บทที่ 5
วิจารณ์และสรุปผลการวิจัย

การวิเคราะห์พันธุกรรมของลิ้นจี่โดยเทคนิค RAPD ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้ปฏิกิริยา PCR โดยอาศัยการจับของ primer แบบสุ่ม เพื่อเพิ่มขยาย DNA ให้มีปริมาณมาก จากนั้นนำ DNA ที่เป็นผลผลิตจากปฏิกิริยา PCR มาตรวจสอบด้วยวิธีอิเลคโตรโฟรีซีส โดยอาศัยการเคลื่อนที่ของ DNA ในสนามไฟฟ้าจากขั้วลบไปสู่ขั้วบวกผ่านตัวกลางคือ agarose gel ซึ่งพบว่า DNA ขนาดใหญ่มีน้ำหนักโมเลกุลมากจะเคลื่อนที่ผ่านรูพรุนของ gel ได้ช้า จึงปรากฏแถบ DNA อยู่ตอนบนของ gel ส่วน DNA ขนาดเล็กมีน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่าจะเคลื่อนที่ผ่านรูพรุนของ gel ได้เร็วกว่า จึงปรากฏแถบ DNA บริเวณตอนล่างของ gel แต่ถ้า DNA มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากันก็จะปรากฏแถบ DNA ในตำแหน่งเดียวกัน (อาภัสรา, 2537 ; วาสนา, 2539) ในการศึกษาครั้งนี้สุ่มใช้ primer ทั้งหมด 69 primers พบว่ามี 4 primers ไม่สามารถสังเคราะห์ DNA สายใหม่ขึ้นได้ ส่วนอีก 60 primers สามารถสังเคราะห์ DNA สายใหม่ได้ และปรากฏแบบแผนลายพิมพ์ DNA ที่มีลักษณะเป็น monomorphism คือแถบ DNA ที่เกิดขึ้นมีน้ำหนักโมเลกุลไม่แตกต่างกันหรือแตกต่างกันน้อย ทำให้ไม่สามารถใช้แยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ลิ้นจี่ได้ ในการศึกษาครั้งนี้พบเพียง 5 primers เท่านั้นที่สามารถสังเคราะห์ DNA สายใหม่ที่มีลักษณะเป็น polymorphism โดยแต่ละ primer ทำให้เกิดแบบแผนลายพิมพ์ DNA ที่มีลักษณะจำเพาะตัว ซึ่งจากรายงานการใช้เทคนิค RAPD เพื่อแยกความแตกต่างของพืชหลายชนิด เช่น กวาว (นวลน้อย, 2539) sweetpotato (Thompson *et al.*, 1997) และ blueberry (Levi and Rowland, 1997) ก็พบว่าแบบแผนลายพิมพ์ DNA ที่เกิดจาก primer แต่ละชนิดมีแบบแผนจำเพาะตัวเช่นเดียวกัน

แบบแผนลายพิมพ์ DNA ที่เกิดจากทั้ง 5 primers ได้แก่ PAK10 PAQ12 PAS10 PB18 และ PC09 เมื่อนำไปวิเคราะห์ผลโดยใช้ cluster analysis ในโปรแกรม SPSS แสดงความสัมพันธ์ใกล้ชิดระหว่างพันธุ์ลิ้นจี่พบว่า dendrogram ที่ได้ในภาพ 9 สามารถแบ่งลิ้นจี่ที่ใช้ในการวิจัยออกเป็น 2 กลุ่ม คือ

กลุ่มที่ 1 มี 10 พันธุ์ ได้แก่พันธุ์สาแหรกทอง ฮงฮวย สำเภาแก้ว กวางเจา โอเฮี้ยะ จีนเล็ก จีนหอม กะโหลกใบยาว บริวสเตอร์ Haak-Yip และกิมเจ็ง

กลุ่มที่ 2 มี 9 พันธุ์ ได้แก่พันธุ์ค่อม จีนใหญ่ กระโถนท้องพระโรง กะโหลกใบอ้อ จักรพรรดิ์ ลูกลาย นครพนม แห้ว และกิมจี้

การจัดแบ่งกลุ่มพันธุ์ลิ้นจี่ดังกล่าวพิจารณาจากความถี่ของการเกิดและไม่เกิดแถบ DNA ที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากันบางตำแหน่ง โดยในกลุ่มที่ 1 เมื่อใช้ primer PAK10 (ภาพ 4) พบแถบ DNA ตำแหน่งที่ 4 (1200 bp.) 90 % ส่วนกลุ่มที่ 2 ไม่พบแถบ DNA ในตำแหน่งที่ 4 แต่พบแถบ DNA ตำแหน่งที่ 1 (1400 bp.) ถึง 89 % ในขณะที่กลุ่มที่ 1 พบเพียง 10 % (ตาราง 6)

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของพันธุ์ลิ้นจี่ภายในกลุ่มที่ 1 พบว่าสามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่มย่อย ตามลักษณะความใกล้ชิดจาก dendrogram ดังนี้

กลุ่มย่อยที่ 1.1 ได้แก่พันธุ์สาแหรกทอง สำเภาแก้ว และฮงฮวย

กลุ่มย่อยที่ 1.2 ได้แก่พันธุ์กวางเจา โอเฮี๊ยะ จีนเล็ก จีนหอม กะโหลกใบยาว และ Haak-Yip

กลุ่มย่อยที่ 1.3 ได้แก่พันธุ์บริวสเตอร์ และกิมเจ็ง

ส่วนความสัมพันธ์ของพันธุ์ลิ้นจี่ภายในกลุ่มที่ 2 พบว่าสามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่มย่อย ดังนี้

กลุ่มย่อยที่ 2.1 ได้แก่พันธุ์ค่อม จีนใหญ่ และกระโถนท้องพระโรง

กลุ่มย่อยที่ 2.2 ได้แก่พันธุ์ลูกลาย แห้ว และจักรพรรดิ์

กลุ่มย่อยที่ 2.3 ได้แก่พันธุ์กะโหลกใบอ้อ กิมจี้ และนครพนม

การจัดกลุ่มพันธุ์ลิ้นจี่อาศัยความแตกต่างของแบบแผนลายพิมพ์ DNA ในแถบ DNA หลัก (major band) ซึ่งพันธุ์ลิ้นจี่ที่ถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มเดียวกัน หรือพันธุ์ใดมีความใกล้ชิดกันเกิดแบบแผนลายพิมพ์ DNA คล้ายกัน อาจเป็นเพราะพันธุ์นั้นมีลำดับวิวัฒนาการทางพันธุกรรมร่วมกัน (สวัสดิ์, 2514) นอกจากนี้ยังสามารถแยกความแตกต่างระหว่างลิ้นจี่แต่ละพันธุ์ภายในกลุ่มเดียวกันได้ โดยดูจากการเกิดแถบ DNA จากการใช้ primer แต่ละชนิด ตัวอย่างเช่น ในกลุ่มย่อยที่ 2.1 การใช้ primer PAS10 สามารถแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ค่อม จีนใหญ่ และกระโถนท้องพระโรงออกจากกัน โดยดูจากการเกิดและไม่เกิดแถบ DNA ที่มีน้ำหนักโมเลกุล 630 800 และ 1100 bp. ส่วนลิ้นจี่พันธุ์อื่นที่ใช้ในการวิจัยก็สามารถแยกความแตกต่างได้ในทำนองเดียวกัน สอดคล้องกับรายงานของ Schnell *et al.* (personal communication) ที่ใช้เทคนิค RAPD ความแตกต่างของลิ้นจี่พันธุ์ Amboina Bengal และ Brewster โดยอาศัยแถบ DNA น้ำหนักโมเลกุล 370 500 600 และ 650 bp. จากการใช้ primer I16 โดยให้เหตุผลว่าลิ้นจี่แต่ละพันธุ์ที่มีแถบ DNA ต่างกัน แสดงว่ามีลักษณะพันธุกรรมแตกต่างกันด้วย

ในการศึกษาครั้งนี้ใช้ลำไยพันธุ์พวงทอง ซึ่งเป็นพืชที่จัดอยู่ในตระกูล Nephelium วงศ์ Sapindaceae เช่นเดียวกับลิ้นจี่ เป็นพันธุ์เปรียบเทียบ (contorl) พบว่าเทคนิค RAPD สามารถ

แยกความแตกต่างระหว่างลำไยกับลิ้นจี่ออกจากกันได้อย่างชัดเจน ผลการวิจัยสอดคล้องกับ Hu and Quiros (1991) ซึ่งใช้เทคนิค RAPD เพื่อจำแนกความแตกต่างในพืชตระกูลกะหล่ำ คือบร็อคโคลี่และกะหล่ำดอก รวมถึงงานทดลองของ Warburton and Bliss (1996) ที่ทำการวิเคราะห์พันธุกรรมของ peach โดยมี almond เป็นพันธุ์เปรียบเทียบพบว่าสามารถแยก almond ออกจากกลุ่มของ peach ได้อย่างชัดเจนเช่นกัน

การแพร่กระจายของลิ้นจี่จากแหล่งกำเนิดไปสู่ประเทศต่าง ๆ มักมองข้ามเรื่องข้อมูลประวัติของพันธุ์ที่นำเข้า ส่งผลให้เกิดปัญหาในการตั้งชื่อพันธุ์ อันนำไปสู่ความผิดพลาดในการบ่งบอก (misidentification) หรือการติดชื่อพันธุ์ผิด (mislabeling) รวมถึงการตั้งชื่อพันธุ์ใหม่ตามภาษาท้องถิ่นที่ต่างไปจากชื่อพันธุ์เดิมโดยสิ้นเชิง เหล่านี้ทำให้เกิดความสับสนในการเรียกชื่อพันธุ์ลิ้นจี่ในปัจจุบัน ด้วยว่าลิ้นจี่บางพันธุ์มีชื่อเรียกหลายชื่อทั้ง ๆ ที่เป็นพันธุ์เดียวกัน หรือบางพันธุ์มีชื่อเหมือนกันแต่ลักษณะต่างกัน และเป็นคนละพันธุ์ (Aradhya *et al.*, 1995 ; Schnell *et al.*, personal communication) ตัวอย่างเช่น พันธุ์ฮงฮวย หมอหม่อง และสันทราย ทั้งสามมีลักษณะคล้ายกันมากน่าจะเป็นพันธุ์เดียวกัน (บุญรอด, 2531) ส่วนพันธุ์ Emperor จากฟลอริดาเป็นพันธุ์เดียวกันกับ Chakapat จากไทย พิสูจน์จากทั้งสองมีรูปแบบ isozyme เหมือนกัน (Degani *et al.*, 1995) ทำนองเดียวกันกับผลการศึกษาครั้งนี้ ในกลุ่มย่อยที่ 1.2 พบว่าพันธุ์โอเฮี้ยะมีแบบแผนลายพิมพ์ DNA เหมือนกับ Haak-Yip ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Subhadrabandhu (1990) ที่กล่าวว่าโอเฮี้ยะกับ Haak-Yip เป็นพันธุ์เดียวกัน แต่เรียกชื่อต่างกัน แต่อย่างไรก็ตามพันธุ์ Haak-Yip ที่มาจากต่างแหล่งกันก็ยังพบว่ามีความแตกต่างกันเช่น Haak-Yip ที่นำมาจากฮาวาย ฟลอริดา และแอฟริกาใต้ มีรูปแบบ isozyme แตกต่างกัน (Degani *et al.*, 1995) และจาก dendrogram จะเห็นว่าพันธุ์กวางเจากับพันธุ์จีนหอมมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันค่อนข้างมาก ทั้งนี้อาจเนื่องจากมีการนำเมล็ดของทั้งสองพันธุ์มาจากเมืองเดียวกันในประเทศจีน แต่นำเข้ามาคนละเวลา คาดว่าน่าจะเป็นพันธุ์เดียวกัน นอกจากนี้พันธุ์โอเฮี้ยะมีลักษณะใบคล้ายกับพันธุ์กวางเจามาก และทั้งสองพันธุ์ก็นำเข้ามาจากประเทศจีนแต่พันธุ์โอเฮี้ยะถูกนำเข้ามาก่อน ทำนองเดียวกันกับพันธุ์จีนเล็กกับกะโหลกใบยาวเป็นพันธุ์ที่นำเข้ามาจากประเทศจีนเหมือนกันแต่มีแหล่งปลูกอยู่ทางที่ราบลุ่มภาคกลางของไทย (บุญแถมและมนตรี, การติดต่อส่วนตัว) ซึ่งจาก dendrogram จะเห็นว่าแม้ทั้งสองพันธุ์จะถูกจัดอยู่ในกลุ่มย่อยเดียวกัน แต่ก็มีความแตกต่างกัน

จากรายงานการแบ่งกลุ่มพันธุ์ลิ้นจี่ของ Subhadrabandhu (1990) ซึ่งได้แบ่งกลุ่มพันธุ์ลิ้นจี่ตามลักษณะการตอบสนองต่ออุณหภูมิเพื่อการออกดอก หรือแบ่งกลุ่มพันธุ์ลิ้นจี่ที่ปลูกในภาคเหนือและภาคกลางของประเทศไทย แต่ผลการวิจัยครั้งนี้พบว่าการใช้ primer ทั้ง 5 primers ไม่

สามารถแบ่งกลุ่มพันธุ์ลิ้นจี่ที่ใช้ในการวิจัยให้สอดคล้องตามลักษณะการตอบสนองต่ออุณหภูมิเพื่อการออกดอกดังกล่าวได้

กลุ่มย่อยที่ 1.1 พันธุ์สาแหรกทองกับสำเภาแก้ว เป็นพันธุ์ที่ปลูกทางภาคกลางเหมือนกัน จาก dendrogram พบว่าทั้งสองพันธุ์มีความสัมพันธ์ค่อนข้างใกล้ชิดกัน คาดว่าได้จากการเพาะเมล็ดที่เกิดจากพ่อ - แม่เดียวกันแล้วเกิดการกลายพันธุ์ไป ส่วนพันธุ์ฮงฮวยเป็นพันธุ์ที่ปลูกทางภาคเหนือ แต่จากผลการวิจัยพบว่ามีแบบแผนลายพิมพ์ DNA เหมือนกับพันธุ์สาแหรกทอง จึงทำการสอบถามข้อมูลและตรวจสอบแผนที่แปลงรวบรวมพันธุ์ลิ้นจี่ที่ทำการเก็บตัวอย่างเพื่อใช้ในการวิจัยครั้งนี้พบว่าแนวการปลูกของลิ้นจี่ทั้งสองพันธุ์เลื่อมสลับกัน และตำแหน่งปลูกของทั้งสองพันธุ์ใกล้กัน (บุญแถมและมนตรี, การติดต่อส่วนตัว) คาดว่าน่าจะเก็บตัวอย่างผิด

กลุ่มย่อยที่ 1.3 พันธุ์บริวสเตอร์และกิมเจ็งเป็นพันธุ์ที่ปลูกทางภาคเหนือ พันธุ์บริวสเตอร์นำเข้ามาจากประเทศจีน แล้วตั้งชื่อพันธุ์ตามชื่อของคนที่นำเข้า (บุญแถม และมนตรี, การติดต่อส่วนตัว) ส่วนพันธุ์กิมเจ็งเป็นพันธุ์ที่นำเข้าจากประเทศจีนเช่นเดียวกัน และเป็นพันธุ์เดียวกับพันธุ์ Wai Chee (Smith, 1991) จาก dendrogram จะเห็นว่าทั้งสองพันธุ์มีความแตกต่างกัน สอดคล้องกับบุญแถมและมนตรี (การติดต่อส่วนตัว) ที่กล่าวว่าพันธุ์บริวสเตอร์กับกิมเจ็งมีลักษณะ phenotype แตกต่างกันอย่างชัดเจน และผลการวิจัยครั้งนี้พบว่าทั้งสองพันธุ์มีความแตกต่างจากพันธุ์อื่นมาก จึงทำให้ต้องแยกกลุ่มออกมา ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Degani *et al.* (1995) ที่ยังไม่สามารถจัดกลุ่มให้พันธุ์บริวสเตอร์ได้อย่างชัดเจนเช่นกัน

พันธุ์ลิ้นจี่ในกลุ่มที่ 2 ซึ่งแยกความแตกต่างออกจากกลุ่มแรกโดยการพิจารณาจากความถี่ของการเกิดแถบ DNA จากการใช้ primer PAK10 ในตำแหน่งที่ 1 และ 4 น้ำหนักโมเลกุล 1400 และ 1200 bp. ตามลำดับนั้น เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์ลิ้นจี่ภายในกลุ่มย่อยแต่ละกลุ่ม พบว่าในกลุ่มย่อยที่ 2.1 ได้แก่พันธุ์ค่อม จีนใหญ่ และกระโถนท้องพระโรง ทั้งสามเป็นพันธุ์ที่ปลูกในพื้นที่ราบลุ่มภาคกลางของไทยเช่นเดียวกับพันธุ์ลูกลายและแห้วในกลุ่มย่อยที่ 2.2 ซึ่งลิ้นจี่ที่ปลูกทางภาคกลางของไทยส่วนใหญ่ได้จากการเพาะเมล็ด เมื่อระยะเวลาผ่านไปต้นลิ้นจี่ที่ได้จากการเพาะเมล็ดอาจมีการปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมที่ปลูกรวมทั้งได้มีการคัดเลือกพันธุ์ของคนในท้องถิ่น จึงมีการตั้งชื่อแยกเป็นพันธุ์ต่าง ๆ ภายหลัง (รวี, 2540 ; บุญแถมและมนตรี, การติดต่อส่วนตัว) ส่วนพันธุ์จักรพรรดิ์เป็นพันธุ์ที่ปลูกมากในภาคเหนือ แม้จะถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มย่อยที่ 2.2 แต่จาก dendrogram แสดงให้เห็นว่าพันธุ์จักรพรรดิ์มีความแตกต่างจากพันธุ์แห้วและลูกลาย

กลุ่มย่อยที่ 2.3 ประกอบด้วยพันธุ์กะโหลกใบอ้อ กิมจี้ และนครพนม จาก dendrogram แสดงให้เห็นว่าทั้งสามพันธุ์มีความแตกต่างกัน สอดคล้องกับข้อมูลประวัติพันธุ์และแหล่งปลูกของแต่ละพันธุ์ กล่าวคือพันธุ์นครพนมเป็นพันธุ์ที่คัดเลือกพันธุ์ได้ที่จังหวัดนครพนมโดยครั้งแรกได้เมล็ดพันธุ์มาจากภาคกลางและเป็นพันธุ์ที่ต้องการอากาศเย็นและแล้งเพื่อการออกดอก ส่วนพันธุ์กะโหลกใบอ้อมีแหล่งปลูกอยู่ทางภาคกลาง พันธุ์กิมจี้มีแหล่งปลูกอยู่ทางภาคเหนือของไทย (บุญแถมและมนตรี, การติดต่อส่วนตัว)

จากการศึกษาวิจัยครั้งนี้ทำให้ทราบว่าพันธุ์ลิ้นจี่ในประเทศไทยมีที่มาจากการนำเข้าจากต่างประเทศ การเพาะเมล็ด รวมทั้งที่ได้จากการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้ลักษณะที่ดีตามความต้องการของนักปรับปรุงพันธุ์ ซึ่งพันธุ์ลิ้นจี่เหล่านี้มักมีข้อมูลการนำเข้าและประวัติพันธุ์ที่ไม่ชัดเจนส่งผลให้เกิดความสับสนในการบ่งบอกพันธุ์และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์ลิ้นจี่ที่ถูกต้องในปัจจุบัน ซึ่งถ้าหากทำการศึกษาเรื่องนี้ให้เกิดความชัดเจนยิ่งขึ้น ข้อมูลที่ได้จะมีประโยชน์อย่างมากโดยเฉพาะในด้านการปรับปรุงพันธุ์ การขยายพันธุ์ การตลาด รวมไปถึงเรื่องสิทธิบัตรการคุ้มครองพันธุ์ จากปัญหาดังกล่าวเทคนิคทางด้านพันธุวิศวกรรมจะช่วยเพิ่มความชัดเจนในเรื่องนี้ และ RAPD ก็เป็นเทคนิคหนึ่งที่นำมาใช้ในการวิเคราะห์พันธุกรรมของลิ้นจี่ ซึ่งผลการวิจัยสามารถใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนข้อมูลที่ได้จากการใช้เทคนิค isozyme (Degani *et al*,1995; Aradhy *et al*.,1995) และสนับสนุนงานด้านอนุกรมวิธานของลิ้นจี่ที่ได้ทำการศึกษามาก่อนแล้วในระดับหนึ่งเท่านั้น จึงจำเป็นต้องทำการศึกษาเพิ่มเติม โดยอาศัยเทคนิคอื่น ๆ เช่น RFLP, AFLP เพื่อให้งานวิเคราะห์พันธุกรรมของลิ้นจี่เกิดความกระจ่างมากขึ้น