รายงานโครงการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและคัดเลือกพันธุ์ทุเรียนพื้นบ้านในเขต ภาคใต้ของประเทศไทย
Genetic Diversity Analysis and Selection of Indigenous Durian inSouthern Thailand

โดย

รศ.ดร.จรัสศรี นวลศรี และคณะ

คณะทรัพยากรธรรมชาติ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

2560

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและคัดเลือกพันธุ์ทุเรียนพื้นบ้านในเขต ภาคใต้ของประเทศไทย
Genetic Diversity Analysis and Selection of Indigenous Durian in Southern Thailand

โดย

รศ.ดร.จรัสศรี นวลศรี

ดร. กรกช นาคคนอง

นางอมรรัตน์ จันทนาอรพินท์

นางสาวรวีย์รัชต์ รักขันธุ์

นางสุภาณี ชนะวีรวรรณ

คณะทรัพยากรธรรมชาติ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

2560

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อง “การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและคัดเลือกพันธุ์ทุเรียนพื้นบ้านในเขตภาคใต้ของประเทศไทย” ได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากงบประมาณแผ่นดินปีงบประมาณ 2555-2559 ภายใต้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตน์ราชสุดาสยามบรมราชกุมารี สนองพระราชดำริโดยมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อสนองพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตน์ราชสุดาสยามบรมราชกุมารี ในการศึกษาข้อมูลพื้นฐานความหลากหลายของทุเรียนพื้นบ้านภาคใต้ เพื่อเป็นข้อมูลของฐานทรัพยากรท้องถิ่น กระตุ้นจิตสำนึกของชุมชนให้เห็นความสำคัญของพืชพื้นเมืองในท้องถิ่น รวมไปถึงการคัดเลือกพันธุ์ที่มีรสชาติดี มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นพันธุ์การค้า ทั้งระดับท้องถิ่นและระดับประเทศในอนาคต คณะวิจัยขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้ ขอขอบคุณ คุณฮูดา แก้วศรีสม คุณพันธ์ทิพย์ เสนอินทร์ คุณอรณี อินจันทร์ศรี คุณสุรศักดิ์ พรหมสกุล และผู้มีส่วนร่วมทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

คณะวิจัย

กันยายน 2560

บทคัดย่อ

ทุเรียนมีถิ่นกำเนิดในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ภาคใต้นับเป็นแหล่งความหลากหลายของทุเรียนพื้นบ้านที่สำคัญของประเทศไทย อย่างไรก็ตามปัจจุบันเกษตกรไม่ได้ให้ความสำคัญกับทุเรียนพื้นบ้านมากนัก เพราะขายได้ราคาต่ำเมื่อปรียบเทียบกับทุเรียนพันธุ์การค้า เช่น หมอนทอง ชะนี ก้านยาว เป็นต้น ดังนั้นทุเรียนพื้นบ้านหลายสายพันธุ์จึงสูญหายไป ทุเรียนพื้นบ้านหลายพันธุ์มีลักษณะที่เป็นประโยชน์ เช่นลดความเสียหายจากการเข้าทำลายของโรค แมลง และมีระบบรากที่แข็งแรง หาอาหารเก่ง การศึกษาครั้งนี้จึงมี วัตถุประสงค์ เพื่อวิเคราะห์พันธุกรรมและความสัมพันธ์ของทุเรียนพื้นบ้านในภาคใต้ โดยพิจารณาจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาร่วมกับการใช้เทคนิคเตรื่องหมายชีวโมเลกุล และคัดเลือกบางพันธุ์เพื่อทดสอบในแปลงปลูก โดยเก็บตัวทุเรียนพื้นบ้าน ในเขตจังหวัดสงขลา นครศรีธรรมราช กระบี่ พังงา ยะลา สตูล ระนอง ชุมพร แยกกลุ่มตัวอย่างจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่สำคัญ เช่น ขนาด รูปทรงผล ลักษณะหนาม และสีเนื้อ ทำการศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมด้วยเทคนิคอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์จำนวน 8 ไพรเมอร์ และไมโครแซทเทลไลท์กับ 6 คู่ไพรเมอร์ หลังจากวิเคราะห์พันธุกรรมกับตัวอย่างต้นทุเรียน 2 ชุดตัวอย่าง (จำนวน 67 และ 50 ตัวอย่าง) กับเครื่องหมายอาร์เอพีดี และไมโครแซทเทลไลท์ จึงเลือกใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์สำหรับวิเคราะห์ความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับตัวอย่างร่วมทั้งสองชุด โดยใช้คู่ไพรเมอร์จำนวน 6 คู่คือ MS1CT-7, MS1CT-9, MS1CT-16, MS1CT-27, MS1AAC-2 and MS1AAC-19 พบว่าให้จำนวนอัลลีล (แถบดีเอ็นเอ) ทั้งหมด 21 อัลลีล เฉลีย 3.5 อัลลิล/ตำแหน่ง โดยเป็นอัลลีลที่มีความแตกต่างจำนวน 18 อัลลีล คิดเป็น 85.71 เปอร์เซ็นต์ ไพรเมอร์ที่ให้จำนวนอัลลีลสูงที่สุดคือ MS1AAC-2 จำนวน 6 อัลลีล เมื่อนำแถบดีเอ็นเอดังกล่าวมาวิเคราะห์ความใกล้ชิดทางพันธุกรรมด้วยวิธี UPGMA พบว่าจากทุเรียนพื้นบ้านภาคใต้ 117 ตัวอย่างจาก 8 จังหวัด สามารถแบ่งกลุ่มทุเรียนพื้นบ้าน ได้เป็น 4 กลุ่ม โดยมีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.43-1.00 คู่ที่มีดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมสูงที่สุดเท่ากับ 1 คือสายพันธุ์สตูล 5 กับกระบี่ 5 และ สายพันธุ์ข้างทางจากจ. กระบี่ กับลุงผล 3 จาก จ. ระนอง ส่วนคู่ที่มีความห่างไกลทางพันธุกรรมมากที่สุดมี 3 คู่คือ สายพันธุ์ป่าขมิ้นจากจ.พังงา กับเบตง 6 จ. ยะลา ป่าขมิ้น จ.พังงา กับลุงผล 4 จ.ระนอง หลังโรงก๊อง จ. กระบี่ กับหนามดำ จ. สงขลา กลุ่มตัวอย่างทุเรียนส่วนใหญ่ไม่ได้มีความสัมพันธ์กับแหล่งที่มาของตัวอย่าง อีกชุดเป็นทุเรียนพื้นบ้านตำบลคลองแสง อ. บ้านตาขุน จ. สุราษฎร์ธานี เก็บตัวอย่างจำนวน 23 ตัวอย่าง วิเคราะห์หลากหลายและความใกล้ชิดทางพันธุกรรมด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ พบว่าทุเรียนพื้นบ้านคลองแสงมีความหลากหลายมากกว่าทุเรียน 2 ชุดแรกโดยมีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.37-0.95

พันธุ์สาวน้อยกับตอไฟ และสาวน้อยกับตะขบมีความห่างไกลทางพันธุกรรมมากที่สุด (ค่าดัชนีความไกล้ชิดทางพันธุกรรม 0.37) ส่วนคู่ที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมากที่สุดมีค่าดัชนีความไกล้ชิดทางพันธุกรรม 0.95 มี 3 คู่คือ เขียวเสวยกับเตย ป่ามิ้นกับเขียวเสวย และ ค้ำคางกับยุมทอง และสามารถจัดกลุ่มได้ทั้งหมด 3 กลุ่ม หลังจากนั้นทำการเลือกพันธุ์ทุเรียนพื้นบ้านจำนวน 18 สายพันธุ์ โดยมีพันธุ์จากมาเลเซีย และหลงลับแลเป็นพันธุ์เปรียบเทียบ ลงปลูกในแปลงรวบรวมพันธุ์ ณ สถานีวิจัยเทพา จังหวัดสงขลา ทำการเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตจาก 4 ลักษณะได้แก่ ความสูงต้น เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น จำนวนใบและขนาดใบ พบว่าพันธุ์ไอ้หนุนและพันธุ์ไอ้กล้วย ทุเรียนพื้นบ้านจากนครศรีธรรมราชมีการเจริญเติบโตดีกว่าพันธุ์อื่นๆ

คำสำคัญ ทุเรียนพื้นบ้านประเทศไทย ความหลากหลายทางพันธุกรรม เครื่องหมายอาร์เอพีดี เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์

Abstract

Durian (*Durio* spp.) is native in Southeast Asia, sounthern Thailand is an important source for diversity of indigenous durian (*Durio zibelthinus*). At the present, almost all indigenous durian are vulnerable for extinction because of their low prices. Farmers have decided to cultivate just only commercial varieties such as Monthong, Chanee or kanyao etc. Indigenous durians are considered to have potential benefits in reducing risk of some plant diseases and insects with creating deeply extensive root systems. This study aimed to assess the genetic diversity and relatedness of indigenous durian in southern Thailand using morphological characteristics, RAPD and microsatellite markers. In this study, 117 durian's leaf samples were collected from 8 provinces in southern Thailand including Songkhla, Nakhon Sithammarat, Krabi, Phang-nga, Satun, Ranong, Chumporn and Yala. Morphological characteristics of fruit such as fruit weight, shape, thorn shape and aril color were recorded. Genetic variability among samples was detected by 8 primers for RAPD and 6 primer pairs for microsatellite. After genetic analysis of two separated sample sets (67 and 50 samples) were done by RAPD and microsatellite, microsatellite marker was chosen to assess genetic relatedness of combined samples. From 6 microsatellite primer pairs used : MS1CT-7, MS1CT-9, MS1CT-16, MS1CT-27, MS1AAC-2 and MS1AAC-19, a total of 21 alleles with 3.5 alleles/locus were detected. From 21 alleles, 18 alleles or 85.71% were polymorphic and the highest number of alleles was found in MS1AAC-2 (6 alleles). Result from a dendrogram analysis based on microsatellite markers, four clusters could be separated with genetic similarity index ranging from 0.43-1.00. The highest similarity coefficient was found between Kangtang from Phang-ngna and lungphol from Ranong. While the highest distance was recorded on 3 pairs; Pakamin from Phang-ngna and Betong 6 from Yala, Pakamin and Lungphol 4 from Ranong, Langrongkong from Krabi and Namdum from Songkhla. Cluster show no correspondence with their geographical origin. Another set of indigenous durians was separated analysis. Twenty three Indigenous durians from Klongsang, Amphoe Bantakhun Surathani

province were collected for genetic diversity and relatedness analysis by 6 microsatellite primers. Based on their polymorphic alleles, twenty-three clones of indigenous durian can be separated into 3 clusters with similarity coefficient range from 0.37 to 0.95. Sao-nui and Tor-fai, Sao-nui and Ta-krop showed the highest distance among 23 clones, whereas the closest relationship was recorded in two pairs; Pamin and Keaw-sawei, kum-kang and yumthong with similarity coefficient 0.95. Based on results obtained from this study, eighteen clones of indigenous durian were selected and grown in the field at Thepa Research Station Amphoe Thepa, Songkhla province Four parameters such as plant height, trunk diameter, leaf number and leaf size represented growth and development of clones were recorded. Results showed that the great performance based on growth and development was found in I-noon and I-kluwai, indigenous durian clones from Nakorn-Si-Thammarat.

Key words: Thailand indigenous durian, Genetic diversity, RAPD marker, Microsattellite marker

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	a
บทคัดย่อ	b
Abstract	d
สารบัญ	f
สารบัญภาพ	g
สารบัญตาราง	l
บทนำ	1
ตรวจเอกสาร	2
วัตถุประสงค์	12
วิธีการ	13
1. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียนพื้นเมือง	13
2. การเก็บตัวอย่าง	13
3. การสกัดดีเอ็นเอ	14
4. การตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอ	14
5. การวิเคราะห์พันธุกรรมของของทุเรียนพันธุ์พื้นบ้านโดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี	15
6. การวิเคราะห์พันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านโดยใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์	15
7. การวิเคราะห์ข้อมูล	16
8. วัสดุ อุปกรณ์วิจัย	17
ผล	19
วิจารณ์	105
สรุป	110
เอกสารอ้างอิง	112
ภาคผนวก	115
ผลงานตีพิมพ์เผยแพร่	

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 พืชสกุล *Durio* ชนิดที่รับประทานได้ 3
ภาพที่ 2 แสดงลักษณะทางสัณฐานของทุเรียนทั้ง 6 กลุ่ม ตามการจำแนกของ หิรัญ (2551) 8
ภาพที่ 3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียน 21
ภาพที่ 4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียน 23
ภาพที่ 5 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียน 24
ภาพที่ 6 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียน 25
ภาพที่ 7 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียน 27
ภาพที่ 8 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียน 28
ภาพที่ 9 แสดงลักษณะรูปทรงผลทุเรียนแบบต่างๆ 28
ภาพที่ 10 แสดงลักษณะรูปทรงหนามทุเรียนแบบต่างๆ 30
ภาพที่ 11 แสดงลักษณะสีเนื้อผลทุเรียนแบบต่างๆ 31
ภาพที่ 12 แสดงคุณภาพ และปริมาณของดีเอ็นเอ ที่ใช้ในการศึกษา 32
ภาพที่ 13 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียน ทั้ง 5 พื้นที่ด้วยไพรเมอร์ OPA 19 34
ภาพที่ 14 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียน ทั้ง 5 พื้นที่ด้วยไพรเมอร์ OPB-01 34
ภาพที่ 15 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียน ทั้ง 5 พื้นที่ด้วย ไพรเมอร์ OPB-14 34
ภาพที่ 16 แสดงลักษณะแถบไพรเมอร์ ดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียน ทั้ง 5 พื้นที่ด้วยไพรเมอร์ OPC-05 35
ภาพที่ 17 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียน ทั้ง 5 พื้นที่ด้วยไพรเมอร์ OPAM-03 35
ภาพที่ 18 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียน ทั้ง 5 พื้นที่ด้วยไพรเมอร์ OPAM-13 35
ภาพที่ 19 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียน ทั้ง 5 พื้นที่ด้วยไพรเมอร์ OPK-08 36

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพที่ 20 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียนทั้ง 5 พื้นที่ด้วยไพรเมอร์ OPZ-03 36

ภาพที่ 21 เดนโดรแกรม แสดงความสัมพันธ์ของทุเรียน 67 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดีจาก จำนวน 8 ไพรเมอร์ 38

ภาพที่ 22 ลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ของทุเรียน 67ตัวอย่าง ด้วยไพรเมอร์ MS1TC-7 40

ภาพที่ 23 ลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ของทุเรียน 67ตัวอย่าง ด้วยไพรเมอร์ MS1TC-9 40

ภาพที่ 24 ลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ของทุเรียน 67ตัวอย่าง ด้วยไพรเมอร์ MS1TC-16 40

ภาพที่ 25 ลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ของทุเรียน 67 ตัวอย่างด้วยไพรเมอร์ MS1TC-27 41

ภาพที่ 26 ลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ของทุเรียน 67 ตัวอย่างด้วยไพรเมอร์ MS1AAC-2 41

ภาพที่ 27 ลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ของทุเรียน 67 ตัวอย่างด้วยไพรเมอร์ MS1AAC-19 41

ภาพที่ 28 เดนโดรแกรม แสดงความสัมพันธุ์ของทุเรียน 67 ตัวอย่าง ด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ 6 เครื่องหมาย 43

ภาพที่ 29 เดนโดรแกรม แสดงความสัมพันธุ์ของทุเรียน 67 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดีจากจำนวน 8 ไพรเมอร์ ร่วมกับไมโครแซทเทลไลท์ 6 ไพรเมอร์ 45

ภาพที่ 30 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียนพื้นบ้านที่เก็บจากจังหวัดกระบี่ 53

ภาพที่ 31 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียนพื้นบ้านที่เก็บจากจังหวัดพังงา 54

ภาพที่ 32 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียนพื้นบ้านที่เก็บจากจังหวัดสตูล 60

ภาพที่ 33 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียนพื้นบ้านที่เก็บจากจังหวัดสงขลา 62

ภาพที่ 34 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียนพื้นบ้านที่เก็บจากจังหวัดนราธิวาส 64

ภาพที่ 35 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียนพื้นบ้านที่เก็บจากจังหวัดนครศรีธรรมราช 64

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพที่ 36 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียนพื้นบ้านที่เก็บจากจังหวัดชุมพร 66
ภาพที่ 37 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียนพื้นบ้านที่เก็บจากจังหวัดระนอง 68
ภาพที่ 38 แสดงลักษณะรูปทรงผลทุเรียนแบบต่างๆ
ภาพที่ 39 แสดงลักษณะรูปทรงหนามทุเรียนแบบต่างๆ
ภาพที่ 40 แสดงลักษณะสีเนื้อผลทุเรียนต่างๆ
ภาพที่ 41 ลักษณะแถบดีเอ็นเอจากการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ด้วยไพรเมอร์ MS1CT-7 74
ภาพที่ 42 ลักษณะแถบดีเอ็นเอจากการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ด้วยไพรเมอร์ MS1CT-9 74,
ภาพที่ 43 ลักษณะแถบดีเอ็นเอจากการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ด้วยไพรเมอร์ MS1CT-16 75
ภาพที่ 44 ลักษณะแถบดีเอ็นเอจากการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ด้วยไพรเมอร์ MS1CT-27 75
ภาพที่ 45 ลักษณะแถบดีเอ็นเอจากการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ด้วยไพรเมอร์ MS1AAC-2 76
ภาพที่ 46 ลักษณะแถบดีเอ็นเอจากการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ด้วยไพรเมอร์ MS1AAC-19 76
ภาพที่ 47 เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของทุเรียน 50 ตัวอย่าง จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ จำนวน 6 คู่ไพรเมอร์ 77
ภาพที่ 48 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียน ทั้ง 8 พื้นที่ด้วยไพรเมอร์ OPA-19 78
ภาพที่ 49 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียน ทั้ง 8 พื้นที่ ด้วยไพรเมอร์ OPAM-03 78
ภาพที่ 50 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียน ทั้ง 8 พื้นที่ด้วยไพรเมอร์ OPAM-13 79
ภาพที่ 51 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียน ทั้ง 8 พื้นที่ด้วยไพรเมอร์ OPB-01 79
ภาพที่ 52 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียน ทั้ง 8 พื้นที่ ด้วยไพรเมอร์ OPB-14 79
ภาพที่ 53 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียน ทั้ง 8 พื้นที่ด้วยไพรเมอร์ OPC-05 80
ภาพที่ 54 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียน ทั้ง 8 พื้นที่ ด้วยไพรเมอร์ OPK-08 80

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพที่ 55 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียน ทั้ง 8 พื้นที่ด้วยไพรเมอร์ OPZ-03 80

ภาพที่ 56 เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของทุเรียน 50 ตัวอย่าง จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายอาร์เอพีดีจำนวน 8 ไพรเมอร์ 81

ภาพที่ 57 เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของทุเรียน 50 ตัวอย่าง จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายอาร์เอพีดีจำนวน 8 ไพรเมอร์ ร่วมกับเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ จำนวน 6 คู่ไพรเมอร์ 82

ภาพที่ 58 เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ของทุเรียนพื้นบ้าน117 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิคไมโครแซทเทลไลต์จำนวน 6 คู่ไพรเมอร์ 84

ภาพที่ 59 ลักษณะผลทุเรียนตำบลคลองแสง อ. บ้านตาขุน จ.สุราษฎร์ธานี 87

ภาพที่ 60 รูปแบบแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ โดยใช้คู่ไพรเมอร์ MS1CT7 และ MS1CT9 90

ภาพที่ 61 รูปแบบแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ โดยใช้คู่ไพรเมอร์ MS1CT16 และMS1CT27 91

ภาพที่ 62 รูปแบบแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ โดยใช้คู่ไพรเมอร์ MS1AAC2 และMS1AAC19 92

ภาพที่ 63 เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ของทุเรียนพื้นบ้าน 23 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิคไมโครแซทเทลไลต์ 93

ภาพที่ 64 ต้นกล้าทุเรียน ที่เตรียมไว้คัดเลือกพันธุ์ และเป็นต้นกล้าสำหรับใช้เป็นต้นตอ 95

ภาพที่ 65 ต้นกล้าทุเรียนที่คัดเลือกลงปลูกในแปลงระยะเริ่มต้น 95

ภาพที่ 66 ตัวอย่างพันธุ์ทุเรียนที่ปลูกในแปลงทดสอบพันธุ์สถานีวิจัยเทพา อ. เทพา จ. สงขลา 96

ภาพที่ 67 ตัวอย่างพันธุ์ทุเรียนที่ปลูกในแปลงทดสอบพันธุ์สถานีวิจัยเทพา อ. เทพา จ. สงขลา 97

ภาพที่ 68 กราฟแสดงค่าเฉลี่ยความสูงของต้นทุเรียนพื้นบ้านจำนวน 20 พันธุ์ในแปลง สถานีวิจัยเทพา อ. เทพา จ. สงขลา ระหว่างเดือนพฤษภาคม 2559-พฤษภาคม 2560 99

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพที่ 69 กราฟแสดงค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น (มม.) ของต้นทุเรียนพื้นบ้าน จำนวน 20 พันธุ์ในแปลงสถานีวิจัยเทพา อ. เทพา จ. สงขลา ระหว่างเดือนพฤษภาคม 2559-พฤษภาคม 2560 101

ภาพที่ 70 กราฟแสดงค่าเฉลี่ยจำนวนใบของต้นทุเรียนพื้นบ้านจำนวน 20 พันธุ์ในแปลงสถานีวิจัยเทพา อ. เทพา จ. สงขลาระหว่างเดือนพฤษภาคม 2559-พฤษภาคม 2560 103

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 พื้นที่ปลูกทุเรียน และผลผลิตทุเรียนในภาคใต้ ในปี 2556 5
ตารางที่ 2 พื้นที่และผลผลิตทุเรียนของประเทศไทย ปี 2552 – 2556 5
ตารางที่ 3 พื้นที่ปลูกทุเรียน และผลผลิตทุเรียนในแต่ละภาค ปี 2556 6
ตารางที่ 4 แหล่งที่มาของทุเรียนพื้นบ้านชุดที่ 1 แต่ละตัวอย่าง 19
ตารางที่ 5 แสดงชนิดของไพรเมอร์ ลำดับเบส และจำนวนแถบดีเอ็นที่ต่างกัน จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของทุเรียนพื้นบ้าน (*Durio zibethinus* Merr.) จำนวน 67 ตัวอย่าง 33
ตารางที่ 6 แสดงชนิดของไพรเมอร์ และลำดับเบสของเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ ที่ใช้วิเคราะห์พันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้าน (*Durio zibethinus* Merr.) 39
ตารางที่ 7 แสดงตารางเก็บข้อมูลของทุเรียน 67 ตัวอย่าง จาก 5 พื้นที่ 46
ตารางที่ 8 ข้อมูลทางสัณฐานวิทยาของทุเรียนพื้นบ้าน จังหวัดกระบี่ และพังงา 57
ตารางที่ 9 ข้อมูลทางสัณฐานวิทยาของทุเรียนพื้นบ้าน จังหวัดสตูล 61
ตารางที่ 10 ข้อมูลทางสัณฐานวิทยาของทุเรียนพื้นบ้าน จังหวัดสงขลา 63
ตารางที่ 11 ข้อมูลทางสัณฐานวิทยาของทุเรียนพื้นบ้าน จังหวัดนราธิวาส 65
ตารางที่ 12 ข้อมูลทางสัณฐานวิทยาของทุเรียนพื้นบ้าน จังหวัดนครศรีธรรมราช 65
ตารางที่ 13 ข้อมูลทางสัณฐานวิทยาของทุเรียนพื้นบ้าน จังหวัดชุมพร 67
ตารางที่ 14 ข้อมูลทางสัณฐานวิทยาของทุเรียนพื้นบ้าน จังหวัดระนอง 69
ตารางที่ 15 แสดงชนิดของไพรเมอร์ และลำดับเบสของเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ ที่ใช้วิเคราะห์พันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้าน 73
ตารางที่ 16 พื้นที่ที่เก็บตัวอย่างทุเรียนพื้นบ้านคลองแสง อ.บ้านตาขุน จังหวัดสุราษฎร์ธานี 85
ตารางที่ 17 ค่าเฉลี่ยความสูง (ซม.) ของต้นทุเรียนพื้นบ้านจำนวน 20 พันธุ์ในแปลง สถานีวิจัยเทพา อ. เทพา จ. สงขลาระหว่างเดือนพฤษภาคม 2559-พฤษภาคม 2560 98
ตารางที่ 18 ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง (มม.) ของต้นทุเรียนพื้นบ้านจำนวน 20 พันธุ์ ในแปลงสถานีวิจัยเทพา อ. เทพา จ. สงขลาระหว่างเดือน พฤษภาคม 2559-พฤษภาคม 2560 100

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 19 ค่าเฉลี่ยจำนวนใบของต้นทุเรียนพื้นบ้านจำนวน 20 พันธุ์ในแปลง สถานีวิจัยเทพา อ. เทพา จ. สงขลาระหว่างเดือนพฤษภาคม 2559-พฤษภาคม 2560 102

ตารางที่ 20 ค่าเฉลี่ยขนาดใบของต้นทุเรียนพื้นบ้านจำนวน 20 พันธุ์ในแปลง สถานีวิจัยเทพา อ. เทพา จ. สงขลาระหว่างเดือน พฤษภาคม 2559-พฤษภาคม 2560 104

บทนำ

ทุเรียนเป็นผลไม้สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย นอกจากการบริโภคภายในประเทศแล้ว ทุเรียนยังเป็นผลไม้ที่ทำรายได้ให้กับประเทศไทยเป็นจำนวนมากในแต่ละปี ประเทศไทยมีการส่งออกทุเรียนมากเป็นอันดับหนึ่งของโลก โดยประเทศไทยมีการส่งออกทุเรียน เฉลี่ยปีละ 683,410 ตัน มีรายงานว่าพันธุ์ทุเรียนในประเทศไทยมีมากกว่า 200 พันธุ์ แต่พันธุ์ที่ปลูกเป็นการค้า และมีชื่อเสียงที่สุดคือพันธุ์หมอนทอง เนื่องจากรสชาติและคุณภาพผลเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคทั่วไป นอกจากหมอนทองยังมีพันธุ์อื่นๆ ที่เป็นที่นิยมปลูกในปริมาณมากอีกเช่น ชะนี ก้านยาวรวง และกระดุมทอง เป็นต้น (กรมวิชาการเกษตร, 2553) ซึ่งแต่ละพันธุ์มีลักษณะที่ดีแตกต่างกันขึ้นกับความชอบของผู้บริโภค นอกจากนี้บางพันธุ์มีลักษณะพิเศษ เช่น พันธุ์ชะนีเป็นพันธุ์ที่มีความต้านทานโรคที่เกิดจากเชื้อ *phytopthora* เป็นต้น

เดิมพันธุ์ทุเรียนในประเทศไทยมีความหลากหลายมาก แต่ระยะหลังเมื่อมีการค้นพบพันธุ์หมอนทอง จึงทำให้ชาวสวนนิยมปลูกพันธุ์ดังกล่าวมากขึ้น พันธุ์ดั้งเดิมที่เคยปลูกค่อยๆ หายไป และคาดว่าหลายพันธุ์ได้สูญพันธุ์ไปแล้ว ภาคใต้เป็นอีกพื้นที่หนึ่งที่พบความหลากหลายทางพันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านมาก โดยเฉพาะทางภาคใต้ตอนล่าง ที่มีพื้นที่ติดต่อกับประเทศมาเลเซีย เนื่องจากถิ่นกำเนิดดั้งเดิมของทุเรียน และพืชในสกุลเดียวกัน คือแถบประเทศบรูไน มาเลเซีย และอินโดนีเซีย (วิกิพีเดีย, 2554) ซึ่งทุเรียนพื้นบ้านบางพันธุ์มีลักษณะและคุณภาพใกล้เคียงกับพันธุ์การค้า นอกจากนี้ยังมีทุเรียนพื้นบ้านหลายพันธุ์มีลักษณะดีที่น่าจะใช้เป็นแหล่งพันธุกรรม ในการปรับปรุงพันธุ์ทุเรียนในอนาคตได้ เช่น ทนน้ำท่วมขัง ทนทานต่อโรคที่เกิดจากเชื้อ *phytopthora* ที่สามารถใช้เป็นต้นตอทุเรียนพันธุ์ดีได้เป็นอย่างดี แต่ในปัจจุบันความหลากหลายของทุเรียนพื้นบ้านลดลงเนื่องจากชาวสวนนิยมปลูกพืชเศรษฐกิจชนิดอื่น เช่น ปาล์มน้ำมัน ยางพารา แทนที่ทุเรียนพื้นบ้าน เนื่องจากทุเรียนพื้นบ้านมีราคาถูก จึงควรมีการเก็บรวบรวมพันธุ์ทุเรียนพื้นบ้านไว้ทั้งเพื่อเป็นการอนุรักษ์และเพื่อใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์ทุเรียนในอนาคต การเก็บรวบรวมพันธุ์ และการศึกษาความหลากหลายของพันธุ์ แม้จะสามารถอาศัยลักษณะสัณฐานของผล รสชาติ หรือรูปร่างใบ เป็นเกณฑ์การจำแนกกลุ่มพันธุ์ทุเรียนได้ (หิรัญ, 2551) แต่ทุเรียนพื้นบ้าน ซึ่งมีความหลากหลายมากอาจต้องวิธีการอื่นสนับสนุน เนื่องจากกลุ่มทุเรียนพื้นบ้าน มีลักษณะใกล้เคียงกัน เพราะมีการผสมข้ามระหว่างต้นในธรรมชาติ ในปัจจุบันมีการนำเครื่องหมายโมเลกุลมาใช้ในการศึกษาพันธุกรรมพืชและสิ่งมีชีวิตอื่นๆ อย่างแพร่หลาย เนื่องจากเป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพในการศึกษาพันธุกรรมของทุเรียนเช่นกัน เครื่องหมายอาร์เอพีดี (Random Amplified Polymorphic DNA) สามารถวิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรมโดยใช้เทคนิคพีซีอาร์ ที่ไม่จำเป็นต้องทราบข้อมูลเกี่ยวกับลำดับเบสของดีเอ็นเอเป้าหมาย เนื่องจากไพรเมอร์ที่ใช้ไม่จำเพาะเจาะจง

กับดีเอ็นเอบริเวณใด หลักการของเทคนิคนี้คือ ใช้ไพรเมอร์ขนาด 10 นิวคลีโอไทด์เพียงชนิดเดียวเพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบสุ่ม และแยกขนาดดีเอ็นเอที่ได้ โดยการทำอิเล็กโทรโฟรีซิสในอะกาโรสเจล และย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชด้วยเครื่องหมายเอสเอสอาร์หรือไมโครแซทเทลไลท์ ซึ่งเป็นเครื่องหมายที่มีความจำเพาะกับตำแหน่งของดีเอ็นเอ ดังนั้นการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และเครื่องหมายโมเลกุลในการคัดเลือกทุเรียนพื้นบ้านที่มีลักษณะดี เพื่อนำไปเป็นฐานในการพัฒนาเป็นพันธุ์การค้าในอนาคต จึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง

ตรวจเอกสาร

ทุเรียนอยู่ในวงศ์ Bombacaceae เป็นพืชในสกุล *Durio* มีทั้งหมด 27 ชนิด แต่มีเพียงชนิดเดียวที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ คือ *Durio zibethinus* Murr. และมีการปลูกเชิงการค้าอย่างแพร่หลาย ในปี 2557 ประเทศไทยผลิตทุเรียนได้ 631,904 ตัน ส่งออก 365,950 ตันคิดเป็นร้อยละ 57.91 ของผลผลิตทั้งประเทศ มูลค่าการส่งออกรวม 12,830.5 ล้านบาท การส่งออกทุเรียนจำแนกตามประเภททุเรียน พบว่า เป็นทุเรียนสด 351,118 ตัน (มูลค่า 11,858.9 ล้านบาท) ทุเรียนแช่แข็ง 14,386 ตัน (มูลค่า 815.7 ล้านบาท) ทุเรียนแห้ง 214 ตัน (มูลค่า 126.8 ล้านบาท) และทุเรียนกวน 232 ตัน (มูลค่า 28.9 ล้านบาท) โดยมีประเทศคู่ค้าดังนี้ ทุเรียนสด : จีน ฮ่องกง ไต้หวัน ทุเรียนแช่แข็ง : สหรัฐอเมริกา จีน ออสเตรเลีย ทุเรียนกวน : รัสเซีย ฮ่องกง มาเลเซีย ทุเรียนอบแห้ง: จีน ฮ่องกง มาเลเซีย ทุเรียนเติบโตได้ดีในแถบภูมิอากาศร้อนเช่นเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ซึ่งเป็นแหล่งผลิตสำคัญของทุเรียน (คมชัดลึก, 2559) แหล่งผลิต 5 อันดับแรกของไทยอยู่ที่ จังหวัดจันทบุรี ชุมพร ระยอง ยะลา และนครศรีธรรมราช ตามลำดับ (ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี, 2559)

เกาะบอร์เนียวของประเทศอินโดนิเซีย จัดเป็นศูนย์กลางความหลากหลายของพืชสกุล *Durio* โดย Kostermans (1992) และ Zeven and Zhukovsky (1975) อ้างโดย ทรงพล (2551) ได้รายงานว่ามีพืชสกุล *Durio* แพร่กระจายอยู่ในบริเวณเกาะบอร์เนียว 19 ชนิด, ในซาบาห์ 14 ชนิด ในซาราวัค 16 ชนิด, เกาะสุมาตรา 7 ชนิด และมาเลเซีย 11 ชนิด โดยมี 5 ชนิดที่เป็นพืชท้องถิ่น และมีพืชสกุล *Durio* อย่างน้อย 6 ชนิดที่รับประทานได้ ได้แก่ ทุเรียนป่า (*D. dulcis* Becc.) ทุเรียนรากขา (*D. kutigensis* Becc.) ทุเรียนขั้วติด (*D. graviolens* Becc.), ทุเรียนขนยาว (*D. oxleyanus* Griff) ทุเรียนเต่า (*D. kutigensis* Becc.) และ ทุเรียนบ้าน (*D. zibethinus Murr.*) (ภาพที่ 1) ส่วนพืชสกุลทุเรียนที่รับประทานไม่ได้นั้นเนื่องจากไม่มีเนื้อ หรือมีเนื้อหุ้มเมล็ดเพียงเล็กน้อย ต่อมาทุเรียนได้มีการแพร่กระจายไปสู่ประเทศต่าง ๆ ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ได้แก่ อินโดนีเซีย บรูไนดารุสซาลาม ฟิลิปปินส์ มาเลเซีย และประเทศไทย นอกจากนี้ก็มีปลูกในประเทศแถบแอฟริกา อเมริกากลาง หมู่เกาะอินดีสตะวันตก และหมู่เกาะใน

มหาสมุทรแปซิฟิก ทุเรียนเป็นไม้ผลที่มีขนาดผลใหญ่ มีหนามแหลม รสชาติหวานมัน ได้ชื่อว่าเป็นราชาของผลไม้ มีราคาแพง เนื่องจากทุเรียนเป็นผลไม้ที่ได้รับความนิยม มีตลาดทั้งภายในประเทศ และต่างประเทศ ทำให้ในปัจจุบันทุเรียนเป็นไม้ผลที่ได้รับความนิยมของคนทั่วโลก

ภาพที่ 1 พืชสกุล *Durio* ชนิดที่รับประทานได้ (ก) ทุเรียนป่า *D. dulcis* Becc. (ข) ทุเรียนรากขา *D. kutigensis* Becc. (ค) ทุเรียนขั้วติด *D. graviolens* Becc. (ง) ทุเรียนขนยาว *D. oxleyanus* Griff. (จ) ทุเรียนเต่า *D. kutigensis* Becc. และ (ฉ) ทุเรียนบ้าน *D. zibethinus Murr.*

สำหรับในประเทศไทย เต็ม (2523) รายงานว่าพบทุเรียน 6 ชนิด ที่พบได้แก่

- ทุเรียนนก (*D. griffihii* Bakh.)
- ทุเรียนนก (*D. lowianus* Scoff. Ex King.)
- ทุเรียนดอน (*D. naleccensis* Planch.)
- ทุเรียนชาเรียน (*D. mansoni* Bakh.)
- ทุเรียนป่า (*D. pinagianus* Ridl.)
- ทุเรียนบ้าน (*D. zibethinus* Murr.)

1. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของทุเรียน

ลักษณะต้น ทุเรียนเป็นไม้ยืนต้นขนาดใหญ่ สามารถมีอายุได้ถึง 80-150 ปี ต้นที่โตเต็มที่สามารถมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นได้ 50-120 เซนติเมตร เปลือกลำต้นมีสีน้ำตาลเข้ม หยาบ มีรอยแตกตามยาวของลำต้น ไม้เนื้ออ่อน กิ่งก้านแตกแขนงจากลำต้นหลักได้ทุกทิศทาง

ลักษณะใบ เป็นใบเดี่ยว เรียงตัวแบบสลับ ความยาวใบ 15-20 เซนติเมตร ใบอ่อนจะพับติดกันและคลี่ออกเมื่อแก่ ผิวใบสีเขียวเข้ม เรียบเป็นมัน ใต้ใบเป็นเกล็ดเล็กๆสีน้ำตาล

ลักษณะดอก ดอกออกเป็นช่อตามกิ่งหรือลำต้น เป็นดอกแบบสมบูรณ์เพศ ดอกจะบานช่วงใกล้ค่ำ โดยเกสรตัวเมียจะพร้อมผสมก่อน (16.00-16.45 น.) ส่วนเกสรตัวผู้จะปล่อยละอองเกสรในช่วงที่มืดแล้ว (17.45-19.00 น.)

ลักษณะผล ทุเรียนเป็นผลไม้ที่มีเนื้อหุ้มเมล็ดแบบ aril เปลือกผลมีหนาม โดยทั่วไปแต่ละผลจะมี 5 พู เนื้อหุ้มเมล็ดมีรสหวาน และมีกลิ่นเฉพาะตัว

ลักษณะเมล็ด เมล็ดมีรูปทรงยาวรี มีสีแตกต่างกันในแต่ละพันธุ์ เนื้อในเมล็ดสีขาวนวล และมีเมือก

2. พื้นที่ปลูกทุเรียนในประเทศไทย

มีการวิเคราะห์สำรวจพื้นที่ปลูกทุเรียนในปี 2556 จากภาพถ่ายดาวเทียมร่วมกับการสำรวจภาคสนามทั่วประเทศ พบว่ามีการปลูกทุเรียนทั่วทุกภาคของประเทศ ภาคที่มีการปลูกมากที่สุด คือ ภาคใต้ มีเนื้อที่ยืนต้น 321,429 ไร่ (ตารางที่ 1) รองลงมาคือ ภาคกลาง (รวมจันทบุรี) มีเนื้อที่ยืนต้น 289,060 ไร่ ภาคเหนือ มีเนื้อที่ยืนต้น 28,717 ไร่ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มีเนื้อที่ยืนต้น 2,042 ไร่ เมื่อพิจารณาผลผลิตทุเรียน พบว่า ภาคกลาง (รวมจันทบุรี) มีผลผลิตมากที่สุด คือ 329,104 ตัน รองลงมาคือ ภาคใต้ 223,050 ตัน ภาคเหนือ 15,924 ตัน และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 1,593 ตัน แหล่งผลิต 5 อันดับแรกของไทยอยู่ที่ จังหวัดจันทบุรี ชุมพร ระยอง ยะลา และนครศรีธรรมราช ตามลำดับ จังหวัดจันทบุรีเป็นพื้นที่ที่มีเนื้อที่ยืนต้น และผลผลิตทุเรียนมากที่สุดในประเทศ (เนื้อที่ยืนต้น 185,628 ไร่ ผลผลิต 223,889 ตัน) พื้นที่ปลูก และผลผลิตทุเรียนในประเทศไทยตั้งแต่ปี 2552-2556 ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 1 พื้นที่ปลูกทุเรียน และผลผลิตทุเรียนในภาคใต้ ในปี พ.ศ. 2556

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

ที่มา : ดัดแปลงจาก สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2557ข)

ตารางที่ 2 พื้นที่และผลผลิตทุเรียนของประเทศไทย ปี 2552 - 2556

ปี	พื้นที่ยืนต้น (ไร่)	พื้นที่ให้ผล (ไร่)	ผลผลิต (ตัน)	ผลผลิตต่อไร่ (กิโลกรัม)
2552	680,927	628,244	661,665	1,053
2553	662,070	611,206	568,067	929
2554	659,042	604,417	509,381	843
2555	637,737	581,554	524,387	902
2556	641,248	572,454	562,713	983

ที่มา : สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2557ก)

ในปัจจุบันมีการขยายพื้นที่ปลูกทุเรียนไปทั่วทุกภูมิภาคของประเทศไทย แต่ในภาพรวมของประเทศ การปลูกทุเรียนมีกันมากในพื้นที่ภาคใต้ และภาคตะวันออก (ตารางที่ 3) โดยในอดีตชาวสวนมักนิยมปลูกทุเรียนด้วยเมล็ด ทำให้เกิดความแปรปรวนของลักษณะสัณฐานวิทยา ซึ่งเป็นผลมาจากมีความหลากหลายทางพันธุกรรมของทุเรียนที่ผสมข้ามกัน แต่ปัจจุบันการขยายพันธุ์ใช้วิธีการเสียบยอดกับกิ่งตาพันธุ์ดีที่มีความต้องการทางตลาดสูง ทำให้ความแปรปรวนทางพันธุกรรมของทุเรียนลดลง แต่ในสวนทุเรียนเก่านั้นยังคงมีต้นทุเรียนที่เป็นพันธุ์พื้นบ้านอยู่หลายชนิด และหลายพันธุ์มีลักษณะดีที่น่าจะนำมาใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ หรืออาจจะพัฒนาเป็นพันธุ์การค้าได้หากมีการศึกษาต่อยอด ทุเรียนพื้นบ้านในภาคใต้ยังคงพบกระจัดกระจายอยู่ในเกือบทุกจังหวัด แต่ในปัจจุบันมีแนวโน้มลดลง เนื่องจากชาวบ้านหันไปปลูกทุเรียนพันธุ์ดี เช่น หมอนทอง ก้านยาว ชะนี เนื่องจากให้ราคาดีกว่า ในอนาคตทุเรียนพื้นบ้านภาคใต้อาจจะสูญพันธุ์ได้ ดังนั้นการเก็บรักษาพันธุ์ทุเรียนพื้นบ้านที่มีลักษณะดี ทั้งรสชาติ และคุณสมบัติอื่นๆ จึงเป็นสิ่งจำเป็น

ตารางที่ 3 พื้นที่ปลูกทุเรียน และผลผลิตทุเรียนในแต่ละภาค ปี พ.ศ. 2556

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

ที่มา : ดัดแปลงจาก สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2557ข)

3. การจำแนกพันธุ์ทุเรียน

3.1 การจำแนกโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐาน

หิรัญ (2551) กล่าวถึงการจำแนกพันธุ์ทุเรียนในประเทศไทย สามารถจำแนกได้เป็น 6 กลุ่ม ตามลักษณะรูปร่างใบ ปลายใบ ฐานใบ ทรงผล และรูปร่างของหนามผล ซึ่งเป็นลักษณะที่ค่อนข้างคงที่ ไม่แปรปรวนไปตามสภาพแวดล้อม และเป็นเกณฑ์การจำแนกกลุ่มพันธุ์ทุเรียนอย่างเป็นระบบ สามารถใช้อ้างอิงในเชิงพฤกษศาสตร์ให้เป็นแนวทางเดียวกันได้ ดังนี้

1. กลุ่มกบ มีลักษณะสำคัญ คือ ใบมีรูปทรงขอบขนาน ปลายใบแหลมโค้ง ฐานใบกลมมนทรงผลกลมแป้นถึงกลมรี และรูปร่างหนามโค้งงอ จำแนกพันธุ์ได้ 46 พันธุ์ เช่น กบตาขำ กบทองคำ กบแม่เฒ่า กบก้านเหลือง

2. กลุ่มลวง มีลักษณะสำคัญ คือ ใบมีรูปทรงป้อมกลางใบ ปลายใบเรียวแหลม ฐานใบแหลม หรือมน ทรงผลทรงกระบอก หรือรูปรี หนามเว้า จำแนกพันธุ์ได้ 12 พันธุ์ เช่น ลวงทอง ชะนี ย่ำมะหวด ชมพูศรี

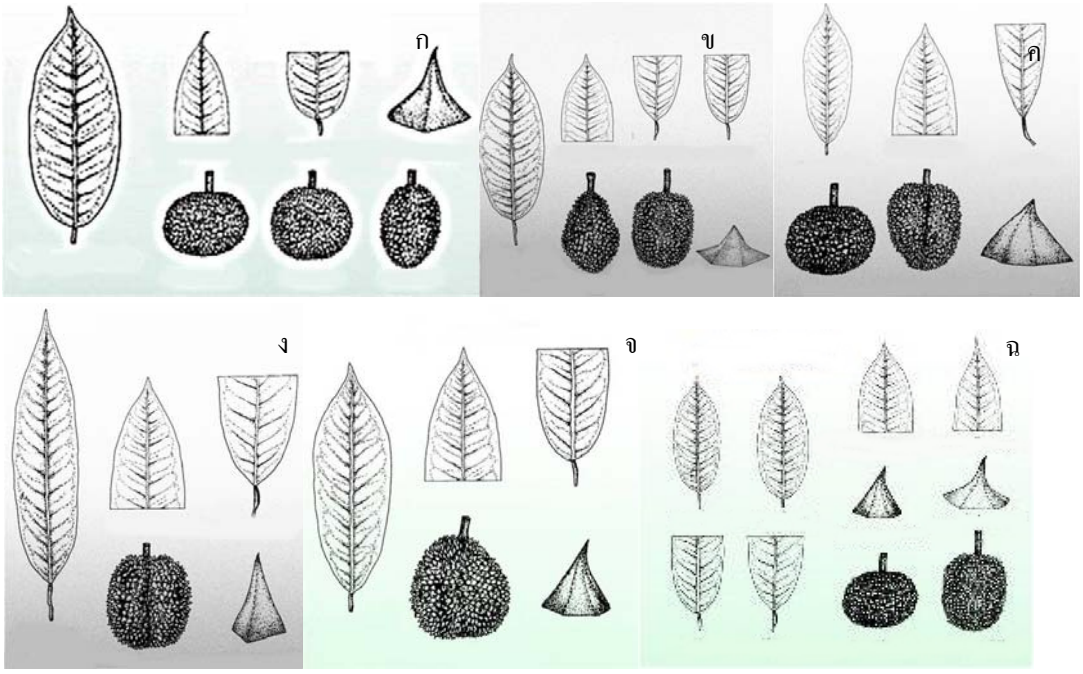
3. กลุ่มก้านยาว มีลักษณะสำคัญ คือ ใบมีรูปทรงป้อมปลายใบ ปลายใบเรียวแหลม ฐานใบเรียว ทรงผลรูปไข่กลับ หรือกลม หนามนูน จำแนกพันธุ์ได้ 8 พันธุ์ เช่น ก้านยาว ก้านยาววัดสัก

4. กลุ่มกำปั่น มีลักษณะสำคัญ คือ รูปทรงใบยาวรี ปลายใบเรียวแหลม ฐานใบแหลมตรงทรงผลทรงขอบขนาน หนามแหลมตรง จำแนกพันธุ์ได้ 13 พันธุ์ เช่น กำปั่นเหลือง กำปั่นแดง ปิ่นทอง หมอนทอง

5. กลุ่มทองย้อย มีลักษณะสำคัญ คือ ใบรูปทรงป้อมปลายใบ ปลายใบเรียวแหลม ฐานใบมน ทรงผลรูปไข่ หนามนูนปลายแหลม จำแนกพันธุ์ได้ 14 พันธุ์ เช่น ทองย้อยเดิม ทองย้อยฉัตร ทองใหม่

6. กลุ่มเบ็ดเตล็ด เป็นทุเรียนที่จำแนกลักษณะพันธุ์ได้ไม่แน่ชัด บางลักษณะอาจเป็นเหมือนกับกลุ่มใดกลุ่มหนึ่ง ขณะเดียวกันก็มีลักษณะที่ผันแปรออกไป มีอยู่ถึง 81 พันธุ์ เช่น กระเทยเนื้อขาว กระดุมทอง บางขุนนนท์ อีลีบ พวงมณี หลงลับแล

สำหรับพันธุ์ที่นิยมปลูกกันมาก และเป็นพันธุ์การค้ามี 4 พันธุ์ คือ หมอนทอง ชะนี ก้านยาว และกระดุม



ภาพที่ 2 แสดงลักษณะทางสัณฐานของทุเรียนทั้ง 6 กลุ่ม ตามการจำแนกของ หิรัญ (2551) โดย (ก) กลุ่มกบ, (ข) ลวง, (ค) ก้านยาว, (ง) กำปั่น, (จ) ทองย้อย และ (ฉ) เบ็ดเตล็ด

ที่มา: หิรัญ (2551)

ทรงพล ละคณะ (2549) ได้แสดงลักษณะทางสัณฐาน และลักษณะทางการเกษตรที่ใช้เป็นข้อมูลในการคัดเลือกพันธุ์ทุเรียนลูกผสมไว้ดังนี้

1. น้ำหนักผล
2. ความยาว และเส้นผ่านศูนย์กลาง
3. ความยาว และเส้นผ่าศูนย์กลางก้านผล
4. รูปทรงผล
   - กลม
   - กลมแป้น
   - กลมรี
   - รูปรี
   - รูปไข่
   - รูปไข่กลับ

- รูปขอบขนาน
- ทรงกระบอก

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

- เลว
- ปานกลาง
- ดี

17. อายุการเก็บเกี่ยว
18. เปอร์เซ็นต์การติดผล
19. ผลผลิตต่อต้น

2.2 การจำแนกพันธุ์โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล

การใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการศึกษาพันธุกรรมพืช เป็นการศึกษาระดับดีเอ็นเอเพื่อใช้เป็นเครื่องมือในการจำแนกสายพันธุ์พืช และนำมาใช้ในการทำแผนที่พันธุกรรม (Lespinasse *et al*., 2000) เนื่องจากลักษณะที่สังเกตได้จากภายนอกไม่สามารถบอกได้แน่ชัดว่าพืชชนิดนั้นๆเกิดความแปรปรวน หรือมีความหลากหลายทางพันธุกรรมมากน้อยเพียงใด การใช้เครื่องหมายโมเลกุลนั้นมีความแม่นยำสูง สะดวก รวดเร็ว คัดเลือกได้หลายลักษณะ สามารถทำได้ทุกระยะการเจริญเติบโตของพืช โดยไม่ทำลายต้นพืช (กัลยา และกรรณิการ์, 2544) เครื่องหมายทางโมเลกุลมี 2 ระดับ ระดับโปรตีน เป็นการตรวจสอบที่โมเลกุลของโปรตีนชนิดต่างๆ และระดับดีเอ็นเอ เป็นการตรวจสอบความแตกต่างของนิวคลีโอไทด์ในโมเลกุลดีเอ็นเอ ซึ่งการตรวจสอบในระดับดีเอ็นเอนี้มีข้อดี คือ โมเลกุลของดีเอ็นเอมีความเสถียร เก็บไว้ได้นาน และดีเอ็นเอเป็นองค์ประกอบที่มีอยู่ในเซลล์เกือบทุกเซลล์ สามารถตรวจสอบได้จากเนื้อเยื่อต่างๆ ในหลายระยะการเจริญเติบโต เครื่องหมายโมเลกุลที่นิยมใช้ในพืชมีหลายชนิด เช่น เอเอฟแอลพี (AFLP : Amplification Fragment Length Polymorphism) อาร์เอพีดี (RAPD : Random Amplified Polymorphic DNA) ไมโครแซทเทลไลท์ (Microsatellite) (Bindu and Fahsa, 2004) เป็นต้น

2.3 เครื่องหมายโมเลกุลอาร์เอพีดี

อาร์เอพีดี (Random Amplified Polymorphic DNA) เป็นวิธีวิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรมโดยใช้เทคนิคพีซีอาร์ ซึ่งไม่จำเป็นต้องทราบข้อมูลเกี่ยวกับลำดับเบสของดีเอ็นเอเป้าหมาย เนื่องจากไพรเมอร์ที่ใช้ไม่จำเพาะเจาะจงกับดีเอ็นเอบริเวณใด หลักการของเทคนิคนี้คือใช้ไพรเมอร์ที่มีขนาดสั้นเพียงชนิดเดียวเพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบสุ่ม โดยใช้ไพรเมอร์ขนาด 10 นิวคลีโอไทด์เพียงชนิดเดียวเพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ และแยกขนาดดีเอ็นเอที่ได้ โดยการทำอิเล็กโทรโฟรีซิสในอะกาโรสเจล และย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ (สุรินทร์, 2545) มีการนำเครื่องหมายอาร์เอพีดีมาใช้ประโยชน์ในการศึกษาและวิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรมและจำแนกพันธุ์ทุเรียน เช่น การ

แยกหาลำดับเบสของแถบ polymorphic ในทุเรียน (ภาวิณี, 2548) การวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอร่วมกับองค์ประกอบพอลีแซคคาร์ไรด์ในทุเรียนต่างสายพันธุ์ (อรอนงค์, 2549) การปรับปรุงพันธุ์ทุเรียนเพื่อผลิตพันธุ์ลูกผสมต้นฤดูที่มีคุณภาพดีและจำแนกชนิด พันธุ์ สายพันธุ์ ลูกผสมดีเด่นด้วยเทคนิคด้านชีวโมเลกุล (ทรงพล และคณะ., 2549) สำหรับทุเรียนพื้นบ้านหรือทุเรียนท้องถิ่นนั้น Ruwaida และคณะ (2009) ได้วิเคราะห์ความแปรปรวนของทุเรียนชูกันซึ่งเป็นทุเรียนพันธุ์หนึ่งของอินโดนีเซียด้วยเทคนิค RAPD โดยนำมาเปรียบเทียบลักษณะทางพันธุกรรมกับทุเรียนพันธุ์อื่นๆ เช่น ปีทรัก ชูนัน กานี และหมอนทอง แล้วทำการทดสอบด้วยไพรเมอร์ชนิด 10 เบส จำนวน 20 ไพรเมอร์ คัดเลือกไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอชัดเจน และแสดงความแตกต่างกันระหว่างพันธุ์ได้จำนวน 6 ไพรเมอร์ คือ 0PA-01, OPA-02, OPA-07, OPA-16, OPA-18 และ OPA-19 สามารถแสดงความหลากหลายของทุเรียนทั้ง 5 พันธุ์ เนื่องจากทุเรียนพันธุ์ดังกล่าวเจริญเติบโตในพื้นที่ต่างกัน ส่วนในประเทศไทย โองการและศรีสมร (2554) ได้ทำการจำแนกทุเรียนสายพันธุ์ท้องถิ่นในจังหวัดนนทบุรีโดยเทคนิคอาร์เอพีดี โดยทดสอบด้วยไพรเมอร์ขนาด 10 เบส จำนวน 9 ไพรเมอร์ คือ OPAM-03, OPAM-18, OPB-01, OPB-14, OPC-01,OPC-05, OPK-05 และ OPZ-03 จากไพรเมอร์ดังกล่าวพบแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันจำนวน 30 แถบ และสามารถแบ่งกลุ่มทุเรียนที่ศึกษาได้เป็น 2 กลุ่ม

2.4 เครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลท์

ไมโครแซทเทลไลท์ หรือ SSR (Simple Sequence Repeat) เป็นลำดับเบสที่มีลักษณะซ้ำกันเรียงกันอย่างต่อเนื่องที่ตำแหน่งหนึ่งๆ ในจีโนม แต่ละชุดประกอบด้วยลำดับเบสซ้ำสั้นๆ เพียง 1-6 คู่เบส หรือไม่เกิน 10 คู่เบส พบในสิ่งมีชีวิตทุกชนิด ลำดับเบสแบบไมโครแซทเทลไลท์นี้มีการกระจายตัวอยู่ทั้งจีโนม แต่การกระจายตัวไม่สม่ำเสมอ หน้าที่ของไมโครแซทเทลไลท์ยังไม่ทราบแน่ชัด มีบางส่วนที่เป็นส่วนอนุรักษ์ โดยพบอยู่ที่ตำแหน่งเดียวกันในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด บางส่วนทำหน้าที่ได้เนื่องจากอยู่ในส่วนนำรหัสของยีน ความแตกต่างหรือพอลิมอร์ฟิซึม ที่เกิดจากเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ คือความแตกต่างของขนาดดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ เนื่องจากจำนวนชุดซ้ำที่ตำแหน่งเดียวกันในแต่ละตัวอย่างมีไม่เท่ากัน ขนาดของดีเอ็นเอที่แตกต่างกันอาจมีเพียง 1 ชุดซ้ำ ปัจจุบันมีการใช้ไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอกันมากในการศึกษาแผนที่ของจีโนม และแยกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิต การตรวจสอบไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอทำได้หลายวิธี เช่น การทำ Southern Blot Hybridization แต่ปัจจุบันนิยมตรวจสอบไมโครแซทเทลไลท์ชนิดใดชนิดหนึ่งที่ตำแหน่งจำเพาะครั้งละ 1 ตำแหน่ง โดยใช้เทคนิคพีซีอาร์ จึงต้องใช้ไพรเมอร์ 2 ชนิดที่มีลำเบสที่เป็นคู่สมกันกับลำดับเบสที่อยู่ขนาบข้างของไมโครแซทเทลไลท์ที่ตำแหน่งดังกล่าว เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์สามารถนำไปใช้ได้ง่าย เนื่องจากเป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใช้การเพิ่มปริมาณโดยวิธีพีซีอาร์ จึงต้องการดีเอ็นเอตัวอย่างในปริมาณน้อย ไม่จำเป็นต้องใช้ดีเอ็นเอที่

มีคุณภาพมากนัก ทั้งผลการตรวจสอบยังมีความแม่นยำ มีพอลิมอร์ฟิซึมสูง เนื่องจากเกิดการเปลี่ยนแปลงจำนวนชุดซ้ำได้ง่าย เหมาะสำหรับใช้ในการทำแผนที่จีโนม ตรวจสอบเอกลักษณ์ของสิ่งมีชีวิต ตรวจสอบความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในด้านต่างๆ อีกมากมาย (สุรินทร์, 2552) สำหรับในทุเรียน หน่วยปฏิบัติการชีวโมเลกุล โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (2552) ได้ทำการพัฒนาไพรเมอร์ของเครื่องหมายชนิดไมโครแซทเทลไลท์ในทุเรียน เพื่อการจัดจำแนกทุเรียนจำนวน 135 สายพันธุ์ พบว่าไพรเมอร์ MS1AAC-19 สามารถใช้จำแนกพันธุ์ทุเรียนได้ดีที่สุด และสรุปว่าทุเรียนมีความหลากหลายทางพันธุกรรมค่อนข้างสูง

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษา และเปรียบเทียบความแตกต่างของทุเรียนพื้นบ้านในภาคใต้โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานและใช้เครื่องหมายโมเลกุล
2. เพื่อเก็บรวบรวมทุเรียนพันธุ์พื้นบ้านที่มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นพันธุ์การค้าทั้งระดับท้องถิ่นและระดับประเทศในอนาคต

วิธีการ

วิธีการดำเนินการ

1. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียนพื้นเมือง

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานของทุเรียนพื้นเมืองในเขตจังหวัดทางภาคใต้ของประเทศไทย คือ สงขลา ยะลา ชุมพร ระนอง สตูล นราธิวาส นครศรีธรรมราช กระบี่ และพังงา รวม 9 จังหวัดทำโดยการบันทึกรายละเอียดและบันทึกภาพของลักษณะสำคัญของส่วนต่างๆ ของผลทุเรียนที่ทำการเก็บตัวอย่าง ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่บันทึก คือ

- รูปทรงผล สีผล
- น้ำหนักผล
- ความกว้าง ยาวของผล
- ลักษณะหนาม
- ความหนาเปลือก
- ลักษณะเนื้อผล สีเนื้อผล
- กลิ่น
- รสชาติ
- คุณภาพในการบริโภค
- ลักษณะพิเศษอื่นๆ

2. การเก็บตัวอย่าง

ข้อมูลชุดที่ 1 สุ่มเก็บตัวอย่างใบและเปลือกต้นจากต้นทุเรียนจากแหล่งปลูกต่างๆ ในพื้นที่ภาคใต้ ได้แก่ สงขลา ยะลา นครศรีธรรมราช กระบี่ และพังงา จำนวน 67 ตัวอย่าง (สายพันธุ์)

ข้อมูลชุดที่ 2 สุ่มเก็บตัวอย่างใบและเปลือกต้นจากต้นทุเรียนพื้นบ้านเพิ่มเติมจากพื้นที่ 8 จังหวัด ได้แก่ สงขลา ยะลา นครศรีธรรมราช กระบี่ พังงา สตูล ระนอง ชุมพร จำนวน 50 ตัวอย่าง (สายพันธุ์)

ข้อมูลชุดที่ 3 สุ่มเก็บตัวอย่างใบและเปลือกต้นจากต้นทุเรียนพื้นบ้านคลองแสง อ. บ้านตาขุน จ.สุราษฎร์ธานี จำนวน 23 ตัวอย่าง (สายพันธุ์)

โดยเก็บตัวอย่างใบ หรือเปลือกต้น (ในกรณีที่ต้นสูงมาก ไม่สามารถเก็บใบได้) เก็บใส่ถุงพลาสติกแล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาสกัดดีเอ็นเอ

3. การสกัดดีเอ็นเอ

สกัดดีเอ็นเอจากใบและเปลือกต้นทุเรียนที่สุ่มเก็บ โดยใช้สารละลาย CTAB (Hexadecyl Trimethyl Ammonium Bromind) โดยใช้ตัวอย่าง 200 มิลลิกรัมน้ำหนักสดมาล้างทำความสะอาด ซับให้แห้ง บดใน Extraction Buffer (100 mM Tris, 1.4 M NaC1, 20 mM EDTA, pH 8.0, 2%CTAB, 2% β- mercantoethanol) ปริมาตร 700 ไมโครลิตร ร่วมกับ PVP 50 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักพืช 0.5 กรัม ในโกร่งให้ละเอียด จากนั้นใส่ในหลอดไมโครเซ็นติฟิวจ์ เขย่าให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที กลับหลอดไปมาทุก 10 นาที วางให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เติมคลอโรฟอร์ม 800 ไมโครลิตร กลับหลอดไปมาเบาๆ ปั่นเหวี่ยงใช้ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที จะได้สารละลายที่แยกชั้นใส ดูดสารละลายส่วนใสใส่หลอดไมโครเซ็นติฟิวจ์หลอดใหม่ เติมคลอโรฟอร์ม : ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ (24:1) 800 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ปั่นเหวี่ยงใช้ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ดูดสารละลายส่วนใสใส่หลอดใหม่ เติม 5 โมลาร์ โซเดียมคลอไรด์ ครึ่งหนึ่งของปริมาตรสารละลายที่ได้ และเติม เอทานอล 95% ปริมาตร 750 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปแช่ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เทสารละลายทิ้ง และล้างตะกอนด้วย เอทานอล 70% ผึ่งตะกอนให้แห้ง หลังจากนั้นละลายตะกอนด้วย TE buffer แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ข้ามคืนเพื่อให้ตะกอนดีเอ็นเอละลายดี จากนั้นนำดีเอ็นเอที่ละลายดีแล้วมาตกตะกอนด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ ที่แช่เย็นจัดในปริมาตร 2 เท่าของสารละลายดีเอ็นเอ ผสมกับ โซเดียมอะซิเตรต 3 โมลาร์ ในปริมตร 1/10 ของสารละลาย กลับหลอดไปมาเพื่อตกตะกอนดีเอ็นเอ หากไม่เห็นตะกอนดีเอ็นเอให้นำไปแช่ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส 1-2 ชั่วโมง หรือข้ามคืน นำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้งที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที เทส่วนใสทิ้ง ล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วยเอธานอล ความเข้มข้น 70% ที่แช่เย็น 3 ครั้ง ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย TE buffer 70 ไมโครลิตร [Tris-HCl (pH 7.5) 10 มิลลิโมลาร์ และ Na_2EDTA (pH 7.0) 1 มิลลิโมลาร์] ที่อุณหภูมิห้อง เก็บรักษาดีเอ็นเอที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้

4. การตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอ

ตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้ด้วยการเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน (แลมดาดีเอ็นเอ) โดยการทำอิเล็กโตรโฟรีซิสบนอะกาโรสเจล (LE Agarose, Promega, USA) เข้มข้น 0.75% แรงเคลื่อนไฟฟ้า 100 โวลต์ ในสารละลาย TAE buffer (Tris Base, Glacial Acetic Acid, EDTA 0.5 โมลาร์ pH 8.0) เป็นเวลา 20 นาที ย้อมแถบดีเอ็นเอที่ได้ด้วย เอธิเดียมโบรไมด์ แล้วนำไปตรวจสอบภายใต้แสงอัลตร้าไวโอเลต 260 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Gel Documentation

5. การวิเคราะห์พันธุกรรมของของทุเรียนพันธุ์พื้นบ้านโดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี

ทำการทดสอบไพรเมอร์ขนาด 10 เบส โดยการสุ่มจากไพรเมอร์ที่มีอยู่แล้ว และจากไพรเมอร์ที่มีผู้ศึกษามาก่อน ประกอบด้วยไพรเมอร์ 10 ชนิด ซึ่งไพรเมอร์ที่มีผู้ศึกษามาก่อน คือ OPA-01, OPA-02, OPA-07, OPA-16, OPA-18, และOPA-19 (Ruwaida *et al*., 2009) นอกจากนั้นจะทำการคัดเลือกไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบสุ่มได้ด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์เพิ่มเติมอีกจำนวนหนึ่ง เพื่อประสิทธิภาพในการจำแนกความแตกต่างระหว่างกลุ่มประชากร โดยปฏิกิริยาพีซีอาร์ที่ใช้คือ

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

หลังจากทำพีซีอาร์นำสารละลายดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณแล้ว จำนวน 10 ไมโครลิตร มาตรวจสอบขนาดชิ้นดีเอ็นเอ ด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิสบนแผ่นวุ้น LE agarose ที่ความเข้มข้น 1.8% ละลายใน TBE Buffer (Tris Base, Boric acid, Na_2EDTA 0.5 โมลาร์; pH 8.0) ใช้แรงเคลื่อนไฟฟ้า 100 โวลต์ 60 นาที ย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยเอธิเดียมโบรไมด์เข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 20 นาที ล้างน้ำ 10 นาที ตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอัลตร้าไวโอเลต 260 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง gel documentation คัดเลือกไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณและให้แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่าง (Polymorphism) ระหว่างตัวแทนประชากรแต่ละกลุ่ม

6. การวิเคราะห์พันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านโดยใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์

6.1 การคัดเลือกไพรเมอร์

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

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

หลังจากนั้นนำสารละลายดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณแล้ว จำนวน 10 ไมโครลิตร มาตรวจสอบขนาดชิ้นของดีเอ็นเอ ด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิสบนแผ่นวุ้น LE agarose ที่ความเข้มข้น 3% ละลายใน TBE Buffer (Tris Base, Boric acid, Na_2EDTA 0.5 โมลาร์; pH 8.0) ใช้แรงเคลื่อนไฟฟ้า 100 โวลต์ 65 นาที ย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยเอธิเดียมโบรไมด์เข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 20 นาที ล้างน้ำ 10 นาที ตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอัลตร้าไวโอเลต 260 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง gel documentation คัดเลือกไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณและให้แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่าง (polymorphism) ระหว่างตัวแทนประชากรแต่ละกลุ่ม

7. การวิเคราะห์ข้อมูล

นำไพรเมอร์ที่คัดเลือกได้ มาใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของประชากรทั้งหมด คัดเลือกไพรเมอร์ที่ทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างประชากรทั้งหมด หลังจากนั้นทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยแปลงข้อมูลแถบดีเอ็นเอให้ตำแหน่งที่มีแถบดีเอ็นเอมีค่าเท่ากับ 1 และตำแหน่งที่ไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอมีค่าเท่ากับ 0 โดยคิดเฉพาะแถบ DNA ที่มีความชัดเจน และเพิ่มปริมาณได้สม่ำเสมอเมื่อมีการทำพีซีอาร์ซ้ำ วิเคราะห์ความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมด้วยโปรแกรม Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Version-2.1. (NTSYS version 2.1) (Rohlf, 2002)

<u>ข้อมูลชุดที่ 1</u>

ดำเนินการและวิเคราะห์ข้อมูลดีเอ็นเอโดยเครื่องหมายอาร์เอพีดี 8 ไพรเมอร์ และไมโครแซทเทลไลท์ 6 คู่ไพรเมอร์ ตามรายละเอียดข้อ 5,6 และวิเคราะห์ผลร่วมของเครื่องหมายโมเลกุลทั้งสองชนิด

<u>ข้อมูลชุดที่ 2</u>

ดำเนินการและวิเคราะห์ข้อมูลดีเอ็นเอเช่นเดียวกับข้อมูลชุดที่ 1 หลังจากนั้นจึงวิเคราะห์ข้อมูลร่วมกันทั้งตัวอย่างข้อมูลชุดที่ 1 และ 2 โดยใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์เพียงชนิดเดียว

<u>ข้อมูลชุดที่ 3</u>

ดำเนินการและวิเคราะห์ข้อมูลดีเอ็นเอโดยใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์เพียงชนิดเดียวโดยใช้ 6 คู่ไพรเมอร์

วัสดุ/อุปกรณ์การวิจัย

1. ตัวอย่างพืช

ใบ และเปลือกต้นทุเรียนพันธุ์พื้นบ้านที่เก็บได้ในพื้นที่ภาคใต้

2. สารเคมี

2.1 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ

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

2.2 สารเคมีสำหรับใช้ทำอิเลคโทรโฟรีซิส

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

2.3 สารเคมีที่ใช้ทำพีซีอาร์

- dNTP (dATP, dTTP, dCTP และ dGTP) (Promega, USA)
- RAPD Primer

- Microsatellite Primer
- $MgCl_2$
- *Taq* DNA Polymerase B (Promaga, USA)

3. อุปกรณ์

3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างใบพืช

- ถุงพลาสติก
- กรรไกร
- กล่องโฟม
- ปากกาเขียนเครื่องแก้ว

3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ การทำอิเลคโทรโฟรีซิส และการทำพีซีอาร์

- ตู้เย็นและตู้แช่แข็ง
- เครื่องไมโครเซนติฟิวจ์
- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง
- เครื่องคนสารละลายอัตโนมัติ
- แท่งแม่เหล็ก
- ปิเปตปรับปริมาตร
- เครื่องเขย่า
- เครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า
- เครื่องอิเล็กโทรโฟรีซิส
- เครื่องพีซีอาร์
- โกร่งบดตัวอย่าง
- หลอดไมโครเซนติฟิวจ์
- ตู้ไมโครเวฟ
- ตู้ดูดควัน
- Tip
- Gel Documentation
- น้ำแข็ง และกระติกน้ำแข็ง
- เครื่องแก้ว กระบอกตวง และขวดต่างๆ

ผล

<u>ข้อมูลชุดที่ 1</u> **การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของตัวอย่างทุเรียนพื้นบ้านในพื้นที่ภาคใต้** ได้แก่ สงขลา ยะลา นครศรีธรรมราช กระบี่ และพังงา จำนวน 67 ตัวอย่าง

1. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของทุเรียนพื้นบ้าน

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของทุเรียนพื้นบ้าน โดยใช้ลักษณะของรูปทรงผล รูปร่าง หนาม และสีของเนื้อ พบว่ากลุ่มตัวอย่างที่ทำการศึกษา (ตารางที่ 4) มีความหลากหลายของลักษณะดังกล่าวมาก (ภาพที่ 3-8) โดยลักษณะของผล หนาม และเนื้อนั้นไม่มีความสัมพันธ์กัน และแต่ละลักษณะมีการกระจายอยู่ทั่วทุกพื้นที่ที่ทำการศึกษา

ตารางที่ 4 แหล่งที่มาของทุเรียนพื้นบ้านชุดที่ 1 แต่ละตัวอย่าง

No.	ชื่อ	ที่มา	No.	ชื่อ	ที่มา
1	นางงาม	ต.ทุ่งขมิ้น อ.นาหม่อม จ.สงขลา	20	เรียนเบา	,,
2	เขียวใหญ่ 1	———,,———	21	โตน 1	อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา
3	เขียวใหญ่ 2	,,	22	โตน 2	———,,———
4	หน้าโตน	,,	23	โตน 3	,,
5	หนามหลิบ	,,	24	โตน 4	,,
6	เขียวนุ้ย	,,	25	โตน 5	,,
7	ปากทาง	,,	26	โตน 6	,,
8	ขมิ้น	,,	27	ลุงถม 1	อ.นาหม่อม จ.สงขลา
9	วิ่นยาว	,,	28	ลุงถม 2	———,,———
10	แกลบ	,,	29	ลุงถม 3	,,
11	หนามดำ	,,	30	ลุงถม 4	,,
12	หนิมน้ำ	,,	31	ลุงถม 5	,,
13	รอก	,,	32	ลุงถม 6	,,
14	หนุน	,,	33	สาริกา 1	อ.กะปง จ.พังงา
15	เขียวกลางเกาะ	,,	34	สาริกา 2	———,,———
16	ท้อนตี	,,	35	สาริกา 3	,,
17	สีขวัญ	,,	36	สาริกา 4	,,
18	เล็บครุฑ	,,	37	กะปง 1	,,
19	วอน	,,	38	กะปง 2	,,

ตารางที่ 4 (ต่อ) แหล่งที่มาของทุเรียนแต่ละตัวอย่าง

No.	ชื่อ	ที่มา
39	กะปง 3	,,
40	กะปง 4	,,
41	เหนือคลอง 1	อ.เหนือคลอง จ.กระบี่
42	เหนือคลอง 2	———,,———
43	เบตง 1	อ.เบตง จ.ยะลา
44	เบตง 2	———,,———
45	เบตง 3	,,
46	เบตง 4	,,
47	เบตง 5	,,
48	เบตง 6	,,
49	เบตง 7	,,
50	เบตง 8	,,
51	เบตง 9	,,
52	เบตง 10	,,
53	เบตง 11	อ.เบตง จ.ยะลา
54	เบตง 12	———,,———
55	เบตง 13	,,
56	เบตง 14	,,
57	เบตง 15	,,
58	เบตง 16	,,
59	เบตง 17	,,
60	เบตง 18	,,
61	ไอ้ล้าน	อ.ลานสกา จ.นครศรีธรรมราช
62	ขี้ดูก	————— ,,—————
63	ขี้แตก	,,
64	ไอ้เขือ 1	,,
65	ไอ้เขือ 2	,,
66	ไอ้บาตร	,,
67	ไอ้ปริง	,,

ภาพที่ 3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียน : (1) - (10) เป็นตัวอย่างที่เก็บจาก จ.สงขลา สวนที่ 1 โดยชื่อของแต่ละหมายเลขได้แสดงในตารางที่ 4

ภาพที่ 3 (ต่อ) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียน : (11) - (20) เป็นตัวอย่างที่เก็บจาก จ.สงขลา สวนที่ 1 โดยชื่อของแต่ละหมายเลขได้แสดงในตารางที่ 4

ภาพที่ 4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียน : (21) - (26) เป็นตัวอย่างที่เก็บจาก จ.สงขลา สวนที่ 2 โดยชื่อของแต่ละหมายเลขได้แสดงในตารางที่ 4

ภาพที่ 5 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียน : (27) - (32) เป็นตัวอย่างที่เก็บจาก จ.สงขลา สวนที่ 3 โดยชื่อของแต่ละหมายเลขได้แสดงในตารางที่ 4

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

***หมายเหตุ :** ตัวอย่างหมายเลข (33) – (35) ไม่มีรูปตัวอย่างผล

ภาพที่ 7 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียน : (43) - (52) เป็นตัวอย่างที่เก็บจาก จ.ยะลา โดยชื่อของแต่ละหมายเลขได้แสดงในตารางที่ 4

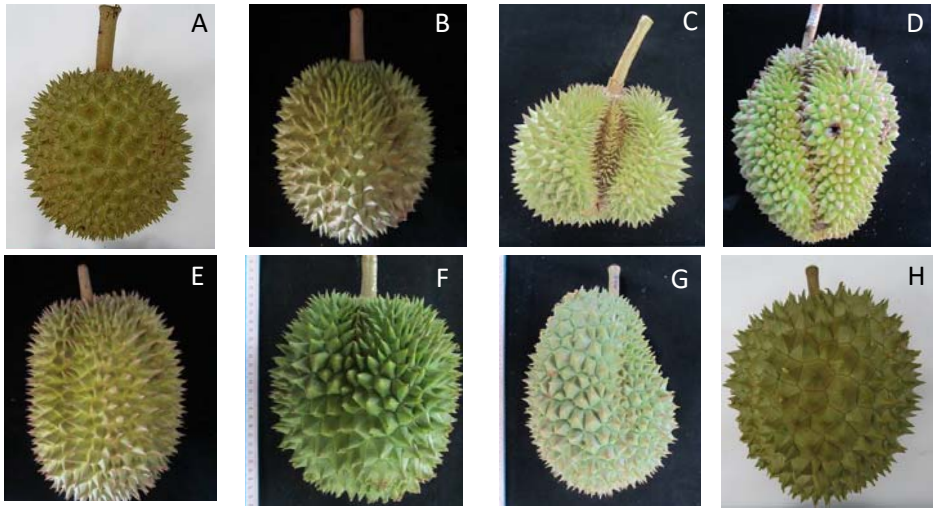
ภาพที่ 7 (ต่อ) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียน : (53) - (60) เป็นตัวอย่างที่เก็บจาก จ.ยะลา โดยชื่อของแต่ละหมายเลขได้แสดงในตารางที่ 4

ภาพที่ 8 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียน : (61) - (64) เป็นตัวอย่างที่เก็บจาก จ.พังงา และ จ.กระบี่ โดยชื่อของแต่ละหมายเลขได้แสดงในตารางที่ 4

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

1.1. รูปทรงผล

การศึกษาลักษณะรูปทรงผลของทุเรียนพื้นบ้านที่เก็บตัวอย่างทั้งหมดจำนวน 67 ต้น พบว่าสามารถจำแนกทุเรียนโดยอาศัยรูปทรงผลออกได้เป็น 8 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่มีผลทรงกลม กลุ่มที่มีผลกลมรี กลุ่มที่มีผลกลมแป้น กลุ่มที่มีผลรูปรี กลุ่มที่มีผลทรงกระบอก กลุ่มที่มีผลรูปขอบขนาน กลุ่มที่มีผลรูปไข่ และกลุ่มที่มีผลรูปไข่กลับ (ภาพที่ 9)



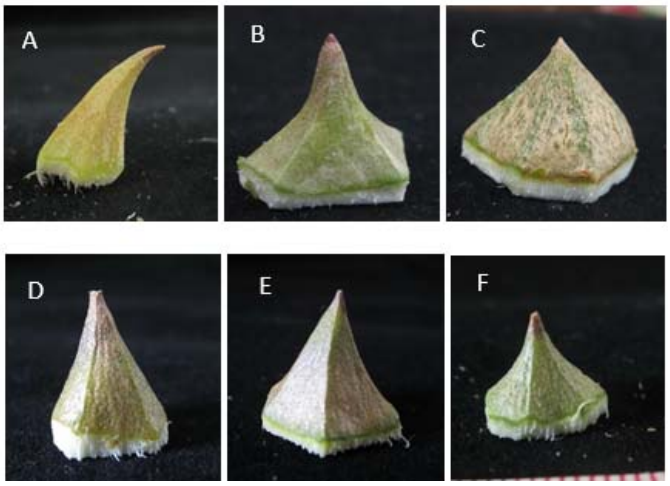
ภาพที่ 9 แสดงลักษณะรูปทรงผลทุเรียนแบบต่างๆ โดย (A) ผลทรงกลม, (B) ผลกลมรี, (C) ผลกลมแป้น, (D) ผลรูปรี, (E) ผลทรงกระบอก, (F) ผลรูปขอบขนาน, (G) ผลรูปไข่ และ (H) ผลรูปไข่กลับ ตามลำดับ

จากการแบ่งกลุ่มตัวอย่างทุเรียนตามลักษณะรูปทรงผล พบว่ามีประชากรอยู่ในแต่ละกลุ่ม ดังนี้

- กลุ่มที่มีผลทรงกลมได้แก่ รอก, สีขวัญ, หนามดำ, ปากทาง, ท้อนตี, หนาม หลิบ, ลุงถม 6, โตน 3, เบตง 5
- กลุ่มที่มีผลกลมรี ได้แก่ แกลบ, ขมิ้น, เขียวนุ้ย, เขียวใหญ่ 1, เรียนเบา, ลุงถม 1, โตน 4, โตน 2, สาลิกา, เหนือคลอง 2, เบตง 2, เบตง 7, เบตง 9, เบตง 10, เบตง 12, เบตง 13 และ เบตง 16
- กลุ่มที่มีผลกลมแป้น ได้แก่ วิ่นยาว, ลุงถม 5, ขี้ดูก
- กลุ่มที่มีผลรูปรี ได้แก่ ลุงถม 2
- กลุ่มที่มีผลทรงกระบอก ได้แก่ เล็บครุฑ, เรียนเบา, โตน 6, ลุงถม 4 และ กะปง 2
- กลุ่มที่มีผลรูปขอบขนาน ได้แก่ เขียวใหญ่ 2, เหนือคลอง 1, เบตง 8
- กลุ่มที่มีผลรูปไข่ ได้แก่ นางงาม, หนุน, ไอ้ล้าน, กะปง 1 และ เบตง 18
- กลุ่มที่มีผลรูปไข่กลับ ได้แก่ วอน, หนิมน้ำ, เขียวกลางเกาะ, โตน 1, โตน 5, ลุงถม 3, กะปง 3, กะปง 4, เบตง 1, เบตง 3, เบตง 4, เบตง 6, เบตง 11, เบตง 14, เบตง 15, เบตง 17, ขี้แตก และไอ้เขือ

1.2 ลักษณะหนาม

จากการศึกษาลักษณะรูปทรงหนามของทุเรียนทั้งหมดที่เก็บตัวอย่างมา พบว่าสามารถจำแนกทุเรียนตามลักษณะหนามได้เป็น 6 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่มีหนามโค้งงอ กลุ่มที่มีหนามเว้า กลุ่มที่มีหนามนูน กลุ่มที่มีหนามแหลมตรง กลุ่มที่มีหนามนูนปลายแหลม และกลุ่มที่มีหนามเว้าปลายแหลม (ภาพที่ 10)



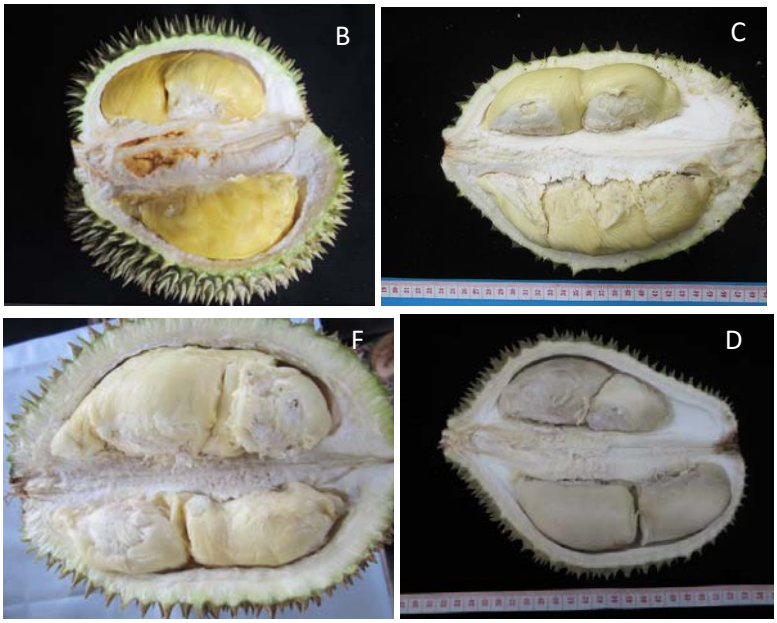
ภาพที่ 10 แสดงลักษณะรูปทรงหนามทุเรียนแบบต่างๆ

จากการแบ่งกลุ่มตัวอย่างทุเรียนตามลักษณะหนาม พบว่ามีประชากรอยู่ในแต่ละกลุ่ม ดังนี้

- กลุ่มที่มีหนามโค้งงอได้แก่ แกลบ, เล็บครุฑ, โตน 1, เรียนเบา และขี้ดูก
- กลุ่มที่มีหนามเว้า ได้แก่ ปากทาง, หนุน, โตน 5, ลุงถม 1, ลุงถม 4, กะปง 1, เบตง 9 และขี้แตก
- กลุ่มที่มีหนามนูน ได้แก่ นางงาม, ลุงถม 2, เหนือคลอง 1, เบตง 3, เบตง 10และ เบตง 11
- กลุ่มที่มีหนามแหลมตรง ได้แก่ เขียวนุ้ย, เขียวใหญ่ 1, เขียวใหญ่ 2, รอก, วอน หนามดำ, ขมิ้น, วิ่นยาว, ท้อนตี, สีขวัญ, โตน 2, โตน 6, ลุงถม 5, ลุงถม 6, สาลิกา, กะปง 2, กะปง 4, เหนือคลอง 2, เบตง 5, เบตง 6, เบตง 7, เบตง 12, เบตง 14, เบตง 15 และ เบตง 18
- กลุ่มที่มีหนามนูนปลายแหลม ได้แก่ หนิมน้ำ, เขียวกลางเกาะ, โตน 3, กะปง 3, เบตง 4, เบตง 8, เบตง 13, เบตง 17 และ ไอ้เขือ
- กลุ่มที่มีหนามเว้าปลายแหลม ได้แก่ หนามหลิบ, โตน 4, ลุงถม 3, เบตง 1, เบตง 2, เบตง 16 และ ไอ้ล้าน

1.3 สีเนื้อ

จากการศึกษาสีเนื้อของทุเรียนทั้งหมดที่เก็บตัวอย่างมา พบว่าสามารถจำแนกทุเรียนตามสีเนื้อได้เป็น 6 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่มีเนื้อสีเหลืองจำปา, กลุ่มที่มีเนื้อสีเหลืองเข้ม, กลุ่มที่มีเนื้อสีเหลืองนวล, กลุ่มที่มีสีเหลืองอ่อน, กลุ่มที่มีเนื้อสีเหลืองซีด และกลุ่มที่มีเนื้อสีขาว (ภาพที่ 11)



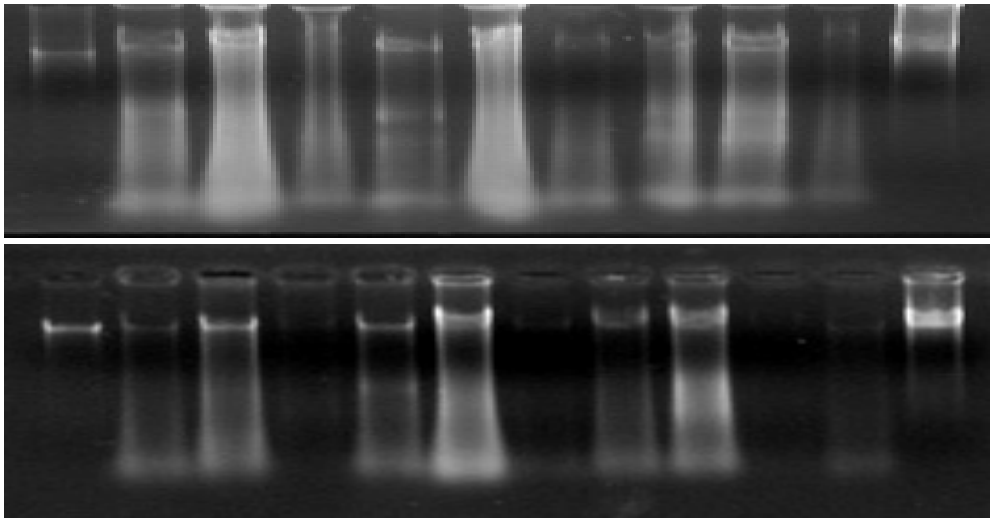
ภาพที่ 11 แสดงลักษณะสีเนื้อผลทุเรียนแบบต่างๆ โดย (A) สีเหลืองเข้ม, (B) สีเหลืองนวล, (C) สีเหลืองอ่อน, และ (D) สีซีดตามลำดับ

จากการแบ่งกลุ่มตัวอย่างทุเรียนตามสีของเนื้อผล พบว่ามีประชากรอยู่ในแต่ละกลุ่มดังนี้

- กลุ่มที่มีเนื้อสีเหลืองเข้มได้แก่ วิ่นยาว, เขียวกลางเกาะ, โตน 2, โตน 4, ลุงถม1, ลุงถม2, สาลิกา, เหนือคลอง 1 และ เบตง 15
- กลุ่มที่มีเนื้อสีเหลืองนวล ได้แก่ ปากทาง, ขมิ้น, หนามดำ, หนิมน้ำ, เล็บครุฑ, วอน, เรียนเบา, โตน 5, กะปง 2, กะปง 4, เหนือคลอง 2, เบตง 3, เบตง 9, เบตง 12 และขี้แตก
- กลุ่มที่มีเนื้อสีเหลืองอ่อน ได้แก่ เขียวนุ้ย, หนามหลิบ, แกลบ, รอก, หนุน, ท้อนตี, สีขวัญ, โตน 3, ลุงถม 3, ลุงถม 4, ลุงถม 5, ลุงถม 6, กะปง 1, กะปง 3, เบตง 1, เบตง 2, เบตง 10, เบตง 16, เบตง 18, ขี้ดูก, ไอ้เขือ และไอ้ล้าน
- กลุ่มที่เนื้อสีซีด ได้แก่ นางงาม, เขียวใหญ่1, เขียวใหญ่ 2, โตน 1, โตน 6, เบตง 4, เบตง 5, เบตง 6, เบตง 7, เบตง 8, เบตง 11, เบตง 13 และ เบตง 14

2. ผลการสกัดดีเอ็นเอ

จากการสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีข้างต้น โดยใช้ใบ และเปลือกต้นนั้น การสกัดดีเอ็นเอจากเปลือกต้นสกัดได้ยากกว่า เนื่องจากเปลือกมีความแข็งกว่าใบ ส่วนการสกัดจากใบนั้นบดง่ายกว่า แต่ก็มีเมือกปนอยู่มากกว่าในส่วนของเปลือกต้น สำหรับคุณภาพของดีเอ็นเอที่ประยุกต์จากวิธีการของ Sue และคณะ (1997) พบว่าดีเอ็นเอที่ได้มีคุณภาพดีกว่าวิธีของ Doyle and Doyle (1990) ดีเอ็นเอมีความสะอาดและมีการปนเปื้อนของสารประกอบโพลิแซคคาร์ไรด์น้อยกว่ (ภาพที่ 12) แต่ในการศึกษานี้ การสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีดังกล่าวได้ดีเอ็นเอปริมาณน้อยโดยเฉพาะส่วนของเปลือกต้น จึงต้องสกัดหลายซ้ำเพื่อให้ได้ดีเอ็นเอปริมาณเพียงพอที่จะนำไปใช้ทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ต่อไป



ภาพที่ 12 แสดงคุณภาพ และปริมาณของดีเอ็นเอ ที่ใช้ในการศึกษา (ก) วิธีของ Doyle and Doyle (1990) และ (ข) ประยุกต์จากวิธีของ Sue และคณะ (1997)

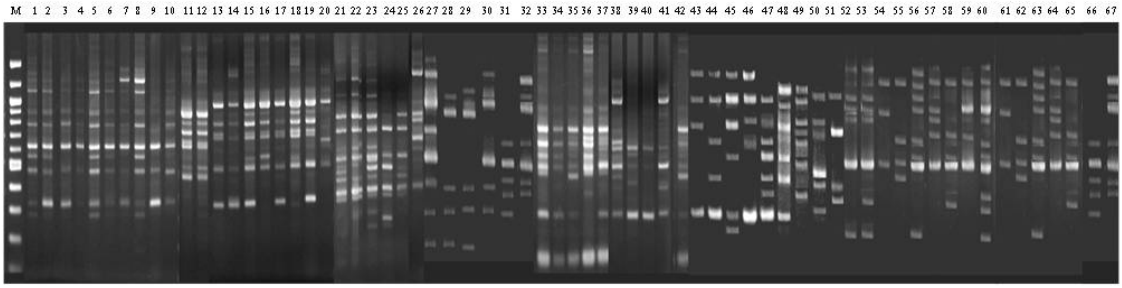
3. ผลการวิเคราะห์พันธุกรรมด้วยเครื่องหมายอาร์เอพีดี

จากการวิเคราะห์พันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านในภาคใต้ของทุเรียน 67 ตัวอย่าง ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลอาร์เอพีดี คัดเลือกจากไพรเมอร์ทั้งหมดจำนวน 48 ไพรเมอร์ พบว่ามีไพรเมอร์ที่ให้แถบพอลิมอร์ฟิคชัดเจนที่สุดจำนวน 8 ไพรเมอร์ คือ OPA-19, OPB-01, OPB-14, OPC-05, OPAM-03, OPAM-13, OPK-08 และ OPZ-03 โดยแต่ละไพรเมอร์มีรูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่ต่างกัน และให้แถบดีเอ็นเอที่มีขนาดระหว่าง 100-1,500 คู่เบส และให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 129 แถบ เป็นแถบโพลิมอร์ฟิค 125 แถบ คิดเป็น 96.90 เปอร์เซ็นต์ ของแถบดีเอ็นเอทั้งหมด (ตารางที่ 5)

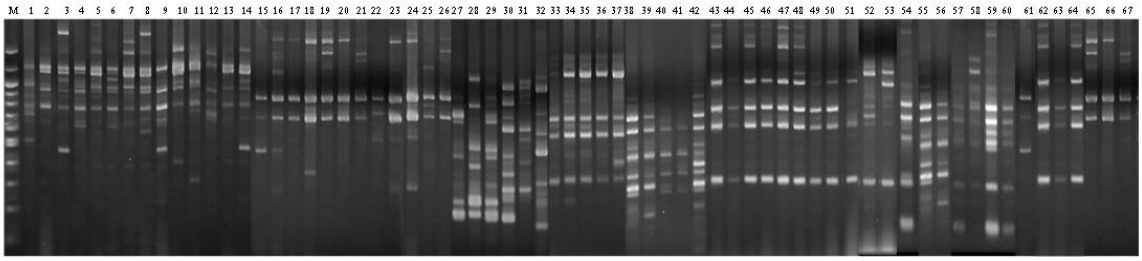
รูปแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดีด้วยไพรเมอร์จำนวน 8 ไพรเมอร์ ดังแสดงในรูปที่ 13-20

ตารางที่ 5 ชนิดของไพรเมอร์ ลำดับเบส และจำนวนแถบดีเอ็นที่ต่างกันจากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของทุเรียนพื้นบ้าน (*Durio zibethinus* Merr.) จำนวน 67 ตัวอย่าง

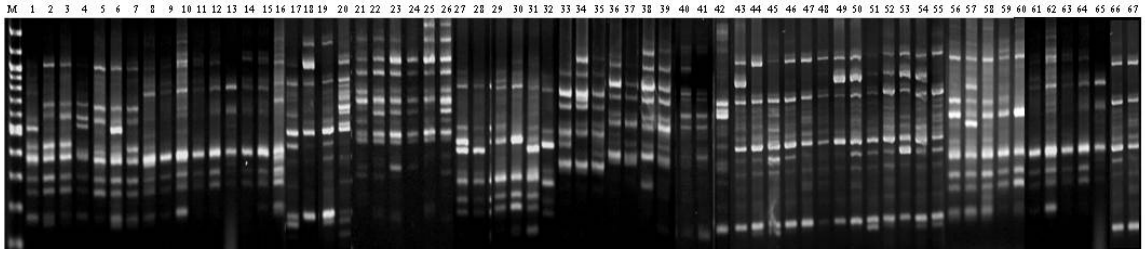
Primer	Sequence 5′ → 3′	Amplified fragments	Monomorphic fragments	Polymorphic fragments
OPZ-03	CAG CAC CGC A	16	-	16
OPC-05	GAT GAC CGC C	16	1	15
OPAM-03	CTT CCC TGT G	21	1	20
OPAM-18	ACG GGA CTC T	14	-	14
OPK-08	GAA CAC TGG G	17	1	16
OPB-14	TCC GCT CTG G	14	-	14
OPB-01	GTTTCG CTC C	15	1	14
OPA-19	CAAACG TCG G	16	-	16
Total		**129**	**4**	**125**
% Polymorphic				**96.90**



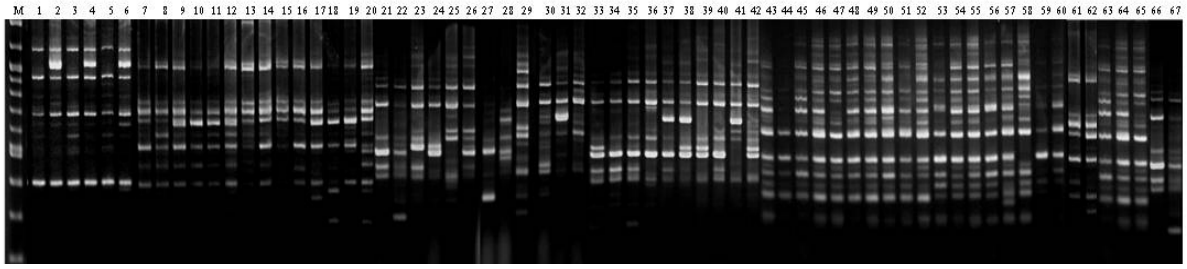
ภาพที่ 13 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียนทั้ง 5 พื้นที่ ด้วยไพรเมอร์ OPA-19โดย M (marker ขนาด100 bp) หมายเลข 1-20 (สงขลาสวนที่1), 21-26 (สงขลาสวนที่2), 27-32 (สงขลาสวนที่3), 33-42 (กระบี่-พังงา), 43-60 (ยะลา)



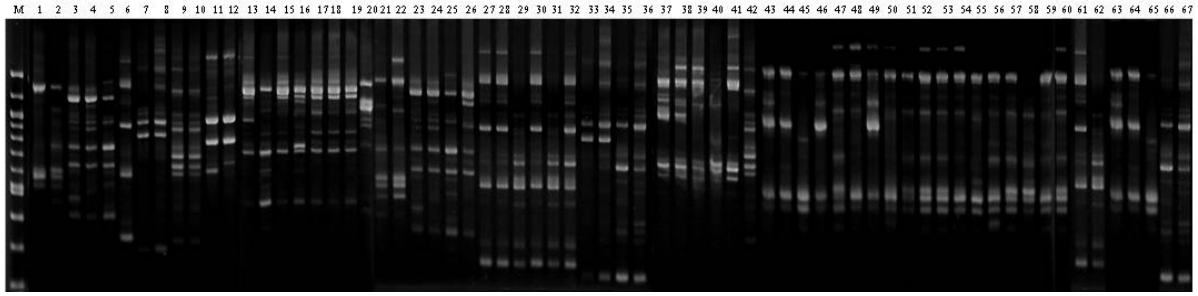
ภาพที่ 14 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียนทั้ง 5 พื้นที่ ด้วยไพรเมอร์ OPB-01 โดย M (marker ขนาด100 bp) หมายเลข 1-20 (สงขลาสวนที่1), 21-26 (สงขลาสวนที่2), 27-32 (สงขลาสวนที่3), 33-42 (กระบี่-พังงา), 43-60 (ยะลา)



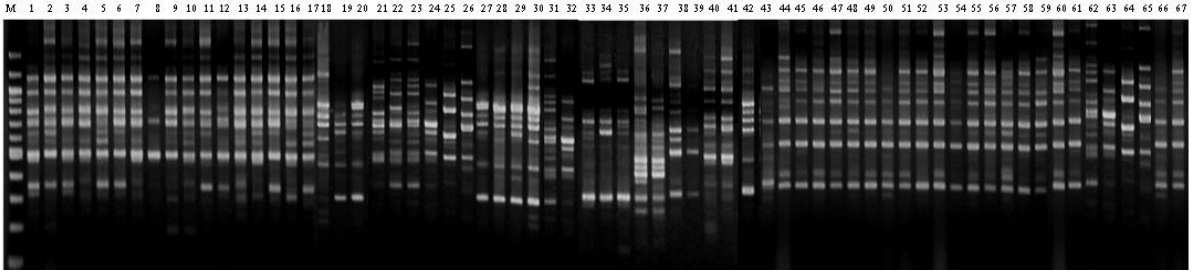
ภาพที่ 15 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียนทั้ง 5 พื้นที่ ด้วยไพรเมอร์ OPB-14 โดย M (marker ขนาด100 bp) หมายเลข 1-20 (สงขลาสวนที่1), 21-26 (สงขลาสวนที่2), 27-32 (สงขลาสวนที่3), 33-42 (กระบี่-พังงา), 43-60 (ยะลา)



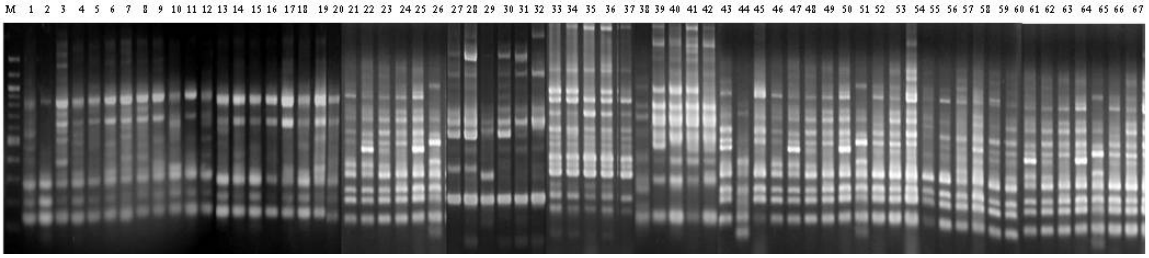
ภาพที่ 16 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียนทั้ง 5 พื้นที่ ด้วยไพรเมอร์ OPC-05 โดย M (marker ขนาด100 bp) หมายเลข 1-20 (สงขลาสวนที่1), 21-26 (สงขลาสวนที่2), 27-32 (สงขลาสวนที่3), 33-42 (กระบี่-พังงา), 43-60 (ยะลา) ด้วย



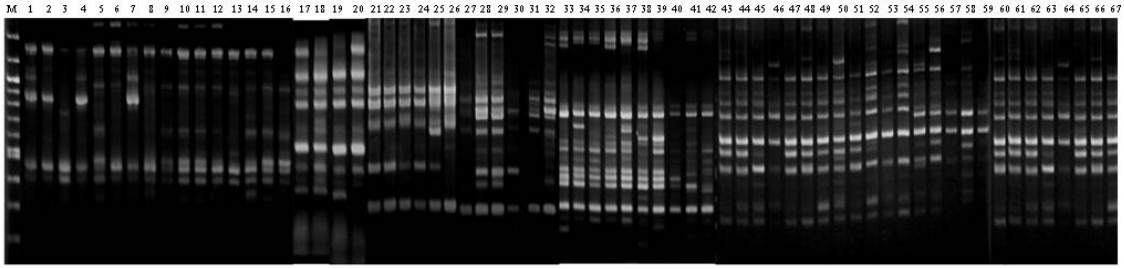
ภาพที่ 17 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียนทั้ง 5 พื้นที่ ด้วยไพรเมอร์ OPAM-03 โดย M (marker ขนาด100 bp) หมายเลข 1-20 (สงขลาสวนที่1), 21-26 (สงขลาสวนที่2), 27-32 (สงขลาสวนที่3), 33-42 (กระบี่-พังงา), 43-60 (ยะลา)



ภาพที่ 18 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียนทั้ง 5 พื้นที่ ด้วยไพรเมอร์ OPAM-13 โดย M (marker ขนาด100 bp) หมายเลข 1-20 (สงขลาสวนที่1), 21-26 (สงขลาสวนที่2), 27-32 (สงขลาสวนที่3), 33-42 (กระบี่-พังงา), 43-60 (ยะลา)



ภาพที่ 19 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียนทั้ง 5 พื้นที่ ด้วยไพรเมอร์ OPK-08โดย M (marker ขนาด100 bp) หมายเลข 1-20 (สงขลาสวนที่1), 21-26 (สงขลาสวนที่2), 27-32 (สงขลาสวนที่3), 33-42 (กระบี่-พังงา), 43-60 (ยะลา)



ภาพที่ 20 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียนทั้ง 5 พื้นที่ ด้วยไพรเมอร์ OPZ-03 โดย M (marker ขนาด100 bp) หมายเลข 1-20 (สงขลาสวนที่1), 21-26 (สงขลาสวนที่2), 27-32 (สงขลาสวนที่3), 33-42 (กระบี่-พังงา), 43-60 (ยะลา)

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของทุเรียน 67ตัวอย่าง ด้วยเครื่องหมายอาร์เอพีดี

จากการศึกษาความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของทุเรียน 67 ตัวอย่าง จาก 5 พื้นที่ของภาคใต้ โดยนำแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีด้วยไพรเมอร์ทั้ง 8 ชนิด ไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมด้วยวิธี UPGMA Cluster Analysis โดยโปรแกรม NTSYS พบว่า ตัวอย่างของทุเรียนทั้งหมดมีค่าดัชนีความใกล้ชิดอยู่ระหว่าง 0.59-1.00 และสามารถจัดกลุ่มได้เป็น 4 กลุ่ม (ภาพที่ 21) โดยมีประชากรกระจายตัวอยู่ในกลุ่มต่างๆ ดังนี้

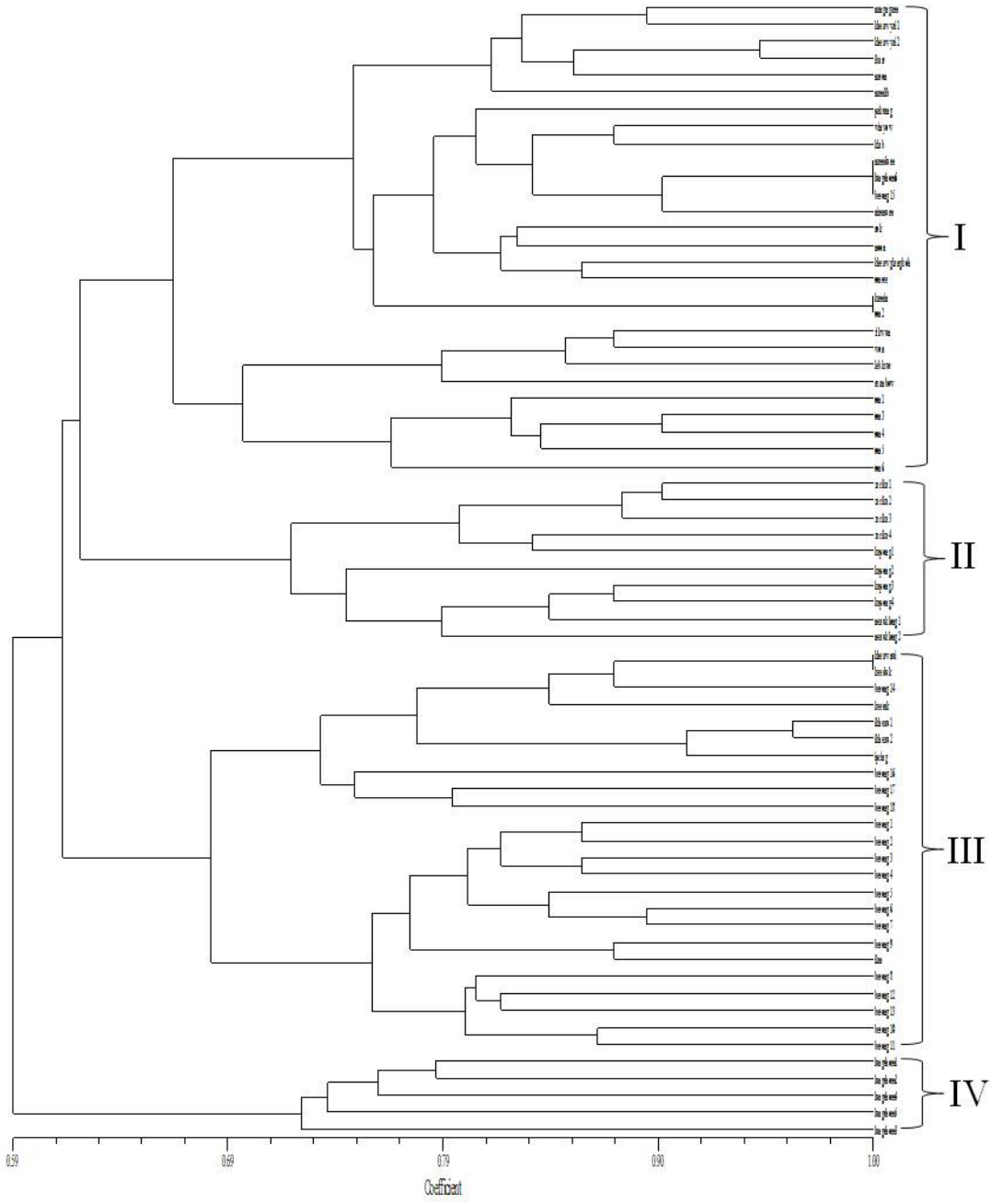
กลุ่มที่ 1 นางงาม, เขียวใหญ่1, เขียวใหญ่ 2, ไอ้บาตร, หน้าโตน, หนามหลิบ, ปากทาง, วิ่นยาว, แกลบ, หนามดำ, ลุงถม 6, เบตง 15, หนิมน้ำ, รอก, หนุน, เขียวกลางเกาะ , ท้อนตี, ขมิ้น, โตน 2, สีขวัญ, วอน, เล็บครุฑ, เรียนเบา, โตน1, โตน3, โตน4, โตน5 และโตน6

กลุ่มที่ 2 สาลิกา 1, สาลิกา 2, สาลิกา 3, สาลิกา 4, กะปง1, กะปง 2, กะปง 3, กะปง 4, เหนือคลอง 1 และเหนือคลอง 2

กลุ่มที่ 3 เขียวนุ้ย, ขี้ดูก, เบตง 14, ขี้แตก, ไอ้เขือ 1, ไอ้เขือ 2, ไอ้ปลิง, เบตง 16, เบตง 17, เบตง 18, เบตง 1, เบตง 2, เบตง 3, เบตง 4, เบตง 5, เบตง 6, เบตง 7, เบตง 9, ไอ้ล้าน, เบตง 8, เบตง 12, เบตง 13, เบตง 10 และ เบตง 11

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

จากการจัดกลุ่มที่ได้จะเห็นได้ว่า กลุ่มประชากรของตัวอย่างทุเรียนมีความสัมพันธ์กับแหล่งปลูกของแต่ละตัวอย่าง โดยกลุ่มที่มีประชากรมากที่สุด คือ กลุ่มที่ 1 ซึ่งประชากรส่วนใหญ่เป็นตัวอย่างจาก อำเภอนาหม่อม จังหวัดสงขลา



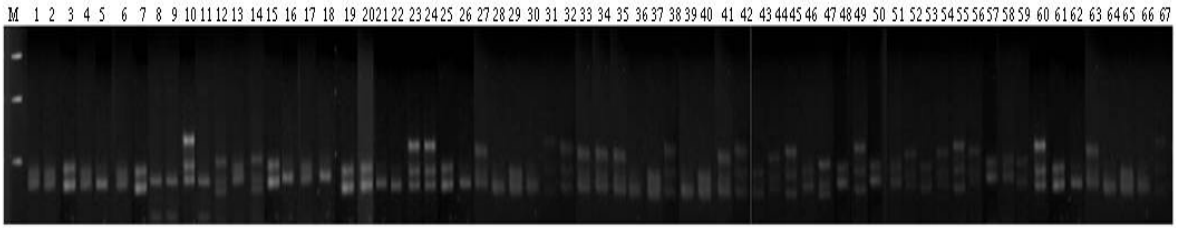
ภาพที่ 21 เดนโดรแกรม แสดงความสัมพันธ์ของทุเรียน 67 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดีจาก จำนวน 8 ไพรเมอร์

4. ผลการวิเคราะห์พันธุกรรมด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์

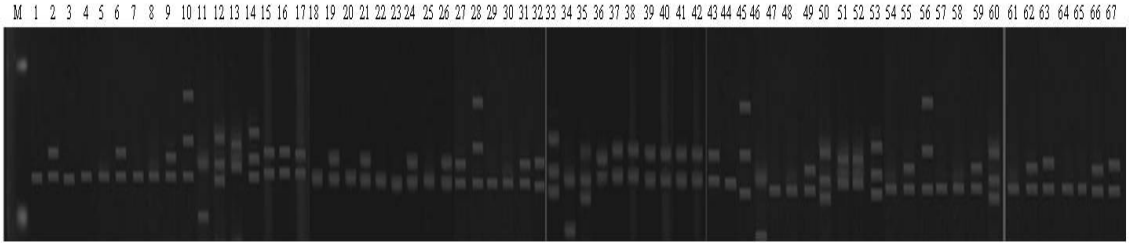
จากการวิเคราะห์พันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านในภาคใต้ของทุเรียน 67 ตัวอย่าง ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลท์ จำนวน 6 เครื่องหมาย คือ MS1CT-7, MS1CT-9, MS1CT-16, MS1CT-27, MS1AAC-2 และ MS1AAC-19 พบว่ามีจำนวนอัลลีล 1- 6 อัลลีล และมีขนาด ตั้งแต่ 100-512 คู่เบส โดยเครื่องหมาย MS1AAC-2 มีจำนวนอัลลีลมากที่สุด และทั้ง 6 เครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลท์ทั้ง 6 เครื่องหมายสามารถแยกความแตกต่างได้ โดยให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 21 แถบ เป็นแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างจำนวน 18 แถบ คิดเป็น 85.71 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 6) รูปแสดงแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างทุเรียนพื้นบ้านจำนวน 67 พันธุ์ด้วย 6 คู่ไพรเมอร์ดังแสดงในภาพที่ 22-27

ตารางที่ 6 ชนิดของไพรเมอร์ และลำดับเบสของเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ที่ใช้วิเคราะห์ พันธุกรรม ของทุเรียนพื้นบ้าน (*Durio zibethinus* Merr.)

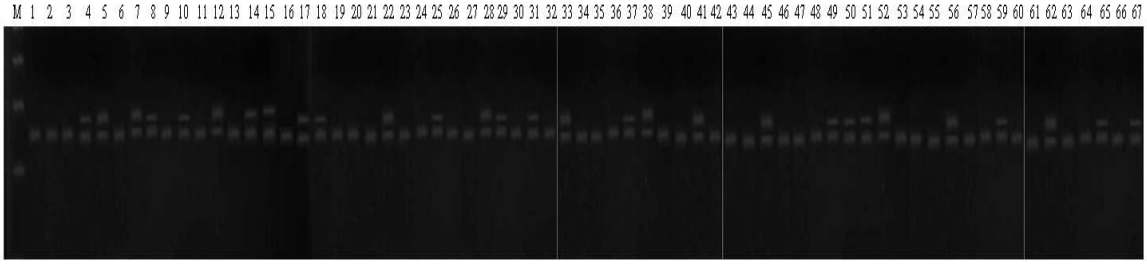
Primer		Sequence 5′⟶3′	No. of alleles	Fragments size (bp)
MS1CT-7	F	CAT GGA CAA GAA AGC GAT GA	4	180-235
	R	TGG ATC AGA TGA ATC AGG TTG		
MS1CT-9	F	CCC TAC GTT ACA TGA TGA TCC A	2	119-176
	R	CCA TTT TGC TCC CTT ACT CTT C		
MS1CT-16	F	TCC CCA GTT TTC GAC AGT CC	5	225-250
	R	GAC GTC GTT TTG GAA GGG TA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



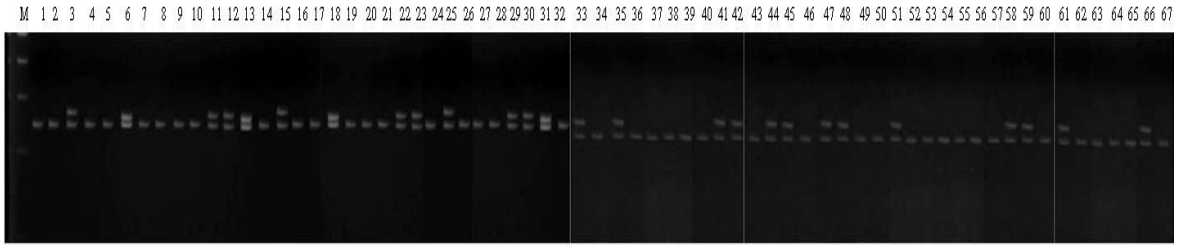
ภาพที่ 22 ลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ของทุเรียน 67ตัวอย่างด้วยไพรเมอร์ MS1TC-7 โดย M(marker ขนาด100 bp) หมายเลข 1-20 (สงขลาสวนที่1), 21-26 (สงขลาสวนที่2), 27-32 (สงขลาสวนที่3), 33-42 (กระบี่-พังงา), 43-60 (ยะลา) และ 61-67 (นครศรีธรรมราช)



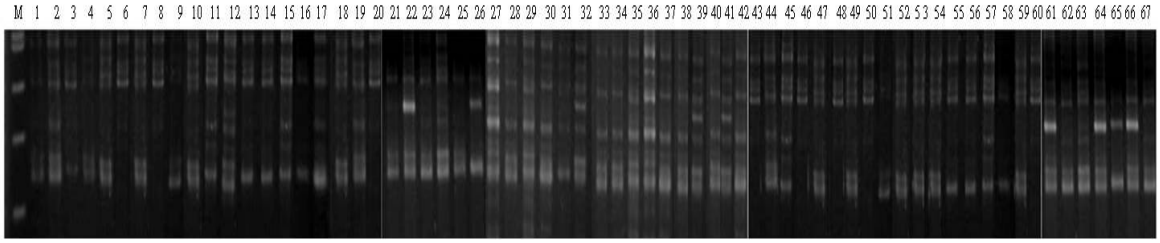
ภาพที่ 23 ลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ของทุเรียน 67ตัวอย่างด้วยไพรเมอร์ MS1TC-9 โดย M(marker ขนาด100 bp) หมายเลข 1-20 (สงขลาสวนที่1), 21-26 (สงขลาสวนที่2), 27-32 (สงขลาสวนที่3), 33-42 (กระบี่-พังงา), 43-60 (ยะลา) และ 61-67 (นครศรีธรรมราช)



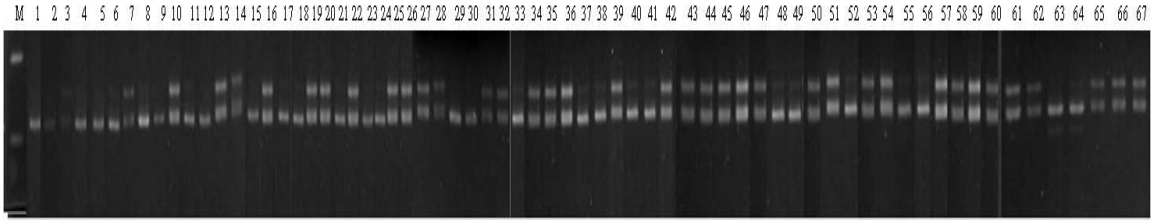
ภาพที่ 24 ลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ของทุเรียน 67ตัวอย่างด้วยไพรเมอร์ MS1TC-16 โดย M(marker ขนาด100 bp) หมายเลข 1-20 (สงขลาสวนที่1), 21-26 (สงขลาสวนที่2), 27-32 (สงขลาสวนที่3), 33-42 (กระบี่-พังงา), 43-60 (ยะลา) และ 61-67 (นครศรีธรรมราช)



ภาพที่ 25 ลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ของ ทุเรียน 67ตัวอย่างด้วยไพรเมอร์ MS1TC-27 โดย M(marker ขนาด100 bp) หมายเลข 1-20 (สงขลาสวนที่1), 21-26 (สงขลาสวนที่2), 27-32 (สงขลาสวนที่3), 33-42 (กระบี่-พังงา), 43-60 (ยะลา) และ 61-67 (นครศรีธรรมราช)



ภาพที่ 26 ลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ของทุเรียน 67ตัวอย่างด้วยไพรเมอร์ MS1AAC-2 โดย M(marker ขนาด100 bp) หมายเลข 1-20 (สงขลาสวนที่1), 21-26 (สงขลาสวนที่2), 27-32 (สงขลาสวนที่3), 33-42 (กระบี่-พังงา), 43-60 (ยะลา) และ 61-67 (นครศรีธรรมราช)



ภาพที่ 27 ลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ของทุเรียน 67ตัวอย่างด้วยไพรเมอร์ MS1AAC-19 โดย M(marker ขนาด100 bp) หมายเลข 1-20 (สงขลาสวนที่1), 21-26 (สงขลาสวนที่2), 27-32 (สงขลาสวนที่3), 33-42 (กระบี่-พังงา), 43-60 (ยะลา) และ 61-67 (นครศรีธรรมราช)

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของทุเรียน 67 ตัวอย่าง ด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์

จากการศึกษาความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของทุเรียน 67 ตัวอย่าง จาก 5 พื้นที่ของภาคใต้ โดยนำแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไมโครแซทเทลไลท์ ทั้งหมด 21 แถบ และโพลิมอร์ฟิซึม 18 แถบ และเมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมด้วยวิธี UPGMA ในโปรแกรม NTSYS พบว่า มีค่าดัชนีความใกล้ชิดอยู่ระหว่าง 0.52-0.95 และสามารถจัดกลุ่มได้เป็น 6 กลุ่ม ซึ่งแต่ละกลุ่มตัวอย่างค่อนข้างสัมพันธ์กับแหล่งที่มา ส่วนตัวอย่างที่ไม่สัมพันธ์กับแหล่งที่มานั้นอาจเป็นเพราะ ชาวสวนนำเมล็ดพันธุ์จากแหล่งอื่นมาปลูกในสวนของตนเอง ทำให้มีคามหลากหลายทางพันธุกรรมสูง (ภาพที่ 28) โดยมีประชากรกระจายตัวอยู่ในกลุ่มต่างๆ ดังนี้

กลุ่มที่ 1 นางงาม, เขียวใหญ่ 2, โตน 5, วิ่นยาว, โตน 4, หน้าโตน, วอน, เรียน เบา, โตน 1, ขมิ้น, เล็บครุฑ, แกลบ, หนามดำ, เขียวใหญ่ 1, โตน 6, หนามหลิบ, โตน 3, ปากทาง, ลุงถม 2, ท้อนตี, สีขวัญ, เขียวนุ้ย, ลุงถม 4, เบตง 6, โตน 2, ลุงถม 5, เขียวกลางเกาะ, เบตง 17, เหนือคลอง 2, ลุงถม 3, ไอ้บาตร, หนามดำ, รอก, หนุน, ไอ้ล้าน, ไอ้เขือ 1, ไอ้เขือ 2, ไอ้ปลิง, ขี้แตก, และ เบตง 11

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

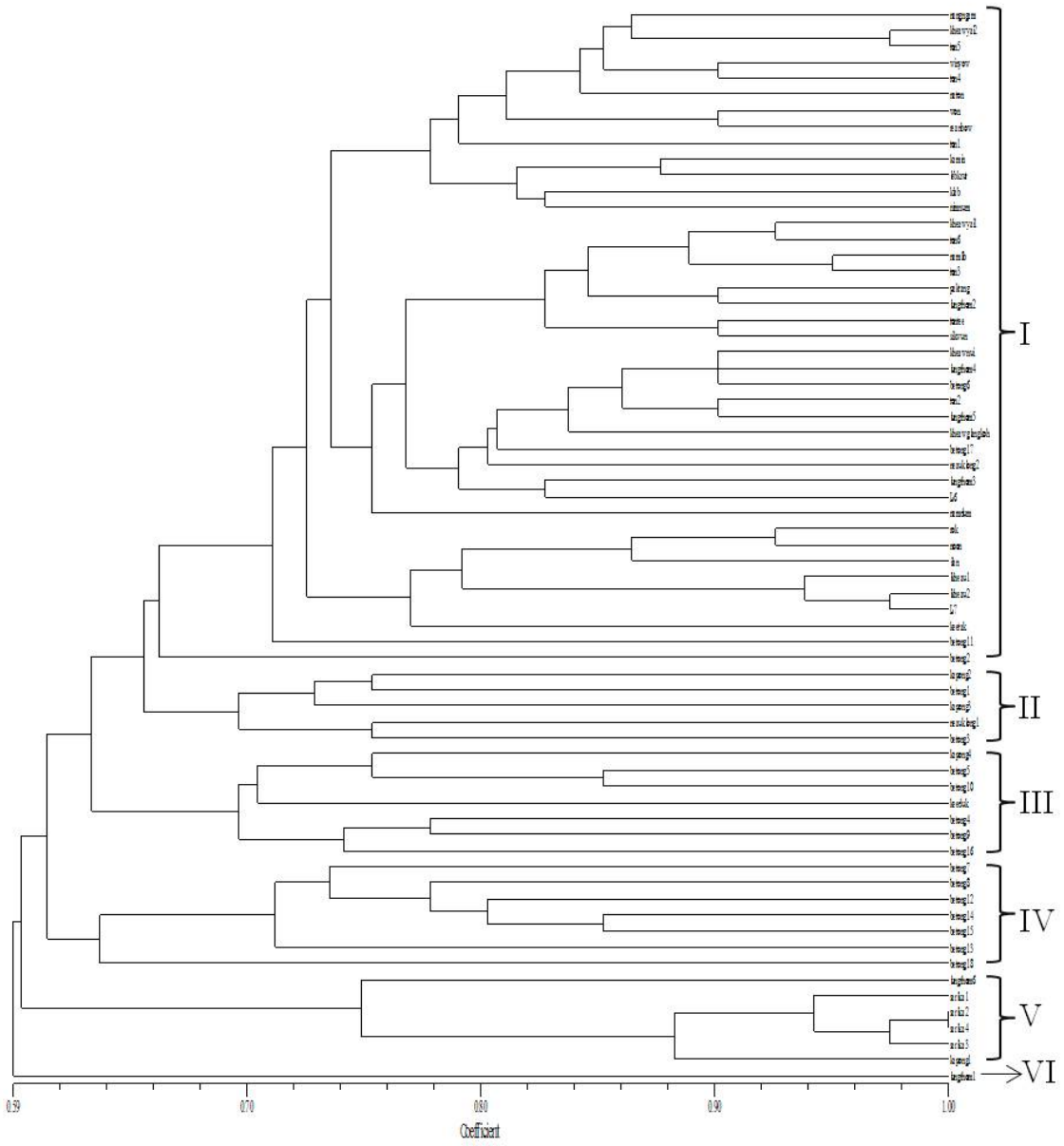
กลุ่มที่ 3 กะปง 4, เบตง 5, เบตง 10, ขี้ดูก, เบตง 4, เบตง 9 และเบตง 16

กลุ่มที่ 4 เบตง 7, เบตง 8, เบตง 12, เบตง 14, เบตง 15, เบตง 13 และ เบตง 18

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

กลุ่มที่ 6 ลุงถม 1

จากการจัดกลุ่มข้างต้น เห็นได้ว่ากลุ่มที่ 1 มีประชากรมากที่สุด และประชากรส่วนใหญ่เป็นตัวอย่างจาก อำเภอนาหม่อม จังหวัดสงขลา สวนที่ 1 และกลุ่มที่ 6 มีประชากรเพียง 1 ตัวอย่างคือตัวอย่างจาก อำเภอนาหม่อม จังหวัดสงขลา สวนที่ 2



ภาพที่ 28 เดนโดรแกรม แสดงความสัมพันธุ์ของทุเรียน 67 ตัวอย่าง ด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ 6 เครื่องหมาย

5. ผลการวิเคราะห์พันธุกรรมด้วยเครื่องหมายอาร์เอพีดีร่วมกับเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์

จากการศึกษาความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของทุเรียน 67 ตัวอย่าง จาก 5 จังหวัดของภาคใต้ โดยนำแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี 8 ไพรเมอร์ ร่วมกับไมโครแซทเทลไลท์ 6 ไพรเมอร์ ทั้งหมด 169 แถบ ไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมด้วยโปรแกรม NTSYS พบว่า มีค่าดัชนีความใกล้ชิดอยู่ระหว่าง 0.52-0.95 โดยตัวอย่างที่มีความใกล้ชิดกันมากที่สุดคือ ขมิ้นกับโตน 2 ส่วนตัวอย่างที่มีความใกล้ชิดกันน้อยที่สุดคือ เบตง 5 กับสาลิกา 4 และสามารถจัดกลุ่มได้เป็น 5 กลุ่ม (ภาพที่ 29) โดยมีประชากรกระจายตัวอยู่ในกลุ่มต่างๆ ดังนี้

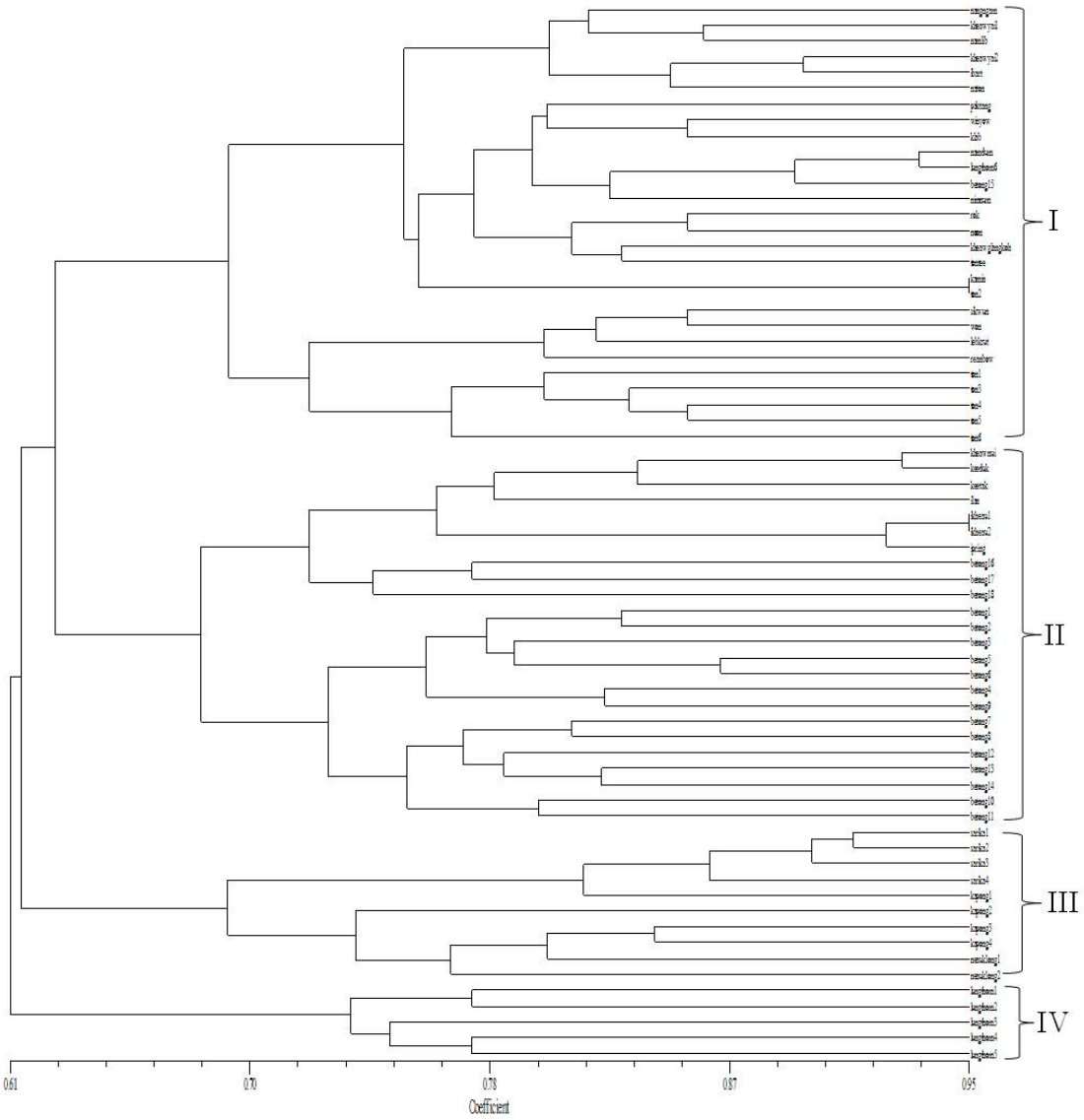
กลุ่มที่ 1 นางงาม, เขียวใหญ่ 1, หนามหลิบ, เขียวใหญ่ 2, ไอ้บาตร, หน้าโตน, ปากทาง, วิ่นยาว, แกลบ, หนามดำ, ลุงถม 6, เบตง 15, หนิมน้ำ, รอก, หนุน, เขียวกลางเกาะ, ท้อนตี, ขมิ้น, โตน 2, สีขวัญ วอน, เล็บครุฑ, เรียนเบา, โตน 1, โตน 3, โตน 4, โตน 5 และ โตน 6

กลุ่มที่ 2 เขียวนุ้ย, ขี้ดูก, ขี้แตก, ไอ้ล้าน, ไอ้เขือ 1, ไอ้เขือ 2, ไอ้ปลิง, เบตง 16, เบตง 17, เบตง 18, เบตง 1, เบตง 2, เบตง 3, เบตง 5, เบตง 6, เบตง 4, เบตง 9, เบตง 7, เบตง 8, เบตง 12, เบตง 13, เบตง 14, เบตง 10 และ เบตง 11

กลุ่มที่ 3 สาลิกา 1, สาลิกา 2, สาลิกา 3, สาลิกา 4, กะปง 1, กะปง 2, กะปง 3, กะปง 4, เหนือคลอง 1 และ เหนือคลอง 2

กลุ่มที่ 4 ลุงถม 1, ลุงถม 2, ลุงถม 3, ลุงถม 4 และ ลุงถม 5

จากการจัดกลุ่มข้างต้น เห็นได้ว่ากลุ่มที่ 1 มีประชากรมากที่สุด และประชากรส่วนใหญ่เป็นตัวอย่างจาก อำเภอนาหม่อม จังหวัดสงขลา สวนที่ 1



ภาพที่ 29 เดนโดรแกรม แสดงความสัมพันธุ์ของทุเรียน 67 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดีจากจำนวน 8 ไพรเมอร์ ร่วมกับไมโครแซทเทลไลท์ 6

ตารางที่ 7 แสดงตารางเก็บข้อมูลของทุเรียน 67 ตัวอย่าง จาก 5 พื้นที่

พันธุ์ (รหัส)	สถานที่	ขนาดผล			ความหนาเปลือก (cm)	ลักษณะหนาม	ลักษณะเนื้อ	สีเนื้อ	กลิ่น	รสชาติ	คะแนน
		น้ำหนัก (Kg)	เส้นรอบวง (cm)	กxย (cm)							
ขมิ้น	ต.ทุ่งขมิ้อ.นาหม่อม	1	45	12.5x16	0.9	แหลม สูง	บาง เละ	เหลืองหม่น G-Y 162 B	กลิ่นอ่อน	หวานปานกลาง	3.5
วิ่นยาว	ต.ทุ่งขมิ้อ.นาหม่อม	0.7	44	7.5x11.5	0.7	สูง ปลายแหลม	กรอบ	เหลืองเข้ม Y 162 B	ไม่ฉุนมาก	หวานมาก	4.5
แกลบ	ต.ทุ่งขมิ้น อ.นาหม่อม	0.35	30	10.8x10.5	0.7	สั่น ฐานกว้าง ปลายแหลม	เหนียว ล่อน	เหลืองอ่อน Y-W 155 A	ไม่ฉุนมาก	หวาน มันเล็กน้อย	4
หนามดำ	ต.ทุ่งขมิ้น อ.นาหม่อม	0.9	46	14x14	0.9	แหลม ปลายสีน้ำตาลเข้ม	ล่อน เนื่อเนียน	เหลืองนวล Y 11 C	ไม่ฉุนมาก	หวาน	4
หนิมน้ำ	ต.ทุ่งขมิ้น อ.นาหม่อม	0.85	41	7.8x11	1	สั้น ฐานกว้าง	ข้างนอกเละล่อน	Y-W 155 B	กลิ่นอ่อน	มัน หวานน้อย	4
รอก	ต.ทุ่งขมิ้น อ.นาหม่อม	0.9	46	12x12	0.4	เรียวแหลม สีเขียวอ่อน	เละมาก	เหลืองซีด Y-W 159 B	ฉุน	หวานปนขม	3
หนุน	ต.ทุ่งขมิ้น อ.นาหม่อม	1.2	41	15x21.5	0.9	ใหญ่ สั้น สีเขียวปนน้ำตาล	หนา เหนียว ล่อน	G-W 157 A	ฉุน	หวานจัดปนขม	2.5
เขียวกลางเกาะ	ต.ทุ่งขมิ้น อ.นาหม่อม	0.9	51	13x17	1.5	ใหญ่ ปลายป้าน สีเขียวหม่น	เหนียว	เหลืองทอง Y 16 D	ฉุน	หวาน มัน	4
ท้อนตี	ต.ทุ่งขมิ้น อ.นาหม่อม	1.3	48	14x17	0.4	เรียวป้าน สีเขียว ปลายสีน้ำตาล	เละ	เหลืองอ่อน Y 13 D	มีกลิ่นกำมะถัน	หวานมัน ขมเล็กน้อย	3
สีขวัญ	ต.ทุ่งขมิ้น อ.นาหม่อม	0.6	39	12x13	0.5	ใหญ่ สูง	ติดเมล็ด ผิวนอกกรอบ	เหลืองหม่น G-Y 160 C	ฉุน	หวานปนขม	3.5

ตารางที่ 7 (ต่อ) แสดงตารางเก็บข้อมูลของทุเรียน 67 ตัวอย่าง จาก 5 พื้นที่

พันธุ์ (รหัส)	สถานที่	ขนาดผล			ความหนาเปลือก (cm)	ลักษณะหนาม	ลักษณะเนื้อ	สีเนื้อ	กลิ่น	รสชาติ	คะแนน
		น้ำหนัก (Kg)	เส้นรอบวง (cm)	กxย (cm)							
เล็บครุฑ	ต.ทุ่งขมิ้น อ.นาหม่อม	0.9	42	13x18	0.7	ยาว ปลายแหลมโค้ง	เนื้อยุ่ย ล่อน	เหลืองอ่อน Y 10 C	หอม ไม่ฉุน	หวานปานกลาง	3
วอน	ต.ทุ่งขมิ้น อ.นาหม่อม	0.8	43	14x14.5	0.8	ถี่ เล็ก สีเขียว	เละแต่เหนียว	เหลืองอ่อน Y 11 C	ไม่ฉุน	หวาน ขม เล็กน้อย	4
เรียนเบา	ต.ทุ่งขมิ้น อ.นาหม่อม นาหม่อม	0.7	40	12x16	0.4	ยาวเรียว ถี่	เนื้อบาง	เหลืองอ่อนปนส้ม Y 8 D	อ่อน	หวานน้อย มัน	4
โตน 1	โตนงาช้าง	0.95	40	12x18	0.82	หนามห่าง สั้น ฐานกว้าง สีน้ำตาลอมเขียว	บาง เหนียว	ขาวอมเหลืองซีด	หอม ไม่ฉุน	หวานมัน อร่อย	4
โตน 2	บ้านโตนงาช้าง อ.รัตภูมิ	1.4	43.5	15.5x18.2	1.42	สูง เรียวแหลม สีเขียว ปลายสีน้ำตาล ปลายงอ เล็กน้อย	บาง เหนียว	เหลืองนวลอมส้ม	อ่อน มีกลิ่นกำมะถัน	หวมมัน	3
โตน 3	บ้านโตนงาช้าง อ.รัตภูมิ	1	49	11.2x13.6	0.7	สูง เรียวบาง ปลายแหลม งอเหมือนตะขอ สีน้ำตาล อ่อน ฐานสีเขียว	บาง เละ	เหลืองอ่อน	หอม ไม่ฉุน	มัน ไม่ค่อยหวาน	2
โตน 4	บ้านโตนงาช้าง อ.รัตภูมิ	1.68	55.5	17x19	1.2	หนามห่าง ใหญ่ป้าน ทรงพีระมิด สีเขียวเทา	หนาปานกลาง เหนียว ล่อน	เหลืองนวล	หอม ไม่ฉุน	หวานจัด มัน อร่อย	5
โตน 5	บ้านโตนงาช้าง อ.รัตภูมิ	1.14	46.5	14.2x16.7	0.7	สั้นฐานกว้างปลายแหลม สีน้ำตาลอมเทา	หนาปานกลาง ค่อนข้างแข็ง	เหลืองอ่อน	อ่อน	หวานน้อย มัน	3
โตน 6	บ้านโตนงาช้าง อ.รัตภูมิ	1.18	46	12.5x19.1	1	สูง ปลายแหลม งอเล็กน้อย สีเขียวเหลือง	ค่อนข้างบาง เละมาก	เหลืองอมเทา	มีกลิ่นกำมะถัน	ค่อนข้างจืด	1

ตารางที่ 7 (ต่อ) แสดงตารางเก็บข้อมูลของทุเรียน 67 ตัวอย่าง จาก 5 พื้นที่

พันธุ์ (รหัส)	สถานที่	ขนาดผล			ความหนาเปลือก (cm)	ลักษณะหนาม	ลักษณะเนื้อ	สีเนื้อ	กลิ่น	รสชาติ	คะแนน
		น้ำหนัก (Kg)	เส้นรอบวง (cm)	กxย (cm)							
ลุงถม 1	ต.ทุ่งขมิ้น อ.นาหม่อม สงขลา	1	44	11.3x13	0.6	สั้น ฐานกว้าง ปลายเรียว	บาง เนียน เหนียวแต่เละ	เหลืองเข้ม Y 11 B	ไม่ฉุน	หวาน มัน ขมเล็กน้อย	4.5
ลุงถม 2	ต.ทุ่งขมิ้น อ.นาหม่อมสงขลา	1.2	44.6	12x19.4	0.6	หนามห่าง ใหญ่ สั้น	เนียน หนา	เหลืองนวล Y 11 B	กลิ่นอ่อน	หวานจัด	4.5
ลุงถม 3	ต.ทุ่งขมิ้น อ.นาหม่อม สงขลา	1.1	46.5	12x14	0.7	ฐานกว้าง สั้น ปลายเล็ก	หนา เละ	เหลืองอ่อน Y 4 D	กลิ่นอ่อน	หวาน	4.5
ลุงถม 4	ต.ทุ่งขมิ้น อ.นาหม่อมสงขลา	0.9	43.1	10.4x12.9	0.7	เรียวแหลม ฐานกว้าง	เละ	เหลืองอ่อน Y 4 D	ฉุนเล็กน้อย	หวาน มัน	4
ลุงถม 5	ต.ทุ่งขมิ้น อ.นาหม่อม	0.5	39	10x10.2	0.7	แหลม สูง	เละ	เหลืองหม่น GY 160 D	กลิ่นแรง มีกลิ่นกำมะถัน	ค่อนข้างขม	2.5
ลุงถม 6	ต.ทุ่งขมิ้น อ.นาหม่อมสงขลา	0.4	36.7	7.3x9	0.5	แหลม สูง สีเขียวเข้ม	หนา ไม่เละ	เหลืองอ่อน Y 10 D	ค่อนข้างฉุน	หวานปานกลาง มัน ขมเล็กน้อย	3.5

ตารางที่ 7 (ต่อ) แสดงตารางเก็บข้อมูลของทุเรียน 67 ตัวอย่าง จาก 5 พื้นที่

พันธุ์ (รหัส)	สถานที่	ขนาดผล			ความหนาเปลือก (cm)	ลักษณะหนาม	ลักษณะเนื้อ	สีเนื้อ	กลิ่น	รสชาติ	คะแนน
		น้ำหนัก (Kg)	เส้นรอบวง (cm)	กxย (cm)							
สาริกา 4	อ.กะปง พังงา	1.9	56.5	19 x 19	1.13	แหลมสูง	เนื้อหนา เมล็ดเล็ก	green-yellow 1D	ค่อนข้างอ่อน	หวาน มัน	
กะปง 2 (พังงา 2)	กะปง พังงา	2	53	18 x 21	0.51	เรียวเล็ก ไม่ค่อยแหลม	เนื้อหนา เละ	yellow 3D	ค่อนข้างฉุน	หวานปนขม เล็กน้อย	4
กะปง 3 (พังงา 3)	ร้านค้า กะปง พังงา	1	36	17 x 18	0.94	หนามแหลม ไม่สม่ำเสมอ	เนื้อเนียน ไม่เละ	yellow 2D	ค่อนข้างฉุน	หวานน้อย มัน	4
เบตง 1	78 ม 4 ต. ตาเนาะแมเราะ อ. เบตง จ.ยะลา	2.5	46	13x18	0.9	หนามห่าง สั้น ปลายแหลม	ค่อนข้างบาง เหนียว ล่อน	เหลืองหม่น GY 160 B	ฉุน	มัน หวานน้อย	3
เบตง 2	78 ม 4 ต. ตาเนาะแมเราะ อ. เบตง จ.ยะลา	2	53.2	15.2x21.5	1.1	หนามห่าง ฐานกว้าง ปลายสอบ	เนื้อเหนียว ล่อน ค่อนข้างหนา	Y 10 D	ไม่ฉุน	หวานน้อย มัน ขมเล็กน้อย	3.5
เบตง 3	78 ม 4 ต. ตาเนาะแมเราะ อ. เบตง จ.ยะลา	2.2	51	13.7x18.5	0.5	ฐานกว้าง สั้น ปลายแหลม	เนื้อบาง ล่อน	YG 9 D	ไม่ฉุน	หวานปานกลาง มัน	4.5
เบตง 4	78 ม 4 ต. ตาเนาะแมเราะ อ. เบตง จ.ยะลา	2.8	60	16x21.4	0.5	หนามห่าง สูง ใหญ่	เนื้อน้อย มีเยื่อระหว่างเนื้อกับเมล็ด	สีชีด W 155 A	มีกลิ่นกำมะถัน	จืด	2.5
เบตง 5	78 ม 4 ต. ตาเนาะแมเราะ อ. เบตง จ.ยะลา	1	44	12x14.5	1.1	สั้น ห่าง ฐานกว้าง ปลายแหลม	บาง ติดเมล็ด	ขาวชีด W 155 C	ไม่ฉุน	หวาน มันเล็กน้อย	4

ตารางที่ 7 (ต่อ) แสดงตารางเก็บข้อมูลของทุเรียน 67 ตัวอย่าง จาก 5 พื้นที่

พันธุ์ (รหัส)	สถานที่	ขนาดผล			ความหนาเปลือก (cm)	ลักษณะหนาม	ลักษณะเนื้อ	สีเนื้อ	กลิ่น	รสชาติ	คะแนน
		น้ำหนัก (Kg)	เส้นรอบวง (cm)	กxย (cm)							
เบตง 6	78 ม 4 ต. ตาเนาะแมเราะ อ. เบตง จ.ยะลา	1.3	47.5	12.4x16.5	1.2	เรียวยาว ปลายแหลม	ค่อนข้างบาง ล่อน	W 155 B	กลิ่นอ่อน	หวานปานกลาง	3
เบตง 7	“	1.1	45	14x17	1	หนามถี่ เล็กสูง	เนื้อเยอะ หนา เละ	YG 160 D	กลิ่นอ่อน	หวาน มัน	4
เบตง 8	“	2.8	56	15.4x22.5	1.3	หนามใหญ่ สั้น ป้อม ปลายเป็นติ่งแหลม	เนื้อค่อนข้างหนา	GY 160 D	มีกลิ่นกำมะถันเล็กน้อย	ขม ปร่าลิ้น	3
เบตง 9	“	1.5	47.7	13.2x18.9	1.4	ห่าง สั้น ฐานกว้าง	เนื้อหนา	Y 10 C	กลิ่นอ่อนมาก	หวาน มัน คล้ายหมอนทอง	4.5
เบตง 10	“	1.5	49.6	13.6x20	1.5	หนามห่าง สั้นมาก ปลายแหลม	เละมาก หนา ค่อนข้างล่อน	W 155 A	ฉุนเล็กน้อย	หวานปานกลาง มีรสขมเล็กน้อย	3
เบตง 11	“	3.4	51.2	16.4x24.5	1.7	หนามใหญ่ สั้น ห่าง	เนื้อหนา กรอบ	GY 162 D	กลิ่นอ่อนมาก	หวานน้อย มัน	3
เบตง 12	“	1.1	48.3	12.6x18.6	1.7	หนามถี่ เรียวแหลม	เนื้อหนา เนียน	YG 160 D	ฉุนเล็กน้อย	หวานปานกลาง มัน ขมเล็กน้อย	3
เบตง 13	“	3	55	12.5x25	1.3	ใหญ่ สูง สีเขียวสด	เละ	GY 160 D	ไม่ฉุน	หวาน มีรสเปรี้ยวเล็กน้อย	4
เบตง 14	“	1.3	47.5	14.5x16	1.8	ถี่ เล็ก	เละ	W 155 A	ไม่ฉุน มีกลิ่นเฉพาะ	หวานจัด ขม	3.5

ตารางที่ 7 (ต่อ) แสดงตารางเก็บข้อมูลของทุเรียน 67 ตัวอย่าง จาก 5 พื้นที่

พันธุ์ (รหัส)	สถานที่	ขนาดผล			ความหนาเปลือก (cm)	ลักษณะหนาม	ลักษณะเนื้อ	สีเนื้อ	กลิ่น	รสชาติ	คะแนน
		น้ำหนัก (Kg)	เส้นรอบวง (cm)	กxย (cm)							
เบตง 15	ม 4 ต. ตาเนาะแมเราะ อ. เบตง จ. ยะลา	3	65	15.3x23	1.6	หนามถี่ เรียวสูง ปลายแหลม	เนื้อเละ ล่อน	Y 11 A	กลิ่นอ่อน	หวานจัด รสคล้ายชะนี	4.5
เบตง 16	เบตง	1.2	48	13x15.3	1.1	หนามห่าง สั้น ปลายสอบแหลม	ค่อนข้างหนา ล่อน	GY 160 D	อ่อน	หวาน มัน เนื้อเย็น	3.5
เบตง 17	เบตง	2	53.7	15.3x20.7	1.1	หนามถี่ สั้น ปลายแหลม	เนื้อเหนียว ล่อน ผิวนอกกรอบ	GY 162 C	กลิ่นอ่อนมาก	มัน หวานปานกลาง	3.5
เบตง 18	เบตง	2.2	58.5	18.2x18.7	1.3	ใหญ่ ห่าง	เนื้อหนา กรอบแห้ง ล่อน	Y 5 D	อ่อน	หวานเย็นๆ	3

<u>ข้อมูลชุดที่ 2</u> การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของตัวอย่างทุเรียนพื้นบ้านในพื้นที่ 8 จังหวัดทางภาคใต้ ร่วมกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผล และคุณภาพการบริโภคจำนวน 50 ตัวอย่าง

สำหรับการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผล และคุณภาพในการบริโภคนั้น ได้ทำการศึกษาโดยเก็บข้อมูลต่างๆ ได้แก่ ขนาดผล น้ำหนัก ความหนาเปลือก ลักษณะหนาม ลักษณะเนื้อ สี กลิ่น รสชาติ และคะแนนความพึงพอใจ (1-5 คะแนน) โดยได้ทำการเก็บตัวอย่างเพิ่มใน 8 พื้นที่ภาคใต้ ดังนี้ (ตารางที่ 8-17 และภาพที่ 30-37)

กระบี่1 กระบี่2

กระบี่3 กระบี่4

กระบี่5 กระบี่6

กระบี่ 7 กระบี่8

ภาพที่ 30 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียนพื้นบ้านที่เก็บจากจังหวัดกระบี่

กระบี่ 9 กระบี่10

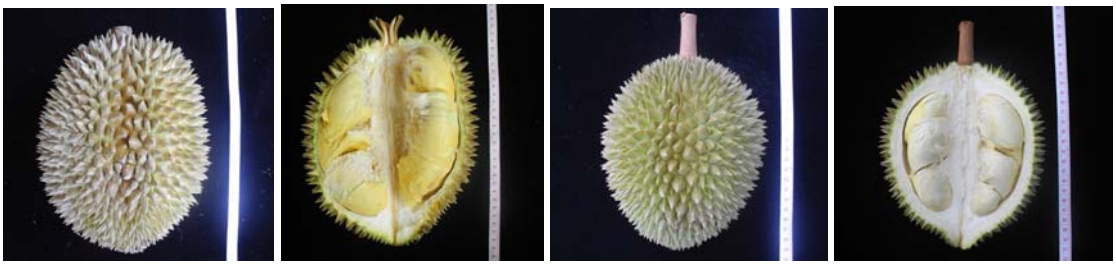
ภาพที่ 30 (ต่อ) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียนพื้นบ้านที่เก็บจากจังหวัดกระบี่

ขุนทอง สองปาง

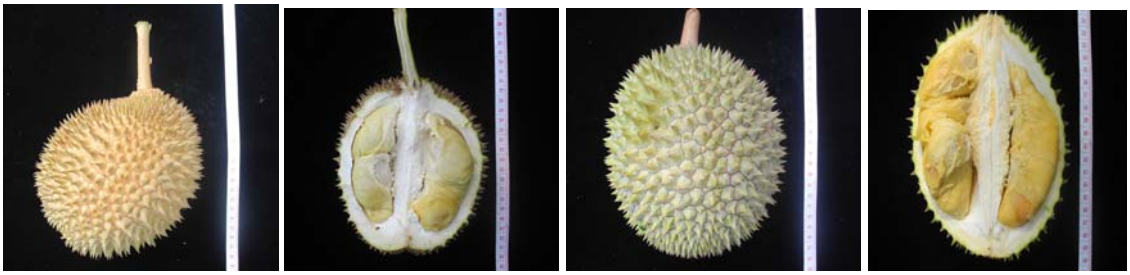
ป่าขมิ้น ปากท่อ1

กิ่งหัก หลังบ้าน

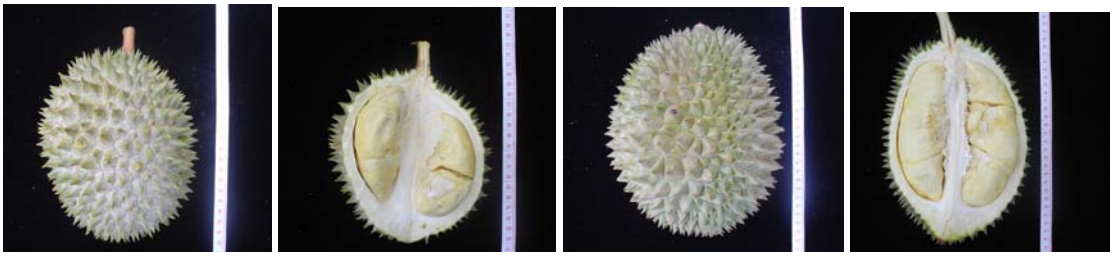
ภาพที่ 31 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียนพื้นบ้านที่เก็บจากจังหวัดพังงา



สาวนุ้ย มดแดง



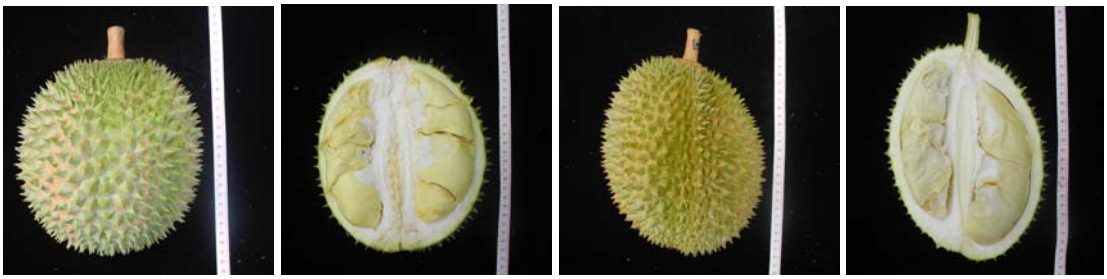
ขมิ้น1 ขมิ้น2



อีพริก ข้างบาดาล

ข้างทาง มังคุด

ภาพที่ 31 (ต่อ) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียนพื้นบ้านที่เก็บจากจังหวัดพังงา



ไอ้โถน หลังโรงก๊อง

ภาพที่ 31 (ต่อ) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียนพื้นบ้านที่เก็บจากจังหวัดพังงา

ตารางที่ 8 ข้อมูลทางสัณฐานวิทยาของทุเรียนพื้นบ้าน จังหวัดกระบี่ และพังงา

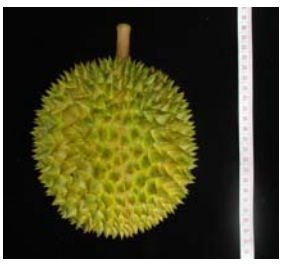
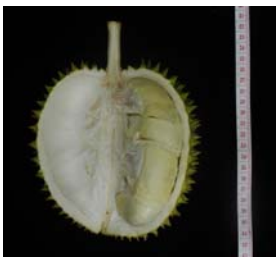
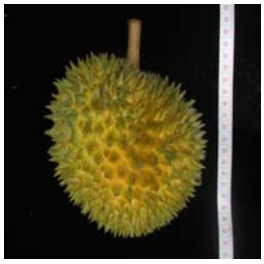
พันธุ์ (รหัส)	สถานที่	ขนาดผล			ความหนาเปลือก (cm)	ลักษณะหนาม	ลักษณะเนื้อ	สีเนื้อ	กลิ่น	รสชาติ	คะแนน (5 คะแนน)
		น้ำหนัก (Kg)	เส้นรอบวง (cm)	กxย (cm)							
1. กระบี่1	อ.เมือง จ.กระบี่	1.2	50	13x15	1	แหลมตรง	หนา ล่อน	สีชีด	ฉุนเล็กน้อย	ค่อนข้างจืด ขมเล็กน้อย	2.5
2. กระบี่2	,,	0.9	43.5	12.5x12.5	1	เว้าปลายแหลม	เละ	เหลืองนวล	แรง	หวาน	3
3 .กระบี่3	,,	1.8	52	12.6x12	1.5	นูนปลายแหลม	เละ ติดเมล็ด	เหลืองนวล	ฉุนเล็กน้อย	มันปนขม	3.5
4. กระบี่4	,,	1.2	49	14x13.5	0.5	แหลมตรง	ล่อน ไม่เละ	เหลืองอ่อน	ค่อนข้างอ่อน	มัน จืด	2.5
5. กระบี่5	,,	0.4	35	9.5x10	0.5	แหลมตรง	บาง ไม่เละ	เหลืองอ่อน	อ่อน	หวาน มัน	4.5
6.กระบี่6	,,	1.1	45	12x12	1	นูน	ล่อน หนา เนียน	เหลืองนวล	อ่อน	หวานมัน อร่อย	5
7.กระบี่7	,,	1.7	52.5	12x18	1	นูน	ล่อน หนา เนียน	เหลืองนวล	อ่อน	หวาน มัน	4
8.กระบี่8	,,	2.6	54	13x20	1	เว้าปลายแหลม	ล่อน แห้ง หยาบ	เหลืองเข้ม	อ่อน	หวาน	3
9.กระบี่9	,,	2	56	16.5x17	0.7	นูนปลายแหลม	ล่อน หนา ละเอียด	เหลืองส้ม	อ่อน	หวาน มัน ขมเล็กน้อย	4
10.กระบี่10	,,	1.6	47	14x20	0.8	โค้งงอ	แห้ง ละเอียด ล่อน	เหลืองนวล	อ่อน	หวาน มัน	4

ตารางที่ 8 (ต่อ) ข้อมูลทางสัณฐานวิทยาของทุเรียนพื้นบ้าน จังหวัดกระบี่ และพังงา

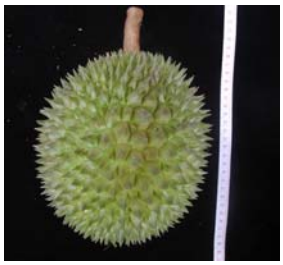
พันธุ์ (รหัส)	สถานที่	ขนาดผล			ความหนาเปลือก (cm)	ลักษณะหนาม	ลักษณะเนื้อ	สีเนื้อ	กลิ่น	รสชาติ	คะแนน (5คะแนน)
		น้ำหนัก (Kg)	เส้นรอบวง (cm)	กxย (cm)							
11. ขุนทอง	ต.ถ้ำ อ.ควนทุ่ง จ.พังงา	1.2	53.5	15.5x16.5	0.8	แหลมตรง	ล่อน หนา ละเอียด	เหลืองนวล	ฉุน	หวาน มัน	4.5
12. สองปาง	,,	1.5	52.8	18x18	0.6	เว้าปลายแหลม	หนา ละเอียด	เหลืองนวล	อ่อน	หวาน มัน	4.5
13. ป่าขมิ้น	อ.ตะกั่วป่า จ.พังงา	2.1	55	16x25	0.8	นูนปลายแหลม	แห้ง หนา ล่อน	เหลืองอ่อน	อ่อน	หวานปนขม	4.5
14. ปากท่อ	,,	2	53	14x20	1	แหลมตรง	หนา หยาบ ล่อน	เหลืองนวล	อ่อน	มันปนขม	4
15. กิ่งหัก	,,	1.1	47	12x18	0.6	โค้งงอ	เละ เนียน	เหลืองเข้ม	ฉุนเล็กน้อย	หวาน มัน	4
16. หลังบ้าน	,,	2	54.2	15x19.5	1	แหลมตรง	บาง เนียน	เหลืองเข้ม	อ่อน	หวาน มัน	4.5
17. สาวนุ้ย	,,	2.1	55	14x19.5	0.5	แหลมตรง	เนื้อล่อน ค่อนข้างหนา	เหลืองเข้ม	อ่อน	หวานน้อย	4
18. มดแดง	สวน 700 ไร่ อ. เหนือคลอง จ.กระบี่	0.9	43	11.5x15	1	แหลมตรง	ล่อน บาง	เหลืองอ่อน	อ่อน	หวานมัน	4.5
19. ขมิ้น1	,,	0.8	43	12x12.5	1.2	โค้งงอ	บาง เนียน	เหลืองเข้ม	อ่อน	หวานน้อย	4
20. ขมิ้น2	,,	1.1	45.2	10x12.5	1	โค้งงอ	บาง ล่อน	เหลืองเข้ม	อ่อน	หวาน	4
21. อีพริก	,,	0.8	42	11x14.5	0.9	แหลมตรง	เละ	เหลืองเข้ม	อ่อน	หวาน	4.5
22.ข้างบาดาล	,,	1.3	45	13x19.4	0.9	แหลมตรง	บาง หยาบ ล่อน	เหลืองนวล	มีกลิ่นเฉพาะ	หวานจัด ปนขม	4.5
23.ข้างทาง	,,	1.1	42.6	11x15	1.1	นูน	บาง ล่อน	เหลืองอ่อน	อ่อน	หวานจัด	4.5

ตารางที่ 8 (ต่อ) ข้อมูลทางสัณฐานวิทยาของทุเรียนพื้นบ้าน จังหวัดกระบี่ และพังงา

พันธุ์ (รหัส)	สถานที่	ขนาดผล			ความหนาเปลือก (cm)	ลักษณะหนาม	ลักษณะเนื้อ	สีเนื้อ	กลิ่น	รสชาติ	คะแนน (5คะแนน)
		น้ำหนัก (Kg)	เส้นรอบวง (cm)	กxย (cm)							
24. มังคุด	,,	1	43.5	13x17.5	0.8	นูนปลายแหลม	ล่อน หนา	เหลืองเข้ม	อ่อน	หวาน	4.5
25. ไอ้โถน	,,	1.3	49.6	14.7X16.7	0.9	เว้าปลายแหลม	แห้ง หนา ล่อน	เหลืองเข้ม	อ่อน	หวานน้อย	4.5
26. หลังโรงก๊อง	“	1.4	46	14.1x17.9	1.1	แหลมตรง	หนา เละ	เหลืองอ่อน	อ่อน	หวานเย็น ขมเล็กน้อย	4

สตูล1 สตูล2



สตูล3 สตูล4

วังประจัน

ภาพที่ 32 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียนพื้นบ้านที่เก็บจากจังหวัดสตูล

ตารางที่ 9 ข้อมูลทางสัณฐานวิทยาของทุเรียนพื้นบ้าน จังหวัดสตูล

พันธุ์ (รหัส)	สถานที่	ขนาดผล			ความหนาเปลือก (cm)	ลักษณะหนาม	ลักษณะเนื้อ	สีเนื้อ	กลิ่น	รสชาติ	คะแนน (5 คะแนน)
		น้ำหนัก (Kg)	เส้นรอบวง (cm)	กxย (cm)							
27. สตูล1	ต.ทุ่งนุ้ย อ.ควนกาหลง	0.9	43	13.2x14.5	0.7	นูน	ค่อนข้างบาง	สีครีม	อ่อน	หวานน้อย	4.5
	จ.สตูล										
28. สตูล2	,,	0.7	40.5	10.6x11	0.6	เว้าปลายแหลม	เละ	สีครีม	อ่อน	ขมเล็กน้อย	4
29. สตูล3	,,	1.3	40	10.7x15.6	1.2	เว้าปลายแหลม	แห้ง เนียน	เหลืองอ่อน	อ่อนมาก	มัน หวานน้อย	4.5
30..สตูล4	,,	1.4	49	13x17.6	1	นูนปลายแหลม	เนื้อเนียน	เหลือง	ค่อนข้างฉุน	ขม ไม่หวาน	4
							เละ บาง				
31.สตูล 5. (วังประจัน)	ต.วังประจัน อ.ควนโดน	1.2	44	12.5x17.8	1	เว้าปลายแหลม	เนียน ไม่เละ	ขาวซีด	อ่อน	มัน ไม่หวาน	4
	จ.สตูล						ล่อน			ขมเล็กน้อย	

พวงมณี 1 พวงมณี 2

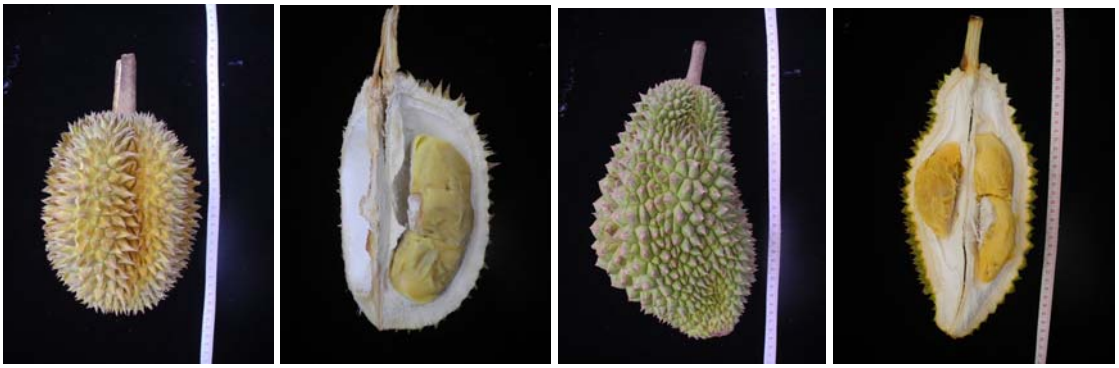
พวงมณี 3 พวงมณี 4

นาหม่อม 1 นาหม่อม 2

ภาพที่ 33 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียนพื้นบ้านที่เก็บจากจังหวัดสงขลา

ตารางที่ 10 ข้อมูลทางสัณฐานวิทยาของทุเรียนพื้นบ้าน จังหวัดสงขลา

พันธุ์ (รหัส)	สถานที่	ขนาดผล			ความหนาเปลือก (cm)	ลักษณะหนาม	ลักษณะเนื้อ	สีเนื้อ	กลิ่น	รสชาติ	คะแนน (5 คะแนน)
		น้ำหนัก (Kg)	เส้นรอบวง (cm)	กxย (cm)							
32.นาหม่อม 1	อ.นาหม่อม จ.สงขลา	1.1	43	12x18.5	1	แหลมตรง	เนียน เละ บาง	เหลืองอ่อน	ค่อนข้างฉุน	หวาน	3
33.นาหม่อม 2	,,	1.5	43	11.5x19	0.6	แหลมตรง	บาง เละ	เหลืองอ่อน	อ่อน	จืด	2
34.พวงมณี1	,,	1	39	12x20	1	นูนปลายแหลม	เนียน ล่อน	เหลืองส้ม	อ่อน	หวาน มัน	4.5
35.พวงมณี2	,,	0.95	42	9.5x18	1	นูนปลายแหลม	หยาบ มีเสี้ยน ล่อน	เหลืองส้ม	อ่อน	หวาน	4
36.พวงมณี3	,,	0.9	39.5	12x17	0.8	นูนปลายแหลม	ค่อนข้างเละ มีเสี้ยน	เหลืองส้ม	ค่อนข้างฉุน	หวานจัด	3.5
37.พวงมณี4	,,	0.9	43	12.3x15	0.8	นูนปลายแหลม	ค่อนข้างบาง ล่อน	เหลืองส้ม	อ่อน	หวานจัด	3.5



บาเจาะ 1 บาเจาะ 2

ภาพที่ 34 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียนพื้นบ้านที่เก็บจากจังหวัดนราธิวาส

ไอ้กล้วย ไอ้หนุน

ภาพที่ 35 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียนพื้นบ้านที่เก็บจากจังหวัดนครศรีธรรมราช

ตารางที่ 11 ข้อมูลทางสัณฐานวิทยาของทุเรียนพื้นบ้าน จังหวัดนราธิวาส

พันธุ์ (รหัส)	สถานที่	ขนาดผล			ความหนาเปลือก (cm)	ลักษณะหนาม	ลักษณะเนื้อ	สีเนื้อ	กลิ่น	รสชาติ	คะแนน (5 คะแนน)
		น้ำหนัก (Kg)	เส้นรอบวง (cm)	กxย (cm)							
38.บาเจาะ1	อ.บาเจาะ จ.นราธิวาส	1.1	47	12x15	1	โค้งงอ	ค่อนข้างเละ บางเนียนละเอียด	เหลืองเข้ม	อ่อน	หวานมัน	4
39.บาเจาะ2	,,	1.2	42	9.2x22.5	1.4	นูน	บาง เนียนเหนียว	เหลืองเข้ม	อ่อน	หวานจัดมันเล็กน้อย	4.5

ตารางที่ 12 ข้อมูลทางสัณฐานวิทยาของทุเรียนพื้นบ้าน จังหวัดนครศรีธรรมราช

พันธุ์ (รหัส)	สถานที่	ขนาดผล			ความหนาเปลือก (cm)	ลักษณะหนาม	ลักษณะเนื้อ	สีเนื้อ	กลิ่น	รสชาติ	คะแนน (5 คะแนน)
		น้ำหนัก (Kg)	เส้นรอบวง (cm)	กxย (cm)							
40..ไอ้กล้วย	ต.ควนกลาง อ.พิปูน จ.นครศรีธรรมราช	1.4	48.5	13x18	1	โค้งงอ	ค่อนข้างเละ บางล่อน	เหลืองเข้ม	อ่อน	หวานกำลังดีมันเล็กน้อย	4.5
41. ไอ้หนุน	,,	1.1	44	13.8x14.5	0.5	เว้าปลายแหลม	ค่อนข้างหนา หยาบ	เหลืองเข้ม	อ่อน	หวานน้อยมันปนขม	4.5

ชุมพร 1 ชุมพร 2

ชุมพร 3

ภาพที่ 36 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียนพื้นบ้านที่เก็บจากจังหวัดชุมพร

ตารางที่ 13 ข้อมูลทางสัณฐานวิทยาของทุเรียนพื้นบ้าน จังหวัดชุมพร

พันธุ์ (รหัส)	สถานที่	ขนาดผล			ความหนาเปลือก (cm)	ลักษณะหนาม	ลักษณะเนื้อ	สีเนื้อ	กลิ่น	รสชาติ	คะแนน (5 คะแนน)
		น้ำหนัก (Kg)	เส้นรอบวง (cm)	กxย (cm)							
42. ชุมพร 1	ต.วังใหม่ อ.เมือง จ.ชุมพร	2	54.5	13.5x9	0.7	นูน ปลายแหลม	กรอบ ไม่เละ	เหลืองซีด	อ่อน	หวานน้อย มัน ขมเล็กน้อย	3
43..ชุมพร 2	,,	1.3	50.5	13x13.5	1	นูน ปลายแหลม	เละ	เหลืองซีด	อ่อน	หวาน มันเล็กน้อย	4
44. ชุมพร 3	,,	0.9	43.5	10.5x11	0.6	แหลม เล็ก	แห้ง	เหลืองซีด	ฉุน	หวานพอดี	4

7. จังหวัดระนอง

ระนอง 1 ลุงสวัสดิ์ ลุงผล 1

ลุงผล 2 ลุงผล 3

ภาพที่ 37 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลทุเรียนพื้นบ้านที่เก็บจากจังหวัดระนอง

ตารางที่ 14 ข้อมูลทางสัณฐานวิทยาของทุเรียนพื้นบ้าน จังหวัดระนอง

พันธุ์ (รหัส)	สถานที่	ขนาดผล			ความหนาเปลือก (cm)	ลักษณะหนาม	ลักษณะเนื้อ	สีเนื้อ	กลิ่น	รสชาติ	คะแนน (5 คะแนน)
		น้ำหนัก (Kg)	เส้นรอบวง (cm)	กxย (cm)							
45. ระนอง 1	อ.กระบุรี จ. ระนอง	0.8	42.5	10x12	0.6	โค้งงอ	เนื้อหนา	เหลืองนวล	ฉุนเล็กน้อย	หวานขมเล็กน้อย	4
46.ระนอง 3	,,	-	-	10x12.5	0.6	ปลายแหลม	เนื้อแน่น ไม่เละ	สีซีด	อ่อน	หวานน้อย	4
47.ลุงผล 1	,,	1.2	53	12.5x14	1	เว้า ปลายแหลม	หนา แต่เละ	เหลืองอ่อน	อ่อน	หวาน มัน	4
48. ลุงผล 2	,,	1.5	49.5	16x14	1	โค้งงอ	เนื้อหนา แห้ง หยาบ	สีซีด	อ่อน	หวานปานกลาง มัน	3.5
49. ลุงผล 3	,,	1	43	13x13	1.5	เว้า ปลายแหลม	เนื้อหนา เนียน	เหลืองอ่อน	อ่อน	หวานปานกลาง	4
50. ลุงสวัสดิ์	,,	2.6	53.5	14x12	1	แหลมตรง	เนื้อแห้ง	สีซีด	อ่อน	หวานมันขมเล็กน้อย	4

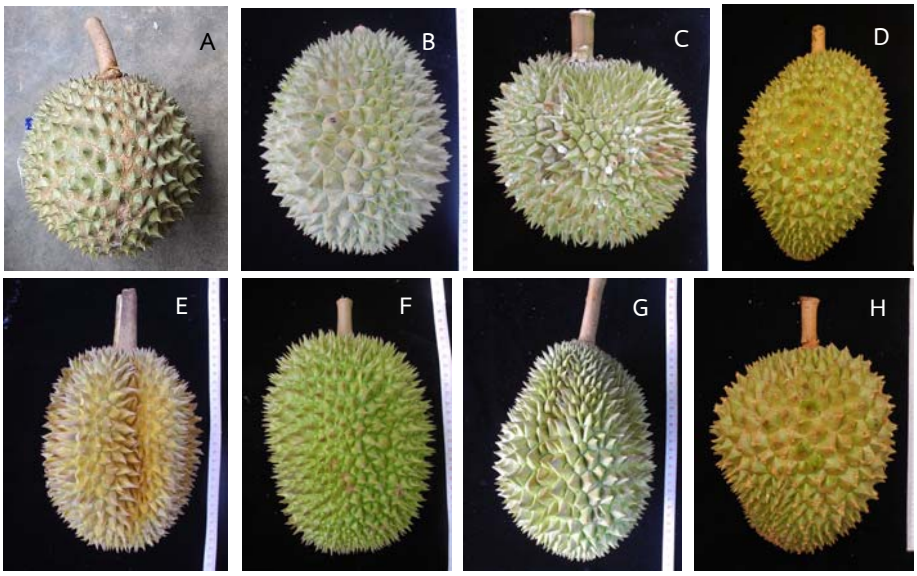
รายละเอียดการดำเนินงาน

1. จัดกลุ่มทุเรียนตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา

โครงการได้เก็บตัวอย่างทุเรียนพื้นบ้านเพิ่มเติมใน 8 จังหวัดของภาคใต้ ได้แก่ กระบี่ พังงา นครศรีธรรมราช สตูล สงขลา นราธิวาส ระนอง และชุมพร โดยได้เก็บข้อมูลในส่วนของลักษณะทางสัณฐานพบว่าเมื่อจัดกลุ่มของทุเรียนพื้นโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ รูปร่างผล ลักษณะหนาม และสีของเนื้อผล ซึ่งสามารถแบ่งกลุ่มได้ดังนี้

1.1 <u>รูปร่างผล</u>

จากการศึกษาลักษณะของทรงผลทุเรียนที่เก็บจาก 8 พื้นที่ในภาคใต้ พบว่าสามารถจำแนกทุเรียนพื้นบ้านได้เป็น 8 กลุ่ม ดังแสดงในภาพที่ 38



ภาพที่ 38 แสดงลักษณะรูปทรงผลทุเรียนแบบต่างๆ โดย (A) ผลทรงกลม, (B) ผลกลมรี, (C) ผลกลมแป้น (D) ผลรูปรี, (E) ผลรูปขอบขนาน, (F) ผลทรงกระบอก, (G) ผลรูปไข่ และ (H) ผลรูปไข่กลับ ตามลำดับ

1.1.1 กลุ่มที่มีรูปร่างผลทรงกลม มี 9 พันธุ์ ได้แก่ กระบี่ 2 กระบี่ 5 กระบี่ 9 ขุนทอง ขมิ้น 2 ไอ้โถน ไอ้หนุน ระนอง 1 และ ลุงผล 1

1.1.2 กลุ่มที่มีรูปร่างผลกลมรี มี 12 พันธุ์ ได้แก่ กระบี่ 1 กระบี่ 7 กระบี่ 9 หลังบ้าน มดแดง ขมิ้น 1 อีพริก ข้างบาดาล หลังโรงก๊อง สตูล 1 สตูล 4 และ นาหม่อม 2

1.1.3 กลุ่มที่มีรูปร่างผลกลมแป้น มี 2 พันธุ์ ได้แก่ กระบี่ 4 และ ลุงผล 2

1.1.4 กลุ่มที่มีรูปร่างผลรูปรี มี 7 พันธุ์ ได้แก่ กระบี่ 3 กระบี่ 6 ป่าขมิ้น มังคุด พวงมณี 1 นาหม่อม 1 และ บาเจาะ 2

1.1.5 กลุ่มที่มีรูปร่างผลรูปขอบขนาน มี 5 พันธุ์ ได้แก่ กระบี่ 8 ปากท่อ กิ่งหัก สาวน้อย และ บาเจาะ 1

1.1.6 กลุ่มที่มีรูปร่างผลทรงกระบอก มี 5 พันธุ์ ได้แก่ ข้างทาง สตูล 3 พวงมณี ชุมพร 1 และ ชุมพร 3

1.1.7 กลุ่มที่มีรูปร่างผลรูปไข่ มี 5 พันธุ์ ได้แก่ กระบี่ 10 สองปาง สตูล 5 ไอ้กล้วย และ ลุงผล 3

1.1.8 กลุ่มที่มีรูปร่างผลรูปไข่กลับ มี 5 พันธุ์ ได้แก่ สตูล 2 พวงมณี 2 พวงมณี 4 ชุมพร 2 และ ลุงสวัสดิ์

1.2 <u>ลักษณะหนาม</u>

จากการศึกษาลักษณะของหนามทุเรียนที่เก็บจาก 8 พื้นที่ในภาคใต้ ในครั้งนี้พบว่าสามารถจำแนกทุเรียนพื้นบ้านตามลักษณะหนามได้เป็น 6 กลุ่ม ดังนี้

ภาพที่ 39 แสดงลักษณะรูปทรงหนามทุเรียนแบบต่างๆ โดย (A) หนามโค้งงอ, (B) หนามเว้า, (C) หนามนูน (D) หนามแหลมตรง, (E) หนามนูนปลายแหลม, และ (F) หนามเว้าปลายแหลม ตามลำดับ

1.2.1 กลุ่มที่มีหนามโค้งงอ มี 8 พันธุ์ ได้แก่ กระบี่ 10 กิ่งหัก ขมิ้น 1 ขมิ้น 2 บาเจาะ 1 ไอ้กล้วย ระนอง 1 และ ลุงผล 2

1.2.2 กลุ่มที่มีหนามเว้า มี 1 พันธุ์ คือ ระนอง 3

1.2.3 กลุ่มที่มีหนามนูน มี 5 พันธุ์ ได้แก่ กระบี่ 6 กระบี่ 7 ข้างทาง สตูล 1 และ บาเจาะ 2

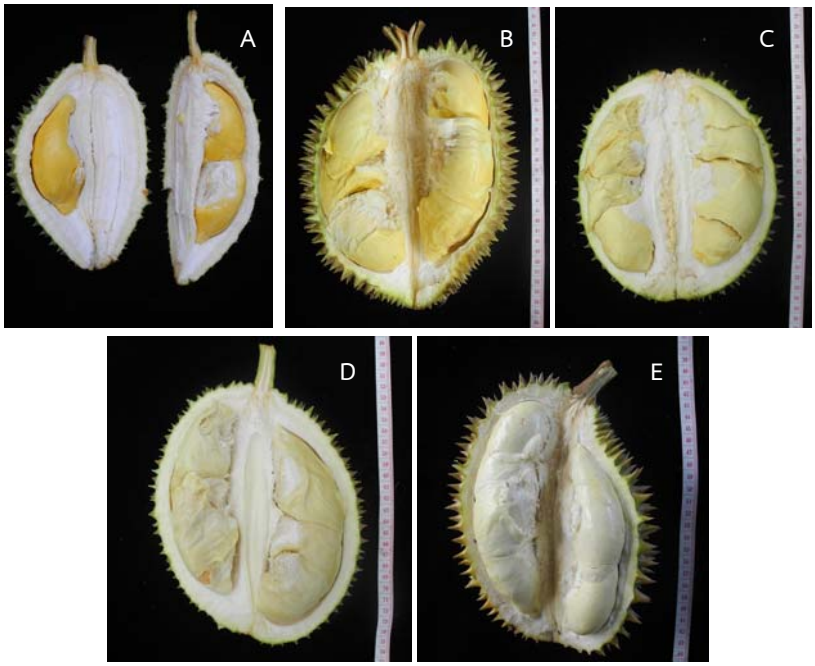
1.2.4 กลุ่มที่มีหนามแหลมตรง มี 16 พันธุ์ ได้แก่ กระบี่ 1 กระบี่ 4 กระบี่ 5 ขุนทอง ปากท่อ หลังบ้าน สาวน้อย มดแดง อีพริก ข้างบาดาล หลังโรงก๊อง นาหม่อม 1 นาหม่อม 2 ชุมพร 3 และลุงสวัสดิ์

1.2.5 กลุ่มที่มีหนามนูนปลายแหลม มี 11 พันธุ์ ได้แก่ กระบี่ 3 กระบี่ 9 ป่าขมิ้น มังคุด สตูล 4 พวงมณี 1 พวงมณี 2 พวงมณี 3 พวงมณี 4 ชุมพร 1 และ ชุมพร 2

1.2.6 กลุ่มที่มีหนามเว้าปลายแหลม มี 9 พันธุ์ ได้แก่ กระบี่ 2 กระบี่ 8 สองปาง ไอ้โถน สตูล 2 สตูล 3 ไอ้หนุน ลุงผล 1 และ ลุงผล 3

1.3 <u>สีเนื้อ</u>

จากการศึกษาลักษณะของสีเนื้อผลทุเรียนที่เก็บจาก 8 พื้นที่ในภาคใต้ ในครั้งนี้พบว่าสามารถจำแนกทุเรียนพื้นบ้านได้เป็น 5 กลุ่ม ดังนี้



ภาพที่ 40 แสดงลักษณะสีเนื้อผลทุเรียนต่างๆ โดย (A) สีเหลืองส้ม, (B) สีเหลืองเข้ม, (C) สีเหลืองนวล, (D) สีเหลืองอ่อนและ (E) สีเหลืองซีด ตามลำดับ

1.3.1 กลุ่มที่มีเนื้อสีเหลืองส้ม มี 6 พันธุ์ ได้แก่ กระบี่ 9 พวงมณี 1 พวงมณี 2 พวงมณี 3 พวงมณี 4 และ บาเจาะ 2

1.3.2 กลุ่มที่มีเนื้อสีเหลืองเข้ม มี 12 พันธุ์ ได้แก่ กระบี่ 8 กิ่งหัก หลังบ้าน สาวน้อย ขมิ้น 1 ขมิ้น 2 อีพริก มังคุด ไอ้โถน บาเจาะ 1 ไอ้กล้วย และ ไอ้หนุน

1.3.3 กลุ่มที่มีเนื้อสีเหลืองนวล มี 10 พันธุ์ ได้แก่ กระบี่ 2 กระบี่ 3 กระบี่ 6 กระบี่ 7 กระบี่ 10 ขุนทอง สองปาง ปากท่อ ข้างบาดาล และ ระนอง 1

1.3.4 กลุ่มที่มีเนื้อสีเหลืองอ่อน มี 11 พันธุ์ ได้แก่ กระบี่ 4 กระบี่ 5 ป่าขมิ้น มดแดง ข้างทาง หลังโรงก๊อง สตูล 3 นาหม่อม 1 นาหม่อม 2 ลุงผล 1 และ ลุงผล 3

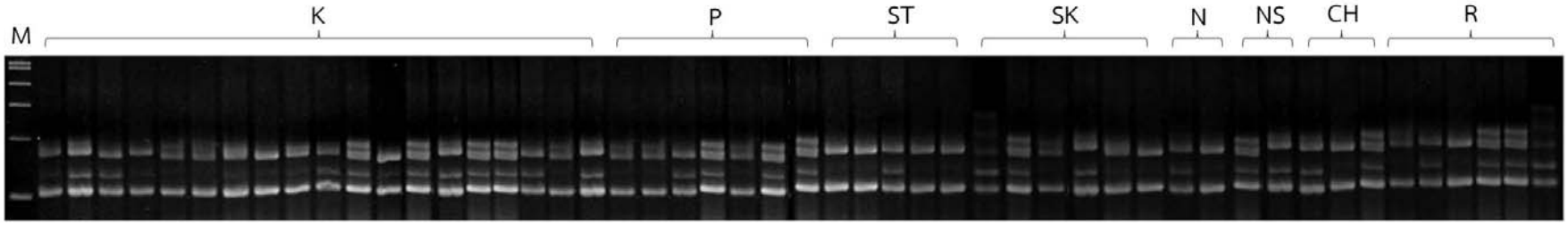
1.3.5 กลุ่มที่มีเนื้อสีเหลืองซีด มี 10 พันธุ์ ได้แก่ กระบี่ 1 สตูล 1 สตูล 2 สตูล 5 ชุมพร 1 ชุมพร 2 ชุมพร 3 ระนอง 2 ลุงผล 2 และ ลุงสวัสดิ์

2. ศึกษาความใกล้ชิดทางพันธุกรรมโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล

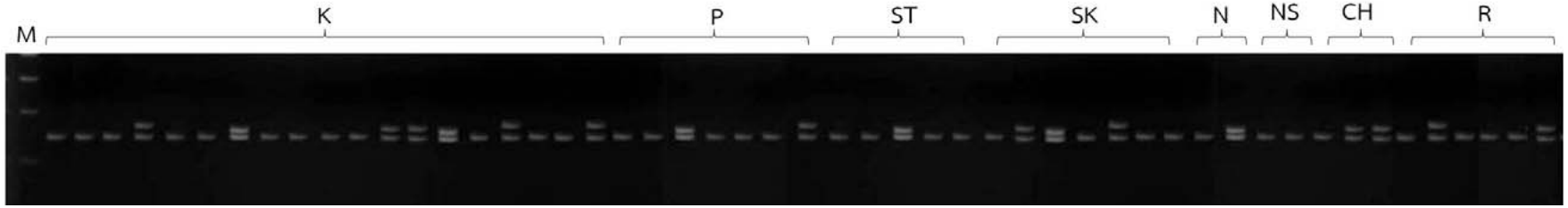
สำหรับการศึกษาความใกล้ชิดทางพันธุกรรมนั้น ได้ศึกษาโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล 2 ชนิด คือ เครื่องหมายอาร์เอพีดี และไมโครแซทเทลไลท์ จากผลการวิเคราะห์พันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านภาคใต้โดยใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ โดยใช้คู่ไพรเมอร์ จำนวน 6 คู่ (ตารางที่15) โดยเครื่องหมายแต่ละคู่สามารถแสดงอัลลีลที่แตกต่างกันได้ดังภาพที่ 41-46

ตารางที่ 15 แสดงชนิดของไพรเมอร์ และลำดับเบสของเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ที่ใช้วิเคราะห์พันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านภาคใต้

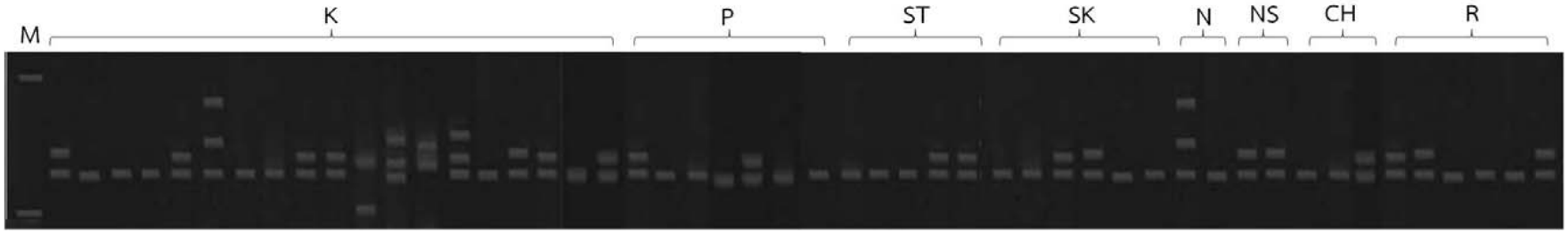
Primer	Sequence 5′ ⟶ 3′	
	Forward	Reward
MS1CT-7	CAT GGA CAA GAA AGC GAT GA	TGG ATC AGA TGA ATC AGG TTG
MS1CT-9	CCC TAC GTT ACA TGA TGA TCC A	CCA TTT TGC TCC CTT ACT CTT C
MS1CT-16	TCC CCA GTT TTC GAC AGT CC	GAC GTC GTT TTG GAA GGG TA
MS1CT-27	CAA TGC TTC CAG GTT TCC AT	CCT GGC AGG TTA TTT AT
MS1AAC-2	GAA AAA CTA AGC CCC CAA CC	ATG AAC ACC ACC ACC TCC A
MS1AAC-19	AGC CCA TTT GGT GCT GTA AT	AGC AAC CTC AGC CAT TGT TT



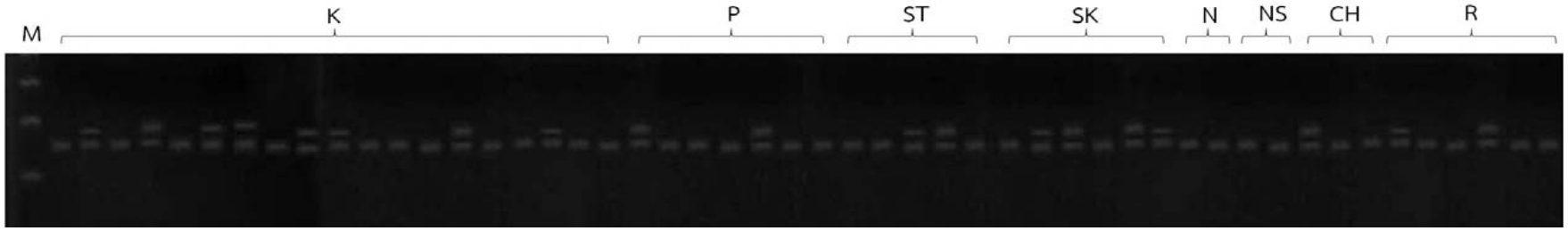
ภาพที่ 41 ลักษณะแถบดีเอ็นเอจากการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ด้วยไพรเมอร์ MS1CT-7 โดย M คือ DNA ladder ขนาด 100 bp, K คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดกระบี่, P คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดพังงา, ST คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดสตูล, SK คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดสงขลา, N คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดนราธิวาส, NS คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดนครศรีธรรมราช, CH คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดชุมพร และ R คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดระนอง



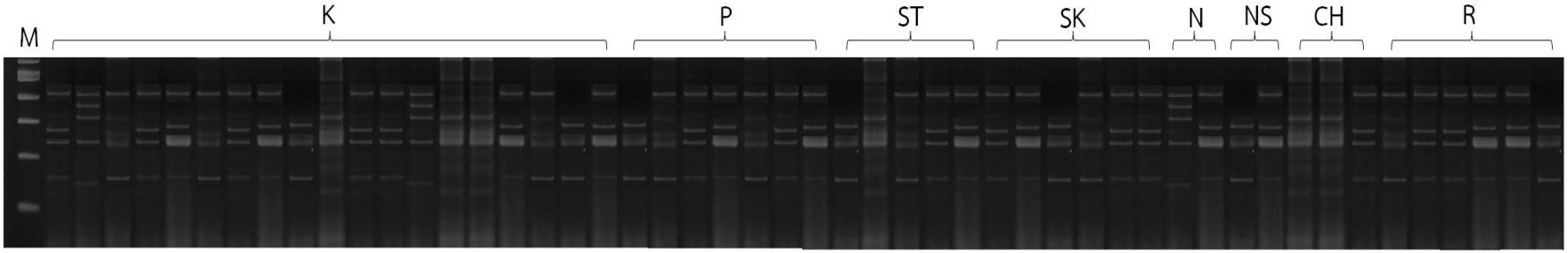
ภาพที่ 42 ลักษณะแถบดีเอ็นเอจากการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ด้วยไพรเมอร์ MS1CT-9 โดย M คือ DNA ladder ขนาด 100 bp, K คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดกระบี่, P คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดพังงา, ST คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดสตูล, SK คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดสงขลา, N คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดนราธิวาส, NS คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดนครศรีธรรมราช, CH คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดชุมพร และ R คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดระนอง



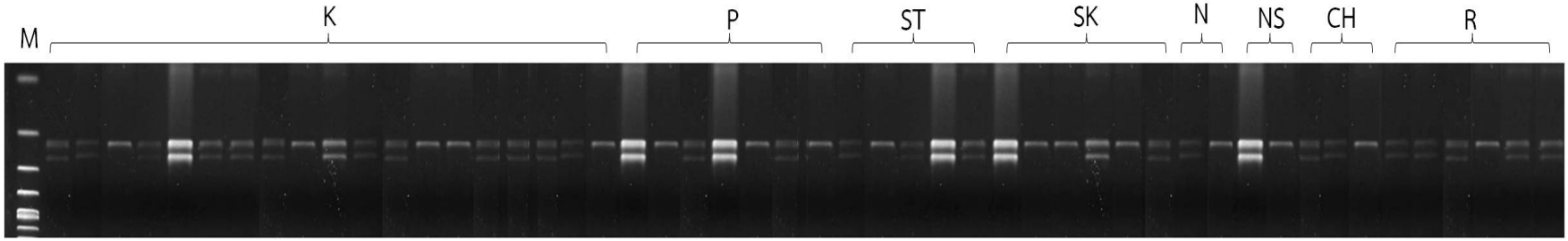
ภาพที่ 43 ลักษณะแถบดีเอ็นเอจากการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ด้วยไพรเมอร์ MS1CT-16 โดย M คือ DNA ladder ขนาด 100 bp, K คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดกระบี่, P คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดพังงา, ST คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดสตูล, SK คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดสงขลา, N คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดนราธิวาส, NS คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดนครศรีธรรมราช, CH คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดชุมพร และ R คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดระนอง



ภาพที่ 44 ลักษณะแถบดีเอ็นเอจากการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ด้วยไพรเมอร์ MS1CT-27 โดย M คือ DNA ladder ขนาด 100 bp, K คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดกระบี่, P คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดพังงา, ST คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดสตูล, SK คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดสงขลา, N คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดนราธิวาส, NS คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดนครศรีธรรมราช, CH คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดชุมพร และ R คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดระนอง



ภาพที่ 45 ลักษณะแถบดีเอ็นเอจากการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ด้วยไพรเมอร์ MS1AAC-2 โดย M คือ DNA ladder ขนาด 100 bp, K คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดกระบี่, P คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดพังงา, ST คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดสตูล, SK คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดสงขลา, N คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดนราธิวาส, NS คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดนครศรีธรรมราช, CH คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดชุมพร และ R คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดระนอง

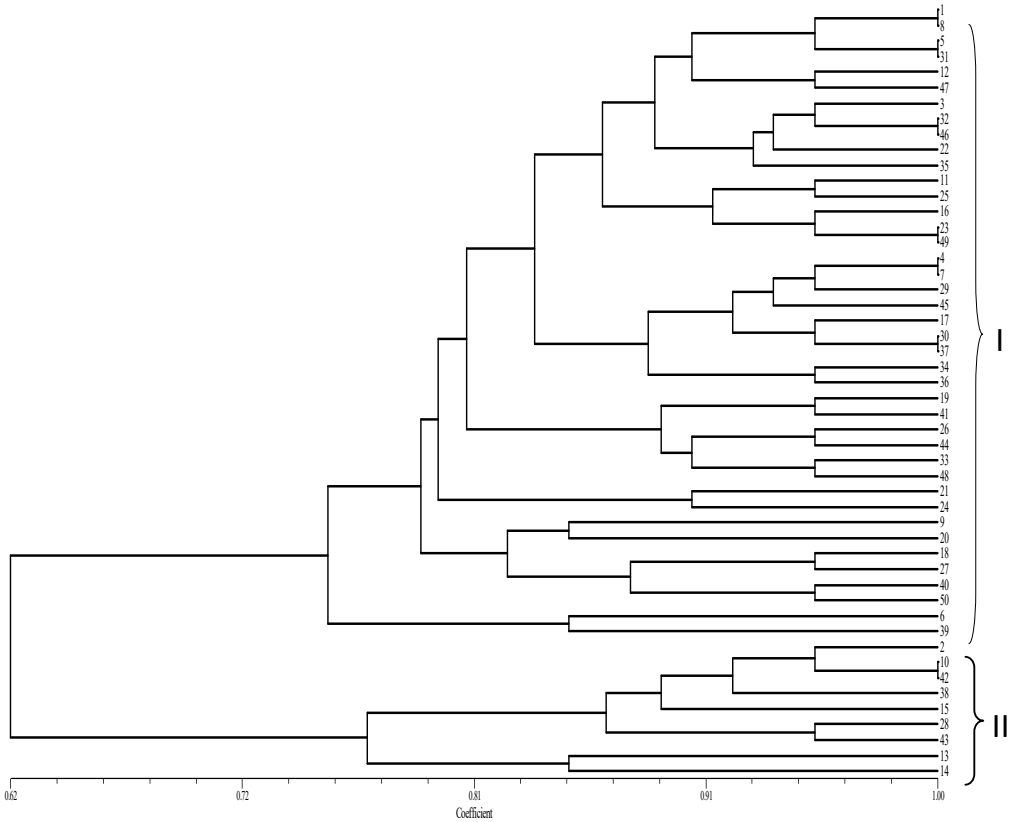


ภาพที่ 46 ลักษณะแถบดีเอ็นเอจากการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ด้วยไพรเมอร์ MS1AAC-19 โดย M คือ DNA ladder ขนาด 100 bp, K คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดกระบี่, P คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดพังงา, ST คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดสตูล, SK คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดสงขลา, N คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดนราธิวาส, NS คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดนครศรีธรรมราช, CH คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดชุมพร และ R คือ ตัวอย่างทุเรียนจากจังหวัดระนอง

สำหรับการวิเคราะห์พันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านในภาคใต้ของทุเรียน 50 ตัวอย่าง ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลท์ จำนวน 6 เครื่องหมาย คือ MS1CT-7, MS1CT-9, MS1CT-16, MS1CT-27, MS1AAC-2 และ MS1AAC-19 พบว่าทั้ง 6 เครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลท์สามารถแยกความแตกต่างได้ และเมื่อนำข้อมูลข้างต้นมาศึกษาความใกล้ชิดทางพันธุกรรมด้วยวิธี UPGMA ในโปรแกรม NTSYS (version 2.1) พบว่า มีค่าดัชนีความใกล้ชิดอยู่ระหว่าง 0.62-0.98 และสามารถจัดกลุ่มได้เป็น 2 กลุ่ม ซึ่งแต่ละกลุ่มตัวอย่างไม่มีความสัมพันธ์กับแหล่งที่มา (ภาพที่ 47) โดยมีรายละเอียดดังนี้

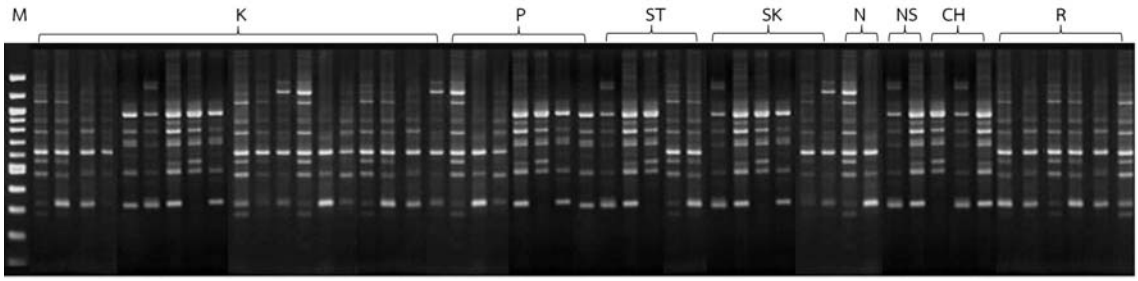
กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย 41 พันธุ์ ได้แก่ กระบี่1 กระบี่3 กระบี่4 กระบี่5 กระบี่6 กระบี่7 กระบี่8 กระบี่9 ขุนทอง สองปาง หลังบ้าน สาวน้อย มดแดง ขมิ้น1 ขมิ้น2 อีพริก ข้างบาดาล ข้างทาง มังคุด ไอ้โถน หลังโรงก๊อง สตูล1 สตูล3 สตูล4 สตูล5 นาหม่อม1 นาหม่อม2 พวงมณี1 พวงมณี2 พวงมณี3 พวงมณี4 บาเจาะ2 ไอ้กล้วย ไอ้หนุน ชุมพร3 ระนอง1 ระนอง3 ลุงผล1 ลุงผล2 ลุงผล3 และลุงสวัสดิ์

กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย 9 พันธุ์ ได้แก่ กระบี่2 กระบี่10 ป่าขมิ้น ปากท่อ1 กิ่งหัก สตูล2 บาเจาะ1 ชุมพร 1 และชุมพร2

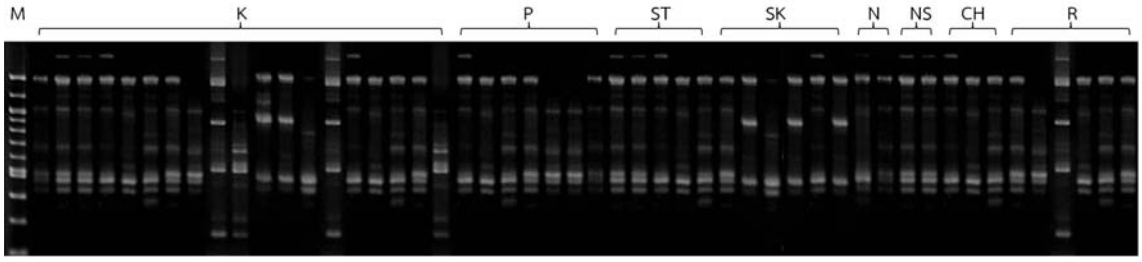


ภาพที่ 47 เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของทุเรียน 50 ตัวอย่าง จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ จำนวน 6 คู่ไพรเมอร์

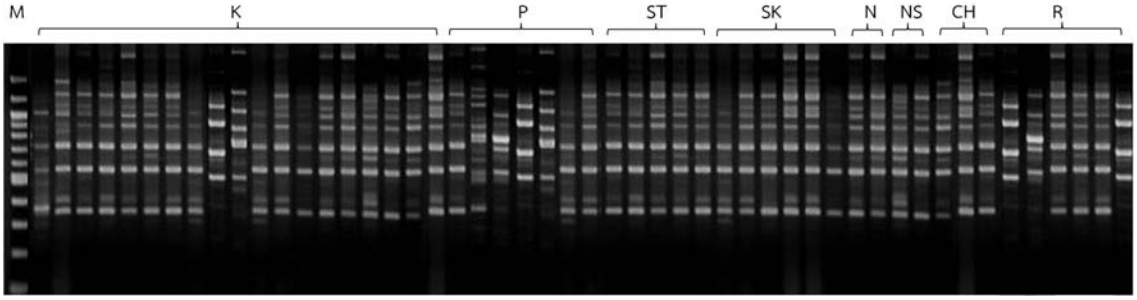
ส่วนการวิเคราะห์พันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านในภาคใต้ของทุเรียน 50 ตัวอย่าง ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลอาร์เอพีดี โดยคัดเลือกจากไพรเมอร์ที่ให้แถบพอลิมอร์ฟิคชัดเจนที่สุดจำนวน 8 ไพรเมอร์ (รูปที่ 48-55) พบว่าให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 88 แถบ เป็นแถบพอลิมอร์ฟิค 79 แถบ คิดเป็น 89.77 เปอร์เซ็นต์ ของแถบดีเอ็นเอทั้งหมด เมื่อวิเคราะห์การจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA พบว่า มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของตัวอย่างทุเรียนพื้นบ้าน มีค่าอยู่ระหว่าง 0.76-0.92



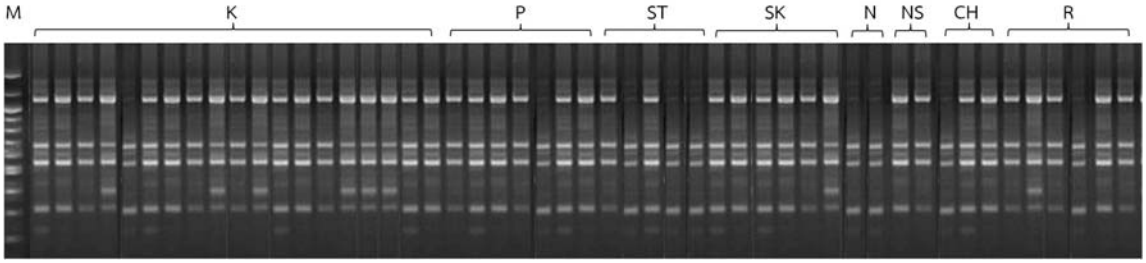
ภาพที่ 48 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียนทั้ง 8 พื้นที่ โดย M (marker ขนาด 100 bp) K = กระบี่, P = พังงา, ST = สตูล, SK = สงขลา, N = นราธิวาส, NS = นครศรีธรรมราช, CH = ชุมพร และ R = ระนอง ด้วยไพรเมอร์ OPA-19



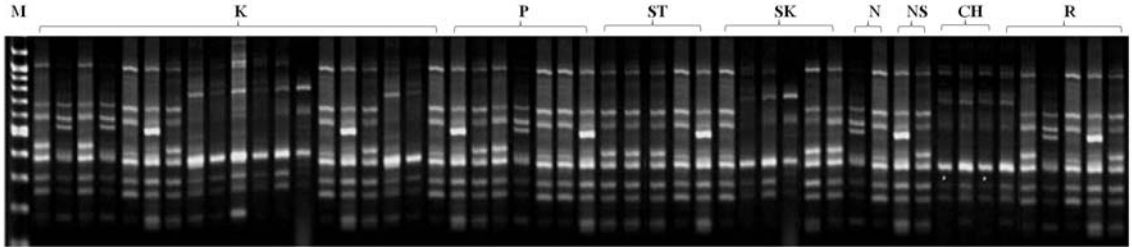
ภาพที่ 49 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียนทั้ง 8 พื้นที่ โดย M (marker ขนาด 100 bp) K = กระบี่, P = พังงา, ST = สตูล, SK = สงขลา, N = นราธิวาส, NS = นครศรีธรรมราช, CH = ชุมพรและ R = ระนอง ด้วยไพรเมอร์ OPAM-03



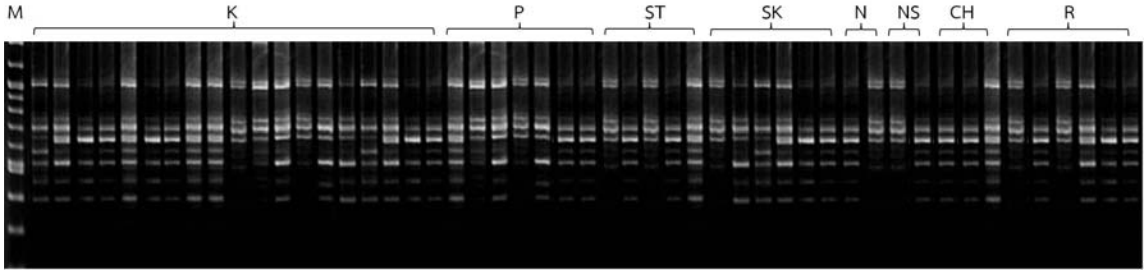
ภาพที่ 50 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียนทั้ง 8 พื้นที่ โดย M (marker ขนาด 100 bp) K = กระบี่, P = พังงา, ST = สตูล, SK = สงขลา, N = นราธิวาส, NS = นครศรีธรรมราช, CH = ชุมพร และ R = ระนอง ด้วยไพรเมอร์ OPAM-13



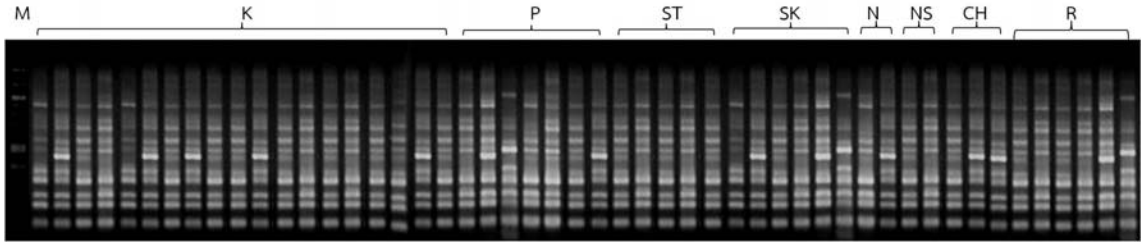
ภาพที่ 51 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียนทั้ง 8 พื้นที่ โดย M (marker ขนาด 100 bp) K = กระบี่, P = พังงา, ST = สตูล, SK = สงขลา, N = นราธิวาส, NS = นครศรีธรรมราช, CH = ชุมพร และ R = ระนอง ด้วยไพรเมอร์ OPB-01



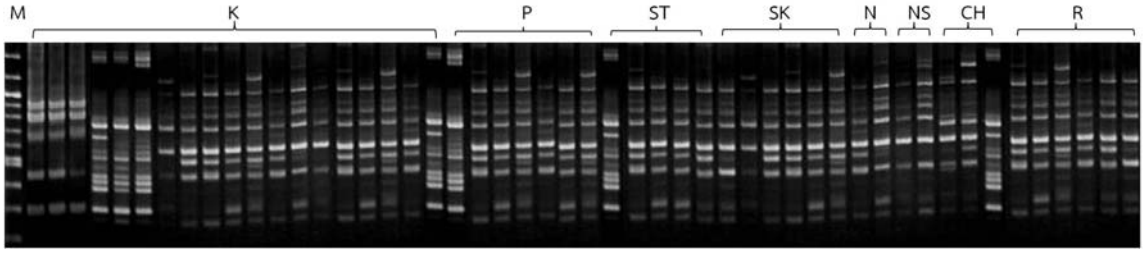
ภาพที่ 52 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียนทั้ง 8 พื้นที่ โดย M (marker ขนาด 100 bp) K = กระบี่, P = พังงา, ST = สตูล, SK = สงขลา, N = นราธิวาส, NS = นครศรีธรรมราช, CH = ชุมพร และ R = ระนอง ด้วยไพรเมอร์ OPB-14



ภาพที่ 53 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียนทั้ง 8 พื้นที่ โดย M (marker ขนาด 100 bp) K = กระบี่, P = พังงา, ST = สตูล, SK = สงขลา, N = นราธิวาส, NS = นครศรีธรรมราช, CH = ชุมพรและ R = ระนอง ด้วยไพรเมอร์ OPC-05



ภาพที่ 54 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียนทั้ง 8 พื้นที่ โดย M (marker ขนาด 100 bp) K = กระบี่, P = พังงา, ST = สตูล, SK = สงขลา, N = นราธิวาส, NS = นครศรีธรรมราช, CH = ชุมพรและ R = ระนอง ด้วยไพรเมอร์ OPK-08



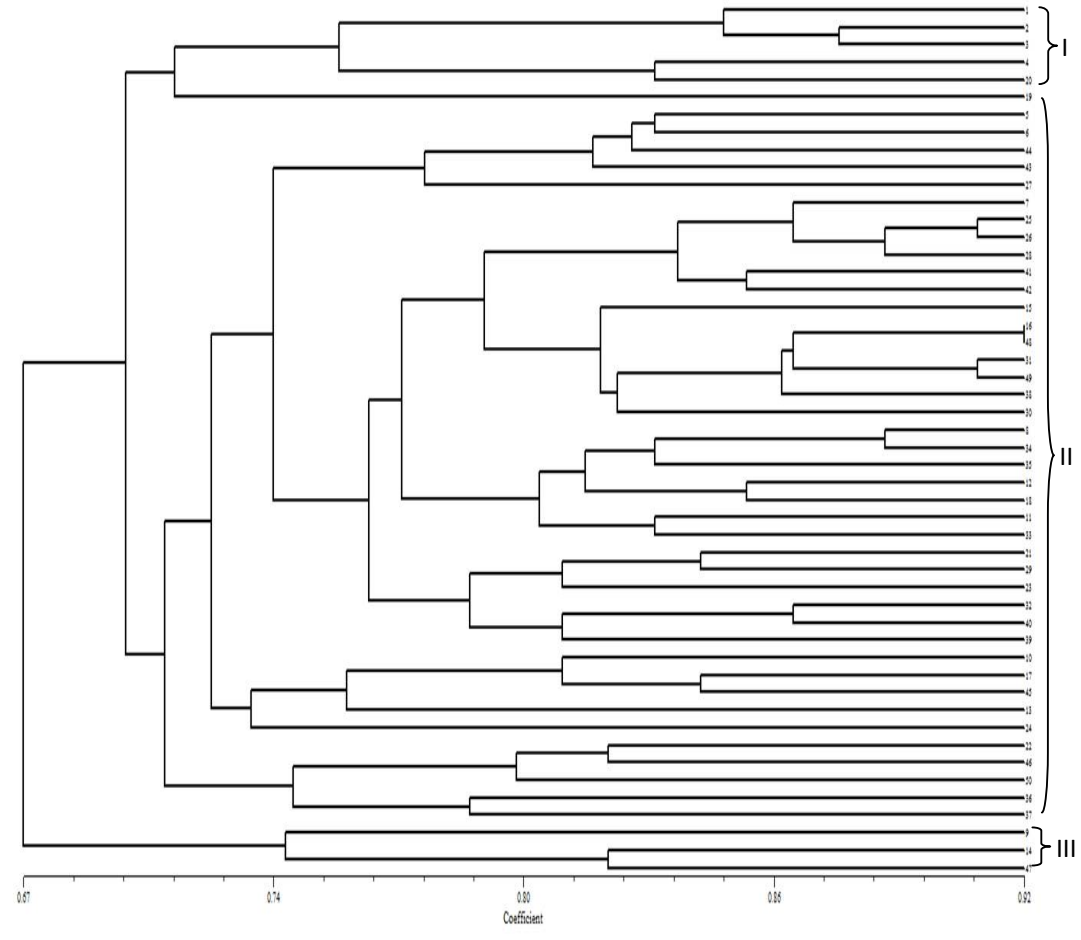
ภาพที่ 55 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียนทั้ง 8 พื้นที่ โดย M (marker ขนาด 100 bp) K = กระบี่, P = พังงา, ST = สตูล, SK = สงขลา, N = นราธิวาส, NS = นครศรีธรรมราช, CH = ชุมพรและ R = ระนอง ด้วยไพรเมอร์ OPZ-03

เมื่อวิเคราะห์การจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA พบว่า มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของตัวอย่างทุเรียนพื้นบ้านอยู่ระหว่าง 0.76-0.92 โดยสามารถแบ่งกลุ่มของทุเรียนพื้นบ้านภาคใต้ได้เป็น 4 กลุ่ม พบว่าสมาชิกในแต่ละกลุ่มไม่สัมพันธ์กับแหล่งปลูกเช่นกัน (ภาพที่ 56) รายละเอียดมีดังนี้

กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย 6 สายต้น ได้แก่ กระบี่1 กระบี่2 กระบี่3 กระบี่4 ขมิ้น1 และขมิ้น2

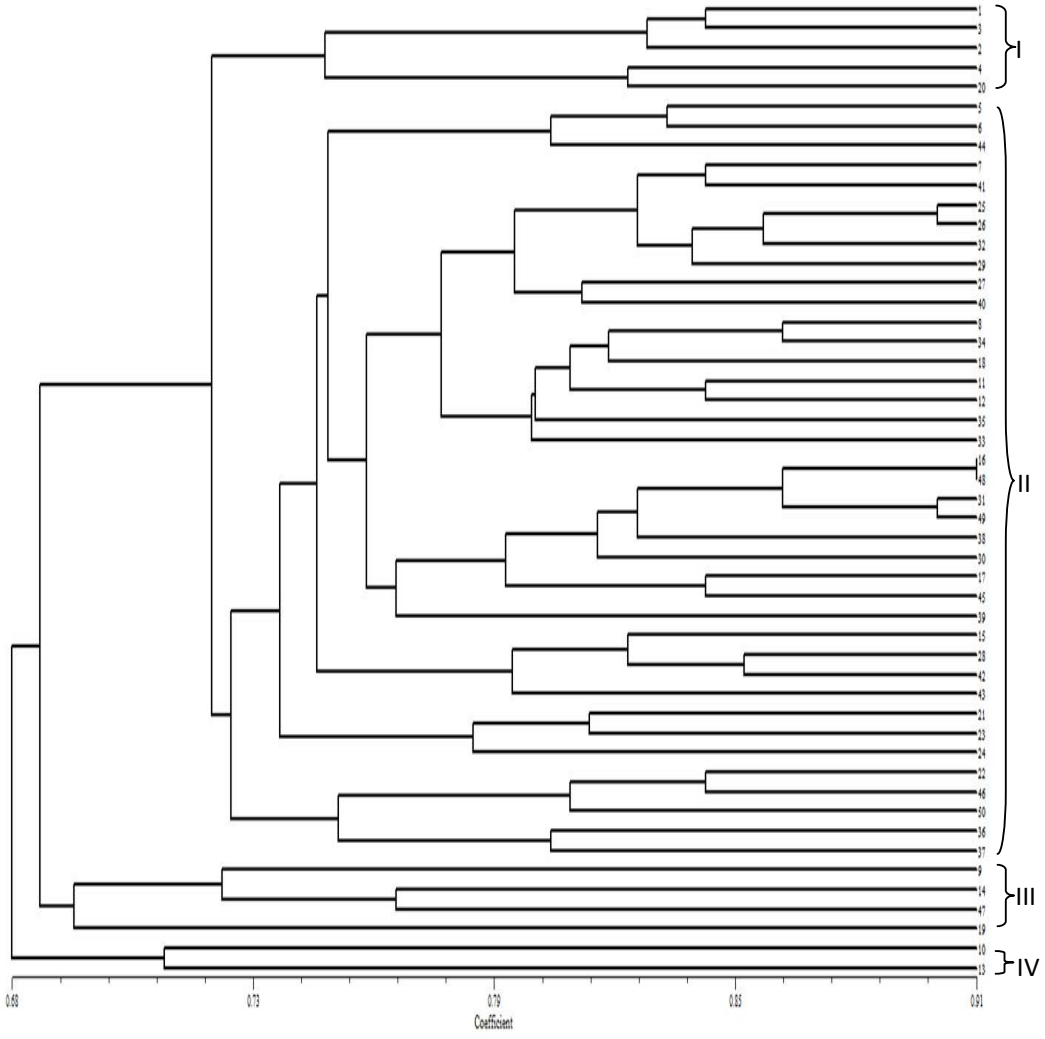
กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย 41 สายต้น ได้แก่ กระบี่5 กระบี่6 กระบี่7 กระบี่8 กระบี่10 ขุนทอง สองปาง ป่าขมิ้น กิ่งหัก หลังบ้าน สาวน้อย มดแดง อีพริก ข้างบาดาล ข้างทาง มังคุด ไอ้โถน หลังโรงก๊อง สตูล1 สตูล2 สตูล3 สตูล4 สตูล5 นาหม่อม1 นาหม่อม2 พวงมณี1 พวงมณี2 พวงมณี3 พวงมณี4 บาเจาะ1 บาเจาะ2 ไอ้กล้วย ไอ้หนุน ชุมพร 1 ชุมพร 2 ชุมพร3 ระนอง1 ระนอง2 ลุงผล2 ลุงผล3 และลุงสวัสดิ์

กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วย 3 สายต้น ได้แก่ กระบี่9 ปากท่อ1 และลุงผล1



ภาพที่ 56 เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของทุเรียน 50 ตัวอย่าง จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายอาร์เอพีดีจำนวน 8 ไพรเมอร์

การศึกษาความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของทุเรียน โดยนำแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี 8 ไพรเมอร์ ร่วมกับไมโคร แซทเทลไลท์ 6 เครื่องหมาย ทั้งหมด 108 แถบ ไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมด้วยโปรแกรม NTSYS พบว่า มีค่าดัชนีความใกล้ชิดอยู่ระหว่าง 0.68-0.91 โดยสามารถจัดกลุ่มได้เป็น 4 กลุ่ม (ภาพที่ 57) ดังนี้



ภาพที่ 57 เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของทุเรียน 50 ตัวอย่าง จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายอาร์เอพีดีจำนวน 8 ไพรเมอร์ ร่วมกับเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ จำนวน 6 คู่ไพรเมอร์

การวิเคราะห์ความใกล้ชิดทางพันธุกรรมร่วมกันของตัวอย่างทุเรียนพื้นบ้านทั้ง 2 ชุดจำนวน 117 สายต้นด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์

เมื่อนำข้อมูลทั้งสองชุดจำนวน 117 ตัวอย่างมาทำการวิเคราะห์ร่วมกัน เลือกเฉพาะข้อมูลที่ได้จากการทำเฉพาะไมโครแซทเทลไลท์ โดยวิเคราะห์ความใกล้ชิดทางพันธุกรรม และนำมาสร้างเดนโดรแกรม

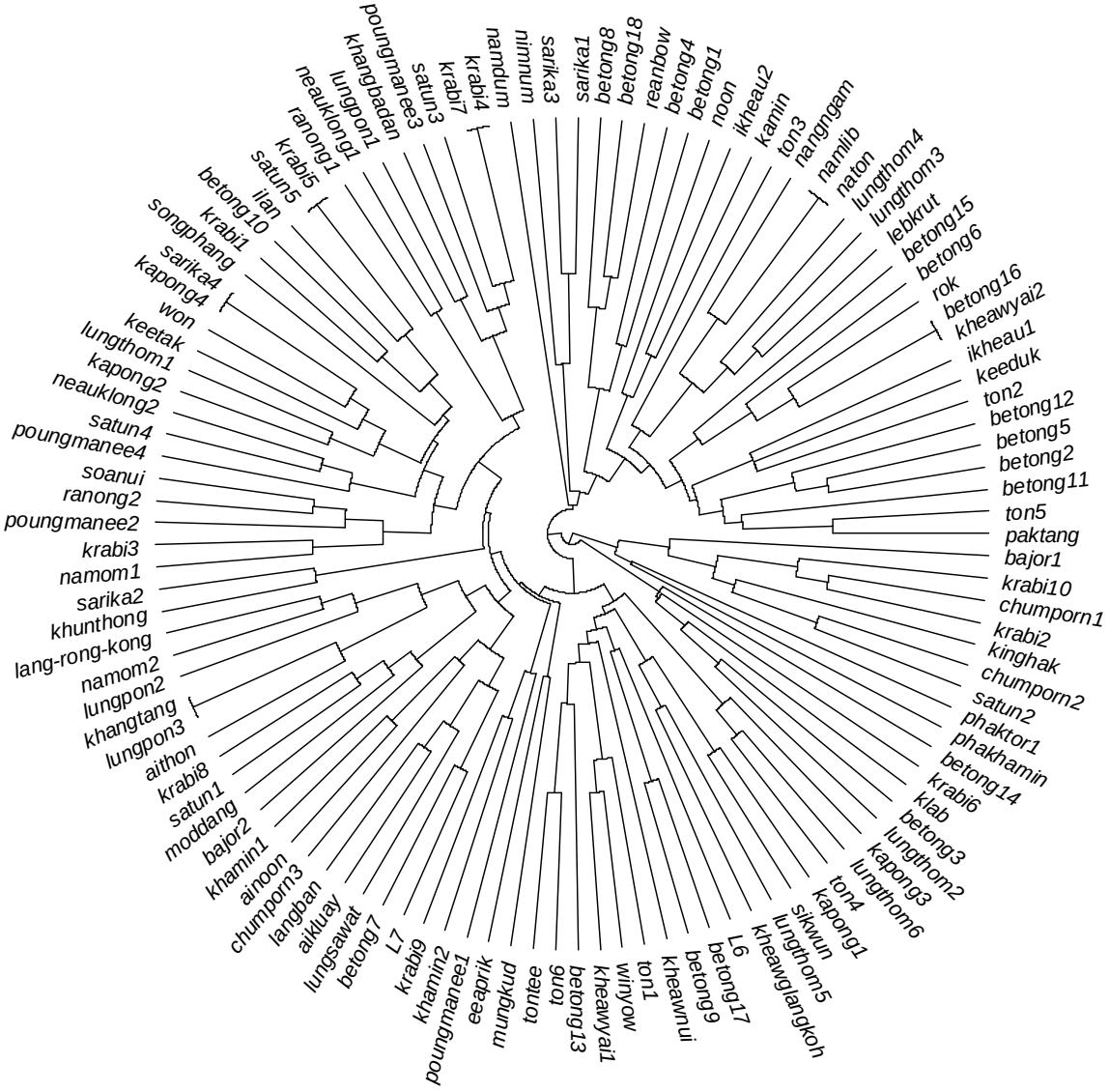
จากเดนโดแกรมสามารถจัดกลุ่มทุเรียนพื้นบ้านได้เป็น 3 กลุ่ม โดยมีประชากรกระจายตัวอยู่ในกลุ่มต่างๆ ดังนี้ (ภาพที่ 58)

กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย 33 สายพันธุ์ ได้แก่ โตน5 ปากทาง เบตง11 เบตง5 เบตง2 เบตง12 ขี้ดูก โตน2 ไอ้เขือ1 เบตง16 เขียวใหญ่2 รอก เบตง6 เบตง15 ลุงถม3 เล็บครุฑ ลุงถม4 หนามหลิบ หน้าโตน นางงาม โตน3 ไอ้เขือ2 ขมิ้น หนุน เบตง4 เบตง1 เบตง18 เรียนเบา เบตง8 สาริกา3 สาริกา1 หนิมน้ำ และหนามดำ

กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย 70 สายพันธุ์ ได้แก่ กระบี่7 กระบี่4 สตูล3 พวงมณี3 ลุงผล1 ข้างบาดาล ระนอง1 เหนือคลอง1 สตูล5 กระบี่5 ไอ้ล้าน กระบี่1 เบตง10 สองปาง กะปง4 สาริกา4 วอน ขี้แตก กะปง2 ลุงถม1 สตูล4 เหนือคลอง2 พวงมณี4 ระนอง2 สาวน้อย พวงมณี2 นาหม่อม1 กระบี่3 ขุนทอง สาริกา2 นาหม่อม2 หลังโรงก๊อง ลุงผล2 ลุงผล3 ข้างทาง ไอ้ท้อน สตูล1 กระบี่8 มดแดง บาเจาะ2 ไอ้หนุน ขมิ้น1 ชุมพร3 ไอ้กล้วย หลังบ้าน ลุงสวัสดิ์ เบตง7 ขมิ้น2 กระบี่9 พวงมณี1 มังคุด อีพริก โตน6 โตนตี เบตง13 วิ่นยาว เขียวใหญ่1 โตน1 เขียวน้อย เบตง17 เบตง9 L6 ลุงถม5 เขียวกลางเกาะ กะปง1 สีขวัญ ลุงถม6 โตน4 กะปง3

กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วย 5 สายพันธุ์ ได้แก่ เบตง3 ลุงถม2 แกลบ กระบี่ 6 เบตง14

กลุ่มที่ 4 ประกอบด้วย 9 สายพันธุ์ ได้แก่ ปากท่อ1 ป่าขมิ้น ชุมพร2 สตูล2 กิ่งหัก ชุมพร1 กระบี่2 กระบี่10 บาเจาะ1



ภาพที่ 58 เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ของทุเรียนพื้นบ้าน117 ตัวอย่างด้วยเทคนิคไมโครแซทเทลไลท์จำนวน 6 คู่ไพรเมอร์

<u>ข้อมูลชุดที่ 3</u> การศึกษาความหลากหลายของทุเรียนพื้นบ้าน อ.บ้านตาขุน **จังหวัดสุราษฎร์ธานี**

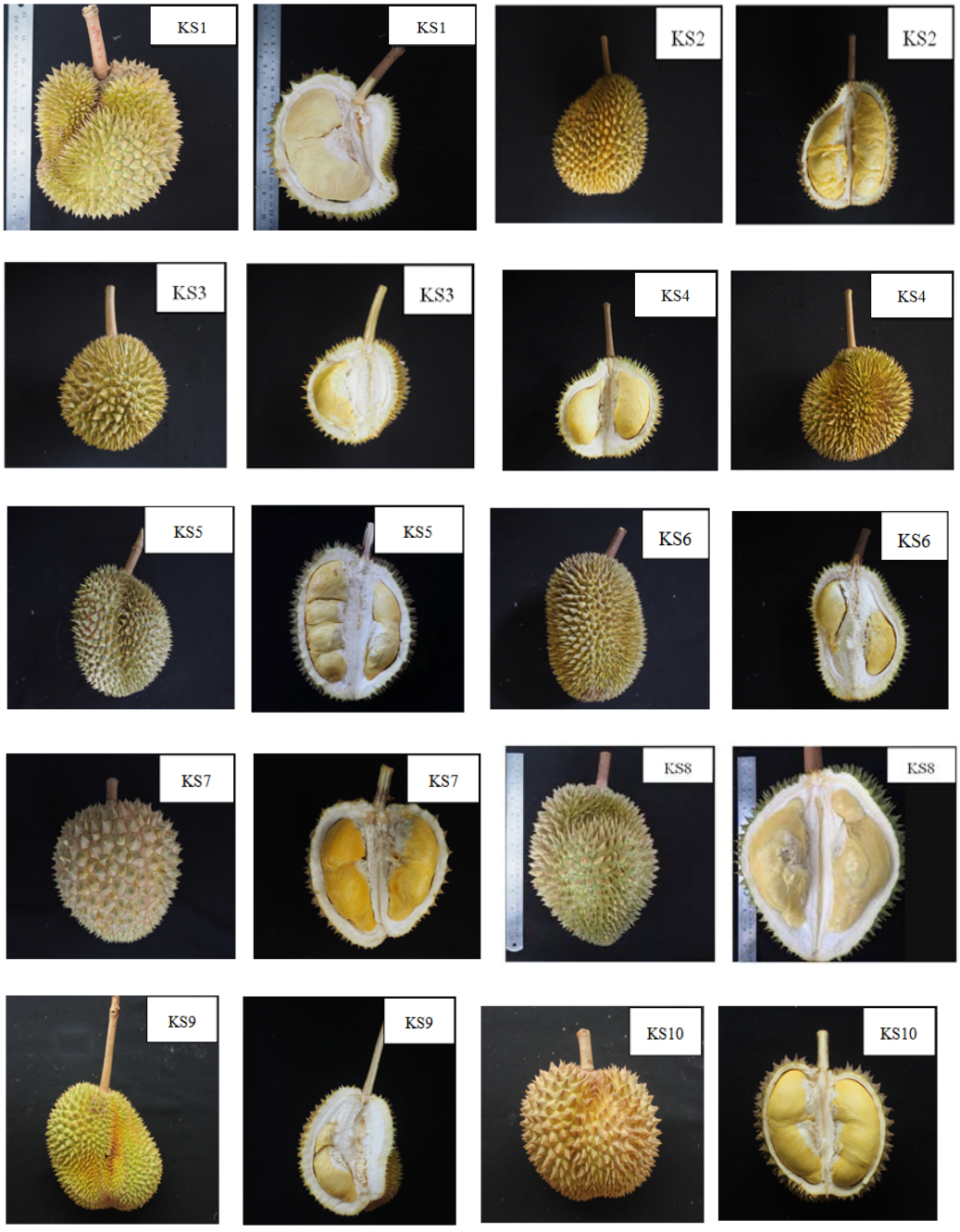
ทำการเก็บตัวอย่างทุเรียนพื้นบ้านในเขต ตำบลเขาพัง และอำเภอพะแสง อ.บ้านตาขุน จ.สุราษฎร์ จำนวน 23 ตัวอย่าง โดยเลือกเฉพาะต้นที่ให้ผลผลิตในขณะที่ลงพื้นที่ ซึ่งพบว่าทุเรียนส่วนใหญ่มีรสชาติดีจริงตามคำบอกเล่า จึงทำเก็บตัวอย่างผล จากสวนต่างๆ (ตารางที่ 16) เพื่อเก็บข้อมูลลักษณะสัณฐาน (ภาพที่ 59)

ตารางที่ 16 พื้นที่ทีเก็บตัวอย่างทุเรียนพื้นบ้าน อ.บ้านตาขุน จังหวัดสุราษฎร์ธานี

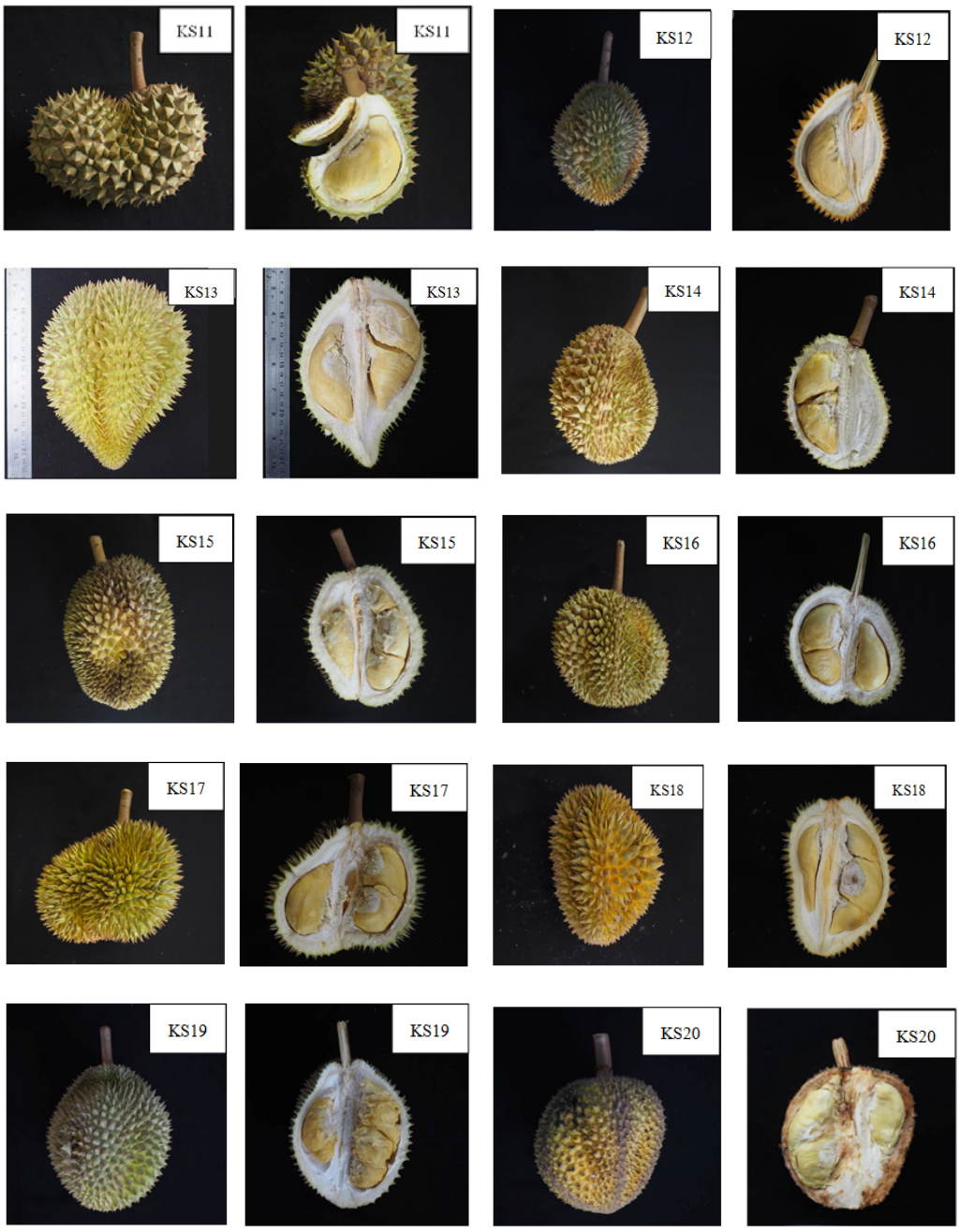
ลำดับ	ชื่อพันธุ์	ที่มาของตัวอย่าง
KS1	มะพร้าว 1 (KS1)	20 หมู่ 1 ต. เขาพัง อ. บ้านตาขุน จ.สุราษฎร์ธานี
KS 2	สากกะเบือ (KS1)	ม.1 ต. เขาพัง อ. บ้านตาขุน จ.สุราษฎร์ธานี
KS 3	เตย (KS1)	ม.1 ต. เขาพัง อ. บ้านตาขุน จ.สุราษฎร์ธานี
KS 4	คอกหมู 2 (KS1)	48 ม.1 ต. เขาพัง อ. บ้านตาขุน จ.สุราษฎร์ธานี
KS 5	ตอไฟ 1 (KS1)	289 ม.5 ต. เขาพัง อ. บ้านตาขุน จ. สุราษฎร์ธานี (ต้นอยู่ ม. 1)
KS 6	ควาน (KS1)	20 ม.1 ต. เขาพัง อ. บ้านตาขุน จ.สุราษฎร์ธานี
KS 7	กิ่งงาม (KS1)	11 ม.1 ต.เขาพัง อ. บ้านตาขุน จ. สุราษฎร์ธานี
KS 8	หน้าอู่ (KS1)	28 ม.4 ต.พระแสง อ.บ้านตาขุน จ. สุราษฎร์ธานี
KS 9	ก้านเพชร (KS1)	73/2 ม.1 ต.เขาพัง อ. บ้านตาขุน จ. สุราษฎร์ธานี
KS 10	เขียวเสวย (KS1)	73/2 ม.1 ต.เขาพัง อ. บ้านตาขุน จ. สุราษฎร์ธานี
KS 11	ลุงสำรอง	73/2 ม.1 ต.เขาพัง อ. บ้านตาขุน จ. สุราษฎร์ธานี
KS 12	แสงจันทร์	20 ม.2 ต. เขาพัง อ. บ้านตาขุน จ.สุราษฎร์ธานี
KS 13	โดแหลม	27 ม.2 ต.พระแสง อ.บ้านตาขุน จ. สุราษฎร์ธานี
KS 14	ตะขรบ	58 ม.1 ต.เขาพัง อ.บ้านตาขุน จ.สุราษฎร์ธานี
KS 15	พลายงาม	ม.1 ต. เขาพัง อ. บ้านตาขุน จ.สุราษฎร์ธานี
KS 16	ป่ามิ้น	ม.1 ต. เขาพัง อ. บ้านตาขุน จ.สุราษฎร์ธานี

ตารางที่ 16 (ต่อ) พื้นที่ทีเก็บตัวอย่างทุเรียนพื้นบ้าน อ.บ้านตาขุน จังหวัดสุราษฎร์ธานี

ลำดับ	ชื่อพันธุ์	ที่มาของตัวอย่าง
KS 17	มุมไฟ	209 ม.1 ต. เขาพัง อ. บ้านตาขุน จ. สุราษฎร์ธานี
KS 18	ริมแดน	67 ม.5 ต. พระแสง อ.บ้านตาขุน จ. สุราษฎร์ธานี
KS 19	ยุมทอง	67 ม.5 ต. พระแสง อ.บ้านตาขุน จ. สุราษฎร์ธานี
KS 20	สารภี	ม.1 ต. เขาพัง อ. บ้านตาขุน จ. สุราษฎร์ธานี
KS 21	สาวน้อย	ม.1 ต. เขาพัง อ. บ้านตาขุน จ. สุราษฎร์ธานี
KS 22	ค้ำคาง	ม.1 ต. เขาพัง อ. บ้านตาขุน จ. สุราษฎร์ธานี (ที่ดินของวัดเขาพัง)
KS 23	ขมิ้น 1 (อรัญญา)	2 ม.2 ต. พระแสง อ. บ้านตาขุน จ. สุราษฎร์ธานี



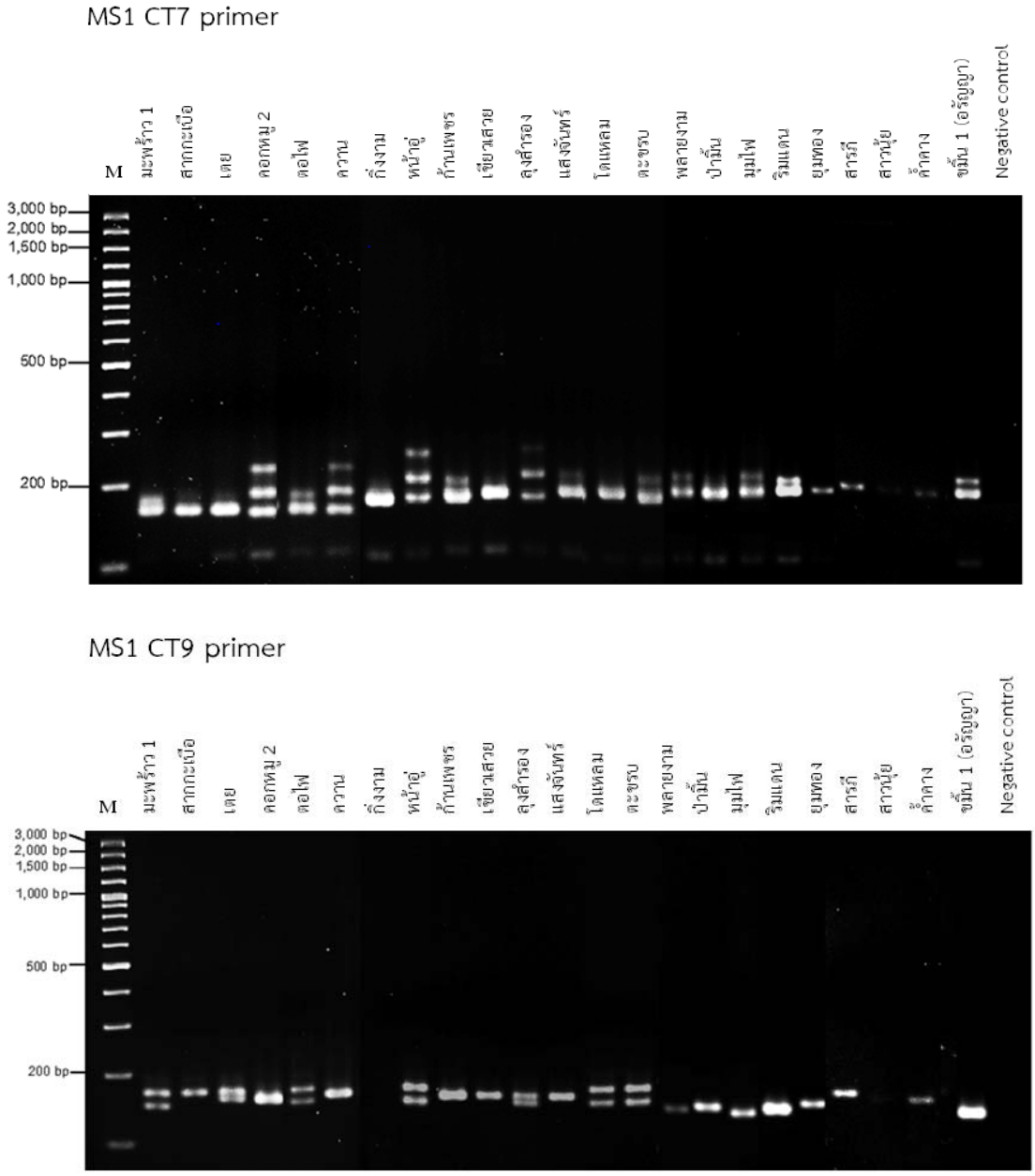
ภาพที่ 59 ลักษณะผลทุเรียนพื้นบ้าน อ. บ้านตาขุน จ.สุราษฎร์ธานี



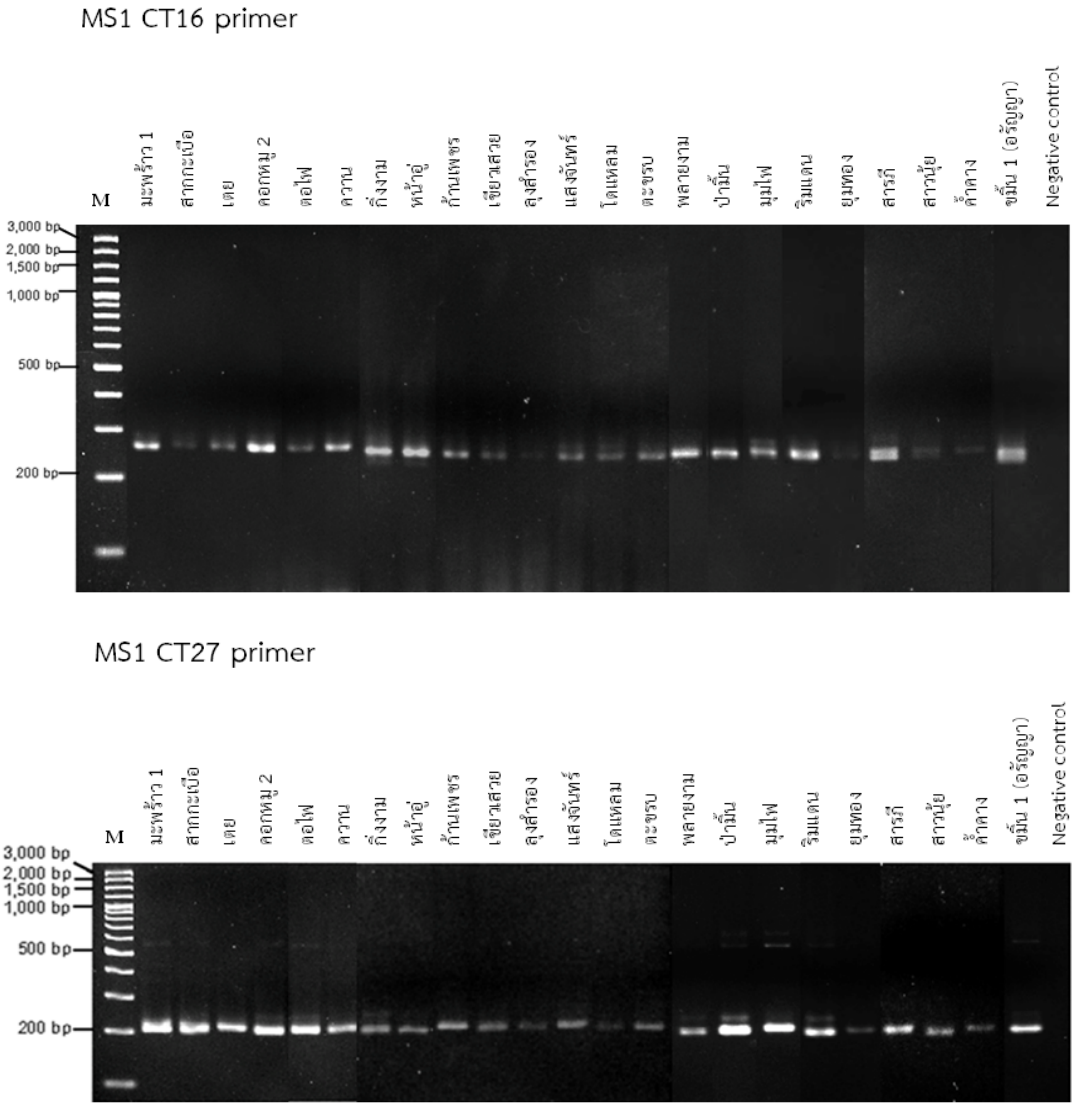
ภาพที่ 59 (ต่อ) ลักษณะผลทุเรียน อ. บ้านตาขุน จ.สุราษฎร์ธานี

ภาพที่ 59 (ต่อ) ลักษณะผลทุเรียน อ. บ้านตาขุน จ.สุราษฎร์ธานี

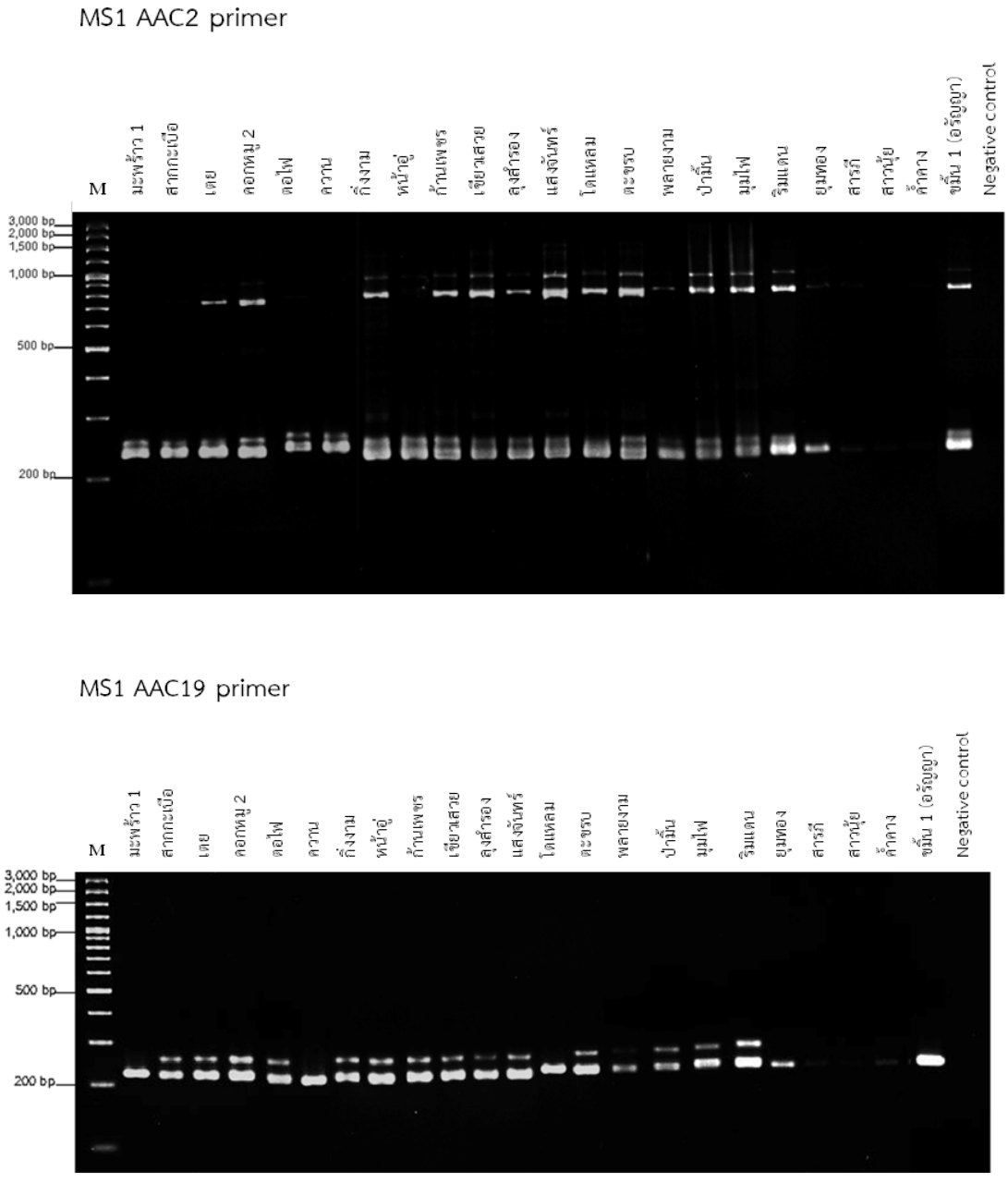
เลือกใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ในการตรวจสอบความหลากหลายและความสัมพันธ์ใกล้ชิดทางพันธุกรรม จากการศึกษาความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านจำนวน 23 ตัวอย่าง จากพื้นที่ต่างๆ ของ อ.บ้านตาขุน จ.สุราษฎร์ธานี จากการใช้เทคนิคเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ พบว่าได้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 19 แถบ (อัลลีล) เป็นแถบพอลิมอร์ฟิซึมจำนวน 17 แถบคิดเป็น 89.42 เปอร์เซนต์



ภาพที่ 60 รูปแบบแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์โดยใช้คู่ไพรเมอร์ MS1CT7 และ MS1CT9



ภาพที่ 61 รูปแบบแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์โดยใช้คู่ไพรเมอร์ MS1CT16 และMS1CT27



ภาพที่ 62 รูปแบบแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์โดยใช้คู่ไพรเมอร์ MS1AAC2 และMS1AAC19

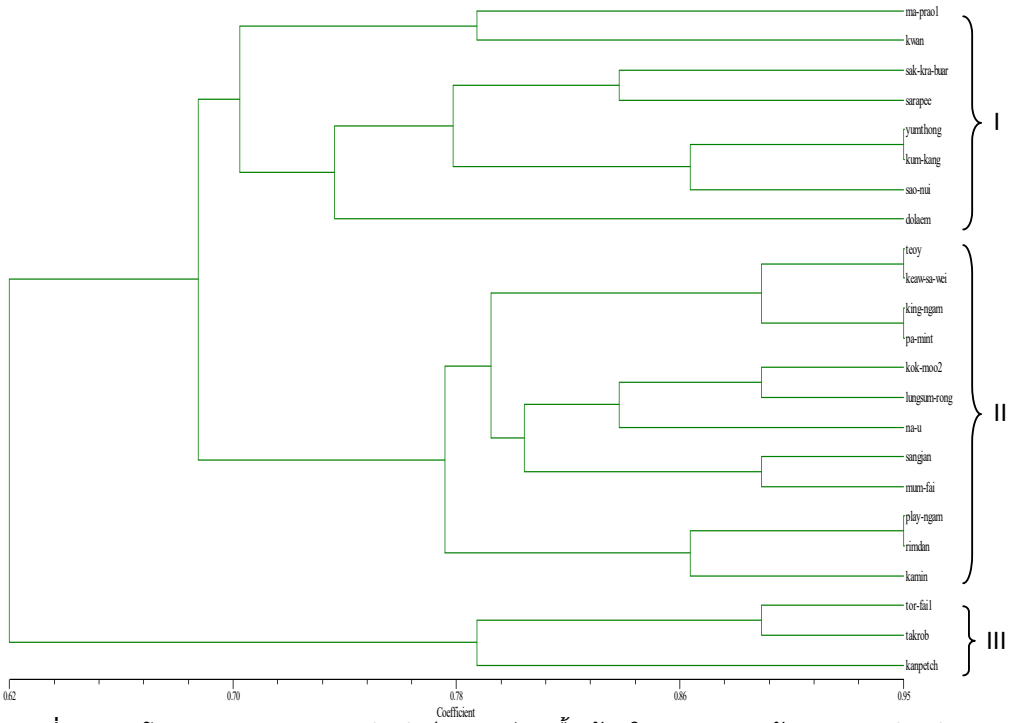
เมื่อทำการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมด้วยวิธี UPGMA จากโปรแกรม NTSYSpc (Version 2.10m) พบว่ามีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.37-0.95 พันธุ์สาวน้อยกับตอไฟ และสาวน้อยกับตะขบมีความห่างไกลทางพันธุกรรมสูงสุด (ค่าดัชนีความไกล้ชิดทางพันธุกรรม 0.37) ส่วนคู่ที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมากที่สุดที่มีค่าดัชนีความไกล้ชิดทางพันธุกรรม 0.95 มี 3 คู่คือ เขียวเสวยกับเตย ป่ามิ้นกับเขียวเสวย และ ค้ำคางกับยุมทอง และสามารถจัดกลุ่มได้ทั้งหมด 3 กลุ่ม โดยมีประชากรกระจายตัวอยู่ในกลุ่มต่างๆ ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย 8 สายต้น ได้แก่ มะพร้าว1 ควาน สากกะเบือ สารภี ยุมทอง ค้ำคาง สาวน้อย และโดแหลม

กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย 12 สายต้น ได้แก่ เตย เขียวเสวย กิ่งงาม ป่ามิ้น คอกหมู 2 ลุงสำรอง หน้าอู่ แสงจันทร์ มุมไฟ พลายงาม ริมแดน และขมิ้น

กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วย 3 สายต้น ได้แก่ ตอไฟ1 ตะขบ และก้านเพชร

ภาพรูปแบบของแถบดีเอ็นเอดังแสดงในภาพที่ 60-62 และเดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ใกล้ชิดทางพันธุกรรมดังแสดงในภาพที่ 63



ภาพที่ 63 เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ของทุเรียนพื้นบ้านในเขตอำเภอบ้านตาขุน จังหวัดสุราษฎร์ธานี จำนวน 23 ตัวอย่างด้วยเทคนิคไมโครแซทเทลไลท์

การศึกษาการเจริญเติบโตของต้นกล้าทุเรียนพื้นบ้านในแปลงปลูก

นำต้นทุเรียนพื้นบ้านที่คัดเลือกจากการเก็บตัวอย่างมาศึกษา และปลูกไว้ที่สถานีวิจัยและฝึกภาคสนามเทพา คณะทรัพยากรธรรมชาติ อำเภอเทพา จังหวัดสงขลาจำนวน 20 พันธุ์ๆ ละ 3 ซ้ำๆละ 1 ต้น ระยะปลูก 7x7 เมตร โดยขุดหลุดขนาดกว้าง 50x50 ซม. ใช้หน้าดินผสมปุ๋ยคอก และปุ๋ย 15-15-15 ปริมาณ 200 กรัม คลุกเคล้าให้เข้ากันดี ย้ายปลูกเมื่อต้นกล้าอายุประมาณ 1 ปี หลังจากนั้นทำการวัดการเจริญเติบโตทุก 1 เดือน ลักษณะที่วัดได้แก่ ความสูงของต้น เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น จำนวนใบ และขนาดใบ

สายพันธุ์ที่ศึกษา

พันธุ์ที่คัดเลือกปลูกลงแปลงได้แก่พันธุ์ดังต่อไปนี้

พังงา 3 (ป่าขมิ้น) พังงา 4 (ปากทาง) ลุงสวัสดิ์ บาเจาะ 2 ขมิ้น 2 สตูล 1 มดแดง UK (4) ข้างทาง 700 ไร่ (1), 700 ไร่ (3) หรือขมิ้น 2 ไอ้กล้วย บาเจาะ 1 ไอ้หนุน วังประจัน 1 ระนอง 4 ระนอง 1 ระนอง 3 อีพริก โดยมีพันธุ์พื้นเมืองมาเลเซีย และ หลงลับแล เป็นพันธุ์เปรียบเทียบ

ผลการศึกษา

จากการศึกษาการเจริญเติบโตในแปลงปลูกของทุเรียนพื้นบ้านภาคใต้ จำนวน 18 สายพันธุ์ โดยมีสายพันธุ์พื้นบ้านมาเลเซีย 1 สายพันธุ์ และหลงลับแล สายพันธุ์พื้นเมืองอุตรดิตถ์ เป็นสายพันธุ์เปรียบเทียบรวมเป็น 20 สายพันธุ์ มีรายละเอียดดังนี้

ความสูง

พบว่าทุเรียนพื้นบ้านมาเลเซีย เจริญเติบโตได้ดีที่สุดโดยมีความสูงในเวลา 12 เดือน 235. 33 ซม. ตามด้วยพันธุ์ไอ้หนุน และลุงสวัสดิ์ (208.50 และ 182.33 ซม.ตามลำดับ) ส่วนพันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตในระยะแรกช้าที่สุดคือพันธุ์อีพริก (ตารางที่ 17 และภาพที่ 68)

เส้นผ่านศูนย์กลาง

จากการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นของทุเรียนพันธุ์ต่างๆ 20 พันธุ์ในระยะ 1 ปีแรกที่ลงปลูกในแปลง พบว่าพันธุ์ไอ้กล้วยมีเส้นผ่านศูนย์กลางมากที่สุด (32.09 มม.) ตามด้วยพันธุ์มาเลเซีย ไอ้หนุน และลุงสวัสดิ์ โดยมีขนาดเส้นผ่านศุนย์กลาง 31.92, 31.75 และ 27.25 มม. ตามลำดับ ส่วนพันธุ์ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยที่สุดคือพันธุ์ 700 ไร่ (3) 9.92 มม. (ตารางที่ 18 และภาพที่ 69)

จำนวนใบ

จากการนับจำนวนใบที่พืชสร้างในระยะเวลา 1 ปีหลังย้ายปลูกลงแปลงพบว่าทุเรียนพันธุ์ไอ้กล้วยมีจำนวนใบสูงสุด 1,089 ใบ ตามด้วยพันธุ์ไอ้หนุน และพื้นเมืองมาเลย์ มีจำนวนใบ 802 และ 576 ใบ ตามลำดับ (ตารางที่ 19 และภาพที่ 70)

ขนาดใบ

จากการวัดขนาดใบของต้นทุเรียนที่ปลูกในแปลงทดสอบพันธุ์พบว่า ในจำนวน 20 พันธุ์ ทุเรียนพื้นบ้านพันธุ์ระนอง 1 มีขนาดใบใหญ่ที่สุด เท่ากับ 15.07 x 4.8 ซม.(ยาว x กว้าง) รองลงมาได้แก่ พันธุ์สตูล และ ไอ้หนุนและมีขนาดใบ 14 x 14.9 และ 14.01x 4.93 ซม. ตามลำดับ พันธุ์ที่มีขนาดใบเล็กที่สุดคือพันธุ์ ขมิ้น 2 หรือ 700 ไร่ (3) มีขนาดใบ 7.7 x 2.8 ซม. (ตารางที่ 20)

ภาพที่ 64 ต้นกล้าทุเรียนที่เตรียมไว้คัดเลือกพันธุ์ และเป็นต้นกล้าสำหรับใช้เป็นต้นตอ

ภาพที่ 65 ต้นกล้าทุเรียนที่คัดเลือกลงปลูกในแปลงระยะเริ่มต้น

พันธุ์พังงา (3)

พันธุ์ไอ้กล้วย

พันธุ์ไอ้หนุน

พันธุ์ขมิ้น 2 (700 ไร่ 3)

พันธุ์มาเลเซีย

พันธุ์สตูล 1

ภาพที่ 66 ตัวอย่างพันธุ์ทุเรียนที่ปลูกในแปลงทดสอบพันธุ์ ณ สถานีวิจัยและฝึกภาคสนามเทพา คณะทรัพยากรธรรมชาติ อ. เทพา จ. สงขลา11 เดือนหลังย้ายปลูกลงแปลง

พันธุ์บาเจาะ (1)

พันธุ์ลุงสวัสดิ์

พันธุ์พังงา 4

พันธุ์ระนอง1

พันธุ์บาเจาะ 2

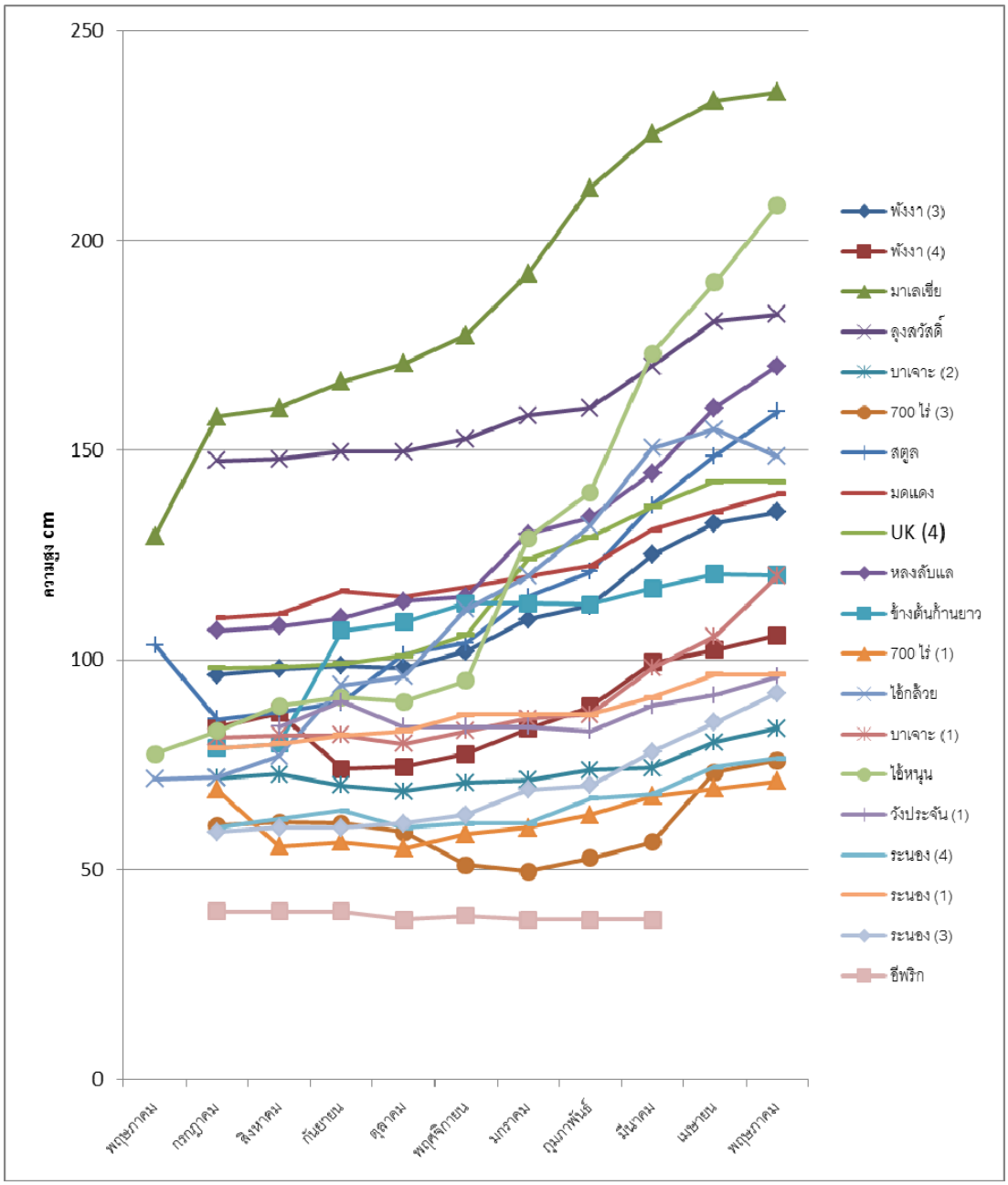
พันธุ์มดแดง

ภาพที่ 67 ตัวอย่างพันธุ์ทุเรียนที่ปลูกในแปลงทดสอบพันธุ์ ณ สถานีวิจัยเทพา อ. เทพา จ. สงขลา 11 เดือนหลังย้ายปลูกลงแปลง

ตารางที่ 17 แสดงค่าเฉลี่ยความสูง (ซม.) ของต้นทุเรียนพื้นบ้านจำนวน 20 พันธุ์ในแปลงสถานีวิจัยเทพา อ. เทพา จ. สงขลาระหว่างเดือนพฤษภาคม 2559-พฤษภาคม 2560

พันธุ์ / เดือน	พฤษภาคม	กรกฎาคม	สิงหาคม	กันยายน	ตุลาคม	พฤศจิกายน	มกราคม	กุมภาพันธ์	มีนาคม	เมษายน	พฤษภาคม
พังงา (3) ป่าขมิ้น	-	96.33	97.83	98.5	98	102	109.67	113	125	132.5	135.17
พังงา (4) ปากท่อ	-	84	87.33	74	74.5	77.5	83.5	88.88	99.38	102.38	105.88
มาเลยเซีย	129.5	158	160	166.33	170.67	177.33	192	212.5	225.33	233.33	235.33
ลุงสวัสดิ์	-	147.5	147.83	149.67	149.67	152.67	158.33	160	170	180.67	182.33
บาเจาะ (2)	-	71.83	72.67	70	68.67	70.67	71.33	73.67	74.17	80.33	83.67
ขมิ้น 2 (700 ไร่ 3)	-	60.5	61.25	61	59	51	49.5	52.75	56.5	73.25	76
สตูล 1	103.5	85.88	87.5	89.75	101.25	104	115	121	136.88	148.63	159.13
มดแดง	-	110	111	116.33	115	117.33	120	122.33	131	135.33	139.5
UK (4)	-	98	98.25	99	101	106	124	129.25	136.5	142.5	142.5
หลงลับแล	-	107	108	110	114	115	130	134	144.5	160	170
ข้างต้นก้านยาว (ข้างทาง)	-	79	80	107	109	113.5	113.5	113.25	117	120.5	120.25
700 ไร่ (1)	-	69	55.5	56.5	55	58.5	60	63	67.5	69.25	71
ไอ้กล้วย	71.5	72	77	94	96	112	120	132	150.5	155	148.5
บาเจาะ (1)	-	81.5	82	82	80	83	86	87	98	105.5	120
ไอ้หนุน	77.5	83	89	91	90	95	129	140	173	190	208.5
วังประจัน (1)	-		84	90	84	84	84	83	89	91.5	96
ระนอง (4)	-	60	62	64	60	61	61	67	68	74.5	76.5
ระนอง (1)	-	79	80	82	83	87	87	87	91	96.5	96.5
ระนอง (3)	-	59	60	60	61	63	69	70	78	85	92
อีพริก	-	40	40	40	38	39	38	38	38	*	*

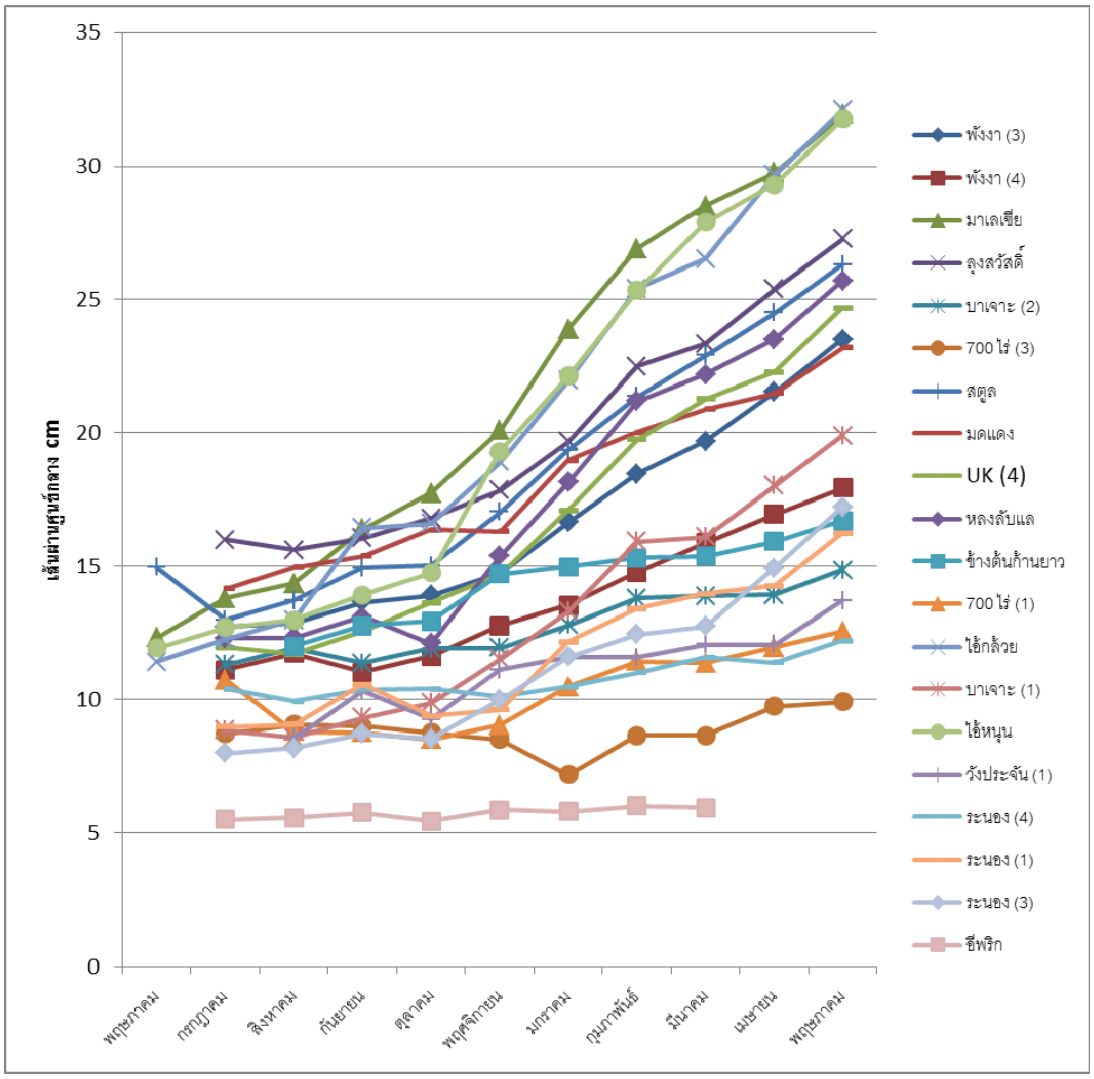
หมายเหตุ * ยอดตาย



ภาพที่ 68 กราฟแสดงค่าเฉลี่ยความสูงของต้นทุเรียนพื้นบ้านจำนวน 20 พันธุ์อายุ 11 เดือน หลังย้ายปลูกในแปลง ณ สถานีวิจัยเทพา อ. เทพา จ. สงขลาระหว่างเดือนพฤษภาคม 2559-พฤษภาคม 2560

ตารางที่ 18 แสดงค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง (มม.) ของต้นทุเรียนพื้นบ้านอายุ 11 เดือนหลังย้ายปลูกจำนวน 20 พันธุ์ในแปลง ณ สถานีวิจัยเทพา อ. เทพา จ. สงขลา ระหว่างเดือนพฤษภาคม 2559-พฤษภาคม 2560

พันธุ์ / เดือน	พฤษภาคม	กรกฎาคม	สิงหาคม	กันยายน	ตุลาคม	พฤศจิกายน	มกราคม	กุมภาพันธ์	มีนาคม	เมษายน	พฤษภาคม
พังงา (3)) ป่าขมิ้น	-	12.72	12.86	13.63	13.9	14.74	16.65	18.44	19.68	21.52	23.51
พังงา (4) ปากท่อ	-	11.12	11.72	11.03	11.63	12.77	13.54	14.76	15.89	16.95	17.92
มาเลเซีย	12.325	13.78	14.33	16.39	17.73	20.08	23.89	26.90	28.50	29.76	31.92
ลุงสวัสดิ์	-	16	15.61	16.05	16.79	17.84	19.65	22.49	23.34	25.40	27.25
บาเจาะ (2)	-	11.31	11.93	11.37	11.92	11.94	12.78	13.79	13.87	13.91	14.85
ขมิ้น 2 (700 ไร่ 3)	-	8.73	9.07	8.99	8.755	8.5	7.19	8.66	8.66	9.74	9.92
สตูล 1	14.96	12.98	13.71	14.93	15.02	17.04	19.34	21.36	22.88	24.49	26.30
มดแดง	-	14.15	14.96	15.38	16.37	16.31	18.96	20.01	20.9	21.48	23.17
UK (4)	-	11.96	11.72	12.56	13.61	14.7	17.09	19.76	21.28	22.27	24.70
หลงลับแล	-	12.3	12.33	13.12	12.12	15.37	18.14	21.19	22.19	23.5	25.7
ข้างต้นก้านยาว (ข้างทาง)	-		12	12.78	12.95	14.71	14.98	15.32	15.39	15.93	16.71
700 ไร่ (1)	-	10.73	8.8	8.76	8.515	9.03	10.49	11.44	11.38	11.97	12.55
ไอ้กล้วย	11.42	12.26	12.98	16.43	16.6	18.9	21.95	25.41	26.52	29.68	32.09
บาเจาะ (1)	-	8.84	8.58	9.31	9.86	11.51	13.3	15.92	16.1	18	19.89
ไอ้หนุน	11.95	12.7	12.98	13.92	14.75	19.3	22.13	25.35	27.9	29.32	31.75
วังประจัน (1)	-		8.55	10.31	9.25	11.11	11.61	11.58	12.07	12.07	13.71
ระนอง (4)	-	10.4	9.92	10.38	10.4	10.13	10.48	11.02	11.58	11.39	12.21
ระนอง (1)	-	8.98	9.05	10.57	9.37	9.6	12.17	13.41	13.96	14.26	16.24
ระนอง (3)	-	7.99	8.2	8.72	8.52	10	11.6	12.46	12.75	14.93	17.23
อีพริก	-	5.49	5.57	5.76	5.44	5.85	5.8	6	5.95		

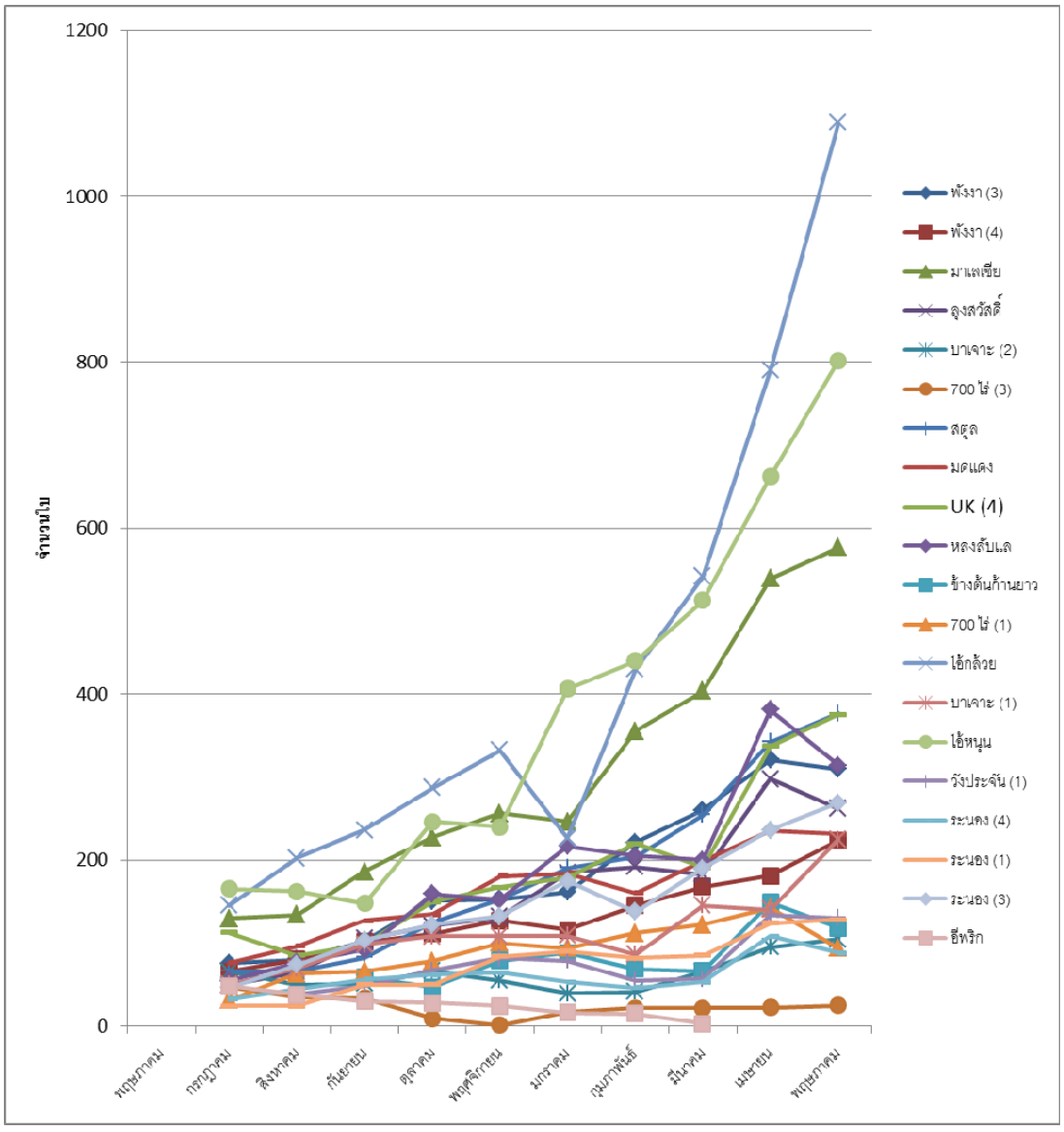


ภาพที่ 69 กราฟแสดงค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น (มม.) ของต้นทุเรียนพื้นบ้านอายุ 11 เดือน หลังย้ายปลูกจำนวน 20 พันธุ์ในแปลง ณ สถานีวิจัยเทพา อ. เทพา จ. สงขลาระหว่างเดือนพฤษภาคม 2559-พฤษภาคม 2560

ตารางที่ 19 แสดงค่าเฉลี่ยจำนวนใบของต้นทุเรียนพื้นบ้านอายุ 11 เดือนหลังย้ายปลูกจำนวน 20 พันธุ์ในแปลง ณ สถานีวิจัยเทพา อ. เทพา จ. สงขลาระหว่างเดือนพฤษภาคม 2559-พฤษภาคม 2560

พันธุ์ / เดือน	พฤษภาคม	กรกฎาคม	สิงหาคม	กันยายน	ตุลาคม	พฤศจิกายน	มกราคม	กุมภาพันธ์	มีนาคม	เมษายน	พฤษภาคม
พังงา (3) ป่าขมิ้น	-	75.67	79.67	102.33	150.67	153	161.33	221.33	260	320.67	309.33
พังงา (4) ปากท่อ	-	65.33	80	101.25	111.5	126.75	116	145.5	168	181	223.75
มาเลเซีย	-	129.67	134	186	227.33	256.33	246	355.33	404	539	576.67
ลุงสวัสดิ์	-	49	64.67	105	121	131.33	184.67	191.67	183	297.67	262
บาเจาะ (2)	-	65.67	49	51	66.33	54.67	39.33	41.33	65.33	95.33	104.67
ขมิ้น2 (700 ไร่ 3)	-	46.5	34.5	33.5	9	1	16.5	21.5	21.5	22	25
สตูล1	-	66.25	65.75	82.5	124.5	153	190.5	204.25	254.5	342.25	376.75
มดแดง	-	76	96	127	134.67	180.67	184.33	160	199	235.33	231
UK (4)	-	112.5	85	98.5	149.5	167	178.5	220	191	337	375.5
หลงลับแล	-	54	76	92	159	152	217	205	200	381	314
ข้างต้นก้านยาว (ข้างทาง)	-	30	43	58.5	47	79	88	68.5	66	149	118
700 ไร่ (1)	-	31	63	66	78	100	94	112	122	142	94
ไอ้กล้วย	-	145	202	236	287	332	226	430	542	790	1089
บาเจาะ (1)	-	50	69	98	108	108	109	86	145	140	225
ไอ้หนุน	-	165	162	148	246	240	406	440	513	662	802
วังประจัน (1)	-		38	48	67	82	79	55	57	134	130
ระนอง (4)	-	32	44	56	62	64	53	46	53	108	88
ระนอง (1)	-	24	24	50	50	84	90	82	85	124	128
ระนอง (3)	-	46	74	103	122	132	175	138	190	236	269
อีพริก	-	48	38	30	28	24	16	15	3	3	ตาย

หมายเหตุ เริ่มนับ เดือนกรกฎาคม 2559



ภาพที่ 70 กราฟแสดงค่าเฉลี่ยจำนวนใบของต้นทุเรียนพื้นบ้านอายุ 11 เดือนหลังย้ายปลูกจำนวน 20 พันธุ์ในแปลง ณ สถานีวิจัยเทพา อ. เทพา จ. สงขลา ระหว่างเดือนพฤษภาคม 2559-พฤษภาคม 2560

ตารางที่ 20 แสดงค่าเฉลี่ยขนาดใบของต้นทุเรียนพื้นบ้านอายุ 11 เดือนหลังย้ายปลูก จำนวน 20 พันธุ์ในแปลง ณ สถานีวิจัยเทพา อ. เทพา จ. สงขลา ระหว่างเดือน พฤษภาคม 2559-พฤษภาคม 2560

พันธุ์	ค่าเฉลี่ยความกว้างของใบ	ค่าเฉลี่ยความยาวของใบ
พังงา (3) ป่าขมิ้น	3.73	10.26
พังงา (4) ปากท่อ	3.59	9.17
มาเลเซีย	3.98	11.63
ลุงสวัสดิ์	4.97	13.96
บาเจาะ (2)	4.23	11.97
ขมิ้น2(700 ไร่ 3)	2.8	7.77
สตูล 1	4.93	14.01
มดแดง	4.12	12.2
UK (4)	3.78	10.87
หลงลับแล	4.6	15.13
ข้างต้นก้านยาว (ข้างทาง)	4	10.57
700 ไร่ (1)	4.02	10.68
ไอ้กล้วย	3.33	8.83
บาเจาะ (1)	3.63	11.67
ไอ้หนุน	4.93	14.53
วังประจัน (1)	3.7	8.97
ระนอง (4)	4.53	12.13
ระนอง (1)	4.8	15.07
ระนอง (3)	4.17	8.6
อีพริก	ใบร่วงหมด	ใบร่วงหมด

วิจารณ์

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

จากการศึกษาความหลากหลายของพันธุ์ทุเรียนพื้นบ้านในเขตจังหวัดภาคใต้ของประเทศไทย ในเบื้องต้นการเก็บตัวอย่าง เลือกต้นที่มีความแตกต่างของลักษณะทางสัณฐานวิทยาและรสชาติ ซึ่งชาวบ้านจะตั้งชื่อพันธุ์ตามลักษณะผล และรสชาติ ส่วนใหญ่ตัวอย่างที่เก็บจะเป็นต้นที่มีอายุมาก ประมาณ 50 ปีขึ้นไป บางต้นมีอายุมากกว่า 100 ปี ซึ่งเป็นต้นดั้งเดิมที่ปลูกกันมาตั้งแต่รุ่นปู่ย่าตายาย จากการเก็บตัวอย่างผลของทุเรียนพื้นบ้าน พบความแตกต่างของผล หนาม ตลอดจนรสชาติ และสามารถแบ่งกลุ่มตามลักษณะเหล่านั้น แต่บางต้นก็ยากที่จะจำแนก เนื่องจากมีลักษณะก้ำกึ่งกัน จึงมีความจำเป็นต้องใช้เครื่องหมายโมเลกุลมาเป็นเครื่องมือในการจำแนกพันธุ์ ในการศึกษาครั้งนี้เลือกใช้เครื่องหมายโมเลกุล 2 เครื่องหมาย คือ อาร์เอพีดี และไมโครแซทเทลไลท์

การศึกษาความหลากหลายของทุเรียนพื้นบ้านใน 5 จังหวัดทางภาคใต้ของประเทศไทยใน1-2 ปีแรก คือ สงขลา พังงา กระบี่ ยะลา และนครศรีธรรมราช โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาในเบื้องต้น พบว่า ลักษณะสัณฐานวิทยาของผลทุเรียน ที่ใช้ในการจำแนกกลุ่มต่างๆ โดย หิรัญ (2551) ไม่สามารถนำมาใช้ในการจำแนกได้ เนื่องจากจะมีลักษณะปะปนกันไปข้ามกลุ่ม ส่วนใหญ่จะอยู่ในกลุ่มสุดท้าย คือ กลุ่มเบ็ดเตล็ด ที่จำแนกกลุ่มได้ไม่ชัดเจน ซึ่งสามารถอธิบายได้ ทั้งนี้เนื่องจากทุเรียนเป็นพืชผสมข้ามมีพันธุกรรมแบบพันธุ์ทาง (heterozygous) การขยายพันธุ์ทุเรียนในอดีตใช้เมล็ดเป็นส่วนใหญ่ จึงคงไว้ซึ่งความหลากหลายทางพันธุกรรม มีรายงานว่า ทุเรียนมีกลไกในการผสมตัวเองไม่ติดอยู่ด้วย จึงทำให้มีพฤติกรรมเป็นพืชผสมข้าม ในกรณีนี้ ดอกต้องได้รับการผสมข้ามจากต้นอื่น จึงทำให้มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง (Valmayor *et al*., 1965 อ้างโดย ทรงพล, 2530) ในปัจจุบันการขยายพันธุ์ทุเรียนพันธุ์การค้านิยมขยายพันธุ์โดยการเสียบยอด ซึ่งจะได้ต้นที่มี

พันธุกรรมเหมือนต้นแม่ อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาของ เตือนใจ และปิยะศักดิ์ (2556) ที่ใช้เทคนิค DAF (DNA Amplification Fragment Analysis) กับพันธุ์ทุเรียนพันธุ์การค้า 4 พันธุ์ คือ หมอนทอง ชะนี พวงมณี และหลงลับแล รวม 160 ตัวอย่าง และจากการรายงาน พบความแปรปรวนทางพันธุกรรมในทุกพันธุ์ ยกเว้นพันธุ์หลงลับแล ซึ่งความแปรปรวนที่พบอาจเกิดจากไม่มีการควบคุมการผลิตกิ่งพันธุ์ที่ดีพอ อาจมีการขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ดปะปนเข้ามา อย่างไรก็ตาม ความแปรปรวนจากการใช้เครื่องหมายโมเลกุลที่พบนั้น ไม่มีผลต่อความแตกต่างทางสัณฐานวิทยาของตัวอย่างที่ศึกษา

การวิเคราะห์พันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านในภาคใต้ 67 พันธุ์โดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี ในเบื้องต้นใช้ไพรเมอร์ที่นำมาทดสอบหาความแตกต่างของตัวอย่างทุเรียน จำนวน 40 ไพรเมอร์ โดยคัดเลือกจากไพรเมอร์ที่มีการรายงานว่าสามารถจำแนกความแตกต่างของทุเรียนได้ ได้แก่ ไพรเมอร์ OPAM-03, OPAM-12, OPAM-18, OPB-01, OPB-14, OPC-05, OPK-05 และ OPZ-03 จากการศึกษาจำแนกทุเรียนสายพันธุ์ท้องถิ่นในจังหวัดนนทบุรีโดย โองการ และ ศรีสมร (2554) ไพร-เมอร์ OPA-01, OPA-02, OPA-07, OPA-16, OPA-19, OPR-05 และ OPR-08 จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของทุเรียนซูกันโดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี (Ruwaida *et al*., 2009) และจากไพรเมอร์ที่ศึกษาเพิ่มเติมในห้องปฏิบัติการอีก 25 ไพรเมอร์ รวมทั้งสิ้น 40 ไพรเมอร์ที่ทำการทดสอบคัดเลือกไว้เพียง 8 ไพรเมอร์ ที่ให้แถบดีเอ็นเอชัดเจน จากแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 129 แถบ พบแถบที่ให้ความแตกต่าง 125 แถบ คิดเป็น 96.90 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมด้วยวิธี UPGMA Cluster Analysis ในโปรแกรม NTSYS (version 2.0) ผลการวิเคราะห์ค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้าน จำนวน 67 ต้น อยู่ในช่วง 0.59-1.00 และสามารถจัดกลุ่มตามความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมได้เป็น 4 กลุ่ม โดยพบว่า กลุ่มของตัวอย่างทุเรียนที่ทำการศึกษามีความสัมพันธ์กับแหล่งที่มาของตัวอย่าง ค่อนข้างชัดเจน มีเพียงบางตัวอย่างที่ไม่ได้อยู่ในกลุ่มเดียวกับตัวอย่างที่มาจากแหล่งเดียวกัน คือ เขียวนุ้ย ซึ่งเก็บตัวอย่างจากพื้นที่ อำเภอนาหม่อม จังหวัดสงขลา แต่ถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับตัวอย่างที่เก็บจาก อำเภอเบตง จังหวัดยะลา และอำเภอลานสกา จังหวัดนครศรีธรรมราช ซึ่งอาจเป็นเพราะชาวสวนนำเมล็ดจากพื้นที่อื่นมาปลูก เนื่องจากในอดีตชาวสวนมักจะนำเอาเมล็ดพันธุ์ที่เห็นว่ามีลักษณะดีมาปลูกในสวนของตัวเอง และจากการขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดทำให้ทุเรียนมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่หลากหลายมาก ในขณะที่ยังมีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมอยู่มากเช่นกัน ผลการวิเคราะห์พันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านในภาคใต้โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลอีกชนิด คือ ไมโครแซทเทลไลท์ ซึ่งใช้ไพรเมอร์ 6 คู่ไพรเมอร์ คือ MS1CT-7, MS1CT-9, MS1CT-16, MS1CT-27, MS1AAC-2 และ MS1AAC-19 ไพรเมอร์เหล่านี้ได้จากงานวิจัยของปิยรัษฎ์ และคณะ (2552) ผลการใช้ 6 คู่ไพรเมอร์พบว่า มีจำนวนอัลลีล 2-6 อัลลีล มีขนาดตั้งแต่ 119-500 คู่เบส โดยมีค่าเฉลี่ย 3.5 อัลลีลต่อคู่ไพรเมอร์ เมื่อนำข้อมูลไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ และความใกล้ชิดทางพันธุกรรม พบว่า

มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.59-0.98 และสามารถจัดกลุ่มตามความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมได้เป็น 6 กลุ่ม โดยกลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่มีความสัมพันธ์กับแหล่งที่มาของตัวอย่าง และเมื่อนำข้อมูลจากทั้ง 2 เครื่องหมายโมเลกุลมาวิเคราะห์ร่วมกัน พบว่า มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.52-0.95 ค่าที่ได้ใกล้เคียงกันกับการใช้เครื่องหมายโมเลกุลแต่ละเครื่องหมาย และสามารถจัดกลุ่มของทุเรียนพื้นบ้านในการศึกษาได้เป็น 5 กลุ่ม โดยแต่ละกลุ่มตัวอย่างค่อนข้างสัมพันธ์กับแหล่งที่มาของตัวอย่าง

สำหรับตัวอย่างชุดที่ 2 จำนวน 50 ตัวอย่างจาก 8 จังหวัด ได้แก่ กระบี่ พังงา สตูล สงขลา นราธิวาส นครศรีธรรมราช ชุมพร และระนอง พบว่าจากการใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี .ให้เปอร์เซนต์โพลีมอร์ฟิซึมของแถบดีเอ็นเอเท่ากับ 89.77 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งน้อยกว่าชุดแรกที่มีเปอร์เซนต์โพลีมอร์ฟิซึม 96.90 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะข้อมูลชุดแรกมีจำนวนตัวอย่างมากกว่า และพื้นที่กระจายมากกว่า ค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้าน จำนวน 50 ต้น อยู่ในช่วง 0.76-0.92 แสดงว่ามีความหลากหลายน้อยกว่าข้อมูลชุดแรกที่มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรม อยู่ระหว่าง 0.59-1.00 สำหรับข้อมูลที่วิเคราะห์จากการใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ พบว่าในกลุ่มนี้มีค่าความใกล้ชิดทางพันธุกรรม 0.62-0.98 ในขณะที่ข้อมูลชุดแรก จากการใช้ไมโครแซทเทลไลท์ให้ค่าความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.59-0.98 ค่าที่ได้ค่อนข้างใกล้เคียงกันทั้งสองเครื่องหมายโมเลกุล สำหรับข้อมูลชุดนี้เมื่อพิจารณาจากเดนโดรแกรม จะเห็นว่าความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมไม่มีความสัมพันธ์กับแหล่งที่มาของตัวอย่าง เนื่องจากแต่ละกลุ่มจะประกอบด้วยตัวอย่างสายพันธุ์ทุเรียนจากแต่ละพื้นที่ปะปนกัน สอดคล้องกับการศึกษาพันธุ์ทุเรียนของ ปิยรัษฎ์ และคณะ (2552) ที่รายงานว่า การที่ตัวอย่างทุเรียนที่ทำการศึกษาไม่สัมพันธ์กับแหล่งที่มา เนื่องจากชาวสวนนำเมล็ดทุเรียนจากแหล่งอื่นไปปลูกในแหล่งปลูกใหม่ๆ และเมื่อต้นใหม่ที่ได้มีลักษณะดีแตกต่างไปจากเดิม ก็จะนำมาตั้งชื่อเป็นพันธุ์ใหม่ แต่การศึกษาของ Ruwaida และคณะ (2009) ในประเทศมาเลเซียที่ทำการศึกษาความแปรปรวนของทุเรียนสายพันธุ์ซูกันด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี และรายงานว่า ทุเรียนสายพันธุ์ซูกันที่ปลูกจากเมล็ดที่มาจากแหล่งเดียวกันมีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมากกว่าทุเรียนซูกันที่ปลูกจากเมล็ดที่ได้จากแหล่งที่ต่างกัน Chitose และคณะ (2007) รายงานการใช้เทคนิคไมโครแซทเทลไลท์ ในการจำแนกพันธุ์ทุเรียน 80 พันธุ์ และทุเรียนป่าอีก 6 ชนิด พบว่า สามารถแยกกลุ่มทุเรียนป่า (*Durio* spp.) กับทุเรียนบ้าน (*D. zibethinus* Murr.) ได้อย่างชัดเจน และจำแนกทุเรียนได้เป็น 4 กลุ่มใหญ่ๆ คือ กลุ่มกำปั่น กลุ่มหมอนทอง และกระดุมทอง กลุ่มกบ และกลุ่มเบ็ดเตล็ด โดยพบว่า พันธุ์ก้านยาวมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับพันธุ์ก้านยาววัดสัก และพันธุ์ชมพูพานมากที่สุดเมื่อเทียบกับพันธุ์อื่นๆ

จากผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าทั้งเครื่องหมายอาร์เอพีดี และไมโครแซทเทลไลท์สามารถนำมาใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านได้ เครื่องหมายอาร์เอพีดี

มีข้อดี คือ ไม่จำเป็นต้องทราบลำดับเบสของดีเอ็นเอต้นแบบ และใช้ไพรเมอร์แบบสุ่มชนิดเดียว ค่าใช้จ่ายไม่แพง และทำได้รวดเร็ว แต่มีข้อจำกัดตรงที่เป็นเครื่องหมายชนิดข่ม (dominance) และอาจมีปัญหาเรื่องการทำซ้ำ หากไม่มีการควบคุมสภาพการทำพีซีอาร์ให้ดี (Lougheed *et al*., 2000) ในขณะที่การใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ จะยุ่งยากกว่าถ้าหากพืชชนิดนั้นไม่เคยมีผู้ศึกษามาก่อน จึงต้องมีการศึกษาเบื้องต้น เพื่อให้ได้มาซึ่งไพรเมอร์ที่จะนำมาใช้ประโยชน์ ซึ่งในขั้นตอนนี้จะต้องใช้เวลา และค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง แต่หากได้ไพรเมอร์ที่เหมาะสมแล้ว ก็อาจจะไม่ต่างจากเทคนิคอาร์เอพีดีมากนัก ข้อดีของไมโครแซทเทลไลท์อีกประการหนึ่ง คือเป็นเครื่องหมายชนิด codominance นอกจากนี้หากกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่ศึกษามีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรม การใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ จะให้ข้อมูลที่ดีกว่าเครื่องหมายชนิดอื่น (Zhang *et al*., 2002) ซึ่งสามารถแยก homozygous และ heterozygous ออกจากกันได้ สำหรับการใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์นั้นไม่จำเป็นต้องใช้ดีเอ็นเอที่มีคุณภาพมากนัก (สุรินทร์, 2545) เนื่องจากไพรเมอร์ไมโครแซทเทลไลท์จะจับกับดีเอ็นเอต้นแบบในตำแหน่งที่แน่นอนด้วยไพรเมอร์ 2 ชนิด แต่การใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์จะต้องมีการปรับสภาวะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ เช่น อุณหภูมิ ซึ่งอุณหภูมิที่ใช้ในการเข้าจับของไพรเมอร์กับ ดีเอ็นเอต้นแบบนั้นมีความสำคัญ โดยจะใช้อุณหภูมิที่ต่ำกว่าค่า Tm (melting temperature) ประมาณ 5 องศาเซลเซียส (กรกช, 2550)

จากผลที่เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์มีความแปรปรวนน้อยกว่าเครื่องหมายอาร์เอพีดี จึงนำผลการวิเคราะห์ของเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์มาวิเคราะห์ร่วมกันกับข้อมูลทั้งสองชุดรวมจำนวนตัวอย่าง 117 สายพันธุ์ ซึ่งพบว่าสามารถแบ่งกลุ่มทุเรียนได้เป็น 4 กลุ่ม แต่ละกลุ่มประกอบด้วยสายพันธุ์ทุเรียนจากต่างพื้นที่ปะปนกัน ไม่สัมพันธ์กับแหล่งที่มาของพันธุ์ ให้ผลคล้ายกับรายงานของปิยรัษฎ์ และคณะ (2552)

สำหรับคุณภาพผลของทุเรียนพื้นบ้านภาคใต้ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่าทุเรียนหลายสายพันธุ์มีศักยภาพในการต่อยอดไปเป็นพันธุ์การค้าได้ เนื่องจากมีรสชาติดี สีเนื้อสวย เนื้อหนา จึงมีความจำเป็นต้องคัดเลือกพันธุ์ และทำการขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนต้น เพราะทุเรียนพื้นบ้านในอดีตขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ด แต่ละต้นจึงมีพันธุกรรมต่างกัน แม้ว่าจะได้เมล็ดมาจากผลเดียวกันก็ตาม และเพื่อให้ได้ทุเรียนตรงตามพันธุ์ การขยายพันธุ์ในปัจจุบันจึงนิยมเสียบยอด และเสียบข้าง

พื้นที่บริเวณคลองแสง อำเภอบ้านตาขุนเป็นอีกพื้นที่หนึ่ง ที่มีการบอกต่อว่าเป็นแหล่งทุเรียนพื้นบ้านรสชาติดี คณะวิจัยจึงลงเก็บตัวอย่างมาศึกษาความหลากหลายเช่นกัน โดยศึกษาแยกจากประชากรทุเรียนชุดอื่น ซึ่งพบว่าส่วนใหญ่ทุเรียนในพื้นที่นี้มีรสชาติดีจริง พื้นที่ตำบลคลองแสง อำเภอบ้านตาขุน ในสมัยก่อนมีทุเรียนพื้นบ้านเป็นจำนวนมาก มีการปลูกในพื้นที่ริมสองฝั่งคลองแสง อ.บ้านตาขุน ยาวนับสิบกิโลเมตรโดยเฉพาะที่บ้านเขาพัง อย่างไรก็ตามในปัจจุบันจำนวนต้นทุเรียนเหลือจำนวนน้อย เพราะพื้นที่ที่เคยเป็นสวนผสมในอดีตจมอยู่ใต้น้ำ เป็นผลมาจากการสร้าง

เขื่อนรัชชประภาในปี 2525 ซึ่งเป็นการสร้างปิดกั้นลำน้ำคลองแสง ทุเรียนที่มีอยู่ในปัจจุบันส่วนใหญ่อายุมาก และต้นเริ่มทรุดโทรม ต้นที่เหลืออยู่เป็นต้นที่ชาวบ้านคัดเลือกมาแล้วระดับหนึ่ง จากผลการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านคลองแสงโดยใช้เทคนิดไมโครแซทเทลไลท์กับ 6 คู่ไพรเมอร์ พบว่าทุเรียนพื้นบ้านจำนวน 23 สายพันธุ์มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมระหว่าง 0.37-0.95 มีความแตกต่างจากข้อมูลชุดที่ 1 และ 2 ที่วิเคราะห์ผลโยใช้ไมโครแซทเทลไลท์พอสมควร (ดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมชุดที่ 1,2 และวิเคราห์รวมชุดที่ 1+ 2 มีค่า 0.59-0.98, 0.62-0.98 และ 0.43-1.00, ตามลำดับ) แสดงว่าทุเรียนพื้นบ้านคลองแสงมีความหลากหลายทางพันธุกรรมค่อนข้างสูง เนื่องจากตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์มาจากพื้นที่เพียงสองตำบล ในอำเภอเดียวคือบ้านตาขุนของจังหวัดสุราษฎร์ธานี ในขณะที่ข้อมูล 2 ชุดที่วิเคราะห์แยกกันเป็นตัวอย่างที่เก็บมาจากหลายพื้นที่ หลายจังหวัด ทุเรียนพื้นบ้านคลองแสงจึงเป็นประชากรทุเรียนพื้นบ้านที่น่าสนใจมาก

หลังจากที่เก็บข้อมูลลักษณะสัณฐานร่วมกับการใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการศึกษาความหลากหลาย และศักยภาพของพันธุ์ทุเรียนพื้นบ้านภาคใต้ ได้ทำการขยายพันธุ์โดยนำมาปลูกเปรียบเทียบการเจริญเติบโต ณ สถานีวิจัยของคณะทรัพยากรธรรมชาติ อำเภอเทพา จังหวัดสงขลา ซึ่งพบว่าแต่ละพันธุ์มีการเจริญเติบโตแตกต่างกัน มีหลายพันธุ์เจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว เช่น สายพันธุ์ไอ้กล้วย ไอ้หนุน และสายพันธุ์จากมาเลเซีย (ที่นำมาใช้เปรียบเทียบการเจริญเติบโต) ซึ่งสายพันธุ์ไอ้กล้วย ไอ้หนุน เป็นทุเรียนจากพื้นที่จังหวัดนครศรีธรรมราช มีขนาดพอเหมาะ ผลไม่ใหญ่เกินไป เปลือกบาง เนื้อเนียน สีเหลืองเข้ม กลิ่นอ่อน รสชาติหวานอร่อย มีคะแนนการบริโภคอยู่ที่ 4.5 คะแนน จากคะแนนเต็ม 5 คะแนน นอกจากนี้ยังมีพันธุ์อื่นๆ อีกจำนวนหนึ่ง ซึ่งจะต้องมีการศึกษาต่อยอดในรายละเอียดอื่นๆ เช่นคุณค่าทางโภชนาการ และสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภคต่อไป เพื่อเป็นแนวทางในการคัดเลือกพันธุ์ทุเรียนพื้นบ้าน ส่งเสริมให้คนทั่วไปรู้จัก ซึ่งจะก่อให้เกิดผลดีทางด้านราคาตามมา อีกทั้งยังสามารถพัฒนาเป็นทุเรียน GI พืชบ่งชี้ทางภูมิศาสตร์ของพื้นที่อีกด้วย นอกเหนือจากเรื่องของรสชาติ ทุเรียนพื้นบ้านหลายสายพันธุ์ที่รสชาติอาจจะไม่อร่อยมากนัก แต่มีคุณสมบัติอื่นๆ ที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ได้ในอนาคต เช่น การทนทานต่อโรค และแมลงศัตรู รวมถึงการใช้ประโยชน์เป็นต้นตอที่มีคุณภาพที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของกิ่งพันธุ์ดี เพิ่มผลผลิตและคุณภาพการบริโภค ซึ่งต้องอาศัยงานวิจัยเป็นเครื่องมือหลักในการพัฒนาพันธุ์ต่อไป

สรุป

เก็บตัวอย่างสายพันธุ์ทุเรียนพื้นบ้านภาคใต้ในเขตจังหวัดสงขลา นครศรีธรรมราช สตูล ยะลา นราธิวาส ระนอง ชุมพร กระบี่ พังงา รวม 9 จังหวัดจำนวนทั้งสิ้น 117 ตัวอย่าง (สายพันธุ์) วิเคราะห์แยกชุดตัวอย่าง 2 ชุด ชุดแรก 67 ตัวอย่าง ชุดที่ 2 จำนวน 50 ตัวอย่าง การวิเคราะห์ความหลากหลายของสายพันธุ์โดยอาศัยเครื่องหมายโมเลกุลสองเครื่องหมายคืออาร์เอพีดี กับไพรเมอร์ 8 ไพรเมอร์ OPA-19, OPB-01, OPB-14, OPC-05, OPAM-03, OPAM-13, OPK-08 และ OPZ-03 และไมโครแซทเทลไลท์กับ 6 คู่ไพรเมอร์คือ MS1CT-7, MS1CT-9, MS1CT-16, MS1CT-27, MS1AAC-2, MS1AAC-19 โดยพบว่าทั้งสองเครื่องหมายสามารถใช้ในการจำแนกพันธุ์ และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ให้ผลใกล้เคียงกัน แต่เนื่องจากเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์มีความแปรปรวนน้อยกว่าเครื่องหมายอาร์เอพีดี ในการวิเคราะห์ร่วมของข้อมูลทั้งสองชุดจึงเลือกใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์เพียงเครื่องหมายเดียว จาก 117 ตัวอย่างพบว่าทุเรียนพื้นบ้านมีความหลากหลายปานกลาง โดยพบค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมีค่าระหว่าง 0.43-1.00 สามารถแบ่งกลุ่มตามความใกล้ชิดทางพันธุกรรมได้เป็น 4 กลุ่ม ส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มที่ 2 และพบว่าการแบ่งกลุ่มจากข้อมูลเครื่องหมายดีเอ็นเอ ไม่มีความสัมพันธ์กับแหล่งที่มาของตัวอย่าง ในแต่ละกลุ่มจะประกอบด้วยสายพันธุ์ทุเรียนพื้นบ้านจากหลายพื้นที่ปะปนกัน

นอกจากนี้แล้วยังได้เก็บตัวอย่างทุเรียนพื้นบ้านคลองแสง อ. บ้านตาขุน จังหวัดสุราษฎร์ธานี ซึ่งเป็นแหล่งทุเรียนพื้นบ้านรสชาติดีของภาคใต้อีกแหล่งหนึ่ง วิเคราะห์ข้อมูลแยกจากตัวอย่างสองชุดแรกโดยใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ จากจำนวนตัวอย่าง 23 ต้น พบว่ามีความหลากหลายทางพันธุกรรมค่อนข้างสูง สูงกว่าตัวอย่างในสองชุดแรก โดยพบค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.37-0.95 ส่วนลักษณะผลและคุณภาพผลส่วนใหญ่มีลักษณะดีและรสชาติอร่อย เป็นแหล่งทุเรียนพื้นบ้านที่น่าสนใจพัฒนา และคัดเลือกพันธุ์เพื่อต่อยอดเป็นพันธุ์การค้าต่อไป

จากการเลือกสายพันธุ์ทุเรียนพื้นบ้านจำนวน 18 สายพันธุ์เพื่อปลูกทดสอบในแปลงรวบรวมพันธุ์ ณ สถานีวิจัยเทพา อ. เทพา จ. สงขลา เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตในระยะแรกลงปลูก โดยมีพันธุ์พื้นบ้านมาเลเซีย และพันธุ์หลงลับแลเป็นพันธุ์เปรียบเทียบ พบว่าพันธุ์ไอ้กล้วย และพันธุ์ไอ้หนุนทุเรียนพื้นบ้านจากจ. นครศรีธรรมราชเจริญเติบโตได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับพันธุ์อื่นๆ จากผลการศึกษาครั้งนี้ทำให้เห็นศักยภาพของทุเรียนพื้นบ้านภาคใต้ จะเป็นข้อมูลพื้นฐานนำไปสู่การคัดเลือกและพัฒนาพันธุ์ทุเรียนพื้นบ้านที่มีคุณภาพดี ตลอดจนการนำองค์ความรู้ด้านการบริหารจัดการสวนทุเรียนพันธุ์ดีมาประยุกต์กับการจัดการสวนทุเรียนพื้นบ้าน เพื่อยกระดับให้เป็นพันธุ์การค้าทั้งระดับชุมชนและระดับประเทศต่อไป นอกจากนี้แล้วพันุ์ดีในแต่ละท้องถิ่นเมื่อมีการขยายพันธุ์เพิ่มจำนวน ยังสามารถต่อยอดขอจดทะเบียนสิ่งบ่ชี้ทางภูมิศษสตร์ เพื่อปกป้องพันธุ์พืชในท้องถิ่นได้อีกด้วย ข้อเสนอแนะจากการทำวิจัยครั้งนี้ เห็นสมควรให้ทำการเก็บรวบรวมทุเรียนพื้นบ้านพันธุ์ดีจากแต่ละ

แหล่ง เพื่อการอนุรักษ์พันธุ์ไม่ให้สูญหาย เพราะบางพันธุ์มีลักษณะดีแม้รสชาติไม่อร่อยมากนัก แต่สามารถใช้ประโยชน์ในด้านอื่นๆได้ เช่น การทนทานต่อโรค และสภาวะแปรปรวนทางภูมิอากาศ และศึกษาเชิงลึกในเรื่องการใช้ประโยชน์ทางยา เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

กรกช นาคคนอง. 2550. การวิเคราะห์พันธุกรรมของยางพารา (*Hevea brasiliensis*) พันธุ์ดั้งเดิมและพันธุ์แนะนำ โดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี และไมโครแซทเทลไลท์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

กรมวิชาการเกษตร. 2553. การผลิตทุเรียนอย่างถูกต้องและเหมาะสม. เข้าถึงได้จาก http://soclaimon. wordpress.com/2010/06/14.html. (สืบค้นเมื่อ 5 พฤษภาคม 2556.)

กัลยา ประพาน และ กรรณิการ์ ธีระวัฒนาสุข. 2554. การใช้เทคโนโลยีวภาพในการเพิ่มประสิทธิภาพการปรับปรุงพันธุ์ยาง. เอกสารประกอบการประชุมวิชาการยางพารา ครั้งที่ 1 ประจำปี 2554 ณ โรงแรมเชียงใหม่ฮิลล์ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ วันที่ 20-22 กุมภาพันธ์ 2554. หน้า 38-54.

เต็ม สมิตินันท์. 2523. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ : กรมป่าไม้ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 379 หน้า.

เตือนใจ โก้สกุล และปิยะศักดิ์ ชอุ่มพฤกษ์. 2556. รูปแบบการขยายพันธุ์เพื่อการค้ากับหลักฐานความแปรปรวนทางพันธุกรรมของทุเรียนการค้าของไทย. Thai Journal of Genetics. 2013: 240-243.

ทรงพล สมศรี. 2530. การศึกษาการเจริญเติบโตของทุเรียนชนิดต่างๆ บนต้นตอทุเรียนพื้นเมือง. ปัญหาพิเศษปริญญาโท. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 19 หน้า.

ทรงพล สมศรี, พะยงค์ เก่งกาจ, ภิรมย์ ขุนจันทร์ทึก, ณิชชา แหลมเพชร, นาตยา ดำอำไพ, สุชาติ วิจิตตรานนท์, สมนึก สวนฉิม, เสาวนีย์ ศรีสุมา, เสริมสุข สลักเพชร, ศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล,

วนิดา งามเงิน และธีรวุฒิ วงศ์วรัตน์. 2549. การปรับปรุงพันธุ์ทุเรียนเพื่อผลิตพันธุ์ลูกผสมต้นฤดูที่มีคุณภาพดี และการศึกษาจำแนกชนิด พันธุ์ สายพันธุ์ลูกผสมดีเด่นด้วยเทคนิคด้านชีวโมเลกุล. กรุงเทพฯ: สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

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

ปิยรัษฎ์ เจริญทรัพย์, ฐิตาภรณ์ ภูมิไชย์, อินทิรา จารุเพ็ง, อรชร โชติญาณวงษ์, ประไพ โมจรินทร์ และ พรชัย จุฑามาศ. 2552. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของทุเรียนโดยใช้ดีเอ็นเอเครื่องหมายชนิดไมโครแซทเทลไลท์. การประชุมวิชาการพันธุศาสตร์ แห่งชาติ ครั้งที่ 16 “พันธุศาสตร์แก้วิกฤตพลังงาน” ณ มหาวิทยาลัย ธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ปทุมธานี วันที่ 25-27 มีนาคม 2552. หน้า 12-16.

ภัควดี เสริมสรรพสุข. 2556. ทุเรียน : ข้อเท็จจริงทางโภชนาการและเภสัชวิทยา. สงขลานครินทร์เวชสาร 31 : 83-90.

ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี. 2559. ยุทธศาสตร์การพัฒนางานวิจัยทุเรียน. เข้าถึงจาก https://mangobar.wordpress.com/2016/03/28 (เข้าถึงเมื่อ 24 กรกฎาคม 2560)

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

สุรินทร์ ปิยะโชคคณากุล. 2545. จีโนม และเครื่องหมายดีเอ็นเอ ปฏิบัติการอาร์เอพีดี และเอเอฟแอลพี. กรุงเทพฯ : สำนักพิมม์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุรินทร์ ปิยะโชคคณากุล. 2552. เครื่องหมายดีเอ็นเอ : จากพื้นฐานสู่การประยุกต์. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2557ก. สถิติการส่งออก-ทุเรียน. เข้าถึงได้จาก http://www.oae.go.th/oae_report/export_import/export_result.php. (สืบค้นเมื่อ 1 มิถุนายน 2557).

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

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

อรอนงค์ หนูเชื้อ. 2549. การวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอร่วมกับองค์ประกอบพอลีแซคคาไรด์ในทุเรียนต่างสายพันธุ์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเวชเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

โองการ วณิชาชีวะ และศรีสมร วนกรกุล. 2554. การจำแนกทุเรียนสายพันธุ์ท้องถิ่นในจังหวัดนนทบุรีโดยเทคนิคอาร์เอพีดี. กรุงเทพฯ : คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร. หน้า 14-37.

Bindu, R. N. and Fahsa, K. S. 2004. Isolation and characterization of mucilage from some selected of *Abelmoschus medic* (Malvaceae) and their application in pharmaceutical suspension. International Journal of Phamacy and Phamaceutical Science 5: 389-402.

Chitose, H., Somsri, S., Yapwattanaphun, C., Kanzaki, S., Tetsumura, T., Yamashita, K. and Yonemori, K. 2007. Develop of microsatellite markers in durian and analysis of genetic relationship of Thai durian cultivars. [Online] Available http://pal. Miyazaki-u.ac.jp/-chitose/top.html. (accessed on 5 May, 2014).

Drenth, A. and Seudal, B. 2004. Economic of phytopthora disease in southest Asia. *In* Diversity and Management of Phytopthora in Southest Asia. Guest ACIAR Monograph 144: 10-28.

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

Lespinasse, L., Rodier-Ground, M., Grivet, L., Lecote, A., Legnet, H. and Seguin, M. 2000. A saturate linkage map of rubber tree (*Hevea* spp.) base on RFLP, AFLP, microsatellite and isozyme markers. Theoretical Analysis and Applied Genetics 100: 121-138.

Lougheed, S. C., Gibbs, H. L., Prior, K. A. and Weathead, P. S. 2000. A comparison of RAPD versus microsatellite DNA markers in population studies of the Massasauga Rattle snake. The American Genetic Association 91: 458-463.

Rohlf, F. J. 2002. NTSYS - pc. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Version 2.1. New York: Applied Biostatistics. Pp. 79-90.

Ruwaida, I. P., Supriyadi and Parjanto. 2009. Variability analysis of Sukun durian plant (*Durio zibethinus*) based on RAPD marker. Nusantara Bioscience 1: 84-91.

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

ภาคผนวก

คณะวิจัยมีโอกาสถวายรายงานผลการทำวิจัยทุเรียนพื้นบ้านภาคใต้แด่สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาสยามบรมราชกุมารี ณ สถานีวิจัยคลองหอยโข่ง จังหวัดสงขลา

การแสดงนิทรรศการความหลากหลายของทุเรียนพื้นบ้านภาคใต้ในซุ้มวิชาการของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ในงานประชุมทางวิชาการ อพ.สธ. ครั้งที่ 7 ทรัพยากรไทย; หวนดูทรัพย์สิ่งสินตน วันที่ 24-26 มีนาคม 2559 ณ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ผลงานตีพิมพ์เผยแพร่

การวิเคราะห์พันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านในภาคใต้โดยใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์

Genetic analysis of indigenous durian (*Durio zibethinus* Merr.) in southern Thailand using microsatellite markers

ฮูดา แก้วศรีสม[1,2*], กรกช นาคคนอง[1] และ จรัสศรี นวลศรี[1]

Huda Kaewsrisom[1,2*], Korakot Nakkanong[1] and Charassri Nualsri[1]

บทคัดย่อ: ภาคใต้เป็นแหล่งของความหลากหลายทางพันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้าน หลายพันธุ์อาจมีศักยภาพในการพัฒนาในเชิงการค้า หรือใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์ดังนั้นวัตถุประสงค์งานวิจัยนี้เพื่อวิเคราะห์พันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านในภาคใต้โดยใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ ทำการศึกษาโดยเก็บตัวอย่างใบทุเรียนพื้นบ้านในเขตจังหวัดสงขลา นครศรีธรรมราช กระบี่ พังงา และยะลาจำนวนทั้งหมด 67 ต้น สกัดดีเอ็นเอและทดสอบกับไพรเมอร์จำนวน 6 คู่ จากการศึกษาพบว่ามีอัลลีล 2-6 อัลลีล เฉลี่ย 3.5 อัลลีลต่อคู่ไพรเมอร์และเมื่อนำข้อมูลดังกล่าวมาวิเคราะห์ความใกล้ชิดทางพันธุกรรมด้วยวิธี UPGMA ในโปรแกรม NTSYS พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มทุเรียนพื้นบ้านภาคใต้ได้เป็น 6 กลุ่ม โดยมีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.52-0.95 จากผลการศึกษานี้สามารถนำเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์มาใช้เป็นข้อมูลในการคัดเลือกพันธุ์เพื่อการปรับปรุงพันธุ์ทุเรียนในอนาคต

คำสำคัญ: ทุเรียน, ไมโครแซทเทลไลท์, การวิเคราะห์พันธุกรรม

ABSTRACT: Southern Thailand is a source of indigenous durian diversity that can be developed for commercial or used as genetic materials for breeding program. The aims of this research were to assess the genetic diversity and relatedness of indigenous durian in southern Thailand using microsatellitemarkers. Leaf samples of 67 indigenous durian trees were collected from Songkhla, Nakhon Si Thammarat, Krabi, Phangnga and Yala provinces. DNA from each leaf was extracted and microsatellite was performed with 6 primer pair. It was found that the number of allele range from 2 to 6 with an average 3.5 alleles/primer pair. Genetic similarity was analyzed using UPGMA and dendrogram was constructed by NTSYS program. Based on dendrogram, six clusters could be separated with genetic similarity index ranging from 0.52-0.95. Information obtained from the present study, can be used for identification and selection in breeding program.

Keywords: durian (*Durio zibethinus* Merr.), microsatellite, genetic analysis

[1] ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ สงขลา 90112
Department of Plants Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai campus, Songkhla 90112

[2] ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรสำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษากรุงเทพฯ 10900
Center of Excellence on Agricultural Biotechnology: (AG-BIO/PERDO-CHE), Bangkok 10900,Thailand

* Corresponding author: dada_ps29@hotmail.com

บทนำ

ทุเรียนเป็นไม้ผลเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย จากการสำรวจในปี 2556 พบว่ามีพื้นที่ปลูกทั้งประเทศ 641,248 ไร่ โดยภาคตะวันออกและภาคใต้มีการปลูกทุเรียนมากที่สุด (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2556) ทุเรียนเป็นผลไม้ที่ทำรายได้ให้กับประเทศไทยเป็นจำนวนมาก ประเทศไทยมีการส่งออกทุเรียนมากเป็นอันดับหนึ่งของโลก และมีความหลากหลายของพันธุ์ทุเรียนเป็นจำนวนมากมีรายงานว่ามีพันธุ์ทุเรียนในประเทศไทยมากกว่า 200 พันธุ์ แต่พันธุ์ที่นิยมปลูกเป็นการค้า และเป็นที่นิยมของผู้บริโภคคือ พันธุ์หมอนทอง ก้านยาวชะนี และกระดุมทอง เป็นต้น (กรมวิชาการเกษตร, 2553) ซึ่งแต่ละพันธุ์มีลักษณะที่ดีแตกต่างกัน นอกจากนี้บางพันธุ์มีลักษณะพิเศษ เช่น พันธุ์ชะนีเป็นพันธุ์ที่มีความต้านทานโรคที่เกิดจากเชื้อ *Phytopthora* พันธุ์หมอนทองมีขนาดพูใหญ่และกลิ่นอ่อน เป็นต้น ทำให้ชาวสวนนิยมปลูกพันธุ์ดังกล่าวมากขึ้น พันธุ์ดั้งเดิมที่เคยปลูกจึงค่อยๆ หายไป และคาดว่าทุเรียนบางพันธุ์ได้สูญพันธุ์ไปแล้ว ภาคใต้เป็นอีกพื้นที่หนึ่งที่พบความหลากหลายทางพันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านมาก โดยเฉพาะทางภาคใต้ตอนล่าง เนื่องอยู่ใกล้จากถิ่นกำเนิดดั้งเดิมของทุเรียน และพืชในสกุลเดียวกัน ทุเรียนเติบโตได้ดีในแถบภูมิอากาศร้อนเกาะบอร์เนียวเป็นศูนย์กลางความหลากหลายของพืชสกุลนี้โดย Kostermans (1992) และ Zeven and Zhukovsky (1975) อ้างโดย ทรงพล (2551)ได้รายงานว่า มีพืชสกุลทุเรียนแพร่กระจายอยู่ในบริเวณเกาะบอร์เนียว 19 ชนิดในซาบาห์ 14 ชนิดในซาราวัค 16 ชนิดเกาะสุมาตรา 7 ชนิด และมาเลเซีย 11 ชนิดโดยมี 5 ชนิดที่เป็นพืชท้องถิ่นทุเรียนพื้นบ้านหลายพันธุ์มีลักษณะดีที่น่าจะใช้เป็นแหล่งพันธุกรรม ในการปรับปรุงพันธุ์ทุเรียนในอนาคตได้ เช่น ทนน้ำท่วมขัง ทนทานต่อโรคโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Phytopthora* ที่สามารถใช้เป็นต้นตอทุเรียนพันธุ์ดีได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้ยังพบว่าจากการผสมข้ามในธรรมชาติทำให้ได้พันธุ์ทุเรียนใหม่ที่มีลักษณะดี มีศักยภาพที่จะนำมาผลิตในเชิงการค้าได้ในอนาคต

การเก็บรวบรวมพันธุ์ และการศึกษาความหลากหลายของพันธุ์ แม้จะสามารถอาศัยลักษณะสัณฐานของผล รสชาติ หรือรูปร่างใบ เป็นเกณฑ์การจำแนกกลุ่มพันธุ์ทุเรียนได้ (หิรัญ, 2551) แต่ทุเรียนพื้นบ้าน มีลักษณะก้ำกึ่งกัน เพราะมีการผสมข้ามระหว่างต้นในธรรมชาติ ดังนั้นจึงต้องอาศัยเครื่องมืออื่นในการตรวจสอบ ปัจจุบัน มีการใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการจำแนกพันธุ์พืชอย่างแพร่หลายจึงเป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพในการศึกษาพันธุกรรมของทุเรียนเช่น ไมโครแซทเทลไลท์ หรือ SSR (Simple Sequence Repeat) ซึ่งเป็นลำดับเบสที่ซ้ำกันเรียงกันอย่างต่อเนื่องที่ตำแหน่งหนึ่งๆ ในจีโนม แต่ละชุดประกอบด้วยลำดับเบสซ้ำสั้นๆไม่เกิน 10 คู่เบส (สุรินทร์, 2552)สำหรับในทุเรียน ปิยรัษฐ์ และคณะ (2552) ได้ทำการพัฒนาไพรเมอร์ของเครื่องหมายชนิดไมโครแซทเทลไลท์ เพื่อการจัดจำแนกทุเรียนจำนวน 135 สายพันธุ์ พบว่าไพรเมอร์ MS1AAC-19 สามารถใช้จำแนกพันธุ์ทุเรียนได้ดีที่สุด และสรุปว่าทุเรียนมีความหลากหลายทางพันธุกรรมค่อนข้างสูง ดังนั้นการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเครื่องหมายโมเลกุลในการคัดเลือกทุเรียนพื้นบ้านจึงเป็นแนวทางในการศึกษาข้อมูลพื้นฐานของทุเรียนพื้นบ้านภาคใต้

จุดประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบความแตกต่างของพันธุ์ทุเรียนพื้นบ้านในภาคใต้โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลท์เพื่อการจำแนกและคัดเลือกพันธุ์ทุเรียนพื้นบ้านที่มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นพันธุ์การค้าทั้งระดับท้องถิ่น และระดับประเทศต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การสกัดดีเอ็นเอ

เก็บตัวอย่างทุเรียนโดยสุ่มจากสวนของเกษตรกรในพื้นที่ภาคใต้ 5 จังหวัด ได้แก่ สงขลา ยะลา นครศรีธรรมราช พังงา และกระบี่ เก็บใบหรือเปลือกต้นเพื่อนำมาสกัดดีเอ็นเอ ด้วยวิธีประยุกต์จากการสกัด

ดีเอ็นเอของพืชที่มีสารประกอบจำพวกโพลีแซคคาไรด์และโพลีฟีนอลสูง (Sue et al., 1997) โดยใช้ตัวอย่างพืชสด 200 มิลลิกรัม บดใน Extraction buffer (100 mM Tris-HCl, 1.4 M NACl, 20 mM EDTA, 2% CTAB) ร่วมกับ β-mercaptoethanol เข้มข้น 3% ปริมาตร 750 ไมโครลิตร และเติม PVP ลงในโกร่งบดให้ละเอียด เขย่าให้เข้ากันในหลอดไมโครเซ็นตริฟิวจ์ บ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส 60 นาที เติม Chloroform : isoamyl (24:1) ปั่นเหวี่ยงที่ 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ดูดสารละลายส่วนใสใส่หลอดใหม่ ทำซ้ำขั้นตอนนี้ 2 รอบตกตะกอนดีเอ็นเอด้วย 95% ethanol ผสมกับ NaCl ให้เข้ากัน แช่เย็นให้ตกตะกอน นำตะกอนที่ได้ละลายด้วย TE buffer ตกตะกอนซ้ำด้วย 95% ethanol ผสมกับ NaAc แช่ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ข้ามคืนเทส่วนใสทิ้งเก็บตะกอนไว้แล้วล้างด้วย 70% ethanol2 ครั้ง ผึ่งตะกอนให้แห้งแล้วละลายตะกอนด้วย TEbuffer เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้

การตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอ

ตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอด้วยการเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน โดยการทำอิเล็กโตรโฟรีซิส บนอะกาโรสเจล เข้มข้น 0.8% แรงเคลื่อนไฟฟ้า 100 โวลต์ ในสารละลาย TAE buffer เป็นเวลา 20 นาที ย้อมแถบดีเอ็นเอที่ได้ด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ แล้วนำไปตรวจสอบด้วยเครื่อง gel documentation ภายใต้แสงอัลตร้าไวโอเลต 260 นาโนเมตร

การวิเคราะห์พันธุกรรมด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์

ทดสอบไพรเมอร์ที่เหมาะสมสำหรับการทำไมโครแซทเทลไลท์ในทุเรียน จำนวน 6 คู่ ได้แก่ ไพรเมอร์ MS1CT-7, MS1CT-9, MS1CT-16, MS1CT-27, MS1AAC-2, MS1AAC-19 (ปิยรัษฎ์ และคณะ, 2552) นำมาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้วิธีพีซีอาร์ แล้วนำผลผลิตพีซีอาร์ มาตรวจสอบขนาดชิ้นของดีเอ็นเอ ด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิสบนแผ่นวุ้น LE agarose ความเข้มข้น 3% ใน TBE Buffer (Tris Base, Boric acid, Na_2EDTA 0.5 โมลาร์; pH 8.0) ใช้แรงเคลื่อนไฟฟ้า 75 โวลต์ 75นาที ย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยเอธิเดียมโบรไมด์เข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 20 นาที ล้างน้ำ 10 นาที ตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอัลตร้าไวโอเลต 260 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง gel documentation คัดเลือกคู่ไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณและให้แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่าง (polymorphism) ระหว่างตัวแทนประชากรแต่ละกลุ่มหลังจากนั้นทำการวิเคราะห์ข้อมูล โดยแปลงข้อมูลแถบดีเอ็นเอให้ตำแหน่งที่มีแถบดีเอ็นเอมีค่าเท่ากับ 1 และตำแหน่งที่ไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอมีค่าเท่ากับ 0 วิเคราะห์ความใกล้ชิดทางพันธุกรรม และสร้างเดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ของกลุ่มตัวอย่างที่ศึกษา UPGMA ในโปรแกรม NTSYS version 2.1 (Rohlf, 2002)

ผลการศึกษา

ผลการสกัดดีเอ็นเอ

จากการสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีประยุกต์จาก Sue et al. (1997) พบว่าได้ดีเอ็นเอที่มีคุณภาพค่อนข้างดี มีความสะอาดและมีการปนเปื้อนของสารประกอบโพลิแซคคาร์ไรด์และสารโพลิฟีนอลน้อย ซึ่งสารประกอบโพลิแซคคาร์ไรด์และสารโพลิฟีนอลนี้มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นในระหว่างการสกัดและมีผลต่อการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาพีซีอาร์ดังนั้นวิธีดังกล่าวจึงเป็นวิธีที่เหมาะต่อการสกัดดีเอ็นเอจากใบและเปลือกต้นทุเรียน

ผลการวิเคราะห์พันธุกรรมด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์

จากการวิเคราะห์พันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านในภาคใต้ของทุเรียน 67 ตัวอย่าง ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลท์ ใช้ไพรเมอร์ จำนวน 6คู่ (**Table 1**) พบว่ามีจำนวนอัลลีลตั้งแต่ 2-6 อัลลีลรวมทั้งสิ้น 21 อัลลีล และประมาณ 85.7 เปอร์เซ็นต์ เป็นอัลลีลที่มีความแตกต่างกัน (polymorphic) โดยมีค่าเฉลี่ย 3.5

อัลลีลต่อคู่ไพรเมอร์ และมีค่า PIC (Polymorphic Information Content) อยู่ระหว่าง 0.91-0.99 เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์การจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA พบว่าสามารถจัดกลุ่มของทุเรียนพื้นบ้านในการศึกษาได้เป็น 6 กลุ่ม ซึ่งแต่ละกลุ่มตัวอย่างค่อนข้างสัมพันธ์กับแหล่งที่มา (**Figure 2**)ส่วนตัวอย่างที่ไม่สัมพันธ์กับแหล่งที่มานั้นอาจเป็นเพราะชาวสวนนำเมล็ดพันธุ์จากหลายแหล่งมาปลูกในสวนของตนเอง ทำให้มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง

Table 1 The number of alleles and alleles size of microsatellite markers in 67 indigenous Durian (*Durio zibethinus* Merr.) in southern Thailand

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

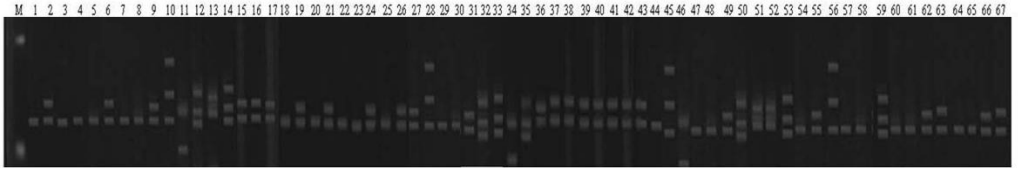


Figure 1 Microsatellite profiles of 67 Durian for primer MS1CT-9. Mis DNA Ladder size 100 bp, lane1-20 (Songkhla 1), 21-26 (Songkhla 2), 27-32 (Songkhla 3), 33-42 (Krabi-Phang-nga), 43-60 (Yala) and60-67 (Nakhonsithammarat)

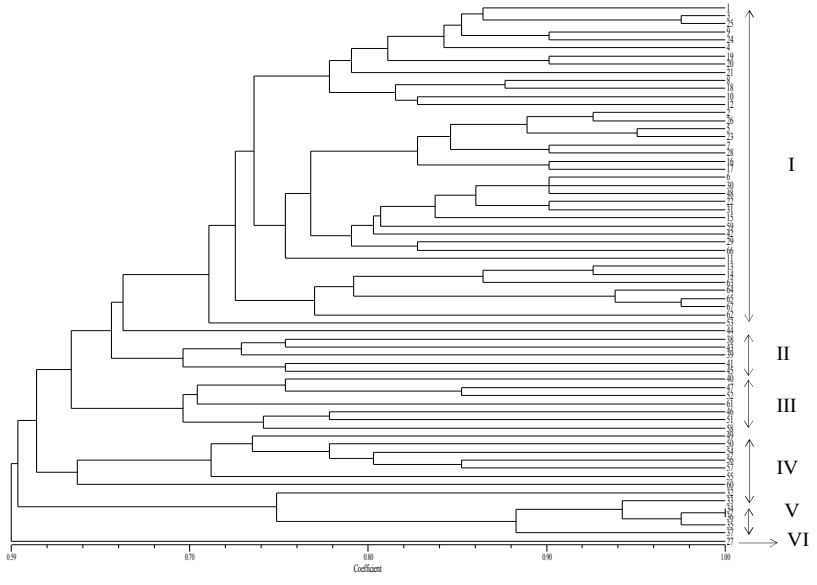


Figure2 Dendrogram showing the relationship among67Durian base on microsatellite analysis with 6 primerpair, No.1-20(Songkhla 1), 21-26 (Songkhla 2), 27-32 (Songkhla 3), 33-42 (Krabi-Phang-nga), 43-60 (Yala)and60-67 (Nakhonsithammarat)

วิจารณ์

การจำแนกพันธุ์หรือการศึกษาความหลากหลายของพันธุ์พืช นับได้ว่าเป็นองค์ประกอบสำคัญในกระบวนการรวบรวม และอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืช เพื่อการปรับปรุงพันธุ์ หรือการใช้ประโยชน์ในด้านอื่น จากการวิเคราะห์พันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านในภาคใต้ ในเบื้องต้นการเก็บตัวอย่างอาศัยความแตกต่างของลักษณะสัณฐานของผล ซึ่งสามารถใช้จำแนกกลุ่มได้ในระดับหนึ่ง แต่ทุเรียนพื้นบ้านภาคใต้มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง เนื่องจากมีการผสมข้ามในธรรมชาติ และขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ดมาเป็นเวลานาน ดังนั้นจึงต้องอาศัยเครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการจำแนกคือเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ จากผลการศึกษา และจัดกลุ่มความสัมพันธ์ใกล้ชิดทางพันธุกรรมพบว่าสามารถจัดกลุ่มของทุเรียนพื้นบ้านในการศึกษาได้เป็น 6กลุ่มซึ่งแต่ละกลุ่มตัวอย่างค่อนข้างสัมพันธ์กับแหล่งที่มาของตัวอย่าง เนื่องจากมีการผสมข้ามในกลุ่มประชากรที่อยู่ใกล้เคียง อย่างไรก็ตาม มีบางตัวอย่างที่ถูกจัดอยู่ในกลุ่มพื้นที่อื่น เช่น ตัวอย่างหมายเลข 45 และ 48 ซึ่งเป็นตัวอย่างจากอำเภอเบตง แต่พบอยู่ในกลุ่มเดียวกับตัวอย่างในอำเภอนาหม่อม ซึ่งเป็นไปได้ เพราะจากการสอบถาม มีการนำพันธุ์จากแหล่งอื่นมาปลูก ให้ผลทำนองเดียวกับการศึกษาของ Ruwaida และคณะ (2009) ที่ศึกษาความแปรปรวนของทุเรียนสายพันธุ์ซูกันด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี พบว่าทุเรียนซูกันที่ปลูกในพื้นที่ที่มีการนำเมล็ดจากอีกแหล่งมาปลูกทำให้ค่าความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมสูง นอกจากนี้ ปิยรัษฎ์ และคณะ (2552) ศึกษาความหลากหลายของทุเรียนโดยใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ และรายงานว่าความหลากหลายของทุเรียนแต่ละกลุ่มที่ศึกษาไม่มีความสัมพันธ์กับพื้นที่ปลูก ซึ่งอาจเป็นเพราะ ชาวสวนนำเมล็ดพันธุ์จากหลายแหล่งมาปลูกในสวนของตนเอง ทำให้มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงผลการศึกษาครั้งนี้ พบว่าค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านภาคใต้ที่เก็บมาจากพื้นที่ 5 จังหวัด มีค่า 0.52-0.95 แสดงว่ามีความหลากหลายปานกลาง และพบว่าบางพันธุ์มีลักษณะดี รสชาติอร่อย มีศักยภาพที่จะสามารถผลิตได้ให้เป็นพันธุ์การค้าในอนาคต หากมีการคัดเลือกและทดสอบพันธุ์อีกสักระยะเวลาหนึ่ง

สรุป

จากการวิเคราะห์พันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านที่เก็บในพื้นที่ 5 จังหวัดทางภาคใต้ของประเทศไทย จำนวน 67 ต้น ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลท์ พบว่ามีความหลากหลายทางพันธุกรรมปานกลาง โดยมีค่าดัชนีความใกล้ชิดอยู่ระหว่าง 0.52-0.95 ดังนั้นเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์จึงเป็นเครื่องหมายโมเลกุลที่สามารถนำไปใช้ในการจำแนกพันธุ์ทุเรียน และใช้เป็นฐานข้อมูลในการปรับปรุงพันธุ์ทุเรียนต่อไปได้

คำขอบคุณ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ และส่วนหนึ่งจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรสำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษากระทรวง ศึกษาธิการ ผู้วิจัยขอขอบคุณมา ณ ที่นี้ด้วย

เอกสารอ้างอิง

กรมพัฒนาที่ดิน. 2549. รายงานการสำรวจและคาดการณ์ผลผลิตทุเรียนปีการผลิต 2549 โดยการสำรวจระยะไกลและระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์.สำนักสำรวจดินและวางแผนการใช้ที่ดิน กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

กรมวิชาการเกษตร. 2553. การผลิตทุเรียนอย่างถูกต้องและเหมาะสม. แหล่งข้อมูล://soclaimon. Wordpress. com/2010/06/14. html. ค้นเมื่อ 5 พฤษภาคม 2556.

ทรงพล สมศรี. 2551. ทุเรียนไทยและการปรับปรุงพันธุ์ : กรณีศึกษาพันธุ์ จันทบุรี 1 จันทบุรี 2 จันทบุรี 3. สำนักผู้เชี่ยวชาญ กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

ปิยรัษฎ์ เจริญทรัพย์, ฐิตาภรณ์ ภูมิไชย์, อินทิรา จารุเพ็ง, อรชร โชติญาณวงษ์, ประไพ โมจรินทร์ และ พรชัย จุฑามาศ. 2552. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของทุเรียนโดยใช้ดีเอ็นเอเครื่องหมายชนิดไมโครแซทเทลไลท์. ใน: การประชุมวิชาการพันธุศาสตร์ แห่งชาติ ครั้งที่ 16. มหาวิทยาลัย ธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ปทุมธานี. 25-27 มีนาคม 2552.

หิรัญ หิรัญประดิษฐ์. 2551. ทุเรียน. สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน ฉบับเสริมการเรียนรู้ เล่ม 10. สำนักพิมพ์ด่านสุทธาการพิมพ์. กรุงเทพฯ.

สุรินทร์ ปิยะโชคคณากุล. 2552. เครื่องหมายดีเอ็นเอ : จากพื้นฐานสู่การประยุกต์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2556. ข้อมูลการผลิตสินค้าเกษตร-ทุเรียน. แหล่งข้อมูล: http://www.oae.go.th/download/prcai/farmcrop/durian.pdf. ค้นเมื่อ 5 มีนาคม 2557.

โองการวณิชาชีวะ และศรีสมร วนกรกุล. 2554. การจำแนกทุเรียนสายพันธุ์ท้องถิ่นในจังหวัดนนทบุรีโดยเทคนิคอาร์เอพีดี.คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร.

Kostermans, A. J. G. H. 1992. *Durio macrantha* Kosterm., species *nova* (Bombacaceae) from North Sumatra. Reinwardtia 11: 41-51.

Rohlf, F. J. 2002. NTSYS - pc. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Version 2.1. Applied Biostatistics. New York .

Ruwaida, I. P., Supriyadi and Parjanto. 2009. Variability analysis of Sukun durian plant (*Durio zibethinus*) Base on RAPD marker. Nusantara Bioscience 1: 84-91.

Sue, P., L. Grant, B. and Bernard, R.B. 1997. Modification of a CTAB DNA Extraction Protocol for Plants containing high polysaccharide and polyphenolcomponents. Plant Molecular Biology Reporter 15(1): 8-15.

Zeven, A.C. and Zhukovsky, P.M. 1975. Dictionary of Cultivated Plants and Their Centres of Diversity. Wageningen, PUD.

การวิเคราะห์พันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านในภาคใต้โดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี
GENETIC ANALYSIS OF INDIGENOUS DURIAN (*Durio zibethinus* Merr.) IN SOUTHERN THAILAND USING RAPD MARKER

ฮูดา แก้วศรีสม[1/2] อมรรัตน์ จันทนาอรพินท์[3] กรกช นาคคนอง[1] และจรัสศรี นวลศรี[1]
Huda Kaewsrisom[1/2] Amonrat Chantanaorapin[3] Korakot Nakkanong[1] and Charassri Nualsri[1]

[1]ภาควิชาพืชศาสตร์ และ [3]หน่วยวิจัย คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ สงขลา 90112, [2]ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Plants Science, [3]Research Unit, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai campus, Songkhla 90112, [2]Center of Excellence on Agricultural Biotechnology: (AG-BIO/PERDO-CHE), Bangkok 10900,Thailand

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้ เพื่อวิเคราะห์พันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านในภาคใต้โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการคัดเลือกพันธุ์ โดยเก็บตัวอย่างใบทุเรียนพื้นบ้านในเขตจังหวัดสงขลา นครศรีธรรมราช กระบี่ พังงา และยะลา จำนวน 60 ต้น ทดสอบกับไพรเมอร์ขนาด 10 นิวคลีโอไทด์จำนวน 8 ไพรเมอร์ พบว่าให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 129 แถบ เป็นแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างจำนวน 126 แถบ คิดเป็น 95.34 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำแถบดีเอ็นเอดังกล่าวมาวิเคราะห์ความใกล้ชิดทางพันธุกรรมด้วยวิธี UPGMA พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มทุเรียนพื้นบ้านภาคใต้ได้เป็น 5 กลุ่ม แยกตามแหล่งที่มาของตัวอย่างพืช โดยมีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.466-0.899

Abstract

This study aimed to assess the genetic diversity and relatedness of indigenous durian in southern Thailand using RAPD technique. Information obtained from the present study, can be used for selection and breeding program. Leaf samples of 60 indigenous durian trees were collected from Songkhla, Nakorn-sitammrat, Krabi, Phang-nga and Yala provinces. Eight RAPD primers were chosen and of total 129 fragments were obtained. From 129 amplified fragments, 126 (95.34%) were polymorphisms. Result from UPGMA dendrogram analysis, five clusters could be separated with genetic similarity index ranging from 0.466-0.899. Cluster corresponds well with their geographical origin.

คำสำคัญ : ทุเรียน, อาร์เอพีดี, การวิเคราะห์พันธุกรรม
Keywords : durian(*Durio zibethinus* Merr.), RAPD, genetic analysis

ติดต่อนักวิจัย : ฮูดา แก้วศรีสม (อีเมล์ dada_ps29@hotmail.com)
Corresponding author : Huda Kaewsrisom (Email: dada_ps29@hotmail.com)

บทนำ

ทุเรียนเป็นผลไม้สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย ซึ่งมีพื้นที่ปลูกรวมทั้งประเทศ 770,362 ไร่ โดยภาคตะวันออกและภาคใต้มีการปลูกทุเรียนมากที่สุด (กรมพัฒนาที่ดิน, 2549) นอกจากการบริโภคภายในประเทศแล้วยังเป็นผลไม้ที่ทำรายได้ให้กับประเทศไทยเป็นจำนวนมากในแต่ละปี ประเทศไทยมีการส่งออกทุเรียนมากเป็นอันดับหนึ่งของโลก และมีความหลากหลายของพันธุ์ทุเรียนเป็นจำนวนมาก มีรายงานว่าอย่างน้อยมีพันธุ์ทุเรียนในประเทศไทยมากกว่า 200 พันธุ์ แต่พันธุ์ที่นิยมปลูกเป็นการค้า และมีชื่อเสียงที่สุดคือพันธุ์หมอนทอง เนื่องจากมีรสชาติและคุณภาพผลเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคทั่วไป นอกจากหมอนทองยังมีพันธุ์อื่นๆ ที่เป็นที่นิยมปลูกเป็นปริมาณมากอีก เช่น ชะนี ก้านยาว และกระดุมทอง เป็นต้น (กรมวิชาการเกษตร, 2553) ซึ่งแต่ละพันธุ์มีลักษณะที่ดีแตกต่างกันขึ้นกับความชอบของผู้บริโภค นอกจากนี้บางพันธุ์มีลักษณะพิเศษ เช่น พันธุ์ชะนีเป็นพันธุ์ที่มีความต้านทานโรคที่เกิดจากเชื้อ *phytopthora* เดิมพันธุ์ทุเรียนมีความหลากหลายมาก แต่ระยะหลังเมื่อมีการค้นพบพันธุ์หมอนทอง จึงทำให้ชาวสวนนิยมปลูกพันธุ์ดังกล่าวมากขึ้น พันธุ์ดั้งเดิมที่เคยปลูกค่อยๆ หายไป และคาดว่าหลายพันธุ์ได้สูญพันธุ์ไปแล้ว ภาคใต้เป็นอีกพื้นที่หนึ่งที่พบความหลากหลายทางพันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านมาก โดยเฉพาะทางภาคใต้ตอนล่าง ที่มีพื้นที่ติดต่อกับประเทศมาเลเซีย เนื่องจากถิ่นกำเนิดดั้งเดิมของทุเรียน และพืชในสกุลเดียวกัน คือแถบประเทศบรูไน มาเลเซีย และอินโดนีเซีย (วิกิพีเดีย, 2554) นอกจากนี้ทุเรียนพื้นบ้านหลายพันธุ์มีลักษณะดีที่น่าจะใช้เป็นแหล่งพันธุกรรม ในการปรับปรุงพันธุ์ทุเรียนในอนาคตได้ เช่น ทนน้ำท่วมขัง ทนทานต่อโรคที่เกิดจากเชื้อ *phytopthora* ที่สามารถใช้เป็นต้นตอทุเรียนพันธุ์ดีได้เป็นอย่างดี การเก็บรวบรวมพันธุ์ การศึกษาความหลากหลายของพันธุ์ แม้จะสามารถอาศัยลักษณะสัณฐานของผล รสชาติ หรือรูปร่างใบ เป็นเกณฑ์การจำแนกกลุ่มพันธุ์ทุเรียนได้ (หิรัญ, 2551) แต่ทุเรียนพื้นบ้าน ซึ่งมีความหลากหลายมากอาจต้องวิธีการอื่นสนับสนุน เนื่องจากกลุ่มทุเรียนพื้นบ้าน มีลักษณะใกล้เคียงกัน เพราะมีการผสมข้ามระหว่างต้นในธรรมชาติ

ในปัจจุบัน มีการใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการศึกษาพันธุกรรมพืชและสิ่งมีชีวิตอื่นๆ อย่างแพร่หลาย จึงเป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพในการศึกษาพันธุกรรมของทุเรียนเช่นกัน เครื่องหมายอาร์เอพีดี (Random Amplified Polymorphic DNA) สามารถวิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรมโดยใช้เทคนิคพีซีอาร์ ที่ไม่จำเป็นต้องทราบข้อมูลเกี่ยวกับลำดับเบสของดีเอ็นเอเป้าหมาย เนื่องจากไพรเมอร์ที่ใช้ไม่จำเพาะเจาะจงกับดีเอ็นเอบริเวณใด หลักการของเทคนิคนี้คือ ใช้ไพรเมอร์ขนาด 10 นิวคลีโอไทด์เพียงชนิดเดียวเพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบสุ่ม และแยกขนาดดีเอ็นเอที่ได้ โดยการทำอิเล็กโทรโฟรีซิสในอะกาโรสเจล และย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ (สุรินทร์, 2545) ดังนั้นการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และเครื่องหมายโมเลกุลในการคัดเลือกทุเรียนพื้นบ้านที่มีลักษณะดี เพื่อนำไปเป็นฐานในการพัฒนาเป็นพันธุ์การค้าในอนาคต จึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง

จุดประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบความแตกต่างของพันธุ์ทุเรียนพื้นบ้านในภาคใต้โดยใช้ลักษณะทางสัณฐาน และเครื่องหมายโมเลกุลพร้อมทั้ง เก็บรวบรวมทุเรียนพันธุ์พื้นบ้านที่มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นพันธุ์การค้าทั้งระดับ ท้องถิ่นและระดับประเทศต่อไป

งานวิจัยนี้เป็นงานสนองพระราชดำริในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

เก็บตัวอย่างทุเรียนในพื้นที่ภาคใต้ 5 จังหวัด ได้แก่ สงขลา ยะลา นครศรีธรรมราช พังงา และกระบี่ โดยเก็บผลเพื่อบันทึกลักษณะทางสัณฐาน และเก็บใบหรือเปลือกต้นเพื่อนำมาสกัดดีเอ็นเอ และนำผลไปวิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรม

<u>1. การสกัดดีเอ็นเอ</u>

สกัดดีเอ็นเอจากใบและเปลือกต้นด้วยวิธีประยุกต์จากการสกัดดีเอ็นเอของพืชที่มีสารประกอบจำพวกโพลีแซคคาไรด์และโพลีฟีนอลสูง (Sue *et al*., 1997) โดยใช้ตัวอย่างพืชสด 200 มิลลิกรัม บดใน Extraction buffer (100 mM Tris-HCl, 1.4 M NACl, 20 mM EDTA, 2% CTAB) ร่วมกับ β-mercaptoethanol เข้มข้น 3% ปริมาตร 750 ไมโครลิตร และเติม PVP ลงในโกร่งบดให้ละเอียด เขย่าให้เข้ากันในหลอดไมโครเซ็นตริฟิวจ์ บ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส 60 นาที เติม Chloroform : isoamyl (24:1) เซ็นตริฟิวจ์ที่ 13,000 rpm 15 นาที ดูดสารละลายส่วนใสใส่หลอดใหม่ ทำซ้ำขั้นตอนนี้ 2 รอบ หลังจากนั้นตกตะกอนดีเอ็นเอด้วย 95% ethanol ผสมกับ NaCl ให้เข้ากัน แช่เย็นให้ตกตะกอน นำตะกอนที่ได้ละลายด้วย TE buffer ตกตะกอนซ้ำด้วย 95% ethanol

ผสมกับ NaAc แช่ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ข้ามคืน เทส่วนใสทิ้งเก็บตะกอนไว้แล้วล้างด้วย 70% ethanol 2 ครั้ง ผึ่งตะกอนให้แห้งแล้วละลายตะกอนด้วย TE buffer เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้

2. การตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอ

ตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้ด้วยการเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน โดยการทำอิเล็กโตรโฟรีซิส บนอะกาโรสเจล เข้มข้น 0.8% แรงเคลื่อนไฟฟ้า 100 โวลต์ ในสารละลาย TAE buffer เป็นเวลา 20 นาที ย้อมแถบดีเอ็นเอที่ได้ด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ แล้วนำไปตรวจสอบภายใต้แสงอัลตร้าไวโอเลต 260 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง gel documentation ภายใต้แสงอัลตร้าไวโอเลต 260 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง gel documentation

3. การวิเคราะห์พันธุกรรมด้วยเครื่องหมายอาร์เอพีดี

ทำการทดสอบไพรเมอร์ขนาด 10 เบส โดยการสุ่มจากไพรเมอร์ที่มีอยู่แล้ว และไพรเมอร์ที่มีผู้ศึกษามาก่อน จำนวน 48 ไพรเมอร์ ด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์โดยตั้งค่าเครื่องควบคุมอุณหภูมิดังนี้ 95 องศาเซลเซียส 5 นาที 45 รอบ ของ 95 องศาเซลเซียส 1 นาที, 36 องศาเซลเซียส 1 นาที, 72 องศาเซลเซียส 2 นาที และอุณหภูมิสุดท้าย 72 องศาเซลเซียส 2 นาที (โองการ และศรีสมร, 2554) หลังจากทำพีซีอาร์นำสารละลายดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณแล้ว จำนวน 10 ไมโครลิตร ตรวจสอบขนาดชิ้นดีเอ็นเอด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิสบนแผ่นวุ้น LE agarose เข้มข้น 1.8% ละลายใน TBE ใช้แรงเคลื่อนไฟฟ้า 100 โวลต์ 60 นาที ย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยเอธิเดียมโบรไมด์เข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอัลตร้าไวโอเลต 260 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง gel documentation คัดเลือกไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณและให้แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่าง (polymorphism) ระหว่างตัวแทนประชากรแต่ละกลุ่ม หลังจากนั้นทำการวิเคราะห์ข้อมูล โดยแปลงข้อมูลแถบดีเอ็นเอให้ตำแหน่งที่มีแถบดีเอ็นเอมีค่าเท่ากับ 1 และตำแหน่งที่ไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอมีค่าเท่ากับ 0 วิเคราะห์ความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมด้วยโปรแกรม NTSYS version 2.1 (Rohlf, 2002)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลการสกัดดีเอ็นเอ

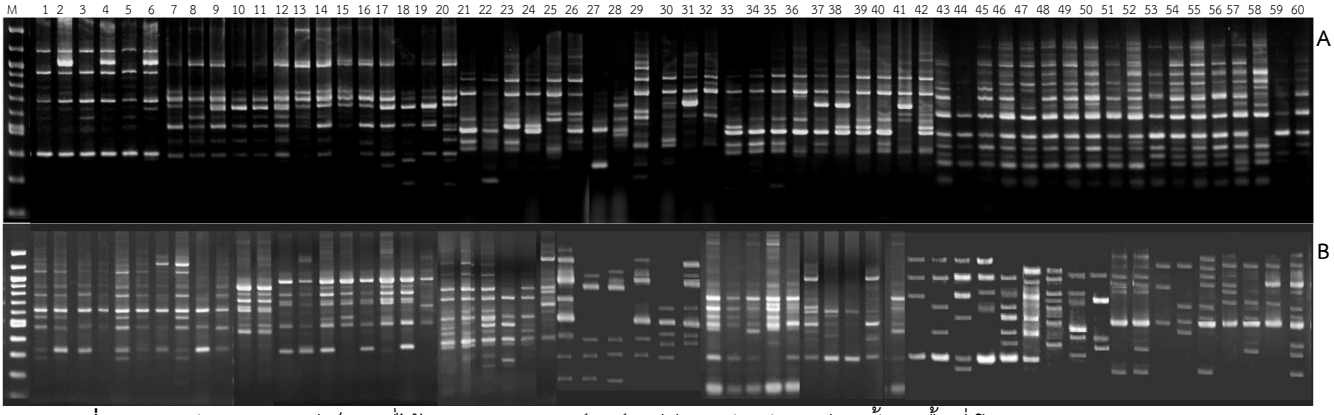
จากการสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีข้างต้น พบว่าได้ดีเอ็นเอที่มีคุณภาพดีกว่าวิธีอื่นที่ได้ทดลอง ดีเอ็นเอมีความสะอาดกว่าและมีการปนเปื้อนของสารประกอบโพลิแซคคาร์ไรด์น้อย เนื่องจากสารจำพวก CTAB และ PVP ที่เติมลงไปในขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอจะไปจับกับสารประกอบโพลิแซคคาร์ไรด์และสารโพลิฟีนอลิกทำให้ได้จีโนมิกดีเอ็นเอที่มีคุณภาพดีและสะอาดปราศจากสิ่งปนเปื้อน Jian *et al*. (2004) อ้างโดย สิริมา และคณะ (2555) ซึ่งสารประกอบโพลิแซคคาร์ไรด์และสารโพลิฟีนอลิกนี้มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นในระหว่างการสกัดและเกิดปฏิกิริยากับโปรตีนหรือนิวคลีอิกในรูปของตะกอนที่ไม่ละลายน้ำ นอกจากนี้สารประกอบพอลิแซคคาไรด์และพอลิฟีนอลิกยังมีผลต่อการยับยั้งการสกัดดีเอ็นเอ ปฏิกิริยาพีซีอาร์และการตัดดีเอ็นเอด้วยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะได้ด้วย (Michiels *et al*., 2003)แต่ในการศึกษานี้ การสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีดังกล่าวได้ดีเอ็นเอปริมาณน้อยจึงต้องสกัดหลายซ้ำเพื่อให้ได้ดีเอ็นเอปริมาณเพียงพอที่จะนำไปใช้ทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ต่อไป

2. ผลการวิเคราะห์พันธุกรรมด้วยเครื่องหมายอาร์เอพีดี

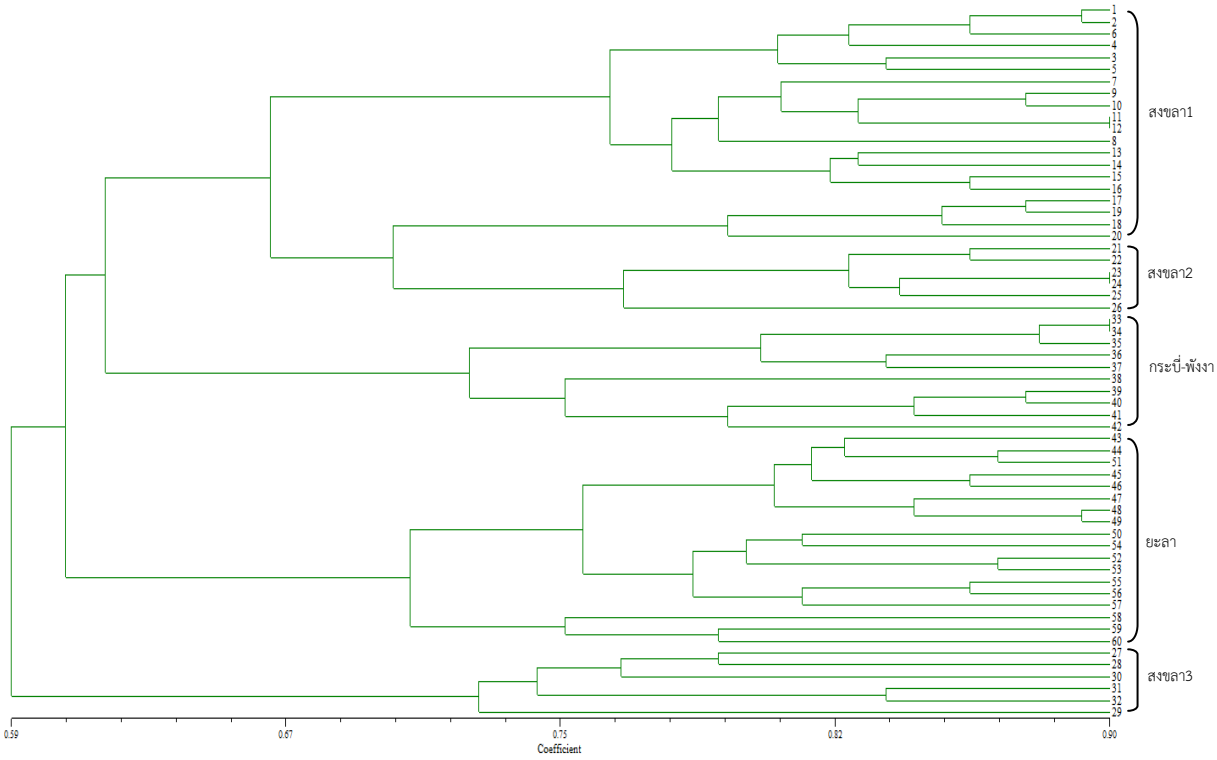
จากการวิเคราะห์พันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านในภาคใต้ของทุเรียน 60 ตัวอย่าง ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลอาร์เอพีดี โดยคัดเลือกจากไพรเมอร์ที่ให้แถบพอลิมอร์ฟิคชัดเจนที่สุดจำนวน 8 ไพรเมอร์ พบว่าให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 129 แถบ เป็นแถบพอลิมอร์ฟิค 126 แถบ คิดเป็น 95.34 เปอร์เซ็นต์ ของแถบดีเอ็นเอทั้งหมด (ภาพที่ 2) เมื่อวิเคราะห์การจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA พบว่า มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของตัวอย่างทุเรียนพื้นบ้าน มีค่าอยู่ระหว่าง 0.466-0.899 โดยสามารถแบ่งกลุ่มของทุเรียนพื้นบ้านภาคใต้ได้เป็น 5 กลุ่ม จากการจัดกลุ่มที่ได้ พบว่าสมาชิกในแต่ละกลุ่มมีความสัมพันธ์กับแหล่งปลูก (ภาพที่ 3) ซึ่งอาจเป็นเพราะพันธุ์ที่นำมาทำการศึกษาเป็นต้นพันธุ์ที่ได้จากการเพาะเมล็ดของพันธุ์ดั้งเดิมที่ขึ้นอยู่ในบริเวณนั้น และมีการผสมข้ามกับต้นที่อยู่ในบริเวณเดียวกัน หรือใกล้เคียง การขยายพันธุ์ทุเรียนพื้นบ้านมักใช้เมล็ด ดังนั้นต้นใหม่แต่ละต้นจะมีความแตกต่างกัน หากทุเรียนเหล่านี้มีลักษณะ และรสชาติดี ก็จะสามารถพัฒนาเป็นพันธุ์ใหม่ได้ Ruwaida และคณะ (2009) ศึกษาความแปรปรวนของทุเรียนสายพันธุ์ชูกันด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี พบว่าทุเรียนชูกันที่ปลูกในพื้นที่ต่างกัน แต่เป็นเมล็ดที่มาจากแหล่งกำเนิดมาเดียวกัน มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมกันมากกว่าทุเรียนชูกันที่ปลูกจากเมล็ดจากต่างที่กัน อย่างไรก็ตาม ปิยรัษฎ์ และคณะ (2552) ศึกษาความหลากหลายของทุเรียนโดยใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ และรายงานว่าความหลากหลายของทุเรียนแต่ละกลุ่มที่ศึกษาไม่มีความสัมพันธ์กับพื้นที่ปลูก ซึ่งอาจเป็นเพราะ ชาวสวนนำ

เมล็ดพันธุ์จากหลายแหล่งมาปลูกในสวนของตนเอง ทำให้ มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง

ภาพที่ 1 แสดงตัวอย่างทุเรียนพื้นบ้านที่มีลักษณะดี ที่เก็บจากพื้นที่ในจังหวัดพังงา (A), สงขลาสวนที่ 1 (B), และยะลา (C) ตามลำดับ



ภาพที่ 2 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์อาร์เอพีดีของตัวอย่างทุเรียนทั้ง 5 พื้นที่ โดย M (marker ขนาด100 bp) หมายเลข 1-20 (สงขลาสวนที่1), 21-26 (สงขลาสวนที่2), 27-32 (สงขลาสวนที่3), 33-42 (กระบี่-พังงา), 43-60 (ยะลา) ด้วยไพรเมอร์ (B) OPC-05 และ (D) OPA-19 ตามลำดับ



ภาพที่ 3 เดนโดรแกรม แสดงความสัมพันธุ์ของทุเรียน 60 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดีจากจำนวน 8 ไพรเมอร์ โดยให้หมายเลข 1-60 แทนตัวอย่างทุเรียนที่เก็บจากแต่ละพื้นที่ คือ 1-20 สงขลาสวนที่ 1, 21-26 สงขลาสวนที่ 2, 27-32 สงขลาสวนที่ 3, 33-42 กระบี่-พังงา และ 43-60 ยะลา

สรุปผลการทดลอง

จากการวิเคราะห์พันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านที่เก็บในพื้นที่ 5 ของจังหวัดทางภาคใต้ของประเทศไทย จำนวน 60 ต้น ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลอาร์เอพีดี พบว่ามีความหลากหลายทางพันธุกรรมค่อนข้างสูง โดยมีค่าดัชนีความใกล้ชิดอยู่ระหว่าง 0.466-0.899 ดังนั้นเครื่องหมายอาร์เอพีดีจึงเป็นเครื่องหมายโมเลกุลที่สามารถนำไปใช้ในการจำแนกพันธุ์ทุเรียน และใช้เป็นฐานข้อมูลในการปรับปรุงพันธุ์ทุเรียนต่อไปได้

คำขอบคุณ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ และส่วนหนึ่งจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวง ศึกษาธิการ ผู้วิจัยขอขอบคุณมา ณ ที่นี้ด้วย

เอกสารอ้างอิง

กรมพัฒนาที่ดิน. 2549. รายงานการสำรวจและคาดการณ์ผลผลิตทุเรียนปีการผลิต 2549 โดยการสำรวจระยะไกลและระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์. กรุงเทพฯ: สำนักสำรวจดินและวางแผนการใช้ที่ดิน กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 5-34

กรมวิชาการเกษตร. 2553. การผลิตทุเรียนอย่างถูกต้องและเหมาะสม.[Online]Available:// soclaimon.wordpress.com/2010/06/14.html (สืบค้นเมื่อ 5 พฤษภาคม 2556.)

ทรงพล สมศรี. 2549. การปรับปรุงพันธุ์ทุเรียนเพื่อผลิตพันธุ์ลูกผสมต้นฤดูที่มีคุณภาพดี และการศึกษาจำแนกชนิด พันธุ์ สายพันธุ์ลูกผสมดีเด่นด้วยเทคนิคด้านชีวโมเลกุล. กรุงเทพฯ: สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 2-6.

ปิยรัษฎ์ เจริญทรัพย์, ฐิตาภรณ์ ภูมิไชย์, อินทิรา จารุเพ็ง, อรชร โชติญาณวงษ์, ประไพ โมจรินทร์ และ พรชัย จุฑามาศ. 2552. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของทุเรียนโดยใช้ดีเอ็นเอเครื่องหมายชนิดไมโครแซทเทลไลท์. การประชุมวิชาการพันธุศาสตร์

แห่งชาติ ครั้งที่ 16. มหาวิทยาลัย ธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ปทุมธานี. 25-27 มีนาคม 2552.

วิกิพีเดีย. 2554. ทุเรียน. [Online] Available http://en.wikipedia. org/wiki/Durian. (สืบค้นเมื่อ 3 พฤษภาคม 2556.)

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

สิริมา ว่องไวโรจน์, พัชณี แสงทอง, คมสัน อำนวยสิทธิ์ และสุภาวดี ศรีแย้ม. 2555. การจำแนกสายพันธุ์ของข้าวฟ่างหวานที่ปลูกในเขตภาคเหนือของประเทศไทยโดยใช้เทคนิค RAPD. วารสารวิจัยและพัฒนา มจธ. ฉบับพิเศษ. 35(1) : 105-115.

สุรินทร์ ปิยะโชคคณากุล. 2552. เครื่องหมายดีเอ็นเอ : จากพื้นฐานสู่การประยุกต์. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

โองการ วณิชาชีวะ และศรีสมร วนกรกุล. 2554. การจำแนกทุเรียนสายพันธุ์ท้องถิ่นในจังหวัดนนทบุรีโดยเทคนิคอาร์เอพีดี.คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร. หน้า 14-37.

Jian, Y., Anquan, J., Esteban, J. P., Xiufen, Z., Chengtao, J., Xingchun, Z., Lan, H., and Zheng,T.A. 2004. A simple and efficient method for extracting DNA from old and burned bone. Journal of Forensic Sciences 49(4):1-6.

Michiels, A., Van den Ende, W., Tucker, M., Liesbet, V.R., and Laere, A.V., 2003. Extraction of high-quality genomic DNA from latex-containing plants. Analytical Biochemistry 315 : 85-89.

Rohlf, F. J. 2002. NTSYS - pc. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Versio 2.1. New York: Applied Biostatistics. pp 79-90.

Ruwaida, I. P., Supriyadi and Parjanto. 2009. Variability analysis of Sukun durian plant (*Durio zibethinus*) Base on RAPD marker. Nusantara Bioscience 1: 84-91.

Sue, P., L. Grant, B. and Bernard, R.B. 1997. Modification of a CTAB DNA Extraction Protocol for Plants Containing High Polysaccharide and Polyphenol Components. Plant Molecular Biology Reporter. 15(1): 8-15.