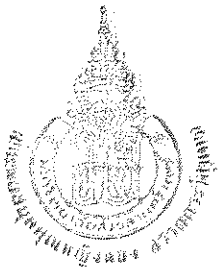


ความแปรปรวนทางพันธุกรรมของสะตอ (*Parkia speciosa* Hassk.) และความสัมพันธ์ของพืชสกุล *Parkia* โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี (Random Amplified Polymorphic DNA, RAPD)

Genetic Variation of *Parkia speciosa* Hassk. and Relatedness of *Parkia* spp. Based on Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Technique

กุลยา สุวรรณรัตน์

Kunlaya Suwannarat

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพืชศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Master of Science in Plant Science
Prince of Songkla University
2550

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ง
เลขหมู่ QK495.L52 ก74 ส550 ก 2
Bib Key 296499
28 ก.ค. 2550

ชื่อวิทยานิพนธ์	ความแปรปรวนทางพันธุกรรมของสะตอ (*Parkia speciosa* Hassk.) และความสัมพันธ์ของพืชสกุล *Parkia* โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี (Random Amplified Polymorphic DNA, RAPD)
ผู้เขียน	นางสาวกุลยา สุวรรณรัตน์
สาขาวิชา	พืชศาสตร์

คณะกรรมการที่ปรึกษา

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.จรัสศรี นวลศรี)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิจิตต์ วรรณชิต)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.สมปอง เตชะโต)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.จรัสศรี นวลศรี)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิจิตต์ วรรณชิต)

.....กรรมการ
(ดร.ฉัตรชัย งามเรียบสกุล)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.เกริกชัย ทองหนู)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์	ความแปรปรวนทางพันธุกรรมของสะตอ (*Parkia speciosa* Hassk.) และความสัมพันธ์ของพืชสกุล *Parkia* โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี (Random Amplified Polymorphic DNA, RAPD)
ผู้เขียน	นางสาวกุลยา สุวรรณเรัตน์
สาขาวิชา	พืชศาสตร์
ปีการศึกษา	2549

บทคัดย่อ

ทำการศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมระหว่างพืชสกุล *Parkia* ทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ สะตอ (*Parkia speciosa* Hassk.) เหรียง (*Parkia timoriana* Merr.) ค้อนก้อง (*Parkia leiophylla* Kurz) และลูกดิ่ง (*Parkia sumatrana* Miq.) รวมทั้งพืชอีก 2 ชนิดในสกุล *Parkia* คือ ทง และเตียน โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี ทำการเก็บรวบรวมตัวอย่างพืชจากศูนย์วิจัยพืชสวนตรัง จังหวัดตรัง สวนเกษตรกร จังหวัดสงขลา สุราษฎร์ธานี พัทลุง และเลย สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช จังหวัดนครราชสีมา จำนวนทั้งหมด 103 ต้น โดยพิจารณาลักษณะทางสัณฐานวิทยาร่วมด้วย จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของใบย่อย สามารถแยกความแตกต่างระหว่างพืชสกุล *Parkia* ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ ปลายใบย่อยมน และปลายใบย่อยแหลม ส่วนขนาดใบย่อย พบว่า ลูกดิ่งมีขนาดใบย่อยใหญ่ที่สุด รองลงมา คือ ค้อนก้อง เหรียง และสะตอ ตามลำดับ ลักษณะสีของช่อดอก และการเรียงตัวของเมล็ด สามารถแยกลูกดิ่งออกจากชนิดอื่นได้ ลักษณะฝักของเหรียง และ ทง มีความแตกต่างจากชนิดอื่นค่อนข้างชัดเจน เมื่อศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมโดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี จากการทดสอบเบื้องต้นด้วยไพรเมอร์ขนาด 10 เบส จำนวน 180 ไพรเมอร์ คัดเลือกได้ 8 ไพรเมอร์ คือ OPB-04, OPB-17, OPB-18, OPC-02, OPR-01, OPR-02, OPT-01 และ OPAB-03 เพื่อศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมในประชากรทั้งหมด 103 ต้น พบว่า ให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 125 แถบ เฉลี่ย 15.63 แถบต่อไพรเมอร์ เป็นแถบที่ให้ความแตกต่างกัน จำนวน 101 แถบ (80.80%) และพบแถบดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะกับค้อนก้อง และลูกดิ่ง เมื่อแยกเปรียบเทียบภายในกลุ่มสะตอ จำนวน 69 ต้น ปรากฏแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 112 แถบ เฉลี่ย 14 แถบต่อไพรเมอร์ แถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างกัน จำนวน 77 แถบ (68.75%) แต่ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่สามารถแยกสะตอข้าว และสะตอดานได้ จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมโดยใช้วิธี UPGMA จากโปรแกรม NTSYS (Version 2.1) ผลการวิเคราะห์เดนโดรแกรม สามารถแบ่งกลุ่มประชากรพืช

สกุล *Parkia* ได้ 5 กลุ่ม โดยมีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมระหว่าง 0.437 – 1.000 ซึ่งชี้ให้เห็นว่าพืชสกุล *Parkia* เป็นพืชที่มีฐานพันธุกรรมกว้าง ส่วนค่าความใกล้ชิดทางพันธุกรรมภายใน *Parkia speciosa* Hassk. มีค่าอยู่ระหว่าง 0.533 – 0.946 ในกลุ่มนี้พบว่า ความใกล้ชิดทางพันธุกรรมขึ้นกับแหล่งที่เก็บตัวอย่างด้วย นอกจากนี้ พบว่า เตียนถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับเหรียง ส่วนทงมีความใกล้ชิดกับค้อนก้องมากกว่าชนิดอื่น

Thesis Title	Genetic Variation of *Parkia speciosa* Hassk. and Relatedness of *Parkia* spp. Based on Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Technique
Author	Miss Kunlaya Suwannarat
Major Program	Plant Science
Academic Year	2006

ABSTRACT

A study on the genetic variability in genus *Parkia* was undertaken using an RAPD technique to investigate relatedness among the following 4 species: sator (*Parkia speciosa* Hassk.), riang (*P. timoriana* Merr.), khonkhong (*P. leiophylla* Kurz) and lukding (*P. sumatrana* Miq.). Two other types of *Parkia*, tong and tien, were also included in the study. Leaf samples of 103 plants were collected from Trang Horticultural Research Centre in Trang province, private plantations in Songkhla, Surat Thani, Patthalung and Loei provinces, and Sakaerat Environmental Research Station, Nakhonratchasima province. Morphological characters of all specimens were recorded. The recordings indicated that *Parkia* has 2 different forms of leaf apex: rounded and acute – bent forward. The leaflet size of lukding was larger than khonkhong, riang and sator. The inflorescence and seed arrangement of lukding were different from other *Parkia* while the pod shapes of riang and tong were different. For RAPD analysis, DNA from the leaf samples was isolated using CTAB buffer and 180 decamer oligonucleotide primers were first screened. Of a total of 180 primers screened, only 8 primers (OPB-04, OPB-17, OPB-18, OPC-02, OPR-01, OPB-R2, OPT-01 and OPAB-03) were chosen for genetic variation analysis of 103 individual plants. A total of 125 amplified fragments were obtained from 8 primers with an average of 15.63 fragments per primer, of which 101 fragments (80.80%) were polymorphisms. Some specific fragments of DNA were found for khonkhong and lukding. For *P. speciosa* Hassk., 77 polymorphic fragments (68.75%) were obtained with an average of 14 fragments per primer. A dendrogram showing genetic similarities among *Parkia* species was constructed based on polymorphic bands using UPGMA, and a cluster analysis was performed using NTSYS program

(v2.1). The results from the dendrogram revealed 5 groups of *Parkia* with similarity coefficients ranging from 0.437 – 1.000. The results indicated a wide genetic diversity of four species in genus *Parkia*. Similarity coefficients among *P. speciosa* Hassk. varied from 0.533 to 0.946. The clusterings among *P. speciosa* Hassk. were correlated to geographical location of collected samples and no specific fragment common to sator khao and sator dan was detected. Based on the dendrogram constructed from RAPD in this study, tien is in the same group as riang and tong is closed to khonkhong.

กิตติกรรมประกาศ

กราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.จรัสศรี นวลศรี ประธานกรรมการ ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์เป็นอย่างสูง ที่กรุณาให้คำแนะนำในการค้นคว้าวิจัยและแก้ไขปัญหาต่างๆ รวมทั้งอบรมสั่งสอนแนะแนวทางการวิจัย ตรวจทานแก้ไข และการเขียนวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์ ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิจิตต์ วรรณชิต กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.สมปอง เตชะโต ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และดร.ฉัตรชัย งามเรียบสกุล กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ และตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณทบวงมหาวิทยาลัย บัณฑิตวิทยาลัย และภาควิชาพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์สนับสนุนเงินทุนในการทำวิทยานิพนธ์ และให้ความอนุเคราะห์ห้องปฏิบัติการ ตลอดจนวัสดุอุปกรณ์ต่างๆ

ขอขอบคุณ ศูนย์วิจัยพืชสวนตรัง จ. ตรัง สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช จ. นครราชสีมา สวนเกษตรกร จ. สงขลา สุราษฎร์ธานี พัทลุง และเลย ที่เอื้อเฟื้อตัวอย่างพืชสกุลสะตอในการวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณ คุณสายชล จันมาก คุณปริชาติ คงสุวรรณ คุณกรกช นาคคนอง บุคลากรภาควิชาพืชศาสตร์ เพื่อนๆ พี่ๆ และน้องๆ ทุกคน ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัยครั้งนี้

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ พี่และน้องที่ให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจให้ผู้เขียนมาโดยตลอดจนสำเร็จการศึกษา

กุลยา สุวรรณรัตน์

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(8)
รายการตาราง	(9)
รายการรูป	(10)
บทที่	
1 บทนำ	
บทนำต้นเรื่อง	1
ตรวจเอกสาร	3
วัตถุประสงค์	14
2 วิธีการวิจัย	15
วิธีดำเนินการ	15
วัสดุและอุปกรณ์	19
3 ผล	22
4 วิจารณ์	52
5 สรุป	58
เอกสารอ้างอิง	60
ภาคผนวก	71
ประวัติผู้เขียน	81

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ลักษณะประจำกลุ่มของสะตอข้าว และสะตอดาน	5
2	คุณค่าทางอาหารในเมล็ดสะตอ 100 กรัม	7
3	จำนวนตัวอย่าง และสถานที่เก็บตัวอย่างของพืชสกุล *Parkia* ที่ใช้ในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และความแปรปรวนทางพันธุกรรมโดยเทคนิคอาร์เอพีดี	16
4	เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนฝักต่อช่อ จำนวนเมล็ดต่อฝัก ความกว้าง – ความยาวฝักและเมล็ดของสะตอข้าวและสะตอดาน จำนวน 31 ต้น วิเคราะห์โดยโปรแกรม SAS	29
5	ชนิดของไพรเมอร์ ลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอเหมือนกัน และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่ต่างกัน จากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดี ในพืชสกุล *Parkia* ทั้ง 4 ชนิด ทง และเตียน จำนวนทั้งหมด 103 ต้น	32
6	ชนิดของไพรเมอร์ จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกัน และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่แตกต่าง จากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดีภายในกลุ่มสะตอ (สะตอข้าว และสะตอดาน) จำนวนทั้งหมด 69 ต้น	33
7	เปอร์เซ็นต์แถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างในพืชสกุล *Parkia* ทง และเตียน จำนวน 103 ตัวอย่าง จากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดี	42
8	ค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Parkia* ในแต่ละชนิด	46
9	ค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของสะตอข้าว และสะตอดาน จำนวน 69 ต้น	50
ตารางภาคผนวกที่ 1		
1	ไพรเมอร์ที่ใช้ทดสอบ ลำดับเบสของไพรเมอร์ และผลที่ได้จากการทดสอบอาร์เอพีดี – พีซีอาร์ กับดีเอ็นเอของพืชสกุล *Parkia* ทง และเตียน	74

รายการรูป

รูปที่		หน้า
1	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของทง ทรงพุ่ม (ก) ช่อดอก (ข) ฝัก (ค) และเมล็ด (ง)	6
2	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเตียน ทรงพุ่ม (ก) และใบ (ข)	6
3	ลักษณะปลายใบ และขนาดใบย่อยของพืชสกุล *Parkia* ทั้ง 4 ชนิด (ก) ปลายใบมน พบในสะตอ (St) และลูกดิ่ง (Ld) (ข) ปลายใบแหลม พบในเหรียง (Ri) และค้อนก้อง (Kg) (ค) ขนาดใบย่อยของสะตอ (St) เหรียง (Ri) ค้อนก้อง (Kg) และลูกดิ่ง (Ld)	23
4	ลักษณะช่อดอกของพืชสกุล *Parkia* ทั้ง 4 ชนิด คือ สะตอ (ก) เหรียง (ข) ค้อนก้อง (ค) และลูกดิ่ง (ง)	24
5	ลักษณะฝักของพืชสกุล *Parkia* ทั้ง 4 ชนิด คือ สะตอ (ก) เหรียง (ข) ค้อนก้อง (ค) และลูกดิ่ง (ง)	25
6	ลักษณะเปลือกหุ้มเมล็ดบาง พบในสะตอ (ก) ลูกดิ่ง (ข) เปลือกหุ้มเมล็ดแข็ง พบในเหรียง (ค) และค้อนก้อง (ง)	26
7	ลักษณะการเรียงตัวของเมล็ดในพืชสกุล *Parkia* ทั้ง 4 ชนิด (ก) เมล็ดเรียงในแนวดิ่ง พบในลูกดิ่ง (ข) เมล็ดเรียงในขวาง พบในสะตอ เหรียง และค้อนก้อง	26
8	ลักษณะฝักของกลุ่มสะตอข้าว (ก) และกลุ่มสะตอดาน (ข) จากการคัดเลือกลักษณะฝักที่เห็นลักษณะภายนอกแตกต่างกันชัดเจน	28
9	เปรียบเทียบลักษณะใบของทง (ก) และเตียน (ข) กับสะตอ (ค)	30
10	เปรียบเทียบลักษณะฝักของทง (ก) กับเหรียง (ข)	30
11	รูปแบบของแถบดีเอ็นเอในตัวอย่างสะตอ (lane 1-5) เหรียง (lane 6-8) ค้อนก้อง (lane 9-11) ลูกดิ่ง (lane 12-16) ทง (lane 17-18) และเตียน (lane 19) จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPAB-03 (ก) OPR-02 (ข) และ OPR-01 (ค) M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส	35

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
12	รูปแบบของแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างสะตอ (lane 1-5) เหรียง (lane 6-9) ค้อน ก้อง(lane 10-12) ลูกดิ่ง (lane 13-17) ทง (lane 18-19) และเตียน (lane 20) จาก เทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPT-01 (ก) OPC-02 (ข) และ OPB-17 (ค) M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส	36
13	รูปแบบของแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างสะตอ (lane 1-5) เหรียง (lane 6-8) ค้อน ก้อง (lane 9) ลูกดิ่ง (lane 10-14) ทง (lane 15-16) และเตียน (lane 17) จาก เทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPB-18 (ก) และไพรเมอร์ OPB-04 (ข) M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส	37
14	รูปแบบของแถบดีเอ็นเอในตัวอย่างสะตอข้าว และสะตอดาน จากแหล่งเก็บใน เขตจังหวัดสุราษฎร์ธานี (lane 1-4; 13-16) ตรัง (lane 5-8; 17-20) และสงขลา (lane 9-12; 21-24) จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPB-17 (ก) OPR-01 (ข) และ OPR-02 (ค) M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส	38
15	รูปแบบของแถบดีเอ็นเอในกลุ่มสะตอข้าว (lane 1-19) และสะตอดาน (lane 20-31) ที่คัดเลือกลักษณะที่แตกต่างชัดเจนของฝัก จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพร เมอร์ OPT-01 (ก) OPR-01 (ข) และ OPAB-03 (ค) M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส	39
16	รูปแบบของแถบดีเอ็นเอในกลุ่มสะตอข้าว (lane 1-19) และสะตอดาน (lane 20-31) ที่คัดเลือกลักษณะที่แตกต่างชัดเจนของฝัก จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพร เมอร์ OPB-04 (ก) OPB-17 (ข) และ OPB-18 (ค) M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส	40
17	รูปแบบของแถบดีเอ็นเอในกลุ่มสะตอข้าว (lane 1-19) และสะตอดาน (lane 20-31) ที่คัดเลือกลักษณะที่แตกต่างชัดเจนของฝัก จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพร เมอร์ OPC-02 (ก) และ OPR-02 (ข) M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส	41
18	เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพืชสกุล *Parkia* ทั้ง 4 ชนิด ทง และ เตียน จำนวนทั้งหมด 103 ต้น จากการสร้างด้วย UPGMA โปรแกรม NTSYS version 2.1	45

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
19	เปรียบเทียบการกระจายตัวของค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Parkia* ทั้ง 4 ชนิด ทง และเตียน จำนวน 103 ตัวอย่าง	46
20	เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสะตอข้าว และสะตอดาน จากแหล่งเก็บจังหวัดตรัง สงขลา และสุราษฎร์ธานี จำนวน 69 ต้น สร้างด้วย UPGMA โปรแกรม NTSYS version 2.1	49
21	เปรียบเทียบการกระจายตัวของค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรม ระหว่างกลุ่มประชากรสะตอ จำนวน 69 ตัวอย่าง	51
22	เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มสะตอข้าว และสะตอดาน ที่คัดเลือกลักษณะแตกต่างชัดเจนของฝัก จำนวน 31 ตัวอย่าง สร้างด้วย UPGMA โปรแกรม NTSYS version 2.1	51

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

สะตอ (*Parkia speciosa* Hassk.) เป็นพืชตระกูลถั่ว อยู่ในวงศ์ Mimosaceae มีถิ่นกำเนิดอยู่ในคาบสมุทรมาลายา ซึ่งเป็นแถบพื้นที่ภาคใต้ของไทยและมาเลเซียตลอดไปจนถึงหมู่เกาะต่างๆ ของประเทศอินโดนีเซีย (Nielsen, 1985) และพม่า (Jensen, 1995) สะตอเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจพืชหนึ่ง เห็นได้จากปัจจุบันมีผู้นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายทั่วทุกภาคของประเทศ และมีการส่งออกผลผลิตไปยังต่างประเทศ ในอดีตผลผลิตสะตอได้จากการเก็บจากต้นที่ขึ้นอยู่ในป่า แต่เมื่อพื้นที่ป่าลดลงการเก็บผลผลิตสะตอจากป่าเพียงอย่างเดียวไม่เพียงพอกับความต้องการของตลาดและการบริโภค จึงมีการนำสะตอมาปลูกเป็นระบบสวน หรือปลูกแซมกับพืชอื่นๆ ปัจจุบันพบว่า สะตอไม่ได้ปลูกเฉพาะภาคใต้เพียงแห่งเดียว ภาคตะวันออกแถบจังหวัดจันทบุรีก็ได้นำสะตอไปปลูกเป็นจำนวนมาก และมีแนวโน้มว่าในอนาคตจะมีผู้สนใจทำสวนสะตอเป็นอาชีพมากขึ้น กรมส่งเสริมการเกษตร (2538) อ้างโดย จารุ (2541) รายงานว่า ภาคใต้มีพื้นที่ปลูกสะตอจำนวน 135,031 ไร่ แหล่งปลูกที่สำคัญได้แก่ จังหวัดชุมพร ระนอง และนครศรีธรรมราช แหล่งปลูกภาคอื่นๆ เช่น ภาคตะวันออก ได้แก่ จังหวัดจันทบุรี และตราด สะตอที่นิยมปลูกเพื่อบริโภค และพบเห็นวางขายตามท้องตลาด มี 2 กลุ่ม คือ กลุ่มสะตอข้าว และสะตอดาน ผลผลิตของสะตอทั้งสองสามารถนำมาประกอบอาหารได้หลายประเภท ทั้งสามารถเก็บไว้บริโภคนอกฤดูกาลในรูปของสะตอดอง (สมพร, 2534) นอกจากนี้สะตอเป็นพืชที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยในส่วนเมล็ดมีปริมาณโปรตีนอยู่ประมาณ 8 – 9 % ของน้ำหนัก (กองโภชนาการ, 2530) นอกจากสะตอแล้ว ยังพบว่าพืชในสกุล *Parkia* ที่พบเห็นเจริญเติบโตในประเทศไทย มีอีก 3 ชนิด คือ เหรียง (*Parkia timoriana* Merr.) ลูกดิ่ง (*Parkia sumatrana* Miq.) และค้อนก้อง (*Parkia leiophylla* Kurz) (เต็ม, 2523) พืชเหล่านี้มีการนำมาบริโภคเช่นเดียวกัน วิฑูรย์ และคณะ (2543) รายงานว่า เหรียง พบกระจายทั่วไปทางแถบภาคใต้ และมีสรรพคุณแก้จุกเสียด ส่วนลูกดิ่ง พบทางแถบภาคตะวันออกเฉียงเหนือในจังหวัดนครราชสีมา ภาคตะวันออกในจังหวัดปราจีนบุรีและจันทบุรี มีสรรพคุณในการลดความดันในเลือด ลดเบาหวาน เป็นยาระบายอ่อนๆ ฆ่าเชื้อราและแบคทีเรียใน

ร่างกายได้ (สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช, 2548) ค้อนก้อง พบทางแถบภาคเหนือ ยังไม่มีการรายงานเกี่ยวกับประโยชน์ด้านอื่นๆ นอกจากการนำมาบริโภค (สุรีย์ และอนันต์, 2540)

ปัจจุบันพบว่า สะตอในธรรมชาติมีความแปรปรวนค่อนข้างสูง ไม่ว่าจะเป็นช่วงระยะเวลาในการออกดอก ติดฝัก ลักษณะของฝัก และเมล็ด มีความแตกต่างกันหลายแบบ ทำให้ยากที่จะใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาระบุให้ชัดเจนได้ ความแปรปรวนที่เกิดขึ้นนี้ ส่งผลต่อจำนวนผลผลิต คุณภาพ และราคา สิ่งเหล่านี้เป็นปัจจัยสำคัญที่ต้องคำนึงถึงในด้านความต้องการของตลาดและผู้บริโภค สาเหตุสำคัญเนื่องมาจากสะตอเป็นพืชผสมข้าม (จารุ, 2541) การผสมข้ามระหว่างต้นพืชสามารถเกิดขึ้นได้ทั้งชนิดเดียวกัน หรือเป็นการผสมข้ามระหว่างชนิดก็อาจเกิดขึ้นได้เช่นกัน ดังนั้นเมื่อมีการปลูกด้วยเมล็ด จึงส่งผลให้เกิดความแปรปรวนในธรรมชาติ และมีโอกาสกลายพันธุ์หรือการพัฒนาเป็นพันธุ์ใหม่ที่แตกต่างไปจากเดิม สาเหตุดังกล่าวจึงเป็นปัญหาที่จะต้องมีการศึกษาถึงความแปรปรวนทางพันธุกรรมของสะตอในธรรมชาติ รวมไปถึงความสัมพันธ์ระหว่างพืชสกุล *Parkia* ทั้ง 4 ชนิด เพื่อที่จะสามารถนำข้อมูลที่ได้เป็นพื้นฐานไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ และใช้เป็นข้อมูลในการศึกษาประวัติวิวัฒนาการของพืชได้

ตรวจเอกสาร

1. พืชสกุล *Parkia*

1.1 ลักษณะทั่วไปของพืชสกุล *Parkia*

พืชสกุล *Parkia* จัดอยู่ในวงศ์ Mimosaceae พบกระจายทั่วไปในเขตร้อนชื้นมีอยู่ประมาณ 40 ชนิด เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง ใบเป็นใบประกอบ ลักษณะเป็นช่อขนนกสองชั้น (Bipinnate) มีใบย่อยเล็กๆ เรียงตรงข้ามกันในก้านช่อใบ ดอกอัดกันแน่นบนช่อดอก เรียกว่า Capitula (Hopkins, 1984) Luckow และ Hopkins (1995) ศึกษาการจัดจำแนกพืชสกุล *Parkia* ได้เป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่ม *Parkia* platy*Parkia* และ sphaero*Parkia* โดยอาศัยลักษณะของดอกย่อย การจัดเรียงและตำแหน่งของดอกย่อย ซึ่งพบว่าในกลุ่ม *Parkia* แต่ละช่อดอกประกอบด้วยดอกย่อย 3 ชนิด คือ ดอกตัวผู้ ดอกสมบูรณ์เพศ และดอกผลิตน้ำหวาน ส่วนเมล็ดมีลักษณะรีหรือคล้ายรูปไข่ค่อนข้างแบน จากรายงานของสุรีย์ และอนันต์ (2540) พบว่า พืชสกุล *Parkia* ในประเทศไทยมี 4 ชนิด คือ

1.1.1 สะตอ (*Parkia speciosa* Hassk.) เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง สูงประมาณ 30 เมตร ลำต้นตรง แตกกิ่งก้านสาขาเป็นทรงพุ่มแผ่กว้าง ใบเป็นใบประกอบ บนแกนช่อใบจะมีใบย่อยแยกออกเป็นคู่ จำนวนประมาณ 14 – 18 คู่ แต่ละคู่มีใบย่อยขนาดเล็ก จำนวนประมาณ 31 – 38 คู่ ปลายใบมน ดอกมีขนาดเล็กอัดติดกันเป็นช่อ ฝักมีการบิดเวียนหรือแบนตรง ยาวประมาณ 36 – 45 เซนติเมตร กว้างประมาณ 3 – 5 เซนติเมตร มีเมล็ดเรียงตามขวาง ยาวประมาณ 2.2 – 2.5 เซนติเมตร กว้างประมาณ 1.5 – 2.0 เซนติเมตร มีเปลือกหุ้มเมล็ดบาง ออกดอกระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ – เมษายน และติดฝักเดือนพฤษภาคม – กรกฎาคม พบเห็นทางแถบภาคใต้ตั้งแต่ ชุมพร สุราษฎร์ธานี พังงา ภูเก็ต ตรัง ยะลา เป็นต้น

1.1.2 เหรียง (*Parkia timoriana* Merr.) เป็นไม้ยืนต้นโตกว่าสะตอ สูงประมาณ 50 เมตร ลักษณะอื่นๆ โดยทั่วไปคล้ายกับสะตอ ทรงพุ่มไม่แผ่กว้าง พุ่มใบแน่นทึบ ใบเป็นใบประกอบ แกนช่อใบยาวประมาณ 25 – 40 เซนติเมตร มีใบแยกออกเป็นคู่ จำนวนประมาณ 18 – 33 คู่ แต่ละคู่มีใบย่อยขนาดเล็ก จำนวนประมาณ 40 – 70 คู่ ปลายใบแหลม ดอกออกเป็นช่อ ก้านช่อดอกสั้นกว่าสะตอ ฝักมีลักษณะตรง ยาวประมาณ 20 – 30 เซนติเมตร กว้างประมาณ 3 – 4 เซนติเมตร เมล็ดเรียงตามขวาง ยาวประมาณ 2.0 เซนติเมตร กว้างประมาณ 1.1 เซนติเมตร มีเปลือก

หุ้มเมล็ดหนาสีดำ ดอกออกระหว่างเดือนพฤศจิกายน – เดือนธันวาคม และติดฝักเดือนมกราคม – เดือนกุมภาพันธ์ พบกระจายทั่วไปแถบภาคใต้

1.1.3 ลูกดิ่ง (*Parkia sumatrana* Miq.) เป็นไม้ยืนต้นขนาดใกล้เคียงกับสะตอ สูงประมาณ 35 เมตร ใบเป็นใบประกอบ มีใบแยกออกเป็นคู่ จำนวนประมาณ 5 – 12 คู่ แต่ละคู่ มีใบย่อย จำนวนประมาณ 12 – 27 คู่ ปลายใบมน ดอกออกเป็นช่อ ฝักบิดเวียนเล็กน้อย ยาวประมาณ 25 – 35 เซนติเมตร กว้างประมาณ 2 – 3 เซนติเมตร เมล็ดเรียงตามยาวของฝัก ยาวประมาณ 2.0 – 2.4 เซนติเมตร กว้างประมาณ 1.5 – 2.0 เซนติเมตร มีเปลือกหุ้มเมล็ดบาง เริ่มออกดอกในช่วงเดือนตุลาคม – ธันวาคม และติดฝักเดือนมีนาคม – พฤษภาคม พบเห็นลูกดิ่งทางแถบภาคตะวันออกเฉียงเหนือในจังหวัดนครราชสีมา ภาคกลางในจังหวัดสระบุรี ภาคตะวันออกแถบจังหวัดปราจีนบุรี และจันทบุรี

1.1.4 ค้อนก้อง (*Parkia leiophylla* Kurz) เป็นไม้ยืนต้นขนาดใกล้เคียงกับสะตอ สูงประมาณ 35 เมตร ใบเป็นใบประกอบ มีใบแยกออกเป็นคู่ จำนวนประมาณ 14 – 20 คู่ แต่ละคู่มีใบย่อย จำนวนประมาณ 30 – 45 คู่ ปลายใบแหลม ดอกออกเป็นช่อ ฝักมีลักษณะตรง ยาวประมาณ 33 เซนติเมตร กว้างประมาณ 3 เซนติเมตร เมล็ดเรียงตามขวาง ยาวประมาณ 1.5 – 1.7 เซนติเมตร กว้างประมาณ 0.65 เซนติเมตร เปลือกหุ้มเมล็ดหนา ออกดอกเดือนพฤษภาคม – มิถุนายน และติดฝักเดือนกันยายน – ตุลาคม พบเห็นค้อนก้องทางแถบภาคเหนือที่จังหวัดเชียงใหม่ และแม่ฮ่องสอน ทางภาคใต้ที่จังหวัดสตูล

สะตอที่นิยมปลูกเพื่อบริโภค และพบเห็นวางขายตามท้องตลาด มี 2 กลุ่ม โดยการจำแนกจากลักษณะของฝัก รสชาติ กลิ่น ลักษณะเด่นของทั้ง 2 กลุ่ม คือ

- กลุ่มสะตอดาน เมล็ดโต ยาวประมาณ 45 เซนติเมตร กว้างประมาณ 4 – 5 เซนติเมตร เมล็ดต่อฝักมีประมาณ 10 – 12 เมล็ด จำนวนฝักต่อช่อประมาณ 8 – 15 ฝัก รสชาติค่อนข้างเผ็ด กลิ่นฉุนจัด เนื้อเมล็ดแน่น ช่องว่างระหว่างเมล็ดห่างกัน

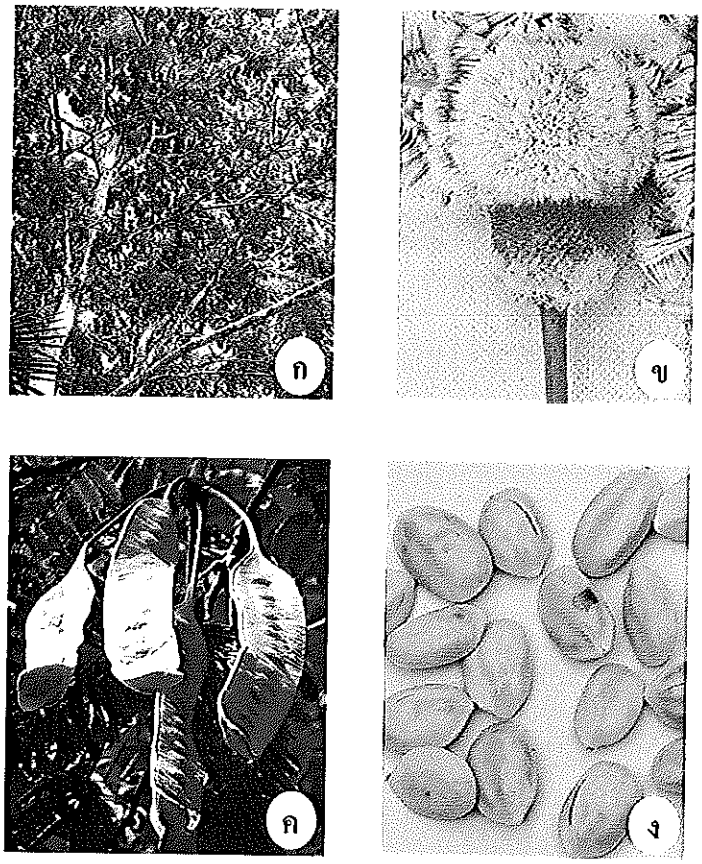
- กลุ่มสะตอข้าว เมล็ดเล็ก ขนาดของฝัก ยาวประมาณ 31 เซนติเมตร กว้างประมาณ 3.5 เซนติเมตร จำนวนเมล็ดต่อฝัก ประมาณ 10 – 20 เมล็ด จำนวนฝักต่อช่อประมาณ 8 – 20 ฝัก รสชาติมัน กลิ่นไม่ฉุนจัด เนื้อเมล็ดไม่แน่น นอกจากลักษณะดังกล่าวแล้วยังมีลักษณะอื่นๆ อีก ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ลักษณะประจำกลุ่มของสะตอข้าว และสะตอดาน

ลักษณะ	สะตอข้าว	สะตอดาน
1. ลักษณะทรงพุ่ม	ขนาดกลาง	ขนาดใหญ่
2. อายุการติดผล	3 – 5 ปี	5 – 7 ปี
3. จำนวนฝักต่อช่อ	8 – 20 ฝัก	8 – 15 ฝัก
4. ขนาดของฝัก	กว้างและยาวประมาณ 3.5X31 ซม.	กว้างและยาวประมาณ 3.9X32.5 ซม.
5. ลักษณะฝัก	บิดเวียนและขอบฝักชิดเมล็ด	แบนตรงและขอบฝักห่างจากเมล็ด
6. สีของฝัก	สีเขียวอ่อน	สีเขียวแก่
7. จำนวนเมล็ดต่อฝัก	10 – 20 เมล็ด	10 – 20 เมล็ด
8. ขนาดเมล็ด	เล็ก	ใหญ่
9. ลักษณะเมล็ด	ค่อนข้างเรียบ	มีความย่นมากกว่า
10. ช่องว่างระหว่างเมล็ด	น้อย	มาก
11. ความแน่นเนื้อเมล็ด	ไม่ค่อยแน่น	แน่น
12. กลิ่นฉุน	มีน้อย – ไม่มี	ค่อนข้างฉุนจัด
13. รสชาติ	มัน	ค่อนข้างเผ็ด

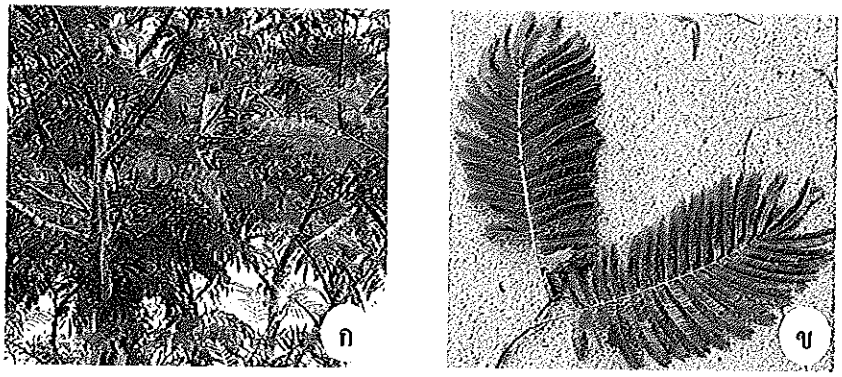
ที่มา : ศูนย์วิจัยพืชสวนตรัง อ้างโดย จารุ (2541)

นอกจากนี้ ยังพบตัวอย่างพืชที่คาดว่าน่าจะเกี่ยวข้องกับพืชสกุล *Parkia* อีก 2 ต้น ต้นแรกชาวบ้านเรียกว่า "ทง" มีลักษณะลำต้นขนาดใกล้เคียงกับเหรียง ใบเป็นใบประกอบ มีใบแยกออกเป็นคู่ประมาณ 18 – 30 คู่ แต่ละคู่มีใบย่อย ประมาณ 25 – 45 คู่ ปลายใบมน ดอกออกเป็นช่อ ฝักมีลักษณะบิดเวียนเล็กน้อย ยาวประมาณ 42 เซนติเมตร กว้างประมาณ 5.2 เซนติเมตร เมล็ดยาวประมาณ 2.0 – 2.5 เซนติเมตร กว้างประมาณ 1.0 – 1.3 เซนติเมตร จำนวนเมล็ดต่อฝักประมาณ 10 เมล็ด ออกดอกและติดฝักช่วงเดือนสิงหาคม – ตุลาคม พบในจังหวัดพัทลุง และสงขลา (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของทง ทรงพุ่ม (ก) ช่อดอก (ข) ฝัก (ค) และเมล็ด (ง)

ต้นที่สองชาวบ้านเรียกว่า "เตียน" มีขนาดลำต้นใกล้เคียงกับเหรียง ใบเป็นใบประกอบ มีใบแยกออกเป็นคู่ประมาณ 15 – 20 คู่ แต่ละคู่มีใบย่อยประมาณ 25 – 35 คู่ ปลายใบย่อยมน ดอกและฝัก ยังไม่มีการศึกษาในครั้งนี้ พบในจังหวัดสุราษฎร์ธานี (รูปที่ 2)



รูปที่ 2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเตียน ทรงพุ่ม (ก) และใบ (ข)

1.2 ประโยชน์ของพืชสกุล *Parkia*

1.2.1 คุณค่าทางอาหาร

สะตอจัดเป็นพืชผักที่มีคุณค่าทางอาหาร เป็นพืชที่ให้โปรตีนสูง จากการวิเคราะห์ของกองโภชนาการ (2530) พบว่า ในเมล็ดสะตอจะมีสารอาหารประเภทโปรตีนอยู่ 8 % โดยน้ำหนัก นอกจากนี้ยังมีสารอาหารประเภทอื่นๆ อีก ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 คุณค่าทางอาหารในเมล็ดสะตอ 100 กรัม

สาร	ปริมาณ
โปรตีน	8.00 กรัม
ไขมัน	8.10 กรัม
คาร์โบไฮเดรต	11.40 กรัม
แคลเซียม	76.00 มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	83.00 มิลลิกรัม
เหล็ก	0.70 มิลลิกรัม
วิตามิน เอ	734.00 หน่วยสากล
วิตามิน บี 1	0.11 มิลลิกรัม
วิตามิน บี 2	0.01 มิลลิกรัม
วิตามิน ซี	6.00 มิลลิกรัม
ไนอาซีน	1.00 มิลลิกรัม

ที่มา : กองโภชนาการ (2530)

Derbyshire และคณะ (1976) รายงานว่าโปรตีนในสะตอน่าจะมีคุณสมบัติคล้ายกับโปรตีนในพืชตระกูลถั่วทั่วๆ ไป กล่าวคือ มีโปรตีนเลกูมิน (Legumin) ที่ละลายน้ำ และโปรตีนวิซิลิน (Vicilin) ซึ่งละลายได้ในสารละลายที่มีเกลือ วัลลี และพูลสุข (2531) ศึกษาโปรตีนในสะตอ พบว่า ปริมาณโปรตีนในสะตอมีอยู่สูงประมาณ 8.7% เมื่อทดลองให้หนูขาวกินโปรตีนสกัดจากสะตอต่อเนื่องกันเป็นเวลา 70 วัน พบว่าไม่มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตและไม่มีผลต่ออวัยวะของหนู

ที่เด่นชัด และพบว่าโปรตีนจากสะตอมีผลยับยั้งอัตราการเพิ่มของน้ำตาลในเลือดของหนูที่ถูกชักนำให้เป็นเบาหวาน หลังจากการป้อนโปรตีนหรือสารที่สกัดจากเมล็ดสะตอต่อเนื่องกัน พบว่าโปรตีนในสะตอมีฤทธิ์เป็นยาระบายอย่างอ่อน และสามารถกระตุ้นการหดตัวของลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัม

1.2.2 สารประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

สารประกอบทางเคมีที่พบในเมล็ดสะตอ ส่วนใหญ่เป็นกลุ่ม Amino acid และสารประกอบที่มีซัลเฟอร์โมเลกุล (Gmelin *et al.*, 1981) ได้แก่

- เลคติน (Lectin) : มีผลช่วยให้เม็ดเลือดแดงของหนูเกาะกลุ่มกัน แต่ไม่ทำให้เม็ดเลือดแดงของคนเกาะกลุ่ม (Suvachittanont and Peutpaiboon, 1992) นอกจากทำให้เม็ดเลือดแดงเกาะกลุ่มกันแล้ว เลคติน ยังสามารถกระตุ้นเซลล์ลิมโฟไซต์ ให้แบ่งตัวและเพิ่มขนาดได้ โดยกระตุ้นไธโมไซต์ (Thymocyte) ของหนู ทำให้มีการสังเคราะห์ดีเอ็นเอมากขึ้น เป็นที่น่าสนใจว่าเลคตินจากสะตอจะสามารถกระตุ้นการแบ่งตัวของเซลล์ลิมโฟไซต์ของคนได้ อารีรักษ์ (2532) รายงานว่า เลคตินจากสะตอมีแนวโน้มที่จะกระตุ้นการแบ่งเซลล์ลิมโฟไซต์ของคน ที่แยกได้จากเลือดปกติ และเลือดผู้ป่วยโรคมะเร็ง

- Sulfhur compound : มีส่วนทำให้สะตอมีกลิ่นฉุน ซึ่งส่วนใหญ่เป็นพวกซีสเตอีน (Cycteine) ซีสตีน (Cyctine) เมทไธโอนีน (Methionine) กรดเจนโคลิค (Djenkolic acid) และอาจอยู่ในรูปสารประกอบกำมะถันอื่นๆ เช่น กรดไธอะโซลิดีนโฟคาร์บอกซิลิค (Thiazolidine - 4 - carboxylic acid; TCA) (Suvachittanont *et al.*,1996) สะตอมีสารพวก Sulfhur aroma ซึ่งอยู่ในรูป TCA สารประกอบนี้พบในประชากรทางภาคใต้ที่มีการบริโภคสะตอในปริมาณมาก เมื่อเปรียบเทียบกับการบริโภคของประชากรทางภาคเหนือ โดยสารประกอบ TCA สามารถยับยั้งการเกิดมะเร็งในกระเพาะอาหาร โดยพบว่าประชากรทางภาคใต้มีอัตราการเกิดมะเร็งในกระเพาะอาหารต่ำกว่าทางภาคเหนือ (Vatanasapt *et al.*, 1993) นอกจากนี้ ยังมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย และเชื้อรากลุ่ม *Candida albican* (Gmelin *et al.*, 1981)

- Stigmast-4-en-3-one : มีผลช่วยลดน้ำตาลในเลือด กระตุ้นการบีบตัวของลำไส้ และช่วยระบาย (Jamaluddin *et al.*, 1995) ส่วนสารพวก β-sitosterol และ Stimasterol มีผลในการลดน้ำตาลในเลือดของหนูที่เป็นเบาหวาน แต่ไม่มีผลต่อหนูปกติ (Jamaluddin *et al.*, 1994) เช่นเดียวกับรายงานของ Ali และคณะ (2006) ที่พบว่าสารประกอบในสะตอมีผลต่อการลดระดับกลูโคสในเลือด

อโนชา และอลัน (2540) ศึกษาความสามารถของสะตอในการป้องกันการเกิดพิษต่อยีนของหลอดอาหาร เนื่องจากสารเอ็น – เมทธิลอะนิลีน และไนรไตรท์ พบว่า การทดสอบด้วยการให้สารสกัดสะตอ และให้สารเอ็น – เมทธิลอะนิลีน และไนรไตรท์ ที่เลือกปริมาณแล้ว สามารถป้องกันการเกิดพิษต่อยีนได้ นอกจากนี้ในสะตอยังมีสารยับยั้งการทำงานของทริปซิน (Jaffe, 1950)

Akkayanont และ Utarabhand (1992) รายงานว่า เหรียง มีสารประกอบที่พบในส่วนเมล็ด คือ เลคติน มีฤทธิ์ทำให้เม็ดเลือดแดงของกระต่ายและหนูจับกลุ่ม แต่ไม่มีผลต่อเม็ดเลือดแดงของคน แกะ และห่าน ผลของการทำให้เม็ดเลือดแดงจับกลุ่มนี้ ยับยั้งได้โดย Methyl-alpha-D-mannosamine และ Mannose ความเข้มข้น 3 มิลลิโมลาร์ นอกจากนี้ยังพบโปรตีน และปริมาณไขมันสูงในส่วนของเนื้อในเมล็ด จำนวน 29 และ 34% (Longvah and Deosthale, 1998) ประภาส และจันทิมา (2535) ศึกษาสารก่อกลายพันธุ์ ในเมล็ดสะตอ เหรียง และเนียง พบว่า สารสกัดด้วยน้ำของเมล็ดสะตอ และเนียง มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์อย่างอ่อนทำให้แบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 กลายพันธุ์ทั้งในสภาวะที่มี และไม่มีการเร่งปฏิกิริยาชีวเคมี ส่วนสารสกัดของเมล็ดเหรียงมีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์อย่างชัดเจน ทำให้แบคทีเรีย 2 สายพันธุ์ คือ TA98 และ TA100 กลายพันธุ์ในสภาวะไม่มีการเร่งปฏิกิริยาชีวเคมี และทำให้แบคทีเรียสายพันธุ์ TA100 กลายพันธุ์ในสภาวะมีการเร่งปฏิกิริยาชีวเคมี ซึ่งฤทธิ์ดังกล่าวจะแสดงผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในส่วนที่เป็นดีเอ็นเอของเซลล์แบคทีเรีย Butnu และคณะ (1996) ได้ศึกษาผลของสารสกัดจากเมล็ดเหรียง เมล็ดเนียง พบว่า การบริโภคสารสกัดจากเมล็ดเหรียง เมล็ดเนียง ร่วมกับอาหารปกติเป็นเวลานาน 107 สัปดาห์ มีผลต่อการเจริญเติบโตของหนู และเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยาที่อวัยวะภายในของหนู ส่วนสรรพคุณทางยา พบว่า แก้จุกเสียด (วิฑูรย์ และคณะ, 2543) ในส่วนเปลือกนำมาต้มเป็นยาสมานแผล ลดน้ำเหลือง (กัญจนา, 2542)

ลูกดิ่ง พบว่า มีสรรพคุณทางยา ในการช่วยลดความดันในเลือด ลดเบาหวาน ช่วยให้ลำไส้บีบตัว ลดการตกตะกอนของเลือด เป็นยาระบายอ่อนๆ ฆ่าเชื้อราและแบคทีเรียในร่างกาย (สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช, 2548)

ค้อนก้อง ยังไม่มีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับสารประกอบในเมล็ด

2. การใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรม

ปัจจุบันมีการนำเครื่องหมายระดับโมเลกุล (Molecular markers) ซึ่งเป็นการใช้ดีเอ็นเอเพื่อเป็นเครื่องหมายในการตรวจสอบการทำงานของยีน ถูกนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ แยกสายพันธุ์ และรวบรวมพันธุ์ รวมทั้งความสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์ นอกจากนี้ยังนำมาใช้ในการทำแผนที่ทางพันธุกรรม (Genetic mapping) และหาตำแหน่งของยีน (Gene tagging) ในระยะแรกมีการใช้เทคนิคการตรวจสอบในระดับโปรตีน คือ เทคนิคไอโซไซม์ (Isozyme) แต่พบว่ามีข้อจำกัดอยู่มาก เช่น มีอิทธิพลจากสภาพแวดล้อม ระยะการเจริญเติบโตของพืช เข้ามาเกี่ยวข้องทำให้แยกความแตกต่างได้น้อย (Claros *et al.*, 2000 ; Degani *et al.*, 2001) ต่อมามีการพัฒนาเทคนิคขึ้นมาใหม่ คือเทคนิค RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) อาศัยหลักการของความแตกต่างในลำดับเบสที่ถูกตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ (Restriction enzyme) ความแตกต่างของลำดับเบสนี้เป็นคุณสมบัติทั่วไปที่พบในสิ่งมีชีวิตที่มีจีโนไทป์ต่างกัน อย่างไรก็ตามเทคนิคนี้ยังมีข้อเสีย คือ ต้องใช้ดีเอ็นเอต้นแบบจำนวนมาก และต้องมีคุณภาพดี อีกทั้งยังมีขั้นตอนยุ่งยาก และค่าใช้จ่ายสูง (Kaundun *et al.*, 2000) Saiki และคณะ (1987) ได้พัฒนาวิธีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยเทคนิคพีซีอาร์ (PCR: Polymerase Chain Reaction) ซึ่งง่ายและรวดเร็ว สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายได้ปริมาณมากในระยะเวลาสั้น โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ DNA polymerase ในหลอดทดลอง หลังจากมีการค้นพบการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยเทคนิคพีซีอาร์แล้ว ต่อมาได้มีการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลใหม่ๆ เพิ่มขึ้นมากมาย เช่น เทคนิคอาร์เอพีดี (RAPD: Random Amplified Polymorphic DNA) เอเอฟแอลพี (AFLP: Amplification Fragment Length Polymorphism) และไมโครแซทเทลไลท์ (Microsatellite) เป็นต้น

เทคนิคอาร์เอพีดี เป็นเทคนิคที่อาศัยหลักการเพิ่มขยายชิ้นส่วนของดีเอ็นเอโดยอาศัยหลักการทำพีซีอาร์ ใช้ไพรเมอร์ขนาดสั้นๆ ประมาณ 8 – 10 เบส เพียงชนิดเดียว มีลำดับเบสแบบสุ่ม (Random primer) เป้าหมายการเกาะของไพรเมอร์ คือ บริเวณที่มีลำดับเบสเป็นคู่สมกันโดยไม่คำนึงถึงทิศทางของไพรเมอร์ที่เกาะกับดีเอ็นเอต้นแบบ (DNA template) และไม่จำเพาะกับยีนใด นำมาแยกขนาดของดีเอ็นเอที่ได้ด้วยการทำอิเล็กโทรโฟรีซิสบนอะกาโรสเจล ย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ การเกิดแถบดีเอ็นเอเป็นผลมาจากไพรเมอร์เข้าไปเกาะได้หลายบริเวณ ถ้าไพรเมอร์เข้าไปเกาะดีเอ็นเอ 2 บริเวณที่อยู่ไกลกันมาก โดยเกาะกับดีเอ็นเอคนละสายในทิศทางเข้าหากัน จะสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในช่วงนั้นได้ แต่ถ้าไพรเมอร์เกาะดีเอ็นเอสายเดียวในทิศทางเดียวกัน หรือเกาะกับดีเอ็นเอคนละสาย แต่ทิศทางแยกออกจากกัน หรือเกาะได้สองสายห่างไกลกันมาก แม้ทิศทางเข้าหากันก็ไม่สามารถเกิดผลผลิตได้ (สุวิมล, 2544) ข้อได้เปรียบของ

เทคนิคนี้ คือ ทำได้ง่ายไม่ซับซ้อน ให้ข้อมูลมาก ค่าใช้จ่ายไม่สูง ใช้ปริมาณดีเอ็นเอน้อยประมาณ 25 – 100 นาโนกรัมต่อปฏิกิริยา (Winter and Kahl, 1995) แต่มีข้อจำกัดบ้างในเรื่องการทดลองซ้ำ เนื่องจากเทคนิคนี้มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงสภาวะต่างๆ สูง จึงต้องควบคุมสภาพต่างๆ ให้คงที่ และอาร์เอพีดียังแสดงการข่ม (Dominant) ต่อการไม่เกิดแถบดีเอ็นเอ ทำให้ไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างลักษณะพันธุ์แท้ยีนเด่น (Homozygous dominant) และพันธุ์ทาง (Heterozygous) ได้ (Cipriani *et al.*, 1996) ความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอสามารถนำมาวิเคราะห์ทางสถิติ (Thormann *et al.*, 1994) เพื่อดูความสัมพันธ์หรือความแตกต่างทางพันธุกรรม ทำให้ทราบความสัมพันธ์และทราบความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างพืชที่อยู่ในพันธุ์และชนิดเดียวกันได้ เครื่องหมายอาร์เอพีดีสามารถใช้ตรวจสอบได้อย่างมีประสิทธิภาพสำหรับการให้ลักษณะความแตกต่าง (Polymorphism) และสามารถใช้ในการจำแนกได้อย่างรวดเร็ว ให้ชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่จำเพาะ มีการนำเทคนิคนี้มาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางในการทำแผนที่ยีน หาตำแหน่งของยีน และด้านการปรับปรุงพันธุ์พืช (Williams *et al.*, 1990) ที่ต้านทานโรค (Nagvi *et al.*, 1995 ; Boora *et al.*, 1998) ต้านทานแมลง (Jeon *et al.*, 1999) และหาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของพืช และสิ่งมีชีวิตอื่นๆ (สมศักดิ์ และคณะ, 2538)

Joshi และ Nguyen (1993) ใช้เทคนิคอาร์เอพีดีศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของข้าวสาลี (*Triticum aestivum* L.) ที่มีจำนวนโครโมโซม 6 ชุด โดยใช้ตัวอย่างข้าวสาลีที่ศึกษา 15 ตัวอย่าง ทดสอบกับไพรเมอร์ 40 ไพรเมอร์ ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน 71 แถบ และจากการใช้เดนโดรแกรมสามารถระบุความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของจีโนไทป์ในข้าวสาลีเหล่านี้ได้ Lashermes และคณะ (1996) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของกาแฟ (*Coffea arabica*) ที่เก็บจากแหล่งต่างๆ ในประเทศบราซิล จาไมกา เอธิโอเปีย เยเมน คองโก แทนซาเนีย และเคนยา พบว่า สามารถแยกความแตกต่างทางพันธุกรรม และแยกเป็น accession ต่างๆ ได้ โดยพบว่า กาแฟในประเทศเอธิโอเปียมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงที่สุด Zacchini และคณะ (1997) ซึ่งทำการศึกษาในแคลลัสข้าวโพดลูกผสม (*Zea may* L.) จำนวน 8 สายพันธุ์ เมื่อตรวจสอบกับไพรเมอร์ ขนาด 10 นิวคลีโอไทด์ จำนวน 40 ไพรเมอร์ พบว่า ให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 1,167 แถบ แต่มีเพียงแถบเดียวที่ให้น้ำหนักโมเลกุลต่างกันขนาด 550 คู่เบส ส่งผลให้เกิดความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างสายพันธุ์ Cotes และคณะ (2001) ศึกษาจำแนกพันธุ์มะกอก (*Olea europape* L.) จำนวน 40 สายพันธุ์ที่เก็บจากเมือง Valencia ในประเทศสเปน พบว่า 46 ไพรเมอร์ ที่ทำการทดสอบมีเพียง 18 ไพรเมอร์ สามารถให้แถบดีเอ็นเอที่มีขนาดโมเลกุลแตกต่างกัน จากการวิเคราะห์ พบว่าสายพันธุ์มะกอกมีความใกล้ชิดกันมาก สามารถแบ่งได้ 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ได้จากเมือง Valencia และกลุ่มที่ได้บริเวณรอบนอก Belaj และคณะ (2001) ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของมะกอก

จากแหล่งเชื้อพันธุ์ที่ Alameda del Obispo รัฐ Cordoba ประเทศสเปน ทดสอบกับไพรเมอร์ 95 ไพรเมอร์ พบว่ามีเพียง 4 ไพรเมอร์ ที่สามารถให้แถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน จากการวิเคราะห์สามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม คือ สายพันธุ์ที่ได้ทางตอนเหนือและทางภาคตะวันออกของประเทศสเปน สายพันธุ์ที่ได้จากประเทศตุรกี ซีเรีย ตูนีเซีย และสายพันธุ์พื้นเมืองของประเทศสเปน ธีระชัย และนฤมล (2543) ทำการศึกษาและจำแนกพันธุ์พริก (*Capsicum* spp.) ในประเทศไทย โดยเก็บตัวอย่างพริก 14 พันธุ์ มาตรวจสอบดีเอ็นเอกับไพรเมอร์ 72 ไพรเมอร์ พบว่ามีไพรเมอร์ 70 ไพรเมอร์ สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้หรือคิดเป็น 97% จากนั้นจึงได้เลือกไพรเมอร์ 20 ไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้อย่างชัดเจน มาตรวจสอบกับดีเอ็นเอของพริกทั้งหมด พบว่าสามารถแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ได้ โดยไพรเมอร์บางชนิดให้แถบดีเอ็นเอที่จำเพาะกับพันธุ์ใดพันธุ์หนึ่ง ซึ่งสามารถจำแนกพริกทั้ง 14 พันธุ์ได้ด้วยไพรเมอร์เดียว เมื่อเปรียบเทียบรูปแบบของแถบดีเอ็นเอในแต่ละพันธุ์ สามารถวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการได้ Ilbi (2003) จำแนกและตรวจสอบความบริสุทธิ์ทางพันธุกรรมของพริกหวาน (*Capsicum annuum*) โดยใช้ตัวอย่างพริกหวานลูกผสม 5 พันธุ์ ทดสอบกับไพรเมอร์ 10 ไพรเมอร์ พบว่า ให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 177 แถบ แต่มีเพียง 9 ไพรเมอร์ ที่ให้แถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน 14 แถบ ในจำนวน 5 พันธุ์ และมี 4 แถบ ที่พบเฉพาะใน 3 พันธุ์ เมื่อเปรียบเทียบรูปแบบแถบดีเอ็นเอสามารถจำแนกพันธุ์และดูความบริสุทธิ์ของเมล็ดได้ นอกจากนี้ยังมีการนำเทคนิคอาร์เอพีดีมาใช้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและตรวจสอบความใกล้ชิดทางพันธุกรรมในส้ม สห และคณะ (2546) ทำการศึกษาความสัมพันธ์ของส้มกลุ่มโชกุน (*Citrus reticulata* Blanco) จำนวน 5 สายพันธุ์ (สายน้ำผึ้ง สายสมรเบอร์1 เพชรยะลา น้ำผึ้งทอง และสายน้ำผึ้งธนาธร) ทดสอบกับไพรเมอร์ 28 ไพรเมอร์ พบว่า มีเพียง 2 ไพรเมอร์ (OPB – 05 และ OPB – 20) สามารถให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน และจำแนกสายพันธุ์ส้มโชกุน ทั้ง 5 สายพันธุ์ได้ และพบว่าต่างก็มีความสัมพันธ์กันทางพันธุกรรม เมื่อนำข้อมูลไปวิเคราะห์ความใกล้ชิดทางพันธุกรรม พบความแปรปรวนทางพันธุกรรมของส้มกลุ่มนี้ โดยแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ ส้มสายน้ำผึ้งกับส้มน้ำผึ้งทอง และส้มสายสมรเบอร์1 ส้มเพชรยะลา และส้มสายน้ำผึ้งธนาธร นอกจากนี้ยังพบว่าส้มสายสมรเบอร์1กับส้มเพชรยะลา มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมากกว่าส้มสายน้ำผึ้ง ธนาธร นอกจากนี้ Mirali และ Nabulsi (2003) ทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของ อัลมอนด์ในธรรมชาติ จากการนำตัวอย่างอัลมอนด์ 19 ตัวอย่าง ตรวจสอบกับไพรเมอร์ 40 ไพรเมอร์ พบว่า มีเพียง 1 ไพรเมอร์ ที่ให้แถบดีเอ็นเอที่เหมือนกัน นอกจากนั้นให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน เฉลี่ย 4.5 แถบต่อไพรเมอร์ แสดงว่าในธรรมชาติอัลมอนด์เป็นพืชที่มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมสูง ทั้งนี้เนื่องจากอัลมอนด์เป็นพืชผสมข้ามจึงมีโอกาสเกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง Upadhyay และคณะ (2004) ศึกษาความสัมพันธ์และความ

หลากหลายทางพันธุกรรมของมะพร้าว (*Cocos nucifera* L.) แต่ละ accession ในอินเดีย พบว่า มีความหลากหลายทางพันธุกรรมทั้งภายในและระหว่าง accession อยู่ในช่วง 0.58 และ0.42 ตามลำดับ Besse และคณะ (2004) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในวนิลา 3 ชนิด คือ *V. planifolia*, *V. tahitensis* และ *V. pompona* โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี พบว่า ชนิด *V. planifolia* ที่พบแถบเกาะ Reunion และ Polynesia มีความหลากหลายทางพันธุกรรมในระดับต่ำ Wu และคณะ (2004) ทำการศึกษาความหลากหลายระหว่างและภายในประชากรของข้าว (*Oryza granulata*) จากยูนนานในประเทศจีน โดยทำการศึกษาระหว่างประชากร 14 ประชากร และภายในประชากร 2 ประชากร พบว่า ระหว่างประชากรทั้ง 14 ประชากร พบแถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างกัน เท่ากับ 59% ขณะที่ภายในประชากร 2 ประชากร พบแถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่าง 26% และ 21% แสดงให้เห็นว่าความแปรปรวนทางพันธุกรรมระหว่างประชากรมีสูงกว่าภายในประชากร Cunha และคณะ (2004) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของ Snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) พบว่าสามารถจัดกลุ่มความใกล้ชิดทางพันธุกรรมได้ 6 กลุ่ม ช่วยให้นักปรับปรุงพันธุ์สามารถคัดเลือกพ่อแม่ที่ใช้ในการผสมข้ามได้ สายชล (2547) ได้ศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของประชากรปาล์มน้ำมัน (*Elaeis guineensis* Jacq.) ทั้ง 3 พันธุ์ คือ ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอรา จำนวน 151 ต้น ทดสอบด้วยไพรเมอร์ 160 ไพรเมอร์ มีเพียง 7 ไพรเมอร์ ที่ให้แถบดีเอ็นเอที่ชัดเจน จากการวิเคราะห์ผลสามารถแบ่งกลุ่มปาล์มน้ำมันได้ 3 กลุ่ม เมื่อพิจารณาค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันทั้ง 3 พันธุ์ที่ทำการศึกษา พบว่า ปาล์มน้ำมันที่ปลูกในแถบภาคใต้ของประเทศไทยมีความแปรปรวนพันธุกรรมค่อนข้างน้อย นอกจากนี้มีการนำเทคนิคอาร์เอพีดี ไปใช้ในการจำแนกโคลนและหาลำดับเบสจำเพาะกับลักษณะแคระในยางพารา [*Hevea brasiliensis* (Muell.) Arg.] เพื่อปรับปรุงพันธุ์ให้ผลผลิตสูง ต้านทานต่อลม และสามารถปลูกได้จำนวนต้นต่อพื้นที่มากขึ้น โดยสามารถแยกลักษณะลูกผสมแท้ที่ให้ผลผลิตสูง เมื่อทำการทดสอบกับไพรเมอร์ 115 ไพรเมอร์ พบว่า มีเพียง 19 ไพรเมอร์ ที่ให้แถบดีเอ็นเอที่ชัดเจนและตรวจสอบแถบดีเอ็นเอได้ นอกจากนี้พบว่า ไพรเมอร์ OPB – 02 ให้แถบดีเอ็นเอขนาดน้ำหนักโมเลกุล 1.4 กิโลเบส ที่พบเฉพาะในยางพาราธรรมชาติ และลูกผสม F_1 ที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างพ่อแม่พันธุ์แคระกับพันธุ์ปกติ (Venkatachalam *et al.*, 2004) Martins และคณะ (2004) ทำการตรวจสอบความคงที่ทางพันธุกรรมของอัลมอนด์ (*Prunus dulcis*) โดยศึกษาในต้นกล้าอัลมอนด์ จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ที่มีอายุ 4 และ 6 ปี โดยนำชิ้นส่วนพืช (ตาข้าง) จากการโคลน จำนวน 22 รุ่น มาตรวจสอบกับไพรเมอร์ 64 ไพรเมอร์ ให้แถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลไม่แตกต่างกัน 266 แถบ แสดงว่าต้นกล้าอัลมอนด์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีความคงที่ทางพันธุกรรม นอกจากนี้มีการนำเทคนิคอาร์เอพีดี มาตรวจสอบการทนเกลือในพืช Nguyen และคณะ (2004) ศึกษาการทนเกลือในกระถินณรงค์ (*Acacia*

auriculiformis) และกระถินเทพา (*Acacia mangium*) ตรวจสอบกับไพรเมอร์ 20 ไพรเมอร์ พบ 16 ไพรเมอร์ ในกระถินณรงค์ และ 10 ไพรเมอร์ ในกระถินเทพา ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ โดยให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน 39 แถบ ในกระถินณรงค์ และ 18 แถบ ในกระถินเทพา จากการศึกษาความใกล้ชิดทางพันธุกรรม พบว่า ในประชากรกลุ่มกระถินเทพามีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมในระดับที่สูงกว่าในกลุ่มประชากรกระถินณรงค์ โดยมีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรม น้อยกว่า 65% ความแตกต่างจากการวัดการทนเกลืออยู่ในระดับที่ต่างกันเล็กน้อย ซึ่งเป็นผลมาจากความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของทั้งสองชนิด และผลจากการทดลองมีการคาดหวังว่าจะสามารถใช้วิเคราะห์หายีนที่มีคุณสมบัติในการทนเกลือในพืชตระกูล *Acacia* และพืชอื่นๆ ได้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาความความแตกต่างระหว่างพืชสกุล *Parkia* และภายในกลุ่มสะตอ (*Parkia speciosa* Hassk.) โดยอาศัยลักษณะสัณฐานวิทยาของพืช
2. เพื่อศึกษาความแปรปรวนและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างพืชสกุล *Parkia* และภายในกลุ่มสะตอ (*Parkia speciosa* Hassk.) โดยอาศัยเครื่องหมายอาร์เอพีดี

บทที่ 2

วิธีการวิจัย

วิธีดำเนินการ

1. **การศึกษาความแตกต่างระหว่างพืชสกุล *Parkia* ทง และเตียน รวมทั้งภายในกลุ่มสะตอ (*Parkia speciosa* Hassk.) โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา**

ทำการเก็บตัวอย่างสะตอ และพืชสกุล *Parkia* จากแหล่งปลูกต่างๆ (ตารางที่ 3) โดยสุ่มเก็บตัวอย่างใบอ่อน แยกต้น กลุ่ม และชนิด ของพืชสกุล *Parkia* ต้นที่เก็บตัวอย่าง ทำการบันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยา ดังต่อไปนี้

- ลักษณะต้นและใบ
- ลักษณะดอก และช่อดอก
- ลักษณะฝัก และขนาดฝัก
- ลักษณะเมล็ด และขนาดเมล็ด

2. **การศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมระหว่างพืชสกุล *Parkia* ทง และเตียน รวมทั้งภายในกลุ่มสะตอ (*Parkia speciosa* Hassk.) โดยเทคนิคอาร์เอพีดี**

2.1 การเก็บตัวอย่าง

ทำการศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของแหล่งเชื้อพันธุ์สะตอ และพืชสกุล *Parkia* อีก 3 ชนิด รวมทั้งทง และเตียน โดยสุ่มเก็บตัวอย่างใบ (ใบเพสลาด) ของสะตอ (สะตอข้าว และสะตอดาน) จำนวน 69 ต้น เหรียง จำนวน 12 ต้น ค้อนก้อง จำนวน 5 ต้น ลูกดิ่ง จำนวน 12 ต้น ทง จำนวน 4 ต้น และเตียน จำนวน 1 ต้น จากสถานที่ต่างๆ (ตารางที่ 3) โดยเก็บตัวอย่างใบประมาณ 1 – 2 ใบต่อต้น ใส่ถุงเพื่อนำมาสกัดดีเอ็นเอ

ตารางที่ 3 จำนวนตัวอย่าง และสถานที่เก็บตัวอย่างของพืชสกุล *Parkia* ที่ใช้ในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และความแปรปรวนทางพันธุกรรมโดยเทคนิคอาร์เอพีดี

ชนิด/สถานที่	จำนวน (ต้น)
สะตอ (St)	
สะตอข้าว (Kh)	
ศูนย์วิจัยพืชสวนตรัง จ. ตรัง (Kht)	11
สวนเกษตรกรในเขต จ. สงขลา (Khs)	13
สวนเกษตรกรในเขต จ. สุราษฎร์ธานี (Khsu)	12
สะตอดาน (Da)	
ศูนย์วิจัยพืชสวนตรัง จ. ตรัง (Dat)	12
สวนเกษตรกรในเขต จ. สงขลา (Das)	14
สวนเกษตรกรในเขต จ. สุราษฎร์ธานี (Dasu)	7
เหรียง (Ri)	
ศูนย์วิจัยพืชสวนตรัง จ. ตรัง	2
สวนเกษตรกรในเขต จ. สงขลา	5
สวนเกษตรกรในเขต จ. สุราษฎร์ธานี	5
ลูกดิ่ง (Ld)	
ศูนย์วิจัยพืชสวน จ. ตรัง	5
สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช จ. นครราชสีมา	7
ค้อนก้อง (Kg)	
ศูนย์วิจัยพืชสวน จ. ตรัง	4
สวนเกษตรกรในเขต จ. เลย	1
เตียน (Ti)	
สวนเกษตรกรในเขต จ. สุราษฎร์ธานี	1
ทง (Tg)	
สวนเกษตรกรในเขต จ. พัทลุง	1
ศูนย์วิจัยพืชสวน จ. ตรัง	3
รวม	**103**

2.1 วิธีการสกัดดีเอ็นเอ

ทำการสกัดดีเอ็นเอจากใบพืชสกุล *Parkia* ที่สุ่มเก็บ โดยใช้สารละลาย CTAB (hexadecyl trimethyl ammonium bromide) ซึ่งดัดแปลงจาก Doyle และ Doyle (1990) ใช้ตัวอย่างใบพืชสกุล *Parkia* ประมาณ 200 มิลลิกรัมน้ำหนักสด บดใน CTAB บัฟเฟอร์ (PVP – 40, NaCl, EDTA 0.5 M pH 8.0, CTAB 2%) ร่วมกับ β-mercaptoethanol เข้มข้น 2% ปริมาตร 700 ไมโครลิตร ในโกร่งให้ละเอียด จากนั้นใส่ในหลอดแอฟเพนดอร์ฟ เขย่าให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที กลับหลอดไปมาทุก 10 นาที เติมคลอโรฟอร์ม 800 ไมโครลิตร กลับหลอดไปมาเบาๆ ปั่นเหวี่ยงใช้ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ได้สารละลายที่แยกชั้นใสส่วนบน ดูดสารละลายเฉพาะส่วนใสใส่หลอดแอฟเพนดอร์ฟใหม่ เติมไอโซโพรพานอล 750 ไมโครลิตร กลับหลอดไปมาเพื่อตกตะกอนดีเอ็นเอ หรือวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียส ประมาณ 10 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้งที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที เทส่วนใสทิ้ง ล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วยเอธานอล ความเข้มข้น 70% ที่ผ่านการแช่เย็น จำนวน 3 ครั้ง ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย TE บัฟเฟอร์ 70 ไมโครลิตร [Tris – HCl (pH 7.5) 10 mM และ Na_2EDTA (pH 7.0) 1 mM] ที่อุณหภูมิห้อง เก็บรักษาดีเอ็นเอที่อุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้

2.2 วิธีการตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอ

ตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้ด้วยการเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน (λ ดีเอ็นเอ) โดยการทำอิเล็กโตรโฟรีซิสบนอะกาโรส (LE Agarose; Promega, USA) เข้มข้น 0.7% แรงเคลื่อนไฟฟ้า 100 โวลต์ ในสารละลาย TAE บัฟเฟอร์ (Tris Base, Glacial acetic acid, EDTA 0.5 M, pH 8.0) เป็นเวลา 20 นาที ย้อมแถบดีเอ็นเอที่ได้ด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ แล้วนำไปตรวจสอบภายใต้แสงอัลตร้าไวโอเลต 260 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Gel documentation

2.3 การคัดเลือกไพรเมอร์

ทำการทดสอบไพรเมอร์ขนาด 10 เบส จำนวน 180 ชนิด (OPA01-20, OPB01-20, OPC01-20, OPD01-20, OPT01-20, OPR01-20, OPAA01-20, OPAB01-20 และ OPZ01-20: Operon, USA) คัดเลือกไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบสุ่มด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ และทำ

การแยกความแตกต่างระหว่างตัวแทนของกลุ่มประชากรต่างๆ ของพืชสกุล *Parkia* ในเบื้องต้นทำการเก็บตัวอย่างภายในกลุ่มสะตอ คือ กลุ่มสะตอข้าว กลุ่มสะตอดาน และเหรียง อย่างละ 1 ต้น ที่เก็บจากบริเวณเขตจังหวัดสงขลา มาเป็นตัวแทนของแต่ละกลุ่มประชากรในการคัดเลือกไพรเมอร์ แล้วเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบสุ่มโดยปฏิกิริยาพีซีอาร์ การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์จากปริมาตรรวม 25 ไมโครลิตร ซึ่งประกอบด้วย ดีเอ็นเอแม่พิมพ์ 60 นาโนกรัม ไพรเมอร์เข้มข้น 0.3 ไมโครโมลาร์ เอ็นไซม์ *Taq* polymerase เข้มข้น 1.5 ยูนิต 10X *Taq* บัฟเฟอร์ 2 ไมโครลิตร $MgCl_2$ 2.5 มิลลิโมลาร์ dNTP เข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ตั้งอุณหภูมิเป็น 3 ระดับ คือ อุณหภูมิที่ใช้เริ่มต้น 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที ตามด้วยอุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส 30 วินาที 37 องศาเซลเซียส 1 นาที 72 องศาเซลเซียส 2 นาที จำนวนทั้งสิ้น 41 รอบ และรอบสุดท้ายตามด้วย 72 องศาเซลเซียส อีก 5 นาที หลังทำพีซีอาร์ นำสารละลายดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณแล้ว จำนวน 10 ไมโครลิตร มาตรวจสอบขนาดของชิ้นดีเอ็นเอ ด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิสบนแผ่นวุ้น LE อะกาโรส ที่มีความเข้มข้น 1.5% ละลายใน TBE บัฟเฟอร์ (Tris Base, Boric acid, Na_2EDTA 0.5 M; pH 8.0) ใช้แรงเคลื่อนไฟฟ้า 100 โวลต์ 60 นาที ย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ เข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 20 นาที ล้างน้ำ 10 นาที ตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอัลตร้าไวโอเลต 260 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Gel documentation คัดเลือกไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณและให้แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างระหว่างตัวแทนประชากรแต่ละพันธุ์ และแต่ละชนิด

2.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำไพรเมอร์ที่คัดเลือกได้ มาใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของประชากรทั้งหมด คัดเลือกไพรเมอร์ที่ทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างประชากรทั้งหมด ศึกษารูปแบบของดีเอ็นเอที่ได้ วิเคราะห์ผล แล้วเปรียบเทียบความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอระหว่างพืชสกุล *Parkia* แต่ละชนิด ทง และเตียน รวมทั้งภายในกลุ่มสะตอ (สะตอข้าว และสะตอดาน)

3. การศึกษาความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมระหว่างพืชสกุล *Parkia* ทง และเตียน รวมทั้งภายในกลุ่มสะตอ (*Parkia speciosa* Hassk.)

ศึกษาความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรม ระหว่างพืชสกุล *Parkia* ทง และเตียน รวมทั้งภายในกลุ่มสะตอ ทำการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างแถบดีเอ็นเอที่ได้ โดยแปลงข้อมูลจากแถบดีเอ็นเอที่ได้เป็นแบบ Binary คือให้ตำแหน่งที่ปรากฏแถบดีเอ็นเอ มีค่าเท่ากับ

1 และตำแหน่งที่ไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอมีค่าเท่ากับ 0 เปรียบเทียบ ณ ตำแหน่งเดียวกัน โดยคิดเฉพาะแถบดีเอ็นเอที่มีความชัดเจนและเพิ่มปริมาณได้สม่ำเสมอเมื่อมีการทำพีซีอาร์ซ้ำ 2 ครั้ง วิเคราะห์ความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมด้วยการใช้ UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Average) cluster analysis หาค่า Similarity coefficient ตามวิธีของ Jaccard (1908) กับโปรแกรม NTSYS pc-2.1 (Rohlf, 2002)

วัสดุและอุปกรณ์

1. ตัวอย่างพืช

ทำการเก็บตัวอย่างใบสะตอ เหรียง ลูกดิ่ง ค้อนก้อง ทง และเตียน จากสถานที่ต่างๆ ดังนี้คือ

- ศูนย์วิจัยพืชสวนตรัง กรมวิชาการเกษตร อ. สิเกา จ. ตรัง
- สวนเกษตรกร อ. ทุ่งตำเสา อ. จะนะ และ อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา
- สวนเกษตรกร กิ่ง อ. วิภาวดี อ. พุนพิน และ อ. คีรีรัฐนิคม จ. สุราษฎร์ธานี
- สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช อ. วังน้ำเขียว จ. นครราชสีมา
- สวนเกษตรกร อ. ด่านซ้าย จ. เลย
- สวนเกษตรกร อ. ป่าพะยอม จ. พัทลุง

2. สารเคมี

2.1 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ

- CTAB (Hexadecyl trimethyl ammonium bromide)
- β-mercaptoethanol
- PVP-40 (Polyvinyl pyrolidone)
- NaCl (Sodium chloride)
- Na_2EDTA (Disodium ethylene diaminetetra acetate)
- Tris – HCl (pH 8.0)
- Chloroform

ฝ่ายหอสมุด
คุณหญิงหลง อรรถกระวีสุนทร

- Isopropanol
- TE buffer
- Ethanol

2.2 สารเคมีสำหรับใช้ทำอิเล็กโทรโฟรีซิส

- LE agarose (FMC Bioproduct, USA)
- Glacial acetic acid
- Boric acid
- Ethidium bromide
- Loading buffer
- Lamda DNA (λ DNA)
- 100 bp และ 1000 bp DNA Ladder (Operon, USA)

2.3 สารเคมีที่ใช้ในการทำพีซีอาร์

- dNTP (dATP, dTTP, dCTP และ dGTP) (Promega, USA)
- Primer OPA01-20, OPB01-20, OPC01-20, OPD01-20, OPT01-20, OPR01-20, OPAA01-20, OPAB01-20 และ OPZ01-20 (Operon, USA)
- $MgCl_2$
- 10X *Taq* buffer (Promega, USA)
- *Taq* DNA Polymerase (Promega, USA)

3. อุปกรณ์

3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างใบพืชและฝัก

- ถุงพลาสติก
- กรรไกร
- กล่องโฟม

- เวอร์เนีย
- สายวัด
- ปากกาเขียนเครื่องแก้ว

3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ การทำอิเล็กโทรโฟรีซิส และการทำพีซีอาร์

- ตู้เย็นและตู้แช่แข็ง -30 องศาเซลเซียส
- เครื่องไมโครเซนติฟิวก์
- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง
- เครื่องคนสารละลายอัตโนมัติ
- แท่งแม่เหล็ก
- ปิเปตปรับปริมาตร
- เครื่องเขย่า (vortex)
- หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave)
- เครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า
- เครื่องอิเล็กโทรโฟรีซีส
- เครื่องพีซีอาร์
- โกร่งบดตัวอย่าง
- หลอดเอฟเพนดอร์ฟ
- ตู้ไมโครเวฟ
- Tip
- เครื่อง Gel documentation
- น้ำแข็ง และกระติกน้ำแข็ง
- เครื่องแก้ว กระบอกตวง และขวดต่างๆ

บทที่ 3

ผล

1. การศึกษาความแตกต่างระหว่างพืชสกุล *Parkia* ทง และเตียน รวมทั้งภายในกลุ่มสะตอ (*Parkia speciosa* Hassk.) โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

1.1 พืชสกุล *Parkia*

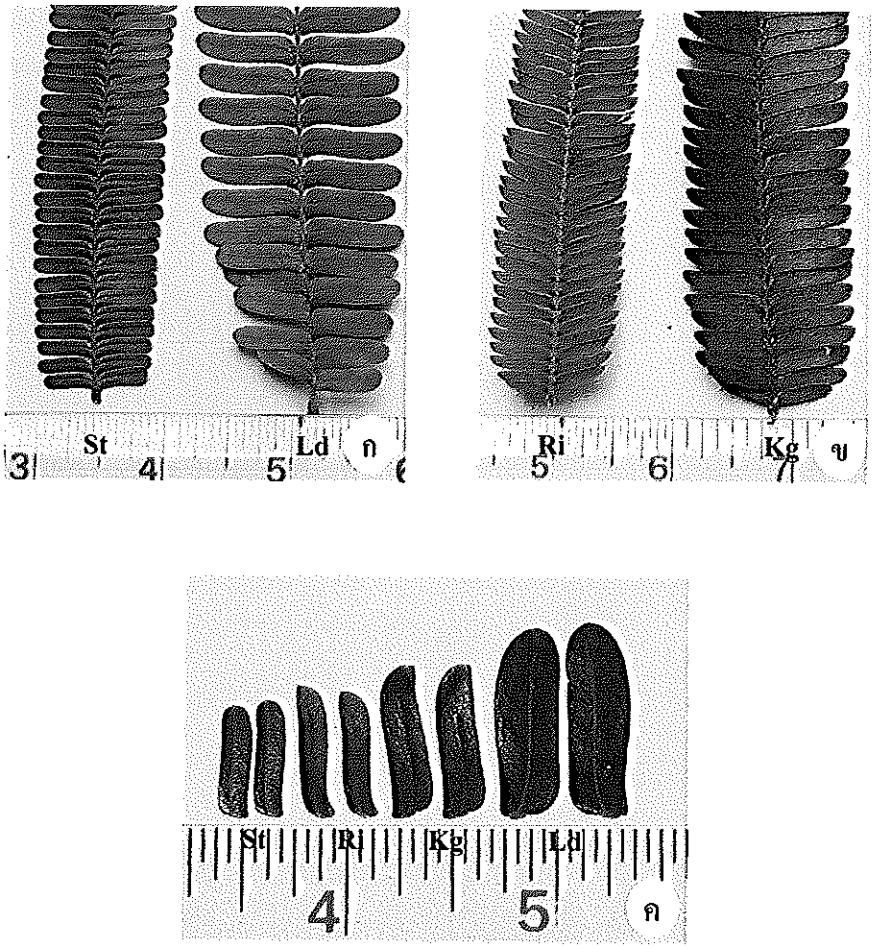
ผลจากการศึกษาข้อมูลทางสัณฐานวิทยาของพืชสกุล *Parkia* ทั้ง 4 ชนิด ที่พบในประเทศไทย คือ สะตอ เหรียง ค้อนก้อง และลูกดิ่ง พบว่า

1.1.1 ลักษณะต้นและใบ

ลักษณะต้นของสะตอมีขนาดเล็กกว่าพืชสกุล *Parkia* ชนิดอื่นๆ แต่ยังไม่สามารถนำมาใช้ในการแยกความแตกต่างระหว่างชนิดได้อย่างชัดเจน ส่วนลักษณะใบ สามารถแยกความแตกต่างในส่วนของใบย่อยได้ ซึ่งมีลักษณะที่แตกต่างกันในพืชสกุล *Parkia* ทั้ง 4 ชนิด โดยสามารถแบ่งแยกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีลักษณะปลายใบมน และกลุ่มที่มีลักษณะปลายใบแหลม (รูปที่ 3 ก-ข) ดังนี้

- กลุ่มที่ 1 มีลักษณะปลายใบมน พบในกลุ่มประชากรสะตอ และกลุ่มประชากรลูกดิ่ง
- กลุ่มที่ 2 มีลักษณะปลายใบแหลม พบในกลุ่มประชากรเหรียง และกลุ่มประชากรค้อนก้อง

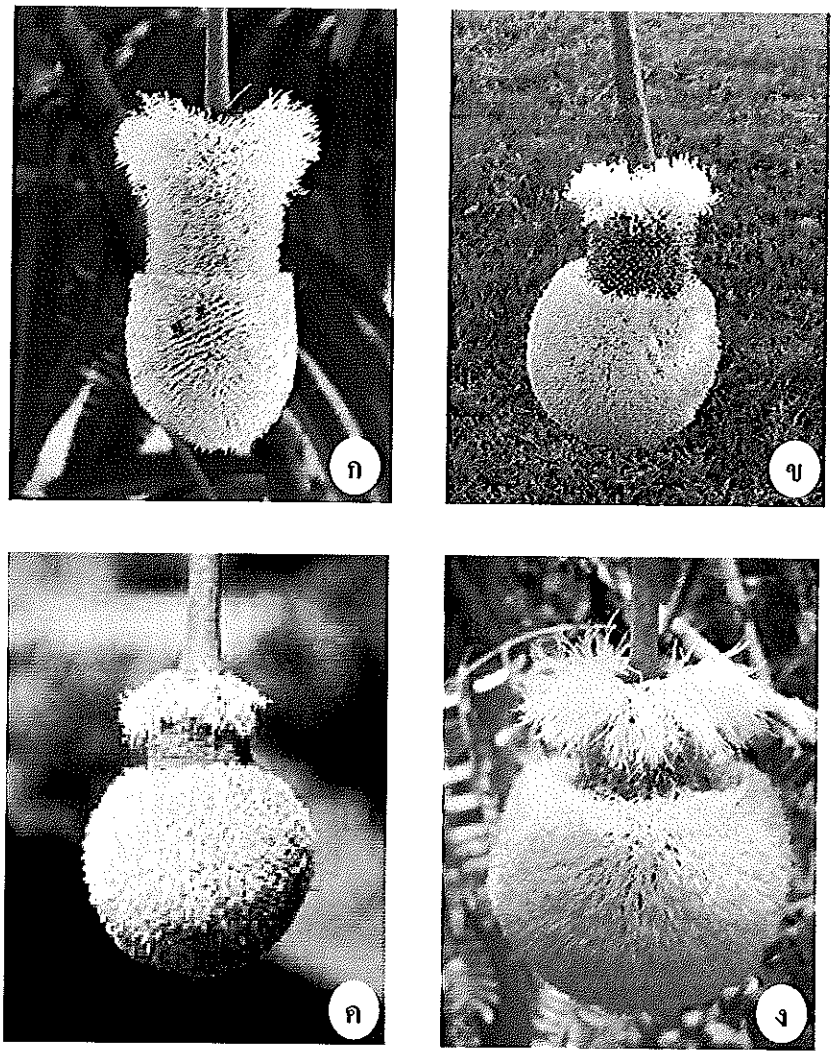
นอกจากนี้ พบว่า ใช้ขนาดใบย่อย แยกพืชสกุล *Parkia* ทั้ง 4 ชนิดได้เช่นกัน โดยพบว่า ลูกดิ่ง มีขนาดใบย่อยใหญ่ที่สุด รองลงมาเป็นค้อนก้อง เหรียง และสะตอ ตามลำดับ (รูปที่ 3 ค)



รูปที่ 3 ลักษณะปลายใบ และขนาดใบย่อยของพืชสกุล *Parkia* ทั้ง 4 ชนิด
(ก) ปลายใบมน พบในสะตอ (St) และลูกดิ่ง (Ld)
(ข) ปลายใบแหลม พบในเหรียง (Ri) และค้อนก้อง (Kg)
(ค) ขนาดใบย่อยของสะตอ (St) เหรียง (Ri) ค้อนก้อง (Kg) และลูกดิ่ง (Ld)

1.1.2 ลักษณะดอกและช่อดอก

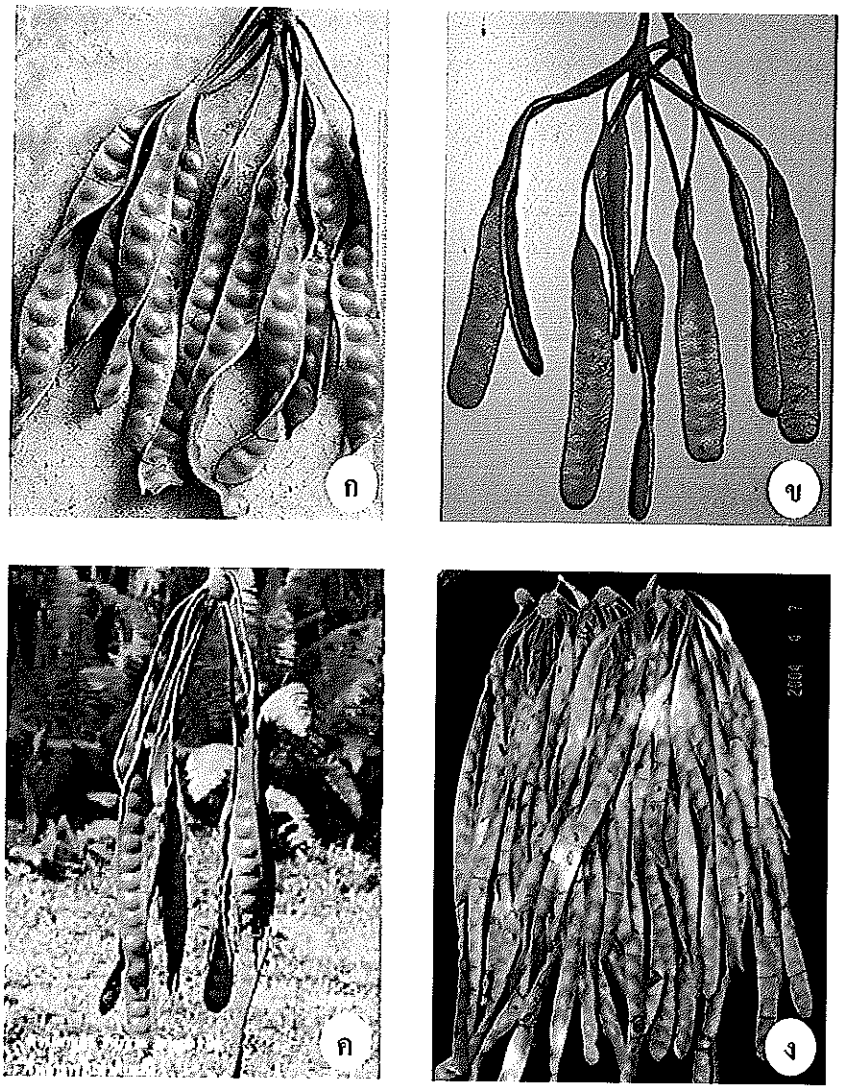
ลักษณะดอกและช่อดอกของพืชสกุล *Parkia* มีทั้งลักษณะดอกเป็นรูปรี และรูปกระบอง โดยในกลุ่มสะตอ สามารถพบได้ทั้งสองลักษณะ ส่วนเหรียง ค้อนก้อง และลูกดิ่ง ส่วนใหญ่พบลักษณะเดียว คือรูปกระบอง สีของช่อดอกสามารถใช้แยกความแตกต่างระหว่างกลุ่มลูกดิ่งกับกลุ่ม *Parkia* ชนิดอื่นๆ ได้อย่างชัดเจน โดยพบว่ากลุ่มลูกดิ่ง มีสีของช่อดอกเป็นสีเหลืองเข้ม ในส่วนของดอกตัวผู้ และดอกสมบูรณ์เพศ ส่วน *Parkia* อีกสามชนิด ดอกตัวผู้ มีลักษณะสีขาวหรือครีม ดอกสมบูรณ์เพศมีสีเหลืองอ่อน (รูปที่ 4)



รูปที่ 4 ลักษณะช่อดอกของพืชสกุล *Parkia* ทั้ง 4 ชนิด คือ สะตอ (ก) เหรียง (ข) ค้อนก้อง (ค) และลูกดิ่ง (ง)

1.2.3 ขนาดและรูปร่างฝัก

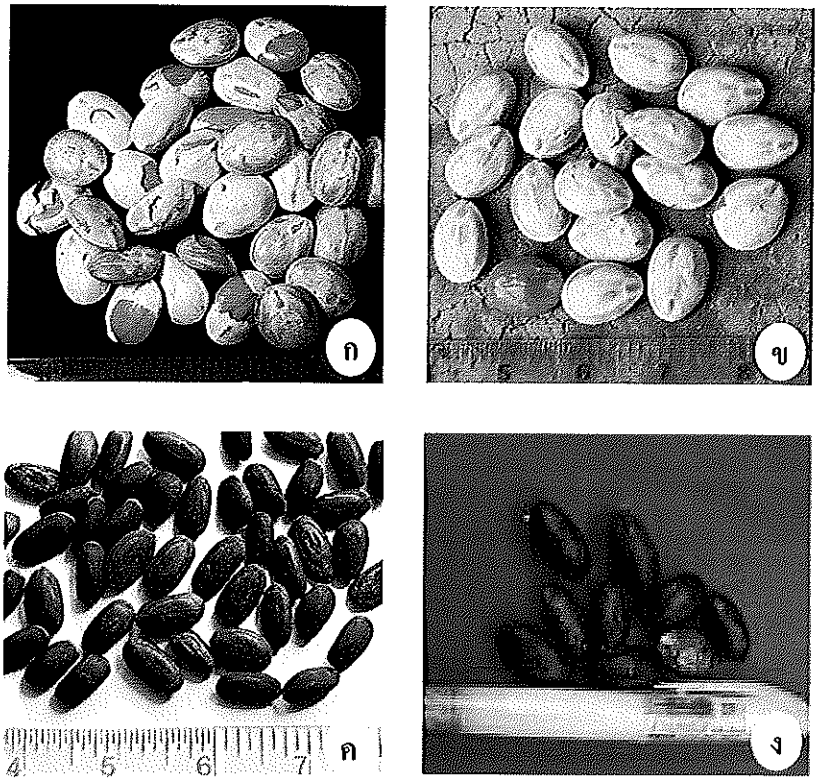
ขนาดและรูปร่างฝัก สามารถแยกความแตกต่างระหว่างประชากรกลุ่มเหรียงออกจากกลุ่ม *Parkia* ชนิดอื่นๆ ได้อย่างชัดเจน เพราะขนาดฝักของเหรียงจะมีขนาดสั้น หนา แข็ง และค่อนข้างแบน ตรง (รูปที่ 5ข)



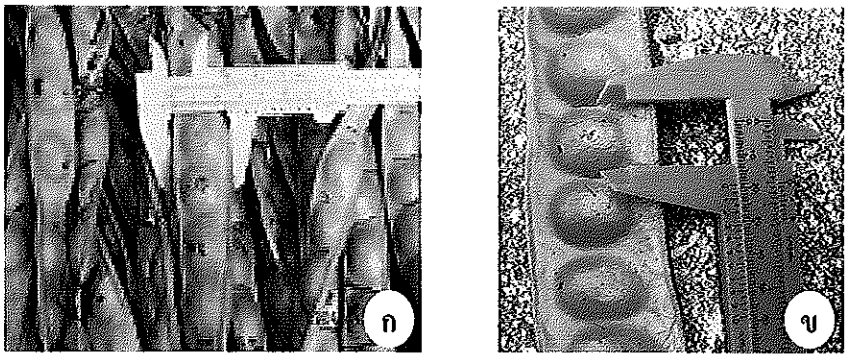
รูปที่ 5 ลักษณะฝักของพืชสกุล *Parkia* ทั้ง 4 ชนิด คือ สะตอ (ก) เหรียง (ข) ค้อนก้อง (ค) และลูกดิ่ง (ง)

1.2.4 ลักษณะเมล็ด

ลักษณะเมล็ด พบว่า เมล็ดสะตอ มีลักษณะคล้ายกับเมล็ดลูกดิ่ง คือ มีเปลือกหุ้มเมล็ดบางสีครีม ส่วนเมล็ดเหรียง มีลักษณะคล้ายกับเมล็ดค้อนก้อง คือ มีเปลือกหุ้มเมล็ดแข็งสีดำ (รูปที่ 6) นอกจากนี้ การเรียงตัวของเมล็ด สามารถนำมาใช้แยกกลุ่มลูกดิ่ง ออกจากกลุ่ม *Parkia* อีก 3 ชนิดได้ โดยกลุ่มลูกดิ่ง มีการเรียงตัวของเมล็ดอยู่ในแนวเดียวกับฝักหรือแนวดิ่ง ส่วนสะตอ เหรียง และค้อนก้อง มีการเรียงตัวของเมล็ดอยู่ในแนวขวางของฝัก (รูปที่ 7)



รูปที่ 6 ลักษณะเปลือกหุ้มเมล็ดบาง พบในสะตอ (ก) และลูกดิ่ง (ข) เปลือกหุ้มเมล็ดแข็ง พบในเหรียง (ค) และค้อนก้อง (ง)



รูปที่ 7 ลักษณะการเรียงตัวของเมล็ดในพืชสกุล *Parkia* ทั้ง 4 ชนิด
(ก) เมล็ดเรียงในแนวดิ่ง พบในลูกดิ่ง
(ข) เมล็ดเรียงในแนวขวาง พบใน สะตอ เหรียง และค้อนก้อง

1.2 สะตอ (*Parkia speciosa* Hassk.)

ผลจากการศึกษาข้อมูลทางสัณฐานวิทยาภายในกลุ่มสะตอ คือ สะตอข้าว และสะตอดาน พบว่า

1.2.1 ลักษณะต้นและใบ

ลักษณะต้นและใบ ไม่สามารถใช้แยกความแตกต่างระหว่างกลุ่มได้

1.2.2 ลักษณะดอกและช่อดอก

ลักษณะดอกและช่อดอก ไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างกลุ่มได้

1.2.3 ลักษณะฝักและเมล็ด

ลักษณะฝักและเมล็ด เป็นลักษณะเดียวที่เคยใช้แยกความแตกต่างระหว่างกลุ่มสะตอข้าว และสะตอดาน แต่ปัจจุบันพบว่า การใช้ลักษณะดังกล่าวในการแยกกลุ่มสะตอทั้ง 2 กลุ่ม ทำได้ยากขึ้น เนื่องจากภายในกลุ่มสะตอ คือ สะตอข้าว และสะตอดาน เป็นลูกผสมแบบเปิดตามธรรมชาติ ส่งผลให้ลักษณะฝักและเมล็ดของแต่ละกลุ่ม มีความแปรปรวนและความหลากหลายสูง จากการศึกษาสะตอ จำนวน 69 ต้น พบว่า ลักษณะฝักและเมล็ด ส่วนใหญ่มีลักษณะที่ก้ำกึ่งกันของลักษณะสะตอข้าว และสะตอดาน ผลการทดลองที่ได้ยังไม่ชัดเจน จึงทำการคัดเลือกลักษณะฝักและเมล็ด ที่เห็นลักษณะภายนอกระหว่างสะตอข้าว และสะตอดานชัดเจน โดยทำการคัดเลือกจากตัวอย่างที่นำมาศึกษาในครั้งแรก จำนวน 69 ต้น คัดเลือกมา 12 ต้น และเก็บตัวอย่างเพิ่มเติมจากภายนอกอีก 19 ต้น รวมจำนวนทั้งหมด 31 ต้น (รูปที่ 8) โดยทำการบันทึกลักษณะดังนี้ คือ จำนวนฝักต่อช่อ จำนวนเมล็ดต่อฝัก ความกว้างและความยาวฝัก และเมล็ด จากนั้นนำไปวิเคราะห์ข้อมูลโดยทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มประชากร (T-Test) โดยใช้โปรแกรม SAS (วัชรินทร์, 2545) พบว่า ลักษณะของจำนวนฝักต่อช่อ จำนวนเมล็ดต่อฝัก ความยาวฝักของสะตอ จำนวน 31 ต้น ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ส่วนลักษณะความกว้างฝักและเมล็ด ความยาวเมล็ด พบว่า มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% (ตารางที่ 4)

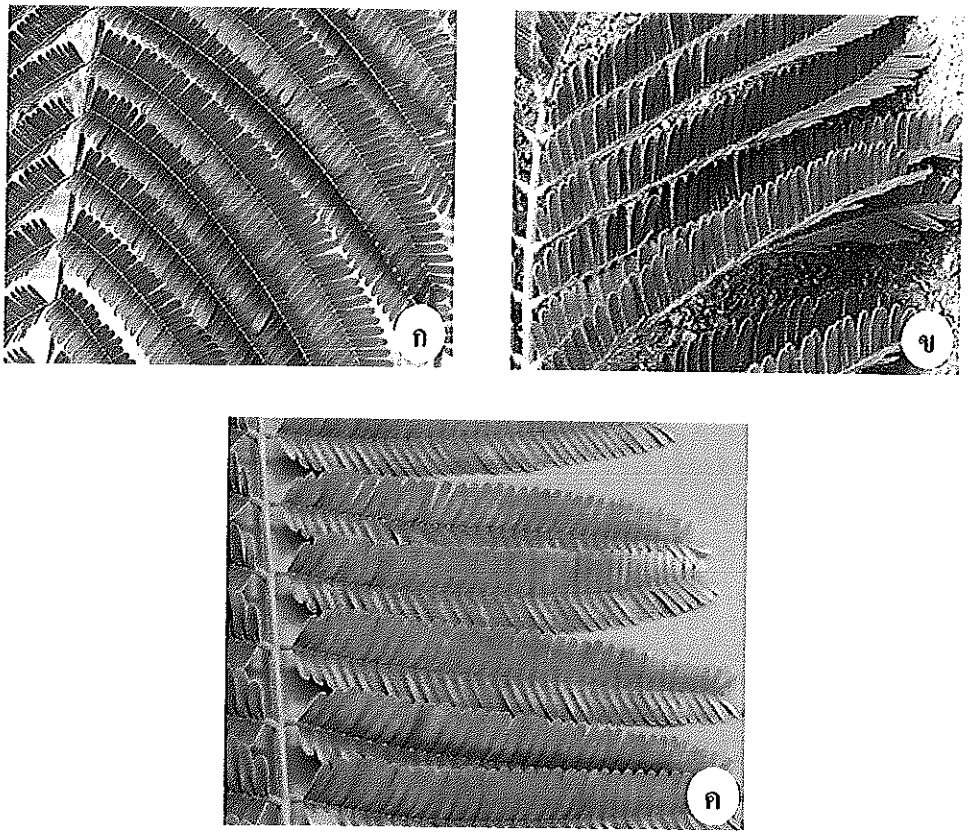
รูปที่ 8 ลักษณะฝักของกลุ่มสะตอข้าว (ก) และกลุ่มสะตอดาน (ข) จากการคัดเลือกลักษณะฝัก ที่เห็นลักษณะภายนอกแตกต่างกันชัดเจน

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนฝักต่อช่อ จำนวนเมล็ดต่อฝัก ความกว้าง – ความยาวฝัก และเมล็ด ของสะตอข้าว และสะตอดาน จำนวน 31 ต้น วิเคราะห์โดยโปรแกรม SAS

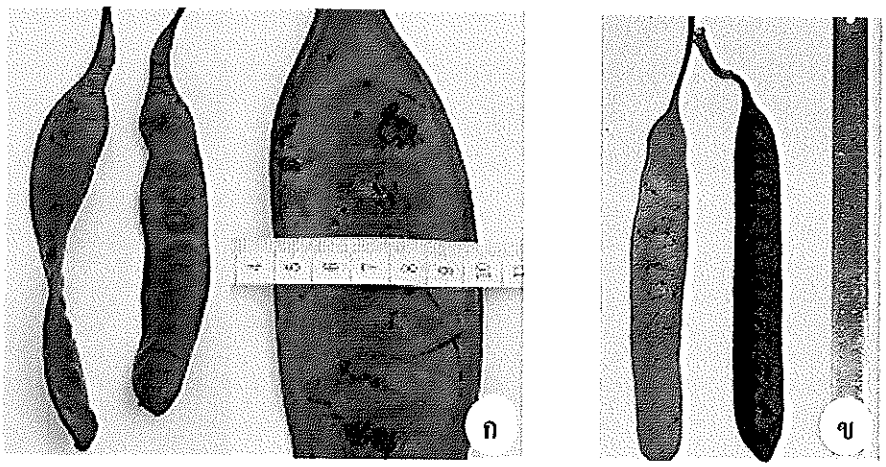
ลักษณะ	ค่าเฉลี่ย
จำนวนฝักต่อช่อ	
สะตอข้าว	7.37^{ns}
สะตอดาน	7.00^{ns}
จำนวนเมล็ดต่อฝัก	
สะตอข้าว	13.07^{ns}
สะตอดาน	13.46^{ns}
ความกว้าง X ความยาวฝัก	
สะตอข้าว	3.50** X 46.10^{ns}
สะตอดาน	4.30** X 48.40^{ns}
ความกว้าง X ความยาวเมล็ด	
สะตอข้าว	1.54** X 2.25**
สะตอดาน	1.79** X 2.53**

หมายเหตุ ** = มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%
ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

สำหรับตัวอย่าง ทง และเตียน พบว่า ลักษณะลำต้นและใบ คล้ายกับพืชสกุล *Parkia* ทั้ง 4 ชนิด โดยพบว่า ลักษณะใบของทง และเตียน มีลักษณะปลายใบมน เช่นเดียวกับสะตอ และลูกดิ่ง ส่วนขนาดของใบย่อยมีขนาดใกล้เคียงกับใบสะตอ (รูปที่ 9) ลักษณะช่อดอกและฝักของทง มีลักษณะคล้ายกับเหรียง คือ จะมีลักษณะฝักสั้น และแข็ง แต่มีความแตกต่างกันตรงขนาดของฝัก พบว่า ฝักทง มีขนาดความกว้างประมาณ 5.0 – 5.5 เซนติเมตร และมีการบิดเวียนของฝัก ในขณะที่ฝักเหรียงมีความกว้างประมาณ 3.5 – 4.0 เซนติเมตร ลักษณะฝักแบนตรง (รูปที่ 10) ในส่วนของเมล็ดยังไม่ได้ศึกษาให้ชัดเจน ลักษณะดอก ฝักและเมล็ด ของเตียนยังไม่ได้ศึกษาเช่นกัน



รูปที่ 9 เปรียบเทียบลักษณะใบของทง (ก) และเตียน (ข) กับสะตอ (ค)



รูปที่ 10 เปรียบเทียบลักษณะฝักของทง (ก) กับเหรียง (ข)

2. การศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมระหว่างพืชสกุล *Parkia* ทง และเตียน รวมทั้งภายในกลุ่มสะตอ (*Parkia speciosa* Hassk.) โดยเทคนิคอาร์เอพีดี

2.1 การสกัดดีเอ็นเอและการตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอ

จากการสกัดดีเอ็นเอจากใบพืชสกุล *Parkia* โดยบดตัวอย่างร่วมกับสารละลาย CTAB พบว่า สามารถสกัดดีเอ็นเอได้ครั้งละประมาณ 2 – 3 ไมโครกรัมต่อ 200 มิลลิกรัม ดีเอ็นเอที่ได้มีคุณภาพดีเพียงพอสำหรับการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์

2.2 การศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรม โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี

2.2.1 การคัดเลือกไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างพืชสกุล *Parkia* ทั้ง 4 ชนิด รวมทั้งทง และเตียน โดยปฏิกิริยาพีซีอาร์

ทำการทดสอบกับไพรเมอร์เบื้องต้น จำนวน 180 ไพรเมอร์ เพื่อหาไพรเมอร์ที่สามารถแยกความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอระหว่างพืชสกุล *Parkia* ทั้ง 4 ชนิด ผลการทดลองพบว่า มีไพรเมอร์ที่ให้ความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอ จำนวน 91 ไพรเมอร์ ให้แถบดีเอ็นเอเหมือนกัน เท่ากับ 26 ไพรเมอร์ ไพรเมอร์ที่ไม่ให้แถบดีเอ็นเอเลย จำนวน 16 ไพรเมอร์ และจำนวน 47 ไพรเมอร์ ที่ให้ผลไม่ชัดเจน จากจำนวนไพรเมอร์ที่ให้ความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอเบื้องต้นทั้งหมด 91 ไพรเมอร์ นำมาทดสอบรอบที่สอง เพื่อคัดเลือกหาไพรเมอร์ที่ให้ผลชัดเจนที่สุด โดยเพิ่มตัวอย่างกลุ่มสะตอข้าว และสะตอดาน อย่างละ 4 ต้น เหรียง จำนวน 2 ต้น จากแหล่งเก็บสองแหล่งคือ ศูนย์วิจัยพืชสวนตรัง จังหวัดตรัง และบริเวณเขตจังหวัดสงขลา

จากจำนวน 91 ไพรเมอร์ที่ให้ความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอ คัดเลือกไพรเมอร์ที่ให้ผลชัดเจนที่สุด จำนวน 8 ไพรเมอร์ คือ OPB – 04, OPB – 17, OPB – 18, OPC – 02, OPR – 01, OPR – 02 , OPT – 01 และ OPAB – 03 นำมาทดสอบเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอภายในกลุ่มสะตอ (สะตอข้าว และสะตอดาน) จำนวน 69 ต้น เหรียง จำนวน 12 ต้น ค้อนก้อง จำนวน 5 ต้น และลูกดิ่ง จำนวน 12 ต้น รวมทั้งตัวอย่างทง จำนวน 4 ต้น เตียน จำนวน 1 ต้น รวมทั้งหมด 103 ต้น จากการทดสอบพบว่า ให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 125 แถบ เฉลี่ย 15.63 แถบต่อไพรเมอร์ 101 แถบ (80.80%) เป็นแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดแตกต่างกัน เฉลี่ย 12.63 แถบต่อไพรเมอร์ และอีก 24 แถบ (19.20%) เป็นแถบ

ดีเอ็นเอที่ไม่มีความแตกต่างกัน ไพรเมอร์ OPT – 01 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอสูงสุด จำนวน 21 แถบ ไพรเมอร์ OPR – 02 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอน้อยที่สุด จำนวน 11 แถบ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ชนิดของไพรเมอร์ ลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอเหมือนกัน และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่ต่างกัน จากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดีในพืชสกุล *Parkia* ทั้ง 4 ชนิด ทง และเตียน จำนวนทั้งหมด 103 ต้น

Primer	Sequence (5'>3')	Amplified fragments	Monomorphic fragments	Polymorphic fragments
OPB-04	GGACTGGAGT	17	1	11
OPB-17	AGGGAACGAG	16	4	12
OPB-18	CCACAGCAGT	13	5	8
OPC-02	GTGAGGCGTC	13	4	9
OPR-01	TGCGGGTCCT	17	2	15
OPR-02	CACAGCTGCC	11	3	8
OPT-01	GGGCCACTCA	21	4	17
OPAB-03	TGGCGCACAC	17	1	16
Total		**125**	**24**	**101**
Polymorphic (%)		-	-	**80.80**

2.2.2 การศึกษาแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน ภายในกลุ่มสะตอ (*Parkia speciosa* Hassk.)

ผลการเปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันภายในกลุ่มสะตอ (สะตอข้าวและสะตอดาน) จำนวน 69 ต้น จากการทดสอบด้วยไพรเมอร์ที่คัดเลือกแล้ว จำนวน 8 ไพรเมอร์ พบว่า ให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 112 แถบ เฉลี่ย 14 แถบต่อไพรเมอร์ ในจำนวนนี้มี 77 แถบ (68.75%) เป็นแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดแตกต่างกัน และอีก 35 แถบ (31.25%) เป็นแถบที่ไม่มีความแตกต่างกัน ไพรเมอร์ OPT – 01 มีจำนวนแถบดีเอ็นเอสูงสุด 19 แถบ เป็นแถบดีเอ็นเอที่แตกต่าง จำนวน 14

แถบหรือคิดเป็น 73.68% ไพรเมอร์ OPR – 02 มีจำนวนแถบดีเอ็นเอน้อยที่สุด เท่ากับ 9 แถบ เป็นแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน 5 แถบ นอกจากนี้พบว่า ไพรเมอร์ OPB – 18 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันน้อยสุด คิดเป็น 50.0% (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ชนิดของไพรเมอร์ จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกัน และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่แตกต่าง จากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดี ภายในกลุ่มสะตอ (สะตอข้าวและสะตอดาน) จำนวนทั้งหมด 69 ต้น

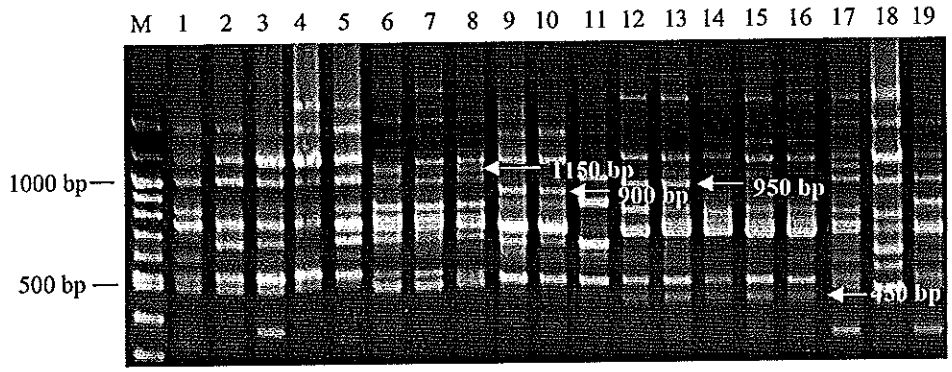
Primer	Amplified fragments	Monomorphic fragments	Polymorphic fragments
OPB-04	15	4	11
OPB-17	16	5	11
OPB-18	12	6	6
OPC-02	13	5	8
OPR-01	16	4	12
OPR-02	9	4	5
OPT-01	19	5	14
OPAB-03	12	2	10
Total	**112**	**35**	**77**
Polymorphic (%)	-	-	**68.75**

2.3 การวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่ได้จากการทำอาร์เอพีดี - พีซีอาร์

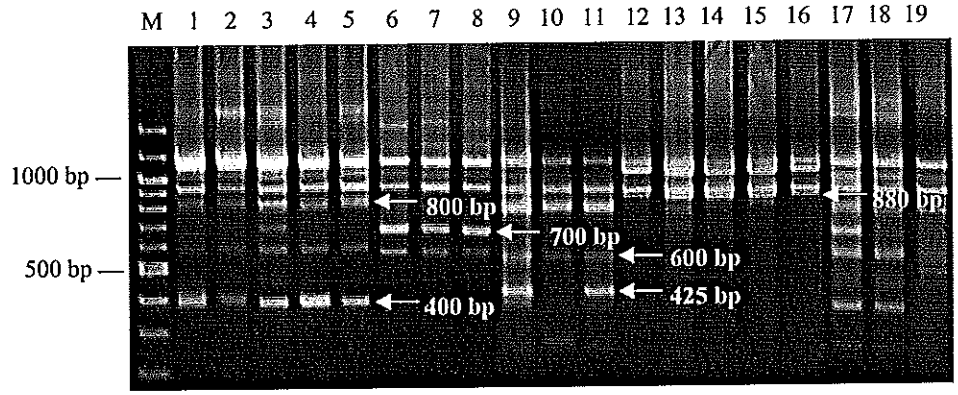
ผลการวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่ได้จากการทำอาร์เอพีดี - พีซีอาร์กับไพรเมอร์จำนวน 8 ไพรเมอร์ ที่ได้จากการคัดเลือกกับตัวแทนกลุ่มพืชสกุล *Parkia* ทั้ง 4 ชนิด ทง และเตียน จากการวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอ พบแถบดีเอ็นเอที่จำเพาะกับลูกดิ่ง และค้อนก้อง เช่น แถบดีเอ็นเอขนาด 950 คู่เบส และ 450 คู่เบส จากไพรเมอร์ OPAB – 03 (รูปที่ 11 ก) และแถบดีเอ็นเอขนาด 880 คู่เบส จากไพรเมอร์ OPR – 02 (รูปที่ 11 ข) ที่พบเฉพาะในลูกดิ่ง เช่นเดียวกับแถบดีเอ็นเอขนาด 425

คู่เบส จากไพรเมอร์ OPR – 02 (รูปที่ 11 ข) ที่พบเฉพาะในค้อนก้อง นอกจากนี้พบแถบดีเอ็นเอจากไพรเมอร์ OPR – 01 (รูปที่ 11 ค) OPT – 01 (รูปที่ 12 ก) OPC - 02 (รูปที่ 12 ข) OPB – 17 (รูปที่ 12 ค) OPB – 18 (รูปที่ 13 ก) และ OPB – 04 (รูปที่ 13 ข) ซึ่งเป็นแถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างชนิดในพืชสกุล *Parkia* (ตารางที่ 7)

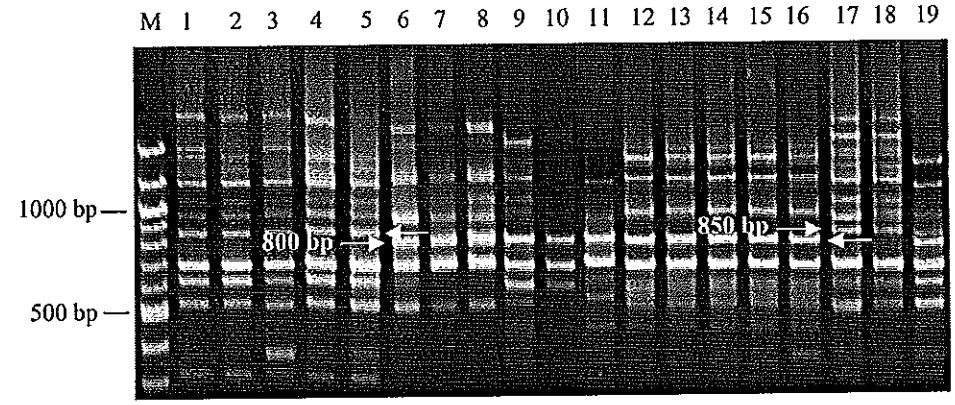
เมื่อแยกวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอเฉพาะภายในกลุ่มสะตอ (สะตอข้าว และสะตอดาน) จำนวน 69 ต้น พบว่า ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะกับสะตอข้าวหรือสะตอดาน แต่เมื่อนำแหล่งที่เก็บในแต่ละจังหวัด ได้แก่ จังหวัดตรัง สงขลา และสุราษฎร์ธานี มาวิเคราะห์ร่วมด้วย พบแถบดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะกับแหล่งที่เก็บ ดังนี้คือ พบแถบดีเอ็นเอขนาด 2000 คู่เบส จากไพรเมอร์ OPB – 17 และ 350 คู่เบส จากไพรเมอร์ OPR – 02 ที่พบเฉพาะในสะตอข้าว และสะตอดาน จากแหล่งเก็บจังหวัดสงขลา และแถบดีเอ็นเอขนาด 2125 คู่เบส จากไพรเมอร์ OPB – 17 และ 600 คู่เบส จากไพรเมอร์ OPR – 01 ที่พบในสะตอข้าวและสะตอดาน จากแหล่งเก็บจังหวัดตรังและสุราษฎร์ธานี (รูปที่ 14) เนื่องจากสะตอข้าวและสะตอดานที่เป็นตัวอย่างในการศึกษาครั้งนี้ บางตัวอย่างมีลักษณะก้ำกึ่ง จึงแยกสะตอข้าว และสะตอดาน ที่มีความแตกต่างชัดเจน โดยอาศัยลักษณะฝักเป็นเกณฑ์ จำนวน 31 ต้น มาวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอ พบแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกันระหว่างต้น แต่ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะหรือสามารถใช้แยกสะตอทั้งสองกลุ่มออกจากกันได้ (รูปที่ 15 – 17)



ก

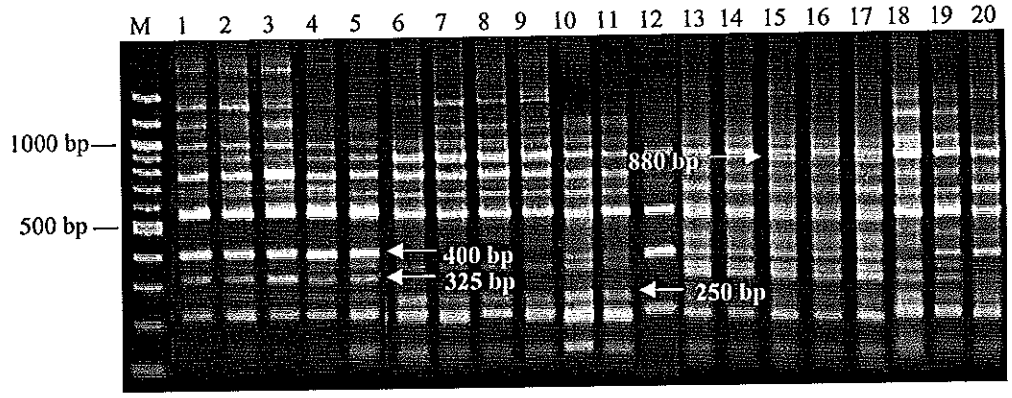


ข

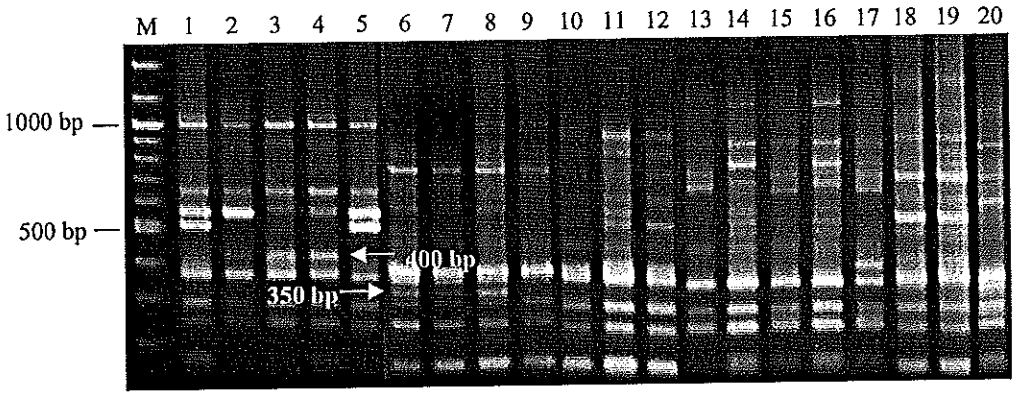


ค

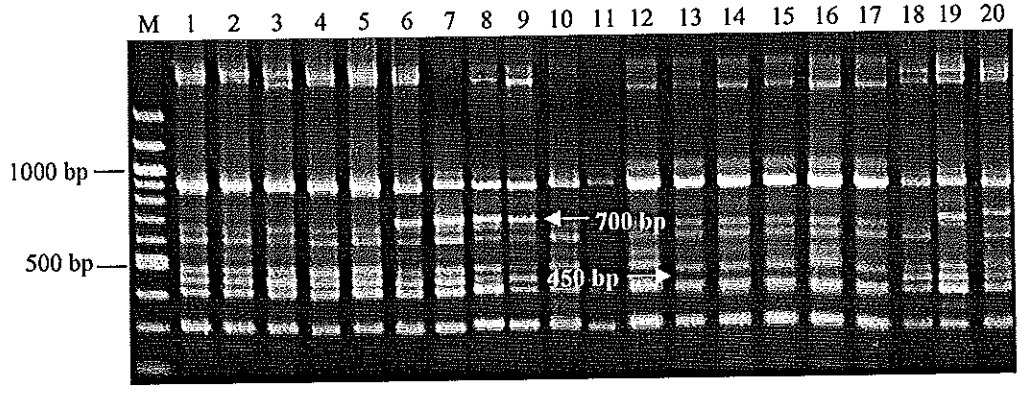
รูปที่ 11 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอในตัวอย่างสะตอ (lane 1-5) เหรียง (lane 6-8) ค้อนก้อง (lane 9-11) ลูกดิ่ง (lane 12-16) ทง (lane 17-18) และเตียน (lane 19) จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPAB-03 (ก) OPR-02 (ข) และ OPR-01 (ค) M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



ก

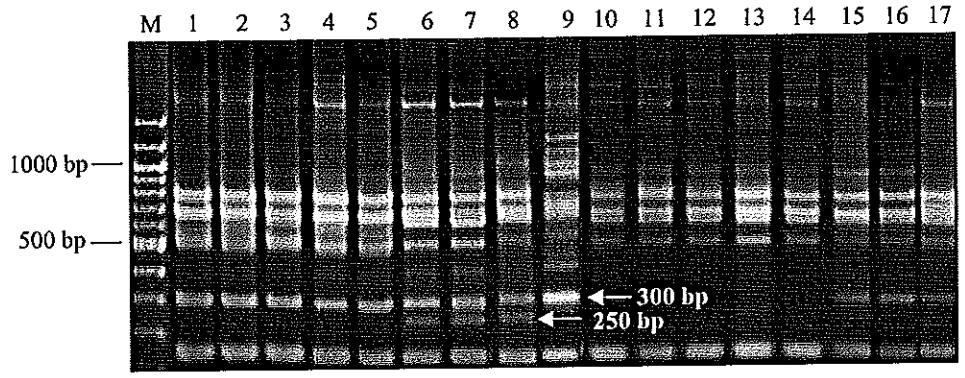


ข

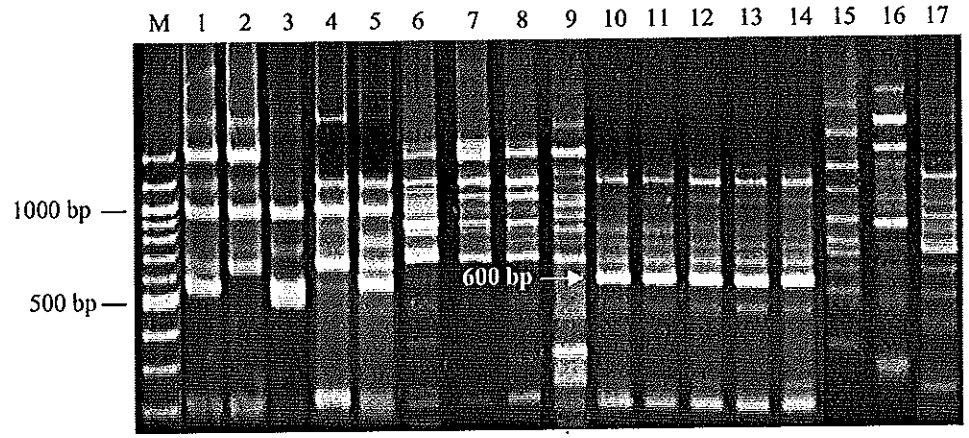


ค

รูปที่ 12 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างสะตอ (lane 1-5) เหรียง (lane 6-9) ค้อนก้อง (lane 10-12) ลูกดิ่ง (lane 13-17) ทง (lane 18-19) และเตียน (lane 20) จากเทคนิคอาร์เอพีดีเมื่อใช้ไพรเมอร์ OPT-01 (ก) OPC-02 (ข) และ OPB-17 (ค) M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส

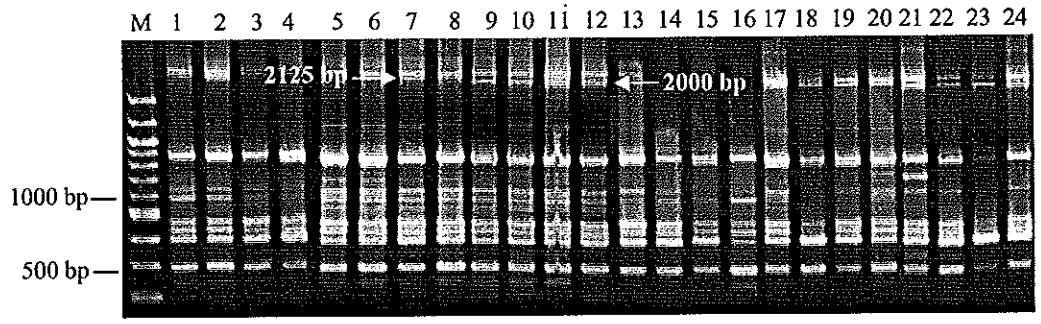


ก

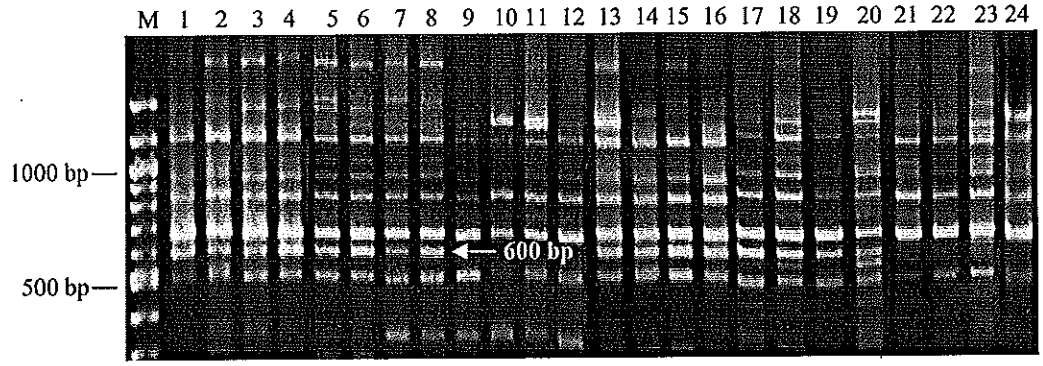


ข

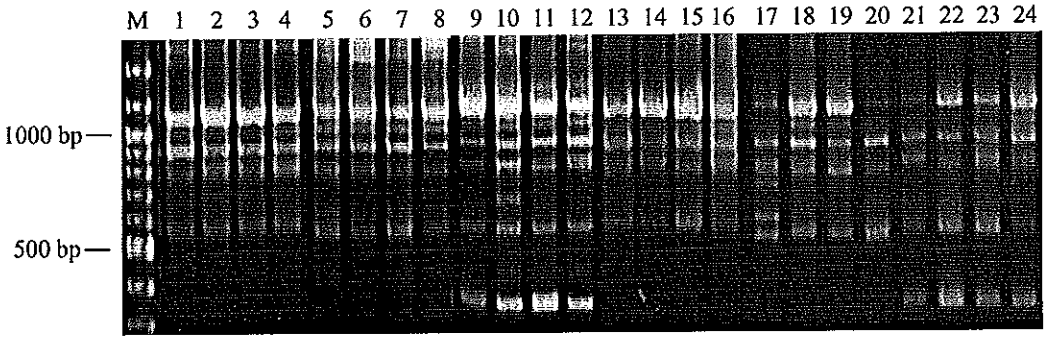
รูปที่ 13 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างสะตอ (lane 1-5) เหรียง (lane 6-8) ค้อนก้อง (lane 9) ลูกดิ่ง (lane 10-14) ทง (lane 15-16) และเตียน (lane 17) จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPB-18 (ก) และไพรเมอร์ OPB-04 (ข) M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



ก

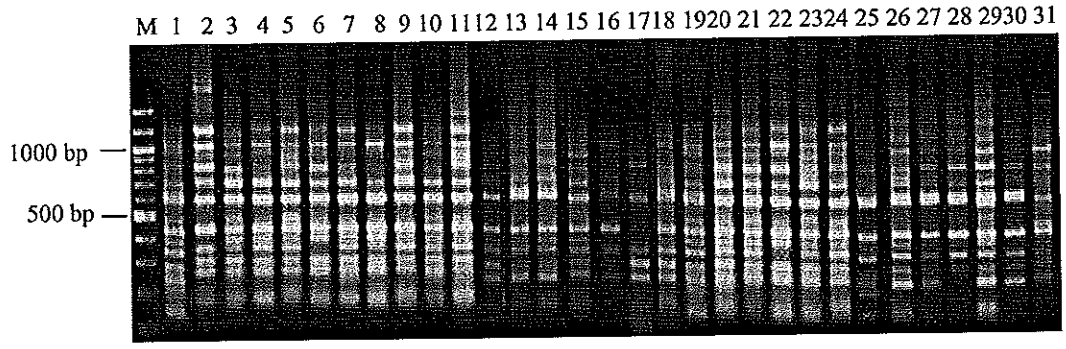


ข

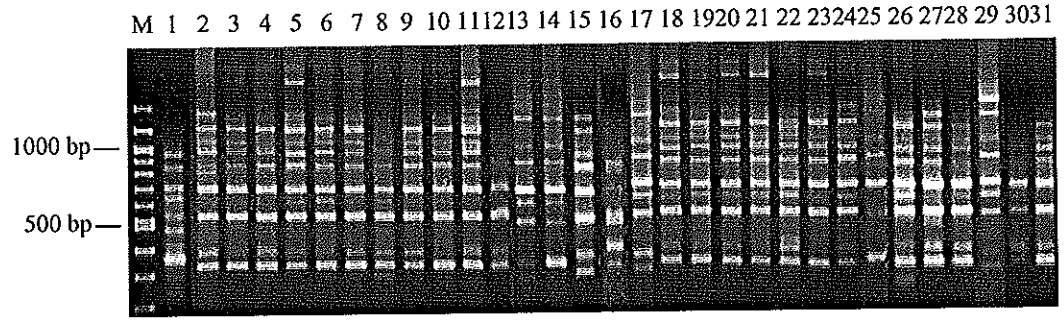


ค

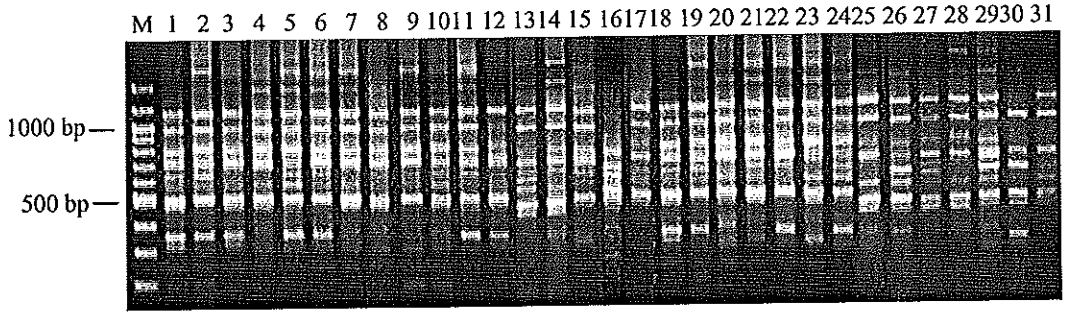
รูปที่ 14 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอในตัวอย่างสะตอข้าว และสะตอดาน จากแหล่งเก็บในเขตจังหวัดสุราษฎร์ธานี (lane 1-4; 13-16) ตรัง (lane 5-8; 17-20) และสงขลา (lane 9-12; 21-24) จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPB-17 (ก) OPR-01 (ข) และ OPR-02 (ค) M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



ก

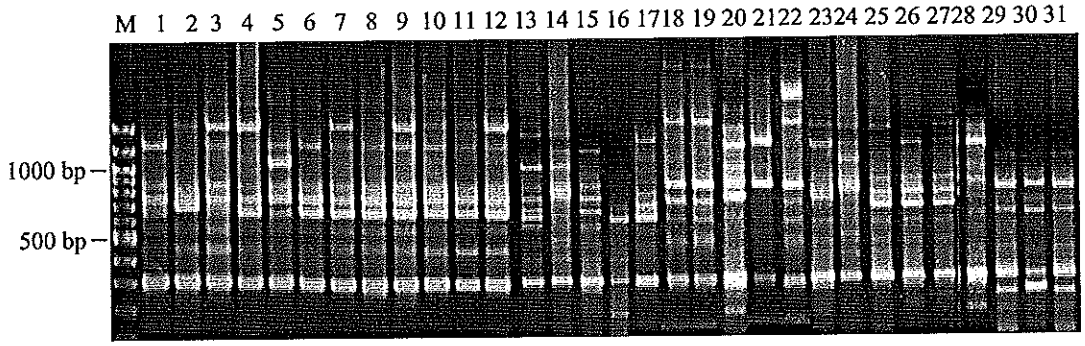


ข

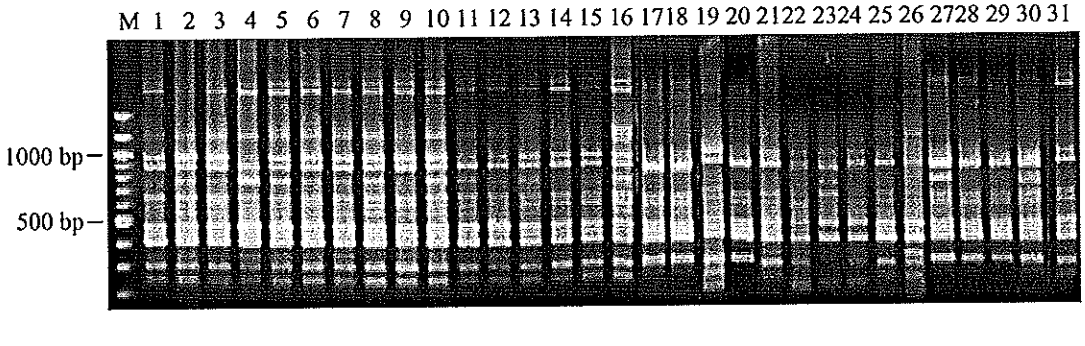


ค

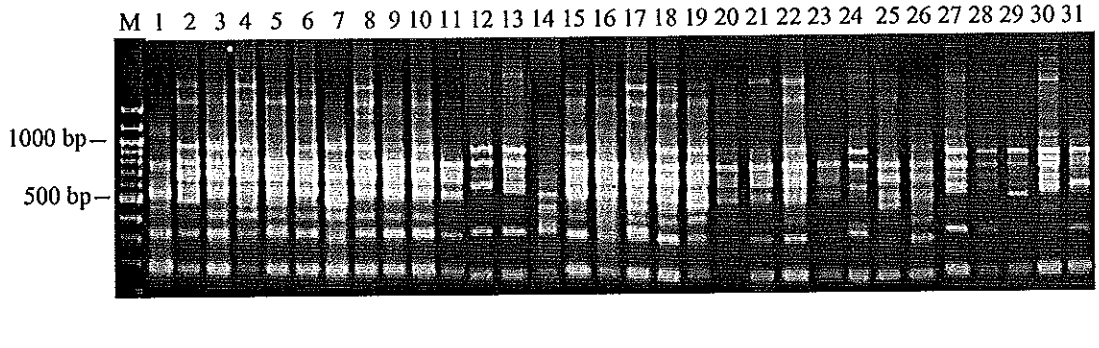
รูปที่ 15 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอในกลุ่มสะตอข้าว (lane 1-19) และสะตอดาน (lane 20-31) ที่คัดเลือกลักษณะที่แตกต่างชัดเจนของฝัก จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPT-01 (ก) OPR-01 (ข) และ OPAB-03 (ค) M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



ก

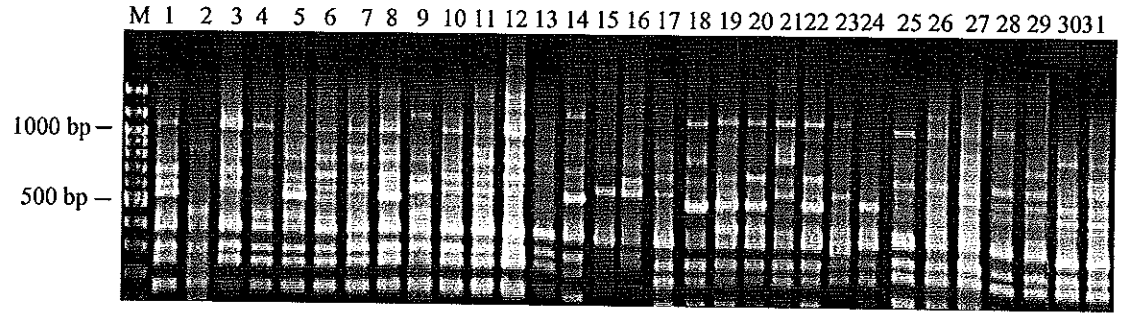


ข

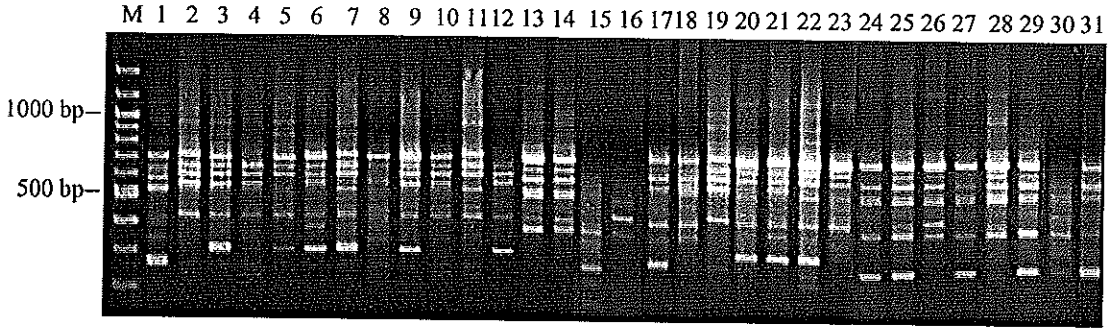


ค

รูปที่ 16 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอในกลุ่มสะตอข้าว (lane 1-19) และสะตอดาน (lane 20-31) ที่คัดเลือกลักษณะที่แตกต่างชัดเจนของฝัก จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPB-04 (ก) OPB-17 (ข) และ OPB-18 (ค) M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



ก



ข

รูปที่ 17 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอในกลุ่มสะตอข้าว (lane 1-19) และสะตอดาน (lane 20-31) ที่คัดเลือกลักษณะที่แตกต่างชัดเจนของฝัก จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPC-02 (ก) และ OPR-02 (ข) M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส

ตารางที่ 7 เปอร์เซ็นต์แถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างในพืชสกุล *Parkia* ทง และเตียน จำนวน 103 ตัวอย่าง จากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดี

primer	Fragment size (bp)	DNA fragment (%)					
		St	Ri	Kg	Ld	Tg	Ti
OPB-04	600	10.14	0	0	41.67	75.00	0
OPAB-03	1150	0	66.67	0	0	50.00	100.00
	950	0	0	0	33.33	0	0
	900	0	25.00	100.00	0	0	0
	600	57.17	66.67	100.00	0	100.00	0
	500	57.97	100.00	0	0	100.00	100.00
	450	0	0	0	100.00	0	0
OPR-02	880	0	0	0	100.00	0	0
	800	31.88	0	0	0	0	100.00
	700	4.35	91.67	0	0	100.00	0
	600	100.00	100.00	40.00	0	100.00	100.00
	425	0	0	100	0	0	0
	400	39.13	0	0	0	75.00	0
OPT-01	880	28.99	0	0	100.00	0	0
	400	81.16	0	40.00	75.00	75.00	100.00
	335	0	0	60.00	100.00	0	0
	325	100.00	0	80.00	0	0	0
	250	100.00	100.00	100.00	0	100.00	100.00
OPB-17	700	5.79	91.67	0	0	100.00	0
	450	95.65	100.00	100.00	0	75.00	100.00
OPR-01	850	100.00	0	0	0	100.00	100.00
	800	5.79	91.67	100.00	100.00	50.00	100.00
OPC-02	400	49.28	0	0	8.33	0	0
	350	8.69	100.00	0	0	0	100.00
OPB-18	300	0	100.00	40.00	8.33	0	0
	250	0	91.67	0	0	25.00	0

หมายเหตุ St คือ กลุ่มประชากรสะตอ Ri คือ กลุ่มประชากรเหรียง

Kg คือ กลุ่มประชากรค้อนก้อง Ld คือ กลุ่มประชากรลูกดิ่ง

Tg คือ กลุ่มประชากรทง Ti คือ ตัวแทนกลุ่มประชากรเตียน

3. การศึกษาความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรม

3.1 การศึกษาความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมระหว่างพืชสกุล *Parkia* ทั้ง 4 ชนิด ทง และเตียน

จากการศึกษาความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Parkia* ทั้ง 4 ชนิด คือ สะตอ เหรียง ค้อนก้อง และลูกดิ่ง รวมทั้ง ทง และเตียน โดยใช้แถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี ทั้งหมด 125 แถบ นำไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมด้วยการวิเคราะห์ UPGMA cluster analysis หาค่า Similarity coefficient ของ Jaccard (1908) กับโปรแกรม NTSYS version 2.1 (Rohlf, 2002)

ผลการวิเคราะห์หาดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Parkia* ทง และเตียน จำนวน 103 ต้น พบว่า มีค่าอยู่ในช่วง 0.437 – 1.000 และจากเดนโดรแกรมสามารถจัดกลุ่มตามความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรม แยกแต่ละชนิดของพืชสกุล *Parkia* ออกมาได้อย่างชัดเจน เป็น 5 กลุ่ม (รูปที่ 18) ดังนี้

กลุ่มที่ I คือ กลุ่มสะตอ (St) ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีจำนวนตัวอย่างมากที่สุด คือ 69 ตัวอย่าง ทั้งหมดอยู่ในกลุ่มนี้ คิดเป็น 100% นอกจากนี้ยังพบเหรียง จำนวน 2 ตัวอย่างปะปนอยู่ด้วย คิดเป็น 16.67% ของจำนวนตัวอย่างเหรียงทั้งหมด

กลุ่มที่ II คือ กลุ่มเหรียง (Ri) จำนวน 10 ตัวอย่าง คิดเป็น 83.33% ของจำนวนตัวอย่างเหรียงทั้งหมด นอกจากนี้ยังพบเตียน อยู่ในกลุ่มนี้ด้วย

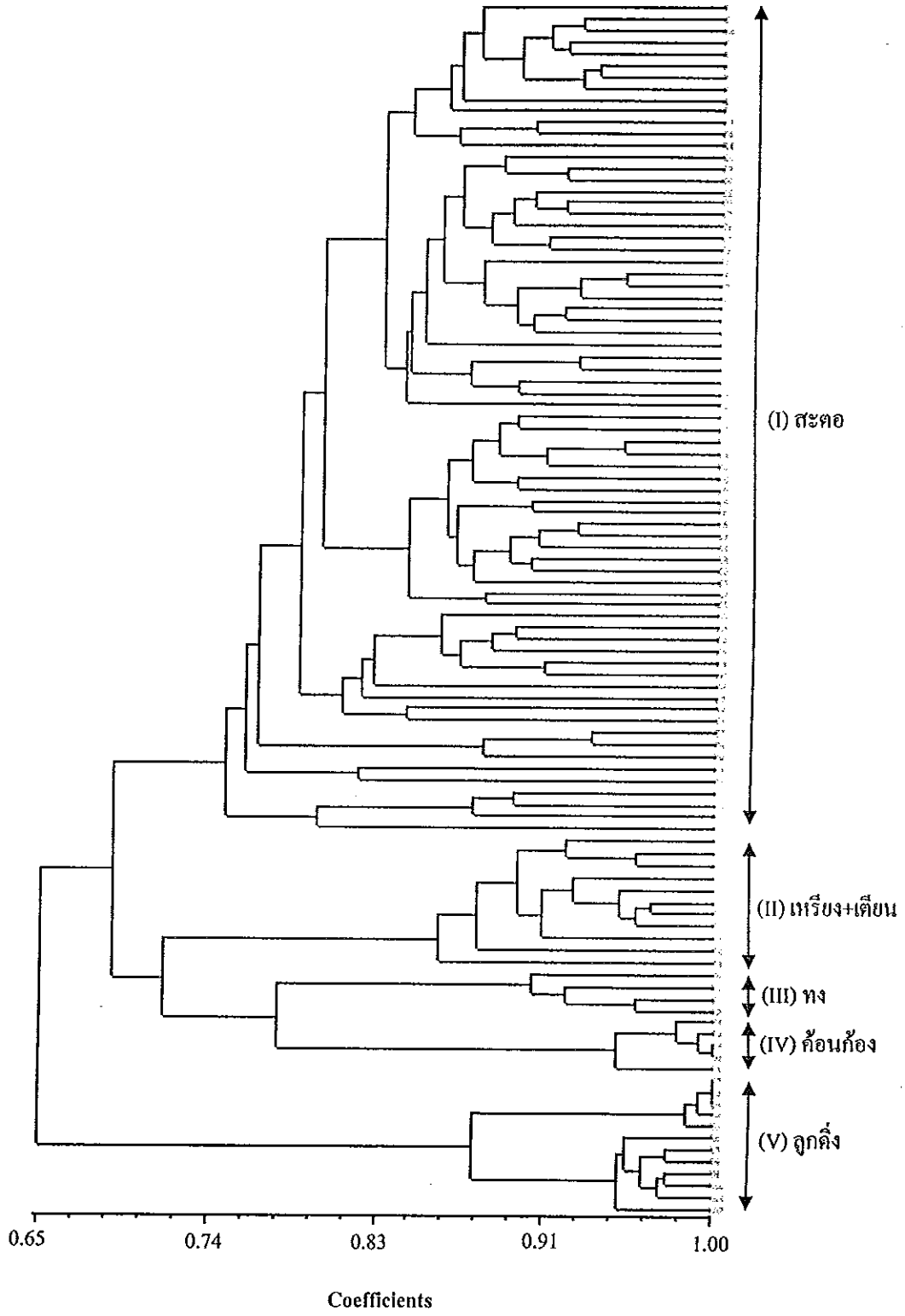
กลุ่มที่ III คือ กลุ่มทง (Tg) จำนวน 4 ตัวอย่าง ทั้งหมดอยู่ในกลุ่มนี้ คิดเป็น 100%

กลุ่มที่ IV คือ กลุ่มค้อนก้อง (Kg) ทั้งหมดจำนวน 5 ตัวอย่างอยู่ในกลุ่มนี้ คิดเป็น 100%

กลุ่มที่ V คือ กลุ่มลูกดิ่ง (Ld) ทั้งหมดจำนวน 12 ตัวอย่าง อยู่ในกลุ่มนี้ คิดเป็น 100%

จากค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมสามารถวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างชนิดได้ โดยพบว่า เตียนอยู่กลุ่มเดียวกับเหรียง แสดงว่ามีความใกล้ชิดกับเหรียงมากที่สุด ส่วนทง มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับค้อนก้องมากกว่า *Parkia* ชนิดอื่น นอกจากนี้พบว่ากลุ่มสะตอมีพันธุกรรมที่ห่างจากกลุ่มลูกดิ่งมากกว่าชนิดอื่นๆ โดยมีค่าดัชนี เท่ากับ 0.645 (ตารางที่ 8) เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยของดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของแต่ละชนิดในพืชสกุล *Parkia* พบว่าภายในกลุ่มสะตอ มีค่าดัชนีเฉลี่ยเท่ากับ 0.708 กลุ่มเหรียง มีค่าดัชนีเฉลี่ยเท่ากับ 0.877 กลุ่มค้อนก้อง

มีค่าดัชนีเฉลี่ยเท่ากับ 0.937 กลุ่มลูกดิ่ง มีค่าดัชนีเฉลี่ยเท่ากับ 0.921 และกลุ่มทง มีค่าดัชนีเฉลี่ยเท่ากับ 0.922 ส่วนเตียนไม่สามารถหาค่าดัชนีภายในกลุ่มได้ เนื่องจากมีเพียงตัวอย่างเดียว

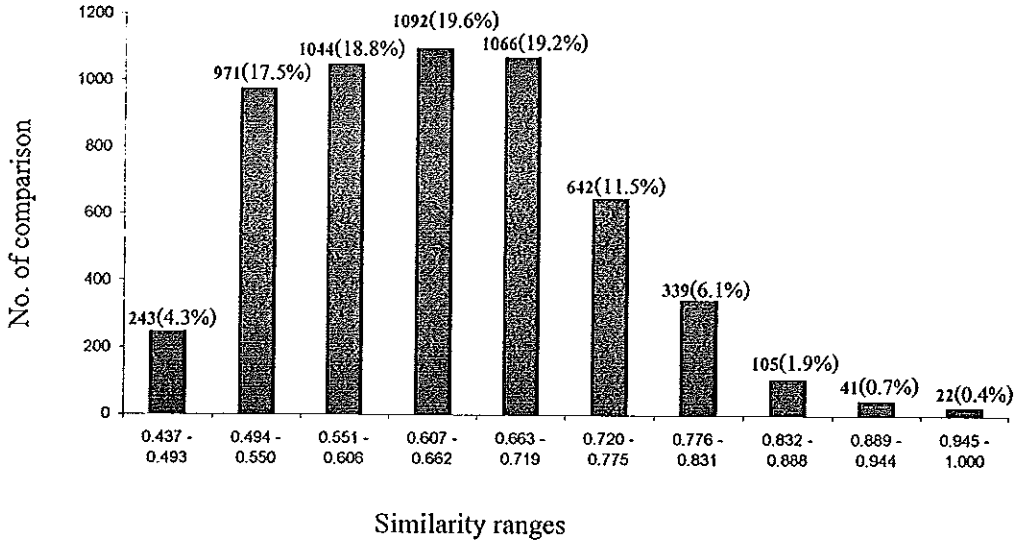


รูปที่ 18 เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพืชสกุล *Parkia* ทั้ง 4 ชนิด ทง และเตียน จำนวนทั้งหมด 103 ต้น จากการสร้างด้วย UPGMA โปรแกรม NTSYS version 2.1

ตารางที่ 8 ค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Parkia* ในแต่ละชนิด

	สะตอ	เหรียง	ค้อนก้อง	ลูกดิ่ง	ทง	เตียน
สะตอ	1.000					
เหรียง	0.678	1.000				
ค้อนก้อง	0.720	0.726	1.000			
ลูกดิ่ง	0.645	0.685	0.704	1.000		
ทง	0.693	0.690	0.775	0.630	1.000	
เตียน	0.748	0.751	0.749	0.633	0.738	1.000

เมื่อพิจารณาความถี่ในการกระจายตัวของพืชสกุล *Parkia* ทั้ง 4 ชนิด รวมทั้งทง และเตียน พบว่า ค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมส่วนใหญ่ อยู่ในช่วง 0.494 – 0.719 คิดเป็น 75.10% ส่วนที่เหลือพบว่ามีเพียง 4.3% (ค่าดัชนี 0.437 – 0.493) มีความห่างไกลทางพันธุกรรมค่อนข้างมาก และมีประชากรเพียง 20.60% ที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมค่อนข้างมาก (ค่าดัชนี> 0.719) (รูปที่ 19) และค่าดัชนีสูงสุดเท่ากับ 1.000 พบระหว่างกลุ่มค้อนก้องตัวอย่างที่ 85 และ 86 กลุ่มลูกดิ่ง ตัวอย่างที่ 87 - 89 ในขณะที่สะตอตัวอย่างที่ 28 และลูกดิ่งตัวอย่างที่ 98 ให้ค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมต่ำที่สุด คือ 0.437



รูปที่ 19 เปรียบเทียบการกระจายตัวของค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Parkia* ทั้ง 4 ชนิด ทง และเตียน จำนวน 103 ตัวอย่าง

3.2 ศึกษาความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมภายในกลุ่มสะตอ (*Parkia speciosa* Hassk.)

ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมเฉพาะภายในกลุ่มสะตอ คือ สะตอข้าว และสะตอดาน จากแหล่งพันธุกรรมในเขตจังหวัดตรัง สงขลา และสุราษฎร์ธานี จำนวน 69 ตัวอย่าง จากเดนโดรแกรม พบว่า ไม่สามารถแยกกลุ่มสะตอข้าว และสะตอดาน ออกจากกันได้อย่างชัดเจน แต่สามารถแยกสะตอข้าว และสะตอดานได้ตามแหล่งที่เก็บ เป็น 6 กลุ่ม (รูปที่ 20) ดังนี้

กลุ่มที่ I มี 13 ตัวอย่าง ประกอบด้วย สะตอข้าว จำนวน 10 ตัวอย่าง คิดเป็น 90.91% สะตอดาน จำนวน 2 ตัวอย่าง คิดเป็น 16.67% ที่เก็บจากจังหวัดตรัง และพบสะตอดาน 1 ตัวอย่าง คิดเป็น 7.14% ที่เก็บจากจังหวัดสงขลา

กลุ่มที่ II มี 22 ตัวอย่าง ประกอบด้วย สะตอข้าว จำนวน 12 ตัวอย่าง และสะตอดาน จำนวน 7 ตัวอย่าง ทั้งหมดอยู่ในกลุ่มนี้ คิดเป็น 100% ที่เก็บจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี นอกจากนี้พบสะตอข้าว จำนวน 2 ตัวอย่าง คิดเป็น 15.38% สะตอดาน จำนวน 1 ตัวอย่าง คิดเป็น 7.14% ที่เก็บจากจังหวัดสงขลา

กลุ่มที่ III มี 17 ตัวอย่าง ประกอบด้วย สะตอข้าว 10 ตัวอย่าง คิดเป็น 76.92% สะตอดาน 7 ตัวอย่าง คิดเป็น 50% ที่เก็บจากจังหวัดสงขลา

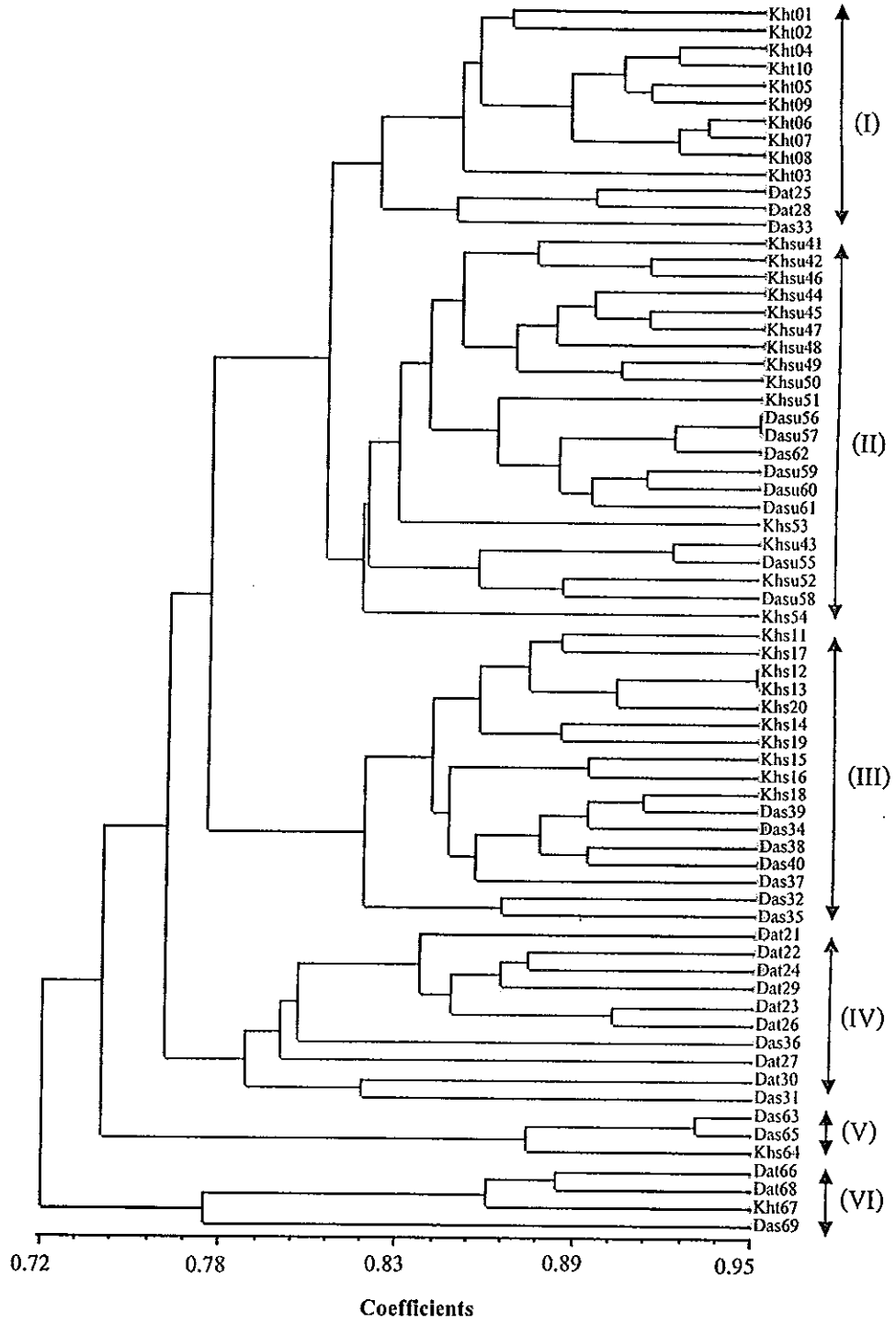
กลุ่มที่ IV มี 10 ตัวอย่าง ประกอบด้วย สะตอดาน จำนวน 8 ตัวอย่าง คิดเป็น 88.33% ที่เก็บจากจังหวัดตรัง และพบสะตอดาน จำนวน 2 ตัวอย่าง คิดเป็น 14.26% ที่เก็บจากจังหวัดสงขลา

กลุ่มที่ V มี 3 ตัวอย่าง ประกอบด้วย สะตอข้าว จำนวน 2 ตัวอย่าง คิดเป็น 15.38% สะตอดาน จำนวน 1 ตัวอย่าง คิดเป็น 7.14% ที่เก็บจากจังหวัดสงขลา

กลุ่มที่ VI มี 4 ตัวอย่าง ประกอบด้วย สะตอข้าว จำนวน 1 ตัวอย่าง คิดเป็น 9.09% สะตอดาน จำนวน 2 ตัวอย่าง คิดเป็น 16.67% ที่เก็บจากจังหวัดตรัง และพบสะตอดาน จำนวน 1 ตัวอย่าง คิดเป็น 7.14% ที่เก็บจากจังหวัดสงขลา

เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมภายในกลุ่มสะตอ (สะตอข้าว และสะตอดาน) จากแหล่งเก็บจังหวัดตรัง สงขลา และสุราษฎร์ธานี จำนวน 69 ตัวอย่าง พบว่า กลุ่มสะตอข้าวจากจังหวัดตรัง สะตอข้าวและสะตอดาน จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมากกว่ากลุ่มสะตอข้าวและสะตอดาน จากจังหวัดสงขลา รวมทั้งสะตอดานจากจังหวัดตรังเอง (ตารางที่ 9) เมื่อพิจารณาค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมภายในกลุ่มสะตอทั้งหมด จำนวน 69 ตัวอย่าง พบว่า มีค่าอยู่ในช่วง 0.533 – 0.946 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.708 สำหรับค่าดัชนีเฉลี่ยในแต่

ละแหล่งเก็บมีดังนี้ สะตอข้าว จากแหล่งเก็บจังหวัดตรัง สงขลา และสุราษฎร์ธานี มีค่าดัชนีเฉลี่ยเท่ากับ 0.837 0.819 และ 0.850 ตามลำดับ ส่วนสะตอดาน มีค่าดัชนีเฉลี่ยเท่ากับ 0.792 0.787 และ 0.872 จากแหล่งเก็บจังหวัดตรัง สงขลา และสุราษฎร์ธานี ตามลำดับ



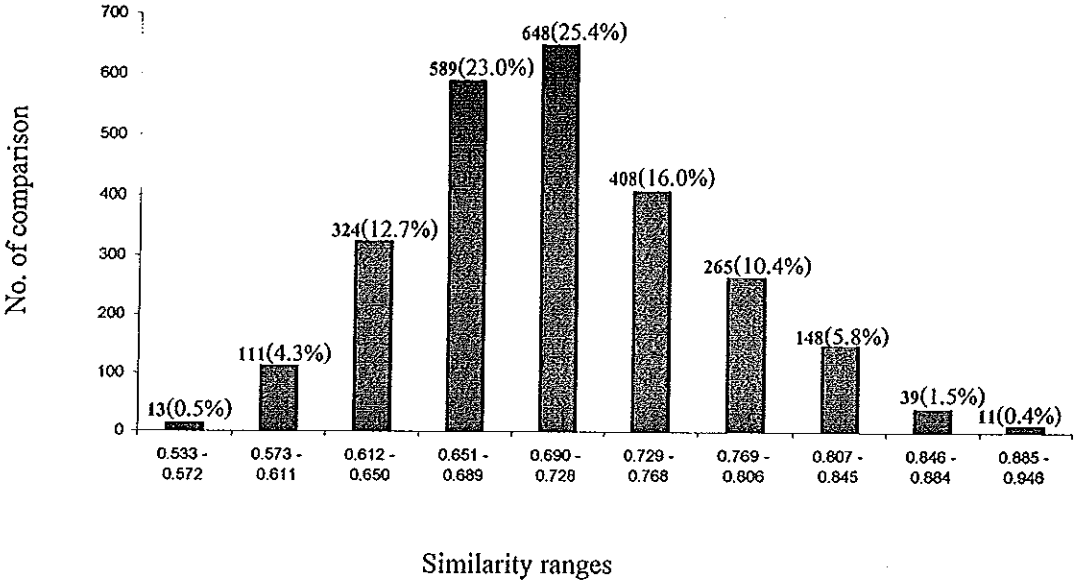
รูปที่ 20 เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสะตอข้าว และสะตอดาน จากแหล่งเก็บจังหวัดตรัง สงขลา และสุราษฎร์ธานี จำนวน 69 ต้น สร้างด้วย UPGMA โปรแกรม NTSYS version 2.1

เมื่อพิจารณาความถี่ในการกระจายตัวภายในกลุ่มสะตอ ส่วนใหญ่พบว่ามีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรม อยู่ในช่วง 0.651 – 0.768 คิดเป็น 64.40% (รูปที่ 21) โดยมีค่าสูงสุดเท่ากับ 0.946 พบระหว่างกลุ่มสะตอดาน จากแหล่งพันธุกรรมในเขตจังหวัดตรัง ตัวอย่างที่ 12 และ 13 และกลุ่มสะตอดาน จากแหล่งพันธุกรรมในเขตจังหวัดสุราษฎร์ธานี ตัวอย่างที่ 56 และ 57 ค่าต่ำสุดมีค่าเท่ากับ 0.533 พบระหว่างกลุ่มสะตอดาน จากแหล่งพันธุกรรมในเขตจังหวัดตรัง ตัวอย่างที่ 66 และกลุ่มสะตอข้าว จากแหล่งพันธุกรรมในเขตจังหวัดสงขลา ตัวอย่างที่ 11

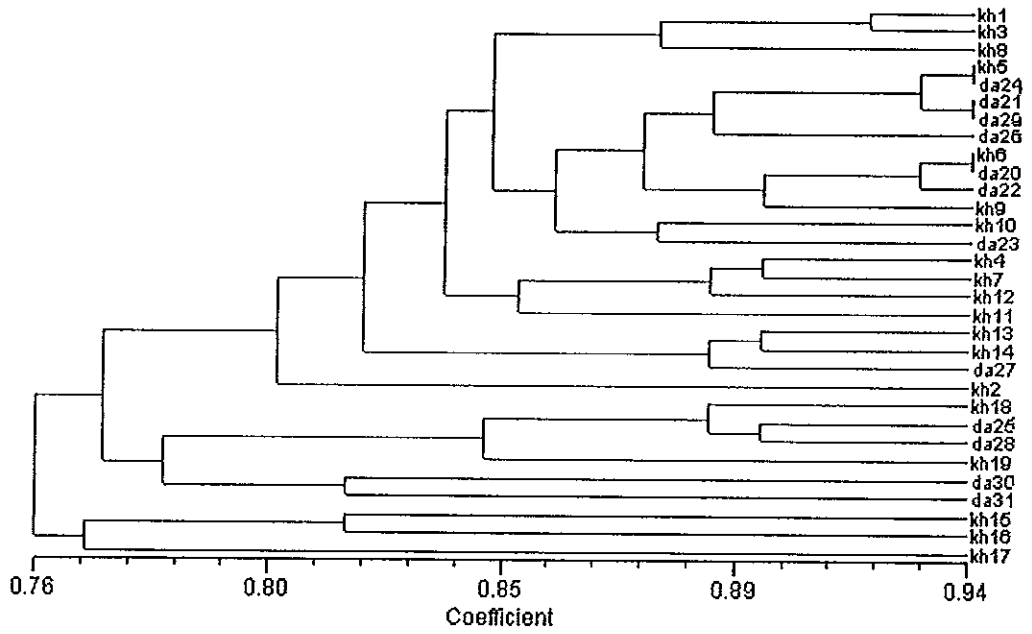
ตารางที่ 9 ค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของสะตอข้าว และสะตอดาน จำนวน 69 ต้น

	Kht	Khs	Khsu	Dat	Das	Dasu
Kht	1.000					
Khs	0.776	1.000				
Khsu	0.786	0.763	1.000			
Dat	0.769	0.735	0.763	1.000		
Das	0.762	0.789	0.765	0.749	1.000	
Dasu	0.798	0.754	0.836	0.783	0.768	1.000

นอกจากนี้เมื่อนำสะตอข้าว และสะตอดาน จำนวน 31 ต้น ที่ได้จากการคัดเลือกลักษณะฝัก และเมล็ด ที่เห็นความแตกต่างระหว่างกลุ่มทั้งสองชัดเจน ผลจากการวิเคราะห์เดนโดรแกรม พบว่า แม้สามารถแยกสะตอข้าวและสะตอดานได้ แต่ยังพบสะตอทั้งสองกลุ่มอยู่ปะปนกัน (รูปที่ 22)



รูปที่ 21 เปรียบเทียบการกระจายตัวของค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมระหว่างกลุ่มประชากรสะตอ จำนวน 69 ตัวอย่าง



รูปที่ 22 เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มสะตอข้าว และสะตอดาน ที่คัดเลือกลักษณะแตกต่างชัดเจนของฝัก จำนวน 31 ตัวอย่าง สร้างด้วย UPGMA โปรแกรม NTSYS version 2.1

บทที่ 4

วิจารณ์

1. การศึกษาความแตกต่างระหว่างพืชสกุล *Parkia* ทง และเตียน รวมทั้งภายในกลุ่มสะตอ (*Parkia speciosa* Hassk.) โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

สุรีย์ และอนันต์ (2540) รายงานว่าพืชสกุล *Parkia* ในประเทศไทยมี 4 ชนิด คือ สะตอ เหรียง ค้อนก้อง และลูกดิ่ง ดังนั้นการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Parkia* จึงเก็บตัวอย่างพืช โดยอาศัยพื้นฐานความแตกต่างระหว่างพืชทั้ง 4 ชนิด จากแหล่งปลูกสำคัญ ได้แก่ จังหวัดตรัง สงขลา พัทลุง สุราษฎร์ธานี นครราชสีมา และจังหวัดเลย ผลการศึกษาลักษณะภายนอก เช่น ลักษณะต้นและใบ ลักษณะดอกและช่อดอก ขนาด รูปร่างฝัก และเมล็ด พบความแตกต่างของลักษณะต่างๆ ดังนี้ ลักษณะของปลายใบ และขนาดใบย่อย สามารถแยกพืชสกุล *Parkia* ออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีลักษณะของปลายใบมน พบใน สะตอ ลูกดิ่ง ทง และเตียน กลุ่มที่มีลักษณะปลายใบแหลม พบในเหรียง และค้อนก้อง ซึ่งในแต่ละกลุ่มก็สามารถแยกความแตกต่างของแต่ละชนิดออกจากกันได้อย่างชัดเจน โดยดูจากขนาดของใบย่อย พบว่า ลูกดิ่งมีขนาดใบย่อยใหญ่ที่สุด รองลงมาเป็นค้อนก้อง เหรียง และสะตอ ตามลำดับ ส่วนขนาดใบย่อยของทง และเตียน มีขนาดใกล้เคียงกับสะตอ ไม่สามารถแยกความแตกต่างออกจากกันได้ ลักษณะดังกล่าวอาจมีอิทธิพลของระยะการเจริญเติบโตเข้ามาเกี่ยวข้อง ลักษณะดอกและช่อดอกของพืชสกุล *Parkia* พบว่า ไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างชนิดได้ แม้จะมีรายงานว่า ขนาดและรูปร่างของช่อดอกของพืชสกุล *Parkia* แต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน เนื่องจากลักษณะของฐานรองดอก จำนวน และขนาดดอกย่อยในแต่ละช่อดอกมีผลให้เกิดความแตกต่าง นอกจากนี้ยังมีรายงานอีกว่า รูปร่างของช่อดอกมีหลายแบบ เช่น รูปกระบอง (Clavate) หรือรูปรี (Spherical) (Hopkins, 1983) ส่วนสีของช่อดอก พบว่า สามารถแยกลูกดิ่งออกจากพืชสกุล *Parkia* อีก 3 ชนิดได้ โดยในช่อดอกของลูกดิ่ง สีของดอกตัวผู้และดอกสมบูรณ์เพศมีสีเหลืองเข้ม ขณะที่พืชสกุล *Parkia* อีก 3 ชนิด ดอกตัวผู้จะมีสีขาวหรือครีม ดอกสมบูรณ์เพศมีสีเหลืองอ่อน สอดคล้องตามรายงานของ Grunmeier (1990) และ Hopkins (1986) ซึ่งพบว่า สีของช่อดอกในกลุ่ม *Parkia* มีหลายสีขึ้นอยู่กับชนิดและเปลี่ยนไปตามระยะการบานของดอกย่อยในช่อดอก ลักษณะของฝัก สามารถนำมาใช้แยกความแตกต่างของเหรียง

จากชนิดอื่นได้ โดยพบว่า เหรียงมีขนาดฝักสั้น ตรง และแข็ง ลักษณะเมล็ด พบว่า เมล็ดของสะตอและลูกดิ่ง มีลักษณะคล้ายกัน คือ มีเปลือกหุ้มเมล็ดบาง สีครีม ส่วนเมล็ดเหรียง จะคล้ายกับเมล็ดค้อนก้อง คือ มีเปลือกหุ้มเมล็ดหนา สีดำ สอดคล้องตามรายงานของมนูญ (2531) เมื่อพิจารณาลักษณะฝักของทง พบว่าให้ลักษณะที่แตกต่างจากพืชสกุล *Parkia* ชนิดอื่นอย่างชัดเจน คือ ฝักทง มีลักษณะแบนคล้ายเหรียง แต่มีขนาดกว้างกว่ามาก ส่วนเมล็ด ยังศึกษาไม่ชัดเจน สำหรับลูกดิ่งมีลักษณะที่เป็นเอกลักษณ์ของตัวเอง คือ การเรียงของเมล็ดจะเรียงตามแนวดิ่งของฝัก ส่วนพืชสกุล *Parkia* อีก 3 ชนิด รวมทั้ง ทง และเตียน การเรียงของเมล็ดจะเรียงตามแนวขวางของฝัก สอดคล้องตามรายงานของสถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช (2548)

จารุ (2541) รายงานว่า สะตอที่นิยมบริโภคและเห็นวางขายตามท้องตลาดมีเพียง 2 กลุ่ม คือ สะตอข้าวและสะตอดาน โดยการจำแนกลักษณะของฝัก รสชาติ และกลิ่น คือ สะตอข้าว ขอบฝักชิดเมล็ด รสชาติมัน กลิ่นไม่ฉุนจัด ส่วนสะตอดาน ขอบฝักห่างจากเมล็ด รสชาติค่อนข้างเผ็ด กลิ่นฉุนจัด แต่จากผลการศึกษาภายในกลุ่มสะตอที่เก็บมาจากแหล่งพันธุกรรมในเขตจังหวัดตรัง สงขลา และสุราษฎร์ธานี พบว่า ลักษณะของฝักและเมล็ด มีความแปรปรวนค่อนข้างสูง ทั้งนี้เนื่องจากสะตอเป็นพืชผสมข้ามในธรรมชาติ โอกาสเกิดการผสมข้ามระหว่างสะตอข้าว และสะตอดาน สามารถเกิดขึ้นได้ จึงเห็นลักษณะของฝักและเมล็ด มีความแตกต่างกันหลายแบบ ทำให้ยากที่จะระบุให้ชัดเจนได้ ดังนั้นจึงทำการคัดเลือกลักษณะฝัก และเมล็ดที่เห็นความแตกต่างกันอย่างชัดเจนระหว่างสะตอทั้งสองกลุ่ม บันทึกความกว้างและความยาวของฝัก ความกว้างและความยาวของเมล็ด จำนวนเมล็ดต่อฝัก พบว่า เฉพาะความกว้างของฝัก ความกว้างและความยาวของเมล็ด ที่มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 99% นอกจากสะตอข้าวและสะตอดานแล้ว ยังมีการรายงานเพิ่มเติมเกี่ยวกับสะตออื่นๆ อีกหลายชนิด เช่น สะตอแต (นพรัตน์, 2536) สะตอตอแหล (มนูญ, 2531) และสะตอเชือกหรือสะตอก้านฝักยาว (วิชาญ, 2548) อย่างไรก็ตาม จารุ (2541) รายงานว่าสะตอแตหรือสะตอตอแหล น่าจะเป็นชนิดเดียวกัน แต่อาจเรียกชื่อต่างกันตามท้องถิ่นที่พบ นอกจากสะตอข้าว สะตอดาน เหรียง ค้อนก้อง และลูกดิ่งแล้ว ครั้งนี้ยังได้ศึกษาตัวอย่างพืชที่คาดว่าน่าจะอยู่ในสกุล *Parkia* เพิ่มเติม อีก 2 ชนิด ที่ชาวบ้านเรียกว่า ทง และเตียน พบว่า ลักษณะฝักของทง แตกต่างไปจากพืชสกุล *Parkia* ทั้ง 4 ชนิด รวมทั้งสะตอข้าว และสะตอดาน โดยลักษณะดังกล่าวคล้ายกับลักษณะของสะตอแต ตามรายงานของนพรัตน์ (2536) ส่วนลักษณะฝัก และเมล็ดของเตียน ยังไม่มีการนำมาศึกษาในครั้งนี้ เนื่องจากไม่ออกดอก สำหรับการใช้ลักษณะภายนอกในการจำแนกสายพันธุ์ของพืช บางชนิดสามารถใช้ในการจำแนกพันธุ์ได้ชัดเจน เนื่องจากมีลักษณะที่ค่อนข้างจำเพาะและแตกต่างชัดเจน เช่น พืชสกุล *Ficus* spp. (วิศัย และ สมบูรณ์, 2548) มะเขือ (Szczerbakowa *et al.*, 2002) มะกอก (Ozkaya *et al.*, 2006) เป็นต้น แต่บางพืชอาจทำได้ยาก เพราะ

มีความคล้ายคลึงกัน อีกทั้งในธรรมชาติเมื่อเกิดการผสมข้ามทำให้พืชมีลักษณะก้ำกึ่ง ไม่มีความเป็นเอกลักษณ์ จึงทำให้ไม่สามารถใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาเป็นตัวบ่งชี้ได้

2. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างพืชสกุล *Parkia* ทง และเตียน รวมทั้งภายในกลุ่มสะตอ (*Parkia speciosa* Hassk.) โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี

การสกัดดีเอ็นเอของใบพืชสกุล *Parkia* ทั้ง 4 ชนิด รวมทั้งทง และเตียน โดยใช้สารละลาย CTAB พบว่าให้ปริมาณดีเอ็นเอจำนวนที่เพียงพอและคุณภาพดีพอสำหรับการทำพีซีอาร์ นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้สารละลาย CTAB ในพืชหลายชนิด เช่น ดาร์เนชั่น (Onozaki *et al.*, 2004) ข้าว (Wu *et al.*, 2004) Snap bean (Cunha *et al.*, 2004) ลำไย (Yonemoto *et al.*, 2006) เป็นต้น การเลือกใบพืชมาสกัดดีเอ็นเอ พบว่า สามารถใช้ได้ทั้งใบอ่อนและใบแก่ แต่ปริมาณดีเอ็นเอ ที่ได้จะแตกต่างกัน โดยใบอ่อนจนถึงระยะใบเพสลาด จะให้ดีเอ็นเอที่มีปริมาณมากและคุณภาพดี การนำใบแก่มาสกัดดีเอ็นเอ พบว่าได้ดีเอ็นเอปริมาณน้อย และมีสีน้ำตาล เนื่องจากมีสาร Phenolic compound สูง (Prakash *et al.*, 2002) ไม่เหมาะสำหรับการนำมาทำพีซีอาร์ พืชบางชนิดใบแก่มักมีปริมาณเส้นใยสูงทำให้การสกัดดีเอ็นเอทำได้ยากขึ้น ตัวอย่างเช่น มะพร้าว (Upadhyay *et al.*, 2004) ตาลโตนด (รัฐพร, 2549) เป็นต้น

เครื่องหมายโมเลกุล นับได้ว่าเป็นเครื่องหมายที่มีประสิทธิภาพสูงในการศึกษาพันธุกรรมของพืช เนื่องจากไม่มีอิทธิพลจากสภาพแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้อง สามารถตรวจสอบได้กับพืชทุกชนิด และตรวจสอบได้กับทุกส่วนของพืช เป็นการวิเคราะห์จากจีโนมโดยตรง (Barcelos *et al.*, 2002) เทคนิคอาร์เอพีดีเป็นหนึ่งในเครื่องหมายโมเลกุลที่มีผู้นิยมใช้อย่างแพร่หลาย ผลที่ได้น่าเชื่อถือเพียงพอสำหรับใช้ศึกษาความหลากหลาย หรือความแปรปรวนทางพันธุกรรมของพืช (Thangjam *et al.*, 2003) จากการศึกษาความแปรปรวนของพืชสกุล *Parkia* ทั้ง 4 ชนิด ทง และเตียน จำนวนทั้งหมด 103 ต้น ที่เก็บจากแหล่งพันธุกรรมต่างๆ ในประเทศไทย ผลจากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดีกับไพรเมอร์ที่คัดเลือกแล้ว 8 ไพรเมอร์ พบว่า แถบดีเอ็นเอทั้งหมดที่ได้ จำนวน 125 แถบ เฉลี่ย 15.63 แถบต่อไพรเมอร์ และให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน 101 แถบ (80.80%) ซึ่งนับว่าพืชในสกุล *Parkia* มีความแตกต่างทางพันธุกรรมค่อนข้างสูง ผลจากการเปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอระหว่างพืชสกุล *Parkia* พบแถบดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะกับค้อนก้อง คือ แถบดีเอ็นเอขนาด 425 คู่เบส จากไพรเมอร์ OPR – 02 และพบแถบดีเอ็นเอขนาด 950 คู่เบส และ 450 คู่เบส จากไพรเมอร์ OPAB – 03 เฉพาะในลูกดิ่ง ผลจากการวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอดังกล่าว สามารถนำแถบดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะเจาะจงไปศึกษาต่อ เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการใช้เป็นเครื่องหมายสำหรับช่วยใน

การคัดเลือกพันธุ์ หรือที่เรียกว่า MAS (Marker - Assisted Selection) เมื่อพิจารณาร่วมกันระหว่างลักษณะสัณฐานวิทยาและเครื่องหมายอาร์เอพีดี ในการศึกษาครั้งนี้ให้ผลสอดคล้องกันโดยเฉพาะการจำแนกกลุ่มหรือชนิดของพืช เพราะผลการวิเคราะห์ดีเอ็นเอให้ผลไปในทิศทางเดียวกันกับการจำแนกชนิดของพืชสกุล *Parkia* ทั้ง 4 ชนิดในประเทศไทย (สุรีย์ และอนันต์, 2540) มีรายงานในพืชบางชนิด ที่มีการใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาร่วมกับเครื่องหมายอาร์เอพีดีในการจำแนกพันธุ์พืชแล้วให้ผลสอดคล้องกัน เช่น ในกล้วยไม้ (Choi *et al.*, 2006) ในพืชตระกูลถั่ว (Mattagajasing *et al.*, 2006) เป็นต้น แต่ก็มีอีกหลายพืชที่การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอให้ผลที่ไม่สัมพันธ์กับลักษณะสัณฐานวิทยา เช่น Youn และ Cheng (1998) ที่ศึกษาลักษณะผลของ Squash และรัฐพร (2549) ที่ศึกษาในตาลโตนด เป็นต้น สาเหตุที่เป็นเช่นนี้ สามารถอธิบายได้ว่า ลักษณะสัณฐานวิทยาที่สนใจเป็นลักษณะปริมาณ มียีนที่เกี่ยวข้องหลายคู่ หรือหลายตำแหน่ง ดังนั้นจึงอาจต้องใช้วิธีอื่น เช่น การวิเคราะห์ QTL (Quantitative Trait Locus) การหาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะเหล่านั้นกับเครื่องหมายโมเลกุลที่เกี่ยวข้องทั้งหมด

ผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างพืชสกุล *Parkia* ทง และเตียน รวมทั้งภายในกลุ่มสะตอ จำนวน 103 ต้น ด้วยการคำนวณโดยวิธี UPGMA และสร้างเดนโดรแกรม หาค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรม โดยใช้โปรแกรม NTSYS (Version 2.1) พบว่า สามารถแยกพืชสกุล *Parkia* ทั้ง 4 ชนิด ออกจากกันเป็นกลุ่มได้อย่างชัดเจน ส่วนทง ถูกแยกออกมาอีกกลุ่ม อย่างไรก็ตาม ตัวอย่างทงที่นำมาศึกษาครั้งนี้ มีเพียง 4 ตัวอย่าง จึงยังไม่สามารถบอกได้อย่างชัดเจน และเมื่อเปรียบเทียบทุกกลุ่ม พบว่า ทง มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับค้อนก้องมากกว่า *Parkia* ชนิดอื่น สำหรับเตียน จากผลของเดนโดรแกรม พบว่าอยู่ในกลุ่มเดียวกับเหรียง จึงมีความสัมพันธ์ที่ใกล้ชิดกับเหรียงมากกว่าชนิดอื่นๆ อาจเกิดการผสมข้ามระหว่างเหรียงกับ *Parkia* ชนิดอื่น แต่โอกาสการเกิดการผสมข้ามระหว่างชนิดในพืชสกุล *Parkia* อาจเกิดได้ยาก เนื่องจากช่วงระยะเวลาในการออกดอกของแต่ละชนิดในพืชสกุล *Parkia* ไม่พร้อมกัน น่าเสียดายที่ไม่สามารถจะนำภาพดอกและฝักของเตียนมาได้ เนื่องจากต้นที่เก็บตัวอย่างยังไม่ออกดอก และตัวอย่างที่นำมาศึกษามีเพียง 1 ต้นเท่านั้น ผลจากเดนโดรแกรม และค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรม สามารถบอกความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมได้ดังนี้ กลุ่มเหรียง เตียน ทง และค้อนก้อง มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมากกว่าสะตอ และยังพบว่า กลุ่มสะตอมีพันธุกรรมที่ห่างจากกลุ่มลูกดิ่งมากที่สุด โดยมีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเฉลี่ยระหว่างกลุ่ม เท่ากับ 0.645 (ตารางที่ 8) และจากค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของสะตอ และพืชสกุล *Parkia* ทั้ง 3 ชนิด รวมทั้งทง และเตียน ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 0.437 – 1.000 โดยค่าดัชนีสูงสุดพบในตัวอย่างค้อนก้อง จำนวน 2 ตัวอย่าง และลูกดิ่ง จำนวน 3 ตัวอย่าง ที่มีแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันทุกไพรเมอร์ แสดงว่าตัวอย่างเหล่านี้มีพันธุกรรมที่

เหมือนกัน เนื่องจากการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เป็นการเสียบยอด หรือติดตา จากต้นแม่เดียวกัน จากค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Parkia* ชี้ให้เห็นว่า พืชเหล่านี้เป็นพืชที่มีฐานพันธุกรรมค่อนข้างกว้าง

เมื่อเปรียบเทียบความแปรปรวนทางพันธุกรรมเฉพาะภายในกลุ่มสะตอ ซึ่งประกอบด้วยสะตอข้าว และสะตอดาน จำนวน 69 ตัวอย่าง หลังจากทดสอบด้วยไพรเมอร์ จำนวน 8 ไพรเมอร์ ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะหรือแยกความแตกต่างระหว่างสะตอทั้ง 2 กลุ่มออกจากกันได้ เมื่อพิจารณาเดนโดรแกรม ก็ไม่สามารถแยกสะตอทั้งสองกลุ่มได้เช่นกัน ถึงแม้จะทำการศึกษาเพิ่มเติมอีกครั้งโดยการคัดเลือกลักษณะฝัก และเมล็ด ที่ให้ความแตกต่างระหว่างสะตอข้าว และสะตอดานอย่างชัดเจน จำนวน 31 ต้น และผลการวิเคราะห์สถิติโดยโปรแกรม SAS ก็ให้ผลแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 99% หลังจากนำสะตอทั้ง 31 ต้น มาวิเคราะห์เดนโดรแกรม ก็ไม่สามารถแยกสะตอข้าว และสะตอดาน ออกจากกันได้ เห็นได้จากสะตอทั้งสองกลุ่มยังอยู่ปะปนกัน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะไพรเมอร์ ทั้ง 8 ไพรเมอร์ ที่คัดเลือกได้ ยังมีประสิทธิภาพไม่เพียงพอในการแยกความแตกต่างระหว่างสะตอข้าว และสะตอดาน ซึ่งจำเป็นจะต้องทำการคัดเลือกไพรเมอร์เพิ่มขึ้นอีก หรืออาจต้องใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอชนิดอื่นที่มีความจำเพาะเจาะจงมากกว่านี้ศึกษาต่อไป เมื่อนำแหล่งที่เก็บมาพิจารณาร่วมด้วย พบแถบดีเอ็นเอที่จำเพาะกับสะตอ จำนวน 69 ต้น ที่เก็บจากจังหวัดต่างๆ และสามารถแยกแหล่งที่เก็บได้ โดยพบแถบดีเอ็นเอขนาด 2125 คู่เบส จากไพรเมอร์ OPB – 17 และ 600 คู่เบส จากไพรเมอร์ OPR – 01 ที่สามารถแยกสะตอจากแหล่งเก็บจังหวัดตรัง และจังหวัดสุราษฎร์ธานี ออกจากแหล่งเก็บจังหวัดสงขลาได้ และแถบดีเอ็นเอขนาด 2000 คู่เบส จากไพรเมอร์ OPB – 17 และ 350 คู่เบส จากไพรเมอร์ OPR – 02 ที่ใช้แยกสะตอจากจังหวัดสงขลาออกจากแหล่งอื่นได้ การที่พบแถบดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะเจาะจงกับแหล่งที่เก็บตัวอย่างพืช อธิบายได้ว่า อาจเกิดจากความแตกต่างทางภูมิศาสตร์ ประชากรเหล่านี้จึงถูกแยกกันเนื่องจากระยะทางและสภาพภูมิศาสตร์ ยังผลให้ขาดความต่อเนื่องทางการสืบพันธุ์ และการแลกเปลี่ยนพันธุกรรม (Gene flow) ซึ่งกันและกัน ถ้าสภาวะการแบ่งแยกของประชากรดังกล่าวดำเนินไปเป็นเวลานาน ทำให้ประชากรที่แยกจากกันนั้นพัฒนาและสั่งสมความแปรผันทางพันธุกรรมตามกาลเวลา และสภาวะแวดล้อมของถิ่นอาศัยที่เปลี่ยนแปลงอยู่เสมอ (วิสุทธิ์, 2540) ด้วยเหตุผลนี้ น่าจะส่งผลให้ประชากรจากแหล่งต่างกันมีความห่างไกลกันได้ แต่ถ้าจะให้ชัดเจนควรเพิ่มแหล่งที่เก็บตัวอย่างมากกว่านี้ เพราะจากการศึกษาครั้งนี้มีเพียง 3 แหล่งเท่านั้น จากการวิเคราะห์เดนโดรแกรม พบว่าสะตอข้าว และสะตอดานทั้งสองกลุ่มจากแหล่งเก็บเดียวกัน คือ จังหวัดสงขลา และสุราษฎร์ธานี มีความใกล้ชิดกัน ยกเว้นแหล่งเก็บจังหวัดตรัง ที่พบว่าสะตอข้าว และสะตอดาน มีความห่างไกลทางพันธุกรรมค่อนข้างมาก อาจจะอธิบายได้ว่า สะตอข้าวและ

สะตอดานส่วนใหญ่ได้มาจากการเก็บรวบรวมพันธุ์จากจังหวัดต่างๆ ทั่วภาคใต้ ไม่ใช่พันธุ์ที่ปลูกต่อๆ กันมาในเขตจังหวัดตรัง จากการพบแถบดีเอ็นเอที่จำเพาะเจาะจงในการแยกแหล่งเก็บต่างๆ ออกจากกัน น่าจะเป็นประโยชน์ในการใช้เป็นข้อมูลในการศึกษาประวัติวิวัฒนาการของพืชได้ ดังมีรายงานการศึกษาความหลากหลายของประชากรเหรียง ที่เก็บจากแหล่งต่างๆ ในเมือง Manipur ของประเทศอินเดีย พบว่า แถบดีเอ็นเอขนาด 400 คู่เบส จากไพรเมอร์ OPP – 05 สามารถแยกความแตกต่างของเหรียงแต่ละแหล่งเก็บได้ (Thangjam *et al.*, 2003) หรือมีการศึกษาในพืชพวกกระชาย (Ngamriabsakul and Techaprasan, 2005) *Andrographis paniculatai* (Padmesh *et al.*, 1999) และข้าวหอม (Fukuoka *et al.*, 2006) ด้วยการใช้ไพรเมอร์ นอกจากนี้สาเหตุที่ไม่สามารถแยกกลุ่มสะตอข้าว และสะตอดาน ออกจากกันได้โดยอาศัยเทคนิค RAPD หรือไม่มีแถบดีเอ็นเอที่จำเพาะเจาะจงกับชนิดใดชนิดหนึ่ง อาจเนื่องมาจากในธรรมชาติ พบว่า สะตอเป็นพืชผสมข้าม โอกาสเกิดการผสมข้ามระหว่างสะตอข้าว และสะตอดาน สามารถเกิดขึ้นได้ตลอดเวลา พันธุกรรมพื้นฐานของพันธุ์สะตอ จึงมีความเป็น heterozygosity สูง ดังนั้นโอกาสที่จะมีความจำเพาะเจาะจงจึงเป็นไปได้ค่อนข้างน้อย

บทที่ 5

สรุป

1. การศึกษาความแตกต่าง โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

1.1 พืชสกุล *Parkia* ทง และ เตียน

- พบลักษณะปลายใบ และขนาดใบ เป็นลักษณะสัณฐานวิทยาที่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างพืชสกุล *Parkia* ได้อย่างชัดเจน สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม ตามลักษณะปลายใบ คือ ปลายใบมน และปลายใบแหลม ส่วนขนาดใบย่อย พบว่า ลูกดิ่งมีขนาดใบย่อยใหญ่ที่สุด รองลงมาเป็นค้อนก้อง เหรียง และสะตอ ตามลำดับ
- ลักษณะสีของช่อดอก สามารถแยกประชากรลูกดิ่งออกจากพืชสกุล *Parkia* ชนิดอื่นได้ โดยส่วนของดอกตัวผู้และดอกสมบูรณ์เพศ มีสีเหลืองเข้ม ส่วนพืชสกุล *Parkia* อีก 3 ชนิด ดอกตัวผู้จะมีสีขาวหรือครีม ส่วนดอกสมบูรณ์เพศจะมีสีเหลืองอ่อน
- ลักษณะฝัก สามารถแยกเหรียง และทง ออกจากพืชสกุล *Parkia* ชนิดอื่นได้อย่างชัดเจน
- การเรียงตัวของเมล็ด สามารถแยกลูกดิ่งออกจากพืชสกุล *Parkia* ชนิดอื่นได้ โดยพบว่า การเรียงตัวของเมล็ดในลูกดิ่ง จะเรียงตัวตามแนวดิ่ง ส่วนพืชสกุล *Parkia* ชนิดอื่น จะเรียงตามแนวขวางของฝัก

1.2 สะตอ (*Parkia speciosa* Hassk.)

- ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ของลักษณะฝักและเมล็ด ในสะตอข้าวและสะตอดาน พบว่า ความกว้างของฝัก ความกว้างและความยาวของเมล็ด ให้ความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

2. การศึกษาความแปรปรวนและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม โดยเทคนิคอาร์เอพีดี

จากการทำอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ขนาด 10 เบส จำนวน 180 ไพรเมอร์ สามารถคัดเลือกได้ จำนวน 8 ไพรเมอร์ คือ OPB – 04, OPB – 17, OPB – 18, OPC – 02, OPR – 01, OPR – 02, OPT – 01 และ OPAB – 03 ที่สามารถใช้ตรวจสอบความแปรปรวนทางพันธุกรรมระหว่างพืชสกุล *Parkia* ทง และเตียนได้ โดยพบแถบดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะกับค้อนก้อง คือ แถบดีเอ็นเอขนาด 425 คู่เบส จากไพรเมอร์ OPR – 02 และแถบดีเอ็นเอขนาด 950 คู่เบส และ 450 คู่เบส จากไพรเมอร์ OPAB – 03 ที่มีความจำเพาะกับลูกดิ่ง ส่วนภายในกลุ่มสะตอ (*Parkia speciosa* Hassk.) ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะกับสะตอข้าว และสะตอดาน แต่พบแถบดีเอ็นเอที่จำเพาะกับแหล่งเก็บ คือ แถบดีเอ็นเอขนาด 2000 คู่เบส จากไพรเมอร์ OPB – 17 และ 350 คู่เบส จากไพรเมอร์ OPR – 02 ที่พบเฉพาะในสะตอข้าว และสะตอดาน จากแหล่งเก็บจังหวัดสงขลา และแถบดีเอ็นเอขนาด 2125 คู่เบส จากไพรเมอร์ OPB – 17 และ 600 คู่เบส จากไพรเมอร์ OPR – 01 ที่พบในสะตอข้าวและสะตอดาน จากแหล่งเก็บจังหวัดตรังและสุราษฎร์ธานี

เมื่อวิเคราะห์หาค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมระหว่างพืชสกุล *Parkia* ทั้ง 4 ชนิด ทง และเตียน จำนวนทั้งหมด 103 ต้น พบว่า อยู่ในช่วง 0.437 – 1.000 เฉลี่ย 0.638 ส่วนภายในกลุ่มสะตอ (สะตอข้าว และสะตอดาน) จำนวน 69 ต้น อยู่ในช่วง 0.533 – 0.946 เฉลี่ย 0.708 จากเดนโดรแกรม สามารถแบ่งกลุ่มพืชสกุล *Parkia* ทง และเตียนได้ 5 กลุ่ม คือ สะตอ เหรียงกับเตียน ทง ค้อนก้อง และลูกดิ่ง ส่วนภายในกลุ่มสะตอ สามารถแบ่งกลุ่มได้ตามแหล่งเก็บ และจากการศึกษาครั้งนี้ พบว่า ทงมีความใกล้ชิดกับค้อนก้องมากกว่า *Parkia* ชนิดอื่น ส่วนเตียนมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับเหรียงมากที่สุด เพราะถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน นอกจากนี้พบว่า สะตอมีพันธุกรรมที่ห่างจากลูกดิ่ง จากค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรม แสดงให้เห็นว่า พืชสกุล *Parkia* มีฐานพันธุกรรมกว้าง

เอกสารอ้างอิง

กัญจนา ดีวิเศษ. 2542. ผักพื้นบ้านภาคใต้. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก. หน้า 244 - 245.

กองโภชนาการ กรมอนามัย. 2530. ตารางคุณค่าอาหารไทยในส่วนที่กินได้ 100 กรัม. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์องค์กรสงเคราะห์ทหารผ่านศึก. หน้า 20.

จารุ ไชยแขวง. 2541. การพัฒนาสะตอแบบครบวงจร. ฝ่ายพัฒนาการผลิตพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 8. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์: 61 หน้า.

เต็ม สมิตินันท์. 2523. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ: หจก.ฟันนี่พับลิชชิ่ง. 379 หน้า.

ธีระชัย ธนานันต์ และ นฤมล ธนานันต์. 2543. เทคนิคอาร์เอพีดีกับการจำแนกพันธุ์พริก. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 1: 6 – 10.

นพรัตน์ บำรุงรักษ์. 2536. พืชหลักปักษ์ใต้. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ต้นอ้อ. 184 หน้า.

ประภาส นพดิษฐ์ และ จันทิภา ปุรินทราภิบาล. 2535. สารกลายพันธุ์ในสะตอ ลูกเหรียง และลูกเนียง. รายงานโครงการวิจัย คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

มนูญ ศิรินุพงศ์. 2531. การปลูกสะตอ. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ฐานเกษตรกรรม. 63 หน้า.

รัฐพร พรหมแก้ว. 2549. การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในกลุ่มประชากรตาลโตนด (*Borassus flabellifer* Linn.) โดยใช้เทคนิค RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) และ ISSR (Inter Simple Sequence Repeat). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

วิชาญ เอียดทอง. 2548. การคัดเลือกพันธุ์สะตอในประเทศไทย ตอนที่ 1 การพิจารณาลักษณะสัณฐานของฝักต่อการนำไปคัดเลือกพันธุ์. รายงานการสัมมนาทางวนวัฒนวิทยา ครั้งที่ 7 ภาควิชาชีววิทยาป่าไม้ คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิฑูรย์ ปัญญากุล อารีรัตน์ กิตติศิริ คะนึง ใกล้กลาง และ วารี ยินดีชาติ. 2543. พืชพื้นเมือง: เหรียงไม้ป่ากินได้และใช้บำรุงดิน. วารสารเกษตรกรรมธรรมชาติ 1: 40.

วิสุทธิ์ ใบไม้. 2540. ความแปรผันทางพันธุกรรม. วารสารราชบัณฑิตยสถาน 22: 112 – 120.

วัชรินทร์ ซุ้นสุวรรณ. 2545. การใช้โปรแกรม SAS เพื่อการวิเคราะห์ข้อมูล. ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 179 หน้า.

วัลลี สุวจิตตานนท์ และ พูลสุข โพธิรักขิต. 2531. โปรตีนจากสะตอ. ว. สงขลานครินทร์เวชสาร 6: 23 – 30.

วิศัย พรหมเทพ และ สมบูรณ์ อนันตลาโภชัย. 2548. การวิเคราะห์พันธุกรรมพืชสกุล *Ficus* spp. โดยเทคนิค HAT – Random Amplified Polymorphic DNA. วารสารศูนย์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร 2: 39 – 52.

สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช. 2548. สะตออีสาน ของดีที่วังน้ำเขียว. วารสารเทคโนโลยีชาวบ้าน. 17: 42 – 46.

สห ดุลพงศ์ วิลาวรรณ ศิริพูนวิวัฒน์ และ ปรัชญา นกพึ่ง. 2546. การศึกษาความสัมพันธ์ของส้มโชกุนโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี. วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร 20: 45 – 53.

สายชล จันมาก. 2547. การศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของแหล่งเชื้อพันธุ์ปาล์มน้ำมัน (*Elaeis guineensis* Jacq.) โดยเทคนิคอาร์เอพีดี (Random Amplified Polymorphic DNA). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สุรีย์ ภูมิภมร และ อนันต์ คำคง. 2540. ไม้เอนกประสงค์กินได้. ส่วนป่าชุมชน สำนักส่งเสริมการปลูกป่า กรมป่าไม้ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 486 หน้า.

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

สมพร จันทเดช. 2534. การขยายพันธุ์สะตอโดยวิธีการไม่อาศัยเพศบางวิธี. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 6: 14 – 20.

สมศักดิ์ อภิสิทธิวาณิช สุมน มาสุธน ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ เสาวนีย์ สุพุทธิธาดา และ สุรินทร์ ปียะโชคณากุล. 2538. การตรวจหาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของข้าวในสกุล *Oryza* โดยเทคนิค RAPD. ว. เกษตรศาสตร์ (วิทย.). 29: 454 – 461.

อโนชา ตั้งโพธิธรรม และ อลัน เอฟ กีเตอร์. 2540. การศึกษาความสามารถของสะตอในการป้องกันการเกิดพาหะต่อยีนของหลอดอาหารเนื่องจากสารเอ็น – เมทธิลอะนิลีน และไนรไตรท์. รายงานโครงการวิจัย คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

อารีรักษ์ พืชน์ไพบูลย์. 2532. เลคตินจากเมล็ดสะตอ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

Akkayanont, P. and Utarabhand, P. 1992. Red blood cell-agglutination of lectin extract from riang beans (*Parkia javanica*). Songklanakarin J. Sci. Technol. 14: 141 – 147.

Ali, H., Houghton, P.J. and Soumyanath, A. 2006. α - Amylase inhibitory activity of some Malaysian plants used to treat diabetes; with particular reference to *Phyllanthus amarus*. Journal of Ethnopharmacology 107: 449 – 455.

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 marker. Pesq. Agropec. Bras. Brasilia. 37: 1105 – 1114.

Belaj, A., Trujillo, I., Rosa, R.D. 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.

Besse, P., Silvaa, D.D., Borya, V., Grisonib, M., Bellec, F.L. and Duvald, M.F. 2004. RAPD genetic diversity in cultivated vanilla: *Vanilla planifolia*, and relationships with *V. tahitensis* and *V. pompona*. Plant Science 167: 379 – 385.

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.

Butnu, A., Chanvitan, A., Nopanitaya, W. and Lamyordmakpol, A. 1996. Animal growth model and histological change of visceral organs for the effect of *Archidendron jiringa* (Luk nieng) and *Parkia timoriana* (Luk rieng). The 11th Annual Regional Conference of the Royal College of Surgeons of Thailand, Hat Yai, Songkhla, 28-29 March 1996.

Choi, S.H., Kim, M.J., Lee, J.S. and Ryu, K.H. 2006. Genetic diversity and phylogenetic relationships among and within species of oriental cymbidiums based on RAPD analysis. Scientia Horticulturae 108: 79 – 85.

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

Claros, M.G., Crespillo, 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.

Cotes, 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.

Cunha, C., Hintz, T. and Griffiths, P. 2004. Genetic diversity of snap bean cultivars determined using Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) markers. HortScience 39: 481 – 484.

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.

Derbyshire, E., Wright, D.J. and Boulter, D. 1976. Isolation of legumin – like protein from *Phaseolus aureus* and *P. vulgaris*. Phytochemistry 15: 3 – 24.

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

Fukuoka, S., Tran, S.D., Ebana, K., Luu, T.N., Nagamine, T. and Okuno, K. 2006. Genetic organization of aromatic rice as revealed by RAPD marker: A case study in conserving crop genetic resources on farm. Euphytica 149: 61 – 71.

Gmelin, R., Susilo, R. and Fenwick, G.R. 1981. Cyclic polysulphides from *Parkia speciosa.* Phytochemistry 20: 2521 – 2523.

Grunmeier, R. 1990. Pollination by bats and non - flying mammals of the African tree, *Parkia bicolor* (Mimosaceae). Memoirs of the New York Botanical Garden 55: 83 – 104.

Hopkins, H.C. 1983. The taxonomy, reproductive biology and economic potential of *Parkia* (Leguminosae:Mimosoideae) in Africa and Madagascar. Botanical Journal of the Linnean Society 87: 135 – 167.

Hopkins, H.C. 1984. Floral biology and pollination ecology of the neotropical species of *Parkia.* Journal of Ecology 72: 1 – 23.

Hopkins, H.C. 1986. *Parkia* (Luguminosae:Mimosoideae). Floral Neotropica Monograph 43: 1 – 124.

Ilbi, H. 2003. RAPD markers assisted varietal identification and genetic purity test in pepper, *Capsicum annuum*. Scientia Horticulturae 97: 211 – 218.

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

Jamaluddin, F., Mohamed, S. and Lajis, M.N. 1994. Hypoglycaemicly effect of *Parkia speciosa* seed due to the synergistic action of beta – sitosteral and stigmasterol. Food Chemistry 49: 339 – 349.

Jamaluddin, F., Mohamed, S. and Lajis, M.N. 1995. Hypoglycaemic effect of stigmast-4-en-3-one, from *Parkia speciosa* empty pods. Food Chemistry 54: 9 – 13.

Jeffe, W.G. 1950. Protein digestibility and trypsin inhibitor activity of legume seeds. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 75: 219.

Jensen, M. 1995. Tree commonly cultivated in Southeast Asia: An illustrated field guide. FAO Regional Office for Asia and the Pacific (RAP). Bangkok, Thailand: 229.

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

Joshi, C.P. and Nguyen, H.T. 1993. RAPD (random amplified polymorphic DNA) analysis based intervarietal genetic relationships among hexaploid wheats. Plant Science 93: 95 – 103.

Kuandun, 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.

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.

Longvah, T. and Deosthale, Y.G. 1998. Nutrient composition and food potential of *Parkia roxburghii*, a less known tree legume from northeast India. Food Chemistry 64: 477 – 481.

Luckow, M. and Hopkins, H.C. 1995. A cladistic analysis of *Parkia* (Leguminosae:Mimosoidea). American Journal of Botany 82: 1300 – 1320.

Martins, M., Sarmento, D. and Oliveira, M.M. 2004. Genetic stability of micropropagated almond plantlets, as assessed by RAPD and ISSR markers. Plant Cell Reports 23: 492 – 496.

Mattagajaasingh, I., Acharya, L., Mukherjee, A.K., Panda, P.C. and Das, P. 2006. Genetic relationships among nine cultivated taxa of *Calliandra* Benth. (Leguminosae: Mimosoideae) using random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. Scientia Horticulturae 110: 98 – 103.

Mirali, N. and Nabulsi, I. 2003. Genetic diversity of almonds (*Prunus dulcis*) using RAPD technique. Scientia Horticulturae 98: 461 – 471.

Nagvi, N.H., Bonman, M., Mackill, D.J., Nelson, R.J. and Chattoo, B.B. 1995. Identification of RAPD markers linked to a major blast resistance gene in rice. Mol. Breed. 1: 341 – 348.

Nielsen, I.C. 1985. Leguminosae – Mimosoideae in Thailand. Flora of Thailand 4: 131 – 222.

Ngamriabsakul, C. and Techaprasan, J. 2005. The phylogeny of Thai *Boesenbergia* (Zingiberaceae) based on *petA – psbJ* spacer (chloroplast DNA). Songklanakarin J. Sci. Technol. 28: 49 – 57.

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

Onozaki, T., Tanikawa, N., Taneya, M., Kudo, K., Funayama, T., Ikeda, H. and Shibata, M. 2004. A RAPD-derived STS marker is linked to a bacterial wilt (*Burkholderia caryophylli*) resistance gene in carnation. Euphytica 138: 255 – 262.

Ozkaya, M.T., Cakir, E., Gokbayrak, Z., Ercan, H. and Taskin, N. 2006. Morphological and molecular characterization of Derik Halhali olive (*Olea europaea* L.) accessions grown in Derik-mardin provine of Turkey. Scientia Horticulturae 108: 205 – 209.

Padmesh, P., Sabu, K.K., Seeni, S. and Pushpangadan, P. 1999. The use of RAPD in assessing genetic variability in *Andrographis paniculatai* Nee, a hepatoprotective drug. Curr. Sci. 76: 833 – 835.

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.

Rohlf, F.J. 2002. NTSYSpc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Applied Biostatistics Inc., Setauket, NY.

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

Suvachittanont, W., Kurashima, K., Esumi, H. and Tsuda, M. 1996. Formation of thiazolidine – 4 – carboxylic acid (thioproline), an effective nitrite – trapping agent in human body, in *Parkia speciosa* seeds and other edible leguminous seeds in Thailand. Food Chemistry 55: 359 – 363.

Suvachittanont, W. and Peutpaiboon, A. 1992. Lectin from *Parkia speciosa* seeds. Phytochemistry 31: 4065 – 4070.

Szczerbakowa, A., Maciejewska, U., Guzowska, E.Z. and Wielgat, B. 2002. Somatic hybrids *Solanum nigrum* (+) S. *Tuberosum*: morphological assessment and verification of hybridity. Plant Cell Reports 21: 577 – 584.

Thangjam, R., Maibam, D. and Sharma, J.G. 2003. Detection of genetic diversity in *Parkia timoriana* (DC) Merr. using randomly amplified polymorphic DNA analysis. Food, Agriculture & Environment 1: 46 – 49.

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. Theor. Appl. Genet. 88: 973 – 980.

Upadhyay, A., Jayadev, K., Manimekalai, R. and Parthasarathy, V.A. 2004. Genetic relationship and diversity in Indian coconut accessions based on RAPD markers. Scientia Horticulturae 99: 353 – 362.

Vatanasapt, P., Oshima, H., Khlat, M., Parkin, M., Sukarayodhin, S., Brouet, I. and Bartsch, H. 1993. Endogenous nitrosamines and liver fluke as risk factors for cholangiocarcinoma in Thailand in relevance to human cancer of N – nitroso compounds. IARC Scientific Publication. International Agency for Research on Cancer, Lyon 105: 88 – 95.

Venkatachalam, P., Priya, P., Amma, C.K. and Thulaseedharan, A. 2004. Identification cloning and sequence analysis of a dwarf genome - specific RAPD marker in rubber tree [*Hevea brasiliensis* (Muell.) Arg.]. Plant Cell Reports 23: 327 – 332.

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.

Wu, C.T., Cheng, Z.Q., Huang, X.Q., Yin, S.H., Cao, K.M. and Sun, C.R. 2004. Genetic diversity among and within populations of *Oryza granulate* from Yunnan of China revealed by RAPD and ISSR markers: implications for conservation of the endangered species. Plant Science 167: 35 – 42.

Yonemoto, Y., Chowdhury, A.K., Kato, H. and Macha, M.M. 2006. Cultivars identification and their genetic relationships in *Dimocarpus longan* subspecies based on RAPD markers. Scientia Horticulturae 109: 147 – 152.

Youn, S.J. and Cheng, H.D. 1998. Genetic relationship among the local varieties of the Korean native squash (*Cucurbita moschota*) using RAPD technique. J. Korean Soc. Hot. Sci. 39: 517 – 521.

Zacchini, M., Marotta, A. and Agazio, M. 1997. Tolerance to salt stress in maize callus lines with different polyamine content. Plant Cell Reports 17: 119 – 122.

ภาคผนวก

ภาคผนวก

การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ และสารละลายอื่นๆ

1. CTAB บัฟเฟอร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

PVP-40	1.00	กรัม
$NaCl_2$	8.12	กรัม
0.5M Na_2EDTA (pH 8.0)	4 .00	มิลลิลิตร
1.0M Tris-HCl (pH 8.0)	10.00	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 และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อก่อนนำมาใช้

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 บัฟเฟอร์

Bromophenol blue	125.0	มิลลิกรัม
Xylene cyanol	125.0	มิลลิกรัม
Glycerol	15.0	มิลลิลิตร

ปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อก่อนนำมาใช้

6. Ethidium bromide 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

Ethidium bromide	1.0	กรัม
เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร	100.0	มิลลิลิตร

ตารางภาคผนวกที่ 1 ไพรเมอร์ที่ใช้ทดสอบ ลำดับเบสของไพรเมอร์ และผลที่ได้จากการทดสอบอาร์เอพีดี – พีซีอาร์ กับดีเอ็นเอของพืชสกุล *Parkia* ทง และเตียน

ไพรเมอร์	ลำดับเบส 5' ⟶ 3'	รูปแบบ
OPA-01	CAGGCCCTTC	polymorphism
OPA-02	TGCCGAGCTG	polymorphism
OPA-03	AGTCAGCCAC	polymorphism
OPA-04	AATCGGGCTG	polymorphism
OPA-05	AGGGGTCTTG	not clear
OPA-06	GGTCCCTGAC	non-amphified
OPA-07	GAAACGGGTG	polymorphism
OPA-08	GTGACGTAGG	not clear
OPA-09	GGGTAACGCC	polymorphism
OPA-10	GTGATCGCAG	monomorphism
OPA-11	CAATCGCCGT	monomorphism
OPA-12	TCGGCGATAG	not clear
OPA-13	CAGCACCCAC	polymorphism
OPA-14	TCTGTGCTGG	polymorphism
OPA-15	TTCCGAACCC	monomorphism
OPA-16	AGCCAGCGAA	polymorphism
OPA-17	GACCGCTTGT	monomorphism
OPA-18	AGGTGACCGT	not clear
OPA-19	CAAACGTCGG	not clear
OPA-20	GTTGCGAFCC	not clear
OPB-01	GTTTCGCTCC	polymorphism
OPB-02	TGATCCCTGG	not clear
OPB-03	CATCCCCCTG	monomorphism
OPB-04	GGACTGGAGT	polymorphism
OPB-05	TGCGCCCTTC	not clear

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ)

ไพรเมอร์	ลำดับเบส 5' ⟶ 3'	รูปแบบ
OPB-06	TGCTCTGCCC	polymorphism
OPB-07	GGTGACGCAG	polymorphism
OPB-08	GTCCACACGG	polymorphism
OPB-09	TGGGGGACFC	polymorphism
OPB-10	CTGCTGGGAC	polymorphism
OPB-11	GTAGACCCGT	not clear
OPB-12	CCTTGACGCA	polymorphism
OPB-13	TTCCCCCGCT	not clear
OPB-14	TCCGCTCTGG	not clear
OPB-15	GGAGGGTGTT	polymorphism
OPB-16	TTTGCCCGGA	not clear
OPB-17	AGGGAACGAG	polymorphism
OPB-18	CCACAGCAGT	polymorphism
OPB-19	ACCCCCGAAG	not clear
OPB-20	GGACCCTTAC	polymorphism
OPC-01	TTCGAGCCAG	monomorphism
OPC-02	GTGAGGCGTC	polymorphism
OPC-03	GGGGGTCTTT	not clear
OPC-04	CCGCATCTAC	non-amphified
OPC-05	GATGACCGCC	polymorphism
OPC-06	GAACGGACTC	non-amphified
OPC-07	GTCCCGACGA	polymorphism
OPC-08	TGGACCGGTG	polymorphism
OPC-09	CTCACCGTCC	monomorphism
OPC-10	TGTCTGGGTG	polymorphism
OPC-11	AAAGCTGCGG	not clear
OPC-12	TGTCATCCCC	monomorphism

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ)

ไพรเมอร์	ลำดับเบส 5' → 3'	รูปแบบ
OPC-13	AAGCCTCGTC	not clear
OPC-14	TGCGTGCTTG	polymorphism
OPC-15	GACGGATCAG	monomorphism
OPC-16	CACACTCCAG	monomorphism
OPC-17	TTCCCCCCAG	not clear
OPC-18	TGAGTGGGTG	not clear
OPC-19	GTTGCCAGCC	monomorphism
OPC-20	ACTTCGCCAC	polymorphism
OPD-01	ACCGCGAAGG	polymorphism
OPD-02	GGACCCAACC	not clear
OPD-03	GTCGCCGTCA	polymorphism
OPD-04	TCTGGTGAGG	monomorphism
OPD-05	TGAGCGGACA	polymorphism
OPD-06	ACCTGAACGG	non-amphified
OPD-07	TTGGCACGGG	polymorphism
OPD-08	GTGTGCCCCA	polymorphism
OPD-09	CTCTGGAGAC	monomorphism
OPD-10	GGTCTACACC	non-amphified
OPD-11	AGCGCCATTG	polymorphism
OPD-12	CACCGTATCC	polymorphism
OPD-13	GGGGTGACGA	polymorphism
OPD-14	CTTCCCCAAG	not clear
OPD-15	CATCCGTGCT	polymorphism
OPD-16	AGGGCGTAAG	not clear
OPD-17	TTTCCCACGG	monomorphism
OPD-18	GAGAGCCAAC	polymorphism
OPD-19	CTGGGGACTT	not clear

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ)

ไพรเมอร์	ลำดับเบส 5' → 3'	รูปแบบ
OPD-20	ACCCGGTCAC	non-amphified
OPR-01	TGCGGGTCCT	polymorphism
OPR-02	CACAGCTGCC	polymorphism
OPR-03	ACACAGAGGG	not clear
OPR-04	CCCGTAGCAC	not clear
OPR-05	GACCTAGTGG	non-amphified
OPR-06	GTCTACGGCA	not clear
OPR-07	ACTGGCCTGA	not clear
OPR-08	CCCGTTGCCT	polymorphism
OPR-09	TGAGCACGAG	polymorphism
OPR-10	CCATTCCCCA	not clear
OPR-11	GTAGCCGTCT	monomorphism
OPR-12	ACAGGTGCGT	polymorphism
OPR-13	GGACGACAAG	monomorphism
OPR-14	CAGGATTCCC	not clear
OPR-15	GGACAACGAG	not clear
OPR-16	CTCTGCGCGT	not clear
OPR-17	CCGTACGTAG	not clear
OPR-18	GGCTTTGCCA	non-amphified
OPR-19	CCTCCTCATC	not clear
OPR-20	ACGGCAAGGA	not clear
OPT-01	GGGCCACTCA	polymorphism
OPT-02	GGAGAGACTC	polymorphism
OPT-03	TCCACTCCTG	not clear
OPT-01	GGGCCACTCA	polymorphism
OPT-02	GGAGAGACTC	polymorphism
OPT-03	TCCACTCCTG	not clear

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ)

ไพรเมอร์	ลำดับเบส 5' ⟶ 3'	รูปแบบ
OPT-04	CACAGAGGGA	not clear
OPT-05	GGGTTTGGCA	polymorphism
OPT-06	CAAGGGCAGA	polymorphism
OPT-07	GGCAGGCTGT	polymorphism
OPT-08	AACGGCGACA	polymorphism
OPT-09	CACCCCTGAG	not clear
OPT-10	CCTTCGGAAG	non-amphified
OPT-11	TTCCCCGCGA	not clear
OPT-12	GGGTGTGTAG	polymorphism
OPT-13	AGGACTGCCA	polymorphism
OPT-14	AATGCCGCAG	polymorphism
OPT-15	GGATGCCACT	polymorphism
OPT-16	GGTGAACGCT	polymorphism
OPT-17	CCAACGTCGT	polymorphism
OPT-18	GATGCCAGAC	monomorphism
OPT-19	GTCCGTATGG	not clear
OPT-20	GACCAATGCC	not clear
OPZ-01	TCTGTGCCAC	polymorphism
OPZ-02	CCTACGGGGA	non-amphified
OPZ-03	CAGCACCGCA	polymorphism
OPZ-04	AGGCTGTGCT	monomorphism
OPZ-05	TCCCATGCTG	polymorphism
OPZ-06	GTGCCGTTCA	polymorphism
OPZ-07	CCAGGAGGAC	polymorphism
OPZ-08	GGGTGGGTAA	polymorphism
OPZ-09	CACCCCAGTC	monomorphism
OPZ-10	CCGACAAACC	polymorphism

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ)

ไพรเมอร์	ลำดับเบส 5' → 3'	รูปแบบ
OPZ-11	CTCAGTCGCA	polymorphism
OPZ-12	TCAACGGGAC	monomorphism
OPZ-13	GACTAAGCCC	polymorphism
OPZ-14	TCGGAGGTTC	polymorphism
OPZ-15	CAGGGCTTTC	polymorphism
OPZ-16	TCCCCATCAC	polymorphism
OPZ-17	CCTTCCCACT	monomorphism
OPZ-18	AGGGTCTGTG	polymorphism
OPZ-19	GTGCGAGCAA	monomorphism
OPZ-20	ACTTTGGCGG	polymorphism
OPAA-01	AGACGGCTCC	polymorphism
OPAA-02	GAGACCAGAC	not clear
OPAA-03	TTAGCGCCCC	polymorphism
OPAA-04	AGGACTGCTC	not clear
OPAA-05	GGCTTTAGCC	non-amphified
OPAA-06	GTGGGTGCCA	polymorphism
OPAA-07	CTACGCTCAC	non-amphified
OPAA-08	TCCGCAGTAG	not clear
OPAA-09	AGATGGGCAG	monomorphism
OPAA-10	TGGTCGGGTG	polymorphism
OPAA-11	ACCCGACCTG	polymorphism
OPAA-12	GGACCTCTTG	polymorphism
OPAA-13	GAGCGTCGCT	Polymorphism
OPAA-14	AACGGGCCAA	Monomorphism
OPAA-15	ACGGAAGCCC	Polymorphism
OPAA-16	GGAACCCACA	Polymorphism

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ)

ไพรเมอร์	ลำดับเบส 5' → 3'	รูปแบบ
OPAA-17	GAGCCCGACT	Polymorphism
OPAA-18	TGGTCCAGCC	Polymorphism
OPAA-19	TGAGGCGTGT	non-amphified
OPAA-20	TTGCCTTCGG	not clear
OPAB-01	CCGTCGGTAG	polymorphism
OPAB-02	GGAAACCCCT	polymorphism
OPAB-03	TGGCGCACAC	polymorphism
OPAB-04	GGCACGCGTT	polymorphism
OPAB-05	CCCGAAGCGA	not clear
OPAB-06	GTGGCTTGGA	polymorphism
OPAB-07	GTAAACCGCC	polymorphism
OPAB-08	GTTACGGACC	non-amphified
OPAB-09	GGGCGACTAC	polymorphism
OPAB-10	TTCCCTCCCA	not clear
OPAB-11	GTGCGCAATG	polymorphism
OPAB-12	CCTGTACCGA	not clear
OPAB-13	CCTACCGTGG	non-amphified
OPAB-14	AAGTGCGACC	polymorphism
OPAB-15	CCTCCTTCTC	polymorphism
OPAB-16	CCCGGATGGT	polymorphism
OPAB-17	TCGCATCCAG	polymorphism
OPAB-18	CTGGCGTGTC	monomorphism
OPAB-19	ACACCGATGG	non-amphified
OPAB-20	CTTCTCGGAC	not clear

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวกุลยา สุวรรณรัตน์

รหัสประจำตัวนักศึกษา 4742003

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (วิทยาศาสตร์ทั่วไป)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2543