

การจำแนกพันธุ์ลำไยโดยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส

Identification of Longan Varieties by Electrophoretic Method

ปนัดดา กาญจนะ^๑ และเกศินี ระมิงค์วงศ์^๒

Panadda Kanjana^๑ and Kesinee Ramingwong^๒

Abstract : Identification was carried out on sixteen varieties and eight Daw clones of longan (*Euphoria longana* Lam.). These are Puenmuang Lumphun, Kradook, Chompoo Nam, Chompoo, Soitong, Baihod, Biewkiew ChiangMai, Daengklom, Nampueng, Biewkiew Pasao, Haew, Puangtong, E-lueong, Kiew Pra In, Baidam, Puenmuang Nan, Daw Donchai, Daw Yoddaeng, Daw Yodkao, Daw Hom, Daw Kankaeng, Daw Kan-on, Daw Nan, Daw Tanoi.

Electrophoretic method was used to determine isozyme patterns from mature leaves, using 0.05 M Tris-HCl buffer, pH 8.4 (150 mM NaCl, 10 mM cysteine, 1 mM ascorbic acid, 1 mM CaCl₂, 1mM Na₂ EDTA, 2% nicotine). Polyacrylamide vertical slab gel electrophoresis was used at 8.5 per cent for peroxidase and 10 percent for acid phosphatase and esterase separation. It was found that sixteen longan varieties could be identified by peroxidase, acid phosphatase and esterase while eight Daw clones could be identified by peroxidase and acid phosphatase. Isozyme analysis showed banding patterns of 10, 10 and 3 bands for peroxidase, acid phosphatase and esterase, respectively.

^๑ ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

^๒ Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Chaing Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand.

บทคัดย่อ : ทำการจำแนกพันธุ์ลำไยจำนวน 16 พันธุ์ คือ พันธุ์เมืองลำพูน กระตูก ชมพูน้า ชมพู สร้อยทอง ใบหัด เบี้ยวเขียวเขียวใหม่ แดงกลม น้ำผึ้ง เบี้ยวเขียวป่าเต้า แห้ว พวงทอง อีเหลียง เขียวพระอินทร์ ใบคำ พันธุ์เมืองน่าน และพันธุ์คอ 8 สายพันธุ์ ได้แก่ คอคอนไซย คอยอดแดง คอยอดขาว คอหอม คอก้านแข็ง คอก้านอ่อน คอน่าน คอทาน้อย

พบว่าวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสสามารถใช้จำแนกพันธุ์ลำไยได้ โดยการสกัดไอโซไซม์จากใบแก่ลำไย 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 Na_2EDTA , 2% nicotine) ใช้โพลีอะคริลาไมด์ เจล เข้มข้น 8.5 เปอร์เซ็นต์ สำหรับไอโซไซม์ peroxidase และ โพลีอะคริลาไมด์ เจล เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ สำหรับไอโซไซม์ acid phosphatase, esterase ลำไย 16 พันธุ์สามารถจำแนกออกจากกันได้ด้วยเอนไซม์ peroxidase, acid phosphatase และ esterase ส่วนลำไยพันธุ์คอ 8 สายพันธุ์ สามารถจำแนกออกจากกันด้วยเอนไซม์ peroxidase และ acid phosphatase รูปแบบของไอโซไซม์ที่วิเคราะห์ได้มีจำนวนแถบสีแตกต่างกัน คือ peroxidase, acid phosphatase และ esterase มี 10, 10 และ 3 แถบ ตามลำดับ

Key words : longan, electrophoresis, isozyme, identification

บทนำ

ลำไยเป็นพืชในตระกูล Sapindaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Euphoria longana* Lam. มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและปลูกกันมากในภาคเหนือของประเทศไทย (เกศินี, 2528; พิชัย, 2532) เนื่องจากลำไยเป็นพืชผสมข้าม (เกศินี, 2528) จึงเกิดการผสมระหว่างพันธุ์กัน เป็นสาเหตุของความหลากหลายทางพันธุกรรมที่พบในประชากรลำไยโดยเฉพาะการขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด เมื่อจำแนกพันธุ์โดยการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของโครงสร้างลำไย มีพันธุ์ที่แตกต่างกันจำนวน 15 พันธุ์แต่การจำแนกพันธุ์โดยวิธีดังกล่าวยังมีความชัดเจนไม่เพียงพอ (Ramingwong and Chiewsilp, 1994) นอกจากนี้บางลักษณะแสดงออกแตกต่างกัน เนื่องจากการปลูกในสภาพสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมือนกัน ทำให้การจำแนกหรือบ่งบอกชื่อพันธุ์ยังมีปัญหาเพราะชื่อพันธุ์ยังสับสน ลำไยชื่อเดียวกันแต่อาจมีลักษณะกิ่ง ใบ และผลแตกต่างกันหรือมีลักษณะของกิ่ง ใบ และผล

เหมือนกันแต่เรียกชื่อต่างกันหรือมีชื่อพ้อง ทำให้การเรียกชื่อเกิดความไม่มั่นใจในความถูกต้อง (สัมฤทธิ์, 2523)

ปัจจุบันการศึกษาวิทยาศาสตร์บางสาขาสามารถนำมาใช้ประโยชน์กับงานด้านการจำแนกพันธุ์พืชมากขึ้น วิธีการหนึ่งคือเทคนิคทางชีวเคมีที่เรียกว่าอิเล็กโทรโฟรีซิส โดยแยกและศึกษาชนิดเอนไซม์ในพืชที่เรียกว่า ไอโซไซม์ (เพิ่มพงษ์และคณะ, 2532 ; Pasteur *et al.*, 1988) วิธีนี้สามารถแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพืชพันธุ์ต่างๆ ได้ว่าเหมือนกันทุกประการหรือคล้ายคลึงกันหรือแตกต่างกัน

การศึกษาเรื่องนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อนำเทคนิคทางอิเล็กโทรโฟรีซิสมาใช้ในการจำแนกพันธุ์ลำไย รวมถึงได้ข้อมูลทางชีวเคมีเพื่อเสริมงานด้านอนุกรมวิธานให้มีค่ามากขึ้น นอกจากนี้ยังนำมาประยุกต์ใช้กับงานด้านปรับปรุงพันธุ์พืช ส่งผลให้งานปรับปรุงพันธุ์พืชมีประสิทธิภาพมากขึ้น

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดลองนี้ทำกับลำไย 2 ชุด ชุดที่ 1 ลำไย 16 พันธุ์ คือ พื้นเมืองลำพูน กระดุก ชมพูน้า ชมพู สร้อยทอง ไบหุด เบี้ยวเขียวเชียงใหม่ แดงกลม น้ำผึ้ง เบี้ยวเขียวป่าเส้า แห้ว พวงทอง อีเหลื่อง ไบคำ เบี้ยวพระอินทร์ พื้นเมืองน่าน และพันธุ์คอ 8 สายพันธุ์ ได้แก่ คอคอนไชย คอยอดแดง คอยอดขาว คอหอม คอก้านแข็ง คอก้านอ่อน คอน่าน คอทาน้อย ชั่งไบแก่ลำไยหนัก 1 กรัม เติม extraction buffer ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ใช้สูตรดัดแปลงของ Hiratsuka *et al.* (1986) [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 Na_2EDTA , 2% nicotine)] บดให้ละเอียดนำไปปั่นให้ตกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็ว 18,000 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที รินเอาเฉพาะส่วนน้ำใสเก็บไว้ในหลอด eppendorf เติม marker dye solution (bromophenol blue) ลงในตัวอย่างในอัตราส่วน 1:10 เตรียม slab gel ให้เจลหนา 1 มิลลิเมตร สูง 12 เซนติเมตร ส่วนของ stacking gel สูง 3-4 เซนติเมตร ไปทำอิเล็กโทรโฟเรซิส นำเจลที่ได้จากการทำอิเล็กโทรโฟเรซิสไปย้อมเอนไซม์ 3 ชนิด คือ peroxidase, acid phosphatase และ esterase นำเจลที่ย้อมสีแล้วมาศึกษารูปแบบของไอโซไซม์ แล้วเขียนไซโมแกรม (zymogram) ของลำไยแต่ละพันธุ์จากการหาค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ (Rf) ตามสูตรของอาภัสตรา (2537) และทำการวิเคราะห์กลุ่มพืช (cluster analysis) ด้วยเครื่องคอมพิวเตอร์ โดยใช้โปรแกรม SPSS release 6.0

ผลการทดลองและวิจารณ์

ก่อนการจำแนกพันธุ์โดยวิธีอิเล็กโทรโฟเรซิส ได้ทำการทดสอบเทคนิคบางประการที่เหมาะสมสำหรับการทำอิเล็กโทรโฟเรซิสของลำไย ผลการทดสอบมีดังนี้ 1. ส่วนของตัวอย่างพืช คือ ไบแก่ เพราะเป็นส่วนของพืชที่เหมาะสมต่อการนำมาใช้ทำอิเล็กโทรโฟเรซิส และสามารถเก็บในปริมาณที่เพียงพอได้ตลอดปีเนื่องจากลำไยเป็นไม้ผลยืนต้นไม่ผลัดใบ (เกตุฉิน, 2528 ; สัมฤทธิ์, 2523 ; พิชัย, 2532) ส่วนอื่นของพืชเช่น ก้านไบแก่ ก็เป็นส่วนของพืชที่สามารถเก็บได้ตลอดปีเช่นกัน แต่ก้านไบแก่จะมีความแข็งแรงมากกว่าแผ่นไบจึงทำให้การบดตัวอย่างทำได้ยากกว่าและต้องใช้ไบเป็นจำนวนมาก จึงจะได้ปริมาณของก้านไบแก่ตามต้องการ ส่วนตาอ่อน ไบอ่อน ก้านไบอ่อน และดอก เก็บได้ในบางช่วงเวลา จึงไม่เหมาะแก่การนำมาศึกษา เพราะไม่สามารถทำได้ตลอดเวลาที่ต้องการ 2. อุณหภูมิในการเก็บรักษาตัวอย่างพืช คือ -20 องศาเซลเซียส เพราะสภาพของตู้ควบคุมอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เหมาะสมต่อการเก็บรักษาตัวอย่างพืชทั่วไป โดยเฉพาะตัวอย่างพืชที่ต้องการเก็บรักษาเป็นเวลานาน เพื่อรอกการสกัด หรือสกัดแล้วรอกการตรวจวิเคราะห์ มักจะเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 ถึง -70 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตามการเก็บตัวอย่างเป็นเวลานาน ควรพิจารณาวิธีการเก็บ ชนิดของเอนไซม์ที่ต้องการวิเคราะห์ ชนิดของพืช และอุณหภูมิที่เหมาะสม (Hiratsuka *et al.*, 1986 ; Pasteur *et al.*, 1988 ; Wendel and Weeden, 1989) 3. ความเข้มข้นของโพลิอะคริลาไมด์ เจล คือ 8.5 เปอร์เซ็นต์สำหรับ peroxidase และ 10 เปอร์เซ็นต์สำหรับ acid phosphatase และ esterase เพราะการเลือกใช้ความเข้มข้นที่เหมาะสมของโพลิอะคริลาไมด์เจล

เพื่อศึกษารูปแบบไอโซไซม์จะทำให้แถบที่ปรากฏมีความชัดเจนขึ้น (อาภัสตรา, 2537; Pasteur *et al.*, 1988) 4. ปริมาณของตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจสอบเอนไซม์ คือ 15 ไมโครลิตร สำหรับ peroxidase 90 ไมโครลิตรสำหรับ acid phosphatase และ 100 ไมโครลิตรสำหรับ esterase เพราะการใช้ปริมาณที่เหมาะสมในการตรวจสอบเอนไซม์แต่ละชนิดจะทำให้ได้แถบไอโซไซม์ที่มีความคมชัดมากที่สุด

การวิเคราะห์ไอโซไซม์สำหรับการทดลองนี้ใช้เอนไซม์ peroxidase เป็นเอนไซม์ชนิดแรก โดยมี acid phosphatase และ esterase เป็นชนิดที่ 2 และ 3 ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์มีดังนี้

1. ชุดที่ 1 ทำกับลำไย 16 พันธุ์

1.1 จำแนกโดยการศึกษาแบบไอโซไซม์ peroxidase มีแถบที่สามารถพบได้จำนวน 10 แถบเมื่อวัดอัตราการเคลื่อนที่ (Rf) ของแถบจะได้ตำแหน่งของแถบที่ Rf 0.520, 0.496, 0.484, 0.456, 0.444, 0.420, 0.256, 0.224, 0.200 และ 0.160 ความหนาของแต่ละแถบเท่ากับ 0.5, 1.0, 1.0, 1.0, 1.0, 1.0, 1.0, 2.5 และ 2.5 มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยแต่ละพันธุ์มีจำนวนแถบ 4 - 6 แถบ เมื่อเปรียบเทียบตำแหน่งแถบสี และความหนาของแถบสี พบรูปแบบที่แตกต่างกันทำให้สามารถจำแนกพันธุ์ได้ 9 กลุ่ม (ภาพที่ 1) ดังนี้

- กลุ่มที่ 1 มี 3 พันธุ์ คือ พื้นเมืองลำพูน ชมพูน้ำ และเขียวเขียวเชียงใหม่ มี 5 แถบ ที่ Rf 0.496, 0.456, 0.256, 0.224 และ 0.200
- กลุ่มที่ 2 มี 2 พันธุ์ คือ กระดุก และ พื้นเมืองน่าน มี 6 แถบ ที่ Rf 0.496, 0.420, 0.256, 0.224, 0.200 และ 0.160
- กลุ่มที่ 3 มี 5 พันธุ์ คือ ชมพู สร้อยทอง แดงกลม แห้ว และอีเหลื่อง มี 5 แถบ ที่ Rf 0.496, 0.444, 0.256, 0.224 และ 0.200
- กลุ่มที่ 4 มี 1 พันธุ์ คือ ไบหุด มี 6 แถบ ที่ Rf 0.496, 0.484, 0.256, 0.224, 0.200 และ 0.160
- กลุ่มที่ 5 มี 1 พันธุ์ คือ น้ำผึ้ง มี 5 แถบ ที่ Rf 0.520, 0.496, 0.256, 0.224 และ 0.200
- กลุ่มที่ 6 มี 1 พันธุ์ คือ เขียวเขียวป่าเส้า มี 4 แถบ ที่ Rf 0.496, 0.256, 0.224 และ 0.200
- กลุ่มที่ 7 มี 1 พันธุ์ คือ พวงทอง มี 4 แถบ ที่ Rf 0.456, 0.256, 0.224 และ 0.200
- กลุ่มที่ 8 มี 1 พันธุ์ คือ เขียวพระอินทร์ มี 5 แถบ ที่ Rf 0.484, 0.444, 0.256, 0.224 และ 0.200
- กลุ่มที่ 9 มี 1 พันธุ์ คือ ไบดำ มี 4 แถบ ที่ Rf 0.496, 0.444, 0.224 และ 0.200

จะเห็นว่าการใช้รูปแบบของไอโซไซม์ peroxidase ใช้จำแนกพันธุ์ลำไยได้เป็นบางส่วน พันธุ์ที่จำแนกได้มีจำนวน 6 พันธุ์ ได้แก่ ไบหุด น้ำผึ้ง เขียวเขียวป่าเส้า พวงทอง เขียวพระอินทร์ และไบดำ ส่วนพันธุ์ที่จำแนกไม่ได้มีจำนวน 10 พันธุ์ หรือ 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ 1 มีพันธุ์ พื้นเมืองลำพูน เขียวเขียวเชียงใหม่ ชมพูน้ำ กลุ่มที่ 2 มีพันธุ์กระดุก พื้นเมืองน่าน กลุ่มที่ 3 มีพันธุ์ ชมพู สร้อยทอง แดงกลม แห้ว อีเหลื่อง

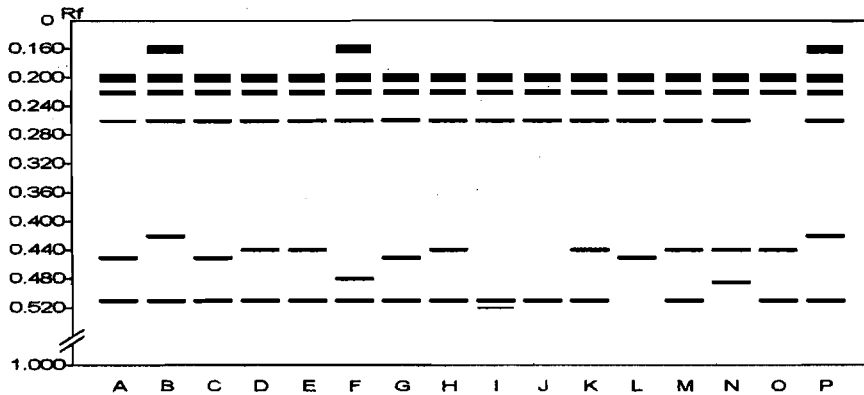


Figure 1 Zymogram of peroxidase isozyme of sixteen longan varieties.

1.2 จำแนกโดยศึกษาารูปแบบไอโซไซม์ acid phosphatase จำนวนแถบที่สามารถพบได้มี 9 แถบ ที่ Rf 0.581, 0.552, 0.486, 0.460, 0.419, 0.248, 0.042, 0.038 และ 0.029 แต่ละแถบมีความหนาเท่ากับ 1.0, 1.0, 1.0, 2.0, 8.0, 3.0, 2.5, 2.0 และ 1.0 มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยแต่ละพันธุ์มีจำนวนแถบ 2-4 แถบ เมื่อเปรียบเทียบกับตำแหน่งแถบสี พบรูปแบบที่แตกต่างกันทำให้สามารถจำแนกพันธุ์ได้ 7 กลุ่ม (ภาพที่ 2) ดังนี้

- กลุ่มที่ 1 มี 1 พันธุ์ คือ พันธุ์ลำพูน มี 2 แถบ ที่ Rf 0.460 และ 0.029
- กลุ่มที่ 2 มี 2 พันธุ์ คือ กระดุก และแห้ว มี 3 แถบ ที่ Rf 0.581, 0.552 และ 0.419
- กลุ่มที่ 3 มี 3 พันธุ์ คือ ชมพูน้า เบี้ยวเขียวเชียงใหม่ และอีเหลือง มี 3 แถบ ที่ Rf 0.581, 0.552 และ 0.486
- กลุ่มที่ 4 มี 1 พันธุ์ คือ ชมพู มี 4 แถบ ที่ Rf 0.581, 0.552, 0.460 และ 0.038
- กลุ่มที่ 5 มี 1 พันธุ์ คือ สร้อยทอง มี 3 แถบ ที่ Rf 0.552, 0.486 และ 0.042

- กลุ่มที่ 6 มี 1 พันธุ์ คือ แดงกลม มี 3 แถบ ที่ Rf 0.552, 0.486 และ 0.029
- กลุ่มที่ 7 มี 1 พันธุ์ คือ พันธุ์เมืองน่าน มี 4 แถบ ที่ Rf 0.581, 0.552, 0.460 และ 0.248

การนำารูปแบบไอโซไซม์ acid phosphatase มาช่วยในการจำแนกพันธุ์ลำไย ที่ไม่สามารถจำแนกได้ด้วยไอโซไซม์ peroxidase พบว่ารูปแบบไอโซไซม์ acid phosphatase สามารถจำแนกลำไย 4 พันธุ์ คือ ชมพู สร้อยทอง แดงกลม พันธุ์เมืองน่าน ออกจากกันได้อย่างชัดเจน เมื่อนำพันธุ์ที่มีรูปแบบไอโซไซม์เหมือนกัน คือ กลุ่มที่ 2 และกลุ่มที่ 3 ไปเปรียบเทียบกับรูปแบบไอโซไซม์ peroxidase ทำให้สามารถจำแนกพันธุ์พันธุ์พันธุ์ลำพูนออกจากพันธุ์ชมพูน้า กับพันธุ์เบี้ยวเขียวเชียงใหม่ และสามารถจำแนกพันธุ์กระดุกออกจากพันธุ์พันธุ์พันธุ์เมืองน่าน นอกจากนี้ยังสามารถจำแนกพันธุ์แห้วออกจากพันธุ์ชมพู สร้อยทอง แดงกลม และอีเหลือง แต่ไม่สามารถจำแนกพันธุ์ชมพูน้ากับพันธุ์เบี้ยวเขียวเชียงใหม่ได้

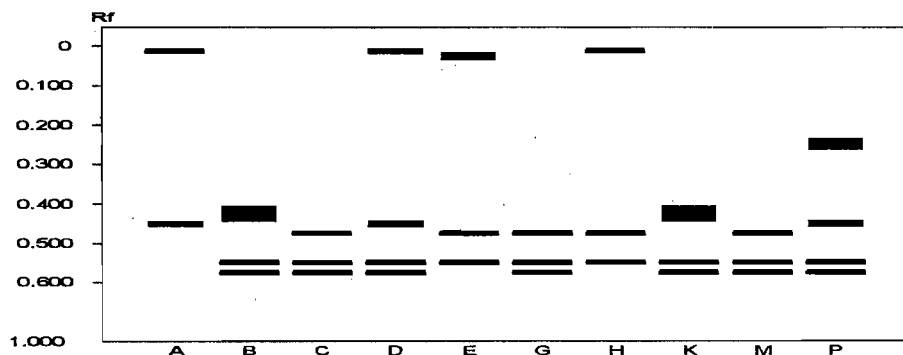


Figure 2 Zymogram of acid phosphatase isozyme of ten longan varieties.

1.3 จำแนกโดยศึกษารูปแบบไอโซไซม์ esterase จำนวนแถบที่สามารถพบได้มี 3 แถบ คือ 0.574, 0.548 และ 0.539 ความหนาของแต่ละแถบ เท่ากับ 1.0, 2.5 และ 2.0 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับตำแหน่งแถบสี และความหนา ของแถบสี พบรูปแบบที่แตกต่างกันทำให้สามารถ จำแนกลำไยทั้ง 2 พันธุ์ออกจากกันได้เป็น 2 กลุ่ม (ภาพที่ 3) ดังนี้

กลุ่มที่ 1 มี 1 พันธุ์ คือ ชมพูน้ํา มี 2 แถบ ที่ Rf 0.574 และ 0.548

กลุ่มที่ 2 มี 1 พันธุ์ คือ เบี้ยวเขียวเชิงใหม่ มี 2 แถบ ที่ Rf 0.574 และ 0.539

การทําอิเล็กโตรโฟรีซิสสามารถใช้ในการ จำแนกพันธุ์ลำไย 16 พันธุ์ออกจากกันได้ทั้งหมด ดังแสดงในแผนภาพ (ภาพที่ 4) เมื่อพิจารณา รูปแบบไอโซไซม์ทั้งหมด คือ peroxidase, acid phosphatase และ esterase และนำมาจัดกลุ่มลำไย 16 พันธุ์ โดยนำพันธุ์ที่มีรูปแบบซ้ำกันไว้ใน กลุ่มเดียวกัน พบว่ารูปแบบไอโซไซม์ peroxidase

สามารถจำแนกได้ 9 กลุ่ม กลุ่มที่ใหญ่ที่สุด มีจำนวน 5 พันธุ์ คือ ชมพู สร้อยทอง แดงกลม แห้ว และอีเหลือง กลุ่มที่มีจำนวน 3 พันธุ์ คือ พื้นเมืองลำพูน ชมพูน้ํา และเบี้ยวเขียวเชิงใหม่ กลุ่มที่มีจำนวน 2 พันธุ์ คือ กระจุกและ พื้นเมืองน่าน และกลุ่มที่มีลำไยอยู่ 1 พันธุ์ มีจำนวน 6 กลุ่ม คือ ใบหัด น้ําผึ้ง พวงทอง เบี้ยวเขียวป่าเล้า เบี้ยวพระอินทร์ และใบดำ เมื่อใช้ รูปแบบไอโซไซม์ acid phosphatase จำแนก ความแตกต่างจะเห็นได้ว่าให้รูปแบบที่แตกต่างกัน หลายรูปแบบ ทำให้สามารถจำแนกพันธุ์ลำไย ออกจากกันได้ คือ จำแนกกระจุกกับพื้นเมืองน่าน เช่นเดียวกับชมพู สร้อยทอง แดงกลม แห้ว กับอีเหลือง ก็สามารถจำแนกออกจากกันได้ ส่วนพื้นเมืองลำพูนสามารถจำแนกออกจาก ชมพูน้ําและเบี้ยวเขียวเชิงใหม่ แต่ชมพูน้ํากับ เบี้ยวเขียวเชิงใหม่ยังคงจำแนกออกจากกันไม่ได้ เมื่อใช้รูปแบบไอโซไซม์ esterase จะเห็นได้ว่า ให้รูปแบบที่แตกต่างกัน ทำให้สามารถจำแนก ชมพูน้ํากับเบี้ยวเขียวเชิงใหม่ออกจากกันได้

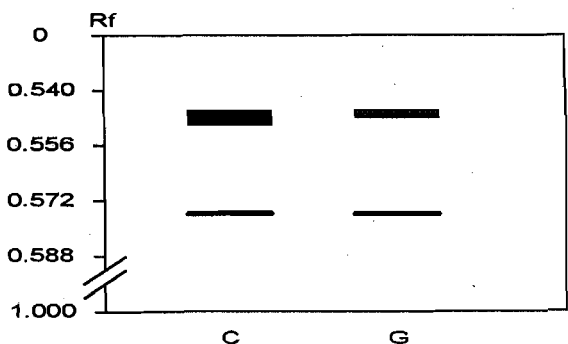


Figure 3 Zymogram of esterase isozyme of two longan varieties.

A = Puenmuang Lumphun B = Kradook C = Chompoo Nam D = Chompoo E = Soitong F = Baihod G = Biewkiew ChiangMai
H = Daengkloam I = Nampueng J = Biewkiew Pasao K = Haew L = Puangtong M = E-lueong N = Kiew Pra In O = Baidam
P = Puenmuang Nan

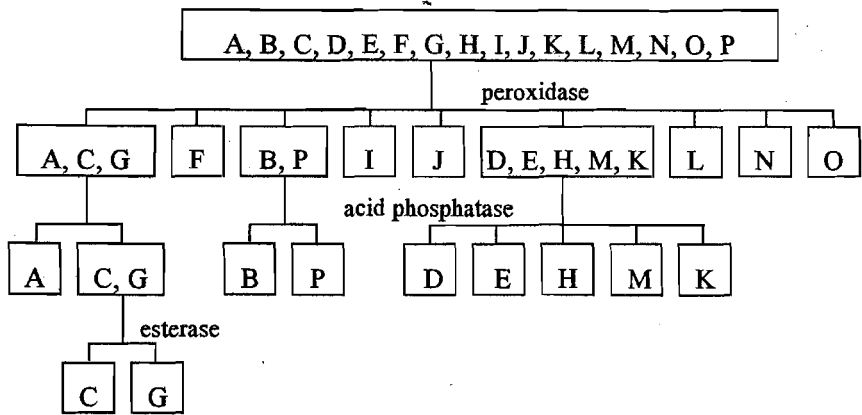


Figure 4 Identical chart of sixteen longan varieties by peroxidase, acid phosphatase and esterase.

A = Puenmuang Lumphun B = Kradook C = Chompoo Nam D = Chompoo E = Soitong F = Baihod G = Biewkiew ChiangMai H = Daengkloam I = Nampueng J = Biewkiew Pasao K = Haew L = Puangtong
M = E-lueong N = Kiew Pra In O = Baidam P = Puenmuang Nan

2. ชุดที่ 2 ทำกับลำไยพันธุ์คอ 8 สายพันธุ์

2.1 จำแนกโดยการศึกษาารูปแบบไอโซไซม์ peroxidase จำนวนแถบที่สามารถพบได้มี 9 แถบ เมื่อวัดอัตราการเคลื่อนที่ (Rf) ของแถบจะได้ ตำแหน่งของแถบที่ Rf 0.458, 0.450, 0.433, 0.408, 0.392, 0.233, 0.208, 0.175 และ 0.158 ความหนาของแต่ละแถบเท่ากับ 1.0, 1.0, 1.0, 1.0, 1.0, 1.0, 2.5 และ 2.5 มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยแต่ละพันธุ์มีจำนวน 4-6 แถบ เมื่อเปรียบเทียบกับ ตำแหน่งแถบสี และความหนาของแถบสี พบรูปแบบที่แตกต่างกันทำให้สามารถจำแนก พันธุ์คอได้ 4 กลุ่ม (ภาพที่ 5) ดังนี้

- กลุ่มที่ 1 มี 1 พันธุ์ คือ คอคอนไชย มี 5 แถบ ที่ Rf 0.408, 0.392, 0.233, 0.208 และ 0.175
- กลุ่มที่ 2 มี 4 พันธุ์ คือ คอยอดแดง คอยอดขาว คอก้านแข็ง และคอก้านอ่อน มี 5 แถบ ที่ Rf 0.450, 0.433, 0.233, 0.208 และ 0.175
- กลุ่มที่ 3 มี 1 พันธุ์ คือ คอหอม มี 6 แถบ ที่ Rf 0.458, 0.450, 0.233, 0.208, 0.175 และ 0.158
- กลุ่มที่ 4 มี 2 พันธุ์ คือ คอน่าน และคอทาน้อย มี 4 แถบ ที่ Rf 0.450, 0.433, 0.208 และ 0.175

จะเห็นว่ารูปแบบของไอโซไซม์ peroxidase สามารถจำแนกลำไยพันธุ์คอได้เป็นบางส่วน พันธุ์ที่จำแนกได้มีจำนวน 2 พันธุ์ ได้แก่ คอคอนไชย และคอหอม ส่วนพันธุ์ที่จำแนกไม่ได้มีจำนวน 6 พันธุ์ ได้แก่ คอยอดแดง คอยอดขาว คอก้านแข็ง คอน่าน คอทาน้อย และคอก้านอ่อน

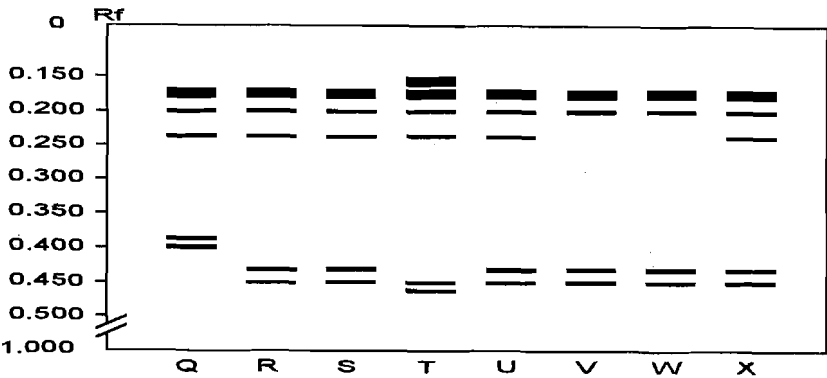


Figure 5 Zymogram of peroxidase isozyme of eight Daw clones of longan.

2.2 จำแนกโดยศึกษารูปแบบไอโซไซม์ acid phosphatase จำนวนแถบที่สามารถพบได้มี 10 แถบ เมื่อวัดอัตราการเคลื่อนที่ (Rf) ของแถบ จะได้ตำแหน่งของแถบที่ Rf 0.391, 0.300, 0.277, 0.264, 0.255, 0.234, 0.209, 0.164, 0.036 และ 0.027 ความหนาของแต่ละแถบเท่ากับ 0.5, 1.0, 4.0, 2.0, 2.5, 1.0, 2.0, 2.0, 1.5 และ 1.5 มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยแต่ละพันธุ์มีจำนวนแถบ 2-6 แถบ เมื่อเปรียบเทียบตำแหน่งแถบสี และความหนาของแถบสี พบรูปแบบที่แตกต่างกันทำให้สามารถจำแนกพันธุ์คอได้ 6 กลุ่ม (ภาพที่ 6) ดังนี้

- กลุ่มที่ 1 คอยอดแดง มี 4 แถบ ที่ Rf 0.391, 0.277, 0.164 และ 0.036
- กลุ่มที่ 2 คอยอดขาว มี 6 แถบ ที่ Rf 0.391, 0.300, 0.277, 0.209, 0.164 และ 0.027
- กลุ่มที่ 3 คอก้านแข็ง มี 4 แถบ ที่ Rf 0.391, 0.300, 0.255 และ 0.164
- กลุ่มที่ 4 คอน่าน มี 3 แถบ ที่ Rf 0.264, 0.234 และ 0.164

- กลุ่มที่ 5 คอทาน้อย มี 2 แถบ ที่ 0.255 และ 0.164
- กลุ่มที่ 6 คอก้านอ่อน มี 4 แถบ ที่ Rf 0.391, 0.264, 0.164 และ 0.027

การทำอิเล็กโตรโฟรีซิสสามารถใช้ในการจำแนกลำไยพันธุ์คอ 8 สายพันธุ์ออกจากกัน ได้ทั้งหมด ดังแสดงในแผนภาพ (ภาพที่ 7) เมื่อพิจารณารูปแบบไอโซไซม์ทั้งหมด และนำมาจัดกลุ่มลำไยพันธุ์คอ 8 สายพันธุ์ โดยนำพันธุ์ที่มีรูปแบบซ้ำกันไว้ในกลุ่มเดียวกัน พบว่า peroxidase สามารถจำแนกได้ 4 กลุ่ม กลุ่มที่ใหญ่ที่สุดมีจำนวน 4 พันธุ์ คือ คอยอดแดง คอยอดขาว คอก้านแข็ง คอก้านอ่อน และกลุ่มที่มี 2 พันธุ์ 1 กลุ่ม คือ คอน่าน และคอทาน้อย และจำแนกออกได้ด้วยรูปแบบไอโซไซม์ peroxidase 2 พันธุ์ คือ คอคอนไซย และคอหอม เมื่อใช้รูปแบบไอโซไซม์ acid phosphatase พบว่า คอยอดแดง คอยอดขาว คอก้านแข็ง และคอก้านอ่อน มีรูปแบบที่แตกต่างกัน เช่นเดียวกับคอน่าน และคอทาน้อย จึงจำแนกออกจากกันได้

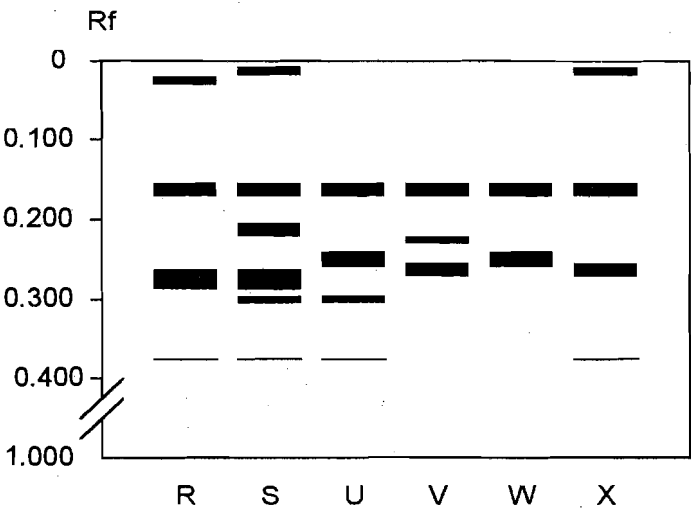


Figure 6 Zymogram of acid phosphatase isozyme of six Daw clones of longan.

Q = Daw Donchai R = Daw Yoddaeng S= Daw Yodkao T = Daw Hom U = Daw Kankaeng V= Daw Nan
W =Daw Tanoi X = Daw Kan-on

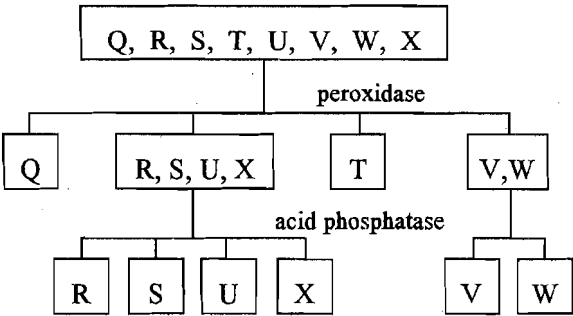


Figure 7 Identical chart of eight Daw clones of longan by peroxidase and acid phosphatase.

Q = Daw Donchai R = Daw Yoddaeng S= Daw Yodkao T = Daw Hom U = Daw Kankaeng V= Daw Nan
W = Daw Tanoi X = Daw Kan-on

การวิเคราะห์กลุ่มลำไยเพื่อหาความแตกต่างและความสัมพันธ์ของลำไยทั้ง 24 พันธุ์ ใช้รูปแบบไอโซไซม์ peroxidase เพราะเป็นเอนไซม์ที่ได้นำมาใช้ศึกษากับลำไยทุกพันธุ์ ส่วนเอนไซม์อีก 2 ชนิด ไม่ได้นำมาใช้ศึกษากับลำไยทุกพันธุ์ จึงไม่ได้นำมาวิเคราะห์กลุ่ม สามารถจำแนกลำไยได้เป็น 12 กลุ่ม โดยมีกลุ่มที่มีลำไยอยู่ 1 ชนิด จำนวน 6 กลุ่ม คือ พวงทอง น้ำผึ้ง เบี้ยวเขียว ป่าเส้าใบดำ เบี้ยวพระอินทร์ คอคอนไซย สำหรับลำไยพันธุ์ที่เหลือจากกลุ่มข้างต้นมีกลุ่มลำไย

มากกว่า 1 ชนิด จำนวน 6 กลุ่ม กลุ่มที่มี 2 พันธุ์ จำนวน 3 กลุ่ม คือ 1. คอน่าน คอทาน้อย 2. ไบหาด คอหอม 3. กระดุก พื้นเมืองน่าน กลุ่มที่มี 3 พันธุ์ จำนวน 1 กลุ่ม คือ ชมพุน้ำ เบี้ยวเขียว เชียงใหม่ พื้นเมืองลำพูน กลุ่มที่มี 4 พันธุ์ จำนวน 1 กลุ่ม คือ ดอกก้านแข็ง ดอกก้านอ่อน คอยอดแดง คอยอดขาว และกลุ่มสุดท้ายมีจำนวน 5 พันธุ์ คือ แห้ว อีเหลียง ชมพู สร้อยทอง แดงกลม ดังแสดงรายละเอียดในแผนภาพที่ 8

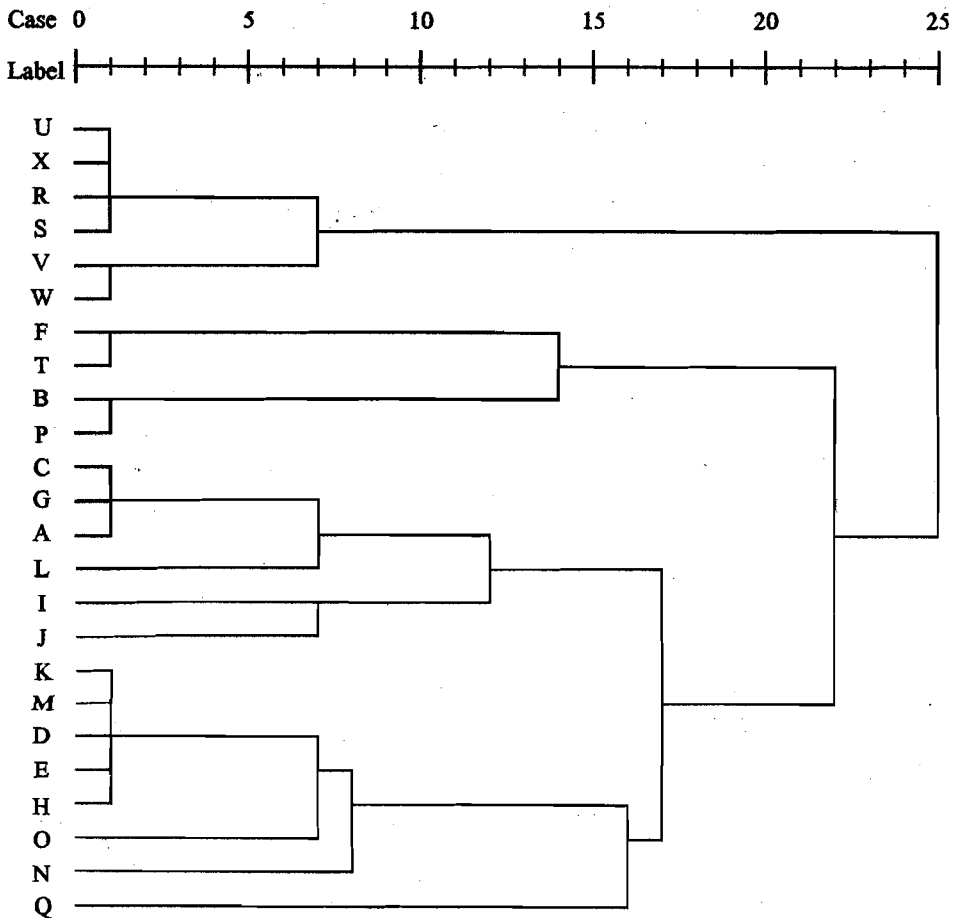


Figure 8 Identification group of sixteen varieties and eight Daw clones of longan by peroxidase isozyme pattern.

A = Puenmuang Lumpfun B = Kradook C = Chompoo Nam D = Chompoo E = Soitong F = Baihod
G = Biewkiew Chiang Mai H = Daengklom I = Nampueng J = Biewkiew Pasao K = Haew L = Puangtong
M = E-lueong N = Kiew Pra In O = Baidam P = Puenmuang Nan Q = Daw Donchai R = Daw Yoddaeng
S = Daw Yodkao T = Daw Hom U = Daw Kankaeng V = Daw Nan W = Daw Tanoi X = Daw Kan-on

ผลจากการวิเคราะห์กลุ่มพืชทำให้ทราบถึงความสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์กันคือ ลำไยพันธุ์ใบหคเป็นพันธุ์เดียวกันกับลำไยพันธุ์คอสายพันธุ์คอสอยซึ่งตรงกับการจำแนกพันธุ์ลำไยด้วยวิธีฐานวิทยาของ Ramingwong and Chiewsilp (1994) ลำไยพันธุ์คอสายพันธุ์คอสอยจำแนกออกจากพันธุ์คอสายพันธุ์อื่น โดยลักษณะรูปแบบของไอโซไซม์จะมีความใกล้เคียงกับลำไยพันธุ์เขียวพระอินทร์มากกว่าลำไยพันธุ์คอสายพันธุ์อื่น

สรุปผลการทดลอง

1. วิธีอิเล็กโทรโฟริซิสสามารถจำแนกพันธุ์ลำไยได้ พบว่า ลำไย 16 พันธุ์ สามารถจำแนกออกจากกันได้โดยใช้รูปแบบของไอโซไซม์ peroxidase, acid phosphatase และ esterase ส่วนลำไยพันธุ์คอส 8 สายพันธุ์ สามารถจำแนกออกจากกันได้โดยใช้รูปแบบไอโซไซม์ peroxidase และ acid phosphatase
2. รูปแบบของไอโซไซม์มีจำนวนแตกต่างกัน คือ ไอโซไซม์ peroxidase มี 10 แถบ ไอโซไซม์ acid phosphatase มี 10 แถบ และไอโซไซม์ esterase มี 3 แถบ

เอกสารอ้างอิง

- เกศินี ระมิงค์วงศ์. 2528. การจัดจำแนกไม้ผล. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 289 น.
- พิชัย สารณูมย์. 2532. ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับลำไย เพื่อการศึกษาระดับปริญญา. วิทยาลัยราไพพรรณี, จันทบุรี. 271 น.
- เพ็งพงษ์ ศรีประเสริฐศักดิ์, สมนึก พรหมแดง และ สมบูรณ์ บุญปรีชา. 2532. รายงานการวิจัยการจำแนกสายพันธุ์พืชเศรษฐกิจด้วยรูปแบบไอโซไซม์. หน่วยชีวเคมีและห้องปฏิบัติการกลาง ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม. 40 น.
- สัมฤทธิ์ เพื่องจันทร์. 2523. หลักไม้ผล. ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น. 122 น.
- อาภัสสรา ชมิศท์. 2537. เทคนิคอิเล็กโทรโฟริซิส. ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 106 น.
- Hiratsuka, S., K. Ichimura, E. Takahashi and N. Hirata. 1986. Analysis of proteins in developing style and ovary with reference to self-incompatibility of Japanese pear. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 55(2) : 145-152.
- Pasteur, N., G. Pasteur, F. Bonhomme, J. Calalan and J. Britton-Daidian. 1988. Practical Isozyme Genetics. Ellis Horwood Ltd., London. 215 p.
- Ramingwong, K. and K. Chiewsilp. 1994. Genetic Resources of Longan in Northern Thailand. Final Report Submitted to Chiang Mai University, Chiang Mai. 76 p.
- Torres, A.M. 1983. Fruit Tree, part B, p. 401-421. In Tanksley S.D. and T.J. Orton (eds.). Isozymes in Plant Genetic and Breeding. Elsevier Sci. Pub. Co., Amsterdam.
- Wendel, J.F. and N.F. Weeden. 1989. Visualization and interpretation of plant isozyme, p. 5-45. In Soltis D.E and P.S. Soltis (eds.). Isozyme in Plant Biology. Dioscorides Press, Oregon.