ลักษณะสัณฐานวิทยาและความหลากหลายทางพันธุกรรม ของสายพันธุ์มะม่วงโดยใช้เทคนิค RAPD

วรรณอุษา ผาคำ

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพืชสวน
มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2563

ลักษณะสัณฐานวิทยาและความหลากหลายทางพันธุกรรม ของสายพันธุ์มะม่วงโดยใช้เทคนิค RAPD

วรรณอุษา ผาคำ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพืชสวน
สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2563

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

ลักษณะสัณฐานวิทยาและความหลากหลายทางพันธุกรรม
ของสายพันธุ์มะม่วงโดยใช้เทคนิค RAPD

วรรณอุษา ผาคำ

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพืชสวน

พิจารณาเห็นชอบโดย **อาจารย์ที่ปรึกษา**

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรพินธุ์ สฤษดิ์นำ)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วินัย วิริยะอลงกรณ์)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(อาจารย์ ดร.สุเทพ วัชรเวชศฤงคาร)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

ประธานอาจารย์ผู้รับผิดชอบหลักสูตร .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ธีรนุช เจริญกิจ)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการรับรองแล้ว .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ญาณิน โอภาสพัฒนกิจ)
รองอธิการบดี ปฏิบัติการแทน
อธิการบดี มหาวิทยาลัยแม่โจ้
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

ชื่อเรื่อง ลักษณะสัณฐานวิทยาและความหลากหลายทางพันธุกรรม ของสายพันธุ์มะม่วงโดยใช้เทคนิค RAPD

ชื่อผู้เขียน นางสาววรรณอุษา ผาคำ

ชื่อปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรพินธุ์ สฤษดิ์นำ

บทคัดย่อ

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและความหลากหลายทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วง จากแปลงรวบรวมพันธุ์มะม่วง สาขาไม้ผล (บ้านโปง) คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ โดยใช้เครื่องหมายทางสัณฐานวิทยาและเครื่องหมายทางชีวโมเลกุลชนิดอาร์เอพีดี พบว่า ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วง จำนวน 20 สายพันธุ์ โดยใช้เครื่องหมายทางสัณฐานวิทยาที่ได้จากการมองเห็นด้วยตาเปล่า การสังเกตจากลักษณะภายนอกที่ปรากฏทำให้สามารถจัดจำแนกกลุ่มสายพันธุ์มะม่วงออกเป็น 6 กลุ่ม คือ 1) กลุ่มแก้ว มีลักษณะรูปร่างใบแบบป้อมโคนใบ ปลายใบแบบเรียวแหลม ฐานใบแบบแหลม ขอบใบแบบคลื่น รูปร่างผลแบบรูปไข่กลับ 2) กลุ่มเขียวเสวย คือ มีลักษณะรูปร่างใบแบบป้อมโคนใบและขอบขนาน ปลายใบแบบสอบเรียว ฐานใบแบบแหลมและสอบเรียว ขอบใบแบบขอบใบเรียบและคลื่น ลักษณะรูปร่างผลแบบขอบขนาน 3) กลุ่มน้ำดอกไม้ มีลักษณะรูปร่างใบแบบป้อมกลางใบ ปลายใบแบบเรียวแหลม ฐานใบแบบแหลม ขอบใบแบบคลื่น รูปร่างผลแบบทรงรี 4) กลุ่มหนังกลางวัน คือ ลักษณะรูปร่างใบแบบป้อมโคนใบและยาวเรียว ปลายใบแบบสอบเรียว ฐานใบแบบแหลมและมน ขอบใบแบบเรียบและคลื่น ลักษณะรูปร่างผลแบบทรงกระบอก 5) กลุ่มอกร่อง มีลักษณะรูปร่างใบแบบป้อมกลางใบและป้อมโคนใบ ลักษณะปลายใบแบบเรียวแหลมและแหลม ลักษณะฐานใบแบบแหลม ลักษณะขอบใบแบบเรียบและคลื่น ลักษณะรูปร่างผลแบบรูปไข่กลับ ทรงรี และขอบขนาน 6) กลุ่มผลกลม ประกอบด้วย ลักษณะรูปร่างใบแบบป้อมกลางใบ ลักษณะปลายใบแบบสอบเรียว ลักษณะฐานใบแบบแหลม ลักษณะขอบใบแบบเรียบ ลักษณะรูปร่างผลแบบทรงกลม และการใช้เครื่องหมายทางชีวโมเลกุลชนิดอาร์เอพีดี (RAPD) ทั้งหมด จำนวน 20 ไพรเมอร์ มี 14 ไพรเมอร์ ที่สามารถแยกความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอได้จำนวน 87 แถบ คิดเป็น 88.78 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงกันทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.42 ถึง 0.93 ซึ่งทำให้สามารถจัดจำแนกกลุ่มของสายพันธุ์มะม่วงทั้ง 20 สายพันธุ์ ได้เป็น 4 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มที่ 1 คือ พันธุ์น้ำดอกไม้สีทอง กลุ่มที่ 2 ได้แก่ พันธุ์ตลับนาค มหาชนก สามฤดูมัน

เออร์วิน แดงจักรพรรดิ (โซน 1) แดงจักรพรรดิ (โซน 2) กลุ่มที่ 3 ได้แก่ พันธุ์แก้มแดง โชคอนันต์ แรด สามปี อกร่องเขียว มันหอม แขนอ่อน สามฤดู และกลุ่มที่ 4 ประกอบด้วย พันธุ์ทองดำ แก้วเขียวเสวย ตับเป็ด และคาราบาว จากผลการศึกษาในครั้งนี้จึงทำให้สามารถจัดจำแนกกลุ่มสายพันธุ์มะม่วง โดยการใช้เทคนิคอาร์เอพีดี (RAPD) ได้อย่างชัดเจน และสอดคล้องตามการจัดจำแนกด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยสายพันธุ์มะม่วงที่จัดอยู่ในกลุ่มที่ 1 มีความสอดคล้องกันกับสายพันธุ์มะม่วงที่จัดอยู่ในกลุ่มที่ 3 ซึ่งก็คือ พันธุ์น้ำดอกไม้สีทอง กลุ่มที่ 2 คล้ายคลึงกันกับกลุ่มที่ 4 5 และ 6 ส่วนกลุ่มที่ 3 สอดคล้องกันกับมะม่วงที่จัดอยู่ในกลุ่มที่ 5 เป็นส่วนใหญ่ และกลุ่มที่ 4 มีความสอดคล้องกันกับกลุ่มที่ 1 2 และกลุ่มที่ 5 ในการจัดตามลักษณะสัณฐานวิทยา และจากข้อมูลที่ได้สามารถนำไปใช้เพื่อเป็นฐานข้อมูลทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วงในการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

คำสำคัญ : มะม่วง, สัณฐานวิทยา, ความหลากหลายทางพันธุกรรม, เทคนิคอาร์เอพีดี

Title MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION AND GENETIC DIVERSITY OF MANGO CULTIVARS USING RAPD TECHNIQUE

Author Miss Wannausa Phakam

Degree Master of Science in Horticulture

Advisory Committee Chairperson Assistant Professor Dr. Orapin Saritnum

ABSTRACT

The study of morphological characteristic and genetic diversity of mango cultivar at the Pomology Farm (Ban Pong), Faculty of Agricultural Production, Maejo University, using the morphological and RAPD markers was observed. In the results, the study of genetic diversity of 20 mango cultivars using morphological marker which can be observed in the differences external appearance was classified into 6 groups including: 1) Kaeo group, showed lanceolate leaf shape, acuminate leaf apex, acute leaf base, undulate leaf margin, obovate fruit shape 2) Khiaosawoey group, showed lanceolate and oblong leaf shape, attenuate leaf apex, acute and attenuate leaf base, entire and undulate leaf margin, oblong fruit shape 3) Namdokmai group, showed elliptical leaf shape, acuminate leaf apex, acute leaf base, undulate leaf margin, elliptical fruit shape 4) Nangklangwan group, showed lanceolate and linear-oblong leaf shape, attenuate leaf apex, acute and obtuse leaf base, entire and undulate leaf margin, cylindrical fruit shape 5) Okrong group, showed elliptical and lanceolate leaf shape, acuminate and acute leaf apex, acute leaf base, entire and undulate leaf margin, ovate, elliptical and oblong fruit shape 6) Round fruit group, showed elliptical leaf shape, attenuate leaf apex, acute leaf base, entire leaf margin, roundish fruit shape. For RAPD technique of 20 RAPD primers, 14 primers were produced 87 polymorphic bands with 88.78%. The genetic similarity coefficients were in the range of 0.42-0.93 and could be classified the 20 mango cultivars into 4 groups. Group 1 was Namdokmai-sithong. Group 2 was included with Talapnak,

Mahacharnok, Samruedu-man, Irwin, Daeng jakgrapat (zone 1) and Daeng jakgrapat (zone 2). Group 3 was included with Kaemdaeng, Chok-anan, Raet, Sampi, Okrong-khiao, Manhom, Khaen-on and Samruedu. And the last group was group 4 including with Thongdam, Kaeo, Khaisawoey, Tuppet and Carabao. In this study, it could be classified clearly about of mango cultivars by RAPD technique. In the results, data of RAPD technique combining with morphological characteristics showed the relation in each group. Group 1 was related to group 3 in Namdokmai-sithong cultivar. Group 2 was involed to group 4, 5 and 6. Group 3 was link to group 5 in Okrang group. And the last group was Group 4 according to group 1, 2 and 5 in morphological characteristics. The data would be useful for database of mango cultivars in breeding program further.

Keywords : Mango, Morphological, Genetic diversity, RAPD technique

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จอย่างสมบูรณ์ได้ด้วยความกรุณาจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อรพินธุ์ สฤษดิ์นำ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก และให้การสนับสนุนทุนในการศึกษาเล่าเรียนครั้งนี้ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วินัย วิริยะอลงกรณ์ อาจารย์ ดร. สุเทพ วัชรเวชศฤงคาร อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำแนวทางต่างๆ ในการทำงานวิจัย ตลอดจนการตรวจแก้ไขเล่มวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นพดล จรัสสัมฤทธิ์ ที่ช่วยสนับสนุนทุนการศึกษา ค่าใช้จ่าย และกรุณาให้คำปรึกษา ช่วยเหลือ ตลอดระยะเวลาการศึกษา

ขอขอบคุณ สาขาวิชาพืชสวน และสาขาไม้ผล คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ สำหรับความอนุเคราะห์ในการใช้พื้นที่แปลงรวบรวมพันธุ์มะม่วง (บ้านโป่ง) ห้องปฏิบัติการ และอุปกรณ์เครื่องมือต่างๆ ในการดำเนินงานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณ โครงการพัฒนาหน่วยวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาเพื่อการสร้างนวัตกรรมด้านการเกษตรของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้การสนับสนุนวัสดุในการทำงานวิจัยเบื้องต้น

ขอขอบคุณ คณาจารย์ทุกท่าน ที่ได้อบรม สั่งสอน ถ่ายทอดวิชาความรู้ ให้คำปรึกษาต่างๆ ในการทำงานวิจัย และขอขอบคุณ เพื่อนๆ น้องๆ เจ้าหน้าที่สาขาวิชาพืชสวน เจ้าหน้าที่บัณฑิตวิทยาลัย สำหรับความช่วยเหลือในทุกๆ ด้าน ตลอดระยะเวลาการศึกษาและการดำเนินงานการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

สุดท้ายนี้ ขอขอบคุณครอบครัวที่ค่อยให้กำลังใจ คำปรึกษาแนะนำต่างๆ และสนับสนุนในทุกด้านของการศึกษาตลอดมา

วรรณอุษา ผาคำ

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ค

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ช

สารบัญ ..... ซ

สารบัญตาราง ..... ญ

สารบัญภาพ ..... ฎ

สารบัญตารางภาคผนวก ..... ฐ

สารบัญภาพภาคผนวก ..... ฑ

บทที่ 1 บทนำ 1

ความสำคัญของปัญหา 1

วัตถุประสงค์ของการศึกษา 3

ขอบเขตการศึกษา 3

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3

บทที่ 2 การตรวจเอกสาร 4

ลักษณะทั่วไปของมะม่วง 4

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ 5

ความสำคัญทางเศรษฐกิจ 6

การจัดจำแนกสายพันธุ์มะม่วง 7

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วง 19

เทคนิคโมเลกุลเครื่องหมาย (Molecular marker techniques) 19

การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยวิธี UPGMA (Unweighted pair group method using arithmetic average) 26
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 26
บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการวิจัย 30
สถานที่ทำการทดลอง 30
สายพันธุ์มะม่วง 30
วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง 31
วิธีการดำเนินงานวิจัย 31
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์ 38
การทดลองที่ 1 ผลการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของสายพันธุ์มะม่วง 38
การทดลองที่ 2 ผลการศึกษาการตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วง โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลอาร์เอพีดี (RAPD) 45
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 51
ข้อเสนอแนะ 52
บรรณานุกรม 53
ภาคผนวก 57
ภาคผนวก ก การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของสายพันธุ์มะม่วงจำนวน 20 พันธุ์ 58
ภาคผนวก ข การเตรียมสารเคมีในการตรวจสอบคุณภาพผลและเทคนิคทางชีวโมเลกุลอาร์เอพีดี (RAPD) 79
ประวัติผู้วิจัย 93

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ไพรเมอร์อาร์เอพีดี (RAPD) และลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการทดลอง 35

ตารางที่ 2 การเตรียมปฏิกิริยาพีซีอาร์ (polymerase chain reaction) 1 ปฏิกิริยาพีซีอาร์ 36

ตารางที่ 3 การเปรียบเทียบลักษณะสัณฐานวิทยาของใบและผลมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ 40

ตารางที่ 4 ลักษณะคุณภาพผลของมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์..... 42

ตารางที่ 5 จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมดและเปอร์เซ็นต์แถบที่แสดงความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอ ในแต่ละไพรเมอร์ 46

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 ลักษณะรูปร่างของใบ (leaf shape) 8

ภาพที่ 2 ลักษณะปลายใบ (leaf apex) 8

ภาพที่ 3 ลักษณะฐานใบ (leaf base) 9

ภาพที่ 4 ลักษณะขอบใบ (leaf margin) 9

ภาพที่ 5 ลักษณะของทรงผล (fruit shape) 10

ภาพที่ 6 ลักษณะทรงใบ ปลายใบ ฐานใบ ขอบใบ และลักษณะทรงผลของมะม่วงกลุ่มแก้ว 11

ภาพที่ 7 ลักษณะทรงใบ ปลายใบ ฐานใบ ขอบใบ และลักษณะทรงผลของมะม่วงกลุ่มเขียวเสวย ... 12

ภาพที่ 8 ลักษณะทรงใบ ปลายใบ ฐานใบ ขอบใบ และลักษณะทรงผลของมะม่วงกลุ่มน้ำดอกไม้ ... 13

ภาพที่ 9 ลักษณะทรงใบ ปลายใบ ขอบใบ และลักษณะทรงผลของมะม่วงกลุ่มหนังกลางวัน 14

ภาพที่ 10 ลักษณะทรงใบ ปลายใบ ฐานใบ ขอบใบและลักษณะทรงผลของมะม่วงกลุ่มอกร่อง 15

ภาพที่ 11 ลักษณะทรงใบ ปลายใบ ฐานใบ ขอบใบ และลักษณะทรงผลของมะม่วงกลุ่มพราหมณ์.. 16

ภาพที่ 12 ลักษณะทรงใบ ปลายใบ ฐานใบ ขอบใบ และลักษณะทรงผลของมะม่วงกลุ่มผลกลม 17

ภาพที่ 13 ลักษณะทรงใบ ปลายใบ และขอบใบของมะม่วงกลุ่มเบ็ดเตล็ด 18

ภาพที่ 14 แปลงรวบรวมพันธุ์มะม่วง สาขาไม้ผล (บ้านโปง) 30

ภาพที่ 15 การคัดเลือกไพรเมอร์จากเทคนิคทางชีวโมเลกุลเครื่องหมายชนิดอาร์เอพีดี (RAPD) ของมะม่วงต่างชนิด จำนวน 4 สายพันธุ์ กับไพรเมอร์ จำนวน 5 ไพรเมอร์..... 45

ภาพที่ 16 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลเครื่องหมายชนิดอาร์เอพีดี (RAPD) กับไพรเมอร์ OPB-05..... 47

ภาพที่ 17 ค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงกันทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ จาก 14 ไพรเมอร์ โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลเครื่องหมายชนิดอาร์เอพีดี (RAPD)..... 49

ภาพที่ 18 แผนภูมิแสดงค่าความสัมพันธ์ของมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ โดยวิธีการจัดกลุ่มแบบ UPGMA method และใช้ค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงกัน ทางพันธุกรรมของ Jaccard's coefficient..... 50

สารบัญตารางภาคผนวก

หน้า

ตารางภาคผนวกที่ 1 การเตรียมสารละลาย 0.25N NaOH ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร..... 80

ตารางภาคผนวกที่ 2 สูตรการคำนวณหาปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ (TA)..... 80

ตารางภาคผนวกที่ 3 การเตรียมสารละลาย 2X CTAB buffer ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร..... 80

ตารางภาคผนวกที่ 4 การเตรียมสารละลาย 1M Tris-HCl pH 8.0 ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร..... 81

ตารางภาคผนวกที่ 5 การเตรียมสารละลาย 0.5M EDTA pH 8.0 ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร..... 81

ตารางภาคผนวกที่ 6 การเตรียมสารละลาย 5M NaCl ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร 81

ตารางภาคผนวกที่ 7 การเตรียมสารละลาย 0.01M HCl 37 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 500 มิลลิลิตร.... 81

ตารางภาคผนวกที่ 8 การเตรียมสารละลาย 10X TBE buffer ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร..... 82

ตารางภาคผนวกที่ 9 การเตรียมสารละลาย 1X TBE buffer ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร..... 82

ตารางภาคผนวกที่ 10 การเตรียมสารละลาย 1X TE buffer pH 8.0 ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร..... 82

ตารางภาคผนวกที่ 11 การเตรียมสารละลายอะกาโรสเจล 1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร..... 82

ตารางภาคผนวกที่ 12 การตรวจวัดปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร (A260/A280) ของมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ (ซ้ำที่ 1)..... 83

ตารางภาคผนวกที่ 13 การตรวจวัดปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร (A260/A280) ของมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ (ซ้ำที่ 2)..... 84

ตารางภาคผนวกที่ 14 การตรวจวัดปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร (A260/A280) ของมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ (ซ้ำที่ 3)..... 85

สารบัญภาพภาคผนวก

หน้า

ภาพภาคผนวกที่ 1 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์คาราบาว (Carabao) 59

ภาพภาคผนวกที่ 2 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์ตับเป็ด (Tuppet)..... 60

ภาพภาคผนวกที่ 3 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์ทองดำ (Thongdam)..... 61

ภาพภาคผนวกที่ 4 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย (Khaisawoey) 62

ภาพภาคผนวกที่ 5 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิ (โซน 1) (Daeng jakgrapat zone 1)..... 63

ภาพภาคผนวกที่ 6 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิ (โซน 2) (Daeng jakgrapat zone 2)..... 64

ภาพภาคผนวกที่ 7 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์แก้ว (Kaeo) 65

ภาพภาคผนวกที่ 8 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์มันหอม (Manhom)..... 66

ภาพภาคผนวกที่ 9 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์เออร์วิน (Irwin) 67

ภาพภาคผนวกที่ 10 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์อกร่องเขียว (Okrong-khiao) 68

ภาพภาคผนวกที่ 11 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์สามฤดูมัน (Samruedu-man)..... 69

ภาพภาคผนวกที่ 12 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์สามฤดู (Samruedu)..... 70

ภาพภาคผนวกที่ 13 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์สามปี (Sampi) 71

ภาพภาคผนวกที่ 14 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์แรด (Raet) 72

ภาพภาคผนวกที่ 15 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์มหาชนก (Mahacharnok) 73

ภาพภาคผนวกที่ 16 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์แขนอ่อน (Khaen-on) 74

ภาพภาคผนวกที่ 17 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทอง (Namdokmai-sithong) 75

ภาพภาคผนวกที่ 18 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์ตลับนาค (Talapnak) 76

ภาพภาคผนวกที่ 19 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์ (Chok-anan)..... 77

ภาพภาคผนวกที่ 20 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์แก้มแดง (Kaemdaeng)..... 78

ภาพภาคผนวกที่ 21 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ โดยใช้เทคนิคทาง ชีวโมเลกุลอาร์เอพีดี (RAPD) กับไพรเมอร์ OPAM-4 และ OPA-19..... 86

ภาพภาคผนวกที่ 22 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ โดยใช้เทคนิคทาง ชีวโมเลกุลอาร์เอพีดี (RAPD) กับไพรเมอร์ OPA-20 และ OPB-05..... 87

ภาพภาคผนวกที่ 23 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ โดยใช้เทคนิคทาง ชีวโมเลกุลอาร์เอพีดี (RAPD) กับไพรเมอร์ OPB-13 และ OPC-06..... 88

ภาพภาคผนวกที่ 24 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ โดยใช้เทคนิคทาง ชีวโมเลกุลอาร์เอพีดี (RAPD) กับไพรเมอร์ OPF-03 และ OPF-12 89

ภาพภาคผนวกที่ 25 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ โดยใช้เทคนิคทาง ชีวโมเลกุลอาร์เอพีดี (RAPD) กับไพรเมอร์ OPG-07 และ OPG-10 90

ภาพภาคผนวกที่ 26 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ โดยใช้เทคนิคทาง ชีวโมเลกุลอาร์เอพีดี (RAPD) กับไพรเมอร์ OPL-04 และ OPL-07 91

ภาพภาคผนวกที่ 27 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ โดยใช้เทคนิคทาง ชีวโมเลกุลอาร์เอพีดี (RAPD) กับไพรเมอร์ OPM-15 และ OPM-16..... 92

บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญของปัญหา

มะม่วง (*Mangifera indica* L.) จัดเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Anacardiaceae และเป็นที่รู้จักกันอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะในแถบบริเวณเขตร้อน (Kit and Chandran, 2010) นอกจากนี้มะม่วงยังมีโครโมโซมเป็น 2n = 40 (เกศิณี, 2528) ซึ่งจัดได้ว่าเป็นไม้ผลประเภทเขตร้อน และพบว่ามะม่วงมีการปลูกมากที่สุดในประเทศอินเดีย แอฟริกา และอเมริกาใต้ (Rajwana *et al.,* 2008) สำหรับประเทศไทยนั้นมะม่วงยังคงจัดเป็นไม้ผลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศซึ่งปลูกกันมากในทั่วทุกภาคของประเทศไทย (สำนักคุ้มครองพันธุ์พืชแห่งชาติ, 2547) เนื่องจากมะม่วงปลูกง่ายโตเร็ว สามารถรับประทานได้ทั้งผลสุกและผลดิบ (ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว, 2556) ในปัจจุบันนี้ที่มีการปลูกมะม่วงมากมายหลากหลายสายพันธุ์นั้นได้ทำให้เกิดปัญหาเกี่ยวกับการจัดจำแนกลักษณะทางพันธุกรรมของมะม่วง เนื่องจากมะม่วงเป็นพืชผสมข้ามจึงเกิดความแตกต่างมากมายหลากหลายในแต่ละสายพันธุ์ หรือบางสายพันธุ์อาจจะมีชื่อเรียกหลากหลายชื่อในสายพันธุ์เดียวกัน แต่แตกต่างกันออกไปตามแต่ละพื้นที่ (เกียรติเกษตร, 2547; Kheshin *et al.,* 2016) และในอนาคตก็ยังคงมีมะม่วงสายพันธุ์ใหม่เกิดขึ้นอีกมากมายซึ่งจะทำให้เกิดความสับสนในแต่ละสายพันธุ์ของมะม่วง (เกศิณี, 2546) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาของมะม่วงที่แตกต่างกันออกไป ซึ่งได้แก่ ลักษณะทางด้านรูปร่างของใบ ลักษณะผล เช่น ความกว้างผล ความยาวผล ความหนาผล สีผล และรสชาติ เป็นต้น หรือในบางสายพันธุ์ก็มีลักษณะที่คล้ายคลึงกันมากจนเกินไป ทำให้ยากต่อการแยกและจัดจำแนกความแตกต่างของแต่ละสายพันธุ์ได้ การใช้เครื่องหมายทางสัณฐานวิทยา (Morphological marker) ซึ่งจัดเป็นเครื่องหมายชนิดหนึ่งที่อาศัยการสังเกตลักษณะจากภายนอกด้วยตาเปล่า แต่ก็มีข้อจำกัดคือ การแสดงออกทางลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอกอาจจะเกิดความผิดพลาดในการแยกและจัดจำแนกความแตกต่างของสายพันธุ์มะม่วงได้ (อรรัตน์, 2548) งานวิจัยนี้จึงได้นำเอาเทคนิคทางชีวโมเลกุล (Molecular technique) เข้ามาช่วยในการตรวจสอบเพื่อให้เกิดความแม่นยำในการระบุความแตกต่างของมะม่วงในแต่ละสายพันธุ์ โดยการศึกษาลักษณะทางจีโนไทป์ของมะม่วงจากรูปแบบอัลลีลที่มีลักษณะแตกต่างกัน ทำการศึกษาโดยการเก็บรวบรวมข้อมูลทางด้านลักษณะสัณฐานวิทยาของใบและผลมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ ที่ได้จากแปลงรวบรวมพันธุ์สาขาไม้ผล (บ้านโป่ง) มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ และทำการตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วง โดยการนำเทคนิคทางชีวโมเลกุล อาร์เอพีดี (RAPD technique) เข้ามาช่วยในการแยกความแตกต่างและความหลากหลายทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วงในแต่ละ

สายพันธุ์ โดยข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้จะทำการเก็บรวบรวมไว้เป็นฐานข้อมูลทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วงเพื่อที่จะนำไปใช้ในงานทางด้านการปรับปรุงพันธุ์มะม่วงต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1) เพื่อศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของสายพันธุ์มะม่วง ได้แก่ ลักษณะทางด้านรูปร่างใบและลักษณะทางด้านรูปร่างผลมะม่วงในสายพันธุ์ต่างๆ

2) เพื่อตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วง โดยการใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล อาร์เอพีดี (RAPD)

ขอบเขตการศึกษา

การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาทางด้านรูปร่างใบและผลมะม่วง และตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วง จำนวน 20 สายพันธุ์ จากแปลงรวบรวมพันธุ์สาขาไม้ผล (บ้านโปง) มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลชนิดอาร์เอพีดี (RAPD)

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

เพื่อเข้าใจถึงลักษณะของสายพันธุ์มะม่วงในแต่ละสายพันธุ์ โดยดูจากสัณฐานวิทยา (Morphology) และทางเทคนิคชีวโมเลกุล อาร์เอพีดี (RAPD)

บทที่ 2
การตรวจเอกสาร

ลักษณะทั่วไปของมะม่วง

มะม่วง มีชื่อสามัญว่า Mango จัดเป็นพืชที่อยู่ในสกุล Mangifera วงศ์ Anacardiaceae ชื่อวิทยาศาสตร์ *Mangifera indica* L. มีโครโมโซมเป็น 2n = 40 (Shamili *et al.,* 2012) และเป็นไม้ผลประเภทเขตร้อนที่มีการเจริญเติบโตแบบไม้ยืนต้น ไม่ผลัดใบ สำหรับประเทศไทยมะม่วงยังคงถูกจัดให้เป็นไม้ผลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจอีกประเภทหนึ่ง เนื่องจากมะม่วงเป็นพืชที่ปลูกง่าย โตเร็ว ทนต่อสภาพอากาศในเขตร้อนได้ดี สามารถปลูกได้ในทั่วทุกภาคของประเทศ เจริญเติบโตได้ดีในดินเกือบทุกชนิด และยังสามารถนำมารับประทานได้ทั้งผลดิบ และผลสุก (ประเสริฐ, 2548) มะม่วงมีถิ่นกำเนิดมาจากทางเขตร้อนซึ่งเป็นบริเวณเขตกลุ่มอินโด-เบอร์มา (Indo-Burma) และยังพบว่ามีการเพาะปลูกมากกว่า 4,000 ปี ในประเทศอินเดีย (Nakasone and Paull, 1998) นอกจากนี้ยังพบว่ามะม่วงมีการเจริญเติบโตมากในบริเวณแถบเขตร้อน และเขตกึ่งร้อนของโลก

มะม่วงจัดเป็นพืชผสมข้ามจึงมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง และยังพบว่ามีแนวโน้มที่จะเพิ่มมากขึ้นอีกด้วย (เกศิณี, 2546) ดังนั้นจึงได้มีวิธีการในการจัดจำแนกสายพันธุ์มะม่วงที่หลากหลายวิธี โดยการพิจารณาจากกลุ่มสายพันธุ์มะม่วงซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม ตามพื้นฐานของชนิดเอ็มบริโอ (Rajwana *et al.,* 2008) ซึ่งจะสังเกตได้จากเมล็ดของมะม่วงที่มีการงอกของต้นอ่อนในรูปแบบที่ต่างกัน ได้แก่

1) มะม่วงในกลุ่มอินเดีย (Indian mango) มีถิ่นกำเนิดมาจากทางตอนเหนือของประเทศอินเดีย และประเทศปากีสถาน โดยลักษณะของมะม่วงกลุ่มนี้จะมีลักษณะที่แตกต่างจากมะม่วงในกลุ่มอินโดจีน คือเมล็ดจะมีการงอกของต้นกล้าเพียงหนึ่งต้นต่อหนึ่งเมล็ด (monoembryony) และลักษณะของต้นกล้าที่ได้จะเกิดการกลายพันธุ์ (สนั่น และคณะ, 2533)

2) มะม่วงในกลุ่มอินโดจีน (Indo-Chinese mango) มีถิ่นกำเนิดในประเทศลาว เวียดนาม กัมพูชา อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ และประเทศไทย โดยลักษณะของมะม่วงในกลุ่มนี้จะมีการงอกของเมล็ดเป็นแบบหนึ่งเมล็ดได้ต้นกล้าหลายต้น หรือประมาณ 2-12 ต้น (polyembryony) ซึ่งโดยทั่วไปแล้วสายพันธุ์มะม่วงในประเทศไทยส่วนมากจัดอยู่ในกลุ่มอินโดจีน และลักษณะของต้นกล้าที่ได้ส่วนมากมักจะตรงตามสายพันธุ์ เนื่องจากเกิดจากเซลล์ร่างกายของต้นเป็นส่วนใหญ่ (สนั่น และคณะ, 2533) และนอกจากนี้ในประเทศไทยยังจัดแบ่งมะม่วงออกเป็น 3 กลุ่มด้วยกัน โดยจัดแบ่งออกตามลักษณะของการใช้ประโยชน์และลักษณะที่จัดเป็นสายพันธุ์ทางการค้า ได้แก่

1) มะม่วงเพื่อการรับประทานผลดิบ (green delicious mango) มะม่วงในกลุ่มนี้เหมาะกับการรับประทานผลดิบมากกว่า โดยจะรับประทานตั้งแต่ในระยะที่ผลยังไม่แก่จัดจนถึงผลแก่จัด

มากกว่าการรับประทานผลสุก ส่วนเนื้อมะม่วงจะมีรสชาติหวาน มัน กรอบ หรือหวานมัน อมเปรี้ยวเล็กน้อย นิยมเรียกว่า “มะม่วงมัน” เช่น เขียวเสวย ทองดำ แรด ลิ้นงู่เห่า แก้วลืมคอน ซึ่งจะสามารถเก็บผลนำมารับประทานได้ในช่วงตั้งแต่เริ่มเข้าไคล เพราะจะมีรสชาติหวานเมื่อแก่จัด ส่วนมะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่น สายฝน หนองแซง และแห้ว จะนิยมรับประทานตั้งแต่ผลยังเล็ก เนื่องจากมีรสชาติมันเป็นต้น (พิจิตร, 2545)

2) มะม่วงเพื่อการรับประทานผลสุก (ripe delicious mango) มะม่วงในกลุ่มนี้จะเหมาะกับการรับประทานผลสุกมากกว่ารับประทานผลดิบ เนื่องจากผลดิบจะมีรสชาติเปรี้ยวถึงเปรี้ยวมาก พอสุกจะมีรสชาติหวานอร่อย ดังนั้นจึงนิยมเก็บผลมะม่วงในช่วงที่ผลแก่จัดเพื่อนำมาบ่มให้สุกก่อนรับประทาน เช่น มะม่วงน้ำดอกไม้สีทอง มหาชนก แขนอ่อน อกร่องทอง และหนังกลางวัน เป็นต้น (ภูวนารถ, 2545)

3) มะม่วงเพื่อการแปรรูป (processing mango) เป็นมะม่วงที่ให้ผลค่อนข้างดก และมะม่วงในกลุ่มนี้เหมาะสำหรับการนำมาแปรรูปมากกว่าการนำไปใช้ประโยชน์อย่างอื่น เนื่องจากมีลักษณะของเนื้อหนา แน่น ไม่มีเส้นใย สีเข้มมีกลิ่นหอมเด่นชัด รสหวาน เช่น มะม่วงแก้ว และสามปี เป็นต้น (พิจิตร, 2545)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลำต้น มะม่วงเป็นไม้ยืนต้น ไม่ผลัดใบ (everygreen) มีลักษณะของลำต้นที่ตั้งตรงสามารถสูงได้ประมาณ 10-30 เมตร (Khan *et al.,* 2015) โดยจะขึ้นอยู่กับชนิดของสายพันธุ์และอายุของต้น ส่วนเปลือกของลำต้นนั้นจะมีลักษณะเป็นสีน้ำตาล เปลือกแข็ง ผิวขรุขระและมีเกล็ด แต่ถ้าหากเป็นต้นอ่อนจะมีลักษณะของเปลือกเป็นสีเขียวอ่อน ส่วนลักษณะของทรงพุ่มต้นมะม่วงมักจะมีลักษณะเป็นทรงรูปครึ่งวงกลม ทรงรูปไข่ หรือทรงรูปยาวเรียว (ประเสริฐ, 2548)

ราก มะม่วงมีระบบรากแก้วถ้าเพาะจากเมล็ด (ธีรนุช, 2555) โดยมีความยาวของรากที่ลึกลงไปในดินประมาณ 6 เมตร โดยส่วนใหญ่แล้วรากดูดอาหารมักจะอยู่บริเวณผิวดินซึ่งจะลึกลงไปประมาณ 1 เมตร และมักจะมีการแผ่รัศมีออกเป็นวงกว้างๆบริเวณโคนต้น ส่วนการกระจายตัวของรากดูดอาหารนั้นจะขึ้นอยู่กับการเปลี่ยนแปลงของฤดูกาลร่วมกับความชื้นภายในดิน (Bally, 2006)

ใบ ใบมะม่วงนั้นจัดเป็นใบเดี่ยวเรียงกันแบบสลับ ไม่มีขน ไม่มีใบหู มีเส้นใบเล็กและห่างกัน ขอบใบไม่มีเส้นใบ ใบอ่อนมักจะมีสีแดงหรือม่วง เมื่อใบแก่มักจะเปลี่ยนสีเป็นสีเขียวเข้มและผิวมัน (เกศิณี, 2546) ก้านใบยาวประมาณ 1-12 เซนติเมตร (Bally, 2006) แผ่นใบโดยส่วนใหญ่จะยาวประมาณ 8-40 เซนติเมตร กว้างประมาณ 2-10 เซนติเมตร และมีลักษณะของรูปร่างใบเป็นแบบรูปหอก รูปไข่ รูปยาวเรียว และรูปโล่ ฐานใบจะมีรูปร่างเป็นแบบรูปลิ่ม ปลายใบจะมีรูปร่างเป็นแบบแหลม ขอบใบส่วนมากจะเป็นขอบใบคลื่น ส่วนลักษณะของแผ่นใบนั้นมักจะมีลักษณะของ

เส้นกลางใบชัดเจนและมีเส้นใบย่อยมาก นอกจากนี้ในส่วนของรูปร่างลักษณะของใบนั้นอาจจะมีความแตกต่างกันไปซึ่งจะขึ้นอยู่กับแต่ละสายพันธุ์ของมะม่วง (ประเสริฐ, 2548)

ดอกและช่อดอก มะม่วงจัดเป็นช่อดอกแบบกระจุก (cyme) ก้านดอกสั้น ออกดอกตามปลายกิ่งหรือตาดอกที่อยู่ปลายกิ่ง มีการแตกกิ่งก้านแบบ panicle ช่อดอกมีความยาวประมาณ 10-60 เซนติเมตร ในหนึ่งช่อดอกจะมีดอกประมาณ 1,000-6,000 ดอกต่อช่อ และในแต่ละช่อดอกจะประกอบไปด้วยดอก 2 ประเภท คือ ดอกเพศผู้ (male) และดอกสมบูรณ์เพศ (hermaphrodite) (Samson, 1986) ปกติแล้วมักจะมีอัตราส่วนของดอกสมบูรณ์เพศอยู่เพียง 1-30 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนดอกมะม่วงทั้งหมด ส่วนจะมีดอกสมบูรณ์เพศมากหรือน้อยนั้นอาจจะขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายๆ อย่าง เช่น สภาพแวดล้อม อุณหภูมิ หรือแสง (ประเสริฐ, 2548) การกระตุ้นการออกจะต้องอยู่ในสภาพแล้งและมีอุณหภูมิต่ำประมาณ 10-12 องศาเซลเซียส (ธีรนุช, 2555) ส่วนดอกย่อยจะมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 5-8 มิลลิเมตร และดอกจะมีหลากหลายสีแตกต่างกัน เช่น สีแดง ชมพู หรือขาว กลีบเลี้ยง มี 4-5 กลีบแยกกัน กลีบดอก โดยทั่วไปมักจะมี 5 กลีบ ส่วนความยาวจะเป็น 2 เท่าของกลีบเลี้ยง ดอกตัวผู้จะมีเกสรตัวผู้จำนวน 1-5 อัน แต่ทำงานได้ดีมีจำนวนเพียง 1 อัน หรือไม่เกิน 2 อัน ที่เหลือจะฝ่อ สำหรับดอกเกสรตัวเมีย เมื่อแก่อับเรณูจะเปลี่ยนจากสีชมพูเป็นสีม่วงและจะฝ่อไปในที่สุด และเกสรตัวเมียจะมีรังไข่ 1 ช่อง มีตำแหน่งอยู่เหนือฐานรองดอกรูปร่างเบี้ยวไม่มีก้าน (เกศิณี, 2546)

ผล มะม่วงจัดเป็นผลประเภทผลเดี่ยว (simple fruit) มีเนื้อผลสด (fleshy fruit) และมีเมล็ดเดี่ยวแข็ง (drupe) ผลมะม่วงมักจะมีความแตกต่างกันในเรื่องของขนาด รูปร่าง สีเปลือก สีเนื้อ ปริมาณเสี้ยน รสชาติ และกลิ่น โดยส่วนมากผลมะม่วงมักจะมีผิวเรียบ ผลดิบจะเป็นสีเขียว เมื่อสุกเนื้อผลจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองถึงสีเหลืองส้ม ส่วนรูปร่างของผลนั้นจะมีตั้งแต่ผลกลมไปจนถึงผลค่อนข้างยาว (เกศิณี, 2546) และผลจะสุกแก่ภายใน 3-4 เดือน (ประเสริฐ, 2548)

เมล็ด เมล็ดจะอยู่ภายในผลซึ่งจะมีจำนวน 1 เมล็ด และจะอยู่ถัดจากผนังผลชั้นในเข้าไป นอกจากนี้เมล็ดจะมีขนาดที่แตกต่างกันออกไปตามแต่ละสายพันธุ์ โดยจะมีขนาดของเมล็ดตั้งแต่ขนาดเล็กไปจนถึงขนาดใหญ่ ในบางสายพันธุ์อาจจะมีเมล็ดลีบจนถึงเกือบไม่มีเมล็ด ส่วนเปลือกหุ้มเมล็ดนั้นจะมีเยื่อหุ้ม 2 ชั้นด้วยกัน คือเยื่อหุ้มชั้นใน (tegmen) และเยื่อหุ้มชั้นนอก (testa) (เกศิณี, 2546)

ความสำคัญทางเศรษฐกิจ

มะม่วงจัดเป็นไม้ผลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศซึ่งมีพื้นที่ในการปลูกมะม่วงของประเทศไทย 1.97 ล้านไร่ แหล่งผลิตที่สำคัญคือ 12 จังหวัด ได้แก่ นครราชสีมา ชัยภูมิ ขอนแก่น กาฬสินธุ์ อุดรธานี พิษณุโลก พิจิตร เพชรบูรณ์ สุโขทัย น่าน ลำพูน และเชียงใหม่ โดยมีผลผลิต

รวมอยู่ที่ 3.12 ล้านตัน ผลผลิตเฉลี่ย 1,583 กิโลกรัมต่อไร่ ต้นทุนในการผลิต 5.42 บาทต่อกิโลกรัม ราคาที่เกษตรกรสามารถขายได้เฉลี่ย 29.75 บาทต่อกิโลกรัม และมีปริมาณในการส่งออกมะม่วงอยู่ที่ 117,472 ตัน คิดเป็นมูลค่า 4,385 ล้านบาท การส่งออกมะม่วงนั้นจะส่งออกในรูปแบบของมะม่วงสดอบไอน้ำโดยจะส่งออกไปที่ญี่ปุ่นและเกาหลีใต้ ซึ่งถือว่าเป็นตลาดหลักสำคัญของประเทศไทย ในปี 2562 มีปริมาณในการส่งออกมะม่วงอยู่ที่ 12,136.70 ตัน คิดเป็นมูลค่า 1,261.70 ล้านบาท และในช่วงฤดูกาลผลิตมะม่วงตั้งแต่เดือนเมษายนถึงเดือนมิถุนายนจะสามารถส่งออกผลผลิตได้ปริมาณ 6,327 ตัน หรือคิดเป็นร้อยละ 52.13 คิดเป็นมูลค่า 613.58 ล้านบาท หรือคิดเป็นร้อยละ 48.63 นอกจากนี้ยังมีโรงอบไอน้ำที่สามารถรองรับได้เพียง 7 โรง และสำหรับเดือนมกราคมถึงเดือนกุมภาพันธ์ ปี 2563 มีการส่งออกผลผลิตได้ในปริมาณ 1,901.82 ตัน คิดเป็นมูลค่า 168.91 ล้านบาท หากเมื่อเทียบกับปี 2562 ในช่วงเวลาเดียวกันนั้นสามารถส่งออกผลผลิตได้ 1440.69 ตัน คิดเป็นมูลค่า 161.12 ล้านบาท ซึ่งเพิ่มขึ้นร้อยละ 32 (สำนักข่าวไทย, 2563) จากข้อมูลสถิติในการส่งออกมะม่วงจะเห็นได้ว่าในปัจจุบันมีการส่งออกผลผลิตที่เพิ่มมากขึ้นแต่ตลาดหลักที่สำคัญในการส่งออกยังคงมีน้อย หากมีการจัดการผลผลิตหรือการถ่ายทอดเทคโนโลยีใหม่ๆ ให้กับเกษตรกรชาวสวนมะม่วงตั้งแต่การปลูก การดูแลผลผลิต การจัดส่ง หรือการจัดการฉายรังสีให้กับเกษตรกรและผู้ประกอบการที่มีความสนใจก็จะสามารถช่วยยกระดับคุณภาพสินค้าให้ได้มาตรฐานและสร้างโอกาสในการส่งออกมะม่วงได้

การจัดจำแนกสายพันธุ์มะม่วง

มะม่วงเป็นไม้ผลที่ปลูกง่าย โตเร็ว สามารถทนต่อสภาพอากาศที่แปรปรวนได้ดีจึงทำให้นิยมปลูกกันมากในทั่วทุกภาคของประเทศ แต่เดิมมะม่วงมักจะนิยมขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเมล็ด (seeding) ข้อจำกัดในการเพาะเมล็ดคือก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ ความหลากหลายทางพันธุกรรม และเกิดการกระจายของสายพันธุ์ที่แตกต่างออกไปจากต้นเดิม จึงทำให้มะม่วงในบางสายพันธุ์มีลักษณะที่คล้ายคลึงกันหรือในบางสายพันธุ์ก็มีลักษณะแตกต่างกัน บางสายพันธุ์ก็อาจจะเกิดจากการเรียกชื่อที่แตกต่างกันออกไปตามแต่ละท้องถิ่นที่เป็นแหล่งปลูก ซึ่งก็ทำให้เกิดความสับสนในการจัดจำแนกสายพันธุ์มะม่วง (สำนักคุ้มครองพันธุ์พืชแห่งชาติ, 2544) ดังนั้นจึงได้มีการศึกษาลักษณะภายนอกของมะม่วง เช่น ใบ และผล ซึ่งจะใช้ลักษณะของใบคือ รูปร่างใบ ปลายใบ ฐานใบ ขอบใบ และลักษณะของทรงผลเป็นหลัก (ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว, 2556) โดยลักษณะของใบและลักษณะของทรงผลที่นำมาใช้ในการจัดจำแนกกลุ่มมะม่วงอ้างอิงจากสำนักคุ้มครองพันธุ์พืชแห่งชาติ (2544) มีดังนี้ (ภาพที่ 1-5)

ยาวเรียว (linear-oblong)

ขอบขนาน (oblong)

ป้อมปลายใบ (oblanceolate)

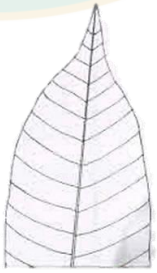
ป้อมกลางใบ (elliptical)

ป้อมโคนใบ (lanceolate)

ภาพที่ 1 ลักษณะรูปร่างของใบ (leaf shape)

ที่มา : สำนักคุ้มครองพันธุ์พืชแห่งชาติ, 2544

สอบเรียว (attenuate)

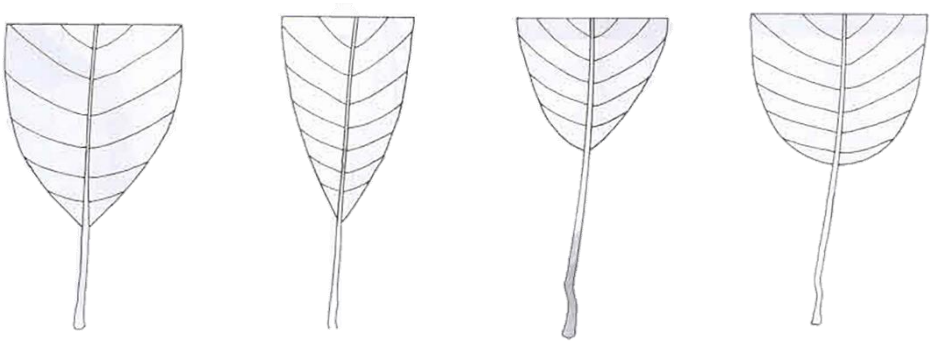


เรียวแหลม (acuminate)

แหลม (acute)

ภาพที่ 2 ลักษณะปลายใบ (leaf apex)

ที่มา : สำนักคุ้มครองพันธุ์พืชแห่งชาติ, 2544

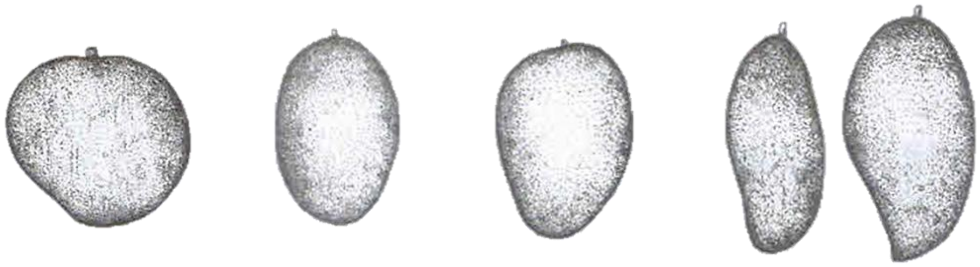


แหลม (acute) สอบเรียว (attenuate) มน (obtuse) กลม (rounded)

ภาพที่ 3 ลักษณะฐานใบ (leaf base)
ที่มา : สำนักคุ้มครองพันธุ์พืชแห่งชาติ, 2544

คลื่น (undulate) เรียบ (entire)

ภาพที่ 4 ลักษณะขอบใบ (leaf margin)
ที่มา : สำนักคุ้มครองพันธุ์พืชแห่งชาติ, 2544



ทรงกลม (roundish) รูปไข่ (ovate) รูปไข่กลับ (obovate) ทรงรี (elliptical)

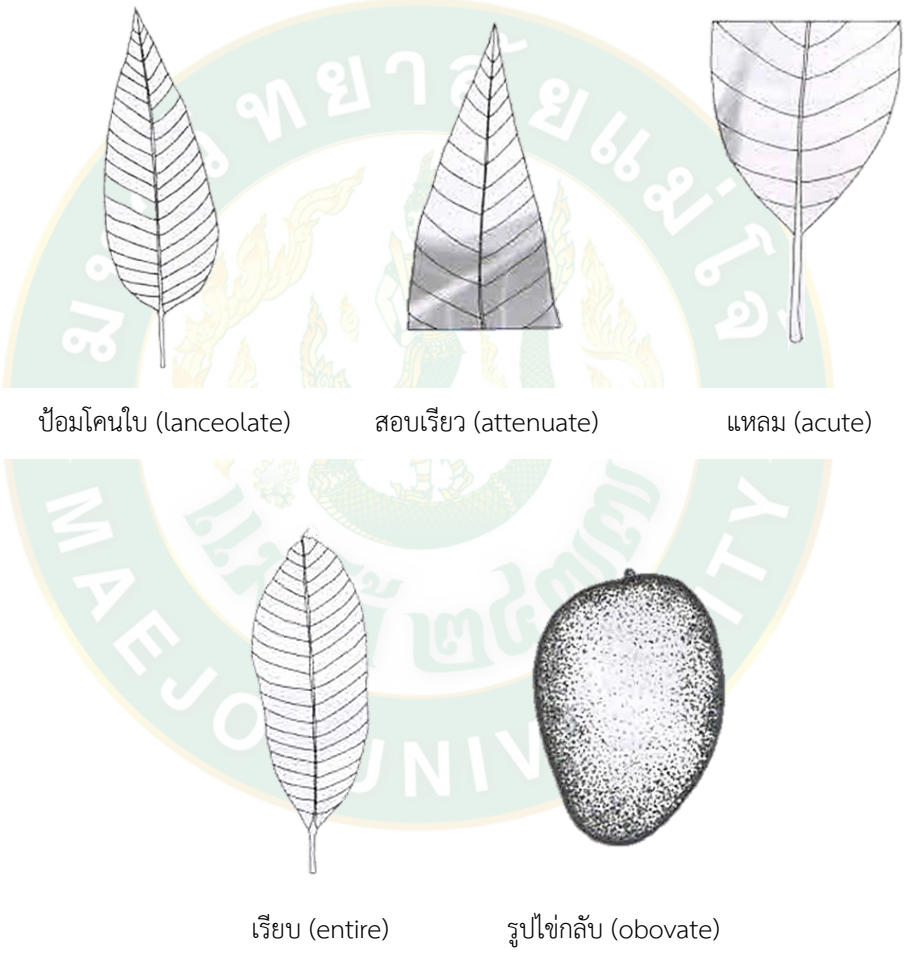
รูปขอบขนาน (oblong) ทรงกระบอก (cylindrical)

ภาพที่ 5 ลักษณะของทรงผล (fruit shape)

ที่มา : สำนักคุ้มครองพันธุ์พืชแห่งชาติ, 2544

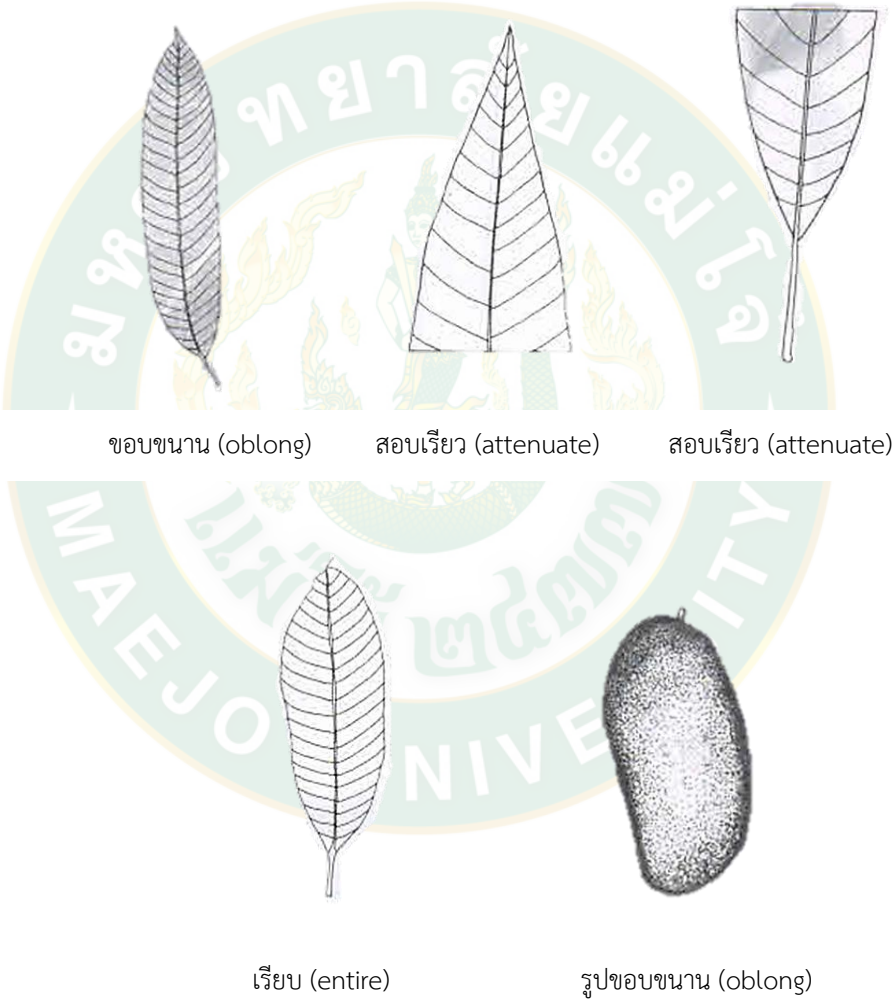
จากการศึกษาลักษณะภายนอกของมะม่วง เช่น ลักษณะของใบและลักษณะของทรงผล สามารถจัดจำแนกกลุ่มมะม่วงได้เป็น 8 กลุ่ม คือ 1) กลุ่มแก้ว 2) กลุ่มเขียวเสวย 3) กลุ่มน้ำดอกไม้ 4) กลุ่มหนังกลางวัน 5) กลุ่มอกร่อง 6) กลุ่มพราหมณ์ 7) กลุ่มผลกลม และ 8) กลุ่มเบ็ดเตล็ด ซึ่งในแต่ละกลุ่มจะมีรายละเอียดและลักษณะดังต่อไปนี้

1. กลุ่มแก้ว ลักษณะของทรงใบแบบป้อมโคนใบ (lanceolate) ลักษณะปลายใบสอบเรียว (attenuate) ลักษณะฐานใบแหลม (acute) ลักษณะขอบใบเรียบ (entire) และลักษณะของทรงผลแบบรูปไข่กลับ (obovate) (ภาพที่ 6) สายพันธุ์มะม่วงต่างๆ ที่จัดอยู่ในกลุ่มแก้ว เช่น แก้วขาว แก้วเขียว แก้วจุก หนองแซง มันแห้ว บานเย็น อ่อนมัน แมวเซา และบานขาว



ภาพที่ 6 ลักษณะทรงใบ ปลายใบ ฐานใบ ขอบใบ และลักษณะทรงผลของมะม่วงกลุ่มแก้ว
ที่มา : ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว, 2556

2. กลุ่มเขียวเสวย ลักษณะของทรงใบแบบขอบขนาน (oblong) ลักษณะปลายใบสอบเรียว (attenuate) ลักษณะฐานใบสอบเรียว (attenuate) ลักษณะขอบใบเรียบ (entire) และลักษณะของทรงผลแบบรูปขอบขนาน (oblong) (ภาพที่ 7) สายพันธุ์มะม่วงต่างๆ ที่จัดอยู่ในกลุ่มเขียวเสวย เช่น เขียวเสวย ทองดำ ลิ้นงูเห่า ฟ้าลั่น ขุนทิพย์ รจนา มันบ้านลาด ศาลายา ขายตึก เขียวเสวยรจนา กระแตลืมรัง มันสะเด็ด สังขยา ยายกล่ำ และหมอนทอง



ภาพที่ 7 ลักษณะทรงใบ ปลายใบ ฐานใบ ขอบใบ และลักษณะทรงผลของมะม่วงกลุ่มเขียวเสวย
ที่มา : ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว, 2556

3. กลุ่มน้ำดอกไม้ ลักษณะของทรงใบแบบป้อมกลางใบ (elliptical) ลักษณะปลายใบเรียวแหลม (acuminate) ลักษณะฐานใบแหลม (acute) ลักษณะขอบใบคลื่น (undulate) และลักษณะของทรงผลแบบรูปทรงรี (elliptical) (ภาพที่ 8) สายพันธุ์มะม่วงต่างๆ ที่จัดอยู่ในกลุ่มน้ำดอกไม้ เช่น น้ำดอกไม้ น้ำดอกไม้ทะวาย น้ำอกไม้สีทอง น้ำดอกไม้เบอร์ 4 น้ำดอกไม้เบอร์ 5 คอนกแก้ว ล่าหงษ์ทอง สาวน้อยลืมผัว เมล็ดนิ่ม มะลิลา และเจ้าพระยา

ป้อมกลางใบ (elliptical) เรียวแหลม (acuminate) แหลม (acute)

คลื่น (undulate) รูปทรงรี (elliptical)

ภาพที่ 8 ลักษณะทรงใบ ปลายใบ ฐานใบ ขอบใบ และลักษณะทรงผลของมะม่วงกลุ่มน้ำดอกไม้
ที่มา : ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว, 2556

4. กลุ่มหนังกลางวัน ลักษณะของทรงใบแบบขอบขนาน (oblong) ลักษณะปลายใบสอบเรียว (attenuate) ลักษณะขอบใบเรียบ (entire) และลักษณะของทรงผลแบบรูปทรงกระบอก (cylindrical) (ภาพที่ 9) สายพันธุ์มะม่วงต่างๆ ที่จัดอยู่ในกลุ่มหนังกลางวัน เช่น หนังกลางวัน งาแดง งาเขียว งาดาบ งาขาวหรืองาหม่นยาว งาขาวหรืองาหม่นสั้น งาช้าง งาท้องเรือ งาเพชรบูรณ์ (สามใบแขน) แก้วลืมคอน แก้วลืมรัง ทองปลายแขน ผ้าขี้ริ้วห่อทอง เล็บมือนาง นวลจันทร์ และน้ำตาลปากกระบอก

ขอบขนาน (oblong) สอบเรียว (attenuate) เรียบ (entire)

รูปทรงกระบอก (cylindrical)

ภาพที่ 9 ลักษณะทรงใบ ปลายใบ ขอบใบ และลักษณะทรงผลของมะม่วงกลุ่มหนังกลางวัน
ที่มา : ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว, 2556

5. กลุ่มอกร่อง ลักษณะของทรงใบแบบป้อมโคนใบ (lanceolate) ลักษณะปลายใบเรียวแหลม (acuminate) ลักษณะฐานใบแหลม (acute) ลักษณะขอบใบเรียบ (entire) และลักษณะของทรงผลแบบรูปทรงรี (elliptical) (ภาพที่ 10) สายพันธุ์มะม่วงต่างๆ ที่จัดอยู่ในกลุ่มน้ำดอกไม้ เช่น อกร่องเขียว อกร่องทอง อกร่องขาว อกร่องมัน ทองแดง ทองขาว ทองขาวยาว ทองขาวกลม แห้วหลวงอิงค์ หงสาวดี การะเกด พิมเสนมัน สวนทิพย์ ทองไม่รู้วาย แสงทอง แตงกวา แห้วมัน-ทะวาย พรวนขอตับเป็ด แฟบ กำปั่น ระเด่นขาว ขี้ทุบ นวลแตง แก้มแดง ลูกโยน พระอินทร์ สามฤดู ขี้ใต้ มันทองเอง แรด เจ้าคุณทิพย์ ตะเพียนทอง สามปี พิมเสนเปรี้ยว พญาลืมเฝ้า มันทะวาย ระเด่นเขียว อกร่องกะทิ มันอยุธยา กล้วย ขอช้าง หอระฆัง มันค่อม ตาเตะหลาน ค้างคาวลืมรัง ขายตึก เลื่อย ทูลถวาย เทพนิมิต เจ้าเสวย เกล็ด แก้วสามปี งาแบบตลับนาค เขียวสะอาด แก้วหอม กระสวย ช้างตกตึก มณโฑ มันเมืองสิงค์ เขียวภูเก็ต รจนา พัดน้ำผึ้ง ทองประกายแสด และสาวน้อย-กระทืบหอ

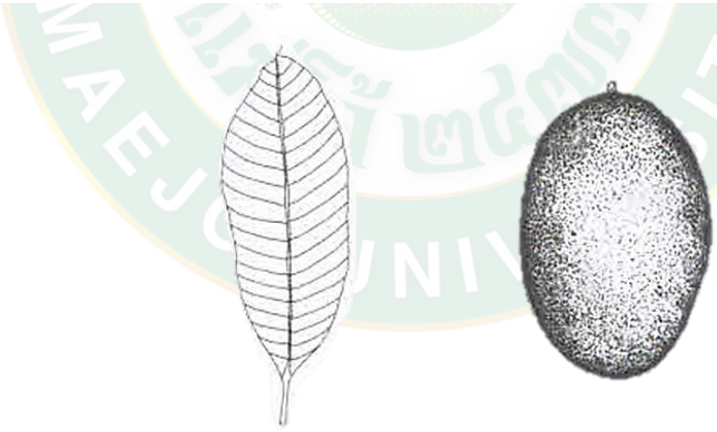
ป้อมโคนใบ (lanceolate) เรียวแหลม (acuminate) แหลม (acute)

เรียบ (entire) รูปทรงรี (elliptical)

ภาพที่ 10 ลักษณะทรงใบ ปลายใบ ฐานใบ ขอบใบและลักษณะทรงผลของมะม่วงกลุ่มอกร่อง
ที่มา : ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว, 2556

6. กลุ่มพราหมณ์ ลักษณะของทรงใบแบบป้อมกลางใบ (elliptical) ลักษณะปลายใบเรียวแหลม (acuminate) ลักษณะฐานใบแหลม (acute) ลักษณะขอบใบเรียบ (entire) และลักษณะของทรงผลแบบรูปไข่ (ovate) (ภาพที่ 11) สายพันธุ์มะม่วงต่างๆ ที่จัดอยู่ในกลุ่มพราหมณ์ เช่น พราหมณ์เนื้อเหลือง พราหมณ์เนื้อแดง พราหมณ์ก้นขอ มะปราง นกกระจิบ เบา กะหล่อนทอง ทองหยด คำ ทองหวาย เทพรส และหินทอง

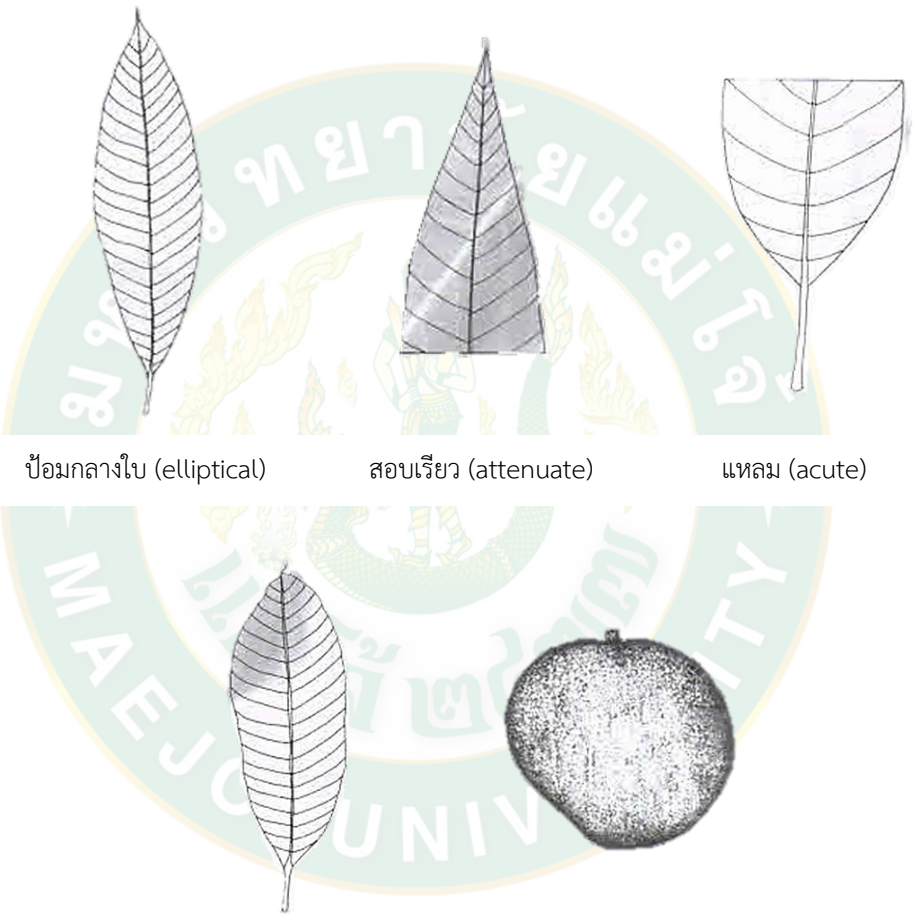
ป้อมกลางใบ (elliptical) เรียวแหลม (acuminate) แหลม (acute)



เรียบ (entire) รูปไข่ (ovate)

ภาพที่ 11 ลักษณะทรงใบ ปลายใบ ฐานใบ ขอบใบ และลักษณะทรงผลของมะม่วงกลุ่มพราหมณ์
ที่มา : ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว, 2556

7. กลุ่มผลกลม ลักษณะของทรงใบแบบป้อมกลางใบ (elliptical) ลักษณะปลายใบสอบเรียว (attenuate) ลักษณะฐานใบแหลม (acute) ลักษณะขอบใบเรียบ (entire) และลักษณะของทรงผลแบบทรงกลม (roundish) (ภาพที่ 12) สายพันธุ์มะม่วงต่างๆ ที่จัดอยู่ในกลุ่มผลกลม เช่น อินทรชิต ตลับนาค ทุเรียน น้ำตาลเตา น้ำตาลทรายหนัก หอยแครง จันทร์เจ้าขา น้ำตาลจีน และตะพาบกลม



ภาพที่ 12 ลักษณะทรงใบ ปลายใบ ฐานใบ ขอบใบ และลักษณะทรงผลของมะม่วงกลุ่มผลกลม
ที่มา : ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว, 2556

8. กลุ่มเบ็ดเตล็ด ลักษณะของทรงใบ ปลายใบ ฐานใบ ขอบใบมีลักษณะที่ไม่อยู่ในกลุ่มใดกลุ่มหนึ่งจึงไม่สามารถระบุกลุ่มได้อย่างชัดเจน หรืออาจมีลักษณะของกลุ่มหนึ่งปนกับอีกหลากหลายกลุ่มร่วมกันจนทำให้ไม่สามารถจัดกลุ่มได้ (ภาพที่ 13) ส่วนสายพันธุ์มะม่วงต่างๆ ที่จัดอยู่ในกลุ่มเบ็ดเตล็ด คือ เงาะ มันทะลุฟ้า มะปราง มาทัน ไอ้ฮวบ พระยาเสวย มันหมู และกะลาแม

พันธุ์เงาะ พันธุ์มันทะลุฟ้า

ภาพที่ 13 ลักษณะทรงใบ ปลายใบ และขอบใบของมะม่วงกลุ่มเบ็ดเตล็ด
ที่มา : ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว, 2556

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วง

มะม่วงจัดเป็นพืชดิพพลอยด์ (diploid) ที่มีโครโมโซมเป็น 2n=2X=40 และมีขนาดจีโนมประมาณ 4.39 × 10^8 bp (Tsai *et al.,* 2013) โดยทั่วไปมะม่วงจะมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง เนื่องมาจากมะม่วงเป็นพืชผสมข้ามจึงทำให้มีความแตกต่างที่หลากหลายของสายพันธุ์มะม่วงเกิดขึ้น นอกจากนี้ความหลากหลายทางพันธุกรรมที่เกิดขึ้นอาจเนื่องมาจากการผันแปรในลักษณะต่างๆ ของสายพันธุ์มะม่วง ซึ่งอาจมีสาเหตุของความผันแปรอยู่ 3 รูปแบบ ดังนี้

1. ความผันแปรอันเนื่องมาจากการพัฒนาของพืช (developmental variation) คือ ความผันแปรที่เกิดจากสรีรวิทยาของพืช โดยพืชที่มีชนิดเดียวกันแต่แตกต่างกันทางด้านโครงสร้างการเจริญเติบโต เช่น มะม่วงในบางสายพันธุ์มีการเจริญเติบโตของใบอ่อนเป็นสีม่วง และบางสายพันธุ์มีการเจริญเติบโตของใบอ่อนเป็นสีเขียว

2. ความผันแปรอันเนื่องมาจากพันธุกรรมของพืช (genetic variation or genotypic variation) คือ ความผันแปรอันเนื่องมาจากความแตกต่างของยีน (gene) ซึ่งความแตกต่างกันของยีนสามารถถ่ายทอดไปทางพันธุกรรมได้อีกด้วย และอาจจะเกิดจาก 2 สาเหตุด้วยกัน คือ 1. การกลายพันธุ์อันเนื่องมาจากการย้ายยีนหรือการรวมตัวกันของยีน ซึ่งอาจเกิดจากการแลกเปลี่ยนยีนกันภายในพืช และสาเหตุที่ 2 คือ การผ่าเหล่าอาจเนื่องมาจากการเพิ่มหรือการลดลงของโครโมโซมหรืออาจเกิดจากการสลับชิ้นส่วนกันของโครโมโซม เป็นต้น

3. ความผันแปรอันเนื่องมาจากสภาพแวดล้อม (environmental variation) คือ การผันแปรอันเนื่องมาจากสภาพของดินฟ้าอากาศที่พืชนั้นมีการเจริญเติบโต เช่น น้ำ ดิน แร่ธาตุ อุณหภูมิ เป็นต้น

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วงอาจเนื่องมาจากมะม่วงเป็นพืชผสมข้ามจึงทำให้มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงรวมถึงอาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมที่เกิดขึ้นจึงทำให้ลักษณะของสายพันธุ์มะม่วงบางสายพันธุ์มีลักษณะที่แตกต่างกันออกไป เช่น ขนาดต้น ขนาดทรงพุ่ม ขนาดโครงสร้าง จำนวนใบ จำนวนดอก หรืออาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงบางลักษณะเพียงเล็กน้อย เช่น ลักษณะรูปร่างใบ การหยักของขอบใบ รูปร่างผล ขนาดผล เป็นต้น (เกศิณี, 2546)

เทคนิคโมเลกุลเครื่องหมาย (Molecular marker techniques)

1. ความหมายของโมเลกุลเครื่องหมาย

เครื่องหมาย คือ สิ่งที่ใช้บ่งบอกความแตกต่างระหว่างของ 2 สิ่ง โดยที่สามารถนำไปใช้ได้กับสิ่งมีชีวิต โมเลกุลเครื่องหมาย คือ สิ่งที่บ่งบอกถึงความแตกต่างกันของสิ่งมีชีวิตที่สามารถถ่ายทอดได้ทางพันธุกรรม

ความหลากหลายของพันธุกรรม (genetic diversity) หรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่าความแปรปรวนของพันธุกรรม (genetic variation) ซึ่งก็คือที่มาของเครื่องหมายทางพันธุกรรม (genetic marker) โดยเครื่องหมายทางพันธุกรรมนี้จะสามารถตรวจสอบได้ถึงระดับทางสัณฐานวิทยา (morphological marker) ระดับทางชีวเคมี (biochemical marker) และระดับทางโมเลกุล (molecular หรือ DNA marker) ดังนั้นจึงสามารถแบ่งเครื่องหมายทางพันธุกรรม (genetic marker) ได้ออกเป็น 3 ประเภท

1.1 เครื่องหมายทางสัณฐานวิทยา (morphological marker) คือ เครื่องหมายที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ซึ่งก็คือลักษณะภายนอกที่มีความแตกต่างกันในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด เช่น ลักษณะสีผมหรือสีตาในมนุษย์ ลักษณะสีดอกหรือกลีบดอกของดอกไม้ เป็นต้น

ในทางการปรับปรุงพันธุ์พืชนั้น เครื่องหมายทางสัณฐานวิทยาถือว่าเป็นเครื่องหมายที่มีความสำคัญชนิดหนึ่ง เนื่องจากว่าถ้าเครื่องหมายทางสัณฐานวิทยาเป็นเครื่องหมาย (marker) ที่มีความสัมพันธ์กันกับลักษณะที่สำคัญของพืชชนิดนั้น เช่น ในเรื่องของการให้ผลผลิตสูง ต้านทานต่อโรคและแมลง หรือทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดี โดยจะสามารถนำมาใช้เป็นประโยชน์ในการคัดเลือกลักษณะที่ดีของพืชชนิดนั้นได้ ข้อได้เปรียบของเครื่องหมายชนิดนี้ คือไม่จำเป็นต้องใช้วิธีการใดๆ มาตรวจสอบ เนื่องจากสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ส่วนข้อจำกัดของเครื่องหมายชนิดนี้ คือการแสดงออกของลักษณะทางสัณฐานวิทยาอาจจะมีอิทธิพลของการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้องหรือมีผลกระทบที่เกิดจากความอุดมสมบูรณ์หรือไม่อุดมสมบูรณ์ของธาตุอาหาร ดิน น้ำและปุ๋ย เป็นต้น

1.2 เครื่องหมายทางระดับชีวเคมี (biochemical marker) คือ เครื่องหมายที่สร้างขึ้นมาจากการศึกษาวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของสิ่งมีชีวิต เช่น การศึกษาเอนไซม์ต่างๆ และข้อได้เปรียบของเครื่องหมายชนิดนี้ คือ ทำได้ง่าย ราคาไม่แพง ส่วนข้อเสียเปรียบ คือมีความจำเพาะเจาะจงค่อนข้างต่ำ และถ้าหากการแสดงออกของเอนไซม์ได้รับผลกระทบหรือมีการเปลี่ยนแปลงอันเนื่องมาจากอิทธิพลของสภาพแวดล้อมที่ทำให้ยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์เกิดการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสเพียงเล็กน้อย ซึ่งจะส่งผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงชนิดของกรดอะมิโน และการเปลี่ยนแปลงนี้อาจจะส่งผลทำให้ไม่สามารถตรวจสอบผลได้

1.3 เครื่องหมายทางโมเลกุล (molecular marker) คือ เครื่องหมายที่ถูกสร้างขึ้นมาจากชิ้นส่วนของดีเอ็นเอ (DNA) ข้อได้เปรียบของเครื่องหมายโมเลกุล (molecular marker) คือมีจำนวนมากและพืชก็มีขนาดของจีโนมประมาณ 10^8-10^9 nucleotides หรือในพืชบางชนิดอาจจะพบว่าจีโนมมีการเกิดของ single nucleotide mutation ในทุกๆ 1 kb นอกจากนี้อิทธิพลของสิ่งแวดล้อมหรือการเปลี่ยนแปลงรูปแบบการเจริญเติบโตของพืชก็ไม่มีอิทธิพลต่อการแสดงออกของเครื่องหมายทางโมเลกุล (molecular marker) ได้ด้วยเช่นกัน ดังนั้นจึงทำให้เครื่องหมายชนิดนี้ถูก

นำมาใช้ประโยชน์ในงานทางด้านการศึกษาจีโนมของสิ่งมีชีวิตและงานทางด้านการเกษตรเพื่อที่จะนำมาใช้ในการจัดจำแนกแยกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิต หรือนำมาใช้ศึกษาหาความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตอีกด้วย (อรรัตน์, 2548) นอกจากนี้เครื่องหมายทางโมเลกุลยังมีด้วยกันอยู่ 2 ระดับ คือ ระดับโปรตีนและระดับดีเอ็นเอ

1.3.1 เครื่องหมายโปรตีน (protein marker) คือ การตรวจสอบสิ่งมีชีวิตโดยใช้ความแตกต่างของโมเลกุลโปรตีน ใช้วิธีการแยกโมเลกุลโปรตีนด้วยเทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิสแล้วจึงย้อมแถบของโปรตีนโดยใช้สารที่เหมาะสม เช่น การตรวจสอบโปรตีนในเลือด โปรตีนที่สะสมในเมล็ดพืชตรวจสอบในรูปแบบของเอนไซม์บางชนิดหรือไอโซไซม์ต่างๆ เป็นต้น ข้อดีของการตรวจสอบโปรตีน คือ สามารถตรวจสอบได้หลายตำแหน่ง ค่าใช้จ่ายไม่สูงมากนัก และแถบของโปรตีนหรือไอโซไซม์ยังมีการข่มร่วมกันแบบ codominance ซึ่งจะทำให้ช่วยแยกความแตกต่างระหว่างแถบโปรตีนแบบโฮโมไซกัส และเฮเทอโรไซกัสได้ ส่วนข้อจำกัดในการตรวจสอบโปรตีน คือ จำนวนยีนที่ตรวจสอบได้ยังมีไม่มากนัก ไม่กระจายครอบคลุมทั้งจีโนม และจำเป็นต้องมีการแสดงออกของยีนที่ใช้ศึกษา ระยะเวลาที่เหมาะสม ระยะการเจริญเติบโต และสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อชนิดของเนื้อเยื่อ นอกจากนี้โปรตีน และไอโซไซม์ยังมีการสูญเสียสภาพธรรมชาติได้ง่ายจึงจำเป็นจะต้องวิเคราะห์ผลในเวลาที่จำกัด ไม่สามารถเก็บตัวอย่างไว้ได้นาน

1.3.2 เครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker) คือ การตรวจสอบในระดับดีเอ็นเอมีข้อดีกว่าการตรวจสอบโปรตีน โดยโมเลกุลของดีเอ็นเอจะมีความเสถียรกว่าจึงสามารถเก็บไว้ได้นานหรือสามารถวิเคราะห์จากตัวอย่างที่ถูกเก็บไว้เป็นเวลายาวนานได้ เนื่องจากดีเอ็นเอเป็นองค์ประกอบที่มีอยู่ในเซลล์เกือบทุกเซลล์ในปริมาณที่เท่ากัน จึงสามารถตรวจสอบดีเอ็นเอจากเนื้อเยื่อใดๆ ก็ได้ โดยระยะการเจริญเติบโต หรือสภาพทางสรีรวิทยาไม่ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม ตรวจสอบดีเอ็นเอได้ครอบคลุมทั้งจีโนม และยังมีวิธีที่ใช้ในการตรวจสอบเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบต่างๆมากมาย ดังนั้นจึงทำให้เครื่องหมายชนิดนี้เป็นเครื่องหมายที่มีการใช้อย่างกว้างขวาง และยังสามารถประยุกต์ใช้กับงานในด้านต่างๆ ได้ไม่จำกัด

2. เทคนิคทางชีวโมเลกุล อาร์เอพีดี (RAPD technique)

อาร์เอพีดี (Randomly amplified polymorphic DNA หรือ RAPD) คือ วิธีการวิเคราะห์หรือตรวจหาลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิคพีซีอาร์ (PCR) อีกแบบหนึ่งโดยไม่จำเป็นต้องทราบข้อมูลเกี่ยวกับลำดับเบสของดีเอ็นเอเป้าหมาย เนื่องจากไพรเมอร์ที่ใช้ไม่จำเพาะเจาะจงกับดีเอ็นเอบริเวณใด (arbitrary primer) และไพรเมอร์ที่นำมาใช้เป็นไพร์เมอร์แบบสุ่ม มีขนาดความยาวของไพร์เมอร์ที่ใช้ คือ 10 นิวคลีโอไทด์ ซึ่งเป็นไพรเมอร์ที่มีขนาดสั้นเพียงชนิดเดียวที่นำมาใช้ในการเพิ่มปริมาณของดีเอ็นเอ จากนั้นนำไปแยกขนาดของดีเอ็นเอโดยการทำอิเล็กโทรโฟรีซิสในอะกาโรสเจล และย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยเอธิเดียมโบรไมด์

หลักการในการทำเทคนิคทางชีวโมเลกุล อาร์เอพีดี (RAPD technique) คือ จะใช้ไพรเมอร์สายสั้นๆ ขนาด 10 นิวคลีโอไทด์ โดยจะเข้าไปเกาะจับกับดีเอ็นเอเป้าหมายในบริเวณ หรือส่วนที่เป็นเบสคู่สมกันซึ่งไม่จำเป็นจะต้องทราบว่าไพรเมอร์ที่เข้าไปเกาะจับกับดีเอ็นเอนั้นอยู่ที่บริเวณส่วนใดของโครโมโซม และในส่วนของแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏขึ้นนั้นเกิดจากการที่ไพรเมอร์เข้าไปเกาะจับดีเอ็นเอหลายบริเวณจึงทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอปรากฏขึ้น ซึ่งจะมีขนาดของแถบดีเอ็นที่แตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับการจับคู่กันของไพรเมอร์และดีเอ็นเอ แต่ถ้าหากไพรเมอร์ไปเกาะจับกับดีเอ็นเอ 2 บริเวณที่อยู่ไม่ไกลกันมากนัก โดยเกาะจับกันกับดีเอ็นเอคนละสายในทิศทางที่สวนทางเข้าหากัน (5'→3') จะทำให้สามารถเพิ่มปริมาณของขนาดแถบดีเอ็นเอให้มีขนาดใหญ่ได้ ดังนั้นเทคนิคทางชีวโมเลกุลอาร์เอพีดี (RAPD technique) จึงถูกจัดเป็นเทคนิคที่สามารถทำได้ง่าย รวดเร็ว สะดวก และประหยัด แต่ก็มีข้อเสียที่ว่าหากมีการทำซ้ำในบางครั้งอาจจะไม่ได้ผลแบบเดิม เนื่องจาก RAPD มักจะมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงในสภาวะต่างๆ ซึ่งจำเป็นจะต้องระวังและควบคุมสภาพการทดลองให้คงที่ นอกจากนี้การแสดงออกของแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏขึ้นนั้นยังแสดงในรูปของการข่มแบบ dominance ต่อการที่ไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอซึ่งจะทำให้ไม่สามารถบ่งบอกความแตกต่างระหว่างโฮโมไซโกตและเฮเทอโรไซโกตได้ (สุรินทร์, 2552)

3. เทคนิคทางชีวโมเลกุลที่เกี่ยวกับการประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรม

3.1 เทคนิคพีซีอาร์ (polymerase chain reaction หรือ PCR) คือ ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส หรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่าเทคนิคพีซีอาร์ ซึ่งเทคนิคนี้คือการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายโดยการใช้เอนไซม์ดีเอ็นเอพอลิเมอเรส (DNA polymerase) และดีเอ็นเอสังเคราะห์ที่มีขนาดชิ้นสั้นๆ หรือที่เรียกว่าไพรเมอร์ (primer) (สุรินทร์, 2552) ส่วนปฏิกิริยาพีซีอาร์นั้นจะประกอบไปด้วยดีเอ็นเอต้นแบบ (DNA template) ที่ต้องการจะเพิ่มปริมาณเอนไซม์ดีเอ็นเอพอลิเมอเรส (DNA polymerase) ดีออกซีนิวคลีโอไทด์ไตรฟอสเฟต (deoxynucleotide triphosphates หรือ dNTPs) ได้แก่ dATP, dTTP, dCTP และ dGTP โดยนิวคลีโอไทด์ทั้ง 4 ชนิดจะถูกนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการนำมาสร้างสายดีเอ็นเอสายใหม่ (อารีย์รัตน์, 2560) ไพรเมอร์ (primer) และแมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2$) เพื่อจะช่วยให้การทำงานของเอนไซม์ดียิ่งขึ้น

หลักการในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์นั้นคือการเลียนแบบ semiconservative replication ภายในเซลล์ที่มีการใช้อุณหภูมิเพื่อควบคุมปฏิกิริยาให้เป็นไปตามขั้นตอนต่างๆ ดังนี้

3.1.1 Denaturing คือการทำให้ดีเอ็นเอต้นแบบแยกเป็นสายเดี่ยว โดยการใช้อุณหภูมิประมาณ 90-95 องศาเซลเซียส

3.1.2 Annealing จะใช้อุณหภูมิประมาณ 37-60 องศาเซลเซียส เพื่อทำให้ไพรเมอร์ (primer) เข้าจับกับดีเอ็นเอต้นแบบในตำแหน่งที่เป็นเบสคู่สมกัน (complementary sequence)

3.1.3 Extension จะใช้อุณหภูมิประมาณ 72 องศาเซลเซียส ซึ่งจัดเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมเพื่อให้เอมไซม์ Taq polymerase สามารถทำงานได้ดีที่สุดในการสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่โดยใช้ dNTPs ในปฏิกิริยาที่เป็น substrate (อารีย์รัตน์, 2560)

หากเมื่อปฏิกิริยาดำเนินไปจนครบทั้ง 3 ขั้นตอนนี้แล้วจะถือว่าเป็น 1 รอบของปฏิกิริยาในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยทั่วไปแล้วปฏิกิริยาพีซีอาร์จะดำเนินไปประมาณ 30-40 รอบ ซึ่งจะมีผลทำให้ดีเอ็นเอมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นประมาณ $2^{30\text{-}40}$ เท่า นอกจากนี้เทคนิคพีซีอาร์ (PCR) ยังถือว่าเป็นเทคนิคที่มีความสำคัญมากในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ต้องการ โดยจะอาศัยความจำเพาะเจาะจงของไพรเมอร์ (primer) ซึ่งจะมีชนิดของไพรเมอร์ด้วยกัน 3 ชนิดคือ 1. random primer 2. semi-specific primer และ 3. specific primer ในการทำงานของไพรเมอร์ คือจะเข้าจับกับดีเอ็นเอเป้าหมายซึ่งจะเกิดขึ้นบนดีเอ็นเอต้นแบบ (DNA template) ทั้ง 2 สาย โดยจะเริ่มสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่จากปลาย 3' ของไพรเมอร์แล้วเข้าจับกับปลาย 5' ของดีเอ็นเอ ส่วนการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์บางชนิดนั้นมักจะใช้ไพรเมอร์แบบชนิดเดียว (single primer) หรือบางชนิดก็ใช้ไพรเมอร์ที่เป็นไพรเมอร์แบบคู่ซึ่งจะออกแบบมาโดยเฉพาะในการจับกับดีเอ็นเอเป้าหมายเพื่อให้ตรงกับตำแหน่งที่ต้องการ

3.2 เทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิส (electrophoresis) เป็นเทคนิคที่นำมาใช้ในการแยกโมเลกุลของสารที่มีประจุออกจากกัน โดยการใช้กระแสไฟฟ้าทำให้สารที่มีประจุต่างกันเคลื่อนที่ไปในทิศทางที่ตรงกันข้ามกันซึ่งจะอาศัยบัฟเฟอร์ (buffer) เพื่อให้ดีเอ็นเอเคลื่อนที่ ส่วนชนิดของบัฟเฟอร์ที่นิยมใช้กันนั้นจะมีด้วยกัน 3 ชนิด ดังนี้ 1. TAE (Tris-acetate, EDTA) 2. TBE (Tris-borate, EDTA) และ 3. TPE (Tris-phosphate, EDTA) นอกจากนี้การเคลื่อนที่ของดีเอ็นเอยังต้องอาศัยแรงเคลื่อนไฟฟ้า (voltage) ในการเคลื่อนที่อีกด้วย ถ้าหากมีการเพิ่มแรงเคลื่อนไฟฟ้าดีเอ็นเอก็จะเคลื่อนที่ได้เร็วยิ่งขึ้น แต่ต้องใช้แรงเคลื่อนไฟฟ้าที่เหมาะสม หากใช้แรงเคลื่อนไฟฟ้าสูงจนเกินไปก็อาจจะทำให้ดีเอ็นเอเคลื่อนที่ได้เร็ว แต่การแยกตัวกันของดีเอ็นนั้นก็จะไม่ดี และถ้าหากใช้แรงเคลื่อนไฟฟ้าที่ต่ำจนเกินไปก็จะทำให้ดีเอ็นเอเคลื่อนตัวได้ช้า แยกตัวกันได้ดี แต่แถบดีเอ็นเอที่ได้ก็จะไม่มีความคมชัด เนื่องจากเกิดการแพร่ของดีเอ็นเอ (diffusion) (สุรินทร์, 2552) ส่วนการเคลื่อนที่ของดีเอ็นเอนั้นยังจำเป็นจะต้องขึ้นอยู่กับขนาด รูปร่างของโมเลกุล โดยดีเอ็นเอที่มีขนาดโมเลกุลเล็กจะเคลื่อนที่ได้เร็วกว่าดีเอ็นเอที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ และโมเลกุลของดีเอ็นเอจะเคลื่อนที่จากขั้วลบไปยังขั้วบวก (อรรัตน์, 2548)

3.3 การสกัดจีโนมิคดีเอ็นเอ (genomic DNA) คือ การศึกษาทางด้านโมเลกุลเครื่องหมาย โดยจะใช้พืชเป็นวัสดุพื้นฐานในการสกัดจีโนมิคดีเอ็นเอออกมาจากส่วนที่เป็นเซลล์พืช ปริมาณและคุณภาพของดีเอ็นเอนั้นขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการนำไปใช้โดยที่ผู้ศึกษาจำเป็นจะต้องทราบว่าปริมาณของดีเอ็นเอที่ต้องการในการนำไปทำปฏิกิริยาพีซีอาร์จะต้องมีปริมาณอย่างน้อย 20-50 นาโนกรัมต่อการทำปฏิกิริยา

การสกัดดีเอ็นเอจากพืชตัวอย่าง อาจมีอยู่หลากหลายวิธีที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของพืชนั้นๆ ว่ามีองค์ประกอบทางชีวเคมีเป็นอย่างไร โดยทั่วไปแล้ววิธีในการสกัดดีเอ็นเอมักจะประกอบไปด้วยขั้นตอนของการย่อยสลายเนื้อเยื่อพืช และทำให้เซลล์แตกเพื่อที่จะให้สารภายในเซลล์ออกมา เช่น โปรตีน อาร์เอ็นเอ โพลีแซคคาไรด์ หรือสารชนิดอื่นๆ ซึ่งในสารเหล่านั้นมักจะมีดีเอ็นเอปนอยู่ ดังนั้นวิธีในการสกัดดีเอ็นเอจึงมีความจำเป็นอย่างมากที่จะต้องกำจัดสารเหล่านี้ทิ้งไปเพื่อที่จะให้ได้ดีเอ็นเอที่มีความสะอาดและบริสุทธิ์ ส่วนตัวอย่างที่นำมาสกัดจีโนมิคดีเอ็นเอนั้นมักจะใช้ใบอ่อนของพืช เนื่องจากใบอ่อนของพืชยังคงมีเซลล์จำนวนมาก ถ้าหากนำไปเทียบกับใบพืชที่มีลักษณะใบแก่ในปริมาณที่เท่ากัน ส่วนใบอ่อนของพืชนั้นยังคงคาดว่ามีปริมาณของดีเอ็นเอมากและมักจะไม่ค่อยมีสารประกอบจำพวกฟีโนลิค ซึ่งถ้าหากมีสารประกอบจำพวกนี้อาจจะต้องเพิ่มขั้นตอนในการสกัดดีเอ็นเอเพื่อลดปริมาณของสารประกอบฟีโนลิค

การย่อยสลายเซลล์จะทำเพื่อให้เซลล์เกิดการปลดปล่อยสารประกอบภายในเซลล์ ซึ่งสารประกอบเหล่านั้นมักจะมีดีเอ็นเอรวมอยู่ด้วย เนื่องจากเซลล์พืชมีผนังเซลล์จึงจำเป็นจะต้องทำลายผนังเซลล์ก่อน โดยใช้การบดตัวอย่างใบพืชเพื่อสกัดดีเอ็นเอ หากต้องการได้ดีเอ็นเอที่มีคุณภาพดีควรใช้ตัวอย่างใบพืชสด หรือถ้าไม่สามารถสกัดได้จากใบพืชสดควรแช่แข็งตัวอย่างใบพืชด้วย liquid nitrogen เพื่อยับยั้งกระบวนการย่อยสลายของดีเอ็นเอออกจากเอนไซม์ ส่วนการบดตัวอย่างพืชนั้นมักจะใช้ liquid nitrogen ในการบด เนื่องจากบดได้ง่าย สะดวกและรวดเร็ว ส่วนการบดตัวอย่างใบพืชให้ละเอียดนั้นมักจะให้สารประเภท detergent เพื่อจะช่วยในการย่อยสลายไขมันภายในเมมเบรน และตัวอย่างของสารที่นิยมใช้ในการบดตัวอย่างพืช เช่น SDS (sodium dodecyl sulphate) หรือ CTAB (cetyltrimethyl ammonium bromide) ที่มี EDTA เป็นส่วนประกอบภายในสารนั้นๆ ซึ่ง EDTA จะมีส่วนช่วยในการยับยั้งการทำงานของ DNase

การกำจัดโปรตีนและอาร์เอ็นเอ เป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญขั้นตอนหนึ่ง เนื่องจากโปรตีนชนิดต่างๆ ที่มีอยู่ภายในเซลล์พืชนั้นอาจจะไปขัดขวางการทำงานของปฏิกิริยาเคมีในการสกัดดีเอ็นเอ และในส่วนของอาร์เอ็นเอ คือส่วนที่เราไม่ต้องการ จึงสามารถกำจัดได้โดยการใช้เอนไซม์ RNase เพื่อกำจัดอาร์เอ็นเอ และนอกจากนี้ยังมีสารละลายที่นำมาใช้ในการกำจัดโปรตีนซึ่งก็คือสารละลาย chloroform isoamylalcohol โดยสารละลายนี้จะทำให้เกิดการแยกชั้นของโปรตีนซึ่ง

ถ้าหากนำส่วนผสมของตัวอย่างพืชที่บดแล้วมาทำการปั่นเหวี่ยง (centrifuge) จะทำให้โปรตีนที่เกิดการเสียสภาพตกตะกอนอยู่บริเวณส่วนผสมของดีเอ็นเอชั้นกลาง (อรรัตน์, 2548)

การตกตะกอนดีเอ็นทำได้โดยการนำส่วนใสที่อยู่ชั้นบนสุด (supernatant) ที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงในขั้นตอนของ chloroform extraction นำมาเติมแอลกอฮอล์ (alcohol) ethanol หรือ isopropanol เพื่อที่จะทำให้ดีเอ็นเอเกิดการตกตะกอน นอกจากนี้อาจจะเติม Na^+ K^+ หรือ NH_4^+ เพื่อช่วยในการตกตะกอนของเกลือต่างๆ และเกลือเหล่านี้สามารถล้างได้ด้วยการใช้ 70% EtOH

การวัดปริมาณและการตรวจสอบคุณภาพของดีเอ็นเอ ทำได้โดยการใช้วิธี spectrophotometry และวิธี agarose gel electrophoresis

Spectrophotometry คือ การวัดคำนวณจากค่าความดูดกลืนแสงซึ่งจะวัดได้จากความยาวคลื่นแสง 2 ช่วง คือ 260 และ 280 นาโนเมตร โดยค่าความดูดกลืนแสงที่ A260 จะแสดงให้เห็นว่ามีปริมาณของดีเอ็นเอในทุก 1 หน่วยที่สามารถอ่านค่าได้เท่ากับปริมาณของดีเอ็นเอ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ A280 จะแสดงให้เห็นถึงปริมาณของโปรตีนที่มีการปนเปื้อนในตัวอย่างของดีเอ็นเอ และในส่วนของดีเอ็นเอที่สะอาดนั้นควรจะมีค่าความดูดกลืนแสงอยู่ที่ช่วงอัตราส่วน A260/A280 = 1.8-2.0 หรือคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารละลายดีเอ็นเอได้จากสูตร

ความเข้มข้นของดีเอ็นเอ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) = A260 × 50 × dilution factor

การตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสารสกัดดีเอ็นเอสามารถทำได้โดยการเทียบอัตราส่วนของค่า A260/A280 ดังนี้

A260/A280 > 2.0	หมายถึง สารสกัดดีเอ็นเอมีการปนเปื้อนของอาร์เอ็นเอ
A260/A280 = 1.8 – 2.0	หมายถึง สารสกัดดีเอ็นเอมีความบริสุทธิ์สูง
A260/A280 = 1.6 – 1.8	หมายถึง สารสกัดดีเอ็นเอมีความบริสุทธิ์
A260/A280 < 1.6	หมายถึง สารสกัดดีเอ็นเอมีการปนเปื้อนของโปรตีนหรือฟีนอล (แสงทอง, 2552)

Agarose gel electrophoresis คือ วิธีการที่ใช้วัดปริมาณดีเอ็นเอโดยสังเกตได้จากความเข้มแสงของแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏอยู่ภายใน agarose gel ที่ได้รับการผสมดีเอ็นเอด้วยสารละลาย ethidium bromide ซึ่งก็คือสารละลายที่จะปลดปล่อยพลังงานแสงออกมาถ้าหากได้รับการกระตุ้นด้วยแสงยูวี (UV) และจะสะท้อนปริมาณของโมเลกุลดีเอ็นเอ เนื่องจาก ethidium bromide จะเข้าไปแทรกจับกับกันดีเอ็นเอ และวิธีการนี้อาจจำเป็นจะต้องมีการเปรียบเทียบความเข้มแสงของดีเอ็นเอมาตรฐานอีกด้วย เพื่อที่จะใช้ในการเปรียบเทียบกับปริมาณของดีเอ็นเอที่สกัดได้

การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยวิธี UPGMA (Unweighted pair group method using arithmetic average)

การประเมินความสัมพันธ์หรือความคล้ายคลึงกันทางพันธุกรรมของสายพันธุ์พืช ซึ่งอาจจะประเมินได้จากการศึกษาแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (dendrogram) โดยแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมนี้จะสามารถบ่งบอกได้ถึงความสัมพันธ์ และความแตกต่างกันในระหว่างสายพันธุ์ ซึ่งสามารถดูได้จากค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงกันของสายพันธุ์ และข้อมูลที่ได้จะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการจัดลำดับความสัมพันธ์ของสายพันธุ์พืชได้ (Tsai *et al.,* 2013) นอกจากนี้การประเมินความสัมพันธ์ หรือวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต โดยการใช้แผนภาพคล้ายต้นไม้ (phylogenetic) (สุรินทร์, 2552) ซึ่งสามารถทำได้โดยการนำผลวิเคราะห์พีซีอาร์ (PCR) ที่ปรากฏในรูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เป็น polymorphic band มาทำการบันทึกข้อมูลในรูปแบบไบนารี (binary data) (วงศมน, 2550) โดยให้ค่า 0 แทนการไม่ปรากฏของแถบดีเอ็นเอ (absence) และให้ค่า 1 แทนการปรากฏของแถบดีเอ็นเอ (presence) จากนั้นนำค่าที่ได้ไปสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยการใช้โปรแกรม NTSYSpc version 2.10e โดยวิธี UPGMA (Jamshidi and Jamshidi, 2011) และใช้ค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงกันของ Jaccard (Jaccard's coefficient) เพื่อวิเคราะห์ข้อมูลและแสดงผลในรูปแบบ dendrogram (วงศมน, 2550)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

มะม่วง (Mango) เป็นหนึ่งในผลไม้ทางเลือกหรือผลไม้ที่ได้รับการนิยมเป็นอย่างมากในแถบภูมิภาคเขตร้อนหรือเขตกึ่งร้อนของโลก พบได้ในคาบสมุทรมลายู กลุ่มเกาะอินโดนีเซีย ประเทศไทย คาบสมุทรอินโดจีน และประเทศฟิลิปปินส์ การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและการประเมินลักษณะของสายพันธุ์มะม่วง เพื่อที่จะอนุรักษ์พันธุกรรมและการนำไปใช้ประโยชน์ในงานทางด้านการปรับปรุงพันธุ์ นอกจากนี้การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพันธุกรรมมะม่วงมีความสำคัญอย่างมากในการจัดจำแนกรูปแบบหรือยีนที่ต้องการ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อที่จะนำไปใช้เป็นเครื่องหมายทางลักษณะสัณฐานวิทยาและเครื่องหมายทางโมเลกุล แต่โดยทั่วไปแล้วเครื่องหมายทางสัณฐานวิทยามีความสำคัญ คือเครื่องหมายชนิดนี้สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าและการแสดงออกมักจะขึ้นอยู่กับสิ่งแวดล้อมตามธรรมชาติ ในทางตรงกันข้ามเครื่องหมายโมเลกุลจะถูกนำมาใช้เพื่อตรวจสอบในระดับโมเลกุล เพื่อให้เกิดความแม่นยำ และเหมาะสมร่วมกับการศึกษาลักษณะสัณฐาน ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาลักษณะของสายพันธุ์มะม่วง โดยการนำเครื่องหมายทางสัณฐานวิทยาและเครื่องหมายทางชีวโมเลกุลเข้ามาช่วยในการตรวจสอบและประเมินลักษณะของพันธุกรรมมะม่วง เช่น ลักษณะทรงต้น ลักษณะใบ ดอก ผล และลักษณะของเมล็ด ซึ่งจะถือว่าเป็นเรื่องที่มีความสำคัญและจำเป็นต่อการอนุรักษ์พันธุกรรมของมะม่วง จากผลการศึกษาลักษณะของใบ

มะม่วงเพื่อที่จะนำไปสู่การศึกษารูปแบบของลักษณะใบ พบว่า ลักษณะที่ถูกนำมาใช้เพื่อจัดจำแนกรูปแบบใบนั้น คือ ลักษณะความยาวใบ ความกว้างใบ ปลายใบ ฐานใบ ขอบใบ การมีหรือไม่มีขนใบ และสีของใบ เป็นต้น ซึ่งใบมะม่วงที่ได้ทำการศึกษามีความยาวใบอยู่ที่ 16-40 เซนติเมตร และความกว้างใบ คือ 5-15 เซนติเมตร แต่โดยทั่วไปแล้วลักษณะของใบมะม่วงในแต่ละสายพันธุ์จะขึ้นอยู่กับการแสดงออกของลักษณะทางฟีโนไทป์หรือความแปรปรวนที่เกิดขึ้นกับความยาวใบเนื่องมาจากการทำเกษตรกรรม (cultural practices) สภาพภูมิอากาศ ความแปรปรวนทางพันธุกรรม และระยะการเจริญเติบโตของใบมะม่วง ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้มีคัดเลือกเพื่อที่จะนำเอาเทคนิคทางชีวโมเลกุลเทคนิคอื่นๆ เข้ามาช่วยในการตรวจสอบเพิ่มเติม คือ เทคนิค RFLP, VNTRS, RAPD, SSR, ISSR และ AFLP เป็นต้น (Khan *et al.,* 2015) ขณะเดียวกัน Rymbai *et al.* (2014) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับความหลากหลายทางลักษณะสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของใบมะม่วง 8 สายพันธุ์ ที่มีสภาพภูมิอากาศแตกต่างกันในประเทศอินเดีย จากผลการศึกษา พบว่า มะม่วงพันธุ์ Alphonso มีค่าความยาวใบและอัตราส่วนใบมากที่สุดในขณะที่พันธุ์ Langra และ Fazli มีค่าน้อยที่สุด ส่วนความกว้างใบมะม่วงที่มีค่ามากที่สุดและน้อยที่สุด คือพันธุ์ Totapuri และ Dashehari ตามลำดับ และลักษณะสัณฐาน-วิทยาของใบมะม่วง 8 สายพันธุ์ ประกอบด้วย พันธุ์ Alphonso มีลักษณะของแผ่นใบแบบป้อมโคนใบ ปลายใบแบบเรียวแหลม ฐานใบแบบแหลม ขอบใบแบบขอบใบเรียบ พันธุ์ Borsha ลักษณะรูปร่างใบแบบป้อมกลางใบ ปลายใบแบบเรียวแหลม ฐานใบแบบแหลม และขอบใบแบบคลื่น พันธุ์ Himsagar มีลักษณะของแผ่นใบแบบขอบขนาน ปลายใบแบบเรียวแหลม ฐานใบแบบแหลม และขอบใบแบบคลื่น พันธุ์ Fazli มีรูปร่างของแผ่นใบแบบป้อมกลางใบ ปลายใบแบบแหลม ฐานใบแบบแหลม ขอบใบแบบขอบใบเรียบส่วนพันธุ์ Langra และ Dasheri มีลักษณะของแผ่นใบแบบป้อมกลางใบ ปลายใบแบบเรียวแหลม ฐานใบแบบมนและแบบแหลม ขอบใบแบบเรียบและแบบคลื่น ตามลำดับ พันธุ์ Totapuri และพันธุ์ Neelum มีลักษณะของแผ่นใบแบบป้อมกลางใบ ปลายใบแบบเรียวแหลม ฐานใบแบบมนในพันธุ์ Totapuri และฐานใบแบบแหลมในมะม่วงพันธุ์ Neelum ส่วนลักษณะของขอบใบเป็นแบบขอบใบเรียบ จากความแตกต่างที่เกิดขึ้นนั้นได้มีการศึกษาก่อนหน้านี้แล้วว่าความแปรปรวนมากมายที่เกิดขึ้นของลักษณะใบเนื่องมาจากความหลากหลายทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วงจึงทำให้เกิดความแตกต่าง และนอกจากนี้ Kheshin *et al.* (2016) ได้ศึกษาการวิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวโมเลกุลของความหลากหลายทางพันธุกรรมในสายพันธุ์มะม่วงระหว่างจีโนไทป์พันธุ์ Sukkary และการศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อที่จะทำการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยา การประเมินความแตกต่างทางพันธุกรรมและความสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์มะม่วงจำนวน 5 accessions โดยจะทำการบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับรูปร่างผล น้ำหนักผล ความกว้างผล ความยาวผล ความแน่นเนื้อผล และสีผิวผล พบว่าจากผลการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสายพันธุ์มะม่วง 5 accessions จำนวน

27 ลักษณะสัณฐานวิทยา แต่มีเพียง 6 ลักษณะสัณฐานวิทยาที่มีลักษณะคล้ายคลึงกัน ดังนี้ ลักษณะของรูปทรงผลแบบผลกลม (roundish fruit shape) ลักษณะของปลายใบแบบมน (obtuse) สีผิวผลสีเหลือง (yellow) ลักษณะของผิวเปลือกผลแบบเรียบ (smooth) มีการเกิดไคลที่บริเวณผิวเปลือกผล (waxy) และมีลักษณะของเนื้อผลในช่วงสุกแบบเนื้อนิ่ม (soft) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Krishnapillai and Wijeratnam (2016) ที่ได้ทำการศึกษาวิเคราะห์ทางสัณฐานวิทยาของสายพันธุ์มะม่วงในประเทศศรีลังกา โดยได้ทำการศึกษากับสายพันธุ์มะม่วงจำนวน 18 สายพันธุ์ 54 accessions และทำการประเมินตรวจสอบคุณภาพผล ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสายพันธุ์จำนวน 46 ลักษณะที่ได้จากการอธิบายของ IPBGR จากนั้นทำการตรวจวัดมะม่วงจำนวน 54 accessions ในระหว่างปี 2009 และปี 2012 ซึ่งรูปแบบการตรวจสอบทางสัณฐานวิทยาของสายพันธุ์มะม่วง คือ การตรวจสอบในเชิงปริมาณและคุณภาพ ได้แก่ ลักษณะใบ ลักษณะช่อดอก และลักษณะผล ในการตรวจสอบก็ยังพบว่าระหว่างสายพันธุ์มะม่วงมีความแตกต่างกันสูง สังเกตได้จากลักษณะที่เกี่ยวกับข้อมูลในเชิงคุณภาพ เช่น สีของใบอ่อน รูปร่างใบ ช่อดอก สีของก้านดอก ชนิดของดอก รูปร่างของสีผล และรสชาติ เป็นต้น ส่วนการเก็บรวบรวมข้อมูลในเชิงปริมาณ คือ การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (PCA) และการวิเคราะห์การจัดกลุ่มตามลำดับขั้น (HCA) นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นๆ ที่นำมาใช้เป็นส่วนประกอบในการเก็บข้อมูลในเชิงปริมาณซึ่งก็คือ ความยาวผล ความกว้าง ความหนา น้ำหนักผล เมล็ด และความยาวใบ พบว่า มะม่วงจำนวน 18 สายพันธุ์ ส่วนใหญ่มีรูปแบบของรูปร่างใบแบบป้อมโคนใบ ปลายใบแบบเรียวแหลม ขอบใบแบบขอบใบเรียบ และเมื่อใบแก่จะมีสีของใบเป็นสีเขียวเข้มหรือคิดเป็น 80 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนใบแก่ทั้งหมด ส่วนลักษณะของผลมะม่วงจะมีลักษณะของสีผิวผลในระยะสุกแก่แบบสีเหลือง แต่ในขณะที่พันธุ์มะม่วงจำนวน 10 accessions จะมีลักษณะของสีผิวผลแบบสีชมพูหรือมีสีแดงผสม นอกจากนี้ทำการประเมินค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วงในประเทศอินเดีย โดยการใช้เครื่องหมาย RAPD พบว่า การตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วงจำนวน 29 สายพันธุ์ ซึ่งประกอบด้วยพันธุ์พื้นเมืองและพันธุ์ก้าวหน้า (advanced cultivar) โดยการใช้เครื่องหมาย RAPD จำนวน 24 ไพรเมอร์ เกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 314 แถบ คิดเป็นร้อยละ 91.4 ของการเกิดแถบดีเอ็นเอแบบ polymorphic และมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน (Jaccard's similarity) ของสายพันธุ์อยู่ในช่วง 0.318 และ 0.75 ค่าเฉลี่ย 0.565 และวิเคราะห์ผลข้อมูลด้วยโปรแกรม UPGMA แสดงให้เห็นว่าส่วนใหญ่แล้วสายพันธุ์ของมะม่วงมาจากพื้นที่เขตภาคเหนือและภาคตะวันออกของประเทศอินเดีย ดังนั้นจากผลการศึกษาจึงทำให้ทราบว่ามะม่วงมีความหลากหลายทางพันธุกรรมในแต่ละพื้นที่ ซึ่งสังเกตได้จากการวิเคราะห์ความแตกต่างทางชีวโมเลกุลที่แสดงให้เห็นว่าร้อยละ 94.7 ของความหลากหลายทางสายพันธุ์มะม่วงเกิดจากบริเวณพื้นที่ต่างกัน (Karihaloo *et al.,* 2003) ขณะที่ Rajwana *et al.* (2008) ได้ทำการศึกษาและประเมินความหลากหลาย

ทางพันธุกรรมระหว่างจีโนไทป์ของมะม่วง โดยการใช้เครื่องหมายโมเลกุล RAPD เข้ามาศึกษาหาความรู้เกี่ยวกับขอบเขตความหลากหลายทางพันธุกรรมในเชื้อพันธุ์มะม่วง พบว่า ความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างสายพันธุ์มะม่วงจำนวน 25 สายพันธุ์ โดยทำการตรวจสอบกับไพรเมอร์แบบสุ่มจำนวน 60 ไพรเมอร์ จาก 45 amplicons ทั้งหมดในจีโนไทป์มีค่าความคล้ายคลึงกันทางพันธุกรรมของสายพันธุ์อยู่ในช่วงร้อยละ 64-89 ค่าเฉลี่ยร้อยละ 74 นอกจากนี้ยังพบอีกว่ามะม่วงพันธุ์ Chaunsa มีค่าความคล้ายคลึงกันหรือความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมอยู่ในช่วงร้อยละ 81.18-88.63 ดังนั้นจึงทำให้สามารถจัดกลุ่มมะม่วงได้ 3 กลุ่ม คือ A, B และ C โดยมะม่วงที่จัดอยู่ในกลุ่ม A มีถิ่นกำเนิดมาจากประเทศปากีสถาน ในขณะที่กลุ่ม B ส่วนใหญ่มาจากทางตอนใต้ของอินเดีย เช่น พันธุ์ Florida แต่พันธุ์ Kensington Pride กลับมีความสัมพันธ์ที่ห่างออกไปจากกลุ่ม ส่วนกลุ่ม C ประกอบด้วยมะม่วงสายพันธุ์ Maya และ Yakta ซึ่งสอดคล้องกับการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วงในประเทศบราซิลโดยใช้เทคนิค RAPD เข้ามาช่วยในการประเมินความแตกต่างของสายพันธุ์มะม่วงจำนวน 35 accessions ที่มีการปลูกในประเทศบราซิล 6 accessions จากสหรัฐอเมริกา และ 1 accession จากประเทศอินเดีย พบว่า จากจำนวนไพรเมอร์ RAPD 23 ไพรเมอร์ มีเพียง 6 ไพรเมอร์ ที่ปรากฏความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอแบบ polymorphic ซึ่งก็คือไพรเมอร์ A01, A09, G03, G10, N05 และ M16 จำนวน 55 แถบดีเอ็นเอ คิดเป็นค่าเฉลี่ย 9.16±3.31 แถบดีเอ็นเอต่อไพรเมอร์ หรือร้อยละ 100 ของการเกิดแถบดีเอ็นเอแบบ polymorphic และจัดกลุ่มมะม่วงได้ 5 กลุ่ม โดยลักษณะจีโนไนป์ของมะม่วงพันธุ์ Rosa 41 Rosa 48 และ Rosa 49 มีค่าความคล้ายคลึงกันเท่ากับร้อยละ 94 ในขณะที่จีโนไทป์ของมะม่วงพันธุ์ Sensation และ Rosa 18 มีค่าความแตกต่างกันมากที่สุดเท่ากับร้อยละ 7 ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำให้ทราบว่ากลุ่มพันธุ์ของมะม่วงเกิดจากความแตกต่างในแต่ละพื้นที่และความแปรปรวนที่เกิดจากความหลากหลายทางพันธุกรรมส่งผลต่อการแสดงออกทางลักษณะของฟีโนไทป์ (Souza *et al.,* 2011)

บทที่ 3
วัสดุอุปกรณ์และวิธีการวิจัย

สถานที่ทำการทดลอง

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและความหลากหลายทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วง โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลอาร์เอพีดี (RAPD) ทำการศึกษาสายพันธุ์มะม่วง จากแปลงรวบรวมพันธุ์ สาขาไม้ผล (บ้านโปง) มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ ห้องปฏิบัติการไม้ผล สาขาวิชาไม้ผล ห้องปฏิบัติการสรีรวิทยา สาขาวิชาพืชสวน ห้องปฏิบัติการทางชีวโมเลกุล อาคารพืชศาสตร์และเทคโนโลยี คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ โดยเริ่มทำงานวิจัยเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2561 ถึงเดือนเมษายน พ.ศ. 2563

ภาพที่ 14 แปลงรวบรวมพันธุ์มะม่วง สาขาไม้ผล (บ้านโปง)

สายพันธุ์มะม่วง

สายพันธุ์มะม่วงที่นำมาใช้ในการศึกษามีจำนวนทั้งหมด 20 สายพันธุ์ ได้แก่

1. Carabao
2. ตับเป็ด
3. ทองดำ
4. เขียวเสวย
5. แดงจักรพรรดิ (โซน 1)
6. แดงจักรพรรดิ (โซน 2)
7. แก้ว
8. มันหอม
9. Irwin
10. อกร่องเขียว

11. สามฤดูมัน
12. สามฤดู
13. สามปี
14. แรด
15. มหาชนก
16. แขนอ่อน
17. น้ำดอกไม้สีทอง
18. ตลับนาค
19. โชคอนันต์
20. แก้มแดง

วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

วัสดุพืชพันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา

ใบมะม่วงที่ทำการศึกษาจำนวน 20 สายพันธุ์ โดยจะแบ่งออกเป็น 2 การทดลอง ดังนี้ การทดลองที่ 1 การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาใช้ใบแก่ ซึ่งมีลักษณะของใบที่สมบูรณ์ ไม่มีโรคแมลงทำลาย และการทดลองที่ 2 การตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วง โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลอาร์เอพีดี (RAPD) ใช้ใบอ่อนของมะม่วง ได้แก่ ใบที่อยู่ในฉัตรที่ 1 หรือ 2 นับจากปลายยอด (Kit and Chandran, 2010) ส่วนผลมะม่วงจะเก็บในระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยา (physiological maturity) (จริงแท้, 2546) จากนั้นนำผลมะม่วงที่เก็บได้มาบ่ม 3-7 วัน เพื่อให้ผลมะม่วงสุก

วิธีการดำเนินงานวิจัย

การศึกษาค้นคว้าดำเนินงานวิจัยแบ่งออกเป็น 2 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 1 การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของสายพันธุ์มะม่วง

โดยเก็บข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาของใบและผลมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ CRD (completely randomized desige; CRD) จำนวน 20 สิ่งทดลองๆ ละ 3 ซ้ำ

วิธีการดำเนินงาน

เก็บข้อมูลทางลักษณะสัณฐานวิทยาของใบ และผล มะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์

ลักษณะใบมะม่วง ทำการตรวจสอบลักษณะประจำพันธุ์ของใบมะม่วง โดยจะทำการเก็บข้อมูลในลักษณะต่างๆ ดังนี้ ลักษณะรูปร่างของใบ ปลายใบ ฐานใบ และลักษณะขอบใบ โดยอ้างอิงข้อมูลมาจากหนังสือฐานข้อมูลเชื้อพันธุ์พืชมะม่วงของกรมวิชาการเกษตร (สำนักคุ้มครองพันธุ์พืชแห่งชาติ, 2547) ส่วนวิธีการเก็บตัวอย่างใบมะม่วงจะทำการเก็บจำนวน 3 ใบต่อสายพันธุ์ ในฉัตรที่ 1 หรือ 2 นับจากปลายยอด

ลักษณะผลมะม่วง เก็บผลมะม่วงในระยะสุกแก่ตามสรีรวิทยา (physiological maturity) จำนวน 3 ผลต่อจำนวนซ้ำ รวมเป็น 60 ผล และนำผลมะม่วงที่เก็บได้มาบ่ม 3-7 วัน เพื่อให้ผลมะม่วงสุก จากนั้นทำการเก็บข้อมูลลักษณะต่างๆ ดังนี้ น้ำหนักผล ทำการเก็บข้อมูลโดยใช้เครื่องชั่งดิจิตอล ทศนิยม 2 รุ่น ML204 ยี่ห้อ Mettler-Toledo (หน่วยเป็นกรัม) ความกว้างผล ความยาวผล ความหนาผล เก็บข้อมูลโดยใช้เวอร์เนียคาลิปเปอร์ (vernier caliper) รุ่น 1108-300 ยี่ห้อ INSIZE ขนาด 300 มิลลิเมตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร) ในส่วนของสีผล จะทำการเก็บข้อมูลในช่วงการสุกแก่ของผลมะม่วง โดยใช้เครื่องวัดสีแบบดิจิตอล (digital colorimeter) รุ่น CR-10 ยี่ห้อ Konica minolta (digital colorimeter ค่าที่วัดได้ L,* a,* b*) ความแน่นเนื้อผล (firmness) ทำการเก็บข้อมูลโดยใช้เครื่องวัดความแน่นเนื้อแบบดิจิตอล (fruit handness tester) รุ่น FR-510 ยี่ห้อ Lutron ขนาดหัวที่ใช้ในการวัด 6 มิลลิเมตร (หน่วยเป็น kg./cm²) ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (total soluble solid; TSS) จะทำการอ่านค่าด้วยเครื่อง digital refractometer รุ่น PAL-1 ยี่ห้อ Atago (หน่วยเป็นองศาบริกซ์) ปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ (TA) ทำการไตเตรทด้วยสารละลาย 0.25N Sodium hydroxide (NaOH) (หน่วยเป็นมิลลิลิตร) แล้วทำการอ่านค่าผลด้วยเครื่องวัด pH รุ่น FE20-I ยี่ห้อ Mettler-Toledo ที่มีค่าจุดยุติ (end point) เท่ากับ pH 8.0-8.2 (ศักยะ และคณะ, 2555) และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ต่อปริมาณกรด (TSS/TA)

จากนั้นบันทึกผลข้อมูลทั้งหมดโดยนำมาวิเคราะห์หาข้อมูลค่าความแตกต่างทางสถิติ (ANOVA) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป The SAS System for Windows; SAS รุ่น 9.0 เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT หรือ DUNCAN)

การทดลองที่ 2 การตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วงโดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลอาร์เอพีดี (RAPD)

โดยการศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วง จำนวน 20 สายพันธุ์

วิธีการดำเนินงาน

เก็บตัวอย่างใบมะม่วงซึ่งเป็นใบที่อยู่ในฉัตรที่ 1 หรือ 2 นับจากปลายยอด จำนวน 20 สายพันธุ์ๆ ละ 3 ซ้ำ รวมทั้งหมด 60 ตัวอย่าง โดยเก็บไว้ที่ตู้แช่เย็นอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการสกัดดีเอ็นเอ

การสกัดดีเอ็นเอจากใบมะม่วง โดยใช้วิธี CTAB ดัดแปลงจากวิธีของ Doyle and Doyle (1987) ดังนี้

1. นำตัวอย่างใบพืช 0.2 กรัมต่อตัวอย่าง ใส่ในโกร่ง จากนั้นเติมสารละลาย mCTAB ที่มี 1 เปอร์เซ็นต์ (v/v) 2-mercaptoethanal ปริมาตร 500 ไมโครลิตร แล้วบดใบพืชให้ละเอียด

2. เติมสารละลาย mCTAB ซึ่งมี 1 เปอร์เซ็นต์ (v/v) 2-mercaptoethanal ปริมาตร 500 ไมโครลิตร แล้วเทใส่หลอด 1.5 microcentrifuge tube หรือปรับปริมาตรตามความเหมาะสมของปริมาณใบที่บดได้แล้วผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องเขย่าสาร (vortex mixer) รุ่น G560E ยี่ห้อ Scientific Industries

3. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ด้วยอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) รุ่น WAIB ยี่ห้อ Memmert เป็นเวลาอย่างน้อย 1 ชั่วโมง โดยกลับหลอดไปมาให้เข้ากันทุกๆ 10 นาที

4. เติมสารละลาย chloroform : iso-amyl alcohol (อัตราส่วน 24:1) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร แล้วทำการกลับหลอดไปมาเพียงเล็กน้อยให้เข้ากัน

5. ปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยใช้เครื่องปั่นเหวี่ยงปรับอุณหภูมิ (centrifuge) รุ่น TGL-16 ยี่ห้อ Cence ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที

6. ย้ายส่วนใสใส่หลอดใหม่ โดยห้ามเอาตะกอนมาจากนั้นเติมเอนไซม์ Rnase A ปริมาตร 2 ไมโครลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ด้วยอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ เป็นเวลาอย่างน้อย 1 ชั่วโมง

7. เติมสารละลาย phenol : chloroform : iso-amyl alcohol (อัตราส่วน 25:24:1) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร แล้วทำการกลับหลอดไปมาเพียงเล็กน้อยให้เข้ากัน

8. ปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นย้ายส่วนใสใส่หลอดใหม่

9. เติม iso-propanol (หรือ absolute alcohol) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร หรือ 1 เท่าของปริมาตรส่วนใส และเติม 1.4M NaCl 100 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ด้วยตู้แช่เย็น รุ่น SCF-0465 ยี่ห้อ Sandenintercool เป็นเวลาอย่างน้อย 1 ชั่วโมง หรือ over night

10. ปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที เพื่อตกตะกอนดีเอ็นเอ

11. เทส่วนใสทิ้งแล้วเติมเอทานอลเย็น ความเข้มข้น 75 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เพื่อล้างตะกอนดีเอ็นเอโดยล้างตะกอน จำนวน 2 ครั้ง แล้วปั่นเหวี่ยงที่ ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ระวังอย่าให้ตะกอนดีเอ็นเอหลุด

12. ตากตะกอนดีเอ็นเอให้แห้ง แล้วละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย TE buffer ปริมาตร 50 ไมโครลิตร วางไว้ที่อุณหภูมิห้องจนกว่าดีเอ็นเอจะละลายหมดเพื่อเก็บรักษาดีเอ็นเอ

การตรวจสอบคุณภาพและการตรวจวัดปริมาณดีเอ็นเอ

โดยวิธีเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส (gel electrophoresis) รุ่น Wide mini-sub cell GT ยี่ห้อ BIO-RAD

การตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอโดยการวิเคราะห์ด้วยอะกาโรสเจล 1 เปอร์เซ็นต์ ที่มีส่วนผสมของเอธิเดียมโบรไมด์ 2 ไมโครลิตรต่อปริมาตรบัฟเฟอร์ 50 มิลลิลิตร โดยใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำเจลที่ได้ไปถ่ายภาพภายใต้แสงยูวี (UV) ด้วยเครื่องถ่ายภาพเจล (gel transilluminator) รุ่น Gene flash SYGF/1893 ยี่ห้อ SYNGENE

โดยวิธีการตรวจวัดปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) รุ่น MN-913 ยี่ห้อ Maestrogen

การตรวจวัดปริมาณดีเอ็นเอโดยวิเคราะห์ด้วยเครื่อง maestronano spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร (A260/A280) แล้วทำการบันทึกผลที่ได้เพื่อที่จะนำไปใช้ในการหาปริมาณดีเอ็นเอที่เหมาะต่อการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ (PCR)

การเจือจางสารละลายดีเอ็นเอ

การเจือจางความเข้มข้นดีเอ็นเอหรือการปรับปริมาตรความเข้มข้นของตัวอย่างดีเอ็น เพื่อให้ได้ความเข้มข้นในปริมาณที่น้อยลงในการทำปฏิกิริยาการเพิ่มสารพันธุกรรมหรือเทคนิคพีซีอาร์ (PCR) ซึ่งในขั้นตอนนี้จะใช้ตัวอย่างดีเอ็นเอที่มีความเข้มข้น 20 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร โดยการเจือจางด้วยสารละลาย TE buffer

การเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม โดยใช้เทคนิคพีซีอาร์ (PCR)

การคัดเลือกไพรเมอร์อาร์เอพีดี (RAPD)

การนำตัวอย่างดีเอ็นเอที่สกัดได้มาทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม โดยการใช้ไพรเมอร์อาร์เอพีดี ซึ่งไพร์เมอร์ที่ถูกนำมาใช้ในการหาความแตกต่างทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วงมีจำนวนทั้งหมด 20 ไพรเมอร์ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ไพรเมอร์อาร์เอพีดี (RAPD) และลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการทดลอง

ลำดับที่	ชื่อไพรเมอร์	ลำดับนิวคลีโอไทด์ (5'→3')	แหล่งที่มาของไพร์เมอร์
1	OPAC-4	ACGGGACCTG	(Diaz *et al.,* 2009)
2	OPAC-7	GTGGCCGATG	(Diaz *et al.,* 2009)
3	OPAG-6	GGTGGCCAAG	(Diaz *et al.,* 2009)
4	OPAM-4	GAGGGACCTC	(Diaz *et al.,* 2009)
5	OPA-19	CAAACGTCGG	(Bajpai *et al.,* 2008)
6	OPA-20	GTTGCGATCC	(Bajpai *et al.,* 2008)
7	OPB-05	TGCGCCCTTC	(Rajwana *et al.,* 2008)
8	OPB-13	TTCCCCCGCT	(Rajwana *et al.,* 2008)
9	OPC-06	GGGGGTCTTT	(Bajpai *et al.,* 2008)
10	OPF-03	CCTGATCACC	(Rajwana *et al.,* 2008)
11	OPF-12	ACGGTACCAG	(Rajwana *et al.,* 2008)
12	OPG-01	CTACGGAGGA	(Rajwana *et al.,* 2008)
13	OPG-07	GAACCTGCGG	(Rajwana *et al.,* 2008)
14	OPG-10	AGGGCCGTCT	(de Souza and Lima, 2002)
15	OPL-04	GACTGCACAC	(de Souza and Lima, 2002)
16	OPL-07	AGGCGGGAAC	(de Souza and Lima, 2002)
17	OPL-16	AGGTTGCAGG	(de Souza and Lima, 2002)
18	OPM-01	GTTGGTGGCT	(de Souza and Lima, 2002)
18	OPM-15	GACCTACCAC	(de Souza and Lima, 2002)
20	OPM-16	GTAACCAGCC	(Souza *et al.,* 2011)

การเตรียมปฏิกิริยา PCR (polymerase chain reaction)

การเตรียมตัวอย่างดีเอ็นเอความเข้มข้น 5 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร ในมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ๆละ 3 ซ้ำ รวมเป็นตัวอย่างดีเอ็นเอทั้งหมดจำนวน 60 ตัวอย่าง ลงในหลอด 1.5 microcentrifuge จากนั้นทำการ bulk ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ได้ใส่ลงในหลอด 1.5 microcentrifuge หลอดใหม่ซึ่งจะได้ตัวอย่างดีเอ็นเอในแต่ละสายพันธุ์ จำนวน 20 ตัวอย่างรวม ส่วนการเตรียมบัฟเฟอร์ที่จะใช้ในปฏิกิริยาพีซีอาร์ (PCR) ในงานทดลองนี้จะใช้บัฟเฟอร์สำเร็จรูป 2X My Taq HS Red Mix ดังตารางที่ 2 และการเตรียมไพรเมอร์ที่จะใช้ คือไพรเมอร์อาร์เอพีดีสำเร็จรูปจากบริษัทกิบไทย จำกัด

ที่มีความเข้มข้น 100 ไมโครโมลต่อไมโครลิตร โดยปรับปริมาตรความเข้มข้นเป็น 5 ไมโครโมลต่อไมโครลิตร เป็นปริมาตร 100 ไมโครลิตร

ตารางที่ 2 การเตรียมปฏิกิริยาพีซีอาร์ (polymerase chain reaction) 1 ปฏิกิริยาพีซีอาร์

ส่วนประกอบของปฏิกิริยา	ความเข้มข้นในปฏิกิริยา	ปริมาตรต่อปฏิกิริยา (ไมโครลิตร)
DNA templet (5 ng/µl.)	20 ng	4
บัฟเฟอร์สำเร็จรูป 2X My Taq HS Red Mix	1X	10
RAPD primer (5 µM/µl.)	5 µM	1
R/O (น้ำกลั่น)	-	5
Total	-	20

ที่มา : จันทร์เพ็ญ, 2557

จากนั้นนำไปใส่ในเครื่อง PCR thermal cycle รุ่น Biometra tone 96G ยี่ห้อ Biometra Tone โดยมีขั้นตอนในการทำปฏิกิริยา ดังนี้

Initial denaturation	94 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา 4 นาที	
Denaturation	94 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา 1 นาที	ทำซ้ำ 44 รอบ
Annealing	37 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา 1 นาที	
Extension	72 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา 1.5 นาที	
Final extension	72 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา 5 นาที	

เวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ (PCR) 3.5 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำผลพีซีอาร์ (PCR) ที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วย 1 เปอร์เซ็นต์อะกาโรสเจล โดยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสที่มีส่วนผสมของเอธิเดียมโบรไมด์ 2 ไมโครลิตรต่อปริมาตรของ TBE buffer 50 มิลลิลิตร ภายใต้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 40 นาที จากนั้นนำไปถ่ายรูปเจลภายใต้แสงยูวีด้วยเครื่องถ่ายภาพเจล (gel transilluminator)

การวิเคราะห์ข้อมูลผลปฏิกิริยาพีซีอาร์ (PCR)

การวิเคราะห์ข้อมูลผลปฏิกิริยาพีซีอาร์ (PCR) โดยการให้คะแนนของแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏรูปแบบเป็น polymorphic band มาทำการบันทึกข้อมูลในรูปแบบไบนารี (binary data) คือ การให้คะแนนแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏเป็น 1 และให้คะแนนแถบดีเอ็นเอที่ไม่ปรากฏเป็น 0 จากนั้น

นำผลข้อมูลคะแนนที่ได้ไปคำนวณหาสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงกันทางพันธุกรรมของ Jaccard (Jaccard's coefficient) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป NTSYSpc version 2.10e โดยวิธี UPGMA เพื่อแสดงผลในรูปแบบ dendrogram

บทที่ 4
ผลการวิจัยและวิจารณ์

การทดลองที่ 1 ผลการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของสายพันธุ์มะม่วง

ลักษณะสัณฐานวิทยาของใบและผลมะม่วง

การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาทางด้านใบและผลมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ โดยศึกษาลักษณะรูปร่างใบ ปลายใบ ฐานใบ ขอบใบ และลักษณะผล สามารถจัดจำแนกกลุ่มสายพันธุ์มะม่วงได้ 6 กลุ่มสายพันธุ์ (ตารางที่ 3) ซึ่งแต่ละกลุ่มสายพันธุ์จะมีลักษณะของใบและผลแตกต่างกันออกไปตามแต่ละสายพันธุ์ ดังนี้ 1) กลุ่มแก้ว ได้แก่ แก้ว และมันหอม มีลักษณะรูปร่างใบแบบป้อมโคนใบ (lanceolate) ปลายใบแบบเรียวแหลม (acuminate) ฐานใบแบบฐานใบแหลม (acute) ขอบใบแบบขอบใบคลื่น (undulate) และลักษณะผลเป็นแบบรูปไข่กลับ (obovate) 2) กลุ่มเขียวเสวย ได้แก่ ทองดำ มีลักษณะรูปร่างใบแบบป้อมโคนใบ (lanceolate) ปลายใบแบบสอบเรียบ (attenuate) ฐานใบแบบฐานใบแหลม (acute) ขอบใบแบบขอบใบคลื่น (undulate) ลักษณะผลแบบขอบขนาน (oblong) และเขียวเสวย มีลักษณะรูปร่างใบแบบขอบขนาน (oblong) ปลายใบแบบสอบเรียบ (attenuate) ฐานใบแบบสอบเรียว (attenuate) ขอบใบแบบขอบใบเรียบ (entire) และลักษณะผลแบบขอบขนาน (oblong) 3) กลุ่มน้ำดอกไม้ ได้แก่ น้ำดอกไม้สีทอง มีลักษณะรูปร่างใบแบบป้อมกลางใบ (elliptical) ปลายใบแบบเรียวแหลม (acuminate) ฐานใบแบบฐานใบแหลม (acute) ขอบใบแบบขอบใบคลื่น (undulate) และลักษณะผลแบบทรงรี (elliptical) 4) กลุ่มหนังกลางวัน ได้แก่ เออร์วิน มีลักษณะของรูปร่างใบแบบยาวเรียว (linear-oblong) ปลายใบแบบสอบเรียว (attenuate) ฐานใบแบบฐานใบมน (obtuse) ขอบใบแบบขอบใบเรียบ (entire) ส่วนลักษณะผลแบบทรงกระบอก (cylindrical) มหาชนก มีลักษณะรูปร่างใบแบบยาวเรียว (linear-oblong) ปลายใบแบบสอบเรียว (attenuate) ฐานใบแบบฐานใบแหลม (acute) ขอบใบคลื่น (undulate) และลักษณะผลแบบทรงกระบอก (cylindrical) สำหรับแขนอ่อน มีลักษณะรูปร่างใบแบบป้อมโคนใบ (lanceolate) ปลายใบแบบสอบเรียว (attenuate) ฐานใบแบบฐานใบแหลม (acute) ขอบใบแบบขอบใบเรียบ (entire) และลักษณะผลแบบทรงกระบอก (cylindrical) 5) กลุ่มอกร่อง ได้แก่ แดงจักรพรรดิ (โซน 1) แดงจักรพรรดิ (โซน 2) สามฤดู มีลักษณะรูปร่างใบแบบป้อมกลางใบ (elliptical) ปลายใบแบบเรียวแหลม (acuminate) ฐานใบแบบฐานใบแหลม (acute) ขอบใบแบบขอบใบเรียบ (entire) และลักษณะผลแบบรูปไข่กลับ (obovate) สามปี แรด โชคอนันต์ แก้มแดง มีลักษณะรูปร่างใบแบบป้อมโคนใบ (lanceolate) ปลายใบแบบเรียวแหลม (acuminate) ฐานใบแบบฐานใบแหลม (acute) ขอบใบแบบขอบใบคลื่น (undulate) แต่พันธุ์โชคอนันต์ มีลักษณะของ

ขอบใบแบบขอบใบเรียบ (entire) ส่วนลักษณะผลในพันธุ์สามปีและแรด มีลักษณะผลแบบทรงรี (elliptical) โชคอนันต์และแก้มแดง มีลักษณะผลแบบรูปไข่กลับ (obovate) คาราบาว มีลักษณะรูปร่างใบแบบป้อมกลางใบ (elliptical) ปลายใบแบบแหลม (acute) ฐานใบแบบฐานใบแหลม (acute) ขอบใบแบบขอบใบเรียบ (entire) และลักษณะผลแบบขอบขนาน (oblong) ตับเป็ด มีลักษณะรูปร่างใบแบบป้อมกลางใบ (elliptical) ปลายใบแบบเรียวแหลม (acuminate) ฐานใบแบบฐานใบแหลม (acute) ขอบใบแบบขอบใบคลื่น (undulate) และลักษณะผลแบบรูปไข่กลับ (obovate) อกร่องเขียว มีลักษณะรูปร่างใบแบบป้อมโคนใบ (lanceolate) ปลายใบแบบแหลม (acute) ฐานใบแบบฐานใบแหลม (acute) ขอบใบแบบขอบใบเรียบ (entire) และลักษณะผลแบบรูปไข่กลับ (obovate) และสามฤดูมัน มีลักษณะรูปร่างใบแบบป้อมกลางใบ (elliptical) ปลายใบแบบเรียวแหลม (acuminate) ฐานใบแบบฐานใบแหลม (acute) ขอบใบแบบขอบใบเรียบ (entire) ลักษณะผลแบบทรงรี (elliptical) 6) กลุ่มผลกลม ได้แก่ ตลับนาค มีลักษณะรูปร่างใบแบบป้อมกลางใบ (elliptical) ปลายใบแบบสอบเรียว (attenuate) ฐานใบแบบฐานใบแหลม (acute) ขอบใบแบบขอบใบเรียบ (entire) ลักษณะผลแบบทรงกลม (roundish) และจากผลการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของสายพันธุ์มะม่วงทั้ง 20 พันธุ์ ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ อุบลวรรณ (2561) ที่ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับความหลากหลายทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วง โดยใช้เทคนิคเครื่องหมาย เอส เอส อาร์ และจากการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาทางด้านใบและผลมะม่วง พบว่าสอดคล้องกับการจัดจำแนกตามลักษณะใบและผลของสำนักคุ้มครองพันธุ์พืชแห่งชาติ (2547) โดยนำเอาลักษณะสัณฐานวิทยา (morphological) เข้ามาช่วยในการศึกษาเกี่ยวกับลักษณะประจำพันธุ์และการจัดจำแนกกลุ่มสายพันธุ์ของมะม่วง ตามลักษณะทรงพุ่มต้น ลักษณะใบ ลักษณะผล และลักษณะพิเศษอื่นๆ ซึ่งพบว่า มีความคล้ายคลึงกับงานวิจัยของ Khan (2015) ซึ่งได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับลักษณะรูปทรงแผ่นใบ ปลายใบ ฐานใบ ลักษณะรูปทรงช่อดอก และลักษณะรูปร่างของผลมะม่วง เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีรายงานที่ได้ทำการศึกษาตรวจสอบลักษณะแบบดั้งเดิมของสายพันธุ์มะม่วงโดยใช้วิธีในการตรวจสอบลักษณะทางชีพลักษณ์ (phenological) และลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphological) เช่น ลักษณะดอก ใบ ผล และเมล็ด เป็นต้น Shamili *et al.* (2012); Dillon *et al.* (2013) ในการจัดจำแนกสายพันธุ์ตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพื่อนำมาช่วยในการแยกความแตกต่างของสายพันธุ์มะม่วงจึงถือเป็นการจัดจำแนกตามขั้นพื้นฐาน โดยการสังเกตได้จากลักษณะภายนอกที่มีความแตกต่างกันและยังสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า (อรรัตน์, 2548) แต่สำหรับบางลักษณะที่อาจจะเกิดจากการผันแปรตามสภาพแวดล้อมหรืออาจจะเกิดจากการทำงานของยีนหลายคู่ที่ควบคุมลักษณะนั้นๆ จึงทำให้เห็นว่าการสังเกตด้วยตาเปล่านี้อาจจะไม่สามารถตรวจสอบได้อย่างแม่นยำและอาจจะเกิดความคลาดเคลื่อนขึ้นได้ (เฉลิมศรี, 2549) แต่อย่างไรก็ตามการตรวจสอบโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาก็ยังคงถือว่าเป็นวิธีที่เหมาะสม และยังคงถูกนำมาใช้

ในการจัดจำแนกสายพันธุ์ โดยการใช้รูปแบบทางลักษณะฟีโนไทป์ที่เฉพาะของสายพันธุ์ แต่วิธีการตรวจสอบนี้ก็ยังคงถือว่าเป็นรูปแบบที่ไม่มีความแม่นยำ เนื่องจากสภาพแวดล้อมเข้ามามีผลกระทบต่อการจัดจำแนกสายพันธุ์ ลักษณะทางฟีโนไทป์ และข้อจำกัดในเรื่องของจำนวนรูปแบบที่แสดงถึงความแตกต่างกันของแต่ละสายพันธุ์ (Yamanaka *et al.,* 2006; Shamili *et al.,* 2012; Luo *et al.,* 2010; Dillon *et al.,* 2013)

ตารางที่ 3 การเปรียบเทียบลักษณะสัณฐานวิทยาของใบและผลมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์

กลุ่มสายพันธุ์	ลักษณะใบ				ลักษณะผล
	รูปร่างใบ	ปลายใบ	ฐานใบ	ขอบใบ	รูปร่างผล
1. กลุ่มแก้ว					
1.1 แก้ว	ป้อมโคนใบ	เรียวแหลม	แหลม	คลื่น	รูปไข่กลับ
1.2 มันหอม	ป้อมโคนใบ	เรียวแหลม	แหลม	คลื่น	รูปไข่กลับ
2. กลุ่มเขียวเสวย					
2.1 ทองดำ	ป้อมโคนใบ	สอบเรียว	แหลม	คลื่น	ขอบขนาน
2.2 เขียวเสวย	ขอบขนาน	สอบเรียว	สอบเรียว	เรียบ	ขอบขนาน
3. กลุ่มน้ำดอกไม้					
3.1 น้ำดอกไม้สีทอง	ป้อมกลางใบ	เรียวแหลม	แหลม	คลื่น	ทรงรี
4. กลุ่มหนังกลางวัน					
4.1 แขนอ่อน	ป้อมโคนใบ	สอบเรียว	แหลม	เรียบ	ทรงกระบอก
4.2 เออร์วิน	ยาวเรียว	สอบเรียว	มน	เรียบ	ทรงกระบอก
4.3 มหาชนก	ยาวเรียว	สอบเรียว	แหลม	คลื่น	ทรงกระบอก
5. กลุ่มอกร่อง					
5.1 ตับเป็ด	ป้อมกลางใบ	เรียวแหลม	แหลม	คลื่น	รูปไข่กลับ
5.2 แดงจักรพรรดิ (โซน 1)	ป้อมกลางใบ	เรียวแหลม	แหลม	เรียบ	รูปไข่กลับ
5.3 แดงจักรพรรดิ (โซน 2)	ป้อมกลางใบ	เรียวแหลม	แหลม	เรียบ	รูปไข่กลับ
5.4 สามฤดูมัน	ป้อมกลางใบ	เรียวแหลม	แหลม	เรียบ	ทรงรี
5.5 สามฤดู	ป้อมกลางใบ	เรียวแหลม	แหลม	เรียบ	รูปไข่กลับ
5.6 คาราบาว	ป้อมกลางใบ	แหลม	แหลม	เรียบ	ขอบขนาน
5.7 อกร่องเขียว	ป้อมโคนใบ	แหลม	แหลม	เรียบ	รูปไข่กลับ

ตารางที่ 3 การเปรียบเทียบลักษณะสัณฐานวิทยาของใบและผลมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ (ต่อ)

กลุ่มสายพันธุ์	ลักษณะใบ				ลักษณะผล
	รูปร่างใบ	ปลายใบ	ฐานใบ	ขอบใบ	รูปร่างผล
5. กลุ่มอกร่อง (ต่อ)					
5.8 โชคอนันต์	ป้อมโคนใบ	เรียวแหลม	แหลม	เรียบ	รูปไข่กลับ
5.9 สามปี	ป้อมโคนใบ	เรียวแหลม	แหลม	คลื่น	ทรงรี
5.10 แรด	ป้อมโคนใบ	เรียวแหลม	แหลม	คลื่น	ทรงรี
5.11 แก้มแดง	ป้อมโคนใบ	เรียวแหลม	แหลม	คลื่น	รูปไข่กลับ
6. กลุ่มผลกลม					
6.1 ตลับนาค	ป้อมกลางใบ	สอบเรียว	แหลม	เรียบ	ทรงกลม

คุณภาพผลมะม่วง

ด้านคุณภาพผล พบว่า มะม่วงในกลุ่มเขียวเสวยและกลุ่มอกร่องให้ผลทางด้านคุณภาพผลที่ดี (ตารางที่ 4) ได้แก่ มะม่วงในกลุ่มเขียวเสวย พันธุ์เขียวเสวย จะให้ผลในด้านปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ต่อปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ (TSS/TA) มากที่สุดคือ 151.54 และที่ให้ค่าน้อยที่สุดคือพันธุ์แดงจักรพรรดิ (โซน 1) เท่ากับ 19.43 ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนมะม่วงในกลุ่มอกร่อง พันธุ์สามฤดูมัน ให้น้ำหนักผล (fruit weight) และความยาวผล (fruit length) มากที่สุดคือ 858.74 กรัม และ 200.67 มิลลิเมตร ส่วนพันธุ์แก้มแดง ให้น้ำหนักผลและความยาวผลน้อยที่สุดเท่ากับ 139.55 กรัม และ 78.00 มิลลิเมตร มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ และพันธุ์อกร่องเขียว มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) มากที่สุดคือ 21.40 องศาบริกซ์ และมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิ (โซน 1) ให้ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้น้อยที่สุดเท่ากับ 10.86 องศาบริกซ์ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ เช่นเดียวกันกับงานวิจัยของ Abdelsalam *et al.* (2018) ที่ได้บ่งชี้ว่ามะม่วงทั้ง 28 สายพันธุ์ มีความแตกต่างกันของลักษณะทางคุณภาพผลที่ศึกษาได้จากลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่น ความยาวผล น้ำหนักผล เป็นต้น

ตารางที่ 4 ลักษณะคุณภาพผลของมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์

กลุ่มสายพันธุ์	น้ำหนักผล (กรัม)	ความกว้างผล (มม.)	ความยาวผล (มม.)	ความหนาผล (มม.)	ความแน่นเนื้อผล (กก./ซม^2)	ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (องศาบริกซ์)	ปริมาณกรดที่ไตไตรทได้ (มล.)	TSS/TA
1. กลุ่มแก้ว								
1.1 แก้ว	348.26^{efg}	79.03^{defg}	118.12^{ef}	71.47^{def}	0.75^{ab}	15.73^{efgh}	0.43^{bcdefg}	86.13^{cd}
1.2 มันหอม	464.37^{cde}	84.62^{cde}	138.77^{cd}	75.31^{cde}	0.44^{cdef}	15.96^{efgh}	0.17^{fg}	104.63^{bc}
2. กลุ่มเขียวเสวย								
2.1 ทองดำ	555.79^{c}	86.31^{cd}	145.76^{cd}	80.89^{bc}	0.43^{cdef}	19.90^{abc}	0.39^{cdefg}	50.98^{def}
2.2 เขียวเสวย	296.97^{fgh}	67.75^{ijkl}	141.07^{cd}	62.14^{gh}	0.61^{abcde}	17.10^{defg}	0.14^{g}	151.54^{a}
3. กลุ่มน้ำดอกไม้								
3.1 น้ำดอกไม้สีทอง	371.08^{ef}	75.01^{fghi}	147.88^{c}	68.26^{efg}	0.54^{abcdef}	14.65^{gh}	0.50^{bcdef}	36.68^{ef}
F-test	*	*	*	*	*	*	*	*
CV (%)	20.12	5.54	6.97	5.61	31.88	8.53	43.07	30.50

หมายเหตุ * มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ค่าเฉลี่ยในแต่ละคอลัมน์ที่ใช้ตัวอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติตามการเปรียบเทียบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 4 ลักษณะคุณภาพผลของมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ (ต่อ)

กลุ่มสายพันธุ์	น้ำหนักผล (กรัม)	ความกว้างผล (มม.)	ความยาวผล (มม.)	ความหนาผล (มม.)	ความแน่นเนื้อผล (กก./ซม^2)	ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (องศาบริกซ์)	ปริมาณกรดที่ไตไตรทได้ (มล.)	TSS/TA
4. กลุ่มหนังกลางวัน								
4.1 แขนอ่อน	505.41^{cde}	82.74^{cdef}	179.45^{b}	67.16^{fg}	0.37^{def}	14.08^{h}	0.23^{efg}	74.69^{cde}
4.2 เออร์วิน	367.27^{ef}	72.96^{ghij}	137.80^{cd}	67.65^{fg}	0.36^{def}	17.57^{cdef}	0.20^{efg}	104.85^{bc}
4.3 มหาชนก	539.37^{cd}	77.87^{efgh}	179.63^{b}	69.41^{defg}	0.49^{bcdef}	15.20^{fgh}	0.75^{b}	21.04^{f}
5. กลุ่มอกร่อง								
5.1 ตับเป็ด	295.81^{fgh}	76.72^{efgh}	101.70^{fg}	70.52^{def}	0.33^{ef}	20.31^{ab}	0.18^{fg}	137.84^{ab}
5.2 แดงจักรพรรดิ (โซน 1)	702.14^{b}	95.93^{ab}	167.94^{b}	86.23^{ab}	0.64^{abcd}	10.86^{i}	0.62^{bc}	19.43^{f}
5.3 แดงจักรพรรดิ (โซน 2)	798.15^{ab}	98.53^{a}	163.64^{b}	91.91^{a}	0.83^{a}	18.29^{bcde}	0.33^{cdefg}	59.90^{de}
5.4 สามฤดูมัน	858.74^{a}	96.86^{a}	200.67^{a}	85.07^{ab}	0.41^{cdef}	16.30^{efgh}	0.54^{bcde}	69.97^{cde}
5.5 สามฤดู	204.96^{gh}	66.92^{jkl}	92.87^{gh}	62.65^{gh}	0.39^{def}	18.01^{bcde}	0.39^{cdefg}	48.93^{def}
F-test	*	*	*	*	*	*	*	*
CV (%)	20.12	5.54	6.97	5.61	31.88	8.53	43.07	30.50

หมายเหตุ * มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ค่าเฉลี่ยในแต่ละคอลัมน์ที่ใช้ตัวอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติตามการเปรียบเทียบ Duncan’s New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 4 ลักษณะคุณภาพผลของมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ (ต่อ)

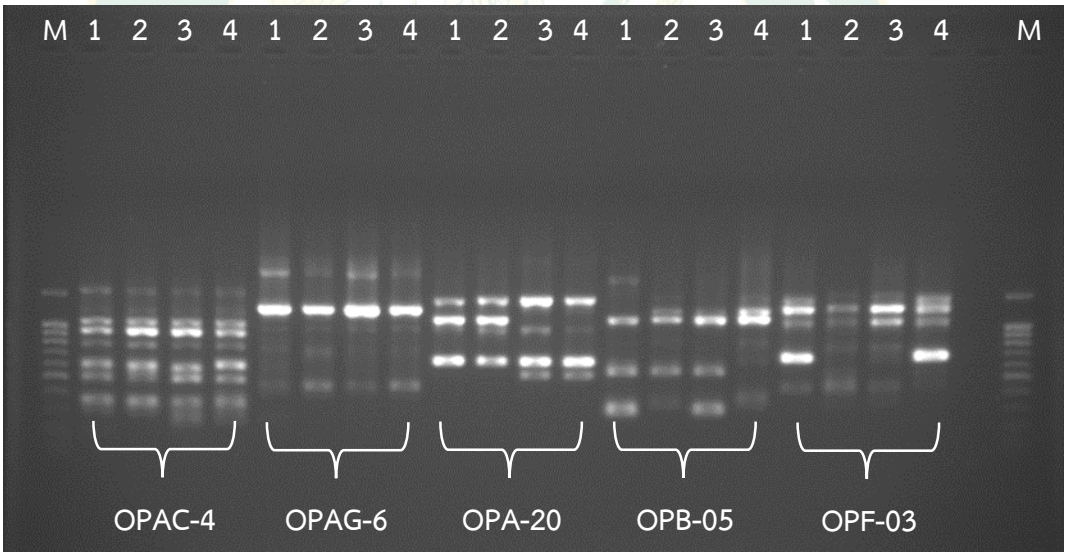
กลุ่มสายพันธุ์	น้ำหนักผล (กรัม)	ความกว้างผล (มม.)	ความยาวผล (มม.)	ความหนาผล (มม.)	ความแน่นเนื้อผล (กก./ซม^2)	ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (องศาบริกซ์)	ปริมาณกรดที่ไตไตรทได้ (มล.)	TSS/TA
5.6 คาราบาว	246.90^{fgh}	64.14^{kl}	114.31^{ef}	59.22^{hi}	0.26^{f}	20.05^{abc}	059^{bcd}	39.47^{ef}
5.7 อกร่องเขียว	298.04^{fgh}	69.87^{hijk}	113.77^{ef}	65.17^{fgh}	0.34^{def}	21.40^{a}	0.30^{cdefg}	73.52^{cde}
5.8 โชคอนันต์	494.69^{cde}	88.44^{bc}	135.37^{cd}	75.78^{cd}	0.71^{abc}	19.01^{abcd}	0.36^{cdefg}	60.62^{de}
5.9 สามปี	188.22^{gh}	61.69^{l}	101.21^{fg}	54.38^{i}	0.51^{bcdef}	15.03^{fgh}	1.15^{a}	19.62^{f}
5.10 แรด	386.71^{def}	81.14^{cdef}	129.25^{de}	71.60^{def}	0.45^{cdef}	16.37^{defgh}	0.38^{cdefg}	47.44^{ef}
5.11 แก้มแดง	139.55^{h}	60.56^{l}	78.00^{h}	54.35^{i}	0.57^{abcdef}	15.68^{efgh}	0.42^{bcdefg}	37.60^{ef}
6. กลุ่มผลกลม								
6.1 ตลับนาค	382.84^{def}	94.88^{ab}	101.73^{fg}	76.30^{cd}	0.36^{def}	13.61^{h}	0.24^{defg}	62.14^{de}
F-test	*	*	*	*	*	*	*	*
CV (%)	20.12	5.54	6.97	5.61	31.88	8.53	43.07	30.50

หมายเหตุ * มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ค่าเฉลี่ยในแต่ละคอลัมน์ที่ใช้ตัวอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติตามการเปรียบเทียบ Duncan’s New Multiple Range Test (DMRT)

การทดลองที่ 2 ผลการศึกษาการตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วงโดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลอาร์เอพีดี (RAPD)

การคัดเลือกไพรเมอร์จากเทคนิคโมเลกุลเครื่องหมายชนิดอาร์เอพีดี (RAPD)

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ โดยการใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลเครื่องหมายชนิดอาร์เอพีดี (RAPD) จำนวน 20 ไพรเมอร์ จากนั้นนำมาวิเคราะห์ผลด้วย 1 เปอร์เซ็นต์ agarose gel electrophoresis ภายใต้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 40 นาที พบว่า มีไพรเมอร์จำนวน 14 ไพรเมอร์ ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นได้ และให้แถบดีเอ็นเอที่ชัดเจน คิดเป็น 70 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนไพรเมอร์ทั้งหมด เช่น ไพรเมอร์ OPA-20, OPB-05 และไพรเมอร์ OPF-03 ส่วนไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้แต่แถบดีเอ็นเอที่ได้ไม่มีความแตกต่างกัน ซึ่งคิดเป็น 30 เปอร์เซ็นต์ หรือจำนวน 6 ไพรเมอร์ เช่น ไพรเมอร์ OPAC-4 และไพรเมอร์ OPAG-6 ดังตัวอย่างภาพที่ 15



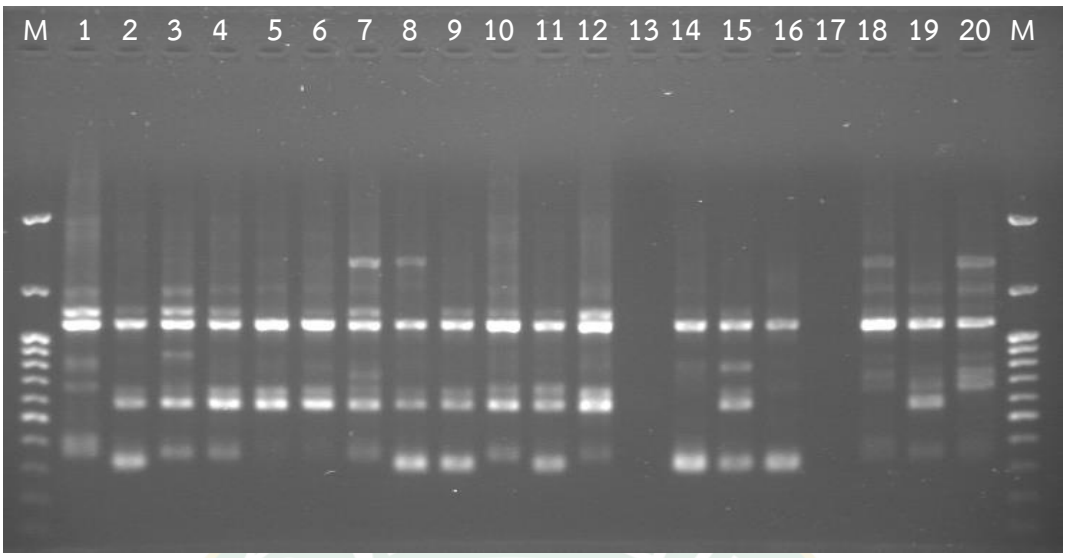
ภาพที่ 15 การคัดเลือกไพรเมอร์จากเทคนิคทางชีวโมเลกุลเครื่องหมายชนิดอาร์เอพีดี (RAPD) ของมะม่วงต่างชนิด จำนวน 4 สายพันธุ์ กับไพรเมอร์ จำนวน 5 ไพรเมอร์

หมายเหตุ M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp+1.5 Kb+3 Kb DNA Ladder, 1 = มันหอม 2 = ทองดำ 3 = เออร์วิน 4 = คาราบาว

จากผลการศึกษาการตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ พบว่า มีไพรเมอร์จำนวน 14 ไพรเมอร์ ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้และทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 98 แถบ โดยเป็นแถบดีเอ็นเอที่แสดงความแตกต่างแบบ polymorphic bands จำนวน 87 แถบ คิดเป็น 88.78 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด (ตารางที่ 5 และภาพที่ 16) และคิดเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดแถบดีเอ็นเอแบบ polymorphic bands สูงสุดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 9 ไพรเมอร์ ส่วนเปอร์เซ็นต์การเกิดแถบดีเอ็นเอแบบ polymorphic bands ต่ำสุดเท่ากับ 40 เปอร์เซ็นต์ หรือจำนวน 1 ไพรเมอร์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยอื่นๆ ในการประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วง โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลอาร์เอพีดี (RAPD) ซึ่ง Rajwana *et al.* (2008) ได้รายงานว่า การประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างจีโนไทป์ของมะม่วงโดยการวิเคราะห์ผลแบบอาร์เอพีดี (RAPD) และทำการคัดเลือกไพรเมอร์อาร์เอพีดี (RAPD) จากจำนวนทั้งหมด 60 ไพรเมอร์ พบว่ามีจำนวน 45 ไพรเมอร์ ที่เกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 320 แถบ และมีปริมาณแถบดีเอ็นเอที่แสดงความแตกต่างแบบ polymorphic ทั้งหมด 257 แถบ ทำให้สามารถจัดจำแนกความแตกต่างของสายพันธุ์มะม่วงทั้งหมด 25 สายพันธุ์ ได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ คือ กลุ่ม A ซึ่งมีจำนวน 12 สายพันธุ์ กลุ่ม B จำนวน 8 สายพันธุ์ และกลุ่ม C จำนวน 3 สายพันธุ์ คือ Yakta, Maya และพันธุ์ Kensington แต่มีเพียงมะม่วงจำนวน 2 สายพันธุ์ที่ไม่ถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มใด คือพันธุ์ Taimooria และ Zardalu

ตารางที่ 5 จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมดและเปอร์เซ็นต์แถบที่แสดงความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอในแต่ละไพรเมอร์

ไพรเมอร์	จำนวนของแถบดีเอ็นเอทั้งหมด	polymorphic (เปอร์เซ็นต์)	ไพรเมอร์	จำนวนของแถบดีเอ็นเอทั้งหมด	Polymorphic (เปอร์เซ็นต์)
OPAM-4	8	75.00	OPF-12	6	100.00
OPA-19	5	100.00	OPG-07	5	80.00
OPA-20	5	80.00	OPG-10	8	100.00
OPB-05	9	100.00	OPL-04	7	100.00
OPB-13	9	100.00	OPL-07	9	66.67
OPC-06	7	100.00	OPM-15	8	100.00
OPF-03	7	100.00	OPM-16	5	40.00
จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมดที่แสดงความแตกต่างเท่ากับ 87 แถบ					



ภาพที่ 16 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล เครื่องหมายชนิดอาร์เอพีดี (RAPD) กับไพรเมอร์ OPB-05

หมายเหตุ M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp+1.5 Kb+3 Kb DNA Ladder 1) คาราบาว 2) ตับเป็ด 3) ทองดำ 4) เขียวเสวย 5) แดงจักรพรรดิ (โซน 1) 6) แดงจักรพรรดิ (โซน 2) 7) แก้ว 8) มันหอม 9) เออร์วิน 10) อกร่องเขียว 11) สามฤดูมัน 12) สามฤดู 13) สามปี 14) แรด 15) มหาชนก 16) แขนอ่อน 17) น้ำดอกไม้สีทอง 18) ตลับนาค 19) โชคอนันต์ 20) แก้มแดง

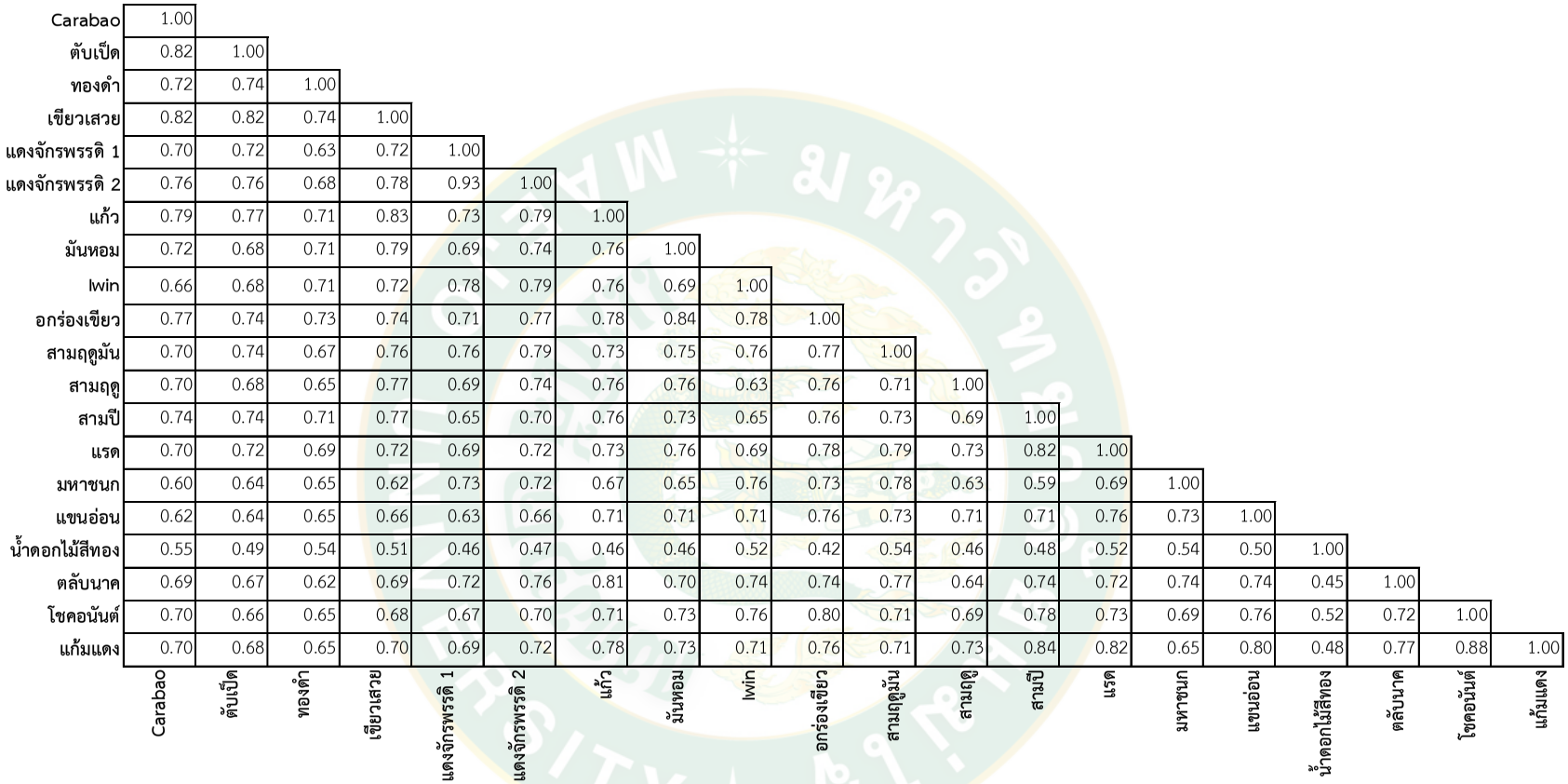
การหาค่าดัชนีความคล้ายคลึงกันทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วง

การหาค่าดัชนีความคล้ายคลึงกันทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ จาก 14 ไพรเมอร์ และจำนวนของแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏ 98 ตำแหน่ง นำมาวิเคราะห์หาค่าดัชนีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป NTSYSpc version 2.10e และใช้ข้อมูลที่คำนวณได้จากค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงกันทางพันธุกรรมของ Jaccard (Jaccard's coefficient) ในการนำมาวิเคราะห์ผลข้อมูล โดยการเลือกวิธีการจัดกลุ่มแบบ UPGMA แสดงผลของข้อมูลแบบแผนภาพคล้ายต้นไม้ (phylogenetic) (สุรินทร์, 2552) หรือรูปแบบ dendrogram (Souza *et al.,* 2011) จากการคำนวณค่าดัชนีความคล้ายคลึงกันทางพันธุกรรม (similarity index) พบว่า สายพันธุ์มะม่วงทั้ง 20 สายพันธุ์ มีค่าดัชนีความคล้ายคลึงกันทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.42 ถึง 0.93 (ค่าที่เข้าใกล้ 1 มากที่สุด คือค่าที่แสดงถึงความคล้ายคลึงกันทางพันธุกรรมมาก) (ดังแสดงภาพที่ 17)

จากผลการศึกษาการตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วง โดยการใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลอาร์เอพีดี (RAPD) และอ่านค่าผลการทดลองจากการจัดกลุ่มแบบ

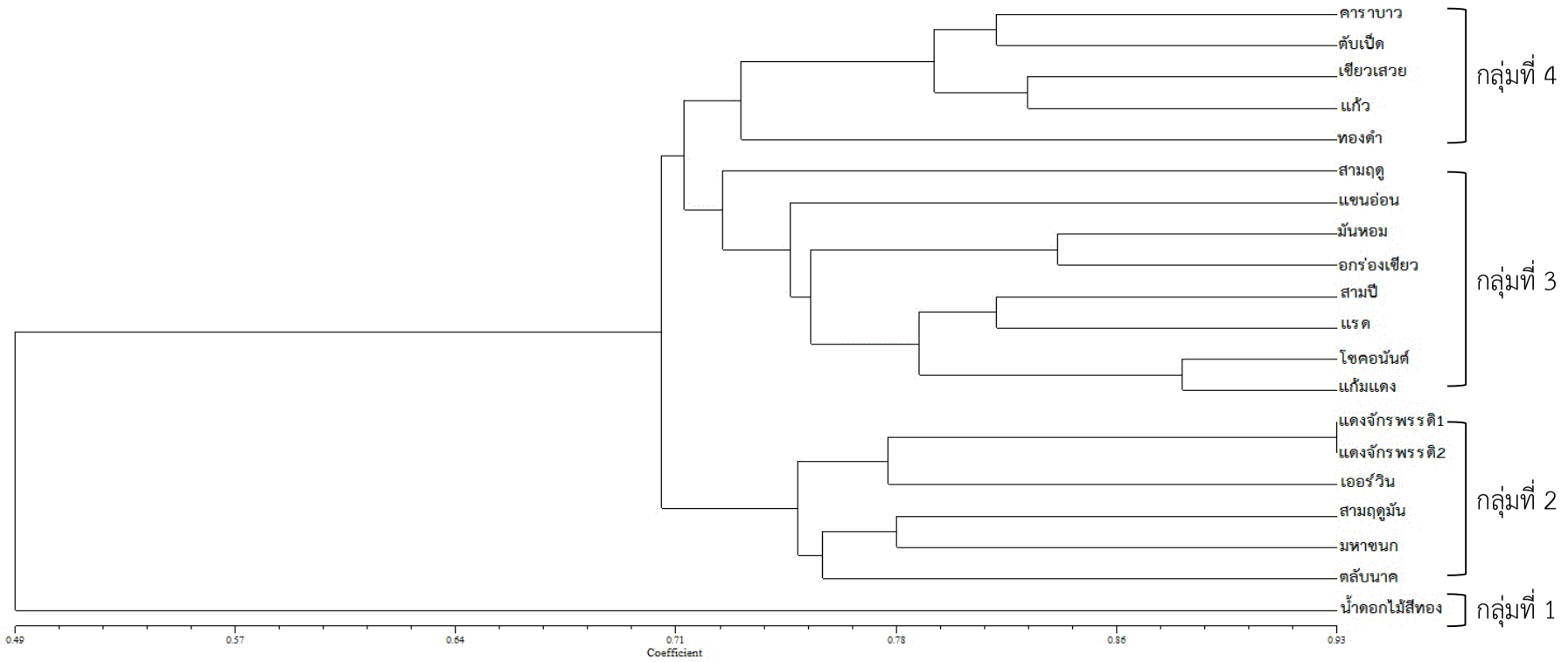
UPGMA (Unweighted pair group method using arithmetic average) ที่แสดงผลของข้อมูลในรูปแบบ dendrogram ทำให้สามารถจัดจำแนกกลุ่มสายพันธุ์ของมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ ได้เป็น 4 กลุ่ม (ภาพที่ 18) ดังนี้ กลุ่มที่ 1 คือ พันธุ์น้ำดอกไม้สีทอง กลุ่มที่ 2 ได้แก่ พันธุ์ตลับนาค มหาชนก สามฤดูมัน เออร์วิน แดงจักรพรรดิ (โซน 1) แดงจักรพรรดิ (โซน 2) โดยมะม่วงที่จัดอยู่ในกลุ่มนี้จะมีลักษณะของน้ำหนักผลมากที่สุด (fruit weight) คือ พันธุ์สามฤดูมัน ส่วนลักษณะใบไม่มีความแตกต่างกันแต่มีลักษณะคล้ายคลึงกัน ซึ่งอาจเนื่องมาจากผลของสภาพแวดล้อมที่ทำให้ลักษณะบางลักษณะไม่สามารถจัดจำแนกได้ในรูปแบบที่ชัดเจน (Dillon *et al.,* 2013) แต่มะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิ (โซน 1) แดงจักรพรรดิ (โซน 2) และเออร์วิน มีค่าดัชนีความคล้ายคลึงกันมากที่สุดอยู่ในระหว่าง 0.78 ถึง 0.93 กลุ่มที่ 3 ได้แก่ พันธุ์แก้มแดง โชคอนันต์ แรด สามปี อกร่องเขียว มันหอม แขนอ่อน และพันธุ์สามฤดู ซึ่งมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่เหมือนกันเพียงลักษณะเดียว คือ ลักษณะของฐานใบ (leaf base) แบบฐานใบแหลม (acute) และมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้มากที่สุด (TSS) ปริมาณกรดที่ไตเตรทได้มากที่สุด (TA) ส่วนมะม่วงพันธุ์อกร่องเขียวถูกจัดอยู่ในกลุ่มอกร่อง และพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองจัดอยู่ในกลุ่มน้ำดอกไม้ จึงทำให้ผลที่ได้จากการตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมมีค่าดัชนีความคล้ายคลึงกันทางพันธุกรรมของทั้ง 2 สายพันธุ์น้อยมาก และกลุ่มที่ 4 ประกอบด้วย พันธุ์ทองดำ แก้ว เขียวเสวย ตับเป็ด และคาราบาว พบว่ามีค่าดัชนีความคล้ายคลึงกันมาก คืออยู่ระหว่าง 0.71-0.83 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ต่อปริมาณกรดมากที่สุด (TSS/TA) และมีความแตกต่างกันทางลักษณะสัณฐานวิทยาภายในกลุ่มเดียวกัน ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสามารถยืนยันได้ว่าการใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลอาร์เอพีดี (RAPD) สามารถแยกและจัดจำแนกความหลากหลายทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วงได้ เช่นเดียวกับการใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลชนิดเครื่องหมายอาร์เอพีดีในการตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชอื่นๆ อีกหลายชนิด เช่น พุดสกุลการ์ดีเนีย (นฤมล และคณะ, 2554) และข้าว (เรืองวุฒิ และคณะ, 2559) เป็นต้น

การตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลอาร์เอพีดี (RAPD) พบว่า ไพร์เมอร์ OPA-20 (ภาพภาคผนวกที่ 22) ปรากฏลักษณะของรูปแบบแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันในมะม่วงกลุ่มที่ 2 ส่วนไพร์เมอร์ OPF-03 (ภาพภาคผนวกที่ 24) พบว่า ปรากฏลักษณะของรูปแบบแถบดีเอ็นเอที่คล้ายคลึงกันในมะม่วงกลุ่มที่ 3 และไพร์เมอร์ OPM-16 (ภาพภาคผนวกที่ 27) ปรากฏลักษณะของรูปแบบแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันในมะม่วงกลุ่มที่ 3 และกลุ่มที่ 4 แต่ยังไม่พบลักษณะของรูปแบบแถบดีเอ็นเอที่เฉพาะเจาะจงกับลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วง ดังนั้นจึงควรที่จะนำเทคนิคทางชีวโมเลกุลเทคนิคอื่นๆ เข้ามาช่วยในการศึกษาเพิ่มเติมหรือควรใช้ปริมาณของไพรเมอร์เพิ่มมากขึ้น เพื่อให้เกิดความแม่นยำและความชัดเจนของข้อมูล



	Carabao	ตับเป็ด	ทองดำ	เขียวเสวย	แดงจักรพรรดิ 1	แดงจักรพรรดิ 2	แก้ว	มันหอม	Iwin	อกร่องเขียว	สามฤดูมัน	สามฤดู	สามปี	แรต	มหาชนก	แขนอ่อน	น้ำดอกไม้สีทอง	ตลับนาค	โชคอนันต์	แก้มแดง
Carabao	1.00																			
ตับเป็ด	0.82	1.00																		
ทองดำ	0.72	0.74	1.00																	
เขียวเสวย	0.82	0.82	0.74	1.00																
แดงจักรพรรดิ 1	0.70	0.72	0.63	0.72	1.00															
แดงจักรพรรดิ 2	0.76	0.76	0.68	0.78	0.93	1.00														
แก้ว	0.79	0.77	0.71	0.83	0.73	0.79	1.00													
มันหอม	0.72	0.68	0.71	0.79	0.69	0.74	0.76	1.00												
Iwin	0.66	0.68	0.71	0.72	0.78	0.79	0.76	0.69	1.00											
อกร่องเขียว	0.77	0.74	0.73	0.74	0.71	0.77	0.78	0.84	0.78	1.00										
สามฤดูมัน	0.70	0.74	0.67	0.76	0.76	0.79	0.73	0.75	0.76	0.77	1.00									
สามฤดู	0.70	0.68	0.65	0.77	0.69	0.74	0.76	0.76	0.63	0.76	0.71	1.00								
สามปี	0.74	0.74	0.71	0.77	0.65	0.70	0.76	0.73	0.65	0.76	0.73	0.69	1.00							
แรต	0.70	0.72	0.69	0.72	0.69	0.72	0.73	0.76	0.69	0.78	0.79	0.73	0.82	1.00						
มหาชนก	0.60	0.64	0.65	0.62	0.73	0.72	0.67	0.65	0.76	0.73	0.78	0.63	0.59	0.69	1.00					
แขนอ่อน	0.62	0.64	0.65	0.66	0.63	0.66	0.71	0.71	0.71	0.76	0.73	0.71	0.71	0.76	0.73	1.00				
น้ำดอกไม้สีทอง	0.55	0.49	0.54	0.51	0.46	0.47	0.46	0.46	0.52	0.42	0.54	0.46	0.48	0.52	0.54	0.50	1.00			
ตลับนาค	0.69	0.67	0.62	0.69	0.72	0.76	0.81	0.70	0.74	0.74	0.77	0.64	0.74	0.72	0.74	0.74	0.45	1.00		
โชคอนันต์	0.70	0.66	0.65	0.68	0.67	0.70	0.71	0.73	0.76	0.80	0.71	0.69	0.78	0.73	0.69	0.76	0.52	0.72	1.00	
แก้มแดง	0.70	0.68	0.65	0.70	0.69	0.72	0.78	0.73	0.71	0.76	0.71	0.73	0.84	0.82	0.65	0.80	0.48	0.77	0.88	1.00

ภาพที่ 17 ค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงกันทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ จาก 14 ไพรเมอร์ โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลเครื่องหมายชนิดอาร์เอพีดี (RAPD)



ภาพที่ 18 แผนภูมิแสดงค่าความสัมพันธ์ของมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ โดยวิธีการจัดกลุ่มแบบ UPGMA method และใช้ค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงกันทางพันธุกรรมของ Jaccard's coefficient

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของสายพันธุ์มะม่วง

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาทางด้านใบ และผลของมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ สามารถจัดจำแนกความแตกต่างทางลักษณะสัณฐานวิทยาของสายพันธุ์มะม่วงได้ออกเป็น 6 กลุ่ม ดังนี้ 1) กลุ่มแก้ว คือ พันธุ์แก้ว และพันธุ์มันหอม 2) กลุ่มเขียวเสวย คือ พันธุ์ทองดำ และพันธุ์เขียวเสวย 3) กลุ่มน้ำดอกไม้ คือ พันธุ์น้ำดอกไม้สีทอง 4) กลุ่มหนังกลางวัน คือ พันธุ์แขนอ่อน พันธุ์เออร์วิน และพันธุ์มหาชนก 5) กลุ่มอกร่อง คือ พันธุ์ตับเป็ด แดงจักรพรรดิ (โซน 1) แดงจักรพรรดิ (โซน 2) สามฤดูมัน สามฤดู คาราบาว อกร่องเขียว โชคอนันต์ สามปี แรด แก้มแดง 6) กลุ่มผลกลม คือ พันธุ์ตลับนาค และจากผลการทดลองทางด้านคุณภาพผลของมะม่วง พบว่ามะม่วงในกลุ่มเขียวเสวย และกลุ่มอกร่องให้ผลทางด้านคุณภาพผลผลิตในระยะสุกแก่ที่ดี และข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยนี้ทำให้สามารถนำไปใช้เป็นฐานข้อมูลทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วง สำหรับงานทางด้านการปรับปรุงพันธุ์พืชต่อไป

การศึกษาการตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วง โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลอาร์เอพีดี (RAPD)

จากผลการตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ โดยการใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลเครื่องหมายชนิดอาร์เอพีดี (RAPD) ทั้งหมดจำนวน 20 ไพรเมอร์ เข้ามาช่วยในการตรวจสอบ และมีไพรเมอร์จำนวน 14 ไพรเมอร์ ที่สามารถแยกความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอได้ถึง 87 แถบ คิดเป็น 88.78 เปอร์เซ็นต์ มีค่าดัชนีความคล้ายคลึงกันทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.42 ถึง 0.93 สามารถจัดจำแนกกลุ่มของสายพันธุ์มะม่วงทั้ง 20 สายพันธุ์ ได้เป็น 4 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มที่ 1 คือ พันธุ์น้ำดอกไม้สีทอง กลุ่มที่ 2 ได้แก่ พันธุ์ตลับนาค มหาชนก สามฤดูมัน เออร์วิน แดงจักรพรรดิ (โซน 1) แดงจักรพรรดิ (โซน 2) กลุ่มที่ 3 ได้แก่ แก้มแดง โชคอนันต์ แรด สามปี อกร่องเขียว มันหอม แขนอ่อน และพันธุ์สามฤดู และกลุ่มที่ 4 ประกอบด้วยพันธุ์ทองดำ แก้ว เขียวเสวย ตับเป็ด และคาราบาว

การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและความหลากหลายทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วงโดยใช้เทคนิค RAPD เข้ามาช่วยในการตรวจสอบและจัดจำแนกความหลากหลายทางพันธุกรรม พบว่า สามารถจัดจำแนกกลุ่มสายพันธุ์มะม่วงทั้ง 20 สายพันธุ์ ได้ออกเป็น 4 กลุ่ม ซึ่งสอดคล้องตามการจัดจำแนกด้วยลักษณะสัณฐานวิทยา โดยสายพันธุ์มะม่วงที่จัดอยู่ในกลุ่มที่ 1 มีความสอดคล้องกันกับสายพันธุ์มะม่วงที่จัดอยู่ในกลุ่มที่ 3 ของการจัดตามรูปแบบลักษณะสัณฐานวิทยา คือ พันธุ์

น้ำดอกไม้สีทอง กลุ่มที่ 2 คล้ายคลึงกันกับกลุ่มที่ 4 5 และ 6 ได้แก่ พันธุ์แขนอ่อน เออร์วิน มหาชนก ตับเป็ด แดงจักรพรรดิ (โซน 1) แดงจักรพรรดิ (โซน 2) สามฤดูมัน สามฤดู คาราบาว อกร่องเขียว โชคอนันต์ สามปี แรด แก้มแดง และตลับนาค ส่วนกลุ่มที่ 3 สอดคล้องกันกับมะม่วงที่จัดอยู่ในกลุ่มที่ 5 เป็นส่วนใหญ่ คือ พันธุ์ตับเป็ด แดงจักรพรรดิ (โซน 1) แดงจักรพรรดิ (โซน 2) สามฤดูมัน สามฤดู คาราบาว อกร่องเขียว โชคอนันต์ สามปี แรด แก้มแดง และกลุ่มที่ 4 มีความสอดคล้องกันกับกลุ่มที่ 1 2 และกลุ่มที่ 5 ในการจัดตามลักษณะสัณฐานวิทยา ประกอบด้วย พันธุ์แก้ว มันหอม ทองดำ เขียวเสวย ตับเป็ด แดงจักรพรรดิ (โซน 1) แดงจักรพรรดิ (โซน 2) สามฤดูมัน สามฤดู คาราบาว อกร่องเขียว โชคอนันต์ สามปี แรด และแก้มแดง

ข้อเสนอแนะ

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและความหลากหลายทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะม่วง จำนวน 20 สายพันธุ์ โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี (RAPD) ในงานวิจัยนี้ พบว่า การจัดกลุ่มตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการจัดกลุ่มโดยการใช้เทคนิคเครื่องหมายโมเลกุลชนิดอาร์เอพีดียังไม่ชัดเจนนัก อาจเนื่องมาจากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่มีเพียงแค่ลักษณะบางส่วน คือ ลักษณะของรูปทรงแผ่นใบ ปลายใบ ฐานใบ ขอบใบ และลักษณะของรูปร่างทรงผลมะม่วงยังไม่ครอบคลุมการศึกษาทั้งหมด หรืออาจเกิดจากความแปรปรวนของสภาพแวดล้อมที่มีผลกระทบต่อการแสดงออกทางลักษณะฟีโนไทป์ของสายพันธุ์มะม่วง ดังนั้นจึงควรศึกษาลักษณะต่างๆ เพื่อเป็นข้อมูลเพิ่มเติม เช่น ลักษณะรูปร่างของช่อดอก ลักษณะทรงพุ่มต้น ลักษณะเปลือกลำต้น ลักษณะของการแตกกิ่งก้าน ลักษณะโครงสร้างของผลมะม่วง และลักษณะรูปทรงเมล็ด เป็นต้น นอกจากนี้ควรใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลเทคนิคอื่นๆ เข้ามาช่วยในการศึกษาเพิ่มเติมร่วมด้วย หรือควรใช้ปริมาณของไพรเมอร์เพิ่มมากขึ้น และเฉพาะเจาะจงยิ่งขึ้น เพื่อให้เกิดความแม่นยำและความชัดเจนของข้อมูลเพิ่มมากขึ้น

บรรณานุกรม

เกศิณี ระมิงค์วงศ์. 2528. **การจัดจำแนกไม้ผล**. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่.

เกศิณี ระมิงค์วงศ์. 2546. **การจำแนกไม้ผล**. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่.

จริงแท้ ศิริพานิช. 2546. **สรีรวิทยาและเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้**. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร.

จันทร์เพ็ญ สะระ. 2557. **การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลเพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ลำไย**. โครงร่างวิทยานิพนธ์ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่.

เฉลิมศรี นนทสวัสดิ์ศรี. 2549. **เอกสารประกอบการสอนรายวิชา พส 522 การปรับปรุงพันธุ์พืชสวน ขั้นสูง 2**. สาขาวิชาพืชสวน คณะผลิตกรรมการเกษตร. มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่.

ธีรนุช เจริญกิจ. 2555. **ไม้ผลเขตร้อน**. สาขาวิชาพืชสวน คณะผลิตกรรมการเกษตร. มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่.

นฤมล ธนานันต์ รุจิเรข นพเกษร และธีระชัย ธนานันต์. 2554. การใช้เทคนิคอาร์เอพีดีศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพุดสกุลการ์ดีเนีย. **วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา**. 16(1): 41-46.

ประเสริฐ ศรีสาธร. 2548. **คู่มือการทำสวนมะม่วง**. อักษรสยามการพิมพ์. กรุงเทพมหานคร.

พิจิตร โชคพัฒนา. 2545. **การปลูกไม้ผล**. สำนักพิมพ์เกษตรสาส์น. นนทบุรี.

ภูวนาถ นนทรีย์. 2545. **มะม่วง**. สำนักพิมพ์เกษตรสาส์น. นนทบุรี.

เรืองวุฒิ ชุติมา กวี สุจิปุลิ สหณัฐ เพชรศรี และธัชคณิน จงจิตวิมล. 2559. การประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองในเขตภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทยโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี. **วารสารวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์**. 8(8): 1-14.

วงศมน เพ็งประเสริฐ. 2550. **การเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของสายพันธุ์ปาล์มน้ำมันระหว่างโปรแกรม NTSYSpc version 2.20e และ PHYLIP version 3.66**. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม.

ศักยะ สมบัติไพรวัน เทวรัตน์ ทิพยวิมล และกระวี ตรีอำนรรค. 2555. **การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางคุณภาพของมะม่วงน้ำดอกไม้ภายหลังการเก็บเกี่ยว**. การประชุมวิชาการสมาคมวิศวกรรม

เกษตรแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 13. น. 518-525.

ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา. 2556. **มะม่วง : การผลิตและเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว**. วนิดาการพิมพ์. เชียงใหม่.

สนั่น ขำเลิศ และคณะ. 2533. **การทำสวนมะม่วง**. ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม.

สำนักข่าวไทย สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2563. **การส่งออกมะม่วง**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา https://www.mcot.net/viewtna/5e8d3cf8e3f8e40aef4290f8 (30 เมษายน 2563).

สำนักคุ้มครองพันธุ์พืชแห่งชาติ. 2544. **ฐานข้อมูลเชื้อพันธุ์พืชมะม่วง (Plant Germplasm Database for Mango)**. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพมหานคร.

สำนักคุ้มครองพันธุ์พืชแห่งชาติ. 2547. **ฐานข้อมูลเชื้อพันธุ์พืช : มะม่วง เล่ม 2 (Plant Germplasm Database : Mango, Volume 2)**. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพมหานคร.

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2552. **เครื่องหมายดีเอ็นเอ จากพื้นฐานสู่การประยุกต์**. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร.

แสงทอง พงษ์เจริญกิต. 2552. **คู่มือบทปฏิบัติการ ชว 440 พันธุศาสตร์โมเมกุล**. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่.

อรรัตน์ มงคลพร. 2548. **เครื่องหมายโมเลกุลเพื่อการปรับปรุงพันธ์พืช**. จรัลสนิทวงศ์การพิมพ์. กรุงเทพมหานคร.

อารีย์รัตน์ หนูนวล. 2560. **เทคนิค Polymerase chain reaction หรือ พีซีอาร์ (PCR)**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา https://meded.psu.ac.th/binlaApp/class02/B2_364_221/Molecular_genetic_part1/index2.html (2 ตุลาคม 2563).

อุบลวรรณ หงษ์อินทร์. 2561. **การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพันธุ์มะม่วงโดยเทคนิคเครื่องหมายดีเอ็นเอ ชนิด เอส เอส อาร์**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาพืชสวน คณะผลิตกรรมการเกษตร. มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่.

Abdelsalam, N. R., Ali, H. M., Salem, M. Z., Ibrahem, E. G. and Elshikh, M. S. 2018. Genetic and morphological characterization of *Mangifera indica* L. growing in Egypt. **HortScience**. 53(9): 1266-1270.

Bajpai, A., Srivastava, N., Rajan, S. and Chandra, R. 2008. Genetic diversity and discrimination of mango accessions using RAPD and ISSR markers. **Indian Journal of Horticulture**. 65(4): 377-382.

Bally, L. S. E. 2006. ***Mangifera indica* L. (mango)**. Permanent Agriculture Resources

(PAR). United States.

de Souza, V. A. B. and Lima, P. S. C. 2002. Genetic variability in mango genotypes detected by RAPD markers. **Acta Horticulturae**. 645: 303-310.

Diaz-Matallana, M., Schuler-Garcia, I., Ruiz-Garcia, M. and Hodson de Jaramillo, E. 2009. Analysis of diversity among six populations of Colombian mango (*Mangifera indica* L. cvar. Hilacha) using RAPDs markers. **Electronic Journal of Biotechnology**. 12(3): 1-2.

Dillon, N. L., Bally, I. S., Wright, C. L., Hucks, L., Innes, D. J. and Dietzgen, R. G. 2013. Genetic diversity of the Australian national mango genebank. **Scientia Horticulturae**. 150: 213-226.

Doyle, J. J. and Doyle, J. L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**. 19(1): 11-15.

Jamshidi, S. and Jamshidi, S. 2011. NTSYSpc 2.02e implementation in molecular biodata analysis (clustering, screening, and individual selection). ***In*** **Proceedings of 4th International Conference on Environmental and Computer Science**. 16(18): 165-169.

Karihaloo, J. L., Dwivedi, Y. K., Archak, S. and Gaikwad, A. B. 2003. Analysis of genetic diversity of Indian mango cultivars using RAPD markers. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**. 78(3): 285-289.

Khan, A. S., Ali, S. and Khan, I. A. 2015. Morphological and molecular characterization and evaluation of mango germplasm : An overview. **Scientia Horticulturae**. 194: 353-366.

Kheshin, M. A., Hossam, A. S. and Allatif, A. M. A. 2016. Morphological and molecular analysis of genetic diversity among some 'Sukkary'mango (*Mangifera indica* L.) genotypes. **Journal of horticultural science and ornamental plants**. 8(1): 1-10.

Kit, Y. S. and Chandran, S. 2010. A simple rapid and efficient method of isolating DNA from Chokanan mango (*Mangifera indica* L.). **African Journal of Biotechnology**. 9(36): 5805-5808.

Krishnapillai, N. and Wijeratnam, R. S. Wilson. 2016. Morphometric analysis of mango varieties in Sri Lanka. **Australian Journal of Crop Science**. 10(6): 784-792.

Luo, C., He, X. H., Chen, H., Ou, S. J. and Gao, M. P. 2010. Analysis of diversity and relationships among mango cultivars using Start Codon Targeted (SCoT) markers. **Biochemical Systematics and Ecology**. 38(6): 1176-1184.

Nakasone, H. Y. and Paull, R. E. 1998. **Tropical fruits.** Cab International. United Kingdom.

Rajwana, I. A., Tabbasam, N., Malik, A. U., Malik, S. A. and Zafar, Y. 2008. Assessment of genetic diversity among mango (*Mangifera indica* L.) genotypes using RAPD markers. **Scientia Horticulturae**. 117(3): 297-301.

Rymbai, H., Laxman, R. H., Dinesh, M. R., Sunoj, V. J., Ravishankar, K. V. and Jha, A. K. 2014. Diversity in leaf morphology and physiological characteristics among mango (*Mangifera indica*) cultivars popular in different agro-climatic regions of India. **Scientia Horticulturae**. 176: 189-193.

Samson, J. A. 1986. **Tropical fruits (No. Ed. 2)**. Longman Group UK Limited. United Kingdom.

Shamili, M., Fatahi, R. and Hormaza, J. I. 2012. Characterization and evaluation of genetic diversity of Iranian mango (*Mangifera indica* L., Anacardiaceae) genotypes using microsatellites. **Scientia horticulturae**. 148: 230-234.

Souza, I. G. B., Valente, S. E. S., Britto, F. B., de Souza, V. A. B. and LIMA, P. S. da. C. 2011. RAPD analysis of the genetic diversity of mango (*Mangifera indica* L.) germplasm in Brazil. **Embrapa Meio-Norte-Artigo em periódico indexado (ALICE)**. 10(4): 3080-3089.

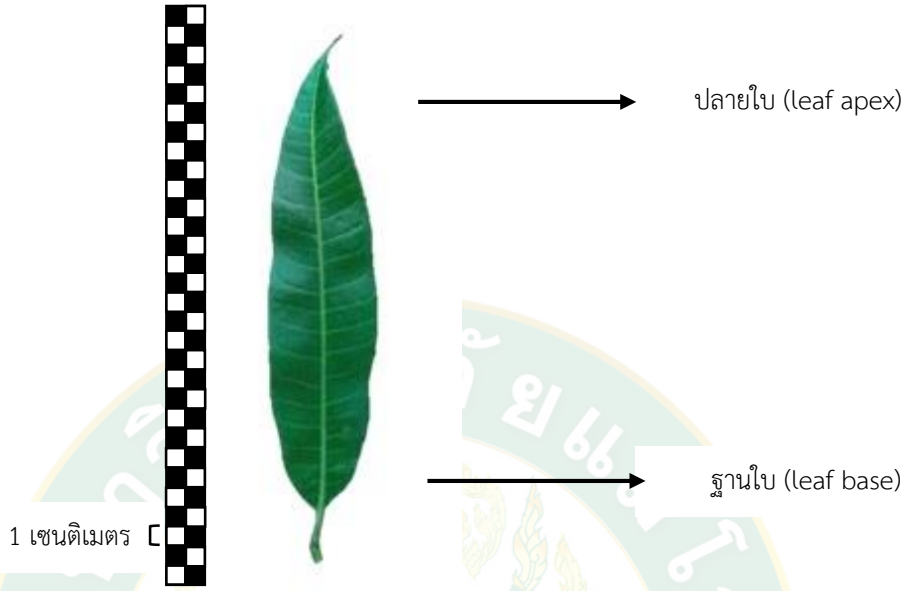
Tsai, C. C., Chen, Y. K H., Chen, C. H., Weng, I., Tsai, C. M., Lee, S. R., Lin, Y. S. and Chiang, Y. C. 2013. Cultivar identification and genetic relationship of mango *(Mangifera indica* L.) in Taiwan using 37 SSR markers. **Scientia Horticulturae**. 164: 196-201.

Yamanaka, N., Hasran, M., Xu, D. H., Tsunematsu, H., Idris, S. and Ban, T. 2006. Genetic Relationship and Diversity of Four *Mangifera* sp. Revealed through AFLP Analysis. **Genetic Resources and Crop Evolution**. 53(5): 949-954.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

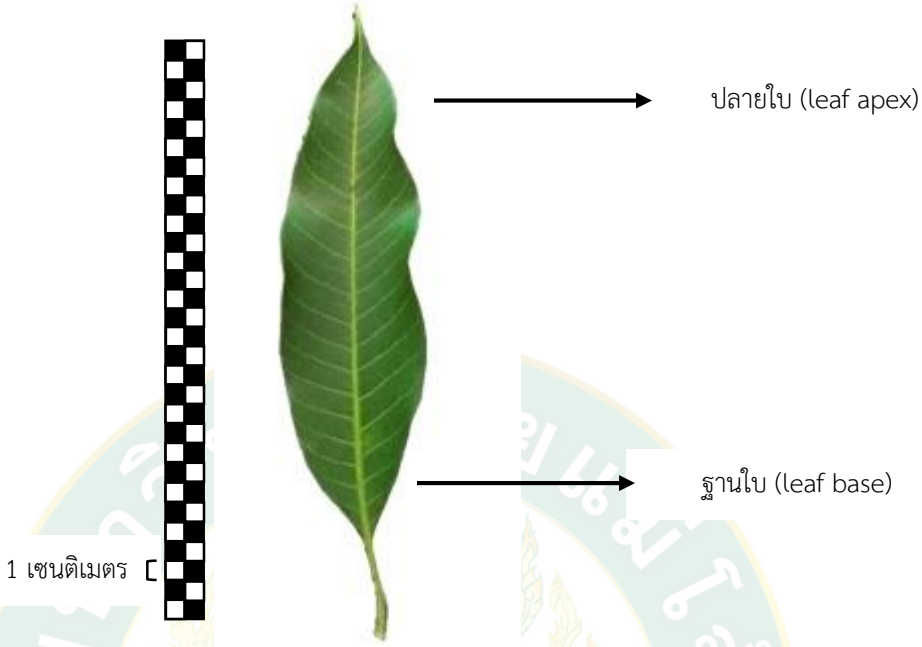
การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของสายพันธุ์มะม่วงจำนวน 20 พันธุ์



ลักษณะรูปร่างใบ (leaf shape)

ลักษณะรูปทรงผล (fruit shape)

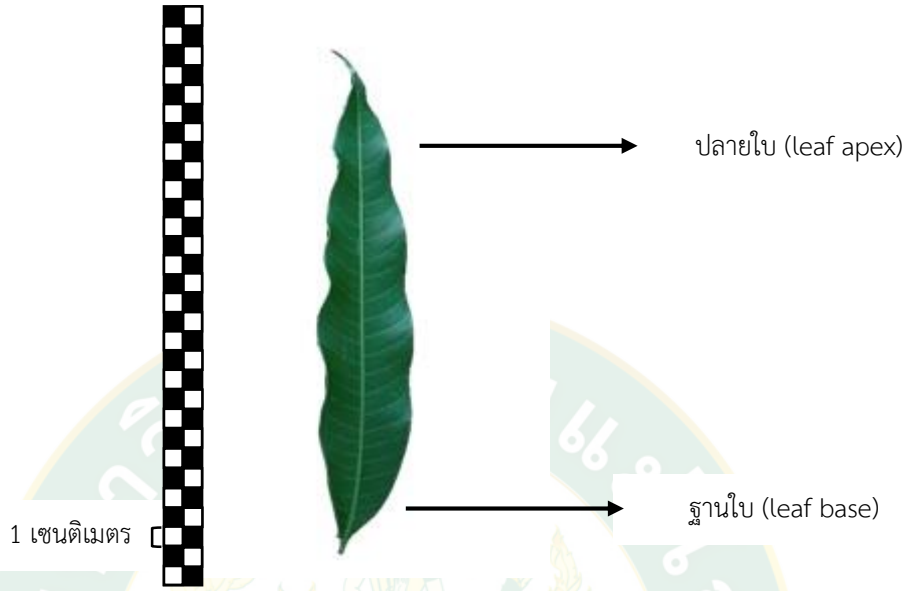
ภาพภาคผนวกที่ 1 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์คาราบาว (Carabao)



ลักษณะรูปร่างใบ (leaf shape)

ลักษณะรูปทรงผล (fruit shape)

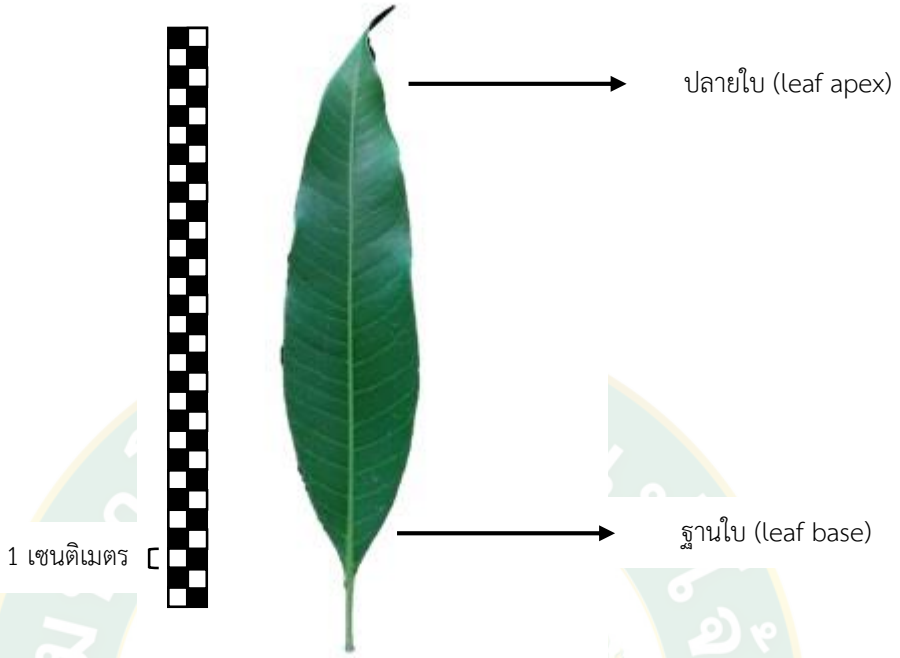
ภาพภาคผนวกที่ 2 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์ตับเป็ด (Tuppet)



ลักษณะรูปร่างใบ (leaf shape)

ลักษณะรูปทรงผล (fruit shape)

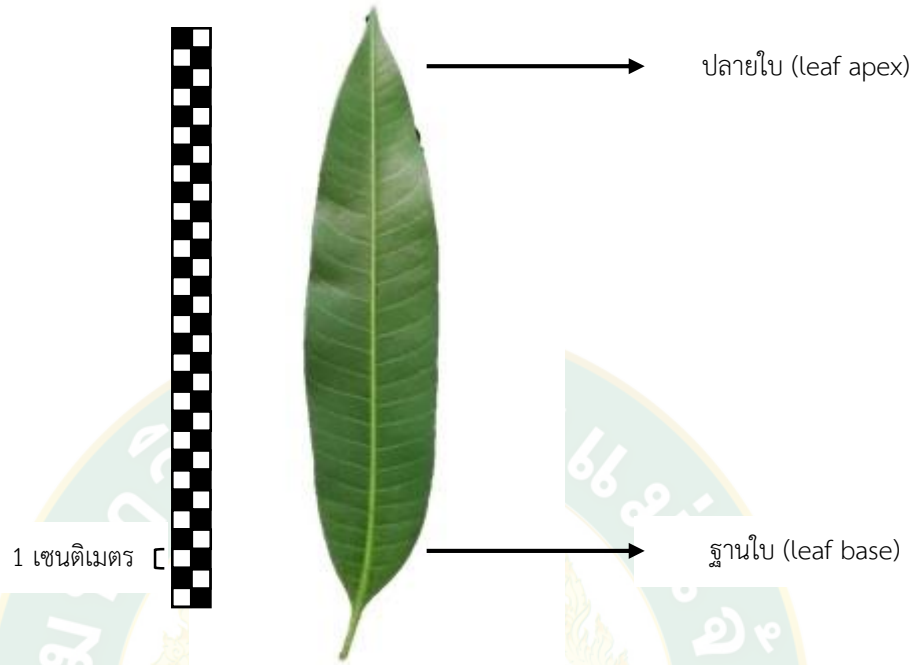
ภาพภาคผนวกที่ 3 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์ทองดำ (Thongdam)



ลักษณะรูปร่างใบ (leaf shape)

ลักษณะรูปทรงผล (fruit shape)

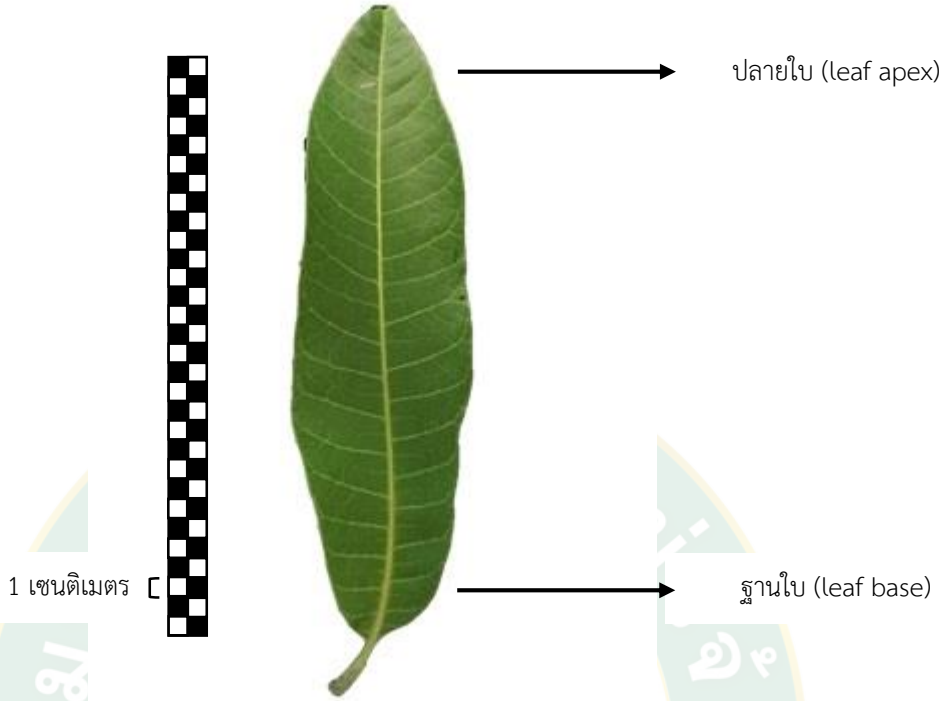
ภาพภาคผนวกที่ 4 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย (Khaisawoey)



ลักษณะรูปร่างใบ (leaf shape)

ลักษณะรูปทรงผล (fruit shape)

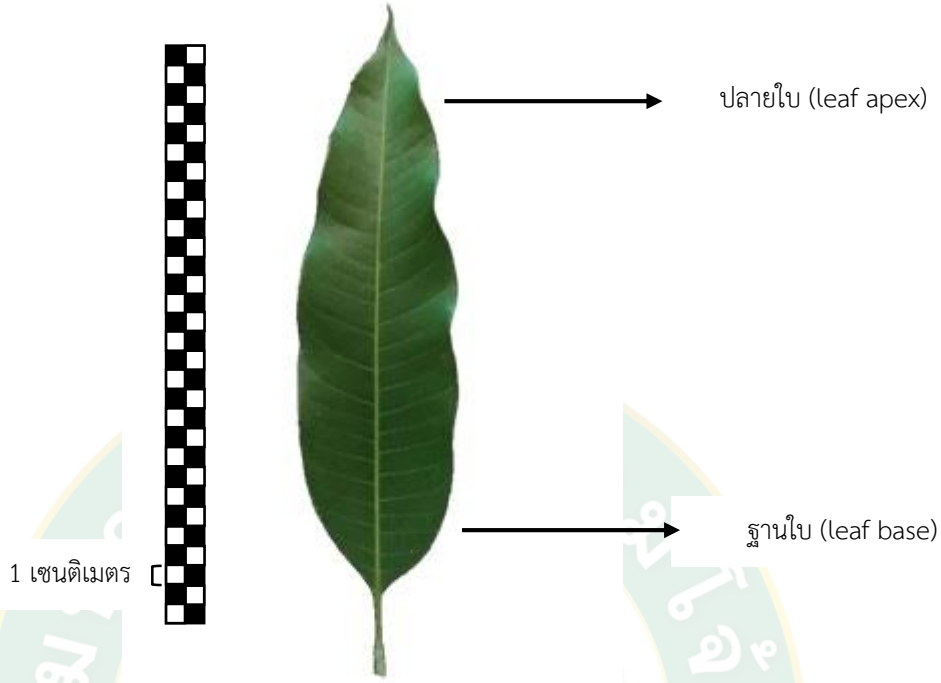
ภาพภาคผนวกที่ 5 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิ (โซน 1) (Daeng jakgrapat zone 1)



ลักษณะรูปร่างใบ (leaf shape)

ลักษณะรูปทรงผล (fruit shape)

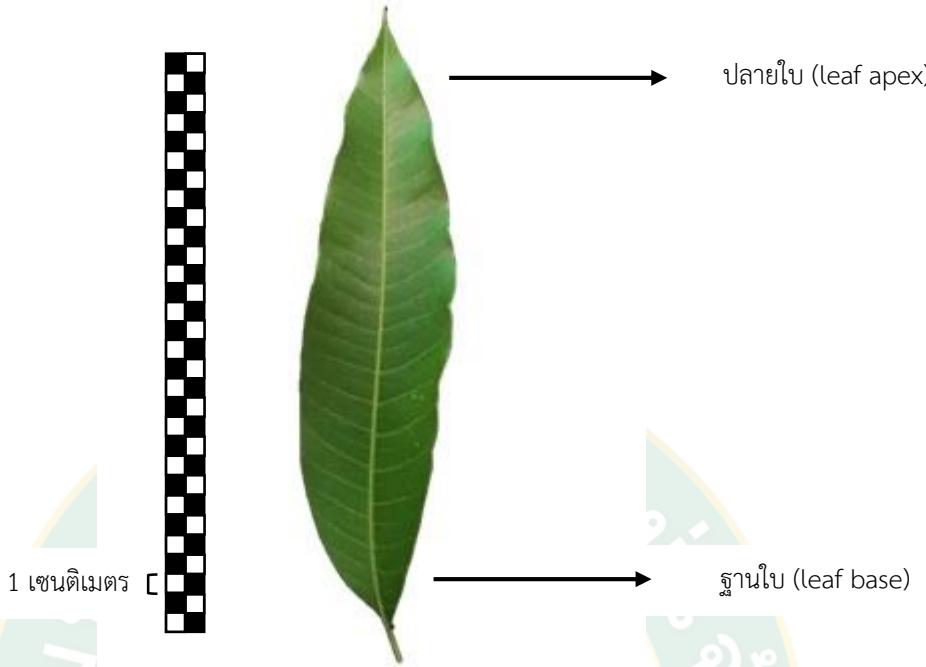
ภาพภาคผนวกที่ 6 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิ (โซน 2) (Daeng jakgrapat zone 2)



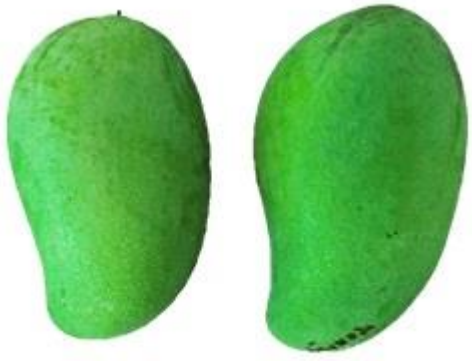
ลักษณะรูปร่างใบ (leaf shape)

ลักษณะรูปทรงผล (fruit shape)

ภาพภาคผนวกที่ 7 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์แก้ว (Kaeo)

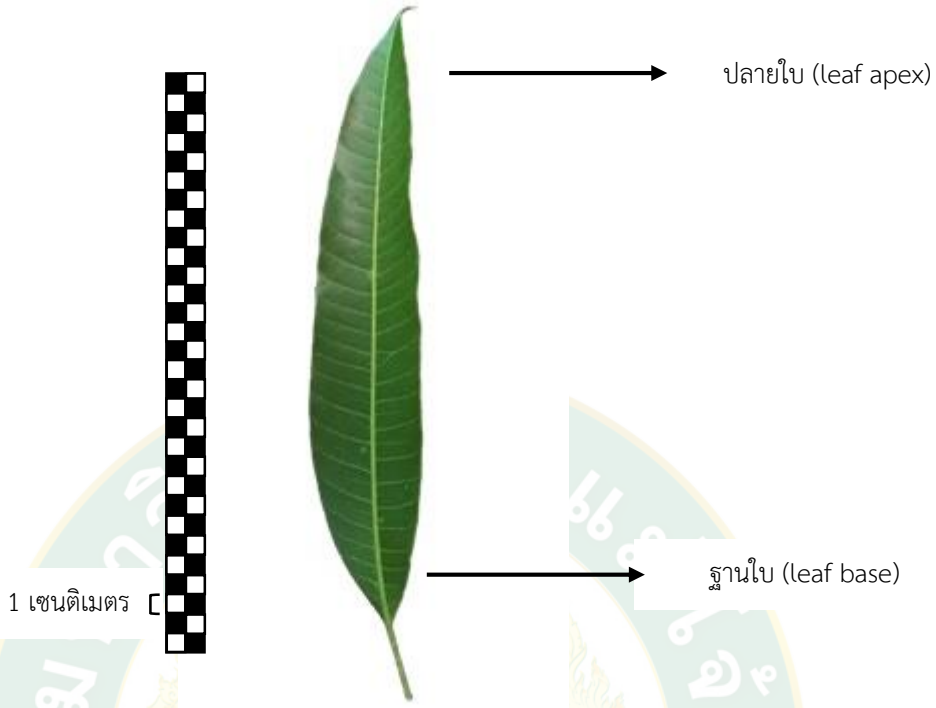


ลักษณะรูปร่างใบ (leaf shape)



ลักษณะรูปทรงผล (fruit shape)

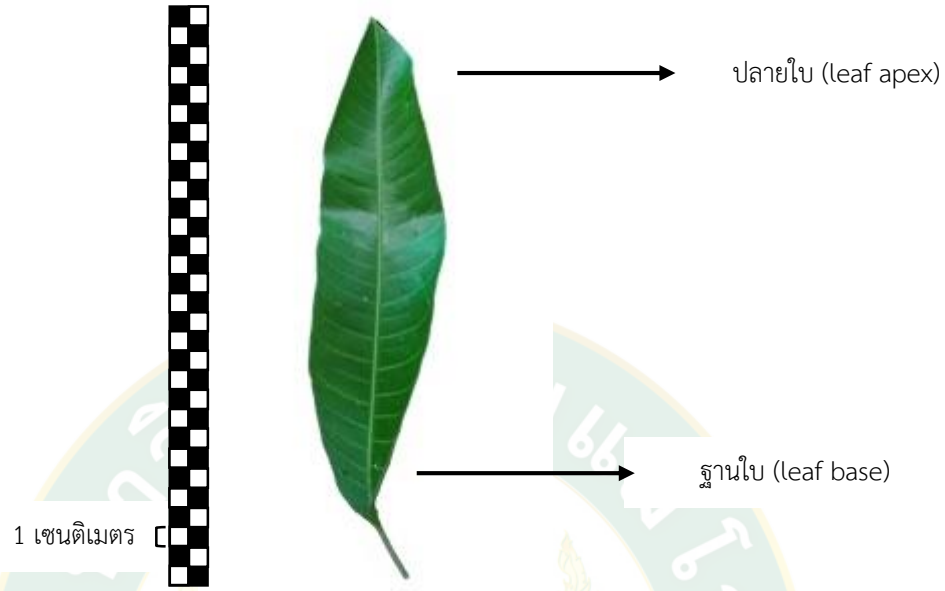
ภาพภาคผนวกที่ 8 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์มันหอม (Manhom)



ลักษณะรูปร่างใบ (leaf shape)

ลักษณะรูปทรงผล (fruit shape)

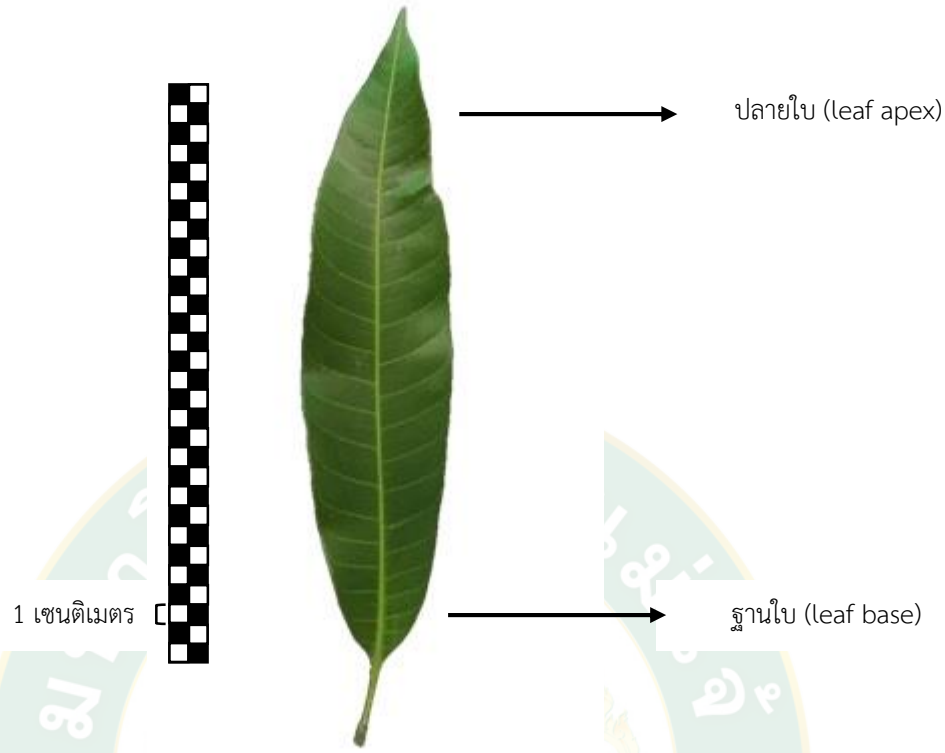
ภาพภาคผนวกที่ 9 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์เออร์วิน (Irwin)



ลักษณะรูปร่างใบ (leaf shape)

ลักษณะรูปทรงผล (fruit shape)

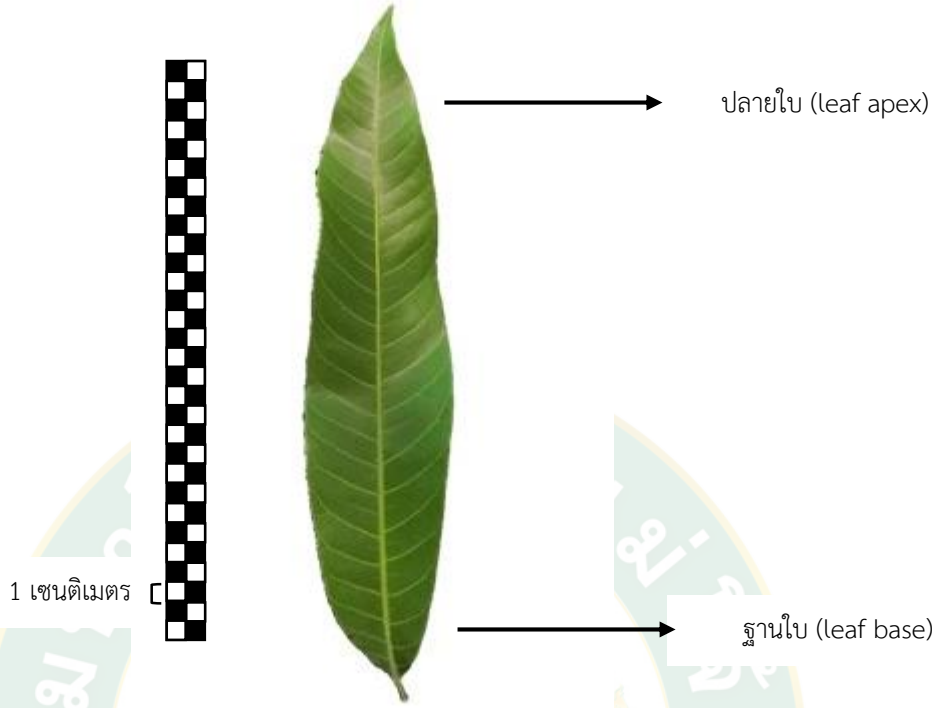
ภาพภาคผนวกที่ 10 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์อกร่องเขียว (Okrong-khiao)



ลักษณะรูปร่างใบ (leaf shape)

ลักษณะรูปทรงผล (fruit shape)

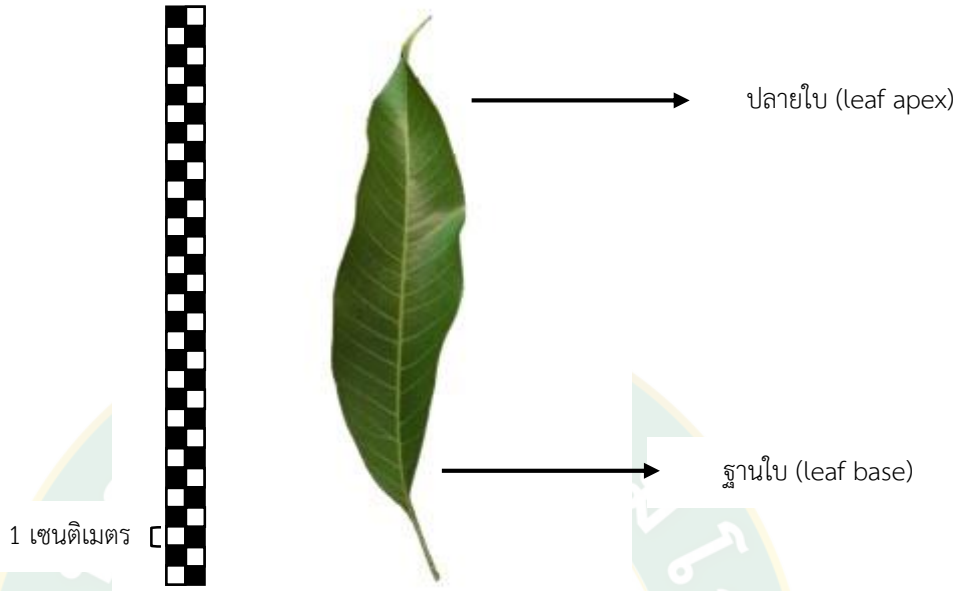
ภาพภาคผนวกที่ 11 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์สามฤดูมัน (Samruedu-man)



ลักษณะรูปร่างใบ (leaf shape)

ลักษณะรูปทรงผล (fruit shape)

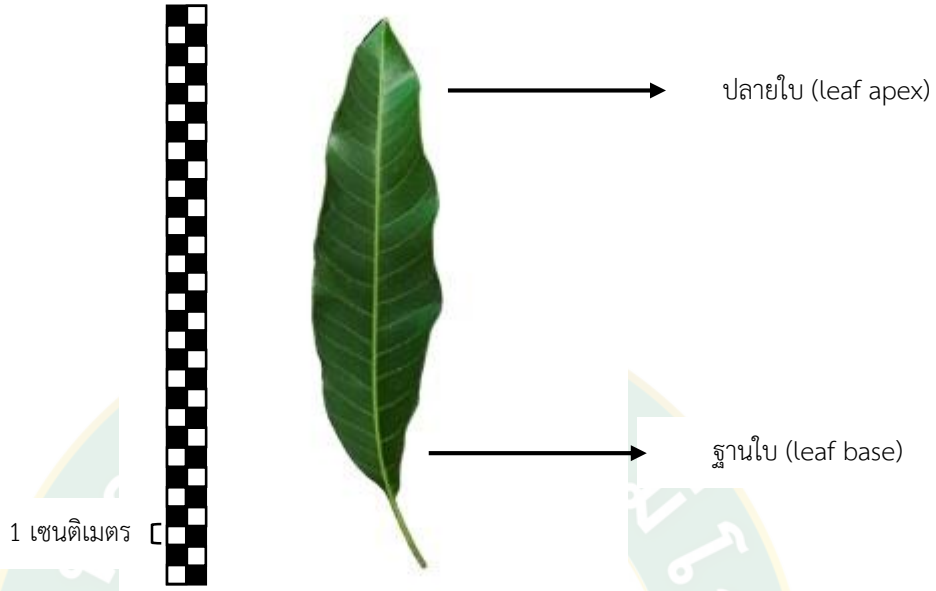
ภาพภาคผนวกที่ 12 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์สามฤดู (Samruedu)



ลักษณะรูปร่างใบ (leaf shape)

ลักษณะรูปทรงผล (fruit shape)

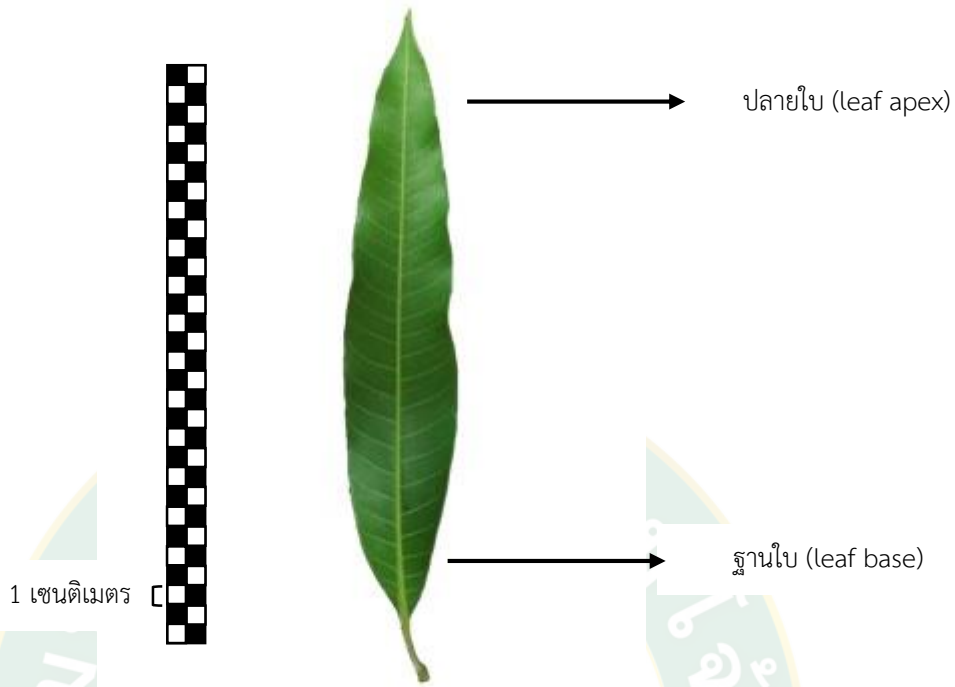
ภาพภาคผนวกที่ 13 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์สามปี (Sampi)



ลักษณะรูปร่างใบ (leaf shape)

ลักษณะรูปทรงผล (fruit shape)

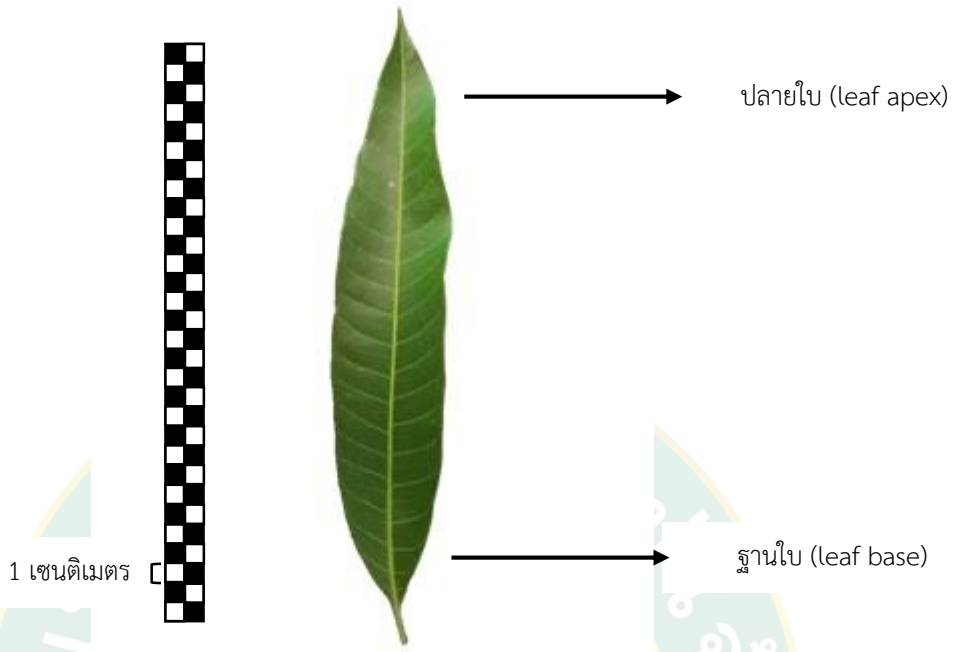
ภาพภาคผนวกที่ 14 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์แรด (Raet)



ลักษณะรูปร่างใบ (leaf shape)

ลักษณะรูปทรงผล (fruit shape)

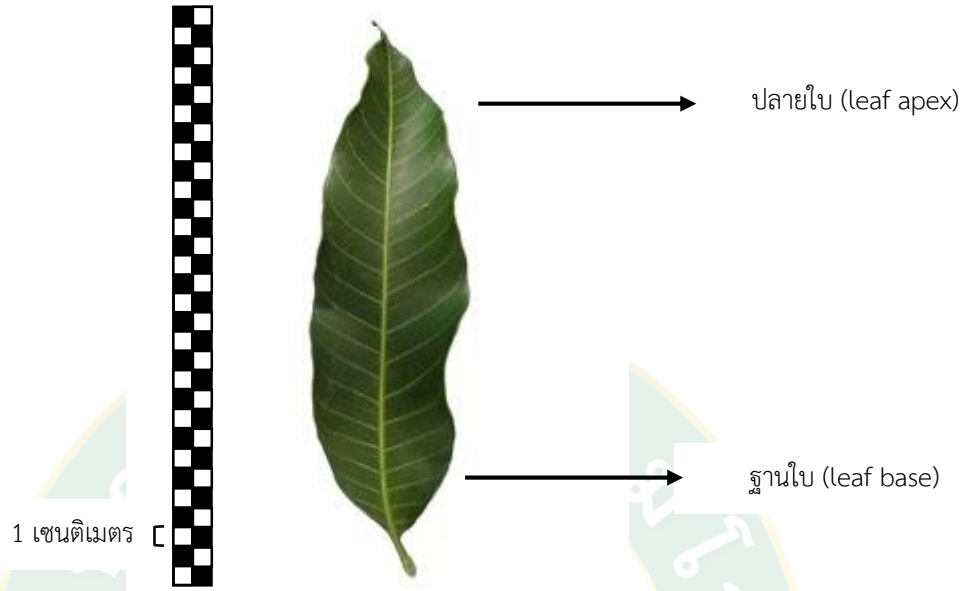
ภาพภาคผนวกที่ 15 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์มหาชนก (Mahacharnok)



ลักษณะรูปร่างใบ (leaf shape)

ลักษณะรูปทรงผล (fruit shape)

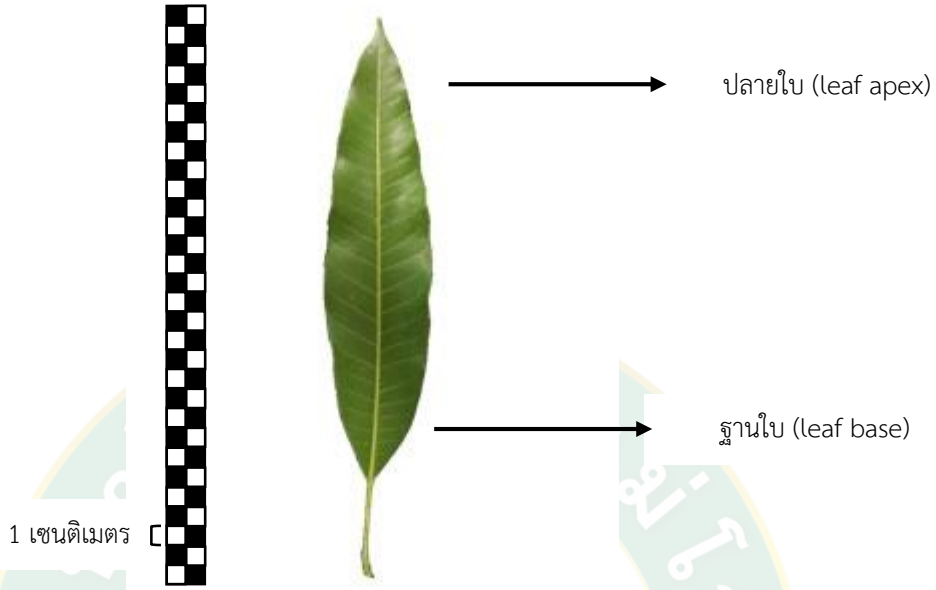
ภาพภาคผนวกที่ 16 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์แขนอ่อน (Khaen-on)



ลักษณะรูปร่างใบ (leaf shape)

ลักษณะรูปทรงผล (fruit shape)

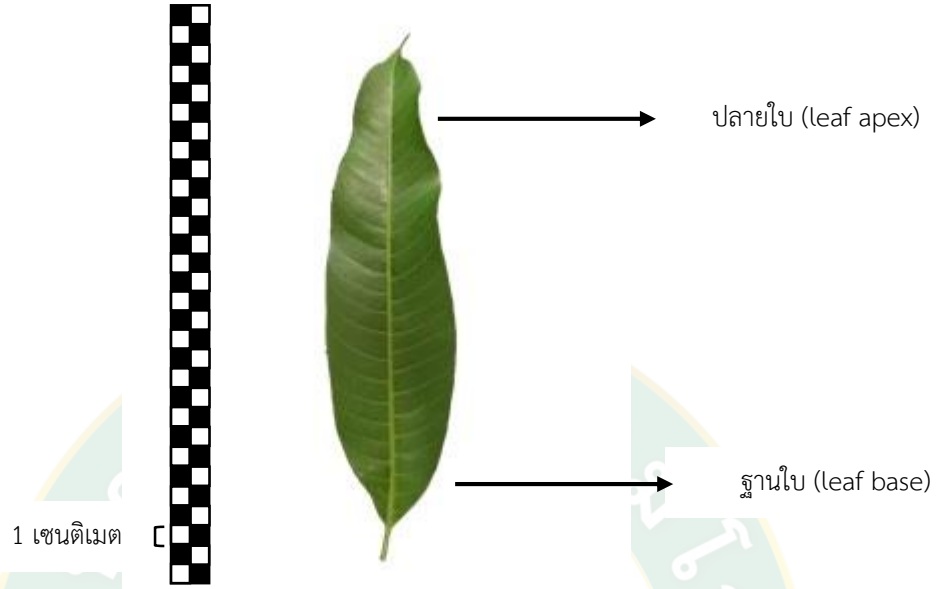
ภาพภาคผนวกที่ 17 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทอง (Namdokmai-sithong)



ลักษณะรูปร่างใบ (leaf shape)

ลักษณะรูปทรงผล (fruit shape)

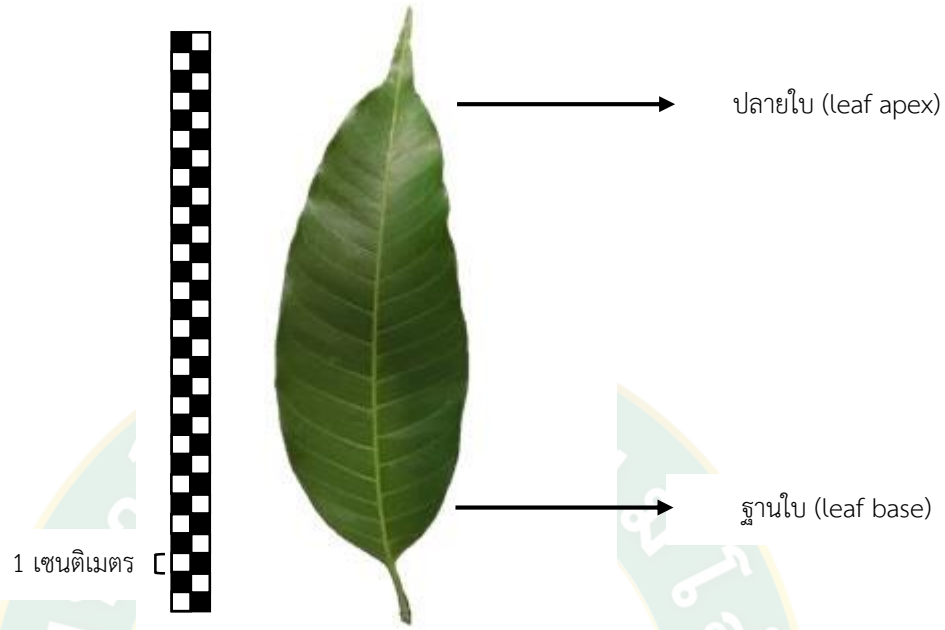
ภาพภาคผนวกที่ 18 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์ตลับนาค (Talapnak)



ลักษณะรูปร่างใบ (leaf shape)

ลักษณะรูปทรงผล (fruit shape)

ภาพภาคผนวกที่ 19 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์ (Chok-anan)



ลักษณะรูปร่างใบ (leaf shape)

ลักษณะรูปทรงผล (fruit shape)

ภาพภาคผนวกที่ 20 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์แก้มแดง (Kaemdaeng)

ภาคผนวก ข

การเตรียมสารเคมีในการตรวจสอบคุณภาพผลและเทคนิคทางชีวโมเลกุลอาร์เอพีดี (RAPD)

1. การเตรียมสารเคมีในการตรวจวัดคุณภาพผลมะม่วง

ตารางภาคผนวกที่ 1 การเตรียมสารละลาย 0.25N NaOH ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

0.25N NaOH (MW=40 กรัมต่อโมล)	**ปริมาตร**
NaOH	10 กรัม
น้ำกลั่นบริสุทธิ์	800 มิลลิลิตร
เติมน้ำกลั่นบริสุทธิ์ให้ครบตามปริมาตรที่ต้องการ	1,000 มิลลิลิตร

ตารางภาคผนวกที่ 2 สูตรการคำนวณหาปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ (TA)

สูตร $$\% \text{ Total titratable Acidity} = \frac{(\text{ml NaOH})(\text{N NaOH})(\text{meq. Wt.Citric}) \times 100}{\text{ml of sample}}$$

meq. Wt. Citric = 0.064

ml NaOH = ปริมาณสารละลาย NaOH ที่ใช้ในการไตเตรท (มิลลิลิตร)

ml of sample = ปริมาณน้ำคั้นมะม่วงที่ใช้ในการไตเตรท (มิลลิลิตร)

หมายเหตุ การไตเตรทปริมาณกรดใช้น้ำมะม่วงคั้นปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่น (distilled water) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2. การเตรียมสารเคมีในการสกัดดีเอ็นเอจากใบมะม่วง โดยใช้วิธี CTAB ดัดแปลง

ตารางภาคผนวกที่ 3 การเตรียมสารละลาย 2X CTAB buffer ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

2X CTAB buffer	**ปริมาตร**
1M Tris-HCl pH 8.0	100 มิลลิลิตร
0.5M EDTA pH 8.0	40 มิลลิลิตร
5M NaCl	280 มิลลิลิตร
PVP	10 กรัม
CTAB	20 กรัม
เติมน้ำกลั่นบริสุทธิ์ให้ครบตามปริมาตรที่ต้องการ	1,000 มิลลิลิตร

หมายเหตุ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยตู้นึ่งอบฆ่าเชื้อความดันสูงก่อนการใช้งาน

ตารางภาคผนวกที่ 4 การเตรียมสารละลาย 1M Tris-HCl pH 8.0 ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

1M Tris-HCl pH 8.0	**ปริมาตร**
Tris (1M Tris MW=121.14 กรัมต่อโมล)	121.14 กรัม
น้ำกลั่นบริสุทธิ์	800 มิลลิลิตร
HCl 37 เปอร์เซ็นต์	(เพื่อปรับ pH)
เติมน้ำกลั่นบริสุทธิ์ให้ครบตามปริมาตรที่ต้องการ	1,000 มิลลิลิตร

หมายเหตุ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยตู้นึ่งอบฆ่าเชื้อความดันสูงก่อนการใช้งาน

ตารางภาคผนวกที่ 5 การเตรียมสารละลาย 0.5M EDTA pH 8.0 ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

0.5M EDTA pH 8.0	**ปริมาตร**
EDTA (MW=372.2 กรัมต่อโมล)	186.1 กรัม
น้ำกลั่นบริสุทธิ์	800 มิลลิลิตร
0.5M NaOH	20 กรัม (เพื่อปรับ pH)
เติมน้ำกลั่นบริสุทธิ์ให้ครบตามปริมาตรที่ต้องการ	1,000 มิลลิลิตร

หมายเหตุ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยตู้นึ่งอบฆ่าเชื้อความดันสูงก่อนการใช้งาน

ตารางภาคผนวกที่ 6 การเตรียมสารละลาย 5M NaCl ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

5M NaCl	**ปริมาตร**
NaCl (MW=58.44 กรัมต่อโมล)	292.2 กรัม
เติมน้ำกลั่นบริสุทธิ์ให้ครบตามปริมาตรที่ต้องการ	1,000 มิลลิลิตร

หมายเหตุ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยตู้นึ่งอบฆ่าเชื้อความดันสูงก่อนการใช้งาน

ตารางภาคผนวกที่ 7 การเตรียมสารละลาย 0.01M HCl 37 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

0.01M HCl	**ปริมาตร**
0.01M HCl 37 เปอร์เซ็นต์ (MW=36.46)	0.364 กรัม
น้ำกลั่นบริสุทธิ์	300 มิลลิลิตร
เติมน้ำกลั่นบริสุทธิ์ให้ครบตามปริมาตรที่ต้องการ	500 มิลลิลิตร

ตารางภาคผนวกที่ 8 การเตรียมสารละลาย 10X TBE buffer ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

10X TBE buffer	**ปริมาตร**
Tris-base	100 กรัม
Boric acid	55 กรัม
0.5M EDTA pH 8.0	40 มิลลิลิตร
น้ำกลั่นบริสุทธิ์	800 มิลลิลิตร
เติมน้ำกลั่นบริสุทธิ์ให้ครบตามปริมาตรที่ต้องการ	1,000 มิลลิลิตร

ตารางภาคผนวกที่ 9 การเตรียมสารละลาย 1X TBE buffer ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

1X TBE buffer	**ปริมาตร**
10X TBE buffer	100 มิลลิลิตร
น้ำกลั่นบริสุทธิ์	900 มิลลิลิตร

ตารางภาคผนวกที่ 10 การเตรียมสารละลาย 1X TE buffer pH 8.0 ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

1X TE buffer pH 8.0	**ปริมาตร**
1M Tris-HCl pH 8.0	10 มิลลิลิตร
0.5M EDTA pH 8.0	2 มิลลิลิตร
เติมน้ำกลั่นบริสุทธิ์ให้ครบตามปริมาตรที่ต้องการ	1,000 มิลลิลิตร

ตารางภาคผนวกที่ 11 การเตรียมสารละลายอะกาโรสเจล 1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

อะกาโรสเจล (agarose gel) 1 เปอร์เซ็นต์	**ปริมาตร**
Agarose gel	0.5 กรัม
1X TBE buffer	50 มิลลิลิตร

ตารางภาคผนวกที่ 12 การตรวจวัดปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร (A260/A280) ของมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ (ซ้ำที่ 1)

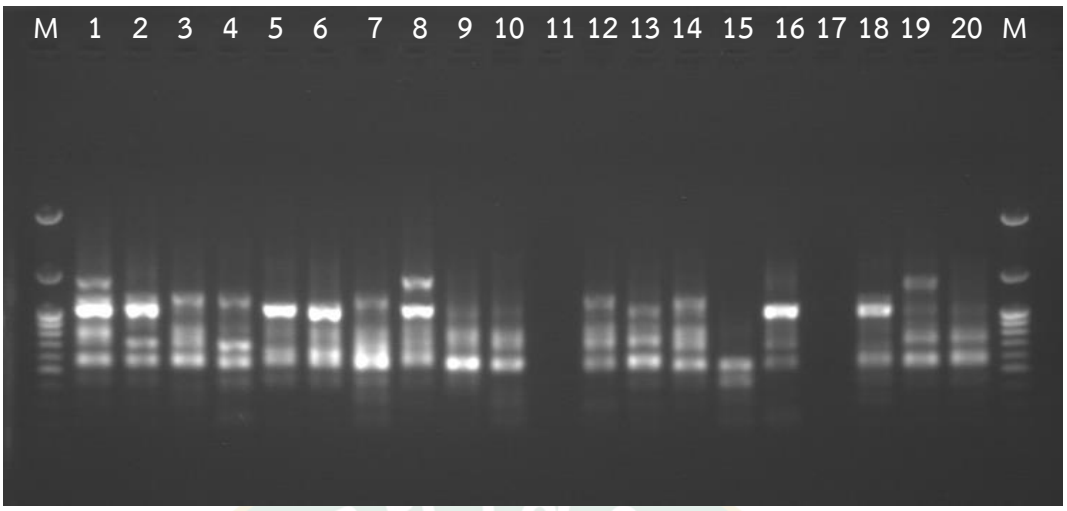
พันธุ์	A230/260	A260/280	ปริมาณความเข้มข้นดีเอ็นเอ (ng/µl)
1. คาราบาว	1.61	2.05	1,050.94
2. ตับเป็ด	1.73	1.96	1,762.09
3. ทองดำ	1.37	1.82	332.94
4. เขียวเสวย	1.66	2.07	1,157.01
5. แดงจักรพรรดิ (โซน 1)	1.45	1.92	796.48
6. แดงจักรพรรดิ (โซน 2)	1.60	2.11	1,063.34
7. แก้ว	1.77	1.42	2,850.07
8. มันหอม	1.59	1.99	1,253.94
9. เออร์วิน	1.51	2.19	876.61
10. อกร่องเขียว	1.45	2.05	307.05
11.สามฤดูมัน	1.97	1.19	3,528.03
12.สามฤดู	1.49	1.74	898.17
13. สามปี	1.57	1.98	440.43
14. แรด	1.72	1.49	2,072.96
15. มหาชนก	1.64	2.11	964.83
16. แขนอ่อน	1.85	1.66	2,111.79
17. น้ำดอกไม้สีทอง	1.88	1.78	2,183.15
18. ตลับนาค	1.61	1.70	1,097.97
19. โชคอนันต์	1.65	1.59	303.70
20. แก้มแดง	1.46	1.59	836.44

ตารางภาคผนวกที่ 13 การตรวจวัดปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร (A260/A280) ของมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ (ซ้ำที่ 2)

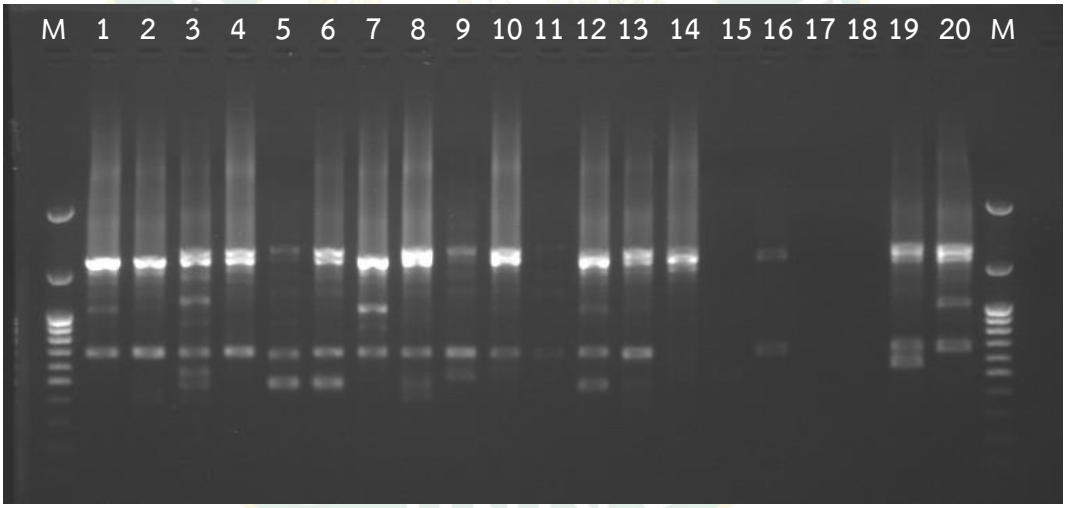
พันธุ์	A230/260	A260/280	ปริมาณความเข้มข้นดีเอ็นเอ (ng/µl)
1. คาราบาว	1.65	2.08	1,066.57
2. ตับเป็ด	1.70	2.08	1,243.30
3. ทองดำ	1.46	1.75	718.56
4. เขียวเสวย	1.76	1.76	2,186.61
5. แดงจักรพรรดิ (โซน 1)	1.69	1.78	139.39
6. แดงจักรพรรดิ (โซน 2)	1.62	2.17	1,126.48
7. แก้ว	1.76	1.82	2,251.58
8. มันหอม	1.75	1.61	2,520.44
9. เออร์วิน	1.47	1.95	517.83
10. อกร่องเขียว	1.54	2.04	570.04
11.สามฤดูมัน	1.56	1.94	909.27
12.สามฤดู	1.43	1.64	810.90
13. สามปี	2.10	0.94	4,037.71
14. แรด	1.39	1.39	1,101.74
15. มหาชนก	1.48	1.59	740.75
16. แขนอ่อน	1.71	1.57	1,365.70
17. น้ำดอกไม้สีทอง	1.69	2.11	1,419.60
18. ตลับนาค	1.74	1.78	1,612.07
19. โชคอนันต์	2.07	1.12	3,677.79
20. แก้มแดง	1.42	1.60	552.08

ตารางภาคผนวกที่ 14 การตรวจวัดปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร (A260/A280) ของมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ (ซ้ำที่ 3)

พันธุ์	A230/260	A260/280	ปริมาณความเข้มข้นดีเอ็นเอ (ng/µl)
1. คาราบาว	1.65	1.98	1,254.97
2. ตับเป็ด	1.67	2.14	1,086.75
3. ทองดำ	1.43	1.64	856.96
4. เขียวเสวย	1.55	1.94	795.21
5. แดงจักรพรรดิ (โซน 1)	1.58	2.24	734.94
6. แดงจักรพรรดิ (โซน 2)	1.63	2.08	1,264.08
7. แก้ว	1.77	2.03	1,972.19
8. มันหอม	1.77	1.51	2,683.27
9. เออร์วิน	1.38	2.15	150.03
10. อกร่องเขียว	1.54	1.86	471.46
11.สามฤดูมัน	1.51	1.77	867.41
12.สามฤดู	1.88	1.39	2,898.98
13. สามปี	1.79	1.51	2,327.40
14. แรด	1.33	1.37	582.89
15. มหาชนก	1.62	2.19	453.44
16. แขนอ่อน	1.72	2.01	1,443.24
17. น้ำดอกไม้สีทอง	1.74	2.06	1,626.80
18. ตลับนาค	1.57	1.88	521.85
19. โชคอนันต์	1.56	1.69	393.90
20. แก้มแดง	1.50	1.65	403.26



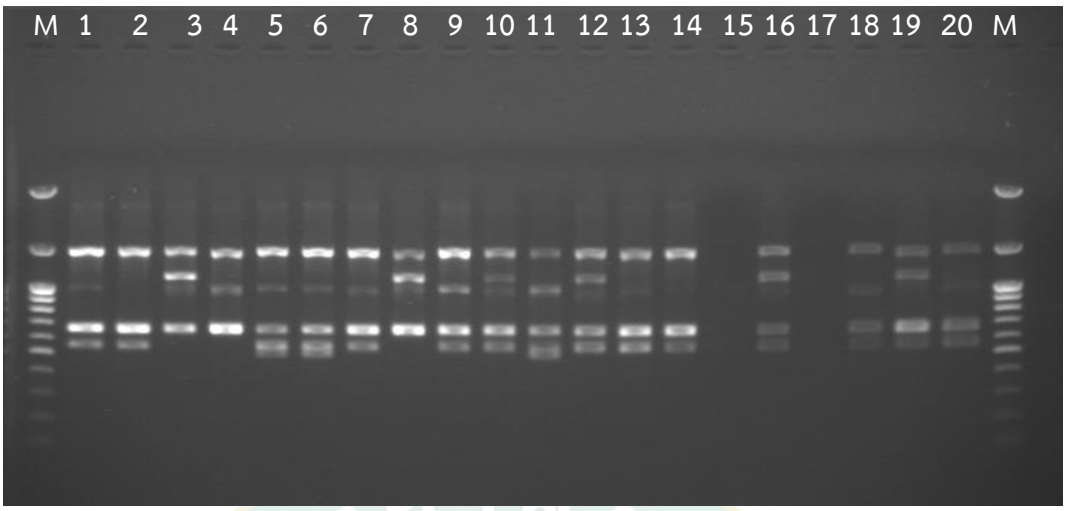
OPAM-4



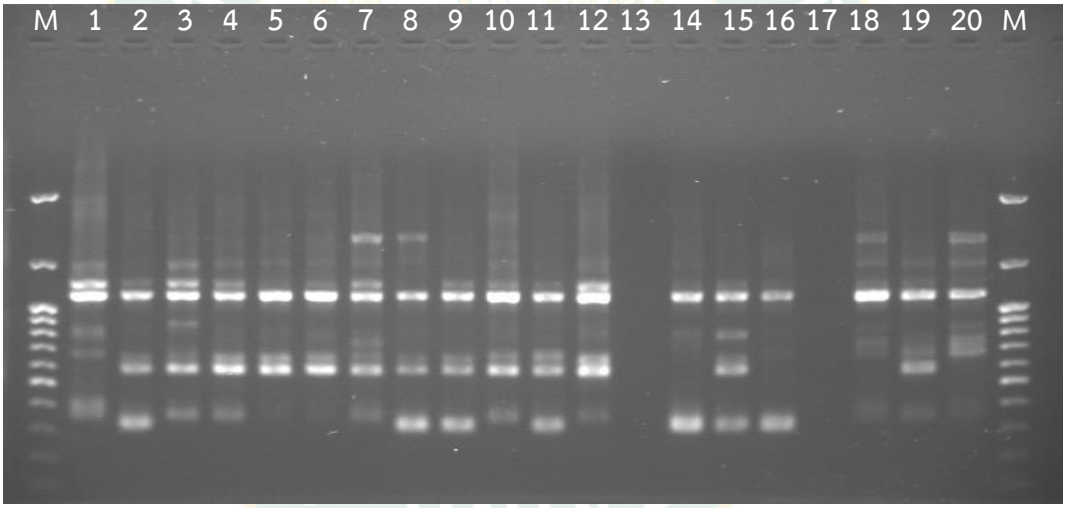
OPA-19

ภาพภาคผนวกที่ 21 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลอาร์เอพีดี (RAPD) กับไพรเมอร์ OPAM-4 และ OPA-19

หมายเหตุ M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp+1.5 Kb+3 Kb DNA Ladder 1) คาราบาว 2) ตับเป็ด 3) ทองดำ 4) เขียวเสวย 5) แดงจักรพรรดิ (โซน 1) 6) แดงจักรพรรดิ (โซน 2) 7) แก้ว 8) มันหอม 9) เออร์วิน 10) อกร่องเขียว 11) สามฤดูมัน 12) สามฤดู 13) สามปี 14) แรด 15) มหาชนก 16) แขนอ่อน 17) น้ำดอกไม้สีทอง 18) ตลับนาค 19) โชคอนันต์ 20) แก้มแดง



OPA-20

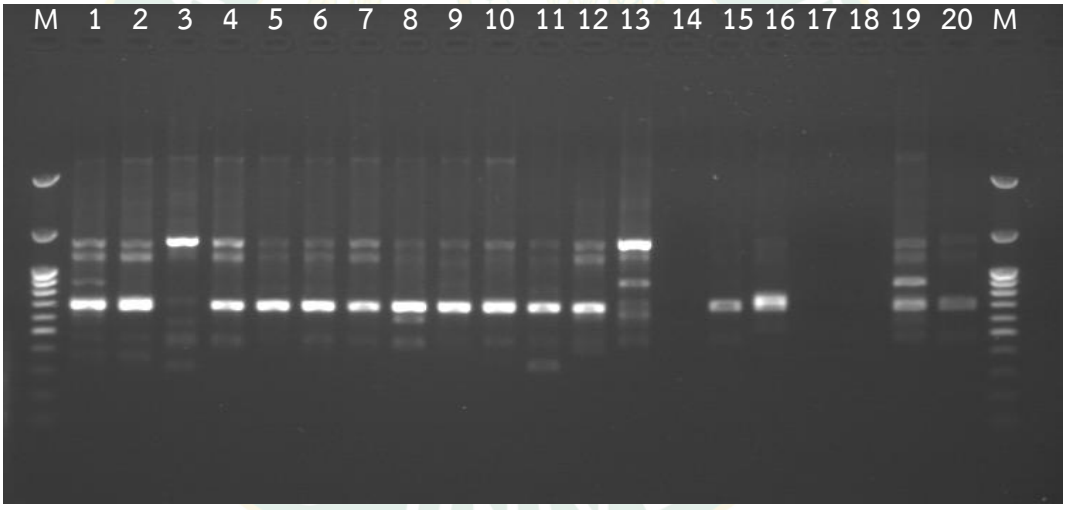


OPB-05

ภาพภาคผนวกที่ 22 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลอาร์เอพีดี (RAPD) กับไพรเมอร์ OPA-20 และ OPB-05

หมายเหตุ M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp+1.5 Kb+3 Kb DNA Ladder 1) คาราบาว 2) ตับเป็ด 3) ทองดำ 4) เขียวเสวย 5) แดงจักรพรรดิ (โซน 1) 6) แดงจักรพรรดิ (โซน 2) 7) แก้ว 8) มันหอม 9) เออร์วิน 10) อกร่องเขียว 11) สามฤดูมัน 12) สามฤดู 13) สามปี 14) แรด 15) มหาชนก 16) แขนอ่อน 17) น้ำดอกไม้สีทอง 18) ตลับนาค 19) โชคอนันต์ 20) แก้มแดง

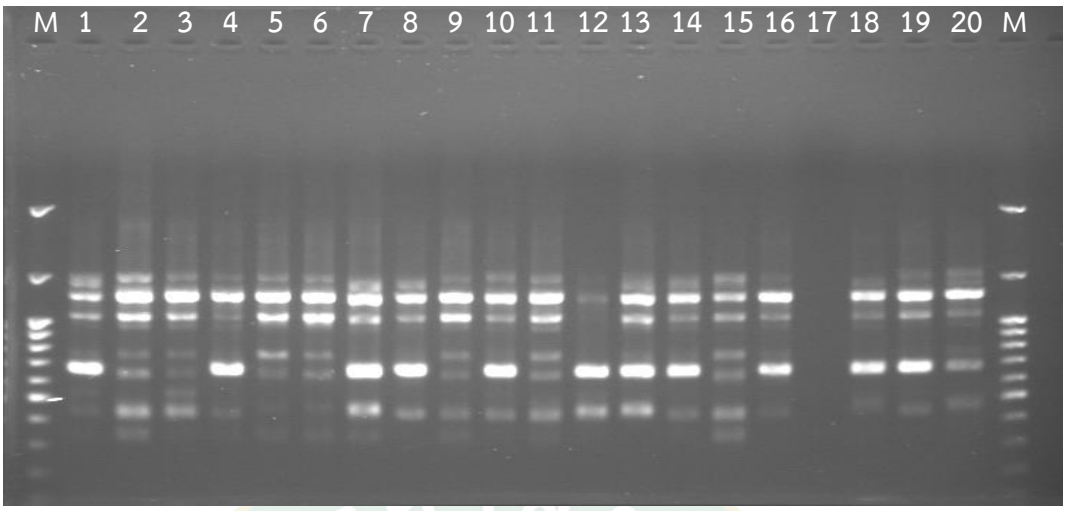
OPB-13



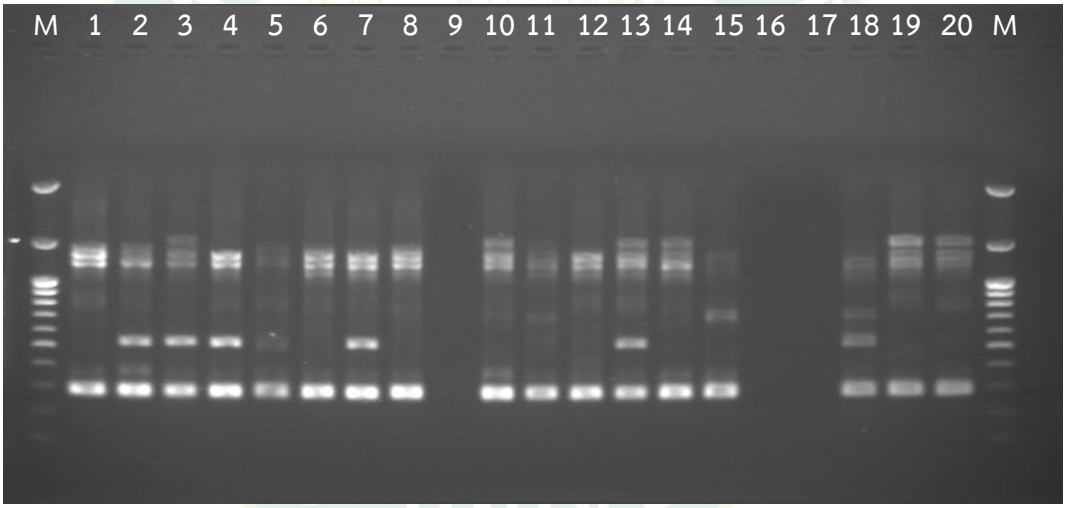
OPC-06

ภาพภาคผนวกที่ 23 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลอาร์เอพีดี (RAPD) กับไพรเมอร์ OPB-13 และ OPC-06

หมายเหตุ M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp+1.5 Kb+3 Kb DNA Ladder 1) คาราบาว 2) ตับเป็ด 3) ทองดำ 4) เขียวเสวย 5) แดงจักรพรรดิ (โซน 1) 6) แดงจักรพรรดิ (โซน 2) 7) แก้ว 8) มันหอม 9) เออร์วิน 10) อกร่องเขียว 11) สามฤดูมัน 12) สามฤดู 13) สามปี 14) แรด 15) มหาชนก 16) แขนอ่อน 17) น้ำดอกไม้สีทอง 18) ตลับนาค 19) โชคอนันต์ 20) แก้มแดง



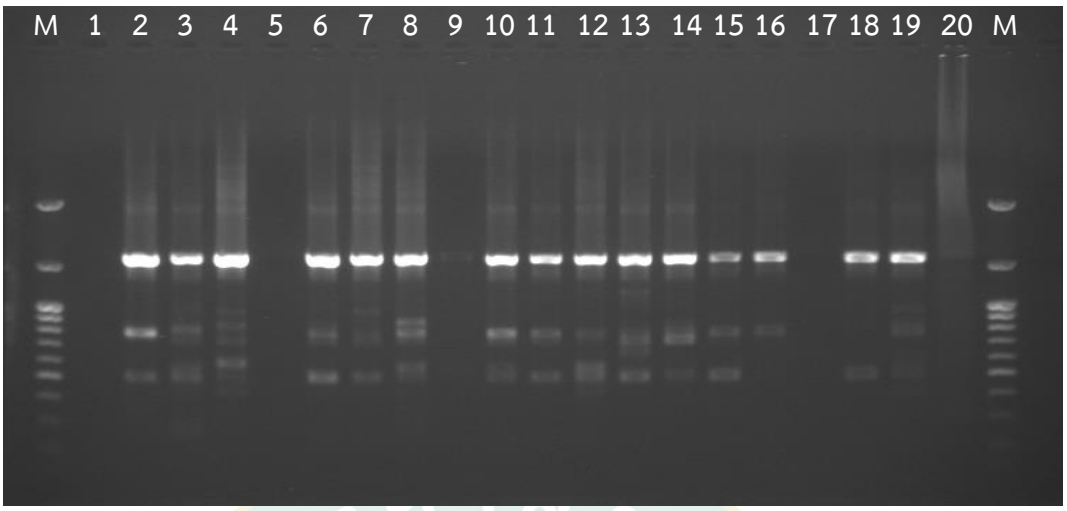
OPF-03



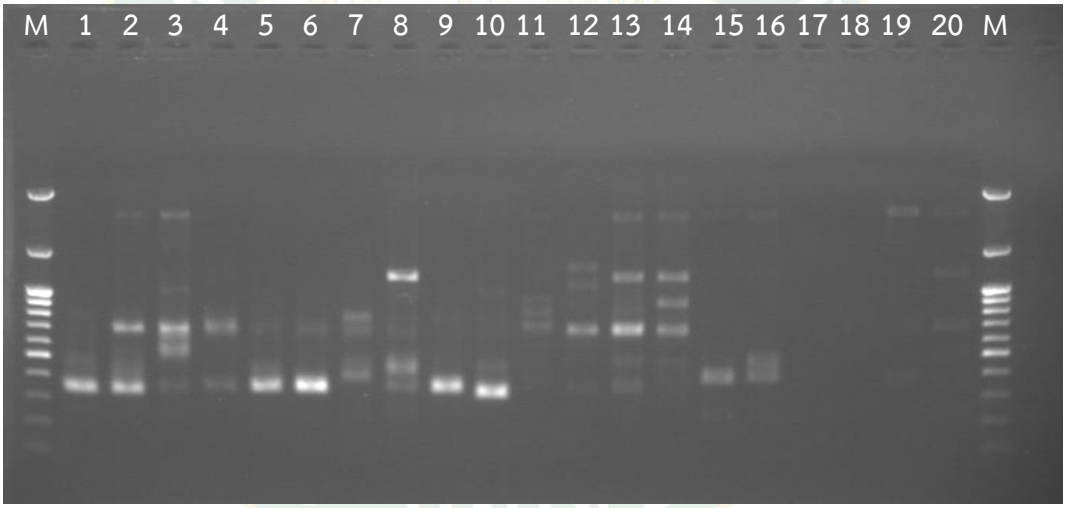
OPF-12

ภาพภาคผนวกที่ 24 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลอาร์เอพีดี (RAPD) กับไพรเมอร์ OPF-03 และ OPF-12

หมายเหตุ M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp+1.5 Kb+3 Kb DNA Ladder 1) คาราบาว 2) ตับเป็ด 3) ทองดำ 4) เขียวเสวย 5) แดงจักรพรรดิ (โซน 1) 6) แดงจักรพรรดิ (โซน 2) 7) แก้ว 8) มันหอม 9) เออร์วิน 10) อกร่องเขียว 11) สามฤดูมัน 12) สามฤดู 13) สามปี 14) แรด 15) มหาชนก 16) แขนอ่อน 17) น้ำดอกไม้สีทอง 18) ตลับนาค 19) โชคอนันต์ 20) แก้มแดง



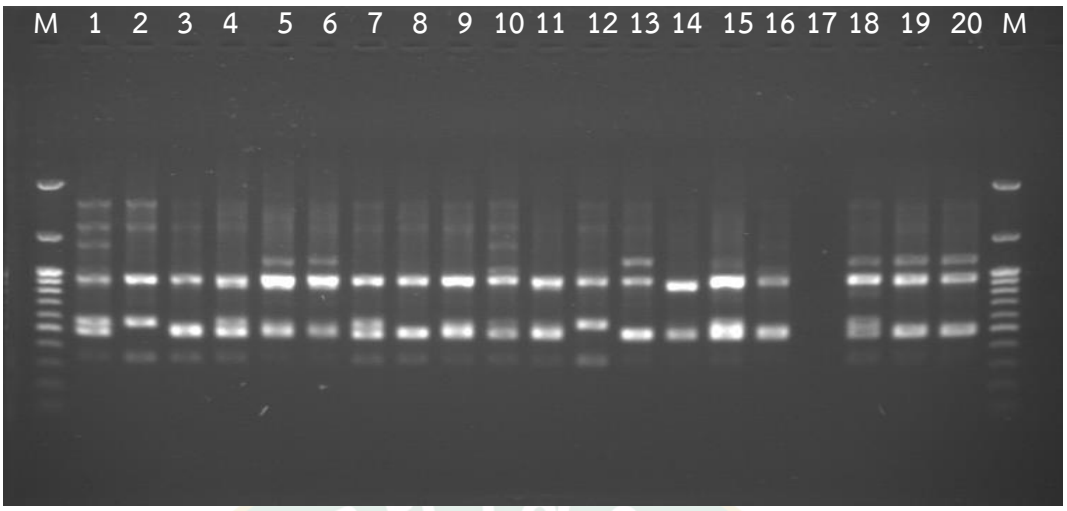
OPG-07



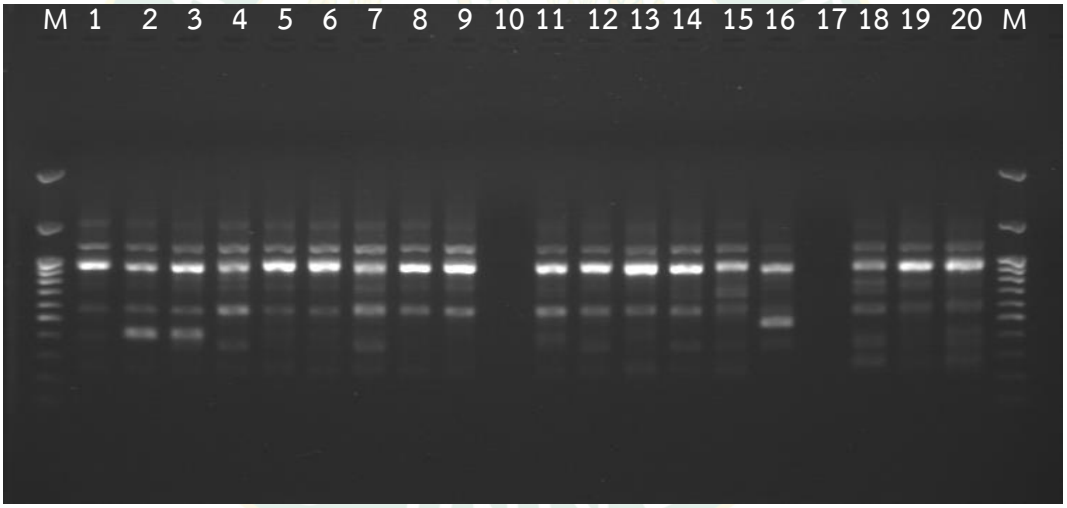
OPG-10

ภาพภาคผนวกที่ 25 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลอาร์เอพีดี (RAPD) กับไพรเมอร์ OPG-07 และ OPG-10

หมายเหตุ M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp+1.5 Kb+3 Kb DNA Ladder 1) คาราบาว 2) ตับเป็ด 3) ทองดำ 4) เขียวเสวย 5) แดงจักรพรรดิ (โซน 1) 6) แดงจักรพรรดิ (โซน 2) 7) แก้ว 8) มันหอม 9) เออร์วิน 10) อกร่องเขียว 11) สามฤดูมัน 12) สามฤดู 13) สามปี 14) แรด 15) มหาชนก 16) แขนอ่อน 17) น้ำดอกไม้สีทอง 18) ตลับนาค 19) โชคอนันต์ 20) แก้มแดง



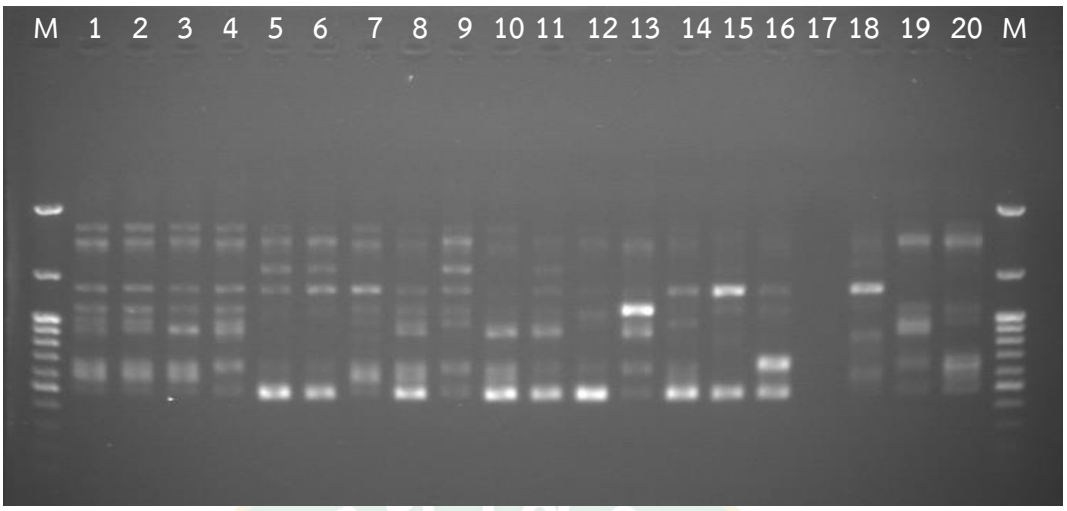
OPL-04



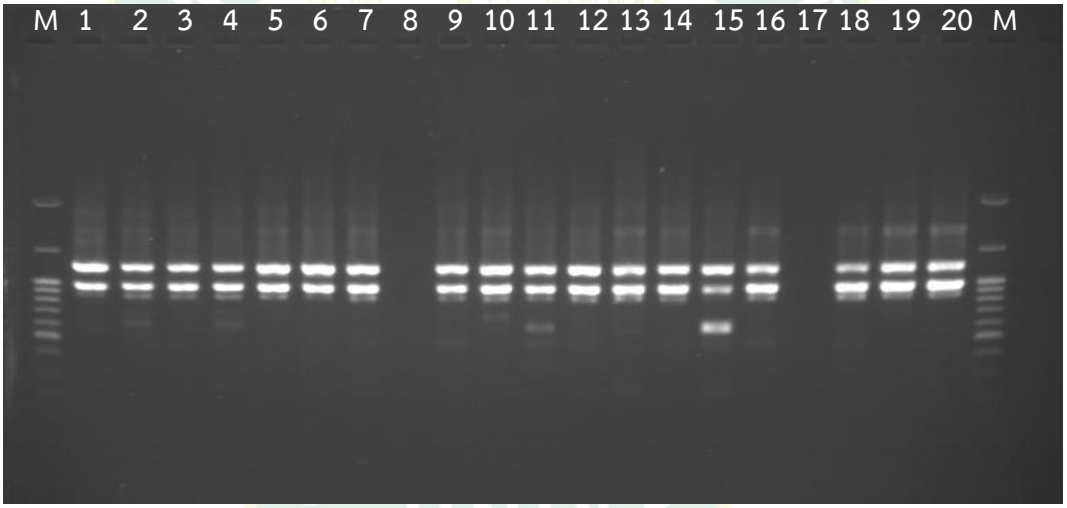
OPL-07

ภาพภาคผนวกที่ 26 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลอาร์เอพีดี (RAPD) กับไพรเมอร์ OPL-04 และ OPL-07

หมายเหตุ M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp+1.5 Kb+3 Kb DNA Ladder 1) คาราบาว 2) ตับเป็ด 3) ทองดำ 4) เขียวเสวย 5) แดงจักรพรรดิ (โซน 1) 6) แดงจักรพรรดิ (โซน 2) 7) แก้ว 8) มันหอม 9) เออร์วิน 10) อกร่องเขียว 11) สามฤดูมัน 12) สามฤดู 13) สามปี 14) แรด 15) มหาชนก 16) แขนอ่อน 17) น้ำดอกไม้สีทอง 18) ตลับนาค 19) โชคอนันต์ 20) แก้มแดง



OPM-15



OPM-16

ภาพภาคผนวกที่ 27 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของมะม่วงจำนวน 20 สายพันธุ์ โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลอาร์เอพีดี (RAPD) กับไพรเมอร์ OPM-15 และ OPM-16

หมายเหตุ M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp+1.5 Kb+3 Kb DNA Ladder 1) คาราบาว 2) ตับเป็ด 3) ทองดำ 4) เขียวเสวย 5) แดงจักรพรรดิ (โซน 1) 6) แดงจักรพรรดิ (โซน 2) 7) แก้ว 8) มันหอม 9) เออร์วิน 10) อกร่องเขียว 11) สามฤดูมัน 12) สามฤดู 13) สามปี 14) แรด 15) มหาชนก 16) แขนอ่อน 17) น้ำดอกไม้สีทอง 18) ตลับนาค 19) โชคอนันต์ 20) แก้มแดง

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	วรรณอุษา ผาคำ	
เกิดเมื่อ	17 พฤษภาคม 2535	
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2556-2560	ปริญญาตรี หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาพืชสวน วิชาเอกไม้ผล มหาวิทยาลัยแม่โจ้
	พ.ศ. 2551-2553	มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนประจักษ์ศิลปาคาร จังหวัดอุดรธานี
	พ.ศ. 2548-2550	มัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนโซ่พิสัยพิทยาคม จังหวัดบึงกาฬ