การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Mangifera* พื้นเมืองในภาคใต้ของประเทศไทยโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี

Assessment of Genetic Relationships among Indigenous *Mangifera* spp. in Southern Thailand Using RAPD Technique

ศรินทร แก่นแก้ว

Sarintorn Kankaew

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 การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Mangifera* พื้นเมืองในภาคใต้ของประเทศไทยโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี

ผู้เขียน นางสาวศรินทร แก่นแก้ว

สาขาวิชา พืชศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	**คณะกรรมการสอบ**
.....	.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.จรัสศรี นวลศรี)	(รองศาสตราจารย์ ดร.สายัณห์ สดุดี)
	.....กรรมการ
	(รองศาสตราจารย์ ดร.จรัสศรี นวลศรี)
	.....กรรมการ
	(รองศาสตราจารย์มงคล แซ่หลิม)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์

.....

(ศาสตราจารย์ ดร.อมรรัตน์ พงศ์ดารา)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์ การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Mangifera* พื้นเมืองในภาคใต้ของประเทศไทยโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี

ผู้เขียน นางสาวศรินทร แก่นแก้ว

สาขาวิชา พืชศาสตร์

ปีการศึกษา 2553

บทคัดย่อ

การศึกษาความหลากหลาย และสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Mangifera* พื้นเมืองในภาคใต้ของประเทศไทย ทำการเก็บตัวอย่างพืช จำนวน 55 ตัวอย่าง 9 ชนิด จากจังหวัดยะลา นราธิวาส สตูล สงขลา พัทลุง ตรัง กระบี่ นครศรีธรรมราช สุราษฎร์ธานี และชุมพร จำนวน 9 ชนิด ได้แก่ มะม่วง (*M. indica* L.) มะม่วงกะล่อน (*Mangifera caloneura* Kurz) แปบ (*M. flave* Evrard) มะมุด (*M. foetida* Lour.) มะม่วงปาน (*M. gedebe* Miq.) กินนิง (*M. odorata* Griff.) มะม่วงป่าหรือปาโฮห์ตารา (*M. pentandra* Hook.f.) มะม่วงคัน (*M. quadrifida* Jack) มะม่วงช้างเหยียบหรือมะม่วงกล้วย (*M. sylvatica* Roxb.) จำนวน 55 ตัวอย่าง และไม่ทราบชนิดอีก 15 ตัวอย่าง โดยศึกษาเบื้องต้นด้วยการบันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยาของใบ และผล จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของใบพบความหลากหลายใน 4 ลักษณะ ได้แก่ ลักษณะรูปร่างแผ่นใบ ปลายใบ โคนใบ และขอบใบ ลักษณะผลสามารถใช้แยกความแตกต่างระหว่างชนิดในเบื้องต้น อย่างไรก็ตามในชนิดเดียวกันยังพบความหลากหลายของลักษณะผลค่อนข้างมาก เช่น กลุ่มตัวอย่าง *M. indica* L. หลังจากนั้นจึงทำการประเมินความหลากหลาย และสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกลุ่มพืชด้วยเครื่องหมายอาร์เอพีดี จากการวิเคราะห์เบื้องต้นด้วยไพรเมอร์ จำนวน 53 ไพรเมอร์ มีจำนวน 12 ไพรเมอร์ ได้แก่ OPA-01, OPA-02, OPA-08, OPB-06, OPB-18, OPB-20, OPE-14, OPP-08, OPQ-14, OPAL-20, OPAN-12 และ BC210 ที่ให้แถบดีเอ็นเอแตกต่างกัน และที่มีความคมชัด จึงเลือกไพรเมอร์ดังกล่าวมาทดสอบกับพืชสกุล *Mangifera* ทั้ง 70 ตัวอย่าง พบว่าให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 168 แถบ เป็นแถบที่ให้ความแตกต่างจำนวน 160 แถบ (95.24%) เฉลี่ย 13.33 แถบต่อไพรเมอร์ และจากการวิเคราะห์ความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Mangifera* พบว่ามีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.423-0.970 และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.623 โดยชนิดที่มีความใกล้ชิดกันมากที่สุด คือ *M. pentandra* Hook.f. และ *M. quadrifida* Jack โดยมีค่าดัชนีความใกล้ชิดเฉลี่ย 0.657 จากเดนโดรแกรมสามารถแบ่งกลุ่มพืชสกุล *Mangifera* ทั้ง 70 ตัวอย่าง ออกได้เป็น 5 กลุ่ม สำหรับ

ตัวอย่างที่ไม่ทราบชนิด 9 ตัวอย่าง จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับมะมุด (*M. foetida* Lour.) และอีก 6 ตัวอย่าง จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับมะม่วง (*M. indica* L.)

Thesis Title	Assessment of Genetic Relationships among Indigenous *Mangifera* spp. in Southern Thailand Using RAPD Technique
Author	Miss Sarintorn Kankaew
Major Program	Plant Science
Academic Year	2010

Abstract

Genetic diversity and relationships among indigenous *Mangifera* in southern Thailand were studied. Total of 55 samples belonging to 9 species (*Mangifera caloneura* Kurz, *M. flave* Evrard, *M. foetida* Lour., *M. gedebe* Miq., *M. odorata* Griff., *M. pentandra* Hook.f., *M. quadrifida* Jack, *M. sylvatica* Roxb. and *M. indica* L.) and 15 unknown species were collected from Yala, Narathiwat, Satun, Trang, Krabi, Songkhla, Phatthalung, Nakhon Si Thammarat, Surat Thani and Chumphon provinces. Leaf and fruit morphology were initially recorded. Based on leaf morphology, differences in four characteristics including leaf shape, leaf apices, leaf bases and leaf margins were recorded. Morphology of fruit shape could be initially used to classify in some *Mangifera* species. However, variation of fruit characteristics was found within species particular *M. indica* L. RAPD was further used for genetic evaluation. From 53 primers screened, 12 primers (OPA-01, OPA-02, OPA-08, OPB-06, OPB-18, OPB-20, OPE-14, OPP-08, OPQ-14, OPAL-20, OPAN-12 and BC210) which generated clear polymorphic bands were chosen for genetic analysis among 70 samples of *Mangifera* spp. Of the total 168 amplification products, 160 (95.24%) were polymorphic. The average number of amplified fragments was 13.33 per primer. Similarity coefficient among samples ranged from 0.423 to 0.970 with average 0.623. Between species, the highest similarity coefficient was found between *M. pentandra* Hook.f. and *M. quadrifida* Jack with average similarity coefficient 0.657. A dendrogram showing genetic similarities among *Mangifera* spp. was constructed based, 70 samples could be separated into 5 groups. For unknowns, that nine samples were grouped to *M. foetida* Lour. and the other six samples were in the same cluster of *M. indica* L.

กิตติกรรมประกาศ

กราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.จรัสศรี นวลศรี ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์เป็นอย่างสูง ที่กรุณาให้คำแนะนำในการค้นคว้าวิจัย การแก้ไขปัญหา ตรวจทานและแก้ไขวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์ ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.สายัณห์ สดุดี ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และรองศาสตราจารย์มงคล แซ่หลิม กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำ และตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณทบวงมหาวิทยาลัย บัณฑิตวิทยาลัย และภาควิชาพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์สนับสนุนเงินทุนส่วนหนึ่งในการทำวิทยานิพนธ์ และอนุเคราะห์ห้องปฏิบัติการ ตลอดจนวัสดุอุปกรณ์ต่างๆ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการ การศึกษาพันธุกรรมของผักพื้นบ้านและไม้ผลพื้นเมืองในภาคใต้ โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ ภายใต้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี และได้รับการสนับสนุนส่วนหนึ่งจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการ การอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ

ขอขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่จากสวนพฤกษศาสตร์ภาคใต้ และสวนพฤกษศาสตร์สากลภาคใต้ (ทุ่งค่าย) จังหวัดตรัง ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร จังหวัดชุมพร สวนรุกขชาติเขาพุทธทอง จังหวัด สุราษฎร์ธานี ศูนย์ส่งเสริม และผลิตพันธุ์พืชสวนกระบี่ จังหวัดกระบี่ สวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้ จังหวัดสงขลา ที่เอื้อเฟื้อ และให้ความอนุเคราะห์การเข้าเก็บตัวอย่างพืชในการศึกษาครั้งนี้

ขอขอบคุณ พี่ เพื่อน และน้องทุกคน ที่ให้การช่วยเหลือในด้านต่างๆ จนทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้เสร็จสมบูรณ์

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ พ่อ แม่ และน้องสาว ที่เป็นกำลังใจ และสนับสนุนในทุกๆ ด้านจนประสบความสำเร็จในการศึกษา

ศรินทร แก่นแก้ว

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(7)
รายการตาราง	(8)
รายการรูป	(9)
บทที่	
1 บทนำ	
บทนำต้นเรื่อง	1
ตรวจเอกสาร	2
วัตถุประสงค์	10
2 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการวิจัย	11
วัสดุ และอุปกรณ์	11
วิธีการ	15
3 ผล	22
4 วิจารณ์	44
5 สรุป	50
เอกสารอ้างอิง	51
ภาคผนวก	57
ประวัติผู้เขียน	66

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ชนิด จำนวนตัวอย่าง และสถานที่เก็บตัวอย่างพืชสกุล *Mangifera* ที่เก็บจากพื้นที่ในภาคใต้เพื่อใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี	17
2	ชนิดของไพรเมอร์ ลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกัน และจำนวนดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน จากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดีในพืชสกุล *Mangifera*	32
3	เปอร์เซ็นต์แถบดีเอ็นเอที่ปรากฏในประชากรพืชสกุล *Mangifera* จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี	39
4	ค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเฉลี่ยของพืชสกุล *Mangifera* แต่ละชนิด	41

รายการรูป

รูปที่		หน้า
1	ตัวอย่างลักษณะสัณฐานวิทยาของดอกพืชสกุล *Mangifera*	5
2	แผนที่แสดงตำแหน่งแหล่งเก็บรวบรวมตัวอย่างพืชสกุล *Mamgifera* พื้นเมือง ในภาคใต้ของประเทศไทย	12
3	ลักษณะรูปร่างแผ่นใบของพืชสกุล *Mangifera* (ก) รูปร่างแผ่นใบรูปแถบ (Linear) (ข) รูปร่างแผ่นใบรูปขอบขนาน (Oblong) (ค) รูปร่างแผ่นใบรูปรี (Elliptic) (ง) รูปร่างแผ่นใบรูปป้อมโคนใบ (Lanceolate) (จ) รูปร่างแผ่นใบรูปป้อมปลายใบ (Oblanceolate)	23
4	แผนภูมิแท่งแสดงความหลากหลายของลักษณะรูปร่างแผ่นใบของพืชสกุล *Mangifera* แต่ละชนิด	23
5	ลักษณะรูปร่างปลายใบ (ก) แหลม (Acute) (ข) เรียวแหลม (Acuminate) (ค) เว้าตื้น (Retuse)	24
6	แผนภูมิแท่งแสดงความหลากหลายของลักษณะปลายใบของพืชสกุล *Mangifera* แต่ละชนิด	25
7	ลักษณะรูปร่างโคนใบ (ก) สอบเรียว (Acuminate) (ข) แหลม (Acute) (ค) มน (Obtuse)	26
8	แผนภูมิแท่งแสดงความหลากหลายของลักษณะโคนใบของพืชสกุล *Mangifera* แต่ละชนิด	26
9	ลักษณะขอบใบ (ก) ขอบเรียบ (Entire) (ข) ขอบหยักเป็นคลื่น (Undulate)	27
10	แผนภูมิแท่งแสดงความหลากหลายของลักษณะขอบใบของพืชสกุล *Mangifera* แต่ละชนิด	28
11	ตัวอย่างลักษณะผลพืชสกุล *Mangifera* ชนิดต่างๆ	29
12	ตัวอย่างลักษณะผลประชากรพืชสกุล *Mangifera* ที่ไม่ทราบชนิด	30
13	รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างพืชสกุล *Mangifera* จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPA-01 (ก) และ OPA-02 (ข)	33
14	รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างพืชสกุล *Mangifera* จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPA-08 (ก) OPB-06 (ข) และ OPB-18 (ค)	34
15	รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างพืชสกุล *Mangifera* จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPB-20 (ก) OPE-14 (ข) และ OPP-08 (ค)	35

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
16	รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างพืชสกุล *Mangifera* จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPQ-14 (ก) OPAL-20 (ข) และ OPAN-12 (ค)	36
17	รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างพืชสกุล *Mangifera* จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ BC210	37
18	เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ของพืชสกุล *Mangifera* จำนวน 70 ตัวอย่าง จากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดีด้วยไพรเมอร์จำนวน 12 ไพรเมอร์	42
19	แผนภูมิแท่งแสดงการกระจายตัวของประชากรในกลุ่มต่างๆ จากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดี	43

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ปัจจุบันพืชพันธุ์พื้นเมืองของภาคใต้กำลังประสบกับภาวะเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ อันเนื่องมาจากสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนไป และจากการกระทำของมนุษย์ เช่น การบุกรุกทำลายป่า การขยายแหล่งที่อยู่อาศัย ทำให้พืชหลายชนิดลดจำนวนลงอย่างรวดเร็ว พืชสกุล *Mangifera* หรือพืชสกุลมะม่วง เป็นอีกสกุลหนึ่งที่ประสบปัญหาดังกล่าว มะม่วงเป็นพืชท้องถิ่นที่มีการปลูกทั่วไปตามจังหวัดต่าง ๆ ทั่วทุกภาคของประเทศไทย รวมทั้งภาคใต้ โดยพบพืชสกุล *Mangifera* หลายชนิดที่มีความแตกต่างจากภาคอื่นๆ เช่น มะมุด มะม่วงเบา กินนิง เป็นต้น และเนื่องจากพันธุ์พื้นเมืองเหล่านี้สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี ทนต่อการเข้าทำลายของโรค และแมลง เกษตรกรส่วนหนึ่งจึงนิยมนำพันธุ์เหล่านั้นมาเป็นต้นตอสำหรับมะม่วงพันธุ์ดี เช่น น้ำดอกไม้ เขียวเสวย และโชคอนันต์ เป็นต้น ซึ่งเป็นมะม่วงที่ปลูกในเชิงการค้า นอกจากนี้ลักษณะสำคัญดังกล่าว ยังสามารถนำมาใช้เพื่อการปรับปรุงพันธุ์หรือเพื่อประโยชน์อย่างอื่นในอนาคตได้ มะม่วงบางชนิด เช่น มะม่วงปาน มะม่วงคัน รสชาติไม่เป็นที่นิยมของผู้บริโภคอีกทั้งไม่มีมูลค่าทางด้านเศรษฐกิจจึงทำให้เกษตรกรหันไปปลูกพืชชนิดอื่นที่ให้ผลตอบแทนสูง เช่น ยางพารา ปาล์มน้ำมัน เป็นต้น ทำให้มะม่วงพื้นเมืองหลายชนิดค่อยๆ สูญหายไปจากพื้นที่

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชท้องถิ่นมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง เพื่อป้องกันการสูญหายของพันธุกรรมพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติจึงสนับสนุนให้มีการดำเนินงานวิจัยเก็บรวบรวม และการอนุรักษ์พันธุ์พืชท้องถิ่นของภาคใต้ ภายใต้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี และมะม่วงก็เป็นพืชอีกสกุลหนึ่งที่อยู่ในโครงการดังกล่าว นอกจากการเก็บ และอนุรักษ์แล้ว การศึกษาพันธุกรรมพืชที่เก็บรวบรวมนับเป็นสิ่งสำคัญ การศึกษาพันธุกรรมพืช และการจำแนกกลุ่มพืช สามารถทำได้หลายวิธี เช่น การศึกษาโดยอาศัยความแตกต่างของสัณฐานวิทยา เช่น ลักษณะใบ สีดอก สี และรูปร่างของผล เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาดังกล่าวยังมีข้อจำกัดหลายประการ โดยเฉพาะหากพืชเหล่านั้นมีลักษณะใกล้เคียงกันมาก ดังนั้นการนำเทคนิคทางด้านชีวโมเลกุลมาใช้จึงเป็นอีกวิธีที่มีประสิทธิภาพ การศึกษาลักษณะทางสัณฐานร่วมกับการใช้เทคนิคอาร์เอพีดีจะทำให้การประเมินลักษณะทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Mangifera* พื้นเมืองภาคใต้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

ตรวจเอกสาร

1. ถิ่นกำเนิด และระบบการจำแนกพืชสกุล *Mangifera*

พืชสกุล *Mangifera* อยู่ในวงศ์ Anacardiaceae สามารถจำแนกพืชในสกุลนี้ได้จำนวน 58 ชนิดโดยใช้ลักษณะของดอก พบว่าในสกุล *Mangifera* สามารถแบ่งออกเป็น 2 สกุลย่อย คือ *Mangifera* 47 ชนิด และ *Limus* อีก 11 ชนิด (Kostermans and Bompard, 1993 อ้างโดย Eiadthong *et al.,* 1999a)

สำหรับประเทศไทย เต็ม (2544) รายงานว่า พบพืชสกุล *Mangifera* จำนวน 18 ชนิด ได้แก่ มะม่วงลำไย (*Mangifera caesia* Jack) มะม่วงกะล่อน (*M. caloneura* Kurz) มะม่วงบาป (*M. camptosperma* Pierre) มะม่วงกิเลน (*M. cochichinensis* Engl.) มะม่วงขี้ยา (*M. duperreana* Pierre.) แปบ (*M. flave* Evrard) มะมุด (*M. foetida* Lour.) มะม่วงปาน (*M. gedebe* Miq.) มะม่วงชัน (*M. gracilipes* Hook.f.) มะม่วงละว้า (*M. griffithii* Hook.f.) มะม่วงป้อม (*M. lagenifera* Griff.) มะม่วงกะเลง (*M. longipes* Griff.) กินนิง (*M. odorata* Griff.) มะม่วงป่าหรือปาโฮห์ตารา (*M. pentandra* Hook.f.) มะม่วงคัน (*M. quadrifida* Jack) มะม่วงป่าหรือปาฮูแต (*M. longipetiolata* King.) มะม่วงกล้วยหรือมะม่วงช้างเหยียบ (*M. sylvatica* Roxb.) และมะม่วง (*M. indica* L.) อย่างไรก็ตาม Eiadthong และคณะ (2000a) รายงานว่าพบพืชสกุล *Mangifera* จำนวน 20 ชนิด ในประเทศไทย โดยชนิดที่เพิ่มขึ้นมาได้แก่ *M. laurina* Blumb, *M. collina* Kosterm., *M. linearifolia* (Mukh.) Kosterm., *M. macrocarpa* Blume และ *M. oblongifolia* Hook.f. และมีจำนวน 3 ชนิด ที่ไม่มีในรายงานดังกล่าว คือ มะม่วงบาป มะม่วงขี้ยา และมะม่วงกะเลง

พืชสกุล *Mangifera* ที่มีความสำคัญที่สุดคือ มะม่วง (*M. indica* L.) เพราะเป็นชนิดที่มีการเพาะปลูกเป็นการค้า จัดเป็นพืชที่มีสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของโลก มะม่วงมีถิ่นกำเนิดในประเทศอินเดีย และมีการแพร่กระจายไปยังประเทศต่าง ๆ ในเขตร้อน และกึ่งร้อนร้อนทั่วโลก เช่น โปรตุเกส แอฟริกา บราซิล เม็กซิโก ฟิลิปปินส์ และรัฐฟลอริดาในสหรัฐอเมริกา (Lopez-Valenzuela *et al.,* 1997) นอกจากมะม่วงแล้วยังมีพืชสกุล *Mangifera* อีกหลายชนิดที่ผลสามารถนำมาบริโภคได้ และค่อนข้างมีความสำคัญ เช่น *M. altissima* Blanco, *M. caesia* Jack, *M. kemanga* Blumb, *M. pajang* Kosterm., *M. foetida* Lour., *M. laurina* Blumb, *M. odorata* Griff. และ *M. sylvatica* Roxb. เป็นต้น สำหรับประเทศไทยพบว่ามีพันธุ์มะม่วงมากกว่า 170 พันธุ์ (วิจิตร, 2529) แต่พันธุ์ที่นิยมปลูกเป็นการค้าในปัจจุบันได้แก่ น้ำดอกไม้ หนังกลางวัน พิมเสนแดง และมหาชนก เป็นต้น (กรกัญญา และวรรณภา, 2551) นอกจากนี้แล้วยังมีบางชนิดที่สามารถบริโภคได้

เช่น มะมุด มะม่วงกินนิง เป็นต้น นอกจากใช้บริโภคผลแล้ว ยางของพืชสกุล *Mangifera* บางชนิดยังนำมาใช้เป็นน้ำยาขัดเงา หรือน้ำยาเคลือบภาชนะ (ไชมอน และคณะ, 2543) สำหรับมะม่วงกะล่อนส่วนใหญ่จะนำมาใช้เป็นต้นตอของมะม่วงที่ปลูกในเชิงการค้าตามภูมิภาคต่างๆ ของประเทศไทย (Eiadthong *et al*., 1999a)

พืชสกุล *Mangifera* แต่ละชนิดอาจมีการกระจายตัว และแหล่งกำเนิดเฉพาะถิ่น เช่น *M. khasiana* Pierre พบในประเทศเนปาล ภูฏาน และทางตะวันตกเฉียงใต้ของประเทศจีน (Brandis, 1978) *M. caloneura* Kurz พบในบริเวณภาคเหนือ ภาคตะวันตกและตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศพม่า ไทย และลาว *M. cochichinensis* Engl., *M. linearifolia* (Mukh.) Kosterm. และ *M. oblongifolia* Hook.f. พบในบริเวณป่าดงดิบในเขตร้อนชื้น ในขณะที่ *M. macrocarpa* Blume, *M. gedebe* Miq., *M. lagenifera* Griff., *M. flave* Evrard และ *M. gracilipes* Hook.f. พบมากในบริเวณป่าพรุ พืชสกุล *Mangifera* หลายชนิดเป็นพันธุ์ที่หายาก และมีการกระจายตัวเฉพาะบางพื้นที่เท่านั้น เช่น *M. collina* Griff. พบเฉพาะบริเวณภูเขาที่อยู่สูง 800-1200 เมตรจากระดับน้ำทะเล และทนทานต่อสภาพอุณหภูมิต่ำ สำหรับในภาคใต้ของประเทศไทยมีรายงานว่า พืชสกุล *Mangifera* 7 ชนิด ได้แก่ *M. sylvatica* Roxb., *M. foetida* Lour., *M. macrocarpa* Blumb, *M. laurina* Blumb, *M. gedebe* Miq., *M. caesia* Jack และ *M. griffithii* Hook.f. พบในบริเวณที่มีปริมาณน้ำฝนมาก และมีฤดูแล้งสั้น (Eiadthong *et al*., 2000a)

2. ลักษณะพฤกษศาสตร์ของพืชสกุล *Mangifera*

ลำต้น

ส่วนใหญ่ลำต้นตรงผิวเรียบ บางชนิดมีร่องตามความยาวของลำต้น ความหนาของเปลือกแตกต่างกันโดยบริเวณมรสุมเขตร้อนเปลือกจะหนากว่าบริเวณเขตร้อน

ใบ

ลักษณะใบเป็นใบเดี่ยว ขอบใบมีทั้งเรียบ และเป็นคลื่น ไม่มีหูใบ รูปร่างใบแต่ละชนิดจะไม่มีการเปลี่ยนแปลง ยกเว้น *M. macrocarpa* Blumb โดยในขณะที่ยังเป็นต้นกล้าใบจะมีลักษณะเป็นแบบรูปหอก และเมื่อโตเต็มที่จะเปลี่ยนเป็นขอบขนาน อย่างไรก็ตาม พบว่าใบของพืชสกุล *Mangifera* ในระยะที่โตเต็มที่จะมีขนาดเล็กกว่าในระยะต้นกล้า

ดอก

การออกดอกจะออกเป็นช่อบริเวณปลายยอด ยาวประมาณ 65 เซนติเมตร สีของดอกขึ้นอยู่กับชนิด ดอกจะเริ่มบานจากฐานไปสู่ปลายช่อดอก จัดเป็นดอกสมบูรณ์เพศ แต่ละดอก

จะมีเกสรตัวเมียเพียง 1 อัน เกสรตัวผู้ไม่แน่นอนขึ้นอยู่กับชนิด เช่นเดียวกับดอกตัวผู้จะมีเกสรตัวผู้ไม่เท่ากัน เช่น *M. indica* L. ดอกตัวผู้จะมีเกสรตัวผู้เพียง 1 อัน (รูปที่ 1A) หรือ *M. caloneura* Kurz มีเกสรตัวผู้จำนวน 5 อัน (รูปที่ 1B) โดยทั่วไปแล้วดอกสมบูรณ์เพศจะมีขนาดโตกว่าดอกตัวผู้ Kostermans และ Bompard (1993); Hou (1978); Kochummen (1996) อ้างโดย (Eiadthong *et al*., 2000a) ได้แบ่งลักษณะของดอกพืชสกุล *Mangifera* ออกเป็น 5 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 มีกลีบเลี้ยง 5 กลีบ และเกสรตัวผู้ 1 อัน ประกอบด้วย 10 ชนิด ได้แก่ *M.caesia* Jack, *M. collina* Kosterm., *M. flave* Evrard, *M. foetida* Lour., *M. indica* L., *M. laurina* Blumb, *M. macrocarpa* Blumb, *M. oblongifolia* Hook.f., *M. odorata* Griff. และ *M. sylvatica* Roxb.

กลุ่มที่ 2 มีกลีบเลี้ยง 5 กลีบ และเกสรตัวผู้ 5 อัน ประกอบด้วย 3 ชนิด ได้แก่ *M. cochichinensis* Engl., M. *lagenifera* Griff. และ *M. pentandra* Hook.f.

กลุ่มที่ 3 มีกลีบเลี้ยง 4-5 กลีบ และเกสรตัวผู้ 1 อัน มี 2 ชนิด ได้แก่ *M. gracilipes* Hook.f. และ *M. linearifolia* (Mukh.) Kosterm.

กลุ่มที่ 4 มีกลีบดอก 4-5 กลีบ และเกสรตัวผู้ 5-6 อัน มี 1 ชนิด ได้แก่ *M. caloneura* Kurz

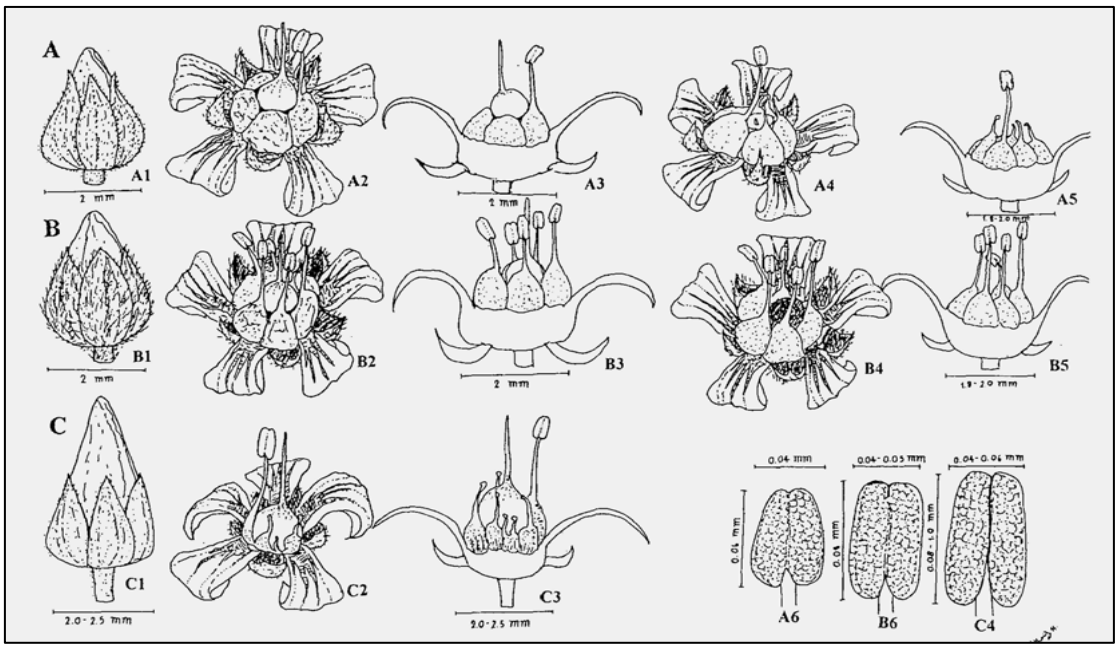
กลุ่มที่ 5 มีกลีบดอก 4 กลีบ และเกสรตัวผู้ 1 อัน มี 4 ชนิด ได้แก่ *M. gedebe* Miq., *M. griffithii* Hook.f., *M. longipetiolata* King และ *M. quadrifida* Jack

<u>เมล็ด</u>

เมล็ดของพืชสกุล *Mangifera* เป็นเมล็ดเดี่ยว ขนาดค่อนข้างใหญ่ และแบน รูปไข่เปลือกหุ้มเมล็ดบาง เมื่อสุกแก่จะมีเส้นใย (Iyer and Degani, 2009) โดยสามารถแบ่งลักษณะการเกิดเอ็มบริโอของพืชสกุล *Mangifera* ออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม polyembryony เมื่อนำเมล็ดของมะม่วงกลุ่มนี้มาเพาะจะได้ต้นกล้ามากกว่าหนึ่งต้นต่อเมล็ด ต้นกล้าที่ได้ส่วนมากจะตรงตามพันธุ์เดิม ตัวอย่างของกลุ่มนี้ เช่น *M. indica* L., *M. laurina* Blumb (Kostermans and Bompard, 1993) *M. odorata* Griff., *M. griffithii* Hook.f. (Ng, 1991) และ *M. caloneura* Kurz เป็นต้น สำหรับกลุ่มที่สอง คือ monoembryony ในกลุ่มนี้เมื่อนำเมล็ดมาเพาะจะให้ต้นกล้าเพียงหนึ่งต้นต่อเมล็ด เป็นต้นกล้าที่เกิดจากการผสมกันระหว่างไข่ และละอองเกสร มีโอกาสกลายพันธุ์สูง ตัวอย่างที่พบได้แก่ *M. foetida* Lour., *M. gedebe* Miq., *M. macrocarpa* Blumb, *M. cochichinensis* Engl. และ *M. pentandra* Hook.f. (Eiadthong *et al*., 2000a)

ผล

ลักษณะผลมีลักษณะที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิด เช่น มะม่วงปาน ผลมีลักษณะแบน สำหรับ มะมุด และกินนิง เมื่อผลสุกมักจะมีกลิ่นแรงมาก และมะม่วงที่เป็นพันธุ์พื้นเมืองส่วนใหญ่ผลจะมีเนื้อบาง และมีเสี้ยนมาก



รูปที่ 1 ตัวอย่างลักษณะสัณฐานวิทยาของดอกพืชสกุล *Mangifera*

A = *M. indica* A1: ตาดอก A2: ดอกสมบูรณ์เพศที่ประกอบด้วย กลีบเลี้ยง 5กลีบ กลีบดอก 5 กลีบ เกสรตัวผู้ 1 อัน และเกสรตัวเมีย 1 อัน A3: ขนาดของดอกสมบูรณ์เพศ A4: ดอกตัวผู้ ประกอบด้วย กลีบเลี้ยง 5 กลีบ กลีบดอก 5 กลีบ เกสรตัวผู้ 1 อัน กลีบเกสรตัวผู้ที่เป็นหมัน 4 กลีบ และไม่มีเกสรตัวเมีย A5: ขนาดของดอกตัวผู้ และ A6: อับเรณู

B = *M. caloneura* B1: ตาดอก B2: ดอกสมบูรณ์เพศที่ประกอบด้วย กลีบเลี้ยง 5กลีบ กลีบดอก 5 กลีบ เกสรตัวผู้ 5 อัน และเกสรตัวเมีย 1 อัน B3: ขนาดของดอกสมบูรณ์เพศ B4: ดอกตัวผู้ ประกอบด้วย กลีบเลี้ยง 5 กลีบ กลีบดอก 5 กลีบ เกสรตัวผู้ 5 อัน ไม่มีกลีบเกสรตัวผู้ที่เป็นหมันและเกสรตัวเมีย B5: ขนาดของดอกตัวผู้ และ B6: อับเรณู

C = *M. odorata* C1: ตาดอก C2: ดอกสมบูรณ์เพศที่ประกอบด้วย กลีบเลี้ยง 5 กลีบ กลีบดอก 5 กลีบ เกสรตัวผู้ 1 อัน กลีบเกสรตัวผู้ที่เป็นหมัน 4-9 กลีบ และเกสรตัวเมีย 1 อัน C3: ขนาดของดอกสมบูรณ์เพศ และ C4: อับเรณู

ที่มา: Eiadthong และคณะ (2000a)

3. ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม และการจำแนกพันธุ์พืช

การจำแนกพันธุ์พืชสามารถทำได้โดยอาศัยวิธีการ ดังต่อไปนี้

3.1 ลักษณะสัณฐานวิทยา

การจำแนกความแตกต่างของพืช อาจอาศัยการเปรียบเทียบลักษณะภายนอก หรือลักษณะสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกัน เช่น สีดอก รูปร่างใบ สี และรูปร่างผล เป็นต้น แต่ลักษณะดังกล่าวมักมีการผันแปรตามสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน ทำให้ผลตรวจสอบผิดพลาดได้ หรือพืชบางชนิดมีลักษณะทางสัณฐานใกล้เคียงกันมาก ยากที่จะแยกความแตกต่างได้ อย่างไรก็ตามการตรวจสอบทางสัณฐานวิทยายังมีความจำเป็นต้องทำเป็นลำดับแรก แล้วจึงใช้วิธีการอื่นประกอบเพื่อให้ได้ข้อมูลที่สมบูรณ์ขึ้น หรือแก้ปัญหาในกรณีที่ไม่สามารถใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียวได้ (สุรินทร์, 2552)

3.2 เครื่องหมายโมเลกุล

การใช้เครื่องหมายทางโมเลกุลในการจำแนกความแตกต่างเป็นการตรวจสอบสิ่งมีชีวิตโดยใช้ความแตกต่างของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่มีลำดับเบสเฉพาะเจาะจง โดยไม่มีอิทธิพลของสภาพแวดล้อมมาเกี่ยวข้อง สามารถนำมาใช้ประโยชน์หรือประยุกต์ใช้ทางด้านพืช เช่น การปรับปรุงพันธุ์ การแยกสายพันธุ์ และรวบรวมพันธุ์ รวมทั้งความสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์ นอกจากนี้ยังนำมาใช้ในการทำแผนที่ทางพันธุกรรม (genetic mapping) และหาตำแหน่งของยีน (gene tagging) เครื่องหมายโมเลกุลมีหลายชนิดทั้งในระดับเอ็นไซม์ หรือโปรตีน เช่น ไอโซไซม์ (isozymes) ข้อดีของการตรวจสอบโปรตีน คือ สามารถตรวจสอบได้หลายตำแหน่ง ค่าใช้จ่ายไม่สูงมากนัก และเป็นเครื่องหมายโมเลกุลระดับโปรตีนที่แสดงลักษณะข่มร่วมแบบ codominant ช่วยให้แยกความแตกต่างระหว่างแถบโปรตีนแบบโฮโมไซกัส และเฮเทอโรไซกัสได้ ส่วนเครื่องหมายโมเลกุลระดับดีเอ็นเอสามารถใช้ตรวจสอบความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ในโมเลกุลของดีเอ็นเอได้ทั้งระดับประชากรภายใน และระหว่างชนิดพันธุ์ โดยข้อมูลที่ได้สามารถนำมาประยุกต์ทั้งด้านการอนุรักษ์พันธุกรรม และปรับปรุงพันธุ์พืช (สุจิตรา, 2551) เครื่องหมายโมเลกุลระดับดีเอ็นเอมีหลายชนิด เช่น เครื่องหมายอาร์เอฟแอลพี อาร์เอพีดี เอแอฟแอลพี และไมโครแซทเทลไลท์ เป็นต้น

เทคนิคอาร์เอพีดี (RAPD : Random Amplified Polymorphic DNA) เป็นวิธีวิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรมโดยใช้เทคนิคพีซีอาร์โดยไม่จำเป็นต้องทราบข้อมูลเกี่ยวกับลำดับเบสของดีเอ็นเอเป้าหมาย เนื่องจากไพรเมอร์ที่ใช้ไม่จำเพาะเจาะจงกับดีเอ็นเอบริเวณใด เทคนิคนี้ทำได้โดยสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างที่ต้องการตรวจสอบนำมาทำพีซีอาร์ เพื่อเพิ่มปริมาณและแยกขนาดดีเอ็นเอที่ได้โดยใช้ไพรเมอร์ที่มีขนาดสั้นเพียง 10 นิวคลีโอไทด์ ซึ่งจะเข้าไปจับกับดีเอ็นเอเป้าหมายในบริเวณที่มีเบสเป็นคู่สมกัน หลังจากนั้นนำมาทำอิเล็กโตรโฟรีซิสในอะกาโรสเจลและย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยเอธิเดียมโปรไมด์ จะปรากฏแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันหรือแตกต่างกันก็ได้ (สุรินทร์, 2545) แม้ว่าเทคนิคอาร์เอพีดีจะทำได้ง่าย รวดเร็ว และให้ข้อมูลได้มาก แต่ก็มีข้อเสียในเรื่องการทดลองซ้ำ บางครั้งได้ผลที่ต่างจากเดิมเนื่องจากอาร์เอพีดีมีความไวต่อการเปลี่ยนสภาวะต่างๆ จึงต้องระมัดระวัง และควบคุมการทดลองให้คงที่ นอกจากนี้แถบดีเอ็นเออาร์เอพีดียังแสดงการข่ม (dominance) ต่อการไม่เกิดแถบดีเอ็นเอ ซึ่งทำให้ไม่สามารถบอกความแตกต่างระหว่างโฮโมไซโกต และเฮเทอโรไซโกตได้ อย่างไรก็ตามมีการนำเครื่องหมายอาร์เอพีดี มาใช้ประโยชน์ในด้านการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม และประเมินแหล่งพันธุกรรมเพื่อการอนุรักษ์สายพันธุ์มะม่วง และพืชสกุล *Mangifera* เช่น Lopez-Valenzuela และคณะ (1997) ได้ศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรม และแถบดีเอ็นเอเพื่อศึกษาความแตกต่างจากการเกิดเอ็มบริโอในมะม่วง ในการทดลองใช้มะม่วงพันธุ์การค้า 15 พันธุ์ ตรวจสอบกับไพรเมอร์ 40 ชนิด พบว่ามีไพรเมอร์ 13 ไพรเมอร์ ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ คือ OPM-05, OPM-06, OPM-09, OPM-12, OPM-15, OPM-20, OPX-01, 0PX-02, OPX-08, OPX-15, OPX-17, OPX-18 และ OPX-20 โดยไพรเมอร์ OPM-12 สามารถแยกความแตกต่างของลักษณะ polyembryony และ monoembryony ออกจากกันได้ Ravishankar และคณะ (2000) ทำการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของมะม่วงจำนวน 18 พันธุ์ ในอินเดีย คัดเลือกไพรเมอร์ ชนิดต่างๆ 30 ไพรเมอร์ พบว่า ไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้มี 19 ไพรเมอร์ ซึ่งไพรเมอร์ OPA-11 สามารถเพิ่มปริมาณ และแยกความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอได้ดีที่สุด Kumar และคณะ (2001) ใช้เทคนิคอาร์เอพีดีเพื่อประเมินความแตกต่างทางพันธุกรรมของมะม่วงพันธุ์การค้า โดยศึกษาจากมะม่วง 50 พันธุ์ คัดเลือกไพรเมอร์ชนิดต่างๆ 80 ไพรเมอร์ พบว่า มี 10 ไพรเมอร์ ที่สามารถใช้จำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมของมะม่วงได้ คือ OPA-01, OPA-20, OPB-01, OPB-18, OPC-11, OPC-12, OPC-20,

OPD-01, OPD-06 และ OPD-07 Karihaloo และคณะ (2003) ทำการวิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรมของมะม่วงพันธุ์การค้า 29 พันธุ์ ในประเทศอินเดีย ซึ่งทดสอบกับไพรเมอร์ 24 ไพรเมอร์ พบว่า ไพรเมอร์ที่สามารถจำแนกความแตกต่าง และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ดีที่สุด คือ OPA-05 นอกจากนี้มีการศึกษาความแปรปรวนของมะม่วงเพื่อการปรับปรุงพันธุ์โดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี ในการศึกษาใช้มะม่วงจากประเทศอินเดีย แอฟริกาใต้ ไนจีเรีย เม็กซิโก สหรัฐอเมริกา และบราซิล เพื่อผลิตลูกผสมที่มีคุณภาพสูง มีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของโรค โดยใช้ทั้งหมด 28 พันธุ์ ทดสอบกับไพรเมอร์ 21 ไพรเมอร์ พบว่า มีเพียงไพรเมอร์ OPD-02 ที่สามารถใช้แยกกลุ่มพืชที่ศึกษาได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมสูง ได้แก่ พ่อแม่พันธุ์จากประเทศบราซิล และอินเดีย และกลุ่มที่มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมต่ำ คือ พ่อแม่พันธุ์จากประเทศสหรัฐอเมริกา และแอฟริกาใต้ (Faleiro *et al.,* 2004) Cordeiro และคณะ (2006) ศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมของมะม่วงลูกผสม ในกลุ่มพ่อแม่พันธุ์จากประเทศต่างๆ ได้แก่ สหรัฐอเมริกา แอฟริกาใต้ เม็กซิโก อินเดีย ไทย ออสเตรเลีย และบราซิล พบว่า มีไพรเมอร์ 13 ไพรเมอร์ ที่สามารถแยกความแตกต่างของลูกผสมแต่ละคู่ได้ โดยไพรเมอร์ OPH-15 สามารถแยกความแตกต่างได้ชัดเจนที่สุด Rahman และคณะ (2007) ศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของมะม่วง 28 สายพันธุ์ โดยการทดสอบกับไพรเมอร์ 20 ไพรเมอร์ พบว่า มีไพรเมอร์ 4 ไพรเมอร์ ได้แก่ OPA-07, OPA-11, OPC-12 และ OPC-13 ให้เปอร์เซ็นต์ของแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างสูง Rajwana และคณะ (2008) ประเมินความแตกต่างทางพันธุกรรมของมะม่วงพันธุ์ปลูก 25 สายพันธุ์ ในประเทศปากีสถาน โดยใช้ไพรเมอร์ 60 ไพรเมอร์ พบว่า มี 45 ไพรเมอร์ ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ และมีเพียง 3 ไพรเมอร์ คือ OPB-06, OPB-13 และ OPQ-13 ที่สามารถจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมของพันธุ์มะม่วงที่ศึกษาได้ดีที่สุด

นอกจากนี้แล้วยังมีการใช้เทคนิคอื่นๆ ในการศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของมะม่วง เช่น เทคนิคเอเอฟแอลพี (AFLP : Amplified Fragment Length Polymorphism) เป็นการรวมวิธีการของเครื่องหมายโมเลกุลอาร์เอฟแอลพี และ อาร์เอพีดี เข้าด้วยกัน โดย Eiadthong และคณะ (2000b) ได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Mangifera* ในประเทศไทย จำนวน 14 ชนิด พบว่าการใช้เอ็นไซม์ และลำดับเบสต่อไปนี้ *Eco*RI-AAC/*Mse*I-CAC, *Eco*RI-AAC/*Mse*I-CAG, *Eco*RI-AAC/*Mse*I-CTC, *Eco*RI-AAC/*Mse*I-CAG และ *Eco*RI-AAC/*Mse*I-CTC

สามารถให้แถบ ดีเอ็นเอที่ชัดเจน และใช้จำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมของมะม่วงแต่ละชนิดได้ Kashkush และคณะ (2001) ใช้เอนไซม์ และลำดับเบส ดังนี้ *Eco*RI-AC/*Mse*I-TG, *Eco*RI-GG *Mse*I-AT, *Eco*RI-AC/*Mse*I- TG, *Eco*RI-AG/*Mse*I-AT, *Eco*RI-AC/*Mse*I-TA และ *Eco*RI-CC/*Mse*I-AC ศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมของมะม่วงจำนวน 16 พันธุ์ เพื่อสร้างแผนที่ยีนของพันธุ์มะม่วงดังกล่าว รวมถึงการศึกษาความสัมพันธ์ และความหลากหลายทางพันธุกรรมของมะม่วง 4 ชนิด คือ *M. indica* L., *M. caesia* Jack., *M. odorata* Griff. และ *M. foetida* Lour. โดยเอนไซม์ และลำดับเบสที่สามารถจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมของมะม่วงทั้ง 4 ชนิดได้ คือ *Eco*RI-AAC/*Mse*I-CCA, *Eco*RI-ACA/*Mse*I-CAC, *Eco*RI-ACA/*Mse*I-CTG, *Eco*RI-ACT/*Mse*I-CAT, *Eco*RI-ACT/*Mse*I-CTC, *Eco*RI-ACC/*Mse*I-CTA, *Eco*RI-AGG/*Mse*I-CAT และ *Eco*RI-AGG/*Mse*I-CTT (Yamanaka *et al.,* 2006) นอกจากเทคนิคดังกล่าวแล้วยังมีอีกเทคนิคหนึ่งที่มีการนำมาใช้ศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมพืชคือ เทคนิคไมโครแซทเทลไลท์ หรือ เอสเอสอาร์ (SSR : Simple Sequence Repeat) เช่น Eiadthong และคณะ (1999b) ศึกษาความแตกต่างของมะม่วงจำนวน 22 สายพันธุ์ ทดสอบกับไพรเมอร์ 40 คู่ มีเพียง 7 คู่ ที่สามารถจำแนกความแตกต่าง และสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ดีที่สุด คือ UBC-835 UBC-841 UBC-844 UBC-848 UBC-868 UBC-873 และ UBC-881 Honsho และคณะ (2005) ศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมของมะม่วง 36 พันธุ์ โดยใช้เทคนิค SSR จากไพรเมอร์ 6 คู่ พบว่า มีไพรเมอร์ 4 คู่ คือ MIAC-3 MIAC-4 MIAC-5 และ MIAC-6 สามารถจำแนกมะม่วง 29 พันธุ์ ออกจากกันได้ ส่วนมะม่วงอีก 7 พันธุ์ ไม่สามารถแยกความแตกต่างได้เนื่องจากมีลักษณะจีโนไทป์ใกล้เคียงกันมาก Ukoskit (2007) ทำการพัฒนาไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะกับลำดับเบสของมะม่วงโดยใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ 16 คู่ พบว่า ให้แถบที่มีความแตกต่าง 46 แถบ และพบว่า มีไพรเมอร์ 14 คู่ ที่ให้ความแตกต่างชัดเจน He และคณะ (2007) ใช้เทคนิค ISSRs (Inter-Simple Sequence Repeats) เพื่อประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของมะม่วง และพบว่า มีไพรเมอร์ 8 ไพรเมอร์ คือ UBC-811 UBC-835 UBC-840 UBC-841 UBC-851 UBC-857 GXC-1 และ UBC-826 ที่สามารถจำแนกความแตกต่างของมะม่วงแต่ละสายพันธุ์ได้เช่นเดียวกับ Pandit และคณะ (2007) ที่ทำการวิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรมของมะม่วงทดสอบกับไพรเมอร์ 100 ไพรเมอร์ มีเพียง 7 ไพรเมอร์ ที่สามารถจำแนกความแตกต่างได้ดีที่สุด

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Mangifera* พื้นเมืองที่เก็บรวบรวมจากภาคใต้ของประเทศไทย
2. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในพืชสกุล *Mangifera* พื้นเมืองในภาคใต้โดยอาศัยเครื่องหมายอาร์เอพีดี

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

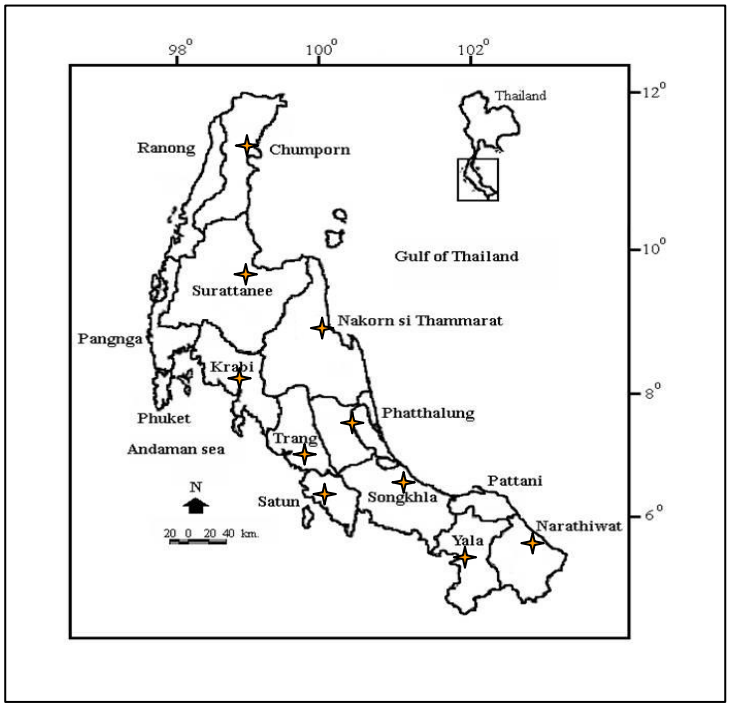
1. วัสดุ อุปกรณ์

1.1 วัสดุ

1.1.1 วัสดุพืช

เก็บตัวอย่างพืชสกุล *Mangifera* ที่พบในภาคใต้ของประเทศไทย จากสถานที่ต่างๆ (รูปที่ 2) ดังนี้

- สวนพฤกษศาสตร์ภาคใต้ อำเภอนาโยง จังหวัดตรัง
- สวนพฤกษศาสตร์สากลภาคใต้(ทุ่งค่าย) อำเภอย่านตาขาว จังหวัดตรัง
- อำเภอห้วยยอด และอำเภอวังวิเศษ จังหวัดตรัง
- ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร อำเภอสวี จังหวัดชุมพร
- สวนรุกขชาติเขาพุทธทอง อำเภอไชยา จังหวัดสุราษฎร์ธานี
- อำเภอเมือง จังหวัดสุราษฎร์ธานี
- ศูนย์ส่งเสริม และผลิตพันธุ์พืชสวนกระบี่ อำเภอเมือง จังหวัดกระบี่
- สวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้ อำเภอรัตภูมิ จังหวัดสงขลา
- สถานีวิจัยคลองหอยโข่ง อ.คลองหอยโข่ง จังหวัดสงขลา
- อำเภอคลองหอยโข่ง อำเภอสิงหนคร อำเภอเมือง อำเภอสทิงพระ และอำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา
- อำเภอเมือง และอำเภอศรีนครินทร์ จังหวัดพัทลุง
- อำเภอเมือง จังหวัดนครศรีธรรมราช
- อำเภอเมือง และอำเภอละงู จังหวัดสตูล
- อำเภอรามัน จังหวัดยะลา
- อำเภอศรีสาคร จังหวัดนราธิวาส



รูปที่ 2 แผนที่แสดงตำแหน่งแหล่งเก็บรวบรวมตัวอย่างพืชสกุล *Mamgifera* พื้นเมืองในภาคใต้ของประเทศไทย

หมายเหตุ ✦ คือ จังหวัดที่เก็บรวบรวมพืชสกุล *Mangifera*

1.1.2 สารเคมี

1.1.2.1 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ

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

1.1.2.2 สารเคมีสำหรับใช้ทำอิเล็กโตรโฟรีซิส

- LE agarose (FMC Bioproduct, USA)
- Seakem agarose (FMC Bioproduct, USA)
- Glacial acetic acid
- Boric acid
- Tris-base
- Ethidium bromide
- Loading buffer
- Lamda DNA (λ DNA)
- 100 bp และ 500 bp DNA Ladder (Operon, USA)

1.1.2.3 สารเคมีที่ใช้ทำพีซีอาร์

- dNTP (dATP, dTTP, dCTP, และ dGTP) (Promega, USA)
- $MgCl_2$
- *Taq* DNA Polymerase B (Promega, USA)
- TBE buffer
- 10X *Taq* buffer (Promega, USA)
- RAPD Primer จำนวน 53 ไพรเมอร์ ได้แก่ OPA-01, OPA-02, OPA-05, OPA-07, OPA-08, OPA-10, OPA-11, OPA-12, OPA-14, OPA-16, OPA-17, OPA-18, OPA-20, OPB-01, OPB-02, OPB-06, OPB-11, OPB-13, OPB-14, OPB-18, OPB-20, OPC-11, OPC-12, OPC-13, OPC-20, OPD-01, OPD-02, OPD-03, OPD-07, OPD-12, OPD-13, OPD-15, OPD-18, OPD-19, OPE-14, OPF-08, OPJ-09, OPJ-16, OPK-02, OPN-16, OPO-08, OPP-08, OPQ-14, OPU-08, OPX-11, OPX-18, OPAL-20, OPAL-21, OPAN-12, BC210, W11, IBRC-RP07 และ NO.8

1.2 อุปกรณ์

1.2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างพืช

- ถุงพลาสติก
- กรรไกร
- กล่องโฟม
- ปากกาเขียนเครื่องแก้ว

1.2.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ การทำอิเล็กโตรโฟรีซิส และพีซีอาร์

- ตู้เย็น และตู้แช่แข็ง
- เครื่องไมโครเซนตริฟิวส์
- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง
- เครื่องคนสารละลายอัตโนมัติ
- แท่งแม่เหล็ก
- ปิเปตปรับปริมาตร
- เครื่องเขย่า
- หม้อนึ่งความดันไอ
- เครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า
- เครื่องอิเล็กโตรโฟรีซิส
- เครื่องพีซีอาร์
- โกร่งบดตัวอย่าง
- หลอดเอฟเพนดอร์ฟ
- ตู้ไมโครเวฟ
- น้ำแข็ง และกระติกน้ำแข็ง
- เครื่องแก้ว กระบอกตวง และขวดต่างๆ
- ไปเปต
- Gel documentation

2. วิธีการ

2.1 การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Mangifera* ในภาคใต้โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ทำการเก็บตัวอย่างพืชสกุล *Mangifera* จากแหล่งต่างๆ ในภาคใต้ดังตารางที่ 1 โดยสุ่มเก็บตัวอย่างใบ และทำการบันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยพิจารณาจากใบที่เจริญเติบโตเต็มที่ประมาณใบที่ 4 จากปลายยอด กำหนดลักษณะใบ ดังต่อไปนี้ (กรมวิชาเกษตร, 2547; ชุมพล, 2551)

2.1.1 ลักษณะรูปร่างแผ่นใบ (leaf shape) สามารถจำแนกได้เป็น 5 ลักษณะ ดังนี้

ใบรูปแถบ (Linear) - รูปร่างแผ่นใบมีลักษณะยาว และแคบ ขอบของแผ่นใบทั้งสองข้างเกือบขนานกันตลอด ความยาวของใบมักจะยาวมากกว่า 4 เท่าของความกว้างของใบ

ใบรูปขอบขนาน (Oblong) - ส่วนที่กว้างที่สุดอยู่บริเวณกึ่งกลางของแผ่นใบ และมีขอบใบที่ขนานกัน ความยาวประมาณ 2-3 เท่าของความกว้าง

ใบรูปรี (Elliptic) - รูปร่างแผ่นใบรูปรี ส่วนกว้างที่สุดอยู่กึ่งกลางแผ่นใบ อัตราส่วนความกว้างต่อความยาวประมาณ 1:2 ถึง 2:3

ใบรูปป้อมโคนใบ (Lanceolate) - ส่วนที่กว้างที่สุดอยู่บริเวณโคนใบหรือเหนือโคนใบขึ้นมาเล็กน้อย ขอบใบโค้ง อัตราส่วนความกว้างต่อความยาวประมาณ 1:5 ถึง 1:3

ใบรูปป้อมปลายใบ (Oblanceolate) - มีส่วนที่กว้างที่สุดอยู่บริเวณปลายใบ ขอบใบโค้ง อัตราส่วนความกว้างต่อความยาวประมาณ 1:5 ถึง 1:3

2.1.2 ลักษณะปลายใบ (leaf apices) สามารถจำแนกได้เป็น 3 ลักษณะ ดังนี้

ปลายใบแหลม (Acute) - โดยลักษณะขอบใบที่มาบรรจบตรงปลายยอดมักตรงหรือโค้งมน ทำมุมน้อยกว่า 90 องศา

ปลายใบเรียวแหลม (Acuminate) - มีลักษณะปลายใบแหลม แต่ขอบใบมักโค้งเว้าสอบเข้ามาตรงปลายยอด

ปลายใบเว้าตื้น (Retuse) - ปลายใบมีลักษณะเป็นมุมป้าน แต่หยักเว้าเข้ามาตื้นๆ ตรงตำแหน่งของเส้นกลางใบ

2.1.3 ลักษณะโคนใบ (leaf bases) สามารถจำแนกได้เป็น 3 ลักษณะ ดังนี้

โคนใบแหลม (Acute) - ขอบใบที่มาบรรจบบริเวณโคนใบโค้งมน หรือทำมุมน้อยกว่า 90 องศา

โคนใบสอบเรียว (Attenuate) - ลักษณะโคนใบที่ขอบใบค่อย ๆ สอบเรียวเข้ามาหาก้านใบ

โคนใบมน (Obtuse) - โคนใบมีลักษณะเป็นมุมป้าน ขอบใบทำมุมมากกว่า 90 องศา

2.1.4 ลักษณะขอบใบ (leaf margins) สามารถจำแนกได้เป็น 2 ลักษณะ ดังนี้

ขอบใบเรียบ (Entire)

ขอบใบหยักเป็นคลื่น (Undulate) - ลักษณะขอบใบที่หยักเว้าเป็นคลื่นในลักษณะบน และล่างของแผ่นใบ

2.1.5 ลักษณะผล (fruit character) จำแนกออกเป็นกลุ่ม ๆ ตามชื่อวิทยาศาสตร์ โดยยึดหลักในการจำแนกชื่อตามการรายงานของ (เต็ม, 2544) การเขียนชื่อวิทยาศาสตร์ ยึดตามแบบสากลในฐานข้อมูล The International Plant Names Index (IPNI)

2.2 การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมพืชสกุล *Mangifera* ในภาคใต้ โดยอาศัยเทคนิคอาร์เอพีดี

2.2.1 การเก็บตัวอย่าง

ทำการเก็บตัวอย่างพืชสกุล *Mangifera* พื้นเมืองในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย โดยสุ่มเก็บตัวอย่างจากพื้นที่ของจังหวัดสงขลา ตรัง พัทลุง ยะลา นราธิวาส สตูล กระบี่ ชุมพร นครศรีธรรมราช และจังหวัดสุราษฎร์ธานี จำนวนทั้งหมด 70 ต้น (ตารางที่ 1) โดยเก็บตัวอย่างใบประมาณ 1-2 ใบต่อต้น ใส่ถุงเพื่อนำมาสกัดดีเอ็นเอ

ตารางที่ 1 ชนิด จำนวนตัวอย่าง และสถานที่เก็บตัวอย่างพืชสกุล *Mangifera* ที่เก็บจากพื้นที่ในภาคใต้เพื่อใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี

No.	ชนิด	สถานที่เก็บ	จำนวนต้น
1	มะมุด (*M. foetida* Lour.)	ต.นาวง อ.ห้วยยอด จ.ตรัง	1
2	มะมุด (*M. foetida* Lour.)	ต.น้ำผุด อ.ละงู จ.สตูล	1
3	มะมุด (*M. foetida* Lour.)	ต.ท่าสะบ้า อ.วังวิเศษ จ.ตรัง	1
4	มะมุด (*M. foetida* Lour.)	ต.นาท่อม อ.ศรีนครินทร์ จ.พัทลุง	1
5	มะมุด (*M. foetida* Lour.)	สวนพฤกษศาสตร์สากลภาคใต้(ทุ่งค่าย) อ.ย่านตาขาว จ.ตรัง	1
6	มะมุด (*M. foetida* Lour.)	ศูนย์ส่งเสริมและผลิตพันธุ์พืชสวนกระบี่ อ.เมือง จ.กระบี่	1
7	มะมุด (*M. foetida* Lour.)	สวนรุกขชาติเขาพุทธทอง อ.ไชยา จ.สุราษฎร์ธานี	1
8	มะมุด (*M. foetida* Lour.)	ต.ทุ่งลาน อ.คลองหอยโข่ง จ.สงขลา	1
9-10	มะม่วงป่าน (*M. gedebe* Miq.)	ต.นาวง อ.ห้วยยอด จ.ตรัง	2
11	มะม่วงป่าน (*M. gedebe* Miq.)	สวนพฤกษศาสตร์สากลภาคใต้(ทุ่งค่าย) อ.ย่านตาขาว จ.ตรัง	1
12	มะม่วงเบา (*M. indica* L.)	ต.ชิงโค อ.สิงหนคร จ.สงขลา	1
13	มะม่วงเบา (*M. indica* L.)	ต.ลำปำ อ.เมือง จ.พัทลุง	1
14	มะม่วงเบา (*M. indica* L.)	ต.ทุ่งตำเสา อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา	1
15	มะม่วงเบา (*M. indica* L.)	ต.มะขามเตี้ย อ.เมือง จ.สุราษฎร์ธานี	1
16	มะม่วงเบา (*M. indica* L.)	ศูนย์ส่งเสริมและผลิตพันธุ์พืชสวนกระบี่ อ.เมือง จ.กระบี่	1
17	มะม่วงเบา (*M. indica* L.)	ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร อ.สวี จ.ชุมพร	1
18	มะม่วงเบา (*M. indica* L.)	สวนรุกขชาติเขาพุทธทอง อ.ไชยา จ.สุราษฎร์ธานี	1
19	มะม่วงเบา (*M. indica* L.)	ต.นาวง อ.ห้วยยอด จ.ตรัง	1
20	มะม่วงแก้มแดง (*M. indica* L.)	ต นาวง อ.ห้วยยอด จ.ตรัง	1
21-22	มะม่วงแก้มแดง (*M. indica* L.)	ต.น้ำผุด อ.ละงู จ.สตูล	2
23	มะม่วงเขียวเสวย (*M. indica* L.)	ต.เกาะยอ อ.เมือง จ.สงขลา	1
24	มะม่วงเขียวเสวย (*M. indica* L.)	ต.กระดังงา อ.สทิงพระ จ.สงขลา	1
25	มะม่วงแก้ว (*M. indica* L.)	ต.ทุ่งตำเสา อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา	1

ตารางที่ 1 (ต่อ) ชนิด จำนวนตัวอย่าง และสถานที่เก็บตัวอย่างพืชสกุล *Mangifera* ที่เก็บจากพื้นที่ในภาคใต้เพื่อใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี

No.	ชนิด	สถานที่เก็บ	จำนวนต้น
26	มะม่วงแก้ว (*M. indica* L.)	ต.กระดังงา อ.สทิงพระ จ.สงขลา	1
27-28	มะม่วงนาทับ (*M. indica* L.)	ต.คอหงส์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา	2
29-30	มะม่วงแอปเปิล (*M. indica* L.)	ต.ทุ่งลาน อ.คลองหอยโข่ง จ.สงขลา	2
31-32	กินนิง (*M. odorata* Griff.)	ต.ตะโล๊ะหะลอ อ.รามัน จ.ยะลา	2
33	กินนิง (*M. odorata* Griff.)	ต.กาหลง อ.ศรีสาคร จ.นราธิวาส	1
34	มะม่วงป่า (*M. pentandra* Hook.f.)	ต.ตะโล๊ะหะลอ อ.รามัน จ.ยะลา	1
35	มะม่วงป่า (*M. pentandra* Hook.f.)	สวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้ อ.รัตภูมิ จ.สงขลา	1
36	มะม่วงคัน (*M. quadrifida* Jack)	ต.เขารูปช้าง อ.เมือง จ.สงขลา	1
37-38	มะม่วงคัน (*M. quadrifida* Jack)	สถานีวิจัยคลองหอยโข่ง อ.คลองหอยโข่ง จ.สงขลา	2
39	มะม่วงคัน (*M. quadrifida* Jack)	ต.คอหงส์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา	1
40	มะม่วงคัน (*M. quadrifida* Jack)	ต.ฉลุง อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา	1
41	มะม่วงคัน (*M. quadrifida* Jack)	สวนพฤกษศาสตร์สากลภาคใต้(ทุ่งค่าย) อ.ย่านตาขาว จ.ตรัง	1
42	มะม่วงคัน (*M. quadrifida* Jack)	ต.ทุ่งลาน อ.คลองหอยโข่ง จ.สงขลา	1
43	มะม่วงคัน (*M. quadrifida* Jack)	ต.กระดังงา อ.สทิงพระ จ.สงขลา	1
44-45	มะม่วงคัน (*M. quadrifida* Jack)	สวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้ อ.รัตภูมิ จ.สงขลา	2
46	มะม่วงกล้วย (*M. sylvatica* Roxb.)	สถานีวิจัยคลองหอยโข่ง อ.คลองหอยโข่ง จ.สงขลา	1
47	มะม่วงกล้วย (*M. sylvatica* Roxb.)	ต.ทุ่งลาน อ.คลองหอยโข่ง จ.สงขลา	1
48	มะม่วงกล้วย (*M. sylvatica* Roxb.)	ต.ทุ่งตำเสา อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา	1
49-50	มะม่วงกล้วย (*M. sylvatica* Roxb.)	ศูนย์ส่งเสริมและผลิตพันธุ์พืชสวนกระบี่ อ.เมือง จ.กระบี่	2
51	มะม่วงกล้วย (*M. sylvatica* Roxb.)	ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร อ.สวี จ.ชุมพร	1
52	มะม่วงกะล่อน (*M. caloneura* Kurz)	สวนพฤกษศาสตร์ภาคใต้ อ.นาโยง จ.ตรัง	1
53	มะม่วงกะล่อน (*M. caloneura* Kurz)	ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร อ.สวี จ.ชุมพร	1
54	มะม่วงกะล่อน (*M. caloneura* Kurz)	สวนรุกขชาติเขาพุทธทอง อ.ไชยา จ.สุราษฎร์ธานี	1

ตารางที่ 1 (ต่อ) ชนิด จำนวนตัวอย่าง และสถานที่เก็บตัวอย่างพืชสกุล *Mangifera* ที่เก็บจากพื้นที่ในภาคใต้เพื่อใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี

No.	ชนิด	สถานที่เก็บ	จำนวนต้น
55	แปบ (*M. flava* Evrard)	สวนพฤกษศาสตร์ภาคใต้ อ.นาโยง จ.ตรัง	1
56	มะม่วงเพาะไก่ (Unknown 1)	สถานีวิจัยคลองหอยโข่ง อ.คลองหอยโข่ง จ.สงขลา	1
57	มะม่วงเพาะไก่ (Unknown 1)	อ.เมือง จ.นครศรีธรรมราช	1
58	ม่วงมุด (Unknown 2)	ต.หูแร่ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา	1
59-60	ม่วงมุด (Unknown 2)	ศูนย์ส่งเสริมและผลิตพันธุ์พืชสวนกระบี่ อ.เมือง จ.กระบี่	2
61	ม่วงมุด (Unknown 2)	สวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้ อ.รัตภูมิ จ.สงขลา	1
62-63	ม่วงมุด (Unknown 2)	ต.ควนโพธิ์ อ.เมือง จ.สตูล	2
64-66	มุดม่วง (Unknown 3)	ต.ทุ่งลาน อ.คลองหอยโข่ง จ.สงขลา	3
67-68	มะม่วงคร้า (Unknown 4)	ต.ควนโพธิ์ อ.เมือง จ.สตูล	2
69-70	ปีหลิ้ง (Unknown 5)	ต.ชุมพล อ.ศรีนครินทร์ จ.พัทลุง	2
	รวม		**70**

2.2.2 การสกัดดีเอ็นเอ

สกัดดีเอ็นเอจากใบมะม่วงที่สุ่มเก็บมา โดยใช้สารละลาย CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide) โดยใช้ตัวอย่างใบมะม่วงประมาณ 200 มิลลิกรัมน้ำหนักสด บด ใน CTAB buffer (PVP-40, NaCl, EDTA 0.5 M pH 8.0, CTAB 2%) ร่วมกับ ß-mercaptoethanol เข้มข้น 2% ปริมาตร 700 ไมโครลิตร ในโกร่งให้ละเอียด จากนั้นใส่ในหลอดเอฟเพนดอร์ฟ เขย่าให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที กลับหลอดไปมาทุก 10 นาที เติมคลอโรฟอร์ม 700-800 ไมโครลิตร กลับหลอดไปมาเบาๆ ปั่นเหวี่ยงโดยใช้ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที จะได้สารละลายที่แยกชั้นใส ดูดสารละลายส่วนใสใส่หลอดแอฟเพนดอร์ฟใหม่ เติมคลอโรฟอร์ม 700-800 ไมโครลิตรอีกครั้ง นำไปปั่นเหวี่ยงโดยใช้ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาทีจะได้ของเหลวใสส่วนบน ดูดเอาเฉพาะของเหลวด้านบนใส่ในหลอดแอฟเพนดอร์ฟหลอดใหม่ เติมไอโซโพรพานอล 700 ไมโครลิตร กลับหลอดไปมาเบาๆ เพื่อตกตะกอนดีเอ็นเอ เทส่วนที่เป็นของเหลวทิ้งล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วยเอธานอลความเข้มข้น 70% ที่ผ่านการแช่เย็น 3 ครั้ง วางทิ้งไว้ให้ตะกอนแห้งที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นละลายตะกอน

ดีเอ็นเอด้วย TE buffer 50 ไมโครลิตร [Tris-HCI (pH 7.5) 10 มิลลิโมลาร์ และ Na_2EDTA (pH 7) 1 มิลลิโมลาร์] ที่อุณหภูมิห้องเก็บรักษาดีเอ็นเอที่อุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้

2.2.3 การตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอ

การตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้ด้วยการปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน (แลมดาดีเอ็นเอ) โดยการทำอิเล็กโตรโฟรีซิสบนอะกาโรส (LE Agarose, Promega, USA) เข้มข้น 0.75% แรงเคลื่อนไฟฟ้า 100 โวลต์ ในสารละลาย TAE buffer (Tris base, Gracial acetic acid, EDTA 0.5 โมลาร์ pH 8.0) เป็นเวลา 20 นาที ย้อมแถบดีเอ็นเอที่ได้ด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ แล้วนำไปตรวจสอบภายใต้แสงอุลตร้าไวโอเลต 260 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Gel documentation

2.2.4 คัดเลือกไพรเมอร์

ทำการทดสอบไพรเมอร์ขนาด 10 เบส จากไพรเมอร์ที่มีผู้ศึกษามาก่อนในพืชสกุล*Mangifera* ซึ่งประกอบด้วยไพรเมอร์ 15 ไพรเมอร์ คือ OPA-11 (Ravishankar *et al.,* 2000) OPA-01, OPA-20, OPB-01, OPB-18, OPC-11, OPC-12, OPC-20, OPD-01 และ OPD-07 (Kumar *et al.,* 2001) OPA-05 (Karihaloo *et al.,* 2003) OPD-02 (Faleiro *et al.,* 2004) OPA-07 (Rahman *et al.,* 2007) OPB-06 และ OPB-13 (Rajwana *et al.,* 2008) นอกจากไพรเมอร์ดังกล่าวแล้วทำการคัดเลือก ไพรเมอร์เพิ่มเติมอีก 38 ไพรเมอร์ รวมทั้งสิ้น 53 ไพรเมอร์ คัดเลือกไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบสุ่มด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ จากปริมาณรวม 25 ไมโครลิตร ซึ่งประกอบด้วยดีเอ็นเอแม่พิมพ์ 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 ตั้งอุณหภูมิเป็น 3 ระดับ คือ อุณหภูมิที่ใช้เริ่มต้น 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที ตามด้วย 41 รอบ ด้วยอุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที 37 องศาเซลเซียส 1 นาที 72 องศาเซลเซียส 2 นาที และรอบสุดท้ายตามด้วย 72 องศาเซลเซียส 5 นาที หลังจากทำพีซีอาร์นำสารละลายดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณแล้ว จำนวน 10 ไมโครลิตร มาตรวจสอบขนาดชิ้นดีเอ็นเอ ด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซีสบนแผ่นวุ้น LE Agarose ความเข้มข้น 1.5% ซึ่งละลายใน TBE Buffer (Tris base, Boric acid, Na_2EDTA 0.5 โมลาร์; pH 8.0) ใช้แรงเคลื่อนไฟฟ้า 100 โวลต์ 60 นาที ย้อมแถบดีเอ็นเอที่ได้ด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ เข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 20 นาที ล้างด้วยน้ำ 10 นาที แล้วนำไปตรวจสอบภายใต้แสงอุลตร้าไวโอเลต 260 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง

Gel documentation คัดเลือกไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณ และให้แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่าง (polymorphism) ระหว่างตัวแทนประชากรแต่ละพันธุ์

2.2.5 การวิเคราะห์ข้อมูลความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Mangifera*

นำไพรเมอร์ที่คัดเลือกได้จากข้อ 2.2.4 มาใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของประชากรทั้งหมด หลังจากนั้นทำการวิเคราะห์ข้อมูล โดยแปลงข้อมูลแถบดีเอ็นเอให้ตำแหน่งที่มีแถบดีเอ็นเอมีค่าเท่ากับ 1 และตำแหน่งที่ไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอมีค่าเท่ากับ 0 โดยคิดเฉพาะแถบดีเอ็นเอที่มีความชัดเจน และเพิ่มปริมาณได้สม่ำเสมอเมื่อมีการทำพีซีอาร์ซ้ำ วิเคราะห์ความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป NTSYS Version 2.1 (Rohlf, 2002)

บทที่ 3

ผล

1. การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Mangifera* ในภาคใต้โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

1.1 ลักษณะรูปร่างแผ่นใบ

สามารถแยกความแตกต่างลักษณะรูปร่างแผ่นใบของพืชสกุล *Mangifera* ได้ 5 แบบ ดังรูปที่ 3 ซึ่งเมื่อพิจารณาถึงความหลากหลาย พบว่าแต่ละชนิดกระจายอยู่ในกลุ่มต่างๆ (รูปที่ 4) ดังนี้

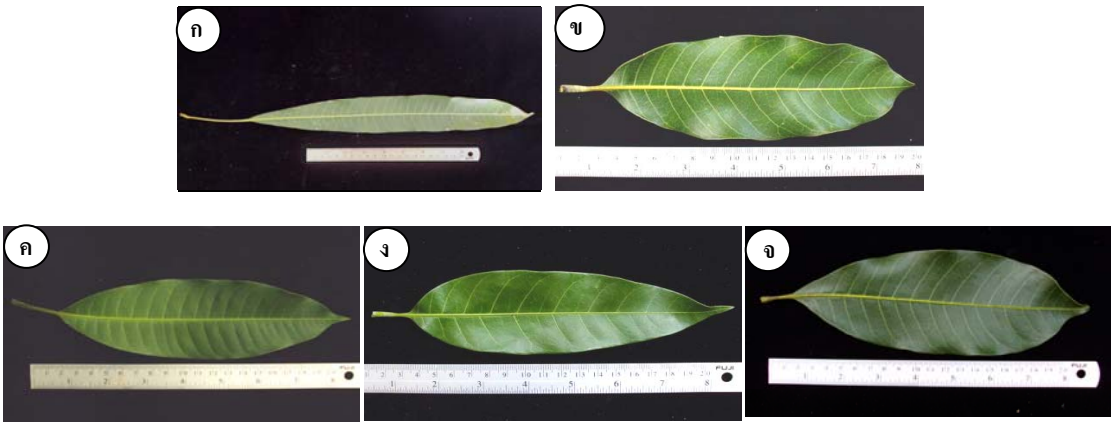
แบบที่ 1 รูปร่างแผ่นใบรูปแถบ (Linear) (รูปที่ 3ก) พบในกลุ่มมะม่วง มะม่วงปาน มะม่วงคัน และมะม่วงกะล่อนชนิดละ 1 ตัวอย่าง

แบบที่ 2 รูปร่างแผ่นใบรูปขอบขนาน (Oblong) (รูปที่ 3ข) พบในกลุ่มมะมุด กินนิง และกลุ่มตัวอย่างที่ไม่ทราบชนิด ชนิดละ 3 ตัวอย่าง มะม่วงปาน และมะม่วงกะล่อน ชนิดละ 2 ตัวอย่าง มะม่วงป่า และแปบชนิดละ 1 ตัวอย่าง กลุ่มตัวอย่างมะม่วง 4 ตัวอย่าง และมะม่วงคัน 6 ตัวอย่าง

แบบที่ 3 รูปร่างแผ่นใบรูปรี (Elliptic) (รูปที่ 3ค) พบในกลุ่มตัวอย่างมะมุด 4 ตัวอย่าง กลุ่มตัวอย่างมะม่วง และมะม่วงกล้วย ชนิดละ 2 ตัวอย่าง นอกจากนี้พบในกลุ่มตัวอย่างที่ไม่ทราบชนิด ได้แก่ ม่วงมุด 3 ตัวอย่าง มุดม่วง และปีหลิ้งชนิดละ 2 ตัวอย่าง

แบบที่ 4 แผ่นใบรูปป้อมโคนใบ (Lanceolate) (รูปที่ 3ง) พบในกลุ่มตัวอย่างมะม่วง 12 ตัวอย่าง มะม่วงกล้วย 4 ตัวอย่าง ในกลุ่มตัวอย่างที่ไม่ทราบชนิด คือ มะม่วงเพาะไก่ ม่วงมุด และมะม่วงคร้า พบจำนวน 5 ตัวอย่าง

แบบที่ 5 รูปป้อมปลายใบ (Oblanceolate) (รูปที่ 3จ) พบในมะมุด และมะม่วงป่า ชนิดละ 1 ตัวอย่าง และกลุ่มตัวอย่างมะม่วงคัน 3 ตัวอย่าง



รูปที่ 3 ลักษณะรูปร่างแผ่นใบของพืชสกุล *Mangifera*

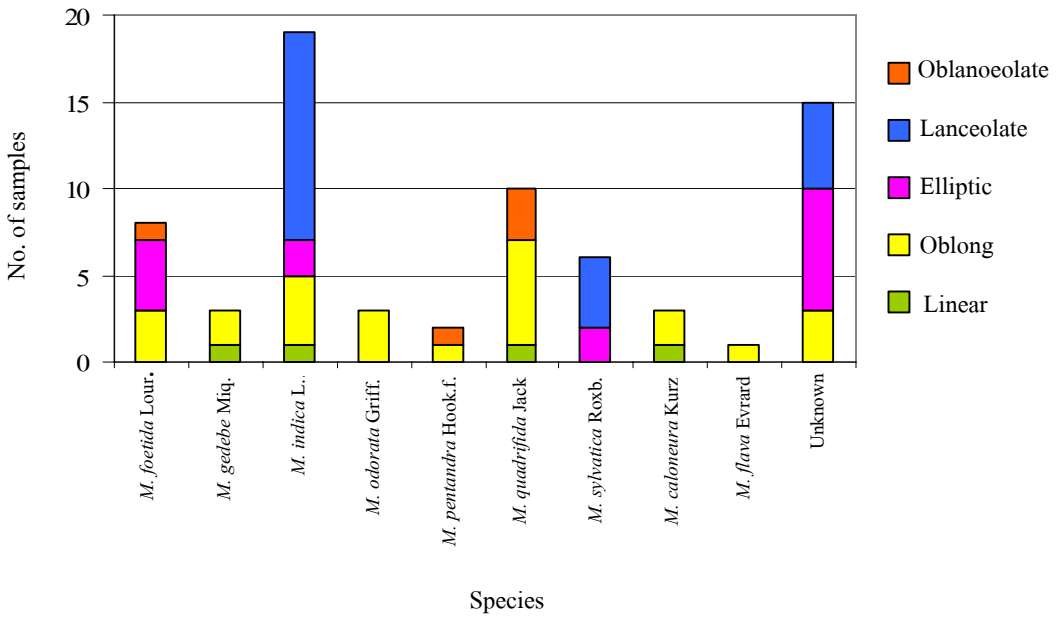
(ก) รูปร่างแผ่นใบรูปแถบ (Linear)

(ข) รูปร่างแผ่นใบรูปขอบขนาน (Oblong)

(ค) รูปร่างแผ่นใบรูปรี (Elliptic)

(ง) รูปร่างแผ่นใบรูปป้อมโคนใบ (Lanceolate)

(จ) รูปร่างแผ่นใบรูปป้อมปลายใบ (Oblanceolate)



รูปที่ 4 แผนภูมิแท่งแสดงความหลากหลายของลักษณะรูปร่างแผ่นใบของพืชสกุล *Mangifera* แต่ละชนิด

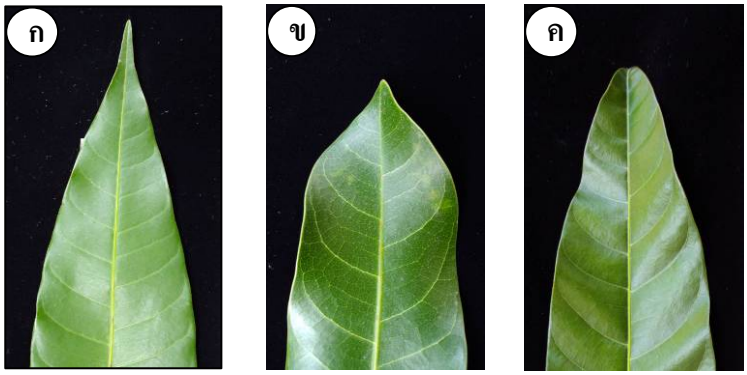
1.2 ลักษณะรูปร่างปลายใบ

จากการศึกษาลักษณะรูปร่างปลายใบของพืชสกุล *Mangifera* สามารถจำแนกความแตกต่างออกได้เป็น 3 แบบ (รูปที่ 5) แต่ละกลุ่มมีการกระจายตัวของตัวอย่างแต่ละชนิด ดังนี้

แบบที่ 1 ปลายใบแบบปลายแหลม (Acute) (รูปที่ 5ก) พบในกลุ่มตัวอย่างมะมุด 2 ตัวอย่าง มะม่วงปาน มะม่วงป่า และมะม่วงคัน ชนิดละ 1 ตัวอย่าง พบในกลุ่มตัวอย่างมะม่วง จำนวน 16 ตัวอย่าง ได้แก่ มะม่วงเบา มะม่วงแก้มแดง มะม่วงเขียวเสวย มะม่วงแอปเปิล มะม่วง นาทับ และมะม่วงแก้ว พบในกินนิง และมะม่วงกะล่อน ชนิดละ 3 ตัวอย่าง มะม่วงกล้วย 4 ตัวอย่าง และพบในตัวอย่างที่ไม่ทราบชนิด คือ มะม่วงเพาะไก่ ม่วงมุด มุดม่วง และมะม่วงคร้า รวมจำนวน 10 ตัวอย่าง

แบบที่ 2 ปลายใบแบบเรียวแหลม (Acuminate) (รูปที่ 5ข) พบในมะม่วง 3 ตัวอย่าง กลุ่มตัวอย่างมะม่วงคัน 9 ตัวอย่าง และในมะม่วงกล้วยกับแปบ ชนิดละ 1 ตัวอย่าง

แบบที่ 3 ปลายใบแบบเว้าตื้น (Retuse) (รูปที่ 5ค) พบในกลุ่มตัวอย่างมะมุด 6 ตัวอย่าง มะม่วงปาน 2 ตัวอย่าง มะม่วง และมะม่วงกล้วย ชนิดละ 1 ตัวอย่าง และกลุ่มตัวอย่างที่ไม่ทราบชนิด จำนวน 5 ตัวอย่าง



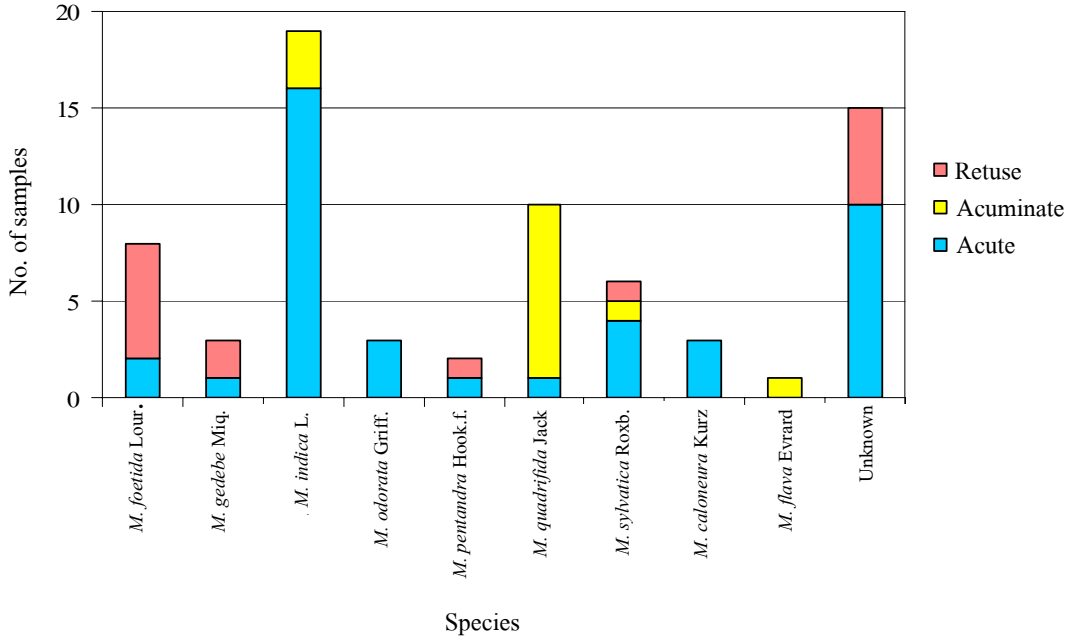
รูปที่ 5 ลักษณะรูปร่างปลายใบ

(ก) ปลายใบแหลม (Acute)

(ข) ปลายใบเรียวแหลม (Acuminate)

(ค) ปลายใบเว้าตื้น (Retuse)

เมื่อพิจารณาถึงความหลากหลายของลักษณะปลายใบในแต่ละชนิด สามารถพบลักษณะปลายใบแบบแหลมในทุกตัวอย่างของกินนิง มะม่วงกะล่อน และพบในส่วนใหญ่ของกลุ่มตัวอย่างมะม่วง และมะม่วงกล้วย สำหรับมะม่วงคันเกือบทุกตัวอย่างมีลักษณะปลายใบแบบเรียวแหลม ขณะที่มะมุด มะม่วงปาน มะม่วงป่า และกลุ่มที่ไม่ทราบชนิด มีทั้งลักษณะปลายใบแบบแหลม และเว้าตื้นปะปนกัน (รูปที่ 6)



รูปที่ 6 แผนภูมิแท่งแสดงความหลากหลายของลักษณะปลายใบของพืชสกุล *Mangifera* แต่ละชนิด

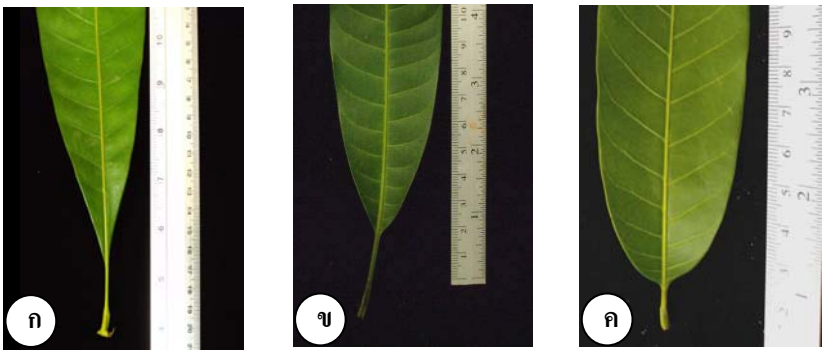
1.3 ลักษณะรูปร่างโคนใบ

ลักษณะรูปร่างโคนใบ สามารถแยกความแตกต่างได้เป็น 3 แบบ (รูปที่ 7) โดยแต่ละชนิดมีความหลากหลายและกระจายตัวอยู่ในกลุ่มต่างๆ ดังรูปที่ 8

แบบที่ 1 ลักษณะโคนใบแบบสอบเรียว (Acuminate) (รูปที่ 7ก) พบในกลุ่มตัวอย่างมะม่วง มะม่วงปาน และมะม่วงคัน ชนิดละ 1 ตัวอย่าง และมะม่วงป่า 2 ตัวอย่าง

แบบที่ 2 ลักษณะโคนใบแบบแหลม (Acute) (รูปที่ 7ข) พบในกลุ่มตัวอย่างมะมุด และม่วงคันชนิดละ 5 ตัวอย่าง มะม่วงปาน มะม่วงกล้วย กินนิง และแปบ ชนิดละ 1 ตัวอย่าง มะม่วงกะล่อน 3 ตัวอย่าง พบในกลุ่มตัวอย่างมะม่วงเบา มะม่วงเขียวเสวย และมะม่วงแก้ว รวมทั้งหมด 10 ตัวอย่าง และพบในกลุ่มตัวอย่างที่ไม่ทราบชนิด ได้แก่ ม่วงมุด มุดม่วง มะม่วงคร้า จำนวน 7 ตัวอย่าง

แบบที่ 3 ลักษณะโคนใบแบบมน (Obtuse) (รูปที่ 7ค) พบในกลุ่มตัวอย่างมะมุด 3 ตัวอย่าง มะม่วงปาน 1 ตัวอย่าง กินนิง 2 ตัวอย่าง มะม่วงคัน 4 ตัวอย่าง มะม่วงกล้วย 5 ตัวอย่าง พบในกลุ่มตัวอย่างมะม่วง และตัวอย่างที่ไม่ทราบชนิด ชนิดละ 8 ตัวอย่าง

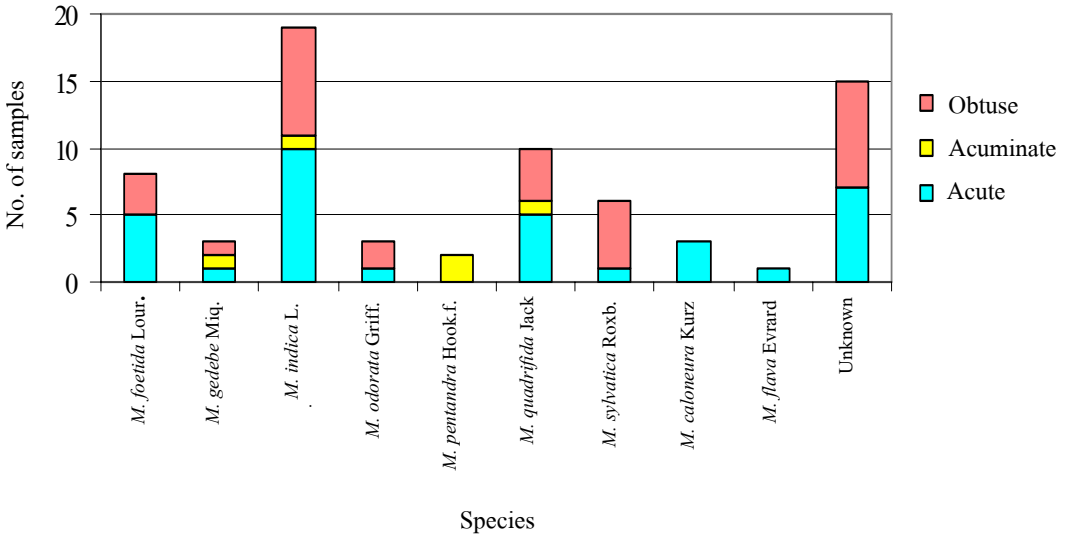


รูปที่ 7 ลักษณะรูปร่างโคนใบ

(ก) โคนใบสอบเรียว (Acuminate)

(ข) โคนใบแหลม (Acute)

(ค) โคนใบมน (Obtuse)



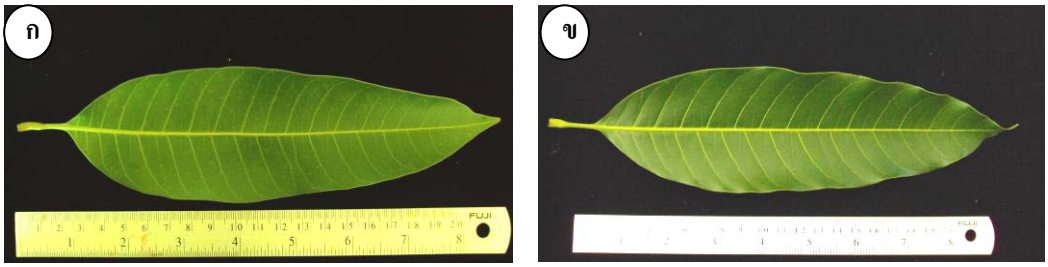
รูปที่ 8 แผนภูมิแท่งแสดงความหลากหลายของลักษณะโคนใบของพืชสกุล *Mangifera* แต่ละชนิด

1.4 ลักษณะขอบใบ

ลักษณะขอบใบ สามารถแยกความแตกต่างออกได้เป็น 2 แบบ (รูปที่ 9) ซึ่งแต่ละแบบมีลักษณะขอบใบปะปนกัน ยกเว้นกินนิง และมะม่วงกะล่อน พบลักษณะขอบใบแบบขอบเรียบเพียงอย่างเดียว (รูปที่ 10) ดังนี้

แบบที่ 1 ลักษณะแบบขอบเรียบ (Entire) (รูปที่ 9ก) พบในกลุ่มตัวอย่างมะมุด 4 ตัวอย่าง มะม่วงปาน 2 ตัวอย่าง มะม่วง 14 ตัวอย่าง กินนิง และมะม่วงกะล่อนชนิดละ 3 ตัวอย่าง มะม่วงป่า และมะม่วงคันชนิดละ 1 ตัวอย่าง มะม่วงกล้วย 5 ตัวอย่าง และมะม่วงที่ไม่ทราบชนิด ได้แก่ ม่วงมุด มะม่วงคร้า และปิหลิ้ง จำนวน 8 ตัวอย่าง

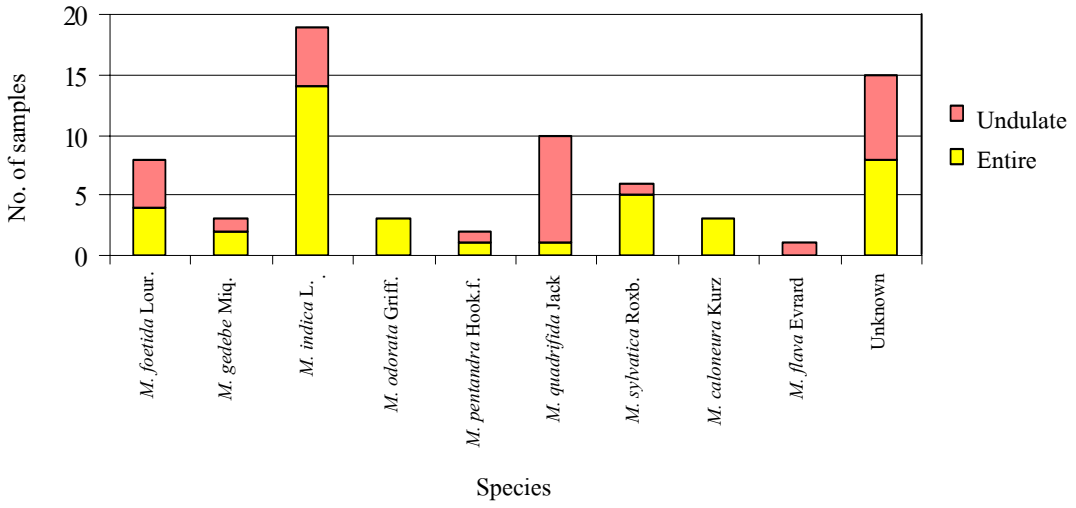
แบบที่ 2 ลักษณะแบบขอบหยักเป็นคลื่น (Undulate) (รูปที่ 9ข) พบในกลุ่มตัวอย่างมะมุด 4 ตัวอย่าง กลุ่มมะม่วง 5 ตัวอย่าง มะม่วงคัน 9 ตัวอย่าง มะม่วงปาน มะม่วงป่า มะม่วงกล้วย และแปบ ชนิดละ 1 ตัวอย่าง และกลุ่มตัวอย่างที่ไม่ทราบชนิด 7 ตัวอย่าง



รูปที่ 9 ลักษณะขอบใบ

(ก) ขอบใบเรียบ (Entire)

(ข) ขอบใบหยักเป็นคลื่น (Undulate)



รูปที่ 10 แผนภูมิแท่งแสดงความหลากหลายของลักษณะขอบใบของพืชสกุล *Mangifera* แต่ละชนิด

1.5 ลักษณะผล และเนื้อผล

ลักษณะผล เป็นลักษณะที่สามารถใช้แยกความแตกต่างระหว่างกลุ่มประชากรของพืชสกุล *Mangifera* ได้ชัดเจนกว่าลักษณะอื่นๆ พบความแตกต่างของลักษณะผล และเนื้อผลแม้ในชนิดเดียวกัน ดังนี้

1. มะม่วง (*M. indica* L.) (รูปที่ 11ก) พบว่า ประชากรในกลุ่มมะม่วงมีความหลากหลายของลักษณะผลมากกว่าชนิดอื่น โดยลักษณะของผลขึ้นอยู่กับแต่ละพันธุ์ ในการศึกษาครั้งนี้มี 6 พันธุ์ ได้แก่ มะม่วงแก้มแดง (ก-1) มะม่วงเบา (ก-2) มะม่วงเขียวเสวย (ก-3) มะม่วงนาทับ (ก-4) มะม่วงแอปเปิ้ล (ก-5) และมะม่วงแก้ว (ก-6) บางชนิดมีลักษณะที่สังเกตได้ค่อนข้างชัดเจน เช่น มะม่วงแอปเปิล คือลักษณะผลค่อนข้างกลมคล้ายผลแอปเปิล เนื้อผลแน่น ไม่มีเสี้ยน

2. มะมุด (*M. foetida* Lour.) (รูปที่ 11ข) ผลขนาดกลาง-ใหญ่ มีความหลากหลายของทรงผล เช่น ทรงกลม รูปไข่ เป็นต้น นอกจากนี้บริเวณผิวของผลมีจุดสีน้ำตาล และเนื้อผลมีเสี้ยน

3. มะม่วงกล้วย (*M. sylvatica* Roxb.) (รูปที่ 11ค) ผลทรงไข่กลับ เปลือกบาง เนื้อผลไม่มีเสี้ยน ผลสุกหวานมาก

4. กินนิง (*M. odorata* Griff.) (รูปที่ 11ง) มีลักษณะทรงผลรูปขอบขนาน ผิวมีจุดสีน้ำตาล เนื้อผลสุกเป็นสีเหลือง มีเสี้ยนน้อย กลิ่นคล้ายมะมุด

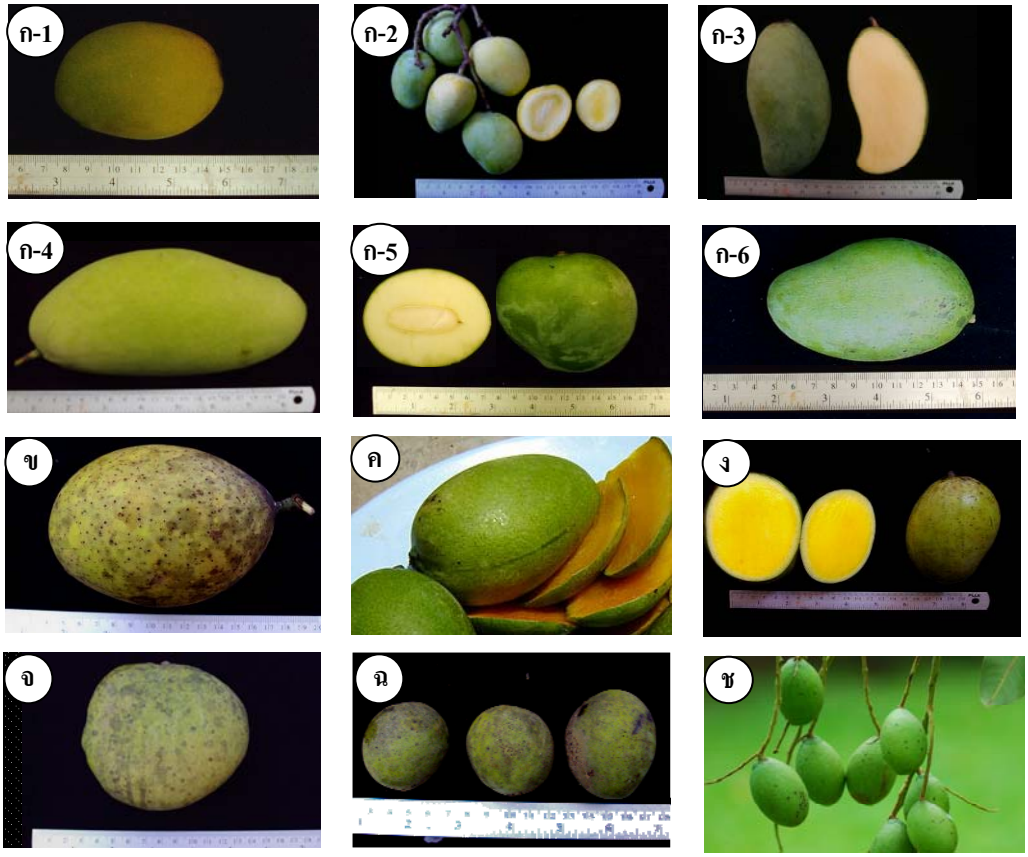
5. มะม่วงปาน (*M. gedebe* Miq.) (รูปที่ 11จ) มีลักษณะประจำพันธุ์ชัดเจน คือ ผลทรงกลมแบน สีเขียวอมเหลือง เนื้อผลแข็ง และเป็นเสี้ยนมาก

6. มะม่วงคัน (*M. quadrifida* Jack) (รูปที่ 11ฉ) ผลทรงกลมมีขนาดเล็ก เนื้อผลเป็นเสี้ยน

7. มะม่วงกะล่อน (*M. caloneura* Kurz) (รูปที่ 11ช) ผลทรงรีผลแก่สีเหลืองอมเขียว

8. แปบ (*M. flave* Evrard) ผลทรงกลมแบนคล้ายมะม่วงปาน แต่แบนกว่า เนื้อผลเป็นเสี้ยน

9. มะม่วงป่า (*M. pentandra* Hook.f.) ผลรูปทรงรี เนื้อผลบางมีเสี้ยนน้อย



รูปที่ 11 ตัวอย่างลักษณะผลพืชสกุล *Mangifera* ชนิดต่างๆ

(ก1-ก6) มะม่วง (*M. indica* L.)

(ข) มะมุด (*M. foetida* Lour.)

(ค) มะม่วงกล้วย (*M. sylvatica* Roxb.)

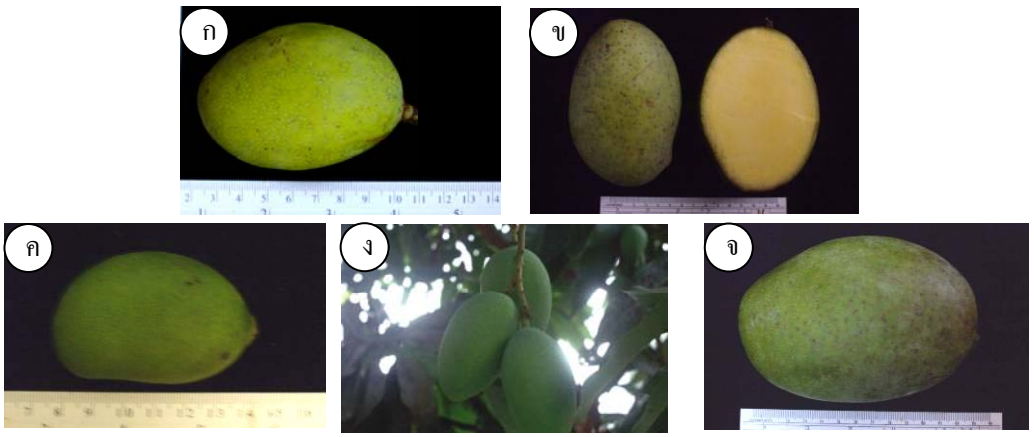
(ง) กินนิง (*M. odorata* Griff.)

(จ) มะม่วงปาน (*M. gedebe* Miq.)

(ฉ) มะม่วงคัน (*M. quadrifida* Jack)

(ช) มะม่วงกะล่อน (*M. caloneura* Kurz)

นอกจากนี้ยังมีอีก 15 ตัวอย่าง ที่ไม่สามารถระบุชนิดได้แต่มีชื่อเรียกในท้องถิ่น ได้แก่ ม่วงมุด (รูปที่ 12ก) ในภาพ ผลยังไม่แก่เต็มที่จึงมีสีเขียวอ่อน และมีขนาดเล็ก เมื่อสุกเปลี่ยนเป็นสีเหลือง และมีขนาดผลใหญ่ขึ้น เนื้อผลไม่มีเสี้ยน รสชาติหวาน มุดม่วง (รูปที่ 12ข) ทรงผลรูปขอบขนาน ผิวมีจุดสีน้ำตาลคล้ายมะมุด เนื้อผลแน่นไม่มีเสี้ยน มะม่วงคร้า (รูปที่ 12ค) ทรงผลรูปไข่กลับ บริเวณขั้วผลมีจุก เนื้อผลมีเสี้ยนน้อย รสชาติเปรี้ยว มะม่วงเพาะไก่ (รูปที่ 12ง) ทรงผลค่อนข้างกลม และแบน เนื้อผลหนา และสำหรับปีหลิ้ง (รูปที่ 12จ) ผลขนาดใหญ่ ทรงกระบอก มีจุดสีน้ำตาล มีกลิ่นแรงคล้ายกลิ่นมะมุด เนื้อผลมีเสี้ยนน้อย รสชาติหวานอมเปรี้ยว



รูปที่ 12 ตัวอย่างลักษณะผลประชากรพืชสกุล *Mangifera* ที่ไม่ทราบชนิด

(ก) ม่วงมุด

(ข) มุดม่วง

(ค) มะม่วงคร้า

(ง) มะม่วงเพาะไก่

(จ) ปีหลิ้ง

2. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมพืชสกุล *Mangifera* ในภาคใต้ โดยอาศัยเทคนิคอาร์เอพีดี

2.1 การสกัดดีเอ็นเอ และการตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอ

ผลจากการสกัดดีเอ็นเอจากใบพืชสกุล *Mangifera* โดยการบดตัวอย่างร่วมกับสารละลาย CTAB บัฟเฟอร์ พบว่า สามารถสกัดดีเอ็นเอได้ครั้งละประมาณ 2-3 ไมโครกรัมต่อ 200 มิลลิกรัมน้ำหนักใบสด ดีเอ็นเอที่ได้มีคุณภาพดีเพียงพอสำหรับการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์

2.2 การคัดเลือกไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างตัวแทนพืชสกุล *Mangifera* แต่ละชนิดโดยปฏิกิริยาพีซีอาร์

ทำการทดสอบเบื้องต้นกับไพรเมอร์จำนวน 53 ไพรเมอร์ ที่เคยมีผู้ศึกษามาก่อน โดยใช้ตัวอย่างพืชสกุล *Mangifera* จำนวน 5 ชนิด คือมะม่วงคัน มะม่วงเบา มะมุด ชนิดละ 2 ตัวอย่าง มะม่วงปาน และมะม่วงกล้วย ชนิดละ 1 ตัวอย่าง จากการทดลองพบว่า มีไพรเมอร์ที่สามารถแยกความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอ จำนวน 39 ไพรเมอร์ ให้แถบดีเอ็นเอที่เหมือนกัน จำนวน 3 ไพรเมอร์ ไพรเมอร์ที่ไม่ให้แถบดีเอ็นเอเลย 2 ไพรเมอร์ และให้แถบดีเอ็นเอไม่ชัดเจน จำนวน 9 ไพรเมอร์ จากจำนวนไพรเมอร์ที่ให้ความแตกต่างจำนวน 39 ไพรเมอร์ คัดเลือกไพรเมอร์ที่ให้ผลชัดเจนจำนวน 18 ไพรเมอร์ นำมาทดสอบเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอภายในกลุ่มตัวอย่าง จำนวน 36 ตัวอย่าง คือ มะมุด จำนวน 5 ตัวอย่าง มะม่วงคัน จำนวน 6 ตัวอย่าง มะม่วงเบา จำนวน 4 ตัวอย่าง มะม่วงปาน มะม่วงแก้มแดง มะม่วงกล้วย มะม่วงกะล่อน และม่วงมุด จำนวนชนิดละ 3 ตัวอย่าง รวมทั้งมะม่วงเพาะไก่ กินนิง มะม่วงป่า ชนิดละ 2 ตัวอย่าง

จากไพรเมอร์ที่ให้ความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอจำนวน 18 ไพรเมอร์ คัดเลือกไพรเมอร์ที่ให้ความแตกต่างชัดเจนที่สุด จำนวน 12 ไพรเมอร์ คือ OPA-01, OPA-02, OPA-08, OPB-06, OPB-18, OPB-20, OPE-14, OPP-08, OPQ-14, OPAL-20, OPAN-12 และ BC210 นำไพรเมอร์ดังกล่าวมาทดสอบเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอกับตัวอย่างพืชสกุล *Mangifera* จำนวน 70 ต้น ที่ทราบชนิดจำนวน 55 ต้น (9 ชนิด) และที่ไม่ทราบชนิดอีก 15 ต้น จากการทดสอบพบว่า ให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 168 แถบ เฉลี่ย 14 แถบต่อไพรเมอร์ เป็นแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดแตกต่างกัน 160 แถบ (95.24%) เฉลี่ย 13.33 แถบต่อไพรเมอร์ และอีก 8 แถบ (4.76%) เป็นแถบดีเอ็นเอที่ไม่มีความแตกต่างกัน ไพรเมอร์ OPP-08 เป็นไพรเมอร์ที่ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอสูงสุด จำนวน 17 แถบ ไพรเมอร์ OPB-18 และ OPE-14 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอน้อยที่สุด จำนวน 11 แถบ ดังตารางที่ 2

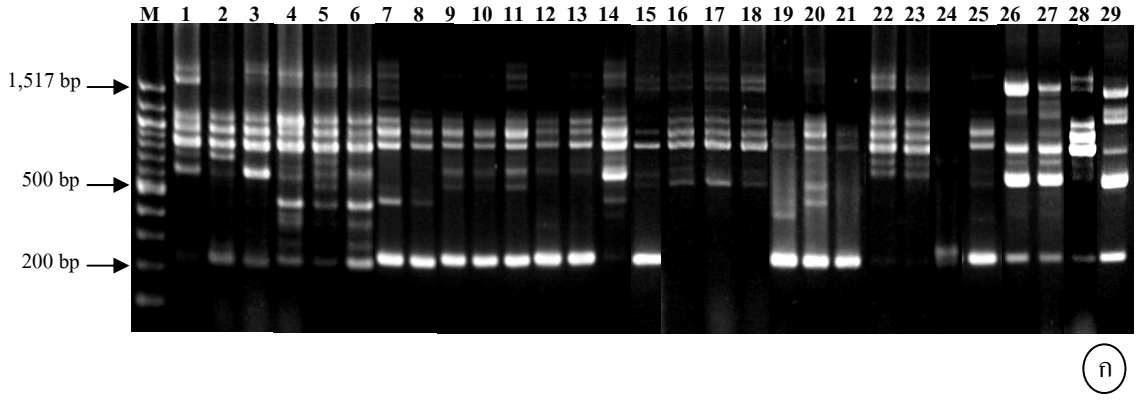
ตารางที่ 2 ชนิดของไพรเมอร์ ลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกัน และจำนวนดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน จากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดีในพืชสกุล *Mangifera*

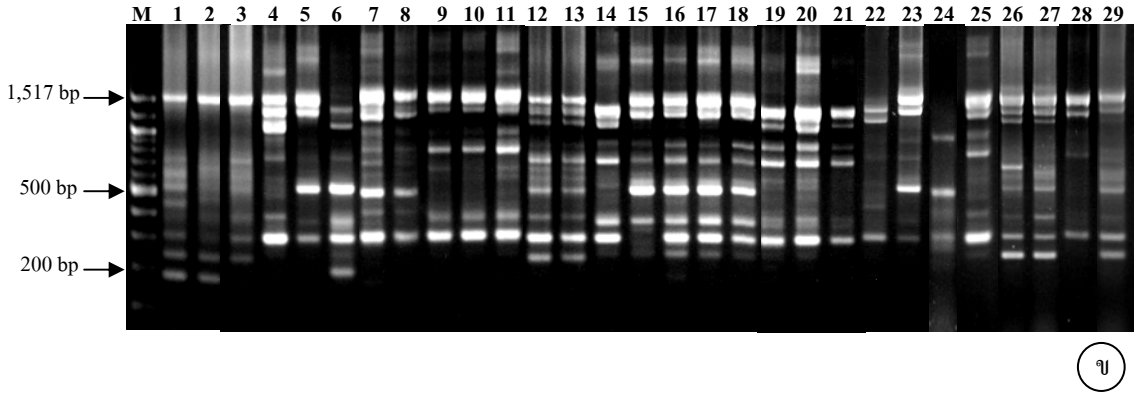
Primer	Sequences (5'-3')	Amplified fragments	Monomorphic fragments	Polymorphic fragments
OPA-01	CAGGCCCTTC	12	0	12
OPA-02	TGCCGAGCTG	14	1	13
OPA-08	GTGACGTAGG	15	0	15
OPB-06	TGCTCTGCCC	16	1	15
OPB-18	CCACAGCAGT	11	0	11
OPB-20	GGACCCTTAC	15	2	13
OPE-14	TGCGGCTGAG	11	1	10
OPP-08	GTCCCGTTAC	17	0	17
OPQ-14	GGACGCTTCA	12	0	12
OPAL-20	AGGAGTCGGA	16	1	15
OPAN-12	AACGGCGGTC	15	1	14
BC210	GCACCGAGAG	14	1	13
Total		168	8	160

2.3 การวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอจากการทำอาร์เอพีดี-พีซีอาร์

ผลการวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่ได้จากการทำอาร์เอพีดี-พีซีอาร์กับไพรเมอร์จำนวน 12 ไพรเมอร์ ที่ได้จากการคัดเลือกกับตัวแทนกลุ่มพืชสกุล *Mangifera* จากการวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอ โดยใช้ไพรเมอร์ OPA-01 ให้แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกันทั้งหมด 12 แถบ (รูปที่ 13ก) ไพรเมอร์ OPA-02 ให้จำนวนแถบทั้งหมด 14 แถบ เป็นแถบที่ให้ความแตกต่างจำนวน 13 แถบ (รูปที่ 13ข) ไพรเมอร์ OPA-08 ให้จำนวนแถบที่มีความแตกต่างทั้งหมด จำนวน 15 แถบ (รูปที่ 14ก) ไพรเมอร์ OPB-06 ให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 16 แถบ ให้แถบที่มีความแตกต่างจำนวน 15 แถบ (รูปที่ 14ข) ไพรเมอร์ OPB-18 ให้แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างทั้งหมดจำนวน 11 ไพรเมอร์ (รูปที่ 14ค) ไพรเมอร์ OPB-20 ให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 15 แถบ เป็นแถบที่มีความแตกต่างจำนวน 13 แถบ (รูปที่ 15ก) ไพรเมอร์ OPE-14 ให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 11 แถบ เป็นแถบที่ให้ความแตกต่างจำนวน 10 แถบ (รูปที่ 15ข) ไพรเมอร์ OPP-08 ให้แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างทั้งหมดจำนวน

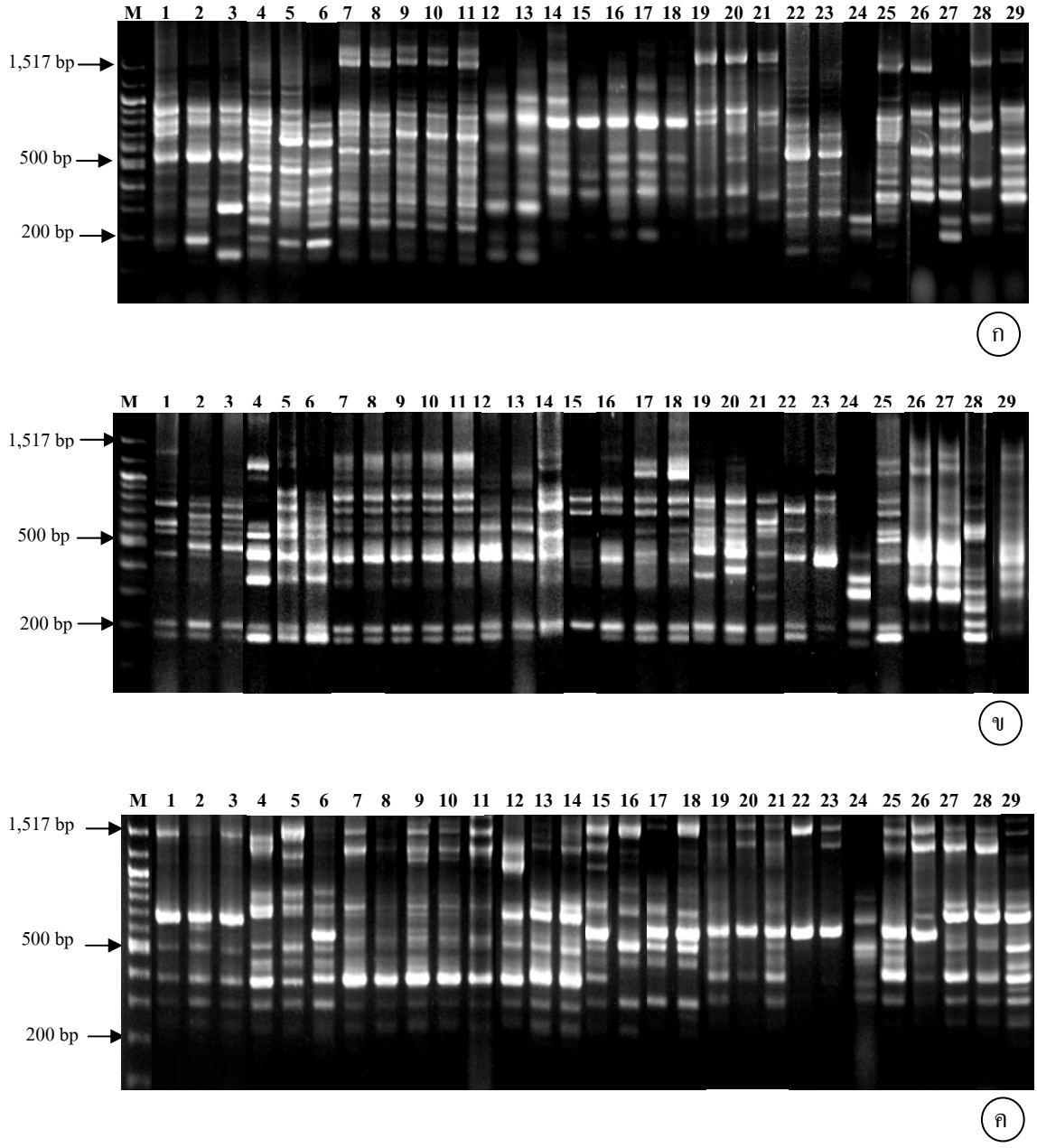
17 แถบ (รูปที่ 15ค) ไพรเมอร์ OPQ-14 ให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 12 แถบ เป็นแถบที่มีความแตกต่างทั้งหมด (รูปที่ 16ก) ไพรเมอร์ OPAL-20 ให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมดจำนวน 16 แถบ เป็นแถบที่ให้ความแตกต่าง 15 แถบ (รูปที่ 16ข) ไพรเมอร์ OPAN-12 ให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 15 แถบ เป็นแถบที่ให้ความแตกต่างจำนวน 14 แถบ (รูปที่ 16ค) ไพรเมอร์ BC210 ให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมดจำนวน 14 ไพรเมอร์ เป็นแถบที่ให้ความแตกต่าง 13 แถบ (รูปที่ 17)





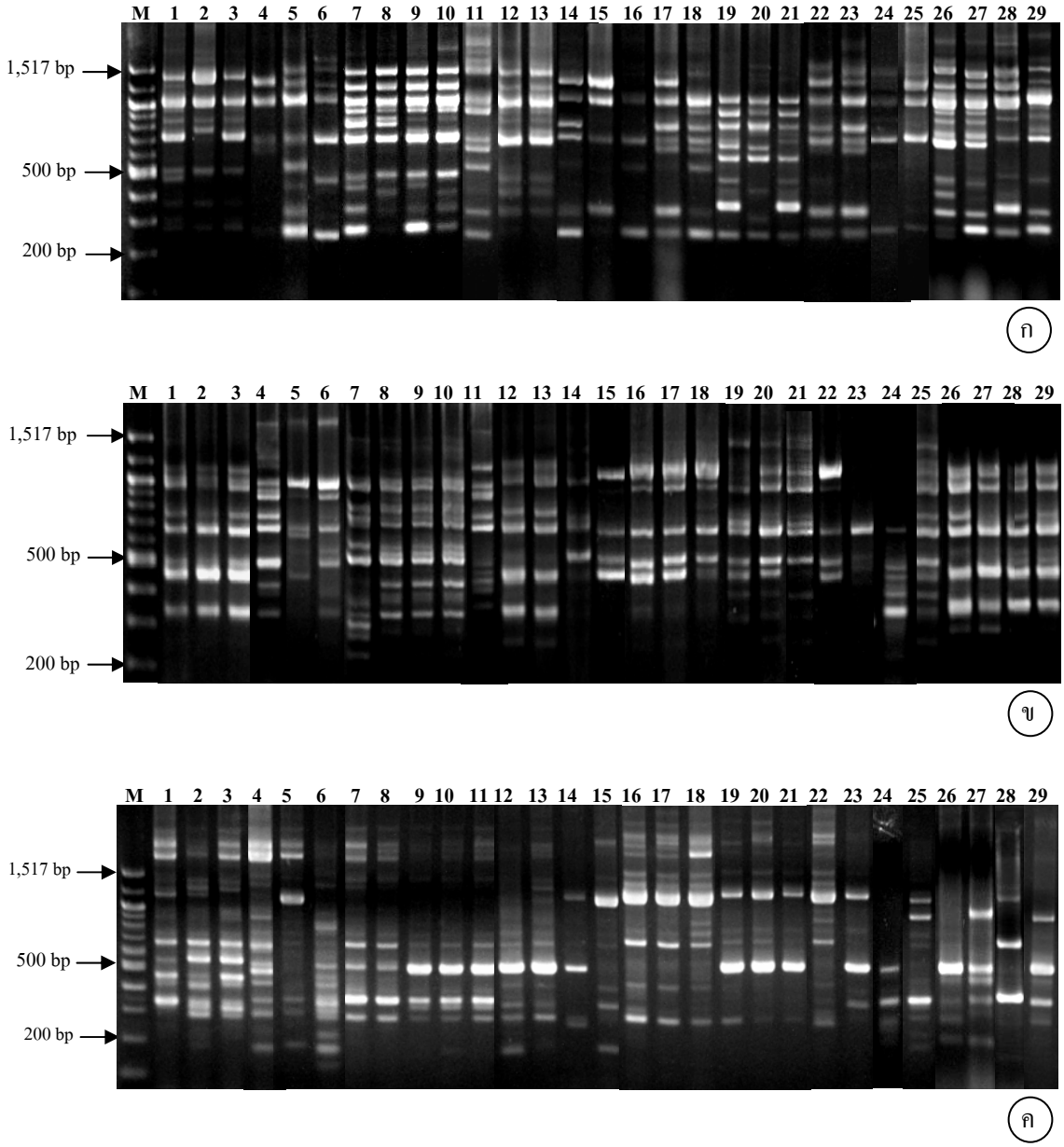
รูปที่ 13 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างพืชสกุล *Mangifera* จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPA-01 (ก) และ OPA-02 (ข)

Lane 1-3: *M. foetida* Lour.
Lane 4-6: *M. gedebe* Miq.
Lane 7-11: *M. indica* L.
Lane 12-13: *M. odorata* Griff.
Lane 14-15: *M. pentandra* Hook.f.
Lane 16-18: *M. quadrifida* Jack
Lane 19-21: *M. sylvatica* Roxb.
Lane 22-23: *M. caloneura* Kurz
Lane 24: *M. flava* Evrard
Lane 25-29: Unknown species
M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



รูปที่ 14 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างพืชสกุล *Mangifera* จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPA-08 (ก) OPB-06 (ข) และ OPB-18 (ค)

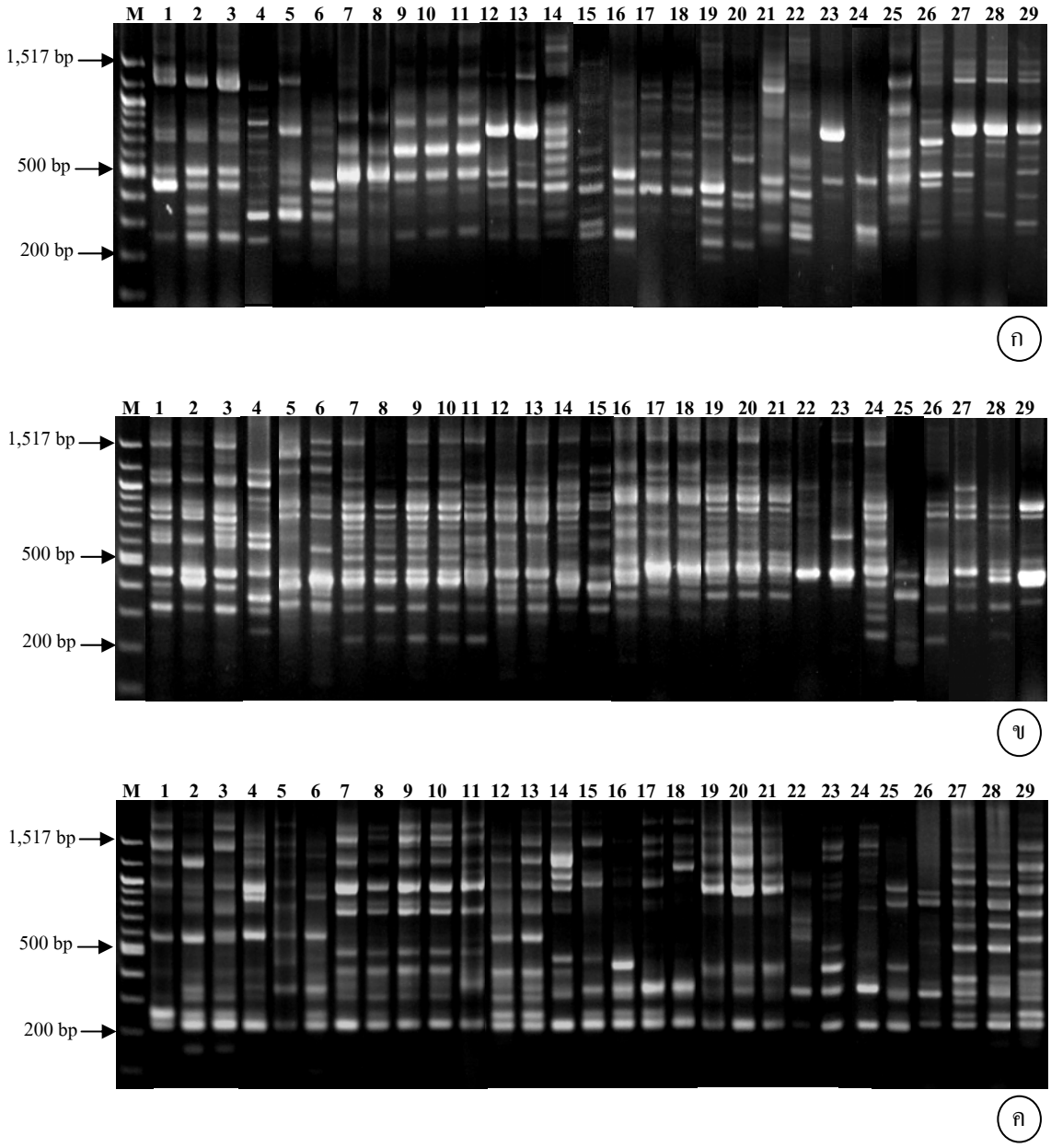
Lane 1-3: *M. foetida* Lour.
Lane 4-6: *M. gedebe* Miq.
Lane 7-11: *M. indica* L.
Lane 12-13: *M. odorata* Griff.
Lane 14-15: *M. pentandra* Hook.f.
Lane 16-18: *M. quadrifida* Jack
Lane 19-21: *M. sylvatica* Roxb.
Lane 22-23: *M. caloneura* Kurz
Lane 24: *M. flava* Evrard
Lane 25-29: Unknown species
M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



รูปที่ 15 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างพืชสกุล *Mangifera* จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPB-20 (ก) OPE-14 (ข) และ OPP-08 (ค)

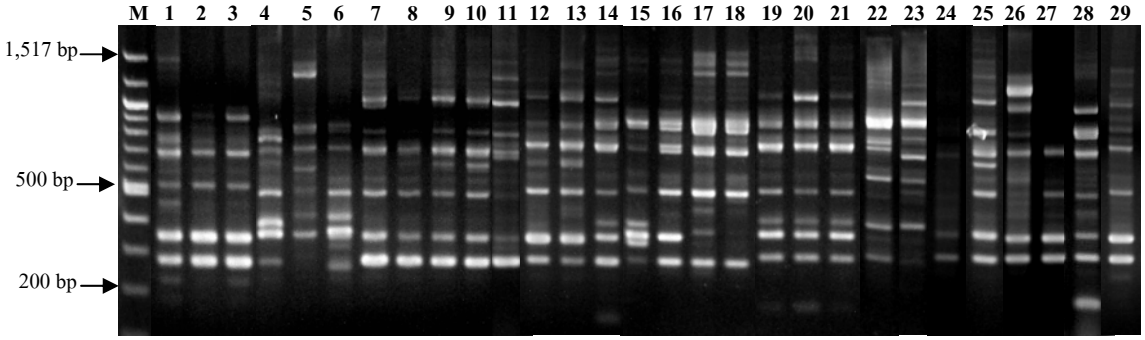
Lane 1-3: *M. foetida* Lour.
Lane 4-6: *M. gedebe* Miq.
Lane 7-11: *M. indica* L.
Lane 12-13: *M. odorata* Griff.
Lane 14-15: *M. pentandra* Hook.f.
Lane 16-18: *M. quadrifida* Jack
Lane 19-21: *M. sylvatica* Roxb.
Lane 22-23: *M. caloneura* Kurz
Lane 24: *M. flava* Evrard
Lane 25-29: Unknown species

M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



รูปที่ 16 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างพืชสกุล *Mangifera* จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPQ-14 (ก) OPAL-20 (ข) และ OPAN-12 (ค)

Lane 1-3: *M. foetida* Lour.
Lane 4-6: *M. gedebe* Miq.
Lane 7-11: *M. indica* L.
Lane 12-13: *M. odorata* Griff.
Lane 14-15: *M. pentandra* Hook.f.
Lane 16-18: *M. quadrifida* Jack
Lane 19-21: *M. sylvatica* Roxb.
Lane 22-23: *M. caloneura* Kurz
Lane 24: *M. flava* Evrard
Lane 25-29: Unknown species
M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



รูปที่ 17 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างพืชสกุล *Mangifera* จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ BC210

Lane 1-3: *M. foetida* Lour.
Lane 4-6: *M. gedebe* Miq.
Lane 7-11: *M. indica* L.
Lane 12-13: *M. odorata* Griff.
Lane 14-15: *M. pentandra* Hook.f.
Lane 16-18: *M. quadrifida* Jack
Lane 19-21: *M. sylvatica* Roxb.
Lane 22-23: *M. caloneura* Kurz
Lane 24: *M. flava* Evrard
Lane 25-29: Unknown species
M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส

2.4 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมระหว่างพืชสกุล *Mangifera* โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี

จากการศึกษาความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Mangifera* ทั้ง 9 ชนิด จำนวน 55 ต้น ได้แก่ *M. flava* Evrard, *M. foetida* Lour., *M. gedebe* Miq., *M. indica* L., *M. odorata* Griff., *M. pentandra* Hook.f., *M. quadrifida* Jack, *M. sylvatica* Roxb., *M. caloneura* Kurz และไม่ทราบชนิดอีก 15 ต้น ทดสอบกับไพรเมอร์ 12 ไพรเมอร์ เมื่อพิจารณาแถบดีเอ็นเอ พบว่าแถบดีเอ็นเอบางตำแหน่งมีแนวโน้มที่จะเป็นเอกลักษณ์กับประชากร เช่น แถบดีเอ็นเอขนาด 150 คู่เบส จากไพรเมอร์ OPA-08 ปรากฏเฉพาะใน *M. foetida* Lour., *M. odorata* Griff. และในประชากรกลุ่ม unknown พบใน unknown 2 จำนวน 2 ตัวอย่าง คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เท่ากับ 75, 100 และ13.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และผลจากเดนโดรแกรม พบว่าทั้ง 3 ชนิดจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน และแถบดีเอ็นเอขนาด 480 คู่เบส จากไพรเมอร์ OPE-14 พบแถบดีเอ็นเอดังกล่าวเฉพาะใน *M. gedebe* Miq., *M. indica* L. และ *M. sylvatica* Roxb. คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เท่ากับ 33.33, 89.47 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏในเกือบทุกชนิด เช่น แถบดีเอ็นเอจากไพรเมอร์ OPA-01 ขนาด 850 คู่เบส แถบดีเอ็นเอขนาด 480 และ 550 คู่เบส จากไพรเมอร์ OPA-08 ปรากฏใน

ตัวอย่าง *Mangifera* ทุกชนิดในเปอร์เซ็นต์สูง ยกเว้นใน *M. flava* Evrard และแถบดีเอ็นเอขนาด 750 คู่เบส จากไพรเมอร์ OPE-14 พบแถบดีเอ็นเอดังกล่าวในทุกชนิด ยกเว้น *M. pentandra* Hook.f. นอกจากนี้ยังพบแถบดีเอ็นเอขนาด 320 คู่เบส จากไพรเมอร์ OPAL-20 พบแถบดังกล่าวในทุกตัวอย่าง ยกเว้นตัวอย่างในกลุ่ม *M. caloneura* Kurz เป็นต้น (ตารางที่ 3)

เมื่อนำแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่าง (polymorphism) จากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดีทั้งหมด 160 แถบ มาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมด้วยการวิเคราะห์ UPGMA cluster analysis หาค่า Similarity coefficient ของ Jaccard (1908) กับโปรแกรม NTSYS version 2.1 (Rohlf, 2002) ผลการวิเคราะห์หาค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมีค่าอยู่ในช่วง 0.423-0.970 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.623 โดยพบว่า มะม่วงแก้มแดงซึ่งเก็บจากอำเภอห้วยยอด จังหวัดตรัง มีความใกล้ชิดกับมะม่วงแก้วที่เก็บจากอำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลามากที่สุด (0.970) และมะม่วงแก้วจากอำเภอสทิงพระ จังหวัดสงขลา มีความห่างไกลกับมะม่วงคันที่เก็บมาจากอำเภอรัตภูมิ จังหวัดสงขลามากที่สุด (0.423) เมื่อพิจารณาค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเฉลี่ยระหว่างชนิด พบว่า มะม่วงป่า (*M. pentandra* Hook.f.) มีความใกล้ชิดกับมะม่วงคัน (*M. quadrifida* Jack) มากที่สุด โดยมีค่าดัชนีความใกล้ชิดเฉลี่ย 0.657 และชนิดที่มีความห่างไกลกันมากที่สุด คือ มะม่วงปาน (*M. gedebe* Miq.) และแปบ (*M. flava* Evrard) โดยมีค่าดัชนีความใกล้ชิดเฉลี่ยเท่ากับ 0.544 สำหรับกลุ่มตัวอย่างที่ไม่ทราบชนิด คือ มะม่วงเพาะไก่ ม่วงมุด มุดม่วง มะม่วงคร้า และปีหลิ้ง ในกลุ่มนี้คู่ที่มีความใกล้ชิดกันมากที่สุดคือ มุดม่วง และปีหลิ้ง โดยมีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเฉลี่ยเท่ากับ 0.736 (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์แถบดีเอ็นเอที่ปรากฏในประชากรพืชสกุล *Mangifera* จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี

Primer	Fragment size (bp)	DNA fragment (%)									
		M. foetida	*M. gedebe*	*M. indica*	*M. odorata*	*M. pentandra*	*M. quadrifida*	*M. sylvatica*	*M. caloneura*	*M. flava*	Unknown
OPA-01	300	12.50	66.67	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00	0.00
	850	100.00	100.00	89.74	66.67	100.00	90.00	100.00	100.00	0.00	100.00
OPA-02	300	50.00	100.00	73.68	100.00	100.00	70.00	100.00	66.67	0.00	80.00
	350	0.00	0.00	31.58	0.00	0.00	10.00	0.00	0.00	100.00	0.00
OPA-08	150	75.00	0.00	0.00	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	13.33
	480	75.00	100.00	52.63	66.67	100.00	80.00	83.33	100.00	0.00	73.33
	550	100.00	100.00	84.21	66.67	50.00	80.00	66.67	100.00	0.00	86.67
OPB-06	120	0.00	0.00	31.58	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	33.33
OPB-18	390	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	30.00	100.00	33.33	100.00	86.67
	1200	0.00	66.67	100.00	100.00	100.00	60.00	100.00	66.67	0.00	73.33
OPB-20	270	0.00	33.33	52.63	33.33	50.00	90.00	100.00	100.00	100.00	73.33
	520	0.00	0.00	26.32	0.00	0.00	30.00	50.00	33.33	100.00	0.00
OPE-14	480	0.00	33.33	89.47	0.00	0.00	0.00	100.00	0.00	0.00	0.00
	750	87.50	33.33	89.47	100.00	0.00	20.00	100.00	33.33	100.00	60.00

ตารางที่ 3 (ต่อ)

Primer	Fragment size (bp)	DNA fragment (%)									
		M. foetida	*M. gedebe*	*M. indica*	*M. odorata*	*M. pentandra*	*M. quadrifida*	*M. sylvatica*	*M. caloneura*	*M. flava*	Unknown
OPP-08	550	100.00	33.33	78.95	100.00	0.00	80.00	66.67	66.67	0.00	26.67
OPAL-20	320	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	70.00	100.00	0.00	100.00	53.33
	400	50.00	100.00	84.21	66.67	100.00	80.00	66.67	33.33	0.00	33.33
OPAN-12	600	100.00	100.00	26.32	66.67	0.00	20.00	16.67	33.33	100.00	40.00
BC210	400	0.00	100.00	21.05	0.00	100.00	20.00	66.67	33.33	100.00	6.67
	780	37.50	100.00	94.74	100.00	100.00	70.00	66.67	100.00	100.00	86.67

หมายเหตุ

จำนวนตัวอย่าง *M. foetida* Lour. 8 ตัวอย่าง
จำนวนตัวอย่าง *M. gedebe* Miq. 3 ตัวอย่าง
จำนวนตัวอย่าง *M. indica* L. 19 ตัวอย่าง
จำนวนตัวอย่าง *M. odorata* Griff. 3 ตัวอย่าง
จำนวนตัวอย่าง *M. pentandra* Hook.f. 2 ตัวอย่าง
จำนวนตัวอย่าง *M. quadrifida* Jack 10 ตัวอย่าง
จำนวนตัวอย่าง *M. sylvatica* Roxb. 6 ตัวอย่าง
จำนวนตัวอย่าง *M. caloneura* Kurz 3 ตัวอย่าง
จำนวนตัวอย่าง *M. flava* Evrard 1 ตัวอย่าง
จำนวนตัวอย่าง Unknown 15 ตัวอย่าง

ตารางที่ 4 ค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเฉลี่ยของพืชสกุล *Mangifera* แต่ละชนิด

มะมุด														
มะม่วงปาน	0.640													
มะม่วง	0.609	0.609												
กินนิง	0.655	0.638	0.638											
มะม่วงป่า	0.579	0.624	0.604	0.622										
มะม่วงคัน	0.600	0.595	0.584	0.589	0.657									
มะม่วงกล้วย	0.598	0.602	0.650	0.625	0.648	0.603								
มะม่วงกะล่อน	0.588	0.571	0.572	0.581	0.650	0.656	0.611							
แปบ	0.580	0.544	0.568	0.581	0.581	0.597	0.576	0.585						
มะม่วงเพาะไก่	0.609	0.653	0.660	0.651	0.622	0.620	0.638	0.579	0.566					
ม่วงมุด	0.665	0.642	0.646	0.715	0.615	0.603	0.634	0.587	0.617	0.635				
มุดม่วง	0.622	0.586	0.620	0.673	0.576	0.571	0.572	0.545	0.593	0.605	0.728			
มะม่วงคร้า	0.595	0.562	0.607	0.591	0.598	0.592	0.612	0.617	0.583	0.610	0.652	0.653		
ปีหลิ้ง	0.632	0.599	0.607	0.681	0.595	0.536	0.587	0.524	0.571	0.589	0.720	0.736	0.613	
	มะมุด	มะม่วงปาน	มะม่วง	กินนิง	มะม่วงป่า	มะม่วงคัน	มะม่วงกล้วย	มะม่วงกะล่อน	แปบ	มะม่วงเพาะไก่	ม่วงมุด	มุดม่วง	มะม่วงคร้า	ปีหลิ้ง

และจากเดนโดรแกรม สามารถจัดกลุ่มตามความสัมพันธ์ และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมออกได้เป็น 5 กลุ่ม (รูปที่ 18) โดยในกลุ่มประชากรมะมุด กินนิง และมะม่วงปาน จัดอยู่ในกลุ่ม 1 เพียงกลุ่มเดียว สำหรับชนิดอื่นมีกระจายตัวอยู่ในกลุ่มต่างๆ (รูปที่ 19) ดังนี้

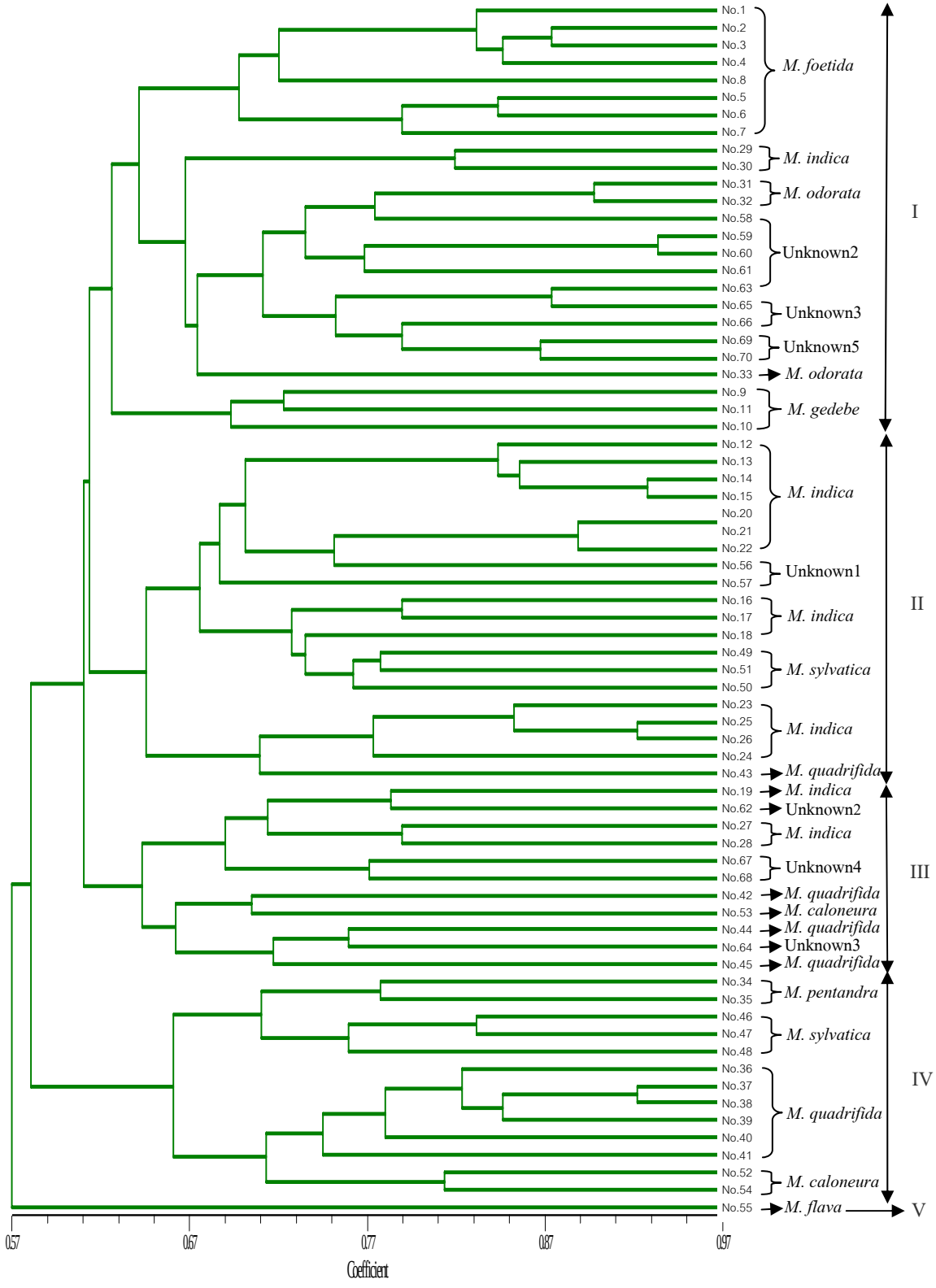
กลุ่มที่ 1 มี 25 ตัวอย่าง ประกอบด้วย มะมุด 8 ตัวอย่าง มะม่วงแอปเปิล 2 ตัวอย่าง กินนิง 3 ตัวอย่าง มะม่วงปาน 3 ตัวอย่าง ม่วงมุด 5 ตัวอย่าง มุดม่วง 2 ตัวอย่าง และปีหลิ้ง 2 ตัวอย่าง

กลุ่มที่ 2 มี 20 ตัวอย่าง ส่วนใหญ่เป็นกลุ่มตัวอย่างมะม่วง ได้แก่ มะม่วงเบา 7 ตัวอย่าง มะม่วงแก้มแดง 3 ตัวอย่าง มะม่วงเขียวเสวย และมะม่วงแก้วชนิดละ 2 ตัวอย่าง นอกจากนี้ยังมีมะม่วงเพาะไก่ 2 ตัวอย่าง มะม่วงกล้วย 3 ตัวอย่าง และมะม่วงคัน 1 ตัวอย่าง

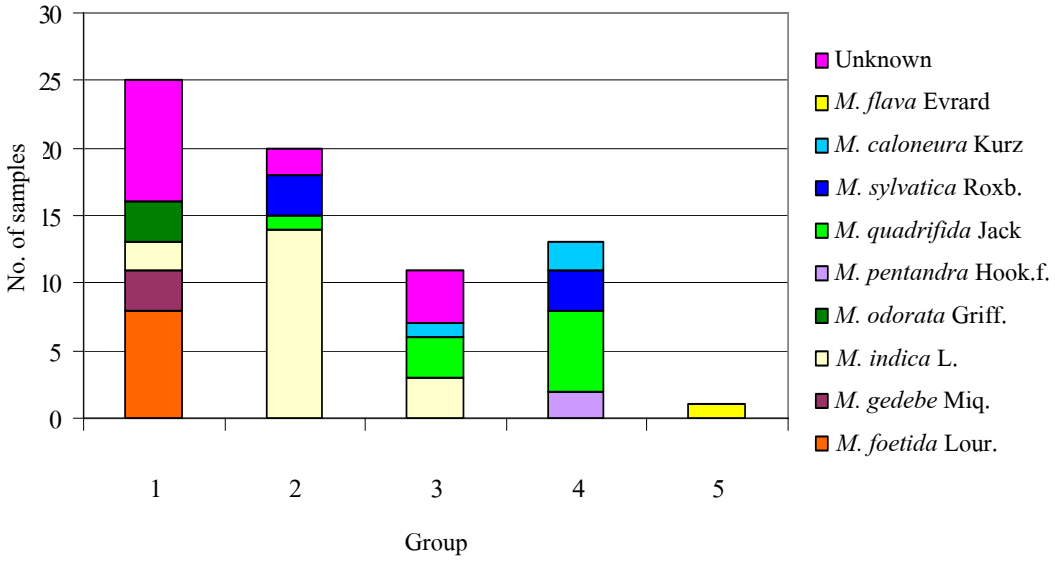
กลุ่มที่ 3 มี 11 ตัวอย่าง ประกอบด้วยตัวอย่างมะม่วง และมะม่วงคัน ชนิดละ 3 ตัวอย่าง มะม่วงคร้า 2 ตัวอย่าง มะม่วงกะล่อน ม่วงมุด และมุดม่วงชนิดละ 1 ตัวอย่าง

กลุ่มที่ 4 มี 13 ตัวอย่าง คือ มะม่วงกะล่อน และมะม่วงป่าชนิดละ 2 ตัวอย่าง มะม่วงกล้วย 3 ตัวอย่าง และมะม่วงคัน 6 ตัวอย่าง

กลุ่มที่ 5 มี 1 ตัวอย่าง คือ แปบ



รูปที่ 18 เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ของพืชสกุล *Mangifera* จำนวน 70 ตัวอย่าง จากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดีด้วยไพรเมอร์จำนวน 12 ไพรเมอร์



รูปที่ 19 แผนภูมิแท่งแสดงการกระจายตัวของประชากรในกลุ่มต่างๆ จากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดี

บทที่ 4

วิจารณ์

1. การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Mangifera* ในภาคใต้โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

เต็ม (2544) รายงานว่า พบพืชสกุล *Mangifera* ในประเทศไทย จำนวน 18 ชนิด ในขณะที่ Eiadthong และคณะ (2000a) ระบุจำนวนชนิดที่พบในประเทศไทย คือ 20 ชนิด และจากการศึกษาพืชสกุล *Mangifera* ในภาคใต้ครั้งนี้สามารถรวบรวมได้ 9 ชนิด จำนวน 70 ตัวอย่าง (ทราบชนิด 55 ตัวอย่าง และไม่ทราบชนิด 15 ตัวอย่าง) โดยบริเวณที่ทำการเก็บตัวอย่าง ได้แก่ จังหวัดชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช กระบี่ ตรัง พัทลุง สงขลา นราธิวาส และยะลา ในเบื้องต้นบันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ ลักษณะรูปร่างแผ่นใบ ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 5 ลักษณะ พบรูปร่างแผ่นใบแบบขอบขนานเกือบทุกชนิด ยกเว้นมะม่วงกล้วย ลักษณะปลายใบ และโคนใบ แบ่งเป็น 3 ลักษณะ โดยแต่ละชนิดจะมีลักษณะต่างๆ ปะปนกัน ส่วนลักษณะขอบใบ แบ่งออกได้เป็น 2 ลักษณะ ซึ่งต่างจากรายงานของ Eiadthong และคณะ (2000a) ระบุว่าพืชสกุล *Mangifera* มีลักษณะขอบใบแบบเรียบเพียงแบบเดียว ไม่มีหูใบ รูปร่างใบมี 3 แบบ คือ ขอบขนาน รูปป้อมโคนใบ และรูปป้อมปลายใบ นอกจากนี้ยังรายงานอีกว่าลักษณะทางสัณฐานที่สามารถใช้แยกความแตกต่างของพืชสกุล *Mangifera* ได้ดีที่สุดน่าจะเป็นลักษณะผล สอดคล้องกับการศึกษาครั้งนี้จากลักษณะผลที่สามารถบันทึกได้จำนวน 7 ชนิด พบความแตกต่างระหว่างชนิดค่อนข้างชัด แต่ในชนิดเดียวกัน เช่น มะม่วง (*M. indica* L.) พบความหลากหลายของลักษณะผลมาก เป็นผลมาจากการผสมข้ามภายในชนิดเดียวกัน หรือระหว่างชนิด ทำให้เกิดพันธุ์ใหม่ที่มีลักษณะก้ำกึ่งกัน (Pandey, 1984) เฉพาะมะม่วงในประเทศไทยมีรายงานว่า พบประมาณ 200 พันธุ์ แต่ละพันธุ์ก็มีลักษณะผลแตกต่างกัน (Ukoskit, 2007) อย่างไรก็ตามการเรียกชื่อพันธุ์อาจมีความแตกต่างกันในแต่ละท้องถิ่น จากการศึกษาในครั้งนี้ไม่สามารถเก็บตัวอย่างผลของ มะม่วงป่า และมะม่วงแปบได้ เนื่องจากช่วงที่ทำการเก็บตัวอย่างไม่ตรงกับระยะที่พืชให้ผลผลิต และการเดินทางเข้าไปยังสถานที่ที่ต้นพืชขึ้นอยู่ค่อนข้างยาก แม้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาไม่สามารถใช้จำแนกพันธุ์หรือชนิดได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่ยังคงเป็นสิ่งจำเป็นเบื้องต้นในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Mangifera* (Iyer and Degani, 2009) เมื่อข้อมูลทางสัณฐานวิทยาไม่เพียงพอในการใช้

จำแนกความแตกต่างของพืชสกุล *Mangifera* จึงจำเป็นต้องนำเครื่องหมายโมเลกุลมาใช้ร่วมกัน เพื่อให้การจำแนกพันธุ์มีประสิทธิภาพ และแม่นยำขึ้น (Singh, 2009)

2. การศึกษาความหลากหลาย และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Mangifera* โดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี

การสกัดดีเอ็นพืชสกุล *Mangifera* ทั้ง 9 ชนิด จำนวน 70 ตัวอย่าง โดยใช้ใบพืชประมาณ 200 มิลลิกรัม ร่วมกับสารละลาย CTAB บัฟเฟอร์ ปริมาณ 700 ไมโครลิตร พบว่า ดีเอ็นเอที่ได้มีคุณภาพดี และมีปริมาณเพียงพอสำหรับนำไปใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยการทำ PCR ทั้งนี้ปริมาณ และคุณภาพดีเอ็นเอที่ได้ขึ้นอยู่กับระยะการเจริญเติบโตของใบพืชด้วย การใช้ใบอ่อนจนถึงใบเพสลาดจะให้ดีเอ็นเอที่มีลักษณะใส เมื่อนำดีเอ็นเอที่ได้ไปละลายด้วย TE บัฟเฟอร์ และตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอ พบว่ามีสูงถึง 80 นาโนกรัม เมื่อเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน (λDNA) และแถบดีเอ็นเอที่ได้มีความคมชัด สำหรับใบแก่จำเป็นต้องใช้ไนโตรเจนเหลวเพื่อช่วยให้เซลล์แตก แต่ดีเอ็นเอที่ได้ยังมีสิ่งเจือปน และส่วนของแป้งผสมอยู่ (Ravishankar *et al*., 2000) ในส่วนของใบมะมุดจำเป็นต้องใช้ใบอ่อนในการสกัดดีเอ็นเอ เนื่องจากแผ่นใบมีลักษณะหนากว่าชนิดอื่น โดยเฉพาะใบแก่ทำให้บดอยาก แม้ใบอ่อนจะยังมีลักษณะเป็นสีน้ำตาลเนื่องจากมีสาร phenolic compounds สูง (Prakash *et al*., 2002) แต่ก็ให้ปริมาณดีเอ็นเอมาก จึงจำเป็นต้องล้างดีเอ็นเอให้สะอาดด้วย 70% ethanol เพื่อให้ได้ดีเอ็นเอที่มีคุณภาพดี และเพียงพอสำหรับนำไปเพิ่มปริมาณด้วยการทำ PCR ต่อไป

การนำเทคนิคอาร์เอพีดีมาใช้เพื่อการวิเคราะห์ และศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Mangifera* จากการทดสอบเบื้องต้นด้วยไพรเมอร์จำนวน 15 ไพรเมอร์ ได้แก่ OPA-11 (Ravishankar *et al.,* 2000)OPA-01, OPA-20, OPB-01, OPB-18, OPC-11, OPC-12, OPC-20, OPD-01 และ OPD-07 (Kumar *et al.,* 2001) OPA-05 (Karihaloo *et al.,* 2003) OPD-02 (Faleiro *et al.,* 2004) OPA-07 (Rahman *et al.,* 2007) OPB-06 และ OPB-13 (Rajwana *et al.,* 2008) พบว่า มีเพียง 3 ไพรเมอร์ คือ OPA-01, OPB-06 และ OPB-18 ที่ให้ความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอสูง และชัดเจนจึงคัดเลือกไว้ และทดสอบเพิ่มอีก 38 ไพรเมอร์ เพื่อให้ได้ไพรเมอร์ที่มีความชัดเจนเพิ่มขึ้นรวมทั้งสิ้น 53 ไพรเมอร์ ผลจากการทดสอบเบื้องต้นสามารถคัดเลือกไพรเมอร์ที่ให้ความแตกต่าง และความชัดเจนของแถบดีเอ็นเอสูงจำนวน 12 ไพรเมอร์ จึงนำทั้ง 12 ไพรเมอร์มาทดสอบกับประชากรพืชสกุล *Mangifera* ทั้ง 70 ตัวอย่าง พบว่า ให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 168 แถบ เป็นแถบที่ให้ความแตกต่าง จำนวน 160 แถบ คิดเป็น 95.24% ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะหรือแยก

ความแตกต่างระหว่างพืชสกุล *Mangifera* แต่ละชนิดได้ เมื่อนำแถบดีเอ็นเอไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วย UPGMA cluster analysis หาค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรม (similarity coefficient) ของ Jaccard (1908) กับโปรแกรม NTSYS version 2.1 (Rohlf, 2002) และสร้างเดนโดรแกรม พบว่าสามารถแยกพืชสกุล *Mangifera* ทั้ง 70 ตัวอย่างที่ศึกษาในครั้งนี้ได้เป็น 5 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย มะมุด มะม่วง มะม่วงปาน กินนิง ม่วงมุด มุดม่วง และปิหลิ้ง ซึ่งจากรายงานของ Ding (1978) และ Teo และคณะ(2002) ระบุว่า กินนิงเป็นลูกผสมระหว่างมะมุดกับมะม่วง โดยมีมะมุดเป็นต้นแม่ เนื่องจากเกสรตัวผู้ในมะมุดเป็นหมันจึงทำให้เกสรตัวผู้จากมะม่วงต้นที่อยู่ใกล้เคียง ปลิวมาตกบนยอดเกสรตัวเมียของมะมุดเกิดเป็นลูกผสม (Yonemori *et al.,* 2002) และจากการงานของ วิชาญ (2547) ผลของกินนิงมีรูปทรงเหมือนมะมุด แต่เนื้อผลมีเสี้ยนน้อย และมีใบเหมือนมะม่วง แต่ดอก และช่อดอกสีแดงเหมือนมะมุด สอดคล้องกับผลการศึกษาในครั้งนี้ที่พบว่า กินนิงจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับมะมุด ส่วนมุดม่วง หรือที่ชาวบ้านบางพื้นที่เรียกว่า มะมุดนอก มะม่วงใน อาจจะเป็นกลุ่มเดียวกับกินนิงเพราะลักษณะจะคล้ายคลึงกัน ผลจากการศึกษา พบว่า กินนิงมีความใกล้ชิดกับมุดม่วงมากที่สุด ตามด้วยมะมุด และมะม่วงโดยมีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเฉลี่ย 0.673 0.655 และ 0.638 ตามลำดับ ในขณะที่อีกชนิดหนึ่งชาวบ้านเรียกว่า ม่วงมุด สันนิษฐานว่าน่าจะเป็นลูกผสมระหว่างมะม่วงกับมะมุดเช่นเดียวกัน ซึ่งไม่พบรายงานการศึกษาเกี่ยวกับมะม่วงชนิดนี้มาก่อน ผลของม่วงมุดคล้ายคลึงกับมะม่วงมากกว่ามะมุด เมื่อสุกรสชาติหวานมาก และไม่มีเสี้ยน แต่ใบมีขนาดใหญ่ และหนากว่ามะม่วงทั่วไป นอกจากนี้ยังมีอีกชนิดหนึ่งที่แต่ชาวบ้านในพื้นที่อำเภอศรีนครินทร์ จังหวัดพัทลุง เรียกว่า ปิหลิ้ง มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายกับมะมุด เช่น ลักษณะใบ และกลิ่น สำหรับดอกจะมีสีแดง ส่วนเนื้อผลแน่น และไม่มีเสี้ยน รสชาติหวานอมเปรี้ยว เมื่อเปรียบเทียบจากค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเฉลี่ย พบว่ามีความใกล้ชิดกับมุดม่วงมากที่สุด (0.736) สำหรับมะม่วงปาน (*M. gedebe* Miq.) วิชาญ (2547) ระบุว่า เป็นมะม่วงที่มีผลแบนคล้ายตลับ ขึ้นได้ดีในดินเปรี้ยว และมีน้ำขังตลอดทั้งปี สอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ เพราะตัวอย่างมะม่วงปานที่ศึกษาเก็บมาจากบริเวณที่อยู่ติดกับแหล่งน้ำทั้งหมด Yonemori และคณะ (2002) รายงานว่ามะม่วงปานอาจจะมีบรรพบุรุษร่วมกับแปบ (*M. flava* Evrard) แต่จากผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่า มะม่วงปาน และแปบมีความห่างไกลทางพันธุกรรมมากที่สุด โดยมีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเฉลี่ย 0.544

สำหรับพืชสกุล *Mangifera* สามารถแบ่งลักษณะการเกิดเอ็มบริโอออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ monoembryonic ส่วนใหญ่จะเป็นพันธุ์เขตร้อนที่เรียกว่า Indian type กลุ่มนี้เมื่อนำไปเพาะจะให้ต้นกล้าเพียงต้นเดียวที่เรียกว่าต้นกล้าไซโกติก (zygotic seedling) เกิดจากการผสมระหว่างไข่ และละอองเกสร ตัวอย่างในกลุ่มนี้เช่น *M. foetida* Lour., *M. gedebe* Miq. และ

M. pentandra Hook.f. เป็นต้น (Eiadthong *et al*., 2000a) อีกกลุ่มคือ polyembryonic เมื่อนำเมล็ดไปเพาะจะให้ต้นกล้ามากกว่า 1 ต้น แต่มีเพียง 1 ต้น เท่านั้นที่เป็นต้นกล้าไซโกติกส่วนที่เหลือเป็นต้นกล้านิวเซลล่า (nucellar seedling) ซึ่งเป็นต้นกล้าที่พัฒนามาจากเนื้อเยื่อนิวเซลล่า ต้นกล้าเหล่านี้จะมีจีโนไทป์เหมือนต้นแม่ทุกประการ กลุ่มนี้จะเป็นพันธุ์ในเขตร้อนที่เรียกว่า Southeast type (Ukoskit, 2007) ตัวอย่างเช่น *M. indica* L., *M. laurina* Blumb (Kostermans and Bompard, 1993) *M. odorata* Griff., *M. griffithii* Hook.f. (Ng, 1991) เป็นต้น ดังนั้นพืชสกุล *Mangifera* กลุ่ม Southeast type จึงมีความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำกว่ากลุ่ม Indian type ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Karihaloo และคณะ (2003) ที่ศึกษาในมะม่วง 29 พันธุ์ ในประเทศอินเดีย พบว่ามีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมในช่วง 0.318-0.750 โดยมีค่าเฉลี่ย 0.565 เทียบกับการศึกษาครั้งนี้ในกลุ่มมะม่วง (*M. indica* L.) พบว่ากระจายอยู่ในกลุ่มต่างๆ 3 กลุ่ม คือกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 แต่ตัวอย่างมะม่วงส่วนใหญ่ (จำนวน 14 ตัวอย่าง จากทั้งหมด 19 ตัวอย่าง) อยู่ในกลุ่มที่ 2 โดยมีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.476 – 0.970 เฉลี่ยเท่ากับ 0.665 เมื่อพิจารณา *Mangifera* แต่ละชนิด พบว่า มะม่วง หรือ *M. indica* L. มีความใกล้ชิดกับมะม่วงเพาะไก่ และมะม่วงกล้วย มากกว่าชนิดอื่น มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเฉลี่ยเท่ากับ 0.660 และ 0.650 ตามลำดับ สอดคล้องกับรายงานของ Nishiyama และคณะ (2006) ที่รายงานว่า มะม่วง และมะม่วงกล้วยมีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมสูง และทั้งสองชนิดอาจจะมีบรรพบุรุษร่วมกัน (Eiadthong *et al.,* 2000a; Mukherjee, 1972) ผลมะม่วงกล้วยมีรสชาติหวาน และฉ่ำกว่ามะม่วงแต่ผลมีขนาดเล็กกว่า มะม่วงชนิดนี้น่าจะใช้เป็นฐานพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์ได้ดี (Eiadthong *et al.,* 2000b)

ในกลุ่มที่ 3 ประกอบด้วยหลายชนิด คือ มะม่วง ม่วงมุด มุดม่วง มะม่วงคร้า มะม่วงคัน และมะม่วงกะล่อน สำหรับมะม่วงคร้า ชาวบ้านให้ข้อมูลว่า เป็นพันธุ์พื้นเมืองที่มีความต้านทานต่อหนอนเจาะลำต้นที่เกิดจากด้วงหนวดยาว โดยตัวแม่วางไข่ตามรอยแตกของเปลือกต้นมะม่วง แล้วตัวหนอนจะกัดกินเนื้อไม้เข้าไปในต้นหรือกิ่ง ถ้าระบาดมากๆ ต้นหรือกิ่งจะตายได้ ชาวบ้านส่วนใหญ่จึงนิยมนำมาใช้ทำต้นตอสำหรับมะม่วงพันธุ์ดี แต่ไม่พบข้อมูลในการจำแนกว่าจัดอยู่ในชนิดใด สำหรับมะม่วงคัน พบความแปรปรวนค่อนข้างมาก โดยพบว่ากระจายตัวอยู่ในกลุ่มต่างๆ 3 กลุ่ม (กลุ่ม 2, 3 และ 4) มะม่วงคันเป็นพันธุ์พืชพื้นเมืองของภาคใต้ และการขยายพันธุ์ส่วนใหญ่มักใช้เมล็ด ดังนั้นจึงมีความผันแปรทางพันธุกรรมค่อนข้างมาก ลักษณะผลมีขนาดเล็ก ผลกลม เนื้อมีเสี้ยนมาก ผลสุกรสชาติเปรี้ยว หากรับประทานผลที่ยังไม่สุกจะก่อเกิดอาการคันปาก ดังนั้นพันธุ์นี้จึงเป็นพันธุ์ที่ไม่นิยมปลูกแต่เป็นพันธุ์ที่น่าจะใช้เป็นต้นตอได้ดี ในอนาคตหากไม่มีการอนุรักษ์พันธุ์อาจสูญพันธุ์ได้ นอกจากนี้ยังพบว่า มะม่วงคัน มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับมะม่วงป่ามากกว่าชนิดอื่น (ค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเฉลี่ยเท่ากับ 0.657) สำหรับกลุ่มที่ 4

ประกอบด้วยมะม่วงป่า มะม่วงกล้วย มะม่วงคัน และมะม่วงกะล่อน ซึ่งมะม่วงป่ามีความใกล้ชิดกับมะม่วงคัน และมะม่วงกะล่อนมากกว่าชนิดอื่น โดยมีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเฉลี่ย 0.657 และ 0.650 ตามลำดับ Kostermans และ Bompard (1993) รายงานว่ามะม่วงป่า และมะม่วงกะล่อน ถูกจัดไว้ใน section เดียวกัน คือ *Euanterae* ซึ่งอยู่คนละ section กับมะม่วง การแยก section ดังกล่าวนี้อาศัยจำนวนเกสรตัวผู้สมบูรณ์พันธุ์ (fertile stamen) โดยดอกพืชใน *Euanterae* มีเกสรตัวผู้ที่สมบูรณ์พันธุ์ 5 อัน ในขณะที่กลุ่มมะม่วงมีเกสรตัวผู้สมบูรณ์พันธุ์เพียง 1 อัน สำหรับกลุ่มสุดท้าย คือกลุ่มที่ 5 ประกอบด้วย *Mangifera* ชนิดเดียว คือ *M. flava* Evrard หรือแปบ ซึ่งมีรายงานว่า พบพืชชนิดนี้เฉพาะทางภาคใต้ของประเทศไทยเท่านั้น (Eiadthong *et al.,* 1999a) ลักษณะผลของแปบกลม และแบนคล้ายมะม่วงปาน (*M. gedebe* Miq.) แต่แบนกว่า และเนื้อผลมีเสี้ยนน่าเสียดายที่เก็บตัวอย่างพืชชนิดนี้ได้เพียง 1 ตัวอย่างเท่านั้น จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่า แปบมีความใกล้ชิดกับม่วงมุดมากที่สุดโดยมีดัชนีความใกล้ชิดเฉลี่ยเท่ากับ 0.617 แต่จากการศึกษาของ Eiadthong และคณะ (2000b) ศึกษาความสัมพันธ์ของพืชสกุล *Mangifera* ในประเทศไทยโดยใช้เครื่องหมาย AFLP พบว่า *M. flava* Evrard ถูกจัดกลุ่มอยู่ในกลุ่มเดียวกับ *M. pentandra* Hook.f. และ *M. caloneura* Kurz

เมื่อพิจารณาเฉพาะในกลุ่มมะม่วง (*M. indica* L.) จำนวน 19 ตัวอย่าง ที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ พบว่ามีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง คือมีดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.476 – 0.970 โดยคู่ที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมสูงที่สุดคือ มะม่วงเขียวเสวยกับมะม่วงแก้ว และคู่ที่มีความห่างไกลทางพันธุกรรมมากที่สุดคือ มะม่วงแก้วกับมะม่วงแอปเปิล โดยมีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเฉลี่ยเท่ากับ 0.801 และ 0.521 ตามลำดับ บางครั้งการนำเทคนิคทางด้านชีวโมเลกุลมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตร่วมกับลักษณะภายนอก ผลที่ได้อาจจะไม่สอดคล้องกัน เช่น จากการศึกษาของ Schnell และ Knight (1993) ที่ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Mangifera* จำนวน 9 ชนิด พบว่า ผลจากการใช้ลักษณะของดอกในการจำแนกความแตกต่างของแต่ละชนิด ให้ผลไม่ตรงกับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี ทั้งนี้อาจเป็นเพราะลักษณะสัณฐานบางลักษณะเป็นลักษณะปริมาณ มียีนที่เกี่ยวข้องหลายคู่ หรือหลายตำแหน่ง ดังนั้นจึงอาจต้องใช้วิธีอื่น เช่น การวิเคราะห์ QTL (Quantitative Trait Locus) หาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะเหล่านั้นกับเครื่องหมายโมเลกุลที่เกี่ยวข้องทั้งหมด

จากการศึกษาครั้งนี้สามารถใช้ข้อมูลจากค่าความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเพื่อบอกถึงความเข้ากันได้หรือไม่ได้ของต้นตอกับกิ่งพันธุ์ดีหากค่าดัชนีความใกล้ชิดเข้าใกล้ 1.000 โอกาสการเข้ากันได้ และอัตราการรอดของต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีก็จะสูง ถึงแม้ว่าพืชสกุล *Mangifera* บาง

ชนิดแม้จะไม่มีความสำคัญทางด้านเศรษฐกิจ แต่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในด้านอื่นได้ เช่น มะม่วงปานมีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้เป็นต้นตอสำหรับมะม่วงพันธุ์ดีที่ปลูกในพื้นซึ่งมีน้ำท่วมขังหรือในสภาพที่เป็นดินกรด (Ram, 1997) กินนิง และมะมุดน่าจะนำไปใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์มะม่วง เนื่องจากมีกลิ่นหอม และทนต่อการเข้าทำลายของโรคแอนแทรคโนส (Eiadthong *et al.,* 2000b) นอกจากนี้จากการศึกษาของ ถวิล (2548) รายงานว่า มะม่วงกะล่อนเหมาะสมที่จะใช้เป็นต้นตอสำหรับมะม่วงแก้ว โดยมีอัตรา การรอด และเจริญดีกว่า มะม่วงชันและมะม่วงคัน เป็นต้น ดังนั้นจึงมีความจำเป็นในการเก็บรักษาพันธุ์พืชเหล่านี้ไว้ไม่ให้สูญหาย และนำลักษณะที่เป็นประโยชน์ดังกล่าวมาใช้เพื่อพัฒนาหรือการปรับปรุงพันธุ์มะม่วงในอนาคตต่อไป

บทที่ 5

สรุป

การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Mangifera* พื้นเมืองในภาคใต้ของประเทศไทยโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี

1. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ใช้แยกความแตกต่างระหว่างชนิดของพืชสกุล *Mangifera* ได้ชัดเจนในระดับหนึ่ง คือ ลักษณะผล สำหรับลักษณะรูปร่างใบ ปลายใบ โคนใบ และขอบใบ ไม่สามารถใช้แยกความแตกต่างระหว่างชนิดได้ เนื่องจากมีความแปรปรวน และมีการกระจายตัวในแต่ละกลุ่ม

2. จากการคัดเลือกไพรเมอร์ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดีโดยทดสอบกับไพรเมอร์จำนวน 53 ไพรเมอร์ พบว่ามี 12 ไพรเมอร์ที่สามารถให้ความแตกต่างของแถบที่เอ็นเอได้ชัดเจน ได้แก่ OPA-01, OPA-02, OPA-08, OPB-06, OPB-18, OPB-20, OPE-14, OPP-08, OPQ-14, OPAL-20, OPAN-12 และ BC210 โดยไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอสูงสุดคือ ไพรเมอร์ OPP-08

3. การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Mangifera* จำนวนทั้งหมด 70 ต้น (ทราบชนิด 55 ต้น และไม่ทราบชนิดอีก 15 ต้น) โดยวิเคราะห์จากแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการทดสอบด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะกับพืชสกุล *Mangifera* ชนิดใดชนิดหนึ่ง จากเดนโดรแกรมสามารถจัดกลุ่มออกได้เป็น 5 กลุ่ม และมีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.423-0.970 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.623 ชนิดที่มีความใกล้ชิดกันมากที่สุด คือ มะม่วงป่า (*M. pentandra* Hook.f.) กับมะม่วงคัน (*M. quadrifida* Jack) และชนิดที่มีความห่างไกลกันมากที่สุด คือ มะม่วงปาน (*M. gedebe* Miq.) และมะม่วงแปบ (*M. flava* Evrard) โดยมีค่าดัชนีความใกล้ชิดเฉลี่ย 0.657 และ 0.544 ตามลำดับ

4. สำหรับพืชสกุล *Mangifera* ที่ไม่ทราบชนิดจำนวน 5 ชนิด (15 ตัวอย่าง) คือ มะม่วงเพาะไก่ ม่วงมุด มุดม่วง มะม่วงคร้า และปีหลิ้ง ถูกจัดอยู่ในกลุ่มต่างๆ ดังนี้ คือ ม่วงมุด มุดม่วง และปีหลิ้ง จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับมะมุด (*M. foetida* Lour.) สำหรับมะม่วงเพาะไก่ และมะม่วงคร้า จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับมะม่วง (*M. indica* L.)

เอกสารอ้างอิง

กรกัญญา อักษรเนียม และวรรณภา เสนาดี. 2551. มะม่วงส่งออกโอกาสและอุปสรรค. ว. เคหการเกษตร 32: 78-101.

กรมวิชาการเกษตร. 2547. ฐานข้อมูลเชื้อพันธุ์พืช: มะม่วง 2. กรุงเทพฯ: ชุมนุม สหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.

ชุมพล คุณวาสี. 2551. สัณฐานวิทยาเบื้องต้นในการระบุชื่อวงศ์พืชดอกสามัญ. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

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

ถวิล ชนะบุญ. 2548. การศึกษาศักยภาพมะม่วงพื้นเมืองเพื่อใช้เป็นต้นตอในการผลิตมะม่วงแก้ว. ว. วิทยาศาสตร์เกษตร 36 (พิเศษ): 320-321.

ไซมอน และคณะ. 2543. ต้นไม้เมืองเหนือ. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วิจิตร วังใน. 2529. พันธุ์มะม่วง. *ใน* มะม่วง. หน้า 1-16. กรุงเทพฯ: ศรีสมบัติการพิมพ์.

วิชาญ เอียดทอง. 2547. เครือญาติมะม่วง และฐานพันธุกรรมมะม่วงในเมืองไทย. ว. บันทึกเครือข่ายพืชปลูกพื้นเมืองไทย 1: 4-7.

สุจิตรา จางตระกูล. 2551. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอและไอโซเอนไซม์ยีนเพื่อการประเมินสถานภาพแหล่งทรัพยากรทางพันธุกรรมป่าไม้. กลุ่มงานพันธุกรรมไม้ป่าและเทคโนโลยีชีวภาพ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม.

สุรินทร์ ปียะโชคณากุล. 2545. การทำแผนที่ยีนโดยเทคนิคอาร์เอฟแอลพี. *ใน* พันธุวิศวกรรมเบื้องต้น. หน้า 219-238. กรุงเทพฯ: ภาควิชาพันธุศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุรินทร์ ปียะโชคณากุล. 2552. เครื่องหมายดีเอ็นเอ. *ใน* เครื่องหมายดีเอ็นเอ: จากพื้นฐานสู่การประยุกต์. หน้า 64-92. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Brandis, D. 1978. Indian trees: An account of trees, shrubs, woody climbers, bamboos, and palms indigenous or commonly cultivated in the British Indian Empire, second edition. Delhi: Periodical Experts Book Agency.

Cordeiro, M.C.R., Pinto, A.C.Q., Ramos, V.H.V., Faleiro, F.G. and Fraga, L.M.S. 2006. RAPD marker utilization and other parameters in the determination of mango hybrid genitors. Brazilian FruitYearbook, Brasília 28: 164-167.

Ding, H. 1978. *Mangifera*. Flora Malesiana 8: 423-440.

Iyer, C.P.A. and Degani, C. 2009. Classical breeding and genetics. *In* The Mango: Botany, Production and Uses. (ed. R.E. Litz). pp. 49-68. Wallingford: CAB International.

Eiadthong, W., Yonemori, K., Sugiura, A., Utsunomiya, N. and Subhadrabandhu, S. 1999a. Analysis of phylogenetic relationships in *Mangifera* by restriction site analysis of an amplified region of cpDNA. Scientia Horticulturae 80: 145-155.

Eiadthong, W., Yonemori, K., Sugiura, A., Utsunomiya, N. and Subhadrabandhu, S. 1999b. Identification of mango cultivars of Thailand and evaluation of their genetic variation using the amplified fragments by simple sequence repeat (SSR) anchored primers. Scientia Horticulturae 82: 57–66.

Eiadthong, W., Yonemori, K. and Sugiura, A. 2000a. Records of *Mangifera* species in Thailand. Acta Horticulturae 509: 231-223.

Eiadthong, W., Yonemori, K., Kansaki, S., Sugiura, A., Utsunomiya, N. and Subhadrabandhu, S. 2000b. Amplified fragments length polymorphism analysis for studying genetic relationships among *Mangifera* species in Thailand. Journal of the American Society for Horticulturae Scientia 125: 160-164.

Faleiro, F.G., Cordeiro, M.C.R., Pinto, A.C.Q., Rossetto, C.J., Bellon, G., Andrade, S.R.M., Fraga, L.M.S. and Souza, V.A.B. 2004. Genetic variability of mango (*Mangifera indica* L.) cultivars used in the Embrapa Cerrados breeding program using RAPD markers. Planaltina Embrapa Cerrados 118: 7.

He, X.H., Guo, Y.Z., Li, Y.R. and Ou, S.J. 2007. Assessment of the genetic relationship and diversity of mango and its relatives by cplSSR marker. Agricultural Sciences in China 6: 137- 142.

Honsho, C., Nishiyama, K., Eiadthong, W. and Yonemori, K. 2005. Isolation and characterization of new microsatellites markers in mango (*Mangifera indica*). Molecular Ecology Notes 5: 152–154.

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

Karihaloo, J.L.**,** Dwivedi, Y.K.**,** Archak, S. and Gaikwad, A.B. 2003. Analysis of genetic diversity of Indian mango cultivars using RAPD markers. Journal of Horticultural Science and Biotechnology 78: 285-289.

Kashkush, K., Jinggui, F., Tomer, E., Hillel, J. and Lavi, U. 2001. Cultivar identification and genetic map of mango (*Mangifera indica*). Euphytica 122: 129–136.

Kostermans, A.J.G.H. and Bompard, J.M. 1993. The Mangoes: Their Botany, Nomenclature, Horticulture and Utilization. International Board for Plant Genetic Resources. London: Academic Press.

Kumar, N.V.H., Narayanaswamy, P., Prasad, D.T., Mukunda, G.K. and Sondhur, S.N. 2001. Estimation of genetic diversity of commercial mango (*Mangifera indica* L.) cultivars using RAPD markers. Journal of Horticultural Science & Biotechnology 76: 529-533.

Lopez-Valenzuela , J.A., Martinez, O. and Paredes-Lopez, O. 1997. Geographic differentiation and embryo type identification in *Mangifera indica* L. cultivars using RAPD markers. HortScience 32: 1105-1108.

Mukherjee, S.K. 1972. Origin of mango (*Mangifera indica*). Economic Botany 26: 260-264.

Ng, F.S.P. 1991. Malayan Forest Records no. 34. Manual of Forest Fruits, Seeds and Seedlings 1: 14-19.

Nishiyama, K., Choi, Y.A., Honsho, C., Eiadthong, W. and Yonemori, K. 2006. Application of genomic in situ hybridization for phylogenetic study between *Mangifera indica* L. and eight wild species of *Mangifera*. Scientia Horticulturae 110: 114-117.

Pandey, S.N. 1984. Internation checklist of mango cultivars, Division of Fruits and Horticultural Technology, Indian Agricultural Research Institute, New Delhi.

Pandit, S.S., Mitra, S., Giri1, A.P., Pjariu, K.H., Patil, B.P., Jambhale, N.D. and Gupta1, V.S. 2007. Genetic diversity analysis of mango cultivars using inter simple sequence repeat markers. Current Sciences 93: 1135-1141.

Prakash, D.P. Narayanaswamy, P. and Sondor, N.S. 2002. Analysis of molecular diversity in guava using RAPD markers. Journal of Horticultural Science and Biotechnology 77: 287-293.

Rahman, M.L., Rabbani, M.G., Siddique, M.N.A., Rahman, M.A., Garvey, E.J. and Rahaman, E.H.M.S. 2007. Molecular characterization of 28 mango germplasm using RAPD. Plant Tissue Culture and Biotechnology 17: 71-77.

Rajwana, I.A., 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.

Ram, S. 1997. Propagation. *In* The Mango: Botany, Production and Uses. (ed. R.E. Litz). pp. 363-400. Wallingford: CAB International.

Ravishankar, K.V., Anand, L. and Dinesh, M.R. 2000. Assessment of genetic relatedness among mango cultivars of India using RAPD markers. Journal of Horticultural Science and Biotechnology 75: 198-201.

Rohlf, F.J. 2002. NTSYS – pc. Numerical taxonomy and multivariate analysis system, Version-2.1 New York: Applied Biostatistics.

Schnell, R.J. and Knight, R.J. 1993. Genetic relationships among *Mangifera* spp. based on RAPD markers. Acta Horticulturae 341:86-92.

Singh, S., Gaikwad, A.B. and Karihaloo, J.L. 2009. Morphological and molecular analysis of intracultivar variation in Indian mango (*Mangifera indica* L.) cultivars. Acta Horticulturae 829: 205-212.

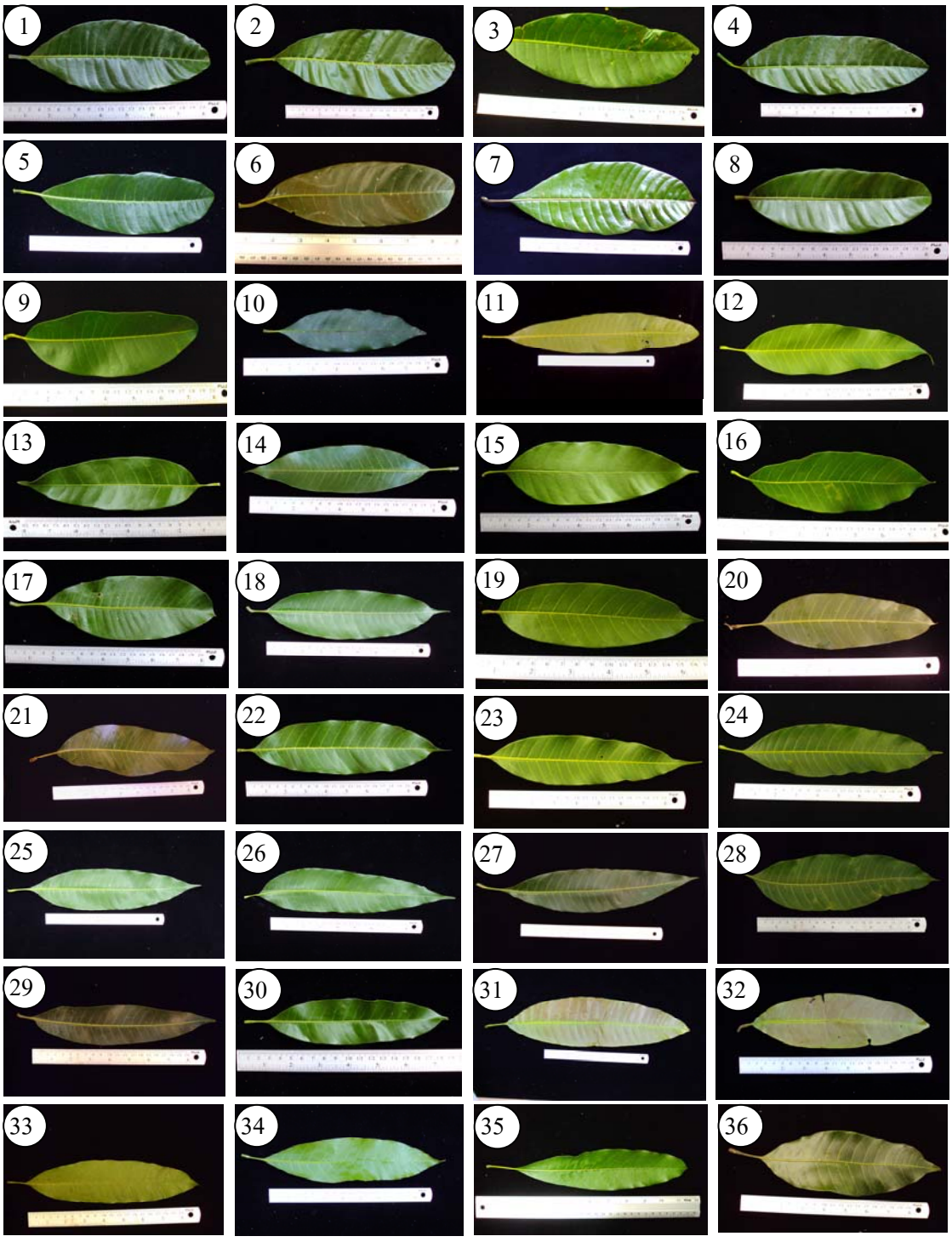
Teo, L.L., Kiew, R., Set, O., Lee, S.K. and Gan, Y.Y. 2002. Hybrid status of kuwini, *Mangifera odorata* Griff. (Anacardiaceae) verified by amplified fragment length polymorphism. Molecular Ecology 11: 1465–1469.

Ukoskit, K. 2007. Development of microsatellite markers in mango (*Mangifera indica* L.) using 5' anchored PCR. Thammasat International Journal Science Technology 12: 1-7.

Yamanaka, N., Hasran, M., Xu, D.H., Tsunematsu, H., Idris, S. and Ban, T. 2006. Genetic relationship and diversity of four *Mangifera* species revealed through AFLP analysis. Genetic Resources and Crop Evolution 53: 949–954.

Yonemori, K., Honsho, C., Kanzaki, S., Eiadthong, W. and Sugiura, A. 2002. Phylogenetic relationships of *Mangifera* species revealed by ITS sequences of nuclear ribosomal DNA and a possibility of their hybrid origin. Plant Systematics and Evolution 231: 59-75.

ภาคผนวก



รูปภาคผนวกที่ 1 ลักษณะตัวอย่างรูปร่างใบพืชสกุล *Mangifera* ชนิดต่างๆ

รูปภาคผนวกที่ 1 (ต่อ) ลักษณะตัวอย่างรูปร่างใบพืชสกุล *Mangifera* ชนิดต่างๆ

ตารางภาคผนวกที่ 1 ลำดับ ชนิด และสถานที่เก็บตัวอย่างพืชที่ใช้ในการศึกษา

No.	ชนิด	สถานที่เก็บ
1	มะมุด (*M. foetida* Lour.)	ต.นาวง อ.ห้วยยอด จ.ตรัง
2	มะมุด (*M. foetida* Lour.)	ต.น้ำผุด อ.ละงู จ.สตูล
3	มะมุด (*M. foetida* Lour.)	ต.ท่าสะบ้า อ.วังวิเศษ จ.ตรัง
4	มะมุด (*M. foetida* Lour.)	ต.นาท่อม อ.ศรีนครินทร์ จ.พัทลุง
5	มะมุด (*M. foetida* Lour.)	สวนพฤกษศาสตร์สากลภาคใต้(ทุ่งค่าย) อ.ย่านตาขาว จ.ตรัง
6	มะมุด (*M. foetida* Lour.)	ศูนย์ส่งเสริมและผลิตพันธุ์พืชสวนกระบี่ อ.เมือง จ.กระบี่
7	มะมุด (*M. foetida* Lour.)	สวนรุกขชาติเขาพุทธทอง อ.ไชยา จ.สุราษฎร์ธานี
8	มะมุด (*M. foetida* Lour.)	ต.ทุ่งลาน อ.คลองหอยโข่ง จ.สงขลา
9-10	มะม่วงปาน (*M. gedebe* Miq.)	ต.นาวง อ.ห้วยยอด จ.ตรัง
11	มะม่วงปาน (*M. gedebe* Miq.)	สวนพฤกษศาสตร์สากลภาคใต้(ทุ่งค่าย) อ.ย่านตาขาว จ.ตรัง
12	มะม่วงเบา (*M. indica* L.)	ต.ชิงโค อ.สิงหนคร จ.สงขลา
13	มะม่วงเบา (*M. indica* L.)	ต.ลำป่า อ.เมือง จ.พัทลุง
14	มะม่วงเบา (*M. indica* L.)	ต.ทุ่งตำเสา อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา
15	มะม่วงเบา (*M. indica* L.)	ต.มะขามเตี้ย อ.เมือง จ.สุราษฎร์ธานี
16	มะม่วงเบา (*M. indica* L.)	ศูนย์ส่งเสริมและผลิตพันธุ์พืชสวนกระบี่ อ.เมือง จ.กระบี่
17	มะม่วงเบา (*M. indica* L.)	ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร อ.สวี จ.ชุมพร
18	มะม่วงเบา (*M. indica* L.)	สวนรุกขชาติเขาพุทธทอง อ.ไชยา จ.สุราษฎร์ธานี
19	มะม่วงเบา (*M. indica* L.)	ต.นาวง อ.ห้วยยอด จ.ตรัง
20	มะม่วงแก้มแดง (*M. indica* L.)	ต.นาวง อ.ห้วยยอด จ.ตรัง
21-22	มะม่วงแก้มแดง (*M. indica* L.)	ต.น้ำผุด อ.ละงู จ.สตูล
23	เขียวเสวย (*M. indica* L.)	ต.เกาะยอ อ.เมือง จ.สงขลา
24	เขียวเสวย (*M. indica* L.)	ต.กระดังงา อ.สทิงพระ จ.สงขลา
25	มะม่วงแก้ว (*M. indica* L.)	ต.ทุ่งตำเสา อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา
26	มะม่วงแก้ว (*M. indica* L.)	ต.กระดังงา อ. สทิงพระ จ.สงขลา
27-28	มะม่วงนาทับ (*M. indica* L.)	ต.คอหงส์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ)

No.	ชนิด	สถานที่เก็บ
29-30	มะม่วงแอปเปิล (*M. indica* L.)	ต.ทุ่งลาน อ.คลองหอยโข่ง จ.สงขลา
31-32	มะม่วงกินนิง (*M. odorata* Griff.)	ต.ตะโล๊ะหะลอ อ.รามัน จ.ยะลา
33	มะม่วงกินนิง (*M. odorata* Griff.)	ต.กาหลง อ.ศรีสาคร จ.นราธิวาส
34	มะม่วงป่า (*M. pentandra* Hook.f.)	ต.ตะโล๊ะหะลอ อ.รามัน จ.ยะลา
35	มะม่วงป่า (*M. pentandra* Hook.f.)	สวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้ อ.รัตภูมิ จ.สงขลา
36	มะม่วงคัน (*M. quadrifida* Jack)	ต.เขารูปช้าง อ.เมือง จ.สงขลา
37-38	มะม่วงคัน (*M. quadrifida* Jack)	สถานีวิจัยคลองหอยโข่ง อ.คลองหอยโข่ง จ.สงขลา
39	มะม่วงคัน (*M. quadrifida* Jack)	ต.คอหงส์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา
40	มะม่วงคัน (*M. quadrifida* Jack)	ต.ฉลุง อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา
41	มะม่วงคัน (*M. quadrifida* Jack)	สวนพฤกษศาสตร์สากลภาคใต้(ทุ่งค่าย) อ.ย่านตาขาว จ.ตรัง
42	มะม่วงคัน (*M. quadrifida* Jack)	ต.ทุ่งลาน อ.คลองหอยโข่ง จ.สงขลา
43	มะม่วงคัน (*M. quadrifida* Jack)	ต.กระดังงา อ. สทิงพระ จ.สงขลา
44-45	มะม่วงคัน (*M. quadrifida* Jack)	สวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้ อ.รัตภูมิ จ.สงขลา
46	มะม่วงกล้วย (*M. sylvatica* Roxb.)	สถานีวิจัยคลองหอยโข่ง อ.คลองหอยโข่ง จ.สงขลา
47	มะม่วงกล้วย (*M. sylvatica* Roxb.)	ต.ทุ่งลาน อ.คลองหอยโข่ง จ.สงขลา
48	มะม่วงกล้วย (*M. sylvatica* Roxb.)	ต.ทุ่งตำเสา อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา
49-50	มะม่วงกล้วย (*M. sylvatica* Roxb.)	ศูนย์ส่งเสริมและผลิตพันธุ์พืชสวนกระบี่ อ.เมือง จ.กระบี่
51	มะม่วงกล้วย (*M. sylvatica* Roxb.)	ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร อ.สวี จ.ชุมพร
52	มะม่วงกะล่อน (*M. caloneura* Kurz)	สวนพฤกษศาสตร์ภาคใต้ อ.นาโยง จ.ตรัง
53	มะม่วงกะล่อน (*M. caloneura* Kurz)	ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร อ.สวี จ.ชุมพร
54	มะม่วงกะล่อน (*M. caloneura* Kurz)	สวนรุกขชาติเขาพุทธทอง อ.ไชยา จ.สุราษฎร์ธานี
55	มะม่วงแปบ (*M. flava* Evrard)	สวนพฤกษศาสตร์ภาคใต้ อ.นาโยง จ.ตรัง
56	มะม่วงเพาะไก่ (Unknown 1)	สถานีวิจัยคลองหอยโข่ง อ.คลองหอยโข่ง จ.สงขลา
57	มะม่วงเพาะไก่ (Unknown 1)	อ.เมือง จ.นครศรีธรรมราช
58	ม่วงมุด (Unknown 2)	ต.หูแร่ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา
59-60	ม่วงมุด (Unknown 2)	ศูนย์ส่งเสริมและผลิตพันธุ์พืชสวนกระบี่ อ.เมือง จ.กระบี่

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ)

No.	ชนิด	สถานที่เก็บ
61	ม่วงมุด (Unknown 2)	สวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้ อ.รัตภูมิ จ.สงขลา
62-63	ม่วงมุด (Unknown 2)	ต.ควนโพธิ์ อ.เมือง จ.สตูล
64-66	มุดม่วง (Unknown 3)	ต.ทุ่งลาน อ.คลองหอยโข่ง จ.สงขลา
67-68	มะม่วงคร้า (Unknown 4)	ต.ควนโพธิ์ อ.เมือง จ.สตูล
69-70	ปีหลิ้ง (Unknown 5)	ต.ชุมพล อ.ศรีนครินทร์ จ.พัทลุง

การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ และสารละลายอื่นๆ

สารเคมีที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอจากพืช

1) CTAB บัฟเฟอร์ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

PVP-40	1.0	กรัม
$NaCl_2$	8.12	กรัม
0.5M Na_2EDTA (pH 8.0)	4 .0	มิลลิลิตร
1.0M Tris-HCl (pH 8.0)	10.0	มิลลิลิตร

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

2) TE บัฟเฟอร์ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

1.0 M Tris-HCl (pH 7.5)	500	ไมโครลิตร
0.25M 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
0.5M Na_2EDTA (pH 8.0)	50.0	มิลลิลิตร

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 มิลลิลิตร เจือจางความเข้มข้นเป็น 1 เท่า แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อก่อนนำมาใช้

2) TBE บัฟเฟอร์เข้มข้น 5 เท่า

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

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 4 ลิตร เจือจางความเข้มข้นเป็น 1 เท่า และนึ่งฆ่าเชื้อก่อนใช้

3) DNA sample buffer

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

ปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อก่อนนำมาใช้

4) Ethidium bromide 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Ethidium bromide	1	กรัม

เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตรต่อ

ตารางภาคผนวกที่ 2 ไพรเมอร์ที่ใช้ทดสอบ ลำดับเบสของไพรเมอร์ และผลที่ได้จากการทดสอบอาร์เอพีดี-พีซีอาร์ กับดีเอ็นเอพืชสกุล *Mangifera*

Primer	Sequences (5'→3')	Pattern
OPA-01	CAGGCCCTTC	polymorphic
OPA-02	TGCCGAGCTG	polymorphic
OPA-05	AGGGGTCTTG	unamplifiable
OPA-07	GAAACGGGTG	polymorphic
OPA-08	GTGACGTAGG	polymorphic
OPA-10	GTGATCGCAG	polymorphic
OPA-11	CAATCGCCGT	polymorphic
OPA-12	TCGGCGATAG	unamplifiable
OPA-14	TCTGTGCTGG	polymorphic
OPA-16	AGCCAGCGAA	not clear
OPA-17	GACCGCTTGT	not clear
OPA-18	AGGTGACCGT	polymorphic
OPA-20	GTTGCGAFCC	polymorphic
OPB-01	GTTTCGCTCC	polymorphic
OPB-02	TGATCCCTGG	polymorphic
OPB-06	TGCTCTGCCC	polymorphic
OPB-11	GTAGACCCGT	polymorphic
OPB-13	TTCCCCCGCT	not clear
OPB-14	TCCGCTCTGG	polymorphic
OPB-18	CCACAGCAGT	polymorphic
OPB-20	GGACCCTTAC	polymorphic
OPC-11	AAAGCTGCGG	polymorphic
OPC-12	TGTCATCCCC	not clear
OPC-13	AAGCCTCGTC	not clear
OPC-20	ACTTCGCCAC	Polymorphic
OPD-01	ACCGCGAAGG	not clear

ตารางภาคผนวกที่ 2 (ต่อ)

Primer	Sequences (5'→ 3')	Pattern
OPD-02	GGACCCAACC	polymorphic
OPD-03	GTCGCCGTCA	polymorphic
OPD-07	TTGGCACGGG	polymorphic
OPD-12	CACCGTATCC	not clear
OPD-13	GGGGTGACGA	polymorphic
OPD-15	CATCCGTGCT	not clear
OPD-18	GAGAGCCAAC	monomorphic
OPD-19	CTGGGGACTT	polymorphic
OPE-14	TGCGGCTGAG	polymorphic
OPF-08	GGGATATCGG	polymorphic
OPJ-09	TGAGCCTCAC	monomorphic
OPJ-16	CTGCTTAGGG	polymorphic
OPK-02	GTCTCCGCAA	polymorphic
OPN-16	AAGCGACCTG	polymorphic
OPO-08	CCTCCAGTTC	monomorphic
OPP-08	GTCCCGTTAC	polymorphic
OPQ-14	GGACGCTTCA	polymorphic
OPU-08	GGCGAAGGTT	polymorphic
OPX-11	GGAGCCTCAG	polymorphic
OPX-18	GACTAGGTGG	polymorphic
OPAL-20	AGGAGTCGGA	polymorphic
OPAL-21	CACGCGAACC	not clear
OPAN-12	CACAGACACC	polymorphic
BC210	GCACCGAGAG	polymorphic
W11	CTGATGCGTG	polymorphic
IBRC-RP07	TTGGCACGGG	polymorphic
NO.8	ATCCGCGTTC	polymorphic

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวศรินทร แก่นแก้ว

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5110620068

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2550

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

ทุนสนับสนุนจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษา และวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

ศรินทร แก่นแก้ว จรัสศรี นวลศรี และอมรรัตน์ จันทนาอรพินท์. 2553. การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Mangifera* พื้นเมืองในภาคใต้โดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี. ว. วิทยาศาสตร์เกษตร (ฉบับพิเศษ). (อยู่ระหว่างการตีพิมพ์)