บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

การวิจัยครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์การวิจัยคือ 1) เพื่อศึกษาลักษณะประจำสายพันธุ์ทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางการเกษตรของกระเจี๊ยบเขียว 2) เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกระเจี๊ยบเขียวต่างสายพันธุ์โดยใช้เครื่องหมายไอเอสเอสอาร์ 3) เพื่อจำแนกและจัดกลุ่มความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของกระเจี๊ยบเขียว

ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย ดังนี้

1. การรวบรวมสายพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวจากแหล่งต่าง ๆ ได้แก่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักเขตร้อน 10 สายพันธุ์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ 3 สายพันธุ์ กรมวิชาการเกษตร 4 สายพันธุ์ ศูนย์ฝึกอบรมเยาวชนเกษตรวัดญาณสังวรารามวรมหาวิหาร อันเนื่องมาจากพระราชดำริ 1 สายพันธุ์ พันธุ์การค้า 7 สายพันธุ์ และพันธุ์จากต่างประเทศ 10 สายพันธุ์ รวมทั้งหมด 35 สายพันธุ์

2. การศึกษาลักษณะประจำสายพันธุ์ทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางการเกษตรของกระเจี๊ยบเขียว วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (RCBD) จำนวน 3 ซ้ำ มีหน่วยทดลองคือ แปลงปลูกกระเจี๊ยบเขียวขนาด 1X5 เมตร จำนวนต้นกระเจี๊ยบเขียว 10 ต้นต่อแปลง เก็บข้อมูลลักษณะสัณฐานวิทยา 5 ลักษณะ คือ 1) ลักษณะการเจริญเติบโตของต้น ได้แก่ เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น สีลำต้น อายุออกดอกแรก และความสูงต้น (วันแรกที่ออกดอก) 2) ลักษณะใบ ได้แก่ สีใบ และรูปร่างใบ 3) ลักษณะดอก ได้แก่ สีดอก และจำนวนกลีบดอก 4) ลักษณะผล ได้แก่ ความกว้างผล ความยาวผล ความหนาเนื้อ ความยาวก้าน น้ำหนักสดผล จำนวนเหลี่ยม สีผล และผิวผล และ 5) ลักษณะเมล็ดสายพันธุ์ ได้แก่ สีเมล็ด ผิวเมล็ด รูปร่างเมล็ด และน้ำหนัก 100 เมล็ด และลักษณะทางการเกษตร ได้แก่ จำนวนผลต่อต้น น้ำหนักผลต่อต้น ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำ (TSS) ปริมาณสารพอลิแซกคาไรด์ ปริมาณแอนโทไซยานิน วิเคราะห์ลักษณะสัณฐานวิทยาและลักษณะทางการเกษตร โดยวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป ใช้สถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ ค่าเฉลี่ย ค่าสูงสุดและค่าต่ำสุด และวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของลักษณะทางการเกษตร ตามแผนการทดลองแบบ RCBD ด้วย ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan’s new multiple - range test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

3. การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกระเจี๊ยบเขียวต่างสายพันธุ์โดยใช้เครื่องหมายไอเอสเอสอาร์ โดยตรวจสอบความสัมพันธ์ของกระเจี๊ยบเขียวทั้ง 35 สายพันธุ์ ด้วยการเปรียบเทียบความเหมือนและความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์โดยใช้ชุดไพรเมอร์ ISSR โดยให้แถบดีเอ็นเอที่ปรากฏมีค่าเท่ากับ 1 และไม่ปรากฏมีค่าเท่ากับ 0 โดยหาค่าสัมประสิทธิ์ความคล้าย (similarity coefficient)

4. การจำแนกและจัดกลุ่มความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของกระเจี๊ยบเขียว โดยตรวจสอบความสัมพันธ์ของกระเจี๊ยบเขียวทั้ง 35 สายพันธุ์ ด้วยการสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ (dendrogram) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป NTSYS-pc รุ่น 2.02i ด้วยวิธีการจัดกลุ่มแบบ unweighted pair group method with arithmetic mean (UPGMA) (Rohlf, 2002)

จากการวิจัยครั้งมีการสรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ ดังนี้

5.1 สรุปผลการวิจัย

5.1.1 ลักษณะประจำสายพันธุ์ทางสัณฐานวิทยาของกระเจี๊ยบเขียว

กระเจี๊ยบเขียวมีลักษณะทางสัณฐานวิทยา 1) การเจริญเติบโตของต้น ได้แก่ เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น สีลำต้น อายุออกดอกแรก และความสูงต้น (วันแรกที่ออกดอก) 2) ใบ ได้แก่ สีใบ และรูปร่างใบ 3) ดอก ได้แก่ สีดอก และจำนวนกลีบดอก 4) ผล ได้แก่ ความกว้างผล ความยาวผล ความหนาเนื้อ ความยาวก้าน น้ำหนักสดผล จำนวนเหลี่ยม สีผล และผิวผล และ 5) เมล็ด ได้แก่ สีเมล็ด ผิวเมล็ด รูปร่างเมล็ด และน้ำหนัก 100 เมล็ด แตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ ซึ่งกระเจี๊ยบเขียวมีเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นเฉลี่ยเท่ากับ 1.86 เซนติเมตร สีลำต้นสีเขียว เขียวปนแดง และสีแดง ความสูงต้น 62.10 – 157.20 เซนติเมตร อายุการออกดอกแรก 37 – 49 วันหลังเพาะเมล็ด ใบมีห้าแฉกและขอบใบหยัก สีใบมีแผ่นใบเขียวและเส้นใบเขียวประแดง แผ่นใบเขียวและเส้นใบเขียว แผ่นใบเขียวและเส้นใบแดง และแผ่นใบเขียวประแดงและเส้นใบแดง และสีก้านใบเขียว เขียวประแดง และแดง ดอกเป็นดอกเดี่ยว ออกตามซอกใบ มีกลีบดอก 5 – 8 กลีบ สีเหลืองอ่อน โคนกลีบสีม่วงแดง รูปไข่กลับหรือค่อนข้างกลม เกสรเพศผู้มีจำนวนมาก ก้านเกสรเพศเมียเรียวยาว ปลายแยกเป็น 5 แฉก ยอดเกสรเพศเมียเป็นแผ่นกลมขนาดเล็ก สีม่วงแดง ผลเรียวยาว ความกว้างผล 1.4 – 3.6 เซนติเมตร ความยาวผล 8.3 – 10.1 เซนติเมตร ความหนาเนื้อ 0.14 – 0.32 มิลลิเมตร ความยาวก้าน 2.62 – 8.09 เซนติเมตร และน้ำหนักผล 9.5 – 38.1 กรัม รูปร่างผลส่วนมากมีเหลี่ยม 5 – 10 เหลี่ยม และบางสายพันธุ์ไม่มีเหลี่ยม ผิวผลมีขนปกคลุมทั่วผล และสีผลมีสีเขียวอ่อน เขียวเข้ม แดงอมชมพู แดงเข้ม ผิวผลสีเขียวอ่อนและปลายผลและขั้วผลสีเขียวอ่อนประแดง และผิวผลแดงเหลี่ยมและปลายผลสีเขียวอ่อน เมล็ดกลม สีเขียวขี้ม้า ผิวเรียบแต่มีร่อง และมีน้ำหนัก 100 เมล็ด เท่ากับ 5.5 – 7.3 กรัม และลักษณะทางการเกษตรของกระเจี๊ยบเขียว ซึ่งกระเจี๊ยบเขียวมีจำนวนผลต่อต้น น้ำหนักผลต่อต้น ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำ และปริมาณสารพอลิแซกคาไรด์ของกระเจี๊ยบเขียวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) ซึ่งกระเจี๊ยบเขียวสายพันธุ์ SR18-0058 มีจำนวนผลต่อต้นมากที่สุด เท่ากับ 32.95 ผล สายพันธุ์ SR18-0058 มีน้ำหนักผลต่อต้นมากที่สุด เท่ากับ 437.13 กรัม สายพันธุ์ SR18-0046 มีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำมากที่สุด เท่ากับ 5.07 % Brix และสายพันธุ์ HE111 มีปริมาณสารพอลิแซกคาไรด์มากที่สุด เท่ากับ 15.00% w/w ส่วนปริมาณสารแอน

โทไซยานินของกระเจี๊ยบเขียว 5 สายพันธุ์ ที่มีสีแดง มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยกระเจี๊ยบเขียวสายพันธุ์ SR18-0047 มีปริมาณแอนโทไซยานินมากที่สุด เท่ากับ 0.14 mg/ 100g น้ำหนักสด

5.1.2 ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกระเจี๊ยบเขียวต่างสายพันธุ์โดยใช้เครื่องหมายไอเอสเอสอาร์

สารละลายดีเอ็นเอของกระเจี๊ยบเขียว 35 สายพันธุ์ มีค่า Optical Density (OD) อยู่ในช่วง 1.71-2.04 มีปริมาณสารละลายดีเอ็นเอ 10.48-1,272.40 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร และการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอกระเจี๊ยบเขียว เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกระเจี๊ยบเขียวต่างสายพันธุ์โดยใช้เครื่องหมายไอเอสเอสอาร์ พบว่า มีจำนวนไพรเมอร์ 28 ไพรเมอร์ ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ และมี 5 ไพรเมอร์ คือ ไพรเมอร์ 1 9 14 24 และ 28 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอและแสดงแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันของกลุ่มตัวอย่างระหว่างสายพันธุ์ได้ โดยปรากฏไพรเมอร์ที่ 1 สังเคราะห์ดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 1,200 คู่เบส ไพรเมอร์ 9 สังเคราะห์ดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 1,200 คู่เบส ไพรเมอร์ที่ 14 สังเคราะห์ดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 900 คู่เบส ไพรเมอร์ที่ 24 สังเคราะห์ดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 1,200 คู่เบส และไพรเมอร์ที่ 28 สังเคราะห์ดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 900 คู่เบส ความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอทั้ง 5 ไพรเมอร์นำไปจัดกลุ่มความสัมพันธ์โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป NTSYS-pc รุ่น 2.02i และเลือกการจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA สร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ พบว่ามีค่าดัชนีความเหมือน 0.37-1.00 เมื่อพิจารณาที่ค่าสัมประสิทธิ์ความคล้าย เท่ากับ 0.69

5.1.3 การจำแนกและจัดกลุ่มความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของกระเจี๊ยบเขียว สามารถแบ่งกระเจี๊ยบเขียวออกได้เป็น 7 กลุ่ม คือ

กลุ่มที่1 ได้แก่ HE067, SR18-0044, แม่โจ้ 70 ปี, SR18-0066 Hill country heirloom red, SR18-0072 กระเจี๊ยบเขียวฝักแดงสามเอ, SR18-0074 Chin 1, HE010 TVRC, HE045 TVRC, HE051 TVRC, HE052 TVRC, HE085 TVRC, SR18-0062 Philippine lady finger, SR18-0064 Albama red, HE101 บังคลาเทศ, SR18-0073 ภูเขาทอง (OP), SR18-0059 PC5707, SR18-0060 PC5709, SR18-0076 ฮิซาโอะ ลูกผสม F_1, SR18-0061 พิจิตร 1, และ HE 047 TVRC

กลุ่มที่ 2 ได้แก่ HE 025 TVRC, SR18-0046 อินทรีย์ (กระเจี๊ยบเขียวแม่โจ้ 49) และ SR18-0075 ธราธิป

กลุ่มที่ 3 ได้แก่ HE 106 TVRC และ SR18-0067 Star of David

กลุ่มที่ 4 ได้แก่ HE 111 TVRC และ SR18-0055 กระเจี๊ยบเขียวเบล

กลุ่มที่ 5 ได้แก่ SR18-0047 มณีแม่โจ้, SR18-0056 กระเจี๊ยบเขียว 9062 Dynamic และ SR18-0075 Queen star ลูกผสม F_1

กลุ่มที่ 6 ได้แก่ SR18-0063 Emerald, SR18-0065 Fife creek cowhorn, SR18-0068 Stubby และ SR18-00581 PC5706

กลุ่มที่ 7 ได้แก่ SR18-0069 Japan #1 และ SR18-0071 กระเจี๊ยบเขียวเจียไต๋

5.2 อภิปรายผล

5.2.1 การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกระเจี๊ยบเขียวโดยใช้เครื่องหมายไอเอสเอสอาร์ มีขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอจากกระเจี๊ยบเขียวด้วยวิธี CTAB (Doyle and Doyle, 1987) ทำให้ได้ดีเอ็นเอคุณภาพต่ำ เนื่องจากกระเจี๊ยบเขียวมีสารโพลีแซคคาไรด์ (Polysaccharide) และโพลีฟีนอล (Polyphenol) ทำให้ดีเอ็นเอปนอยู่กับเมือก สารละลายดีเอ็นเอมีความหนืด สีเขียวเข้ม จึงมีการเติม 1% PVP (Polyvinyl pyrrolidone) ลงไปในบัฟเฟอร์ เพื่อช่วยให้กำจัดสารโพลีแซคคาไรด์ได้ดียิ่งขึ้น (Porebski, Bailey, and Baum, 1997) และเมื่อนำสารละลายดีเอ็นเอมาทำให้บริสุทธิ์เพิ่มขึ้นโดยการผ่านคอลัมน์ของชุดสกัด NucleoSpin® Genomic DNA from plant (Macherey-Nagel, เยอรมัน) พบว่า สารละลายดีเอ็นเอที่ได้แบ่งเป็นกลุ่มที่มีคุณภาพดีคือมีค่า OD อยู่ในช่วง 1.8 และกลุ่มที่มีคุณภาพพอใช้ มีค่า OD ต่ำกว่า 1.8 สารละลายดีเอ็นเอในกลุ่มนี้มีการปนเปื้อนของโปรตีนและโพลีแซคคาไรด์ มีค่า OD สูงกว่า 1.8 มีการปนของอาร์เอ็นเอ (สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, 2552) แต่ยังสามารถนำมาใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีพีซีอาร์ได้ จึงเก็บสารละลายดีเอ็นเอไว้ที่อุณภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาใช้ในขั้นตอนต่อไป และสารละลายดีเอ็นเอที่ได้สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้โดยใช้ชุดไพรเมอร์ ISSR มีรายงานว่า Sarwat, Negi, Lakshmikumaran, Tyagi, Das, and Srivastava (2006) ได้ประยุกต์ใช้วิธีสกัดดีเอ็นเอด้วย CTAB (Doyle and Doyle, 1990) ร่วมกับชุดสกัด kit-G2N 70, Sigma Aldrich ในสมอเทศ (Terminalia arjuna) ทำให้ดีเอ็นเอที่ได้มีความบริสุทธิ์เพื่อที่จะนำไปใช้ในการทำ RAPD และ AFLP ต่อไปได้เช่นกัน

5.2.2 กระเจี๊ยบเขียวสามารถแบ่งได้เป็น 7 กลุ่ม โดยใช้เครื่องหมายไอเอสเอสอาร์ ซึ่งลักษณะประจำสายพันธุ์ทางสัณฐานวิทยาของกระเจี๊ยบเขียวแต่ละสายพันธุ์ในกลุ่มเดียวกัน มีความเหมือนและแตกต่างกันไป ทำให้การใช้ลักษณะประจำสายพันธุ์ทางสัณฐานวิทยาจำแนกกลุ่มเพียงอย่างเดียวทำไม่ได้ เช่น กล้วยไม้สกุลแวนด้าหมู่เข็มมีดอกขนาดเล็กที่มีการปรับปรุงสายพันธุ์เป็นกล้วยไม้ลูกผสม ทำให้การจำแนกชนิดและสายพันธุ์ตามลักษณะสัณฐานมีความยุ่งยากและเกิดความสับสน ดังนั้นจึงใช้เทคนิคแฮตอาร์เอพีดีและไอเอสเอสอาร์เพื่อประเมินความสัมพันธ์ของสายพันธุ์กล้วยไม้สกุลแวนด้าหมู่เข็ม โดยสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ด้วยวิธี UPGMA ซึ่งแผนภูมิที่ได้ทั้ง 3 แผนภูมิ สามารถจำแนกกลุ่มได้เหมือนกัน ดังนั้นเทคนิคเครื่องหมายทั้งสองมีประสิทธิภาพในการประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม และสามารถใช้ในการจำแนกชนิดของกล้วยไม้สกุลแวนด้าหมู่เข็มได้ (จินต์ ทองสม, ธีระชัย ธนานันต์ และนฤมล ธนานันต์, 2558)

5.3 ข้อเสนอแนะ

5.3.1 ข้อเสนอแนะจากการวิจัย

1) ควรคัดเลือกสายพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวที่ต้านทานโรคเส้นใบเหลือง (Yellow vein mosaic disease)

2) การสกัดดีเอ็นเอของกระเจี๊ยบเขียวค่อนข้างยาก เนื่องจากเมือกปนอยู่กับดีเอ็นเอ ทำให้ดีเอ็นเอที่ได้มีความบริสุทธิ์ต่ำ จึงควรนำส่วนของใบตั้งแต่ระยะต้นกล้ามาวิเคราะห์

5.3.2 ข้อเสนอแนะเพื่อการใช้ประโยชน์

1) สามารถนำข้อมูลจัดทำฐานข้อมูลเกี่ยวกับพันธุกรรมของกระเจี๊ยบเขียว

2) คัดเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ประโยชน์ในรูปแบบต่างๆ เช่น บริโภค แปรรูป และเครื่องสำอาง เป็นต้น

5.3.3 ข้อเสนอแนะเพื่อการวิจัยต่อไป

1) นำข้อมูลพันธุกรรมกระเจี๊ยบเขียวไปใช้เป็นข้อมูลสำคัญสำหรับการปรับปรุงสายพันธุ์กระเจี๊ยบเขียว

2) ศึกษาสารสำคัญในผลกระเจี๊ยบเขียว เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ