

การจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่โดยวิธีฐานวิทยาอิเล็กทรอนิกส์ และเซลล์พันธุศาสตร์

Identification of Lychee Varieties by Morphological, Electrophoretic and Cytogenetic Methods

ชินวัฒน์ ยั้ววัฒนพันธ์¹ และ เกศิณี ระมิงค์วงศ์²

Chinawat Yapwattanaphun¹ and Kesinee Ramingwong²

Abstract : Identification was carried out on nineteen different varieties of lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) from field germplasm at Chiang Rai Horticultural Research Centre. The variety names are Kalok Bai Tao, Kalok Bai Yao, Kalok Bai Oa, Kwang Jao, Kim Jeng, Kom, Kom Lum Jeak, Juck Kra Put, Jean Lek, Jean Yai, Brewster, Luk Lai, Sa Laek Tong, Sam Pao Kaew, Haew, O-Hia, Hong Huay¹, Hong Huay² and Hakip. Morphological method was used to examine both quantitative and qualitative characters of leaves, flowers, fruits and seeds of each variety. Differences among varieties were shown in keys to varieties using leaf colour, leaf shape, leaf base, leaf apex and leaf margin. Some specific characteristics were found in some varieties i.e. obtuse leaf apex in Kim Jeng; smallest leaf and fruit size in Kom and largest fruits and seeds in Juck Kra Put.

Electrophoretic method was used to determine isozyme patterns from mature leaf isozyme extraction, using 0.05 M Tris-HCl buffer, pH 8.4 (150 mM NaCl, 10 mM cysteine, 1 mM ascorbic acid, 1 mM CaCl₂, 1 mM Na₂-EDTA, 2% nicotine). Polyacrylamide vertical slab gel electrophoresis at 8.5 per cent and 10 per cent were used for peroxidase and acid phosphatase, respectively. Banding patterns from zymograms showed that the nineteen varieties can be classified into fourteen groups by peroxidase. Those with similar banding patterns were separated by acid phosphatase. Cytogenetic method was used to investigate root tips of 0.5-1.0 cm long. Mitotic tissues were fixed at approximately 9 a.m.

¹ ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand.

with paradichlorob enzene, followed by HCl hydrolysis and carbol fuchsin and lacto-propionic orcein staining. All varieties possess the same chromosome number of $2n=30$. An individual variety can then be identified by the chromosome size and shape.

บทคัดย่อ : ทำการศึกษาการจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่ที่ปลูกในแปลงรวบรวมพันธุ์ของศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย จำนวน 19 พันธุ์ ได้แก่ กะโหลกใบเตา กะโหลกใบยาว กะโหลกใบอ้อ กวางเจา กิมเจง ค่อม ค่อมลำเจียก จักรพรรดิ จีนเล็ก จีนใหญ่ บรวิสเตอร์ ลูกลาย สาทรงทอง ลำเภาแก้ว แห้ว โอวเฮียะ ฮงฮวย1 ฮงฮวย2 และ Hakip พบว่าการจำแนกพันธุ์โดยวิธีพื้นฐานวิทยา ด้วยการสังเกตและวัดค่าทางปริมาณและคุณภาพ ของโครงสร้าง ใบ ดอก ผล และเมล็ด ของลิ้นจี่แต่ละพันธุ์ สามารถจัดทำรูปวิธานเพื่อจำแนกพันธุ์ โดยใช้ลักษณะของ สีใบ รูปร่างใบ ฐานใบ ปลายใบ และขอบใบ และสามารถจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่บางพันธุ์ ที่มีลักษณะเฉพาะประจำพันธุ์ได้ เช่น ลิ้นจี่พันธุ์กิมเจง มีปลายใบมน พันธุ์ค่อม มีใบและผลขนาดเล็กที่สุด พันธุ์จักรพรรดิ มีผลและเมล็ดขนาดใหญ่ที่สุด

การจำแนกพันธุ์โดยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส ด้วยการสกัดไอโซไซม์จากใบแก่ของลิ้นจี่ ด้วยสารสกัด 0.05 M Tris-HCl buffer, pH 8.4 (150 mM NaCl, 10 mM cysteine, 1 mM ascorbic acid, 1 mM CaCl_2 , 1 mM $\text{Na}_2\text{-EDTA}$, 2% nicotine) โดยใช้โพธิ์อะคริลามัดเจลเข้มข้น 8.5 เปอร์เซ็นต์ สำหรับไอโซไซม์ peroxidase และ 10 เปอร์เซ็นต์ สำหรับไอโซไซม์ acid phosphatase จากการวิเคราะห์รูปแบบของแถบสีจากแผนภาพ zymogram ด้วยเอนไซม์ peroxidase พบว่าลิ้นจี่ 19 พันธุ์ สามารถจำแนกออกได้เป็น 14 กลุ่ม และเมื่อนำลิ้นจี่ที่อยู่ในกลุ่มเดียวกัน ไปจำแนกด้วยเอนไซม์ acid phosphatase สามารถจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่ออกจากกันได้ทั้งหมด

การจำแนกพันธุ์โดยวิธีเซลล์พันธุศาสตร์ ใช้ส่วนปลายของรากที่งอกใหม่ ความยาว 0.5-1.0 เซนติเมตร ในเวลาประมาณ 9.00 นาฬิกา หยดวงซีพของเซลล์ด้วยสารละลาย paradichlorobenzene ย่อยแยกเซลล์ด้วยกรดไฮโดรคลอริก และย้อมสีด้วย carbol fuchsin และ lacto-propionic orcein ศึกษาโครโมโซมในระยะเมทาเฟส พบว่าลิ้นจี่ทุกพันธุ์มีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน คือ $2n = 30$ และสามารถจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่จากความแตกต่างของขนาดและรูปร่างโครโมโซม

Index words : ลิ้นจี่ พื้นฐานวิทยา อิเล็กโทรโฟรีซิส เซลล์พันธุศาสตร์

Lychee , Morphology , Electrophoresis , Cytogenetics

บทนำ

ลิ้นจี่เป็นไม้ผลที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ทางภาคใต้ของสาธารณรัฐประชาชนจีน (Subhadrabandhu, 1990) มีรสชาติหวานและมีกลิ่นหอม ชวนรับประทาน ในรูปของผลไม้สด และเป็นผลไม้ที่เหมาะสมแก่การบรรจุกระป๋องเพราะสามารถถนอมเมล็ดได้ง่าย (ศูนย์สถิติการเกษตร, 2529) เนื่องจากลิ้นจี่มีปลูกแพร่หลายทั้งในเขตร้อนและเขตกึ่งร้อน ทำให้ยาก

แก่การพิสูจน์ชื่อพันธุ์ นอกจากนั้นในแต่ละท้องถิ่นที่ปลูกมีการเปลี่ยนชื่อพันธุ์ จึงเกิดความสับสนในการเรียกชื่อพันธุ์ของลิ้นจี่ ลิ้นจี่พันธุ์เดียวกันอาจจะมีชื่อแตกต่างกันในประเทศที่ต่างกัน และพันธุ์ที่ต่างกันก็อาจจะมีชื่อเดียวกัน (Degani *et al.*, 1995) เช่นในประเทศไทย ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวยหรือพันธุ์หมอม่อมมีชื่อเรียกในสาธารณรัฐประชาชนจีนว่า Taiso มีชื่อเรียกว่า Kwai Mi และ Charley Tong ในรัฐฮาวายของสหรัฐอเมริกาและมีชื่อเรียกว่า

Kwai Mi ในรัฐควีนสแลนด์ของประเทศออสเตรเลีย
ในขณะที่ประเทศแอฟริกาใต้เรียกว่า Mauritius
(Aradhya *et al.*, 1995)

ดังนั้นงานวิจัยครั้งนี้จึงพยายามนำวิธีการ
และเทคนิคของการจำแนกพันธุ์โดยฐานวิทยา
อเล็กโทรโฟรีซิสและเซลล์พันธุศาสตร์ มาใช้เป็น
แนวทาง เพื่อจำแนกและแสดงความสัมพันธ์
ระหว่างลินจีพันธุ์ต่างๆ เพื่อเป็นประโยชน์ต่องาน
ทางด้านอนุกรมวิธานและการปรับปรุงพันธุ์ลินจี

อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการจำแนกพันธุ์ลินจี 19 พันธุ์ ได้แก่
กะโหลกใบเตา กะโหลกใบยาว กะโหลกใบอ้อ
กวางเจา กิมเจง ค่อม ค่อมลำเจียก จักรพรรดิ จินเล็ก
จินใหญ่ บรวิสเตอร์ ลูกลาย สาแหรกทอง
สำเภาก้าว แห้ว โอวเฮียะ ฮงฮวย1 ฮงฮวย2 และ
Hakip จากศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย จังหวัด
เชียงราย

1. การจำแนกพันธุ์โดยวิธีฐานวิทยา
ทำการเก็บตัวอย่าง ใบ ดอก ผล และเมล็ดของลินจี
บันทึกข้อมูลทางฐานวิทยาตามวิธีการของ
Ramingwong and Chiewsilp (1994) ที่ทำกับลำไย
และวิธีการของ Batten (1984) ที่ทำกับลินจี โดยแบ่ง
ข้อมูลออกเป็น 2 ส่วน ได้แก่ ข้อมูลทางด้าน คุณภาพ
และ ข้อมูลทางด้านปริมาณ

2. การจำแนกพันธุ์โดยวิธีอเล็กโทรโฟรีซิส
นำใบแก่ของลินจี 1 กรัม มาบดในโกร่งที่มี
ไนโตรเจนเหลว ใส่ extraction buffer 3 มล. นำไป
หมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 5,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ

4 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ดูด supernatant ที่ได้
ออกมาประกอบชุดอเล็กโทรโฟรีซิส ใส่เจลที่เตรียม
ไว้รอให้เจลเกิด polymerization แล้วหยอดตัวอย่าง
ลงบนเจล ผ่านกระแสไฟฟ้า โดยควบคุมอุณหภูมิ 4
องศาเซลเซียส จนวนระดับของ marker อยู่ห่างจาก
ขอบล่างของแผ่นเจลประมาณ 1 นิ้ว หลังจากนั้นนำ
แผ่นเจลไปย้อมสีโดยทำปฏิกิริยา กับ substrate
แต่ละตัว เขียน zymogram เพื่อเปรียบเทียบความ
แตกต่างของพันธุ์ลินจีที่นำมาทดลอง

3. การจำแนกพันธุ์โดยวิธีเซลล์พันธุ-
ศาสตร์ เก็บตัวอย่างปลายรากกิ่งอกใหม่มีสีขาวยาว
0.5-1.0 เซนติเมตร ในช่วงเวลาประมาณ 9.00 น.
หยุดควงชีพของเซลล์โดยแช่ปลายรากลงในสาร
ละลาย paradichlorobenzene เป็นเวลานาน
1 ชั่วโมง เทสารละลาย paradichlorobenzene ออก
ล้างด้วยน้ำกลั่น นำรากไปแช่ในสารละลาย fixative
นาน 5 นาที หลังจากนั้นย่อยแยกเซลล์ โดยแช่ใน
กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 นอร์มอล ที่อุณหภูมิ 60
องศาเซลเซียส นาน 5 นาที แล้วนำออกมาล้างด้วย
น้ำกลั่น นำรากที่ได้มาแช่ในสีย้อม เก็บไว้ที่อุณหภูมิ
4 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การจำแนกพันธุ์โดยวิธีฐานวิทยา
ข้อมูลทางด้านปริมาณ ได้แก่ ขนาดของใบประกอบ
ขนาดของใบย่อย ขนาดของช่อดอก ขนาดของผล
ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ และขนาดของเมล็ด
ของลินจี 19 พันธุ์ แสดงในตารางที่ 1 และตารางที่ 2
ตามลำดับ

Table 1 Characteristics of compound leaves , leaflets and inflorescence of 19 lychee varieties.

Charac. Var.	Compound leaves			Leaflets		Inflorescence	
	wide (cm)	Long(cm)	wide (cm)	long(cm)	thick(mm)	wide (cm)	long(cm)
Kalok Bai Tao	25.95 abc	22.79 ef	4.18 j	12.40 c	0.618 bc	6.46 abc	12.41 bc
Kalok Bai Yao	26.67 abc	22.57 def	3.71 efg	13.38 ef	0.825 i	6.66 bcd	12.34 bc
Kalok Bai Oa	20.51 ab	19.95 bc	3.53 cde	12.79cde	0.725 ef	6.25 abc	14.99 cde
Kwang Jao	26.41 abc	24.59 g	3.69 def	15.19 j	0.726 ef	4.92 a	8.46 a
Kim Jeng	19.08 a	16.14 a	3.70 defg	9.73 a	0.581 ab	5.66 ab	16.86 ef
Kom	26.06 abc	20.81 cd	2.58 a	12.66 cd	0.663 cd	6.29 abc	12.59 bc
Kom Lum Jeak	23.41 abc	21.65 cde	4.01 hij	12.59 c	0.813 hi	5.99 abc	11.76 b
Juck Kra Put	22.40 abc	18.43 b	3.69 defg	10.81 b	0.562 a	8.22 def	16.04 de
Jean Lek	28.54 abc	24.58 g	3.83 fgh	14.14 ghi	0.755 fg	7.28 bcde	12.34 bc
Jean Yai	27.00 abc	24.59 hi	3.31 b	13.21 def	0.708 def	6.51 abc	13.72 bcd
Brewster	29.03 bc	25.18 hi	4.12 j	14.33 hi	0.719 def	6.36 abc	16.94 ef
Luk Lai	25.18 abc	22.10 de	3.94 hij	12.37 c	0.692 de	6.90 bcde	13.47 bcd
Sa Laek Tong	28.14 d	26.68 i	4.15 j	14.30 ghi	0.828 l	13.88 h	23.36 h
Sam Pao Kaew	26.20 abc	25.56 hi	3.97 hij	14.49 l	0.733 ef	-	-
Haew	22.76 abc	21.78 cde	3.43 bc	10.65 b	0.612 abc	6.89 bcde	17.94 efg
O-Hia	30.39 c	24.04 fg	4.10 j	14.18 ghi	0.759 fgh	7.44 cde	20.98 gh
Hong Huay1	26.96 abc	24.82 g	4.06 ij	13.75 fgh	0.902 j	9.66 fg	16.98 ef
Hong Huay2	27.84 abc	24.27 fg	3.94 ghi	13.84 fg	0.797 ghi	10.60 g	19.56 fg
Hakip	24.12 abc	25.31 hi	3.54 cd	13.53 f	0.617 abc	8.45 ef	11.34 bc

Means within a column followed by different letter are significantly different at $P<0.05$.

Table 2 Characteristics of fruit and seed of 19 lychee varieties.

Charac. Var.	Fruits				Seed		
	wide (cm)	long(cm)	weight(g)	TSS (%)	wide (cm)	long(cm)	weight(g)
Kalok Bai Toa	3.15 cd	3.22 cd	14.80 cd	17.30 f	1.65 bc	2.42 d	3.04 cdef
Kalok Bai Yao	-	-	-	-	-	-	-
Kalok Bai Oa	3.32 ef	3.42 fg	17.04 ef	13.71 abc	1.50 abc	2.28 bc	2.94 cdef
Kwang Jao	-	-	-	-	-	-	-
Kim Jeng	3.32 f	3.52 h	18.58 gh	13.46 ab	1.64 bc	2.01 a	1.88 a
Kom	2.81 a	2.86 a	11.94 a	13.79 abcd	1.27 a	2.11 ab	2.32 a
Kom Lum Jeak	3.19 de	3.29 def	16.15 de	14.89 de	1.48 abc	2.40 d	3.23 efg
Juck Kra Put	4.37 g	4.45 i	32.59 I	15.10 e	1.77 c	2.60 e	1.11 h
Jean Lek	-	-	-	-	-	-	-
Jean Yai	3.10 cd	3.46 gh	14.03 bc	13.21 a	1.51 abc	2.27 bc	2.73 bcd
Brewster	-	-	-	-	-	-	-
Luk Lai	3.20 de	3.09 bc	17.66 fg	17.64 f	1.45 ab	2.33 cd	3.13 defg
Sa Laek Tong	3.02 bc	3.12 bc	14.84 cd	14.09 abcde	1.41 ab	2.48 d	3.34 fg
Sam Pao Kaew	-	-	-	-	-	-	-
Haew	2.91 ab	3.01 b	13.07 ab	14.46 bcde	1.38 ab	2.35 cd	2.64 bc
O-Hia	3.11 cd	3.26 de	19.19 h	17.49 f	1.34 ab	2.04 a	2.82 cde
Hong Huay1	2.91 ab	3.27 de	17.07 ef	14.80 cde	1.41 ab	2.45 d	3.49 gh
Hong Huay2	2.91 ab	3.35 efg	17.28 efg	21.60 h	1.36 ab	2.46 d	2.89 cdef
Hakip	-	-	-	-	-	-	-

Means within a column followed by different letter are significantly different at $P < 0.05$.

จากข้อมูลทางปริมาณของลิ้นจี่ทั้ง 19 พันธุ์ พบว่า ลิ้นจี่แต่ละพันธุ์แสดงค่าของลักษณะทุกลักษณะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และลักษณะใดลักษณะหนึ่ง หรือบางลักษณะไม่สามารถใช้จำแนกพันธุ์ลิ้นจี่ออกจากกันได้ อย่างชัดเจน เนื่องจากลักษณะทางปริมาณต่าง ๆ เช่น ขนาดของใบประกอบ ขนาดของใบย่อย ขนาดของช่อดอก ขนาดของผล ขนาดของเมล็ด และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ มักจะมีความผันแปรในแต่ละพันธุ์ และในแต่ละต้นภายใน

ประชากร ซึ่งความผันแปรดังกล่าวมีสาเหตุมาจาก พัฒนาการของพืช พันธุ์กรรม และสภาพแวดล้อม (กฤษฎา, 2519 ; จินดา, 2524 ; ไพศาล, 2525 และ เกศณี, 2528)

ในส่วนข้อมูลทางด้านคุณภาพ พบว่าลิ้นจี่ 19 พันธุ์ มีความแตกต่างกันในลักษณะของสีใบ รูปร่างใบ ฐานใบ ปลายใบ ขอบใบ และสามารถนำลักษณะดังกล่าว มาจัดทำเป็นรูปวิธานเพื่อการจำแนกพันธุ์ได้ดังนี้

1 ใบสีเขียวเข้ม

2 ฐานใบแหลม

3 ปลายใบแหลม หรือแหลมมาก

4 ใบรูปยาว หรือ รูปรี

5 ขอบใบเรียบ

6 ใบรูปรี.....กะโหลกใบเตา

6 ใบรูปยาว.....กะโหลกใบยาว

5 ขอบใบเป็นคลื่น.....โอวเฮียะ

4 ขอบใบเรียบ และ ใบรูปหอก...จักรพรรดิ

5 ขอบใบเป็นคลื่นและใบรูปหอก

หวักลับ.....ค่อมลำเจียก

3 ขอบใบมน..... กิมเจง

2 ฐานใบรูปกลม

3 ปลายใบแหลมมาก.....บรวิสเตอร์

3 ขอบใบแหลมและมีหาง หรือ แหลมและมีตั้ง

4 ใบรูปไข่.....องฮวย 1

4 ขอบใบเรียบและรูปรี

5 ขอบใบเรียบ.....Hakip

5 ขอบใบเป็นคลื่น.....องฮวย 2

1 ใบสีเขียว

2 ฐานใบแหลม

3 ปลายใบแหลมและมีหาง หรือ แหลมและมีตั้ง

4 ใบรูปยาว และ ขอบใบเป็นคลื่น...กวางเจา

4 ขอบใบเรียบ และ ขอบใบเรียบ.....แห้ว

3 ปลายใบแหลมมาก.....ค่อม

2 ฐานใบรูปกลม

3 ปลายใบแหลมและมีตั้ง หรือ ปลายใบแหลมและมีหาง

4 ขอบใบเรียบ

5 ใบรูปรี.....กะโหลกใบอ้อ

5 ขอบใบเรียบ.....ลูกลาย

4 ขอบใบเป็นคลื่น

5 ใบรูปรี.....ลำเนาแก้ว

5 ขอบใบเรียบ.....จินเล็ก

3 ปลายใบแหลม หรือ แหลมมาก

4 ใบรูปยาว.....จินใหญ่

4 ขอบใบหอก.....สาหร่ายทอง

รูปวิธานเพื่อจำแนกพันธุ์ครั้งนี้ยังไม่สามารถใช้ได้อย่างสมบูรณ์ เพราะลักษณะที่ใช้เป็นข้อมูลในการจำแนกพันธุ์เป็นเพียงลักษณะทางคุณภาพ และเป็นลักษณะของใบเพียงอย่างเดียว รูปวิธานของพืชควรประกอบด้วยลักษณะโครงสร้างหลายส่วนเพื่อให้เกิดความแม่นยำมากขึ้น ในกรณีของลำไยซึ่งเป็นพืชใกล้เคียงกับลิ้นจี่และสามารถเก็บข้อมูลครบทุกลักษณะ สามารถทำรูปวิธานเป็น 2 แบบ โดยเน้นลักษณะของใบ หรือ ลักษณะของผลเป็นหลักและมีลักษณะอื่นเป็นส่วนประกอบ (Ramingwong and Chiewsilp, 1994)

2. การจำแนกพันธุ์โดยวิธีอิเล็กโทรโฟเรซิส

ผลของการย้อมเอนไซม์ peroxidase ของใบลิ้นจี่ 19 พันธุ์ พบแถบเอนไซม์ 22 แถบ โดยมีค่า Rf เท่ากับ 0.244, 0.252, 0.256, 0.260, 0.264, 0.268, 0.280, 0.304, 0.328, 0.340, 0.344, 0.348, 0.356, 0.360, 0.364, 0.368, 0.372, 0.376, 0.380, 0.384, 0.392 และ 0.400 และความหนาของแถบมีค่าเท่ากับ 1, 1, 2, 1, 2, 1, 0.1, 0.1, 2, 1, 2, 1, 1, 0.1, 1, 2, 1, 0.1, 1, 0.1, 0.1 และ 0.1 มิลลิเมตร ตามลำดับเมื่อแสดงแผนภาพ zymogram (ภาพที่ 1) พบว่าสามารถจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่ออกได้ 14 กลุ่มคือ กลุ่มที่ 1 องฮวย 1 องฮวย 2 กลุ่มที่ 2 Hakip กลุ่มที่ 3 ลูกลาย กลุ่มที่ 4 ค่อม กลุ่มที่ 5 กิมเจง กะโหลกใบยาว โอวเฮียะ กลุ่มที่ 6 บรวิสเตอร์ กลุ่มที่ 7 กะโหลกใบอ้อ จินใหญ่

กลุ่มที่ 8 กวางเจากลุ่มที่ 9 ค่อมลำเจียก แห้ว กลุ่มที่ 10 จิ้นเล็ก กลุ่มที่ 11 ทะโหลกใบเถา กลุ่มที่ 12 สำเภาแก้ว กลุ่มที่ 13 จักรพรรดิ กลุ่มที่ 14 สาแหรกทอง และเมื่อนำตัวอย่าง ในกลุ่มที่ 1, 5, 7 และ 9 ที่ไม่สามารถจำแนกออกจากกันได้ ไปแยกด้วยเอนไซม์ acid phosphatase พบแถบเอนไซม์ 8 แถบ โดยมีค่า rf เท่ากับ 0.269, 0.326, 0.343, 0.360, 0.369, 0.378, 0.404 และ 0.421 ตามลำดับ และมีความหนา

ของแถบเท่ากับ 2, 1, 1, 1, 1, 1, 1 และ 1 มิลลิเมตรตามลำดับ เมื่อแสดงแผนภาพ zymogram (ภาพที่ 2) พบว่าสามารถจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่ที่อยู่ในกลุ่มเดียวกันออกจากกันได้ คือ กลุ่มที่ 1 สองสาย 1 และสองสาย 2 กลุ่มที่ 5 กิมเจง ทะโหลกใบยาว และโอวเฮียะ กลุ่มที่ 7 ทะโหลกใบอ้อและจิ้นใหญ่ กลุ่มที่ 9 ค่อมลำเจียก และแห้ว

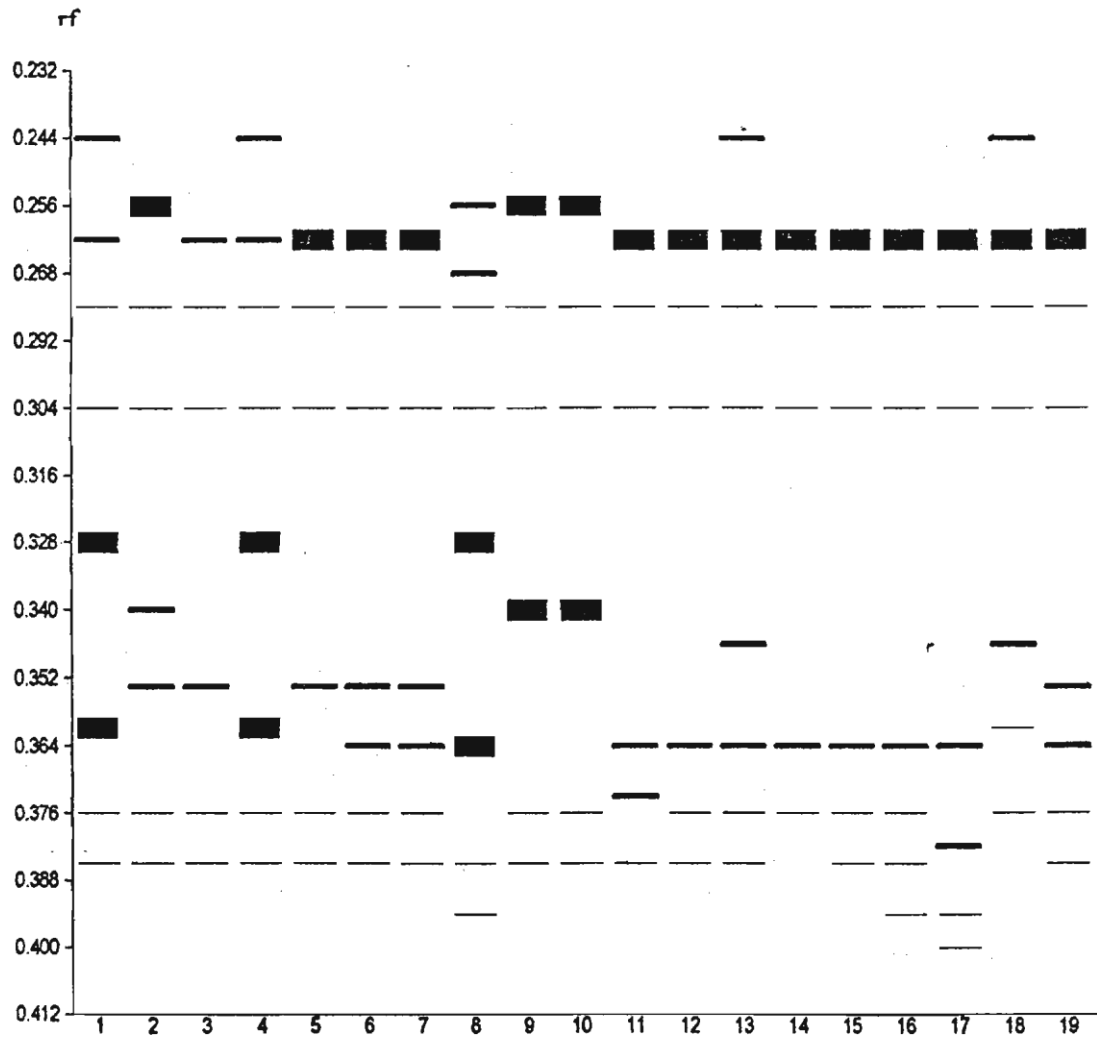


Figure 1 Zymogram of peroxidase enzyme in 19 lychee varieties.

1=Hong Huay1, 2=Hakip, 3=Luk Lai, 4=Hong Huay2, 5=Kom, 6=Kim Jeng, 7=Kalok Bai Yao
8=Brewster, 9= Kalok Bai Oa, 10=Jean Yai, 11= Kwang Jao, 12= Kom Lum Jeak, 13=Jean Lek,
14= Kalok Bai Tao, 15= Heaw, 16= Sam Pao Kaew, 17= Juck Kra Put, 18= Sa Laek Tong and
19= O-Hia

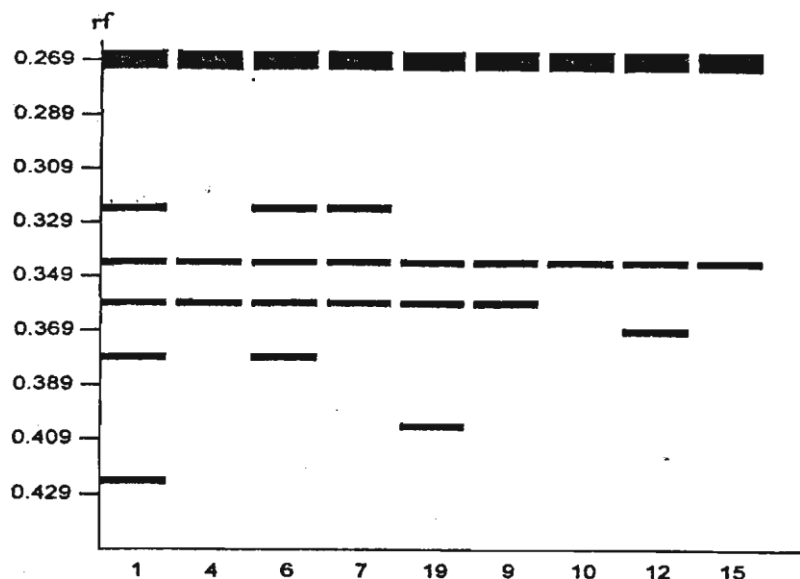


Figure 2 Zymogram of acid phosphatase enzyme in 9 lychee varieties.

1=Hong Huay1, 4=Hong Huay2, 6=Kim Jeng, 7=Kalok Bai Yao, 9= Kalok Bai Oa, 10=Jean Yai, 12 = Kom Lum Jeak, 15 = Heaw and 19 = O-Hia

การตรวจสอบเอนไซม์ จะต้องเลือกใช้ ปริมาณของตัวอย่าง และความเข้มข้นของเจลที่ เหมาะสมจึงจะเกิดแถบเอนไซม์ที่ชัดเจน การตรวจสอบเอนไซม์ peroxidase ใช้ปริมาณตัวอย่าง 50 ไมโครลิตรต่อตัวอย่าง ระดับความเข้มข้นของเจลที่เหมาะสมคือเจล 8.5 เปอร์เซ็นต์ สามารถจำแนกพันธุ์ ลิ้นจี่ออกจากกันได้เป็นหลายกลุ่ม เมื่อนำตัวอย่างที่ อยู่ในกลุ่มเดียวกันจากเอนไซม์ peroxidase ไป จำแนกต่อด้วยเอนไซม์ acid phosphatase โดยใช้ ปริมาณตัวอย่าง 100 ไมโครลิตรต่อตัวอย่าง ระดับ ความเข้มข้นของเจลที่เหมาะสมคือเจล 10 เปอร์เซ็นต์ สามารถจำแนกพันธุ์ ลิ้นจี่ออกจากกันได้ทั้งหมด จะเห็นได้ว่าวิธีอิเล็กโทรโฟเรซิสสามารถใช้ในการ จำแนกพันธุ์ลิ้นจี่ได้ และในการจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่ทั้ง 19 พันธุ์ ไม่อาจทำได้ด้วยเอนไซม์ชนิดใดชนิดหนึ่ง แต่ทำได้ด้วยเอนไซม์ 2 ชนิดร่วมกัน

3. การจำแนกพันธุ์โดยวิธีเซลล์พันธุ- ศาสตร์ ผลการนับจำนวนโครโมโซมของลิ้นจี่ทั้ง 19 พันธุ์ พบว่ามีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน ในทุกพันธุ์ และทุกเซลล์ที่ศึกษา คือมีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ $2n=30$ และพบว่าขนาดและรูปร่างของโครโมโซม ของลิ้นจี่ทั้ง 19 พันธุ์มีความแตกต่างกัน ดังแสดงใน ภาพที่ 3

ในการจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่ทั้ง 19 พันธุ์ ควรนำ ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาโดยวิธีสัณฐานวิทยาและวิธี อิเล็กโทรโฟเรซิสมาใช้ร่วมกันในการจำแนกพันธุ์ และการจำแนกโดยวิธีทางเซลล์พันธุศาสตร์ควรทำ การศึกษาการโอโตไทป์หรือการย้อมแถบสีโครโมโซมควบคู่ไปด้วย เพื่อให้ได้ผลที่ละเอียดและแม่นยำ ยิ่งขึ้น เมื่อนำมาใช้ร่วมกับวิธีสัณฐานวิทยาและวิธี อิเล็กโทรโฟเรซิส

Diagram of lychee chromosome



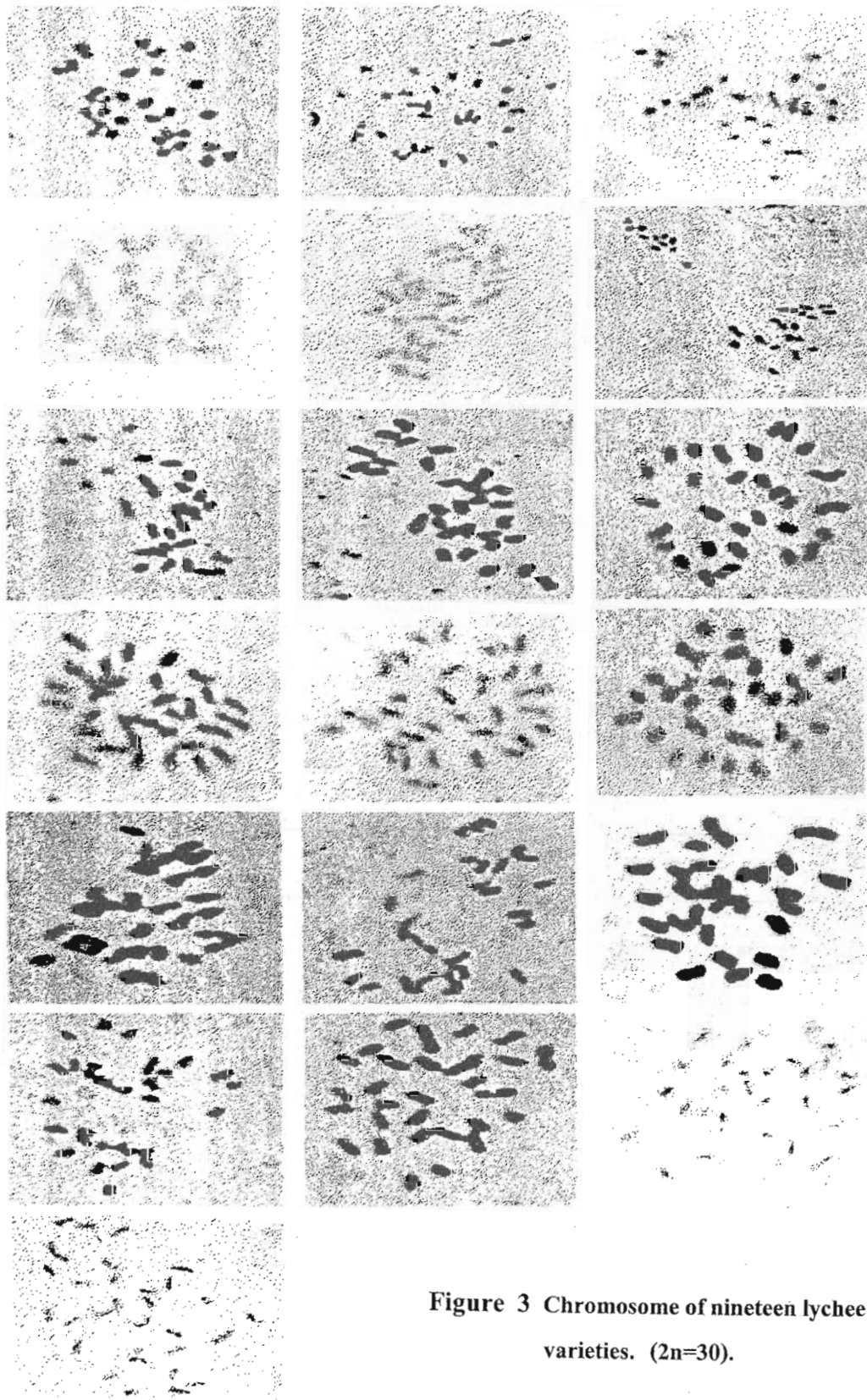


Figure 3 Chromosome of nineteen lychee varieties. ($2n=30$).

สรุปผลการทดลอง

1. วิธีฐานวิทยาสามารถใช้อำเนกพันธุ์ลิ้นจี่ได้จากโครงสร้างของ ใบ ดอก ผล และเมล็ดของลิ้นจี่แต่ละพันธุ์และสามารถจัดทำรูปวิธานเพื่อจำแนกพันธุ์โดยใช้ลักษณะของ สีใบ รูปร่างใบ ฐานใบ ปลายใบ และขอบใบ และสามารถจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่บางพันธุ์ที่มีลักษณะเฉพาะประจำพันธุ์ออกจากพันธุ์อื่นๆได้

2. วิธีทางอิเล็กทรอนิกส์ สามารถใช้จำแนกพันธุ์ลิ้นจี่ได้จากรูปแบบของแถบสีจากแผนภาพ zymogram พบว่าการวิเคราะห์โดยใช้เอนไซม์ peroxidase สามารถจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่ 19 พันธุ์ออกได้เป็น 14 กลุ่ม และเมื่อนำลิ้นจี่ที่อยู่ในกลุ่มเดียวกันจากการจำแนกด้วยเอนไซม์ peroxidase ไปจำแนกร่วมกับเอนไซม์ acid phosphatase สามารถจำแนกพันธุ์ลิ้นจี่ออกจากกันได้อย่างหมด

3. วิธีทางเซลล์พันธุศาสตร์ สามารถใช้จำแนกพันธุ์ลิ้นจี่ได้จากความแตกต่างของขนาดและรูปร่างโครโมโซมในระยะเมทาเฟส และลิ้นจี่ทุกพันธุ์มีจำนวนโครโมโซมเท่ากันคือ $2n = 30$

เอกสารอ้างอิง

- กฤษฎา สัมพันธ์รักษ์. 2519. หลักการปรับปรุงพันธุ์พืช. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 418 น.
- เกศินี ระมิงค์วงศ์. 2528. การจัดจำแนกไม้ผล. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 289 น.

- จินดา ศรศรีวิชัย. 2524. สรีรวิทยาพืชภาคการเจริญเติบโตและการควบคุม. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 280 น.
- ไพศาล เหล่าสุวรรณ. 2525. พันธุศาสตร์. ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา. 342 น.
- ศูนย์สถิติการเกษตร. 2529. รายงานผลการสำรวจลิ้นจี่ปี 2529. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, กรุงเทพฯ. 12 น.
- Aradhya, M. K., F.T.Zee and R.M.Manshardt. 1995. Isozyme variation in lychee (*Litchi chinensis* Sonn.). Sci.Hort. 63:21-35.
- Batten, D. 1984. Lychee Varieties. Agfact. Department of Agriculture, New South Wales. 15 p.
- Degani, C., A.Beiles, R.El-Batsri, M.Goren and S.Gazit. 1995. Identifying lychee cultivars by isozyme analysis. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 120 : 307-312.
- Ramingwong, K. and K. Chiewsilp. 1994. Genetic Resources of Langan in Northern Thailand. Final Report Submitted to Chiang Mai University , Chiang Mai. 76 p.
- Subhadrabandhu, S. 1990. Lychee and Langan Cultivation in Thailand. Rumthai Publication, Bangkok. 40 p.