รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของส้มจุกโดยเครื่องหมายอาร์เอพีดี
A Study on Genetic Diversity of Neck Orange (*Citrus reticulata* Blanco)
Based on Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)

คณะนักวิจัย

ผศ.ดร. กรกช นาคคนอง

รศ.ดร. จรัสศรี นวลศรี

นางสาว รสริน ช่วยการ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดิน
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
ภายใต้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

บทคัดย่อ

ส้มจุกมีแหล่งปลูกเดิมอยู่ที่ อ.จะนะ จ.สงขลา แต่ปัจจุบันพื้นที่ปลูกลดลงไปมาก ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้เพื่อ รวบรวม และวิเคราะห์พันธุกรรมของส้มจุก โดยอาศัยลักษณะสัณฐานวิทยาของผล และเครื่องหมายดีเอ็นเอ ทำการเก็บรวบรวมส้มจุกจากพื้นที่จังหวัดสงขลา ตรัง และสุราษฎร์ธานีทั้งหมดจำนวน 95 ตัวอย่าง นำมาศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของผลส้มจุกจำนวน 74 ตัวอย่าง พบว่าคุณสมบัติทางกายภาพ ได้แก่ น้ำหนักผลสดอยู่ในช่วง 201-250 กรัม ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง 7.52 เซนติเมตร ความสูงขั้วผลมีค่าเฉลี่ย 1 เซนติเมตร และอยู่ในช่วง 1.01-1.50 เซนติเมตร คุณสมบัติทางเคมี ได้แก่ ปริมาณน้ำคั้น มีค่าเฉลี่ย 35.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (total soluble solids, TSS) ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (titratable acidity, TA) และอัตราส่วนระหว่างปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้กับปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (TSS/TA) อยู่ในช่วง 8-10 องศาบริกซ์, 0.31-0.50 เปอร์เซ็นต์ และ15.1-20.0 ตามลำดับ สำหรับการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของส้มจุกจำนวน 95 ตัวอย่างโดยใช้จำนวน 5 ไพรเมอร์ ได้แก่ OPA-10, OPA-12, OPA-18, OPB-01 และ OPZ-11 ผลจากการสร้างเดนโดรแกรมด้วยเครื่องหมายอาร์เอพีดี พบว่าสามารถจัดกลุ่มได้เป็น 2 กลุ่ม มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.48-0.98 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.73 ความแตกต่างทางพันธุกรรมของต้นกล้าส้มจุกจากผลของต้นแม่จำนวน 6 ต้น ทดสอบด้วยเทคนิคอาร์เอพีดีจำนวน 2 ไพรเมอร์ คือ OPA-18 และ OPZ-11 พบว่าต้นกล้ามีการงอก 1 ถึง 4 ต้นกล้าต่อเมล็ด โดยมีเปอร์เซ็นต์โพลีเอมบริโอนีเฉลี่ย 42.5 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าส้มจุกที่ได้จากการเพาะเมล็ดมีความแปรปรวนเกิดขึ้น ดังนั้นเกษตรกรสามารถขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดได้ แต่จะต้องพิสูจน์ให้ได้ว่าต้นกล้าที่ได้เป็นนิวเซลลัส

Abstract

Neck orange has the original planting area in Chana District, Songkhla Province. However, the planting area has dramatically decreased. The aims of this study are to collect and assess genetic diversity of neck orange by using fruit morphology and DNA markers. In this study, ninety-five samples were collected from Songkhla, Trang and Surat Thani provinces. Seventy-four samples were using for fruit morphological characterization. According to fruit physical characteristics, fruit weight was in the range of 201-250 g. An average fruit diameter was 7.52 cm. The high of fruit polar was on average 1.0 cm with ranged from 1.01-1.50 cm Fruit chemical characteristics including juice content was on an average 35.5 percent. Total soluble solids (TSS), titratable acidity and the ratio between total soluble solids and titratable acidity (TSS/TA) were ranged from 8-10 °Brix, 0.31-0.50 percent and 15.1-20.0, respectively. Genetic diversity of ninety-five samples was analyzed by five RAPD primers including OPA-10, OPA-12, OPA-18, OPB-01, and OPZ-11. Result from a dendrogram analysis based on RAPD markers, 2 clusters could be separated with similarity coefficients ranging from 0.48-0.98 with an average of 0.73. Genetic variability of neck orange progenies from 6 mother plants was investigated by two RAPD primers (OPA-18 and OPZ-11. There were 1 to 4 seedlings per seed with an average percentage of polyembryony was 42.5 percent. Therefore, seed propagation of neck orange may result in genetic variation. Farmers can propagate by seeds but they have to prove that seedlings are nucellus.

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเกษตรกรผู้ปลูกส้มจุกทุกท่าน ที่ให้การช่วยเหลือ ให้ข้อมูล และดูแลตลอดระยะเวลาการเก็บข้อมูลทำวิจัย ขอขอบคุณภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ห้องปฏิบัติการ ตลอดจนเจ้าหน้าที่ทุกท่าน ที่ช่วยเหลือ สนับสนุน และให้คำแนะนำในการใช้วัสดุอุปกรณ์ต่างๆ

กรกช นาคคนอง

สารบัญ

เรื่อง	**หน้า**
บทคัดย่อ	(1)
Abstract	(2)
กิตติกรรมประกาศ	(3)
สารบัญ	(4)
รายการตาราง	(5)
รายการภาพประกอบ	(6)
รายการตารางภาคผนวก	(7)
รายการภาพภาคผนวก	(8)
บทที่	
1. บทนำ	1
ตรวจเอกสาร	2
วัตถุประสงค์	10
2. วิธีการวิจัย	11
วัสดุอุปกรณ์	11
วิธีดำเนินการ	13
3. ผลการวิจัย	19
4. วิจารณ์	44
5. สรุป	51
เอกสารอ้างอิง	53
ภาคผนวก	60

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ข้อมูลพื้นที่เก็บตัวอย่างส้มจุกจำนวน 20 แปลง	14
2	น้ำหนักสด น้ำหนักเนื้อ ความกว้างผล ความยาวผล ความยาวจุก เส้นผ่านศูนย์กลาง และความหนาเปลือก	21
3	จำนวนเมล็ดทั้งหมด จำนวนเมล็ดที่สมบูรณ์ จำนวนเมล็ดที่ไม่สมบูรณ์ และความยาวเมล็ด	22
4	คุณภาพผลส้มจุก ได้แก่ ปริมาณน้ำคั้น ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (TA) และอัตราส่วนระหว่างปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ต่อปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (TSS/TA)	29
5	รูปแบบดีเอ็นเอที่ได้จากการคัดเลือกไพรเมอร์จำนวน 42 ไพรเมอร์	30
6	ชนิดของไพรเมอร์ที่คัดเลือกลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกัน และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่ต่างกันจากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดีในส้มจุก	30
7	จำนวนเมล็ดส้มจุกที่งอกเป็นต้นกล้า และจำนวนต้นกล้าต่อเมล็ดจากตัวอย่างต้นแม่ 6 ต้น	40
8	ชนิดของไพรเมอร์ที่คัดเลือกลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกัน และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่ต่างกันจากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดีในต้นกล้าส้มจุก	41

รายการภาพประกอบ

ภาพที่		หน้า
1	การพัฒนาของเมล็ดที่มีการอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศในส้ม	6
2	ลักษณะสัณฐานวิทยาของส้มจุกเทียบกับส้มที่มีลักษณะคล้ายส้มจุก	23
3	ลักษณะสัณฐานวิทยาของเมล็ดส้มจุก	24
4	จำนวนสายต้นของน้ำหนักเนื้อ และความยาวผล	25
5	จำนวนสายต้นของจำนวนเมล็ดทั้งหมดต่อผล ความยาวของเมล็ดส้มจุก ความสมบูรณ์ และความไม่สมบูรณ์ของเมล็ดส้มจุก	26
6	จำนวนสายต้นของปริมาณน้ำคั้น ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ และอัตราส่วนระหว่างปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ต่อปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ของผลส้มจุก	26
7	รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างส้มจุก เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPA-10	32
8	รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างส้มจุก เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPA-12	33
9	รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างส้มจุก เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPA-18	34
10	รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างส้มจุก เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPB-01	35
11	รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างส้มจุก เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPZ-11	34
12	เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ของส้มจุกจำนวน 95 ตัวอย่าง จากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดีด้วยไพรเมอร์จำนวน 5 ไพรเมอร์	38
13	จำนวนต้นกล้าที่งอกจากหนึ่งเมล็ด	39
14	แถบดีเอ็นเอเปรียบเทียบระหว่างต้นกล้ากับต้นแม่จำนวน 6 ตัวอย่าง โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดีด้วยไพรเมอร์ OPA-18	42
15	แถบดีเอ็นเอเปรียบเทียบระหว่างต้นกล้ากับต้นแม่จำนวน 6 ตัวอย่าง โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดีด้วยไพรเมอร์ OPZ-11	43

รายการตารางภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่		หน้า
1	ลักษณะการเจริญเติบโตของต้นกล้าหลังจากการเพาะเมล็ดส้มจุก	61

รายการภาพภาคผนวก

ภาพภาคผนวกที่	หน้า
1 ลักษณะทรงพุ่มของต้นส้มจุกที่ปลูกจากการเพาะเมล็ดและกิ่งตอน	66
2 ลักษณะดอก ใบ และผลของส้มจุก	66

บทที่ 1
บทนำ

ส้มจุกถูกจัดอยู่ในกลุ่มส้มเปลือกล่อนเช่นเดียวกับส้มโชกุนและส้มเขียวหวาน ภาษาท้องถิ่นทางภาคใต้เรียกส้มชนิดนี้ว่า ส้มแป้นหัวจุก (ศูนย์วิจัยพืชยืนต้นและไม้ผลเมืองร้อน, 2554) ซึ่งมีเอกลักษณ์เฉพาะตัวแตกต่างจากส้มชนิดอื่น คือบริเวณขั้วผลมีปุ่มยื่นออกมาคล้ายจุก รูปทรงมีลักษณะสวยงาม มีกลิ่นหอมและรสชาติดี มีแหล่งปลูกดั้งเดิมที่อำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา (มงคล และคณะ, 2535) ทำให้ส้มจุกเป็นผลไม้ท้องถิ่นในภาคใต้ จนได้รับความนิยมจากผู้บริโภคเป็นอย่างมาก แต่หลังจากที่ส้มเขียวหวานและส้มโชกุนเป็นที่รู้จักกันมากขึ้น ส่งผลให้ส้มจุกเริ่มค่อยๆหายไปจากท้องตลาด (สันติภาพ, 2555) นอกจากนี้ยังมีปัญหาในเรื่องของการจัดการสวนและโรคระบาดที่มักเกิดขึ้น ได้แก่ โรคส้มซึ่งเกิดจากเชื้อทริสเตซาไวรัส และโรคกรีนนิ่งที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย (รัตนา และคณะ, 2543) ในปัจจุบันพบว่ามีเกษตรกรเพียงไม่กี่รายที่ยังคงปลูกส้มจุกเพื่อเป็นรายได้เสริม มีเกษตรกรที่มาขึ้นทะเบียนเป็นผู้ปลูกส้มจุกในสำนักงานเกษตรอำเภอจะนะทั้งสิ้น 65 ราย คิดเป็นพื้นที่จำนวน 162 ไร่ (สุจิต, 2560) ทำให้ผลผลิตที่ออกมาสู่ตลาดมีปริมาณน้อย ไม่เพียงพอกับความต้องการของผู้บริโภค ส่งผลให้ราคาในท้องตลาดเพิ่มสูงขึ้นเป็นกิโลกรัมละ 100-150 บาท ซึ่งอาจจะเป็นพืชอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับเกษตรกรในอนาคต ทำให้เป็นแรงจูงใจให้เกษตรกรมีความสนใจต่อการผลิตส้มจุกเพิ่มมากขึ้น

ปัจจุบันพบว่าส้มจุกที่ปลูกในพื้นที่จังหวัดสงขลาหรือจังหวัดอื่นๆ ในพื้นที่ภาคใต้มีจำนวนลดลงมาก เนื่องจากปัจจัยหลายประการ และลักษณะผลส้มจุกที่ได้ยังไม่มีความสม่ำเสมอ เพราะมีทั้งจุกสูงและจุกเตี้ย ผิวของผลมีทั้งขรุขระและผิวเกลี้ยง ซึ่งอาจจะไม่ตอบสนองต่อความต้องการของผู้บริโภค เนื่องมาจากปัจจัยหลายประการ ได้แก่ เกษตรกรบางรายใช้เมล็ดในการขยายพันธุ์ และมีการใช้ส้มชนิดอื่นมาเป็นต้นตอในการเสียบยอดส้มจุก เช่น ส้มโอ ส่งผลให้ลักษณะผลส้มจุกที่ได้แตกต่างไปจากเดิม นอกจากนี้ยังมีการแอบอ้างนำส้มที่มีลักษณะผลใกล้เคียงกับส้มจุกมาวางขาย ส่งผลให้ผู้บริโภคเกิดความเข้าใจผิด โดยเกษตรกรยังคงประสบปัญหาจากการจัดการสวนและโรคระบาด ซึ่งเป็นปัญหาที่สำคัญของการผลิตส้มทุกชนิด ส่งผลให้ต้นส้มมีสภาพเสื่อมโทรมและคุณภาพผลผลิตต่ำ ด้วยเหตุนี้ส้มจุกจึงค่อยๆหายไปจากพื้นที่ภาคใต้ ดังนั้น จึงมี

ความจำเป็นที่จะต้องทำการรวบรวม และการที่จะส่งเสริมฟื้นฟูพืชชนิดนี้ให้เป็นพืชอัตลักษณ์ประจำถิ่น จำเป็นต้องมีความแม่นยำในเรื่องของพันธุ์ ซึ่งในขณะนี้ยังไม่มีข้อมูลสนับสนุนเพียงพอ จึงมีการประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมและคุณภาพผลของส้มจุก เพื่อเป็นข้อมูลในการคัดเลือกและอนุรักษ์พันธุกรรมของส้มจุกในพื้นที่ต่อไป

ตรวจเอกสาร

ส้มจุก มีชื่อสามัญว่า Neck Orange มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Citrus reticulata* Blanco จัดอยู่ในวงศ์ Rutaceae เป็นไม้ยืนต้น สูงประมาณ 5-7 เมตร เป็นส้มในกลุ่มส้มเปลือกล่อน เช่นเดียวกับส้มโชกุน และส้มเขียวหวาน มีเอกลักษณ์เฉพาะตัว แตกต่างจากส้มชนิดอื่น คือบริเวณขั้วผลมีปุ่มยื่นออกมาคล้ายจุก ภาษาท้องถิ่นภาคใต้เรียกส้มชนิดนี้ว่า "ส้มแป้นหัวจุก" แหล่งปลูกดั้งเดิมอยู่ที่ อำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา (บุญชนะ, 2545) สามารถปลูกได้ในที่ลุ่มและดอน ระยะปลูกที่เหมาะสมคือ ระยะระหว่างแถว 5-6 เมตร ระยะระหว่างต้น 4-5 เมตร ต้นกล้าที่ปลูกถ้าขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดควรมีอายุ 10-12 เดือน และจะเริ่มให้ผลผลิตหลังจากปลูก 5-7 ปี ถ้าเป็นกิ่งตอนควรย้ายปลูกเมื่ออายุ 8 เดือน และส้มจุกจะเริ่มให้ผลผลิตหลังจากปลูก 3-4 ปี (ศูนย์วิจัยพืชยืนต้นและไม้ผลเมืองร้อน, 2554)

ส้มจุกเป็นไม้ผลที่มีทรงพุ่มขนาดกลาง มีการปลูกโดยใช้เมล็ดและกิ่งตอนซึ่งจะให้ลักษณะทรงพุ่มที่แตกต่างกัน (ภาพภาคผนวกที่ 1) ดอกส้มจุกเป็นแบบสมบูรณ์เพศ ประกอบด้วยกลีบเลี้ยง 5 กลีบ กลีบดอก 5 กลีบ มีเกสรตัวผู้ 20 อัน และเกสรตัวเมีย 1 อัน มีเกสรตัวผู้ 11 อัน (ภาพภาคผนวกที่ 2A) ใบเรียบเป็นวงรี โคนและปลายใบแหลม มีปีกใบล่างเล็กจนเกือบไม่มีขอบใบเรียบ (สุธีรา, 2545) ดังภาพภาคผนวกที่ 2B ส้มจุกมีลักษณะของรูปร่างผล รสชาติและกลิ่นเฉพาะ คือผลมีขนาดใหญ่ ทรงกลมถึงแป้น มีจุกเด่นชัด ดังภาพภาคผนวกที่ 2C น้ำหนักผล 145-190 กรัม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางผล 6.5-7 เซนติเมตร ก้นผลราบหรือเว้าเล็กน้อย แกนผลกลวง มีเปลือกหนา 0.3-0.4 เซนติเมตร เปลือกหนาปานกลาง ลอกเปลือกง่าย กลีบผลแยกออกจากกันง่าย ผนังกลีบผลหนา แกนกลางเปิด เนื้อผลแน่นมีน้ำมาก รสชาติหวานอมเปรี้ยว ผลแก่จัดเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลืองอ่อน เนื้อผลสีเหลืองอ่อนมีรสหวานอมเปรี้ยว (ศรินญา และคณะ, 2551)

การพัฒนาและคุณภาพผลส้มจุก

บุญชนะ และคณะ (2557) ทำการศึกษาการเจริญเติบโตของผลส้มจุก พบว่ามีการเจริญเติบโตแบบ simple sigmoid curve กล่าวคือ น้ำหนักผลเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ ในระยะแรกของการเจริญเติบโต ตั้งแต่หลังดอกบานถึงอายุ 1 เดือน โดยมีน้ำหนักผลเฉลี่ย 3.95 กรัม เนื่องจากในระยะนี้มีการพัฒนาทางด้านการแบ่งเซลล์ มีเปลือกเป็นองค์ประกอบเป็นส่วนใหญ่ ในระยะที่สองการเจริญเติบโตของผลเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เมื่ออายุ 1-6 เดือนหลังดอกบาน โดยมีน้ำหนักเฉลี่ยของผลอายุ 2-6 เดือน ประมาณ 3.95, 17.20, 44.30, 76.40, 113.70, และ 164.30 กรัมตามลำดับ จะเป็นการเจริญเติบโตทางด้านการขยายขนาดของเซลล์ ทำให้ขนาดและน้ำหนักของผลเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว คล้ายคลึงกับส้มเกลี้ยงพันธุ์ Navel (Storey and Treeby, 2000) ในระยะที่สาม เมื่ออายุ 6-7 เดือนหลังดอกบาน เป็นระยะที่น้ำหนักผลมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นน้อยมาก และผลมีน้ำหนักสูงสุดเมื่ออายุ 7 เดือนหลังดอกบาน โดยน้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 175.7 กรัม เป็นระยะที่การเจริญเติบโตของผลค่อนข้างคงที่ การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (total soluble solid, TSS) และปริมาณของกรดที่ไทเทรตได้ (titratable acidity, TA) นับเป็นคุณสมบัติที่สำคัญที่สุดในด้านคุณภาพผลส้ม เพราะส้มเป็นผลไม้ที่บ่มไม่สุก (non climacteric) (จริงแท้, 2542) คือ ส้มจะไม่มีการสะสมน้ำตาลเพิ่มขึ้นหลังจากเก็บเกี่ยวจากต้นแล้ว การเก็บเกี่ยวผลส้มที่มีผลอ่อนจะมีรสเปรี้ยว แต่ถ้าทิ้งผลส้มไว้กับต้นนานเกินอายุเก็บเกี่ยวที่เหมาะสม คุณภาพของส้มจะลดลง ซึ่งอัตราส่วนของปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ต่อปริมาณของกรดที่ไทเทรตได้ (TSS/TA) ของส้มควรมีค่า 10-16 (Samson, 1980) ซึ่งจากผลการทดลองของ บุญชนะ และคณะ (2557) พบว่า ระยะที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวผลส้มจุกเริ่มตั้งแต่ 6.5 เดือนหลังดอกบาน เพราะมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดสูงและมีอัตราส่วนระหว่าง TSS/TA ที่เหมาะสม

คุณภาพผลผลิตส้มที่ดีเป็นสิ่งที่พึงประสงค์ทั้งในส่วนของผู้ผลิตและผู้บริโภค คุณภาพใช้ในการบ่งบอกคุณภาพส้มเปลือกล่อน เช่น ความหวาน ของแข็งที่ละลายน้ำได้ ปริมาณกรดที่ไทรเทรตได้ สัดส่วนของแข็งที่ละลายน้ำได้ต่อปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ เปอร์เซ็นต์น้ำส้ม สีของเนื้อหรือน้ำส้ม และขนาดผล มีการระบุคุณสมบัติต่างๆ ที่บ่งบอกว่าส้มเปลือกล่อนที่อร่อยควรมีลักษณะดังนี้ คือควรมีความหวาน 12 องศาบริกซ์ กรดที่ไทเทรตได้ร้อยละ 0.6-1.0 สัดส่วนของน้ำตาลต่อกรด 12/1 หรือ 13/1 ปริมาณน้ำคั้นไม่ต่ำกว่าร้อยละ 50 ส่วนขนาดของผลนั้น ผู้บริโภคนิยมผลขนาดปานกลางคือ 7-8 ผล/กิโลกรัม (Damrongrak, 2007)

สมัคร และพีรพงค์ (2558) ได้ศึกษาปริมาณสารออกฤทธิ์บางชนิดในส้มจุก พบว่าผลส้มจุกมีปริมาณ α-tocopherol เท่ากับ 34.35 นาโนกรัมต่อน้ำหนักสด 1 กรัม ส่วนปริมาณกรดแอสคอร์บิก คือ 72.18 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักสด 100 กรัม นอกจากนี้จากการวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ที่พบในเนื้อผล 4 ชนิด ได้แก่ Naringin Narirutin Hesperidin และ Neohesperidin โดยปริมาณ Naringin มีค่าสูงที่สุด รองลงมาคือ Hesperidin Narirutin และ Neohesperidin ตามลำดับ โดยปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้ง 4 ชนิดของส้มจุกมีค่าต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับส้มโชกุน ส้มโอพันธุ์ทับทิมสยาม มะนาวพันธุ์แป้นและหนัง

การขยายพันธุ์ของพืชตระกูลส้ม

การขยายพันธุ์เป็นการเพิ่มจำนวนต้นพืชให้มีจำนวนมากขึ้น โดยใช้เมล็ดที่เกิดจากการผสมเกสรตัวผู้และตัวเมีย และเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการผสมเกสร รวมทั้งเพิ่มจำนวนต้นพืชในส่วนต่างๆของพืช เช่น ราก ลำต้น ใบ พืชแต่ละชนิดจะมีวิธีการขยายพันธุ์ที่แตกต่างกันออกไป

จรัญ (2546) ได้แบ่งประเภทการขยายพันธุ์พืช เป็น 2 ประเภทใหญ่ๆคือ การขยายพันธุ์พืชแบบอาศัยเพศ และการขยายพันธุ์พืชแบบไม่ใช้เพศ แบ่งออกได้เป็น 3 วิธีด้วยกันคือ

1. การขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด เป็นการขยายพันธุ์แบบใช้เพศ เป็นเมล็ดที่ผ่านการผสมระหว่างเกสรตัวผู้และตัวเมีย ลักษณะต้นพืชที่ได้จะมีความผันแปรทางพันธุกรรม คือ อาจมีลักษณะแตกต่างจากต้นแม่ อย่างไรก็ตามพืชหลายชนิดรวมทั้งส้มจุก การขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ดอาจมีการกลายพันธุ์ เนื่องจากต้นกล้าที่พัฒนาเป็นต้นกล้าที่มาจากเมล็ดที่ไม่ได้เกิดจากการผสมข้าม แต่เกิดจากการพัฒนาของเนื้อเยื่อเซลล์ร่างกาย เช่น นิวเซลลัส (nucellus) หรืออินเทกูเมนต์ (integument) เรียกกระบวนการเกิดเมล็ดที่ไม่เกี่ยวข้องกับเพศนี้ว่า Apomixis

การขยายพันธุ์โดยการใช้เมล็ด มีข้อดีคือ ทำได้ง่าย รวดเร็ว ได้จำนวนต้นมาก ทำได้ทุกฤดูกาล มีระบบรากที่ดี ช่วยพยุงลำต้นและหาอาหารได้ดี แต่ข้อเสียคือ พืชบางชนิดไม่มีเมล็ด รวมทั้งลูกผสมที่ได้เป็นหมัน บางชนิดพืชใช้เวลานานกว่าจะงอก

การขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการผสมเกสร (Apomictic seed) เป็นการขยายพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ เกิดจากต้นอ่อนที่พัฒนามาจากเนื้อเยื่อสะสมอาหารภายในเมล็ด (nucellar embryo)

2. การขยายพันธุ์โดยวิธีการใช้ส่วนต่างๆของลำต้น คือ ส่วนของใบ กิ่ง ลำต้น และราก ปกติพืชมีความสามารถงอกใหม่และเนื้อเยื่อสามารถเชื่อมประสานกันได้ การขยายพันธุ์แบบนี้มีหลายวิธี ได้แก่

1. อาศัยรากของต้นเดิม เช่น การตัด การตอน และการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนในสภาพปลอดเชื้อ เป็นต้น

2. อาศัยรากของต้นอื่น เช่น การต่อกิ่ง การทาบกิ่ง และการติดตา นิยมขยายพันธุ์ในพืชสวนบางชนิด เช่น ส้ม องุ่น และแอปเปิ้ล จะช่วยส่งเสริมให้มีผลผลิตที่ดีขึ้น เพราะมีการใช้ต้นตอที่ทนต่อสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม เช่น ทนต่อดินเค็ม สภาพน้ำท่วมขัง โรค และแมลงได้ดี การขยายพันธุ์แบบติดตาต่อกิ่ง โดยเฉพาะในพืชตระกูลส้ม ต้นตอที่เป็นที่นิยมคือ ซาวออเรนจ์ สวีทออเรนจ์ แมนดาริน ส้มสามใบ แต่การตอนกิ่งมีข้อเสียตรงที่อาจจำกัดอยู่กับส้มบางพันธุ์ (มงคล และคณะ, 2543)

ลักษณะอะโพมิกซิส (Apomixis)

ในธรรมชาติลักษณะอะโพมิกซิสเกิดขึ้นได้น้อย คิดเป็นอัตราเพียงร้อยละ 1 ของพืชกว่า 40,000 ชนิด แต่ในพืชบางตระกูลก็จะพบได้บ่อยกว่าพืชตระกูลอื่นๆ เช่น พืชตระกูลธัญพืชและหญ้า (Gramineae) พืชตระกูลทานตะวัน (Compositae) และพวกตระกูลกุหลาบ (Rosaceae) พืชเศรษฐกิจมักพบคุณลักษณะอะโพมิกซิสได้ในส้ม มะม่วง และหญ้าอาหารสัตว์ เป็นต้น

อะโพมิกซิสเกิดขึ้นได้ 2 วิธี วิธีแรกคือ เมล็ดอาจพัฒนาขึ้นมาจากเซลล์สืบพันธุ์ของพืช ที่ไม่สามารถพัฒนาไปตามกระบวนการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ มีการแบ่งเซลล์แบบไมโอ-ซิสได้ตามปกติ ส่วนอีกวิธีหนึ่ง คือเมล็ดอาจมีการพัฒนาขึ้นมาจากเซลล์ร่างกายก็ได้ ในบางครั้งอาจมีทั้งเมล็ดที่เกิดจากการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ และเมล็ดที่เกิดจากคุณลักษณะอะโพมิกซิสรวมอยู่ในผลหรือฝักเดียวกันก็ได้ ต้นพืชที่มีคุณลักษณะอะโพมิกซิสเป็นการขยายพันธุ์โดยเมล็ด แต่จัดเป็นการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ ไม่จำเป็นต้องผสมเกสร (วราพงษ์, 2550) การเกิดอะโพมิกซิสสามารถแบ่งได้ดังต่อไปนี้ (จรัสศรี, 2548)

1. Vegetative apomixis หรือเรียกว่า vivipary เป็นปรากฏการณ์ที่ต้นกล้าเกิดจาก floral primodia แทนที่จะเกิดดอก จะสามารถพัฒนาเป็นต้นกล้าเล็กๆขึ้นเองได้ พบในพืชหลายชนิด เช่น เฟิร์น เป็นต้น

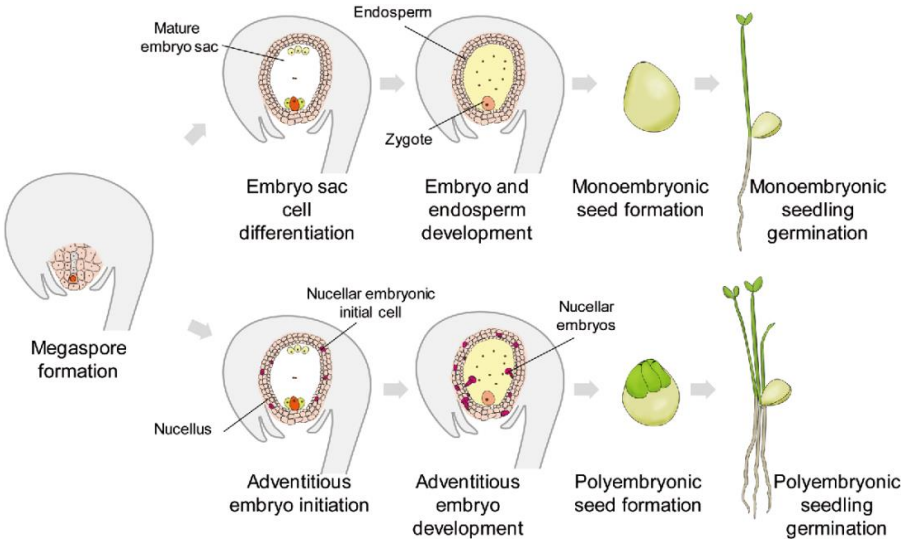
2. Agamospermy เป็นการพัฒนาของเมล็ดโดยไม่มีการรวมตัวของแกมีท สามารถแบ่งได้เป็น 3 ชนิดคือ

ก. Diplospory ถุงเอมบริโอ (embryo sac) พัฒนาไปเป็นเอมบริโอโดยตรง กระบวนการนี้อาจเรียกว่า parthenogenesis

ข. Apospory เอ็มบริโอพัฒนามาจากเนื้อเยื่อบริเวณโดยรอบถุงเอ็มบริโอ

โดยอะโพมิกซิสทั้งสองประเภทนี้มีการพัฒนาของแกมีท ที่อาจเกิดจากการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสหรือไม่ก็ได้ ดังนั้นจึงเรียกอะโพมิกซิสทั้งสองประภทนี้ว่าแกมิโทไฟติคอะโพมิกซิส (gametophytic apomoxis)

ค. Adventitious embryony ประเภทนี้จะไม่มีการพัฒนาของแกมีท เอ็มบริโอพัฒนาจากเนื้อเยื่อของเซลล์ร่างกาย เช่น อินเทคคิวเมนท์ นิวเซลลัส เป็นต้น อาจจะเรียกอะโพมิกซิสประเภทนี้ว่าสปอร์โรไฟติคอะโพมิกซิส (sporophytic apomixis) เช่น พืชตระกูลส้มและมะม่วง (ภาพที่ 1) โดยต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ดของพืชจำพวกนี้จะสามารถงอกเป็นต้นกล้าได้มากกว่า 1 ต้น เรียกว่า โพลีเอมบริโอนี (polyembryony)



ภาพที่ 1 การพัฒนาของเมล็ดที่มีการอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศในส้ม

ที่มา: Zhang และคณะ (2018)

โพลีเอมบริโอนีของส้มจัดอยู่ในลักษณะอะโพมิกซิสชนิด facultative apomixis ซึ่งเป็นอะโพมิกซิสไม่แท้ โดยมีการพัฒนาของเอมบริโอจากบริเวณนิวเซลลัส (nucellar embryo) มักเกิดขึ้นพร้อมกันในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งมีการพัฒนาเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้นอ่อน โดยมีการพัฒนาเป็นอาหารเลี้ยงในเมล็ด ต้นกล้าที่ได้จะมีลักษณะเหมือนต้นแม่ ซึ่งมีลักษณะการเกิดต้นกล้ามากกว่า 1 ต้นในจำนวน 1 เมล็ด ส่วนโมโนเอมบริโอนี (monoembryony) ให้ต้นกล้า 1 ต้นต่อเมล็ด มักเป็นเอมบริโอที่ได้จากการผสมพันธุ์พืชโดยตรง หรือเกิดจากการเจริญเติบโตของไซโกท (zygotic embryo) ซึ่งประโยชน์ของโพลีเอมบริโอนี โดยเฉพาะต้นกล้าที่ได้จากนิวเซลลัส มีส่วนประกอบทางพันธุกรรมเหมือนต้นแม่ทุกประการ เพราะเกิดจากเซลล์ร่างกาย (somatic cell) ของต้นแม่ สามารถนำมาใช้ในการขยายพันธุ์แทนวิธีการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศอื่นๆ หากมีการใช้ประโยชน์ในการเป็นต้นตอจะเป็นต้นตอที่มีความสม่ำเสมอทางพันธุกรรมทางด้านพืชสวน (บุญส่งและคณะ, 2526)

Kishore และคณะ (2012) ศึกษาลักษณะการขยายพันธุ์ของส้มแบบโพลีเอมบริโอนี ในส้ม 12 ชนิด โดยการวิเคราะห์เบื้องต้นพบว่าส้ม *Citrus jambhiri* มีลักษณะเป็นโพลีเอมบริโอนี มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือส้ม Sikkim mandarin ส่วนส้มที่มีลักษณะโพลีเอมบริโอนีต่ำที่สุดคือ *Citrus medurensis* ประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามส้มถือว่าเป็นพืชที่มีลักษณะ อะโพมิกซิสค่อนข้างสูง

Ochoa และคณะ (2012) ศึกษาโพลีเอมบริโอนี ในมะม่วงพันธุ์ Manila และ Ataulfo โดยตรวจสอบลักษณะของต้นกล้าที่เลี้ยงในหลอดทดลองว่ามีลักษณะแบบไซโกติก หรือนิวเซลลัส ซึ่งพันธุ์ Manila มีลักษณะโพลีเอมบริโอนี 97 เปอร์เซ็นต์และมีเอ็มบริโอเฉลี่ย 3.4 ต่อ 1 เมล็ด ขณะที่พันธุ์ Ataulfo มีโพลีเอมบริโอนี 95 เปอร์เซ็นต์และมีเอ็มบริโอเฉลี่ย 3.2 ต่อ 1 เมล็ด ต่อมานำเมล็ด 20 เมล็ดในแต่ละพันธุ์มาแยกเลี้ยงในหลอดทดลอง และวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดีจำนวน 14 ไพรเมอร์ พบความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมของต้นกล้าโดยเปรียบเทียบจากแถบดีเอ็นเอของต้นแม่ ในต้นกล้าพันธุ์ Manila มีค่าเท่ากับ 0.97±0.03 และพันธุ์ Ataulfo มีค่า 0.98±0.04 แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกันของเมล็ดที่มาจากต้นกล้าที่เป็นไซโกติก เมื่อเทียบกับต้นแม่จำนวน 7 เมล็ดจากจำนวน 9 เมล็ดที่เป็นโพลีเอมบริโอนี ของต้นกล้าพันธุ์ Manila และแถบดีเอ็นเอมีความแตกต่างกันของต้นกล้าพันธุ์ Ataulfo มีจำนวนต้นกล้าที่เป็นไซโกติก 4 เมล็ดจากจำนวน 7 เมล็ดที่เป็นโพลีเอมบริโอนี โดยเมล็ดที่เป็นโพลีเอมบริโอนี ไม่ได้มีลักษณะการงอกของต้นกล้าแบบไซโกติกทั้งหมด แต่เกิดจากเอ็มบริโอขนาดเล็กที่อยู่บริเวณไมโครไพล์

Singh และคณะ (2019) ทำการตรวจสอบต้นกล้าที่มีการผสมข้ามภายในส้มแมนดารินโดยการใช้เทคนิคไมโครแซทเทลไลท์ พบว่าไพรเมอร์ CCSM170 สามารถนำมาใช้ระบุต้นกล้าไซโกติกที่เกิดจากการผสมระหว่าง ‘Daisy’ กับ ‘Kinnow’ ได้ถึง 73.30 เปอร์เซ็นต์ ตามมาด้วยไพรเมอร์ CMS4, AG14 CiBE6006 และ CiBE3397 สามารถระบุต้นกล้าที่เป็นไซโกติกได้ 38.50, 31.50, 27.00 และ 24.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในลูกผสมระหว่าง 'Kinnow’ กับ ‘Daisy’ ไพรเมอร์ CiBE6006 สามารถระบุต้นกล้าที่เป็นไซโกติกได้ 22.5 เปอร์เซ็นต์ ตามมาด้วย CCSM170, CiBE3397 และ CMS4 ตามลำดับ ลูกผสมระหว่าง ‘W.murcott’ กับ ‘Kinnow’ ไพรเมอร์ CMS31 สามารถระบุต้นกล้าที่เป็นไซโกติกได้ 28.5 เปอร์เซ็นต์ ตามมาด้วย CiBE3298 และไพรเมอร์ CiBE3397 สามารถระบุต้นกล้าที่เป็นไซโกติกได้ในลูกผสมระหว่าง ‘Kinnow’ กับ ‘W.Murcott’ ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าการใช้เทคนิคเอสเอสอาร์สามารถตรวจสอบต้นกล้าไซโกติกที่เกิดจากการผสมภายในกลุ่มส้มแมนดาริน

การใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการศึกษาพันธุกรรมพืช

เครื่องหมายทางพันธุกรรม (genetic marker) หมายถึง ลักษณะหรือตัวบ่งชี้ที่มีความเฉพาะเจาะจง สามารถนำมาแยกความแตกต่างทางพันธุกรรมและถ่ายทอดลักษณะนั้นไปยังรุ่นลูกได้ ส่วนเครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker) หมายถึง ลำดับเบสช่วงหนึ่งของดีเอ็นเอ ใช้เป็นตัวบ่งชี้ความเป็นเอกลักษณ์ของสิ่งมีชีวิต ทำให้สิ่งมีชีวิตมีความแตกต่างกัน (สุรีพร, 2546)

ในปัจจุบันมีการนำเครื่องหมายดีเอ็นเอมาใช้ในการศึกษาพันธุกรรมพืชอย่างกว้างขวาง เนื่องจากสามารถให้ผลที่แม่นยำ รวดเร็ว และไม่มีอิทธิพลจากสภาพแวดล้อม สามารถใช้เป็นเครื่องมือในการปรับปรุงพันธุ์พืช รวมทั้งศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างสายพันธุ์ นำมาใช้ทำแผนที่ทางพันธุกรรม (genetic mapping) และหาตำแหน่งของยีน ตัวอย่างเครื่องหมายดีเอ็นเอ เช่น เครื่องหมายอาร์เอพีดี (RAPD, Random Amplified Polymorphic DNA) อาร์เอฟแอลพี (RFLP, Restriction Frangment Length Polymorphism) เอเอฟแอลพี (AFLP, Amplification Fragment Length Polymorphism) และไมโครเซทเทลไลท์ (Microsattellite) เป็นต้น (บัณฑิตา, 2552)

เทคนิคอาร์เอพีดี (RAPD, Random Amplified Polymorphic DNA) เป็นการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคพีซีอาร์ ไพรเมอร์ที่ใช้เป็นแบบไม่จำเพาะเจาะจงกับดีเอ็นเอ หลักการของเทคนิคนี้คือ ใช้ไพรเมอร์ขนาดสั้นเพียงชนิดเดียวเพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบสุ่ม ส่วนใหญ่ใช้ไพรเมอร์ขนาด 10 นิวคลีโอไทด์ (สุรินทร์, 2545) หากไพรเมอร์อาร์เอพีดีมีเบสคู่สมกับดีเอ็นเอของพืชที่นำมาตรวจสอบจะเกิดการจำลองตัวของดีเอ็นเอต้นแบบขึ้น เนื่องจากปฏิกิริยาพีซีอาร์นั้นใช้ไพรเมอร์แบบสุ่ม ดังนั้นไพรเมอร์เหล่านี้จะเข้าคู่กับดีเอ็นเอโดยสุ่มได้หลายตำแหน่ง หากการเข้าคู่นั้นเกิดขึ้นในทิศทางที่เหมาะสมจะทำให้เกิดการจำลองตัวของดีเอ็นเอของพืชนั้นๆ ดังนั้นถ้าพืชที่นำมาตรวจสอบมีความแตกต่างของสารพันธุกรรมหรือเป็นคนละชนิดกัน จะทำให้การจำลองตัวเองของดีเอ็นเอมีความแตกต่างกัน จำนวนและชิ้นส่วนของดีเอ็นเอมีขนาดที่แตกต่างกัน (สุรีพร, 2546) เทคนิคอาร์เอพีดีถูกนำมาใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในพืชหลายชนิด เช่น มะม่วงหิมพานต์ (จรัสศรี และคณะ, 2557), ยางพารา (กรกช, 2550), ทุเรียน (สุดา, 2556) เป็นต้น สำหรับพืชตระกูลส้ม AL-Janabi (2016) ได้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและความสัมพันธ์ภายในกลุ่มของสวีทออเรนจ์ (*Citrus sinensis* L. Osbeck) 5 พันธุ์ (อินเดีย, อิรัก, ญี่ปุ่น, ซีเรีย และอียิปต์) วิเคราะห์โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดีจำนวน 6 ไพรเมอร์ พบแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 51 แถบ เป็นแถบที่มีลักษณะแตกต่างกันอยู่ในช่วง 0-8 แถบ คิดเป็นค่าเฉลี่ย 0-57.1 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำข้อมูลแถบดีเอ็นเอที่ได้มาสร้างเดนโดรแกรม พบว่าสามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่ม A และ B มีค่าความคล้ายกันทางพันธุกรรมถึง 50 เปอร์เซ็นต์ โดยกลุ่ม A ได้แก่ พันธุ์ส้มจากประเทศญี่ปุ่น ส่วนกลุ่ม B แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อย ได้แก่ B1 ประกอบด้วย 2 พันธุ์คือ พันธุ์ส้มจากประเทศอิรักและอินเดีย โดยมีค่าความคล้ายกันทางพันธุกรรมที่สูงถึง 77 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่ม B2 ประกอบด้วย 2 พันธุ์คือ จากประเทศอียิปต์และซีเรีย โดยมีค่าความคล้ายกันทางพันธุกรรมถึง 72 เปอร์เซ็นต์ Baig และคณะ (2009) ได้ศึกษาลักษณะทางด้านโมเลกุล และวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมจากส้มจำนวน 13 ชนิด ประกอบด้วยส้ม 13 สายพันธุ์ และลูกผสม 5 สายพันธุ์โดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี ซึ่งตรวจพบแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างจำนวน 231 แถบ เมื่อนำข้อมูลแถบดีเอ็นเอที่ได้มาสร้างเดนโดรแกรม พบว่าสามารถแยกพันธุ์ Jatti-Khatti (*Citrus jambiri* Lush) ได้เป็น 1 กลุ่ม โดยมีค่าความคล้ายกันทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.61 และพบว่าสวีทออเรนจ์ 2 พันธุ์ ได้แก่ Jaffa และ Blood red แสดงค่าความคล้ายกันทางพันธุกรรมที่สูงถึง 82 เปอร์เซ็นต์ ส่วนพันธุ์ Jatti-Khatti และ King mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) พบว่ามีความหลากหลายทางพันธุกรรม ซึ่งความเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมระหว่างพันธุ์มีสูงมาก และพบว่ามีต้นกำเนิดที่ต่างกัน

Malik และคณะ (2012) ได้ประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของสวีทออเรนจ์พันธุ์ *Citrus sinensis* ในประเทศอินเดีย ซึ่งเป็นผลไม้สำคัญที่ปลูกเป็นการค้าในพืชตระกูลส้ม โดยศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและความสัมพันธ์ระหว่าง 22 พันธุ์ใน *Citrus sinensis* วิเคราะห์ลักษณะสัณฐานวิทยาและเครื่องหมายอาร์เอพีดี พบแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 29 แถบใน 20 ไพรเมอร์ ซึ่งมีแถบดีเอ็นเอแตกต่างจำนวน 51 แถบ คิดเป็น 51.83 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าความคล้ายกันทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.48-1.00 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.77 เมื่อสร้างเดนโดรแกรมสามารถแยกพันธุ์ทั้งหมดได้เป็น 2 กลุ่ม ซึ่งพันธุ์ Delta valencia และ Sweet orange ถูกจัดอยู่ในกลุ่มที่ 1 และมีความแตกต่างจากพันธุ์ที่เหลือ พบว่าในบางไพรเมอร์สร้างแถบดีเอ็นเอที่ไม่ซ้ำกัน จึงสามารถนำมาจำแนกพันธุ์ได้ บัณฑิตา (2552)ทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของส้มพื้นเมืองภาคใต้ (*Citrus* spp.) จำนวน 10 ชนิด จำนวน 77 ตัวอย่าง โดยการใช้เทคนิคอาร์เอพีดี พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มตัวอย่างพืชสกุลส้มได้เป็น 5 กลุ่ม โดยแต่ละกลุ่มจะประกอบด้วยส้มแต่ละชนิดปะปนกัน โดยมีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.52-0.98 แสดงให้เห็นว่าประชากรพืชสกุลส้มที่นำมาศึกษามีฐานพันธุกรรมค่อนข้างกว้าง โดยส้มจุกที่นำมาศึกษาจำนวน 11 ตัวอย่างนั้นถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันคือกลุ่มที่ 3

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อเก็บรวบรวมและประเมินความหลากหลายของส้มจุกพืชพื้นเมืองของจังหวัดสงขลา โดยเปรียบเทียบลักษณะสัณฐานวิทยาและคุณภาพของผลส้มจุก
2. เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของส้มจุกโดยอาศัยเครื่องหมายอาร์เอพีดี
3. เพื่อตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมของต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ดโดยอาศัยเครื่องหมายอาร์เอพีดี

บทที่ 2
วิธีการวิจัย

วัสดุอุปกรณ์

1. ตัวอย่างพืช
2. สารเคมี

2.1 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอจากพืช

- CTAB
- Chloroform
- β-mercaptoethanol
- Isopropanol
- 70% ethanol
- PVP-40 (Polyvinylpyrrolidone)
- Na_2EDTA (Disodium ethylene diaminetetraacetate)
- Tris-HCl (pH 8.0)
- TE buffer

2.2 สารเคมีที่ใช้ในการทำอิเล็กโทรโฟรีซิส

- LE agarose (Theera trading, USA)
- Tris-base
- Boric acid
- Ethidium bromide
- Loading buffer
- 100 bp DNA Ladder (Thermo sciencetific, USA)

2.3 สารเคมีที่ใช้ในการทำพีซีอาร์

- dNTP (Thermo sciencetific, USA)
- Oligo dT primer
- 10x *Taq* buffer (New England Biolabs, USA)
- *Taq* DNA Polymerase (New England Biolabs, USA)
- DI water (Deionized water)

2.4 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพผล

- Phenolphthalein
- Ethanol
- NaOH (Sodium hydroxide)

3. อุปกรณ์สำหรับการทำวิจัย

3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างพืช

- ถุงพลาสติก
- กรรไกร
- กล่องโฟม
- ปากกาเขียนเครื่องแก้ว
- เครื่องเย็บกระดาษ
- ลวดเย็บกระดาษ

3.2 อุปกรณ์ที่ใช้สกัดดีเอ็นเอ ทำอิเลคโทรโฟรีซิส พีซีอาร์ และอื่นๆ

- โกร่งบดตัวอย่าง
- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)
- เครื่องคนละลายสารอัตโนมัติ
- แท่งแม่เหล็ก สำหรับช่วยคนละลายสาร
- เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง
- ปิเปตปรับปริมาตร
- เครื่องพีซีอาร์ (Thermal cycler)
- ชุดอิเล็คโตรโฟริซีส และเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า (Electrophoresis)
- หลอดไมโครเซนตริฟิวจ์
- ไมโครเวฟ
- วุ้นอะกาโรส
- ตู้ดูดควัน
- เครื่อง thermocycler
- ขวดรูปชมพู่
- ตู้เย็น และตู้แช่แข็ง

- Tip
- Gel documentation
- เครื่องแก้ว และกระบอกตวง
- เครื่อง Water bath

3.3อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์คุณภาพผล

- หลอดแก้ว
- ขวดรูปชมพู่
- ตู้เย็น และตู้แช่แข็ง
- บิวเรต (Buret)
- ขาตั้งบิวเรต
- ตราชั่ง
- หลอดหยดสาร
- เครื่องมือวัดความหวาน (Hand refractometer)

วิธีดำเนินการ

การทดลองที่ 1 การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและคุณภาพผลของส้มจุก

คัดเลือกต้นส้มจุกที่มีลักษณะสมบูรณ์ จากพื้นที่ต่างๆ ตามตารางที่ 1 ทำการสุ่มเก็บผลส้มจุกหลังดอกบานประมาณ 6.5 - 7 เดือน เนื่องจากเป็นระยะที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวผลส้มจุกตามการศึกษาของ บุญชนะ และคณะ (2557) จำนวน 3 ผลต่อต้น โดยนำมาเก็บข้อมูลดังนี้

- ลักษณะทางกายภาพของผล นำผลส้มจุกที่สุ่มเก็บตัวอย่างมาชั่งน้ำหนัก วัดเส้นผ่านศูนย์กลาง ความหนาของเปลือก ความสูงของจุก และบันทึกข้อมูลของผลในลักษณะต่างๆ ดังนี้ คือ น้ำหนักผลสด น้ำหนักเนื้อ เส้นผ่านศูนย์กลางของผล และความหนาของเปลือก

- ลักษณะทางเคมีของผล ผ่าตัวอย่างผลส้มจุกนำเนื้อมาคั้นน้ำแล้วกรองด้วยผ้าขาวบาง หาปริมาณน้ำส้มคั้นทั้งหมด คำนวณโดยวิธีการของ Jamin และคณะ (2015) ดังนี้

ปริมาณน้ำคั้น (เปอร์เซ็นต์) = (น้ำหนักน้ำส้มคั้น/น้ำหนักผล) x100

หลังจากนั้นนำน้ำที่คั้นได้มาวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด โดยใช้ hand refractometer ปริมาณของกรดที่ไทเทรตได้ โดยการไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ และคำนวณหาปริมาณของกรดในรูปแบบเปอร์เซ็นต์กรดซิตริก ตามวิธีการของ Boland (1995) ดังนี้

ปริมาณของกรดที่ไทเทรตได้ (เปอร์เซ็นต์) = {(a x b) 0.064 x 100}/m

เมื่อ a = ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ไตเตรท (มิลลิลิตร)

b = ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (โมลาร์)

m = ปริมาตรของน้ำคั้นที่นำมาวิเคราะห์ (มิลลิลิตร)

ตารางที่ 1 ข้อมูลพื้นที่ที่เก็บตัวอย่างส้มจุกจำนวน 20 แปลง

Orchards no.	Locations	จำนวนต้น	Latitude	Longitude	การขยายพันธุ์
1	คุณอดุลย์ ปานเล็ม ต.นาหว้า อ.จะนะ จ.สงขลา	10	6.795883	100.943990	กิ่งตอน
2	คุณยูโสัะ หีมบู ต.นาหว้า อ.จะนะ จ.สงขลา	4	6.866911	100.692993	กิ่งตอน
3	คุณอาภร ด้วงปาน ต.จะโหนง อ.จะนะ จ.สงขลา	5	6.992274	100.676651	กิ่งตอน
4	คุณหยา โอ๊ะหลำ ต.นาหว้า อ.จะนะ จ.สงขลา	6	6.891336	100.694944	กิ่งตอน
5	คุณดนกอนี เหลาะหมาน ต.บ้านนา อ.จะนะ จ.สงขลา	10	6.884834	100.740484	ต้นตอส้มโอ
6	คุณหมัดโนด เจเพ็ง อ.จะนะ จ.สงขลา	2	6.813257	100.697744	กิ่งตอน
7	คุณหมัดดาโหด หมานเจริญ อ.จะนะ จ.สงขลา	2	6.812720	100.698502	เมล็ด
8	คุณอะหมัด หลีขาหรี อ.จะนะ จ.สงขลา	1	6.813926	100.697782	กิ่งตอน
9	คุณวิจิตร์ บุญทอง อ.จะนะ จ.สงขลา	7	6.803450	100.683561	เมล็ด

ตารางที่ 1 (ต่อ) ข้อมูลพื้นที่ที่เก็บตัวอย่างส้มจุกจำนวน 20 แปลง

Orchards no.	Locations	จำนวนต้น	Latitude	Longitude	การขยายพันธุ์
10	คุณสังเวียน เจียมสะอาด อ.จะนะ จ.สงขลา	1	6.815782	100.697119	กิ่งตอน
11	คุณไฟสอน หลีขาหรี อ.จะนะ จ.สงขลา	1	6.815898	100.697310	เมล็ด
12	คุณสอลีฟ๊ะ เจเพ็ง อ.จะนะ จ.สงขลา	1	6.813932	100.698452	กิ่งตอน
13	คุณยาวาเหร์ มะสาแม อ.จะนะ จ.สงขลา	1	6.810720	100.699046	กิ่งตอน
14	คุณคมสัน หลีขาหรี อ.จะนะ จ.สงขลา	2	6.813759	100.699111	กิ่งตอน
15	คุณดลก้าหลีม สุนทรมาลาตี อ.จะนะ จ.สงขลา	10	6.820780	100.682165	กิ่งตอน
16	คุณวศินี อิงศฤงคาร ต.น้ำรอบ อ.พุนพิน จ.สุราษฎร์ธานี	8	9.070837	99.125914	กิ่งตอน
17	ศูนย์วิจัยพืชสวน ต.ไม้ฝาด อ.สิเกา จ.ตรัง	5	7.537894	99.319222	กิ่งตอน
18	คุณดนัย หีมเหาะ อ.จะนะ จ.สงขลา	5	6.810131	100.699460	กิ่งตอน
19	สถานีวิจัยเทพา คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ต.เทพา อ.เทพา จ.สงขลา	6	6.795883	100.943990	กิ่งตอน
20	คุณสิริกร เกศเส้ง ต.ลำไพล อ.เทพา จ.สงขลา	8	6.717354	100.869383	เมล็ด

การทดลองที่ 2 การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของส้มจุกโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล

1) การเก็บตัวอย่าง

ทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของส้มจุกในพื้นที่ต่างๆ ตามตารางที่ 1 โดยสุ่มเก็บตัวอย่างใบส้มจุกประมาณ 1-2 ใบต่อต้น ใส่ถุงพลาสติกเพื่อนำมาสกัดดีเอ็นเอ

2) การสกัดดีเอ็นเอ

ทำการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างใบ โดยใช้สารละลาย CTAB (hexadecyl trimethyl ammonium bromide) ซึ่งดัดแปลงจาก Doyle และ Doyle (1990) อ้างโดย บัณฑิตา (2552) ใช้ตัวอย่างใบส้มประมาณ 200 มิลลิกรัมน้ำหนักสด บดใน CTAB buffer ที่เติม β-mercaptoethanol เข้มข้น 2% ปริมาตร 700 ไมโครลิตร เมื่อบดตัวอย่างละเอียดแล้วใส่ในหลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที กลับหลอดไปมาทุก 10 นาที เติมคลอโรฟอร์ม 800 ไมโครลิตร กลับหลอดไปมาเบาๆ ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที จะได้สารละลายที่แยกชั้น ดูดสารละลายส่วนใสชั้นบนใส่หลอดทดลองใหม่ หลังจากนั้นเติมคลอโรฟอร์ม 700 ไมโครลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ดูดสารละลายส่วนใสใส่หลอดทดลองใหม่ เติมไอโซโพรพานอล 750 ไมโครลิตร กลับหลอดไปมาเบาๆ เพื่อตกตะกอนดีเอ็นเอ หากไม่เห็นตะกอนดีเอ็นเอสีขาวให้นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที หรือนำไปแช่ตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จนกว่าจะเห็นตะกอนดีเอ็นเอสีขาว เทสารละลายส่วนใสทิ้ง ล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วยเอธานอลความเข้มข้น 70% ที่ผ่านการแช่เย็น 2 ครั้ง ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง เมื่อตะกอนดีเอ็นเอแห้งดีแล้วจะสังเกตุเห็นว่าตะกอนสีขาวเปลี่ยนเป็นใส ไม่มีสี หลังจากนั้นละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย TE buffer และเก็บรักษาดีเอ็นเอที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้

3) การตรวจสอบปริมาณและคุณภาพดีเอ็นเอ

ตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ด้วยเครื่อง nanodrop ที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร และ 280 นาโนเมตร จากนั้นนำผลที่ได้มาคำนวณหาความเข้มข้นของสารละลายดีเอ็นเอ จากสูตร

ความเข้มข้นของดีเอ็นเอ (µg/ ml) = A260 x 50 x dilution factor

4) การทำพีซีอาร์ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี

ตรวจสอบไพรเมอร์จากการศึกษาของ บัณฑิตา (2552) ที่ให้แถบดีเอ็นเอชัดเจนและมีความแตกต่างในการศึกษาพืชตระกูลส้มพื้นเมืองภาคใต้ ได้แก่ OPA-04, OPA-05, OPAN-12, OPA-12 และ OPR-04 รวมทั้งทำการทดสอบไพรเมอร์ขนาด 10 เบสเพิ่มเติม คัดเลือกไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบสุ่มด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ และให้แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกัน ทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์ จากปริมาตรรวม 25 ไมโครลิตร ประกอบด้วย ดีเอ็นเอต้นแบบที่สกัดได้ 20 นาโนกรัม ไพรเมอร์เข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ เอนไซม์ Taq polymerase เข้มข้น 0.625 ยูนิตต่อ 25 ไมโครลิตร 10X Thermopol reaction buffer 3 ไมโครลิตร dNTP เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ โดยอุณหภูมิที่เริ่มต้นใช้ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที ตามด้วย 40 รอบ ด้วยอุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส 30 วินาที 37 องศาเซลเซียส 1 นาที 72 องศาเซลเซียส 2 นาที และรอบสุดท้ายตามด้วย 72 องศาเซลเซียส อีก 5 นาที นำพีซีอาร์ที่ได้ มาตรวจสอบผลด้วยวิธี agarose gel electrophoresis

นำสารละลายดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณแล้ว มาตรวจสอบด้วยวิธีการอิเล็กโตรโฟรีซิสบนแผ่นวุ้น LE agarose ที่มีความเข้มข้น 1.7 เปอร์เซ็นต์ ละลายใน TBE buffer ใช้แรงเคลื่อนไฟฟ้า 75 โวลต์ เป็นเวลา 45 นาที ย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ เป็นเวลา 15 นาที จุ่มแช่ในน้ำ 15 นาที ตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอัลตร้าไวโอเลต 260 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง gel documentation

5) การวิเคราะห์ความใกล้ชิดทางพันธุกรรม

นำข้อมูลแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการทำอาร์เอพีดีมาวิเคราะห์ดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมจากวิธีของ Jaccard (1908) และสร้างเดนโดรแกรมโดย UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Average) ด้วยโปรแกรม Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Version -2.1 (NTSYS Version-2.1) (Rohlf, 2002)

การทดลองที่ 3 ตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมของต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ด

เก็บตัวอย่างใบและผลของส้มจุกจากต้นเดียวกัน โดยนำใบมาสกัดดีเอ็นเอ และนำเมล็ดจากผลส้มจุกมาเพาะเพื่อศึกษาการงอกของส้มจุกตามการศึกษาของ Kishore และคณะ (2012) โดยทำการเก็บข้อมูล จำนวนเมล็ดทั้งหมด จำนวนเมล็ดที่งอก จำนวนเมล็ดที่เป็นโพลีเอมบริโอนี และจำนวนต้นกล้าต่อหนึ่งเมล็ด หลังจากนั้นเก็บตัวอย่างใบส้มจุกที่ได้จากการเพาะเมล็ดมาสกัดดี-

เอ็นเอ และประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี โดยนำมาเทียบกับต้นแม่ เก็บข้อมูลเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ด และเปอร์เซ็นต์โพลีเอมบริโอนี โดยคำนวณจากสูตร

เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ด = (จำนวนเมล็ดที่งอกทั้งหมด/จำนวนเมล็ดที่เพาะทั้งหมด) x100

เปอร์เซ็นต์โพลีเอมบริโอนี = (จำนวนเมล็ดที่เป็นโพลีเอมบริโอนี/จำนวนเมล็ดที่งอก) x 100

บทที่ 3
ผลการวิจัย

การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและคุณภาพผลของส้มจุก

จากการศึกษาลักษณะสัณฐานของผลส้มจุก ที่ได้เก็บตัวอย่างใบจากแปลงในพื้นที่ของเกษตรกรทั้งหมดจำนวน 20 แปลง ซึ่งแปลงที่สามารถเก็บตัวอย่างผลได้มีจำนวน 10 แปลง เนื่องจากบางแปลงอายุของส้มจุกยังไม่ถึงระยะเวลาให้ผลผลิต พบว่าลักษณะภายนอกมีลักษณะที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน เช่น ความสูงจุกที่มีความแตกต่างกัน (ภาพที่ 2) รวมทั้งปริมาณเมล็ดที่สมบูรณ์ในผล (ภาพที่ 3) นอกจากนี้ยังได้เก็บข้อมูลต่างๆ เช่น น้ำหนักผลสด ความกว้างผล ความยาวผล ความยาวจุก เส้นผ่านศูนย์กลาง ความหนาเปลือก น้ำหนักเนื้อ ปริมาณน้ำคั้น จำนวนเมล็ดทั้งหมด จำนวนเมล็ดที่สมบูรณ์ จำนวนเมล็ดที่ไม่สมบูรณ์ และความยาวเมล็ด พบว่า ส้มจุกในพื้นที่ภาคใต้มีน้ำหนักผลตั้งแต่ 140-279 กรัม (ตารางที่ 2) น้ำหนักผลเฉลี่ย 209.5 กรัม สายต้นของส้มจุกส่วนใหญ่มีน้ำหนักผลอยู่ในช่วง 201-250 กรัม จำนวน 23 สายต้นจาก 74 สายต้น รองลงมามีน้ำหนักผลอยู่ในช่วง 151-200 กรัม จำนวน 20 สายต้นจาก 74 สายต้น (ภาพที่ 4A)

น้ำหนักเนื้อผลเฉลี่ยมีค่าอยู่ระหว่าง 125-202 กรัม (ตารางที่ 2) น้ำหนักเนื้อผลเฉลี่ย 163.5 กรัม ซึ่งสายต้นของส้มจุกส่วนใหญ่มีน้ำหนักเนื้อผลอยู่ในช่วง 151-200 กรัม จำนวน 32 สายต้นจาก 74 สายต้น รองลงมามีน้ำหนักเนื้อผลอยู่ในช่วง 101-150 กรัม จำนวน 25 สายต้นจาก 74 สายต้น (ภาพที่ 5A)

ความยาวผลมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 8.6-11 เซนติเมตร (ตารางที่ 2) ซึ่งสายต้นของส้มจุกส่วนใหญ่มีความยาวผลอยู่ในช่วง 9.1-12.0 เซนติเมตร จำนวน 57 สายต้นคิดเป็น 73 เปอร์เซ็นต์จากสายต้นทั้งหมด รองลงมามีความยาวผลอยู่ในช่วง 6.1-9.0 เซนติเมตร จำนวน 16 สายต้นคิดเป็น 22 เปอร์เซ็นต์จากสายต้นทั้งหมด (ภาพที่ 5B)

เส้นผ่านศูนย์กลางในแต่ละแปลงมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 6.8-8.2 เซนติเมตร (ตารางที่ 2) ซึ่งสายต้นของส้มจุกส่วนใหญ่มีเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ในช่วง 6.0-8.0 เซนติเมตร จำนวน 60 สายต้นคิดเป็น 81 เปอร์เซ็นต์จากสายต้นทั้งหมด รองลงมามีเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ในช่วง 8.1-10.0 เซนติเมตร จำนวน 14 สายต้นคิดเป็น 19 เปอร์เซ็นต์จากสายต้นทั้งหมด (ภาพที่ 3D)

ความสูงจุกมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0.5-1.3 เซนติเมตร (ตารางที่ 2) ซึ่งสายต้นของส้มจุกส่วนใหญ่มีความสูงจุกอยู่ในช่วง 1.01-1.50 เซนติเมตร จำนวน 40 สายต้นคิดเป็น 54 เปอร์เซ็นต์จากสายต้นทั้งหมด รองลงมามีความสูงจุกอยู่ในช่วง 0.51-1.00 เซนติเมตร จำนวน 25 สายต้นจากคิดเป็น 34 เปอร์เซ็นต์จากสายต้นทั้งหมด (ภาพที่ 3B)

ความหนาของเปลือกในแต่ละแปลงมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0.3-0.5 เซนติเมตร (ตารางที่ 2) ซึ่งสายต้นของส้มจุกส่วนใหญ่มีความหนาเปลือกอยู่ในช่วง 0.21-0.40 เซนติเมตร จำนวน 37 สายต้นคิดเป็น 50 เปอร์เซ็นต์จากสายต้นทั้งหมด รองลงมามีความหนาเปลือกอยู่ในช่วง 0.41-0.60 เซนติเมตร จำนวน 26 สายต้นคิดเป็น 35 เปอร์เซ็นต์จากสายต้นทั้งหมด (ภาพที่ 3C)

จำนวนเมล็ดทั้งหมดของส้มจุกในแต่ละแปลงมีจำนวนเฉลี่ยระหว่าง 4-8 เมล็ด (ตารางที่ 3) ซึ่งสายต้นของส้มจุกส่วนใหญ่มีจำนวนเมล็ดทั้งหมดต่อผลอยู่ในช่วง 5-9 เมล็ด จำนวน 40 สายต้นจาก 74 สายต้น รองลงมามีจำนวนเมล็ดทั้งหมดต่อผลอยู่ในช่วง 0-4 เมล็ด จำนวน 20 สายต้นจาก 74 สายต้น (ภาพที่ 6A)

ความยาวเมล็ดในแต่ละแปลงมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0.7-1.5 เซนติเมตร (ตารางที่ 3) ซึ่งสายต้นของส้มจุกส่วนใหญ่มีความยาวเมล็ดต่อผลอยู่ในช่วง 1.01-1.50 เซนติเมตร จำนวน 60 สายต้นจาก 74 สายต้น รองลงมามีความยาวเมล็ดต่อผลอยู่ในช่วง 0.51-1.00 เซนติเมตร จำนวน 7 สายต้นจาก 74 สายต้น (ภาพที่ 6B)

จำนวนเมล็ดที่สมบูรณ์ในแต่ละแปลงมีจำนวนเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 1-6 เมล็ด ส่วนจำนวนเมล็ดที่ไม่สมบูรณ์ในแต่ละแปลงมีจำนวนเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 1-3 เมล็ด (ตารางที่ 3) ซึ่งสายต้นของส้มจุกส่วนใหญ่มีจำนวนเมล็ดที่สมบูรณ์และไม่สมบูรณ์ต่อผลอยู่ในช่วง 4-7 และ 0-3 เมล็ด ตามลำดับ จำนวน 36 และ 32 สายต้น ตามลำดับ จาก 74 สายต้น รองลงมามีจำนวนเมล็ดที่สมบูรณ์และไม่สมบูรณ์ต่อผลอยู่ในช่วง 0-3 และ 4-7 เมล็ด ตามลำดับ จำนวน 64 และ 10 สายต้น ตามลำดับ จาก 74 สายต้น (ภาพที่ 6C)

ตารางที่ 2 น้ำหนักสด น้ำหนักเนื้อ ความยาวผล เส้นผ่านศูนย์กลาง ความสูงจุก และความหนาเปลือกของส้มจุกจำนวน 10 แปลง

Orchards no.	Fruit weight (g)	Fresh weight (g)	Fruit length (cm)	Fruit diameter (cm)	High of fruit polar (cm)	Peel thickness (cm)
1	241±56.11	185±41.66	10.7±1.37	7.8±0.31	1.0±0.51ab	0.4±0.10
2	190±35.17	146±22.68	9.6±0.58	7.2±0.32	0.9±0.43ab	0.3±0.10
3	227±35.21	172±21.25	11.0±0.73	7.6±0.36	1.3±0.47a	0.4±0.12
4	180±22.26	138±15.57	8.6±0.70	6.8±0.25	1.0±0.25ab	0.3±0.05
5	260±53.86	184±34.67	10.4±0.78	7.6±0.31	1.3±0.31a	0.5±0.07
6	140±0.00	160±42.43	9.3±0.35	8.0±0.07	0.5±0.00b	0.3±0.00
15	276±45.11	195±30.16	10.2±0.84	8.2±0.28	1.1±0.35ab	0.5±0.13
18	279±38.75	202±25.47	10.6±0.63	8.2±0.25	1.2±0.34ab	0.5±0.12
19	176±17.63	125±39.92	9.6±1.32	7.0±0.42	1.0±1.41ab	0.4±0.13
20	172±37.05	131±26.90	8.8±0.91	6.8±0.27	1.0±0.20ab	0.4±0.08
F-test	ns	Ns	ns	ns	*	ns
C.V. (%)	24.17	17.82	8.67	7.66	23.69	18.97

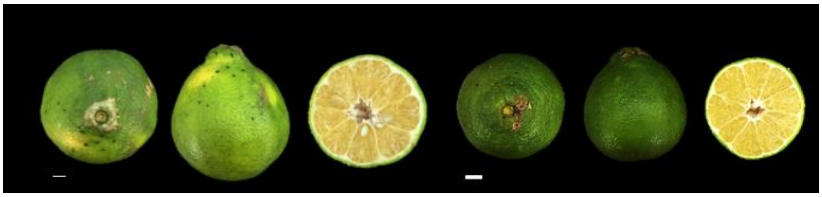
หมายเหตุ *= แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P≤0.05), ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (P≥0.05)

ตารางที่ 3 จำนวนเมล็ดทั้งหมด จำนวนเมล็ดที่สมบูรณ์ จำนวนเมล็ดที่ไม่สมบูรณ์ และความยาวเมล็ดของส้มจุกจำนวน 10 แปลง

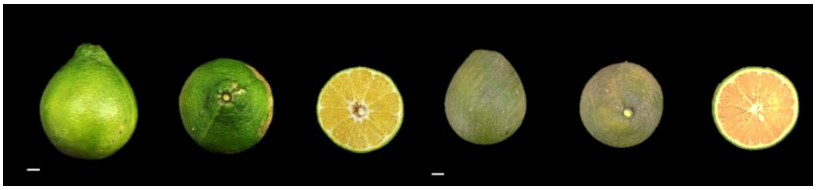
Orchards no.	The total number of seeds	Number of normal seeds	Number of abnormal seeds	Seed length (cm)
1	8±3.14	5±2.75ab	3±2.01	1.3±0.23ab
2	6±3.75	4±3.12ab	1±1.41	1.3±0.17ab
3	7±3.91	5±3.41ab	2±1.59	1.3±0.28ab
4	8±2.76	5±2.98ab	3±1.85	1.4±0.18ab
5	4±2.82	1±1.77b	2±2.32	1.2±0.39ab
6	6±7.78	4±4.95ab	2±2.83	0.7±0.92b
15	8±3.71	6±3.31a	2±2.32	1.4±0.34ab
18	6±3.54	4±2.75ab	2±1.61	1.4±0.29ab
19	7±3.69	4±3.78ab	3±2.35	1.3±0.28ab
20	4±3.24	4±3.24ab	2±1.50	1.5±0.22a
F-test	ns	*	ns	*
C.V. (%)	24.22	33.21	30.37	17.04

หมายเหตุ *= แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$), ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P \geq 0.05$)

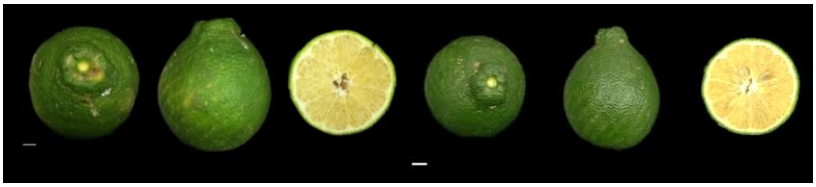
(A) **(B)**



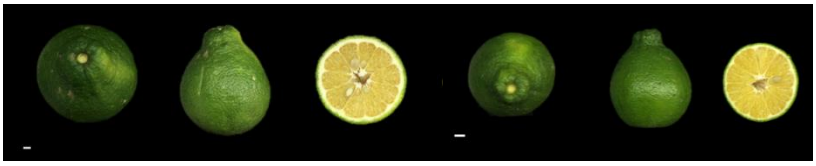
(C) **(D)**



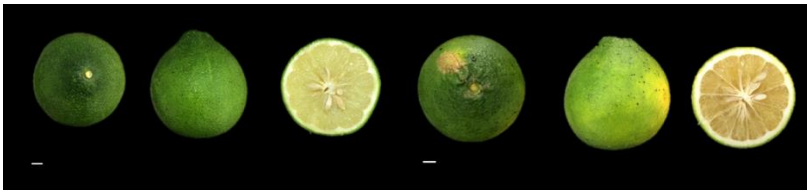
(E) **(F)**



(G) **(H)**



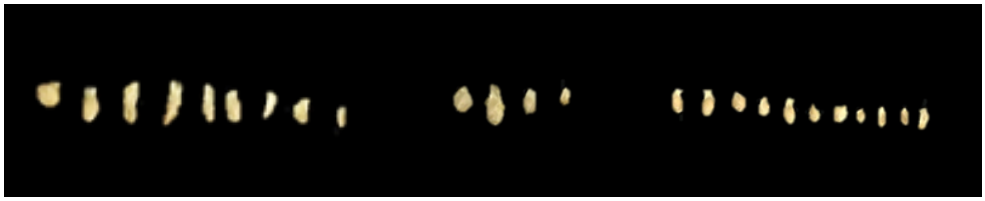
(I) **(J)**



(K) **(L)**

ภาพที่ 2 ลักษณะสัณฐานวิทยาของผลส้มจุกสวนที่ 1 (A) สวนที่ 2 (B) สวนที่ 3 (C) สวนที่ 4 (D) สวนที่ 5 (E) สวนที่ 6 (F) สวนที่ 15 (G) สวนที่ 18 (H) สวนที่ 19 (I) สวนที่ 20 (J) และส้มที่มีลักษณะคล้ายส้มจุก (K-L)

(A) **(B)** **(C)**

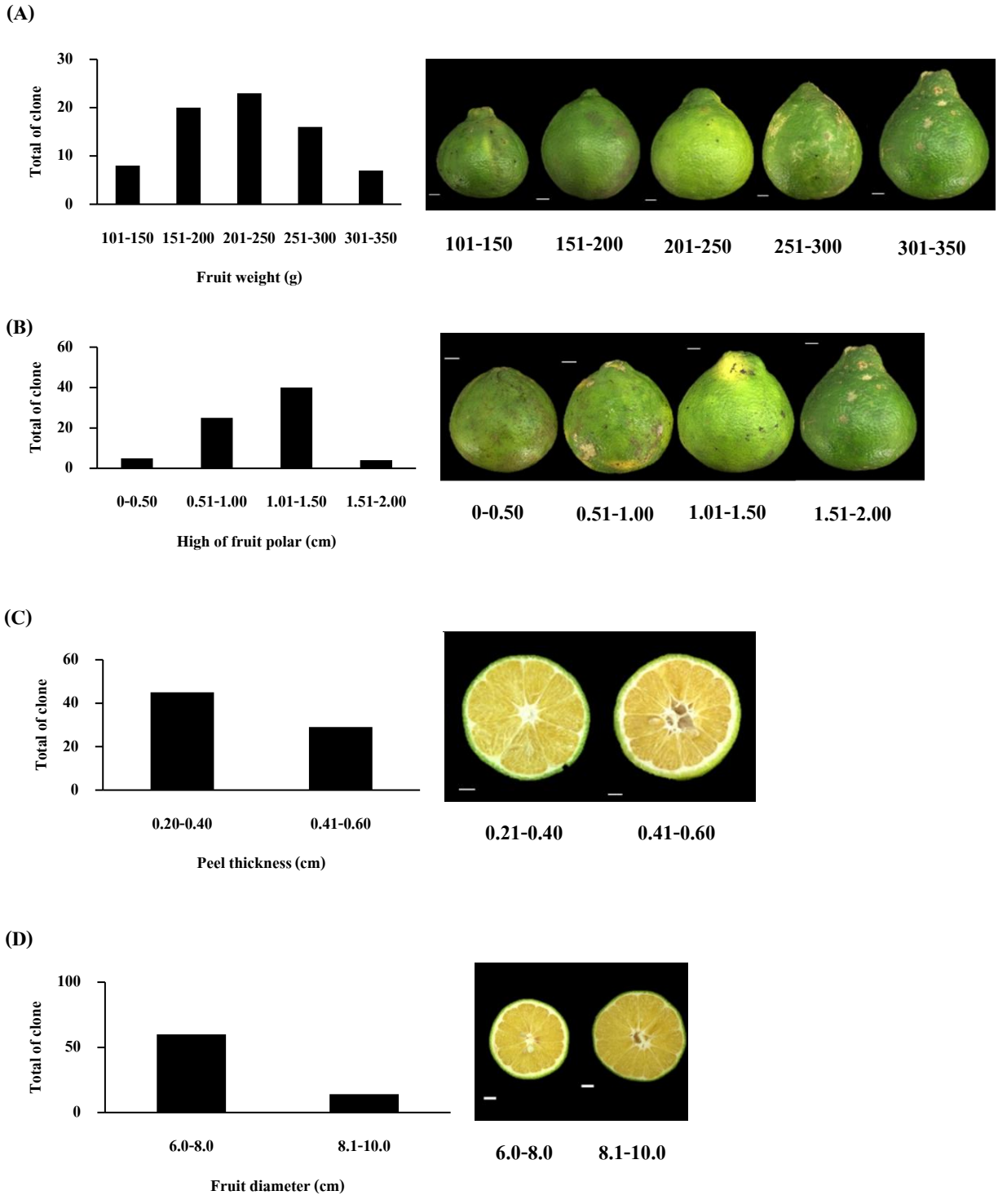


(D) **(E)** **(F)**

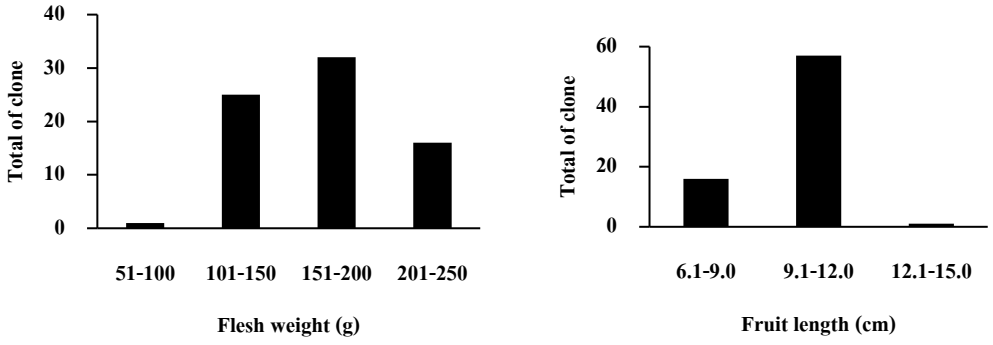
(G) **(H)** **(I)**

(J) **(K)** **(L)**

ภาพที่ 3 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเมล็ดส้มจุกสวนที่ 1 (A) สวนที่ 2 (B) สวนที่ 3 (C) สวนที่ 4 (D) สวนที่ 5 (E) สวนที่ 6 (F) สวนที่ 15 (G) สวนที่ 18 (H) สวนที่ 19 (I) สวนที่ 20 (J) และส้มที่มีลักษณะคล้ายส้มจุก (K-L)

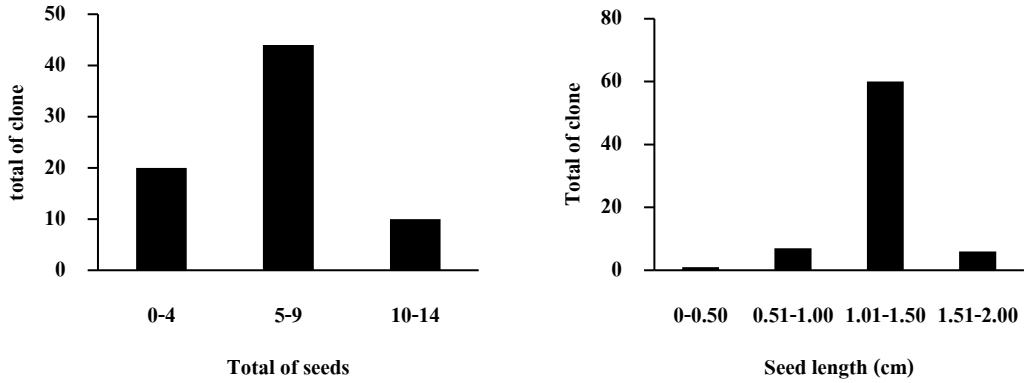


ภาพที่ 4 แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาของส้มจุก (A) ช่วงของน้ำหนักผลส้มจุก, (B) ช่วงของความสูงจุก, (C) ช่วงของความหนาเปลือก และ (D) ช่วงของเส้นผ่านศูนย์กลางของผล (บาร์ = 1 เซนติเมตร)

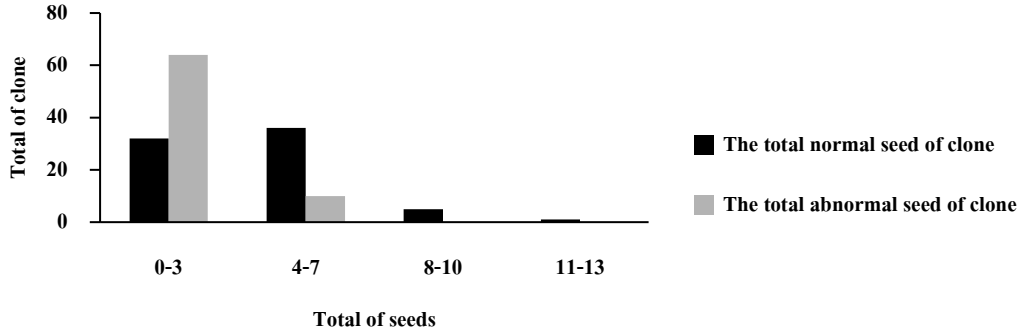


(A) (B)

ภาพที่ 5 จำนวนสายต้นของน้ำหนักเนื้อ (A) และความยาวผล (C) ของผลส้มจุก



(A) (B)



(C)

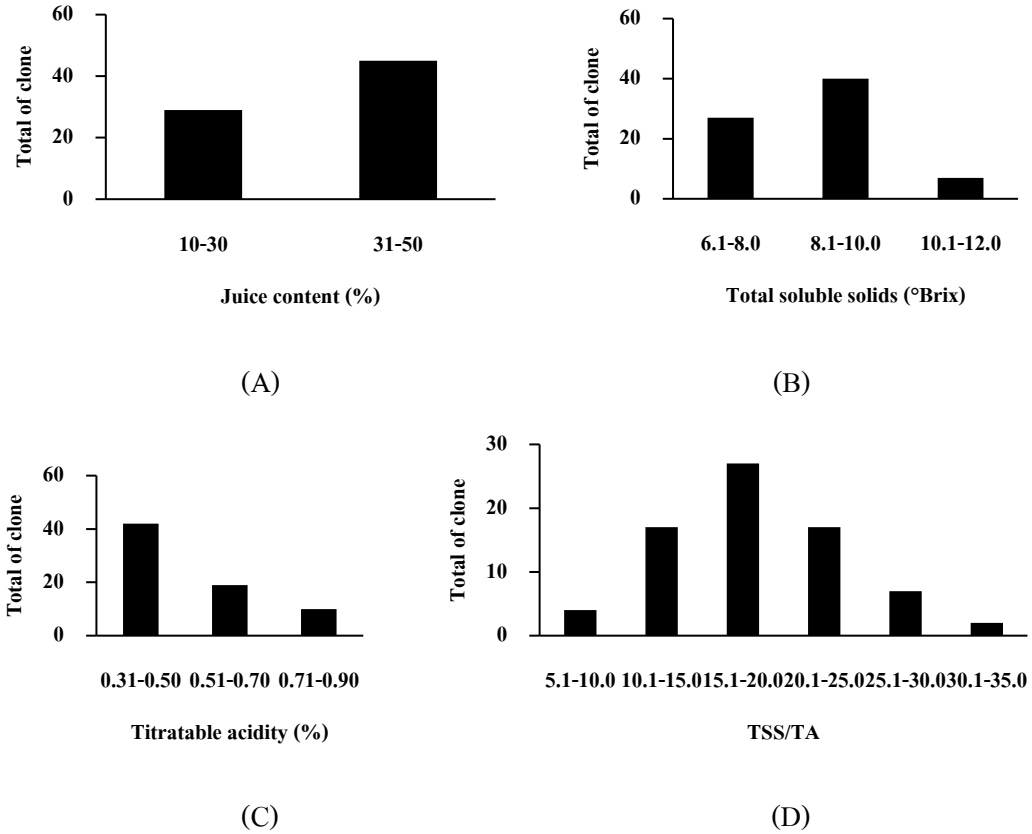
ภาพที่ 6 จำนวนสายต้นของจำนวนเมล็ดทั้งหมดต่อผล (A) ความยาวของเมล็ด (B) เมล็ดที่สมบูรณ์และเมล็ดที่ไม่สมบูรณ์ของเมล็ดส้มจุก (C)

จากการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของส้มจุก ได้แก่ ปริมาณน้ำคั้น ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ และอัตราส่วนปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ต่อปริมาณของกรดที่ไทเทรตได้ พบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ และอัตราส่วนปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ต่อปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 4) โดยพบว่าทั้ง 10 แปลงมีปริมาณน้ำคั้นเฉลี่ยมีค่าอยู่ระหว่าง 27.3-46.0 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสายต้นของส้มจุกส่วนใหญ่มีปริมาณน้ำคั้นอยู่ในช่วง 31-50 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 45 สายต้นจาก 74 สายต้น รองลงมามีปริมาณน้ำคั้นอยู่ในช่วง 10-30 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 29 สายต้นจาก 74 สายต้น (ภาพที่ 9A)

ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้เฉลี่ยมีค่าอยู่ระหว่าง 6.6-10.2 องศาบริกซ์ (ตารางที่ 4) ซึ่งสายต้นของส้มจุกส่วนใหญ่มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้อยู่ในช่วง 8.1-10.0 องศาบริกซ์ จำนวน 40 สายต้นคิดเป็น 54 เปอร์เซ็นต์จากสายต้นทั้งหมด รองลงมามีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้อยู่ในช่วง 6.1-8.0 องศาบริกซ์ จำนวน 27 สายต้นคิดเป็น 36 เปอร์เซ็นต์จากสายต้นทั้งหมด (ภาพที่ 9B)

ปริมาณของกรดที่ไทเทรตได้มีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0.4-0.8 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4) ซึ่งสายต้นของส้มจุกส่วนใหญ่มีปริมาณของกรดที่ไทเทรตได้อยู่ในช่วง 0-0.50 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 45 สายต้นจาก 74 สายต้น รองลงมามีปริมาณของกรดที่ไทเทรตได้อยู่ในช่วง 0.51-1.00 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 25 สายต้นจาก 74 สายต้น (ภาพที่ 9C)

อัตราส่วนปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ต่อปริมาณกรดที่ไทเทรตได้เฉลี่ยในแต่ละแปลงมีค่าอยู่ระหว่าง 11.7-23.0 (ตารางที่ 4) ซึ่งสายต้นของส้มจุกส่วนใหญ่มีอัตราส่วนปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ต่อปริมาณกรดที่ไทเทรตได้อยู่ในช่วง 15.1-20 จำนวน 27 สายต้นจาก 74 สายต้น รองลงมามีอัตราส่วนปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ต่อปริมาณกรดที่ไทเทรตได้อยู่ในช่วง 10.1-15.0 และ 20.1-25.0 จำนวน 17 สายต้นในแต่ละช่วงจาก 74 สายต้น (ภาพที่ 9D)



ภาพที่ 9 จำนวนสายต้นของปริมาณน้ำคั้น (A) ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (B) ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (C) และอัตราส่วนระหว่างปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ต่อปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ของผลส้มจุก (D)

ตารางที่ 4 คุณภาพผลส้มจุก ได้แก่ ปริมาณน้ำคั้น ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (TA) และอัตราส่วนระหว่างปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ต่อปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (TSS/TA) ของส้มจุกจำนวน 10 แปลง

Orchards no.	Juice content (%)	Total Soluble Solids (°Brix)	Titratable acidity (%)	TSS/TA
1	42.88	7.7±0.64ab	0.5±0.14ab	17.3±4.23ab
2	42.29	8.0±2.20ab	0.4±0.07b	23.1±4.09ab
3	46.00	8.1±0.17ab	0.5±0.18ab	16.0±4.56ab
4	39.45	9.5±0.91ab	0.5±0.08ab	21.7±5.57ab
5	30.26	10.2±0.70a	0.5±0.10ab	23.6±5.95a
6	39.45	9.1±0.07ab	0.4±0.18b	26.5±12.29ab
15	26.96	9.5±0.81ab	0.4±0.11b	23.4±7.63ab
18	27.31	7.5±0.45ab	0.5±0.14ab	17.4±4.35ab
19	29.10	8.5±1.17ab	0.6±0.28ab	16.8±8.32ab
20	31.28	6.6±1.74b	0.8±0.22a	11.7±2.96b
F-test	ns	*	*	*
CV (%)	12.04	3.02	20.60	14.55

หมายเหตุ *= แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P≤0.05)

การศึกษาความหลากหลายของส้มจุกโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี

1.การคัดเลือกไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันในส้มจุกโดยปฏิกิริยาพีซีอาร์

ทำการทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาไพรเมอร์ที่สามารถแยกความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอในส้มจุก โดยสุ่มใช้ตัวอย่างส้มจุก 4 ตัวอย่าง โดยทดสอบกับไพรเมอร์ขนาด 10 เบส จำนวน 42 ไพรเมอร์ นำมาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบสุ่มด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ จากการทดลอง พบว่ามีไพรเมอร์ที่ให้ความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอจำนวน 29 ไพรเมอร์ ไพรเมอร์ที่ให้รูปแบบดีเอ็นเอไม่แตกต่างจำนวน 13 ไพรเมอร์ (ตารางที่ 5) จากจำนวนที่ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันข้างต้น นำมาทดสอบ

ครั้งที่สอง โดยคัดเลือกไพรเมอร์ที่ชัดเจนที่สุดจำนวน 15 ไพรเมอร์ โดยเพิ่มจำนวนตัวอย่างส้มจุกเป็น 8 ตัวอย่าง

จากไพรเมอร์ทั้ง 15 ไพรเมอร์ ที่ให้ความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอ พบว่าไพรเมอร์ที่ให้ผลที่ชัดเจนที่สุดจำนวน 5 ไพรเมอร์คือ OPA-10, OPA-12, OPA-18, OPB-01 และ OPZ 11 นำมาทดสอบกับตัวอย่างดีเอ็นเอส้มจุก รวมทั้งหมด 95 ตัวอย่าง จากการทดสอบพบว่าให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 50 แถบ เฉลี่ย 10 แถบต่อไพรเมอร์ เป็นแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดต่างกันจำนวน 49 แถบคิดเป็น 98 เปอร์เซ็นต์ และเป็นแถบดีเอ็นเอที่ไม่มีความแตกต่างกัน1 แถบคิดเป็น 2 เปอร์เซ็นต์ ไพรเมอร์ OPA-12 มีจำนวนแถบดีเอ็นเอสูงที่สุด จำนวน 13 แถบ และไพรเมอร์ OPA-18 มีจำนวนแถบน้อยสุด 8 แถบ (ตารางที่ 6)

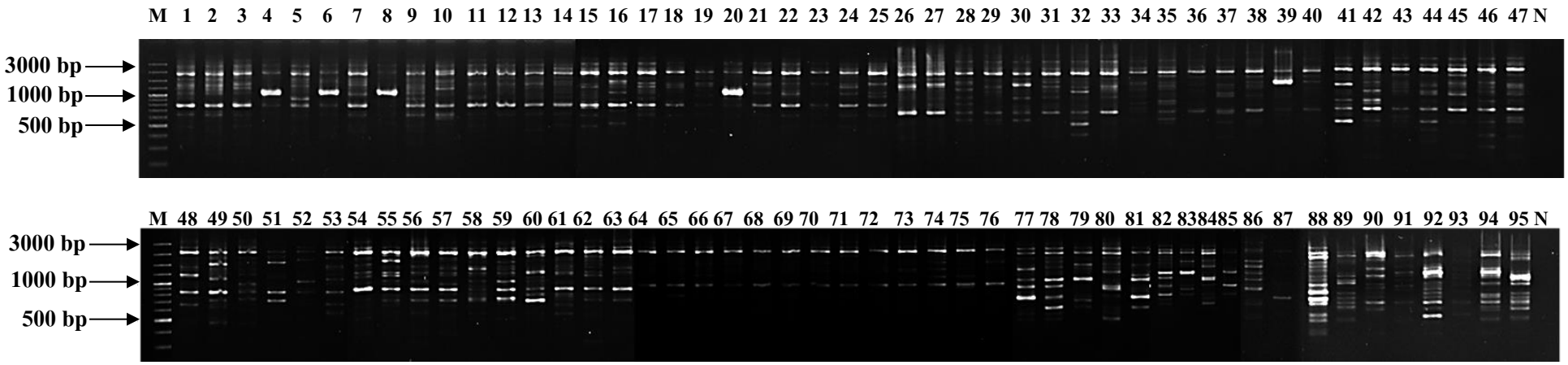
ตารางที่ 5 รูปแบบแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการคัดเลือกไพรเมอร์จำนวน 42 ไพรเมอร์ จำนวน 4 ตัวอย่าง

DNA patterns	No. of primer	Percent (%)
Polymorphic	29	69.05
Monomorphic	13	30.95
Total	42	

ตารางที่ 6 ชนิดของไพรเมอร์ที่คัดเลือกลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอเหมือนกันและจำนวนแถบดีเอ็นเอที่ต่างกันจากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดีในส้มจุก

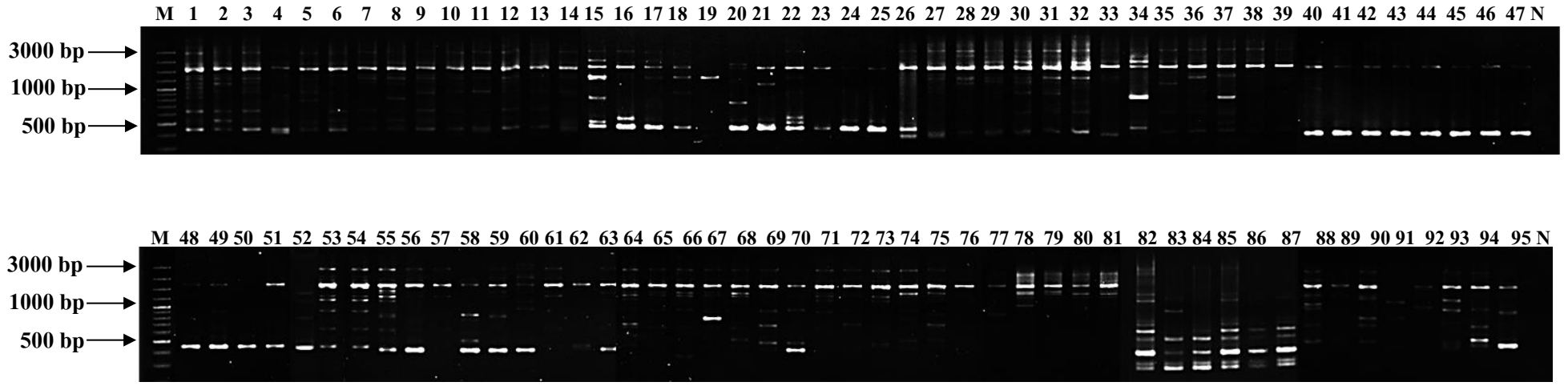
Primer	Sequence (5' > 3')	Amplified fragments	Monomorphic fragments	Polymorphic fragments	Percent polymorphism
OPA-10	GTGATCGCAG	10	0	10	100
OPA-12	TCGGCGATAG	13	0	13	100
OPA-18	AGGTGACCGT	5	0	5	100
OPB-01	GTTTCGCTCC	12	1	11	92.31
OPZ-11	CTCAGTCGCA	10	0	10	100
Total		50	1	49	

รูปแบบดีเอ็นเอที่ได้จากการทำอาร์เอพีดี แต่ละไพรเมอร์มีความแตกต่างกันในส้มจุก โดยไพรเมอร์ OPA-10 ให้แถบดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ทั้งหมด 10 แถบ เป็นแถบที่ให้ความแตกต่างจำนวน 10 แถบ (ภาพที่ 7) ไพรเมอร์ OPA-12 ให้แถบดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ 13 แถบ เป็นแถบที่ให้ความแตกต่างจำนวน 13 แถบ (ภาพที่ 8) ไพรเมอร์ OPA-18 ให้แถบดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ 8 แถบ เป็นแถบที่ให้ความแตกต่างจำนวน 5 แถบ (ภาพที่ 9) ไพรเมอร์ OPB-01 ให้แถบดีเอ็นเอที่เพิ่มขึ้นทั้งหมด 12 แถบ เป็นแถบที่มีความแตกต่างจำนวน 11 แถบ (ภาพที่ 10) ไพรเมอร์ OPZ-11 ให้แถบดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ 10 แถบ เป็นแถบที่มีความแตกต่างจำนวน 10 แถบ (ภาพที่ 11)



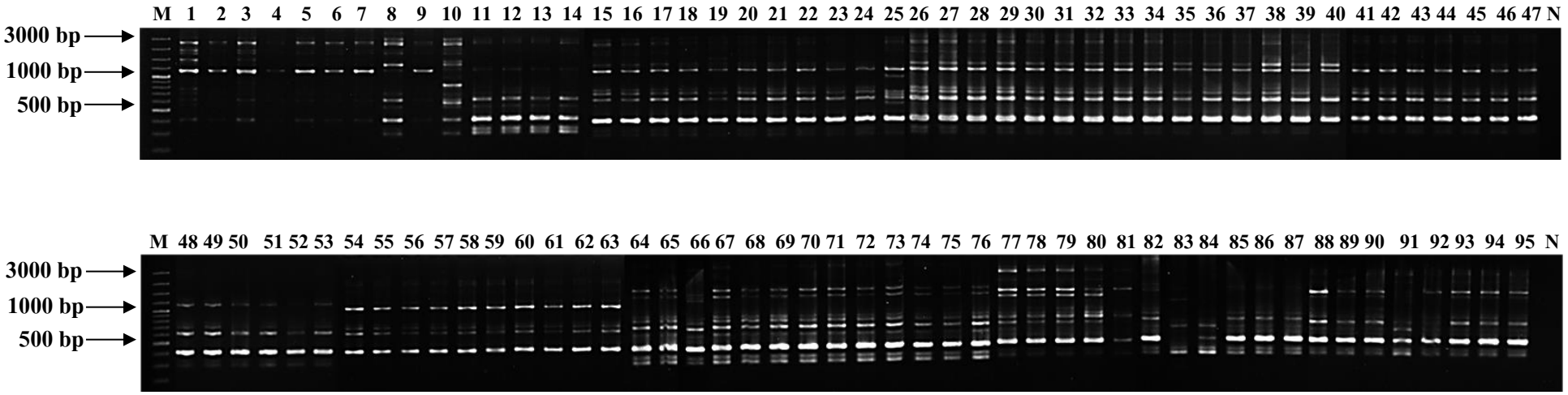
ภาพที่ 7 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างส้มจุก แปลงที่ 1 (lane 1-10), แปลงที่ 2 (lane 11-14), แปลงที่ 3 (lane 15-19), แปลงที่ 4 (lane 20-25), แปลงที่ 5 (lane 26-35), แปลงที่ 6 (lane 36-37), แปลงที่ 7 (lane 38-39), แปลงที่ 8 (lane 40), แปลงที่ 9 (lane 41-47), แปลงที่ 10 (lane 48), แปลงที่ 11 (lane 49), แปลงที่ 12 (lane 50), แปลงที่ 13 (lane 51), แปลงที่ 14 (lane 52-53), แปลงที่ 15 (lane 54-63), แปลงที่ 16 (lane 64-71), แปลงที่ 17 (lane 72-76), แปลงที่ 18 (lane 77-81), แปลงที่ 19 (lane 82-87), แปลงที่ 20 (lane 88-95) จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPA-10

M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



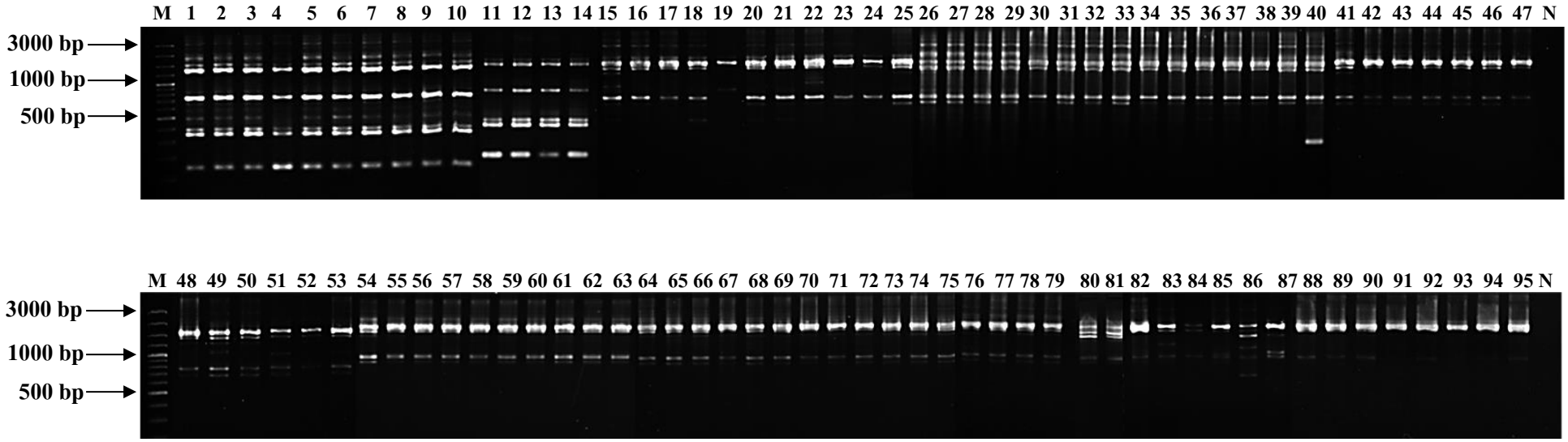
ภาพที่ 8 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างส้มจุก แปลงที่ 1 (lane 1-10), แปลงที่ 2 (lane 11-14), แปลงที่ 3 (lane 15-19), แปลงที่ 4 (lane 20-25), แปลงที่ 5 (lane26-35), แปลงที่ 6 (lane 36-37), แปลงที่ 7 (lane 38-39), แปลงที่ 8 (lane 40), แปลงที่ 9 (lane 41-47), แปลงที่ 10 (lane 48), แปลงที่ 11(lane 49), แปลงที่ 12 (lane 50), แปลงที่ 13 (lane 51), แปลงที่ 14 (lane 52-53), แปลงที่ 15 (lane 54-63), แปลงที่ 16 (lane 64-71), แปลงที่ 17 (lane 72-76), แปลงที่ 18 (lane 77-81), แปลงที่ 19 (lane 82-87), แปลงที่ 20 (lane 88-95) จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPA-12

M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



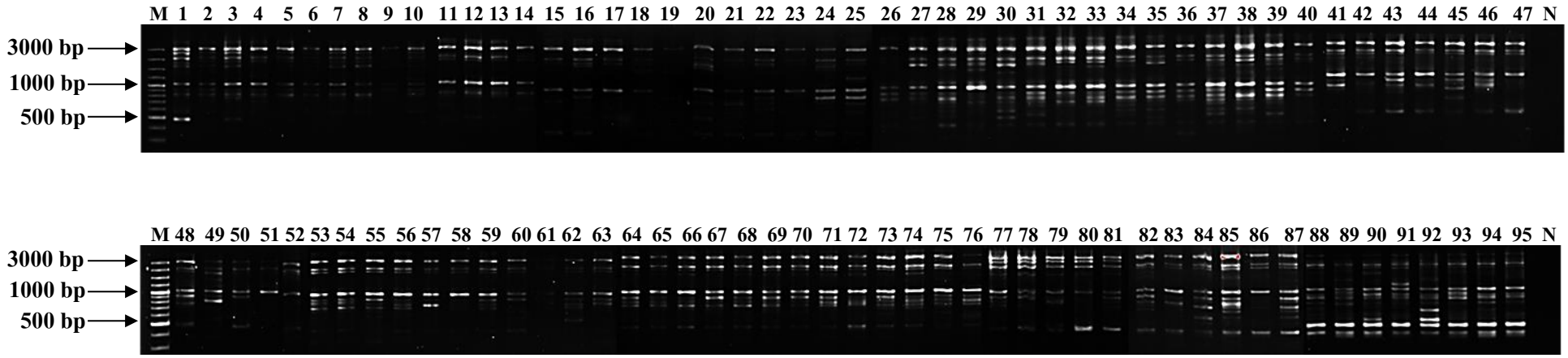
ภาพที่ 9 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างส้มจุก แปลงที่ 1 (lane 1-10), แปลงที่ 2 (lane 11-14), แปลงที่ 3 (lane 15-19), แปลงที่ 4 (lane 20-25), แปลงที่ 5 (lane26-35), แปลงที่ 6 (lane 36-37), แปลงที่ 7 (lane 38-39), แปลงที่ 8 (lane 40), แปลงที่ 9 (lane 41-47), แปลงที่ 10 (lane 48), แปลงที่ 11 (lane 49), แปลงที่ 12 (lane 50), แปลงที่ 13 (lane 51), แปลงที่ 14 (lane 52-53), แปลงที่ 15 (lane 54-63), แปลงที่ 16 (lane 64-71), แปลงที่ 17 (lane 72-76), แปลงที่ 18 (lane 77-81), แปลงที่ 19 (lane 82-87), แปลงที่ 20 (lane 88-95) จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPA-18

M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



ภาพที่ 10 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างส้มจุก แปลงที่ 1 (lane 1-10), แปลงที่ 2 (lane 11-14), แปลงที่ 3 (lane 15-19), แปลงที่ 4 (lane 20-25), แปลงที่ 5 (lane 26-35), แปลงที่ 6 (lane 36-37), แปลงที่ 7 (lane 38-39), แปลงที่ 8 (lane 40), แปลงที่ 9 (lane 41-47), แปลงที่ 10 (lane 48), แปลงที่ 11 (lane 49), แปลงที่ 12 (lane 50), แปลงที่ 13 (lane 51), แปลงที่ 14 (lane 52-53), แปลงที่ 15 (lane 54-63), แปลงที่ 16 (lane 64-71), แปลงที่ 17 (lane 72-76), แปลงที่ 18 (lane 77-81), แปลงที่ 19 (lane 82-87), แปลงที่ 20 (lane 88-95) จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPB-01

M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



ภาพที่ 11 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างส้มจุก แปลงที่ 1 (lane 1-10), แปลงที่ 2 (lane 11-14), แปลงที่ 3 (lane 15-19), แปลงที่ 4 (lane 20-25), แปลงที่ 5 (lane 26-35), แปลงที่ 6 (lane 36-37), แปลงที่ 7 (lane 38-39), แปลงที่ 8 (lane 40), แปลงที่ 9 (lane 41-47), แปลงที่ 10 (lane 48), แปลงที่ 11(lane 49), แปลงที่ 12 (lane 50), แปลงที่ 13 (lane 51), แปลงที่ 14 (lane 52-53), แปลงที่ 15 (lane 54-63), แปลงที่ 16 (lane 64-71), แปลงที่ 17 (lane 72-76), แปลงที่ 18 (lane 77-81), แปลงที่ 19 (lane 82-87), แปลงที่ 20 (lane 88-95) จากเทคนิคอาร์เอพีดี เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPZ-11

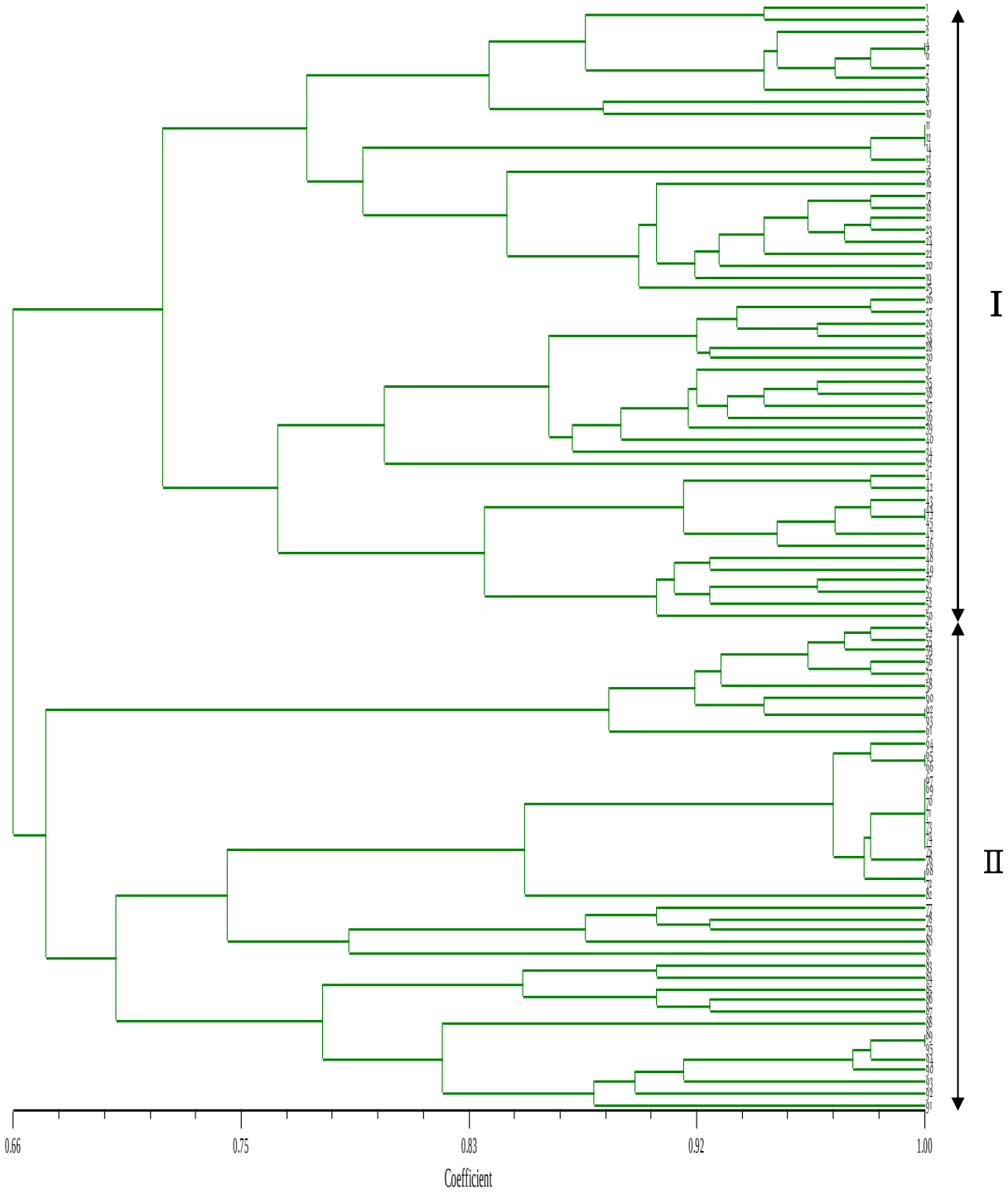
M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส

2. การวิเคราะห์ความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของส้มจุก

จากการศึกษาความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของส้มจุกทั้ง 95 ตัวอย่าง จากจำนวน 20 แปลง รวบรวมจากพื้นที่บางส่วนในจังหวัดสงขลา ตรัง และสุราษฎร์ธานีทางภาคใต้ของประเทศไทย โดยใช้แถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดีทั้งหมด 50 แถบ นำมาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมด้วยการวิเคราะห์ UPGMA cluster analysis หาค่า similarity coefficient ของ Jaccard โดยโปรแกรม NTSYS พบว่าตัวอย่างทั้งหมด มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.48-0.98 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.73 โดยตัวอย่างที่ 2-3 ในแปลงที่ 1 เก็บตัวอย่างจากอำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมากที่สุด (0.98) ตัวอย่างที่ 94 และ 95 ซึ่งทำการเก็บในแปลงเดียวกัน ในพื้นที่อำเภอเทพา จังหวัดสงขลา ในแปลงที่ 20 พบว่ามีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมน้อยที่สุด (0.48) และสามารถจัดกลุ่มตามความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมได้เป็น 2 กลุ่ม (ภาพที่ 12) ดังนี้

กลุ่มที่ 1 มีทั้งหมด 14 แปลง ประกอบด้วยแปลงที่ 1-14 โดยแปลงที่ 1 มีจำนวน 10 ตัวอย่าง คิดเป็น 10.53 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนตัวอย่างส้มจุกทั้งหมด แปลงที่ 2 มีจำนวน 4 ตัวอย่าง คิดเป็น 4.21 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนตัวอย่างส้มจุกทั้งหมด แปลงที่ 3 มีจำนวน 5 ตัวอย่าง คิดเป็น 5.26 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนตัวอย่างส้มจุกทั้งหมด และแปลงที่ 4 มีจำนวน 6 ตัวอย่าง คิดเป็น 6.32 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนตัวอย่างส้มจุกทั้งหมด แปลงที่ 5 มีจำนวน 10 ตัวอย่าง คิดเป็น 10.53 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนตัวอย่างส้มจุกทั้งหมด แปลงที่ 6-7 และ 14 มีจำนวนแปลงละ 2 ตัวอย่าง คิดเป็น 2.11 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนส้มจุกทั้งหมด แปลงที่ 8 และ 10-13 มีจำนวนแปลงละ 1 ตัวอย่าง คิดเป็น 1.05 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนส้มจุกทั้งหมด และแปลงที่ 9 มีจำนวน 7 ตัวอย่าง คิดเป็น 7.37 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนส้มจุกทั้งหมด

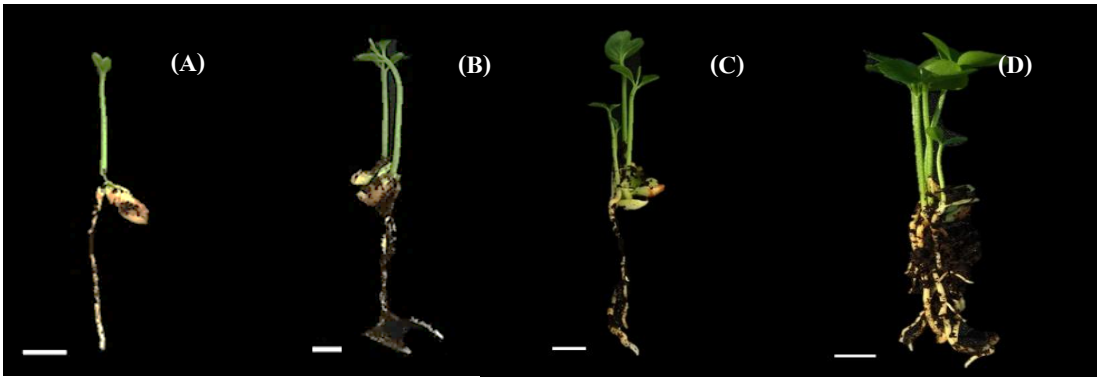
กลุ่มที่ 2 มีทั้งหมด 6 แปลง ประกอบด้วยแปลงที่ 15-20 โดยแปลงที่ 15 มีจำนวน 10 ตัวอย่าง คิดเป็น 10.53 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนตัวอย่างส้มจุกทั้งหมด แปลงที่ 16 มีจำนวน 8 ตัวอย่าง คิดเป็น 8.42 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนส้มจุกทั้งหมด แปลงที่ 17-18 มีจำนวนแปลงละ 5 ตัวอย่าง คิดเป็น 5.26 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนตัวอย่างส้มจุก แปลงที่ 19 มีจำนวน 6 ตัวอย่าง คิดเป็น 6.32 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนตัวอย่างส้มจุกทั้งหมด และแปลงที่ 20 มีจำนวน 8 ตัวอย่าง คิดเป็น 8.42 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนตัวอย่างส้มจุกทั้งหมด



ภาพที่ 12 เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ของส้มจุกจำนวน 95 ตัวอย่าง จากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดีด้วยไพรเมอร์จำนวน 5 ไพรเมอร์

การศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมของต้นกล้าส้มจุกที่ได้จากการเพาะเมล็ด

ทำการศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมของต้นกล้าส้มจุกดังตารางที่ 7 พบว่าเมล็ดที่เพาะทั้งหมด 109 เมล็ด มีเมล็ดที่งอกจำนวน 87 เมล็ด คิดเป็น 79.8 เปอร์เซ็นต์ของเมล็ดที่งอกทั้งหมด เปอร์เซ็นต์ความงอกในตัวอย่าง B มีค่าสูงที่สุดคือ 64.5 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือตัวอย่าง F, A, D, E และ C ตามลำดับ ตัวอย่าง C มีเปอร์เซ็นต์ความงอกน้อยที่สุดคือ 20.0 เปอร์เซ็นต์ จำนวนเมล็ดที่งอกเป็นต้นกล้ามีทั้งหมด 4 แบบ คือจำนวน 1 ต้นกล้าต่อหนึ่งเมล็ด, 2 ต้นกล้าต่อหนึ่งเมล็ด, 3 ต้นกล้าต่อหนึ่งเมล็ด และ 4 ต้นกล้าต่อหนึ่งเมล็ด ดังแสดงในภาพที่ 13 เมล็ดที่งอก 1 ต้นกล้ามีทั้งหมด 50 เมล็ดคิดเป็น 57.5 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดที่งอก 2 ต้นกล้ามีทั้งหมด 34 เมล็ดคิดเป็น 39.1 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดที่งอก 3 ต้นกล้ามีทั้งหมด 5 เมล็ด คิดเป็น 5.7 เปอร์เซ็นต์ และเมล็ดที่งอก 4 ต้นกล้ามี 1 เมล็ด คิดเป็น 1.1 เปอร์เซ็นต์จากต้นแม่ ตัวอย่าง B มีเปอร์เซ็นต์โพลีเอมบริโอนีสูงที่สุดคือ 64.5 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ 40.0, 37.5, 30.0, 25.0 และ 20.0 ตามลำดับ โดยพบว่าเมล็ดที่มีการงอกของต้นกล้า 1 ต้น มีการเจริญเติบโตที่แข็งแรงที่สุด สำหรับเมล็ดที่มีการงอกของต้นกล้า 4 ต้น จะเริ่มมีการเจริญเติบโตไม่พร้อมกัน ในระยะเวลา 5 เดือนต้นกล้าต้นเล็กจะเริ่มตายจนเหลือจำนวนต้นกล้า 2 ต้น



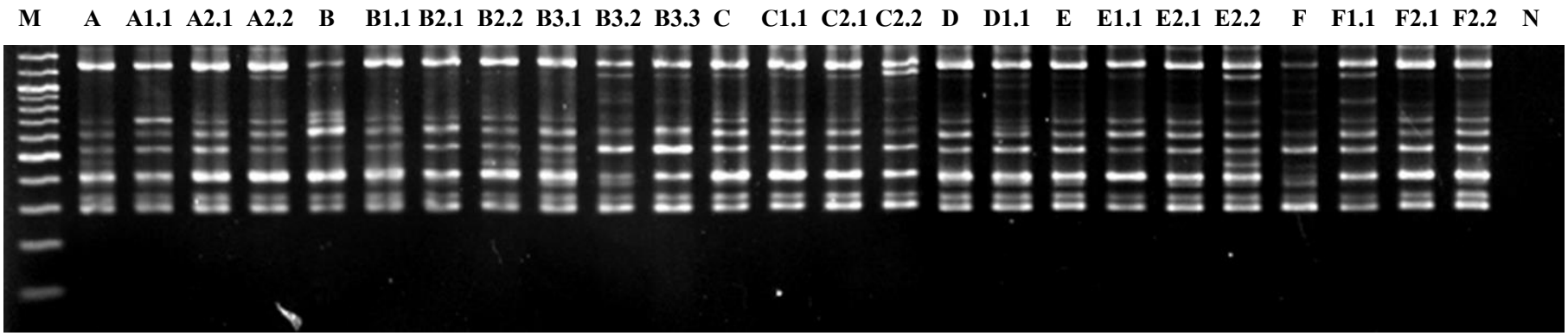
ภาพที่ 13 จำนวนต้นกล้าที่งอกจากหนึ่งเมล็ด ได้แก่ จำนวน 1 ต้นกล้า (A) 2 ต้นกล้า (B) 3 ต้นกล้า (C) และ 4 ต้นกล้า (D) (บาร์ = 1 เซนติเมตร)

ตารางที่ 7 จำนวนเมล็ดที่เพาะทั้งหมด จำนวนเมล็ดที่งอกเป็นต้นกล้า จำนวนต้นกล้าต่อเมล็ด และจำนวนโพลีเอมบริโอนีของเมล็ดส้มจุกจากตัวอย่างต้นแม่จำนวน 6 ต้น

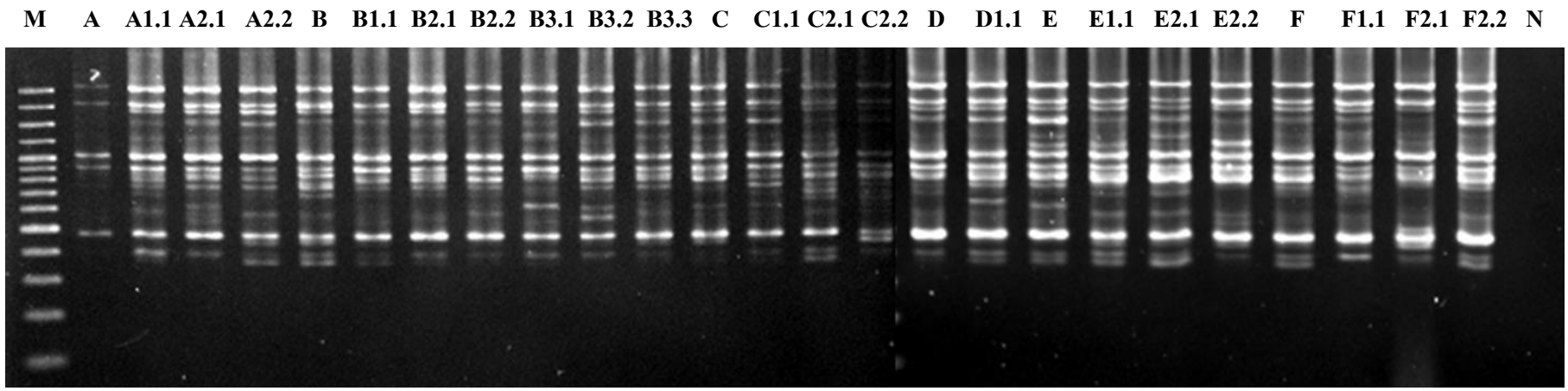
Samples	No. of Seeds	No. of Germination	Germination (%)	No. of seedlings/seed				No. of polyembryony	Polyembryony (%)
				1	2	3	4		
A	17	8	47.1	5	5		1	3	37.5
B	35	31	88.6	11	17	3		20	64.5
C	17	15	88.2	12	2	1		3	20.0
D	14	10	71.4	7	2	1		3	30.0
E	9	8	88.9	6	2			2	25.0
F	17	15	88.2	9	6			6	40.0
Total	109	87	79.8	50	34	5	1	37	42.5

การเจริญเติบโตของต้นกล้าหลังจากเพาะเมล็ดในตารางผนวกที่ 1 พบว่าต้นกล้ามีการเจริญเติบโตที่เพิ่มขึ้น ในตัวอย่าง E ระยะเวลา 5 เดือน มีการเจริญเติบโตสูงถึง 20 เซนติเมตร เมื่อเทียบกับตัวอย่างต้นกล้าอื่น ต้นกล้าที่มีการงอก 1 ต้นจากหนึ่งเมล็ดมีขนาดลำต้นและจำนวนใบที่มีการเจริญเติบโตแข็งแรงที่สุด

หลังจากนำใบจากต้นกล้าที่เกิดจากการเพาะเมล็ดมาสกัดดีเอ็นเอ และทำพีซีอาร์ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี โดยการคัดเลือกไพรเมอร์ที่สามารถเห็นแถบได้ชัดเจนจำนวน 2 ไพรเมอร์คือ OPA-18 และ OPZ-11 จากการทดสอบ พบว่าให้แถบดีเอ็นเอในภาพที่ 14 และ 15 แถบดีเอ็นเอจากต้นกล้าเปรียบเทียบกับต้นแม่ พบว่ามีลักษณะแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกันในบางต้น ซึ่งตามทฤษฎี ลักษณะต้นกล้าที่เป็นแบบไซโกติกจะมีแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกับแถบดีเอ็นเอของต้นแม่ และต้นกล้าที่เป็นแบบนิวเซลลัส จะมีแถบดีเอ็นเอที่เหมือนต้นแม่ ยกตัวอย่างเช่น ต้นกล้า A2.1 กับ A2.2 ในไพรเมอร์ OPA-18 และ OPZ-11 และตัวอย่างต้นกล้าที่ E2.1 กับ E2.2 ในไพรเมอร์ OPZ-11 แสดงแถบดีเอ็นเอของต้นกล้าทั้งสองต่างกันซึ่งเกิดจากเมล็ดเดียวกัน และมีแถบดีเอ็นเอในตัวอย่าง C2.1 และ C2.2 ในไพรเมอร์ OPZ-11



ภาพที่ 14 แถบดีเอ็นเอเปรียบเทียบระหว่างต้นกล้ากับต้นแม่จำนวน 6 ตัวอย่าง โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดีด้วยไพรเมอร์ OPA-18



ภาพที่ 15 แสดงแถบดีเอ็นเอเปรียบเทียบระหว่างต้นกล้ากับต้นแม่จำนวน 6 ตัวอย่าง โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดีด้วยไพรเมอร์ OPZ-11

บทที่ 4
วิจารณ์

1. การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและคุณภาพผลของส้มจุก

จากการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและคุณภาพผลในกลุ่มของส้มจุก โดยเก็บรวบรวมตัวอย่างจากพื้นที่ทางภาคใต้ของประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดสงขลา ตรัง และสุราษฎร์ธานี พบว่าลักษณะทางกายภาพของส้มจุกแต่ละพื้นที่มีลักษณะที่แตกต่างกันค่อนข้างน้อย แต่เมื่อเทียบกับส้มชนิดอื่นที่มีลักษณะคล้ายส้มจุกวางขายในท้องตลาด พบว่ามีความแตกต่างกัน โดยเฉพาะจำนวนเมล็ดที่ได้ โดยน้ำหนักสดของผลส้มจุกมีค่าอยู่ในช่วง 201-250 กรัม น้ำหนักเนื้อผลเฉลี่ยอยู่ในช่วง 125-202 กรัม ความกว้างผลมีค่าอยู่ในช่วง 8.1-10.0 เซนติเมตร และความยาวผลมีค่าอยู่ในช่วง 9.1-12.0 เซนติเมตร ซึ่งความยาวของผลส้มจุกเมื่อเทียบกับส้มชนิดอื่น จะมีลักษณะที่ยาวกว่า เนื่องจากมีขนาดขั้วจุกที่สูง บัณฑิตา (2552) กล่าวว่าส้มในกลุ่ม *Citrus reticulate* Blanco ขนาดของผลมีทั้งขนาดกลางจนถึงใหญ่ เปลือกบาง และเปลือกล่อนปอกง่าย ซึ่งมีความใกล้เคียงกับการทดลองของบุญชนะ และคณะ (2557) ที่พบว่าการเจริญเติบโตของผลจะมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ ในระยะแรกตั้งแต่หลังดอกบาน โดยมีน้ำหนักผลสดเฉลี่ยประมาณ 175.7 กรัม ขนาดของผลจะสัมพันธ์กับน้ำหนักของผล ซึ่งขนาดของผลจะเพิ่มขึ้นตามระยะการสุกแก่ของพืช โดยน้ำหนักของผลจะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเนื่องจากเกิดการสะสมน้ำภายในถุงน้ำ (juice sac) และการที่น้ำหนักผลมีการลดลงเกิดจากกิจกรรมแคแทบอลิซึม (catabolic activity) เป็นการสลายสารโมเลกุลขนาดใหญ่เป็นสารโมเลกุลขนาดเล็กภายในเซลล์ และน้ำภายในผลมีการลดน้อยลง ความหนาแน่นของเนื้อผลจะลดลงตามระยะสุกแก่ที่เพิ่มขึ้น (Rokaya *et al*., 2016) ความยาวของจุกในแต่ละแปลงมีลักษณะที่แตกต่างกัน คือมีลักษณะจุกที่ขนาดสั้น และสูง โดยมีความสูงจุกอยู่ในช่วง 1.01-1.50 เซนติเมตร จากการศึกษาพบว่าแปลงที่ 5 มีการนำส้มโอมาใช้เป็นต้นตอ จะมีความยาวจุกสูงที่สุดคือ 1.3 เซนติเมตร และมีความหนาของเปลือกที่หนากว่าส้มจุกแปลงอื่น 0.5 เซนติเมตร แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับแปลงอื่น โดยสอดคล้องกับงานทดลองของ มงคล และคณะ (2546) ที่ได้จากการประเมินคุณภาพของส้มจุกบนต้นตอ 11 ชนิด ให้คุณภาพผลผลิตที่ไม่แตกต่างกันกับต้นตอชนิดอื่น เส้นผ่านศูนย์กลางของผลอยู่ในช่วง 6.0-8.0 เซนติเมตร ความหนาของเปลือกอยู่ในช่วง

0.21-0.40 เซนติเมตร สำหรับการเปลี่ยนแปลงของเส้นผ่านศูนย์กลาง ความหนาของเปลือก พบว่าเส้นผ่านศูนย์กลางของผลจะเพิ่มขึ้นตามอายุของผล และมีค่าเฉลี่ยสูงสุดเมื่ออายุ 7 เดือนหลังดอกบาน ความหนาของเปลือกจะเพิ่มขึ้นในระยะแรกๆ และจะลดลงตามการเจริญเติบโตของผล (บุญชนะ และคณะ, 2557)

จำนวนเมล็ดทั้งหมดของส้มจุกในแต่ละแปลงมีจำนวนอยู่ในช่วง 5-9 เมล็ด โดยจำนวนเมล็ดที่สมบูรณ์มีจำนวนอยู่ในช่วง 4-7 เมล็ด และจำนวนเมล็ดที่ไม่สมบูรณ์มีจำนวนอยู่ในช่วง 0-3 เมล็ด ซึ่งพบว่าความยาวของเมล็ดที่ยาวที่สุด เกิดจากการที่เมล็ดไม่สมบูรณ์และลีบส่งผลต่อความยาวของเมล็ด และไม่สามารถที่จะนำมาเพาะเมล็ดได้อีก จากการทดลองของ ศรินญา (2551) ได้ทำการตรวจนับและดูลักษณะการติดเมล็ดในส้มจุก พบว่าผลส้มจุกที่เกิดจากการถ่ายละอองเรณูแบบเปิดมีจำนวนเมล็ดที่สมบูรณ์เท่ากับ 1.2 เมล็ดต่อผล ซึ่งเมล็ดที่สมบูรณ์เกิดจากเมล็ดได้รับการปฏิสนธิและมีการพัฒนาของเมล็ด มีส่วนอาหารสะสมของต้นอ่อน เมล็ดลีบเป็นเมล็ดที่ได้รับการปฏิสนธิแต่ไม่มีการพัฒนาของเมล็ดจึงไม่มีส่วนสะสมอาหารในต้นอ่อน และเมล็ดฝ่อคือเมล็ดที่พัฒนาโดยไม่ได้รับการปฏิสนธิ

ลักษณะทางคุณภาพของส้มจุกมีปริมาณน้ำคั้นมีค่าอยู่ในช่วง 31-50 เปอร์เซ็นต์ พบว่าแปลงที่ 3 มีเปอร์เซ็นต์น้ำคั้นมากที่สุด โดยปริมาณของน้ำคั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยโดยทั่วไปที่มีผลต่อระยะสุกแก่ ได้แก่ อายุ สภาพอากาศ การจัดการสวน และพื้นที่เพาะปลูก ปริมาณน้ำคั้นยังเป็นตัวแปรในช่วงการพัฒนาของผล ซึ่งการลดลงของปริมาณน้ำคั้นแสดงให้เห็นถึงการลดลงของคุณภาพผล ในทางกลับกันในช่วงระยะสุกแก่จะมีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย ซึ่งผลที่แสดงถึงความผันผวนเล็กน้อยเกิดจากช่วงเวลาที่ทำการเก็บผลผลิต (Riaz *et al*., 2015) ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้มีค่าอยู่ในช่วง 8.1-10.0 องศาบริกซ์ ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ที่แตกต่างกันเกิดจากจำนวนและตำแหน่งของผลภายในทรงพุ่ม (Riaz *et al*., 2015) สายพันธุ์ ระบบน้ำ และสภาพอากาศ (Antonia *et al*., 2018) ปริมาณของกรดที่ไทเทรตได้มีค่าอยู่ในช่วง 0-0.50 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณของกรดภายในผลส้มจะค่อยๆลดลงเมื่อเริ่มเข้าสู่ระยะสุกแก่ เนื่องจากมีขนาดและปริมาณน้ำคั้นที่ค่อยๆเพิ่มขึ้น โดยส้มแต่ละชนิดจะแตกต่างกันตามสายพันธุ์ อายุ สภาพอากาศ การจัดการสวน และพื้นที่เพาะปลูก (Riaz *et al*., 2015) จากรายงานของสมัคร และพีรพงค์ (2558) ศึกษาปริมาณกรดแอสคอร์บิกในผลไม้ตระกูลส้ม 5 ชนิด คือมะนาวพันธุ์แป้น มะนาวพันธุ์หนัง ส้มโอพันธุ์ทับทิมสยาม ส้มจุก และส้มโชกุน พบว่าปริมาณกรดแอสคอร์บิกในส้มโชกุนมีค่าสูงที่สุด รองลงมาคือส้มจุก ซึ่งส้มทั้ง 2 ชนิดนี้ถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน อัตราส่วนปริมาณของแข็งที่ละลาย

น้ำได้ต่อปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ของส้มจุกในแต่ละแปลงมีค่าอยู่ในช่วง 15.1-20 ซึ่งอัตราส่วนปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ต่อปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ของส้มโดยทั่วไป ควรมีค่า 10-16 (Samson, 1980) ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ จะเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตั้งแต่อายุของผล 4 เดือนหลังดอกบาน เมื่อผลส้มจุกมีอายุ 4-7 เดือนหลังดอกบาน ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้เฉลี่ย 7.9-9.7 องศาบริกซ์ สำหรับปริมาณของกรดที่ไทเทรตได้ จะมีปริมาณลดลงอย่างต่อเนื่องตามอายุของผล และการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ต่อปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ จะค่อยๆเพิ่มขึ้น เมื่อผลอายุ 4-7 เดือนหลังดอกบาน โดยมีอัตราส่วนเฉลี่ย 3.0, 5.2, 14.0 และ 17.4 ตามลำดับ (บุญชนะ, 2557) ดังรายงานของ Riaz และคณะ (2015) กล่าวว่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้เพิ่มขึ้น ทำให้ปริมาณของกรดที่ไทเทรตได้ลดลง และอัตราส่วนระหว่างปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ต่อปริมาณของกรดที่ไทเทรตได้มีค่าเพิ่มขึ้น โดยทั่วไป สีของเปลือก ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ ปริมาณน้ำคั้น ถือเป็นตัวบ่งบอกระยะเวลาเก็บเกี่ยว (Lado *et al*., 2018)

Rokaya และคณะ (2016) รายงานว่าการเพิ่มขึ้นของปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้จะเริ่มต้นเมื่อผลส้มมีอายุ 230 วันหลังจากดอกบาน ซึ่งในช่วงอายุของผล 280 วันหลังดอกบานจะมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้สูงที่สุด เมื่อมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้จะมีการลดลงของปริมาณกรดที่ไทรเทรตได้ อัตราส่วนของปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ต่อปริมาณกรดที่ไทเทรตได้มีความน่าเชื่อถือมากกว่าการสังเกตสีของเปลือกส้มในระยะเก็บเกี่ยว ซึ่งส้ม *Citrus reticulata* มีอัตราส่วนของแข็งที่ละลายน้ำได้ต่อปริมาณกรดที่ไทเทรตได้สูงที่สุดคือ 10.98 และต่ำสุดคือ 9.76 การเพิ่มขึ้นในปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้เกิดจากการสะสมของสารอาหารในผล ส่วนการลดลงของกรดที่ไทเทรตได้เกิดจากการหายใจตามปกติ จะสอดคล้องกับปริมาณวิตามินซีที่ลดลงตามปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ ปัจจัยที่ส่งผลต่อคุณภาพผลส้ม ได้แก่ ปุ๋ย สารควบคุมการเจริญเติบโต ระบบน้ำ ความชื้นในดิน และจำนวนของการติดผล (Ketsa, 1989)

สมยศ และคณะ (2557) พบว่าการจัดการสวนที่ต่างกัน ได้แก่ สวนที่มีการดูแลแบบอินทรีย์ และสวนที่มีการใช้ปุ๋ยและสารเคมีในปริมาณมาก ส่งผลต่อคุณภาพของส้มโอพันธุ์ทองดีที่แตกต่างกัน ทำให้ผลผลิตมีน้ำหนักผลสด ปริมาตรน้ำคั้น และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้มากที่สุดจากสวนที่มีการจัดการแบบเกษตรกรทั่วไป ส่วนสวนที่มีการดูแลแบบอินทรีย์จะมีปริมาณกรดสูงที่สุด ซึ่งส้มจุกของเกษตรกรที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ยส่วนใหญ่จะมีปริมาณกรดที่ไทเทรตได้สูง

2. การศึกษาความหลากหลายของส้มจุกโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี

การจำแนกพันธุ์พืชหากใช้ลักษณะสัณฐานจะทำให้ค่อนข้างยากในพืชบางชนิด เพราะมีลักษณะใกล้เคียงกัน ดังนั้นการใช้เครื่องหมายทางโมเลกุลจึงเป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพในการจำแนกความแตกต่างของสายพันธุ์ มีการใช้เทคนิคอาร์เอพีดีในการจำแนกพันธุ์พืชหลายชนิด เช่น ทุเรียน พืชสกุลส้ม และยางพารา เป็นต้น แม้จะมีรายงานว่าอาร์เอพีดี อาจมีความอ่อนไหวต่อการนำมาใช้หลายครั้งทำให้เกิดความแตกต่าง หรือทำซ้ำแล้วไม่เหมือนเดิม เช่น การใช้เครื่องพีซีอาร์คนละเครื่อง หรือผลละระหว่างห้องปฏิบัติการต่างกัน แม้จะใช้ไพรเมอร์และตัวอย่างชนิดเดียวกัน อีกทั้งอาร์เอพีดีเป็นเครื่องหมายชนิด dominant ไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างโฮโมไซกัสและเฮตเตอโรไซกัสได้ อย่างไรก็ตามหากเราระมัดระวังในการใช้เทคนิคอาร์เอพีดี เช่น เครื่องหมายโมเลกุลชนิดนี้จะเป็นประโยชน์และมีประสิทธิภาพในการจำแนกพันธุ์ได้ดี ค่าใช้จ่ายไม่แพง วิธีการไม่ยุ่งยากมาก ในการศึกษาครั้งนี้จึงเลือกใช้อาร์เอพีดีในการศึกษาพันธุกรรมของส้มจุก โดยไพรเมอร์ที่นำมาทดสอบหาความแตกต่างเบื้องต้นจำนวน 42 ไพรเมอร์ โดยมีการนำไพรเมอร์ที่มีรายงานว่าสามารถจำแนกความแตกต่างระหว่างพืชตระกูลส้มได้อย่างมีประสิทธิภาพ (บัณฑิตา, 2552) ได้แก่ OPA-04 OPAB-05 OPAN-12 และ OPR-04 หลังจากทดสอบเบื้องต้นจึงคัดเลือกไพรเมอร์ได้ 5 ไพรเมอร์ ได้แก่ OPA-10, OPA-12, OPA-18, OPB-01 และ OPZ-11 ที่มีแถบดีเอ็นเอชัดเจน จากแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 50 แถบที่ได้จากเทคนิคอาร์เอพีดี เป็นแถบที่มีขนาดต่างกันจำนวน 49 แถบ คิดเป็น 98 เปอร์เซ็นต์ และ 1 แถบ เป็นแถบดีเอ็นเอที่ไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อนำแถบดีเอ็นเอมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมด้วยวิธีการของ Jaccard ในโปรแกรม NTSYS ผลการแสดงความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของส้มจุกทั้ง 95 ตัวอย่าง อยู่ในช่วง 0.48-0.98 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.73 สามารถจัดกลุ่มตามความใกล้ชิดทางพันธุกรรมได้เป็น 2 กลุ่ม โดยแต่ละกลุ่มเป็นตัวอย่างในพื้นที่ใกล้เคียงกัน ส่วนส้มจุกจากจังหวัดตรัง และสุราษฎร์ธานี ถูกจัดอยู่ในกลุ่มพื้นที่เดียวกันกับพื้นที่จังหวัดสงขลา จากการสอบถามเกษตรกรพบว่าท่อนพันธุ์ที่นำมาปลูกมาจากอำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา โดยค่าความใกล้ชิดทางพันธุกรรมที่ต่ำสุดคือ 0.48 ซึ่งมีเพียงหนึ่งสวน อาจจะเนื่องจากเกษตรกรนำเมล็ดมาเพาะ สอดคล้องกับการทดลองของ บัณฑิตา (2552) ได้ทำการศึกษาความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของพืชสกุลส้มทั้ง 10 ชนิด ในพื้นที่ทางภาคใต้ โดยใช้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 109 แถบ จำนวน 7 ไพรเมอร์ โดยมีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.52-0.98 ส้มจุกทั้ง 11 ตัวอย่าง ถูกจัดอยู่ในกลุ่มที่ 3 ทั้งหมด คิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ของ

ตัวอย่าง มีค่าความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.74-0.88 และมีแถบดีเอ็นเอของส้มจุกที่มีความแตกต่างกันน้อย จากการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของส้มจุกในภาคใต้ครั้งนี้ได้นำไพรเมอร์ OPA-04 OPAB-05 OPAN-12 และ OPR-04 มาทดสอบไพรเมอร์ พบว่าแถบดีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างส้มจุกมีลักษณะที่ไม่มีความแตกต่างกันมาก

จากผลการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของส้มจุกในภาคใต้มีความหลากหลายปานกลาง เนื่องจากเกษตรกรมีการขยายพันธุ์ทั้งโดยใช้กิ่งตอนและเมล็ด แต่พบว่ากลุ่มส้มจุกที่ขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ดมีความแปรปรวนค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับแปลงที่มีการขยายพันธุ์โดยใช้กิ่งตอนโดยมีค่าความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ที่ 0.48 จึงส่งผลให้ความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ในช่วงปานกลาง ปัจจุบันเกษตรกรเริ่มมีการนำเมล็ดมาขยายพันธุ์มากขึ้น เนื่องจากการขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ดจะทำให้ระบบรากแข็งแรง ด้วยเหตุผลดังกล่าวอาจจะส่งผลต่อความไม่สม่ำเสมอของลักษณะของส้มจุก จึงควรที่จะมีการตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมของต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ดต่อไป

3. การศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมของต้นกล้าส้มจุกที่ได้จากการเพาะเมล็ด

เมล็ดส้มมีลักษณะและขนาดแตกต่างกันแล้วแต่ชนิดและพันธุ์ เมล็ดของส้มหลายชนิดมีลักษณะเช่นเดียวกับมะม่วง และมังคุด เมื่อนำไปเพาะจะให้ต้นกล้าจำนวนหลายต้น เรียกลักษณะเช่นนี้ว่า โพลีเอมบริโอนี โพลีเอมบริโอนีของส้มจัดอยู่ในลักษณะอะโพมิกซิสชนิด facultative apomixis ซึ่งเป็นอะโพมิกซิสไม่แท้ โดยมีการพัฒนาของเอมบริโอจากบริเวณนิวเซลลัส (nucellar embryo) โดยเกิดขึ้นพร้อมกันในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งมีการพัฒนาเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้นอ่อน โดยมีการพัฒนาเป็นอาหารเลี้ยงในเมล็ด ต้นกล้าที่ได้จะมีลักษณะเหมือนต้นแม่ ส่วนโมโนเอมบริโอนีให้ต้นกล้า 1 ต้นต่อเมล็ด มักเป็นเอมบริโอที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างไข่และสเปิร์ม หรือเกิดจากการเจริญเติบโตของไซโกท (zygotic embryo) ซึ่งต้นกล้าชนิดนี้ทำให้การขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดเกิดความแปรปรวนได้ ในการศึกษานี้จึงนำเมล็ดส้มจุกจากต้นแม่มาเพาะเพื่อศึกษาความปแรปรวนทางพันธุกรรมที่อาจเกิดขึ้นได้จากการเพาะเมล็ด และเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตของต้นกล้า เมล็ดที่งอกคิดเป็น 81.7 เปอร์เซ็นต์ของเมล็ดที่งอกทั้งหมด ลักษณะการงอกของต้นกล้ามี 4 แบบ คือจำนวนต้นกล้า 1, 2, 3 และ 4 ต้นต่อหนึ่งเมล็ด ปัจจัยที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดโพลีเอมบริโอนี และจำนวนเอ็มบริโอต่อเมล็ด ได้แก่ การปฏิสนธิ การพัฒนาของเมล็ด ปริมาณของละออง

เกสร ธาตุอาหารของพืช อุณหภูมิ สภาพอากาศ ความชื้นในดิน และความเร็วลม (Rodriguez *et al*., 2004) การเจริญเติบโตของต้นกล้าหลังจากเพาะเมล็ด พบว่าต้นกล้ามีการเจริญเติบโตทางด้านความสูง ขนาดลำต้น และจำนวนใบที่เพิ่มขึ้น ต้นกล้าที่มีการงอก 1 ต้นจากหนึ่งเมล็ดจะมีลักษณะที่แข็งแรงกว่าเมล็ดที่มีการงอกหลายต้น อาจเนื่องมาจากได้รับสารอาหารในเมล็ดที่เพียงพอและไม่ได้มีการแข่งขันกันของต้นกล้า

หลังจากนั้นนำใบจากต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ดมาสกัดดีเอ็นเอ และทำพีซีอาร์ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี โดยคัดเลือกไพรเมอร์ที่สามารถเห็นแถบได้ชัดเจนจำนวน 2 ไพรเมอร์คือ OPA-18 และ OPZ-11 พบว่ามีบางเมล็ดที่แสดงแถบดีเอ็นเอต่างไปจากต้นแม่ และบางต้นกล้ามีแถบดีเอ็นเอเหมือนต้นแม่ อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ใช้ไพรเมอร์เพียงสองชนิดจึงไม่สามารถจำแนกต้นกล้าได้ชัดเจนว่าเป็นต้นกล้านิวเซลลัส หรือต้นกล้าแบบไซโกติก แต่จากการศึกษาสามารถบอกได้ว่าต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ดมีความแปรปรวนเกิดขึ้น เนื่องจากมีแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างจากต้นแม่ สอดคล้องกับการศึกษาของ Mansyah และคณะ (2008) ที่ใช้เทคนิคอาร์เอพีดีศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของมังคุดซึ่งเป็นพืชที่มีลักษณะอะโพมิกซิสเช่นกัน พบว่าแถบดีเอ็นเอของต้นแม่ และต้นกล้าจากการเพาะเมล็ดของรุ่นลูก มีความแตกต่างกัน และต้นลูกบางต้น รวมทั้งพบความแตกต่างในกลุ่มต้นลูกด้วย กรกช และคณะ (2558) ได้ทำการตรวจสอบพันธุกรรมของมังคุดพันธุ์พื้นเมืองและมังคุดกรอบแก้วด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี พบความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างมังคุดพื้นเมืองและมังคุดกรอบแก้วอย่างชัดเจน นอกจากนี้ยังพบความแตกต่างทางพันธุกรรมของต้นกล้ามังคุดกรอบแก้วที่ได้จากการเพาะเมล็ดเมื่อเปรียบเทียบกับต้นแม่ ในขณะที่ต้นลูกมังคุดพันธุ์พื้นเมืองมีแถบดีเอ็นเอเหมือนต้นแม่ Sorbir และคณะ (2011) ศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมในมังคุดโดยใช้เทคนิคไอเอสเอสอาร์ พบว่ามีค่าทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.22 แสดงให้เห็นว่ามังคุดที่นำมาศึกษามีความแปรปรวนทางด้านพันธุกรรม

จากการศึกษาของปริชาติ (2549) ได้นำเทคนิคอาร์เอพีดีมาใช้ตรวจสอบพันธุกรรมของต้นกล้าลองกอง พบว่าต้นแม่และต้นกล้าจากการเพาะเมล็ดของลองกองมีแถบดีเอ็นเอเหมือนกันทั้งหมด แต่ต้นกล้าของลางสาด และดูกูให้แถบดีเอ็นเอที่มีความแปรปรวนจากต้นแม่ Andrade-Rodriguez และคณะ (2004) ทำการศึกษาความงอกของต้นกล้ามะนาวที่มากกว่า 1 ต้นและแยกต้นกล้าระหว่างไซโกติกและนิวเซลลัสโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี พบว่าต้นไซโกติกมีแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างจากต้นแม่ พืชตระกูลส้มมักจะมีต้นกล้านิวเซลลัส 2 หรือมากกว่านั้น จึงเป็นปัญหาที่สำคัญสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ อย่างไรก็ตามลักษณะที่ดีและประโยชน์ของต้นกล้านิวเซลลัส คือ

มีส่วนประกอบทางพันธุกรรมเหมือนต้นแม่ทุกประการ เพราะพัฒนามาจากเซลล์ร่างกายของต้นแม่ เป็นต้นกล้าที่ดีและปราศจากไวรัส ซึ่งเป็นลักษณะที่ดีและสำคัญมากในการปลูกส้ม จึงได้มีการนำต้นกล้านิวเซลลัสมาใช้ประโยชน์เป็นต้นตอ หรือใช้ในการขยายพันธุ์โดยเมล็ดเพื่อให้มีพันธุกรรมเหมือนต้นแม่ ในการปลูกส้มจุกเกษตรกรบางส่วนมีการนำเมล็ดมาเพาะปลูก เนื่องจากมีระบบรากที่แข็งแรง ซึ่งจากผลการทดลองนี้พบว่าอาจส่งผลให้เกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมเล็กน้อย เนื่องจากต้นกล้าของส้มจุกมีการเจริญเติบโตมากกว่า 1 ต้นกล้าขึ้นไป ซึ่งต้นกล้าบางต้นเจริญมาจากส่วนของไซโกติก ที่เกิดจากการผสมกันระหว่างพ่อกับแม่ ทำให้พันธุกรรมของต้นกล้าที่ได้มีลักษณะแตกต่างจากต้นแม่ ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่าต้นกล้าที่เกิดจากไซโกติก มีการเจริญเติบโตที่อ่อนแอกว่าต้นกล้าที่เกิดจากส่วนนิวเซลลัส ทั้งนี้เนื่องจากมีการผสมพันธุ์ในกลุ่มส้มจุกด้วยกันเอง สอดคล้องกับงานของ Singh และคณะ (2019) ตรวจสอบต้นกล้าที่เป็นไซโกติกในการผสมข้ามภายในส้มตระกูลเดียวกัน โดยใช้เทคนิคเอสเอสอาร์ พบว่าต้นกล้าจากไซโกติกที่พัฒนามาจากการผสมข้ามมีความแข็งแรงมากกว่าต้นกล้าจากนิวเซลลัส แต่ลักษณะของต้นกล้าไซโกติกที่เกิดจากการผสมตัวเองจะมีความแข็งแรงน้อยกว่าต้นกล้าจากนิวเซลลัส สำหรับในการศึกษานี้หากต้องการขยายพันธุ์ส้มจุกด้วยเมล็ดสามารถทำได้ด้วยการตรวจสอบด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุลโดยเปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอว่าเป็นต้นกล้าแบบนิวเซลลัส และควรใช้ไพรเมอร์ที่มากพอ

บทที่ 5
สรุป

การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและคุณภาพผลของส้มจุก

พบว่าคุณสมบัติทางกายภาพของส้มจุก มีน้ำหนักสดของผลส่วนใหญ่อยู่ในช่วง 201-250 กรัม น้ำหนักของเนื้อผลสดอยู่ในช่วง 151-200 กรัม ความยาวของผลอยู่ในช่วง 9.1-12.0 เซนติเมตร ความสูงของจุกอยู่ในช่วง 1.01-1.50 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางของผลอยู่ในช่วง 6.8-8.2 เซนติเมตร ความหนาของเปลือกอยู่ในช่วง 0.21-0.40 เซนติเมตร จำนวนเมล็ดทั้งหมดอยู่ในช่วง 5-9 เมล็ด จำนวนเมล็ดที่สมบูรณ์อยู่ในช่วง 4-7 เมล็ด จำนวนเมล็ดที่ไม่สมบูรณ์อยู่ในช่วง 0-3 เมล็ด และความยาวของเมล็ดอยู่ในช่วง 1.01-1.50 เซนติเมตร ส่วนคุณสมบัติทางเคมีของส้มจุกมีปริมาณน้ำที่คั้นอยู่ในช่วง 30-50 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้อยู่ในช่วง 8.1-10.0 องศาบริกซ์ ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้อยู่ในช่วง 0-0.50 เปอร์เซ็นต์ และอัตราส่วนระหว่างปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้กับปริมาณกรดที่ไทเทรตได้อยู่ในช่วง 15.1-20.0

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของส้มจุกโดยใช้เครื่องหมายทางโมเลกุล

จากการคัดเลือกไพรเมอร์สำหรับเทคนิคอาร์เอพีดี จำนวน 42 ไพเมอร์ เพื่อหาไพรเมอร์ที่ให้แถบที่มีความแตกต่าง สามารถคัดเลือกได้ 5 ไพรเมอร์ คือ OPA-10, OPA-12, OPA-18, OPB-01 และ OPZ-11 จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของส้มจุกจำนวน 95 ตัวอย่าง สามารถจัดกลุ่มได้ 2 กลุ่ม และมีค่าความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.48-0.98 โดยคิดเป็นค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.73 จากผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าส้มจุกในภาคใต้มีความหลากหลายทางพันธุกรรมปานกลาง เนื่องจากค่าความใกล้ชิดทางพันธุกรรมที่น้อยที่สุดเกิดจากการกลุ่มตัวอย่างที่มีการขยายพันธุ์โดยการใช้เมล็ด

การตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมของต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ด

การศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมของต้นกล้าส้มจุกเมื่อเปรียบเทียบกับต้นแม่ พบว่า เมื่อนำเมล็ดส้มจุกที่ได้จากผลของต้นแม่จำนวน 7 ต้น มาเพาะเมล็ด พบว่าต้นกล้าที่งอกมี 1 ถึง 4 ต้นกล้าต่อเมล็ด โดยมีเปอร์เซ็นต์โพลีเอมบริโอนีเฉลี่ย 53.9 เปอร์เซ็นต์ ต้นกล้าที่งอก 1 ต้นต่อหนึ่งเมล็ดมีความแข็งแรงมากกว่าการงอกอื่นๆ เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรมด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี ด้วยไพรเมอร์ OPA-18 และ OPZ-11 แสดงให้เห็นว่าต้นกล้าที่นำมาศึกษามีความแปรปรวนทางพันธุกรรมเมื่อนำมาเทียบกับแถบดีเอ็นเอของต้นแม่

เอกสารอ้างอิง

กรกช นาคคนอง, พัฒนาการ เพชรสุวรรณ, ฮูดา แก้วศรีสม และจรัสศรี นวลศรี. 2558. การเปรียบเทียบลักษณะผลและวิเคราะห์พันธุกรรมของมังคุดพื้นเมืองและมังคุดกรอบแก้ว. การประชุมวิชาการชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อธ.สธ. ครั้งที่ 7. ขอนแก่น.

กรกช นาคคนอง. 2550. การวิเคราะห์พันธุกรรมของยางพารา *(Hevea brasiliensis* Muell. Agr.) พันธุ์ดั้งเดิมและพันธุ์แนะนำ โดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดีและไมโครแซทเทลไลท์. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

จรัญ ไชยศร. 2546. การขยายพันธุ์พืช. นครศรีธรรมราช: คณะพืชศาสตร์ วิทยาเขตนครศรีธรรมราช สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล.

จรัสศรี นวลศรี, กรกช นาคคนอง และกษมา เชิงฉลาด. 2557. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของมะม่วงหิมพานต์ในภาคใต้ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลเทียมและเครื่องหมายอาร์เอพีดี. วารสารแก่นเกษตร 42 ฉบับพิเศษ: 151-156.

จรัสศรี นวลศรี. 2548. เอกสารคำสอนวิชาการปรับปรุงพันธุ์พืชสวน. สงขลา: ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่.

จริงแท้ ศิริพานิช. 2542. สรีรวิทยาและเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ชุมพล คุณวาสี. 2551. สัณฐานวิทยาเบื้องต้นในการระบุชื่อวงศ์พืชดอกสามัญ. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

บัณฑิตา คงพันธุ์. 2552. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของส้มพื้นเมืองภาคใต้โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี และไมโครแซทเทลไลท์. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

บุญชนะ วงศ์ชนะ, ชญานุช ตรีพันธ์ และศุภลักษณ์ อริยภูชัย. 2557. การเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงธาตุอาหารของผลส้มจุก. วารสารแก่นเกษตร 42 (ฉบับพิเศษ): 99-104.

บุญชนะ วงศ์ชนะ. 2545. ส้มจุก. เข้าถึงได้จาก: http://www.oard8.go.th/infor-kasat/orange/index-orange.htm [สืบค้นเมื่อ 2 สิงหาคม 2560].

บุญส่ง ทองเปลว, เบญจมาศ ศิลาย้อย, วิจิตร วังใน และเทียมใจ ดุลยาทร. 2526. การศึกษาการเกิดคัพภะของมะม่วงอกร่องทอง. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปริชาติ คงสุวรรณ. 2549. การตรวจสอบการเกิดลักษณะอะโพมิกซิสในพืชสกุลลางสาด. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

มงคล แซ่หลิม, จรัสศรี นวลศรี, สุมาลี สุทธิประดิษฐ์, วิชัย พันธนะหิรัญ และสุทธิรักษ์ แซ่หลิม. 2535. การศึกษาปัญหาและแนวทางการปรับปรุงการปลูกส้มจุก. สงขลา: รายงานการวิจัย คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

มงคล แซ่หลิม, มาลี สะสมศักดิ์ และสมปอง เตชะโต. 2543. อิทธิพลของต้นตอส้มต่อผลสำเร็จในการต่อกิ่งส้มโชกุน. วารสารเกษตร 16: 136-147.

รัตนา สดุดี, มงคล แซ่หลิม และสุภาพ เกียรติทับทิว. 2543. การควบคุมโรคทริสเตซาในส้มจุกโดยการปลูกเชื้อสายพันธุ์ไม่รุนแรง. สงขลา: รายงานการวิจัยคณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

วราพงษ์ ชมาฤกษ์. 2550. Apomixis: ความฝันของนักปรับปรุงพันธุ์พืช. วารสารวิชาการข้าว 1: 77-83.

ศรินญา ลีลาวัฒนานันท์, วิจิตต์ วรรณชิต และอุปถัมภ์ มีสวัสดิ์. 2551. ผลของการถ่ายเรณูต่อการติดผลและติดเมล็ดของส้มจุก. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 26: 39-49.

ศูนย์วิจัยพืชยืนต้นและไม้ผลเมืองร้อน. 2554. ส้มจุก (Neck Orange). การผลิตไม้ผลเมืองร้อน กลุ่มงานศูนย์วิจัยฝ่ายวิจัยและบริการมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. เข้าถึงได้จาก: http://natres.psu.ac.th/ researchcenter/tropicalfruit/agrarian-index.htm [สืบค้นเมื่อ 13 กุมภาพันธ์ 2560].

สมยศ มีทา พงษ์ศักดิ์ ยั่งยืน สุภัทร์ อิศรางกูร ณ อยุธยา พัชริน ส่งศรี และสังคม เตชะวงค์เสถียร. 2557. คุณภาพของผลผลิตและปริมาณธาตุอาหารในผลส้มโอพันธุ์ทองดีจากสวนสามประเภท. วารสารแก่นเกษตร 42 (ฉบับพิเศษ) 3: 233-238.

สมัคร แก้วสุกแสง และพีรพงค์ แสงวนางค์กูล. 2558. ปริมาณสารออกฤทธิ์ของผลไม้ตระกูลส้มที่ปลูกในภาคใต้. วารสารแก่นเกษตร 43 (ฉบับพิเศษ) 1: 799-804.

สันติภาพ รามสูต. 2555. เคล็ดลับปลูก ‘ส้มหัวจุก’ สำเร็จ ฟื้นไม้ผลเมืองใต้สู่เศรษฐกิจ. เข้าถึงได้จาก: http://www.komchadluek.net/news/lifestyle/144562 [สืบค้นเมื่อ 13 กุมภาพันธ์ 2560].

สุจิต เมืองสุข. 2560. ส้มจุกจะนะ สงขลา ไม้ผลโบราณ เปลือกหอม หวานอมเปรี้ยว หากินยาก. เข้าถึงได้จาก: https://www.technologychaoban.com/agricultural-technology/article_27810 [สืบค้นเมื่อ 19 ตุลาคม 2560].

สุธีรา ถาวรรัตน์. 2545. อิทธิพลของต้นตอส้มต่อการเจริญเติบโตของกิ่งพันธุ์ส้มจุก (*Citrus reticulata* Blanco). วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2545. จีโนมและเครื่องหมายดีเอ็นเอ. *ใน* ปฏิบัติการอาร์เอพีดีและเอเอฟแอลพี. หน้า 22-38. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ฮูดา แก้วศรีสม. 2556. การวิเคราะห์พันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านในภาคใต้โดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดีและไมโครแซทเทลไลท์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

AL-Janabi, A.S.A. 2007. Molecular characterization and genetic diversity analysis of sweet orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck). Journal of Molecular Biotechnology 11: 4-12.

Andrade-Rodriguez, M., A. Villegas-Monter., G. Carrrillo-Castaneda and A. Garcia-Velazquez. 2004. Polyembryony and identification of Volkamerian lemon zygotic and nucellar seedling using RAPD. Pesquisa Agropecuária Brasileira 39: 551-559.

Antonia, D.A., S. Maria., G.M. Santiago and T.P. Maria. 2018. Organic acid, sugars, antioxidant activity, sensorial and other fruit characteristics of nine traditional Spanish *Citrus* fruits. European Food Research and Technology 244: 1497-1508.

Baig, M.N.R., S. Grewal and S. Dhillon. 2009. Molecular characterization and genetic diversity analysis of citrus cultivars by RAPD marker. Turkish Agriculture and Forestry 33: 375-384.

Boland, F. E. 1995. Acidity (titratable) of fruit products. *In* Official Methods of Analysis of the Association Official Analytical Chemist International. (ed. P. Cunniff) pp.2. Virginia: AOAC international.

Chomchalow, N. 1984. Vernacular name of citrus in Southeast Asia. IBPGR Regional Committee for Southeast Asia Newsletter 8: 3-5.

Damrongrak, I. 2007. Plant nutrient elements and fruit quality of shokun mandarin (*Citrus reticulate* Blanco cv. Shokun). Journal of Yala Rajabhat University 2: 56-71.

Jaccard, P. 1908. Nouvellers recherches sur la distribution florale. Bulletin de la Sociète Vaudense des Sciences Naturelles 44: 233-270.

Jamin, N., R. Jabeen., M. Khan., M. Riaz., T. Naeem., A. Khan., N.U. SabaH., S.A. Ghori., U. Jabeen., Z.A. Bazai., A. Mushtaq., S. Rizwan and S. Fahmid. 2015. Quantitative assessment of juice content, citric acid and sugar content in oranges, sweet lime, lemon and grapes available in fresh fruit market of Quetta city. Australian Journal of Basic & Applied Sciences 15: 21-24.

Ketsa, S. 1989. Fruit quality of Tangerin (*Citrus reticulate Blanco* cv. Khieo Waan) with thin and thick peel. Asean Food Journal 4: 121-122.

Kishore, K., N. Monika., D. Rinchen., B. Lepcha and B. Pandey. 2012. Polyembryony and seedling emergence traits in apomictic citrus. Scientia Horticulturae 138: 101-107.

Lado, J., G. Gambetter and L. Zacarias. 2018. Key determinates of citrus fruit quality: Metabolites and main changes during maturation. Scientia Horticuturae 233: 238-248.

Malik, S.K., M.R. Rohini., S. Kumar., R. Choudhary., D. Pal and R. Chaudhury. 2012. Assessment of genetic diversity in sweet orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) cultivars of India using morphological and RAPD markers. Journal of Agricultural Research 1: 314-324.

Mansyah, E., P.J. Santoso., I. Muas and S.S. Sobir. 2013. Evalution of genetic diversity among and within mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) tree. Acta Horticulturae 975: 73-79.

Nematollahi, A.K., B. Golein and K. Vahdati. 2013. Analysis of the genetic diversity in citrus (*Citrus spp*.) species using SSR markers. Journal of Plant Physiology and Breeding 3: 41-49.

Ochoa, E.D.C.M., M. Andrade-Rodriguez., M.R. Rodriguez and A.V. Monter. 2012. Identification of zygotic and nucellar seedlings in polyembryonic mango cultivars. Pesquisa Agropecuária Brasileira 47: 1629-1636.

Riaz, M., T. Zamir., N. Rashid., N. Jamil., Z. Masood., U. Jabeen., F. Mandokhel., F. Behlil., F. Mengal and M. Khan. 2015. Quality assessment in different stages of maturity of fruits, mandarin kinnow and feutrell's early collected from the fruit market of Quetta city at in relation to their benefits for human health. American-Eurasian Journal of Toxicological Sciences. 7: 203-208.

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

Rokaya, P.R., D.R. Baral., D.M. Gautam., A.K. Shrestha and K.P. Paudyal. 2016. Effect of altitude and maturity stages on quality attributes of Mandarin (*Citrus reticulata* Blanco). Journal of Plant Sciences 7: 958-966.

Samson, J. A. 1980. Tropical Fruits. London: Longman.

Singh, G., P.S. Aulakh., N.K. Sarao., H.S. Rattanpal and G.S. Sidhu. 2019. Molecular verification of putative zygotic seedlings in Mandarins (*Citrus reticulata*) by SSR markers. American Journal of Agricultural Research 8: 21-26.

Sobir, S.S., R. Poerwanto, E. Santosa, S. Sinaga and E. Mansyah. 2011. Genetic variablility in apomictic mangosteen (*Garcinia mangostana*) and its close relatives (*Garcinia spp*.) based on ISSR markers. Biodiversitas 12: 59-63.

Storey, R. and M.T. Treeby. 2000. Seasonal changes in nutrient concentrations of navel orange fruit. Scientia Horticulturae 84: 67-82.

Zhang, S., M. Liang., N. Wang., Q. Xu., X. Deng and L. Chai. 2018. Reproduction in woody perennial citrus: an update on nucellar embryo and self-incompatibility. Plant Reproduction 31: 43-57.

ภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ 1 การเจริญเติบโตของต้นกล้าส้มจุก หลังจากการเพาะเมล็ด

Samples	No. of seedling	1 month											
		Height (cm)				Stem diameter (mm)				No. of leaves			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
A1	1	4.0				1.6				2			
A2	2	3.5	3.5			1.3	1.2			2	2		
A3	4	4.5	2.5	1.0	1.0	1.6	1.3	1.0	1.0	3	2	2	2
B1	1	2.0				1.0				2			
B2	1	5.5				1.6				3			
B3	2	4.5	4.5			1.4	1.2			4	2		
B4	2	3.5	3.0			1.1	1.1			3	2		
B5	3	5.5	4.0	1.5		1.5	1.2	1.2		4	4	3	
B6	3	3.0	2.0	1.0		1.2	1.0	1.0		4	3	2	
C1	1	3.0				1.5				2			
C2	1	3.5				1.5				2			
C3	2	4.0	2.0			1.4	0.9			3	2		
C4	2	5.0	2.0			1.2	1.0			3	1	0	
C5	3	1.5	1.5	1.0		1.0	1.0	1.0		5	5	5	
D1	1	4.0				1.4				3			
D2	2	2.5	2.0			1.1	1.4			2	3		
D3	3	2.5	2.0	1.5		1.5	1.0	1.1		3	3	2	
E1	1	4.5				1.6				3			
E2	2	3.0	1.5			1.2	1.1			2	2		
E3	2	5.0	2.0			1.4	1.1			4	3		
F1	1	3.5				1.6				4			
F2	1	2.0				1.1				0			
F3	2	4.0	3.0			1.2	1.4			3	2		
F4	2	5.0	4.0			1.3	1.9			4	4		

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ)) การเจริญเติบโตของต้นกล้าส้มจุก หลังจากการเพาะเมล็ด

Samples	No. of seedling	2 months											
		Height (cm)				Stem diameter (mm)				No. of leaves			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
A1	1	8.5				1.6				6			
A2	2	8.5	5.0			1.5	1.5			5	6		
A3	4	7.0	2.5	0.0	1.5	1.6	1.3	0.0	1.4	7	3	0	6
B1	1	5.5				1.2				5			
B2	1	11.5				1.7				7			
B3	2	7.0	7.0			1.4	1.5			7	8		
B4	2	6.5	4.0			1.7	1.2			7	5		
B5	3	10.0	7.0	2.0		1.6	1.3	1.2		8	7	6	
B6	3	4.0	5.0	4.0		1.2	1.29	1.3		5	6	6	
C1	1	7.5				2.0				6			
C2	1	7.5				1.8				5			
C3	2	5.0	2.0			1.6	0.9			5	3		
C4	2	7.0	2.5			1.6	1.0			6	2	0	
C5	3	2.0	2.0	4.0		1.0	1.0	1.3		5	5	5	
D1	1	7.5				1.5				7			
D2	2	5.0	6.0			1.2	1.7			4	6		
D3	3	4.0	4.0	3.0		1.6	1.1	1.1		7	5	5	
E1	1	7.5				1.6				7			
E2	2	5.5	2.5			1.6	1.4			4	4		
E3	2	9.5	5.0			1.7	1.2			7	6		
F1	1	8.5				1.6				8			
F2	1	2.5				1.5				1			
F3	2	8.0	6.0			1.7	1.6			6	8		
F4	2	9.5	6.5			1.4	1.9			7	6		

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ)) การเจริญเติบโตของต้นกล้าส้มจุก หลังจากการเพาะเมล็ด

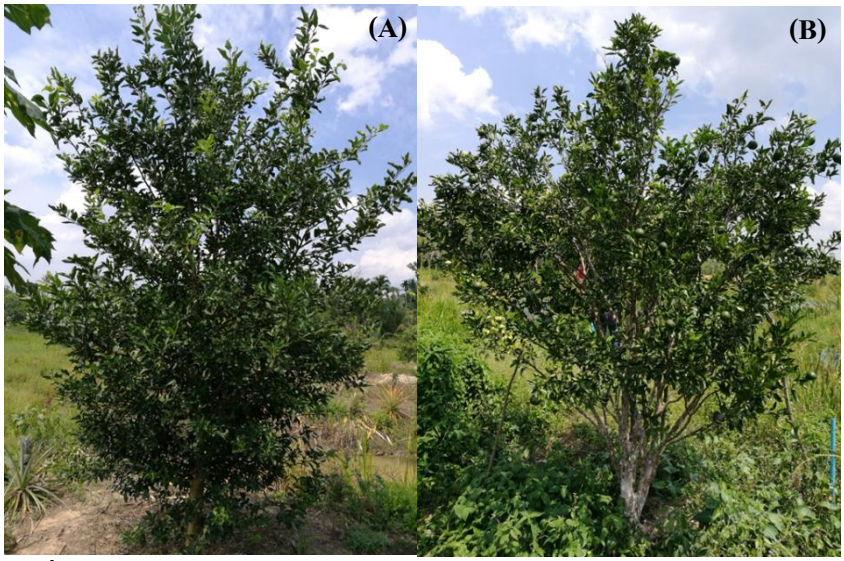
Samples	No. of seedling	3 months											
		Height (cm)				Stem diameter (mm)				No. of leaves			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
A1	1	13.5				2.9				8			
A2	2	12.5	8.0			2.0	1.8			9	12		
A3	4	10.0	3.0	0.0	0.0	2.3	1.3	0.0	0.0	13	6	0	0
B1	1	10.0				1.5				8			
B2	1	11.5				2.1				17			
B3	2	10.0	9.0			2.1	1.8			8	10		
B4	2	10.0	9.0			2.1	1.6			7	7		
B5	3	15.0	12.0	6.0		2.4	2.2	1.2		11	10	8	
B6	3	8.5	6.5	6.0		2.5	1.9	1.6		9	10	6	
C1	1	12.0				2.3				7			
C2	1	12.0				1.7				5			
C3	2	10.5	3.0			2.5	1.9			10	7		
C4	2	12.0	4.5			2.6	1.5			12	8		
C5	3	5.0	6.0	4.0		1.1	1.7	1.3		5	8	10	
D1	1	11.0				2.1				10			
D2	2	8.0	8.5			1.5	2.0			8	9		
D3	3	9.0	8.0	6.0		1.7	1.4	1.6		9	9	8	
E1	1	13.5				2.5				10			
E2	2	11.0	7.0			2.0	1.6			4	4		
E3	2	16.0	8.0			3.0	2.0			12	9		
F1	1	13.0				2.3				15			
F2	1	7.5				2.4				20			
F3	2	11.0	12.0			2.3	2.4			17	10		
F4	2	15.0	10.5			2.4	1.9			10	10		

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ)) การเจริญเติบโตของต้นกล้าส้มจุก หลังจากการเพาะเมล็ด

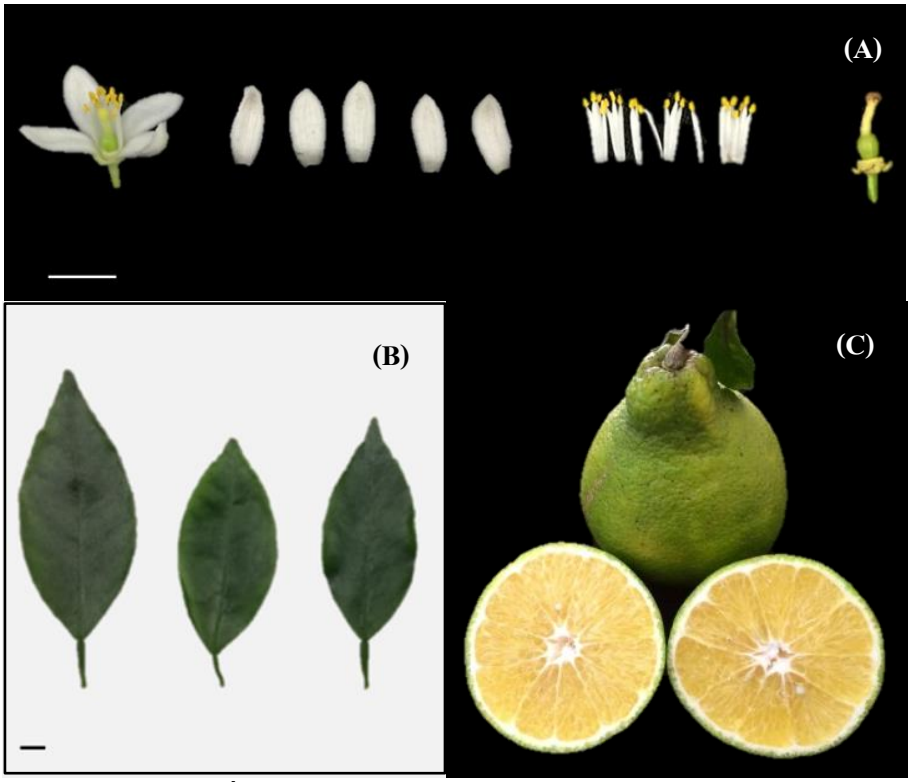
Samples	No. of seedling	4 months											
		Height (cm)				Stem diameter (mm)				No. of leaves			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
A1	1	14.0				3.4				10			
A2	2	14.0	12.5			2.7	2.8			10	16		
A3	4	12.0	3.0	0	0	2.4	1.3	0	0	14	8	0	0
B1	1	10.0				2.1				12			
B2	1	15.5				3.7				26			
B3	2	11.0	9.0			2.4	2.3			10	10		
B4	2	11.5	10.0			2.8	1.8			10	8		
B5	3	15.0	12.0	6.0		3.4	2.8	1.8		12	12	10	
B6	3	9.5	7.5	6.0		2.5	2.1	1.6		14	12	10	
C1	1	13.5				2.9				10			
C2	1	15.0				3.3				10			
C3	2	12.0	4.0			2.6	1.9			10	7		
C4	2	15.0	5.0			3.4	1.8			12	8		
C5	3	5.0	6.0	5.0		1.1	1.9	1.8		8	8	10	
D1	1	13.5				3.1				16			
D2	2	9.0	11.0			2.5	2.7			8	10		
D3	3	10.0	8.5	8.0		2.1	2.1	1.7		12	10	14	
E1	1	14.5				3.4				12			
E2	2	13.5	7.5			3.5	2.0			14	10		
E3	2	17.0	9.0			4.1	2.6			22	12		
F1	1	14.0				3.7				16			
F2	1	10.0				2.4				28			
F3	2	11.5	12.0			2.7	2.4			17	14		
F4	2	15.0	15.5			3.5	2.4			15	13		

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ) การเจริญเติบโตของต้นกล้าส้มจุก หลังจากการเพาะเมล็ด

Samples	No. of seedling	5 months											
		Height (cm)				Stem diameter (mm)				No. of leaves			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
A1	1	16.0				3.8				18			
A2	2	18.0	16.5			2.8	3.1			16	24		
A3	4	14.5	3.5	0.0	0.0	3.4	1.4	0.0	0.0	22	10	0	0
B1	1	11.5				2.8				12			
B2	1	19.0				4.2				36			
B3	2	14.0	12.0			2.7	2.6			18	14		
B4	2	13.0	10.0			2.8	2.0			12	10		
B5	3	17.0	14.0	6.5		3.4	2.9	2.0		22	18	10	
B6	3	10.0	9.0	6.0		2.8	3.1	1.7		18	16	10	
C1	1	14.0				3.6				12			
C2	1	15.5				3.6				14			
C3	2	13.0	5.0			3.1	1.9			14	8		
C4	2	16.0	9.0			3.9	2.1			18	10		
C5	3	5.5	6.5	5.0		1.4	2.5	1.9		10	12	12	
D1	1	16.0				3.3				26			
D2	2	10.0	13.0			2.6	2.7			14	14		
D3	3	11.0	10.5	8.0		2.1	2.1	2.0		12	12	14	
E1	1	15.0				3.6				18			
E2	2	16.0	9.0			4.0	2.8			22	12		
E3	2	18.0	9.0			4.1	2.6			28	14		
F1	1	14.0				4.2				22			
F2	1	11.0				2.9				30			
F3	2	18.5	15.5			3.6	3.5			20	18		
F4	2	20.0	17.5			3.8	3.3			26	20		



ภาพภาคผนวกที่ 1 แสดงลักษณะทรงพุ่มของต้นส้มจุกที่ปลูกจากการเพาะเมล็ด (A) และปลูกจากกิ่งตอน (B)



ภาพภาคผนวกที่ 2 แสดงลักษณะดอก (A) ใบ (B) และผล (C) ของส้มจุก