



การศึกษาพันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้าน (*Durio zibethinus* Murr.) ในภาคใต้  
โดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี และไมโครแซทเทลไลท์  
**Genetic Analysis of Indigenous Durian (*Durio zibethinus* Murr.) in  
Southern Thailand using RAPD and Microsatellite Markers**

ฮูดา แก้วศรีสม  
**Huda Kaewsrison**

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**

2557

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์                      การศึกษาพันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้าน (*Durio zibethinus* Murr. )  
 ในภาคใต้โดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี และไมโครแซทเทลไลท์

ผู้เขียน                                      นางสาวสุดา แก้วศรีสม

สาขาวิชา                                    พืชศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	คณะกรรมการสอบ
..... (รองศาสตราจารย์ ดร.จรัสศรี นวลศรี)	.....ประธานกรรมการ (ดร.กรกช นาคคนอง)
	.....กรรมการ (รองศาสตราจารย์ ดร.จรัสศรี นวลศรี)
	.....กรรมการ (รองศาสตราจารย์มงคล แซ่หลิม)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้  
 เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์

.....  
 (รองศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล ศรีชนะ)  
 คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มี  
ส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.จรัสศรี นวลศรี)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลงชื่อ.....

(นางสาวสุดา แก้วศรีสม)

นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน  
และไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....

(นางสาวสุดา แก้วศรีสม)

นักศึกษา

**ชื่อวิทยานิพนธ์** การวิเคราะห์พันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้าน (*Durio zibethinus* Murr.) ในภาคใต้ โดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดีและไมโครแซทเทลไลท์

**ผู้เขียน** นางสาวสุดา แก้วศรีสม

**สาขาวิชา** พืชศาสตร์

**ปีการศึกษา** 2556

### บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ เพื่อวิเคราะห์พันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านในภาคใต้โดยพิจารณาจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา ร่วมกับการใช้เทคนิคอาร์เอพีดี และไมโครแซทเทลไลท์ โดยเก็บตัวทุเรียนพื้นบ้าน จำนวน 67 ต้น ในเขตจังหวัดสงขลา นครศรีธรรมราช กระบี่ พังงา และยะลา แยกกลุ่มตัวอย่างจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่สำคัญ เช่น รูปทรงผล ลักษณะหนาม และสีเนื้อ จากการศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี ทำการทดสอบกับไพรเมอร์ขนาด 10 นิวคลีโอไทด์ แล้วคัดเลือกไพรเมอร์ที่สามารถให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันจำนวน 8 ไพรเมอร์ คือ OPA-19, OPB-01, OPB-14, OPAM-03, OPAM-13, OPC-05, OPK-08 และ OPZ-03 พบว่าทั้ง 8 ไพรเมอร์ให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 129 แถบ เป็นแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกันจำนวน 125 แถบ คิดเป็น 96.90 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการศึกษาด้วยเทคนิคไมโครแซทเทลไลท์ ทำการทดสอบด้วยคู่ไพรเมอร์ จำนวน 6 คู่ไพรเมอร์ คือ MS1CT-7, MS1CT-9, MS1CT-16, MS1CT-27, MS1AAC-2 และ MS1AAC-19 จำนวนอัลลีลทั้งหมด 21 อัลลีล โดยเป็นอัลลีลที่มีความแตกต่างจำนวน 18 อัลลีล คิดเป็น 85.71 เปอร์เซ็นต์ ไพรเมอร์ที่ให้จำนวนอัลลีลสูงที่สุดคือ MS1AAC-2 จำนวน 6 อัลลีล เมื่อนำแถบดีเอ็นเอดังกล่าวมาวิเคราะห์ความใกล้ชิดทางพันธุกรรมด้วยวิธี UPGMA พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มทุเรียนพื้นบ้านภาคใต้ โดยอาศัยข้อมูลจากเครื่องหมายอาร์เอพีดีร่วมกับเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ ได้เป็น 4 กลุ่ม โดยมีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.61-0.95 และกลุ่มตัวอย่างทุเรียน ส่วนใหญ่มีความสัมพันธ์กับแหล่งที่มาของตัวอย่าง

<b>Thesis Title</b>	Genetic Analysis of Indigenous Durian ( <i>Durio zibethinus</i> Murr.) in Southern Thailand Using RAPD and microsatellite Markers
<b>Author</b>	Miss HUDA KAEWSRISOM
<b>Major Program</b>	Plant Science
<b>Academic</b>	2013

### Abstract

This study aimed to analyze the genetic and relatedness of indigenous durian in Southern Thailand using RAPD and microsatellite markers. In this study sixty-seven samples were collected from Songkhla, Nakhon Sithammarat, Krabi, Phangnga and Yala provinces in Southern Thailand. Morphological characters of fruit such as fruit shape, thorn shape and aril color were recorded. Genetic variability among samples was been detected by RAPD and microsatellite markers. For RAPD analysis 8 primers were chosen to perform RAPD-PCR OPA-19, OPB-01, OPB-14, OPAM-03, OPAM-13, OPC-05, OPK-08 and OPZ-03. A total of 129 amplified fragments were obtained from 8 primers and 125 (96.90%) were polymorphism. From 6 microsatellite primer pairs used : MS1CT-7, MS1CT-9, MS1CT-16, MS1CT-27, MS1AAC-2 and MS1AAC-19 a total of 21 alleles with 3.5 alleles/locus were detected. From 21 alleles, 18 alleles or 85.71% were polymorphic and the highest number of alleles was found in MS1AAC-2 (6 alleles). Result from a dendrogram analysis based on both RAPD and Microsatellite markers, four clusters could be separated with genetic similarity index ranging from 0.61-0.95. Cluster corresponds well with their geographical origin.

## สารบัญ

เรื่อง	หน้า
รายการภาพ	(9)
รายการตาราง	(12)
1. บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
ตรวจเอกสาร	3
วัตถุประสงค์	13
2. วิธีการวิจัย	14
วิธีการ	14
วัสดุ/อุปกรณ์การวิจัย	19
3. ผลการวิจัย	22
4. บทวิจารณ์	52
5. บทสรุปและข้อเสนอแนะ	57
เอกสารอ้างอิง	58
ภาคผนวก	65
ประวัติผู้เขียน	76

## รายการรูปภาพ

ชื่อรูปภาพที่	หน้า
1. พืชสกุล <i>Durio</i> ชนิดที่รับประทานได้	4
2. แสดงลักษณะทางสัณฐานของทุเรียนทั้ง 6 กลุ่ม ตามการจำแนกของ หิรัญ (2551)	8
3. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียนที่เก็บจาก อ.นาหม่อม จ.สงขลา ส่วนที่ 1	22
4. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียนที่เก็บจาก อ.นาหม่อม จ.สงขลา ส่วนที่ 2	24
5. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียนที่เก็บจาก อ.นาหม่อม จ.สงขลา ส่วนที่ 3	25
6. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียนที่เก็บจาก อ.กะปง จ.พังงา และ อ.เหนือคลอง จ.กระบี่	26
7. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียนที่เก็บจาก อ.เบตง จ.ยะลา	27
8. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียนที่เก็บจาก อ.ลานสกา จ.นครศรีธรรมราช	29
9. แสดงลักษณะรูปทรงผลทุเรียนแบบต่างๆ	29
10. แสดงการเปรียบเทียบลักษณะทรงผลแบบต่างๆของทุเรียน 67 ตัวอย่าง	31
11. แสดงลักษณะรูปทรงหนามทุเรียนแบบต่างๆ	32
12. แสดงการเปรียบเทียบลักษณะหนามแบบต่างๆของทุเรียน 67 ตัวอย่าง 31	33
13. แสดงลักษณะสีผลทุเรียนแบบต่างๆ	34
14. แสดงการเปรียบเทียบลักษณะสีผลแบบต่างๆของทุเรียน 67 ตัวอย่าง	35
15. ต้นทุเรียนที่ทำการศึกษาที่ใช้ในการศึกษา	36
16. แสดงคุณภาพ และปริมาณของดีเอ็นเอ	36
17. แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดี ของตัวอย่างทุเรียนทั้ง 5 พื้นที่ ด้วยไพรเมอร์ OPA-19	38
18. แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดี ของตัวอย่างทุเรียนทั้ง 5 พื้นที่ ด้วยไพรเมอร์ OPB-01	38
19. แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดี ของตัวอย่างทุเรียนทั้ง 5 พื้นที่ ด้วยไพรเมอร์ OPB-14	39



## รายการรูปภาพ (ต่อ)

ชื่อรูปภาพที่	หน้า
20. แสดงลักษณะแถบสีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียนทั้ง 5 พื้นที่ ด้วยไพรมอร์ OPC-05	39
21. แสดงลักษณะแถบสีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียนทั้ง 5 พื้นที่ ด้วยไพรมอร์ OPAM-03	40
22. แสดงลักษณะแถบสีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียนทั้ง 5 พื้นที่ ด้วยไพรมอร์ OPAM-13	40
23. แสดงลักษณะแถบสีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียนทั้ง 5 พื้นที่ ด้วยไพรมอร์ OPK-08	41
24. แสดงลักษณะแถบสีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียนทั้ง 5 พื้นที่ ด้วยไพรมอร์ OPZ-03	41
25. เคน โครแกรม แสดงความสัมพันธ์ของทุเรียน 67 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดีจาก จำนวน 8 ไพรมอร์	43
26. ลักษณะแถบสีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ ของทุเรียน 67 ตัวอย่าง ด้วยไพรมอร์ MS1TC-7	45
27. ลักษณะแถบสีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ ของทุเรียน 67ตัวอย่าง ด้วยไพรมอร์ MS1TC-9	45
28. ลักษณะแถบสีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ ของทุเรียน 67 ตัวอย่าง ด้วยไพรมอร์ MS1TC-16	46
29. ลักษณะแถบสีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ ของทุเรียน 67ตัวอย่าง ด้วยไพรมอร์ MS1TC-27	46
30. ลักษณะแถบสีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ ของทุเรียน 67 ตัวอย่าง ด้วยไพรมอร์ MS1AAC-2	47

## รายการรูปภาพ (ต่อ)

ชื่อรูปภาพที่	หน้า
31. ลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมาย ไมโครแซทเทลไลท์ ของทุเรียน 67 ตัวอย่าง ด้วยไพรเมอร์ MS1AAC-19	47
32. เคนโครแกรม แสดงความสัมพันธ์ของทุเรียน 67 ตัวอย่าง ด้วยเครื่องหมาย ไมโครแซทเทลไลท์ 6 เครื่องหมาย	49
33. เคนโครแกรม แสดงความสัมพันธ์ของทุเรียน 67 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิค อาร์เอพีดีจากจำนวน 8 ไพรเมอร์ ร่วมกับไมโครแซทเทลไลท์ 6 เครื่องหมาย	51

## รายการตาราง

ชื่อตารางที่	หน้า
1. แสดงข้อมูลทางโภชนาการของทุเรียน	3
2. แสดงพื้นที่ปลูกทุเรียน และผลผลิตทุเรียนในแต่ละภาค	5
3. แสดงพื้นที่ปลูกทุเรียน และผลผลิตทุเรียนในภาคใต้ ในปี 2556	6
4. แสดงแหล่งที่มาของทุเรียนแต่ละตัวอย่าง จากการศึกษาครั้งนี้	15
5. แสดงชนิดของไพรมอร์ ลำดับเบส และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่ต่างกัน จากการวิเคราะห์อาร์เอฟดีของทุเรียนพื้นบ้าน	37
6. แสดงชนิดของไพรมอร์ และลำดับเบสของเครื่องหมาย ไมโครแซทเทลไลท์ที่ใช้วิเคราะห์ พันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้าน	44
ตารางภาคผนวกที่ 1	68

## บทที่ 1

### บทนำ

#### บทนำต้นเรื่อง

ทุเรียนเป็นไม้ผลเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย นอกจากการบริโภคภายในประเทศแล้ว ทุเรียนยังเป็นผลไม้ที่ทำรายได้ให้กับประเทศไทยเป็นจำนวนมาก ในแต่ละปีประเทศไทยมีการส่งออกทุเรียนมากเป็นอันดับหนึ่งของโลก โดยประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ของทุเรียนที่ผลิตออกสู่ตลาดโลกมาจากประเทศไทย (Guest *et al.*, 1998) ประเทศไทยมีการส่งออกทุเรียนเฉลี่ยปีละประมาณ 381,000 ตัน คิดเป็นมูลค่ากว่า 8,500 ล้านบาท เนื่องจากพื้นที่ในภาคตะวันออก และภาคใต้ของประเทศไทยมีลักษณะภูมิอากาศที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของทุเรียน จึงพบความหลากหลายของพันธุ์ทุเรียนเป็นจำนวนมาก มีรายงานว่าในประเทศไทยมีพันธุ์ทุเรียนมากกว่า 200 พันธุ์ แต่พันธุ์ที่นิยมปลูกเป็นการค้า และมีชื่อเสียงที่สุดคือ พันธุ์หมอนทอง เนื่องจากมีรสชาติ และคุณภาพผลเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค นอกจากทุเรียนพันธุ์หมอนทองแล้ว ยังมีพันธุ์อื่นๆ ที่เป็นที่นิยมปลูกในปริมาณมาก เช่น ชะนี ก้านยาวรวง และกระดุมทอง เป็นต้น (กรมวิชาการเกษตร, 2553) ซึ่งแต่ละพันธุ์จะมีลักษณะที่ดีแตกต่างกันขึ้นอยู่กับความชอบของผู้บริโภค นอกจากนี้ทุเรียนบางพันธุ์มีลักษณะพิเศษ เช่น ชะนีเป็นพันธุ์ที่มีความทนทานโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อ *phytophthora* เป็นต้น (หิรัญ, 2551)

ทุเรียนเป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดดั้งเดิมในแถบประเทศบรูไน ดารุสซาลาม มาเลเซีย และอินโดนีเซีย (วิกิพีเดีย, 2554) เดิมพันธุ์ทุเรียนในประเทศไทยมีความหลากหลายมาก แต่ระยะหลังเมื่อมีการค้นพบพันธุ์หมอนทอง จึงทำให้ชาวสวนนิยมปลูกพันธุ์ดังกล่าวมากขึ้น พันธุ์ดั้งเดิมที่เคยปลูกค่อยๆ หายไป และคาดว่าหลายพันธุ์ได้สูญพันธุ์ไปแล้ว ภาคใต้เป็นอีกพื้นที่หนึ่งที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านมาก โดยเฉพาะทางภาคใต้ตอนล่างที่มีพื้นที่ติดต่อกับประเทศมาเลเซียซึ่งเป็นถิ่นกำเนิดดั้งเดิมของทุเรียน การขยายพันธุ์ทุเรียนในอดีตใช้วิธีการขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด จึงมีความแปรปรวนทางพันธุกรรมค่อนข้างมาก เนื่องจากทุเรียนเป็นพืชผสมข้าม แต่ปัจจุบันจะขยายพันธุ์โดยการเสียบยอดซึ่งจะได้ต้นทุเรียนที่ตรงตามพันธุ์ ทุเรียนพื้นบ้านบางพันธุ์มีลักษณะ และรสชาติดีใกล้เคียงกับพันธุ์การค้า นอกจากนี้บางพันธุ์มีลักษณะดีที่น่าจะใช้เป็นแหล่งพันธุกรรม ในการปรับปรุงพันธุ์ หรือนำมาใช้ประโยชน์อย่างอื่น เช่น ทนน้ำท่วมขัง ทนทานต่อโรคที่เกิดจากเชื้อ *phytophthora* เหมาะสมสำหรับใช้เป็นต้นตอทุเรียนพันธุ์ดีได้เป็น

อย่างดี แต่ในปัจจุบันความหลากหลายของทุเรียนพื้นบ้านลดลง เนื่องจากชาวสวนนิยมปลูกพันธุ์  
 การค้าที่ให้ราคาดีกว่า หรือในบางพื้นที่เปลี่ยนไปปลูกพืชเศรษฐกิจชนิดอื่น เช่น ปาล์มน้ำมัน  
 ยางพารา แทนที่ทุเรียนพื้นบ้าน ดังนั้นควรมีการเก็บรวบรวมพันธุ์ทุเรียนพื้นบ้านไว้ทั้งเพื่อเป็นการ  
 อนุรักษ์ และเพื่อใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์ทุเรียนในอนาคต การเก็บรวบรวม  
 พันธุ์ และการศึกษาความหลากหลายของพันธุ์ แม้จะสามารถอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ  
 ผล รสชาติ หรือรูปร่างใบ เป็นเกณฑ์การจำแนกกลุ่มพันธุ์ทุเรียนได้ (หิรัญ, 2551) แต่ทุเรียน  
 พื้นบ้าน ซึ่งมีความหลากหลายมากอาจต้องอาศัยวิธีการอื่นสนับสนุน เนื่องจากกลุ่มทุเรียนพื้นบ้าน  
 มีลักษณะใกล้เคียงกันเพราะมีการผสมข้ามระหว่างต้นในธรรมชาติ ในปัจจุบันมีการนำ  
 เครื่องหมายโมเลกุลมาใช้ในการศึกษาพันธุกรรมพืช และสิ่งมีชีวิตอื่นๆ อย่างแพร่หลาย เนื่องจาก  
 เป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพในการศึกษาพันธุกรรมของทุเรียน เช่น เครื่องหมายอาร์เอพีดี  
 (Random Amplified Polymorphic DNA) สามารถวิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรมโดยใช้  
 เทคนิค พีซีอาร์ไม่จำเป็นต้องทราบลำดับเบสของดีเอ็นเอเป้าหมาย เนื่องจากไพรเมอร์ที่ใช้ไม่  
 จำเพาะเจาะจงกับดีเอ็นเอบริเวณใด มีหลักการคือ ใช้ไพรเมอร์ขนาด 10 นิวคลีโอไทด์เพียงชนิด  
 เดียว เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบสุ่ม และแยกขนาดดีเอ็นเอที่ได้โดยการทำอิเล็กโทรโฟรีซิสในอะ  
 กาโรสเจล และย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาความหลากหลาย  
 ทางพันธุกรรมของพืชด้วยเครื่องหมายเอสเอสอาร์หรือไมโครแซทเทลไลท์ ซึ่งเป็นเครื่องหมายที่มี  
 ความจำเพาะกับตำแหน่งของดีเอ็นเอ ดังนั้นการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และเครื่องหมาย  
 โมเลกุลในการคัดเลือกทุเรียนพื้นบ้านที่มีลักษณะดี เพื่อใช้สำหรับเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการ  
 อนุรักษ์ และการปรับปรุงพันธุ์เพื่อการพัฒนาเป็นพันธุ์การค้าในอนาคต จึงมีความสำคัญเป็น  
 อย่างยิ่ง

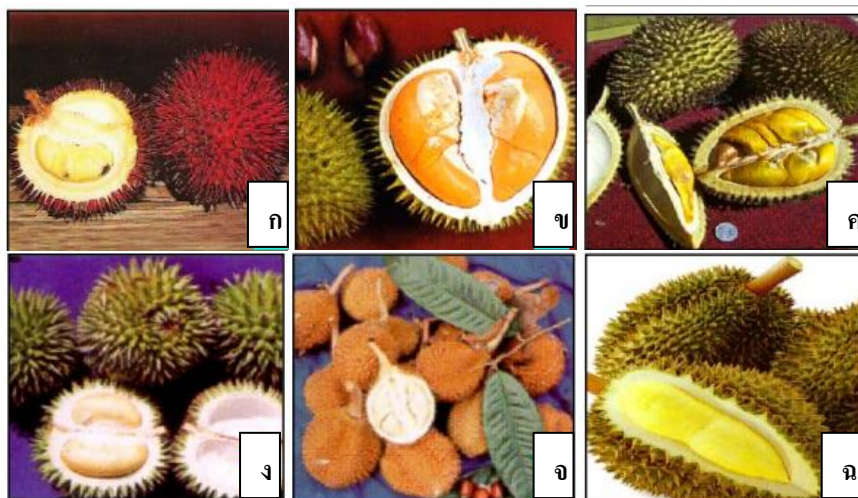
## ตรวจเอกสาร

ทุเรียนอยู่ในวงศ์ Bombacaceae เป็นพืชในสกุล Durio มีทั้งหมด 27 ชนิด แต่มีเพียงชนิดเดียวที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ คือ *Durio zibethinus* Murr. และมีการปลูกเชิงการค้าอย่างแพร่หลาย เนื่องจากเป็นไม้ผลที่เป็นที่นิยมของผู้บริโภค รสชาติหวานมัน และมีคุณค่าทางโภชนาการดังแสดงในตารางที่ 1 ทุเรียนเติบโตได้ดีในแถบภูมิอากาศร้อน เกาะบอร์เนียวเป็นศูนย์กลางความหลากหลายของพืชสกุลนี้ โดย Kostermans (1992) ; Zeven และ Zhukovsky (1975) อ้างโดย ทรงพล (2551) ได้รายงานว่ามีพืชสกุลทุเรียนแพร่กระจายอยู่ในบริเวณ เกาะบอร์เนียว 19 ชนิด รัฐซาบาห์ 14 ชนิด รัฐซาราวัก 16 ชนิด เกาะสุมาตรา 7 ชนิด และมาเลเซีย 11 ชนิด โดยมี 5 ชนิดที่เป็นพืชท้องถิ่น และมีพืชสกุลทุเรียนอย่างน้อย 6 ชนิดที่สามารถรับประทานได้ ได้แก่ ทุเรียนป่า (*D. dulcis* Becc.) ทุเรียนรากขา (*D. kutejensis* Becc.) ทุเรียนขั้วติด (*D. graviolens* Becc.) ทุเรียนขนยาว (*D. oxleyanus* Griff.) ทุเรียนเต่า (*D. kutigensis* Becc.) และ ทุเรียนบ้าน (*D. zibethinus* Murr.) สำหรับลักษณะของทุเรียนแต่ละชนิด ได้แสดงในรูปที่ 1 ส่วนพืชสกุลทุเรียนที่ไม่สามารถรับประทานได้เนื่องจากไม่มีเนื้อ หรือมีเนื้อหุ้มเมล็ดเพียงเล็กน้อย ปัจจุบันมีการปลูกทุเรียนอย่างแพร่หลาย เช่น ประเทศในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ได้แก่ อินโดนีเซีย บรูไนดารุสซาลาม ฟิลิปปินส์ มาเลเซีย และไทย นอกจากนี้ยังมีการปลูกทุเรียนในประเทศแถบแอฟริกา อเมริกากลาง หมู่เกาะอินดีสตะวันตก และหมู่เกาะในมหาสมุทรแปซิฟิก

ตารางที่ 1 ข้อมูลทางโภชนาการของทุเรียน (น้ำหนัก 100 กรัม)

สารอาหาร	ปริมาณ	สารอาหาร	ปริมาณ
พลังงาน	150 กิโลแคลอรี	เส้นใย	3.2 กรัม
คาร์โบไฮเดรต	27.1 กรัม	โพแทสเซียม	201.2 มิลลิกรัม
ไขมัน	5.3 กรัม	โซเดียม	2.1 มิลลิกรัม
โปรตีน	1.4 กรัม	โพลีฟีนอล	2.58 มิลลิกรัม

ที่มา : ภัควดี (2556)



รูปที่ 1 พืชสกุล *Durio* ชนิดที่รับประทานได้ (ก) ทูเรียนป่า *D. dulcis* Becc. (ข) ทูเรียนขี้วัวติด *D. graveolens* Becc. (ค) ทูเรียนรากขา *D. kutejensis* Becc. (ง) ทูเรียนขนยาว *D. oxleyanus* Griff. (จ) ทูเรียนเต่า *D. testudinarum* Becc. และ (ฉ) ทูเรียนบ้าน *D. zibethinus* Murr.

ที่มา : ทรงพล (2551)

สำหรับในประเทศไทย เต็ม (2523) ได้รายงานว่าจะสามารถพบทูเรียนได้ 6 ชนิด ได้แก่

- ทูเรียนนก (*D. griffithii* Bakh.)
- ทูเรียนนก (*D. lowianus* Scoff. Ex King.)
- ทูเรียนคอน (*D. malaccensis* Planch. Ex Mast.)
- ทูเรียนซาเรียน (*D. mansoni* Bakh.)
- ทูเรียนป่า (*D. pinangianus* Ridl.)
- ทูเรียนบ้าน (*D. zibethinus* Murr.)

ทูเรียนได้ชื่อว่าเป็นราชาของผลไม้ไม่มีราคาแพง เนื่องจากทูเรียนเป็นผลไม้ที่ไม่ได้รับความนิยม มีตลาดทั้งภายในประเทศและต่างประเทศ ทำให้ในปัจจุบันทูเรียนเป็นไม้ผลที่ไม่ได้รับความนิยมของคนทั่วโลก ในปี พ.ศ. 2556 พบว่าพื้นที่ปลูกทูเรียนในประเทศไทยมีประมาณ 641,248 ไร่ เป็นพื้นที่ที่ให้ผลผลิตแล้ว 577,124 ไร่ ซึ่งแบ่งเป็นพื้นที่ตามภูมิภาค ดังแสดงในตารางที่ 2 โดยมีผลผลิตรวมประมาณ 5-6 แสนตันต่อปี ในปี พ.ศ. 2556 มีการส่งออกในรูปแบบผลผลิตสด และแช่แข็ง 380,719 ตัน และผลิตภัณฑ์แปรรูป 694 ตัน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2557ก)

ในปัจจุบันมีการขยายพื้นที่ปลูกทุเรียนไปทั่วทุกภูมิภาคของประเทศไทย แต่ในภาพรวมของประเทศ การปลูกทุเรียนมีกันมากในพื้นที่ภาคใต้ และภาคตะวันออก (ตารางที่ 2) โดยในอดีตชาวสวนมักนิยมปลูกทุเรียนด้วยเมล็ด ทำให้เกิดความแปรปรวนของลักษณะสัณฐานวิทยา ซึ่งเป็นผลมาจากมีความหลากหลายทางพันธุกรรมของทุเรียนที่ผสมข้ามกัน แต่ปัจจุบันการขยายพันธุ์ใช้วิธีการเสียบยอดกับกิ่งตาพันธุ์ดีที่มีความต้องการทางตลาดสูง ทำให้ความแปรปรวนทางพันธุกรรมของทุเรียนลดลง แต่ในสวนทุเรียนเก่านั้นยังคงมีต้นทุเรียนที่เป็นพันธุ์พื้นบ้านอยู่หลายชนิด และหลายพันธุ์มีลักษณะดีที่น่าจะนำมาใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ หรืออาจจะพัฒนาเป็นพันธุ์การค้าได้หากมีการศึกษาต่อยอด ทุเรียนพื้นบ้านในภาคใต้อย่างคงพบกระจัดกระจายอยู่ในเกือบทุกจังหวัด แต่ในปัจจุบันมีแนวโน้มลดลง เนื่องจากชาวบ้านหันไปปลูกทุเรียนพันธุ์ดี เช่น หมอนทอง ก้านยาว ชะนี เนื่องจากให้ราคาดีกว่า ในอนาคตทุเรียนพื้นบ้านภาคใต้อาจจะสูญพันธุ์ได้ ดังนั้นการเก็บรักษาพันธุ์ทุเรียนพื้นบ้านที่มีลักษณะดี ทั้งรสชาติ และคุณสมบัติอื่นๆ จึงเป็นสิ่งจำเป็น

ตารางที่ 2 พื้นที่ปลูกทุเรียน และผลผลิตทุเรียนในแต่ละภาค ปี 2556

ภาค	พื้นที่ปลูก (ไร่)	ผลผลิตรวม (ตัน)
เหนือ	28,717	15,924
ตะวันออกเฉียงเหนือ	2,042	1,160
กลาง และตะวันออก	289,060	329,104
ใต้	321,429	223,050
<b>รวม</b>	<b>641,248</b>	<b>569,238</b>

ที่มา : ดัดแปลงจาก สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2557ข)

สำหรับพื้นที่ปลูกทุเรียนในภาคใต้ทั้ง 14 จังหวัด มีพื้นที่ปลูกรวม 321,429 ไร่ คิดเป็นร้อยละ 50.31 ของพื้นที่ปลูกทั้งประเทศ โดยแบ่งตามการให้ผลผลิต คือ พื้นที่ที่ยังไม่ให้ผลผลิต 23,876 ไร่ คิดเป็นร้อยละ 7.43 ของพื้นที่ปลูกทั้งภาค หรือร้อยละ 3.72 ของพื้นที่ปลูกทั้งประเทศ พื้นที่ที่ให้ผลผลิตแล้ว 297,558 ไร่ คิดเป็นร้อยละ 92.57 ของพื้นที่ปลูกทั้งภาค หรือร้อยละ 46.40 ของพื้นที่ปลูกทั้งประเทศ ผลผลิตเฉลี่ยทั้งภาคใต้เท่ากับ 750 กิโลกรัมต่อไร่ และผลผลิตรวม 223,050 ตัน โดยจังหวัดชุมพรมีพื้นที่ปลูกทุเรียนมากที่สุดในภาคใต้อันดับแรก คือจังหวัดนครศรีธรรมราช และยะลา ตามลำดับ (ตารางที่ 3)



ตารางที่ 3 พื้นที่ปลูกทุเรียน และผลผลิตทุเรียนในภาคใต้ ในปี 2556

จังหวัด	พื้นที่ปลูก (ไร่)	ผลผลิต	
		ผลผลิตเฉลี่ย (กก./ไร่)	ผลผลิตรวม (ตัน)
ชุมพร	110,593	1,171	127,046
นครศรีธรรมราช	42,141	550	21,080
ยะลา	47,159	408	18,229
สุราษฎร์ธานี	30,154	1,282	32,012
นราธิวาส	31,962	212	6,037
ระนอง	11,795	650	5,858
ปัตตานี	9,243	21	180
สงขลา	15,427	240	3,581
พังงา	7,326	509	3,651
พัทลุง	4,270	276	990
กระบี่	2,740	428	2,121
ตรัง	2,428	554	1,191
สตูล	3,707	544	1,259
ภูเก็ต	2,484	363	815
<b>รวม</b>	<b>321,429</b>	<b>750</b>	<b>223,050</b>

ที่มา : ดัดแปลงจาก สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2557ข)

#### 1. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของทุเรียน

ลำต้น ไม้ยืนต้นขนาดใหญ่ มีอายุได้ถึง 80-150 ปี ต้นที่โตเต็มที่มิชขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นได้ถึง 50-120 เซนติเมตร เปลือกมีสีน้ำตาลเข้ม หยาบ มีรอยแตกตามยาวของลำต้น เนื้อไม้อ่อน กิ่งก้านแตกแขนงทุกทิศทาง ใบ เป็นใบเดี่ยว เรียงสลับ ยาว 15-20 เซนติเมตร ใบอ่อนพับติดกัน และคลี่ออกเมื่อแก่ ผิวใบเรียบสีเขียวเข้ม เป็นมัน ใต้ใบมีเกล็ดเล็กๆสีน้ำตาล ดอก ออกเป็นช่อตามกิ่งหรือลำต้น เป็นดอกแบบสมบูรณ์เพศ บานช่วงใกล้ค่ำ โดยเกสรตัวเมียจะพร้อมผสมในระหว่างเวลา 16.00-16.45 น. ส่วนเกสรตัวผู้จะปล่อยละอองเกสรในช่วง 17.45-19.00 น. ผล มีเนื้อหุ้มเมล็ดแบบ aril เปลือกผลมีหนาม โดยทั่วไปแต่ละผลจะมี 5 พู เนื้อหุ้มเมล็ดมี

รสหวาน สีขาวจนถึงสีเหลืองส้ม และมีกลิ่นเฉพาะตัว **เมล็ด** มีรูปทรงยาวรี มีสีแตกต่างกันในแต่ละพันธุ์ เนื้อในเมล็ดสีขาวนวล และมีเมือก

## 2. การจำแนกพันธุ์ทุเรียน

### 2.1 การจำแนกโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

หิรัญ (2551) ได้จำแนกพันธุ์ทุเรียนในประเทศไทยได้เป็น 6 กลุ่ม ตามลักษณะรูปร่างใบ ปลายใบ ฐานใบ ทรงผล และรูปร่างของหนามผล ซึ่งเป็นลักษณะที่ค่อนข้างคงที่ไม่แปรปรวนตามสภาพแวดล้อม ใช้เป็นเกณฑ์การจำแนกกลุ่มพันธุ์ทุเรียนได้อย่างเป็นระบบ และสามารถใช้อ้างอิงในเชิงพฤกษศาสตร์เป็นแนวทางเดียวกันได้ ดังนี้

1. กลุ่มกบ ใบรูปขอบขนาน ปลายใบแหลมโค้ง ฐานใบกลมมน ทรงผลกลมแบนถึงกลมรี และมีหนามโค้งงอ มีทั้งหมด 46 พันธุ์ เช่น กบตาขำ กบทองคำ กบแม่เต่า กบก้านเหลือง เป็นต้น

2. กลุ่มลวง ใบป้อมกลางใบ ปลายใบเรียวแหลม ฐานใบแหลม หรือมน ทรงผลทรงกระบอก หรือรูปรี หนามเว้า มีทั้งหมด 12 พันธุ์ เช่น ลวงทอง ชะนี ย่ามะหวด และชมพูศรี เป็นต้น

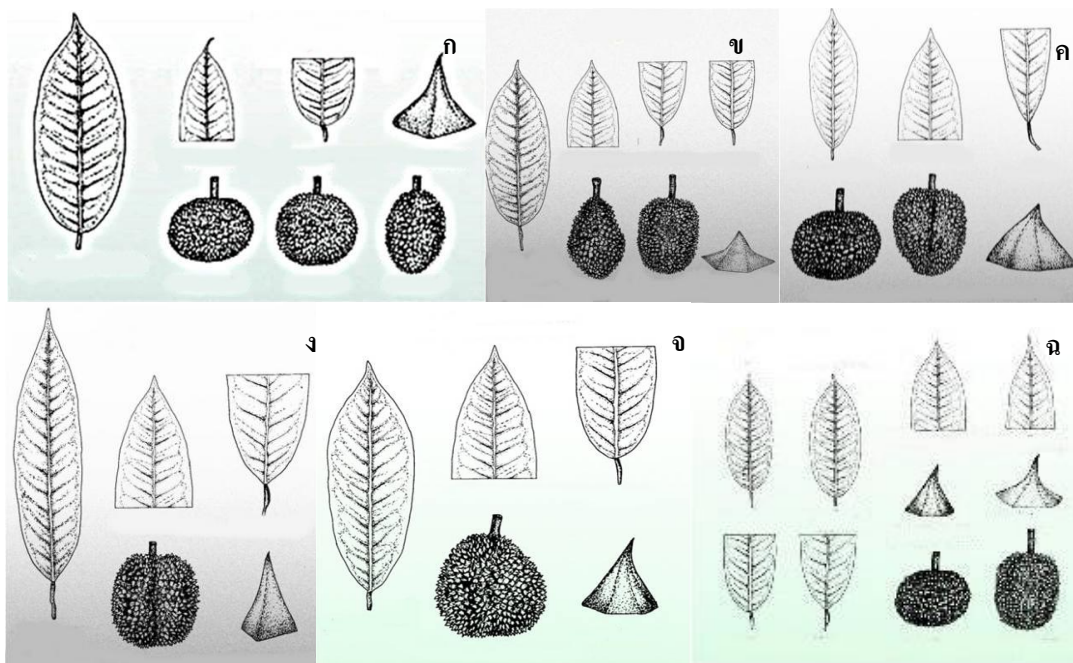
3. กลุ่มก้านยาว ใบป้อมปลายใบ ปลายใบเรียวแหลม ฐานใบเรียว ทรงผลรูปไข่กลับ หรือกลม หนามนูน มีทั้งหมด 8 พันธุ์ เช่น ก้านยาว ก้านยาววัดสัก และก้านยาวสีนาก เป็นต้น

4. กลุ่มกำป็น ใบยาวรี ปลายใบเรียวแหลม ฐานใบแหลมตรง ทรงผลทรงขอบขนาน หนามแหลมตรง มีทั้งหมด 13 พันธุ์ เช่น กำป็นเหลือง กำป็นแดง ปิ่นทอง และหมอนทอง เป็นต้น

5. กลุ่มทองย้อย ใบป้อมปลายใบ ปลายใบเรียวแหลม ฐานใบมน ทรงผลรูปไข่ หนามนูนปลายแหลม มีทั้งหมด 14 พันธุ์ เช่น ทองย้อยเดิม ทองย้อยจักร และทองใหม่ เป็นต้น

6. กลุ่มเบ็ดเตล็ด เป็นทุเรียนที่ไม่สามารถจำแนกลักษณะพันธุ์ได้อย่างชัดเจน ซึ่งอาจมีลักษณะเหมือนกับกลุ่มใดกลุ่มหนึ่ง ขณะเดียวกันก็มีลักษณะที่แตกต่างออกไป โดยมีอยู่ถึง 81 พันธุ์ เช่น กระเทยเนื้อขาว กระจุกทอง บางขุนนนท์ อีลิป พวงมณี และหลงลับแล เป็นต้น

สำหรับพันธุ์ที่นิยมปลูกกันมาก และเป็นพันธุ์การค้ามีทั้งหมด 4 พันธุ์ คือ หมอนทอง ชะนี ก้านยาว และกระจุก



รูปที่ 2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของทุเรียนทั้ง 6 กลุ่ม ตามการจำแนกของ หิรัญ (2551) โดย (ก) กลุ่มกบ (ข) ลวง (ค) ก้านยาว (ง) กำป็น (จ) ทองย้อย และ (ฉ) เบ็ดเตล็ด

ทรงผล และคณะ (2549) ใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และลักษณะทางการเกษตร เป็นข้อมูลในการคัดเลือกพันธุ์ทุเรียนลูกผสม ดังนี้

1. น้ำหนักผล
2. ขนาดผล
3. ความยาว และเส้นผ่านศูนย์กลางก้านผล
4. รูปทรงผล
  - กลม
  - กลมแป้น
  - กลมรี
  - รูปรี
  - รูปไข่
  - รูปไข่กลับ
  - รูปขอบขนาน
  - ทรงกระบอก

5. ความหนาเปลือก
6. สีเนื้อ
  - เหลืองอ่อน
  - เหลือง
  - เหลืองเข้ม
  - เหลืองส้ม
  - ส้มแดง
7. ความหนาเนื้อ
8. เปอร์เซ็นต์เนื้อต่อผล
9. น้ำหนักเมล็ดต่อผล
10. สีเมล็ด
11. ความกว้าง และความยาวของเมล็ด
12. เปอร์เซ็นต์เมล็ดลิบ
13. รสชาติ
  - หวานเล็กน้อย
  - หวานมัน
  - หวานมันอร่อย
14. กลิ่น
  - กลิ่นจุน
  - กลิ่นปานกลาง
  - กลิ่นอ่อน
15. ลักษณะเนื้อ
  - หยาบ
  - ละเอียดปานกลาง
  - ละเอียดเหนียว
16. คุณภาพการรับประทาน
  - เลว
  - ปานกลาง
  - ดี

17. อายุการเก็บเกี่ยว
18. เปอร์เซ็นต์การติดผล
19. ผลผลิตต่อต้น

## 2.2 การจำแนกพันธุ์โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล

การใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการศึกษาพันธุกรรมพืช เป็นการศึกษาในระดับดีเอ็นเอ เพื่อใช้เป็นเครื่องมือในการจำแนกสายพันธุ์พืช และนำมาใช้ในการทำแผนที่พันธุกรรม (Lespinasse *et al.*, 2000) เนื่องจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่สังเกตได้จากภายนอกไม่สามารถบอกความแตกต่างได้ว่ามีความหลากหลายทางพันธุกรรมมากน้อยเพียงใด การใช้เครื่องหมายโมเลกุลจึงมีบทบาทมากขึ้น เนื่องจากมีความแม่นยำสูง เครื่องหมายโมเลกุลสามารถตรวจสอบได้ตั้งแต่ระยะต้นกล้า การคัดเลือกสามารถทำได้หลายลักษณะ และทุกระยะการเจริญเติบโตของพืช โดยไม่ทำลายต้นพืช (กัลยา และกรรณิการ์, 2544) เครื่องหมายทางโมเลกุลมี 2 ระดับ เช่น ระดับโปรตีน เป็นการศึกษาที่โมเลกุลของโปรตีนชนิดต่างๆ และระดับดีเอ็นเอ เป็นการศึกษาตรวจสอบความแตกต่างของนิวคลีโอไทด์ในโมเลกุลดีเอ็นเอ ซึ่งการตรวจสอบในระดับดีเอ็นเอมีข้อดี คือ โมเลกุลของดีเอ็นเอมีความเสถียร เก็บไว้ได้นาน และดีเอ็นเอเป็นองค์ประกอบที่มีอยู่ในเซลล์ทุกเซลล์ สามารถตรวจสอบได้จากเนื้อเยื่อต่างๆ ในหลายระยะการเจริญเติบโต เครื่องหมายโมเลกุลที่นิยมใช้ในพืชมีหลายชนิด เช่น เอเอฟแอลพี (AFLP : Amplification Fragment Length Polymorphism) อาร์เอพีดี (RAPD : Random Amplified Polymorphic DNA) ไมโครแซทเทลไลท์ (Microsatellite) (Bindu *et al.*, 2004) เป็นต้น สำหรับการศึกษาทางพันธุกรรมของทุเรียนนั้น มีการศึกษาด้วยเครื่องหมายโมเลกุลในหลายเครื่องหมาย เช่น ในการศึกษาความสัมพันธ์ของทุเรียน 10 ชนิด โดยใช้เทคนิค RFLP กับยีนในคลอโรพลาสต์ 2 ยีน พบว่า ยีน *ndhC-trnV* สามารถแบ่งกลุ่มทุเรียนได้ 5 กลุ่ม และยีน *rbcL* สามารถแบ่งกลุ่มทุเรียนได้ 3 กลุ่ม (Panca *et al.*, 2005) การศึกษา ลักษณะประจำพันธุ์โดยใช้เทคนิคไอโซไซม์ ในทุเรียนสายต้นต่างๆ 4 พันธุ์ คือ หมอนทอง กระจุมชะนี และก้านยาว พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์ Peroxidase มีแถบที่บอกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ และระหว่างต้นในพันธุ์เดียวกัน (สุภาพ และคณะ, 2539) การศึกษาจำแนกชนิด พันธุ์ สายต้นของทุเรียนด้วยเทคนิค DNA Amplification Fingerprinting (DAF) โดย ทรงพล และคณะ (2549) ได้ทำการศึกษา และตรวจสอบลักษณะประจำพันธุ์ในระดับพันธุกรรมของทุเรียน 9 ชนิด 56 พันธุ์ พบว่า สามารถจำแนกทุเรียนออกเป็น 3 กลุ่ม และจำแนกสายต้นทุเรียนพันธุ์การค้าได้ 4 กลุ่ม

### 2.3 เครื่องหมายโมเลกุลอาร์เอพีดี

อาร์เอพีดี (Random Amplified Polymorphic DNA) เป็นวิธีวิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรมโดยใช้เทคนิคพีซีอาร์ ซึ่งไม่จำเป็นต้องทราบข้อมูลเกี่ยวกับลำดับเบสของดีเอ็นเอเป้าหมาย เนื่องจากไพรเมอร์ที่ใช้ไม่จำเพาะเจาะจงกับดีเอ็นเอบริเวณใด หลักการของเทคนิคนี้คือใช้ไพรเมอร์ที่มีขนาดสั้นเพียงชนิดเดียวเพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบสุ่ม โดยใช้ไพรเมอร์ขนาด 10 นิวคลีโอไทด์ เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ และแยกขนาดดีเอ็นเอที่ได้ โดยการทำอิเล็กโทรโฟรีซิสในอะกาโรสเจล และย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ (สุรินทร์, 2545) มีการนำเครื่องหมายอาร์เอพีดี มาใช้ประโยชน์ในการศึกษา วิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรม และจำแนกพันธุ์ทุเรียน เช่น การวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอร่วมกับองค์ประกอบพอลิแซ็กคาไรด์ในทุเรียนต่างสายพันธุ์ (อรอนงค์, 2549) การปรับปรุงพันธุ์ทุเรียนเพื่อผลิตพันธุ์ลูกผสมต้นฤดูที่มีคุณภาพดี และจำแนกชนิด พันธุ์ สายพันธุ์ ลูกผสมที่ดีเด่น (ทรงพล และคณะ, 2549) การนำเครื่องหมายโมเลกุล RAPD มาใช้เพื่อการจำแนกพืชในสกุล *Durio* (ศุจิรัตน์, 2554) สำหรับทุเรียนพื้นบ้าน หรือทุเรียนท้องถิ่นนั้น Ruwida และคณะ (2009) ได้วิเคราะห์ความแปรปรวนของทุเรียนชุกกันซึ่งเป็นทุเรียนพันธุ์หนึ่งของอินโดนีเซียด้วยเทคนิค RAPD โดยนำมาเปรียบเทียบกับลักษณะทางพันธุกรรมกับทุเรียนพันธุ์อื่นๆ เช่น ปัทัก ชุนัน กานี และหมอนทอง แล้วทำการทดสอบด้วยไพรเมอร์ชนิด 10 เบส จำนวน 20 ไพรเมอร์ คัดเลือกไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอชัดเจน และแสดงความแตกต่างกันระหว่างพันธุ์ได้จำนวน 6 ไพรเมอร์ คือ OPA-01, OPA-02, OPA-07, OPA-16, OPA-18 และ OPA-19 สามารถแสดงความแตกต่างของทุเรียนทั้ง 5 พันธุ์ เนื่องจากทุเรียนพันธุ์ดังกล่าวเจริญเติบโตในพื้นที่ต่างกัน ส่วนในประเทศไทย โอการ และศรีสมร (2554) ได้ทำการจำแนกทุเรียนสายพันธุ์ท้องถิ่นในจังหวัดนนทบุรีโดยเทคนิคอาร์เอพีดี โดยทดสอบด้วยไพรเมอร์ขนาด 10 เบส จำนวน 9 ไพรเมอร์ คือ OPAM-03, OPAM-18, OPB-01, OPB-14, OPC-01, OPC-05, OPK-05 และ OPZ-03 จากไพรเมอร์ดังกล่าวพบแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันจำนวน 30 แถบ และสามารถแบ่งกลุ่มทุเรียนที่ศึกษาได้เป็น 2 กลุ่ม Vanijajiva (2011) ศึกษาความแปรปรวนของทุเรียนที่ปลูกในพื้นที่จังหวัดนนทบุรีจำนวน 14 ตัวอย่าง ประกอบด้วย กลุ่มกบ 6 พันธุ์ ก้านยาว หมอนทอง และชะนี อย่างละ 1 พันธุ์ ที่เหลือเป็นพันธุ์อื่นๆ พบว่า มีความแปรปรวนค่อนข้างสูง มีค่าสัมประสิทธิ์ความใกล้ชิดทางพันธุกรรมระหว่าง 0.235-0.956 Hariyiti และคณะ (2013) ทำการผสมพันธุ์ระหว่าง *D. kutejensis* ซึ่งมีเนื้อผลสีเหลืองทองแต่ไม่มีกลิ่นกับ *D. zibethinus* เพื่อรวมลักษณะดีระหว่างสองสายพันธุ์ และคัดเลือกพันธุ์ลูกผสมโดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี

## 2.4 เครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลท์

ไมโครแซทเทลไลท์ หรือ SSR (Simple Sequence Repeat) เป็นลำดับเบสที่มีลักษณะซ้ำกันเรียงกันอย่างต่อเนื่องที่ตำแหน่งหนึ่งๆ ในจีโนม แต่ละชุดประกอบด้วยลำดับเบสซ้ำสั้นๆ เพียง 1-6 คู่เบส หรือไม่เกิน 10 คู่เบส พบในสิ่งมีชีวิตทุกชนิด ลำดับเบสแบบไมโครแซทเทลไลท์นี้มีการกระจายตัวอยู่ทั้งจีโนม แต่การกระจายตัวไม่สม่ำเสมอ หน้าที่ของไมโครแซทเทลไลท์ยังไม่ทราบแน่ชัด มีบางส่วนที่เป็นส่วนอนุรักษ์ โดยพบอยู่ที่ตำแหน่งเดียวกันในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด บางส่วนทำหน้าที่ได้ เนื่องจากอยู่ในส่วนนำรหัสของยีน ความแตกต่างหรือพอลิมอร์ฟิซึม ที่เกิดจากเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ คือ ความแตกต่างของขนาดดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ เนื่องจากจำนวนชุดซ้ำที่ตำแหน่งเดียวกันในแต่ละตัวอย่างมีไม่เท่ากัน ขนาดของดีเอ็นเอที่แตกต่างกันอาจมีเพียง 1 ชุดซ้ำ ปัจจุบันมีการใช้ไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอกันมากในการศึกษาแผนที่ของจีโนม และแยกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิต การตรวจสอบไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอทำได้หลายวิธี เช่น การทำ Southern blot hybridization แต่ปัจจุบันนิยมตรวจสอบไมโครแซทเทลไลท์ชนิดใดชนิดหนึ่งที่ตำแหน่งจำเพาะครั้งละ 1 ตำแหน่ง โดยใช้เทคนิคพีซีอาร์ จึงต้องใช้ไพรเมอร์ 2 ชนิดที่มีลำดับเบสที่เป็นคู่สมกันกับลำดับเบสที่อยู่ข้างของไมโครแซทเทลไลท์ที่ตำแหน่งดังกล่าว เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์สามารถนำไปใช้ได้ง่าย เนื่องจากเป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใช้การเพิ่มปริมาณโดยวิธีพีซีอาร์ จึงต้องการดีเอ็นเอตัวอย่างในปริมาณน้อย ไม่จำเป็นต้องใช้ดีเอ็นเอที่มีคุณภาพมากนัก ทั้งผลการตรวจสอบยังมีความแม่นยำ มีพอลิมอร์ฟิซึมสูง เนื่องจากเกิดการเปลี่ยนแปลงจำนวนชุดซ้ำได้ง่าย เหมาะสำหรับการใช้ในการทำแผนที่จีโนม ตรวจสอบเอกลักษณ์ของสิ่งมีชีวิต ตรวจสอบความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในด้านต่างๆ อีกมากมาย (สุรินทร์, 2552) ที่สำคัญเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ เป็นเครื่องหมายโมเลกุลที่มีคุณสมบัติเป็น codominant และสามารถทำซ้ำกี่ครั้งก็ได้ผลเหมือนเดิม (Oliveira *et al.*, 2006) มีการนำเอาเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์มาใช้ในการศึกษาพันธุกรรมของพืชหลายชนิด เช่น มะม่วง (Duval *et al.*, 2006) ส้ม (บัณฑิตา, 2552) *Diospyros kaki* (Luo *et al.*, 2008) น้อยหน่า (Chatrou *et al.*, 2009) ลิ้นจี่ และเงาะ (Sim *et al.*, 2005) เป็นต้น สำหรับในทุเรียน ปิยรัชฎ์ และคณะ (2552) ได้ทำการพัฒนาไพรเมอร์ของเครื่องหมายชนิดไมโครแซทเทลไลท์ในทุเรียน เพื่อการจัดจำแนกทุเรียนจำนวน 135 สายพันธุ์ พบว่า ไพรเมอร์ MS1AAC-19 สามารถใช้จำแนกพันธุ์ทุเรียนได้ดีที่สุด และได้ผลสรุปว่าทุเรียนมีความหลากหลายทางพันธุกรรมค่อนข้างสูง

### วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษา และเปรียบเทียบความแตกต่างของทุเรียนพื้นบ้านในภาคใต้โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา และใช้เครื่องหมายโมเลกุล
2. เพื่อเก็บรวบรวมทุเรียนพันธุ์พื้นบ้านที่มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นพันธุ์การค้าทั้งระดับท้องถิ่น และระดับประเทศในอนาคต



## บทที่ 2

### วิธีการวิจัย

#### วิธีการดำเนินการ

##### 1. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียนพื้นบ้าน

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของทุเรียนพื้นบ้านในเขตจังหวัดทางภาคใต้ของประเทศไทย คือ สงขลา ยะลา นครศรีธรรมราช กระบี่ และพังงา โดยทำการบันทึกรายละเอียดและบันทึกภาพของลักษณะสำคัญในส่วนต่างๆ ของผลทุเรียนที่ทำการเก็บตัวอย่าง โดยลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่บันทึก คือ

- รูปทรงผล และสีผล
- น้ำหนักผล
- ขนาดความกว้าง และของผล
- ลักษณะหนาม
- ความหนาเปลือก
- ลักษณะเนื้อผล และสีเนื้อผล
- กลิ่น
- รสชาติ
- คุณภาพในการบริโภค
- ลักษณะพิเศษอื่นๆ

##### 2. การเก็บตัวอย่าง

สุ่มเก็บตัวอย่างบีและเปลือกต้นจากต้นทุเรียนจากแหล่งปลูกต่างๆ ในพื้นที่ภาคใต้ ได้แก่ สงขลา ยะลา นครศรีธรรมราช กระบี่ และพังงา (ตารางที่ 4) โดยเก็บตัวอย่างใบ หรือเปลือกต้นบริเวณโคนต้น (ในกรณีที่ดินสูงมาก ไม่สามารถเก็บใบได้) เก็บใส่ถุงพลาสติกแล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาสกัดดีเอ็นเอ

ตารางที่ 4 แหล่งที่มาของทุเรียนแต่ละตัวอย่าง จากการศึกษาครั้งนี้

No.	ชื่อ	ที่มา	No.	ชื่อ	ที่มา
1	นางงาม	อ.นาหม่อม จ.สงขลา	27	ลุงถม 1	อ.นาหม่อม จ.สงขลา
2	เขียวใหญ่ 1	—————”—————	28	ลุงถม 2	—————”—————
3	เขียวใหญ่ 2	”	29	ลุงถม 3	”
4	หน้าโตน	”	30	ลุงถม 4	”
5	หนามหลิบ	”	31	ลุงถม 5	”
6	เขี้ยวขี้	”	32	ลุงถม 6	”
7	ปากทาง	”	33	สาริกา 1	อ.กะปง จ.พังงา
8	ขมื่น	”	34	สาริกา 2	—————”—————
9	วันยาว	”	35	สาริกา 3	”
10	เกลบ	”	36	สาริกา 4	”
11	หนามดำ	”	37	กะปง 1	”
12	หนิมน้ำ	”	38	กะปง 2	”
13	รอก	”	39	กะปง 3	”
14	หนูน	”	40	กะปง 4	”
15	เขี้ยวกลางเกาะ	”	41	เหนือคลอง 1	อ.เหนือคลอง จ.กระบี่
16	ท่อนดี	”	42	เหนือคลอง 2	—————”—————
17	สีขี้ขี้	”	43	เบตง 1	อ.เบตง จ.ยะลา
18	เล็บครุฑ	”	44	เบตง 2	—————”—————
19	วอน	”	45	เบตง 3	”
20	เรียนเบา	”	46	เบตง 4	”
21	โตน 1	อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา	47	เบตง 5	”
22	โตน 2	—————”—————	48	เบตง 6	”
23	โตน 3	”	49	เบตง 7	”
24	โตน 4	”	50	เบตง 8	”
25	โตน 5	”	51	เบตง 9	”
26	โตน 6	”	52	เบตง 10	”

ตารางที่ 4 (ต่อ) แหล่งที่มาของทุเรียนแต่ละตัวอย่าง จากการศึกษาครั้งนี้

No.	ชื่อ	ที่มา	No.	ชื่อ	ที่มา
53	เบตง 11	อ.เบตง จ.ยะลา	61	ไต้ล้าน	อ.ลานสกา จ.นครศรีธรรมราช
54	เบตง 12	————— ” —————	62	จี๊ดจูก	————— ” —————
55	เบตง 13	”	63	จี๊ดแตก	”
56	เบตง 14	”	64	ไต้เชื้อ 1	”
57	เบตง 15	”	65	ไต้เชื้อ 2	”
58	เบตง 16	”	66	ไต้บาตร	”
59	เบตง 17	”	67	ไต้ปริง	”
60	เบตง 18	”			

### 3. การสกัดดีเอ็นเอ

สกัดดีเอ็นเอจากใบ และเปลือกต้นทุเรียนที่สุ่มเก็บ โดยใช้สารละลาย CTAB (hexadecyl trimethyl ammonium bromide) โดยใช้ตัวอย่าง 200 มิลลิกรัม น้ำหนักสดมาล้างทำความสะอาด ซับให้แห้ง บดใน Extraction buffer (100 mM tris, 1.4 M NaCl, 20 mM EDTA, pH 8.0, 2% CTAB, 2%  $\beta$ -mercaptoethanol) ปริมาตร 700 ไมโครลิตร ร่วมกับ PVP 50 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักพืช 0.5 กรัม ในโถรงให้ละเอียด จากนั้นใส่ในหลอดไมโครเซ็นติฟิวจ์ เขย่าให้เข้ากัน นำไปปั่นที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที กลับหลอดไปมาทุก 10 นาที วางให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เติมคลอโรฟอร์ม 800 ไมโครลิตร กลับหลอดไปมาเบาๆ ปั่นเหวี่ยงใช้ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที จะได้สารละลายที่แยกชั้นใส คูดสารละลายส่วนใสใส่หลอดไมโครเซ็นติฟิวจ์ หลอดใหม่ เติมคลอโรฟอร์ม : ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ (24:1) 800 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ปั่นเหวี่ยงโดยใช้ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที คูดสารละลายส่วนใสใส่หลอดใหม่ เติม 5 โมลาร์ โซเดียมคลอไรด์ ครึ่งหนึ่งของปริมาตรสารละลายที่ได้ และเติม 95% เอทานอล ปริมาตร 750 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปแช่ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เทสารละลายทิ้ง และล้างตะกอนด้วย 70% เอทานอล ฟุ้งตะกอนให้แห้ง หลังจากนั้นละลายตะกอนด้วย TE buffer แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ข้ามคืนเพื่อให้ตะกอนดีเอ็นเอละลายดี จากนั้นนำดีเอ็นเอที่ละลายดีแล้วมาตกตะกอนด้วย เอทานอลบริสุทธิ์ ที่แช่เย็นจัดใน ปริมาตร 2 เท่าของสารละลายดีเอ็นเอ ผสมกับ 3 โมลาร์ โซเดียมอะซิเตด ในปริมาตร 1/10 ของ

สารละลาย กลับหลอดไปมาเพื่อตกตะกอนดีเอ็นเอ หากไม่เห็นตะกอนดีเอ็นเอให้นำไปแช่ที่ อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส 1-2 ชั่วโมง หรือข้ามคืน นำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้งที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที เทส่วนใสทิ้ง ล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วยเอธานอล ความเข้มข้น 70% ที่ แช่เย็น 3 ครั้ง ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย TE buffer 70 ไมโครลิตร [Tris-HCl (pH 7.5) 10 มิลลิโมลาร์ และ Na<sub>2</sub>EDTA (pH 7.0) 1 มิลลิโมลาร์] ที่ อุณหภูมิห้อง เก็บรักษาดีเอ็นเอที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้

#### 4. การตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอ

ตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้ด้วยการเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน (แลมดาดีเอ็นเอ) โดยการทำอิเล็กโตรโฟรีซิสในอะกาโรสเจล (LE Agarose, Promega, USA) เข้มข้น 0.8% แรงเคลื่อนไฟฟ้า 100 โวลต์ ในสารละลาย TAE buffer (Tris Base, Glacial acetic acid, EDTA 0.5 โมลาร์ pH 8.0) เป็นเวลา 20 นาที ย้อมแถบดีเอ็นเอที่ได้ด้วย เอธิเดียมโบรไมด์ แล้วนำไป ตรวจสอบภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต 260 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง gel documentation

#### 5. การวิเคราะห์พันธุกรรมของของทุเรียนพันธุ์พื้นบ้านโดยใช้เครื่องหมายอาร์เอฟดี

##### 5.1 การคัดเลือกไพรเมอร์

ทำการทดสอบไพรเมอร์ขนาด 10 เบส โดยการสุ่มจากไพรเมอร์ที่มีอยู่แล้ว และ จากไพรเมอร์ที่มีผู้ศึกษามาก่อน ประกอบด้วย 10 ไพรเมอร์ คือ OPA-01, OPA-02, OPA-07, OPA-16, OPA-18, และ OPA-19 (Ruwaida *et al.*, 2009) นอกจากนั้นจะทำการคัดเลือกไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบสุ่มได้ด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์เพิ่มเติมอีกจำนวนทั้งสิ้น 40 ไพรเมอร์ เพื่อประสิทธิภาพในการจำแนกความแตกต่างระหว่างกลุ่มประชากร โดยปฏิกิริยาพีซีอาร์ที่ใช้ คือ

อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที 1 รอบ	}	45 รอบ
อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที		
อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที		
อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที		
อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที 1 รอบ		

หลังจากทำพีซีอาร์ นำสารละลายดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณแล้ว จำนวน 10 ไมโครลิตร มาตรวจสอบขนาดชิ้นดีเอ็นเอ ด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิสบนแผ่นวุ้น LE agarose ที่ความเข้มข้น 1.8%

ละลายใน TBE Buffer (Tris Base, Boric acid, Na<sub>2</sub>EDTA 0.5 โมลาร์; pH 8.0) ใช้แรงเคลื่อนไฟฟ้า 100 โวลต์ 60 นาที ย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยเอธิเดียมโบรไมด์เข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 20 นาที ล้างน้ำ 10 นาที ตรวจสอบแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต 260 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง gel documentation คัดเลือกไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณ และให้แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่าง (polymorphism) ระหว่างตัวแทนประชากรแต่ละกลุ่ม

## 6. การวิเคราะห์พันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านโดยใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์

### 6.1 การคัดเลือกไพรเมอร์

ทดสอบหาไพรเมอร์ที่เหมาะสมสำหรับการทำไมโครแซทเทลไลท์ จากไพรเมอร์ที่มีผู้ทำการศึกษามาก่อนในทุเรียน ซึ่งประกอบด้วยไพรเมอร์จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ ไพรเมอร์ MS1CT-7, MS1CT-9, MS1CT-16, MS1CT-27, MS1AAC-2, MS1AAC-19 (ปิรัชญ์ และคณะ, 2552) นำมาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ไพรเมอร์ ซึ่งเป็น forward และ reward โดยวิธีพีซีอาร์ โดยปฏิกิริยาพีซีอาร์ที่ใช้คือ

อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที 1 รอบ	} 30 รอบ
อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที	
อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที	
อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที 30 วินาที	
อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 7 นาที 1 รอบ	

หลังจากนั้นนำสารละลายดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณแล้ว จำนวน 10 ไมโครลิตร มาตรวจสอบขนาดชิ้นของดีเอ็นเอ ด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิสบนแผ่นวุ้น LE agarose ที่ความเข้มข้น 3% ละลายใน TBE Buffer (Tris Base, Boric acid, Na<sub>2</sub>EDTA 0.5 โมลาร์; pH 8.0) ใช้แรงเคลื่อนไฟฟ้า 100 โวลต์ 75 นาที ย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยเอธิเดียมโบรไมด์เข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 20 นาที ล้างน้ำ 10 นาที ตรวจสอบแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต 260 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง gel documentation คัดเลือกไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณ และให้แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่าง (polymorphism) ระหว่างตัวแทนประชากรแต่ละกลุ่ม

## 7. การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูล โดยแปลงข้อมูลแถบดีเอ็นเอให้ตำแหน่งที่มีแถบดีเอ็นเอมีค่าเท่ากับ 1 และตำแหน่งที่ไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอมีค่าเท่ากับ 0 โดยคิดเฉพาะแถบ DNA ที่มีความ

ชัดเจน และเพิ่มปริมาณได้สม่ำเสมอเมื่อมีการทำพีซีอาร์ซ้ำ วิเคราะห์ความสัมพันธ์ และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมด้วยวิธี UPGMA ในโปรแกรม NTSYS version 2.1 (Rohlf, 2002)

## วัสดุ/อุปกรณ์การวิจัย

### 1. ตัวอย่างพืช

ใบ และเปลือกต้นทุเรียนพันธุ์พื้นบ้านที่สุ่มเก็บในพื้นที่ภาคใต้

### 2. สารเคมี

#### 2.1 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ

- CTAB (Hexadecyl trimethyl-ammonium bromide)
- $\beta$ -mercaptoethanol
- PVP-40 (Polyvinyl pyrrolidone)
- NaCl (Sodium chloride)
- Na<sub>2</sub>EDTA (Disodium ethylene diaminetetraacetate)
- Tris-HCl pH 8.0
- Chloroform
- Isopropanol
- TE buffer
- Ethanol

#### 2.2 สารเคมีสำหรับใช้ทำอิเล็กโทรโฟรีซิส

- Agarose
- LE agarose (FMC Bioproduct, USA)
- Glacial acetic acid
- Boric acid
- Tris-base
- Ethidium bromide
- Loading buffer

- Lamda DNA ( $\lambda$  DNA)
- 100 bp DNA Ladder (Operon, USA)

### 2.3 สารเคมีที่ใช้ทำพีซีอาร์

- dNTP (dATP, dTTP, dCTP และ dGTP) (Promega, USA)
- RAPD Primers
- Microsatellite Primers
- MgCl<sub>2</sub>
- *Taq* DNA Polymerase B (Promega, USA)

## 3. อุปกรณ์

### 3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างใบพืช

- ถุงพลาสติก
- กรรไกร
- กล่องโฟม
- ปากกาเขียนเครื่องแก้ว

### 3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ การทำอิเล็กโทรโฟรีซิส และการทำพีซีอาร์

- ตู้เย็นและตู้แช่แข็ง
- เครื่องไมโครเซนตริฟิวจ์
- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- เครื่องวัดความเป็นกรดต่าง
- เครื่องคนสารละลายอัตโนมัติ
- แทงแม่เหล็ก
- ปิเปตปรับปริมาตร
- เครื่องเขย่า
- เครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า
- เครื่องอิเล็กโทรโฟรีซิส
- เครื่องพีซีอาร์

- โกร่งบดตัวอย่าง
- หลอดไมโครเซนติฟิวจ์
- คู่มือโครเวฟ
- ตู้ดูดควัน
- Tip
- Gel Documentation
- น้ำแข็ง และกระติกน้ำแข็ง
- เครื่องแก้ว กระจกตวง และขวดต่างๆ

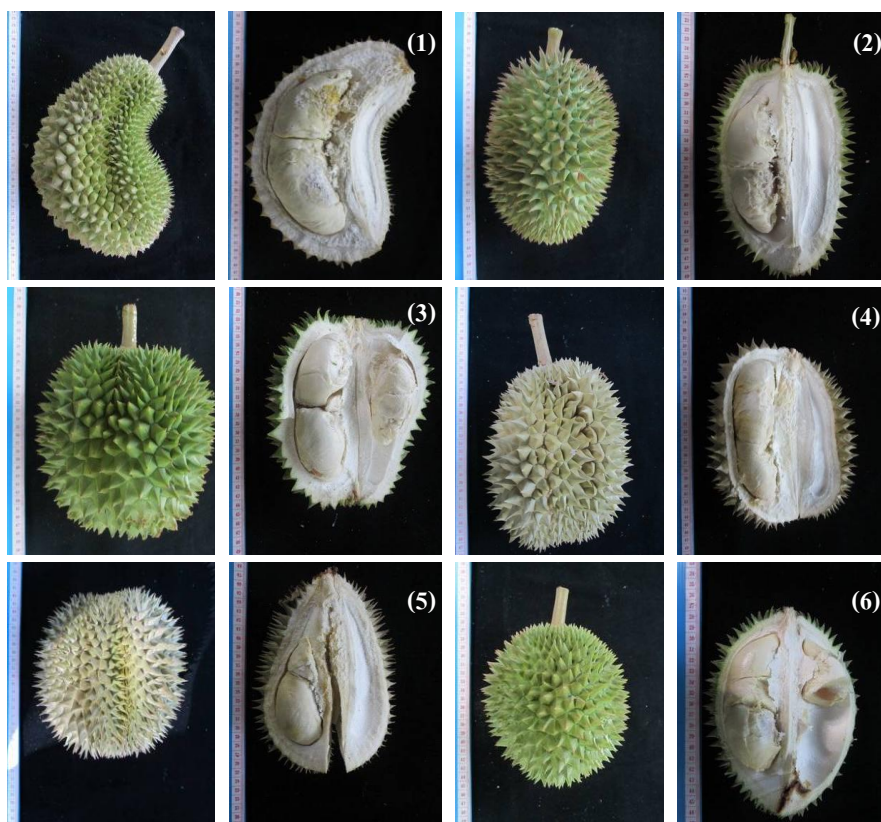


### บทที่ 3

#### ผลการวิจัย

##### 1. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของทุเรียนพื้นบ้าน

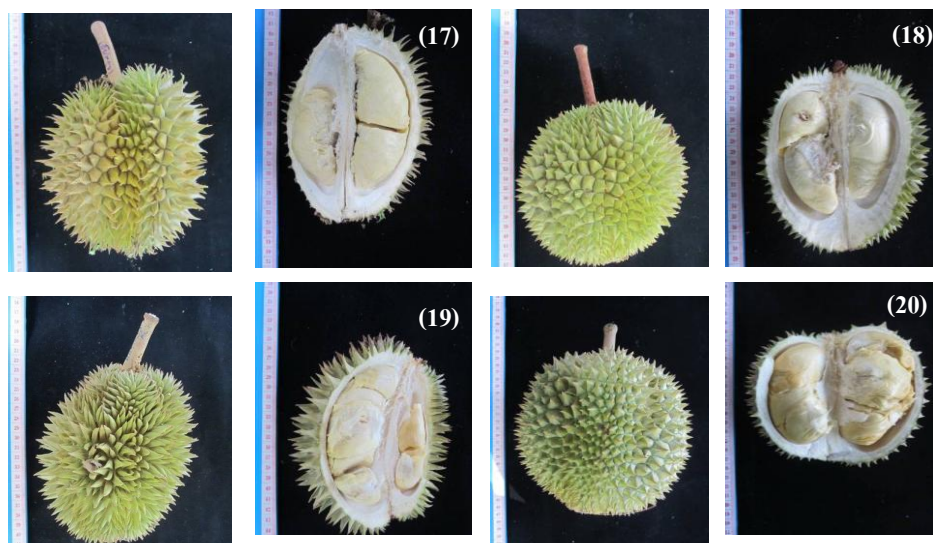
การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของทุเรียนพื้นบ้าน โดยใช้ลักษณะของรูปทรง ผล รูปร่างหนาม และสีของเนื้อ พบว่า กลุ่มตัวอย่างที่ทำการศึกษามีความหลากหลายของลักษณะดังกล่าวมาก (รูปที่ 3-8) โดยลักษณะของผล หนาม และเนื้อ สัมพันธ์กับลักษณะที่ใช้จัดกลุ่มทุเรียนของหิรัญ (2551) และแต่ละลักษณะมีการกระจายอยู่ทั่วทุกพื้นที่ที่ทำการศึกษา



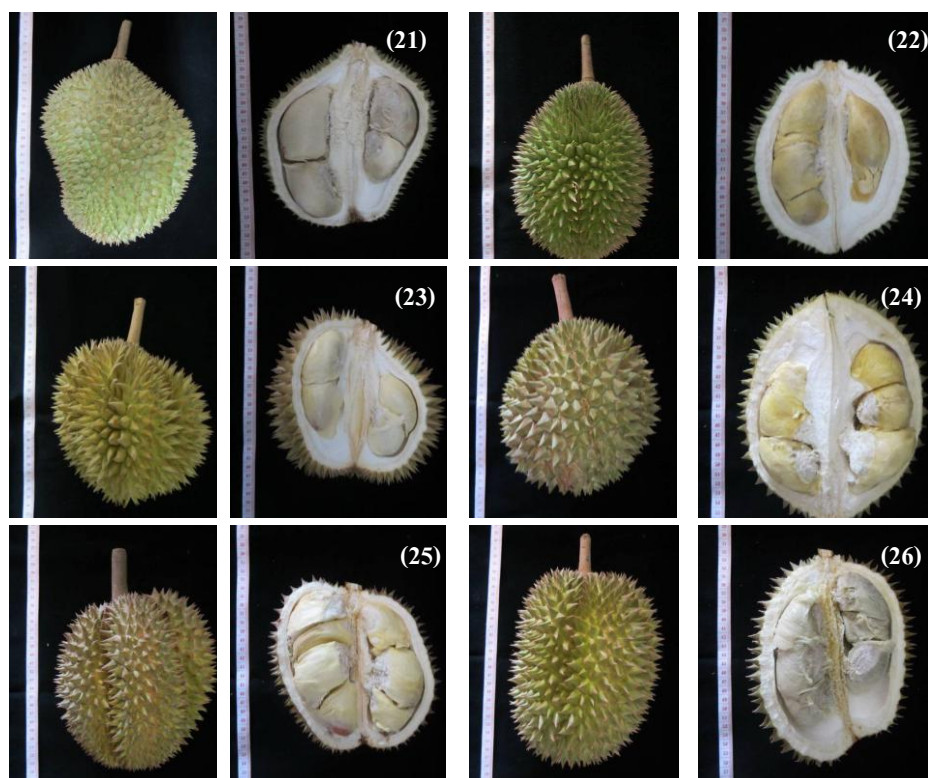
รูปที่ 3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียน : (1) - (20) เป็นตัวอย่างที่เก็บจาก จ.สงขลา  
สวนที่ 1 โดยชื่อของแต่ละหมายเลขได้แสดงในตารางที่ 4



รูปที่ 3 (ต่อ) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียน : (1) - (20) เป็นตัวอย่างที่เก็บจาก จ.สงขลา ส่วนที่ 1 โดยชื่อของแต่ละหมายเลขได้แสดงในตารางที่ 4



รูปที่ 3 (ต่อ) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียน : (1) - (20) เป็นตัวอย่างที่เก็บจาก จ.สงขลา  
 ส่วนที่ 1 โดยชื่อของแต่ละหมายเลขได้แสดงในตารางที่ 4



รูปที่ 4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียน : (21) - (26) เป็นตัวอย่างที่เก็บจาก จ.สงขลา  
 ส่วนที่ 2 โดยชื่อของแต่ละหมายเลขได้แสดงในตารางที่ 4

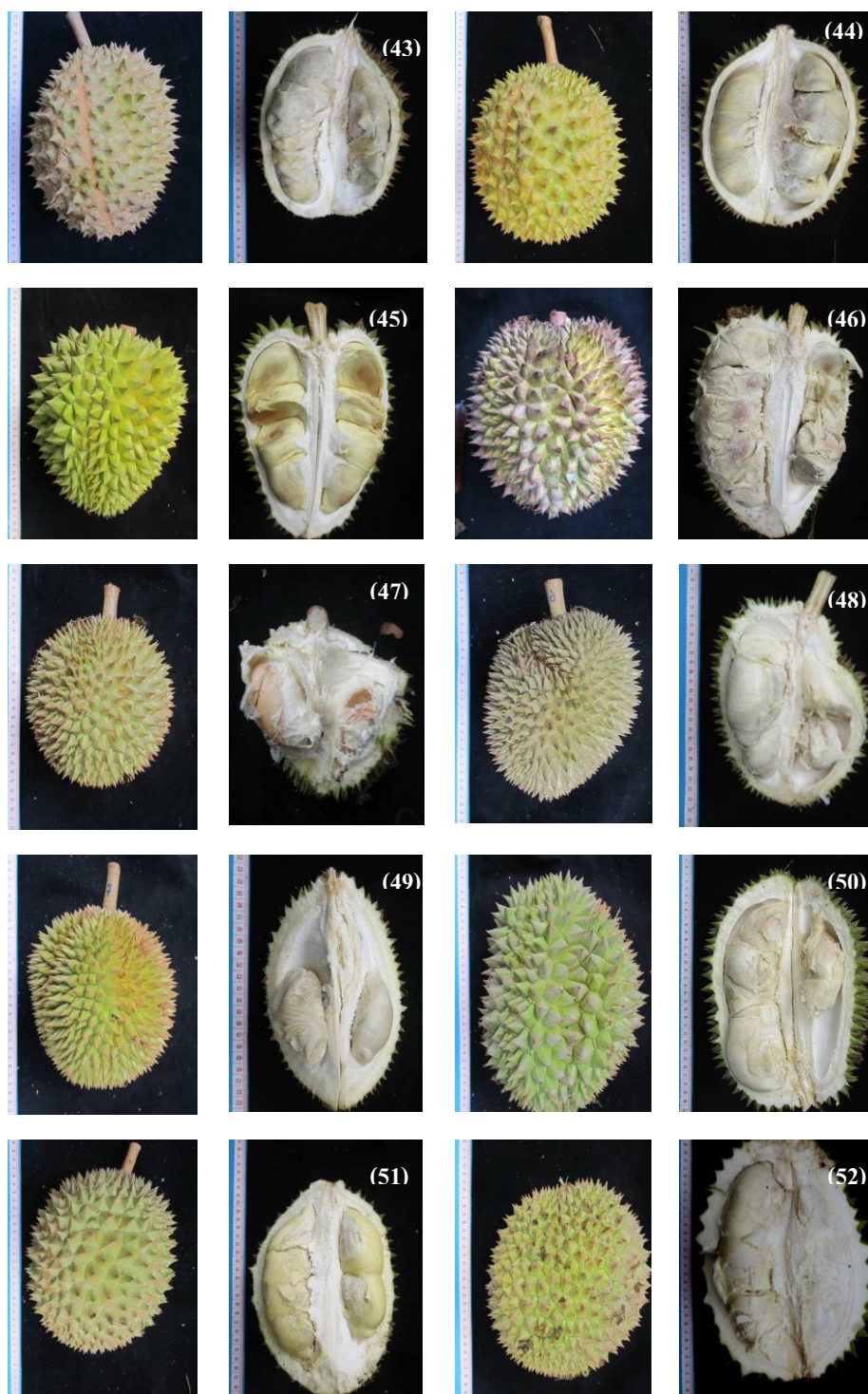


รูปที่ 5 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียน : (27) - (32) เป็นตัวอย่างที่เก็บจาก จ.สงขลา  
 ส่วนที่ 3 โดยชื่อของแต่ละหมายเลขได้แสดงในตารางที่ 4



รูปที่ 6 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียน: (36) - (42) เป็นตัวอย่างที่เก็บจาก จ.พังงา และ จ.กระบี่ โดยชื่อของแต่ละหมายเลขได้แสดงในตารางที่ 4

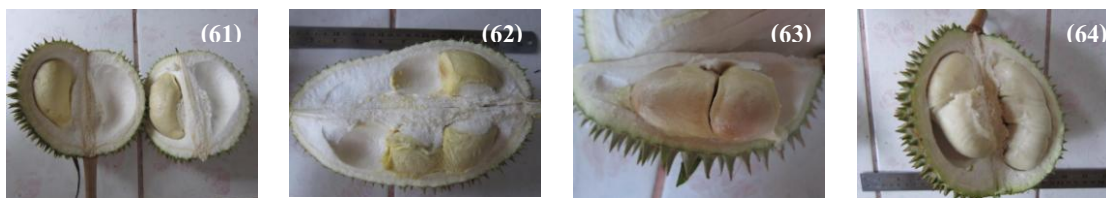
\*หมายเหตุ : ตัวอย่างหมายเลข (33) – (35) ไม่มีตัวอย่างผล



รูปที่ 7 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียน : (43) - (60) เป็นตัวอย่างที่เก็บจาก จ.ยะลา โดยชื่อของแต่ละหมายเลขได้แสดงในตารางที่ 4



รูปที่ 7 (ต่อ) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียน : (43) - (60) เป็นตัวอย่างที่เก็บจาก จ.ยะลา โดยชื่อของแต่ละหมายเลขได้แสดงในตารางที่ 4

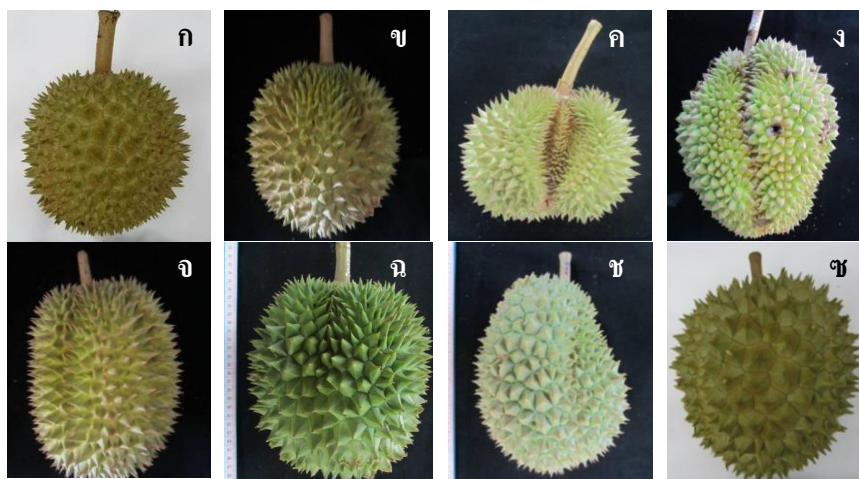


**รูปที่ 8** ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียน : (61) - (67) เป็นตัวอย่างที่เก็บจาก จ.พังงา และ จ.กระบี่ โดยชื่อของแต่ละหมายเลขได้แสดงในตารางที่ 4

\*หมายเหตุ : ตัวอย่างหมายเลข (65) – (67) ไม่มีตัวอย่างผล

### 1.1 รูปทรงผล

การศึกษาลักษณะรูปทรงผลของทุเรียนพื้นบ้านที่เก็บตัวอย่างทั้งหมดจำนวน 67 ต้น พบว่า สามารถจำแนกทุเรียนโดยอาศัยรูปทรงผลออกได้เป็น 8 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่มีผลทรงกลม (sphere) กลุ่มที่มีผลกลมรี (dyke) กลุ่มที่มีผลกลมแป้น (round) กลุ่มที่มีผลรูปรี (oval) กลุ่มที่มีผลทรงกระบอก (cylindrical) กลุ่มที่มีผลรูปขอบขนาน (oblong) กลุ่มที่มีผลรูปไข่ (elliptic) และกลุ่มที่มีผลรูปไข่กลับ (obovate) ซึ่งมีลักษณะดังแสดงในรูปที่ 9



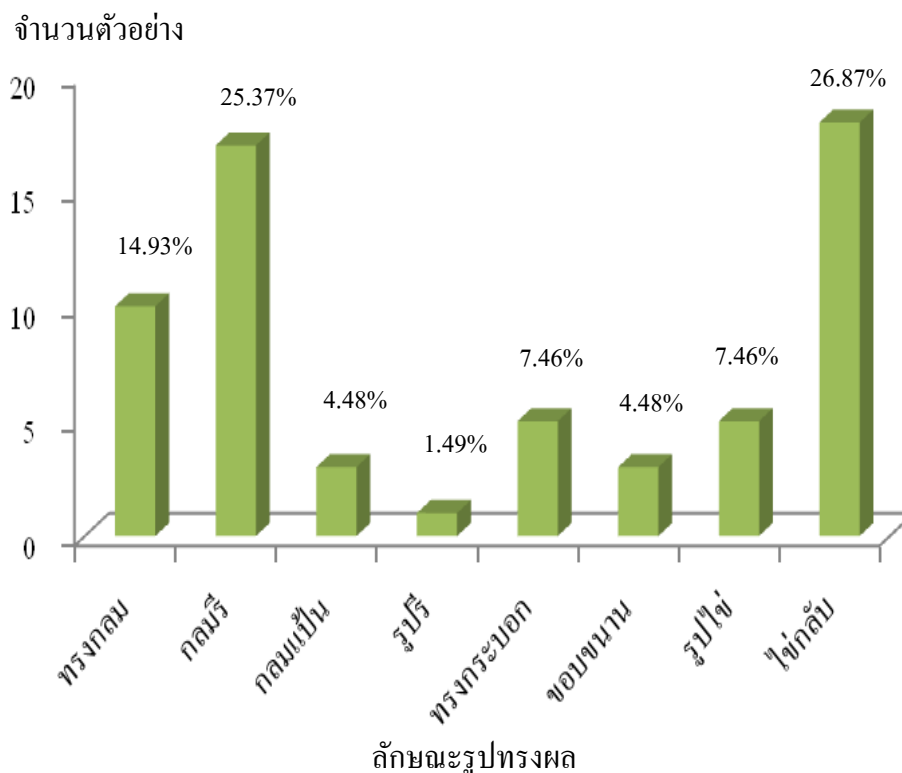
**รูปที่ 9** ลักษณะรูปทรงผลทุเรียนแบบต่างๆ โดย (ก) ผลทรงกลม (ข) ผลกลมรี (ค) ผลกลมแป้น (ง) ผลรูปรี (จ) ผลทรงกระบอก (ฉ) ผลรูปขอบขนาน (ช) ผลรูปไข่ และ (ซ) ผลรูปไข่กลับ ตามลำดับ



จากการแบ่งกลุ่มตัวอย่างที่เรียนตามลักษณะรูปทรงผล พบว่า มีประชากรอยู่ในแต่ละกลุ่ม ดังนี้

- กลุ่มที่มีผลทรงกลม มีจำนวน 10 ตัวอย่าง ได้แก่ รอก สีขัวญ หนามคำปากทาง ท้อนดี หนาม หลิบ ลุงถม 6 โตน 3 และเบตง 5 คิดเป็น 14.93 เปอร์เซ็นต์
- กลุ่มที่มีผลกลมรี มีจำนวน 10 ตัวอย่าง ได้แก่ แกลบ ขมื่น เขียวนุ้ย เขียวใหญ่ 1 เรียนเบา ลุงถม 1 โตน 4 โตน 2 สาลิกา หนือคตอง 2 เบตง 2 เบตง 7 เบตง 9 เบตง 10 เบตง 12 เบตง 13 และเบตง 16 คิดเป็น 25.37 เปอร์เซ็นต์
- กลุ่มที่มีผลกลมแป้น มีจำนวน 3 ตัวอย่าง ได้แก่ วินยาว ลุงถม 5 และขี้ตูก คิดเป็น 4.48 เปอร์เซ็นต์
- กลุ่มที่มีผลรูปรี มีจำนวน 1 ตัวอย่าง ได้แก่ ลุงถม 2 คิดเป็น 1.49 เปอร์เซ็นต์
- กลุ่มที่มีผลทรงกระบอก มีจำนวน 5 ตัวอย่าง ได้แก่ เล็บครุฑ เรียนเบา โตน 6 ลุงถม 4 และกะปง 2 คิดเป็น 7.46 เปอร์เซ็นต์
- กลุ่มที่มีผลรูปขอบขนาน มีจำนวน 3 ตัวอย่าง ได้แก่ เขียวใหญ่ 2 หนือคตอง 1 และเบตง 8 คิดเป็น 4.48 เปอร์เซ็นต์
- กลุ่มที่มีผลรูปไข่ มีจำนวน 5 ตัวอย่าง ได้แก่ นางงาม หนุน ใ้อีสัน กะปง 1 และเบตง 18 คิดเป็น 7.46 เปอร์เซ็นต์
- กลุ่มที่มีผลรูปไข่กลับ มีจำนวน 18 ตัวอย่าง ได้แก่ วอน หนิมน้ำ เขียวกลาง-เกาะ โตน 1 โตน 5 ลุงถม 3 กะปง 3 กะปง 4 เบตง 1 เบตง 3 เบตง 4 เบตง 6 เบตง 11 เบตง 14 เบตง 15 เบตง 17 ขี้แตก และใ้อี้อี คิดเป็น 26.87 เปอร์เซ็นต์

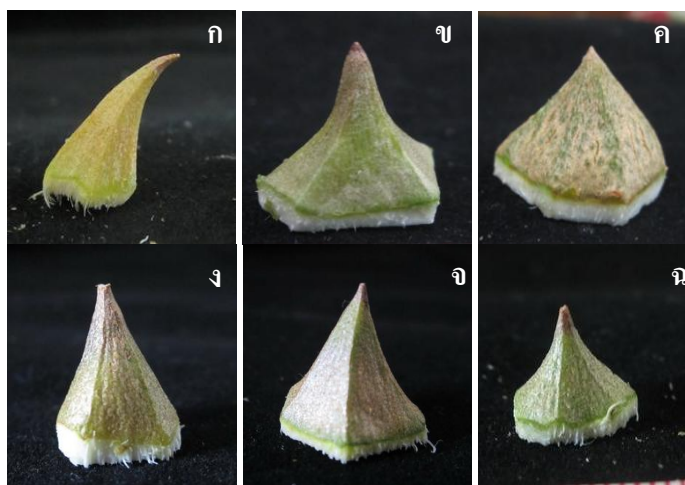
การเปรียบเทียบลักษณะทรงผลแบบต่างๆ จากตัวอย่างที่ศึกษาทั้งหมด ดังแสดงในรูปที่ 10



รูปที่ 10 การเปรียบเทียบลักษณะทรงผลแบบต่างๆของทุเรียน 67 ตัวอย่าง จาก 5 พื้นที่

## 1.2 ลักษณะหนาม

จากการศึกษาลักษณะรูปทรงหนามของทุเรียนทั้งหมดที่เก็บตัวอย่างมา พบว่าสามารถจำแนกทุเรียนตามลักษณะหนามได้เป็น 6 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่มีหนามโค้งงอ (curve) กลุ่มที่มีหนามเว้า (concave) กลุ่มที่มีหนามนูน (convex) กลุ่มที่มีหนามแหลมตรง (straight) กลุ่มที่มีหนามนูนปลายแหลม (convex spike tip) และกลุ่มที่มีหนามเว้าปลายแหลม (concave spike tip) ดังแสดงในรูปที่ 11

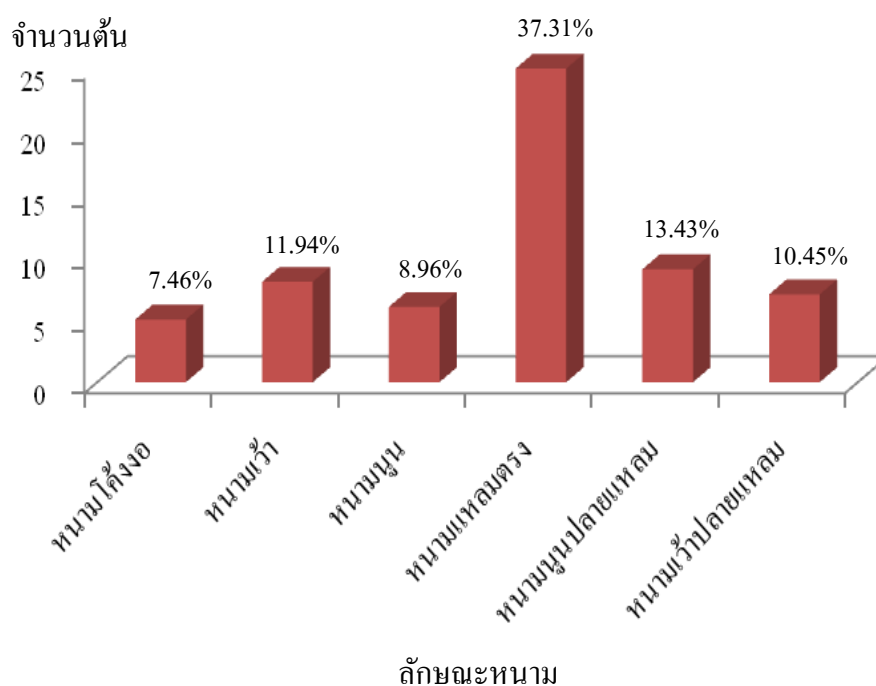


รูปที่ 11 ลักษณะรูปทรงหนามทุเรียนแบบต่างๆ โดย (ก) หนามโค้งงอ (ข) หนามเว้า (ค) หนามนูน, (ง) หนามแหลมตรง (จ) หนามนูนปลายแหลม และ (ฉ) หนามเว้าปลายแหลม ตามลำดับ

จากการแบ่งกลุ่มตัวอย่างทุเรียนตามลักษณะหนาม พบว่า มีประชากรอยู่ในแต่ละกลุ่ม ดังนี้

- กลุ่มที่มีหนามโค้งงอ มีจำนวน 5 ตัวอย่าง ได้แก่ แกลบ เล็บครุฑ โตน 1 เรียนเบา และจีตูก คิดเป็น 7.46 เปอร์เซ็นต์
- กลุ่มที่มีหนามเว้า มีจำนวน 8 ตัวอย่าง ได้แก่ ปากทาง หนูน โตน 5 ลูกถม 1 ลูกถม 4 กะปง 1 เบตง 9 และจีแตก คิดเป็น 11.94 เปอร์เซ็นต์
- กลุ่มที่มีหนามนูน มีจำนวน 6 ตัวอย่าง ได้แก่ นางงาม ลูกถม 2 หนือคลอง 1 เบตง 3 เบตง 10 และเบตง 11 คิดเป็น 8.96 เปอร์เซ็นต์
- กลุ่มที่มีหนามแหลมตรง มีจำนวน 25 ตัวอย่าง ได้แก่ เขียวนุ้ย เขียวใหญ่ 1 เขียวใหญ่ 2 รอก วอน หนามดำ ขมื่น วันยาว ทอนดี สีขวัญ โตน 2 โตน 6 ลูกถม 5 ลูกถม 6 สาลิกา กะปง 2 กะปง 4 หนือคลอง 2 เบตง 5 เบตง 6 เบตง 7 เบตง 12 เบตง 14 เบตง 15 และเบตง 18 คิดเป็น 37.31 เปอร์เซ็นต์
- กลุ่มที่มีหนามนูนปลายแหลม มีจำนวน 9 ตัวอย่าง ได้แก่ หนิมน้ำ เขียวกลาง-เกาะ โตน 3 กะปง 3 เบตง 4 เบตง 8 เบตง 13 เบตง 17 และไอ้เชื้อ คิดเป็น 13.43 เปอร์เซ็นต์
- กลุ่มที่มีหนามเว้าปลายแหลม มีจำนวน 7 ตัวอย่าง ได้แก่ หนามหลิบ โตน 4 ลูกถม 3 เบตง 1 เบตง 2 เบตง 16 และไอ้ล้าน คิดเป็น 10.45 เปอร์เซ็นต์

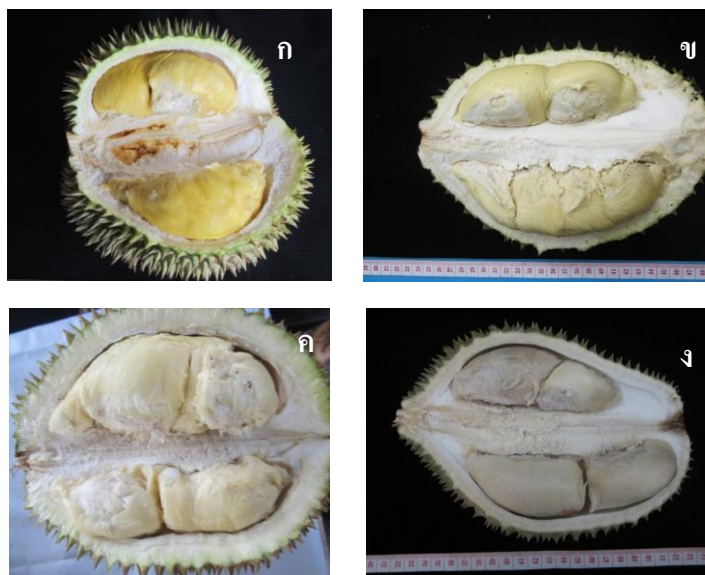
การเปรียบเทียบลักษณะทรงผลแบบต่างๆ จากตัวอย่างที่ศึกษาทั้งหมด ดังแสดง  
 ในรูปที่ 12



รูปที่ 12 การเปรียบเทียบลักษณะหนามแบบต่างๆของทุเรียน 67 ตัวอย่าง จาก 5 พื้นที่

### 1.3 สีเนื้อ

จากการศึกษาสีเนื้อของทุเรียนในการศึกษาครั้งนี้ พบว่าสามารถจำแนกทุเรียนตามสีเนื้อได้เป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่มีเนื้อสีเหลืองเข้ม (dark yellow) กลุ่มที่มีเนื้อสีเหลืองนวล (yellow clay) กลุ่มที่มีสีเหลืองอ่อน (light yellow) และกลุ่มที่มีเนื้อสีซีด (pale yellow) ดังรูปที่ 13



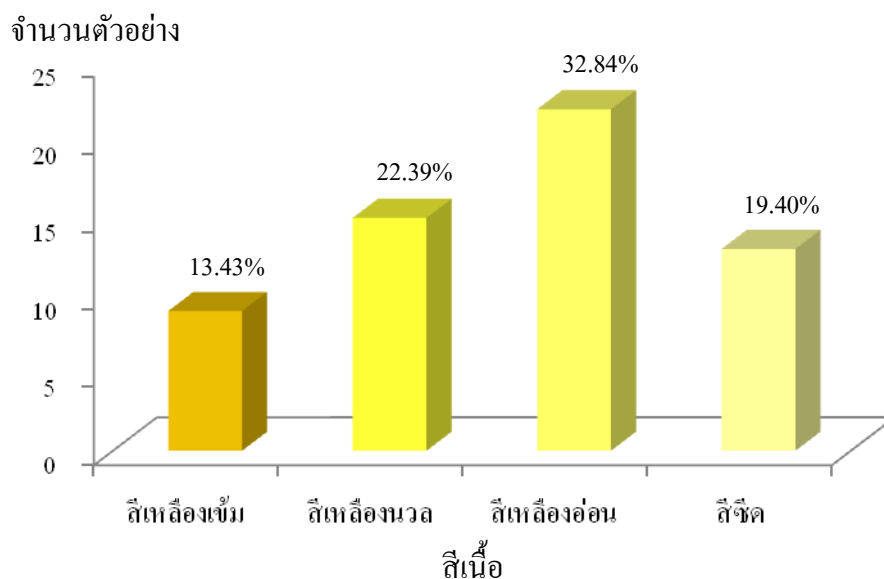
รูปที่ 13 ลักษณะรูปทรงหนามทุเรียนแบบต่างๆ โดย (ก) สี่เหลี่ยมเข็ม (ข) สี่เหลี่ยม (ค) สี่เหลี่ยมอ่อน และ (ง) สี่ซัดตามลำดับ

จากการแบ่งกลุ่มตัวอย่างทุเรียนตามสีของเนื้อผล พบว่า มีประชากรอยู่ในแต่ละกลุ่ม ดังนี้

- กลุ่มที่มีเนื้อสี่เหลี่ยมเข็ม มีจำนวน 9 ตัวอย่าง ได้แก่ วั่นยาว เขียวกลางเกาะ โตน 2 โตน 4 ลูกกลม 1 ลูกกลม 2 สาลิกา หนือคทอง 1 และเบตง 15 คิดเป็น 13.43 เปอร์เซ็นต์
- กลุ่มที่มีเนื้อสี่เหลี่ยมนวล มีจำนวน 15 ตัวอย่าง ได้แก่ ปากทาง ขมื่น หนามดำ หนิมน้ำ เล็บครุฑ วอน เรียนเบา โตน 5 กะปง 2 กะปง 4 หนือคทอง 2 เบตง 3 เบตง 9 เบตง 12 และจี้แตก คิดเป็น 22.39 เปอร์เซ็นต์
- กลุ่มที่มีเนื้อสี่เหลี่ยมอ่อน มีจำนวน 22 ตัวอย่าง ได้แก่ เขียวนุ้ย หนามหลิบ แกลบ รอก หนูน ท้อนดี สีขวัญ โตน 3 ลูกกลม 3 ลูกกลม 4 ลูกกลม 5 ลูกกลม 6 กะปง 1 กะปง 3 เบตง 1 เบตง 2 เบตง 10 เบตง 16 เบตง 18 จู้ดุก ไอ้เชื้อ และไอ้ล้าน คิดเป็น 32.84 เปอร์เซ็นต์
- กลุ่มที่มีเนื้อสี่ซัด มีจำนวน 13 ตัวอย่าง ได้แก่ นางงาม เขียวใหญ่ 1 เขียวใหญ่ 2 โตน 1 โตน 6 เบตง 4 เบตง 5 เบตง 6 เบตง 7 เบตง 8 เบตง 11 เบตง 13 และเบตง 14 คิดเป็น 19.40 เปอร์เซ็นต์

การเปรียบเทียบลักษณะทรงผลแบบต่างๆ จากตัวอย่างที่ศึกษาทั้งหมด ดังแสดงในรูปที่ 14

ส่วนรายละเอียดอื่นๆ เช่น น้ำหนักผล ขนาดผล คะแนนคุณภาพการบริโภค ค่าแสดงในตารางภาคผนวกที่ 1



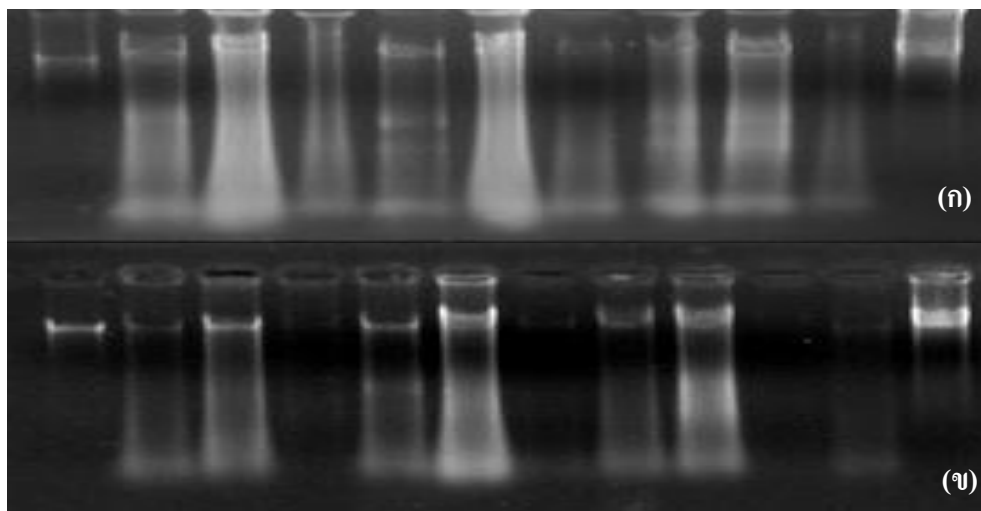
รูปที่ 14 การเปรียบเทียบลักษณะสีเนื้อผลแบบต่างๆ ของทุเรียน 67 ตัวอย่าง จาก 5 พื้นที่

## 2. ผลการสกัดดีเอ็นเอ

จากการสกัดดีเอ็นเอ ตัวอย่างที่ใช้ คือ ใบ และเปลือกต้น เหตุผลที่ต้องใช้เปลือกลำต้นเพราะไม่สามารถเก็บใบได้ เนื่องจากต้นทุเรียนที่บ้านส่วนใหญ่มีอายุมาก ลำต้นจึงสูงมากยากแก่การเก็บใบ (รูปที่ 15) การสกัดดีเอ็นเอจากเปลือกต้นสกัดได้ยากกว่า เนื่องจากเปลือกมีความแข็งกว่าใบ ส่วนการสกัดจากใบนั้นง่ายกว่า แต่ก็มีเมือกปนอยู่มาก สำหรับคุณภาพของดีเอ็นเอพบว่า ดีเอ็นเอจากการใช้วิธีสกัด 2 วิธี คือวิธีทั่วไป (Doyle and Doyle, 1990) และวิธีประยุกต์จาก Sue และคณะ (1997) พบว่า ดีเอ็นเอที่ได้มีจากวิธีที่สองมีคุณภาพกว่า และมีการปนเปื้อนของสารประกอบโพลีแซคคาไรด์น้อยกว่า (รูปที่ 16) ดังนั้นจึงได้เลือกใช้วิธีประยุกต์จาก Sue และคณะ (1997) แต่ในการศึกษานี้ การสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีดังกล่าวได้ดีเอ็นเอปริมาณน้อยโดยเฉพาะส่วนของเปลือกต้น จึงต้องสกัดหลายซ้ำเพื่อให้ได้ดีเอ็นเอปริมาณเพียงพอที่จะนำไปใช้ทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ต่อไป



รูปที่ 15 ตัวอย่างต้นทุเรียนพื้นบ้านที่ใช้ในการศึกษา



รูปที่ 16 คุณภาพ และปริมาณของดีเอ็นเอที่ใช้ในการศึกษา (ก) วิธีของ Doyle และ Doyle, (1990) และ (ข) ประยุกต์จากวิธีของ Sue และคณะ (1997)

### 3. ผลการวิเคราะห์พันธุกรรมด้วยเครื่องหมายอาร์เอพีดี

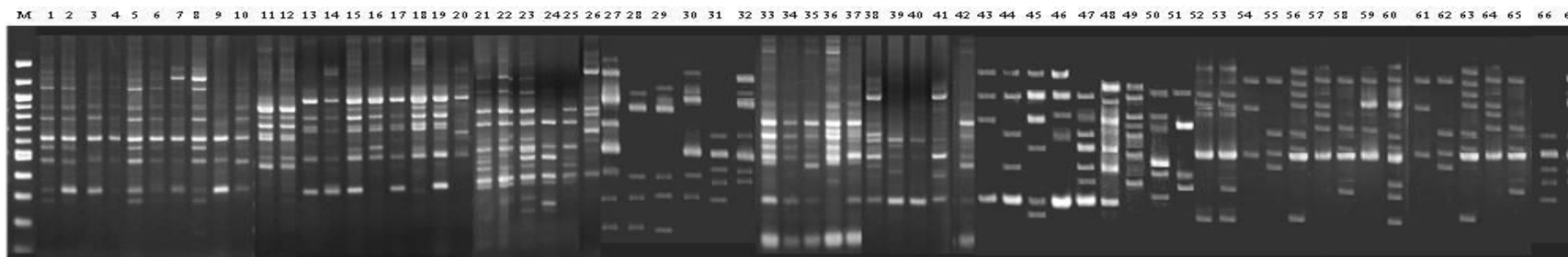
จากการวิเคราะห์พันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านในภาคใต้ของทุเรียน 67 ตัวอย่าง ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลอาร์เอพีดี คัดเลือกจากไพรมอร์ทั้งหมดจำนวน 30 ไพรมอร์ พบว่า มีไพ-

เมอร์ที่ให้แถบพอลิเมอร์ฟิคชัดเจนที่สุดจำนวน 8 ไพร์เมอร์ คือ OPA-19, OPB-01, OPB-14, OPC-05, OPAM-03, OPAM-13, OPK-08 และ OPZ-03 โดยแต่ละไพร์เมอร์มีรูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่ต่างกัน และให้แถบดีเอ็นเอที่มีขนาดระหว่าง 100-1,500 คู่เบส และให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 129 แถบ เป็นแถบพอลิเมอร์ฟิค 125 แถบ คิดเป็น 96.90 เปอร์เซ็นต์ ของแถบดีเอ็นเอทั้งหมด โดยไพร์เมอร์ OPAM-03 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอมากที่สุด คือ 21 แถบ ส่วนไพร์เมอร์ OPAM-18 และ OPB-14 ให้แถบดีเอ็นเอน้อยที่สุด คือ 14 แถบ (ตารางที่ 5) สำหรับตัวอย่างแถบดีเอ็นเอของทุเรียนพื้นบ้านแต่ละตัวอย่าง ดังแสดงในภาพที่ 17-24

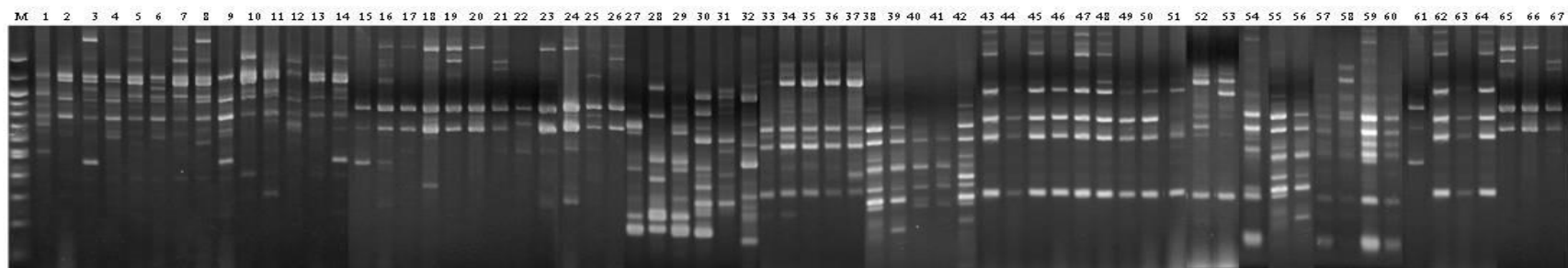
ตารางที่ 5 ชนิดของไพร์เมอร์ ลำดับเบส และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่ต่างกันจากการวิเคราะห์อาร์เอฟดีของทุเรียนพื้นบ้าน (*Durio zibethinus* Murr.) จำนวน 67 ตัวอย่าง

Primer	Sequence 5'→3'	Amplified fragments	Monomorphic fragments	Polymorphic fragments
OPZ-03	CAG CAC CGC A	16	-	16
OPC-05	GAT GAC CGC C	16	1	15
OPAM-03	CTT CCC TGT G	21	1	20
OPAM-18	ACG GGA CTC T	14	-	14
OPK-08	GAA CAC TGG G	17	1	16
OPB-14	TCC GCT CTG G	14	-	14
OPB-01	GTT TCG CTC C	15	1	14
OPA-19	CAA ACG TCG G	16	-	16
<b>Total</b>		<b>129</b>	<b>4</b>	<b>125</b>
<b>% Polymorphic</b>				<b>96.90</b>

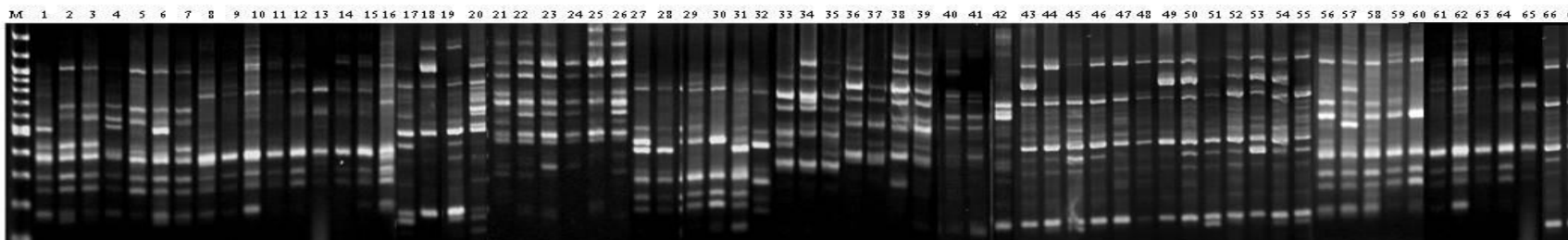




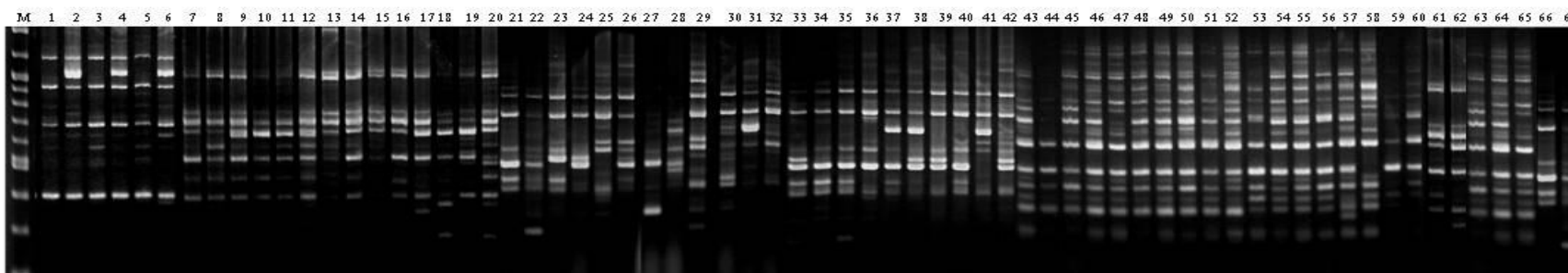
ภาพที่ 17 ลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียนทั้ง 5 พื้นที่ โดย M (marker 100 bp DNA Ladder) หมายเลข 1-20 (สงขลาสวนที่ 1) 21-26 (สงขลาสวนที่ 2) 27-32 (สงขลาสวนที่ 3) 33-42 (กระบี่-พังงา) 43-60 (ยะลา) และ 61-67 (นครศรีธรรมราช) ด้วยไพรเมอร์ OPA-19



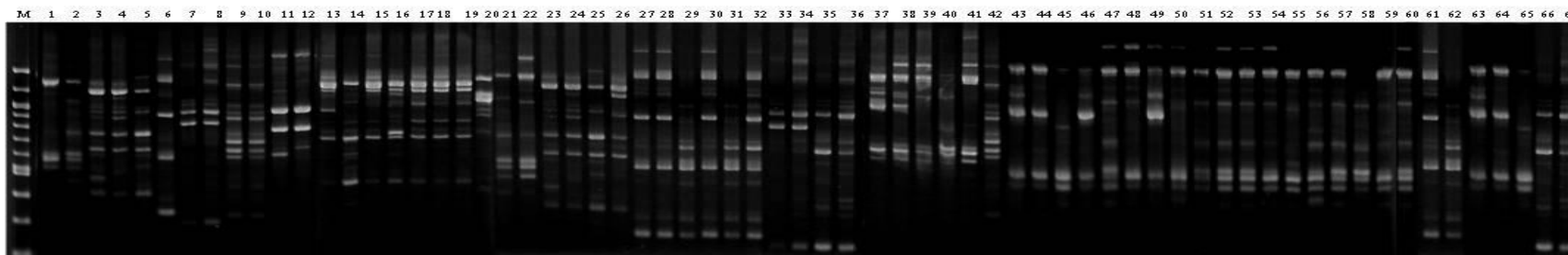
ภาพที่ 18 ลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียนทั้ง 5 พื้นที่ โดย M (marker 100 bp DNA Ladder) หมายเลข 1-20 (สงขลาสวนที่ 1) 21-26 (สงขลาสวนที่ 2) 27-32 (สงขลาสวนที่ 3) 33-42 (กระบี่-พังงา) 43-60 (ยะลา) และ 61-67 (นครศรีธรรมราช) ด้วยไพรเมอร์ OPB-01



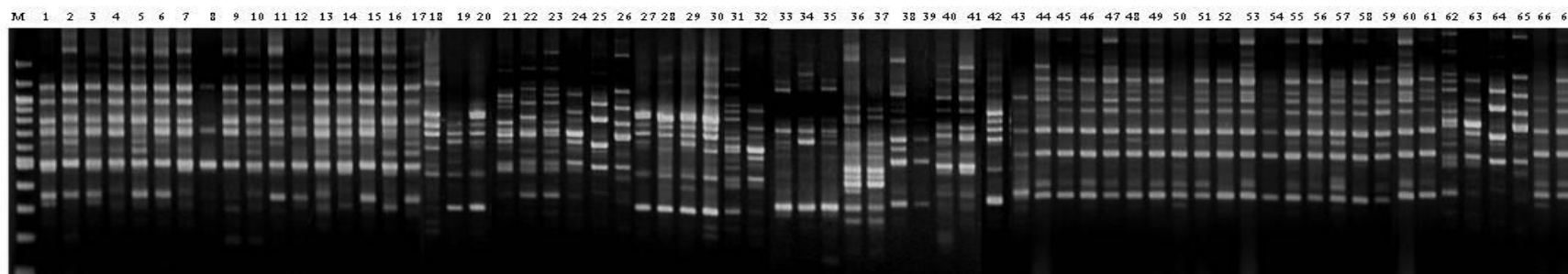
ภาพที่ 19 ลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียนทั้ง 5 พื้นที่ โดย M (marker 100 bp DNA Ladder) หมายเลข 1-20 (สงขลาสวนที่ 1) 21-26 (สงขลาสวนที่ 2) 27-32 (สงขลาสวนที่ 3) 33-42 (กระบี่-พังงา) 43-60 (ยะลา) และ 61-67 (นครศรีธรรมราช) ด้วยไพรเมอร์ OPB-14



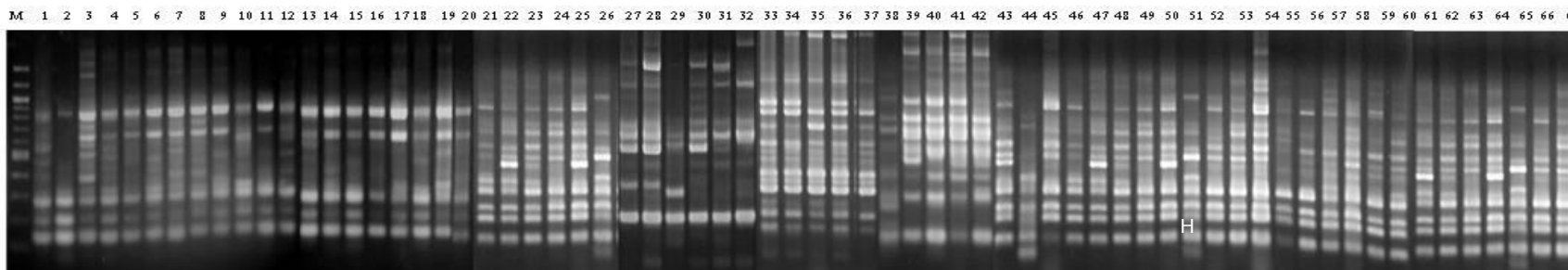
ภาพที่ 20 ลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียนทั้ง 5 พื้นที่ โดย M (marker 100 bp DNA Ladder) หมายเลข 1-20 (สงขลาสวนที่ 1) 21-26 (สงขลาสวนที่ 2) 27-32 (สงขลาสวนที่ 3) 33-42 (กระบี่-พังงา) 43-60 (ยะลา) และ 61-67 (นครศรีธรรมราช) ด้วยไพรเมอร์ OPC-05



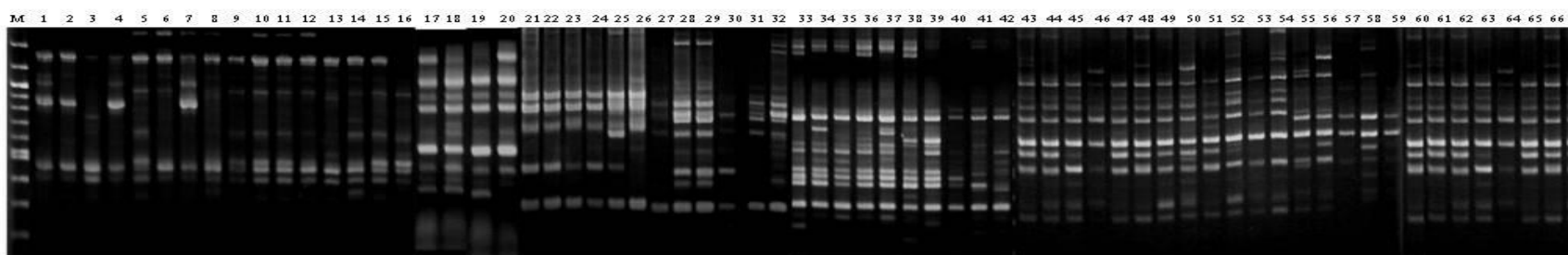
ภาพที่ 21 ลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียนทั้ง 5 พื้นที่ โดย M (marker 100 bp DNA Ladder) หมายเลข 1-20 (สงขลาสวนที่ 1) 21-26 (สงขลาสวนที่ 2) 27-32 (สงขลาสวนที่ 3) 33-42 (กระบี่-พังงา) 43-60 (ยะลา) และ 61-67 (นครศรีธรรมราช) ด้วยไพรเมอร์ OPAM-03



ภาพที่ 22 ลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียนทั้ง 5 พื้นที่ โดย M (marker 100 bp DNA Ladder) หมายเลข 1-20 (สงขลาสวนที่ 1) 21-26 (สงขลาสวนที่ 2) 27-32 (สงขลาสวนที่ 3) 33-42 (กระบี่-พังงา) 43-60 (ยะลา) และ 61-67 (นครศรีธรรมราช) ด้วยไพรเมอร์ OPAM-13



ภาพที่ 23 ลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ห่ออาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียนทั้ง 5 พื้นที่ โดย M (marker 100 bp DNA Ladder) หมายเลข 1-20 (สงขลาสวนที่ 1) 21-26 (สงขลาสวนที่ 2) 27-32 (สงขลาสวนที่ 3) 33-42 (กระบี่-พังงา) 43-60 (ยะลา) และ 61-67 (นครศรีธรรมราช) ด้วยไพรเมอร์ OPK-08



ภาพที่ 24 ลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ห่ออาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียนทั้ง 5 พื้นที่ โดย M (marker 100 bp DNA Ladder) หมายเลข 1-20 (สงขลาสวนที่ 1) 21-26 (สงขลาสวนที่ 2) 27-32 (สงขลาสวนที่ 3) 33-42 (กระบี่-พังงา) 43-60 (ยะลา) และ 61-67 (นครศรีธรรมราช) ด้วยไพรเมอร์ OPZ-03

### 1.1 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้าน ด้วยเครื่องหมายอาร์เอพีดี

จากการศึกษาความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของทุเรียน 67 ตัวอย่าง จาก 5 พื้นที่ของภาคใต้ โดยนำแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีด้วยไพรเมอร์ 8 ไพรเมอร์ ไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมด้วยวิธี UPGMA cluster analysis โดยโปรแกรม NTSYS (version 2.1) พบว่า ค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมระหว่างทุเรียนพื้นบ้าน 67 ตัวอย่าง มีค่าอยู่ระหว่าง 0.59-1.00 และสามารถจัดกลุ่มได้เป็น 4 กลุ่ม (รูปที่ 25) โดยมีประชากรกระจายตัวอยู่ในกลุ่มต่างๆ ดังนี้

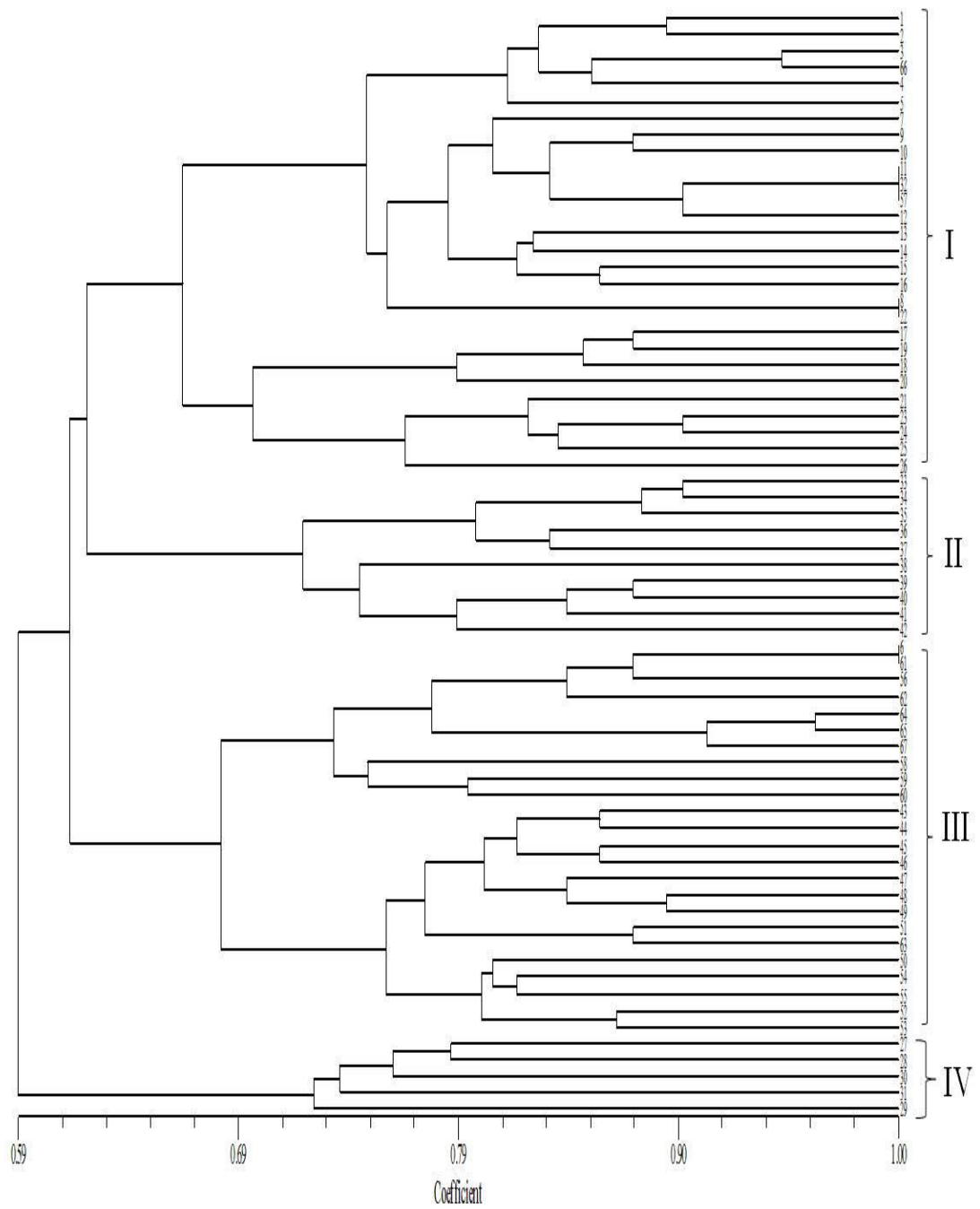
กลุ่มที่ 1 นางงาม เขียวใหญ่ 1 เขียวใหญ่ 2 ไอ้บาตร หน้าโตน นามหลิบ ปากทาง วันยาว แกลบ นามดำ ลุงถม 6 เบตง 15 นิมน้ำ รอก หุน เขียวกลางเกาะ ท้อนตี ขมื่น โตน 2 สีขวัญ วอน เล็บครุฑ เรียนเบา โตน 1 โตน 3 โตน 4 โตน 5 และ โตน 6

กลุ่มที่ 2 สาลิกา 1 สาลิกา 2 สาลิกา 3 สาลิกา 4 กะปง 1 กะปง 2 กะปง 3 กะปง 4 เหนือคลอง 1 และเหนือคลอง 2

กลุ่มที่ 3 เขียวนุ้ย จี๊ดก เบตง 14 จี๊ดแตก ไอ้เจือ 1 ไอ้เจือ 2 ไอ้ปลิง เบตง 16 เบตง 17 เบตง 18 เบตง 1 เบตง 2 เบตง 3 เบตง 4 เบตง 5 เบตง 6 เบตง 7 เบตง 9 ไอ้ล้าน เบตง 8 เบตง 12 เบตง 13 เบตง 10 และเบตง 11

กลุ่มที่ 4 ลุงถม 1 ลุงถม 2 ลุงถม 4 ลุงถม 5 และลุงถม 3

จากการจัดกลุ่มที่ได้จะเห็นได้ว่า กลุ่มประชากรของตัวอย่างทุเรียนมีความสัมพันธ์กับแหล่งปลูกของแต่ละตัวอย่าง โดยกลุ่มที่มีประชากรมากที่สุด คือ กลุ่มที่ 1 ซึ่งประชากรส่วนใหญ่เป็นตัวอย่างจากอำเภอนาหม่อม จังหวัดสงขลา



รูปที่ 25 เคนโดแกรม แสดงความสัมพันธ์ของตัวแปร 67 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดีจากจำนวน 8 ไพรมอร์

#### 4. ผลการวิเคราะห์พันธุกรรมด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์

จากการวิเคราะห์พันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านในภาคใต้ของทุเรียน 67 ตัวอย่าง ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลท์ จำนวน 6 เครื่องหมาย คือ MS1CT-7, MS1CT-9, MS1CT-16, MS1CT-27, MS1AAC-2 และ MS1AAC-19 พบว่า มีจำนวนอัลลีล 2- 6 อัลลีล และมีขนาด ตั้งแต่ 119-500 คู่เบส โดยเครื่องหมาย MS1AAC-2 มีจำนวนอัลลีลมากที่สุด และทั้ง 6 เครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลท์ สามารถแยกความแตกต่างได้ โดยให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 21 แถบ เป็นแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างจำนวน 18 แถบ คิดเป็น 85.71 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 6)

#### ตารางที่ 6 ชนิดของไพรเมอร์ และลำดับเบสของเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ที่ใช้

วิเคราะห์พันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้าน (*Durio zibethinus* Murr.)

Primer	Sequence 5' → 3'	No. of alleles	Fragments size (bp)
MS1CT-7	F CAT GGA CAA GAA AGC GAT GA R TGG ATC AGA TGA ATC AGG TTG	4	180-235
MS1CT-9	F CCC TAC GTT ACA TGA TGA TCC A R CCA TTT TGC TCC CTT ACT CTT C	2	119-176
MS1CT-16	F TCC CCA GTT TTC GAC AGT CC R GAC GTC GTT TTG GAA GGG TA	5	225-250
MS1CT-27	F CAA TGC TTC CAG GTT TCC AT R CCT GGC AGG TTA TTT AT	2	160-200
MS1AAC-2	F GAA AAA CTA AGC CCC CAA CC R ATG AAC ACC ACC ACC TCC A	6	250-500
MS1AAC-19	F AGC CCA TTT GGT GCT GTA AT R AGC AAC CTC AGC CAT TGT TT	2	219-257

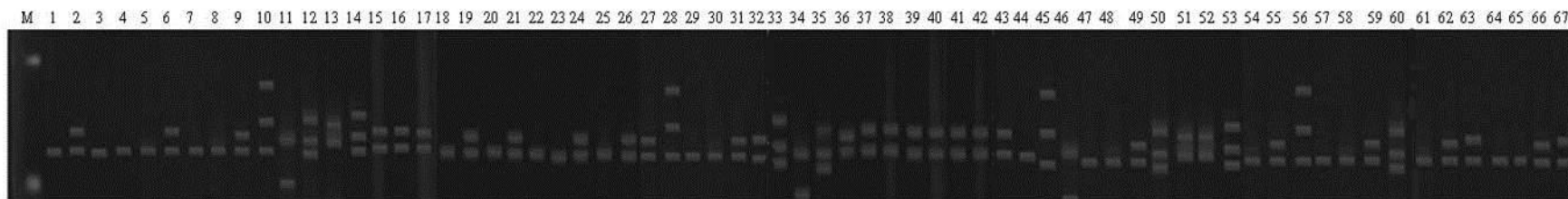


ภาพที่ 26 ลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ ของทุเรียน 67 ตัวอย่าง โดย M (marker 100 bp DNA Ladder) หมายเลข 1-20 (สงขลาสวนที่ 1) 21-26 (สงขลาสวนที่ 2) 27-32 (สงขลาสวนที่ 3) 33-42 (กระบี่-พังงา) 43-60 (ยะลา) และ 61-67 (นครศรีธรรมราช) ด้วยไพรเมอร์ MS1CT-7

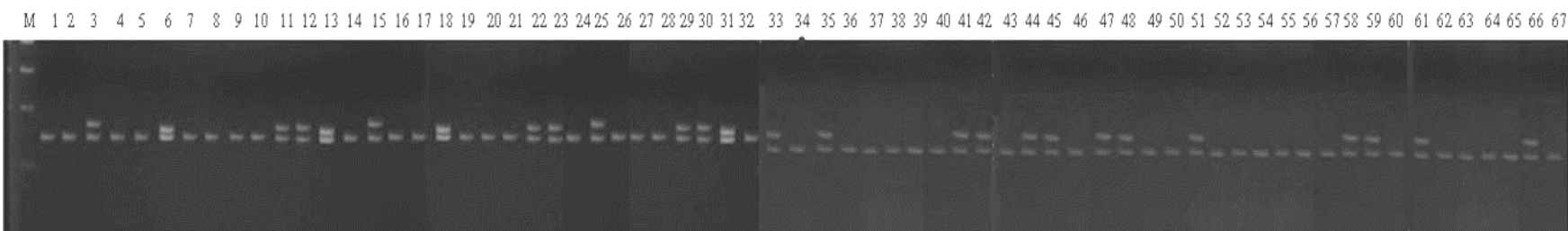


ภาพที่ 27 ลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ ของทุเรียน 67 ตัวอย่าง โดย M (marker 100 bp DNA Ladder) หมายเลข 1-20 (สงขลาสวนที่ 1) 21-26 (สงขลาสวนที่ 2) 27-32 (สงขลาสวนที่ 3) 33-42 (กระบี่-พังงา) 43-60 (ยะลา) และ 61-67 (นครศรีธรรมราช) ด้วยไพรเมอร์ MS1CT-9

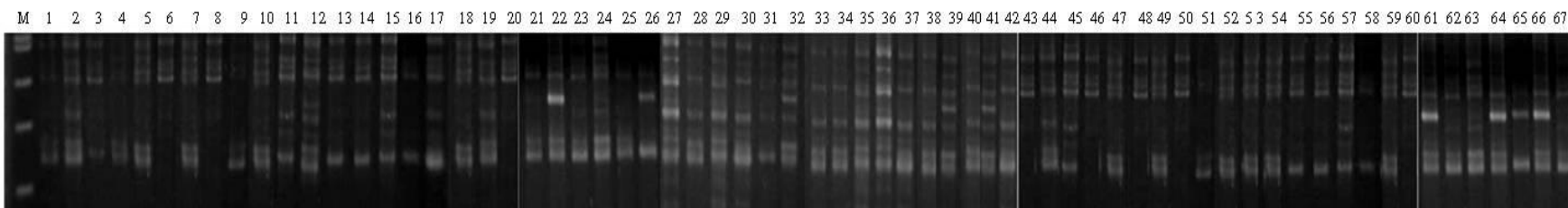




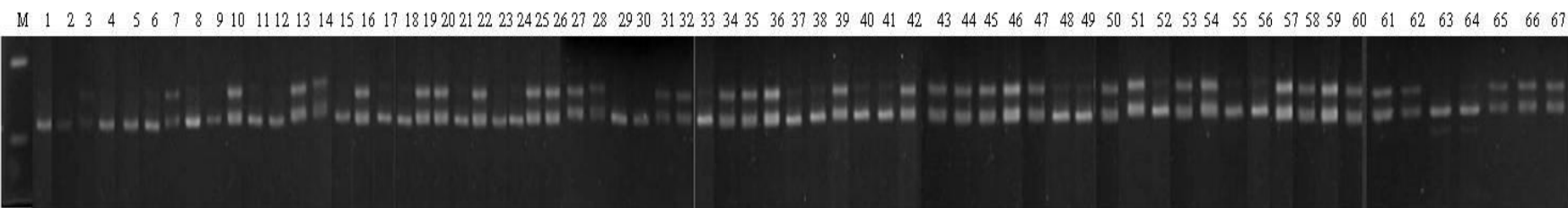
ภาพที่ 28 ลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ของทุเรียน 67 ตัวอย่าง โดย M (marker 100 bp DNA Ladder) หมายเลข 1-20 (สงขลาส่วนที่ 1) 21-26 (สงขลาส่วนที่ 2) 27-32 (สงขลาส่วนที่ 3) 33-42 (กระบี่-พังงา) 43-60 (ยะลา) และ 61-67 (นครศรีธรรมราช) ด้วยไพรเมอร์ MS1CT-16



ภาพที่ 29 ลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ของทุเรียน 67 ตัวอย่าง โดย M (marker 100 bp DNA Ladder) หมายเลข 1-20 (สงขลาส่วนที่ 1) 21-26 (สงขลาส่วนที่ 2) 27-32 (สงขลาส่วนที่ 3) 33-42 (กระบี่-พังงา) 43-60 (ยะลา) และ 61-67 (นครศรีธรรมราช) ด้วยไพรเมอร์ MS1CT-27



**ภาพที่ 30** ลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ ของทุเรียน 67 ตัวอย่าง โดย M (marker 100 bp DNA Ladder) หมายเลข 1-20 (สงขลาส่วนที่ 1) 21-26 (สงขลาส่วนที่ 2) 27-32 (สงขลาส่วนที่ 3) 33-42 (กระบี่-พังงา) 43-60 (ยะลา) และ 61-67 (นครศรีธรรมราช) ด้วยไพรเมอร์ MS1AAC-2



**ภาพที่ 31** ลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ ของทุเรียน 67 ตัวอย่าง โดย M (marker 100 bp DNA Ladder) หมายเลข 1-20 (สงขลาส่วนที่ 1) 21-26 (สงขลาส่วนที่ 2) 27-32 (สงขลาส่วนที่ 3) 33-42 (กระบี่-พังงา) 43-60 (ยะลา) และ 61-67 (นครศรีธรรมราช) ด้วยไพรเมอร์ MS1AAC-19

#### 4.1 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของทุเรียน 67

##### ตัวอย่าง ด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์

จากการศึกษาความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของทุเรียน 67 ตัวอย่าง จาก 5 พื้นที่ของภาคใต้ โดยนำแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไมโครแซทเทลไลท์ ทั้งหมด 21 แถบ และพอลิมอร์ฟิซึม 18 แถบ และเมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมด้วยวิธี UPGMA ในโปรแกรม NTSYS (version 2.1) พบว่า มีค่าดัชนีความใกล้ชิดอยู่ระหว่าง 0.59-0.98 และสามารถจัดกลุ่มได้เป็น 6 กลุ่ม ซึ่งแต่ละกลุ่มตัวอย่างค่อนข้างสัมพันธ์กับแหล่งที่มา (รูปที่ 32) โดยมีประชากรกระจายตัวอยู่ในกลุ่มต่างๆ ดังนี้

กลุ่มที่ 1 นางงาม เขียวใหญ่ 2 โคน 5 วันยาว โคน 4 หน้าโตน วอน เรียนเบา โคน 1 ขมื่น เล็บครุฑ แกลบหนามดำ เขียวใหญ่ 1 โคน 6 หนามหลิบ โคน 3 ปากทาง ลุงถม 2 ท้อนดี สีขวัญ เขียวนุ้ย ลุงถม 4 เบตง 6 โคน 2 ลุงถม 5 เขียวกลางเกาะ เบตง 17 เหนือคลอง 2 ลุงถม 3 ไช้บาตร หนามดำ รอก หนูน ไอ้ล้าน ไอ้เชื้อ 1 ไอ้เชื้อ 2 ไอ้ปลิง ชี้แตก และเบตง 11

กลุ่มที่ 2 เบตง 2 กะปง 2 เบตง 1 กะปง 3 เหนือคลอง 1 และเบตง 3

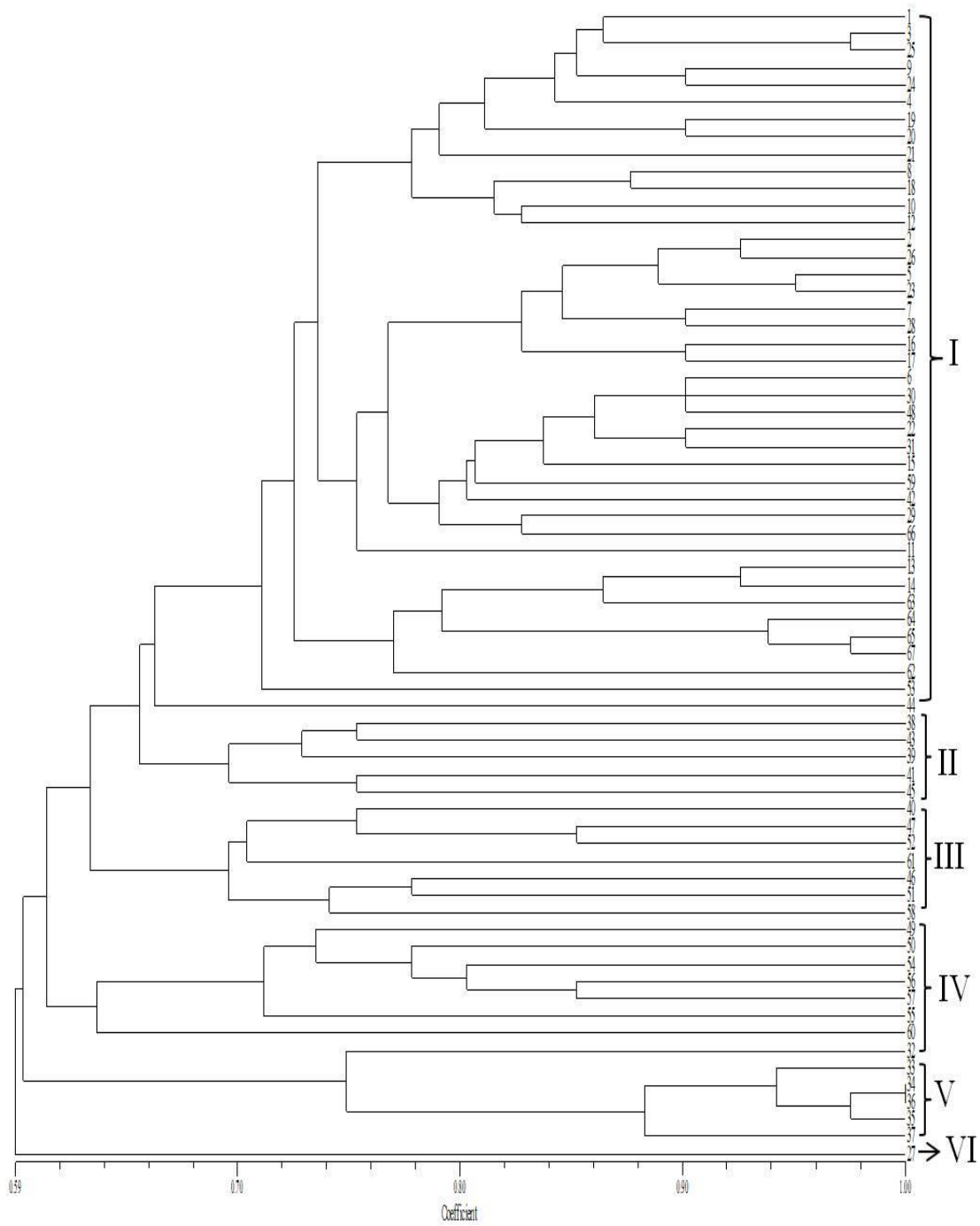
กลุ่มที่ 3 กะปง 4 เบตง 5 เบตง 10 ชี้ดุก เบตง 4 เบตง 9 และเบตง 16

กลุ่มที่ 4 เบตง 7 เบตง 8 เบตง 12 เบตง 14 เบตง 15 เบตง 13 และเบตง 18

กลุ่มที่ 5 ลุงถม 6 สาลิกา 1 สาลิกา 2 สาลิกา 4 สาลิกา 3 และกะปง 1

กลุ่มที่ 6 ลุงถม 1

จากการจัดกลุ่มข้างต้น เห็นได้ว่ากลุ่มที่ 1 มีประชากรมากที่สุด และประชากรส่วนใหญ่เป็นตัวอย่างจาก อำเภอนาหม่อม จังหวัดสงขลา ส่วนที่ 1 และกลุ่มที่ 6 มีประชากรเพียง 1 ตัวอย่าง คือ ตัวอย่างจาก อำเภอนาหม่อม จังหวัดสงขลา ส่วนที่ 2



รูปที่ 32    เคน โครแกรม แสดงความสัมพันธ์ของทุเรียน 67    ตัวอย่าง ด้วยเครื่องหมาย  
ไมโครแซทเทลไลท์ โดยใช้ไพรเมอร์ 6 คู่ไพรเมอร์

## 5. ผลการวิเคราะห์พันธุกรรมด้วยเครื่องหมายอาร์เอพีดีร่วมกับเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์

จากการศึกษาความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของทุเรียน 67 ตัวอย่าง จาก 5 พื้นที่ของภาคใต้ โดยนำแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี 8 ไพรเมอร์ ร่วมกับไมโครแซทเทลไลท์ 6 ไพรเมอร์ ทั้งหมด 169 แถบ ไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมด้วยโปรแกรม NTSYS พบว่า มีค่าดัชนีความใกล้ชิดอยู่ระหว่าง 0.52-0.95 โดยตัวอย่างที่มีความใกล้ชิดกันมากที่สุดคือ ขมื่นกับโตน 2 ส่วนตัวอย่างที่มีความใกล้ชิดกันน้อยที่สุดคือ เบตง 5 กับสาธิตา 4 และสามารถจัดกลุ่มได้เป็น 5 กลุ่ม (รูปที่ 33) โดยมีประชากรกระจายตัวอยู่ในกลุ่มต่างๆ ดังนี้

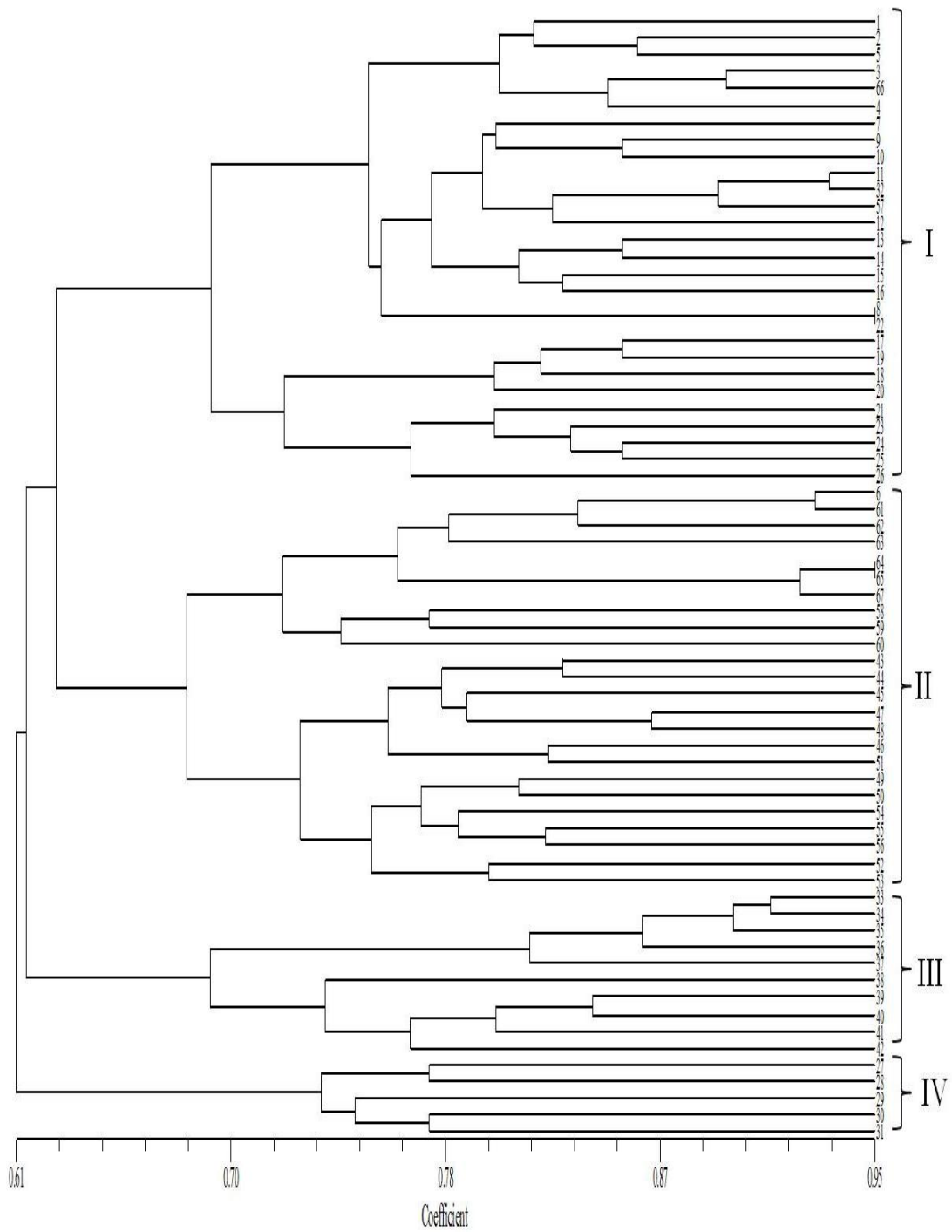
กลุ่มที่ 1 นางงาม เขียวใหญ่ 1 หนามหลิบ เขียวใหญ่ 2 ไอ้บาตร หน้าโตน ปากทางวินยาว แกลบ หนามคำ ลุงถม 6 เบตง 15 หนิมน้ำ รอก หนูน เขียวกลางเกาะ ท้อนดี ขมื่น โตน 2 สีขวัญ วอน เล็บครุฑ เรียนเบา โตน 1 โตน 3 โตน 4 โตน 5 และโตน 6

กลุ่มที่ 2 เขียวนุ้ย จู้ดุก จู้แตก ไอ้ล้าน ไอ้เชื้อ 1 ไอ้เชื้อ 2 ไอ้ปลิง เบตง 16 เบตง 17 เบตง 18 เบตง 1 เบตง 2 เบตง 3 เบตง 5 เบตง 6 เบตง 4 เบตง 9 เบตง 7 เบตง 8 เบตง 12 เบตง 13 เบตง 14 เบตง 10 และเบตง 11

กลุ่มที่ 3 สาธิตา 1 สาธิตา 2 สาธิตา 3 สาธิตา 4 กะปง 1 กะปง 2 กะปง 3 กะปง 4, หนือคลอง 1 และหนือคลอง 2

กลุ่มที่ 4 ลุงถม 1 ลุงถม 2 ลุงถม 3 ลุงถม 4 และลุงถม 5

จากการจัดกลุ่มข้างต้น เห็นได้ว่ากลุ่มที่ 1 มีประชากรมากที่สุด และประชากรส่วนใหญ่เป็นตัวอย่างจาก อำเภอนาหม่อม จังหวัดสงขลา ส่วนที่ 1



**รูปที่ 33** เคนโดแกรม แสดงความสัมพันธ์ของทุเรียน 67 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดีจากจำนวน 8 ไพรมอร์ ร่วมกับไมโครแซทเทลไลท์ 6 คู่ไพรมอร์

## บทที่ 4

### บทวิจารณ์

ทุเรียนเป็นพืชที่มีความหลากหลายค่อนข้างสูง โดยเฉพาะแถบประเทศในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ที่เป็นแหล่งกำเนิดของพืชชนิดนี้ แม้จะมีความหลากหลาย แต่พันธุ์ที่ปลูกเป็นการค้ามีเพียง 4 พันธุ์หลัก (Drenth and Seudell, 2004) มีผลทำให้ฐานพันธุกรรมของทุเรียนแคบลง และหากมีการระบาดของโรค โดยเฉพาะโรคโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อ *phytophthora* อาจมีผลกระทบโดยตรงต่อการปลูกทุเรียนในประเทศ เพราะพันธุ์การค้าส่วนใหญ่ไม่มีความทนทานต่อโรคนี้ ทุเรียนพื้นบ้านซึ่งเป็นแหล่งของความหลากหลายทางพันธุกรรมของทุเรียนเริ่มสูญพันธุ์ เนื่องจากคุณภาพการบริโภคไม่เป็นที่นิยม อีกทั้งต้นที่มีอยู่ในปัจจุบันก็มีอายุมาก ในหลายพื้นที่มีการโค่นทิ้งไปบางส่วน ซึ่งเป็นอันตรายต่อความคงอยู่ของทุเรียนพื้นบ้าน เนื่องจากจะไม่มีมีการปลูกเพิ่มเติมอีกต่อไป ดังนั้นการศึกษาถึงพันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้าน และข้อมูลจากต้นพันธุ์เหล่านั้นจึงมีความสำคัญ ที่อาจนำมาใช้ประโยชน์ได้ในอนาคต ก่อนที่ทุเรียนพื้นบ้านจะสูญพันธุ์ไปในระยะเวลาอันใกล้ นอกจากนี้บางพันธุ์ก็มีรสชาติดี มีแนวโน้มจะพัฒนาเป็นพันธุ์การค้าได้ หากมีการพัฒนาต่อยอดอย่างจริงจัง เช่น พันธุ์สาริกา ซึ่งเป็นทุเรียนพื้นบ้านของจังหวัดพังงา ซึ่งในปัจจุบันเริ่มเป็นที่รู้จักกันอย่างกว้างขวาง

จากการศึกษาความหลากหลายของพันธุ์ทุเรียนพื้นบ้านในเขตจังหวัดภาคใต้ของประเทศไทย ในเบื้องต้นการเก็บตัวอย่าง เลือกต้นที่มีความแตกต่างของลักษณะทางสัณฐานวิทยาและรสชาติ ซึ่งชาวบ้านจะตั้งชื่อพันธุ์ตามลักษณะผล และรสชาติ ส่วนใหญ่ตัวอย่างที่เก็บจะเป็นต้นที่มีอายุมาก ประมาณ 50 ปีขึ้นไป บางต้นมีอายุมากกว่า 100 ปี ซึ่งเป็นต้นดั้งเดิมที่ปลูกกันมาตั้งแต่รุ่นปู่ย่าตายาย จาก 67 ตัวอย่าง (ต้น) ที่ศึกษาจะพบความแตกต่างของผล หนาม ตลอดจนรสชาติ และสามารถแบ่งกลุ่มตามลักษณะเหล่านั้น แต่บางต้นก็ยากที่จะจำแนก เนื่องจากมีลักษณะก้ำกึ่งกัน จึงมีความจำเป็นต้องใช้เครื่องหมายโมเลกุลมาเป็นเครื่องมือในการจำแนกพันธุ์ ในการศึกษาครั้งนี้เลือกใช้เครื่องหมายโมเลกุล 2 เครื่องหมาย คือ อาร์เอฟดี และไมโครแซทเทลไลท์

การศึกษความหลากหลายของทุเรียนพื้นบ้านใน 5 จังหวัดทางภาคใต้ของประเทศไทย คือ สงขลา พังงา กระบี่ ยะลา และนครศรีธรรมราช โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาในเบื้องต้น พบว่า ลักษณะสัณฐานวิทยาของผลทุเรียน ที่ใช้ในการจำแนกกลุ่มต่างๆ โดย หิรัญ (2551) ไม่สามารถนำมาใช้ในการจำแนกได้ เนื่องจากจะมีลักษณะปะปนกันไปข้ามกลุ่ม ส่วนใหญ่จะอยู่ใน

กลุ่มสุดท้าย คือ กลุ่มเบ็ดเตล็ด ที่จำแนกกลุ่มได้ไม่ชัดเจน ซึ่งสามารถอธิบายได้ ทั้งนี้เนื่องจาก ทุเรียนเป็นพืชผสมข้ามมีพันธุกรรมแบบพันธุ์ทาง (heterogeneous) ในทุกลักษณะทางพันธุกรรม การขยายพันธุ์ทุเรียนในอดีตใช้เมล็ดเป็นส่วนใหญ่ จึงคงไว้ซึ่งความหลากหลายทางพันธุกรรม มีรายงานว่า ทุเรียนมีกลไกในการผสมตัวเองไม่ติดอยู่ด้วย จึงทำให้มีพฤติกรรมเป็นพืชผสมข้าม ในกรณีนี้ ดอกต้องได้รับการผสมข้ามจากต้นอื่น จึงทำให้มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง (Valmayor *et al.*, 1965 อ้างโดย ทรงพล, 2530) ในปัจจุบันการขยายพันธุ์ทุเรียนพันธุ์การค้านิยมขยายพันธุ์โดยการเสียบยอด ซึ่งจะได้ต้นที่มีพันธุกรรมเหมือนต้นแม่ อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาของ เตื่อนใจ และคณะ (2556) ที่ใช้เทคนิค DAF (DNA Amplification Fragment Analysis) กับพันธุ์ทุเรียนพันธุ์การค้า 4 พันธุ์ คือ หมอนทอง ชะนี พวงมณี และหลงลับแล รวม 160 ตัวอย่าง และจากการรายงาน พบความแปรปรวนทางพันธุกรรมในทุกพันธุ์ ยกเว้นพันธุ์หลงลับแล ซึ่งความแปรปรวนที่พบอาจเกิดจากไม่มีการควบคุมการผลิตกิ่งพันธุ์ที่ดีพอ อาจมีการขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ดปะปนเข้ามา อย่างไรก็ตามความแปรปรวนจากการใช้เครื่องหมายโมเลกุลที่พบนั้น ไม่มีผลต่อความแตกต่างทางสัณฐานวิทยาของตัวอย่างที่ศึกษา

การสกัดดีเอ็นเอในการศึกษานี้ เบื้องต้นได้ทำการสกัดด้วย CTAB ตามวิธีของ Doyle และ Doyle (1990) เหมือนที่ใช้กับพืชหลายชนิด แต่พบว่า คุณภาพของดีเอ็นเอที่ได้ไม่ดีพอ เพราะชิ้นส่วนของทุเรียนที่ใช้สกัดดีเอ็นเอส่วนใหญ่จะเป็นใบแก่ และเปลือกลำต้น เนื่องจากลำต้นของทุเรียนพื้นบ้านที่ศึกษานั้นสูงมาก ไม่สามารถที่จะเก็บตัวอย่างใบได้ จึงใช้ตัวอย่างเปลือกลำต้นแทน ดีเอ็นเอที่ได้มีสารประกอบพวกโพลีแซคคาไรด์ปนอยู่มาก โดยสังเกตได้จากลักษณะของดีเอ็นเอที่ละลายด้วย TE buffer แล้วนั้น มีความหนืดและเป็นเมือกทำให้เวลาชุดดีเอ็นเอมาใช้ทำได้ยาก และยังมีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาพีซีอาร์ (Polymerase Chain Reaction) โดยสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ปนอยู่นี้จะขัดขวางการทำงานของ เอนไซม์ *Taq* DNA polymerase ในปฏิกิริยาพีซีอาร์ (Fang *et al.*, 1992) ดังนั้นจึงต้องหาวิธีการสกัดวิธีอื่น โดยทดลองสกัดหลายวิธี และพบว่าวิธีที่ดีที่สุด คือ วิธีการสกัดด้วย CTAB ที่ประยุกต์จากวิธีของ Sue และคณะ (1997) ซึ่งจากผลการสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีนี้ พบว่า ได้ดีเอ็นเอที่มีคุณภาพค่อนข้างดี เนื่องจากการเติมเกลือ (NaCl) ที่มีความเข้มข้นสูงจะช่วยในการกำจัดสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ และสารจำพวก PVP ที่เพิ่มลงไปในช่วงขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอ จะไปกำจัดสารประกอบโพลีฟีนอลิกให้น้อยลง ทำให้ได้จีโนมดีเอ็นเอที่มีคุณภาพดี (Jian *et al.*, 2004 อ้างโดย สิริมา และคณะ, 2555) ซึ่งสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ และสารโพลีฟีนอลิกที่มีอยู่ในชิ้นส่วนพืชมีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในระหว่างการสกัด และยังมีผลต่อการสกัดดีเอ็นเอ ทำให้ดีเอ็นเอที่ได้คุณภาพไม่ดี (Michiels *et al.*, 2003) อย่างไรก็ตาม



พบว่า การสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีดังกล่าวนั้นถึงแม้จะได้ดีเอ็นเอที่มีคุณภาพดี แต่ได้ปริมาณน้อย จึงต้องสกัดหลายซ้ำเพื่อให้ได้ดีเอ็นเอปริมาณเพียงพอที่จะนำไปใช้ทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ต่อไป

การวิเคราะห์พันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านในภาคใต้โดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี ในเบื้องต้นใช้ไพรเมอร์ที่นำมาทดสอบหาความแตกต่างของตัวอย่างทุเรียน จำนวน 40 ไพรเมอร์ โดยคัดเลือกจากไพรเมอร์ที่มีการรายงานว่าสามารถจำแนกความแตกต่างของทุเรียนได้ ได้แก่ ไพรเมอร์ OPAM-03, OPAM-12, OPAM-18, OPB-01, OPB-14, OPC-05, OPK-05 และ OPZ-03 จากการศึกษาจำแนกทุเรียนสายพันธุ์ท้องถิ่นในจังหวัดนนทบุรีโดย โองการ และ ศรีสมร (2554) ไพรเมอร์ OPA-01, OPA-02, OPA-07, OPA-16, OPA-19, OPR-05 และ OPR-08 จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของทุเรียนด้วยกันโดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี (Ruwaida *et al*, 2009) และจากไพรเมอร์ที่ศึกษาเพิ่มเติมในห้องปฏิบัติการอีก 25 ไพรเมอร์ รวมทั้งสิ้น 40 ไพรเมอร์ที่ทำการทดสอบคัดเลือกไว้เพียง 8 ไพรเมอร์ ที่ให้แถบดีเอ็นเอชัดเจน จากแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 129 แถบ พบแถบที่ให้ความแตกต่าง 125 แถบ คิดเป็น 96.90 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมด้วยวิธี UPGMA cluster analysis ในโปรแกรม NTSYS (version 2.0) ผลการวิเคราะห์ค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้าน จำนวน 67 ต้น อยู่ในช่วง 0.59-1.00 และสามารถจัดกลุ่มตามความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมได้เป็น 4 กลุ่ม โดยพบว่า กลุ่มของตัวอย่างทุเรียนที่ทำการศึกษามีความสัมพันธ์กับแหล่งที่มาของตัวอย่างค่อนข้างชัดเจน มีเพียงบางตัวอย่างที่ไม่ได้อยู่ในกลุ่มเดียวกับตัวอย่างที่มาจากแหล่งเดียวกัน คือ เจียวนุ้ย ซึ่งเก็บตัวอย่างจากพื้นที่ อำเภอนาหม่อม จังหวัดสงขลา แต่ถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับตัวอย่างที่เก็บจาก อำเภอเบตง จังหวัดยะลา และอำเภอลานสกา จังหวัดนครศรีธรรมราช ซึ่งอาจเป็นเพราะชาวสวนนำเมล็ดจากพื้นที่อื่นมาปลูก เนื่องจากในอดีตชาวสวนมักจะนำเอาเมล็ดพันธุ์ที่เห็นว่ามียุทธศาสตร์ดีมาปลูกในสวนของตัวเอง และจากการขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดทำให้ทุเรียนมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่หลากหลายมาก ในขณะที่ยังมีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมอยู่มากเช่นกัน มีซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Ruwaida และคณะ (2009) ในประเทศมาเลเซีย ที่ทำการศึกษาค่าความแปรปรวนของทุเรียนสายพันธุ์ด้วยกันด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี และรายงาน ว่า ทุเรียนสายพันธุ์ซุกกันที่ปลูกจากเมล็ดที่มาจากแหล่งเดียวกันมีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมากกว่าทุเรียนซุกกันที่ปลูกจากเมล็ดที่ได้จากแหล่งที่ต่างกัน

ผลการวิเคราะห์พันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านในภาคใต้โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลอีกชนิด คือ ไมโครแซทเทลไลท์ ซึ่งใช้ไพรเมอร์ 6 คู่ไพรเมอร์ คือ MS1CT-7, MS1CT-9, MS1CT-16, MS1CT-27, MS1AAC-2 และ MS1AAC-19 ปิรัชญ์ และคณะ (2552) พบว่า มี

จำนวนอัลลีล 2-6 อัลลีล มีขนาดตั้งแต่ 119-500 คู่เบส โดยมีค่าเฉลี่ย 3.5 อัลลีลต่อคู่ไพรเมอร์ และมีอัลลีลรวมทั้งหมด 21 อัลลีล โดย 87.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นอัลลีลที่มีความแตกต่าง (polymorphic) เมื่อนำข้อมูลไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรม พบว่า มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.59-0.98 และสามารถจัดกลุ่มตามความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมได้เป็น 6 กลุ่ม โดยกลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่มีความสัมพันธ์กับแหล่งที่มาของตัวอย่างเช่นกัน ซึ่งแตกต่างจากการทดลองของ ปิรัชญ์ และคณะ (2552) ที่รายงานว่าการที่ตัวอย่างทุเรียนที่ทำการศึกษามาไม่สัมพันธ์กับแหล่งที่มา เนื่องจากชาวสวนนำเมล็ดทุเรียนจากแหล่งอื่นไปปลูกในแหล่งปลูกใหม่ๆ และเมื่อต้นใหม่ที่ได้อัตลักษณ์แตกต่างไปจากเดิม ก็จะนำมาตั้งชื่อเป็นพันธุ์ใหม่ Chitose และคณะ (2007) รายงานการใช้เทคนิคไมโครแซทเทลไลท์ ในการจำแนกพันธุ์ทุเรียน 80 พันธุ์ และทุเรียนป่าอีก 6 ชนิด พบว่า สามารถแยกกลุ่มทุเรียนป่า (*Durio* spp.) กับทุเรียนบ้าน (*D. zibethinus* Murr.) ได้อย่างชัดเจน และจำแนกทุเรียนได้เป็น 4 กลุ่มใหญ่ๆ คือ กลุ่มกำป็น กลุ่มหมอนทอง และกระดุมทอง กลุ่มกบ และกลุ่มเบ็ดเตล็ด โดยพบว่า พันธุ์กำป็นมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับพันธุ์กำป็นวัดสัก และพันธุ์ชมพูพานมากที่สุดเมื่อเทียบกับพันธุ์อื่นๆ

เมื่อทำการวิเคราะห์พันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านในภาคใต้ด้วยเครื่องหมายอาร์เอพีดีร่วมกับไมโครแซทเทลไลท์ และจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA ในโปรแกรม NTSYS (version 2.1) พบว่า มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.52-0.95 และสามารถจัดกลุ่มของทุเรียนพื้นบ้านในการศึกษาได้เป็น 5 กลุ่ม โดยแต่ละกลุ่มตัวอย่างค่อนข้างสัมพันธ์กับแหล่งที่มา ให้ผลใกล้เคียงกับผลการจัดกลุ่มโดยเทคนิคอาร์เอพีดี จากผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าทั้งเครื่องหมายอาร์เอพีดี และไมโครแซทเทลไลท์สามารถนำมาใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านได้ เครื่องหมายอาร์เอพีดีมีข้อดี คือ ไม่จำเป็นต้องทราบลำดับเบสของดีเอ็นเอต้นแบบ และใช้ไพรเมอร์แบบสุ่มชนิดเดียว ค่าใช้จ่ายไม่แพง และทำได้รวดเร็ว แต่มีข้อจำกัดตรงที่เป็นเครื่องหมายชนิดข่ม (dominance) และอาจมีปัญหาเรื่องการทำซ้ำ หากไม่มีการควบคุมสภาพการทำพีซีอาร์ให้ดี (Lougheed *et al.*, 2000) ในขณะที่เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ หากพีซีเอ็นดีนั้นไม่เคยมีผู้ศึกษามาก่อน จะต้องมีการศึกษาเบื้องต้น เพื่อให้ได้มาซึ่งไพรเมอร์ที่จะนำมาใช้ประโยชน์ ซึ่งในขั้นตอนนี้จะยุ่งยากพอสมควร รวมทั้งต้องใช้เวลา และค่าใช้จ่าย แต่หากได้ไพรเมอร์ที่เหมาะสมแล้ว ก็อาจจะไม่ต่างจากเทคนิคอาร์เอพีดีมากนัก ข้อดีของไมโครแซทเทลไลท์อีกประการหนึ่ง คือ เป็นเครื่องหมายชนิด codominance นอกจากนี้หากกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่ศึกษามีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรม การใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ จะให้ข้อมูลที่ดีกว่าเครื่องหมายชนิดอื่น (Zhang *et al.*, 2002) ซึ่งสามารถแยก homozygous และ heterozygous ออกจาก

กันได้ สำหรับการใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลต์นั้นไม่จำเป็นต้องใช้ดีเอ็นเอที่มีคุณภาพมากนัก (สุรินทร์, 2545) เนื่องจากไพรเมอร์ไมโครแซทเทลไลต์จะจับกับดีเอ็นเอต้นแบบในตำแหน่งที่แน่นอนด้วยไพรเมอร์ 2 ชนิด แต่การใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลต์จะต้องมีการปรับสภาวะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ เช่น อุณหภูมิ ซึ่งอุณหภูมิที่ใช้ในการเข้าจับของไพรเมอร์กับดีเอ็นเอต้นแบบนั้นมีความสำคัญ โดยจะใช้อุณหภูมิที่ต่ำกว่าค่า  $T_m$  (melting temperature) ประมาณ 5 องศาเซลเซียส (กรกช, 2550)

จากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านในภาคใต้ ซึ่งส่วนใหญ่เกิดจากการขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดมีผสมข้ามตามธรรมชาติ ถึงแม้ว่าทุเรียนพื้นบ้านจะไม่ได้มีผลต่อมูลค่าทางเศรษฐกิจเหมือนทุเรียนพันธุ์การค้า แต่ก็ควรมีการศึกษาและอนุรักษ์ไว้ เพื่อใช้ประโยชน์ในด้านอื่น เช่น ใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์ตลอดจนการพัฒนาเป็นพันธุ์การค้าในอนาคต จากการศึกษาในครั้งนี้ พบว่า ทุเรียนพื้นบ้านบางพันธุ์มีลักษณะ และรสชาติดี เช่น ลูกกลม 1 ที่เก็บจากสวนของชาวบ้านใน อำเภอนาหม่อม จังหวัดสงขลา ซึ่งมีขนาดพอเหมาะ ผลไม่ใหญ่เกินไป เปลือกบาง เนื้อเนียน และเหนียว สีเหลืองเข้ม กลิ่นอ่อน รสชาติหวานอร่อย มีคะแนนการบริโภคอยู่ที่ 4.5 คะแนน จากคะแนนเต็ม 5 คะแนน (ตั้งข้อมูลในตารางภาคผนวก 1) ซึ่งอาจพัฒนาเป็นพันธุ์การค้าได้ในอนาคต

## บทที่ 5

### บทสรุป และข้อเสนอแนะ

จากการวิเคราะห์พันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านที่เก็บในพื้นที่ 5 จังหวัดทางภาคใต้ของประเทศไทยจำนวน 67 ต้น โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่า ลักษณะของผล หนาม และเนื้อผลนั้นมีความหลากหลายมาก หากพิจารณาโดยลักษณะสัณฐานวิทยาาร่วมกัน ทำให้ไม่สามารถจัดกลุ่มได้แน่นอน เนื่องจากมีลักษณะหลากหลายไม่เป็นลักษณะประจำพันธุ์ ทั้งนี้เกิดจากการผสมข้ามระหว่างต้น ทำให้รุ่นลูกมีลักษณะแตกต่างกัน และเมื่อมีการขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด จึงแสดงความแปรปรวนมาก อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาเป็นแต่ละลักษณะ สามารถแบ่งกลุ่มตามรูปทรงผลได้ 8 ลักษณะ แบ่งตามลักษณะหนามได้ 6 ลักษณะ และแบ่งตามสีเนื้อได้ 4 กลุ่ม จากการศึกษาโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล 2 ชนิด คือ อาร์เอพีดี และไมโครแซทเทลไลท์ พบว่า การวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลอาร์เอพีดีสามารถแบ่งตัวอย่างทุเรียนได้เป็น 4 กลุ่ม และไมโครแซทเทลไลท์สามารถแบ่งได้ 6 กลุ่ม ส่วนการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลอาร์เอพีดีร่วมกับเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ พบว่า สามารถจัดกลุ่มของทุเรียนได้เป็น 5 กลุ่ม โดยกลุ่มตัวอย่างค่อนข้างสัมพันธ์กับแหล่งที่มาของตัวอย่าง แต่ก็มีความหลากหลายทางพันธุกรรมค่อนข้างสูง โดยมีค่าดัชนีความใกล้เคียงอยู่ระหว่าง 0.52-0.95 ดังนั้นเครื่องหมายอาร์เอพีดี และไมโครแซทเทลไลท์ จึงเป็นเครื่องหมายโมเลกุลที่สามารถนำไปใช้ในการจำแนกพันธุ์ทุเรียน และใช้เป็นฐานข้อมูลในการปรับปรุงพันธุ์ทุเรียนต่อไปได้ และจากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่า มีทุเรียนพื้นบ้านบางพันธุ์ที่มีลักษณะดี และน่าจะพัฒนาเป็นพันธุ์การค้าได้ในอนาคต เช่น ลูกกลม 1 ที่เก็บจากสวนของชาวบ้านในอำเภอนาหม่อม จังหวัดสงขลา ซึ่งเป็นตัวอย่างที่มีเปลือกบาง แกะง่าย และรสชาติดี

## เอกสารอ้างอิง

- กรกช นาคคอง. 2550. การวิเคราะห์พันธุกรรมของยางพารา (*Hevea brasiliensis*) พันธุ์ดั้งเดิม และพันธุ์แนะนำ โดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี และไมโครแซทเทลไลท์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- กรมวิชาการเกษตร. 2553. การผลิตทุเรียนอย่างถูกต้องและเหมาะสม. เข้าถึงได้จาก <http://soclaimon.wordpress.com/2010/06/14.html>. (สืบค้นเมื่อ 5 พฤษภาคม 2556.)
- กัลยา ประพาน และ กรรณิการ์ ชีระวัฒนาสุข. 2554. การใช้เทคโนโลยีภาพในการเพิ่มประสิทธิภาพการปรับปรุงพันธุ์ยาง. เอกสารประกอบการประชุมวิชาการยางพารา ครั้งที่ 1 ประจำปี 2554 ณ โรงแรมเชียงใหม่ฮิลล์ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ วันที่ 20-22 กุมภาพันธ์ 2554. หน้า 38-54.
- เต็ม สมิตินันท์. 2523. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ : กรมป่าไม้ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 379 หน้า.
- เดือนใจ โก้สกุล และปิยะศักดิ์ ชุ่มพฤกษ์. 2556. รูปแบบการขยายพันธุ์เพื่อการค้ากับหลักฐานความแปรปรวนทางพันธุกรรมของทุเรียนการค้าของไทย. *Thai Journal of Genetics*. 2013(1): 240-243.
- ทรงพล สมศรี. 2530. การศึกษาการเจริญเติบโตของทุเรียนชนิดต่างๆ บนต้นต่อทุเรียนพื้นเมือง. ปัญหาพิเศษปริญญาโท. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 19 หน้า.
- ทรงพล สมศรี, พะยงค์ เก่งกาจ, ภิรมย์ ขุนจันทร์ทิพย์, ฉิมชา แหลมเพชร, นาดยา คำอำไพ, สุชาติ วิจิตรานนท์, สมนึก สวนฉิม, เสาวนีย์ ศรีสุมา, เสริมสุข สลักเพชร, ศุภรัตน์ สงวนรังศิริกุล, วนิตา งามเงิน และธีรวุฒิ วงศ์วัฒน์. 2549. การปรับปรุงพันธุ์ทุเรียนเพื่อผลิตพันธุ์ลูกผสมต้นฤดูที่มีคุณภาพดี และการศึกษาจำแนกชนิด พันธุ์ สายพันธุ์ลูกผสมดีเด่นด้วยเทคนิคด้าน

ชีวโมเลกุล. กรุงเทพฯ: สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

ทรงพล สมศรี. 2551. ทูเรียนไทยและการปรับปรุงพันธุ์: กรณีศึกษาพันธุ์ จันทบุรี 1 จันทบุรี 2 จันทบุรี 3. กรุงเทพฯ : กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 206 หน้า

บัณฑิตา คงพันธุ์. 2552. การศึกษาความหลากหลายของพืชสกุลส้ม (*Citrus spp.*) ในภาคใต้ โดยใช้เครื่องหมายอาร์เอฟดี และไมโครแซทเทลไลท์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ปิยรัชฎ์ เจริญทรัพย์, ฐิตาภรณ์ ภูมิไชย, อินทรา จารุเพ็ง, อรชร โชติญาณวงษ์, ประไพ โมจรินทร์ และ พรชัย จุฑามาศ. 2552. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของทุเรียนโดยใช้ดีเอ็นเอเครื่องหมายชนิดไมโครแซทเทลไลท์. การประชุมวิชาการพันธุศาสตร์แห่งชาติ ครั้งที่ 16 “พันธุศาสตร์แก้วิกฤตพลังงาน” ณ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ปทุมธานี วันที่ 25-27 มีนาคม 2552. หน้า 12-16.

ภักวดี เสริมสรรพสุข. 2556. ทูเรียน : ข้อเท็จจริงทางโภชนาการและเภสัชวิทยา. สงขลานครินทร์ เวชสาร 31(2) : 83-90.

วิกิพีเดีย. 2554. ทูเรียน. เข้าถึงได้จาก <http://en.wikipedia.org/wiki/Durian>. (สืบค้นเมื่อ 3 พฤษภาคม 2556.)

ศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล สุภาพ สุนทรนนท์ และสุวิวัฒน์ จันทรปรรณิก. 2554. การศึกษาเทคนิคการวิเคราะห์ไอโซไซม์ และ ดีเอ็นเอ เพื่อการจำแนกพืชในสกุล *Durio*, *Garcinia* และ *Lansium*. เทคโนโลยีพืชไร่. 55 หน้า

สิริมา ว่องไวโรจน์, พชณี แสงทอง, คมสัน อำนวยสิทธิ์ และสุภาวดี ศรีเยี่ยม. 2555. การจำแนกสายพันธุ์ของข้าวฟ่างหวานที่ปลูกในเขตภาคเหนือของประเทศไทยโดยใช้เทคนิค RAPD. วารสารวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ฉบับพิเศษ 35(1) : 105-115.

สุภาพ สุนทรนนท์ ศุภรัตน์ สวงวรงค์สิริกุล สุขวัฒน์ จันทรปรณิก และพะยงค์ เก่งกาจ. 2539. เทคนิคการใช้ไอโซไซม์ ในการจำแนกพันธุ์ และโคลนทุเรียน. เอกสารประกอบการประชุมวิชาการประจำปี 2539. ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร ณ โรงแรมเคพีแกรนด์ จันทบุรี วันที่ 5-8 ธันวาคม 2539. 276 หน้า.

สุรินทร์ ปิยะ โชคคณากุล. 2545. จีโนม และเครื่องหมายดีเอ็นเอ ปฏิบัติการอาร์เอฟดี และเอเอฟแอลพี. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุรินทร์ ปิยะ โชคคณากุล. 2552. เครื่องหมายดีเอ็นเอ : จากพื้นฐานสู่การประยุกต์. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2557ก. สถิติการส่งออก-ทุเรียน. เข้าถึงได้จาก [http://www.oae.go.th/oae\\_report/export\\_import/export\\_result.php](http://www.oae.go.th/oae_report/export_import/export_result.php). (สืบค้นเมื่อ 1 มิถุนายน 2557)

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2557ข. ข้อมูลการผลิตสินค้าเกษตร-ทุเรียน. เข้าถึงได้จาก <http://www.oae.go.th/download/prcai/farmcrops/durian.pdf>. (สืบค้นเมื่อ 1 มิถุนายน 2557)

หิรัญ หิรัญประดิษฐ์. 2551. ทุเรียน. สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน ฉบับเสริมการเรียนรู้ เล่ม 10. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์ด้านสุทธนาการพิมพ์. หน้า 78-129.

อรอนงค์ หนูเชื้อ. 2549. การวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอร่วมกับองค์ประกอบพอลิแซคคาไรด์ในทุเรียนต่างสายพันธุ์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเวชเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

โองการ วณิชาชิวะ และศรีสมร วนกรกุล. 2554. การจำแนกทุเรียนสายพันธุ์ท้องถิ่นในจังหวัดนนทบุรีโดยเทคนิคอาร์เอฟดี. กรุงเทพฯ : คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร. หน้า 14-37.

- Bindu, R. N. and Fahsa, K. S. 2004. Isolation and characterization of mucilage from some selected of *Abelmoschus Medic* (Malvaceae) and their application in pharmaceutical suspension. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science* 5(1): 389-402.
- Chatrou, L. W., Escribano, M. P., Viruel, M. A., Maas, J. W., Richardson, J.E. and Hormaza, J. I. 2009. Flanking regions of monomorphic microsatellite loci provide a new source of data for plant species-level phylogenetics. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 53: 726–73.
- Chitose, H., Somsri, S., Yapwattanaphun, C., Kanzaki, S., Tetsumura, T., Yamashita, K. and Yonemori, K. 2007. Develop of microsatellite markers in durian and analysis of genetic relationship of Thai durian cultivars. [Online] Available <http://pal.miyazaki-u.ac.jp/~chitose/top.html>. (accessed on 5 May, 2014)
- Drenth, A. and Seudal, B. 2004. Economic of Phytophthora Disease in Southeast Asia. *In Diversity and Management of Phytophthora in Southeast Asia*. Guest ACIAR Monograph 144: 10-28.
- Doyle, J. J. and Doyle, J. L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13-15.
- Duval, M. F., Bunel, J., Sitbon, C., Risterucci, A. M., Calabre, C., and Le Bellec, F. 2006. Genetic diversity of Caribbean mangoes ( *Mangifera indica* L .) using microsatellite markers. The Proceedings of the Eighth International Mango Symposium, Sun City, South Africa. 5-10 February 2006.
- Fang, G., S. Hammar and Grumet, R. 1992. Aquic and inexpensive method for removing polysaccharides from plant genomic DNA. *Biofeedback* 13 (1): 52-54.



- Guest, D. I., Sangchote, S. and Chau, N. M. 1998. Management of *phythophthora* disease in durian. Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR) project proposal PHTas/134 Cambera, ACIAR.
- Hariyati, T., Kusnadi, J. and Arumingfyas, F. L. 2013. Genetic diversity of hybrid Durian resulted from cross breeding between *Durio kutijensis* and *Durio zibethinus* based on random amplified polymorphic DNAs (RAPDs). American Journal of Molecular Biology 3: 153-157.
- Jian, Y., Anquan, J., Esteban, J. P., Xiufen, Z., Chengtao, J., Xingchun, Z., Lan, H., and Zheng, T.A. 2004. A simple and efficient method for extracting DNA from old and burned bone. Journal of Forensic Sciences 49(4): 1-6.
- Kostermans, A. J. G. H. 1992. *Durio macrantha* Kosterm., species *nova* (Bombacaceae) from North Sumatra. Reinwardtia 11: 41-51.
- Lespinasse, L., Rodier-Ground, M., Grivet, L., Lecote, A., Legnet, H. and Seguin, M. 2000. A saturate linkage map of rubber tree (*Hevea* spp.) base on RFLP, AFLP, microsatellite and isozyme markers. Theoretical Analysis and Applied Genetics 100: 121-138.
- Luo, Z. R . and Guo, D. L. 2008 Microsatellite isolation and characterization in Japanese persimmon (*Diospyros kaki* ). Biochemical Genetics 46: 323–328.
- Lougheed, S. C., Gibbs, H. L., Prior, K. A. and Weathead, P. S. 2000. A comparison of RAPD versus microsatellite DNA markers in population studies of the Massasauga Rattle snake. The American Genetic Association 91: 458-463.

- Michiels, A., Van den Ende, W., Tucker, M., Liesbet, V. R., and Laere, A.V., 2003. Extraction of high-quality genomic DNA from latex-containing plants. *Analytical Biochemistry* 315: 85-89.
- Oliveira, E. J., Padua, J. G., Zucchi, M. I., Vencovsky, R., and Vieira, M. L. C. 2006. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. *Genetics and Molecular Biology* 29: 294-307.
- Panca, J. S., Ghizan, B. S., Norihan, M. S. and Suhaimi, N. 2005. Phylogenetic Relationship amongst 10 *Durio* species based on PCR-RFLP Analysis of Two Chloroplast genes. *Indonesian Journal of Agricultural Science* 6(1): 20-27.
- Rohlf, F. J. 2002. NTSYS - pc. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Version 2.1. New York: Applied Biostatistics. pp 79-90.
- Ruwaida, I. P., Supriyadi and Parjanto. 2009. Variability analysis of Sukun durian plant (*Durio zibethinus*) based on RAPD marker. *Nusantara Bioscience* 1: 84-91.
- Sim, C. H., Mahani, M. C., Choong, C. Y. and Salma, I. 2005. Transferability of SSR markers from lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) to pulasan (*Nephelium ramboutan-ake* L.). *Fruits* 60: 379-385.
- Sue, P. L. Grant, B. and Bernard, R. B. 1997. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol pomponents. *Plant Molecular Biology Reporter* 15(1): 8-15.
- Vanijajiva, O. 2011. Genetic variability among durian (*Durio zibethinus* Murr.) cultivars in the Nonthaburi province, Thailand detected by RAPD analysis. *Journal of Agricultural Technology* 7(4): 1107-1116.

Zeven, A. C. and Zhukovsky, P. M. 1975. Dictionary of Cultivated Plants and Their Centres of Diversity. Wageningen, Centre for Agricultural Publishing and Documentation Wageningen. PP 9-26.

Zhang, X., Leung, F. C., Chan, D. K. O., Chen, Y. and Wu, C. 2002. Comparative analysis of allozyme, Random amplified polymorphic DNA and microsatellite polymorphism on Chinese native chicken. *Breeding and Genetic* 20: 1093-1098.

ภาคผนวก

### สารเคมีที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอจากพืช

1) CTAB บัฟเฟอร์ปริมาตร	100	มิลลิลิตร
PVP-40	1.0	กรัม
NaCl <sub>2</sub>	8.12	กรัม
0.5M Na <sub>2</sub> EDTA (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 จนละลายหมด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ เติมสาร  $\beta$ -mercaptoethanol เข้มข้น 2% ก่อนนำมาใช้

2) TAE บัฟเฟอร์ปริมาตร 500 มิลลิลิตร		
1.0M Tris-HCl (PH 7.5)	500	ไมโครลิตร
0.5M Na <sub>2</sub> EDTA (pH 8.0)	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 <sub>2</sub> EDTA (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 <sub>2</sub> EDTA (pH 8.0)	80.0	มิลลิลิตร

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 4 ลิตร เจือจางความเข้มข้นเป็น 1 เท่า แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ  
ก่อนนำมาใช้

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

เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตรต่อ Ethidium bromide 1 กรัม

ตารางภาคผนวกที่ 1 แสดงตารางเก็บข้อมูลของทุเรียน 67 ตัวอย่าง จาก 5 พื้นที่

พันธุ์ (รหัส)	สถานที่	ขนาดผล			ความหนา เปลือก (cm)	ลักษณะหนาม	ลักษณะเนื้อ	สีเนื้อ	กลิ่น	รสชาติ	คะแนน (5 คะแนน)
		น้ำหนัก (Kg)	เส้นรอบวง (cm)	กxย (cm)							
นางงาม	ทุ่งขมิ้น นาหม่อม	1.45	41.5	13x22	1.4	หนามใหญ่ ป้อม ไม่ค่อยแหลม	เนื้อหยาบ ไม่ละเอียด กรอบ	เหลืองซีด-ขาว W 155 A	อ่อน	หวานน้อย มัน ขมเล็กน้อย	2
เขียวใหญ่ 1	ทุ่งขมิ้น นาหม่อม	1.1	45	11.7x17.2	1	เรียวยแหลม สีเขียวเข้ม	ละเอียด เหนียว	เหลืองซีด W 155 A	จืด	หวานจัด ขม	2
เขียวใหญ่ 2	ทุ่งขมิ้น นาหม่อม	1.6	50	13.5x18	1.3	เรียวยแหลม สีเขียวเข้ม	เหนียว ล่อน	ขาวซีด W 155 A	ไม่จืด	ขมเล็กน้อย	2
หน้าโดน	ทุ่งขมิ้น นาหม่อม	1.5	50	13.5x18.7	0.8	แหลม ใหญ่	ละเอียด	ไม่สม่ำเสมอ Y-W 158C-159C	จืด	ขมเล็กน้อย แบบทุเรียนบ้าน	3.5
หนามหลิบ	ทุ่งขมิ้น นาหม่อม	1.2	49	11.2x17.3	1	เรียวยแหลม ปลายงอเป็นตะขอ	ล่อน ไม่ละเอียดมาก	สีไม่สม่ำเสมอ Y-W 158 B	ไม่จืด	หวาน มัน อร่อย รสชาติเฉพาะตัว	4
เขียวน้อย	ทุ่งขมิ้น นาหม่อม	1	47	12x15.4	0.7	แหลม เรียวเล็ก	แห้ง ร่วน มีเชื้อหุ้ม เหนียว กรอบ	ขาวเทา G-Y 160 D	ไม่จืด	หวานน้อย มัน	3.5
ปากทาง	ทุ่งขมิ้น นาหม่อม	1.5	51	17x13.5	0.8	หนามสั้น ปลายป้าน	ร่วน ละเอียด	เหลืองหม่น G-Y 162 C	จืดจัด	หวานปนขม	3

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ) แสดงตารางเก็บข้อมูลของทุเรียน 67 ตัวอย่าง จาก 5 พื้นที่

พันธุ์ (รหัส)	สถานที่	ขนาดผล			ความหนา เปลือก (cm)	ลักษณะหนาม	ลักษณะเนื้อ	สีเนื้อ	กลิ่น	รสชาติ	คะแนน (5 คะแนน)
		น้ำหนัก (Kg)	เส้นรอบวง (cm)	กxย (cm)							
ขมื่น	ทุ่งขมื่น นาหม่อม	1	45	12.5x16	0.9	แหลม สูง	บาง เละ	เหลืองหม่น G-Y 162 B	กลิ่นอ่อน	หวานปาน กลาง	3.5
วันยาว	ทุ่งขมื่น นาหม่อม	0.7	44	7.5x11.5	0.7	สูง ปลายแหลม	กรอบ	เหลืองเข้ม Y 162 B	ไม่ฉุนมาก	หวานมาก	4.5
แกลบ	ทุ่งขมื่น นาหม่อม	0.35	30	10.8x10.5	0.7	สั้น ฐานกว้าง ปลายแหลม	เหนียว ล่อน	เหลืองอ่อน Y-W 155 A	ไม่ฉุนมาก	หวาน มัน เล็กน้อย	4
หนามดำ	ทุ่งขมื่น นาหม่อม	0.9	46	14x14	0.9	แหลม ปลายสี น้ำตาลเข้ม	ล่อน เนื้อเนียน	เหลืองนวล Y 11 C	ไม่ฉุนมาก	หวาน	4
หนิมน้ำ	ทุ่งขมื่น นาหม่อม	0.85	41	7.8x11	1	สั้น ฐานกว้าง	ข้างนอกเละ ล่อน	Y-W 155 B	กลิ่นอ่อน	มัน หวานน้อย	4
รอก	ทุ่งขมื่น นาหม่อม	0.9	46	12x12	0.4	เรียวยาวแหลม สีเขียวอ่อน	เละมาก	เหลืองซีด Y-W 159 B	ฉุน	หวานปนขม	3
หนูน	ทุ่งขมื่น นาหม่อม	1.2	41	15x21.5	0.9	ใหญ่ สั้น สีเขียวปนน้ำตาล	หนา เหนียว ล่อน	G-W 157 A	ฉุน	หวานจัดปนขม	2.5
เขียวกลาง เกาะ	ทุ่งขมื่น นาหม่อม	0.9	51	13x17	1.5	ใหญ่ ปลายป้าน สีเขียวหม่น	เหนียว	เหลืองทอง Y 16 D	ฉุน	หวาน มัน	4
ท่อนดี	ทุ่งขมื่น นาหม่อม	1.3	48	14x17	0.4	เรียวยาว สีเขียว ปลายสีน้ำตาล	เละ	เหลืองอ่อน Y 13 D	มีกลิ่น กำมะถัน	หวานมัน ขมเล็กน้อย	3



ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ) แสดงตารางเก็บข้อมูลของทุเรียน 67 ตัวอย่าง จาก 5 พื้นที่

พันธุ์ (รหัส)	สถานที่	ขนาดผล			ความหนา เปลือก (cm)	ลักษณะหนาม	ลักษณะเนื้อ	สีเนื้อ	กลิ่น	รสชาติ	คะแนน (5 คะแนน)
		น้ำหนัก (Kg)	เส้นรอบวง (cm)	กxย (cm)							
สีขำญ	ทุ่งขม นาหม่อม	0.6	39	12x13	0.5	ใหญ่ สูง	ติดเมล็ด ผิวนอกรอบ	เหลืองหม่น G-Y 160 C	จุน	หวานปนขม	3.5
เล็บครุฑ	ทุ่งขม นาหม่อม	0.9	42	13x18	0.7	ยาว ปลายแหลมโค้ง	เนื้อขุ่ย ล่อน	เหลืองอ่อน Y 10 C	หอม ไม่จุน	หวานปานกลาง	3
วอน	ทุ่งขม นาหม่อม	0.8	43	14x14.5	0.8	ถี่ เล็ก สีเขียว	ละเอียดเหนียว	เหลืองอ่อน Y 11 C	ไม่จุน	หวาน ขม เล็กน้อย	4
เรียนเบา	ทุ่งขม นาหม่อม	0.7	40	12x16	0.4	ยาวเรียว ถี่	เนื้อบาง	เหลืองอ่อน Y 8 D	อ่อน	หวานน้อย มัน	4
โตน1	โตนงาช้าง	0.95	40	12x18	0.82	หนามห่าง สั้น ฐานกว้าง สีน้ำตาลอมเขียว	บาง เหนียว	ขาวอมเหลือง ซีด	หอม ไม่จุน	หวานมัน อร่อย	4
โตน2	โตนงาช้าง	1.4	43.5	15.5x18.2	1.42	สูง เรียวแหลม สีเขียว ปลายสีน้ำตาล ปลายงอ เล็กน้อย	บาง เหนียว	เหลืองนวล	อ่อน มีกลิ่นกำมะถัน	หวานมัน	3
โตน3	โตนงาช้าง	1	49	11.2x13.6	0.7	ปลายแหลม งอเหมือนตะขอ สีน้ำตาล	บาง และ	เหลืองอ่อน	หอม ไม่จุน	มัน ไม่ค่อย หวาน	2
โตน4	โตนงาช้าง	1.68	55.5	17x19	1.2	หนามห่าง ใหญ่ปาน ทรงพีระมิด สีเขียวเทา	ปานกลาง เหนียว ล่อน	เหลืองนวล	หอม ไม่จุน	หวานจัด มัน อร่อย	5

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ) แสดงตารางเก็บข้อมูลของทุเรียน 67 ตัวอย่าง จาก 5 พื้นที่

พันธุ์ (รหัส)	สถานที่	ขนาดผล			ความหนา เปลือก (cm)	ลักษณะหนาม	ลักษณะเนื้อ	สีเนื้อ	กลิ่น	รสชาติ	คะแนน (5 คะแนน)
		น้ำหนัก (Kg)	เส้นรอบวง (cm)	กxย (cm)							
โตน5	โตนงาช้าง	1.14	46.5	14.2x16.7	0.7	สันฐานกว้างปลายแหลม สีน้ำตาลอมเทา	หนาปานกลาง ค่อนข้างแข็ง	เหลืองอ่อน	อ่อน	หวานน้อย มัน	3
โตน6	โตนงาช้าง	1.18	46	12.5x19.1	1	สูง ปลายแหลม งอเล็กน้อย	ค่อนข้างบาง และมาก	เหลืองอมเทา	มีกลิ่น กำมะถัน	ค่อนข้างจืด	1
ลุงถม 1	นาหม่อม	1	44	11.3x13	0.6	สัน ฐานกว้าง ปลายเรียว	บาง เนียน เหนียวแต่ละ	เหลืองเข้ม Y 11 B	ไม่ฉุน	หวาน มัน ขมเล็กน้อย	4.5
ลุงถม 2	นาหม่อม	1.2	44.6	12x19.4	0.6	หนามห่าง ใหญ่ สัน	เนียน หนา	เหลืองนวล Y 11 B	กลิ่นอ่อน	หวานจัด	4.5
ลุงถม 3	นาหม่อม	1.1	46.5	12x14	0.7	ฐานกว้าง สัน ปลายเล็ก	หนาและ	เหลืองอ่อน Y 4 D	กลิ่นอ่อน	หวาน	4.5
ลุงถม 4	นาหม่อม	0.9	43.1	10.4x12.9	0.7	เรียวแหลม ฐานกว้าง	และ	เหลืองอ่อน Y 4 D	ฉุนเล็กน้อย	หวาน มัน	4
ลุงถม 5	นาหม่อม	0.5	39	10x10.2	0.7	แหลม สูง	และ	เหลืองหม่น GY 160 D	กลิ่นแรง มีกลิ่น กำมะถัน	ค่อนข้างขม	2.5
ลุงถม 6	นาหม่อม	0.4	36.7	7.3x9	0.5	แหลม สูง สีเขียวเข้ม	หนา ไม่และ	เหลืองอ่อน Y 10 D	ค่อนข้างฉุน	หวานปาน กลาง ปนขม	3.5

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ) แสดงตารางเก็บข้อมูลของทุเรียน 67 ตัวอย่าง จาก 5 พื้นที่

พันธุ์ (รหัส)	สถานที่	ขนาดผล			ความหนา เปลือก (cm)	ลักษณะหนาม	ลักษณะเนื้อ	สีเนื้อ	กลิ่น	รสชาติ	คะแนน (5 คะแนน)
		น้ำหนัก (Kg)	เส้นรอบวง (cm)	กxย (cm)							
สาริกา 1	ข้าง ชกส. กะปง พังงา	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
สาริกา 2	ข้าง ชกส. กะปง พังงา	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
สาริกา 3	ม.2 อ.กะปง พังงา	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
สาริกา 4	กะปง พังงา	1.9	56.5	19 x 19	1.13	แหลมสูง	เนื้อหนา เมล็ด เล็ก	เหลืองจ้ำปา Yellow group C13	ค่อนข้างอ่อน	หวาน มัน	5
กะปง 1	กะปง พังงา	2.5	56.5	19 x 19	1.12	ใหญ่	เนื้อแข็ง	เหลืองอ่อน green-yellow 1D	กลิ่นอ่อน ไม่ค่อยฉุน	หวานมัน คัดคาย หอมทอง	3
กะปง 2	กะปง พังงา	2	53	18 x 21	0.51	เรียวยาว ไม่ค่อยแหลม	และ เหลว	yellow 3D	ค่อนข้างฉุน	หวานปนขม เล็กน้อย	3.5
กะปง 3	ร้านค้า กะปง พังงา	1		17 x 18	0.94	หนามแหลม ไม่สม่ำเสมอ	เนื้อเนียน ไม่ละ	yellow 2D	ค่อนข้างฉุน	หวานน้อย มัน	3.5

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ) แสดงตารางเก็บข้อมูลของทุเรียน 67 ตัวอย่าง จาก 5 พื้นที่

พันธุ์ (รหัส)	สถานที่	ขนาดผล			ความหนาเปลือก (cm)	ลักษณะหาม	ลักษณะเนื้อ	สีเนื้อ	กลิ่น	รสชาติ	คะแนน (5 คะแนน)
		น้ำหนัก	เส้นรอบวง (cm)	กxย (cm)							
กะปง4	ร้านค้ากะปง พังงา	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
เหนือกลอง1	กระบี่	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
เหนือกลอง2	กระบี่	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
เบตง1	เบตง	1.5	46	13x18	0.9	หามห่าง สั้น ปลายแหลม	ค่อนข้างบาง เหนียว ล่อน	เหลืองหม่น GY 160 B	จุน	หวาน มัน	4
เบตง2	เบตง	2	53.2	15.2x21.5	1.1	หามห่าง ฐานกว้าง ปลายสอบ	เนื้อเหนียว ล่อน ค่อนข้างหนา	Y 10 D	ไม่จุน	ขม ปร่าลิ้น	3
เบตง3	เบตง	2.2	51	13.7x18.5	0.5	ฐานกว้าง สั้น ปลายแหลม	เนื้อบาง ล่อน	YG 9 D	ไม่จุน	หวาน มัน คล้ายหมอนทอง	3
เบตง4	เบตง	2.8	60	16x21.4	0.5	หามห่าง สูง ใหญ่	เนื้อน้อย มีเยื่อ ระหว่างเนื้อกับเมล็ด	สีซีด W 155 A	มีกลิ่นกำมะถัน	หวานปานกลาง	3
เบตง5	เบตง	10	44	12x14.5	1.1	สั้น ห่าง ฐานกว้าง ปลายแหลม	บาง ติดเมล็ด	ขาวซีด W 155 C	ไม่จุน	หวานน้อย มัน	4

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ) แสดงตารางเก็บข้อมูลของทุเรียน 67 ตัวอย่าง จาก 5 พันธุ์

พันธุ์ (รหัส)	สถานที่	ขนาดผล			ความหนา เปลือก (cm)	ลักษณะหนาม	ลักษณะเนื้อ	สีเนื้อ	กลิ่น	รสชาติ	คะแนน (5 คะแนน)
		น้ำหนัก (Kg)	เส้นรอบวง (cm)	กxย (cm)							
เบตง6	เบตง	1.3	47.5	12.4x16.5	1.2	เรียวยาว ปลายแหลม	ค่อนข้างบาง ล่อน	W 155 B	กลิ่นอ่อน	หวานปานกลาง	3
เบตง7	เบตง	1.1	45	14x17	1	หนามถี่ เล็กสูง	เนื้อเยื่อ หนา และ	YG 160 D	กลิ่นอ่อน	หวาน มัน	4
เบตง8	เบตง	2.8	56	15.4x22.5	1.3	หนามใหญ่ สั้น ป้อม ปลายเป็นดิ่งแหลม	เนื้อค่อนข้าง หนา	GY 160 D	มีกลิ่นกำมะถัน เล็กน้อย	ขม ปร่าลิ้น	3
เบตง9	เบตง	1.5	47.7	13.2x18.9	1.4	ห่าง สั้น ฐานกว้าง	เนื้อหนา	Y 10 C	กลิ่นอ่อนมาก	หวาน มัน คล้ายหมอนทอง	4.5
เบตง10	เบตง	1.5	49.6	13.6x20	1.5	หนามห่าง สั้นมาก ปลายแหลม	ละเอียด หนา ค่อนข้างล่อน	W 155 A	จุนเล็กน้อย	หวานปานกลาง มีรสขมเล็กน้อย	3
เบตง11	เบตง	3.4	51.2	16.4x24.5	1.7	หนามใหญ่ สั้น ห่าง	เนื้อหนา กรอบ	GY 162 D	กลิ่นอ่อนมาก	หวานน้อย มัน	3
เบตง12	เบตง	1.1	48.3	12.6x18.6	1.7	หนามถี่ เรียวยาวแหลม	เนื้อหนา เนียน	YG 160 D	จุนเล็กน้อย	หวานปานกลาง มัน ขมเล็กน้อย	3
เบตง13	เบตง	3	55	12.5x25	1.3	ใหญ่ สูง สีเขียวสด	และ	GY 160 D	ไม่จุน	หวาน มีรสเปรี้ยว เล็กน้อย	4

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ) แสดงตารางเก็บข้อมูลของทุเรียน 67 ตัวอย่าง จาก 5 พื้นที่

พันธุ์ (รหัส)	สถานที่	ขนาดผล			ความหนา เปลือก (cm)	ลักษณะหนาม	ลักษณะเนื้อ	สีเนื้อ	กลิ่น	รสชาติ	คะแนน (5 คะแนน)
		น้ำหนัก (Kg)	เส้นรอบวง (cm)	กxย (cm)							
เบตง14	เบตง	1.3	47.5	14.5x16	1.8	ถี่ เล็ก	ละเอียด		ไม่ฉุน มีกลิ่น เฉพาะ	หวานจัด	3.5
เบตง15	เบตง	3	65	15.3x23	1.6	หนามถี่ เรียวสูง ปลายแหลม	เนื้อละเอียด อ่อน	Y 11 A	กลิ่นอ่อน	หวานจัด รสคล้ายชะนี	4.5
เบตง16	เบตง	1.2	48	13x15.3	1.1	หนามห่าง สั้น ปลายสอบแหลม	ค่อนข้างหนา อ่อน	GY 160 D	อ่อน	หวาน มัน เนื้อเย็น	3.5
เบตง17	เบตง	2	53.7	15.3x20.7	1.1	หนามถี่ สั้น ปลายแหลม	เนื้อเหนียว ฝืดนอกกรอบ	GY 162 C	กลิ่นอ่อนมาก	มัน หวานปานกลาง	3.5
เบตง18	เบตง	2.2	58.5	18.2x18.7	1.3	ใหญ่ ห่าง	เนื้อหนา กรอบ แห้ง	Y 5 D	อ่อน	หวานเย็นๆ	3