รายงานผลการวิจัย

เรื่อง การจำแนกลักษณะประจำพันธุ์และการปรับปรุงพันธุ์ลำไย

Classification of Longan Germplasm and Breeding Program

ได้รับการจัดสรรงบประมาณวิจัย ประจำปี 2556

จำนวน 912,300 บาท

หัวหน้าโครงการ นางฉันทนา วิชรัตน์

ผู้ร่วมโครงการ นางนงนุช กุศล

นางธีรนุช เจริญกิจ

นางสาวแสงทอง พงษ์เจริญกิต

นางจิรนันท์ เสนานาญ

นายพาวิน มะโนชัย

นางนพมณี โทปุญญานนท์

งานวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์

19 พฤษภาคม 2557

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยใคร่ขอขอบคุณ สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้ทุนอุดหนุนวิจัย ประจำปี 2556 ที่ได้เล็งเห็นถึงความจำเป็นและความสำคัญในการศึกษาในด้านการจำแนกลักษณะประจำพันธุ์และการปรับปรุงพันธุ์ลำไย การอนุมัติสนับสนุนทุนวิจัยประจำปีงบประมาณ 2556 จึงเป็นสิ่งที่ทำให้นักวิจัยรู้สึกขอบคุณและมีกำลังใจในการทำงานด้านการจำแนกลักษณะและการปรับปรุงพันธุ์ลำไยมากขึ้น และหวังว่าเมื่อสิ้นสุดโครงการสามารถสร้างและคัดเลือกพันธุ์ลำไยพันธุ์ใหม่ ๆ ที่สามารถสร้างชื่อเสียงให้กับมหาวิทยาลัยต่อไป

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

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณผู้ช่วยนักวิจัยทุกท่านและนักศึกษาปริญญาโทที่เกี่ยวข้องทุกคน ที่เป็นกำลังสำคัญที่ทำให้ผลงานวิจัยออกมาได้ด้วยดี

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ฉันทนา วิชรัตน์

ผู้วิจัย

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยแม่โจ้
B : .....
I : .....
วันที่ 3 กย. 2557
เลขเรียกหนังสือ

สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	ข
สารบัญภาพ	ค
บทคัดย่อ	1
Abstract	2
คำนำ	4
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	5
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	5
ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวคิดของโครงการวิจัย	5
การตรวจเอกสาร	6
อุปกรณ์และวิธีการ	9
ผลการวิจัย	10
วิจารณ์และสรุปผลการวิจัย	49
เอกสารอ้างอิง	52
ภาคผนวก	55

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	จำนวนพันธุ์ลำไย และแหล่งรวบรวมในพื้นที่ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ปี 2556	12
ตารางที่ 2	ข้อมูลที่รวบรวมแล้วเสร็จและสัดส่วนที่รวบรวมได้ในปี 2556	20
ตารางที่ 3	ลำดับชื่อพันธุ์และจำนวนสายต้นลำไยพันธุ์ที่เคยได้รับรางวัลในการประกวดที่รวบรวมไว้ในในแปลงเกษตรกร รวม 169 สายต้น	22
ตารางที่ 4	ผลของการต่อกิ่งอายุต้นกล้าต่างๆกันบนต้นลำไยต้นใหญ่พันธุ์อีดอ	42
ตารางที่ 5	ผลของการให้สารโพแทสเซียมคลอเรต อายุต้นกล้าต่างๆ กันบนต้นลำไยต้นใหญ่พันธุ์อีดอ	42
ตารางที่ 6	ผลของการเปลี่ยนยอดระยะเขาว์วัย และยอดที่ผ่านระยะเขาว์วัย ต่อการเสียบติด การผลิใบ และขนาดยอดใหม่	43
ตารางที่ 7	ผลของการเปลี่ยนยอดระยะเขาว์วัย และยอดที่ให้ผลผลิตแล้ว ต่อการออกดอก	44
ตารางที่ 8	การออกดอกของลำไยต้นกล้าอายุต่างๆ ที่ชักนำการออกดอกด้วยสารโพแทสเซียมคลอเรต	45
ตารางที่ 9	ผลของการให้สารพาโคบิวทราโซลร่วมกับสารโพแทสเซียมคลอเรต กับต้นกล้าลำไยที่มีผลต่อการออกดอก	46
ตารางที่ 10	ผลของการตัดปลายยอดต่อความสูงความกว้างทรงพุ่ม ในระยะก่อนตัดยอดและระยะใบแก่ชุดที่ 1 ของต้นกล้าลำไย	47
ตารางที่ 11	ผลของการตัดปลายยอดต่อจำนวนใบประกอบ จำนวนยอดต่อต้นและเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น ในระยะก่อนตัดยอด ของต้นกล้าลำไย	47

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 1	แผนผังแปลงรวบรวมพันธุ์หน้าอาคารปฏิบัติการไม้ผล 25 ปี	13
ภาพที่ 2	แผนผังแปลงรวบรวมพันธุ์ในท่อ หน้าอาคารปฏิบัติการไม้ผล 25 ปี	14
ภาพที่ 3	แผนผังแปลงรวบรวมพันธุ์ลำไยในพื้นที่ 216 ไร่ของสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร (แปลงต้นเล็ก)	15
ภาพที่ 4	แผนผังแปลงรวบรวมพันธุ์ลำไยในพื้นที่ 216 ไร่ของสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร (แปลงต้นใหญ่)	16
ภาพที่ 5	แผนผังแปลงรวบรวมพ่อแม่พันธุ์และลูกผสมลำไยที่ได้ ในท่อริมถนนทางเข้าแปลงชาน้ำมัน	17
ภาพที่ 6	ตัวอย่างลักษณะประจำพันธุ์ ที่แสดงข้อมูลพร้อมภาพประกอบ ของลำไยพันธุ์ดอ 20 (ข้อมูลที่เก็บยังไม่สมบูรณ์เรียบร้อยทุกลักษณะ ยังต้องตามเก็บข้อมูลอยู่)	24
ภาพที่ 7	การเตรียมช่อดอกตัวเมีย (a) การเด็ดดอกตัวเมียทิ้ง (b) ช่อดอกตัวเมียที่เตรียมไว้สำหรับการผสมพันธุ์	25
ภาพที่ 8	การผสมพันธุ์ลำไย (a) เกสรตัวผู้ที่ใช้ในการผสมพันธุ์ (b) การนำละอองเกสรตัวผู้มาแตะบนยอดเกสรตัวเมียโดยใช่พู่กัน	26
ภาพที่ 9	ลำไยลูกผสมที่นำมาเพาะ	26
ภาพที่ 10	การย้อมละอองเกสรตัวผู้	27
ภาพที่ 11	ผลการทำ 1.5% อะกาโรสเจล ของ (a) ไพรเมอร์ A07 (ช่อง 1-4), A13 (ช่อง 5-8), A18 (ช่อง 9-12) และ B01 (ช่อง 13-16) ของคู่ผสมพันธุ์ (กรอบกะทิ x ดอก้านแข็ง) โดยที่ ช่อง M คือ 1kb Plus DNA Ladder (Invitrogen) ช่องที่ 1, 5, 9 และ 13 คือ กรอบกะทิ ช่องที่ 2, 6, 10 และ 14 คือ ดอก้านแข็ง ช่องที่ 3, 7, 11 และ 15 คือ (กรอบกะทิ x ดอก้านแข็ง) F_1-1 ช่องที่ 4,8,12 และ 16 คือ (กรอบกะทิ x ดอก้านแข็ง) F_1-2 (b) ไพรเมอร์ B10 (ช่อง 1-4), B11 (ช่อง 5-8), B17 (ช่อง 9-12) และ B18 (ช่อง 13-16) ของคู่ผสม พันธุ์ (กรอบกะทิ x ดอก้านแข็ง) โดยที่ ช่อง M คือ 1kb Plus DNA Ladder (Invitrogen) ช่องที่ 1,5,9 และ 13 คือ กรอบกะทิ ช่องที่ 2,6,10 และ 14 คือ ดอก้านแข็ง ช่องที่ 3,7,11 และ 15 คือ (กรอบกะทิ x ดอก้านแข็ง) F_1-1 ช่องที่ 4,8,12 และ 16 คือ (กรอบกะทิ x ดอก้านแข็ง) F_1-2	28

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพที่ 12 ผลการทำ 1.5% อะกาโรสเจล ของไพรเมอร์ A12 (ช่อง 1-3), A14 (ช่อง 4-6), A15 (ช่อง 7-9), A18 (ช่อง 10-12) และ A19 (ช่อง 13-15) ของคู่ผสมพันธุ์ (เบี้ยวเขียวเชียงใหม่ x ดอก้านแข็ง) โดยที่ ช่อง M คือ 100 bp DNA Ladder H3 RTU (GeneDirex) ช่องที่ 1, 4, 7, 10 และ 13 คือเบี้ยวเขียวเชียงใหม่ ช่องที่ 2, 5, 8, 11 และ 14 คือดอก้านแข็ง ช่องที่ 3, 6, 9, 12 และ 15 คือ (เบี้ยวเขียวเชียงใหม่ x ดอก้านแข็ง) F_1-3 — 29

ภาพที่ 13 ผลการทำ 1.5% อะกาโรสเจล ของไพรเมอร์ A07 (ช่อง 1-5), N04 (ช่อง 6-10) และ I14 (ช่อง 11-5) ของคู่ผสมของพันธุ์ (ดอ27x สีชมพู) โดยที่ช่อง M คือ GeneRuler™ 100 bp Plus DNA Ladder (Fermentus) ช่องที่ 1,6 และ 11 คือ ดอ 27 ช่องที่ 2, 7 และ 12 คือ สีชมพู ช่องที่ 3, 8 และ 13 คือ (ดอ27xสีชมพู)F_1-1 ช่องที่ 4, 9 และ 14 คือ (ดอ 27 x สีชมพู) F_1-3 ช่องที่ 5, 10 และ 15 คือ (ดอ 27 x สีชมพู) F_1-4 ตามลำดับ — 30

ภาพที่ 14 ผลการทำ 1.5% อะกาโรสเจล ของไพรเมอร์ N08 โดยที่ ช่อง M คือ GeneRuler™ 100 bp Plus DNA Ladder (Fermentus) ช่องที่ 1-13 คือ พันธุ์สีชมพู ดอก้านแข็ง (สีชมพู-7 x ดอก้านแข็ง-8) F_1-1, (สีชมพู-7 x ดอก้านแข็ง-8) F_1-2, (สีชมพู-7 x ดอก้านแข็ง-8) F_1-4, (สีชมพู-7 x ดอก้านแข็ง-8) F_1-5 (สีชมพู-7 x ดอก้านแข็ง-8) F_1-6, (สีชมพู-7 x ดอก้านแข็ง-8) F_1-7 (สีชมพู-7 x ดอก้านแข็ง-8) F_1-, ดอก้านแข็ง-8, สีชมพู-8 (ดอก้านแข็ง-6 x สีชมพู-8) F_1-1 และ (ดอก้านแข็ง-6 x สีชมพู-8) F_1-3 ตามลำดับ — 31

ภาพที่ 15 ผลการทำ 1.5% อะกาโรสเจล ของไพรเมอร์ N08 โดยที่ ช่อง M คือ GeneRuler™ 100 bp Plus DNA Ladder (Fermentus) ช่องที่ 1-4 คือ ดอก้านแข็ง-8, สีชมพู-8, (ดอก้านแข็ง-7 x สีชมพู-12) F_1-4 และ (ดอก้านแข็ง-7 x สีชมพู-12) F_1-5 ตามลำดับ — 32

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพที่ 16	ผลการทำ 1.5% อะกาโรสเจล ของไพรเมอร์ N04 โดยที่ ช่อง M คือ GeneRuler™ 100 bp Plus DNA Ladder (Fermentus) ช่องที่ 1-8 คือ ดอก้านแข็ง-8, สีชมพู-8 (ดอก้านแข็ง-6 x สีชมพู-8) F_1-1, (ดอก้านแข็ง-6 x สีชมพู-8) F_1-3, ดอก้านแข็ง-8, สีชมพู-8, (ดอก้านแข็ง-7 x สีชมพู-12) F_1-4 และ (ดอก้านแข็ง-7 x สีชมพู-12) F_1-5 ตามลำดับ	32
ภาพที่ 17	ผลการทำ 1.5% อะกาโรสเจล ของไพรเมอร์ L2_2 โดยที่ ช่อง M คือ 100 bp Plus DNA Ladder (Invitrogen) ช่องที่ 1-7 คือ เบี้ยวเขียวเชียงใหม่ ดอก้านแข็ง ลูกผสม (เบี้ยวเขียว-เชียงใหม่ x ดอก้านแข็ง) F_1-3 กรอบกะทิ ดอก้านแข็ง ลูกผสม (กรอบกะทิ x ดอก้านแข็ง)F_1-1 และ (กรอบกะทิ x ดอก้านแข็ง) F_1-2 ตามลำดับ	33
ภาพที่ 18	ผลการทำ 1.5% อะกาโรสเจล ของไพรเมอร์ L2_2 โดยที่ ช่อง M คือ 100 bp Plus DNA Ladder (Invitrogen) ช่อง 1และ 2 คือ ดอ 27 (ต้นแม่) และสีชมพู (ต้นพ่อ)ส่วนช่อง 3 -5 คือ (ดอ 27 x สีชมพู)F_1-1 (ดอ 27 x สีชมพู)F_1-3 และ (ดอ 27 x สีชมพู)F_1-4 ตามลำดับ	34
ภาพที่ 19	ผลการทำ 1.5% อะกาโรสเจล ของไพรเมอร์ L7_1 (a) ไพร์เมอร์ L8_1 (b) โดยที่ ช่อง M คือ 100 bp Plus DNA Ladder (Invitrogen) ช่อง 1และ 2 คือ ดอ 27 (ต้นแม่) และสีชมพู (ต้นพ่อ) ส่วนช่อง 3 -5 คือ (ดอ 27 x สีชมพู) F_1-1 (ดอ 27 x สีชมพู) F_1-3 และ (ดอ 27 x สีชมพู) F_1-4 ตามลำดับ	35
ภาพที่ 20	ลำไยลูกผสม (กรอบกะทิ x ดอก้านแข็ง) F_1-1 (a) และ (กรอบกะทิ x ดอก้านแข็ง) F_1-2 (b) ที่คัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุล	36
ภาพที่ 21	ลำไยลูกผสม (เบี้ยวเขียวเชียงใหม่ x ดอก้าน-แข็ง) F_1-3 ที่คัดเลือกด้วยเครื่องหมาย โมเลกุล	36
ภาพที่ 22	ลำไยลูกผสม (ดอ 27 x สีชมพู) F_1-1 (a), (ดอ 27 x สีชมพู) F_1-3 (b) และ (ดอ27x สีชมพู)F_1-4(c) ที่คัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุล	37

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพที่ 23	ลำไยลูกผสม (สีชมพู-7 x ดอก้านแข็ง-8) F_1-4 ที่คัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุล	37
ภาพที่ 24	ลำไยลูกผสม (ดอก้านแข็ง-6 x สีชมพู-8) F_1-1 (a) และ (ดอก้านแข็ง-7 x สีชมพู-12) F_1-5 (b) ที่คัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุล	38
ภาพที่ 25	ระยะใบต้นกล้าลูกผสม	41
ภาพที่ 26	การเปลี่ยนยอดลำไยลูกผสม	41
ภาพที่ 27	นำเข้าถุงอบประมาณ 45 วัน	41
ภาพที่ 28	การต่อกิ่งยอดลำไยระยะเยาว์วัยและ ยอดที่ผ่านระยะเยาว์วัยแล้ว	44
ภาพที่ 29	การออกดอกของต้นลำไยที่เพาะเมล็ด อายุต้นประมาณ 3 ปี	45
ภาพที่ 30	การตัดปลายยอดของต้นลำไย (ซ้าย) และหลังตัดประมาณ 1 เดือนลำไยแตกกิ่งด้านข้าง (ขวา)	48

การจำแนกลักษณะประจำพันธุ์และการปรับปรุงพันธุ์ลำไย

Classification of Longan Germplasm and Breeding Program

ฉันทนา วิชรัตน์[1] นงนุช กุศล[3] ธีรนุช เจริญกิจ[1] แสงทอง พงษ์เจริญกิจ[2]
จิรนันท์ เสนานาญ[3] พาวิน มะโนชัย[1] และนพมณี โทปุญญานนท์[2]

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

[1]คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290
[2]คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290
[3]สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

บทคัดย่อ

โครงการวิจัยเรื่อง การจำแนกลักษณะประจำพันธุ์และการปรับปรุงพันธุ์ลำไย โดยวิธีการผสมข้ามในปีที่ 2 นี้ ประกอบด้วยกิจกรรม 3 กิจกรรม ได้แก่ 1) การสร้างและดูแลแปลงรวบรวมพันธุ์ลำไยพร้อมทั้งศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ลำไย 2) การสร้างลูกผสมลำไยจากการผสมข้ามและการตรวจสอบลูกผสมที่ได้โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล และ 3) วิธีการย่นระยะการทดสอบลูกผสม โดยผลการศึกษาทดลองทั้ง 3 กิจกรรมได้ผลเป็นที่น่าพอใจดังนี้

แปลงรวบรวมพันธุ์ลำไยมีทั้งหมด 5 พื้นที่ (เพิ่มขึ้นจากปี 2555 จำนวน 3 แปลง) รวมพันธุ์ลำไยที่รวบรวมไว้ 32 สายพันธุ์ แต่ยังมีการรวบรวมข้อมูลลักษณะประจำพันธุ์ไม่ครบถ้วนสมบูรณ์ เนื่องจากลำไยมีการปลูกไม่พร้อมกัน พัฒนาการระยะต่างๆ แตกต่างกัน และบางสายพันธุ์พึ่งเริ่มปลูก ยังไม่มีการออกดอกติดผล การเก็บข้อมูลลักษณะประจำพันธุ์จึงยังต้องดำเนินต่อไป แต่การออกแบบหนังสือพันธุ์ลำไยได้เริ่มดำเนินการแล้ว โดยจะคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีความจำเป็นและสำคัญทางเศรษฐกิจและมีข้อมูลลักษณะประจำพันธุ์ครบถ้วนมาดำเนินการต่อไป

การสร้างคู่ผสมลำไย จากต้นพ่อแม่พันธุ์ที่คัดเลือกมากจากแปลงรวบรวมพันธุ์ พบว่าในปี 2556 มีการผสมเพิ่มอีกจำนวน 5 คู่ผสม ได้เมล็ดที่เป็นลูกผสมจำนวน 16 เมล็ด นำเมล็ดลูกผสมที่ได้ ไปทำการเพาะ และนำใบไปสกัดดีเอ็นเอ เพื่อตรวจสอบความถูกต้องว่าเป็นลูกผสม

จริงโดย ใช้เทคนิค RAPD (random amplified polymorphic DNA) มาช่วยในการบ่งชี้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์ลำไย จากนั้นนำแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างจากเทคนิค RAPD มาพัฒนาต่อเป็นเครื่องหมาย SCAR (sequence characterized amplified region) ซึ่งเครื่องหมายโมเลกุลชนิด RAPD และ SCAR ที่ได้สามารถใช้คัดเลือกลำไยลูกผสมจากคู่ผสม 5 คู่ ได้แก่ กรอบกะทิ x ดอก้านแข็ง, เบี้ยวเขียวเชียงใหม่ x ดอก้านแข็ง, ดอ 27 x สีชมพู, สีชมพู x ดอก้านแข็ง และดอก้านแข็ง x สีชมพู จำนวน 9 ต้น ซึ่งลูกผสมที่คัดเลือกได้เหล่านี้จะใช้ในการศึกษาลักษณะทางกายภาพ (ฟีโนไทป์) ต่อไป

วิธีการย่นระยะเวลาการทดสอบลูกผสม แม้จะยังไม่สามารถหาวิธีที่ชัดเจนได้ในปัจจุบัน แต่ผลการศึกษาในเบื้องต้นพบว่า การตัดยอดต้นกล้าลำไยออกโดยตัดต่ำลงมาประมาณ 15 เซนติเมตร จะช่วยกระตุ้นการแตกตาข้าง และสร้างยอดใหม่ได้มากขึ้น ซึ่งอาจจะเป็นวิธีการหนึ่งที่จะสามารถเร่งระยะเยาว์วัยของต้นลำไยได้ นอกจากนี้ยังพบว่า ต้นกล้าลำไยอายุ 3 ปีที่เพาะจากเมล็ดที่สมบูรณ์และใหญ่กว่าเพื่อน เมื่อได้รับสภาพอากาศที่หนาวเย็นเพียงพอ (ปลายปี 2556) จะสามารถแทงช่อดอกได้ในขณะที่ต้นอื่นๆ (มีขนาดเล็กกว่า) ไม่สามารถแทงช่อดอกได้ ดังนั้นความอุดมสมบูรณ์ของต้นจึงเป็นปัจจัยหนึ่งที่จะช่วงเร่งระยะเยาว์วัยของต้นลำไย

คำสำคัญ: แหล่งพันธุกรรมลำไย การผสมข้ามลำไย การตรวจสอบลูกผสมโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล ระยะเยาว์วัย

Abstract

Project on longan cross breeding program and classification for year 2013 (second year of the research plan) comprised of 3 activities. There were: 1) preparing the germplasm and data collection on variety characteristics 2) cross longan and method to identified the hybrid and 3) testing methods to reduce juvenile stage of longan seedling. The results from all study activities were very impressive.

For germplasm, there were 5 planting areas (3 planting areas more compared to last year study) located in Maejo University. The varieties collected are 32 varieties. Not all plant characteristic had been collected due to different in developmental stage of the tree. Some varieties were planted in this year and had not yet been flowering or bearing any fruits. However, the outline for content in the variety book and design for printing was going by selected the major varieties that quite importance and make significant to longan market.

For breeding program by crossing, there were 5 hybridization crossed in year 2013 which generated 16 hybrid seeds for testing. The hybrid seeds were planted for germination, the DNA was extracted from leaf that harvested from 4 months old seedling. Molecular markers could be developed to select F_1 hybrid. In the study, random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique was used to study the genetic relationship. After that, the unique bands purified and sequenced for conversion to the sequence characterized amplified region (SCAR) markers. The selected RAPD primer and developmented SCAR markers were used to screen 9 F_1-hybrids from 5 hybridization crossed between different longan cultivars, Krobkati x Dor-Kaankhaeng , Biaokhiao-Chiangmai x Dor- Kaankhaeng, Dor 27 x Si-Chomphu, Si-Chomphu x Dor-Kaankhaeng and Dor-Kaankhaeng x Si-Chomphu. These 9 F_1 hybrid will be futher use in phenotyping study

For methods to test hybrid seedling, there were not yet had effective methods to induce seedling to flowering . However, the pitching top of the longan seedling 15 centimeters lower from the top could induce new more branch breaking. This method might help to reduce juvenile stage of longan if rate of bud breading increase can induce more mature seedling. Beside that finding, the healthy 3 years old seedling once received enough low temperature (end of year 2013) it can flowering whereas, other tree which were small and not healthy, were not flower. This guided that plant fertilization might play a significant rule in reduce juvenile stage of longan

Key words: longan germplasm, cross breeding, DNA markers, juvenile stage

การจำแนกลักษณะประจำพันธุ์และการปรับปรุงพันธุ์ลำไย

นักวิจัยผู้รับผิดชอบ

หัวหน้าโครงการ นางฉันทนา วิชรัตน์ ภาควิชาพืชสวนคณะผลิตกรรมการเกษตร (30%)

ผู้ร่วมวิจัย
1. นางนงนุช กุศล สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร (15 %)
2. นางธีรนุช เจริญกิจ คณะผลิตกรรมการเกษตร (20 %)
3. น.ส.แสงทอง พงษ์เจริญกิต คณะวิทยาศาสตร์ (15%)
4. นางจิรนันท์ เสนานาญ สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร (15%)
5. นายพาวิน มะโนชัย คณะผลิตกรรมการเกษตร (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 พันธุ์ดอ เบี้ยวเขียว สีชมพู แห้ว หรือพวงทอง ซึ่งจะเห็นได้ว่าแต่ละพันธุ์จะมีจุดเด่น จุดด้อย อาทิ พันธุ์อีดอ เป็นพันธุ์ที่ออกดอกเร็ว การติดผลดี แต่รสชาติของเนื้อจะสู้พันธุ์เบี้ยวเขียว พันธุ์สีชมพูไม่ได้ และนอกจากนั้นยังพบว่าพันธุ์อีดอ ซึ่งเป็นพันธุ์เศรษฐกิจของไทยนั้น ยังมีความแตกต่างกันด้วย ผลผลิต และคุณภาพของผล ซึ่งเป็นเรื่องที่มีความน่าสนใจในการที่จะคัดเลือกเฉพาะสายพันธุ์อีดอ ที่มีศักยภาพมาทำการทดสอบศักยภาพด้านต่างๆ เพื่อเป็นสายพันธุ์อีดอพันธุ์คัดที่มีคุณภาพเหมาะสมต่อธุรกิจลำไยต่อไป

การปลูกลำไยในประเทศไทยปัจจุบันมีลักษณะเป็นการปลูกพืชเชิงเดี่ยว กล่าวคือ จากพื้นที่ปลูกรวมทั้งประเทศที่มีประมาณ 1 ล้านไร่ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2553) พบว่า ประมาณ 95% ของพื้นที่ปลูกเป็นการปลูกลำไยพันธุ์ดอ ทำให้การพัฒนาสายพันธุ์เกิดขึ้นได้ยาก ดังนั้นการรวบรวมเชื้อพันธุ์ลำไยไว้ด้วยกัน รวมถึงการจำแนกความซ้ำซ้อนของสายพันธุ์ และการศึกษา

ลักษณะการแสดงออกของเพศดอกลำไย จะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำหรับการปรับปรุงพันธุ์ลำไยในอนาคต

วัตถุประสงค์ของการวิจัย (ปีที่ 2)

1. เพื่อรวบรวม อนุรักษ์และจำแนกสายพันธุ์ลำไย เพื่อใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมในการพัฒนาพันธุ์ลำไยของไทย

2. เพื่อสร้างลูกผสม จากคู่ผสมที่มีการคัดเลือกแล้ว และดำเนินการทดสอบความเป็นลูกผสม ของเมล็ดลูกผสมที่ได้ โดยใช้วิธีทางชีวโมเลกุล

3. ทดสอบวิธีการย่นระยะเวลาการชักนำให้ลำไยออกดอก และการคัดเลือก โดยวิธีการต่างๆ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) มีแหล่งรวบรวมและอนุรักษ์พันธุ์ลำไย เพื่อใช้ในการพัฒนาพันธุ์ในอนาคต สร้างความมั่งคงทางพันธุกรรมของลำไยของประเทศไทยได้

2) สามารถผสมข้ามสายพันธุ์ลำไยได้สำเร็จ และเกิดพันธุ์ลำไยใหม่ขึ้น

3) ได้วิธีเหมาะสมสำหรับการย่นระยะเวลาเยาว์วัยของลำไย เพื่อทดสอบลูกผสม

4) สามารถเผยแพร่ข้อมูลเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อนักวิชาการเกษตรและผู้ที่เกี่ยวข้องได้

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 ตำแหน่งที่ตัวของเพศดอกภายในช่อดอก ซึ่งจะมีผลต่อความสำเร็จของการผสมข้ามพันธุ์ลำไย

- การปรับปรุงพันธุ์ลำไยอาจทำได้หลายวิธี เช่น การคัดเลือกจากต้น (clone) ที่ดีจากพันธุ์เดิม การใช้วิธีก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ (mutation) เป็นการใช้รังสีแกรมม่า รังสีเอ็กซ์ เป็นต้น แต่วิธีการ mutation เป็นวิธีการซึ่งไม่เหมาะสม เนื่องจากโอกาสเกิดลักษณะที่ดีโดยสุ่มเป็นไปได้ยาก อีกทั้งลำไย เป็นพืชยืนต้น การทดสอบจึงทำได้ยาก และใช้เวลานาน เนื่องจากไม่สามารถคาดการณ์ได้จากลักษณะที่เกิดขึ้นจะเป็นอย่างไร ในขณะที่วิธีการผสมข้ามโดยวิธีการปกติสามารถดึงวัตถุประสงค์และคัดเลือกสายพันธุ์พ่อแม่ซึ่งมีลักษณะที่ต้องการได้ล่วงหน้า 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) ซึ่งจากการตรวจเอกสารพบว่าการรวบรวมพันธุ์ลำไยได้เคยดำเนินการจัดทำมาแล้วโดยสำนักงานคุ้มครองพันธุ์พืชแห่งชาติ (กรมวิชาการเกษตร, 2546) ซึ่งได้รายงานชื่อพันธุ์ลำไยไว้ 68 หมายเลข (accession number) ซึ่งรายชื่อพันธุ์ลำไยภายในฐานเชื้อพันธุ์พืชดังกล่าว เชื่อว่ามีรายชื่อไม่ต่ำกว่า 10% ที่เป็นชื่อพันธุ์ซ้ำกัน เช่น พันธุ์ดอ กับ อีดอ, 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) หรือลักษณะบ่งชี้ทางโมเลกุล (molecular markers) ของแหล่งเชื้อพันธุ์ลำไย การผสมพันธุ์ลำไยเพื่อให้ได้พันธุ์ใหม่ที่ผลผลิตสูงและต้านทานความหนาวเย็นได้ดียิ่งขึ้น เป็นต้น นอกจากนี้ระบบฐานข้อมูลเชื้อพันธุ์ลำไยของจีน ยังรวมไปถึงการแลกเปลี่ยนสายพันธุ์กับต่างประเทศ โดยเฉพาะจากประเทศไทยด้วย โดยพบว่า มีการนำเข้าสาย

พันธุ์ลำไยของไทยตั้งแต่ปี 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) ฝ่า 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) และการชักนำการออกดอกด้วยให้สารโพแทสเซียมคลอเรต

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

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

อุปกรณ์และวิธีการ

กลยุทธ์การดำเนินงานวิจัยในปีที่สอง (2556) จะแยกออกดำเนินการเป็น 3 กิจกรรมหลักที่เกี่ยวเนื่องสัมพันธ์กัน โดยแต่ละกิจกรรมจะมีนักวิจัยผู้เชียวชาญเฉพาะด้าน รับผิดชอบงานวิจัย ดังนี้

กิจกรรมที่ 1 การสร้างแปลงรวบรวมพันธุ์ลำไยและการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ รับผิดชอบกิจกรรมโดย ผศ.ดร.ธีรนุช เจริญกิจ และคณะ มีวัตถุประสงค์หลักคือการรวบรวมพันธุ์ลำไย และศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ จัดทำแผนผังแปลงรวบรวมพันธุ์ และจัดเตรียมต้นฉบับเพื่อจัดพิมพ์หนังสือพันธุ์ลำไยในอนาคต

กิจกรรมที่ 2 การปรับปรุงพันธุ์ลำไย โดยวิธีการผสมข้ามและการทดสอบลูกผสมที่ได้ รับผิดชอบกิจกรรมโดย ผศ.ฉันทนา วิชรัตน์ และคณะ ซึ่งจะสร้างลูกผสม จากคู่ผสม (พ่อ-แม่พันธุ์ดี) ที่ได้รับคำแนะนำจาก ผศ.พาวิน มะโนชัย และวิธีการทดสอบลูกผสมทางชีวโมเลกุล โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล ที่รับผิดชอบโดย ผศ.ดร.แสงทอง พงษ์เจริญกิต

กิจกรรมที่ 3 การศึกษาวิธีการย่นระยะการทดสอบลูกผสมรับผิดชอบกิจกรรมโดยนางจิรนันท์ เสนานาญ และคณะ มีวัตถุประสงค์เพื่อหาวิธีย่นระยะการเจริญเติบโตทางกิ่งก้านใบ (vegetative growth) หรือระยะเยาว์วัย (juvenile stage) ของลำไยลูกผสมที่ได้ อาจจะโดยการเสียบยอดต้นใหญ่ การใช้ปุ๋ยเคมีเพื่อเร่งอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้าที่ได้ หรือเทคนิคการโน้มกิ่ง หรือการตัดยอดต้นกล้าเพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโต เป็นต้น

เพื่อความสะดวกและเข้าใจง่าย นักวิจัยจึงจะรายงานโดยการเขียน อุปกรณ์วิธีการและผลการทดลองแยกแต่ละกิจกรรมไปส่วนๆไป เนื่องจากแต่ละกิจกรรมมีงานทดลองปลีกย่อยมาก รวมทั้งอุปกรณ์วิธีการดำเนินงานที่แตกต่างกันโดยสิ้นเชิง การอ่านวิธีการทดลองและผลการทดลองที่ได้จากแต่ละงานทดลองทันที จะทำให้เข้าใจง่ายและไม่สับสน

ผลการวิจัย

กิจกรรมที่ 1. การสร้างแปลงรวบรวมพันธุ์ลำไยและการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ (ธีรนุช และคณะ)

วิธีการทดลองกิจกรรมที่ 1

1. ดำเนินการดูแลและปรับปรุงลำไยในแปลงรวบรวมพันธุ์ รวมถึงการจัดทำผังแปลงรวบรวมพันธุ์ลำไยในมหาวิทยาลัยแม่โจ้

2. แลกเปลี่ยนชิ้นส่วน หรือ รวบรวมพันธุ์ดีจากแหล่งรวบรวมพันธุ์แหล่งอื่น

3. รวบรวมข้อมูลลักษณะประจำพันธุ์ รวมถึงการบันทึกประวัติรายต้นและแหล่งที่มาของสายพันธุ์ รวมทั้งภาพประกอบเพื่ออธิบายลักษณะประจำพันธุ์

4. ออกแบบและจัดเตรียมเนื้อหาสำหรับทำต้นฉบับ หนังสือพันธุ์ลำไยที่จะพิมพ์ในอนาคต เพื่อเผยแพร่หรือจำหน่าย

ผลการทดลองกิจกรรมที่ 1

1.1 พันธุ์ลำไยและการรวบรวม ในมหาวิทยาลัยแม่โจ้

การรวบรวมพันธุ์ลำไย ได้ดำเนินการรวบรวมไว้ในพื้นที่ต่างๆ โดยแยกออกเป็นพื้นที่จำนวนรวม 5 แปลง ซึ่งพันธุ์ลำไยแต่ละแปลงที่รวบรวมไว้อาจจะเหมือนหรือแตกต่างกัน แล้วแต่แหล่งพันธุ์ที่ได้มาเพิ่มเติม โดยสรุป ข้อมูลพันธุ์ลำไยที่รวบรวมจากทุกแปลงมีจำนวน 32 สายพันธุ์ (ตารางที่ 1) โดยแยกแปลงที่รวบรวมพันธุ์ ดังนี้

แปลงที่ 1 แปลงหน้าอาคารปฏิบัติการสาขาไม้ผล 25 ปี จำนวน 20 สายพันธุ์

แปลงที่ 2 พันธุ์ที่ปลูกไว้ในท่อ หน้าอาคารปฏิบัติการสาขาไม้ผล 25 ปี จำนวน 13 สายพันธุ์

แปลงที่ 3 แปลงรวบรวมพันธุ์ลำไยในพื้นที่ 216 ไร่ (แปลงต้นเล็ก) จำนวน 14 สายพันธุ์

แปลงที่ 4 แปลงรวบรวมพันธุ์ลำไยในพื้นที่ 216 ไร่ (แปลงต้นที่บอนมาจากหน้าสาขา) จำนวน 6 สาย

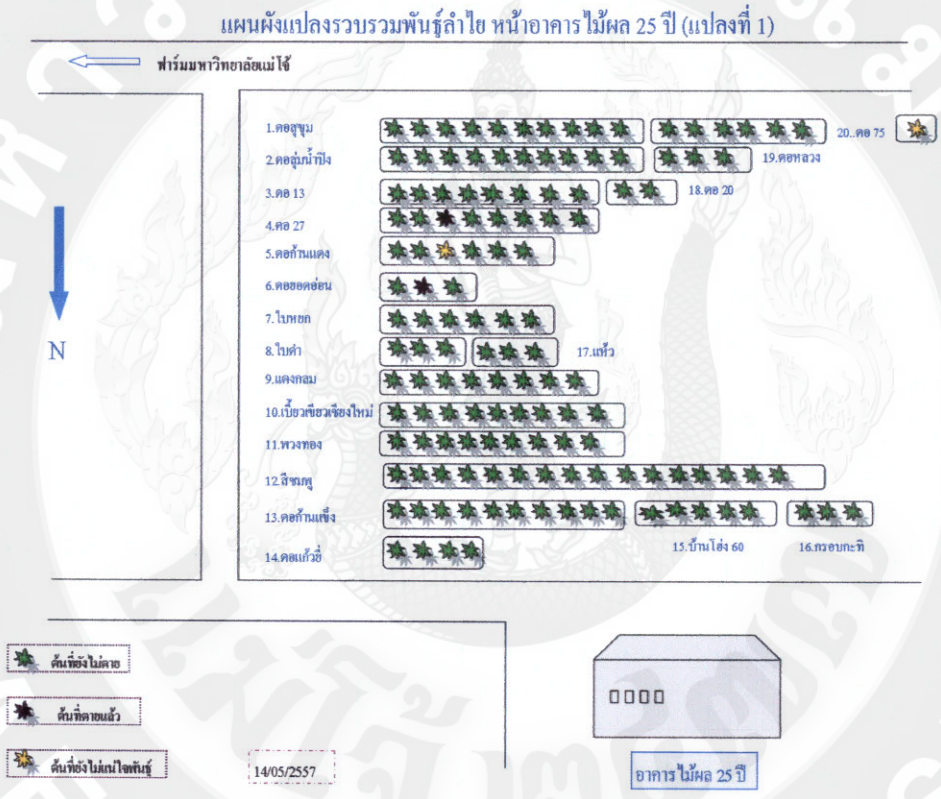
แปลงที่ 5 ลำไยพ่อแม่พันธุ์และลูกผสม ปลูกไว้ในท่อหน้าแปลงชาน้ำมัน จำนวน 19 สายพันธุ์

ตารางที่ 1 จำนวนพันธุ์ลำไย และแหล่งที่รวบรวมในพื้นที่ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้ (ไม่รวมลูกผสม) ปี 2556

ที่	ลำดับเดิมเก็บข้อมูล	ชื่อพันธุ์	แปลงที่รวบรวม				
			1	2	3	4	5
1	1	กรอบกะทิ	✓	-	-	-	✓
2	3	โคฮาลา	-	✓	-	-	✓
3	4	จันโป้	-	✓	-	-	✓
4	5	ชูเหลียง	-	-	-	-	✓
5	-	ดอ/ อีดอ	-	✓	-	-	✓
6	6	ดอ 13	✓	-	✓	-	-
7	7	ดอ 20	✓	-	-	-	-
8	8	ดอ 27	✓	-	✓	-	✓
9	9	ดอ 75	✓	-	✓	-	-
10	10	ดอก้านแข็ง	✓	-	✓	-	-
11	11	ดอก้านแดง	✓	-	✓	-	-
12	12	ดอแก้วยี่	✓	✓	-	-	-
13	14	ดอยอดอ่อน	✓	-	✓	-	-
14	-	ดอถุงมี	-	-	✓	-	-
15	15	ดอสุ่มน้ำปิง	✓	-	✓	-	✓
16	16	ดอสุขุม	✓	-	✓	-	-
17	17	ดอหลวง	✓	-	-	-	-
18	18	แดงกลม	✓	✓	-		✓
19	19	น้ำผึ้งทวาย	-	✓	-	✓	-
20	20	ป่านโซ่ง 60	✓	-	-	-	-
21	21	เบี้ยวเขียวเชียงใหม่	✓	✓	✓	-	✓
22	23	ใบดำ	✓	-	✓	-	✓
23	24	ใบหยก	✓	-	✓	-	✓
24	25	ปิงปอง	-	-	-	✓	✓
25	26	ปู่มาตีนโค้ง	-	-	-	✓	✓
26	27	พวงทอง	✓	✓	✓	-	✓
27	29	เพชรสาคร	-	✓	-	✓	✓
28	-	ลิ้นจี่	-	-	-	-	✓
29	30	ต้นหมื่น	-	✓	-	-	-
30	31	เถา	-	✓	-	✓	✓
31	32	สีชมพู	✓	✓	-	-	✓
32	33	แห้ว	✓	✓	-	✓	✓
รวมจำนวนสายพันธุ์ที่รวบรวมในแต่ละแปลง			20	13	14	6	19

1.2 ผังแปลงรวบรวมพันธุ์ทั้ง 5 แปลง

แปลงที่ 1 แปลงรวบรวมพันธุ์เริ่มต้นที่หน้าอาคารปฏิบัติการไม้ผล 25 ปี มีพื้นที่ประมาณ 2 ไร่ เดิมมีจำนวนพันธุ์ 26 สายพันธุ์ แต่มีการปรับปรุงพื้นที่โดยมีการขุดบ่อเพื่อกักเก็บน้ำ ทำให้ต้องรื้อถอนพันธุ์บางส่วนออกไป ปัจจุบันมีจำนวนพันธุ์ลำไยที่ปลูกรวบรวมไว้ในพื้นที่เดียวกันจำนวน 20 สายพันธุ์ โดยมีผังแปลงรวบรวมพันธุ์และรายชื่อพันธุ์ตามผังแปลงแสดงไว้ในภาพที่ 1

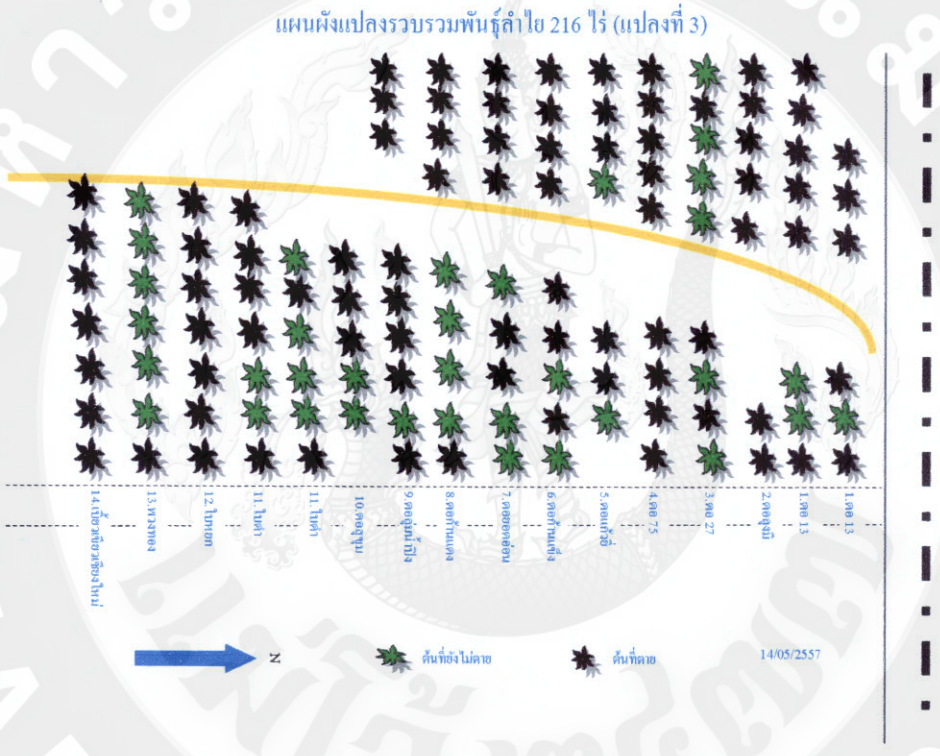


ภาพที่ 1 แผนผังแปลงรวบรวมพันธุ์หน้าอาคารปฏิบัติการไม้ผล 25 ปี

แปลงที่ 2 เป็นพันธุ์ลำไยที่ปลูกไว้ในท่อ โดยใช้กิ่งเสียบ เริ่มพัฒนาแปลงนี้ในปี 2554 เนื่องจากพบว่า ลำไยในแปลงรวบรวมพันธุ์บางส่วนมีการเจริญเติบโตไม่ดี และมีพันธุ์ที่ได้รับมาใหม่ ประกอบกับไม่สามารถขยายพื้นที่เพื่อปลูกเพิ่มเติมในแปลงที่ 1 ได้ จึงวางแผนปลูกไว้ในท่อเพื่อสามารถอนุบาลได้ง่ายและสะดวกต่อการชักนำให้ออกดอก เพื่อวัตถุประสงค์ในการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป โดยจำนวนท่อทั้งหมดมี 26 ท่อ มีพันธุ์ปลูกรวม 13 สายพันธุ์โดยมีผังแปลงรวบรวมพันธุ์ และรายชื่อพันธุ์ดังแสดงในภาพที่ 2

ภาพที่ 2 แผนผังแปลงรวบรวมพันธุ์ในท่อ หน้าอาคารปฏิบัติการไม้ผล 25 ปี

แปลงที่ 3 แปลงรวบรวมพันธุ์ลำไยที่พัฒนาใหม่ อยู่ในพื้นที่ 216 ไร่ ที่ดูแลพื้นที่โดยสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้ แปลงนี้เริ่มพัฒนามาตั้งแต่ประมาณปี 2552-2553 แต่เนื่องจากอยู่ในสภาพที่แห้งแล้ง และปริมาณน้ำไม่เพียงพอ ประกอบกับไกลจากพื้นที่อื่นๆ ของมหาวิทยาลัย ทำให้ดูแลไม่ทั่วถึง ต้นลำไยที่คัดเลือกมาทำการขยายพันธุ์ไว้บางส่วนจึงไม่ค่อยเจริญเติบโตและมีตายไปบ้าง ลักษณะต้นเป็นต้นที่ยังเล็กและยังไม่ให้ผลผลิต แผนผังและรายชื่อพันธุ์ดังแสดงไว้ในภาพที่ 3



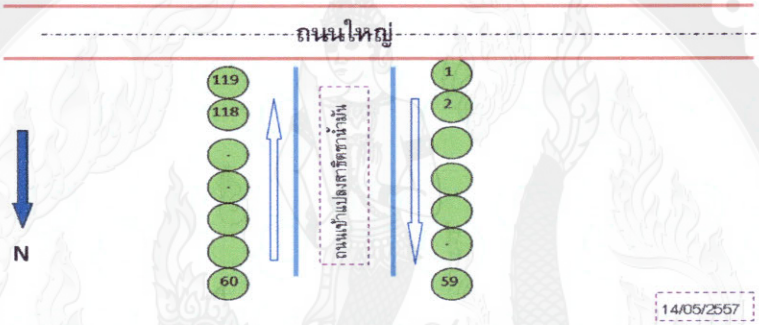
ภาพที่ 3 แผนผังแปลงรวบรวมพันธุ์ลำไยในพื้นที่ 216ไร่ของสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร (แปลงต้นเล็ก)

แปลงที่ 4 แปลงรวบรวมพันธุ์ลำไยในพื้นที่ 216 ไร่ ที่เริ่มพัฒนามาตั้งแต่ประมาณปี 2552-2553 พร้อมกับแปลงที่ 3 แต่ต้นลำไยที่ปลูก เป็นลำไยต้นใหญ่ ที่ย้าย (บอน) มาจากพื้นที่แปลงรวบรวมพันธุ์หน้าอาคารปฏิบัติการสาขาไม้ผล 25 ปี (แปลงที่ 1) เนื่องจากพื้นที่เดิมส่วนที่ลุ่ม มีการปรับผังเป็นการขุดบ่อเพื่อกักเก็บน้ำ จึงต้องย้ายต้นลำไยบางส่วนออก แปลงที่นำไปปลูก แม้จะอยู่ในบริเวณเดียวกันกับแปลงที่ 3 แต่ต่างพื้นที่ (อยู่คนละฝั่งถนน) แผนผังและรายชื่อพันธุ์ ดังแสดงไว้ในภาพที่ 4

ภาพที่ 4 แผนผังแปลงรวบรวมพันธุ์ลำไยในพื้นที่ 216 ไร่ของสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร (แปลงต้นใหญ่)

แปลงที่ 5 ลำไยในแปลงนี้เป็นส่วนที่พัฒนาขึ้นใหม่ในปี 2556 เป็นลำไยพ่อแม่พันธุ์ดีที่ได้รับการคัดเลือก (แยกเป็นสายต้น) เพื่อนำมาใช้ในโครงการปรับปรุงพันธุ์และสร้างลูกผสม โดยปลูกไว้ในท่อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 80 เซนติเมตร มีลูกผสมที่สร้างได้จากปีที่ 1 จำนวนหลายคู่ผสมมาปลูกไว้ เพื่อรอการทดสอบต่อไป จำนวนท่อทั้งหมดมีประมาณ 119 ท่อ แต่ปัจจุบัน (2557) ได้ทำการปลูกไปแล้วจำนวน 97 ท่อ รวมจำนวน 18 สายพันธุ์ (ไม่นับรวมลูกผสม) แผนผังและรายชื่อพันธุ์ ดังแสดงไว้ในภาพที่ 5

แผนผังแปลงรวบพันธุ์ลำไยพันธุ์ผสม (แปลงที่ 5)



14/05/2557

ท่อที่	ชื่อพันธุ์	ท่อที่	ชื่อพันธุ์	ท่อที่	ชื่อพันธุ์	ท่อที่	ชื่อพันธุ์
1-2	ปูมาดินไต้ง	32	พวงทอง-PT8	58	คอ-D13	105	คอ
3	แคชาณม	33	พวงทอง-PT7	59	คอ-D7	106	พวงทอง
4	กรอบกะที	34	พวงทอง-PT6	60	คอ 27	107-109	ปิงปอง
5	ใบคำ	35	พวงทอง-PT5	61	ชูเหลือง-chu-1	110-119	ลำไยฮา
6-8	ใบหยก	36	พวงทอง-PT4	62	ชูเหลือง-chu-2		
9-11	เพชรสาคร	37	พวงทอง-PT3	63	ชูเหลือง-chu-3		
12	โคฮาลา-KL1	38	พวงทอง-PT2	64	ชูเหลือง-chu-4		
13	อีมไป้-JB7	39	พวงทอง-PT1	65	(กรอบกะที-1 x อีคอ) F1-1		
14	อีมไป้-JB6	40	สีชมชู-CH9	66	(กรอบกะที-1 x อีคอ) F1-2		
15	อีมไป้-JB5	41	สีชมชู-CH8	67	(คอ 27 x ชมชู 12) F1-1		
16	อีมไป้-JB4	42	สีชมชู-CH7	68	(คอ 27 x ชมชู 12) F1-3		
17	อีมไป้-JB3	43	สีชมชู-CH6	69	(คอ 27 x ชมชู 12) F1-4		
18	อีมไป้-JB2	44	สีชมชู-CH5	70	(เบี้ยวเขียว ชม. X คอหักนเจ็ง-6) F1-3		
19	อีมไป้-JB1	45	สีชมชู-CH4	71	(คอหักนเจ็ง-7 x สีชมชู-12) F1-1		
22	แห้ว H1	46	สีชมชู-CH3	72	(สีชมชู-7 x คอหักนเจ็ง-1) F1-4		
23	แห้ว H4	47	สีชมชู-CH2	73	(คอหักนเจ็ง-7 x สีชมชู-12) F1-5		
24	แห้ว H3	48	สีชมชู-CH1	74-75	อีมไป้		
25	เบี้ยวเขียวเชียงใหม่-BK4	49	คอ	76	ดื้นจี่		
26	เบี้ยวเขียวเชียงใหม่-BK6	50-52	คอ-D3	77	เพชรสาคร		
27	เบี้ยวเขียวเชียงใหม่-BK2	53	คอ-D1	78	คอขุนน้ำปิง		
28	เบี้ยวเขียวเชียงใหม่-BK7	54	คอ-D11	79	เบี้ยวเขียวเชียงใหม่		
29	เบี้ยวเขียวเชียงใหม่-BK3	55	คอ-D9	80	แห้ว		
30	พวงทอง-PT10	56	คอ-D5	81	เบี้ยวเขียวเชียงใหม่		
31	พวงทอง-PT9	57	คอ-D10	82-104	ไม่มีการปลูก		

ภาพที่ 5 แผนผังแปลงรวบรวมพ่อแม่พันธุ์และลูกผสมลำไยที่ได้ ในท่อ ริมถนนทางเข้าแปลงชาน้ำมัน

1.3 การรวบรวมข้อมูลลักษณะประจำพันธุ์

อาจจะมีความยุ่งยากในการดำเนินงานรวบรวมลักษณะประจำพันธุ์ ของลำไยพันธุ์ต่างๆ ที่อยู่ในโครงการวิจัยอยู่บ้าง เนื่องจากลำไยบางพันธุ์มีขนาดต้นที่ยังเล็ก ไม่สมบูรณ์ และยังไม่ออกดอกติดผลให้สามารถเก็บข้อมูลได้ครบถ้วน หรือบางส่วนมีการออกดอกติดผลไม่พร้อมกัน นอกจากนี้ยังประสบกับปัญหาการเปลี่ยนแปลงของสภาพอากาศที่ทำให้ ในบางปี ลำไยในแปลงรวบรวมพันธุ์ไม่ออกดอก หรือออกดอกแต่ไม่ติดผล ทำให้การเก็บข้อมูลไม่สมบูรณ์เท่าที่ควร จึงจำเป็นต้องใช้ระยะเวลาในการรวบรวมข้อมูลนานขึ้น การเก็บข้อมูลลักษณะประจำพันธุ์ต่างๆ จะใช้ตารางบันทึกข้อมูลแต่ละสายพันธุ์แยกกัน ซึ่งอาจจะไม่สามารถเก็บรายละเอียดที่ต้องการทุกสายพันธุ์ในช่วงเวลาเดียวกันได้ เพราะต้นลำไยมีการปลูกและพัฒนาการไม่พร้อมกัน

ในเบื้องต้น การเก็บข้อมูลจะเน้นเรื่องของคุณภาพผลเป็นหลัก ยังไม่มีการเก็บข้อมูลดอกและเพศดอก และบางปีลำไยออกดอกไม่สม่ำเสมอ ทำให้ไม่สามารถเก็บข้อมูลได้ ข้อมูลส่วนของดอกหรือสัดส่วนเพศดอก จึงยังไม่ได้ดำเนินการ จึงมีความจำเป็นต้องดำเนินการติดตามการเก็บข้อมูลในปีต่อๆ ไป โดยสรุปข้อมูลที่รวบรวมไว้ ประกอบด้วยข้อมูลกลุ่มใหญ่ ๆ 5 ส่วน คือ

1. ภาพประกอบสายพันธุ์ ประกอบด้วย ภาพใบ ช่อผล ขนาดผล เป็นต้น
2. ข้อมูลใบ ประกอบด้วย จำนวนคู่ใบ สีใบ ขนาดใบ รูปร่างของใบ เป็นต้น
3. ข้อมูลดอก ประกอบด้วย ขนาดช่อดอก จำนวนดอกต่อช่อ สัดส่วนเพศดอก (เพศผู้เพศเมีย)
4. ข้อมูลคุณภาพผล ประกอบด้วย ขนาดและน้ำหนักของช่อผล และจำนวนผลต่อช่อ และส่วนประกอบของ เปลือก และเนื้อ (ขนาด น้ำหนัก และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้)
5. ข้อมูลส่วนของเมล็ด ประกอบด้วย สีของเมล็ด ขนาดและน้ำหนัก เป็นต้น

ข้อมูลลักษณะประจำพันธุ์ลำไยที่รวบรวมได้ในปี 2556 นี้ ได้สรุปไว้ในตารางที่ 2 โดยพบว่าจากทั้งหมดจำนวน 32 สายพันธุ์ที่มีอยู่ในแปลงรวบรวมพันธุ์ลำไยทั้ง 5 พื้นที่ มีการเก็บภาพประกอบสายพันธุ์แล้วเสร็จร้อยละ 61 เก็บข้อมูลใบแล้วเสร็จ ร้อยละ 81 ข้อมูลผลและเมล็ดแล้วเสร็จร้อยละ 65 และที่ยังไม่ได้ดำเนินการเลยคือข้อมูลช่อดอกและเพศดอก (ตารางที่ 2)

นอกจากนี้ยังพบว่า เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาดำเนินงานวิจัยในปี 2556 ลำไยบางพันธุ์ เป็นต้นที่ปลูกไว้ในพื้นที่อื่น เช่น ลำไยพื้นเมือง (ลำไยเมือง) ซึ่งเป็นต้นดั้งเดิมอยู่ใกล้กับอาคาร อำนวยศสุข หรือลำไยกระดูก ที่ต้นดั้งเดิมอยู่ในพื้นที่ของสถานีรถไฟ เชียงใหม่ พันธุ์ดอคำลาง อยู่ที่คุณบัญชาการ พลชมชื่น (30 หมู่ 2 บ้านพญาชมภู ต. ชมพู อ. สารภี จ. เชียงใหม่) และพันธุ์เบี้ยวเขียวป่าเส้า อยู่ที่คุณ คำรณ สุรินธรรม (113/1 หมู่ 8 บ้านหลุก ต. เหมืองง่า อ. เมือง จ. ลำพูน) ซึ่งใน

อนาคต จะต้องดำเนินการขยายพันธุ์เพื่อนำมาปลูกไว้ในแปลงรวบรวมพันธุ์ต่อไป อันจะเป็นการลดความเสี่ยงต่อการสูญหายและเป็นการอนุรักษ์ลำไยพันธุ์ดั้งเดิมไว้ด้วยอีกทางหนึ่ง ในขณะเดียวกันยังพบว่า ลำไยพันธุ์ "ดอลุงมี" ซึ่งมีอยู่ในแปลงรวบรวมพันธุ์แปลงที่ 3 พบว่า ได้สูญหาย (ตาย) หมด ทำให้ต้องหาจากแหล่งพันธุ์อื่นมารวบรวมไว้ต่อไป

ตารางที่ 2 ข้อมูลที่รวบรวมแล้วเสร็จและสัดส่วนที่รวบรวมได้ในปี 2556

ที่	ลำดับเดิมเก็บข้อมูล	ชื่อพันธุ์	ลักษณะข้อมูลที่รวบรวมได้ในปี 2556				
			ภาพ	ใบ	ดอก	ผล	เมล็ด
1	1	กรอบกะทิ	✓	✓	-	✓	✓
2	3	ไคฮาลา	-	-	-	-	-
3	4	จัมโป้	-	✓	-	-	-
4	5	ชูเหลียง	-	✓	-	-	-
5	-	ดอ/ อีดอ	-	-	-	-	-
6	6	ดอ 13	✓	✓	-	✓	✓
7	7	ดอ 20	✓	-	-	✓	✓
8	8	ดอ 27	✓	✓	-	✓	✓
9	9	ดอ 75	✓	✓	-	✓	✓
10	10	ดอก้านแข็ง	✓	✓	-	✓	✓
11	11	ดอก้านแดง	✓	✓	-	✓	✓
12	12	ดอแก้วยี่	✓	✓	-	✓	✓
13	14	ดอยอดอ่อน	✓	✓	-	✓	✓
14	-	ดอลุงมี	-	-	-	-	-
15	15	ดอลุ่มน้ำปิง	✓	✓	-	✓	✓
16	16	ดอสุชุม	✓	✓	-	✓	✓
17	17	ดอหลวง	✓	-	-	✓	✓
18	18	แดงกลม	✓	✓	-	✓	✓
19	19	น้ำผึ้งทวาย	-	✓	-	-	-
20	20	บ้านโส่ง 60	✓	✓	-	✓	✓
21	21	เบี้ยวเขียวเชียงใหม่	✓	✓	-	✓	✓
22	23	ใบตำ	✓	✓	-	✓	✓
23	24	ใบหยก	-	✓	-	-	-
24	25	ปิงปอง	-	✓	-	-	-
25	26	ปุ่มาดีนโค้ง	-	✓	-	-	-
26	27	พวงทอง	✓	✓	-	✓	✓
27	29	เพชรสาคร	-	✓	-	✓	✓
28	-	ลิ้นจี่	-	-	-	-	-
29	30	ต้นหมื่น	-	-	-	-	-
30	31	เฉา	-	✓	-	-	-
31	32	สีชมพู	✓	✓	-	✓	✓
32	33	แห้ว	✓	✓	-	✓	✓
ร้อยละที่รวบรวมข้อมูลแล้วเสร็จ			61	81	0	65	65

1.4 เครือข่ายแปลงรวบรวมพันธุ์ลำไยและการให้บริการแลกเปลี่ยนพันธุ์ลำไย

นอกจากแปลงรวบรวมพันธุ์ในมหาวิทยาลัยแม่โจ้แล้ว มีการประสานงานและแลกเปลี่ยนพันธุ์กับแหล่งรวบรวมอื่นๆ อย่างน้อย 3 แหล่งได้แก่

1. แปลงรวบรวมพันธุ์ลำไยของ ศูนย์วิจัยพืชสวน เชียงราย

ได้ประสานงานกับ ดร.นิพัฒน์ สุขวิบูลย์ พบว่าลำไยที่ปลูกรวบรวมไว้ในศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงรายมีอยู่ 52 สายพันธุ์ ต้นมีขนาดใหญ่ อายุไม่ต่ำกว่า 8-10 ปี เนื่องจากมีการปลูกรวบรวมไว้มานานแล้ว ในเบื้องต้น ได้ขอใบลำไยพันธุ์ต่างๆ ที่รวบรวมไว้ในแปลงของศูนย์ฯ มาทำการสกัดดีเอ็นเอเพื่อเปรียบเทียบสายพันธุ์ และนำยอดพันธุ์มาเสียบกับต้นตอที่มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เพื่อทำการขยายพันธุ์ และปลูกเป็นแหล่งพันธุกรรมลำไยเพิ่มเติม โดยพันธุ์ที่เสียบได้มีจำนวน 24 สายพันธุ์ รวม 41 ต้น (ข้อมูล ณ วันที่ 13 พฤษภาคม 2557) ดังนี้

1. ชมพูแมล็ดอุตรดิตถ์ 5 ต้น
2. นครพนม 2 ต้น
3. คอตาเห็น 2 ต้น
4. คอคำลาง 2 ต้น
5. ชมพูน้ำ 2 ต้น
6. คอยอดขาวน่าน 3 ต้น
7. คอดอนไชย 2 ต้น
8. เขียวพระอินทร์ 1 ต้น
9. แลงแดง 1 ต้น
10. อีไว 1 ต้น
11. ลิ้นจี่ 1 ต้น
12. แห้วแดระ 1 ต้น
13. คอสุขุม 1 ต้น
14. จันโบ้ (ลุงหมื่น) 3 ต้น
15. เพชรสาคร 2 ต้น
16. คอน้ำผึ้ง 1 ต้น
17. คอน้ำผึ้งน่าน 2 ต้น
18. อีเหลือง 2 ต้น
19. คออัฒจะสุนัข 1 ต้น
20. คอยอดขาว 2 ต้น
21. คอทอง 1 ต้น
22. คอก้านแข็ง 1 ต้น
23. คอยอดแดง 1 ต้น
24. กระทุ่งแบน 1 ต้น

รวมมีทั้งหมด 41 ต้น ซึ่งจะนำลงปลูกในแปลงเมื่อเข้าสู่ฤดูฝนต่อไป

2. แปลงรวบรวมพันธุ์ดีที่ชนะการประกวด

แปลงรวบรวมพันธุ์ลำไยที่ชนะการประกวด เป็นการต่อยอดจากผลงานการวิจัยของนางจิรนันท์ เสนานาญ ที่ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ซึ่งมีวัตถุประสงค์เพื่อรวบรวมพันธุ์ลำไยที่เคยได้รับรางวัลชนะเลิศ หรือรองอันดับ 1-3 มา

ไว้ 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 ซึ่งลำไยพันธุ์ที่ชนะการประกวดดังกล่าว ปัจจุบันมีการเจริญเติบโตทางกิ่งก้านใบที่สมบูรณ์ มีความสูงทรงพุ่มประมาณ 1.5 - 3 เมตร แต่ยังไม่มีการออกดอกติดผลตามธรรมชาติ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ลำดับชื่อพันธุ์และจำนวนสายต้นลำไยพันธุ์ที่เคยได้รับรางวัลในการประกวดที่รวบรวมไว้ในในแปลงเกษตรกร 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

3. แปลงรวบรวมพันธุ์ขององค์การบริหารตำบลหนองช้างคืน อ. เมือง จ. ลำพูน

นายก อบต. หนองช้างคืน (คุณเกรียงไกร ก้อนแก้ว) ได้ทำหนังสือขอความอนุเคราะห์ต้นกล้าลำไยพันธุ์ต่างๆ ที่รวบรวมไว้ในมหาวิทยาลัย เพื่อนำไปปลูกเป็นแปลงสาธิตลำไยพันธุ์ต่างๆ ในชุมชน โดยทางมหาวิทยาลัย ได้จัดส่งพันธุ์ไปให้ตั้งแต่ ปี 2554 ซึ่งปัจจุบัน ยังไม่ได้ติดตามดูความก้าวหน้า ของแปลงสาธิตดังกล่าว คาดว่าจะดำเนินการแลกเปลี่ยนประสบการณ์ในการดูแลพันธุ์ลำไยต่างๆ กันต่อไป

1.5 เนื้อหาและการออกแบบหนังสือ "ลำไย: พันธุ์และการอนุรักษ์ในมหาวิทยาลัยแม่โจ้"

หนังสือต้นฉบับพันธุ์ลำไย จะกำหนดชื่อเรื่องว่า "ลำไย: พันธุ์และการอนุรักษ์ในมหาวิทยาลัยแม่โจ้" ซึ่งจะแบ่งออกเป็น 3 ส่วนหลักๆ ได้แก่

1. ข้อมูลพันธุ์และลักษณะประจำพันธุ์ลำไย (ตัวอย่างตามภาพที่ 6) พร้อมที่มาของชื่อพันธุ์ (สำหรับบางพันธุ์ที่มีการศึกษา

2. วิธีการปรับปรุงพันธุ์และผลที่ได้ (การผสม คู่ผสม และลูกผสมที่ได้รวมทั้งการทดสอบลูกผสม)

3. การอนุรักษ์พันธุ์ (ข้อมูลลำไยต้นประวัติศาสตร์ และ ต้นลำไยดั้งเดิมอื่นๆ ที่น่าสนใจ)

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 6 ตัวอย่างลักษณะประจำพันธุ์ ที่แสดงข้อมูลพร้อมภาพประกอบ ของลำไยพันธุ์ ดอ 20 (ข้อมูลที่เก็บยังไม่สมบูรณ์เรียบร้อยทุกลักษณะ ยังต้องตามเก็บข้อมูลอยู่)

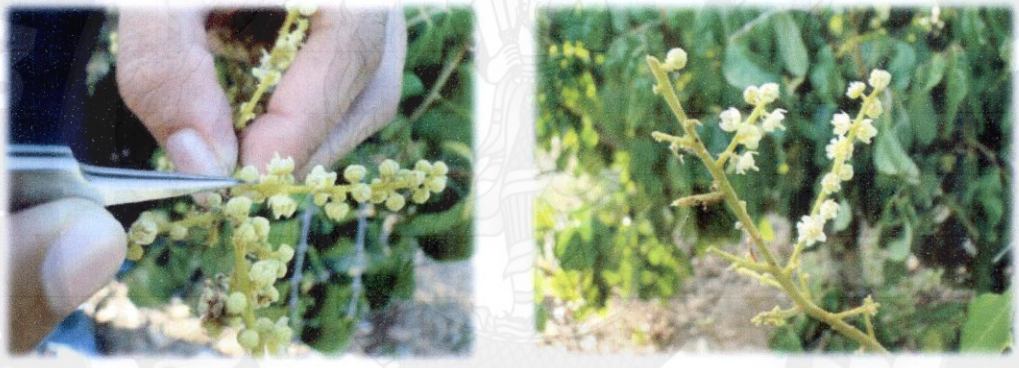
กิจกรรมที่ 2 การผสมพันธุ์ลำไยเพื่อสร้างลูกผสมและการตรวจสอบลูกผสมที่ได้ (ฉันทนา และแสงทอง)

วิธีการทดลองกิจกรรมที่ 2

1. การผสมพันธุ์ลำไย

วิธีการผสมลำไยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

- การเลือกช่อดอกตัวเมีย ให้เลือกช่อดอกที่มีความสมบูรณ์แข็งแรง และเป็นช่อดอกที่มีดอกตัวเมียบาน โดยเด็ดดอกตัวเมียทิ้งให้เหลือไว้ช่อละ 15-20 ดอก (ภาพที่ 7) ถ้ามีดอกตัวผู้บานพร้อมกันให้เด็ดดอกตัวผู้ทิ้งให้หมด แล้วคลุมด้วยถุงตาข่ายมัดปากถุงให้แน่น เพื่อป้องกันการผสมข้ามโดยแมลง



(a) (b)

ภาพที่ 7 การเตรียมช่อดอกตัวเมีย (a) การเด็ดดอกตัวเมียทิ้ง (b) ช่อดอกตัวเมียที่เตรียมไว้สำหรับการผสมพันธุ์

- การเลือกช่อดอกตัวผู้ เลือกช่อที่มีความแข็งแรงแล้วคลุมด้วยถุงตาข่ายไว้ ทำการเก็บเกสรตัวผู้ที่บานจากต้นในตอนเช้าเวลาประมาณ 07.00-9.00 น. ถ้าดอกตัวผู้ไม่บาน ให้นำไปบ่มด้วยความร้อนจากหลอดไฟขนาด 40 วัตต์ เมื่อละอองเกสรเริ่มแตกก็นำไปใช้ผสมได้

- วิธีการผสมข้าม ทำโดยนำละอองเกสรตัวผู้ที่แตกแล้วไปแตะบนยอดเกสรตัวเมีย (ภาพที่ 8) ซึ่งเกสรตัวเมียที่พร้อมจะได้รับการผสมจะมีน้ำหวานเหนียวๆ ไหลออกมาบริเวณฐานรองดอก

- เมื่อผสมเกสรเสร็จแล้ว ให้ใช้ถุงตาข่ายคลุมไว้เหมือนเดิม มัดปากถุงให้แน่น พร้อมกับเขียนป้าย โดยระบุชื่อพ่อและแม่พันธุ์ วันที่ผสม

- หลังจากทำการผสมครบ 1 เดือน ให้นำถุงตาข่ายออก เมื่อลูกผสมมีอายุครบ 4 เดือน สามารถเก็บเมล็ดไปเพาะได้

(a) (b)

ภาพที่ 8 การผสมพันธุ์ลำไย (a) เกสรตัวผู้ที่ใช้ในการผสมพันธุ์ (b) การนำละอองเกสรตัวผู้มาแตะบนยอดเกสรตัวเมียโดยใช่พู่กัน

2. การจำแนกลูกผสมลำไยโดยใช้วิธีเครื่องหมายโมเลกุล

เริ่มจากการเพาะเมล็ดลำไยลูกผสม โดยการผสมลำไยจนมีอายุครบ 4 เดือน แล้วจึงเก็บเมล็ดลำไยมาเพาะในกระถางขนาด 4 นิ้วในวัสดุเพาะ คือ ทรายและขี้เถ้าแกลบ ในอัตราส่วน 1:1 เมื่อลำไยลูกผสมอายุครบ 1 เดือน หรือมีใบเกิดขึ้น อย่างน้อย 4 ใบ (ภาพที่ 9) จึงทำการเก็บใบอ่อนมาสกัดดีเอ็นเอ หลังจากสกัด ดีเอ็นเอ แล้วจึงจะนำไปเพิ่มปริมาณโดยเทคนิค PCR และสุดท้ายวิเคราะห์ผล PCR โดยวิธีอิเลคโตรโฟรีซีส (ภาคผนวก)

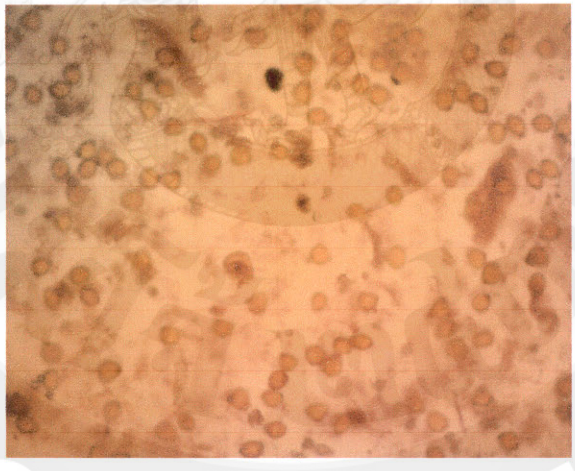
ภาพที่ 9 ลำไยลูกผสมที่นำมาเพาะ

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล กิจกรรมที่ 2

1. การผสมพันธุ์ลำไยเพื่อสร้างลูกผสม

ในปี 2555 สามารถผสมพันธุ์ลำไยได้ทั้งหมด 16 คู่ผสม มีจำนวนเมล็ดที่ผสมทั้งหมด 148 เมล็ด และในปี 2556 สามารถผสมลำไยสามารถผสมพันธุ์ลำไยได้เพิ่มอีก 5 คู่ผสม ได้แก่ กรอบกะทิ x ดอก้านแข็ง, แห้ว x อีดอ, พวงทอง x บ้านโฮ่ง 60, สีชมพู x แห้ว และสีชมพู x ดอก้านแข็ง มีจำนวนเมล็ดที่ผสมทั้งหมด 16 เมล็ด ซึ่งได้จำนวนคู่ผสมน้อยกว่าปี 2555 เนื่องจากในแปลงรวบรวมพันธุ์ลำไยไม่ได้ราดสารโพแทสเซียมคลอเรต แต่ราดสารโพแทสเซียมคลอเรตเฉพาะลำไยที่รวบรวมพันธุ์ไว้ในกระถางเท่านั้น ซึ่งทำการราดสารโพแทสเซียมคลอเรตในเดือนตุลาคม ทำให้ลำไยออกดอกในสภาพอากาศที่หนาวจัด เมื่อทำการผสมพันธุ์ลำไยมีการผสมติดน้อยมาก เมื่อนำเกสรตัวผู้ไปย้อมสีเพื่อตรวจดูความมีชีวิต หากเกสรตัวผู้มีชีวิตจะย้อมติดสีเป็นสีน้ำตาลเข้ม แต่ถ้าติดเป็นสีเหลืองแสดงว่าไม่มีชีวิต พบว่า เกสรตัวผู้มีสีดำในปริมาณน้อยมาก แสดงว่ามีชีวิตในอัตราต่ำมาก (ภาพที่ 10) ซึ่งเป็นสาเหตุลำไยติดผลได้น้อย



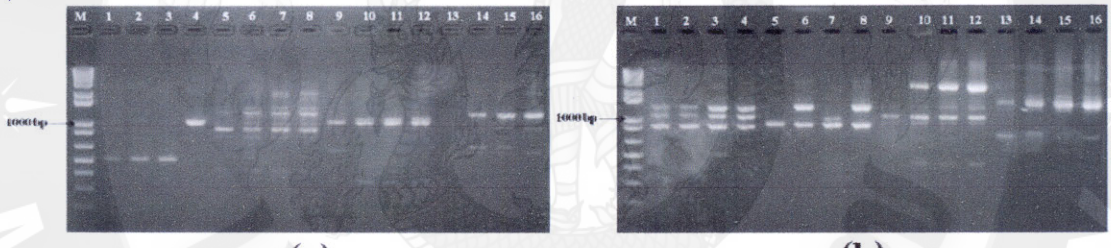
ภาพที่ 10 การย้อมละอองเกสรตัวผู้

2. การคัดเลือกลำไยลูกผสมด้วยเครื่องหมายโมเลกุล

2.1 การคัดเลือกลำไยลูกผสมด้วยเครื่องหมายโมเลกุลชนิด RAPD ทำการทดสอบลูกผสมจำนวนรวม 5 คู่ผสม ได้แก่

2.1.1. คู่ผสมของพันธุ์ (กรอบกะทิ x ดอก้านแข็ง)

จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของลำไยพันธุ์แม่ คือ พันธุ์กรอบกะทิ ลำไยพันธุ์พ่อ คือ ดอก้านแข็ง และลูกผสมจำนวน 2 ต้น ได้แก่ (กรอบกะทิ x ดอก้านแข็ง) F_1-1 และ (กรอบกะทิ x ดอก้านแข็ง) F_1-2 โดยใช้ไพรเมอร์ชนิด RAPD ที่คัดเลือก ได้แก่ A07, A13, A18, B01, B10, B11, B17 และ B18 พบว่า ไพรเมอร์ A07, A13, B10 และ B18 ไม่สามารถใช้ในการจำแนกลูกผสมได้เนื่องจากลำไยพันธุ์แม่และพ่อเกิดแถบดีเอ็นขนาดเท่ากัน หรือเกิดแถบดีเอ็นเอหลายแถบที่เหมือนกัน โดยที่ไพรเมอร์ A18, B01, B11 และ B17 สามารถจำแนกความเป็นลูกผสมได้ เนื่องจากลำไยพันธุ์แม่และพ่อมีแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน และลูกผสมให้แถบดีเอ็นเอเหมือนลำไยพันธุ์พ่อ หรือแตกต่างจากพันธุ์แม่และพ่อ (ภาพที่ 11)

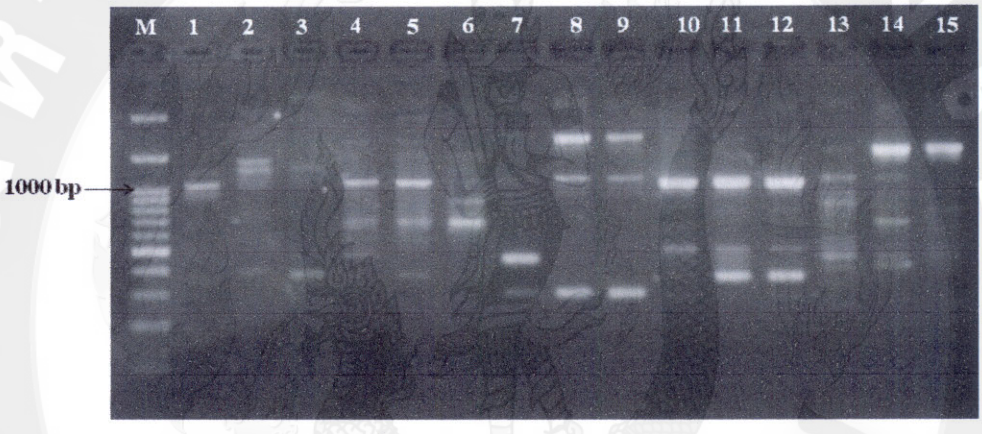


(a) (b)

ภาพที่ 11 ผลการทำ 1.5% อะกาโรสเจล ของ (a) ไพรเมอร์ A07 (ช่อง 1-4), A13 (ช่อง 5-8), A18 (ช่อง 9-12) และ B01 (ช่อง 13-16) ของคู่ผสมพันธุ์ (กรอบกะทิ x ดอก้านแข็ง) โดยที่ช่อง M คือ 1kb Plus DNA Ladder (Invitrogen) ช่องที่ 1, 5, 9 และ 13 คือ กรอบกะทิ ช่องที่ 2, 6, 10 และ 14 คือ ดอก้านแข็ง ช่องที่ 3, 7, 11 และ 15 คือ (กรอบกะทิ x ดอก้านแข็ง) F_1-1 ช่องที่ 4, 8, 12 และ 16 คือ (กรอบกะทิ x ดอก้านแข็ง) F_1-2 (b) ไพรเมอร์ B10 (ช่อง 1-4), B11 (ช่อง 5-8), B17 (ช่อง 9-12) และ B18 (ช่อง 13-16) ของคู่ผสม พันธุ์ (กรอบกะทิ x ดอก้านแข็ง) โดยที่ช่อง M คือ 1kb Plus DNA Ladder (Invitrogen) ช่องที่ 1, 5, 9 และ 13 คือ กรอบกะทิ ช่องที่ 2, 6, 10 และ 14 คือ ดอก้านแข็ง ช่องที่ 3, 7, 11 และ 15 คือ (กรอบกะทิ x ดอก้านแข็ง) F_1-1 ช่องที่ 4, 8, 12 และ 16 คือ (กรอบกะทิ x ดอก้านแข็ง) F_1-2

2.1.2. คู่ผสมของพันธุ์ (เบี้ยวเขียวเชียงใหม่ x ดอก้านแข็ง)

จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของลำไยพันธุ์แม่ คือ พันธุ์เบี้ยวเขียวเชียงใหม่ ลำไยพันธุ์พ่อ คือ พันธุ์ดอก้านแข็ง และลูกผสม (เบี้ยวเขียวเชียงใหม่ x ดอก้านแข็ง) F_1-3 โดยใช้ไพรเมอร์ชนิด RAPD ที่คัดเลือก ได้แก่ A12, A14, A15, A18 และ A19 พบว่า ไพรเมอร์ทั้ง 5 ไพรเมอร์ แสดงความแตกต่างระหว่างลำไยพันธุ์แม่และพ่อ โดยที่ลูกผสมให้แถบดีเอ็นเอเหมือนลำไยพันธุ์พ่อในไพรเมอร์ A15 และ A18 และให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างไปจากพันธุ์พ่อหรือแม่ในไพรเมอร์ A12, A14 และ A19 (ภาพที่ 12)



ภาพที่ 12 ผลการทำ 1.5% อะกาโรสเจล ของไพรเมอร์ A12 (ช่อง 1-3), A14 (ช่อง 4-6), A15 (ช่อง 7-9), A18 (ช่อง 10-12) และ A19 (ช่อง 13-15) ของคู่ผสมพันธุ์ (เบี้ยวเขียวเชียงใหม่ x ดอก้านแข็ง) โดยที่ ช่อง M คือ 100 bp DNA Ladder H3 RTU (GeneDirex) ช่องที่ 1, 4, 7, 10 และ 13 คือเบี้ยวเขียวเชียงใหม่ ช่องที่ 2, 5, 8, 11 และ 14 คือ ดอก้านแข็ง ช่องที่ 3, 6, 9, 12 และ 15 คือ(เบี้ยวเขียวเชียงใหม่ x ดอก้านแข็ง) F_1-3

2.1.3. คู่ผสมของพันธุ์ (ดอ 27 x สีชมพู)

จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของลำไยพันธุ์แม่ คือ พันธุ์ดอ 27 ลำไยพันธุ์พ่อ คือสีชมพู ลูกผสมจำนวน 3 ต้น ได้แก่ (ดอ 27 x สีชมพู)F_1-1 (ดอ 27 x สีชมพู) F_1-3 และ (ดอ 27 x สีชมพู) F_1-4 โดยใช้ไพรเมอร์ชนิด RAPD ได้แก่ A07, N04 และ I14 พบว่า ไพรเมอร์ A07 ไม่สามารถใช้จำแนกลูกผสมได้เนื่องจากแถบดีเอ็นเอของลำไยพันธุ์แม่และพ่อมีขนาดเท่ากัน ส่วนไพรเมอร์ N04 และ I14 สามารถจำแนกดีเอ็นเอลำไยของพันธุ์แม่พันธุ์พ่อและลูกผสมได้ โดยผลการคัดเลือกลูกผสมด้วยไพรเมอร์ N04 แสดงแถบดีเอ็นเอแตกต่างจากจากพันธุ์แม่และพันธุ์พ่อทั้ง 3 ต้น ส่วนไพรเมอร์

I14 นั้น ลูกผสม (ดอ 27 x สีชมพู) F_1-1 และ (ดอ27xสีชมพู)F_1-4 ให้แถบดีเอ็นเอเหมือนพันธุ์พ่อ และลูกผสม (ดอ 27 x สีชมพู)F_1-3 ให้แถบดีเอ็นเอไม่เหมือนทั้งพันธุ์แม่และพันธุ์พ่อ (ภาพที่ 13)

ภาพที่ 13 ผลการทำ 1.5% อะกาโรสเจล ของไพรเมอร์ A07 (ช่อง 1-5), N04 (ช่อง 6-10) และ I14 (ช่อง 11-5) ของคู่ผสมของพันธุ์ (ดอ27x สีชมพู) โดยที่ ช่อง M คือ GeneRuler™ 100 bp Plus DNA Ladder (Fermentus) ช่องที่ 1,6 และ 11 คือ ดอ 27 ช่องที่ 2, 7 และ 12 คือ สีชมพู ช่องที่ 3, 8 และ 13 คือ (ดอ27xสีชมพู)F_1-1 ช่องที่ 4, 9 และ 14 คือ (ดอ 27 x สีชมพู)F_1-3 ช่องที่ 5, 10 และ 15 คือ (ดอ 27 x สีชมพู) F_1-4 ตามลำดับ

2.1.4. คู่ผสมของพันธุ์ (สีชมพู x ดอก้านแข็ง)

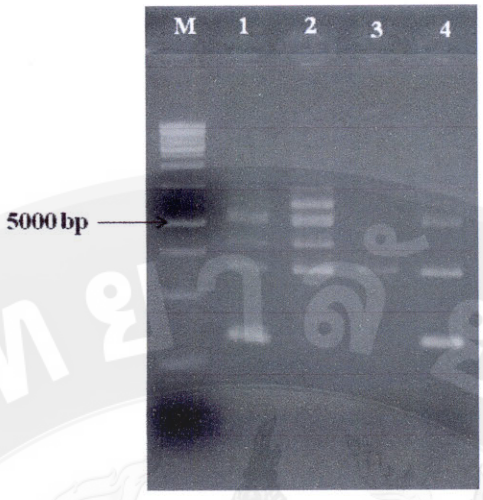
จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของลำไยพันธุ์แม่ คือ พันธุ์สีชมพู ลำไยพันธุ์พ่อ คือดอก้านแข็ง ลูกผสมจำนวน 7 ต้น ได้แก่ (สีชมพู-7 x ดอก้านแข็ง-8) F_1-1, (สีชมพู-7 x ดอก้านแข็ง-8) F_1-2, (สีชมพู-7 x ดอก้านแข็ง-8) F_1-4, (สีชมพู-7 x ดอก้านแข็ง-8) F_1-5 (สีชมพู-7 x ดอก้านแข็ง-8)F_1-6, (สีชมพู-7 x ดอก้านแข็ง-8) F_1-7 และ (สีชมพู-7 x ดอก้านแข็ง-8) F_1-8 โดยใช้ไพรเมอร์ชนิด RAPD ได้แก่ ไพรเมอร์ N08 พบว่า ลูกผสม 1 ต้น มีแถบดีเอ็นเอเหมือนพ่อ ส่วนที่เหลือมีแถบดีเอ็นเอเหมือนแม่ ยกเว้นลูกผสม (สีชมพู-7 x ดอก้านแข็ง-8) F_1-5 ไม่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ (ภาพที่ 14)

2.1.5. คู่ผสมของพันธุ์ (ดอก้านแข็ง x สีชมพู)

จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของลำไยพันธุ์แม่ คือ พันธุ์ดอก้านแข็ง ลำไยพันธุ์พ่อ คือ สีชมพู ลูกผสมจำนวน 4 ต้น ได้แก่ (ดอก้านแข็ง-6 x สีชมพู-8) F_1-1, (ดอก้านแข็ง-6 x สีชมพู-8) F_1-3, (ดอก้านแข็ง-7 x สีชมพู-12) F_1-4 และ (ดอก้านแข็ง-7 x สีชมพู-12) F_1-5 โดยใช้ไพรเมอร์ชนิด RAPD

ได้แก่ ไพรเมอร์ N08 พบว่า (ดอก้านแข็ง-6 x สีชมพู-8) F_1-1 มีแถบดีเอ็นเอเหมือนพ่อ ส่วน(ดอก้านแข็ง-6 x สีชมพู-8)F_1-3 และ (ดอก้านแข็ง-7 x สีชมพู-12) F_1-5 มีแถบดีเอ็นเอเหมือนแม่ ในขณะที่ (ดอก้านแข็ง-7 x สีชมพู-12) F_1-4 มีแถบดีเอ็นเอเกิดขึ้น 1 แถบ ซึ่งขนาดเท่ากับพันธุ์แม่และพ่อ (ภาพ 8 และ 9)เมื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของลำไยโดยใช้ไพรเมอร์ N04 พบว่า (ดอก้านแข็ง-7 x สีชมพู-12)F_1-5 มีแถบดีเอ็นเอเหมือนพ่อ ส่วน (ดอก้านแข็ง-6 x สีชมพู-8) F_1-3 และ (ดอก้านแข็ง-7 x สีชมพู-12) F_1-5 มีแถบดีเอ็นเอเหมือนแม่ ในขณะที่ (ดอก้านแข็ง-7 x สีชมพู-12) F_1-4 มีแถบดีเอ็นเอเกิดขึ้น 1 แถบ ซึ่งขนาดเท่ากับพันธุ์แม่และพ่อ (ภาพที่ 16)

ภาพที่ 14 ผลการทำ 1.5% อะกาโรสเจล ของไพรเมอร์ N08 โดยที่ ช่อง M คือ GeneRuler™ 100 bp Plus DNA Ladder (Fermentus) ช่องที่ 1-13 คือ พันธุ์สีชมพู ดอก้านแข็ง (สีชมพู-7 x ดอก้านแข็ง-8) F_1-1, (สีชมพู-7 x ดอก้านแข็ง-8) F_1-2, (สีชมพู-7 x ดอก้านแข็ง-8) F_1-4, (สีชมพู-7 x ดอก้านแข็ง-8)F_1-5 (สีชมพู-7 x ดอก้านแข็ง-8)F_1-6, (สีชมพู-7 x ดอก้านแข็ง-8)F_1-7 (สีชมพู-7 x ดอก้านแข็ง-8) F_1-, ดอก้านแข็ง-8, สีชมพู-8 (ดอก้านแข็ง-6 x สีชมพู-8) F_1-1 และ (ดอก้านแข็ง-6 x สีชมพู-8) F_1-3 ตามลำดับ



ภาพที่ 15 ผลการทำ 1.5% อะกาโรสเจล ของไพรเมอร์ N08 โดยที่ ช่อง M คือ GeneRuler™ 100 bp Plus DNA Ladder (Fermentus) ช่องที่ 1-4 คือ ดอก้านแข็ง-8, สีชมพู-8, (ดอก้านแข็ง-7 x สีชมพู-12) F_1-4 และ (ดอก้านแข็ง-7 x สีชมพู-12) F_1-5 ตามลำดับ

ภาพที่ 16 ผลการทำ 1.5% อะกาโรสเจล ของไพรเมอร์ N04 โดยที่ ช่อง M คือ GeneRuler™ 100 bp Plus DNA Ladder (Fermentus) ช่องที่ 1-8 คือ ดอก้านแข็ง-8, สีชมพู-8 (ดอก้านแข็ง-6 x สีชมพู-8) F_1-1, (ดอก้านแข็ง-6 x สีชมพู-8) F_1-3, ดอก้านแข็ง-8, สีชมพู-8, (ดอก้านแข็ง-7 x สีชมพู-12) F_1-4 และ (ดอก้านแข็ง-7 x สีชมพู-12) F_1-5 ตามลำดับ

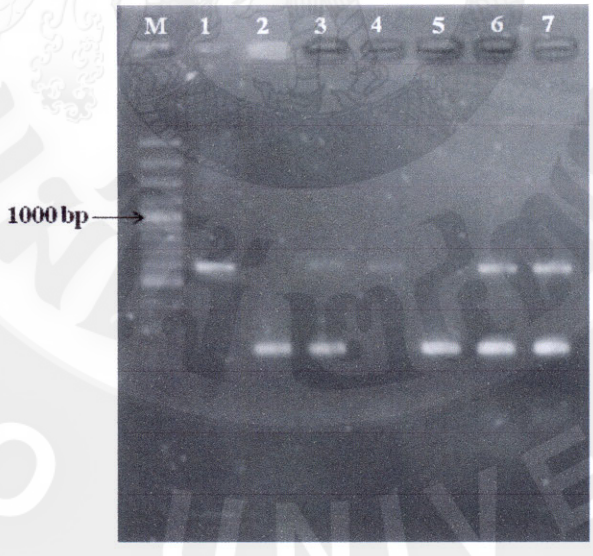
2.2 การคัดเลือกลำไยลูกผสมด้วยเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SCAR ทำการทดสอบรวมคู่ผสม ได้แก่

2.2.1. คู่ผสมของพันธุ์ (กรอบกะทิ x ดอก้านแข็ง)

นำไพรเมอร์ L2_2 ที่พัฒนาได้มาทดสอบลูกผสมพบว่า ลำไยพันธุ์แม่ คือพันธุ์กรอบกะทิ มีแถบดีเอ็นเอขนาด 600 คู่เบส ลำไยพันธุ์พ่อ คือพันธุ์ดอก้านแข็ง มีแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 250 คู่เบส เมื่อนำมาใช้ในการจำแนกลูกผสม (กรอบกะทิ x ดอก้านแข็ง) F_1-1 และ (กรอบกะทิ x ดอก้านแข็ง) F_1-2 พบว่า ลูกผสมทั้ง 2 ต้น มีแถบดีเอ็นเอเหมือนกับพันธุ์แม่และพ่อ คือ มีแถบดีเอ็นเอขนาด 600 และ 250 คู่เบส (ภาพที่ 17)

2.2.2. คู่ผสมของพันธุ์ (เบี้ยวเขียวเชียงใหม่ x ดอก้านแข็ง)

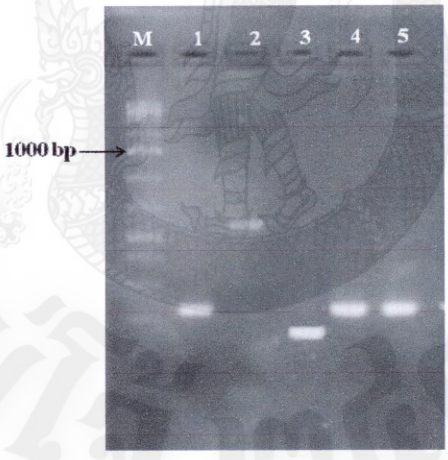
นำไพรเมอร์ L2_2 มาทดสอบลูกผสมพบว่า ลำไยพันธุ์แม่ คือพันธุ์เบี้ยวเขียว-เชียงใหม่ มีแถบดีเอ็นเอขนาด 600 คู่เบส ลำไยพันธุ์พ่อ คือพันธุ์ดอก้านแข็ง มีแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 250 คู่เบส เมื่อนำมาใช้ในการจำแนกลูกผสม (เบี้ยวเขียวเชียงใหม่ x ดอก้านแข็ง)F_1-3 พบว่า ต้น มีแถบดีเอ็นเอเหมือนกับพันธุ์แม่และพ่อ คือ มีแถบดีเอ็นเอขนาด 600 และ 250 คู่เบส (ภาพที่ 17)



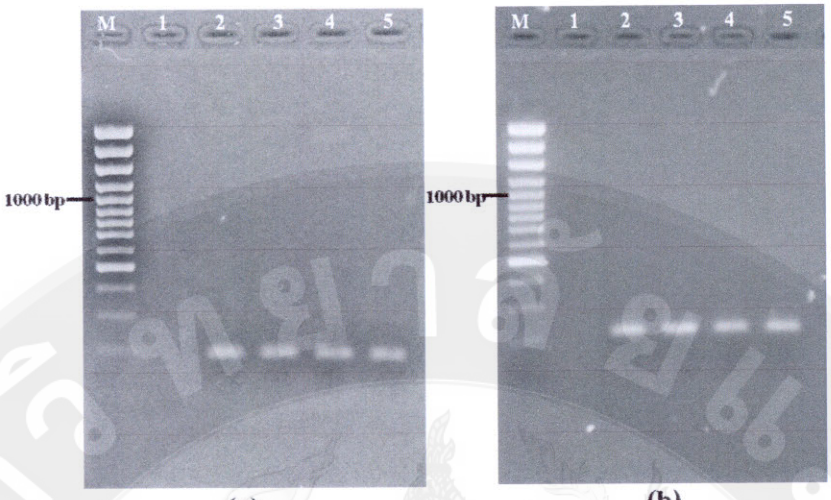
ภาพที่ 17 ผลการทำ 1.5% อะกาโรสเจล ของไพรเมอร์ L2_2 โดยที่ ช่อง M คือ 100 bp Plus DNA Ladder (Invitrogen) ช่องที่ 1-7 คือ เบี้ยวเขียวเชียงใหม่ ดอก้านแข็ง ลูกผสม (เบี้ยวเขียว-เชียงใหม่ x ดอก้านแข็ง) F_1-3 กรอบกะทิ ดอก้านแข็ง ลูกผสม (กรอบกะทิ x ดอก้านแข็ง)F_1-1 และ (กรอบกะทิ x ดอก้านแข็ง) F_1-2 ตามลำดับ

2.2.3. คู่ผสมของพันธุ์ (ดอ 27 x สีชมพู)

เมื่อนำไพร์เมอร์ L2_2, L7_1 และ L8_1 ที่ออกแบบได้มาทดสอบคัดเลือกลูกผสมพบว่าไพรเมอร์ L2_2 นั้น ลำไยพันธุ์แม่ คือพันธุ์ดอ 27 มีแถบดีเอ็นเอขนาด 250 คู่เบส ลำไยพันธุ์พ่อ คือพันธุ์สีชมพู มีแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 600 คู่เบส เมื่อนำมาใช้ในการจำแนกลูกผสม (ดอ 27 x สีชมพู) F_1-1 (ดอ 27 x สีชมพู) F_1-3 และ (ดอ 27 x สีชมพู) F_1-4 พบว่า ลูกผสมทั้ง 2 ต้น คือ (ดอ 27 x สีชมพู) F_1-3 และ (ดอ 27 x สีชมพู) F_1-4 มีแถบดีเอ็นเอเหมือนกับพันธุ์แม่ คือ มีแถบดีเอ็นเอขนาด 250 คู่เบส ในขณะที่ลูกผสม (ดอ 27 x สีชมพู) F_1-1 มีแถบดีเอ็นเอต่างจากพันธุ์แม่และพ่อ (ภาพที่ 18) ส่วนไพรเมอร์เมอร์ L7_1 และ L8_1 ให้แถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 200 คู่เบส และ 250 คู่เบส ตามลำดับ จากลำไยสีชมพูเท่านั้น ส่วนดอ 27 นั้นจะไม่พบแถบดีเอ็นเอ เมื่อนำมาใช้ในการจำแนกลูกผสม (ดอ 27 x สีชมพู) F_1-1 (ดอ 27 x สีชมพู) F_1-3 และ (ดอ 27 x สีชมพู) F_1-4 พบว่าลูกผสมทั้ง 3 ต้นเกิดแถบดีเอ็นเอเหมือนพันธุ์พ่อ คือ พันธุ์สีชมพู ทั้ง 2 ไพรเมอร์ (ภาพที่ 19)



ภาพที่ 18 ผลการทำ 1.5% อะกาโรสเจล ของไพรเมอร์ L2_2 โดยที่ ช่อง M คือ 100 bp Plus DNA Ladder (Invitrogen) ช่อง 1และ 2 คือ ดอ 27 (ต้นแม่) และสีชมพู (ต้นพ่อ) ส่วนช่อง 3 -5 คือ (ดอ 27 x สีชมพู) F_1-1 (ดอ 27 x สีชมพู)F_1-3 และ (ดอ 27 x สีชมพู) F_1-4 ตามลำดับ



ภาพที่ 19 ผลการทำ 1.5% อะกาโรสเจล ของไพรเมอร์ L7_1 (a) ไพร์เมอร์ L8_1 (b) โดยที่ ช่อง M คือ 100 bp Plus DNA Ladder (Invitrogen) ช่อง 1และ 2 คือ ดอ 27 (ต้นแม่) และสีชมพู (ต้นพ่อ)ส่วนช่อง 3 -5 คือ (ดอ 27 x สีชมพู) F_1-1 (ดอ 27 x สีชมพู) F_1-3 และ (ดอ 27 x สีชมพู) F_1-4 ตามลำดับ

จากการคัดเลือกลูกผสมด้วยเครื่องหมายโมเลกุลของคู่ผสม 5 คู่ จาก (กรอบกะทิ x ดอก้านแข็ง เบี้ยวเขียวเชียงใหม่ x ดอก้านแข็ง, ดอ 27 x สีชมพู, สีชมพู x ดอก้านแข็ง และดอก้านแข็ง สีชมพู จำนวน 17 ต้น พบว่า ลูกผสมทั้งหมดสามารถพิสูจน์ได้ว่าเป็นลูกผสมจริงจำนวน 9 ต้น ได้แก่ (กรอบกะทิ x ดอก้านแข็ง)F_1-1,(กรอบกะทิ x ดอก้านแข็ง) F_1-2 (ภาพที่ 20) (เบี้ยวเขียวเชียงใหม่ x ดอก้าน-แข็ง) F_1-3 (ภาพที่ 15) (ดอ 27 x สีชมพู)F_1-1 (ดอ 27 x สีชมพู) F_1-3 และ (ดอ 27 x สีชมพู) F_1-4 (สีชมพู-7 x ดอก้านแข็ง-8) F_1-4 (ภาพที่ 22) (ดอก้านแข็ง-6 x สีชมพู-8) F_1-1 และ (ดอก้านแข็ง-7 x สีชมพู-12) F_1-5 (ภาพที่ 23) ซึ่งการคัดเลือกลำไยลูกผสมด้วยเครื่องหมายโมเลกุลชนิด RAPD พบว่าสอดคล้องกับการศึกษาของ Sitthiphom *et. al.* (2005) ที่ใช้เทคนิค HAT-RAPD ที่พบว่า ในการจำแนกลูกผสมลำไย คู่ผสมระหว่าง ดอ x เบี้ยวเขียว คู่ผสมระหว่าง ดอ x ใบดำ และใบดำ x เบี้ยวเขียว นั้น แถบดีเอ็นเอของลูกผสมสามารถเกิดแถบดีเอ็นเอได้ 3 แบบ คือ แถบดีเอ็นเอเหมือนแม่ แถบดีเอ็นเอเหมือนพ่อ และแถบดีเอ็นเอที่ต่างจากพ่อและแม่ อาจเกิดเนื่องจากการผสมข้ามพันธุ์ ทำให้มีชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาดเล็กสอดแทรกเข้ามาหรือหายไปในบริเวณเดิมที่ไพรเมอร์เคยจับได้ ทำให้ขนาดของแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นเปลี่ยนแปลงไป (สุรินทร์, 2552)

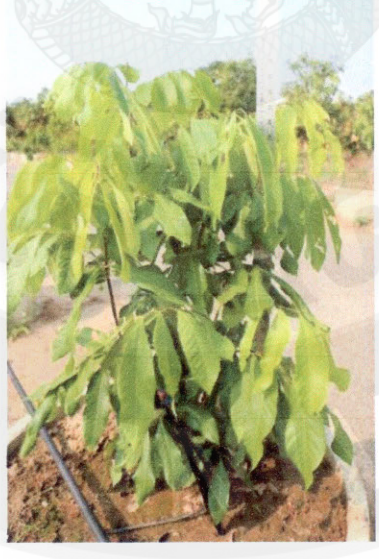
(a) (b)

ภาพที่ 20 ลำไยลูกผสม (กรอบกะทิ x ดอก้านแข็ง)F_1-1 (a) และ (กรอบกะทิ x ดอก้านแข็ง) F_1-2 (b) ที่คัดเลือก ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล

ภาพที่ 21 ลำไยลูกผสม (เบี้ยวเขียวเชียงใหม่ x ดอก้าน-แข็ง) F_1-3 ที่คัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุล

(a) (b) (c)

ภาพที่ 22 ลำไยลูกผสม (ดอ 27 x สีชมพู) F_1-1 (a), (ดอ 27 x สีชมพู) F_1-3 (b) และ (ดอ 27 x สีชมพู) F_1-4 (c) ที่คัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุล



ภาพที่ 23 ลำไยลูกผสม (สีชมพู-7 x ดอก้านแข็ง-8) F_1-4 ที่คัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุล

(a) (b)

ภาพที่ 24 ลำไยลูกผสม (ดอก้านแข็ง-6 x สีชมพู-8) F_1-1 (a) และ (ดอก้านแข็ง-7 x สีชมพู-12) F_1-5 (b) ที่คัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุล

กิจกรรมที่ 3 การศึกษาวิธีการย่นระยะการทดสอบลูกผสม (จิรนันท์ และคณะ) แยกเป็น 6 การทดลองย่อยดังนี้

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง กิจกรรมที่ 3

การทดลองที่ 3.1 การศึกษาวิธีการเปลี่ยนยอดต้นกล้าลำไยอายุต่างๆ

วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) มี 4 ซ้ำๆ ละ 5 ต้น การทดลองนี้ศึกษาการเปลี่ยนยอดต้นกล้าลำไยที่อายุต่างๆกัน โดยที่ทำการต่อกิ่งบนต้นตอลำไยต้นเล็กอายุต้นตอกับอายุยอดต้นกล้า ทำการเปลี่ยนยอดลำไยอายุต่างๆ โดยวิธีการเสียบลิ่ม 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 โดยบันทึกข้อมูล

ดังนี้ คือ ความสูงของต้น เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นเปอร์เซ็นต์การผลิใบ จำนวนครั้งการผลิใบอ่อน ความยาวยอดและ เส้นผ่าศูนย์กลางยอดใหม่เพื่อหาวิธีย่นระยะเวลาการออกดอกติดผลของต้นกล้าลูกผสมต่อไป

การทดลองที่ 3.2 ศึกษาการผ่านระยะเยาว์วัยของต้นกล้าลำไย

งานทดลองนี้เป็นงานทดลองที่พิสูจน์ว่าต้นกล้าลำไยไม่ออกดอกเมื่อชักนำการออกดอกด้วยสารโพแทสเซียมคลอเรต สาเหตุน่าจะเกิดจาก ต้นกล้ามี ระยะเยาว์วัย (juveniles) จึงนำยอดต้นกล้าลำไยที่ได้จากการเพาะเมล็ด และยอดที่ได้จากกิ่งตอนอายุ 5 ปีที่ให้ผลผลิตแล้วมาเสียบบนต้นตอต้นเดียวกัน โดยทำการวางแผนแบบ RCBD (Randomized Completely Block Design) มี 8 ซ้ำๆ ละ 1 ต้น เปลี่ยนยอดวันที่ 28 ก.ค. 56 ใช้ต้นตออายุ 2 ปี แล้วนำยอดลำไยระยะต้นกล้า (อายุ 1 ปี) และยอดต้นลำไยอายุ 5 ปีอายุยอด 45 วันหลังแตกใบ มาเปลี่ยนบนต้นตออายุ 2 ปี โดยเปลี่ยนบนต้นเดียวกัน โดยวิธีเสียบลิ่ม นำเข้าถุงพลาสติกอบนาน 45 วัน หลังจากนั้นนำมาเปลี่ยนในกระถางใหญ่ หลังจากผลิใบ 2 ชุด ให้สารโพแทสเซียมคลอเรตอัตรา 1 กรัมต่อต้นเพื่อชักนำการออกดอก

กรรมวิธีที่ 1 การเปลี่ยนยอดต้นกล้าอายุ 1 ปี

กรรมวิธีที่ 2 ยอดต้นลำไยอายุ 5 ปี

การบันทึกข้อมูล ดำเนินการหลังการเสียบยอด โดยบันทึกข้อมูลดังนี้ เปอร์เซ็นต์การเสียบติด เปอร์เซ็นต์การผลิใบ จำนวนครั้งการผลิใบอ่อน ความยาวยอด เส้นผ่าศูนย์กลางยอดใหม่หลังจากเสียบกิ่งแล้ว จะปล่อยให้ออกดอกตามธรรมชาติ และชักนำการออกดอกด้วยสารโพแทสเซียมคลอเรต

การทดลองที่ 3.3 การศึกษาการชักนำการออกดอกด้วยสารโพแทสเซียมคลอเรตกับต้นกล้าลำไยอายุต่างๆ

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) มี 10 ซ้ำๆ ละ 1 ต้น ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1 ระยะเวลาในการชักนำให้ออกดอก 12 เดือนหลังเพาะเมล็ด

กรรมวิธีที่ 2 ระยะเวลาในการชักนำให้ออกดอก 18 เดือนหลังเพาะเมล็ด

กรรมวิธีที่ 3 ระยะเวลาในการชักนำให้ออกดอก 24 เดือนหลังเพาะเมล็ด

กรรมวิธีที่ 4 ระยะเวลาในการชักนำให้ออกดอก 30 เดือนหลังเพาะเมล็ด

กรรมวิธีที่ 5 ระยะเวลาในการชักนำให้ออกดอก 36 เดือนหลังเพาะเมล็ด

การบันทึกการออกดอกหลังจากได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรต (หรือออกดอกตามธรรมชาติของชุดควบคุม) ความสมบูรณ์ของช่อดอกและจำนวนและสัดส่วนเพศดอก

การทดลองที่ 3.4 การศึกษาการให้สารพาโคบิวทราโซลร่วมกับสารโพแทสเซียมคลอเรตกับต้นกล้าลำไย

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) มี 10 ซ้ำๆ ละ 1 ต้น ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1 ให้สารโพแทสเซียมคลอเรตอัตรา 1 กรัมต่อต้น

กรรมวิธีที่ 2 ให้สารพาโคบิวทราโซลอัตรา 0.5 กรัมต่อต้น 15 วัน ก่อนให้สารโพแทสเซียมคลอเรต

โดยใช้ต้นกล้าลำไยอายุ 2 ปี ซึ่งมีรายงานว่าสามารถออกดอกได้ โดยการราดสารพาโคลบิวทราโซลก่อนการชักนำการออกดอกด้วยสารโพแทสเซียมคลอเรต การบันทึกข้อมูลหลังจากได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรต (หรือออกดอกตามธรรมชาติของชุดควบคุม) ความสมบูรณ์ของช่อดอกและจำนวนและสัดส่วนเพศดอก ซึ่งสิ่งทดลองและลักษณะการเก็บข้อมูลสามารถปรับปรุงได้ตามความเหมาะสม

การทดลองที่ 3.5 ศึกษาการแตกกิ่งของต้นกล้าลำไย

การศึกษานี้เพื่อเป็นการกระตุ้นให้ต้นลำไยมีการผลิใบอ่อน ได้เร็วขึ้นและมากขึ้น เป็นการเร่งการเจริญเติบโตของต้นกล้า นำต้นลำไยเพาะกล้าใส่ในกระถางขนาด 7 นิ้ว อายุ 1 ปี วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) มี 5 ซ้ำๆ ละ 1 ต้น ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1 ไม่ตัดยอด

กรรมวิธีที่ 2 เด็ดเฉพาะปลายยอด

กรรมวิธีที่ 3 ตัดปลายยอดลงมาประมาณ 15 ซม.

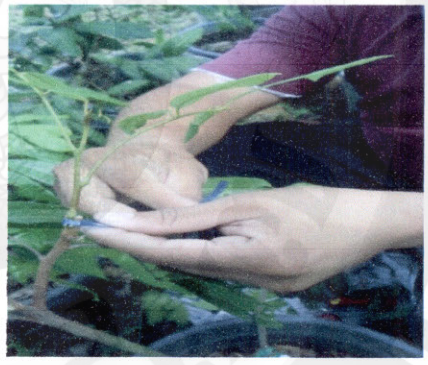
หลังจากนั้นทำการตัดยอด วันที่ 5 มิ.ย. 56 บันทึกข้อมูล ความสูงต้น (เซนติเมตร) ความกว้างทรงพุ่ม (เซนติเมตร) เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น (เซนติเมตร) ก่อนการศึกษา หลังจากนั้นบันทึกการผลิใบอ่อน หลังตัด 45 วันหลังผลิใบ โดยวัดจำนวนยอดต่อต้น ความยาวยอด เส้นผ่าศูนย์กลางยอด

การทดลองที่ 3.6 การศึกษาการนำยอดลูกผสมอายุ 1 ปี ต่อกิ่งบนต้นใหญ่ที่ให้ผลผลิตแล้ว

การศึกษานี้เพื่อเป็นการย่นระยะเวลาการออกดอกติดผลของลำไยที่ได้จากการเพาะเมล็ดให้ออกดอกติดผลเร็วยิ่งขึ้น โดยมีขั้นตอนและวิธีการดังนี้

1. ใช้ยอดลูกผสมอายุ 1 ปี ที่ใบอยู่ในระยะใบแก่อายุใบประมาณ 45 วัน
2. เตรียมต้นตอซึ่งเป็นกิ่งตอนปลูกในกระถางพลาสติกขนาด 15 นิ้ว เลี้ยงให้ต้นมีความสมบูรณ์
3. นำยอดลำไยลูกผสมเปลี่ยนบนลำไยที่ให้ผลผลิตแล้ว โดยวิธีเสียบลิ่มบนต้นใหญ่หรือเรียกว่า Top Working
4. นำต้นลำไยที่เสียบกิ่งใส่ถุงอบนานอย่างน้อย 45 วัน
5. หลังจากนั้นจึงเปิดถุงอบแล้วนำต้นลำไยออกจากถุงอบเลี้ยงให้ยอดผลิใบประมาณ 2 ชุดคาดว่าจะให้สารปลายเดือนเมษายน 2557

ภาพที่ 25 ระยะใบต้นกล้าลูกผสม



ภาพที่ 26 การเปลี่ยนยอดลำไยลูกผสม

ภาพที่ 27 นำเข้าถุงอบประมาณ 45 วัน

ผลการทดลองกิจกรรมที่ 3

3.1 การศึกษาวิธีการเปลี่ยนยอดต้นกล้าลำไยอายุต่างๆ

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาต่อเนื่องจาก ปี 2555 ได้รายงานพบว่าการเสียบยอดต้นกล้าลำไยบนต้อตอพันธุ์อีดอพบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเสียบติดและเปอร์เซ็นต์การผลิใบไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเสียบติดและเปอร์เซ็นต์การผลิใบได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนจำนวนวันที่ใช้ในการผลิใบอยู่ในช่วง 50.72-56.75 วัน ในขณะที่ขนาดของยอดใหม่ ทั้งความยาวยอดและเส้นผ่าศูนย์กลางยอดใหม่ไม่แตกต่างเช่นเดียวกัน (ตารางที่ 4) ส่วนในปี 2556 ได้มีการชักนำการออกดอกด้วยสารโพแทสเซียมคลอเรต อัตรา 1 กรัมต่อต้น พบว่า ลำไยที่เปลี่ยนยอดอายุต่างๆ ไม่มีการออกดอกในทุกกรรมวิธี (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 4 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

ตารางที่ 5 ผลของการให้สารโพแทสเซียมคลอเรต อายุต้นกล้าต่างๆกันบนต้นลำไยต้นใหญ่พันธุ์อีดอ

อายุยอดต้นกล้า	การออกดอก(%)
6 เดือน	0
8 เดือน	0
12 เดือน	0
F-test	-

ns= ไม่แตกต่างทางสถิติ

3.2 ศึกษาการผ่านระยะเยาว์วัยของต้นกล้าลำไย

การเสียบติด การผลิใบและการออกดอก

การเปลี่ยนยอดลำไยทั้งสองกรรมวิธีพบว่า มีการเสียบติด การผลิใบอ่อน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนขนาดยอดใหม่ ทั้งความยาวยอด และเส้นผ่าศูนย์กลางยอดใหม่ไม่แตกต่างเช่นเดียวกัน (ตารางที่ 3)

การออกดอกของต้นที่เปลี่ยนยอดในธรรมชาติ(ปี 2557) พบว่ายังไม่ออดอกทั้ง ต้นลำไยที่เปลี่ยนยอดอายุ 1 ปีและเปลี่ยนยอดลำไยต้นอายุ 5 ปี ส่วนการชักนำการออกดอกด้วยสารโพแทสเซียมคลอเรตกำลังดำเนินการคาดว่าจะรายงานในรายงานครั้งต่อไป (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ผลของการเปลี่ยนยอดระยะเยาว์วัย และยอดที่ผ่านระยะเยาว์วัย ต่อการเสียบติด การผลิใบ และขนาดยอดใหม่

กรรมวิธี	การเสียบติด(%)	การผลิใบ (%)	ขนาดยอดใหม่(ซม.)	
			ความยาวยอด	เส้นผ่าศูนย์กลางยอด
เปลี่ยนยอดลำไยระยะเยาว์วัย(อายุ 1 ปี)	100.0	100.0	3.1	2.23
เปลี่ยนยอดลำไยผ่านระยะเยาว์วัย (ยอดลำไยต้นอายุ 5 ปี)	100.0	100.0	4.5	4.12
F-test	ns	ns	ns	ns

ns= ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 7 ผลของการเปลี่ยนยอดระยะเยาว์วัย และยอดที่ให้ผลผลิตแล้ว ต่อการออกดอก

กรรมวิธี	การออกดอก(%)	
	ตามธรรมชาติ (2557)	ให้สาร $KClO_3$ 19 เม.ย. 57
เปลี่ยนยอดลำไยระยะเยาว์วัย(อายุ1ปี)	-	
เปลี่ยนยอดลำไยผ่านระยะเยาว์วัย(ยอดลำไยต้นอายุ 5 ปี)	-	กำลังเก็บข้อมูล
F-test	-	

ภาพที่ 28 การต่อกิ่งยอดลำไยระยะเยาว์วัยและ ยอดที่ผ่านระยะเยาว์วัยแล้ว

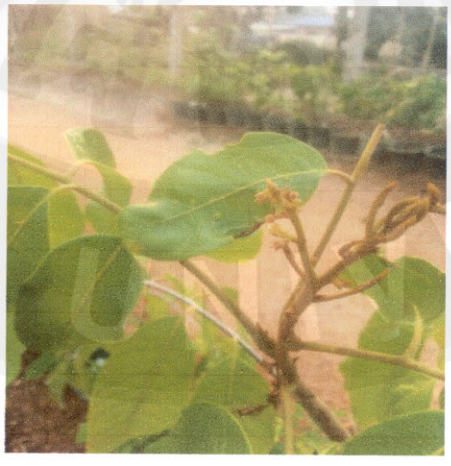
การทดลองที่ 3.3 การศึกษาการชักนำการออกดอกด้วยสารโพแทสเซียมคลอเรตกับต้นกล้าลำไยอายุต่างๆ

จากผลการศึกษาการให้สารโพแทสเซียมคลอเรตอัตรา 1 กรัมต่อต้น กับต้นกล้าลำไยอายุ 12 ,18,24,30 เดือนพบว่าลำไยทุกอายุต้นยังไม่มีการออกดอก แต่เมื่อต้นลำไยเข้าสู่ฤดูหนาว

(กุมภาพันธ์ปี 2557) ลำไยจะมีอายุครบ 36 เดือนกลับพบลำไยมีการออกดอกตามธรรมชาติ แต่เป็นการออกดอกเพียง 1 ต้นเท่านั้นและเป็นต้นที่มีการเจริญเติบโตมากกว่าต้นอื่น ๆ (ภาพที่ 26)

ตารางที่ 5 การออกดอกของลำไยต้นกล้าอายุต่างๆที่ชักนำการออกดอกด้วยสารโพแทสเซียมคลอเรต

กรรมวิธี	**การออกดอก(%)**
กรรมวิธีที่ 1 ระยะเวลาในการชักนำให้ออกดอก 12 เดือนหลังเพาะเมล็ด	**0**
กรรมวิธีที่ 2 ระยะเวลาในการชักนำให้ออกดอก 18 เดือนหลังเพาะเมล็ด	**0**
กรรมวิธีที่ 3 ระยะเวลาในการชักนำให้ออกดอก 24 เดือนหลังเพาะเมล็ด	**0**
กรรมวิธีที่ 4 ระยะเวลาในการชักนำให้ออกดอก 30 เดือนหลังเพาะเมล็ด	**0**
กรรมวิธีที่ 5 ระยะเวลาในการชักนำให้ออกดอก 36 เดือนหลังเพาะเมล็ด	**กำลังดำเนินการ**
F-test	-



ภาพที่ 29 การออกดอกของต้นลำไยที่เพาะเมล็ด อายุต้นประมาณ 3 ปี

การทดลองที่ 3.4 การศึกษาการให้สารพาโคบิวทราโซลร่วมกับสารโพแทสเซียมคลอเรตกับต้นกล้าลำไยที่มีผลต่อการออกดอก

จากการศึกษาการให้สารโพแทสเซียมคลอเรตร่วมกับการให้สารพาโคลบิวทราโซลกับต้นกล้าลำไยอายุ 2 ปี พบว่า ไม่สามารถชักนำให้ต้นกล้าลำไยออกดอกได้ทั้งสองกรรมวิธี (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 ผลของการให้สารพาโคบิวทราโซลร่วมกับสารโพแทสเซียมคลอเรต กับต้นกล้าลำไยที่มีผลต่อการออกดอก

กรรมวิธี	การออกดอก(%)
กรรมวิธีที่ 1 ให้สารโพแทสเซียมคลอเรตอัตรา 1 กรัมต่อต้น	0
กรรมวิธีที่ 2 ให้สารพาโคบิวทราโซลอัตรา 0.5 กรัมต่อต้น 15 วันร่วมกับ $KClO_3$ 1 กรัมต่อต้น	0
F-test	-

การทดลองที่ 3.5 ศึกษาการแตกกิ่งของต้นกล้าลำไย

จากการศึกษาการตัดปลายยอดลำไยเพื่อกระตุ้นการแตกกิ่งแขนง พบว่าลำไยมีความกว้างทรงพุ่มและความสูงของต้นไม่แตกต่างทางสถิติในระยะก่อนตัดยอดและระยะผลิใบชุดที่ ในขณะที่จำนวนยอด/กิ่งต่อต้นก่อนศึกษามีเพียงกรรมวิธีละ 1 ยอดเท่านั้น

ส่วนหลังตัดปลายยอดพบว่าการตัดปลายยอดลึกลงมา 15 เซนติเมตร มีจำนวนกิ่งแขนงเกิดขึ้น เฉลี่ยถึง 5 ยอดต่อต้น ส่วนกรรมวิธีเด็ดเฉพาะปลายยอดให้จำนวนกิ่งแขนง 2.6 ยอดต่อต้น ต้นที่ไม่ตัดยอดเป็นการผลิใบอ่อนเพียง 1 ยอดเท่านั้น (ตารางที่ 11)

ตารางที่ 10 ผลของการตัดปลายยอดต่อความสูงความกว้างทรงพุ่ม ในระยะก่อนตัดยอด และระยะใบแก่ชุดที่ 1 ของต้นกล้าลำไย

กรรมวิธี	ความสูงต้น(ซม.)		ความกว้างทรงพุ่ม(ซม.)	
	ก่อนตัดยอด	ระยะผลิใบชุดที่ 1	ก่อนตัดยอด	ระยะผลิใบชุดที่ 1
ไม่ตัดยอด	77.6	81.1	36.0	40.5
เด็ดเฉพาะปลายยอด	77.2	82.23	35.2	39.4
ตัดปลายยอดลงมาประมาณ 15 ซม.	75.4	77.6	34.6	37.4
F-test	ns	ns	ns	ns

ns= ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 11 ผลของการตัดปลายยอดต่อจำนวนใบประกอบ จำนวนยอดต่อต้น และเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น ในระยะก่อนตัดยอด ของต้นกล้าลำไย

กรรมวิธี	ก่อนตัด		หลังตัด			
	จำนวนกิ่งยอด/ต้น	เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น (มม.)	จำนวนกิ่งยอด/ต้น	เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น (มม.)	ความยาวยอด (ซม.)	เส้นผ่าศูนย์ กลางยอด(มม.)
ไม่ตัดยอด	1.0	9.1	1.0c	9.9	2.25b	2.13
เด็ดเฉพาะปลายยอด	1.0	8.1	2.6b	9.5	4.16a	3.44
ตัดปลายยอดลงมาประมาณ 15 ซม.	1.0	7.9	5.2a	8.7	5.46a	3.21
F-test	ns	ns	*	ns	*	ns

ภาพที่ 30 การตัดปลายยอดของต้นลำไย(ซ้าย)และหลังตัดประมาณ 1 เดือนลำไยแตกกิ่งด้านข้าง (ขาว)

การทดลองที่ 3.6 การศึกษาการนำยอดลูกผสมอายุ 1 ปี ต่อกิ่งบนต้นใหญ่ที่ให้ผลผลิตแล้ว

งานทดลองนี้ไม่ได้มีการวางแผนเป็นแผนการทดลองชัดเจน เนื่องจากจำนวนยอดของลำไยที่เป็นลูกผสม ขณะที่นำยอดมาเสียบอายุต้นกล้าประมาณ 1 ปี หลังจากนั้นได้ทำการตัดยอดต้นกล้าจำนวน 9 คู่ผสม แต่เสียบติดเพียง 4 คู่ผสม 6 ยอด ได้แก่

1. สีชมพู-7 x ดอก้านแข็ง-8 F1-4 1 ยอด
2. เบี้ยวเขียวเชียงใหม่-6 x ดอก้านแข็ง-7 F1-3 2 ยอด
3. ดอ 27-1 xชมพู -12 F1-3 1 ยอด
4. ดอก้านแข็ง-6xชมพู-8 F1-1 2 ยอ

ขณะนี้ทำการเลี้ยงยอดให้เจริญเติบโตและผลิใบประมาณ 2 ชุดจะทดลองชักนำการออกดอกด้วยสารโพแทสเซียมคลอเรต อัตรา 0.5 กรัมต่อต้น หากได้ผลประการใดจะรายงานในรายงานฉบับสมบูรณ์ต่อไป

วิจารณ์และสรุปผลการวิจัย

กิจกรรมที่ 1 การสร้างแปลงรวบรวมพันธุ์ลำไยและการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์

แปลงรวบรวมพันธุ์ลำไยเมื่อเริ่มต้นมี 1 แปลงมีพันธุ์รวบรวมไว้ 20 สายพันธุ์ เมื่อได้ดำเนินการตามโครงการวิจัย ได้พัฒนาแหล่งรวบรวมพันธุ์ในมหาวิทยาลัย จำนวน 5 แปลง มีพันธุ์ลำไยรวบรวมไว้จำนวน 32 สายพันธุ์ และมีเครือข่ายรวบรวมพันธุ์ภายนอกมหาวิทยาลัยจำนวนอย่างน้อย 3 แหล่ง ทำให้สามารถอนุรักษ์แหล่งพันธุ์ลำไยของประเทศไว้ได้ส่วนหนึ่ง จากข้อมูลลักษณะประจำพันธุ์ที่ได้ สามารถกำหนดและวางรูปแบบหนังสือพันธุ์ลำไย ที่จะพิมพ์ในอนาคตได้ไม่ยากนัก

การศึกษาเพื่อทดสอบความแตกต่างของสายพันธุ์ที่แต่เดิมได้ทำการศึกษาในระดับดีเอ็นเอ โดยใช้เทคนิค RAPD และนำข้อมูลที่ได้มาทำ phytogenic tree (รายงานผลการศึกษาวิจัยปี 2555) เพื่อดูความเหมือนหรือใกล้ชิดของสายพันธุ์ แต่ในอนาคต นักวิจัยวางแผนจะดำเนินการคัดเลือกโดยใช้ sequence คาดว่าจะสามารถรายงานผลได้ในปีที่ 3 ของการดำเนินงานตามแผนวิจัย

แปลงรวบรวมพันธุ์ลำไยดังกล่าว อาจจะยังไม่สมบูรณ์แบบ ในการดำเนินงานต่อไป จำเป็นต้องมีการจัดเก็บข้อมูลอย่างเป็นระบบและแลกเปลี่ยนสายพันธุ์กับแหล่งรวบรวมพันธุ์แหล่งอื่นๆ ต่อไปเพื่อความยั่งยืนในการรักษาเชื้อพันธุ์ลำไยต่อไป

กิจกรรมที่ 2 การผสมพันธุ์ลำไยเพื่อสร้างลูกผสมและการตรวจสอบลูกผสมที่ได้

1. คู่ผสมของพันธุ์ (กรอบกะทิ x ดอก้านแข็ง) พบว่าไพรเมอร์ RAPD จำนวน 4 ไพรเมอร์ ได้แก่ A18, B01, B11 และ B17 สามารถจำแนกความเป็นลูกผสมจำนวน 2 ต้นได้

2. คู่ผสมของพันธุ์ (เบี้ยวเขียวเชียงใหม่ x ดอก้านแข็ง) พบว่า ไพรเมอร์ RAPD จำนวน 5 ไพรเมอร์ ได้แก่ A15, A18 และ A19 สามารถจำแนกความเป็นลูกผสมจำนวน 1 ต้นได้ พบว่า ลูกผสม (เบี้ยวเขียวเชียงใหม่ x ดอก้านแข็ง) F_1-3 มีแถบดีเอ็นเอเหมือนพันธุ์พ่อจากทั้ง 3 ไพรเมอร์

3. คู่ผสมของพันธุ์ (ดอ 27 x สีชมพู) พบว่าไพรเมอร์ RAPD จำนวน 2 ไพรเมอร์ ได้แก่ N04 และ I 14 สามารถจำแนกความเป็นลูกผสมจำนวน 3 ต้นได้ โดยไพรเมอร์ N04 ใช้ในการจำแนกลูกผสม (ดอ 27 x สีชมพู) F_1-1 และ (ดอ 27 x สีชมพู) F_1-4 พบว่า มีแถบดีเอ็นเอเหมือนลำไยพันธุ์แม่ แต่มีแถบดีเอ็นเอขนาด 400 คู่เบสเพิ่มมาอีกหนึ่งแถบซึ่งไม่เหมือนทั้งพันธุ์แม่และพ่อ ในขณะที่ลูกผสม (ดอ 27 x สีชมพู) F_1-3 มีแถบดีเอ็นเอขนาด 400 คู่เบส เช่นเดียวกัน และมีแถบดีเอ็นเอเหมือนพันธุ์พ่อ คือ ขนาด 600 คู่เบส และไพรเมอร์ I14 พบว่า ลูกผสม (ดอ 27 x สีชมพู) F_1-1

และ (ดอ 27 x สีชมพู)F_1-4 มีแถบดีเอ็นเอเหมือนลำไยพันธุ์พ่อ ในขณะที่ลูกผสม (ดอ 27 x สีชมพู) F_1-3 มีแถบดีเอ็นเอเพียงแถบเดียวเหมือนกับพันธุ์พ่อ

4. คู่ผสมของพันธุ์ (สีชมพู x ดอก้านแข็ง)จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของลำไยลูกผสมจำนวน 7 ต้น โดยใช้ไพรเมอร์ชนิด RAPD คือ ไพรเมอร์ N08 พบว่า ลูกผสม 1 ต้น มีแถบดีเอ็นเอเหมือนพ่อ คือ (สีชมพู-7 x ดอก้านแข็ง-8) F_1-4

5. คู่ผสมของพันธุ์ (ดอก้านแข็ง x สีชมพู) จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของลำไยลูกผสมจำนวน 4 ต้น พบว่า ลูกผสม 2 ต้น โดยใช้ไพรเมอร์ชนิด RAPD คือ ไพรเมอร์ N08 และ N04 พบว่า (ดอก้านแข็ง-6 x สีชมพู-8)F_1-1 มีแถบดีเอ็นเอเหมือนพ่อในไพรเมอร์ N08 และ (ดอก้านแข็ง-7 x สีชมพู-12)F_1-5 มีแถบดีเอ็นเอเหมือนพ่อ ในไพรเมอร์ N04

กิจกรรมที่ 3 การศึกษาวิธีการย่นระยะการทดสอบลูกผสม

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาการย่นระยะเวลาการออกดอกติดผลของต้นกล้าลำไยหลายๆ กรรมวิธียังไม่มีวิธีการใดที่สามารถชักนำให้ลำไยที่เพาะจากเมล็ดออกดอกได้ภายในระยะเวลาอันรวดเร็ว ซึ่งอาจเกิดจากต้นลำไยเพาะเมล็ดยังอยู่ในระยะเยาว์วัย หรือ juvenile โดยในประเทศจีนมีรายงานการปรับปรุงพันธุ์ลำไยโดยการผสมข้าม พบว่า ต้นกล้าลูกผสมเริ่มออกดอกตามธรรมชาติเมื่อมีอายุต้น 2.5 ปี และ ต้นที่ออกดอกช้าที่สุดมีอายุ 5.5 ปี ขึ้นอยู่กับคู่ผสมแต่ละคู่จะออกดอกเมื่ออายุต้นเท่าใด (Liu C.J et al., 2010) ในขณะที่ต้นกล้าลำไยที่ศึกษาออกดอกต้นแรกเมื่อมีอายุ 3 ปี โดย อย่างไรก็ตามในประเทศเวียตนามได้ใช้วิธีการเร่งการเจริญเติบโตของต้นกล้าโดยการปลูกต้นที่ได้จากการเพาะด้วยเมล็ดลงดิน แล้วทำการโน้มกิ่ง และตัดแต่งกิ่งบ่อยๆ เพื่อให้ต้นลำไยมีการแตกใบใหม่ซึ่งการแตกใบใหม่นั้นก็หมายความว่าลำไยมีการเจริญทางกิ่งใบมากขึ้น (พาวิน มะโนชัย, ติดต่อส่วนตัว) ได้ สำหรับในประเทศไทยมีศึกษาการปรับปรุงพันธุ์ลำไยที่มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์จำนวน 10 คู่ผสม ใช้เวลาการออกดอกติดผลประมาณ 5 ปี จึงทำการศึกษาคุณภาพผลลำไย (ฉลองชัยและคณะ,2533) การศึกษาทุกงานทดลองมุ่งหวังที่ย่นระยะเวลาการออกดอกติดผลของลำไยลูกผสมให้เร็วยิ่งขึ้น แต่ก็ยังไม่มีวิธีใดที่สามารถช่วยย่นระยะเวลาการออกดอกของลำไยได้ อย่างไรก็ตาม จะต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาวิธีย่นระยะเวลาการออกดอกติดผลของลำไยลูกผสม แม้จะยังไม่สามารถหาวิธีที่ชัดเจนได้ในปัจจุบัน แต่ผลการศึกษาในเบื้องต้นพบว่า การตัดยอดต้นกล้าลำไยออกโดยตัดต่ำลงมาประมาณ 15 เซนติเมตร จะช่วยกระตุ้นการแตกตาข้าง และสร้างยอดใหม่ได้มากขึ้น ซึ่งอาจจะเป็นวิธีการหนึ่งที่จะสามารถเร่งระยะเยาว์วัยของต้นลำไยได้ นอกจากนี้ยังพบว่า ต้นกล้าลำไยอายุ 3 ปีที่เพาะจากเมล็ด ที่สมบูรณ์และใหญ่กว่าเพื่อน เมื่อได้รับสภาพอากาศที่หนาวเย็นเพียงพอ (ปลายปี 2556) จะสามารถแทงช่อดอกได้ในขณะที่ต้นอื่นๆ (มีขนาดเล็กกว่า) ไม่สามารถแทงช่อดอกได้ ดังนั้นความอุดมสมบูรณ์ของต้นจึงเป็นปัจจัยหนึ่งที่จะช่วงเร่งระยะเยาว์วัยของต้นลำไย

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. 52 หน้า.

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

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

ฉลองชัย แบบประเสริฐ วัฒนา เสถียรสวัสดิ์ สมเกียรติ จันทร์กระจ่าง ลั่น อุตรเดียนต์. 2533. พันธุ์และการปรับปรุงพันธุ์. คลังความรู้ดิจิทัล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. [ระบบออนไลน์] (19 เม.ย. 2557).

ทวีสิน แก้วศรีนวม. 2554. การปรับปรุงพันธุ์ลำไยโดยการผสมพันธุ์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 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.**วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต สาขาเกษตรศาสตร์(สาขาพืชสวน) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 153 หน้า

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

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

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2552. **เครื่องหมายดีเอ็นเอ:จากพื้นฐานสู่การประยุกต์.** กรุงเทพ:สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 269 น.

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, JingJiang, 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.

Liu, C.J., M.H. Fan, L.S. Zeng, X. Su, Z.C. Su, J.X. Fu, Y.S. Guo, T.L. Huang, C.M. Liu, S.S. Huang. 2010. A Preliminary Study on Longan Artificial Crossing and Several Traits of the hybrid populations. Acta Horticulturae 863:161-168.

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, Nadtayam 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.

ภาคผนวก

วิธีการสกัดดีเอ็นเอ

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยเทคนิค PCR

และการวิเคราะห์ผล PCR ด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซีส

1 วิธีการสกัดดีเอ็นเอ

1 นำใบลำไยใส่ในโกร่ง แล้วเติมไนโตรเจนเหลว จากนั้นบดใบลำไยให้ละเอียด

2 เติมสารสะลาย mCTAB ซึ่งมี 1% (v/v) 2-mercaptoethanol ปริมาตร 500 ไมโครลิตร หรือปรับปริมาตรตามความเหมาะสมของปริมาณใบที่บดได้ แล้วผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่อง vortex

3 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที โดยผสมให้เข้ากันทุก 10 และ 20 นาที

4 ปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิห้อง ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที

5 ย้ายส่วนใสใส่ในหลอดใหม่ โดยห้ามเอาตะกอนออกมา จากนั้น เติมเอนไซม์ RNase A ความเข้มข้น 10 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส อย่างน้อยเป็นเวลา 30 นาที

6 เติมคลอโรฟอร์ม ปริมาตร 500 ไมโครลิตร หรือ 1 เท่าของปริมาตรสารละลาย mCTAB แล้วทำการ vortex เล็กน้อย

7 ปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิห้อง ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วย้ายชั้นน้ำด้านบนใส่ในหลอดใหม่ (ทำซ้ำในข้อที่ 2.1.6-2.1.7 จนกระทั่งชั้นของโปรตีนเหลือน้อยที่สุด) ซึ่งการทำซ้ำที่ 2 ปริมาตรของคลอโรฟอร์มที่ใช้จะเท่ากับปริมาตรของชั้นน้ำด้านบนที่ย้ายใส่หลอด

8 เติม 3 โมล่าร์ sodium acetate, pH 5.2ปริมาตร 1/10 เท่า แล้วเติมเอทานอลบริสุทธิ์เย็น ปริมาตร 2 เท่าของสารละลาย (จะสังเกตเห็นตะกอนสีขาวขุ่น) แล้วผสมให้เข้ากัน

9 ปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที

10 เทเอทานอลทิ้ง แล้วเติมเอทานอลเย็น ความเข้มข้น 75 เปอร์เซ็นต์ เพื่อล้างตะกอน (ล้างตะกอน จำนวน 2 ครั้ง)

11 ปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที

12 ตากตะกอนดีเอ็นเอให้แห้ง แล้วละลายดีเอ็นเอกลับด้วย 10 มิลลิโมล่าร์ Tris-HCl, pH 8.0 ปริมาตร 30 ไมโครลิตร (ถ้ายังมีความหนืดของสารละลายมาก ให้เติม10 มิลลิโมล่าร์ Tris-HCl เพิ่ม)

2 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นดีด้วยเทคนิค PCR

โดยใช้ไพรเมอร์ชนิด RAPD และ SCAR ซึ่งในการเพิ่มปริมาณแต่ละครั้งจะต้องนำดีเอ็นเอของพ่อแม่มาเปรียบเทียบด้วย มีวิธีการดังต่อไปนี้

- นำตัวอย่างดีเอ็นเอที่สกัดได้มาทำการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพร-เมอร์ RAPD และ SCAR แล้วนำไปทำการทดลองดังนี้

การเตรียมปฏิกิริยา PCR

- ดีเอ็นเอ (50 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร)	4 ไมโครลิตร
- บัฟเฟอร์สำเร็จรูป GeNei™ Red Dye PCR Master Mix	10 ไมโครลิตร
- ไพรเมอร์ RAPD/ SCAR (5 pmole/μl)	1 ไมโครลิตร
- น้ำกลั่น	5 ไมโครลิตร
รวม	20 ไมโครลิตร

จากนั้นนำไปใส่ในเครื่อง PCR โดยใช้เวลาและอุณหภูมิ ดังนี้

ขั้นที่ 1	94 องศาเซลเซียส 4 นาที
ขั้นที่ 2	94 องศาเซลเซียส 1 นาที (สำหรับ denature)
	37 องศาเซลเซียส 1 นาที (สำหรับ annealing)
	72 องศาเซลเซียส 1.5 นาที (สำหรับ primer extension)
	ทำซ้ำ 44 รอบ
ขั้นที่ 3	72 องศาเซลเซียส 5 นาที

3 การวิเคราะห์ผล PCR ด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซีส

หลังจากได้ผล PCR แล้วจึงนำผลที่ได้ไปตรวจสอบโดยใช้วิธีอิเล็กโตรโฟรีซีส มีขั้นตอนดังนี้

- เตรียมถาดและหวีสำหรับเทเจลในแนวราบให้เรียบร้อย
- ชั่งผงอะกาโรส 1.5 กรัม เติมบัฟเฟอร์ 1X TBE ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
- หลอมอะกาโรสโดยใช้ไมโครเวฟ เขย่าเป็นครั้งคราวให้อะกาโรสละลายจนหมด
- ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นลงที่อุณหภูมิประมาณ 50-55 องศาเซลเซียส แล้วจึงเติมสีย้อมดีเอ็นเอ SYBR® Safe DNA gel stain ลงไปเขย่าให้เข้ากับเนื้อเจล จากนั้นเทลงในถาดที่เตรียมไว้ให้เจลหนาประมาณ 5 มิลลิเมตร เสียบหวีลง เพื่อทำให้เกิดร่องสำหรับหยอดตัวอย่างดีเอ็นเอ ปล่อยให้เจลแข็งตัวที่อุณหภูมิห้อง

- เมื่อเจลแข็งตัวแล้วดึงหวีออก นำเจลใส่ลงในเครื่องอิเล็กโตรโฟรีซีส ใส่บัฟเฟอร์ 1X TBE ลงให้ท่วมเจล ประมาณ 2-3 มิลลิเมตร

- ใส่ดีเอ็นเอมาตรฐาน (DNA marker) ลงในช่องแรกของเจล

- ใส่ผลผลิต PCR 20 ไมโครลิตร ลงไปในช่องบนเจลที่เตรียมไว้

- ต่อกระแสไฟฟ้าเข้ากับเครื่องอิเล็กโตรโฟรีซีส แล้วเปิดกระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ เวลาประมาณ 30 นาที

- นำเจลส่องดูใต้แสงอัลตร้าไวโอเลต แล้วถ่ายภาพเก็บไว้ เพื่อนำไปวิเคราะห์