4

การศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของแหล่งเชื้อพันธุ์ปาล์มน้ำมัน (*Elaeis guineensis* Jacq.) โดยเทคนิคอาร์เอพีดี (Random Amplified Polymorphic DNA)

Study on Genetic Variation of Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) Germplasm by RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) Technique

สายชล จันมาก

Saichon Junmag

วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Master of Science Thesis in Plant Science

Prince of Songkla University

2547

เลขหมู่ QK495.P17 ส164 2547 ฉ.2

Bib Key 247044

23 ม.ค. 2547

ชื่อวิทยานิพนธ์	การศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของแหล่งเชื้อพันธุ์ปาล์มน้ำมัน (*Elaeis guineensis* Jacq.) โดยเทคนิคอาร์เอพีดี (Random Amplified Polymorphic DNA)
ผู้เขียน	นางสาวสายชล จันมาก
สาขาวิชา	พืชศาสตร์

คณะกรรมการที่ปรึกษา

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จรัสศรี นวลศรี)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. ธีระ เอกสมทราเมษฐ์)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จรัสศรี นวลศรี)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. ธีระ เอกสมทราเมษฐ์)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. สมปอง เตชะโต)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. อมรรัตน์ พงศ์ดารา)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุรพล อารีย์กุล)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์	การศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของแหล่งเชื้อพันธุ์ปาล์มน้ำมัน (*Elaeis guineensis* Jacq.) โดยเทคนิคอาร์เอพีดี (Random Amplified Polymorphic DNA)
ผู้เขียน	นางสาวสายชล จันมาก
สาขาวิชา	พืชศาสตร์
ปีการศึกษา	2546

บทคัดย่อ

การศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของประชากรปาล์มน้ำมัน (*Elaeis guineensis* Jacq.) ทั้งสามพันธุ์คือ ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอรา โดยเทคนิคอาร์เอพีดี ทำการเก็บตัวอย่างผล และใบปาล์มน้ำมันจำนวนทั้งสิ้น 151 ต้น จากสถานที่ต่างๆดังนี้ 1) ศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี กรมวิชาการเกษตร จ. สุราษฎร์ธานี 2) บริษัทไทยบุญทอง จ. กระบี่ 3) บริษัทยูนิวานิช จ. กระบี่ 4) สวนเกษตรกรในเขต จ.กระบี่ 5) บริษัทเปาร์งค์ออยล์ปาล์ม จ.นครศรีธรรมราช 6,7) สถานีวิจัยเทพา และสถานีวิจัยคลองหอยโข่ง จ. สงขลา ซึ่งการแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ปาล์มน้ำมันอาศัยความหนากะลา และใช้เส้นใยรอบกะลาประกอบการพิจารณา ทำการบันทึกข้อมูลลักษณะสัณฐานวิทยาของผลเช่น น้ำหนักผล เส้นผ่านศูนย์กลางผล ความหนาเนื้อผล ความหนากะลา และความหนาเนื้อในเมล็ด เป็นต้น เพื่อเป็นข้อมูลร่วมกับการใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี จากข้อมูลของลักษณะสัณฐานวิทยาของผล พบความแปรปรวนของแต่ละลักษณะในทุกพันธุ์

สำหรับการศึกษาโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดีนั้น ทำการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างใบโดยใช้สารละลาย CTAB และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเออย่างสุ่มโดยใช้เทคนิคพีซีอาร์ จากการทดสอบด้วยไพรเมอร์จำนวนทั้งสิ้น 160 ไพรเมอร์ ทำการคัดเลือกเฉพาะไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอแตกต่างระหว่างพันธุ์และให้แถบดีเอ็นเอชัดเจนจำนวน 7 ไพรเมอร์ คือ OPB-08 OPR-11 OPT-06 OPT-19 OPAB-01 OPAB-09 และ OPAB-14 หลังจากนั้นจึงนำไพรเมอร์ดังกล่าวมาตรวจสอบความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอของปาล์มน้ำมันจำนวน 151 ต้น โดยแยกเป็นพันธุ์ดูรา 52 ต้น พันธุ์เทเนอรา 60 ต้น และพันธุ์พิสิเฟอรา 39 ต้น ผลการศึกษาพบว่า จากจำนวนไพรเมอร์ 7 ชนิดที่ทำการทดสอบให้แถบดีเอ็นเอทั้งสิ้น 209 แถบ เฉลี่ย 29.85 แถบต่อไพรเมอร์ นำข้อมูลแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างปาล์ม

น้ำมันทั้งหมดที่ได้มาสร้างเดนโดรแกรมเพื่อหาความสัมพันธ์หรือความใกล้ชิดทางพันธุกรรมโดยใช้วิธี UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Average) จากโปรแกรม SPSS พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มปาล์มน้ำมันได้เป็น 3 กลุ่มด้วยกันคือ 1) ปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอราจากบริษัทเปารงค์ออยล์ปาล์ม ปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอราจากศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี ปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา และเทเนอราจากสวนเกษตรกรจังหวัดกระบี่ ปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูราจากสถานีวิจัยเทพา 2) ปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา และเทเนอราจากบริษัทไทยบุญทอง ปาล์มน้ำมันพันธุ์เทเนอรา และพิสิเฟอราจากสถานีวิจัยเทพา ปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอราจากสถานีวิจัยคลองหอยโข่ง 3) ปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา และพันธุ์เทเนอราจากบริษัทยูนิวานิช เมื่อพิจารณาค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันทั้งสามพันธุ์ที่ทำการศึกษาครั้งนี้พบว่า มีค่าตั้งแต่ 0.6 ขึ้นไป แสดงให้เห็นว่าปาล์มน้ำมันที่ปลูกในแถบภาคใต้ของประเทศไทยมีความแปรปรวนทางพันธุกรรมค่อนข้างน้อย

Thesis Title	Study on Genetic Variation of Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) Germplasm by RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) Technique
Author	Miss Saichon Junmag
Major Program	Plant Science
Academic Year	2003

Abstract

The genetic variability in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.), including dura tenera and pisifera, was studied using RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). Fruit and leaf samples of 151 plants were collected from the following areas : 1) Oil Palm Research Center, Department of Agriculture, Surat Thani province, 2) Thai BoonTong Company, Krabi province, 3) Univanit Company, Krabi province, 4) private plantation, Krabi province, 5) Paorong Oil Palm Company, Nakhon Si Thammarat province, and 6, 7) Research Stations of the Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University at Thepa and Klong Hoi Khong, Songkhla province. Shell thickness and the fiber rings from the fruit were used as the basis for the classification of varieties. Morphological characters of fruit, such as fruit weight, fruit diameter, mesocarp thickness, shell thickness and kernel size, were also recorded to evaluate genetic variation, which was found in all varieties.

For RAPD analysis, DNA from the leaf samples was isolated using CTAB buffer and decamer oligonucleotide primers were screened. Of a total 160 primers screened, 7 primers (OPB-08, OPR-11, OPT-06, OPT-19, OPAB-01, OPAB-09 and OPAB-14) were chosen to analyse for genetic variation in 151 individuals representing 52 dura, 60 tenera and 39 pisifera. Two hundred and nine amplification fragments were obtained from 7 primers with an average of 29.85 RAPD markers for each primer. A dendrogram showing genetic similarities among oil palm was constructed based on polymorphic bands using UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Average). Cluster analysis was performed using the SPSS program,

which revealed three major clusters: 1) dura, tenera and pisifera from Paorong Oil Palm Company, Oil Palm Research Center, dura and tenera from private plantation in Krabi, and dura from Thepa Research Station, 2) dura and tenera from Thai BoonThong Company, pisifera and tenera from Thepa Research Station, dura, tenera and pisifera from Klong Hoi Khong Research Station, and 3) dura and tenera from Univanit Company. In general, a similarity index showed relatively high levels of 0.6 or greater indicating a low level of genetic variation in oil palm grown in Southern Thailand.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยความช่วยเหลือจากทุกท่านดังต่อไปนี้

ผู้เขียนขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จรัสศรี นวลศรี ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่กรุณาต่อผู้เขียนในทุกๆเรื่อง ตลอดจนให้คำปรึกษา ข้อเสนอแนะ และแนวทางการเรียบเรียงวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์

รองศาสตราจารย์ ดร. ธีระ เอกสมทราเมษฐ์ กรรมการที่ปรึกษาและกรรมการสอบ ที่กรุณาให้คำแนะนำ และตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์

รองศาสตราจารย์ ดร. สมปอง เตชะโต และรองศาสตราจารย์ ดร. อมรรัตน์ พงศ์ดารา กรรมการสอบที่ให้คำแนะนำ และตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้ถูกต้องยิ่งขึ้น

ทบวงมหาวิทยาลัยที่ให้ทุนอุดหนุนในการทำวิจัย

ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ห้องปฏิบัติการ ตลอดจนวัสดุอุปกรณ์ต่างๆ

คุณอรรัตน์ วงศ์ศรี จากศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี จ. สุราษฎร์ธานี บริษัทไทยบุญทองและบริษัทยูนิวานิช จำกัด จ. กระบี่ บริษัทเปารงค์ออยล์ปาล์ม จำกัด จ.นครศรีธรรมราช สถานีวิจัยเทพา และสถานีวิจัยคลองหอยโข่ง จ. สงขลา ที่เอื้อเฟื้อตัวอย่างปาล์มน้ำมันในการวิจัยครั้งนี้

คุณสุวิมล กลศึก คุณอุษา ชูรักษ์ คุณจตุพร ไกรถาวร คุณขวัญชนก บุปผากิจ คุณนิสากร เกิดทรัพย์ คุณรัฐพร พรหมแก้ว และพี่ๆน้องๆทุกคนที่มีส่วนช่วยเหลือในการทำวิจัย

คุณพ่อ คุณแม่ น้องชาย และน้องสาวที่สนับสนุน และเป็นกำลังใจตลอดมา

สายชล จันมาก

สารบาญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
Abstract	(5)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบาญ	(8)
รายการตาราง	(9)
รายการรูป	(10)
บทที่	
1. บทนำ	
บทนำต้นเรื่อง	1
ตรวจเอกสาร	3
วัตถุประสงค์	14
2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ	15
3. ผล	
- การศึกษาความแตกต่างของปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอราโดยอาศัยลักษณะสัณฐานวิทยาของผล	24
- การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอราโดยเทคนิคอาร์เอพีดี	31
- การศึกษาความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรม	37
4. วิจารณ์	44
5. สรุป	51
เอกสารอ้างอิง	54
ภาคผนวก	63
ประวัติผู้เขียน	72

รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
1. ลักษณะสำคัญของปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอรา	7
2. จำนวนตัวอย่าง และสถานที่ของปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอรา ที่ใช้ในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผล	19
3. จำนวนตัวอย่าง และสถานที่ของปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอราที่ ใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยเทคนิคอาร์เอพีดี	20
4. แสดงค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าต่ำสุด-สูงสุดของน้ำหนักต่อผล เส้นผ่าน ศูนย์กลางผล ความหนาเนื้อปาล์ม ความหนากะลา และความหนาเนื้อในเมล็ดของ ปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูราเทเนอรา และพิสิเฟอรา	26
5. ชนิดของไพรเมอร์ ลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่ แตกต่าง และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกัน จากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดีในปาล์ม น้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอรา	33
6. แสดงค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอราที่เก็บจากสถานที่ต่างๆ	43

รายการรูป

รูปที่		หน้า
1.	ภาพตัดตามแนวยาวของผลปาล์มน้ำมัน	6
2.	ความแปรปรวนของน้ำหนักต่อผล (กรัม)ในกลุ่มประชากรปาล์มน้ำมันพันธุ์ต่างๆ	28
3.	ความแปรปรวนของเส้นผ่านศูนย์กลางผล (ซม.)ในกลุ่มประชากรปาล์มน้ำมันพันธุ์ต่างๆ	28
4.	ความแปรปรวนของความหนาเนื้อปาล์ม (มม.)ในกลุ่มประชากรปาล์มน้ำมันพันธุ์ต่างๆ	29
5.	ความแปรปรวนของความหนากะลา (มม.)ในกลุ่มประชากรปาล์มน้ำมันพันธุ์ต่างๆ	29
6.	ความแปรปรวนของความหนาเนื้อในเมล็ด (มม.)ในกลุ่มประชากรปาล์มน้ำมันพันธุ์ต่างๆ	30
7.	ปริมาณดีเอ็นเอที่ได้จากการสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีการใช้ CTAB บัฟเฟอร์ lane 1-14 คือดีเอ็นเอที่สกัดจากตัวอย่างใบปาล์มน้ำมัน lane 15 คือ แลมดาดีเอ็นเอขนาด 80 นาโนกรัมต่อ 2 ไมโครลิตร	31
8.	รูปแบบของแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา (lane 1-8) พันธุ์เทเนอรา (lane 9-15) และพันธุ์พิสิเฟอรา (lane 16-23) ที่สุ่มเก็บจากศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานีจากเทคนิคอาร์เอพีดีเมื่อใช้ไพรเมอร์ OPAB-01 M1, M2 คือDNA Ladder ขนาด 500 และ 100 คู่เบส ตามลำดับ	34
9.	รูปแบบของแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา (lane 1-8) และพันธุ์เทเนอรา (lane 9-11) จากบริษัทยูนิวานิชจากเทคนิคอาร์เอพีดีเมื่อใช้ไพรเมอร์ OPAB-01 M1, M2 คือ DNA Ladder ขนาด 500 และ 100 คู่เบส ตามลำดับ	34
10.	รูปแบบของแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา (lane 1-5) พันธุ์เทเนอรา (lane 6-10) และพันธุ์พิสิเฟอรา (lane 11-14) ที่สุ่มเก็บจากสถานีวิจัยเทพาจากเทคนิคอาร์เอพีดีเมื่อใช้ไพรเมอร์ OPB-08 M1, M2 คือ DNA Ladder ขนาด 500 และ 100 คู่เบส ตามลำดับ	35

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
11.	รูปแบบของแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา (lane 1-8) พันธุ์เทเนอรา (lane 9-16) และพันธุ์พิสิเฟอรา (lane 17-29) ที่สุ่มเก็บจากศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานีจากเทคนิคอาร์เอพีดีเมื่อใช้ไพรเมอร์ OPT-06 M1, M2 คือ DNA Ladder ขนาด 500 และ 100 คู่เบส ตามลำดับ	35
12.	รูปแบบของแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา (lane 1-5) และพันธุ์เทเนอรา (lane 6-16)จากสวนเกษตรกรจังหวัดกระบี่จากเทคนิคอาร์เอพีดีเมื่อใช้ไพรเมอร์ OPAB-09 M1, M2 คือ DNA Ladder ขนาด 500 และ 100 คู่เบส ตามลำดับ	36
13.	รูปแบบของแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา (lane 1-10) พันธุ์เทเนอรา (lane 11-18) และพันธุ์พิสิเฟอรา (lane 19-29) จากสถานีวิจัยคลองหอยโข่งจากเทคนิคอาร์เอพีดีเมื่อใช้ไพรเมอร์ OPAB-14 M1, M2 คือ DNA Ladder ขนาด 500 และ 100 คู่เบส ตามลำดับ	36
14.	เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ของปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูราจำนวน 52 ต้นจากการสร้างด้วย UPGMA โปรแกรม SPSS	39
15.	เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ของปาล์มน้ำมันพันธุ์เทเนอราจำนวน 60 ต้นจากการสร้างด้วย UPGMA โปรแกรม SPSS	40
16.	เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ของปาล์มน้ำมันพันธุ์พิสิเฟอราจำนวน 39 ต้นจากการสร้างด้วย UPGMA โปรแกรม SPSS	41
17.	เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ของปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอราจำนวน 151 ต้นจากการสร้างด้วย UPGMA โปรแกรม SPSS	42

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ปาล์มน้ำมันเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย พื้นที่ปลูกส่วนใหญ่อยู่ในภาคใต้ แถบจังหวัดกระบี่ สุราษฎร์ธานี ชุมพร สตูล และตรัง โดยจังหวัดกระบี่มีพื้นที่ปลูกมากที่สุด นอกจากนี้ยังมีการขยายพื้นที่ปลูกไปยังภาคอื่นๆของประเทศด้วย เช่น ภาคตะวันออก ให้ผลผลิตปาล์มสดทั้งหมดประมาณ 2.46 ล้านตันต่อปี ลดการนำเข้าน้ำมันปาล์มจากต่างประเทศถึงปีละ 7,000-8,000 ล้านบาท (สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย, 2543) น้ำมันปาล์มสามารถนำมาใช้ประโยชน์ทั้งในการบริโภค และอุปโภค เช่น น้ำมันสำหรับปรุงอาหาร เนยเทียม ไอศกรีม เครื่องสำอาง สารซักฟอก น้ำมันหล่อลื่น ฯลฯ นอกจากนี้ยังใช้ในอุตสาหกรรมโอเลโอเคมิคอล (oleochemical) ซึ่งรวมถึงการผลิตเชื้อเพลิง (เมทานอล) เพื่อใช้กับเครื่องยนต์ (ธีระ และคณะ, 2546) ปัจจุบันปาล์มน้ำมันจึงกลายเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจอย่างยิ่ง เห็นได้จากพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามลำดับ จากข้อมูลปีพ.ศ. 2520 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันประมาณ 69,600 ไร่ ปีพ.ศ. 2541 พื้นที่ปลูกเพิ่มขึ้นเป็น 1.4 ล้านไร่ (สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย, 2543) และต่อมาในปีพ.ศ. 2544 พื้นที่ปลูกเพิ่มขึ้นเป็น 1.8 ล้านไร่ (ธีระ และคณะ, 2546) ทำให้ความต้องการเมล็ดพันธุ์เพิ่มตามไปด้วย ปัญหาหลักอย่างหนึ่งในการผลิตปาล์มน้ำมันคือพันธุ์ปลูก โดยพันธุ์ปาล์มน้ำมันที่ปลูกเป็นการค้าในปัจจุบันคือพันธุ์เทเนอราซึ่งเป็นลูกผสมระหว่างดูราและพิสิเฟอรา แม้ในปัจจุบันประเทศไทยสามารถผลิตเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมได้เองแต่ก็ยังไม่เพียงพอกับความต้องการของเกษตรกร ดังนั้นจึงยังคงมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันจากต่างประเทศเช่น มาเลเซีย อัฟริกา และบางประเทศแถบทวีปอเมริกาใต้ โดยเฉพาะประเทศมาเลเซียซึ่งมีนโยบายกีดกันการส่งออกเมล็ดพันธุ์ดี จึงมีการลักลอบนำเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันเข้ามาซึ่งอาจมีพันธุ์ไม่ดีปะปนเข้ามาด้วย นอกจากนี้พันธุ์ที่นำเข้ามาถึงจะเป็นลูกผสมเทเนอราจริง แต่ก็เป็นพันธุ์ที่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์ให้ปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมของประเทศผู้ผลิต ซึ่งอาจไม่เหมาะสมกับพื้นที่ปลูกของประเทศไทย ทั้งในสภาพภูมิอากาศและปริมาณน้ำฝนที่แตกต่างกัน การปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันใช้เองภายในประเทศจึงมีความจำเป็นต้องทำอย่างต่อเนื่อง ซึ่งขั้นตอนในกระบวนการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันต้องอาศัยความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืช และคัดเลือกต้นที่มี

ลักษณะดีตามต้องการ หลังจากนั้นจึงทำการผสมข้ามระหว่างพันธุ์พ่อแม่ที่คัดเลือกไว้ รวมทั้งทดสอบลูกผสมเพื่อใช้เป็นข้อมูลคัดเลือกพันธุ์พ่อแม่อีกครั้งหนึ่ง ดังนั้นการตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อพันธุ์ปาล์มน้ำมันเพื่อใช้ประโยชน์ในการคัดเลือกลักษณะที่ต้องการจึงเป็นสิ่งจำเป็นอย่างยิ่ง และนำไปสู่การปรับปรุงพันธุ์ให้เหมาะสมกับสภาพดินฟ้าอากาศของประเทศไทย

ตรวจเอกสาร

1. ความสำคัญ

ปาล์มน้ำมันเป็นพืชน้ำมันที่มีความสำคัญอันดับสองรองจากถั่วเหลือง และมีแนวโน้มจะมีความสำคัญเพิ่มขึ้นตามลำดับ (Mielke, 2000) ปริมาณการผลิตน้ำมันปาล์มของโลกในปีพ.ศ. 2544 เท่ากับ 23,355,000 ตัน (ธีระ และคณะ , 2546) ประเทศสำคัญที่ผลิตน้ำมันปาล์มได้แก่ มาเลเซีย อินโดนีเซีย ไนจีเรีย โคลัมเบีย ไอเวอรี่โคท และไทย โดยที่ประเทศมาเลเซียเป็นผู้ผลิตอันดับหนึ่งประมาณ 52% รองลงมาคือ อินโดนีเซียประมาณ 32% (ธีระ และคณะ , 2546) น้ำมันปาล์มสามารถสกัดได้จากผลปาล์ม น้ำมันที่แยกได้จากผลมีสองชนิดคือ น้ำมันจากส่วนของเนื้อปาล์ม (mesocarp) คิดเป็นประมาณ 20% ของปริมาณน้ำมันที่ผลิตได้จากพืชทั้งหมด และน้ำมันที่สกัดจากเมล็ดใน (palm kernel oil) ประมาณ 3% ของปริมาณน้ำมันที่ผลิตได้จากพืชทั้งหมด น้ำมันที่สกัดได้จากทั้งสองส่วนนี้มีคุณสมบัติทางเคมีที่แตกต่างกันมาก โดยส่วนแรกเป็นน้ำมันปาล์มโอเลอีนนำมาใช้เพื่อการบริโภคเช่น น้ำสลัด มาการีน ประมาณ 80% ของน้ำมันปาล์มส่วนนี้ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ส่วนน้ำมันปาล์มสเตียรีน (stearin palm oil) กรดไขมันปาล์ม (palm fatty acid distillate) ไม่สามารถใช้บริโภคได้ สำหรับน้ำมันจากเมล็ดในเป็นคู่แข่งที่สำคัญกับน้ำมันมะพร้าว นิยมใช้เพื่อการอุปโภคเช่น สบู่ เทียนไข และมีแนวโน้มการใช้มากขึ้นในอุตสาหกรรม oleochemical นอกจากนี้แล้วน้ำมันปาล์มยังมีสารแคโรทีนอยด์ สามารถนำมาแปรรูปในการผลิตวิตามินเอ สีผสมสำหรับอาหารชบเคี้ยว บะหมี่สำเร็จรูป และในน้ำมันปาล์มยังสกัด tocopherols และ tocotrienols ซึ่งเป็นส่วนประกอบของวิตามินอี (Jalani *et al.*, 1977) ในกระบวนการสกัดน้ำมันปาล์มมีตะกอนของเสียที่เหลือใช้จากกระบวนการต่างๆเกิดขึ้น ซึ่งสามารถนำมาใช้ประโยชน์อื่นๆได้อีกเช่น กากเนื้อในเมล็ดปาล์มมีคุณค่าทางอาหารสูงจึงนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์ กากตะกอนจากโรงงานนำมาใช้ทำปุ๋ยเพื่อเพิ่มปริมาณธาตุอาหารให้แก่พืช กากเส้นใย และกะลาใช้ทำเชื้อเพลิง

2. ถิ่นกำเนิดของปาล์มน้ำมัน

ปาล์มน้ำมันเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว เป็นพืชผสมข้ามโดยดอกเพศผู้ และดอกเพศเมียอยู่ภายในต้นเดียวกัน (monoceious) แต่เกิดสลับกัน จัดอยู่ในวงศ์ Palmae สกุล *Elaeis* สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ชนิดดังนี้คือ

1. *Elaeis guineensis* อาจเรียกปาล์มน้ำมันกลุ่มนี้ว่า African oil palm มีความสำคัญทางเศรษฐกิจเป็นพันธุ์ที่นิยมปลูกเป็นการค้าในปัจจุบัน มีถิ่นกำเนิดในทวีปอัฟริกาตอนกลาง และทวีปอัฟริกาตะวันตก ได้แก่ปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอรา

2. *E. oleifera* อาจเรียกปาล์มกลุ่มนี้ว่า American oil palm มีถิ่นกำเนิดบริเวณอเมริกากลางและทางตอนเหนือของอเมริกาใต้ บริเวณประเทศสุรินัม โคลัมเบีย และตอนเหนือของประเทศบราซิล (Ooi *et al.*, 1981 อ้างโดย Moretzsohn *et al.*, 2002) ไม่นิยมปลูกเป็นการค้าเนื่องจากมีการเจริญเติบโตช้า ผลเล็ก และให้ปริมาณน้ำมันต่ำกว่าปาล์มน้ำมันชนิดแรก แต่มีลักษณะบางอย่างน่าสนใจที่จะใช้เป็นแหล่งในการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันเช่น การต้านทานต่อลักษณะอาการ lethal yellowing ซึ่งส่งผลให้ต้นปาล์มไม่สามารถอยู่รอดได้ หรือลักษณะการต้านทานโรคเหี่ยวจากเชื้อ *Fusarium* (Renard *et al.*, 1980) ลักษณะที่มีต้นเตี้ย รวมไปถึงคุณภาพน้ำมันเพราะปาล์มน้ำมันกลุ่มนี้มีองค์ประกอบน้ำมันที่มีคุณภาพดีกว่า *E. guineensis*

3. *E. odora* พบปาล์มน้ำมันชนิดนี้บริเวณเดียวกับ *E. oleifera* แถบลุ่มแม่น้ำอเมซอน สำหรับบทบาทและความสำคัญยังไม่มีรายงานแน่ชัด

Barcelos และคณะ (2002) ทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันในกลุ่ม *E. guineensis* และ *E. oleifera* พบว่าปาล์มน้ำมันทั้งสองกลุ่มนี้มีความแตกต่างทางพันธุกรรมค่อนข้างน้อย จึงกล่าวถึงสมมติฐานเกี่ยวกับถิ่นกำเนิดของปาล์มน้ำมันในกลุ่ม *E. guineensis* และ *E. oleifera* ไว้สองประการคือ ปาล์มน้ำมันในกลุ่ม *E. guineensis* น่าจะมีถิ่นกำเนิดอยู่ในแถบตะวันออกของ Gondwana เนื่องจากบริเวณนี้มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงเมื่อเปรียบเทียบกับบริเวณอื่นๆ ทั้งนี้คาดว่าปาล์มน้ำมันทั้งสองกลุ่มนี้โดยถิ่นกำเนิดดั้งเดิมแล้วน่าจะอยู่ในแถบ Upper Amazonian ทางตอนใต้ของอเมริกาใต้ แต่เมื่อเกิดการแยกตัวของทวีปยุโรป และผ่านวิวัฒนาการที่ยาวนานทำให้มีการแยกปาล์มน้ำมันออกเป็นสองสปีชีส์คือ *E. guineensis* มีถิ่นกำเนิดแถบอัฟริกา ส่วน *E. oleifera* มีถิ่นกำเนิดแถบอเมริกาใต้ การที่ปาล์มน้ำมันทั้งสองกลุ่มนี้มีวิวัฒนาการของจีโนมค่อนข้างน้อย จึงทำให้มีความแตกต่างทางพันธุกรรมไม่มากนัก ถึงแม้ว่าจะมีสภาพแวดล้อมที่แตก

ต่างกัน และผ่านวิวัฒนาการที่ยาวนานมาแล้วก็ตาม ประเด็นที่สองคือ ปาล์มน้ำมันทั้งสองมีถิ่นกำเนิดดั้งเดิมที่แยกกันอยู่แล้ว คือ *E. oleifera* มีถิ่นกำเนิดบริเวณแถบ Upper Amazonian แล้วแพร่กระจายพันธุ์ไปสู่ที่ต่างๆ เช่น ฝรั่งเศส อเมริกากลาง รวมถึงแถบอัฟริกาซึ่งเป็นถิ่นกำเนิดของปาล์มน้ำมันกลุ่ม *E. guineensis* ด้วย โดยปาล์มน้ำมันทั้งสองกลุ่มต่างก็มีวิวัฒนาการไปตามสภาพแวดล้อมที่ขึ้นอยู่ แต่ความหลากหลายทางพันธุกรรมไม่ต่างกันมากทั้งนี้น่าจะมาจากปาล์มน้ำมันกลุ่ม *E. oleifera* แพร่กระจายพันธุ์ไปสู่อัฟริกา นอกจากนี้จากการศึกษายังพบปาล์มน้ำมันในกลุ่ม *E. oleifera* ในช่วงยุคน้ำแข็ง ยังไม่มีหลักฐานที่แน่นอนว่าปาล์มน้ำมันกลุ่มนี้มีการเคลื่อนย้ายผ่านมหาสมุทรแอตแลนติกได้อย่างไรถ้าไม่นับการเคลื่อนย้ายโดยมนุษย์ ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าเมล็ดปาล์มเหล่านี้ลอยไปตามน้ำ

3. พันธุ์ปาล์มน้ำมัน

Hartley (1977) อ้างโดย ศิริชัย (2532) กล่าวว่าการจำแนกพันธุ์ปาล์มน้ำมันกลุ่ม *E. guineensis* สามารถอาศัยลักษณะความแตกต่างของผลเป็นเกณฑ์ เช่นลักษณะดังต่อไปนี้

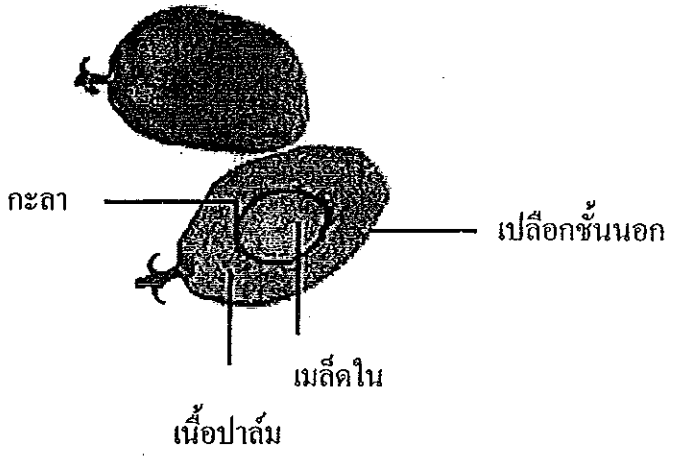
1. สีผิวผลเมื่อดิบ มี 2 ลักษณะคือ สีเขียว และสีดำ
2. สีของเปลือกนอกเมื่อสุก มี 2 ลักษณะคือ สีเหลืองซีด และสีส้มแดง
3. รูปร่างผล มี 2 ลักษณะ คือ ปกติ และมีเปลือกนอกผิดปกติ
4. ความหนาของกะลา มี 3 ลักษณะคือ หนา บาง และไม่มีกะลา

ลักษณะผลปาล์มน้ำมันประกอบด้วยส่วนต่างๆที่สำคัญคือ เปลือกชั้นนอก เนื้อปาล์ม กะลาปาล์ม และเมล็ดในปาล์ม (รูปที่ 1) เมื่อพิจารณาความหนาของกะลา สามารถจำแนกพันธุ์ปาล์มน้ำมันพันธุ์ที่สำคัญได้ดังนี้

1. พันธุ์ดูรา เป็นพันธุ์ที่มีความหนากะลาอยู่ระหว่าง 2-8 มม. หรือประมาณ 30% ของน้ำหนักผลทั้งหมด ไม่มีเส้นใย (fiber ring) รอบกะลา พันธุ์ดูราใช้เป็นต้นแม่พันธุ์สำหรับผลิตลูกผสมเทเนอรา

2. พันธุ์พิสิเฟอรา เกือบไม่มีกะลา บางแห่งจัดเป็นพวกไม่มีกะลา เมล็ดในมีขนาดเล็กมาก เนื้อผลหนาแต่ผลเล็ก และพบว่าช่อดอกตัวเมียของพิสิเฟอราส่วนหนึ่งเป็นหมัน ทำให้ผลฝ่อลีบส่วนใหญ่จะเป็นช่อดอกตัวผู้ ให้ช่อผลน้อย จึงไม่เหมาะที่จะปลูกเป็นการค้า ปัจจุบันใช้เป็นต้นพ่อพันธุ์ในการผลิตลูกผสม

3. พันธุ์เทเนอรา เป็นลูกผสมระหว่างดูรากับพิสิเฟอรา นิยมปลูกเป็นการค้า เทเนอราเป็นพันธุ์มีกะลาบางประมาณ 1-2.5 มม. ผลมีขนาดไม่แน่นอน เล็กบ้างใหญ่บ้าง มีช่อผลมากกว่าพันธุ์ดูรา แต่ขนาดช่อผลโดยทั่วๆไปเล็กกว่า พันธุ์เทเนอราต่างจากพันธุ์ดูราตรงที่พันธุ์เทเนอรามีกะลาบางกว่า และมีเส้นใยบริเวณรอบๆกะลาในขณะที่พันธุ์ดูราไม่มีลักษณะดังกล่าว ลักษณะประจำพันธุ์ของแต่ละพันธุ์แสดงดังตารางที่ 1



รูปที่ 1 ภาพตัดตามแนวยาวของผลปาล์มน้ำมัน

ตารางที่ 1 ลักษณะสำคัญของปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอรา

ลักษณะ	ดูรา	เทเนอรา	พิสิเฟอรา
ความหนากะลา (มม.)	2-8	0.5-4	บางมาก
เส้นใยรอบกะลา	ไม่มี	มี	มี
ผล/ทะลาย (%)	60	60	มักเป็นหมัน
เปลือกนอก/ผล (%)	60-65	75-85	92-97
กะลา/ผล (%)	25-30	8-15	บางมาก
เนื้อใน/ผล (%)	4-20	3-28	3-8
น้ำมัน/เปลือกนอก (%)	50	50	50
น้ำมัน/ทะลาย (%)	18-19.5	22.5-25.5	25-30

ที่มา : ศิริชัย (2532)

ปาล์มน้ำมัน (*E. guineensis* Jacq.) เป็นพืชตระกูลปาล์มเช่นเดียวกับมะพร้าว จาก สละ ระกำ อินทผาลัม และตาลโตนด เป็นพืชลำต้นเดี่ยวไม่มีกิ่งก้าน มีจำนวนโครโมโซม 2n = 2x = 32 ปาล์มน้ำมันที่ใช้ปลูกเป็นพันธุ์การค้าปัจจุบันคือ พันธุ์เทเนอรา ซึ่งเป็นเมล็ดพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1 (F1) ซึ่งได้จากการผสมระหว่างต้นแม่พันธุ์ดูรากับต้นพ่อพันธุ์พิสิเฟอรา โดยมีลักษณะของชั้นเนื้อปาล์มหนา ดังนั้นลักษณะความหนาบางของกะลาจึงมีผลต่อชั้นเนื้อปาล์มซึ่งมีผลต่อปริมาณน้ำมันที่จะสกัดได้ ความหนากะลาในปาล์มน้ำมันถูกควบคุมโดยยีน1 คู่ Hardon (1974) กำหนดให้ยีนที่ควบคุมลักษณะความหนากะลาในปาล์มน้ำมันเป็น Sh โดยพันธุ์ดูราซึ่งมีกะลาหนาถูกควบคุมด้วยยีน $Sh^{+}Sh^{+}$ ส่วนพันธุ์พิสิเฟอรามีกะลาบางมากหรือแทบไม่มีกะลาเลยถูกควบคุมด้วยยีน $Sh^{-}Sh^{-}$ และพันธุ์เทเนอรามีความหนากะลาปานกลางควบคุมโดยยีน $Sh^{+}Sh^{-}$ อย่างไรก็ตาม Hartley (1977) ให้สัญลักษณ์ของยีนควบคุมลักษณะความหนากะลาแตกต่างกันคือ D พันธุ์ดูรามีลักษณะเด่นคือ กะลาหนาควบคุมโดยยีนเด่น DD พันธุ์พิสิเฟอรามีกะลาบาง หรือไม่มีกะลาควบคุมด้วยยีนด้อย dd เทเนอราเกิดจากการผสมข้ามระหว่างพันธุ์ดูราและพันธุ์พิสิเฟอราเป็นลักษณะพันธุ์ทางยีนที่ควบคุมคือ Dd

4. แหล่งพันธุกรรมของพันธุ์ปาล์มน้ำมัน

ประชากรปาล์มน้ำมันเกือบทั้งหมดที่ใช้เป็นฐานพันธุกรรมสำหรับปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมเพื่อการค้าในปัจจุบันค่อนข้างมีฐานพันธุกรรมแคบ กลุ่มประชากรที่นิยมใช้มีดังต่อไปนี้ (Rosenquist, 1982 ; กรมวิชาการเกษตร, 2541)

1. Deli เป็นพันธุ์ดูราที่มีกะลาหนา ได้มาจากต้นปาล์มน้ำมัน 4 ต้นจากสวนพฤกษศาสตร์เมือง Bogor ประเทศอินโดนีเซีย ในประเทศมาเลเซียใช้กลุ่มประชากร Deli ปรับปรุงพันธุ์จนได้พันธุ์ดีที่มีชื่อเรียกต่างๆกันเช่น Elmina, Serdang Avenue, Ulu Remis นอกจากนี้ยังมีพันธุ์ Dabou และ La Me ซึ่งได้รับการปรับปรุงพันธุ์จากประเทศไอเวอรี่โคท ปาล์มน้ำมันกลุ่มนี้นิยมใช้เป็นแม่พันธุ์ในโปรแกรมปรับปรุงพันธุ์ปาล์มลูกผสมเพื่อการค้า เนื่องจากให้ผลผลิตสูง และมีความสม่ำเสมอ นอกจากนี้ยังมีปาล์มน้ำมันในกลุ่มประชากร Deli ที่มีลักษณะต้นเตี้ยได้แก่ Dumpy และ Gunung Melayu

2. AVROS ได้รับเชื้อพันธุ์มาจากสวนพฤกษศาสตร์ Eala ประเทศแซร์ โดยสถาบัน Algemeene Vereniging van Rubberplanters ter Oostkust van Sumatra (AVROS) ได้ปรับปรุงจนได้พันธุ์ดีชื่อว่า SP540 ปัจจุบันปาล์มน้ำมันกลุ่ม AVROS มักใช้เป็นพ่อพันธุ์ เนื่องจากต้นแข็งแรง มีการเจริญเติบโตเร็ว กะลาบาง เนื้อปาล์มหนา ปริมาณน้ำมันสูง ประเทศที่ใช้ปาล์มน้ำมันกลุ่มนี้เพื่อผลิตเมล็ดพันธุ์ได้แก่ โคลัมเบีย คอสตาริกา อินโดนีเซีย มาเลเซีย และปาปัวนิวกินี โดยทำการผสมกับประชากรปาล์มน้ำมันในกลุ่ม Deli

3. Yangambi เป็นพันธุ์ซึ่งสถาบัน The Institut National pour l'Etude Agronomique du Congo (INEAC) ประเทศแซร์ ใช้เป็นต้นพ่อประชากรปาล์มน้ำมันกลุ่มนี้มีการปรับปรุงพันธุ์โดยการผสมเปิด ลูกผสมปาล์มน้ำมันในกลุ่มนี้แข็งแรง มีผลใหญ่ และปริมาณน้ำมันมาก ปาล์มในกลุ่มนี้มีพันธุกรรมใกล้ชิดกับ AVROS เนื่องจากมีถิ่นกำเนิดในประเทศแซร์ ทวีปอัฟริกาเช่นเดียวกัน

4. La Me สถาบัน The Institut de Recherches pour les Huiles et Oleagineux (IRHO) ประเทศไอเวอรี่โคทได้ทำการปรับปรุงพันธุ์จนใช้เป็นต้นพ่อพันธุ์ ลูกผสมที่ได้มีลักษณะผลและทะลายเล็ก เปอร์เซ็นต์น้ำมันสูง ลำต้นเตี้ยแต่ทนทานต่อสภาพแวดล้อม

5. Binga เป็นพันธุ์ที่ได้จากลูกชั่วที่ 2 (F_2) และชั่วที่ 3 (F_3) จากปาล์มน้ำมันในกลุ่ม Yangambi ประเทศแซร์ โดยใช้ Ybi 69MAB และ Bg312/3 เป็นพ่อและแม่พันธุ์ ตามลำดับ

6. Ekona ได้รับเชื้อพันธุกรรมมาจากประเทศคาเมรูน ใช้เป็นต้นพ่อพันธุ์ ลูกผสมที่ได้มีจำนวนทะลายสูง ให้เปอร์เซ็นต์น้ำมันสูง และต้านทานต่อโรคเหี่ยว ปาล์มน้ำมันกลุ่ม Ekona นี้แพร่หลายในประเทศมาเลเซีย และคอสตาริกา

7. Calabar ทำการปรับปรุงพันธุ์โดย Nigerian Institute for Oil Palm Research (NIFOR) ประเทศไนจีเรีย ใช้เป็นต้นพ่อพันธุ์และแพร่หลายมาสู่ประเทศคอสตาริกา กานา อินโดนีเซีย ไอเวอรี่โคท และมาเลเซีย พันธุ์ที่นิยมปลูกแพร่หลายคือ Palm NF 32.3005

แม้ปาล์มน้ำมันมีถิ่นกำเนิดดั้งเดิมอยู่ในทวีปอัฟริกาใต้ แต่ปัจจุบันมีการปลูกเป็นการค้าในหลายประเทศทั้งทวีปอัฟริกาและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ รวมทั้งในประเทศไทยโดยการนำเข้ามาของหม่อมเจ้าอมรสมานลักษณ์ กิติยากร เริ่มมีการปลูกปาล์มน้ำมันครั้งแรกที่อำเภอสะเดา จังหวัดสงขลา ต่อมาในปี พ.ศ. 2511 รัฐบาลเริ่มให้การสนับสนุนการปลูกปาล์มน้ำมันในภาคใต้โดยมีการปลูกเป็นการค้าครั้งแรกที่จังหวัดกระบี่และสตูล (ชมรมเพื่อพัฒนามหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, 2529) หลังจากนั้นมีการขยายพื้นที่ปลูกมากขึ้น ความต้องการต้นกล้าปาล์มน้ำมันจึงเพิ่มขึ้นอย่างมาก ด้วยความไม่แน่ใจในต้นพันธุ์ที่ลักลอบนำเข้ามาจากต่างประเทศรวมทั้งลูกผสมที่ผลิตเองภายในประเทศยังต้องมีการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง เชื้อพันธุกรรมที่มีอยู่จึงมีความสำคัญต่อการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันในอนาคต การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของแหล่งเชื้อพันธุ์ปาล์มน้ำมันที่มีอยู่ในประเทศจึงเป็นสิ่งที่จำเป็น การศึกษาความหลากหลายหรือความแปรปรวนทางพันธุกรรมของพืชอาจทำได้โดยสังเกตจากลักษณะสัณฐาน แต่ลักษณะเหล่านั้นในกลุ่มปาล์มน้ำมันค่อนข้างใกล้เคียงกันมากโดยเฉพาะในกลุ่มเดียวกัน การคัดเลือกโดยอาศัยผลผลิตเป็นหลักยังคงมีปัญหาเนื่องจากผลกระทบจากสภาพแวดล้อมเป็นผลให้การศึกษาผิดพลาดได้ ดังนั้นการศึกษาความแปร ปรวนทางพันธุกรรมในระดับดีเอ็นเอจึงมีความจำเป็น และสามารถใช้เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมัน

5. การใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม

ปัจจุบันมีการนำเครื่องหมายโมเลกุล (molecular marker) มาใช้เพื่อการจำแนก หรือตรวจสอบพันธุ์พืช รวมถึงการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มพืช โดยอาศัยหลักการของความจำเพาะเจาะจงของดีเอ็นเอ เครื่องหมายโมเลกุลจึงถูกนำมาใช้ในการศึกษาเอกลักษณ์ที่เฉพาะกับพืชแต่ละพันธุ์ ระยะแรกมีการใช้ไอโซไซม์ซึ่งเป็นการตรวจสอบระดับโปรตีน อย่างไรก็ตามการใช้

ไอโอไซม์ยังมีข้อจำกัดอยู่มาก เช่นมีอิทธิพลจากสภาพแวดล้อม ระยะการเจริญเติบโตของพืช ทำให้แยกความแตกต่างได้น้อย (Claros *et al.*, 2000 ; Degani *et al.*, 2001) ต่อมามีการพัฒนาเทคนิคอาร์เอฟแอลพี (RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism) ซึ่งเทคนิคนี้เป็นการศึกษาความแตกต่างของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้จากการตัดโดยใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ (restriction enzyme) อย่างไรก็ตามเทคนิคนี้มีข้อเสียคือ ต้องใช้ดีเอ็นเอต้นแบบจำนวนมาก และต้องมีคุณภาพดี ถ้าติดฉลากโพรบด้วยสารกัมมันตรังสี อาจมีอันตรายจึงต้องทำด้วยความระมัดระวัง นอกจากนี้ค่าใช้จ่ายสูง เสียเวลามากเนื่องจากประกอบด้วยหลายขั้นตอนจึงค่อนข้างยุ่งยากทางกรรมวิธี (Kaundun *et al.*, 2000) Saiki และคณะ (1987) ได้พัฒนาวิธีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิคพีซีอาร์ (PCR: Polymerase Chain Reaction) ซึ่งง่ายและรวดเร็ว โดยสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายได้ปริมาณมากเป็นหลายล้านเท่าในระยะเวลาอันสั้น ซึ่งอาศัยการทำงานของเอ็นไซม์ DNA polymerase ในหลอดทดลอง สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมาย (Target DNA) จากปริมาณเล็กน้อยที่อยู่ปะปนกับดีเอ็นเออื่น หลักการทำพีซีอาร์คือ ขั้นแรกต้องทราบลำดับเบสของยีนหรือดีเอ็นเอเป้าหมายก่อน หรือทราบเฉพาะลำดับเบสของส่วนปลาย 3 ' ของแต่ละสายดีเอ็นเอก็ได้ เพื่อการสังเคราะห์สายโอลิโกนิวคลีโอไทด์ (oligonucleotide) สั้นๆ 2 ชนิด ที่เรียกว่าไพรเมอร์ (primer) ขนาดประมาณ 20-30 เบส (สกล , 2536) แต่ละชนิดมีเบสเป็นคู่สมกับส่วนปลาย 3 ' ของสายดีเอ็นเอที่ต้องการนั้น หลักการทำงานของปฏิกิริยาพีซีอาร์แต่ละรอบ (cycle) จะประกอบด้วย

1. Denaturation ดีเอ็นเอเป้าหมายสายคู่แยกเป็นสายเดี่ยว ขั้นตอนนี้ใช้อุณหภูมิประมาณ 90-95 องศาเซลเซียส

2. Annealing ไพรเมอร์ซึ่งเป็นโอลิโกนิวคลีโอไทด์ขนาดประมาณ 20-30 เบส มีลำดับเบสเป็นคู่สมกันกับดีเอ็นเอเป้าหมายจะเข้าจับกับดีเอ็นเอเป้าหมายที่แยกเป็นเส้นเดี่ยว ใช้อุณหภูมิประมาณ 40-60 องศาเซลเซียส

3. Extention ใช้อุณหภูมิประมาณ 72 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เอ็นไซม์ DNA polymerase สังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ต่อจากไพรเมอร์ที่เกาะกับดีเอ็นเอเป้าหมาย จนกระทั่งได้สายดีเอ็นเอคู่ใหม่

ปฏิกิริยาพีซีอาร์ 1 รอบ จะได้ดีเอ็นเอเส้นใหม่จำนวน 2 ชุด ดีเอ็นเอนี้ใช้เป็นต้นแบบในการเพิ่มจำนวนในรอบต่อไป สามารถคำนวณจำนวนเส้นคู่ใหม่ที่เพิ่มขึ้นได้จากสูตร 2^{n} เมื่อ n คือจำนวนรอบของปฏิกริยา ดังนั้นในเวลาเพียง 2-3 ชั่วโมง จะสามารถเพิ่มโมเลกุลของดีเอ็นเอได้เป็นล้านๆเท่า ขนาดของดีเอ็นเอเป้าหมายที่เครื่องพีซีอาร์สังเคราะห์ได้ยาวเฉลี่ย 2 กิโลเบส นำผลผลิต

พีซีอาร์ที่ได้ไปแยกขนาดแถบดีเอ็นเอที่ได้โดยการทำอิเล็กโทรโฟรีซีสบนอกาโรสเจล ย้อมแถบดีเอ็นเอที่ได้ด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ แถบดีเอ็นเอจะเรืองแสงให้เห็นภายใต้แสงอุลตร้าไวโอเลต

หลังจากมีการค้นพบการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิคพีซีอาร์ มีการพัฒนาเทคนิคเครื่องหมายโมเลกุลใหม่ๆโดยอาศัยหลักการทำงานของพีซีอาร์อีกหลายเทคนิค เช่น อาร์เอพีดี (RAPD) เอเอฟแอลพี (AFLP) และไมโครแซทเทลไลท์ หรือเอสเอสอาร์ (SSR) เป็นต้น เทคนิคอาร์เอพีดีเป็นอีกเทคนิคหนึ่งที่มีผู้นิยมใช้มากเนื่องจากตรวจสอบผลการวิเคราะห์ได้ง่ายและรวดเร็ว (Williams *et al.*, 1990) นอกจากนี้ข้อมูลที่ได้ยังสามารถนำมาวิเคราะห์ทางสถิติได้ (Thormann *et al.*, 1994)

อาร์เอพีดี (Random Amplified Polymorphic DNA) เป็นเทคนิคที่อาศัยหลักการเพิ่มขยายชิ้นส่วนของดีเอ็นเอโดยอาศัยหลักการทำงานของพีซีอาร์ ใช้ไพรเมอร์ขนาดสั้นประมาณ 10 เบส เพียงชนิดเดียวที่มีลำดับเบสแบบสุ่ม (random primer) ซึ่งไม่จำเพาะกับยีนใด แล้วนำมาแยกขนาดของดีเอ็นเอที่ได้โดยการทำอิเล็กโทรโฟรีซีสบนอกาโรสเจล ย้อมแถบดีเอ็นเอที่ได้ด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ เทคนิคอาร์เอพีดีทำได้ง่ายไม่ซับซ้อน ให้ข้อมูลมาก ค่าใช้จ่ายไม่สูง ใช้ปริมาณดีเอ็นเอน้อยประมาณ 25-100 นาโนกรัมต่อปฏิกิริยา (Winter and Kahl, 1995) แต่มีข้อจำกัดบ้างในเรื่องการทดลองซ้ำ บางครั้งทำให้ได้ผลที่ต่างจากเดิม เนื่องจากอาร์เอพีดีมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงสภาวะต่างๆสูงจึงต้องควบคุมสภาพการทดลองให้คงที่ และอาร์เอพีดียังแสดงการข่ม (dominance) ต่อการไม่เกิดแถบดีเอ็นเอ ทำให้ไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างลักษณะพันธุ์แท้ยีนเด่น (homozygous dominance) และพันธุ์ทาง (heterozygous) ได้ (Cipriani *et al.*, 1996) การวิเคราะห์อาร์เอพีดีมีข้อได้เปรียบกว่าการวิเคราะห์ไอโซไซม์และโปรตีนคือ สามารถตรวจสอบได้จากทุกส่วนของร่างกายของสัตว์หรือชิ้นส่วนพืช ไม่ขึ้นกับระยะการเจริญเติบโต และสภาพแวดล้อม เนื่องจากเป็นการวิเคราะห์จากดีเอ็นเอโดยตรง (สมศักดิ์ และคณะ, 2538) Huang และคณะ (2000) รายงานว่าการใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดีสามารถแยกความแตกต่างทางพันธุกรรมของมะละกอได้มากกว่าการใช้ไอโซไซม์ นอกจากนี้ยังมีการใช้เทคนิคอาร์เอพีดีในการจำแนกความแตกต่างของพันธุ์พืชที่ต้านทานแมลง (Jeon *et al.*, 1999) ต้านทานโรค (Boora *et al.*, 1998) การตรวจสอบความบริสุทธิ์ของลูกผสม (Balester and Vicente, 1998) การทำแผนที่ยีน (Cristofani *et al.*, 1999) และหาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของพืช และสิ่งมีชีวิตอื่นๆ (สมศักดิ์ และคณะ, 2538)

Elwafa และคณะ (1995) อ้างโดย Kleynhans และ Spies (2000) กล่าวว่าอาร์เอพีดีเป็นเทคนิคที่สามารถใช้แยกความแตกต่างของพืชที่เป็น intraspecific กับ interspecific ได้ สุวิมล (2544) ได้ศึกษาแยกความแตกต่างระหว่างลองกอง ลางสาดและดูกู พบว่า ลองกองให้แถบดีเอ็นเอที่

เหมือนกัน ขณะที่พบความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอในกลุ่มประชากรของลางสาด และดูกู ซึ่งแสดงถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมซึ่งสามารถใช้แยกความแตกต่างระหว่างลองกอง และพืชอีกสองชนิดได้อย่างมีประสิทธิภาพ Lashermes และคณะ (1996) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของกาแฟ โดยเก็บตัวอย่างจากแหล่งต่างๆคือประเทศบราซิล จาไมกา เอธิโอเปีย เยเมน คองโก แทนซาเนีย และเคนยา พบว่า สามารถใช้เทคนิคอาร์เอพีดีแยกความแตกต่างทางพันธุกรรม และแยกเป็น accessions ต่างๆได้ โดยพบว่ากาแฟในประเทศเอธิโอเปียมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงที่สุด Sugawara และคณะ (1995) ได้ศึกษาอาการด่างในใบส้ม (*Citrus* spp.) จากการทดลองพบว่า เทคนิคอาร์เอพีดีมีประสิทธิภาพในการแยกความแตกต่างระหว่างส้มปกติที่ไม่มีอาการด่างกับส้มที่มีอาการด่างออกจากกันได้ Machado และคณะ (1996) ได้ศึกษาเพื่อประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมส้มแมนดาริน (*Citrus* spp.) ในแถบเมดิเตอร์เรเนียน 39 สายพันธุ์ พบความแตกต่างทางพันธุกรรม 18 สายพันธุ์ และที่เหลือไม่พบความแตกต่างทางพันธุกรรม การทดลองนี้ให้ผลทำนองเดียวกันกับการทดลองของ Filho และคณะ (1998) ที่ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของส้มแมนดาริน และพบว่ามีความหลากหลายทางพันธุกรรมน้อยเช่นเดียวกัน Cortes และคณะ (2001) ใช้เทคนิคอาร์เอพีดีจำแนกพันธุ์มะกอก (*Olea europaea* L.) จำนวน 40 สายพันธุ์ที่เก็บจากเมือง Valencia ในประเทศสเปน รวมทั้งบริเวณใกล้เคียงพบว่าจาก 46 ไพรเมอร์ที่ทำการทดสอบ มีเพียง 18 ไพรเมอร์ สามารถให้แถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน จากการวิเคราะห์พบว่าพันธุ์มะกอกมีความใกล้ชิดกันมาก สามารถแบ่งได้เป็นสองกลุ่มด้วยกันคือ กลุ่มที่ได้จากเมือง Valencia และกลุ่มบริเวณรอบนอก นอกจากนี้ Balaj และคณะ (2001) ได้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของมะกอก โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดีศึกษาจากแหล่งเชื้อพันธุ์ที่ Alameda del Obispo รัฐ Corboba ประเทศสเปน การทดลองใช้ไพรเมอร์ 95 ไพรเมอร์ พบว่ามีเพียง 4 ไพรเมอร์ ที่สามารถให้แถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน จากการวิเคราะห์สามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่มด้วยกันคือ สายพันธุ์ที่ได้จากทางตอนเหนือและทางภาคตะวันออกของประเทศสเปน สายพันธุ์ที่ได้จากประเทศตุรกี ซีเรีย ตูนีเซีย และสายพันธุ์พื้นเมืองของประเทศสเปน Sedra และคณะ (1998) ใช้เทคนิคอาร์เอพีดีจำแนกพันธุ์และศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของแหล่งเชื้อพันธุ์อินทผาลัมในประเทศโมรอกโค จำนวน 43 สายพันธุ์พบว่า มี 19 ไพรเมอร์สามารถให้แถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน โดยเทคนิคอาร์เอพีดีมีประสิทธิภาพสูงในการใช้จำแนกและศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม Ashburner และคณะ (1997) ใช้เทคนิคอาร์เอพีดีทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรมะพร้าวโดยเก็บตัวอย่างมะพร้าวจาก 17 เกาะ

แถบแปซิฟิกตอนใต้ จากผลการศึกษาพบว่า ประชากรประมาณ 60 % มีระดับความหลากหลายทางพันธุกรรมแตกต่างกัน การที่ประชากรเดียวกันมีความหลากหลายทางพันธุกรรมแตกต่างกันมากทั้งนี้อาจเกิดจากการอพยพย้ายยีนระหว่างประชากร และมีการคัดเลือกพันธุ์โดยชนพื้นเมือง การศึกษาในปาล์มน้ำมัน Chesquiere (1985) อ้างโดย Moretzsohn และคณะ (2000) ใช้ไอโซไซม์ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในปาล์มน้ำมันกลุ่ม *Elaeis* ซึ่งมีถิ่นกำเนิดในอัฟริกา และประเทศบราซิล Shah และคณะ (1994) ได้ทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี ทำการศึกษาในประเทศแถบทวีปอัฟริกาคือ ไนจีเรีย คาเมรูน แทนซาเนีย และแซร์ จากการศึกษาพบว่า ความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง และต่ำที่สุดในประชากรปาล์มน้ำมันประเทศแซร์ กลุ่มที่ 5 และกลุ่มที่ 2 ตามลำดับ มีการใช้เทคนิคอาร์เอฟแอลพีในปาล์มน้ำมันโดย Jack และคณะ (1995) และต่อมามีการนำเทคนิคดังกล่าวมาประยุกต์ใช้กับการสร้างแผนที่ยีน (Mayes *et al.*, 1997) อมรรัตน์ และคณะ (2540) ได้จำแนกปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอราด้วยคลอโรพลาสต์ดีเอ็นเอพบว่า แบบแผนของคลอโรพลาสต์ดีเอ็นเอของพันธุ์ดูรา และเทเนอรามีความแตกต่างกันเมื่อถูกย่อยด้วยเอนไซม์ *E.co*RI โดยบริเวณ 9.4 kb. พันธุ์เทเนอรามีแถบดีเอ็นเอเพิ่มขึ้นสองแถบเมื่อเทียบกับดีเอ็นเอของพันธุ์ดูรา และความแตกต่างที่ปรากฏนี้คาดว่าสามารถนำไปใช้เพื่อพัฒนาเป็น specific DNA probe สำหรับตรวจสอบพันธุ์ปาล์มต่อไป Moretzsohn และคณะ (2000) ศึกษาหาเครื่องหมายอาร์เอพีดี ที่ใกล้ชิดกับลักษณะความหนาของกะลา และพบว่าจากการใช้ไพรเมอร์ 2 ชนิดคือ $R_{11-1282}$ และ $T_{19-1046}$ สามารถใช้เป็นเครื่องหมายในการแยกพันธุ์เทเนอรากับพิสิเฟอราได้ แต่ไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์เทเนอราและดูราได้ นอกจากนี้แล้ว Barcelos และคณะ (2002) ได้ใช้เทคนิคอาร์เอฟแอลพีร่วมกับเทคนิคเอเอฟแอลพีในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันจากอัฟริกาและอเมริกาใต้ กณพ (2546) ได้ศึกษาพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันโดยใช้เทคนิค ไมโครแซทเทลไลท์ เทคนิคอาร์เอพีดี และ Exon-Primed Inron Crossing (EPIC) พบว่าสามารถคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุล 3 เครื่องหมาย และนำไปใช้ศึกษาแบบแผนจากตัวอย่างปาล์มน้ำมันคู่ผสม 105 109 110 และ 116 พบว่าเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ และเครื่องหมาย EPIC สามารถใช้แยกคู่ผสม 105 และ 116 ส่วนเทคนิคอาร์เอพีดีใช้แยกคู่ผสม 105 และ 110 ได้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของพันธุ์ปาล์มน้ำมันโดยอาศัยลักษณะสัณฐานวิทยาของผล
2. เพื่อศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของพันธุ์ปาล์มน้ำมันที่ปลูกในประเทศไทยโดยการใช้เทคนิคอาร์เอพีดี
3. เพื่อศึกษาถึงความสัมพันธ์และแบ่งกลุ่มพันธุ์ปาล์มน้ำมันสำหรับการคัดเลือกพันธุ์เพื่อการปรับปรุงพันธุ์ในอนาคต

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

วัสดุ

1. วัสดุพืช ทำการเก็บตัวอย่างใบปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอรา จากสถานที่ต่างๆ ดังนี้คือ

- ศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี กรมวิชาการเกษตร จ. สุราษฎร์ธานี
- บริษัทไทยบุญทอง จ. กระบี่
- บริษัทยูนิวานิช จำกัด จ. กระบี่
- สวนเกษตรกรในเขต จ.กระบี่
- บริษัทเปารงค์ออยล์ปาล์ม จำกัด จ.นครศรีธรรมราช
- สถานีวิจัยเทพา และสถานีวิจัยคลองหอยโข่ง จ. สงขลา

2. วัสดุสารเคมี

2.1 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ

- CTAB (Hexadecyl trimethyl –ammonium bromide)
- β-mercaptoethanol
- PVP-40 (Polyvinyl pyrrolidone)
- NaCl (Sodium chloride)
- Na_2EDTA (Disodium ethylene diaminetetraacetate)
- Tris-HCl pH 8.0
- Chloroform
- Isopropanal
- Ethanol
- Liquid Nitrogen

2.2 สารเคมีสำหรับใช้ทำอิเลคโทรโฟรีซีส

- LE agarose (FMC Bioproduct, USA)

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

2.3 สารเคมีที่ใช้ในการทำพีซีอาร์

- dNTP (dATP, dTTP, dCTP และ dGTP) (Promega, USA)
- Primer OPA 01-20, OPB 01-20, OPC 01-20, OPD 01-20, OPT 01-20, OPR 01-20, OPAA 01-20 และ OPAB 01-20 (Operon, USA)
- $MgCl_2$
- 10X Taq buffer (Promega, USA)
- Taq DNA Polymerase B (Promega, USA)

อุปกรณ์

1.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในสุ่มเก็บตัวอย่างใบและผลปาล์ม

- ถุงพลาสติก
- กรรไกร
- กรรไกรตัดกิ่ง
- กล่องโฟม
- เวอร์เนีย
- ปากกาเขียนเครื่องแก้ว

1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ การทำอิเลคโทรโฟรีซีส และการทำอาร์เอพีดี

- ตู้เย็นและตู้แช่แข็ง -30 องศาเซลเซียส
- เครื่องไมโครเซ็นตริฟิวก์

- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง
- เครื่องคนสารละลายอัตโนมัติ
- แท่งแม่เหล็ก
- ปิเปตปรับปริมาตร
- เครื่องเขย่า
- หม้อนึ่งความดันไอ
- ถังบรรจุไนโตรเจนเหลว
- เครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า
- เครื่องอิเล็กโทรโฟรีซีส
- เครื่อง PCR Sprint
- โกร่งบดตัวอย่าง
- หลอด Eppendorf
- ตู้ไมโครเวฟ
- UV Transilluminator
- กล้องโพลารอยด์
- Gel Documentation
- Tip
- น้ำแข็ง และ กระติกน้ำแข็ง
- เครื่องแก้ว กระบอกตวง และขวดต่างๆ

วิธีการ

1. การศึกษาความแตกต่างของปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอราโดยอาศัยลักษณะสัณฐานวิทยาของผล

เนื่องจากลักษณะสัณฐานที่สามารถใช้แยกความแตกต่างของปาล์มน้ำมันทั้ง 3 พันธุ์คือ ผล และความหนากะลา ดังนั้นจึงทำการเก็บตัวอย่างผลของต้นปาล์มน้ำมันทั้ง 3 พันธุ์ คือดูราจำนวน 66

ต้น เทเนอราจำนวน 72 ต้น และพิสิเฟอราจำนวน 13 ต้นจากสถานที่ต่างๆกัน (ตารางที่ 2) และบันทึกลักษณะต่างๆคือ น้ำหนักต่อผล เส้นผ่านศูนย์กลางผล ความหนากะลา ความหนาเนื้อปาล์ม ความหนาเนื้อในเมล็ด เพื่อเป็นข้อมูลทางสัณฐานสำหรับเปรียบเทียบความแตกต่างของลักษณะสำคัญกับข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ในระดับดีเอ็นเอ

2. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอรา โดยเทคนิคอาร์เอพีดี

2.1 การเก็บตัวอย่าง

ทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของแหล่งเชื้อพันธุ์ปาล์มน้ำมันโดยสุ่มเก็บตัวอย่างใบอ่อนถึงใบเพสลาดจากต้นปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูราจำนวน 52 ต้น เทเนอราจำนวน 60 ต้น และพิสิเฟอราจำนวน 39 ต้นจากสถานที่ต่างๆกัน (ตารางที่ 3) โดยเก็บตัวอย่างใบประมาณ 2-3 ใบต่อต้นแล้วตัดให้เป็นชิ้นเล็กๆขนาด 2-3 นิ้ว เก็บใส่ถุงพลาสติกเพื่อนำมาสกัดดีเอ็นเอ

ตารางที่ 2 จำนวนตัวอย่าง และสถานที่ของปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอราที่ใช้ในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผล

ชนิด/สถานที่	จำนวน (ต้น)
ดูรา	
ศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี จ. สุราษฎร์ธานี	14
บริษัทไทยบุญทอง จ. กระบี่	5
บริษัทยูนิวานิช จำกัด จ.กระบี่	11
สวนเกษตรกรในเขต จ.กระบี่	10
บริษัทเปารงค์ออยล์ปาล์ม จำกัด จ.นครศรีธรรมราช	5
สถานีวิจัยเทพา จ.สงขลา	11
สถานีวิจัยคลองหอยโข่ง จ.สงขลา	10
เทเนอรา	
ศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี จ. สุราษฎร์ธานี	7
บริษัทไทยบุญทอง จ. กระบี่	10
บริษัทยูนิวานิช จำกัด จ.กระบี่	5
สวนเกษตรกรในเขต จ.กระบี่	20
บริษัทเปารงค์ออยล์ปาล์ม จำกัด จ.นครศรีธรรมราช	10
สถานีวิจัยเทพา จ.สงขลา	10
สถานีวิจัยคลองหอยโข่ง จ.สงขลา	10
พิสิเฟอรา	
สถานีคลองหอยโข่ง จ.สงขลา	13
รวม	151

ฝ่ายหอสมุด
คุณหญิงหลง อรรถกระวีสุนทร

ตารางที่ 3 จำนวนตัวอย่าง และสถานที่ของปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอราที่ใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยเทคนิคอาร์เอพีดี

ชนิด/สถานที่	จำนวน (ต้น)
ดูรา	
ศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี จ. สุราษฎร์ธานี (Dsu)	9
บริษัทไทยบุญทอง จ. กระบี่ (Dtb)	3
บริษัทยูนิวานิช จำกัด จ.กระบี่ (Dun)	8
สวนเกษตรกรในเขต จ.กระบี่ (Dgo)	5
บริษัทเปารงค์ออยล์ปาล์ม จำกัด จ.นครศรีธรรมราช (Dpa)	7
สถานีวิจัยเทพา จ.สงขลา (Dte)	10
สถานีวิจัยคลองหอยโข่ง จ.สงขลา (Dkl)	10
เทเนอรา	
ศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี จ. สุราษฎร์ธานี (Tsu)	15
บริษัทไทยบุญทอง จ. กระบี่ (Ttb)	4
บริษัทยูนิวานิช จำกัดจ.กระบี่ (Tun)	4
สวนเกษตรกรในเขต จ.กระบี่ (Tgo)	10
บริษัทเปารงค์ออยล์ปาล์ม จำกัด จ.นครศรีธรรมราช (Tpa)	8
สถานีวิจัยเทพา จ.สงขลา (Tte)	10
สถานีวิจัยคลองหอยโข่ง จ.สงขลา (Tkl)	9
พิสิเฟอรา	
ศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี จ. สุราษฎร์ธานี (Psu)	17
บริษัทเปารงค์ออยล์ปาล์ม จำกัด จ.นครศรีธรรมราช (Ppa)	9
สถานีวิจัยเทพา จ.สงขลา (Pte)	5
สถานีวิจัยคลองหอยโข่ง จ.สงขลา (Pkl)	8
รวม	151

2.2 วิธีการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างใบ

ทำการสกัดดีเอ็นเอจากใบปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูร่า เทเนอรา และพิสิเฟอรา ที่สุ่มเก็บมาโดยใช้สารละลายสกัดดีเอ็นเอซึ่งดัดแปลงจาก Doyle และ Dolye (1990) ใช้ตัวอย่างปาล์มประมาณ 200 มิลลิกรัมน้ำหนักสด ตัดชิ้นส่วนใบเป็นชิ้นเล็กๆใส่ในโกร่งที่แช่เย็น แล้วเติมไนโตรเจนเหลวหลังจากนั้นจึงทำการบดจนตัวอย่างพืชละเอียดเป็นผง นำมาใส่หลอดเอฟเพนดอร์ฟขนาด 2 มิลลิลิตร เตรียมสารละลาย CTAB (PVP-40, NaCl, Na_2EDTA 0.5 M pH 8.0, CTAB 2%) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ก่อนสกัดดีเอ็นเอเติม b-mercaptoethanol เข้มข้น 2% เติมสารละลายดังกล่าวใส่หลอดเอฟเพนดอร์ฟ เขย่าให้เข้ากันโดยใช้เครื่องเขย่าแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง กลับหลอดไปมาทุก 15 นาที นำมาเติมคลอโรฟอร์มปริมาตร 800 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันโดยกลับหลอดไปมาแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ได้สารละลายที่แยกชั้นใสส่วนบน ชั้นเศษวัสดุพืช และคลอโรฟอร์มออกจากกัน ดูดเอาเฉพาะสารละลายส่วนใสส่วนบนนำมาใส่หลอดใหม่ เติมไอโซโพรพานอลปริมาตร 750 ไมโครลิตร กลับหลอดขึ้นลงเบาๆเพื่อให้ดีเอ็นเอตกตะกอน วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียส ประมาณ 30 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้งที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที เทสารละลายส่วนบนทิ้ง ล้างตะกอนดีเอ็นเอที่ได้ด้วยแอลกอฮอล์เข้มข้น 70% 2 ครั้ง วางทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง ละลายตะกอนด้วย TE buffer (Tris-HCl 1.0 M pH 7.5, Na_2EDTA 0.25 M pH 7.0) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เก็บดีเอ็นเอที่สกัดไว้ที่อุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้

2.3 วิธีการตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอ

ตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้ด้วยการเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน (l DNA) โดยการทำอิเล็กโทรโฟรีซีสบนอะกาโรส SeaKem (FMC Bioproduct, USA) เข้มข้น 0.7% ใช้แรงเคลื่อนกระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ ในสารละลาย TAE (Tris Base, Glacial acetic acid, Na_2EDTA 0.5 M pH 8.0) เป็นเวลา 20 นาที ย้อมแถบดีเอ็นเอที่ได้ด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ แล้วนำไปตรวจสอบภายใต้แสงอุลตร้าไวโอเลต

2.4 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยการทดสอบกับไพรเมอร์ชนิดต่างๆ

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบสุ่มโดยปฏิกิริยาพีซีอาร์ จากปริมาตรรวม 25 ไมโครลิตร มีองค์ประกอบดังนี้คือ ดีเอ็นเอแม่พิมพ์ 60 นาโนกรัม ไพรเมอร์เข้มข้น 0.3 ไมโครโมลาร์ บัฟเฟอร์เข้มข้น 10 เท่า แมกนีเซียมคลอไรด์เข้มข้น 2.5 มิลลิโมลาร์ ดีออกซีนิวคลีโอไทด์เข้มข้นชนิดละ 100 มิลลิโมลาร์ เอ็นไซม์ Taq polymerase เข้มข้น 1.5 ยูนิต ตั้งอุณหภูมิเป็น 3 ระดับคือ อุณหภูมิเริ่มต้น

ใช้อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที ในขั้นตอนการจับคู่ระหว่างไพรเมอร์กับดีเอ็นเอเป้าหมายใช้อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เวลา 1 นาที และขั้นตอนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอใช้อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เวลา 2 นาที จำนวนทั้งสิ้น 39 รอบ ตามด้วยอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส 1 นาที 37 องศาเซลเซียส 1 นาที และ 72 องศาเซลเซียส 10 นาทีอีก 1 รอบ

2.5 การเตรียมอะกาโรสเจลเพื่อดูผลผลิตพีซีอาร์

นำผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้มาแยกขนาดดีเอ็นเอโดยการทำอิเล็กโทรโฟรีซีสบนตัวกลางคืออะกาโรสเจลความเข้มข้น 1.75% ใช้แรงเคลื่อนไฟฟ้า 100 โวลต์ ในสารละลาย TBE (Tris Base, Boric acid, EDTA 0.5 M pH 8.0) เป็นเวลาประมาณ 1 ชั่วโมง 30 นาที นำไปดูภายใต้แสงอุลตร้าไวโอเลต และเปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอที่ได้จากแต่ละต้น

2.6 การย้อมแถบดีเอ็นเอ

ย้อมแถบดีเอ็นเอที่ได้ด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ เพื่อตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอบนแผ่นอะกาโรสเจล ย้อมอะกาโรสเจลในสารละลายเอธิเดียมโบรไมด์ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการย้อมโดยแช่แผ่นอะกาโรสเจลไว้ในที่มืดเป็นเวลาประมาณ 1 ชั่วโมง แล้วล้างสีส่วนเกินออกด้วยการแช่น้ำกลั่นเป็นเวลาประมาณ 30 นาที

2.7 การคัดเลือกไพรเมอร์

ทำการทดสอบไพรเมอร์ขนาด 10 เบส จำนวน 160 ไพรเมอร์ ในเบื้องต้นคัดเลือกเฉพาะไพรเมอร์ที่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอราชัดเจน โดยใช้ตัวอย่างพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอราจากสถานีวิจัยคลองหอยโข่งพันธุ์ละ 1 ตัวอย่าง แล้วทำการคัดเลือกไพรเมอร์รอบที่สองโดยใช้ปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอราจากสถานีวิจัยคลองหอยโข่งพันธุ์ละ 8 ตัวอย่าง หลังจากนั้นจึงทำการคัดเลือกไพรเมอร์ที่ให้ผลชัดเจนที่สุด และนำมาใช้ตรวจสอบกับดีเอ็นเอที่สกัดได้จากแต่ละตัวอย่างที่สุ่มเก็บมา ศึกษารูปแบบของดีเอ็นเอที่ได้วิเคราะห์ผล แล้วเปรียบเทียบความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอระหว่างต้นภายในปาล์มน้ำมันพันธุ์เดียวกัน และระหว่างพันธุ์ทั้งตัวอย่างต้นที่เก็บจากแหล่งเดียวกันหรือจากคนละแหล่ง

3. การศึกษาความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรม

หาความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมในกลุ่ม และระหว่างกลุ่มของแหล่งเชื้อพันธุ์ปาล์มน้ำมันโดยการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างแถบดีเอ็นเอที่ได้ โดยแปลงข้อมูลจากแถบ

ดีเอ็นเอที่ได้เป็นแบบ binary คือป้อนข้อมูลเป็น 1 กรณีที่ปรากฏแถบดีเอ็นเอ และ 0 ถ้าไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอ โดยเปรียบเทียบ ณ บริเวณเดียวกัน วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของแถบดีเอ็นเอด้วยโปรแกรม SPSS (กัลยา, 2546) เทคนิค Hierarchical Cluster Analysis วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของแถบดีเอ็นเอในรูปของความคล้ายหรือ Similarity Index ตามวิธีของ Jaccard (1908) สร้างเดนโดรแกรมโดยใช้วิธี UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Average)

บทที่ 3

ผล

1. การศึกษาความแตกต่างของปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอราโดยอาศัยลักษณะสัณฐานวิทยาของผล

ศึกษาข้อมูลทางสัณฐานวิทยาของผลซึ่งได้แก่ น้ำหนักต่อผล ความหนาเนื้อปาล์ม ความหนากะลา และความหนาเนื้อในเมล็ดของปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูราจำนวน 66 ต้น พันธุ์เทเนอราจำนวน 72 ต้น และพันธุ์พิสิเฟอราจำนวน 13 ต้น รวมทั้งหมด 151 ต้น ให้ผลดังนี้

น้ำหนักผลพันธุ์ดูรามีค่าเฉลี่ยน้ำหนักผลสูงสุด 13.66 กรัม และในประชากรที่สุ่มศึกษาน้ำหนักผลมีความแตกต่างกันค่อนข้างมากคือ น้ำหนักผลต่ำสุดเพียง 5.42 กรัม และน้ำหนักผลสูงสุดเท่ากับ 43.56 กรัม ส่วนพันธุ์เทเนอรามีน้ำหนักผลเฉลี่ย 10.98 กรัม โดยพบว่าความแปรปรวนของน้ำหนักผลต่ำกว่ากลุ่มประชากรพันธุ์ดูรา คือมีน้ำหนักผลน้อยที่สุดเท่ากับ 6.09 กรัม และมีน้ำหนักผลสูงสุดเท่ากับ 34.15 กรัม สำหรับพันธุ์พิสิเฟอรามีความแปรปรวนของลักษณะน้ำหนักผลต่ำที่สุดโดยมีค่าเฉลี่ย 7.00 กรัม (ตารางที่ 4) ประชากรพันธุ์ดูราส่วนใหญ่ (54.54%) มีน้ำหนักผลอยู่ระหว่าง 10-20 กรัม ประมาณ 34.84% มีน้ำหนักน้อยกว่า 10 กรัม ผลของพันธุ์เทเนอรา 50% มีน้ำหนักอยู่ในช่วง 10-20 กรัม และประมาณ 48.61% มีน้ำหนักผลน้อยกว่า 10 กรัม ส่วนพันธุ์พิสิเฟอราส่วนใหญ่ (76.92%) มีน้ำหนักต่อผลน้อยกว่า 10 กรัม ที่เหลือมีน้ำหนักผลอยู่ในช่วง 10-20 กรัม (รูปที่ 2)

เมื่อพิจารณาขนาดผลพบว่า พันธุ์ดูรามีขนาดผลใหญ่ที่สุดมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางผล 2.34 ซม. (มีค่าตั้งแต่ 1.69-3.80 ซม.) พันธุ์เทเนอรามีเส้นผ่านศูนย์กลางผลรองลงมามีค่าเฉลี่ย 2.25 ซม. โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางผลอยู่ระหว่าง 1.09-3.52 ซม. ส่วนพันธุ์พิสิเฟอรามีเส้นผ่านศูนย์กลางผลต่ำที่สุดโดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.87 ซม. และมีความแปรปรวนของเส้นผ่านศูนย์กลางค่อนข้างน้อย คือมีค่าอยู่ระหว่าง 1.48-2.34 ซม. (ตารางที่ 4) เส้นผ่านศูนย์กลางผลของประชากรพันธุ์ดูรา และเทเนอราส่วนใหญ่ (77.94% และ 63.88% ตามลำดับ) มีค่าอยู่ระหว่าง 2-3 ซม. ในพันธุ์ดูรามีเพียง 16.17% ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางผลน้อยกว่า 2 ซม. ในขณะที่ 33.33% ของพันธุ์เทเนอรามีเส้นผ่านศูนย์กลางผลน้อยกว่า 2 ซม. ส่วนพันธุ์พิสิเฟอราส่วนใหญ่ (84.61%) มีเส้นผ่านศูนย์กลางผลน้อยกว่า 2 ซม. ประชากรเพียงประมาณ 15.39% มีเส้นผ่านศูนย์กลางผลอยู่ในช่วง 2-3 ซม. (รูปที่ 3)

ความหนาเนื้อปาล์ม พันธุ์ดูรามีความหนาเนื้อปาล์มต่อผลเฉลี่ยเท่ากับ 4.24 มม. โดยมีค่าความหนาเนื้อปาล์มอยู่ระหว่าง 1.91-8.02 มม. ส่วนพันธุ์เทเนอรามีความหนาเนื้อปาล์มเฉลี่ยสูงกว่าพันธุ์ดูรา คือมีค่าเท่ากับ 5.43 มม. และมีความแปรปรวนของความหนาเนื้อปาล์มสูงสุดอยู่ระหว่าง 2.93-11.06 มม. พันธุ์พิสิเฟอรามีค่าความหนาเนื้อปาล์มสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์ดูรา และเทเนอรา โดยมีค่าเฉลี่ยความหนาเนื้อปาล์มต่อผลเท่ากับ 5.60 มม. และมีค่าความแปรปรวนอยู่ในช่วง 4.61-7.80 มม. (ตารางที่ 4) ประชากรปาล์มน้ำมัน พันธุ์ดูรา และเทเนอรส่วนใหญ่ (83.82% และ 68.05% ตามลำดับ) มีความหนาเนื้อปาล์มอยู่ในช่วง 3-6 มม. ประมาณ 29.16% ของพันธุเทเนอรามีความหนาเนื้อปาล์มมากกว่า 6 มม. ส่วนพันธุ์พิสิเฟอราส่วนใหญ่ (69.23%) มีความหนาเนื้อปาล์มส่วนใหญ่อยู่ในช่วง 3-6 มม. และประมาณ 30.76% มีความหนาเนื้อปาล์มมากกว่า 6 มม. (รูปที่ 4)

ความแปรปรวนของความหนากะลาของปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรามีค่าอยู่ในช่วง 1.10-5.50 มม. โดยมีค่าเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 3.38 มม. โดยพบว่าพันธุ์ดูราส่วนใหญ่ (77.27%) มีความหนากะลาอยู่ในช่วง 2-4 มม. และประมาณ 19.69% มีความหนากะลามากกว่า 4 มม. พันธุ์เทเนอรามีความแปรปรวนของลักษณะความหนากะลาน้อยกว่าพันธุ์ดูรา โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 0.86-2.85 มม. และมีค่าเฉลี่ยความหนากะลา 1.40 มม. พันธุ์เทเนอราส่วนใหญ่ (90.27%) มีความหนากะลาน้อยกว่า 2 มม. ที่เหลือประมาณ 9.72% มีความหนากะลาอยู่ในช่วง 2-4 มม. (รูปที่ 5) ส่วนพันธุ์พิสิเฟอราที่ทำการศึกษาครั้งนี้ไม่มีกะลา (ตารางที่ 4)

ความหนาเนื้อในเมล็ดของประชากรปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรามีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 8.31 มม. โดยมีความหนาเนื้อในเมล็ดอยู่ระหว่าง 4.36-13.66 มม. ส่วนพันธุ์เทเนอรามีค่าเฉลี่ยความหนาเนื้อในเมล็ดมากกว่าพันธุ์ดูรา คือมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 8.68 มม. และมีความแปรปรวนของความหนาเนื้อในเมล็ดอยู่ระหว่าง 4.14-13.36 มม. พันธุ์พิสิเฟอรามีค่าเฉลี่ยความหนาเนื้อในเมล็ดเท่ากับ 7.97 มม. ซึ่งต่ำสุดเมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์ดูราและเทเนอรา โดยมีค่าความแปรปรวนความหนาเนื้อในเมล็ดอยู่ระหว่าง 4.93-12.53 มม. (ตารางที่ 4) จากจำนวนประชากรที่ศึกษาพบว่าปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูราประมาณ 51.47% มีความหนาเนื้อในเมล็ดอยู่ในช่วง 6-9 มม. และประมาณ 25% มีความหนาเนื้อในเมล็ดต่อผลอยู่ในช่วง 9-12 มม. พันธุ์เทเนอราส่วนใหญ่ (55.55%) มีความหนาเนื้อในเมล็ดอยู่ในช่วง 6-9 มม. ประมาณ 26.38% ของประชากรมีความหนาเนื้อในเมล็ดอยู่ในช่วง 9-12 มม. ส่วนพันธุ์พิสิเฟอราส่วนใหญ่ (69.23%) มีความหนาเนื้อในเมล็ดต่อผลอยู่ในช่วง 6-9 มม. และที่เหลืออีกประมาณ 30.76 % มีความหนาเนื้อในเมล็ดอยู่ในช่วง 9-12 มม. (รูปที่ 6)

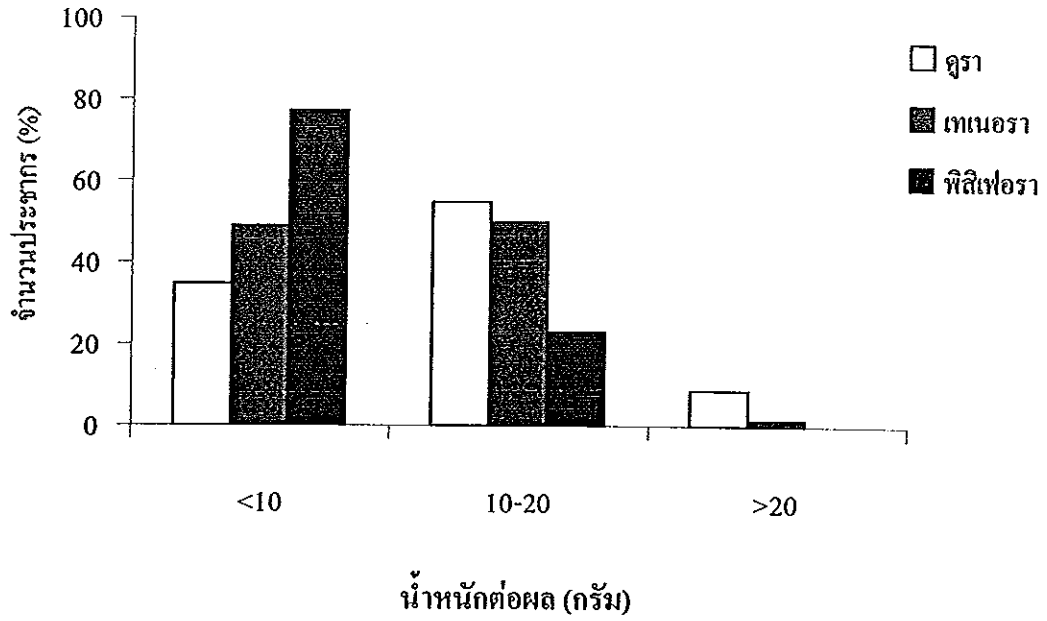
ตารางที่ 4 แสดงค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าต่ำสุด-สูงสุดของน้ำหนักต่อผล เส้นผ่านศูนย์กลางผล ความหนาเนื้อปาล์ม ความหนากะลา และความหนาเนื้อในเมล็ดของปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอรา

ลักษณะ	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ค่าต่ำสุด-ค่าสูงสุด)
น้ำหนักต่อผล (กรัม)	
ดูรา	13.66 ±6.484
	(5.42-43.56)
เทเนอรา	10.98±4.683
	(6.09-34.15)
พิสิเฟอรา	7.00 ± 1.71
	(4.80-9.69)
เส้นผ่านศูนย์กลางผล (ซม.)	
ดูรา	2.34 ±0.456
	(1.69-3.80)
เทเนอรา	2.25±0.402
	(1.09-3.52)
พิสิเฟอรา	1.87±0.24
	(1.48-2.34)
ความหนาเนื้อปาล์ม (มม.)	
ดูรา	4.24±1.06
	(1.91-8.02)
เทเนอรา	5.43 ± 1.48
	(2.93-11.06)
พิสิเฟอรา	5.60 ± 1.08
	(4.61-7.80)

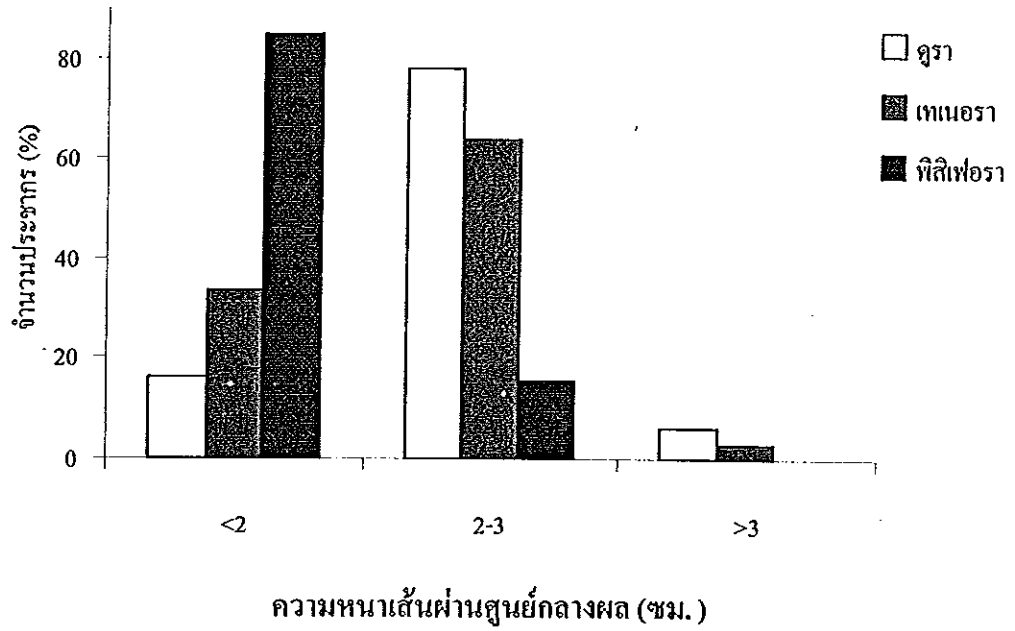
ตารางที่ 4 ต่อ

ลักษณะ	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ค่าต่ำสุด-ค่าสูงสุด)
ความหนากะลา (มม.)	
ดูรา	3.38 ±0.80
	(1.10-5.50)
เทเนอรา	1.40 ± 0.57
	(0.86-2.85)
พิสิเฟอรา	*
ความหนาเนื้อในเมล็ด (มม.)	
ดูรา	8.31±2.37
	(4.36-13.66)
เทเนอรา	8.68±1.98
	(4.14-13.36)
พิสิเฟอรา	7.97±2.10
	(4.93-12.53)

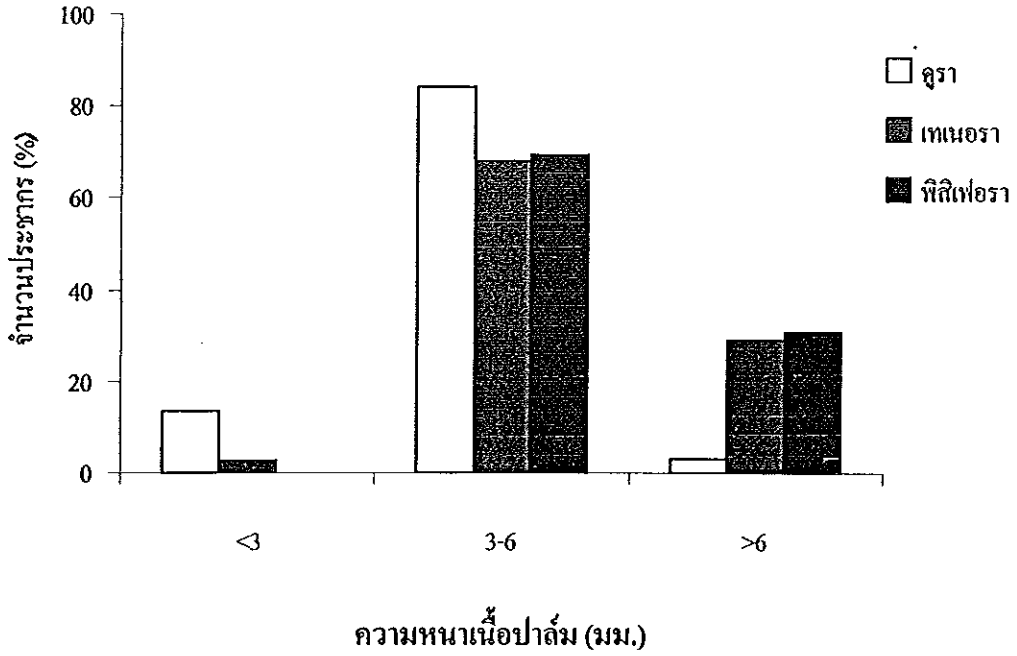
* พิสิเฟอราที่ทำการศึกษาไม่มีกะลา



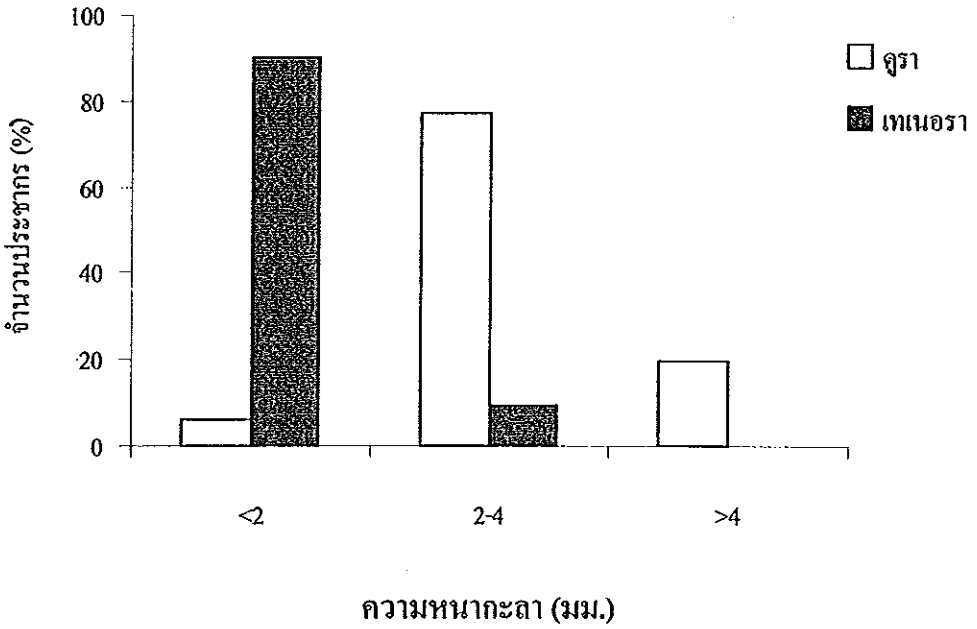
รูปที่ 2 ความแปรปรวนของน้ำหนักต่อผล (กรัม)ในกลุ่มประชากรปาล์มน้ำมันพันธุ์ต่างๆ



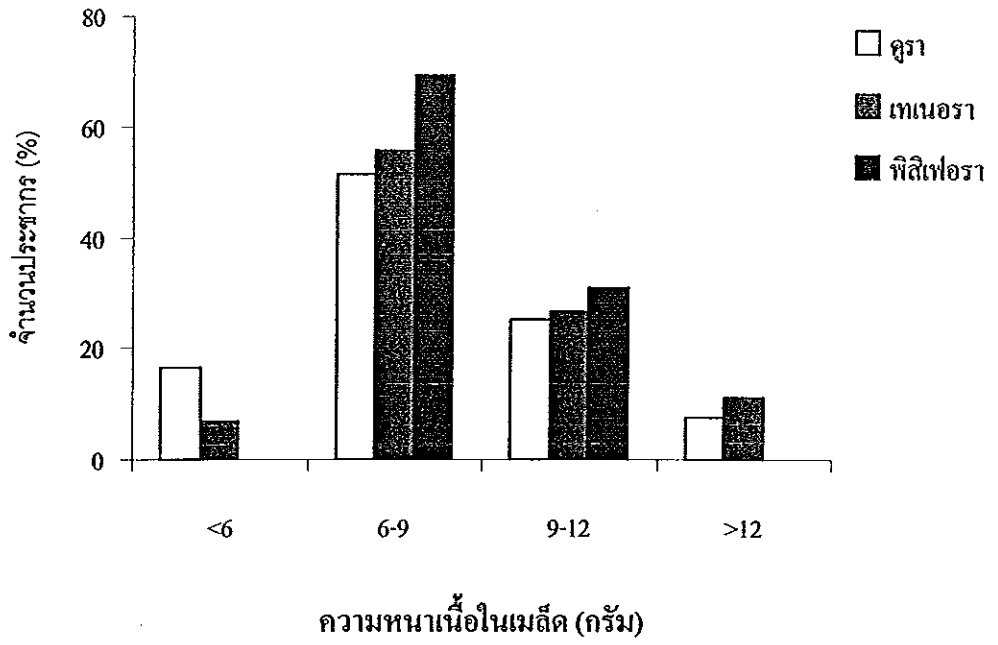
รูปที่ 3 ความแปรปรวนของเส้นผ่านศูนย์กลางผล (ซม.)ในกลุ่มประชากรปาล์มน้ำมันพันธุ์ต่างๆ



รูปที่ 4 ความแปรปรวนของความหนาเนื้อปาล์ม (มม.)ในกลุ่มประชากรปาล์มน้ำมันพันธุ์ต่างๆ



รูปที่ 5 ความแปรปรวนของความหนากะลา (มม.)ในกลุ่มประชากรปาล์มน้ำมันพันธุ์ต่างๆ



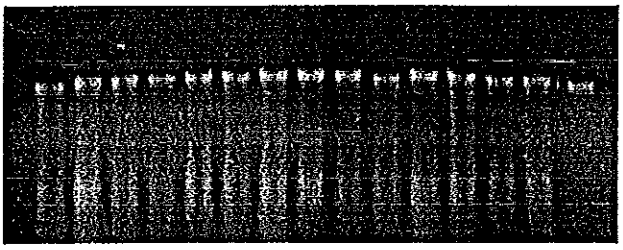
รูปที่ 6 ความแปรปรวนของความหนาเนื้อในเมล็ด (มม.)ในกลุ่มประชากรปาล์มน้ำมันพันธุ์ต่างๆ

2. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอรา โดยเทคนิคอาร์เอพีดี

2.1 การสกัดดีเอ็นเอ

ทำการสกัดดีเอ็นเอจากใบปาล์มน้ำมันโดยใช้ CTAB บัฟเฟอร์ พบว่าปริมาณดีเอ็นเอที่ได้มีจำนวนเพียงพอและมีคุณภาพดีสำหรับใช้ทำพีซีอาร์ โดยแต่ละครั้งสามารถสกัดดีเอ็นเอได้ประมาณ 2.5-3.0 ไมโครกรัมต่อ 200 มิลลิกรัมน้ำหนักใบสด (รูปที่ 7)

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15



รูปที่ 7 ปริมาณดีเอ็นเอที่ได้จากการสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีการใช้ CTAB บัฟเฟอร์ lane 1-14 คือ ดีเอ็นเอที่สกัดจากตัวอย่างใบปาล์มน้ำมัน lane 15 คือแลมดาดีเอ็นเอ ขนาด 80 นาโนกรัมต่อ 2 ไมโครลิตร

2.2 การคัดเลือกไพรเมอร์

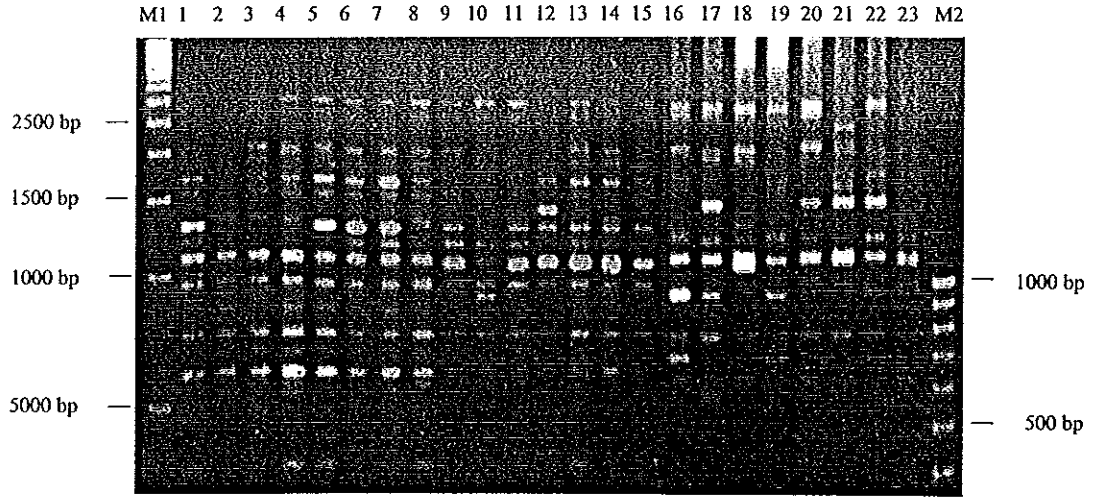
ทำการทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาไพรเมอร์ที่สามารถแยกความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอระหว่างพันธุ์ปาล์มน้ำมันทั้ง 3 พันธุ์ ใช้ตัวอย่างปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอราชนิดละ 1 ต้นจากสถานีวิจัยคลองหอยโข่ง โดยทดสอบไพรเมอร์ขนาด 10 เบส จำนวน 160 ไพรเมอร์ ได้แก่ OPA-01-20 OPB-01-20 OPC-01-20 OPD-01-20 OPR-01-20 OPT-01-20 OPAA-01-20 และ OPAB-01-20 แล้วเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบสุ่มโดยปฏิริยาพีซีอาร์ จากการทดลองพบว่า มีไพรเมอร์ที่ให้ความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอ (polymorphism) จำนวน 65 ไพรเมอร์ ให้แถบดีเอ็นเอเหมือนกัน เท่ากับ 63 ไพรเมอร์ ไพรเมอร์ที่ไม่ให้แถบดีเอ็นเอเลยจำนวน 12 ไพรเมอร์ และจำนวน

20 ไพรเมอร์ที่ให้ผลไม่ชัดเจน จากจำนวนไพรเมอร์ที่ให้ความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอเบื้องต้นทั้งหมด 65 ไพรเมอร์ นำมาทดสอบรอบที่สองเพื่อคัดเลือกหาไพรเมอร์ที่ให้ผลชัดเจนที่สุด โดยใช้ตัวอย่างปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอราชนิดละ 8 ต้น ที่สุ่มเก็บจากสถานีวิจัยคลองหอยโข่ง

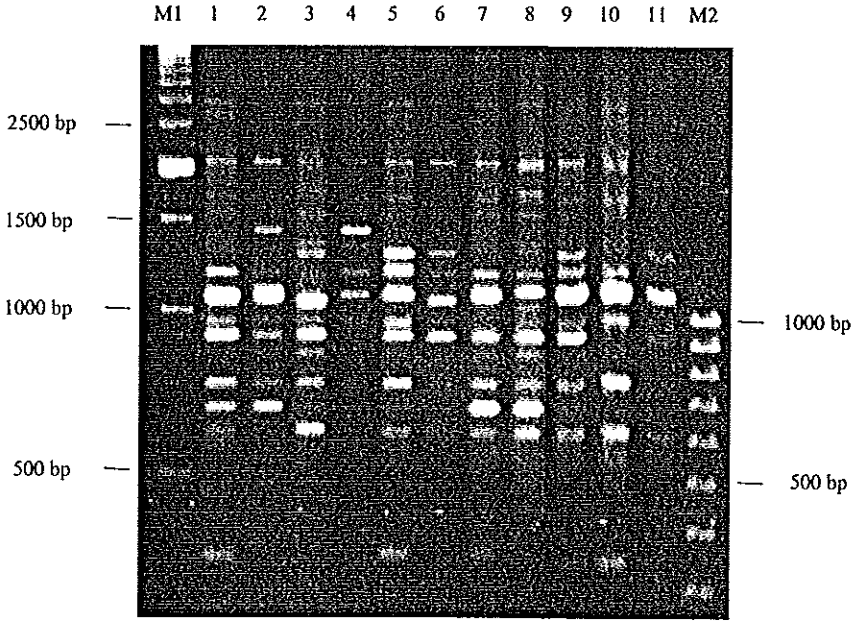
จากจำนวน 65 ไพรเมอร์ที่ให้ความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอ พบว่ามีไพรเมอร์ที่ให้ผลชัดเจนที่สุดจำนวน 7 ไพรเมอร์ คือ OPB-08 OPR-11 OPT-19 OPT-06 OPAB-01 OPAB-09 และ OPAB-14 นำมาทดสอบเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูราจำนวน 52 ต้น เทเนอราจำนวน 60 ต้น และพิสิเฟอราจำนวน 39 ต้น รวมทั้งหมด 151 ต้น จากการทดสอบพบว่าให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 209 แถบ เฉลี่ย 29.85 แถบต่อไพรเมอร์ 117 แถบ (55.98%) เป็นแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดแตกต่างกัน และอีก 92 แถบ (44.01%) เป็นแถบดีเอ็นเอที่ไม่มีความแตกต่างกัน ไพรเมอร์ OPAB-09 มีจำนวนแถบดีเอ็นเอสูงสุด 36 แถบ ไพรเมอร์ OPT-06 และ OPR-11 มีจำนวนแถบดีเอ็นเอน้อยที่สุดเท่ากับ 27 แถบ (ตารางที่ 5) แถบดีเอ็นเอมีขนาดแตกต่างกันตั้งแต่ 200-3500 คู่เบส รูปที่ 8 และ 9 แสดงให้เห็นถึงความหลากหลายของแถบดีเอ็นเอปาล์มน้ำมันพันธุ์ต่างๆที่เก็บจากศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี และบริษัทยูนิวานิชจากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดีเมื่อใช้ไพรเมอร์ชนิดเดียวกันคือ OPAB-01 รูปที่ 10 11 12 และ 13 แสดงให้เห็นถึงรูปแบบความหลากหลายของดีเอ็นเอปาล์มน้ำมันพันธุ์ต่างๆที่เก็บจากสถานีวิจัยเทพา ศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี สวนเกษตรกรในจังหวัดกระบี่ และสถานีวิจัยคลองหอยโข่งจากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดีเมื่อใช้ไพรเมอร์ OPB-08 OPT-06 OPAB-09 และ OPAB-14 ตามลำดับ

ตารางที่ 5 ชนิดของไพรเมอร์ ลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่แตกต่าง และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกัน จากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดีในปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอรา

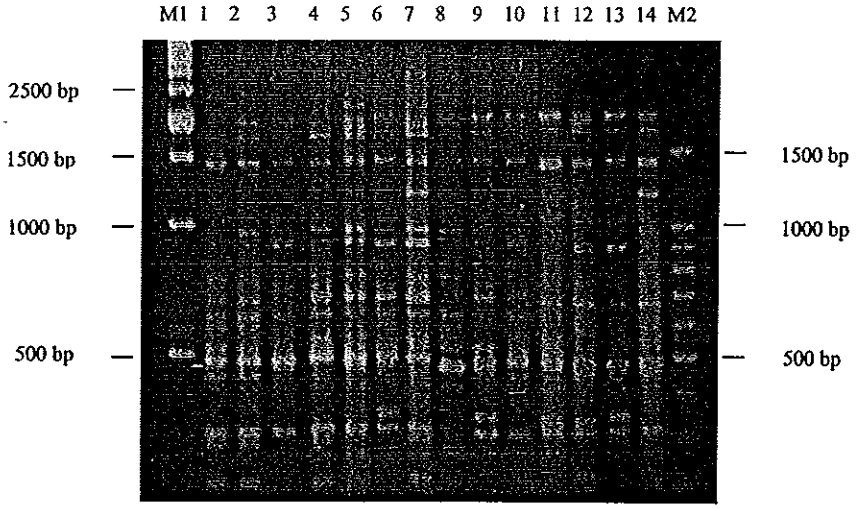
ไพรเมอร์	ลำดับเบส	จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด	จำนวนแถบดีเอ็นเอที่แตกต่าง	จำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกัน
OPB-08	GTCCACACGG	30	20	10
OPR-11	GTAGCCGTCT	27	14	13
OPT-19	GTCCGTATGG	30	13	17
OPT-06	CAAGGGCAGA	27	19	8
OPAB-01	CCGTCGGTAG	30	17	13
OPAB-09	GGGCGACTAC	36	21	15
OPAB-14	AAGTGCGACC	29	13	16
	รวม	209	117	92



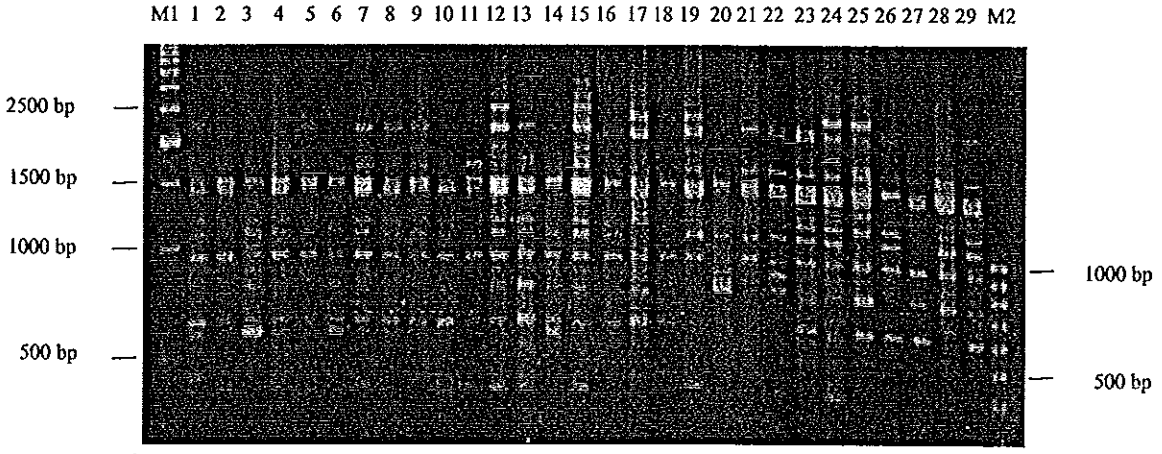
รูปที่ 8 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา (lane 1-8) พันธุ์เทเนอรา (lane 9-15) และพันธุ์พิสิเฟอรา (lane 16-23) ที่สุ่มเก็บจากศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานีจากเทคนิคอาร์เอพีดีเมื่อใช้ไพรเมอร์ OPAB-01 M1, M2 คือ DNA Ladder ขนาด 500 และ 100 คู่เบส ตามลำดับ



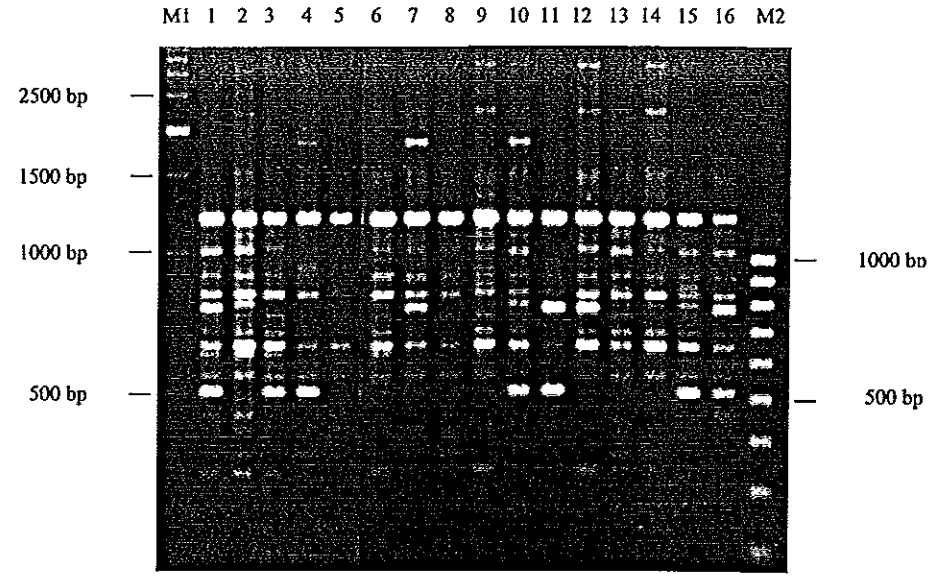
รูปที่ 9 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา (lane 1-8) และพันธุ์เทเนอรา (lane 9-11) จากบริษัทยูนิวานิชจากเทคนิคอาร์เอพีดีเมื่อใช้ไพรเมอร์ OPAB-01 M1, M2 คือ DNA Ladder ขนาด 500 และ 100 คู่เบส ตามลำดับ



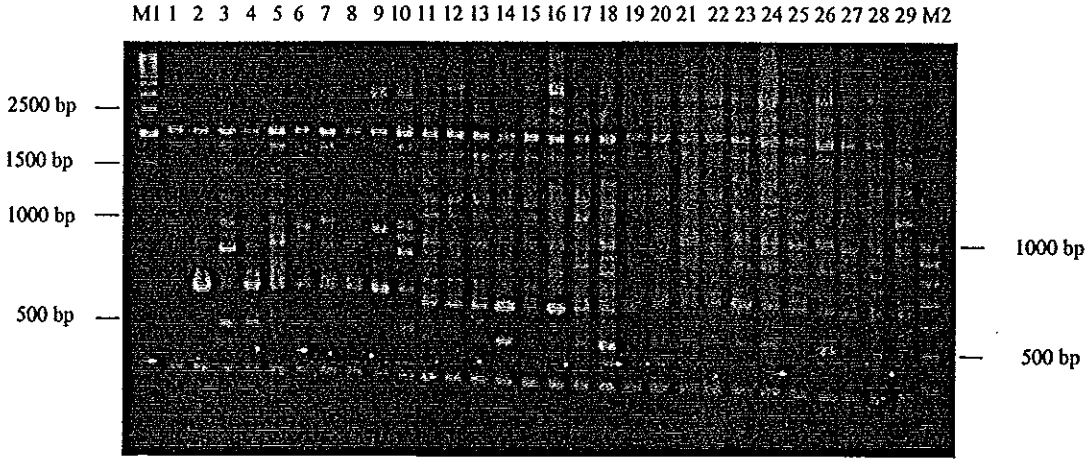
รูปที่ 10 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา (lane 1-5) พันธุ์เทเนอรา (lane 6-10) และพันธุ์พิสิเฟอรา (lane 11-14) ที่สุ่มเก็บจากสถานีวิจัยเทพาจากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPB-08 M1, M2 คือ DNA Ladder ขนาด 500 และ 100 คู่เบส ตามลำดับ



รูปที่ 11 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา (lane 1- 8) พันธุ์เทเนอรา (lane 9- 16) และพันธุ์พิสิเฟอรา (lane 17- 29) ที่สุ่มเก็บจากศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานีจากเทคนิคอาร์เอพีดีเมื่อใช้ไพรเมอร์ OPT- 06 M1, M2 คือ DNA Ladder ขนาด 500 และ 100 คู่เบส ตามลำดับ



รูปที่ 12 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา (lane 1- 5) และพันธุ์เทเนอรา (lane 6- 16) จากสวนเกษตรกรจังหวัดกระบี่จากเทคนิคอาร์เอพีดีเมื่อใช้ไพรเมอร์ OPAB-09 M1, M2 คือ DNA Ladder ขนาด 500 และ 100 คูเบส ตามลำดับ



รูปที่ 13 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา (lane 1- 10) พันธุ์เทเนอรา (lane 11-18) และพันธุ์พิสิเฟอรา (lane 19-29) จากสถานีวิจัยคลองหอยโข่งจากเทคนิคอาร์เอพีดีเมื่อใช้ไพรเมอร์ OPAB-14 M1, M2 คือ DNA Ladder ขนาด 500 และ 100 คู่เบส ตามลำดับ

3. การศึกษาความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรม

3.1 การศึกษาความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันแต่ละพันธุ์

จากการศึกษาความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอรา โดยทำการวิเคราะห์แยกแต่ละพันธุ์ วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของแถบดีเอ็นเอด้วยโปรแกรม SPSS เทคนิค Hierarchical Cluster Analysis วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของแถบดีเอ็นเอแบบ Similarity Index ตามวิธีของ Jaccard (1908) สร้างเดนโดรแกรมโดยวิธี UPGMA

จากการวิเคราะห์หาดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูราจำนวน 52 ต้น จากเดนโดรแกรมแบ่งได้เป็น 3 กลุ่มคือ กลุ่มที่ 1 (D1) ได้แก่ พันธุ์ดูราจากสถานีวิจัยเทพา (Dte) พันธุ์ดูราจากบริษัทเปารงค์ออยล์ปาล์ม (Dpa) พันธุ์ดูราจากบริษัทไทยบุญทอง (Dtb) พันธุ์ดูราจากศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี (Dsu) พันธุ์ดูราจากสวนเกษตรกรจังหวัดกระบี่ (Dgo) กลุ่มที่ 2 (D2) ได้แก่ พันธุ์ดูราจากบริษัทยูนิวานิช (Dun) กลุ่มที่ 3 (D3) ได้แก่ พันธุ์ดูราจากสถานีวิจัยคลองหอยโข่ง (Dkl) (รูปที่ 14)

วิเคราะห์ดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันพันธุ์เทเนอราจำนวน 60 ต้น พบว่าแบ่งได้เป็น 3 กลุ่มคือ กลุ่มที่ 1 (T1) ได้แก่ พันธุ์เทเนอราจากบริษัทเปารงค์ออยล์ปาล์ม (Tpa) พันธุ์เทเนอราจากศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี (Tsu) พันธุ์เทเนอราจากสวนเกษตรกรจังหวัดกระบี่ (Tgo) กลุ่มที่ 2 (T2) ได้แก่ พันธุ์เทเนอราจากบริษัทไทยบุญทอง (Ttb) พันธุ์เทเนอราจากสถานีวิจัยเทพา (Tte) พันธุ์เทเนอราจากสถานีวิจัยคลองหอยโข่ง (Tkl) กลุ่มที่ 3 (T3) ได้แก่พันธุ์เทเนอราจากบริษัทยูนิวานิช (Tun) (รูปที่ 15)

วิเคราะห์ดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันพันธุ์พิสิเฟอราจำนวน 39 ต้น จากเดนโดรแกรมสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่ 1 (P1) ได้แก่ พันธุ์พิสิเฟอราจากบริษัทเปารงค์ออยล์ปาล์ม (Ppa) พันธุ์พิสิเฟอราจากสถานีวิจัยเทพา (Pte) พันธุ์พิสิเฟอราจากสถานีวิจัยคลองหอยโข่ง (Pkl) กลุ่มที่ 2 (P2) ได้แก่ พันธุ์พิสิเฟอราจากศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี (Psu) (รูปที่ 16)

3.2 การศึกษาความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันทั้งสามพันธุ์

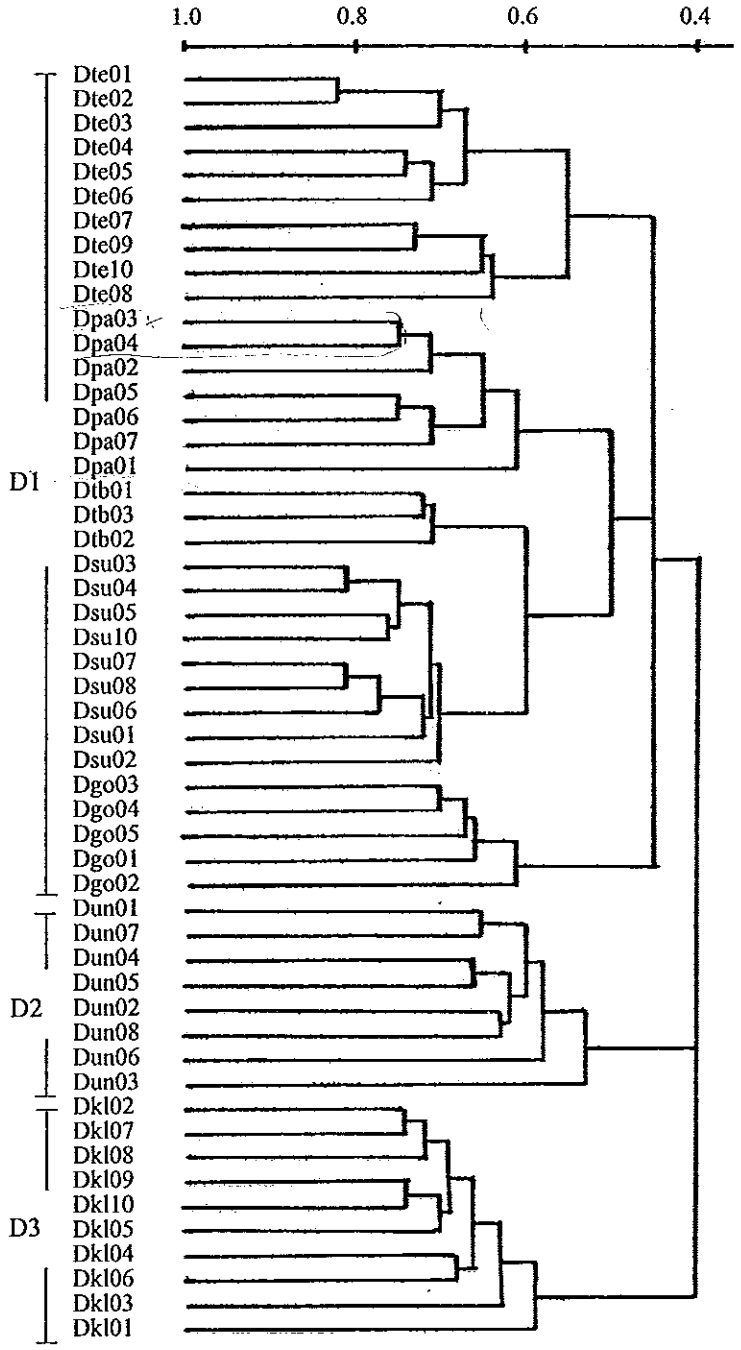
ศึกษาความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอรา ทำการวิเคราะห์ร่วมกันทั้ง 3 พันธุ์ รวมทั้งหมด 151 ต้น วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของแถบดีเอ็นเอด้วยโปรแกรม SPSS เทคนิค Hierarchical Cluster Analysis วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของแถบดีเอ็นเอแบบ Similarity Index ตามวิธีของ Jaccard (1908) สร้างเดนโดรแกรมโดยวิธี UPGMA พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มประชากรปาล์มน้ำมันได้เป็น 3 กลุ่ม (รูปที่ 17) คือ

กลุ่มที่ 1 (G1) ได้แก่ พันธุ์พิสิเฟอรา เทเนอรา และดูราจากบริษัทเปารงค์ออยล์ปาล์ม (Ppa, Tpa, Dpa) พันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอราจากศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี (Dsu, Tsu, Psu) พันธุ์ดูรา และเทเนอราจากสวนเกษตรกรจังหวัดกระบี่ (Dgo, Tgo) พันธุ์ดูราจากสถานีวิจัยเทพา (Dte)

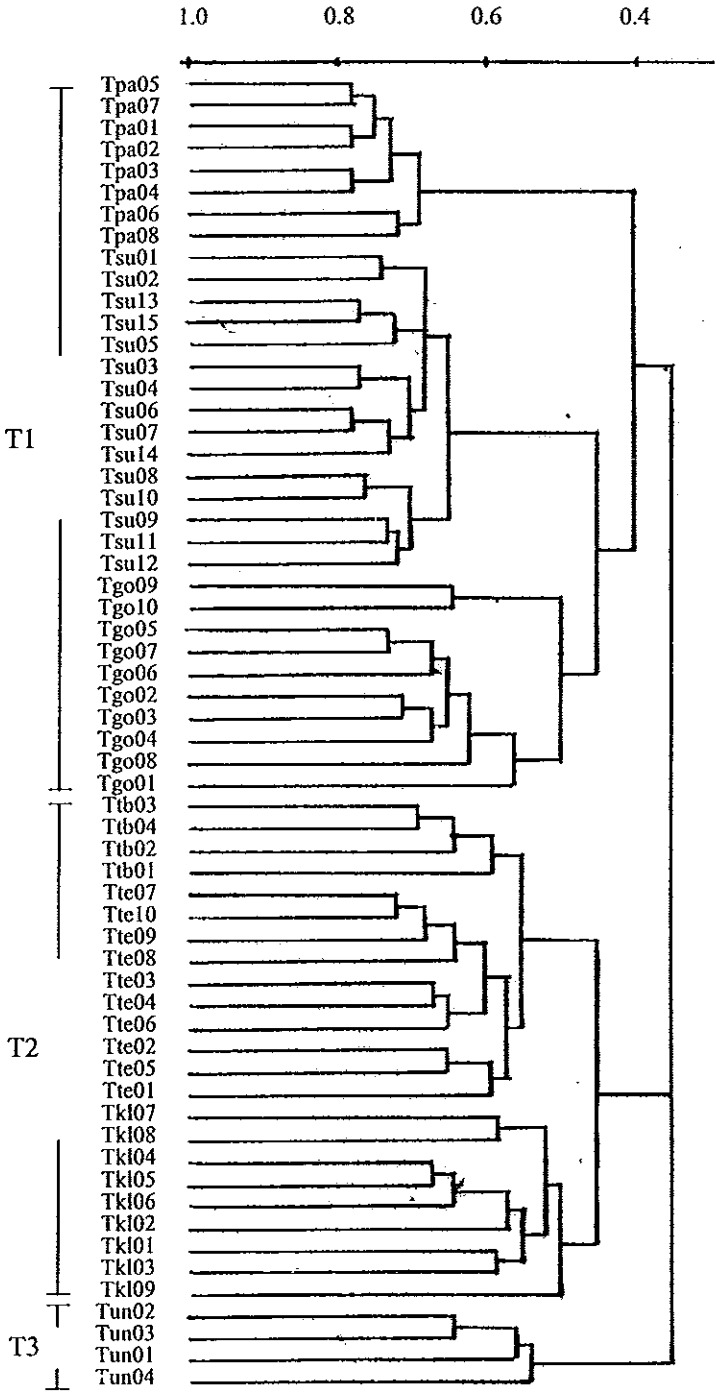
กลุ่มที่ 2 (G2) ได้แก่ พันธุ์เทเนอรา และพันธุ์ดูราจากบริษัทไทยบุญทอง (Ttb, Dtb) พันธุ์พิสิเฟอรา และเทเนอราจากสถานีวิจัยเทพา (Pte, Tte) พันธุ์ดูรา พิสิเฟอรา และเทเนอราจากสถานีวิจัยคลองหอยโข่ง (Dkl, Pkl, Tkl)

กลุ่มที่ 3 (G3) ได้แก่ พันธุ์ดูรา และเทเนอราจากบริษัทยูนิวานิช (Tun, Dun)

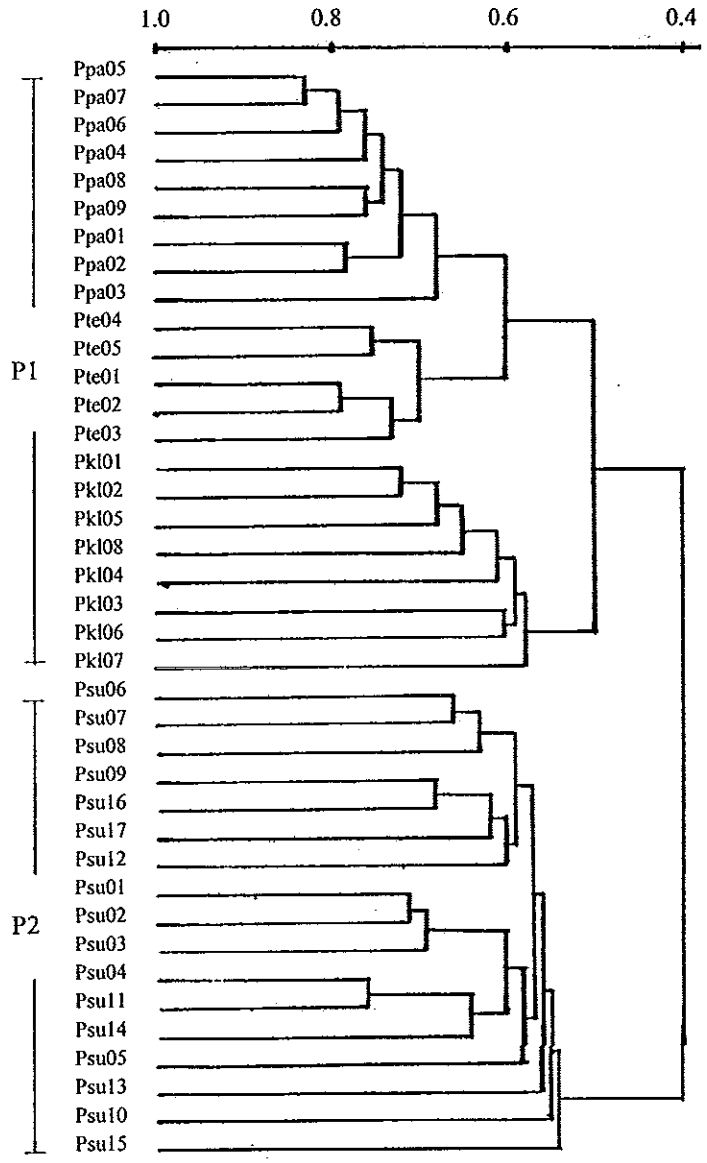
เปรียบเทียบดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมพบว่าคู่ที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมากที่สุดคือ พันธุ์พิสิเฟอราจากบริษัทเปารงค์ออยล์ปาล์ม กับ พันธุ์เทเนอราจากบริษัทเปารงค์ออยล์ปาล์ม มีค่าเท่ากับ 0.777 (ตารางที่ 6) ส่วนคู่ที่มีความห่างไกลทางพันธุกรรมมากที่สุดคือ พันธุ์เทเนอราจากบริษัทยูนิวานิช กับ พันธุ์เทเนอราจากสถานีวิจัยคลองหอยโข่ง มีค่าเท่ากับ 0.587 (ตารางที่ 6)



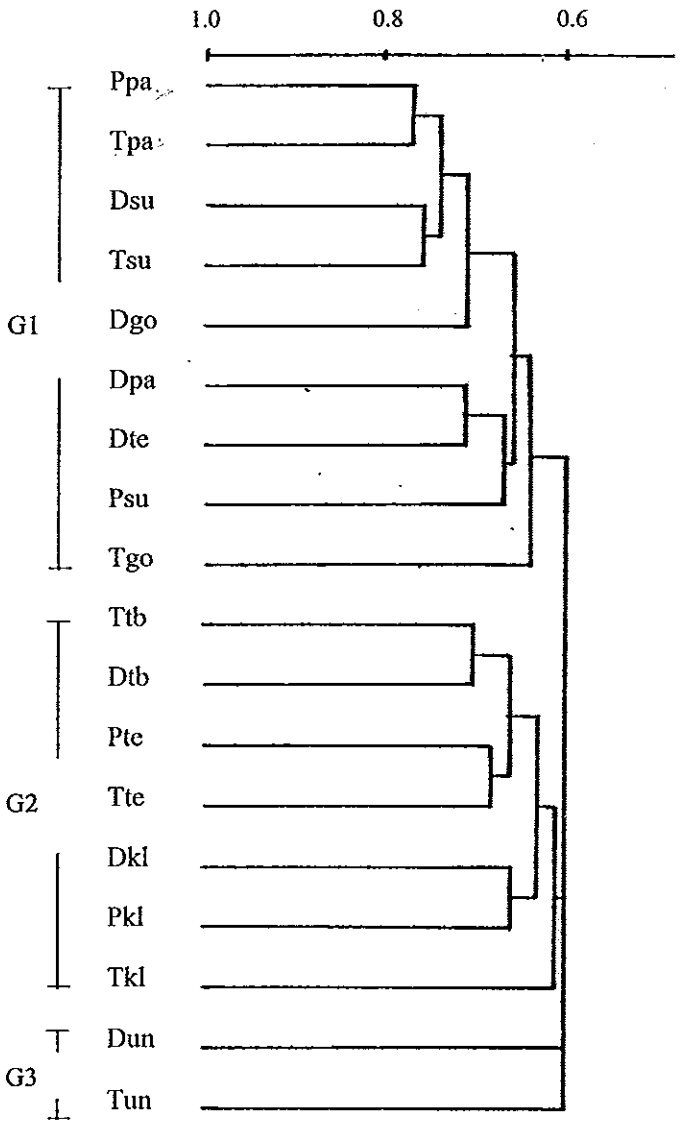
รูปที่ 14 เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ของปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูราจำนวน 52 ต้นจากการสร้างด้วย UPGMA โปรแกรม SPSS



รูปที่ 15 เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ของปาล์มน้ำมันพันธุ์เทเนอราจำนวน 60 ต้น จากการสร้างด้วย UPGMA โปรแกรม SPSS



รูปที่ 16 เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ของปาล์มน้ำมันพันธุ์พิสิเฟอราจำนวน 39 ต้น จากการสร้างด้วย UPGMA โปรแกรม SPSS



รูปที่ 17 สรุปภาพรวมเดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ของปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอราจากการสร้างด้วย UPGMA โปรแกรม SPSS

ตารางที่ 6 แสดงค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอราที่เก็บจากสถานที่ต่างๆ

	Dpa	Tpa	Ppa	Dsu	Tsu	Psu	Dgo	Tgo	Dte	Tte	Pte	Dtb	Ttb	Dkl	Tkl	Pkl	Dun	Tun
Dpa	1																	
Tpa	0.732	1																
Ppa	0.749	0.777	1															
Dsu	0.738	0.760	0.772	1														
Tsu	0.734	0.756	0.773	0.762	1													
Psu	0.668	0.691	0.707	0.696	0.692	1												
Dgo	0.677	0.709	0.726	0.715	0.711	0.635	1											
Tgo	0.682	0.705	0.721	0.710	0.706	0.641	0.649	1										
Dte	0.718	0.741	0.757	0.746	0.742	0.677	0.685	0.691	1									
Tte	0.678	0.700	0.717	0.706	0.702	0.636	0.655	0.650	0.686	1								
Pte	0.716	0.738	0.755	0.744	0.740	0.674	0.683	0.688	0.724	0.684	1							
Dtb	0.714	0.736	0.753	0.742	0.738	0.672	0.691	0.686	0.722	0.682	0.695	1						
Ttb	0.689	0.712	0.728	0.717	0.713	0.648	0.656	0.662	0.704	0.657	0.720	0.693	1					
Dkl	0.700	0.722	0.739	0.728	0.724	0.658	0.677	0.672	0.708	0.688	0.706	0.704	0.679	1				
Tkl	0.649	0.672	0.688	0.677	0.673	0.608	0.626	0.622	0.658	0.617	0.655	0.653	0.629	0.639	1			
Pkl	0.673	0.696	0.712	0.701	0.697	0.632	0.650	0.646	0.684	0.641	0.679	0.677	0.653	0.663	0.613	1		
Dun	0.663	0.685	0.702	0.691	0.687	0.621	0.640	0.635	0.671	0.631	0.669	0.667	0.642	0.653	0.602	0.626	1	
Tun	0.647	0.670	0.686	0.675	0.671	0.606	0.624	0.620	0.656	0.615	0.653	0.651	0.627	0.637	0.587	0.611	0.600	1

บทที่ 4

วิจารณ์

การจำแนกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ปาล์มน้ำมันสามารถใช้ลักษณะทางสัณฐานคือความหนาของกะลาเป็นเกณฑ์ ซึ่งลักษณะความหนาของกะลาพบว่าถูกควบคุมโดยยีนคู่เดียวคือยีน Sh โดยพันธุ์ดูราเป็นพันธุ์ที่มีกะลาหนายีนที่ควบคุมเป็นยีนเด่น ส่วนพันธุ์พิสิเฟอราที่มีกะลาบางหรือแทบไม่มีส่วนของกะลาควบคุมโดยยีนด้อย ลูกผสมพันธุ์เทเนอรามีกะลาบางถูกควบคุมโดยยีนที่เป็นเฮเทอโรไซกัส (Hartley, 1977 ; Shah *et al.*, 1994) อย่างไรก็ตามบางครั้งการใช้ความหนาของกะลาในการแยกระหว่างพันธุ์ดูราและเทเนอราอาจไม่ชัดเจนเพราะมีลักษณะก้ำกึ่งกัน ดังนั้นลักษณะเส้นใยรอบกะลาก็เป็นอีกลักษณะหนึ่งที่สามารถใช้แยกความแตกต่างระหว่างสองพันธุ์นี้ (ธีระ, 2528) อาศัยลักษณะดังกล่าวนี้ร่วมกับลักษณะสำคัญอื่นๆเช่น น้ำหนักผล เส้นผ่านศูนย์กลางผล ความหนาเนื้อปาล์ม ความหนาเนื้อในเมล็ดเพื่อศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมในกลุ่มประชากรของปาล์มน้ำมันทั้งสามพันธุ์ พบว่า ส่วนใหญ่น้ำหนักผลของปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา และเทเนอรา อยู่ในช่วง 10-20 กรัม พันธุ์พิสิเฟอรา (76.92 %) มีน้ำหนักผลส่วนใหญ่น้อยกว่า 10 กรัม โดยเฉลี่ยแล้วพันธุ์ดูรามีขนาดผลใหญ่กว่าพันธุ์เทเนอราเล็กน้อย ในขณะที่ขนาดผลของพันธุ์ดูรามีขนาดใหญ่กว่าพันธุ์พิสิเฟอราประมาณ 2 เท่า ความหนาของเนื้อผลปาล์มน้ำมันมีค่าใกล้เคียงกันแต่พันธุ์พิสิเฟอรามีความหนาเนื้อปาล์มเฉลี่ยสูงสุด ซึ่งอาจเป็นเพราะไม่มีส่วนของกะลา ความหนากะลาของปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรามีความแปรปรวนค่อนข้างสูง คือมีค่าต่ำสุด 1.10 มม. และมีความหนาสูงสุดถึง 5.50 มม. ในขณะที่พันธุ์เทเนอราส่วนใหญ่มีกะลาหนาน้อยกว่า 2 มม. สำหรับลักษณะความหนาเนื้อในเมล็ดมีความแปรปรวนค่อนข้างสูงทั้งสามพันธุ์ ลักษณะสัณฐานหลายลักษณะเช่น ขนาดผล และเส้นผ่านศูนย์กลางผลนั้นพบว่า ปัจจัยสภาพแวดล้อมน่าจะมีผลต่อลักษณะดังกล่าวค่อนข้างมาก อย่างไรก็ตามลักษณะเหล่านี้สามารถใช้เป็นข้อมูลควบคู่ไปกับการศึกษาโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี โดยเฉพาะอย่างยิ่งลักษณะความหนากะลาของผลซึ่งเป็นลักษณะสำคัญที่ใช้จำแนกพันธุ์

การสกัดดีเอ็นเอปาล์มน้ำมันโดยใช้สารละลาย CTAB พบว่าให้ปริมาณดีเอ็นเอจำนวนมากและคุณภาพดีพอสำหรับทำพีซีอาร์ สอดคล้องกับการทดลองในปาล์มน้ำมันของ Moretzsohn และคณะ (2002) นอกจากนี้ยังมีรายงานความสำเร็จของการใช้สารละลาย CTAB ในพืชหลายชนิด เช่น

มะพร้าว (Perera *et al.*, 2001) ส้มโอ (Corezza-Nunes *et al.*, 2002) เป็นต้น การเลือกใบปาล์มน้ำมันสำหรับสกัดดีเอ็นเอพบว่า สามารถใช้ได้ทั้งใบอ่อนจนถึงระยะใบเพสลาดทั้งนี้เนื่องจากได้ดีเอ็นเอจำนวนมากและคุณภาพดี การนำใบที่แก่เกินไปมาสกัดดีเอ็นเอพบว่า ดีเอ็นเอที่ได้มีสีน้ำตาลคุณภาพไม่เหมาะสมในการทำพีซีอาร์ทั้งนี้อาจจะเนื่องจากมีสารพวก phenolic compound มาก (Prakash *et al.*, 2002) นอกจากนี้ยังการใช้ใบแก่ยังทำให้การบดตัวอย่างทำได้ยากเนื่องจากมีเส้นใยสูง

เครื่องหมายโมเลกุล (molecular marker) นับได้ว่าเป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพสูงในการศึกษาพันธุกรรมของพืชเนื่องจากไม่มีอิทธิพลจากสภาพแวดล้อม สามารถตรวจสอบได้กับพืชทุกชนิด และตรวจสอบได้กับทุกส่วนของพืชแม้ในระยะต้นกล้า เป็นการวิเคราะห์จากจีโนมโดยตรง (Barcelos *et al.*, 2002) เทคนิคอาร์เอพีดีเป็นหนึ่งในเครื่องหมายโมเลกุลที่มีผู้นิยมใช้อย่างแพร่หลายเพราะให้แถบดีเอ็นเอซึ่งได้จากการจับแบบสุ่มของไพรเมอร์บนจีโนมจำนวนมาก และสามารถทำซ้ำได้โดยให้ผลเหมือนเดิม ผลที่ได้จึงมีความน่าเชื่อถือเพียงพอสำหรับใช้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม (Chen *et al.*, 1998) จากการศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพีสิเฟอรา จำนวน 151 ต้น จากแหล่งปลูกสำคัญต่างๆในภาคใต้ โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี ใช้ไพรเมอร์ 7 ไพรเมอร์ พบว่าแถบดีเอ็นเอที่ได้มีจำนวน 209 แถบ มีจำนวนตั้งแต่ 27-36 แถบต่อไพรเมอร์ ซึ่งนับว่าค่อนข้างสูงสอดคล้องกับการทดลองของ Roman และคณะ (2003) ได้ศึกษาความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของวัชพืชในกลุ่ม *Orobanche* spp. จากไพรเมอร์ที่คัดเลือก 5 ไพรเมอร์ พบว่ามีแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 202 แถบ โดยมีจำนวนแถบดีเอ็นเอตั้งแต่ 29-54 แถบต่อไพรเมอร์ และมีแถบดีเอ็นเอเฉลี่ยเท่ากับ 40.8 แถบต่อไพรเมอร์ เมื่อเปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอที่ได้พบว่าไม่มีแถบดีเอ็นเอใดที่เฉพาะเจาะจงเพียงพอที่ใช้จำแนกพันธุ์ปาล์มน้ำมันได้ อย่างไรก็ตามในการทดลองครั้งนี้ทั้งนี้ใช้ไพรเมอร์เพียง 7 ไพรเมอร์อาจยังไม่เพียงพอ เนื่องจากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดีเป็นการจับของดีเอ็นเอแบบสุ่ม ขึ้นอยู่กับว่าไพรเมอร์จะไปจับตรงตำแหน่งใดของจีโนม ตำแหน่งของดีเอ็นเอที่ไพรเมอร์ไปจับอาจแตกต่างกัน ดังนั้นการใช้ไพรเมอร์จำนวนมากขึ้นทำให้เกิดการสุ่มจับดีเอ็นเอตรงตำแหน่งต่างๆได้มากขึ้น (เฉลิมพล, 2539 ; ธีระชัย และ นฤมล, 2543) Shah และคณะ (1994) พยายามจำแนกพันธุ์ปาล์มน้ำมันโดยใช้เทคนิคเดียวกันนี้หาแถบดีเอ็นเอที่ใกล้ชิดกับยีนที่ควบคุมความหนาของกะลา ซึ่งเชื่อกันว่าถูกควบคุมโดยยีนเพียงคู่เดียวคือ Sh^+ จากผลการทดลองพบว่าแถบดีเอ็นเอขนาด 1252 คู่เบส โดยไพรเมอร์ OPR-11 และขนาด 1046 คู่เบสของไพรเมอร์ OPT-19 มีความใกล้ชิดกับยีน Sh^+ ซึ่งสามารถใช้แยกความแตกต่างระหว่างปาล์ม

น้ำมันพันธุ์พิสิเฟอราออกจากพันธุ์ดูราและเทเนอราได้ แต่ไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูราและเทเนอรา แม้จะไม่สามารถหาแถบดีเอ็นเอที่ใช้เป็นเครื่องหมายในการแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ได้ แต่เทคนิคอาร์เอพีดีก็มีประสิทธิภาพเพียงพอในการศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมัน (Moretzsohn *et al.*, 2002) รวมถึงพืชชนิดอื่นเช่น สาคู (Boonsermsuk *et al.*, 1996) แอปเปิ้ล (Oraguzie *et al.*, 2001) เกาลัด (Galderisi *et al.*, 1998) เป็นต้น และข้อมูลที่ได้เพียงพอสำหรับใช้แบ่งกลุ่มความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันที่จัดเก็บจากสถานที่ต่างๆได้ ทั้งนี้เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญสำหรับใช้ปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันในอนาคต ซึ่งความสำเร็จของโครงการปรับปรุงพันธุ์ต้องอาศัยความแตกต่างทางพันธุกรรมของประชากรพืชอื่นๆ ดังนั้นประสิทธิภาพของการปรับปรุงพันธุ์จึงขึ้นอยู่กับความสามารถในการแยกความแตกต่างดังกล่าวได้ ซึ่งเทคนิคอาร์เอพีดีสามารถชี้ให้เห็นปริมาณความแตกต่างทางพันธุกรรมที่มีอยู่ได้ชัดเจนกว่าการอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาซึ่งมีความผันแปรสูงจากสิ่งแวดล้อม เทคนิคอาร์เอพีดีจะช่วยทำให้การคัดเลือกต้นแม่นยำขึ้น และสามารถหลีกเลี่ยงการจับคู่ผสมซ้ำในกลุ่มประชากรที่มีฐานพันธุกรรมใกล้เคียงกันหรือเหมือนกัน

ผลจากการวิเคราะห์และการสร้างเดนโดรแกรมเพื่อดูความสัมพันธ์ และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันแต่ละพันธุ์ พันธุ์ดูราจากสถานีวิจัยเทพา บริษัทเปารงค์ออยล์ปาล์ม บริษัทไทยบุญทอง ศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี และสวนเกษตรกรในจังหวัดกระบี่มีพันธุกรรมที่ใกล้เคียงกันจึงจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน โดยปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูราจากศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานีมีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมในกลุ่มมากที่สุด ขณะที่พันธุ์ดูราจากบริษัทยูนิวานิช และจากสถานีวิจัยคลองหอยโข่งมีความแตกต่างทางพันธุกรรมมากกว่าจึงถูกจัดอยู่ในอีกกลุ่ม เมื่อพิจารณาระหว่างพันธุ์เทเนอราด้วยกันพบว่า พันธุ์เทเนอราจากบริษัทเปารงค์ออยล์ปาล์ม และศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานีมีความหลากหลายทางพันธุกรรมน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์เทเนอราจากแหล่งอื่นที่สุ่มมาวิเคราะห์ โดยพันธุ์เทเนอราจากสวนเกษตรกรในจังหวัดกระบี่มีความความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงที่สุด การที่พันธุ์เทเนอราจากบริษัทเปารงค์ออยล์ปาล์มและจากศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานีมีความแปรปรวนทางพันธุกรรมในแต่ละประชากรน้อยกว่าพันธุ์เทเนอราจากแหล่งอื่น เพราะว่าทั้งบริษัทเปารงค์ออยล์ปาล์มและศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานีต่างก็มีต้นพ่อพันธุ์และต้นแม่พันธุ์เป็นของตนเอง ซึ่งทั้งต้นพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ต่างได้รับการคัดเลือกมาจากต้นที่ดีในแต่ละกลุ่มประชากร ความแตกต่างทางพันธุกรรมในกลุ่มต้นพ่อและต้นแม่จึงมีน้อยและค่อนข้างสม่ำเสมอ ดังนั้นเมื่อนำมาผลิตลูกผสมซึ่งก็คือพันธุ์เทเนอรา ต้นลูกผสมที่ได้จึงมีลักษณะใกล้เคียง

กันมาก โดยเฉพาะพันธุ์เทเนอราที่สุ่มศึกษาจากศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานีคือ ลูกผสมสุราษฎร์ธานี 1 และลูกผสมสุราษฎร์ธานี 2 ซึ่งทั้งสองคู่ผสมมีพันธุ์แม่เดียวกันคือ Deli (รหัสพันธุ์คือ C2120: 184D) ต่างกันเฉพาะพันธุ์พ่อพิสิเฟอราเท่านั้น โดยลูกผสมสุราษฎร์ธานี 1 ใช้พันธุ์พ่อ Calabar ลูกผสมสุราษฎร์ธานี 2 ใช้พันธุ์พ่อ La Me (อรรัตน์ และคณะ, 2544) ส่วนพันธุ์เทเนอราจากสวนเกษตรกรในจังหวัดกระบี่ สถานีวิจัยเทพา และสถานีวิจัยคลองหอยโข่ง มีการนำเข้ามาจากประเทศมาเลเซียโดยไม่ทราบแหล่งที่มาของพ่อแม่พันธุ์แน่นอน และไม่ได้มีการรับรองพันธุ์อย่างชัดเจนในการนำเข้าในช่วงแรกของการปลูกปาล์มน้ำมันเป็นการค้า ดังนั้นที่มาของพันธุ์ลูกผสมอาจมาจากกลุ่มพ่อแม่จากหลายแหล่งประชากร ทำให้พันธุกรรมมีความแตกต่างกันค่อนข้างสูง เมื่อพิจารณาความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันพันธุ์พิสิเฟอราพบว่า พันธุ์พิสิเฟอราจากบริษัทเปารงค์ออยล์ปาล์ม และจากสถานีวิจัยเทพามีความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำ ในขณะที่พันธุกรรมของประชากรปาล์มน้ำมันพันธุ์พิสิเฟอราจากศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานีมีความหลากหลายค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์พิสิเฟอราจากแหล่งอื่นๆ ทั้งนี้เนื่องจากประชากรกลุ่มนี้ได้มาจากแหล่งต่างๆกันทั้งหมด 7 แหล่งด้วยกันคือ SP 540 (BM119), DAMI T, Ekona population (Lobe Cameroon), IRHO- La Me program (Ivory Coast), พันธุ์เทเนอราจากประเทศไนจีเรีย , Yangambi และพันธุ์เทเนอราจากประเทศแทนซาเนีย (อรรัตน์ และคณะ, 2544) จากเดนโดรแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์ร่วมกันของปาล์มน้ำมันทั้งสามสายพันธุ์คือพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอรา ส่วนใหญ่พันธุ์เทเนอราจะมีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับพันธุ์ดูรามากกว่าพันธุ์พิสิเฟอรา ยกเว้นกลุ่มประชากรจากบริษัทเปารงค์ออยล์ปาล์ม และสถานีวิจัยเทพาที่พบว่าพันธุ์เทเนอรามีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับพันธุ์พิสิเฟอรามากกว่าพันธุ์ดูรา สำหรับบริษัทเปารงค์ออยล์ปาล์มจากการสอบถามเจ้าของสวน สามารถอธิบายได้ว่าเนื่องจากพันธุ์พิสิเฟอราใช้เป็นพันธุ์พ่อในการสร้างลูกผสมได้มาจากการสกัดสายพันธุ์โดยการผสมระหว่างพันธุ์เทเนอราและเทเนอรา (T X T) ส่วนความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของกลุ่มประชากรปาล์มน้ำมันจากสถานีวิจัยคลองหอยโข่งทั้งสามพันธุ์ที่ได้พบว่าแตกต่างจากประชากรกลุ่มอื่น โดยพันธุ์ดูรามีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับพันธุ์พิสิเฟอรามากกว่าพันธุ์เทเนอรา ซึ่งก็เป็นไปได้เพราะประชากรกลุ่มนี้ทั้งหมดไม่ว่าจะเป็นพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอราได้จากการนำเมล็ดลูกผสมเทเนอราที่เก็บรวบรวมจากต้นที่ดีต้นละ 10 เมล็ด จากแหล่งปลูกสำคัญของภาคใต้ เช่น จังหวัดชุมพร สุราษฎร์ธานี กระบี่ ตรัง สตูล เป็นต้น ดังนั้นต้นที่ได้จากการเพาะเมล็ดดังกล่าวจึงมีการกระจายตัวในอัตรา 1:2:1 (ดูรา:เทเนอรา:พิสิเฟอรา) (สุจินต์ และคณะ, 2530) ซึ่งแหล่งที่มาของพันธุ์เทเนอรามาจากหลายแหล่งด้วยกัน ไม่ทราบแหล่งที่มาแน่

ชัดแต่พบว่าส่วนใหญ่นำเข้ามาจากประเทศมาเลเซีย ดังนั้นดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอาจแตกต่างกันขึ้นอยู่กับประชากรที่ถูกสุ่มมาศึกษา

การวิเคราะห์และการสร้างเดนโดรแกรมเพื่อดูความสัมพันธ์ และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันโดยทำการวิเคราะห์ทั้งสามพันธุ์รวมกันจำนวน 151 ต้น เมื่อพิจารณาจากเดนโดรแกรมพบว่า ปาล์มน้ำมันจากบริษัทเปารงค์ออยล์ปาล์มมีความใกล้ชิดกับพันธุ์ปาล์มน้ำมันจากศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี ซึ่งจากประวัติประชากรของพ่อแม่พันธุ์ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานีที่ใช้ทั้งหมดได้นำเข้ามาจากบริษัท ASD (Agriculture Service and Development) ประเทศคอสตาริกาแล้วได้ทำการปรับปรุงพันธุ์โดยใช้วิธี Reciprocal Recurrent Selection (อรรัตน์ และคณะ, 2544) ตามประวัติประชากรกลุ่มนี้บริษัท ASD ได้รวบรวมไว้ตั้งแต่ปี คศ.1968 โดยการแลกเปลี่ยนจากแหล่งต่างๆจากหลายประเทศ เช่น Chemera Hairison และ PORIM (สถาบันวิจัยปาล์มน้ำมันแห่งชาติมาเลเซีย) ประเทศมาเลเซีย, DAMI ประเทศปาปัวนิวกินี, AVROS ประเทศอินโดนีเซีย, Lobe ประเทศคาเมรูน, ประเทศไอเวอรีโคท และประเทศแซร์ (Escobar and Blaak, 1990 อ้างโดย อรรัตน์ และคณะ, 2544) จึงน่าจะเป็นไปได้ว่าพันธุ์เทเนอราที่นำมาสกัดสายพันธุ์พิสิเฟอราของบริษัทเปารงค์ออยล์ปาล์มอาจจะมีแหล่งพันธุกรรมที่ใกล้เคียงกัน เพราะฐานพันธุกรรมของพ่อแม่พันธุ์จากศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานีส่วนหนึ่งก็นำเข้ามาจากประเทศมาเลเซีย (จาก PORIM) นอกจากนี้แล้วประเทศมาเลเซียเองมีความก้าวหน้าในการสร้าง และปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันมายาวนาน ปาล์มน้ำมันพันธุ์เทเนอราที่ปลูกเป็นการค้าในประเทศแถบเอเชียในปัจจุบันเชื่อว่ามาจากต้นแม่พันธุ์ดูราเพียง 4 ต้น ซึ่งมีผู้นำเข้ามาจากประเทศมอร์ริเชียส และนำมาปลูกไว้ที่สวนพฤกษศาสตร์ประเทศอินโดนีเซียตั้งแต่ปี คศ. 1848 จึงทำให้ฐานพันธุกรรมค่อนข้างแคบหากเทียบกับพันธุ์ปาล์มน้ำมันในแถบประเทศอัฟริกา ซึ่งเป็นแหล่งกำเนิดดั้งเดิมของปาล์มน้ำมัน (Hartley, 1977) ระยะหลัง PORIM จึงมีการนำเข้าพันธุ์ปาล์มน้ำมันจากประเทศอัฟริกา และอเมริกาใต้เพื่อการปรับปรุงพันธุ์เช่นกัน (Shah *et al.*, 1994) สำหรับปาล์มน้ำมันจากสวนเกษตรกรแถบจังหวัดกระบี่จากการสอบถามพบว่าได้นำเชื้อพันธุ์มาจากหลายแหล่งด้วยกัน โดยนำเข้ามาจากประเทศแถบอเมริกาใต้คือ ประเทศคอสตาริกาและแซร์ และบางส่วนได้พันธุ์มาจากกองทุนปาล์มน้ำมันประเทศมาเลเซีย จากการสืบประวัติของพันธุ์ปาล์มน้ำมันของบริษัทไทยบุญทอง สถานีวิจัยเทพา และสถานีวิจัยคลองหอยโข่ง พบว่าทั้งหมดเป็นพันธุ์ที่นำเข้ามาจากประเทศมาเลเซียแต่ไม่ทราบแหล่งที่มาชัดเจน แต่พบว่าเฉพาะประชากรพันธุ์ดูราจากสถานีวิจัยเทพาเท่านั้นที่มีความแตกต่างออกไปจากกลุ่ม (รูปที่ 17) พันธุ์ดูราที่ปลูก ณ สถานีวิจัยเทพาที่มีความแตกต่างจากพันธุ์ที่นำเข้า

จากประเทศมาเลเซียอื่นๆ อาจเป็นพันธุ์จากกลุ่มอัฟริกาก็เป็นได้ เนื่องจากพันธุ์ที่นำเข้ามาปลูกในประเทศไทยในช่วงต้นๆไม่ทราบแหล่งของบริษัทแน่นอน ส่วนใหญ่มีการลักลอบนำเข้าเพราะประเทศมาเลเซียสมัยนั้นมีการกีดกันพันธุ์ปาล์มน้ำมัน ส่วนประชากรปาล์มน้ำมันจากบริษัทยูนิวานิชพบว่าทั้งหมดนำเข้ามาจากประเทศแถบอเมริกาใต้คือ ประเทศแซร์ ทำให้มีความแตกต่างจากกลุ่มที่นำเข้ามาจากประเทศมาเลเซียอย่างชัดเจน อย่างไรก็ตามการศึกษาในพืชบางชนิด เช่น มะกอกพบว่าความใกล้ชิดทางพันธุกรรมไม่ได้ขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาของตัวอย่าง พืชที่มาจากแหล่งเดียวกันไม่จำเป็นต้องมีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมากกว่าพืชที่เก็บจากแหล่งที่ห่างไกลกว่า (Caraffa *et al.*, 2002) จากการทดลองของ Moretzsohn และคณะ (2002) ซึ่งได้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันในกลุ่ม *E. oleifera* แถบแม่น้ำอะเมซอน พบว่าความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันกลุ่มดังกล่าวนี้ไม่ได้ขึ้นอยู่กับระยะทางความใกล้ไกลของพื้นที่ที่เก็บตัวอย่าง แต่ขึ้นอยู่กับการกระจายพันธุ์ไปตามแม่น้ำสายต่างๆ นั่นคือประชากรปาล์มน้ำมันที่เก็บมาจากบริเวณแม่น้ำสายเดียวกันตามจุดต่างๆกันจะถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน เนื่องจากมีความแตกต่างทางพันธุกรรมน้อย การใช้เทคนิคอาร์เอพีดีเพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในพืชหลายชนิดพบว่าให้ผลสอดคล้องกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่น สามารถแยกกลุ่มพริกที่มีผลใหญ่ออกจากกลุ่มพริกที่มีผลขนาดเล็กได้ (Paran *et al.*, 1998) สำหรับการทดลองในปาล์มน้ำมัน การพิจารณาความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาทำได้ยาก เนื่องจากลักษณะใกล้เคียงกัน ดังนั้นการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาร่วมกับการวิเคราะห์ดีเอ็นเอจึงทำให้ข้อมูลที่ได้มีความสมบูรณ์ และน่าเชื่อถือยิ่งขึ้น (Perera *et al.*, 2001)

การปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันในประเทศไทยวิธีการที่ทำในปัจจุบันคือ การทำ Reciprocal Recurrent Selection โดยการคัดเลือกพันธุ์พ่อแม่ และสร้างลูกผสม แล้วทำการทดสอบลูกผสม (progeny test) มีการประเมินลักษณะดีเด่นของลูกผสมในลักษณะต่างๆ เช่น ผลผลิตน้ำมันดิบ ผลผลิตทะลายสด จำนวนทะลาย และองค์ประกอบทะลาย ใช้ข้อมูลเหล่านี้ย้อนกลับไปคัดเลือกพันธุ์พ่อแม่ (อรรัตน์ และคณะ, 2544) ผลจากการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดีตรวจสอบระดับความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของพันธุ์พ่อแม่ก่อนที่จะนำมาผลิตลูกผสม และใช้เป็นข้อมูลประกอบการตัดสินใจในการคัดเลือกพันธุ์พ่อแม่เพื่อใช้ในโปรแกรมการปรับปรุงพันธุ์ ช่วยลดขั้นตอนการปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีดั้งเดิม การใช้เครื่องหมายโมเลกุลมีด้วยกันหลายวิธี ถ้าสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันจะทำให้การปรับปรุงพันธุ์มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น อย่างไรก็ตามการคัดเลือกในกลุ่มประชากร *E. guineensis* ซึ่งมีฐาน

พันธุกรรมค่อนข้างแคบดังได้กล่าวมาแล้วข้างต้น ความก้าวหน้าในการคัดเลือกอาจจะน้อย วัตถุประสงค์หลักของการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันคือ ต้านทานโรค เพิ่มผลผลิตน้ำมัน มีอัตราการเจริญเติบโตช้า หรือลักษณะต้นเตี้ย และมีการปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมได้ดี (Barcelos *et al.*, 2002) ซึ่งอาจต้องหาลักษณะดังกล่าวนี้จากพันธุ์ปาล์มน้ำมันในกลุ่ม *E. olifera* เพราะมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงว่าปาล์มน้ำมันในกลุ่ม *E. guineensis* (Barcelos *et al.*, 2002) และมีคุณภาพน้ำมันดีกว่า Moretzsohn และคณะ (2000) กล่าวว่าการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันในกลุ่ม *E. guineensis* โดยนำมาผสมข้ามกับปาล์มน้ำมันในกลุ่ม *E. olifera* นั้นจะช่วยเพิ่มความหลากหลายทางพันธุกรรมให้พืชในกลุ่ม *E. guineensis* ทำให้สามารถทำการคัดเลือกและปรับปรุงลักษณะสำคัญที่ต้องการ และพัฒนาพันธุ์ปาล์มน้ำมันให้ดียิ่งขึ้น

บทที่ 5

สรุป

1. การศึกษาความแตกต่างของปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอราโดยอาศัยลักษณะสัณฐานวิทยาของผล

- น้ำหนักผลของปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรามีค่าสูงสุดและมีความแปรปรวนค่อนข้างสูง รองลงมาคือพันธุ์เทเนอราซึ่งส่วนใหญ่อยู่ในช่วง 10-20 กรัม ส่วนพันธุ์พิสิเฟอรามีน้ำหนักผลน้อยกว่า 10 กรัม เป็นส่วนใหญ่

- เส้นผ่านศูนย์กลางผลปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา และเทเนอราส่วนใหญ่อยู่ในช่วง 2-3 ซม. พันธุ์พิสิเฟอรามีเส้นผ่านศูนย์กลางส่วนใหญ่น้อยกว่า 1 ซม.

- ความหนาของเนื้อปาล์มน้ำมันพันธุ์พิสิเฟอรามีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือพันธุ์เทเนอรา และดูรา แต่ส่วนใหญ่ของประชากรทั้งสามพันธุ์มีความหนาเนื้อปาล์มอยู่ในช่วง 3-6 มม.

- ความหนากะลาของปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูราส่วนใหญ่อยู่ในช่วง 2-4 มม. พันธุ์เทเนอรามีความหนากะลาส่วนใหญ่น้อยกว่า 2 มม. และพันธุ์พิสิเฟอราที่ทำการสุ่มศึกษาไม่มีกะลา

- ความหนาเนื้อในเมล็ดของปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา และเทเนอรามีค่าเฉลี่ยใกล้เคียงกัน ส่วนพันธุ์พิสิเฟอราจะมีความหนาของเนื้อในเมล็ดต่ำกว่าเล็กน้อย

2. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอราโดยเทคนิคอาร์เอพีดี

จากการทำอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ขนาด 10 เบส จำนวน 160 ชนิด (OPA-01-20, OPB-01-20, OPC-01-20, OPD-01-20, OPR-01-20, OPT-01-20, OPAA-01-20 และ OPAB-01-20) พบว่ามีไพรเมอร์ 7 ชนิดได้แก่ OPB-08, OPR-11, OPT-06, OPT-19, OPAB-01, OPAB-09 และ OPAB-14 สามารถใช้ตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอราได้ และนำข้อมูลแถบดีเอ็นเอที่ได้มาใช้ในการหาความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรม

3. การศึกษาความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรม

3.1 การศึกษาความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันแต่ละพันธุ์

จากการวิเคราะห์หาดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูราจำนวน 52 ต้น จากเดนโดรแกรมแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 ได้แก่ พันธุ์ดูราจากสถานีวิจัยเทพา พันธุ์ดูราจากบริษัทเปารงค์ออยล์ปาล์ม พันธุ์ดูราจากบริษัทไทยบุญทอง พันธุ์ดูราจากศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี พันธุ์ดูราจากสวนเกษตรกรจังหวัดกระบี่ กลุ่มที่ 2 ได้แก่ พันธุ์ดูราจากบริษัทยูนิวานิช กลุ่มที่ 3 ได้แก่ พันธุ์ดูราจากสถานีวิจัยคลองหอยโข่ง

วิเคราะห์ดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันพันธุ์เทเนอราจำนวน 60 ต้น พบว่าแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 ได้แก่ พันธุ์เทเนอราจากบริษัทเปารงค์ออยล์ปาล์ม พันธุ์เทเนอราจากศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี พันธุ์เทเนอราจากสวนเกษตรกรจังหวัดกระบี่ กลุ่มที่ 2 ได้แก่ พันธุ์เทเนอราจากบริษัทไทยบุญทอง พันธุ์เทเนอราจากสถานีวิจัยเทพา พันธุ์เทเนอราจากสถานีวิจัยคลองหอยโข่ง กลุ่มที่ 3 ได้แก่ พันธุ์เทเนอราจากบริษัทยูนิวานิช

วิเคราะห์ดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันพันธุ์พิสิเฟอราจำนวน 39 ต้น จากเดนโดรแกรมสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 ได้แก่ พันธุ์พิสิเฟอราจากบริษัทเปารงค์ออยล์ปาล์ม พันธุ์พิสิเฟอราจากสถานีวิจัยเทพา พันธุ์พิสิเฟอราจากสถานีวิจัยคลองหอยโข่ง กลุ่มที่ 2 ได้แก่ พันธุ์พิสิเฟอราจากศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี

3.2 การศึกษาความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของพันธุ์ปาล์มน้ำมันทั้งสามพันธุ์

ผลจากการวิเคราะห์และการสร้างเดนโดรแกรมพบว่า จากจำนวนประชากรปาล์มน้ำมันที่ศึกษาสามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 ได้แก่ปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอราจากบริษัทเปารงค์ออยล์ปาล์ม ปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอราจากศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี ปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา และเทเนอราจากสวนเกษตรกรแถบจังหวัดกระบี่ ปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูราจากสถานีวิจัยเทพา กลุ่มที่ 2 ได้แก่ ปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา และเทเนอราจากบริษัทไทยบุญทอง ปาล์มน้ำมันพันธุ์เทเนอรา และพิสิเฟอราจากสถานีวิจัยเทพา ปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอราจากสถานีวิจัยคลองหอยโข่ง กลุ่มที่ 3 ได้แก่ ปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา และพันธุ์เทเนอราจากบริษัทยูนิวานิช

จากค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่าส่วนใหญ่มีค่ามากกว่า 0.6 แสดงว่าประชากรปาล์มน้ำมันมีความแปรปรวนทางพันธุกรรมค่อนข้างต่ำ

เอกสารอ้างอิง

กณพ ลิขิตขจรนุวัฒน์. 2546. การศึกษาพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันโดยใช้เทคนิคไมโครแซลเทลไลท์, RAPD และ EPIC. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

กรมวิชาการเกษตร. 2541. คำแนะนำการปลูกปาล์มน้ำมันอย่างถูกต้องและเหมาะสม. กรุงเทพฯ : เบสิกเกียร์.

กัลยา วานิชย์บัญชา. 2546. การวิเคราะห์สถิติขั้นสูงด้วย SPSS for Windows. กรุงเทพฯ: ธรรมสาร.

เฉลิมพล ภูมิไชย์. 2539. การจำแนกสายพันธุ์พลับโดยใช้เทคนิค RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ชมรมเพื่อพัฒนามหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 2529. น้ำมันและอุตสาหกรรมน้ำมันปาล์ม. โครงการส่งเสริมอุตสาหกรรมน้ำมันปาล์มขนาดเล็กตามพระราชดำริ. 113 หน้า.

ธีระ เอกสมทราเมษฐ์. 2528. การปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมัน. ว.สงขลานครินทร์ 7: 417-719.

ธีระ เอกสมทราเมษฐ์ ชัยรัตน์ นิลนนท์ ธีระพงค์ จันทรนิยม ประกิจ ทองคำ และ วรรณา เลี้ยววาริณ. 2546. คู่มือปาล์มน้ำมันและการจัดการสวน. สงขลา: คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 73 หน้า.

ธีระชัย ธนานันต์ และ นฤมล ธนานันต์. 2543. เทคนิคอาร์เอพีดีกับการจำแนกพันธุ์พริก. ว. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 1:6-10.

ศิริชัย มามีวัฒนะ. 2532. ปาล์มน้ำมัน. โครงการวิจัยและพัฒนาปาล์มน้ำมัน. ศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี.กรมวิชาการเกษตร. 114 หน้า.

สกล พันธุ์ยิ้ม. 2536. หลักการและวิธีการเพิ่มปริมาณ DNA ด้วยเทคนิค PCR. รายงานการประชุมเชิงปฏิบัติการเทคนิค PCR ในการวินิจฉัยโรคและแยกวิเคราะห์ยีน นครปฐม: ณ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล 13-17 กันยายน 2536 หน้า 1-11.

สมศักดิ์ อภิสิทธิวานิช, สุมน มาสุธน, ประดิษฐ์ พงค์ทองคำ, เสาวนีย์ สุพุทธิธาดา และ สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2538. การตรวจหาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของข้าวในสกุล *Oryza* โดยเทคนิค RAPD. ว.เกษตรศาสตร์ (วิทย.) 29: 454-461.

สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. 2543. การประชุมระดมความคิดอุตสาหกรรมปาล์มน้ำมันครบวงจรระหว่างวันที่ 16-18 ธันวาคม 2543. ณ โรงแรมลักษณาธานี อ.เมือง จ. สุราษฎร์ธานี. 94 หน้า.

สุจินต์ จินายน ประเสริฐ ชิตพงศ์ พรชัย เหลืองอาภาพงค์ ธีระ เอกสมทราเมษฐ์ และ สมปอง เตชะโต. 2530. ภาวะ ปัญหา และแนวทางการแก้ไขการขาดแคลนต้นกล้าปาล์มน้ำมันพันธุ์ดีในประเทศไทย. ว. สงขลานครินทร์ 9:105-110.

สุวิมล กลศึก. 2544. การศึกษาจำนวนชุดโครโมโซมและแยกความแตกต่างระหว่างลองกองลางสาดและดูกู (*Lansium domesticum* Correa) โดยใช้เทคนิค RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

อมรรัตน์ พงศ์ดารา โชคชัย อินทพฤกษ์ พรรณี ไทยทวี วิไลวรรณ โชติเกียรติ และ สมปอง เตชะโต. 2540. การจำแนกพันธุ์ปาล์มน้ำมันด้วยคลอโรพลาสต์ดีเอ็นเอ. ฝ่ายวิจัยปาล์มน้ำมัน สำนักวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 118 หน้า.

อรรัตน์ วงศ์ศรี ศิริชัย มามีวัฒนะ ดำรง พงค์มานะวุฒิ เกริกชัย ธนรักษ์ สุพร ฆังคมณี สุรกิตติ ศรีกุล พิพัฒน์ เซี่ยงหลิว สุนีย์ นิเทศพัตรพงค์ วิชณีย์ ออมทรัพย์สิน สมาน ดิษดี ชาย โพธิวิส และ นคร สาระคุณ. 2544. การปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันและพันธุ์แนะนำ. เอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการปาล์มน้ำมันแห่งชาติ ครั้งที่ 2. ณ โรงแรมธรรมรินทร์ธนา จ. ตรัง วันที่ 31 กรกฎาคม- 1 สิงหาคม 2544.

Ashburner, G. R., Thompson, W. K. and Halloran, G. M. 1997. RAPD analysis of South Pacific coconut palm population. Crop Sci. 37: 992-997.

Balaj, A., Trujillo, I., Rosa, R. D. L. and Rallo, L. 2001. Polymorphism and discrimination capacity of randomly amplified polymorphism markers in an olive germplasm bank. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 126: 64-71.

Balester, J. and Vicente, C. D. 1998. Determination of F1 hybrid seed purity in pepper using PCR-based. Euphytica 103: 223-226.

Barcelos, E., Amblard, P., Berthaud, J. and Sequin. M. 2002. Genetic diversity and relationship in American and African oil palm as revealed by RFLP and AFLP molecular markers. Pcsq. Agropcc. Bras. Brasilia. 37: 1105-1114.

Boonsermsuk, S., Arai, T., Hasegawa, K. and Hisajima, S. 1996. Establishment of experimental condition on random amplified polymorphic DNA analysis of sago palm. Sago Communication 7: 66-74.

Boora, K. S., Frederiksen, R. and Magill, C. 1998. DNA-based markers for a recessive gene conferring anthracnose resistance in sorghum. Crop Sci. 38: 1708-1709.

Caraffa, V. B. D., Giannettini, J., Gambotti, C. and Maury, J. 2002. Genetic relationship between cultivated and wild olives of *Corsica* and *Sardinia* using RAPD markers. Euphytica 123 : 263-271.

Chen, W. H., Chen, T. M., Fu. Y. M. and Chen. W. S. 1998. Studies on somaclonal variation in *Phalaenopsis*. Plant Cell Rep. 1: 7-13.

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

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

Corezza-Nunes, M. J., Machado, M. A., Nunes, M. W. C., Cristofani, M. and Targon. 2002. Assessment of genetic variability in grapefruits (*Citrus paradisi* Macf.) and pummelos (*C.maxima* (Burn) Merr.) using RAPD and SSR markers. Euphytica 126: 169-176.

Cortes, F. S., Paz, B. S. Iniguez, A. and Liacer, G. 2001. Molecular characterization of olive cultivars using RAPD markers. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 126: 7-12.

Cristofani, M., Machado, M. A. and Grattapaglia, D. 1999. Genetic linkage maps of *Citrus sunki* Hort. ex.Tan. and *Poncirus trifoliate* (L.) Raf. and mapping of citrus tristeza virus resistance gene. Euphytica 90 : 25-32.

Degani, C., Rowland, L. J., Saunders, J. A., Hokanson, S. C., Ogden, E. L., Goldhirsh, A. G. and Galletta, G. J. 2001. A comparison of genetic relationship measures in strawberry (*Fragaria* x *ananassa* Duch.) based on AFLPs, RAPDs and pedigree data. Euphytica 117: 1-12.

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

Filho, H. D. C., Machado , M. A., Targon, M. L. P. N., Moreira, M. C. P. Q. D. G. and Pompeu Jr, J. 1998. Analysis of the genetic diversity among mandarins (*Citrus* spp.) using RAPD markers. Euphytica 102: 133-139.

Galderisi, U., Cipollaro, M., Di Bernardo, G., De Masi, L,. Galano, G. and Cascin, A. 1998. Molecular typing of Italian sweet chestnut cultivars by random amplified polymorphic DNA analysis. J. Hort. Sci. Biotech. 73: 259-263.

Hardon, J. J. 1974. Handbook of plant introduction in tropical crops. *In* Oil Crops. (ed. Leon, J.) pp. 75-89. Rome: Via delle Terme di Caracalla.

Hartley, C. W. S. 1977. The Oil Palm. London : Longman.

Huang, H., Layne, D. R and Kubisiak, T. L. 2000. RAPD inheritance and diversity in papaw (*Asimina triloba*). J. Amer. Soc. Hort. Sci. 125: 454-459.

Jaccard, P. 1908. Nouvellers recherches sur la distribution florale. Bull. Soc. Vaud. Sci. Nat. 44: 223-270.

Jack,P. L., Dimitrijevic, T. A. F. and Mayes, S. 1995. Assessment of nuclear, mitochondrial and chloroplast RFLP markers in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). Theor. Appl. Genet. 90: 643-649.

Jalani, B. S.,Cheah, S. C., Rajanaidu, N. and Darus, A. 1997. Improvement of oil palm through breeding and biotechnology. J. Am. Oil. Chem. Soc. 47: 1451-1455.

Jeon, Y. H., Ahn, S. N., Choi, H. C., Hahn, T. R. and Moon, H. P. 1999. Identification of a RAPD marker linker linked to a brown planthopper resistance gene in rice. Euphytica 107: 23-28.

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

Kleynhans, R. and Spies, J. J. 2000. Evaluation of genetic variation in *Lachenalia bulbifera* (*Hyacinthaceae*) using RAPDs. Euphytica 115: 141-147.

Lashermes, P., Trouslot, P., Anthony, F., Combes, M. C. and Charrier, A. 1996. Genetic diversity for RAPD marker between cultivated and wild accessions of *Coffea arabica*. Euphytica 87: 59-64.

Machado, M. A., Filho, C., Targon, M. L. P. N. and Pompeu, Jr. 1996. Genetic relationship of mediterraneans (*Citrus deliciosa* Tenore) using RAPD marker. Euphytica 92: 321-326.

Mayes, S., James, C. M., Horner, S. F., Jack, P. L. and Corley, R. H.V. 1997. The application of restriction fragment length polymorphism for the genetic finger printing of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). Mol. Breed. 2: 175-180.

Mielke, T. 2000. The future world demand for and prices of vegetable oils. *In* Plantation Tree Crops in the New Millennium: the way ahead. pp. 83-85. Kuala Lumpur: The Incorporated Society of Planters.

Moretzsohn, M. C., Ferreira, M. A., Amaral, Z. P. S., Coelho, P. J. A.,Grattapaglia, D. and Ferreira, M. E. 2002. Genetic diversity of Brazilian oil palm (*Elaeis oleifera* H.B.K.) germplasm collected in the Amazon Forest. Euphytica 124 : 35-45.

Moretzsohn, M. C., Nunes, C. D. M., Ferreira, M. E. and Grattapaglis, D. 2000. RAPD linkage mapping of the shell thickness locus in oil palm (*Elaeis guineensis*). Theor. Appl. Genet. 100: 63-70.

Oraguzie, N. C., Gardiner, S E., Heather, H. C. M., Stefanati, M., Ball, R. D., Vincent, V. G. M. and White, A. G. 2001. Genetic diversity and relationship in *Malus* sp. Germplasm collections as determined by randomly amplified polymorphic DNA. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 126: 318-328.

Paran, I., Aftergoot, E. and Shifriss, C. 1998. Variation in *Capsicum annuum* revealed by RAPD and AFLP markers. Euphytica 99: 167-173.

Perera, L., Russell, J. R., Provan., J. and Powell., W. 2001. Level and distribution of genetic diversity of coconut (*Cocos nucifera* L., var. *Typica* form *typica*) from Sri Lanka assessed by microsatellite markers. Euphytica 122: 381-389.

Prakash, D. P., Narayanaswamy, P. and Sondur, S. N. 2002. Analysis of molecular diversity in guava using RAPD markers. J. Hort. Sci. Biotech. 77: 287-293.

Renard, J., Noiret, J. M. and Meunier, J. 1980. Sources and rauges resistance to *Fusarium* wilt in the oil palm *Elaeis guineensis* and *Elaeis melanococca.* Oleagineux 35: 387-392.

Roman, B., Alfaro, C., Torres, A. M., Moreno, M. T., Satovic, V., Pujadas, A. and Rubiales, D. Genetic relationship among *Orobanche* species as revealed by RAPD analysis. Annals of Botany 91: 637-642.

Rosenquist, E. A. 1982. Performance of identical oil palm progenies in different environments. *In* The Oil Palm in Agriculture in the Eighties. (eds. Pushparajah E. and Chew, P. S.) pp. 131-143. Kuala Lupur: The Incorporated Society of Planters.

Saiki, R. K., Gekfand, D. H., Stoffel, S., Scharf, S. J., Higucchi, R., Horn, J. T., Mullis, K. B. and Erlich, H. A. 1987. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a themostable DNA polymerase. Science 239: 487-491.

Sedra, M. H., Lashermes, P., Trouslot, P., Combes, M. C. and Hamon, S. 1998. Identification and genetic diversity analysis of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) varieties from Morocco using RAPD markers. Euphytica 103: 75-82.

Shah, F. H., Rashid, O., Simons, A. J. and Dunsdon, A. 1994. The utility of RAPD markers for the determination of genetic variation in oil palm (*Elaeis guineensis*). Theor. Appl. Genet. 89: 713-718.

Shieh, G. J. and Thseng, F. S. 2002. Genetic diversity of Tainan-white maize inbred lines and prediction of single cross hybrid performance using RAPD markers. Euphytica 124:307-313.

Sugawara , K., Oowada, A., Moriguchi, T. and Omura, M. 1995. Identification of *Citrus* chimeras by RAPD markers. HortScience 30: 1276-1278.

Thormann, C. E., Ferreira, M.E., Camargo, L. E. A., Tivang, J. G. and Osbom, T. C. 1994. Comparison of RFLP and RAPD markers to estimating genetic relationship within and among cruciferous species. Thero. Appl. Genet. 88: 973-980.

Williams, J G. K., Kubelik, R. A., Livak, J. K., Rafalski, A. J. and Tingey, V. S. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucl. Acids. Res. 18: 6531-6535.

Winter, P. and Kahl, G.1995. Molecular marker technologies for plant improvement. World J. Microbio and Biotech.11: 438-448.

ภาคผนวก

1. CTAB บัฟเฟอร์ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

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

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

2. TE บัฟเฟอร์ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

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

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 มิลลิลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

3. TAE บัฟเฟอร์เข้มข้น 5 เท่า

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

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 มิลลิลิตร เจือจางความเข้มข้นเป็น 1 เท่า แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อก่อนนำมาใช้

4. TBE บัฟเฟอร์เข้มข้น 5 เท่า

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

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 4 ลิตร เจือจางความเข้มข้นเป็น 1 เท่า แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อก่อนนำมาใช้

5. DNA sample buffer

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

ปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อก่อนนำมาใช้

6. Ethidium bromide 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตรต่อ Ethidium bromide 1 กรัม

ไพรเมอร์ที่ใช้ในการทดสอบ

ตารางผนวกที่ 1 ไพรเมอร์ที่ใช้ทดสอบ ลำดับเบสของไพรเมอร์ และผลที่ได้จากการทดสอบ RAPD-PCR กับดีเอ็นเอของปาล์มน้ำมัน

ไพรเมอร์	ลำดับเบส	รูปแบบ
OPA-01	CAGGCCCTTC	monomorphism
OPA-02	TGCCGAGCTG	monomorphism
OPA-03	AGTCAGCCAC	monomorphism
OPA-04	AATCGGGCTG	not clear
OPA-05	AGGGGTCTTG	polymorphism
OPA-06	GGTCCCTGAC	non-amphified
OPA-07	GAAACGGGTG	non-amphified
OPA-08	GTGACGTAGG	non-amphified
OPA-09	GGGTAACGCC	monomorphism
OPA-10	GTGATCGCAG	monomorphism
OPA-11	CAATCGCCGT	polymorphism
OPA-12	TCGGCGATAG	not clear
OPA-13	CAGCACCCAC	monomorphism
OPA-14	TCTGTGCTGG	not clear
OPA-15	TTCCGAACCC	polymorphism
OPA-16	AGCCAGCGAA	non-amphified
OPA-17	GACCGCTTGT	not clear
OPA-18	AGGTGACCGT	not clear
OPA-19	CAAACGTCGG	monomorphism
OPA-20	GTTGCGAFCC	monomorphism
OPB-01	GTTTCGCTCC	polymorphism
OPB-02	TGATCCCTGG	monomorphism
OPB-03	CATCCCCCTG	polymorphism
OPB-04	GGACTGGAGT	monomorphism
OPB-05	TGCGCCCTTC	monomorphism
OPB-06	TGCTCTGCCC	polymorphism
OPB-07	GGTGACGCAG	polymorphism

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

ไพรเมอร์	ลำดับเบส	รูปแบบ
OPB-08	GTCCACACGG	polymorphism
OPB-09	TGGGGGACFC	monomorphism
OPB-10	CTGCTGGGAC	monomorphism
OPB-11	GTAGACCCGT	polymorphism
OPB-12	CCTTGACGCA	monomorphism
OPB-13	TTCCCCCGCT	polymorphism
OPB-14	TCCGCTCTGG	monomorphism
OPB-15	GGAGGGTGTT	polymorphism
OPB-16	TTTGCCCGGA	monomorphism
OPB-17	AGGGAACGAG	not clear
OPB-18	CCACAGCAGT	polymorphism
OPB-19	ACCCCCGAAG	non-amphified
OPB-20	GGACCCTTAC	monomorphism
OPC-01	TTCGAGCCAG	monomorphism
OPC-02	GTGAGGCGTC	polymorphism
OPC-03	GGGGGTCTTT	not clear
OPC-04	CCGCATCTAC	monomorphism
OPC-05	GATGACCGCC	monomorphism
OPC-06	GAACGGACTC	polymorphism
OPC-07	GTCCCGACGA	polymorphism
OPC-08	TGGACCGGTG	polymorphism
OPC-09	CTCACCGTCC	polymorphism
OPC-10	TGTCTGGGTG	polymorphism
OPC-11	AAAGCTGCGG	polymorphism
OPC-12	TGTCATCCCC	polymorphism
OPC-13	AAGCCTCGTC	polymorphism
OPC-14	TGCGTGCTTG	monomorphism
OPC-15	GACGGATCAG	polymorphism
OPC-16	CACACTCCAG	not clear

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

ไพรเมอร์	ลำดับเบส	รูปแบบ
OPC-17	TTCCCCCCAG	not clear
OPC-18	TGAGTGGGTG	not clear
OPC-19	GTTGCCAGCC	monomorphism
OPC-20	ACTTCGCCAC	polymorphism
OPD-01	ACCGCGAAGG	monomorphism
OPD-02	GGACCCAACC	polymorphism
OPD-03	GTCGCCGTCA	monomorphism
OPD-04	TCTGGTGAGG	monomorphism
OPD-05	TGAGCGGACA	non-amphified
OPD-06	ACCTGAACGG	monomorphism
OPD-07	TTGGCACGGG	polymorphism
OPD-08	GTGTGCCCCA	polymorphism
OPD-09	CTCTGGAGAC	non-amphified
OPD-10	GGTCTACACC	monomorphism
OPD-11	AGCGCCATTG	not clear
OPD-12	CACCGTATCC	monomorphism
OPD-13	GGGGTGACGA	monomorphism
OPD-14	CTTCCCCAAG	non-amphified
OPD-15	CATCCGTGCT	not clear
OPD-16	AGGGCGTAAG	monomorphism
OPD-17	TTTCCCACGG	monomorphism
OPD-18	GAGAGCCAAC	monomorphism
OPD-19	CTGGGGACTT	monomorphism
OPD-20	ACCCGGTCAC	monomorphism
OPR-01	TGCGGGTCCT	monomorphism
OPR-02	CACAGCTGCC	polymorphism
OPR-03	ACACAGAGGG	monomorphism
OPR-04	CCCGTAGCAC	polymorphism
OPR-05	GACCTAGTGG	not clear

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

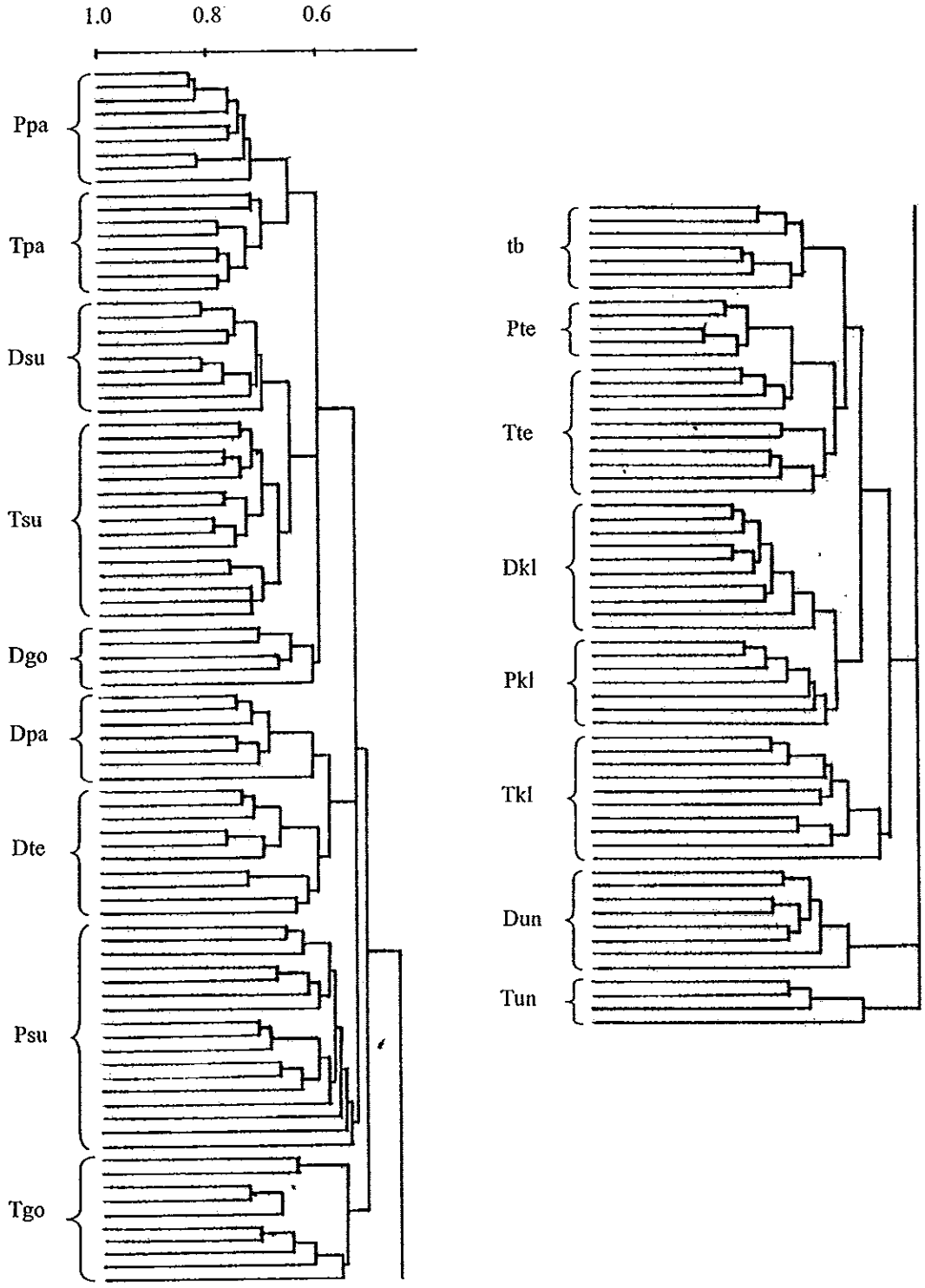
ไพรเมอร์	ลำดับเบส	รูปแบบ
OPR-06	GTCTACGGCA	polymorphism
OPR-07	ACTGGCCTGA	monomorphism
OPR-08	CCCGTTGCCT	monomorphism
OPR-09	TGAGCACGAG	monomorphism
OPR-10	CCATTCCCCA	not clear
OPR-11	GTAGCCGTCT	monomorphism
OPR-12	ACAGGTGCGT	monomorphism
OPR-13	GGACGACAAG	monomorphism
OPR-14	CAGGATTCCC	not clear
OPR-15	GGACAACGAG	not clear
OPR-16	CTCTGCGCGT	polymorphism
OPR-17	CCGTACGTAG	not clear
OPR-18	GGCTTTGCCA	polymorphism
OPR-19	CCTCCTCATC	polymorphism
OPR-20	ACGGCAAGGA	polymorphism
OPT-01	GGGCCACTCA	monomorphism
OPT-02	GGAGAGACTC	not clear
OPT-03	TCCACTCCTG	monomorphism
OPT-04	CACAGAGGGA	polymorphism
OPT-05	GGGTTTGGCA	polymorphism
OPT-06	CAAGGGCAGA	polymorphism
OPT-07	GGCAGGCTGT	not clear
OPT-08	AACGGCGACA	monomorphism
OPT-09	CACCCCTGAG	non-amphified
OPT-10	CCTTCGGAAG	monomorphism
OPT-11	TTCCCCGCGA	polymorphism
OPT-12	GGGTGTGTAG	polymorphism
OPT-13	AGGACTGCCA	polymorphism
OPT-14	AATGCCGCAG	polymorphism

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

ไพรเมอร์	ลำดับเบส	รูปแบบ
OPT-15	GGATGCCACT	monomorphism
OPT-16	GGTGAACGCT	polymorphism
OPT-17	CCAACGTCGT	polymorphism
OPT-18	GATGCCAGAC	polymorphism
OPT-19	GTCCGTATGG	polymorphism
OPT-20	GACCAATGCC	polymorphism
OPAA-01	AGACGGCTCC	monomorphism
OPAA-02	GAGACCAGAC	monomorphism
OPAA-03	TTAGCGCCCC	polymorphism
OPAA-04	AGGACTGCTC	monomorphism
OPAA-05	GGCTTTAGCC	monomorphism
OPAA-06	GTGGGTGCCA	not clear
OPAA-07	CTACGCTCAC	polymorphism
OPAA-08	TCCGCAGTAG	non-amphified
OPAA-09	AGATGGGCAG	polymorphism
OPAA-10	TGGTCGGGTG	polymorphism
OPAA-11	ACCCGACCTG	polymorphism
OPAA-12	GGACCTCTTG	polymorphism
OPAA-13	GAGCGTCGCT	non-amphified
OPAA-14	AACGGGCCAA	monomorphism
OPAA-15	ACGGAAGCCC	polymorphism
OPAA-16	GGAACCCACA	monomorphism
OPAA-17	GAGCCCGACT	polymorphism
OPAA-18	TGGTCCAGCC	polymorphism
OPAA-19	TGAGGCGTGT	monomorphism
OPAA-20	TTGCCTTCGG	polymorphism
OPAB-01	CCGTCGGTAG	polymorphism
OPAB-02	GGAAACCCCT	polymorphism
OPAB-03	TGGCGCACAC	polymorphism

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

ไพรเมอร์	ลำดับเบส	รูปแบบ
OPAB-04	GGCACGCGTT	non-amphified
OPAB-05	CCCGAAGCGA	monomorphism
OPAB-06	GTGGCTTGGA	monomorphism
OPAB-07	GTAAACCGCC	monomorphism
OPAB-08	GTTACGGACC	monomorphism
OPAB-09	GGGCGACTAC	polymorphism
OPAB-10	TTCCCTCCCA	monomorphism
OPAB-11	GTGCGCAATG	monomorphism
OPAB-12	CCTGTACCGA	monomorphism
OPAB-13	CCTACCGTGG	polymorphism
OPAB-14	AAGTGCGACC	polymorphism
OPAB-15	CCTCCTTCTC	polymorphism
OPAB-16	CCCGGATGGT	polymorphism
OPAB-17	TCGCATCCAG	polymorphism
OPAB-18	CTGGCGTGTC	polymorphism
OPAB-19	ACACCGATGG	monomorphism
OPAB-20	CTTCTCGGAC	monomorphism



รูปผนวกที่ 1 เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ของปาล์มน้ำมันพันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอรา จำนวน 151 ต้น จากการสร้างด้วย UPGMA โปรแกรม SPSS