การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Cinnamomum* ในภาคใต้ โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี

Genetic Diversity of *Cinnamomum* spp. in Southern Thailand Based on RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) Technique

จิตรา จันโสด

Jittra Jansote

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for

the Degree of Master of Science in Plant Science

Prince of Songkla University

2553

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Cinnamomum* ในภาคใต้โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี

ผู้เขียน นางสาวจิตรา จันโสด

สาขาวิชา พืชศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

……

(รองศาสตราจารย์ ดร. จรัสศรี นวลศรี)

คณะกรรมการสอบ

……..ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. สายัณห์ สดุดี)

……กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. จรัสศรี นวลศรี)

……กรรมการ
(รองศาสตราจารย์มงคล แซ่หลิม)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์

……..…….
(ศาสตราจารย์ ดร. อมรรัตน์ พงศ์ดารา)
คณะบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์ การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Cinnamomum* ในภาคใต้โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี

ผู้เขียน นางสาวจิตรา จันโสด

สาขาวิชา พืชศาสตร์

ปีการศึกษา 2553

บทคัดย่อ

ทำการเก็บรวบรวมพืชสกุล *Cinnamomum* 8 ชนิด (species) จำนวน 73 ต้น และไม่ทราบชนิดอีกจำนวน 9 ต้น รวมทั้งสิ้น 82 ต้น จากบางพื้นที่ในภาคใต้ของประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดสงขลา สตูล ตรัง สุราษฎร์ธานี กระบี่ และชุมพร โดยตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นร่วมกับการใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี ในการประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของกลุ่มประชากรที่เก็บรวบรวม จากการบันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่น ลักษณะลำต้น ใบ ดอก และผล พบความแตกต่างของลักษณะใบ คือ รูปร่างใบ ปลายใบ ขอบใบ และเส้นใบ จากไพรเมอร์ขนาด 10 เบส ทดสอบเบื้องต้นด้วยเทคนิค อาร์เอพีดี จำนวน 50 ไพรเมอร์ คัดเลือกได้จำนวน 10 ไพรเมอร์ ให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 78 แถบ เป็นแถบที่ให้ความแตกต่างจำนวน 75 แถบ (96.15 %) จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมโดยใช้วิธี UPGMA จากโปรแกรม NTSYS (Version 2.1) พบว่ามีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมีค่าอยู่ระหว่าง 0.397 – 0.987 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.641 ผลจากเดนโดรแกรมสามารถแบ่งกลุ่มพืชที่ศึกษาได้เป็น 6 กลุ่มแยกตามชนิดค่อนข้างชัดเจน และพบว่าต้นที่ไม่ทราบชนิดอีก 9 ต้น คือ ฝนแสนห่า (unknown 1) ทั้ง 4 ตัวอย่าง พบว่ามีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับเทพทาโร (*C. porrectum*) มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับชนิดอื่น ส่วนบริแวง (unknown 2) กระจายอยู่ในกลุ่มเดียวกับเชียด (*C. iners*) จำนวน 2 ตัวอย่าง และอีก 3 ตัวอย่าง จัดอยู่ในกลุ่มที่ 5 เมื่อพิจารณาความหลากหลายทางพันธุกรรมในกลุ่มพืชชนิดเดียวกัน พบว่า เชียด (*C. iners*) มีความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในกลุ่มมากที่สุด โดยมีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.487 – 0.987 สำหรับความสัมพันธ์ระหว่างชนิดพืช พบว่า เทพทาโร (*C. porrectum*) กับ ตะไคร้ต้น (*C. ilicioides*) มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมากที่สุด มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเฉลี่ยเท่ากับ 0.843 ในขณะที่ เทพทาโร (*C. porrectum*) กับ เชียดใบใหญ่ (*C. mollissimum*) มีความห่างไกลทางพันธุกรรมมากที่สุด (ค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเฉลี่ยเท่ากับ 0.522)

Thesis Title	Genetic Diversity of *Cinnamomum* spp. in Southern Thailand Based on RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) Technique
Author	Miss Jittra Jansote
Major Program	Plant Science
Academic Year	2010

ABSTRACT

Seventy-three plants belong to 8 species and 9 unknown species of *Cinnamomum* were collected from 6 provinces (Songkhla, Satun, Trang, Surat thani, Krabi and Chumphon provinces) in southern Thailand. Morphological characteristics and RAPD markers (Random Amplified Polymorphic DNA) were used to assess the genetic diversity of the populations. Morphological characters such as stem, leaf, flower and fruit were recorded. In observation of leaf morphology, the differences of leaf shape, leaf apex, leaf margin and venation were found. Total of fifty 10 – base oligonucleotide primers for RAPD were first screened, and 10 primers were chosen to assess genetic variation among samples. From total 78 fragments generated by those primers, 75 were polymorphic (96.15%). A dendrogram showing genetic similarities among *Cinnamomum* species was constructed based on polymorphic bands using UPGMA, and a cluster analysis was performed using NTSYS program (Version 2.1). We found that genetic similarity among population ranged from 0.397 – 0.987 with an average 0.641. Cluster analysis quite clearly separated each species which were grouped into 5 clusters. Four unknowns (Fon saen ha) were found to be closer to *C. porrectum* than the other species. Two unknowns (called Bori waeng) were grouped in the same cluster of *C. iners* while other three samples were separated in the cluster V. Among the populations, *C. iners* showed the most diverse with genetic similarity coefficients ranging from 0.487 to 0.987. The closest relationships between species was found between *C. porrectum* and *C. ilicioides* (average 0.843), while *C. porrectum* and *C. mollissimum* were the least genetically similar (average 0.522).

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(6)
รายการตาราง	(7)
รายการรูป	(8)
บทที่	
1 บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
ตรวจเอกสาร	3
วัตถุประสงค์	14
2 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการวิจัย	15
วัสดุและอุปกรณ์	15
วิธีการ	19
3 ผล	26
4 วิจารณ์	49
5 สรุป	55
เอกสารอ้างอิง	56
ภาคผนวก	62
ประวัติผู้เขียน	68

รายการตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1 ชื่อวิทยาศาสตร์ และชื่อไทยของพืชสกุล *Cinnamomum* ที่พบในประเทศไทย ทั้งหมด 19 ชนิด (species) 4

2 ชนิด (species) จำนวนตัวอย่าง และสถานที่เก็บตัวอย่างพืชสกุล *Cinnamomum* ที่ใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี 21

3 ชนิดของไพรเมอร์ ลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอเหมือนกัน และจำนวนดีเอ็นเอที่ต่างกัน จากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดีในพืชสกุล *Cinnamomum* จำนวนทั้งหมด 82 ต้น 36

4 เปอร์เซ็นต์แถบดีเอ็นเอที่ปรากฏในประชากรพืชสกุล *Cinnamomum* ในแต่ละชนิดจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี 43

5 ค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Cinnamomum* ในแต่ละชนิด 48

ตารางภาคผนวกที่

1 ไพรเมอร์ที่ใช้ในการทดสอบ ลำดับเบสของไพรเมอร์ และผลที่ได้จากการทดสอบ RAPD - PCR กับดีเอ็นเอของพืชสกุล *Cinnamomum* 65

รายการรูป

รูปที่		หน้า
1	ลักษณะเปลือกต้นชั้นนอกของพืชสกุล *Cinnamomum*	27
2	ตัวอย่างรูปร่างใบแบบต่าง ๆ ของพืชสกุล *Cinnamomum*	29
3	ตัวอย่างปลายใบของพืชสกุล *Cinnamomum*	30
4	ตัวอย่างขอบใบของพืชสกุล *Cinnamomum*	31
5	ตัวอย่างการเรียงตัวของเส้นใบพืชสกุล *Cinnamomum*	32
6	ลักษณะช่อดอกและดอกของพืชสกุล *Cinnamomum*	33
7	ตัวอย่างลักษณะผลของพืชสกุล *Cinnamomum*	34
8	รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างพืชสกุล *Cinnamomum* จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPA-01	37
9	รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างพืชสกุล *Cinnamomum* จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPA-07	37
10	รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างพืชสกุล *Cinnamomum* จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPA-10	38
11	รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างพืชสกุล *Cinnamomum* จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPB-19	38
12	รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างพืชสกุล *Cinnamomum* จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPB-20	39
13	รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างพืชสกุล *Cinnamomum* จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPC-15	39
14	รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างพืชสกุล *Cinnamomum* จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPC-16	40
15	รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างพืชสกุล *Cinnamomum* จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPD-09	40
16	รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างพืชสกุล *Cinnamomum* จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPE-14	41

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
17	รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างพืชสกุล *Cinnamomum* จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPAA-03	41
18	เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพืชสกุล *Cinnamomum* จำนวน 73 ต้น 8 ชนิด และไม่ทราบชนิดอีก 9 ต้น จากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดี ด้วยไพรเมอร์ 10 ไพรเมอร์	46
19	แผนภูมิแท่งแสดงเปอร์เซ็นต์การกระจายตัวของประชากรพืชสกุล *Cinnamomum* ในกลุ่มต่าง ๆ จากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดี	47

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ภาคใต้ของประเทศไทยเป็นถิ่นกำเนิด และแหล่งพันธุกรรมพืชเขตร้อนที่สำคัญแห่งหนึ่งในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีพืชหลากหลายประเภททั้งที่เป็นพันธุ์ปลูก และพันธุ์ป่าหลายชนิด พืชเหล่านี้มีบทบาทต่อความเป็นอยู่ และวิถีชีวิตของคนในพื้นที่มายาวนาน แต่ในขณะเดียวกันก็มีภัยคุกคามต่อพรรณพืชเหล่านั้นทั้งที่เกิดจากฝีมือมนุษย์ สภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลง และภัยธรรมชาติ ทำให้พืชหลายชนิดลดจำนวนลงอย่างรวดเร็ว และบางชนิดใกล้สูญพันธุ์ พืชสกุล *Cinnamomum* เป็นพืชอีกสกุลหนึ่งที่อยู่ในภาวะถูกคุกคามและใกล้สูญพันธุ์ เนื่องจากเกษตรกรต้องการพื้นที่สำหรับปลูกพืชเศรษฐกิจ ได้แก่ ยางพารา ปาล์มน้ำมัน ทำให้พื้นที่ป่าถูกทำลายส่งผลกระทบต่อจำนวนต้นของพืชสกุล *Cinnamomum* และพรรณไม้อื่น ๆ ทั้งนี้พืชสกุล *Cinnamomum* สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายด้าน เช่น นำไปใช้ทางการแพทย์ อุตสาหกรรมอาหาร และเครื่องสำอาง เนื้อไม้ มีกลิ่นหอมฉุน ใช้ในการแกะสลัก ทำเตียงนอน ทำตู้ หีบใส่เสื้อผ้ากันมอด และแมลง พืชสกุลนี้ที่พบหลากหลายในภาคใต้ ได้แก่ เทพทาโร เชียด เป็นต้น

การรักษาความหลากหลายของพืชพื้นเมืองในพื้นที่จึงมีความสำคัญ เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการสูญหาย เป็นประโยชน์ในการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช และการใช้ประโยชน์ด้านอื่น ๆ ต่อไป คณะทรัพยากรธรรมชาติได้ตระหนักถึงปัญหาดังกล่าวจึงได้จัดทำโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี พืชสกุล *Cinnamomum* เป็นพืชอีกหนึ่งสกุลที่อยู่ในโครงการ การศึกษาพันธุกรรมพืชและจำแนกกลุ่มพืชทำได้หลายวิธี เช่น การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา เป็นเครื่องหมายดั้งเดิมที่ใช้ในอดีต อย่างไรก็ตามลักษณะสัณฐานมีข้อจำกัดหลายประการ พืชบางพันธุ์มีลักษณะต่าง ๆ ใกล้เคียงกันมากจนไม่สามารถแยกความแตกต่างได้โดยสายตา ผู้ประเมินต้องมีความเชี่ยวชาญ หรือในกรณีของไม้ยืนต้นหากใช้ดอกหรือผลในการแยกความแตกต่าง ระยะเวลาจนถึงช่วงออกดอกและติดผลอาจต้องใช้เวลานานมาก จึงจะทำการตรวจสอบได้ จากข้อจำกัดเหล่านี้การใช้เครื่องหมายโมเลกุลจึงเป็นอีกวิธีหนึ่งที่มีประสิทธิภาพและเหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการศึกษา เทคนิคทางด้านโมเลกุลมีอยู่ด้วยกันหลายเทคนิค เช่น เทคนิคอาร์เอฟแอลพี (RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism)

เอเอฟแอลพี (AFLP: Amplification Fragment Length Polymorphism) อาร์เอพีดี (RAPD: Random Amplified Polymorphic DNA) ไมโครแซทเทลไลท์ (Microsatellite) เป็นต้น เทคนิคอาร์เอพีดี เป็นเทคนิคที่ทำได้ง่าย ไม่ซับซ้อน ค่าใช้จ่ายไม่สูงมากนัก มีการนำเทคนิคนี้มาใช้อย่างกว้างขวาง เช่น นำมาใช้ในการจำแนกพันธุ์พืช (Koller *et al*., 1993) การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและตรวจสอบความใกล้ชิดทางพันธุกรรม (Nguyen *et al.*, 2004) เป็นต้น ดังนั้นการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาร่วมกับการใช้เทคนิคอาร์เอพีดี จะทำให้การประเมินลักษณะของพืชสกุล *Cinnamomum* มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

ตรวจเอกสาร

พืชสกุล *Cinnamomum* จัดอยู่ในวงศ์ Lauraceae ซึ่งพืชวงศ์นี้มีทั้งหมด 17 สกุล มีมากกว่า 300 ชนิดทั่วโลก แต่ในประเทศไทยมีรายงานว่า พบเพียง 19 ชนิด (เต็ม, 2544) โดยมีชื่อวิทยาศาสตร์ยึดตามแบบสากลในฐานข้อมูล The International Plant Names Index (IPNI) (2009) ดังแสดงในตารางที่ 1 พบกระจายทั่วไปในประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ จีน อินเดีย ศรีลังกา ออสเตรเลีย และประเทศใกล้เคียง The Wealth of India (1992) อ้างโดย Joy และ Maridass (2008) รายงานว่า ในประเทศอินเดียมีการนำพืชสกุลนี้มาปลูกครั้งแรกจากประเทศศรีลังกา ซึ่งพบทั้งหมด 19 ชนิด บริเวณทางตอนใต้ของประเทศอินเดีย ชนิดที่ให้น้ำมัน และมีความสำคัญทางการค้าของโลกได้แก่ อบเชยเทศ อบเชยจีน และการบูร ซึ่งอบเชยจีนเป็นพืชสำคัญทางเศรษฐกิจที่เจริญเติบโตในประเทศจีนทางตอนใต้ (Liao *et al*., 2009) ประเทศที่ส่งออกอบเชย (*Cinnamomum* spp.) เป็นจำนวนมากได้แก่ จีน อินโดนีเซีย และศรีลังกา ส่วนประเทศที่สั่งซื้ออบเชยเป็นจำนวนมาก คือ สหรัฐอเมริกา เยอรมัน และญี่ปุ่น เนื่องจากมนุษย์รู้จักใช้อบเชยมาหลายพันปีแล้ว มีบันทึกใช้จากประเทศจีน อียิปต์ ฟีนิเซีย ฮีบรู มาจนถึงสมัยล่าอาณานิคมซึ่งชาวยุโรปเดินทางมาพบเข้ายึดครองและเก็บภาษี เมื่อพบสินค้าที่พอใจจะนำกลับประเทศของตน ทำกำไรมหาศาลให้พ่อค้าและประเทศที่มีอาณานิคมเหล่านั้น สำหรับคนไทยใช้อบเชยกันมานานแล้วเช่นกัน และพบว่ามีบันทึกอยู่ในวรรณคดีไทยหลายเรื่อง ส่วนใหญ่มักนึกถึงอบเชยในฐานะเครื่องเทศชนิดหนึ่งใช้ตกแต่งกลิ่นอาหารกับข้าวไทยหลายชนิด เช่น อาหารประเภทพะโล้ต่าง ๆ ชาวตะวันตกใช้อบเชยในการทำขนมและผสมในเครื่องดื่ม เช่น กาแฟ โกโก้ เป็นต้น (วีณา, 2545 ; Barceloux, 2009) การใช้ประโยชน์อบเชยนอกจากเป็นเครื่องเทศแล้วยังใช้ทำยา และอื่น ๆ ทั้งนี้เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยจากธรรมชาติเป็นส่วนประกอบที่จำเป็นในการปรุงแต่งกลิ่น และรสเครื่องดื่ม เช่น น้ำอัดลม เป็นส่วนประกอบอาหารสำเร็จรูป ใช้ปรุงแต่งกลิ่นเครื่องสำอาง เช่น น้ำหอม สบู่ แชมพู ยาสีฟัน ครีม และอื่น ๆ และใช้เป็นส่วนประกอบปรุงแต่งกลิ่น และรสยารักษาโรค ปัจจุบันการแข่งขันในอุตสาหกรรมเครื่องดื่มอาหารสำเร็จรูป และเครื่องสำอางมีสูงมาก กลิ่นและรสบางชนิดไม่สามารถสังเคราะห์ได้ต้องอาศัยจากธรรมชาติ นอกจากนั้นยังมีความพยายามที่แสวงหา และผลิตกลิ่นแปลกใหม่ จึงทำให้มีความต้องการ และการค้นหาพืชที่ให้น้ำมันหอมระเหยชนิดใหม่มาใช้มากขึ้น พืชในสกุล *Cinnamomum* เป็นกลุ่มของพันธุ์ไม้ยืนต้นที่มีศักยภาพในการพัฒนาเพื่อเป็นวัตถุดิบผลิตน้ำมันหอมระเหย ทั้งนี้เนื่องจากเกือบทุกส่วนของต้น โดยเฉพาะใบและเปลือก ให้น้ำมันหอมระเหย กลิ่น และรสแตกต่างกันไปตามชนิด (สมคิด, 2546) ซึ่งสามารถนำส่วนเปลือกต้น เนื้อไม้ ใบ ดอก และผล มากลั่นได้เป็นน้ำมันหอมระเหยที่มีสารประกอบทางเคมีที่สำคัญ ได้แก่ camphor,

cinnamaldehyde, safrole, Methylhydroxy Chalcone Polymer, eugenol, beta-caryophyllene เป็นต้น สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในด้านการแพทย์ อุตสาหกรรมอาหารและเครื่องสำอาง และด้านการเกษตร Anderson (2002) อ้างโดย วีณา (2545) รายงานการวิจัยทางโภชนาการ พบว่า Methylhydroxy Chalcone Polymer หรือ MHCP ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติ และความสามารถในการทำงานคล้ายกับฮอร์โมนอินซูลิน สามารถช่วยเพิ่มความสามารถในการเผาผลาญกลูโคสให้ได้มากขึ้น จึงมีผลให้ระดับน้ำตาลในเลือดลดลง และไม่ทำให้เกิดภาวะน้ำตาลในเลือดสูงได้ ช่วยบรรเทาโรคเบาหวาน นอกจากนี้ยังพบว่าสาร MHCP สามารถลดความดันโลหิตของสัตว์ทดลองได้ และมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดีอีกด้วย จากการสำรวจเกี่ยวกับการผลิตการค้า การใช้น้ำมันหอมระเหยที่มีซาฟรอล (safrole - rich oil) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์สารที่มีประโยชน์ทั้งการแพทย์ และทางการเกษตร ดังเช่น การสังเคราะห์สารโครงสร้างคล้ายคลึง sulindac ซึ่งมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ และการสังเคราะห์สารโครงสร้างคล้ายคลึง strigol ที่จะเป็นพื้นฐานของการพัฒนาไปสู่ยากระตุ้นประสาทหรือยากระตุ้นการทำงานส่วนอื่น ๆ (สุรีรัตน์, 2550) นอกจากนี้ น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากใบสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา และแบคทีเรีย (Chang *et al*., 2001) ฆ่าตัวอ่อนของแมลงและลูกน้ำ มีฤทธิ์ทำให้กล้ามเนื้อคลายตัว (อรุณพร, 2550)

ตารางที่ 1 ชื่อวิทยาศาสตร์ และชื่อไทยของพืชสกุล *Cinnamomum* ที่พบในประเทศไทย ทั้งหมด 19 ชนิด (species)

ชื่อวิทยาศาสตร์	**ชื่อไทย**
Cinnamomum aromaticum Nees	**อบเชยจีน**
C. bejolghota (Buch.-Ham.) Sweet	ขนุนมะแวง เชียกใหญ่ (ตรัง) จวงดก (หนองคาย) เฉียด บริแวง (ระนอง) ฝนแสนห่า สมุลแว้ง (นครศรีธรรมราช) พะแว โมงหอม ระแวง (ชลบุรี) มหาปราบ (ตราด) มหาปราบตัวผู้ (จันทบุรี) แลงแวง (ปัตตานี) **อบเชย** (กรุงเทพ อุตรดิตถ์)
C. burmannii (Nees & T.Nees) Blume	**อบเชยชวา** (กรุงเทพ)
C. camphora (L.) J.Presl	พรมเส็ง (ภาคเหนือ) **การบูร** อบเชยญวน (ทั่วไป)
C. crenulicupulum Kosterm.	**ฮางแกง** (เชียงใหม่)
C. deschampsii Gamble	**เชียดตัวเมีย** (นราธิวาส) แตยอ (มลายู-นราธิวาส)
C. glaucescens (Nees) Hand.-Mazz.	**กะเพราต้น** (นครราชสีมา)
C. ilicioides A.Chev.	**ข่าต้น ตะไคร้ต้น** (ภาคกลาง) พญูต้น (เชียงใหม่)

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชื่อวิทยาศาสตร์	**ชื่อไทย**
C. iners Reinw. ex Blume	กระแจะโมง กะเชียด กะทั้งนั้น (ยะลา) กระดังงา กะพังหัน โกเล่ (กาญจนบุรี) เนอม้า (กะเหรี่ยง-กาญจนบุรี) เขียด เคียด เฉียด ชะนุต้น (คาบสมุทร) **เชียด** มหาปราบตัวผู้ อบเชย อบเชยต้น (ภาคกลาง) ดิ๊กซี่สอ (กะเหรี่ยง-เชียงใหม่) บอกคอก (ลำปาง) ฝักดาบ (พิษณุโลก) พญาปราบ (นครราชสีมา) สะวง (ปราจีนบุรี)
C. kerrii Kosterm.	**ละมุนละแม้ง** (เลย)
C. mollissimum Hook.f.	**เชียดใบใหญ่** (ยะลา)
C. porrectum (Roxb.) Kosterm.	จวง จวงหอม (ภาคใต้) จะไคร้ต้น จะไคร้หอม (ภาคเหนือ) **เทพทาโร** (ภาคกลาง จันทบุรี สุราษฎร์ธานี) พลูต้นขาว (เชียงใหม่) มือแดกะมาจิง (มลายู-ปัตตานี) การบูร (หนองคาย)
C. puberulum Ridl.	**เชียดตัวผู้** (นราธิวาส) แตยอย่าแต ยอยาแต (มลายู-นราธิวาส)
C. rhynchophyllum Miq.	**แตยอ** (มลายู-นราธิวาส)
C. sintoc Blume	**ลูกข่า** (ชลบุรี)
C. subavenium Miq	ชะเอม ชะเอมเครือ (เลย) **สุรามะริด** (นครราชสีมา) เส่กอเล (กะเหรี่ยง-เชียงใหม่)
C. tamala (Buch.-Ham.) T.Nees & C.H.Eberm.	**แกง** (เชียงใหม่)
C. tavoyanum Meisn	**ปอยเลื่อม** (ภาคเหนือ)
C. verum J.Presl	**อบเชยเทศ** (กรุงเทพ)

ที่มา : เต็ม (2544)

ลักษณะทั่วไปของพืชสกุล *Cinnamomum*

1. อบเชย (*C. bejolghota* (Buch.-Ham.) Sweet) เป็นไม้ต้นขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ สูง 7 - 25 เมตร เปลือกสีอมเทา ใบเดี่ยว ออกตรงข้าม หรือเยื้องกัน รูปขอบขนาดแกมรี กว้าง 5-10 เซนติเมตร ปลายใบมน แหลม หรือ เรียวแหลม โคนใบแหลม ขอบใบเรียบ เนื้อใบหนาคลายแผ่นหนัง มีเส้นใบจากโคนใบ 3 เส้น ขึ้นไปจนถึงหรือเกือบถึงปลายใบ ด้านบนเกลี้ยง เส้นใบมองเห็นชัดและไม่เป็นร่อง แต่เส้นใบย่อยมองเห็นไม่ชัด ด้านล่างสีออกนวล เส้นนูน เห็นเด่นชัด ส่วนเส้นใบย่อยพอเห็นได้ลาง ๆ ก้านใบค่อนข้างใหญ่ ยาว 12 - 28 มิลลิเมตร ดอกออกเป็นช่อแบบแยกแขนงอยู่ใกล้ยอด ยาว 20 - 25 เซนติเมตร ก้านช่อดอกยาว 10 - 15 เซนติเมตร ก้านดอกย่อยยาว 2 - 5 มิลลิเมตร มีขน ดอกย่อยมีขนาดเล็ก สีขาวอมเหลือง กลีบรวมมี 6 กลีบ รูปขอบขนาน ปลายมน เชื่อมติดกันที่โคน มีขนเป็นมันเหมือนไหม กลีบรวมนี้จะติดทนจนเป็นผล เกสรเพศผู้มี 9 อัน เรียงเป็น 3 วง วงที่ 1 และวงที่ 2 อับเรณูหันหน้าเข้าข้างใน ก้านเกสรมีขน วงที่ 3 อับเรณูจะหันหน้าออกข้างนอก อับเรณูมี 4 พู มีต่อม 2 ต่อม อยู่ที่โคนก้าน ผลรูปรีหรือค่อนข้างกลม ยาว 7 - 12 มิลลิเมตร อวบน้ำ

นิเวศวิทยา ขึ้นตามไหล่เขาในป่าดิบ พบในแทบทุกภาคของประเทศไทย

สรรพคุณ น้ำต้มเปลือกต้น ดื่มแก้ตับอักเสบ อาหารไม่ย่อย แก้ท้องเสีย ลำไส้เล็กทำงานผิดปกติ และขับพยาธิ (ก่องกานดา, 2540)

2. การบูร (*C. camphora* (L.) J.Presl) เป็นไม้ต้นขนาดใหญ่ สูงได้ถึง 30 เมตร ทรงพุ่มกว้าง ทึบ ลำต้นมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางถึง 1.5 เมตร เปลือกต้นสีน้ำตาล ผิวหยาบ เปลือกกิ่งสีเขียว หรือน้ำตาลอ่อน ผิวเรียบ ไม่มีขน เนื้อไม้สีน้ำตาลปนแดง ใบเดี่ยว ออกเรียงสลับ รูปรี หรือรูปรีแกมรูปไข่ กว้าง 2.5 - 5.5 เซนติเมตร ยาว 5.5 - 15 เซนติเมตร ปลายใบเรียวแหลม โคนใบป้านหรือกลม ขอบใบเรียบหรือเป็นคลื่นเล็กน้อย เนื้อใบค่อนข้างหนา ด้านบนสีเขียวเข้ม เป็นมัน ด้านล่างสีเขียวอมเทาหรือนวล ไม่มีขน เมื่อขยี้จะมีกลิ่นหอมคล้ายกลิ่นการบูร เส้นใบขึ้นตรงมาจากโคนใบประมาณ 3 - 8 มิลลิเมตร แล้วแยกออกเป็น 3 เส้น ตรงมุมที่แยกออกนั้นมีต่อม 2 ต่อม และตามเส้นกลางใบอาจมีต่อมเกิดขึ้นตรงมุมที่มีเส้นใบแยกออกไป ก้านใบยาว 2 - 3 เซนติเมตร ไม่มีขน ดอกออกเป็นช่อตามง่ามใบ ยาวประมาณ 5 เซนติเมตร สีขาวอมเหลืองหรืออมเขียว ก้านดอกย่อยยาว 1 - 2 มิลลิเมตร กลีบรวมมี 6 กลีบ เรียงเป็น 2 วง ๆ ละ 3 กลีบ รูปรี ด้านนอกเกลี้ยง ด้านในมีขนละเอียด เกสรเพศผู้มี 9 อัน เรียงเป็น 3 วง ๆ ละ 3 อัน อับเรณูของวงที่ 1 และวงที่ 2 หันหน้าเข้าหาด้านใน ก้านเกสรมีขน ส่วนอับเรณูของวงที่ 3 หันหน้าออกด้านนอก ก้านเกสรค่อนข้างใหญ่ มีต่อม 2 ต่อม อยู่ใกล้โคนก้าน ต่อมรูปไข่กว้างและมีก้าน อับเรณูเป็นช่องมี 4 ช่อง เรียงเป็น 2 แถว ๆ

ละ 2 ช่อง มีลิ้นเปิดทั้ง 2 ช่อง เกสรเพศผู้เป็นหมันมี 3 อัน อยู่ด้านในสุด รูปร่างคล้ายหัวลูกศร มีขน แต่ไม่มีต่อม รังไข่รูปไข่ ไม่มีขน ก้านเกสรเพศเมียยาวประมาณ 1 มิลลิเมตร ไม่มีขน ปลายเกสรเพศเมียกลม ผลรูปไข่ หรือกลม ยาว 6 - 10 มิลลิเมตร สุกมีสีม่วงดำ มีฐานดอกซึ่งเจริญเติบโตขึ้นมาเป็นฐานรองผล

นิเวศวิทยา พันธุ์ไม้ที่ขึ้นได้ทั้งในเขตอบอุ่น และร้อนชื้น เช่น ประเทศจีน ญี่ปุ่น เกาหลี ไต้หวัน และแถบเอเชียตะวันออก เป็นพืชที่ขึ้นกระจายทั่วไปในประเทศออสเตรเลีย เจริญเติบโตดีในรัฐแคลิฟอร์เนียในประเทศอเมริกา

สรรพคุณ ต้น กลั่นเนื้อไม้จะได้ camphor หรือการบูรธรรมชาติ ใช้ผสมเป็นยาเพื่อป้องกันแมลงบางชนิด เป็นยาระงับประสาท แก้อาการชักบางประเภท ฆ่าเชื้อโรคบางชนิด ขับเหงื่อ แก้ไข้หวัด และขับลม ใช้ทาถูนวดแก้ปวด และเป็นยาฆ่าเชื้อโรคอย่างอ่อน (ก่องกานดา, 2540; Linda, 2004)

3. อบเชยจีน (*C. aromaticum* Nees) เป็นไม้ต้นขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ สูงได้ถึง 40 เมตร เปลือกสีน้ำตาลอมเทา กิ่งอ่อนเป็นสี่เหลี่ยม มีขนสีน้ำตาลปกคลุม ใบเดี่ยวออกตรงข้ามหรือเยื้องกัน รูปขอบขนานแกมรูปไข่ หรือรูปใบหอก กว้าง 2.5 - 6 เซนติเมตร ยาว 12 - 25 เซนติเมตร ปลายใบแหลมเป็นดิ่งสั้น ๆ โคนใบแหลม ขอบใบเรียบ เนื้อใบหนา มีเส้นใบ 3 เส้น ออกจากโคนใบถึงปลายใบ ด้านบนเป็นมัน เส้นใบนูนเล็กน้อย ไม่เป็นร่อง ด้านล่างสันใบนูน มีขนเล็กน้อย เส้นใบย่อยเป็นขั้นบันไดพอมองเห็นแต่ไม่เด่นชัด ก้านใบยาว 1.2 - 2 เซนติเมตร ด้านบนเป็นร่อง ดอกสีขาว หรือขาวอมเหลือง ออกเป็นช่อตามง่ามใบ และที่ปลายกิ่ง ยาว 8 - 16 เซนติเมตร ก้านช่อยาว 4 - 8 เซนติเมตร มีขนสีเหลือง ก้านดอกย่อยยาว 3 - 6 มิลลิเมตร มีขนสีน้ำตาลอมเหลือง ดอกยาวประมาณ 4.5 มิลลิเมตร มีกลีบรวม 6 กลีบ รูปขอบขนานแกมรูปไข่ กว้าง 1.5 มิลลิเมตร ยาว 2.5 มิลลิเมตร ปลายกลีบมน มีติ่งแหลม มีขนสีน้ำตาล อมเหลืองปกคลุมหนาแน่นทั้ง 2 ด้าน เกสรเพศผู้ที่สมบูรณ์มี 9 อัน เรียงเป็น 3 วง ๆ ละ 3 อัน วงที่ 1 และวงที่ 2 อับเรณูรูปไข่มี 4 ช่อง หันหน้าเข้าด้านใน ก้านเกสรมีขนนุ่ม วงที่ 3 อับเรณูหันหน้าออก ที่โคนก้านเกสรมีต่อมรูปไต 2 ต่อม เกสรเพศผู้เป็นหมันมี 3 อัน ปลายอับเรณูฝ่อเป็นรูปหัวลูกศร รังไข่รูปกลมแกมรูปไข่ยาวประมาณ 1.7มิลลิเมตร เกลี้ยง ก้านเกสรเพศเมียเรียวเล็กเหมือนด้าย ปลายเกสรเล็ก ผล รูปรี ยาว 10-13 มิลลิเมตร แก่สีม่วงดำ ผิวเกลี้ยง

นิเวศวิทยา ขึ้นโดยทั่วไปในป่าดิบ เป็นพื้นท้องถิ่นทางตอนใต้ของประทศจีน และในหมู่เกาะของประเทศอินโดนีเซีย

สรรพคุณ ต้น มีสรรพคุณคล้ายกับต้นการบูร เปลือกต้นเป็นยาบำรุงแก้มือ และเท้าเย็น แก้ปวดท้อง แก้ท้องเสีย ช่วยย่อย ขับลม เพิ่มโลหิตและช่วยแก้ปวดศีรษะ สตรีมีครรภ์ไม่ควรใช้ เข้าเครื่องยา เป็นยาขับระดูและขับเหงื่อ (ก่องกานดา, 2540; Barceloux, 2009)

4. เชียด (*C. iners* Reinw. ex Blume) เป็นไม้ต้นขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ สูง 15 - 20 เมตร ทรงพุ่มกลม หรือรูปเจดีย์ต่ำ ๆ ทึบ เปลือกสีน้ำตาลอมเทา ค่อนไปข้างเรียบ เกลี้ยง เปลือกและใบมีกลิ่นหอมอบเชย (cinnamon) ใบ เดี่ยว ออกตรงข้าม หรือเยื้องกันเล็กน้อย รูปขอบขนาน กว้าง 2.5 - 7.5 เซนติเมตร ยาว 7.5 - 25 เซนติเมตร เนื้อใบ หนา เกลี้ยง แข็ง และกรอบ มีเส้นใบออกจากโคนใบ 3 เส้นยาวตลอดจนถึงปลายใบ ด้านล่างเป็นคราบขาว ๆ ก้านใบยาว 0.5 เซนติเมตร ดอก มีขนาดเล็ก สีเหลืองอ่อน หรือเขียวอ่อน ออกเป็นช่อแบบกระจายที่ปลายกิ่ง ยาว 10 - 25 เซนติเมตร ดอกมีกลิ่นเหม็น ผล มีขนาดเล็ก รูปขอบขนาน ยาวประมาณ 1 เซนติเมตร แข็ง ตามผิวมีคราบขาว ๆ แต่ละผลมีเมล็ดเดียว ฐานรองรับผลเป็นรูปถ้วย

นิเวศวิทยา ขึ้นกระจายทั่วไปในป่าดิบ

สรรพคุณ ราก น้ำต้มให้หญิงที่คลอดบุตรใหม่ รับประทานรักษาไข้จากการอักเสบหลังคลอด น้ำยางจากใบใช้ทาแผลถอนพิษของยางน่อง และตำเป็นยาพอกแก้ปวดโรคไขข้ออักเสบ เมล็ด ทุบให้แตกแล้วผสมกับน้ำผึ้ง ให้เด็กกินแก้บิดและแก้ไอ (ก่องกานดา, 2540)

5. เทพทาโร (*C. porrectum* (Roxb.) Kosterm.) เป็นไม้ต้นขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ สูง 10 - 30 เมตร ผลัดใบ เรือนยอดเป็นพุ่มกลมทึบสีเขียวเข้ม ลำต้นไม่มีพูพอน เปลือกต้นสีเทาเข้ม หรือสีน้ำตาลปนเทา แตกเป็นร่องตามยาว เมื่อลอกเปลือกออกเปลือกชั้นในมีสีน้ำตาลอมแดง ลำต้นกิ่งอ่อนเรียว เกลี้ยงและมักมีคราบขาว ใบอ่อนสีชมพู เมื่อขยี้ใบหรือลอกต้น และเปลือกดมดูจะมีกลิ่นมิ้นท์ และกลิ่นน้ำมันยูคาลิปตัส ใบ เดี่ยว ออกเรียงสลับ หรือเกือบจะออกแบบตรงข้าม รูปรีรูปไข่ รูปรีแกมรูปไข่ หรือรูปไข่แกมรูปขอบขนาน กว้าง 2.5 - 4.5 เซนติเมตร ยาว 7 - 20 เซนติเมตร ปลายใบแหลม โคนใบแหลม หรือกลม ขอบใบเรียบ ผิวใบเกลี้ยง ด้านล่างเป็นคราบขาว มีเส้นใบ 3 - 7 คู่ ก้านใบเรียวเล็ก ยาว 2.0 - 3.5 เซนติเมตร ดอก สีขาว หรือ เหลืองอ่อน ๆ มีกลิ่นหอม ออกเป็นช่อกระจุกตามง่ามใบใกล้ปลายกิ่ง ยาว 2.5 - 7.5 เซนติเมตร ก้านช่อเรียวเล็ก กลีบรวมเชื่อมติดกันเป็นหลอดรูปกรวย ปลายแยกเป็นกลีบรูปขอบขนาน 6 กลีบ ซึ่งมีขนาดเกือบเท่ากัน ด้านนอกเกลี้ยง ด้านในมีขนนุ่มและยาว เกสรเพศผู้มี 9 อัน เรียงเป็น 3 วง เกสรเพศผู้เป็นหมันจะอยู่ภายในสุด อับเรณูมี 4 ช่อง แต่ละช่องมีลิ้นปิดเปิด รังไข่รูปไข่ ไม่มีขน ผล กลม เล็ก มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 7 มิลลิเมตร เมื่ออ่อนสีเขียว แก่สีม่วงดำ ก้านผลเรียว ยาวประมาณ 3 - 5 เซนติเมตร ที่ขั้วมีกลีบเลี้ยงรูปถ้วยไม่มีซี่หยักติดอยู่ ก้านผลส่วนบนพองออก เนื้อไม้ ทั้งจากส่วนลำต้นและราก มีสี

เทาแกมน้ำตาล เป็นมันเลื่อม เสี้ยนตรงหรอเสี้ยนสนเล็กน้อย เนื้อเหนียว แข็งพอประมาณ เลื่อยไส กบตกแต่งง่าย มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว

นิเวศวิทยา เทพทาโรเป็นพันธุ์ไม้ที่เจริญเติบโตได้ดีในสภาพอากาศชื้น ภูมิประเทศเป็นที่ราบจนถึงภูเขาสูง ตั้งแต่ 0 - 3,000 เมตร เหนือระดับน้ำทะเล มีเขตกระจายพันธุ์ใน แถบเอเชีย พบมาในเอเชียเขตร้อน ตั้งแต่ทิเบต มณฑลยูนานในจีน อินเดีย เทือกเขาตะนาวศรีใน พม่า เวียดนาม คาบสมุทรอินโดจีน จนถึงแหลมมลายู ไทย มาเลเซีย สิงคโปร์ เกาะสุมาตรา และ เกาะอื่น ๆ ในอินโดนีเซีย ในประเทศไทยพบทั่วทุกภาคของประเทศ ขึ้นกระจัดกระจายเป็นกลุ่ม ตั้งแต่บนที่ราบเชิงเขาจนถึงบนเขาในป่าดิบชื้น สภาพดินร่วนปนทราย น้ำไม่ท่วมขัง พบกระจาย พันธุ์หนาแน่นในภาคใต้

สรรพคุณ เปลือกมีกลิ่นหอมใช้แต่งกลิ่นอาหาร เป็นยาบำรุง โดยเฉพาะสตรีในวัย เจริญพันธุ์ ใช้ผสมในตำหรับยาหอม แก้ลม จุกเสียดแน่น แก้ปวดท้อง ท้องขึ้น ท้องเฟ้อ ใช้ขับลม เป็นยาบำรุงธาตุ เนื้อไม้ใช้ต้มกับน้ำแก้ท้องร่วง ท้องอืด ท้องเฟ้อ แก้วิงเวียน อาเจียน โรคบิด โรค หอมหืด หวัด เนื้อไม้และรากมีกลิ่นหอม ใช้ทำเครื่องหอมประทินผิว ทำธูปหอม ใช้ในพิธีกรรมใน ศาสนา ใช้ในการก่อสร้าง ใช้แกะสลักทำประดิษฐกรรม เนื้อไม้กลั่นได้น้ำมันหอมระเหย ทำยา หม่อง น้ำมันเหลือง น้ำมันนวดแก้ปวดข้อ และน้ำมันนวดสปา ใบมีกลิ่นหอมใช้เป็นเครื่องเทศแทน ใบกระวาน ยอดอ่อนรับประทานเป็นผักจิ้มกับน้ำพริก หรือตากแห้งชงเป็นชาดื่มบำรุงร่างกาย น้ำมันกลั่นจากผล และเมล็ด ใช้เป็นยาถูนวดแก้ปวดโรคไขข้ออักเสบ แก้ผื่นบวม ทาแผลสด แผล เรื้อรัง แก้อักเสบ แก้แมลงสัตว์กัดต่อย ทาแผลไฟไหม้น้ำร้อนลวก ทาริดสีดวงทวาร รักษาแผลในหู แก้ปวดฟัน รากใช้ทำยาแก้ไข้ และเครื่องเทศ (ก่องกานดา, 2540; สมเกียรติ และคณะ, 2552)

6. สุรามะริด (*C. subavenium* Miq) เป็นไม้พุ่ม กึ่งไม้ต้น สูง 5 - 25 เมตร กิ่งและใบ อ่อนมีขนสีน้ำตาลปกคลุม ใบ เดี่ยว ออกตรงข้าม หรือ เยื้องกันเล็กน้อย รูปขอบขนาน ถึงรูปใบ หอกแกมขอบขนาน กว้าง 1.6 - 3.5 เซนติเมตร ยาว 7 - 11 เซนติเมตร ปลายใบเรียวแหลม หรือ แหลมเป็นหางยาว โคนใบแหลม ขอบใบเรียบ ด้านบนเป็นมัน ด้านล่างมีขน มีเส้นใบออกจากโคน ใบ 3 เส้น เส้นใบย่อยเกือบขนานกัน มองเห็นไม่ชัด ก้านใบยาวประมาณ 8 มิลลิเมตร มีขน ดอก ออกตามง่ามใบ หรือที่ยอดเป็นช่อกระจาย ตามก้านช่อก้านดอกและกลีบรวม ปกคลุมด้วยขนสีขาว กลีบรวมมี 6 กลีบ รูปไข่ กว้าง 1.8 มิลลิเมตร ยาว 2.5 มิลลิเมตร เกสรเพศผู้ที่ไม่สมบูรณ์มี 9 อัน ก้านเกสรมีขน อับเรณูรูปรี ด้านหลังมีขนเล็กน้อย เกสรเพศผู้เรียงเป็น 3 วง วงที่ 3 มีต่อมที่โคนก้าน เกสร เกสรเพศผู้เป็นหมันอยู่ภายใน อับเรณูรูปหัวลูกศร รังไข่รูปรี เกลี้ยง ยาวประมาณ 1.5 มิลลิเมตร ก้านเกสรเกลี้ยง ยาวประมาณ 2 มิลลิเมตร ผล รูปขอบขนาน กว้าง 5 - 7 มิลลิเมตร ยาว 8 - 11 มิลลิเมตร ปลายมน

นิเวศวิทยา ขึ้นกระจายในป่าดิบและตามไหล่เขา ทางภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย

สรรพคุณ ต้น เปลือกใช้สำหรับเข้าเครื่องยา แก้ท้องเดิน และแก้ไข้มาลาเรีย (ก่องกานดา, 2540)

7. อบเชยเทศ (*C. verum* J.Presl) เป็นไม้ต้น สูง 20-25 เมตร กิ่งอ่อนมีขนสั้น ๆ ปกคลุม เปลือกและใบมีกลิ่นการบูร ใบ เดี่ยว ออกตรงข้าม รูปไข่ หรือขอบขนานแกมรูปไข่กว้าง กว้าง 4.5 - 5.5 เซนติเมตร ยาว 11 - 16 เซนติเมตร ปลายใบมน โคนใบแหลม ขอบใบเรียบ มีเส้นใบตามยาว 3 เส้น เส้นข้าง 2 เส้นยาวเพียง สามส่วนสี่ของความยาวใบ เส้นใบย่อยสานกันเป็นตาข่ายเห็นชัดทั้ง 2 ด้าน ด้านล่างมีคราบขาวเล็กน้อย ก้านใบยาวประมาณ 2 เซนติเมตร ด้านบนเป็นร่องเกลี้ยง ดอก ออกตามง่ามใบ และที่ปลายกิ่งเป็นช่อแบบกระจาย ยาว 10 – 12 เซนติเมตร ก้านช่อดอกมีขนเป็นมันปกคลุม ก้านดอกดอกย่อยยาวประมาณ 3 - 4 มิลลิเมตร มีขน ดอกตูมรูปไข่กลับ ยาวประมาณ 2 - 2.5 มิลลิเมตร กลีบรวม 6 กลีบ ด้านนอกมีขนหนาแน่น ด้านในมีขนเป็นมัน เกสรเพศผู้มี 9 อัน เรียงเป็น 3 วง วงในสุดมีต่อมที่โคนก้าน โคนก้านเกสรมีขน เกสรเพศผู้เป็นหมันมี 3 อัน เกสรเพศเมียเกลี้ยง รังไข่รูปไข่ ก้านเกสรค่อนข้างสั้น ปลายเกสรเพศเมียกลม ผล รูปรี ยาว 8 - 14 มิลลิเมตร มีกลีบรวมติดอยู่ กลีบรวมยาวประมาณ 4 - 8 มิลลิเมตร มีสันนูน 12 สัน ระหว่างสันเป็นร่อง

นิเวศวิทยา ขึ้นกระจายในป่า ถิ่นกำเนิดในประเทศศรีลังกา และทางตะวันตกเฉียงใต้ของประเทศอินเดีย

สรรพคุณ ต้น เปลือกใช้เป็นยาชง ยาผงหรือยาต้ม เป็นยาฝาดสมาน ขับลม กระตุ้นการทำงานของร่างกาย ช่วยการไหลเวียนของโลหิต แก้คลื่นไส้ อาเจียน แก้ท้องเสีย ช่วยย่อย แก้ธาตุพิการ ปวดฟันและปวดประจำเดือน โดยทั่วไปใช้เป็นเครื่องเทศ ใบ เมื่อทำการกลั่นใบสดโดยไอน้ำจะได้น้ำมันหอมระเหยใช้ในการแต่งกลิ่น ทำน้ำหอม ทาถูนวดแก้ปวดไขข้ออักเสบ แก้ปวดศีรษะ แก้ปวดฟัน ใช้อมทำให้ปากหอม ยอดอ่อนแห้งมีกลิ่นหอม มีรสหวาน เป็นยาฝาดสมาน และมีฤทธิ์เป็นยาฆ่าเชื้อโรคบางชนิดเช่นเดียวกับเปลือกต้น (ก่องกานดา, 2540; Barceloux, 2009)

8. แตยอ (*C. rhynchophyllum* Miq.) เป็นไม้ต้น สูง 10 - 15 เมตร เรือนยอดเป็นพุ่มทรงสูง เปลือกเรียบสีน้ำตาลเทา มีช่องระบายอากาศเป็นตุ่มขนาดเล็กทั่วไป เปลือกชั้นในสีชมพูอ่อน เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเมื่อถูกอากาศ ยอดอ่อน และช่อดอก มีขนอ่อนนุ่มสีขาวสั้น ๆ แผ่นใบรูปรีถึงรูปไข่แกมรูปขอบขนาน กว้าง 5 - 9 เซนติเมตร ยาว 10 - 20 เซนติเมตร มีเส้นแขนงใบ 1 คู่ จากโคนใบไปจรดกันบริเวณปลายใบ เส้นกลางใบและเส้นแขนงนูนทางด้านหลังใบ ปลายใบแหลมหรือทู่ โคนใบสอบ ก้านใบยาว 1 - 1.5 เซนติเมตร ดอกเล็ก สีเหลืองอ่อน กลิ่นหอมเกิดเป็นช่อตาม

ง่ามใบใกล้ยอด ผลรูปกลมรี ปลายมน มีติ่งแหลมเล็ก ๆ กว้างประมาณ 8 มิลลิเมตร ยาวประมาณ 1 เซนติเมตร ฝาครอบปิดขั้วผลมี 6 กลีบ

นิเวศวิทยา พบในป่าที่ลุ่มต่ำ และในป่าพรุทางภาคใต้ของประเทศไทย ในต่างประเทศพบที่ประเทศมาเลเซีย และอินโดนีเซีย

สรรพคุณ เปลือกและเนื้อไม้ใช้ทำธูป และยาขับไล่แมลง (ชวลิต, 2540)

9. แกง (*C. tamala* (Buch.-Ham.) T.Nees & C.H.Eberm.) เป็นไม้ต้น สูงได้ถึง 7.5 เมตร ความยาวรอบลำต้น 95 เซนติเมตรขึ้นไป เปลือกต้นมีสีเทาดำจนถึงน้ำตาลแดง ใบ เดี่ยว ออกตรงข้าม ใบแก่จะมีสีเขียวเข้ม ใบอ่อนสีชมพู ใบเป็นรูปไข่ ปลายใบแหลม หรือเรียวแหลม กว้าง 2 – 4.5 เซนติเมตร ยาว 6.5 – 12.5 เซนติเมตร มีเส้นใบออกจากโคนใบ 3 เส้นยาวตลอดจนถึงปลายใบ ก้านใบยาว 0.3 เซนติเมตร ดอก มีขนาดเล็ก สีเหลืองอ่อน หรือเขียวอ่อน ผล มีขนาดเล็ก รูปขอบขนาน ยาวประมาณ 1 เซนติเมตร

นิเวศวิทยา ขึ้นในป่าบริเวณภูมิอากาศเขตร้อน และเขตร้อนชื้น เป็นพืชท้องถิ่นในแถบตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศอินเดีย เนปาล บังคลาเทศ และพม่า

สรรพคุณ มีสารประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย ที่ได้จากการสกัดจากใบสามารถยับยั้งเชื้อที่ก่อโรคได้ นำมาใช้ทางด้านการแพทย์แผนโบราณ เช่น บรรเทาอาการเสียดท้อง ไอ ท้องร่วง โรคหนองในสาเหตุจากเชื้อ *gonorrhoea* โรคไขข้ออักเสบ เยื่อตาขาวอักเสบ และสามารถใช้เป็นเครื่องปรุงรสในอาหาร (Ravindran *et al.*, 2004))

การขยายพันธุ์ของพืชสกุล *Cinnamomum*

พืชสกุล *Cinnamomum* มีการสืบพันธุ์เพื่อการดำรงอยู่ในธรรมชาติ ทั้งแบบอาศัยเพศ และไม่อาศัยเพศ การสืบพันธุ์โดยอาศัยเพศจะเกิดขึ้นได้ต้องมีสภาวะที่เหมาะสม กล่าวคือ มีการผสมเกสร ติดผล เกิดเมล็ด เมื่อผลแก่อาจจะมีสัตว์ เช่น นก มาช่วยในการกระจายพันธุ์ โดยการกินผลและนำเมล็ดไปตกในที่ที่เหมาะสมกับการงอก หรือผลแก่ร่วงหล่นบริเวณใต้โคนต้น เมื่อมีสภาวะที่เหมาะสม ต้นกล้าจึงเจริญเติบโตเป็นไม้ใหญ่ ออกดอกติดผล สืบพันธุ์หมุนเวียนเป็นวัฏจักรต่อไป พบว่าพืชสกุลนี้จะมีช่วงเวลาออกดอกที่ไม่แน่นอน ซึ่งออกดอกประมาณช่วงเดือนมิถุนายน ถึง เดือนตุลาคม การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยที่พบมากในธรรมชาติ คือ การแตกต้นอ่อนจากราก เช่น เทพทาโร (สมเกียรติ และคณะ, 2552) การขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ด ใช้เวลานานและมีอัตราการงอกที่ต่ำ เนื่องจากผลมีเปลือกและเนื้อหุ้มเมล็ดที่มีส่วนประกอบของน้ำมัน ซึ่งเป็นแหล่งอาหารของราและมอด ไม่เหมาะต่อการผลิตต้นกล้าจำนวนมาก แต่มีความจำเป็นต่อการปรับปรุง

พันธุ์ เพื่อให้ได้คุณลักษณะที่ดี เช่น ลำต้นตรง โตเร็ว ทนทานต่อโรคและแมลง ให้น้ำมันหอมระเหยทุกส่วนของลำต้น และปริมาณที่สูง เป็นต้น วิธีการปักชำ ตอนกิ่ง และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นการผลิตกล้าพันธุ์ดีที่มีลักษณะเช่นเดียวกับต้นแม่ ได้จำนวนมากและรวดเร็ว (จุฑามาศ และคณะ, 2552; สมเกียรติ และคณะ, 2552; สมคิด, 2546; Govinden Soulange *et al*., 2007)

การศึกษาพันธุกรรมพืชโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล

เครื่องหมายโมเลกุลมี 2 ระดับ คือ ระดับโปรตีน และดีเอ็นเอ ระดับโปรตีน เป็นการตรวจสอบโมเลกุลของโปรตีนชนิดต่าง ๆ คือ เทคนิคไอโซไซม์ (Isozyme) พบว่ามีข้อจำกัดอยู่มาก เช่น อิทธิพลจากสภาพแวดล้อม ระยะการเจริญเติบโตของพืช เข้ามาเกี่ยวข้องทำให้แยกความแตกต่างได้น้อย (Claros *et al*., 2000; Degani *et al.*, 2001) ส่วนระดับดีเอ็นเอ ซึ่งตรวจสอบความแตกต่างของระดับนิวคลีโอไทด์ ในโมเลกุลของดีเอ็นเอ ซึ่งได้มีการพัฒนาเทคนิคขึ้นมาหลายเทคนิค คือ เทคนิคอาร์เอฟแอลพี อาศัยหลักการของความแตกต่างในลำดับเบสที่ถูกตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ (restriction enzyme) ความแตกต่างของลำดับเบสนี้เป็นคุณสมบัติทั่วไปที่พบในสิ่งมีชีวิตที่มีจีโนไทป์ต่างกัน อย่างไรก็ตามเทคนิคนี้ยังมีข้อเสีย คือ ต้องใช้ดีเอ็นเอต้นแบบจำนวนมาก และต้องมีคุณภาพดี อีกทั้งยังมีขั้นตอนยุ่งยาก และค่าใช้จ่ายสูง (Kaundun *et al*., 2000) ต่อมาได้พัฒนาวิธีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยเทคนิคพีซีอาร์ (PCR: Polymerase Chain Reaction) ซึ่งง่ายและรวดเร็ว สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายได้ปริมาณมากในระยะเวลาสั้น ตัวอย่างเช่น เทคนิคอาร์เอพีดี เอเอฟแอลพี และไมโครแซทเทลไลท์ เป็นต้น มีการนำเครื่องหมายโมเลกุล (molecular markers) มาใช้ประโยชน์ในหลายด้าน เช่น ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืช การปรับปรุงพันธุ์ แยกสายพันธุ์ ตรวจสอบการทำงานของยีน รวมทั้งศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์พืช เป็นต้น

เทคนิคอาร์เอพีดี (RAPD: Random Amplified Polymorphic DNA) เป็นเทคนิคที่อาศัยหลักการเพิ่มขยายชิ้นส่วนของดีเอ็นเอโดยอาศัยหลักการทำพีซีอาร์ ใช้ไพรเมอร์ขนาดสั้น ๆ ประมาณ 10 เบส เพียงชนิดเดียว มีลำดับเบสแบบสุ่ม (random primer) เป้าหมายการเกาะของไพรเมอร์ คือ บริเวณที่มีลำดับเบสแบบสุ่มคู่สมกันโดยไม่คำนึงถึงทิศทางของไพรเมอร์ที่เกาะกับดีเอ็นเอต้นแบบ (DNA template) และไม่จำเพาะกับยีนใด นำมาแยกขนาดของดีเอ็นเอที่ได้โดยการทำอิเล็กโทรโฟรีซิสบนอะกาโรสเจล ย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ การเกิดแถบดีเอ็นเอเป็นผลมาจากไพรเมอร์เข้าไปเกาะได้หลายบริเวณ ถ้าไพรเมอร์เข้าไปเกาะดีเอ็นเอ 2 บริเวณที่อยู่ไกลกันมาก โดยเกาะกับดีเอ็นเอคนละสายในทิศทางเข้าหากัน จะสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในช่วงนั้นได้

แต่ถ้าไพรเมอร์เกาะดีเอ็นเอสายเดียวในทิศทางเดียวกัน หรือเกาะกับดีเอ็นเอคนละสาย แต่ทิศทางแยกออกจากกัน หรือเกาะได้สองสายห่างไกลกันมาก แม้ทิศทางเข้าหากันก็ไม่สามารถเกิดผลผลิตได้ (สุวิมล, 2544)

เทคนิคอาร์เอพีดีสามารถใช้เป็นเครื่องหมายในการศึกษา และวิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรมและจำแนกพันธุ์พืช เช่น Govinden Soulange และคณะ (2007) ใช้เทคนิคอาร์เอพีดีในการวิเคราะห์ความแตกต่างของพืชสกุล *Cinnamomum* 2 ชนิด คือ การบูร และอบเชยเทศ โดยใช้ไพรเมอร์ 11 ไพรเมอร์ พบว่าทั้ง 11 ไพรเมอร์ ให้ความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอสามารถใช้แยกความแตกต่างของพืชทั้งสองชนิดได้ Joy และ Maridass (2008) ได้ใช้เทคนิคอาร์เอพีดีในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างชนิดในพืชสกุล *Cinnamomum* ในประเทศอินเดีย โดยเก็บตัวอย่างพืช 9 ชนิดมาตรวจสอบกับไพรเมอร์ 15 ไพรเมอร์ พบว่า 13 ไพรเมอร์ สามารถนำมาแยกความแตกต่างระหว่างชนิดได้ สำหรับพืชอื่น ๆ กุลยา (2550) ศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของสะตอ (*Parkia speciosa* Hassk.) และความสัมพันธ์ของพืชสกุล *Parkia* โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี ตรวจสอบไพรเมอร์ จำนวน 180 ไพรเมอร์ คัดเลือกได้ 8 ไพรเมอร์ คือ OPB-04, OPB-17, OPB-18, OPC-02, OPR-01, OPR-02, OPT-01 และ OPAB-03 เพื่อศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมในประชากรทั้งหมด 103 ต้น พบว่าให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 125 แถบ เป็นแถบที่ให้ความแตกต่างกัน จำนวน 101 แถบ (80.80%) สามารถแบ่งกลุ่มประชากรพืชสกุล *Parkia* ได้ 5 กลุ่ม Ahmad และคณะ (2008) ประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของมะม่วง โดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี พบว่า เครื่องหมายอาร์เอพีดี สามารถใช้ในการประเมินลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมะม่วงพันธุ์ปลูก 25 พันธุ์ ในประเทศปากีสถาน โดยตรวจสอบไพรเมอร์ จำนวน 60 ไพรเมอร์ พบว่า 45 ไพรเมอร์ที่เกิดแถบ ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน จำนวน 44 ไพรเมอร์ สามารถใช้ในการจำแนกพันธุ์มะม่วงได้เป็น 3 กลุ่ม แต่ไม่มีไพรเมอร์ใดที่ให้แถบจำเพาะต่อพันธุ์ เสริมสกุล และดิเรก (2545) ทำการรวบรวมมะกอกน้ำมันจากประเทศสเปน อิตาลี และอิสราเอล จำนวน 18 พันธุ์ มาทดลองปลูกในจังหวัดเลย แล้วศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดีด้วยไพรเมอร์ทั้งหมด 20 ไพรเมอร์ พบว่า 8 ไพรเมอร์ ที่สามารถให้แถบดีเอ็นเอ 67 แถบ ที่แสดงความแตกต่างระหว่างมะกอกน้ำมันทั้ง 18 พันธุ์ และสามารถแบ่งกลุ่มมะกอกน้ำมันได้เป็น 6 กลุ่ม นอกจากนี้ยังพบแถบดีเอ็นเอที่มีความสัมพันธ์กับแหล่งกำเนิดของพันธุ์ที่นำมาศึกษาครั้งนี้ด้วย บัณฑิตา (2552) ได้ทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมพืชสกุลส้ม (*Citrus* spp.) ในภาคใต้ของประเทศไทย คัดเลือกไพรเมอร์ได้ 7 ไพรเมอร์ สามารถจัดกลุ่มพืชได้เป็น 5 กลุ่ม โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี เป็นต้น

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Cinnamomum* ในภาคใต้
2. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชในสกุล *Cinnamomum* โดยอาศัยเครื่องหมายอาร์เอพีดี

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

วัสดุ และอุปกรณ์

1. วัสดุ

1.1 วัสดุพืช

เก็บตัวอย่างใบ ดอก และผล โดยทำการเก็บรวบรวมพืชสกุล *Cinnamomum* ที่พบในภาคใต้ของประเทศไทย ในพื้นที่จังหวัดสงขลา สตูล ตรัง กระบี่ สุราษฎร์ธานี และ ชุมพร จากสถานที่ต่าง ๆ ดังนี้

- คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ตำบลคอหงส์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา
- คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ตำบลคอหงส์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา
- สวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้ หมู่ที่ 1 ตำบลฉลุง อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา
- ศูนย์วนวัฒนวิจัยสงขลา ตำบลฉลุง อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา
- สถานีวิจัยคลองหอยโข่ง คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอคลองหอยโข่ง จังหวัดสงขลา
- สวนยางพาราของเกษตรกร ตำบลทุ่งลาน อำเภอคลองหอยโข่ง จังหวัดสงขลา
- สวนยางพาราของเกษตรกร ตำบลฉลุง อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา
- สวนยางพาราของเกษตรกร ตำบลทุ่งขมิ้น อำเภอนาหม่อม จังหวัดสงขลา
- สวนพฤกษศาสตร์สากลภาคใต้ (ทุ่งค่าย) อำเภอย่านตาขาว จังหวัดตรัง
- สวนพฤกษศาสตร์ภาคใต้เขาช่อง อำเภอนาโยง จังหวัดตรัง

- ตำบลอ่าวตง อำเภอวังวิเศษ จังหวัดตรัง
- ตำบลเขากอบ อำเภอห้วยยอด จังหวัดตรัง
- ตำบลน้ำผุด อำเภอละงู จังหวัดสตูล
- สวนรุกขชาติเขาพุทธทอง อำเภอไชยา จังหวัดสุราษฎร์ธานี
- บ่อน้ำพุร้อนท่าสะท้อน อำเภอพุนพิน จังหวัดสุราษฎร์ธานี
- ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมัน อำเภอกาญจนดิษฐ์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี
- ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกระบี่ (พืชสวนกระบี่) อำเภอเมือง จังหวัดกระบี่
- ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร อำเภอสวี จังหวัดชุมพร

1.2 สารเคมี

1.2.1 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ

- CTAB (Hexadecyl trimethyl-ammonium bromide)
- η-mercaptoethanol
- PVP-40 (Polyvinyl pyrrolidone)
- NaCl (Sodium chloride)
- Na_2EDTA (Disodium ethylene diaminetetraacetate)
- Tris-HCl pH 8.0
- Chloroform
- Isopropanol
- TE buffer
- Ethanol

1.2.2 สารเคมีสำหรับใช้ทำอิเล็กโตรโฟรีซิส

- Agarose gel electrophoresis
- LE agarose (FMC Bioproduct, USA)
- Seakem agarose (FMC Bioproduct, USA)

- Glacial acetic acid
- Boric acid
- Tris-base
- Ethidium bromide
- Loading buffer
- Lamda DNA (ʂDNA)
- 100 bp และ 500 bp DNA Ladder (Operon, USA)

1.2.3 สารเคมีที่ใช้ทำพีซีอาร์

- dNTP (dATP, dTTP, dCTP, และ dGTP) (Promega, USA)
- $MgCl_2$
- *Taq* DNA Polymerase B (Promega, USA)
- 10x *Taq* buffer (Promega, USA)
- RAPD Primer จำนวน 50 primer คือ OPA-01, OPA-07, OPA-10, OPA-12, OPA-15, OPA-16, OPA-17, OPB-01, OPB-02, OPB-04, OPB-15, OPB-18, OPB-19, OPB-20, OPC-01, OPC-02, OPC-08, OPC-10, OPC-13, OPC-15, OPC-16, OPD-03, OPD-09, OPD-10, OPE-14, OPN-12, OPN-16, OPO-08, OPQ-14, OPR-07, OPR-09, OPR-10, OPT-10, OPT13, OPX-11, OPZ-01, OPZ-02, OPZ-15, OPAA-03, OPAA-13, OPAA-17, OPAB-05, OPAB-17, OPAD-04, OPAD-12, OPAD-15, OPAI-21, OPAL-20, NO.8, NO.11 (Operon, USA)

2. อุปกรณ์

2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างพืช

- ถุงพลาสติก
- กรรไกร
- กล่องโฟม
- ปากกาเขียนเครื่องแก้ว

2.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ การทำอิเล็กโตรโฟรีซิส และพีซีอาร์

- ตู้เย็นและตู้แช่แข็ง
- เครื่องไมโครเซนตริฟิวส์
- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง
- เครื่องคนสารอัตโนมัติ
- แท่งแม่เหล็ก
- ปิเปตปรับปริมาตร และ tip
- เครื่องเขย่า
- หม้อนึ่งความดันไอ
- เครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า
- เครื่องอิเล็กโตรโฟรีซิส
- เครื่องพีซีอาร์
- โกร่งบดตัวอย่าง
- หลอดเอฟเพนดอร์ฟ
- ตู้ไมโครเวฟ
- Gel documentation
- น้ำแข็ง และกระติกน้ำแข็ง
- เครื่องแก้ว กระบอกตวง และขวดต่าง ๆ

วิธีการ

1. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Cinnamomum* ในภาคใต้โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

1.1 การเก็บตัวอย่าง

สุ่มเก็บตัวอย่างใบแก่ใบที่ 3 นับจากปลายยอด ดอก และผลจากต้นพืชสกุล *Cinnamomum* จากบางพื้นที่ของจังหวัดสงขลา สตูล ตรัง กระบี่ สุราษฎร์ธานี และ ชุมพร (ตารางที่ 2) นำมาบันทึกลักษณะสัณฐาน

1.2 การบันทึกลักษณะสัณฐาน

ทำการบันทึกรายละเอียด และบันทึกภาพของลักษณะสำคัญของส่วนต่าง ๆ ของพืชสกุล *Cinnamomum* ในภาคใต้ที่ทำการเก็บตัวอย่าง โดยบันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยาประกอบด้วยลักษณะต่าง ๆ ดังนี้ ลำต้น ใบ ดอก และผล จำแนกพืชสกุล *Cinnamomum* แต่ละตัวอย่างออกเป็นกลุ่ม ๆ ตามชื่อวิทยาศาสตร์ โดยยึดหลักในการจำแนกชื่อไทยตามการรายงานของเต็ม (2545) เขียนชื่อวิทยาศาสตร์ยึดตามแบบสากลในฐานข้อมูล The International Plant Names Index (IPNI) (2009) และจำแนกชนิดพืชโดยอาศัยลักษณะโครงสร้างภายนอกตามข้อมูลลักษณะสัณฐานวิทยา (องค์การสวนพฤกษศาสตร์, 2542) ดังนี้

1. ลักษณะลำต้น (stem or trunk) โดยลำต้น คือ ส่วนที่ตั้งตรงแข็งแรง ทำหน้าที่ชูกิ่งก้านและใบ พิจารณาจากเปลือกนอก (outer bark) อยู่นอกสุดของลำต้น ส่วนใหญ่มีลักษณะแข็ง หากเปลือกนอกมีลักษณะไม่แตก จะจัดอยู่ในแบบเปลือกเรียบ (smooth bark) หากเปลือกนอกมีลักษณะแตกตามยาวของลำต้น และเป็นร่องลึก จะจัดอยู่ในแบบเปลือกแตก (fissured bark)

2. ลักษณะใบ

2.1 รูปร่างใบ (leaf shape) โดยพิจารณาตำแหน่งของส่วนที่กว้างที่สุดของแผ่นใบว่าอยู่ที่ตำแหน่งใด หากส่วนที่กว้างที่สุดของแผ่นใบอยู่ต่ำกว่ากลางใบ อัตราส่วนของความยาวต่อความกว้าง เท่ากับ 3:2 รูปร่างใบจะจัดเป็นแบบรูปไข่ (ovate) แต่ถ้าส่วนที่กว้างที่สุดอยู่บริเวณปลายใบ ฐานใบเรียวเล็กกว่าปลายใบ จะจัดเป็นใบแบบรูปไข่กลับ (obovate) หากส่วนกว้าง

ที่สุดอยู่ตรงกลาง ส่วนปลายและโคนเรียว จะจัดเป็นใบแบบรูปรี (elliptic) และถ้าขอบใบขนานกันสองข้าง ความยาวเป็น 2 เท่าของความกว้าง จะจัดเป็นใบแบบรูปขอบขนาน (oblong)

2.2 ปลายใบ (leaf apices) หากขอบใบที่มาบรรจบตรงปลายยอดมักตรงหรือโค้งมน ทำมุมน้อยกว่า 90 องศา จะอยู่จัดเป็นแบบปลายแหลม (acute) แต่หากมีลักษณะคล้ายปลายแหลม แต่ขอบใบมักโค้งเว้าสอบเข้ามาตรงปลายยอด จะจัดเป็นแบบเรียวแหลม (acuminate)

2.3 ขอบใบ (leaf margin) พิจารณาจากขอบใบเรียบ (entire) และขอบใบเป็นคลื่น (undulate)

2.4 เส้นใบ (venation) พิจารณาการเรียงตัวดังนี้ เส้นใบแบบขนาน (parallel venation) มีเส้นใบจากโคนใบ 3 เส้น เรียงตัวขึ้นไปจนถึง หรือเกือบถึงปลายใบ และแบบร่างแห (reticulate venation) มีเส้นกลางใบขึ้นตรงมาจากโคนใบถึงปลายใบ 1 เส้น และแยกออกเป็นแขนงประมาณ 3 – 7 คู่

3. ลักษณะช่อดอกและดอก ช่อดอกแบบแยกแขนง (panicle) ดอกย่อยมีขนาดเล็ก มีสีขาวอมเหลือง เกิดเป็นช่อตามง่ามใบและปลายกิ่ง จัดเป็นดอกสมบูรณ์เพศ กลีบรวม (perianth) มี 6 กลีบ โคนกลีบเชื่อมติดกันเป็นกรวยสั้น ๆ เกสรเพศผู้มี 9 อัน เรียงเป็น 3 ชั้น

4. ลักษณะผล พิจารณาจากรูปร่างของผล ผลมีรูปรี หรือรูปกลม และฐานรองผลซึ่งพัฒนามาจากกลีบรวมปิดขั้วผล

ตารางที่ 2 ชนิด (species) จำนวนตัวอย่าง และสถานที่เก็บตัวอย่างพืชสกุล *Cinnamomum* ที่ใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี

ชนิด (species)	**สถานที่เก็บ**	**จำนวน (ต้น)**
เทพทาโร (*C. porrectum*)	คณะเภสัชศาสตร์ ม. สงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ. สงขลา	1
	ศูนย์วนวัฒนวิจัยสงขลา อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา	2
	สวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้ อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา	2
	สวนพฤกษศาสตร์สากลภาคใต้ (ทุ่งค่าย) อ. ย่านตาขาว จ. ตรัง	1
	สวนพฤกษศาสตร์ภาคใต้เขาช่อง อ. นาโยง จ. ตรัง	2
	ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกระบี่ อ. เมือง จ. กระบี่	2
	ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร อ. สวี จ. ชุมพร	2
	สวนรุกขชาติเขาพุทธทอง อ. ไชยา จ. สุราษฎร์ธานี	1
ตะไคร้ต้น (*C. ilicioides*.)	ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร อ. สวี จ. ชุมพร	2
การบูร (*C. camphora*)	คณะเภสัชศาสตร์ ม.สงขลานครินทร์ อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา	1
	ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร อ. สวี จ. ชุมพร	1
แกง (*C. tamala*)	ต. อ่าวตง อ.วังวิเศษ จ. ตรัง	1
อบเชยเทศ (*C. verum*)	คณะทรัพยากรธรรมชาติ ม. สงขลานครินทร์ อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา	6
	ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกระบี่ อ. เมือง จ. กระบี่	3
	ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร อ. สวี จ. ชุมพร	1
	ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมัน อ. กาญจนดิษฐ์ จ. สุราษฎร์ธานี	1
	สถานีวิจัยคลองหอยโข่ง ม. สงขลานครินทร์ อ. คลองหอยโข่ง จ. สงขลา	2
อบเชย (*C. bejolghota*)	ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร อ. สวี จ .ชุมพร	1
	สถานีวิจัยคลองหอยโข่ง ม. สงขลานครินทร์ อ. คลองหอยโข่ง จ. สงขลา	1
เชียด (*C. iners*)	ต. ฉลุง อ.หาดใหญ่ จ. สงขลา	2
	คณะเภสัชศาสตร์ ม. สงขลานครินทร์ อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา	6
	ต. น้ำผุด อ. ละงู จ. สตูล	3
	ต. ทุ่งลาน อ. คลองหอยโข่ง จ. สงขลา	9
	ต. ทุ่งขมิ้น อ .นาหม่อม จ. สงขลา	3
	ศูนย์วนวัฒนวิจัยสงขลา อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา	1

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ชนิด (species)	**สถานที่เก็บ**	**จำนวน(ต้น)**
เชียด (*C. iners*)	ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมัน อ. กาญจนดิษฐ์ จ. สุราษฎร์ธานี	1
	ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกระบี่ อ. เมือง จ. กระบี่	1
	สวนรุกขชาติเขาพุทธทอง อ. ไชยา จ. สุราษฎร์ธานี	2
	บ่อน้ำพุร้อนท่าสะท้อน อ. พุนพิน จ. สุราษฎร์ธานี	1
	สวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้ อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา	2
	ต. คอหงส์ อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา	2
	ต. เขากอบ อ. ห้วยยอด จ. ตรัง	1
	สวนพฤกษศาสตร์สากลภาคใต้ (ทุ่งค่าย) อ. ย่านตาขาว จ. ตรัง	2
	สวนพฤกษศาสตร์ภาคใต้ เขาช่อง อ. นาโยง จ. ตรัง	3
เชียดใบใหญ่ (*C. mollissimum*)	สวนพฤกษศาสตร์สากลภาคใต้ (ทุ่งค่าย) อ. ย่านตาขาว จ. ตรัง	1
ฝนแสนห่า (unknown species 1)	สวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้ อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา	1
	สวนพฤกษศาสตร์สากลภาคใต้ (ทุ่งค่าย) อ. ย่านตาขาว จ. ตรัง	3
อบเชย /บริเวง (unknown species 2)	ศูนย์วนวัฒนวิจัยสงขลา อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา	1
	ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร อ. สวี จ. ชุมพร	1
	อ. หลังสวน จ. ชุมพร	3
รวม		**82**

2. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Cinnamomum* ในภาคใต้โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี

2.1 การเก็บตัวอย่าง

สุ่มเก็บตัวอย่างใบเพสลาด ใบที่ 2 นับจากปลายยอด จากต้นพืชสกุล *Cinnamomum* จากบางพื้นที่ของจังหวัดสงขลา สตูล ตรัง กระบี่ สุราษฎร์ธานี และ ชุมพร จำนวนทั้งหมด 82 ต้น (ตารางที่ 2) โดยเก็บตัวอย่างใบประมาณ 1-2 ใบต่อต้น เก็บใส่ถุงพลาสติกเพื่อมาสกัดดีเอ็นเอ

2.2 การสกัดดีเอ็นเอ

สกัดดีเอ็นเอจากใบพืชสกุล *Cinnamomum* โดยใช้สารละลาย CTAB (Hexadecyl trimethyl-ammonium bromide) ซึ่งดัดแปลงจาก Doyle และ Doyle (1990) โดยใช้ตัวอย่างใบพืชสกุล *Cinnamomum* 200 มิลลิกรัมน้ำหนักสด บดใน CTAB buffer (PVP-40, NaCl, EDTA 0.5 M pH 8.0, CTAB 2%) ร่วมกับ η-mercaptoethanol เข้มข้น 2% ปริมาตร 700 ไมโครลิตร ในโกร่งให้ละเอียด จากนั้นใส่ในหลอดเอฟเพนดอร์ฟ เขย่าให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที กลับหลอดไปมาทุก 10 นาที เติมคลอโรฟอร์ม 700 ไมโครลิตร กลับหลอดไปมาเบา ๆ ปั่นเหวี่ยงให้ใช้ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที จะได้สารละลายที่แยกชั้นใส ดูดสารละลายส่วนใสใส่หลอดเอฟเพนดอร์ฟใหม่ (ทำ 2 รอบ) เติมไอโซโพรพานอล 500 ไมโครลิตรกลับหลอดไปมาเพื่อตกตะกอนดีเอ็นเอ หรือวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียส ประมาณ 30 นาที ล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วย ความเข้มข้น 70% เอธานอล 500 ไมโครลิตร ที่ผ่านการแช่เย็น จำนวน 3 ครั้ง ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย TE buffer 20 ไมโครลิตร [Tris-HCl (ph 7.5)) 10 มิลลิโมลาร์ และ Na_2EDTA (pH 7.0) 1 มิลลิโมลาร์] ที่อุณหภูมิห้อง เก็บรักษาดีเอ็นเอที่อุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้

2.2 การตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอ

ตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้โดยการเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน (แลมดาดีเอ็นเอ) โดยการทำอิเล็กโตรโฟรีซีสบนอะกาโรส (LE Agarose, Promega, USA) เข้มข้น 0.75% แรงเคลื่อนไฟฟ้า 100 โวลต์ ในสารละลาย TAE buffer (Tris Base, Glacial acetic acid,

EDTA 0.5 โมลาร์ pH 8.0) เป็นเวลา 20 นาที ย้อมแถบดีเอ็นเอที่ได้ด้วย เอธิเดียมโบรไมด์ แล้วนำไปตรวจสอบภายใต้แสงอุลตร้าไวโอเลต 260 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Gel documentation

2.3 คัดเลือกไพรเมอร์

ทำการทดสอบไพรเมอร์ขนาด 10 เบส จากไพรเมอร์ที่มีผู้ศึกษามาก่อนในพืชสกุล *Cinnamomum* ซึ่งประกอบด้วยไพรเมอร์ 16 ไพรเมอร์ ได้แก่ OPA-07, OPB-19, OPB-20,OPC-01, OPC-08, OPC-10, OPC-13, OPC-16, OPD-09, (Govinden Soulange *et al*., 2007) OPA-10, OPA-12, OPA-15, OPA-17, OPB-01, OPB-15, OPC-15 (Joy and Maridass, 2008) และคัดเลือกไพรเมอร์เพิ่มเติมอีกประมาณ 34 ไพรเมอร์ เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ จากปริมาตรรวม 25 ไมโครลิตร ซึ่งประกอบด้วย ดีเอ็นเอแม่พิมพ์ 60 นาโนกรัม ไพรเมอร์เข้มข้น 0.3 ไมโครโมลาร์ เอ็นไซม์ *Taq* polymerase เข้มข้น 1.5 ยูนิต 10X *Taq* บัฟเฟอร์ 2 ไมโครลิตร $MgCl_2$ 2.5 มิลลิโมลาร์ dNTP เข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องพีซีอาร์ ตั้งอุณหภูมิเป็น 3 ระดับ คือ อุณหภูมิที่ใช้เริ่มต้น 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที ตามด้วย 41 รอบ ด้วยอุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส 30 วินาที 37 องศาเซลเซียส 1 นาที 72 องศาเซลเซียส อีก 2 นาที และรอบสุดท้ายตามด้วย 72 องศาเซลเซียส อีก 5 นาที หลังทำพีซีอาร์นำสารละลายดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณแล้ว จำนวน 10 ไมโคลิตร มาตรวจสอบขนาดชิ้นดีเอ็นเอ ด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิสบนแผ่นวุ้น LE Agarose ที่มีความเข้มข้น 1.5% ละลายใน TBE Buffer (Tris Base, Boric acid, Na_2EDTA 0.5 โมลาร์; pH 8.0) ใช้แรงเคลื่อนไฟฟ้า 100 โวลต์ 60 นาที ย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยเอธิเดียมโบรไมด์เข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 20 นาที ล้างน้ำ 10 นาที ตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอุลตร้าไวโอเลต 260 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Gel documentation คัดเลือกไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณ และให้แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่าง (polymorphism) ระหว่างตัวแทนประชากรแต่ละชนิด

2.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำไพรเมอร์ที่คัดเลือกได้ มาใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของประชากรทั้งหมด คัดเลือกไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอแตกต่างกันระหว่างประชากร ศึกษารูปแบบของดีเอ็นเอที่ได้ หลังจากนั้นทำการวิเคราะห์ข้อมูล แล้วเปรียบเทียบความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอพืชสกุล *Cinnamomum*

2.5 วิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรม และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Cinnamomum*

วิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรม และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Cinnamomum* โดยแปลงข้อมูลแถบดีเอ็นเอที่ได้เป็นแบบ binary คือให้ตำแหน่งที่มีแถบดีเอ็นเอ มีค่าเท่ากับ 1 และตำแหน่งที่ไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอมีค่าเท่ากับ 0 เปรียบเทียบ ณ บริเวณเดียวกัน โดยคิดเฉพาะแถบดีเอ็นเอที่มีความชัดเจนและเพิ่มปริมาณได้สม่ำเสมอเมื่อมีการทำพีซีอาร์ซ้ำ วิเคราะห์ความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมด้วยการวิเคราะห์ UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Average) cluster analysis หาค่า Similarity coefficient ตามวิธีของ Jaccard (1908) ด้วยโปรแกรม Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Version-2.1 (NTSYS Version 2.1) (Rohlf, 2002)

บทที่ 3

ผล

1. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Cinnamomum* ในภาคใต้โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ผลจากการบันทึกลักษณะสัณฐานวิทยาของตัวอย่างพืชสกุล *Cinnamomum* ที่ทำการเก็บรวบรวมในบางพื้นที่ของภาคใต้ในประเทศไทย โดยพิจารณาลักษณะโครงสร้างภายนอกของต้น ประกอบไปด้วยลักษณะต่าง ๆ ดังนี้ ลำต้น ใบ ดอก และผล พบว่า

1.1 ลักษณะลำต้น

ลักษณะลำต้น พบความแตกต่างที่เปลือกต้นชั้นนอก เมื่อพืชมีการเจริญหรือแก่เต็มที่สามารถแยกได้ 2 แบบ คือ เปลือกเรียบ และเปลือกแตก (รูปที่ 1) ลักษณะเปลือกเรียบ พบในกลุ่มตัวอย่างของอบเชย อบเชยเทศ เชียด เชียดใบใหญ่ แกง unknown 1 และ unknown 2 ส่วนลักษณะเปลือกแตก พบในกลุ่มประชากรของการบูร ตะไคร้ต้น และ เทพทาโร

รูปที่ 1 ลักษณะเปลือกต้นชั้นนอกของพืชสกุล *Cinnamomum*

(ก) เปลือกแตก (fissured bark)

(ข) เปลือกเรียบ (smooth bark)

1.2 ลักษณะสัณฐานวิทยาของใบ

ลักษณะสัณฐานวิทยาของใบที่ทำการบันทึก มี 4 ลักษณะ คือ รูปร่างใบ ปลายใบ ขอบใบ และเส้นใบ ให้ผลดังรายละเอียดต่อไปนี้

1.2.1 รูปร่างใบ

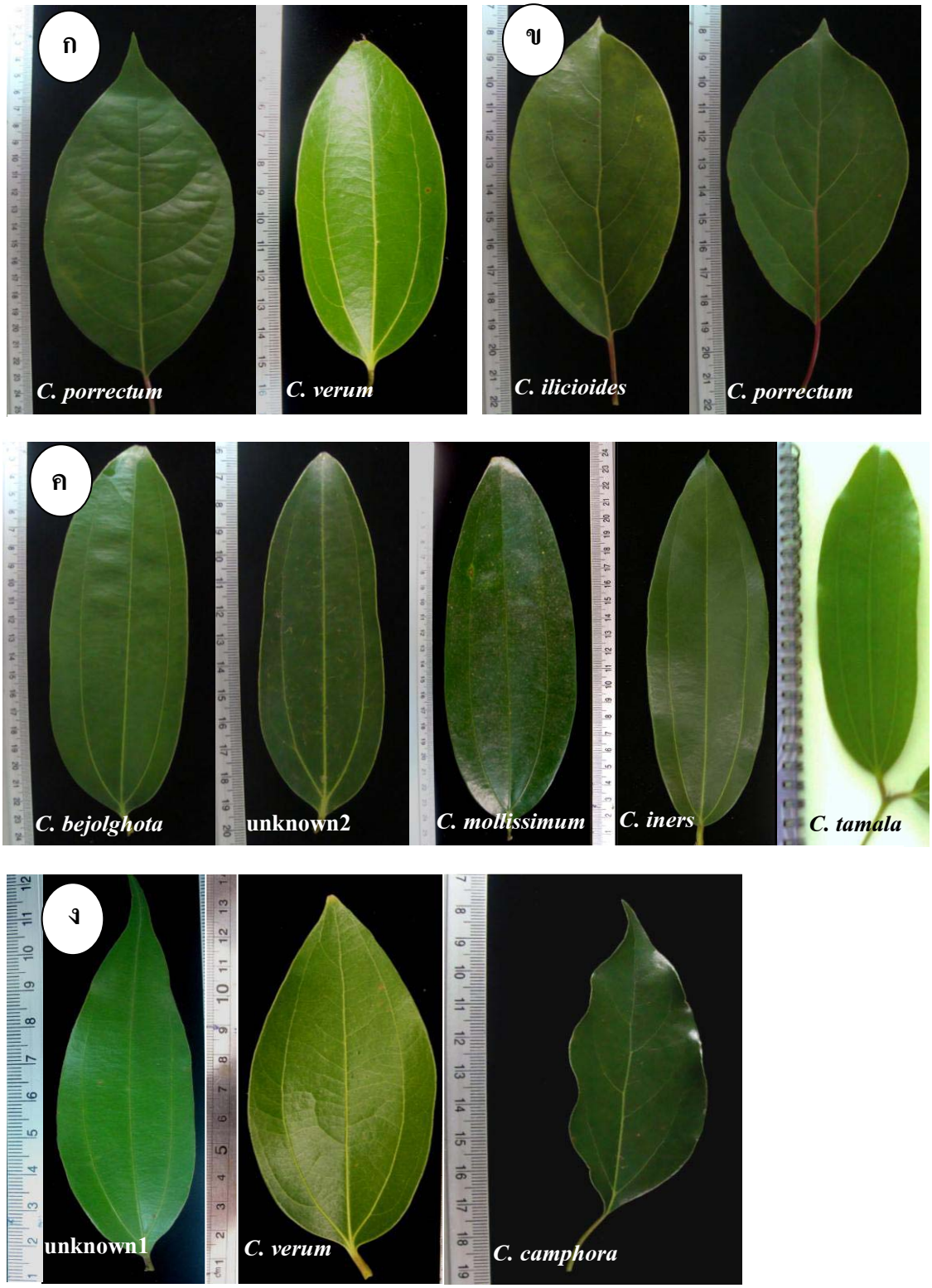
รูปร่างใบของพืชสกุล *Cinnamomum* พบว่า สามารถแยกความแตกต่างได้ 4 แบบ (รูปที่ 2) ดังนี้

แบบที่ 1 รูปร่างใบเป็นรูปรี (elliptic) ส่วนกว้างที่สุดอยู่ตรงกลาง ส่วนปลาย และโคนเรียว พบในกลุ่มตัวอย่างของอบเชยเทศ และเทพทาโร

แบบที่ 2 รูปร่างใบเป็นรูปไข่ (ovate) ส่วนกว้างที่สุดอยู่ต่ำกว่ากลางใบ อัตราส่วนของความยาวต่อความกว้าง เท่ากับ 3:2 พบในกลุ่มตัวอย่างของการบูร เทพทาโร อบเชยเทศ และฝนแสนห่า (unknown 1)

แบบที่ 3 รูปร่างใบเป็นไข่กลับ (obovate) ฐานใบเรียวเล็กกว่าปลายใบ พบในกลุ่มตัวอย่างของเทพทาโร และตะไคร้ต้น

แบบที่ 4 รูปร่างใบเป็นรูปขอบขนาน (oblong) ขอบใบขนานกันสองข้าง ความยาวเป็น 2 เท่าของความกว้าง พบในกลุ่มตัวอย่างของเชียด เชียดใบใหญ่ อบเชย และ unknown 2



รูปที่ 2 ตัวอย่างรูปร่างใบแบบต่าง ๆ ของพืชสกุล *Cinnamomum*

ก : รูปร่างใบเป็นรูปรี (elliptic)　　ข : รูปร่างใบเป็นไข่กลับ (obovate)

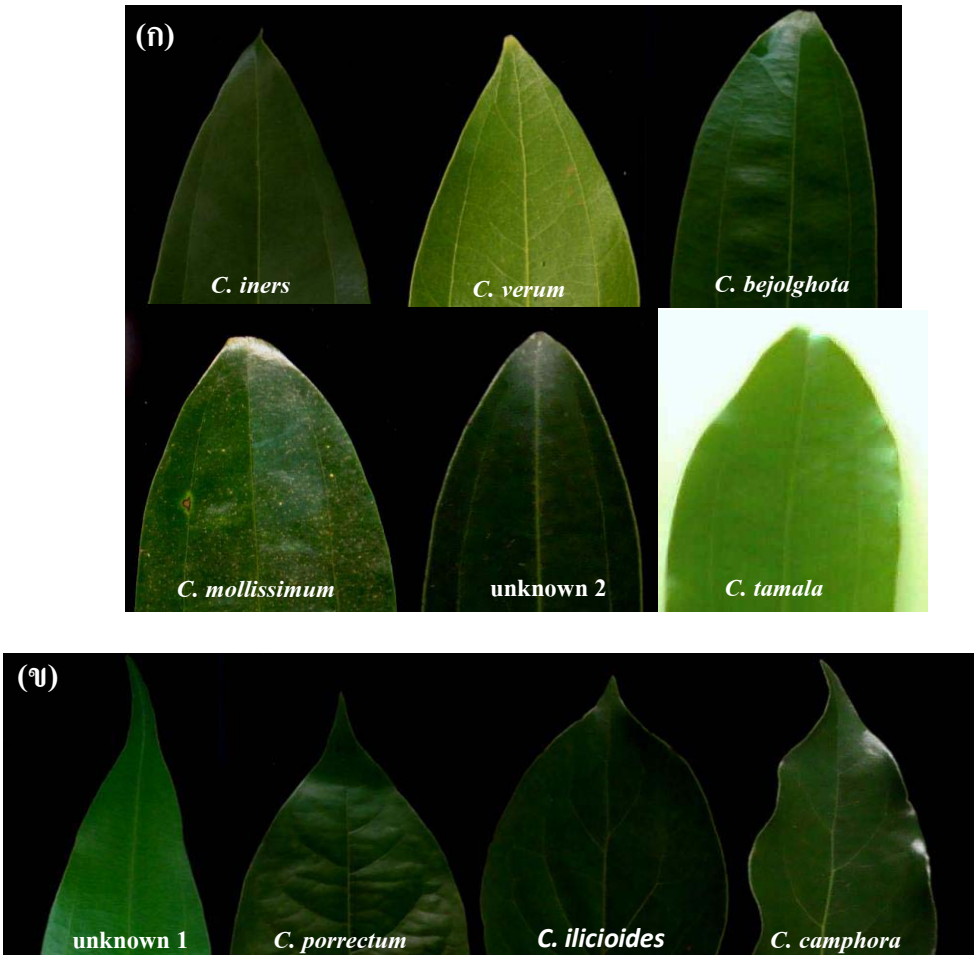
ค : รูปร่างใบเป็นรูปขอบขนาน (oblong)　　ง : รูปร่างใบเป็นรูปไข่ (ovate)

1.2.2 ปลายใบ

ลักษณะปลายใบของพืชสกุล *Cinnamomum* ที่ศึกษาครั้งนี้สามารถแยกความแตกต่างได้เป็น 2 แบบ (รูปที่ 3) ดังนี้

แบบที่ 1 ปลายแหลม (acute) เกิดจากขอบใบสองข้างชนกันที่ปลายเป็นมุม พบในกลุ่มตัวอย่างของแกง เชียด เชียดใบใหญ่ อบเชย อบเชยเทศ และ unknown 2

แบบที่ 2 ปลายเรียวแหลม (acuminate) ปลายแหลม แต่คอดเว้าเล็กน้อย พบในกลุ่มตัวอย่างของตะไคร้ต้น เทพทาโร การบูร และฝนแสนห่า (unknown 1)



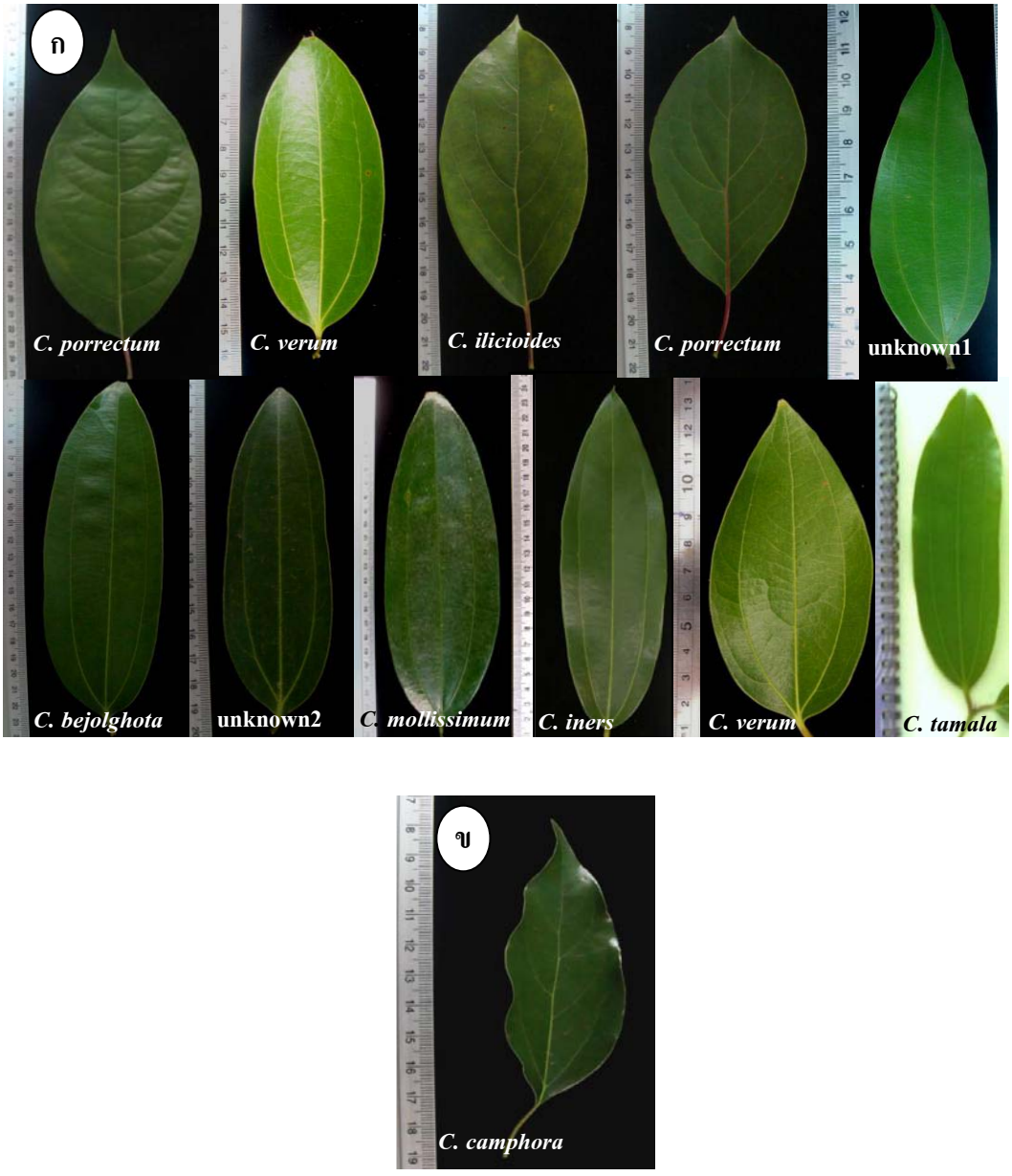
รูปที่ 3 ตัวอย่างปลายใบของพืชสกุล *Cinnamomum*

(ก) ปลายแหลม (acute)

(ข) ปลายเรียวแหลม (acuminate)

1.2.3 ขอบใบ

พบว่า พืชที่ทำการศึกษาทุกชนิด ได้แก่ แกง เชียด เชียดใบใหญ่ อบเชย อบเชยเทศ เทพทาโร ตะไคร้ต้น ฝนแสนห่า (unknown 1) และบริแวง (unknown 2) มีลักษณะขอบใบเรียบ (entire) ยกเว้น การบูร ซึ่งมีลักษณะขอบใบเป็นคลื่น (undulate) (รูปที่ 4)



รูปที่ 4 ตัวอย่างขอบใบของพืชสกุล *Cinnamomum*

(ก) ขอบใบเรียบ (entire)

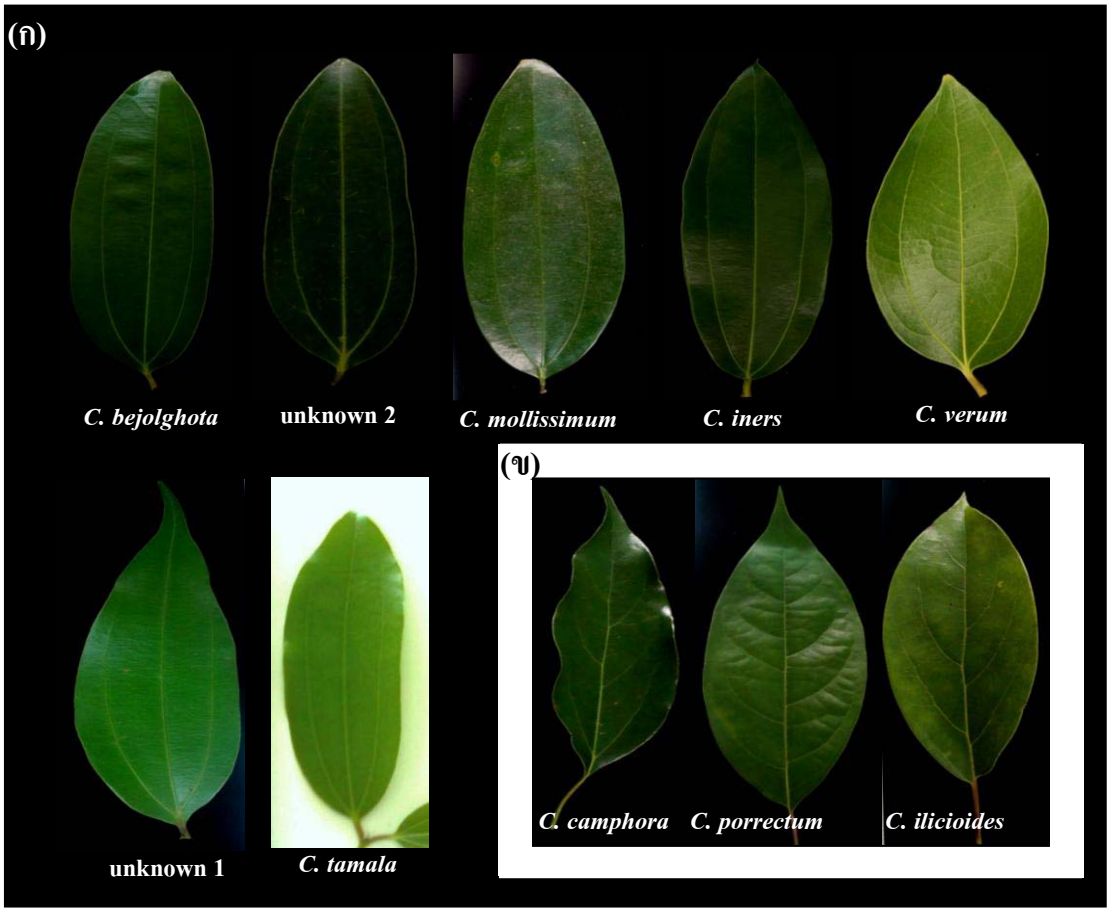
(ข) ขอบใบเป็นคลื่น (undulate)

1.2.4 เส้นใบ

เส้นใบของพืชสกุล *Cinnamomum* จากตัวอย่างที่ศึกษา พบว่า มีการเรียงตัว 2 แบบ (รูปที่ 5) ดังนี้

แบบที่ 1 เส้นใบแบบขนาน (parallel venation) พบในกลุ่มตัวอย่างของแกง เชียด เชียดใบใหญ่ อบเชย อบเชยเทศ ฝนแสนห่า (unknown 1) และ unknown 2 (รูปที่ 5 ก)

แบบที่ 2 เส้นใบร่างแห (reticulate venation) พบในกลุ่มตัวอย่างของตะไคร้ต้น เทพทาโร และการบูร (รูปที่ 5 ข)



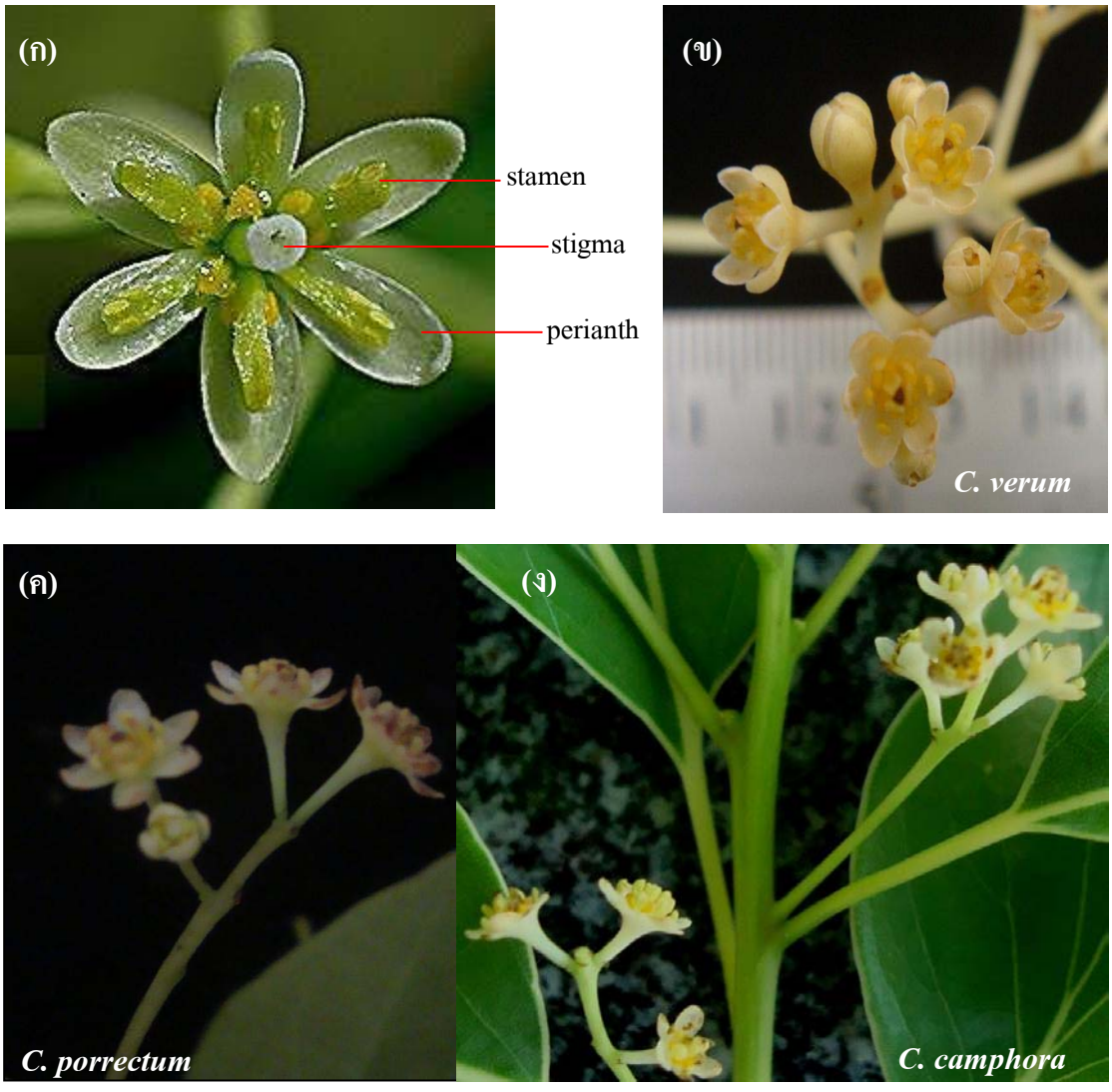
รูปที่ 5 ตัวอย่างการเรียงตัวของเส้นใบพืชสกุล *Cinnamomum*

(ก) เส้นใบแบบขนาน (parallel venation)

(ข) เส้นใบร่างแห (reticulate venation)

1.3 ลักษณะช่อดอกและดอก

ลักษณะช่อดอก และดอก ช่อดอกแบบแยกแขนง (panicle) ดอกย่อยมีขนาดเล็ก มีสีขาวอมเหลือง เกิดเป็นช่อตามง่ามใบและปลายกิ่ง จัดเป็นดอกสมบูรณ์เพศ กลีบรวม (perianth) มี 6 กลีบ โคนกลีบเชื่อมติดกันเป็นกรวยสั้น ๆ เกสรเพศผู้มี 9 อัน เรียงเป็น 3 ชั้น แต่ละกลุ่มตัวอย่างพืชที่ศึกษาไม่สามารถแยกความแตกต่างได้ชัดเจน (รูปที่ 6)



รูปที่ 6 ลักษณะช่อดอกและดอกของพืชสกุล *Cinnamomum*

(ก) โครงสร้างของดอก (ข) *C. verum*

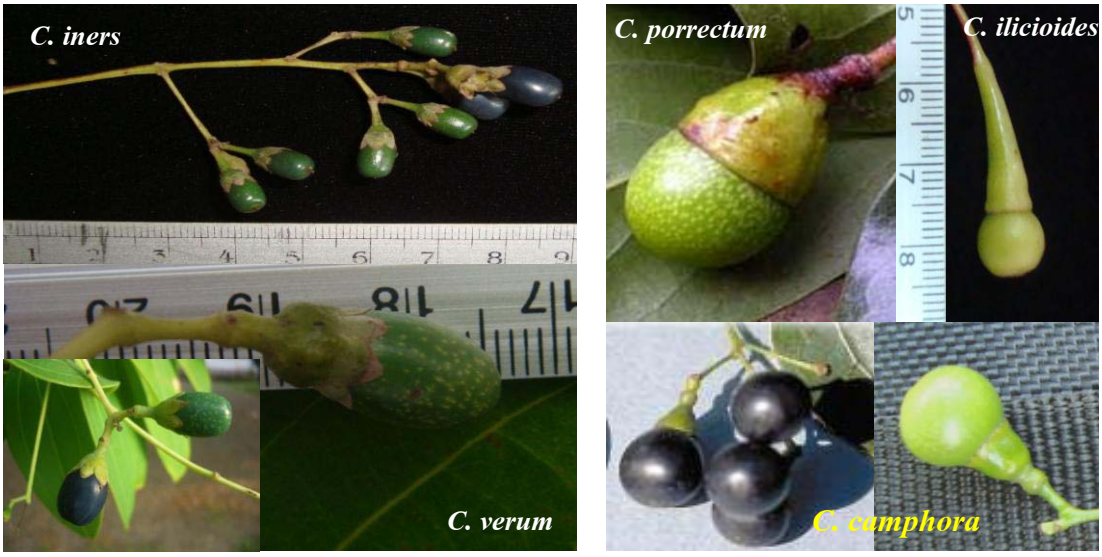
(ค) *C. porrectum* (ง) *C. camphora*

1.4 ลักษณะผล

จากการบันทึกลักษณะผลของพืชสกุล *Cinnamomum* ทั้งหมด 5 ชนิด ที่สามารถเก็บผลได้มีเพียง 5 ชนิด คือ เชียด อบเชยเทศ การบูร เทพทาโร และตะไคร้ต้น ซึ่งมีลักษณะผิวเกลี้ยง เมื่อผลอ่อนมีสีเขียว ผลสุกมีสีม่วงดำ มีฐานดอกซึ่งเจริญเติบโตขึ้นมาเป็นฐานรองผล ผลมีรูปรี หรือรูปกลม พบว่า สามารถแยกเป็น 2 แบบ ดังนี้

แบบที่ 1 ผลรูปรี ฐานรองผลเป็นรูปถ้วย มีสันนูน 6 สัน ระหว่างสันเป็นร่อง ได้แก่ เชียด อบเชยเทศ (รูปที่ 7 ก)

แบบที่ 2 ผลรูปกลม ฐานรองผลเรียวยาวเมื่อผลอ่อน มีฐานรองผลรูปถ้วยไม่มีซี่หยักติดอยู่ ได้แก่ การบูร เทพทาโร และตะไคร้ต้น (รูปที่ 7 ข)



(ก) **(ข)**

รูปที่ 7 ตัวอย่างลักษณะผลของพืชสกุล *Cinnamomum*

(ก) ผลรูปรี

(ข) ผลรูปกลม

2. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Cinnamomum* ในภาคใต้โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี

2.1 การสกัดดีเอ็นเอและการตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอ

จากการสกัดดีเอ็นเอของใบพืชสกุล *Cinnamomum* โดยบดตัวอย่างร่วมกับสารละลาย CTAB พบว่า สามารถสกัดดีเอ็นเอได้ครั้งละประมาณ 10-40 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร ดีเอ็นเอที่ได้สามารถนำไปเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ได้

2.2 การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี

2.2.1 การคัดเลือกไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างตัวแทนประชากรพืชสกุล *Cinnamomum* โดยปฏิกิริยาพีซีอาร์

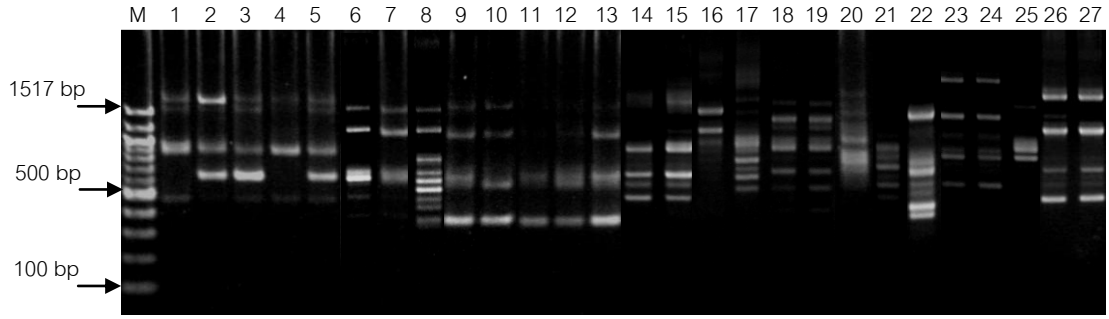
ทำการทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาไพรเมอร์ที่สามารถแยกความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอระหว่างตัวแทนพืชสกุล *Cinnamomum* แต่ละชนิด โดยใช้ตัวอย่างพืชสกุล *Cinnamomum* 4 ชนิด ได้แก่ อบเชยเทศ เชียด เทพทาโร และการบูร ชนิดละ 2 ต้น รวมทั้งหมด 8 ต้น นำมาทดสอบไพรเมอร์ขนาด 10 เบส จากไพรเมอร์ที่เคยมีผู้ศึกษามาก่อนในพืชสกุล *Cinnamomum* จำนวน 16 ไพรเมอร์ และคัดเลือกไพรเมอร์เพิ่มเติมอีกจำนวน 34 ไพรเมอร์ รวมทั้งหมด 50 ไพรเมอร์ ผลการทดลอง พบว่า มีไพรเมอร์ที่ให้ความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอ จำนวน 40 ไพรเมอร์ และ 10 ไพรเมอร์ ไม่สามารถเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ จากจำนวนไพรเมอร์ที่ให้ความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอเบื้องต้น จำนวน 40 ไพรเมอร์ นำมาทดสอบรอบที่สอง เพื่อคัดเลือกไพรเมอร์ที่ให้ผลของแถบดีเอ็นเอชัดเจนที่สุด พบว่า มีไพรเมอร์ที่ให้ผลดีที่สุด จำนวน 10 ไพรเมอร์ คือ OPA-01 OPA-07 OPA-10 OPB-19 OPB-20 OPC-15 OPC-16 OPD-09 OPE-14 และ OPAA-03 นำมาทดสอบเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของพืชสกุล *Cinnamomum* ทั้งหมดที่สุ่มเก็บจากบางพื้นที่ทางภาคใต้ของประเทศไทย จำนวนทั้งหมด 82 ต้น ทราบชนิด 73 ต้น และไม่ทราบชนิดอีก 9 ต้น จากการทดสอบ พบว่า ตัวอย่างพืชที่ทดลองให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 78 แถบ เฉลี่ย 7.80 แถบต่อไพรเมอร์ เป็นแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดแตกต่างกัน 75 แถบ (96.15%) และอีก 3 แถบ (3.85%) เป็นแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดไม่แตกต่างกัน ไพรเมอร์ OPB-19 มีจำนวนแถบดีเอ็นเอสูงสุด จำนวน 11 แถบ ไพรเมอร์ OPE-14 มีจำนวนแถบดีเอ็นเอที่น้อยที่สุด จำนวน 5 แถบ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ชนิดของไพรเมอร์ ลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอเหมือนกัน และจำนวนดีเอ็นเอที่ต่างกัน จากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดีในพืชสกุล *Cinnamomum* จำนวนทั้งหมด 82 ต้น

Primer	Sequence (5' ⟶ 3')	Amplified fragments	Monomorphic fragments	Polymorphic fragments
A-01	CAG GCC CTT C	9	0	9
A-07	GAA ACG GGT G	8	0	8
A-10	GTG ATC GCA G	8	1	7
B-19	ACC CCC GAA G	11	0	11
B-20	GGA CCC TTA C	8	0	8
C-15	GAC GGA TCA G	9	0	9
C-16	CAC ACT CCA G	6	0	6
D-09	CTC TGG AGA C	6	2	4
E-14	TGA GGC TGA G	5	0	5
AA-03	TTA GCG CCC C	8	0	8
Total		**78**	**3**	**75**
Polymorphic (%)		**-**	**-**	**96.15**

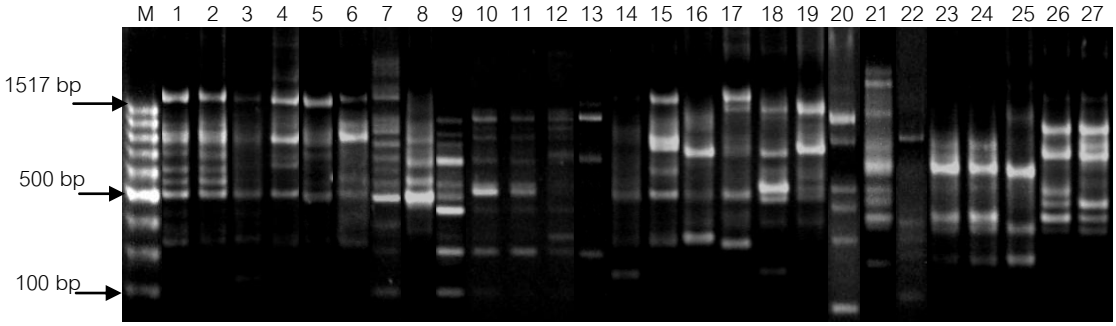
รูปแบบดีเอ็นเอที่ได้จากการทำอาร์เอพีดี – พีซีอาร์ แต่ละไพรเมอร์มีความแตกต่างกันในพืชสกุล *Cinnamomum* โดยไพรเมอร์ OPA-01 ให้แถบดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ทั้งหมด 9 แถบ ทั้ง 9 แถบเป็นแถบที่ให้ความแตกต่างทั้งหมด (รูปที่ 8) ไพรเมอร์ OPA-07 ให้แถบดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ทั้งหมด 8 แถบ ทั้ง 8 แถบเป็นแถบที่ให้ความแตกต่างทั้งหมด (รูปที่ 9) OPA-10 ให้แถบดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ทั้งหมด 8 แถบ เป็นแถบที่ให้ความแตกต่างจำนวน 7 แถบ (รูปที่ 10) ไพรเมอร์ OPB-19 ให้แถบดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ทั้งหมด 11 แถบ เป็นแถบที่ให้ความแตกต่างทั้งหมด (รูปที่ 11) ไพรเมอร์ OPB-20 ให้แถบดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ทั้งหมด 8 แถบ เป็นแถบที่ให้ความแตกต่างทั้งหมด (รูปที่ 12) ไพรเมอร์ OPC-15 ให้แถบดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ทั้งหมด 9 แถบ เป็นแถบที่ให้ความแตกต่างทั้งหมด (รูปที่ 13) ไพรเมอร์ OPC-16 ให้แถบดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ทั้งหมด 6 แถบ เป็นแถบที่ให้ความแตกต่างทั้งหมด (รูปที่ 14) OPD-09 ให้แถบดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ทั้งหมด 6 แถบ เป็นแถบที่ให้ความแตกต่าง จำนวน 4 แถบ (รูปที่ 15) ไพรเมอร์ OPE-14 ให้แถบดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ทั้งหมด 5 แถบ เป็นแถบที่ให้ความแตกต่างทั้งหมด

(รูปที่ 16) และไพรเมอร์ OPAA-03 ให้แถบดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ทั้งหมด 8 แถบ เป็นแถบที่ให้ความแตกต่างทั้งหมด (รูปที่ 17)



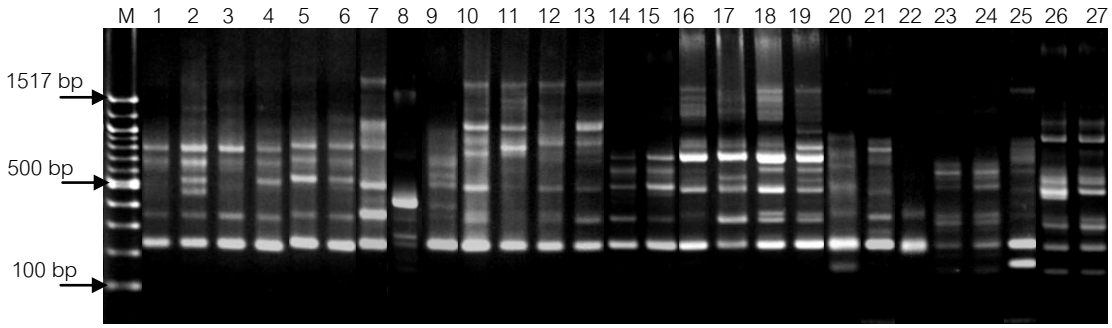
รูปที่ 8 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างพืชสกุล *Cinnamomum* จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPA-01

lane 1-6: *C. porrectum* (Roxb.) Kosterm.
lane 7-8: *C. camphora* (L.) J.Presl
lane 9: *C. tamala* (Buch.-Ham.)
lane 10-13: *C. verum* J.Presl
lane 14-15: *C. ilicioides* A.Chev.
lane 16-19: *C. iners* Reinw. ex Blume
lane 20-21: *C. bejolghota* (Buch.-Ham.) Sweet
lane 22: *C. mollissimum* Hook.f.
lane 23-25: unknown 1
lane 26-27: unknown 2
M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



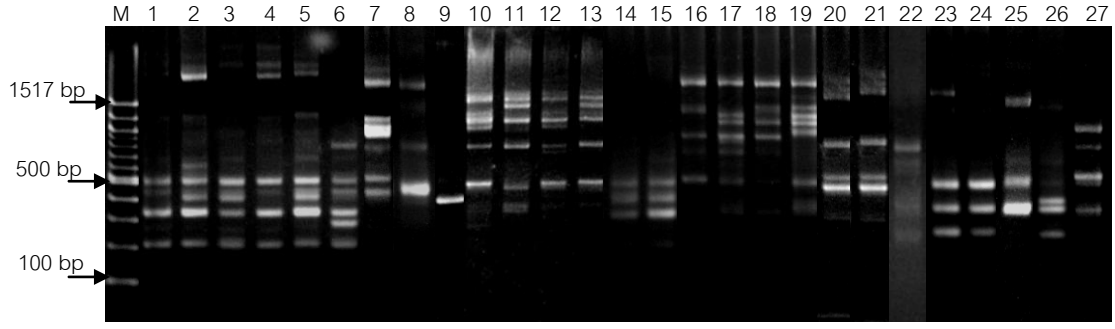
รูปที่ 9 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างพืชสกุล *Cinnamomum* จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPA-07

lane 1-6: *C. porrectum* (Roxb.) Kosterm.
lane 7-8: *C. camphora* (L.) J.Presl
lane 9: *C. tamala* (Buch.-Ham.)
lane 10-13: *C. verum* J.Presl
lane 14-15: *C. ilicioides* A.Chev.
lane 16-19: *C. iners* Reinw. ex Blume
lane 20-21: *C. bejolghota* (Buch.-Ham.) Sweet
lane 22: *C. mollissimum* Hook.f.
lane 23-25: unknown 1
lane 26-27: unknown 2
M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



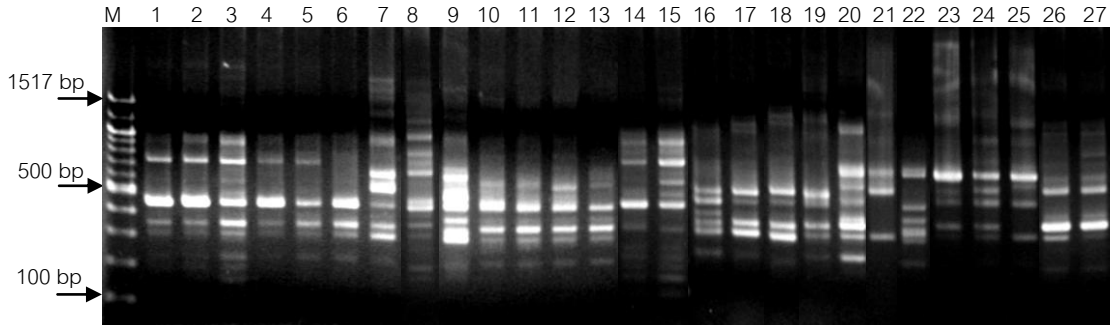
รูปที่ 10 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างพืชสกุล *Cinnamomum* จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPA-10

lane 1-6: *C. porrectum* (Roxb.) Kosterm.
lane 7-8: *C. camphora* (L.) J.Presl
lane 9: *C. tamala* (Buch.-Ham.)
lane 10-13: *C. verum* J.Presl
lane 14-15: *C. ilicioides* A.Chev.
lane 16-19: *C. iners* Reinw. ex Blume
lane 20-21: *C. bejolghota* (Buch.-Ham.) Sweet
lane 22: *C. mollissimum* Hook.f.
lane 23-25: unknown 1
lane 26-27: unknown 2
M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



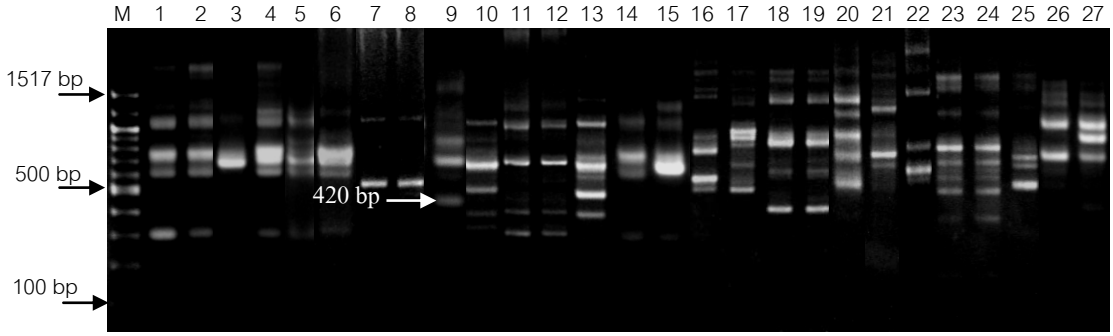
รูปที่ 11 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างพืชสกุล *Cinnamomum* จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPB-19

lane 1-6: *C. porrectum* (Roxb.) Kosterm.
lane 7-8: *C. camphora* (L.) J.Presl
lane 9: *C. tamala* (Buch.-Ham.)
lane 10-13: *C. verum* J.Presl
lane 14-15: *C. ilicioides* A.Chev.
lane 16-19: *C. iners* Reinw. ex Blume
lane 20-21: *C. bejolghota* (Buch.-Ham.) Sweet
lane 22: *C. mollissimum* Hook.f.
lane 23-25: unknown 1
lane 26-27: unknown 2
M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



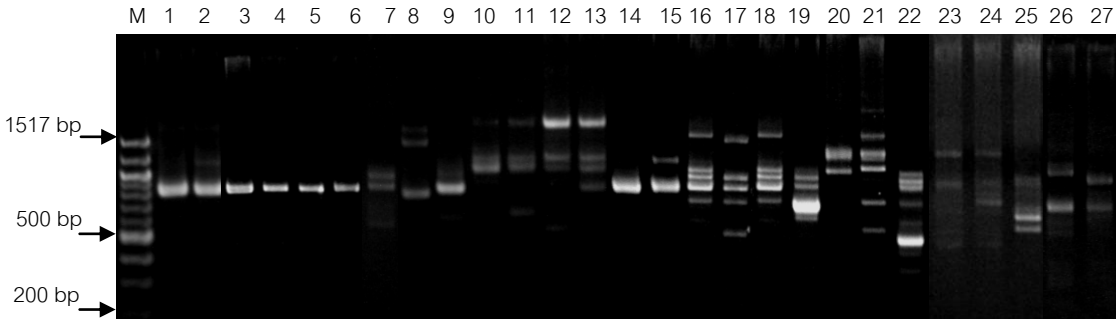
รูปที่ 12 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างพืชสกุล *Cinnamomum* จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPB-20

lane 1-6: *C. porrectum* (Roxb.) Kosterm.
lane 7-8: *C. camphora* (L.) J.Presl
lane 9: *C. tamala* (Buch.-Ham.)
lane 10-13: *C. verum* J.Presl
lane 14-15: *C. ilicioides* A.Chev.
lane 16-19: *C. iners* Reinw. ex Blume
lane 20-21: *C. bejolghota* (Buch.-Ham.) Sweet
lane 22: *C. mollissimum* Hook.f.
lane 23-25: unknown 1
lane 26-27: unknown 2
M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



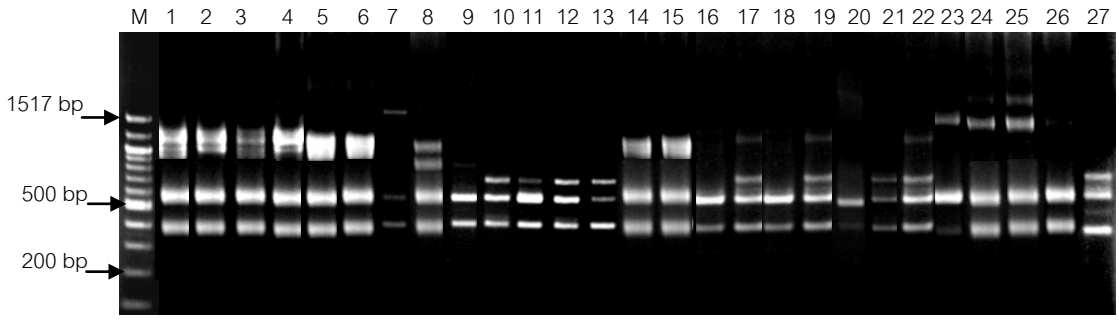
รูปที่ 13 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างพืชสกุล *Cinnamomum* จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPC-15

lane 1-6: *C. porrectum* (Roxb.) Kosterm.
lane 7-8: *C. camphora* (L.) J.Presl
lane 9: *C. tamala* (Buch.-Ham.)
lane 10-13: *C. verum* J.Presl
lane 14-15: *C. ilicioides* A.Chev.
lane 16-19: *C. iners* Reinw. ex Blume
lane 20-21: *C. bejolghota* (Buch.-Ham.) Sweet
lane 22: *C. mollissimum* Hook.f.
lane 23-25: unknown 1
lane 26-27: unknown 2
M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



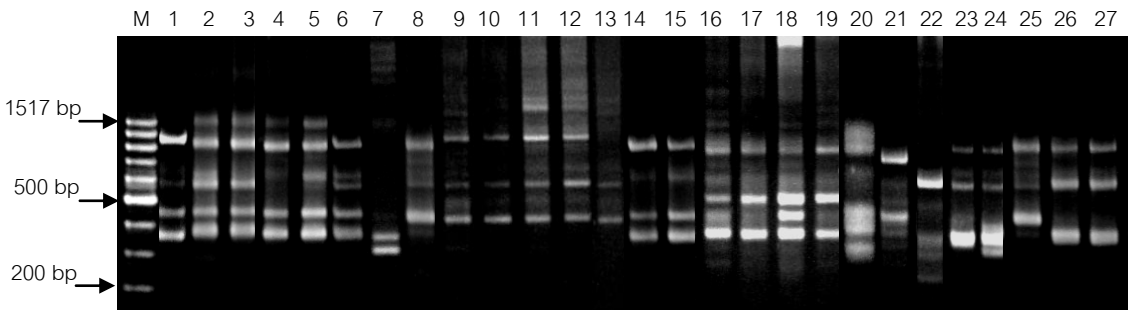
รูปที่ 14 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างพืชสกุล *Cinnamomum* จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPC-16

lane 1-6: *C. porrectum* (Roxb.) Kosterm.
lane 7-8: *C. camphora* (L.) J.Presl
lane 9: *C. tamala* (Buch.-Ham.)
lane 10-13: *C. verum* J.Presl
lane 14-15: *C. ilicioides* A.Chev.
lane 16-19: *C. iners* Reinw. ex Blume
lane 20-21: *C. bejolghota* (Buch.-Ham.) Sweet
lane 22: *C. mollissimum* Hook.f.
lane 23-25: unknown 1
lane 26-27: unknown 2
M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



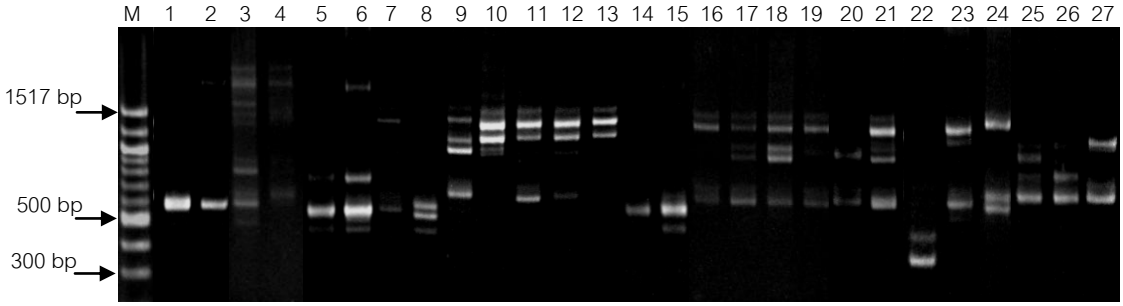
รูปที่ 15 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างพืชสกุล *Cinnamomum* จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPD-09

lane 1-6: *C. porrectum* (Roxb.) Kosterm.
lane 7-8: *C. camphora* (L.) J.Presl
lane 9: *C. tamala* (Buch.-Ham.)
lane 10-13: *C. verum* J.Presl
lane 14-15: *C. ilicioides* A.Chev.
lane 16-19: *C. iners* Reinw. ex Blume
lane 20-21: *C. bejolghota* (Buch.-Ham.) Sweet
lane 22: *C. mollissimum* Hook.f.
lane 23-25: unknown 1
lane 26-27: unknown 2
M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



รูปที่ 16 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างพืชสกุล *Cinnamomum* จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPE-14

lane 1-6: *C. porrectum* (Roxb.) Kosterm.
lane 7-8: *C. camphora* (L.) J.Presl
lane 9: *C. tamala* (Buch.-Ham.)
lane 10-13: *C. verum* J.Presl
lane 14-15: *C. ilicioides* A.Chev.
lane 16-19: *C. iners* Reinw. ex Blume
lane 20-21: *C. bejolghota* (Buch.-Ham.) Sweet
lane 22: *C. mollissimum* Hook.f.
lane 23-25: unknown 1
lane 26-27: unknown 2
M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



รูปที่ 17 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างพืชสกุล *Cinnamomum* จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPAA-03

lane 1-6: *C. porrectum* (Roxb.) Kosterm.
lane 7-8: *C. camphora* (L.) J.Presl
lane 9: *C. tamala* (Buch.-Ham.)
lane 10-13: *C. verum* J.Presl
lane 14-15: *C. ilicioides* A.Chev.
lane 16-19: *C. iners* Reinw. ex Blume
lane 20-21: *C. bejolghota* (Buch.-Ham.) Sweet
lane 22: *C. mollissimum* Hook.f.
lane 23-25: unknown 1
lane 26-27: unknown 2
M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส

2.2.2 การวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่ได้จากการทำอาร์เอพีดี – พีซีอาร์ในพืชสกุล *Cinnamomum*

จากแถบดีเอ็นเอที่ได้โดยการเปรียบเทียบความเหมือนและแตกต่างของแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นทั้งหมด 10 ไพรเมอร์ ผลการวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างจำนวน 75 แถบ พบแถบดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะกับแกง (*C. tamala*) คือ แถบดีเอ็นเอขนาด 420 คู่เบส จากไพรเมอร์ OPC-15 (รูปที่ 13 และ ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์แถบดีเอ็นเอที่ปรากฏในประชากรพืชสกุล *Cinnamomum* ในแต่ละชนิด จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี

primer	fragment size (bp)	marker	DNA fragment (%)									
			C. porrectum	*C. ilicioides*	*C. camphora*	*C. tamala*	*C. verum*	*C. bejolghota*	*C. iners*	*C. mollissimum*	unknown 1	unknown 2
OPA-01	350	OPA-01/1	15.38	0.00	100.00	100.00	7.69	0.00	7.69	0.00	0.00	0.00
	500	OPA-01/3	15.38	0.00	100.00	100.00	100.00	100.00	7.69	0.00	0.00	0.00
	900	OPA-01/7	76.92	100.00	50.00	100.00	100.00	100.00	66.67	100.00	0.00	100.00
OPA-07	550	OPA-07/3	15.38	0.00	50.00	0.00	0.00	0.00	5.13	0.00	100.00	60.00
	1000	OPA-07/6	61.54	100.00	50.00	0.00	7.69	0.00	12.82	100.00	0.00	20.00
	1200	OPA-07/7	15.38	0.00	50.00	0.00	0.00	0.00	5.13	0.00	100.00	60.00
OPA-10	350	OPA-10/3	23.08	0.00	0.00	0.00	100.00	50.00	25.64	100.00	50.00	20.00
	500	OPA-10/5	61.54	100.00	50.00	0.00	7.69	0.00	12.82	100.00	0.00	20.00
	650	OPA-10/6	15.38	0.00	50.00	0.00	0.00	0.00	5.13	0.00	100.00	60.00
OPB-19	200	OPB-19/1	92.31	100.00	100.00	0.00	100.00	100.00	58.97	100.00	75.00	100.00
	350	OPB-19/3	0.00	0.00	50.00	0.00	0.00	0.00	64.10	100.00	0.00	0.00
	400	OPB-19/4	0.00	0.00	50.00	0.00	0.00	0.00	10.26	0.00	0.00	60.00
	500	OPB-19/5	0.00	0.00	0.00	0.00	92.31	100.00	69.23	0.00	0.00	20.00
OPB-20	550	OPB-20/6	15.38	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	5.13	0.00	75.00	20.00
	700	OPB-20/8	100.00	100.00	0.00	100.00	92.31	100.00	97.44	100.00	25.00	60.00

ตารางที่ 4 (ต่อ)

primer	fragment size (bp)	marker	DNA fragment (%)									
			C. porrectum	*C. ilicioides*	*C. camphora*	*C. tamala*	*C. verum*	*C. bejolghota*	*C. iners*	*C. mollissimum*	unknown 1	unknown 2
OPC-15	420	OPC-15/3	0.00	0.00	0.00	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	600	OPC-15/5	46.15	100.00	50.00	0.00	92.31	50.00	74.36	0.00	25.00	100.00
	700	OPC-15/6	92.31	100.00	100.00	100.00	38.46	50.00	66.67	100.00	25.00	100.00
	850	OPC-15/7	0.00	0.00	0.00	100.00	61.54	100.00	33.33	100.00	75.00	100.00
	1200	OPC-15/8	0.00	0.00	0.00	100.00	84.62	100.00	84.62	100.00	75.00	100.00
OPC-16	900	OPC-16/4	7.69	0.00	50.00	100.00	53.85	0.00	51.28	0.00	75.00	40.00
	1200	OPC-16/5	84.62	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	87.18	0.00	0.00	20.00
	1517	OPC-16/6	46.15	100.00	100.00	100.00	53.85	100.00	28.21	0.00	50.00	40.00
OPD-09	800	OPD-09/3	15.38	50.00	100.00	100.00	46.15	100.00	58.97	0.00	75.00	20.00
	1000	OPD-09/4	84.62	100.00	100.00	100.00	23.08	100.00	64.10	0.00	50.00	20.00
OPE-14	550	OPE-14/3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00	87.18	100.00	25.00	80.00
	650	OPE-14/4	100.00	100.00	50.00	100.00	84.62	0.00	92.31	100.00	100.00	100.00
OPAA-03	500	OPAA-03/1	0.00	0.00	0.00	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	800	OPAA-03/3	46.15	100.00	50.00	0.00	92.31	50.00	74.36	0.00	25.00	100.00
	1400	OPAA-03/6	92.31	100.00	100.00	100.00	92.31	100.00	76.92	0.00	50.00	100.00

2.2.3 การศึกษาความสัมพันธ์ และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Cinnamomum*

จากการศึกษาความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Cinnamomum* ทั้ง 8 ชนิด คือ การบูร แกง เชียด เชียดใบใหญ่ เทพทาโร ตะไคร้ต้น อบเชย และ อบเชยเทศ รวมทั้งหมด 73 ต้น และไม่ทราบชนิดอีก 9 ต้น โดยใช้แถบดีเอ็นเอที่แสดงความแตกต่าง ซึ่งได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค อาร์เอพีดี นำไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมด้วยการวิเคราะห์ UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Average) cluster analysis หาค่า Similarity coefficient ตามวิธีของ Jaccard (1908) ด้วยโปรแกรม Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Version-2.1 (NTSYS Version 2.1) (Rohlf, 2002) พบว่า ตัวอย่างพืช ที่เก็บจากพื้นที่บางส่วนของภาคใต้ในประเทศไทย ทั้งหมด 82 ต้น มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.397 – 0.987 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.641 โดยเทพทาโรที่เก็บในพื้นที่บริเวณเดียวกัน 2 ต้น และเชียดจากที่เก็บพื้นที่เดียวกัน 2 ต้น มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมากที่สุด (0.987) ส่วนเทพทาโรที่เก็บจากอำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา กับเชียดที่เก็บจากจังหวัดกระบี่ มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมน้อยที่สุด (0.397) และผลจากเดนโดรแกรมสามารถแบ่งกลุ่มพืชที่ศึกษาได้เป็น 6 กลุ่ม (รูปที่ 18) ดังนี้

กลุ่มที่ I มี 20 ตัวอย่าง ประกอบด้วย เทพทาโร 13 ตัวอย่าง ตะไคร้ต้น 2 ตัวอย่าง การบูร 1 ตัวอย่าง และ ฝนแสนห่า (unknown 1) 4 ตัวอย่าง

กลุ่มที่ II มี 2 ตัวอย่าง ประกอบด้วย การบูร 1 ตัวอย่าง และ แกง 1 ตัวอย่าง

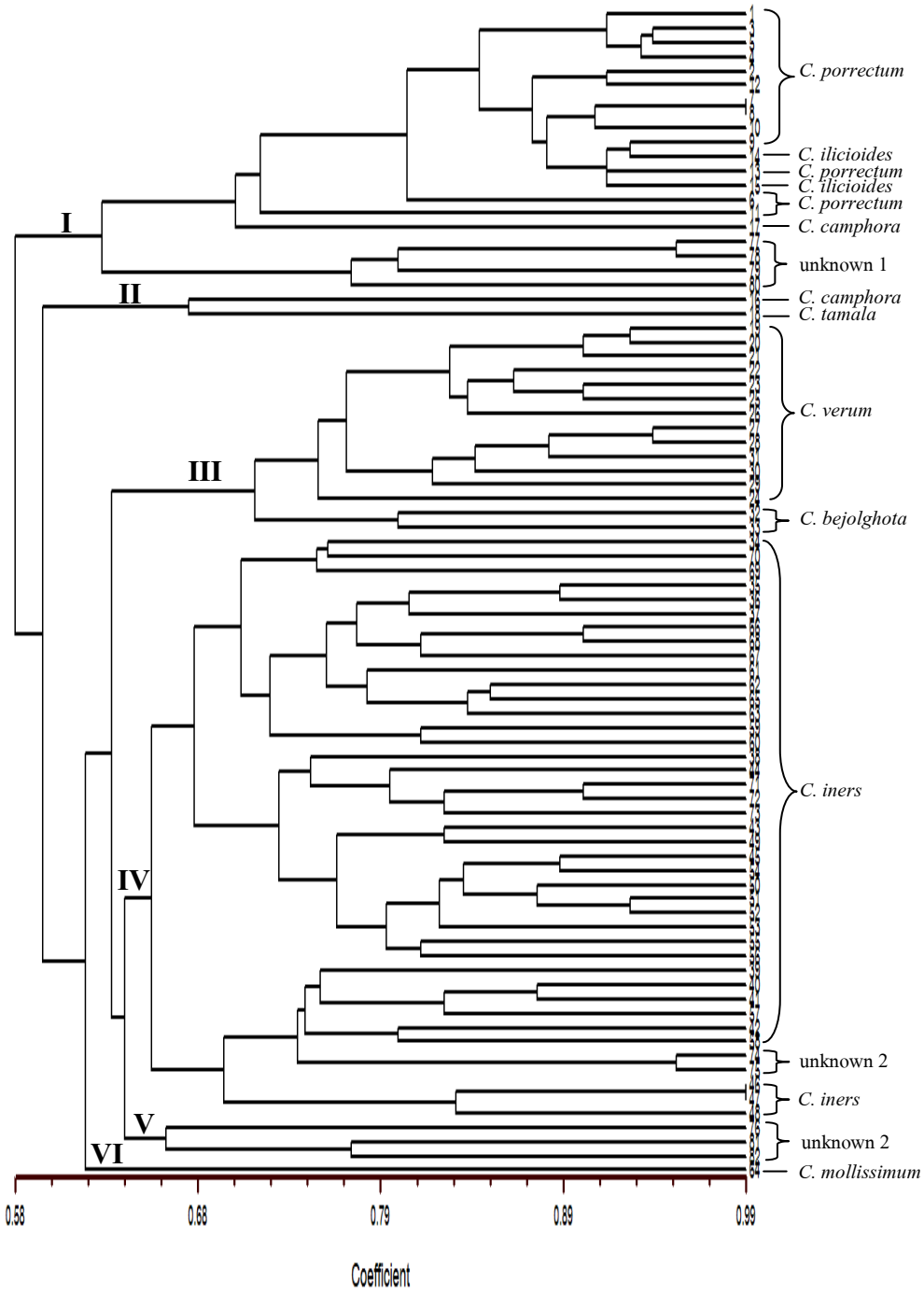
กลุ่มที่ III มี 15 ตัวอย่าง ประกอบด้วย อบเชยเทศ 13 ตัวอย่าง และ อบเชย 2 ตัวอย่าง

กลุ่มที่ IV มี 41 ตัวอย่าง ประกอบด้วย เชียด 39 ตัวอย่าง และ บริแวง (unknown 2) 2 ตัวอย่าง

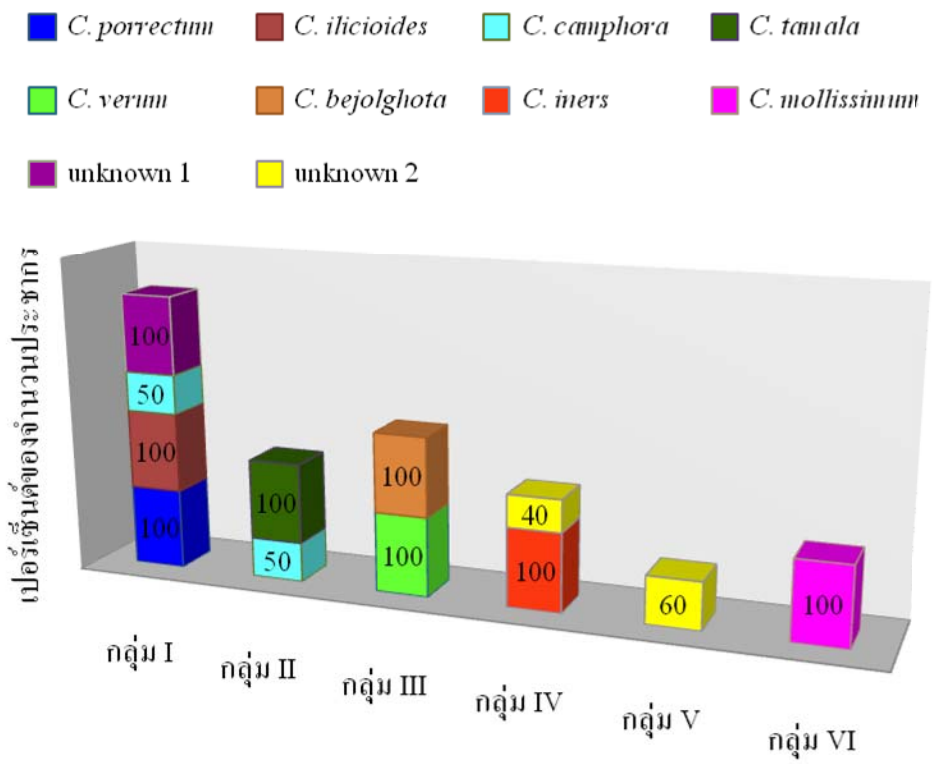
กลุ่มที่ V มี 3 ตัวอย่าง คือ บริแวง (unknown 2) จำนวน 3 ตัวอย่าง

กลุ่มที่ VI มี 1 ตัวอย่าง คือ เชียดใบใหญ่

ในแต่ละกลุ่มประกอบด้วยจำนวนตัวอย่างพืชคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ดังแสดงในรูปที่ 19



รูปที่ 18 เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพืชสกุล *Cinnamomum* จำนวน 73 ต้น 8 ชนิด และไม่ทราบชนิดอีก 9 ต้น จากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดี ด้วยไพรเมอร์ 10 ไพรเมอร์



รูปที่ 19 แผนภูมิแท่งแสดงเปอร์เซ็นต์การกระจายตัวของประชากรพืชสกุล *Cinnamomum* ในกลุ่มต่าง ๆ จากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดี

ความสัมพันธ์ของพืชระหว่างชนิด โดยพิจารณาจากค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรม พบว่า *C. perrectum* (เทพทาโร) กับ *C. ilicioides* (ตะไคร้ต้น) มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมากที่สุด มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเฉลี่ยเท่ากับ 0.843 ในขณะที่ *C. perrectum* (เทพทาโร) กับ *C. mollissimum* (เชียดใบใหญ่) มีความห่างไกลทางพันธุกรรมมากที่สุด (ค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเฉลี่ยเท่ากับ 0.522) (ตารางที่ 5) สำหรับความหลากหลายทางพันธุกรรมในกลุ่มพืชชนิดเดียวกัน พบว่า *C. iners* (เชียด) มีความหลากหลายทางพันธุกรรมมากที่สุด มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.487 - 0.987

ตารางที่ 5 ค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Cinnamomum* ในแต่ละชนิด

	C. porrectum	***C. ilicioides***	***C. camphora***	***C. tamala***	***C. verum***	***C. bejolghota***	***C. iners***	***C. mollissimum***	**unknown 1**	**unknown 2**
C. porrectum	1.000									
C. ilicioides	0.843	1.000								
C. camphora	0.638	0.635	1.000							
C. tamala	0.564	0.564	0.667	1.000						
C. verum	0.561	0.580	0.604	0.626	1.000					
C. bejolghota	0.547	0.603	0.603	0.667	0.716	1.000				
C. iners	0.580	0.591	0.574	0.631	0.637	0.651	1.000			
C. mollissimum	0.522	0.551	0.538	0.628	0.621	0.603	0.624	1.000		
unknown 1	0.638	0.625	0.548	0.622	0.555	0.571	0.631	0.558	1.000	
unknown 2	0.571	0.569	0.569	0.600	0.621	0.618	0.558	0.608	0.641	1.000

บทที่ 4

วิจารณ์

1. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Cinnamomum* ในภาคใต้โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ในประเทศไทยพบพืชสกุล *Cinnamomum* เพียง 19 ชนิด (เต็ม, 2544) จาก 300 กว่าชนิดทั่วโลก พบกระจายทั่วไปในป่าดิบ สำหรับภาคใต้พบพืชสกุลนี้บริเวณป่าดิบชื้นตามเทือกเขา จากการเก็บตัวอย่างพืชสกุล *Cinnamomum* ในพื้นที่ทางภาคใต้ ได้แก่ จังหวัดสงขลา จังหวัดตรัง จังหวัดสตูล จังหวัดสุราษฎร์ธานี จังหวัดกระบี่ และจังหวัดชุมพร พบว่า พืชแต่ละชนิดมีชื่อพื้นบ้านเรียกแตกต่างกันในแต่ละท้องถิ่น เช่น จังหวัดตรัง เรียกอบเชย (*C. bejolghota*) ว่า ขนุนมะแวง เชียกใหญ่ จังหวัดระนอง เรียกว่า จวงดง บริแวง จังหวัดนครศรีธรรมราช เรียกว่า ฝนแสนห่า สมุลแว้ง เป็นต้น (ตารางที่ 1) ส่งผลทำให้เกิดความไม่ชัดเจนในการจำแนกชนิดของพืชได้ ในการศึกษาครั้งนี้จึงจำเป็นต้องอาศัยลักษณะสัณฐานวิทยา เป็นขั้นตอนเบื้องต้นก่อนที่จะนำไปศึกษาด้วยเครื่องหมายโมเลกุล จากลักษณะภายนอกที่ประเมินได้ด้วยสายตา ได้แก่ ลักษณะลำต้น ใบ ดอก และผล พบว่า สามารถจำแนกตัวอย่างพืชได้ จำนวน 8 ชนิด (species) และไม่ทราบชนิดอีก 9 ตัวอย่าง เมื่ออาศัยลักษณะเปลือกลำต้นเป็นเกณฑ์ พบว่า เทพทาโร ตะไคร้ต้น และการบูร ทั้ง 3 ชนิดนี้ ลักษณะลำต้นเมื่อเจริญเติบโตมีลำต้นขนาดใหญ่เปลือกต้นแตก ส่วนชนิดอื่น ๆ คือ เชียด เชียดใบใหญ่ อบเชย อบเชยเทศ แกง unknown 1 และ unknown 2 มีเปลือกต้นเรียบ ส่วนลักษณะใบ พบว่า เทพทาโร ตะไคร้ต้น และการบูร มีเส้นใบแบบร่างแห ต่างจากชนิดอื่นที่พบเส้นใบแบบขนาน และพบว่า มีเพียงการบูรชนิดเดียวเท่านั้นที่มีขอบใบแบบคลื่น จึงสามารถแยกการบูรออกจากเทพทาโร และตะไคร้ต้นได้ สำหรับ unknown 1 (ฝนแสนห่า) และ unknown 2 ที่ชาวบ้านเรียกว่า อบเชย หรือ บริแวง ซึ่งทั้งสามชื่อที่กล่าวมาเป็นชื่อพื้นบ้านของ *C. bejolghota* ปลายใบแหลม แต่พบว่าปลายใบของฝนแสนห่ามีลักษณะเรียวแหลม ต่างจาก unknown 2 หรือบริแวงที่มีปลายใบแหลม แสดงให้เห็นว่าตัวอย่าง unknown 1 และ unknown 2 น่าจะเป็นคนละชนิดกัน ลักษณะสัณฐานวิทยาของใบจึงอาจสามารถใช้ประกอบในการจำแนกพืชสกุล *Cinnamomum* ได้เมื่อเปรียบเทียบกับลักษณะอื่น เพราะลักษณะสัณฐานวิทยาของใบมีความหลากหลายมากที่สุด โดยลักษณะสัณฐานของใบแยกออกเป็น 4 ลักษณะย่อย ได้แก่ รูปร่างใบ เส้นใบ ขอบใบ และปลายใบ

สอดคล้องกับ Ravindran และคณะ (2004) ที่รายงานว่า สัณฐานวิทยาของใบเป็นลักษณะที่พบความแปรปรวนค่อนข้างสูงในพืชสกุล *Cinnamomum* และสามารถนำมาใช้ในการจำแนกชนิด และสายพันธุ์ของพืชสกุลนี้ได้ อย่างไรก็ตามการจำแนกพืชสกุล *Cinnamomum* โดยอาศัยลักษณะสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียวยังไม่เพียงพอ เพราะแม้พืชชนิดเดียวกันยังพบความแปรปรวน เช่น ลักษณะรูปร่างใบของเทพทาโร พบได้ 3 แบบ ดังนี้ รูปรี (elliptic) รูปไข่ (ovate) และไข่กลับ (obovate) ทั้งนี้เนื่องจากการแสดงออกของลักษณะใบอาจแปรปรวนไปตามอายุของต้น ระยะพัฒนาการของใบเอง หรือสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน นอกจากนี้ความแปรปรวนของลักษณะที่พบ อาจเป็นผลมาจากความแตกต่างทางพันธุกรรมของพืช เนื่องจากการผสมข้ามในกลุ่มพืชชนิดเดียวกันที่อาจเกิดขึ้นในพื้นที่นั้น ๆ สำหรับเทพทาโร เป็นพืชพื้นเมืองที่มีถิ่นกำเนิดบริเวณตั้งแต่เทือกเขาตะนาวศรีในพม่า มลายู จนถึงคาบสมุทรอินโดจีน และเกาะสุมาตรา ในประเทศไทยจะพบมากที่สุดในภาคใต้ สามารถเจริญได้ดีในพื้นที่ที่มีความชื้นสูง ดินร่วน น้ำไม่ท่วมขัง ในธรรมชาติขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด (สมเกียรติ และคณะ, 2552) มีรายงานว่า พืชสกุล *Cinnamomum* เป็นพืชที่จัดอยู่ในกลุ่ม monoecious คือ มีเกสรเพศผู้ และเกสรเพศเมียอยู่ในดอกเดียวกัน จัดเป็นดอกสมบูรณ์เพศ (ก่องกานดา, 2540; ชวลิต, 2540) แม้จะมีโอกาสผสมภายในดอกเดียวกันบ้าง แต่พบว่าเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียในดอกของพืชสกุล *Cinnamomum* มีช่วงการผสมไม่พร้อมกัน คือ เมื่อเกสรตัวเมียพร้อมที่จะรับการผสม แต่ละอองเกสรยังไม่แตกออกจากอับเรณู (protogynous dichogamy) จึงทำให้มีพฤติกรรมเป็นพืชผสมข้าม (Ravindran *et al*., 2004) นอกจากนี้ยังมีอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้พืชมีพฤติกรรมเป็นพืชผสมข้าม คือ ลักษณะการเป็นหมันของเกสรเพศผู้ มีรายงานว่า พืชบางชนิดในสกุล *Cinnamomum* เกสรเพศผู้บางส่วนเป็นหมัน โดยพบว่าภายในดอกประกอบด้วยเกสรเพศผู้ 9 อัน เรียงเป็น 3 วง เกสรเพศผู้เป็นหมันจะอยู่ภายในสุด ได้แก่ อบเชย (*C. bejolghota*) อบเชยจีน (*C. aromaticum*) เทพทาโร (*C. porrectum*) สุรามะริด (*C. subavenium*) และ อบเชยเทศ (*C. verum*) (ก่องกานดา, 2540) จากพฤติกรรมการผสมเป็นแบบผสมข้าม จึงทำให้พบความหลากหลายของลักษณะต่าง ๆ ค่อนข้างมาก

2. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Cinnamomum* ในภาคใต้โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี

การสกัดดีเอ็นเอโดยใช้วิธีดัดแปลงจาก Doyle และ Doyle (1990) ใช้สารละลาย CTAB พบว่า ลักษณะดีเอ็นเอที่สกัดได้มีสีใส และสีน้ำตาล ตกตะกอนที่ก้นหลอด ทั้งนี้สีน้ำตาลที่เกิดขึ้น คือ สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) จัดเป็นสารทุติยภูมิที่เกิดขึ้นในเนื้อเยื่อและอวัยวะของพืช เมื่อนำมาตรวจวัดปริมาณดีเอ็นเอ โดยการทำอิเล็กโตรโฟรีซิสบนเจลอะกาโรส ปริมาณดีเอ็นเอที่ได้อยู่ระหว่าง 10 - 40 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร โดยเทียบแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน ลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้บนแผ่นเจลที่ย้อมด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ มีการปนเปื้อนของโมเลกุลอื่น ๆ ได้แก่ ดีเอ็นเอเศษย่อย อาร์เอ็นเอ หรือ โปรตีน ทำให้ได้ดีเอ็นเอที่ไม่สะอาดบริสุทธิ์ คุณภาพค่อนข้างต่ำ สาเหตุอาจเนื่องมาจาก การสกัดดีเอ็นเอในครั้งนี้ไม่ได้ใช้ไนโตรเจนเหลวในการช่วยเร่งการแข็งตัวของเนื้อเยื่อและน้ำที่อยู่ในเนื้อเยื่อ การบดให้ละเอียด ซึ่งความเย็นจัดของไนโตรเจนเหลวยังสามารถช่วยป้องกันการย่อยสลายของดีเอ็นเอได้ดี โดย Joy และ Maridass (2008) แสดงให้เห็นว่า การใช้ไนโตรเจนเหลวในขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอกับใบของพืชสกุล *Cinnamomum* ได้ปริมาณดีเอ็นเอที่มีคุณภาพดี (อัตราส่วน A_{260}/A_{280} มีค่าระหว่าง 1.7 – 1.9) อีกทั้งการเลือกระยะของใบพืชมาสกัดเป็นปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณและคุณภาพของดีเอ็นเอ ส่วนมากนิยมใช้ส่วนของเนื้อเยื่อเจริญ คือ ใบอ่อน เพราะส่วนดังกล่าวมีกิจกรรมหลัก คือ การเจริญเติบโตสร้างเนื้อเยื่อทำให้มีดีเอ็นเออยู่มาก แต่พบว่าเมื่อใช้ใบอ่อนของพืชตัวอย่างที่ศึกษาทำให้ไม่สามารถสกัดดีเอ็นเอได้ เนื่องจากเกิดเป็นเมือกเหนียว และดีเอ็นเอที่ได้เป็นก้อนอัดตัวกันแน่น ไม่สามารถล้างสิ่งปนเปื้อนออกจากตะกอนดีเอ็นเอได้ ดีเอ็นเอที่ได้มีปริมาณน้อยมากหรือไม่มีเลย และพบว่า ระยะใบเพสลาดเป็นระยะที่เหมาะสมในการสกัดดีเอ็นเอของพืชสกุลนี้ ปริมาณดีเอ็นเอที่ได้สามารถใช้ในการเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ได้ แต่จำเป็นต้องมีการเจือจางปริมาณดีเอ็นเอที่ได้ ด้วยน้ำกลั่นก่อนนำมาใช้ในปฏิกิริยาพีซีอาร์ ซึ่งพบว่า อัตราส่วนปริมาณดีเอ็นเอ : น้ำกลั่น เท่ากับ 1 : 3 คือ ดีเอ็นเอที่สกัดได้ 1 ไมโครลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่น 3 ไมโครลิตร สามารถเกิดแถบดีเอ็นเอที่ชัดเจน ซึ่ง สุรินทร์ (2552) รายงานว่า โดยทั่วไปนิยมใช้ปริมาณดีเอ็นเออยู่ในช่วง 10 – 50 นาโนกรัมต่อปฏิกิริยา เพราะเมื่อใช้ดีเอ็นเอมาก ในขั้นตอนหลังจากที่ทำให้ดีเอ็นเอเสียสภาพแล้ว ลดอุณหภูมิลงเพื่อให้ไพรเมอร์จับกับดีเอ็นเอต้นแบบนั้น ดีเอ็นเอต้นแบบที่มีปริมาณมากอาจเกิดการคืนสภาพกลับ มาจับกันเองเป็นเกลียวคู่ใหม่ จึงขัดขวางการจับของไพรเมอร์ นอกจากนี้ยังมีผลทำให้สารเจือปนที่อยู่ในสารละลายดีเอ็นเอก็จะมีปริมาณมากขึ้นด้วย ทำให้ปฏิกิริยาเกิดได้ไม่ดีเท่าที่ควร

จากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดี เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Cinnamomum* ไพรเมอร์ที่นำมาใช้ทดสอบเบื้องต้นจำนวน 50 ไพรเมอร์ คัดเลือกแบบสุ่ม 34 ไพรเมอร์ และคัดเลือกจากรายงานของ Govinden Soulange และคณะ (2007) และ Joy และ Maridass, (2008) ผลจากการคัดเลือกไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างและมีความคมชัดที่สุด จำนวน 10 ไพรเมอร์ คือ OPA-01 OPA-07 OPA-10 OPB-19 OPB-20 OPC-15 OPC-16 OPD-09 OPE-14 และ OPAA-03 ได้แถบดีเอ็นเอที่สามารถเพิ่มปริมาณได้ทั้งสิ้น 78 แถบ เป็นแถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่าง 75 แถบ หรือคิดเป็น 96.15 เปอร์เซ็นต์ โดยมีเพียง 2 ไพรเมอร์ ให้แถบดีเอ็นเอที่มีขนาดไม่แตกต่างกัน (monomorphic fragments) ได้แก่ OPA-10 และ OPD-09 จำนวน 1 แถบ และ 2 แถบ ตามลำดับ (ตารางที่ 3) จากไพรเมอร์ OPC-15 พบแถบดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะกับแกง (*C. tamala*) คือ แถบดีเอ็นเอขนาด 420 คู่เบส ซึ่งไม่พบในตัวอย่างพืชชนิดอื่น ๆ อย่างไรก็ตามอาจยังไม่สามารถสรุปได้แน่นอนว่าแถบดังกล่าวมีความจำเพาะเจาะจงกับ *C. tamala* จริงหรือไม่ เนื่องจากจำนวนตัวอย่างที่เก็บได้ในครั้งนี้มีเพียง 1 ตัวอย่างเท่านั้น ต้องเก็บตัวอย่างเพิ่มเติมเพื่อยืนยันผลอีกครั้ง โอกาสที่พบแถบดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะเจาะจงกับพืชสกุล *Cinnamomum* อาจจะน้อย เนื่องมาจากในธรรมชาติ พบว่า พืชสกุลนี้จัดเป็นพืชผสมข้าม โอกาสที่จะเกิดการผสมข้ามในชนิดเดียวกัน หรือระหว่างชนิด สามารถเกิดขึ้นได้จากช่วงบานของดอกใกล้เคียงกัน จึงมีความเป็นเฮเทอโรไซโกต (heterozygosity) สูง สอดคล้องกับการรายงานของ Lin และคณะ (1997) ที่ใช้เทคนิคไอโซไซม์ประเมินพันธุกรรมของ *C. kanehirae* ในประเทศไต้หวัน 4 แหล่ง พบว่าตัวอย่างพืชที่ศึกษามีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง

จากการศึกษาพืชสกุล *Cinnamomum* ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย จำนวน 73 ต้น 8 ชนิด และไม่ทราบชนิดอีก 9 ต้น พบความหลากหลายทางพันธุกรรมค่อนข้างสูงระหว่างชนิด (interspecies) โดยมีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมระหว่าง 0.397 – 0.987 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.641 ใกล้เคียงกับงานทดลองของ Chatti และคณะ (2003) อ้างโดย Joy และ Maridass (2008) ที่มีการศึกษาความสัมพันธ์ของพืชสกุล *Cinnamomum* ชนิดเดียวกัน จาก 17 แหล่งในประเทศอินเดีย และ Maridass (2008) ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมภายในประชากร *C. trivancoricum* จาก 4 แหล่งในประเทศอินเดียเช่นกัน พบความแปรปรวนของลักษณะต่าง ๆ ค่อนข้างมาก หากพิจารณาจากเดนโดรแกรมที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ สามารถแบ่งกลุ่มพืชที่ศึกษาได้เป็น 6 กลุ่มแยกตามชนิดค่อนข้างชัดเจน แต่ก็ยังมีตัวอย่างบางชนิดกระจายอยู่ในกลุ่มอื่นด้วย เช่น การบูรที่เก็บจากศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร อำเภอสวี จังหวัดชุมพร จัดอยู่ในกลุ่มที่ I ส่วนการบูรที่เก็บจากคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา จัดอยู่ในกลุ่มที่ II ซึ่งจากการตรวจสอบลักษณะสัณฐานวิทยา พบว่าการบูรมีลักษณะสัณฐานคล้ายคลึงกับเทพทาโร และ

ตะไคร้ต้น ในกลุ่มที่ I มากที่สุด ส่วนฝนแสนห่า (unknown 1) ถูกจัดอยู่ในกลุ่มที่ I เช่นกัน แต่เมื่อพิจารณาลักษณะสัณฐาน เช่น เปลือกต้นจะค่อนข้างเรียบ เส้นใบเป็นแบบขนาน ซึ่งมีความแตกต่างจากกลุ่มของเทพทาโร ตะไคร้ต้น และการบูร ส่วน unknown 2 ซึ่งมีจำนวน 5 ตัวอย่าง จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันกับเชียด จำนวน 2 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างที่เก็บมาจากจังหวัดชุมพร ส่วนอีก 3 ตัวอย่าง ถูกจัดแยกออกมา (กลุ่มที่ V) อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาจากลักษณะภายนอกของตัวอย่างทั้ง 5 ต้น เช่น เปลือกต้น และใบ จะมีลักษณะคล้ายกับเชียด

จากการวิเคราะห์ค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมในชนิดเดียวกัน พบว่า เชียด มีความหลากหลายทางพันธุกรรมมากที่สุด มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.487 – 0.987 รองลงมาคือ เทพทาโร มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.667 – 0.987 อย่างไรก็ตามจำนวนตัวอย่างพืชแต่ละชนิดที่ศึกษาครั้งนี้ มีจำนวนตัวอย่างที่แตกต่างกันมาก บางชนิดเก็บได้เพียง 1 หรือ 2 ตัวอย่างเท่านั้น ได้แก่ แกง การบูร ตะไคร้ต้น อบเชย เชียดใบใหญ่ สำหรับเทพทาโรกับอบเชยเทศ ประกอบด้วย 13 ตัวอย่าง ส่วนเชียดเป็นชนิดที่มีจำนวนตัวอย่างมากที่สุด คือ 39 ตัวอย่าง เนื่องจากเชียดและเทพทาโรเป็นพืชที่พบกระจายทั่วไปในพื้นที่ภาคใต้ เพราะเป็นพืชท้องถิ่น เชียดและเทพทาโรจึงมีความหลากหลายทางพันธุกรรมค่อนข้างมาก เทพทาโรพบ และปลูกมากในเขตภาคใต้ตอนล่างของไทยโดยเฉพาะจังหวัดตรัง กระบี่ พัทลุง และยังเป็นไม้ประจำจังหวัดพังงาอีกด้วย (อรุณพร, 2550) ส่วนชนิดอื่น ๆ เป็นการนำมาจากถิ่นอื่นเข้ามาปลูกในพื้นที่ เช่น อบเชยเทศ จัดเป็นพืชปลูกและพืชท้องถิ่นของประเทศศรีลังกา และทางตะวันออกเฉียงใต้ของประเทศอินเดีย (Barceloux, 2009) พืชชนิดนี้ยังเป็นพืชชนิดที่ให้น้ำมัน และเครื่องเทศมีความสำคัญจัดเป็นพืชทางการค้าของโลก (Abeysinghe *et al*., 2009) โดยพบว่าในประเทศไทยจะปลูกเพื่อใช้ทำยา และเป็นเครื่องเทศ

สำหรับความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของพืชสกุล *Cinnamomum* พบว่า เทพทาโร กับ ตะไคร้ต้น มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมากที่สุด มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเฉลี่ยเท่ากับ 0.843 ในขณะที่ เทพทาโร กับ เชียดใบใหญ่ มีความห่างไกลทางพันธุกรรมมากที่สุด (ค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเฉลี่ยเท่ากับ 0.522) ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา เนื่องจากเทพทาโร กับ ตะไคร้ต้น มีลักษณะภายนอกที่คล้ายคลึงกันมากเช่นกัน จากข้อมูลของเจ้าหน้าที่ของศูนย์วิจัยพืชสวนจังหวัดชุมพร พบว่า ความแตกต่างของตะไคร้ต้นและเทพทาโร คือ กลิ่น โดยใบของตะไคร้ต้นมีกลิ่นคล้ายตะไคร้ จึงเรียกพืชนี้ว่า ตะไคร้ต้น อย่างไรก็ตาม สมเกียรติ และคณะ (2552) รายงานว่า จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันเทพทาโรที่กลั่นจากใบและผล พบว่าสามารถแบ่งเทพทาโรออกได้เป็น 2 สายพันธุ์ย่อย (chemotypes) ตามองค์ประกอบเคมีของน้ำมันที่ได้ ได้แก่ กลุ่มที่ใบและผลให้น้ำมันที่มีซาฟรอลเป็นองค์ประกอบ

สำคัญมากกว่าร้อยละ 80 มีคุณสมบัติและกลิ่นคล้ายน้ำมันแซสวาฟรัส (รูทเบียร์) และกลุ่มที่ใบ และผลมีน้ำมันที่ให้กลิ่นคล้ายตะไคร้ ประกอบด้วยสารสำคัญ ได้แก่ ซิตรอล (citral) มิวยูรอลลอล (muurolol) และไลโมนีน (limonene)

เมื่อพิจารณาถึงต้นที่ไม่ทราบชนิดเปรียบเทียบกับทั้ง 8 ชนิดของพืชสกุล *Cinnamomum* พบว่า unknown 1 (ฝนแสนห่า) มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับเทพทาโร (*C. perrectum*) มากที่สุด มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเฉลี่ยเท่ากับ 0.638 ส่วน unknown 2 (บริแวง) มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับ unknown 1 (ฝนแสนห่า) มากที่สุด รองลงมา คือ อบเชยเทศ (*C. verum*) โดยมีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเฉลี่ยเท่ากับ 0.641 และ 0.621 ตามลำดับ (ตารางที่ 5) มีรายงานในพืชหลายชนิดที่พบว่า เมื่อแบ่งกลุ่มพืชโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาร่วมกับการใช้เทคนิคอาร์เอพีดี พบว่าให้ผลที่แตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะลักษณะสัณฐานที่ศึกษาเหล่านั้น ถูกควบคุมด้วยยีนหลายคู่ การใช้เทคนิคอาร์เอพีดีด้วยไพรเมอร์จำนวนจำกัดไม่เพียงพอในการศึกษา รวมทั้งมีอิทธิพลของสภาพแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้อง ดังมีรายงานจากการศึกษากลุ่มประชากรของตาลโตนด (รัฐพร, 2549) พืชสกุล *Terminalia* (Deshmukh *et al*., 2009) ถั่วเหลือง (Chowdhury *et al*., 2001) เป็นต้น ดังนั้นผลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่ใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Cinnamomum* การตรวจสอบความแตกต่างของพืชในระดับดีเอ็นเอ ย่อมมีความแม่นยำมากกว่าเมื่อเทียบกับการตรวจสอบโดยลักษณะสัณฐาน เนื่องจากปริมาณของดีเอ็นเอของสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งมีเท่ากันในทุก ๆ เซลล์ จึงสามารถศึกษาได้โดยไม่ขึ้นกับสภาพแวดล้อม ระยะของการเจริญเติบโตของอวัยวะต่าง ๆ ของพืช ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับการเลือกวิธีการในการศึกษาด้วย เทคนิคอาร์เอพีดียังมีข้อจำกัดอยู่ในการทดลองซ้ำ เนื่องจากเทคนิคนี้มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงสภาวะต่าง ๆ สูงจึงต้องควบคุมสภาวะต่าง ๆ ให้คงที่ (Cipriani *et al*., 1996) เช่น สภาพในการทำพีซีอาร์ คุณภาพของดีเอ็นเอ รวมไปถึงจำนวนไพรเมอร์ที่ใช้ด้วย นอกจากเทคนิคอาร์เอพีดีแล้วยังมีการวิเคราะห์ลำดับเบสจากดีเอ็นเอในคลอโรพลาสต์ (cpDNA) ได้แก่ trnL-F ร่วมกับลำดับเบสของ rDNA ITS ในการศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของพืชสกุล *Cinnamomum* บางชนิด รวมทั้งตรวจสอบการถ่ายทอดพันธุกรรม และการกระจายพันธุ์โดยเมล็ด เพื่อหาความแปรปรวนของพืชตัวอย่าง เช่น การศึกษาในอบเชยเทศ (*C. verum*) (Abeysinghe *et al*., 2009) *C. kanehirae* (Kuo *et al*., 2009) และ *C. osmophloeum* (Lee *et al*., 2010) เป็นต้น ซึ่งผลจากการศึกษาพบความแตกต่างของลำดับเบสจากดีเอ็นเอในคลอโรพลาสต์ที่สามารถใช้แยกพืชสกุล *Cinnamomum* ได้ แต่ไม่สามารถแยกได้ทั้งหมด

บทที่ 5

สรุป

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Cinnamomum* ในภาคใต้โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี

- การเก็บตัวอย่างพืชสกุล *Cinnamomum* ในเบื้องต้นอาศัยลักษณะสัณฐานของพืช เช่น ลำต้น ใบ ดอก และผล ลักษณะสัณฐานของใบอาจใช้จำแนกชนิดได้ดีกว่าลักษณะอื่น ๆ ซึ่งพบว่า ลักษณะสัณฐานวิทยาของใบมีความหลากหลายมากที่สุด โดยแยกออกเป็น 4 ลักษณะย่อย คือ รูปร่างใบ เส้นใบ ปลายใบ และขอบใบ ซึ่งพบว่ารูปร่างใบแบ่งเป็น 4 แบบ คือ รูปรี (elliptic) รูปไข่ (ovate) รูปไข่กลับ (obovate) และรูปขอบขนาน (oblong) เส้นใบแบ่งเป็น 2 แบบ คือ เส้นใบแบบขนาน (parallel venation) และเส้นใบร่างแห (reticulate venation) ปลายใบแบ่งเป็น 2 แบบ คือ ปลายแหลม (acute) และปลายเรียวแหลม (acuminate) และขอบใบแบ่งเป็น 2 แบบ คือ ขอบใบเรียบ (entire) และขอบใบเป็นคลื่น (undulate)

- การใช้เทคนิคอาร์เอพีดีศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Cinnamomum* ในภาคใต้ของประเทศไทย จำนวน 82 ต้น โดยใช้ไพรเมอร์ 10 ไพรเมอร์ จากการคัดเลือกไพรเมอร์เบื้องต้น 50 ไพรเมอร์ ให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 78 แถบ เฉลี่ย 7.80 แถบต่อไพรเมอร์ เป็นแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดแตกต่างกัน 75 แถบ (96.15%) โดยมีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.397 – 0.987 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.641 เมื่อพิจารณาความหลากหลายทางพันธุกรรมในพืชชนิดเดียวกัน พบว่า กลุ่มประชากรของเชียด (*C. iners*) มีความหลากหลายทางพันธุกรรมมากที่สุด มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.487 – 0.987

- ผลจากเดนโดรแกรมสามารถแบ่งกลุ่มพืชสกุล *Cinnamomum* ที่ศึกษาได้เป็น 5 กลุ่มแยกตามชนิดค่อนข้างชัดเจน ส่วนต้นที่ไม่ทราบชนิดอีก 9 ต้น คือ ฝนแสนห่า (unknown 1) ทั้ง 4 ตัวอย่าง จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันกับเทพทาโร (*C. porrectum*) ตะไคร้ต้น (*C. ilicioides*) และการบูร (*C. camphora*) ส่วน บริแวง (unknown 2) ทั้งหมด 5 ตัวอย่าง กระจายอยู่ในกลุ่มเดียวกันกับเชียด (*C. iners*) จำนวน 2 ตัวอย่าง ส่วนอีก 3 ตัวอย่างถูกจัดออกไปอยู่ในกลุ่มที่ V

เอกสารอ้างอิง

ก่องกานดา ชยามฤต. 2540. สมุนไพร ตอนที่ 6. กรุงเทพฯ : พฤกษศาสตร์ป่าไม้ สำนักวิชาการป่าไม้ กรมป่าไม้ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

กุลยา สุวรรณรัตน์. 2550. ความแปรปรวนทางพันธุกรรมของสะตอ (*Parkia speciosa* Hassk.) และความสัมพันธ์ของพืชสกุล *Parkia* โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี (Random Amplified Polymorphic DNA). สงขลา : วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่.

จุฑามาส นีติวัฒนพงษ์ มาลี ณ นคร และศรีสม สุวรรณวงศ์. 2552. ผลของไซโตไคนินต่อการเพิ่มปริมาณยอดของเทพทาโรในสภาพหลอดทดลอง. กรุงเทพฯ : ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ชวลิต นิยมธรรม. 2540. ไม้ต้นในพื้นที่พรุ จังหวัดนราธิวาส. กรุงเทพฯ : ศูนย์วิจัยและศึกษาธรรมชาติป่าพรุสิรินธร อำเภอสุไหงโก-ลก จังหวัดนราธิวาส.

เต็ม สมิตินันทน์. 2544. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ : ส่วนพฤกษศาสตร์ป่าไม้ สำนักวิชาการป่าไม้ กรมป่าไม้ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

บัณฑิตา คงพันธุ์. 2552. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชสกุลส้ม (*Citrus* spp.) ในภาคใต้โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี และไมโครแซทเทลไลท์. สงขลา : วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่.

รัฐพร พรหมแก้ว. 2549. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในกลุ่มประชากรตาลโตนด (*Borassus flabellifer* linn.) โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี (Random Amplified Polymorphic DNA) และ ISSR (Inter Simple Sequence Repeat). สงขลา : วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่.

วีณา เชิดบุญชาติ. 2545. อบเชย. ความรู้คู่ประทีป 2 : 21-23.

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2552. เครื่องหมายดีเอ็นเอ : จากพื้นฐานสู่การประยุกต์. กรุงเทพฯ : ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุรีรัตน์ ลัคนาวิเชียร. 2550. โครงการสำรวจเกี่ยวกับการผลิต การค้าและการใช้น้ำมันหอมระเหยที่มีซาฟรอล (safrole-rich oil) เป็นส่วนประกอบในแถบเอเชียตะวันออก และตะวันออกเฉียงใต้โดย United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC). ศูนย์เกษตรนานาชาติและวิเทศสัมพันธ์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สุวิมล กลศึก. 2544. การศึกษาจำนวนชุดโครโมโซมและความแตกต่างระหว่างลองกอง ลางสาด และดูกู *(Lansium domesticum* Correa.) โดยใช้เทคนิค RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). สงขลา : วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่.

เสริมสกุล พจนการุณ และดิเรก ตนพยอม. 2545. การรวบรวมและศึกษาพันธุ์มะกอกน้ำมัน : จำแนกพันธุ์มะกอกน้ำมันด้วยเทคนิค RAPD. การประชุมวิชาการครั้งที่ 40 สาขาพืช ศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ หน้า 46-53.

สมเกียรติ กลั่นกลิ่น ชูจิตร อนันตโชค ทรรศนีย์ พัฒนเสรี มโนชญ์ มาตรพลากร สมบูรณ์ บุญยืน คงศักดิ์ มีแก้ว และพรเทพ เหมือนพงษ์. 2552. เทพทาโร *C. porrectum* (Roxb.) Kosterm. กรุงเทพฯ : สำนักวิจัยและพัฒนาการป่าไม้ กรมป่าไม้ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สมคิด สิริพัฒนดิลก. 2546. ไม้อบเชยไทย (*Cinnamomum burmannii* Bl.) การอนุรักษ์ในเชิงเศรษฐกิจ. เข้าถึงได้จาก http://www.ku.ac.th/e-magazine/april46/agri/plant.html. (เข้าถึงเมื่อ 20 ธันวาคม 2552).

อรุณพร อิฐรัตน์. 2550. โครงการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเทพทาโรครบวงจร. รายงานโครงการวิจัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษาแห่งชาติ.

องค์การสวนพฤกษศาสตร์. 2542. ไม้ต้นในสวน Tree in the Garden. กรุงเทพฯ : องค์การสวนพฤกษศาสตร์.

Abeysinghe, P. D., Wijesinghe, K. G. G., Tachida, H. and Yoshida, T. 2009. Molecular characterization of Cinnamon (*Cinnamomum verum* Presl) accessions and evaluation of genetic relatedness of Cinnamon species in Sri Lanka based on *Trn*L intron region, intergenic spacers between *trn*T-*trn*L, *trn*L-*trn*F, *trn*H -*psb*A and nuclear ITS. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences 5 : 1079-1088.

Ahmad, I., Tabbasam, M., Malik, A. U., Malik, S. A., RaHman, M. and Zafar, Y. 2008. Assessment of genetic diversity among mango (*Mangifera indica* L.) genotypes using RAPD markers. Scientia Horticulturae 117 : 297-301.

Barceloux, D.G. 2009. Cinnamon (*Cinnamomum* Species). Medical Toxicology of Natural Substances 55 : 327-335.

Chang, S. T., Chen, P. F. and Chang, S. C. 2001. Antibacterial activity of leaf essential oils and their constituents from *Cinnamomum osmophloeum.* Ethnopharmacol 77 : 123-127.

Chowdhury, A. K., Srinives, P., Tongpamnak, P. and Saksoong, P. 2001. Genetic diversity based on morphology and RAPD analysis in vegetable soybean. Korean Journal Crop Science 46 : 112-120.

Cipriani, G., Bella, R. D. and Testolin, R. 1996. Screening RAPD primer for molecular taxonomy a cultivar fingerprint in the genus *Actinidia*. Euphytica 113 : 245-249.

Claros, M. G., Crespillo, P. M., Aguilar, L. and Canovas, F. M. 2000. DNA fingerprinting and classification of geographically related genotypes of olive – tree (*Olea europaer* L.). Euphytica 116 : 131-142.

Degani, C., Rowland, L. J., Saunders, J. A., Hokanson, S. C., Ogden, E. L., Goldhirsh, A. G. and Galletta, G. L. 2001. A comparison of genetic relationship measures in strawberry (*Fragari*a X *ananassa* Duch.) based on AFLPs, RAPDs and pedigree data. Euphytica 177 : 1-12.

Deshmukh, V. P., Thakare, P. V., Chaudhari, U. S., Gawande, A. P. and Undal, S. V. 2009. Assessment of genetic diversity among *Terminalia* species using RAPD markers. Global Journal of Biotechnology and Biochemistry 4 : 70-74.

Doyle, J. J. and Doyle, J. L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12 : 13-15.

Govinden Soulange, J., Ranghoo-Sanmukhiya, V. M., and Seeburrun, S. D. 2007. Tissue culture and RADP analysis of *Cinnamomum camphora* and *Cinnamomum verum*. Biotechnology 6 : 239-244.

Jaccard, P. 1908. Nouvellers recherches sur la distribution florale. Bulletin de la Societe Vaudoise des Sciences Naturelles 44 : 223-270.

Joy, P. and Maridass, M. 2008. Inter species relationship of *Cinnamomum* species using RAPD marker analysis. Ethnobotanical Leaflets 12 : 476-480.

Kaundun, S. S., Zhyvoloup, A. and Park, Y. G. 2000. Evaluation of genetic diversity among elite tea (*Camellia sinensis* var. *sinensis*) accessions using RAPD markers. Euphytica 155 : 7-16.

Koller, B., Lehmann, A., McDermott, J. M. and Gessler, C. 1993. Identification of apple cultivars using RAPD markers. Theoretical and Applied Genetics 85 : 901-904.

Kuo, D. C., Lin, C. C., Ho, K. C., Cheng, Y. P., Hwang, S. Y. and Lin, T. P. 2009. Two genetic divergence centers revealed by chloroplastic DNA variation in populations of *Cinnamomum kanehirae* Hay. Conservation Genetics 11 : 803-812.

Lee, S. C., Chiou, S. J., Yen, J. H., Lin, T. Y., Hsieh, K. T. and Yang. J. C. 2010. DNA barcoding *Cinnamomum osmophloeum* Kaneh. based on the partial non-coding ITS2 region of ribosomal genes. Journal of Food and Drug Analysis 18 : 128-135.

Liao, S. G., Yuan, T., Zhang, C., Yang, S. P., Wu, Y. and Yue, J. M. 2009. Cinnacassides A-E, five geranylphenylacetate glycosides from *Cinnamomum cassia*. Tetrahedron 65 : 883-887.

Lin, T. P., Cheng, Y. P. and Huang, S. G. 1997. Allozyme variation in four geographic areas of *Cinnamomum kanehlrae*. Heredity 88 : 433-438.

Linda, C. D. 2004. *Cinnamomum camphora*. [Online] Available: http://www.floridata.com/ref/c/cinn_cam.cfm. (Accessed on 20 November 2009).

Maridass, M. 2008. Intra-Specific Genetic Relationship Analyses of *Cinnamomum trivancoricum* based on GC-MS volatile oil markers. Ethnobotanical Leaflets 12 : 542-552.

Nguyen, T. N., Moghaieb, R. E. A., Saneoka, H. and Fujita, K. 2004. RAPD markers associated with salt tolerance in *Acacia auriculiformis* and *Acacia mangium.* Plant Science 167 : 797-805.

Ravindran, P. N, Nirmal-Babu, K and Shylaja, M. 2004. Cinnamon and Cassia : the genus *Cinnamomum.* London : CRC Press.

Rohlf, F.J. 2002. NTSYS-pc. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Version-2.1. New York: Applied Biostatistics.

The International Plant Names Index (IPNI). 2009. The International Plant Names Index Plant Name Query. [Online] Available: http://www.ipni.org/ipni/plantnamesearchpage.do. (Accessed on 6 November 2009).

ภาคผนวก

ภาคผนวก

สารเคมีที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอจากพืช

1) CTAB บัฟเฟอร์ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

PVP-40	1.0	กรัม
$NaCl_2$	8.12	กรัม
0.5 M Na_2EDTA (pH 8.0)	4.0	มิลลิลิตร
1.0 M Tris-HCl (pH 8.0)	10.0	มิลลิลิตร

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร จากนั้นจึงเติม CTAB ปริมาณ 2 กรัม หลังจากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนกว่าสารละลายได้หมด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ เติมสาร η-mercaptoethanol เข้มข้น 2% ก่อนนำไปใช้

2) TE บัฟเฟอร์ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

1.0 M Tris-HCl (pH 7.5)	500	ไมโครลิตร
0.25 M Na_2EDTA (pH 7.0)	200	ไมโครลิตร

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 มิลลิลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

สารเคมีที่ใช้ในการทำ Agarose gel electrophoresis

1) TAE บัฟเฟอร์เข้มข้น 5 เท่า

Tris Base	121.1	กรัม
Acetic acid	28.5	มิลลิลิตร
0.5 M Na_2EDTA (pH 8.0)	50.0	มิลลิลิตร

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 มิลลิลิตร เจือจางความเข้มข้นเป็น 1 เท่า แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ ก่อนนำไปใช้

2) TBE บัฟเฟอร์เข้มข้น 5 เท่า

Tris Base	216.0	กรัม
Boric acid	110.0	กรัม
0.5 M Na_2EDTA (pH 8.0)	80.0	มิลลิลิตร

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 4 ลิตร เจือจางความเข้มข้นเป็น 1 เท่า และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อก่อนนำไปใช้

3) DNA sample buffer

Bromophenol blue	125.0	มิลลิกรัม
Xylene cyanol FF	125.0	มิลลิกรัม
Glycerol	15.0	มิลลิลิตร

ปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อก่อนนำไปใช้

4) Ethidium bromide 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตรต่อ Ethidium bromide 1 กรัม

ตารางภาคผนวกที่ 1 ไพรเมอร์ที่ใช้ในการทดสอบ ลำดับเบสของไพรเมอร์ และผลที่ได้จากการทดสอบ RAPD - PCR กับดีเอ็นเอของพืชสกุล *Cinnamomum*

ไพรเมอร์	ลำดับเบส (5'⟶ 3')	รูปแบบ
0PA-01	CAGGCCCTTC	polymorphism
OPA-07	GAAACGGGTG	polymorphism
OPA-10	GTGATCGCAG	polymorphism
OPA-12	TCGGCGATAG	polymorphism
OPA-15	TTCCGAACCC	polymorphism
OPA-16	AGCCAGCGAA	polymorphism
OPA-17	GACCGCTTGT	not clear
OPB-01	GTTTCGCTCC	non-amplified
OPB-02	TGATCCCTGG	polymorphism
OPB-04	GGACTGGAGT	non-amplified
OPB-15	GGAGGGTGTT	polymorphism
OPB-18	CCACAGCAGT	polymorphism
OPB-19	ACCCCCGAAG	polymorphism
OPB-20	GGACCCTTAC	polymorphism
OPC-01	TTCGAGCCAG	polymorphism
OPC-02	GTGAGGCGTC	polymorphism
OPC-08	TGGACCGGTG	polymorphism

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ)

ไพรเมอร์	ลำดับเบส (5'⟶ 3')	รูปแบบ
OPC-10	TGTCTGGGTG	polymorphism
OPC-13	AAGCTTCGTC	polymorphism
OPC-15	GACGGATGAG	polymorphism
OPC-16	CACACTCCAG	polymorphism
OPD-03	GTCGCCGTCA	polymorphism
OPD-09	CTCTGGAGAT	polymorphism
OPD-10	GGTCTACACC	polymorphism
OPE-14	TGCGGCTGAG	polymorphism
OPN-12	CACAGACACC	polymorphism
OPN-16	AAGCGACCTG	polymorphism
OPO-08	CCTCCAGTTC	polymorphism
OPQ-14	GGACGCTTCA	polymorphism
OPR-07	ACTGGCCTGA	polymorphism
OPR-09	TGAGCACGAG	non-amplified
OPR-10	CCATTCCCCA	polymorphism
OPT-10	CCTTCGGAAG	non-amplified
OPT-13	AGGACTGCCA	polymorphism
OPX-11	GGAGCCTCAG	non-amplified

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ)

ไพรเมอร์	ลำดับเบส (5'⟶ 3')	รูปแบบ
OPZ-01	TCTGTGCCAC	polymorphism
OPZ-02	CCTACGGGGA	non-amplified
OPZ-15	CAGGGCTTTC	polymorphism
OPAA-03	TTAGCGCCCC	polymorphism
OPAA-13	GAGCGTCGCT	non-amplified
OPAA-17	GAGCCCGACT	non-amplified
OPAB-05	CCCGAAGCGA	polymorphism
OPAB-17	TCGCATCCAG	non-amplified
OPAD-04	GTAGGCCTCA	polymorphism
OPAD-12	AAGAGGGCGT	polymorphism
OPAD-15	TTTGCCCCGT	non-amplified
OPAI-21	CACGCGAACC	polymorphism
OPAL-20	AGGAGTCGGA	polymorphism
No.8	ATCCGCGTTC	polymorphism
No.11	ACGGCATATG	polymorphism

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวจิตรา จันโสด

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5110620066

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) เกียรตินิยมอันดับสอง	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2550

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

ทุนสนับสนุนจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

จิตรา จันโสด. 2553. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Cinnamomum* ในภาคใต้โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี. ว. วิทยาศาสตร์เกษตร (ฉบับพิเศษ). (อยู่ระหว่างการตีพิมพ์)