



รายงานผลการวิจัย

เรื่อง การจำแนกลักษณะประจำพันธุ์และการปรับปรุงพันธุ์ลำไย Classification of Longan Germplasm and Breeding Program

โครงการย่อยภายใต้ชุดโครงการ : โครงการอนุรักษ์และพัฒนาพันธุ์ลำไย

โดย
ฉันทนา วิชรรัตน์ และคณะ

มหาวิทยาลัยแม่โจ้

2556



รายงานผลการวิจัย

เรื่อง การจำแนกลักษณะประจำพันธุ์และการปรับปรุงพันธุ์ลำไย
Classification of Longan Germplasm and Breeding Program

ได้รับการจัดสรรงบประมาณวิจัย ประจำปี 2555
จำนวน 1,128,200 บาท

หัวหน้าโครงการ นางฉันทนา วิชรรัตน์
ผู้ร่วมโครงการ นางนงนุช กุศล
นางธีรนุช เจริญกิจ
นางสาวแสงทอง พงษ์เจริญกิจ
นางจิรนนท์ เสนานาญ
นายพาวัน มะโนชัย
นางนพมณี โทปญญานนท์

งานวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์

23 เมษายน 2556

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยใคร่ขอขอบคุณ สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้ทุนอุดหนุนวิจัย ประจำปี 2555 ที่ได้เล็งเห็นถึงความจำเป็นและความสำคัญในการศึกษาในด้านการจำแนกลักษณะประจำพันธุ์และการปรับปรุงพันธุ์ลำไย การอนุมัติสนับสนุนทุนวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2555 จึงเป็นสิ่งที่ทำให้นักวิจัยรู้สึกขอบคุณและมีกำลังใจในการทำงานด้านการจำแนกลักษณะและการปรับปรุงพันธุ์ลำไยมากขึ้น และหวังว่าเมื่อสิ้นสุดโครงการจะสามารถสร้างและคัดเลือกพันธุ์ลำไยพันธุ์ใหม่ ๆ ที่สามารถสร้างชื่อเสียงให้กับมหาวิทยาลัยต่อไป

เนื่องจากโครงการประกอบด้วยนักวิจัยผู้เชี่ยวชาญเฉพาะด้านที่มาจากหลายสาขาวิชา เช่น สาขาไม้ผล (ผศ.ดร.ธีรนุช เจริญกิจ), สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ (ผศ.ดร.แสงทอง พงษ์เจริญกิจ, และรศ.ดร.นพมณี โทบุญญานนท์) และ สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร (นางจิรนนท์ เสนานานู) ซึ่งแต่ละท่านได้ใช้ความสามารถและเชี่ยวชาญเฉพาะสาขาวิชา ดำเนินการวิจัยตามแผนที่กำหนดไว้ ทำให้ผลการวิจัยเป็นที่น่าพอใจยิ่ง จึงใคร่ขอขอบพระคุณในการร่วมมือในการวิจัย ดังกล่าวไว้ ณ โอกาสนี้ด้วย

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณผู้ช่วยนักวิจัยทุกท่านและนักศึกษาปริญญาโทที่เกี่ยวข้องทุกคน ที่ เป็นกำลังสำคัญที่ทำให้ผลงานวิจัยออกมาได้ด้วยดี

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ฉันทนา วิชรรัตน์
หัวหน้าโครงการวิจัย

สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	ข
สารบัญภาพ	ค
บทคัดย่อ	1
Abstract	3
คำนำ	4
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	5
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	5
ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวคิดของโครงการวิจัย	6
การตรวจเอกสาร	6
อุปกรณ์และวิธีการ	9
ผลการวิจัย	10
วิจารณ์และสรุปผลการวิจัย	52
เอกสารอ้างอิง	55



สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1	สรุปแบบบันทึกภาพของลำไยพันธุ์ต่างๆ ที่ปลูกในพื้นที่สาขาไม้ผล
ตารางที่ 2	ลำดับชื่อพันธุ์และจำนวนสายต้นลำไยพันธุ์ที่เคยได้รับรางวัลในการประกวดที่รวบรวมไว้ในการศึกษาวิจัย ในพื้นที่งานทดลอง รวม 169 สายต้น
ตารางที่ 3	รายชื่อพันธุ์ลำไยและลิ้นจี่ ที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ รวมจำนวน 29 สายพันธุ์
ตารางที่ 4	ลำดับดีเอ็นเอของไพรเมอร์ที่ใช้ในการทดลอง (Faqian Xiong และคณะ 2011)
ตารางที่ 5	เปอร์เซ็นต์ความแตกต่างของแต่ละไพรเมอร์ที่ใช้ในการทดลอง
ตารางที่ 6	การจัดจำแนกสายพันธุ์ลำไยด้วยเทคนิค RAPD
ตารางที่ 7	ค่าความเหมือนทางพันธุกรรมของลำไยและลิ้นจี่ จำนวน 25 และ 4 สายพันธุ์ตามลำดับ
ตารางที่ 8	แสดงกลุ่มผสมลำไยที่ได้จากการผสมข้ามสายพันธุ์
ตารางที่ 9	แสดงอัตราการงอกของกลุ่มผสมลำไยที่ได้จากการผสมข้ามสายพันธุ์
ตารางที่ 10	ผลของการต่อกิ่งอายุต้นกล้าต่างๆกันบนต้นลำไยต้นใหญ่พันธุ์อีดอ
ตารางที่ 11	ผลของการต่อกิ่งอายุต้นกล้าต่างๆกันบนต้นลำไยต้นใหญ่พันธุ์อีดอ
ตารางที่ 12	ผลของการให้ปุ๋ยอัตราต่างๆ กันต่อการเจริญเติบโตด้านความกว้างทรงพุ่มของต้นกลาลำไย
ตารางที่ 13	ผลของการให้ปุ๋ยอัตราต่างๆ กันต่อการเจริญเติบโตด้านความสูงของต้นกลาลำไย
ตารางที่ 14	ผลของการให้ปุ๋ยอัตราต่างๆ กันต่อเปอร์เซ็นต์การผลิใบของต้นกลาลำไย
ตารางที่ 15	ผลของการให้ปุ๋ยอัตราต่างๆ กันต่อเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นของต้นกลาลำไย
ตารางที่ 16	ผลของการให้ปุ๋ยอัตราต่างๆ กันต่อความยาวยอดใหม่ของต้นกลาลำไย

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 แผนผังแปลงรวบรวมพันธุ์หน้าอาคารปฏิบัติการไม้ผล 25 ปี (ร่วมกับสาขา และศูนย์ฯ ลำไย)	11
ภาพที่ 2 ตัวอย่างลักษณะประจำพันธุ์ ที่แสดงข้อมูลพร้อมภาพประกอบ ของลำไยพันธุ์ดอ	14
ภาพที่ 3 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพรเมอร์ BPS1	20
ภาพที่ 4 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพรเมอร์ BPS2	21
ภาพที่ 5 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพรเมอร์ BPS3	21
ภาพที่ 6 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพรเมอร์ BPS4	22
ภาพที่ 7 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพรเมอร์ BPS5	22
ภาพที่ 8 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพรเมอร์ BPS6	23
ภาพที่ 9 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพรเมอร์ BPS7	23
ภาพที่ 10 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพรเมอร์ BPS9	24
ภาพที่ 11 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพรเมอร์ LA1	24
ภาพที่ 12 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพรเมอร์ LA2	25
ภาพที่ 13 Phylogenic tree ของตัวอย่างลำไยและลิ้นจี่ จำนวน 29 สายพันธุ์	27
ภาพที่ 14 ผลการจัดจำแนกสายพันธุ์ลำไย จำนวน 14 สายพันธุ์ (Rungrach Wangspa และคณะ 2005)	28
ภาพที่ 15 เมล็ดลำไยที่มีระดับพัฒนาการของผล 3 ขนาดได้แก่ 9 (A), 12 (B) และ 18 (C) สัปดาห์หลังติดผล และลักษณะเมล็ดลำไยที่ไม่เกาะเปลือก (D) และที่เกาะเปลือก (E)	36

สารบัญภาพ (ต่อ)

	หน้า
ภาพที่ 16 เมล็ดลำไยเริ่มต้นที่เพาะเลี้ยงในระบบอาหารแข็ง (A) และ ในระบบไบโอรีแอคเตอร์ (B)	37
ภาพที่ 17 ลักษณะการเจริญเติบโตของเมล็ดลำไยในระยะ 9 สัปดาห์หลังติดผล ที่เพาะเลี้ยง ในอาหารแข็งสูตร MS คัดแปลง	38
ภาพที่ 18 ลักษณะการเจริญเติบโตของเมล็ดลำไยอายุ 12 สัปดาห์หลังติดผลที่เพาะเลี้ยง ในอาหารแข็งสูตร MS คัดแปลง	39
ภาพที่ 19 ลักษณะการเจริญเติบโตของเมล็ดลำไยในระยะ 18 สัปดาห์หลังติดผลที่เพาะเลี้ยง ในอาหารแข็งสูตร MS	40
ภาพที่ 20 ลักษณะการเจริญเติบโตของเมล็ดลำไยระยะ 9 สัปดาห์หลังติดผลที่เพาะเลี้ยง ในระบบไบโอรีแอคเตอร์	40
ภาพที่ 21 ลักษณะการเจริญเติบโตของเมล็ดลำไยระยะ 12 สัปดาห์หลังติดผลที่เพาะเลี้ยง ในระบบไบโอรีแอคเตอร์	41
ภาพที่ 22 ลักษณะการเจริญเติบโตของเมล็ดลำไยระยะ 18 สัปดาห์หลังการติดผลที่เพาะเลี้ยง ในระบบไบโอรีแอคเตอร์	42
ภาพที่ 23 ต้นกล้าลำไยในถุงพลาสติกขนาด 4x6 นิ้ว	44
ภาพที่ 24 การต่อกิ่งของยอดต้นกล้าลำไยพบว่าการเสียบติดแต่มีเปอร์เซ็นต์ต่ำมาก	45
ภาพที่ 25 การต่อกิ่งของยอดต้นกล้าอายุต่าง ๆ กัน (ซ้าย) หลังจากเสียบติดแล้วนำมา ใส่กระถางเพื่อศึกษาการเจริญเติบโตต่อไป	46
ภาพที่ 26 ต้นกล้าลำไยหลังปลูก 1 ปี	50

การจำแนกลักษณะประจำพันธุ์และการปรับปรุงพันธุ์ลำไย Classification of Longan Germplasm and Breeding Program

ฉันทนา วิชรรัตน์¹ นงนุช กุศล² ชีรณัฐ เจริญกิจ³ แสงทอง พงษ์เจริญกิจ⁴

จิรพันธ์ เสนานาญ⁵ พาวิน มะโนชัย⁶ และนพมณี โทบุญญานนท์⁷

Chantana Wicharatana,¹ Nongnuch Kuson,² Theeranuch Jaroenkit,³

Saengtong Pongjaroenkit,⁴ Chiranan Senanan,⁵ Pawin Manochai,⁶

and Nopmanee Topoonyanont⁷

¹คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

²สำนักฟาร์ม มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

³ศูนย์วิจัยและพัฒนาลำไยแม่โจ้ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

⁴คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

⁵สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

⁶สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

⁷คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

บทคัดย่อ

การปลูกลำไยเพื่อการค้าของไทย ยังมีการปลูกลำไยเพียงพันธุ์เดียวคือพันธุ์ดอ พันธุ์ดั้งเดิมต่างๆที่เคยมีปลูกมา เช่น แห้ว เบี้ยวเขียว สีชมพู เริ่มหายไป การอนุรักษ์และปรับปรุงพันธุ์ลำไย จึงเริ่มจากการรวบรวมสายพันธุ์ลำไย รวมถึงการจำแนกความซ้ำซ้อนของสายพันธุ์และการศึกษาการแสดงออกของเพศดอกลำไย เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ลำไยในอนาคต โครงการวิจัยเรื่อง การจำแนกลักษณะประจำพันธุ์และการปรับปรุงพันธุ์ลำไย ได้ดำเนินการทดลองโดยแยกกิจกรรมเป็น 5 กิจกรรมคือ 1) การสร้างและดูแลแปลงรวบรวมพันธุ์ลำไยพร้อมทั้งศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ลำไย ซึ่งในกิจกรรมนี้สามารถรวบรวมพันธุ์ลำไยปลูกไว้ในแปลงเดียวกันจำนวน 20 สายพันธุ์และเริ่มการเก็บข้อมูลลักษณะประจำพันธุ์เพื่อจัดทำหนังสือคู่มือพันธุ์ลำไยต่อไป 2) การจัดทำลายพิมพ์ ดีเอ็นเอ และจำแนกกลุ่มพันธุ์ลำไยในแปลงรวบรวมพันธุ์ ในกิจกรรมนี้ได้ทำการสกัดดีเอ็นเอรวม 25 สายพันธุ์ และสามารถแบ่งกลุ่มลำไยออกเป็น 3 กลุ่มตามความแตกต่างของขนาดโปรตีนที่ได้ ทำให้ทราบถึงความใกล้ชิดของสายพันธุ์แต่ละพันธุ์ที่ศึกษา 3) การ

ปรับปรุงพันธุ์ลำไยโดยใช้วิธีการผสมข้ามและการคัดเลือกสายพันธุ์ โดยในเบื้องต้นได้ศึกษาเทคนิคและวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการผสมข้ามลำไย ซึ่งได้ผลเป็นที่น่าพอใจสามารถผสมข้ามลำไยและเก็บเมล็ดลูกผสมไปเพาะได้จำนวนกว่า 60 เมล็ดซึ่งรอการพิสูจน์ว่าเป็นลูกผสมจริงหรือไม่จากการสกัด DNA 4) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการชักนำให้เกิดต้นของลำไยจากชิ้นส่วนต่างๆ ของกล่ำลำไยที่ได้ เพื่อเป็นแนวทางในการหาวิธีการย่นระยะเวลาทดสอบลูกผสม และ 5) เป็นการศึกษาวิธีการย่นระยะการทดสอบลูกผสมโดยการเร่งอัตราการเจริญเติบโตของกล่ำลำไยและการเสียบกิ่งบนต้นใหญ่ ซึ่งในเบื้องต้นยังวัดผลไม่ได้เนื่องจากต้นกล่ำยังเล็กและยังต้องดำเนินการศึกษาต่อไป

คำสำคัญ: การผสมข้าม การคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ การสกัด DNA การจำแนกกลุ่ม การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ การทดสอบลูกผสม



Abstract

Commercial production of longan in Thailand mainly involves planting of Daw variety. Former varieties which were cultivated before, such as Haew, Baewkaew and Si Chompuu, are beginning to disappear thus conservation and improvement of longan should initially begin with the collection of the germplasm and classification of the redundant longan varieties including the study of the sex emergence of inflorescence to serve as basic information for future longan breeding. This research project on Classification of Longan Germplasm and Breeding Program was divided into 5 activities: 1) construction and maintenance of germplasm for longan varieties including the study of their permanent characteristics in which 20 varieties were collected in one area and which were studied for their varietal characteristics for future publications; 2) conducting DNA finger print and classification of longan varietal groups in the collection area and in this activity, 25 varieties had their DNA extracted and were classified into 3 groups based on the differences of protein sizes; 3) improvement of longan varieties through conventional breeding and varietal selection which initially involved the study of the appropriate technique and method of breeding and which gave satisfactory results based on cross breeding of longan varieties and collection of hybrid seeds for cultivation consisting of 60 seeds but which are currently waiting for proof of real hybrid based on DNA extraction; 4) plant tissue culture and micropropagation to of longan to serve as guidelines in determining the fastest method of testing the hybrids; and, 5) study of the fastest method to test the hybrids by speeding up the growth of longan seedlings and later grafting them but which could not initially be measured due to the small size of the seedlings and which should be further implemented.

Key words: crossbreeding, selection and improvement, DNA extraction, group classification, plant tissue culture, hybrid testing

การจำแนกลักษณะประจำพันธุ์และการปรับปรุงพันธุ์ลำไย

นักวิจัยผู้รับผิดชอบ

หัวหน้าโครงการ นางฉันทนา วิชรรัตน์ ภาควิชาพืชสวน คณะผลิตกรรมการเกษตร (30%)

ผู้ร่วมวิจัย

1. นางนงนุช กุศล สำนักฟาร์มมหาวิทยาลัยแม่โจ้ (15 %)

2. นางธีรนุช เจริญกิจ ศูนย์วิจัยและพัฒนาลำไยแม่โจ้ (20 %)

3. นางสาวแสงทอง พงษ์เจริญกิจ คณะวิทยาศาสตร์ (15%)

4. นางจิรนนท์ เสนานาญ สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร (15%)

5. นายพาวิณ มะโนชัย สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร (2.5%)

6. นางนพมณี โทบุญญานนท์ คณะวิทยาศาสตร์ (2.5%)

คำนำ

ลำไยเป็นพืชเศรษฐกิจหลักของประเทศ แต่เดิมการปลูกลำไยจำกัดอยู่ในพื้นที่ที่มีอากาศหนาวเย็น เช่น ภาคเหนือตอนบน มีพื้นที่ปลูกต่ำกว่าแสนไร่ ในปี 2526 (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2551) แต่หลังจากค้นพบสารโพแทสเซียมคลอไรด์เพื่อชักนำให้ลำไยออกดอกได้โดยไม่ต้องพึ่งความหนาวเย็นของอากาศ พื้นที่การปลูกลำไยจึงขยายตัวไปทั่วประเทศ โดยปัจจุบันมีพื้นที่ปลูกรวมทั่วประเทศกว่า 1 ล้านไร่ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2552) และมีการส่งออกทำรายได้เข้าสู่ประเทศมูลค่ากว่า สามพันล้านบาทต่อปี

อย่างไรก็ตามจะเห็นได้ว่าพันธุ์ของลำไยของประเทศไทยนั้น ยังคงมีพันธุ์ดั้งเดิมเช่น พันธุ์ดอ เปี้ยวเขียว สีชมพู แห้ว หรือพวงทอง ซึ่งจะเห็นได้ว่าแต่ละพันธุ์จะมีจุดเด่น จุดด้อย อาทิ พันธุ์ดอ เป็นพันธุ์ที่ออกดอกเร็ว การติดผลดี แต่รสชาติของเนื้อจะสู้พันธุ์เปี้ยวเขียว พันธุ์สีชมพูไม่ได้ และนอกจากนั้นยังพบว่าพันธุ์ดอ ซึ่งเป็นพันธุ์เศรษฐกิจของไทยนั้น ยังมีความแตกต่างกันด้วย ผลผลิต และคุณภาพของผล ซึ่งเป็นเรื่องที่มีความน่าสนใจในการที่จะคัดเลือกเฉพาะสายพันธุ์ดอ ที่มีศักยภาพมาทำการทดสอบศักยภาพด้านต่างๆ เพื่อเป็นสายพันธุ์ดอพันธุ์คัดที่มีคุณภาพเหมาะสมต่อธุรกิจลำไยต่อไป

การปลูกลำไยในประเทศไทยปัจจุบันมีลักษณะเป็นการปลูกพืชเชิงเดี่ยว กล่าวคือจากพื้นที่ปลูกทั้งหมดทั้งประเทศที่มีประมาณ 1 ล้านไร่ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2553) พบว่าประมาณ 95% ของ

พื้นที่ปลูกเป็นการปลูกลำไยพันธุ์ดอ ทำให้การพัฒนาสายพันธุ์เกิดขึ้นได้ยาก ดังนั้นการรวบรวมเชื้อพันธุ์ลำไยไว้ด้วยกัน รวมถึงการจำแนกความซ้ำซ้อนของสายพันธุ์ และการศึกษาลักษณะการแสดงออกของเพศดอกลำไย จะเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ลำไยในอนาคต

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อรวบรวมพันธุ์ลำไย พร้อมศึกษาลักษณะประจำพันธุ์และการจำแนกสายพันธุ์ โดยการจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอ เพื่อใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมในการพัฒนาพันธุ์ลำไย และเป็นแหล่งอนุรักษ์สายพันธุ์ลำไยของไทย
2. เพื่อคัดเลือกสายต้น(Clone) ที่มีศักยภาพ นำมาพัฒนาเป็นสายพันธุ์ดี เพื่อการเผยแพร่ให้แก่เกษตรกร
3. ศึกษาการแสดงเพศดอก รูปแบบการออกดอกและวิธีการผสมข้ามพันธุ์ เพื่อประโยชน์ต่อการปรับปรุงพันธุ์
4. เพื่อปรับปรุงพันธุ์ลำไยให้ได้สายพันธุ์ใหม่ที่มีศักยภาพ โดยเฉพาะการเพิ่มผลผลิต และการพัฒนาคุณภาพผล สำหรับใช้เป็นทางเลือกของเกษตรกรผู้ปลูกลำไยในอนาคต

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) มีแหล่งรวบรวมและอนุรักษ์พันธุ์ลำไย เพื่อใช้ในการพัฒนาพันธุ์ในอนาคต สร้างความมั่นคงทางพันธุกรรมของลำไยของประเทศไทยได้
- 2) มีพันธุ์ที่เกิดจากการคัดเลือกสายต้น (clone) พัฒนาเป็นพันธุ์ดี ส่งเสริมให้กับเกษตรกรได้
- 3) ทราบการแสดงเพศดอกปลั้รูปแบบการออกดอก พัฒนาลู่การผสมข้ามพันธุ์ลำไยได้
- 4) สามารถผสมข้ามสายพันธุ์ลำไยได้สำเร็จ และเกิดพันธุ์ลำไยใหม่ขึ้น
- 5) สามารถเผยแพร่ข้อมูลเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อนักวิชาการเกษตรและผู้ที่เกี่ยวข้องได้
- 6) ได้สายพันธุ์ที่มีศักยภาพ จดสิทธิบัตรได้

ทฤษฎี สมมุติฐาน (ถ้ามี) และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

สมมุติฐาน ลำไยสายพันธุ์เดียวกัน เช่น อีตอ อาจจะมีพันธุกรรมที่ต่างกันทำให้มีความแตกต่างด้านผลผลิตและคุณภาพ ดังนั้นการคัดเลือก “สายรายต้น (Clone)” จึงมีความจำเป็นและสามารถนำมาพัฒนาเป็นพันธุ์ใหม่ได้

- การแสดงการติดผลของลำไยมีทั้งดอกตัวผู้ ดอกตัวเมีย ดอกกระเทย ภายในช่อดอกเดียวกัน คาดว่าอัตราส่วนระหว่างเพศดอกต่างๆ และรูปแบบการออกดอก จะแตกต่างกันไป ในแต่ละพันธุ์ ซึ่งจะมีผลต่อการติดผล (ความดก) ของลำไย

- การที่มีเพศดอกหลายแบบอยู่บนช่อดอกเดียวกัน ผนวกกับดอกลำไยมีขนาดเล็ก และการบานของดอกบนช่อดอกไม่มีความแน่นอน ดังนั้นการจะผสมข้ามพันธุ์ลำไยจะต้องศึกษาเรื่องโครงสร้างของดอก พฤติกรรมการบานของดอก การแยกประเภทของเพศดอกในช่อดอกในระยะดอกตูม ตำแหน่งที่ตัวของเพศดอกภายในช่อดอก ซึ่งจะมีผลต่อความสำเร็จของการผสมข้ามพันธุ์ลำไย

- การปรับปรุงพันธุ์ลำไยอาจทำได้หลายวิธี เช่น การคัดเลือกจากต้น (clone) ที่ดีจากพันธุ์เดิม การใช้วิธีก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ (mutation) เป็นการใช้รังสีแกมมา รังสีเอ็กซ์ เป็นต้น แต่วิธีการ mutation เป็นวิธีการซึ่งไม่เหมาะสม เนื่องจากโอกาสเกิดลักษณะที่ดีโดยสุ่มเป็นไปได้ยาก อีกทั้งลำไย เป็นพืชยืนต้น การทดสอบจึงทำได้ยาก และใช้เวลานาน เนื่องจากไม่สามารถคาดการณ์ได้จากลักษณะที่เกิดขึ้นจะเป็นอย่างไร ในขณะที่วิธีการผสมข้ามโดยวิธีการปกติ สามารถดึงวัตถุดิบประสงค์และคัดเลือกสายพันธุ์พ่อแม่ซึ่งมีลักษณะที่ต้องการได้ล่วงหน้า ซึ่งทำให้สามารถคาดคะเนลูกที่จะเกิดขึ้นได้ แต่อย่างไรก็ตามจะต้องมีวิธีการผสมข้ามที่มีประสิทธิภาพด้วย

การตรวจเอกสาร

การปลูกลำไยในประเทศไทยปัจจุบันพบว่า 95 เปอร์เซ็นต์ของการปลูกลำไยเป็นการปลูกลำไยพันธุ์อู หรืออีตอ เพียงพันธุ์เดียว ทำให้มีพื้นที่ปลูกพันธุ์อื่นๆ ซึ่งเป็นลำไยที่มีคุณภาพเหมาะสมสำหรับรับประทานสด เช่น เบี้ยวเขียว แห้ว หรือสีชมพู ลดน้อยลงมาก (ไม่ถึง 5% ของพื้นที่ปลูกปัจจุบัน, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2553) ทำให้การผลิตลำไยในปัจจุบันของไทย คล้ายกับการผลิตพืชเชิงเดี่ยว มีความหลากหลายทางพันธุกรรมที่น้อย หากลำไยพันธุ์อูประสบกับปัญหาในอนาคต การแก้ไขปัญหาก็เพื่อช่วยเหลือเกษตรกรผู้ผลิตจะไม่ทันการ เนื่องจากการพัฒนาหรือปรับปรุงพันธุ์ไม่ผลโดยทั่วไปจะใช้เวลาไม่ต่ำกว่า 10 ปี

การปรับปรุงพันธุ์ลำไย จะต้องเริ่มต้นจากการรวบรวมพันธุ์พืชเป็นแหล่งพันธุกรรม (germplasm) ซึ่งจากการตรวจสอบเอกสารพบว่าการรวบรวมพันธุ์ลำไยได้เคยดำเนินการจัดทำมาแล้ว โดยสำนักงานคุ้มครองพันธุ์พืชแห่งชาติ (กรมวิชาการเกษตร, 2546) ซึ่งได้รายงานชื่อพันธุ์ลำไยไว้ 68 หมายเลข (accession number) ซึ่งรายชื่อพันธุ์ลำไยภายในฐานเชื้อพันธุ์พืชดังกล่าว เชื่อว่ามีรายชื่อไม่ต่ำกว่า 10% ที่เป็นชื่อพันธุ์ซ้ำกัน เช่น พันธุ์ดอ กับ อีดอ, พันธุ์เหว กับ อีเหว หรือพันธุ์นราภิรมย์ กับพันธุ์เพชรสาคร เป็นต้น (พาวิณ (ติดต่อบุคคล), 2553) ซึ่งบางท้องถิ่นอาจจะเรียกพันธุ์เดียวกันด้วยชื่อที่ไม่เหมือนกันได้

ความผิดพลาดตรงนี้สืบเนื่องมาจากการเก็บตัวพันธุ์พืชโดยยังไม่มี การจำแนกความซ้ำซ้อนของสายพันธุ์ หรือยังไม่มี การจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอของสายพันธุ์ ทำให้การจำแนกความซ้ำซ้อนของสายพันธุ์ไม่ได้ นอกจากนี้แล้วในฐานเชื้อพันธุ์ดังกล่าว มีการรายงานข้อมูลรายละเอียดประจำพันธุ์เพียง 29 สายพันธุ์ (จาก 68 หมายเลข) ซึ่งเป็นข้อมูลลักษณะประจำพันธุ์ (characterization) เป็นหลัก อย่างไรก็ตามในการปรับปรุงพันธุ์พืช ยังต้องการข้อมูลปลีกย่อยที่เกี่ยวข้องกับการแสดงเพศดอกเพื่อใช้ประโยชน์ในการผสมพันธุ์พืชอีกจำนวนมากเช่น ลักษณะการออกดอก เพศดอก สัดส่วนเพศดอก ระยะเวลาการบานของช่อดอก หรือความมีชีวิตของละอองเรณู เป็นต้น ทำให้ยัง ไม่สามารถ ใช้ประโยชน์จากฐานเชื้อพันธุ์พืชดังกล่าว ในการปรับปรุงพันธุ์ลำไยได้

นอกจากสำนักงานคุ้มครองพันธุ์พืชแห่งชาติแล้ว ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงรายเองก็ได้จัดทำเอกสารวิชาการพันธุ์ลำไยออกเผยแพร่ (นิพัฒน์, 2550) ด้วย โดยมีการรายงานลักษณะการแสดงออกของเพศดอก และสัดส่วนเพศดอกไว้ละเอียดพอควร แต่พบว่ารายงานไว้เพียง 11 สายพันธุ์เท่านั้น และยังไม่มีการจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอเพื่อตรวจสอบความซ้ำซ้อนของสายพันธุ์ เช่นเดียวกันกับฐานเชื้อพันธุ์พืชที่จัดทำโดยสำนักงานคุ้มครองพันธุ์พืชแห่งชาติ

การจำแนกกลุ่มพันธุ์หรือสายพันธุ์ลำไยในระดับยีนส์ ส่วนใหญ่จะใช้วิธี RAPD, ISSR, และ AFLP (Pan et al., 2010). การจำแนกกลุ่มพันธุ์ลำไยของจีนที่ใช้วิธี RAPD สามารถจำแนกลำไย 31 สายพันธุ์ออกเป็น 6 กลุ่มใหญ่ได้ (Lin, 1998; Lin et al., 1998 cited by Pan et. al., 2010). ซึ่งการจำแนกโดยใช้ลักษณะการแสดงออกของดีเอ็นเอหรือยีนส์ดังกล่าว ทำให้สามารถยืนยันความเป็นสายพันธุ์เดียวกันของลำไยที่เรียกชื่อต่างๆ กันได้ (Chen et al., 2001 cited by Pan et. al., 2010)

ดังนั้นการจัดจำแนกกลุ่มพันธุ์ที่รวบรวม โดยการทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอ กับพันธุ์ลำไยของไทยจึงน่าจะเป็นวิธีที่ดีที่สุดที่จะทำให้สามารถยืนยันความเป็นพันธุ์เดียวกันหรือต่างกันได้

การรวบรวมสายพันธุ์และการปรับปรุงพันธุ์ลำไยของจีน ซึ่งเป็นประเทศที่มีพื้นที่การปลูกลำไยมากที่สุดในโลก มีรายงานว่าฐานข้อมูลเชื้อพันธุ์ลำไยไม่ต่ำกว่า 234 สายพันธุ์ รวมถึงพันธุ์ป่า พันธุ์ไร้เมล็ดหรือเมล็ดลีบ พันธุ์เนื้อสีชมพู และพันธุ์ทนหนาว เป็นต้น (Pan et al., 2010)

จีนมีระบบการศึกษาและพัฒนาสายพันธุ์ที่ทันสมัย เช่น การศึกษาถึงแหล่งกำเนิดและวิวัฒนาการของสายพันธุ์ โดยใช้ลักษณะประจำพันธุ์เป็นหลัก (morphological characteristics) ศึกษาถึงลักษณะบ่งชี้ทางชีวเคมี (biochemical markers) หรือ ลักษณะบ่งชี้ทางโมเลกุล (molecular markers) ของแหล่งเชื้อพันธุ์ลำไย การผสมพันธุ์ลำไยเพื่อให้ได้พันธุ์ใหม่ที่ผลผลิตสูงและต้านทานความหนาวเย็นได้ดียิ่งขึ้น เป็นต้น นอกจากนี้ระบบฐานข้อมูลเชื้อพันธุ์ลำไยของจีน ยังรวมไปถึงการแลกเปลี่ยนสายพันธุ์กับต่างประเทศ โดยเฉพาะจากประเทศไทยด้วย โดยพบว่า มีการนำเข้าสายพันธุ์ลำไยของไทยตั้งแต่ปี พ.ศ. 2523 (ค.ศ. 1980)จากหลายช่องทางได้แก่ Fruit Research Institute of Fujian Academy of Agricultural Science นำเข้าพันธุ์ ‘Miaoqiao’ ในปี 1981 และพันธุ์ ‘Shichupu’ ‘Fantong’ และ ‘Yideng’ นำเข้ากลางปี 2533 (ค.ศ. 1990) ในขณะที่ Fujian Institute of Tropical Crops นำเข้าไปได้อีก 6 สายพันธุ์ ในปี 2529 (ค.ศ. 1986) และ ปี 2536 (ค. ศ. 1993) ได้แก่ ‘Miaoqiao’ ‘Yideng’ ‘Yixiao’ ‘Yiduo’ ‘Fantong’ และ ‘Shizhongpu’ (Pan et al., 2010) ซึ่งลำไยพันธุ์ไทยเหล่านี้ จีนนำเข้าไปรวบรวมไว้เพื่อศึกษาถึงลักษณะการเจริญเติบโตและการปรับสภาพเพื่อเปรียบเทียบและใช้ประโยชน์ต่อไป

ในประเทศออสเตรเลียก็มีนำเข้าพันธุ์จากต่างประเทศ ไปปลูกทดสอบด้วยเช่นกัน โดยมีการทดสอบคุณภาพของผลลำไยพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ พันธุ์ เบี้ยวเขียว (Beow Keow) เบิร์ช (Birch) เซียนเลียว (Chien Liou) ชมพู 1 (Chompoo 1) ชมพู 2 (Chompoo 2) ดอ (Daw) ดวน ยู (Duan Yu) ฝ่า โฮก ชัย (Fa Hok Chai) ฟุ โค 2 (Fuhko 2) แฮ้ว (Haew) เลียว โอ (Liao) เค สวีนี (Kay Sweeney) โคฮาล่า (Kohala) พร ใหญ่ (Porn Yai) ลิง กีบ (Saig Geeb) ชิก ยิป (Shek Yip) และ ไว (Wai) ซึ่งจะเห็นว่า ชื่อพันธุ์บางส่วนเป็นพันธุ์ที่นำเข้าจากประเทศไทย เช่น เบี้ยวเขียว สีชมพู (หรือชมพู) แฮ้ว อีแดง (แดง) หรือ อีไว (ไว) เป็นต้น และพบว่า ลำไยจากประเทศไทยคือพันธุ์ เบี้ยวเขียวเป็นลำไยคุณภาพที่มีความต้องการของตลาดในออสเตรเลียสูงมาก เนื่องจากมีคุณสมบัติในระดับที่ดีถึงดีมากและมาเป็นอันดับหนึ่งเมื่อเทียบกับพันธุ์อื่นๆ ที่ทดสอบ (Winston et al., 1993)

ปัญหาอย่างหนึ่งของการปรับปรุงพันธุ์และพัฒนาพันธุ์ไม้ผลโดยเฉพาะลำไยและลิ้นจี่คือ ต้องใช้ระยะเวลาทดสอบนานจึงอาจเป็นเงื่อนไขที่ทำให้มีคณหรือนักวิชาการทำงานด้านนี้น้อย หากสามารถผสมได้ และได้เมล็ดลูกผสมแล้ว การทดสอบคุณสมบัติของลูกผสมได้ในระยะเวลาอันสั้น จะช่วยทำให้สามารถปรับปรุงพันธุ์ไม้ผลได้เร็วขึ้น

การย่นระยะเวลาการให้ผลผลิตหรือการลดระยะเยาว์วัย (juvenile period) วิธีการหนึ่งที่นิยมใช้ คือ การต่อกิ่งบนต้นที่เคยให้ผลผลิตแล้ว เช่น ในมะม่วงได้มีทำอย่างแพร่หลายโดยให้ต้นแม่เป็นตัวชักนำการออกดอก ส่วนในพืชอื่น เช่น ส้ม มีรายงานการนำยอดของลูกผสมมาต่อกิ่งบนต้นต่อใช้ระยะเวลาในการออกดอก ตัดผล 5-6 ปี (Furr *et al.*, 1947) ในประเทศญี่ปุ่นมีรายงานการนำต้นกล้าส้มลูกผสมมาต่อกิ่งบนต้นที่ให้ผลผลิตแล้วเพื่อย่นระยะเวลาการออกดอกพบว่าลูกผสม 1 ใน 3 สามารถออกดอกได้ภายในเวลา 2 ปีครึ่ง (Mitani *et al.*, 2008)

ดังนั้นสมมติฐานในการศึกษาเรื่องการย่นระยะเวลาของลูกผสม หนึ่งในกิจกรรมของโครงการย่อยนี้ จะใช้การต่อกิ่ง (grafting) เพื่อให้ต้นลำไยลูกผสมเจริญเติบโตเร็ว โดยใช้วิธีเปลี่ยนการนำยอดลูกผสมต้นกล้าลำไยมาต่อบนยอดบนต้นใหญ่ที่ให้ผลผลิตแล้วโดยใช้วิธีการ (Top working) และการชักนำการออกดอกด้วยให้สารโพแทสเซียมคลอเรต

จากข้อสังเกตของพาวิน (ติดต่อส่วนตัว) ที่ให้สารโพแทสเซียมคลอเรตกับต้นกล้าลำไยอายุ 2 ปี พบว่าสามารถชักนำให้ลำไยออกดอกได้ แต่การทดลองไม่ได้มีการศึกษาจริงจังจึงเพียงแต่เป็นการทดสอบการชักนำการออกดอกของต้นลำไยเท่านั้น แต่ก็เป็นข้อสังเกตได้ว่าต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ดสามารถออกดอกได้ถ้าชักนำด้วยสารโพแทสเซียมคลอเรต การให้สารโพแทสเซียมคลอเรตในลำไยตั้งแต่ต้นพบสารจนถึงปัจจุบันพบว่ายังสามารถกระตุ้นการออกดอกได้ทุกปี ดังนั้นสารโพแทสเซียมคลอเรต น่าจะช่วยย่นระยะเวลาการออกดอก ตัดผลและการให้ผลผลิตได้

นอกจากนี้ยังพบว่า หากสามารถพัฒนาการการเจริญเติบโตของต้นกล้าให้โตเร็วขึ้นโดยการให้ปุ๋ย อาจจะทำให้ต้นกล้าที่อ่อนอยู่พัฒนาเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ได้เร็วขึ้น ซึ่งอาจจะเป็นแนวทางการย่นระยะเวลาการออกดอก ตัดผลของลำไยได้ เหมือนที่มีรายงานในเรื่องการให้ปุ๋ยในต้นกล้าฝรั่ง ซึ่งพบว่าสูตรปุ๋ยและอัตราปุ๋ยที่ต่างกันมีผลทำให้ต้นกล้าฝรั่งการเจริญเติบโตได้ดีกว่าต้นไม่ให้ปุ๋ย (พรรณพิไล, 2541) ซึ่งจะทำให้ออกดอกตัดผลได้เร็วขึ้น

อุปกรณ์และวิธีการ

กลยุทธ์การดำเนินงานวิจัยโดยแยกออกเป็น 5 กิจกรรมหลักที่เกี่ยวข้องสัมพันธ์กัน โดยแต่ละกิจกรรมจะมีนักวิจัยผู้เชี่ยวชาญเฉพาะด้านรับผิดชอบงานวิจัย ดังนี้

กิจกรรมที่ 1 การจัดสร้างและดูแลแปลงรวบรวมพันธุ์ลำไย พร้อมการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ รับผิดชอบกิจกรรมโดย ผศ. ดร. ชีรนุช เจริญกิจ มีวัตถุประสงค์หลักคือการรวบรวมพันธุ์ลำไย และศึกษาลักษณะประจำพันธุ์เพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ในอนาคต

กิจกรรมที่ 2 การจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอ และศึกษาการจำแนกกลุ่มพันธุ์ลำไย และการตรวจสอบลูกผสมในอนาคต รับผิดชอบกิจกรรมโดย ผศ. ดร. สายทอง พงษ์เจริญกิต มีวัตถุประสงค์เพื่อ ตรวจสอบความซ้ำซ้อนของสายพันธุ์ และตรวจสอบความเป็นลูกผสมจริงของลูกผสมที่จะเกิดขึ้นในโครงการวิจัย

กิจกรรมที่ 3 การปรับปรุงพันธุ์ลำไย โดยวิธีการผสมข้ามและการคัดเลือกสายต้น รับผิดชอบกิจกรรมโดย ผศ. นันทนา วิชรรัตน์ ซึ่งจะศึกษาเทคนิคและวิธีการ รวมทั้งขั้นตอนการผสมพันธุ์ลำไย และดำเนินการคัดเลือกกลุ่มผสมสำหรับลูกผสมที่จะเกิดขึ้นภายในโครงการ หรือการหากพันธุ์ใหม่โดยการคัดเลือกสายต้น โดยมีวัตถุประสงค์หลักคือการสร้างพันธุ์ลำไยพันธุ์ใหม่ที่จะเกิดขึ้นในอนาคต

กิจกรรมที่ 4 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และการชักนำให้เกิดต้นของลำไยลูกผสม รับผิดชอบกิจกรรมโดย รศ. ดร. นพมณี โทบุญญานนท์ มีวัตถุประสงค์หลักคือการย่นระยะการงอกของเมล็ดลูกผสม และการเพิ่มจำนวนหรือปริมาณของลูกผสมที่ได้ เพื่อใช้ในการทดสอบคุณสมบัติของลูกผสมในอนาคต

กิจกรรมที่ 5 การศึกษาวิธีการย่นระยะการทดสอบลูกผสม รับผิดชอบกิจกรรมโดยนางจิรนนท์ เสนานาญ มีวัตถุประสงค์เพื่อหาวิธีย่นระยะการเจริญเติบโตทางกิ่งก้านใบ (vegetative growth) ของลำไยลูกผสมที่ได้ อาจจะโดยการเสียบยอดต้นใหญ่ หรือการใช้ปุ๋ยเคมีเพื่อเร่งอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้าที่ได้

โดยแต่ละกิจกรรมจะแยกรายงานอุปกรณ์วิธีการ ผลการทดลอง และสรุปผลการทดลองออกจากกัน เพื่อความกระชับและชัดเจนในแต่ละกิจกรรมดังนี้

ผลการวิจัย

กิจกรรมที่ 1. การสร้างแปลงรวบรวมพันธุ์ลำไยและการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ (ผศ. ดร. ชีรนุช เจริญกิจ)

วิธีการศึกษา

1. สร้างแปลงรวบรวมพันธุ์ ประสานงานกับหน่วยงานที่เก็บรวบรวมเชื้อพันธุ์กรรมลำไยต่างๆ อาทิ ศูนย์วิจัยพืชสวน ต่างๆ และรวบรวมลำไยพันธุ์ดี มีประวัติเคยได้รับรางวัลจากการประกวดของเกษตรกรผู้ปลูกลำไยทั่วประเทศ

2. นำส่วนขยายพันธุ์มาปลูกรวบรวมไว้ ณ พื้นที่ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้ (สาขาไม้ผล ภาควิชาพืชสวน คณะผลิตกรรมการเกษตร)

3. คู่มือ รักษา เพื่อใช้เป็นแหล่งอนุรักษ์พันธุ์กรรมลำไยและเป็นแหล่งเรียนรู้ด้านพันธุ์
ลำไยของประเทศไทย รวมถึงการใช้ประโยชน์ด้านการพัฒนาสายพันธุ์ในอนาคต

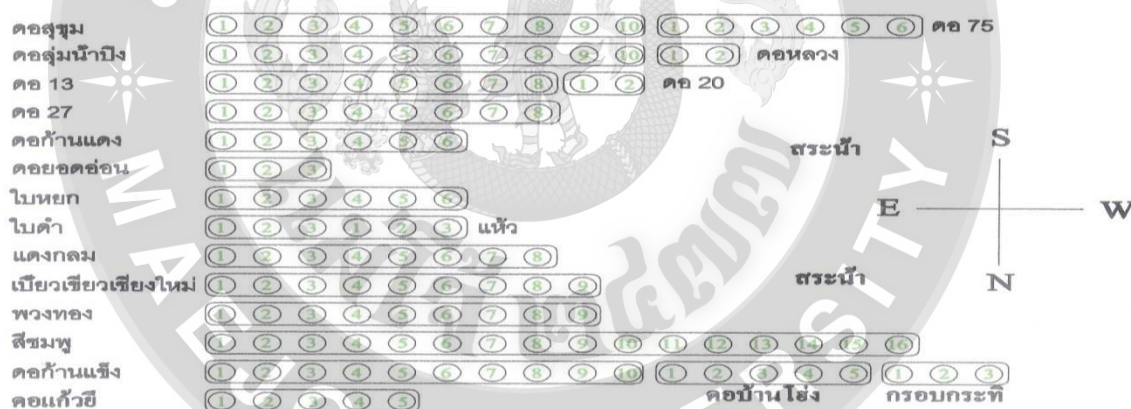
4. เก็บข้อมูลลักษณะประจำพันธุ์ รวมถึงการบันทึกประวัติรายต้นและแหล่งที่มาของสายพันธุ์ ภาพประกอบเพื่ออธิบายลักษณะประจำพันธุ์

5. ทำการคัดเลือกสายราชดั้น (Clone) ลำไยที่มีคุณสมบัติที่ดี ทดสอบผลผลิตและการเจริญเติบโต เพื่อย้ายพันธุ์และส่งเสริมเป็นพันธุ์ดีต่อไป

ผลการศึกษาทดลอง

1.1 แปลงรวบรวมพันธุ์ลำไย

แปลงรวบรวมพันธุ์ลำไย ได้ดำเนินการรวบรวมไว้ในพื้นที่ของอาคารปฏิบัติการไม่ผล 25 ปี บนพื้นที่ประมาณ 2 ไร่ เดิมมีจำนวนพันธุ์ 26 สายพันธุ์ แต่มีการปรับปรุงพื้นที่โดยมีการขุดบ่อ เพื่อกักเก็บน้ำ ทำให้ต้องรื้อถอนพันธุ์บางส่วนออกไป ปัจจุบันมีจำนวนพันธุ์ลำไยที่ปลูกรวบรวมไว้ ในพื้นที่เดียวกันจำนวน 20 สายพันธุ์ โดยมีผังแปลงรวบรวมพันธุ์และรายชื่อพันธุ์ตามผังแปลงดังนี้



แผนผังแสดงแปลงรวบรวมพันธุ์ลำไยแปลงที่ 1

ภาพที่ 1 แผนผังแปลงรวบรวมพันธุ์หน้าอาคารปฏิบัติการไม้ผล 25 ปี (ร่วมกับสาขาฯ และศูนย์
ลำไย

การเก็บข้อมูลลักษณะประจำพันธุ์

การรวบรวมข้อมูลลักษณะประจำพันธุ์ ประกอบด้วยการบันทึกภาพ และสุ่มตัวอย่างมาทำการเก็บข้อมูลตัวเลขต่างๆ เช่น ขนาดของใบ ช่อดอก ผล และเมล็ด โดยใช้ตารางบันทึกข้อมูลแต่ละสายพันธุ์แยกกัน (ภาพภาคผนวก ก) ซึ่งอาจจะไม่สามารถเก็บรายละเอียดที่ต้องการทุกสายพันธุ์ในช่วงเวลาเดียวกันได้ เพราะบางครั้งพัฒนาการของต้นลำไยมีการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน โดยยังต้องทยอยดำเนินการและตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลต่อไป โดยในฤดูการผลิตปี 2554/2555

สามารถเก็บข้อมูลลักษณะใบของลำไยแต่ละพันธุ์ ได้ 25 พันธุ์ ดังนี้ กรอบกะทิ คอก้านแข็ง คอแก้วยี่
คอ 13 คอยอดแดง คอยอดอ่อน คอ 20 คอ 27 คอ 75 คอลุ่มน้ำปิง คอสุขุม คอหลวง ใบหยก ใบคำ
เบี้ยวเขียวเขียวใหม่ พวงทอง สีชมพู บ้านโอง 60 แดงกลม แห้ว จัมโบ้ เพชรสารกร น้ำผึ้งทวย ปูมาดิน
โค้ง และพันธุ์พื้นเมือง และทำการเก็บลักษณะของผลลำไยได้ 6 พันธุ์ ดังนี้ พื้นเมือง แดงกลม สีชมพู
พวงทอง เบี้ยวเขียวเขียวใหม่ คอ27

การบันทึกภาพลักษณะต่างๆ ประจำพันธุ์ จะประกอบด้วยภาพของ ใบอ่อน ช่อใบ
ช่อดอก ช่อผล ผลและเมล็ด รวมถึงสภาพต้นโดยรวม (ตารางที่ 1.1) ซึ่งนอกจากลำไยในแปลง
รวบรวมพันธุ์ดังกล่าวแล้ว ยังมีการเก็บข้อมูลภาพลักษณะประจำพันธุ์ลำไยพันธุ์อื่นๆ ที่มาจากแหล่ง
ปลูกอื่นๆ ซึ่งจะต้องดำเนินการหาต้นพันธุ์มาปลูกไว้ในที่เดียวกันต่อไป ซึ่งการเก็บข้อมูลลักษณะ
ประจำพันธุ์ดังกล่าว จะดำเนินการตามระยะพัฒนาการของต้นลำไยที่แตกต่างกันของลำไยแต่ละสาย
พันธุ์ ทำให้ไม่สามารถเก็บข้อมูลได้ครบถ้วนทุกสายพันธุ์ในระยะเวลา 1 ปีที่ดำเนินงานทดลองได้



ตารางที่ 1 สรุปแบบบันทึกภาพของลำไยพันธุ์ต่างๆ ที่ปลูกในพื้นที่สาขาไม้ผล

แบบบันทึกการรวบรวมพันธุ์ลำไย ศูนย์วิจัยและพัฒนาลำไยแม่โจ้

ลำดับ	ชื่อพันธุ์	แหล่งที่เก็บตัวอย่าง/ ชื่อเจ้าของ	รายละเอียดภาพ						วันที่ และสถานที่ ถ่ายภาพ
			ใบอ่อน	ช่อดอก	ช่อใบ	ช่อผล	ผล	ต้น	
1	คอ 20	สาขาไม้ผล	1	0	1	1	1	1	4/8/2553 ไม้ผล
2	คอ 27	สาขาไม้ผล	1	1	1	0	1	0	4/8/2553 ไม้ผล
3	คอ 75		1	0	0	1	1	0	
4	คอ ก้านแข็ง	สาขาไม้ผล	0	1	1	0	1	0	4/8/2553 ไม้ผล
5	คอ หลวง		1	0	0	0	0	0	
6	คอ แก้ว	สาขาไม้ผล	1	1	1	1	1	1	4/8/2553 ไม้ผล
7	คอ ก้านแดง	สาขาไม้ผล	1	1	0	1	1	1	4/8/2553 ไม้ผล
8	คอ ยอดอ่อน	สาขาไม้ผล	1	1	0	0	1	1	4/8/2553 ไม้ผล
9	คอ ลุ่มน้ำปิง	สาขาไม้ผล	1	1	1	0	1	1	4/8/2553 ไม้ผล
10	คอ สุขุม	สาขาไม้ผล	1	0	1	1	1	1	4/8/2553 ไม้ผล
11	สีชมพู	บ้านหลุก ต. เหมืองร่ม/ตำบล สุรินคำ /สาขาไม้ผล	0	1	0	1	1	1	2/8/2553 ไม้ผล
12	เขียวเขียวเชียงใหม่	บ้านหลุก ต. เหมืองร่ม/ตำบล สุรินคำ /สาขาไม้ผล	0	1	1	1	1	1	2/8/2553 ไม้ผล
13	หัว	บ้านหลุก ต. เหมืองร่ม/กิ่งกาญจน มะโนชัย/สาขา	0	1	0	1	1	1	2/8/2553 ไม้ผล
14	พวงทอง	สาขาไม้ผล	0	1	1	1	1	1	4/8/2553 ไม้ผล
15	จัมโบ้		0	1	0	0	0	0	
16	แดงกลม	สาขาไม้ผล	1	1	0	1	1	1	4/8/2553 ไม้ผล
17	ใบดำ	สาขาไม้ผล	1	1	1	1	1	1	4/8/2553 ไม้ผล
18	ใบหยก	สาขาไม้ผล	1	0	1	0	0	0	4/8/2553 ไม้ผล
19	น้ำผึ้งทวย		0	0	0	0	0	0	
20	ป๋มดัดโค้ง		0	0	0	0	0	0	
21	บ้านโง้ง 60	บ้านโง้ง / ตร.สุธาสนี	0	0	0	1	1	0	2/8/2553 ไม้ผล
22	เพชรสาคร	สาขาไม้ผล	0	0	1	1	1	0	4/8/2553 ไม้ผล
23	กรอบกะทิ	บ้านโง้ง / ตร.สุธาสนี	0	0	0	1	1	0	2/8/2553 ไม้ผล
24	พื้นเมือง	มหาวิทยาลัยแม่โจ้/สถานีรถไฟเชียงใหม่	0	0	1	1	1	1	2/8/2553 ไม้ผล
25	กระดุก	สถานีรถไฟเชียงใหม่	0	0	0	1	1	0	2/8/2553 ไม้ผล
26	คอ ดำราง	บ้านมุง/สารภี	0	0	0	1	1	0	2/8/2553 ไม้ผล
27	คอ	บ้านหลุก ต. เหมืองร่ม/กิ่งกาญจน มะโนชัย	0	1	0	1	1	0	2/8/2553 ไม้ผล
28	คอ 13	สาขาไม้ผล	1	1	0	1	1	1	3/8/2553 ไม้ผล

หมายเหตุ 1 = บันทึกภาพแล้ว 0 = ยังไม่ได้บันทึกภาพหรือบันทึกแล้วแต่ไม่สมบูรณ์

ดอ 20

ชอคออัน



DNA



ใบ ใบประกอบกว้าง เซนติเมตร ขาว เซนติเมตร ใบย่อย คู่ ขอบใบ ปลายใบ ฐานใบรูป

ช่อดอก

เพศดอก

ผล ผลติดปลายเดือนเมษายน เก็บเกี่ยวเดือนกรกฎาคม น้ำหนักผล 9.46 กรัม น้ำหนักเปลือก 1.97 กรัม

น้ำหนักเนื้อ 5.92 กรัม ผลกลมแป้น กว้าง 24.79 มิลลิเมตร ยาว 26.72 มิลลิเมตร ความหนาเปลือก 0.83

มิลลิเมตร ความหนาเนื้อ 5.11 มิลลิเมตร ปริมาณผลของแข็งที่ละลายน้ำได้ 17.11 ริกซ์

เมล็ดเมล็ดกลมแบนด้านข้าง ความกว้างเมล็ด 11.28 มิลลิเมตร ยาว 12.75 มิลลิเมตร น้ำหนักเมล็ด 1.57 กรัม

สีน้ำตาล - ดำ

ลักษณะเด่นประจำพันธุ์

ชื่อและที่มา

DNA

ภาพที่ 2 ตัวอย่างลักษณะประจำพันธุ์ ที่แสดงข้อมูลพร้อมภาพประกอบ ของลำไยพันธุ์ ดอ 20
(ข้อมูลที่เก็บยังไม่สมบูรณ์เรียบร้อยทุกลักษณะ ยังต้องตามเก็บข้อมูลอยู่)

1.2 แปลงรวบรวมพันธุ์ลำไยที่ชนะการประกวด

แปลงรวบรวมพันธุ์ลำไยที่ชนะการประกวด เป็นการต่อยอดจากผลงานการวิจัยของนางจิรนนท์ เสนานาญ ที่ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ซึ่งมีวัตถุประสงค์เพื่อรวบรวมพันธุ์ลำไยที่เคยได้รับรางวัลชนะเลิศ หรือรองอันดับ 1-3 มาไว้เพื่อศึกษาลักษณะการปรับตัว ของพันธุ์ลำไยดังกล่าวนอกพื้นที่ปลูกจริง ซึ่งในงานปรับปรุงพันธุ์ สามารถที่จะศึกษาเปรียบเทียบลักษณะการปรับตัวและการตอบสนองต่อสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน อันจะทำให้สามารถคัดเลือกพันธุ์เพื่อรับรองเป็นพันธุ์ใหม่ได้ต่อไป แต่งานศึกษาในช่วงแรกนี้ยังเป็นเพียงการศึกษาลักษณะการเจริญทางด้านกิ่งก้านใบ (vegetative growth) เป็นหลัก เนื่องจากยังเป็นต้นลำไยที่ยังมีอายุน้อย

แปลงรวบรวมพันธุ์ที่ชนะการประกวดดังกล่าวที่สามารถทำการติดต่อเจ้าของและขอขยายพันธุ์จากต้นแม่มาได้รวมจำนวน 14 รายการ แยกเป็นพันธุ์สีชมพู 2 รายการ พันธุ์เขียวเขียว 4 รายการ พันธุ์อู๊ดอ 5 รายการ และพันธุ์พวงทอง จำนวน 3 รายการ รวมจำนวนกิ่งพันธุ์ทั้งหมด 169 สายต้น แบ่งปลูกไว้ 2 พื้นที่ คือแปลงที่ 1 (70 สายต้น) สวนเกษตรกรบ้านเจดีย์เจริญ ต.แม่แฝกใหม่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ (เริ่มปลูก 1 กุมภาพันธ์ 2554) และแปลงที่ 2 (99 สายต้น) ที่แปลง 216 ไร่ สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ (เริ่มปลูก 22 ตุลาคม 2554) ปลูกโดยใช้ระยะชิด คือ 2x3 เมตร และ 3x3 เมตร สำหรับแปลงที่ 1 และ 2 ตามลำดับ โดยสรุปเป็นสายพันธุ์และสายต้นที่ปลูกรวบรวมไว้ในตารางที่ 2 ซึ่งลำไยพันธุ์ที่ชนะการประกวดดังกล่าว ปัจจุบันมีการเจริญเติบโตทางกิ่งก้านใบที่สมบูรณ์ มีความสูงทรงพุ่มประมาณ 1.5 - 3 เมตร แต่ยังไม่มีการออกดอกติดผลตามธรรมชาติ

ตารางที่ 2 ลำดับชื่อพันธุ์และจำนวนสายต้นลำไยพันธุ์ที่เคยได้รับรางวัลในการประกวดที่รวบรวมไว้
ในการศึกษาวิจัย ในพื้นที่งานทดลอง รวม 169 สายต้น

ลำดับที่	ชื่อพันธุ์	ลำดับที่ชนะ	ปีทีประกวด	จำนวนรวม(ต้น)	แปลงที่ 1 (ต้น)	แปลงที่ 2 (ต้น)	หมายเหตุผู้จัดประกวด
1	สีชมพู	ชนะเลิศอันดับ 1	2553, 2554	23	8	15	1
2	สีชมพู	ชนะเลิศอันดับ 1 ปี 2549 และที่ 3 ปี 2552	2549, 2552	14	4	10	1
3	เขียวเขียวเข้มใหม่	ชนะเลิศอันดับ 1 ปี 52	2552	12	4	8	1
4	เขียวเขียวเข้มใหม่	ชมเชย ปี 52	2552	12	4	8	1
5	เขียวเขียวเข้มใหม่	ชนะเลิศอันดับ 1 ปี 53	2553	9	4	5	1
6	เขียวเขียวเข้มใหม่	ชนะที่ 2 และ 3	2553	12	4	8	1
7	อีค่อ	ชนะเลิศอันดับ 1	2552	9	4	5	2
8	อีค่อ	ชนะเลิศอันดับ 1 และ 2	2551	10	6	4	1
9	อีค่อ	ชนะที่ 2	2553	9	5	4	1
10	อีค่อ	ชมเชย ปี 53	2553	9	5	4	1
11	อีค่อ	ชมเชย ปี 51	2551	8	4	4	1
12	พวงทอง	ไม่มีการประกวด	-	14	6	8	3
13	พวงทอง	ไม่มีการประกวด	-	14	6	8	4
14	พวงทอง	ไม่มีการประกวด	-	14	6	8	5
รวม				169	70	99	

หมายเหตุ

- 1 สำนักงานเกษตรจังหวัดลำพูนในงานเทศกาลลำไย สนับสนุนสินค้าไทย หนึ่งตำบล หนึ่งผลิตภัณฑ์ ลำพูน
- 2 งานวันลำไยอำเภอสารภีประจำปี 2552-2552 ณ โครงการตลาดกลางสินค้าเกษตร ม.3 ต.ยางเนิ้ง อ. สารภี จ.เชียงใหม่
- 3 สวนเกษตรกรอำเภอแม่แจ่ม จ.เชียงใหม่
- 4 สวนเกษตรกรอำเภอแม่ออน จ.เชียงใหม่
- 5 สวนเกษตรกรอำเภอเมือง จ.เชียงใหม่

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

การรวบรวมพันธุ์ลำไยในพื้นที่ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ได้ดำเนินการต่อเนื่องมาจากการรวบรวมพันธุ์ลำไยของแปลงสาขาไม้ผล ภาควิชาพืชสวน คณะผลิตกรรมการเกษตร ซึ่งแต่เดิมปลูกอยู่ในพื้นที่ของแปลงปฏิบัติงานสาขาไม้ผล หลังตึกคณะผลิตกรรมการเกษตร มีพันธุ์ลำไยรวบรวมไว้มากกว่า 50 สายพันธุ์ แต่ไม่ได้ใช้ประโยชน์จากแปลงรวบรวมพันธุ์ดังกล่าวในการปรับปรุงพันธุ์ลำไยแต่อย่างใด ต่อมามหาวิทยาลัยมีความจำเป็นต้องใช้พื้นที่ จึงมีการย้ายพันธุ์ลำไยไปปลูกไว้ที่พื้นที่ปฏิบัติงานสาขาไม้ผล ใกล้กับพื้นที่ของสำนักฟาร์มมหาวิทยาลัย ทำให้สายพันธุ์ลำไยมีการสูญหายและตายไปบ้าง ปัจจุบันเหลืออยู่ในการศึกษาครั้งนี้จำนวน 26 สายพันธุ์ แต่ยังไม่มีการตรวจสอบความเข้าชื้อของสายพันธุ์ แผนงานวิจัยนี้ จึงทำให้สามารถใช้ประโยชน์จากแปลงรวบรวมพันธุ์ได้อย่างคุ้มค่า และคาดหวังว่าจะสามารถผลิตหรือคัดเลือกพันธุ์ลำไยพันธุ์ใหม่ได้ต่อไปในอนาคต

แปลงรวบรวมพันธุ์ลำไยดังกล่าว อาจจะยังไม่สมบูรณ์แบบ ในการดำเนินงานต่อไป จำเป็นต้องมีการจัดเก็บข้อมูลอย่างเป็นระบบและแลกเปลี่ยนสายพันธุ์กับแหล่งรวบรวมพันธุ์แหล่งอื่นๆ ต่อไปเพื่อความยั่งยืนในการรักษาเชื้อพันธุ์ลำไยต่อไป

กิจกรรมที่ 2 การจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอและการจำแนกสายพันธุ์ (ผศ. ดร. แสงทอง พงษ์เจริญกิต)

ตัวอย่างพืชและอุปกรณ์

ตัวอย่างพืชที่ใช้

ในการวิจัยนี้ใช้ใบของลำไย จำนวน 25 สายพันธุ์ และลิ้นจี่ จำนวน 4 สายพันธุ์ เพื่อใช้ในการจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอและการจัดจำแนกพันธุ์ ดังตารางที่ 1 ซึ่งตัวอย่างลิ้นจี่นั้นจะใช้เป็น outgroup ที่ใช้แสดงความถูกต้องของการจำแนกพันธุ์

ตารางที่ 3 รายชื่อพันธุ์ลำไยและลิ้นจี่ ที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ รวมจำนวน 29 สายพันธุ์

ชื่อพันธุ์ลำไยที่ใช้ในการทดลอง							
ลำดับ	ชื่อพันธุ์	ลำดับ	ชื่อพันธุ์	ลำดับ	ชื่อพันธุ์	ลำดับ	ชื่อพันธุ์
1	คอก้านแข็ง	8	แดงกลม	15	คอ 75	22	น้ำผึ้งทวาย
2	กรอบกะทิ	9	แห้ว	16	คอรุ่มน้ำปิง	23	จัมโบ้
3	สีชมพู	10	ใบหยก	17	คอสุ่ม	24	ใบดำ
4	พวงทอง	11	คอยอดอ่อน	18	คอแก้วยี	25	ลำไยต้นหมื่น
5	เบี้ยวเขียว เชียงใหม่	12	คอ 13	19	บ้านโสง 60		
6	คอยอดแดง	13	คอ 20	20	ปุมาดินโค้ง		
7	คอ 27	14	คอหลวง	21	เพชรสาคร		
ชื่อพันธุ์ลิ้นจี่ที่ใช้ในการทดลอง							
1	จักรพรรดิ	2	สงฮวย	3	กิมเจง	4	บวิรสเตอร์

อุปกรณ์

1. เครื่องเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ (PCR thermocycler)
2. เครื่องปั่นเหวี่ยง
3. เครื่อง UV/Vis spectrophotometer
4. ชุด gel electrophoresis
5. ชุดถ่ายภาพดีเอ็นเอ
6. ชุด micropipette
7. โกร่งบด

วิธีการทดลอง

1. การสกัดดีเอ็นเอ

การสกัดดีเอ็นเอใช้วิธีการดัดแปลง CTAB โดยการบดตัวอย่างใบลำไย 100 กรัมในไนโตรเจนเหลว จากนั้นเติม สารละลาย modified CTAB buffer (mCTAB; 2% (w/v) CTAB, 1.4 M NaCl, 100 mM Tris-HCl, pH 8.0, 50 mM EDTA ,1% (w/v) PVP-40, และ 0.5% (w/v) sodium metabisulfite) ซึ่งมี 1% 2-mercaptoethanol ปริมาตร 500 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 นาทีโดยผสมให้เข้ากันทุก 10 นาที เมื่อครบเวลานำไปปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิห้อง ความเร็ว 12,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 นาที ย้ายเอาส่วนใสในหลอดใหม่ เติมเอนไซม์ RNase A ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 2 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส อย่างน้อย 30 นาที จากนั้นเติม Chloroform ปริมาตร 500 ไมโครลิตรแล้ว vortex เล็กน้อย นำปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิห้องความเร็ว 12,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที ย้ายชั้นน้ำด้านบนใสในหลอดใหม่ เติม 3M Na-acetate pH 5.2 ปริมาตร 1/10 เท่าแล้วเติม absolute ethanol เย็นปริมาตร 2 เท่าของสารละลาย (สังเกตเห็นตะกอนที่ขาวขุ่น) ผสมให้เข้ากัน นำไปเก็บที่ตู้แช่ -20 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ 30 นาที ถึงข้ามคืน นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ดูด absolute ethanol ทิ้งแล้วเติม ethanol ความเข้มข้น 70% ที่เย็นปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร เพื่อล้างตะกอนดีเอ็นเอ (ล้างตะกอนจำนวน 2 ครั้ง) นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที ตากตะกอนดีเอ็นเอที่ได้ให้แห้งแล้วละลายกลับด้วย 10 mM Tris-HCl pH 8.0 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร แล้วนำไปบ่มที่ 65 องศาเซลเซียส เพื่อให้ดีเอ็นเอละลาย จากนั้นวิเคราะห์คุณภาพของดีเอ็นเอที่สกัดได้ด้วยการทำ 1% agarose gel electrophoresis ให้กระแสไฟฟ้าคงที่ที่ 50 โวลต์ เป็นเวลา 90 นาที

2. การทำ Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)

การทำ RAPD เป็นการจำแนกสายพันธุ์ โดยอาศัยความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการทำ Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยไพรเมอร์ที่เข้าจับแบบสุ่มกับแม่พิมพ์ โดยจะเข้าไพรเมอร์เพียง 1 สายทำหน้าที่เป็นทั้ง forward primer และ reverse primer ซึ่งที่ใช้ในการทดลองนี้เป็นไพรเมอร์ที่ออกแบบจากบริเวณอนุรักษ์ของจุดจวดำในการตัดอินทรอน ที่มีรายงานว่าสามารถใช้ในการจัดจำแนกสายพันธุ์ลำไยได้ และ (Faqian Xiong และคณะ 2011) โดยลำดับดีเอ็นเอของไพรเมอร์ที่ใช้ในการทดลองนี้ จำนวน 10 ไพรเมอร์ คือ BPS1, BPS2, BPS3, BPS4, BPS5, BPS6, BPS7, BPS9, LA1 และ LA2 ดังตารางที่ 1.4

ในปฏิกิริยาการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR ใช้ปริมาตรสุดท้ายเป็น 20 ไมโครลิตร ที่มีองค์ประกอบเป็น 200 ไมโครโมลาร์ของ deoxyribonucleotide triphosphate, 1X PCR

buffer, 0.5 ไมโครโมลาร์ของไพรเมอร์ และดีเอ็นเอแม่พิมพ์ 100 นาโนกรัม โดยใช้สภาวะอุณหภูมิของแต่ละกลุ่มไพรเมอร์ดังนี้

สภาวะสำหรับไพรเมอร์: BPS1, BPS4, BPS9, LA1, LA2 คือ

ขั้นที่ 1 : 94 องศาเซลเซียส	4	นาที่
ขั้นที่ 2 : 94 องศาเซลเซียส	30	วินาที
ขั้นที่ 3 : 50 องศาเซลเซียส	1	นาที่
ขั้นที่ 4 : 72 องศาเซลเซียส	1.30	นาที่

ทำซ้ำขั้นที่ 2-4 จำนวน 35 รอบ

สภาวะสำหรับไพรเมอร์: BPS2, BPS3, BPS5, BPS6 คือ

ขั้นที่ 1 : 94 องศาเซลเซียส	4	นาที่
ขั้นที่ 2 : 94 องศาเซลเซียส	30	วินาที
ขั้นที่ 3 : 45 องศาเซลเซียส	1	นาที่
ขั้นที่ 4 : 72 องศาเซลเซียส	1.30	นาที่

ทำซ้ำขั้นที่ 2-4 จำนวน 35 รอบ

จากนั้นผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ไปวิเคราะห์ด้วยการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis โดยให้กระแสไฟฟ้าคงที่ที่ 100 โวลต์ เป็นเวลา 30- 40 นาที

ตารางที่ 4 ลำดับดีเอ็นเอของไพรเมอร์ที่ใช้ในการทดลอง (Faqian Xiong และคณะ 2011)

ไพรเมอร์	ลำดับดีเอ็นเอ (5'→ 3')
BPS1	GCGACGGTGTACTGAC
BPS2	GCGACGGTGTACTAAT
BPS3	TGAGTCCAACTAAC
BPS4	TGAGTCCAACTGAC
BPS5	TGAGTCCAACTAAT
BPS6	TGAGTCCAACTGAT
BPS7	GACTGCGTACGCTGAC
BPS9	TGAGTCCAACTAACATA
LA1	GCGACGGTGTACTAAC
LA2	CGTGCAGGTGTTAGTA

3. การสร้าง phylogenic tree

จากการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis นำผลแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏของแถบมาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม FreeTree (V Hampl, A Pavlicek, และ J Flegr. 2001) ซึ่งจะให้ข้อมูลการปรากฏของแถบดีเอ็นเอเป็น 1 และการไม่ปรากฏของแถบดีเอ็นเอ เป็น 0 เมื่อทำการสร้าง phylogenic tree แล้วจะนำไปเปิดด้วยโปรแกรม TreeView (Page, R. D. M. 1996) ต่อไป

ผลการทดลอง

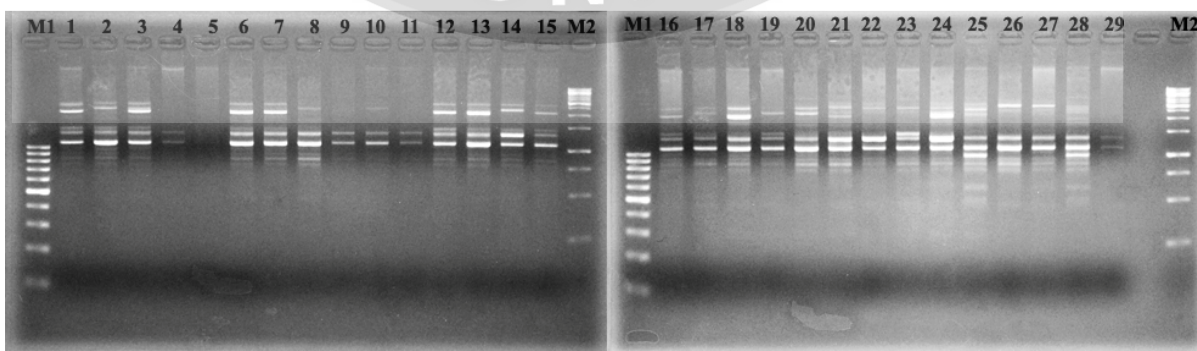
1. การสกัดดีเอ็นเอจากใบลำไย

การสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างใบลำไย จากการวิเคราะห์ด้วยการทำ 1% agarose gel electrophoresis พบว่าสกัดดีเอ็นเอที่มีคุณภาพดี และมีความเข้มข้น 1 -3 ไมโครกรัม/ไมโครลิตร จากนั้นนำดีเอ็นเอที่ได้ไปเจือจางให้มีความเข้มข้น 50 นาโนกรัม/ไมโครลิตร เพื่อนำไปใช้เป็นแม่พิมพ์ในการทำ PCR ในเทคนิค RAPD ต่อไป

2. การทำ RAPD

จากการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของลำไย จำนวน 25 สายพันธุ์ และลิ้นจี่ จำนวน 4 สายพันธุ์ จากไพรเมอร์ 10 ไพรเมอร์ ดังรูปที่ 1-10 ตัวอย่างเช่น ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของไพรเมอร์ BPS5 (รูปที่ 2.5) พบว่ามีแถบดีเอ็นเอจำนวน 6 แถบ ซึ่งทุกแถบแสดงความแตกต่างจากลำไย จำนวน 25 สายพันธุ์ แสดงค่า polymorphic band เป็น 100% ดังตารางที่ 3

การทำ RAPD ด้วยไพรเมอร์ทั้ง 10 ไพรเมอร์ ในกลุ่มลำไยจำนวน 25 สายพันธุ์ พบว่าแถบทั้งหมด 50 แถบ โดยเป็นแถบที่แสดงความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ของลำไย จำนวน 45 แถบ เมื่อคำนวณเป็น ค่าเฉลี่ย polymorphic เป็น 89.92% ดังตารางที่ 2.5

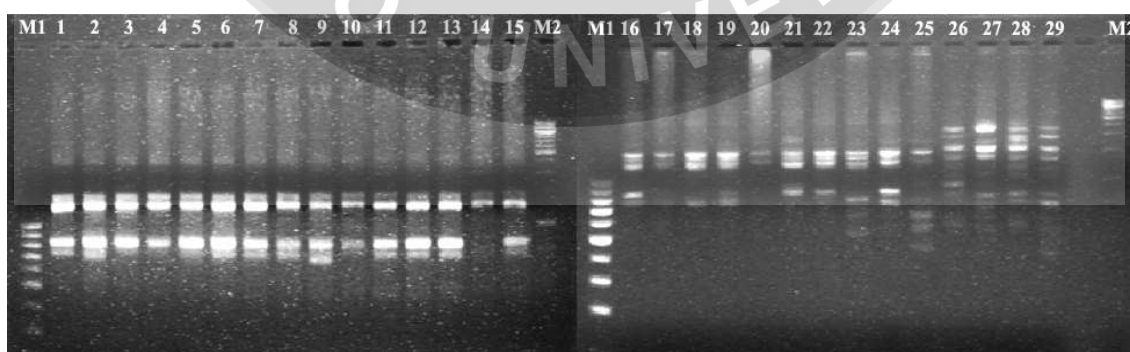


ภาพที่ 3 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพรเมอร์ BPS1 โดยที่ ช่อง M1 และ M2 คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 100 คู่เบส และ ดีเอ็นเอมาตรฐาน

ขนาด 1 กิโลเบส ตามลำดับ ส่วนช่อง 1-25 คือ ลำไยสายพันธุ์ คอก้านแข็ง, คอยอดแดง, คอ 27, คอยอดอ่อน, คอ 13, คอ 20, คอหลวง, คอ 75, คอลุ่มน้ำปิง, คอสุขุม, คอแก้วยี, ลำไยต้นหมื่น, กรอบกะทิ, สีชมพู, พวงทอง, เบี้ยวเขียว เชียงใหม่, แดงกลม, แห้ว, ใบหยก, บ้านโสัง 60, ปุ่มาตินโคง, เพชรสาคร, น้ำผึ้งทวาย, จัมโบ้ และ ใบคำ ตามลำดับ ส่วนช่อง 26-29 คือ ลิ้นจี่สายพันธุ์จักรพรรดิ, ฮงฮวย, กิมเจง และ บรืวสเตอร์ ตามลำดับ

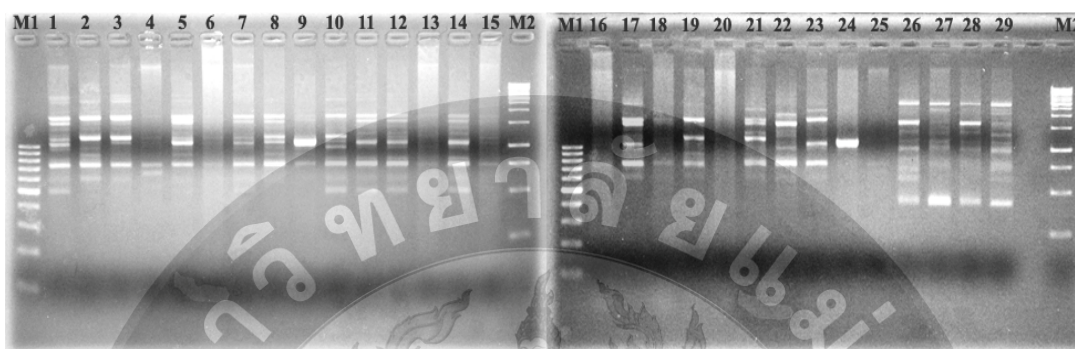


ภาพที่ 4 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพรเมอร์ BPS2 โดยที่ ช่อง M1 และ M2 คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 100 คู่เบส และ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 1 กิโลเบส ตามลำดับ ส่วนช่อง 1-25 คือ ลำไยสายพันธุ์ คอก้านแข็ง, คอยอดแดง, คอ 27, คอยอดอ่อน, คอ 13, คอ 20, คอหลวง, คอ 75, คอลุ่มน้ำปิง, คอสุขุม, คอแก้วยี, ลำไยต้นหมื่น, กรอบกะทิ, สีชมพู, พวงทอง, เบี้ยวเขียว เชียงใหม่, แดงกลม, แห้ว, ใบหยก, บ้านโสัง 60, ปุ่มาตินโคง, เพชรสาคร, น้ำผึ้งทวาย, จัมโบ้ และ ใบคำ ตามลำดับ ส่วนช่อง 26-29 คือ ลิ้นจี่สายพันธุ์จักรพรรดิ, ฮงฮวย, กิมเจง และ บรืวสเตอร์ ตามลำดับ

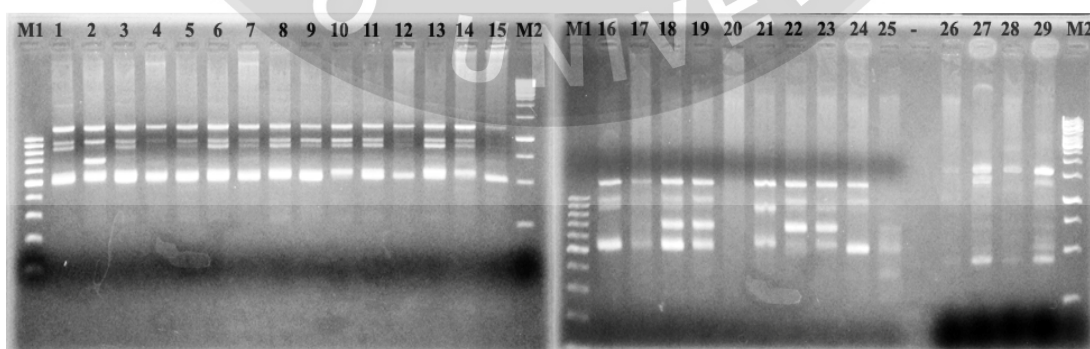


ภาพที่ 5 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพรเมอร์ BPS3 โดยที่ ช่อง M1 และ M2 คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 100 คู่เบส และ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 1 กิโลเบส ตามลำดับ ส่วนช่อง 1-25 คือ ลำไยสายพันธุ์ คอก้านแข็ง, คอยอดแดง, คอ

27, คอยอดอ่อน, คอ 13, คอ 20, คอหลวง, คอ 75, คอลุ่มน้ำปิง, คอสุขุม, คอแก้วชี่, ลำไยคันหมื่น, กรอบกะทิ, สีชมพู, พวงทอง, เปี้ยวเขียว เชียงใหม่, แดงกลม, แห้ว, ใบหยก, บ้านไธสง 60, ปุ่มาตินโถ้ง, เพชรสาคร, น้ำผึ้งทวาย, จัมโบ้ และ ใบคำ ตามลำดับ ส่วนช่อง 26-29 คือ ลิ่นจี่สายพันธุ์จักรพรรดิ, สงฮวย, กิมเจง และ บรวิสเตอร์ ตามลำดับ

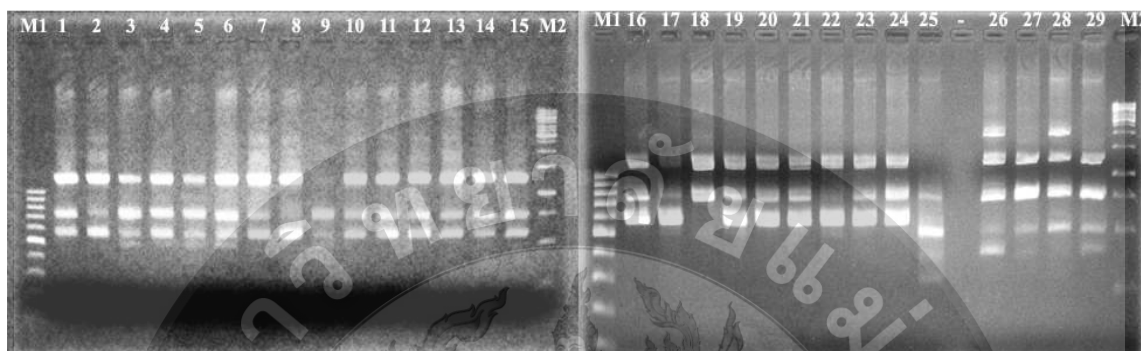


ภาพที่ 6 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพรเมอร์ BPS4 โดยที่ ช่อง M1 และ M2 คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 100 คู่เบส และ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 1 กิโลเบส ตามลำดับ ส่วนช่อง 1-25 คือ ลำไยสายพันธุ์ คอแก้วชี่, คอยอดแดง, คอ 27, คอยอดอ่อน, คอ 13, คอ 20, คอหลวง, คอ 75, คอลุ่มน้ำปิง, คอสุขุม, คอแก้วชี่, ลำไยคันหมื่น, กรอบกะทิ, สีชมพู, พวงทอง, เปี้ยวเขียว เชียงใหม่, แดงกลม, แห้ว, ใบหยก, บ้านไธสง 60, ปุ่มาตินโถ้ง, เพชรสาคร, น้ำผึ้งทวาย, จัมโบ้ และ ใบคำ ตามลำดับ ส่วนช่อง 26-29 คือ ลิ่นจี่สายพันธุ์จักรพรรดิ, สงฮวย, กิมเจง และ บรวิสเตอร์ ตามลำดับ

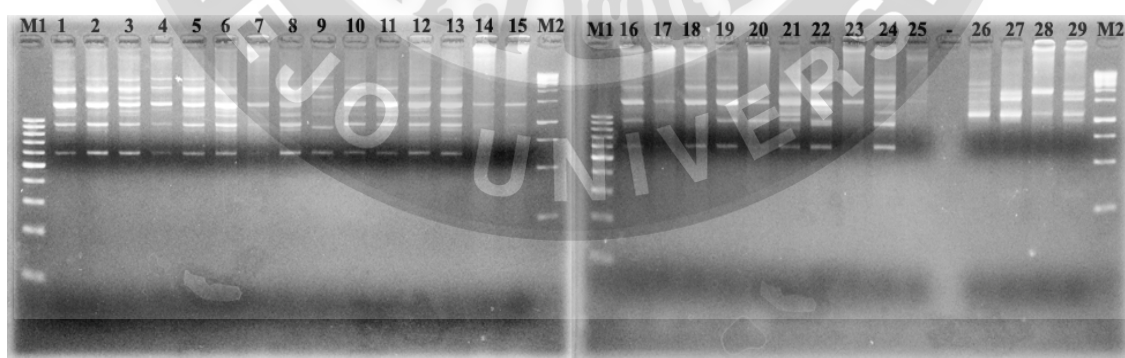


ภาพที่ 7 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพรเมอร์ BPS5 โดยที่ ช่อง M1 และ M2 คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 100 คู่เบส และ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 1 กิโลเบส ตามลำดับ ส่วนช่อง 1-25 คือ ลำไยสายพันธุ์ คอแก้วชี่, คอยอดแดง, คอ

27, คอยอคอ่อน, คอ 13, คอ 20, คอหลวง, คอ 75, คอลุ่มน้ำปิง, คอสุขุม, คอแก้วอี, ลำไยคันหมื่น, กรอบกะทิ, สีชมพู, พวงทอง, เบี้ยวเขียว เชียงใหม่, แดงกลม, แห้ว, ใบหยก, บ้านโสัง 60, ปุ่มาตินโค้ง, เพชรสาคร, น้ำผึ้งทวาย, จัมโบ้ และ ใบคำ ตามลำดับ ส่วนช่อง 26-29 คือ ลีนจีสายพันธุ์จักรพรรดิ, ฮงฮวย, กิมเจง และ บรวิสเตอร์ ตามลำดับ

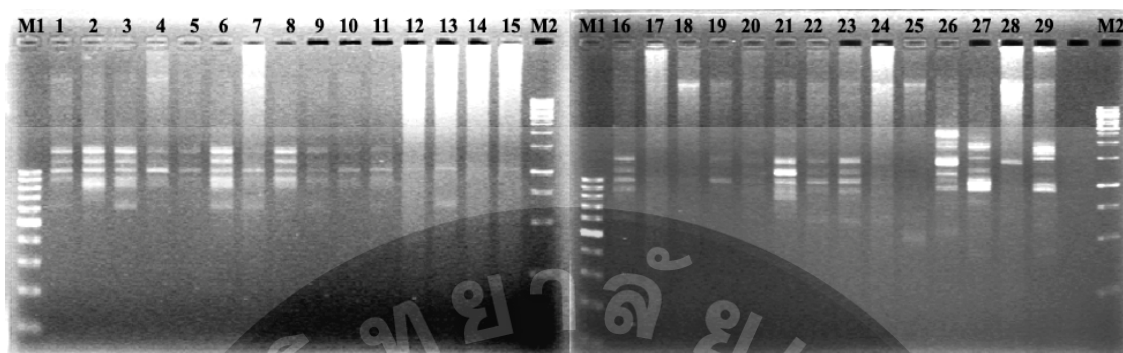


ภาพที่ 8 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพรเมอร์ BPS6 โดยที่ ช่อง M1 และ M2 คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 100 คู่เบส และ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 1 กิโลเบส ตามลำดับ ส่วนช่อง 1-25 คือ ลำไยสายพันธุ์ คอก้านแข็ง, คอยอคแดง, คอ 27, คอยอคอ่อน, คอ 13, คอ 20, คอหลวง, คอ 75, คอลุ่มน้ำปิง, คอสุขุม, คอแก้วอี, ลำไยคันหมื่น, กรอบกะทิ, สีชมพู, พวงทอง, เบี้ยวเขียว เชียงใหม่, แดงกลม, แห้ว, ใบหยก, บ้านโสัง 60, ปุ่มาตินโค้ง, เพชรสาคร, น้ำผึ้งทวาย, จัมโบ้ และ ใบคำ ตามลำดับ ส่วนช่อง 26-29 คือ ลีนจีสายพันธุ์จักรพรรดิ, ฮงฮวย, กิมเจง และ บรวิสเตอร์ ตามลำดับ



ภาพที่ 9 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพรเมอร์ BPS7 โดยที่ ช่อง M1 และ M2 คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 100 คู่เบส และ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 1 กิโลเบส ตามลำดับ ส่วนช่อง 1-25 คือ ลำไยสายพันธุ์ คอก้านแข็ง, คอยอคแดง, คอ 27, คอยอคอ่อน, คอ 13, คอ 20, คอหลวง, คอ 75, คอลุ่มน้ำปิง, คอสุขุม, คอแก้วอี, ลำไยคันหมื่น, กรอบกะทิ, สีชมพู, พวงทอง, เบี้ยวเขียว เชียงใหม่, แดงกลม, แห้ว, ใบหยก, บ้านโสัง

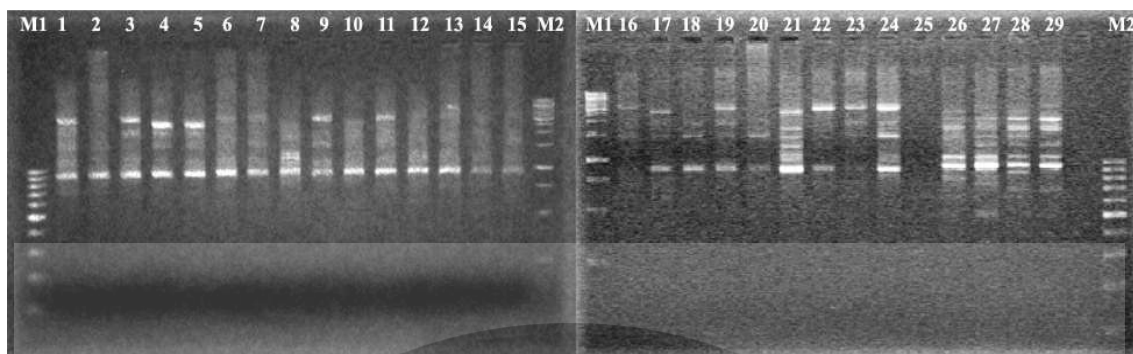
60, ปุ่มาตินไค้, เพชรสาคร, น้ำผึ้งทวาย, จัมโบ้ และ ใบคำ ตามลำดับ ส่วนช่อง 26-29 คือ ลิ่นจีสายพันธุ์จักรพรรดิ, สงฮวย, กิมเจง และ บรวิสเตอร์ ตามลำดับ



ภาพที่ 10 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพรเมอร์ BPS9 โดยที่ ช่อง M1 และ M2 คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 100 คู่เบส และ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 1 กิโลเบส ตามลำดับ ส่วนช่อง 1-25 คือ ลำไยสายพันธุ์ คอก้านแข็ง, คอยอดแดง, คอ 27, คอยอดอ่อน, คอ 13, คอ 20, คอหลวง, คอ 75, คอลุ่มน้ำปิง, คอสุขุม, คอแก้วชี่, ลำไยต้นหมื่น, กรอบกะทิ, สีชมพู, พวงทอง, เบี้ยวเขียว เชียงใหม่, แดงกลม, แห้ว, ใบหยก, บ้านโฮ้ง 60, ปุ่มาตินไค้, เพชรสาคร, น้ำผึ้งทวาย, จัมโบ้ และ ใบคำ ตามลำดับ ส่วนช่อง 26-29 คือ ลิ่นจีสายพันธุ์จักรพรรดิ, สงฮวย, กิมเจง และ บรวิสเตอร์ ตามลำดับ



ภาพที่ 11 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพรเมอร์ LA1 โดยที่ ช่อง M1 และ M2 คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 100 คู่เบส และ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 1 กิโลเบส ตามลำดับ ส่วนช่อง 1-25 คือ ลำไยสายพันธุ์ คอก้านแข็ง, คอยอดแดง, คอ 27, คอยอดอ่อน, คอ 13, คอ 20, คอหลวง, คอ 75, คอลุ่มน้ำปิง, คอสุขุม, คอแก้วชี่, ลำไยต้นหมื่น, กรอบกะทิ, สีชมพู, พวงทอง, เบี้ยวเขียว เชียงใหม่, แดงกลม, แห้ว, ใบหยก, บ้านโฮ้ง 60, ปุ่มาตินไค้, เพชรสาคร, น้ำผึ้งทวาย, จัมโบ้ และ ใบคำ ตามลำดับ ส่วนช่อง 26-29 คือ ลิ่นจีสายพันธุ์จักรพรรดิ, สงฮวย, กิมเจง และ บรวิสเตอร์ ตามลำดับ



ภาพที่ 12 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพรเมอร์ LA2 โดยที่ ช่อง M1 และ M2 คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 100 คู่เบส และ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 1 กิโลเบส ตามลำดับ ส่วนช่อง 1-25 คือ ลำไยสายพันธุ์ คอก้านแข็ง, คอยอดแดง, คอ 27, คอยอดอ่อน, คอ 13, คอ 20, คอหลวง, คอ 75, คอลุ่มน้ำปิง, คอสุขุม, คอแก้วยี, ลำไยต้น หมื่น, กรอบกะทิ, สีชมพู, พวงทอง, เปี้ยวเขียว เชียงใหม่, แดงกลม, แห้ว, ใบหยก, บ้านโฮ้ง 60, ปุ่มาตินโค้ง, เพชรสาคร, น้ำผึ้งทวาย, จัมโบ้ และ ใบคำ ตามลำดับ ส่วนช่อง 26-29 คือ ลีนจีสายพันธุ์จักรพรรดิ, สงฮวย, กิมเจง และ บรวิสเตอร์ ตามลำดับ

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์ความแตกต่างของแต่ละไพรเมอร์ที่ใช้ในการทดลอง

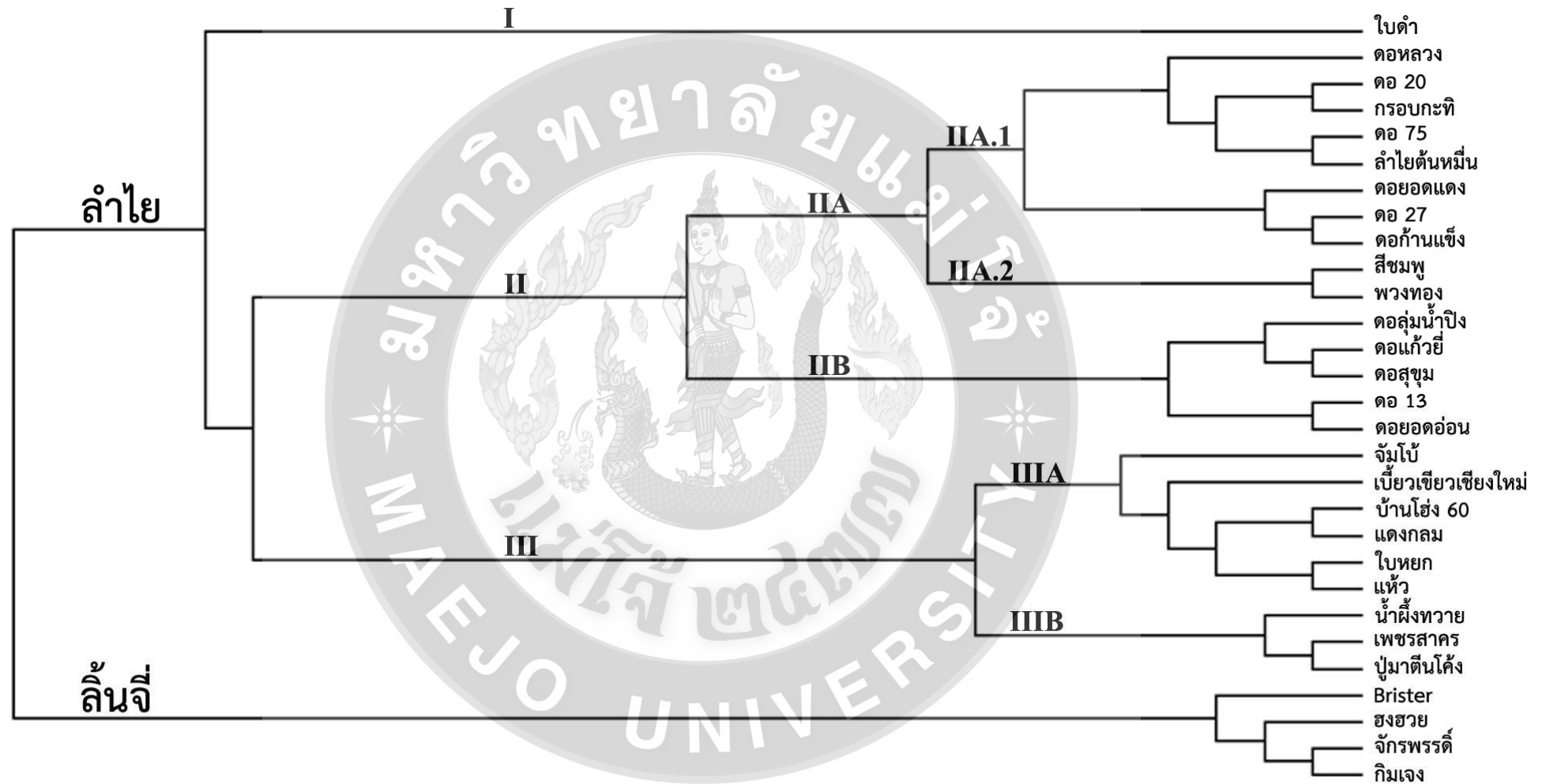
ไพรเมอร์	จำนวนแถบ ทั้งหมด	จำนวนแถบที่เป็น polymorphic	% polymorphic
BPS1	7	6	85.7
BPS2	8	7	87.5
BPS3	4	2	50.0
BPS4	6	6	100.0
BPS5	6	6	100.0
BPS6	4	3	75.0
BPS7	6	6	100.0
BPS9	3	3	100.0
LA1	2	2	100.0
LA2	4	4	100.0
เฉลี่ย/ไพรเมอร์	5.0	4.5	89.92
รวม	50	45	-

3.การสร้าง phylogenic tree

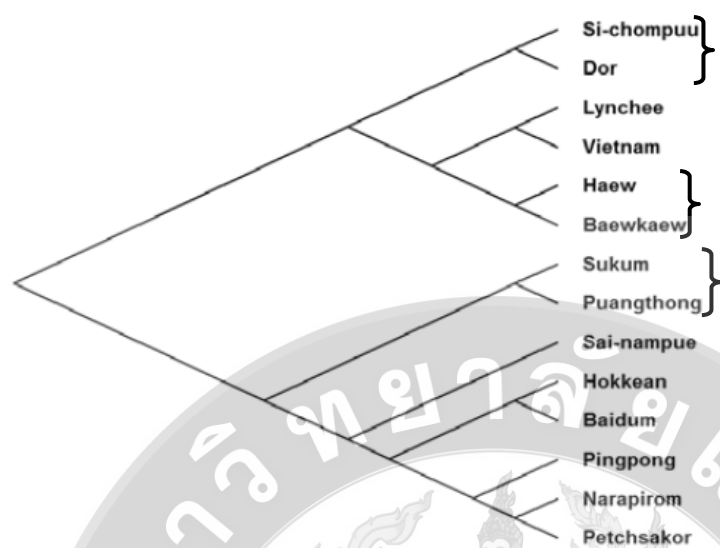
จากการสร้าง phylogenic tree จากข้อมูล RAPD ของทั้ง 10 ไพรเมอร์ สามารถจัดกลุ่มลีนจีแยกออกจากลำไยได้อย่างชัดเจน โดยจากลำไย จำนวน 25 สายพันธุ์ สามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มหลัก คือ กลุ่มที่ I กลุ่มที่ II ที่สามารถแบ่งย่อย 3 กลุ่มย่อย ได้แก่ IIA.1, IIA.2 และ IIB และกลุ่มที่ III ที่แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อย ได้แก่ IIIA และ IIIB ดังรูปที่ 1.13 ซึ่งสายพันธุ์ในแต่ละกลุ่ม ดังแสดงในตารางที่ 4 ซึ่งจะพบว่ากลุ่ม I นั้น มีเพียงลำไยพันธุ์ใบดำ กลุ่ม II นั้น เป็นกลุ่มลำไยสายพันธุ์ คอต่างๆ โดยที่ ลำไยสีชมพูและพวงทอง จัดเป็นกลุ่มย่อย IIA.2 ในกลุ่มย่อยนี้ด้วยเช่นกัน ซึ่งการจัดกลุ่ม II นี้พบว่าเหมือนกับการจัดกลุ่มลำไยของ Rungrach Wangspa และคณะ 2005 (รูปที่ 1.14) ที่จัดกลุ่มสีชมพูรวมกับคอ และจัดกลุ่มพวงทอง กับคอ สุขุม ส่วนกลุ่ม III นั้นผลการจัดกลุ่มเหมือนกับ Rungrach Wangspa และคณะ 2005 ที่จัดกลุ่มแก้วในกลุ่มเดียวกับเขียวเขียว

ตารางที่ 6 การจัดจำแนกสายพันธุ์ลำไยด้วยเทคนิค RAPD

กลุ่ม			สายพันธุ์ในกลุ่ม
I			ใบดำ
II	IIA	IIA.1	คอหลวง, คอ 20, กรอบกะทิ, คอ 75, ลำไยต้นหมื่น, คอชอคแดง, คอ 27, และ คอถ่านแจ้ง
		IIA.2	สีชมพู และ พวงทอง
	IIB		คอหมู่น้ำปิง, คอแก้วี, คอสุขุม, คอ 13 และ คอชอคอ่อน
III	IIIA		จัมโบ้, เขียวเขียว เชียงใหม่, บ้านโอง 60, แดงกลม, ใบหยก และ แก้ว
	IIIB		น้ำผึ้งทวาย, เพชรสาคร และ ปุ่มาตินโค้ง



ภาพที่ 13 Phylogenetic tree ของตัวอย่างลำไยและลิ้นจี่ จำนวน 29 สายพันธุ์



ภาพที่ 14 ผลการจัดจำแนกสายพันธุ์ลําไย จำนวน 14 สายพันธุ์ (Rungrach Wangspa และคณะ 2005)

จากค่าความเหมือนทางพันธุกรรมของลําไย ดังแสดงในตารางที่ 5 ไม่มีลําไยใดแสดงค่าความเหมือนเป็น 1.0 แสดงให้ทราบว่าตัวอย่างที่ใช้ในการทดลองไม่มีตัวอย่างที่ซ้ำกัน และจากค่าความเหมือนสูงสุดของพันธุ์ลําไยเป็น 0.94 เป็นค่าของความเหมือนระหว่าง ลําไยพันธุ์ ดอกก้านแข็ง กับพันธุ์ ดอก 27 แสดงว่าลําไยทั้ง 2 สายพันธุ์นี้มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกันมากที่สุดและมากกว่าสายพันธุ์อื่นๆ

ตารางที่ 7 ค่าความเหมือนทางพันธุกรรมของลำไยและลิ้นจี่ จำนวน 25 และ 4 สายพันธุ์ ตามลำดับ

	คอ ยอด อ่อน	คอ ก้าน แข็ง	คอ 13	ปุม ดิน โค้ง	สี ชมพู	น้ำ ผึ้ง ทวาย	คอ 20	สง ฮวย	จัม โบ้	เบ๊ ขาว เขียว ใหม่	คอ 27	กิม เจง	แดง กลม	ใบ หยก	ใบ ดำ	คอ ดุ่ม น้ำ ปิง	คอ แก้ว อี	บ้าน ไสง 60	คอ 75	เพชร สาคร	จักรพร รติ	กรอบ กะทิ	ลำไย คัน หมื่น	แก้ว	Brister	พวง ทอง	คอ ยอด แดง	คอ สุชุม
คอ ยอดอ่อน																												
คอ ก้านแข็ง	0.82																											
คอ 13	0.90	0.86																										
ปุมดินโค้ง	0.71	0.77	0.72																									
สีชมพู	0.77	0.86	0.77	0.75																								
น้ำผึ้งทวาย	0.69	0.82	0.73	0.79	0.76																							
คอ 20	0.86	0.88	0.84	0.78	0.84	0.74																						
สงฮวย	0.49	0.51	0.45	0.64	0.51	0.53	0.50																					
จัมโบ้	0.72	0.76	0.70	0.85	0.73	0.72	0.79	0.54																				
เบ๊ขาวเขียวใหม่	0.77	0.78	0.75	0.72	0.71	0.77	0.78	0.41	0.79																			
คอ 27	0.87	0.94	0.87	0.81	0.87	0.80	0.92	0.51	0.77	0.76																		
กิมเจง	0.57	0.57	0.55	0.65	0.52	0.57	0.57	0.84	0.60	0.52	0.55																	
แดงกลม	0.64	0.73	0.62	0.77	0.73	0.75	0.70	0.50	0.75	0.77	0.71	0.52																
ใบหยก	0.74	0.78	0.75	0.78	0.78	0.80	0.75	0.49	0.85	0.85	0.79	0.59	0.81															
ใบดำ	0.32	0.44	0.30	0.47	0.43	0.51	0.39	0.43	0.48	0.42	0.42	0.42	0.56	0.50														
คอ ดุ่มน้ำปิง	0.87	0.89	0.91	0.72	0.78	0.74	0.84	0.49	0.71	0.75	0.87	0.56	0.63	0.76	0.38													
คอ แก้วอี	0.88	0.92	0.91	0.76	0.82	0.78	0.87	0.48	0.74	0.79	0.88	0.58	0.68	0.76	0.36	0.91												
บ้านไสง 60	0.64	0.63	0.55	0.73	0.73	0.71	0.70	0.53	0.81	0.73	0.68	0.55	0.79	0.77	0.46	0.56	0.58											
คอ 75	0.86	0.91	0.90	0.81	0.87	0.76	0.94	0.50	0.79	0.78	0.92	0.59	0.70	0.81	0.39	0.90	0.93	0.67										
เพชรสาคร	0.81	0.81	0.79	0.87	0.79	0.87	0.82	0.56	0.80	0.79	0.85	0.60	0.75	0.85	0.40	0.79	0.80	0.75	0.82									
จักรพรรดิ	0.59	0.59	0.54	0.69	0.54	0.56	0.61	0.83	0.65	0.54	0.57	0.91	0.57	0.58	0.44	0.56	0.57	0.57	0.59	0.62								
กรอบกะทิ	0.84	0.86	0.82	0.76	0.85	0.72	0.99	0.48	0.80	0.76	0.90	0.55	0.71	0.76	0.40	0.82	0.86	0.71	0.93	0.80	0.59							
ลำไยคันหมื่น	0.80	0.93	0.84	0.78	0.90	0.76	0.92	0.47	0.79	0.75	0.89	0.54	0.73	0.78	0.43	0.84	0.93	0.67	0.94	0.79	0.56	0.93						
แก้ว	0.68	0.70	0.66	0.73	0.75	0.74	0.73	0.55	0.80	0.76	0.71	0.59	0.78	0.89	0.49	0.63	0.65	0.81	0.73	0.80	0.61	0.74	0.73					
Brister	0.52	0.56	0.51	0.61	0.54	0.53	0.55	0.82	0.64	0.50	0.54	0.82	0.53	0.60	0.47	0.55	0.53	0.56	0.55	0.59	0.86	0.56	0.55	0.63				
พวงทอง	0.79	0.82	0.72	0.70	0.86	0.75	0.86	0.48	0.74	0.76	0.80	0.55	0.78	0.77	0.48	0.73	0.77	0.75	0.83	0.74	0.61	0.87	0.86	0.74	0.57			
คอ ยอดแดง	0.83	0.93	0.84	0.78	0.84	0.82	0.89	0.47	0.79	0.75	0.92	0.54	0.73	0.78	0.43	0.84	0.87	0.67	0.92	0.82	0.56	0.87	0.92	0.73	0.53	0.86		
คอ สุชุม	0.88	0.89	0.88	0.76	0.85	0.75	0.85	0.54	0.71	0.73	0.88	0.58	0.64	0.74	0.32	0.91	0.94	0.61	0.90	0.80	0.57	0.83	0.87	0.65	0.53	0.71	0.82	
คอ หลวง	0.79	0.90	0.83	0.77	0.89	0.82	0.91	0.49	0.75	0.81	0.92	0.56	0.76	0.81	0.45	0.84	0.87	0.69	0.91	0.81	0.58	0.90	0.91	0.75	0.54	0.89	0.91	0.81

กิจกรรมที่ 3 การผสมพันธุ์ลำไย เพื่อสร้างลูกผสม (ผศ. ฉันทนา วิชรรัตน์)

อุปกรณ์และวิธีการ

ต้นลำไยพันธุ์ต่างๆ ในแปลงรวบรวมพันธุ์ และบางส่วนขยายพันธุ์ปลูกไว้ในกระถาง เพื่อความสะดวกในการดำเนินงาน อุปกรณ์ต่างๆ ที่จำเป็นสำหรับการผสมพันธุ์ลำไยได้แก่ ปากคีบ ลูกตาข่าย ลวด ป้ายพลาสติก (tag) ดินสอ 2B กล้องพลาสติก และแอลกอฮอล์ 75% สำหรับทำความสะอาดอุปกรณ์ การผสมลำไยสามารถดำเนินการได้ดังนี้

1. การเลือกช่อดอกตัวเมีย ให้เลือกช่อดอกที่มีความสมบูรณ์แข็งแรง และช่อดอกที่มีดอกตัวเมียบาน โดยทำการเด็ดดอกตัวเมื่อกิ่งให้เหลือไว้ช่อละ 15-20 ดอก ถ้ามีดอกตัวผู้บานพร้อมกันให้เด็ดดอกตัวผู้ทิ้งให้หมด แล้วคลุมด้วยถุงตาข่ายมดปากถุงให้แน่น เพื่อป้องกันแมลงบินเข้าไป
2. การเลือกดอกตัวผู้ เลือกช่อที่มีความแข็งแรงแล้วคลุมด้วยถุงตาข่ายไว้ จะทำการเก็บเกสรตัวผู้ที่บ้านจากต้นในตอนเช้าเวลาประมาณ 07.00 -9.00 น. ถ้าดอกตัวผู้ไม่บาน ให้นำไปบ่มด้วยความร้อนจากหลอดไฟขนาด 40 วัตต์ เมื่อละอองเกสรเริ่มแตกก็สามารถนำไปใช้ได้
3. วิธีการผสมข้าม นำละอองเกสรตัวผู้ที่แตกแล้วไปแตะบนยอดเกสรตัวเมีย ซึ่งเกสรตัวเมียที่พร้อมจะได้รับการผสมจะมีน้ำหวานเหนียวๆ ไหลออกมาบริเวณฐานรองดอก
4. เมื่อผสมเสร็จแล้ว ให้ใช้ถุงตาข่ายคลุมไว้เหมือนเดิม มดปากถุงให้แน่น พร้อม กับเขียน tag โดยระบุชื่อพ่อและแม่พันธุ์ วันที่ผสม

ผลการทดลอง

จากการผสมลำไยสามารถผสมพันธุ์ลำไยได้ทั้งหมด 16 คู่ผสม มีจำนวนเมล็ดที่ผสมทั้งหมด 148 เมล็ด ดังนี้ (กรอบกะทิ x ดอกก้านแข็ง) F_1 (ดอ13 x ดอกม้วนน้ำปิ้ง) F_1 (ดอ13 x เปี้ยวเขียวเขียวใหม่) F_1 (ดอ20 x ดอกก้านแดง) F_1 (ดอ27 x ดอกก้านแข็ง) F_1 (ดอ27 x สีชมพู) F_1 (ดอกก้านแข็ง x ดอยอดอ่อน) F_1 (ดอกก้านแข็ง x สีชมพู) F_1 (ดอกก้านแดง x ดอ13) F_1 (ดอยอดอ่อน x ดอกก้านแข็ง) F_1 (ดอหลวง x ดอกก้านแข็ง) F_1 (เปี้ยวเขียวเขียวใหม่ x ดอกก้านแข็ง) F_1 (ใบคำ x ดอกก้านแข็ง) F_1 (พวงทอง x ดอกก้านแข็ง) F_1 (สีชมพู x ดอกก้านแข็ง) F_1 และ (สีชมพู x Kohala) F_1 ดังตารางที่ 2.8

ตารางที่ 8 แสดงคู่ผสมลำไยที่ได้จากการผสมข้ามสายพันธุ์

ลำดับ	คู่ผสม	วันที่ผสม	จำนวนเมล็ด
1	กรอบกะทิ-1 x ดอกก้านแข็ง-7	19/4/55	5
2	ดอ13-6 x ดอกม้วนน้ำปิ้ง-8	29/3/55	7
5	ดอ13-6 x เปี้ยวเขียวเขียวใหม่-3	30/3/55	3
6	ดอ20-2 x ดอกก้านแดง-2	1/4/55	3

ลำดับ	คู่ผสม	วันที่ผสม	จำนวนเมล็ด
7	คอ20-2 x คอก้านแดง-2	2/4/55	1
8	คอ-27-1 x คอก้านแข็ง-7	10/4/55	7
9	คอ-27-1 x คอก้านแข็ง-7	10/4/55	1
10	คอ-27-1 x คอก้านแข็ง-7	10/4/55	1
11	คอ-27-1 x คอก้านแข็ง-7	10/4/55	5
12	คอ-27-1 x คอก้านแข็ง-7	10/4/55	14
13	คอ-27-1 x คอก้านแข็ง-7	8/4/55	7
14	คอ-27-1 x คอก้านแข็ง-7	9/4/55	4
16	คอ-27-1 x คอก้านแข็ง-7	30/3/55	3
17	คอ-27-1 x คอก้านแข็ง-7	2/4/55	1
18	คอ-27-1 x คอก้านแข็ง-7	30/3/55	1
19	คอ-27-1 x คอก้านแข็ง-7	30/3/55	1
22	คอ-27-1 x สีชมพู-12	12/4/55	5
24	คอ-27-1 x สีชมพู-12	12/4/55	2
25	คอก้านแข็ง-7 x คอยอดอ่อน	2/5/55	5
26	คอก้านแข็ง-6 x สีชมพู-8	3/1/55	2
27	คอก้านแข็ง-7 x สีชมพู-12	24/4/55	9
28	คอก้านแข็ง-7 x สีชมพู-12	24/4/55	1
29	คอก้านแดง-2 x คอ-13-6	30/3/55	1
30	คอก้านแดง-2 x คอ-13-6	30/3/55	1
31	คอก้านแดง-2 x คอ-13-6	31/3/55	1
32	คอก้านแดง-2 x คอ-13-6	31/3/55	1
33	คอยอดอ่อน-1 x คอก้านแข็ง-7	21/4/55	1
34	คอหลวง-2 x คอก้านแข็ง-7	10/4/55	1
35	คอหลวง-2 x คอก้านแข็ง-7	10/4/55	1
36	เบี้ยวเขียวเขียงใหม่-6 x คอก้านแข็ง-7	21/4/55	9
37	ใบดำ-4 x คอก้านแข็ง-7	9/5/55	1
38	พวงทอง-5 x คอก้านแข็ง-7	9/4/55	8
39	พวงทอง-7 x คอก้านแข็ง-7	29/3/55	14

ลำดับ	คู่ผสม	วันที่ผสม	จำนวนเมล็ด
40	พวงทอง-9 x ดอกก้านแข็ง-7	12/4/55	1
41	พวงทอง-9 x ดอกก้านแข็ง-7	12/4/55	1
42	สีชมพู-10 x ดอกก้านแข็ง	1/2/55	2
43	สีชมพู-12 x ดอกก้านแข็ง	00/4/55	9
44	สีชมพู-7 x ดอกก้านแข็ง-8	26/3/55	7
46	สีชมพู-8 x Kohala	4/2/55	1
	รวม		148

จากนั้นนำเมล็ดของลำไยลูกผสมไปทำการเพาะเมล็ดเมื่อมีอายุ 16 สัปดาห์ พบว่ามีพันธุ์ลำไยที่งอกเป็นต้นอ่อนทั้งหมด 12 คู่ผสม มีจำนวนเมล็ดที่ผสมทั้งหมด 61 เมล็ด (ตาราง 2.9)

ตารางที่ 9 แสดงอัตราการงอกของคู่ผสมลำไยที่ได้จากการผสมข้ามสายพันธุ์

ลำดับ	คู่ผสม	จำนวนเมล็ด	เปอร์เซ็นต์การงอก (%)
1	กรอบกะทิ x ดอกก้านแข็ง	0	0
2	ดอ13 x ดอกกลุ่มน้ำปิง	5	71.43
3	ดอ13 x เบี้ยวเขียวเชียงใหม่	0	0
4	ดอ20 x ดอกก้านแดง	2	50
5	ดอ-27 x ดอกก้านแข็ง	14	31.11
6	ดอ-27 x สีชมพู	3	42.86
7	ดอกก้านแข็ง x ดอยดออ่อน	4	80
8	ดอกก้านแข็ง x สีชมพู	5	41.67
9	ดอกก้านแดง x ดอ-13	3	75
10	ดอยดออ่อน x ดอกก้านแข็ง	0	0
11	ดอหลวง x ดอกก้านแข็ง	1	50
12	เบี้ยวเขียวเชียงใหม่ x ดอกก้านแข็ง	1	11.11
13	ใบดำ x ดอกก้านแข็ง	0	0
14	พวงทอง x ดอกก้านแข็ง	12	50
15	สีชมพู x ดอกก้านแข็ง	9	56.25
16	สีชมพู x Kohala	1	100

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาและทดลองผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์ของลำไยมีวิธีการสกัดละอองเกสร (extraction of pollen grains) ของต้นพ่อ โดยการนำไปบ่มด้วยความร้อนจากหลอดไฟขนาด 40 วัตต์ ซึ่งต่างจากการทดลองของวัฒนา (2512) ที่ศึกษาการวิธีการผสมเกสรของลำไยโดยทำการสกัดละอองเกสรตัวผู้โดยใช้เข็มเย็บละอองเกสรออกจากอับละออง แต่พบว่าการสกัดละอองเกสรด้วยวิธีนี้สามารถประสบความสำเร็จในการผสมเกสรของลำไยได้เช่นกัน และการศึกษาเปอร์เซ็นต์การงอกของลำไยลูกผสมพบว่ามีลูกผสมจำนวน 1 คู่ คือ ชมพู x Kohala มีเปอร์เซ็นต์การงอก 100 เปอร์เซ็นต์ เหมือนกับทวีสิน (2554) ที่ทำการปรับปรุงพันธุ์ลำไยโดยการการผสมพันธุ์ โดยพบว่ามีบางคู่ผสมที่มีเปอร์เซ็นต์การงอก 100 เปอร์เซ็นต์ได้แก่ หยก x ชมพู เบี้ยวเขียว x ชมพู ทะวาย x เบี้ยวเขียว และสีชมพู x แห้ว และพบว่าบางคู่ผสมในการทดลองมีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำกว่า ได้แก่ คอหลวง x ดอกก้านแข็ง มีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ เบี้ยวเขียวเชียงใหม่ x ดอกก้านแข็ง มีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำกว่า 65.2 เปอร์เซ็นต์ และ ชมพู x ดอกก้านแข็ง 37.66 เปอร์เซ็นต์

อย่างไรก็ตามในการทดลองผสมครั้งนี้ ลูกผสม F1 ที่ได้ ยังไม่ได้ดำเนินการตรวจสอบความเป็นลูกผสมในห้องปฏิบัติการแต่อย่างใด ซึ่งในการดำเนินงานต่อไป จะต้องดำเนินการคัดเลือกลูกผสมที่เป็นลูกผสมข้ามมาใช้ในการดำเนินงานต่อ ซึ่งสามารถทดสอบได้โดยใช้ระบบ marker ของห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพต่อไป

สรุปผลการทดลอง

จากการผสมข้ามพันธุ์ลำไยสามารถผสมพันธุ์ลำไยได้ทั้งหมด 16 คู่ผสม มีจำนวนเมล็ดที่ผสมทั้งหมด 148 เมล็ด และเมื่อนำเมล็ดของลำไยลูกผสมไปทำการเพาะเมล็ดเมื่อมีอายุ 16 สัปดาห์ พบว่ามีพันธุ์ลำไยที่งอกเป็นต้นอ่อนทั้งหมด 12 คู่ผสม มีจำนวนเมล็ดที่ผสมทั้งหมด 61 เมล็ด ซึ่งคู่ผสมที่มีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำสุดคือ กรอบกะทิ x ดอกก้านแข็ง คอ 13 x เบี้ยวเขียว เชียงใหม่ คอยอดอ่อน x ดอกก้านแข็ง และใบคำ x ดอกก้านแข็ง ไม่มีเปอร์เซ็นต์การงอก ส่วนคู่ผสมที่มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุดคือ ชมพู x Kohala มีเปอร์เซ็นต์การงอก 100 เปอร์เซ็นต์

จำนวนต้นของลูกผสมที่ได้นั้นพบว่าคู่ผสมที่มีจำนวนต้นมากที่สุด ได้แก่ คอ 27 x ดอกก้านแข็ง คือ จำนวน 14 ต้น ส่วนคู่ผสมที่มีต้นจำนวนน้อยที่สุด ได้แก่ คอหลวง x ดอกก้านแข็ง เบี้ยวเขียว เชียงใหม่ x ดอกก้านแข็ง และ สีชมพู x Kohala คือ จำนวน 1 ต้น

กิจกรรมที่ 4 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อลำไยและการชักนำการเกิดต้น (รศ. ดร. นพพนัธิ์ โทบุญญานนท์) การเพาะเลี้ยงและชักนำให้เกิดขึ้นของลำไยลูกผสม

In Vitro Culture as a Tool for Investigation of Longan Seed Development for Breeding Program in Thailand

บทคัดย่อ

งานปรับปรุงพันธุ์ไม้ผลโดยเฉพาะลำไยยังเป็นเรื่องที่ทำทายนักปรับปรุงพันธุ์ เนื่องจากต้องใช้เวลาในการทำการปรับปรุงนานกว่า 10 ปี ตั้งแต่การใช้เมล็ดพันธุ์ลูกผสมมาเพาะเมล็ดเพื่อประเมินคุณลักษณะของต้นและผลผลิต การร่นระยะเวลาการปรับปรุงให้สั้นที่สุดจะช่วยให้งานการปรับปรุงพันธุ์ลำไยประสบผลสำเร็จมากขึ้น นอกจากนี้ยังพบปัญหาการร่วงของเมล็ดก่อนที่จะนำมาใช้ในการวิจัยปรับปรุงพันธุ์ เทคนิคการเพาะเลี้ยงตัวอ่อน (Zygotic embryo) หรือเมล็ดอ่อนในสภาพปลอดเชื้อถูกนำมาใช้เพื่อร่นระยะเวลาการปรับปรุงพันธุ์ในพืชหลายชนิด ดังนั้นในการวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาระยะการเจริญเติบโตของเมล็ดลำไย (different developmental stages of embryo) พันธุ์ลูกผสม โดยได้ศึกษาระยะการพัฒนาของตัวอ่อน 3 ระยะ ได้แก่ ระยะหลังจากการติดผล 9, 12 และ 18 สัปดาห์ของพันธุ์คอ ผลลำไยในระยะเมล็ดขนาดเล็กไม่ได้เลาะเปลือกออกเนื่องจากเปลือกแข็งและผลมีขนาดเล็ก ส่วนผลระยะการเจริญเติบโตที่มากขึ้นนำมาเลาะเปลือกและเนื้อออก ให้เหลือเพียงเมล็ดลำไยที่มีสีขาวและสีดำตามลำดับ จากนั้นนำชิ้นส่วนทั้งหมดไปฟอกฆ่าเชื้อด้วย ethanol 70% เช้า 30 วินาที แล้วเท ethanol ที่จกนั้นเติม mercuric chloride 0.1% เช้า นาน 5 นาที หลังจากนั้นเททิ้ง ทำการล้างเมล็ดลำไยด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 3 ครั้ง เมื่อฟอกฆ่าเชื้อแล้ว นำเมล็ดลำไยมาทำการตัดบริเวณที่ถูกฟอกออกเล็กน้อย (ถ้าตัดออกมากจะโดนส่วนของเนื้อเยื่อเจริญ) และนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งหรืออาหารเหลวในไบโอรีแอคเตอร์ (TIB) อาหารสูตร Murashige and Skoog (1962) ที่มีการเติมซูโครส 30 กรัมต่อลิตร IBA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 10 % หลังจากเพาะเลี้ยงนาน 1 สัปดาห์พบว่า เมล็ดที่ไม่มีการเลาะเปลือกออกจะเกิดสารประกอบฟิโนลิกเกิดขึ้นห่อหุ้มเมล็ดจนตายในที่สุด ส่วนเมล็ดที่มีระยะการเจริญเติบโตถัดมาไม่เกิดสารประกอบฟิโนลิก และสามารถงอกออกมาเป็นต้นได้ง่ายและเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์เมื่อย้ายกล้าลงกระถางในเรือนโรงต้นกล้าสามารถเจริญเติบโตได้ดี ผลการวิจัยพบว่า เมล็ดที่มีอายุนอกได้ดีกว่าเมล็ดที่มีอายุน้อย (9 สัปดาห์) เมื่อเพาะบนอาหารแข็ง และเมล็ดอายุ 18 สัปดาห์งอกได้สูงถึง 90% ในขณะที่เมล็ดอายุ 12 สัปดาห์งอกเพียง 48% เท่านั้น นอกจากนี้ยังพบว่าเมล็ดอายุ 9 สัปดาห์ตายทั้งหมดเนื่องจากมีสารฟิโนลิกหลั่งออกมามาก แต่อย่างไรก็ตามเมล็ดที่เพาะใน

TIB ไม่สามารถงอกได้ดี หลังจากเพาะเลี้ยงในอาหารครบ 5 สัปดาห์พบว่าต้นกล้าเจริญเติบโตได้ดี สามารถนำออกปลูกในเรือนโรงได้

Abstract

Breeding programmes for fruit trees, especially longan, is challenging for breeders all over the world due to the long period of fruit set and development. This results in a further delay as progeny must still be selected and evaluated. In Thailand, more than 95% of longan grown in Thailand is the 'Daw' variety, therefore breeding programmes for longan in Thailand should be urgently established. The objective of this study was to investigate suitable protocols for young seed culture of longan that would be a means to a short cut for progeny selection, by enhancing germination of very young seeds in vitro. Three development stages of longan seed (9, 12 and 18 weeks after fruit set) from Daw varieties were used as plant materials. All seeds were disinfested using 70% ethanol for 30 seconds and 0.1% mercuric chloride for 5 minutes before being rinsed 3 times with distilled water. All seeds were cultured in modified Murashige and Skoog (1962) medium supplemented with 3% sucrose, 0.1 mg/L IBA and 10% coconut water. Growth and development of seedlings were compared between culture in solid medium and temporary immersion bioreactor (TIB). Results showed that older seeds germinated and grew better than the youngest seeds (9 weeks) when cultured on solid media. A 90% germination rate was obtained for Eighteen-week old seeds compared with 48% for 12-week old seeds. It was observed that 9-week old seeds could not germinate due to the high degree of phenolic compounds released from the longan pericarp. Seeds cultured using the TIB method could not germinated compared with solid media. Five weeks after germination seedlings from 12 and 18 week-old seeds could be transferred for acclimatization and transplanting in the greenhouse.

วิธีการดำเนินงาน

การวางแผนการทดลอง

มีปัจจัย 2 ปัจจัย ที่ศึกษาค้างนี้

ปัจจัยที่ 1: ระยะการเจริญเติบโต 3 ระยะ ได้แก่ 9, 12 และ 18 สัปดาห์หลังการติดผล

ปัจจัยที่ 2: อาหารแข็งและอาหารเหลว (ในไบโอรีแอคเตอร์)

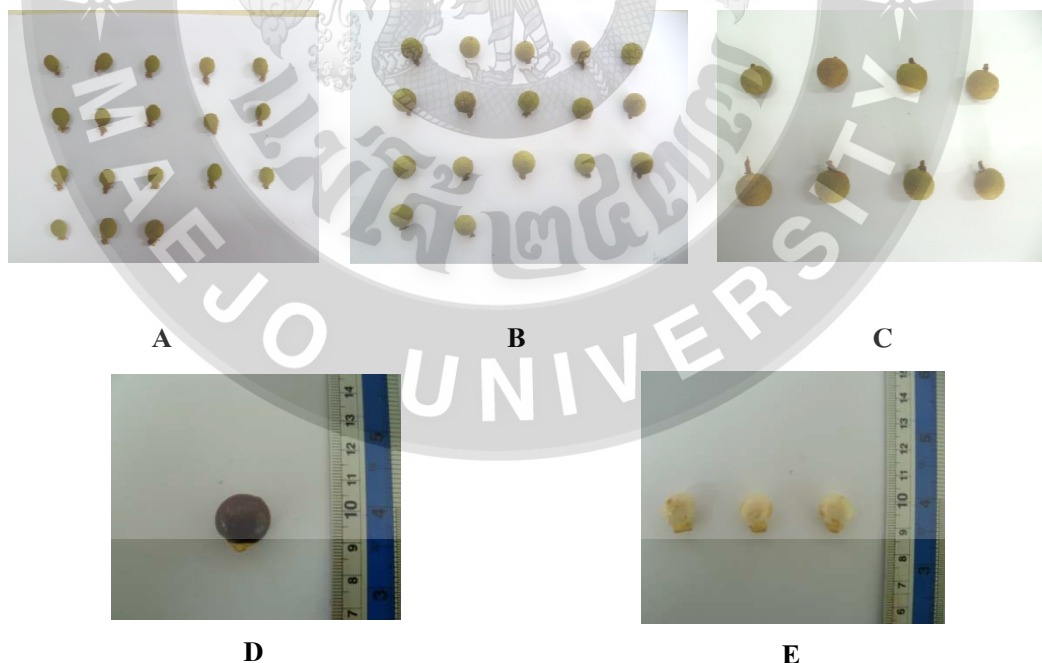
รวมทั้งสิ้น 6 สิ่งทดลองๆ ละ 4 ซ้ำ

วิธีการทดลอง

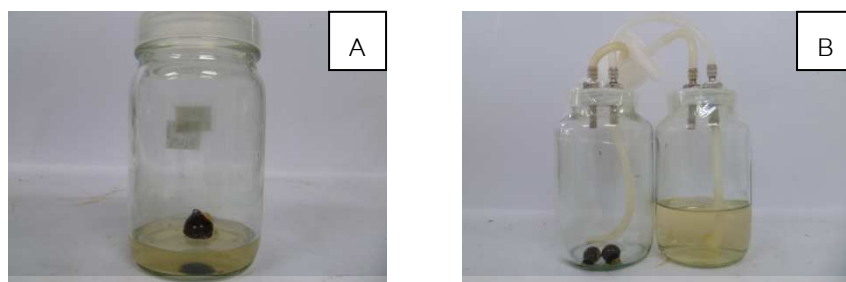
นำเมล็ดลำไยทุกสิ่งทดลองทั้งที่มีแกะเปลือกและเนื้อออก (ภาพที่ 2.15) ไปล้างด้วยน้ำกลั่นแล้วนำมาฟอกฆ่าเชื้อ โดยนำเมล็ดลำไยใส่ในขวดละ 5 เมล็ดมาเติม ethanol 70% เขย่า 30 วินาที แล้วเท ethanol ที่จกนั้นเติมสารละลาย mercuric chloride 0.1% เขย่านาน 5 นาที หลังจากนั้นเททิ้ง ทำการล้างเมล็ดลำไยด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 3 ครั้ง เมื่อฟอกฆ่าเชื้อแล้ว นำเมล็ดลำไยมาทำการตัดบริเวณที่ถูกฟอกออกเล็กน้อย (ถ้าตัดออกมากจะโดนส่วนของเนื้อเชื้อเจริญ) และหยิบใส่ขวดอาหารแข็ง หรือใส่ในขวดฟอกแล้วนำไปประกอบกับชุดอุปกรณ์ระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราวแบบขวดแฝด ดังภาพที่ 2.16

อาหารที่ใช้เพาะเมล็ดลำไยได้แก่ อาหารสูตร Murashige and Skoog (1962) ที่มีการเติมซูโครส 30 กรัมต่อลิตร IBA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 10 %

จากนั้นนำขวดเพาะเลี้ยงไปเพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยกำหนดให้มีความเข้มแสงที่ $40 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{sec}$ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิอยู่ที่ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ส่วนขวดเพาะของระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราวแบบขวดแฝดจะมีการตั้งจำนวนครั้งในการให้อาหาร 24 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 2 นาที แล้วสังเกตการงอกและการเจริญเติบโต



ภาพที่ 15 เมล็ดลำไยที่มีระดับพัฒนาการของผล 3 ขนาดได้แก่ 9 (A), 12 (B) และ 18 (C) สัปดาห์ หลังติดผล และลักษณะเมล็ดลำไยที่ไม่แกะเปลือก (D) และที่แกะเปลือก (E)



ภาพที่ 16 เมล็ดลำไยเริ่มต้นที่เพาะเลี้ยงในระบบอาหารแข็ง (A) และในระบบไบโอรีแอक्टर (B)

ผลการทดลอง

การปนเปื้อนเชื้อ

ได้มีการตรวจสอบการปนเปื้อนพบว่า มีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งแบคทีเรียและเชื้อรา แต่อย่างไรก็ตามมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนต่ำ

การเจริญเติบโตของเมล็ดลำไยในอาหารแข็ง

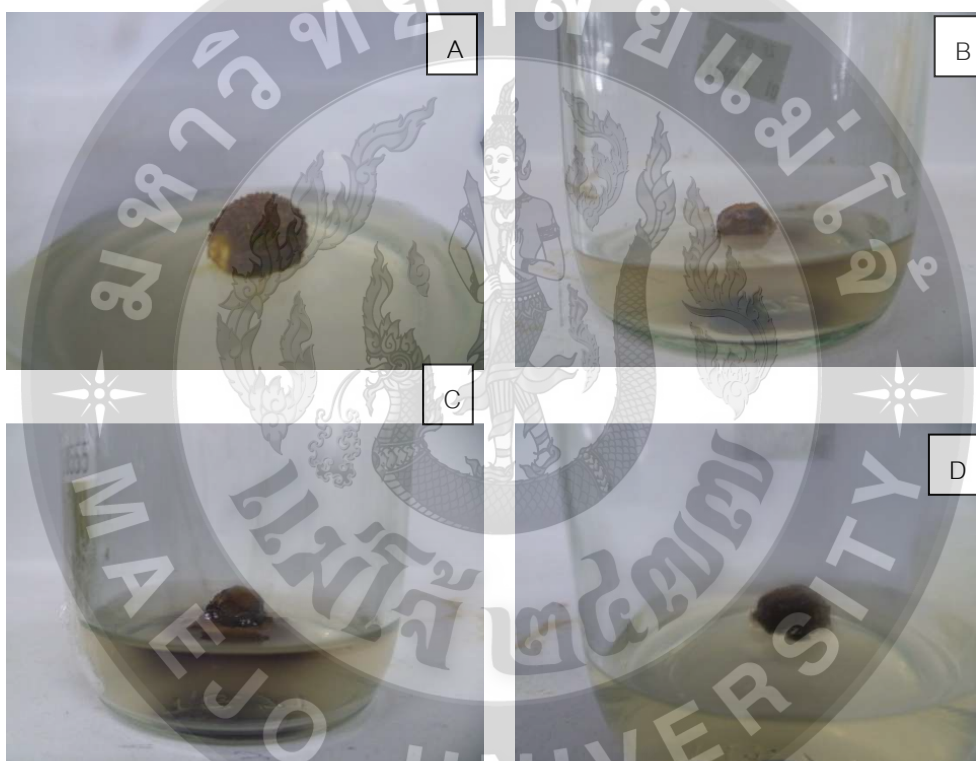
การเจริญเติบโตของเมล็ดลำไยในระยะ 9 สัปดาห์หลังการติดผลนั้น เมล็ดมีขนาดเล็กมาก ไม่สามารถแกะเปลือกได้แต่อย่างใด และเมื่อนำเมล็ดทั้งหมดมาเพาะในอาหารแข็ง พบว่ามีสารฟิโนลิคหลั่งออกมาจากเมล็ดจนกระทั่งเมล็ดไม่สามารถงอกได้ ผลลำไยในระยะนี้ไม่สามารถงอกได้ (ภาพที่ 2.17A-D) นอกจากนี้ได้พยายามจะปอกเปลือกออกจากเมล็ดในระยะนี้ พบว่าเปลือกจะติดอยู่กับเมล็ดมากไม่สามารถแยกออกมาได้จึงไม่สามารถแกะเอมบริโอออกมาเพาะนอกเปลือกได้

ส่วนเมล็ดลำไยที่มีอายุ 12 สัปดาห์หลังการติดผลนั้นใน 3 วันแรกที่ไม่แกะเปลือกมีสารฟิโนลิคหลั่งออกมามาก ดังนั้นจึงได้นำเมล็ดในระยะนี้มาแกะเปลือกออกแล้วนำไปเพาะพบว่าเมล็ดสามารถงอกออกมาได้ดี (ภาพที่ 1.18A) โดยหลังจาก 1 สัปดาห์จะสังเกตเห็นรากเริ่มแทงออกมาจากหัวของเมล็ด (ภาพที่ 2.18B) จากนั้นส่วนของก้านใบเลี้ยงจะยืดยาวออกมาจากเมล็ด พร้อมทั้งส่วนยอดซึ่งอยู่ระหว่างก้านใบเลี้ยงเริ่มโผล่ออกมา (ภาพที่ 1.18C) แล้วพัฒนาเป็นต้นยอดยาวขึ้น (ภาพที่ 1.18D) แต่อย่างไรก็ตามส่วนของใบเลี้ยงจะไม่หลุดออกมาจากเปลือกเมล็ดแต่อย่างใด

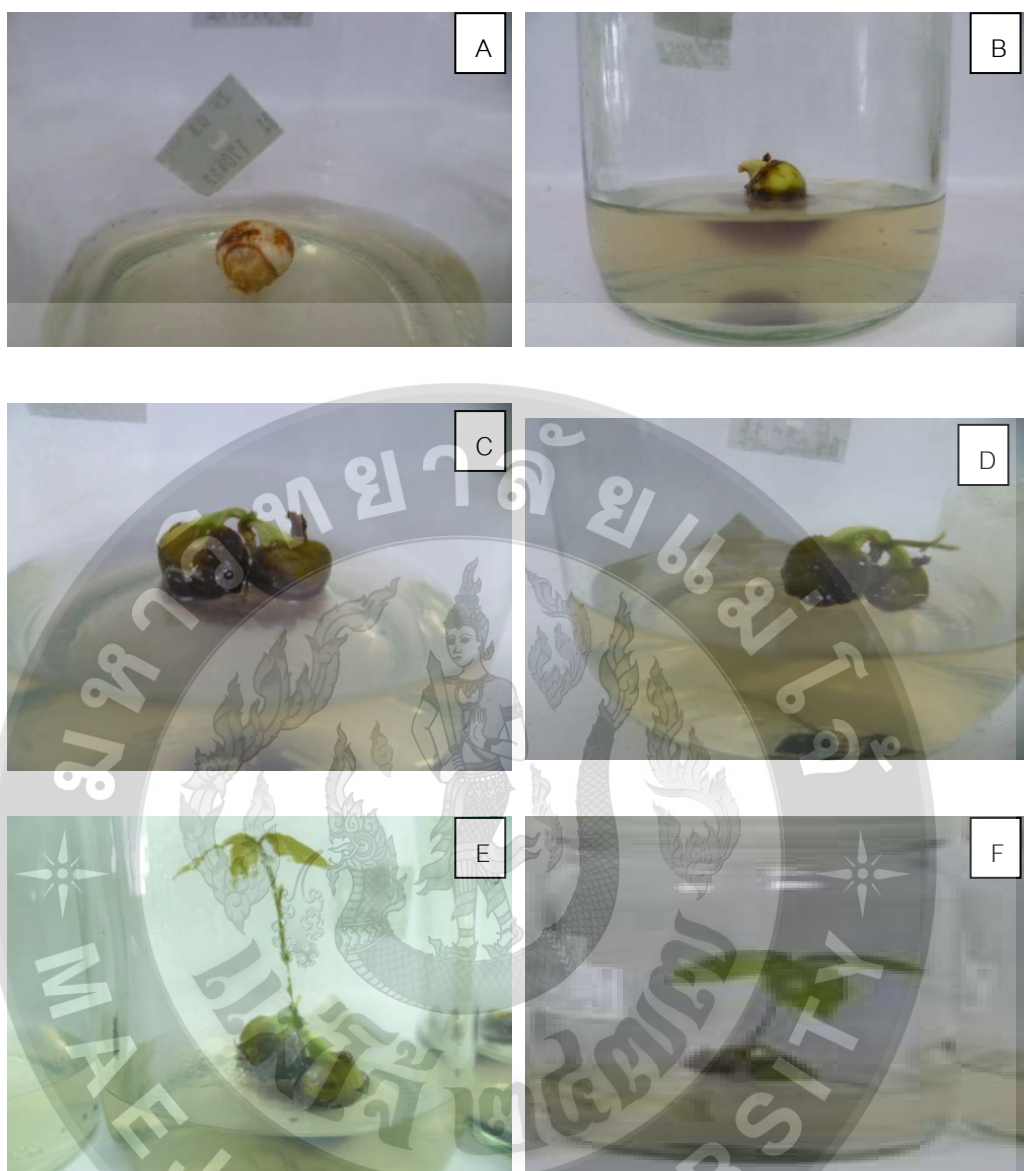
ส่วนการสังเกตการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดลำไยที่มีอายุ 18 สัปดาห์หลังการติดผล (ภาพที่ 1.19A) มีการเจริญเติบโตที่ปกติเช่นเดียวกันกับเมล็ดอายุ 12 สัปดาห์หลังติดผล (ภาพที่ 1.19B-D)

การเจริญเติบโตของเมล็ดลำไยในไบโอรีแอคเตอร์

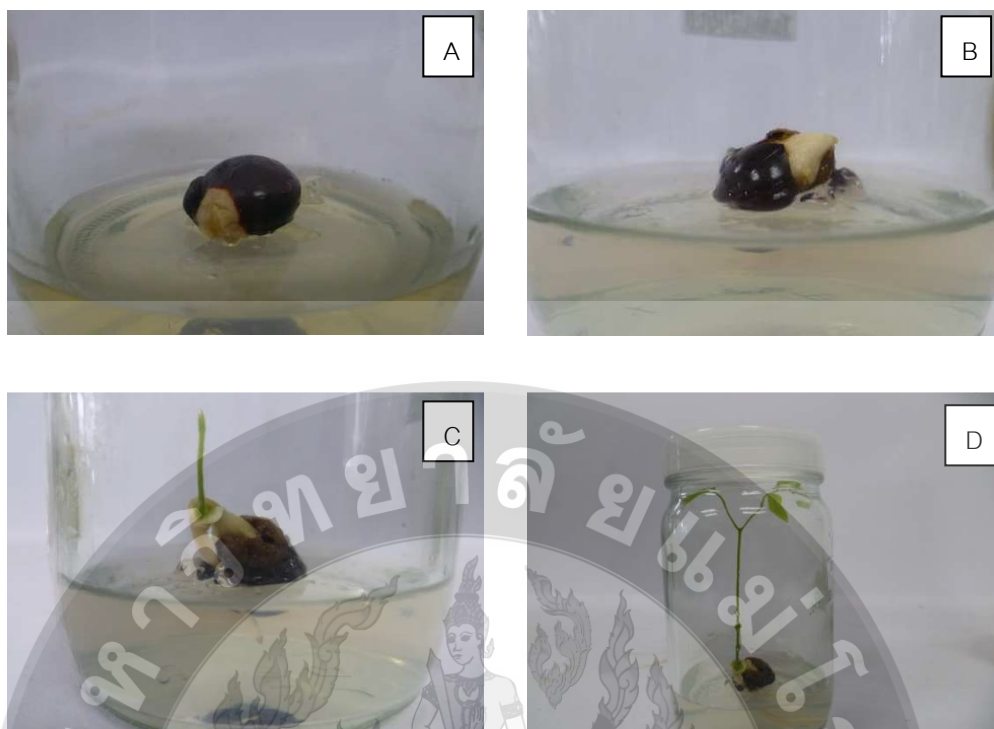
การงอกของเมล็ดทั้ง 3 ระยะในไบโอรีแอคเตอร์นั้น ในครั้งแรกต้องการจะลดสารฟิโนลิกด้วยการให้สารฟิโนลิกไปสะสมขูดอาหารเหลว ผลปรากฏว่า ขวดไบโอรีแอคเตอร์ที่เพาะเมล็ดขนาดเล็ก (9 สัปดาห์หลังติดผล) ไม่สามารถงอกได้เนื่องจากมีสารฟิโนลิกมากเกินไป (ภาพที่ 2.17) ส่วนการเพาะเมล็ดลำไยระยะ 12 และ 18 สัปดาห์หลังติดผลในไบโอรีแอคเตอร์นั้น (ภาพที่ 2.18 และ 2.19) เมล็ดสามารถงอกได้เช่นเดียวกันกับอาหารแข็ง แต่เป็นที่สังเกตว่าต้นเจริญเติบโตแข็งแรงมากกว่า



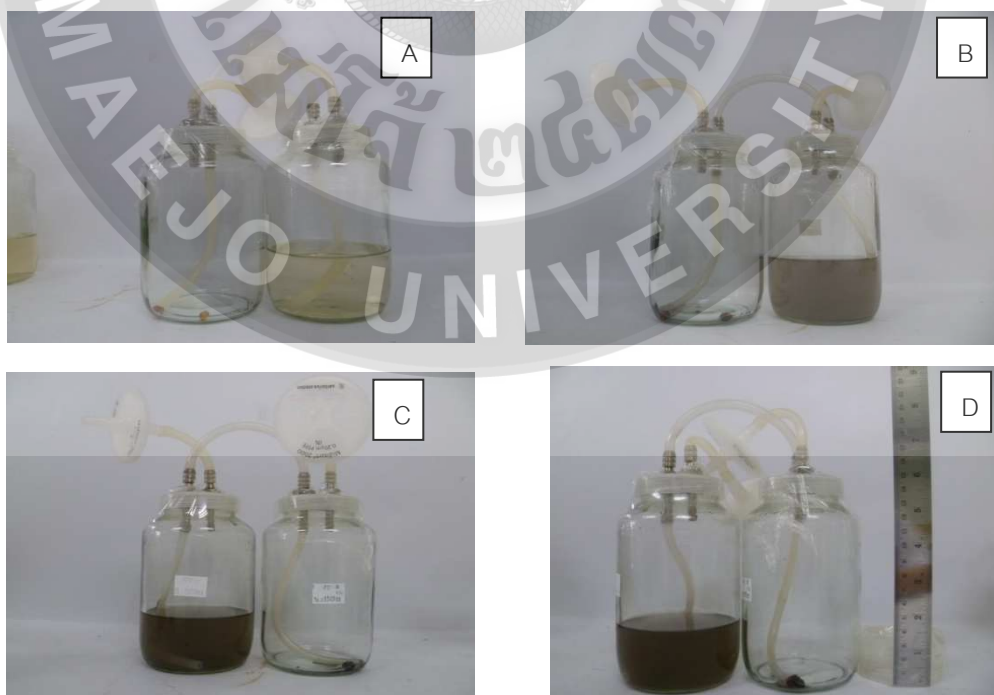
ภาพที่ 17 ลักษณะการเจริญเติบโตของเมล็ดลำไยในระยะ 9 สัปดาห์หลังติดผล ที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลง (A) เมล็ดลำไยเริ่มต้น (B) เมล็ดลำไยเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ (C) เมล็ดลำไยเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ (D) เมล็ดลำไยเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์



ภาพที่ 18 ลักษณะการเจริญเติบโตของเมล็ดลำไยอายุ 12 สัปดาห์หลังติดผลที่เพาะเลี้ยงในอาหาร
 เจิงสูตร MS ดัดแปลง (A) เมล็ดลำไยเริ่มต้น (B) เมล็ดลำไยเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1
 สัปดาห์ (C) เมล็ดลำไยเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ (D) เมล็ดลำไยเพาะเลี้ยงเป็น
 ระยะเวลา 3 สัปดาห์ (E) เมล็ดลำไยเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (F) เมล็ดลำไย
 เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์



ภาพที่ 19 ลักษณะการเจริญเติบโตของเมล็ดกล้วยในระยะ 18 สัปดาห์หลังติดผลที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS คัดแปลง (A) เมล็ดกล้วยเริ่มต้น (B) เมล็ดกล้วยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 สัปดาห์ (C) เมล็ดกล้วยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์



ภาพที่ 20 ลักษณะการเจริญเติบโตของเมล็ดกล้วยระยะ 9 สัปดาห์หลังติดผลที่เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์ อาหารสูตร MS ที่มีการเติม IBA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรและน้ำมะพร้าว 10

%(A) เมล็ดลำไยเริ่มต้น (B) เมล็ดลำไยเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ (C) เมล็ดลำไยเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ (D) เมล็ดลำไยเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์



ภาพที่ 21 ลักษณะการเจริญเติบโตของเมล็ดลำไยระยะ 12 สัปดาห์หลังติดผลที่เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์ อาหารสูตร MS ที่มีการเติม IBA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรและน้ำมะพร้าว 10 % (A) เมล็ดลำไยเริ่มต้น (B) เมล็ดลำไยเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ (C) เมล็ดลำไยเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ (D) เมล็ดลำไยเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์



ภาพที่ 22 ลักษณะการเจริญเติบโตของเมล็ดกล้วยระยะ 18 สัปดาห์หลังการติดผลที่เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์ อาหารสูตร MS ที่มีการเติม IBA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรและน้ำมะพร้าว 10 % (A) เมล็ดกล้วยเริ่มต้น (B) เมล็ดกล้วยเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ (C) เมล็ดกล้วยเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์

สรุปผลการทดลอง

การเพาะเมล็ดกล้วยในระยะที่เมล็ดยังอ่อนสามารถเพาะให้งอกได้ในอาหารสังเคราะห์สภาพปลอดเชื้อได้ดี โดยที่สามารถเพาะได้ตั้งแต่อายุ 12 สัปดาห์หลังติดผล แต่ทั้งนี้ต้องมีการแกะเปลือกกล้วยออกก่อน เนื่องจากลดการหลังของสารฟิโนลิก ต้นเล็กที่ได้จะนำไปใช้เป็นชิ้นส่วนตั้งต้นในการขยายพันธุ์ต้นกล้วยด้วยการทำระบบ multiple shoot culture ต่อไป

กิจกรรมที่ 5 การศึกษาวิธีการย่นระยะการทดสอบลูกผสม (นางจิรนนท์ เสนานาญ)

อุปกรณ์วิธีการ

แบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 5.1. ศึกษาวิธีย่นระยะเวลาการออกดอกติดผลของลำไยลูกผสม แยกเป็น 2 การทดลองย่อยดังนี้

5.1.1 การศึกษาวิธีการเปลี่ยนยอดต้นใหญ่ร่วมกับการให้สารโพแทสเซียมคลอไรด์

การทดลองนี้ศึกษากับต้นลำไยต้นใหญ่อายุต้น 5 ปี โดยการวางแผนการทดลองแบบ

CRD (Completely Randomized Design) มี 5 ซ้ำๆละ 1 ต้นๆ(ต่อกิ่งต้นละ 10 กิ่ง) ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1 อายุของต้นกล้าที่ต่อกิ่งแบบ Top working อายุ 6 เดือน

กรรมวิธีที่ 2 อายุ ของต้นกล้าที่ต่อกิ่งแบบ Top working อายุ 12 เดือน

กรรมวิธีที่ 3 อายุของต้นกล้าที่ต่อกิ่งแบบ Top working อายุ 18 เดือน

กรรมวิธีที่ 4 อายุของต้นกล้าที่ต่อกิ่งแบบ Top working อายุ 24 เดือน

การบันทึกข้อมูล ดำเนินการหลังการเลียบยอด โดยบันทึกข้อมูลดังนี้ เปอร์เซ็นต์การเลียบติด เปอร์เซ็นต์การผลิใบ จำนวนครั้งการผลิใบอ่อน ความยาวยอด เส้นผ่าศูนย์กลางยอดใหม่

5.1.2 การศึกษาวิธีการเปลี่ยนยอดต้นกล้าลำไยอายุต่างๆบนต้นตอเล็ก

วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) มี 4 ซ้ำๆละ 5 ต้น การทดลองนี้ศึกษาการเปลี่ยนยอดต้นกล้าลำไยที่อายุต่างกัน โดยที่ทำการต่อกิ่งบนต้นตอลำไยต้นเล็กอายุต้นต่อกับอายุยอดต้นกล้า ทำการเปลี่ยนยอดลำไยอายุต่างๆโดยวิธีการเลียบลิ้ม แล้วนำไปใส่ถุงอบนาน 45 วัน จึงเปิดถุงอบเพื่อดูจำนวนต้นที่เลียบติด กำหนดให้มี 3 กรรมวิธี ดังนี้ คือ

กรรมวิธีที่ 1 อายุยอดต้นกล้า 6 เดือนหลังเพาะเมล็ด

กรรมวิธีที่ 2 อายุยอดต้นกล้า 8 เดือนหลังเพาะเมล็ด

กรรมวิธีที่ 3 อายุยอดต้นกล้า 12 เดือนหลังเพาะเมล็ด

การบันทึกข้อมูล ภายหลังการเลียบยอด ทำการบันทึกข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเลียบติด และหลังจากนั้นนำต้นกล้าที่ต่อกิ่งด้วยวิธีเลียบลิ้มมาทำการศึกษาการเจริญเติบโต โดยบันทึกข้อมูล ดังนี้ คือ ความสูงของต้น เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น เปอร์เซ็นต์การผลิใบ จำนวนครั้งการผลิใบอ่อน ความยาวยอดและ เส้นผ่าศูนย์กลางยอดใหม่เพื่อหาวิธีย่นระยะเวลาการออกดอกติดผลของต้นกล้าลูกผสมต่อไป

การทดลองที่ 5.2 การศึกษาผลของปุ๋ยยูเรียและออสโมโคทต่อการเจริญเติบโตของต้น

กล้า วางแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized Design (CRD) มี 2 ปัจจัยคือ

ปัจจัยที่ 1 อัตราของปุ๋ยต่อการเจริญเติบโต 5 ระดับ ได้แก่

1. ไม่ใส่ปุ๋ย
2. ให้ปุ๋ยยูเรีย 0.5 กรัม/ต้น
3. ให้ปุ๋ยยูเรีย 1.0 กรัม/ต้น
4. ให้ปุ๋ยออสโมโคท 0.75 กรัม/ต้น
5. ให้ปุ๋ยออสโมโคท 1.5 กรัม/ต้น

ปัจจัยที่ 2 ระยะเวลาในการชักนำให้ออกดอก 6 ระยะ คือ

1. 12 เดือนหลังเพาะเมล็ด
2. 16 เดือนหลังเพาะเมล็ด
3. 20 เดือนหลังเพาะเมล็ด
4. 24 เดือนหลังเพาะเมล็ด
5. 30 เดือนหลังเพาะเมล็ด
6. 36 เดือนหลังเพาะเมล็ด

การบันทึกข้อมูล

ได้แก่การบันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตทางด้านกิ่งก้านใบ (vegetative growth) ทุกเดือนได้แก่ ความสูงต้น ความกว้างทรงพุ่ม เส้นผ่าศูนย์กลางยอดใหม่ จำนวนครั้งของการผลิใบนอกจากนี้ยังบันทึกข้อมูลด้านการสืบพันธุ์ (reproductive growth) โดยการบันทึกการออกดอกหลังจากได้รับสารโพแทสเซียมคลอไรด์ (หรือออกดอกตามธรรมชาติของชุดควบคุม) และบันทึกข้อมูล เช่น เปอร์เซ็นต์การออกดอก จำนวนวันที่ใช้ในการออกดอกหลังราดสาร ความสมบูรณ์ของช่อดอก จำนวนและสัดส่วนเพศดอก การติดผล(จำนวนผลต่อช่อ) ซึ่งสิ่งทดลองและลักษณะการเก็บข้อมูลสามารถปรับปรุงได้ตามความเหมาะสม



ภาพที่ 23 ต้นกล้าลำไยในถุงพลาสติกขนาด 4x6 นิ้ว

ผลการทดลอง

การทดลองที่ 5.1 ศึกษาวิธีขึ้นระยะเวลาการออกดอกติดผลของลำไยลูกผสม

5.1.1 การศึกษาวิธีการเปลี่ยนยอดต้นใหญ่ร่วมกับการให้สารโพแทสเซียมคลอไรด์

ผลของการตอกิ่งยอดลำไยที่ได้จากการเพาะเมล็ดอายุ 6, 8, 12 เดือน พบว่า การตอกิ่งทุกอายุของต้นกล้าบนต้นลำไยต้นใหญ่ มีเปอร์เซ็นต์การเสียบติดที่ต่ำมากในทุกกรรมวิธี โดยมีเปอร์เซ็นต์การเสียบติดอยู่ระหว่าง 5-15 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการผลิใบพบว่าทุกกรรมวิธีไม่มีการผลิใบอ่อน(ตารางที่ 2.10)

ตารางที่ 10 ผลของการตอกิ่งอายุต้นกล้าต่าง ๆ กันบนต้นลำไยต้นใหญ่พันธุ์อีดอ

อายุยอดต้นกล้า	การเสียบติด (%)	การผลิใบ (%)
6 เดือน	10	0
8 เดือน	5	0
12 เดือน	15	0
F-test	ns	ns

ns= ไม่แตกต่างทางสถิติ



ภาพที่ 24 การตอกิ่งของยอดต้นกล้าลำไยพบว่าการเสียบติดแต่มีเปอร์เซ็นต์ต่ำมาก

5.1.2 การศึกษาวิธีการเปลี่ยนยอดต้นกล้าลำไยอายุต่างๆบนต้นตอเล็ก

ผลของการเลียบยอดต้นกล้าลำไยบนตอต่อพันธุ์คือพบว่ามิเปอร์เซ็นต์การเลียบติดและเปอร์เซ็นต์การผลิใบไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเลียบติดและเปอร์เซ็นต์การผลิใบได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนจำนวนวันที่ใช้ในการผลิใบอยู่ในช่วง 50.72-56.75 วัน ในขณะที่ขนาดของยอดใหม่ ทั้งความยาวยอดและเส้นผ่าศูนย์กลางยอดใหม่ไม่แตกต่างเช่นเดียวกัน(ตารางที่ 2.11)

ตารางที่ 11 ผลของการต่อกิ่งอายุต้นกล้าต่างๆกันบนต้นลำไยต้นใหญ่พันธุ์คือ

อายุยอดต้นกล้า	การเลียบติด (%)	การผลิใบ (%)	จำนวนวันที่ใช้ในการ การผลิใบ(วัน)	ขนาดยอดใหม่(ซม.)	
				ความยาวยอด	เส้นผ่าศูนย์กลางยอด
6 เดือน	100.0	100.0	52.01	10.50	5.83
8 เดือน	100.0	100.0	56.75	10.38	5.23
12 เดือน	100.0	100.0	50.72	8.88	4.47
F-test	ns	ns	ns	ns	ns

ns= ไม่แตกต่างทางสถิติ



ภาพที่ 25 การต่อกิ่งของยอดต้นกล้าอายุต่างๆกัน(ซ้าย) หลังจากเลียบติดแล้วนำมาสู่กระถางเพื่อศึกษาการเจริญเติบโตต่อไป

การทดลองที่ 5.2 การศึกษาผลของปุ๋ยยูเรียและออสโมโคทต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าลูกผสม

ความกว้างทรงพุ่ม

ความกว้างทรงพุ่มของต้นกล้าลำไยที่ให้ปุ๋ยกรรมวิธีต่างกัันบันทึกข้อมูล 1 ปี หลังจากการเพาะเมล็ดตั้งแต่เดือนธันวาคม 2554 ถึง พฤศจิกายน 2555 พบว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ให้ปุ๋ย (ตารางที่ 2.12)

ตารางที่ 12 ผลของการให้ปุ๋ยอัตราต่างๆ กัันต่อการเจริญเติบโตด้านความกว้างทรงพุ่มของต้นกล้าลำไย

อัตราปุ๋ย	2554						2555						
	ธ.ค.	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	
ไม่ใส่ปุ๋ย	10.35	12.45	13.11	13.98	14.87	15.13	15.54	16.11	17.21	18.02	18.63	18.78	
ยูเรีย 0.5 กรัม/ต้น	11.02	13.12	13.21	14.13	15.02	16.45	16.80	17.23	17.56	18.35	18.68	18.77	
ยูเรีย 1.0 กรัม/ต้น	12.11	15.62	15.78	16.10	16.34	16.97	17.12	17.46	17.80	18.23	18.46	18.97	
ออสโมโคท 0.75 กรัมต่อต้น	10.82	13.35	13.68	14.23	15.42	16.13	16.55	17.35	17.78	17.99	18.54	18.92	
ออสโมโคท 1.5 กรัมต่อต้น	11.45	14.22	14.32	15.46	15.98	16.52	16.79	17.67	17.95	18.34	18.56	18.87	
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns= ไม่แตกต่างทางสถิติ

ความสูงต้น

ความสูงของต้นกล้าลำไยที่ให้ปุ๋ยกรรมวิธีต่างกัันพบว่าในระยะ 6 เดือนแรกเดือน ธันวาคม 2554ถึงเดือนพฤษภาคม 2555 ทุกกรรมวิธีการให้ปุ๋ยไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่ให้ปุ๋ย แต่ในระยะ 6 เดือนหลังคือตั้งแต่ เดือนมิถุนายน ถึงเดือนพฤศจิกายน พบว่า ทุกกรรมวิธีการให้ปุ๋ยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีไม่ให้ปุ๋ยมีการเจริญเติบโตด้านความสูงต่ำกว่าทุกกรรมวิธี (ตารางที่ 2.13)

ตารางที่ 13 ผลของการให้น้ำปุ๋ยอัตราต่างๆ กันต่อการเจริญเติบโตด้านความสูงของต้นกล้าลำไย

	2554						2555					
อัตราปุ๋ย	ธ.ค.	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.
ไม่ใส่ปุ๋ย	8.20	12.50	16.88	17.04	20.26	25.76	26.64b	30.12b	30.59b	30.95b	31.24b	31.72b
ยูเรีย 0.5 กรัม/ต้น	7.88	10.06	14.94	17.58	23.32	29.36	32.80a	38.40a	38.80a	39.03a	39.34a	39.41a
ยูเรีย 1.0 กรัม/ต้น	8.58	10.90	16.08	16.92	22.12	26.72	35.20a	41.25a	41.78a	42.04a	42.69a	42.80a
ออสโมโคท 0.75 กรัมต่อต้น	9.22	11.28	15.88	18.76	23.12	26.64	36.20a	42.11a	42.43a	42.97a	43.03a	43.17a
ออสโมโคท 1.5 กรัมต่อต้น	9.92	12.78	15.92	19.32	24.24	28.52	38.16a	41.42a	41.78a	42.02a	42.63a	42.84a
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	*	*	*	*	*

ns ไม่แตกต่างทางสถิติ, * แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เปรียบโดยใช้วิธี DMRT

เปอร์เซ็นต์การผลิใบ

การผลิใบอ่อนของต้นกล้าลำไยที่ให้น้ำปุ๋ยกรรมวิธีต่างๆ กัน พบว่าทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยมีการผลิใบอ่อนได้ 4 ครั้ง ภายในระยะเวลา 1 ปี และมีการผลิใบอ่อนได้มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2.14)

ตารางที่ 14 ผลของการให้น้ำปุ๋ยอัตราต่างๆ กันต่อเปอร์เซ็นต์การผลิใบของต้นกล้าลำไย

	การผลิใบ(%)			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4
ไม่ใส่ปุ๋ย	95	90	95	95
ยูเรีย 0.5 กรัม/ต้น	100	100	100	100
ยูเรีย 1.0 กรัม/ต้น	100	100	100	100
ออสโมโคท 0.75 กรัมต่อต้น	100	100	100	100
ออสโมโคท 1.5 กรัมต่อต้น	100	100	100	100
F-test	ns	ns	ns	ns

ns= ไม่แตกต่างทางสถิติ

เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น

เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นของต้นกล้าลำไยที่ให้ปุ๋ยกรรมวิธีต่างๆกันพบว่าในระยะ 6 เดือนแรกเดือนธันวาคม 2554 ถึงเดือนพฤษภาคม 2555 ทุกกรรมวิธีการให้ปุ๋ยไม่แตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่ให้ปุ๋ย แต่ในระยะ 6 เดือนหลังคือตั้งแต่ เดือนมิถุนายน ถึงเดือน พฤศจิกายน พบว่าทุกกรรมวิธีการให้ปุ๋ยเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีไม่ให้ปุ๋ยมีเส้นผ่านศูนย์กลางต่ำกว่าทุกกรรมวิธี (ตารางที่ 2.15)

ตารางที่ 15 ผลของการให้ปุ๋ยอัตราต่างๆ กันต่อเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นของต้นกล้าลำไย

อัตราปุ๋ย	2554						2555					
	ธ.ค.	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.
ไม่ใส่ปุ๋ย	2.71	2.79	3.51	4.20	4.30	4.45	4.67b	4.70b	4.75b	4.82b	4.96b	5.12b
ยูเรีย 0.5 กรัม/ต้น	2.50	2.61	3.18	3.92	4.58	4.97	4.97ab	5.32ab	5.55ab	5.67ab	5.80ab	5.87ab
ยูเรีย 1.0 กรัม/ต้น	2.70	2.65	3.16	3.63	4.31	4.75	4.88ab	5.46ab	5.67ab	5.82ab	5.97ab	6.01ab
ออสโมโคท 0.75 กรัมต่อต้น	2.77	2.85	3.68	3.85	4.61	5.09	5.36ab	5.67ab	5.78ab	5.83ab	5.92ab	5.99ab
ออสโมโคท 1.5 กรัมต่อต้น	2.85	2.92	3.61	4.07	4.96	5.72	5.92a	6.13a	6.38a	6.54a	6.68a	6.75a
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	*	*	*	*	*

ns ไม่แตกต่างทางสถิติ, * แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เปรียบโดยใช้วิธี DMRT

ความยาวยอดใหม่

ความยาวยอดใหม่ของต้นกล้าลำไยที่ให้ปุ๋ยกรรมวิธีต่างๆกันพบว่าทุกกรรมวิธีให้ความยาวยอดใหม่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ(ตารางที่ 2.16)

ตารางที่ 16 ผลของการให้ปุ๋ยอัตราต่างๆ กันต่อความยาวยอดใหม่ของต้นกล้วย

อัตราปุ๋ย	ธ.ค.	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.
ไม่ใส่ปุ๋ย	9.32	9.35	9.40	9.55	9.60	9.65	9.70	9.75	9.60	8.78	9.12	9.68
ยูเรีย 0.5 กรัม/ต้น	8.04	8.20	8.30	8.38	8.45	9.01	9.20	9.28	9.80	9.56	9.01	10.11
ยูเรีย 1.0 กรัม/ต้น	8.04	8.23	8.35	8.46	8.55	9.10	9.25	9.35	9.45	9.32	9.11	10.35
ออสโมโคท 0.75 กรัมต่อต้น	8.52	9.02	9.20	9.32	9.39	9.40	9.55	9.60	8.76	10.60	8.60	10.0
ออสโมโคท 1.5 กรัมต่อต้น	7.64	8.10	8.30	8.37	8.40	8.65	8.70	9.05	9.12	8.78	10.05	10.05
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ



ภาพที่ 26 ต้นกล้วยหลังปลูก 1 ปี

วิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองที่ 5.1 ศึกษาวิธีขึ้นระยะเวลาการออกดอกติดผลของลำไยลูกผสม

การทดลองที่ 5.1.1 การศึกษาวิธีการเปลี่ยนยอดต้นใหญ่ร่วมกับการให้สารโพแทสเซียมคลอไรด์

จากผลการศึกษากการเปลี่ยนยอดต้นกล้ำลำไยที่ได้จากการเพาะเมล็ดอายุ 6 , 8, 12 เดือน พบว่า ทุกอายุยอดมีเปอร์เซ็นต์การเสียบติดต่ำทุกกรรมวิธี ส่วนการผลิใบพบว่าไม่มีการผลิใบอ่อนเลย ทั้งนี้จะเกิดจากเนื้อเยื่อเจริญของยอดที่เกิดจากเมล็ดยังอ่อน เมื่อนำไปต่อกิ่งบนต้นลำไยต้นใหญ่ ซึ่งเนื้อเยื่อมีความแข็งแรงจึงทำให้เมื่อมีการเสียบติดไปสักระยะหนึ่งเนื้อเยื่อเจริญจึงไม่สามารถเข้ากันได้ ทำให้ยอดลำไยที่ต่อกิ่งตายในที่สุด ซึ่งการต่อกิ่งลำไยที่ใช้ยอดพันธุ์เนื้อเยื่ออ่อนเกินไปทำให้มีเปอร์เซ็นต์การเสียบติดต่ำ(จิรนนท์ และพาวัน,2553)

การทดลองที่ 5.1.2 การศึกษาวิธีการเปลี่ยนยอดต้นกล้ำลำไยอายุต่าง ๆ บนต้นตอเล็ก

จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่ายอดลำไยอายุ 6, 8 และ 12 เดือนหลังเพาะเมล็ดที่ต่อกิ่งกับต้นตอพันธุ์อื้อดอสามารถเสียบติดได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในอนาคตถ้าได้จากการปรับปรุงพันธุ์ แล้วคาดว่าวิธีนี้จะสามารถนำมาใช้ขึ้นระยะเวลาในการออกดอก ติดผลของลำไยที่ได้จากการปรับปรุงพันธุ์ได้ สอดคล้องกับการศึกษาจิรนนท์ และคณะ(2555)รายงานว่า การต่อกิ่งลำไยพันธุ์เบี้ยวเขียวเชียงใหม่ที่ต่อกิ่งบนต้นตออายุ 6 เดือน สามารถเข้ากันได้ดีและมีการเสียบติดถึง 100 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับการศึกษาของ นิรันดร์(2551) ที่พบว่าการต่อกิ่งลำไยพันธุ์ดอ แห้ว เบี้ยวเขียวเชียงใหม่และสีชมพู สามารถเข้ากันได้ดี และ พบว่าทุกพันธุ์สามารถเชื่อมติดกันได้ดี และในการศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาในลำไยต้นเล็กอายุน้อยเนื้อเยื่อต้นตอยังอ่อนทำให้รอยแผลที่ต่อกิ่งมีการเชื่อมติดดี (จิรนนท์และพาวัน,2553)

การทดลองที่ 5.2 การศึกษาผลของปุ๋ยยูเรียและออสโมโคทต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้ำลำไย

จากผลการศึกษากการให้ปุ๋ยยูเรียและออสโมโคทเปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่ให้ปุ๋ย พบว่าความกว้างทรงพุ่ม การผลิใบและความยาวยอดใหม่ของทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนความสูงของต้นและเส้นผ่าศูนย์กลางยอดใหม่การให้ปุ๋ยกรรมวิธีให้การเจริญเติบโตด้านความสูงและเส้นผ่าศูนย์กลางยอดใหม่มากกว่ากรรมวิธีไม่ให้ปุ๋ย สอดคล้องกับการศึกษาของพรรณพิไล(2541) ที่พบว่าการให้ปุ๋ยยูเรียอัตรา 0.5 และ 1.0 กรัมต่อต้นและออสโมโคท 0.75 และ 1.5 กรัมต่อต้นกับต้นกล้ำฝรั่งให้การเจริญเติบโตด้านความสูงและเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นมากกว่าต้น

กล้าที่ไม่ให้ปุ๋ย ส่วนในช่วง 6 เดือนแรกพบว่าการเจริญเติบโตของต้นกล้าไม่แตกต่างกันในทุกกรรมวิธี ทั้งนี้อาจเนื่องจากการต้นกล้าปลูกในถุงขนาด 4x6 นิ้ว ทำให้การเจริญเติบโตของต้นกล้าช้า แต่เมื่อมีการเปลี่ยนภาชนะที่ปลูกต้นกล้าโดยเปลี่ยนจากถุงขนาด 4x6 นิ้วซึ่งถุงมีขนาดเล็กเป็นกระถางพลาสติกขนาด 7 นิ้วพบว่าต้นกล้าลำไยมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วสอดคล้องกับการศึกษาของจิรนนท์และพาวัน (2553) ที่พบว่าขนาดภาชนะมีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้ามะม่วงโดยถุงปลูกที่มีขนาด 6 x 12 นิ้ว ต้นกล้าจะมีการเจริญเติบโตได้ดีกว่าถุงที่มีขนาด 4 x 6 นิ้ว

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาวิธีขึ้นระยะเวลาการออกดอกติดผลของลำไยลูกผสม พบว่าการขึ้นระยะเวลาการออกดอกติดผลของลำไยลูกผสมจะใช้วิธีการต่อกิ่งบนต้นต่อเล็กอายุใกล้เคียงกับยอดต้นกล้า ซึ่งเป็นวิธีที่เหมาะสมที่สุด ส่วนการศึกษาอิทธิพลของปุ๋ยยูเรียและออสโมโคท ต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าลำไยพบว่า การให้ปุ๋ยอัตราต่างๆทุกกรรมวิธีมีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าลำไยเมื่อเทียบกับการไม่ให้ปุ๋ย โดยการให้ปุ๋ยมีการเจริญเติบโตด้านความสูงและเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นมากกว่ากรรมวิธีไม่ให้ปุ๋ย แต่อัตราปุ๋ยต่างๆ ที่ใช้ไม่มีความแตกต่างในทางสถิติ ในบางลักษณะที่ศึกษา ซึ่งจำเป็นต้องดำเนินการศึกษาเพื่อหาอัตราที่เหมาะสมต่อไป

วิจารณ์และสรุปผลการวิจัย

จากการดำเนินงานทั้ง 5 กิจกรรมหลักในโครงการวิจัยย่อยที่ 1 พบว่าในแต่ละกิจกรรมที่มีลักษณะการดำเนินงานที่แตกต่างกัน ทำให้มีอุปสรรคในการดำเนินงานแตกต่างกันไปด้วย ดังนี้

กิจกรรมที่ 1 การรวบรวมและศึกษาลักษณะประจำพันธุ์

การรวบรวมพันธุ์ลำไยและศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ เนื่องจากเป็นแปลงขนาดเล็กมีระดับพื้นแปลงไม่สม่ำเสมอ ลุ่มๆ ดอนๆ บางส่วนเวลาฝนตกมีน้ำขัง ทำให้ต้นลำไยที่ปลูกในพื้นที่นั้นไม่ค่อยเจริญเติบโตเท่าที่ควร จำนวนพันธุ์ที่มีปลูกสะสมอยู่ในพื้นที่แปลงรวบรวมพันธุ์จำนวน 20 สายพันธุ์ (ภาพที่ 1) แต่มีการรวบรวมและปลูกเพิ่มเติมไว้ในท่อน้ำอาคารเพิ่มด้วยแต่จำนวนต้นพันธุ์ลำไยที่รวบรวมไว้ มีน้อยกว่าจำนวนพันธุ์ที่ตามเก็บลักษณะประจำพันธุ์โดยการถ่ายรูปและเก็บข้อมูล (ตารางที่ 1) เนื่องจากการถ่ายรูปและเก็บลักษณะประจำพันธุ์ บางพันธุ์ได้จากการเก็บข้อมูลผลลำไยในพื้นที่อื่นมาเก็บข้อมูล (ไม่ได้ปลูกไว้ในพื้นที่จริง หรือมีเกษตรกรเก็บตัวอย่างมาส่งให้)

ทำให้มีรายชื่อพันธุ์ลำไยรวมไว้ในทะเบียนงานวิจัยจำนวน 28 รายชื่อ แต่สามารถส่งใบลำไยเข้าตรวจสอบความใกล้ชิดของสายพันธุ์ จำนวน 24 รายชื่อ โดยมีรายชื่อพันธุ์ที่ไม่ได้ส่งใบเข้าสัคดีเอ็นเอ จำนวน 4 สายพันธุ์คือ พันธุ์เมือง กระดุก คอคำล่าง และคอ (จากบ้านหลุก) เนื่องจากได้ข้อมูลมากเก็บข้อมูลและไม่มีต้นปลูกอยู่ในพื้นที่จริงในขณะนั้น

ในปีแรกต้องการเก็บข้อมูลลักษณะช่อดอก จึงดำเนินการชักนำให้ออกดอก นอกฤดู แต่ลำไยบางต้นที่ไม่สมบูรณ์ก็ไม่ออกดอกตามที่ชักนำ ทำให้เก็บข้อมูลได้ไม่ครบถ้วนและไม่สามารถจะเก็บข้อมูลลักษณะการออกดอกเร็วช้าตามลักษณะประจำพันธุ์ได้ การเก็บข้อมูลลักษณะประจำพันธุ์ จึงต้องดำเนินการเก็บต่อเนื่องในปีต่อไป และต้องดำเนินการรวบรวมพันธุ์ลำไยมาปลูกเพิ่มเติมจากที่มีอยู่ด้วย

กิจกรรมที่ 2 การสัคดีเอ็นเอและการตรวจสอบความใกล้ชิดของสายพันธุ์

ในการตรวจสอบความใกล้ชิดของสายพันธุ์โดยการสัคดีเอ็นเอ มีการสัคดีเอ็นเอจากตัวอย่างใบลำไยจำนวนรวม 25 สายพันธุ์ โดยมีพันธุ์ "ลำไยต้นหมื่น" เพิ่มตัวอย่างเข้ามาจากแหล่งรวบรวมพันธุ์ของมหาวิทยาลัย (ที่มีส่งเข้ามา 24 สายพันธุ์) เนื่องจากนักวิจัยได้ไปศึกษาดูงานที่ อ. สารภีและทราบประวัติลำไยต้นหมื่น จึงได้ขอนำใบเข้ามาตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอเพื่อความชัดเจนด้วย

จากการศึกษาความใกล้ชิดของกลุ่มพันธุ์ลำไยที่ปลูกไว้ในแปลงรวบรวมพันธุ์ พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มลำไยออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ ได้แก่ กลุ่มที่ 1 มีพันธุ์เดียวคือพันธุ์ใบดำ, กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มคอต่างๆ และพันธุ์สีชมพู และพันธุ์พวงทองด้วย ซึ่งในกลุ่มที่ 2 นี้ ถูกแบ่งเป็น 2 กลุ่มย่อย โดยมีกลุ่ม คอลุ่มน้ำปิง คอแก้วยี คอสุขุม คอ13 และคอยอดอ่อน (กลุ่ม IIB) ถูกจัดกลุ่มแยกออกจากกลุ่มคออื่นๆ (กลุ่ม IIA.1) และกลุ่มสีชมพูและพวงทอง (กลุ่ม IIA.2) ส่วนกลุ่มที่ 3 ก็พบว่ามีการแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม โดยกลุ่มพันธุ์ น้ำผึ้งทวาย เพชรสาคร และปทุมดิน โคล้ง (กลุ่ม III.B) ถูกแยกจากกลุ่มพันธุ์ จัมโบ้ เบี้ยวเขียวเชียงใหม่ บ้านโอง 60 แดงกลม ใบหยก

และแก้ว (กลุ่ม III.A) ซึ่งการแบ่งกลุ่มดังกล่าวโดยใช้ความใกล้ชิดและความเหมือนของแถบดีเอ็นเอ (RAPD) โดยใช้ 10 ไพร์เมอร์เท่านั้น จึงมีความจำเป็นต้องศึกษาลักษณะทางกายภาพ (phenotype) ประกอบการตัดสินใจด้วย

นอกจากนี้ยังพบปัญหาเรื่องของตัวอย่างใบที่จัดส่งให้ดำเนินการสัคดีเอ็นเอ ที่ไม่สามารถส่งเข้าห้องปฏิบัติการพร้อมกันได้ เนื่องจากมีระยะพัฒนาการของใบที่แตกต่างกัน จึงต้องทยอยส่งตัวอย่างเข้าแช่แข็งเก็บไว้ก่อน เมื่อพร้อมจึงจะดำเนินการสัคดีเอ็นเอพร้อมกัน นอกจากนี้

ยังพบว่ามี การเก็บใบมาจากหลายต้น (ในกลุ่มพันธุ์เดียวกัน) ทำให้ความชัดเจนของต้นพันธุ์ ตรวจสอบได้ยาก (ในงานปรับปรุงพันธุ์ลำไยโดยการผสมข้าม)

ในการดำเนินงานของปีต่อไป จึงมีความสนใจที่จะดำเนินการซ้ำและควบคุมความแปรปรวนของสิ่งที่เกี่ยวข้องกับการทดลองเพิ่มขึ้น รวมทั้งการตรวจสอบลูกผสมที่ได้จากการผสมข้ามว่าเป็นลูกผสมหรือไม่ ซึ่งเป็นโครงการวิจัยที่ค่อนข้างจะต้องใช้เวลา

กิจกรรมที่ 3 การปรับปรุงพันธุ์ลำไยโดยการผสมข้าม

งานปรับปรุงพันธุ์ลำไยเริ่มต้นตั้งแต่การศึกษาระยะพัฒนาการของดอกลำไยที่พร้อม จะทำการผสม การป้องกันการผสมตัวเอง และวิธีการผสมเกสร รวมทั้งการดูแลป้องกันดอกที่ได้รับ การผสมแล้ว ซึ่งถือว่าการศึกษาดังกล่าวเป็นเทคนิคและวิธีการใหม่สำหรับนักวิจัยที่ยังไม่เคยดำเนินการ ผสมพันธุ์ลำไยมาก่อน ดังนั้นกว่าจะได้เริ่มดำเนินการวิจัยจึงต้องใช้เวลาในการศึกษาเทคนิคต่างๆ ดังกล่าวมานานพอสมควร รวมถึงการเดินทางไปศึกษาแลกเปลี่ยนกับผู้ที่มีประสบการณ์ผสมข้ามลำไย โดยตรงด้วย (ดร. นิพนธ์ สุขวินุลย์ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย)

เริ่มต้นมีการทดลองผสมคู่ผสมของลำไยโดยไม่สามารถเลือกพันธุ์ได้ เนื่องจากต้น พันธุ์ที่มีอยู่มีความพร้อมแตกต่างกัน และมีความสนใจในการใช้เทคนิควิธีการก่อน โดยได้ ดำเนินการผสมพันธุ์ลำไยรวม 16 คู่ผสม จนสามารถเก็บเมล็ดไปเพาะ โดยพบว่าเมล็ดที่เพาะแล้ว งอกมีจำนวน 12 คู่ผสม รวมจำนวนเมล็ดที่เพาะได้ 61 เมล็ด ซึ่งในขั้นตอนต่อไป ต้องดำเนินการ ตรวจสอบลูกผสมที่ได้ในระดับห้องปฏิบัติการก่อนว่าเป็นลูกผสมจริงหรือไม่ (ตรวจสอบโดยใช้ มาร์คเกอร์ของห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพ) ก่อนที่จะดำเนินการทดสอบลักษณะหรือ คุณสมบัติทางกายภาพของลูกผสมต่อไป

ปัญหาที่พบในงานปรับปรุงพันธุ์ลำไยคือ ต้นลูกผสมที่ได้มีการเจริญเติบโตช้ามาก ทำให้ไม่ สามารถดำเนินงานใดๆ ต่อได้ (ตรวจสอบลักษณะทางกายภาพของลูกผสมที่ได้) ซึ่งในประชุม วางแผนติดตามงานวิจัย มีการวางแผนจะเร่งอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า โดยการใช้ปุ๋ยหรือ การจัดการแปลงอื่นๆ และการพัฒนาวิธีการเสียบกิ่งบนต้นใหญ่ เพื่อให้สามารถตรวจสอบลักษณะ ทางกายภาพของลูกผสมได้เร็วขึ้น ซึ่งงานนี้จะเกี่ยวข้องใกล้ชิดและโดยตรงกับกิจกรรมที่ 5

เอกสารอ้างอิง

- กรมวิชาการเกษตร. 2546. **ฐานข้อมูลเชื้อพันธุ์พืช: ลำไย**. สำนักงานคุ้มครองพันธุ์พืช. ชุมชุม สหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. 100 หน้า.
- กรมวิชาการเกษตร. 2546. **ฐานข้อมูลเชื้อพันธุ์พืช: ลำไย**. สำนักงานคุ้มครองพันธุ์พืช. ชุมชุม สหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. 100 หน้า.
- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2553. **พื้นที่ปลูกลำไยพันธุ์ต่างๆ**. ระบบข้อมูลเกษตรเพื่อการบริหารและประชาสัมพันธ์. สืบค้นออนไลน์. วันที่ 31 สิงหาคม 2553.
- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2553. **พื้นที่ปลูกลำไยพันธุ์ต่างๆ**. ระบบข้อมูลเกษตรเพื่อการบริหารและประชาสัมพันธ์. สืบค้นออนไลน์. วันที่ 31 สิงหาคม 2553.
- กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2551. **เอกสารนำเสนอเรื่องรายงานการศึกษาดูงานที่ประเทศจีน 19-24 กุมภาพันธ์ 2551**.
- จิรนนท์ เสนานาญ ชีรณัฐ เจริญกิจ สุรัชย์ ศาลิศและพิชัย สมบูรณ์วงศ์. 2555. **รายงานความก้าวหน้าครั้งที่ 2**. โครงการการทดสอบพันธุ์ลำไยรับประทานสดนอกฤดู. เสนอต่อสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. หน้า.
- จิรนนท์ เสนานาญ และพาวัน มะโนชัย. 2553. **เทคนิคการขยายพันธุ์ไม้ผล**. โครงการเครือข่ายสวนทช. ภาคเหนือ. วนิศาการพิมพ์. เชียงใหม่. 147 หน้า.
- จิรนนท์ เสนานาญและพาวัน มะโนชัย. 2553. **เทคโนโลยีการขยายพันธุ์ไม้ผล**. พิมพ์ที่ หจก.วนิศาการพิมพ์ เชียงใหม่. 147 หน้า.
- ทวีสิน แก้วศรีนวม. 2554. **การปรับปรุงพันธุ์ลำไยโดยการผสมพันธุ์**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัย แม่โจ้. 85 น.
- ชีรณัฐ เจริญกิจ และพาวัน มะโนชัย. 2553 (ก). **เทคโนโลยีการผลิตลำไยและไม้ผลของออสเตรเลีย**. เลขาธิการเกษตร. 34(2) (กุมภาพันธ์): 69-82.
- นิพัฒน์ สุขวิบูลย์. 2550. **เอกสารวิชาการพันธุ์ลำไย**. ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย. กรมวิชาการเกษตร. อินเทอร์เน็ต. เชียงราย. 28 หน้า.
- นิพัฒน์ สุขวิบูลย์. 2550. **เอกสารวิชาการพันธุ์ลำไย**. ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย. กรมวิชาการเกษตร. อินเทอร์เน็ต. เชียงราย. 28 หน้า.

- นิรันดร์ ใจจิตร. 2551. ผลของต้นตอต่อกิ่งพันธุ์ดีของลำไยโดยวิธีเสียบยอด. วิทยานิพนธ์
 พรรณพิไล กองดีศักดิ์ . 2541. ผลของปุ๋ยยูเรียและออสโมไลต์ที่มีต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้า
 ฝรั่ง. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 21 หน้า
- พรรณพิไล กองดีศักดิ์ . 2541. ผลของปุ๋ยยูเรียและออสโมไลต์ที่มีต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้า
 ฝรั่ง. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 21 หน้า
- มหาบัณฑิต สาขาเกษตรศาสตร์(สาขาพืชสวน) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 153 หน้า
- วัฒนา เติญชรสวัสดิ์. 2521. การศึกษาวิธีการผสมเกสรของลำไย. กรุงเทพฯ:
 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 84น.
- Chen, C. L. 2001. **A preliminary study on mechanism of somatic embryogenesis in longan**
(Dimocarpus longan Lour.). Fuzhou, Fujian Agr. And For. Univ. 6:20-21.
- Dumampaic, and Somboon Anuntalabhochaia. 2005. DNA Fingerprint Database of
 Some Economically Important Thai Plants: *Litchi chinensis* Sonn, *Dimocarpus longan*
 Lour, and *Peuraria* spp. *ScienceAsia* 31: 145-149.
- Faqian Xiong, Jing Jiang, Zhuqiang Han, Ruichun Zhong, Liangqiong He, Weijian
 Zhuang, Ronghua Tang. 2011. **Molecular Characterization of High Plant Species**
Using PCR with Primers Designed from Consensus Branch Point Signal
Sequences. *Biochemical Genetics*. 49 (5-6) :352-363.
- Furr J.R., W.C. Cooper and P.C. Reece. 1947. **An investigation of flower formation in adult**
juvenile citrus trees. *American Journal of Botany*, Vol.34:No.1 pp1-8.
- Lin, T. X. 1998. **Progresses in the studies of molecular bases of longan**. D. Fuzhou: Fujian
 Agr. Univ. 58.
- Lin, T. X., Z. G. Chen and S. L. Dai. 1998. **Taxonomic study of *Dimocarpus longan* by random**
amplified polymorphic DNA technique. *Acta Bot. Sin.* 4012:1159-1165.
- Mitani N., R. Matsumoto, T. Yoshioka and T. Kuniga. 2008. **Citrus hybrid seedling reduce**
initial time to flower when grafted onto shiikuwasha rootstock. *Scientia*
Horticulturae. Vol. 116 : 4. Pp 452-455.
- Page, R. D. M. 1996. **TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal**
computers. *Computer Applications in the Biosciences* 12: 357-358.

Pan, D. M., F. L. Zhong, Z. X. Guo, T. F. Pan, K. T. Li, and J. B. Wang. 2010. **Research on Germplasm Resources and Breeding of Longan (*Dimocarpus longan* Lour.) in the Past Decade in China.** Acta Hort. 863: 79-86.

Rungrach Wangspa, Robert W. Cutlerb, Supranee Sitthiproma, Ruttaporn Chundeta, Nadtaya

V Hampl, A Pavlicek, and J Flegr. 2001. **Construction and bootstrap analysis of DNA fingerprinting-based phylogenetic trees with the freeware program FreeTree: application to trichomonad parasites.** Int J Syst Evol Microbiol 51: 731-735.

Winston, E. C., P. J. O'Farrelle and K. E. Young. 1993. **Yield and fruit quality of longan (*Dimocarpus Longan* Lour).** cultivars on the Atherton Tableland of Tropical North Australia. Fruit Varieties Journal. 47: 153-160

