

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการระดับโมเลกุลของทุเรียนในจังหวัดนนทบุรี จำนวน 14 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์กบแม่เต่า กบชายน้ำ ย่ามะหวาด ชะนี ก้านยาว ก้านยาวสีนาค อีลิบ กระจุม พวงมณี ทองย้อยฉัตร กระจุมทอง อีหนัก หมอนทอง และกำปั่นเหลือง โดยมีพันธุ์อื่นต่าง ซึ่งเป็นทุเรียนพันธุ์พื้นเมืองของจังหวัดปราจีนบุรีเป็น out group ด้วยเทคนิค PCR เพิ่มขยายจำนวนดีเอ็นเอ บริเวณ Internal Transcribed Spacer (ITS) ได้ PCR product มีความยาว 1,435 คู่เบส แล้วนำมาหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA sequencing) แต่มีเพียง 5 สายพันธุ์ ได้แก่ อีต่าง หมอนทอง กบชายน้ำ ก้านยาวสีนาค และก้านยาวที่ให้ลำดับเบส สามารถนำมาวิเคราะห์เปรียบเทียบข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์โดยใช้โปรแกรม ClustalX และ Mega 6 กับลำดับนิวคลีโอไทด์ของทุเรียนจากฐานข้อมูล GenBank เพื่อหาแผนภูมิความสัมพันธ์โดยวิธี Neighbour-Joining จะเห็นได้ว่าทุเรียนนนทบุรี 4 พันธุ์มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับกลุ่มทุเรียนพันธุ์ *Durio zibethinus* (AF287710) *Durio lowianus* (AF287711) *Durio oxleyanus* (AF287712) *Durio graveolens* (AF287718) *Durio graveolens* (AF287719) *Durio dulcis* (AF287713) *Durio dulcis* (AF287715) *Durio kutejensis* (AF287717) *Durio lanceolatus* (AF287709) *Durio acutifolius* (AF287700) *Durio testudinarium* (AF287704) *Durio singaporensis* (AF287702) และ *Durio singaporensis* (AF287701) รวมถึงสายพันธุ์อื่นต่าง ซึ่งเป็น out group จึงไม่เกิดเป็นกลุ่ม

เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ในรูปแบบของ Phylogenetic tree กับลักษณะวิทยาของทุเรียน พบว่าทุเรียนพันธุ์ก้านยาวสีนาคมีความใกล้ชิดกับทุเรียนพันธุ์ทองย้อยฉัตร และพันธุ์กบชายน้ำโดยมีลักษณะวิทยาของใบ ได้แก่ รูปร่างใบเป็นแบบ Oblong ปลายใบเป็นแบบ Acuminate ฐานใบเป็นแบบ Obtuse เช่นเดียวกัน ส่วนลักษณะวิทยาของผล พบว่าพันธุ์กบชายน้ำ และทองย้อยฉัตรมีทรงผลเป็นแบบ Ovate รอยต่อก้านผลเป็นแบบ Swollen รูปร่างหนามเป็นแบบ Pointed-convex เช่นเดียวกัน จึงน่าจะมีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรม ส่วนพันธุ์อื่นต่างมีความใกล้ชิดกับทุเรียนพันธุ์หมอนทอง โดยมีลักษณะวิทยาของใบ ได้แก่รูปร่างใบเป็นแบบ Oblong ปลายใบเป็นแบบ Acuminate เช่นเดียวกัน รวมถึงมีความกว้างของใบหมอนทอง และอีต่างเท่ากับ 5.11 และ 5.55 เซนติเมตร ความยาวของใบเท่ากับ 17.06 และ 16.45 เซนติเมตร และความยาวก้านใบมีค่าเท่ากับ 2.44 และ 2.34 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งแต่ละค่ามีค่าใกล้เคียงกัน จึงน่าจะมีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรม

อภิปรายผล

การระบุชนิดของทุเรียนจากลักษณะภายนอกเพียงอย่างเดียว อาจทำให้เกิดความผิดพลาดได้ การนำเทคนิคการวิเคราะห์เครื่องหมายโมเลกุลมาช่วยตรวจสอบจึงเป็นวิธีการหนึ่งที่มีความเที่ยงตรงสูง สามารถจำแนกชนิด และหาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของทุเรียนได้อย่างชัดเจน ในการวิจัยครั้งนี้ใช้การหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA sequencing) ของบริเวณ Internal Transcribed

Spacer (ITS) ซึ่งสามารถเปรียบเทียบหาความแตกต่างของความสัมพันธ์ในระดับ intraspecific interspecific และ intergenetic ได้ มาใช้จำแนกชนิดของทุเรียนนนทบุรี ทำให้เห็นความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของทุเรียนในจังหวัดนนทบุรีมีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับกลุ่มทุเรียนพันธุ์ *Durio zibethinus* (AF287710) *Durio lowianus* (AF287711) *Durio oxleyanus* (AF287712) *Durio graveolens* (AF287718) *Durio graveolens* (AF287719) *Durio dulcis* (AF287713) *Durio dulcis* (AF287715) *Durio kutejensis* (AF287717) *Durio lanceolatus* (AF287709) *Durio acutifolius* (AF287700) *Durio testudinarium* (AF287704) *Durio singaporensis* (AF287702) และ *Durio singaporensis* (AF287701) รวมถึงสายพันธุ์อื่นต่าง ซึ่งเป็น out group

เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ในรูปแบบของ Phylogenetic tree กับสัณฐานวิทยาของทุเรียน พบว่าทุเรียนพันธุ์ก้านยาวสีนาคมีความใกล้ชิดกับทุเรียนพันธุ์ทองย้อยฉัตร และพันธุ์กบชายน้ำโดยมีสัณฐานวิทยาของใบ ได้แก่ รูปร่างใบเป็นแบบ Oblong ปลายใบเป็นแบบ Acuminate ฐานใบเป็นแบบ Obtuse เช่นเดียวกัน ส่วนสัณฐานวิทยาของผล พบว่าพันธุ์กบชายน้ำ และทองย้อยฉัตรมีทรงผลเป็นแบบ Ovate รอยต่อก้านผลเป็นแบบ Swollen รูปร่างหนามเป็นแบบ Pointed-convex เช่นเดียวกัน

ส่วนพันธุ์อื่นต่างมีความใกล้ชิดกับทุเรียนพันธุ์หมอนทอง โดยมีสัณฐานวิทยาของใบ ได้แก่ รูปร่างใบเป็นแบบ Oblong ปลายใบเป็นแบบ Acuminate เช่นเดียวกัน รวมถึงมีความกว้างของใบหมอนทอง และอื่นต่างเท่ากับ 5.11 และ 5.55 เซนติเมตร ความยาวของใบเท่ากับ 17.06 และ 16.45 เซนติเมตร และความยาวก้านใบมีค่าเท่ากับ 2.44 และ 2.34 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งแต่ละค่ามีค่าใกล้เคียงกันจึงน่าจะมีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรม อาจมีความเป็นไปได้ว่าแต่ละพันธุ์ได้มีการพัฒนาปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่ปลูก ทำให้สัณฐานวิทยาแตกต่างกันออกไป แต่เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางดีเอ็นเอแล้วมีความใกล้ชิดกัน

ที่ผ่านมาการศึกษาพันธุกรรมของทุเรียนในจังหวัดนนทบุรีเป็นการศึกษาจากชิ้นส่วนของดีเอ็นเอ ที่ให้ผลการแบ่งกลุ่มคลาดเคลื่อนกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่น เทคนิค AFLP (Amplified fragment length polymorphism) ที่ใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ ตัด genomic DNA แล้วใช้ PCR เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ แสดงผลในรูปของแถบชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่มีขนาดแตกต่างกัน สามารถแสดงความแตกต่างของลำดับเบสดีเอ็นเอ บ่งบอกความแตกต่างของสายพันธุ์ได้ วิธี AFLP นำมาใช้จำแนกพันธุ์ทุเรียนในจังหวัดนนทบุรี จำนวน 45 ตัวอย่าง ได้เป็น 5 กลุ่ม แต่ไม่สอดคล้องกับกลุ่มที่แยกด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา แต่สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างที่ไม่ออกดอกและติดผลที่ไม่สามารถวิเคราะห์ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้ (ฤทัยชนก กิตติวิโรดม. 2554) หรือการใช้วิธี RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) ตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรม และจำแนกชนิดของทุเรียนในจังหวัดนนทบุรี ด้วยจำนวนตัวอย่าง 14 ตัวอย่าง ใช้ไพรเมอร์ 9 ไพรเมอร์ สามารถแบ่งกลุ่มของทุเรียนได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ กลุ่มที่ 1 มีกลุ่มย่อย 2 กลุ่ม กลุ่มแรกเป็นกบชายน้ำ กบสาวน้อย กบวัดกล้วย กบตาเฒ่า อีกกลุ่มเป็นกบแม่เฒ่า และหลวง กลุ่มที่ 2 มีกลุ่มย่อย 2 กลุ่ม กลุ่มแรกเป็นย่ามะหวาด หลวง ฉัตรสีทอง และชะนี อีกกลุ่มเป็นก้านยาว ทองย้อยฉัตร กำป็น และหมอนทอง ซึ่งตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้แบ่งฉัตรสีทอง และทองย้อยฉัตรอยู่ในกลุ่มทองย้อย (Vanijajiva, O. 2011)

ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้

ผลการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของทุเรียนในจังหวัดนนทบุรีด้วยเทคนิค PCR เพิ่มขยายจำนวนดีเอ็นเอบริเวณ Internal Transcribed Spacer (ITS) นี้สามารถนำไปตรวจสอบความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของทุเรียนแต่ละพันธุ์ได้

ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยครั้งต่อไป

1. การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมในขั้นตอนการหาลำดับเบส (DNA sequencing) ควรต้องเพิ่มขั้นตอนการโคลนบริเวณ ITS เชื่อมต่อกับ pGEM- T Easy Vector แล้วทรานฟอร์มเข้าสู่ *E. coli* ก่อนนำตัวอย่างไปหาลำดับเบส เพื่อให้ลำดับเบสที่ได้มีความสมบูรณ์
2. เก็บตัวอย่างทุเรียนให้มากขึ้นทั้งในจังหวัดนนทบุรี และที่อื่นๆ เพื่อหาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของทุเรียนในประเทศไทย