รายงานผลการวิจัย

เรื่อง การจำแนกลักษณะประจำพันธุ์และการปรับปรุงพันธ์ลำไย

Classification of Longan Germplasm and Breeding Program

ได้รับการจัดสรรงบประมาณวิจัย ประจำปี 2555

จำนวน 1,128,200 บาท

หัวหน้าโครงการ นางฉันทนา วิชรัตน์

ผู้ร่วมโครงการ นางนงนุช ภูศล

นางธีรนุช เจริญกิจ

นางสาวแสงทอง พงษ์เจริญกิต

นางจีรนันท์ เสนานาญ

นายพาวิน มะโนชัย

นางนพมณี โชปุญญานนท์

งานวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์

23 เมษายน 2556

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยใคร่ขอขอบคุณ สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้ทุนอุดหนุนวิจัย ประจำปี 2555 ที่ได้เล็งเห็นถึงความจำเป็นและความสำคัญในการศึกษาในด้านการจำแนกลักษณะประจำพันธุ์และการปรับปรุงพันธุ์ลำไย การอนุมัติสนับสนุนทุนวิจัยประจำปีงบประมาณ 2555 จึงเป็นสิ่งที่ทำให้นักวิจัยรู้สึกขอบคุณและมีกำลังใจในการทำงานด้านการจำแนกลักษณะและการปรับปรุงพันธุ์ลำไยมากขึ้น และหวังว่าเมื่อสิ้นสุดโครงการการสามารถสร้างและคัดเลือกพันธุ์ลำไยพันธุ์ใหม่ ๆ ที่สามารถสร้างชื่อเสียงให้กับมหาวิทยาลัยต่อไป

เนื่องจากโครงการประกอบด้วยนักวิจัยผู้เชี่ยวชาญเฉพาะด้านที่มาจากหลายสาขาวิชา เช่น สาขาไม้ผล (ผศ.ดร.ธีรนุช เจริญกิจ),สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ (ผศ.ดร.แสงทอง พงษ์เจริญกิต ,และรศ.ดร.นพมณี โทปุญญานนท์)และ สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร(นางจิรนันท์ เสนานาญ) ซึ่งแต่ละท่านได้ใช้ความสามารถและเชี่ยวชาญเฉพาะสาขาวิชา ดำเนินการวิจัยตามแผนที่กำหนดไว้ ทำให้ผลการวิจัยเป็นที่น่าพอใจยิ่ง จึงใคร่ขอขอบพระคุณในการร่วมมือในการวิจัยดังกล่าวไว้ ณ โอกาสนี้ด้วย

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณผู้ช่วยนักวิจัยทุกท่านและนักศึกษาปริญญาโทที่เกี่ยวข้องทุกคน ที่เป็นกำลังสำคัญที่ทำให้ผลงานวิจัยออกมาได้ด้วยดี

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ฉันทนา วิชรัตน์

หัวหน้าโครงการวิจัย

สารบัญ

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

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 แผนผังแปลงรวบรวมพันธุ์หน้าอาคารปฏิบัติการไม้ผล 25 ปี (ร่วมกับสาขาฯ และศูนย์ฯ ลำไย) 11

ภาพที่ 2 ตัวอย่างลักษณะประจำพันธุ์ ที่แสดงข้อมูลพร้อมภาพประกอบ ของลำไยพันธุ์ตอ 14

ภาพที่ 3 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพร์เมอร์ BPS1 20

ภาพที่ 4 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพร์เมอร์ BPS2 21

ภาพที่ 5 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพร์เมอร์ BPS3 21

ภาพที่ 6 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพร์เมอร์ BPS4 22

ภาพที่ 7 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพร์เมอร์ BPS5 22

ภาพที่ 8 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพร์เมอร์ BPS6 23

ภาพที่ 9 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพร์เมอร์ BPS7 23

ภาพที่ 10 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพร์เมอร์ BPS9 24

ภาพที่ 11 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพร์เมอร์ LA1 24

ภาพที่ 12 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพร์เมอร์ LA2 25

ภาพที่ 13 Phylogenic tree ของตัวอย่างลำไยและลิ้นจี่ จำนวน 29 สายพันธุ์ 27

ภาพที่ 14 ผลการจัดจำแนกสายพันธุ์ลำไย จำนวน 14 สายพันธุ์ (Rungrach Wangspa และคณะ 2005) 28

ภาพที่ 15 เมล็ดลำไยที่มีระดับพัฒนาการของผล 3 ขนาดได้แก่ 9 (A), 12 (B) และ 18 (C) สัปดาห์หลังติดผล และลักษณะเมล็ดลำไยที่ไม่แกะเปลือก (D) และที่แกะเปลือก (E) 36

สารบัญภาพ (ต่อ)

		หน้า
ภาพที่ 16	เมล็ดลำไยเริ่มต้นที่เพาะเลี้ยงในระบบอาหารแข็ง (A) และในระบบไบโอรีแอคเตอร์ (B)	37
ภาพที่ 17	ลักษณะการเจริญเติบโตของเมล็ดลำไยในระยะ 9 สัปดาห์หลังติดผล ที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลง	38
ภาพที่ 18	ลักษณะการเจริญเติบโตของเมล็ดลำไยอายุ 12 สัปดาห์หลังติดผลที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลง	39
ภาพที่ 19	ลักษณะการเจริญเติบโตของเมล็ดลำไยในระยะ 18 สัปดาห์หลังติดผลที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS	40
ภาพที่ 20	ลักษณะการเจริญเติบโตของเมล็ดลำไยระยะ 9 สัปดาห์หลังติดผลที่เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์	40
ภาพที่ 21	ลักษณะการเจริญเติบโตของเมล็ดลำไยระยะ 12 สัปดาห์หลังติดผลที่เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์	41
ภาพที่ 22	ลักษณะการเจริญเติบโตของเมล็ดลำไยระยะ 18 สัปดาห์หลังการติดผลที่เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์	42
ภาพที่ 23	ต้นกล้าลำไยในถุงพลาสติกขนาด 4x6 นิ้ว	44
ภาพที่ 24	การต่อกิ่งของยอดต้นกล้าลำไยพบว่ามีการเสียบติดแต่มีเปอร์เซ็นต์ต่ำมาก	45
ภาพที่ 25	การต่อกิ่งของยอดต้นกล้าอายุต่างๆกัน(ซ้าย) หลังจากเสียบติดแล้วนำมาใส่กระถางเพื่อศึกษาการเจริญเติบโตต่อไป	46
ภาพที่ 26	ต้นกล้าลำไยหลังปลูก 1 ปี	50

การจำแนกลักษณะประจำพันธุ์และการปรับปรุงพันธุ์ลำไย

Classification of Longan Germplasm and Breeding Program

ฉันทนา วิชรัตน์[1] นงนุช กุศล[2] ธีรนุช เจริญกิจ[3] แสงทอง พงษ์เจริญกิจ[4] จิรนันท์ เสนานาญ[5] พาวิน มะโนชัย[6] และนพมณี โพธุ์ญญานนท์[7]

Chantana Wicharatana,[1] Nongnuch Kuson,[2] Theeranuch Jaroenkit,[3] Saengtong Pongjaroenkit,[4] Chiranan Senanan,[5] Pawin Manochai,[6] and Nopmanee Topoonyanont[7]

[1]คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

[2]สำนักฟาร์ม มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

[3]ศูนย์วิจัยและพัฒนาลำไยแม่โจ้ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

[4]คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

[5]สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

[6]สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

[7]คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

บทคัดย่อ

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

ปรับปรุงพันธุ์ลำไยโดยใช้วิธีการผสมข้ามและการคัดเลือกสายพันธุ์ โดยในเบื้องต้นได้ศึกษาเทคนิคและวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการผสมข้ามลำไย ซึ่งได้ผลเป็นที่น่าพอใจสามารถผสมข้ามลำไยและเก็บเมล็ดลูกผสมไปเพาะได้จำนวนกว่า 60 เมล็ดซึ่งรอการพิสูจน์ว่าเป็นลูกผสมจริงหรือไม่จากการสกัด DNA 4) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการชักนำให้เกิดต้นของลำไยจากชิ้นส่วนต่างๆ ของกล้าลำไยที่ได้ เพื่อเป็นแนวทางในการหาวิธีการย่นระยะเวลาทดสอบลูกผสม และ 5) เป็นการศึกษาวิธีการย่นระยะการทดสอบลูกผสมโดยการเร่งอัตราการเจริญเติบโตของกล้าลำไยและการเสียบกิ่งบนต้นใหญ่ ซึ่งในเบื้องต้นยังวัดผลไม่ได้เนื่องจากต้นกล้ายังเล็กและยังต้องดำเนินการศึกษาต่อไป

คำสำคัญ: การผสมข้าม การคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ การสกัด DNA การจำแนกกลุ่ม การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ การทดสอบลูกผสม

Abstract

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

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

การจำแนกลักษณะประจำพันธุ์และการปรับปรุงพันธุ์ลำไย

นักวิจัยผู้รับผิดชอบ

หัวหน้าโครงการ นางฉันทนา วิชรัตน์ ภาควิชาพืชสวน คณะผลิตกรรมการเกษตร (30%)

ผู้ร่วมวิจัย 1. นางนงนุช กุศล สำนักฟาร์มมหาวิทยาลัยแม่โจ้ (15 %)

2. นางธีรนุช เจริญกิจ ศูนย์วิจัยและพัฒนาลำไยแม่โจ้ (20 %)

3. นางสาวแสงทอง พงษ์เจริญกิด คณะวิทยาศาสตร์ (15%)

4. นางจิรนันท์ เสนานาญ สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร (15%)

5. นายพาวิน มะโนชัย สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร (2.5%)

6. นางนพมณี โทปุญญานนท์ คณะวิทยาศาสตร์ (2.5%)

คำนำ

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

อย่างไรก็ตามจะเห็นได้ว่าพันธุ์ของลำไยของประเทศไทยนั้น ยังคงมีพันธุ์ดั้งเดิมเช่น พันธุ์คอ เบี้ยวเขียว สีชมพู แห้ว หรือพวงทอง ซึ่งจะเห็นได้ว่าแต่ละพันธุ์จะมีจุดเด่น จุดด้อย อาทิ พันธุ์อีดอ เป็นพันธุ์ที่ออกดอกเร็ว การติดผลดี แต่รสชาติของเนื้อจะสู้พันธุ์เบี้ยวเขียว พันธุ์สีชมพูไม่ได้ และนอกจากนั้นยังพบว่าพันธุ์อีดอ ซึ่งเป็นพันธุ์เศรษฐกิจของไทยนั้น ยังมีความแตกต่างกันด้วย ผลผลิต และคุณภาพของผล ซึ่งเป็นเรื่องที่มีความน่าสนใจในการที่จะคัดเลือกเฉพาะสายพันธุ์อีดอ ที่มีศักยภาพมาทำการทดสอบศักยภาพด้านต่างๆ เพื่อเป็นสายพันธุ์อีดอพันธุ์คัดที่มีคุณภาพเหมาะสมต่อธุรกิจลำไยต่อไป

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

พื้นที่ปลูกเป็นการปลูกลำไยพันธุ์คอ ทำให้การพัฒนาสายพันธุ์เกิดขึ้นได้ยาก ดังนั้นการรวบรวมเชื้อพันธุ์ลำไยไว้ด้วยกัน รวมถึงการจำแนกความซ้ำซ้อนของสายพันธุ์ และการศึกษาลักษณะการแสดงออกของเพศดอกลำไย จะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำหรับการปรับปรุงพันธุ์ลำไยในอนาคต

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อรวบรวมพันธุ์ลำไย พร้อมศึกษาลักษณะประจำพันธุ์และการจำแนกสายพันธุ์ โดยการจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอ เพื่อใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมในการพัฒนาพันธุ์ลำไย และเป็นแหล่งอนุรักษ์สายพันธุ์ลำไยของไทย

2. เพื่อคัดเลือกสายต้น(Clone) ที่มีศักยภาพ นำมาพัฒนาเป็นสายพันธุ์ดี เพื่อการเผยแพร่ให้แก่เกษตรกร

3. ศึกษาการแสดงเพศดอก รูปแบบการออกดอกและวิธีการผสมข้ามพันธุ์ เพื่อประโยชน์ต่อการปรับปรุงพันธุ์

4. เพื่อปรับปรุงพันธุ์ลำไยให้ได้สายพันธุ์ใหม่ที่มีศักยภาพโดยเฉพาะการเพิ่มผลผลิตและการพัฒนาคุณภาพผล สำหรับใช้เป็นทางเลือกของเกษตรกรผู้ปลูกลำไยในอนาคต

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) มีแหล่งรวบรวมและอนุรักษ์พันธุ์ลำไย เพื่อใช้ในการพัฒนาพันธุ์ในอนาคต สร้างความมั่งคงทางพันธุกรรมของลำไยของประเทศไทยได้

2) มีพันธุ์ที่เกิดจาการคัดเลือกสายต้น (clone) พัฒนาเป็นพันธุ์ดี ส่งเสริมให้กับเกษตรกรได้

3) ทราบการแสดงเพศดอกปละรูปแบบการออกดอก พัฒนาสู่การผสมข้ามพันธุ์ลำไยได้

4) สามารถผสมข้ามสายพันธุ์ลำไยได้สำเร็จ และเกิดพันธุ์ลำไยใหม่ขึ้น

5) สามารถเผยแพร่ข้อมูลเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อนักวิชาการเกษตรและผู้ที่เกี่ยวข้องได้

6) ได้สายพันธุ์ที่มีศักยภาพ จดสิทธิบัตรได้

ทฤษฎี สมมุติฐาน (ถ้ามี) และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

สมมุติฐาน ลำไยสายพันธุ์เดียวกัน เช่น อีดอ อาจจะมีพันธุกรรมที่ต่างกันทำให้มีความแตกต่างด้านผลผลิตและคุณภาพ ดังนั้นการคัดเลือก "สายรายต้น (Clone) จึงมีความจำเป็นและสามารถนำมาพัฒนาเป็นพันธุ์ใหม่ได้

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

- การที่มีเพศดอกหลายแบบอยู่บนช่อดอกเดียวกัน ผนวกกับดอกลำไยมีขนาดเล็กและการบานของดอกบนช่อดอกไม่มีความแน่นอน ดังนั้นการจะผสมข้ามพันธุ์ลำไยจะต้องศึกษาเรื่องโครงสร้างของดอก พฤติกรรมการบานของดอก การแยกประเภทของเพศดอกในช่อดอกในระยะดอกตูม ตำแหน่งที่ตั้งของเพศดอกภายในช่อดอก ซึ่งจะมีผลต่อความสำเร็จของการผสมข้ามพันธุ์ลำไย

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

การตรวจเอกสาร

การปลูกลำไยในประเทศไทยปัจจุบันพบว่า 95 เปอร์เซ็นต์ของการปลูกลำไยเป็นการปลูกลำไยพันธุ์ดอ หรืออีดอ เพียงพันธุ์เดียว ทำให้มีพื้นที่ปลูกพันธุ์อื่นๆ ซึ่งเป็นลำไยที่มีคุณภาพเหมาะสำหรับรับประทานสด เช่น เบี้ยวเขียว แห้ว หรือสีชมพู ลดน้อยลงมาก (ไม่ถึง 5% ของพื้นที่ปลูกปัจจุบัน, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2553) ทำให้การผลิตลำไยในปัจจุบันของไทย คล้ายกับการผลิตพืชเชิงเดี่ยว มีความหลากหลายทางพันธุกรรมที่น้อย หากลำไยพันธุ์ดอประสบกับปัญหาในอนาคต การแก้ไขปัญหาเพื่อช่วยเหลือเกษตรกรผู้ผลิตจะไม่ทันการ เนื่องจากการพัฒนาหรือปรับปรุงพันธุ์ไม้ผลโดยทั่วไปจะใช้เวลาไม่ต่ำกว่า 10 ปี

การปรับปรุงพันธุ์ลำไย จะต้องเริ่มต้นจากการรวบรวมพันธุ์พืชเป็นแหล่งพันธุกรรม (germplasm) ซึ่งจากการตรวจเอกสารพบว่าการรวบรวมพันธุ์ลำไยได้เคยดำเนินการจัดทำมาแล้ว โดยสำนักงานคุ้มครองพันธุ์พืชแห่งชาติ (กรมวิชาการเกษตร, 2546) ซึ่งได้รายงานชื้อพันธุ์ลำไยไว้ 68 หมายเลข (accession number) ซึ่งรายชื่อพันธุ์ลำไยภายในฐานเชื้อพันธุ์พืชดังกล่าว เชื่อว่ามีรายชื่อไม่ต่ำกว่า 10% ที่เป็นชื่อพันธุ์ซ้ำกัน เช่น พันธุ์คอ กับ อีคอ, พันธุ์แห้ว กับ อีแห้ว หรือพันธุ์นราภิรมย์ กับพันธุ์เพชรสาคร เป็นต้น (พาวิน (ติดต่อส่วนตัว), 2553) ซึ่งบางท้องถิ่นอาจจะเรียกพันธุ์เดียวกันด้วยชื่อที่ไม่เหมือนกันได้

ความผิดพลาดตรงนี้สืบเนื่องจากเป็นการเก็บตัวพันธุ์พืชโดยยังไม่มีการจำแนกความซ้ำซ้อนของสายพันธุ์ หรือยังไม่มีการจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอของสายพันธุ์ ทำให้จำแนกความซ้ำซ้อนของสายพันธุ์ไม่ได้ นอกจากนี้แล้วในฐานเชื้อพันธุ์ดังกล่าว มีการรายงานข้อมูลรายละเอียดประจำพันธุ์เพียง 29 สายพันธุ์ (จาก 68 หมายเลข) ซึ่งเป็นข้อมูลลักษณะประจำพันธุ์ (characterization) เป็นหลัก อย่างไรก็ตามในการปรับปรุงพันธุ์พืช ยังต้องการข้อมูลปลีกย่อยที่เกี่ยวข้องกับการแสดงเพศดอกเพื่อใช้ประโยชน์ในการผสมพันธุ์พืชอีกจำนวนมากเช่น ลักษณะการออกดอก เพศดอก สัดส่วนเพศดอก ระยะเวลาการบานของช่อดอก หรือความมีชีวิตของละอองเรณู เป็นต้น ทำให้ยังไม่สามารถใช้ประโยชน์จากฐานเชื้อพันธุ์พืชดังกล่าวในการปรับปรุงพันธุ์ลำไยได้

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

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

ดังนั้นการจัดจำแนกกลุ่มพันธุ์ที่รวบรวมโดยการทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอ กับพันธุ์ลำไยของไทยจึงน่าจะเป็นวิธีที่ดีที่สุดที่จะทำให้สามารถยืนยันความเป็นพันธุ์เดียวกันหรือต่างกันได้

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

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

ในประเทศออสเตรเลียก็มีนำเข้าพันธุ์จากต่างประเทศ ไปปลูกทดสอบด้วยเช่นกัน โดยมีการทดสอบคุณภาพของผลลำไยพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ พันธุ์ เบี้ยวเขียว (Beow Keow) เบริช (Birch) เซียนเลียว (Chien Liou) ชมพู 1 (Chompoo 1) ชมพู 2 (Chompoo 2) ดอ (Daw) ดวน ยู (Duan Yu) ฝา โฮก ชัย (Fa Hok Chai) ฟู โค 2 (Fuhko 2) แห้ว (Haew) เลีย โอ (Liao) เค สวีนนี (Kay Sweeney) โคฮาล่า (Kohala) พร ใหญ่ (Porn Yai) สิง กีบ (Saig Geeb) ซิค ยิบ (Shek Yip) และ ไว (Wai) ซึ่งจะเห็นว่า ชื่อพันธุ์บางส่วนเป็นพันธุ์ที่นำเข้าจากประเทศไทย เช่น เบี้ยวเขียว สีชมพู (หรือชมพู) แห้ว อีแดง (แดง) หรือ อีไว (ไว) เป็นต้น และพบว่า ลำไยจากประเทศไทยคือพันธุ์เบี้ยวเขียวเป็นลำไยคุณภาพที่มีความต้องการของตลาดในออสเตรเลียสูงมาก เนื่องจากมีคุณสมบัติในระดับที่ดีถึงดีมากและมาเป็นอันดับหนึ่งเมื่อเทียบกับพันธุ์อื่นๆ ที่ทดสอบ (Winston et al., 1993)

ปัญหาอย่างหนึ่งของการปรับปรุงพันธุ์และพัฒนาพันธุ์ไม้ผลโดยเฉพาะลำไยและลิ้นจี่ คือ ต้องใช้ระยะเวลาทดสอบนานจึงอาจเป็นเงื่อนไขที่ทำให้มีคนหรือนักวิชาการทำงานด้านนี้น้อย หากสามารถผสมได้ และได้เมล็ดลูกผสมแล้ว การทดสอบคุณสมบัติของลูกผสมได้ในระยะเวลาอันสั้น จะช่วยทำให้สามารถปรับปรุงพันธุ์ไม้ผลได้เร็วขึ้น

การย่นระยะเวลาการให้ผลผลิตหรือการลดระยะเยาว์วัย (juvenile period)วิธีการหนึ่งที่นิยมใช้ คือ การต่อกิ่งบนต้นที่เคยให้ผลผลิต แล้ว เช่น ในมะม่วงได้มีทำอย่างแพร่หลายโดยให้ต้นแม่เป็นตัวชักนำการออกดอก ส่วนในพืชอื่น เช่น ส้ม มีรายงานการนำยอดของลูกผสมมาต่อกิ่งบนต้นตอใช้ระยะเวลาในการออกดอก ติดผล 5-6 ปี (Furr *et al.*, 1947) ในประเทศญี่ปุ่นมีรายงานการนำต้นกล้าส้มลูกผสมมาต่อกิ่งบนต้นที่ให้ผลผลิตแล้วเพื่อย่นระยะเวลาการออกดอกพบว่าคู่ผสม 1 ใน 3 สามารถออกดอกได้ภายในเวลา 2 ปีครึ่ง (Mitani *et al.*, 2008)

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

จากข้อสังเกตของพาวิน(ติดต่อส่วนตัว) ที่ให้สารโพแทสเซียมคลอเรตกับต้นกล้าลำไยอายุ 2 ปี พบว่าสามารถชักนำให้ลำไยออกดอกได้ แต่การทดลองไม่ได้มีการศึกษาจริงจังเพียงแต่เป็นการทดสอบการชักนำการออกดอกของต้นลำไยเท่านั้น แต่ก็เป็นข้อสังเกตได้ว่าต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ดสามารถออกดอกได้ถ้าชักนำด้วยสารโพแทสเซียมคลอเรต การให้สารโพแทสเซียมคลอเรตในลำไยตั้งแต่ค้นพบสารจนถึงปัจจุบันพบว่ายังสามารถกระตุ้นการออกดอกได้ทุกปี ดังนั้นสารโพแทสเซียมคลอเรต น่าจะช่วยย่นระยะเวลาการออกดอก ติดผลและการให้ผลผลิตได้

นอกจากนี้ยังพบว่า หากสามารถพัฒนาการการเจริญเติบโตของต้นกล้าให้โตเร็วขึ้นโดยการให้ปุ๋ย อาจจะทำให้ต้นกล้าที่อ่อนอยู่พัฒนาเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ได้เร็วขึ้น ซึ่งอาจจะเป็นแนวทางการย่นระยะเวลาการออกดอก ติดผลของลำไยได้ เหมือนที่มีรายงานในเรื่องการให้ปุ๋ยในต้นกล้าฝรั่ง ซึ่งพบว่าสูตรปุ๋ยและอัตราปุ๋ยที่ต่างกันมีผลทำให้ต้นกล้าฝรั่งการเจริญเติบโตได้ดีกว่าต้นไม่ให้ปุ๋ย (พรรณพิไล, 2541) ซึ่งจะทำให้ออกดอกติดผลได้เร็วขึ้น

อุปกรณ์และวิธีการ

กลยุทธ์การดำเนินงานวิจัยโดยแยกออกเป็น 5 กิจกรรมหลักที่เกี่ยวเนื่องสัมพันธ์กัน โดยแต่ละกิจกรรมจะมีนักวิจัยผู้เชียวชาญเฉพาะด้าน รับผิดชอบงานวิจัย ดังนี้

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

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

กิจกรรมที่ 3 การปรับปรุงพันธุ์ลำไย โดยวิธีการผสมข้ามและการคัดเลือกสายต้น รับผิดชอบกิจกรรมโดย ผศ. ฉันทนา วิชรัตน์ ซึ่งจะศึกษาเทคนิคและวิธีการ รวมทั้งขั้นตอนการผสมพันธุ์ลำไย และดำเนินการคัดเลือกคู่ผสมสำหรับลูกผสมที่จะเกิดขึ้นภายในโครงการ หรือการหาพันธุ์ใหม่โดยการคัดเลือกสายต้น โดยมีวัตถุประสงค์หลักคือการสร้างพันธุ์ลำไยพันธุ์ใหม่ที่จะเกิดขึ้นในอนาคต

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

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

โดยแต่ละกิจกรรมจะแยกรายงานอุปกรณ์วิธีการ ผลการทดลอง และสรุปผลการทดลองออกจากกันเพื่อความกระชับและชัดเจนในแต่ละกิจกรรมดังนี้

ผลการวิจัย

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

วิธีการศึกษา

1. สร้างแปลงรวบรวมพันธุ์ ประสานงานกับหน่วยงานที่เก็บรวบรวมเชื้อพันธุกรรมลำไยต่างๆ อาทิ ศูนย์วิจัยพืชสวน ต่างๆ และรวบรวมลำไยพันธุ์ดี มีประวัติเคยได้รับรางวัลจากการประกวดของเกษตรกรผู้ปลูกลำไยทั่วประเทศ

2. นำส่วนขยายพันธุ์มาปลูกรวบรวมไว้ ณ พื้นที่ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้ (สาขาไม้ผล ภาควิชาพืชสวน คณะผลิตกรรมการเกษตร)

3. ดูแล รักษา เพื่อใช้เป็นแหล่งอนุรักษ์พันธุกรรมลำไยและเป็นแหล่งเรียนรู้ด้านพันธุ์ลำไยของประเทศไทย รวมถึงการใช้ประโยชน์ด้านการพัฒนาสายพันธุ์ในอนาคต

4. เก็บข้อมูลลักษณะประจำพันธุ์ รวมถึงการบันทึกประวัติรายต้นและแหล่งที่มาของสายพันธุ์ ภาพประกอบเพื่ออธิบายลักษณะประจำพันธุ์

5. ทำการคัดเลือกสายรายต้น (Clone) ลำไยที่มีคุณสมบัติที่ดี ทดสอบผลผลิตและการเจริญเติบโต เพื่อขยายพันธุ์และส่งเสริมเป็นพันธุ์ดีต่อไป

ผลการศึกษาทดลอง

1.1 แปลงรวบรวมพันธุ์ลำไย

แปลงรวบรวมพันธุ์ลำไย ได้ดำเนินการรวบรวมไว้ในพื้นที่ของออาคารปฏิบัติการไม้ผล 25 ปี บนพื้นที่ประมาณ 2ไร่ เดิมมีจำนวนพันธุ์ 26 สายพันธุ์ แต่มีการปรับปรุงพื้นที่โดยมีการขุดบ่อเพื่อกักเก็บน้ำ ทำให้ต้องรื้อถอนพันธุ์บางส่วนออกไป ปัจจุบันมีจำนวนพันธุ์ลำไยที่ปลูกรวบรวมไว้ในพื้นที่เดียวกันจำนวน 20 สายพันธุ์ โดยมีผังแปลงรวบรวมพันธุ์และรายชื่อพันธุ์ตามผังแปลงดังนี้

ภาพที่ 1 แผนผังแปลงรวบรวมพันธุ์หน้าอาคารปฏิบัติการไม้ผล 25 ปี (ร่วมกับสาขาฯ และศูนย์ฯ ลำไย

การเก็บข้อมูลลักษณะประจำพันธุ์

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

สามารถเก็บข้อมูลลักษณะใบของลำไยแต่ละพันธุ์ ได้ 25 พันธุ์ ดังนี้ กรอบกะทิ ดอก้านแข็ง ดอแก้วยี่ดอ 13 ดอยอดแดง ดอยอดอ่อน ดอ 20 ดอ 27 ดอ 75 ดอลุ่มน้ำปิง ดอสุขุม ดอหลวง ใบหยก ใบดำ เบี้ยวเชียงใหม่ พวงทอง สีชมพู บ้านโฮ่ง 60 แดงกลม แห้ว จันโบ้ เพชรสาคร น้ำผึ้งทวาย ปูมาตีนโต้ง และพันธุ์พื้นเมือง และทำการเก็บลักษณะของผลลำไยได้ 6 พันธุ์ ดังนี้ พื้นเมือง แดงกลม สีชมพู พวงทอง เบี้ยวเชียงใหม่ ดอ27

การบันทึกภาพลักษณะต่างๆ ประจำพันธุ์ จะประกอบด้วยภาพของ ใบอ่อน ช่อใบ ช่อดอก ช่อผล ผลและเมล็ด รวมถึงสภาพต้นโดยรวม (ตารางที่ 1.1) ซึ่งนอกจากลำไยในแปลงรวบรวมพันธุ์ดังกล่าวแล้ว ยังมีการเก็บข้อมูลภาพลักษณะประจำพันธุ์ลำไยพันธุ์อื่นๆ ที่มาจากแหล่งปลูกอื่นด้วย ซึ่งจะต้องดำเนินการหาต้นพันธุ์มาปลูกไว้ในที่เดียวกันต่อไป ซึ่งการเก็บข้อมูลลักษณะประจำพันธุ์ดังกล่าว จะดำเนินการตามระยะพัฒนาการของต้นลำไยที่แตกต่างกันของลำไยแต่ละสายพันธุ์ ทำให้ไม่สามารถเก็บข้อมูลได้ครบถ้วนทุกสายพันธุ์ในระยะเวลา 1 ปีที่ดำเนินงานทดลองได้

ตารางที่ 1 สรุปแบบบันทึกภาพของลำไยพันธุ์ต่างๆ ที่ปลูกในพื้นที่สาขาไม้ผล

แบบบันทึกการรวบรวมพันธุ์ลำไย ศูนย์วิจัยและพัฒนาลำไยแม่โจ้

ลำดับ	ชื่อพันธุ์	แหล่งที่เก็บตัวอย่าง/ ชื่อเจ้าของ	รายละเอียดภาพ						วันที่ และสถานที่ถ่ายภาพ
			ใบอ่อน	ช่อดอก	ช่อใบ	ช่อผล	ผล	ต้น	
1	คอ 20	สาขาไม้ผล	1	0	1	1	1	1	4/8/2553 ไม้ผล
2	คอ 27	สาขาไม้ผล	1	1	1	0	1	0	4/8/2553 ไม้ผล
3	คอ 75		1	0	0	1	1	0	
4	คอก้านแข็ง	สาขาไม้ผล	0	1	1	0	1	0	4/8/2553 ไม้ผล
5	คอหลวง		1	0	0	0	0	0	
6	คอแก้วยี่	สาขาไม้ผล	1	1	1	1	1	1	4/8/2553 ไม้ผล
7	คอก้านแดง	สาขาไม้ผล	1	1	0	1	1	1	4/8/2553 ไม้ผล
8	คอยอดอ่อน	สาขาไม้ผล	1	1	0	0	1	1	4/8/2553 ไม้ผล
9	คอลุ่มน้ำปิง	สาขาไม้ผล	1	1	1	0	1	1	4/8/2553 ไม้ผล
10	คอสุรชุม	สาขาไม้ผล	1	0	1	1	1	1	4/8/2553 ไม้ผล
11	อีชมพู	บ้านหลุก ต. เหมืองง่าม ศรีสำโรง /สาขาไม้ผล	0	1	0	1	1	1	2/8/2553 ไม้ผล
12	เบี้ยวเชียงใหม่	บ้านหลุก ต. เหมืองง่าม ศรีสำโรง /สาขาไม้ผล	0	1	1	1	1	1	2/8/2553 ไม้ผล
13	แห้ว	บ้านหลุก ต. เหมืองง่ม กิ่งกาญจน์ ระโนนชัย/สาขา	0	1	0	1	1	1	2/8/2553 ไม้ผล
14	พวงทอง	สาขาไม้ผล	0	1	1	1	1	1	4/8/2553 ไม้ผล
15	จันโป้		0	1	0	0	0	0	
16	แดงกลม	สาขาไม้ผล	1	1	0	1	1	1	4/8/2553 ไม้ผล
17	ใบดำ	สาขาไม้ผล	1	1	1	1	1	1	4/8/2553 ไม้ผล
18	ใบหยก	สาขาไม้ผล	1	0	1	0	0	0	4/8/2553 ไม้ผล
19	น้ำผึ้งหวาย		0	0	0	0	0	0	
20	ปูม้าตีนโค้ง		0	0	0	0	0	0	
21	บ้านโอ่ง 60	บ้านโอ่ง / ดร.สุรชาติ	0	0	0	1	1	0	2/8/2553 ไม้ผล
22	พรรณาคร	สาขาไม้ผล	0	0	1	1	1	0	4/8/2553 ไม้ผล
23	กรอบกะทิ	บ้านโอ่ง / ดร.สุรชาติ	0	0	0	1	1	0	2/8/2553 ไม้ผล
24	พื้นเมือง	มหาวิทยาลัยแม่โจ้/ชอานีรอไฟเชียงใหม่	0	0	1	1	1	1	2/8/2553 ไม้ผล
25	กระดูก	ชอานีรอไฟเชียงใหม่	0	0	0	1	1	0	2/8/2553 ไม้ผล
26	คอคำรวง	บัวบุษสารี	0	0	0	1	1	0	2/8/2553 ไม้ผล
27	คอ	บ้านหลุก ต. เหมืองง่ม กิ่งกาญจน์ ระโนนชัย	0	1	0	1	1	0	2/8/2553 ไม้ผล
28	คอ 13	สาขาไม้ผล	1	1	0	1	1	1	3/8/2553 ไม้ผล

หมายเหตุ 1 = บันทึกภาพแล้ว 0 = ยังไม่ได้บันทึกภาพหรือบันทึกแล้วแต่ไม่สมบูรณ์

ดอ 20

ยอดอ่อน

DNA

ใบ ใบประกอบกว้าง เซนติเมตร ยาว เซนติเมตร ใบย่อย คู่ ขอบใบ ปลายใบ ฐานใบรูป

ช่อดอก

เพศดอก

ผล ผลติดปลายเดือนเมษายน เก็บเกี่ยวเดือนกรกฎาคม น้ำหนักผล 9.46 กรัม น้ำหนักเปลือก 1.97 กรัม น้ำหนักเนื้อ 5.92 กรัม ผลกลมแป้น กว้าง 24.79 มิลลิเมตร ยาว 26.72มิลลิเมตร ความหนาเปลือก 0.83 มิลลิเมตร ความหนาเนื้อ 5.11 มิลลิเมตร ปริมาณผลของแข็งที่ละลายน้ำได้ 17.11°บริกซ์

เมล็ดเมล็ดกลม แบนด้านข้าง ความกว้างเมล็ด 11.28 มิลลิเมตร ยาว 12.75 มิลลิเมตรน้ำหนักเมล็ด 1.57 กรัม สีน้ำตาล - ดำ

ลักษณะเด่นประจำพันธุ์

ชื่อและที่มา

DNA

ภาพที่ 2 ตัวอย่างลักษณะประจำพันธุ์ ที่แสดงข้อมูลพร้อมภาพประกอบ ของลำไยพันธุ์ ดอ 20 (ข้อมูลที่เก็บยังไม่สมบูรณ์เรียบร้อยทุกลักษณะ ยังต้องตามเก็บข้อมูลอยู่)

1.2 แปลงรวบรวมพันธุ์ลำไยที่ชนะการประกวด

แปลงรวบรวมพันธุ์ลำไยที่ชนะการประกวด เป็นการต่อยอดจากผลงานการวิจัยของนางจิรนันท์ เสนานาญ ที่ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ซึ่งมีวัตถุประสงค์เพื่อรวบรวมพันธุ์ลำไยที่เคยได้รับรางวัลชนะเลิศ หรือรองอันดับ 1-3 มาไว้ เพื่อศึกษาลักษณะการปรับตัว ของพันธุ์ลำไยดังกล่าวนอกพื้นที่ปลูกจริง ซึ่งในงานปรับปรุงพันธุ์ สามารถที่จะศึกษาเปรียบเทียบลักษณะการปรับตัวและการตอบสนองต่อสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน อันจะทำให้สามารถคัดเลือกพันธุ์เพื่อรับรองเป็นพันธุ์ใหม่ได้ต่อไป แต่งานศึกษาในช่วงแรกนี้ยังเป็นเพียงการศึกษาลักษณะการเจริญทางด้านกิ่งก้านใบ (vegetative growth) เป็นหลัก เนื่องจากยังเป็นต้นลำไยที่ยังมีอายุน้อย

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

ตารางที่ 2 ลำดับชื่อพันธุ์และจำนวนสายต้นลำไยพันธุ์ที่เคยได้รับรางวัลในการประกวดที่รวบรวมไว้ในการศึกษาวิจัย ในพื้นที่งานทดลอง รวม 169 สายต้น

ลำดับที่	ชื่อพันธุ์	ลำดับที่ชนะ	ปีที่ประกวด	จำนวนรวม(ต้น)	แปลงที่ 1 (ต้น)	แปลงที่ 2 (ต้น)	หมายเหตุผู้จัดประกวด
1	สีชมพู	ชนะเลิศอันดับ 1	2553, 2554	23	8	15	1
2	สีชมพู	ชนะเลิศอันดับ 1 ปี 2549 และที่ 3 ปี 2552	2549, 2552	14	4	10	1
3	เบี้ยวเขียวเชียงใหม่	ชนะเลิศอันดับ 1 ปี 52	2552	12	4	8	1
4	เบี้ยวเขียวเชียงใหม่	ชมเชย ปี 52	2552	12	4	8	1
5	เบี้ยวเขียวเชียงใหม่	ชนะเลิศอันดับ 1 ปี 53	2553	9	4	5	1
6	เบี้ยวเขียวเชียงใหม่	ชนะที่ 2 และ 3	2553	12	4	8	1
7	อีดอ	ชนะเลิศอันดับ 1	2552	9	4	5	2
8	อีดอ	ชนะเลิศอันดับ 1และ2	2551	10	6	4	1
9	อีดอ	ชนะที่ 2	2553	9	5	4	1
10	อีดอ	ชมเชย ปี 53	2553	9	5	4	1
11	อีดอ	ชมเชย ปี 51	2551	8	4	4	1
12	พวงทอง	ไม่มีการประกวด	-	14	6	8	3
13	พวงทอง	ไม่มีการประกวด	-	14	6	8	4
14	พวงทอง	ไม่มีการประกวด	-	14	6	8	5
		รวม		169	70	99	

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

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

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

แปลงรวบรวมพันธุ์ลำไยดังกล่าว อาจจะยังไม่สมบูรณ์แบบ ในการดำเนินงานต่อไปจำเป็นต้องมีการจัดเก็บข้อมูลอย่างเป็นระบบและแลกเปลี่ยนสายพันธุ์กับแหล่งรวบรวมพันธุ์แหล่งอื่นๆ ต่อไปเพื่อความยั่งยืนในการรักษาเชื้อพันธุ์ลำไยต่อไป

กิจกรรมที่ 2 การจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอและการจำแนกสายพันธุ์ (ผศ. ดร. แสงทอง พงษ์เจริญกิต)

ตัวอย่างพืชและอุปกรณ์

ตัวอย่างพืชที่ใช้

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

ตารางที่ 3 รายชื่อพันธุ์ลำไยและลิ้นจี่ ที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ รวมจำนวน 29 สายพันธุ์

ชื่อพันธุ์ลำไยที่ใช้ในการทดลอง							
ลำดับ	**ชื่อพันธุ์**	**ลำดับ**	**ชื่อพันธุ์**	**ลำดับ**	**ชื่อพันธุ์**	**ลำดับ**	**ชื่อพันธุ์**
1	คอก้านแข็ง	8	แดงกลม	15	คอ 75	22	น้ำผึ้งทวาย
2	กรอบกะทิ	9	แห้ว	16	คอลุ่มน้ำปิง	23	จัมโบ้
3	สีชมพู	10	ใบหยก	17	คอสุขุม	24	ใบดำ
4	พวงทอง	11	คอยอดอ่อน	18	คอแก้วยี่	25	ลำไยต้นหมื่น
5	เบี้ยวเขียว เชียงใหม่	12	คอ 13	19	บ้านโฮ่ง 60		
6	คอยอดแดง	13	คอ 20	20	ปู่มาตีนโค้ง		
7	คอ 27	14	คอหลวง	21	เพชรสาคร		
ชื่อพันธุ์ลิ้นจี่ที่ใช้ในการทดลอง							
1	จักรพรรดิ	2	ฮงฮวย	3	กิมเจง	4	บริวสเตอร์

อุปกรณ์

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

วิธีการทดลอง

1. การสกัดดีเอ็นเอ

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

2. การทำ Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)

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

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

buffer, 0.5 ไมโครโมลาร์ของไพร์เมอร์ และดีเอ็นเอแม่พิมพ์ 100 นาโนกรัม โดยใช้สภาวะอุณหภูมิของแต่ละกลุ่มไพรเมอร์ดังนี้

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

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

ทำซ้ำขั้นที่ 2-4 จำนวน 35 รอบ

สภาวะสำหรับไพร์เมอร์: BPS2, BPS3, BPS5, BPS6 คือ

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

ทำซ้ำขั้นที่ 2-4 จำนวน 35 รอบ

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

ตารางที่ 4 ลำดับดีเอ็นเอของไพร์เมอร์ที่ใช้ในการทดลอง (Faqian Xiong และคณะ 2011)

ไพร์เมอร์	ลำดับดีเอ็นเอ (5′-> 3′)
BPS1	GCGACGGTGTACTGAC
BPS2	GCGACGGTGTACTAAT
BPS3	TGAGTCCAAACTAAC
BPS4	TGAGTCCAAACTGAC
BPS5	TGAGTCCAAACTAAT
BPS6	TGAGTCCAAACTGAT
BPS7	GACTGCGTACGCTGAC
BPS9	TGAGTCCAAACTAACATA
LA1	GCGACGGTGTACTAAC
LA2	CGTGCAGGTGTTAGTA

3. การสร้าง phylogenic tree

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

ผลการทดลอง

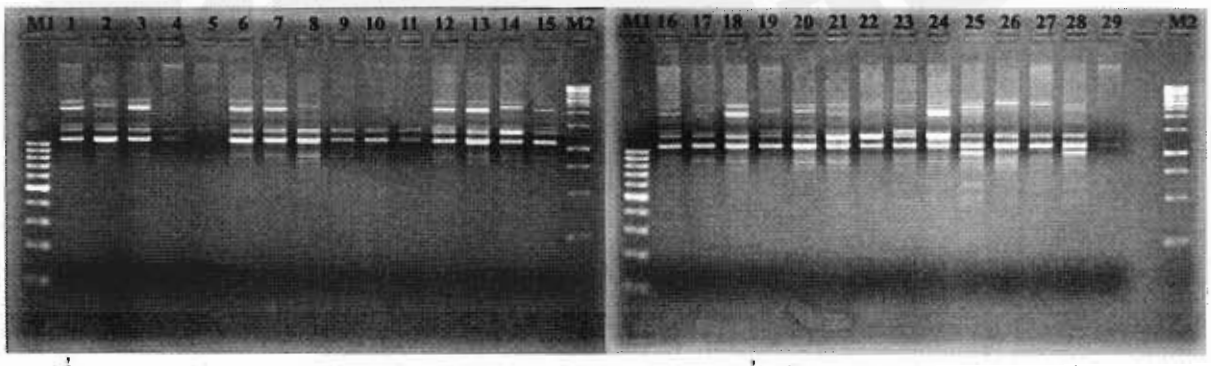
1. การสกัดดีเอ็นเอจากใบลำไย

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

2. การทำ RAPD

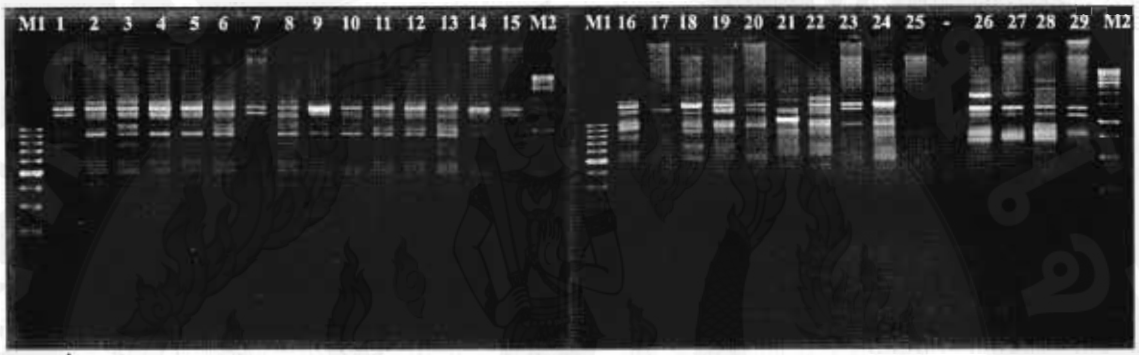
จากการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของลำไย จำนวน 25 สายพันธุ์ และลิ้นจี่ จำนวน 4 สายพันธุ์ จากไพร์เมอร์ 10 ไพร์เมอร์ ดังรูปที่ 1-10 ตัวอย่างเช่น ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของไพร์เมอร์ BPS5 (รูปที่ 2.5) พบว่ามีแถบดีเอ็นเอจำนวน 6 แถบ ซึ่งทุกแถบแสดงความแตกต่างจากลำไย จำนวน 25 สายพันธุ์ แสดงค่า polymorphic band เป็น100% ดังตารางที่ 3

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

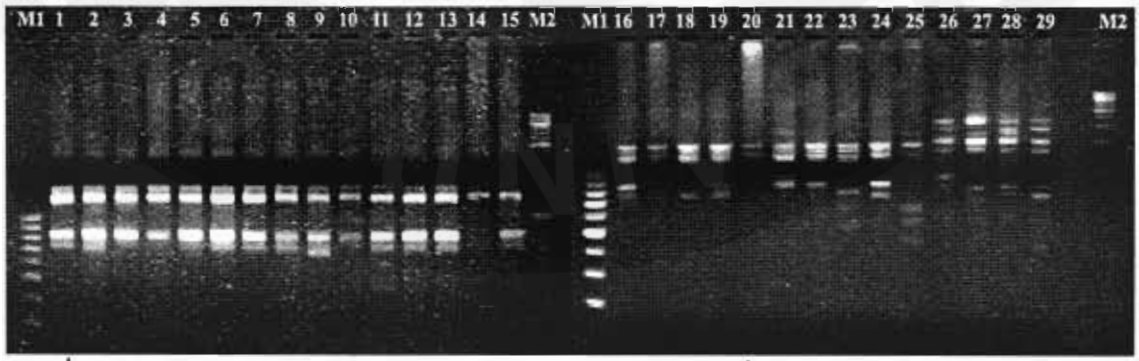


ภาพที่ 3 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพร์เมอร์ BPS1 โดยที่ ช่อง M1 และ M2 คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 100 คู่เบส และ ดีเอ็นเอมาตรฐาน

ขนาด 1 กิโลเบส ตามลำดับ ส่วนช่อง 1-25 คือ ลำไยสายพันธุ์ ดอก้านแข็ง, ดอยอดแดง, ดอ 27, ดอยอดอ่อน, ดอ 13, ดอ 20, ดอหลวง, ดอ 75, ดอลุ่มน้ำปิง, ดอสุขุม, ดอแก้วยี่, ลำไยต้นหมื่น, กรอบกะทิ, สีชมพู, พวงทอง, เบี้ยวเขียว เชียงใหม่, แดงกลม, แห้ว, ใบหยก, บ้านโฮ่ง 60, ปู่มาตีนโค้ง, เพชรสาคร, น้ำผึ้งทวาย, จัมโบ้ และ ใบดำ ตามลำดับ ส่วนช่อง 26-29 คือ ลิ้นจี่สายพันธุ์จักรพรรดิ, ฮงฮวย, กิมเจง และ บริวสเตอร์ ตามลำดับ

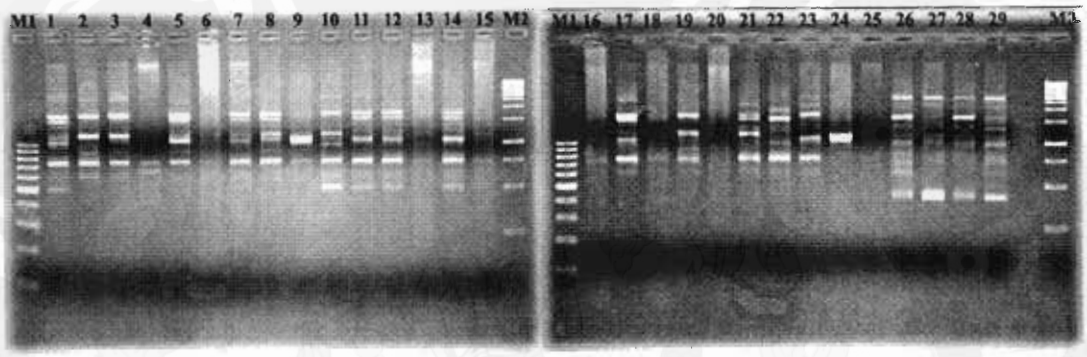


ภาพที่ 4 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพร์เมอร์ BPS2 โดยที่ ช่อง M1 และ M2 คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 100 คู่เบส และ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 1 กิโลเบส ตามลำดับ ส่วนช่อง 1-25 คือ ลำไยสายพันธุ์ ดอก้านแข็ง, ดอยอดแดง, ดอ 27, ดอยอดอ่อน, ดอ 13, ดอ 20, ดอหลวง, ดอ 75, ดอลุ่มน้ำปิง, ดอสุขุม, ดอแก้วยี่, ลำไยต้นหมื่น, กรอบกะทิ, สีชมพู, พวงทอง, เบี้ยวเขียว เชียงใหม่, แดงกลม, แห้ว, ใบหยก, บ้านโฮ่ง 60, ปู่มาตีนโค้ง, เพชรสาคร, น้ำผึ้งทวาย, จัมโบ้ และ ใบดำ ตามลำดับ ส่วนช่อง 26-29 คือ ลิ้นจี่สายพันธุ์จักรพรรดิ, ฮงฮวย, กิมเจง และ บริวสเตอร์ ตามลำดับ

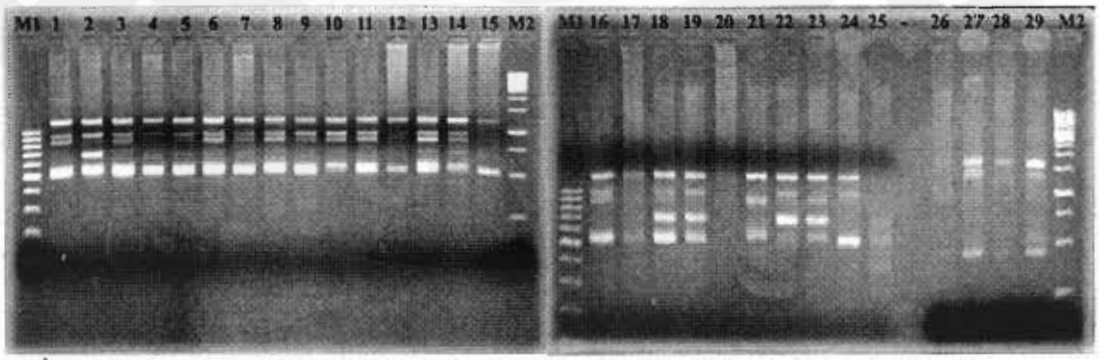


ภาพที่ 5 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพร์เมอร์ BPS3 โดยที่ ช่อง M1 และ M2 คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 100 คู่เบส และ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 1 กิโลเบส ตามลำดับ ส่วนช่อง 1-25 คือ ลำไยสายพันธุ์ ดอก้านแข็ง, ดอยอดแดง, ดอ

27, ดอยอดอ่อน, ดอ 13, ดอ 20, ดอหลวง, ดอ 75, ดอลุ่มน้ำปิง, ดอสุขุม, ดอแก้วยี่, ลำไยต้นหมื่น, กรอบกะทิ, สีชมพู, พวงทอง, เบี้ยวเขียว เชียงใหม่, แดงกลม, แห้ว, ใบหยก, บ้านโฮ่ง 60, ปู่มาตีนโค้ง, เพชรสาคร, น้ำผึ้งทวาย, จัมโบ้ และ ใบดำ ตามลำดับ ส่วนช่อง 26-29 คือ ลิ้นจี่สายพันธุ์จักรพรรดิ, ฮงฮวย, กิมเจง และ บริวสเตอร์ ตามลำดับ

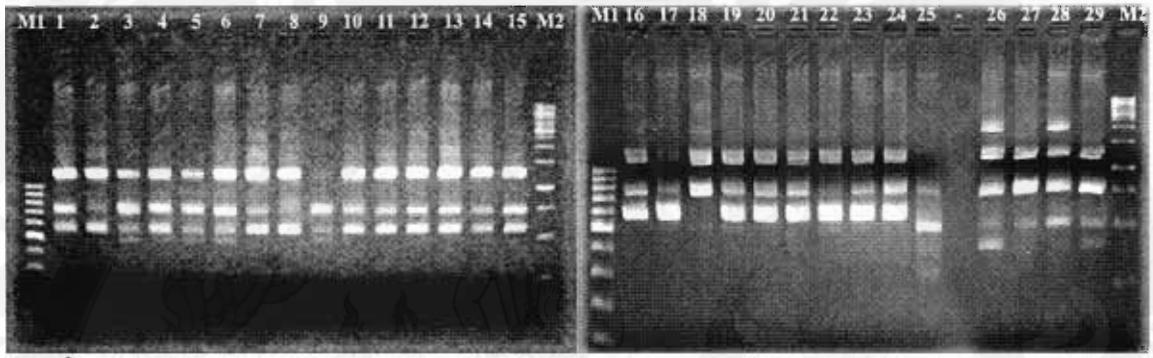


ภาพที่ 6 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพร์เมอร์ BPS4 โดยที่ ช่อง M1 และ M2 คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 100 คู่เบส และ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 1 กิโลเบส ตามลำดับ ส่วนช่อง 1-25 คือ ลำไยสายพันธุ์ ดอก้านแข็ง, ดอยอดแดง, ดอ 27, ดอยอดอ่อน, ดอ 13, ดอ 20, ดอหลวง, ดอ 75, ดอลุ่มน้ำปิง, ดอสุขุม, ดอแก้วยี่, ลำไยต้นหมื่น, กรอบกะทิ, สีชมพู, พวงทอง, เบี้ยวเขียว เชียงใหม่, แดงกลม, แห้ว, ใบหยก, บ้านโฮ่ง 60, ปู่มาตีนโค้ง, เพชรสาคร, น้ำผึ้งทวาย, จัมโบ้ และ ใบดำ ตามลำดับ ส่วนช่อง 26-29 คือ ลิ้นจี่สายพันธุ์จักรพรรดิ, ฮงฮวย, กิมเจง และ บริวสเตอร์ ตามลำดับ

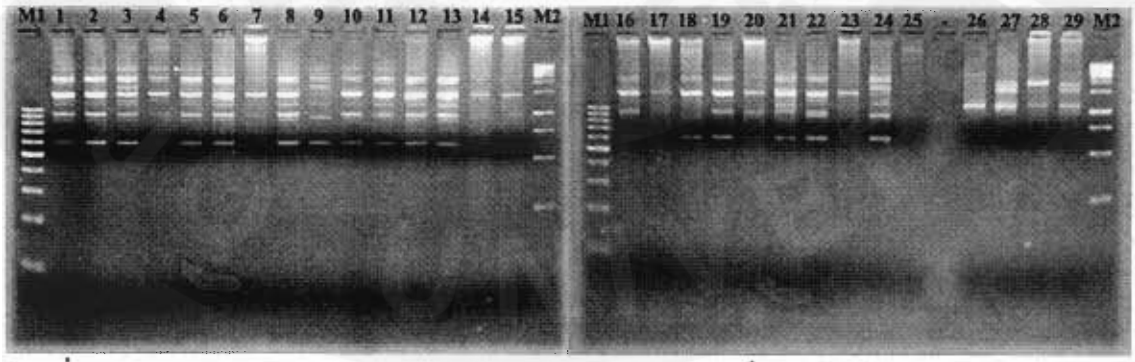


ภาพที่ 7 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพร์เมอร์ BPS5 โดยที่ ช่อง M1 และ M2 คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 100 คู่เบส และ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 1 กิโลเบส ตามลำดับ ส่วนช่อง 1-25 คือ ลำไยสายพันธุ์ ดอก้านแข็ง, ดอยอดแดง, ดอ

27, ดอยอดอ่อน, ดอ 13, ดอ 20, ดอหลวง, ดอ 75, ดอลุ่มน้ำปิง, ดอสุขุม, ดอแก้วยี่, ลำไยต้นหมื่น, กรอบกะทิ, สีชมพู, พวงทอง, เบี้ยวเขียว เชียงใหม่, แดงกลม, แห้ว, ใบหยก, บ้านโฮ่ง 60, ปู่มาตีนโค้ง, เพชรสาคร, น้ำผึ้งทวาย, จัมโบ้ และ ใบดำ ตามลำดับ ส่วนช่อง 26-29 คือ ลิ้นจี่สายพันธุ์จักรพรรดิ, ฮงฮวย, กิมเจง และ บริวสเตอร์ ตามลำดับ

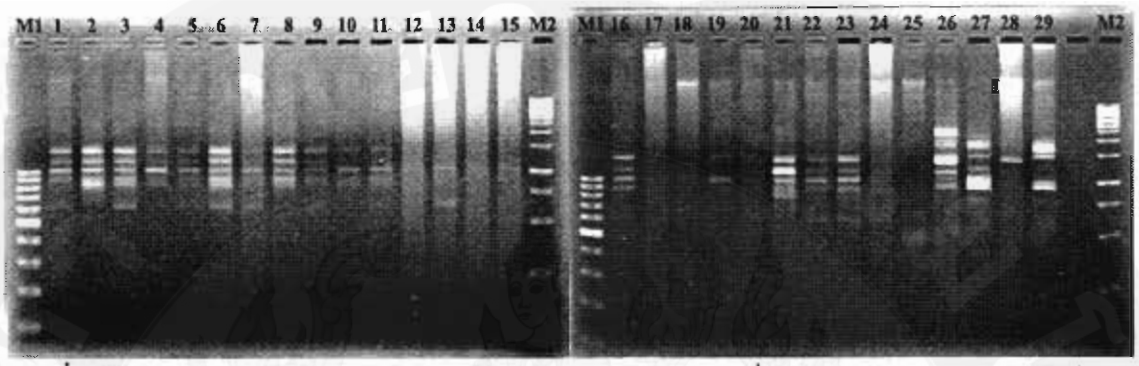


ภาพที่ 8 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพร์เมอร์ BPS6 โดยที่ ช่อง M1 และ M2 คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 100 คู่เบส และ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 1 กิโลเบส ตามลำดับ ส่วนช่อง 1-25 คือ ลำไยสายพันธุ์ ดอก้านแข็ง, ดอยอดแดง, ดอ 27, ดอยอดอ่อน, ดอ 13, ดอ 20, ดอหลวง, ดอ 75, ดอลุ่มน้ำปิง, ดอสุขุม, ดอแก้วยี่, ลำไยต้นหมื่น, กรอบกะทิ, สีชมพู, พวงทอง, เบี้ยวเขียว เชียงใหม่, แดงกลม, แห้ว, ใบหยก, บ้านโฮ่ง 60, ปู่มาตีนโค้ง, เพชรสาคร, น้ำผึ้งทวาย, จัมโบ้ และ ใบดำ ตามลำดับ ส่วนช่อง 26-29 คือ ลิ้นจี่สายพันธุ์จักรพรรดิ, ฮงฮวย, กิมเจง และ บริวสเตอร์ ตามลำดับ

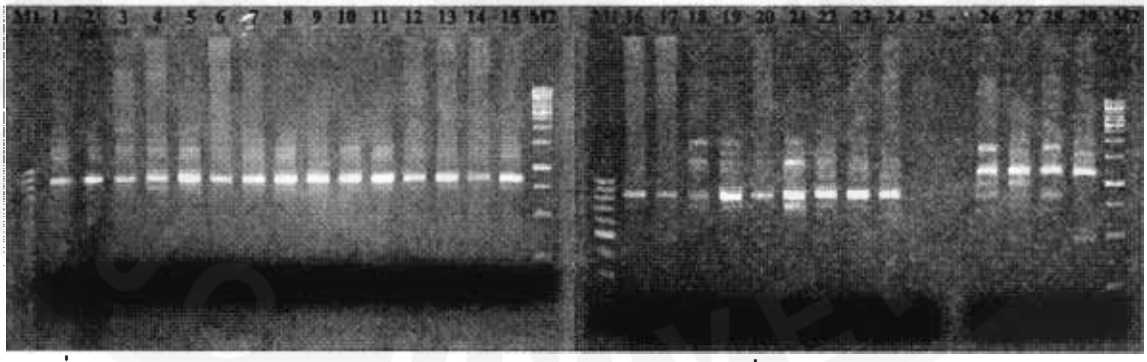


ภาพที่ 9 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพร์เมอร์ BPS7 โดยที่ ช่อง M1 และ M2 คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 100 คู่เบส และ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 1 กิโลเบส ตามลำดับ ส่วนช่อง 1-25 คือ ลำไยสายพันธุ์ ดอก้านแข็ง, ดอยอดแดง, ดอ 27, ดอยอดอ่อน, ดอ 13, ดอ 20, ตอหลวง, ดอ 75, ดอลุ่มน้ำปิง, ดอสุขุม, ดอแก้วยี่, ลำไยต้นหมื่น, กรอบกะทิ, สีชมพู, พวงทอง, เบี้ยวเขียว เชียงใหม่, แดงกลม, แห้ว, ใบหยก, บ้านโฮ่ง

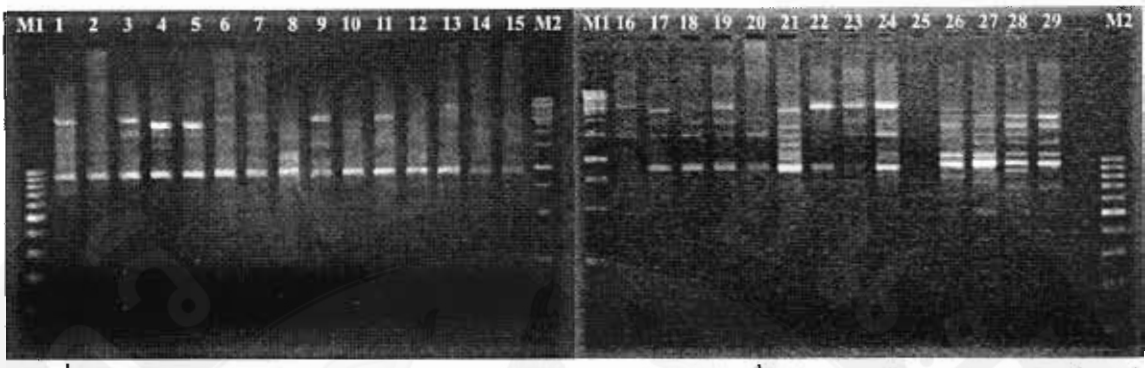
60, ปู่มาตีนโค้ง, เพชรสาคร, น้ำผึ้งทวาย, จัมโบ้ และ ใบดำ ตามลำดับ ส่วนช่อง 26-29 คือ ลิ้นจี่สายพันธุ์จักรพรรดิ, ฮงฮวย, กิมเจง และ บริวสเตอร์ ตามลำดับ



ภาพที่ 10 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพร์เมอร์ BPS9 โดยที่ ช่อง M1 และ M2 คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 100 คู่เบส และ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 1 กิโลเบส ตามลำดับ ส่วนช่อง 1-25 คือ ลำไยสายพันธุ์ ดอก้านแข็ง, ดอยอดแดง, ดอ 27, ดอยอดอ่อน, ดอ 13, ดอ 20, ดอหลวง, ดอ 75, ดอลุ่มน้ำปิง, ดอสุขุม, ดอแก้วยี่, ลำไยต้นหมื่น, กรอบกะทิ, สีชมพู, พวงทอง, เบี้ยวเขียว เชียงใหม่, แดงกลม, แห้ว, ใบหยก, บ้านโฮ่ง 60, ปู่มาตีนโค้ง, เพชรสาคร, น้ำผึ้งทวาย, จัมโบ้ และ ใบดำ ตามลำดับ ส่วนช่อง 26-29 คือ ลิ้นจี่สายพันธุ์จักรพรรดิ, ฮงฮวย, กิมเจง และ บริวสเตอร์ ตามลำดับ



ภาพที่ 11 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพร์เมอร์ LA1 โดยที่ ช่อง M1 และ M2 คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 100 คู่เบส และ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 1 กิโลเบส ตามลำดับ ส่วนช่อง 1-25 คือ ลำไยสายพันธุ์ ดอก้านแข็ง, ดอยอดแดง, ดอ 27, ดอยอดอ่อน, ดอ 13, ดอ 20, ดอหลวง, ดอ 75, ดอลุ่มน้ำปิง, ดอสุขุม, ดอแก้วยี่, ลำไยต้นหมื่น, กรอบกะทิ, สีชมพู, พวงทอง, เบี้ยวเขียว เชียงใหม่, แดงกลม, แห้ว, ใบหยก, บ้านโฮ่ง 60, ปู่มาตีนโค้ง, เพชรสาคร, น้ำผึ้งทวาย, จัมโบ้ และ ใบดำ ตามลำดับ ส่วนช่อง 26-29 คือ ลิ้นจี่สายพันธุ์จักรพรรดิ, ฮงฮวย, กิมเจง และ บริวสเตอร์ ตามลำดับ



ภาพที่ 12 ผลการทำ 1.5% agarose gel electrophoresis ของผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ของไพร์เมอร์ LA2โดยที่ ช่อง M1 และ M2 คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 100 คู่เบส และ ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 1 กิโลเบส ตามลำดับ ส่วนช่อง 1-25 คือ ลำไยสายพันธุ์ ดอก้านแข็ง, ดอยอดแดง, ดอ 27, ดอยอดอ่อน, ดอ 13, ดอ 20, ดอหลวง, ดอ 75, ดอลุ่มน้ำปิง, ดอสุขุม, ดอแก้วยี่, ลำไยต้นหมื่น, กรอบกะทิ, สีชมพู, พวงทอง, เบี้ยวเขียว เชียงใหม่, แดงกลม, แห้ว, ใบหยก, บ้านโฮ่ง 60, ปู่มาตีนโค้ง, เพชรสาคร, น้ำผึ้งทวาย, จัมโบ้ และ ใบดำ ตามลำดับ ส่วนช่อง 26-29 คือ ลิ้นจี่สายพันธุ์จักรพรรดิ, ฮงฮวย, กิมเจง และ บริวสเตอร์ ตามลำดับ

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์ความแตกต่างของแต่ละไพร์เมอรที่ใช้ในการทดลอง

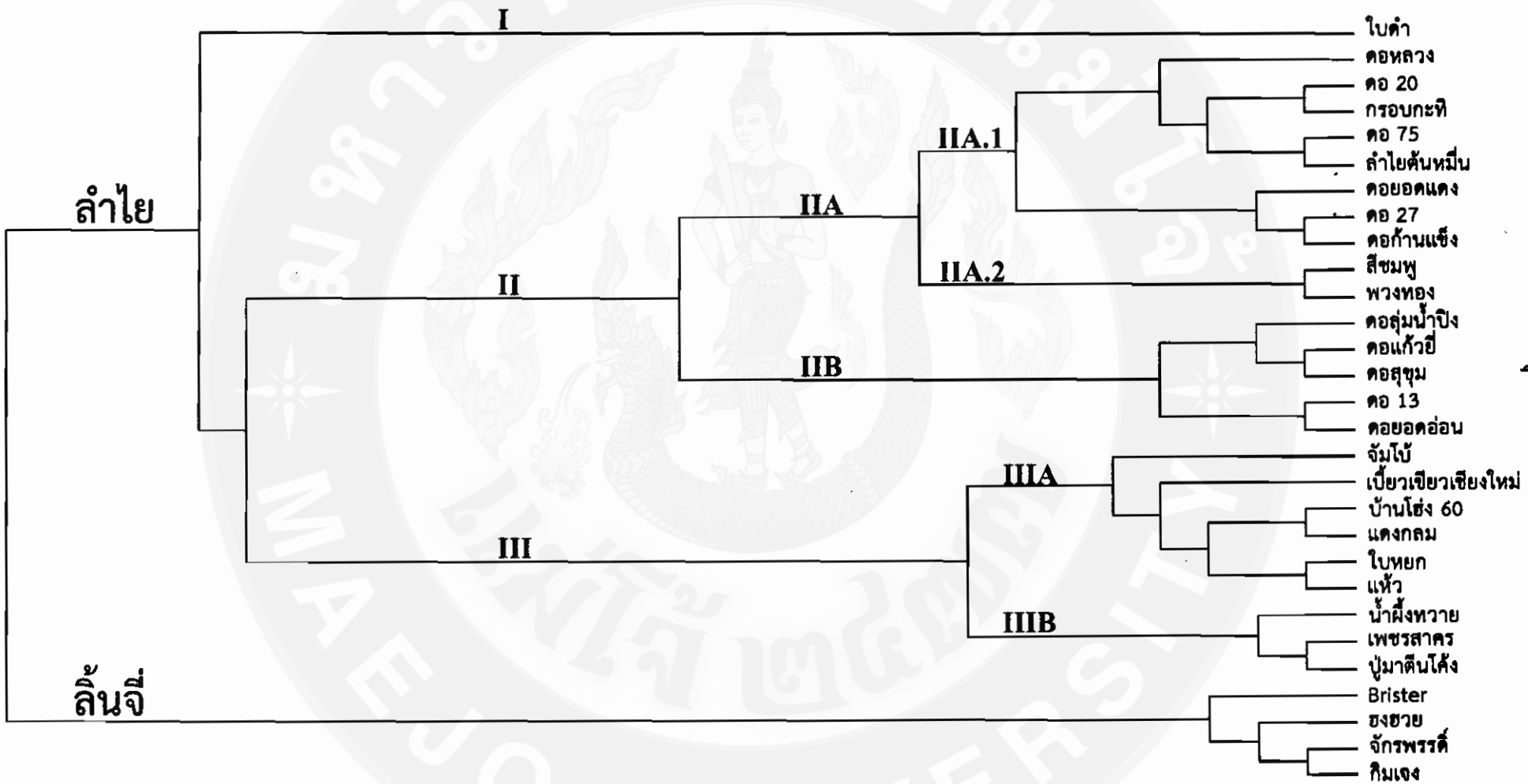
ไพร์เมอร์	จำนวนแถบทั้งหมด	จำนวนแถบที่เป็น polymorphic	% polymorphic
BPS1	7	6	85.7
BPS2	8	7	87.5
BPS3	4	2	50.0
BPS4	6	6	100.0
BPS5	6	6	100.0
BPS6	4	3	75.0
BPS7	6	6	100.0
BPS9	3	3	100.0
LA1	2	2	100.0
LA2	4	4	100.0
เฉลี่ย/ไพร์เมอร์	**5.0**	**4.5**	**89.92**
รวม	**50**	**45**	-

3.การสร้าง phylogenic tree

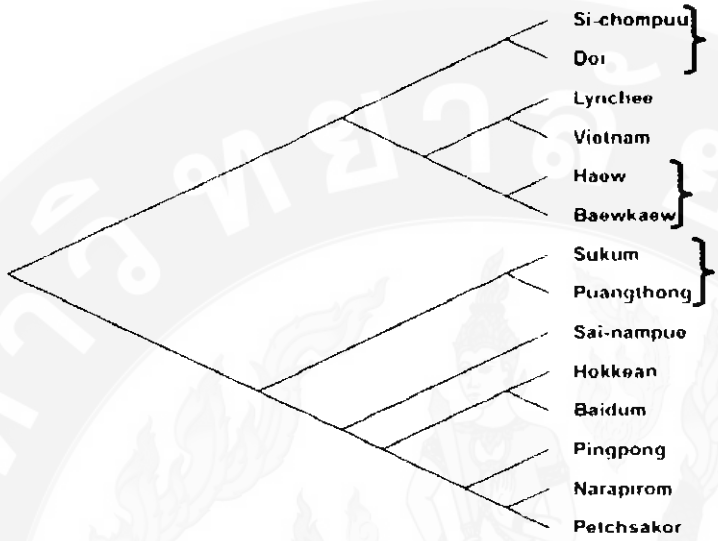
จากการสร้าง phylogenic tree จากข้อมูล RAPD ของทั้ง 10 ไพร์เมอร์ สามารถจัดกลุ่มลิ้นจี่แยกออกจากลำไยได้อย่างชัดเจน โดยจากลำไย จำนวน 25 สายพันธุ์ สามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มหลัก คือ กลุ่มที่ I กลุ่มที่ II ที่สามารถแบ่งย่อย 3 กลุ่มย่อย ได้แก่ IIA.1, IIA.2 และ IIB และกลุ่มที่ III ที่แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อย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

ตารางที่ 6 การจัดจำแนกสายพันธุ์ลำไยด้วยเทคนิค RAPD

กลุ่ม			สายพันธุ์ในกลุ่ม
I			ใบดำ
II	IIA	IIA.I	คอหลวง, คอ 20, กรอบกะทิ, คอ 75, ลำไยต้นหมื่น, คอยอดแดง, คอ 27, และ คอก้านแข็ง
		IIA.2	สีชมพู และ พวงทอง
	IIB		คอลุ่มน้ำปิง, คอแก้วยี่, คอสุขุม, คอ 13 และ คอยอดอ่อน
III	IIIA		จัมโบ้, เบี้ยวเขียว เชียงใหม่, บ้านโฮ่ง 60, แดงกลม, ใบหยก และ แห้ว
	IIIB		น้ำผึ้งทวาย, เพชรสาคร และ ปู่มาตีนโค้ง



ภาพที่ 13 Phylogenic tree ของตัวอย่างลำไยและลิ้นจี่ จำนวน 29 สายพันธุ์



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

จากค่าความเหมือนทางพันธุกรรมของลำไย ดังแสดงในตารางที่ 5 ไม่มีลำไยใดแสดงค่าความเหมือนเป็น 1.0 แสดงให้ทราบว่าตัวอย่างที่ใช้ในการทดลองไม่มีตัวอย่างที่ซ้ำกัน และจากค่าความเหมือนสูงสุดของพันธุ์ลำไยเป็น 0.94 เป็นค่าของความเหมือนระหว่าง ลำไยพันธุ์ ดอก้านแข็ง กับพันธุ์ ดอ 27 แสดงว่าลำไยทั้ง 2 สายพันธุ์นี้มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกันมากที่สุดและมากกว่าสายพันธุ์อื่นๆ

ตารางที่ 7 ค่าความเหมือนทางพันธุกรรมของลำไยและลิ้นจี่ จำนวน 25 และ 4 สายพันธุ์ ตามลำดับ

	คอ ยอดอ่อน	คอ ก้านแข็ง	คอ 13	ปุ่มาดินใส้	สีชมพู	น้ำผึ้งทวาย	คอ 20	อองอวย	จันใบ	เบี้ยวเขียวเชียงใหม่	คอ 27	อิมเจง	แดงกลม	ใบหยก	ใบดำ	คอกุ่มน้ำปิง	คอแก้วขี่	บ้านใส่ง 60	คอ 75	เพชรสาคร	จักรพรรดิ	กรอบกะทิ	ลำไยต้นหมื่น	แห้ว	Brister	พวงทอง	คอ ยอดแดง	คอ สุขุม
คอ ยอดอ่อน																												
คอ ก้านแข็ง	0.82																											
คอ 13	0.90	0.86																										
ปุ่มาดินใส้	0.71	0.77	0.72																									
สีชมพู	0.77	0.86	0.77	0.75																								
น้ำผึ้งทวาย	0.69	0.82	0.73	0.79	0.76																							
คอ 20	0.86	0.88	0.84	0.78	0.84	0.74																						
อองอวย	0.49	0.51	0.45	0.64	0.51	0.53	0.50																					
จันใบ	0.72	0.76	0.70	0.85	0.73	0.72	0.79	0.54																				
เบี้ยวเขียวเชียงใหม่	0.77	0.78	0.75	0.72	0.71	0.77	0.78	0.41	0.79																			
คอ 27	0.87	0.94	0.87	0.81	0.87	0.80	0.92	0.51	0.77	0.76																		
อิมเจง	0.57	0.57	0.55	0.65	0.52	0.57	0.57	0.84	0.60	0.52	0.55																	
แดงกลม	0.64	0.73	0.62	0.77	0.73	0.75	0.70	0.50	0.75	0.77	0.71	0.52																
ใบหยก	0.74	0.78	0.75	0.78	0.78	0.80	0.75	0.49	0.85	0.85	0.79	0.59	0.81															
ใบดำ	0.32	0.44	0.30	0.47	0.43	0.51	0.39	0.43	0.48	0.42	0.42	0.42	0.56	0.50														
คอ กุ่มน้ำปิง	0.87	0.89	0.91	0.72	0.78	0.74	0.84	0.49	0.71	0.75	0.87	0.56	0.63	0.76	0.38													
คอ แก้วขี่	0.88	0.92	0.91	0.76	0.82	0.78	0.87	0.48	0.74	0.79	0.88	0.58	0.68	0.76	0.36	0.91												
บ้านใส่ง 60	0.64	0.63	0.55	0.73	0.73	0.71	0.70	0.53	0.81	0.73	0.68	0.55	0.79	0.77	0.46	0.56	0.58											
คอ 75	0.86	0.91	0.90	0.81	0.87	0.76	0.94	0.50	0.79	0.78	0.92	0.59	0.70	0.81	0.39	0.90	0.93	0.67										
เพชรสาคร	0.81	0.81	0.79	0.87	0.79	0.87	0.82	0.56	0.80	0.79	0.85	0.60	0.75	0.85	0.40	0.79	0.80	0.75	0.82									
จักรพรรดิ	0.59	0.59	0.54	0.69	0.54	0.56	0.61	0.83	0.65	0.54	0.57	0.91	0.57	0.58	0.44	0.56	0.57	0.57	0.59	0.62								
กรอบกะทิ	0.84	0.86	0.82	0.76	0.85	0.72	0.99	0.48	0.80	0.76	0.90	0.55	0.71	0.76	0.40	0.82	0.86	0.71	0.93	0.80	0.59							
ลำไยต้นหมื่น	0.80	0.93	0.84	0.78	0.90	0.76	0.92	0.47	0.79	0.75	0.89	0.54	0.73	0.78	0.43	0.84	0.93	0.67	0.94	0.79	0.56	0.93						
แห้ว	0.68	0.70	0.66	0.73	0.75	0.74	0.73	0.55	0.80	0.76	0.71	0.59	0.78	0.89	0.49	0.63	0.65	0.81	0.73	0.80	0.61	0.74	0.73					
Buster	0.52	0.56	0.51	0.61	0.54	0.53	0.55	0.82	0.64	0.50	0.54	0.62	0.53	0.60	0.47	0.55	0.53	0.56	0.55	0.59	0.86	0.56	0.55	0.63				
พวงทอง	0.79	0.82	0.72	0.70	0.86	0.75	0.86	0.48	0.74	0.76	0.80	0.55	0.78	0.77	0.48	0.73	0.77	0.75	0.83	0.74	0.61	0.87	0.86	0.74	0.57			
คอ ยอดแดง	0.83	0.93	0.84	0.78	0.84	0.82	0.89	0.47	0.79	0.75	0.92	0.54	0.73	0.78	0.43	0.84	0.87	0.67	0.92	0.82	0.56	0.87	0.92	0.73	0.53	0.86		
คอ สุขุม	0.88	0.89	0.88	0.76	0.85	0.75	0.85	0.54	0.71	0.73	0.88	0.58	0.64	0.74	0.32	0.91	0.94	0.61	0.90	0.80	0.57	0.83	0.87	0.65	0.53	0.71	0.82	
คอ หอม	0.79	0.90	0.83	0.77	0.89	0.82	0.91	0.49	0.75	0.81	0.92	0.56	0.76	0.81	0.45	0.84	0.87	0.69	0.91	0.81	0.58	0.90	0.91	0.75	0.54	0.89	0.91	0.81

กิจกรรมที่ 3 การผสมพันธุ์ลำไย เพื่อสร้างลูกผสม (ผศ. ฉันทนา วิชรัตน์)

อุปกรณ์และวิธีการ

ต้นลำไยพันธุ์ต่างๆ ในแปลงรวบรวมพันธุ์ และบางส่วนขยายพันธุ์ปลูกไว้ในกระถาง เพื่อความสะดวกในการดำเนินงาน อุปกรณ์ต่างๆที่จำเป็นสำหรับการผสมพันธุ์ลำไยได้แก่ ปากคีบ ถุงตาข่าย ลวด ป้ายพลาสติก (tag) ดินสอ 2B กล่องพลาสติก และแอลกอฮอร์ 75% สำหรับทำความสะอาดอุปกรณ์ การผสมลำไยสามารถดำเนินการได้ดังนี้

1. การเลือกช่อดอกตัวเมีย ให้เลือกช่อดอกที่มีความสมบูรณ์แข็งแรง และช่อดอกที่มีดอกตัวเมียบาน โดยทำการเด็ดดอกตัวเมียทิ้งให้เหลือไว้ช่อละ 15-20 ดอก ถ้ามีดอกตัวผู้บานพร้อมกันให้เด็ดดอกตัวผู้ทิ้งให้หมด แล้วคลุมด้วยถุงตาข่ายมัดปากถุงให้แน่น เพื่อป้องกันแมลงบินเข้าไป

2. การเลือกดอกตัวผู้ เลือกช่อที่มีความแข็งแรงแล้วคลุมด้วยถุงตาข่ายไว้ จะทำการเก็บเกสรตัวผู้ที่บานจากต้นในตอนเช้าเวลาประมาณ 07.00 -9.00 น. ถ้าดอกตัวผู้ไม่บาน ให้นำไปบ่มด้วยความร้อนจากหลอดไฟขนาด 40 วัตต์ เมื่อละอองเกสรเริ่มแตกก็สามารถนำไปใช้ได้

3. วิธีการผสมข้าม นำละอองเกสรตัวผู้ที่แตกแล้วไปแตะบนยอดเกสรตัวเมีย ซึ่งเกสรตัวเมียที่พร้อมจะได้รับการผสมจะมีน้ำหวานเหนียวๆ ไหลออกมาบริเวณฐานรองดอก

4. เมื่อผสมเกสรเสร็จแล้ว ให้ใช้ถุงตาข่ายคลุมไว้เหมือนเดิม มัดปากถุงให้แน่น พร้อมกับเขียน tag โดยระบุชื่อพ่อและแม่พันธุ์ วันที่ผสม

ผลการทดลอง

จากการผสมลำไยสามารถผสมพันธุ์ลำไยได้ทั้งหมด 16 คู่ผสม มีจำนวนเมล็ดที่ผสมทั้งหมด 148 เมล็ด ดังนี้ (กรอบกะทิ x ดอก้านแข็ง)F_1 (ดอ13 x ดอลุ่มน้ำปิง)F_1 (ดอ13 x เบี้ยวเขียวเชียงใหม่)F_1 (ดอ20 xดอก้านแดง)F_1 (ดอ27 x ดอก้านแข็ง)F_1 (ดอ27 x สีชมพู)F_1 (ดอก้านแข็ง x ดอยอดอ่อน)F_1 (ดอก้านแข็ง x สีชมพู)F_1(ดอก้านแดง x ดอ13)F_1 (ดอยอดอ่อน x ดอก้านแข็ง)F_1 (ดอหลวง x ดอก้านแข็ง)F_1 (เบี้ยวเขียว เชียงใหม่ xดอก้านแข็ง)F_1 (ใบดำ x ดอก้านแข็ง)F_1 (พวงทอง x ดอก้านแข็ง)F_1 (สีชมพู x ดอก้านแข็ง)F_1 และ (สีชมพู x Kohala)F_1 ดังตารางที่ 2.8

ตารางที่ 8 แสดงคู่ผสมลำไยที่ได้จากการผสมข้ามสายพันธุ์

ลำดับ	คู่ผสม	วันที่ผสม	จำนวนเมล็ด
1	กรอบกะทิ-1 x ดอก้านแข็ง-7	19/4/55	5
2	ดอ13-6 x ดอลุ่มน้ำปิง-8	29/3/55	7
5	ดอ13-6 x เบี้ยวเขียวเชียงใหม่-3	30/3/55	3
6	ดอ20-2 x ดอก้านแดง-2	1/4/55	3

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

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

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

ตารางที่ 9 แสดงอัตราการงอกของคู่ผสมลำไยที่ได้จากการผสมข้ามสายพันธุ์

ลำดับ	คู่ผสม	จำนวนเมล็ด	เปอร์เซ็นต์การงอก (%)
1	กรอบกะทิ x คอก้านแข็ง	0	0
2	คอ13 x คอลุ่มน้ำปิง	5	71.43
3	คอ13 x เบี้ยวเขียวเชียงใหม่	0	0
4	คอ20 x คอก้านแดง	2	50
5	คอ-27 x คอก้านแข็ง	14	31.11
6	คอ-27 x สีชมพู	3	42.86
7	คอก้านแข็ง x คอยอดอ่อน	4	80
8	คอก้านแข็ง x สีชมพู	5	41.67
9	คอก้านแดง x คอ-13	3	75
10	คอยอดอ่อน x คอก้านแข็ง	0	0
11	คอหลวง x คอก้านแข็ง	1	50
12	เบี้ยวเขียวเชียงใหม่ x คอก้านแข็ง	1	11.11
13	ใบคำ x คอก้านแข็ง	0	0
14	พวงทอง x คอก้านแข็ง	12	50
15	สีชมพู x คอก้านแข็ง	9	56.25
16	สีชมพู x Kohala	1	100

วิจารณ์ผลการทดลอง

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

อย่างไรก็ตามในการทดลองผสมครั้งนี้ ลูกผสม F1 ที่ได้ ยังไม่ได้ดำเนินการตรวจสอบความเป็นลูกผสมในห้องปฏิบัติการแต่อย่างใด ซึ่งในการดำเนินงานต่อไป จะต้องดำเนินการคัดเลือกลูกผสมที่เป็นลูกผสมข้ามมาใช้ในการดำเนินงานต่อ ซึ่งสามารถทดสอบได้โดยใช้ระบบ marker ของห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพต่อไป

สรุปผลการทดลอง

จากการผสมข้ามพันธุ์ลำไยสามารถผสมพันธุ์ลำไยได้ทั้งหมด 16 คู่ผสม มีจำนวนเมล็ดที่ผสมทั้งหมด 148 เมล็ด และเมื่อนำเมล็ดของลำไยลูกผสมไปทำการเพาะเมล็ดเมื่อมีอายุ 16 สัปดาห์ พบว่ามีพันธุ์ลำไยที่งอกเป็นต้นอ่อนทั้งหมด 12 คู่ผสม มีจำนวนเมล็ดที่ผสมทั้งหมด 61 เมล็ด ซึ่งคู่ผสมที่มีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำสุดคือ กรอบกะทิ x คอก้านแข็ง คอ 13 x เบี้ยวเขียวเชียงใหม่ คอยอดอ่อน x คอก้านแข็ง และใบดำ x คอก้านแข็ง ไม่มีเปอร์เซ็นต์การงอก ส่วนคู่ผสมที่มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุดคือ ชมพู x Kohala มีเปอร์เซ็นต์การงอก 100 เปอร์เซ็นต์

จำนวนต้นของลูกผสมที่ได้นั้นพบว่าคู่ผสมที่มีจำนวนต้นมากที่สุด ได้แก่ คอ 27 x คอก้านแข็ง คือ จำนวน 14 ต้น ส่วนคู่ผสมที่มีต้นจำนวนน้อยที่สุด ได้แก่ คอหลวง x คอก้านแข็ง เบี้ยวเขียวเชียงใหม่ x คอก้านแข็ง และ สีชมพู x Kohala คือ จำนวน 1 ต้น

กิจกรรมที่ 4 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อลำไยและการชักนำการเกิดต้น (รศ. ดร. นพมณี โทปุญญานนท์)

การเพาะเลี้ยงและชักนำให้เกิดต้นของลำไยลูกผสม

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

บทคัดย่อ

งานปรับปรุงพันธุ์ไม้ผลโดยเฉพาะลำไยยังเป็นเรื่องที่ท้าทายนักปรับปรุงพันธุ์ เนื่องจากต้องใช้เวลาในการทำการปรับปรุงนานกว่า 10 ปี ตั้งแต่การใช้เมล็ดพันธุ์ลูกผสมมาเพาะเมล็ดเพื่อประเมินคุณลักษณะของต้นและผลผลิต การร่นระยะเวลาการปรับปรุงให้สั้นที่สุดจะช่วยให้งานการปรับปรุงพันธุ์ลำไยประสบผลสำเร็จมากขึ้น นอกจากนี้ยังพบปัญหาการร่วงของเมล็ดก่อนที่จะนำมาใช้ในการวิจัยปรับปรุงพันธุ์ เทคนิคการเพาะเลี้ยงตัวอ่อน (Zygotic embryo) หรือเมล็ดอ่อนในสภาพปลอดเชื้อถูกนำมาใช้เพื่อร่นระยะเวลาการปรับปรุงพันธุ์ในพืชหลายชนิด ดังนั้นในการวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาระยะการเจริญเติบโตของเมล็ดลำไย (different developmental stages of embryo) พันธุ์ลูกผสม โดยได้ศึกษาระยะการพัฒนาของตัวอ่อน 3 ระยะ ได้แก่ ระยะหลังจากการติดผล 9, 12 และ 18 สัปดาห์ของพันธุ์ดอ ผลลำไยในระยะเมล็ดขนาดเล็กไม่ได้เลาะเปลือกออก เนื่องจากเปลือกแข็งและผลมีขนาดเล็ก ส่วนผลระยะการเจริญเติบโตที่มากขึ้นนำมาเลาะเปลือกและเนื้อออก ให้เหลือเพียงเมล็ดลำไยที่มีสีขาวและสีดำตามลำดับ จากนั้นนำชิ้นส่วนทั้งหมดไปฟอกฆ่าเชื้อด้วย ethanol 70%แช่ย่า 30 วินาที แล้วเท ethanol ทิ้ง จากนั้นเติม mercuric chloride 0.1% แช่ย่านาน 5 นาที หลังจากนั้นเททิ้ง ทำการล้างเมล็ดลำไยด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 3 ครั้ง เมื่อฟอกฆ่าเชื้อแล้ว นำเมล็ดลำไยมาทำการตัดบริเวณที่ถูกฟอกออกเล็กน้อย (ถ้าตัดออกมากจะโดนส่วนของเนื้อเยื่อเจริญ) และนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งหรืออาหารเหลวในไบโอรีแอคเตอร์ (TIB) อาหารสูตร Murashige and Skoog (1962) ที่มีการเติมซูโครส 30 กรัมต่อลิตร IBA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 10 % หลังจากเพาะเลี้ยงนาน 1 สัปดาห์พบว่า เมล็ดที่ไม่มีการเลาะเปลือกออกจะเกิดสารประกอบฟีโนลิคเกิดขึ้นห้อมล้อมเมล็ดจนตายในที่สุด ส่วนเมล็ดที่มีระยะการเจริญเติบโตถัดมาไม่เกิดสารประกอบฟีโนลิค และสามารถงอกออกมาเป็นต้นได้ง่ายและเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์ เมื่อย้ายกล้าลงกระถางในเรือนโรงต้นกล้าสามารถเจริญเติบโตได้ดี ผลการวิจัยพบว่า เมล็ดที่มีอายุมากงอกได้ดีกว่าเมล็ดที่มีอายุน้อย (9 สัปดาห์) เมื่อเพาะบนอาหารแข็ง และเมล็ดอายุ 18 สัปดาห์งอกได้สูงถึง 90% ในขณะที่เมล็ดอายุ 12 สัปดาห์งอกเพียง 48% เท่านั้น นอกจากนี้ยังพบว่าเมล็ดอายุ 9 สัปดาห์ตายทั้งหมดเนื่องจากมีสารฟีโนลิคหลั่งออกมามาก แต่อย่างไรก็ตามเมล็ดที่เพาะใน

TIB ไม่สามารถงอกได้ดี หลังจากเพาะเลี้ยงในอาหารครบ 5 สัปดาห์พบว่าต้นกล้าเจริญเติบโตได้ดี สามารถนำออกปลูกในเรือนโรงได้

Abstract

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

วิธีการดำเนินงาน

การวางแผนการทดลอง

มีปัจจัย 2 ปัจจัย ที่ศึกษาดังนี้

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

ปัจจัยที่ 2: อาหารแข็งและอาหารเหลว (ในไบโอรีแอคเตอร์)

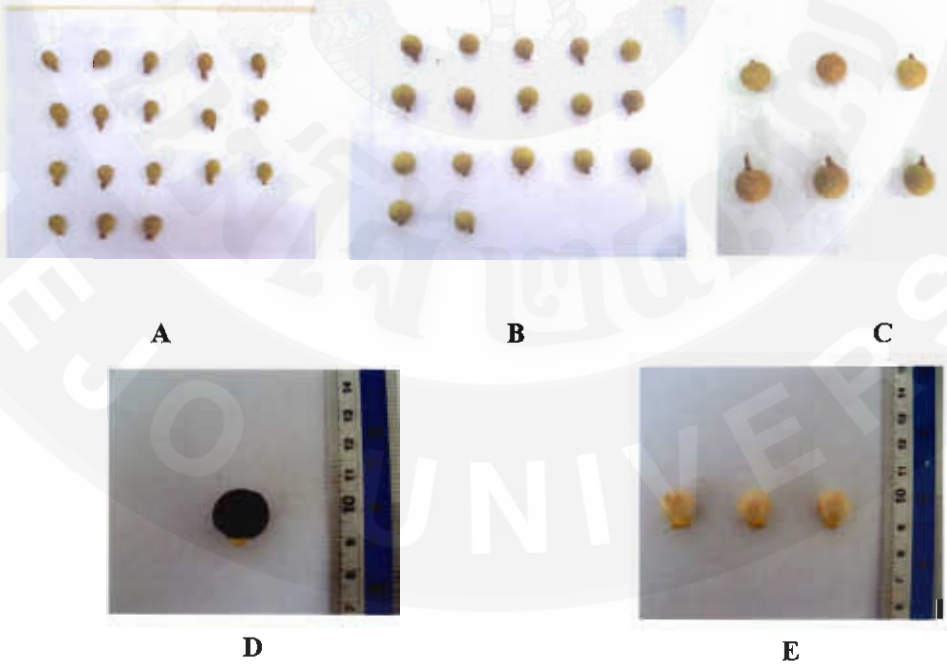
รวมทั้งสิ้น 6 สิ่งทดลองๆ ละ 4 ซ้ำ

วิธีการทดลอง

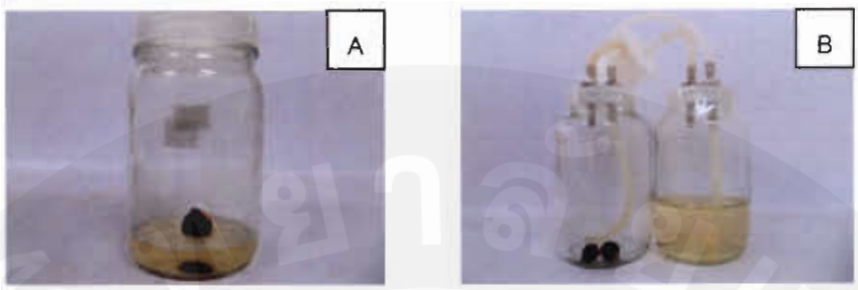
นำเมล็ดลำไยทุกสิ่งทดลองทั้งที่มีแกะเปลือกและเนื้อออก (ภาพที่ 2.15) ไปล้างด้วยน้ำกลั่นแล้วนำมาฟอกฆ่าเชื้อ โดยนำเมล็ดลำไยใส่ในขวดละ 5 เมล็ดมาเติม ethanol 70%แช่ย่า 30 วินาที แล้วเท ethanol ทิ้ง จากนั้นเติมสารละลาย mercuric chloride 0.1% แช่ย่านาน 5 นาที หลังจากนั้นเททิ้ง ทำการล้างเมล็ดลำไยด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 3 ครั้ง เมื่อฟอกฆ่าเชื้อแล้ว นำเมล็ดลำไยมาทำการตัดบริเวณที่ถูกฟอกออกเล็กน้อย (ถ้าตัดออกมากจะโดนส่วนของเนื้อเยื่อเจริญ) และหยิบใส่ขวดอาหารแข็ง หรือใส่ในขวดฟอกแล้วนำไปประกอบกับชุดอุปกรณ์ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวแบบขวดแฝด ดังภาพที่ 2.16

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

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



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



ภาพที่ 16 เมล็ดลำไยเริ่มต้นที่เพาะเลี้ยงในระบบอาหารแข็ง (A) และในระบบไบโอรีแอคเตอร์ (B)

ผลการทดลอง

การปนเปื้อนเชื้อ

ได้มีการตรวจสอบการปนเปื้อนพบว่า มีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งแบคทีเรียและเชื้อรา แต่อย่างไรก็ตามมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนต่ำ

การเจริญเติบโตของเมล็ดลำไยในอาหารแข็ง

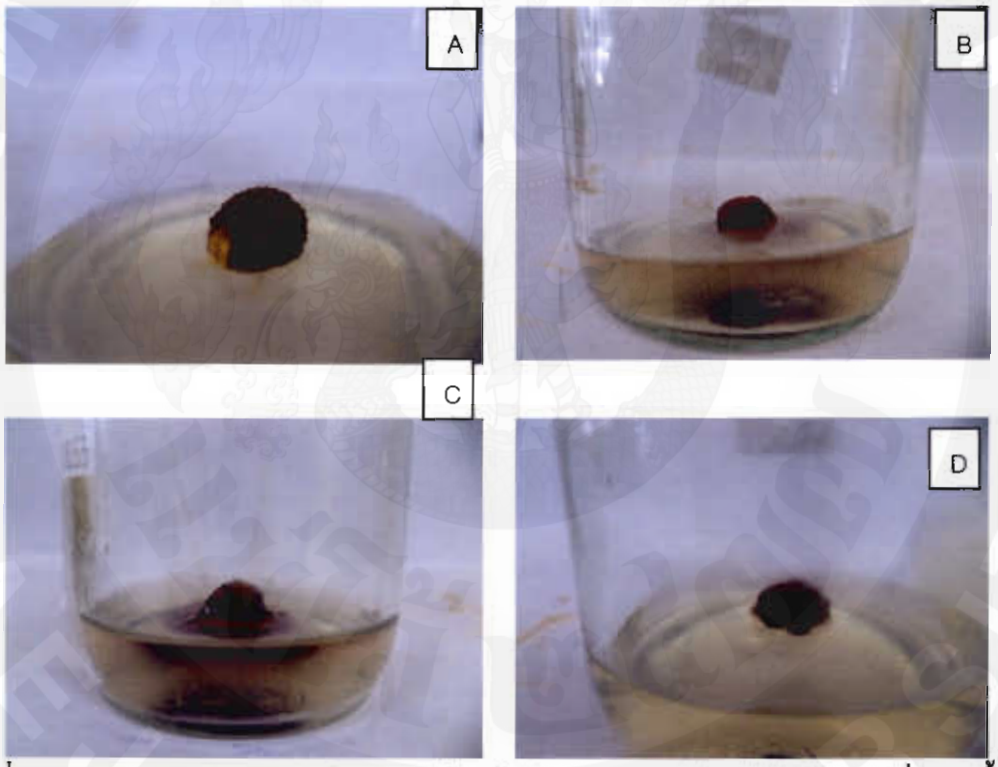
การเจริญเติบโตของเมล็ดลำไยในระยะ 9 สัปดาห์หลังการติดผลนั้น เมล็ดมีขนาดเล็กมาก ไม่สามารถแกะเปลือกได้แต่อย่างใด และเมื่อนำเมล็ดทั้งหมดมาเพาะในอาหารแข็ง พบว่ามีสารฟีโนลิคหลั่งออกมาจากเมล็ดจนกระทั่งเมล็ดไม่สามารถงอกได้ ผลลำไยในระยะนี้ไม่สามารถงอกได้ (ภาพที่ 2.17A-D) นอกจากนี้ได้พยายามจะปอกเปลือกออกจากเมล็ดในระยะนี้ พบว่าเปลือกจะติดอยู่กับเมล็ดมากไม่สามารถแยกออกมาได้จึงไม่สามารถแคะเอ็มบริโออกมาเพาะนอกเปลือกได้

ส่วนเมล็ดลำไยที่มีอายุ 12 สัปดาห์หลังการดิดผลนั้นใน 3 วันแรกที่ไม่แกะเปลือกมีสารฟีโนลิคหลั่งออกมามาก ดังนั้นจึงได้นำเมล็ดในระยะนี้มาแกะเปลือกออกแล้วนำไปเพาะพบว่าเมล็ดสามารถงอกออกมาได้ดี (ภาพที่ 1.18A) โดยหลังจาก1 สัปดาห์จะสังเกตเห็นรากเริ่มแทงออกมาจากหัวของเมล็ด (ภาพที่ 2.18B) จากนั้นส่วนของก้านใบเลี้ยงจะยืดยาวออกมาจากเมล็ดพร้อมทั้งส่วนยอดซึ่งอยู่ระหว่างก้านใบเลี้ยงเริ่มโผล่ออกมา (ภาพที่ 1.18C) แล้วพัฒนาเป็นต้นยืดยาวขึ้น (ภาพที่ 1.18D) แต่อย่างไรก็ตามส่วนของใบเลี้ยงจะไม่หลุดออกมาจากเปลือกเมล็ดแต่อย่างใด

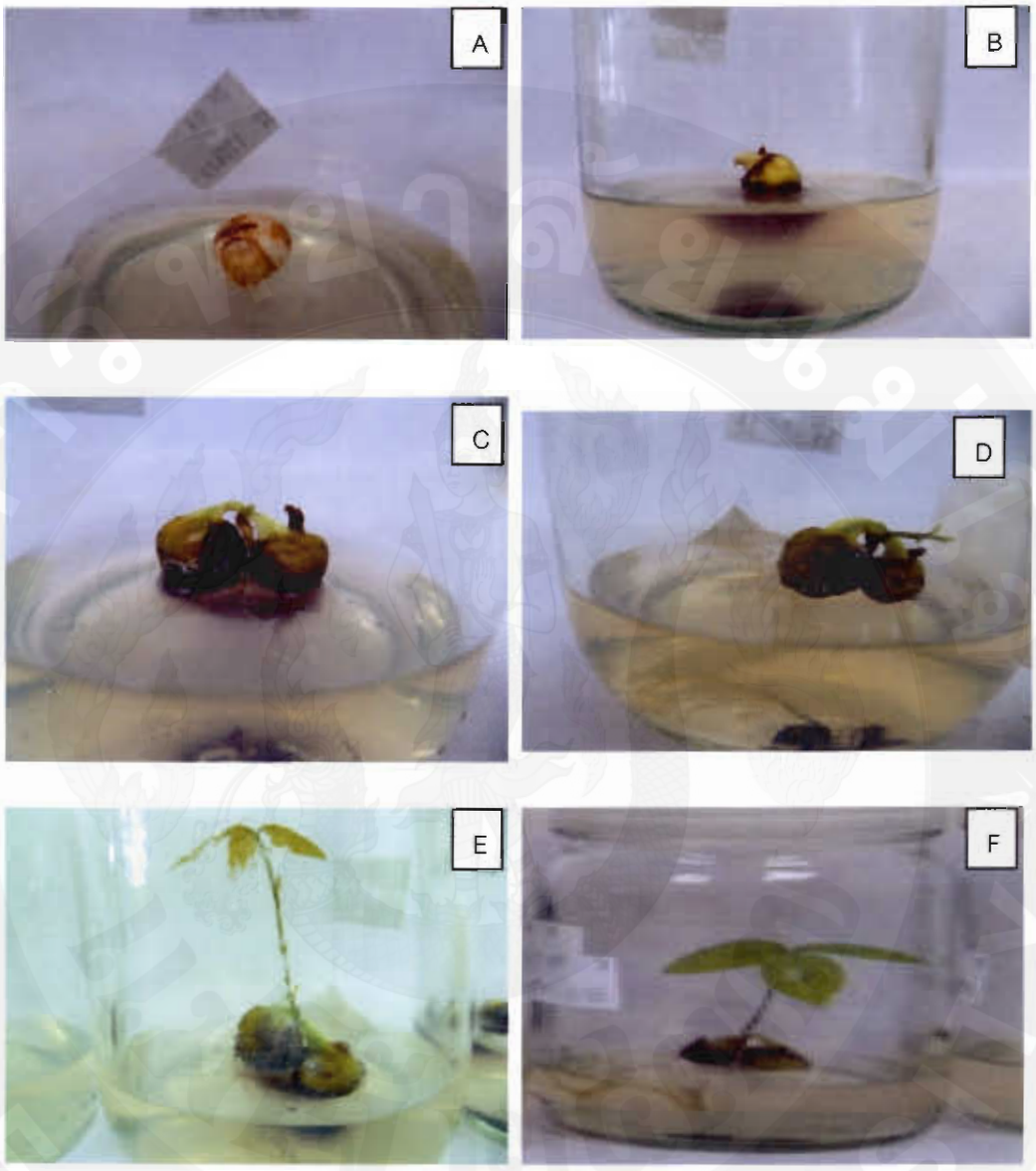
ส่วนการสังเกตการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดลำไยที่มีอายุ 18 สัปดาห์หลังการติดผล (ภาพที่ 1.19A) มีการเจริญเติบโตที่ปกติเช่นเดียวกันกับเมล็ดอายุ 12 สัปดาห์หลังติดผล (ภาพที่ 1.19B-D)

การเจริญเติบโตของเมล็ดลำไยในไบโอรีแอคเตอร์

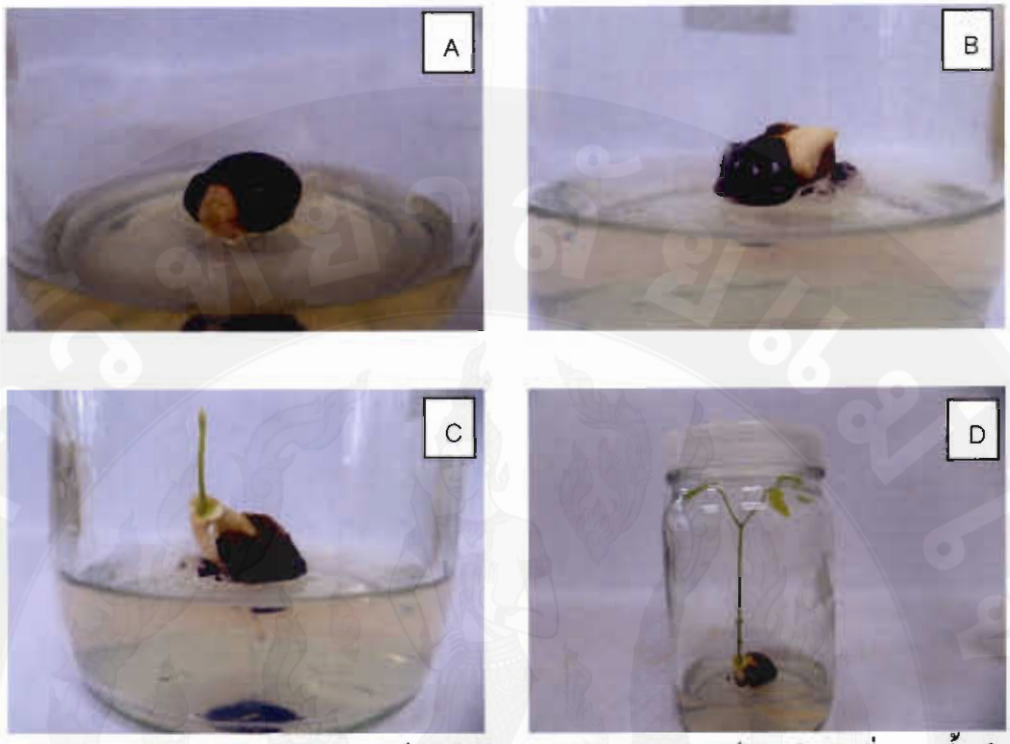
การงอกของเมล็ดทั้ง 3 ระยะในไบโอรีแอคเตอร์นั้น ในครั้งแรกต้องการจะลดสารฟีโนลิคด้วยการให้สารฟีโนลิคไปสะสมขวดอาหารเหลว ผลปรากฏว่า ขวดไบโอรีแอคเตอร์ที่เพาะเมล็ดขนาดเล็ก (9 สัปดาห์หลังติดผล) ไม่สามารถงอกได้เนื่องจากมีสารฟีโนลิกมากเกินไป (ภาพที่ 2.17) ส่วนการเพาะเมล็ดลำไยระยะ 12 และ 18 สัปดาห์หลังติดผลในไบโอรีแอคเตอร์นั้น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



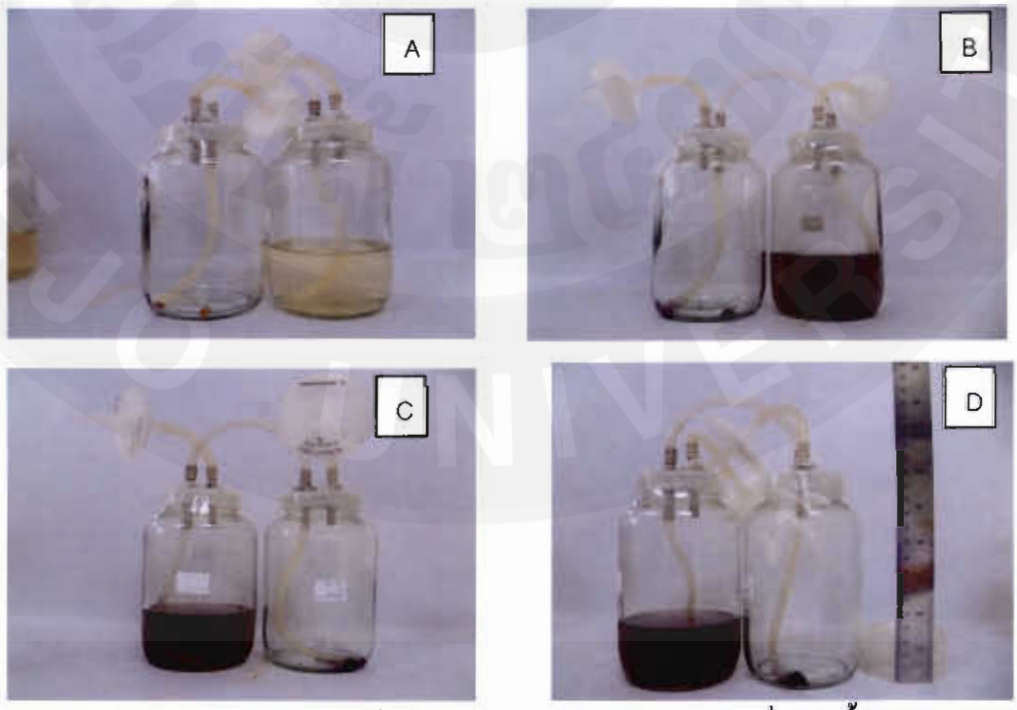
ภาพที่ 17 ลักษณะการเจริญเติบโตของเมล็ดลำไยในระยะ 9 สัปดาห์หลังติดผล ที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลง (A) เมล็ดลำไยเริ่มต้น (B) เมล็ดลำไยเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ (C) เมล็ดลำไยเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ (D) เมล็ดลำไยเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์



ภาพที่ 18 ลักษณะการเจริญเติบโตของเมล็ดลำไยอายุ 12 สัปดาห์หลังติดผลที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลง (A) เมล็ดลำไยเริ่มต้น (B) เมล็ดลำไยเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ (C) เมล็ดลำไยเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ (D) เมล็ดลำไยเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ (E) เมล็ดลำไยเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (F) เมล็ดลำไยเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์

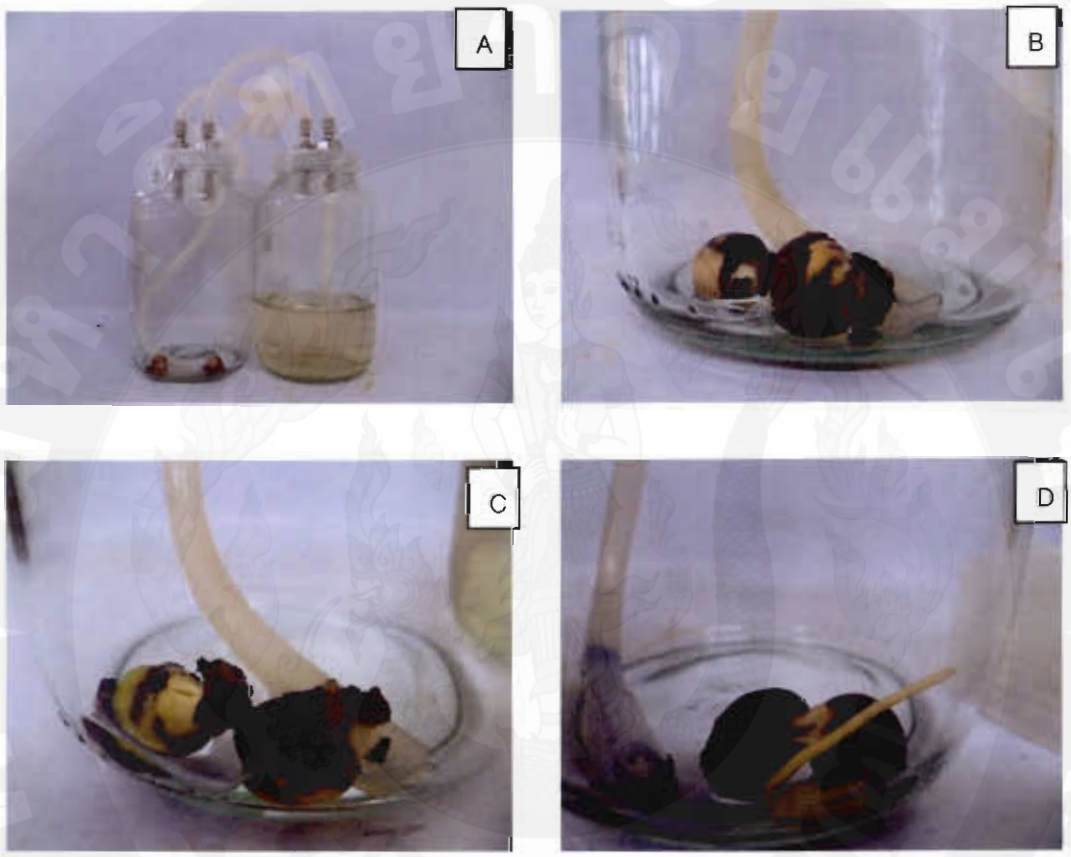


ภาพที่ 19 ลักษณะการเจริญเติบโตของเมล็ดลำไยในระยะ 18 สัปดาห์หลังติดผลที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลง (A) เมล็ดลำไยเริ่มต้น (B) เมล็ดลำไยเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ (C) เมล็ดลำไยเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์



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

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



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

ภาพที่ 22 ลักษณะการเจริญเติบโตของเมล็ดลำไยระยะ 18 สัปดาห์หลังการติดผลที่เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์ อาหารสูตร MS ที่มีการเติม IBA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรและน้ำมะพร้าว 10 % (A) เมล็ดลำไยเริ่มต้น (B) เมล็ดลำไยเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ (C) เมล็ดลำไยเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์

สรุปผลการทดลอง

การเพาะเมล็ดลำไยในระยะที่เมล็ดยังอ่อนสามารถเพาะให้งอกได้ในอาหารสังเคราะห์สภาพปลอดเชื้อได้อย่างดี โดยที่สามารถเพาะได้ตั้งแต่อายุ 12 สัปดาห์หลังติดผล แต่ทั้งนี้ต้องมีการแกะเปลือกลำไยออกก่อน เนื่องจากลดการหลั่งของสารฟีโนลิก ต้นเล็กที่ได้จะนำไปใช้เป็นชิ้นส่วนตั้งต้นในการขยายพันธุ์ต้นลำไยด้วยการทำระบบ multiple shoot culture ต่อไป

กิจกรรมที่ 5 การศึกษาวิธีการย่นระยะการทดสอบลูกผสม (นางจิรนันท์ เสนานาญ)

อุปกรณ์วิธีการ

แบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 5.1. ศึกษาวิธีย่นระยะเวลาการออกดอกติดผลของลำไยลูกผสม แยกเป็น 2 การทดลองย่อยดังนี้

5.1.1 การศึกษาวิธีการเปลี่ยนยอดต้นใหญ่ร่วมกับการให้สารโพแทสเซียมคลอเรต

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

กรรมวิธีที่ 1 อายุของต้นกล้าที่ต่อกิ่งแบบ Top working อายุ 6 เดือน

กรรมวิธีที่ 2 อายุ ของต้นกล้าที่ต่อกิ่งแบบ Top working อายุ 12 เดือน

กรรมวิธีที่ 3 อายุของต้นกล้าที่ต่อกิ่งแบบ Top working อายุ 18 เดือน

กรรมวิธีที่ 4 อายุของต้นกล้าที่ต่อกิ่งแบบ Top working อายุ 24 เดือน

การบันทึกข้อมูล ดำเนินการหลังการเสียบยอด โดยบันทึกข้อมูลดังนี้ เปอร์เซ็นต์การเสียบติด เปอร์เซ็นต์การผลิใบ จำนวนครั้งการผลิใบอ่อน ความยาวยอด เส้นผ่าศูนย์กลางยอดใหม่

5.1.2 การศึกษาวิธีการเปลี่ยนยอดต้นกล้าลำไยอายุต่างๆบนต้นตอเล็ก

วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) มี 4 ซ้ำๆละ 5 ต้น การทดลองนี้ศึกษาการเปลี่ยนยอดต้นกล้าลำไยที่อายุต่างๆกัน โดยที่ทำการต่อกิ่งบนต้นตอลำไยต้นเล็กอายุต้นตอกับอายุยอดต้นกล้า ทำการเปลี่ยนยอดลำไยอายุต่างๆโดยวิธีการเสียบลิ่ม แล้วนำใส่ถุงอบนาน 45 วัน จึงเปิดถุงอบเพื่อดูจำนวนต้นที่เสียบติด กำหนดให้มี 3 กรรมวิธี ดังนี้ คือ

กรรมวิธีที่ 1 อายุยอดต้นกล้า 6 เดือนหลังเพาะเมล็ด

กรรมวิธีที่ 2 อายุยอดต้นกล้า 8 เดือนหลังเพาะเมล็ด

กรรมวิธีที่ 3 อายุยอดต้นกล้า 12 เดือนหลังเพาะเมล็ด

การบันทึกข้อมูล ภายหลังการเสียบยอด ทำการบันทึกข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเสียบติด และหลังจากนั้นนำต้นกล้าที่ต่อกิ่งด้วยวิธีเสียบลิ่มมาทำการศึกษาการเจริญเติบโต โดยบันทึกข้อมูลดังนี้ คือ ความสูงของต้น เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นเปอร์เซ็นต์การผลิใบ จำนวนครั้งการผลิใบอ่อน ความยาวยอดและ เส้นผ่าศูนย์กลางยอดใหม่เพื่อหาวิธีย่นระยะเวลาการออกดอกติดผลของต้นกล้าลูกผสมต่อไป

การทดลองที่ 5.2 การศึกษาผลของปุ๋ยยูเรียและออสโมโคทต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้า วางแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized Design (CRD) มี 2 ปัจจัยคือ

ปัจจัยที่ 1 อัตราของปุ๋ยต่อการเจริญเติบโต 5 ระดับ ได้แก่

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

ปัจจัยที่ 2 ระยะเวลาในการชักนำให้ออกดอก 6 ระยะ คือ

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

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

ภาพที่ 23 ต้นกล้าลำไยในถุงพลาสติกขนาด 4x6 นิ้ว

ผลการทดลอง

การทดลองที่ 5.1 ศึกษาวิธีย่นระยะเวลาการออกดอกติดผลของลำไยลูกผสม

5.1.1 การศึกษาวิธีการเปลี่ยนยอดต้นใหญ่ร่วมกับการให้สารโพแทสเซียมคลอเรต

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

ตารางที่ 10 ผลของการต่อกิ่งอายุต้นกล้าต่างๆกันบนต้นลำไยต้นใหญ่พันธุ์อีดอ

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

ns= ไม่แตกต่างทางสถิติ

ภาพที่ 24 การต่อกิ่งของยอดต้นกล้าลำไยพบว่ามีการเสียบติดแต่มีเปอร์เซ็นต์ต่ำมาก

5.1.2 การศึกษาวิธีการเปลี่ยนยอดต้นกล้าลำไยอายุต่างๆบนต้นตอเล็ก

ผลของการเสียบยอดต้นกล้าลำไยบนต้อตอพันธุ์อีดอพบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเสียบติดและเปอร์เซ็นต์การผลิใบไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเสียบติดและเปอร์เซ็นต์การผลิใบได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนจำนวนวันที่ใช้ในการผลิใบอยู่ในช่วง 50.72-56.75 วัน ในขณะที่ขนาดของยอดใหม่ ทั้งความยาวยอดและเส้นผ่าศูนย์กลางยอดใหม่ไม่แตกต่างเช่นเดียวกัน(ตารางที่ 2.11)

ตารางที่ 11 ผลของการต่อกิ่งอายุต้นกล้าต่างๆกันบนต้นลำไยต้นใหญ่พันธุ์อีดอ

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

ns= ไม่แตกต่างทางสถิติ

ภาพที่ 25 การต่อกิ่งของยอดต้นกล้าอายุต่างๆกัน(ซ้าย) หลังจากเสียบติดแล้วนำมาสุกระถางเพื่อศึกษาการเจริญเติบโตต่อไป

การทดลองที่ 5.2 การศึกษาผลของปุ๋ยยูเรียและออสโมโคทต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าลูกผสม

ความกว้างทรงพุ่ม

ความกว้างทรงพุ่มของต้นกล้าลำไยที่ให้ปุ๋ยกรรมวิธีต่างๆกันบันทึกข้อมูล 1 ปี หลังจากการเพาะเมล็ดตั้งแต่เดือนธันวาคม 2554 ถึง พฤศจิกายน 2555 พบว่าไม่แต่ต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ให้ปุ๋ย (ตารางที่ 2.12)

ตารางที่ 12 ผลของการให้ปุ๋ยอัตราต่างๆ กันต่อการเจริญเติบโตด้านความกว้างทรงพุ่มของต้นกล้าลำไย

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

ns= ไม่แตกต่างทางสถิติ

ความสูงต้น

ความสูงของต้นกล้าลำไยที่ให้ปุ๋ยกรรมวิธีต่างๆกันพบว่าในระยะ 6 เดือนแรกเดือนธันวาคม 2554ถึงเดือนพฤษภาคม 2555 ทุกกรรมวิธีการให้ปุ๋ยไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่ให้ปุ๋ย แต่ในระยะ 6 เดือนหลังคือตั้งแต่ เดือนมิถุนายน ถึงเดือนพฤศจิกายน พบว่าทุกกรรมวิธีการให้ปุ๋ยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีไม่ให้ปุ๋ยมีการเจริญเติบโตด้านความสูงต่ำกว่าทุกกรรมวิธี (ตารางที่ 2.13)

ตารางที่ 13 ผลของการให้ปุ๋ยอัตราต่างๆ กันต่อการเจริญเติบโตด้านความสูงของต้นกล้าลำไย

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

ns ไม่แตกต่างทางสถิติ, * แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น95 % เปรียบโดยใช้วิธี DMRT

เปอร์เซ็นต์การผลิใบ

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

ตารางที่ 14 ผลของการให้ปุ๋ยอัตราต่างๆ กันต่อเปอร์เซ็นต์การผลิใบของต้นกล้าลำไย

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

ns= ไม่แตกต่างทางสถิติ

เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น

เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นของต้นกล้าลำไยที่ให้ปุ๋ยกรรมวิธีต่างๆกันพบว่าในระยะ 6 เดือนแรกเดือนธันวาคม 2554ถึงเดือนพฤษภาคม 2555 ทุกกรรมวิธีการให้ปุ๋ยไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่ให้ปุ๋ย แต่ในระยะ 6 เดือนหลังคือตั้งแต่ เดือนมิถุนายน ถึงเดือนพฤศจิกายน พบว่าทุกกรรมวิธีการให้ปุ๋ยเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยกรรมวิธีไม่ให้ปุ๋ยมีเส้นผ่าศูนย์กลางต่ำกว่าทุกกรรมวิธี (ตารางที่ 2.15)

ตารางที่ 15 ผลของการให้ปุ๋ยอัตราต่างๆ กันต่อเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นของต้นกล้าลำไย

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

ns ไม่แตกต่างทางสถิติ, * แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น95 % เปรียบโดยใช้วิธี DMRT

ความยาวยอดใหม่

ความยาวยอดใหม่ของต้นกล้าลำไยที่ให้ปุ๋ยกรรมวิธีต่างๆกันพบว่าทุกกรรมวิธีให้ความยาวยอดใหม่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ(ตารางที่ 2.16)

ตารางที่ 16 ผลของการให้ปุ๋ยอัตราต่างๆ กันต่อความยาวยอดใหม่ของต้นกล้าลำไย

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

ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ภาพที่ 26 ต้นกล้าลำไยหลังปลูก 1 ปี

วิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองที่ 5.1 ศึกษาวิธีย่นระยะเวลาการออกดอกติดผลของลำไยลูกผสม

การทดลองที่ 5.1.1 การศึกษาวิธีการเปลี่ยนยอดต้นใหญ่ร่วมกับการให้สารโพแทสเซียมคลอเรต

จากผลการศึกษาการเปลี่ยนยอดต้นกล้าลำไยที่ได้จากการเพาะเมล็ดอายุ 6 , 8, 12 เดือน พบว่า ทุกอายุยอดมีเปอร์เซ็นต์การเสียบติดต่ำทุกกรรมวิธี ส่วนการผลิใบพบว่าไม่มีการผลิใบอ่อนเลย ทั้งนี้น่าจะเกิดจากเนื้อเยื่อเจริญของยอดที่เกิดจากเมล็ดยังอ่อน เมื่อนำไปต่อกิ่งบนต้นลำไยต้นใหญ่ ซึ่งเนื้อเยื่อมีความแข็งจึงทำให้เมื่อมีการเสียบติดไปสักระยะหนึ่งเนื้อเยื่อเจริญจึงไม่สามารถเข้ากันได้ ทำให้ยอดลำไยที่ต่อกิ่งตายในที่สุด ซึ่งการต่อกิ่งลำไยที่ใช้ยอดพันธุ์ดีเนื้อเยื่ออ่อนเกินไปทำให้มีเปอร์เซ็นต์การเสียบติดต่ำ(จิรนันท์ และพาวิน,2553)

การทดลองที่ 5.1.2 การศึกษาวิธีการเปลี่ยนยอดต้นกล้าลำไยอายุต่างๆบนต้นตอเล็ก

จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่ายอดลำไยอายุ 6, 8และ 12 เดือนหลังเพาะเมล็ดที่ต่อกิ่งกับต้นตอพันธุ์อีดอสามารถเสียบติดได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในอนาคตถ้าได้จากการปรับปรุงพันธุ์ แล้วคาดว่าวิธีนี้จะสามารถนำมาใช้ย่นระยะเวลาในการออกดอก ติดผลของลำไยที่ได้จากการปรับปรุงพันธุ์ได้ สอดคล้องกับการศึกษาจิรนันท์ และคณะ(2555)รายงานว่าการต่อกิ่งลำไยพันธุ์เบี้ยวเขียวเชียงใหม่ที่ต่อกิ่งบนต้นตออายุ 6 เดือน สามารถเข้ากันได้ดีและมีการเสียบติดถึง 100 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับการศึกษาของ นิรันดร์(2551) ที่พบว่าการต่อกิ่งลำไยพันธุ์ดอ แห้ว เบี้ยวเขียวเชียงใหม่และสีชมพู สามารถเข้ากันได้ดี และ พบว่าทุกพันธุ์สามารถเชื่อมติดกันได้ดี และในการศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาในลำไยต้นเล็กอายุน้อยเนื้อเยื่อต้นตอยังอ่อนทำให้รอยแผลที่ต่อกิ่งมีการเชื่อมติดดีดี (จิรนันท์และพาวิน,2553)

การทดลองที่ 5.2 การศึกษาผลของปุ๋ยยูเรียและออสโมโคทต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าลำไย

จากผลการศึกษาการให้ปุ๋ยยูเรียและออสโมโคทเปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่ให้ปุ๋ย พบว่าความกว้างทรงพุ่ม การผลิใบและความยาวยอดใหม่ของทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนความสูงของต้นและเส้นผ่าศูนย์กลางยอดใหม่การให้ปุ๋ยกกรรมวิธีให้การเจริญเติบโตด้านความสูงและเส้นผ่าศูนย์กลางยอดใหม่มากกว่ากรรมวิธีไม่ให้ปุ๋ย สอดคล้องกับการศึกษาของพรรณพิไล(2541) ที่พบว่าการให้ปุ๋ยยูเรียอัตรา 0.5 และ 1.0 กรัมต่อต้นและออสโมโคท 0.75 และ 1.5 กรัมต่อต้นกับต้นกล้าฝรั่งให้การเจริญเติบโตด้านความสูงและเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นมากกว่าต้น

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

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาวิธีย่นระยะเวลาการออกดอกติดผลของลำไยลูกผสม พบว่าการย่นระยะเวลาการออกดอกติดผลของลำไยลูกผสมจะใช้วิธีการต่อกิ่งบนต้นตอเล็กอายุใกล้เคียงกับยอดต้นกล้า ซึ่งเป็นวิธีที่เหมาะสมที่สุด ส่วนการศึกษาอิทธิพลของปุ๋ยยูเรียและออสโมโคท ต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าลำไยพบว่า การให้ปุ๋ยอัตราต่างๆทุกกรรมวิธีมีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าลำไยเมื่อเทียบกับการไม่ให้ปุ๋ย โดยการให้ปุ๋ยมีการเจริญเติบโตด้านความสูงและเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นมากกว่ากรรมวิธีไม่ให้ปุ๋ย แต่อัตราปุ๋ยต่างๆ ที่ใช้ไม่มีความแตกต่างในทางสถิติ ในบางลักษณะที่ศึกษา ซึ่งจำเป็นต้องดำเนินการศึกษาเพื่อหาอัตราที่เหมาะสมต่อไป

วิจารณ์และสรุปผลการวิจัย

จากการดำเนินงานทั้ง 5 กิจกรรมหลักในโครงการวิจัยย่อยที่ 1 พบว่าในแต่ละกิจกรรมที่มีลักษณะการดำเนินงานที่แตกต่างกัน ทำให้มีอุปสรรคในการดำเนินงานแตกต่างกันไปด้วย ดังนี้

กิจกรรมที่ 1 การรวบรวมและศึกษาลักษณะประจำพันธุ์

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

ทำให้มีรายชื่อพันธุ์ลำไยรวมไว้ในทะเบียนงานวิจัยจำนวน 28 รายชื่อ แต่สามารถส่งใบลำไยเข้าตรวจสอบความใกล้ชิดของสายพันธุ์ จำนวน 24 รายชื่อ โดยมีรายชื่อพันธุ์ที่ไม่ได้ส่งใบเข้าสกัดดีเอ็นเอ จำนวน 4 สายพันธุ์คือ พื้นเมือง กระดูก คอคำลาง และคอ (จากบ้านหลุก) เนื่องจากได้ช่อผลมากเก็บข้อมูลและไม่มีต้นปลูกอยู่ในพื้นที่จริงในขณะนั้น

ในปีแรกต้องการเก็บข้อมูลลักษณะช่อดอก จึงดำเนินการชักนำให้ออกดอก นอกฤดู แต่ลำไยบางต้นที่ไม่สมบูรณ์ก็ไม่ออกดอกตามที่ชักนำ ทำให้เก็บข้อมูลได้ไม่ครบถ้วนและไม่สามารถจะเก็บข้อมูลลักษณะการออกดอกเร็วช้าตามลักษณะประจำพันธุ์ได้ การเก็บข้อมูลลักษณะประจำพันธุ์ จึงต้องดำเนินการเก็บต่อเนื่องในปีต่อไป และต้องดำเนินการรวบรวมพันธุ์ลำไยมาปลูกเพิ่มเติมจากที่มีอยู่ด้วย

กิจกรรมที่ 2 การสกัดดีเอ็นเอและการตรวจสอบความใกล้ชิดของสายพันธุ์

ในการตรวจสอบความใกล้ชิดของสายพันธุ์โดยการสกัดดีเอ็นเอ มีการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างใบลำไยจำนวนรวม 25 สายพันธุ์ โดยมีพันธุ์ "ลำไยต้นหมื่น" เพิ่มตัวอย่างเข้ามาจากแหล่งรวบรวมพันธุ์ของมหาวิทยาลัย (ที่มีส่งเข้ามา 24 สายพันธุ์) เนื่องจากนักวิจัยได้ไปศึกษาดูงานที่ อ. สารภีและทราบประวัติลำไยต้นหมื่น จึงได้ขอนำใบเข้ามาตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอเพื่อความชัดเจนด้วย

จากการศึกษาความใกล้ชิดของกลุ่มพันธุ์ลำไยที่ปลูกไว้ในแปลงรวบรวมพันธุ์ พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มลำไยออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ ได้แก่ กลุ่มที่ 1 มีพันธุ์เดียวคือพันธุ์ใบดำ, กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มดอต่างๆ และพันธุ์สีชมพู และพันธุ์พวงทองด้วย ซึ่งในกลุ่มที่ 2 นี้ ถูกแบ่งเป็น 2 กลุ่มย่อย โดยมีกลุ่ม ดอลุ่มน้ำปิง ดอแก้วขี่ ดอสุขุม ดอ13 และดอยอดอ่อน (กลุ่ม IIB) ถูกจัดกลุ่มแยกออกจากกลุ่มดออื่นๆ (กลุ่ม IIA.1) และกลุ่มสีชมพูและพวงทอง (กลุ่ม IIA.2) ส่วนกลุ่มที่ 3 ก็พบว่ามีการแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม โดยกลุ่มพันธุ์ น้ำผึ้งทวาย เพชรสาคร และปู่มาตีนโค้ง (กลุ่ม III.B) ถูกแยกจากกลุ่มพันธุ์ จัมโบ้ เบี้ยวเขียวเชียงใหม่ บ้านโฮ่ง 60 แดงกลม ใบหยก

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

นอกจากนี้ยังพบปัญหาเรื่องของตัวอย่างใบที่จัดส่งให้ดำเนินการสกัดดีเอ็นเอ ที่ไม่สามารถส่งเข้าห้องปฏิบัติการพร้อมกันได้ เนื่องจากมีระยะพัฒนาการของใบที่แตกต่างกัน จึงต้องทยอยส่งตัวอย่างเข้าแช่แข็งเก็บไว้ก่อน เมื่อพร้อมจึงจะดำเนินการสกัดดีเอ็นเอพร้อมกัน นอกจากนี้

ยังพบว่ามีการเก็บใบมากจากหลายต้น (ในกลุ่มพันธุ์เดียวกัน) ทำให้ความชัดเจนของต้นพันธุ์ตรวจสอบได้ยาก (ในงานปรับปรุงพันธุ์ลำไยโดยการผสมข้าม)

ในการดำเนินงานของปีต่อไป จึงมีความสนใจที่จะดำเนินการซ้ำและควบคุมความแปรปรวนของสิ่งที่เกี่ยวข้องกับการทดลองเพิ่มขึ้น รวมทั้งการตรวจสอบลูกผสมที่ได้จากการผสมข้ามว่าเป็นลูกผสมหรือไม่ ซึ่งเป็นโครงการวิจัยที่ค่อนข้างจะต้องใช้เวลา

กิจกรรมที่ 3 การปรับปรุงพันธุ์ลำไยโดยการผสมข้าม

งานปรับปรุงพันธุ์ลำไยเริ่มต้นตั้งแต่การศึกษาระยะพัฒนาการของดอกลำไยที่พร้อมจะทำการผสม การป้องกันการผสมตัวเอง และวิธีการผสมเกสร รวมทั้งการดูแลป้องกันดอกที่ได้รับการผสมแล้ว ซึ่งถือว่าเป็นการศึกษาเทคนิคและวิธีการใหม่สำหรับนักวิจัยที่ยังไม่เคยดำเนินการผสมพันธุ์ลำไยมาก่อน ดังนั้นกว่าจะได้เริ่มดำเนินการวิจัยจึงต้องใช้เวลาในการศึกษาเทคนิคต่างๆ ดังกล่าวนานพอสมควร รวมถึงการเดินทางไปศึกษาแลกเปลี่ยนกับผู้มีประสบการณ์ผสมข้ามลำไยโดยตรงด้วย (ดร. นิพันธ์ สุขวิบูลย์ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย)

เริ่มต้นมีการทดลองผสมคู่ผสมของลำไยโดยไม่สามารถเลือกพันธุ์ได้ เนื่องจากต้นพันธุ์ที่มีอยู่มีความพร้อมแตกต่างกัน และมีความสนใจในการใช้เทคนิควิธีการก่อน โดยได้ดำเนินการผสมพันธุ์ลำไยรวม 16 คู่ผสม จนสามารถเก็บเมล็ดไปเพาะ โดยพบว่ามีคู่ผสมที่เพาะแล้วงอกมีจำนวน 12 คู่ผสม รวมจำนวนเมล็ดที่เพาะได้ 61 เมล็ด ซึ่งในขั้นตอนต่อไป ต้องดำเนินการตรวจสอบลูกผสมที่ได้ในระดับห้องปฏิบัติการก่อนว่าเป็นลูกผสมจริงหรือไม่ (ตรวจสอบโดยใช้มาร์คเกอร์ของห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพ) ก่อนที่จะดำเนินการทดสอบลักษณะหรือคุณสมบัติทางกายภาพของลูกผสมต่อไป

ปัญหาที่พบในงานปรับปรุงพันธุ์ลำไยคือ ต้นลูกผสมที่ได้มีการเจริญเติบโตช้ามาก ทำให้ไม่สามารถดำเนินงานใดๆ ต่อได้ (ตรวจสอบลักษณะทางกายภาพของลูกผสมที่ได้) ซึ่งในประชุมวางแผนติดตามงานวิจัย มีการวางแผนจะเร่งอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า โดยการใช้ปุ๋ยหรือการจัดการแปลงอื่นๆ และการพัฒนาวิธีการเสียบกิ่งบนต้นใหญ่ เพื่อให้สามารถตรวจสอบลักษณะทางกายภาพของลูกผสมได้เร็วขึ้น ซึ่งงานนี้จะเกี่ยวข้องใกล้ชิดและโดยตรงกับกิจกรรมที่ 5

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2546. **ฐานข้อมูลเชื้อพันธุ์พืช: ลำไย.** สำนักงานคุ้มครองพันธุ์พืช. ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. 100 หน้า.

กรมวิชาการเกษตร. 2546. **ฐานข้อมูลเชื้อพันธุ์พืช: ลำไย.** สำนักงานคุ้มครองพันธุ์พืช. ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. 100 หน้า.

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2553. **พื้นที่ปลูกลำไยพันธุ์ต่างๆ.** ระบบข้อมูลเกษตรเพื่อการบริหารและประชาสัมพันธ์. สืบค้นออนไลน์. วันที่ 31 สิงหาคม 2553.

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2553. **พื้นที่ปลูกลำไยพันธุ์ต่างๆ.** ระบบข้อมูลเกษตรเพื่อการบริหารและประชาสัมพันธ์. สืบค้นออนไลน์. วันที่ 31 สิงหาคม 2553.

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2551. **เอกสารนำเสนอเรื่องรายงานการศึกษาดูงานที่ประเทศจีน 19-24 กุมภาพันธ์ 2551.**

จิรนันท์ เสนานาญ ธีรนุช เจริญกิจ สุรชัย ศาลิรัศและพิชัย สมบูรณ์วงศ์. 2555. **รายงานความก้าวหน้าครั้งที่ 2.** โครงการการทดสอบพันธุ์ลำไยรับประทานสดนอกฤดู. เสนอต่อสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. หน้า.

จิรนันท์ เสนานาญ และพาวิน มะโนชัย. 2553. **เทคนิคการขยายพันธุ์ไม้ผล.** โครงการเครือข่ายสวทช. ภาคเหนือ. วนิดาการพิมพ์. เชียงใหม่. 147 หน้า.

จิรนันท์ เสนานาญและพาวิน มะโนชัย. 2553. **เทคโนโลยีการขยายพันธุ์ไม้ผล.** พิมพ์ที่ หจก.วนิดาการพิมพ์ เชียงใหม่. 147 หน้า.

ทวีสิน แก้วศรีนวม. 2554. การปรับปรุงพันธุ์ลำไยโดยการผสมพันธุ์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัย แม่โจ้. 85 น.

ธีรนุช เจริญกิจ และพาวิน มะโนชัย. 2553 (ก). **เทคโนโลยีการผลิตลำไยและไม้ผลของออสเตรเลีย.** เคหการเกษตร. 34(2) (กุมภาพันธ์): 69-82.

นิพัฒน์ สุขวิบูลย์. 2550. **เอกสารวิชาการพันธุ์ลำไย.** ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย. กรมวิชาการเกษตร. อินเตอร์พรินท์. เชียงราย. 28 หน้า.

นิพัฒน์ สุขวิบูลย์. 2550. **เอกสารวิชาการพันธุ์ลำไย.** ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย. กรมวิชาการเกษตร. อินเตอร์พรินท์. เชียงราย. 28 หน้า.

นิรันดร์ .ใจจิตร. 2551. **ผลของต้นตอต่อกิ่งพันธุ์ดีของลำไยโดยวิธีเสียบยอด.** วิทยานิพนธ์

พรรณพิไล คงอดิศักดิ์ . 2541. **ผลของปุ๋ยยูเรียและออสโมโค้ทที่มีต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าฝรั่ง.** ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 21 หน้า

พรรณพิไล คงอดิศักดิ์ . 2541. **ผลของปุ๋ยยูเรียและออสโมโค้ทที่มีต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าฝรั่ง.** ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 21 หน้า

มหาบัณฑิต สาขาเกษตรศาสตร์(สาขาพืชสวน) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 153 หน้า

วัฒนา เสถียรสวัสดิ์. 2521. **การศึกษาวิธีการผสมเกสรของลำไย.** กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 84น.

Chen, C. L. 2001. **A preliminary study on mechanism of somatic embryogenesis in longan (*Dimocarpus longan* Lour.)**. Fuzhou, Fujian Agr. And For. Univ. 6:20-21.

Dumampaic, and Somboon Anuntalabhochaia. 2005. DNA Fingerprint Database of Some Economically Important Thai Plants: *Litchi chinensis* Sonn, *Dimocarpus longan* Lour, and *Peuraria* spp. *ScienceAsia* 31: 145-149.

Faqian Xiong, Jing Jiang, Zhuqiang Han, Ruichun Zhong, Liangqiong He, Weijian Zhuang, Ronghua Tang. 2011. **Molecular Characterization of High Plant Species Using PCR with Primers Designed from Consensus Branch Point Signal Sequences**. Biochemical Genetics. 49 (5-6) :352-363.

Furr J.R., W.C. Cooper and P.C. Reeee. 1947. **An investigation of flower formation in adult juvenile citrus trees.** American Journal of Botany, Vol.34:No.1 pp1-8.

Lin, T. X. 1998. **Progresses in the studies of molecular bases of longan.** D. Fuzhou: Fujian Agr. Univ. 58.

Lin, T. X., Z. G. Chen and S. L. Dai. 1998. **Taxonomic study of *Dimocarpus longan* by random amplified polymorphic DNA technique.** Acta Bot. Sin. 4012:1159-1165.

Mitani N., R. Matsumotol., T. Yoshioka and T. Kuniga. 2008. **Citrus hybrid seedling reduce initial time to flower when grafted onto shiikuwasha rootstock.** Scientia Horticulturae. Vol. 116 : 4. Pp 452-455.

Page, R. D. M. 1996. TREEVIEW: **An application to display phylogenetic trees on personal computers.** *Computer Applications in the Biosciences* 12: 357-358.

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

Rungrach Wangspa, Robert W. Cutlerb, Supranee Sitthiproma, Ruttaporn Chundeta, Nadtaya V Hampl, A Pavlicek, and J Flegr. 2001. **Construction and bootstrap analysis of DNA fingerprinting-based phylogenetic trees with the freeware program FreeTree: application to trichomonad parasites.** Int J Syst Evol Microbiol 51: 731-735.

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