การจำแนกพันธุ์และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลิ้นจี่โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลไอเอสเอสอาร์และลำดับนิวคลีโอไทด์ในคลอโรพลาสต์

สิริมา สุวรัตน์

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพันธุศาสตร์
มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2562

การจำแนกพันธุ์และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลิ้นจี่โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลไอเอสเอสอาร์และลำดับนิวคลีโอไทด์ในคลอโรพลาสต์

สิริมา สุวรัตน์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพันธุศาสตร์
สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2562

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

การจำแนกพันธุ์และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลิ้นจี่โดยใช้
เครื่องหมายโมเลกุลไอเอสเอสอาร์และลำดับนิวคลีโอไทด์ในคลอโรพลาสต์

สิริมา สุวรัตน์

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพันธุศาสตร์

พิจารณาเห็นชอบโดย **อาจารย์ที่ปรึกษา**

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก .....
(อาจารย์ ดร.ยุพเยาว์ คบพิมาย)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วินัย วิริยะอลงกรณ์)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.แสงทอง พงษ์เจริญกิต)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

ประธานอาจารย์ผู้รับผิดชอบหลักสูตร .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.แสงทอง พงษ์เจริญกิต)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการรับรองแล้ว .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ญาณิน โอภาสพัฒนกิจ)
รักษาการแทนรองอธิการบดี ปฏิบัติการแทน
อธิการบดีมหาวิทยาลัยแม่โจ้
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

ชื่อเรื่อง การจำแนกพันธุ์และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลิ้นจี่โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลไอเอสเอสอาร์และลำดับนิวคลีโอไทด์ในคลอโรพลาสต์
ชื่อผู้เขียน นางสาวสิริมา สุวรัตน์
ชื่อปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพันธุศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก อาจารย์ ดร.ยุพเยาว์ คบพิมาย

บทคัดย่อ

ลิ้นจี่ (*Litchi chinensis* Sonn.) เป็นไม้ผลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของไทย ซึ่งนิยมปลูกในภาคเหนือและภาคกลาง มหาวิทยาลัยแม่โจ้ได้มีการรวบรวมพันธุ์ลิ้นจี่ไว้ที่แปลงรวบรวมและอนุรักษ์พันธุ์ลิ้นจี่ สาขาไม้ผล คณะผลิตกรรมการเกษตร การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อจำแนกพันธุ์และศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลิ้นจี่ 23 พันธุ์ โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลไอเอสเอสอาร์และลำดับนิวคลีโอไทด์ในคลอโรพลาสต์ พบว่าเครื่องหมายไอเอสเอสอาร์ จำนวน 27 ไพรเมอร์ มี 24 ไพรเมอร์ที่สามารถสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอได้โดยให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวน 125 แถบ มีขนาดประมาณ 300-3,000 คู่เบส โดยเป็นแถบดีเอ็นเอที่มีพอลิมอฟิซึม จำนวน 107 แถบ คิดเป็น 85.6 เปอร์เซ็นต์ ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมของลิ้นจี่ 23 พันธุ์ อยู่ในช่วง 0.542 ถึง 1.000 เมื่อจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมพบว่าลิ้นจี่แบ่งเป็น 3 กลุ่ม แต่ไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ลิ้นจี่ 3 คู่ ออกจากกัน คือ (1) พันธุ์กวางเจากับโอวเฮียะ (2) พันธุ์สำเภาแก้วกับพันธุ์สาแหรกทอง และ (3) พันธุ์ฮงฮวยกับพันธุ์สำเภาทอง เมื่อศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนในคลอโรพลาสต์พบว่า ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL* มีความผันแปรเพียง 1 ตำแหน่ง ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณระหว่างยีน *trnL-trnF* มีความผันแปร 3 ตำแหน่ง เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL* และบริเวณระหว่างยีน *trnL-trnF* มาวิเคราะห์ร่วมกัน พบว่าค่าสัมประสิทธิ์ความต่างทางพันธุกรรมระหว่างลิ้นจี่ 23 พันธุ์อยู่ในช่วง 0.0000-0.0035 โดยพันธุ์จีนแดงมีค่าความต่างทางพันธุกรรมจากพันธุ์อื่น ๆ เมื่อสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม พันธุ์จีนแดงแยกออกจากลิ้นจี่พันธุ์อื่น ๆ แต่ไม่สามารถแยกพันธุ์ลิ้นจี่อีก 22 พันธุ์ออกจากกันได้

คำสำคัญ : ลิ้นจี่, ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม, เครื่องหมายโมเลกุลไอเอสเอสอาร์, ยีน rbcL, บริเวณระหว่างยีน trnL-trnF

Title IDENTIFICATION AND GENETIC RELATIONSHIPS A MONG LITCHI CULTIVARS (*Litchi chinensis* Sonn.) USING ISSR MARKERS AND DNA SEQUENCES OF CHLOROPLAST

Author Miss Sirima Suwarat

Degree Master of Science in Genetics

Advisory Committee Chairperson Dr. Yuppayao Kophimai

ABSTRACT

Litchi (*Litchi chinensis* Son.) is an economically important fruit crop in Thailand and mainly cultivated in the Northern and Central parts of Thailand. Maejo University has collected litchi cultivars in germplasm collection field at Department of Pomology, Faculty of Agricultural Production. This research aimed to identify and study genetic relationships among 23 litchi cultivars using inter-simple sequence repeat (ISSR) and nucleotide sequences in chloroplast. Of 27 ISSR primers, 24 primers successfully generated DNA fingerprint with 125 DNA bands in total, and DNA size ranged from 300-3,000 bp. Number of polymorphism band was 107 which accounted for 85.6 percent of total number of band. Similarity coefficients among 23 litchi cultivars ranged from 0.542-1.000. Grouping of genetic similarity showed that litchi cultivars were classified into 3 groups, but three cultivar pairs were not genetically different: (1) Kwangjao and Ohia, (2) Samphaokhaeo and Saraekthong, (3) Hong Huai and Samphaothong. Chloroplast nucleotide sequencing revealed one variation in *rbcL* and three variations in *trnL-trnF* intergenic spacer region. Pooling DNA sequences from the two regions revealed that dissimilarity coefficient varied from 0.0000-0.0035 and only Jeen Daeng cultivar was genetically different from other cultivars. Consequently, phylogenetic tree analysis showed that Jeen Daeng was on separate clade, whereas, 22 cultivars where on the same clade.

Keywords : Litchi, Genetic Relationship, ISSR Marker, rbcL gene, trnL-trnF intergenic spacer region

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้จัดทำขึ้นเพื่อเป็นส่วนหนึ่งในการศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาพันธุศาสตร์ ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ดร. ยุพเยาว์ คบพิมาย อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร. แสงทอง พงษ์เจริญกิต และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วินัย วิริยะอลงกรณ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์ความรู้ การเสนอแนะ ความช่วยเหลือ ตลอดจนช่วยแก้ไขปัญหาต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นตลอดระยะเวลาระหว่างการทำวิทยานิพนธ์ ทั้งให้ความเข้าใจในการศึกษาการวิจัยวิทยานิพนธ์นี้จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณทุนศิษย์ก้นกุฏิ ประจำปี พ.ศ. 2559 ของบัณฑิตวิยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ได้สนับสนุนทุนในการศึกษาเล่าเรียนบางส่วน

ขอขอบคุณ สาขาวิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ สำหรับอุปกรณ์เครื่องมือวิจัย และสถานที่ทำวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณเพื่อน ๆ และน้อง ๆ ในห้องปฏิบัติการ สำหรับกำลังใจและความช่วยเหลือในทุกๆ ด้าน ตลอดระยะเวลาในระหว่างการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

สุดท้ายขอขอบคุณครอบครัวของข้าพเจ้าที่ให้กำลังใจ เข้าใจ และสนับสนุนในด้านการศึกษาของข้าพเจ้ามาโดยตลอด

สิริมา สุวรัตน์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ค

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ง

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ฌ

สารบัญภาพ ..... ฎ

บทที่ 1 บทนำ 1

ที่มาและความสำคัญ 1

วัตถุประสงค์ของการวิจัย 4

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 4

บทที่ 2 การตรวจเอกสาร 5

ประวัติลิ้นจี่ 5

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของลิ้นจี่ 5

พันธุ์ลิ้นจี่ 7

การจำแนกพันธุ์พืช 18

การจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่ 19

เครื่องหมายโมเลกุลไอเอสเอสอาร์ (Inter-Simple Sequence Repeat: ISSR) 23

จีโนม (Genome) 24

จีโนมในคลอโรพลาสต์ (Chloroplast genome) 24

อิเล็กโทรโฟรีซิส (Electrophoresis) 26

เจลอะกาโรส (Agarose gel) 26

ปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรส (Polymerase chain reaction) 26
เครื่องหมายโมเลกุล (Molecular marker) 27
แผนภูมิต้นไม้ (Phylogenetic tree) 29
บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการวิจัย 32
วัสดุและอุปกรณ์ 34
เครื่องมือ 35
สารเคมี 36
ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย 37
วิธีการดำเนินงานวิจัย 38
สถานที่และระยะเวลาในการวิจัย 51
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์ 52
การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมด้วยเครื่องหมายโมเลกุล ISSR 52
การศึกษาความผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนในคลอโรพลาสต์ 123
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 138
บรรณานุกรม 140
ภาคผนวก 147
ภาคผนวก ก. 148
ภาคผนวก ข. 155
ประวัติผู้วิจัย 159

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 การเปรียบเทียบการจำแนกพืชด้วยวิธีต่าง ๆ 19

ตารางที่ 2 พันธุ์ลิ้นจี่ ลำไย และแหล่งที่มา 33

ตารางที่ 3 ชื่อไพรเมอร์ ISSR และลำดับนิวคลีโอไทด์ 40

ตารางที่ 4 องค์ประกอบของปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสในการหาอุณหภูมิ Annealing ที่เหมาะสมของไพรเมอร์โดยวิธีการทำ Gradient 41

ตารางที่ 5 องค์ประกอบของปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสในการหาอุณหภูมิ Annealing ของไพรเมอร์โดยการใช้อุณหภูมิเดี่ยว 42

ตารางที่ 6 องค์ประกอบของปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสในการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR 43

ตารางที่ 7 ไพรเมอร์ ISSR สำหรับตรวจสอบความแตกต่างของลิ้นจี่ทั้ง 3 คู่ 44

ตารางที่ 8 องค์ประกอบของปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสในการตรวจสอบความแตกต่างของลิ้นจี่ทั้ง 3 คู่ 45

ตารางที่ 9 ไพรเมอร์ที่ใช้สำหรับเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีนในคลอโรพลาสต์ 48

ตารางที่ 10 องค์ประกอบของปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสในการหาอุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์สำหรับยีน rbcL และบริเวณระหว่างยีน trnL-trnF 48

ตารางที่ 11 องค์ประกอบของปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีน rbcL และบริเวณที่อยู่ระหว่างยีน trnL-trnF 49

ตารางที่ 12 ผลการวัดปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่อง NanoDrop 2000 55

ตารางที่ 13 อุณหภูมิ Annealing ที่เหมาะสมของ ISSR จำนวน 27 ไพรเมอร์ ที่ได้จากการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบ Gradient 62

ตารางที่ 14 อุณหภูมิ Annealing ที่เหมาะสมของ ISSR จำนวน 27 ไพรเมอร์ ที่ได้จากการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบใช้อุณหภูมิเดี่ยว 73

ตารางที่ 15 สรุปอุณหภูมิที่เหมาะสมของไพรเมอร์ต่าง ๆ ในขั้นตอน Annealing ของการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรส 74

ตารางที่ 16 ผลการวิเคราะห์ไพรเมอร์ ISSR จำนวน 27 ไพรเมอร์ ในลิ้นจี่ทั้งหมด 23 พันธุ์ 103

ตารางที่ 17 ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมระหว่างลิ้นจี่ 23 พันธุ์และลำไย 2 พันธุ์ จากเครื่องหมายโมเลกุล ISSR..... 105

ตารางที่ 18 การเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทองกับพันธุ์สำเภาแก้ว 111

ตารางที่ 19 การเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทองกับพันธุ์ฮงฮวย 115

ตารางที่ 20 การเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลิ้นจี่พันธุ์กวางเจากับพันธุ์โอวเฮียะ 119

ตารางที่ 21 ชื่อพันธุ์ลิ้นจี่ ลำไย และหมายเลขเฉพาะของลำดับนิวคลีโอไทด์ (Accession number) ของยีน rbcL และบริเวณระหว่างยีน trnL-trnF ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ 127

ตารางที่ 22 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน rbcL และบริเวณระหว่างยีน trnL-trnF .. 128

ตารางที่ 23 ความต่างทางพันธุกรรมระหว่างลิ้นจี่ 23 พันธุ์และลำไย 2 พันธุ์ จากความผันแปรของนิวคลีโอไทด์ของยีน rbcL และบริเวณระหว่างยีน trnL-trnF 135

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 ดอกเพศผู้ (ก) และดอกกะเทยทำหน้าที่เป็นดอกเพศเมีย (ข)..... 6

ภาพที่ 2 ลักษณะใบอ่อน ใบแก่ ผล และเมล็ดของลิ้นจี่พันธุ์กวางเจา..... 7

ภาพที่ 3 ลักษณะใบอ่อนใบแก่ ผล และเมล็ดของลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทอง..... 8

ภาพที่ 4 ลักษณะใบอ่อน ใบแก่ ผล และเมล็ดของลิ้นจี่พันธุ์โอวเฮียะ..... 9

ภาพที่ 5 ลักษณะใบอ่อน ใบแก่ ผล และเมล็ดของลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบอ้อ..... 9

ภาพที่ 6 ลักษณะใบอ่อน ใบแก่ ผล และเมล็ดของลิ้นจี่พันธุ์กิมเจง..... 10

ภาพที่ 7 ลักษณะใบอ่อน ใบแก่ ผล และเมล็ดของลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ..... 11

ภาพที่ 8 ลักษณะใบอ่อน ใบแก่ ผล และเมล็ดของลิ้นจี่พันธุ์ช่อระกำ..... 11

ภาพที่ 9 ลักษณะใบอ่อน ใบแก่ ผล และเมล็ดของลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย..... 12

ภาพที่ 10 ลักษณะใบอ่อน ใบแก่ ผล และเมล็ดของลิ้นจี่พันธุ์สำเภาแก้ว..... 13

ภาพที่ 11 ลักษณะใบอ่อน ใบแก่ ผล และเมล็ดของลิ้นจี่พันธุ์นครพนม 1..... 14

ภาพที่ 12 ลักษณะใบอ่อน ใบแก่ ผล และเมล็ดของลิ้นจี่พันธุ์บริวสเตอร์..... 14

ภาพที่ 13 ลักษณะใบอ่อน ใบแก่ ผล และเมล็ดของลิ้นจี่พันธุ์กระโถนท้องพระโรง..... 16

ภาพที่ 14 ลักษณะใบอ่อน ใบแก่ ผล และเมล็ดของลิ้นจี่พันธุ์ค่อม..... 16

ภาพที่ 15 ลักษณะใบอ่อน ใบแก่ ผล และเมล็ดของลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบยาว..... 17

ภาพที่ 16 ลักษณะใบอ่อน ใบแก่ ผล และเมล็ดของลิ้นจี่พันธุ์จีนแดง..... 18

ภาพที่ 17 ตัวอย่างการตรวจสอบดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมาย ISSR..... 24

ภาพที่ 18 แบบจำลองดีเอ็นเอในคลอโรพลาสต์ของลิ้นจี่..... 25

ภาพที่ 19 ตำแหน่งองค์ประกอบของ Phylogenetic tree..... 30

ภาพที่ 20 การแยกสายวิวัฒนาการ..... 31

ภาพที่ 21 แปลงรวบรวมและอนุรักษ์พันธุ์ลิ้นจี่ มหาวิทยาลัยแม่โจ้..... 32

ภาพที่ 22 ลักษณะรูปร่างใบของลิ้นจี่ 46
ภาพที่ 23 ลักษณะปลายใบของลิ้นจี่ 46
ภาพที่ 24 ลักษณะฐานใบของลิ้นจี่ 46
ภาพที่ 25 ผลการสกัดดีเอ็นเอลิ้นจี่ 23 พันธุ์และลำไย 2 พันธุ์ 53
ภาพที่ 26 ผลการทดสอบอุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์ 807, 808, 809, 810 และ 817 โดยวิธีการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบ Gradient 56
ภาพที่ 27 ผลการทดสอบอุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์ 822, 826, 828, 834 และ 835 โดยวิธีการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบ Gradient 57
ภาพที่ 28 ผลการทดสอบอุณหภูมิ Annealing ของไพรเมอร์ 836, 841, 842, 844 และ 845 โดยวิธีการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบ Gradient 58
ภาพที่ 29 ผลการทดสอบอุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์ 847, 849, 855, 856 และ 864 โดยวิธีการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบ Gradient 59
ภาพที่ 30 ผลการทดสอบอุณหภูมิ Annealing ของไพรเมอร์ 867, 880, 881, 888 และ 889 โดยวิธีการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบ Gradient 60
ภาพที่ 31 ผลการทดสอบอุณหภูมิ Annealing ของไพรเมอร์ 890 และ 891 โดยวิธีการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบ Gradient 61
ภาพที่ 32 ผลการทดสอบอุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์ 807, 808 และ 809 โดยวิธีการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบใช้อุณหภูมิเดี่ยว 63
ภาพที่ 33 ผลการทดสอบอุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์ 810, 817 และ 822 โดยวิธีการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบใช้อุณหภูมิเดี่ยว 64
ภาพที่ 34 ผลการทดสอบอุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์ 826, 828, 834 และ 835 โดยวิธีการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบใช้อุณหภูมิเดี่ยว 65
ภาพที่ 35 ผลการทดสอบอุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์ 836, 841 และ 842 โดยวิธีการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบใช้อุณหภูมิเดี่ยว 66
ภาพที่ 36 ผลการทดสอบอุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์ 844 และ 845 โดยวิธีการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบใช้อุณหภูมิเดี่ยว 67

ภาพที่ 37 ผลการทดสอบอุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์ 847, 849, 855 และ 856 โดยวิธีการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบใช้อุณหภูมิเดี่ยว 68

ภาพที่ 38 ผลการทดสอบอุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์ 864 และ 867 โดยวิธีการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบใช้อุณหภูมิเดี่ยว 69

ภาพที่ 39 ผลการทดสอบอุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์ 880 และ 881 โดยวิธีการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบใช้อุณหภูมิเดี่ยว 70

ภาพที่ 40 ผลการทดสอบอุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์ 888 และ 889 โดยวิธีการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบใช้อุณหภูมิเดี่ยว 71

ภาพที่ 41 ผลการทดสอบอุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์ 890 และ 891 โดยวิธีการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบใช้อุณหภูมิเดี่ยว 72

ภาพที่ 42 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 807 76

ภาพที่ 43 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 808 77

ภาพที่ 44 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 809 78

ภาพที่ 45 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 810 79

ภาพที่ 46 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 817 80

ภาพที่ 47 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 822 81

ภาพที่ 48 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 826 82

ภาพที่ 49 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 828 83

ภาพที่ 50 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 834 84

ภาพที่ 51 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 835 85

ภาพที่ 52 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 836 86

ภาพที่ 53 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 841 87

ภาพที่ 54 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 842 88

ภาพที่ 55 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 844 89

ภาพที่ 56 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 845 90

ภาพที่ 57 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 847 91
ภาพที่ 58 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 849 92
ภาพที่ 59 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 855 93
ภาพที่ 60 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 856 94
ภาพที่ 61 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 864 95
ภาพที่ 62 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 880 96
ภาพที่ 63 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 881 97
ภาพที่ 64 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 888 98
ภาพที่ 65 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 889 99
ภาพที่ 66 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 890 100
ภาพที่ 67 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 891 101
ภาพที่ 68 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในลิ้นจี่ 23 พันธุ์ ที่ได้จากเครื่องหมายโมเลกุล ISSR จำนวน 24 ไพรเมอร์ โดยใช้ลำไยเป็นตัวอย่างนอกกลุ่ม..... 108
ภาพที่ 69 ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของลิ้นจี่ 6 พันธุ์ด้วยไพรเมอร์ 811, 812, 818 และ 850.... 109
ภาพที่ 70 ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของลิ้นจี่ 6 พันธุ์ด้วยไพรเมอร์ I2, P3, P8 และ 816 110
ภาพที่ 71 ลักษณะทรงพุ่มของลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทองและพันธุ์สำเภาแก้ว..... 112
ภาพที่ 72 ลักษณะใบของลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทองและพันธุ์สำเภาแก้ว 112
ภาพที่ 73 ลักษณะผิวเปลือกลำต้นของลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทองและพันธุ์สำเภาแก้ว..... 113
ภาพที่ 74 ลักษณะกิ่งของลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทองและพันธุ์สำเภาแก้ว 113
ภาพที่ 75 ลักษณะการออกดอกของลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทองและพันธุ์สำเภาแก้ว..... 114
ภาพที่ 76 ลักษณะทรงพุ่มของลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทองและพันธุ์ฮงฮวย 116
ภาพที่ 77 ลักษณะใบของลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทองและพันธุ์ฮงฮวย..... 116
ภาพที่ 78 ลักษณะผิวเปลือกลำต้นของลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทองและพันธุ์ฮงฮวย 117
ภาพที่ 79 ลักษณะของกิ่งของลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทองและพันธุ์ฮงฮวย 117

ภาพที่ 80 ลักษณะการออกดอกของลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทองและพันธุ์ฮงฮวย 118
ภาพที่ 81 ลักษณะทรงพุ่มของลิ้นจี่พันธุ์กวางเจาและพันธุ์โอวเฮียะ 120
ภาพที่ 82 ลักษณะใบของลิ้นจี่พันธุ์กวางเจาและพันธุ์โอวเฮียะ 120
ภาพที่ 83 ลักษณะของผิวเปลือกลำต้นของลิ้นจี่พันธุ์กวางเจาและพันธุ์โอวเฮียะ 121
ภาพที่ 84 ลักษณะของกิ่งของลิ้นจี่พันธุ์กวางเจาและพันธุ์โอวเฮียะ 121
ภาพที่ 85 ผลการทดสอบอุณหภูมิ Annealing ของไพรเมอร์ยีน rbcL และบริเวณระหว่างยีน trnL-trnF 123
ภาพที่ 86 ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีน rbcL 124
ภาพที่ 87 ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของบริเวณระหว่างยีน trnL-trnF 125
ภาพที่ 88 ความผันแปรของนิวคลีโอไทด์ของยีน rbcL ในลิ้นจี่และลำไย 131
ภาพที่ 89 ความผันแปรของนิวคลีโอไทด์ของบริเวณระหว่างยีน trnL-trnF ในลิ้นจี่และลำไย 133
ภาพที่ 90 แผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในลิ้นจี่ 23 พันธุ์ จากลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน rbcL และบริเวณระหว่างยีน trnL-trnF โดยใช้ลำไย 2 พันธุ์ เป็นตัวอย่างนอกกลุ่ม 136

บทที่ 1
บทนำ

ที่มาและความสำคัญ

ความหลากหลายทางพันธุกรรมเป็นพื้นฐานของความหลากหลายทางชีวภาพ เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของหน่วยพันธุกรรมหรือยีน ซึ่งเกิดขึ้นได้เองตามธรรมชาติทำให้มีความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตมากขึ้น มนุษย์ได้ใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพมากกว่าสิ่งมีชีวิตอื่นไม่ว่าจะเป็นด้านอาหาร เครื่องนุ่งห่ม ยารักษาโรครวมถึงที่อยู่อาศัย (สำนักงานวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ, 2554) จึงกล่าวได้ว่าความหลากหลายทางชีวภาพมีความสำคัญต่อมนุษย์ ปัจจุบันประชากรโลกมีการเพิ่มสูงขึ้นทำให้มีความต้องการทรัพยากรด้านอาหารเพิ่มขึ้น แต่ในปัจจุบันสภาพแวดล้อมเปลี่ยนแปลงมีผลกระทบต่อการผลิตพืชอาหาร รวมทั้งพื้นที่ปลูกลดน้อยลงทำให้การพัฒนาปรับปรุงพันธุ์พืชมีความสำคัญมากขึ้น เพื่อเพิ่มคุณภาพและผลผลิตให้สูงขึ้น สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้ ในการปรับปรุงพันธุ์พืชจำเป็นต้องใช้พันธุกรรมที่มีความหลากหลายเพื่อให้ได้ผลการปรับปรุงพันธุ์ที่ตรงต่อความต้องการและมีลักษณะที่ตรงต่อความต้องการของตลาด จึงควรมีการศึกษาจัดจำแนกพันธุ์พืชไว้อย่างมีระบบเพื่อใช้เป็นฐานข้อมูลเชื้อพันธุกรรมให้แก่นักปรับปรุงพันธุ์ ดังนั้นการจัดจำแนกพันธุ์พืชจึงมีความสำคัญมากในการเริ่มต้นของการปรับปรุงพันธุ์

ลิ้นจี่ในประเทศไทยได้มีการนำพันธุ์เข้ามาปลูกและมีการกระจายตัวของพันธุ์ในระยะเวลาต่อมา ลิ้นจี่มีพื้นที่ปลูกส่วนมากในเขตภาคเหนือและภาคกลางของประเทศ ลิ้นจี่เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของไทยเนื่องจากมีการส่งออกทั้งผลสดและผลิตภัณฑ์กระป๋อง โดยในปี พ.ศ. 2559 มีมูลค่าการส่งออกลิ้นจี่ประมาณ 405 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2559) นอกจากนี้การวิจัยทางการแพทย์ยังพบว่าลิ้นจี่มีสรรพคุณทางยา ได้แก่ สารต้านโรคมะเร็ง (Hsu et al., 2012; Wang et al., 2006) ต้านการอักเสบ (Fei et al., 2014) และสารต้านอนุมูลอิสระ (Yang et al., 2006) การปลูกลิ้นจี่ในเชิงการค้านั้นมักจะพบปัญหาลิ้นจี่ไม่ออกดอก หรือออกดอกปีเว้นปีทำให้ได้ผลผลิตไม่คงที่ในแต่ละปีส่งผลกระทบต่อรายได้ของเกษตรกรที่ทำสวนลิ้นจี่ รวมถึงการส่งออกของประเทศด้วย ซึ่งอาจส่งผลให้เกษตรกรที่ทำสวนลิ้นจี่ล้มต้นลิ้นจี่เพื่อหันไปปลูกพืชชนิดอื่นแทน จากผลกระทบนี้อาจทำให้สูญเสียความหลากหลายของพันธุ์ลิ้นจี่ได้

มหาวิทยาลัยแม่โจ้ได้มีการรวบรวมพันธุ์ลิ้นจี่มาไว้ที่แปลงรวบรวมและอนุรักษ์พันธุ์ลิ้นจี่ สาขาไม้ผล คณะผลิตกรรมการเกษตร ซึ่งการจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่ภายในแปลงรวบรวมและอนุรักษ์พันธุ์ลิ้นจี่อาศัยข้อมูลจากวิธีทางสัณฐานวิทยาและการส่งต่อชื่อพันธุ์ที่นำมารวบรวมจากการบอกเล่า อีกทั้งยังไม่ได้มีตรวจสอบพันธุ์ลิ้นจี่อีกด้วย ชื่อพันธุ์ลิ้นจี่นั้นมีการแปลชื่อพันธุ์ที่เป็นภาษาจีนเป็นภาษาถิ่นซึ่งอาจทำให้เกิดความสับสนในการเรียกชื่อพันธุ์ได้ ดังนั้นการจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่อาจไม่ถูกต้อง พันธุ์ที่มี

ชื่อต่างกันอาจจะเป็นพันธุ์เดียวกัน หรือพันธุ์ที่มีชื่อเหมือนกันอาจจะเป็นพันธุ์ที่ต่างกัน ตัวอย่างเช่น ลิ้นจี่ที่มีชื่อเรียกว่าฮงฮวยในประเทศไทย มีชื่อพันธุ์ว่า Taiso ในสาธารณรัฐประชาชนจีน ซึ่งในรัฐฮาวายจะเรียกลิ้นจี่พันธุ์นี้ว่า Kwai Mi และ Charley Tong เช่นเดียวกับประเทศออสเตรเลียมีชื่อเรียกว่า Kwai Mi ส่วนในประเทศแอฟริกาใต้นั้นจะเรียกว่า Mauritius ดังที่พบในรายงานของ Aradhya et al. (1995), Tongpamnak et al. (2002), Degani et al. (2003) และ Madhou et al. (2013)

การจัดจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่ที่มีการศึกษามาแล้วได้จัดจำแนกไว้หลายวิธีด้วยกัน ได้แก่ 1) วิธีสัณฐานวิทยา เป็นการจำแนกโดยศึกษาโครงสร้างส่วนต่าง ๆ เช่น ลักษณะของลำต้น ใบ ดอก ผล และเมล็ด ซึ่งสามารถใช้เป็นเกณฑ์การจัดจำแนกได้ เพราะพืชสืบเชื้อสายมาจากต้นเดียวกัน ทำให้มีโครงสร้างที่คล้ายกัน (เสนาะ, 2528) แต่ลักษณะอาจมีการเปลี่ยนแปลงไปตามสภาพแวดล้อมและต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญในการจำแนก 2) วิธีเซลล์พันธุศาสตร์ จากการนับจำนวนโครโมโซมของลิ้นจี่ในประเทศไทยพบว่ามีจำนวนโครโมโซมเท่ากันคือ 2n=30 แต่มีขนาดและรูปร่างแตกต่างกัน ทำให้การนับจำนวนโครโมโซมยังไม่เหมาะสมกับการจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่ (ชินวัฒน์, 2541) 3) วิธีเครื่องหมายดีเอ็นเอ ซึ่งการจำแนกโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอได้รับความนิยมเนื่องมีจากมีความแม่นยำและไม่ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมและระยะการเจริญเติบโตของพืช เครื่องหมายดีเอ็นเอที่สามารถจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่ เช่น random amplified polymorphic DNA (RAPD) (Anuntalabhochai et al., 2002), high annealing temperature-random amplified polymorphic DNA (HAT-RAPD) (Wangspa et al., 2005), simple sequence repeat (SSR) (Viruel and Hormaza. 2004), inter-simple sequence repeat (ISSR) (Degani et al., 2003), amplified fragment length polymorphism (AFLP) (Tongpamnak et al., 2002) และ single-nucleotide polymorphism (SNP) (Liu et al., 2015)

เครื่องหมายโมเลกุล ISSR ถูกนำมาใช้ในการจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่ดังรายงานของ Degani et al. (2003) และ Long et al. (2015) ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ของแถบดีเอ็นเอที่เป็นพอลิมอร์ฟิซึมสูง เครื่องหมายโมเลกุลชนิดนี้สามารถจำแนกได้ถึงในระดับภายในสปีชีส์ได้ ตรวจสอบได้หลายตำแหน่งของจีโนมพร้อม ๆ กัน มีการใช้อุณหภูมิ Annealing ที่สูงมากกว่าเครื่องหมาย RAPD จึงมีความเสถียรในการทำซ้ำที่ดีกว่า อีกทั้งไม่จำเป็นต้องทราบถึงข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวอย่างก่อนอีกด้วย ดังนั้นเครื่องหมายโมเลกุลชนิดนี้จึงอาจสามารถนำมาใช้ศึกษาการจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่ภายในแปลงรวบรวมและอนุรักษ์พันธุ์ลิ้นจี่ได้

ในปัจจุบันมีผู้สนใจการจำแนกพืชที่เป็นชนิดหรือสปีชีส์เดียวกันโดยใช้ความผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนในคลอโรพลาสต์มากขึ้น เพื่อเป็นการศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต เช่น ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ความหลากหลายทางพันธุกรรม การจำแนกพืชที่อยู่ต่างสปีชีส์หรือภายในสปีชีส์เดียวกัน เช่น รายงานของ Harpke et al. (2013) ที่การศึกษา

ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของพืชในสกุล *Mammillaria* (Cactaceae) จากความผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทด์ของบริเวณระหว่างยีน *trnL-trnF* รายงานของปิยดา และคณะ (2558) ได้จำแนกพันธุ์มะม่วง 18 พันธุ์ ในประเทศไทยจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rpoC1* และ *rbcL* รายงานของนฤมล และคณะ (2557) ที่วิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของข้าวมีสีโดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL* และ *rpoC1* เป็นต้น สำหรับการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมนิยมใช้บริเวณที่มีความผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทด์สูงแต่ยังคงมีบริเวณอนุรักษ์ (conserved region) และมีขนาดไม่ยาวมาก เช่น ยีน *rbcL*, *matK*, *rpoB*, *rpoC1*, บริเวณระหว่างยีน *trnL-trnF* (Kress and Erickson, 2007) เป็นต้น การนำความผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทด์จากยีนในคลอโรพลาสต์มาใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลิ้นจี่ในประเทศไทยนั้นยังมีการศึกษาไว้ไม่มาก พบเพียงการศึกษาของ Lithanatudom et al. (2017) ที่จำแนกพืชในสกุล *Democarpus* โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ ITS2, *matK, rbcL, trnH-psbA, trnL-I* และ *trnL-trnF* ร่วมกันในการจำแนกลำไยโดยใช้ลิ้นจี่เป็นตัวอย่างนอกกลุ่มซึ่งสามารถแยกความแตกต่างในระดับสปีชีส์ได้

การศึกษาครั้งนี้ใช้เครื่องหมายโมเลกุล ISSR และความผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทด์จากยีนในคลอโรพลาสต์คือยีน *rbcL* และบริเวณระหว่างยีน *trnL-trnF* ในการจำแนกลิ้นจี่ทั้งหมด 22 พันธุ์ ในแหล่งรวบรวมพันธุกรรมลิ้นจี่ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ และ 1 พันธุ์จากสวนลิ้นจี่ในอำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ โครงการวิจัยนี้จะช่วยให้สามารถตรวจสอบพันธุ์ลิ้นจี่ได้อย่างแม่นยำขึ้น และตรวจสอบว่าพันธุ์ลิ้นจี่ที่รวบรวบไว้มีความแตกต่างกันทางพันธุกรรมหรือไม่ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการปรับปรุงพันธุ์ลิ้นจี่ต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. จำแนกพันธุ์ลิ้นจี่จำนวน 22 พันธุ์ ในแปลงรวบรวมพันธุกรรมของมหาวิทยาลัยแม่โจ้ และ 1 พันธุ์จากสวนลิ้นจี่ อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล inter-simple sequence repeat (ISSR)

2. เพื่อศึกษาความผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนในคลอโรพลาสต์ของลิ้นจี่จำนวน 23 พันธุ์

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่ในแปลงรวบรวมพันธุกรรมของมหาวิทยาลัยแม่โจ้ได้

2. สร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอลิ้นจี่เพื่อเป็นฐานข้อมูลในการอ้างอิง

3. ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลิ้นจี่จากความผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนในคลอโรพลาสต์

4. ข้อมูลพื้นฐานสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ลิ้นจี่ให้แก่นักปรับปรุงพันธุ์

บทที่ 2
การตรวจเอกสาร

ประวัติลิ้นจี่

ลิ้นจี่ เป็นไม้ผลเขตกึ่งร้อน (subtropical fruit) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Litchi chinensis* Sonn. อยู่ในวงศ์ Sapindaceae เช่นเดียวกับ เงาะ ลำไย มีชื่อสามัญว่า litchi, litchee, leechee, lichee, laichi, lychee, lici เป็นต้น (อนันต์, 2547) นิยมเรียกว่า Lychee หรือ Litchi มีถิ่นกำเนิดทางภาคใต้ของสาธารณะรัฐประชาชนจีน แถบมณฑลกวางตุ้ง และฟุดเกี้ยง (Groff, 1921) และมีการปลูกอย่างแพร่หลาย เช่น ประเทศอินเดีย ศรีลังกา ไต้หวัน ฮ่องกง แอฟริกาใต้ ออสเตรเลีย รัฐฟอริดา หมู่เกาะฮาวาย ไทย และเวียดนาม เป็นต้น ประเทศที่มีการผลิตลิ้นจี่มากที่สุดในโลกคือ สาธารณะรัฐประชาชนจีน สำหรับในประเทศไทย ลิ้นจี่ไม่ใช่พืชท้องถิ่น แต่นำเข้ามาปลูกช่วงปลายศตวรรษที่ 17 (Subhadrabandhu, 1990) โดยนิยมปลูกในภาคเหนือ ในปี พ.ศ. 2552 มีพื้นที่ปลูกทั้งประเทศ 153,620 ไร่ ภาคเหนือมีพื้นที่ปลูก 131,517 ไร่ ภาคกลางมีพื้นที่ปลูกรองลงมา คือ 15,932 ไร่ สำหรับภาคที่มีการปลูกน้อยที่สุดคือภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ปลูกจำนวน 6,171 ไร่ พันธุ์ของลิ้นจี่ที่สำคัญ ได้แก่ พันธุ์ฮงฮวย มีประมาณ 73 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ปลูกทั้งหมด รองลงมาคือพันธุ์โอวเฮียะและพันธุ์กิมเจง การส่งออกลิ้นจี่สามารถส่งออกในรูปผลสดและผลิตภัณฑ์ โดยส่วนที่ส่งออกคิดเป็น 35 เปอร์เซ็นต์ และการบริโภคภายในประเทศ 65 เปอร์เซ็นต์ (สำนักงานพาณิชย์จังหวัดเชียงใหม่, 2553) โดยในปี พ.ศ. 2559 มีมูลค่าการส่งออกลิ้นจี่ประมาณ 405 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2559) จึงถือว่าลิ้นจี่เป็นไม้ผลทางเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย

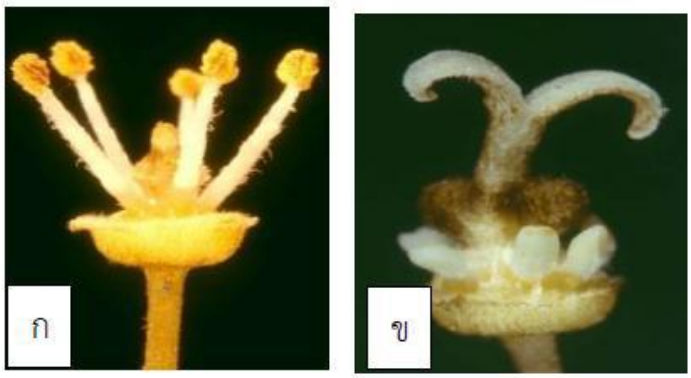
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของลิ้นจี่ (นิพัฒน์, 2556)

1. ลำต้น ลิ้นจี่เป็นไม้ผลประเภทไม่ผลัดใบ มีขนาดลำต้นขนาดกลางถึงใหญ่ ต้นลิ้นจี่ที่ได้จากการเพาะเมล็ดมีลำต้นสูงตรง มีรากแก้ว ต้นลิ้นจี่ที่ได้จากการตอนกิ่งมีทรงพุ่มแผ่กว้างและมีรากฝอย ต้นสูงประมาณ 9-15 เมตร ทรงพุ่มกว้าง 5-10 เมตร เปลือกลำต้นมีสีน้ำตาลหรือสีเทาปนน้ำตาล ผิวเปลือกลำต้นแตกเป็นสะเก็ด และร่องขรุขระ กิ่งกลมและเนื้อไม้มักเปราะทำให้กิ่งแตกหักง่าย

2. ใบ ใบอ่อนสีเขียวอ่อน เขียว และชมพูปนแดง ใบแก่สีเขียวและเขียวเข้ม ใบมีการเรียงตัวสลับแบบตรงกันข้ามและเยื้องกัน เป็นใบประกอบแบบขนนกซึ่งแต่ละใบประกอบด้วยใบย่อย

2-10 ใบ รูปร่างใบมีตั้งแต่ยาวเรียวไปจนถึงรูปหอก ขอบใบเรียบ ฐานใบรูปลิ่ม ผิวด้านบนมันเป็นวาว ผิวใบด้านล่างสีเขียวอ่อน เนื้อใบหนาและเหนียวคล้ายหนัง

3. ช่อดอก เป็นแบบ Panicle มีก้านดอกที่แตกก้านช่อดอกย่อยมาก มีกลิ่นหอมเวลาที่บานเต็มที่ ดอกสีครีมขนาด 6-8 มิลลิเมตร มีกลีบดอก 5 กลีบ บางเรียวเล็ก สีขาวหม่น เรียงตัวเยื้องกัน มีกลีบรองดอก 5 กลีบ สีเขียวปนน้ำตาลและแข็ง ฐานกลีบรองดอกมีน้ำหวาน แบ่งดอกได้ 3 ชนิด ได้แก่ 1) ดอกเพศผู้ มีเกสรเพศผู้ 6-8 อัน เรียงเป็นชั้นอยู่บนฐานรองดอก ก้านเกสรเพศผู้ มีขนสีขาวขุ่น ยาวประมาณ 3 มิลลิเมตร อับเกสรเพศผู้มีสีเหลืองอ่อน มี 2 หยัก และปริแตกตามยาวปล่อยละอองเกสรเพศผู้ในช่วงบ่าย ละอองเกสรเพศผู้มีสีเหลืองอ่อน รูปยาวรี แล้วเปลี่ยนเป็นสามเหลี่ยมหรือกลมรีเมื่อได้รับความชื้น ละอองเกสรเพศผู้มี 3 ขั้ว แต่ท่อละอองเกสรเพศผู้มักงอกจากขั้วเดียวเท่านั้น 2) ดอกกะเทยที่ทำหน้าที่เป็นดอกเพศเมีย รังไข่มีขนปกคลุม มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 2-2.5 มิลลิเมตร รังไข่มี 2 พู แต่มีพูเดียวที่พัฒนาเป็นผล อีกพูหนึ่งฝ่อแห้ง และติดตรงขั้วผล ก้านเกสรเพศเมียยาว 4-5 มิลลิเมตร ปลายยอดเกสรเพศเมียแยกเป็น 2 แฉก มีน้ำหวาน และพร้อมรับละอองเกสรช่วงเช้าตรู่ มีเกสรเพศผู้ที่มีก้านเกสรสั้น ๆ 6-8 อัน ล้อมรอบรังไข่ แต่อับเกสรเพศผู้มักเป็นหมัน 3) ดอกกะเทยที่ทำหน้าที่เป็นเพศผู้ มีลักษณะคล้ายดอกกะเทยที่ทำหน้าที่เป็นเพศเมียมาก แต่อับละอองเกสรเพศผู้ไม่เป็นหมัน มีละอองเรณูที่มีชีวิตเหมือนดอกเพศผู้แต่ไม่ค่อยพบในสภาพธรรมชาติ ช่อดอกมักมีจำนวนดอกเพศผู้มากกว่าดอกกะเทยที่ทำหน้าที่เป็นเพศเมีย แต่สัดส่วนของดอกทั้งสองชนิดนี้แปรผันตามพันธุ์ และสภาพแวดล้อมในช่วงที่ช่อดอกพัฒนา โดยมีลำดับการบานในต้นเดียวกันไม่พร้อมกัน (Menzel, 1988) จึงมักเป็นการผสมข้าม ช่อดอกใช้เวลาประมาณ 6-12 สัปดาห์จนดอกบานเต็มที่ ต้นเพาะเมล็ดเริ่มออกดอกหลังการปลูก 7-8 ปี แต่ต้นตอนกิ่งจะเริ่มออกดอกหลังปลูก 3-4 ปี โดยเริ่มออกดอกปลายเดือนธันวาคมถึงต้นมกราคม



ภาพที่ 1 ดอกเพศผู้ (ก) และดอกกะเทยทำหน้าที่เป็นดอกเพศเมีย (ข)
ที่มา: นิพัฒน์ (2556)

4. ผล เกิดจากการพัฒนารังไข่ของดอกกะเทยที่ทำหน้าที่เป็นดอกเพศเมียซึ่งมีรังไข่สองพู แต่มีเพียงพูเดียวที่พัฒนาเป็นผลที่สมบูรณ์ น้ำหนักผลเพิ่มขึ้นอย่างช้าในช่วงแรก แล้วเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงต่อมาแล้วคงที่หรือไม่เปลี่ยนแปลงจนเก็บเกี่ยว จากเริ่มติดผลถึงการเก็บเกี่ยวผลใช้เวลา 4-6 เดือน ขึ้นกับพันธุ์ และสภาพแวดล้อม ผลมีรูปร่างค่อนข้างกลม หรือกลมแป้นขนาดแตกต่างกัน เปลือกผลเจริญมาจากผนังรังไข่ และพัฒนาไปพร้อมกับเมล็ดหลังติดผลแล้ว 7-8 วัน ต่อมาเมล็ดหยุดพัฒนาแต่เปลือกผลยังพัฒนาต่อจนเก็บเกี่ยวผลได้ เปลือกผลสีชมพูอมแดง แดงหรือแดงคล้ำ เปลือกผลอาจเป็นตุ่ม หนามแหลมหรือค่อนข้างเรียบ เปลือกหนาแตกต่างตามพันธุ์ เนื้อสีขาวขุ่น มีความหนาเนื้อและความฉ่ำน้ำแตกต่างกัน มีรสหวานอมเปรี้ยว บางพันธุ์มีรสฝาดหรือมีกลิ่นหอมเล็กน้อย เมล็ดมีสีน้ำตาลหรือน้ำตาลแก่ รูปร่าง ขนาด และน้ำหนักแตกต่างตามพันธุ์ ในบางพันธุ์พบว่ามีเมล็ดที่ลีบซึ่งอาจเกิดจากพันธุกรรมหรือผลกระทบของอุณหภูมิต่ำหลังการผสมเกสร

พันธุ์ลิ้นจี่ (นิพัฒน์, 2558)

1. พันธุ์กวางเจา

พันธุ์กวางเจามีทรงพุ่มเป็นครึ่งวงกลม มีลักษณะเปลือกลำต้นแบบเรียบสีเทาแกมเขียว กิ่งมีลักษณะค่อนข้างแบนและบิดตั้งตรง ใบอ่อนมีสีเหลืองปนเขียวและมีสีเขียวในใบแก่ มี 2-3 คู่ใบย่อย รูปร่างของใบรีค่อนข้างแคบ ขอบใบเป็นคลื่น แผ่นใบเรียบ ปลายใบยาวคล้ายหาง ฐานใบลิ่ม เนื้อใบคล้ายกระดาษ ออกดอกปลายเดือนมกราคม ดอกบานกลางเดือนกุมภาพันธ์ มีเปอร์เซ็นต์การออกดอก 51-75 เปอร์เซ็นต์ ติดผลต้นเดือนมีนาคม เก็บเกี่ยวผลปลายเดือนเมษายนถึงต้นเดือนพฤษภาคม จำนวนผล 3-5 ผลต่อช่อ ผลรูปหัวใจ ความสมมาตรปานกลาง ปลายผลป้าน ไหล่ผลยกสองข้าง เปลือกค่อนข้างหนา สีชมพูอมแดง เปลือกผิวขรุขระแต่ไม่มีหนาม ฐานตุ่มหนามกว้างปลายแหลม ลักษณะเนื้อมีสีขาวขุ่น เนื้อนิ่ม เนื้อฉ่ำน้ำปานกลาง รสหวาน หอมเล็กน้อย ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ 18.1 องศาบริกซ์ เมล็ดป้อมยาวหรือลีบ สีน้ำตาลแก่

ภาพที่ 2 ลักษณะใบอ่อน ใบแก่ ผล และเมล็ดของลิ้นจี่พันธุ์กวางเจา

ที่มา: นิพัฒน์ (2558)

2. พันธุ์สาแหรกทอง

พันธุ์สาแหรกทองมีทรงพุ่มกลม ลักษณะเปลือกลำต้นแบบเรียบสีเทาแกมน้ำตาล ลักษณะกิ่งกลมและตั้งตรง สีใบอ่อนมีสีแดง ใบแก่สีเขียว มี 2-3 คู่ใบย่อย ใบรูปหอก ขอบใบและแผ่นใบเรียบ ปลายใบเรียวแหลม ฐานใบเป็นลิ่ม ลักษณะเนื้อคล้ายกระดาษ ใบด้าน ออกดอกปลายเดือนธันวาคม ดอกบานกลางเดือนมกราคม เปอร์เซ็นต์การออกดอกน้อยกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ ติดผลต้นเดือนกุมภาพันธ์ เก็บเกี่ยวผลปลายเดือนเมษายน ลักษณะของผล รูปร่างไข่กลับแกมขอบขนาน ไหล่ผลยกข้างเดียว ปลายผลป้าน เปลือกหนาปานกลาง สีแดงอมส้ม ผิวเปลือกขรุขระมีตุ่มหนาม ฐานตุ่มหนามกว้างปลายแหลมยาว สีเนื้อขาวใส เนื้อแน่น ความฉ่ำน้ำของเนื้อปานกลาง รสชาติหวานอมเปรี้ยว ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ 19.3 องศาบริกซ์ เมล็ดรียาว สีน้ำตาลแก่

ภาพที่ 3 ลักษณะใบอ่อนใบแก่ ผล และเมล็ดของลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทอง
ที่มา: นิพัฒน์ (2558)

3. พันธุ์โอวเฮียะ

พันธุ์โอวเฮียะมีทรงพุ่มครึ่งวงกลม ลักษณะเปลือกลำต้นแบบเรียบสีเทาแกมน้ำตาล ลักษณะกิ่งกลมและแตกกิ่งออกด้านข้าง ใบอ่อนสีเหลืองปนเขียว ใบแก่สีเขียวเข้ม รูปร่างใบรี มี 2-3 คู่ใบย่อย ขอบใบและแผ่นใบเรียบ ปลายใบเรียวแหลม ฐานใบลิ่ม เนื้อใบคล้ายหนัง ออกดอกกลางเดือนมกราคม เริ่มติดผลกลางเดือนมีนาคม เก็บเกี่ยวผลปลายเดือนพฤษภาคม มีผลรูปหัวใจเปลือกค่อนข้างบาง สีชมพูอมแดงหรือแดงเข้ม หนามห่าง แหลม สั้น เนื้อมีความฉ่ำน้ำปานกลาง มีรสชาติหวาน กลิ่นหอมเล็กน้อย ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ 17.5 องศาบริกซ์ ลักษณะของเมล็ดรียาวสีน้ำตาลแก่

ภาพที่ 4 ลักษณะใบอ่อน ใบแก่ ผล และเมล็ดของลิ้นจี่พันธุ์โอวเฮียะ
ที่มา: นิพัฒน์ (2558)

4. พันธุ์จีนใหญ่

พันธุ์จีนใหญ่มีทรงพุ่มเป็นครึ่งวงกลม ลักษณะเปลือกลำต้นแบบเรียบมีสีเทาแกมน้ำตาล กิ่งกลมและแตกกิ่งออกด้านข้าง ใบอ่อนสีเหลืองปนเขียว สำหรับใบแก่มีสีเขียว จำนวนคู่ใบย่อย 1 คู่ ขอบใบและแผ่นใบเรียบ ปลายใบเรียวแหลมและบิดงอ ฐานใบเป็นลิ่ม

5. พันธุ์กะโหลกใบอ้อ

พันธุ์กะโหลกใบอ้อมีลักษณะเปลือกลำต้นแบบเรียบสีเทาแกมน้ำตาล กิ่งกลมและแตกออกด้านข้าง ใบอ่อนมีสีแดงอมส้ม สำหรับใบแก่มีสีเขียว รูปร่างใบรี มี 2 คู่ใบย่อย ขอบใบและแผ่นใบเรียบ ปลายใบเรียวแหลม เนื้อใบคล้ายแผ่นหนัง ใบเป็นมันวาว ออกดอกปลายเดือนธันวาคม ดอกบานปลายเดือนมกราคม มีเปอร์เซ็นต์การออกดอก 25-50 เปอร์เซ็นต์ ติดผลกลางเดือนกุมภาพันธ์ เก็บเกี่ยวผลปลายเดือนเมษายนลักษณะผลรูปหัวใจ ปลายผลแหลม ไหล่ผลยกทั้งสองข้าง เปลือกบาง สีม่วงอมแดง ผิวเปลือกขรุขระมีตุ่มหนาม ฐานตุ่มหนามแคบปลายแหลมยาว สีเนื้อขาวขุ่น เนื้อนิ่ม ฉ่ำน้ำปานกลาง รสชาติหวาน ฝาดเล็กน้อย ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ 17 องศาบริกซ์ เมล็ดมีรูปร่างรีและแบนด้านข้าง มีสีน้ำตาล

ภาพที่ 5 ลักษณะใบอ่อน ใบแก่ ผล และเมล็ดของลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบอ้อ
ที่มา: นิพัฒน์ (2558)

6. พันธุ์กิมเจง

พันธุ์กิมเจงมีลักษณะทรงพุ่มเป็นครึ่งวงกลม มีลักษณะเปลือกลำต้นแบบเรียบสีเทาแกมน้ำตาล ลักษณะกิ่งค่อนข้างแบนและบิด แตกกิ่งออกด้านข้าง ใบอ่อนมีสีแดง ใบแก่มีสีเขียวเข้ม ใบรูปหอกหัวกลับ มี 2-3 คู่ใบย่อย ขอบใบและแผ่นใบเรียบ ปลายใบแหลม ฐานใบเป็นลิ่ม เนื้อใบคล้ายแผ่นหนัง ออกดอกกลางถึงปลายเดือนมกราคม ดอกบานปลายเดือนกุมภาพันธ์ มีเปอร์เซ็นต์การออกดอกปานกลาง 25-50 เปอร์เซ็นต์ ติดผลกลางเดือนมีนาคม เก็บเกี่ยวผลปลายเดือนพฤษภาคม จำนวนผลต่อช่อ 3-5 ผล ลักษณะผล รูปร่างผลแป้น ปลายผลป้าน ไหล่ผลเสมอ เปลือกค่อนข้างบาง สีชมพูอมแดง ผิวเปลือกขรุขระไม่มีหนาม ฐานตุ่มหนามกว้างปลายมนสั้น สีเนื้อขาวขุ่น เนื้อแน่น มีความฉ่ำน้ำของเนื้อปานกลาง รสชาติหวาน หอมเล็กน้อย ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ 15 องศาบริกซ์ เมล็ดรูปไข่หรือลีบ สีน้ำตาล

ภาพที่ 6 ลักษณะใบอ่อน ใบแก่ ผล และเมล็ดของลิ้นจี่พันธุ์กิมเจง

ที่มา: นิพัฒน์ (2558)

7. พันธุ์จักรพรรดิ

พันธุ์จักรพรรดิมีลักษณะทรงพุ่มเป็นครึ่งวงกลม มีเปลือกลำต้นแบบเรียบสีเทาแกมเขียว ลักษณะกิ่งค่อนข้างแบนและบิด แตกกิ่งออกด้านข้าง ใบอ่อนมีสีแดงอมส้ม ใบแก่มีสีเขียว รูปร่างใบรีค่อนข้างกว้าง ขอบใบเรียบ แผ่นใบเป็นคลื่น ปลายใบเรียวแหลม ฐานใบเป็นลิ่ม เนื้อใบคล้ายแผ่นหนัง มีความมันวาว มี 3 คู่ใบย่อย ออกดอกปลายเดือนมกราคม ดอกบานปลายเดือนกุมภาพันธ์ มีเปอร์เซ็นต์การออกดอก 25-50 เปอร์เซ็นต์ ติดผลปลายเดือนมีนาคม เก็บเกี่ยวผลต้นเดือนถึงกลางเดือนมิถุนายนจำนวนผลต่อช่อ 3 ผล ลักษณะผล รูปร่างหัวใจ ปลายผลป้าน ไหล่ผลยกทั้งสองข้าง ผิวเปลือกขรุขระมีตุ่มหนาม ฐานตุ่มหนามกว้างปลายมนสั้น สีเนื้อขาวขุ่น เนื้อนิ่ม ฉ่ำน้ำ รสชาติหวาน หอมเล็กน้อย ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ 15.6 องศาบริกซ์ เมล็ดรูปไข่ สีน้ำตาลแก่

ภาพที่ 7 ลักษณะใบอ่อน ใบแก่ ผล และเมล็ดของลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ

ที่มา: นิพัฒน์ (2558)

8. พันธุ์ช่อระกำ

พันธุ์ช่อระกำรูปทรงของทรงพุ่มเป็นครึ่งวงกลม เปลือกลำต้นแบบเรียบสีเทาแกมเขียว ลักษณะกิ่งค่อนข้างแบนและบิด แตกกิ่งตั้งตรง ใบอ่อนมีสีแดง ใบแก่มีสีเขียว มีใบย่อยจำนวน 2-3 คู่ ใบย่อย ใบป้อม ขอบใบเรียบ ปลายใบแหลม ฐานใบรูปลิ่ม เนื้อใบคล้ายกระดาษ ออกดอกปลายเดือนธันวาคม ดอกบานกลางเดือนมกราคม มีเปอร์เซ็นต์การออกดอก 51-75 เปอร์เซ็นต์ ติดผลต้นเดือนกุมภาพันธ์ เก็บเกี่ยวผลปลายเดือนเมษายน จำนวนผลต่อช่อ 3-5 ผล ผลมีลักษณะเป็นรูปหัวใจ ปลายผลป้าน ไหล่ผลยกทั้งสองข้าง เปลือกค่อนข้างหนา สีม่วงอมเทาแดง ผิวเปลือกขรุขระ หนามห่าง แหลม สั้น สีเนื้อขาวขุ่น เนื้อนิ่ม ฉ่ำน้ำปานกลาง รสชาติหวาน ฝาดเล็กน้อย ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ 17 องศาบริกซ์ เมล็ดมีรูปร่างป้อมยาว มีสีน้ำตาล

ภาพที่ 8 ลักษณะใบอ่อน ใบแก่ ผล และเมล็ดของลิ้นจี่พันธุ์ช่อระกำ

ที่มา: นิพัฒน์ (2558)

9. พันธุ์ฮงฮวย

พันธุ์ฮงฮวยมีลักษณะทรงพุ่มเป็นครึ่งวงกลม มีลักษณะเปลือกลำต้นแบบเรียบสีเทาแกมเขียว ลักษณะกิ่งค่อนข้างแบนและบิด แตกกิ่งตั้งตรง ใบอ่อนมีสีเขียวอ่อน ใบแก่มีสีเขียว รูปร่างใบหอกเป็นมันวาว มี 3-4 คู่ใบย่อย ขอบใบเป็นคลื่น แผ่นใบเรียบ ปลายใบเรียวแหลม ฐานใบลิ่ม ออกดอก

กลางเดือนมกราคม ดอกบานกลางเดือนกุมภาพันธ์ มีเปอร์เซ็นต์การออกดอก 25-50 เปอร์เซ็นต์ ติดผลกลางเดือนมีนาคม เก็บเกี่ยวผลกลางเดือนพฤษภาคม จำนวนผลต่อช่อ 3-5 ผล ผลมีลักษณะรูปร่างแป้นกลม ปลายผลป้าน ไหล่เสมอกัน เปลือกค่อนข้างหนา สีชมพูอมแดง ผิวเปลือกขรุขระมีตุ่มหนาม ฐานตุ่มหนามกว้างปลายแหลมสั้น สีเนื้อขาวขุ่น เนื้อนิ่ม ฉ่ำน้ำของปานกลาง รสชาติหวานอมเปรี้ยว มีกลิ่นหอม ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ 17.7 องศาบริกซ์ เมล็ดมีรูปร่างรียาว มีสีน้ำตาล

ภาพที่ 9 ลักษณะใบอ่อน ใบแก่ ผล และเมล็ดของลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย
ที่มา: นิพัฒน์ (2558)

10. พันธุ์สำเภาทอง

พันธุ์สำเภาทองมีลักษณะทรงพุ่มเป็นครึ่งวงกลม มีเปลือกแบบลำต้นเรียบสีเทาแกมน้ำตาล ลักษณะกิ่งกลม แตกกิ่งตั้งตรง

11. พันธุ์ไทย

พันธุ์ไทยมีลักษณะทรงพุ่มเป็นครึ่งวงรี มีลักษณะเปลือกลำต้นแบบเรียบสีเทาแกมเขียว ใบอ่อนมีสีเหลืองปนเขียว ใบแก่มีสีเขียว ใบรีค่อนข้างกว้างเป็นมันวาว มี 3-4 คู่ใบย่อย ขอบใบและแผ่นใบเรียบ ปลายใบเรียวแหลม ฐานใบเป็นลิ่ม มีเปอร์เซ็นต์การออกดอกน้อยกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ จำนวนผลต่อช่อ 6-8 ผล ผลมีลักษณะรูปร่างแป้นกลม ปลายผลป้าน ไหล่เสมอกัน ผิวเปลือกขรุขระมีตุ่มหนาม ฐานตุ่มหนามแคบปลายแหลมยาว สีเนื้อขาวใส เนื้อแน่น มีความฉ่ำน้ำของเนื้อปานกลาง รสชาติหวาน เมล็ดมีลักษณะเป็นรูปไข่ มีสีน้ำตาล

12. พันธุ์กรอบแก้ว

พันธุ์กรอบแก้วมีลักษณะทรงพุ่มเป็นครึ่งวงกลม มีลักษณะเปลือกลำต้นแบบเรียบสีเทาแกมน้ำตาล ลักษณะกิ่งค่อนข้างแบนและบิด แตกกิ่งตั้งตรง ใบอ่อนมีสีเหลืองปนเขียว ใบแก่มีสีเขียว ใบรีเป็นมันวาว มี 2-3 คู่ใบย่อย ขอบใบและแผ่นใบเรียบ ปลายใบมน ฐานใบเป็นลิ่ม เนื้อใบคล้ายกระดาษ มีเปอร์เซ็นต์การออกดอกน้อยกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ จำนวนผลต่อช่อ 3-5 ผล ผิวเปลือก

ขรุขระมีตุ่มหนามมีสีแดงคล้ำ สีเนื้อขาวขุ่น เนื้อแน่น แห้ง รสชาติหวาน ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ 18 องศาบริกซ์

13. พันธุ์สำเภาแก้ว

พันธุ์สำเภาแก้วมีลักษณะทรงพุ่มเป็นครึ่งวงกลม มีลักษณะเปลือกลำต้นแบบเรียบสีเทาแกมน้ำตาล กิ่งมีลักษณะกลมแตกออกด้านข้าง ใบอ่อนมีสีเหลืองปนเขียว ใบแก่มีเขียว รูปร่างใบหอกเป็นมันวาว มี 2-3 คู่ใบย่อย ขอบใบเป็นคลื่น แผ่นใบเรียบ ปลายใบเรียวแหลม ฐานใบลิ่ม เนื้อใบคล้ายกระดาษ ออกดอกต้นเดือนธันวาคม ดอกบานปลายเดือนธันวาคม มีเปอร์เซ็นต์การออกดอกมากกว่า 75 เปอร์เซ็นต์ ติดผลกลางเดือนกุมภาพันธ์ เก็บเกี่ยวผลปลายเดือนเมษายน จำนวนผลต่อช่อ 6-8 ผล ผลมีลักษณะรูปหัวใจ ปลายผลแหลม ไหล่ผลยกทั้งสองข้าง เปลือกค่อนข้างหนา สีม่วงอมเทาแดง เปลือกผิวขรุขระมีตุ่มหนาม ฐานตุ่มหนามกว้างปลายมนสั้น เนื้อสีขาวขุ่น แน่น ฉ่ำน้ำปานกลาง รสหวาน ฝาดเล็กน้อย ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ 18.2 องศาบริกซ์ เมล็ดป้อม มีสีน้ำตาล

ภาพที่ 10 ลักษณะใบอ่อน ใบแก่ ผล และเมล็ดของลิ้นจี่พันธุ์สำเภาแก้ว
ที่มา: นิพัฒน์ (2558)

14. พันธุ์นครพนม 1

พันธุ์นครพนม 1 มีลักษณะทรงพุ่มเป็นครึ่งวงกลม มีลักษณะเปลือกลำต้นแบบเรียบสีเทาแกมน้ำตาล กิ่งมีลักษณะกลมแตกออกด้านข้าง ใบอ่อนมีสีเหลืองปนเขียว ใบแก่มีสีเขียวเข้ม รูปร่างใบหอก มี 2-4 คู่ใบย่อย ขอบใบและแผ่นใบเรียบ ปลายใบยาวคล้ายหาง ฐานใบลิ่ม เนื้อใบคล้ายกระดาษ เนื้อใบด้าน ออกดอกกลางเดือนธันวาคม ดอกบานปลายเดือนมกราคมมี เปอร์เซ็นต์การออกดอก 25-50 เปอร์เซ็นต์ ติดผลต้นเดือนกุมภาพันธ์ เก็บเกี่ยวผลปลายเดือนเมษายน จำนวนผลต่อช่อ 3-5 ผล ผลมีลักษณะเป็นรูปหัวใจ สีชมพูแดง ปลายผลป้าน ไหล่ผลยกข้างเดียว เปลือกผิวขรุขระมีตุ่มหนาม ฐานตุ่มหนามกว้างปลายแหลมสั้น เนื้อสีขาวขุ่น นิ่ม ฉ่ำน้ำมาก รสหวาน กลิ่นหอมเล็กน้อย ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ 18.6 องศาบริกซ์

ภาพที่ 11 ลักษณะใบอ่อน ใบแก่ ผล และเมล็ดของลิ้นจี่พันธุ์นครพนม 1

ที่มา: นิพัฒน์ (2558)

15. พันธุ์บริวสเตอร์

พันธุ์บริวสเตอร์มีลักษณะทรงพุ่มเป็นครึ่งวงกลม มีลักษณะเปลือกลำต้นแบบเรียบสีเทาแกมเขียว กิ่งมีลักษณะแบนและบิด แตกออกด้านข้าง ใบอ่อนมีสีเหลืองปนเขียว ใบแก่มีสีเขียว รูปร่างใบรีค่อนข้างกว้าง มี 3-4 คู่ใบย่อย ขอบใบและแผ่นใบเรียบ ปลายใบเรียวแหลม ฐานใบลิ่ม เนื้อใบคล้ายหนัง เนื้อใบด้าน ออกดอกกลางเดือนมกราคม ดอกบานปลายเดือนมกราคมมี เปอร์เซ็นต์การออกดอก 25-50 เปอร์เซ็นต์ ติดผลปลายเดือนกุมภาพันธ์ เก็บเกี่ยวผลกลางเดือนถึงปลายเดือนพฤษภาคม จำนวนผลต่อช่อ 3-5 ผล ผลมีลักษณะรูปไข่กลับแกมขอบขนาน สีชมพูแดง ปลายผลแหลม ไหล่ผลยกข้างเดียว เปลือกผิวขรุขระมีตุ่มหนาม ฐานตุ่มหนามกว้างปลายแหลมสั้น เนื้อสีขาวขุ่น นิ่ม ฉ่ำน้ำ รสชาติหวาน หอมเล็กน้อย ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ 18 องศาบริกซ์ เมล็ดป้อมยาว มีสีน้ำตาล

ภาพที่ 12 ลักษณะใบอ่อน ใบแก่ ผล และเมล็ดของลิ้นจี่พันธุ์บริวสเตอร์

ที่มา: นิพัฒน์ (2558)

16. พันธุ์กะโหลกใบไหม้

พันธุ์กะโหลกใบไหม้มีลักษณะทรงพุ่มกลม มีลักษณะเปลือกลำต้นแบบเรียบสีเทาแกมน้ำตาล กิ่งมีลักษณะกลม แตกออกด้านข้าง จำนวนคู่ใบย่อย 3-4 คู่ ผลกลมแป้น ปลายผลมน ไหล่ผลเสมอ เปลือกผิวขรุขระมีตุ่มหนาม ฐานตุ่มหนามแคบปลายแหลมยาว สีเปลือกแดงคล้ำ รสชาติฝาดอมเปรี้ยว

17. พันธุ์แห้วจีน

พันธุ์แห้วจีนมีลักษณะทรงพุ่มเป็นครึ่งวงรี มีลักษณะเปลือกลำต้นแบบเรียบสีเทาแกมน้ำตาล กิ่งแตกออกด้านข้าง ใบอ่อนมีสีเหลืองปนเขียว ใบแก่มีสีเขียว ขอบใบและแผ่นใบเรียบ ปลายใบแหลม ฐานใบลิ่ม เนื้อใบคล้ายกระดาษ ใบด้าน ใบรี มี 3-4 คู่ใบย่อย การออกดอก 25-50 เปอร์เซ็นต์ จำนวนผลต่อช่อน้อยกว่า 3 ผล มีรูปไข่กลับแกมขอบขนาน ปลายผลแหลม ไหล่ผลยกข้างเดียว เปลือกผิวขรุขระมีตุ่มหนาม ฐานตุ่มหนามกว้างปลายแหลมยาว เนื้อสีขาวใส นิ่ม ฉ่ำน้ำปานกลาง รสชาติหวานอมเปรี้ยว เมล็ดมีรูปร่างรูปไข่ มีสีน้ำตาล

18. พันธุ์เขียวหวาน

พันธุ์เขียวหวานมีลักษณะทรงพุ่มกลม มีลักษณะเปลือกลำต้นแบบเรียบสีเทาแกมน้ำตาล กิ่งมีลักษณะกลมและตั้งตรง ใบอ่อนมีสีเหลืองปนเขียว ใบแก่มีสีเขียว ใบรีค่อนข้างแคบเป็นมันวาวมี 2-3 คู่ใบย่อย ขอบใบและแผ่นใบเรียบ ปลายใบแหลม ฐานใบลิ่ม เนื้อใบคล้ายกระดาษ เปอร์เซ็นต์การออกดอกน้อยกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ จำนวนผลต่อช่อน้อยกว่า 3 ผล ผลมีลักษณะเป็นรูปไข่กลับ ปลายผลป้าน ไหล่ผลยกข้างเดียว เปลือกผิวขรุขระมีตุ่มหนาม ฐานตุ่มหนามกว้างปลายแหลมยาว เนื้อสีขาวขุ่น แน่น ฉ่ำน้ำปานกลาง รสชาติหวาน เมล็ดมีรูปร่างรี มีสีน้ำตาล

19. พันธุ์กระโถนท้องพระโรง

พันธุ์กระโถนท้องพระโรง มีลักษณะใบเป็นใบประกอบ ใบย่อย 2-3 คู่ใบย่อย ใบอ่อนสีแดงอมส้ม ส่วนใบแก่มีสีเขียวอมเหลือง ใบรูปหอก ขอบใบเรียบ ปลายใบยาวคล้ายหาง ฐานใบรูปลิ่ม ออกดอกปลายเดือนธันวาคม โดยดอกจะเริ่มบานกลางเดือนมกราคม มีเปอร์เซ็นต์การออกดอกมากกว่า 75 เปอร์เซ็นต์ ผลมีลักษณะเป็นรูปหัวใจ ปลายผลมน ไหล่ผลยกข้างเดียว เปลือกผิวขรุขระมีตุ่มหนาม ฐานตุ่มหนามกว้าง ปลายแหลมสั้น เปลือกมีสีแดงคล้ำ เนื้อสีขาวขุ่น เนื้อค่อนข้างนิ่ม รสชาติหวานอมเปรี้ยว ฝาดเล็กน้อย ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ 19 องศาบริกซ์

ภาพที่ 13 ลักษณะใบอ่อน ใบแก่ ผล และเมล็ดของลิ้นจี่พันธุ์กระโถนท้องพระโรง

ที่มา: นิพัฒน์ (2558)

20. พันธุ์ค่อม

พันธุ์ค่อมมีลักษณะเปลือกลำต้นแบบเรียบสีเทาแกมน้ำตาล ใบอ่อนมีสีชมพูปนแดง ใบแก่มีสีเขียวใบรีเป็นมันวาว จำนวนคู่ใบย่อย 3-4 คู่ใบย่อย ขอบใบเป็นคลื่น แผ่นใบเรียบ ปลายใบมน ฐานใบลิ่ม เนื้อใบคล้ายกระดาษ ออกดอกปลายเดือนธันวาคมเริ่มบานปลายเดือนมกราคม เปอร์เซ็นต์การออกดอก 51-75 เปอร์เซ็นต์ ติดผลกลางเดือนกุมภาพันธ์ เก็บเกี่ยวผลปลายเดือนเมษายน จำนวนผลต่อช่อ 3-5 ผลเปลือกบาง สีม่วงอมแดง เป็นรูปไข่กลับแกมขอบขนาน ปลายผลป้าน ไหล่ผลยกข้างเดียว เปลือกผิวขรุขระมีตุ่มหนาม ฐานตุ่มหนามแคบปลายแหลมยาว เนื้อสีขาวขุ่น นิ่ม ฉ่ำน้ำมาก รสชาติหวานอมเปรี้ยว ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ 18.5 องศาบริกซ์เมล็ดมีรูปร่างเป็นรูปไข่ มีสีน้ำตาล

ภาพที่ 14 ลักษณะใบอ่อน ใบแก่ ผล และเมล็ดของลิ้นจี่พันธุ์ค่อม

ที่มา: นิพัฒน์ (2558)

21. พันธุ์กะโหลกใบยาว

พันธุ์กะโหลกใบยาวมีลักษณะทรงพุ่มเป็นครึ่งวงกลม มีลักษณะเปลือกลำต้นแบบเรียบสีเทาแกมน้ำตาล กิ่งมีลักษณะกลม แตกออกด้านข้าง ใบอ่อนสีเหลืองปนเขียว ใบแก่มีสีเขียว รูปร่างใบรี มี 3-4 คู่ใบย่อย ขอบใบและแผ่นใบเรียบ ปลายใบแหลม ฐานใบมน ใบมันวาว ออกดอกปลายเดือนธันวาคม ดอกบานปลายเดือนธันวาคม ติดผลต้นเดือนกุมภาพันธ์ เก็บเกี่ยวผลปลายเดือนเมษายน

จำนวนผลต่อช่อ 3-5 ผล เปลือกค่อนข้างหนา สีม่วงอมเทาแดง ผลค่อนข้างกลมแป้น ปลายผลป้าน ไหล่ผลเสมอ เปลือกผิวขรุขระมีตุ่มหนาม ฐานตุ่มหนามแคบปลายแหลมยาว เนื้อสีขาวขุ่น ค่อนข้างนิ่ม ฉ่ำน้ำปานกลาง รสชาติหวาน ฝาดเล็กน้อย ปริมาณของแข็งที่ละลายน้าได้ 15.8 องศาบริกซ์ เมล็ดป้อมยาว สีน้ำตาลแก่

ภาพที่ 15 ลักษณะใบอ่อน ใบแก่ ผล และเมล็ดของลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบยาว
ที่มา: นิพัฒน์ (2558)

22. พันธุ์จีนแดง

พันธุ์จีนแดงมีลักษณะทรงพุ่มเป็นครึ่งวงกลม มีลักษณะเปลือกลำต้นแบบเรียบสีเทาแกมน้ำตาล กิ่งมีลักษณะแบนและบิด แตกกิ่งออกด้านข้าง ใบอ่อนมีสีแดงอมส้ม ใบแก่มีสีเขียว ใบรีค่อนข้างกว้าง มี 2-3 คู่ใบย่อย ขอบใบเรียบ แผ่นใบเรียบ ปลายใบเรียวแหลม ฐานใบลิ่ม เนื้อใบคล้ายหนังเป็นมันวาว ออกดอกปลายเดือนธันวาคม ดอกบานต้นเดือนมกราคม เปอร์เซ็นต์การออกดอกน้อยกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ ติดผลต้นเดือนกุมภาพันธ์ เก็บเกี่ยวผลปลายเดือนเมษายน จำนวนผลต่อช่อน้อยกว่า 3 ผล ผลมีรูปไข่กลับแกมขอบขนาน ปลายผลแหลม ไหล่ผลยกทั้งสองข้าง เปลือกค่อนข้างหนา สีแดงอมส้ม เปลือกผิวขรุขระมีตุ่มหนาม ฐานตุ่มหนามกว้างปลายแหลมยาว เนื้อสีขาวใส เนื้อค่อนข้างแข็ง มีความฉ่ำน้ำปานกลาง รสชาติหวาน ฝาดเล็กน้อย ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ 16.9 องศาบริกซ์ เมล็ดป้อมยาว สีน้ำตาล

ภาพที่ 16 ลักษณะใบอ่อน ใบแก่ ผล และเมล็ดของลิ้นจี่พันธุ์จีนแดง
ที่มา: นิพัฒน์ (2558)

23. พันธุ์โกมินทร์ (กรมวิชาการเกษตร, 2558)

พันธุ์โกมินทร์เป็นพันธุ์ที่เกิดจากการผสมตามธรรมชาติระหว่างพันธุ์ฮงฮวยกับพันธุ์จักรพรรดิ ลักษณะเด่นของพันธุ์โกมินทร์คือเจริญเติบโตได้ดี การออกดอกติดผลสม่ำเสมอ มีความสูงประมาณ 3 เมตร ผิวเปลือกของลำต้นเรียบสีเทาปนน้ำตาล ใบประกอบแบบขนนกมี 2-4 คู่ รูปร่างใบรูปรีขอบขนานหรือรูปหอก ปลายใบยาวแหลม ขอบใบเป็นคลื่น ผิวใบเรียบ ใบเป็นมันวาว ใบอ่อนมีสีชมพูปนแดง ใบแก่สีเขียวเข้ม ฐานใบรูปลิ่ม เนื้อคล้ายแผ่นหนัง ออกดอกในเดือนธันวาคมถึงมกราคม ดอกบานปลายเดือนกุมภาพันธ์ รูปร่างผลทรงไข่กลับขอบขนาน ปลายผลมน ไหล่ยกทั้งสองข้าง เปลือกผลมีสีชมพูปนแดง ผิวเปลือกขรุขระมีตุ่มหนาม รูปร่างของตุ่มหนามกว้างปลายมนสั้น ติดผลเดือนมีนาคม เก็บเกี่ยวผลกลางเดือนมิถุนายน มีจำนวนผลมากกว่า 8 ผลต่อช่อผล เมล็ดสีน้ำตาลเข้ม รูปร่างของเมล็ดค่อนข้างรี

การจำแนกพันธุ์พืช

Sharma et al. (2008) ได้ศึกษาเกี่ยวกับวิธีการจำแนกพืช ดังตารางที่ 1 กล่าวว่าการตรวจสอบความถูกต้องแม่นยำเป็นสิ่งจำเป็นเพื่อป้องกันการปนของพืชที่ต้องการกับพืชชนิดอื่น การวิเคราะห์ทางเคมี เช่น HPLC, TLC, HPTLC, UV spectroscopy, mass spectroscopy และ gas chromatography เป็นต้น มีข้อจำกัด เนื่องจากองค์ประกอบของสารที่สำคัญแต่ละชนิดมีปริมาณแตกต่างกันไปตามสภาพการเจริญเติบโต ระยะเวลาการเก็บเกี่ยว กระบวนการหลังเก็บเกี่ยวและสภาวะการเก็บรักษา สิ่งนี้อาจทำให้เกิดความสับสน นอกจากนี้การแยกแยะสายพันธุ์เป็นเรื่องยาก เนื่องจากมีสารเคมีคล้ายกัน การตรวจสอบทางเคมีแบบธรรมดาจึงไม่น่าเชื่อถือพอ การใช้วิธีทางสัณฐานวิทยาต้องการพืชในระยะที่จำเพาะเจาะจง เช่น ดอก ผล จึงจะสามารถจำแนกได้และอาจไม่สามารถจำแนกถึงระดับภายในสปีชีส์ได้ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องใช้เทคโนโลยีที่มีประสิทธิภาพ

มีความถูกต้องที่เชื่อถือได้ การพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอสำหรับตรวจสอบจีโนมของพืชซึ่งมีการนำไปใช้ในหลายด้าน ได้แก่ อนุกรมวิธาน นิเวศวิทยา การติดตามยีนที่สนใจ การศึกษาความแปรปรวน การวิเคราะห์วิวัฒนาการ และการคัดเลือกจีโนไทป์ที่ต้องการ เป็นต้น การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอในการตรวจสอบจีโนมมีความแม่นยำ และสามารถตรวจสอบได้ทุกระยะการเจริญเติบโตของพืช

ตารางที่ 1 การเปรียบเทียบการจำแนกพืชด้วยวิธีต่าง ๆ

ประเภท	AFLP	RAPD	ISSR	วิธีสัณฐานวิทยา	การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี
งบประมาณ	สูง	ต่ำ	ต่ำ	ต่ำ	กลาง
เวลา	มาก	น้อย	น้อย	น้อย	น้อย
การทำซ้ำ	ดีมาก	ดี	ดี	ดี	ดี
ความแม่นยำ	ดีมาก	ดี	ดี	ดี	ดี
ตัวอย่าง	ทุกส่วน	ทุกส่วน	ทุกส่วน	ราก,ใบ,ผล และอื่น ๆ	สารสกัดจากพืช
ระดับการจำแนก	ภายในสปีชีส์	ภายในสปีชีส์	ภายในสปีชีส์	อาจจำแนกระดับสปีชีส์ไม่ได้	อาจจำแนกถึงระดับสปีชีส์ไม่ได้
พื้นที่การเก็บข้อมูล	น้อย	น้อย	น้อย	มาก	น้อย
ปัญหาที่อาจเกิดขึ้นได้	ดีเอ็นเอเสียหายจากการเกิด	ดีเอ็นเอเสียหายจากการเกิด	ดีเอ็นเอเสียหายจากการเกิด secondary	ต้องการพืชในระยะที่จำเพาะเจาะจง	สภาพแวดล้อม และความแปรปรวนของแต่ละต้นส่งผลต่อ

ที่มา: ดัดแปลงจาก Sharma et al. (2008)

การจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่

จากงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่มีการใช้วิธีที่หลากหลายแต่สามารถแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มได้ดังนี้

1. การจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่โดยวิธีสัณฐานวิทยา

ฐานข้อมูลเชื้อพันธุ์พืชของลิ้นจี่ที่กรมวิชาการเกษตรได้รวบรวมชื่อพันธุ์เพื่ออนุรักษ์และการใช้ให้เกิดประโยชน์อย่างสูงสุดของเชื้อพันธุ์พืชมีข้อมูลลักษณะเชื้อพันธุ์พืชและรายละเอียดเกี่ยวกับฐานข้อมูลเชื้อพันธุ์พืช ทั้งหมด 79 พันธุ์ โดยทั้งหมดจัดจำแนกโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียว (สำนักงานคุ้มครองพันธุ์พืชแห่งชาติ, 2545)

ศูนย์วิจัยและพัฒนาลำไยและลิ้นจี่ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ (2543) ได้แบ่งลิ้นจี่ที่ปลูกในประเทศไทยออกเป็น 2 กลุ่ม ตามแหล่งที่ปลูกได้ดังนี้

1) กลุ่มพันธุ์ที่ปลูกในภาคกลาง ในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่ต้องการความหนาวเย็นต่ำและหนาวเย็นไม่นานก็สามารถชักนำให้ออกดอกได้ ปลูกในที่ราบต่ำของอำเภออัมพวา และอำเภอบางคนที จังหวัดสมุทรสงคราม ได้แก่ พันธุ์ค่อม (ค่อมลำเจียก) กะโหลกใบยาว สำเภาแก้ว กระโถนท้องพระโรง เขียวหวาน สาแหรกทอง จีน ไทยธรรมดา ไทยใหญ่ กะโหลกใบไหม้ กะโหลกใบเถา ช่อระกำ และพันธุ์ทิพย์ เป็นต้น

2) กลุ่มพันธุ์ที่ปลูกในภาคเหนือ ในกลุ่มนี้ต้องการความหนาวเย็นต่ำและยาวนานมากกว่าพันธุ์ที่ปลูกในภาคกลางจึงจะสามารถออกดอก ได้แก่ พันธุ์ฮงฮวย จักรพรรดิ กิมเจง โอวเฮียะกวางเจา บริวสเตอร์ และกิมจี้ เป็นต้น

นิพัฒน์ (2558) ศึกษาการพัฒนาพันธุ์ลิ้นจี่ได้รวบรวม สำรวจและจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่ภายในประเทศไทย และต่างประเทศที่ปลูกที่ศูนย์วิจัยพืชสวนจังหวัดเชียงราย และศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ จำนวน 84 พันธุ์/สายพันธุ์ รายงานว่า ใบ ดอก ผล และเมล็ดแตกต่างกันตามพันธุ์ ลักษณะที่ใช้จำแนกพันธุ์ได้ คือ รูปร่างผล เปลือกผล สีเนื้อ และช่วงการออกดอก ซึ่งแบ่งได้ 2 กลุ่ม คือ กลุ่มพันธุ์ภาคกลางและกลุ่มพันธุ์ภาคเหนือ ได้ทำฐานข้อมูลเชื้อพันธุกรรม เพื่อป้องกันมิให้มีการสูญพันธุ์ มีการจำแนกพันธุ์เพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์และใช้อ้างอิงในกรณียื่นขอขึ้นทะเบียนพันธุ์ใหม่ การจำแนกพันธุ์หรือกลุ่มพันธุ์ลิ้นจี่โดยใช้ลักษณะทางพฤกษศาสตร์มีข้อดีคือ ทำได้ง่าย สะดวกรวดเร็ว ต้นทุนต่ำ และไม่ต้องใช้เทคโนโลยีสูงหรือเครื่องมือราคาแพง แต่ก็มีข้อเสีย เช่น เก็บข้อมูลไม่ได้ในบางปีที่ไม่ออกดอกติดผล บางลักษณะมักผันแปรเนื่องจากความหลากหลายทางพันธุกรรมและสภาพแวดล้อมในพื้นที่ปลูก บางพันธุ์มีลักษณะที่คล้ายคลึงกันแต่เกษตรกรเรียกชื่อพันธุ์แตกต่างกันเพื่อแสดงความเป็นเจ้าของหรือจำหน่ายต้นพันธุ์

ชินวัฒน์ (2541) ศึกษาการจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่โดยวิธีสัณฐานวิทยา พบว่าการเปรียบเทียบความแตกต่างจากลักษณะภายนอกของพืชอาจเกิดความผิดพลาดหรือความสับสนได้ในพันธุ์ที่มีความใกล้เคียงกัน ต้องใช้ผู้ที่มีความชำนาญเท่านั้นถึงสามารถแยกความแตกต่างได้ การตรวจสอบความตรงตามพันธุ์เสียเวลามากในลิ้นจี่เพราะเป็นพืชยืนต้น ใช้ระยะเวลานานกว่าจะสามารถเห็นลักษณะของดอก ผล และอาจมีปัญหาในการออกดอกที่ไม่สม่ำเสมอทุกปี และการเก็บรวบรวมข้อมูลส่วนมากมาจากแปลงรวบรวมพันธุ์ไม่ใช่มาจากแปลงวิจัยหรือการปลูกเพื่อการค้า ทำให้ค่าอาจเบี่ยงเบนได้ ถึงแม้การจำแนกพันธุ์โดยวิธีสัณฐานวิทยาสามารถทำได้ง่าย สะดวก แต่ก็ยังมีปัจจัยที่ไม่สามารถควบคุมได้ จึงได้เสนอแนะว่าควรนำเครื่องหมายโมเลกุลมาใช้ในการจำแนกสิ่งมีชีวิต ทั้งระดับโปรตีนหรือระดับดีเอ็นเอ ซึ่งอาจควบคู่กับการศึกษาจำนวนโครโมโซม เพื่อให้มีความแม่นยำมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Wu et al. (2016) ที่จำแนกพันธุ์ลิ้นจี่จากลักษณะสัณฐานวิทยาโดยศึกษาลักษณะของใบและกิ่ง ทำให้เห็นว่าการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยายังไม่สามารถจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่ได้อย่างแม่นยำ และลักษณะที่ตรวจสอบมักจะขึ้นกับสภาพแวดล้อม ทำให้การตรวจสอบผิดพลาดได้

2. การจำแนกลิ้นจี่โดยวิธีเซลล์พันธุศาสตร์

ชินวัฒน์ (2541) ศึกษาการจำแนกลิ้นจี่ด้วยวิธีทางเซลล์พันธุศาสตร์โดยการนับจำนวนโครโมโซม พบว่า ลิ้นจี่ทั้ง 19 พันธุ์ มีจำนวนโครโมโซม 2n = 30 เท่ากัน แต่รูปร่างและขนาดของโครโมโซมแตกต่างกัน แต่เป็นเพียงการประเมินด้วยสายตาเท่านั้น ยังไม่มีความละเอียดเพียงพอดังนั้น

วิธีทางเซลล์พันธุศาสตร์ที่ควรนำมาใช้จำแนกพันธุ์ลิ้นจี่คือ การศึกษาคาริโอไทป์ซึ่งจะทำให้ทราบถึงรายละเอียดของโครโมโซมในแต่ละแท่ง ถึงแม้ว่าการนับจำนวนโครโมโซมจะมีความแม่นยำ ใช้เพียงส่วนของรากจากกิ่งตอนมาตรวจสอบ แต่ก็มีข้อเสียคือมีขั้นตอนที่ยุ่งยากผลที่ได้ไม่มีความละเอียดเท่ากับการทำคาริโอไทป์ จากการศึกษานี้ยังไม่สามารถจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่จากการนับจำนวนโครโมโซมได้ อย่างไรก็ตามพบว่ามีความแปรปรวนของจำนวนโครโมโซมลิ้นจี่ในการศึกษาของ Sarin et al. (2003) ซึ่งมีจำนวนโครโมโซม 2n = 28, 30 และ 32

3. การจำแนกลิ้นจี่โดยเครื่องหมายโปรตีนหรือไอโซไซม์

Degani et al. (1995) ศึกษาการจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่โดยการวิเคราะห์ไอโซไซม์ในลิ้นจี่ทั้งหมด 30 พันธุ์ โดยใช้เอนไซม์ aconitase, aspartate aminotransferase, isocitrate dehydrogenase, Phosphoglucomutase, shikimate dehydrogenase, superoxide dismutase และ triosephosphateisomerase สามารถจัดกลุ่มพันธุ์ลิ้นจี่ได้ 5 กลุ่ม จำแนกได้ 18 พันธุ์ที่แตกต่างกัน ส่วนอีก 12 พันธุ์ ไม่สามารถจำแนกได้ การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าเครื่องหมายไอโซไซม์สามารถใช้ในการจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่ได้ แต่ยังต้องเพิ่มตำแหน่งของยีนเพื่อให้สามารถตรวจสอบพันธุ์ที่มีความใกล้เคียงกันได้

ข้อจำกัดของการตรวจสอบด้วยโปรตีน คือ จำนวนยีนที่ตรวจสอบไม่กระจายทั่วทั้งจีโนมและต้องมีการแสดงออกของยีนที่ศึกษาซึ่งขึ้นกับระยะของการเจริญเติบโตและสิ่งแวดล้อม การรักษาธรรมชาติของโปรตีนและไอโซไซม์ทำได้ยาก ทำให้การวิเคราะห์ตัวอย่างต้องใช้เวลาอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้ความสามารถในการตรวจสอบความแตกต่างระหว่างตัวอย่างน้อยกว่าในระดับดีเอ็นเอ เนื่องจากในระดับโปรตีนยังไม่สามารถตรวจสอบความแตกต่างที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงลำดับนิวคลีโอไทป์แต่ไม่เปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนได้ ทำให้ไม่พบความแตกต่างนี้จากผลของอิเล็กโทรโฟรีซิส (สุรินทร์, 2552)

4. การจำแนกลิ้นจี่โดยเครื่องหมายดีเอ็นเอ

การตรวจสอบความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทป์ในโมเลกุลของดีเอ็นเอมีข้อดีมากกว่าการตรวจสอบโปรตีนคือโมเลกุลของดีเอ็นเอมีความเสถียรกว่าจึงเก็บได้นาน สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างที่ถูกเก็บไว้เป็นเวลานานได้ และยังสามารถตรวจสอบได้จากทุกเนื้อเยื่อ ทุกระยะการเจริญเติบโต หรือสภาพทางสรีรวิทยาใดก็ได้ โดยไม่ขึ้นกับสภาพแวดล้อม ครอบคลุมทั้งจีโนม ไม่ขึ้นกับส่วนที่เป็นยีนหรือไม่เป็นยีน หรือส่วนที่มีการแสดงออกหรือไม่มีการแสดงออกก็ได้ จึงตรวจสอบได้โดยไม่จำกัดเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ตรวจสอบโดยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรส เป็นการนำเทคนิคการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสมาประยุกต์ใช้ตรวจสอบเครื่องหมายดีเอ็นเอมีทั้งแบบที่

ตรวจสอบได้หลายตำแหน่งพร้อมกัน ซึ่งเป็นการตรวจแบบสุ่มไม่จำเพาะกับตำแหน่งใด และแบบที่ตรวจสอบได้ครั้งละหนึ่งตำแหน่งในบริเวณที่จำเพาะ (สุรินทร์, 2552)

จากการศึกษางานวิจัยที่ใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่พบว่ามีเครื่องหมายโมเลกุลมากมายที่ได้ศึกษามาแล้วดังนี้

เครื่องหมายโมเลกุล random amplified polymorphic DNA (RAPD) จากรายงานของ Anuntalabhochai et al. (2002), Tongpamnak et al. (2002) และ Kumar et al. (2006)

เครื่องหมายโมเลกุล simple sequence repeat (SSR) จากรายงานของ Viruel and Hormaza (2004), Mingfang et al. (2006), Madhou et al. (2010), Madhou et al. (2013)

เครื่องหมายโมเลกุล high annealing temperature-random amplified polymorphic DNA (HAT-RAPD) จากรายงานของ Wangspa et al. (2005), Cutler et al. (2006), Cutler et al. (2007)

เครื่องหมายโมเลกุล inter-simple sequence repeat (ISSR) จากรายงานของ Degani et al. (2003), Long et al. (2015)

เครื่องหมายโมเลกุล amplified fragment length polymorphism (AFLP) จากรายงานของ Tongpamnak et al. (2002), Ganjun et al. (2003)

เครื่องหมายโมเลกุล sequence characterized amplified region (SCAR) ในรายงานของ Cutler et al. (2006), Cheng et al. (2015)

เครื่องหมายโมเลกุล single nucleotide polymorphism (SNP) ในรายงานของ Liu et al. (2015)

เครื่องหมายโมเลกุลดังที่กล่าวมานี้สามารถจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่ได้ แต่คุณสมบัติของเครื่องหมายแต่ละชนิดแตกต่างกันออกไปและเหตุนี้จำนวนของไพรเมอร์ที่ใช้จึงแตกต่างกัน ตัวอย่างเช่น เครื่องหมายโมเลกุล AFLP จำนวน 7 ไพรเมอร์ ให้ผลการจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่เช่นเดียวกับเครื่องหมายโมเลกุล RAPD จำนวน 14 ไพรเมอร์ (Tongpamnak et al., 2002)

การจำแนกลิ้นจี่โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล

Anuntalabhochai et al. (2002) วิเคราะห์ความผันแปรทางพันธุกรรมของลิ้นจี่ทั้งหมด 20 พันธุ์ โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล RAPD จำนวน 69 ไพรเมอร์ พบว่ามี 5 ไพรเมอร์ที่ให้พอลิมอร์ฟิซึม ได้แก่ OPB18, OPC09, OPAK10, OPAQ12 และ OPAS10 โดยที่มีขนาดโมเลกุลตั้งแต่ 200 ถึง 2,000 คู่เบส เมื่อสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่าง 20 พันธุ์ พบว่าจำแนกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ ซึ่งเครื่องหมาย RAPD ยังไม่เพียงพอต่อการจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่ที่มีความใกล้เคียงกันมากออกจากกันได้

Viruel and Hormaza (2004) ศึกษาและวิเคราะห์ความผันแปรของไมโครแซทเทลไลท์ของลิ้นจี่ 21 พันธุ์ในสาธารณรัฐมอริเชียส โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล SSR จำนวน 12 ตำแหน่ง พบว่า

จำแนกลิ้นจี่ได้ 16 พันธุ์ และยังพบว่าพันธุ์ Mauritius และ Tai So เป็นพันธุ์เดียวกันแต่มีชื่อเรียกต่างกันและนอกจากนี้ยังนำเครื่องหมาย SSR ทั้ง 12 ตำแหน่ง มาวิเคราะห์ความผันแปรของไมโครแซทเทลไลท์ในลำไยทั้ง 4 พันธุ์จากประเทศไทย และออสเตรเลีย ซึ่งลิ้นจี่และลำไยเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์เดียวกันมีการอนุรักษ์บริเวณไมโครแซทเทลไลท์ทำให้สามารถนำเครื่องหมายนี้มาพัฒนาเพื่อให้สามารถจำแนกพืชในวงศ์ Sapindaceae ได้

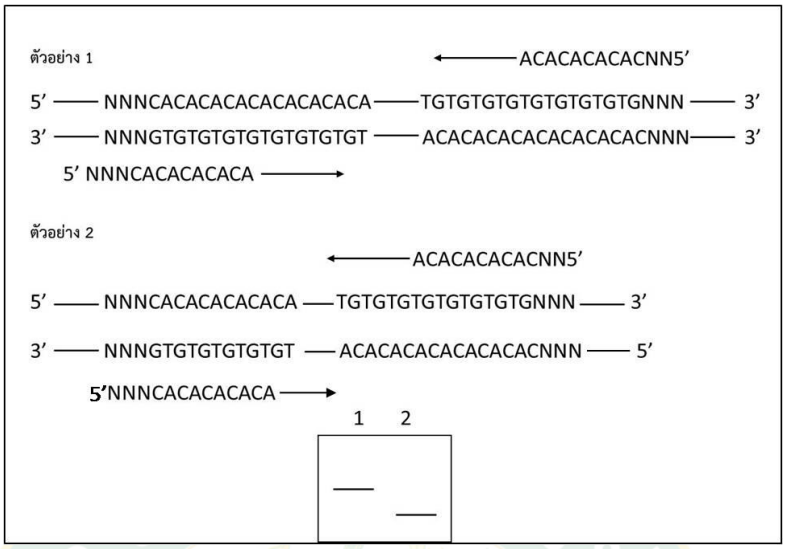
Tongpamnak et al. (2002) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและความสัมพันธ์ของลิ้นจี่ ทั้งหมด 47 พันธุ์ โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล RAPD และ AFLP จำนวน 14 ไพรเมอร์ และ 7 ไพรเมอร์ ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่าเครื่องหมายดีเอ็นเอทั้งสองสามารถจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่ได้ แต่เครื่องหมายโมเลกุล RAPD ยังไม่สามารถจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่ออกจากกันได้ทั้งหมด

Degani et al. (2003) ศึกษาการจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล ISSR ทั้งหมด 66 พันธุ์ โดยใช้ไพรเมอร์จำนวน 32 ไพรเมอร์ พบว่าสามารถจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่ได้เป็น 4 กลุ่มใหญ่ และยังพบว่าลิ้นจี่พันธุ์ Chakrapat ที่มาจากสาธารณรัฐประชาชนจีน กับพันธุ์ Emperor ที่มาจากประเทศไทย เป็นพันธุ์เดียวกันแต่มีชื่อเรียกแตกต่างกัน

Long et al. (2015) วิเคราะห์พันธุกรรมของลิ้นจี่ 6 พันธุ์ที่อยู่ต่างมณฑลในสาธารณรัฐประชาชนจีนใต้ โดยเครื่องหมายโมเลกุล RAPD จำนวน 19 ไพรเมอร์ และเครื่องหมายโมเลกุล ISSR จำนวน 12 ไพรเมอร์ พบว่าเครื่องหมายโมเลกุล RAPD ให้แถบที่เป็นพอลิมอร์ฟิซึม 72.2 เปอร์เซ็นต์ และเครื่องหมายโมเลกุล ISSR ให้แถบดีเอ็นเอที่เป็นพอลิมอร์ฟิซึม 61.64 เปอร์เซ็นต์ ทั้งสองเครื่องหมายเมื่อนำมาสร้างแผนภาพความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมสามารถจำแนกลิ้นจี่ได้เหมือนกัน

เครื่องหมายโมเลกุลไอเอสเอสอาร์ (Inter-Simple Sequence Repeat: ISSR)

เครื่องหมายโมเลกุล ISSR เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ประยุกต์ใช้ปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรส โดยใช้โอลิโกนิวคลีโอไทด์ (oligonucleotide) ที่มีลำดับเบสแบบไมโครแซทเทลไลท์เป็นไพรเมอร์ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ต้องการศึกษาเนื่องจากลำดับเบสแบบไมโครแซทเทลไลท์กระจายอยู่ทั่วจีโนมและบางตำแหน่งอยู่ใกล้ ๆ กัน ไพรเมอร์จึงสามารถจับกับดีเอ็นเอได้ทั้ง 2 ทิศทาง โดยมีปลาย 3′ เข้าหากัน ซึ่งสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอตำแหน่งดังกล่าวได้ สามารถตรวจสอบได้โดยไม่ต้องทราบข้อมูลลำดับเบสของสิ่งมีชีวิตที่ต้องการศึกษา ความแตกต่างเกิดจากขนาดชิ้นผลผลิตของปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรส ดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้เป็นส่วนที่อยู่ระหว่างลำดับเบสแบบไมโครแซทเทลไลท์ หรือ SSR 2 บริเวณที่อยู่ใกล้กัน เป็นการตรวจสอบครั้งละหลายตำแหน่งพร้อมกัน เครื่องหมายโมเลกุล ISSR ใช้ในการจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่ พบว่ามีพอลิมอร์ฟิซึมสูง (Degani et al., 2003) ซึ่งเกิดจากการขาดหายไปของลำดับเบสที่ซ้ำกันในบริเวณไมโครแซทเทลไลท์ หรือมีการแทรกหรือขาดหายไปของดีเอ็นเอที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนระยะห่างระหว่างบริเวณไมโครแซทเทลไลท์ ดังภาพที่ 17



ภาพที่ 17 ตัวอย่างการตรวจสอบดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมาย ISSR
ที่มา: สุรินทร์ (2552)

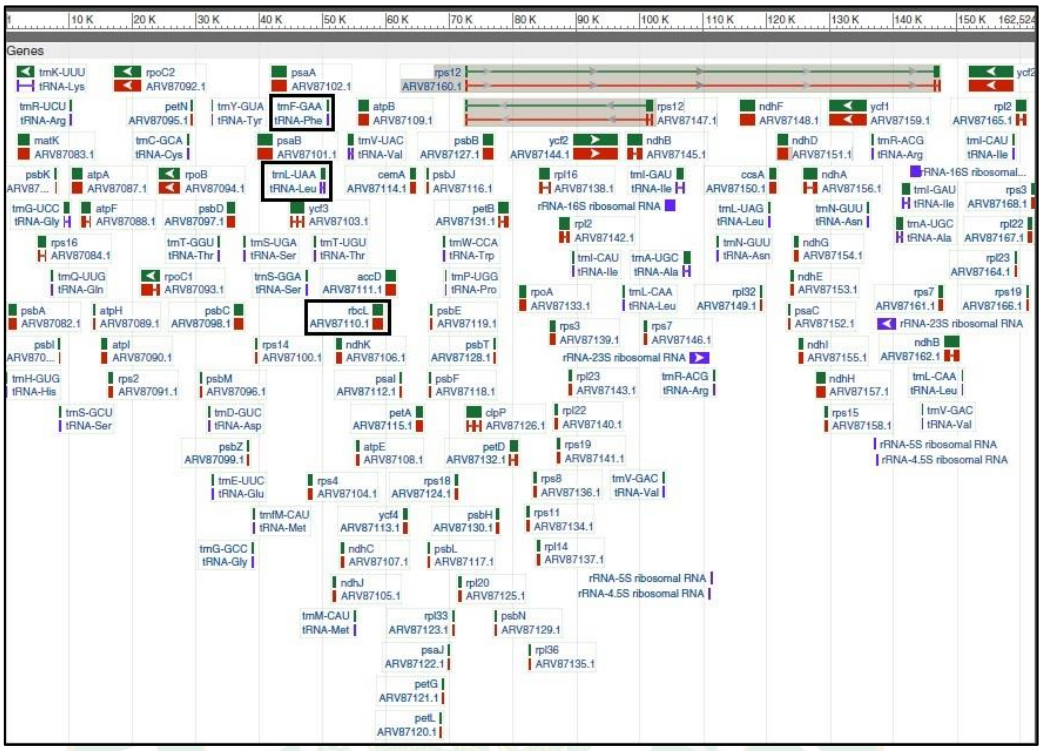
จีโนม (Genome) (สุรินทร์, 2552)

จีโนม หมายถึง จำนวนโครโมโซมหรือปริมาณดีเอ็นเอที่มีในเซลล์หรือในสิ่งมีชีวิตหนึ่ง ๆ ซึ่งจะมีความแตกต่างกันในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด การศึกษาจีโนมสามารถทำได้ทั้งระดับโครโมโซม และระดับดีเอ็นเอ ในเซลล์ยูแคริโอตนั้นพบดีเอ็นเอได้ทั้งในนิวเคลียส และในออร์แกเนลอีก 2 ชนิด ได้แก่ ไมโทคอนเดรีย และพลาสติด จีโนมจึงมีอยู่ 3 แหล่ง คือ จีโนมในนิวเคลียส (nuclear genome) จีโนมในไมโทคอนเดรีย (mitochondrial genome) ซึ่งพบทั้งในเซลล์พืชและเซลล์สัตว์ และจีโนมในพลาสติด หรือในคลอโรพลาสต์ (chloroplast genome) ซึ่งพบเฉพาะในเซลล์พืช

จีโนมในคลอโรพลาสต์ (Chloroplast genome) (สุรินทร์, 2552)

คลอโรพลาสต์เป็นออร์แกเนลที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์แสงพบในพืชทั่วไป มีดีเอ็นเอที่มีโครงสร้างเป็นวงแหวนเกลียวคู่ (double stand circular DNA) ขนาดประมาณ 120-220 กิโลเบส จำนวนคลอโรพลาสต์ในแต่ละเซลล์มีได้มากถึง 40 อัน และแต่ละอันมีดีเอ็นเอประมาณ 20-40 โมเลกุล รวมจำนวนดีเอ็นเอของคลอโรพลาสต์ (chloroplast DNA, cpDNA) ในแต่ละเซลล์อาจมีมากถึงประมาณ 800-1,000 โมเลกุล จีโนมของคลอโรพลาสต์ของพืชส่วนใหญ่ มีส่วนของดีเอ็นเอที่มีลำดับเบสเหมือนกันซ้ำ 2 ชุด เรียงตัวอยู่ห่างกันในทิศตรงกันข้าม (inverted repeat) แยกส่วนที่มีลำดับเบสจำเพาะเพียงชุดเดียว (unique sequence) เป็น 2 ส่วน เป็นส่วนที่มีขนาดใหญ่ (large

single copy) และส่วนที่มีขนาดเล็ก (small single copy) จีโนมทั่วไปมียีนประมาณ 100 ยีน จีโนมในคลอโรพลาสต์ของลิ้นจี่มีขนาด 162,524 คู่เบส ดังภาพที่ 18



ภาพที่ 18 แบบจำลองดีเอ็นเอในคลอโรพลาสต์ของลิ้นจี่
ที่มา: Rabah et al. (2017)

ลำดับนิวคลีโอไทด์ในคลอโรพลาสต์นั้นสามารถนำมาใช้สำหรับการจำแนกสิ่งมีชีวิตได้ โดยนิยมเลือกบริเวณที่มีความผันแปรทางพันธุกรรมสูง แต่มีบริเวณอนุรักษ์ (conserve sequence) ตัวอย่าง เช่น ยีน *ribulosebisphosphate carboxylase* (*rbcL*) ซึ่งเป็นยีนที่อยู่ในคลอโรพลาสต์ ทำหน้าที่ควบคุมการสร้าง large subunit ของเอนไซม์ ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase /oxygenase (RUBISCO) (Gielly and Taberlet, 1994) เกี่ยวข้องกับกระบวนการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ในพืช ยีน *rbcL* มีขนาดประมาณ 1,400 คู่เบส (ปรีชา, 2543) นอกจากนี้ยังมีการใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่อยู่ระหว่างยีน *trnL* (UAA) - *trnF* (GAA) ในการจำแนกสิ่งมีชีวิตอีกด้วย (Taberlet et al., 1991)

อิเล็กโทรโฟรีซิส (Electrophoresis) (สุรินทร์, 2552)

อิเล็กโทรโฟรีซิส เป็นเทคนิคที่ใช้แยกโมเลกุลของสารที่มีประจุออกจากกันโดยใช้กระแสไฟฟ้า โดยให้สารที่มีประจุเคลื่อนผ่านตัวกลางชนิดหนึ่งในสารละลาย สารที่มีประจุต่างกันจะเคลื่อนที่ในทิศตรงกันข้าม นอกจากประจุแล้วอัตราการเคลื่อนที่ยังขึ้นอยู่กับขนาด รูปร่างของโมเลกุล แรงเคลื่อนไฟฟ้า และตัวกลางที่ใช้

เจลอะกาโรส (Agarose gel) (สุรินทร์, 2552)

เจลอะกาโรสเป็นพอลิเมอร์ของ D-galactose สลับกับ 3, 6-anhydrogalactose แยกได้จากสาหร่ายทะเล เช่นเดียวกับวุ้น องค์ประกอบหรือหน่วยย่อยโดยรวมจะเหมือนกันแต่จะมีความแตกต่างกันที่หมู่ R ที่ต่ออยู่กับหมู่ไฮดรอกซีที่ตำแหน่งคาร์บอนที่ 6 ของน้ำตาลกาแล็กโทส โดยชื่ออะกาโรสเป็นชื่อโดยรวมจึงประกอบด้วยพอลิแซ็กคาไรด์หลายชนิด วัตถุประสงค์ของการแยกดีเอ็นเอโดยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสมีหลายอย่าง เช่น การตรวจสอบดีเอ็นเอที่มีขนาดแตกต่างกัน การแยกบริสุทธิ์ดีเอ็นเอจากอะกาโรส การแยกขนาดของพลาสมิด ดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ เป็นต้น

ปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรส (Polymerase chain reaction) (สุรินทร์, 2552)

ปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรส หรือ PCR เป็นเทคนิคที่ใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายซึ่งอยู่ในสารละลายรวมกับดีเอ็นเออื่น โดยไม่จำเป็นต้องทำให้ชิ้นดีเอ็นเอดังกล่าวบริสุทธิ์ก่อน สามารถแยกชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่สนใจได้โดยไม่ต้องนำไปขยายเพิ่มปริมาณในเซลล์หรือนำไปโคลน การทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสคือ การสังเคราะห์ดีเอ็นเอโดยใช้เอนไซม์ดีเอ็นเอพอลิเมอร์เรสซ้ำกันหลาย ๆ รอบ เพื่อให้ได้ปริมาณดีเอ็นเอเพิ่มขึ้นเป็นทวีคูณ การสังเคราะห์ดีเอ็นเอจะเกิดขึ้นได้จำเป็นต้องมีไพรเมอร์ด้วย ไพรเมอร์ที่ใช้เป็นโอลิโกนิวคลีโอไทด์ ความยาวประมาณ 20-35 เบส วิธีทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรส คือ สกัดดีเอ็นเอจากเซลล์ นำมาใส่รวมกับไพรเมอร์ บัฟเฟอร์ ดีออกซีไรโบนิวคลีโอไซด์ไตรฟอสเฟต (dNTP) ทั้ง 4 ชนิด ทำให้ดีเอ็นเอต้นแบบแยกเป็นสายเดี่ยว (denaturation) โดยใช้ความร้อน แล้วลดอุณหภูมิลงอย่างรวดเร็ว เพื่อให้ไพรเมอร์ที่มีเบสเป็นคู่สมกับส่วนปลายของชิ้นดีเอ็นเอเป้าหมายและมีปริมาณมากกว่าชิ้นดีเอ็นเออื่น ๆ เข้ามาจับคู่กับส่วนดีเอ็นเอที่ต้องการ (annealing) ขั้นสุดท้ายจึงเปลี่ยนอุณหภูมิให้พอเหมาะกับการทำงานของเอนไซม์ดีเอ็นเอพอลิเมอร์เรส เอนไซม์จะทำหน้าที่สังเคราะห์ดีเอ็นเอต่อจากไพรเมอร์ (primer extension) โดยมีดีเอ็นเอเป้าหมายเป็นต้นแบบ เมื่อปฏิกิริยาดำเนินไปครบทั้ง 3 ขั้นตอน โมเลกุลดีเอ็นเอเป้าหมายจะเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในรอบแรกจะพบว่า ผลผลิตที่ได้ไม่ได้มีเฉพาะส่วนของดีเอ็นเอบริเวณที่เป็นเป้าหมายเท่านั้น แต่ได้โมเลกุลที่มีสายหนึ่งยาวมากเพราะเป็นต้นแบบเดิม อีกสายหนึ่งที่เป็นคู่สมเริ่มจากปลาย 5′ ของไพรเมอร์ที่ใช้ ส่วนปลาย 3′ ยาวออกไปนอกบริเวณที่ต้องการ ในรอบที่ 2 ยังคง

ได้ผลผลิตที่มีสายหนึ่งยาวมาก หรือมีปลาย 3´ ที่ยาวเกินส่วนที่ต้องการ จนถึงรอบที่ 3 จึงเริ่มมีโมเลกุลดีเอ็นเอที่มีขนาดเท่ากับเป้าหมายที่ต้องการ ซึ่งจะเพิ่มปริมาณมากขึ้นอย่างรวดเร็ว ส่วนโมเลกุลที่มีปลาย 3´ยาว จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นรอบละ 2 โมเลกุลเท่านั้น โดยโมเลกุลที่มีปลาย 3´ยาวดังกล่าวนี้สังเคราะห์มาจากดีเอ็นเอต้นแบบเริ่มต้นที่เป็นสายยาว เมื่อเปรียบเทียบกันพบว่าการสังเคราะห์โดยรวมเพิ่มขึ้นเป็นทวีคูณรอบละ 2 เท่า แต่โมเลกุลที่มีปลาย 3´ยาว เพิ่มขึ้นแบบสม่ำเสมอรอบละ 2 โมเลกุล ถ้าประสิทธิภาพของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอสมบูรณ์ จะสามารถคำนวณดีเอ็นเอที่เพิ่มขึ้นได้ เมื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอครบ 30 รอบ ปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายจะเพิ่มขึ้นประมาณ 1 พันล้านเท่า ขณะที่ดีเอ็นเอที่มีสายยาวมีเพียง 60 เท่า เมื่อนำผลผลิตที่ได้ไปตรวจสอบจึงพบเฉพาะดีเอ็นเอที่มีขนาดเท่ากับเป้าหมายเท่านั้น

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเออาศัยการทำงานของเอนไซม์ดีเอ็นเอพอลิเมอร์เรส ถ้าใช้เอนไซม์ดีเอ็นเอพอลิเมอร์เรสจากแบคทีเรีย *E. coli* หรือจากเซลล์อื่น เมื่อทำให้ดีเอ็นเอเสียสภาพโดยใช้อุณหภูมิสูงประมาณ 95 องศาเซลเซียส เอนไซม์ก็จะเสียสภาพด้วย จึงต้องเติมเอนไซม์ใหม่ลงไปในปฏิกิริยาทุกรอบการสังเคราะห์ ต่อมามีการค้นพบเอนไซม์ *Taq* DNA polymerase จากแบคทีเรียในน้ำพุร้อน *Thermus aquaticus* เอนไซม์นี้สามารถทนความร้อนได้สูง ทำให้การทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสสะดวกมากขึ้น ไม่ต้องมีการเติมเอนไซม์และสามารถประยุกต์ใช้กับเครื่องอัตโนมัติได้ โดยควบคุมอุณหภูมิในแต่ละขั้นตอน ทำซ้ำ 30-40 รอบ ก็สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายได้เป็นล้าน ๆ เท่าโดยใช้เวลาเพียง 3-4 ชั่วโมงเท่านั้น สำหรับอุณหภูมิที่ใช้ในแต่ละขั้นตอนนั้น ขั้นที่ 1 คือ ทำให้ดีเอ็นเอเสียสภาพ มักใช้ที่ 94-95 องศาเซลเซียส ส่วนขั้นที่ 2 ทำให้ไพรเมอร์จับตัวกับดีเอ็นเอต้นแบบ จะอยู่ในช่วง 35-65 องศาเซลเซียส ขึ้นกับขนาดและองค์ประกอบของเบสในไพรเมอร์ที่ใช้ ทั้งนี้เพราะขนาดและองค์ประกอบของเบสมีผลต่ออุณหภูมิที่ใช้ในการแยกดีเอ็นเอเกลียวคู่ให้เป็นสายเดี่ยว อุณหภูมิที่ใช้เพื่อทำให้ดีเอ็นเอเกลียวคู่แยกเป็นสายเดี่ยว 50 เปอร์เซ็นต์ เรียกว่า melting temperature หรือ Tm ขั้นที่ 3 การสังเคราะห์ดีเอ็นเอเส้นใหม่โดยใช้อุณหภูมิประมาณ 72 องศาเซลเซียส

เครื่องหมายโมเลกุล (Molecular marker) (สุรินทร์, 2552)

เครื่องหมายโมเลกุลมี 2 ระดับ คือ ระดับโปรตีน เป็นการตรวจสอบที่โมเลกุลของโปรตีนชนิดต่าง ๆ และระดับดีเอ็นเอซึ่งตรวจสอบความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ในโมเลกุลของดีเอ็นเอ

เครื่องหมายดีเอ็นเอและการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA marker and DNA fingerprinting)

เครื่องหมายดีเอ็นเอ หมายถึง ดีเอ็นเอที่ใช้เป็นเครื่องหมายบ่งชี้ความจำเพาะของสิ่งมีชีวิตตัวหนึ่ง ชนิดหนึ่ง สปีชีส์หนึ่ง หรือในระดับต่างสปีชีส์ เป็นดีเอ็นเอที่อยู่ที่ตำแหน่งหนึ่ง ๆ บนโครโมโซม (nuclear DNA) หรือดีเอ็นเอในออร์แกเนลล์ (mitochondrial DNA หรือ chloroplast DNA)

การที่สามารถใช้ดีเอ็นเอเป็นเครื่องหมายได้เนื่องจากเกิดความผันแปร (variation) ของนิวคลีโอไทด์ในโมเลกุลของดีเอ็นเอหรือเกิดพอลิมอร์ฟิซึม (polymorphism) ของลำดับเบสในโมเลกุลของดีเอ็นเอ

การตรวจสอบพอลิมอร์ฟิซึมของดีเอ็นเอนั้นทำได้โดยการหาลำดับเบสในโมเลกุลของดีเอ็นเอ (DNA sequencing) หรือตรวจสอบโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ การใช้ดีเอ็นเอเป็นเครื่องหมายบ่งชี้ความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตมีที่มาจากการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอเป็นวิธีการที่ทำให้เกิดลายพิมพ์หรือแบบแผนของดีเอ็นเอที่จำเพาะสามารถตรวจสอบพอลิมอร์ฟิซึมได้ เดิมได้จากการนำดีเอ็นเอทั้งหมดในเซลล์ (genomic DNA) มาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะแล้วนำมาแยกขนาดด้วยวิธีอิเล็กโทโฟรีซิส ย้ายชิ้นดีเอ็นเอที่แยกแล้วทั้งหมดไปยังเมมเบรนฟิลเตอร์ (membrane filter) ไฮบริไดซ์กับโพรบ (probe) ซึ่งมาจากดีเอ็นเอส่วนที่เป็นมินิแซทเทลไลท์ สามารถตรวจสอบชิ้นดีเอ็นเอได้หลายตำแหน่ง (multiple-locus) พร้อม ๆ กัน เกิดเป็นลายพิมพ์ดีเอ็นเอเฉพาะบุคคล มีความหมายเดียวกับคำว่า DNA profiling หรือ DNA typing (Jeffreys et al., 1985)

เครื่องหมายดีเอ็นเอที่ตรวจสอบด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรส (PCR-base marker)

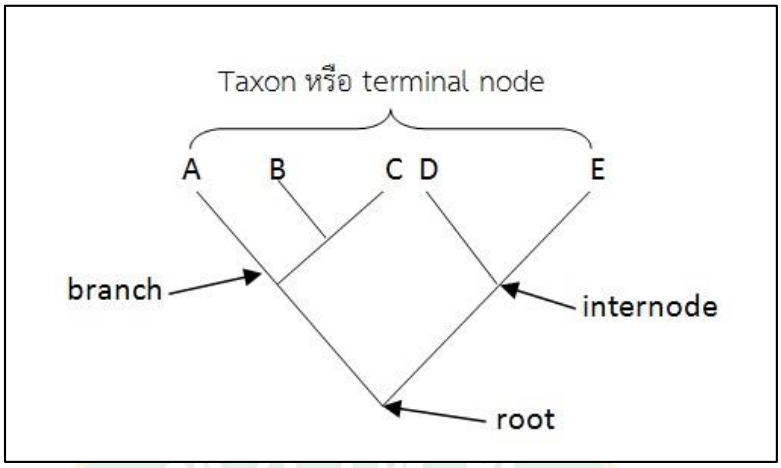
การนำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสมาประยุกต์ใช้ตรวจสอบเครื่องหมายดีเอ็นเอมีทั้งแบบที่ตรวจได้ครั้งละหลายตำแหน่งพร้อมกัน ซึ่งเป็นการตรวจแบบสุ่มไม่จำเพาะกับตำแหน่งใดและแบบที่ตรวจได้ครั้งละหนึ่งตำแหน่ง (single locus) ในบริเวณที่จำเพาะตรวจสอบจากส่วนที่มีเพียงชุดเดียวในจีโนมซึ่งอาจเป็นส่วนของยีนหรือบริเวณอื่นใดก็ได้

Microsatellite-primed PCR (MP-PCR) และ Inter simple sequences repeat (ISSR) ไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ คือ ลำดับเบสที่มีลักษณะเป็นชุดซ้ำ ๆ ความยาว 1-6 คู่เบส หรือไม่เกิน 10 คู่เบส เรียงตัวต่อกันในทิศทางเดียวกัน ที่ตำแหน่งหนึ่งอาจมีลำดับเบสซ้ำยาวต่อเนื่องกันได้หลายร้อยคู่เบส มีชื่อเรียกอย่างอื่นคือ SSR (simple sequence repeat) หรือ STR (shot tandem repeat) การตรวจสอบดีเอ็นเอบริเวณที่เป็นไมโครแซทเทลไลท์นี้อาจใช้วิธี Southern blot hybridization แบบเดียวกับการตรวจสอบ RFLP ของดีเอ็นเอในนิวเคลียส โดยใช้โอลิโกนิวคลีโอไทด์ที่สังเคราะห์ขึ้นใหม่ให้มีลำดับเบสเป็นชุดซ้ำ เช่น $(CA)_{10}$, $(GAT)_7$ เป็นโพรบจะสามารถตรวจสอบดีเอ็นเอที่มีลำดับเบสแบบไมโครแซทเทลไลท์นั้น ๆ ได้หลายตำแหน่งพร้อมกัน แต่การตรวจสอบดีเอ็นเอโดยวิธีไฮบริไดเซชันมีขั้นตอนที่ยุ่งยาก ใช้เวลานาน มีค่าใช้จ่ายสูง และต้องใช้ดีเอ็นเอปริมาณมากจึงมีการประยุกต์ใช้ปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรส เพื่อลดขั้นตอนและข้อด้อยต่าง ๆ โดยใช้โอลิโกนิวคลีโอไทด์ที่มีลำดับเบสแบบไมโครแซทเทลไลท์ เช่น $(CA)_{10}$, $(GAT)_7$ เป็นไพรเมอร์ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ต้องการศึกษา ใช้ไพรเมอร์เพียง 1 ชนิด แบบเดียวกับการทำ RAPD เนื่องจากลำดับเบสแบบไมโครแซทเทลไลท์กระจายอยู่ทั่วจีโนม และบางตำแหน่งอยู่ใกล้ ๆ กัน ไพรเมอร์จึงสามารถจับกับดีเอ็นเอได้ทั้ง 2 ทิศทาง โดยมีปลาย 3′ เข้าหากัน ซึ่งสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอตำแหน่งดังกล่าวได้ เรียกวิธีนี้ว่า Microsatellite-primed PCR ซึ่งสามารถตรวจสอบได้โดยไม่

จำเป็นต้องทราบข้อมูลลำดับเบสของสิ่งมีชีวิตที่ต้องการศึกษา แต่จากลำดับเบสแบบไมโครแซทเทลไลท์บางตำแหน่งมีความยาวมาก ไพรเมอร์ที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจึงอาจจับดีเอ็นเอบริเวณนั้นไม่แน่นอน เช่น มีเบสซ้ำ CA จำนวน 20 ชุดบนดีเอ็นเอต้นแบบ แต่ไพรเมอร์ยาวเพียง 20 เบส ประกอบด้วยเบส CA จำนวน 10 ชุด ไพรเมอร์จึงอาจจับกับสายคู่สมตรงกลางของชุดซ้ำหรือค่อนไปทางใดทางหนึ่ง ผลผลิตจากปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสที่ได้จึงมีความยาวไม่สม่ำเสมอ มีการประยุกต์โดยการสังเคราะห์ไพรเมอร์ที่มีเบสอื่นที่ปลาย 5´ หรือ 3´ ของลำดับไมโครแซทเทลไลท์ จำนวน 1-3 เบส จะช่วยให้ไพรเมอร์จับได้เฉพาะปลาย 5´ หรือ 3´ ของชุดซ้ำบนดีเอ็นเอต้นแบบ ทำให้ผลผลิตจากปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรส ที่ได้มีความยาวสม่ำเสมอ และถ้าเพิ่มเบสที่ปลาย 5´ ของไพรเมอร์ ความยาวของผลผลิตปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสยังแยกความแตกต่างของจำนวนชุดซ้ำที่ตำแหน่งไพรเมอร์จับได้ด้วย ส่วนของดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้เป็นส่วนที่อยู่ระหว่างลำดับเบสแบบไมโครแซทเทลไลท์หรือ SSR 2 บริเวณที่อยู่ใกล้กัน จึงเรียกว่า inter simple sequence repeat หรือเครื่องหมาย ISSR การตรวจสอบดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมาย ISSR หรือ MP-PCR มีวิธีทำคล้ายกับ RAPD คือ ใช้ไพรเมอร์เพียงชนิดเดียว เป็นการตรวจสอบหลายตำแหน่งพร้อมกัน

แผนภูมิต้นไม้ (Phylogenetic tree) (สุรินทร์, 2552)

Phylogenetic tree เป็นการศึกษาประวัติหรือวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต โดยใช้แผนภาพคล้ายต้นไม้ กิ่งที่แยกแต่ละกิ่งแสดงการแยกตัวออกจากกัน เรียกอีกอย่างว่า phylogeny หรือ evolutionary tree โดยมีสมมติฐานหลักว่าสิ่งมีชีวิตที่มีข้อมูลทางโมเลกุลเหมือนกัน (homologous) มีบรรพบุรุษร่วมกันแล้วค่อย ๆ มีการเปลี่ยนแปลงไปตามเวลาจึงมีการแยกออกจากกันครั้งละ 2 กิ่ง แต่ละจุดที่แยกออกจากกันเกิดได้อย่างอิสระ องค์ประกอบของ phylogenetic tree ประกอบด้วยส่วนต่าง ๆ ดังภาพที่ 19



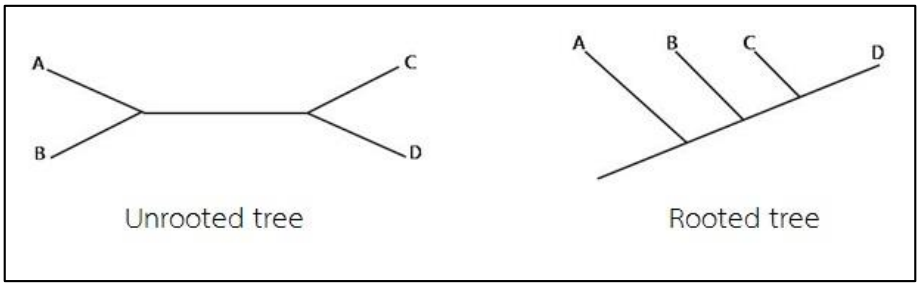
ภาพที่ 19 ตำแหน่งองค์ประกอบของ Phylogenetic tree

ที่มา: สุรินทร์ (2552)

กลุ่มของ Taxon หรือ หน่วยอนุกรมวิธานที่แยกมาจากบรรพบุรุษร่วม (common ancestor) เดียวกันเรียกว่า เคลด (clade) หรือ monophyletic group เช่น taxon ที่อยู่ใกล้กัน อย่าง B และ C เรียกว่า sister taxon มีบรรพบุรุษร่วมกัน ใน taxon ที่มีบรรพบุรุษร่วมกันมากกว่า 1 จุด เช่น B, C และ D ไม่จัดว่าเป็นเคลด เรียกว่า paraphyletic group

การแยกสายวิวัฒนาการหรือกิ่งที่จุด internode หรือ internal node ถ้ามีกิ่งแยกออกมา 2 กิ่ง เรียกจุดนั้นว่า bifurcating node แต่ถ้าแยกออกมามากกว่า 2 กิ่งเรียกว่า multifurcating node ลักษณะของกิ่งที่แยกออกจากจุดที่มีบรรพบุรุษร่วมจากหนึ่งเป็น 2 เรียกเป็นแบบ dichotomy แต่ถ้าแยกออกมามากกว่า 2 เป็นแบบ polytomy กระบวนการที่เกิดการแยกแบบนี้เรียกว่า radiation เกิดจากการเปลี่ยนแปลงที่จุดนั้นเป็นหลายแบบในเวลาเดียวกัน หรือยังมีข้อมูลไม่เพียงพอจึงแยกเป็น 2 ไม่ได้ ในกระบวนการวิวัฒนาการเป็นไปได้น้อยมากที่จะเกิดการเปลี่ยนแปลงแบบพร้อมกันจากจุดเดียวกัน แต่อาจเกิดการเปลี่ยนแปลงที่รวดเร็วจนไม่สามารถหาหลักฐานมาสนับสนุนได้ว่าเหตุการณ์ไหนเกิดขึ้นก่อน จึงไม่สามารถสร้าง tree ที่มีการแยกจุดละ 2 กิ่งตามลำดับที่แท้จริงได้ ต้องคงไว้ในรูป tree ที่มีบางจุดมีมากกว่า 2 กิ่ง

Tree อาจเป็นแบบที่มีราก (rooted tree) หรือไม่มีราก (unrooted tree) ดังภาพที่ 20 tree แบบที่มีรากมี node ที่เป็นจุดเริ่มต้นหรือราก ที่ทุกกิ่งจะแยกออกมา จึงแสดงทิศทางของวิวัฒนาการว่า taxon ใดวิวัฒนาการยาวนานกว่ากัน สามารถบอกได้ว่าจุดไหนเป็นบรรพบุรุษ และจุดไหนเป็นลูกหลานที่สืบทอดมา ส่วน tree แบบที่ไม่มีรากไม่มีจุดเริ่มต้น ไม่สามารถระบุได้ว่า taxon ใดมีวิวัฒนาการยาวกว่า จุดไหนเป็นบรรพบุรุษ และจุดไหนเป็นลูกหลานที่สืบทอดมา



ภาพที่ 20 การแยกสายวิวัฒนาการ

ที่มา: สุรินทร์ (2552)

วิธีหารากจะใช้สิ่งมีชีวิตที่อยู่นอกกลุ่มที่ศึกษา (Out group) มาร่วมวิเคราะห์ด้วยและถ้าเลือกได้เหมาะสมจะหารากได้จากจุดกึ่งกลางระหว่าง taxon ที่อยู่ห่างกันมากที่สุด (midpoint rooting) หรือหารากโดยใช้ molecular clock โดยสมมติให้การเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นด้วยอัตราที่คงที่ taxon ที่มีการกลายพันธุ์มากแสดงว่ามีวิวัฒนาการมานานกว่าโดยความยาวของกิ่งจะบอกเวลาการเกิดวิวัฒนาการได้

บทที่ 3
วัสดุอุปกรณ์และวิธีการวิจัย

พันธุ์ลิ้นจี่ที่ใช้ในการวิจัย

ลิ้นจี่ที่ใช้ในการศึกษาทดลองนี้มีทั้งหมด 23 พันธุ์ ซึ่งมาจากแปลงรวบรวมและอนุรักษ์พันธุ์ลิ้นจี่ สาขาไม้ผล คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ 22 พันธุ์ (ภาพที่ 21) และพันธุ์โกมินทร์ มาจากแปลงเกษตรกร อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ โดยใช้ลำไยเป็นตัวอย่างนอกกลุ่ม (Out group) ดังตารางที่ 2

ภาพที่ 21 แปลงรวบรวมและอนุรักษ์พันธุ์ลิ้นจี่ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ตารางที่ 2 พันธุ์ลิ้นจี่ ลำไย และแหล่งที่มา

ชื่อพันธุ์	แหล่งที่มา
1. กวางเจา	มหาวิทยาลัยแม่โจ้
2. สาแหรกทอง	มหาวิทยาลัยแม่โจ้
3. โอวเฮียะ	มหาวิทยาลัยแม่โจ้
4. จีนใหญ่	มหาวิทยาลัยแม่โจ้
5. กะโหลกใบอ้อ	มหาวิทยาลัยแม่โจ้
6. กิมเจง	มหาวิทยาลัยแม่โจ้
7. จักรพรรดิ	มหาวิทยาลัยแม่โจ้
8. ช่อระกำ	มหาวิทยาลัยแม่โจ้
9. ฮงฮวย	มหาวิทยาลัยแม่โจ้
10. สำเภาทอง	มหาวิทยาลัยแม่โจ้
11. ไทย	มหาวิทยาลัยแม่โจ้
12. กรอบแก้ว	มหาวิทยาลัยแม่โจ้
13. สำเภาแก้ว	มหาวิทยาลัยแม่โจ้
14. นครพนม 1	มหาวิทยาลัยแม่โจ้
15. บริวสเตอร์	มหาวิทยาลัยแม่โจ้
16. กะโหลกใบไหม้	มหาวิทยาลัยแม่โจ้
17. แห้วจีน	มหาวิทยาลัยแม่โจ้
18. เขียวหวาน	มหาวิทยาลัยแม่โจ้
19. กระโถนท้องพระโรง	มหาวิทยาลัยแม่โจ้
20. ค่อม	มหาวิทยาลัยแม่โจ้
21. กะโหลกใบยาว	มหาวิทยาลัยแม่โจ้
22. จีนแดง	มหาวิทยาลัยแม่โจ้
23. โกมินทร์	แปลงเกษตรกร อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่
24. ลำไย พันธุ์จัมโบ้	มหาวิทยาลัยแม่โจ้
25. ลำไย พันธุ์เพชรสาคร	มหาวิทยาลัยแม่โจ้

วัสดุและอุปกรณ์

1. กระบอกตวง
2. กระดาษทิชชู
3. ช้อนตักสาร
4. ถ้วยใส่สาร
5. ทิป (Tip)
6. นาฬิกาจับเวลา
7. บีกเกอร์ (Beaker)
8. ปิเปตแก้ว
9. ไมโครปิเปต (Micropettes) ขนาด 10 ไมโครลิตร 20 ไมโครลิตร 200 ไมโครลิตร และ 1,000 ไมโครลิตร
10. หลอดไมโครทิวป์ ขนาด 1.5 มิลลิลิตร
11. หลอดพีซีอาร์ ขนาด 0.2 มิลลิลิตร
12. โกร่งบดตัวอย่าง

เครื่องมือ

1. เครื่องอิเล็กโทรโฟรีซิส i-MyRun.N Electrophoresis (Tokyo, Japan)
2. เครื่อง Thermal Cycle ยี่ห้อ BIO-RAD รุ่น T100TM (BioRad, USA)
3. เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอนขนาดเล็ก (Mini centrifuge) รุ่น Mini 6Ks (Bioline)
4. เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) Heraeus รุ่น Biofuge pico (Sorvall, Germany)
5. เครื่องชั่ง 3 ตำแหน่ง รุ่น PG503-S (Mettler Toledo, Switzerland)
6. เครื่องวัดค่าความเป็นกรดด่าง PH550 pH/mV Meter ยี่ห้อ Clean L'eau (Taoyuan, Taiwan)
7. เครื่องกวนสารและให้ความร้อน (Jemway 1000, UK)
8. เครื่อง Vortex รุ่น MS-1 (IKA-Malaysia)
9. ตู้เย็น รุ่น GR-A25KSS Inverter (Toshiba, Thailand)
10. ตู้แช่ -20 องศาเซลเซียส รุ่น SF-C992 NG (Sanyo, Thailand)
11. ตู้แช่ -80 องศาเซลเซียส รุ่น MDF-592 (Sanyo, Japan)
12. ตู้อบแห้ง FED 53-UL (BINDER, Norway)
13. ไมโครเวฟ รุ่น R-220 (SHARP, Thailand)
14. เครื่องนึ่งความดัน Auto clave รุ่น ASB260 (Astell Scientific, England)
15. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ รุ่น WNB 7 (Memmert, Germany)
16. ตู้ดูดควัน Easy Lab Fume Hood (S. K. Powerable, Thailand)
17. เครื่อง Gel DocTMXR+ with Image LabTM Software (Bio-Rad, USA).
18. เครื่อง NanoDrop™ 2000/2000c Spectrophotometers (Thermo Fisher Scientific, USA)

สารเคมี

1. Agarose (Molecular biology grade) (Vivantis, Malaysia)
2. Boric acid (Molecular biology grade) (Vivantis, Malaysia)
3. Cetyltrimethyl Ammonium Bromide (CTAB) High purity (AMRESCO, USA)
4. Phenol Saturated (pH7.0) (Bio basic, USA)
5. Chloroform (RCILabscan, Thailand)
6. Isoamyl alcohol (Qrec, New Zealand)
7. Ethanol (Merck, Germany)
8. Sodium acetate (RCILabscan, Thailand)
9. EDTA, Disodium salt dehydrate (Vivantis, Malaysia)
10. Polyvinylpyrrolidone (PVP-40) (Sigma-Aldrich, China)
11. Sodium metabisulfite (Fisher Scientific, UK)
12. Tris (Bio basic, USA)
13. β-Mercapto ethanol (Merck, Germany)
14. WFI Quality Water (OmniPur, USA)
15. สีย้อมดีเอ็นเอ SYBR safe DNA gel stain (Invitrogen, USA)
16. Glacial acetic acid (Merck, Germany)

ดีเอ็นเอมาตรฐาน

1. GeneRulerTM 100 bp plus DNA Ladder (Thermo Science, USA)

เอนไซม์ที่ใช้ในงานวิจัย

1. RNase A Solution (Novagen, USA)

ชุดทดลองสำเร็จรูปที่ใช้ในงานวิจัย

1. บัฟเฟอร์สำเร็จรูป MyTaqTM HS Red Mix, 2x (BIOLINE, USA)
2. บัฟเฟอร์สำเร็จรูป Phusion Flash High-Fidelity PCR Master mix (Thermo Science, USA)

ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

1. ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัยแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน

1. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมด้วยเครื่องหมาย ISSR

1.1 การเก็บตัวอย่างใบลิ้นจี่

1.2 การสกัดดีเอ็นเอ

1.3 การตรวจสอบคุณภาพและปริมาณของดีเอ็นเอ

1.3.1 โดยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซีส

1.3.2 โดยวิธีวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง NanoDrop2000

1.4 การทดสอบอุณหภูมิ Annealing ของแต่ละไพรเมอร์

1.4.1 โดยการทำ Gradient

1.4.2 โดยการใช้อุณหภูมิเดี่ยว

1.5 การสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่ด้วยเทคนิค ISSR

1.6 การวิเคราะห์ข้อมูล

1.6.1 การให้คะแนนแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏและไม่ปรากฏ

1.6.2 การคำนวณหาค่าความเหมือนทางพันธุกรรม

1.6.3 การสร้างแผนภูมิทางพันธุกรรม

1.7 การตรวจสอบพันธุ์ลิ้นจี่ที่ไม่แตกต่างทางพันธุกรรม

1.7.1 การเพิ่มจำนวนไพรเมอร์ ISSR

1.7.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

2 การศึกษาความผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL* และบริเวณที่อยู่ระหว่างยีน *trnL-trnF*

2.1 การสกัดดีเอ็นเอ

2.2 การทดสอบอุณหภูมิ Annealing ของแต่ละไพรเมอร์

2.3 การทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรส

2.4 ส่งผลผลิตจากปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์

2.5 การวิเคราะห์ผล

2.5.1 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

2.5.2 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์

2.5.3 การหาค่าความต่างทางพันธุกรรม

2.5.4 การสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์

วิธีการดำเนินงานวิจัย

การดำเนินงานวิจัยแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน

1. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมด้วยเครื่องหมาย ISSR

1.1 การเก็บตัวอย่างพันธุ์ลิ้นจี่

เก็บใบอ่อนของลิ้นจี่ จากแปลงรวบรวมพันธุกรรมลิ้นจี่ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้ และสวนของเกษตรกรในอำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ เก็บไว้ที่ -80 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการสกัดดีเอ็นเอ

1.2 การสกัดดีเอ็นเอจากพืชด้วยวิธี mCTAB ดัดแปลงจากวิธีของ Doyle and Doyle (1987)

1) เตรียมสารละลาย mCTAB ผสมกับ β-Mercapto ethanol ในอัตราส่วน 99:1

2) บดใบอ่อนของลิ้นจี่ขนาดเล็ก 2-3 ใบ ในสารละลายข้อที่ 1 ให้ละเอียด

3) ดูดสารละลายใส่หลอดไมโครทิวป์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เอียงหลอดไปมาเพื่อสังเกตความหนืดของสาร หากมีความหนืดมากควรเติมสารละลายข้อที่ 1 เพิ่ม

4) แช่หลอดในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที โดยนำออกมากลับหลอดทุก ๆ 10 นาที

5) นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที ย้ายส่วนใสใส่หลอดใหม่

6) เติมเอนไซม์ RNaseA ความเข้มข้น 10 mg/ml ปริมาตร 2 ไมโครลิตร และบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 30 นาที

7) เติมสารละลาย Phenol: Chloroform: Isoamyl alcohol (25:24:1) ปริมาตรเท่ากับปริมาตรสารละลายในหลอด แล้วนำไป vortex เล็กน้อย

8) นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที ย้ายส่วนใสด้านบนใส่หลอดใหม่

9) เติมสารละลาย Chloroform: Isoamyl alcohol (24:1) ปริมาตรเท่ากับปริมาตรสารละลายในหลอด และ vortex เล็กน้อย

10) นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที ย้ายส่วนใสด้านบนใส่หลอดใหม่

11) เติมสารละลาย 3M Sodium acetate ปริมาตร 0.1 เท่า ของปริมาตรสารละลายที่มีในหลอดและเติม Ethanol บริสุทธิ์เย็นปริมาตร 2 เท่าของสารละลายที่มีในหลอด สังเกตเห็นตะกอนสีขาวขุ่น

12) นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที แล้วเท Ethanol ทิ้ง

13) เติม 75เปอร์เซ็นต์ Ethanol ปริมาตร 500 ไมโครลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที และทำซ้ำอีก 1 รอบ

14) ระเหย Ethanol ให้แห้งโดยเปิดฝาทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ประมาณ 30 นาที

15) ละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย 10 มิลลิโมลาร์ Tris-HCl pH 8.0 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และเก็บดีเอ็นเอไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

16) นำตัวอย่างดีเอ็นเอที่สกัดได้มาทดสอบคุณภาพโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง NanoDrop2000 และวิธีอิเล็กโทรโฟรีซีส

1.3 การตรวจสอบคุณภาพและปริมาณของดีเอ็นเอ

1.3.1 โดยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซีส

วิเคราะห์ด้วย 1เปอร์เซ็นต์ agarose gel ที่มี SYBR Safe DNA gel stain เป็นส่วนผสม ภายใต้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นถ่ายรูปเจลภายใต้แสงยูวี ด้วยเครื่อง Gel DocTMXR+ with Image LabTM Software

1.3.2 โดยวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง NanoDrop2000

วิเคราะห์ด้วยเครื่อง NanoDrop2000 ที่ความยาวคลื่น 260 และ 230 นาโนเมตร

1.4 การทดสอบอุณหภูมิ Annealing ของแต่ละไพรเมอร์

1.4.1 โดยวิธีการทำ Gradient

ทดสอบอุณหภูมิที่เหมาะสมของไพรเมอร์ ISSR ทั้งหมด 27 ไพรเมอร์ ในช่วงอุณหภูมิ 45-58 องศาเซลเซียส โดยลำดับเบสไพรเมอร์เหล่านี้มาจาก Degani et al. (2003) ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ชื่อไพรเมอร์ ISSR และลำดับนิวคลีโอไทด์

ลำดับที่	ชื่อไพรเมอร์	ลำดับนิวคลีโอไทด์ (5′-3′)
1	807	AGAGAGAGAGAGAGAGT
2	808	AGAGAGAGAGAGAGAGC
3	809	AGAGAGAGAGAGAGAGG
4	810	GAGAGAGAGAGAGAGAT
5	817	CACACACACACACACAA
6	822	TCTCTCTCTCTCTCTCA
7	826	ACACACACACACACACC
8	828	TGTGTGTGTGTGTGTGA
9	834	AGAGAGAGAGAGAGAGYT
10	835	AGAGAGAGAGAGAGAGYC
11	836	AGAGAGAGAGAGAGAGYA
12	841	GAGAGAGAGAGAGAGAYC
13	842	GAGAGAGAGAGAGAGAYG
14	844	CTCTCTCTCTCTCTCTRC
15	845	CTCTCTCTCTCTCTCTRG
16	847	CACACACACACACACARC
17	849	GTGTGTGTGTGTGTGTYA
18	855	ACACACACACACACACYT
19	856	ACACACACACACACACYA
20	864	ATGATGATGATGATGATG
21	867	GGCGGCGGCGGCGGCGGC
22	880	GGAGAGGAGAGGAGA
23	881	GGGTGGGGTGGGGTG
24	888	BDBCACACACACACACA
25	889	DBDACACACACACACAC
26	890	VHVGTGTGTGTGTGTGT
27	891	HVHTGTGTGTGTGTG

*R คือ A หรือ G; Y คือ C หรือ T; B คือ C หรือ G หรือ T; D คือ A หรือ G หรือ T; H คือ A หรือ C หรือ T; V คือ A หรือ C หรือ G

นำไพรเมอร์ทั้งหมดมาหาอุณหภูมิ Annealing โดยการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรส องค์ประกอบของปฏิกิริยาดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 องค์ประกอบของปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสในการหาอุณหภูมิ Annealing ที่เหมาะสมของไพรเมอร์โดยวิธีการทำ Gradient

ส่วนประกอบของปฏิกิริยา	ความเข้มข้นสุดท้าย	ปริมาตรต่อปฏิกิริยา (ไมโครลิตร)
MyTaq™ HS Red Mix, 2X	1X	5
Primer (5 µM)	0.4 µM	0.8
DNA Template (12.5 ng/µl)	4 ng/µl	3.2
ddH_2O	-	1
Total	-	10

สภาวะในการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรส

Initial denaturation	95 องศาเซลเซียส	3	นาที	
Denaturation	95 องศาเซลเซียส	0.15	นาที	39 รอบ
Annealing	45, 47, 50, 53, 55 และ 58	0.15	นาที	
Extension	72 องศาเซลเซียส	0.45	นาที	
Final extension	72 องศาเซลเซียส	5	นาที	

วิเคราะห์ด้วย 1.5 เปอร์เซ็นต์ agarose gel ที่มี SYBR Safe DNA gel stain เป็นส่วนผสม ใช้บัฟเฟอร์ 0.5X Tris borate EDTA ภายใต้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นถ่ายรูปเจลภายใต้แสงยูวี ด้วยเครื่อง Gel DocTMXR+ with Image LabTM Software

1.4.2 โดยการใช้อุณหภูมิเดี่ยว

นำไพรเมอร์ทั้งหมดมาหาอุณหภูมิ Annealing โดยการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรส องค์ประกอบของปฏิกิริยาดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 องค์ประกอบของปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสในการหาอุณหภูมิ Annealing ของไพรเมอร์โดยการใช้อุณหภูมิเดี่ยว

ส่วนประกอบของปฏิกิริยา	ความเข้มข้นสุดท้าย	ปริมาตรต่อปฏิกิริยา (ไมโครลิตร)
MyTaq™ HS Red Mix, 2X	1X	5
Primer (5 µM)	0.4 µM	0.8
DNA Template (12.5 ng/µl)	4 ng/µl	3.2
ddH_2O	-	1
Total	-	10

สภาวะในการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรส

Initial denaturation	95 องศาเซลเซียส	3	นาที	
Denaturation	95 องศาเซลเซียส	0.15	นาที	39 รอบ
*Annealing	53, 55, 58, 60 และ 62	0.15	นาที	
Extension	72 องศาเซลเซียส	0.45	นาที	
Final extension	72 องศาเซลเซียส	5	นาที	

*ทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสครั้งละอุณหภูมิ

วิเคราะห์ด้วย 1.5เปอร์เซ็นต์ agarose gel ที่มี SYBR Safe DNA gel stain เป็นส่วนผสม ใช้บัฟเฟอร์ 0.5X Tris borate EDTA ภายใต้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นถ่ายรูปเจลภายใต้แสงยูวี ด้วยเครื่อง Gel DocTMXR+ with Image LabTM Software

1.5 การสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR

นำตัวอย่างดีเอ็นเอของลิ้นจี่แต่ละพันธุ์มาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้อุณหภูมิ Annealing ที่เหมาะสมของแต่ละไพรเมอร์ ซึ่งในแต่ละไพรเมอร์จะเพิ่มปริมาณดีเอ็นทั้งหมด 2 ซ้ำ องค์ประกอบของปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสมีดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 องค์ประกอบของปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสในการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR

ส่วนประกอบของปฏิกิริยา	**ความเข้มสุดท้าย**	**ปริมาตรต่อปฏิกิริยา (ไมโครลิตร)**
MyTaq™ HS Red Mix, 2X	1X	5
Primer (5 µM)	0.4 µM	0.8
DNA Template (12.5 ng/µl)	4 ng/µl	3.2
ddH_2O	-	1
Total	-	10

สภาวะในการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรส

Initial denaturation	95 องศาเซลเซียส	3	นาที	
Denaturation	95 องศาเซลเซียส	0.15	นาที	39 รอบ
Annealing	ใช้อุณหภูมิที่เหมาะสมของแต่ละไพรเมอร์	0.15	นาที	
Extension	72 องศาเซลเซียส	0.45	นาที	
Final extension	72 องศาเซลเซียส	5	นาที	

วิเคราะห์ด้วย 1.5เปอร์เซ็นต์ agarose gel ที่มี SYBR Safe DNA gel stain เป็นส่วนผสม ใช้บัฟเฟอร์ 0.5X Tris borate EDTA ภายใต้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 40-50 นาที จากนั้นถ่ายรูปเจลภายใต้แสงยูวี ด้วยเครื่อง Gel DocTM^{XR+} with Image Lab™ Software โดยในแต่ละไพรเมอร์ทำ 2 ซ้ำ

1.6 การวิเคราะห์ข้อมูล

1.6.1 การให้คะแนนแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏและไม่ปรากฏ

ให้สัญลักษณ์แถบดีเอ็นเอที่มีความชัดเจนและสามารถทำซ้ำได้เป็น 1 หากไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอให้เป็น 0 โดยเลือกเฉพาะแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏชัดเจนและสามารถทำซ้ำได้เหมือนเดิม

1.6.2 การคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรม

นำข้อมูลที่ได้จากการให้คะแนน 0,1 มาสร้างเป็นตารางข้อมูลเพื่อนำไปคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมด้วยโปรแกรม FreeTree (Hampl et al., 2001) ด้วยวิธีของ Nei and Li (1979)

1.6.3 การสร้างแผนภูมิทางพันธุกรรม

นำค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมมาจัดกลุ่มแบบ UPGMA และทำซ้ำจำนวน 2,000 ครั้ง (bootstrap) ในโปรแกรม FreeTree (Hampl et al., 2001) แสดงผลแผนภูมิความสัมพันธ์ (dendrogram) ด้วยโปรแกรม TreeView (Page, 1996)

1.7 การตรวจสอบพันธุ์ลิ้นจี่ที่ไม่แตกต่างทางพันธุกรรม

1.7.1 การเพิ่มจำนวนไพรเมอร์ ISSR

นำดีเอ็นเอของลิ้นจี่พันธุ์ที่ไม่สามารถแยกความแตกต่างโดยการใช้ไพรเมอร์ ISSR จำนวน 27 ไพรเมอร์ได้ มาทดสอบเพิ่มจำนวนไพรเมอร์ ISSR อีก 8 ไพรเมอร์ รายละเอียดของไพรเมอร์แสดงในตารางที่ 7 และองค์ประกอบในการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรส ดังตารางที่ 8

ตารางที่ 7 ไพรเมอร์ ISSR สำหรับตรวจสอบความแตกต่างของลิ้นจี่ทั้ง 3 คู่

	ชื่อไพรเมอร์	ลำดับนิวคลีโอไทด์ (5'-3')	อุณหภูมิ Annealing (°C)	อ้างอิง
1	811	GAGAGAGAGAGAGAGAC	55	Taheri et al. (2012)
2	812	GAGAGAGAGAGAGAGAA	55	Taheri et al. (2012)
3	818	CACACACACACACACAG	55	Taheri et al. (2012)
4	850	GTGTGTGTGTGTGTGTYC	55	Taheri et al. (2012)
5	ı2	GAGAGAGAGAGAGAGAGAT	55	Taheri et al. (2012)
6	P3	AGAGAGAGAGAGAGAGTG	55	Das et al. (2011)
7	P8	CACCACCACCACCAC	55	Das et al. (2011)
8	816	CACCACCACCACCACAT	55	Das et al. (2011)

ตารางที่ 8 องค์ประกอบของปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสในการตรวจสอบความแตกต่างของลิ้นจี่ทั้ง 3 คู่

ส่วนประกอบของปฏิกิริยา	ความเข้มข้นสุดท้าย	ปริมาตรต่อปฏิกิริยา (ไมโครลิตร)
MyTaq™ HS Red Mix, 2X	1X	5
Primer (5 µM)	0.4 µM	0.8
DNA Template (12.5ng/µl)	4 ng/µl	3.2
ddH_2O	-	1
Total	-	10

สภาวะในการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรส

Initial denaturation	95 องศาเซลเซียส	3	นาที	
Denaturation	95 องศาเซลเซียส	0.15	นาที	39 รอบ
Annealing	55 องศาเซลเซียส	0.15	นาที	
Extension	72 องศาเซลเซียส	0.45	นาที	
Final extension	72 องศาเซลเซียส	5	นาที	

วิเคราะห์ด้วย 1.5 เปอร์เซ็นต์ agarose gel ที่มี SYBR Safe DNA gel stain เป็นส่วนผสม ใช้บัฟเฟอร์ 0.5X Tris borate EDTA ภายใต้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที จากนั้น ถ่ายรูปเจลภายใต้แสงยูวี ด้วยเครื่อง Gel DocTMXR+ with Image LabTM Software

1.7.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

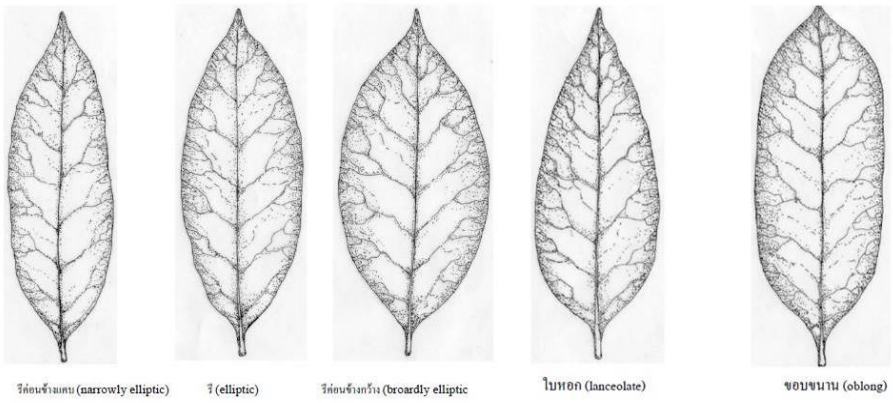
ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ศึกษามีดังนี้

1) ลักษณะทรงพุ่ม

2) ลักษณะผิวเปลือกและสีของผิวเปลือกลำต้น โดยใช้เครื่องวัดสี Color Reader CR-10 Plus (Nonica MINOLATA, INC. Japan)

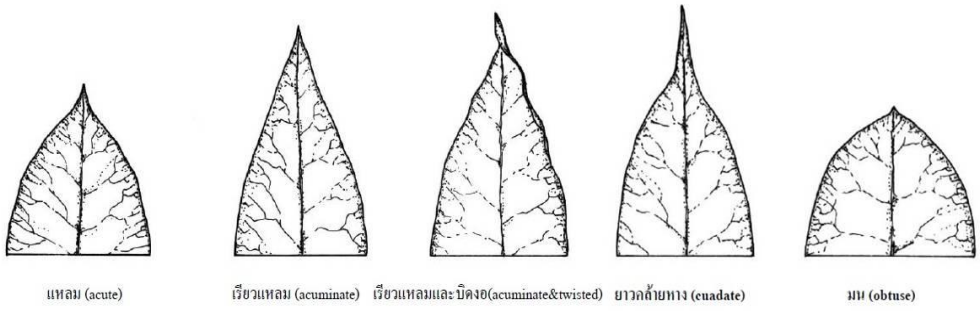
3) ลักษณะของใบ ได้แก่ จำนวนคู่ใบย่อย สีของใบอ่อน สีของใบแก่ ลักษณะรูปร่างใบ ลักษณะปลายใบ ลักษณะฐานใบ ลักษณะความมันใบ ลักษณะขอบใบ และลักษณะของแผ่นใบ (ภาพที่ 22-24)

4) ลักษณะของกิ่งและการแตกกิ่ง



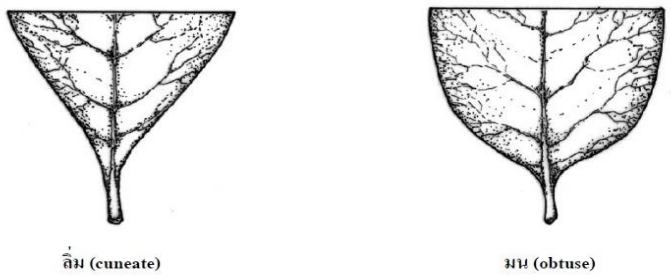
ภาพที่ 22 ลักษณะรูปร่างใบของลิ้นจี่

ที่มา: นิพัฒน์ (2558)



ภาพที่ 23 ลักษณะปลายใบของลิ้นจี่

ที่มา: นิพัฒน์ (2558)



ภาพที่ 24 ลักษณะฐานใบของลิ้นจี่

ที่มา: นิพัฒน์ (2558)

2. การศึกษาความผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL* และบริเวณที่อยู่ระหว่างยีน *trnL-trnF*

2.1 การสกัดดีเอ็นเอจากพืชด้วยวิธี mCTAB ดัดแปลงจากวิธีของ Doyle and Doyle 1987

1) เตรียมสารละลาย mCTAB ผสมกับ β-Mercapto ethanol ในอัตราส่วน 99:1

2) บดใบอ่อนของลิ้นจี่ขนาดเล็ก 2-3 ใบ ในสารละลายข้อที่ 1 ให้ละเอียด

3) ดูดสารละลายใส่หลอดไมโครทิวป์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เอียงหลอดไปมาเพื่อสังเกตความหนืดของสาร หากมีความหนืดมากควรเติมสารละลายข้อ 1 เพิ่ม

4) แช่หลอดในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที โดยนำออกมากลับหลอดทุก ๆ 10 นาที

5) นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที ย้ายส่วนใสใส่หลอดใหม่

6) เติมเอนไซม์ RNaseA ความเข้มข้น 10 mg/ml ปริมาตร 2 ไมโครลิตร และบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 30 นาที

7) เติมสารละลาย Phenol: Chloroform: Isoamyl alcohol (25:24:1) ปริมาตรเท่ากับปริมาตรสารละลายในหลอด แล้วนำไป vortex เล็กน้อย

8) นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที ย้ายส่วนใสด้านบนใส่หลอดใหม่

9) เติมสารละลาย Chloroform: Isoamyl alcohol (24:1) ปริมาตรเท่ากับปริมาตรสารละลายในหลอด และ vortex เล็กน้อย

10) นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที ย้ายส่วนใสด้านบนใส่หลอดใหม่

11) เติมสารละลาย 3M Sodium acetate ปริมาตร 0.1 เท่า ของปริมาตรสารละลายที่มีในหลอดและเติม Ethanol บริสุทธิ์เย็นปริมาตร 2 เท่าของสารละลายที่มีในหลอด สังเกตเห็นตะกอนสีขาวขุ่น

12) นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที แล้วเท Ethanol ทิ้ง

13) เติม 75เปอร์เซ็นต์ Ethanol ปริมาตร 500 ไมโครลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที และทำซ้ำอีก 1 รอบ

14) ระเหย Ethanol ให้แห้งโดยเปิดฝาทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ประมาณ 30 นาที

15) ละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย 10 มิลลิโมลาร์ Tris-HCl pH 8.0 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และเก็บดีเอ็นเอในตู้เย็นอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

16) นำตัวอย่างดีเอ็นเอที่สกัดได้มาทดสอบคุณภาพโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง NanoDrop2000 และวิธีอิเล็กโทรโฟรีซีส

2.2 การทดสอบอุณหภูมิ Annealing ของแต่ละไพรเมอร์สำหรับยีน *rbcL* และบริเวณระหว่างยีน *trnL-trnF* โดยมีรายละเอียดดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 ไพรเมอร์ที่ใช้สำหรับเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีนในคลอโรพลาสต์

	ชื่อไพรเมอร์	ลำดับเบส (5'-3')	ที่มา
1	rbcl_P_F	ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC	Rachel et al. (2003)
2	rbcl_P_R	GTAAAATCAAGTCCACCRCG	Kress and Erickson (2007)
3	trnL-trnF_P_F	GGTTCAAGTCCCTCTATCCC	Amundsen and Warnke (2012)
4	trnL-trnF_P_R	ATTTGAACTGGTGACACGAG	Amundsen and Warnke (2012)

นำไพรเมอร์ทั้งหมดมาหาอุณหภูมิ Annealing ที่เหมาะสมโดยการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบ Gradient มีองค์ประกอบของปฏิกิริยาดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 องค์ประกอบของปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสในการหาอุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์สำหรับยีน *rbcL* และบริเวณระหว่างยีน *trnL-trnF*

ส่วนประกอบของปฏิกิริยา	ความเข้มข้นสุดท้าย	ปริมาตรต่อปฏิกิริยา (ไมโครลิตร)
Phusion Flash High-Fidelity PCR Master mix	1X	5
Primer forward (5 µM)	0.5 µM	1
Primer reverse (5 µM)	0.5 µM	1
DNA Template (20 ng/µl)	4 ng/µl	2
ddH_2O	-	1
Total	-	10

สภาวะในการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรส

Initial denaturation	98 องศาเซลเซียส	3	นาที	
Denaturation	98 องศาเซลเซียส	0.10	นาที	29 รอบ
Annealing	50, 55, 60 และ 65	0.10	นาที	
Extension	72 องศาเซลเซียส	0.30	นาที	
Final extension	72 องศาเซลเซียส	5	นาที	

วิเคราะห์ด้วย 1.5 เปอร์เซ็นต์ agarose gel ที่มี SYBR Safe DNA gel stain เป็นส่วนผสม ใช้บัฟเฟอร์ 0.5X Tris borate EDTA ภายใต้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นถ่ายรูปเจลภายใต้แสงยูวี ด้วยเครื่อง Gel DocTMXR+ with Image LabTM Software

2.3 การทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสของไพรเมอร์สำหรับยีน *rbcL* และบริเวณระหว่างยีน *trnL-trnF*

นำตัวอย่างดีเอ็นเอของลิ้นจี่แต่ละพันธุ์มาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยอุณหภูมิ Annealing ที่เหมาะสมต่อแต่ละไพรเมอร์ โดยการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสมีองค์ประกอบของปฏิกิริยาดังตารางที่ 11

ตารางที่ 11 องค์ประกอบของปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีน *rbcL* และบริเวณที่อยู่ระหว่างยีน *trnL-trnF*

ส่วนประกอบของปฏิกิริยา	ความเข้มข้นสุดท้าย	ปริมาตรต่อปฏิกิริยา (ไมโครลิตร)
Phusion Flash High-Fidelity PCR Master mix	1X	10
Primer forward (5 µM)	0.5 µM	2
Primer reverse (5 µM)	0.5 µM	2
DNA Template (20 ng/µl)	4 ng/µl	4
ddH_2O	-	2
Total	-	20

สภาวะในการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรส

Initial denaturation	98 องศาเซลเซียส	3	นาที	
Denaturation	98 องศาเซลเซียส	0.10	นาที	29 รอบ
Annealing	อุณหภูมิที่เหมาะสมของแต่ละคู่ไพรเมอร์	0.10	นาที	
Extension	72 องศาเซลเซียส	0.30	นาที	
Final extension	72 องศาเซลเซียส	5	นาที	

วิเคราะห์ด้วย 1.5 เปอร์เซ็นต์ agarose gel ที่มี SYBR Safe DNA gel stain เป็นส่วนผสม ใช้บัฟเฟอร์ 0.5X Tris borate EDTA ภายใต้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นถ่ายรูปเจลภายใต้แสงยูวี ด้วยเครื่อง Gel DocTMXR+ with Image LabTM Software

2.4 การส่งผลผลิตจากปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์

ส่งผลผลิตจากปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสของยีน *rbcL* และบริเวณที่อยู่ระหว่างยีน *trnL-trnF* ไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์ที่บริษัท First Base ประเทศมาเลเซีย

2.5 การวิเคราะห์ผล

2.5.1 การวิเคราะห์และตรวจสอบความสอดคล้องของลำดับนิวคลีโอไทด์

เมื่อได้ลำดับนิวคลีโอไทด์แล้วนำมาตรวจสอบว่าสามารถอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ได้ทั้งฝั่ง forward และ reverse และตรวจสอบสัญญาณของโครมาโทแกรม จากนั้นทำการรวมทั้งสองเส้นเข้าด้วยกัน (Contig) โดยใช้โปรแกรม Genestudio 2. 2. 0. 0 (Genestudio, Inc., Suwanee, GA, USA)

2.5.2 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างพันธุ์ลิ้นจี่

นำลำดับนิวคลีโอไทด์ของลิ้นจี่และลำไยมาเปรียบเทียบกัน (Alignment) ด้วยโปรแกรม Clustal X (Thompson et al., 1997) และแสดงผลในโปรแกรม GeneDoc (Nicholas et al., 1977) เพื่อตรวจสอบตำแหน่งที่มีความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์

2.5.3 การหาค่าความต่างทางพันธุกรรมและการสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์

นำผลที่ได้จากการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมดมาคำนวณค่าความต่างทางพันธุกรรมและสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ด้วยโปรแกรม MEGA X (Kumar et al., 2018) โดยการสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมนั้นต้องทดสอบโมเดลที่เหมาะสมในการสร้างก่อน (modal testing) และเลือกวิธีการจัดกลุ่มแบบ UPGMA (Sneath, P. H. A. and Sokal, R. R. (1973) โดยทำซ้ำจำนวน 2,000 ครั้ง (bootstrap) (Joseph, 1985)

สถานที่และระยะเวลาในการวิจัย

1. สถานที่

1) ห้องปฏิบัติการพันธุศาสตร์โมเลกุล (อาคาร 60 ปี) สาขาวิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่

2) แปลงรวบรวมและอนุรักษ์พันธุ์ลิ้นจี่ สาขาไม้ผล คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

2. ระยะเวลาที่ใช้ในการดำเนินงาน

การดำเนินงานวิจัยนี้ใช้ระยะเวลาประมาณ 2 ปี โดยเริ่มจากเดือนมกราคม พ.ศ. 2560 ถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2561

บทที่ 4
ผลการวิจัยและวิจารณ์

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมด้วยเครื่องหมายโมเลกุล ISSR

1) การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างใบอ่อนของลิ้นจี่ในแปลงรวบรวมพันธุกรรมลิ้นจี่ทั้งหมด 22 พันธุ์ มาจากแปลงรวบรวมและอนุรักษ์พันธุ์ลิ้นจี่ สาขาไม้ผล คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ และพันธุ์โกมินทร์จากแปลงเกษตรกร อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ โดยใช้ลำไยเป็นตัวอย่างนอกกลุ่ม (Out group) เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

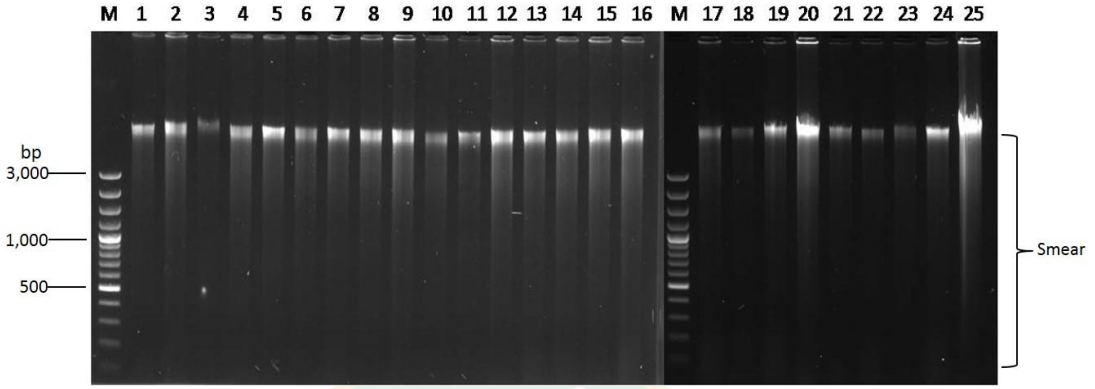
2) ผลการสกัดดีเอ็นเอ

จากการสกัดดีเอ็นเอจากใบอ่อนของลิ้นจี่ทั้งหมด 23 พันธุ์ และลำไยอีก 2 พันธุ์ พบว่าสามารถสกัดดีเอ็นเอได้ทุกตัวอย่าง

3) ผลการตรวจสอบคุณภาพและปริมาณของดีเอ็นเอ

3.1) โดยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซีส

ผลการสกัดดีเอ็นเอของลิ้นจี่ทั้งหมด 23 พันธุ์ และลำไย 2 พันธุ์ พบว่าดีเอ็นเอที่สกัดได้มีแถบใหญ่ค่อนข้างชัดอยู่เหนือแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน ดังภาพที่ 25 แสดงว่าดีเอ็นเอที่สกัดได้นั้นส่วนมากมีความสมบูรณ์ คุณภาพดี เพียงพอต่อการนำไปเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสและยังพบว่าดีเอ็นเอที่สกัดได้เกิดการขาด (smear) ในทุกตัวอย่าง สำหรับดีเอ็นเอที่เกิดการขาดอาจจะมีผลต่อการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรส ทำให้พบแถบดีเอ็นเอที่ไม่ชัดเจน ดังนั้นในการให้คะแนนแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏจึงควรเลือกเฉพาะแถบดีเอ็นเอที่ชัดเจนและสามารถทำซ้ำได้



ภาพที่ 25 ผลการสกัดดีเอ็นเอลิ้นจี่ 23 พันธุ์และลำไย 2 พันธุ์

หมายเหตุ ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน GeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กวางเจา ช่องที่ 2 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทอง ช่องที่ 3 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โอวเฮียะ ช่องที่ 4 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนใหญ่ ช่องที่ 5 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบอ้อ ช่องที่ 6 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กิมเจง ช่องที่ 7 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ ช่องที่ 8 คือลิ้นจี่พันธุ์ช่อระกำ ช่องที่ 9 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย ช่องที่ 10 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทอง ช่องที่ 11 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ไทย ช่องที่ 12 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กรอบแก้ว ช่องที่ 13 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาแก้ว ช่องที่ 14 คือ ลิ้นจี่พันธุ์นครพนม 1 ช่องที่ 15 คือ ลิ้นจี่พันธุ์บริวสเตอร์ ช่องที่ 16 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบไหม้ ช่องที่ 17 คือ ลิ้นจี่พันธุ์แห้วจีน ช่องที่ 18 คือ ลิ้นจี่พันธุ์เขียวหวาน ช่องที่ 19 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กระโถนท้องพระโรง ช่องที่ 20 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ค่อม ช่องที่ 21 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบยาว ช่องที่ 22 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนแดง ช่องที่ 23 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โกมินทร์ ช่องที่ 24 คือ ลำไยพันธุ์พันธุ์จัมโบ้ และช่องที่ 25 คือ ลำไยพันธุ์เพชรสาคร

3.2) โดยวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง NanoDrop2000

ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง NanoDrop2000 พบว่าดีเอ็นเอของลิ้นจี่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 82.10 ถึง 636.00 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร ซึ่งมีความเข้มข้นเพียงพอต่อการนำไปศึกษาในขั้นตอนต่อไป เมื่อพิจารณาอัตราส่วนการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260 ต่อ 280 นาโนเมตร ซึ่งมีค่ามาตรฐานสำหรับความบริสุทธิ์ของดีเอ็นเอที่ประมาณ 1.8 จากผลการสกัดดีเอ็นพบว่าค่าที่ได้อยู่ในช่วง 1.99 ถึง 2.11 โดยที่ส่วนมากมีค่าประมาณ 2.0 ซึ่งใกล้เคียงกับค่ามาตรฐานสำหรับความบริสุทธิ์ของอาร์เอ็นเอที่อยู่ในช่วง 1.8 ถึง 2.0 ดังนั้นมีความเป็นไปได้ว่ามีอาร์เอ็นเอที่กำจัดไม่หมดรวมอยู่ด้วย แต่ไม่ได้ส่งผลกระทบต่อการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสเพราะอาร์เอ็นเอถูกทำลายได้ง่าย และเมื่อพิจารณาอัตราส่วนการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นระหว่าง 260 ต่อ 230 นาโนเมตร ควรมีค่ามากกว่าอัตราส่วนการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นระหว่าง 260 ต่อ 280 นาโนเมตร และอยู่ในช่วง 1.8 ถึง 2.2 จากผลการสกัดดีเอ็นเอที่ได้มีค่าตั้งแต่ 0.35 ถึง 2.10 โดยที่ค่าส่วนมากน้อยกว่า 1.8 ซึ่งอาจเป็นเพราะดีเอ็นเอมีการปนเปื้อนของสารหรือองค์ประกอบต่าง ๆ เช่น คาร์โบไฮเดรต สารประกอบฟีนอล (phenolic compounds) เป็นต้น สารเหล่านี้อาจส่งผลให้เกิดการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสได้ ผลการวัดปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่อง NanoDrop2000 แสดงในตารางที่ 12

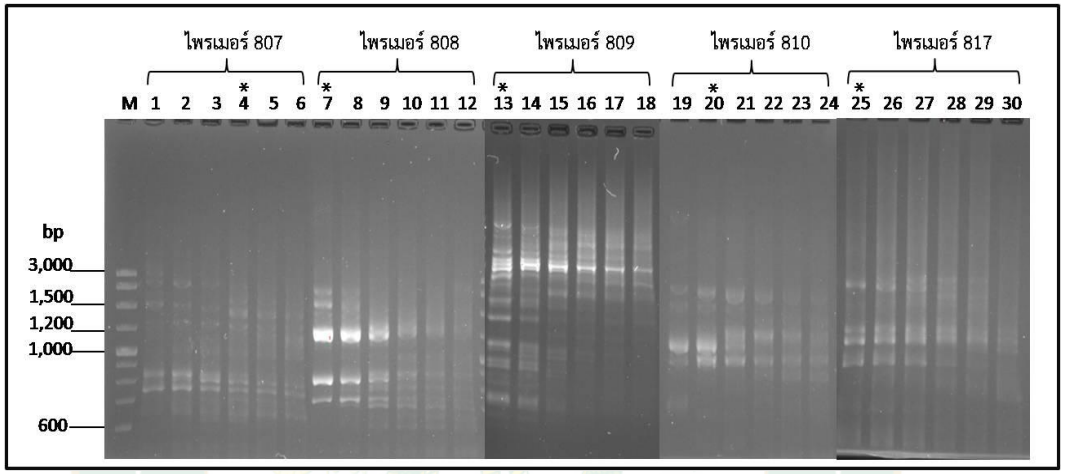
ตารางที่ 12 ผลการวัดปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่อง NanoDrop 2000

พันธุ์	Nucleic Acid Conc. (ng/µl)	A260	A280	260/280	260/230
กวางเจา	360.8	7.217	3.5	2.06	1.4
สาแหรกทอง	311.1	6.221	2.965	2.1	1.72
โอวเฮียะ	186.7	3.735	1.808	2.07	0.43
จีนใหญ่	419.2	8.384	3.994	2.1	1.78
กะโหลกใบอ้อ	362.4	7.249	3.584	2.02	1.52
กิมเจง	147.4	2.949	1.395	2.11	0.4
จักรพรรดิ	636	12.72	6.408	1.99	1.56
ช่อระกำ	424.2	8.484	4.148	2.05	1.64
ฮงฮวย	113.5	2.27	1.096	2.07	1.18
สำเภาทอง	167.6	3.351	1.647	2.03	1.36
ไทย	84.1	1.681	0.815	2.06	0.82
กรอบแก้ว	411.2	8.224	3.943	2.09	1.65
สำเภาแก้ว	232	4.64	2.297	2.02	2.1
นครพนม 1	249.1	4.982	2.378	2.09	1.47
บริวสเตอร์	446.2	8.924	4.325	2.06	1.66
กะโหลกใบไหม้	398.1	7.962	3.791	2.1	1.62
แห้วจีน	369.9	7.397	3.593	2.06	1.59
เขียวหวาน	181	3.619	1.774	2.04	0.35
กระโถนท้องพระโรง	82.1	1.641	0.78	2.11	0.88
ค่อม	517.3	10.37	5.16	2.01	1.91
กะโหลกใบยาว	149.8	2.997	1.435	2.09	0.45
จีนแดง	128.4	2.568	1.255	2.05	1.63
โกมินทร์	180.6	3.611	1.791	2.02	0.38
เพชรสาคร	1242.5	24.85	15.45	1.61	0.55
จัมโบ้	1343.7	26.88	18.12	1.48	0.48

4) การทดสอบอุณหภูมิ Annealing ของแต่ละไพรเมอร์

4.1) โดยวิธีการทำ Gradient

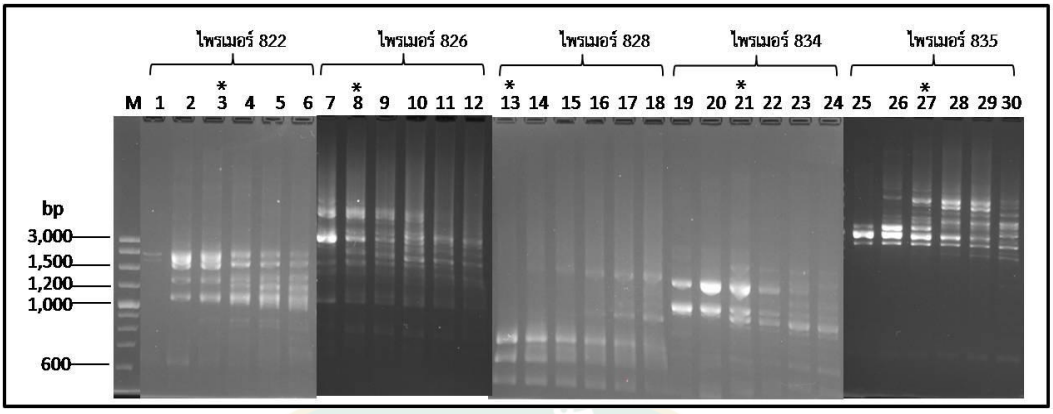
จากการทดสอบหาอุณหภูมิที่เหมาะสมโดยการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบ Gradient ช่วงอุณหภูมิที่ทดสอบมีดังนี้ 45, 47, 50, 53, 55 และ 58 องศาเซลเซียส โดยลิ้นจี่ที่ใช้ทดสอบคือพันธุ์กวางเจา ให้ผลการทดลองดังภาพที่ 26-31 โดยอุณหภูมิ annealing ที่เหมาะสมของแต่ละไพรเมอร์ แสดงในตารางที่ 13



ภาพที่ 26 ผลการทดสอบอุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์ 807, 808, 809, 810 และ 817 โดยวิธีการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบ Gradient

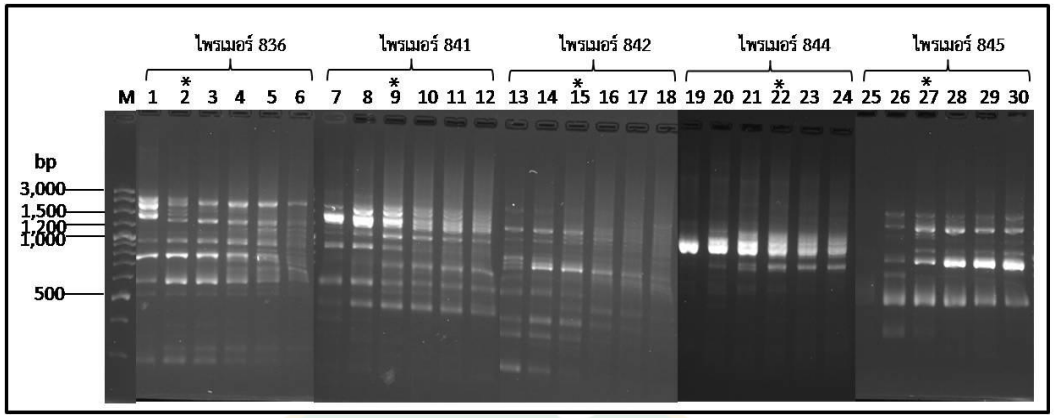
หมายเหตุ ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน GeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1-6 คือ ไพรเมอร์ 807 ที่อุณหภูมิ 58, 55, 53, 50, 47 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ช่องที่ 7-12 คือ ไพรเมอร์ 808 ที่อุณหภูมิ 58, 55, 53, 50, 47 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ช่องที่ 13-18 คือ ไพรเมอร์ 809 ที่อุณหภูมิ 58, 55, 53, 50, 47 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ช่องที่ 19-24 คือ ไพรเมอร์ 810 ที่อุณหภูมิ 58, 55, 53, 50, 47 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ช่องที่ 25-30 คือ ไพรเมอร์ 817 ที่อุณหภูมิ 58, 55, 53, 50, 47 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

* คือ อุณหภูมิ annealing ที่เลือก



ภาพที่ 27 ผลการทดสอบอุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์ 822, 826, 828, 834 และ 835 โดยวิธีการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบ Gradient

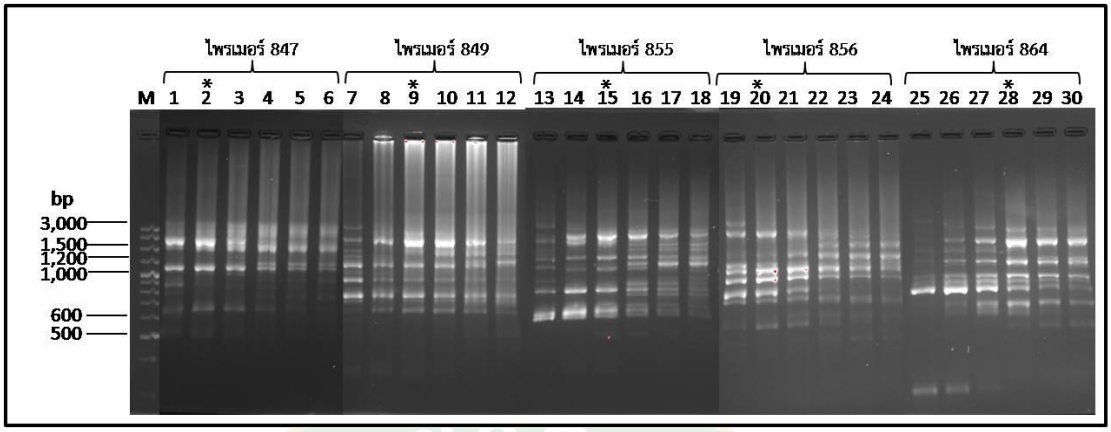
หมายเหตุ ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน GeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1-6 คือ ไพรเมอร์ 822 ที่อุณหภูมิ 58, 55, 53, 50, 47 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ช่องที่ 7-12 คือ ไพรเมอร์ 826 ที่อุณหภูมิ 58, 55, 53, 50, 47 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ช่องที่ 13-18 คือ ไพรเมอร์ 828 ที่อุณหภูมิ 58, 55, 53, 50, 47 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ช่องที่ 19-24 คือ ไพรเมอร์ 834 ที่อุณหภูมิ 58, 55, 53, 50, 47 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ช่องที่ 25-30 คือ ไพรเมอร์ 835 ที่อุณหภูมิ 58, 55, 53, 50, 47 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ
* คือ อุณหภูมิ annealing ที่เลือก



ภาพที่ 28 ผลการทดสอบอุณหภูมิ Annealing ของไพรเมอร์ 836, 841, 842, 844 และ 845 โดยวิธีการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบ Gradient

หมายเหตุ ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน GeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1-6 คือ ไพรเมอร์ 836 ที่อุณหภูมิ 58, 55, 53, 50, 47 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ช่องที่ 7-12 คือ ไพรเมอร์ 841 ที่อุณหภูมิ 58, 55, 53, 50, 47 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ช่องที่ 13-18 คือ ไพรเมอร์ 842 ที่อุณหภูมิ 58, 55, 53, 50, 47 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ช่องที่ 19-24 คือ ไพรเมอร์ 844 ที่อุณหภูมิ 58, 55, 53, 50, 47 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ช่องที่ 25-30 คือ ไพรเมอร์ 845 ที่อุณหภูมิ 58, 55, 53, 50, 47 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

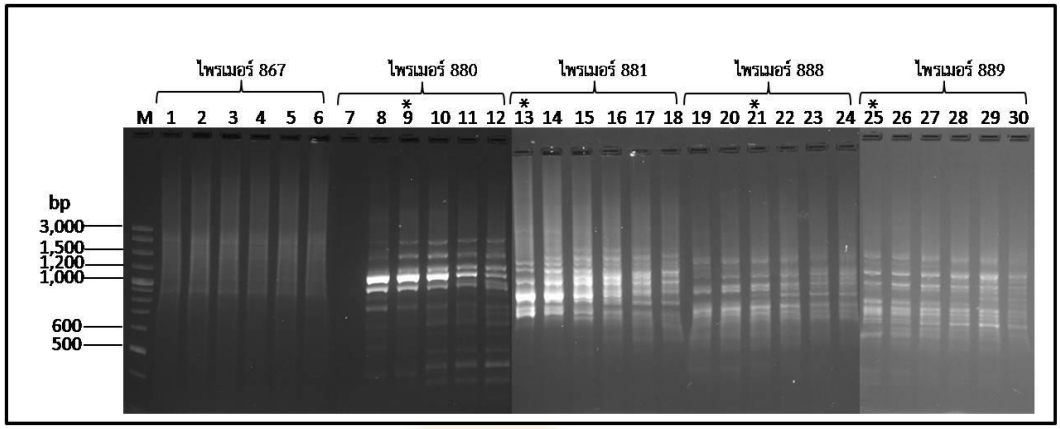
* คือ อุณหภูมิ annealing ที่เลือก



ภาพที่ 29 ผลการทดสอบอุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์ 847, 849, 855, 856 และ 864 โดยวิธีการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบ Gradient

หมายเหตุ ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน GeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1-6 คือ ไพรเมอร์ 847 ที่อุณหภูมิ 58, 55, 53, 50, 47 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ช่องที่ 7-12 คือ ไพรเมอร์ 849 ที่อุณหภูมิ 58, 55, 53, 50, 47 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ช่องที่ 13-18 คือ ไพรเมอร์ 855 ที่อุณหภูมิ 58, 55, 53, 50, 47 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ช่องที่ 19-24 คือ ไพรเมอร์ 856 ที่อุณหภูมิ 58, 55, 53, 50, 47 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ช่องที่ 25-30 คือ ไพรเมอร์ 864 ที่อุณหภูมิ 58, 55, 53, 50, 47 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

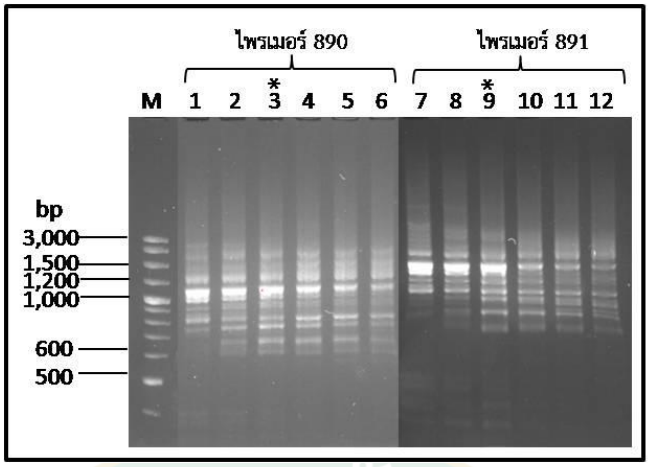
* คือ อุณหภูมิ annealing ที่เลือก



ภาพที่ 30 ผลการทดสอบอุณหภูมิ Annealing ของไพรเมอร์ 867, 880, 881, 888 และ 889 โดยวิธีการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบ Gradient

หมายเหตุ ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน GeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1-6 คือ ไพรเมอร์ 867 ที่อุณหภูมิ 58, 55, 53, 50, 47 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ช่องที่ 7-12 คือ ไพรเมอร์ 880 ที่อุณหภูมิ 58, 55, 53, 50, 47 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ช่องที่ 13-18 คือ ไพรเมอร์ 881 ที่อุณหภูมิ 58, 55, 53, 50, 47 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ช่องที่ 19-24 คือ ไพรเมอร์ 888 ที่อุณหภูมิ 58, 55, 53, 50, 47 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ช่องที่ 25-30 คือ ไพรเมอร์ 889 ที่อุณหภูมิ 58, 55, 53, 50, 47 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

* คือ อุณหภูมิ annealing ที่เลือก



ภาพที่ 31 ผลการทดสอบอุณหภูมิ Annealing ของไพรเมอร์ 890 และ 891 โดยวิธีการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบ Gradient

หมายเหตุ ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน GeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1-6 คือ ไพรเมอร์ 890 ที่อุณหภูมิ 58, 55, 53, 50, 47 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ช่องที่ 7-12 คือ ไพรเมอร์ 891 ที่อุณหภูมิ 58, 55, 53, 50, 47 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

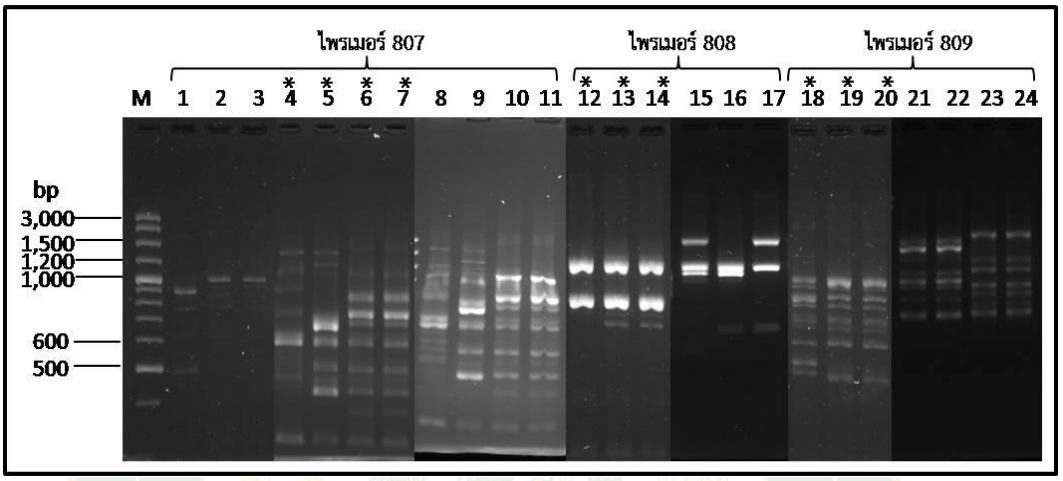
* คือ อุณหภูมิ annealing ที่เลือก

ตารางที่ 13 อุณหภูมิ Annealing ที่เหมาะสมของ ISSR จำนวน 27 ไพรเมอร์ ที่ได้จากการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบ Gradient

	ไพรเมอร์	ลำดับนิวคลีโอไทด์	อุณหภูมิที่เหมาะสม (℃)
1	807	$(AG)_8$ T	50
2	808	$(AG)_8$ C	58
3	809	$(AG)_8$ G	58
4	810	$(GA)_8$ T	55
5	817	CA()$_8$ A	58
6	822	$(TC)_8$ A	53
7	826	$(AC)_8$ C	55
8	828	$(TG)_8$ A	58
9	834	$(AG)_8$YT	53
10	835	$(AG)_8$YC	53
11	836	$(AG)_8$YA	55
12	841	$(GA)_8$YC	53
13	842	$(GA)_8$YG	53
14	844	$(CT)_8$RC	50
15	845	$(CT)_8$RG	53
16	847	$(CA)_8$RC	55
17	849	$(GT)_8$YA	53
18	855	$(AC)_8$YT	53
19	856	$(AC)_8$YA	55
20	864	$(ATG)_6$	50
21	867	$(GGC)_6$	*ไม่สามารถหาอุณหภูมิที่เหมาะสมได้
22	880	$(GGAGA)_3$	53
23	881	$(GGGTG)_3$	58
24	888	BDB$(CA)_7$	53
25	889	DBD$(AC)_7$	58
26	890	VHV$(GT)_7$	53
27	891	HVH$(TG)_7$	53

4.2) โดยการใช้อุณหภูมิเดี่ยว

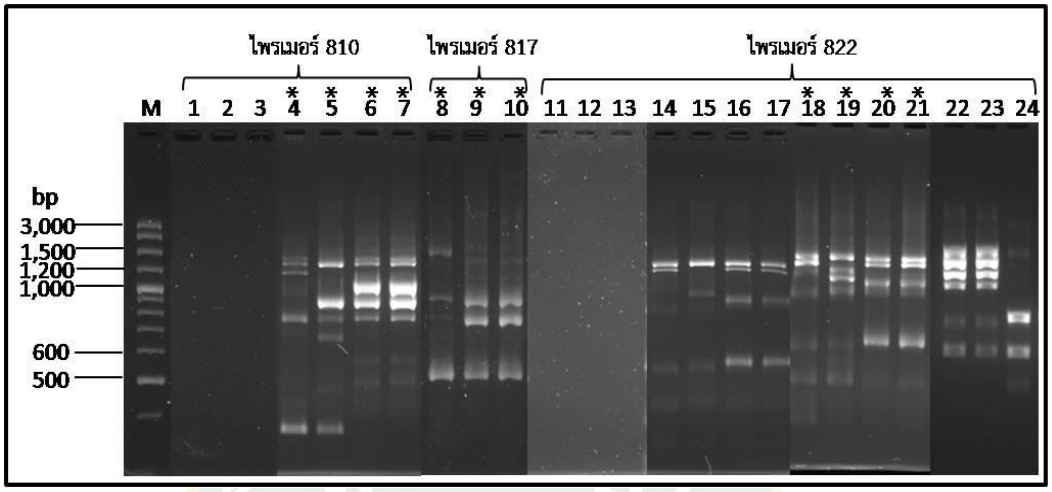
จากการทดสอบอุณหภูมิ Annealing แบบ Gradient ใช้ตัวอย่างเพียงตัวอย่างเดียวในการทดสอบ จึงได้เพิ่มจำนวนตัวอย่างให้มากขึ้น โดยทดสอบลิ้นจี่ 2-5 พันธุ์พร้อมกัน อุณหภูมิที่ทดสอบได้แก่ 50, 53, 55, 58, 60 และ 62 องศาเซลเซียส ได้ผลดังภาพที่ 32-41 ซึ่งผลการเลือกอุณหภูมิที่เหมาะสมของแต่ละไพรเมอร์ แสดงในตารางที่ 14



ภาพที่ 32 ผลการทดสอบอุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์ 807, 808 และ 809 โดยวิธีการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบใช้อุณหภูมิเดี่ยว

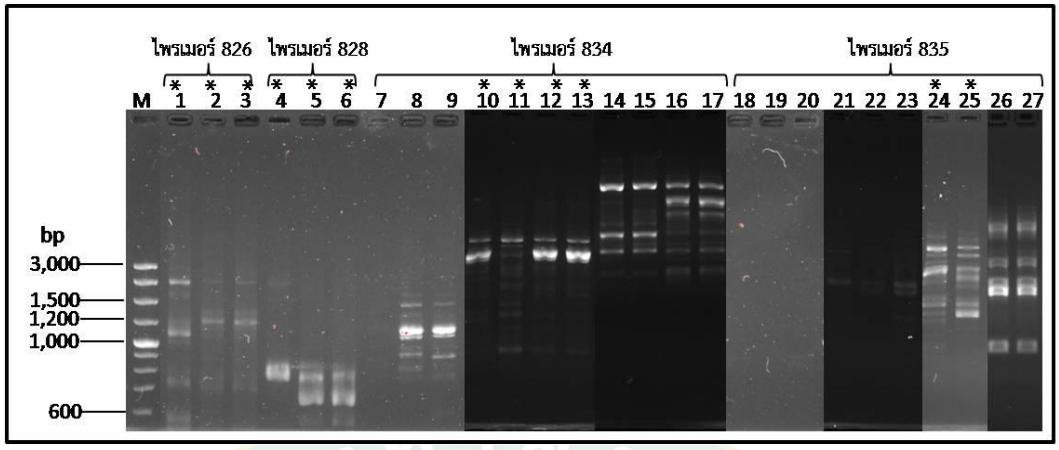
หมายเหตุ ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน GeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1-3 คือ ไพรเมอร์ 807 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ช่องที่ 4-7 คือ ไพรเมอร์ 807 ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ช่องที่ 8-11 คือ ไพรเมอร์ 807 ที่อุณหภูมิ 53 องศาเซลเซียส ช่องที่ 12-14 คือ ไพรเมอร์ 808 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ช่องที่ 15-17 คือ ไพรเมอร์ 808 ที่อุณหภูมิ 58 องศาเซลเซียส ช่องที่ 18-20 คือ ไพรเมอร์ 809 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ช่องที่ 21-24 คือ ไพรเมอร์ 809 ที่อุณหภูมิ 58 องศาเซลเซียส

* คือ อุณหภูมิ annealing ที่เลือก



ภาพที่ 33 ผลการทดสอบอุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์ 810, 817 และ 822 โดยวิธีการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบใช้อุณหภูมิเดี่ยว

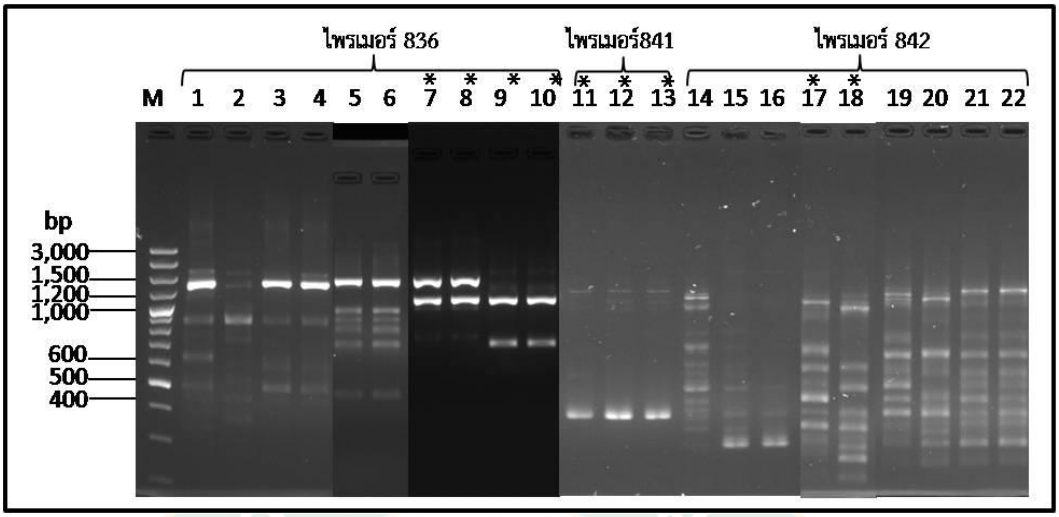
หมายเหตุ ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน GeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1-3 คือ ไพรเมอร์ 810 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ช่องที่ 4-7 คือ ไพรเมอร์ 810 ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ช่องที่ 8-10 คือ ไพรเมอร์ 817 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ช่องที่ 11-13 คือ ไพรเมอร์ 822 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ช่องที่ 14-17 คือ ไพรเมอร์ 822 ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ช่องที่ 18-21 คือ ไพรเมอร์ 822 ที่อุณหภูมิ 53 องศาเซลเซียส ช่องที่ 22-24 คือ ไพรเมอร์ 822 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส
* คือ อุณหภูมิ annealing ที่เลือก



ภาพที่ 34 ผลการทดสอบอุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์ 826, 828, 834 และ 835 โดยวิธีการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบใช้อุณหภูมิเดี่ยว

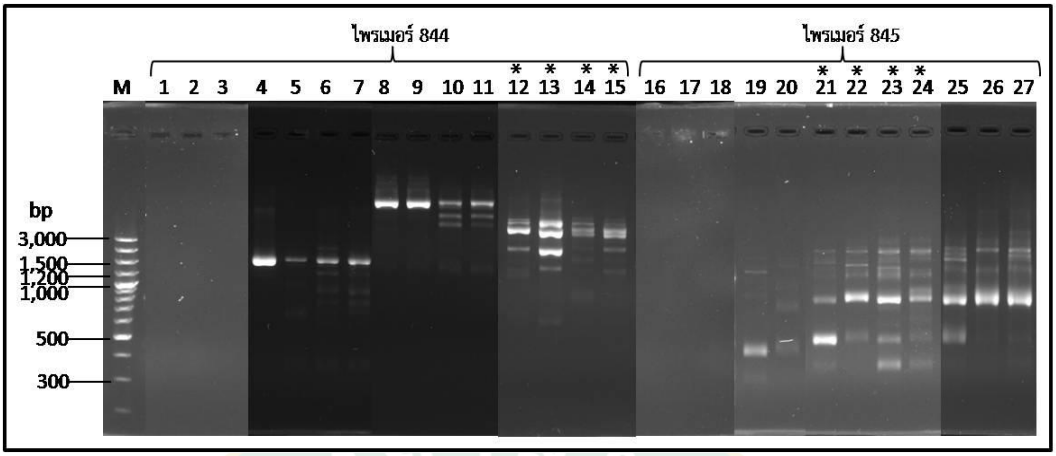
หมายเหตุ ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน GeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1-3 คือ ไพรเมอร์ 826 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 4-6 คือ ไพรเมอร์ 828 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ช่องที่ 7-9 คือ ไพรเมอร์ 834 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ช่องที่ 10-13 คือ ไพรเมอร์ 834 ที่อุณหภูมิ 58 องศาเซลเซียส ช่องที่ 14-17 คือ ไพรเมอร์ 834 ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ช่องที่ 18-20 คือ ไพรเมอร์ 835 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ช่องที่ 21-23 คือ ไพรเมอร์ 835 ที่อุณหภูมิ 58 องศาเซลเซียส ช่องที่ 24-25 คือ ไพรเมอร์ 835 ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ช่องที่ 26-27 คือ ไพรเมอร์ 835 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

* คือ อุณหภูมิ annealing ที่เลือก



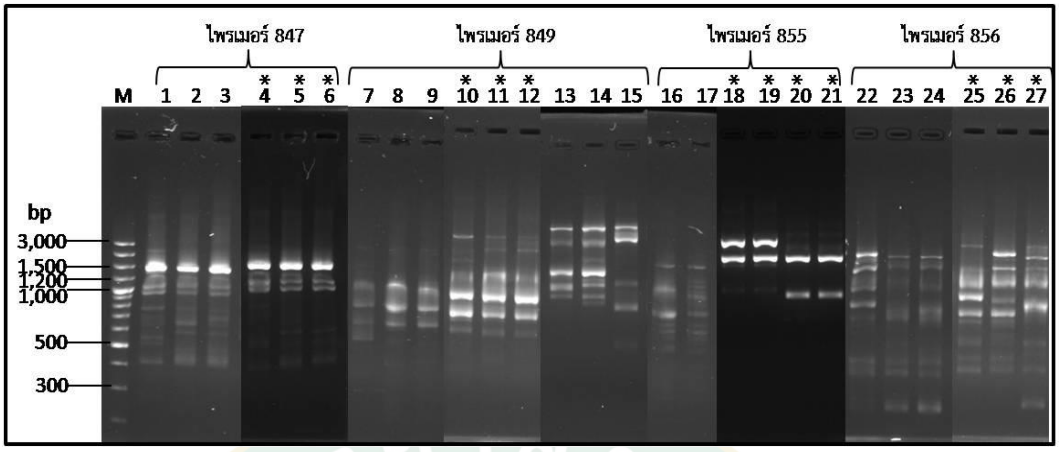
ภาพที่ 35 ผลการทดสอบอุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์ 836, 841 และ 842 โดยวิธีการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบใช้อุณหภูมิเดี่ยว

หมายเหตุ ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน GeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1-4 คือ ไพรเมอร์ 836 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ช่องที่ 5-6 คือ ไพรเมอร์ 836 ที่อุณหภูมิ 58 องศาเซลเซียส ช่องที่ 7-10 คือ ไพรเมอร์ 836 ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ช่องที่ 11-13 คือ ไพรเมอร์ 841 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ช่องที่ 14-16 คือ ไพรเมอร์ 842 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ช่องที่ 17-18 คือ ไพรเมอร์ 842 ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ช่องที่ 19-22 คือ ไพรเมอร์ 842 ที่อุณหภูมิ 53 องศาเซลเซียส
* คือ อุณหภูมิ annealing ที่เลือก



ภาพที่ 36 ผลการทดสอบอุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์ 844 และ 845 โดยวิธีการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบใช้อุณหภูมิเดียว

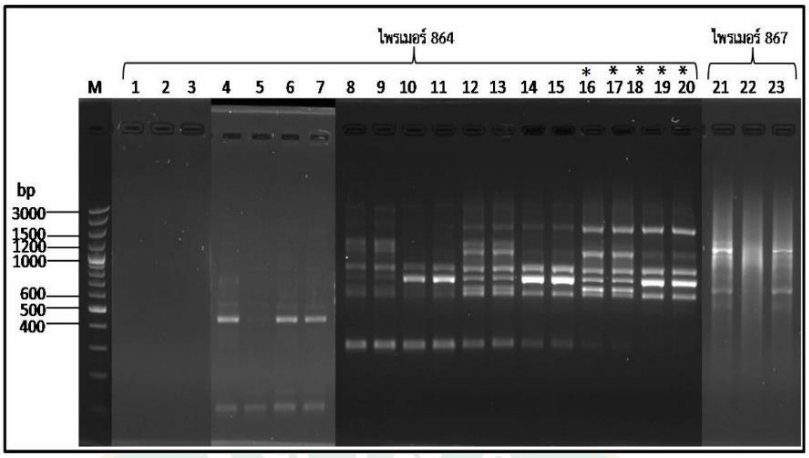
หมายเหตุ ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน GeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1-3 คือ ไพรเมอร์ 844 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ช่องที่ 4-7 คือ ไพรเมอร์ 844 ที่อุณหภูมิ 58 องศาเซลเซียส ช่องที่ 8-11 คือ ไพรเมอร์ 844 ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ช่องที่ 12-15 คือ ไพรเมอร์ 844 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ช่องที่ 16-18 คือ ไพรเมอร์ 845 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ช่องที่ 19-20 คือ ไพรเมอร์ 845 ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ช่องที่ 21-24 คือ ไพรเมอร์ 845 ที่อุณหภูมิ 53 องศาเซลเซียส ช่องที่ 25-27 คือ ไพรเมอร์ 845 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส
* คือ อุณหภูมิ annealing ที่เลือก



ภาพที่ 37 ผลการทดสอบอุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์ 847, 849, 855 และ 856 โดยวิธีการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบใช้อุณหภูมิเดี่ยว

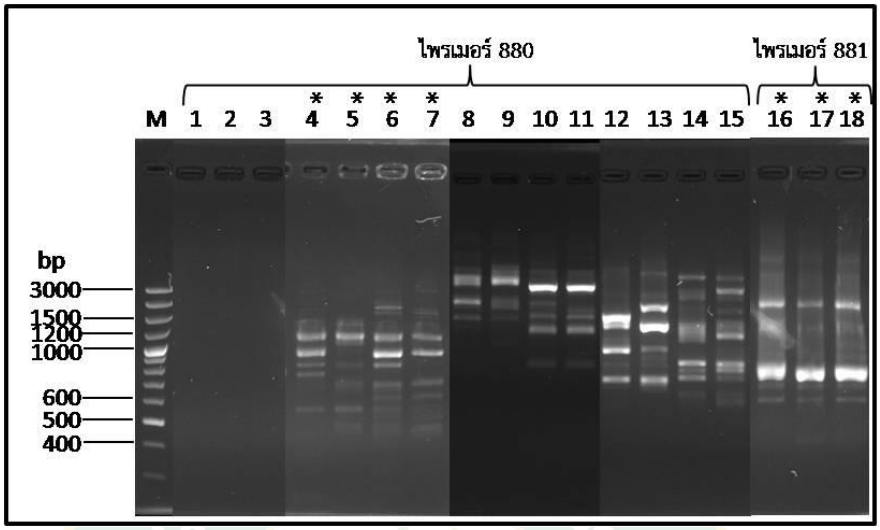
หมายเหตุ ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน GeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1-3 คือ ไพรเมอร์ 847 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ช่องที่ 4-6 คือ ไพรเมอร์ 847 ที่อุณหภูมิ 58 องศาเซลเซียส ช่องที่ 7-9 คือ ไพรเมอร์ 849 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ช่องที่ 10-12 คือ ไพรเมอร์ 849 ที่อุณหภูมิ 58 องศาเซลเซียส ช่องที่ 13-15 คือ ไพรเมอร์ 849 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ช่องที่16-17 คือ ไพรเมอร์ 855 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ช่องที่ 18-21 คือ ไพรเมอร์ 855 ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ช่องที่ 22-24 คือ ไพรเมอร์ 856 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ช่องที่ 25-27 คือ ไพรเมอร์ 856 ที่อุณหภูมิ 58 องศาเซลเซียส

* คือ อุณหภูมิ annealing ที่เลือก



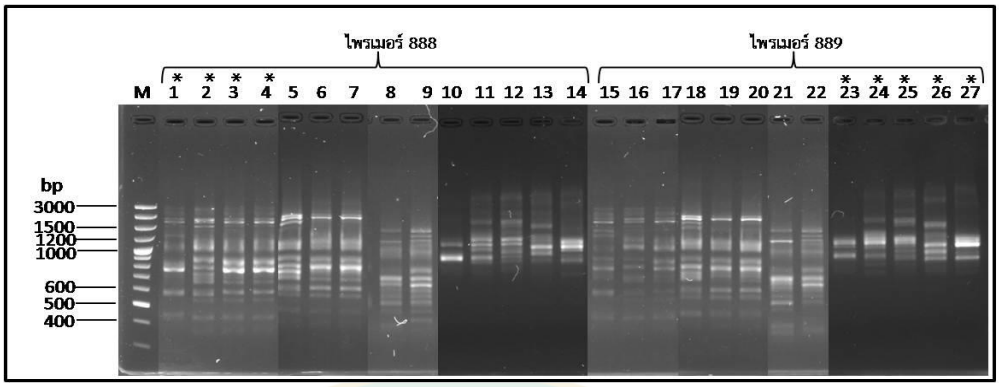
ภาพที่ 38 ผลการทดสอบอุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์ 864 และ 867 โดยวิธีการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบใช้อุณหภูมิเดียว

หมายเหตุ ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน GeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder
ช่อง 1-3 คือ ไพรเมอร์ 864 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ช่องที่ 4-7 คือ ไพรเมอร์ 864 ที่อุณหภูมิ 58 องศาเซลเซียส ช่องที่ 8-11 คือ ไพรเมอร์ 864 ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ช่องที่ 12-15 คือ ไพรเมอร์ 864 ที่อุณหภูมิ 53 องศาเซลเซียส ช่องที่ 16-20 คือ ไพรเมอร์ 864 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ช่องที่ 21-23 คือ ไพรเมอร์ 867 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส
* คือ อุณหภูมิ annealing ที่เลือก



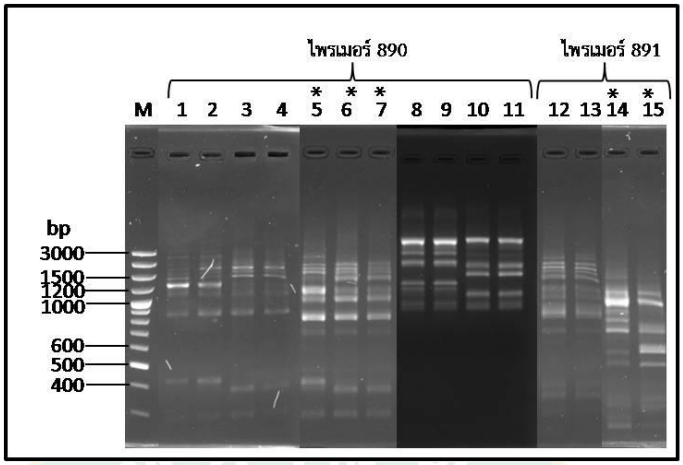
ภาพที่ 39 ผลการทดสอบอุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์ 880 และ 881 โดยวิธีการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบใช้อุณหภูมิเดียว

หมายเหตุ ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน GeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder
ช่องที่ 1-3 คือ ไพรเมอร์ 880 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ช่องที่ 4-7 คือ ไพรเมอร์ 880 ที่อุณหภูมิ 58 องศาเซลเซียส ช่องที่ 8-11 คือ ไพรเมอร์ 880 ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ช่องที่ 12-15 คือ ไพรเมอร์ 880 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ช่องที่ 16-18 คือ ไพรเมอร์ 881 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส
* คือ อุณหภูมิ annealing ที่เลือก



ภาพที่ 40 ผลการทดสอบอุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์ 888 และ 889 โดยวิธีการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบใช้อุณหภูมิเดี่ยว

หมายเหตุ ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน GeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1-4 คือ ไพรเมอร์ 888 ที่อุณหภูมิ 62 องศาเซลเซียส ช่องที่ 5-7 คือ ไพรเมอร์ 888 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ช่องที่ 8-9 คือ ไพรเมอร์ 888 ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ช่องที่ 10-14 คือ ไพรเมอร์ 888 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ช่องที่ 15-17 คือ ไพรเมอร์ 889 ที่อุณหภูมิ 62 องศาเซลเซียส ช่องที่ 18-20 คือ ไพรเมอร์ 889 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ช่องที่ 21-22 คือ ไพรเมอร์ 889 ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ช่องที่ 23-27 คือ ไพรเมอร์ 889 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส
* คือ อุณหภูมิ annealing ที่เลือก



ภาพที่ 41 ผลการทดสอบอุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์ 890 และ 891 โดยวิธีการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบใช้อุณหภูมิเดียว

หมายเหตุ ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน GeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder
ช่องที่ 1-4 คือ ไพรเมอร์ 890 ที่อุณหภูมิ 62 องศาเซลเซียส ช่องที่ 5-7 คือ ไพรเมอร์ 890 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ช่องที่ 8-11 คือ ไพรเมอร์ 890 ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ช่องที่ 12-13 คือ ไพรเมอร์ 891 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ช่องที่ 14-15 คือ ไพรเมอร์ 891 ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส
* คือ อุณหภูมิ annealing ที่เลือก

ตารางที่ 14 อุณหภูมิ Annealing ที่เหมาะสมของ ISSR จำนวน 27 ไพรเมอร์ ที่ได้จากการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบใช้อุณหภูมิเดี่ยว

	ไพรเมอร์	ลำดับนิวคลีโอไทด์	อุณหภูมิที่เหมาะสม (℃)
1	807	$(AG)_8$ T	55
2	808	$(AG)_8$ C	60
3	809	$(AG)_8$ G	60
4	810	$(GA)_8$ T	55
5	817	CA()$_8$ A	60
6	822	$(TC)_8$ A	55
7	826	$(AC)_8$ C	60
8	828	$(TG)_8$ A	60
9	834	$(AG)_8$YT	58
10	835	$(AG)_8$YC	55
11	836	$(AG)_8$YA	60
12	841	$(GA)_8$YC	60
13	842	$(GA)_8$YG	55
14	844	$(CT)_8$RC	58
15	845	$(CT)_8$RG	53
16	847	$(CA)_8$RC	58
17	849	$(GT)_8$YA	58
18	855	$(AC)_8$YT	55
19	856	$(AC)_8$YA	58
20	864	$(ATG)_6$	58
21	867	$(GGC)_6$	*ไม่สามารถหาอุณหภูมิที่เหมาะสมได้
22	880	$(GGAGA)_3$	58
23	881	$(GGGTG)_3$	60
24	888	BDB$(CA)_7$	62
25	889	DBD$(AC)_7$	50
26	890	VHV$(GT)_7$	62
27	891	HVH$(TG)_7$	55

จากการทดลองหาอุณหภูมิ Annealing ที่เหมาะสมโดยวิธี Gradient กับวิธีการใช้อุณหภูมิเดี่ยว พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมของแต่ละไพรเมอร์ แสดงในตารางที่ 15

ตารางที่ 15 สรุปอุณหภูมิที่เหมาะสมของไพรเมอร์ต่าง ๆ ในขั้นตอน Annealing ของการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรส

	ไพรเมอร์	ลำดับนิวคลีโอไทด์	อุณหภูมิที่เหมาะสม (℃)
1	807	$(AG)_8$ T	55
2	808	$(AG)_8$ C	58
3	809	$(AG)_8$ G	58
4	810	$(GA)_8$ T	55
5	817	CA()$_8$ A	58
6	822	$(TC)_8$ A	50
7	826	$(AC)_8$ C	60
8	828	$(TG)_8$ A	58
9	834	$(AG)_8$YT	55
10	835	$(AG)_8$YC	50
11	836	$(AG)_8$YA	55
12	841	$(GA)_8$YC	58
13	842	$(GA)_8$YG	55
14	844	$(CT)_8$RC	50
15	845	$(CT)_8$RG	45
16	847	$(CA)_8$RC	58
17	849	$(GT)_8$YA	50
18	855	$(AC)_8$YT	55
19	856	$(AC)_8$YA	50
20	864	$(ATG)_6$	58
21	867	$(GGC)_6$	*ไม่สามารถหาอุณหภูมิที่เหมาะสมได้
22	880	$(GGAGA)_3$	50
23	881	$(GGGTG)_3$	60
24	888	BDB$(CA)_7$	50
25	889	DBD$(AC)_7$	50
26	890	VHV$(GT)_7$	55
27	891	HVH$(TG)_7$	55

* หมายเหตุ - ไม่สามารถหาอุณหภูมิที่เหมาะสมของไพรเมอร์ 867 ได้จึงตัดไพรเมอร์นี้ออกจากการทดลอง

- อุณหภูมิ Annealing ที่เหมาะสมของไพรเมอร์ 845 ต่ำกว่าอุณหภูมิในขั้นตอนการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสแบบ Gradient กับใช้อุณหภูมิเดี่ยวเนื่องจากเมื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอกับทุกพันธุ์แล้วพบว่าบางตัวอย่างให้แถบดีเอ็นเอที่ไม่ชัดเจนหรือไม่พบแถบดีเอ็นเอ จึงได้ปรับอุณหภูมิลง

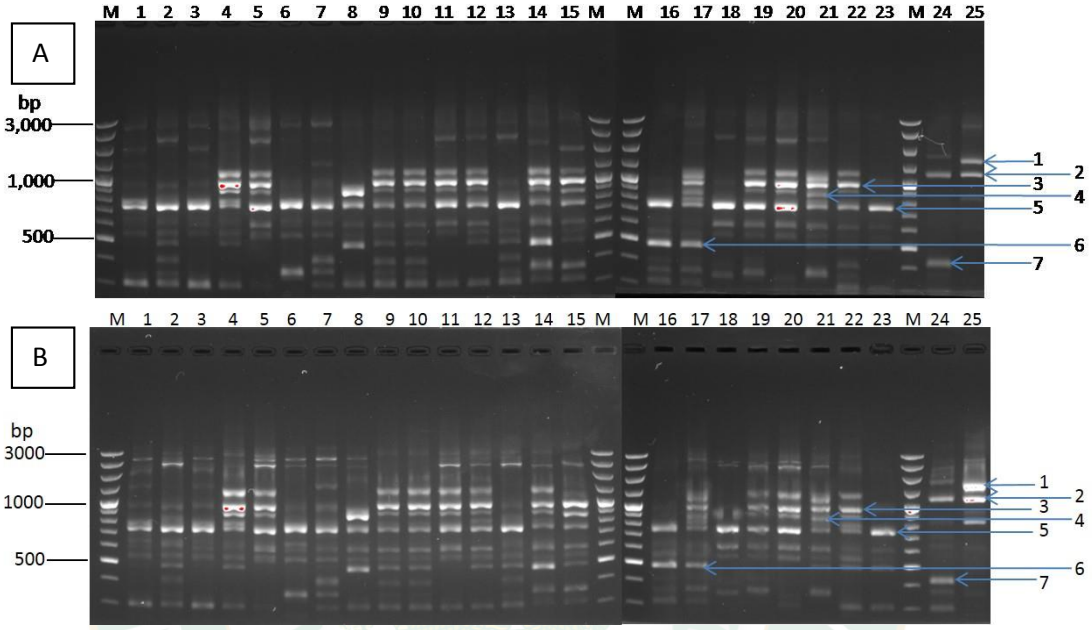
มหาวิทยาลัยแม่โจ้ MAEJO UNIVERSITY

5) การสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR

ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมายโมเลกุล ISSR จำนวน 26 ไพรเมอร์ พบว่าไพรเมอร์ 888 และ 889 ให้แถบดีเอ็นเอที่ไม่ชัดเจนดังนั้นจึงสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ 24 ไพรเมอร์ ดังนี้

1. ไพรเมอร์ 807

ไพรเมอร์ 807 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ชัดเจนทั้งหมด 7 แถบ ดังภาพที่ 42

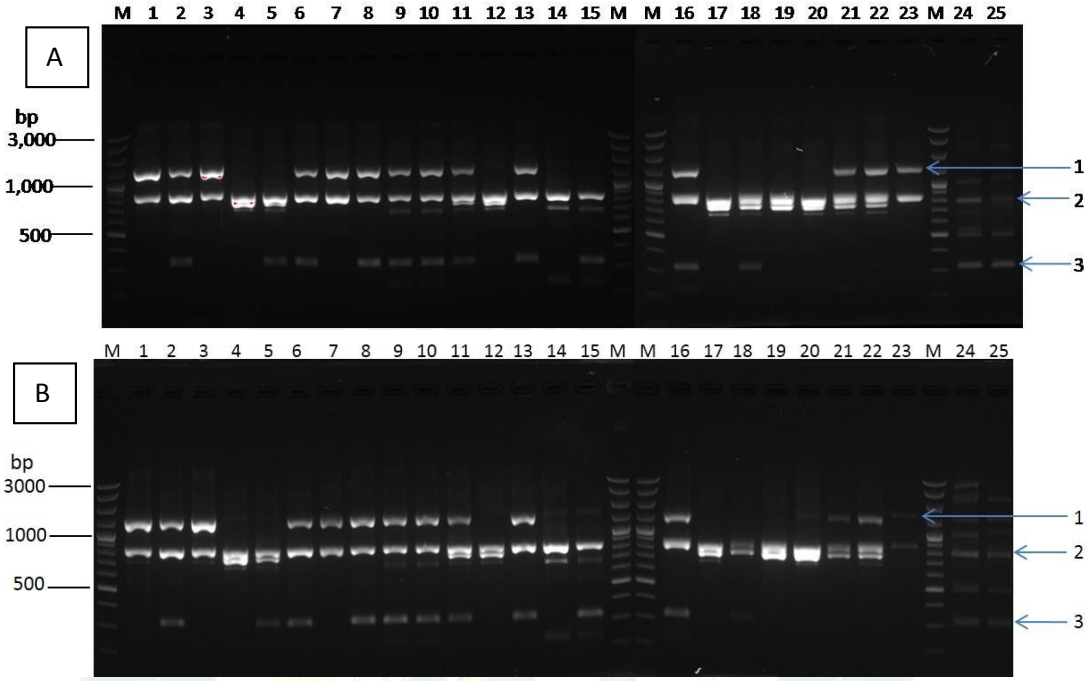


ภาพที่ 42 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 807

หมายเหตุ ภาพ A คือซ้ำที่ 1 ภาพ B คือซ้ำที่ 2 ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐานGeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กวางเจา ช่องที่ 2 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทอง ช่องที่ 3 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โอวเฮียะ ช่องที่ 4 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนใหญ่ ช่องที่ 5 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบอ้อ ช่องที่ 6 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กิมเจง ช่องที่ 7 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ ช่องที่ 8 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ช่อระกำ ช่องที่ 9 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย ช่องที่ 10 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทอง ช่องที่ 11 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ไทย ช่องที่ 12 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กรอบแก้ว ช่องที่ 13 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาแก้ว ช่องที่ 14 คือ ลิ้นจี่พันธุ์นครพนม 1 ช่องที่ 15 คือ ลิ้นจี่พันธุ์บริวสเตอร์ ช่องที่ 16 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบไหม้ ช่องที่ 17 คือ ลิ้นจี่พันธุ์แห้วจีน ช่องที่ 18 คือ ลิ้นจี่พันธุ์เขียวหวาน ช่องที่ 19 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กระโถนท้องพระโรง ช่องที่ 20 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ค่อม ช่องที่ 21 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบยาว ช่องที่ 22 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนแดง ช่องที่ 23 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โกมินทร์ ช่องที่ 24 คือ ลำไยพันธุ์จัมโบ้ และช่องที่ 25 คือ ลำไยพันธุ์เพชรสาคร

2. ไพรเมอร์ 808

ไพรเมอร์ 808 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ชัดเจนทั้งหมด 3 แถบ ดังภาพที่ 43

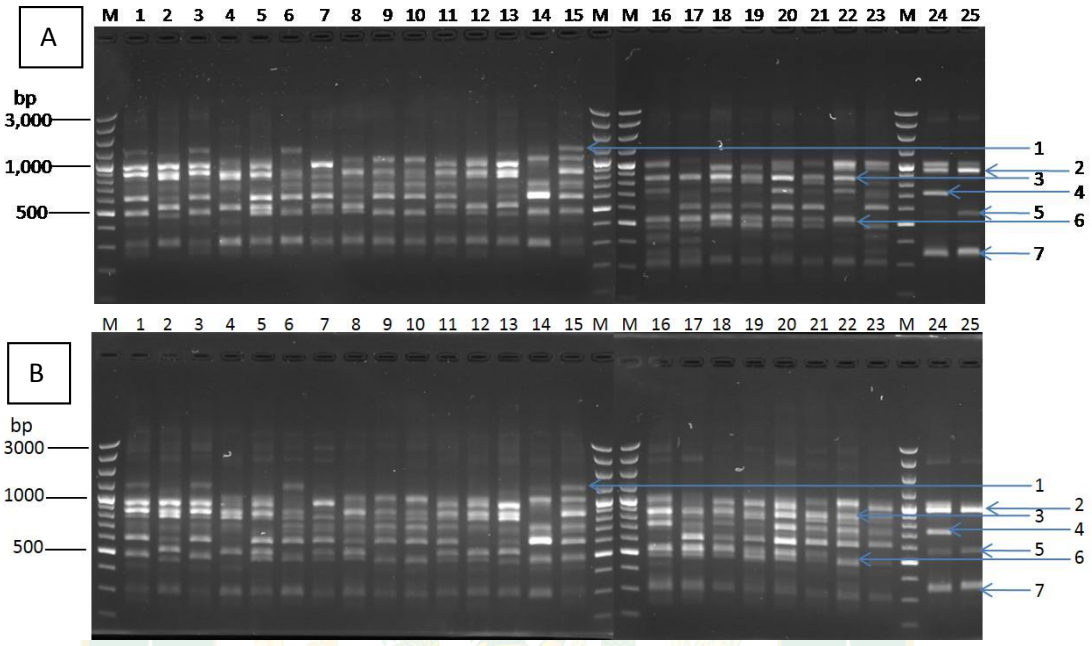


ภาพที่ 43 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 808

หมายเหตุ ภาพ A คือซ้ำที่ 1 ภาพ B คือซ้ำที่ 2 ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐานGeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กวางเจา ช่องที่ 2 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทอง ช่องที่ 3 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โอวเฮียะ ช่องที่ 4 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนใหญ่ ช่องที่ 5 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบอ้อ ช่องที่ 6 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กิมเจง ช่องที่ 7 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ ช่องที่ 8 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ช่อระกำ ช่องที่ 9 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย ช่องที่ 10 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทอง ช่องที่ 11 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ไทย ช่องที่ 12 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กรอบแก้ว ช่องที่ 13 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาแก้ว ช่องที่ 14 คือ ลิ้นจี่พันธุ์นครพนม 1 ช่องที่ 15 คือ ลิ้นจี่พันธุ์บริวสเตอร์ ช่องที่ 16 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบไหม้ ช่องที่ 17 คือ ลิ้นจี่พันธุ์แห้วจีน ช่องที่ 18 คือ ลิ้นจี่พันธุ์เขียวหวาน ช่องที่ 19 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กระโถนท้องพระโรง ช่องที่ 20 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ค่อม ช่องที่ 21 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบยาว ช่องที่ 22 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนแดง ช่องที่ 23 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โกมินทร์ ช่องที่ 24 คือ ลำไยพันธุ์จัมโบ้ และช่องที่ 25 คือ ลำไยพันธุ์เพชรสาคร

3. ไพรเมอร์ 809

ไพรเมอร์ 809 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ชัดเจนทั้งหมด 7 แถบ ดังภาพที่ 44

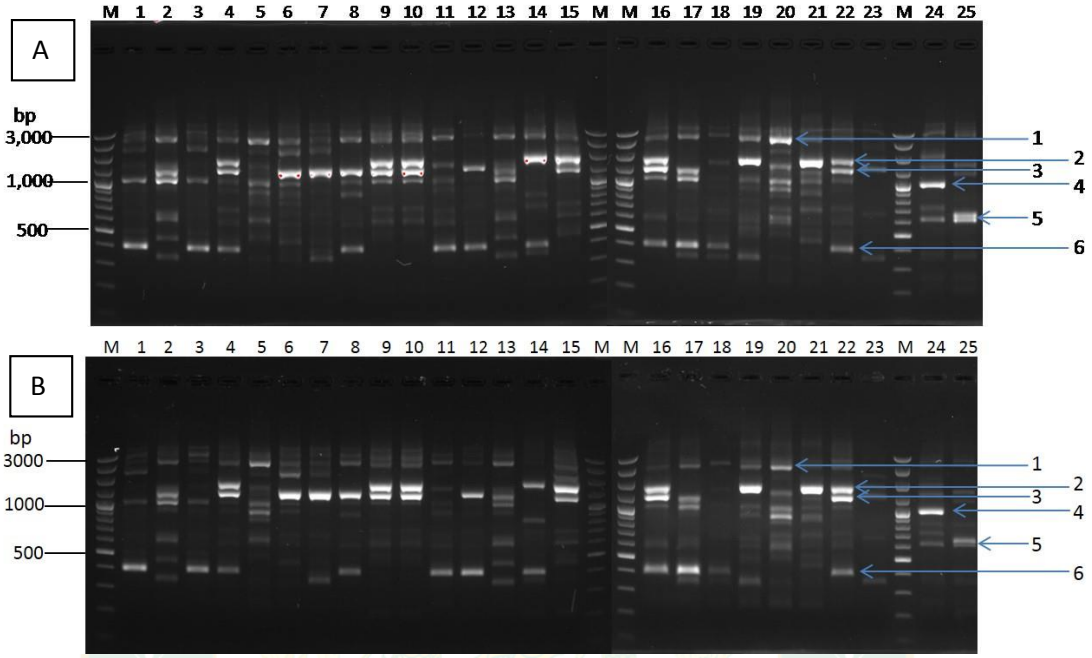


ภาพที่ 44 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 809

หมายเหตุ ภาพ A คือซ้ำที่ 1 ภาพ B คือซ้ำที่ 2 ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐานGeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กวางเจา ช่องที่ 2 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทอง ช่องที่ 3 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โอวเฮียะ ช่องที่ 4 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนใหญ่ ช่องที่ 5 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบอ้อ ช่องที่ 6 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กิมเจง ช่องที่ 7 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ ช่องที่ 8 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ช่อระกำ ช่องที่ 9 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย ช่องที่ 10 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทอง ช่องที่ 11 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ไทย ช่องที่ 12 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กรอบแก้ว ช่องที่ 13 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาแก้ว ช่องที่ 14 คือ ลิ้นจี่พันธุ์นครพนม 1 ช่องที่ 15 คือ ลิ้นจี่พันธุ์บริวสเตอร์ ช่องที่ 16 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบไหม้ ช่องที่ 17 คือ ลิ้นจี่พันธุ์แห้วจีน ช่องที่ 18 คือ ลิ้นจี่พันธุ์เขียวหวาน ช่องที่ 19 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กระโถนท้องพระโรง ช่องที่ 20 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ค่อม ช่องที่ 21 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบยาว ช่องที่ 22 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนแดง ช่องที่ 23 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โกมินทร์ ช่องที่ 24 คือ ลำไยพันธุ์จัมโบ้ และช่องที่ 25 คือ ลำไยพันธุ์เพชรสาคร

4. ไพรเมอร์ 810

ไพรเมอร์ 810 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ชัดเจนทั้งหมด 6 แถบ ดังภาพที่ 45

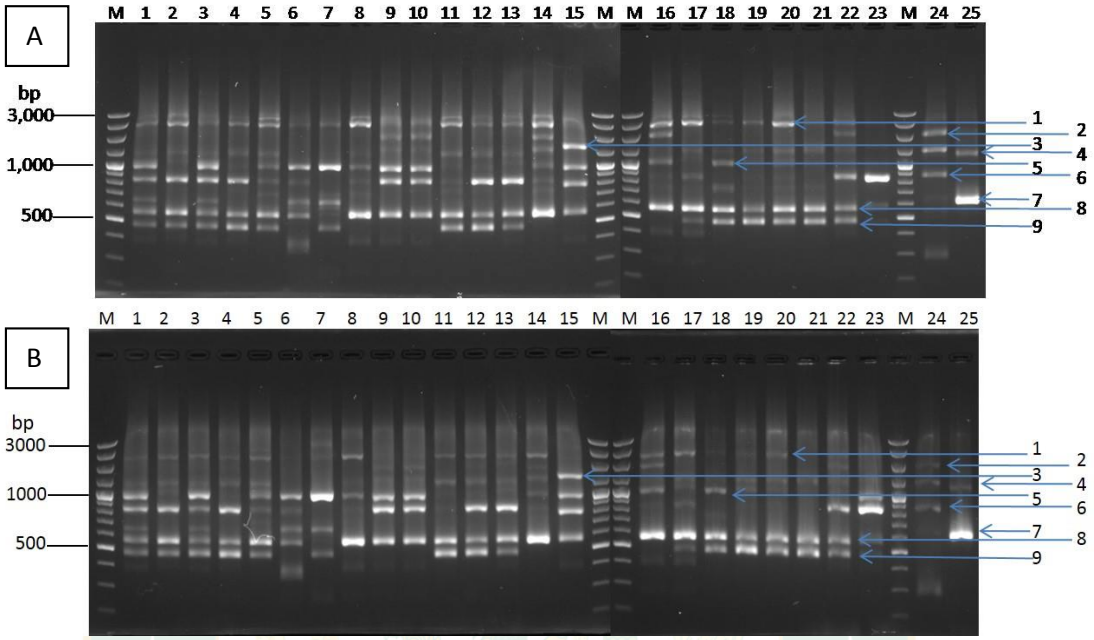


ภาพที่ 45 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 810

หมายเหตุ ภาพ A คือซ้ำที่ 1 ภาพ B คือซ้ำที่ 2 ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐานGeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กวางเจา ช่องที่ 2 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทอง ช่องที่ 3 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โอวเฮียะ ช่องที่ 4 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนใหญ่ ช่องที่ 5 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบอ้อ ช่องที่ 6 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กิมเจง ช่องที่ 7 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ ช่องที่ 8 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ช่อระกำ ช่องที่ 9 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย ช่องที่ 10 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทอง ช่องที่ 11 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ไทย ช่องที่ 12 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กรอบแก้ว ช่องที่ 13 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาแก้ว ช่องที่ 14 คือ ลิ้นจี่พันธุ์นครพนม 1 ช่องที่ 15 คือ ลิ้นจี่พันธุ์บริวสเตอร์ ช่องที่ 16 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบไหม้ ช่องที่ 17 คือ ลิ้นจี่พันธุ์แห้วจีน ช่องที่ 18 คือ ลิ้นจี่พันธุ์เขียวหวาน ช่องที่ 19 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กระโถนท้องพระโรง ช่องที่ 20 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ค่อม ช่องที่ 21 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบยาว ช่องที่ 22 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนแดง ช่องที่ 23 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โกมินทร์ ช่องที่ 24 คือ ลำไยพันธุ์จัมโบ้ และช่องที่ 25 คือ ลำไยพันธุ์เพชรสาคร

5. ไพรเมอร์ 817

ไพรเมอร์ 817 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ชัดเจนทั้งหมด 9 แถบ ดังภาพที่ 46

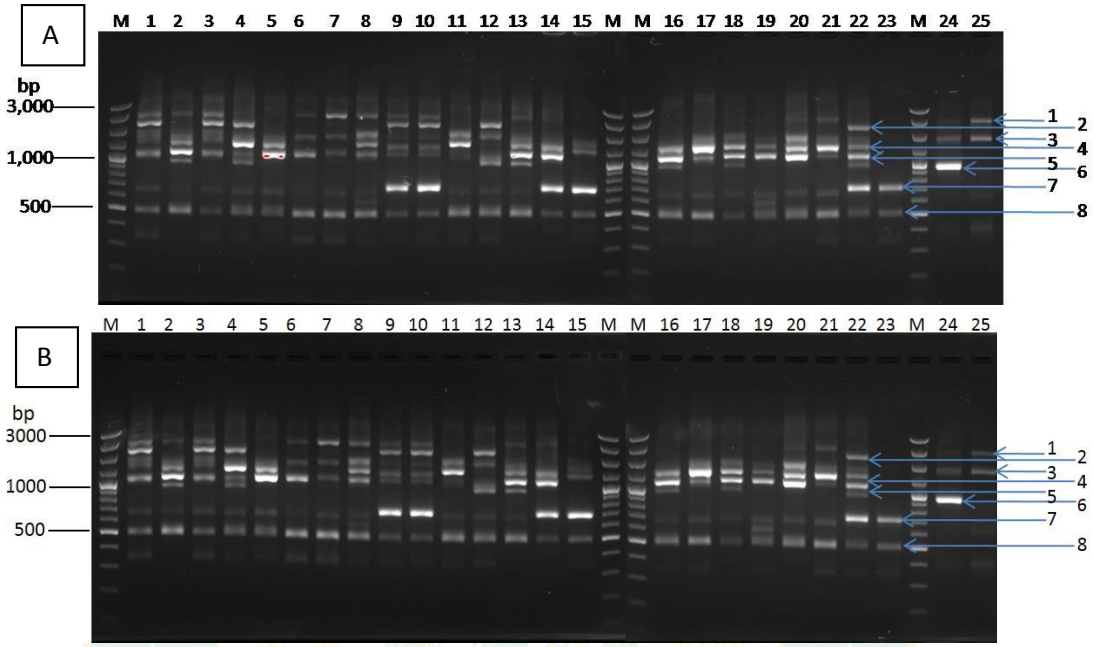


ภาพที่ 46 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 817

หมายเหตุ ภาพ A คือซ้ำที่ 1 ภาพ B คือซ้ำที่ 2 ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐานGeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กวางเจา ช่องที่ 2 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทอง ช่องที่ 3 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โอวเฮียะ ช่องที่ 4 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนใหญ่ ช่องที่ 5 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบอ้อ ช่องที่ 6 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กิมเจง ช่องที่ 7 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ ช่องที่ 8 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ช่อระกำ ช่องที่ 9 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย ช่องที่ 10 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทอง ช่องที่ 11 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ไทย ช่องที่ 12 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กรอบแก้ว ช่องที่ 13 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาแก้ว ช่องที่ 14 คือ ลิ้นจี่พันธุ์นครพนม 1 ช่องที่ 15 คือ ลิ้นจี่พันธุ์บริวสเตอร์ ช่องที่ 16 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบไหม้ ช่องที่ 17 คือ ลิ้นจี่พันธุ์แห้วจีน ช่องที่ 18 คือ ลิ้นจี่พันธุ์เขียวหวาน ช่องที่ 19 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กระโถนท้องพระโรง ช่องที่ 20 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ค่อม ช่องที่ 21 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบยาว ช่องที่ 22 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนแดง ช่องที่ 23 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โกมินทร์ ช่องที่ 24 คือ ลำไยพันธุ์จัมโบ้ และช่องที่ 25 คือ ลำไยพันธุ์เพชรสาคร

6. ไพรเมอร์ 822

ไพรเมอร์ 822 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ชัดเจนทั้งหมด 8 แถบ ดังภาพที่ 47

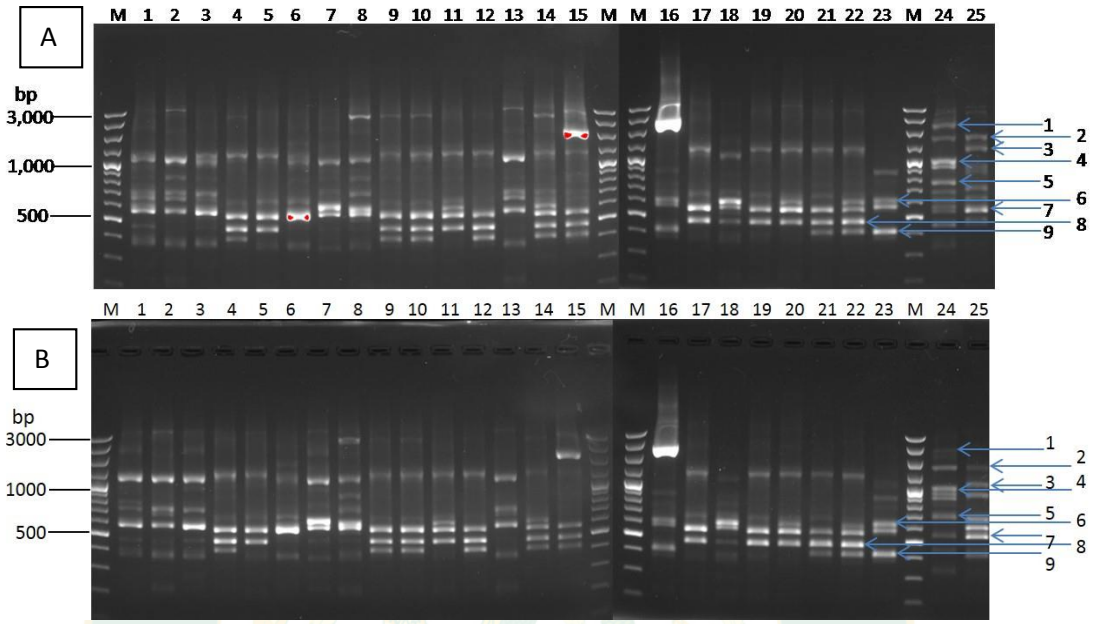


ภาพที่ 47 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 822

หมายเหตุ ภาพ A คือซ้ำที่ 1 ภาพ B คือซ้ำที่ 2 ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐานGeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กวางเจา ช่องที่ 2 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทอง ช่องที่ 3 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โอวเฮียะ ช่องที่ 4 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนใหญ่ ช่องที่ 5 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบอ้อ ช่องที่ 6 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กิมเจง ช่องที่ 7 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ ช่องที่ 8 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ช่อระกำ ช่องที่ 9 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย ช่องที่ 10 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทอง ช่องที่ 11 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ไทย ช่องที่ 12 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กรอบแก้ว ช่องที่ 13 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาแก้ว ช่องที่ 14 คือ ลิ้นจี่พันธุ์นครพนม 1 ช่องที่ 15 คือ ลิ้นจี่พันธุ์บริวสเตอร์ ช่องที่ 16 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบไหม้ ช่องที่ 17 คือ ลิ้นจี่พันธุ์แห้วจีน ช่องที่ 18 คือ ลิ้นจี่พันธุ์เขียวหวาน ช่องที่ 19 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กระโถนท้องพระโรง ช่องที่ 20 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ค่อม ช่องที่ 21 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบยาว ช่องที่ 22 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนแดง ช่องที่ 23 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โกมินทร์ ช่องที่ 24 คือ ลำไยพันธุ์จัมโบ้ และช่องที่ 25 คือ ลำไยพันธุ์เพชรสาคร

7. ไพรเมอร์ 826

ไพรเมอร์ 826 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ชัดเจนทั้งหมด 9 แถบ ดังภาพที่ 48

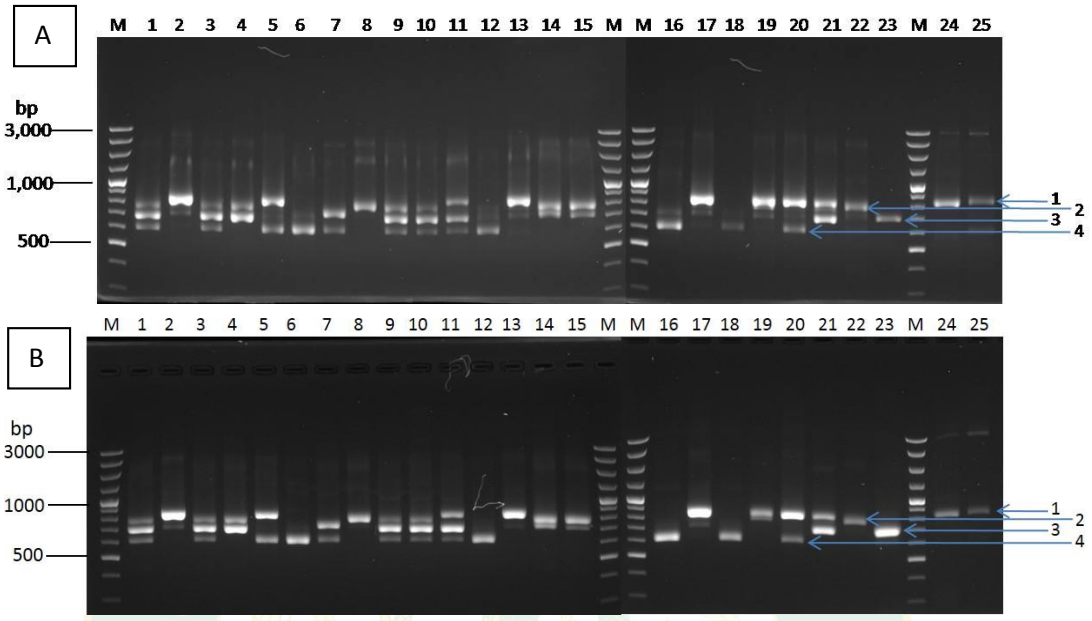


ภาพที่ 48 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 826

หมายเหตุ ภาพ A คือซ้ำที่ 1 ภาพ B คือซ้ำที่ 2 ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐานGeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กวางเจา ช่องที่ 2 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทอง ช่องที่ 3 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โอวเฮียะ ช่องที่ 4 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนใหญ่ ช่องที่ 5 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบอ้อ ช่องที่ 6 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กิมเจง ช่องที่ 7 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ ช่องที่ 8 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ช่อระกำ ช่องที่ 9 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย ช่องที่ 10 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทอง ช่องที่ 11 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ไทย ช่องที่ 12 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กรอบแก้ว ช่องที่ 13 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาแก้ว ช่องที่ 14 คือ ลิ้นจี่พันธุ์นครพนม 1 ช่องที่ 15 คือ ลิ้นจี่พันธุ์บริวสเตอร์ ช่องที่ 16 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบไหม้ ช่องที่ 17 คือ ลิ้นจี่พันธุ์แห้วจีน ช่องที่ 18 คือ ลิ้นจี่พันธุ์เขียวหวาน ช่องที่ 19 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กระโถนท้องพระโรง ช่องที่ 20 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ค่อม ช่องที่ 21 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบยาว ช่องที่ 22 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนแดง ช่องที่ 23 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โกมินทร์ ช่องที่ 24 คือ ลำไยพันธุ์จัมโบ้ และช่องที่ 25 คือ ลำไยพันธุ์เพชรสาคร

8. ไพรเมอร์ 828

ไพรเมอร์ 828 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ชัดเจนทั้งหมด 4 แถบ ดังภาพที่ 49

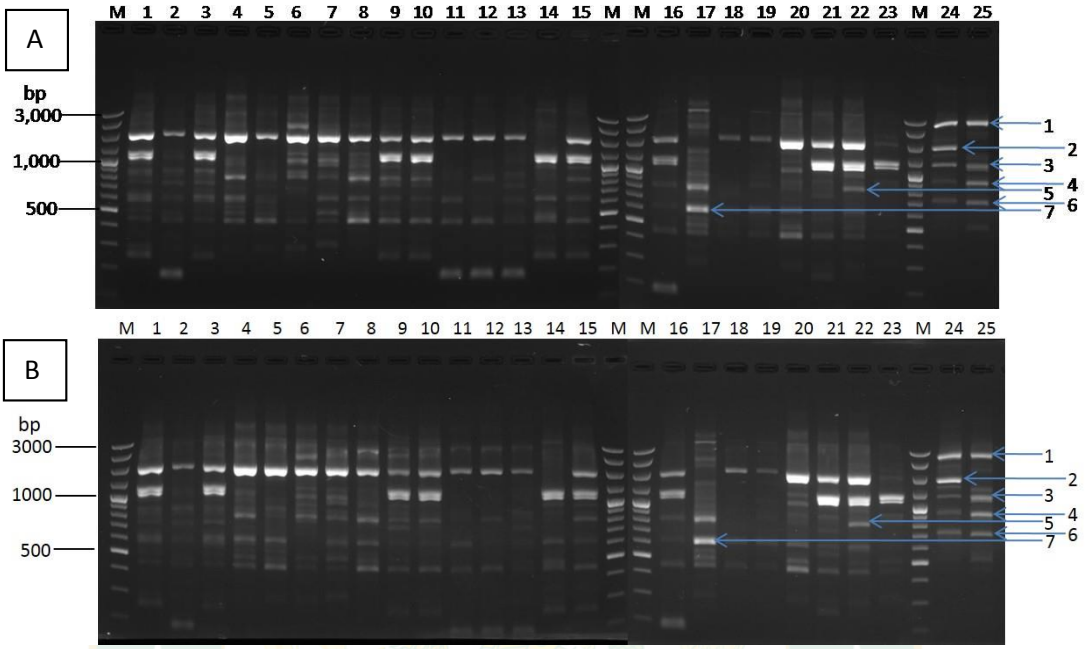


ภาพที่ 49 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 828

หมายเหตุ ภาพ A คือซ้ำที่ 1 ภาพ B คือซ้ำที่ 2 ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐานGeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กวางเจา ช่องที่ 2 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทอง ช่องที่ 3 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โอวเฮียะ ช่องที่ 4 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนใหญ่ ช่องที่ 5 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบอ้อ ช่องที่ 6 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กิมเจง ช่องที่ 7 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ ช่องที่ 8 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ช่อระกำ ช่องที่ 9 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย ช่องที่ 10 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทอง ช่องที่ 11 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ไทย ช่องที่ 12 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กรอบแก้ว ช่องที่ 13 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาแก้ว ช่องที่ 14 คือ ลิ้นจี่พันธุ์นครพนม 1 ช่องที่ 15 คือ ลิ้นจี่พันธุ์บริวสเตอร์ ช่องที่ 16 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบไหม้ ช่องที่ 17 คือ ลิ้นจี่พันธุ์แห้วจีน ช่องที่ 18 คือ ลิ้นจี่พันธุ์เขียวหวาน ช่องที่ 19 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กระโถนท้องพระโรง ช่องที่ 20 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ค่อม ช่องที่ 21 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบยาว ช่องที่ 22 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนแดง ช่องที่ 23 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โกมินทร์ ช่องที่ 24 คือ ลำไยพันธุ์จัมโบ้ และช่องที่ 25 คือ ลำไยพันธุ์เพชรสาคร

9. ไพรเมอร์ 834

ไพรเมอร์ 834 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ชัดเจนทั้งหมด 7 แถบ ดังภาพที่ 50

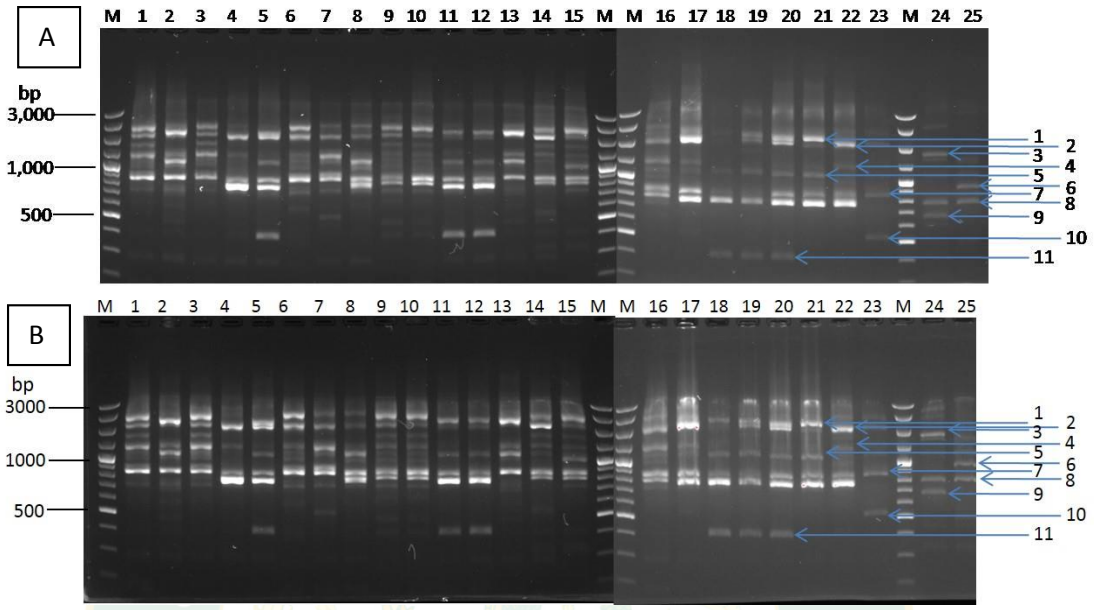


ภาพที่ 50 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 834

หมายเหตุ ภาพ A คือซ้ำที่ 1 ภาพ B คือซ้ำที่ 2 ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐานGeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กวางเจา ช่องที่ 2 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทอง ช่องที่ 3 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โอวเฮียะ ช่องที่ 4 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนใหญ่ ช่องที่ 5 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบอ้อ ช่องที่ 6 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กิมเจง ช่องที่ 7 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ ช่องที่ 8 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ช่อระกำ ช่องที่ 9 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย ช่องที่ 10 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทอง ช่องที่ 11 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ไทย ช่องที่ 12 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กรอบแก้ว ช่องที่ 13 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาแก้ว ช่องที่ 14 คือ ลิ้นจี่พันธุ์นครพนม 1 ช่องที่ 15 คือ ลิ้นจี่พันธุ์บริวสเตอร์ ช่องที่ 16 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบไหม้ ช่องที่ 17 คือ ลิ้นจี่พันธุ์แห้วจีน ช่องที่ 18 คือ ลิ้นจี่พันธุ์เขียวหวาน ช่องที่ 19 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กระโถนท้องพระโรง ช่องที่ 20 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ค่อม ช่องที่ 21 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบยาว ช่องที่ 22 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนแดง ช่องที่ 23 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โกมินทร์ ช่องที่ 24 คือ ลำไยพันธุ์จัมโบ้ และช่องที่ 25 คือ ลำไยพันธุ์เพชรสาคร

10. ไพรเมอร์ 835

ไพรเมอร์ 835 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ชัดเจนทั้งหมด 11 แถบ ดังภาพที่ 51

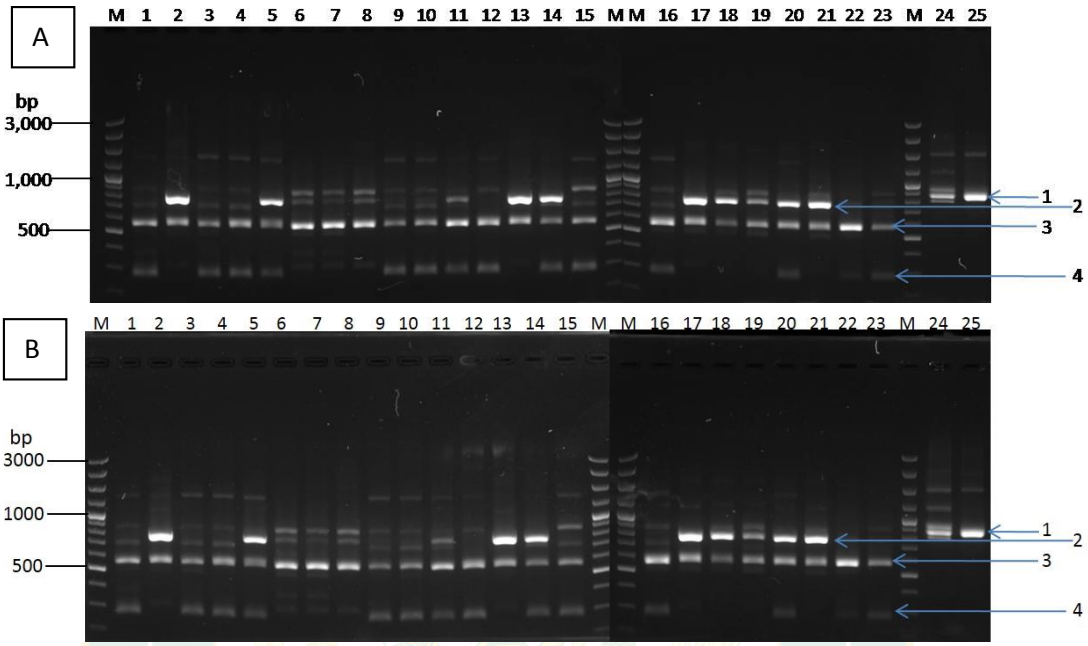


ภาพที่ 51 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 835

หมายเหตุ ภาพ A คือซ้ำที่ 1 ภาพ B คือซ้ำที่ 2 ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐานGeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กวางเจา ช่องที่ 2 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทอง ช่องที่ 3 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โอวเฮียะ ช่องที่ 4 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนใหญ่ ช่องที่ 5 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบอ้อ ช่องที่ 6 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กิมเจง ช่องที่ 7 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ ช่องที่ 8 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ช่อระกำ ช่องที่ 9 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย ช่องที่ 10 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทอง ช่องที่ 11 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ไทย ช่องที่ 12 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กรอบแก้ว ช่องที่ 13 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาแก้ว ช่องที่ 14 คือ ลิ้นจี่พันธุ์นครพนม 1 ช่องที่ 15 คือ ลิ้นจี่พันธุ์บริวสเตอร์ ช่องที่ 16 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบไหม้ ช่องที่ 17 คือ ลิ้นจี่พันธุ์แห้วจีน ช่องที่ 18 คือ ลิ้นจี่พันธุ์เขียวหวาน ช่องที่ 19 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กระโถนท้องพระโรง ช่องที่ 20 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ค่อม ช่องที่ 21 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบยาว ช่องที่ 22 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนแดง ช่องที่ 23 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โกมินทร์ ช่องที่ 24 คือ ลำไยพันธุ์จัมโบ้ และช่องที่ 25 คือ ลำไยพันธุ์เพชรสาคร

11. ไพรเมอร์ 836

ไพรเมอร์ 836 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ชัดเจนทั้งหมด 4 แถบ ดังภาพที่ 52

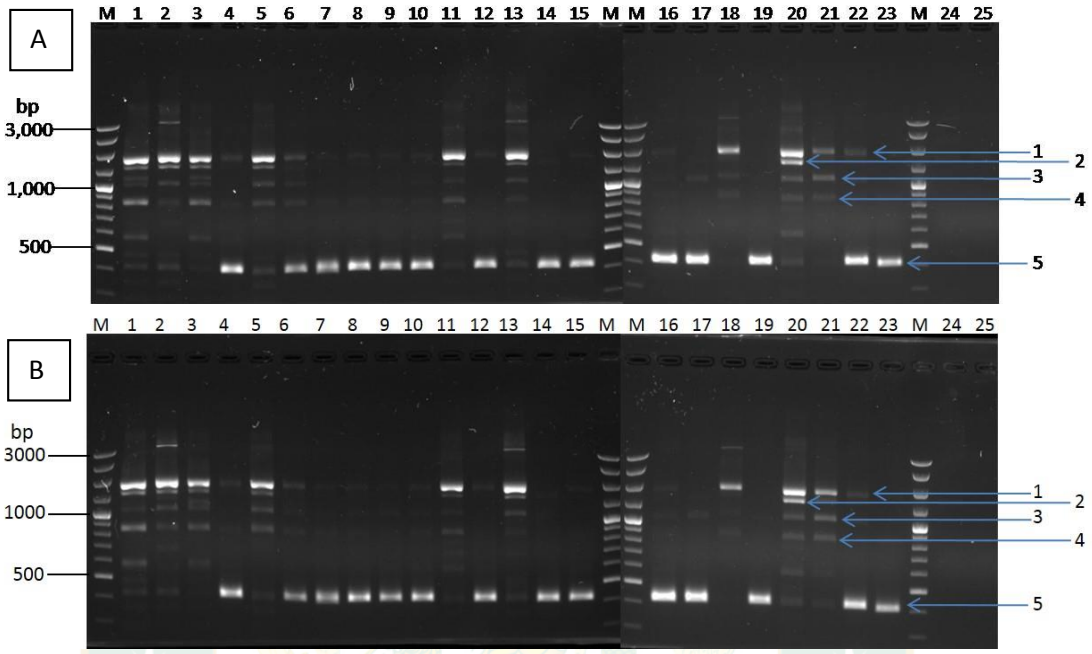


ภาพที่ 52 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 836

หมายเหตุ ภาพ A คือซ้ำที่ 1 ภาพ B คือซ้ำที่ 2 ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐานGeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กวางเจา ช่องที่ 2 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทอง ช่องที่ 3 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โอวเฮียะ ช่องที่ 4 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนใหญ่ ช่องที่ 5 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบอ้อ ช่องที่ 6 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กิมเจง ช่องที่ 7 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ ช่องที่ 8 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ช่อระกำ ช่องที่ 9 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย ช่องที่ 10 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทอง ช่องที่ 11 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ไทย ช่องที่ 12 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กรอบแก้ว ช่องที่ 13 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาแก้ว ช่องที่ 14 คือ ลิ้นจี่พันธุ์นครพนม 1 ช่องที่ 15 คือ ลิ้นจี่พันธุ์บริวสเตอร์ ช่องที่ 16 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบไหม้ ช่องที่ 17 คือ ลิ้นจี่พันธุ์แห้วจีน ช่องที่ 18 คือ ลิ้นจี่พันธุ์เขียวหวาน ช่องที่ 19 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กระโถนท้องพระโรง ช่องที่ 20 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ค่อม ช่องที่ 21 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบยาว ช่องที่ 22 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนแดง ช่องที่ 23 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โกมินทร์ ช่องที่ 24 คือ ลำไยพันธุ์จัมโบ้ และช่องที่ 25 คือ ลำไยพันธุ์เพชรสาคร

12. ไพรเมอร์ 841

ไพรเมอร์ 841 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ชัดเจนทั้งหมด 5 แถบ ดังภาพที่ 53

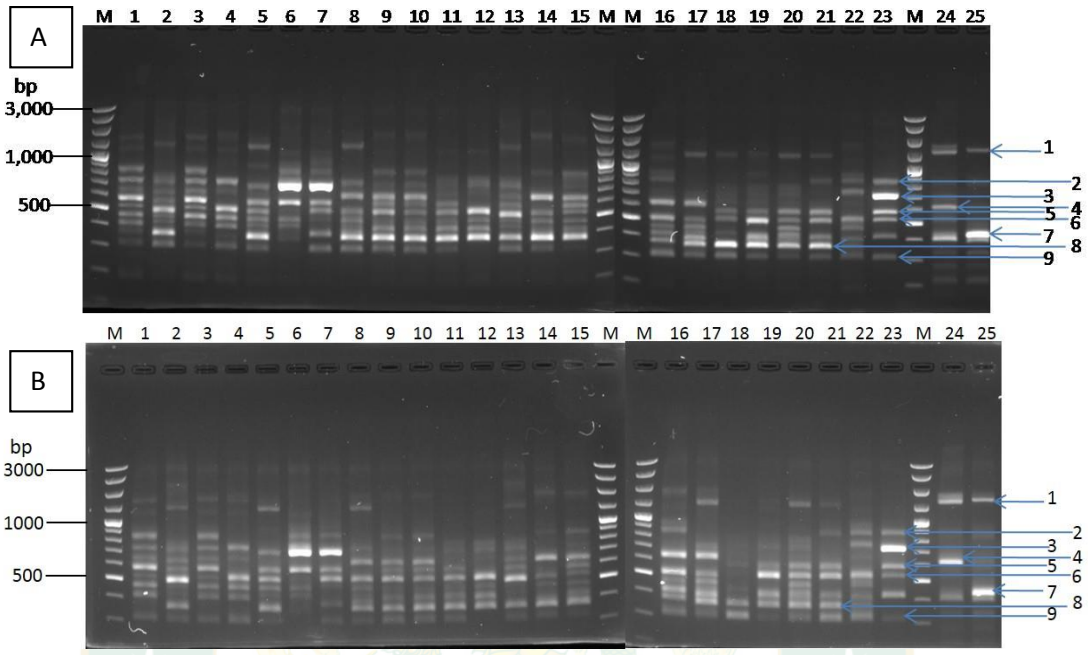


ภาพที่ 53 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 841

หมายเหตุ ภาพ A คือซ้ำที่ 1 ภาพ B คือซ้ำที่ 2 ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐานGeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กวางเจา ช่องที่ 2 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทอง ช่องที่ 3 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โอวเฮียะ ช่องที่ 4 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนใหญ่ ช่องที่ 5 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบอ้อ ช่องที่ 6 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กิมเจง ช่องที่ 7 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ ช่องที่ 8 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ช่อระกำ ช่องที่ 9 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย ช่องที่ 10 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทอง ช่องที่ 11 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ไทย ช่องที่ 12 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กรอบแก้ว ช่องที่ 13 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาแก้ว ช่องที่ 14 คือ ลิ้นจี่พันธุ์นครพนม 1 ช่องที่ 15 คือ ลิ้นจี่พันธุ์บริวสเตอร์ ช่องที่ 16 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบไหม้ ช่องที่ 17 คือ ลิ้นจี่พันธุ์แห้วจีน ช่องที่ 18 คือ ลิ้นจี่พันธุ์เขียวหวาน ช่องที่ 19 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กระโถนท้องพระโรง ช่องที่ 20 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ค่อม ช่องที่ 21 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบยาว ช่องที่ 22 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนแดง ช่องที่ 23 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โกมินทร์ ช่องที่ 24 คือ ลำไยพันธุ์จัมโบ้ และช่องที่ 25 คือ ลำไยพันธุ์เพชรสาคร

13. ไพรเมอร์ 842

ไพรเมอร์ 842 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ชัดเจนทั้งหมด 9 แถบ ดังภาพที่ 54

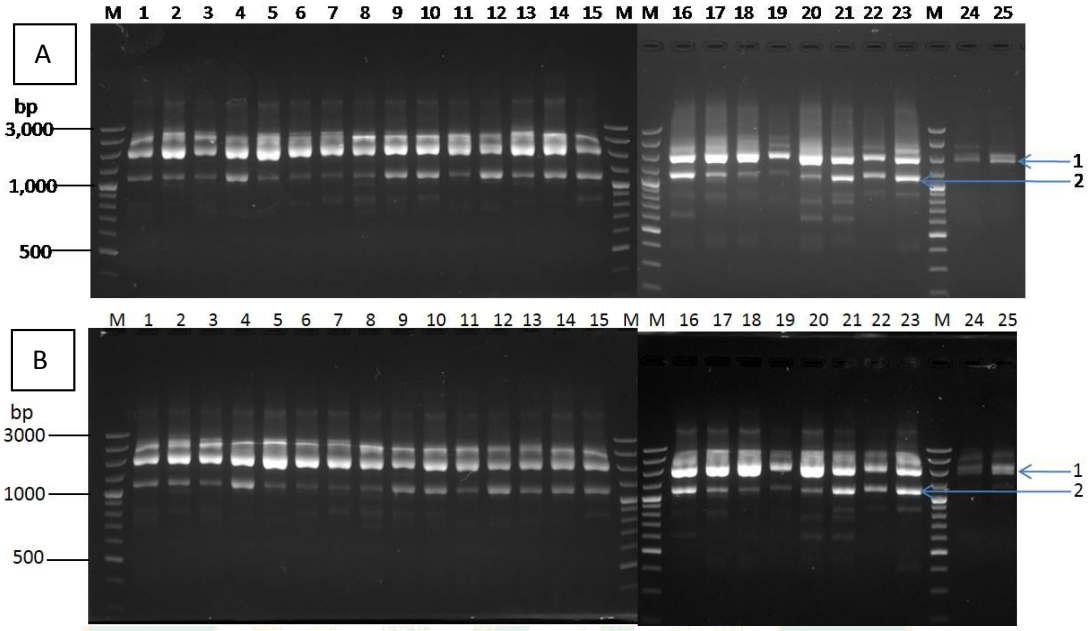


ภาพที่ 54 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 842

หมายเหตุ ภาพ A คือซ้ำที่ 1 ภาพ B คือซ้ำที่ 2 ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐานGeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กวางเจา ช่องที่ 2 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทอง ช่องที่ 3 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โอวเฮียะ ช่องที่ 4 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนใหญ่ ช่องที่ 5 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบอ้อ ช่องที่ 6 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กิมเจง ช่องที่ 7 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ ช่องที่ 8 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ช่อระกำ ช่องที่ 9 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย ช่องที่ 10 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทอง ช่องที่ 11 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ไทย ช่องที่ 12 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กรอบแก้ว ช่องที่ 13 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาแก้ว ช่องที่ 14 คือ ลิ้นจี่พันธุ์นครพนม 1 ช่องที่ 15 คือ ลิ้นจี่พันธุ์บริวสเตอร์ ช่องที่ 16 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบไหม้ ช่องที่ 17 คือ ลิ้นจี่พันธุ์แห้วจีน ช่องที่ 18 คือ ลิ้นจี่พันธุ์เขียวหวาน ช่องที่ 19 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กระโถนท้องพระโรง ช่องที่ 20 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ค่อม ช่องที่ 21 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบยาว ช่องที่ 22 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนแดง ช่องที่ 23 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โกมินทร์ ช่องที่ 24 คือ ลำไยพันธุ์จัมโบ้ และช่องที่ 25 คือ ลำไยพันธุ์เพชรสาคร

14. ไพรเมอร์ 844

ไพรเมอร์ 844 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ชัดเจนทั้งหมด 2 แถบ ดังภาพที่ 55

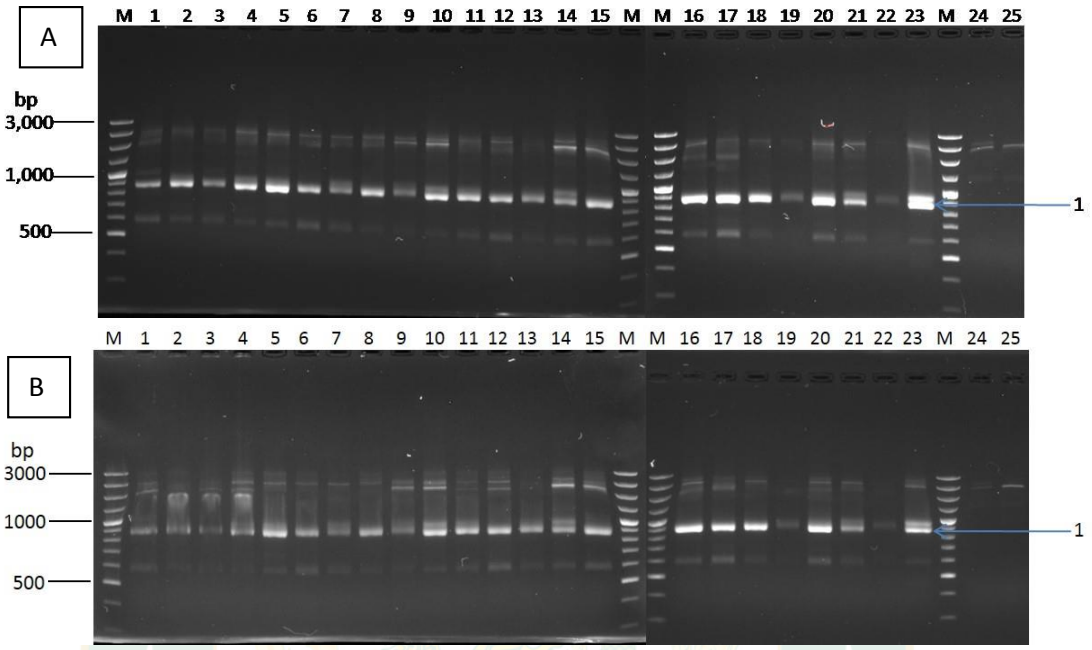


ภาพที่ 55 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 844

หมายเหตุ ภาพ A คือซ้ำที่ 1 ภาพ B คือซ้ำที่ 2 ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐานGeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กวางเจา ช่องที่ 2 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทอง ช่องที่ 3 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โอวเฮียะ ช่องที่ 4 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนใหญ่ ช่องที่ 5 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบอ้อ ช่องที่ 6 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กิมเจง ช่องที่ 7 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ ช่องที่ 8 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ช่อระกำ ช่องที่ 9 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย ช่องที่ 10 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทอง ช่องที่ 11 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ไทย ช่องที่ 12 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กรอบแก้ว ช่องที่ 13 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาแก้ว ช่องที่ 14 คือ ลิ้นจี่พันธุ์นครพนม 1 ช่องที่ 15 คือ ลิ้นจี่พันธุ์บริวสเตอร์ ช่องที่ 16 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบไหม้ ช่องที่ 17 คือ ลิ้นจี่พันธุ์แห้วจีน ช่องที่ 18 คือ ลิ้นจี่พันธุ์เขียวหวาน ช่องที่ 19 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กระโถนท้องพระโรง ช่องที่ 20 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ค่อม ช่องที่ 21 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบยาว ช่องที่ 22 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนแดง ช่องที่ 23 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โกมินทร์ ช่องที่ 24 คือ ลำไยพันธุ์จัมโบ้ และช่องที่ 25 คือ ลำไยพันธุ์เพชรสาคร

15. ไพรเมอร์ 845

ไพรเมอร์ 845 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ชัดเจนทั้งหมด 1 แถบ ดังภาพที่ 56

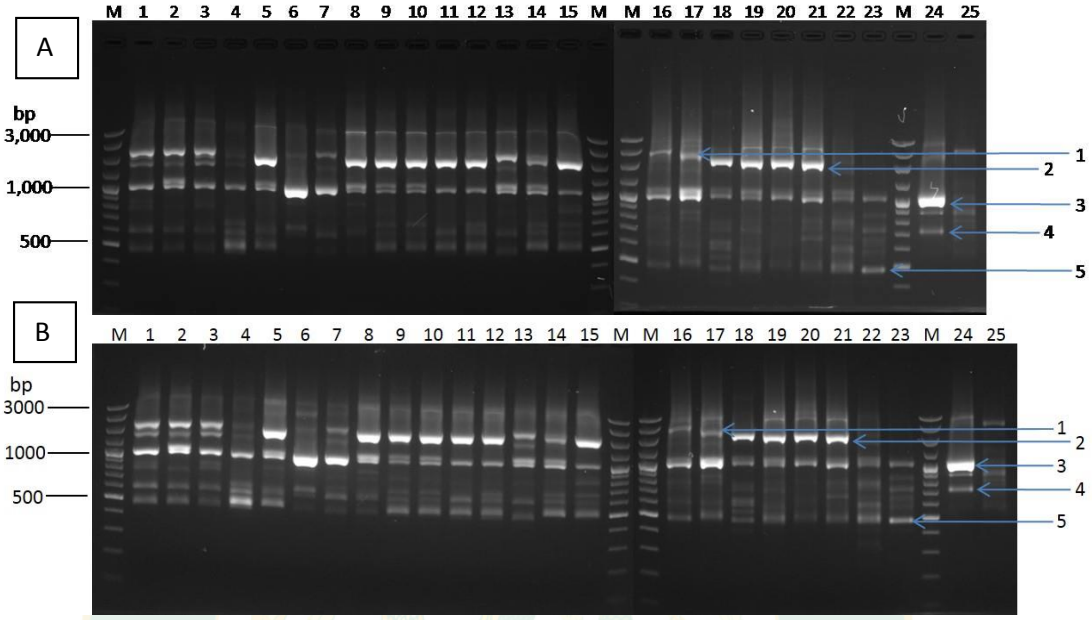


ภาพที่ 56 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 845

หมายเหตุ ภาพ A คือซ้ำที่ 1 ภาพ B คือซ้ำที่ 2 ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐานGeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กวางเจา ช่องที่ 2 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทอง ช่องที่ 3 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โอวเฮียะ ช่องที่ 4 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนใหญ่ ช่องที่ 5 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบอ้อ ช่องที่ 6 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กิมเจง ช่องที่ 7 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ ช่องที่ 8 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ช่อระกำ ช่องที่ 9 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย ช่องที่ 10 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทอง ช่องที่ 11 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ไทย ช่องที่ 12 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กรอบแก้ว ช่องที่ 13 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาแก้ว ช่องที่ 14 คือ ลิ้นจี่พันธุ์นครพนม 1 ช่องที่ 15 คือ ลิ้นจี่พันธุ์บริวสเตอร์ ช่องที่ 16 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบไหม้ ช่องที่ 17 คือ ลิ้นจี่พันธุ์แห้วจีน ช่องที่ 18 คือ ลิ้นจี่พันธุ์เขียวหวาน ช่องที่ 19 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กระโถนท้องพระโรง ช่องที่ 20 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ค่อม ช่องที่ 21 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบยาว ช่องที่ 22 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนแดง ช่องที่ 23 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โกมินทร์ ช่องที่ 24 คือ ลำไยพันธุ์จัมโบ้ และช่องที่ 25 คือ ลำไยพันธุ์เพชรสาคร

16. ไพรเมอร์ 847

ไพรเมอร์ 847 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ชัดเจนทั้งหมด 5 แถบ ดังภาพที่ 57

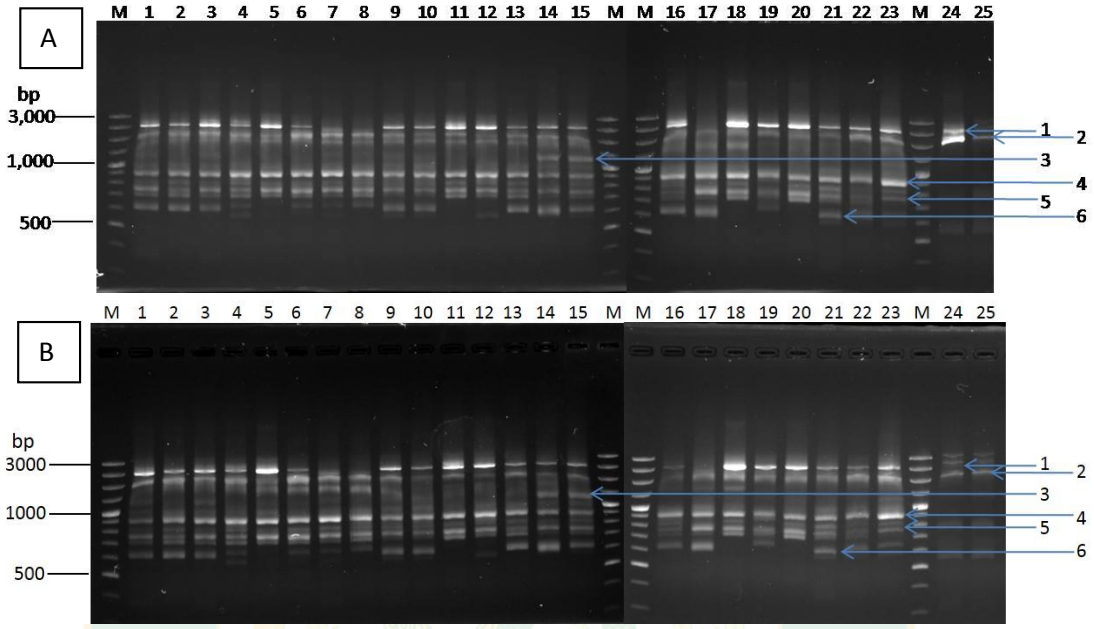


ภาพที่ 57 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 847

หมายเหตุ ภาพ A คือซ้ำที่ 1 ภาพ B คือซ้ำที่ 2 ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐานGeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กวางเจา ช่องที่ 2 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทอง ช่องที่ 3 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โอวเฮียะ ช่องที่ 4 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนใหญ่ ช่องที่ 5 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบอ้อ ช่องที่ 6 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กิมเจง ช่องที่ 7 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ ช่องที่ 8 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ช่อระกำ ช่องที่ 9 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย ช่องที่ 10 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทอง ช่องที่ 11 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ไทย ช่องที่ 12 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กรอบแก้ว ช่องที่ 13 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาแก้ว ช่องที่ 14 คือ ลิ้นจี่พันธุ์นครพนม 1 ช่องที่ 15 คือ ลิ้นจี่พันธุ์บริวสเตอร์ ช่องที่ 16 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบไหม้ ช่องที่ 17 คือ ลิ้นจี่พันธุ์แห้วจีน ช่องที่ 18 คือ ลิ้นจี่พันธุ์เขียวหวาน ช่องที่ 19 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กระโถนท้องพระโรง ช่องที่ 20 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ค่อม ช่องที่ 21 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบยาว ช่องที่ 22 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนแดง ช่องที่ 23 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โกมินทร์ ช่องที่ 24 คือ ลำไยพันธุ์จัมโบ้ และช่องที่ 25 คือ ลำไยพันธุ์เพชรสาคร

17. ไพรเมอร์ 849

ไพรเมอร์ 849 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ชัดเจนทั้งหมด 6 แถบ ดังภาพที่ 58

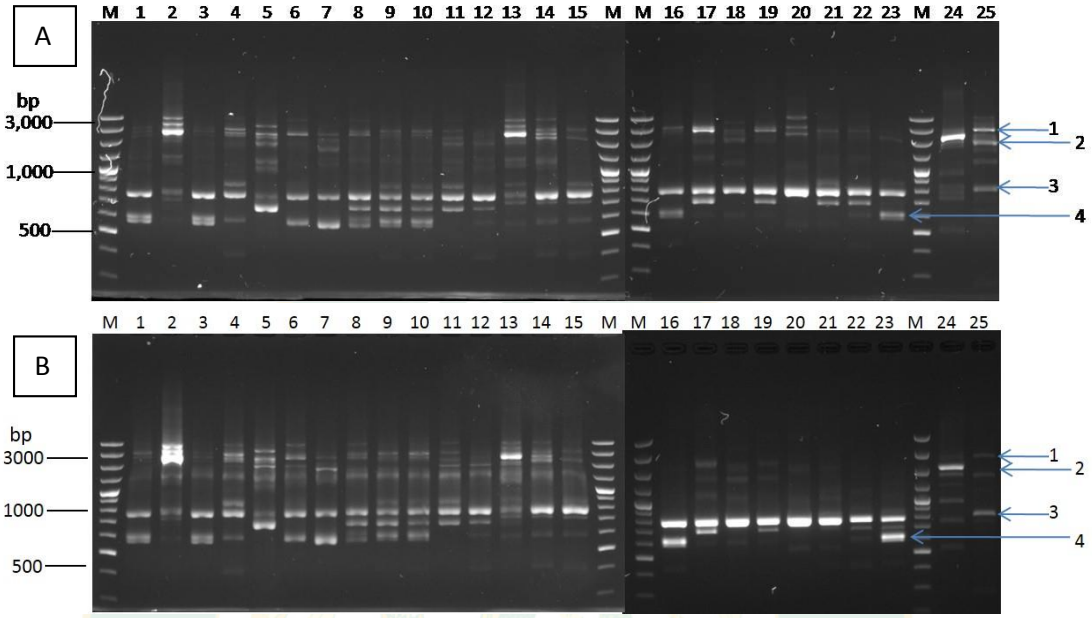


ภาพที่ 58 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 849

หมายเหตุ ภาพ A คือซ้ำที่ 1 ภาพ B คือซ้ำที่ 2 ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐานGeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กวางเจา ช่องที่ 2 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทอง ช่องที่ 3 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โอวเฮียะ ช่องที่ 4 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนใหญ่ ช่องที่ 5 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบอ้อ ช่องที่ 6 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กิมเจง ช่องที่ 7 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ ช่องที่ 8 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ช่อระกำ ช่องที่ 9 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย ช่องที่ 10 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทอง ช่องที่ 11 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ไทย ช่องที่ 12 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กรอบแก้ว ช่องที่ 13 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาแก้ว ช่องที่ 14 คือ ลิ้นจี่พันธุ์นครพนม 1 ช่องที่ 15 คือ ลิ้นจี่พันธุ์บริวสเตอร์ ช่องที่ 16 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบไหม้ ช่องที่ 17 คือ ลิ้นจี่พันธุ์แห้วจีน ช่องที่ 18 คือ ลิ้นจี่พันธุ์เขียวหวาน ช่องที่ 19 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กระโถนท้องพระโรง ช่องที่ 20 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ค่อม ช่องที่ 21 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบยาว ช่องที่ 22 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนแดง ช่องที่ 23 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โกมินทร์ ช่องที่ 24 คือ ลำไยพันธุ์จัมโบ้ และช่องที่ 25 คือ ลำไยพันธุ์เพชรสาคร

18. ไพรเมอร์ 855

ไพรเมอร์ 855 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ชัดเจนทั้งหมด 4 แถบ ดังภาพที่ 59

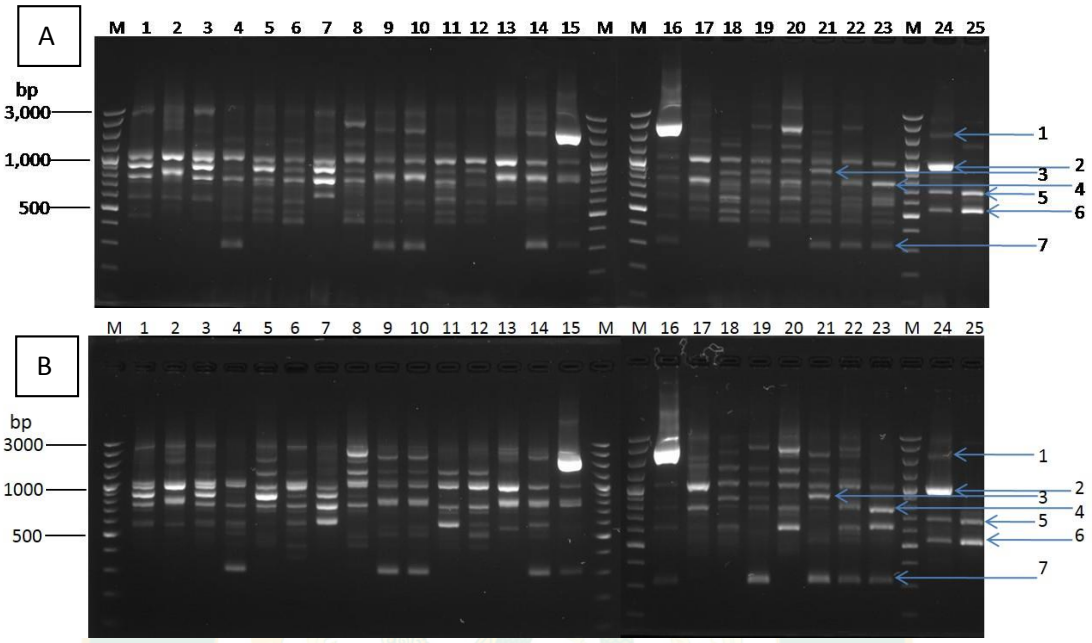


ภาพที่ 59 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 855

หมายเหตุ ภาพ A คือซ้ำที่ 1 ภาพ B คือซ้ำที่ 2 ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐานGeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กวางเจา ช่องที่ 2 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทอง ช่องที่ 3 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โอวเฮียะ ช่องที่ 4 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนใหญ่ ช่องที่ 5 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบอ้อ ช่องที่ 6 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กิมเจง ช่องที่ 7 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ ช่องที่ 8 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ช่อระกำ ช่องที่ 9 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย ช่องที่ 10 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทอง ช่องที่ 11 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ไทย ช่องที่ 12 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กรอบแก้ว ช่องที่ 13 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาแก้ว ช่องที่ 14 คือ ลิ้นจี่พันธุ์นครพนม 1 ช่องที่ 15 คือ ลิ้นจี่พันธุ์บริวสเตอร์ ช่องที่ 16 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบไหม้ ช่องที่ 17 คือ ลิ้นจี่พันธุ์แห้วจีน ช่องที่ 18 คือ ลิ้นจี่พันธุ์เขียวหวาน ช่องที่ 19 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กระโถนท้องพระโรง ช่องที่ 20 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ค่อม ช่องที่ 21 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบยาว ช่องที่ 22 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนแดง ช่องที่ 23 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โกมินทร์ ช่องที่ 24 คือ ลำไยพันธุ์จัมโบ้ และช่องที่ 25 คือ ลำไยพันธุ์เพชรสาคร

19. ไพรเมอร์ 856

ไพรเมอร์ 856 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ชัดเจนทั้งหมด 7 แถบ ดังภาพที่ 60

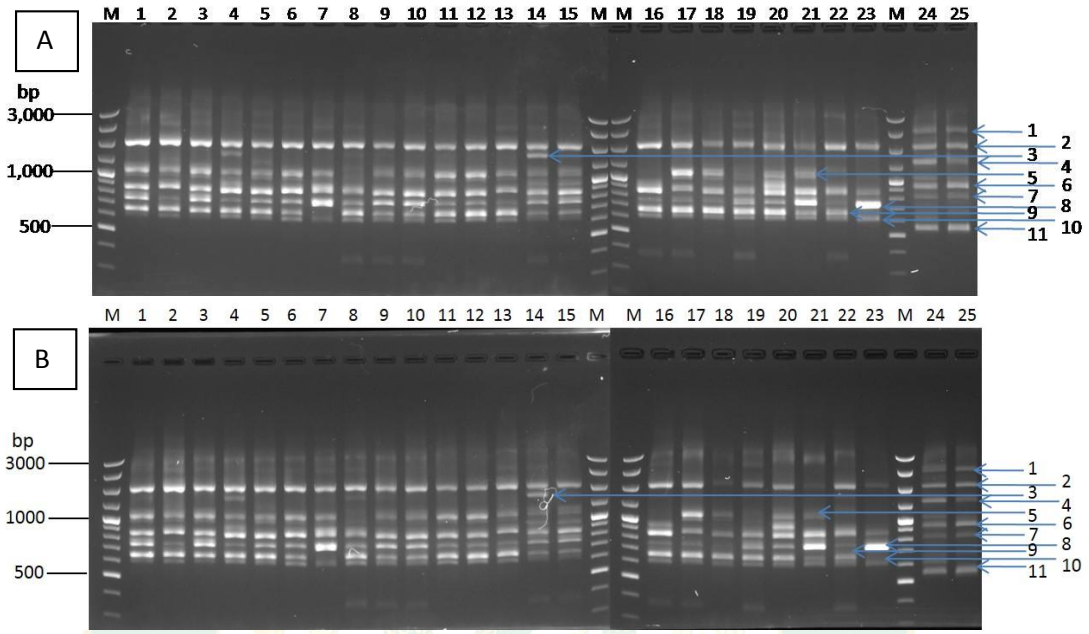


ภาพที่ 60 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 856

หมายเหตุ ภาพ A คือซ้ำที่ 1 ภาพ B คือซ้ำที่ 2 ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐานGeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กวางเจา ช่องที่ 2 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทอง ช่องที่ 3 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โอวเฮียะ ช่องที่ 4 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนใหญ่ ช่องที่ 5 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบอ้อ ช่องที่ 6 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กิมเจง ช่องที่ 7 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ ช่องที่ 8 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ช่อระกำ ช่องที่ 9 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย ช่องที่ 10 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทอง ช่องที่ 11 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ไทย ช่องที่ 12 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กรอบแก้ว ช่องที่ 13 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาแก้ว ช่องที่ 14 คือ ลิ้นจี่พันธุ์นครพนม 1 ช่องที่ 15 คือ ลิ้นจี่พันธุ์บริวสเตอร์ ช่องที่ 16 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบไหม้ ช่องที่ 17 คือ ลิ้นจี่พันธุ์แห้วจีน ช่องที่ 18 คือ ลิ้นจี่พันธุ์เขียวหวาน ช่องที่ 19 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กระโถนท้องพระโรง ช่องที่ 20 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ค่อม ช่องที่ 21 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบยาว ช่องที่ 22 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนแดง ช่องที่ 23 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โกมินทร์ ช่องที่ 24 คือ ลำไยพันธุ์จัมโบ้ และช่องที่ 25 คือ ลำไยพันธุ์เพชรสาคร

20. ไพรเมอร์ 864

ไพรเมอร์ 864 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ชัดเจนทั้งหมด 11 แถบ ดังภาพที่ 61

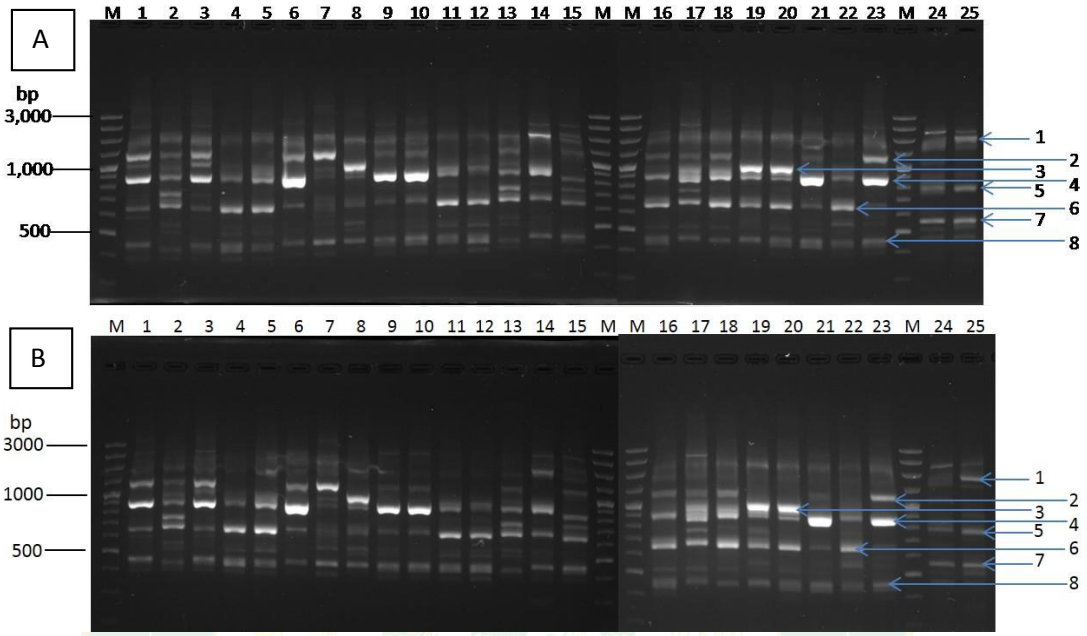


ภาพที่ 61 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 864

หมายเหตุ ภาพ A คือซ้ำที่ 1 ภาพ B คือซ้ำที่ 2 ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐานGeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กวางเจา ช่องที่ 2 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทอง ช่องที่ 3 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โอวเฮียะ ช่องที่ 4 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนใหญ่ ช่องที่ 5 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบอ้อ ช่องที่ 6 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กิมเจง ช่องที่ 7 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ ช่องที่ 8 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ช่อระกำ ช่องที่ 9 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย ช่องที่ 10 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทอง ช่องที่ 11 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ไทย ช่องที่ 12 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กรอบแก้ว ช่องที่ 13 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาแก้ว ช่องที่ 14 คือ ลิ้นจี่พันธุ์นครพนม 1 ช่องที่ 15 คือ ลิ้นจี่พันธุ์บริวสเตอร์ ช่องที่ 16 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบไหม้ ช่องที่ 17 คือ ลิ้นจี่พันธุ์แห้วจีน ช่องที่ 18 คือ ลิ้นจี่พันธุ์เขียวหวาน ช่องที่ 19 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กระโถนท้องพระโรง ช่องที่ 20 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ค่อม ช่องที่ 21 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบยาว ช่องที่ 22 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนแดง ช่องที่ 23 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โกมินทร์ ช่องที่ 24 คือ ลำไยพันธุ์จัมโบ้ และช่องที่ 25 คือ ลำไยพันธุ์เพชรสาคร

21. ไพรเมอร์ 880

ไพรเมอร์ 880 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ชัดเจนทั้งหมด 8 แถบ ดังภาพที่ 62

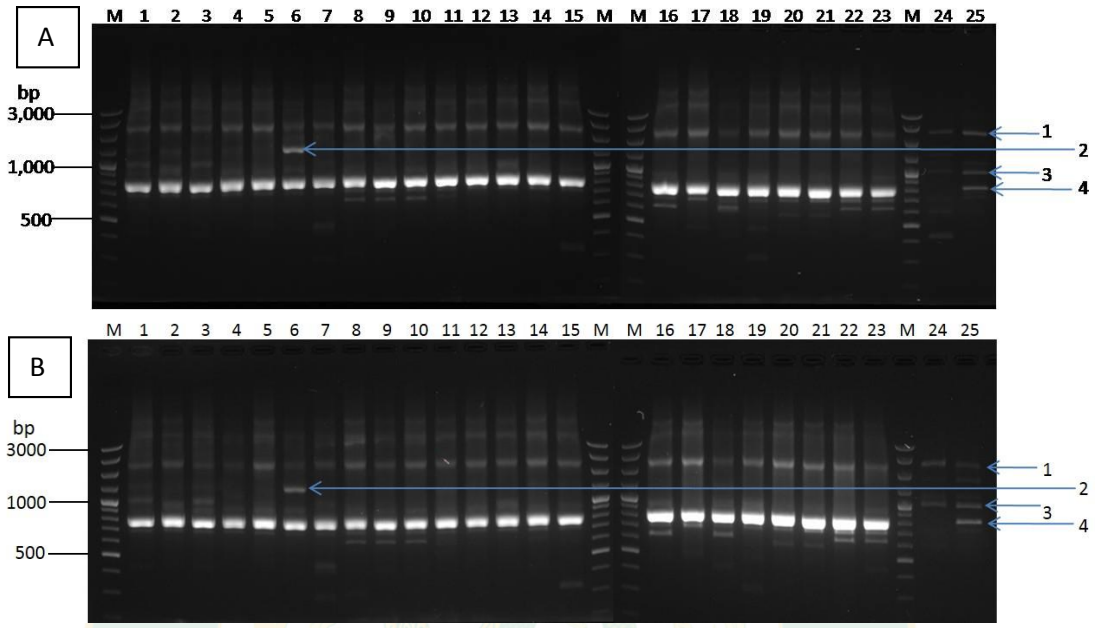


ภาพที่ 62 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 880

หมายเหตุ ภาพ A คือซ้ำที่ 1 ภาพ B คือซ้ำที่ 2 ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐานGeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กวางเจา ช่องที่ 2 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทอง ช่องที่ 3 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โอวเฮียะ ช่องที่ 4 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนใหญ่ ช่องที่ 5 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบอ้อ ช่องที่ 6 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กิมเจง ช่องที่ 7 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ ช่องที่ 8 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ช่อระกำ ช่องที่ 9 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย ช่องที่ 10 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทอง ช่องที่ 11 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ไทย ช่องที่ 12 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กรอบแก้ว ช่องที่ 13 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาแก้ว ช่องที่ 14 คือ ลิ้นจี่พันธุ์นครพนม 1 ช่องที่ 15 คือ ลิ้นจี่พันธุ์บริวสเตอร์ ช่องที่ 16 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบไหม้ ช่องที่ 17 คือ ลิ้นจี่พันธุ์แห้วจีน ช่องที่ 18 คือ ลิ้นจี่พันธุ์เขียวหวาน ช่องที่ 19 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กระโถนท้องพระโรง ช่องที่ 20 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ค่อม ช่องที่ 21 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบยาว ช่องที่ 22 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนแดง ช่องที่ 23 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โกมินทร์ ช่องที่ 24 คือ ลำไยพันธุ์จัมโบ้ และช่องที่ 25 คือ ลำไยพันธุ์เพชรสาคร

22. ไพรเมอร์ 881

ไพรเมอร์ 881 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ชัดเจนทั้งหมด 4 แถบ ดังภาพที่ 63

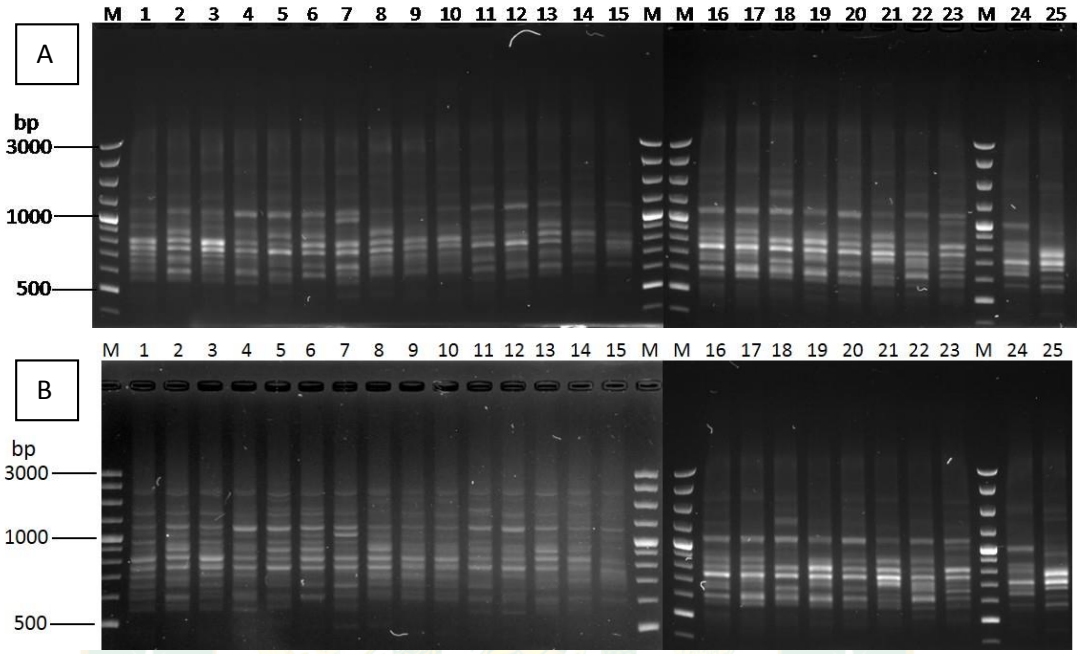


ภาพที่ 63 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 881

หมายเหตุ ภาพ A คือซ้ำที่ 1 ภาพ B คือซ้ำที่ 2 ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐานGeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กวางเจา ช่องที่ 2 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทอง ช่องที่ 3 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โอวเฮียะ ช่องที่ 4 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนใหญ่ ช่องที่ 5 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบอ้อ ช่องที่ 6 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กิมเจง ช่องที่ 7 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ ช่องที่ 8 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ช่อระกำ ช่องที่ 9 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย ช่องที่ 10 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทอง ช่องที่ 11 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ไทย ช่องที่ 12 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กรอบแก้ว ช่องที่ 13 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาแก้ว ช่องที่ 14 คือ ลิ้นจี่พันธุ์นครพนม 1 ช่องที่ 15 คือ ลิ้นจี่พันธุ์บริวสเตอร์ ช่องที่ 16 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบไหม้ ช่องที่ 17 คือ ลิ้นจี่พันธุ์แห้วจีน ช่องที่ 18 คือ ลิ้นจี่พันธุ์เขียวหวาน ช่องที่ 19 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กระโถนท้องพระโรง ช่องที่ 20 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ค่อม ช่องที่ 21 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบยาว ช่องที่ 22 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนแดง ช่องที่ 23 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โกมินทร์ ช่องที่ 24 คือ ลำไยพันธุ์จัมโบ้ และช่องที่ 25 คือ ลำไยพันธุ์เพชรสาคร

23. ไพรเมอร์ 888

ไพรเมอร์ 888 ไม่สามารถให้แถบดีเอ็นเอที่ชัดเจนดังภาพที่ 64

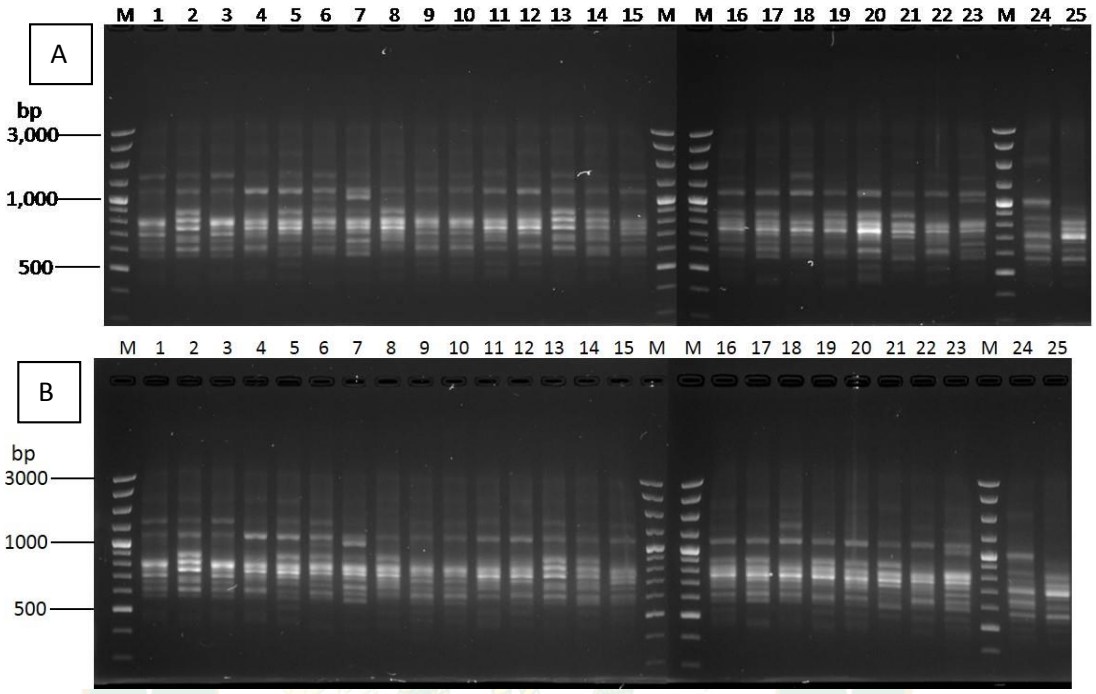


ภาพที่ 64 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 888

หมายเหตุ ภาพ A คือซ้ำที่ 1 ภาพ B คือซ้ำที่ 2 ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐานGeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กวางเจา ช่องที่ 2 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทอง ช่องที่ 3 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โอวเฮียะ ช่องที่ 4 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนใหญ่ ช่องที่ 5 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบอ้อ ช่องที่ 6 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กิมเจง ช่องที่ 7 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ ช่องที่ 8 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ช่อระกำ ช่องที่ 9 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย ช่องที่ 10 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทอง ช่องที่ 11 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ไทย ช่องที่ 12 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กรอบแก้ว ช่องที่ 13 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาแก้ว ช่องที่ 14 คือ ลิ้นจี่พันธุ์นครพนม 1 ช่องที่ 15 คือ ลิ้นจี่พันธุ์บริวสเตอร์ ช่องที่ 16 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบไหม้ ช่องที่ 17 คือ ลิ้นจี่พันธุ์แห้วจีน ช่องที่ 18 คือ ลิ้นจี่พันธุ์เขียวหวาน ช่องที่ 19 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กระโถนท้องพระโรง ช่องที่ 20 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ค่อม ช่องที่ 21 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบยาว ช่องที่ 22 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนแดง ช่องที่ 23 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โกมินทร์ ช่องที่ 24 คือ ลำไยพันธุ์จัมโบ้ และช่องที่ 25 คือ ลำไยพันธุ์เพชรสาคร

24. ไพรเมอร์ 889

ไพรเมอร์ 889 ไม่สามารถให้แถบดีเอ็นเอที่ชัดเจนดังภาพที่ 65

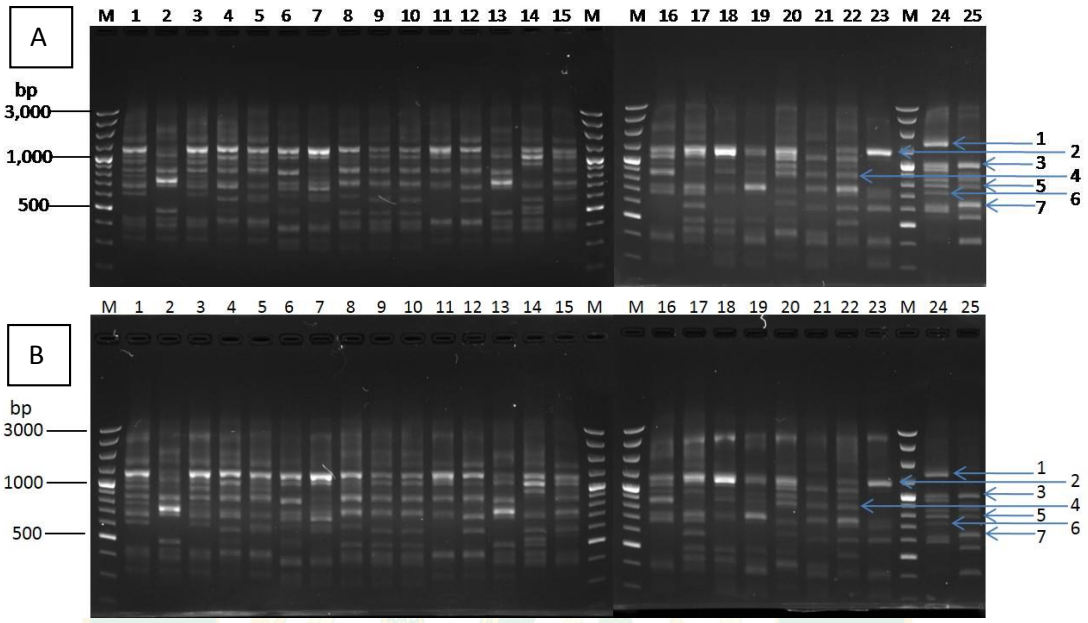


ภาพที่ 65 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 889

หมายเหตุ ภาพ A คือซ้ำที่ 1 ภาพ B คือซ้ำที่ 2 ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐานGeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กวางเจา ช่องที่ 2 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทอง ช่องที่ 3 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โอวเฮียะ ช่องที่ 4 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนใหญ่ ช่องที่ 5 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบอ้อ ช่องที่ 6 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กิมเจง ช่องที่ 7 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ ช่องที่ 8 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ช่อระกำ ช่องที่ 9 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย ช่องที่ 10 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทอง ช่องที่ 11 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ไทย ช่องที่ 12 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กรอบแก้ว ช่องที่ 13 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาแก้ว ช่องที่ 14 คือ ลิ้นจี่พันธุ์นครพนม 1 ช่องที่ 15 คือ ลิ้นจี่พันธุ์บริวสเตอร์ ช่องที่ 16 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบไหม้ ช่องที่ 17 คือ ลิ้นจี่พันธุ์แห้วจีน ช่องที่ 18 คือ ลิ้นจี่พันธุ์เขียวหวาน ช่องที่ 19 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กระโถนท้องพระโรง ช่องที่ 20 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ค่อม ช่องที่ 21 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบยาว ช่องที่ 22 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนแดง ช่องที่ 23 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โกมินทร์ ช่องที่ 24 คือ ลำไยพันธุ์จัมโบ้ และช่องที่ 25 คือ ลำไยพันธุ์เพชรสาคร

25. ไพรเมอร์ 890

ไพรเมอร์ 890 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ชัดเจนทั้งหมด 7 แถบ ดังภาพที่ 66

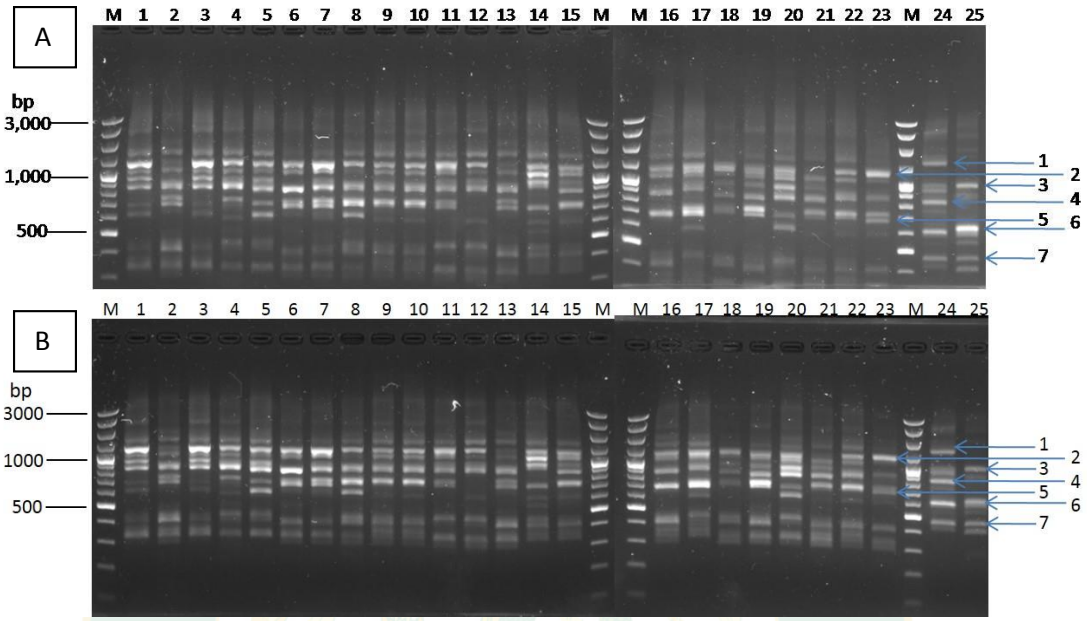


ภาพที่ 66 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 890

หมายเหตุ ภาพ A คือซ้ำที่ 1 ภาพ B คือซ้ำที่ 2 ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐานGeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กวางเจา ช่องที่ 2 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทอง ช่องที่ 3 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โอวเฮียะ ช่องที่ 4 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนใหญ่ ช่องที่ 5 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบอ้อ ช่องที่ 6 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กิมเจง ช่องที่ 7 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ ช่องที่ 8 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ช่อระกำ ช่องที่ 9 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย ช่องที่ 10 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทอง ช่องที่ 11 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ไทย ช่องที่ 12 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กรอบแก้ว ช่องที่ 13 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาแก้ว ช่องที่ 14 คือ ลิ้นจี่พันธุ์นครพนม 1 ช่องที่ 15 คือ ลิ้นจี่พันธุ์บริวสเตอร์ ช่องที่ 16 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบไหม้ ช่องที่ 17 คือ ลิ้นจี่พันธุ์แห้วจีน ช่องที่ 18 คือ ลิ้นจี่พันธุ์เขียวหวาน ช่องที่ 19 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กระโถนท้องพระโรง ช่องที่ 20 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ค่อม ช่องที่ 21 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบยาว ช่องที่ 22 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนแดง ช่องที่ 23 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โกมินทร์ ช่องที่ 24 คือ ลำไยพันธุ์จัมโบ้ และช่องที่ 25 คือ ลำไยพันธุ์เพชรสาคร

26. ไพรเมอร์ 891

ไพรเมอร์ 891 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ชัดเจนทั้งหมด 7 แถบ ดังภาพที่ 67



ภาพที่ 67 ผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลิ้นจี่โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 891

หมายเหตุ ภาพ A คือซ้ำที่ 1 ภาพ B คือซ้ำที่ 2 ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐานGeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กวางเจา ช่องที่ 2 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทอง ช่องที่ 3 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โอวเฮียะ ช่องที่ 4 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนใหญ่ ช่องที่ 5 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบอ้อ ช่องที่ 6 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กิมเจง ช่องที่ 7 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ ช่องที่ 8 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ช่อระกำ ช่องที่ 9 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย ช่องที่ 10 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทอง ช่องที่ 11 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ไทย ช่องที่ 12 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กรอบแก้ว ช่องที่ 13 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาแก้ว ช่องที่ 14 คือ ลิ้นจี่พันธุ์นครพนม 1 ช่องที่ 15 คือ ลิ้นจี่พันธุ์บริวสเตอร์ ช่องที่ 16 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบไหม้ ช่องที่ 17 คือ ลิ้นจี่พันธุ์แห้วจีน ช่องที่ 18 คือ ลิ้นจี่พันธุ์เขียวหวาน ช่องที่ 19 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กระโถนท้องพระโรง ช่องที่ 20 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ค่อม ช่องที่ 21 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบยาว ช่องที่ 22 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนแดง ช่องที่ 23 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โกมินทร์ ช่องที่ 24 คือ ลำไยพันธุ์จัมโบ้ และช่องที่ 25 คือ ลำไยพันธุ์เพชรสาคร

6) การวิเคราะห์ข้อมูล

6.1) ผลการให้คะแนนแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏและไม่ปรากฏ

จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค ISSR จำนวน 27 ไพรเมอร์ พบว่า 24 ไพรเมอร์ สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอและให้แถบดีเอ็นเอที่ชัดเจนเหมาะสำหรับการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ส่วนไพรเมอร์ 867 ไม่สามารถหาอุณหภูมิที่เหมาะสมได้ เช่นเดียวกับไพรเมอร์ 888 และไพรเมอร์ 889 ที่ให้แถบดีเอ็นเอที่ไม่ชัดเจนจึงไม่นำมาสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอได้ ผลการวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากเทคนิค ISSR จำนวน 24 ไพรเมอร์ พบว่าให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวน 125 แถบ มีขนาดประมาณ 300-3,000 คู่เบส โดยเป็นแถบดีเอ็นเอที่มีพอลิมอร์ฟิซึม (polymorphic band) จำนวน 107 แถบ คิดเป็น 85.6 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในตารางที่ 16 นอกจากนี้พบว่าไพรเมอร์ 817 ให้แถบดีเอ็นที่พบได้จำเพาะต่อพันธุ์บริวสเตอร์ คือ แถบดีเอ็นเอลำดับที่ 3 (ภาพที่ 46) และไพรเมอร์ 881 ให้แถบดีเอ็นเอที่พบได้จำเพาะต่อพันธุ์กิมเจง คือ แถบดีเอ็นเอลำดับที่ 2 (ภาพที่ 63) ซึ่งแถบดีเอ็นเอที่จำเพาะต่อพันธุ์จากทั้งสองไพรเมอร์นี้สามารถพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลเพื่อใช้เป็นไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อพันธุ์ลิ้นจี่ทั้งสองต่อไปได้

ตารางที่ 16 ผลการวิเคราะห์ไพรเมอร์ ISSR จำนวน 27 ไพรเมอร์ ในลิ้นจี่ทั้งหมด 23 พันธุ์

ลำดับ	ไพรเมอร์	อุณหภูมิ Annealing (℃)	ขนาดของแถบดีเอ็นเอ (bp)	จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด	จำนวนแถบดีเอ็นเอที่มีพอลิมอร์ฟิซึม	เปอร์เซ็นแถบดีเอ็นเอที่มีพอลิมอร์ฟิซึม
1	807	55	500-1,200	5	4	80
2	808	58	300-1,200	3	2	66.67
3	809	58	500-1,300	6	6	100
4	810	55	400-3,000	5	5	100
5	817	58	450-2,000	8	8	100
6	822	50	500-2,000	8	7	87.5
7	826	60	400-2,000	6	6	100
8	828	58	600-850	4	4	100
9	834	55	600-1,500	4	3	75
10	835	50	400-1,800	9	9	100
11	836	55	300-900	4	3	75
12	841	58	400-1,500	5	5	100
13	842	55	300-1,300	9	9	100
14	844	50	1,100-1,500	2	0	0
15	845	45	900	1	0	0
16	847	58	500-1,500	4	2	50
17	849	50	650-2,000	6	5	83.33
18	855	55	600-2,000	4	3	75
19	856	50	300-2,000	5	5	100
20	864	58	600-1,600	7	5	71.43
21	867	-	-	-	-	-
22	880	50	450-1,600	7	6	85.71
23	881	60	800-2,000	3	1	33.33
24	888	-	-	-	-	-
25	889	-	-	-	-	-
26	890	55	650-1,200	5	5	100
27	891	55	480-1,300	5	4	80
รวม				**125**	**107**	
เฉลี่ย				**5.21**	**4.46**	**84.68**

6.2) การคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรม

เมื่อนำข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากเครื่องหมายโมเลกุล ISSR มาคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมพบว่าค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมของลิ้นจี่ 23 พันธุ์อยู่ในช่วง 0.542 ถึง 1.000 เฉลี่ย 0.703 โดยพันธุ์ลิ้นจี่ที่มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.542 คือ ระหว่างพันธุ์โกมินทร์และพันธุ์แห้วจีน ส่วนพันธุ์ที่มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 1.000 คือ ระหว่างพันธุ์กวางเจาและพันธุ์โอวเฮียะ พันธุ์สำเภาแก้วและพันธุ์สาแหรกทอง พันธุ์สำเภาทองและพันธุ์ฮงฮวย ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมของลิ้นจี่และลำไยอยู่ในช่วง 0.232 ถึง 0.385 เฉลี่ย 0.303 โดยพันธุ์ที่มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนเท่ากับ 0.232 คือ ระหว่างพันธุ์จักรพรรดิและพันธุ์จัมโบ้ ส่วนพันธุ์ที่มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนเท่ากับ 0.385 คือ ระหว่างพันธุ์ค่อมและพันธุ์จัมโบ้ โดยค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนระหว่างลำไยพันธุ์เพชรสาครกับพันธุ์จัมโบ้คือ 0.673 ดังตารางที่ 17

ตารางที่ 17 ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมระหว่างลิ้นจี่ 23 พันธุ์และลำไย 2 พันธุ์ จากเครื่องหมายโมเลกุล ISSR

	กวางเจา	สาแหรกทอง	โอวเฮียะ	จีนใหญ่	กะโหลกใบอ้อ	กิมเจง	จักรพรรดิ	ช่อระกำ	ฮงฮวย	สำเภาทอง	ไทย	กรอบแก้ว	สำเภาแก้ว	นครพนม 1	บริวสเตอร์	กะโหลกใบไหม้	แห้วจีน	เขียวหวาน	กระโถนท้องพระโรง	ค่อม	กะโหลกใบยาว	จีนแดง	โกมินทร์	จัมโบ้	เพชรสาคร
สาแหรกทอง	0.647																								
โอวเฮียะ	1.000	0.647																							
จีนใหญ่	0.652	0.672	0.652																						
กะโหลกใบอ้อ	0.699	0.779	0.699	0.723																					
กิมเจง	0.776	0.661	0.776	0.697	0.730																				
จักรพรรดิ	0.736	0.627	0.736	0.634	0.656	0.773																			
ช่อระกำ	0.638	0.702	0.638	0.691	0.709	0.697	0.683																		
ฮงฮวย	0.718	0.667	0.718	0.786	0.717	0.721	0.677	0.714																	
สำเภาทอง	0.718	0.667	0.718	0.786	0.717	0.721	0.677	0.714	1.000																
ไทย	0.710	0.733	0.710	0.721	0.865	0.697	0.650	0.735	0.771	0.771															
กรอบแก้ว	0.707	0.651	0.707	0.794	0.750	0.677	0.678	0.672	0.785	0.785	0.809														
สำเภาแก้ว	0.647	1.000	0.647	0.672	0.779	0.661	0.627	0.702	0.667	0.667	0.733	0.651													
นครพนม 1	0.611	0.613	0.611	0.761	0.721	0.623	0.558	0.676	0.795	0.795	0.718	0.701	0.613												
บริวสเตอร์	0.681	0.599	0.681	0.704	0.667	0.696	0.605	0.648	0.836	0.836	0.704	0.745	0.599	0.784											
กะโหลกใบไหม้	0.637	0.672	0.637	0.677	0.638	0.636	0.650	0.692	0.759	0.759	0.647	0.625	0.672	0.719	0.662										
แห้วจีน	0.574	0.760	0.574	0.716	0.719	0.662	0.628	0.746	0.681	0.681	0.731	0.667	0.760	0.729	0.643	0.687									
เขียวหวาน	0.724	0.700	0.724	0.640	0.754	0.694	0.714	0.688	0.667	0.667	0.800	0.750	0.700	0.656	0.641	0.672	0.683								
กระโถนท้องพระโรง	0.612	0.693	0.612	0.742	0.818	0.703	0.655	0.727	0.721	0.721	0.788	0.772	0.693	0.754	0.710	0.605	0.754	0.760							
ค่อม	0.689	0.766	0.689	0.699	0.901	0.690	0.617	0.740	0.720	0.720	0.877	0.780	0.766	0.737	0.697	0.657	0.736	0.770	0.803						
กะโหลกใบยาว	0.676	0.729	0.676	0.687	0.791	0.646	0.628	0.687	0.754	0.754	0.791	0.713	0.729	0.714	0.729	0.611	0.682	0.748	0.785	0.778					
จีนแดง	0.691	0.667	0.691	0.847	0.690	0.662	0.661	0.686	0.766	0.766	0.701	0.727	0.667	0.741	0.727	0.731	0.711	0.698	0.737	0.694	0.711				
โกมินทร์	0.672	0.557	0.672	0.683	0.608	0.672	0.710	0.617	0.710	0.710	0.633	0.643	0.557	0.651	0.667	0.598	0.542	0.606	0.638	0.585	0.644	0.711			
จัมโบ้	0.252	0.333	0.252	0.288	0.338	0.281	0.232	0.336	0.326	0.326	0.304	0.300	0.333	0.336	0.366	0.311	0.293	0.281	0.314	0.385	0.293	0.286	0.257		
เพชรสาคร	0.276	0.276	0.276	0.281	0.317	0.291	0.278	0.331	0.288	0.288	0.314	0.310	0.276	0.331	0.331	0.237	0.286	0.273	0.325	0.366	0.303	0.311	0.286	0.673	

6.3) การสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

จากการสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมพบว่าสามารถแยกลำไยออกจากลิ้นจี่ได้อย่างชัดเจน โดยที่ลิ้นจี่ 23 พันธุ์ แบ่งเป็น 3 กลุ่ม ดังภาพที่ 68 โดยกลุ่ม I มี 11 พันธุ์เป็นพันธุ์ภาคกลางทั้งหมด ประกอบด้วย พันธุ์กรอบแก้ว พันธุ์เขียวหวาน พันธุ์กะโหลกใบยาว พันธุ์กระโถนท้องพระโรง พันธุ์ไทย พันธุ์กะโหลกใบอ้อ พันธุ์ค่อม พันธุ์ช่อระกำ พันธุ์แห้วจีน พันธุ์สำเภาแก้ว และพันธุ์สาแหรกทอง กลุ่ม II มี 7 พันธุ์ เป็นพันธุ์ภาคเหนือและภาคกลาง ประกอบด้วยพันธุ์กะโหลกใบไหม้ พันธุ์นครพนม 1 พันธุ์บริสเตอร์ พันธุ์ฮงฮวย พันธุ์สำเภาทอง พันธุ์จีนแดง และพันธุ์จีนใหญ่ กลุ่ม III มี 5 พันธุ์ ประกอบด้วยพันธุ์โกมินทร์ พันธุ์จักรพรรดิ พันธุ์กิมเจง พันธุ์กวางเจา และพันธุ์โอวเฮียะ ซึ่งเป็นพันธุ์ภาคเหนือทั้งหมด

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมายโมเลกุล ISSR จำนวน 24 ไพรเมอร์ พบว่าในไพรเมอร์ 835 และ 842 ให้แถบดีเอ็นเอที่มีพอลิมอร์ฟิซึมมากที่สุด จำนวน 9 แถบ ในงานวิจัยนี้ได้ให้แถบดีเอ็นเอที่มีพอลิมอร์ฟิซึมจำนวน 107 แถบ ในทั้งหมด 125 แถบ คิดเป็น 85.6 เปอร์เซ็นต์ มากกว่าในรายงานของ Degani et al. 2003 ซึ่งจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่ 66 พันธุ์โดยใช้ไพรเมอร์จำนวน 32 ไพรเมอร์ พบแถบดีเอ็นเอที่มีพอลิมอร์ฟิซึม 124 แถบ ในทั้งหมด 194 แถบ คิดเป็น 64 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ในไพรเมอร์ 817 มีแถบดีเอ็นเอที่พบได้เฉพาะพันธุ์บริวสเตอร์ และในไพรเมอร์ 881 มีแถบดีเอ็นเอที่พบได้เฉพาะพันธุ์กิมเจง ซึ่งแถบดีเอ็นเอนี้สามารถนำไปพัฒนาเป็นเครื่องหมายโมเลกุลเพื่อการระบุพันธุ์ได้

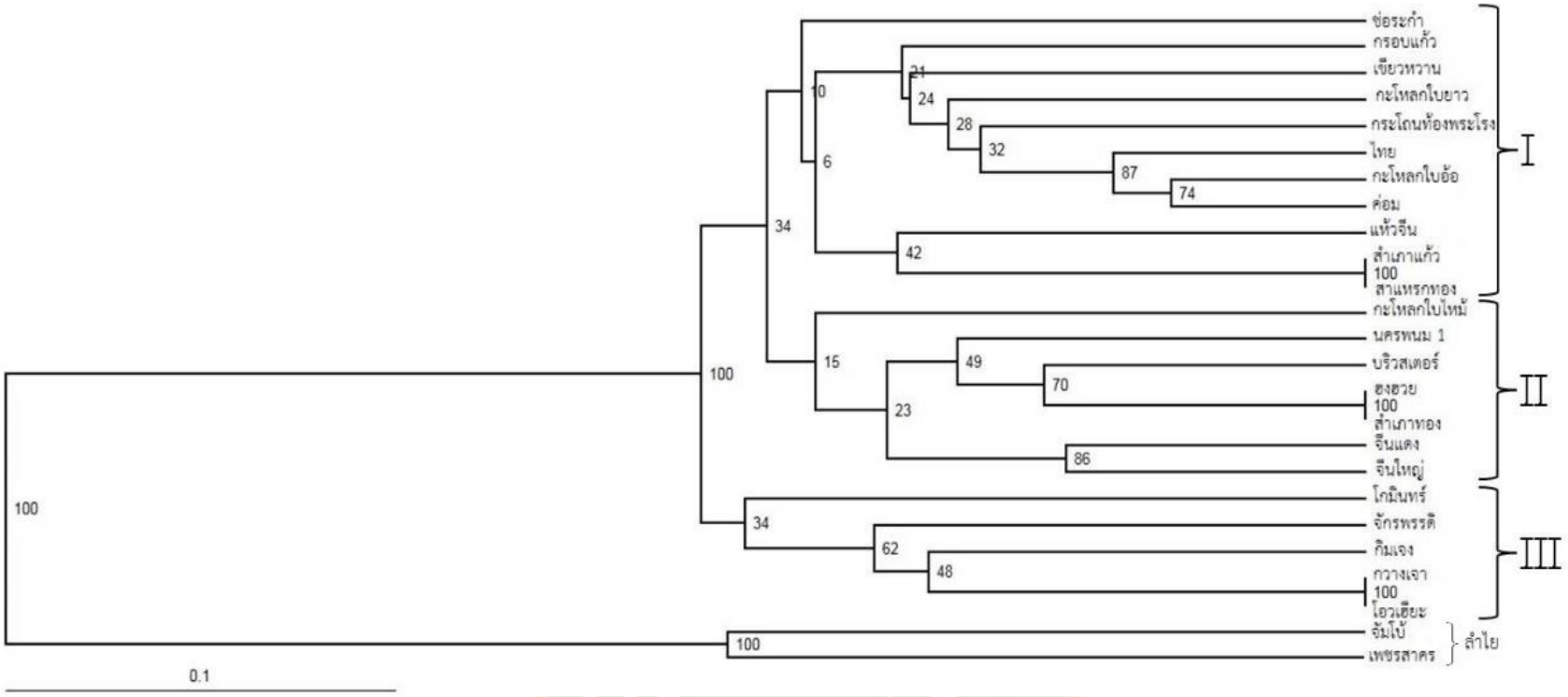
การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในงานวิจัยนี้พบว่าพันธุ์ค่อมกับพันธุ์สำเภาแก้วอยู่ในกลุ่มเดียวกัน (กลุ่ม I) ซึ่งเหมือนกับการจัดกลุ่มลิ้นจี่ของ Tongpamnak et al. (2002) ที่ศึกษาความหลากหลายและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลิ้นจี่ในประเทศไทยโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล RAPD จากผลการจัดกลุ่มลิ้นจี่ในงานวิจัยนี้พบว่าพันธุ์บริวสเตอร์กับพันธุ์ฮงฮวยอยู่ในกลุ่มเดียวกัน (กลุ่ม II) และลิ้นจี่พันธุ์กิมเจง พันธุ์จักรพรรดิ และพันธุ์โอวเฮียะอยู่ในกลุ่มเดียวกัน (กลุ่ม III) เหมือนกับการจัดกลุ่มลิ้นจี่ของ Cutler et al. (2006) จากเครื่องหมายโมเลกุลสการ์ (SCAR, sequence characterized amplified region) สำหรับลิ้นจี่ในประเทศไทยนั้นนำพันธุ์เข้ามาปลูกจากสาธารณรัฐประชาชนจีน เมื่อนำมาปลูกในเขตภาคกลางและภาคเหนือซึ่งมีสภาพภูมิอากาศแตกต่างกันอาจทำให้ลิ้นจี่มีการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อม จนทำให้มีความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างลิ้นจี่ที่ปลูกในภาคกลางกับภาคเหนือ ซึ่งถูกจัดให้อยู่ในกลุ่ม I และกลุ่ม III ตามลำดับ

จากค่าความเหมือนทางพันธุกรรมต่ำสุดของพันธุ์ลิ้นจี่คือ 0.542 เป็นค่าความเหมือนระหว่างพันธุ์โกมินทร์กับพันธุ์แห้วจีน แสดงว่าลิ้นจี่ทั้ง 2 สายพันธุ์นี้มีความต่างทางพันธุกรรมมากที่สุด และยังพบว่าการจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมลิ้นจี่ทั้ง 2 พันธุ์นี้อยู่ต่างกลุ่มกันชัดเจน จากค่าความเหมือนทางพันธุกรรมสูงสุดของพันธุ์ลิ้นจี่เป็น 1.000 คือ (1) พันธุ์กวางเจากับโอวเฮียะ (2) พันธุ์สำเภาแก้วกับพันธุ์สาแหรกทอง และ (3) พันธุ์ฮงฮวยกับพันธุ์สำเภาทอง แสดงให้เห็นว่าลิ้นจี่ในแต่ละคู่มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมาก

ที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่าพันธุ์ช่อระกำมีพันธุกรรมแตกต่างจากลิ้นจี่สายพันธุ์อื่นที่ถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน เช่นเดียวกับลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบไหม้ในกลุ่มที่ 2 และพันธุ์โกมินทร์ในกลุ่มที่ 3 ลิ้นจี่ทั้ง 3 พันธุ์นี้จึงอาจจะเหมาะกับการนำไปผสมข้ามเพื่อให้ได้ลูกผสมที่มีลักษณะทางพันธุกรรมดีเด่นกว่าพ่อแม่ ซึ่งมีรายการการผสมข้ามระหว่างพันธุ์เช่น ช่อระกำและพันธุ์กิมจี้โดย นิพัฒน์ (2558)

จากรายงานของ Tongpamnak et al. (2002) สามารถแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์สาแหรกทองกับพันธุ์สำเภาแก้วได้โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล AFLP และ RAPD จากรายงานของ Wangspa et al. (2005) พบว่าสามารถแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์โอวเฮียะกับพันธุ์กวางเจาได้โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล HAT-RAPD ดังนั้นหากต้องการจำแนกลิ้นจี่ทั้ง 3 คู่ นี้อาจเพิ่มจำนวนไพรเมอร์ให้มากขึ้น หรือใช้เครื่องหมายโมเลกุลชนิดอื่น และอาจใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาร่วมด้วย

ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมระหว่างลิ้นจี่ทั้ง 23 พันธุ์ อยู่ในช่วง 0.542-1.000 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.703 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับรายงานของ Bajpai et al. (2016) ที่ศึกษาลิ้นจี่ในประเทศอินเดียโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล RAPD, SSR และ ISSR มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมระหว่างพันธุ์อยู่ในช่วง 0.63-0.90 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.765 จากค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมของลิ้นจี่ทั้งสองแหล่งนั้นอยู่ในช่วงที่ใกล้เคียงกัน จึงถือได้ว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของลิ้นจี่ในแปลงรวบรวมและอนุรักษ์พันธุ์ลิ้นจี่ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ยังมีความหลากหลายทางพันธุกรรมไม่มาก ดังนั้นหากต้องการเพิ่มความหลากหลายของเชื้อพันธุกรรมลิ้นจี่ควรรวบรวมพันธุ์ลิ้นจี่ให้มีมากขึ้นเพื่อเป็นประโยชน์ต่อการอนุรักษ์พันธุ์และเป็นฐานพันธุกรรมของพันธุ์ลิ้นจี่ให้แก่นักปรับปรุงพันธุ์อีกด้วย

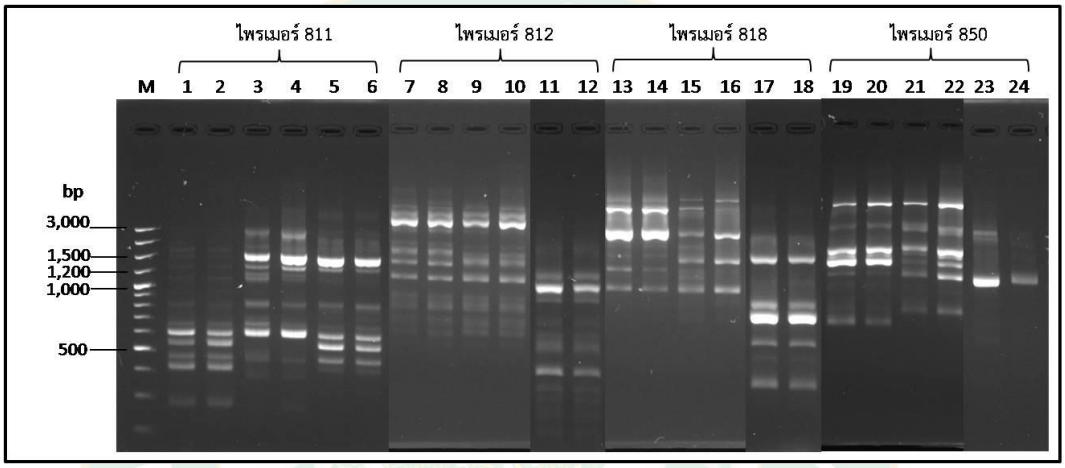


ภาพที่ 68 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในลิ้นจี่ 23 พันธุ์ ที่ได้จากเครื่องหมายโมเลกุล ISSR จำนวน 24 ไพรเมอร์ โดยใช้ลำไยเป็นตัวอย่างนอกกลุ่ม

7) การตรวจสอบพันธุ์ลิ้นจี่ที่ไม่แตกต่างทางพันธุกรรม

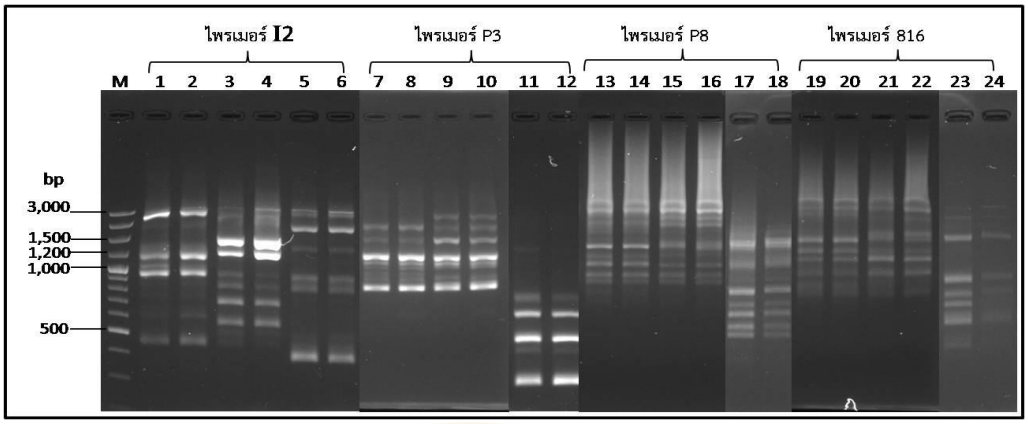
7.1) การเพิ่มจำนวนไพรเมอร์ ISSR

เนื่องจากไพรเมอร์ ISSR จำนวน 24 ไพรเมอร์ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์สำเภาแก้วกับพันธุ์สำเภาทอง พันธุ์กวางเจากับพันธุ์โอวเฮียะ พันธุ์ฮงฮวยกับพันธุ์สำเภาทอง จึงได้นำไพรเมอร์ ISSR จำนวน 8 ไพรเมอร์มาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของลิ้นจี่ทั้ง 3 คู่ พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ทุกตัวอย่าง และเมื่อตรวจสอบแถบดีเอ็นเอระหว่างพันธุ์พบว่าไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างระหว่างลิ้นจี่แต่ละคู่ ดังภาพที่ 69 และ 70



ภาพที่ 69 ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของลิ้นจี่ 6 พันธุ์ด้วยไพรเมอร์ 811, 812, 818 และ 850

หมายเหตุ ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน GeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1-6 คือ ไพรเมอร์ 811 พันธุ์สาแหรกทอง พันธุ์สำเภาแก้ว พันธุ์ฮงฮวย พันธุ์สำเภาทอง พันธุ์กวางเจา และพันธุ์โอวเฮียะ ช่องที่ 7-12 คือ ไพรเมอร์ 812 พันธุ์สาแหรกทอง พันธุ์สำเภาแก้ว พันธุ์ฮงฮวย พันธุ์สำเภาทอง พันธุ์กวางเจา และพันธุ์โอวเฮียะ ช่องที่ 13-18 คือ ไพรเมอร์ 818 พันธุ์สาแหรกทอง พันธุ์สำเภาแก้ว พันธุ์ฮงฮวย พันธุ์สำเภาทอง พันธุ์กวางเจา และพันธุ์โอวเฮียะ ช่องที่ 19-24 คือไพรเมอร์ 850 พันธุ์สาแหรกทอง พันธุ์สำเภาแก้ว พันธุ์ฮงฮวย พันธุ์สำเภาทอง พันธุ์กวางเจาและพันธุ์โอวเฮียะ



ภาพที่ 70 ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของลิ้นจี่ 6 พันธุ์ด้วยไพรเมอร์ I2, P3, P8 และ 816

หมายเหตุ ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน GeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1-6 คือ ไพรเมอร์ I2 พันธุ์สาแหรกทอง พันธุ์สำเภาแก้ว พันธุ์ฮงฮวย พันธุ์สำเภาทอง พันธุ์กวางเจา และพันธุ์โอวเฮียะ ช่องที่ 7-12 คือ ไพรเมอร์ P3 พันธุ์สาแหรกทอง พันธุ์สำเภาแก้ว พันธุ์ฮงฮวย พันธุ์สำเภาทอง พันธุ์กวางเจา และพันธุ์โอวเฮียะ ช่องที่ 13-18 คือ ไพรเมอร์ P8 พันธุ์สาแหรกทอง พันธุ์สำเภาแก้ว พันธุ์ฮงฮวย สำเภาทอง พันธุ์กวางเจา และพันธุ์โอวเฮียะ ช่องที่ 19-24 คือ ไพรเมอร์ 816 พันธุ์สาแหรกทอง พันธุ์สำเภาแก้ว พันธุ์ฮงฮวย พันธุ์สำเภาทอง พันธุ์กวางเจา และพันธุ์โอวเฮียะ

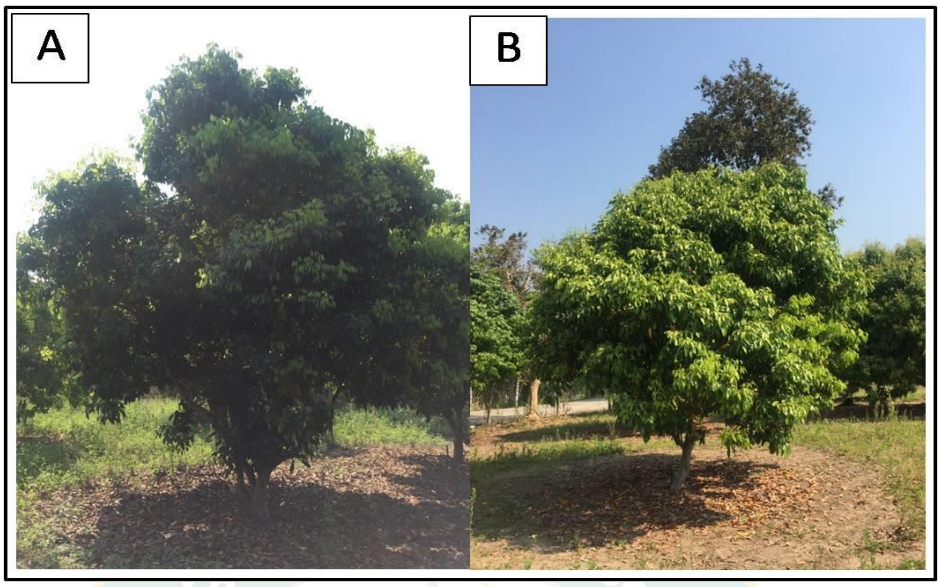
จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของลิ้นจี่ทั้ง 3 คู่ ได้แก่ พันธุ์สาแหรกทองกับพันธุ์สำเภาแก้ว, พันธุ์ฮงฮวยกับพันธุ์สำเภาทอง และพันธุ์กวางเจากับพันธุ์โอวเฮียะ ด้วยไพรเมอร์ ISSR ทั้งหมด 8 ไพรเมอร์ พบว่าไม่มีแถบดีเอ็นเอที่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ลิ้นจี่ในแต่ละคู่ ดังนั้นอาจต้องใช้ไพรเมอร์ที่มากขึ้นหรือใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอชนิดอื่นร่วมด้วย

7.2) การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

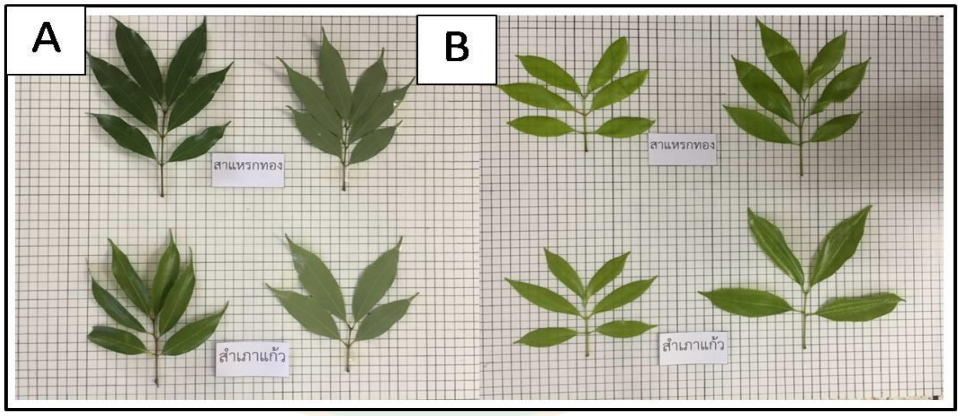
1) จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทองกับพันธุ์สำเภาแก้วพบว่าลักษณะส่วนใหญ่มีความใกล้เคียงกันมากซึ่งทั้งสองพันธุ์มีความแตกต่างกันที่ลักษณะของสีเปลือกลำต้นโดยที่พันธุ์สาแหรกทองมีสีเทาแกมเขียว ส่วนพันธุ์สำเภาแก้วมีสีเทาแกมน้ำตาล ดังตารางที่ 18 และภาพที่ 71-75

ตารางที่ 18 การเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทองกับพันธุ์สำเภาแก้ว

ลักษณะ	พันธุ์สาแหรกทอง	พันธุ์สำเภาแก้ว	ภาพที่
1. ลักษณะทรงพุ่ม			
1.1 รูปทรงของทรงพุ่ม (shape of canopy)	ครึ่งวงกลม	ครึ่งวงกลม	71
2. ลักษณะผิวเปลือกและสีของผิวเปลือกลำต้น			
2.1 ลักษณะเปลือกลำต้น (trunk surface)	ผิวเรียบ	ผิวเรียบ	73
2.2 สีเปลือกลำต้น (colour of trunk surface)	เทาแกมเขียว (L*46.1 a*5.4 b*15.2)	เทาแกมน้ำตาล (L*37.1 a*5 b*15.6)	73
3. ลักษณะของใบ			
3.1 จำนวนคู่ของใบย่อย (pair of leaflet)	2-3 คู่ใบย่อย	2-3 คู่ใบย่อย	72
3.2 สีของใบอ่อน (colour of young leaflet)	เหลืองปนเขียว	เหลืองปนเขียว	72
3.3 สีของใบแก่ (colour of mature leaflet)	เขียวเข้ม	เขียว	72
3.4 รูปร่างของใบ (shape of leaflet)	รี	รี	72
3.5 ลักษณะของปลายใบ (apex of leaflet)	ยาวคล้ายหาง	ยาวคล้ายหาง	72
3.6 ลักษณะฐานใบ (base of leaflet)	ลิ่ม	ลิ่ม	72
3.7 ความมันของใบ (leaf glossiness)	มัวาว	มันวาว	72
3.8 ลักษณะขอบใบ (leaf margin)	เรียบ	เรียบ	72
3.9 ลักษณะแผ่นใบ (leaf blade)	เรียบ	เรียบ	72
4. ลักษณะของกิ่งและการแตกกิ่ง			
4.1 ลักษณะกิ่ง (branch)	แบนและบิด	แบนและบิด	74
4.2 ลักษณะการแตกกิ่ง (branching type)	แตกออกด้านข้าง	แตกออกด้านข้าง	74
5. การออกดอก	ออกดอก	ออกดอก	75

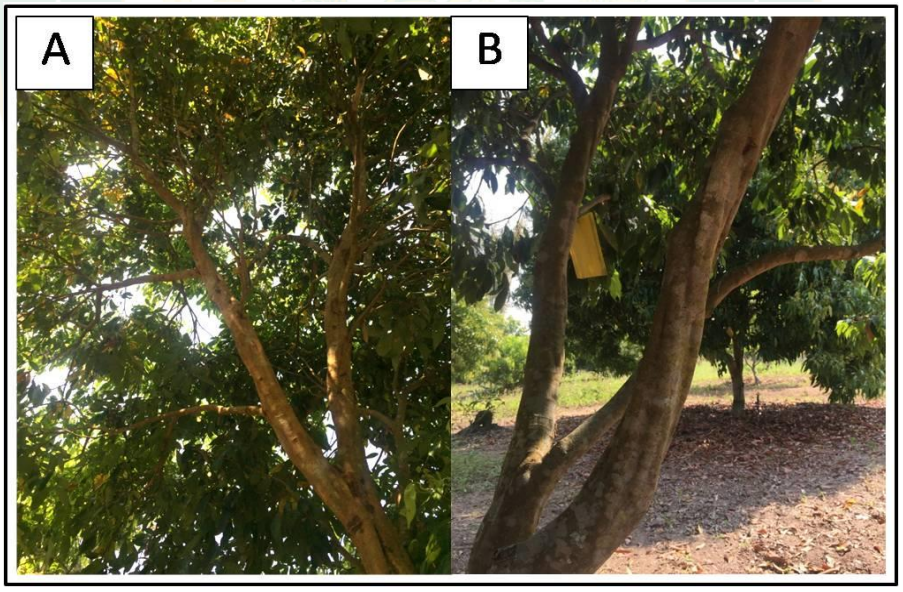


ภาพที่ 71 ลักษณะทรงพุ่มของลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทองและพันธุ์สำเภาแก้ว
A คือ พันธุ์สาแหรกทอง B คือ พันธุ์สำเภาแก้ว

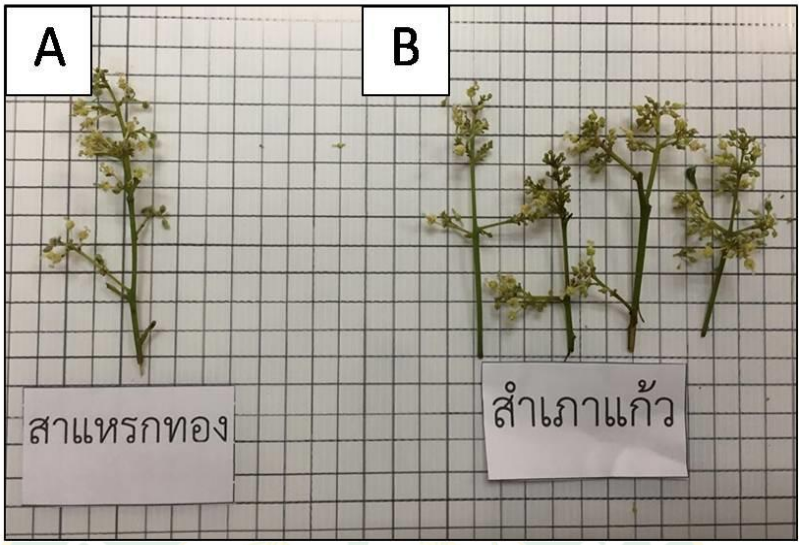


ภาพที่ 72 ลักษณะใบของลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทองและพันธุ์สำเภาแก้ว
A คือ สีของใบแก่ B คือ สีของใบอ่อน รูปบน คือ พันธุ์สาแหรกทอง รูปล่าง คือ พันธุ์สำเภาแก้ว

ภาพที่ 73 ลักษณะผิวเปลือกลำต้นของลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทองและพันธุ์สำเภาแก้ว
A คือ พันธุ์สาแหรกทอง B คือ พันธุ์สำเภาแก้ว



ภาพที่ 74 ลักษณะกิ่งของลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทองและพันธุ์สำเภาแก้ว
A คือ พันธุ์สาแหรกทอง B คือ พันธุ์สำเภาแก้ว

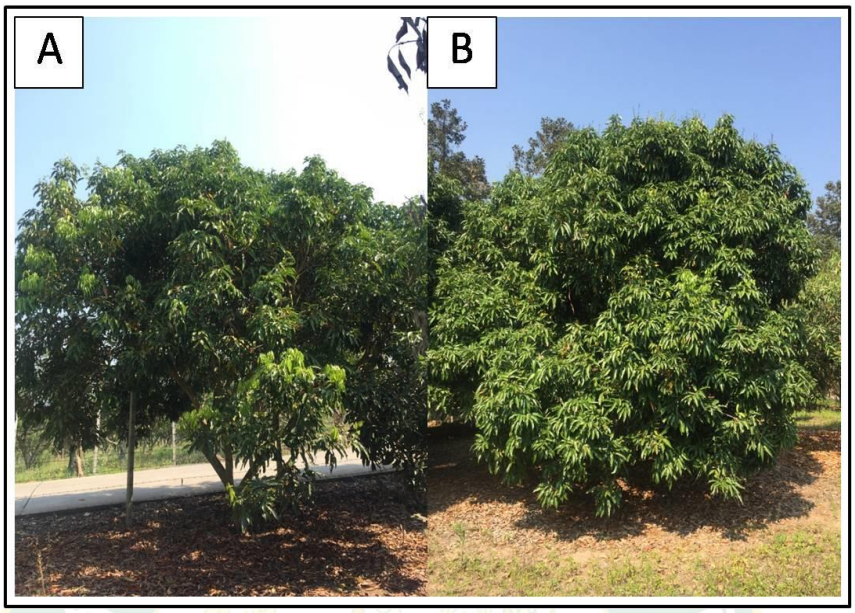


ภาพที่ 75 ลักษณะการออกดอกของลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทองและพันธุ์สำเภาแก้ว
A คือ พันธุ์สาแหรกทอง B คือ พันธุ์สำเภาแก้ว

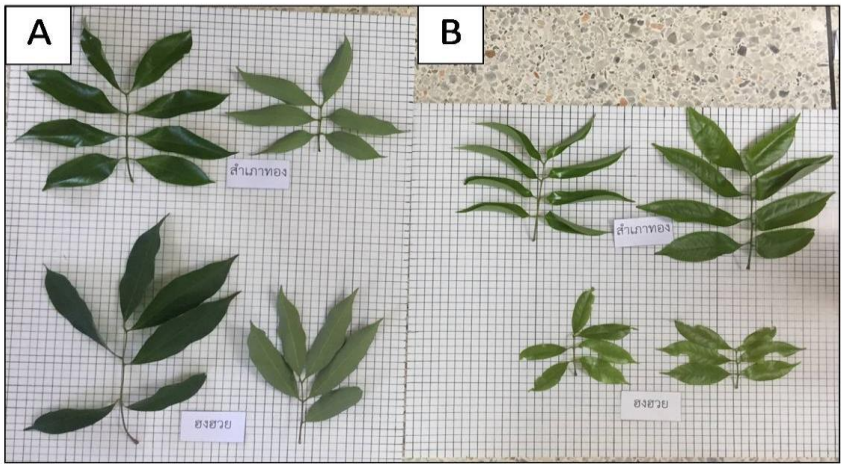
2) การเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทองกับพันธุ์ฮงฮวยพบว่ามีความแตกต่างกันที่สีของใบแก่โดยที่พันธุ์สำเภาทองมีสีเขียว ส่วนพันธุ์ฮงฮวยมีสีเขียวเข้ม และแตกต่างกันที่ลักษณะของรูปร่างใบ พันธุ์สำเภาทองมีรูปร่างใบรีค่อนข้างกว้าง ส่วนพันธุ์ฮงฮวยมีรูปร่างใบรี ดังตารางที่ 19 และภาพที่ 76-80

ตารางที่ 19 การเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทองกับพันธุ์ฮงฮวย

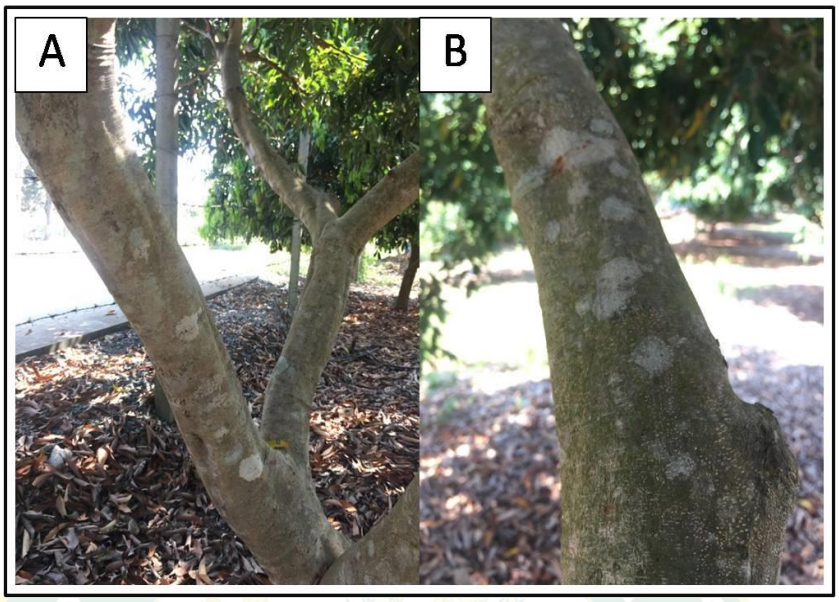
ลักษณะ	พันธุ์สำเภาทอง	พันธุ์ฮงฮวย	ภาพที่
1. ลักษณะทรงพุ่ม			
1.1 รูปทรงของทรงพุ่ม (shape of canopy)	ครึ่งวงกลม	ครึ่งวงกลม	76
2. ลักษณะผิวเปลือกและสีของผิวเปลือกลำต้น			
2.1 ลักษณะเปลือกลำต้น (trunk surface)	ผิวเรียบ	ผิวเรียบ	78
2.2 สีเปลือกลำต้น (colour of trunk surface)	เทาแกมเขียว (L*40 a*6.8 b*25.1)	เทาแกมเขียว (L*45.2 a*4.5 b*17.7)	78
3. ลักษณะของใบ			
3.1 จำนวนคู่ของใบย่อย (pair of leaflet)	3-4 คู่ใบย่อย	3-4 คู่ใบย่อย	77
3.2 สีของใบอ่อน (colour of young leaflet)	เหลืองปนเขียว	เหลืองปนเขียว	77
3.3 สีของใบแก่ (colour of mature leaflet)	เขียว	เขียวเข้ม	77
3.4 รูปร่างของใบ (shape of leaflet)	รีค่อนข้างกว้าง	รี	77
3.5 ลักษณะของปลายใบ (apex of leaflet)	ยาวคล้ายหาง	ยาวคล้ายหาง	77
3.6 ลักษณะฐานใบ (base of leaflet)	ลิ่ม	ลิ่ม	77
3.7 ความมันของใบ (leaf glossiness)	มันวาว	มันวาว	77
3.8 ลักษณะขอบใบ (leaf margin)	เรียบ	เรียบ	77
3.9 ลักษณะแผ่นใบ (leaf blade)	เรียบ	เรียบ	77
4. ลักษณะของกิ่งและการแตกกิ่ง			77
4.1 ลักษณะกิ่ง (branch)	แบนและบิด	แบนและบิด	79
4.2 ลักษณะการแตกกิ่ง (branching type)	แตกออกด้านข้าง	แตกออกด้านข้าง	79
5. การออกดอก	ออกดอก	ออกดอก	80



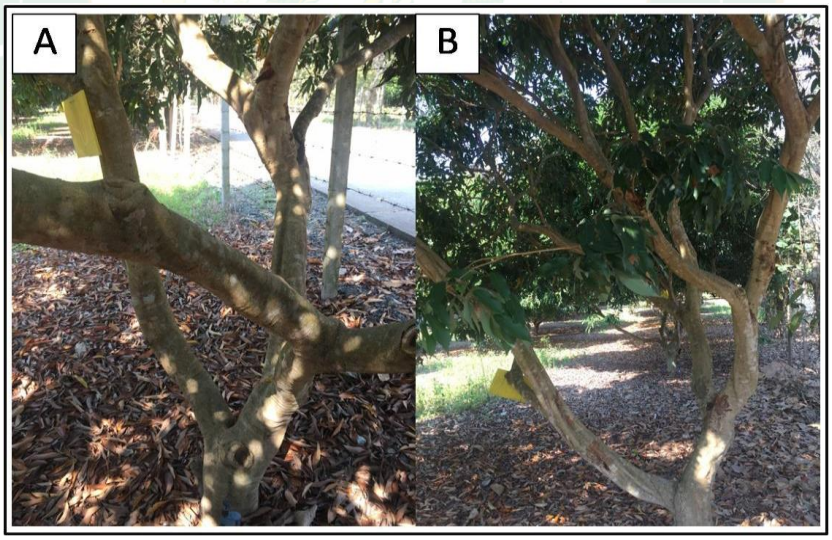
ภาพที่ 76 ลักษณะทรงพุ่มของลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทองและพันธุ์ฮงฮวย
A คือ พันธุ์สำเภาทอง B คือ พันธุ์ฮงฮวย



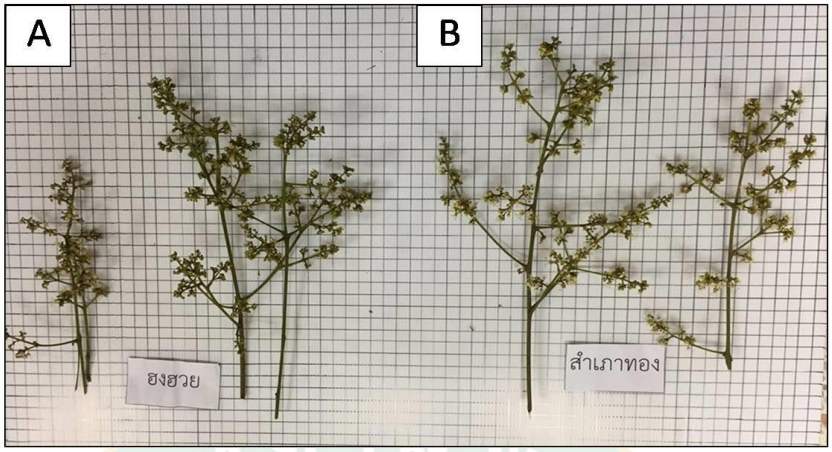
ภาพที่ 77 ลักษณะใบของลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทองและพันธุ์ฮงฮวย
A คือ ใบแก่ B คือ ใบอ่อน รูปบน คือ พันธุ์สำเภาทอง รูปล่าง คือ พันธุ์ฮงฮวย



ภาพที่ 78 ลักษณะผิวเปลือกลำต้นของลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทองและพันธุ์ฮงฮวย
A คือ พันธุ์สำเภาทอง B คือ พันธุ์ฮงฮวย



ภาพที่ 79 ลักษณะของกิ่งของลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทองและพันธุ์ฮงฮวย
A คือ พันธุ์สำเภาทอง B คือ พันธุ์ฮงฮวย

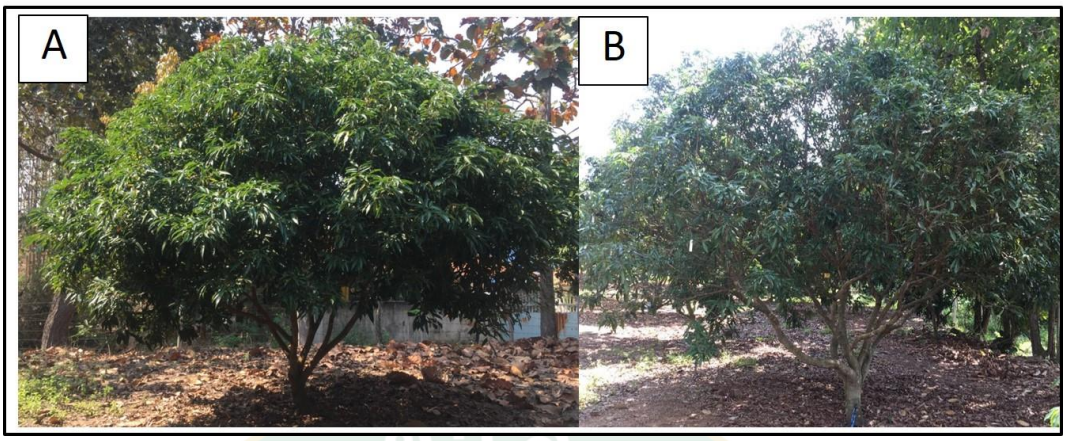


ภาพที่ 80 ลักษณะการออกดอกของลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทองและพันธุ์ฮงฮวย A คือ พันธุ์ฮงฮวย B คือ พันธุ์สำเภาทอง

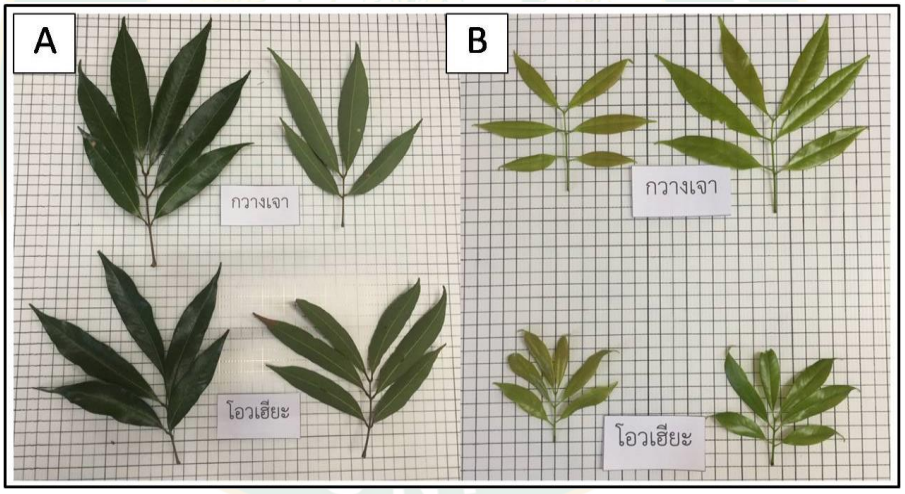
3) การเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลิ้นจี่พันธุ์กวางเจากับพันธุ์โอวเฮียะพบว่ามีความแตกต่างกันที่ลักษณะสีของเปลือกลำต้นโดยที่พันธุ์กวางเจามีสีเทาแกมเขียว ส่วนพันธุ์โอวเฮียะมีสีเทาแกมน้ำตาล ดังตารางที่ 20 และภาพที่ 81-84

ตารางที่ 20 การเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลิ้นจี่พันธุ์กวางเจากับพันธุ์โอวเฮียะ

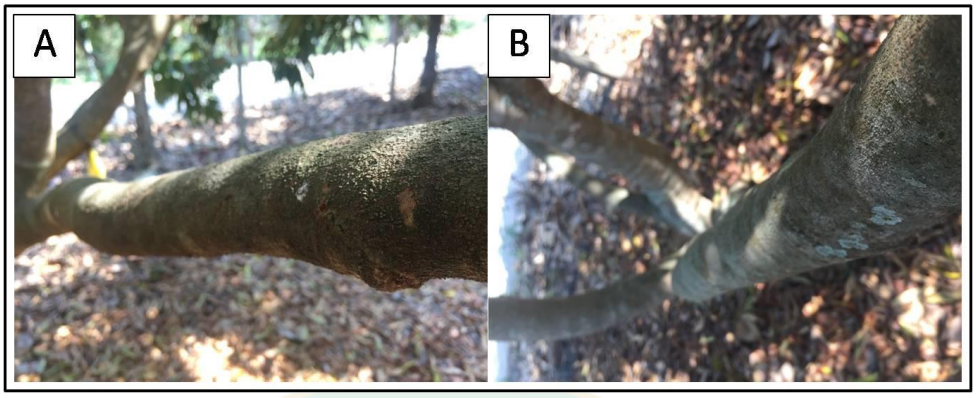
ลักษณะ	กวางเจา	โอวเฮียะ	ภาพที่
1. ลักษณะทรงพุ่ม			
1.1 รูปทรงของทรงพุ่ม (shape of canopy)	ครึ่งวงกลม	ครึ่งวงกลม	81
2. ลักษณะผิวเปลือกและสีของผิวเปลือกลำต้น			
2.1 ลักษณะเปลือกลำต้น (trunk surface)	ผิวเรียบ	ผิวเรียบ	83
2.2 สีเปลือกลำต้น (colour of trunk surface)	เทาแกมเขียว (L*45.3 a*9.9 b*18.7)	เทาแกมน้ำตาล (L*31.9 a*4.8 b*18.3)	83
3. ลักษณะของใบ			
3.1 จำนวนคู่ของใบย่อย (pair of leaflet)	2-3 คู่ใบย่อย	3 คู่ใบย่อย	82
3.2 สีของใบอ่อน (colour of young leaflet)	เหลืองปนเขียว	เหลืองปนเขียว	82
3.3 สีของใบแก่ (colour of mature leaflet)	เขียวเข้ม	เขียวเข้ม	82
3.4 รูปร่างของใบ (shape of leaflet)	รีค่อนข้างแคบ	รี,รีค่อนข้างแคบ	82
3.5 ลักษณะของปลายใบ (apex of leaflet)	ยาวคล้ายหาง	ยาวคล้ายหาง	82
3.6 ลักษณะฐานใบ (base of leaflet)	ลิ่ม	ลิ่ม	82
3.7 ความมันของใบ (leaf glossiness)	มันวาว	มันวาว	82
3.8 ลักษณะขอบใบ (leaf margin)	เรียบ	เรียบ	82
3.9 ลักษณะแผ่นใบ (leaf blade)	เรียบ	เรียบ	82
4. ลักษณะของกิ่งและการแตกกิ่ง			
4.1 ลักษณะกิ่ง (branch)	กลม	กลม	84
4.2 ลักษณะการแตกกิ่ง (branching type)	แตกออกด้านข้าง	แตกออกด้านข้าง	84
5. การออกดอก	ไม่ออกดอก	ไม่ออกดอก	....



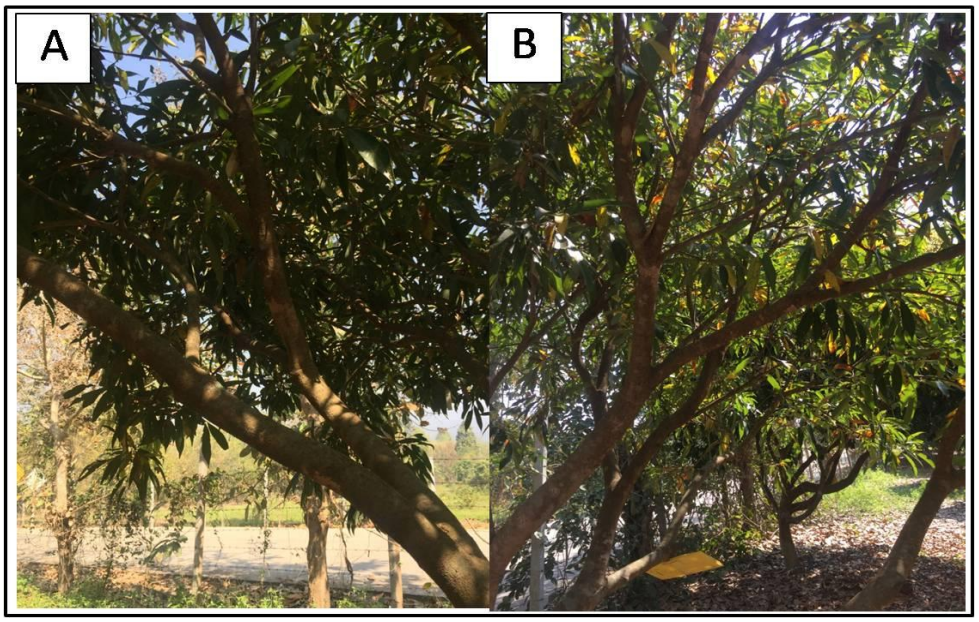
ภาพที่ 81 ลักษณะทรงพุ่มของลิ้นจี่พันธุ์กวางเจาและพันธุ์โอวเฮียะ
A คือ พันธุ์กวางเจา B คือ พันธุ์โอวเฮียะ



ภาพที่ 82 ลักษณะใบของลิ้นจี่พันธุ์กวางเจาและพันธุ์โอวเฮียะ
A คือใบแก่ B คือใบอ่อน รูปบน คือ พันธุ์กวางเจา รูปล่าง คือ พันธุ์โอวเฮียะ



ภาพที่ 83 ลักษณะของผิวเปลือกลำต้นของลิ้นจี่พันธุ์กวางเจาและพันธุ์โอวเฮียะ
A คือ พันธุ์กวางเจา B คือ พันธุ์โอวเฮียะ



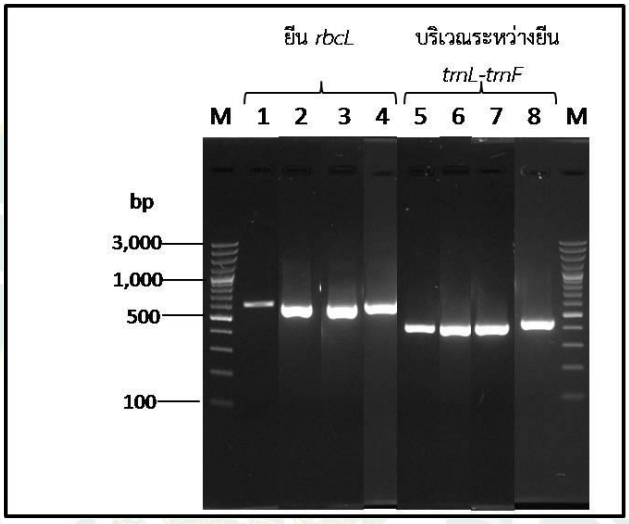
ภาพที่ 84 ลักษณะของกิ่งของลิ้นจี่พันธุ์กวางเจาและพันธุ์โอวเฮียะ
A คือ พันธุ์กวางเจา B คือ พันธุ์โอวเฮียะ

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลิ้นจี่ทั้ง 3 คู่นั้นพบว่าลักษณะที่มีความแตกต่างกันนั้นเป็นลักษณะภายนอกที่ต้องมีความเชี่ยวชาญในการจัดจำแนกลักษณะ เพราะลักษณะเหล่านี้สิ่งแวดล้อม สภาพพื้นที่ เช่น ความอุดมสมบูรณ์ของดิน เป็นต้น อาจมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะหากมีการเปลี่ยนสถานที่ในการปลูกและสภาพแวดล้อมในการปลูก ดังนั้นควรมีการศึกษาและจัดทำฐานข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลิ้นจี่ด้วย เพื่อเป็นประโยชน์ในการเปรียบเทียบลักษณะของพันธุ์ลิ้นจี่ที่ปลูกต่างสภาพแวดล้อมกัน

การศึกษาความผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนในคลอโรพลาสต์

1) ผลการทดสอบอุณหภูมิ Annealing ของแต่ละไพรเมอร์

ผลการทดสอบอุณหภูมิ Annealing ที่อุณหภูมิ 50, 55, 60 และ 65 องศาเซลเซียส ของไพรเมอร์สำหรับเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีน *rbcL* และบริเวณระหว่างยีน *trnL-trnF* ทดสอบกับลิ้นจี่พันธุ์กวางเจา พบว่าที่อุณหภูมิที่ 55 องศาเซลเซียส ให้แถบดีเอ็นเอที่ชัดเจนเพียงหนึ่งแถบเท่านั้น จึงเลือกใช้อุณหภูมิ Annealing ที่ 55 องศาเซลเซียส ดังภาพที่ 85

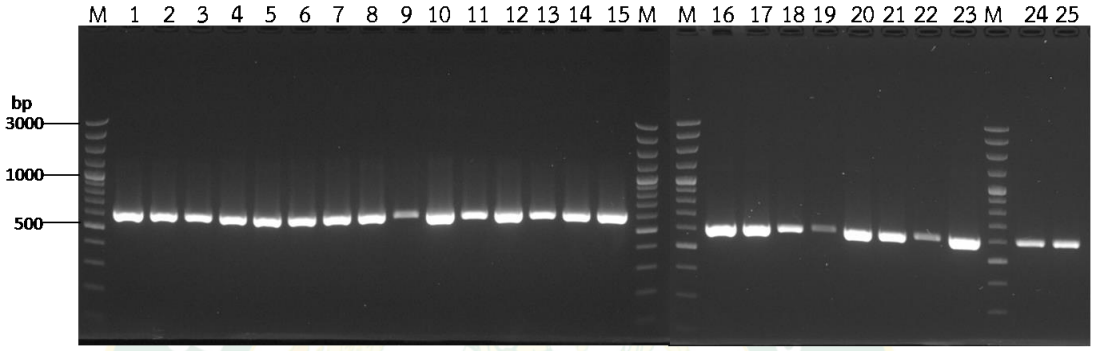


ภาพที่ 85 ผลการทดสอบอุณหภูมิ Annealing ของไพรเมอร์ยีน *rbcL* และบริเวณระหว่างยีน *trnL-trnF*

หมายเหตุ ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน GeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1-4 คือ การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีน *rbcL* โดยใช้อุณหภูมิ annealing ที่ 65, 60, 55 และ 50 องฮาเซลเซียส ตามลำดับ ช่องที่ 5-8 คือการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของบริเวณระหว่างยีน *trnL-trnF* โดยใช้อุณหภูมิ annealing ที่ 65, 60, 55 และ 50 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

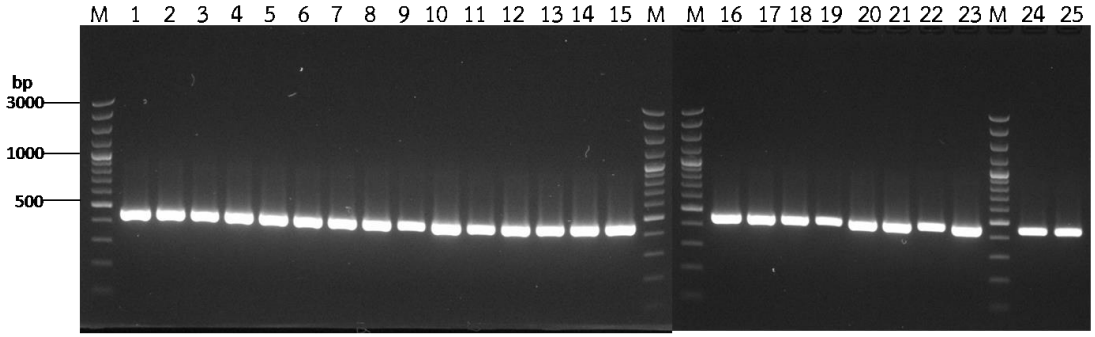
2) ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรส

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของลิ้นจี่ 23 พันธุ์และลำไย 2 พันธุ์ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสโดยใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะกับยีน *rbcL* และบริเวณระหว่างยีน *trnL-trnF* พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณดังกล่าวได้ทั้งหมด แถบของดีเอ็นเอมีขนาดประมาณ 600 คู่เบส และ 450 คู่เบส ตามลำดับ โดยที่ขนาดแถบดีเอ็นเอของลิ้นจี่แต่ละพันธุ์ไม่มีความแตกต่างกัน ดังภาพที่ 86 และ 87



ภาพที่ 86 ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีน *rbcL*

หมายเหตุ ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน GeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กวางเจา ช่องที่ 2 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทอง ช่องที่ 3 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โอวเฮียะ ช่องที่ 4 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนใหญ่ ช่องที่ 5 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบอ้อ ช่องที่ 6 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กิมเจง ช่องที่ 7 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ ช่องที่ 8 คือลิ้นจี่พันธุ์ช่อระกำ ช่องที่ 9 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย ช่องที่ 10 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทอง ช่องที่ 11 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ไทย ช่องที่ 12 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กรอบแก้ว ช่องที่ 13 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาแก้ว ช่องที่ 14 คือ ลิ้นจี่พันธุ์นครพนม 1 ช่องที่ 15 คือ ลิ้นจี่พันธุ์บริวสเตอร์ ช่องที่ 16 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบไหม้ ช่องที่ 17 คือ ลิ้นจี่พันธุ์แห้วจีน ช่องที่ 18 คือ ลิ้นจี่พันธุ์เขียวหวาน ช่องที่ 19 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กระโถนท้องพระโรง ช่องที่ 20 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ค่อม ช่องที่ 21 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบยาว ช่องที่ 22 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนแดง ช่องที่ 23 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โกมินทร์ ช่องที่ 24 คือ ลำไยพันธุ์จัมโบ้ และช่องที่ 25 คือ ลำไยพันธุ์เพชรสาคร



ภาพที่ 87 ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของบริเวณระหว่างยีน *trnL-trnF*

หมายเหตุ ช่อง M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน GeneRulerTM 100 bp Plus DNA Ladder ช่องที่ 1 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กวางเจา ช่องที่ 2 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สาแหรกทอง ช่องที่ 3 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โอวเฮียะ ช่องที่ 4 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนใหญ่ ช่องที่ 5 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบอ้อ ช่องที่ 6 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กิมเจง ช่องที่ 7 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ ช่องที่ 8 คือลิ้นจี่พันธุ์ช่อระกำ ช่องที่ 9 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย ช่องที่ 10 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาทอง ช่องที่ 11 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ไทย ช่องที่ 12 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กรอบแก้ว ช่องที่ 13 คือ ลิ้นจี่พันธุ์สำเภาแก้ว ช่องที่ 14 คือ ลิ้นจี่พันธุ์นครพนม 1 ช่องที่ 15 คือ ลิ้นจี่พันธุ์บริวสเตอร์ ช่องที่ 16 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบไหม้ ช่องที่ 17 คือ ลิ้นจี่พันธุ์แห้วจีน ช่องที่ 18 คือ ลิ้นจี่พันธุ์เขียวหวาน ช่องที่ 19 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กระโถนท้องพระโรง ช่องที่ 20 คือ ลิ้นจี่พันธุ์ค่อม ช่องที่ 21 คือ ลิ้นจี่พันธุ์กะโหลกใบยาว ช่องที่ 22 คือ ลิ้นจี่พันธุ์จีนแดง ช่องที่ 23 คือ ลิ้นจี่พันธุ์โกมินทร์ ช่องที่ 24 คือ ลำไยพันธุ์จัมโบ้ และช่องที่ 25 คือ ลำไยพันธุ์เพชรสาคร

3) การวิเคราะห์ผล

3.1) ผลการวิเคราะห์ตรวจสอบความสอดคล้องของลำดับนิวคลีโอไทด์

เมื่อวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของลิ้นจี่ 23 พันธุ์ และลำไย 2 พันธุ์ พบว่าสามารถอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ได้ทั้งฝั่ง forward และ reverse และสัญญาณของโครมาโทแกรมอยู่ในระดับที่น่าเชื่อถือ เมื่อรวมลำดับนิวคลีโอไทด์สองเส้นเข้าด้วยกัน (Contig) พบว่าสามารถอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL* ได้ความยาว 506 คู่เบส โดยนิวคลีโอไทด์ตัวแรกที่สามารถอ่านได้ห่างจากนิวคลีโอไทด์ตัวแรกของไพรเมอร์ฝั่ง forward 60 เบส ส่วนบริเวณระหว่างยีน *trnL-trnF* ได้ความยาว 349-356 คู่เบส โดยนิวคลีโอไทด์ตัวแรกที่สามารถอ่านได้ห่างจากนิวคลีโอไทด์ตัวแรกของไพรเมอร์ฝั่ง forward 67 และได้นำลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งสองบริเวณบันทึกไว้ในฐานข้อมูล GenBank ได้รับหมายเลขเฉพาะของลำดับนิวคลีโอไทด์ ดังตารางที่ 21

ตารางที่ 21 ชื่อพันธุ์ลิ้นจี่ ลำไย และหมายเลขเฉพาะของลำดับนิวคลีโอไทด์ (Accession number) ของยีน *rbcL* และบริเวณระหว่างยีน *trnL-trnF* ที่ใช้ในงานวิจัยนี้

ชื่อพันธุ์	หมายเลขเฉพาะของลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล NCBI	
	ยีน *rbcL*	บริเวณระหว่างยีน *trnL-trnF*
1. กวางเจา	MK189224	MK189249
2. สาแหรกทอง	MK189232	MK189257
3. โอวเฮียะ	MK189231	MK189256
4. จีนใหญ่	MK189219	MK189244
5. กะโหลกใบอ้อ	MK189221	MK189246
6. กิมเจง	MK189223	MK189248
7. จักรพรรดิ	MK189215	MK189240
8. ช่อระกำ	MK189214	MK189239
9. ฮงฮวย	MK189217	MK189242
10. สำเภาทอง	MK189234	MK189259
11. ไทย	MK189235	MK189260
12. กรอบแก้ว	MK189227	MK189252
13. สำเภาแก้ว	MK189233	MK189258
14. นครพนม 1	MK189230	MK189255
15. บริวสเตอร์	MK189213	MK189238
16. กะโหลกใบไหม้	MK189220	MK189245
17. แห้วจีน	MK189216	MK189241
18. เขียวหวาน	MK189229	MK189254
19. กระโถนท้องพระโรง	MK189228	MK189253
20. ค่อม	MK189225	MK189250
21. กะโหลกใบยาว	MK189222	MK189247
22. จีนแดง	MK189218	MK189243
23. โกมินทร์	MK189226	MK189251
24. ลำไย พันธุ์จัมโบ้	MK189236	MK189261
25. ลำไย พันธุ์เพชรสาคร	MK189237	MK189262

3.2) ผลการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์

จากการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL* ในลิ้นจี่และลำไยพบความผันแปรเพียง 1 ตำแหน่ง ในพันธุ์จีนแดง พันธุ์จัมโบ้และพันธุ์เพชรสาคร ที่ตำแหน่ง 358 คู่เบส เป็นบริเวณที่เกิด SNPs ของนิวคลีโอไทด์ G/A โดยมีการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์จาก กวานีน (Guanine, G) เป็น อะดีนีน (Adenine, A) ซึ่งเป็นการแทนที่นิวคลีโอไทด์แบบทรานซิชั่น (Transition) ดังภาพที่ 88 และตารางที่ 22 เมื่อพิจารณาการแปลรหัส (Translation) เป็นกรดอะมิโนของยีน *rbcL* พบว่าตำแหน่งที่มีการเปลี่ยนแปลงลำดับนิวคลีโอไทด์ไม่มีการเปลี่ยนแปลงลำดับกรดอะมิโน ซึ่งถือว่าเป็นการกลายพันธุ์แบบพ้อง (synonymous mutation หรือ silent mutation) (ธีระชัย, 2553)

จากการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณระหว่างยีน *trnL-trnF* ในลิ้นจี่และลำไยพบความผันแปรทั้งหมด 8 ตำแหน่ง แสดงในภาพที่ 89 และแสดงตำแหน่งและชนิดของการกลายพันธุ์ในตารางที่ 22 ซึ่งในพันธุ์จีนแดงพบบริเวณสนิปส์ที่ให้ความแตกต่างจากพันธุ์อื่น ๆ จำนวน 2 ตำแหน่ง คือ ตำแหน่งที่ 164 และ 167 คู่เบส นอกจากนี้ยังมีบริเวณที่เป็น InDel อีก 1 บริเวณ คือบริเวณที่ 201-206 จากบริเวณดังกล่าวสามารถนำมาพัฒนาเพื่อใช้เป็นเครื่องหมายโมเลกุลในการบ่งบอกความจำเพาะของพันธุ์จีนแดงได้

ตารางที่ 22 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL* และบริเวณระหว่างยีน *trnL-trnF*

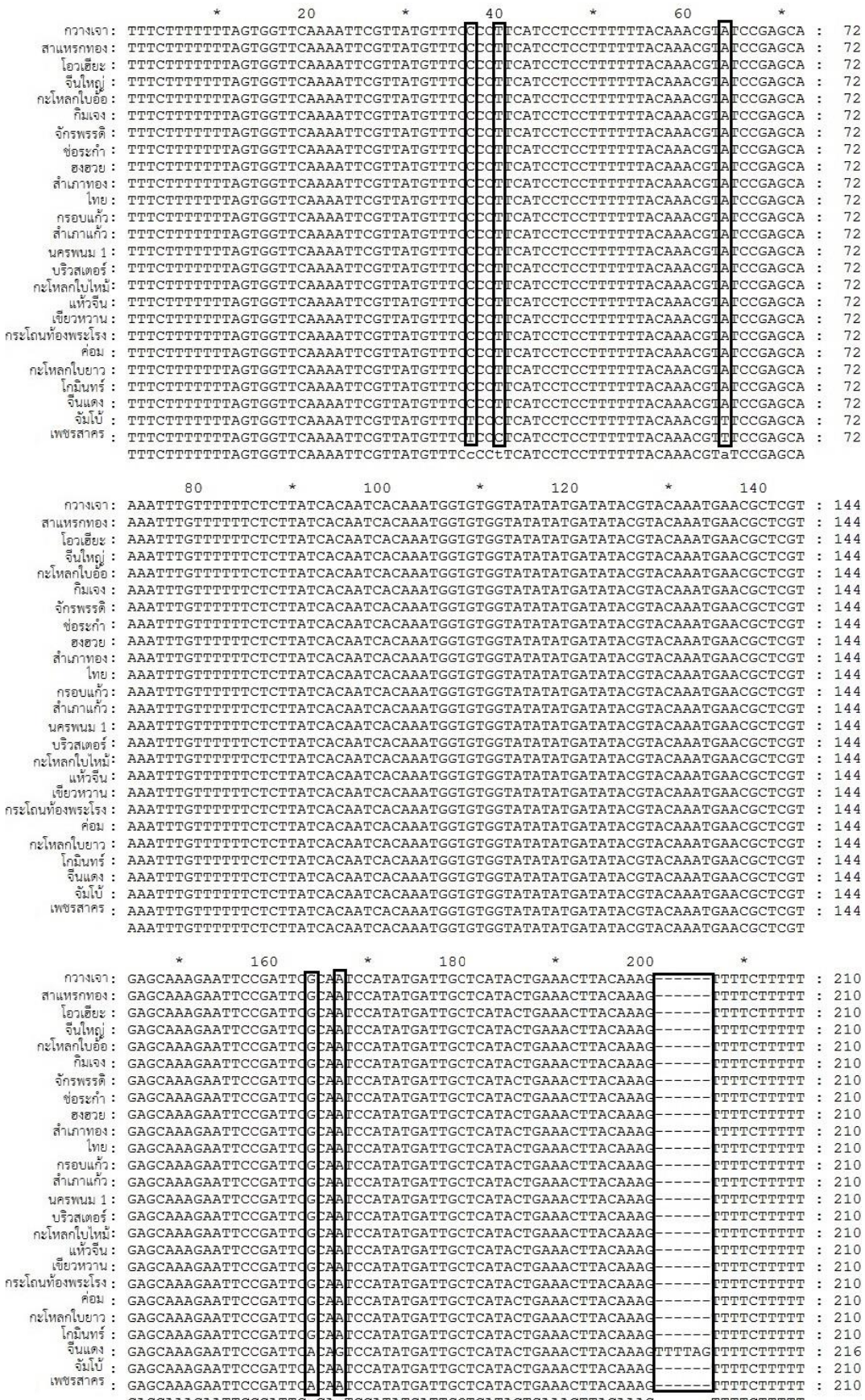
ยีน/บริเวณ	ตำแหน่ง	ลิ้นจี่พันธุ์จีนแดง	ลิ้นจี่พันธุ์อื่น ๆ	ลำไยพันธุ์จัมโบ้	ลำไยพันธุ์เพชรสาคร	ชนิดของการกลายพันธุ์
rbcL	358	A	G	A	A	G/A ทรานซิชั่น
trnL-trnF	37	C	C	T	T	C/T ทรานซิชั่น
trnL-trnF	40	T	T	C	C	T/C ทรานซิชั่น
trnL-trnF	64	A	A	T	T	A/T ทรานสเวอร์ชั่น
trnL-trnF	164	A	G	A	A	G/A ทรานซิชั่น
trnL-trnF	167	G	A	A	A	A/G ทรานซิชั่น
trnL-trnF	201-206	TTTTAG	-	-	-	InDel
trnL-trnF	260	T	T	C	C	T/C ทรานซิชั่น
trnL-trnF	276	T	T	-	-	InDel

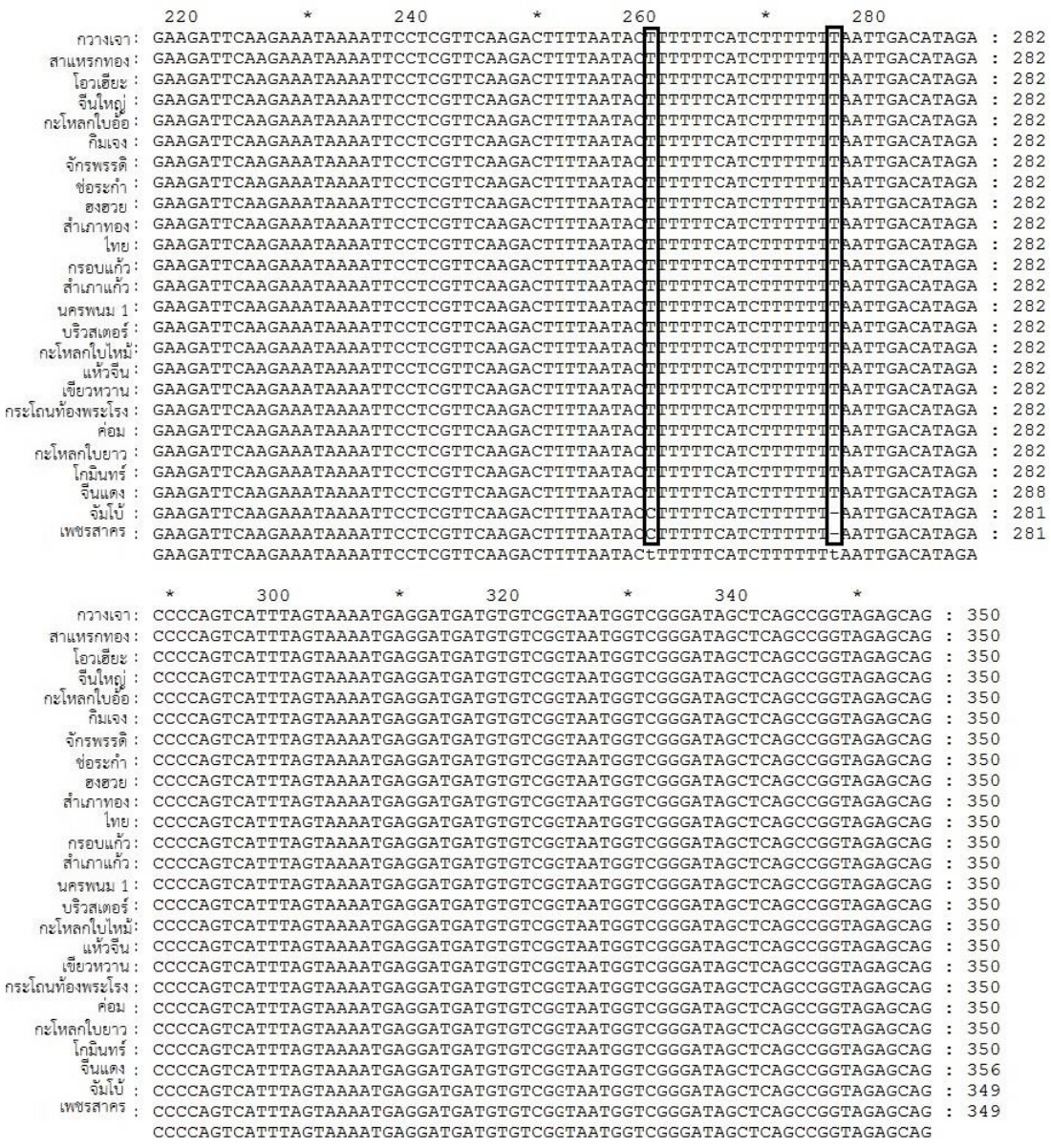
```
                        *         20         *         40         *         60         *
กวางเจา :  AAATTGACTTATTATACTCCTGACTATGTAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACTC :  70
สาแหรกทอง :  AAATTGACTTATTATACTCCTGACTATGTAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACTC :  70
โอวเฮียะ :  AAATTGACTTATTATACTCCTGACTATGTAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACTC :  70
จีนใหญ่ :  AAATTGACTTATTATACTCCTGACTATGTAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACTC :  70
กะโหลกใบอ้อ :  AAATTGACTTATTATACTCCTGACTATGTAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACTC :  70
กิมเจง :  AAATTGACTTATTATACTCCTGACTATGTAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACTC :  70
จักรพรรดิ :  AAATTGACTTATTATACTCCTGACTATGTAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACTC :  70
ช่อระกำ :  AAATTGACTTATTATACTCCTGACTATGTAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACTC :  70
องอวย :  AAATTGACTTATTATACTCCTGACTATGTAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACTC :  70
สำเภาทอง :  AAATTGACTTATTATACTCCTGACTATGTAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACTC :  70
ไทย :  AAATTGACTTATTATACTCCTGACTATGTAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACTC :  70
กรอบแก้ว :  AAATTGACTTATTATACTCCTGACTATGTAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACTC :  70
สำเภาแก้ว :  AAATTGACTTATTATACTCCTGACTATGTAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACTC :  70
นครพนม 1 :  AAATTGACTTATTATACTCCTGACTATGTAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACTC :  70
บริวสเตอร์ :  AAATTGACTTATTATACTCCTGACTATGTAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACTC :  70
กะโหลกใบไหม้ :  AAATTGACTTATTATACTCCTGACTATGTAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACTC :  70
แห้วจีน :  AAATTGACTTATTATACTCCTGACTATGTAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACTC :  70
เขียวหวาน :  AAATTGACTTATTATACTCCTGACTATGTAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACTC :  70
กระโถนท้องพระโรง :  AAATTGACTTATTATACTCCTGACTATGTAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACTC :  70
ค่อม :  AAATTGACTTATTATACTCCTGACTATGTAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACTC :  70
กะโหลกใบยาว :  AAATTGACTTATTATACTCCTGACTATGTAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACTC :  70
โกมินทร์ :  AAATTGACTTATTATACTCCTGACTATGTAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACTC :  70
จีนแดง :  AAATTGACTTATTATACTCCTGACTATGTAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACTC :  70
จัมโป้ :  AAATTGACTTATTATACTCCTGACTATGTAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACTC :  70
เพชรสาคร :  AAATTGACTTATTATACTCCTGACTATGTAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACTC :  70
            AAATTGACTTATTATACTCCTGACTATGTAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACTC

                       80         *        100         *        120         *        140
กวางเจา :  CTCAACCCGGGGTTCCGCCCGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCGGAATCTTCTACTGGTACATGGAC : 140
สาแหรกทอง :  CTCAACCCGGGGTTCCGCCCGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCGGAATCTTCTACTGGTACATGGAC : 140
โอวเฮียะ :  CTCAACCCGGGGTTCCGCCCGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCGGAATCTTCTACTGGTACATGGAC : 140
จีนใหญ่ :  CTCAACCCGGGGTTCCGCCCGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCGGAATCTTCTACTGGTACATGGAC : 140
กะโหลกใบอ้อ :  CTCAACCCGGGGTTCCGCCCGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCGGAATCTTCTACTGGTACATGGAC : 140
กิมเจง :  CTCAACCCGGGGTTCCGCCCGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCGGAATCTTCTACTGGTACATGGAC : 140
จักรพรรดิ :  CTCAACCCGGGGTTCCGCCCGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCGGAATCTTCTACTGGTACATGGAC : 140
ช่อระกำ :  CTCAACCCGGGGTTCCGCCCGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCGGAATCTTCTACTGGTACATGGAC : 140
องอวย :  CTCAACCCGGGGTTCCGCCCGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCGGAATCTTCTACTGGTACATGGAC : 140
สำเภาทอง :  CTCAACCCGGGGTTCCGCCCGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCGGAATCTTCTACTGGTACATGGAC : 140
ไทย :  CTCAACCCGGGGTTCCGCCCGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCGGAATCTTCTACTGGTACATGGAC : 140
กรอบแก้ว :  CTCAACCCGGGGTTCCGCCCGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCGGAATCTTCTACTGGTACATGGAC : 140
สำเภาแก้ว :  CTCAACCCGGGGTTCCGCCCGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCGGAATCTTCTACTGGTACATGGAC : 140
นครพนม 1 :  CTCAACCCGGGGTTCCGCCCGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCGGAATCTTCTACTGGTACATGGAC : 140
บริวสเตอร์ :  CTCAACCCGGGGTTCCGCCCGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCGGAATCTTCTACTGGTACATGGAC : 140
กะโหลกใบไหม้ :  CTCAACCCGGGGTTCCGCCCGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCGGAATCTTCTACTGGTACATGGAC : 140
แห้วจีน :  CTCAACCCGGGGTTCCGCCCGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCGGAATCTTCTACTGGTACATGGAC : 140
เขียวหวาน :  CTCAACCCGGGGTTCCGCCCGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCGGAATCTTCTACTGGTACATGGAC : 140
กระโถนท้องพระโรง :  CTCAACCCGGGGTTCCGCCCGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCGGAATCTTCTACTGGTACATGGAC : 140
ค่อม :  CTCAACCCGGGGTTCCGCCCGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCGGAATCTTCTACTGGTACATGGAC : 140
กะโหลกใบยาว :  CTCAACCCGGGGTTCCGCCCGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCGGAATCTTCTACTGGTACATGGAC : 140
โกมินทร์ :  CTCAACCCGGGGTTCCGCCCGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCGGAATCTTCTACTGGTACATGGAC : 140
จีนแดง :  CTCAACCCGGGGTTCCGCCCGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCGGAATCTTCTACTGGTACATGGAC : 140
จัมโป้ :  CTCAACCCGGGGTTCCGCCCGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCGGAATCTTCTACTGGTACATGGAC : 140
เพชรสาคร :  CTCAACCCGGGGTTCCGCCCGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCGGAATCTTCTACTGGTACATGGAC : 140
            CTCAACCCGGGGTTCCGCCCGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCGGAATCTTCTACTGGTACATGGAC

                        *       160         *       180         *       200         *
กวางเจา :  AACTGTGTGGACCGATGGGCTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACAACATTGAGCCTGTT : 210
สาแหรกทอง :  AACTGTGTGGACCGATGGGCTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACAACATTGAGCCTGTT : 210
โอวเฮียะ :  AACTGTGTGGACCGATGGGCTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACAACATTGAGCCTGTT : 210
จีนใหญ่ :  AACTGTGTGGACCGATGGGCTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACAACATTGAGCCTGTT : 210
กะโหลกใบอ้อ :  AACTGTGTGGACCGATGGGCTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACAACATTGAGCCTGTT : 210
กิมเจง :  AACTGTGTGGACCGATGGGCTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACAACATTGAGCCTGTT : 210
จักรพรรดิ :  AACTGTGTGGACCGATGGGCTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACAACATTGAGCCTGTT : 210
ช่อระกำ :  AACTGTGTGGACCGATGGGCTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACAACATTGAGCCTGTT : 210
องอวย :  AACTGTGTGGACCGATGGGCTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACAACATTGAGCCTGTT : 210
สำเภาทอง :  AACTGTGTGGACCGATGGGCTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACAACATTGAGCCTGTT : 210
ไทย :  AACTGTGTGGACCGATGGGCTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACAACATTGAGCCTGTT : 210
กรอบแก้ว :  AACTGTGTGGACCGATGGGCTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACAACATTGAGCCTGTT : 210
สำเภาแก้ว :  AACTGTGTGGACCGATGGGCTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACAACATTGAGCCTGTT : 210
นครพนม 1 :  AACTGTGTGGACCGATGGGCTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACAACATTGAGCCTGTT : 210
บริวสเตอร์ :  AACTGTGTGGACCGATGGGCTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACAACATTGAGCCTGTT : 210
กะโหลกใบไหม้ :  AACTGTGTGGACCGATGGGCTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACAACATTGAGCCTGTT : 210
แห้วจีน :  AACTGTGTGGACCGATGGGCTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACAACATTGAGCCTGTT : 210
เขียวหวาน :  AACTGTGTGGACCGATGGGCTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACAACATTGAGCCTGTT : 210
กระโถนท้องพระโรง :  AACTGTGTGGACCGATGGGCTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACAACATTGAGCCTGTT : 210
ค่อม :  AACTGTGTGGACCGATGGGCTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACAACATTGAGCCTGTT : 210
กะโหลกใบยาว :  AACTGTGTGGACCGATGGGCTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACAACATTGAGCCTGTT : 210
โกมินทร์ :  AACTGTGTGGACCGATGGGCTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACAACATTGAGCCTGTT : 210
จีนแดง :  AACTGTGTGGACCGATGGGCTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACAACATTGAGCCTGTT : 210
จัมโป้ :  AACTGTGTGGACCGATGGGCTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACAACATTGAGCCTGTT : 210
เพชรสาคร :  AACTGTGTGGACCGATGGGCTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACAACATTGAGCCTGTT : 210
            AACTGTGTGGACCGATGGGCTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACAACATTGAGCCTGTT
```

```
                    220         *       240         *       260         *       280
กวางเจา:  GCTGGAGAAGAAAATCAATATATATGTTATGTAGCTTACCCCTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTA : 280
สาแหรกทอง:  GCTGGAGAAGAAAATCAATATATATGTTATGTAGCTTACCCCTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTA : 280
โอวเฮียะ:  GCTGGAGAAGAAAATCAATATATATGTTATGTAGCTTACCCCTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTA : 280
จีนใหญ่:  GCTGGAGAAGAAAATCAATATATATGTTATGTAGCTTACCCCTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTA : 280
กะโหลกใบอ้อ:  GCTGGAGAAGAAAATCAATATATATGTTATGTAGCTTACCCCTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTA : 280
กิมเจง:  GCTGGAGAAGAAAATCAATATATATGTTATGTAGCTTACCCCTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTA : 280
จักรพรรดิ:  GCTGGAGAAGAAAATCAATATATATGTTATGTAGCTTACCCCTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTA : 280
ช่อระกำ:  GCTGGAGAAGAAAATCAATATATATGTTATGTAGCTTACCCCTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTA : 280
ฮงฮวย:  GCTGGAGAAGAAAATCAATATATATGTTATGTAGCTTACCCCTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTA : 280
สำเภาทอง:  GCTGGAGAAGAAAATCAATATATATGTTATGTAGCTTACCCCTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTA : 280
ไทย:  GCTGGAGAAGAAAATCAATATATATGTTATGTAGCTTACCCCTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTA : 280
กรอบแก้ว:  GCTGGAGAAGAAAATCAATATATATGTTATGTAGCTTACCCCTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTA : 280
สำเภาแก้ว:  GCTGGAGAAGAAAATCAATATATATGTTATGTAGCTTACCCCTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTA : 280
นครพนม 1:  GCTGGAGAAGAAAATCAATATATATGTTATGTAGCTTACCCCTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTA : 280
บริวสเตอร์:  GCTGGAGAAGAAAATCAATATATATGTTATGTAGCTTACCCCTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTA : 280
กะโหลกใบไหม้:  GCTGGAGAAGAAAATCAATATATATGTTATGTAGCTTACCCCTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTA : 280
แห้วจีน:  GCTGGAGAAGAAAATCAATATATATGTTATGTAGCTTACCCCTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTA : 280
เขียวหวาน:  GCTGGAGAAGAAAATCAATATATATGTTATGTAGCTTACCCCTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTA : 280
กระโถนท้องพระโรง:  GCTGGAGAAGAAAATCAATATATATGTTATGTAGCTTACCCCTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTA : 280
ค่อม:  GCTGGAGAAGAAAATCAATATATATGTTATGTAGCTTACCCCTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTA : 280
กะโหลกใบยาว:  GCTGGAGAAGAAAATCAATATATATGTTATGTAGCTTACCCCTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTA : 280
โกมินทร์:  GCTGGAGAAGAAAATCAATATATATGTTATGTAGCTTACCCCTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTA : 280
จีนแดง:  GCTGGAGAAGAAAATCAATATATATGTTATGTAGCTTACCCCTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTA : 280
จัมโบ้:  GCTGGAGAAGAAAATCAATATATATGTTATGTAGCTTACCCCTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTA : 280
เพชรสาคร:  GCTGGAGAAGAAAATCAATATATATGTTATGTAGCTTACCCCTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTA : 280
           GCTGGAGAAGAAAATCAATATATATGTTATGTAGCTTACCCCTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTA

                      *       300         *       320         *       340         *
กวางเจา:  CTAACATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTTAAAGCCTTGCGCGCTCTACGTCTAGAGGA : 350
สาแหรกทอง:  CTAACATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTTAAAGCCTTGCGCGCTCTACGTCTAGAGGA : 350
โอวเฮียะ:  CTAACATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTTAAAGCCTTGCGCGCTCTACGTCTAGAGGA : 350
จีนใหญ่:  CTAACATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTTAAAGCCTTGCGCGCTCTACGTCTAGAGGA : 350
กะโหลกใบอ้อ:  CTAACATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTTAAAGCCTTGCGCGCTCTACGTCTAGAGGA : 350
กิมเจง:  CTAACATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTTAAAGCCTTGCGCGCTCTACGTCTAGAGGA : 350
จักรพรรดิ:  CTAACATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTTAAAGCCTTGCGCGCTCTACGTCTAGAGGA : 350
ช่อระกำ:  CTAACATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTTAAAGCCTTGCGCGCTCTACGTCTAGAGGA : 350
ฮงฮวย:  CTAACATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTTAAAGCCTTGCGCGCTCTACGTCTAGAGGA : 350
สำเภาทอง:  CTAACATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTTAAAGCCTTGCGCGCTCTACGTCTAGAGGA : 350
ไทย:  CTAACATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTTAAAGCCTTGCGCGCTCTACGTCTAGAGGA : 350
กรอบแก้ว:  CTAACATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTTAAAGCCTTGCGCGCTCTACGTCTAGAGGA : 350
สำเภาแก้ว:  CTAACATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTTAAAGCCTTGCGCGCTCTACGTCTAGAGGA : 350
นครพนม 1:  CTAACATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTTAAAGCCTTGCGCGCTCTACGTCTAGAGGA : 350
บริวสเตอร์:  CTAACATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTTAAAGCCTTGCGCGCTCTACGTCTAGAGGA : 350
กะโหลกใบไหม้:  CTAACATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTTAAAGCCTTGCGCGCTCTACGTCTAGAGGA : 350
แห้วจีน:  CTAACATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTTAAAGCCTTGCGCGCTCTACGTCTAGAGGA : 350
เขียวหวาน:  CTAACATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTTAAAGCCTTGCGCGCTCTACGTCTAGAGGA : 350
กระโถนท้องพระโรง:  CTAACATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTTAAAGCCTTGCGCGCTCTACGTCTAGAGGA : 350
ค่อม:  CTAACATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTTAAAGCCTTGCGCGCTCTACGTCTAGAGGA : 350
กะโหลกใบยาว:  CTAACATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTTAAAGCCTTGCGCGCTCTACGTCTAGAGGA : 350
โกมินทร์:  CTAACATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTTAAAGCCTTGCGCGCTCTACGTCTAGAGGA : 350
จีนแดง:  CTAACATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTTAAAGCCTTGCGCGCTCTACGTCTAGAGGA : 350
จัมโบ้:  CTAACATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTTAAAGCCTTGCGCGCTCTACGTCTAGAGGA : 350
เพชรสาคร:  CTAACATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTTAAAGCCTTGCGCGCTCTACGTCTAGAGGA : 350
           CTAACATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTTAAAGCCTTGCGCGCTCTACGTCTAGAGGA

                    360         *       380         *       400         *       420
กวางเจา:  TCTACGAGTCCCTCCCGCGTATTCGAAAACTTTCCAAGGCCCCCCTCACGGCATCCAAGTTGAAAGAGAT : 420
สาแหรกทอง:  TCTACGAGTCCCTCCCGCGTATTCGAAAACTTTCCAAGGCCCCCCTCACGGCATCCAAGTTGAAAGAGAT : 420
โอวเฮียะ:  TCTACGAGTCCCTCCCGCGTATTCGAAAACTTTCCAAGGCCCCCCTCACGGCATCCAAGTTGAAAGAGAT : 420
จีนใหญ่:  TCTACGAGTCCCTCCCGCGTATTCGAAAACTTTCCAAGGCCCCCCTCACGGCATCCAAGTTGAAAGAGAT : 420
กะโหลกใบอ้อ:  TCTACGAGTCCCTCCCGCGTATTCGAAAACTTTCCAAGGCCCCCCTCACGGCATCCAAGTTGAAAGAGAT : 420
กิมเจง:  TCTACGAGTCCCTCCCGCGTATTCGAAAACTTTCCAAGGCCCCCCTCACGGCATCCAAGTTGAAAGAGAT : 420
จักรพรรดิ:  TCTACGAGTCCCTCCCGCGTATTCGAAAACTTTCCAAGGCCCCCCTCACGGCATCCAAGTTGAAAGAGAT : 420
ช่อระกำ:  TCTACGAGTCCCTCCCGCGTATTCGAAAACTTTCCAAGGCCCCCCTCACGGCATCCAAGTTGAAAGAGAT : 420
ฮงฮวย:  TCTACGAGTCCCTCCCGCGTATTCGAAAACTTTCCAAGGCCCCCCTCACGGCATCCAAGTTGAAAGAGAT : 420
สำเภาทอง:  TCTACGAGTCCCTCCCGCGTATTCGAAAACTTTCCAAGGCCCCCCTCACGGCATCCAAGTTGAAAGAGAT : 420
ไทย:  TCTACGAGTCCCTCCCGCGTATTCGAAAACTTTCCAAGGCCCCCCTCACGGCATCCAAGTTGAAAGAGAT : 420
กรอบแก้ว:  TCTACGAGTCCCTCCCGCGTATTCGAAAACTTTCCAAGGCCCCCCTCACGGCATCCAAGTTGAAAGAGAT : 420
สำเภาแก้ว:  TCTACGAGTCCCTCCCGCGTATTCGAAAACTTTCCAAGGCCCCCCTCACGGCATCCAAGTTGAAAGAGAT : 420
นครพนม 1:  TCTACGAGTCCCTCCCGCGTATTCGAAAACTTTCCAAGGCCCCCCTCACGGCATCCAAGTTGAAAGAGAT : 420
บริวสเตอร์:  TCTACGAGTCCCTCCCGCGTATTCGAAAACTTTCCAAGGCCCCCCTCACGGCATCCAAGTTGAAAGAGAT : 420
กะโหลกใบไหม้:  TCTACGAGTCCCTCCCGCGTATTCGAAAACTTTCCAAGGCCCCCCTCACGGCATCCAAGTTGAAAGAGAT : 420
แห้วจีน:  TCTACGAGTCCCTCCCGCGTATTCGAAAACTTTCCAAGGCCCCCCTCACGGCATCCAAGTTGAAAGAGAT : 420
เขียวหวาน:  TCTACGAGTCCCTCCCGCGTATTCGAAAACTTTCCAAGGCCCCCCTCACGGCATCCAAGTTGAAAGAGAT : 420
กระโถนท้องพระโรง:  TCTACGAGTCCCTCCCGCGTATTCGAAAACTTTCCAAGGCCCCCCTCACGGCATCCAAGTTGAAAGAGAT : 420
ค่อม:  TCTACGAGTCCCTCCCGCGTATTCGAAAACTTTCCAAGGCCCCCCTCACGGCATCCAAGTTGAAAGAGAT : 420
กะโหลกใบยาว:  TCTACGAGTCCCTCCCGCGTATTCGAAAACTTTCCAAGGCCCCCCTCACGGCATCCAAGTTGAAAGAGAT : 420
โกมินทร์:  TCTACGAGTCCCTCCCGCGTATTCGAAAACTTTCCAAGGCCCCCCTCACGGCATCCAAGTTGAAAGAGAT : 420
จีนแดง:  TCTACGAATCCCTCCCGCGTATTCGAAAACTTTCCAAGGCCCCCCTCACGGCATCCAAGTTGAAAGAGAT : 420
จัมโบ้:  TCTACGAATCCCTCCCGCGTATTCGAAAACTTTCCAAGGCCCCCCTCACGGCATCCAAGTTGAAAGAGAT : 420
เพชรสาคร:  TCTACGAATCCCTCCCGCGTATTCGAAAACTTTCCAAGGCCCCCCTCACGGCATCCAAGTTGAAAGAGAT : 420
           TCTACGAGTCCCTCCCGCGTATTCGAAAACTTTCCAAGGCCCCCCTCACGGCATCCAAGTTGAAAGAGAT
```

```
                    *       440         *       460         *       480         *
กวางเจา :  AAATTGAACAAGTATGGACGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCTAAATTGGGATTATCTGCTAAGA : 490
สาแหรกทอง :  AAATTGAACAAGTATGGACGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCTAAATTGGGATTATCTGCTAAGA : 490
โอวเฮียะ :  AAATTGAACAAGTATGGACGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCTAAATTGGGATTATCTGCTAAGA : 490
จีนใหญ่ :  AAATTGAACAAGTATGGACGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCTAAATTGGGATTATCTGCTAAGA : 490
กะโหลกใบอ้อ :  AAATTGAACAAGTATGGACGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCTAAATTGGGATTATCTGCTAAGA : 490
กิมเจง :  AAATTGAACAAGTATGGACGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCTAAATTGGGATTATCTGCTAAGA : 490
จักรพรรดิ :  AAATTGAACAAGTATGGACGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCTAAATTGGGATTATCTGCTAAGA : 490
ช่อระกำ :  AAATTGAACAAGTATGGACGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCTAAATTGGGATTATCTGCTAAGA : 490
ฮงฮวย :  AAATTGAACAAGTATGGACGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCTAAATTGGGATTATCTGCTAAGA : 490
สำเภาทอง :  AAATTGAACAAGTATGGACGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCTAAATTGGGATTATCTGCTAAGA : 490
ไทย :  AAATTGAACAAGTATGGACGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCTAAATTGGGATTATCTGCTAAGA : 490
กรอบแก้ว :  AAATTGAACAAGTATGGACGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCTAAATTGGGATTATCTGCTAAGA : 490
สำเภาแก้ว :  AAATTGAACAAGTATGGACGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCTAAATTGGGATTATCTGCTAAGA : 490
นครพนม 1 :  AAATTGAACAAGTATGGACGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCTAAATTGGGATTATCTGCTAAGA : 490
บริวสเตอร์ :  AAATTGAACAAGTATGGACGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCTAAATTGGGATTATCTGCTAAGA : 490
กะโหลกใบไหม้ :  AAATTGAACAAGTATGGACGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCTAAATTGGGATTATCTGCTAAGA : 490
แห้วจีน :  AAATTGAACAAGTATGGACGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCTAAATTGGGATTATCTGCTAAGA : 490
เขียวหวาน :  AAATTGAACAAGTATGGACGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCTAAATTGGGATTATCTGCTAAGA : 490
กระโถนท้องพระโรง :  AAATTGAACAAGTATGGACGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCTAAATTGGGATTATCTGCTAAGA : 490
ค่อม :  AAATTGAACAAGTATGGACGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCTAAATTGGGATTATCTGCTAAGA : 490
กะโหลกใบยาว :  AAATTGAACAAGTATGGACGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCTAAATTGGGATTATCTGCTAAGA : 490
โกมินทร์ :  AAATTGAACAAGTATGGACGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCTAAATTGGGATTATCTGCTAAGA : 490
จีนแดง :  AAATTGAACAAGTATGGACGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCTAAATTGGGATTATCTGCTAAGA : 490
จัมโบ้ :  AAATTGAACAAGTATGGACGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCTAAATTGGGATTATCTGCTAAGA : 490
เพชรสาคร :  AAATTGAACAAGTATGGACGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCTAAATTGGGATTATCTGCTAAGA : 490
            AAATTGAACAAGTATGGACGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCTAAATTGGGATTATCTGCTAAGA

                    500
กวางเจา :  ACTACGGTAGAGCAGT  : 506
สาแหรกทอง :  ACTACGGTAGAGCAGT  : 506
โอวเฮียะ :  ACTACGGTAGAGCAGT  : 506
จีนใหญ่ :  ACTACGGTAGAGCAGT  : 506
กะโหลกใบอ้อ :  ACTACGGTAGAGCAGT  : 506
กิมเจง :  ACTACGGTAGAGCAGT  : 506
จักรพรรดิ :  ACTACGGTAGAGCAGT  : 506
ช่อระกำ :  ACTACGGTAGAGCAGT  : 506
ฮงฮวย :  ACTACGGTAGAGCAGT  : 506
สำเภาทอง :  ACTACGGTAGAGCAGT  : 506
ไทย :  ACTACGGTAGAGCAGT  : 506
กรอบแก้ว :  ACTACGGTAGAGCAGT  : 506
สำเภาแก้ว :  ACTACGGTAGAGCAGT  : 506
นครพนม 1 :  ACTACGGTAGAGCAGT  : 506
บริวสเตอร์ :  ACTACGGTAGAGCAGT  : 506
กะโหลกใบไหม้ :  ACTACGGTAGAGCAGT  : 506
แห้วจีน :  ACTACGGTAGAGCAGT  : 506
เขียวหวาน :  ACTACGGTAGAGCAGT  : 506
กระโถนท้องพระโรง :  ACTACGGTAGAGCAGT  : 506
ค่อม :  ACTACGGTAGAGCAGT  : 506
กะโหลกใบยาว :  ACTACGGTAGAGCAGT  : 506
โกมินทร์ :  ACTACGGTAGAGCAGT  : 506
จีนแดง :  ACTACGGTAGAGCAGT  : 506
จัมโบ้ :  ACTACGGTAGAGCAGT  : 506
เพชรสาคร :  ACTACGGTAGAGCAGT  : 506
            ACTACGGTAGAGCAGT
```

ภาพที่ 88 ความผันแปรของนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL* ในลิ้นจี่และลำไย


กวางเจา
สาแหรกทอง
โอวเฮียะ
จีนใหญ่
กะโหลกใบอ้อ
กิมเจง
จักรพรรดิ
ช่อระกำ
องอวย
สำเภาทอง
ไทย
กรอบแก้ว
สำเภาแก้ว
นครพนม 1
บริวสเตอร์
กะโหลกใบไหม้
แห้วจีน
เขียวหวาน
กระโถนท้องพระโรง
ค่อม
กะโหลกใบยาว
โกมินทร์
จีนแดง
จัมโบ้
เพชรสาคร



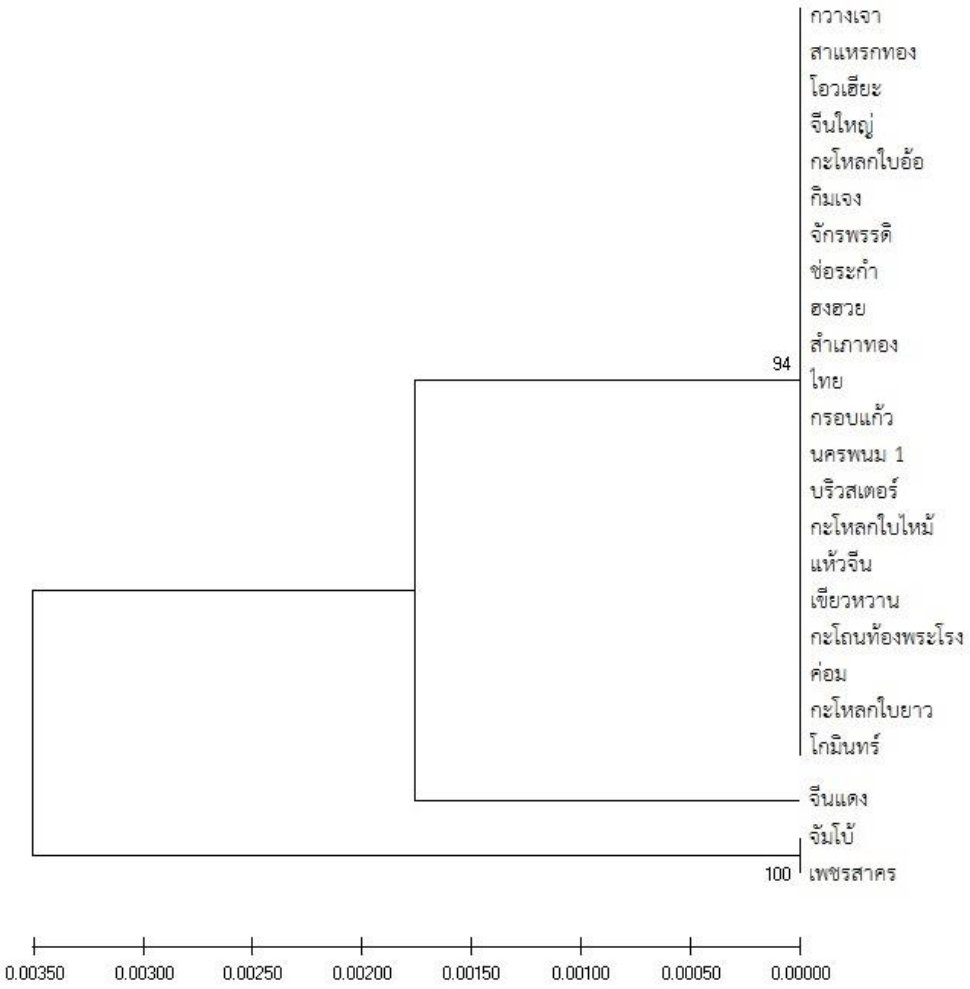
ภาพที่ 89 ความผันแปรของนิวคลีโอไทด์ของบริเวณระหว่างยีน *trnL-trnF* ในลิ้นจี่และลำไย

2.3) ผลการหาค่าความต่างทางพันธุกรรมและการสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์

จากลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL* และบริเวณระหว่างยีน *trnL-trnF* เมื่อนำมาวิเคราะห์ร่วมกัน พบว่าค่าความต่างทางพันธุกรรมระหว่างลิ้นจี่ 23 พันธุ์อยู่ในช่วง 0.0000-0.0035 (ตารางที่ 23) โดยที่พันธุ์จีนแดงมีค่าความต่างทางพันธุกรรมจากพันธุ์อื่น ๆ ส่วนอีก 22 พันธุ์ไม่มีความต่างทางพันธุกรรม เมื่อสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยโมเดลที่เหมาะสมคือ Tamura 3-parameter method (Tamura, 1992) พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL* และบริเวณระหว่างยีน *trnL-trnF* สามารถแยกกลุ่มของลิ้นจี่ออกจากลำไยได้ และแยกพันธุ์จีนแดงออกจากลิ้นจี่พันธุ์อื่น ๆ แต่ไม่สามารถแยกพันธุ์ลิ้นจี่ที่เหลืออีก 22 พันธุ์ออกจากกันได้ดังภาพที่ 90

ตารางที่ 23 ความต่างทางพันธุกรรมระหว่างลิ้นจี่ 23 พันธุ์และลำไย 2 พันธุ์ จากความผันแปรของนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL* และบริเวณระหว่างยีน *trnL-trnF*

	กวางเจา	สาแหรกทอง	โอวเสียะ	จินใหญ่	กะโหลกใบอ้อ	กิมเจง	จักรพรรดิ	ช่อระกำ	ฮงฮวย	สำเภาทอง	ไทย	กรอบแก้ว	สำเภาแก้ว	นครพนม 1	บริวสเตอร์	กะโหลกใบไหม้	แห้วจีน	เขียวหวาน	กระโถนท้องพระโรง	ค่อม	กะโหลกใบยาว	โกมินทร์	จีนแดง	จัมโบ้	เพชรสาคร
สาแหรกทอง	0.0000																								
โอวเสียะ	0.0000	0.0000																							
จีนใหญ่	0.0000	0.0000	0.0000																						
กะโหลกใบอ้อ	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000																					
กิมเจง	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000																				
จักรพรรดิ	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000																			
ช่อระกำ	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000																		
ฮงฮวย	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000																	
สำเภาทอง	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000																
ไทย	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000															
กรอบแก้ว	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000														
สำเภาแก้ว	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000													
นครพนม 1	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000												
บริวสเตอร์	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000											
กะโหลกใบไหม้	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000										
แห้วจีน	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000									
เขียวหวาน	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000								
กระโถนท้องพระโรง	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000							
ค่อม	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000						
กะโหลกใบยาว	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000					
โกมินทร์	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000				
จีนแดง	0.0035	0.0035	0.0035	0.0035	0.0035	0.0035	0.0035	0.0035	0.0035	0.0035	0.0035	0.0035	0.0035	0.0035	0.0035	0.0035	0.0035	0.0035	0.0035	0.0035	0.0035	0.0035			
จัมโบ้	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071		
เพชรสาคร	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0071	0.0059	0.0000



ภาพที่ 90 แผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในลิ้นจี่ 23 พันธุ์ จากลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL* และบริเวณระหว่างยีน *trnL-trnF* โดยใช้ลำไย 2 พันธุ์ เป็นตัวอย่างนอกกลุ่ม

จากงานวิจัยนี้พบความผันแปรของนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL* ในลิ้นจี่และลำไยเพียง 1 ตำแหน่ง เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์เปรียบเทียบกับรายงานของ Lithanatudom et al. (2017) ที่นำไพรเมอร์ในตำแหน่งเดียวกันมาวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวยและพันธุ์บริวสเตอร์ พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของลิ้นจี่ทั้ง 2 พันธุ์ เหมือนกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของลิ้นจี่ 22 พันธุ์ ยกเว้นลิ้นจี่พันธุ์จีนแดง ทั้งนี้พบความผันแปรในลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL*น้อยมากซึ่งใกล้เคียงกับรายงานของ ปิยดา และคณะ (2558) ที่จำแนกมะม่วง 18 พันธุ์ ในประเทศไทยด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL* พบตำแหน่งที่มีความผันแปรเพียง 5 ตำแหน่ง และยังไม่สามารถจำแนกพันธุ์มะม่วงทั้ง 18 พันธุ์ออกจากกันได้ แต่ต่างจากรายงานของ สุรเชษฐ และคณะ (2560) ที่ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของมะม่วง 5 พันธุ์ โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL* สามารถ

วิเคราะห์ความยาวของนิวคลีโอไทด์ได้ 654 คู่เบส พบตำแหน่งที่มีความผันแปร 62 ตำแหน่ง และสามารถจำแนกพันธุ์มะม่วงทั้ง 5 พันธุ์ออกจากกันได้ จากรายงานทั้งสองนี้พบว่าไพรเมอร์ที่นำมาใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอนั้นมีความแตกต่างกัน โดยในงานวิจัยนี้ใช้ไพรเมอร์คล้ายกับงานวิจัยของ ปิยดา และคณะ (2558) ผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์จึงได้ขนาดความยาวใกล้เคียงกัน ต่างจากในรายงานของ สุรเชษฐ และคณะ (2560) ที่ได้ความยาวของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ครอบคลุมยีน *rbcL* มากกว่า จึงมีความเป็นไปได้ที่ทำให้พบความผันแปรของนิวคลีโอไทด์มากกว่า ดังนั้นในการศึกษาความผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL* ในลิ้นจี่ครั้งต่อไปควรมีการนำไพรเมอร์ในรายงานของสุรเชษฐ และคณะ (2560) มาใช้วิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

สำหรับการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของบริเวณระหว่างยีน *trnL-trnF* ในพันธุ์ลิ้นจี่และลำไย งานวิจัยนี้พบความแตกต่าง 8 ตำแหน่ง เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์เปรียบเทียบกับรายงานของ Lithanatudom et al. (2017) ซึ่งใช้ไพรเมอร์ในตำแหน่งเดียวกันในการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวยและพันธุ์บริวสเตอร์ พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของลิ้นจี่ทั้ง 2 พันธุ์เหมือนกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของลิ้นจี่ 22 พันธุ์ ยกเว้นลิ้นจี่พันธุ์จีนแดงที่พบความแตกต่างจากพันธุ์อื่น ๆ ในงานวิจัยนี้พบความผันแปรของนิวคลีโอไทด์น้อยซึ่งต่างจากรายงานของ Baraket et al. (2008) ที่ศึกษาความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณระหว่างยีน *trnL-trnF* ในพืช Tunisain fig (*Ficus carica* L.) ขนาด 430-464 คู่เบส พบบริเวณที่มีความผันแปร 34 ตำแหน่ง สามารถจำแนก Tunisain fig จำนวน 20 พันธุ์ ออกจากกันเป็น 15 แฮพโพลไทป์ (haplotype)

จากผลการใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL* และบริเวณระหว่างยีน *trnL-trnF* วิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลิ้นจี่ทั้ง 23 พันธุ์ พบค่าความต่างทางพันธุกรรมระหว่างพันธุ์เพียงเล็กน้อย เนื่องจากความใกล้ชิดทางพันธุกรรมสูง อีกทั้งพบเพียงลิ้นจี่พันธุ์จีนแดงเท่านั้นที่มีค่าความต่างทางพันธุกรรมจากลิ้นจี่พันธุ์อื่น ๆ นอกจากนี้การใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณใดบริเวณหนึ่งอาจไม่เพียงพอต่อการนำมาใช้ในการจำแนกถึงระดับพันธุ์ เนื่องจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของบริเวณดังกล่าวมีขนาดเล็กมากเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับขนาดของจีโนมทั้งหมดของลิ้นจี่ ซึ่งต่างจากการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอที่สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งจีโนมของพืช สอดคล้องกับรายงานของนฤมล และคณะ (2557) ที่วิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของข้าวมีสี 10 พันธุ์ โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL* พบว่าสามารถแบ่งข้าวทั้ง 10 พันธุ์ ออกเป็น 2 กลุ่ม แต่ยังไม่สามารถจำแนกพันธุ์ข้าวภายในกลุ่มเดียวกันออกจากกัน โดยทั่วไปการใช้ยีนในคลอโรพลาสต์เหมาะกับการจำแนกพืชต่างชนิดแต่อยู่ในสกุลเดียวกันมากกว่าการจำแนกระดับพันธุ์ ซึ่งเห็นได้จากรายงานของสุพัตรา และคณะ (2556) และ Lithanatudom et al. (2017) ที่สามารถจำแนกพืชในสกุล *Barleria* และ *Democarpus* โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ *trnL-trnF* และการใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ ITS2, *matK, rbcL, trnHpsbA, trnL-I* และ *trnL-trnF* ร่วมกัน

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของลิ้นจี่ 23 พันธุ์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล ISSR ทั้งหมด 27 ไพรเมอร์ พบว่ามี 24 ไพรเมอร์ที่สามารถนำมาสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอได้ ให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 125 แถบ โดยเป็นแถบที่มีพอลิมอร์ฟิซึม 107 แถบ คิดเป็น 85.6 เปอร์เซ็นต์ ไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอมากที่สุด ได้แก่ ไพรเมอร์ 835 และ 842 ซึ่งให้แถบดีเอ็นเอ 9 แถบต่อไพรเมอร์ซึ่งทั้ง 9 แถบเป็นแถบดีเอ็นเอที่มีพอลิมอร์ฟิซึม นอกจากนี้ยังพบว่าไพรเมอร์ 817 ให้แถบดีเอ็นเอที่จำเพาะต่อพันธุ์บริวสเตอร์ และไพรเมอร์ 881 ให้แถบดีเอ็นเอที่จำเพาะต่อพันธุ์กิมเจง ซึ่งสองไพรเมอร์นี้สามารถนำมาพัฒนาเป็นเครื่องหมายโมเลกุลเพื่อใช้เป็นเครื่องหมายที่จำเพาะต่อพันธุ์ลิ้นจี่ทั้งสองได้ จากค่าความเหมือนทางพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.542 ถึง 1.000 เมื่อสร้างแผนภูมิทางพันธุกรรมสามารถจำแนกกลุ่มของลิ้นจี่และลำไยออกจากกันได้อย่างชัดเจน และแบ่งลิ้นจี่ออกเป็น 3 กลุ่ม แต่ไม่สามารถแยกพันธุ์ลิ้นจี่ระหว่างพันธุ์กวางเจากับพันธุ์โอวเฮียะ พันธุ์สำเภาแก้วกับพันธุ์สาแหรกทอง พันธุ์ฮงฮวยกับพันธุ์สำเภาทอง แม้ว่าได้เพิ่มไพรเมอร์ ISSR อีก 8 ไพรเมอร์เพื่อหาความแตกต่างของลิ้นจี่ 3 คู่ แต่ไม่พบความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอระหว่างพันธุ์ที่ไม่สามารถจำแนกได้ ทั้งนี้อาจต้องใช้จำนวนไพรเมอร์มากขึ้น หรือใช้เครื่องหมายโมเลกุลชนิดอื่น และอาจใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาร่วมด้วยในการจำแนกพันธุ์ นอกจากนี้การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลิ้นจี่ทั้ง 3 คู่ ได้แก่ ลักษณะของทรงพุ่ม ลำต้น และใบ พบว่ามีความแตกต่างกันในบางลักษณะแต่เป็นลักษณะที่ต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญในการจำแนก อย่างไรก็ตามลักษณะที่ศึกษาเป็นเพียงข้อมูลเบื้องต้นที่สามารถบันทึกข้อมูลได้ทั้งนี้ควรมีการศึกษาลักษณะอื่น ๆ เพิ่มเติม เช่น ลักษณะของผล เมล็ด ความหวาน เป็นต้น อาจจะทำให้พบความแตกต่างระหว่างลิ้นจี่ทั้ง 3 คู่ ได้ จากงานวิจัยนี้เครื่องหมายโมเลกุล ISSR สามารถนำมาใช้จำแนกพันธุ์ลิ้นจี่บางพันธุ์ได้

การศึกษาความผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนในคลอโรพลาสต์ในลิ้นจี่ 23 พันธุ์ และลำไย โดยศึกษายีน *rbcL* และบริเวณระหว่างยีน *trnL-trnF* โดยทั้งสองบริเวณพบความผันแปรของนิวคลีโอไทด์ ทั้งหมด 9 ตำแหน่ง มีค่าความต่างของพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.0000 ถึง 0.0035 โดยที่พันธุ์จีนแดงมีค่าความต่างทางพันธุกรรมจากพันธุ์อื่น ๆ ในแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมพบว่ามีการแบ่งกลุ่มระหว่างลิ้นจี่และลำไยออกจากกันได้อย่างชัดเจน ในกลุ่มของพันธุ์ลิ้นจี่ พันธุ์จีนแดงแยกออกมาจากกลุ่มและไม่สามารถแยกลิ้นจี่ที่เหลืออีก 22 พันธุ์ออกจากกันได้ ดังนั้นการใช้ความผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนในคลอโรพลาสต์ในการจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่จากนิวคลีโอไทด์สอง

บริเวณนั้นยังไม่สามารถทำได้ แต่ทำให้ทราบถึงข้อมูลของลำดับนิวคลีโอไทด์ของทั้งสองบริเวณของพันธุ์ลินจี่ทั้ง 23 พันธุ์นี้ ดังนั้นควรมีการศึกษาความผันแปรของนิวคลีโอไทด์ในบริเวณอื่น ๆ ร่วมด้วย

บรรณานุกรม

กรมวิชาการเกษตร. 2558. **โฆษณาคำขอให้ออกหนังสือรับรองพันธุ์พืชขึ้นทะเบียน ตามพระราชบัญญัติพันธุ์พืช พ.ศ. 2518**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา **http://www.doa.go.th/pvps/images/stories/indexpp2518/AnnoDOA_nameplant/t637. pdf** (5 ตุลาคม 2562).

ชินวัฒน์ ยัพวัฒนพันธ์. 2541. **จำแนกลิ้นจี่โดยวิธีสัณฐานวิทยาอิเล็กโทรโฟรีซีสและเซลล์พันธุศาสตร์**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ธีระชัย ธนานันต์. 2553. **พันธุศาสตร์โมเลกุล**. ปทุมธานี: ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต.

นฤมล ธนานันต์, จาตุรงค์ สัมฤทธิ์ และ ธีระชัย ธนานันต์. 2557. การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของข้าวมีสีโดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL* และ *rpoC1*. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**, 22(5), 674-682.

นิพัฒน์ สุขวิบูลย์. 2556. **พันธุ์ลิ้นจี่**. ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย. เชียงใหม่: ดาราวรรณการพิมพ์.

_____. 2558. **วิจัยพัฒนาพันธุ์ลิ้นจี่**. รายงานชุดโครงการวิจัย กรมวิชาการเกษตร.

ปรีชา ประเทพ. 2543. **พันธุศาสตร์ยุคใหม่: เทคโนโลยีดีเอ็นเอเพื่อการอนุรักษ์ทรัพยากรพันธุกรรม**. มหาสารคาม: อภิชาตการพิมพ์.

ปิยดา บุสดี, ธีระชัย ธนานันต์ และ นฤมล ธนานันต์. 2558. การจำแนกมะม่วงในประเทศไทยจากลำดับดีเอ็นเอของยีน *rpoC1* และ *rbcL*. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**, *23*(6), 983-993.

ศูนย์วิจัยและพัฒนาลำไยและลิ้นจี่ มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 2543.**การผลิตลิ้นจี่/โครงการถ่ายทอดเทคโนโลยี การผลิตลำไยและลิ้นจี่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาลำไยและลิ้นจี่**, เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

สำนักงานคุ้มครองพันธุ์พืชแห่งชาติ. 2545. **ฐานข้อมูลเชื้อพันธุกรรมพืช: ลิ้นจี่**. กรุงเทพฯ: ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.

สำนักงานพาณิชย์จังหวัดเชียงใหม่. 2553. **การวิเคราะห์สถานการณ์ลิ้นจี่**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา **http://tisc.feu.ac.th/input/file_upload/PDF%E0%B8%9A%E0%B8%97%E0%B8%A7%E0%B8%B4%E0%B9%80%E0%B8%84%E0%B8%A3%E0%B8%B2%E0%B8%B0%E0%B8%AB%E0%B9%8C%E0%B8%A5%E0%B8%B4%E0%B9%89%E0%B8%99%E0%B8%88%E0%B8%B5%E0%B9%88_2010_12_17_00_55_37.p**

df (13 กรกฎาคม 2560).

สำนักงานวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. 2554. **ความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย (**Biodiversity in Thailand). กรุงเทพฯ: สำนักงานวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช).

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2559. **สถิติการส่งออก (Export) ลิ้นจี่ (รวม):ปี พ.ศ. 2559**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มาhttp://www.oae.go.th/oae_report/export_import/export_result.php (13 กรกฎาคม 2560).

สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม, วิภารัตน์ ศิริพงษ์, ชัยวัฒน์ ฤทธิเดชากุล, ดวงทิพย์ อภิรัตน์มนตรี และ วินัย สมประสงค์. 2556. ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของพืชสกุล *Barleria* โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ *trnL-trnF*. **Thai J. Genet**, 6 (1), 222-225.

สุรเชษฐ เอี่ยมสำอาง, เบญจพร ศรีสุวรมาศ และ กาญจน์ คุ้มทรัพย์. 2560. การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในมะม่วงบางสายพันธุ์โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL*. น. 2803-2808. ใน **รายงานสืบเนื่องการประชุมวิชาการ การนำเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ เครือข่ายบัฒฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏภาคเหนือ ครั้งที่ 17**. วันที่ 21 กรกฎาคม 2560 ณ ศูนย์วัฒนธรรมภาคเหนือตอนล่าง วังจันทร์ริเวอร์วิว พิษณุโลก: มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม.

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2552. **เครื่องหมายดีเอ็นเอ: จากพื้นฐานสู่การประยุกต์**. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เสนาะ บุญมี. 2528. **อนุกรมวิธานและสัณฐานวิทยาพืช**. มหาสารคาม: คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (มหาสารคาม).

อนันต์ ดำรงค์สุข. 2547. **ลิ้นจี่**. กรุงเทพฯ: อักษรสยามการพิมพ์.

Amundsen, K. & Warnke, S. 2012. Agrostis species relationships based on *trnL-trnF* and *atpI-atpH* intergenic spacer regions. **HortScience**, 47(1), 18-24.

Anuntalabhochai, S., Chundet, R., Chiangda, J. & Apavatjrut, P. 2002. Genetic diversity within lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) based on RAPD analysis. **Acta Horticulturae**, (575), 253-259

Aradhya, M. K., Zee, F. T. & Manshadt, R. M. 1995. Isozyme variation in lychee (*Litchi chinensis* Sonn.). **Sci.Hort**, (33), 12-35.

Bajpai, A., Muthukumar, M., Singh, A., Nath, V. & Ravishankar, H. 2016. Narrow genetic base of Indian litchi (*Litchi chinensis*) cultivars based on molecular markers. **Indian Journal of Agricultral Sciences**, 86(4), 448-455.

Baraket, G., Olfa, S., Khaled, C., Messaoud, M., Mohamed, M., Mokhtar, T. & Amel, S. H. 2008. Chloroplast DNA analysis in Tunisian fig cultivars (*Ficus carica* L.): Sequence variations of the *trnL-trnF* intergenic spacer. **Biochemical Systematics and Ecology**, 36(11),

828-835.

Cheng, J., Long, Y., Khan, M. A., Wei, C., Fu, S. & Fu, J. 2015. Development and significance of RAPD-SCAR markers for the identification of *Litchi chinensis* Sonn. by improved RAPD amplification and molecular cloning. **Electronic Journal of Biotechnology**, 18(1), 35-39.

Cutler, R., Cutler, R. W., Tasanon, M. & Anuntalabhochai, S. 2007. Hybrid detection in lychee (*Litchee chinensis* Sonn.) cultivars using HAT-RAPD markers. **ScienceAsia**, (33), 307-311.

Cutler, R. W., Chundet, R., Handa, T. & Anuntalabhochai, S. 2006. Development of sequence characterized DNA markers linked to a temperature dependence for flower induction in lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) cultivars. **Scientia Horticulturae**, 107(3), 264-270.

Das, A., Kesari, V., Satyanarayana, V. M., Parida, A. & Rangan, L. 2011. Genetic relationship of Curcuma species from northeast india using PCR-Based markers. **Molecular Biotechnology**, 49(1), 65-76.

Degani, C., Beiles, A., El-Batsri, R., Goren, M. & Gazit, S. 1995. Identifying lychee cultivars by isozyme analysis. **American Society for Horticultural Science**, 120(2), 307-312.

Degani, C., Deng, J., Beiles, A., El-Batsri, R., Goren, M. & Gazit, S. 2003. Identifying lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) cultivars and their genetic relationships using intersimple sequence repeat (ISSR) Markers. **American Society for Horticultural Science**, 128(6), 838–845.

Doyle, J.J. and Doyle, J.L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, 19(1), 11-15.

Fei, H., Ruifen, Z., Yang, Y., Xiaojun, T., Mingwei, Z., Dongxiao, S., Yuanyuan, D. & Zhencheng, W. 2014. Comparison of physicochemical properties and immunomodulatory activity of polysaccharides from fresh and dried litchi pulp. **Molecules**, 19(4), 3909-3925.

Ganjun, Y., Heqiang, H., Dacheng, C., Ziran, H., Changhd, C. & Yanping, Q. 2003. Studies on genetic relationship among litchi varieties by using AFLP. **Acta Horticulturae Sinica**, 30(4), 399-403.

Gielly, L. & Taberlet, P. 1994. The use of chloroplast DNA to resolve plant phylogenies: noncoding versus *rbcL* sequences. **Molecular Biology and Evolution**, 11(5), 769-777.

Groff, G. W. 1921. **The Lychee and Longan**. New York: Orange Judd.

Hampl, V., Pavlicek, A. & Flegr, J. 2001. Construction and bootstrap analysis of DNA fingerprinting-based phylogenetic trees with the freeware program FreeTree: application to trichomonad parasites. **Syst Evol Microbiol**, 51(3), 731-735.

Harpke, D., Peterson, A., Hoffmann, M. H. & Roser, M. 2013. Phylogenetic evaluation of chloroplast *trnL–trnF* DNA sequence variation in the genus *Mammillaria* (Cactaceae). **Schlechtendalia**, (14), 7-16.

Hsu, C. P., Lin, C. C., Huang, C. C., Lin, Y. H., Chou, J. C., Tsia, Y. T., Su, J. R. & Chung, Y. C. 2012. Induction of apoptosis and cell cycle arrest in human colorectal carcinoma by litchi seed extract. **Biomed Biotechnol**, 2012, 341479, 1-7

Jeffreys, A. J., Wilson, V. & Thein, S. L. 1985. Individual-specific 'fingerprints' of human DNA. **Nature**, 316(6023), 76-79.

Joseph, F. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. **Evolution**, 39(4), 783.

Kress, W. J. & Erickson, D. L. 2007. A two-locus global DNA barcode for land plants: The coding *rbcL* gene complements the non-coding *trnH-psbA* spacer region. **Plos One**, 2(6), e508.

Kumar, M., Gupta, M., Shrivastava, D., Prasad, M., Prasad, U. S. & Sarin, N. B. 2006. Genetic relatedness among Indian litchi accessions (*Litchi chinensis* Sonn.) By RAPD markers. **Int. J. Agric**, (1), 390-400.

Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C. & Tamura, K. 2018. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. **Molecular Biology & Evolution**, 35(6), 1547.

Lithanatudom, S. K., Chaowasku, T., Nantarat, N., Jaroenkit, T., Smith, D. R. & Lithanatudom, P. 2017. A first phylogeny of the genus *Dimocarpus* and suggestions for revision of some taxa based on molecular and morphological evidence. **Scientific Reports** , 7(1), 6716-6727.

Liu, W., Xiao, Z., Bao, X., Yang, X., Fang, J. & Xiang, X. 2015. Identifying litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) cultivars and their genetic relationships using single nucleotide polymorphism (SNP) markers. **Plos One**, 10(8), e0135390.

Long, Y., Cheng, J., Mei, Z., Zhao, L., Wei, C., Fu, S., Khan, M. A. & Fu, J. 2015. Genetic analysis of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) in southern China by improved random amplified

polymorphic DNA (RAPD) and inter-simple sequence repeat (ISSR). **Molecular biology reports**, 42(1), 159-166.

Madhou, M., Bahorun, T. & Hormaza, J. I. 2010. Phenotypic and molecular diversity of litchi cultivars in Mauritius. F**ruits**, 65(3), 141-147.

Madhou, M., Normand, F., Bahorun, T. & Hormaza, J. I. 2013. Fingerprinting and analysis of genetic diversity of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) accessions from different germplasm collections using microsatellite markers. **Tree Genetics & Genomics**, (9), 387-396.

Menzel, C., Carseldine, M. & Simpson, D. 1988. Crop development and leaf nitrogen in lychee in subtropical Queensland. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, 28(6), 793-800.

Mingfang, L., Xueqing, Z., Yongqiang, Z., Xiangshe, W., Suyu, L., Lei, L. & Xingrong, W. 2006. Development and characterization of SSR markers in lychee (*Litchi chinensis*). **Molecular ecology notes**, 4(6), 1205-1207.

Nei, M. & Li, W.H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. **Proc. Nat. Acad. Sci. USA**, 76, 5269-5273.

Nicholas, K. B., Nicholas, H. B. & Deerfield, D. W. 1977. GeneDoc: Analysis and visualization of genetic variation. **EMBNET news**, 4, 1-4.

Page, R. D. 1996. TreeView: an application to display phylogenetic trees on personal computers. **Comput Appl Biosci**, 12(4), 357-358.

Rabah, S. O., Lee, C., Hajrah, N. H., Makki, R. M., Alharby, H. F., Alhebshi, A. M., Sabir, J. S. M., Jansen, R. K. & Ruhlman, T. A. 2017. Plastome sequencing of ten nonmodel crop species uncovers a large insertion of mitochondrial DNA in cashew. **The Plant Genome**, 10(3), 1-14.

Rachel, A. L., Warren, L. W., Peter, C. H., Molly, N., Pires, J. C., Elizabeth, A. Z. & Kenneth, J. S. 2003. Family-level relationships of onagraceae based on chloroplast *rbcL* and *ndhF* data. **American Journal of Botany**, 90(1), 107-115.

Sarin, N., Prasad, U. S., Kantharajah, A. S. & Jain, S. M. 2003. Micropropagation of litchi (*Litchi chinensis Sonn.*). **In S. M. Jain & K. Ishii. (Eds). Micropropagation of woody trees and fruits**. Kluwer academic publishers: The NetherLands. (pp.721-731).

Sharma, A., Ajay, G. N. & Mahadik, K. R. 2008. Molecular markers: New prospects in plant genome analysis. **Pharmacognosy Reviews**, 2(3), 23-34.

Sneath, P. H. A. and Sokal, R. R. 1973. **Numerical taxonomy: The principles and practice of numerical classification**. San Francisco: W.H. Freeman and Company.

Subhadrabandhu, S. 1990. **Lychee and longan cultivation in Thailand**. Bangkok: Rumthai Publication.

Taberlet, P., Gielly, L., Pautou, G. & Bouvet, J. 1991. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. **Plant molecular biology**, 17(5), 1105–1109.

Taheri, S., Abdullah, T.L., Abdullah, N.A.P. & Ahmad, Z. 2012. Genetic relationships among five varieties of *Curcuma alismatifolia* (Zingiberaceae) based on ISSR markers. **Genet. Mol. Res**, 11(3), 3069-3076.

Tamura, K. 1992. Estimation of the number of nucleotide substitutions when there are strong transition-transversion and G+C-content biases. **Mol Biol Evol**, 9(4), 678-87.

Thompson, J. D., Gibson, T. J., Plewniak, F., Jeanmougin, F. & Higgins, D. G. 1997. The CLUSTAL_X windows interface: Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. **Nucleic Acids Res**, 25(24), 4876-4882.

Tongpamnak, P., Patanatara, A., Srinives, P. & Babprasert, C. 2002. Determination of genetic diversity and relationships among Thai litchi accessions by RAPD and AFLP markers. **Kasetsart Journal**, (4), 370-380.

Viruel, M. A. & Hormaza, J. I. 2004. Development, characterization and variability analysis of microsatellites in lychee (*Litchi chinensis* Sonn., Sapindaceae). **Theor Appl Genet**, 108(5), 896-902.

Wang, X., Yuan, S., Wang, J., Lin, P., Liu, G., Lu, Y., Zhang, J., Wang, W. & Wei, Y. 2006. Anticancer activity of litchi fruit pericarp extract against human breast cancer *in vitro* and *in vivo*. **Toxicology and Applied Pharmacology**, 215(2), 168-178.

Wangspa, R., Cutler, R., Sitthiprom, S., Chundet, R., Dumampai, N. & Anuntalabhochai, S. 2005. DNA fingerprint database of some economically important Thai plants: *Litchi chinensis* Sonn, *Dimocarpus longan* Lour, and *Peuraria spp*. **ScienceAsia**, (31), 145-149.

Wu, J., Zhang, C., Chen, J., Cai, C., Wang, L., Fu, D. & Ou, L. 2016. Morphological diversity within litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) based on leaf and branch traits. **Scientia Horticulturae**, (27), 21-27.

Yang, B., Wang, J., Zhao, M., Liu, Y., Wang, W. & Jiang, Y. 2006. Identification of

polysaccharides from pericarp tissues of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit in relation to their antioxidant activities. **Carbohydrate Research**, 341(5), 634-638.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก.

ผลการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมด้วยเครื่องหมายโมเลกุล ISSR

1. ผลการให้คะแนนแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏและไม่ปรากฏ

	กวางเจา	สาแหรกทอง	โอวเฮียะ	จินใหญ่	กะโหลกใบออ	กิมเจง	จักรพรรดิ	ช่อระกำ	ฮงฮวย	สำเภาทอง	ไทย	กรอบแก้ว	สำเภาแก้ว	นครพนม 1	บริวสเตอร์	กะโหลกใบไม้	แห้วจีน	เฟียวหวาน	กระโถนท้องพระโรง	ค่อม	กะโหลกใบยาว	จีนแดง	โกมินทร์	จิ๋มใบ้	เพชรสาคร
ชื่อไพรเมอร์																									
ไพรเมอร์ 807																									
แถบที่ 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
แถบที่ 2	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1
แถบที่ 3	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	0	0	0
แถบที่ 4	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
แถบที่ 5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
แถบที่ 6	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
แถบที่ 7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
ไพรเมอร์ 808																									
แถบที่ 1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0
แถบที่ 2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
แถบที่ 3	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1
ไพรเมอร์ 809																									
แถบที่ 1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
แถบที่ 2	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1
แถบที่ 3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
แถบที่ 4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	1
แถบที่ 5	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
แถบที่ 6	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
แถบที่ 7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
ไพรเมอร์ 810																									
แถบที่ 1	0	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0
แถบที่ 2	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0
แถบที่ 3	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0
แถบที่ 4	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1
แถบที่ 5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
แถบที่ 6	1	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0

	กวางเจา	สาแหรกทอง	โอเฮเฮียะ	จีนใหญ่	กะโหลกใบอ้อ	กิมเจง	จักรพรรดิ	ซ่อระก้า	ฮงฮวย	สำเภาทอง	ไทย	กรอบแก้ว	สำเภาแก้ว	นครพนม 1	บริวสเตอร์	กะโหลกใบไหม้	แห้วจีน	เตี้ยวหวาน	กระโถนท้องพระโรง	ค่อม	กะโหลกใบยาว	จีนแดง	โกมินทร์	จิ๋มโป้	เพชรสาคร
ชื่อไพรเมอร์																									
ไพรเมอร์ 817																									
แถบที่ 1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0
แถบที่ 2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
แถบที่ 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
แถบที่ 4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
แถบที่ 5	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
แถบที่ 6	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1
แถบที่ 7	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
แถบที่ 8	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
แถบที่ 9	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0
ไพรเมอร์ 822																									
แถบที่ 1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
แถบที่ 2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	1	1
แถบที่ 3	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1
แถบที่ 4	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
แถบที่ 5	1	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0
แถบที่ 6	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
แถบที่ 7	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
แถบที่ 8	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
ไพรเมอร์ 826																									
แถบที่ 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1
แถบที่ 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
แถบที่ 3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0
แถบที่ 4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
แถบที่ 5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
แถบที่ 6	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1	1	0
แถบที่ 7	0	0	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0
แถบที่ 8	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	0	0	0
แถบที่ 9	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0

ชื่อไพรเมอร์	กวางเจา	สาแหรกทอง	โอวเสี่ยะ	จีนใหญ่	กะโหลกใบอ้อ	กิมเจง	จักรพรรดิ	ซ่อระก้า	ฮงฮวย	สำเภาทอง	ไทย	กรอบแก้ว	สำเภาแก้ว	นครพนม 1	บริวสเตอร์	กะโหลกใบไหม้	แห้วจีน	เขียวหวาน	กระโถนท้องพระโรง	ค่อม	กะโหลกใบยาว	จีนแดง	โกมินทร์	จั๋มโป้	เพชรสาคร
ไพรเมอร์ 828																									
แถบที่ 1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	1
แถบที่ 2	1	0	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
แถบที่ 3	1	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
แถบที่ 4	1	0	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0
ไพรเมอร์ 834																									
แถบที่ 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
แถบที่ 2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1
แถบที่ 3	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0
แถบที่ 4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
แถบที่ 5	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0
แถบที่ 6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
แถบที่ 7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
ไพรเมอร์ 835																									
แถบที่ 1	1	1	1	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0
แถบที่ 2	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
แถบที่ 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
แถบที่ 4	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0
แถบที่ 5	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0
แถบที่ 6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
แถบที่ 7	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0
แถบที่ 8	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
แถบที่ 9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
แถบที่ 10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
แถบที่ 11	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0
ไพรเมอร์ 836																									
แถบที่ 1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1
แถบที่ 2	0	1	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0
แถบที่ 3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
แถบที่ 4	1	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0

ชื่อไพรเมอร์	กวางเจา	สาแหรกทอง	โอวเฮียะ	จินใหญ่	กะโหลกใบอ้อ	กิมเจง	จักรพรรดิ	ข่อระกำ	ฮงฮวย	สำเภาทอง	ไทย	กรอบแก้ว	สำเภาแก้ว	นครพนม 1	บริวสเตอร์	กะโหลกใบไหม้	แห้วจีน	เขียวหวาน	กระโถนท้องพระโรง	ค่อม	กะโหลกใบยาว	จีนแดง	โกมินทร์	จัมโบ้	เพชรสาคร
ไพรเมอร์ 841																									
แถบที่ 1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0
แถบที่ 2	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
แถบที่ 3	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
แถบที่ 4	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
แถบที่ 5	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0
ไพรเมอร์ 842																									
แถบที่ 1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1	1
แถบที่ 2	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
แถบที่ 3	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
แถบที่ 4	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1
แถบที่ 5	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	0	0
แถบที่ 6	0	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
แถบที่ 7	1	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1
แถบที่ 8	0	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
แถบที่ 9	0	1	0	1	1	0	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0
ไพรเมอร์ 844																									
แถบที่ 1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
แถบที่ 2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
ไพรเมอร์ 845																									
แถบที่ 1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
ไพรเมอร์ 847																									
แถบที่ 1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
แถบที่ 2	1	0	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0
แถบที่ 3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1
แถบที่ 4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
แถบที่ 5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0

ชื่อไพรเมอร์	กวางเจา	สาเหร่กทอง	โอวเฮียะ	จีนใหญ่	กะโหลกใบอ้อ	กิมเจง	จักรพรรดิ	ช่อระกำ	ฮงฮวย	สำเภาทอง	ไทย	กรอบแก้ว	สำเภาแม้ว	นครพนม 1	บริวสเตอร์	กะโหลกใบไหม้	แห้วจีน	เขียวหวาน	กระโถนท้องพระโรง	คอม	กะโหลกใบยาว	จีนแดง	โกมินทร์	จีนโบ้	เพชรสาคร
ไพรเมอร์ 849																									
แถบที่ 1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1
แถบที่ 2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
แถบที่ 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
แถบที่ 4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
แถบที่ 5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
แถบที่ 6	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0
ไพรเมอร์ 855																									
แถบที่ 1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	1
แถบที่ 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
แถบที่ 3	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
แถบที่ 4	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0
ไพรเมอร์ 856																									
แถบที่ 1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1
แถบที่ 2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1
แถบที่ 3	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0
แถบที่ 4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	0	1	1	0	0
แถบที่ 5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
แถบที่ 6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
แถบที่ 7	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0
ไพรเมอร์ 864																									
แถบที่ 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
แถบที่ 2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
แถบที่ 3	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
แถบที่ 4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
แถบที่ 5	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0
แถบที่ 6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
แถบที่ 7	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
แถบที่ 8	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0
แถบที่ 9	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
แถบที่ 10	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
แถบที่ 11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1

	กวางเจา	สาแหรกทอง	โอวเฮียะ	จีนใหญ่	กะโหลกใบอ้อ	กิมเจง	จักรพรรดิ	ซ่อระก้า	ฮงฮวย	สำเภาทอง	ไทย	กรอบแก้ว	สำเภาแก้ว	นครพนม 1	บริวสเตอร์	กะโหลกใบไหม้	แห้วจีน	เซียวกวาน	กระโถนท้องพระโรง	ค่อม	กะโหลกใบยาว	จีนแดง	โกมินทร์	จั๋มโป้	เพชรสาคร
ชื่อไพรเมอร์																									
ไพรเมอร์ 880																									
แถบที่ 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
แถบที่ 2	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
แถบที่ 3	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
แถบที่ 4	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
แถบที่ 5	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1
แถบที่ 6	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0
แถบที่ 7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
แถบที่ 8	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
ไพรเมอร์ 881																									
แถบที่ 1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
แถบที่ 2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
แถบที่ 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
แถบที่ 4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
ไพรเมอร์ 890																									
แถบที่ 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
แถบที่ 2	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0
แถบที่ 3	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	1	1
แถบที่ 4	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0
แถบที่ 5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
แถบที่ 6	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0
แถบที่ 7	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
ไพรเมอร์ 891																									
แถบที่ 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
แถบที่ 2	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0
แถบที่ 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
แถบที่ 4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1
แถบที่ 5	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0
แถบที่ 6	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1
แถบที่ 7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1

ภาคผนวก ข.

การเตรียมสาร

1. การเตรียมสาร 1 M Tris HCl pH 8.0 ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

สารเคมี

1) Tris ultra-pure (MW. 121.14)

2) น้ำกลั่น

3) ปรับค่า pH ด้วย HCl 37 เปอร์เซ็นต์

ขั้นตอนการเตรียมสาร

1) ชั่งสาร Tris 121.14 กรัม

2) ละลายในน้ำกลั่น 750 มิลลิลิตร โดยการนำไปละลายที่เครื่องกวนสาร

3) ปรับ pH. เป็น 8.0 ด้วย HCl 37เปอร์เซ็นต์ ประมาณ 42 มิลลิลิตร

4) ปรับปริมาตรให้ครบ 1000 มิลลิลิตร

5) นึ่งฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งความดันก่อนนำมาใช้งาน

2. การเตรียม 0.5 M EDTA ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

สารเคมี

1) EDTA (MW 372.24) disodium EDTA × $2H_2O$

2) น้ำกลั่น

3) ปรับ pH ด้วย NaOH

ขั้นตอนการเตรียม

1) ชั่ง EDTA 186.1 กรัม

2) ละลายในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร โดยการนำไปละลายด้วยเครื่องกวนสาร

3) นำไปปรับ pH 8.0 ด้วย NaOH ประมาณ 20 มิลลิลิตร

4) ปรับปริมาตรให้ครบ 1000 มิลลิลิตร

5) นึ่งฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งความดันก่อนนำมาใช้งาน

3. การเตรียม mCTAB ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

สารเคมี	ความเข้มข้นสุดท้าย
1) CTAB	2 เปอร์เซ็นต์
2) NaCl	1.4 M
3) 1 M. Tris-HCl pH 8.0	100 mM
4) 0.5 M. EDTA pH 8.0	50 mM
5) PVP-40	1 เปอร์เซ็นต์
6) Sodium metabisulfite ($Na_2S_2O_5$)	0.5 เปอร์เซ็นต์

ขั้นตอนการเตรียม

1) ชั่ง CTAB ปริมาณ 20 กรัม
2) ชั่ง NaCl ปริมาณ 81.82 กรัม
3) ชั่ง PVP-40 ปริมาณ 10 กรัม
4) ชั่ง Sodium metabisulfite ($Na_2S_2O_5$) ปริมาณ 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปริมาตร 700 มิลลิลิตร
5) เติม 1 M. Tris-HCl pH 8.0 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
6) เติม 0.5 M. EDTA pH 8.0 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
7) ปรับปริมาตรให้ครบ 1000 มิลลิลิตร
8) นึ่งฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งความดันก่อนนำมาใช้งาน

4. การเตรียม 5X TBE ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

สารเคมี

1) Tris base
2) Boric acid
3) 0.5M EDTA pH 8.0

ขั้นตอนการเตรียม

1) ชั่ง Tris base ปริมาณ 54 กรัม และ Boric acid ปริมาณ 27.5 กรัม แล้วละลายในน้ำกลั่น
2) นำไปผสมให้เข้ากันโดยเครื่องกวนสาร และผสม 0.5M EDTA ปริมาตร 20 มิลลิลิตร
3) ปรับปริมาตรให้ครบ 1000 มิลลิลิตร
4) นำนึ่งฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งความดันก่อนนำมาใช้งาน

5. การเตรียม Phenol chloroform isoamyl alcohol อัตราส่วน 25:24:1 ปริมาตร 200 ml.

สารเคมี

1) Phenol (Buffer pH 7.9±0.2)

2) Chloroform

3) Isoamyl alcohol

ขั้นตอนการเตรียม

1) ตวง Phenol ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2) เติม Chloroform 96 มิลลิลิตร

3) เติม Isoamyl alcohol 4 มิลลิลิตร

4) ห่อขวดที่บรรจุสารให้มิดชิดป้องกันแสงและเก็บไว้ในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

6. การเตรียม Chloroform isoamyl alcohol อัตราส่วน 24:1 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร

สารเคมี

1) Chloroform

2) Isoamyl alcohol

ขั้นตอนการเตรียม

1) Chloroform ปริมาตร 192 มิลลิลิตร

2) Isoamyl alcohol ปริมาตร 8 มิลลิลิตร

3) หอขวดที่บรรจุสารให้มิดชิดป้องกันแสงและเก็บไว้ในอุณหภูมิห้อง

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล สิริมา สุวรัตน์

เกิดเมื่อ 22 มิถุนายน 2537

ประวัติการศึกษา พ.ศ. 2555-2558 ปริญญาตรี หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาเกษตรเคมี มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พ.ศ. 2552-2554 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนบ้านดุงวิทยา จังหวัดอุดรธานี

พ.ศ. 2549-2551 มัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนเทพินทร์พิทยา จังหวัดราชบุรี

ประวัติการทำงาน 2562: Thai Journal of Science and Technology - Research Article : Genetic Relationships among Lychee (Litchi chinensis Sonn.) Cultivars Based on ISSR Markers, DNA Sequences of rbcL Gene and trnL-trnF Intergenic Spacer Region.

2561: MJU Annual Conference Maejo University Chiang Mai - Poster presented (co-author): Genetic relationship of Litchi chinensis cultivars based on partial sequence of matK gene.

2561: MJU Annual Conference Maejo University Chiang Mai - Poster presented (co-author): Amylose Content and Gel Consistency of Thai Rice.

2560 : National Genetics Conference – Poster presented : Identification of litchi cultivars (Litchi chinensis Sonn.) in germplasm field of Maejo University using ISSR markers.