16 มีลักษณะเป็นทรงกรวย แต่พันธุ์ CB 17 มีทั้งทรงกรวย และแบบมีปีกด้วย

จากผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาขององุ่นทั้ง 7 กลุ่ม จำนวน 15 พันธุ์ที่ได้กล่าวมาข้างต้น เป็นเพียงข้อมูลแบบย่อซึ่งรายละเอียดต่าง ๆ แสดงไว้ในตารางที่ 5 6 และ 7 ส่วนตารางที่ 8 แสดงรายละเอียดเกี่ยวกับลักษณะที่ใช้บ่งชี้ความแตกต่างของพันธุ์องุ่นที่ใช้ในการศึกษาเปรียบเทียบกัน

ตารางที่ 5 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาขององุ่นพันธุ์รับประทานสดชนิดมีเมล็ดที่ใช้ในการศึกษาจำนวน 6 พันธุ์

ลักษณะที่ศึกษา	พันธุ์					
	Ribier ^{1/}	Pok Dum ^{1/}	Cardinal ^{2/}	Phichit ^{2/}	Black Rose ^{3/}	Rachinee Dum ^{3/}
ยอดอ่อน (young shoot)						
1. สีของปลายยอด	ขาวอมชมพู	ขาวอมชมพู	เหลืองอมเขียว	เหลืองอมเขียว	เหลือง	เหลือง
2. ลักษณะของปลายยอด	แบบกิ่งเปิด	แบบกิ่งเปิด	แบบเปิด	แบบเปิด	แบบเปิด	แบบเปิด
3. ชนิดของขนที่ขึ้นปกคลุม (prostrate หรือ erect)	มีทั้ง 2 ชนิด	มีทั้ง 2 ชนิด	ไม่มีขน	ไม่มีขน	มีทั้ง 2 ชนิด	มีทั้ง 2 ชนิด
4. ความหนาแน่นของขนที่ปลายยอด	หนาแน่น	หนาแน่น	ไม่มี	ไม่มี	เบาบาง	เบาบาง
5. สีของข้อปล้อง	แดงเข้ม	แดงเข้ม	น้ำตาลอมแดง	น้ำตาลอมแดง	น้ำตาลอ่อน	น้ำตาลอ่อน
6. ความหนาแน่นของขนบนข้อปล้อง	หนาแน่น	หนาแน่น	ไม่มี	ไม่มี	เบาบาง	เบาบาง
ใบอ่อน (young leaf)						
7. สีด้านหลังใบ	แดงเข้ม	แดงเข้ม	น้ำตาลอมม่วง	น้ำตาลอมม่วง	แดง	แดง
8. สีด้านท้องใบ	ขาวแกมแดง	ขาวแกมแดง	ม่วง	ม่วง	แดง	แดง
9. ความหนาแน่นของขนด้านหลังใบ	เบาบาง	เบาบาง	ไม่มี	ไม่มี	เบาบางมาก	เบาบางมาก
10. ความหนาแน่นของขนด้านท้องใบ	หนาแน่น	หนาแน่น	ไม่มี	ไม่มี	เบาบางมาก	เบาบางมาก
11. ความราบเรียบของแผ่นใบ	เป็นลอน	เป็นลอน	ราบเรียบ	ราบเรียบ	ค่อนข้างเรียบ	ค่อนข้างเรียบ
12. สีที่บริเวณปลาย lobe	เขียว	เขียว	น้ำตาล	น้ำตาล	เขียว	เขียว
ใบแก่ (mature leaf)						
13. ความกว้างของแผ่นใบ (cm.)	13.84	14.15	13.62	13.72	14.82	14.50
14. ความยาวของแผ่นใบ (cm.)	14.76	15.00	13.18	13.82	15.68	14.90
15. จำนวน lobe	5	5	5	5	3	3
16. สีของเส้นใบหลัก (ด้านท้องใบ)	แดง	แดง	แดง	แดง	ชมพู	ชมพู

ตารางที่ 5 (ต่อ)

ลักษณะที่ศึกษา	พันธุ์					
	Ribier ^{1/}	Pok Dum ^{1/}	Cardinal ^{2/}	Phichit ^{2/}	Black Rose ^{3/}	Rachinee Dum ^{3/}
ใบแก่ (mature leaf)						
17. ความราบเรียบของแผ่นใบ	เป็นคลื่น	เป็นคลื่น	ราบเรียบ	ราบเรียบ	ขรุขระ	ขรุขระ
18. ความหนาของแผ่นใบ	หนา	หนา	บาง	บาง	หนาปานกลาง	หนาปานกลาง
19. รูปร่างของพิน	rectilinear	rectilinear	convex	convex	convex	convex
20. ลักษณะของ petiole sinus	เปิด	เปิด	เปิด	เปิด	เปิด	เปิด
21. รูปร่างของ petiole sinus	รูปตัว U	รูปตัว U	รูปตัว U	รูปตัว U	รูปตัว V	รูปตัว V
22. ลักษณะพิเศษของ petiole sinus	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี
23. รูปร่างของ upper leaf sinuses	ปิด	ปิด	ซ้อนทับกัน	ซ้อนทับกัน	ปิด	ปิด
24. ความลึกของ upper leaf sinuses	ลึก	ลึก	ลึก	ลึก	ปานกลาง	ปานกลาง
25. ความลึกของ lower leaf sinuses	ปานกลาง	ปานกลาง	ปานกลาง	ปานกลาง	น้อยมาก	น้อยมาก
26. ชนิดของขนที่ขึ้นปกคลุมแผ่นใบ	erect	erect	ไม่มี	ไม่มี	erect	erect
27. ความหนาแน่นของขนด้านหลังใบ	เบาบาง	เบาบาง	ไม่มี	ไม่มี	เบาบางมาก	เบาบางมาก
28. ความหนาแน่นของขนด้านท้องใบ	หนาแน่น	หนาแน่น	ไม่มี	ไม่มี	เบาบาง	เบาบาง
29. ความยาวของก้านใบ (cm.)	6.11	6.06	6.02	7.42	5.11	5.17
กิ่งอ่อนและกิ่งแก่ (shoot and cane)						
30. ลักษณะของเปลือก	ผิวเรียบไม่แตก	ผิวเรียบไม่แตก	ผิวเรียบไม่แตก	ผิวเรียบไม่แตก	ผิวเรียบไม่แตก	ผิวเรียบไม่แตก
31. สีของกิ่งอ่อน	แดงเข้ม	แดงเข้ม	แดงอมม่วง	แดงอมม่วง	ม่วง	ม่วง
32. ความยาวของปล้อง (cm.)	4.6	4.6	5.5	5.6	5.5	5.4
33. เส้นผ่านศูนย์กลางของกิ่ง (mm.)	4.2	4.3	4.9	5.0	5.7	5.6

ตารางที่ 5 (ต่อ)

ลักษณะที่ศึกษา	พันธุ์					
	Ribier ^{1/}	Pok Dum ^{1/}	Cardinal ^{2/}	Phichit ^{2/}	Black Rose ^{3/}	Rachinee Dum ^{3/}
มือเกาะ (tendrils)						
34. การจัดเรียงตัวของมือเกาะ	intermittent	intermittent	intermittent	intermittent	intermittent	intermittent
35. การแตกแขนงของมือเกาะ	2-3 แขนง	2-3 แขนง				
36. ลักษณะพิเศษเฉพาะ (การเปลี่ยนรูปร่าง)	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	มือเกาะเป็นกิ่ง	มือเกาะเป็นกิ่ง
ช่อดอก (inflorescence)						
37. ตำแหน่งแรกที่เกิดช่อดอก	ข้อที่ 3	ข้อที่ 3	ข้อที่ 4	ข้อที่ 4	ข้อที่ 4	ข้อที่ 4
38. ตำแหน่งที่เกิดช่อดอก (ตำแหน่งที่เกิดส่วนใหญ่)	ข้อที่ 3-6 (ข้อที่ 4-5)	ข้อที่ 3-6 (ข้อที่ 4-5)	ข้อที่ 4-8 (ข้อที่ 4-6)	ข้อที่ 4-8 (ข้อที่ 4-6)	ข้อที่ 4-7 (ข้อที่ 5-6)	ข้อที่ 4-7 (ข้อที่ 5-6)
39. จำนวนช่อดอกต่อยอด (ช่อดอก/ยอด)	1-2 (เฉลี่ย 1.5)	1-2 (เฉลี่ย 1.6)	1-3 (เฉลี่ย 2.1)	1-3 (เฉลี่ย 2.1)	1-2 (เฉลี่ย 1.9)	1-2 (เฉลี่ย 1.6)
40. ความกว้างช่อดอก (cm.)	3.5	3.4	3.5	3.4	7.1	7.2
41. ความยาวช่อดอก (cm.)	7.5	7.4	6.8	6.5	9.8	10.0
42. ความยาวก้านช่อดอก (cm.)	1.6	1.7	2.3	2.0	2.2	3.3
43. รูปร่างของช่อดอก	ทรงกระบอก, ทรงกรวย		ทรงกระบอก	ทรงกระบอก	มีปีก	มีปีก
ช่อผล (cluster or bunch)						
44. ความกว้างช่อผล (cm.)	10.0	9.5	8.4	8.7	15.0	15.6
45. ความยาวช่อผล (cm.)	13.9	13.1	13.8	13.7	15.6	17.0
46. น้ำหนักช่อผล (g.)	189	179	140	146	420	456
47. รูปร่างของช่อผล	ทรงกรวย, ทรงกระบอก		ทรงกระบอก	ทรงกระบอก	ทรงกรวย	ทรงกรวย
48. ความหนาแน่นของผลในช่อ (ผล/ช่อ)	59	55	42	41	77	80
49. จำนวนช่อผลต่อต้น (ช่อ/ต้น)	14	17	12	18	16	15

ตารางที่ 5 (ต่อ)

ลักษณะที่ศึกษา	พันธุ์					
	Ribier ^{1/}	Pok Dum ^{1/}	Cardinal ^{2/}	Phichit ^{2/}	Black Rose ^{3/}	Rachinee Dum ^{3/}
ผล (berry)						
50. ความกว้างผล (mm.)	19.86	20.47	20.57	20.63	19.55	19.80
51. ความยาวผล (mm.)	20.48	20.73	25.34	26.21	23.81	24.12
52. น้ำหนักผล (g.)	4.87	5.08	6.69	6.99	5.82	6.06
53. รูปทรงผล	ทรงกลม	ทรงกลม	ทรงรียาว	ทรงรียาว	รูปไข่-หัวป้าน ท้ายแหลม	รูปไข่-หัวตัด ท้ายป้าน
54. สีผิวผล	ดำ	ดำ	แดง, แดงดำ	แดง, แดงดำ	ดำ	ดำ
55. ลักษณะเนื้อผล	นุ่ม	นุ่ม	แน่นมาก	แน่นมาก	นุ่มปานกลาง	นุ่มปานกลาง
56. การติดกันของเนื้อกับเปลือกผล	ติดกัน	ติดกัน	ติดกันแน่น	ติดกันแน่น	ติดกัน	ติดกัน
57. ลักษณะของเปลือกผล	หนา-เหนียว	หนา-เหนียว	บาง-เปราะ	บาง-เปราะ	หนา-เปราะ	หนา-เปราะ
58. ความแน่นในการยึดติดของขั้วผล	มาก	มาก	น้อย	น้อย	มาก	มาก
59. จำนวนเมล็ดต่อผล	2-4 (เฉลี่ย 2.8)	2-4 (เฉลี่ย 2.9)	2-4 (เฉลี่ย 2.6)	2-3 (เฉลี่ย 2.4)	1-3 (เฉลี่ย 2.1)	1-3 (เฉลี่ย 2.3)
60. total soluble solids (%TSS) ในน้ำองุ่น	17.8	18.6	19.2	19.5	19.9	20.1
61. titratable acidity (%TA) ในน้ำองุ่น	0.6	0.6	0.3	0.3	0.4	0.5
62. ค่าความเป็นกรดค่า (pH) ของน้ำองุ่น	3.51	3.53	3.89	3.89	3.66	3.68
63. กลิ่น	ไม่มีกลิ่น	ไม่มีกลิ่น	มีกลิ่น muscat	มีกลิ่น muscat	ไม่มีกลิ่น	ไม่มีกลิ่น
เมล็ด (seed)						
64. ความกว้างเมล็ด (mm.)	4.56	4.44	4.36	4.28	4.97	4.97
65. ความยาวของเมล็ด (mm.)	7.75	7.55	8.11	8.17	7.59	7.53
66. ความหนาของเมล็ด (mm.)	3.36	3.24	3.28	3.24	3.82	3.75
67. น้ำหนักเมล็ด (mg.)	52	55	52	52	66	67

ตารางที่ 5 (ต่อ)

ลักษณะที่ศึกษา	พันธุ์					
	Ribier ^{1/}	Pok Dum ^{1/}	Cardinal ^{2/}	Phichit ^{2/}	Black Rose ^{3/}	Rachinee Dum ^{3/}
ลักษณะทาง phenology						
68. ระยะเวลาตั้งแต่ตัดแต่งถึงแตกตา (วัน)	8-10	8-10	8-11	8-11	8-12	8-12
69. ระยะเวลาตั้งแต่ตัดแต่งถึงดอกบาน (วัน)	28-33	28-32	27-31	27-31	29-33	29-33
70. ระยะเวลาตั้งแต่ตัดแต่งถึงผลเปลี่ยนสี (วัน)	97-101	92-95	67-72	67-72	85-93	84-91
71. ระยะเวลาตั้งแต่ตัดแต่งถึงเก็บเกี่ยวผล (วัน) (ดัชนีเก็บเกี่ยว คือ TSS ≥ 18%)	121-124	119-123	89-91	89-91	137-142	135-140
ความต้านทานต่อโรค						
72. ความต้านทานต่อโรคน้ำค้าง Downy Mildew (<i>Plasmopara viticola</i>)	น้อย	น้อย	น้อยมาก	น้อยมาก	น้อย	น้อย
73. ความต้านทานต่อโรคราแป้ง Powdery Mildew (<i>Oidium tuckeri</i>)	น้อย	น้อย	ปานกลาง	ปานกลาง	น้อย	น้อย
74. ความต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนส Anthracnose (<i>Sphaceloma ampelinum</i>)	น้อยมาก	น้อยมาก	ปานกลาง	ปานกลาง	น้อย	น้อย

^{1/, 2/, 3/} = ข้อมูลในแนวตั้งที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันแสดงถึงพันธุ์ที่ใช้เปรียบเทียบกัน

ตารางที่ 6 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาขององุ่นพันธุ์รับประทานสดชนิดไม่มีเมล็ดที่ใช้ในการศึกษาจำนวน 5 พันธุ์

ลักษณะที่ศึกษา	พันธุ์				
	Black Opal ^{4/}	Marroo Seedless ^{4/}	Baby Grape ^{5/}	Loose Perlette ^{5/}	Perlette ^{5/}
ยอดอ่อน (young shoot)					
1. สีของปลายยอด	เหลือง	เหลือง	เขียวอ่อน	เขียวอ่อน	เขียวอ่อน
2. ลักษณะของปลายยอด	แบบเปิด	แบบเปิด	แบบเปิด	แบบเปิด	แบบเปิด
3. ชนิดของขนที่ขึ้นปกคลุม (prostrate หรือ erect)	prostrate	prostrate	ไม่มีขน	ไม่มีขน	ไม่มีขน
4. ความหนาแน่นของขนที่ปลายยอด	เบาบางมาก	เบาบางมาก	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี
5. สีของข้อปล้อง	เขียวอมน้ำตาล	เขียวอมน้ำตาล	น้ำตาลอ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
6. ความหนาแน่นของขนบนข้อปล้อง	เบาบางมาก	เบาบางมาก	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี
ใบอ่อน (young leaf)					
7. สีด้านหลังใบ	น้ำตาลอมแดง	น้ำตาลอมแดง	เขียวอ่อน	เขียวอ่อน	เขียวอ่อน
8. สีด้านท้องใบ	แดง	แดง	เขียวอ่อน	เขียวอ่อน	เขียวอ่อน
9. ความหนาแน่นของขนด้านหลังใบ	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี
10. ความหนาแน่นของขนด้านท้องใบ	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี
11. ความราบเรียบของแผ่นใบ	ค่อนข้างเรียบ	ค่อนข้างเรียบ	ราบเรียบ	ราบเรียบ	ราบเรียบ
12. สีที่บริเวณปลาย lobe	เขียวอ่อน	เขียวอ่อน	เขียว	เขียว	เขียว
ใบแก่ (mature leaf)					
13. ความกว้างของแผ่นใบ (cm.)	14.31	13.96	13.48	13.63	13.55
14. ความยาวของแผ่นใบ (cm.)	14.04	15.23	14.86	14.86	14.94
15. จำนวน lobe	5	5	5	5	5
16. สีของเส้นใบหลัก (ด้านท้องใบ)	ชมพู	ชมพู	ม่วง	ม่วง	ม่วง

ตารางที่ 6 (ต่อ)

ลักษณะที่ศึกษา	พันธุ์				
	Black Opal ^{4/}	Marroo Seedless ^{4/}	Baby Grape ^{5/}	Loose Perlette ^{5/}	Perlette ^{5/}
ใบแก่ (mature leaf)					
17. ความราบเรียบของแผ่นใบ	ราบเรียบ	ราบเรียบ	เป็นคลื่น	เป็นคลื่น	เป็นคลื่น
18. ความหนาของแผ่นใบ	หนาปานกลาง	หนาปานกลาง	หนาปานกลาง	หนาปานกลาง	หนาปานกลาง
19. รูปร่างของพิน	rectilinear	rectilinear	convex	convex	convex
20. ลักษณะของ petiole sinus	ปิด	ปิด	เปิดกว้าง	เปิดกว้าง	เปิดกว้าง
21. รูปร่างของ petiole sinus	รูปตัว V	รูปตัว V	รูปตัว U	รูปตัว U	รูปตัว U
22. ลักษณะพิเศษของ petiole sinus	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี
23. รูปร่างของ upper leaf sinuses	ซ้อนทับกัน	ซ้อนทับกัน	ซ้อนทับกัน	ซ้อนทับกัน	ซ้อนทับกัน
24. ความลึกของ upper leaf sinuses	ปานกลาง	ปานกลาง	ปานกลาง	ปานกลาง	ปานกลาง
25. ความลึกของ lower leaf sinuses	น้อย	น้อย	น้อย	น้อย	น้อย
26. ชนิดของขนที่ขึ้นปกคลุมแผ่นใบ	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี
27. ความหนาแน่นของขนด้านหลังใบ	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี
28. ความหนาแน่นของขนด้านท้องใบ	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี
29. ความยาวของก้านใบ (cm.)	5.09	5.47	4.79	5.28	5.09
กิ่งอ่อนและกิ่งแก่ (shoot and cane)					
30. ลักษณะของเปลือก	ผิวเรียบไม่แตก	ผิวเรียบไม่แตก	ผิวมีรอยแตกเล็กน้อย	ผิวมีรอยแตกมาก	ผิวมีรอยแตกเล็กน้อย
31. สีของกิ่งอ่อน	น้ำตาลอ่อน	น้ำตาลอ่อน	น้ำตาลอ่อน	น้ำตาลอ่อน	น้ำตาลอ่อน
32. ความยาวของปล้อง (cm.)	4.9	4.7	4.5	5.0	5.0
33. เส้นผ่านศูนย์กลางของกิ่ง (mm.)	5.7	5.6	4.6	5.4	4.5

ตารางที่ 6 (ต่อ)

ลักษณะที่ศึกษา	พันธุ์				
	Black Opal ^{4/}	Marroo Seedless ^{4/}	Baby Grape ^{5/}	Loose Perlette ^{5/}	Perlette ^{5/}
มือเกาะ (tendrils)					
34. การจัดเรียงตัวของมือเกาะ	intermittent	intermittent	intermittent	intermittent	intermittent
35. การแตกแขนงของมือเกาะ	2-3 แขนง	2-3 แขนง	2-3 แขนง	2-3 แขนง	2-3 แขนง
36. ลักษณะพิเศษเฉพาะ (การเปลี่ยนรูปร่าง)	มือเกาะเป็นกิ่ง	มือเกาะเป็นกิ่ง	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี
ช่อดอก (inflorescence)					
37. ตำแหน่งแรกที่เกิดช่อดอก	ข้อที่ 4	ข้อที่ 4	ข้อที่ 4	ข้อที่ 4	ข้อที่ 4
38. ตำแหน่งที่เกิดช่อดอก (ตำแหน่งที่เกิดส่วนใหญ่)	ข้อที่ 4-7 (ข้อที่ 5-6)	ข้อที่ 4-7 (ข้อที่ 5-6)	ข้อที่ 4-7 (ข้อที่ 4-5)	ข้อที่ 4-6 (ข้อที่ 5-6)	ข้อที่ 4-7 (ข้อที่ 5-6)
39. จำนวนช่อดอกต่อยอด (ช่อดอก/ยอด)	1-2 (เฉลี่ย 1.7)	1-2 (เฉลี่ย 1.2)	1-2 (เฉลี่ย 1.5)	1-2 (เฉลี่ย 1.6)	1-2 (เฉลี่ย 1.6)
40. ความกว้างช่อดอก (cm.)	5.9	5.8	4.8	4.4	5.0
41. ความยาวช่อดอก (cm.)	8.4	8.2	6.7	7.6	6.9
42. ความยาวก้านช่อดอก (cm.)	1.1	1.2	2.1	2.7	2.0
43. รูปร่างของช่อดอก	ทรงกรวย	ทรงกรวย	ทรงกรวย, ทรงกระบอก	ทรงกรวย, ทรงกระบอก	ทรงกรวย, ทรงกระบอก
ช่อผล (cluster or bunch)					
44. ความกว้างช่อผล (cm.)	12.5	11.9	9.3	9.8	10.2
45. ความยาวช่อผล (cm.)	16.4	15.2	15.6	16.1	14.8
46. น้ำหนักช่อผล (g.)	319	283	220	212	222
47. รูปร่างของช่อผล	ทรงกรวยแบบมีไหล่	ทรงกรวยแบบมีไหล่	ทรงกระบอก, กรวย-มีไหล่	ทรงกระบอก, ทรงกรวย	ทรงกระบอก, กรวย-มีไหล่
48. ความหนาแน่นของผลในช่อ (ผล/ช่อ)	117	107	110	114	117
49. จำนวนช่อผลต่อต้น (ช่อ/ต้น)	19	19	11	15	16

ตารางที่ 6 (ต่อ)

ลักษณะที่ศึกษา	พันธุ์				
	Black Opal ^{4/}	Marroo Seedless ^{4/}	Baby Grape ^{5/}	Loose Perlette ^{5/}	Perlette ^{5/}
ผล (berry)					
50. ความกว้างผล (mm.)	17.75	17.23	14.51	14.04	14.22
51. ความยาวผล (mm.)	18.44	17.64	15.34	15.22	15.11
52. น้ำหนักผล (g.)	3.50	3.14	2.10	1.94	1.79
53. รูปทรงผล	ทรงกลมรี	ทรงกลม	ทรงกลมรี	ทรงกลมรี	ทรงกลมรี
54. สีผิวผล	ม่วงดำ - ดำ	ม่วงดำ - ดำ	เหลืองทอง	เหลืองทอง	เหลืองทอง
55. ลักษณะเนื้อผล	แน่น	แน่น	แน่นมาก	แน่นมาก	แน่นมาก
56. การติดกันของเนื้อกับเปลือกผล	ติดกันแน่น	ติดกันแน่น	ติดกันแน่น	ติดกันแน่น	ติดกันแน่น
57. ลักษณะของเปลือกผล	บาง-เปราะ	บาง-เปราะ	บาง-เปราะ	บาง-เปราะ	บาง-เปราะ
58. ความแน่นในการยึดติดของขั้วผล	น้อย	น้อย	น้อย	น้อย	น้อย
59. จำนวนเมล็ดต่อผล	1-4 (เฉลี่ย 1.1)	2-4 (เฉลี่ย 2.2)	0-4 (เฉลี่ย 2.2)	1-2 (เฉลี่ย 1.3)	1-2 (เฉลี่ย 1.2)
60. total soluble solids (%TSS) ในน้ำองุ่น	19.6	16.2	19.9	18.2	19.2
61. titratable acidity (%TA) ในน้ำองุ่น	0.4	0.3	0.6	0.8	0.7
62. ค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ของน้ำองุ่น	3.72	3.85	3.56	3.53	3.55
63. กลิ่น	ไม่มีกลิ่น	ไม่มีกลิ่น	มีกลิ่น muscat เล็กน้อย	มีกลิ่น muscat เล็กน้อย	มีกลิ่น muscat เล็กน้อย
เมล็ด (seed)					
64. ความกว้างเมล็ด (mm.)	2.63	2.67	1.10	1.11	1.13
65. ความยาวของเมล็ด (mm.)	4.68	4.73	2.90	2.28	2.32
66. ความหนาของเมล็ด (mm.)	1.63	1.74	0.87	0.86	0.87
67. น้ำหนักเมล็ด (mg.)	7	10	6	6	6

ตารางที่ 6 (ต่อ)

ลักษณะที่ศึกษา	พันธุ์				
	Black Opal ^{4/}	Marroo Seedless ^{4/}	Baby Grape ^{5/}	Loose Perlette ^{5/}	Perlette ^{5/}
ลักษณะทาง phenology					
68. ระยะเวลาตั้งแต่ตัดแต่งถึงแตกตา (วัน)	8-11	8-11	8-11	8-11	8-11
69. ระยะเวลาตั้งแต่ตัดแต่งถึงดอกบาน (วัน)	28-32	28-32	28-32	28-32	28-32
70. ระยะเวลาตั้งแต่ตัดแต่งถึงผลเปลี่ยนสี (วัน)	72-75	74-78	68-71	68-71	68-71
71. ระยะเวลาตั้งแต่ตัดแต่งถึงเก็บเกี่ยวผล (วัน) (ดัชนีเก็บเกี่ยว คือ TSS ≥ 18%)	122-127	122-127	92-95	92-95	91-95
ความต้านทานต่อโรค					
72. ความต้านทานต่อโรคราน้ำค้าง <i>Downy Mildew (Plasmopara viticola)</i>	สูงมาก	สูงมาก	น้อยมาก	น้อยมาก	น้อยมาก
73. ความต้านทานต่อโรคราแป้ง <i>Powdery Mildew (Oidium tuckeri)</i>	ปานกลาง	ปานกลาง	น้อย	น้อย	น้อย
74. ความต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนส <i>Anthracoise (Sphaceloma ampelinum)</i>	ปานกลาง	ปานกลาง	น้อย	น้อย	น้อย

^{4/, 5/} = ข้อมูลในแนวตั้งที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันแสดงถึงพันธุ์ที่ใช้เปรียบเทียบกัน

ตารางที่ 7 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของงุ่นพันธุ์ทำไวน์ที่ใช้ในการศึกษาทั้ง 4 พันธุ์

ลักษณะที่ศึกษา	พันธุ์			
	Syrah F. ^{6/}	Shiraz A. ^{6/}	CB 17 ^{7/}	CB 16 ^{7/}
ยอดอ่อน (young shoot)				
1. สีของปลายยอด	ขาว	ขาว	ขาว	ขาว
2. ลักษณะของปลายยอด	แบบเปิด	แบบเปิด	แบบเปิด	แบบเปิด
3. ชนิดของขน (prostrate หรือ erect)	มีทั้ง 2 ชนิด	มีทั้ง 2 ชนิด	มีทั้ง 2 ชนิด	มีทั้ง 2 ชนิด
4. ความหนาแน่นของขนที่ปลายยอด	หนาแน่นมาก	หนาแน่นมาก	หนาแน่นมาก	หนาแน่นมาก
5. สีของข้อปล้อง	น้ำตาลอมเขียว	น้ำตาลอมเขียว	น้ำตาลอมแดง	น้ำตาลอมแดง
6. ความหนาแน่นของขนบนข้อปล้อง	หนาแน่นมาก	หนาแน่นมาก	หนาแน่น	หนาแน่น
ใบอ่อน (young leaf)				
7. สีด้านหลังใบ	เขียวอมเหลือง	เขียวอมเหลือง	เหลืองอมชมพู	เหลืองอมชมพู
8. สีด้านท้องใบ	ขาวอมเหลือง	ขาวอมเหลือง	ขาวอมชมพู	ขาวอมชมพู
9. ความหนาแน่นของขนด้านหลังใบ	ปานกลาง	ปานกลาง	ปานกลาง	ปานกลาง
10. ความหนาแน่นของขนด้านท้องใบ	หนาแน่นมาก	หนาแน่นมาก	หนาแน่นมาก	หนาแน่นมาก
11. ความราบเรียบของแผ่นใบ	เป็นลอนมาก	เป็นลอนมาก	เป็นลอน	เป็นลอน
12. สีที่บริเวณปลาย lobe	เขียวอมเหลือง	เขียวอมเหลือง	เหลือง	เหลือง
ใบแก่ (mature leaf)				
13. ความกว้างของแผ่นใบ (cm.)	12.77	12.98	11.71	11.79
14. ความยาวของแผ่นใบ (cm.)	12.87	13.09	11.70	11.12
15. จำนวน lobe	5	5	3	3
16. สีของเส้นใบหลัก (ด้านท้องใบ)	ส้มอ่อน	ส้มอ่อน	ชมพู	ชมพู
17. ความราบเรียบของแผ่นใบ	เป็นคลื่น	เป็นคลื่น	เป็นคลื่น	เป็นคลื่น
18. ความหนาของแผ่นใบ	หนาปานกลาง	หนาปานกลาง	หนา	หนา
19. รูปร่างของพิน	convex	convex	convex	convex
20. ลักษณะของ petiole sinus	เปิดเล็กน้อย	เปิดเล็กน้อย	เปิด	เปิด
21. รูปร่างของ petiole sinus	รูปตัว U	รูปตัว U	รูปตัว V	รูปตัว V
22. ลักษณะพิเศษของ petiole sinus	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี
23. รูปร่างของ upper leaf sinuses	ปิด	ปิด	ซ้อนทับกัน	ซ้อนทับกัน
24. ความลึกของ upper leaf sinuses	ปานกลาง	ปานกลาง	น้อย	ปานกลาง
25. ความลึกของ lower leaf sinuses	มาก	มาก	น้อยมาก	น้อยมาก
26. ชนิดของขนที่ขึ้นปกคลุมแผ่นใบ	prostrate, erect	prostrate, erect	prostrate, erect	prostrate, erect
27. ความหนาแน่นของขนด้านหลังใบ	เบาบาง	เบาบาง	เบาบาง	เบาบาง
28. ความหนาแน่นของขนด้านท้องใบ	หนาแน่นมาก	หนาแน่นมาก	หนาแน่นมาก	หนาแน่นมาก
29. ความยาวของก้านใบ (cm.)	4.68	5.29	4.52	3.90

ตารางที่ 7 (ต่อ)

ลักษณะที่ศึกษา	พันธุ์			
	Syrah F. ^{6/}	Shiraz A. ^{6/}	CB 17 ^{7/}	CB 16 ^{7/}
กิ่งอ่อนและกิ่งแก่ (shoot and cane)				
30. ลักษณะของเปลือก	ผิวเรียบไม่แตก	ผิวเรียบไม่แตก	ผิวเรียบไม่แตก	ผิวเรียบไม่แตก
31. สีของกิ่งอ่อน	แดง	แดง	แดงอมน้ำตาล	แดงอมน้ำตาล
32. ความยาวของปล้อง (cm.)	5.3	5.2	4.4	4.6
33. เส้นผ่านศูนย์กลางของกิ่ง (mm.)	4.54	4.59	4.00	4.11
มือเกาะ (tendril)				
34. การจัดเรียงตัวของมือเกาะ	intermittent	intermittent	intermittent	intermittent
35. การแตกแขนงของมือเกาะ	2-3 แขนง	2-3 แขนง	2-3 แขนง	2-3 แขนง
36. ลักษณะพิเศษเฉพาะ (การเปลี่ยนรูปร่าง)	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี
ช่อดอก (inflorescence)				
37. ตำแหน่งแรกที่เกิดช่อดอก	ข้อที่ 4	ข้อที่ 4	ข้อที่ 4	ข้อที่ 4
38. ตำแหน่งที่เกิดช่อดอก (ตำแหน่งส่วนใหญ่)	ข้อที่ 4-6 (ข้อที่ 4-5)	ข้อที่ 4-6 (ข้อที่ 4-5)	ข้อที่ 4-6 (ข้อที่ 5-6)	ข้อที่ 4-6 (ข้อที่ 4-5)
39. จำนวนช่อดอกต่อยอด	1-2 (เฉลี่ย 1.5)	1-2 (เฉลี่ย 1.7)	1-2 (เฉลี่ย 1.3)	1-2 (เฉลี่ย 1.2)
40. ความกว้างช่อดอก (cm.)	2.3	2.5	2.9	2.8
41. ความยาวช่อดอก (cm.)	5.6	5.7	4.4	4.6
42. ความยาวก้านช่อดอก (cm.)	2.0	1.7	0.9	0.6
43. รูปร่างของช่อดอก	ทรงกระบอก	ทรงกระบอก	ทรงกรวย, มีปีก	ทรงกรวย
ช่อผล (cluster or bunch)				
44. ความกว้างช่อผล (cm.)	6.6	7.6	9.5	7.9
45. ความยาวช่อผล (cm.)	12.0	14.2	10.7	11.1
46. น้ำหนักช่อผล (g.)	152.4	206.2	203.3	171.8
47. รูปร่างของช่อผล	ทรงกรวย	ทรงกรวย, กระบอก	ทรงกรวย, มีปีก	ทรงกรวย
48. ความหนาแน่นของผลในช่อ (ผล/ช่อ)	123	144	147	131
49. จำนวนช่อผลต่อต้น (ช่อ/ต้น)	22	25	26	25
ผล (berry)				
50. ความกว้างผล (mm.)	12.42	12.48	12.89	12.58
51. ความยาวผล (mm.)	13.89	14.03	13.87	13.43
52. น้ำหนักผล (g.)	1.44	1.40	1.38	1.31
53. รูปทรงผล	ทรงกลมรี	ทรงกลมรี	ทรงกลมรี	ทรงกลมรี
54. สีผิวผล	ดำ	ดำ	เหลืองส้ม	เหลืองส้ม
55. ลักษณะเนื้อผล	และ (นุ่มมาก)	และ (นุ่มมาก)	และ (นุ่มมาก)	และ (นุ่มมาก)
56. การติดกันของเนื้อกับเปลือกผล	ไม่ติดกัน	ไม่ติดกัน	ไม่ติดกัน	ไม่ติดกัน
57. ลักษณะของเปลือกผล	บางแต่เหนียวมาก	บางแต่เหนียวมาก	บางแต่เหนียวมาก	บางแต่เหนียวมาก

ตารางที่ 7 (ต่อ)

ลักษณะที่ศึกษา	พันธุ์			
	Syrah F. ^{6/}	Shiraz A. ^{6/}	CB 17 ^{7/}	CB 16 ^{7/}
ผล (berry)				
58. ความแน่นในการยึดติดของขั้วผล	ปานกลาง	ปานกลาง	ปานกลาง	ปานกลาง
59. จำนวนเมล็ดต่อผล	1-4 (เฉลี่ย 2.3)	1-4 (เฉลี่ย 2.3)	1-4 (เฉลี่ย 1.6)	1-4 (เฉลี่ย 1.7)
60. total soluble solids (%TSS) ในน้ำองุ่น	17.2	17.6	18.2	20.2
61. titratable acidity (%TA) ในน้ำองุ่น	0.9	0.8	0.8	0.7
62. ค่าความเป็นกรดค่า (pH) ของน้ำองุ่น	3.43	3.41	3.64	3.53
63. กลิ่น	มีกลิ่นหอม	มีกลิ่นหอม	กลิ่นหอมเล็กน้อย	กลิ่นหอมเล็กน้อย
เมล็ด (seed)				
64. ความกว้างเมล็ด (mm.)	3.87	3.77	3.70	3.70
65. ความยาวของเมล็ด (mm.)	5.76	5.63	5.99	5.81
66. ความหนาของเมล็ด (mm.)	2.89	2.85	2.75	2.72
67. น้ำหนักเมล็ด (mg.)	30	28	29	27
ลักษณะทาง phenology				
68. ระยะเวลา (วัน) ตั้งแต่ตัดแต่งกิ่งแตกตา	7-9	7-9	7-9	7-9
69. ระยะเวลาตั้งแต่ตัดแต่งกิ่งคอกบาน	21-25	21-25	21-25	21-24
70. ระยะเวลาตั้งแต่ตัดแต่งกิ่งผลเปลี่ยนสี	82-85	82-83	77-80	76-78
71. ระยะเวลาตั้งแต่ตัดแต่งกิ่งเก็บเกี่ยวผล (ดัชนีเก็บเกี่ยว คือ TSS \geq 18%)	101-104	99-103	96-99	94-96
ความต้านทานต่อโรค				
72. ความต้านทานต่อโรคราน้ำค้าง <i>Downy Mildew (Plasmopara viticola)</i>	สูง	สูง	ปานกลาง	ปานกลาง
73. ความต้านทานต่อโรคราแป้ง <i>Powdery Mildew (Oidium tuckeri)</i>	สูง	สูง	สูง	สูง
74. ความต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนส <i>Anthraco-nose (Sphaceloma ampelinum)</i>	สูง	สูง	ปานกลาง	ปานกลาง

^{6/}, ^{7/} = ข้อมูลในแนวตั้งที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันแสดงถึงพันธุ์ที่ใช้เปรียบเทียบกัน

ตารางที่ 8 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่สามารถใช้บ่งชี้ความแตกต่างของพันธุ์องุ่นในแต่ละกลุ่ม

พันธุ์ที่เปรียบเทียบกัน	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ใช้บ่งชี้
1. Ribier : Pok Dum	<ol style="list-style-type: none"> 1) ระยะเวลาการเปลี่ยนสีของผลในพันธุ์ Ribier ช้ากว่าพันธุ์ Pok Dum ประมาณ 5-10 วัน (ตารางที่ 5 ลักษณะที่ 70) 2) การสุกแก่ของผลองุ่นพันธุ์ Ribier ช้ากว่าพันธุ์ Pok Dum เล็กน้อย (ตารางที่ 5 ลักษณะที่ 71)
2. Cardinal : Phichit	<ol style="list-style-type: none"> 1) ก้านใบแก่ของพันธุ์ Cardinal สั้นกว่าพันธุ์ Phichit 1.0-1.5 เซนติเมตร (ตารางที่ 5 ลักษณะที่ 29) 2) เปลือกผลของพันธุ์ Cardinal จะหนากว่าพันธุ์ Phichit เล็กน้อย 3) พันธุ์ Cardinal มีจำนวนเมล็ดสูงสุดมากถึง 4 เมล็ดต่อผล แต่ในขณะที่พันธุ์ Phichit มีเมล็ดสูงเพียง 3 เมล็ดต่อผล เท่านั้น (ตารางที่ 5 ลักษณะที่ 59)
3. Black Rose : Rachinee Dum	<ol style="list-style-type: none"> 1) ก้านช่อดอกและก้านช่อผลของพันธุ์ Black Rose จะสั้นกว่าพันธุ์ Rachinee Dum ประมาณ 0.5-1.5 เซนติเมตร (ตารางที่ 5 ลักษณะที่ 42) 2) ช่อผลองุ่นพันธุ์ Black Rose มีรูปทรงยาวกว่าพันธุ์ Rachinee Dum (ตารางที่ 5 ลักษณะที่ 44 และ 45) 3) รูปร่างผลของพันธุ์ Black Rose เป็นรูปทรงไข่ ซึ่งมีด้านก้นผลแหลม ในขณะที่พันธุ์ Rachinee Dum ผลเป็นรูปทรงไข่ เช่นเดียวกัน แต่ด้านก้นผลป้าน (ตารางที่ 5 ลักษณะที่ 53)
4. Black Opal : Marroo Seedless	<ol style="list-style-type: none"> 1) รูปร่างผลของพันธุ์ Black Opal เป็นทรงกลมรี แต่พันธุ์ Marroo Seedless เป็นทรงกลม (ตารางที่ 6 ลักษณะที่ 53) 2) องุ่นพันธุ์ Black Opal มีขนาดผลใหญ่กว่าพันธุ์ Marroo Seedless เล็กน้อย (ตารางที่ 6 ลักษณะที่ 50-52) 3) เปลือกผลพันธุ์ Black Opal จะหนากว่าพันธุ์ Marroo Seedless เล็กน้อย

ตารางที่ 8 (ต่อ)

พันธุ์ที่เปรียบเทียบกัน	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ใช้บ่งชี้
4. Black Opal : Marroo Seedless (ต่อ)	4) เมล็ดของพันธุ์ Black Opal มีจำนวนน้อยกว่า และมีขนาดเล็กกว่าพันธุ์ Marroo Seedless (ตารางที่ 6 ลักษณะที่ 59 และลักษณะที่ 64-67) 5) พันธุ์ Black Opal มีปริมาณน้ำตาล และปริมาณกรดสูงกว่าพันธุ์ Marroo Seedless ดังนั้นจึงทำให้พันธุ์ Black Opal มีรสชาติโดยรวมดีกว่า (ตารางที่ 6 ลักษณะที่ 60 และ 61)
5. Baby Grape : Loose Perlette : Perlette	1) ช่อดอกและช่อผลของพันธุ์ Baby Grape และพันธุ์ Perlette จะมีขนาดสั้นกว่า และแน่นที่บึกกว่าพันธุ์ Loose Perlette (ตารางที่ 6 ลักษณะที่ 41) 2) ช่อดอกพันธุ์ Baby Grape ส่วนใหญ่จะเกิดในตำแหน่งที่ 4-5 แต่พันธุ์ Loose Perlette และ Perlette ส่วนใหญ่เกิดช่อดอกในตำแหน่งที่ 5-6 (ตารางที่ 6 ลักษณะที่ 38) 3) ช่อผลพันธุ์ Baby Grape และ Perlette มีรูปทรงกระบอก และรูปทรงกรวยแบบมีไหล่ แต่ในขณะที่พันธุ์ Loose Perlette เป็นรูปทรงกระบอก และรูปทรงกรวยแบบไม่มีไหล่ (ตารางที่ 6 ลักษณะที่ 43) 4) เปลือกผลพันธุ์ Baby Grape มีความหนามากที่สุด รองลงมาคือ พันธุ์ Perlette และพันธุ์ Loose Perlette เปลือกผลบางที่สุด 5) ขนาดผลพันธุ์ Baby Grape มีขนาดใหญ่กว่าอีก 2 พันธุ์เล็กน้อย (ตารางที่ 6 ลักษณะที่ 50-52) 6) เมล็ดของพันธุ์ Baby Grape มีจำนวนมากกว่าอีก 2 พันธุ์ (ตารางที่ 6 ลักษณะที่ 59) 7) ความยาวของก้านใบและข้อปล้องในองุ่นพันธุ์ Baby Grape จะสั้นกว่าพันธุ์อื่น ๆ (ตารางที่ 6 ลักษณะที่ 29 และ 32)

ตารางที่ 8 (ต่อ)

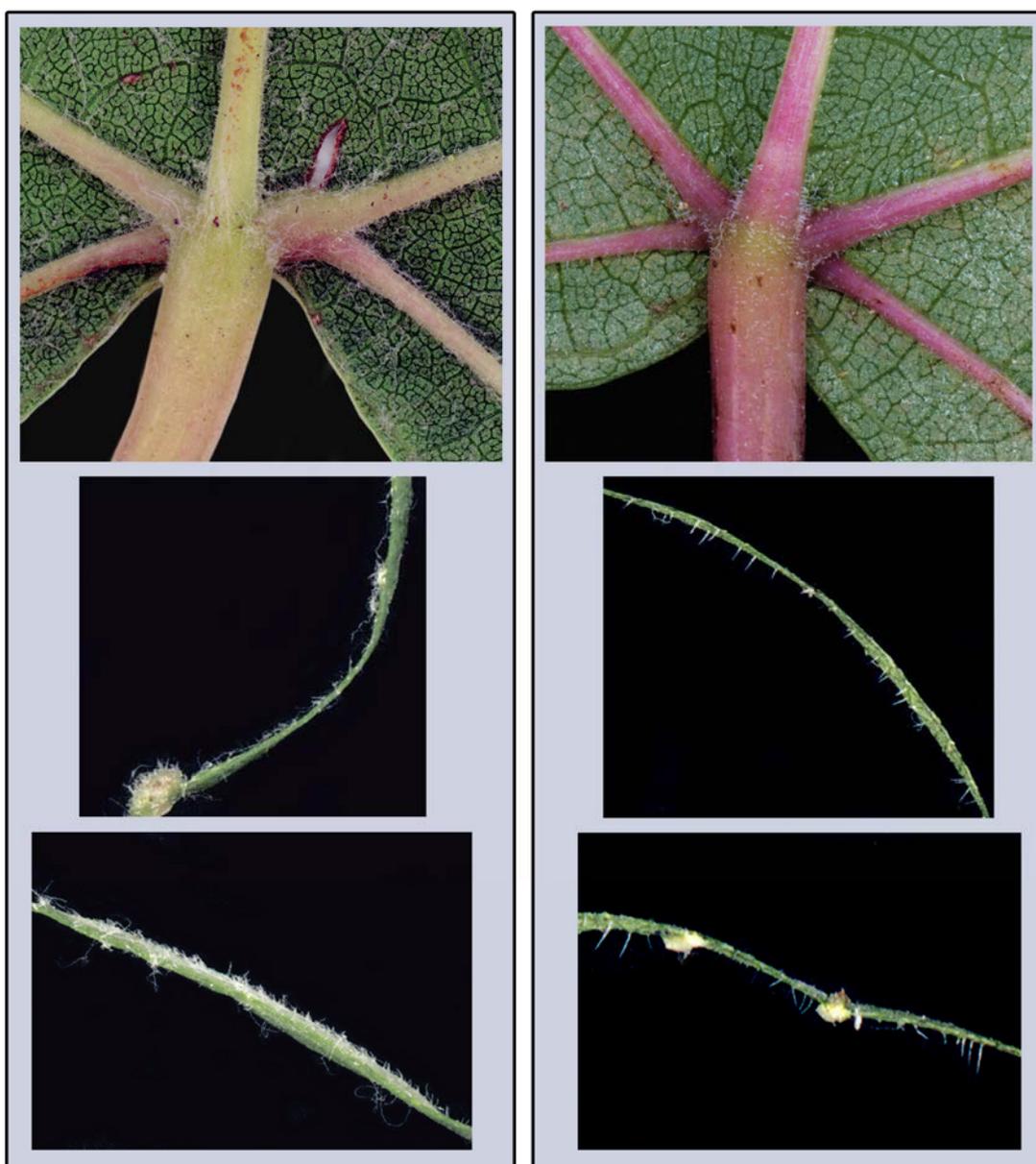
พันธุ์ที่เปรียบเทียบกัน	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ใช้บ่งชี้
5. Baby Grape : Loose Perlette : Perlette (ต่อ)	8) เมื่อกิ่งเปลี่ยนจากกิ่งอ่อนเป็นกิ่งแก่ (สีเขียวเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล) พันธุ์ Loose Perlette จะเริ่มมีการแตกของเปลือก ในขณะที่อีก 2 พันธุ์จะมีการแตกของเปลือกหลังจากกิ่งนั้นแก่จัดแล้ว (ตารางที่ 6 ลักษณะที่ 30)
6. Syrah F. : Shiraz A.	1) รูปร่างของช่อผลพันธุ์ Syrah F. มีเฉพาะทรง กระบอ ก แต่ ในขณะที่พันธุ์ Shiraz A. มี 2 แบบ คือ ทรงกรวยและ ทรงกระบอก (ตารางที่ 7 ลักษณะที่ 47) 2) ช่อผลพันธุ์ Syrah F. มีขนาดเล็กกว่าพันธุ์ Shiraz A. (ตารางที่ 7 ลักษณะที่ 44-46)
7. CB 17 : CB 16	1) ใบอ่อนพันธุ์ CB 17 มี lateral sinus ตื้นกว่าพันธุ์ CB 16 (ตารางที่ 7 ลักษณะที่ 24) 2) ช่อดอกพันธุ์ CB 17 ส่วนใหญ่เกิดช่อดอกในตำแหน่งที่ 5 และ 6 ในขณะที่พันธุ์ CB 16 ส่วนใหญ่เกิดในตำแหน่งที่ 4 และ 5 (ตารางที่ 7 ลักษณะที่ 38) 3) การเจริญพัฒนาของดอกและผลในอ่อนพันธุ์ CB 17 ช้ากว่าพันธุ์ CB 16 (ตารางที่ 7 ลักษณะที่ 69-71) 4) ช่อผลพันธุ์ CB 17 มีทั้งทรงกรวย และแบบมีปีก แต่พันธุ์ CB 16 มีลักษณะเป็นทรงกรวยเพียงอย่างเดียว (ตารางที่ 7 ลักษณะที่ 47)

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา จะเห็นว่าองุ่นทั้ง 7 กลุ่มที่นำมาศึกษานั้น สามารถตรวจพบลักษณะที่แตกต่างกันขององุ่นที่อยู่ในกลุ่มเดียวกันได้หมดทุกกลุ่ม ซึ่งในแต่ละกลุ่มอาจมีลักษณะที่มีความคล้ายคลึงมากน้อยแตกต่างกันไป โดยกลุ่มที่พบลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกันมากที่สุด คือ กลุ่มของพันธุ์ Baby Grape , Perlette และ Loose Perlette ซึ่งมีลักษณะที่แตกต่างกันจำนวน 8 ลักษณะ รองลงมาคือกลุ่มของพันธุ์ Black Opal กับพันธุ์ Marroo Seedless ซึ่งพบลักษณะที่ต่างกันจำนวน 5 ลักษณะ ส่วนที่เหลืออีก 5 กลุ่มตรวจพบความแตกต่างกันเพียง 2-3 ลักษณะเท่านั้น

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของส่วนต่าง ๆ ขององุ่นจำนวน 10 ส่วน พบว่าส่วนที่สามารถตรวจพบความแตกต่างได้มากที่สุด คือ ส่วนของผล รองลงมาคือ ช่อผล ช่อดอก เมล็ด และกึ่ง ตามลำดับ สำหรับลักษณะทาง phenology ก็เป็นอีกสิ่งหนึ่งที่สามารถใช้ในการจำแนกพันธุ์องุ่นที่มีลักษณะที่คล้ายคลึงกันมาก ๆ ได้อย่างเช่นองุ่นพันธุ์ Ribier กับพันธุ์ Pok Dum



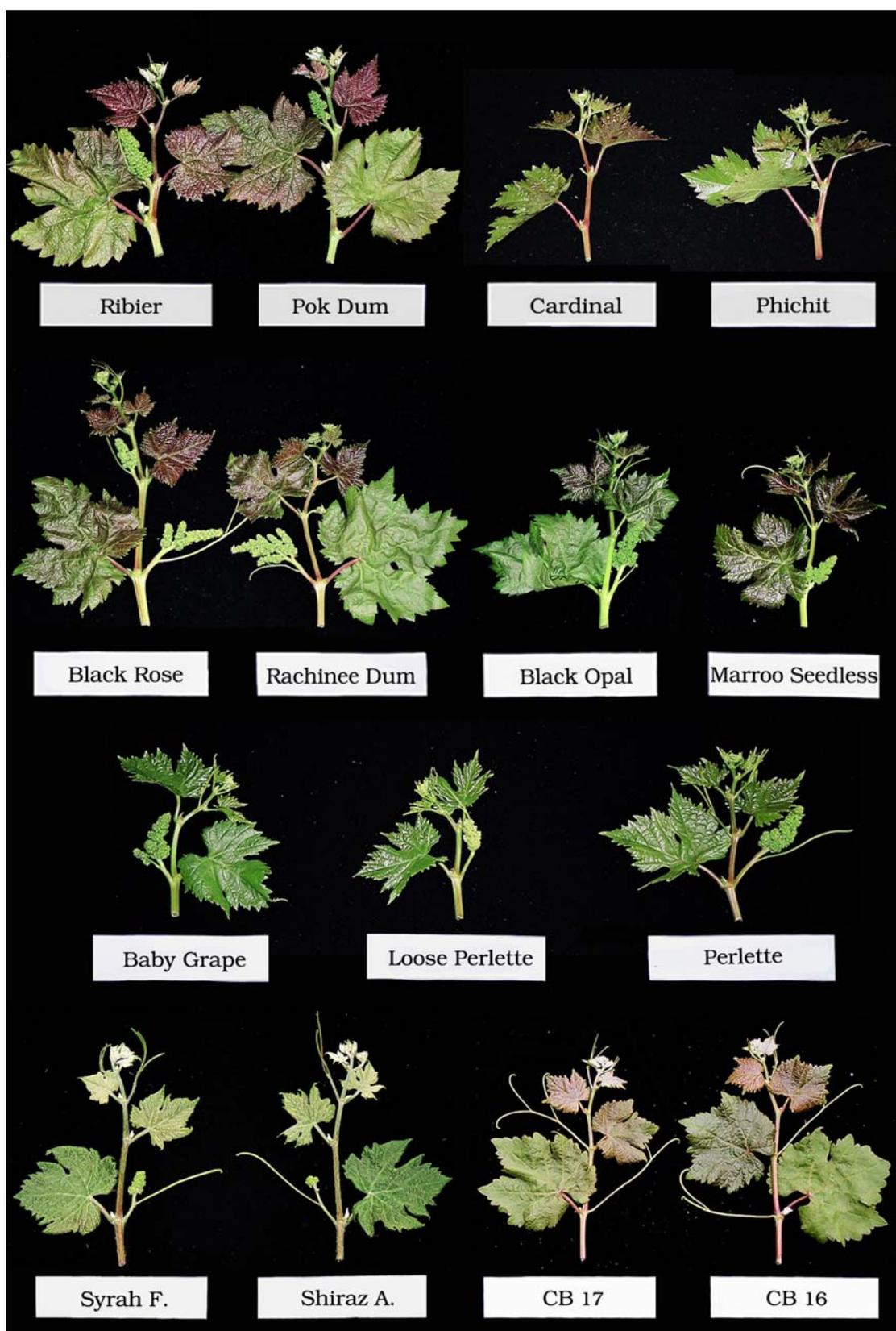
ภาพที่ 1 ลักษณะของมือเกาะที่เปลี่ยนแปลงไปเป็นยอดอ่อน ซึ่งพบในองุ่นพันธุ์ Black Rose, Rachinee Dum, Black Opal และ Marroo Seedless



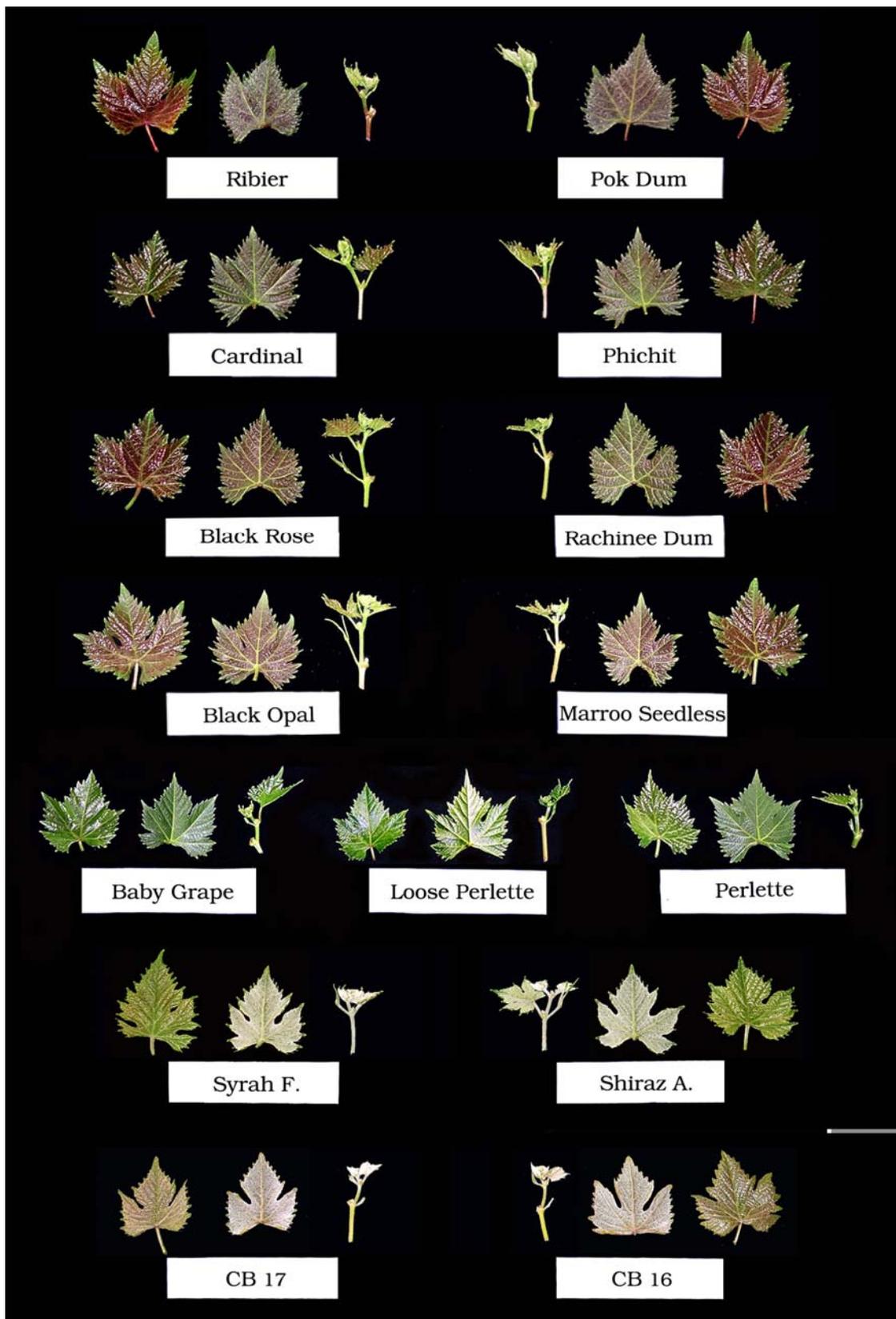
A

B

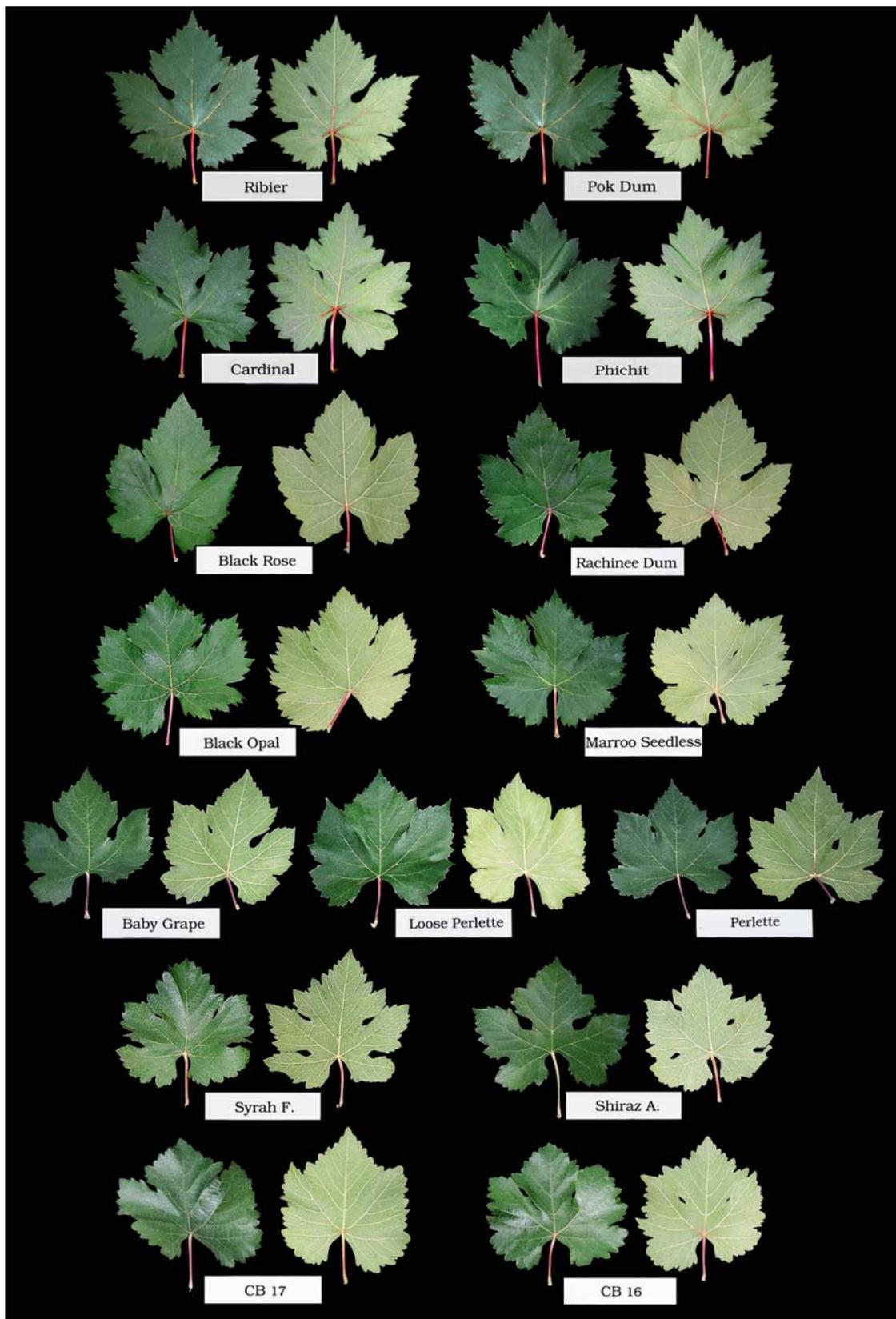
ภาพที่ 2 ลักษณะของขนทั้ง 2 ชนิดที่พบในอรุณ โดยภาพ A เป็นขนชนิด prostrate hair และภาพ B เป็นขนชนิด erect hair



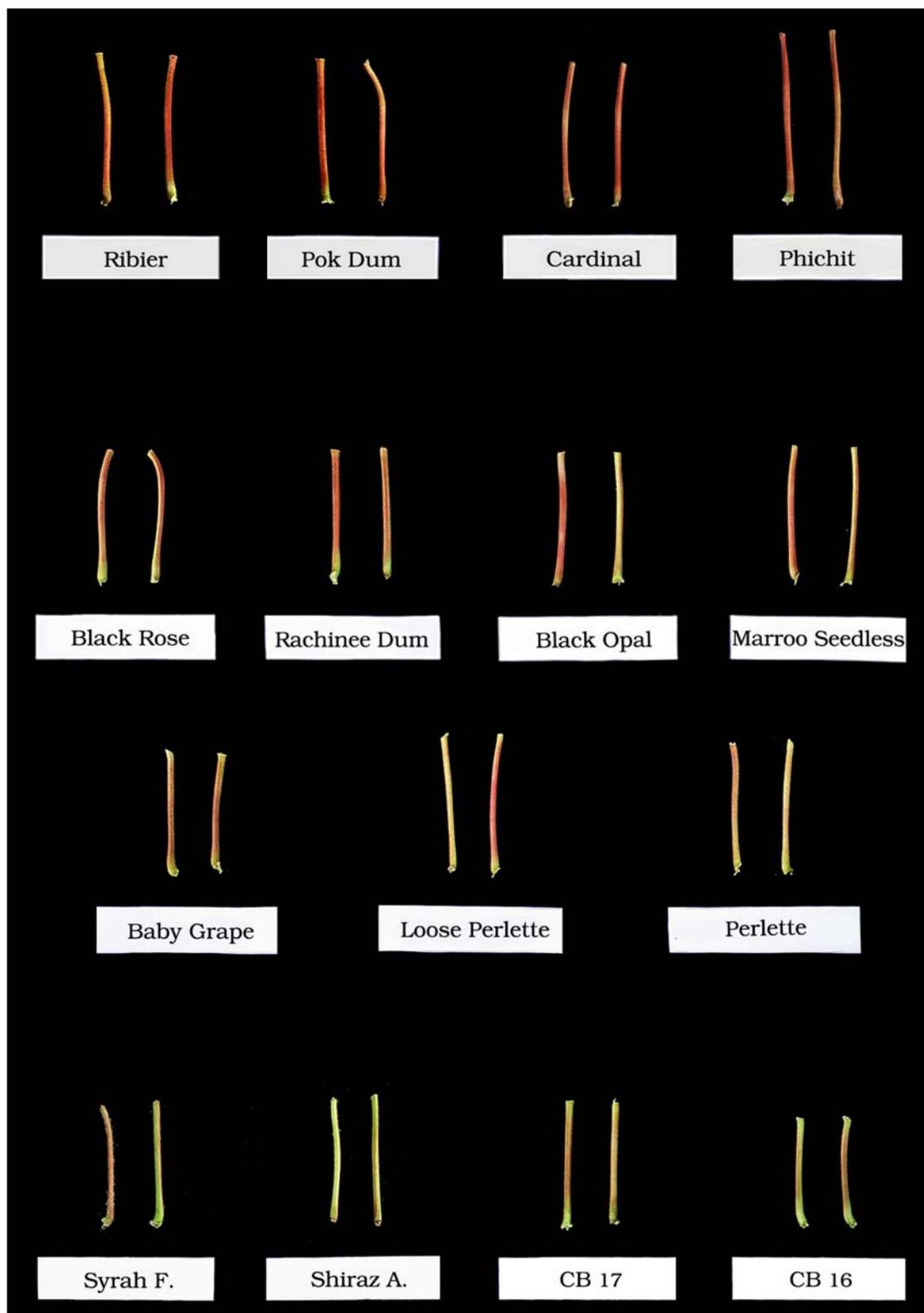
ภาพที่ 3 ลักษณะยอดอ่อนขององุ่นทั้ง 15 พันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา



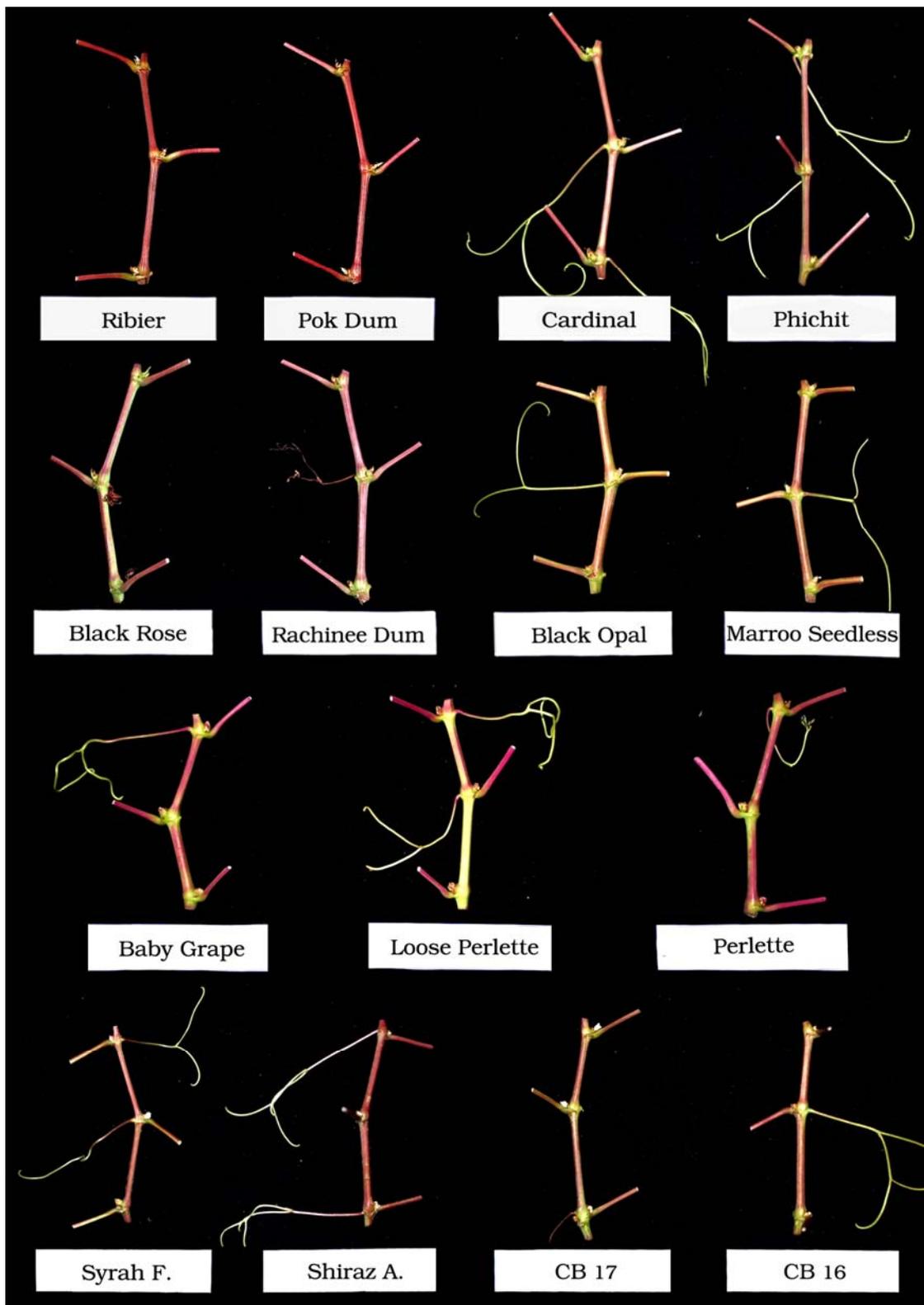
ภาพที่ 4 ลักษณะใบอ่อนขององุ่นทั้ง 15 พันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา



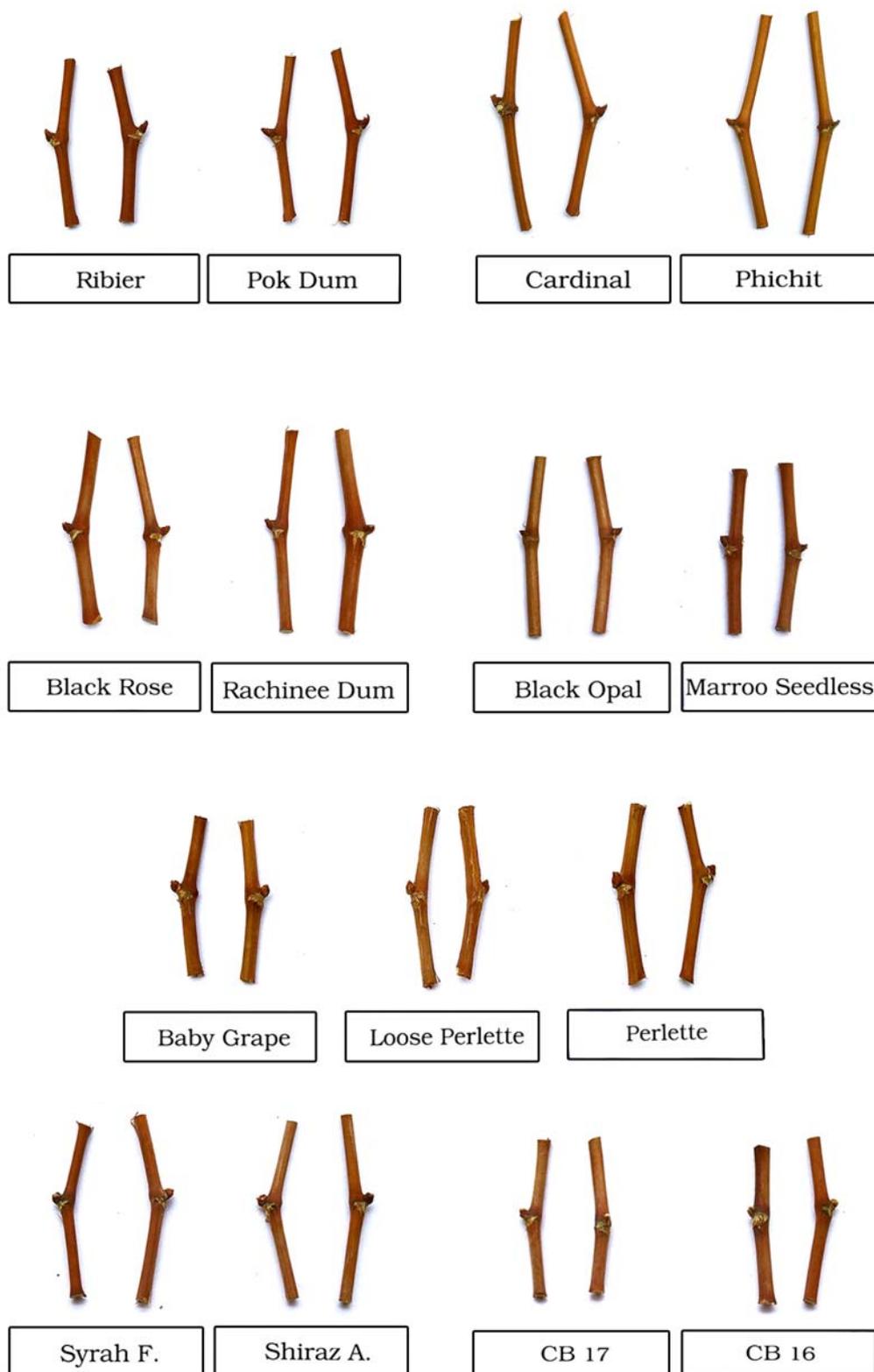
ภาพที่ 5 ลักษณะใบแก่ขององุ่นทั้ง 15 พันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา



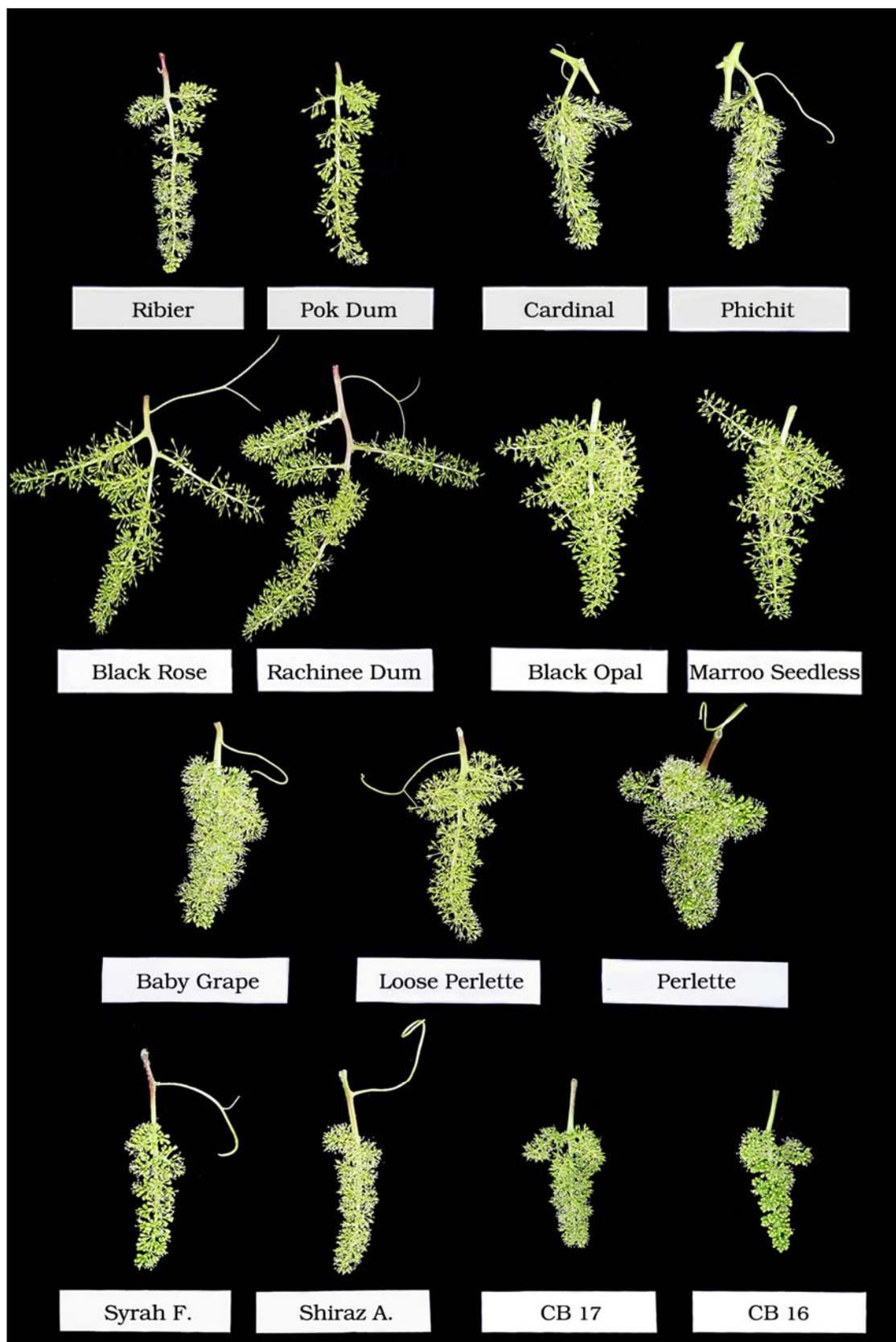
ภาพที่ 6 ลักษณะก้านใบขององุ่นทั้ง 15 พันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา



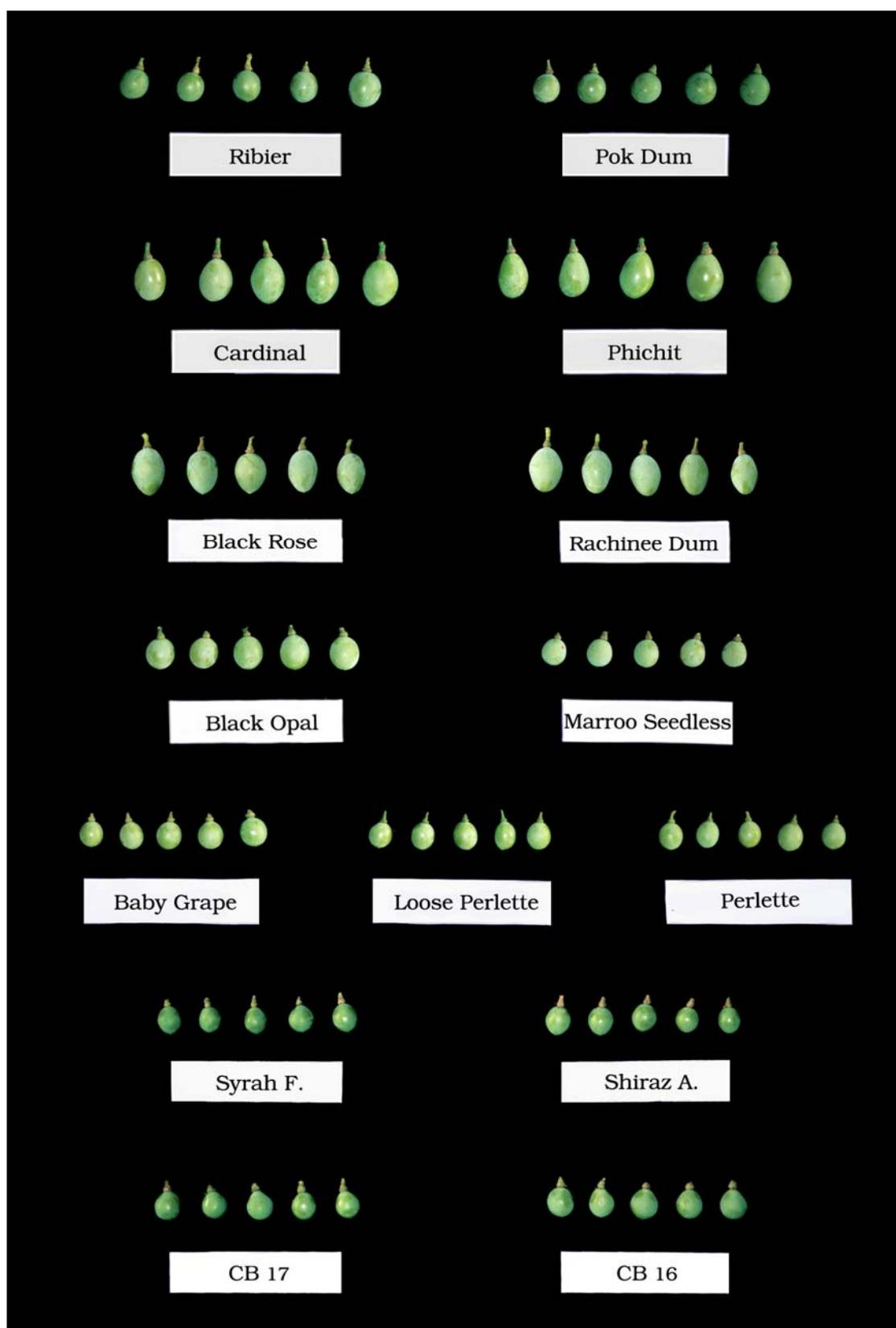
ภาพที่ 7 ลักษณะข้อปล้องขององุ่นทั้ง 15 พันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา



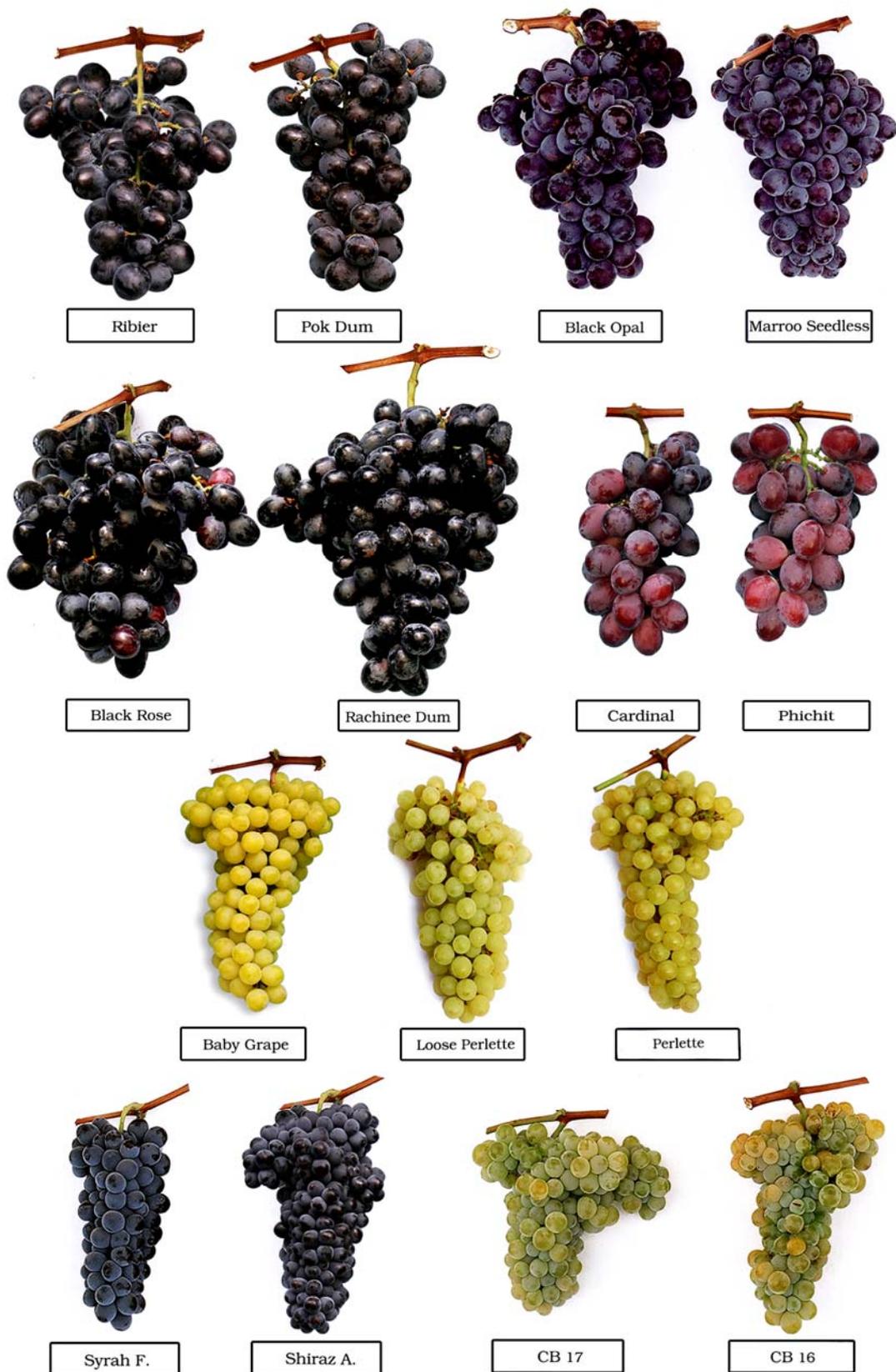
ภาพที่ 8 ลักษณะเปลือกที่กิ่งแก่และตาขององุ่นทั้ง 15 พันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา



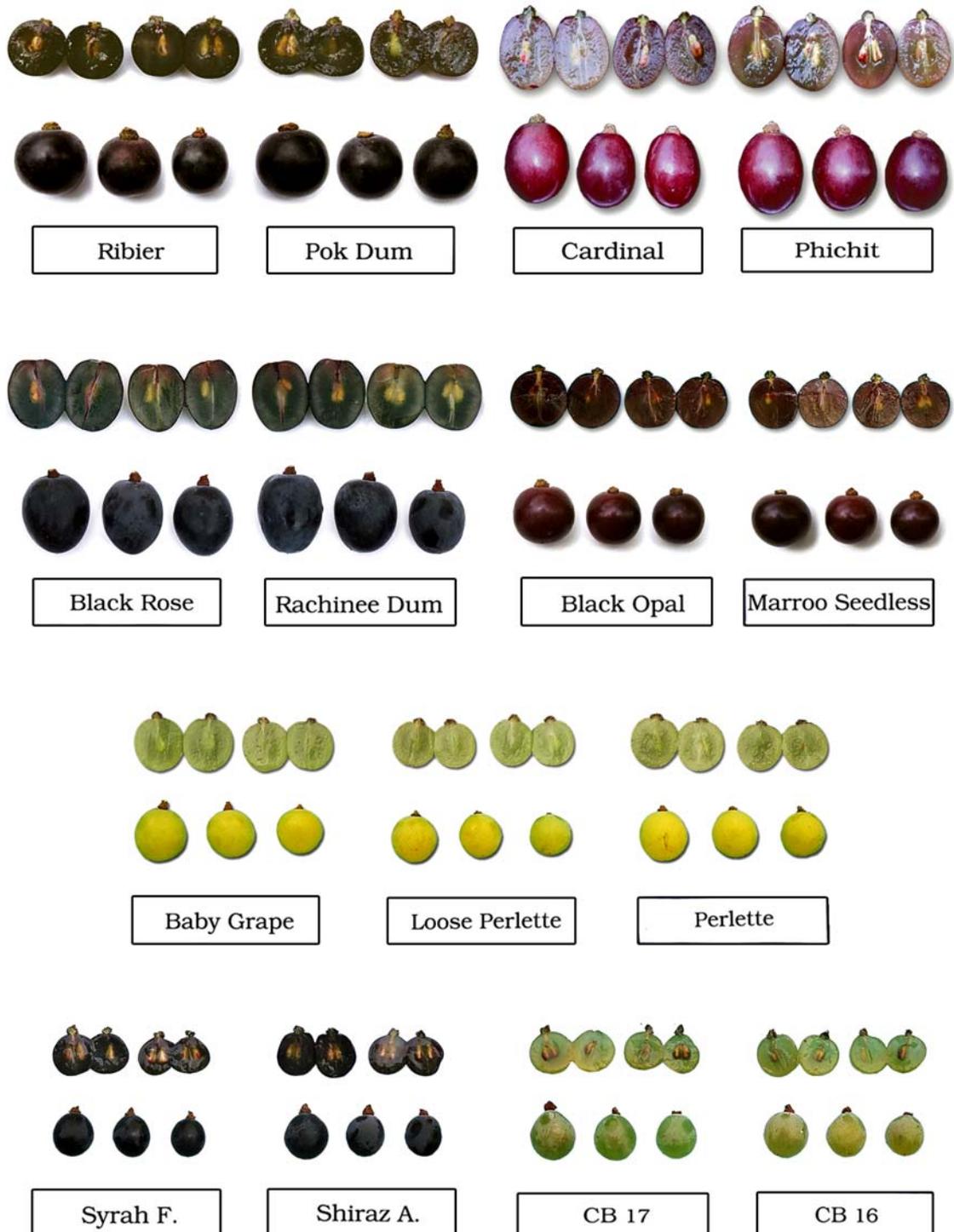
ภาพที่ 9 ลักษณะช่อดอกขององุ่นทั้ง 15 พันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา



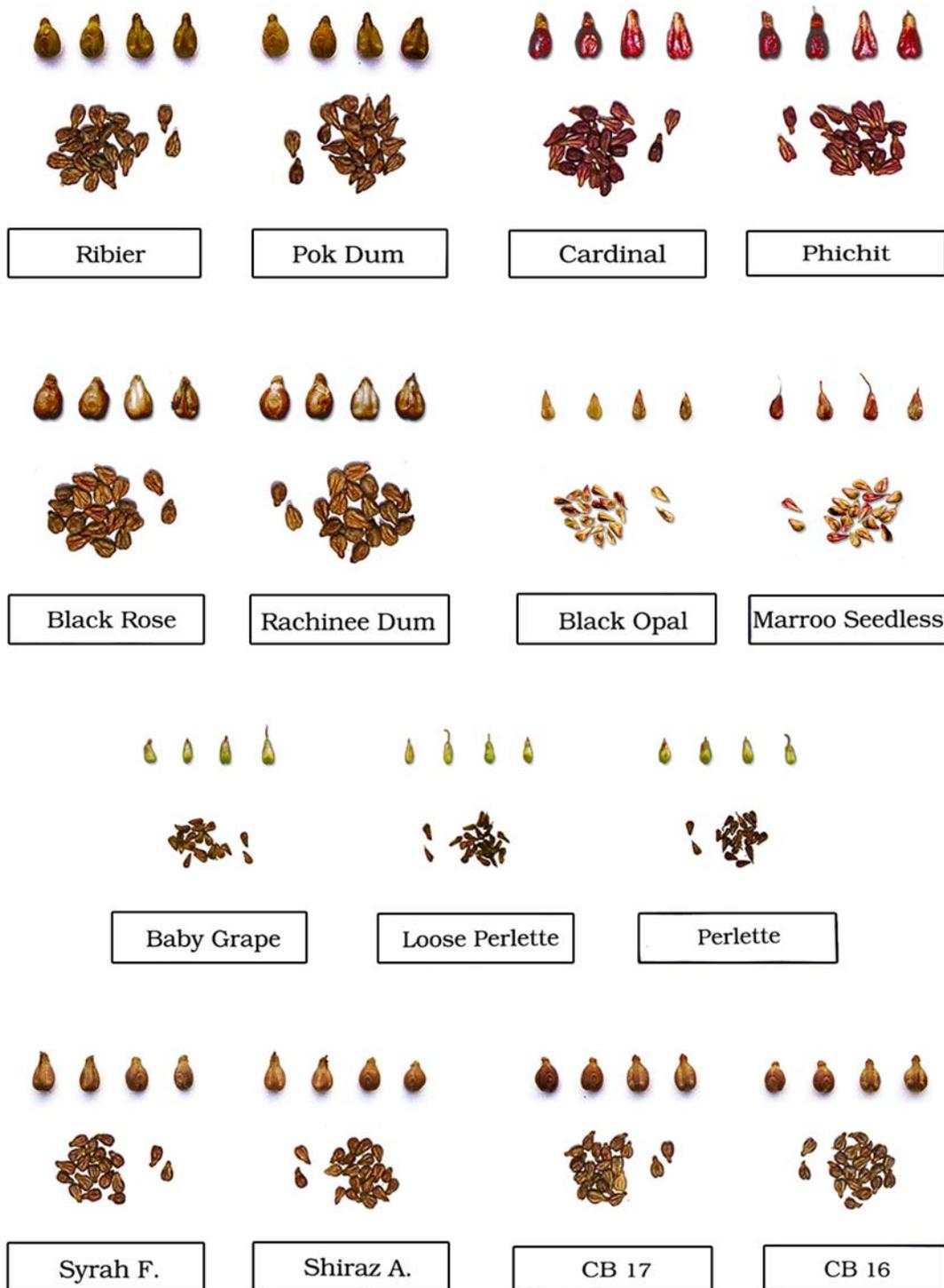
ภาพที่ 10 ลักษณะผลอ่อนที่มีอายุ 4 สัปดาห์หลังดอกบาน ขององุ่นทั้ง 15 พันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา



ภาพที่ 11 ลักษณะช่อผลในระยะสุกแก่ขององุ่นทั้ง 15 พันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา



ภาพที่ 12 ลักษณะผลในระยะสุกแก่ขององุ่นทั้ง 15 พันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา



ภาพที่ 13 ลักษณะเมล็ดขององุ่นทั้ง 15 พันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา

ผลการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ โดยใช้เทคนิค AFLP

การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอขององุ่นแต่ละกลุ่มที่ใช้เปรียบเทียบกัน

จากการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอขององุ่นจำนวน 7 กลุ่ม (15 พันธุ์) โดยใช้ไพรมอร์จำนวน 64 คู่ พบว่ามีเพียง 5 คู่ไพรมอร์เท่านั้นที่สามารถตรวจพบความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอขององุ่นที่อยู่ภายในกลุ่มเดียวกัน ซึ่งได้แก่ E-ACT/M-CAC, E-ACC/M-CAC, E-AAC/M-CAG, E-ACT/M-CTC และ E-AAC/M-CTT ซึ่งมีรายละเอียดดังตารางที่ 9

สำหรับองุ่นทั้ง 15 พันธุ์ที่ในการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอนั้น ได้กำหนดให้ใช้ตัวเลข 1 ถึง 15 แทนตัวอย่างพันธุ์ขององุ่นที่นำมาใช้ในการศึกษา ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

- เลข 1 คือ ตัวอย่างพันธุ์ Ribier
- เลข 2 คือ ตัวอย่างพันธุ์ Pok Dum
- เลข 3 คือ ตัวอย่างพันธุ์ Cardinal
- เลข 4 คือ ตัวอย่างพันธุ์ Phichit
- เลข 5 คือ ตัวอย่างพันธุ์ Black Rose
- เลข 6 คือ ตัวอย่างพันธุ์ Rachinee Dum
- เลข 7 คือ ตัวอย่างพันธุ์ Black Opal
- เลข 8 คือ ตัวอย่างพันธุ์ Marroo Seedless
- เลข 9 คือ ตัวอย่างพันธุ์ Baby Grape
- เลข 10 คือ ตัวอย่างพันธุ์ Loose Perlette
- เลข 11 คือ ตัวอย่างพันธุ์ Perlette
- เลข 12 คือ ตัวอย่างพันธุ์ Syrah F.
- เลข 13 คือ ตัวอย่างพันธุ์ Shiraz A.
- เลข 14 คือ ตัวอย่างพันธุ์ CB 17
- เลข 15 คือ ตัวอย่างพันธุ์ CB 16

ส่วนการจัดกลุ่มพันธุ์องุ่นที่ใช้ศึกษาเปรียบเทียบกันนั้น ใช้การจัดกลุ่มเช่นเดียวกับลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยา (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 9 กลุ่มไวน์เมอร์ที่พบความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอและจำนวนของแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกันขององุ่นในแต่ละกลุ่มที่ใช้เปรียบเทียบกัน

กลุ่มไวน์เมอร์	จำนวนของแถบดีเอ็นเอที่ตรวจพบ Polymorphism						
	Ribier : Pok Dum	Cardinal : Phichit	Black Rose : Rachinee Dum	Black Opal : Marroo Seedless	Baby Grape : Loose Perlette :	Syrah F. : Shiraz A.	CB 17 : CB 16
E-ACT-M-CAC	-	-	1	-	-	-	-
E-ACC/M-CAC	-	-	-	-	2	2	-
E-AAC/M-CAG	-	-	-	-	2	2	-
E-ACT/M-CTC	-	-	-	-	-	1	-
E-AAC/M-CTT	-	-	-	-	-	1	-
รวม	-	-	1	-	4	6	-

สำหรับไวน์เมอร์ทั้ง 5 กลุ่มที่สามารถตรวจสอบความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอขององุ่นที่อยู่ภายในกลุ่มเดียวกันได้นั้น (ตารางที่ 9) มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

- กลุ่มที่ 1 พันธุ์ Ribier กับ Pok Dum พบแถบดีเอ็นเอที่สามารถวิเคราะห์ได้จำนวนทั้งสิ้น 1,133 แถบ จาก 64 กลุ่มไวน์เมอร์ ในจำนวนนี้ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่สามารถใช้จำแนกความแตกต่างขององุ่น 2 พันธุ์นี้ได้
- กลุ่มที่ 2 พันธุ์ Cardinal กับ Phichit พบแถบดีเอ็นเอที่สามารถวิเคราะห์ได้จำนวนทั้งสิ้น 1,109 แถบ จาก 64 กลุ่มไวน์เมอร์ ผลจากการตรวจสอบไม่พบแถบดีเอ็นเอที่สามารถใช้จำแนกความแตกต่างขององุ่น 2 พันธุ์นี้ได้
- กลุ่มที่ 3 พันธุ์ Black Rose กับ Rachinee Dum จากการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอขององุ่นในกลุ่มนี้โดยใช้ไวน์เมอร์ 64 กลุ่ม พบแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏจำนวน 1,126 แถบ ในจำนวนนี้มีเพียง 1 แถบเท่านั้นที่สามารถใช้จำแนกความแตกต่างขององุ่น 2 พันธุ์นี้ได้ สำหรับไวน์เมอร์ที่สามารถใช้จำแนกความแตกต่างขององุ่นในกลุ่มนี้ได้ คือ กลุ่มไวน์เมอร์ E-ACT/M-CAC ซึ่งแถบที่พบความแตกต่างนั้นมีขนาดประมาณ 130 คู่เบส (ภาพที่ 14)

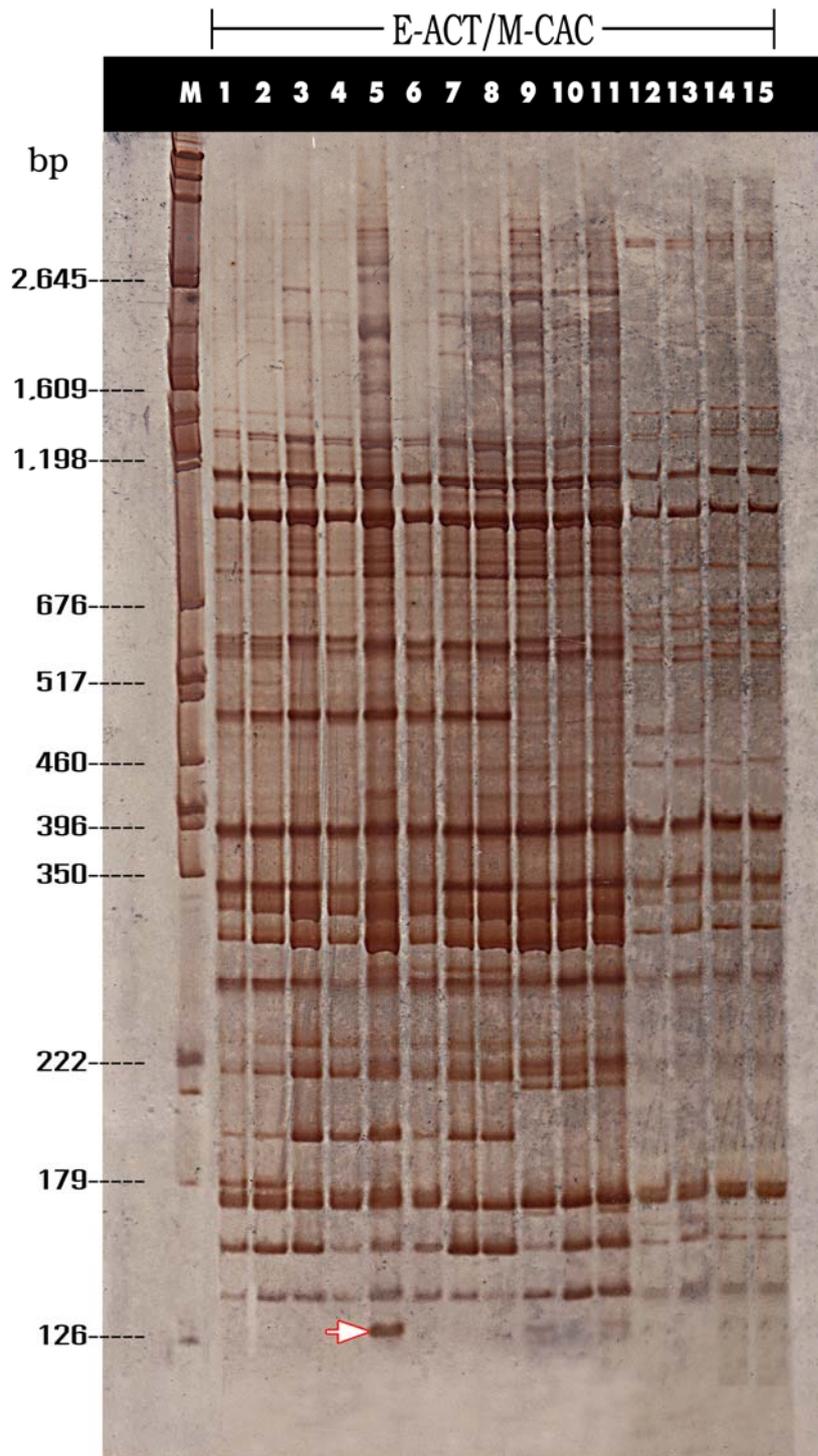
- กลุ่มที่ 4 พันธุ์ Black Opal กับ Marroo Seedless จากการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอขององุ่นในกลุ่มนี้โดยใช้ไพรเมอร์ 64 คู่ พบแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏจำนวน 1,120 แถบ จากแถบดีเอ็นเอทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้ไม่พบแถบที่สามารถใช้แยกความแตกต่างขององุ่น 2 พันธุ์นี้ได้

- กลุ่มที่ 5 พันธุ์ Baby Grape, Loose Perlette และ Perlette พบแถบดีเอ็นเอที่สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งหมด 1,146 แถบ จากการตรวจสอบโดยใช้ไพรเมอร์จำนวน 64 คู่ ในจำนวนนี้พบแถบดีเอ็นเอที่ใช้จำแนกความแตกต่างขององุ่น 3 พันธุ์นี้ได้จำนวน 4 แถบ โดยพันธุ์ Loose Perlette นั้นปรากฏแถบดีเอ็นเอที่มีรูปแบบแตกต่างไปจากพันธุ์ Baby Grape และ Perlette จำนวน 2 แถบ ส่วนพันธุ์ Baby Grape นั้นก็พบแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกับพันธุ์อื่น ๆ ในกลุ่มนี้จำนวน 2 แถบเช่นกัน

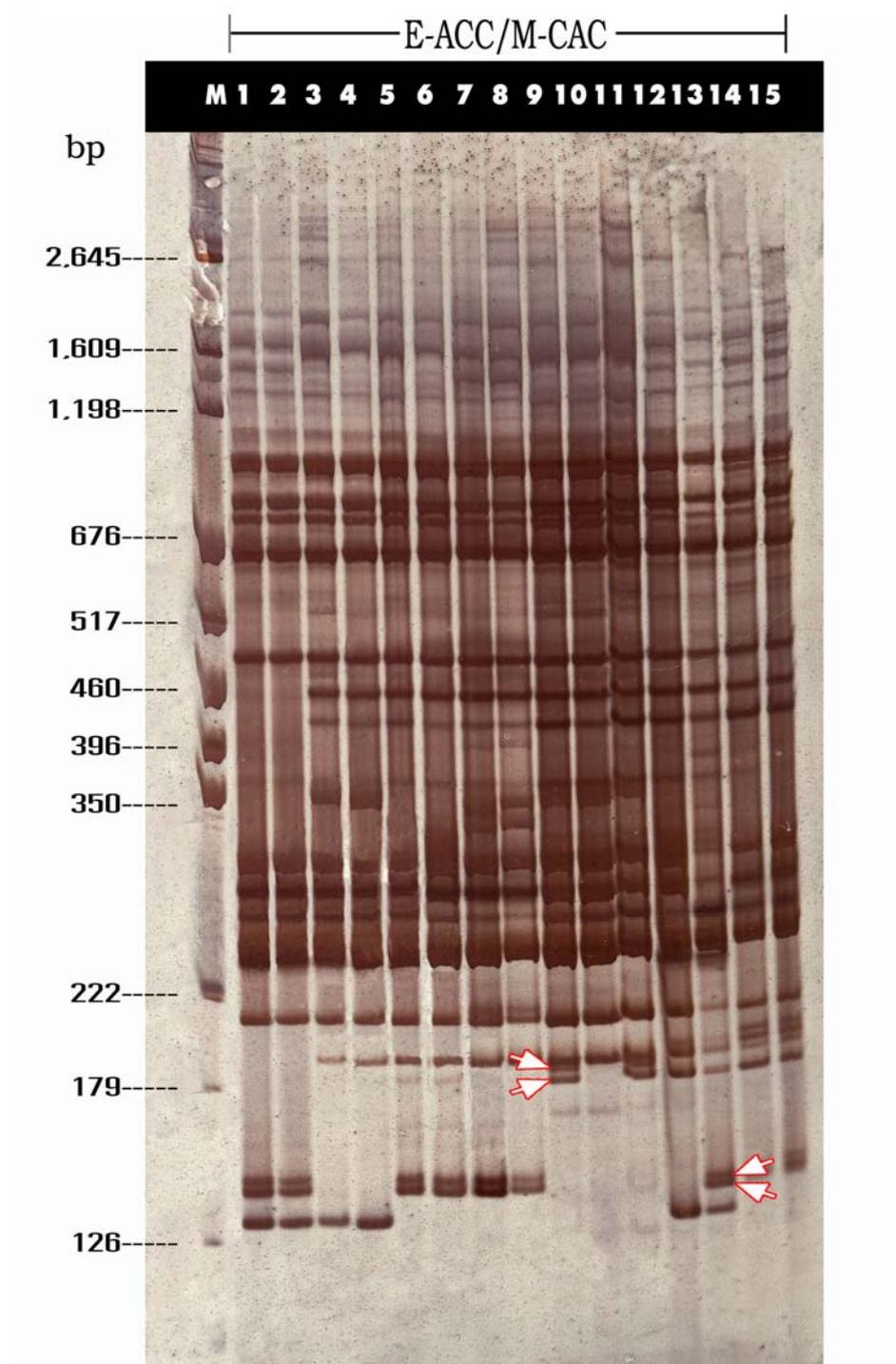
สำหรับคู่ไพรเมอร์ที่สามารถแยกความแตกต่างขององุ่นในกลุ่มนี้ได้มีจำนวน 2 คู่ คือ 1) E-ACC/M-CAC พบแถบดีเอ็นเอที่มีรูปแบบแตกต่างกันจำนวน 2 แถบ ซึ่งมีขนาดประมาณ 185 และ 190 คู่เบส (ภาพที่ 15) จากการตรวจสอบไม่พบแถบดีเอ็นเอขนาดดังกล่าวในองุ่นพันธุ์ Loose Perlette แต่กลับพบในองุ่นพันธุ์ Baby Grape และ Perlette 2) E-AAC/M-CAG พบแถบดีเอ็นเอที่มีรูปแบบแตกต่างกันจำนวน 2 แถบเช่นกัน โดยแถบดีเอ็นเออันนั้นมีขนาดประมาณ 195 และ 215 คู่เบส (ภาพที่ 16) จากการตรวจสอบไม่พบแถบดีเอ็นเอขนาดดังกล่าวในองุ่นพันธุ์ Baby Grape แต่กลับพบในองุ่นพันธุ์ Loose Perlette และ Perlette

- กลุ่มที่ 6 พันธุ์ Syrah F. กับ Shiraz A. ผลการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอขององุ่นในกลุ่มนี้โดยใช้ไพรเมอร์ 64 คู่ พบแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏจำนวน 1,131 แถบ ในจำนวนนี้มีอยู่ 6 แถบที่สามารถใช้จำแนกความแตกต่างขององุ่น 2 พันธุ์นี้ได้ ความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอในองุ่น 2 พันธุ์นี้สามารถตรวจสอบได้ด้วยไพรเมอร์จำนวน 4 คู่ ดังนี้คือ 1) E-ACC/M-CAC มีแถบดีเอ็นเอที่ต่างกันอยู่ 2 แถบ ซึ่งมีขนาดประมาณ 150 และ 155 คู่เบส ดังภาพที่ 15 2) E-AAC/M-CAG มีแถบดีเอ็นเอที่ต่างกันอยู่ 2 แถบ ซึ่งมีขนาดประมาณ 125 และ 220 คู่เบส ดังภาพที่ 16 3) E-ACT/M-CTC มีแถบดีเอ็นเอที่ต่างกันอยู่ 1 แถบ ซึ่งมีขนาดประมาณ 180 คู่เบส ดังภาพที่ 17 4) E-AAC/M-CTT พบแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันจำนวน 1 แถบ ซึ่งมีขนาดประมาณ 200 คู่เบส ดังภาพที่ 18

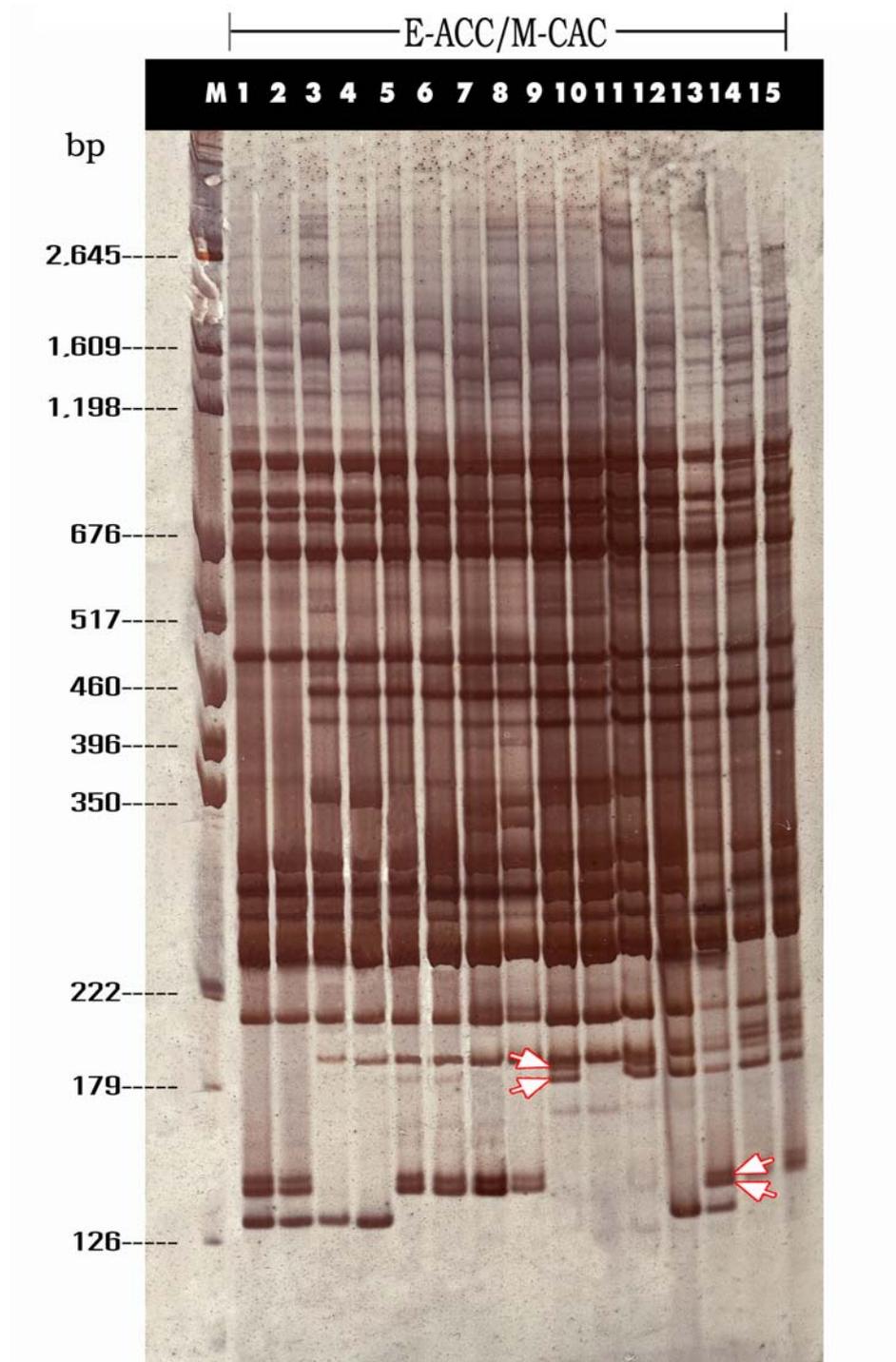
- กลุ่มที่ 7 พันธุ์ CB 17 กับ CB 16 จากการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอขององุ่นในกลุ่มนี้โดยใช้ไพรเมอร์ 64 คู่ พบแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏจำนวน 1,120 แถบ จากแถบดีเอ็นเอทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้ไม่พบแถบที่สามารถใช้แยกความแตกต่างขององุ่น 2 พันธุ์นี้ได้



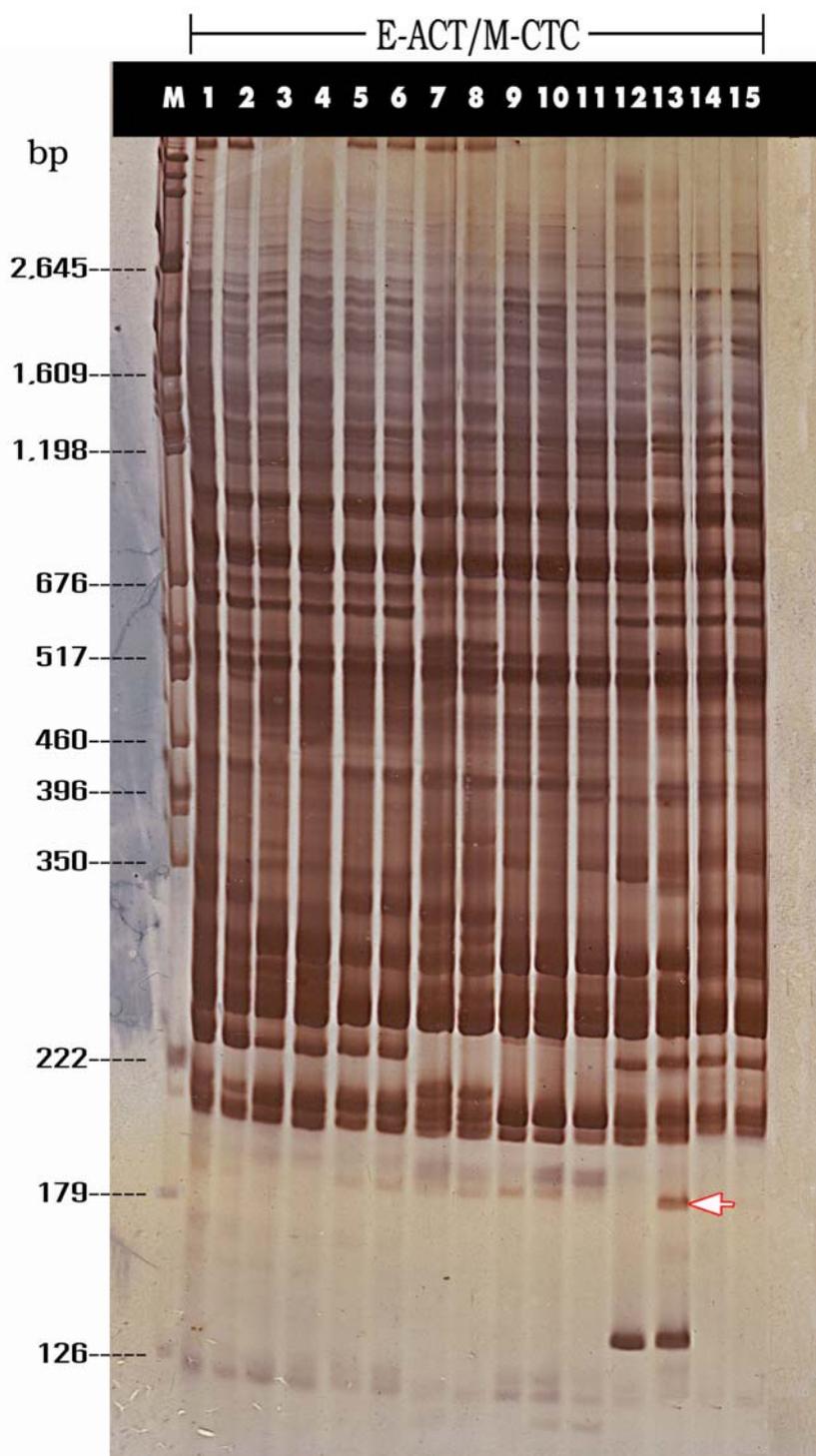
ภาพที่ 14 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอขององุ่นทั้ง 15 พันธุ์ที่ได้จากเทคนิค AFLP โดยตำแหน่งที่ลูกศรชี้ (↗) ในคู่ไพโรมอร์ E-ACT/M-CAC แสดงแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขององุ่นในกลุ่มที่ 3 คือ พันธุ์ Black Rose (ตัวอย่างที่ 5) กับพันธุ์ Rachinee Dum (ตัวอย่างที่ 6) ส่วน M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน



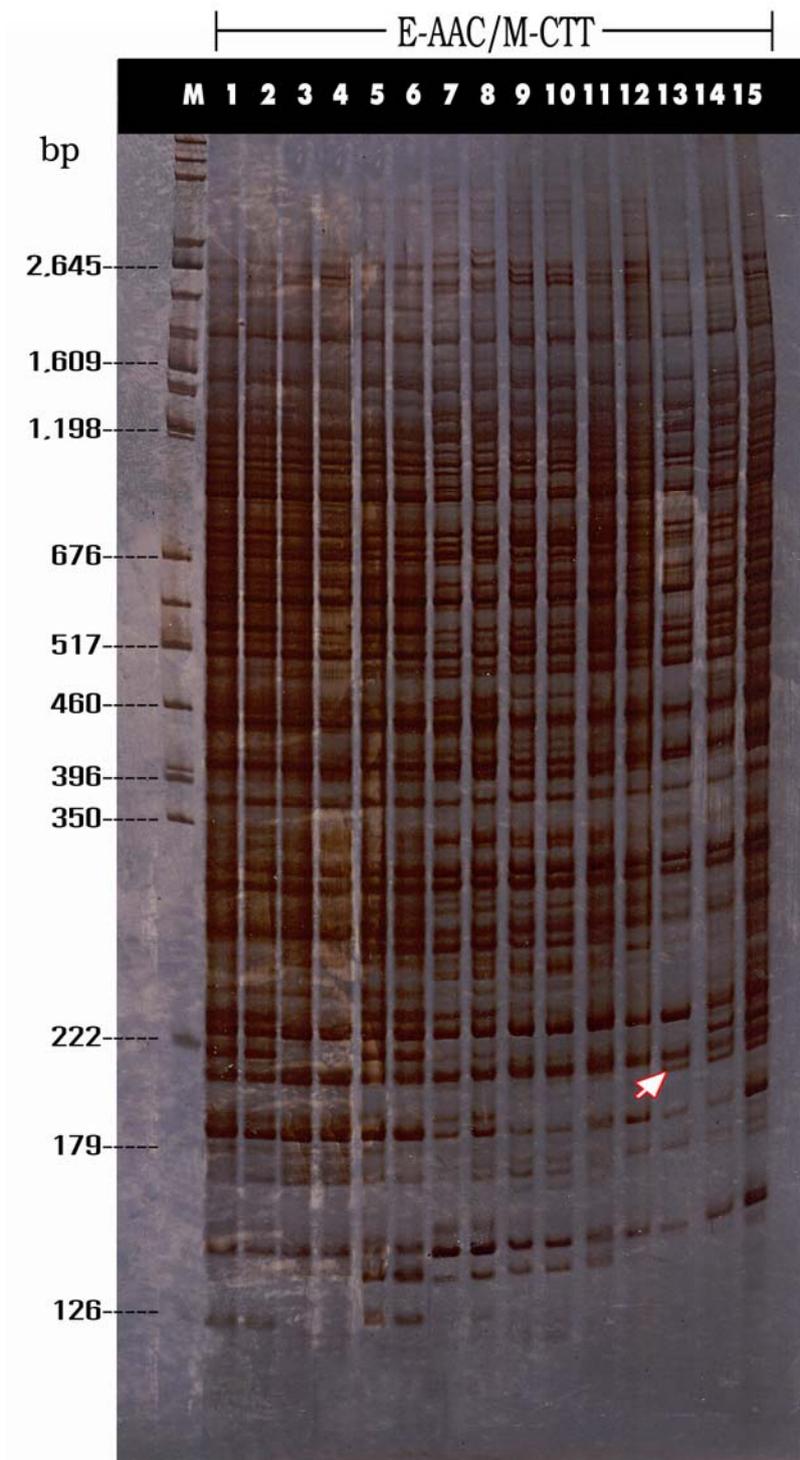
ภาพที่ 15 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอขององุ่นทั้ง 15 พันธุ์ที่ได้จากเทคนิค AFLP โดยตำแหน่งที่ลูกศรชี้ (↖) ในคู่ไพรเมอร์ E-ACC/M-CAC แสดงแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขององุ่นในกลุ่มที่ 5 คือ พันธุ์ Baby Grape (ตัวอย่างที่ 9), Loose Perlette (ตัวอย่างที่ 10) และ Perlette (ตัวอย่างที่ 11) และกลุ่มที่ 6 คือ พันธุ์ Syrah F. (ตัวอย่างที่ 12) กับพันธุ์ Shiraz A. (ตัวอย่างที่ 13) ส่วน M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน



ภาพที่ 16 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอขององุ่นทั้ง 15 พันธุ์ที่ได้จากเทคนิค AFLP โดยตำแหน่งที่ลูกศรชี้ (↖) ในคู่ไพรเมอร์ E-ACC/M-CAC แสดงแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขององุ่นในกลุ่มที่ 5 คือ พันธุ์ Baby Grape (ตัวอย่างที่ 9), Loose Perlette (ตัวอย่างที่ 10) และ Perlette (ตัวอย่างที่ 11) และกลุ่มที่ 6 คือ พันธุ์ Syrah F. (ตัวอย่างที่ 12) กับพันธุ์ Shiraz A. (ตัวอย่างที่ 13) ส่วน M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน



ภาพที่ 17 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอขององุ่นทั้ง 15 พันธุ์ที่ได้จากเทคนิค AFLP โดยตำแหน่งที่ลูกศรชี้ (↗) ในคู่ไพรเมอร์ E-ACT/M-CTC แสดงแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขององุ่นในกลุ่มที่ 6 คือ พันธุ์ Syrah F. (ตัวอย่างที่ 12) กับพันธุ์ Shiraz A. (ตัวอย่างที่ 13) ส่วน M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน



ภาพที่ 18 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอขององุ่นทั้ง 15 พันธุ์ที่ได้จากเทคนิค AFLP โดยตำแหน่งที่ลูกศรชี้ (↖) ในกลุ่มไพรเมอร์ E-AAC/M-CTT แสดงแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขององุ่นในกลุ่มที่ 6 คือ พันธุ์ Syrah F. (ตัวอย่างที่ 12) กับพันธุ์ Shiraz A. (ตัวอย่างที่ 13) ส่วน M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมขององุ่นทั้ง 15 พันธุ์

จากการใช้ไพรเมอร์ 64 คู่ไพรเมอร์ เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอขององุ่น จำนวน 15 พันธุ์ (Ribier, Pok Dum, Cardinal, Phichit, Black Rose, Rachinee Dum, Black Opal, Marroo Seedless, Baby Grape, Loose Perlette, Perlette, Syrah F., Shiraz A., CB 17 และ CB 16) ด้วยเทคนิค AFLP ผลการวิเคราะห์หลายพิมพ์ดีเอ็นเอพบว่า ชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้นั้นมีขนาดอยู่ระหว่าง 100-3,000 คู่เบส จำนวนแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏและสามารถวิเคราะห์ได้มีทั้งหมด 1,367 แถบ ในจำนวนนี้มี 452 แถบ ที่มีรูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่ต่างกัน หรือคิดเป็น 33.1 เปอร์เซ็นต์ของแถบดีเอ็นเอทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้ โดยจำนวนแถบดีเอ็นเอที่ได้นั้นอยู่ในช่วง 7-37 แถบต่อคู่ไพรเมอร์ สำหรับคู่ไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอจำนวนมากที่สุดคือ E-AAG/M-CTT (37 แถบ) การเกิด polymorphism (รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน) ระหว่างพันธุ์นั้นอยู่ในช่วง 0-15 แถบต่อคู่ไพรเมอร์ สำหรับคู่ไพรเมอร์ที่ให้ polymorphism มากที่สุดคือ E-AAC/M-CAG (ให้ 15 แถบ)

เมื่อนำแถบดีเอ็นเอทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้มาหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมขององุ่นทั้ง 15 พันธุ์ ด้วยโปรแกรม NTSYSpc รุ่น 2.01e โดยคำนวณค่าความเหมือนทางพันธุกรรม หรือเรียกอีกอย่างว่า ค่าดัชนีความเหมือน (similarity index) ด้วยวิธี Simple Matching (Sokal and Michener, 1958) จากนั้นนำไปสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในรูปแบบ phylogenetic tree โดยใช้วิธี UPGMA (unweighted pair group method using arithmetic average) จากผลการวิเคราะห์สามารถแบ่งกลุ่มตามความสัมพันธ์ได้เป็น 7 กลุ่ม (ดังภาพที่ 19) ซึ่งแต่ละกลุ่มมีรายละเอียดดังนี้

กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยพันธุ์ Ribier และ Pok Dum องุ่นสองพันธุ์นี้มีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 1.000

กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยพันธุ์ Cardinal และ Phichit องุ่นสองพันธุ์นี้มีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 1.000

กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วยพันธุ์ Black Rose และ Rachinee Dum โดยองุ่นสองพันธุ์นี้มีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.999

กลุ่มที่ 4 ประกอบด้วยพันธุ์ Black Opal และ Marroo Seedless องุ่นสองพันธุ์นี้มีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 1.000

กลุ่มที่ 5 ประกอบด้วยพันธุ์ Baby Grape, Loose Perlette และ Perlette โดยที่พันธุ์ Baby Grape กับพันธุ์ Loose Perlette มีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.997 ในขณะที่พันธุ์ Baby Grape กับพันธุ์ Perlette มีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.999 ส่วนพันธุ์ Loose Perlette กับพันธุ์ Perlette มีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.999

กลุ่มที่ 6 ประกอบด้วยพันธุ์ Syrah F. กับ Shiraz A. ซึ่งองุ่นสองพันธุ์นี้มีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.996

กลุ่มสุดท้ายกลุ่มที่ 7 ประกอบด้วยพันธุ์ CB 17 และ CB 17 ซึ่งมีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 1.000

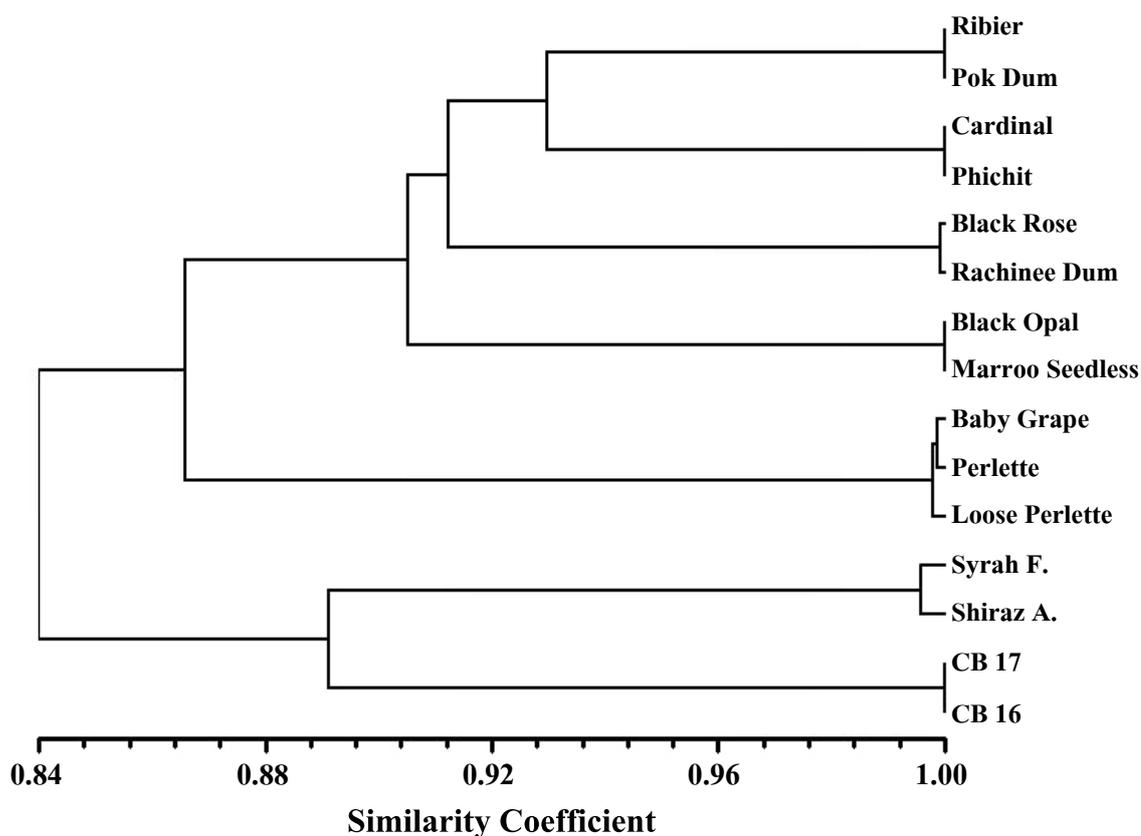
สำหรับกลุ่มขององุ่นพันธุ์รับประทานสด (Ribier, Pok Dum, Cardinal, Phichit, Black Rose, Rachinee Dum, Black Opal, Marroo Seedless, Baby Grape, Loose Perlette และ Perlette) กับกลุ่มขององุ่นพันธุ์ที่ใช้ทำไวน์ (Syrah F., Shiraz A., CB 17 และ CB 16) ทั้งสองกลุ่มนี้ถูกแบ่งแยกออกจากกันอย่างชัดเจน (ดังภาพที่ 19) โดยองุ่นในกลุ่มที่ใช้รับประทานสดกับองุ่นในกลุ่มที่ใช้ทำไวน์นั้นค่าความเหมือนทางพันธุกรรมโดยเฉลี่ยประมาณ 0.840

องุ่นพันธุ์ที่ใช้ทำไวน์นั้นสามารถแยกออกได้เป็น 2 กลุ่มย่อย คือ กลุ่มที่มีผลสีเขียว (พันธุ์ CB 16 กับ CB 17) และกลุ่มที่มีผลสีดำ (พันธุ์ Syrah F. กับ Shiraz A.) ซึ่งองุ่นในกลุ่มที่มีผลสีเขียวกับองุ่นที่มีผลสีดำนั้นมีความเหมือนทางพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.887-0.891 (เฉลี่ย 0.889)

ส่วนองุ่นกลุ่มที่ใช้รับประทานสดนั้นสามารถแยกออกเป็น 2 กลุ่มย่อย คือ กลุ่มที่มีผลสีเขียว (พันธุ์ Baby Grape, Loose Perlette และ Perlette) และกลุ่มที่มีผลสีแดงดำหรือดำ (Ribier, Pok Dum, Cardinal, Phichit, Black Rose, Rachinee Dum, Black Opal และ Marroo Seedless) ซึ่งองุ่น 2 กลุ่มนี้มีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมประมาณ 0.866

ตารางที่ 10 ค่าความเหมือนทางพันธุกรรมที่คำนวณด้วยวิธี Simple Matching (Sokal and Michener, 1958) ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบค่าความคล้ายคลึงกันของแถบดีเอ็นเอขององุ่น 15 ตัวอย่าง จากเทคนิค AFLP

ตัวอย่างพันธุ์	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1 Ribier	1.000														
2 Pok Dum	1.000	1.000													
3 Cardinal	0.928	0.928	1.000												
4 Phichit	0.928	0.928	1.000	1.000											
5 Black Rose	0.922	0.922	0.898	0.898	1.000										
6 Rachinee Dum	0.922	0.922	0.899	0.899	0.999	1.000									
7 Black Opal	0.909	0.909	0.892	0.892	0.908	0.909	1.000								
8 Marroo Seedless	0.909	0.909	0.892	0.892	0.908	0.909	1.000	1.000							
9 Baby Grape	0.860	0.860	0.873	0.873	0.852	0.853	0.860	0.860	1.000						
10 Loose Perlette	0.863	0.863	0.876	0.876	0.855	0.856	0.862	0.862	0.997	1.000					
11 Perlette	0.862	0.862	0.875	0.875	0.854	0.854	0.861	0.861	0.999	0.999	1.000				
12 Syrah F.	0.840	0.840	0.857	0.857	0.830	0.831	0.832	0.832	0.843	0.843	0.843	1.000			
13 Shiraz A.	0.840	0.840	0.857	0.857	0.830	0.831	0.833	0.833	0.843	0.843	0.843	0.996	1.000		
14 CB 17	0.838	0.838	0.842	0.842	0.831	0.832	0.824	0.824	0.827	0.828	0.828	0.887	0.891	1.000	
15 CB 16	0.838	0.838	0.842	0.842	0.831	0.832	0.824	0.824	0.827	0.828	0.828	0.887	0.891	1.000	1.000



ภาพที่ 19 การจัดจำแนกองุ่นทั้ง 15 พันธุ์ ในลักษณะของ phylogenetic tree จากผลการวิเคราะห์ ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค AFLP (จากแถบดีเอ็นเอจำนวน 1,367 แถบ) โดยใช้วิธี UPGMA

จากการวิเคราะห์ค่าความเหมือนทางพันธุกรรม และการจัดกลุ่มพันธุ์องุ่นในลักษณะของ phylogenetic tree (ภาพที่ 19) ถ้าเรียงลำดับความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมขององุ่นทั้ง 7 กลุ่มนี้ พบว่า กลุ่มที่มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกันมากที่สุด คือ กลุ่มที่ 1 (พันธุ์ Ribier กับ Pok Dum) กลุ่มที่ 2 (พันธุ์ Cardinal กับ Phichit) กลุ่มที่ 4 (พันธุ์ Black Opal กับ Marroo Seedless) และ กลุ่มที่ 3 (พันธุ์ CB 17 กับ CB 16) ซึ่งทุกกลุ่มมีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 1.000 รองลงมาคือกลุ่มที่ 3 (พันธุ์ Black Rose กับ Rachinee Dum) ซึ่งกลุ่มนี้มีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.999 ตามมาด้วยกลุ่มที่ 5 (พันธุ์ Baby Grape, Loose Perlette, และ Perlette) ซึ่งมีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.997-0.999 โดยพันธุ์ Baby Grape กับพันธุ์ Perlette มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมากกว่าพันธุ์ Loose Perlette ส่วนกลุ่มที่มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมน้อยที่สุดคือ กลุ่มที่ 6 (พันธุ์ Syrah F. กับ Shiraz A.) ซึ่งองุ่นสองพันธุ์นี้มีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.996

วิจารณ์

จากการตรวจสอบพันธุ์องุ่นจำนวน 7 กลุ่ม โดยใช้ลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยาและการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ด้วยเทคนิค AFLP พบว่า ลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยาซึ่งพิจารณาจากส่วนต่าง ๆ 10 ส่วน รวมถึงลักษณะทางด้าน phenology และความต้านทานต่อโรค จำนวนทั้งสิ้น 74 ลักษณะนั้น สามารถที่จะใช้จำแนกและตรวจสอบความแตกต่างของพันธุ์องุ่นทั้ง 7 กลุ่มได้ สำหรับพันธุ์องุ่นที่อยู่ภายในกลุ่มเดียวกันนั้นมีลักษณะที่คล้ายคลึงกันมาก มีแค่เพียง 2-8 ลักษณะเท่านั้นที่แตกต่างกัน Ortiz *et al.* (2003) รายงานไว้ว่าในการจำแนกความแตกต่างของพันธุ์องุ่นหรือพืชชนิดอื่นที่มีความคล้ายคลึงกันมาก ๆ จำเป็นต้องศึกษาหลาย ๆ ลักษณะ ทั้งนี้เพื่อให้วิธีการตรวจสอบนั้นมีความแน่นอนและตรงตามความเป็นจริงมากที่สุด สำหรับองุ่นนั้นผู้ที่ศึกษาจำเป็นต้องทำการศึกษาตามวิธีการของ O.I.V. (1984) อย่างน้อย 50 ลักษณะ ทั้งนี้เพื่อให้การตรวจสอบนั้นมีความละเอียดมากเพียงพอและเกิดความถูกต้องมากที่สุด

ปัจจุบันการศึกษาลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยาขาดหน้าไปมาก ทำให้ความละเอียดในการตรวจสอบและจำแนกพันธุ์องุ่นมีประสิทธิภาพสูงขึ้น จึงสามารถตรวจสอบความแตกต่างได้ทั้งในระดับชนิด สายพันธุ์ และในระดับโคลน อย่างเช่นในการศึกษาของ Rubio and Yuste (2004) ที่ใช้การตรวจสอบลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยาจำนวน 53 ลักษณะ ในการจำแนกความแตกต่างองุ่นพันธุ์ Tempranillo จำนวน 5 โคลนได้เป็นผลสำเร็จ ซึ่งเขาพบความแตกต่างของโคลนองุ่นเหล่านี้จากส่วนของยอดอ่อน ใบแก่ ผล และช่อผล

ในการศึกษาครั้งนี้พบความแตกต่างในหลายส่วนด้วยกัน ได้แก่ ส่วนของใบ (ความลึกของ lateral sinus และความยาวก้านใบ) ช่อดอก (รูปทรง ความยาว ความหนาแน่นของดอกย่อยภายในช่อ ความยาวของก้านช่อดอก และตำแหน่งที่เกิดของช่อดอกบนกิ่งใหม่) ช่อผล (รูปทรง ความกว้าง ความยาว น้ำหนัก ความหนาแน่นของผลภายในช่อ และความยาวก้านช่อผล) ผล (รูปทรง ความกว้าง ความยาว น้ำหนัก ความหนาแน่นของเปลือก จำนวนเมล็ดต่อผล และระยะเวลาการเปลี่ยนสีของผล) เมล็ด (ความกว้าง ความยาว ความหนา และน้ำหนัก) และกิ่งแก่ (ความยาวข้อปล้อง และรอยแตกตามธรรมชาติเปลือก) ลักษณะต่าง ๆ ที่ได้กล่าวมานี้สามารถใช้จำแนกความแตกต่างของพันธุ์องุ่นที่อยู่ภายในกลุ่มเดียวกันได้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Russo *et al.* (2003) ที่สามารถจำแนกโคลนขององุ่นทำไวน์พันธุ์ Primitivo จำนวน 5 โคลน ออกจากกันโดยการศึกษาในส่วน of ช่อผล (ความกว้าง ความยาว น้ำหนัก และจำนวนผลต่อช่อ) ผล (ความกว้าง ความยาว

น้ำหนัก และจำนวนเมล็ดต่อผล) ปริมาณน้ำตาล ปริมาณกรด และความเป็นกรดต่าง (pH) ของน้ำองุ่น รวมถึงอายุการเก็บเกี่ยวผล จากผลการศึกษาค้นคว้าพบว่า องุ่นพันธุ์ Primitivo ในแต่ละโคลนมีน้ำหนักช่อผล จำนวนผลต่อช่อ และปริมาณน้ำตาลที่สะสมในผล แตกต่างกันไป

ผลการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอขององุ่นจำนวน 7 กลุ่ม ด้วยเทคนิค AFLP โดยใช้ไพรเมอร์ในการตรวจสอบทั้งสิ้นจำนวน 64 คู่ไพรเมอร์ พบว่า มีแถบดีเอ็นเอที่สามารถวิเคราะห์ได้จำนวนทั้งสิ้น 1,367 แถบ ในจำนวนนี้มีเพียง 11 แถบ (ได้จาก 5 คู่ไพรเมอร์) เท่านั้นที่สามารถใช้แยกความแตกต่างขององุ่นภายในกลุ่มเดียวกันได้ โดยเป็นแถบที่ใช้แยกความแตกต่างขององุ่นพันธุ์ Black Rose กับพันธุ์ Rachinee Dum จำนวน 1 แถบ แถบที่ใช้แยกความแตกต่างในกลุ่มขององุ่นพันธุ์ Baby Grape, Loose Perlette และ Perlette จำนวน 4 แถบ ส่วนที่เหลืออีก 6 แถบ ใช้แยกความแตกต่างขององุ่นพันธุ์ Syrah F. กับพันธุ์ Syrah A. สำหรับความแตกต่างของลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่พบในองุ่นทั้ง 3 กลุ่มนี้ ได้แสดงออกมาในลักษณะของการปรากฏหรือไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอในตำแหน่งนั้น ๆ ซึ่งเกิดจากการกลายของเบสที่บริเวณตำแหน่งจดจำของเอ็นไซม์ตัดจำเพาะ ทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นหรือขาดหายไปของเบสในตำแหน่งนั้น ๆ หรืออาจมีชิ้นของดีเอ็นเอสั้น ๆ ขาดหายไปหรือการสอดแทรกเข้ามาในระหว่างตำแหน่งตัดจำเพาะของเอ็นไซม์ จึงทำให้ขนาดของชิ้นส่วนดีเอ็นเอดังกล่าวเปลี่ยนแปลงไป (สุรินทร์, 2545; Saliba *et al.*, 2000)

สำหรับการตรวจสอบพันธุ์พืชที่มีความคล้ายคลึงกันมาก ๆ หรือเป็นพืชที่มีพันธุกรรมใกล้เคียงกันมาก ๆ โดยใช้เทคนิค AFLP นั้น จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องเลือกใช้ไพรเมอร์ที่เหมาะสมในการตรวจสอบ หรือไม่ก็ควรใช้ไพรเมอร์ที่มีลำดับเบสแตกต่างกันหลาย ๆ ชุด ทั้งนี้เพื่อจะได้แถบดีเอ็นเอที่จำเพาะต่อพันธุ์และสามารถตรวจสอบได้ละเอียดยิ่งขึ้น ซึ่งในการทดลองครั้งนี้ได้ใช้ไพรเมอร์ในการตรวจสอบมากถึง 64 คู่ และพบความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอในองุ่น 3 กลุ่มดังที่ได้กล่าวมาแล้ว ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Scott *et al.* (2000a) ซึ่งได้ทำการวิเคราะห์ความแตกต่างของจีโนมองุ่นพันธุ์ Flame Seedless ที่เกิดการกลายพันธุ์แบบ somatic mutant (พันธุ์กลายนี้มีลักษณะที่แตกต่างจากพันธุ์เดิมคือ ตาแตกได้เร็วกว่า) โดยใช้เทคนิค AFLP ซึ่งเขาใช้ไพรเมอร์ในการตรวจสอบจำนวน 64 คู่ ผลปรากฏว่าสามารถวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้มากกว่า 3,000 แถบ ในจำนวนนี้มีเพียง 2 แถบเท่านั้นที่ตรวจพบความแตกต่างระหว่างพันธุ์ดั้งเดิมกับพันธุ์กลาย โดยพบในคู่ไพรเมอร์ E-AT/M-CTT และ E-ATC/M-CAC

จากการศึกษาลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยาและการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอขององุ่นทั้ง 7 กลุ่ม ที่ได้นำเสนอมาข้างต้นนั้น สามารถอธิบายผลจากศึกษาได้ดังนี้

กลุ่มที่ 1 พันธุ์ Ribier และ Pok Dum

องุ่นสองพันธุ์นี้เป็นพันธุ์ที่ออกผลง่าย สม่ำเสมอ และค่อนข้างดก แต่อ่อนแอต่อโรคแอนแทรกโนส ราแป้ง และราหน้าค้าง สำหรับข้อแตกต่างขององุ่น 2 พันธุ์นี้ คือ พันธุ์ Pok Dum มีการเปลี่ยนสีของผล และการสุกแก่ของผลเร็วกว่าพันธุ์ Ribier เล็กน้อย แต่เมื่อนำไปตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอกลับไม่พบความแตกต่างขององุ่นสองพันธุ์นี้ จากการสังเกตสภาพแปลงปลูกองุ่นที่ใช้ในการศึกษาทดลอง พบว่า มีก้อนหินขนาดใหญ่ปะปนอยู่ในชั้นดิน ซึ่งบางจุดมีหินปะปนอยู่มาก แต่บางจุดก็มีหินปะปนอยู่น้อย อีกทั้งความลึกของชั้นหน้าดินในพื้นที่แต่ละจุดก็มีความแตกต่างกันไป (ซึ่งเกิดจากการมีหินดินดานอยู่ใต้ชั้นผิวดิน) ปวิณ (2504) ได้อธิบายเกี่ยวกับเรื่องของดินที่ใช้สำหรับปลูกองุ่นว่า ชนิดของดิน (เช่นดินเหนียว ดินร่วน และดินทราย เป็นต้น) ลักษณะของดิน (เช่น เป็นกรดหรือหิน หรือ ดินที่มีอินทรียวัตถุมาก) การระบายน้ำของดิน (ดินที่ระบายน้ำไม่ดี และดินที่ระบายน้ำได้ดี) และความลึกของหน้าดิน (มีดินดานอยู่ใต้ชั้นหน้าดิน หรือมีชั้นดินเหนียวอยู่ใต้ชั้นหน้าดิน) สิ่งต่าง ๆ เหล่านี้มีผลต่อการเจริญเติบโต การให้ผลผลิต และคุณภาพของผลองุ่น ดังนั้นการที่ผลขององุ่นพันธุ์ Ribier พัฒนาช้ากว่าพันธุ์ Pok Dum อาจเกิดจากสภาพของดินในแปลงปลูกที่ไม่สม่ำเสมอก็เป็นได้ ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าองุ่น 2 พันธุ์นี้ คือ พันธุ์เดียวกัน

กลุ่มที่ 2 พันธุ์ Cardinal และ Phichit

องุ่นสองพันธุ์นี้เป็นพันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตดี ออกผลง่าย และดกมาก (2-3 ช่อผลต่อกิ่ง) มีความทนทานต่อโรคแอนแทรกโนส และราแป้งพอสมควร แต่อ่อนแอต่อโรคราหน้าค้าง องุ่นในกลุ่มนี้มีข้อเสียในเรื่องของผลแตกง่าย โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าได้รับน้ำมาก สำหรับข้อแตกต่างของ 2 พันธุ์นี้ คือ องุ่นพันธุ์ Cardinal มีก้านใบสั้นกว่า แต่มีความหนาของเปลือกผลมากกว่า และมีจำนวนเมล็ดต่อผลสูงกว่าพันธุ์ Phichit จากการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอไม่พบความแตกต่างขององุ่น 2 พันธุ์นี้ เป็นที่ทราบกันคืออยู่แล้วว่าองุ่นพันธุ์ Cardinal เป็นพันธุ์ดั้งเดิมซึ่งปลูกในประเทศไทยมานานแล้ว ส่วนพันธุ์ Phichit (ชื่อเต็มคือ Cardinal Phichit) นั้นที่จริงแล้วก็คือองุ่นพันธุ์ Cardinal เช่นกัน แต่เนื่องจากมีลักษณะบางประการแตกต่างไปจากพันธุ์ Cardinal จึงมีการตั้งชื่อขึ้นใหม่ การที่องุ่นพันธุ์ Cardinal ถูกปลูกในประเทศไทยมาเป็นระยะเวลายาวนาน และอดีตเป็นพันธุ์ที่นิยมปลูกกันโดยทั่วไป จึงมีการนำองุ่นพันธุ์นี้ไปปลูกในพื้นที่ต่าง ๆ ของประเทศไทย องุ่นนั้นจะใช้ส่วนของกิ่งหรือตา (vegetative part) ในการขยายพันธุ์ ดังนั้นเมื่อมีการขยายพันธุ์หลาย ๆ ทอด และมีการนำไปปลูกในหลายพื้นที่ จึงอาจทำให้องุ่นพันธุ์ Cardinal เกิดการปรับตัวไปตามสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน ส่งผลให้องุ่นพันธุ์นี้มีลักษณะที่แตกต่างไปจากเดิม จากที่กล่าวมาพบจะสรุปได้ว่าองุ่น

พันธุ์ Cardinal และพันธุ์ Phichi ที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาบางประการที่แตกต่างกันนั้น อาจเกิดจากการปรับตัวของต้นองุ่นเพื่อให้สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงลักษณะดังกล่าวนี้ไม่ได้เป็นผลอันเนื่องมาจากพันธุกรรม ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Russo *et al.* (2004a,b) ที่รายงานไว้ว่า ลักษณะทางสัณฐานวิทยาขององุ่นนั้นนอกจากจะแปรผันไปตามพันธุ์หรือโคลน ยังแปรผันไปตามสภาพแวดล้อม และต้นตอที่ใช้อีกด้วย

กลุ่มที่ 3 พันธุ์ Black Rose และ Rachinee Dum

องุ่นทั้งสองพันธุ์นี้เป็นพันธุ์ที่เจริญเติบโตดี ช่อผลมีขนาดใหญ่มาก ผลแก่มีสีดำสนิทและมีลักษณะเป็นมันเงา ทำให้ดูน่ารับประทาน แต่ออกผลไม่ค่อยดก และไม่ค่อยต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนส ราน้ำค้าง และราแป้ง องุ่น 2 พันธุ์นี้มีข้อแตกต่างกันอยู่หลายประการด้วยกัน คือ องุ่นพันธุ์ Black Rose มีก้านช่อดอก ก้านช่อผล และความยาวของช่อผล สั้นกว่าพันธุ์ Rachinee Dum นอกจากนี้แล้วยังพบอีกว่าองุ่นทั้ง 2 พันธุ์มีความแตกต่างกันในเรื่องของรูปร่างของผลด้วย จากการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอขององุ่นกลุ่มนี้ พบแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันจำนวน 1 แถบ ซึ่งพบในกลุ่มไพรเมอร์ E-ACT/M-CAC จากผลการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอและการศึกษาลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยาขององุ่น 2 พันธุ์นี้ให้ผลสอดคล้องกัน ดังนั้นองุ่นพันธุ์ Black Rose กับพันธุ์ Rachinee Dum จึงน่าจะเป็นคนละพันธุ์กัน แต่อย่างไรก็ดีองุ่น 2 พันธุ์นี้ก็มีพันธุกรรมที่ใกล้ชิดกันมาก

มีการศึกษาที่ยืนยันได้ว่าเทคนิค AFLP สามารถใช้แยกความแตกต่างของพืชที่มีความใกล้ชิดกันมาก ๆ ได้ อย่างเช่นการศึกษาของ Regner *et al.* (1998) ได้ทำการจำแนกความแตกต่างระหว่างโคลนขององุ่นพันธุ์ Grüner Veltliner, Chardonnay และ Pinot Blanc ด้วยเทคนิค AFLP และจากผลการศึกษาพบว่าเทคนิคนี้สามารถใช้แยกความแตกต่างทั้งในระดับสายพันธุ์ และความแตกต่างระดับโคลนได้ นอกจากนี้แล้ว Devanand and Chao (2003) รายงานไว้ว่า การตรวจสอบโคลนของต้นมะพลับ (*Phoenix dactylifera* L.) โดยใช้เทคนิค AFLP ด้วยไพรเมอร์จำนวน 4 คู่ สามารถจำแนกความแตกต่างของต้นมะพลับที่มีความต่างกันในระดับโคลนได้เช่นกัน

กลุ่มที่ 4 พันธุ์ Black Opal และ Marroo Seedless

องุ่นสองพันธุ์นี้มีการเจริญเติบโตดีมาก ให้ผลผลิตสูง และให้ผลผลิตสม่ำเสมอ อีกทั้งยังมีความต้านทานต่อโรคต่าง ๆ ได้ดี (โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคราน้ำค้าง) องุ่นในกลุ่มนี้เป็นชนิดเมล็ดลีบ ผลมีขนาดค่อนข้างใหญ่ จากการศึกษาพบว่าองุ่นพันธุ์ Black Opal มีลักษณะที่แตกต่างจากพันธุ์

Marroo Seedless อยู่หลายประการด้วยกัน กล่าวคือ องุ่นพันธุ์ Black Opal มีขนาดของช่อผลและขนาดของผลใหญ่กว่า มีเปลือกผลหนากว่า แต่เมล็ดในผลนั้นมีจำนวนน้อยและขนาดเล็กกว่าพันธุ์ Marroo Seedless นอกจากนี้ยังพบความแตกต่างในเรื่องรูปทรงของผลด้วย กล่าวคือ พันธุ์ Black Opal ผลเป็นรูปทรงกลมรี แต่ในขณะที่ผลขององุ่นพันธุ์ Marroo Seedless เป็นรูปทรงกลม ลักษณะที่แตกต่างกันอีกประการหนึ่ง คือ องุ่นพันธุ์ Black Opal มีปริมาณน้ำตาลสูงกว่า อีกทั้งยังมีสัดส่วนของกรดในปริมาณที่สูง ทำให้มีรสชาติจัดและอร่อยกว่าผลองุ่นพันธุ์ Marroo Seedless เมื่อนำองุ่น 2 พันธุ์นี้ไปตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอปรากฏว่าไม่พบความแตกต่าง

จากการสังเกตการเจริญเติบโตทางด้านลำต้นและกิ่งใบขององุ่นพันธุ์ Black Opal และ Marroo Seedless ในแปลงปลูกพบว่า องุ่นพันธุ์ Black Opal มีการเจริญทางด้านกิ่งใบดีกว่าพันธุ์ Marroo Seedless กล่าวคือ องุ่นพันธุ์ Black Opal จะมีการเจริญของยอดและสร้างใบใหม่อย่างต่อเนื่องตั้งแต่ภายหลังการตัดแต่งไปจนกระทั่งถึงเก็บเกี่ยวผลผลิต แต่ในขณะที่องุ่นพันธุ์ Marroo Seedless ยอดจะชะงักและหยุดการเจริญเติบโตภายหลังจากที่ติดผลอ่อน ดังนั้นความยาวของกิ่งและจำนวนใบขององุ่นพันธุ์ Black Opal จึงมีมากกว่าพันธุ์ Marroo Seedless เกือบ 2 เท่า นอกจากนี้แล้วในระหว่างที่ทำการศึกษายังพบอาการชืดเหลืองของใบองุ่นพันธุ์ Marroo Seedless (มีอาการชืดเหลืองเกือบทุกใบ) ในช่วงปลายเดือนมีนาคม 2548 (อยู่ในระยะพักต้นหลังจากเก็บเกี่ยวผลผลิตไปแล้ว) แต่ในขณะที่องุ่นพันธุ์ Black Opal กลับมีใบที่เขียวเป็นปกติ จากที่ได้กล่าวมาแสดงให้เห็นว่าจะมีปัจจัยอะไรบางอย่างที่ทำองุ่น 2 พันธุ์นี้มีการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน แต่เนื่องจากการทดลองนี้มีการควบคุมการให้น้ำ ให้อุณหภูมิ การใช้ฮอร์โมนและสารเคมีต่าง ๆ กับองุ่นทุกพันธุ์ที่ใช้ในการทดลองเหมือนกันทุกประการ มีแค่เพียงอย่างเดียวเท่านั้นที่อาจแตกต่างกัน คือ สภาพของพื้นดินที่ใช้ปลูก เนื่องจากดินในแปลงปลูกทดลองนั้นมีความแปรปรวนในเรื่องความลึกของชั้นหน้าดินและปริมาณหินที่ปะปนอยู่ในดิน ซึ่งอาจส่งผลต่อปริมาณและคุณภาพของผลผลิตองุ่นได้

การที่องุ่นพันธุ์ Black Opal มีขนาดของช่อผลและผลที่ใหญ่กว่า รวมถึงการมีเปลือกผลที่หนากว่านั้นอาจเป็นผลมาจาก องุ่นพันธุ์นี้มีจำนวนใบในการสังเคราะห์แสงมากกว่า ดังนั้นจึงสามารถสร้างอาหารได้มากกว่า และเมื่อเป็นเช่นนี้อาหารที่จะส่งไปเลี้ยงยังส่วนต่าง ๆ ก็ย่อมมีมากกว่า ส่งผลให้การเจริญช่อดอก ช่อผล ผล รวมถึงการสะสมน้ำตาล และการสร้างกรดในผลดีกว่าองุ่นพันธุ์ Marroo Seedless ซึ่งมีจำนวนใบน้อยกว่า สำหรับรูปร่างของผลที่แตกต่างกันนั้นอาจเนื่องมาจากองุ่นพันธุ์ Black Opal มีการเจริญเติบโตของผลมากทำให้ผลเบียดกันแน่นและทำให้รูปร่างของผลเปลี่ยนไป (จากเดิมซึ่งเป็นทรงกลม เปลี่ยน เป็นทรงกลมรี) จากที่ได้กล่าวมาทั้งหมด

แสดงให้เห็นว่าความแตกต่างทางด้านสัณฐานวิทยาขององุ่น 2 พันธุ์นี้ น่าจะเกิดขึ้นจากสภาพของพื้นที่ที่ใช้ปลูก ดังนั้นองุ่นพันธุ์ Black Opal กับพันธุ์ Marroo Seedless จึงน่าจะเป็นพันธุ์เดียวกัน

กลุ่มที่ 5 พันธุ์ Baby Grape, Loose Perlette และ Perlette

องุ่นในกลุ่มนี้มีความสามารถเจริญเติบโตได้ดี ให้ผลผลิตสูง และให้ผลผลิตที่มีคุณภาพดี แต่ไม่ค่อยต้านทานโรคแอนแทรกโนส ราน้ำค้าง และราแป้ง องุ่น 3 พันธุ์นี้มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกันอยู่หลายลักษณะ กล่าวคือ องุ่นพันธุ์ Baby Grape มักเกิดช่อดอกบนข้อที่ 4-5 ของกิ่งอ่อน ส่วนพันธุ์ Perlette และ Loose Perlette นั้นส่วนใหญ่มักจะมีช่อดอกบนข้อที่ 5-6 ของกิ่งใหม่ ก้านใบและข้อปล้องขององุ่นพันธุ์ Baby Grape จะสั้นกว่าพันธุ์อื่น ๆ นอกจากนี้แล้วองุ่นพันธุ์นี้ยังมีขนาดของผลใหญ่ที่สุด เปลือกผลหนาที่สุด และมีจำนวนเมล็ดต่อผลมากที่สุดด้วย

องุ่นพันธุ์ Loose Perlette นั้นแตกต่างจากพันธุ์อื่นตรงที่มีช่อดอกและช่อผลที่โปร่งกว่า ซึ่งสอดคล้องกับ Chadha and Randhawa (1974) ซึ่งอธิบายไว้ว่า องุ่นพันธุ์ Loose Perlette เป็นพันธุ์ที่ได้จากการฉายรังสีเมล็ดองุ่นพันธุ์ Perlette จนได้เป็นพันธุ์กลายซึ่งมีลักษณะของช่อผลที่โปร่งมากขึ้น การที่ช่อผลขององุ่นพันธุ์นี้โปร่งมากจึงทำให้ช่อผลมีรูปทรงที่แตกต่างไปจากพันธุ์อื่น กล่าวคือช่อผลที่โปร่ง เมื่อผลมีขนาดใหญ่ขึ้นและมีน้ำหนักมากขึ้น จะทำให้ก้านช่อผลย่อยที่อยู่ด้านบนรับน้ำหนักไว้ไม่ไหวและเกิดการลู่ลงมา ด้วยเหตุนี้จึงทำให้ช่อผลองุ่นพันธุ์ Loose Perlette ไม่มีไหล ส่วนองุ่นพันธุ์ Baby Grape และพันธุ์ Perlette นั้นมีผลที่เบียดกันแน่น ดังนั้นจึงช่วยพยุงไม่ให้ก้านช่อผลย่อยที่อยู่ด้านบนลู่ลงมา จึงทำให้องุ่น 2 พันธุ์นี้เป็นช่อผลแบบมีไหล นอกจากนี้แล้วองุ่นพันธุ์ Loose Perlette ยังมีเปลือกผลที่บางและผลค่อนข้างแตกง่าย (ถ้าฝนตกหนัก) อีกทั้งยังมีเปลือกที่บริเวณกิ่งแก่ซึ่งแตกก่อนพันธุ์อื่น ๆ อีกด้วย

สำหรับองุ่นในกลุ่มที่ 5 นี้จะเห็นได้ว่ามีลักษณะทางสัณฐานวิทยาหลายประการด้วยกันที่สามารถใช้แยกความแตกต่างของแต่ละพันธุ์ได้ ซึ่งสอดคล้องกับ Ortiz *et al.* (2003) ซึ่งรายงานไว้ว่า ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพ และมีความละเอียดเพียงพอที่จะใช้ในการจัดจำแนกพันธุ์องุ่นที่เกิดการกลายพันธุ์ได้

ผลการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอขององุ่นในกลุ่มนี้ โดยใช้เทคนิค AFLP ปรากฏว่า พบแถบดีเอ็นเอที่มีรูปแบบแตกต่างกันนี้จำนวน 4 แถบ ซึ่งมาจากคู่ไพรเมอร์ E-ACC/M-CAC จำนวน 2 แถบ และมาจากคู่ไพรเมอร์ E-AAC/M-CAG อีก 2 แถบ จากผลการวิเคราะห์ค่าความเหมือนทาง

พันธุกรรมขององุ่นในกลุ่มนี้ พบว่า องุ่นพันธุ์ Baby Grape กับพันธุ์ Loose Perlette มีความแตกต่างกันมากที่สุด โดยมีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.997 ส่วนพันธุ์ Perlette นั้น เมื่อเปรียบเทียบกับทั้ง 2 พันธุ์พบว่ามีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.999 และจากภาพ phylogenetic tree (ภาพที่ 19) พบว่าองุ่นพันธุ์ Loose Perlette แตกต่างจากพันธุ์อื่นมากที่สุด ทั้งนี้เป็นเพราะองุ่นพันธุ์นี้เป็นพันธุ์กลายที่เกิดมาจากองุ่นพันธุ์ Perlette ที่ถูกฉายรังสีในส่วนของเมล็ด (Chadha and Randhawa, 1974) ส่วนองุ่นพันธุ์ Baby Grape [ชื่อเต็มคือ Perlette (Baby Grape)] น่าจะเป็นอีกโคลนหนึ่งของพันธุ์ Perlette ซึ่งมีลักษณะบางประการที่แตกต่างไปจากเดิม

ในการศึกษาของ Imazio *et al.* (2002) ได้ใช้เทคนิค AFLP ในการจำแนกโคลนขององุ่นพันธุ์ Traminer จำนวน 24 โคลน โดยใช้ไพรเมอร์จำนวน 3 คู่ ผลการศึกษาปรากฏว่า สามารถวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้ทั้งสิ้น 117 แถบ ในจำนวนนี้มี 40 แถบที่เกิด polymorphism (คิดเป็น 34 เปอร์เซ็นต์ของแถบดีเอ็นเอทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้) ส่วนค่าดัชนีความเหมือนขององุ่นทั้ง 24 โคลน นั้น มีค่าตั้งแต่ 0.94 ถึง 1.00 จากค่าดัชนีความเหมือนขององุ่นพันธุ์ Baby Grape กับ Perlette (0.999) เมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองของ Imazio *et al.* (2002) แล้วพบว่ามีค่าสูงกว่า ดังนั้นจึงอาจเป็นไปได้ว่าองุ่นพันธุ์ Baby Grape เกิดการกลายพันธุ์โดยธรรมชาติ (somatic mutant) ทำให้ได้พันธุ์ใหม่ที่มีลักษณะแตกต่างไปจากเดิม ทั้งนี้เนื่องจากองุ่นเป็นพืชที่เกิดการกลายพันธุ์ที่บริเวณปลายยอดและตาได้ง่าย อีกทั้งในบางกรณียังพบองุ่นที่เกิดเป็น periclinal chimera ในสภาพธรรมชาติอีกด้วย (Riaz *et al.*, 2002; Franks *et al.*, 2002)

กลุ่มที่ 6 พันธุ์ Syrah F. และ Shiraz A.

องุ่นทำไวน์ทั้งสองพันธุ์นี้ค่อนข้างแข็งแรง และให้ผลผลิตสูง อีกทั้งยังต้านทานต่อโรคต่าง ๆ ได้ค่อนข้างดี ในเรื่องคุณภาพของผลผลิตนั้นองุ่น 2 พันธุ์นี้ค่อนข้างใกล้เคียงกัน แต่แตกต่างกันที่ปริมาณผลผลิต กล่าวคือ พันธุ์ Shiraz A. จะให้ผลผลิตต่อต้นสูงกว่าพันธุ์ Syrah F. อีกลักษณะหนึ่งที่สามารถใช้บ่งชี้ความแตกต่างขององุ่น 2 พันธุ์นี้ได้คือรูปร่างของช่อผล สำหรับผลการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอปรากฏว่า มีไพรเมอร์จำนวน 4 คู่ ที่ตรวจพบความแตกต่างขององุ่น 2 พันธุ์นี้ โดยมีแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันจำนวน 6 แถบ เนื่องจากองุ่นทั้ง 2 พันธุ์นี้เป็นพันธุ์เดียวกันเพียงแต่มาจากคนละแหล่งปลูกกัน กล่าวคือ องุ่นพันธุ์ Syrah F. นำเข้ามาจากเมือง Provence ประเทศฝรั่งเศส ส่วนพันธุ์ Shiraz A. นั้นนำเข้ามาจากเมือง Perth ประเทศออสเตรเลีย ดังนั้นองุ่น 2 พันธุ์นี้จึงน่าจะมีความแตกต่างกันในระดับโคลน ซึ่งสอดคล้องกับ Fiola (2005) ซึ่งรายงานว่าองุ่นพันธุ์

Shiraz ในปัจจุบันมีอยู่ทั้งหมด 7 โคลน โดยแต่ละโคลนจะมีลักษณะแตกต่างกัน เมื่อนำไปทำไวน์ก็ให้กลิ่นและรสชาติที่ไม่เหมือนกัน

จากรูปแบบของแถบดีเอ็นเอในองุ่นพันธุ์ Syrah F. และ Shiraz A. ที่มีความแตกต่างกันอาจเกิดขึ้นจาก point mutation ก็เป็นไปได้ สุรินทร์ (2545) ได้อธิบายไว้ว่าการเพิ่มขึ้นมาหรือขาดหายไปของเบสในตำแหน่งต่าง ๆ รวมถึงการสอดแทรกเข้ามาของเบสบางตัวในระหว่างตำแหน่งตัดจำเพาะของเอ็นไซม์ มีผลทำให้ขนาดของชิ้นส่วนดีเอ็นเอดังกล่าวเปลี่ยนแปลงไป ดังนั้นจึงทำให้รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏแตกต่างกัน สำหรับในการศึกษาครั้งนี้พบว่าเทคนิค AFLP สามารถใช้จำแนกความแตกต่างระหว่างโคลนขององุ่นได้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Forneck *et al.* (2003) ที่รายงานว่าเทคนิค AFLP มีความละเอียดเพียงพอสำหรับการตรวจสอบความผันแปรทางพันธุกรรมในระหว่างโคลนขององุ่นพันธุ์ Pinot noir ได้ เช่นเดียวกับ Wolf *et al.* (2003) ซึ่งรายงานว่าเทคนิค AFLP มีประสิทธิภาพสูงพอที่จะใช้จำแนกความแตกต่างของพันธุ์ต้นองุ่นที่มีความใกล้เคียงกันมาก ๆ ทั้งยังสามารถใช้ในการตรวจสอบความแตกต่างในระดับโคลนขององุ่นพันธุ์ต้นต่อเหล่านั้นได้อีกด้วย

กลุ่มที่ 7 พันธุ์ CB 17 และ CB 16

องุ่นสองพันธุ์นี้เจริญเติบโตได้ดีปานกลาง ให้ผลผลิตต่อต้นค่อนข้างสูง และสามารถต้านทานต่อโรคต่าง ๆ ได้ดี องุ่นในกลุ่มนี้มีปริมาณน้ำตาลสะสมในผลค่อนข้างสูง (ผลแก่จัดเต็มที่ มีน้ำตาลเฉลี่ยอยู่ที่ 22-23%) แต่มีสัดส่วนของกรดที่ค่อนข้างน้อย (TA ประมาณ 0.7-0.8%) องุ่น 2 พันธุ์นี้มีความแตกต่างกันในเรื่องของตำแหน่งการเกิดของช่อดอก กล่าวคือ องุ่นพันธุ์ CB 17 เกิดช่อดอกจากกิ่งใหม่บนข้อที่ 5-6 แต่ในขณะที่พันธุ์ CB 16 จะเกิดช่อดอกบนข้อที่ 4-5 ด้วยเหตุนี้จึงทำให้การพัฒนาของช่อดอก ช่อผล และการสุกแก่ของผล ในองุ่นพันธุ์ CB 17 ช้ากว่าพันธุ์ CB 16 นอกจากนี้แล้วยังพบอีกว่า ใบขององุ่นพันธุ์ CB 17 มี lateral sinus ตื้นกว่าพันธุ์ CB 16 ในส่วนของช่อผลก็พบความแตกต่างเช่นกัน กล่าวคือ ช่อผลขององุ่นพันธุ์ CB 17 มีทั้งรูปร่างแบบทรงกรวยและเป็นแบบมีปีก แต่ในขณะที่พันธุ์ CB 16 มีเฉพาะรูปร่างทรงกรวยเพียงอย่างเดียว

จากลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยาขององุ่นในกลุ่มนี้ จะเห็นว่ามีความแตกต่างกันค่อนข้างชัดเจน แต่เมื่อนำไปตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอกลับไม่พบความแตกต่างขององุ่นในกลุ่มนี้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากองุ่น 2 พันธุ์นี้แต่เดิมถือกำเนิดมาจากโคลนเดียวกัน แต่เพราะเป็นพันธุ์ที่นิยมจึงมีการขยายพันธุ์ (ใช้ส่วนของ vegetative) ไปปลูกกันอย่างกว้างขวางในหลายพื้นที่ และเมื่อระยะเวลาผ่าน

ไปยาวนานจึงทำให้องุ่นแต่ละโคลนที่นำไปปลูกเกิดการปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมนั้น ๆ ส่งผลให้ลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยาเปลี่ยนแปลงไป

จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมขององุ่นที่นำมาศึกษา พบว่า สามารถแยกความแตกต่างขององุ่นทั้ง 7 กลุ่มออกจากกันได้อย่างชัดเจน แสดงว่าเทคนิค AFLP นั้นสามารถแยกความแตกต่างในระดับพันธุ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ส่วนการตรวจสอบความแตกต่างของพันธุ์องุ่นที่อยู่ภายในกลุ่มเดียวกันซึ่งมีความคล้ายคลึงกันมาก ๆ นั้น (บางพันธุ์มีความแตกต่างกันในระดับโคลน) ปรากฏว่า ทุกกลุ่มที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน สามารถใช้เทคนิคนี้ในการตรวจสอบความแตกต่างได้

จากการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิค AFLP กับองุ่นทั้ง 7 กลุ่ม พบว่ามี 3 กลุ่มที่สามารถตรวจพบความแตกต่างได้ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเทคนิค AFLP เป็นเทคนิคหนึ่งที่มีประสิทธิภาพเพียงพอที่จะใช้ในการตรวจสอบพันธุ์องุ่นที่มีความคล้ายคลึงกันมาก ๆ ได้ อีกทั้งยังใช้ตรวจสอบพันธุ์องุ่นที่มีความแตกต่างกันในระดับโคลนได้อีกด้วย

สรุป

การตรวจสอบพันธุ์องุ่นจำนวน 7 กลุ่ม (15 พันธุ์) โดยการศึกษาจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาในส่วนต่าง 10 ส่วน ได้แก่ ยอดอ่อน ใบอ่อน ใบแก่ กิ่งอ่อน กิ่งแก่ มือเกาะ ช่อดอก ช่อผล ผล และเมล็ด รวมถึงลักษณะทาง phenology และความต้านทานต่อโรค รวมทั้งสิ้น 74 ลักษณะ และการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ด้วยเทคนิค AFLP โดยใช้ไพรเมอร์ในการตรวจสอบจำนวน 64 คู่ จากการศึกษาได้ผลดังนี้

กลุ่มที่ 1 พันธุ์ Ribier และ Pok Dum

องุ่นพันธุ์ Ribier กับพันธุ์ Pok Dum มีความแตกต่างกันเพียง 2 ลักษณะ คือ ระยะเวลาการเปลี่ยนสีของผล และระยะเวลาการสุกแก่ของผล โดยองุ่นพันธุ์ Ribier ผลจะเปลี่ยนสีและสุกแก่ช้ากว่าพันธุ์ Pok Dum เล็กน้อย สำหรับการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิค AFLP ปรากฏว่าไม่พบความแตกต่างขององุ่น 2 พันธุ์นี้ แสดงว่าองุ่นกลุ่มนี้ไม่มีความแตกต่างกันทางพันธุกรรม จึงอาจเป็นไปได้ว่าองุ่น 2 พันธุ์นี้เป็นพันธุ์เดียวกัน

กลุ่มที่ 2 พันธุ์ Cardinal และ Phichit

องุ่นพันธุ์ Cardinal กับพันธุ์ Phichit มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกันเพียง 3 ลักษณะ คือ องุ่นพันธุ์ Cardinal มีก้านใบสั้นกว่า แต่มีเปลือกผลหนากว่า และมีจำนวนเมล็ดต่อผลมากกว่าพันธุ์ Phichit เมื่อนำไปตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิค AFLP ปรากฏว่าไม่พบความแตกต่างขององุ่น 2 พันธุ์นี้ แสดงให้เห็นว่าองุ่น 2 พันธุ์นี้ไม่มีความแตกต่างกันทางพันธุกรรม ดังนั้นองุ่น 2 พันธุ์นี้จึงน่าจะเป็นพันธุ์เดียวกัน

กลุ่มที่ 3 พันธุ์ Black Rose และ Rachinee Dum

องุ่นพันธุ์ Black Rose กับพันธุ์ Rachinee Dum มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกันอยู่ 4 ลักษณะ คือ พันธุ์ Black Rose มีก้านช่อดอก ก้านช่อผล และความยาวช่อผลสั้นกว่าพันธุ์ Rachinee Dum อีกลักษณะหนึ่งที่แตกต่างกันรูปร่างของผล กล่าวคือ พันธุ์ Black Rose ผลมีรูปทรงไข่ ซึ่งมีด้านก้นผลแหลม แต่ในขณะที่พันธุ์ Rachinee Dum ผลเป็นรูปทรงไข่ ซึ่งมีด้านก้นผลป้าน สำหรับ

ผลการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ปรากฏว่า มีแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันจำนวน 1 แถบ ซึ่งพบในคู่ไพรเมอร์ E-ACT/M-CAC โดยแถบดีเอ็นเอดังกล่าวมีขนาดประมาณ 130 คู่เบส สำหรับองุ่นในกลุ่มนี้มีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.999 จากหลักฐานทางด้านสัณฐานวิทยาและการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอซึ่งพบความแตกต่างขององุ่นสองพันธุ์นี้ จึงสรุปได้ว่าองุ่น 2 พันธุ์นี้มีความแตกต่างกันอย่างแน่นอน แต่จะเป็นความแตกต่างในระดับพันธุ์หรือโคลนนั้นยังไม่อาจสรุปได้

กลุ่มที่ 4 พันธุ์ Black Opal และ Marroo Seedless

องุ่นในกลุ่มนี้มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกัน 5 ลักษณะ คือ องุ่นพันธุ์ Black Opal มีผลขนาดใหญ่กว่า เปลือกผลหนากว่า แต่มีจำนวนเมล็ดน้อยกว่าและเมล็ดมีขนาดเล็กกว่า องุ่นพันธุ์ Marroo Seedless นอกจากนี้แล้วยังพบว่า องุ่นพันธุ์ Black Opal รูปร่างของผลเป็นแบบทรงกลมรี แต่ผลพันธุ์ Marroo Seedless เป็นทรงกลม อีกประการหนึ่งคือ องุ่นพันธุ์ Black Opal มีปริมาณน้ำตาล และปริมาณกรดสะสมสูงกว่าพันธุ์ Marroo Seedless สำหรับผลการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ปรากฏว่า ไม่พบความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอในองุ่น 2 พันธุ์นี้ แสดงว่าองุ่น 2 พันธุ์นี้ไม่มีความแตกต่างกันทางพันธุกรรม หรืออีกนัยหนึ่งก็คือองุ่น 2 พันธุ์นี้น่าจะเป็นพันธุ์เดียวกัน

กลุ่มที่ 5 พันธุ์ Baby Grape, Loose Perlette และ Perlette

องุ่นพันธุ์ Baby Grape, Loose Perlette และ Perlette นั้นมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกันถึง 8 ประการ คือ องุ่นพันธุ์ Baby Grape ส่วนใหญ่แล้วจะเกิดช่อดอกบนข้อที่ 4-5 ของกิ่งใหม่ แต่พันธุ์ Loose Perlette และ Perlette นั้นมักเกิดช่อดอกบนข้อที่ 5-6 ส่วนความยาวของข้อปล้องและก้านใบขององุ่นพันธุ์ Baby Grape จะสั้นกว่าอีก 2 พันธุ์ สำหรับองุ่นพันธุ์ Loose Perlette นั้นมีช่อดอกและช่อผลที่ยาวและโปร่งกว่าพันธุ์อื่น ๆ สำหรับรูปทรงของช่อผลในองุ่นพันธุ์ Baby Grape และ Perlette เป็นทรงกรวยแบบมีไหล แต่ในขณะที่พันธุ์ Loose Perlette เป็นทรงกรวยแบบไม่มีไหล ในส่วนความหนาของเปลือกผลนั้น พบว่า องุ่นพันธุ์ Baby Grape ค่อนข้างหนากว่าพันธุ์อื่น ๆ นอกจากนี้แล้วองุ่นพันธุ์ Baby Grape ยังมีจำนวนเมล็ดต่อผลมากกว่าพันธุ์อื่น ๆ อีกด้วย ข้อแตกต่างอีกประการหนึ่งคือ การแตกของเปลือกที่กิ่งแก่ โดยพบว่า องุ่นพันธุ์ Loose Perlette จะมีการแตกของเปลือกที่กิ่งเร็วกว่าอีก 2 พันธุ์ จากการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอขององุ่นในกลุ่มนี้ ปรากฏว่า พบแถบดีเอ็นเอที่มีรูปแบบแตกต่างกันจำนวน 4 แถบ จาก 2 คู่ไพรเมอร์ ซึ่งได้แก่ คู่ไพรเมอร์ 1) E-ACC/M-CAC พบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน 2 แถบ ซึ่งมีขนาดประมาณ 185 และ 190 คู่เบส 2) E-AAC/M-CAG พบแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน 2 แถบเช่นกัน โดยมีขนาดประมาณ 195 และ 215

คู่เบส จากหลักฐานทางด้านสัณฐานวิทยาและการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอซึ่งสอดคล้องกัน จึงสรุปได้ว่าองุ่น 3 พันธุ์นี้เป็นคนละพันธุ์กัน โดยที่องุ่นพันธุ์ Baby Grape และ Perlette น่าจะมีความแตกต่างกันในระดับโคลน

กลุ่มที่ 6 พันธุ์ Syrah F. และ Shiraz A.

องุ่น 2 พันธุ์นี้มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกัน 2 ลักษณะ คือ องุ่นพันธุ์ Syrah F. รูปทรงช่อผลเป็นทรงกระบอก ส่วนพันธุ์ Shiraz A. มีช่อผลที่เป็นทั้งรูปทรงกระบอก และทรงกรวย ช่อแตกต่างอีกประการหนึ่งคือองุ่นพันธุ์ Syrah F. มีขนาดช่อผลซึ่งเล็กกว่าองุ่นพันธุ์ Shiraz A. มีความแตกต่างกันในเรื่องรูปทรงและขนาดของช่อผล จากผลการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ปรากฏว่า พบแถบดีเอ็นเอที่มีรูปแบบแตกต่างกันจำนวน 6 แถบ จาก 4 คู่ไพรเมอร์ ซึ่งได้แก่ คู่ไพรเมอร์ 1) E-ACC/M-CAC พบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน 2 แถบ ซึ่งดีเอ็นเอดังกล่าวมีขนาดประมาณ 150 และ 155 คู่เบส 2) E-AAC/M-CAG ไพรเมอร์คู่นี้พบแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน 2 แถบ ซึ่งมีขนาดประมาณ 125 และ 220 คู่เบส 3) E-ACT/M-CTC พบแถบดีเอ็นเอที่ต่างกัน 1 แถบ โดยแถบบดับกล่าวมีขนาดประมาณ 180 คู่เบส 4) E-AAC/M-CTT พบแถบดีเอ็นเอที่ต่างกัน 1 แถบเช่นกัน โดยแถบบดับกล่าวมีขนาดประมาณ 200 คู่เบส องุ่นในกลุ่มนี้มีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.996 จากลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยาและลายพิมพ์ดีเอ็นเอแสดงให้เห็นว่าองุ่น 2 พันธุ์นี้มีความต่างกันจริง แต่เนื่องจากองุ่นสองพันธุ์นี้มีต้นกำเนิดมาจากพันธุ์เดียวกัน จึงสรุปว่ามีความแตกต่างกันในระดับโคลน

กลุ่มที่ 7 พันธุ์ CB 17 และ CB 16

พันธุ์ CB 17 กับพันธุ์ CB 16 มีลักษณะที่แตกต่างกันอยู่ 4 ลักษณะ คือ องุ่นพันธุ์ CB 17 มี lateral sinus ในส่วนของใบตื้นกว่าพันธุ์ CB 16 ช่อดอกขององุ่นพันธุ์ CB 17 ส่วนใหญ่เกิดบนข้อที่ 5-6 ของกิ่งอ่อน แต่ในขณะที่พันธุ์ CB 17 ส่วนใหญ่เกิดช่อดอกบนข้อที่ 4-5 นอกจากนี้แล้วยังพบว่าการพัฒนาของดอกและผลในองุ่นพันธุ์ CB 17 จะช้ากว่าพันธุ์ CB 16 อีกประการหนึ่งคือ องุ่นพันธุ์ CB 17 ช่อผลมีรูปร่างแบบทรงกรวย และบางช่อเป็นแบบมีปีก แต่ในขณะที่องุ่นพันธุ์ CB 16 มีเฉพาะช่อผลที่เป็นทรงกรวยเท่านั้น แต่จากผลการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอปรากฏว่า ไม่พบความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอในองุ่น 2 พันธุ์นี้ แสดงว่าองุ่นทั้ง 2 พันธุ์ไม่มีความแตกต่างกันทางพันธุกรรม แต่เนื่องจากองุ่น 2 พันธุ์นี้มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน จึงเป็นไปได้ว่าองุ่นทั้ง 2 พันธุ์นี้อาจจะเป็นพันธุ์เดียวกันแต่มาจากต่างโคลนกัน แต่เนื่องจากถูกนำไปปลูกต่างพื้นที่กันเป็นเวลานานจึงทำให้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเกิดการเปลี่ยนแปลงไปตามสภาพแวดล้อม

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2548. สถิติแสดงแหล่งเพาะปลูกปี 2543-2547. ฝ่ายข้อมูลสำหรับ
การเกษตร กองแผนงาน กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- กลุ่มเกษตรกรสัญจร. 2542. การปลูกองุ่น. พิมพ์ครั้งที่ 3. สำนักพิมพ์ฐานเกษตรกรรม, นนทบุรี.
- จิรพันธ์ ศรีทองกุล. 2546. ลักษณะผลผลิต และลายพิมพ์ดีเอ็นเอในกล้วยไฟพันธุ์กล้วย.
วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ปวิณ ปุณศรี. 2504. องุ่น. พิมพ์ครั้งที่ 2. สโมสรพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- พัฒนา ศรีฟ้า. 2538. พันธุ์วิศวกรรม, น. 268-374. ใน พฤษศาสตร์ขั้นสูงสำหรับครู.
บัณฑิตศึกษา สาขาวิชาศึกษาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช, กรุงเทพฯ.
- ยุคลธร สถาปนศิริ. 2542. การวิเคราะห์จีโนมของพืชบางชนิดในสกุล *Gracinia* โดยเทคนิค
เอเอฟแอลพี. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สมาคมพฤษชาติแห่งประเทศไทย. 2518. การทำไร่องุ่น. พิมพ์ครั้งที่ 2. แพร์พิทยา, กรุงเทพฯ.
- สุรศักดิ์ นิลนนท์ 2530. ไม้ผลบนที่สูงซึ่งมีศักยภาพที่จะปลูกเป็นการค้าในอนาคต. สมาคมพืช
สวนแห่งประเทศไทย, เชียงใหม่.
- _____. 2540. รายงานการไปสัมมนาต่างประเทศเรื่อง IV International Seminar on Tropical
Viticulture and Enology. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,
กรุงเทพฯ.
- _____. 2548. เอกสารประกอบการฝึกอบรมเรื่อง เทคโนโลยีการผลิตองุ่นเพื่อรับประทานสด.
ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 59 น.

_____, และ จรัส เห็นพิทักษ์. 2548. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์กับการวิจัยและพัฒนาองุ่นในประเทศไทย. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2540. การจำแนกพันธุ์พืชโดยใช้เครื่องหมายทางโมเลกุล, น. 57-82. ใน ชีรัชย์ ชนานันต์ (ผู้รวบรวม). การจำแนกพันธุ์พืชโดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต, กรุงเทพฯ.

_____. 2545. จีโนมและเครื่องหมายดีเอ็นเอ: ปฏิบัติการอาร์เอพีดีและเอเอฟแอลพี. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2548 ก. ปริมาณและมูลค่าการนำเข้าสินค้าเกษตรกรรมและผลิตภัณฑ์ เดือน ธันวาคม 2548. ส่วนวิจัยเศรษฐกิจพืชสวน สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร.

_____. 2548 ข. ปริมาณและมูลค่าการส่งออกสินค้าเกษตรกรรมและผลิตภัณฑ์ เดือน ธันวาคม 2548. ส่วนวิจัยเศรษฐกิจพืชสวน สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร.

Antcliff, A.J. 1979. **Major Wine Grape Varieties of Australia.** Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, Australia.

Arumuganathan, K. and E. D. Earle. 1991. Nuclear DNA content of some important plant species. **Plant Molecular Biology.** 9(3): 211-215.

Barysheva, I., T. Verbitskaya and Y. Sivolap. 1995. RAPD-analysis of different genotypes of grape. **Plant Genome III Conference.** San Diego, CA.

Basu, A., M. Ghosh, R. Meyer, W. Powell, S.L. Basak and S.K. Sen. 2004. Analysis of genetic diversity in cultivated jute determined by means of SSR makers and AFLP Profiling. **Crop Science.** 44: 678-685.

- Baydar, N.G., H. Baydar and T. Debener. 2004. Analysis of genetic relationships among *Rosa damascene* plants grown in Turkey by using AFLP and microsatellite markers. **Journal of Biotechnology**. 111: 263-267.
- Bisztray, G.D., J. Korbuly, J. Halasz, R. Oláh, S. Ruthner, T. Deak and A. Pedryc. 2003. Characterization of grape varieties and species by RAPD makers. In E. Hajdu and E. Borbas, eds. **VIII International Conference on Grape Genetics and Breeding**. ISHS Acta Horticulturae, Kecskemet, Hungary.
- Bowers, E. B. Bandman and C. P. Meredith. 1993. DNA fingerprint characterization of some wine grape cultivars. **Amer. J. Enol. Vitic.** 44(3): 266-274. **CABI**. Accession no. 941602626.
- _____, J. E. and C. P. Meredith. 1996. Genetic similarities among wine grape cultivars revealed by restriction fragment-length polymorphism (RFLP) analysis. **J. Am. Soc. Hort. Sci.** 121(4): 620-624. **CABI**. Accession no. 961608778.
- California Table Grape Commission. 2004. The blue-black. **Table Grape**. Available Source: <http://www.tablegrape.com/consumers/variety.asp?load=variety17.asp§ion=consumers>, March 26, 2005.
- Cervera, M.T., J.A. Cabezas, J.C. Sancha, T.F. Matinez and J.M. Martinez-Zapater. 1998. Application of AFLPs to the characterization of grapevine *Vitis vinifera* L. genetic resources, a case study with accessions from Rioja (Spain). **Theor. Appl. Genet.** 97: 51-59.
- Chadha, K.L. and G.S. Randhawa. 1974. **Grape Varieties in India Description and Classification**. India Council of Agricultural Research, New Delhi, India.

_____, and S.D. Shikhamany. 1999. **The Grape Improvement, Production and Post-harvest Management**. Malhotra Publishing House, New Delhi, India.

Chen, J., P.S. Devanand, D.J. Norman, R.J. Henny and C.C.T. Chao. 2004. Genetic relationships of *Aglaonema* species and cultivars inferred from AFLP markers. **Annals of Botany**. 93: 157-166.

Cuisset, C., J.M. Boursiquot and P. This. 1995. Genetic diversity in grapevine (*Vitis vinifera*) assessed by microsatellite makers. P44. **Plant Genome IV Conference**. San Diego, CA.

Dalbó, M.A., G.N. Ye, N.F. Weeden, H. Steinkellner, K.M. Sefc and B.I. Reisch. 2000. A gene controlling sex in grapevines placed on a molecular marker-based genetic map. **Genome**. 43(2): 333-340.

Das, M., S. Bhattacharya and A. Pal. 2005. Generation and characterization of SCARs by cloning and sequencing of RAPD products: A strategy for species-specific marker development in bamboo. **Annals of Botany**. 95(5): 835-841.

Devanand, P.S. and C.T. Chao. 2003. Identification of genetic strains of 'Medjool' and 'Deglet Noor' date palm cultivars in California using amplified fragment length polymorphism (AFLP) marker. . In P. Bowen, M. Pritchard and C. Chong, eds. **XXVI International Horticultural Congress**. ISHS Acta Horticulturae, Toronto, Canada.

Dokoozlian, N., B. Peacock and D. Luvisi. 1998. Fantasy Seedless Production Practices. **UCCE Tulare Country Home Page**. Available Source: <http://cetulare.ucdavis.edu/pubgrape/tb396.htm>, March 26, 2005.

- Falistocco, E. and L. Antonielli. 2002. Molecular cytogenetics of *Vitis vinifera* L. and *Ficus carica* L. : location of rDNA sequences. Poster abstract-1.19. **XLVI Italian Society of Agricultural Genetics-SIGA Annual Congress**. Giardini Naxos, Italy.
- Fanizza, G., R. Chaabane, L. Ricciardi and P. Resta. 2003. Analysis of a spontaneous mutant and selected clones of cv. Italia (*Vitis vinifera*) by AFLP markers. **Vitis**. 42: 27-30. **CABI**. Accession no. 20033066934.
- Faria, M.A., M. Beja-Pereira, A. Martins, M.A. Ferreira and M.E.S. Nunes. 2004. Grapevine clones discriminated using stilbene synthase-chalcone synthase markers. **J. Sci. Food. Agr.** 84 (10): 1186-1192. **CABI**. Accession no. 20043129763.
- Ferreira Monteiro, F., E. Nunes, and R. Magalhaes. 2000. Fingerprinting of the main *Vitis vinifera* varieties grown in the northern region of Portugal. In A. Bouquet and J.M. Boursiquot, eds. **VII International Symposium on Grapevine Genetics and Breeding**. ISHS Acta Horticulturae, Montpellier, France.
- Ferriol, M., B. Pico and F. Nuez. 2003. Genetic diversity of a germplasm collection of *Cucurbita pepo* using SRAP and AFLP markers. **Theor. Appl. Genet.** 107(2): 271-282. **CABI**. Accession no. 20033126426.
- _____, _____, P.F. de Córdova and F. Nuez. 2004. Molecular diversity of a germplasm collection of squash (*Cucurbita moschata*) determined by SRAP and AFLP markers. **Crop Science**. 44: 653-664.
- Fiola, J.A., 2005. Winegrape cultivar, clone, and training system evaluations. **Project progress report: Viticulture Consortium – East**. University of Maryland Western MD Research & Education Center.

- Forneck, A., J. Konradi and R. Blaich. 2003. A genetic variation analysis of *V. vinifera* cv. Pinot noir. In E. Hajdu and E. Borbas, eds. **VIII International Conference on Grape Genetics and Breeding**. ISHS Acta Horticulturae, Kecskemét, Hungary.
- Franks, T., R. Botta and M.R. Thomas. 2002. Chimerism in grapevines: implications for cultivar identity, ancestry and genetic improvement. **Theor. Appl. Genet.** 104: 192-199.
- Grando, M.S., D. Bellin, A. Madini, M. Stefanini, C. Pozzi and R. Velasco. 2000. Construction of an AFLP and SSR genetic map of *Vitis* from an interspecific hybrid population. In **Proc. Plant & Animal Genome VIII**. San Diego, CA.
- _____, _____, K.J. Edwards, C. Pozzi, M. Stefanini and R. Velasco. 2003. Molecular linkage maps of *Vitis vinifera* L. and *Vitis riparia* Mchx. **Theor. Appl. Genet.** 106: 1213-1224.
- Grape FAO. 2002. Genome. **International Grape Genome Program**. Available Source: <http://www.vitaceae.org/faq.htm>, October 9, 2004.
- Hellman, E. W. 2003. Grapevine Structure and Function. In E.W. Hellman, ed. **Oregon Viticulture**. Oregon State University Press. Corvallis, OR. Available Source: <http://www.actahort.org>, March 27, 2005.
- Herrera, R., V. Cares, M.J. Wilkinson and P.D.S. Caligari. 2002. Characterisation of genetic variation between *Vitis vinifera* cultivars from central Chile using RAPD and Inter Simple Sequence Repeat markers. **Euphytica**. 124: 139-145.

- Hinrichsen, P., C. Narváez, J. Valenzuela, C. Muñoz, J.E. Bowers and C.P. Meredith. 2000. Fingerprinting of grape cultivars grown in Chile: comparison of methods based on anonymous sequences and a set of microsatellite loci. *In* A. Bouquet and J.M. Boursiquot, eds. **VII International Symposium on Grapevine Genetics and Breeding**. ISHS Acta Horticulturae, Montpellier, France.
- Hubbard, M., J. Kelly, S. Rajapakse, A. Abbott and R. Ballard. 1992. Restriction fragment length polymorphisms in rose and their use for cultivar identification. **Hort Science**. 27: 172- 173.
- Imazio, S., M. Labra, F. Grassi, M. Winfield, M. Bardini and A. Scienza. 2002. Molecular tools for clone identification: the case of the grapevine cultivar 'Traminer'. **Plant Breeding**. 121(6): 531-535.
- Jameson, N. n.d. Original source. **Propagation Wood Available - Table Varieties**. Available Source: <http://www.sonic.net/~sgi/table.shtml>, April 4, 2006.
- Janthasri, R. 2003. **Phylogenetic relationship of some *Dimomarpus* species and related genera in Thailand**. Ph.D. Thesis, Kasetsart University.
- Keller, J. B. 2000. *Vitis* one genus or two. **The winemaking home page**. Available Source: <http://www.winemaking.jackeller.net/vitis.asp>, January 17, 2005.
- Kerrigan, J. and M. Nagel. 1998. Plant Part-Structure and Function. **Botany**. Available Source: <http://www.hcs.ohio-state.edu/mg/manual/index.htm>, March 26, 2004.
- Kerridge, G. and A. Antcliff. 1996. **Wine Grape Varieties of Australia**. CSIRO publishing, Australia.

- Labra, M., O. Failla, T. Fossati, S. Castiglione, A. Scienza and F. Sala. 1999. Phylogenetic analysis of grapevine cv. Ansonica growing on the island of Giglio, Italy, by AFLP and SSR makers. **Vitis**. 38(2): 161-166. **CABI**. Accession no. 20001609182.
- Lamboy, W.F., C.G. Alpha. 1998. Using simple sequence repeats (SSRs) for DNA fingerprinting germplasm accessions of grape (*Vitis* L.) species. **J. Amer. Soc. Hort. Sci.** 123: 182-188.
- Larson, S.R., A.J. Palazzo and K.B. Jensen. 2003. Identification of western wheatgrass cultivars and accessions by DNA fingerprinting and geographic provenance. **Crop Science**. 43: 394-401.
- Lodhi, M.A., M.J. Daly, G.N. Ye, N.F. Weeden and B.I. Reisch. 1995. A simple and efficient method for DNA extraction from grapevine cultivars, *Vitis* species and *Ampelopsis*. **Plant Molecular Biology Reporter**. 12(1): 6-13.
- Loh, J.P., R. Kiew, A. Kee, L.H. Gan and Y.Y. Gan. 1999. Amplified fragment length polymorphism (AFLP) provides molecular markers for the identification of *Caladium bicolor* cultivars. **Annals of Botany**. 84: 155-161.
- _____, _____, O. Set, L.H. Gan and Y.Y. Gan. 2000. A study of genetic variation and relationships within the bamboo subtribe Bambusinae using amplified fragment length polymorphism. **Annals of Botany**. 85: 607-612.
- Martínez, L., P. Cavagnaro, R. Masuelli and J. Rodríguez. 2003. Evaluation of diversity among Argentine grapevine (*Vitis vinifera* L.) varieties using morphological data and AFLP makers. **Electronic Journal of Biotechnology**. 6(3). Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile.

- Matsumoto, S. and H. Fukui. 1996. Identification of rose cultivars and clonal plants by random amplified polymorphic DNA. **Scientia Horticulturae**. 67: 49-54.
- Merdinoglu, D., G. Butterlin, C. Baur and J. Balthazard. 2000. Comparison of RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) makers for genetic diversity analysis in *Vitis vinifera* L. *In* A. Bouquet and J.M. Boursiquot, eds. **VII International Symposium on Grapevine Genetics and Breeding**. ISHS Acta Horticulturae, Montpellier, France.
- Meyers, R.A. 1995. **Molecular Biology and Biotechnology**. VCH Publishers, Inc., New York.
- Moreno, S., Y. Gogorcena and J.M. Ortiz. 1995. The use of RAPD markers for identification of cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L.). **Scientia Horticulturae**. 62: 237-243.
- Morgante, M. 1994. **Applications of Molecular Markers in Plant Genetics and Breeding**. Proc. of IPBA. Rogla, Slovenia.
- Morton, L.T. and L.D. Adams. 1979. **A Practical Ampelography Grapevine Identification**. 2nd ed. Cornell University Press Ltd., United Kingdom.
- Mullins, M.G., A. Bouquet and L.E. Williams. 1992. **Biology of the grapevine**. Cambridge University Press, United Kingdom.
- Narváez, C.R., J.B. Valenzuela, C.S. Muñoz and P.R. Hinrichsen. 2000. Comparison of RAPD and AFLP as methods for genetic identification on *Vitis* based on the analysis of anonymous genomic sequences. **Agricultura Técnica (Chile)**. 60(4): 320-340.
- Nilnond, S. 2001. Grape production in Thailand, pp. 70-79. *In* M.K. Papademetriou and F.J. Dent, eds. **Grape production in the Asia-Pacific Region**. FAO Regional Office for Asia and the Pacific, Bangkok, Thailand.

- Nkongolo, K.K., P. Michael and W.S. Gratton. 2002. Identification and characterization of RAPD markers inferring genetic relationships among Pine species. **Genome**. 45: 51-58.
- O.I.V. 2001. **Descriptor list for grape vine varieties and *Vitis* species**. Intergovernmental Organisation created by the International Agreement, Paris.
- Ortiz, J.M., J.P. Martín, J. Borrego, J. Chávez, I. Rodríguez, G. Muñoz and F. Cabello. 2003. Management and characterization of a *Vitis* germplasm bank in Spain. *In* E. Hajdu and E. Borbas, eds. **VIII International Conference on Grape Genetics and Breeding**. ISHS Acta Horticulturae, Keckskemet, Hungary.
- Palazzetti, C., P. de Franceschi, F. Donati, L. Dondini, S. Tartarini and S. Sansavini. 2004. Genetic diversity and relationships in apple Italian germplasm as revealed by SSRs. Poster abstract-G.12. **XLVIII Italian Society of Agricultural Genetics-SIFV-SIGA Joint Meeting**. Lecce, Italy.
- Pavloušek, P. 2003. Ampelographical description of new grapevine varieties. *In* E. Hajdu and E. Borbas, eds. **VIII International Conference on Grape Genetics and Breeding**. ISHS Acta Horticulturae, Keckskemet, Hungary.
- Pelsey, F., L. Schehrer and D. Merdinoglu. 2003. Development of grapevine retrotransposon-based molecular markers (S-SAP). **Acta Horticulturae**. 603: 83-87. **CABI**. Accession no. 20033121555.
- Polanco, C. and M.L. Ruiz. 2002. AFLP analysis of somaclonal variation in *Arabidopsis thaliana* regenerated plants. **Plant Science**. 162: 817-824.
- Pollefeys, P. and J. Bousquet. 2003. Molecular genetic diversity of the French-American grapevine hybrids cultivated in North America. **Genome**. 46: 1037-1048.

- Rajapakse, S., M. Hubbard, J.W. Kelly, A.G. Abbott and R.E. Ballard. 1992. Identification of rose cultivars by restriction fragment polymorphism. **Scientia Horticulturae**. 52: 237-245.
- Ramage, C.M., A.M. Borda, S.D. Hamill and M.K. Smith. 2004. A simplified PCR test for early detection of dwarf off-type in micropropagated Cavendish bananas (*Musa* spp. AAA). **Scientia Horticulturae**. 103: 145-151.
- Regner, F., K. Sefc, A. Stadlbauer and H. Steinkellner. 1998. Genetic markers for the identification of varieties and clones as a guarantee of quality. In E. Hajdu, ed. **International Symposium on the Importance of Varieties and Clone in the Production of Quality Wine**. ISHS Acta Horticulturae, Kecskemét, Hungary.
- Regner, F., A. Stadlbauer and C. Eisenheld. 2001. Molecular markers for genotyping grapevine and for identifying clones of traditional varieties. **Acta Horticulturae**. 546: 331-341. **CABI**. Accession no. 20013083287.
- _____, H. Steinkellner, E. Turetschek, A. Stadlhuber and J. Glossl. 1996. Genetic characterization of grape (*Vitis vinifera*) cultivars by microsatellite analysis. **Mitteilungen Klosterneuburg, Rebe und Wein, Obstbau und Fruchteverwertung**. 46(2): 52-60. **CABI**. Accession no. 961611678.
- Riaz, S., K.E. Garrison, G.S. Dangl, J.M. Boursiquot and C.P. Meredith. 2002. Genetic divergence and chimerism within ancient asexually propagated winegrape cultivars. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 127: 508-514.
- Ribaut, J. Marcell, J. Tohme, P. This, E. Gaitan, B. Clot, E. Perotti and P. Kupfer. 1997. AFLP: A Powerful Tool To Identify Polymorphisms In Grapevine Among Both Cultivars And Clones. **Plant & Animal Genome V Conference**. San Diego, CA.

- Rieger, M. 2005. Botanical description. **Grape-*Vitis spp.*** Available Source: <http://www.uga.edu/fruit/index.html>, April 9, 2005.
- Romero, C., A. Pedryc, V. Muñoz, G. Llácer and M.L. Badenes. 2003. Genetic diversity of different apricot geographical groups determined by SSR markers. **Genome**. 46: 244-252.
- Rubio, J.A., and J. Yuste. 2004. Ampelographic differentiation of Temprinillo clones from different area of origin, according to their synonyms. *In* O.A. de Sequeira and J.C. Sequeira, eds. **Ist International Symposium on Grapevine Growing, Commerce and Research**. ISHS Acta Horticulturae, Lisbon, Portugal.
- Russo, G., V. Liuzzi, L. D'Andrea and G. Alviti. 2003. Comparison among five clones of 'Primitivo' vine in Southern Italy. *In* E. Hajdu and E. Borbas, eds. **VIII International Conference on Grape Genetics and Breeding**. ISHS Acta Horticulturae, Kecskemet, Hungary.
- _____, V.A. Liuzzi, M. Faccia and L. D'Andrea. 2004a. Characterization of five clones of 'Uva di Troia' vine. *In* O.A. de Sequeira and J.C. Sequeira, eds. **Ist International Symposium on Grapevine Growing, Commerce and Research**. ISHS Acta Horticulturae, Lisbon, Portugal.
- _____, _____, M. Luccia and L. D'Andrea. 2004b. Comparison among six clones of 'Verdeca' vine in Southern Italy. *In* O.A. de Sequeira and J.C. Sequeira, eds. **Ist International Symposium on Grapevine Growing, Commerce and Research**. ISHS Acta Horticulturae, Lisbon, Portugal.
- Saliba, V.C., M. Causse, L. Gervais and J. Philouze. 2000. Efficiency of RFLP, RAPD and AFLP markers for the construction of an intraspecific map of the tomato genome. **Genome**. 43: 29-40.

- Scarano, M. T., N. Tusa, L. Abbate, S. Lucretti, L. Nardi and S. Ferrante. 2003. Flow cytometry, SSR and modified AFLP makers for the identification of zygotic plantlets in backcrosses between 'Femminello' lemon cybrids (2n and 4n) and a diploid clone of 'Femminello' lemon (*Citrus limon* L. Burm. F.) tolerant to *mal secco* disease. **Plant Science**. 164: 1009-1017.
- Scott, K.D., E.M. Ablett, L.S. Lee and R.J. Henry. 2000a. AFLP markers distinguishing an early mutant of Flame Seedless grape. **Euphytica**. 113(3): 245-249.
- _____, P. Egger, G. Seaton, M. Rossetto, E.M. Ablett, L.S. Lee and R.J. Henry. 2000b. Analysis of SSRs derived from grape ESTs. **Theor. Appl. Genet.** 100: 723-726.
- Sefc, K.M., F. Lefort, M.S. Grando, K.D. Scott, H. Steinkellner and M.R. Thomas. 2001. Microsatellite markers for grapevine: a state of the Art, pp. 433-463. In K.A. Roubelakis-Angelakis, ed. **Molecular Biology & Biotechnology of the Grapevine**. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
- _____, F. Regner, E. Turetschek, J. Glössl and H. Steinkellner. 1999. Identification of microsatellite sequences in *Vitis riparia* and their applicability for genotyping of different *Vitis* species. **Genome**. 42: 367-373.
- _____, _____, J. Glössl and H. Steinkellner. 1998. Genotyping of grapevine and rootstock cultivars using microsatellite markers. **Vitis**. 37: 15-20. **CABI**. Accession no. 981607790.
- Sensi, E., R. Vignani, W. Rohde and S. Biricolti. 1996. Characterization of genetic biodiversity with *Vitis vinifera* L. Sangiovese and Colorino genotypes by AFLP and ISTR DNA marker technology. **Vitis**. 35: 183-188.
- Shanmugavelu, K.G. 1998. **Viticulture in India**. Agro Botanica, Bikaner, India.

- Shanmugavelu, K.G. 2003. **Grape Cultivarion and Processing**. Agrobios (India), Jodhpur, India.
- Shrikhande, A. J. 2000. Wine by-products with health benefits. **Food Research International**. 33: 469-474.
- Striem, M.J. 2000. Grape hybrid varieties and accessions' parentage and their genetic percent of *Vitis* species. Available Source: <http://students.sivan.co.il/michaels/Grapped3.html> wine.htm, June 14, 2005.
- Tomkins, J.P., D.G. Peterson, T.J. Yang, D. Main, E.F. Ablett, R.J. Henry, L.S. Lee, T.A. Holton, D. Waters and R.A. Wing. 2001. Grape (*Vitis vinifera* L.) BAC library construction, and preliminary STC analysis, and identification of clones associated with flavonoid and stilbene biosynthesis. **Amer. J. Enol. Vitic.** 52(4): 287-291.
- Ulanovsky, S., Y. Gogorcena, F. Martínez de Toda and J.M. Ortiz. 2002. Use of molecular markers in detection of synonymies and homonymies in grapevines (*Vitis vinifera* L.). **Scientia Horticulturae**. 92: 241-254.
- Venturi, S., L. Dondini, P. Donini and S. Sansavini. 2004. Genetic characterization and fingerprinting of apple Gala clone by S-SAP markers. Poster abstract-G. 11. **XLVIII Italian Society of Agricultural Genetics-SIFV-SIGA Joint Meeting**. Lecce, Italy.
- Vignani, R., J.E. Bowers and C.P. Meredith. 1996. Microsatellite DNA polymorphism analysis of clone of *Vitis vinifera* 'Sangiovese'. **Scientia Horticulturae**. 65: 163-169.
- Vos, P. and M. Kuiper. 1997. AFLP analysis, pp. 115-131. In G. Caetano-Anolles and P.M. Gresshoff, eds. **DNA Makers: Protocols, Application and Overviews**. Wiley-Liss, Inc., New York.

- Vossen, P. 2006. Table grape varieties. Available Source: http://cesonoma.ucdavis.edu/gardener/pdf/table_grape_varieties.pdf, January 20, 2006.
- Wang, Y., J. Chen, J. Lu and O. Lamikanra. 1999. Randomly amplified polymorphic DNA analysis of *Vitis* species and Florida bunch grapes. **Scientia Horticulturae**. 82: 85-94.
- Winkler, A.J., J.A. Cook, W.M. Kliewer, L.A. Lider. 1974. **General Viticulture**. University of California Press, Berkeley, CA.
- Wolf, T., J. A. Cabezas and J. M. Martinez-Zapater. 2003. Genetic characterization of closely related rootstocks varieties based on AFLP and SAMPL markers. **Acta Horticulturae**. 603: 291-300. **CABI**. Accession no. 20033121529.
- Xu, X., J. Lu. 2004. Cytogenetic study of interspecific hybrids between *Vitis rotundifolia* and *Vitis vinifera*. In A.G. Reynolds and P. Bowen, eds. **XXVI International Horticultural Congress: viticulture-living with limitations**. ISHS Acta Horticulturae, Toronto, Canada.
- Yapwattanaphun, C. 2003. **Phylogenetic analysis of some plants in Genus *Garcinia* using ITS sequence data and AFLP analysis**. Ph.D. Thesis, Kasetsart University.
- Ye, G.N., G. Soylemezoglu, N.F. Weeden, W.F. Lamboy, R.M. Pool and B.I. Reisch. 1998. Analysis of the relationship between grapevine cultivars, sports and clones via DNA fingerprinting. **Vitis**. 37: 33-38. **CABI**. Accession no. 981607791.
- Zulini, I., E. Fabro and E. Peterlunger. 2003. Genetic analysis of the grapevine cultivar 'Picolit' based on microsatellite and AFLP markers. **Acta Horticulturae**. 603: 467-472. **CABI**. Accession no. 20043006272.