ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรผสมเปิดของปาล์มน้ำมัน โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเครื่องหมายเอสเอสอาร์

Study on Genetic Diversity of Open Pollinated Oil Palm using Morphological Traits and SSR Markers

ธเนศ คอมเพ็ชร

Thanet Khomphet

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of

Master of Science in Plant Science

Prince of Songkla University

2560

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรผสมเปิดของปาล์มน้ำมันโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเครื่องหมายเอสเอสอาร์

ผู้เขียน นายธเนศ คอมเพ็ชร

สาขาวิชา พืชศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

....

(ศาสตราจารย์ ดร.ธีระ เอกสมทราเมษฐ์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

....

(ดร.เสาวภา ด้วงปาน)

คณะกรรมการสอบ

....ประธานกรรมการ

(ดร. กรกช นาคคนอง)

....กรรมการ

(ศาสตราจารย์ ดร.ธีระ เอกสมทราเมษฐ์)

....กรรมการ

(ดร.เสาวภา ด้วงปาน)

....กรรมการ

(ดร.สุดนัย เครือหลี)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์

....

(รองศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล ศรีชนะ)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ..
(ศาสตราจารย์ ดร.ธีระ เอกสมทราเมษฐ์)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ลงชื่อ..
(นายธเนศ คอมเพ็ชร)
นักศึกษา

ข้าพเจ้ารับรองว่าผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อนและไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ..

(นายธเนศ คอมเพ็ชร)

นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์	ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรผสมเปิดของปาล์มน้ำมันโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเครื่องหมายเอสเอสอาร์
ผู้เขียน	นายธเนศ คอมเพ็ชร
สาขาวิชา	พืชศาสตร์
ปีการศึกษา	2559

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความหลากหลายของประชากรผสมเปิดของปาล์มน้ำมันที่ปลูกในบางจังหวัดของภาคใต้ของประเทศไทยโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเครื่องหมายเอสเอสอาร์ การศึกษาได้มีการเก็บตัวอย่างผลปาล์มน้ำมันผสมเปิด (จากต้นปาล์มน้ำมันชนิดเทเนอรา) จากจังหวัดพังงา กระบี่ สุราษฎร์ธานี ตรัง และชุมพร โดยมีปาล์มลูกผสมพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. 1 เป็นพันธุ์เปรียบเทียบ การศึกษานี้ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) ประกอบด้วย 6 ทรีตเมนต์คือ 5 ประชากรผสมเปิด (จาก 5 จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง) และ 1 ประชากรพันธุ์ลูกผสม แต่ละทรีตเมนต์ประกอบด้วย 20 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้กล้าปาล์มน้ำมัน 1 ต้น การประเมินความหลากหลายทางสัณฐานวิทยาพบว่าปาล์มน้ำมันจากประชากรผสมเปิดมีการลงจุดทั้ง 4 ควอดรันต์ (quadrant) ของ biplot ระหว่างตัวประกอบหลักที่ 1 และตัวประกอบหลักที่ 2 ของการวิเคราะห์ตัวประกอบหลัก ในขณะที่ปาล์มน้ำมันลูกผสมมีการลงจุดของตัวอย่างส่วนใหญ่ในควอดรันต์ที่ 1 ของ biplot ในการคัดเลือกเพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ ตัวอย่าง P6 P10 P13 P19 S4 S11 S17 T8 T9 T10 T11 T12 C2 C11 และ C17 อาจถูกคัดเลือกโดยพิจารณาจากความใกล้ชิดกับปาล์มน้ำมันลูกผสมจากการลงจุดใน biplot การประเมินความหลากหลายพันธุกรรมโดยใช้เครื่องหมายเอสเอสอาร์จำนวน 7 ไพรเมอร์ โดยมีแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้น 27 แถบ เป็นแถบดีเอ็นเอที่สามารถจำแนกความแตกต่าง (polymorphism) ทั้งหมด ซึ่งไพรเมอร์ MF233056 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอได้สูงที่สุดคือ 7 แถบ ระยะห่างทางพันธุกรรมมีค่าอยู่ระหว่าง 0.000-0.754 โดยค่าสูงสุดได้จากตัวอย่าง P9 กับ P20 และ ค่าต่ำสุดได้จากตัวอย่าง NR10 กับ NR12 การวิเคราะห์กลุ่มโดยใช้ค่าระยะห่างทางพันธุกรรม พบว่า กลุ่มปาล์มน้ำมันผสมเปิดแบ่งได้ 4-5 cluster ในขณะที่กลุ่มลูกผสมพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. 1 แบ่งได้เพียง 2 cluster ส่วนการวิเคราะห์กลุ่มของตัวอย่างทั้งหมด 120 ตัวอย่าง พบว่าแถบดีเอ็นเอที่ได้จากไพรเมอร์ทั้ง 7 สามารถแยกปาล์มน้ำมันลูกผสมออกจากปาล์มน้ำมันจากประชากรผสมเปิดได้ ในการคัดเลือกตัวอย่างปาล์มโดยพิจารณาจากระยะห่างทางพันธุกรรม ตัวอย่าง P9 P20 K6 K16 S1 S15 T11 T17 C4 และ C14 อาจถูกคัดเลือกเพื่อใช้ในการปรับปรุงประชากรในรุ่นต่อไป จากทั้งลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางพันธุกรรม ตัวอย่าง T11 เป็นตัวอย่างที่เหมาะสมที่สุดในการถูกคัดเลือกเพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์

Thesis Title	Study on Genetic Diversity of Open Pollinated Oil Palm using Morphological Traits and SSR Markers
Author	Mr. Thanet Khomphet
Major Program	Plant Science
Academic Year	2016

ABSTRACT

The objective of this study was to study the diversity of open pollinated oil palm in Southern Thailand using morphological traits and SSR markers. Fruits of open pollinated tenera palm trees were collected from Phang-nga, Krabi, Surat Thani, Trang and Chumphon Provinces. Sup-PSU 1 hybrid line was used as the indicator. The experimental design used Completely Randomized Design: CRD with 6 treatments with 5 open pollinated oil palms (5 provinces of collection) and 1 hybrid line. Each treatment consisted of 20 replications, one oil palm seedling was used for 1 replication. From morphological diversity, the samples of open pollinated oil palm were scattered on four quadrants of a biplot of principal component analysis while samples of hybrid oil palm were most scattered on the first quadrant of the biplot. For oil palm selection, samples P6, P10, P13, P19, S4, S11, S17, T8, T9, T10, T11, T12, C2, C11 and C17 were selected because they had close characteristics with hybrid oil palm Sup-PSU 1 in the biplot. From a genetic diversity study using markers, 27 polymorphic bands were produced from 7 SSR markers. The highest number of polymorphic bands (7) was obtained from primer MF233056. The genetic distance ranged from 0.000 to 0.754. The highest value was obtained from samples P9 and P20. The lowest value was obtained from samples NR_10 and NR 12. From a cluster analysis based on genetic distance, the open pollinated oil palm can be divided into 4-5 clusters while hybrid line Sup-PSU 1 can be divided into 2 clusters. The cluster analysis of 120 samples showed that polymorphic bands from 7 markers can separated into hybrid and open pollinated oil palm. For selection based on genetic distance, samples P9, P20, K6, K16, S1, S15, T11, T17, C4 and C14 were selected because they had highest genetic distance in each open pollinated oil palm group. From morphological and genetic diversity studies, sample T11 is the best that can be selected.

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร.ธีระ เอกสมทราเมษฐ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ดร.เสาวภา ด้วงปาน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ดร.กรกช นาคคนอง และ ดร.สุดนัย เครือหลี กรรมการสอบ เป็นอย่างสูง ที่คอยให้คำแนะนำและข้อเสนอแนะต่าง ๆ ในการทำวิจัยและการเขียนวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วง

ขอขอบคุณทุนผลการเรียนดีเด่นเข้าศึกษาในระดับบัณฑิตศึกษา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ขอขอบคุณทุนสนับสนุนบางส่วนจากสถานวิจัยความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ ระยะที่ 2 คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ขอขอบคุณทุนสนับสนุนการผลิตบัณฑิต สถานวิจัยพืชกรรมปาล์มน้ำมัน ระยะที่ 2 คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ขอขอบคุณ Division of BioResource, Faculty of Agriculture, University of Miyazaki, Miyazaki, Japan ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์ในการทำวิจัยในบางส่วน

ขอขอบพระคุณ รศ ดร. วัชรินทร์ ซุ้นสุวรรณ อาจารย์ประจำภาควิชาพืชศาสตร์และหัวหน้าภาควิชา ที่คอยให้คำปรึกษาในการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ขอขอบคุณบุคลากรภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ ที่คอยช่วยเหลือในด้านเอกสารและการให้คำปรึกษาต่าง ๆ

ขอขอบคุณ อิง มะ ฟาริด อดัม สมาชิกในบ้านดารุสลามที่ช่วยเหลือในการทำงานวิจัยในช่วงต้น

ขอขอบคุณ แจม ที่คอยอยู่เคียงข้างและเป็นกำลังใจจนสำเร็จการศึกษา

ขอขอบคุณอาจารย์ทุกท่าน พี่ น้อง เพื่อน ลุง ป้า น้า อา ทุกท่านที่ไม่ได้กล่าวถึงที่มีส่วนเกี่ยวข้องทำให้การศึกษาครั้งนี้สำเร็จไปได้ด้วยดี

และสุดท้ายขอขอบคุณนางสศิพร พัดตั๋น มารดาของผู้เขียน ที่คอยให้กำลังใจจนทำให้การศึกษาสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ธเนศ คอมเพ็ชร

สารบัญ

เรื่อง **หน้า**

บทคัดย่อ	(5)
ABSTRACT	(6)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบัญ	(8)
รายการตาราง	(9)
รายการภาพ	(11)
บทที่ 1 บทนำ	1
1. บทนำต้นเรื่อง	1
2. ตรวจเอกสาร	3
บทที่ 2 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการวิจัย	12
1. วัสดุและอุปกรณ์	12
2. วิธีการ	14
บทที่ 3 ผลและวิจารณ์	23
1. ความหลากหลายทางสัณฐานวิทยาของปาล์มน้ำมัน	23
2. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันโดยใช้เครื่องหมายเอสเอสอาร์	38
บทที่ 4 สรุป	53
เอกสารอ้างอิง	54
ภาคผนวก	59
ประวัติผู้เขียน	69

รายการตาราง

ตารางที่ **หน้า**

ตารางที่ 1 ไพรเมอร์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ SSR จากการศึกษาของ Singh และคณะ (2007)..............9

ตารางที่ 2 ไพรเมอร์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ SSR จากการศึกษาของ Abdullah และคณะ (2011)........10

ตารางที่ 3 วิเคราะห์ความแปรปรวนในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์........15

ตารางที่ 4 เครื่องหมายเอสเอสอาร์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมัน........20

ตารางที่ 5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปาล์มน้ำมันกลุ่มประชากรผสมเปิดและกลุ่มลูกผสม........25

ตารางที่ 6 ค่าเฉลี่ยข้อมูลการเจริญเติบโตของปาล์มน้ำมันกลุ่มประชากรผสมเปิดและกลุ่มลูกผสม........26

ตารางที่ 7 ความแปรปรวนของลักษณะต่าง ๆ ภายในประชากรของปาล์มน้ำมันผสมเปิดและปาล์มน้ำมันลูกผสม........27

ตารางที่ 8 สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของแต่ละลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นกล้าปาล์มน้ำมัน........28

ตารางที่ 9 ค่าการวิเคราะห์ตัวประกอบหลักของลักษณะต่าง ๆ........32

ตารางที่ 10 จำนวนอัลลีลที่ผลิตได้จากเครื่องหมายเอสเอสอาร์........41

ตารางที่ 11 สรุปค่าระยะห่างทางพันธุกรรมของแต่ละกลุ่มประชากร........42

ตารางที่ 12 ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันกลุ่มผสมเปิดที่ถูกคัดเลือกโดยการวิเคราะห์ตัวประกอบหลัก........45

ตารางภาคผนวกที่ **หน้า**

ตารางภาคผนวกที่ 1 ระยะห่างทางพันธุกรรมของตัวอย่างในกลุ่มประชากร จากจังหวัดพังงา 63
ตารางภาคผนวกที่ 2 ระยะห่างทางพันธุกรรมของตัวอย่างในกลุ่มประชากร จากจังหวัดกระบี่ 64
ตารางภาคผนวกที่ 3 ระยะห่างทางพันธุกรรมของตัวอย่างในกลุ่มประชากร จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี 65
ตารางภาคผนวกที่ 4 ระยะห่างทางพันธุกรรมของตัวอย่างในกลุ่มประชากร จากจังหวัดตรัง 66
ตารางภาคผนวกที่ 5 ระยะห่างทางพันธุกรรมของตัวอย่างในกลุ่มประชากร จากจังหวัดชุมพร 67
ตารางภาคผนวกที่ 6 ระยะห่างทางพันธุกรรมของตัวอย่างในกลุ่มประชากร พันธุ์ลูกผสมทรัพย์ ม.อ. 1 68

รายการภาพ

ภาพที่ **หน้า**

ภาพที่ 1 การวิเคราะกลุ่มของปาล์มน้ำมันผสมเปิดและปาล์มน้ำมันลูกผสมโดยใช้เทคนิค Hierarchical clustering 30

ภาพที่ 2 Biplot ของกลุ่มปาล์มน้ำมันผสมเปิดจากจังหวัดพังงากับลูกผสมพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. 1 33

ภาพที่ 2 (ต่อ) Biplot ของกลุ่มปาล์มน้ำมันผสมเปิดจากจังหวัดกระบี่กับลูกผสมพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. 1 34

ภาพที่ 2 (ต่อ) Biplot ของกลุ่มปาล์มน้ำมันผสมเปิดจากจังหวัดสุราษฎร์ธานีกับลูกผสมพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. 1 35

ภาพที่ 2 (ต่อ) Biplot ของกลุ่มปาล์มน้ำมันผสมเปิดจากจังหวัดตรังกับลูกผสมพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. 1 36

ภาพที่ 2 (ต่อ) Biplot ของกลุ่มปาล์มน้ำมันผสมเปิดจากจังหวัดชุมพรกับลูกผสมพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. 1 37

ภาพที่ 3 แถบดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยเครื่องหมายเอสเอสอาร์จำนวน 7 ไพรเมอร์ 38

ภาพที่ 4 การกระจายตัวแบบปกติของระยะห่างทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมัน 44

ภาพที่ 5 การวิเคราะห์กลุ่มของปาล์มน้ำมันกลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัด (a) พังงา (b) กระบี่ จากการวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่ได้จากเครื่องหมายเอสเอสอาร์ 46

ภาพที่ 5 (ต่อ) การวิเคราะห์กลุ่มของปาล์มน้ำมันกลุ่มประชากรจากจังหวัด (c) สุราษฎร์ธานี (d) ตรัง จากการวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่ได้จากเครื่องหมายเอสเอสอาร์ 47

ภาพที่ 5 (ต่อ) การวิเคราะห์กลุ่มของปาล์มน้ำมันกลุ่มประชากรจากจังหวัด (e) ชุมพร และ (f) ประชากรลูกผสมพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. 1 จากการวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่ได้จากเครื่องหมายเอสเอสอาร์ 48

ภาพที่ 6 UPGMA clustering ของตัวอย่างปาล์มน้ำมันทั้ง 120 ตัวอย่าง 50

ภาพภาคผนวกที่ **หน้า**

ภาพภาคผนวกที่ 1 ส่วนประกอบในการทำงานของเครื่อง Microchip Electrophoresis System for DNA/RNA Analysis MCE-202 MultiNA....61
ภาพภาคผนวกที่ 2 ตัวอย่างที่ผ่านการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR และนำมาปิดเคลือบด้วยสติกเกอร์ 62
ภาพภาคผนวกที่ 3 การบรรจุสารเคมีและตัวอย่างภายในเครื่อง Microchip Electrophoresis System for DNA/RNA Analysis MCE-202 MultiNA....62

บทที่ 1
บทนำ

1. บทนำต้นเรื่อง

ปาล์มน้ำมัน (*Elaeis guineensis* Jacq.) เป็นพืชน้ำมันที่มีความสำคัญที่มีการปลูกเป็นการค้ากว่า 42 ประเทศทั่วโลก (ศูนย์วิจัยกสิกรไทย, 2558) สามารถให้ผลผลิตน้ำมันต่อพื้นที่ได้สูงที่สุดเมื่อเทียบกับพืชน้ำมันชนิดอื่น (ธีระ, 2554) ปัจจุบันมีพื้นที่ปลูกทั่วโลกกว่า 112.8 ล้านไร่ (FAO, 2015) ปาล์มน้ำมันมีถิ่นกำเนิดในแถบแอฟริกาตะวันตก และได้นำเข้ามาปลูกในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ที่เมืองโบกอร์ ประเทศอินโดนีเซีย ประมาณปี พ.ศ. 2391 จำนวน 4 ต้น (ธีระ และคณะ, 2548) หลังจากนั้นก็ได้มีการแพร่กระจายไปยังเกาะสุมาตรา และประเทศมาเลเซีย เพื่อปลูกเป็นการค้า ประเทศไทยเริ่มมีการนำปาล์มน้ำมันเข้ามาปลูก เพื่อเป็นไม้ประดับครั้งแรกเมื่อปี พ.ศ. 2472 ที่สถานีทดลองยางคอหงส์ จังหวัดสงขลา และได้ปลูกเป็นการค้าในเวลาต่อมา ปาล์มน้ำมันที่ปลูกเป็นการค้าในช่วงแรกนั้นเป็นปาล์มน้ำมันที่ได้จากต้นแม่ที่สวนพฤกษชาติโบกอร์ ซึ่งเป็นปาล์มน้ำมันแบบดูรา โดยลักษณะของผลปาล์มชนิดนี้คือมีกะลาหนา เนื้อปาล์มต่อผลน้อย ทำให้ได้ปริมาณน้ำมันต่อผลต่ำ ต่อมาจึงได้มีการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมแบบเทเนอราขึ้น โดยการผสมระหว่างแม่ดูราและพ่อพิสิเฟอรา ซึ่งลูกผสมจะมีลักษณะกะลาบาง เนื้อปาล์มต่อผลมาก ทำให้ได้ผลผลิตน้ำมันต่อผลมากขึ้น จากความสำเร็จในการผลิตปาล์มน้ำมันลูกผสมที่ทำให้ได้ปริมาณน้ำมันมากขึ้นแล้ว เกษตรกรยังต้องการลักษณะที่ดีอื่น ๆ เช่น การทนต่อสภาพแล้ง ดินเค็ม ทนทานต่อโรค ทางใบสั้น ลำต้นเตี้ย เป็นต้น ดังนั้นนักปรับปรุงพันธุ์จึงต้องการประชากรปาล์มน้ำมันที่มีลักษณะที่หลากหลายและมีความแปรปรวนสูง เพื่อเป็นประโยชน์ในการคัดเลือกลักษณะที่ต้องการ อย่างไรก็ตามประชากรที่ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์มียีนพูล (gene pool) ขนาดเล็ก (Ting *et al.*, 2010) เนื่องจากต้นกำเนิดของประชากรได้จากปาล์มเดลีดูราที่ถูกนำเข้ามาปลูกในอินโดนีเซียในช่วงแรกเริ่มเท่านั้น (Corley and Tinker, 2003)

ดังนั้นการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรปาล์มน้ำมันจึงมีความสำคัญในการปรับปรุงพันธุ์เป็นอย่างมาก เนื่องจากในประชากรที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงจะมีโอกาสในการคัดเลือกลักษณะที่ต้องการได้มากกว่าประชากรที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมน้อย (Gupta and Varshney, 2000) เนื่องจากปาล์มน้ำมันเป็นพืชผสมข้าม

หากประชากรมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงจะมีโอกาสแสดงลักษณะเด่นออกมามาก (Cox and Murphy, 1990) จึงมีโอกาสได้ลูกผสมที่ดีมากขึ้นเช่นกัน โดยในการศึกษาครั้งนี้เลือกใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาร่วมกับเครื่องหมายเอสเอสอาร์ เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรปาล์มน้ำมัน เนื่องจากเป็นการใช้เครื่องหมายเอสเอสอาร์สามารถตรวจสอบความหลากหลายทั้งจีโนมของปาล์มน้ำมันได้ ตั้งแต่ระยะต้นกล้าและสามารถจำแนกความหลากหลายได้แม่นยำ เนื่องจากไม่มีอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมมาเกี่ยวข้อง

2. ตรวจเอกสาร

ข้อมูลทั่วไปของปาล์มน้ำมัน

ปาล์มน้ำมันมีชื่อสามัญ (common name) คือ oil palm อยู่ในวงศ์ (family) Palmae หรือ Arecaceae ในจีนัส (genus) *Elaeis* มีชื่อวิทยาศาสตร์ (scientific name) คือ *Elaeis guineensis* Jacq. ปาล์มน้ำมันเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่มีอายุยืนและสามารถให้ผลผลิตตลอดทั้งปี โดยปาล์มน้ำมันประกอบด้วยส่วนต่าง ๆ ดังนี้ (สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร, 2559)

1. **ลำต้น** ปาล์มน้ำมันเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่มีลำต้นลักษณะเป็นทรงกระบอกตั้งตรง ไม่มีกิ่งก้าน ภายในประกอบด้วยท่อลำเลียงน้ำและท่อลำเลียงอาหาร ปาล์มน้ำมันไม่มีเนื้อเยื่อเจริญด้านข้าง ดังนั้นจึงมีทิศทางการเจริญทางด้านความสูงที่เกิดจากตายอดซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10-12 เซนติเมตร ความลึก 2.5-4.0 เซนติเมตร บริเวณส่วนกลางของส่วนยอด (Crown) โดยมีจุดกำเนิดใบ ใบอ่อน และฐานของใบหุ้มอยู่ ขนาดและความสูงของลำต้นปาล์มน้ำมันจะมีความแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับพันธุกรรมและสภาพแวดล้อมเป็นตัวกำหนด

2. **ราก** ปาล์มน้ำมันมีรากเป็นระบบรากฝอย โดยรากแรกเริ่มที่งอกออกจากเมล็ดจะถูกแทนที่ด้วยรากฝอยเมื่ออายุมากขึ้น ปาล์มน้ำมันจะประกอบด้วยราก 4 ชุด คือ รากชุดที่ 1 คือรากที่ออกมาจากลำต้นซึ่งมีทั้งในแนวระนาบและแนวดิ่ง รากชุดนี้เป็นรากที่มีความสำคัญมาก เนื่องจากมีหน้าที่ในการยึดลำต้นกับพื้นดินและช่วยในการดูดน้ำ นอกจากนี้ปาล์มน้ำมันยังมีรากชุดที่ 2 3 และ 4 ที่ช่วยในการดูดน้ำและธาตุอาหารอีกเช่นกัน

3. **ใบ** ปาล์มน้ำมันมีใบอยู่ 3 แบบคือ ใบหอก ใบรูปสองแฉก และใบรูปขนนก โดยใบหอกและใบรูปสองแฉกจะพบเฉพาะในระยะกล้าเท่านั้น ใบที่พบเห็นได้ในปาล์มน้ำมันที่ให้ผลผลิตจะเป็นใบรูปขนนก ซึ่งประกอบด้วย ก้านใบ แกนทางใบ และใบย่อย ใบปาล์มน้ำมันพัฒนามาจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณปลายยอด

4. **ช่อดอก** ปาล์มน้ำมันสามารถให้ช่อดอกได้ตั้งแต่อายุประมาณ 2-3 ปีหลังปลูก ช่อดอกพัฒนามาจากตาดอกที่อยู่บริเวณซอกใบที่ติดกับต้น ซึ่งสามารถพัฒนาไปเป็นช่อดอกเพศผู้หรือช่อดอกเพศเมียขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมเป็นตัวกำหนด ปาล์มน้ำมันมีช่อดอกเพศผู้และช่อดอกเพศเมียอยู่คนละช่อบนต้นเดียวกัน ช่อดอกเพศผู้มีหน้าที่ในการผลิตละอองเกสร เพื่อไปผสมกับดอกบนช่อดอกเพศเมียและพัฒนาไปเป็นผลปาล์มน้ำมันต่อไป

5. **ผลและเมล็ด** ผลปาล์มน้ำมันประกอบด้วย ผิวเปลือกชั้นนอก ผลชั้นกลางหรือเนื้อปาล์ม ผลชั้นในหรือกะลา และเมล็ด แต่โดยปกติแล้วในกระบวนการทำงอกเมล็ดปาล์มน้ำมันจะแยกส่วนของเปลือกนอกและเนื้อปาล์มออกและเหลือส่วนของกะลาและเมล็ดไว้ ดังนั้นเมื่อกล่าวถึงเมล็ดปาล์มน้ำมันจะรวมส่วนของกะลาเข้าไปด้วย ผลปาล์มน้ำมันสามารถนำไปสกัดน้ำมันได้สองส่วนคือ ส่วนของเนื้อปาล์มและส่วนของเนื้อในเมล็ด ซึ่งน้ำมันที่ได้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้แตกต่างกัน

กระบวนการทำเมล็ดงอกปาล์มน้ำมัน

ปาล์มน้ำมันเป็นพืชที่มีการพักตัวของเมล็ด ดังนั้นในกระบวนการทำเมล็ดปาล์มงอกจึงต้องมีการทำลายการพักตัว เพื่อช่วยให้เกิดการงอก การทำงอกเมล็ดปาล์มน้ำมันมีขั้นตอนดังนี้ (ธีระ และคณะ, 2548)

1. นำผลปาล์มน้ำมันไปปั่น โดยใช้เครื่องแยกเพื่อแยกส่วนของเปลือกนอกและเนื้อปาล์มทิ้ง แช่น้ำทิ้งไว้และนำกลับไปปั่นอีกจนสามารถกำจัดส่วนของเนื้อปาล์มออกหมด หากเหลือเนื้อปาล์มติดส่วนของกะลาอยู่จะทำให้เกิดเชื้อราระหว่างการทำลายการพักตัว
2. นำเมล็ดที่ได้จากการปั่นแยกเนื้อปาล์มไปทำความสะอาดกับผงซักฟอกเพื่อกำจัดน้ำมันที่อาจตกค้างไว้ออก
3. นำเมล็ดหลังจากการทำความสะอาดด้วยผงซักฟอกไปแช่ในสารป้องกันเชื้อราเป็นเวลาประมาณ 1 ชั่วโมง แล้วจึงเทสารป้องกันเชื้อราทิ้ง
4. นำเมล็ดหลังจากแช่สารป้องกันเชื้อราไปผึ่งลมประมาณ 2-3 ชั่วโมง (ขึ้นอยู่กับสภาพอากาศ)
5. ตักเมล็ดใส่ในถุงพลาสติกและปิดให้แน่น โดยที่ภายในถุงต้องมีอากาศอยู่
6. นำเมล็ดไปทำลายการพักตัวในห้องควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิประมาณ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 60 วัน ระหว่างการทำลายการพักตัวได้มีการตรวจดูการปนเปื้อนของเชื้อรา นอกจากนี้ยังต้องหมั่นตรวจดูความชื้นภายในถุงทุกสัปดาห์ ให้มีความเหมาะสม หากความชื้นสูงเกินไปจะทำให้เกิดเชื้อราได้ง่าย และหากความชื้นต่ำเกินไปจะทำให้เมล็ดปาล์มไม่สามารถงอกได้

การอนุบาลกล้าปาล์มน้ำมัน

การอนุบาลกล้าปาล์มน้ำมันมี 2 รูปแบบที่นิยมปฏิบัติกันอย่างแพร่หลาย คือ การอนุบาลแบบครั้งเดียว จะไม่มีการย้ายกล้าระหว่างการอนุบาล และการอนุบาลกล้าแบบ 2 ครั้ง แบ่งออกเป็น 2 ระยะ คือ (ศิริกุล, 2552)

1. การอนุบาลกล้าปาล์มในระยะอนุบาลแรก กล้าปาล์มในระยะนี้ได้จากการเพาะเมล็ดหลังจากกระบวนการทำงอก นำไปเพาะในถาดเพาะเมล็ดขนาด 32 หลุม โดยใช้พีทมอสเป็นวัสดุปลูก ดูแลภายใต้สภาพโรงเรือนที่มีการพรางแสง มีการให้น้ำทุกวัน กำจัดวัชพืชอยู่สม่ำเสมอ การอนุบาลในระยะนี้ใช้ระยะเวลาประมาณ 3 เดือน หลังจากนั้นจึงย้ายปลูกในระยะอนุบาลหลัก

2. การอนุบาลกล้าปาล์มในระยะอนุบาลหลัก กล้าปาล์มในระยะนี้ได้มาจากกล้าปาล์มในระยะอนุบาลแรก โดยการย้ายปลูกจากถาดเพาะลงถุงดำขนาด 15 x 18 นิ้ว โดยใช้หน้าดินเป็นวัสดุปลูก กล้าปาล์มในระยะนี้ดูแลในสภาพนอกโรงเรือน โดยวางไว้ในบริเวณพื้นที่ราบที่มีการส่องของแสงอย่างทั่วถึง ให้น้ำด้วยสายยางหรือระบบน้ำ 2 ครั้งต่อวัน คือ ช่วงเช้าและช่วงเย็น ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 เดือนละ 1 ครั้ง พร้อมทั้งมีการกำจัดวัชพืชอย่างสม่ำเสมอ หมั่นตรวจการติดโรคและให้กำจัดโดยทันที เพื่อป้องกันการแพร่กระจาย การอนุบาลในระยะนี้ใช้ระยะเวลาประมาณ 6-9 เดือน หลังจากนั้นสามารถนำไปปลูกในแปลงได้

การศึกษาด้านเทคโนโลยีชีวภาพของปาล์มน้ำมัน

ปาล์มน้ำมันเป็นพืชที่มีจีโนมเป็นดิพลอยด์ (2n) มีโครโมโซม 2n=2x=32 ขนาดของจีโนมประมาณ 1,700 Mbp (Rival *et al.*, 1997) ปาล์มน้ำมันแบ่งออกเป็น 3 แบบตามลักษณะของผล คือ ดูรา (D) มีกะลาหนา ไม่มีเส้นใยรอบวงกะลา พิสิเฟอรา (P) ไม่มีกะลาหรือมีกะลาเป็นเยื่อบาง ๆ มีวงของเส้นใยรอบกะลา ปกติเพศเมียจะเป็นหมัน และ เทเนอรา (T) มีกะลาบาง และมีวงเส้นใยรอบกะลา เกิดจากการผสมระหว่างแม่ดูราและพ่อพิสิเฟอรา ลูกผสมเทเนอราสามารถให้ผลผลิตน้ำมันเพิ่มขึ้น 30 % (Jalani *et al.*, 1997) ปัจจุบันได้มีการศึกษาเกี่ยวกับเทคโนโลยีชีวภาพของปาล์มน้ำมันในด้านต่าง ๆ เช่น การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งส่งผลให้เกิดความผิดปกติของช่อดอกประมาณ 3-5 % ซึ่งรู้จักกันในชื่อผลปาล์มแบบเมนเทิล (mantle) (Jalani *et al.*,1997) การถ่ายยีนเข้าสู่ปาล์มน้ำมัน เช่น ถ่ายยีน *cry1Ac* ช่วยให้ทนทานต่อแมลง (Lee *et al.*, 2006) การศึกษาโมเลกุลเครื่องหมาย การทำแผนที่ยีนโดยใช้ลักษณะเชิงปริมาณ (quantitative trait loci map) การศึกษาทรานสคริบโตม (transcriptome) (Rival and Jaligot, 2010) ลักษณะของความหนาของกะลาเป็นลักษณะที่ถูกถ่ายทอดและเป็นลักษณะที่สำคัญ ในปาล์มน้ำมันลักษณะของกะลาถูกควบคุมโดยยีน

ตำแหน่งเดียวที่มีสองอัลลีล มีการแสดงออกแบบข่มร่วม (co-dominant) โดยเทเนอรามีจีโนไทป์แบบ *Sh+Sh-* เป็นลูกผสมที่เกิดจากดูราที่มีจีโนไทป์ *Sh+Sh+* และพิสิเฟอราที่มีจีโนไทป์ *Sh-Sh-* (Hartley, 1988)

เครื่องหมายโมเลกุลในการทำแผนที่ยีนและศึกษาความหลากหลายในปาล์มน้ำมัน

การศึกษาแผนที่ยีนและการหาตำแหน่งของ quantitative trait loci (QTL) ในปาล์มน้ำมันได้มีการใช้เครื่องหมายโมเลกุลที่หลากหลาย ไม่ว่าจะเป็น amplified fragment length polymorphism (AFLP), complementary DNA-restriction fragment length polymorphism (cDNA-RFLP), restriction fragment length polymorphism (RFLP) และ simple sequence repeat (SSR) (Ying *et al*., 2007; Singh *et al*., 2008; Rance *et al*., 2001, Billotte *et al*., 2010: Abdullah *et al*., 2011) เป็นต้น โดยลักษณะที่ได้มีการศึกษา เช่น ผลผลิตและองค์ประกอบของผลผลิต (น้ำหนักแห้ง อัตราส่วนของกะลาและเนื้อปาล์มต่อผล ความหนาของกะลา เป็นต้น) การศึกษาเชิงคุณภาพ (องค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันปาล์ม) สีของผลปาล์มน้ำมันแบบ virescence (มีสีเขียวมรกตในขณะผลดิบและเปลี่ยนไปเป็นสีส้มเมื่อผลสุก) การถ่ายทอดลักษณะภายนอกของลำต้นและใบ เป็นต้น

นอกจากนี้โมเลกุลเครื่องหมายยังถูกใช้ในการศึกษาความหลากหลายของปาล์มน้ำมันที่มีเชื้อพันธุกรรมจากประเทศในแถบแอฟริกาและประเทศในแถบอเมริกา โดยโมเลกุลเครื่องหมายที่ใช้ในการศึกษา เช่น AFLP, RAPD, RFLP, SNP, isoenzyme และ SSR (Purba *et al*., 2000; Junmag *et al*., 2005; Maizura *et al*., 2006; Riju *et al*., 2007; Hayati *et al*., 2004; Ting *et al*., 2010) เป็นต้น ซึ่งการใช้โมเลกุลเครื่องหมายเหล่านี้ในการศึกษา มีประโยชน์ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันเป็นอย่างมาก ผลจากการศึกษานี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในด้านการปรับปรุงพันธุ์ได้

Simple sequence repeat (SSR)

SSR หรือ microsatellite เป็นกลุ่มดีเอ็นเอที่มีเบสซ้ำ (repetitive DNA) ตั้งแต่ 1-6 เบส โดยเบสซ้ำหนึ่งเบส เรียกว่า mono-nucleotide repeat เช่น (A)n ซ้ำสองเบส เรียกว่า di-nucleotide repeat เช่น (CA)n ซ้ำสามเบส เรียกว่า tri-nucleotide repeat เช่น (TAA)n และ ซ้ำสี่เบส เรียกว่า tetra-nucleotide repeat เช่น (GATA)n (n คือจำนวนซ้ำ) เบสซ้ำเหล่านี้พบกระจายอยู่บริเวณต่าง ๆ ของจีโนม พบมากในจีโนมของสิ่งมีชีวิตชั้นสูง ซึ่งมีความผันแปรของจำนวนเบสซ้ำในจีโนมของสิ่งมีชีวิตในแต่ละชนิด (สุรีพร, 2546) จากความแตกต่างของเบสซ้ำดังกล่าว สามารถ

นำมาประยุกต์ใช้เป็นเครื่องหมายโมเลกุลในการแยกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตได้ โดยความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นนั้น เป็นผลมาจากจำนวนครั้งของเบสซ้ำในโลคัสหนึ่ง ๆ (Powell *et al*., 1996) นอกจากนี้ SSR ยังมีชื่อเรียกอย่างอื่นอีก เช่น simple sequence length polymorphisms (SSLP) และ sequence-tagged microsatellite site (STMS) เป็นต้น โดยบริเวณรอบ ๆ เบสซ้ำเหล่านี้มักมีลำดับเบสที่จำเพาะ (unique sequences) อยู่ จากลักษณะเฉพาะนี้ สามารถนำมาพัฒนาเป็นโมเลกุลเครื่องหมายได้ โดยการออกแบบไพรเมอร์ที่สามารถเข้าคู่กับเบสจำเพาะเหล่านี้ เรียกว่าเอสเอสอาร์ไพรเมอร์ โดยไพรเมอร์เหล่านี้จะใช้เป็นจุดเริ่มต้นของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของส่วนที่เป็นเบสซ้ำต่อเนื่องที่อยู่ระหว่างลำดับเบสที่จำเพาะความหลากหลายของชิ้นดีเอ็นเอขนาดต่าง ๆ ซึ่งเป็นผลมาจากจำนวนครั้งของเบสซ้ำที่ไม่เท่ากันนี้ ใช้บ่งบอกความแตกต่างระหว่างสิ่งมีชีวิตได้ (Morgante and Olivieri, 1993) เครื่องหมายเอสเอสอาร์นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายซึ่งมีข้อดี คือ

1. โลคัสที่มีลักษณะหลายอัลลีลทำให้ตรวจสอบความแตกต่างได้มาก
2. ถ่ายทอดลักษณะแบบข่มไม่สมบูรณ์
3. ตรวจสอบได้ง่ายโดยใช้เทคนิค PCR และใช้ปริมาณดีเอ็นเอในตรวจสอบเพียงเล็กน้อย
4. สามารถพบได้จำนวนมากและครอบคลุมทั้งจีโนม ทั้งภายในยีนและระหว่างยีน
5. ไพรเมอร์ที่สร้างขึ้นมาสำหรับใช้กับพืชหนึ่ง ๆ จะมีความจำเพาะและสามารถแลกเปลี่ยนข้อมูลลำดับเบสของเอสเอสอาร์ไพรเมอร์ระหว่างห้องปฏิบัติการที่ร่วมวิจัยได้สะดวก

จากจุดเด่นที่กล่าวมา แสดงให้เห็นว่าเอสเอสอาร์สามารถใช้จำแนกพันธุ์พืชที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมาก เช่น ในพืชบางชนิดที่มีฐานพันธุกรรมแคบ ซึ่งเทคนิคนี้สามารถใช้แยกความแตกต่างของพืชได้ดีกว่าเทคนิคอื่น ๆ ส่วนข้อจำกัดคือ ในการสร้างเอสเอสอาร์ไพรเมอร์มีค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง หากเป็นในพืชที่ยังไม่มีการศึกษามาก่อน หรือพืชที่ไม่มีฐานข้อมูลลำดับเบส

การศึกษาเกี่ยวกับพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันโดยใช้เครื่องหมายเอสเอสอาร์

Singh และคณะ (2007) ได้ศึกษาและพัฒนาโมเลกุลเครื่องหมายเอสเอสอาร์สำหรับปาล์มน้ำมัน และนำไปประยุกต์ใช้ในการทำแผนที่ยีนและลายพิมพ์ดีเอ็นเอของปาล์มน้ำมันเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโคลนต่าง ๆ ในตัวอย่างที่ได้จากการผสมตัวเองของปาล์มน้ำมันลูกผสมเทเนอราจำนวน 136 ต้น ในการศึกษาใช้เครื่องหมายเอสเอสอาร์ทั้งหมด 12 ไพรเมอร์ ดังแสดงในตารางที่ 1 โดยจากการศึกษาดังกล่าวพบว่า เครื่องหมายเอสเอสอาร์ทั้ง 12 ไพรเมอร์ สามารถใช้ในการตรวจสอบและทำแผนที่ยีนของปาล์มทั้ง 136 ต้น และสามารถแบ่งประชากรออกเป็นกลุ่มได้

Abdullah และคณะ (2011) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันในรุ่นพ่อแม่ ที่เป็นปาล์มน้ำมันแบบดูรา 15 ตัวอย่างและพิสิเฟอรา 4 ตัวอย่าง ที่ถ่ายทอดไปยังลูกในรุ่นที่ 1 (F_1) ซึ่งเป็นปาล์มน้ำมันแบบเทเนอราที่เกิดระหว่างการผสมระหว่างพ่อและแม่คู่ต่าง ๆ จำนวน 16 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 19-20 ซ้ำ โดยใช้เครื่องหมายเอสเอสอาร์ทั้งหมด 9 ไพรเมอร์ ดังแสดงในตารางที่ 2 โดยจากผลการศึกษาพบว่า เครื่องหมายเอสเอสอาร์ทั้ง 9 ไพรเมอร์ให้แถบดีเอ็นเอที่แสดงความแตกต่าง (polymorphism) จำนวน 29 แถบ และสามารถแยกใช้แยกประชากรออกเป็นกลุ่มได้

ตารางที่ 1 ไพรเมอร์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ SSR จากการศึกษาของ Singh และคณะ (2007)

Primers	TA (ºC)	Sequence F : forward R : reverse	Allele size (bp)	Repeat unit
P1T6	50	F: GGAGGCCGCCTAATGAAAGAAATC	112	$(CT)_8$......$(CT)_5$
		R: AGAGAGAGAAGGGGAGGGAAGGAG		
P1T14	50	F: TTGAGAGAGAGAGAGAGAGAGA	240,230	$(GA)_8$
		R: TTACCTGGAGCTTCCGACTC		
P1A0	52	F: TGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG	315	$(GA)_6$
		R: AGCGAGGTTGTTGCTCCTAAA		
P1O14	50	F: TTTTCGAGAGAGGAGAGAGAGAGA	212	$(GA)_6$
		R: CAAGGATTTAATAGCCACCCATAG		
P4T8	52	F: GTAGGGGCTCTCTCTCTCTCTAT	242, 231	$(CT)_5$
		R: CATGCCCTGAGGAAATTCAG		
P4T10	52	F: ACACGCACACAGAGAGATAGAGAG	118, 115	$(CT)_9$
		R: CTCGATTCGAATAGGTAGTCACTG		
P4T12a	52	F: GTTATTTGAGAGAGAGAGAGAG	195	$(GA)_8$
		R: TGCCACTACGTGAAGAAGATAAAG		
P4T12b	50	F: GTTATTTGAGAGAGAGAGAGAG	135	$(GA)_8$
		R: ATAAATCTACAGGTATGCCACTCG		
P4T20b	50	F: TGAAAGACTCTCTCTCTCT	172	$(CT)_4$
		R: TCAGCTTTGAATTATCCCATCC		
P4O17b	50	F: GCTCTCTCTCTCTAGGGCTCGTA	>330a	$(AT)_4$
		R: GTAAAGGCTCTCTCTCTCTC		
P4O18a	50	F: GTGAAGGCTCTCTCTCTCT	260, 255	$(CT)_4$
		R: ATCGGAGTCTTGTCTCTAGTCTGG		
P201b	54	F: CCCACGAAAACCCTAGAAAAA	185, 168	$(GA)_4$CA $(GA)_4$
		R: GTGTGCGTGTAGTTCATTGTTTTG		

ตารางที่ 2 ไพรเมอร์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ SSR จากการศึกษาของ Abdullah และคณะ (2011)

Primers	TA (ºC)	Sequence F : forward R : reverse	Allele size (bp)	Repeat unit
CNH00887	52	F : TTATTGATTGATGCAAGATACAC R : TTGATAAAATACAAGAGATAGCA	165	$(AT)_9$
CNH00938	52	F : GGACCCTTTTTGTTACTGTTT R : T AGCCTACCACAACTTCCTT	172	$(AG)_9$
CNH01617	52	F : TCTTTAATTTGTCGAGGATAATG R : ATGCAAGGTTTTGTTGAAACT	130	$(CT)_{20}$
CNI01937	52	F : AACTGCAAATGAGACACAGAG R : TCCACCAGAGGAGGGTTAGT	170	$(AG)_9$
EAP 03160	52	F : AACGTGAGAGCCATAGAGATAG R : TAATAGAAACTAGACCCGACCA	175	$(TATG)_6$
EO 02978	52	F : CCGTCTCAAAAGCCCTAAAC R : TTGTTGTCCCACTCCCTCTT	210	$(CGC)_7$
MF233033	52	F : GAGGAGGAGGGGAGAAGAGT R : AAATACCATTCAGAGAAAGCAC	200	$(TC)_{11}$
MF233056	52	F : CCGAATAGAAGAGGAAAGAATA R : AGGTTTGGTGGAGAAGTGTT	232	$(CT)_{15}$
MF2331019	54	F : TGGGTAAATTGGTAATTCTCCT R : CCTTTTTCTTCCTCTTTTCCA	195	$(TC)_8$

3. วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรผสมเปิดของปาล์มน้ำมันในบางจังหวัดของภาคใต้ของประเทศไทย โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเครื่องหมายเอสเอสอาร์

บทที่ 2
วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการวิจัย

1. วัสดุและอุปกรณ์

1.1 ตัวอย่างพืช ใบอ่อนจากต้นกล้าปาล์มน้ำมันในระยะอนุบาลหลัก ตัดชิ้นส่วนใบขนาด 2 x 2 ซม.

1.2 สารเคมี

1.2.1 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ ได้แก่

-ไนโตรเจนเหลว

- Extraction buffer (CTAB buffer)

- β-mercaptoethanol

- NaCl

- EDTA

- Tris HCl, pH 8.0

- Chloroform

- Isopropanol

- 70 % Ethanol

- TE buffer

1.2.2 สารเคมีที่ใช้ในการทำ polymerase chain reaction (PCR) ได้แก่

- dNTP

- *Taq* buffer

- *Taq* polymerase

- Forward primer

- Reverse primer

- DNA template

1.2.3 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอ โดยใช้เครื่อง Microchip Electrophoresis System for DNA/RNA Analysis MCE-202 MultiNA

- DNA 500 buffer
- SYBR gold nucleic acid gel stain
- Marker solution
- Ladder 25 bp

1.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำวิจัย

1.3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างและวัดลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นกล้าปาล์มน้ำมัน

- กรรไกร
- มีดคัตเตอร์
- ถุงพลาสติก
- ภาชนะสำหรับใส่ตัวอย่าง
- สมุด
- ดินสอ
- ป้าย
- ปากกาเคมี
- สายวัด
- เวอร์เนีย

1.3.2 อุปกรณ์อื่น ๆ ได้แก่

- โกร่งบดตัวอย่าง
- ตู้ laminar flow
- เครื่อง Thermo cycler
- หลอด Microcentrifuge
- บีกเกอร์
- ไมโครปิเปต
- เครื่องปั่นเหวี่ยง
- เครื่อง Microchip Electrophoresis System for DNA/RNA Analysis MCE-202 MultiNA

2. วิธีการ

การเก็บรวบรวมตัวอย่างและการเตรียมต้นกล้า

การเก็บรวบรวมทำโดยเก็บผลปาล์มน้ำมันผสมเปิดจากทะลายของต้นปาล์มน้ำมันชนิดเทเนอราจากจังหวัดพังงา กระบี่ สุราษฎร์ธานี ตรัง และชุมพร โดยสุ่มเก็บจากลานเทและแปลงเกษตรกรแปลงละ 1 ทะลาย และเก็บมาจำนวน 15 ผล ในช่วงเดือนมกราคม – กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2558 และใช้ปาล์มน้ำมันลูกผสมพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. 1 เบอร์ 14 ของคณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ เพื่อเป็นพันธุ์เปรียบเทียบในการศึกษา นำผลปาล์มน้ำมันที่เก็บได้ไปทำการแยกส่วนของเนื้อปาล์ม (mesocarp) ออกโดยใช้เครื่องปั่นแยก นำเมล็ดปาล์มน้ำมันที่ได้ไปเข้าสู่กระบวนการทำลายการพักตัวของเมล็ดในห้องควบคุมอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 2 – 3 เดือน ระหว่างการทำลายการพักตัวของเมล็ดทำการรักษาระดับความชื้นโดยการฉีดพ่นน้ำทุก ๆ 1 – 2 สัปดาห์ หลังจากเมล็ดงอกไปเพาะลงในถาดเพาะ นำไปอนุบาลในระยะอนุบาลแรกภายใต้โรงเรือนพลางแสงเป็นเวลา 3 เดือน หลังจากนั้นจึงปลูกลงถุงดำในระยะอนุบาลหลักในที่สภาพกลางแจ้ง

การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) ประกอบด้วย 6 ทรีตเมนต์ คือ ตัวอย่างปาล์มน้ำมันจากพังงา กระบี่ สุราษฎร์ธานี ตรัง ชุมพร และปาล์มลูกผสมพันธุ์ทรัพย์ ม.อ.1 แต่ละทรีตเมนต์ประกอบด้วย 20 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้กล้าปาล์มน้ำมัน 1 ต้น โดยทำการติดป้ายตัวอย่างคือ กลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดพังงา เป็น P1-P20 กลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดกระบี่เป็น K1-K20 กลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดสุราษฎร์ธานีเป็น S1-S20 กลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดตรังเป็น T1-T20 กลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดชุมพรเป็น C1-C20 และกลุ่มประชากรลูกผสมพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. 1 เป็น NR1-NR20

การเก็บข้อมูลความหลากหลายทางสัณฐานวิทยา

เก็บข้อมูลสัณฐานวิทยาของกล้าปาล์มน้ำมันในเดือนที่ 4-6 หลังย้ายปลูกลงถุงดำ ประกอบด้วยข้อมูลเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น ความสูงลำต้น ความกว้างใบ ความยาวใบ ความกว้างใบย่อย ความยาวใบย่อย และจำนวนใบขนนก

การวิเคราะห์ข้อมูลความหลากหลายทางสัณฐานวิทยา

การวิเคราะห์ความแปรปรวน

การวิเคราะห์ความแปรปรวนของแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ มีแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ (วัชรินทร์, 2549) คือ

Y_{ij} = $\mu + T_i + \varepsilon_{ij}$

Y_{ij} = ค่าสังเกตแต่ละค่าที่ได้จากทรีตเมนต์ i ซ้ำ j

i = 1,...,t (t = จำนวนทรีตเมนต์)

j = 1,...,r (r = จำนวนซ้ำ)

μ = ค่าเฉลี่ยทั้งหมดในการทดลอง

T_i = อิทธิพลของทรีตเมนต์ i

ε_{ij} = ความคลาดเคลื่อนของการทดลอง

ตารางที่ 3 วิเคราะห์ความแปรปรวนในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์

Source of variations	Degrees of freedom (df)	Sum of squares (SS)	Mean square (MS)	F-value
Treatments	t - 1	$\sum T_i^2/n$ - CF = SSTr	SSTr/t-1 = MSTr	MSTr/MSE
Error	t(r - 1)	TSS - SSTr = SSE	SSE/t(r-1) = MSE	
Total	tr - 1	$\sum X_{ij}^2$ - CF = TSS		

ที่มา: ดัดแปลงมาจาก ไพศาล (2547)

หมายเหตุ

t = จำนวนทรีตเมนต์

r = จำนวนซ้ำ

CF = correction factor

TSS = total sum of square

SStr = treatment sum of square

SSE = error sum of square

MSTr = treatment mean square

MSE = error mean square

ในการวิเคราะห์ความแปรปรวนของลักษณะทางสัณฐานวิทยาของปาล์มน้ำมันจากประชากรผสมเปิดและลูกผสมโดยใช้โปรแกรมอาร์เวอร์ชัน R x64 2.14.0

การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย

การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test หรือ DMRT ซึ่งเป็นวิธีการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบกลุ่มที่สามารถใช้เปรียบเทียบทุกคู่ที่ต้องการ (ไพศาล, 2547) การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้โปรแกรมอาร์เวอร์ชัน R x64 2.14.0

การวิเคราะห์สหสัมพันธ์ของลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ในการวิเคราะห์สหสัมพันธ์ใช้วิธีการวิเคราะห์สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบเพียร์สัน (Pearson product-moment correlation coefficient) แทนด้วยสัญลักษณ์ r_{xy} ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบเพียร์สัน คำนวณจากสมการ (ไพศาล, 2547)

$$r_{xy} = \frac{\Sigma(x_i-\bar{x})(y_i-\bar{y})}{\sqrt{(\Sigma x_i-\bar{x})^2(\Sigma y_i-\bar{y})^2}}$$

r_{xy} = ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างลักษณะ X และ Y

X_i = ค่าสังเกตที่ i ของตัวแปร X (i = 1, 2 ,...,n)

$\bar{X}$ = ค่าเฉลี่ยของลักษณะ X

Y_i = ค่าสังเกตที่ i ของตัวแปร Y (i = 1, 2 ,...,n)

$\bar{Y}$ = ค่าเฉลี่ยของลักษณะ

การคำนวนค่าสหสัมพันธ์ของลักษณะทางสัณฐานวิทยาของปาล์มน้ำมันโดยใช้โปรแกรมอาร์เวอร์ชัน R x64 3.3.1

การวิเคราะห์กลุ่มแบบ Hierarchical clustering

การวิเคราะห์กลุ่มแบบ Hierarchical clustering เป็นการแบ่งกลุ่มแบบเป็นขั้นตอน เมื่อนำตัวอย่างใดตัวอย่างหนึ่งไว้ในกลุ่มใดแล้ว จะไม่มีการย้ายตัวอย่างนั้นไปในกลุ่มอื่นอีก การวิเคราะห์โดยการสร้างเมทริกซ์ ขนาด 120 x 120 (จากตัวอย่างที่มีทั้งหมด 120 ตัวอย่าง) ดังแสดง

$$
D_{ij} = \begin{array}{c} \\ P1 \\ P2 \\ P3 \\ \vdots \\ NR20 \end{array}
\begin{array}{c} \begin{array}{ccccc} P1 & P2 & P3 & \ldots & NR20 \end{array} \\ \left[\begin{array}{ccccc} & & & & \\ & & & & \\ & & & & \\ & & & & \\ & & & & \end{array} \right] \end{array}
$$

จากนั้นทำการคำนวนระยะห่างยุคลิด (Euclidean distance) ของแต่ละตัวอย่างจากสมการ (Grabusts, 2011)

$$D = \sqrt{(p_1 - q_1)^2 + (p_2 - q_2)^2 + \cdots + (p_n - q_n)^2}$$

$$= \sqrt{\sum_{i=1}^{n}(p_i - q_i)^2}$$

D = ระยะห่างยุคลิด

p_i = ตัวแปรลักษณะทางสัณฐานวิทยาของตัวอย่าง p
โดยที่ $p = (p_1, p_2, \ldots, p_n)$

q_i = ตัวแปรลักษณะทางสัณฐานวิทยาตัวอย่าง q
โดยที่ $q = (q_1, q_2, \ldots, q_n)$

เมื่อได้ระยะห่างของแต่ละตัวอย่างแล้วจึงทำการสร้างเดนโดรแกรม (dendrogram) ของการจัดกลุ่ม โดยเริ่มจากตัวอย่างที่มีระยะห่างน้อยไปหาระยะห่างมาก การคำนวนระยะห่างยุคลิดและการสร้างเดนโดรแกรมโดยใช้โปรแกรมอาร์เวอร์ชัน R x64 3.3.1

การวิเคราะห์กลุ่มด้วยเทคนิคการวิเคราะห์ตัวประกอบหลัก

การวิเคราะห์ตัวประกอบหลักเป็นการวิเคราะห์ข้อมูลโดยการลดมิติของข้อมูล ทำให้เหลือจำนวนมิติที่อธิบายโดยแกนตัวประกอบหลัก (component axis) โดยตัวประกอบหลักที่ 1 (PC_1) จะมีความแปรปรวนโดยส่วนใหญ่และแกนตัวประกอบหลักที่ 2, 3,... จะมีความแปรปรวนรองลงมาตามลำดับ (พีระศักดิ์, 2548) ให้ PC_i แทนตัวประกอบหลักที่ i: i = 1, 2,..., p การสร้าง PC_i จะมีขั้นตอนดังนี้ (กัลยา, 2552)

$$
\begin{aligned}
PC_1 &= w'_1x = w_{11}X_1 + w_{12}X_2 + \ldots + w_{1p}X_p \\
PC_2 &= w'_2x = w_{21}X_1 + w_{22}X_2 + \ldots + w_{2p}X_p \\
&\vdots \\
PC_p &= w'_px = w_{p1}X_1 + w_{p2}X_2 + \ldots + w_{pp}X_p
\end{aligned}
$$

เมื่อ x' = แวกเตอร์ตัวแปรสุ่ม โดยที่ $x' = (X_1, X_2,..., X_p)$

w' = เวกเตอร์ไอเก็น โดยที่ $w' = (w_1, w_2,..., w_p)$

λ = ค่าไอเก็น (eigenvalue) โดยที่ $\lambda_1 \geq \lambda_2 \geq \ldots \lambda_p \geq 0$

ในการวิเคราะห์ค่าไอเก็นและค่าเวกเตอร์ไอเก็นโดยใช้โปรแกรมอาร์เวอร์ชัน R x64 2.14.0 และการทำภาพ biplot ระหว่างตัวประกอบหลักที่ 1 (PC1) และตัวประกอบหลักที่ 2 (PC2) โดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel เวอร์ชัน 2010

การเก็บข้อมูลความหลากหลายทางพันธุกรรม

1. เก็บใบอ่อนจากต้นกล้าในระยะอนุบาลหลัก ตัวอย่างละประมาณ 2 กรัม ไปสกัดดีเอ็นเอในห้องปฏิบัติการ มีขั้นตอนดังนี้

1.1) นำตัวอย่างใบปาล์มน้ำมันมาล้างทำความสะอาด

1.2) บดตัวอย่างใบในโกร่ง ด้วยสารละลาย extraction buffer ชนิด CTAB (cetyl trimethylammonium bromide) buffer 700 µl ที่เติม β-mercaptoethanol ปริมาณ 2%

1.3) นำสารละลายที่ได้ใส่ใน microcentifuge tube และบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 1 ชั่วโมง ในระหว่างนี้ควรเขย่าอย่างสม่ำเสมอ

1.4) เติมสารละลาย chloroform 800 µl แล้วผสมให้เข้ากัน โดยการพลิกหลอดไปมาติดต่อกันเป็นเวลา 5 นาที

1.5) นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 13,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที

1.6) ดูดสารละลายส่วนใส ใส่ในหลอดใหม่

1.7) เติม isopropanol ที่แช่เย็น ปริมาณประมาณ 2 เท่าของสารละลายที่มีอยู่ และกลับหลอดไปมาเบา ๆ แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที แล้วเทสารละลายทิ้ง ให้เหลือแต่ตะกอนดีเอ็นเอ

1.8) ล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วยเอทานอล 70% ที่แช่เย็นปริมาณ 700 µl จำนวน 2 ครั้ง กลับหลอดไปมาเบา ๆ เท สารละลายทิ้งให้เหลือแต่ตะกอนดีเอ็นเอ ปล่อยให้แห้ง

1.9) ละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วยสารละลาย TE buffer (ปริมาตรขึ้นกับปริมาณดีเอ็นเอที่ได้) ตรวจสอบปริมาณและคุณภาพของดีเอ็นเอโดยใช้เครื่อง spectrophotometer และปรับความเข้มข้นของดีเอ็นเอเป็น 50 ng/µl

2. เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค polymerase chain reaction (PCR) โดยใช้เอสเอสอาร์ไพร์เมอร์ที่รายงานโดย Abdullah และคณะ (2011) จำนวน 7 ไพรเมอร์ (ตารางที่ 4) โดยใช้สารละลาย master mix สำหรับทำ PCR ที่ประกอบด้วย 10x *taq* buffer, 10mM forward primer, 10mM reverse primer, *Taq* DNA polymerase, 2mM dNTPs, 25mM $MgCl_2$, และ ดีเอ็นเอของตัวอย่าง เมื่อผสมสารเข้ากันดีแล้วจึงนำไปใส่ในเครื่อง thermo cycler และตั้งค่าอุณหภูมิดังนี้ (Billotte *et al*., 2001)

95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที (initial denaturation)
95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที (denaturation)
52-54 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที (annealing) } 35 รอบ
72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที (extension)
72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที (final extension)

4. ดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณแล้วนำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอิเล็กโทโฟรีซีสโดยใช้เครื่อง Microchip Electrophoresis System for DNA/RNA Analysis MCE-202 MultiNA

ตารางที่ 4 เครื่องหมายเอสเอสอาร์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมัน

No.	Primers	TA (ºC)	Sequence (F : forward, R : reverse)	Allele size (bp)	Repeat unit
1	CNH00887	52	F: TTATTGATTGATGCAAGATACAC	165	$(AT)_9$
			R: TTGATAAAATACAAGAGATAGCA		
2	CNH01617	52	F: TCTTTAATTTGTCGAGGATAATG	130	$(CT)_{20}$
			R: ATGCAAGGTTTTGTTGAAACT		
3	CNI01937	52	F: AACTGCAAATGAGACACAGAG	170	$(AG)_9$
			R: TCCACCAGAGGAGGGTTAGT		
4	EAP 03160	52	F: AACGTGAGAGCCATAGAGATAG	175	$(TATG)_6$
			R: TAATAGAAACTAGACCCGACCA		
5	MF233033	52	F: GAGGAGGAGGGGAGAAGAGT	200	$(TC)_{11}$
			R: AAATACCATTCAGAGAAAGCAC		
6	MF233056	52	F: CCGAATAGAAGAGGAAAGAATA	232	$(CT)_{15}$
			R: AGGTTTGGTGGAGAAGTGTT		
7	MF2331019	54	F: TGGGTAAATTGGTAATTCTCCT	195	$(TC)_8$
			R: CCTTTTTCTTCCTCTTTTCCA		

ที่มา : ดัดแปลงมาจาก Abdullah *et al.* (2011)

การวิเคราะห์ข้อมูลความหลากหลายทางพันธุกรรม

การวิเคราะห์ค่า polymorphic information content (PIC)

ค่า polymorphic information content ของแต่ละไพรเมอร์คำนวนได้จากสมการ (Anderson *et al.,* 1993)

$$PIC = 1 - \sum_{i=0}^{n} f_i^2 - \sum_{i-1}^{n-1} 2f_i^2 f_j^2$$

n = จำนวนของอัลลีล

f_i = ความถี่ของอัลลีล i

f_j = ความถี่ของอัลลีล j

การคำนวนค่า polymorphic information content ของแต่ละไพรเมอร์โดยใช้โปรแกรมอาร์เวอร์ชัน R x64 3. 3. 1

การวิเคราะห์ระยะห่างทางพันธุกรรม

การวิเคราะห์ระยะห่างทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันแต่ละตัวอย่างโดยใช้ข้อมูลของแถบดีเอ็นเอที่ได้นำมาคำนวนโดยใช้สมการระยะห่างของเจคคาร์ด (Jaccard's distance) ซึ่งคำนวนได้จากสมการดังนี้ (Jaccard, 1908)

$$d_j(x, y) = 1 - \frac{\sum_i min(x_i, y_i)}{\sum_i max(x_i, y_i)}$$

$x = (x_1, x_2, ..., x_n)$

$y = (y_1, y_2, ..., y_n)$

$x_i, y_i \geq 0$

การคำนวนค่าระยะห่างทางพันทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันแต่ละตัวอย่างโดยใช้โปรแกรมอาร์เวอร์ชัน R x64 3. 3. 1

การวิเคราะห์กลุ่มจากข้อมูลพันธุกรรม

การวิเคราะห์กลุ่มของตัวอย่างจากประชากรผสมเปิดและประชากรลูกผสมโดยใช้ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมและใช้การวิเคราะห์กลุ่มแบบ UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic mean) โดยใช้โปรแกรมอาร์เวอร์ชัน R x64 3. 3. 1

บทที่ 3

ผลและวิจารณ์

1. ความหลากหลายทางสัณฐานวิทยาของปาล์มน้ำมัน

1.1 การเจริญเติบโตของกล้าปาล์มน้ำมัน

การวิเคราะห์ความแปรปรวนของกล้าปาล์มน้ำมันกลุ่มประชากรผสมเปิดและกลุ่มประชากรลูกผสมแสดงในตารางที่ 5 และข้อมูลค่าเฉลี่ยของลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้าปาล์มน้ำมันแต่ละกลุ่มของการเก็บข้อมูลทั้ง 3 เดือนแสดงในตารางที่ 6 ในเดือนแรกของการเก็บข้อมูล ค่าเฉลี่ยของลักษณะความสูงลำต้น เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น และความกว้างใบไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ในขณะที่กลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดพังงามีค่าเฉลี่ยของลักษณะความยาวใบสูงที่สุด และกลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดตรังมีค่าเฉลี่ยของจำนวนใบขนนกสูงที่สุด ในเดือนที่ 2 ของการเก็บข้อมูล ค่าเฉลี่ยของลักษณะเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น ความกว้างใบและจำนวนใบขนนกไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่ม ในขณะที่กลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดกระบี่มีค่าเฉลี่ยของลักษณะความสูงลำต้นและความกว้างใบสูงที่สุด ในเดือนที่ 3 ของการเก็บข้อมูลพบว่ากลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดกระบี่มีค่าเฉลี่ยของลักษณะความสูงลำต้น เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น และความยาวใบสูงที่สุด กลุ่มประชากรลูกผสมทรัพย์ ม.อ. 1 มีค่าเฉลี่ยของลักษณะความกว้างใบ ความกว้างใบย่อยและจำนวนใบขนนกสูงที่สุด ส่วนกลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดพังงามีค่าเฉลี่ยของลักษณะความยาวใบย่อยสูงที่สุด

ค่าความแปรปรวนของลักษณะต่าง ๆ แสดงในตารางที่ 7 ปาล์มน้ำมันจากประชากรผสมเปิดจากทั้ง 5 กลุ่มจังหวัดมีค่าความแปรปรวนของทุก ๆ ลักษณะสูงกว่าค่าความแปรปรวนของปาล์มน้ำมันกลุ่มประชากรลูกผสมในทั้ง 3 เดือนของการเก็บข้อมูล ยกเว้นค่าความแปรปรวนของลักษณะเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นในเดือนแรกของการเก็บข้อมูลและความกว้างใบย่อยในเดือนที่ 3 ของการเก็บข้อมูลที่กลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดชุมพรมีค่าน้อยที่สุด ในเดือนแรกของการเก็บข้อมูล กลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดกระบี่มีค่าความแปรปรวนของลักษณะความสูงลำต้น เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น ความยาวใบและจำนวนใบขนนกสูงที่สุด ส่วนกลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดตรังมีค่าความแปรปรวนของลักษณะความกว้างใบสูงที่สุด ในเดือนที่ 2 ของการเก็บข้อมูล กลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดพังงามีค่าความแปรปรวนของลักษณะความสูง

ลำต้นสูงที่สุด กลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดกระบี่มีค่าความแปรปรวนของลักษณะความยาวใบและจำนวนใบขนนกสูงที่สุด กลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดสุราษฎร์ธานีมีค่าความแปรปรวนของลักษณะเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นสูงที่สุด ส่วนกลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดชุมพรมีค่าความแปรปรวนของลักษณะความกว้างใบสูงที่สุด ในเดือนที่ 3 ของการเก็บข้อมูล กลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดพังงาให้ค่าความแปรปรวนของลักษณะความกว้างใบย่อยสูงที่สุด กลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดกระบี่ให้ค่าความแปรปรวนของลักษณะเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นและจำนวนใบขนนกสูงที่สุด กลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดสุราษฎร์ธานีให้ค่าความแปรปรวนของลักษณะความสูงลำต้นและความยาวใบย่อยสูงที่สุด ส่วนกลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดตรังให้ค่าความแปรปรวนของลักษณะความกว้างใบสูงที่สุด

จากข้อมูลการเจริญเติบโตพบว่า กล้าปาล์มน้ำมันประชากรผสมเปิดจากแต่ละกลุ่มจังหวัดมีการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน เมื่อพิจารณาร่วมกับค่าความแปรปรวนพบว่า กล้าปาล์มน้ำมันจากประชากรผสมเปิดแต่ละกลุ่มจังหวัดมีความแปรปรวนของลักษณะมากกว่าค่าความแปรปรวนของกล้าปาล์มน้ำมันลูกผสม แสดงให้เห็นว่ากล้าปาล์มน้ำมันจากแต่ละกลุ่มจังหวัดซึ่งเป็นพันธุ์ผสมเปิด มีความหลากหลายของลักษณะที่แสดงออก (phenotype) มากกว่าพันธุ์ลูกผสมทรัพย์ ม.อ. 1

ตารางที่ 5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปาล์มน้ำมันกลุ่มประชากรผสมเปิดและกลุ่มลูกผสม

Traits	Mean square		C.V.
	Groups	Error	
Plant height 1st month	1.065^{ns}	1.174	11.56
Plant height 2nd month	6.512**	1.028	9.78
Plant height 3th month	4.182**	1.138	8.84
Plant diameter 1st month	0.245^{ns}	0.122	12.78
Plant diameter 2nd month	0.212^{ns}	0.109	10.55
Plant diameter 3th month	0.713**	0.122	10.32
Leaf width 1st month	3.653^{ns}	1.902	11.88
Leaf width 2nd month	4.128^{ns}	2.008	11.39
Leaf width 3th month	10.805**	1.935	10.60
Leaf length 1st month	30.360*	11.770	11.17
Leaf length 2nd month	62.810**	11.650	10.15
Leaf length 3th month	57.550**	14.47	10.29
Leaflet width 3th month	0.190**	0.038	14.26
Leaflet length 3th month	12.093*	4.848	10.90
Number of Pinnate leaves 1st month	3.233*	1.114	24.43
Number of Pinnate leaves 2nd month	1.315^{ns}	0.907	37.70
Number of Pinnate leaves 3th month	4.055**	0.579	18.67

^{ns} not significant, * significant at $P \leq 0.05$, ** significant at $P \leq 0.01$

ตารางที่ 6 ค่าเฉลี่ยข้อมูลการเจริญเติบโตของปาล์มน้ำมันกลุ่มประชากรผสมเปิดและกลุ่มลูกผสม

Groups\month	Plant height (cm)			Plant diameter (cm)			Leaf width (cm)			Leaf length (cm)			Leaflet width (cm)	Leaflet length (cm)	Number of Pinnate leaves (number)		
	1st	2nd	3th	1st	2nd	3th	1st	2nd	3th	1st	2nd	3th	3th	3th	1st	2nd	3th
Phang-nga	9.53	10.68ab	11.82b	2.71	3.06	3.30bc	11.50	12.47	12.82b	31.25a	33.85b	36.20abc	1.33b	21.55a	0.50c	2.75	3.85b
Krabi	9.73	11.28a	12.95a	2.93	3.25	3.61a	11.30	13.10	13.55ab	32.48a	37.85a	39.25a	1.43ab	20.55ab	1.00abc	2.80	4.10b
SuratThani	9.38	9.97b	11.80b	2.75	3.09	3.35abc	11.48	12.33	12.92b	30.98ab	32.72b	35.70bc	1.35b	20.25ab	1.20abc	2.40	4.00b
Trang	9.20	9.90b	12.10b	2.74	3.08	3.25c	11.15	12.08	12.68b	30.20ab	32.95b	36.05abc	1.33b	19.70b	1.60a	2.50	4.05b
Chumphon	9.08	9.83b	11.70b	2.64	3.00	3.16c	11.30	11.88	12.38b	30.60ab	33.05b	35.55c	1.27b	20.25ab	0.80bc	2.10	3.55b
Sup-PSU 1	9.35	10.58ab	12.05ab	2.62	3.24	3.60ab	11.93	12.80	14.4a	28.75b	32.10b	39.00ab	1.55a	19.30b	1.40ab	2.60	4.90a
F-test	Ns	**	**	ns	ns	**	ns	ns	**	*	**	**	**	*	*	ns	**

^{ns} not significant, * significant at $P \leq 0.05$, ** significant at $P \leq 0.01$

ตารางที่ 7 ความแปรปรวนของลักษณะต่าง ๆ ภายในประชากรของปาล์มน้ำมันผสมเปิดและปาล์มน้ำมันลูกผสม

Groups	Plant height			Plant diameter			Leaf width			Leaf length			Leaflet width	Leaflet length	Number of pinnate leaves		
	1st	2nd	3th	1st	2nd	3th	1st	2nd	3th	1st	2nd	3th	3th	3th	1st	2nd	3th
Phang-nga	1.35	1.38	1.19	0.10	0.11	0.11	0.57	1.54	1.73	7.62	6.58	11.08	0.06	4.79	0.68	1.14	0.56
Krabi	2.28	1.33	1.52	0.22	0.12	0.19	1.64	1.30	1.29	21.55	19.16	18.26	0.03	6.16	1.58	1.22	0.83
Surat Thani	1.58	1.33	1.64	0.12	0.15	0.13	2.03	2.83	2.07	17.33	13.25	12.35	0.04	7.67	1.01	0.67	0.63
Trang	0.80	0.86	0.83	0.16	0.12	0.14	3.18	2.68	2.33	15.48	11.23	14.59	0.05	4.22	1.52	0.79	0.58
Chumphon	0.61	0.69	1.17	0.06	0.10	0.10	2.54	2.86	2.24	9.32	14.29	21.21	0.02	4.26	1.22	1.15	0.58
Sup-PSU 1	0.42	0.59	0.47	0.06	0.05	0.06	1.10	0.86	1.29	4.50	5.87	9.24	0.04	2.12	0.67	0.46	0.31

1.2 สหสัมพันธ์ของลักษณะทางสัณฐานวิทยา

จากตารางที่ 8 แสดงค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นกล้าปาล์มน้ำมันในของเดือนที่ 3 ของการเก็บข้อมูล ค่าสหสัมพันธ์มีค่าอยู่ระหว่าง 0.3101- 0.6782 โดยทุกลักษณะแสดงสหสัมพันธ์ทางบวกต่อกัน ค่าสหสัมพันธ์สูงสุดได้จากลักษณะความสูงลำต้นกับความยาวใบ และค่าน้อยที่สุดได้จากลักษณะความกว้างใบกับความยาวใบย่อย จากค่าสหสัมพันธ์สามารถใช้ประโยชน์ในด้านการคัดเลือกลักษณะในต้นกล้าปาล์มน้ำมันทีละหลายลักษณะ เช่น ต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่มีความกว้างใบมาก จะมีพื้นที่ใบที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงมาก ส่งผลให้การคัดต้นกล้าที่มีความกว้างใบมากจะได้กล้าที่มีความสูงลำต้นเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น ความยาวใบ ความกว้างใบย่อย และความยาวใบย่อยมากเช่นกัน เนื่องจากลักษณะความกว้างใบแสดงสหสัมพันธ์ทางบวกกับลักษณะอื่น ๆ ดังที่ได้กล่าวมา

ตารางที่ 8 สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของแต่ละลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นกล้าปาล์มน้ำมัน

	PD	PH	LW	LL	LLW	LLL	NPL
PD	1.0000						
PH	0.5684**	1.0000					
LW	0.5504**	0.5663**	1.0000				
LL	0.5633**	0.6782**	0.6480**	1.0000			
LLW	0.5648**	0.4630**	0.6727**	0.5017**	1.0000		
LLL	0.3175**	0.3925**	0.3101**	0.4627**	0.1977*	1.0000	
NPL	0.5257**	0.3890**	0.6064**	0.5610**	0.6076**	0.3249**	1.0000

* significant correlation at $p \leq 0.05$, ** significant correlation at $p \leq 0.01$

PD: Plant diameter, PH: Plant height, LW: Leaf width, LL: Leaf length, LLW: Leaflet width, LLL: Leaflet length, NPL: Number of pinnate leaves

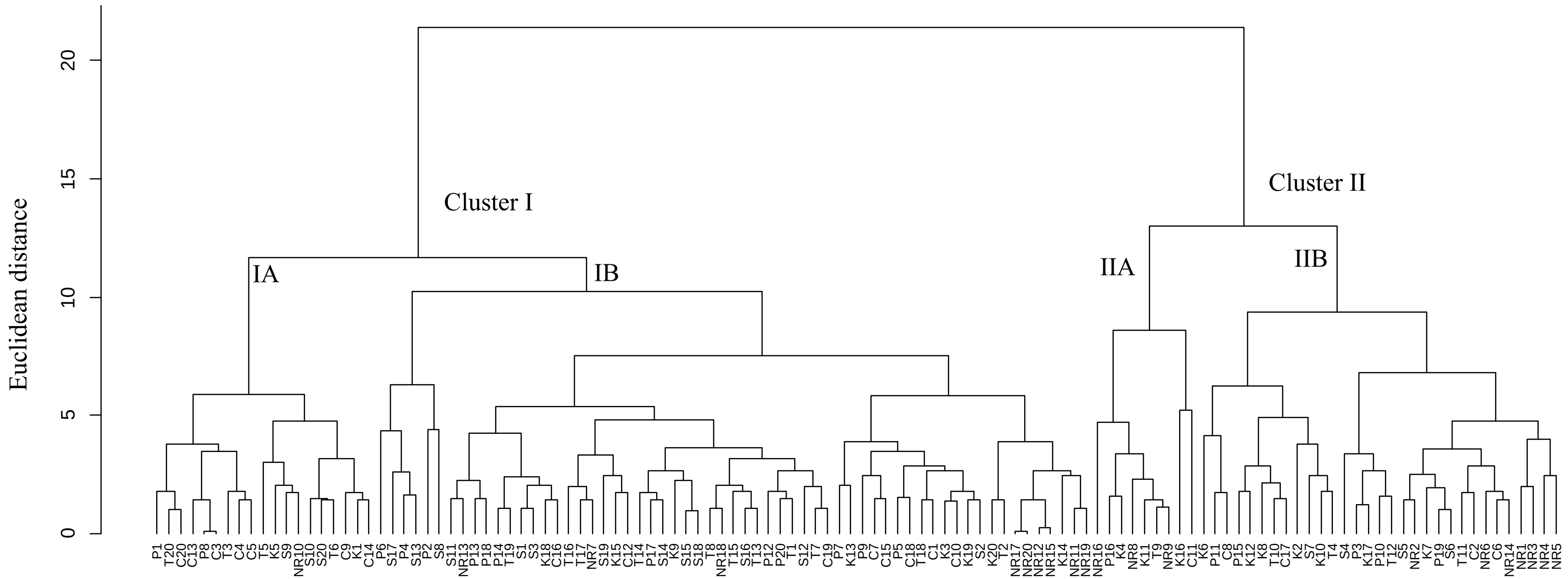
N=120

1.3 การวิเคราะห์กลุ่มจากข้อมูลการเจริญเติบโตของกล้าปาล์มน้ำมัน

การวิเคราะห์กลุ่มโดยใช้เทคนิค Hierarchical clustering (H clustering)

การวิเคราะห์กลุ่มแบบ H clustering สามารถแบ่งตัวอย่างปาล์มน้ำมันออกเป็น 2 cluster โดย cluster I แบ่งออกเป็น 2 cluster ย่อย คือ cluster IA และ cluster IB ใน cluster IA มีสมาชิก 19 ตัวอย่าง แบ่งเป็น 18 ตัวอย่างจากประชากรผสมเปิดและ 1 ตัวอย่างจากประชากรลูกผสม cluster IB มีสมาชิก 61 ตัวอย่าง แบ่งเป็น 52 ตัวอย่างจากประชากรผสมเปิดและ 9 ตัวอย่างจากประชากรลูกผสม ส่วน cluster II ประกอบด้วย 2 cluster ย่อยคือ cluster IIA และ cluster IIB ใน cluster IIA ประกอบด้วยสมาชิก 9 ตัวอย่าง แบ่งเป็น 6 ตัวอย่างจากประชาการผสมเปิดและ 3 ตัวอย่างจากประชาการลูกผสม ส่วน cluster IIB ประกอบด้วยสมาชิก 31 ตัวอย่าง แบ่งเป็น 24 ตัวอย่างจากประชากรผสมเปิดและ 7 ตัวอย่างจากประชาการลูกผสม

การวิเคราะห์กลุ่มโดยใช้เทคนิค H clustering ไม่สามารถแบ่งกลุ่มระหว่างปาล์มน้ำมันลูกผสมออกจากกลุ่มประชากรผสมเปิดได้ เนื่องจากการวิเคราะห์กลุ่มด้วยวิธีดังกล่าวให้ความสำคัญกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาทุกลักษณะเท่ากัน ซึ่งในความเป็นจริงแล้วลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่นำมาใช้ในการวิเคราะห์กลุ่มแต่ละลักษณะจะมีอิทธิพลไม่เท่ากัน ดังนั้นจึงต้องใช้วิธีการวิเคราะห์ตัวประกอบหลักมาวิเคราะห์แทนการวิเคราะห์กลุ่มแบบ H clustering เนื่องจากการวิเคราะห์ตัวประกอบหลักจะมีการลดจำนวนตัวแปรของข้อมูลและให้ความสำคัญกับลักษณะต่าง ๆ ไม่เท่ากัน ดังจะกล่าวต่อไป



ภาพที่ 1 การวิเคราะกลุ่มของปาล์มน้ำมันผสมเปิดและปาล์มน้ำมันลูกผสมโดยใช้เทคนิค hierarchical clustering

การวิเคราะห์กลุ่มโดยใช้การวิเคราะห์ตัวประกอบหลัก

การวิเคราะห์กลุ่มโดยการวิเคราะห์ตัวประกอบหลัก (Principal Component Analysis: PCA) เป็นการวิเคราะห์โดยการลดจำนวนตัวแปรของข้อมูล ในการวิเคราะห์โดยใช้ข้อมูลการเจริญเติบโตของกล้าปาล์มน้ำมันในเดือนที่ 3 ของการเก็บข้อมูล เนื่องจากเป็นเดือนที่มีการเก็บข้อมูลลักษณะต่าง ๆ มากที่สุด ซึ่งข้อมูลที่ใช้ในการวิเคราะห์ประกอบด้วย ความสูงลำต้น เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น ความกว้างใบ ความยาวใบ ความกว้างใบย่อย ความยาวใบย่อย และจำนวนใบขนนก (7 ตัวแปร) นำมาคำนวนเป็นตัวประกอบหลักที่ 1 (PC1) ถึง ตัวประกอบหลักที่ 7 (PC7) โดยค่าความแปรปรวนของตัวประกอบหลักที่ 1 มีค่ามากกว่าตัวประกอบหลักที่ 2 มีค่ามากกว่าตัวประกอบหลักที่ 3 มีค่ามากกว่าตัวประกอบหลักที่ 4 ตามลำดับ และตัวประกอบหลักที่ 7 จะมีค่าความแปรปรวนน้อยทีสุด ดังแสดงในตารางที่ 9

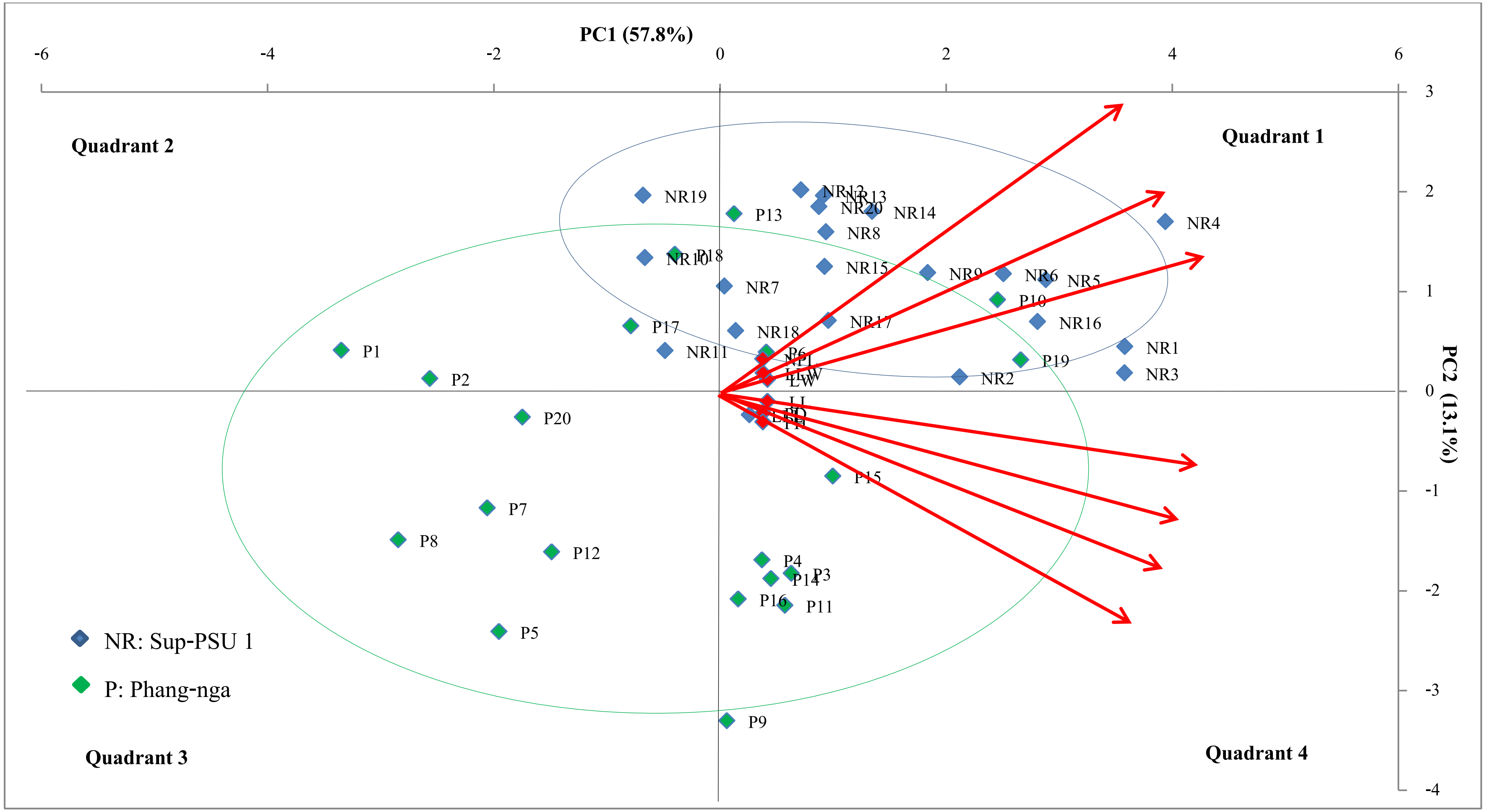
จากภาพที่ 2 แสดง biplot ระหว่างตัวประกอบหลักที่ 1 และตัวประกอบหลักที่ 2 ของปาล์มน้ำมันกลุ่มประชากรผสมเปิดจากแต่ละจังหวัดกับกลุ่มปาล์มน้ำมันลูกผสมพันธุ์ทรัพย์ ม.อ.1 โดยค่าความแปรปรวนของสองตัวประกอบหลักแรกเท่ากับ 70.89 % แบ่งเป็นตัวประกอบหลักที่ 1 จำนวน 57.83 % และตัวประกอบหลักที่ 2 จำนวน 13.07 % และจุดแต่ละจุดแทนตัวอย่างปาล์มน้ำมัน 1 ตัวอย่าง จากภาพเห็นแสดงให้เห็นว่าตัวอย่างของปาล์มน้ำมันผสมเปิดทั้ง 5 กลุ่ม มีการลงจุดใน 4 ควอดรันต์ (quadrant) ของ biplot ส่วนในปาล์มน้ำมันลูกผสมพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. 1 นั้น สมาชิกส่วนใหญ่มีการลงจุดอยู่ในควอดรันต์ที่ 1 มีเพียงบางตัวอย่างเท่านั้นที่มีการลงจุดในควอดรันต์ที่ 2

ในคัดเลือกต้นปาล์มสำหรับใช้ในการปรับปรุงพันธุ์โดยพิจารณาจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา การคัดเลือกตั้งแต่ระยะต้นกล้าเป็นการช่วยลดต้นทุนและลดระยะเวลาลงไปได้ (Barbosa *et al.*,2005) โดยต้นกล้าที่มีการเจริญเติบโตที่ดีจะเป็นที่ต้องการของเกษตรกร ในการคัดเลือกตัวอย่างปาล์มน้ำมันจากกลุ่มประชากรผสมเปิดทั้ง 5 กลุ่มเพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ควรคัดเลือกตัวอย่างที่มีการลงจุดในควอดรันต์ที่ 1 เนื่องจากปาล์มน้ำมันดังกล่าวจะมีลักษณะต่าง ๆ ใกล้เคียงกับปาล์มน้ำมันลูกผสมทรัพย์ ม.อ. 1 ซึ่งเป็นปาล์มน้ำมันที่ผ่านการคัดเลือกและเป็นปาล์มน้ำมันมันที่ขายเป็นการค้า โดยตัวอย่างที่ควรถูกคัดเลือกได้แก่ ตัวอย่าง P6 P10 P13 P19 ของกลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดพังงา ตัวอย่าง S4 S11 S17 ของกลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี ตัวอย่าง T8 T9 T10 T11 T12 ของกลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดตรัง และตัวอย่าง C2 C11 C17 ของกลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดชุมพร

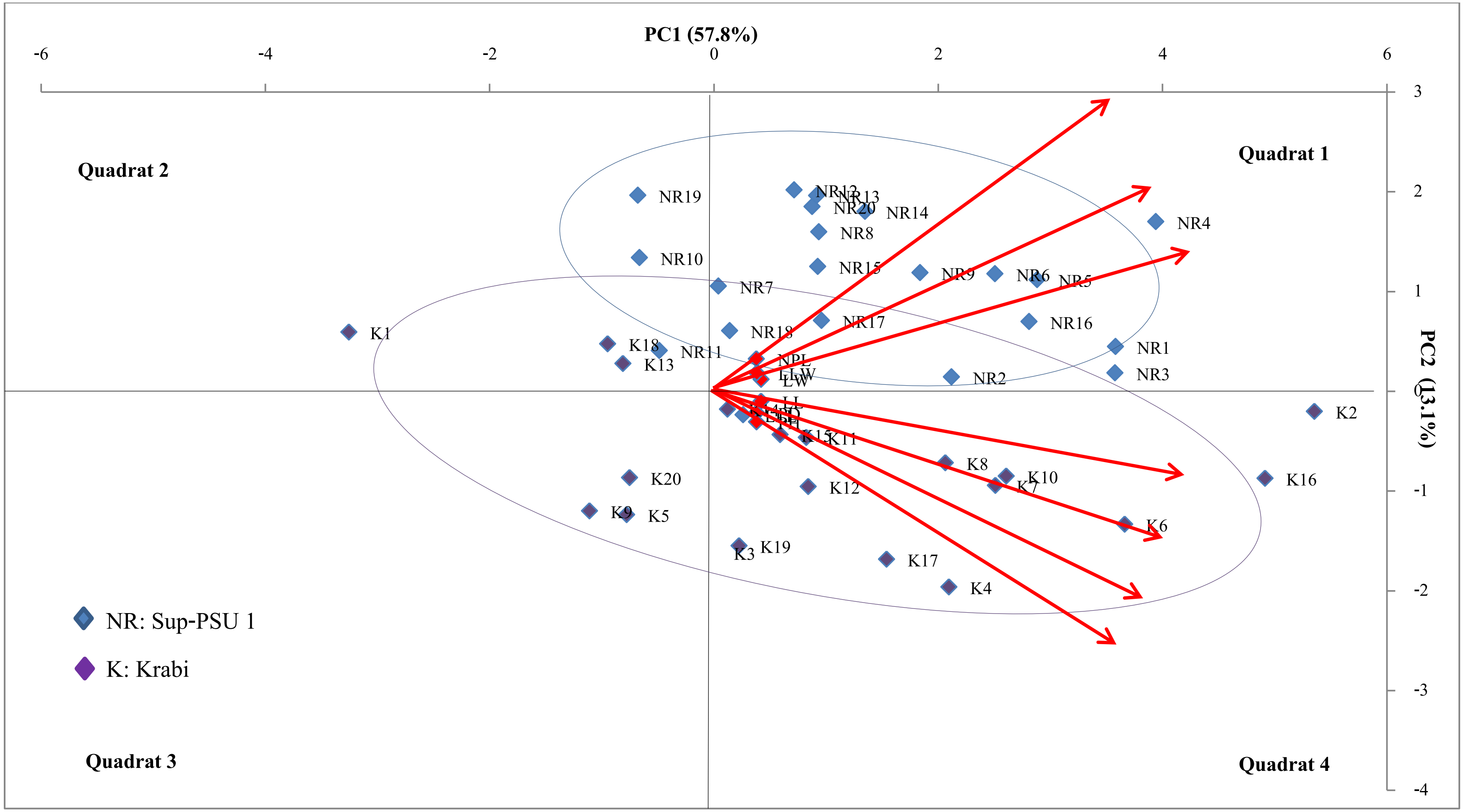
ตารางที่ 9 ค่าการวิเคราะห์ตัวประกอบหลักของลักษณะต่าง ๆ

Traits	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7
PD	0.3867	0.0829	0.2309	-0.8313	0.0774	-0.3055	-0.0014
PH	0.3821	-0.2408	0.6111	0.1383	-0.0078	0.5002	0.3910
LW	0.4157	0.2040	-0.0174	0.4167	-0.2395	-0.6284	0.3986
LL	0.4170	-0.2062	0.1589	0.3199	0.4201	-0.1694	-0.6717
LLW	0.3824	0.4477	-0.1247	-0.0033	-0.5863	0.3741	-0.3927
LLL	0.2602	-0.7704	-0.4609	-0.1155	-0.3350	0.0012	0.0245
NPL	0.3789	0.2386	-0.5652	-0.0178	0.5513	0.3044	0.2880
eigenvalue	4.0482	0.9146	0.6246	0.4703	0.3886	0.2962	0.2571
variance percent	57.8322	13.0670	8.9237	6.7187	5.5522	4.2323	3.6736
cumulative variance percent	57.8322	70.8992	79.8230	86.5417	92.0940	96.3263	100.0000

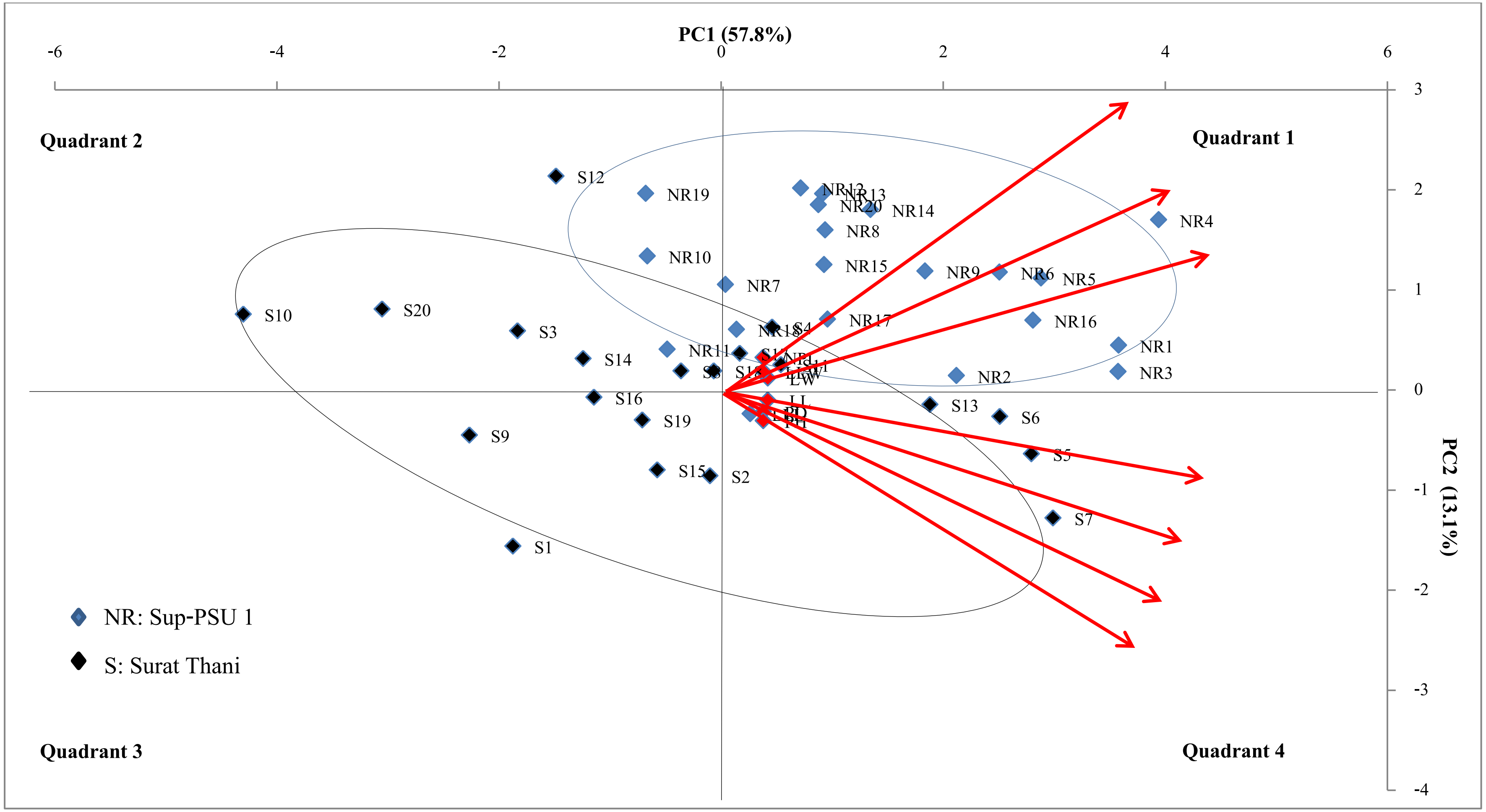
PD: Plant diameter, PH: Plant height, LW: Leaf width, LL: Leaf length, LLW: Leaflet width, LLL: Leaflet length, NPL: Number of pinnate leaves



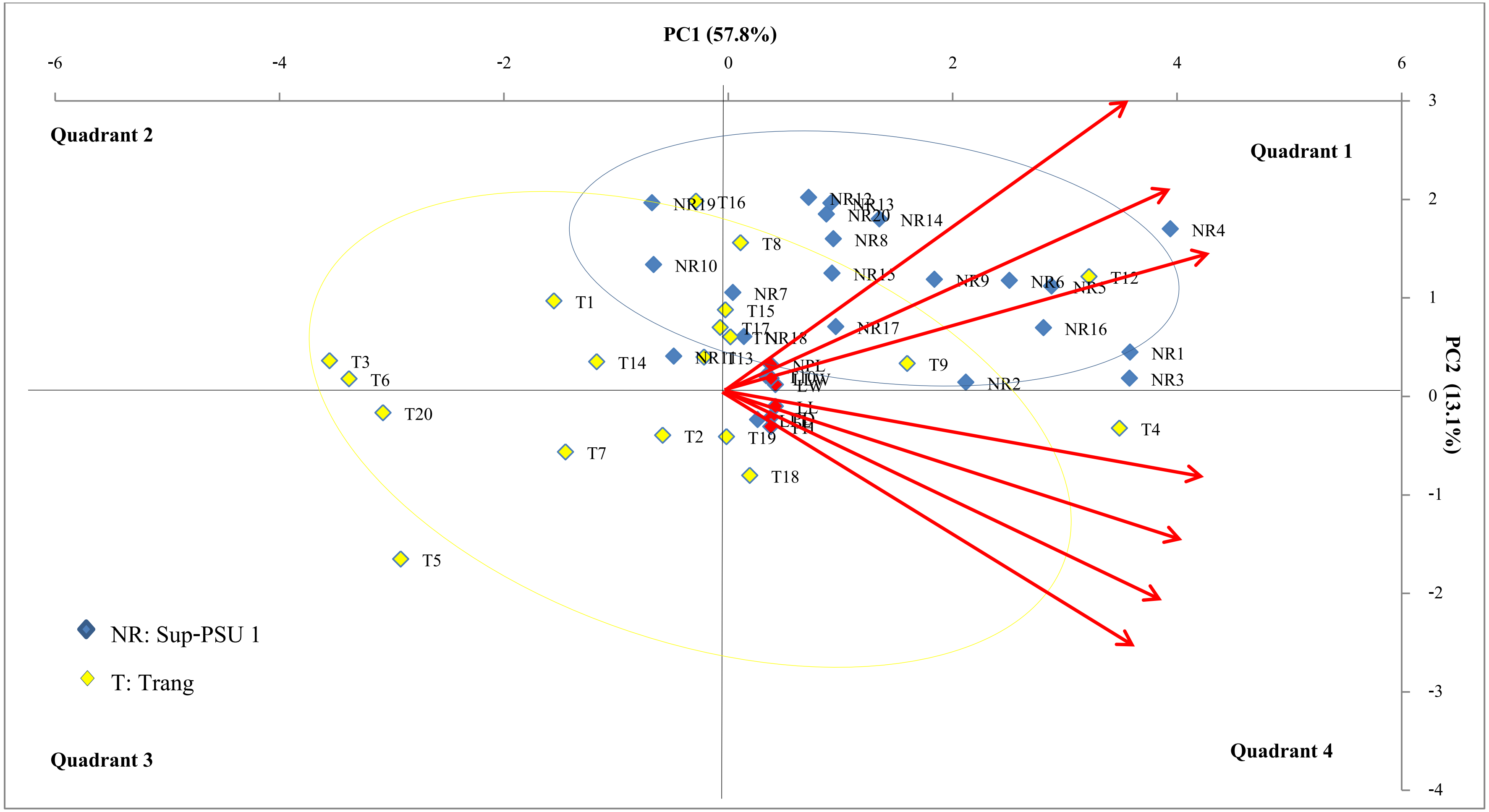
ภาพที่ 2 **Biplot ของกลุ่มปาล์มน้ำมันผสมเปิดจากจังหวัดพังงากับลูกผสมพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. 1**



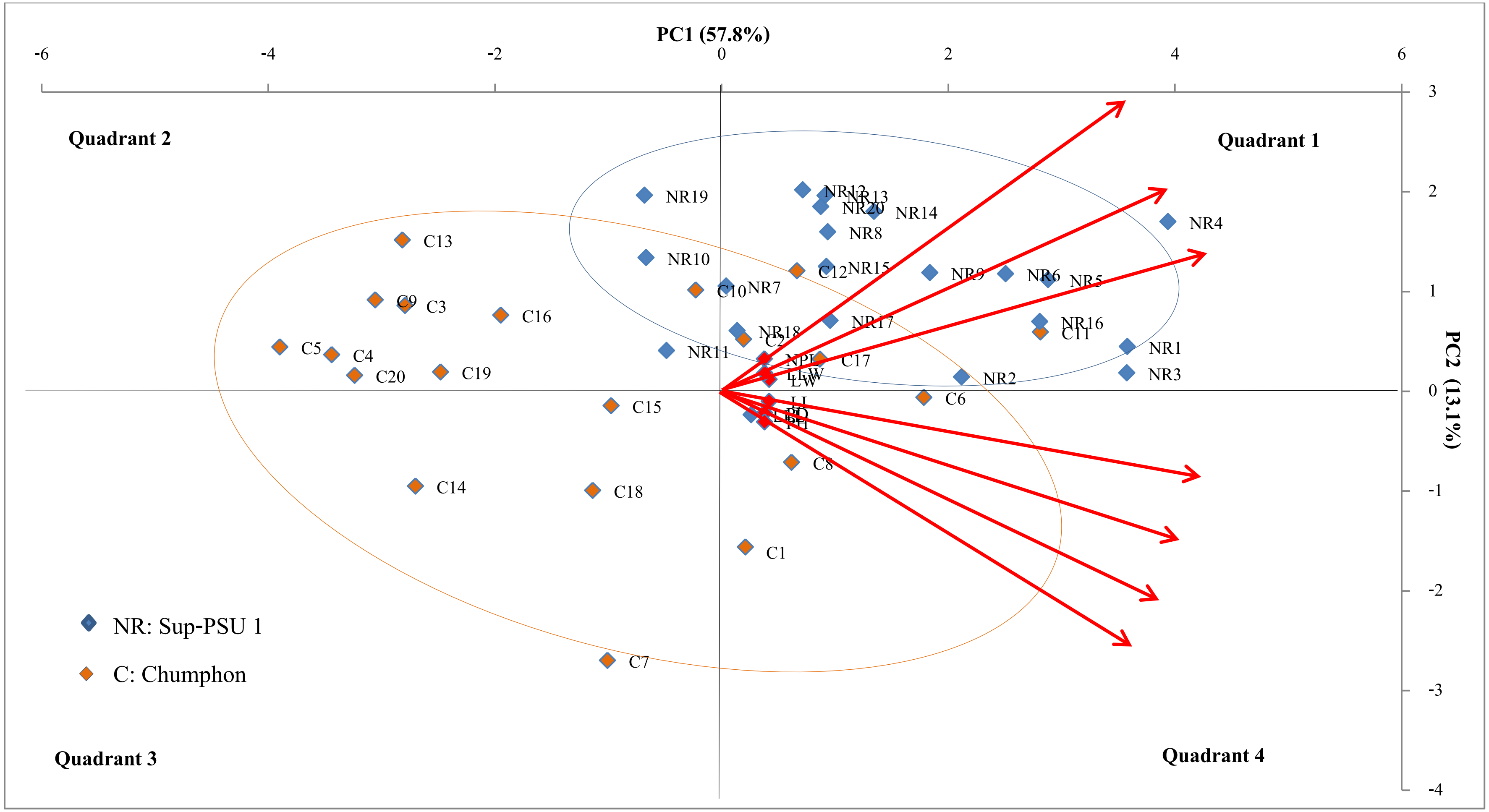
ภาพที่ 2 (ต่อ) Biplot ของกลุ่มปาล์มน้ำมันผสมเปิดจากจังหวัดกระบี่กับลูกผสมพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. 1



ภาพที่ 2 (ต่อ) Biplot ของกลุ่มปาล์มน้ำมันผสมเปิดจากจังหวัดสุราษฎร์ธานีกับลูกผสมพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. 1



ภาพที่ 2 (ต่อ) Biplot ของกลุ่มปาล์มน้ำมันผสมเปิดจากจังหวัดตรังกับลูกผสมพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. 1

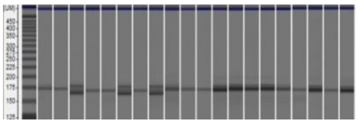


ภาพที่ 2 **(ต่อ)** Biplot **ของกลุ่มปาล์มน้ำมันผสมเปิดจากจังหวัด**ชุมพรกับลูกผสมพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. 1

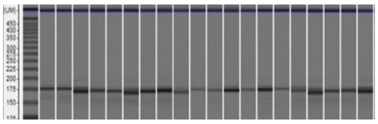
2. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันโดยใช้เครื่องหมายเอสเอสอาร์

จากการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันโดยใช้เครื่องหมายเอสเอสอาร์จำนวน 7 ไพรเมอร์ ได้จำนวนแถบดีเอ็นเอแสดงความแตกต่าง (polymorphism) ดังแสดงในภาพที่ 3

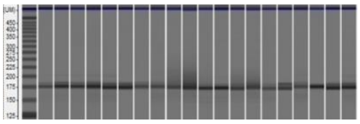
CNH00887



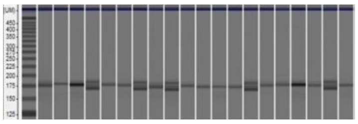
พังงา



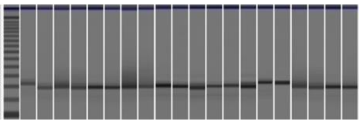
กระบี่



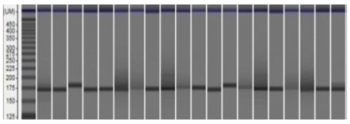
สุราษฎร์ธานี



ตรัง

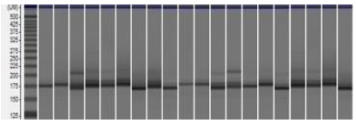


ชุมพร

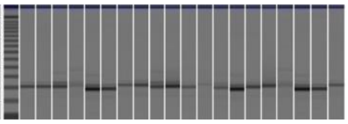


ทรัพย์ ม.อ. 1

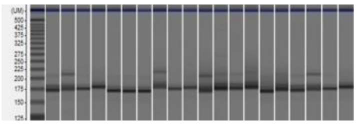
CNH0161



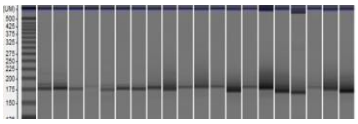
พังงา



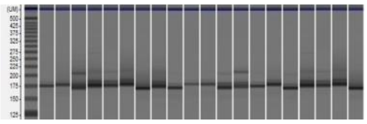
กระบี่



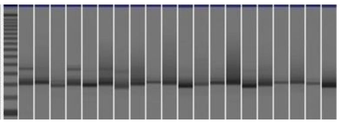
สุราษฎร์ธานี



ตรัง



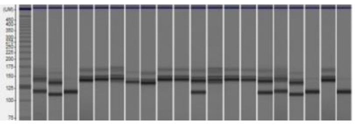
ชุมพร



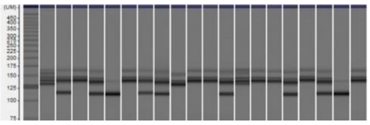
ทรัพย์ ม.อ. 1

ภาพที่ 3 แถบดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยเครื่องหมายเอสเอสอาร์จำนวน 7 ไพรเมอร์

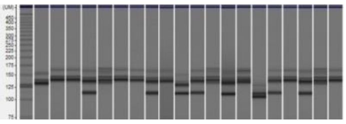
CNI01937



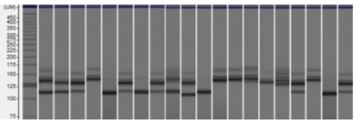
พังงา



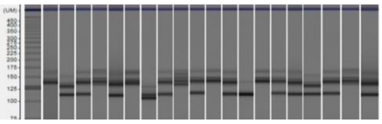
กระบี่



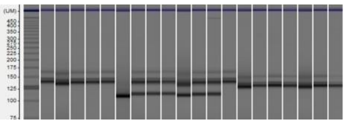
สุราษฎร์ธานี



ตรัง

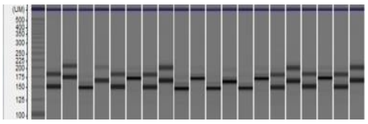


ชุมพร

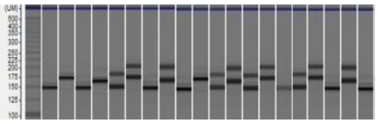


ทรัพย์ ม.อ. 1

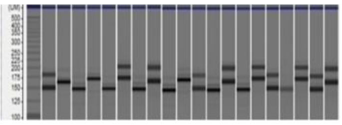
EAP 03160



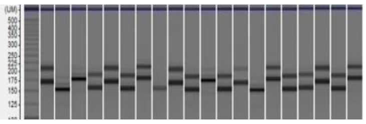
พังงา



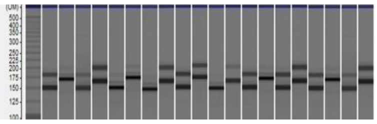
กระบี่



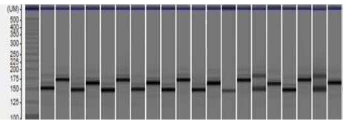
สุราษฎร์ธานี



ตรัง

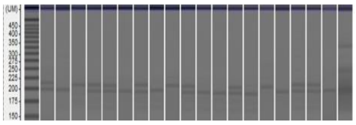


ชุมพร

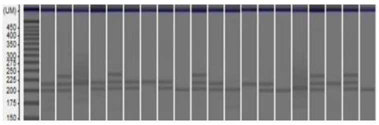


ทรัพย์ ม.อ. 1

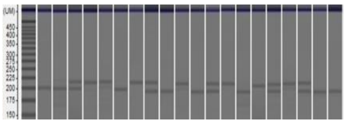
MF233033



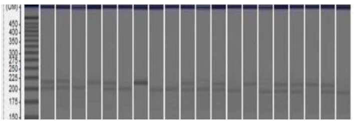
พังงา



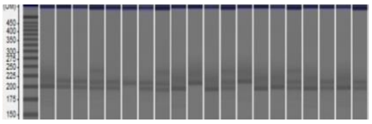
กระบี่



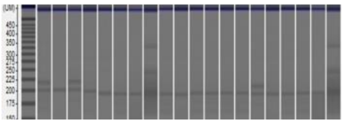
สุราษฎร์ธานี



ตรัง



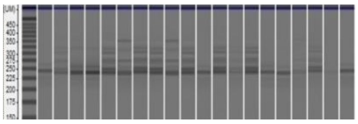
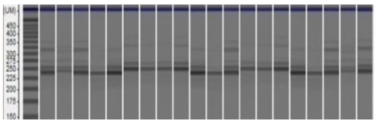
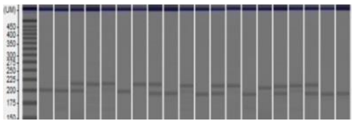
ชุมพร



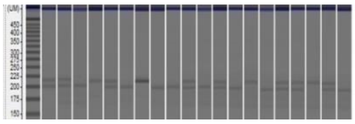
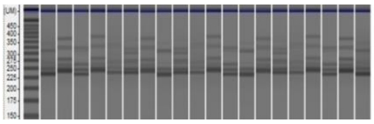
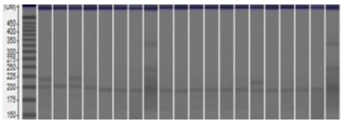
ทรัพย์ ม.อ. 1

ภาพที่ 3 (ต่อ) แถบดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยเครื่องหมายเอสเอสอาร์จำนวน 7 ไพรเมอร์

MF233056

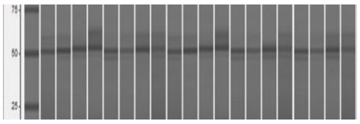
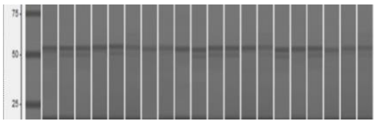
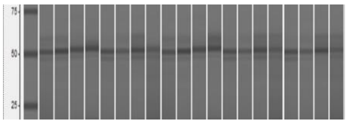
  

พังงา กระบี่ สุราษฎร์ธานี

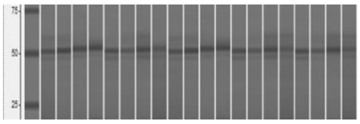
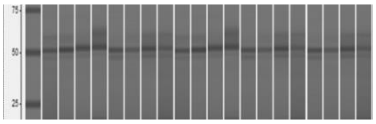
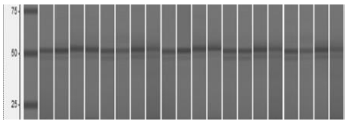
  

ตรัง ชุมพร ทรัพย์ ม.อ. 1

MF2331019

พังงา กระบี่ สุราษฎร์ธานี

ตรัง ชุมพร ทรัพย์ ม.อ. 1

ภาพที่ 3 (ต่อ) แถบดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยเครื่องหมายเอสเอสอาร์จำนวน 7 ไพรเมอร์

ตารางที่ 10 จำนวนอัลลีลที่ผลิตได้จากเครื่องหมายเอสเอสอาร์

No.	Primers	Number of allele produced	Number of polymorphic bands	PIC
1	CNH00887	4	4	0.9630
2	CNH01617	3	3	0.9490
3	CNI01937	3	3	0.9583
4	EAP03160	4	4	0.8093
5	MF233033	3	3	0.8893
6	MF233056	7	7	0.9592
7	MF2331019	3	3	0.8134
	Total	**27**	**27**	**6.3415**
	Average	**3.86**	**3.86**	**0.9059**

PIC = Polymorphic Information Content

จากภาพที่ 3 เครื่องหมายเอสเอสอาร์ทั้ง 7 ไพรเมอร์สามารถให้แถบดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 27 แถบโดยทุกแถบแสดงความแตกต่าง (polymorphism) ระหว่างตัวอย่างปาล์มน้ำมัน โดยไพรเมอร์ MF233056 ให้แถบดีเอ็นเอสูงที่สุดคือ 7 แถบ ไพรเมอร์ CNH00887 และ EAP 03160 ให้แถบดีเอ็นเอ 4 แถบ และไพรเมอร์ CNH01617 CNI 01937 MF233033 และ MF2331019 ให้แถบดีเอ็นเอไพรเมอร์ละ 3 แถบ ไพรเมอร์ทั้ง 7 มีค่าเฉลี่ยของแถบดีเอ็นเออยู่ที่ 3.86 แถบต่อไพรเมอร์ ค่า Polymorphism information content (PIC) เป็นค่าที่ใช้บอกค่าความสามารถของไพรเมอร์ในการจำแนกความแตกต่าง โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 0.8093-0.9630 โดยไพรเมอร์ EAP03160 มีค่า PIC น้อยที่สุดส่วนไพรเมอร์ CNH00887 มีค่า PIC สูงที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 10 จากรายงานของ Yu และคณะ (2012) รายงานว่า ไพรเมอร์ที่มีค่า PIC มากกว่า 0.5 ให้ความสามารถในการจำแนกความแตกต่างในระดับสูง PIC มีค่าระหว่าง 0.25-0.50 ให้ความสามารถในการจำแนกความแตกต่างในระดับปานกลางและ PIC มีค่าน้อยกว่า 0.25 ให้ความสามารถในการจำแนกความแตกต่างในระดับต่ำ ดังนั้นไพร์เมอร์ทั้ง 7 ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้จึงมีความสามารถในการจำแนกระดับสูง ดังนั้นจึงเพียงพอแล้วในการใช้ไพรเมอร์ดังกล่าวในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรปาล์มน้ำมันในครั้งนี้

จากข้อมูลแถบดีเอ็นเอที่ได้จากเครื่องหมายเอสเอสอาร์ เมื่อนำมาวิเคราะห์ระยะห่างทางพันธุกรรมของแต่ละตัวอย่างในกลุ่มประชากรปาล์มน้ำมัน พบว่ามีค่าอยู่ระหว่าง 0.000 – 0.745 ดังแสดงในตารางภาคผนวกที่ 1 - ตารางภาคผนวกที่ 6 โดยค่าระยะห่างทางพันธุกรรมสูงสุด (0.754) ได้จากตัวอย่าง P9 กับ P20 ในกลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดพังงา ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมต่ำสุด (0.000) ได้จากตัวอย่าง NR10 กับ NR12 จากกลุ่มลูกผสมพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. 1 กลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดกระบี่ให้ค่าเฉลี่ยของระยะห่างทางพันธุกรรมสูงสุด (0.484) ส่วนกลุ่มลูกผสมพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. 1 ให้ค่าเฉลี่ยต่ำที่สุด (0.256) ส่วนค่าความแปรปรวนของระยะห่างทางพันธุกรรมมีค่าสูงที่สุดในกลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดพังงา (0.0160) และมีค่าต่ำที่สุดกลุ่มลูกผสมพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. 1 (0.0100) ดังแสดงในตารางที่ 11

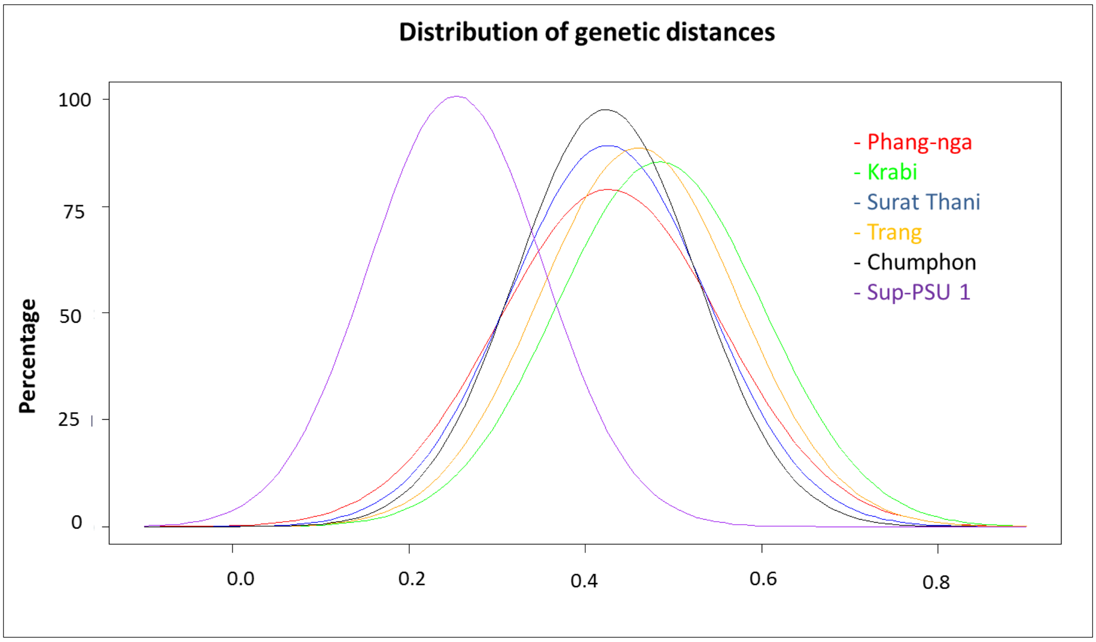
ตารางที่ 11 สรุปค่าระยะห่างทางพันธุกรรมของแต่ละกลุ่มประชากร

Groups	**Genetic distance**				**Highest genetic distance**	**Lowest genetic distance**
	Max	**Min**	**Mean**	**Variance**		
Phang-nga	0.754	0.076	0.427b	0.0160	P9 and P20	P5 and P17
Krabi	0.723	0.190	0.484a	0.0137	K6 and K16	K12 and K8
Surat Thani	0.719	0.119	0.425b	0.0125	S1 and S15	S9 and S20
Trang	0.716	0.143	0.459a	0.0127	T11 and T17	T10 and T12
Chumphon	0.664	0.138	0.423b	0.0104	C4 and C14	C8 and C16
Sup-PSU 1	0.526	0.000	0.256c	0.0100	NR3 and NR6	NR10 and NR12
F-test			**			

** significant at $P \leq 0.01$

จากค่าเฉลี่ยของระยะห่างทางพันธุกรรมในตารางที่ 11 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปาล์มน้ำมันกลุ่มประชากรผสมเปิดที่เก็บมาจากจังหวัดต่าง ๆ มีค่าเฉลี่ยระยะห่างทางพันธุกรรมสูงกว่าปาล์มน้ำมันกลุ่มประชากรลูกผสมพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. 1 อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง เนื่องจากกลุ่มปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. 1 ที่ใช้ในการทดลองนี้ได้มาจากคู่ผสมที่มีการควบคุมต้นพ่อและต้นแม่เดียวกัน การกระจายตัวทางพันธุกรรมที่เกิดขึ้นเป็นได้รับอิทธิพลมาจากต้นพ่อและต้นแม่เท่านั้น ส่วนในปาล์มน้ำมันประชากรผสมเปิดจากจังหวัดต่าง ๆ มีค่าเฉลี่ยระยะห่างทางพันธุกรรมค่อนข้างสูง เนื่องจากการกระจายตัวทางพันธุกรรมที่เกิดขึ้นเป็นผลมาจากปาล์มน้ำมันในประชากรนั้น ๆ และการผสมเปิดส่งผลให้มีการกระจายตัวของยีนอีกด้วย ในการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมัน ตัวอย่าง P9 P20 K6 K16 S1 S15 T11 T17 C4 และ C14 อาจถูกคัดเลือกเพื่อใช้เป็นในการปรับปรุงประชากรในรุ่นต่อไป เนื่องจากมีระยะห่างทางพันธุกรรมสูงที่สุดในแต่ละกลุ่มของประชากรผสมเปิด เมื่อนำมาผสมกันจะมีโอกาสได้ลูกผสมที่แสดงลักษณะดีเด่นกว่าพ่อแม่

ภาพที่ 4 แสดงการกระจายตัวแบบปกติของระยะห่างทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันประชากรผสมเปิดทั้ง 5 กลุ่มและปาล์มน้ำมันลูกผสม 1 กลุ่ม ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปาล์มน้ำมันในกลุ่มลูกผสมมีการกระจายตัวของระยะห่างทางพันธุกรรมแตกต่างจากปาล์มน้ำมันผสมเปิดโดยลักษณะการกระจายตัวของกลุ่มลูกผสมจะมีลักษณะฐานแคบและยอดมีความสูง ซึ่งแตกต่างจากกลุ่มปาล์มน้ำมันผสมเปิดที่มีการกระจายตัวแบบฐานกว้างและยอดต่ำกว่าปาล์มน้ำมันลูกผสม แสดงให้เห็นว่าปาล์มน้ำมันผสมเปิดมีฐานพันธุกรรมกว้างเมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์ลูกผสม โดยเป็นผลมาจากการคัดเลือกแบบวงจร ทำให้ฐานพันธุกรรมแคบลง ส่งผลให้ตัวอย่างในประชากรลูกผสมมีระยะห่างทางพันธุกรรมก็น้อยลง



ภาพที่ 4 การกระจายตัวแบบปกติของระยะห่างทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมัน

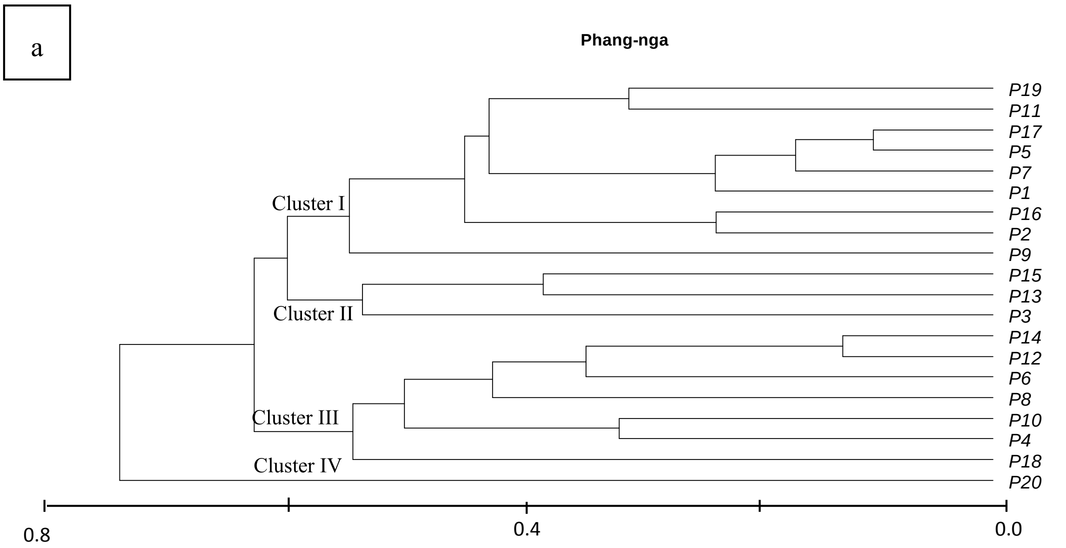
จากการวิเคราะห์กลุ่มโดยวิธีการวิเคราะห์ตัวประกอบหลักพบว่าตัวอย่าง P6 P10 P13 P19 ของกลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดพังงา S4 S11 S17 ของกลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี T8 T9 T10 T11 T12 ของกลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดตรัง และ C2 C11 C17 ของกลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดชุมพร เป็นตัวอย่างที่ควรถูกคัดเลือก เมื่อนำตัวอย่างดังกล่าวมาแสดงค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างตัวอย่างดังตารางที่ 12 พบว่ามีตัวอย่างบางคู่ที่ให้ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมสูง เช่น ตัวอย่าง S17 กับ T9 มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรม 0.713 ตัวอย่าง P13 กับ T11 มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรม 0.701 เป็นต้น และตัวอย่างบางคู่มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมต่ำ เช่น ตัวอย่าง T8 กับ T10 มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรม 0.290 ตัวอย่าง P6 กับ P10 มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรม 0.295 เป็นต้น การทราบระยะห่างทางพันธุกรรมของตัวอย่างที่ผ่านการคัดเลือกโดยวิธีวิเคราะห์ตัวประกอบหลักดังกล่าว นำไปไปใช้ประโยชน์ในการจับคู่ในการผสม โดยจะต้องทำการเลือกผสมระหว่างตัวอย่างที่มีระยะห่างทางพันธุกรรมสูง ทำให้มีโอกาสที่จะได้ลูกผสมที่ดี นอกจากนี้ยังช่วยให้ประหยัดทั้งต้นทุนและเวลาลงไปได้

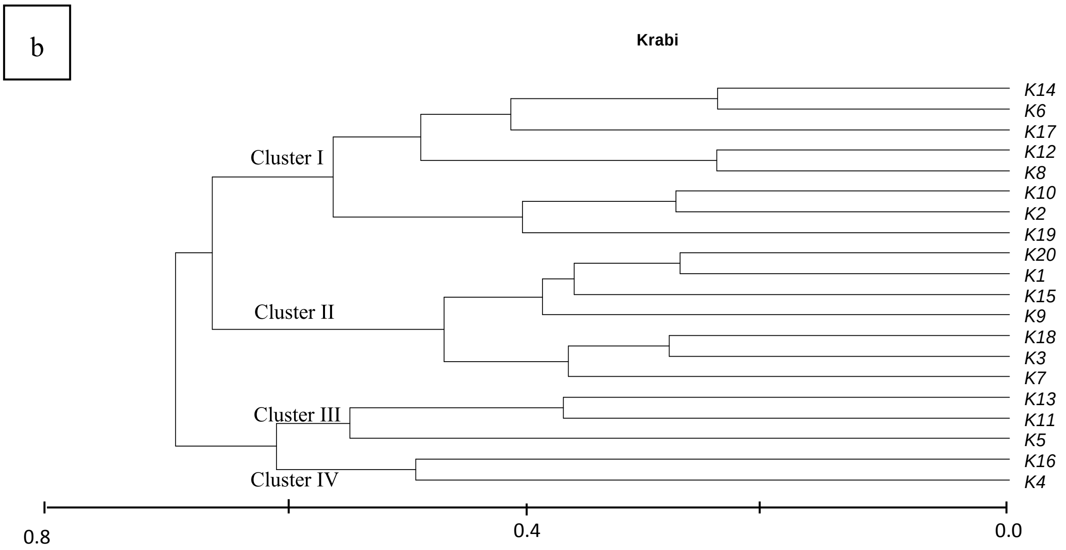
ตารางที่ 12 ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันกลุ่มผสมเปิดที่ถูกคัดเลือกโดยการวิเคราะห์ตัวประกอบหลัก

	P6	P10	P13	P19	S4	S11	S17	T8	T9	T10	T11	T12	C2	C11	C17
P6	.000														
P10	.295	.000													
P13	.496	.416	.000												
P19	.509	.486	.393	.000											
S4	.518	.479	.529	.670	.000										
S11	.448	.478	.617	.389	.615	.000									
S17	.615	.460	.409	.436	.518	.479	.000								
T8	.434	.432	.311	.439	.691	.443	.535	.000							
T9	.415	.592	.661	.632	.625	.521	.713	.465	.000						
T10	.570	.235	.367	.356	.580	.361	.454	.290	.555	.000					
T11	.408	.331	.701	.439	.574	.419	.679	.372	.438	.417	.000				
T12	.514	.179	.311	.300	.635	.416	.398	.362	.674	.143	.489	.000			
C2	.421	.340	.434	.604	.280	.532	.640	.443	.535	.443	.478	.499	.000		
C11	.469	.460	.189	.430	.439	.650	.411	.456	.664	.455	.668	.400	.539	.000	
C17	.517	.556	.409	.472	.588	.567	.654	.530	.586	.360	.624	.670	.457	.429	.000

การวิเคราะห์กลุ่ม (Cluster analysis)

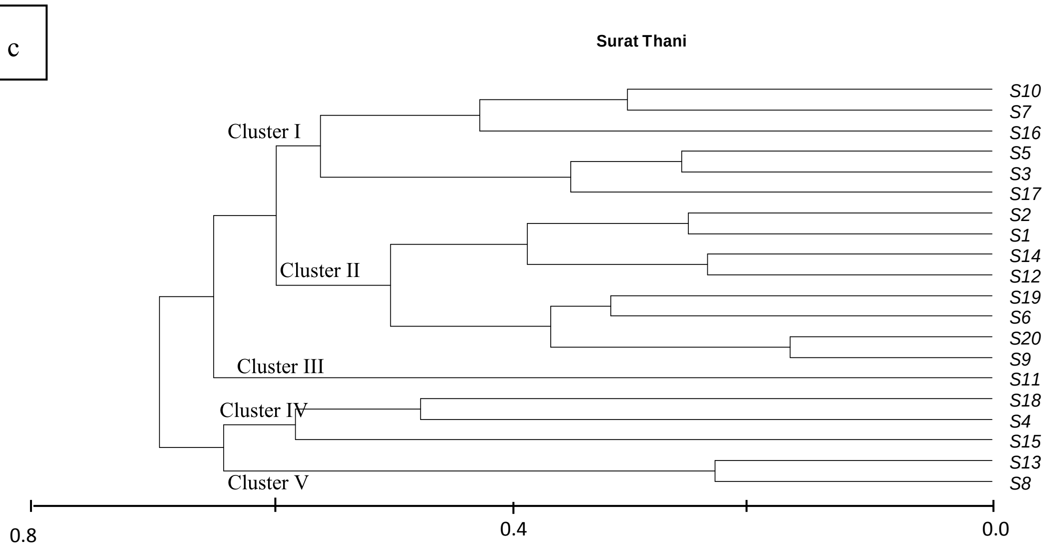
การวิเคราะห์กลุ่มของตัวอย่างในแต่ละกลุ่มประชากรโดยใช้ข้อมูลระยะห่างทางพันธุกรรม ผลการวิเคราะห์กลุ่มตัวอย่างแสดงให้เห็นในภาพที่ 5 ปาล์มน้ำมันในกลุ่มประชากรผสมเปิดจากพังงาแบ่งออกเป็น 4 cluster ใน cluster I - cluster IV ประกอบด้วยสมาชิก 9 3 7 และ 1 ตัวอย่าง ตามลำดับ กลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดกระบี่แบ่งออกเป็น 4 cluster ใน cluster I - cluster IV ประกอบด้วยสมาชิก 8 7 3 และ 2 ตัวอย่าง ตามลำดับ กลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดสุราษฎร์ธานีแบ่งออกเป็น 5 cluster ใน cluster I - cluster V ประกอบด้วยสมาชิก 6 8 1 3 และ 2 ตัวอย่าง ตามลำดับ กลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดตรังแบ่งออกเป็น 5 cluster ใน cluster I - cluster V ประกอบด้วยสมาชิก 3 2 9 2 และ 4 ตัวอย่าง ตามลำดับ กลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดชุมพรแบ่งออกเป็น 5 cluster ใน cluster I - cluster V ประกอบด้วยสมาชิก 9 1 3 3 และ 4 ตัวอย่าง ตามลำดับ ส่วนกลุ่มประชากรลูกผสมพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. 1 แบ่งออกเป็น 2 cluster แต่ละ cluster มีสมาชิก 10 ตัวอย่าง จากการวิเคราะห์กลุ่มพบว่าจำนวน cluster ของปาล์มน้ำมันกลุ่มประชากรผสมเปิดจากทุกจังหวัดให้จำนวน cluster มากกว่าปาล์มน้ำมันลูกผสม แสดงให้เห็นว่าปาล์มน้ำมันจากประชากรผสมเปิดมีความหลายหลายทางพันธุกรรมสูงเมื่อเทียบกับปาล์มน้ำมันลูกผสม



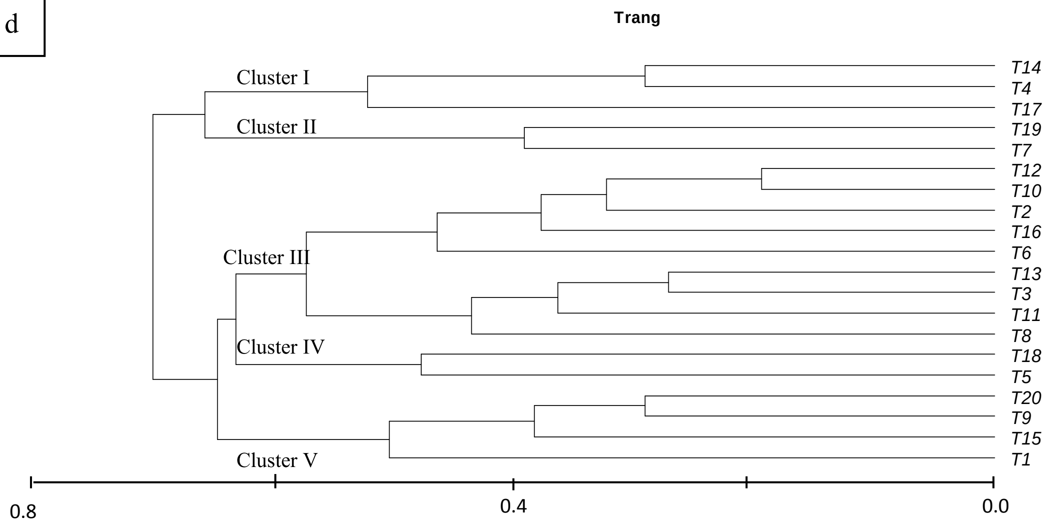


ภาพที่ 5 การวิเคราะห์กลุ่มของปาล์มน้ำมันกลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัด (a) พังงา (b) กระบี่ จากการวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่ได้จากเครื่องหมายเอสเอสอาร์

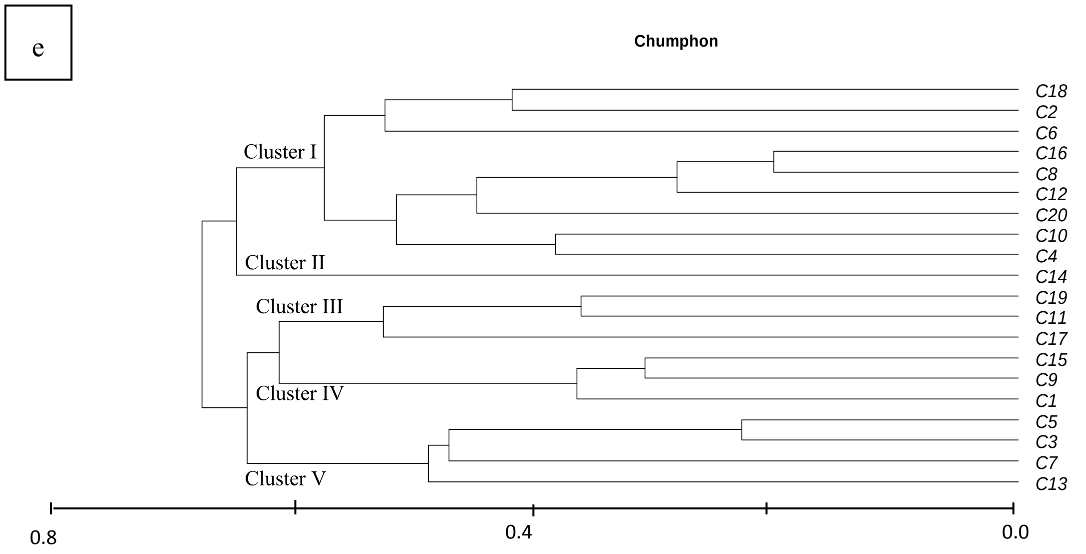
c

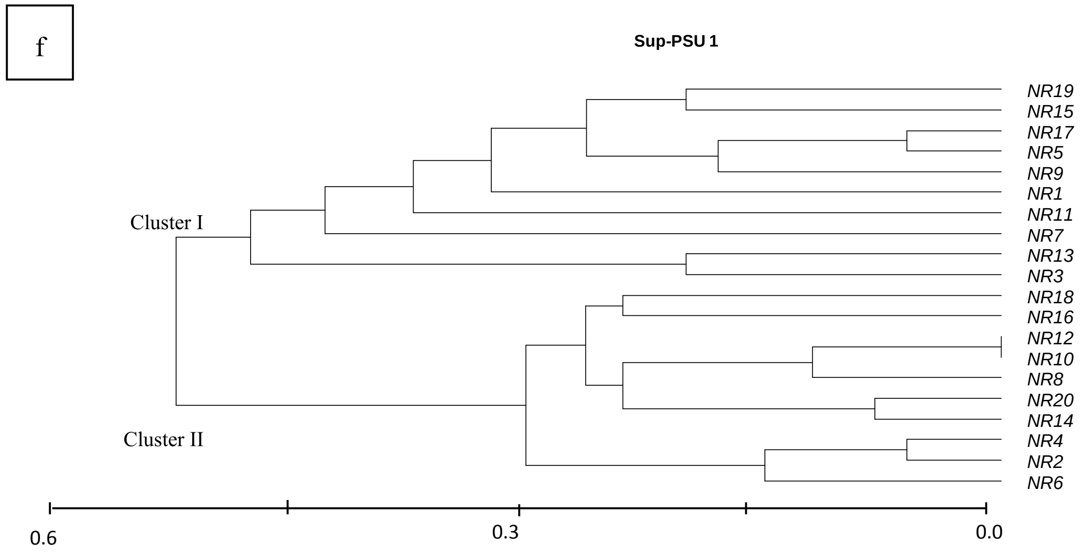


d



ภาพที่ 5 (ต่อ) การวิเคราะห์กลุ่มของปาล์มน้ำมันกลุ่มประชากรจากจังหวัด (c) สุราษฎร์ธานี (d) ตรัง จากการวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่ได้จากเครื่องหมายเอสเอสอาร์



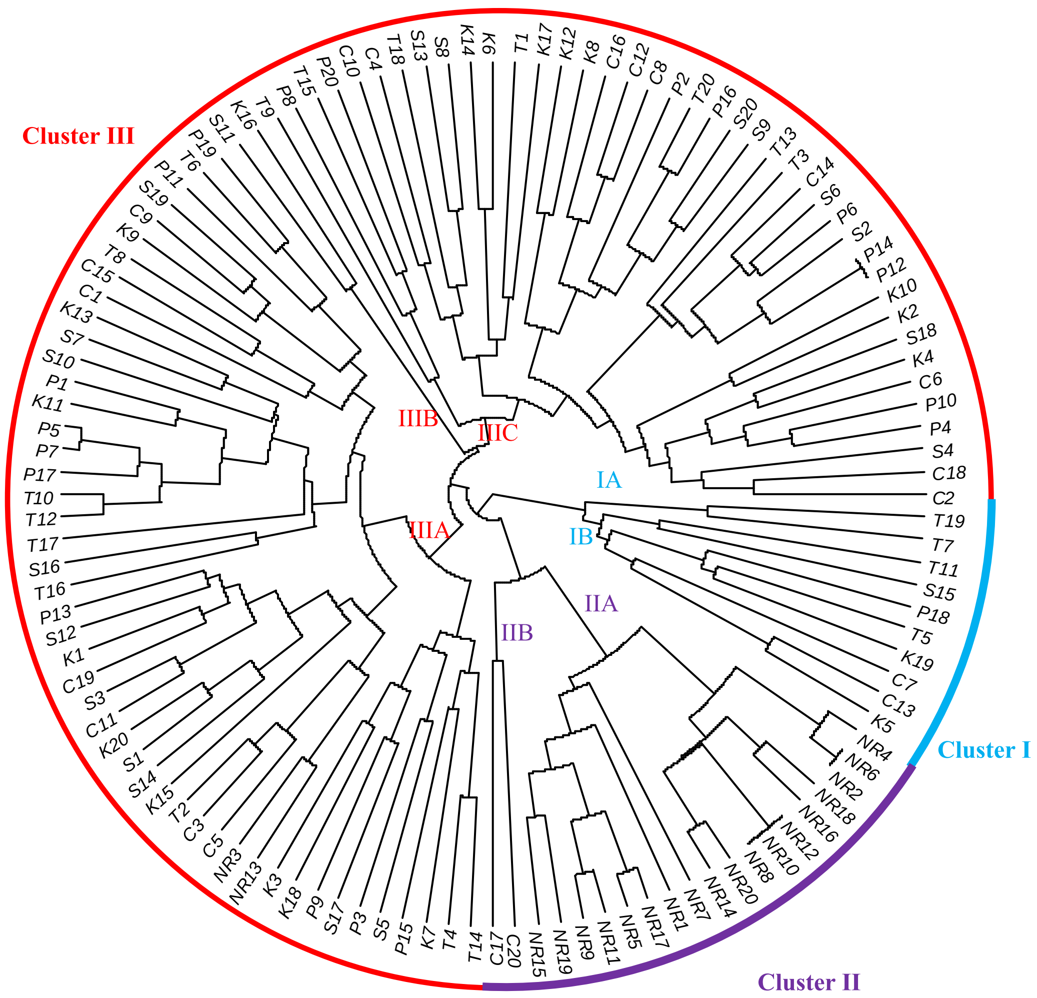


ภาพที่ 5 (ต่อ) การวิเคราะห์กลุ่มของปาล์มน้ำมันกลุ่มประชากรจากจังหวัด (e) ชุมพร และ (f) ประชากรลูกผสมพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. 1 จากการวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่ได้จากเครื่องหมายเอสเอสอาร์

ในการวิเคราะห์กลุ่มของทุกตัวอย่างแสดงในภาพที่ 6 โดยแบ่งออกเป็น 3 cluster ใน cluster I และcluster II ประกอบด้วย 2 cluster ย่อย คือ cluster IA cluster IB และ cluster IIA cluster IIB ตามลำดับ ส่วน cluster III ประกอบด้วย 3 cluster ย่อย คือ cluster IIIA cluster IIIB และ cluster IIIC โดย cluster I ประกอบด้วยสมาชิก 10 ตัวอย่าง คือ P18 จากกลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดพังงา K5 และ K19 จากกลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดกระบี่ S15 จากกลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี T5 T7 และ T19 จากกลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดตรัง C7 และ C13 จากกลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดชุมพร ซึ่งทุกตัวอย่างเป็นปาล์มน้ำมันมันกลุ่มผสมเปิดทั้งสิ้น cluster II ประกอบด้วย 20 ตัวอย่าง โดยแบ่งเป็น 18 ตัวอย่างใน cluster IIA ซึ่งเป็นปาล์มน้ำมันลูกผสมทั้งหมด ได้แก่ NR1 NR2 NR4 NR5 NR6 NR7 NR8 NR9 NR10 NR11 NR12 NR14 NR15 NR16 NR17 NR18 NR19 NR20 อีก 2 ตัวอย่างใน cluster IIB ซึ่งเป็นปาล์มน้ำมันจากกลุ่มประชากรผสมเปิด จากจังหวัดชุมพร คือ ตัวอย่าง C17 และ C20 ใน cluster III ประกอบด้วยสมาชิก 90 ตัวอย่าง เป็นปาล์มน้ำมันจากกลุ่มประชากรผสมเปิดจากทั้ง 5 จังหวัด จำนวน 88 ตัวอย่างและปาล์มน้ำมันจากกลุ่มลูกผสมอีก 2 ตัวอย่าง คือ NR3 และ NR13

จากการวิเคราะห์กลุ่มโดยใช้ระยะห่างทางพันธุกรรมที่คำนวนมาจากแถบดีเอ็นเอที่ได้จากเครื่องหมายเอสเอสอาร์ พบว่าเครื่องหมายทั้ง 7 ไพรเมอร์สามารถใช้ในการศึกษาความหลากหลายของปาล์มน้ำมันได้ดี เนื่องจากสามารถใช้จำแนกกลุ่มของปาล์มน้ำมันผสมเปิดออกจากกลุ่มปาล์มน้ำมันลูกผสมได้ดีกว่าลักษณะทางสัณฐานวิทยา ทั้งนี้เป็นผลมาจากการแสดงออกของลักษณะของปาล์มน้ำมันมีผลมาจากทั้งพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันและสภาพแวดล้อม จึงทำให้การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันควรที่จะมีข้อมูลทางทั้งลักษณะทางสัณฐานวิทยาและข้อมูลทางพันธุกรรมประกอบในการศึกษาด้วย เพื่อให้ผลมีความแม่นยำมากขึ้น

การทราบความหลากหลายทางพันธุกรรมในครั้งนี้เป็นประโยชน์อย่างยิ่งในด้านการรวบรวมเชื้อพันธุกรรมของปาล์มน้ำมัน เนื่องจากการทราบความแปรปรวนในประชากรจะมีประโยชน์ในการวางแผนในการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันได้อนาคต และการทราบระยะห่างทางพันธุกรรมจะมีประโยชน์ในการคัดเลือกพ่อแม่เพื่อผลิตลูกผสม กล่าวคือพ่อแม่ที่มีระยะห่างทางพันธุกรรมสูงจะมีโอกาสในการผลิตลูกผสมที่มีลักษณะดีเด่นกว่าพ่อแม่ (heterosis) มากกว่าพ่อแม่ที่มีระยะห่างทางพันธุกรรมต่ำ ซึ่งหากทำการผสมจะมีโอกาสได้ลูกผสมที่มีลักษณะเสื่อมถดถอย (inbreeding)



ภาพที่ 6 UPGMA clustering ของตัวอย่างปาล์มน้ำมันทั้ง 120 ตัวอย่าง

Abdullah และคณะ (2011) ได้ทำการศึกษาในปาล์มน้ำมันลูกผสมจำนวน 16 คู่ผสม (เทเนอรา) ของปาล์มน้ำมันจากแม่ดูราจำนวน 15 ต้นและพ่อพิสิเฟอราจำนวน 4 ต้น ทำการศึกษาที่ Malaysian Oil Palm Board (MOPB) Research Station ประเทศมาเลเซีย โดยใช้เครื่องหมายเอสเอสอาร์จำนวน 9 ไพรเมอร์ พบว่าค่าระระยะห่างทางพันธุกรรมมีการกระจายตัวอยู่ระหว่าง 0.089 - 0.313 ส่วนในประชากรพ่อแม่มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.050 - 0.573

Taeprayoon และคณะ (2015) ได้ทำการศึกษาในปาล์มน้ำมัน 121 ตัวอย่าง ที่ใช้เป็นประชากรในการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มมันจาก 3 จังหวัดในประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ จังหวัดกาญจนบุรี และจังหวัดกระบี่ โดยใช้เครื่องหมายเอสเอสอาร์จำนวน 96 ไพรเมอร์ แต่มีเพียง 20 ไพรเมอร์เท่านั้น ที่ให้แถบดีเอ็นเอที่แสดงความความแตกต่าง ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างกลุ่มจังหวัดมีค่าระหว่าง 0.530 - 0.620

Okoye และคณะ (2016) ได้ทำการศึกษาในปาล์มน้ำมันดูรา 8 ต้นและเทเนอรา 7 ต้น ทำการศึกษาที่ The Nigerian Institute for Oil Palm Research (NIFOR) ประเทศไนจีเรีย โดยใช้เครื่องหมายเอสเอสอาร์จำนวน 16 ไพรเมอร์ พบว่าค่าระยะห่างทางพันธุกรรมมีการกระจายตัวอยู่ระหว่าง 0.299 - 0.800 และมีค่าเฉลี่ย 0.557

จากการศึกษาของทั้ง Abdullah และคณะ (2011) และ Taeprayoon และคณะ (2015) มีช่วงของระยะห่างทางพันธุกรรมใกล้เคียงกันกับการศึกษาในครั้งนี้ เนื่องจากปาล์มน้ำมันที่ใช้ในการศึกษามีแหล่งกำเนิดเริ่มต้นมาจากปาล์มน้ำมันดูรา 4 ต้น ที่มาปลูกที่เกาะชวาของประเทศอินโดนีเซีย และได้แพร่กระจายไปยังประเทศต่าง ๆ ในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ส่วนในการศึกษาของ Okoye และคณะ (2016) ได้มีการศึกษาในประเทศไนจีเรียในทวีปแอฟริกา ซึ่งเป็นแหล่งกำเนิดปาล์มน้ำมัน ส่งผลให้ประชากรปาล์มน้ำมันที่ใช้ในการศึกษาของ Okoye และคณะ (2016) มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมสูงกว่าปาล์มน้ำมันในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ซึ่งเป็นแหล่งปลูกปาล์มน้ำมันใหม่ จึงมีความแปรปรวนทางพันธุกรรมน้อยกว่า

ในการใช้ประโยชน์ในด้านการปรับปรุงพันธุ์พืช ตามธรรมชาติปาล์มน้ำมันเป็นพืชผสมข้ามในประชากรที่ปล่อยให้มีการผสมตามธรรมชาติจะมีพันธุกรรมเป็นแบบพันธุ์ทาง (heterozygous) (เทอด, 2517) ซึ่งความแปรปรวนที่เกิดขึ้นเป็นผลมาจากความแปรปรวนที่มีอยู่ในประชากรนั้น ส่วนในปาล์มน้ำมันลูกผสมจะมีการคัดเลือกพ่อแม่ในหลายวงจร จึงมีผลให้ค่าความแปรปรวนทางพันธุกรรมในลดลง (Taeprayoon *et al.*, 2015) ดังนั้นปาล์มน้ำมันผสมเปิดจึงมีฐานพันธุกรรมที่กว้างกว่าปาล์มน้ำมันลูกผสม ในการรวบรวมเชื้อพันธุกรรมเพื่อทำการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมัน การใช้ประชากรที่มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมสูงจะมีโอกาสในการคัดเลือก

ลักษณะต่าง ๆ มากกว่าในประชากรที่มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมต่ำ (Cox and Murphy, 1990) โดยปกติการคัดเลือกปาล์มน้ำมันโดยใช้ลักษณะ (phenotype) จะต้องใช้เวลาประมาณ 19 ปีต่อรอบการคัดเลือก (Wong and Bernardo, 2008) การใช้เทคนิคทางโมเลกุลเครื่องหมายเป็นอีกวิธีหนึ่งในการช่วยคัดเลือก โดยช่วยลดต้นทุนและระยะเวลาลงได้

ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันในครั้งนี้ทำให้ทราบถึงความแปรปรวนที่มีอยู่ภายในประชากรและระหว่างประชากรของกลุ่มตัวอย่างที่เก็บมาจากจังหวัดต่าง ๆ ทางภาคใต้ของประเทศไทย โดยผลที่ได้จากการศึกษามีประโยชน์ทั้งในด้านการรวบรวมเชื้อพันธุกรรมของปาล์มน้ำมัน โดยปาล์มน้ำมันผสมเปิดที่เก็บมาจากทั้ง 5 จังหวัดมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง เมื่อเปรียบเทียบกับปาล์มน้ำมันลูกผสม ดังนั้นปาล์มน้ำมันผสมเปิดทั้ง 5 กลุ่ม จึงเหมาะสำหรับการนำมาเป็นเชื้อพันธุกรรมเพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุในอนาคต นอกจากนี้ยังมีประโยชน์ในการช่วยในการคัดเลือกต้นหรือตัวอย่างสำหรับนำไปปรับปรุงพันธุ์ดังที่ได้กล่าวมาข้างต้นอีกด้วย

บทที่ 4
สรุป

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันผสมเปิดจากจังหวัดพังงา กระบี่ สุราษฎร์ธานี ตรัง และชุมพร กลุ่มละ 20 ตัวอย่าง โดยใช้ปาล์มน้ำมันลูกผสมทรัพย์ ม.อ. 1 จำนวน 20 ตัวอย่าง รวมทั้งสิ้น 120 ตัวอย่าง โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเครื่องหมายเอสเอสอาร์ ในการประเมินความหลากหลายทางสัณฐานวิทยา พบว่าการวิเคราะห์กลุ่มตัวอย่างโดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์ตัวประกอบหลัก (principal component analysis) สามารถจำแนกกลุ่มของปาล์มน้ำมันลูกผสมออกจากปาล์มน้ำมันผสมเปิดได้ดีกว่าการวิเคราะห์กลุ่มโดยใช้เทคนิค Hierarchical clustering การลงจุดใน biplot ระหว่างตัวประกอบหลักที่ 1 (PC1) และตัวประกอบหลักที่ 2 (PC2) ของการวิเคราะห์ตัวประกอบหลัก พบว่าปาล์มน้ำมันจากประชากรผสมเปิดมีการลงจุดทั้ง 4 ควอดรันต์ (quadrant) ของ biplot ในขณะที่ปาล์มน้ำมันลูกผสมมีการลงจุดของตัวอย่างส่วนใหญ่ในควอดรันต์ที่ 1 ในการคัดเลือกเพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ ตัวอย่าง P6 P10 P13 P19 จากกลุ่มผสมเปิดจากจังหวัดพังงา S4 S11 S17 จากกลุ่มผสมเปิดจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี T8 T9 T10 T11 T12 จากกลุ่มผสมเปิดจากจังหวัดตรัง และ C2 C11 C17 จากกลุ่มผสมเปิดจากจังหวัดชุมพร อาจถูกคัดเลือกโดยพิจารณาจากความใกล้ชิดกับปาล์มน้ำมันลูกผสมจากการลงจุดใน biplot ในการประเมินความหลากหลายพันธุกรรมโดยใช้เครื่องหมายเอสเอสอาร์ พบว่าไพรเมอร์ทั้ง 7 ให้แถบดีเอ็นเอ 27 แถบ มีค่าเฉลี่ย 3.86 แถบต่อไพรเมอร์ ซึ่งไพรเมอร์ MF233056 ให้จำนวนแถบสูงที่สุดคือ 7 แถบ ระยะห่างทางพันธุกรรมมีค่าอยู่ระหว่าง 0.000-0.754 โดยค่าสูงสุดได้จากตัวอย่าง P9 กับ P20 และ ค่าต่ำสุดได้จากตัวอย่าง NR10 กับ NR12 ค่าเฉลี่ยระยะห่างทางพันธุกรรมของประชากรผสมเปิดจากทุกจังหวัดมีค่ามากกว่าค่าเฉลี่ยของปาล์มน้ำมันลูกผสมอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยกลุ่มประชากรผสมเปิดจากจังหวัดกระบี่ให้ค่าเฉลี่ยของระยะห่างทางพันธุกรรมสูงสุด (0.484) การวิเคราะห์กลุ่มโดยใช้ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมพบว่าปาล์มน้ำมันจากประชากรผสมเปิดแบ่งได้ 4-5 cluster ในขณะที่กลุ่มลูกผสมพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. 1 แบ่งได้เพียง 2 cluster ส่วนการวิเคราะห์กลุ่มของทั้ง 120 ตัวอย่างพบว่าแถบดีเอ็นเอที่ได้จากไพรเมอร์ทั้ง 7 สามารถแยกปาล์มน้ำมันลูกผสมออกจากปาล์มน้ำมันจากประชากรผสมเปิดได้ ในการคัดเลือกตัวอย่างปาล์มโดยพิจารณาจารณาจากระยะห่างทางพันธุกรรม ตัวอย่าง P9 P20 K6 K16 S1 S15 T11 T17 C4 และ C14 อาจถูกคัดเลือกเพื่อใช้เป็นในการปรับปรุงประชากรในรุ่นต่อไป หากพิจารณาจากทั้งลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางพันธุกรรม ตัวอย่าง T11 เป็นตัวอย่างที่เหมาะสมที่สุดในการถูกคัดเลือกเพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์

เอกสารอ้างอิง

กัลยา วานิชย์บัญชา. 2552. การวิเคราะห์ข้อมูลหลายตัวแปร. กรุงเทพฯ: บริษัทธรรมสาร จำกัด.

เทอด เจริญวัฒนา. 2517. การปรับปรุงพันธุ์พืช. ขอนแก่น: คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ธีระ เอกสมทราเมษฐ์, ชัยรัตน์ นิลนนท์, ธีระพงศ์ จันทรนิยม, ประกิต ทองคำ และ สมเกียรติ สีสนอง. 2548. เส้นทางสู่ความสำเร็จ การผลิตปาล์มน้ำมัน. สงขลา: คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ธีระ เอกสมราเมษฐ์. 2554. การปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมัน. กรุงเทพฯ: โอ เอส พริ้นติ้ง จำกัด.

พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์. 2548. พันธุศาสตร์เชิงปริมาณที่ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืช. นครปฐม: ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน.

ไพศาล เหล่าสุวรรณ. 2547. สถิติ แผนการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูล. นครราชสีมา: สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

วัชรินทร์ ซุ้นสุวรรณ. 2549. วิธีการวิจัยทางการเกษตร. สงขลา: ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ศิริกุล ศรีแสงจันทร์. 2552. พันธุ์และการผลิตต้นกล้าปาล์มน้ำมัน *ใน* คู่มือวิทยากรปาล์มน้ำมัน. สงขลา: สำนักงานส่งเสริมและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5 จังหวัดสงขลา.

ศูนย์วิจัยกสิกรไทย. 2558. ปาล์มน้ำมัน. เข้าถึงได้จาก: http://www.manager.co.th/iBizchannel/ViewNews.aspx?NewsID=9470000093275 (สืบค้นเมื่อวันที่ 10 ตุลาคม 2558)

สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน). 2559. ปาล์มน้ำมัน. เข้าถึงได้จาก: http://www.arda.or.th/kasetinfo/south/palm/controller/index.php (สืบค้นเมื่อวันที่ 7 ม.ค.2559)

สุรีพร เกตุงาม. 2546. เครื่องหมายดีเอ็นเอในงานปรับปรุงพันธุ์พืช. ว.วิชาการมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี 2: 37-59.

Abdullah, N., Yusop, M. R., Ithnin, M., Saleh, G. and Latif, M. A. 2011. Genetic variability of oil palm parental genotypes and performance of its' progenies as revealed by molecular markers and quantitative traits. C. R. Biologies 334: 290-299.

Anderson, J. A., Churchill, G. A., Autrique, J. E., Tanksley, S. D. and Sorrells, M. E. 1993. Optimizing Parental Selection for Genetic Linkage Maps. Genome 36: 181-186.

Barbosa, M. H. P., Resende, M. D. V., Bressiani, J. A., Silveira, L. C. I. and Peternelli, L. A. 2005. Selection of sugarcane families and parents by Reml/Blup. Crop Breed. Appl.Technol. 5: 443.

Billotte, N., Jourjon, M. F., Marseillac, N., Berger, A., Flori, A. and Asmady, B. 2010. QTL detection by multi-parent linkage mapping in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). Theor. Appl. Genet. 120: 1673–1687.

Corley, R. H. V. and Tinker, P. B. 2003. The Oil Palm. 4th ed. Oxford, UK : Wiley-Blackwell.

Cox, T. S. and Murphy, J. P. 1990. The effect of parental divergence on F_2 heterosis in winter wheat crosses. Theor. Appl. Genet. 79: 241–250.

Food and Agriculture Organization. 2015. FAOstat. [Online] Available: http://faostat3.fao.org/home/E (accessed on October 1st, 2015)

Grabusts, P. 2011. The choice of metrics for clustering algorithms. Proceedings of the 8th International Scientific and Practical Conference 11: 70-76.

Gupta, P. K. and Varshney, R. K. 2000. The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis on bread wheat. Euphytica. 113: 163–185.

Hartley, C. W. S. 1988. The Oil Palm. 2nd ed. London: Longman**.**

Hayati, A., Wickneswari, R., Maizura, I. and Rajanaidu, N. 2004. Genetic diversity of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) germplasm collections from Africa: implications for improvement and conservation of genetic resources. Theor. Appl. Genet. 108: 1274–1284.

Jaccard, P. 1908. Nouvelles recherches sur la distribution florale. SVSN. 44: 223-270.

Jalani, B. S., Cheah, S. C., Rajanaidu, N. and Darus, A. 1997. Improvement of palm oil through breeding and biotechnology. JAOCS. 74: 1451–1455.

Junmag, S., Nualsri, C., and Eksomtramage, T. 2005. Genetic variation and phylogenetic relationships in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) based on RAPD analysis. SJST. 27: 473–485.

Lee, M., Yeun, L. and Abdullah, R. 2006. Expression of *Bacillus thuringiensis* insecticidal protein gene in transgenic oil palm. Electron. J. Biotechnol. 9: 117–126**.**

Maizura, I., Rajanaidu, N., Zakri, A. and Cheah, S. 2006. Assessment of genetic diversity in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) using restriction fragment length polymorphism (RFLP). Genet. Resour. Crop Evol. 53:187–195.

Morgante, M. and Olivieri, A. M. 1993. PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. Plant J. 3: 175-182.

Okoye, M. N., Uguru, M. I., Bakoumé, C. Singh, R. and Okwuagwu, C. O. 2016. Assessment of Genetic Diversity of NIFOR Oil Palm Main Breeding Parent Genotypes Using Microsatellite Markers. . AJPS. 7: 218-237.

Powell, W., Machray, C. and Provan, J. 1996. Polymorphism revealed by simple sequence repeats. Trends in Plant Sci. 1: 215-222.

Rance, K. A., Mayes, S., Price, Z., Jack, P. L. and Corley, R. H. V. 2001. Quantitative trait loci for yield components in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). Theor. Appl. Genet. 103: 1302–1310.

Riju, A., Chandrasekhar, A. and Arunachalam, V. 2007. Mining for single nucleotide polymorphisms and insertions/deletions in expressed sequence tag libraries of oil palm. Bioinformation 2: 128–131.

Rival, A. and Jaligot, E. 2010. Oil palm biotechnologies are definitely out of infancy. Oléagineux. 17: 368–374.

Rival, A., Buele, T., Barre, P., Hamon, S., Duval, Y. and Noirot, M. 1997. Comparative flow cytometric estimation of nuclear DNA content in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) tissue cultures andseed-derived plants. Plant Cell Rep. 16: 884–887.

Singh, R., Nagappan, J., Tan, S. G., Panandam, J. M. and Cheah, S. C. 2007. Development of simple sequence repeat (SSR) markers for oil palm for oil palm and their application in genetic mapping and fingerprinting of tissue culture clones. Asia Pac. J. Mol. Biol. Biotechnol. 15: 121–131.

Singh, R., Tan, S. G., Panandam, J., Rahman, R. A. and Cheah, S. C. 2008. Identification of cDNA-RFLP markers and their use for molecular mapping in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). Asia Pac. J. Mol. Biol. Biotechnol. 16: 53–63.

Taeprayoon, P., Tanya, P., Lee, S. and Srinives, P. 2015. Genetic background of three commercial oil palm breeding populations in Thailand revealed by SSR markers. AJCS 9: 281-288.

Ting, N. C., Noorhariza, M. Z., Rozana, R., Low, E. T., Ithnin, M., Cheah, S. C., Tan, S. G. and Singh, R. 2010. SSR mining in oil palm EST database: application in oil palm germplasm diversity studies. J. Genet. 89: 135–145.

Wong, C. K. and Bernardo, R. 2008. Genomewide selection in oil palm: increasing selection gain per unit time and cost with small populations. Theor Appl Genet 116: 815–824.

Ying, S. T., Zaman, F. Q., Ho, C. L., Maizura, I. and Rao, V. 2007. Flanking AFLP markers for the virescence trait in oil palm. J. Oil Palm Res. 19: 381–392.

Yu, J. Z., Fang, D. D., Kohel, R. J., Ulloa, M., Hinze, L. L., Percy, R. G., and Jones, D. C. 2012. Development of a core set of SSR markers for the characterization of Gossypium germplasm. Euphytica. 187: 203-213.

ภาคผนวก

ภาคผนวก

การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการทดลอง

1. สารละลาย CTAB buffer ปริมาตร 100 ml ประกอบด้วย

CTAB	2	g
NaCl	8.19	g
PVP	2	g
0.5MEDTA pH8	4	ml
1M Tris HCl pH8	10	ml
β-mercaptoethanol	2	ml

ขั้นตอนการเตรียมโดยเติมสาร 1M Tris HCl pH8 0.5MEDTA pH8 และ NaCl ในน้ำกลั่นปริมาตร 70 ml คนให้ละลาย จากนั้นจึงเติมสาร CTAB และ PVP นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสจนละลายจึงนำไปปรับปริมาตรโดยใช้น้ำกลั่นให้ได้ 100 ml และปรับ pH ให้เท่ากับ 8 จากนั้นจึงนำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งแรงดัน เติมสาร β-mercaptoethanol จำนวน 2 % เมื่อใช้งาน

2. สารละลาย TE buffer ปริมาตร 300 ml ประกอบด้วย

0.1M Tris-HCl pH 7.5	300	μl
0.25M Na_2EDTA pH 7	120	μl

นำสารละลายปรับปริมาตรเป็น 300 ml ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นจึงนำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งแรงดัน ก่อนนำมาใช้

การเตรียมสารและการใช้เครื่อง Microship Electrophoresis MCE-202 MultiNA

1. เครื่อง MultiNA ประกอบด้วยส่วนที่ใช้ในการอ่านข้อมูลดีเอ็นเอ และส่วนที่เป็นซอฟแวร์ในคอมพิวเตอร์ดังแสดงในภาพภาคผนวกที่ 1 การใช้งานเริ่มด้วยเปิดเครื่องคอมพิวเตอร์และเปิดโปรแกรม MultiNA

2. ทำการเลือกทิศทางในการอ่านค่าในสารละลายและจำนวนตัวอย่างในโปรแกรม

3. เตรียมสารละลาย MultiNA solution ประกอบด้วย

1)	DNA 500 buffer (99 %)	2376	μl
	Sybr gold (1 %)	24	μl

กลับหลอดผสมให้เข้ากัน 10 วินาทีแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที

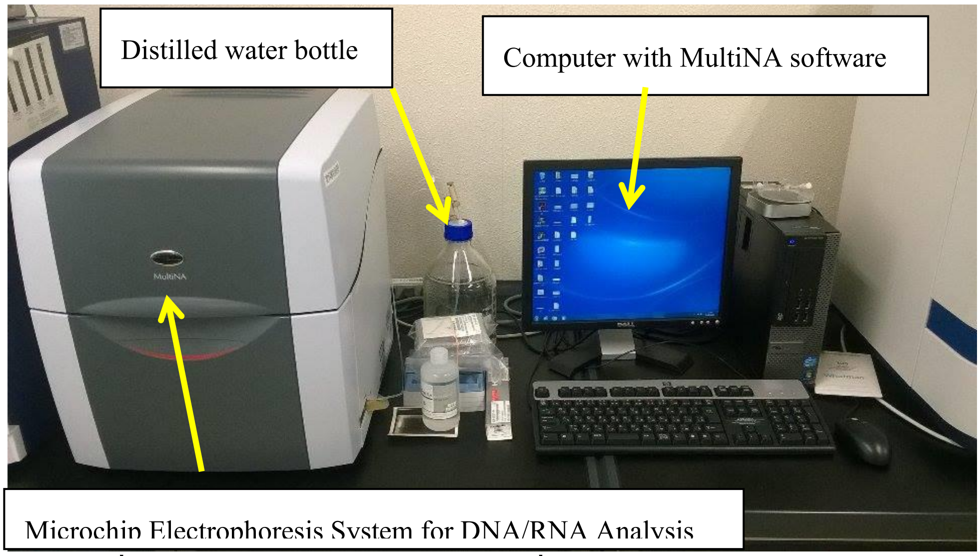
2) Marker solution 300 μl

3) Ladder 25 bp 30 μl

4. นำสารละลายที่เตรียมไว้ใส่ลงไปในช่องต่าง ๆ ดังแสดงในภาพภาคผนวกที่ 3 ตรวจสอบขวดน้ำกลั่นและเติมน้ำกลั่นในขวดให้เต็ม

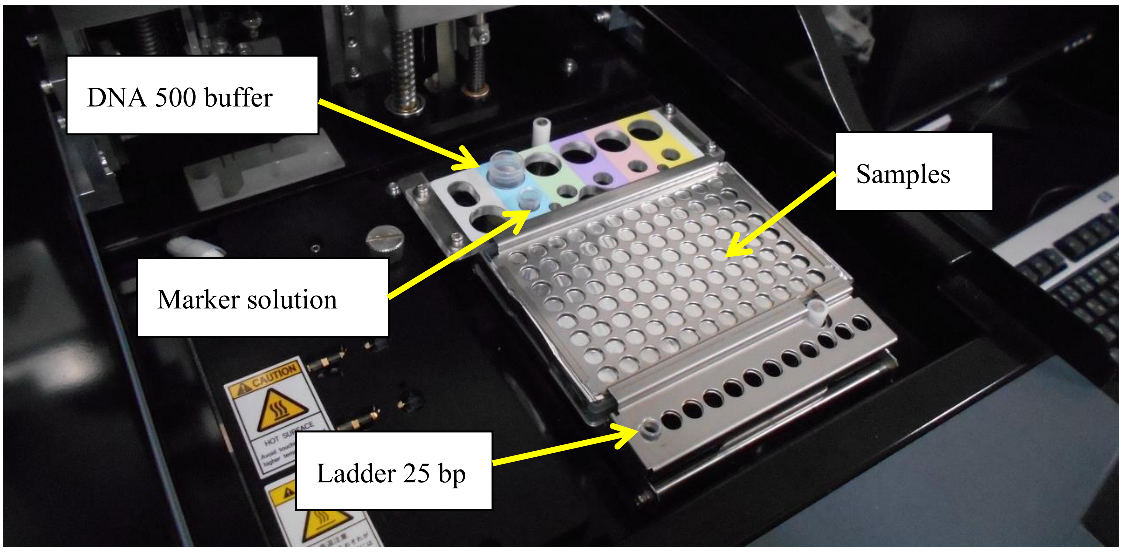
5. นำตัวอย่างดีเอ็นเอที่ผ่านการเพิ่มจำนวนด้วยเทคนิค PCR มาปิดด้วยสติกเกอร์อลูมิเนียม (ภาพภาคผนวกที่ 2) แล้วนำไปวางในเครื่อง Microchip Electrophoresis System for DNA/RNA Analysis MCE-202 MultiNA ดังภาพภาคผนวกที่ 3

6. เปิดเครื่อง Microchip Electrophoresis System for DNA/RNA Analysis MCE-202 MultiNA แล้วคลิกคำสั่งให้โปรแกรมเริ่มทำงาน



ภาพภาคผนวกที่ 1 ส่วนประกอบในการทำงานของเครื่อง Microchip Electrophoresis System for DNA/RNA Analysis MCE-202 MultiNA

ภาพภาคผนวกที่ 2 ตัวอย่างที่ผ่านการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR และนำมาปิดเคลือบด้วยสติกเกอร์



ภาพภาคผนวกที่ 3 การบรรจุสารเคมีและตัวอย่างภายในเครื่อง Microchip Electrophoresis System for DNA/RNA Analysis MCE-202 MultiNA

ตารางภาคผนวกที่ 1 ระยะห่างทางพันธุกรรมของตัวอย่างในกลุ่มประชากรจากจังหวัดพังงา

	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
P1	0.000																			
P2	0.365	0.000																		
P3	0.468	0.614	0.000																	
P4	0.383	0.448	0.570	0.000																
P5	0.220	0.309	0.473	0.317	0.000															
P6	0.527	0.453	0.578	0.434	0.441	0.000														
P7	0.133	0.327	0.525	0.345	0.087	0.459	0.000													
P8	0.618	0.372	0.648	0.426	0.502	0.362	0.485	0.000												
P9	0.398	0.486	0.459	0.407	0.345	0.588	0.345	0.599	0.000											
P10	0.345	0.404	0.671	0.237	0.295	0.397	0.225	0.452	0.345	0.000										
P11	0.283	0.305	0.444	0.458	0.305	0.471	0.374	0.582	0.403	0.511	0.000									
P12	0.559	0.349	0.694	0.289	0.408	0.305	0.426	0.247	0.523	0.310	0.501	0.000								
P13	0.441	0.497	0.428	0.333	0.259	0.496	0.346	0.460	0.387	0.416	0.385	0.280	0.000							
P14	0.583	0.444	0.717	0.337	0.432	0.210	0.450	0.342	0.618	0.333	0.524	0.095	0.304	0.000						
P15	0.300	0.593	0.370	0.440	0.382	0.639	0.433	0.609	0.422	0.580	0.442	0.470	0.284	0.494	0.000					
P16	0.249	0.175	0.581	0.349	0.401	0.421	0.383	0.369	0.486	0.405	0.257	0.382	0.557	0.477	0.477	0.000				
P17	0.173	0.289	0.426	0.364	0.076	0.462	0.163	0.579	0.367	0.366	0.257	0.484	0.333	0.508	0.334	0.353	0.000			
P18	0.472	0.404	0.418	0.424	0.416	0.456	0.434	0.518	0.596	0.381	0.556	0.278	0.415	0.373	0.512	0.437	0.397	0.000		
P19	0.348	0.415	0.674	0.297	0.297	0.509	0.343	0.470	0.426	0.486	0.230	0.387	0.393	0.435	0.403	0.361	0.345	0.665	0.000	
P20	0.491	0.512	0.584	0.564	0.711	0.568	0.624	0.342	0.754	0.577	0.567	0.479	0.628	0.502	0.548	0.337	0.664	0.464	0.575	0.000

ตารางภาคผนวกที่ 2 ระยะห่างทางพันธุกรรมของตัวอย่างในกลุ่มประชากรจากจังหวัดกระบี่

	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7	K8	K9	K10	K11	K12	K13	K14	K13	K16	K17	K18	K19	K20
K1	0.000																			
K2	0.320	0.000																		
K3	0.222	0.514	0.000																	
K4	0.513	0.380	0.576	0.000																
K5	0.604	0.552	0.639	0.469	0.000															
K6	0.400	0.446	0.459	0.578	0.716	0.000														
K7	0.310	0.415	0.281	0.566	0.629	0.522	0.000													
K8	0.470	0.372	0.580	0.458	0.649	0.288	0.327	0.000												
K9	0.377	0.594	0.480	0.666	0.635	0.373	0.367	0.463	0.000											
K10	0.381	0.217	0.551	0.414	0.471	0.393	0.614	0.497	0.533	0.000										
K11	0.410	0.611	0.541	0.368	0.389	0.524	0.574	0.523	0.472	0.443	0.000									
K12	0.531	0.415	0.631	0.486	0.610	0.437	0.507	0.191	0.487	0.458	0.552	0.000								
K13	0.458	0.589	0.441	0.566	0.472	0.462	0.352	0.513	0.378	0.498	0.291	0.640	0.000							
K14	0.485	0.498	0.513	0.471	0.668	0.190	0.503	0.278	0.464	0.444	0.498	0.415	0.402	0.000						
K15	0.260	0.477	0.361	0.565	0.645	0.543	0.406	0.549	0.292	0.509	0.530	0.520	0.441	0.447	0.000					
K16	0.580	0.516	0.716	0.387	0.458	0.723	0.623	0.579	0.585	0.546	0.426	0.402	0.579	0.689	0.566	0.000				
K17	0.537	0.481	0.515	0.403	0.541	0.316	0.653	0.442	0.548	0.365	0.449	0.443	0.581	0.334	0.595	0.631	0.000			
K18	0.277	0.455	0.222	0.513	0.482	0.534	0.294	0.544	0.505	0.456	0.513	0.553	0.401	0.565	0.371	0.650	0.609	0.000		
K19	0.511	0.297	0.681	0.618	0.392	0.400	0.607	0.400	0.636	0.337	0.675	0.443	0.626	0.489	0.643	0.704	0.514	0.523	0.000	
K20	0.215	0.507	0.260	0.583	0.647	0.460	0.380	0.551	0.245	0.568	0.480	0.445	0.518	0.513	0.308	0.484	0.505	0.482	0.698	0.000

ตารางภาคผนวกที่ 3 ระยะห่างทางพันธุกรรมของตัวอย่างในกลุ่มประชากรจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	S19	S20
S1	0.000																			
S2	0.179	0.000																		
S3	0.224	0.374	0.000																	
S4	0.511	0.397	0.386	0.000																
S5	0.335	0.486	0.182	0.419	0.000															
S6	0.364	0.210	0.390	0.503	0.396	0.000														
S7	0.442	0.479	0.423	0.517	0.288	0.388	0.000													
S8	0.517	0.433	0.448	0.431	0.510	0.471	0.508	0.000												
S9	0.380	0.332	0.463	0.572	0.421	0.266	0.417	0.397	0.000											
S10	0.547	0.584	0.544	0.531	0.432	0.533	0.214	0.588	0.489	0.000										
S11	0.462	0.455	0.534	0.615	0.594	0.362	0.504	0.485	0.395	0.433	0.000									
S12	0.259	0.345	0.286	0.506	0.400	0.457	0.305	0.355	0.493	0.480	0.548	0.000								
S13	0.571	0.487	0.476	0.398	0.447	0.529	0.426	0.163	0.475	0.529	0.541	0.412	0.000							
S14	0.189	0.300	0.359	0.577	0.470	0.363	0.421	0.523	0.350	0.453	0.387	0.167	0.577	0.000						
S15	0.719	0.604	0.649	0.421	0.537	0.577	0.519	0.572	0.474	0.305	0.575	0.691	0.453	0.689	0.000					
S16	0.384	0.461	0.398	0.512	0.379	0.489	0.242	0.289	0.368	0.361	0.409	0.284	0.369	0.427	0.511	0.000				
S17	0.412	0.562	0.304	0.514	0.190	0.496	0.342	0.487	0.421	0.389	0.479	0.358	0.344	0.356	0.418	0.357	0.000			
S18	0.521	0.379	0.481	0.336	0.550	0.364	0.473	0.410	0.372	0.449	0.342	0.369	0.445	0.351	0.398	0.336	0.409	0.000		
S19	0.303	0.316	0.398	0.564	0.404	0.224	0.282	0.574	0.324	0.427	0.403	0.302	0.633	0.258	0.708	0.359	0.504	0.443	0.000	
S20	0.332	0.284	0.368	0.477	0.421	0.194	0.415	0.442	0.119	0.560	0.438	0.491	0.473	0.422	0.545	0.413	0.492	0.404	0.253	0.000

ตารางภาคผนวกที่ 4 ระยะห่างทางพันธุกรรมของตัวอย่างในกลุ่มประชากรจากจังหวัดตรัง

	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14	T15	T16	T17	T18	T19	T20
T1	0.000																			
T2	0.323	0.000																		
T3	0.400	0.418	0.000																	
T4	0.511	0.540	0.585	0.000																
T5	0.376	0.328	0.381	0.623	0.000															
T6	0.440	0.324	0.428	0.496	0.452	0.000														
T7	0.452	0.554	0.483	0.484	0.390	0.589	0.000													
T8	0.535	0.314	0.230	0.500	0.476	0.395	0.554	0.000												
T9	0.422	0.604	0.425	0.579	0.527	0.565	0.465	0.465	0.000											
T10	0.411	0.167	0.321	0.481	0.345	0.276	0.411	0.290	0.555	0.000										
T11	0.560	0.514	0.239	0.687	0.287	0.438	0.437	0.372	0.438	0.417	0.000									
T12	0.554	0.310	0.392	0.457	0.416	0.348	0.553	0.362	0.674	0.143	0.489	0.000								
T13	0.546	0.421	0.200	0.605	0.397	0.445	0.659	0.361	0.416	0.378	0.296	0.354	0.000							
T14	0.566	0.508	0.650	0.214	0.693	0.559	0.562	0.518	0.644	0.592	0.761	0.449	0.671	0.000						
T15	0.355	0.527	0.447	0.438	0.508	0.430	0.563	0.444	0.318	0.532	0.512	0.579	0.421	0.421	0.000					
T16	0.409	0.238	0.509	0.445	0.439	0.419	0.506	0.410	0.573	0.262	0.631	0.333	0.514	0.556	0.472	0.000				
T17	0.513	0.470	0.509	0.318	0.566	0.395	0.529	0.431	0.501	0.357	0.592	0.333	0.383	0.451	0.486	0.375	0.000			
T18	0.484	0.509	0.525	0.504	0.351	0.613	0.444	0.551	0.548	0.541	0.624	0.470	0.561	0.432	0.482	0.455	0.613	0.000		
T19	0.487	0.508	0.517	0.462	0.470	0.395	0.288	0.459	0.473	0.342	0.438	0.413	0.693	0.464	0.547	0.437	0.402	0.621	0.000	
T20	0.336	0.435	0.375	0.660	0.430	0.351	0.537	0.441	0.214	0.386	0.366	0.529	0.270	0.644	0.246	0.594	0.454	0.594	0.520	0.000

ตารางภาคผนวกที่ 5 ระยะห่างทางพันธุกรรมของตัวอย่างในกลุ่มประชากรจากจังหวัดชุมพร

	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12	C13	C14	C15	C16	C17	C18	C19	C20
C1	0.000																			
C2	0.553	0.000																		
C3	0.482	0.457	0.000																	
C4	0.495	0.281	0.495	0.000																
C5	0.514	0.467	0.157	0.447	0.000															
C6	0.625	0.425	0.418	0.390	0.404	0.000														
C7	0.587	0.434	0.321	0.550	0.323	0.617	0.000													
C8	0.487	0.414	0.316	0.332	0.444	0.475	0.453	0.000												
C9	0.253	0.496	0.350	0.423	0.388	0.478	0.410	0.364	0.000											
C10	0.652	0.356	0.399	0.262	0.376	0.367	0.492	0.282	0.463	0.000										
C11	0.477	0.539	0.385	0.446	0.369	0.427	0.550	0.508	0.456	0.471	0.000									
C12	0.541	0.372	0.297	0.429	0.453	0.358	0.477	0.155	0.385	0.352	0.443	0.000								
C13	0.549	0.622	0.286	0.630	0.371	0.559	0.345	0.356	0.393	0.389	0.525	0.342	0.000							
C14	0.443	0.486	0.532	0.480	0.603	0.374	0.664	0.494	0.389	0.522	0.362	0.376	0.645	0.000						
C15	0.247	0.320	0.405	0.378	0.414	0.526	0.474	0.436	0.211	0.445	0.460	0.461	0.470	0.485	0.000					
C16	0.502	0.318	0.297	0.292	0.359	0.404	0.357	0.138	0.249	0.218	0.523	0.231	0.409	0.449	0.365	0.000				
C17	0.507	0.457	0.442	0.482	0.323	0.581	0.463	0.592	0.422	0.381	0.429	0.591	0.439	0.537	0.361	0.457	0.000			
C18	0.598	0.287	0.399	0.445	0.437	0.291	0.563	0.419	0.510	0.352	0.311	0.288	0.537	0.329	0.419	0.333	0.387	0.000		
C19	0.435	0.315	0.340	0.331	0.320	0.471	0.326	0.469	0.331	0.404	0.248	0.493	0.552	0.466	0.313	0.373	0.290	0.332	0.000	
C20	0.526	0.462	0.448	0.447	0.492	0.614	0.496	0.257	0.505	0.463	0.579	0.382	0.489	0.471	0.532	0.279	0.342	0.419	0.427	0.000

ตารางภาคผนวกที่ 6 ระยะห่างทางพันธุกรรมของตัวอย่างในกลุ่มประชากรพันธุ์ลูกผสมทรัพย์ ม.อ. 1

	NR1	NR2	NR3	NR4	NR5	NR6	NR7	NR8	NR9	NR10	NR11	NR12	NR13	NR14	NR15	NR16	NR17	NR18	NR19	NR20
NR1	0.000																			
NR2	0.204	0.000																		
NR3	0.251	0.455	0.000																	
NR4	0.239	0.036	0.479	0.000																
NR5	0.179	0.239	0.275	0.204	0.000															
NR6	0.275	0.071	0.526	0.107	0.311	0.000														
NR7	0.344	0.405	0.440	0.369	0.165	0.476	0.000													
NR8	0.394	0.190	0.503	0.226	0.287	0.119	0.357	0.000												
NR9	0.238	0.299	0.251	0.323	0.119	0.370	0.189	0.251	0.000											
NR10	0.323	0.119	0.431	0.155	0.216	0.190	0.286	0.071	0.180	0.000										
NR11	0.309	0.370	0.370	0.394	0.190	0.299	0.238	0.180	0.119	0.251	0.000									
NR12	0.323	0.119	0.431	0.155	0.216	0.190	0.286	0.071	0.180	0.000	0.251	0.000								
NR13	0.370	0.431	0.119	0.455	0.251	0.503	0.321	0.384	0.132	0.312	0.251	0.312	0.000							
NR14	0.347	0.143	0.455	0.179	0.239	0.214	0.333	0.167	0.275	0.095	0.346	0.095	0.407	0.000						
NR15	0.143	0.273	0.251	0.309	0.179	0.345	0.344	0.321	0.238	0.249	0.309	0.249	0.370	0.273	0.000					
NR16	0.370	0.167	0.407	0.179	0.239	0.238	0.382	0.214	0.251	0.143	0.347	0.143	0.384	0.167	0.297	0.000				
NR17	0.143	0.204	0.251	0.239	0.036	0.275	0.201	0.251	0.095	0.180	0.167	0.180	0.227	0.204	0.143	0.227	0.000			
NR18	0.394	0.190	0.407	0.214	0.275	0.119	0.440	0.095	0.251	0.167	0.227	0.167	0.384	0.190	0.321	0.143	0.251	0.000		
NR19	0.262	0.249	0.275	0.273	0.143	0.321	0.308	0.297	0.119	0.225	0.238	0.225	0.251	0.249	0.119	0.202	0.119	0.202	0.000	
NR20	0.394	0.190	0.407	0.214	0.275	0.262	0.369	0.214	0.227	0.143	0.347	0.143	0.360	0.048	0.321	0.143	0.251	0.143	0.202	0.000

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นายธเนศ คอมเพ็ชร

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5810620033

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	**ชื่อสถาบัน**	**ปีที่สำเร็จการศึกษา**
วิทยาศาสตรบัณฑิต	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2557

ทุนการศึกษา

ทุนผลการเรียนดีเด่นเข้าศึกษาในระดับบัณฑิตศึกษา ปีการศึกษา 2558

ทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ ประจำปีงบประมาณ 2559

ทุนส่วนหนึ่งจากสถานวิจัยความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ ระยะที่ 2 คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ทุนสนับสนุนการผลิตบัณฑิต สถานวิจัยพืชกรรมปาล์มน้ำมัน ระยะที่ 2 คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

Khomphet, T. Eksomtramage, T. and Duangpan, S. 2017. Genetic variation of improved oil palm tenera hybrid populations using morphological and SSR markers. Songklanakarin Journal of Science and Technology (อยู่ระหว่างการพิจารณาจากผู้ทรงคุณวุฒิ)