รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

1. **ชุดโครงการวิจัย** : วิจัยและพัฒนาการผลิตพืชเศรษฐกิจเฉพาะพื้นที่ภาคใต้ตอนบน
2. **โครงการวิจัย** : วิจัยวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตส้มแขกในพื้นที่ภาคใต้ตอนบน
   Research and Development on Malabar Tamarind Production Technologies in the Upper Southern

   กิจกรรม : สำรวจและศึกษาเชื้อพันธุ์ส้มแขกในพื้นที่ภาคใต้ตอนบน
   Survey and Study on *Garcinia atroviridis* Germplasm in the Upper Southern

   กิจกรรมย่อย (ถ้ามี) : -

3. **ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)** : เปรียบเทียบพันธุ์ส้มแขกในพื้นที่ภาคใต้ตอนบน
   ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Comparing variety of *Garcinia pedunculata* in the Upper Southern
4. **คณะผู้ดำเนินงาน**

หัวหน้าการทดลอง	: นางสาวสโรชา ถึงสุข	ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรภูเก็ต
ผู้ร่วมงาน	:ว่าที่ร้อยตรีจตุรภัทร รัตนวิสาลนนท์	ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรภูเก็ต
	นางทองใส บุญทอย	ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรภูเก็ต
	นางสาวธิดารัตน์ พูนประสิทธิ์	ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรภูเก็ต
	นางฐิตาภรณ์ ภูมิไชย์	สถาบันวิจัยยาง การยางแห่งประเทศไทย

5. **บทคัดย่อ**

ส้มแขกเป็นพืชท้องถิ่นที่พบในภาคใต้ของประเทศไทย โดยใช้ปรุงอาหารให้รสเปรี้ยว ซึ่งใช้กันแพร่หลายในจังหวัดสงขลา ยะลา ปัตตานี นราธิวาส ภูเก็ต ระนอง กระบี่ และพังงา ทั้งนี้ในผลและเปลือกของส้มแขกมีสารสำคัญ คือ α-hydroxycitric acid (HCA) ซึ่งมีคุณสมบัติในการยับยั้งเอนไซม์ในกระบวนการสร้างไขมันจากการรับประทานอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตสูงจึงเชื่อกันว่าสารสกัดส้มแขกสามารถยับยั้งกระบวนการสร้างกรดไขมันของร่างกาย นำไปสู่การลดเนื้อเยื่อไขมัน และการลดน้ำหนักได้ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรภูเก็ตได้ดำเนินการทดลองเปรียบเทียบพันธุ์ส้มแขกในพื้นที่ภาคใต้ตอนบน ตั้งแต่ปี 2554- 2558 วางแผนการทดลองแบบ RCB มีจำนวน 8 กรรมวิธี 10 ซ้ำ โดยคัดเลือกต้นส้มแขก 4 จังหวัด คือ ภูเก็ต พังงา นครศรีธรรมราชและกระบี่ จังหวัดละ 2 ต้น รวม 80 ต้น โดยส้มแขกที่คัดเลือกคือ *Garcinia pedunculata* มีระยะปลูก 8x8 เมตร รวมพื้นที่

ปลูก 3.5 ไร่ โดยปลูกเมื่อเดือนสิงหาคม 2556 การเจริญเติบโตหลังปลูก 3 ปี ต้นส้มแขกมีความสูงตั้งแต่ 64.25-124.67 เซนติเมตร กรรมวิธีที่มีการเจริญเติบดีที่สุดคือ กรรมวิธีที่ 6 คือ ต้นส้มแขกของคุณณัฐมน จังหวัดภูเก็ต มีความสูงของต้นเฉลี่ยสูงสุด คือ 124.67 เซนติเมตร ส่วนปริมาณกรดไฮดรอกซี่ซิตริกแอซิค (HCA) ในส้มแขกตามกรรมวิธี พบ ตั้งแต่ 184.88-245.34 มิลลิกรัมต่อกรัม โดยกรรมวิธีที่ 7 คือ ส้มแขกของคุณสุนทร จังหวัดพังงามีปริมาณกรดไฮดรอกซี่ซิตริกแอซิค สูงที่สุด คือ 245.34 มิลลิกรัมต่อกรัม ซึ่งส้มแขกพันธุ์ดีที่เกษตรกรต้องการคือผลใหญ่ ดก ให้ผลผลิตตลอดทั้งปี อีกทั้งทางการค้ายังต้องการส้มแขกที่มีสารสำคัญสูง คือ กรดไฮดรอกซี่ซิตริกแอซิค (HCA) จากการศึกษาความแตกต่างของพันธุ์ส้มแขกทั้ง 8 กรรมวิธี โดยเทคนิค AFLP สามารถใช้ในการจัดจำแนกพันธุกรรมของส้มแขกได้ ผลที่ได้คือทั้ง 8 กรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันในแต่ละต้น แสดงว่าส้มแขกมีพันธุกรรมเดียวกัน

Abstract

Garcinia species is a local plant found in southern Thailand. The cook to sour taste. Which are widely used in Songkhla, Yala, Pattani, Narathiwat, Phuket, Ranong, Krabi and Phang Nga. The results and the rind of Garcinia Extract is α-hydroxycitric acid (HCA), which has the ability to inhibit enzymes in the process of fat from the diet. It is believed that a high carbohydrate Garcinia extracts can inhibit fatty acid synthesis in the body. Lead to a reduction in fat tissue. And weight loss. Phuket Agricultural Research and Development Center has conducted experiments Comparing variety of *Garcinia pedunculata* in the Upper Southern since 2011- 2015 with a total of eight RCB experimental design process by selecting from over 10 Garcinia four provinces of Nakhon Si Thammarat and Krabi provinces of Phuket, Phang Nga. 2 includes 80 initiatives selected *Garcinia pedunculata* is a spacing of 8x8 meters total area planted 3.5 rais planted last month growth in August 2013 after three years of planting *Garcinia pedunculata* ranging in height from 64.25 to 124.67 cm. The growth is the best treatment is 6 from Phuket province The average height of 124.67 cm, the maximum amount of hydroxycitric acid (HCA) found in *Garcinia pedunculata* from 184.88 to 245.34 Milligrams per gram. Treatment is 7 from Phang Nga found hydroxy citric acid 245.34 mg per gram is high. *Garcinia pedunculata* varieties that farmers want is a big bushy yield throughout the year. The trade would also like Garcinia contains hydroxy citric acid is highly important in citric acid (HCA). The Studying the different species of *Garcinia pedunculata* 8 process by AFLP technique can be used to identify genetic. The result is that the process does not have eight different for each one. *Garcinia pedunculata* has shown that the same gene .

6. คำนำ

ส้มแขกเป็นไม้ผลพื้นเมืองชนิดหนึ่งที่พบในภาคใต้ของประเทศไทย ซึ่งส้มแขกที่พบนั้น 3 ชนิด คือ 1. *Garcinia gummi-gutta* ชนิดนี้พบในประเทศอินโดนีเซีย ชื่อสามัญคือ *Garcinia cambogia* บางครั้งยังใช้เป็นชื่อวิทยาศาสตร์ทอีกด้วย มีผลลักษณะเหมือนฟักทองผลเล็ก บริเวณผลมีพูเป็นร่องลึกหลายพูเห็นชัดเจน ส่วนส้มแขที่พบมากพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทยคือ 2. *Garcinia atroviridis* ส้มแขกชนิดนี้พบเป็นพืชพื้นเมืองของประเทศมาเลเซีย ซึ่งพบบริเวณรัฐทางเหนือของมาเลเซียและภาคใต้ของประเทศไทย ซึ่งเป็นไม้ทางเศรษฐกิจและมีสรรพคุณทางเภสัชวิทยาอีกด้วย มีลักษณะดังนี้ ลำต้นสูงมากกว่า 20 เมตร ลำต้นผิวเรียบมีสีเทา มีกิ่งลู่ลงตามลำต้น ใบมีสีเขียวเข้มเรียบเป็นมัน ใบยางแคบปลายใบรูปไข่กลับ ผลมีสีเหลืองอมส้มอ่อน และ 3. *Garcinia pedunculata* พบบริเวณเอเซียตะวันออกเฉียงใต้ พม่า และตะวันออกเฉียงเหนือของอินเดีย มีลักษณะดังนี้ มีลักษณะต้นเหมือนมังคุด ลำต้นแตกกิ่งถี่ๆ ขนานกับพื้นดิน ต้นเป็นพุ่ม ใบเป็นรูปหอกกลับ ดอกเพศผู้มีสีเขียวอ่อนอยู่เป็นกระจุก ส่วนดอกเพศเมียจะออกเป็นดอกเดี่ยว ผลกลมมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 8- 12 เซนติเมตร ซึ่งส้มแขกทั้ง 3 ชนิดนี้อยู่ในวงศ์ GUTTIFERAE ชื่อสามัญ Malabar Tamarind ชื่อพื้นเมือง ส้มแขก , ส้มควาย (ภาคใต้), ส้มพะงูน (ปัตตานี), อาแซกะลูโก (มาเลย์-ยะลา) ส้มแขก เป็นเครื่องปรุงอาหารที่มีรสเปรี้ยว ช่วยเพิ่มรสชาติให้กับอาหาร เป็นที่นิยมนำมาปรุงเพื่อใช้ในการทำอาหารพื้นเมืองทางภาคใต้ เช่น แกงส้ม ปลาต้มเค็ม ต้มยำ ฯลฯ โดยนำผลส้มแขกไปหั่นเป็นชิ้นบางๆ ตากแดดให้แห้ง แล้วเก็บไว้ปรุงรสซึ่งในผลและเปลือกของส้มแขกมีสารสำคัญ คือ α-hydroxy citric acid (HCA) ซึ่งมีคุณสมบัติในการยับยั้งเอนไซม์ในกระบวนการสร้างไขมันจากการรับประทานอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตสูง นอกจากนี้ยังมีกรดอินทรีย์อื่นๆ ได้แก่ citric acid, pentadecanoic acid, octadecanoic acid และ dodecanoic acid กลไกการออกฤทธิ์ของ HCA จะออกฤทธิ์โดยไปยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ ATP Citrate Lyase ในวงจร kreb's cycle (วงจรการย่อยสลายกลูโคสของร่างกาย) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยน citrate ไปเป็น acetyl CoA ซึ่งนำไปใช้สร้างกรดไขมัน ขณะเดียวกันก็จะนำน้ำตาลไปสะสมเป็น glycogen ที่ตับ เพื่อใช้เป็นพลังงานสำรองได้อีกด้วย จึงเชื่อกันว่าสารสกัดส้มแขกสามารถยับยั้งกระบวนการสร้างกรดไขมันของร่างกาย นำไปสู่การลดเนื้อเยื่อไขมัน และการลดน้ำหนักได้

ในประเทศไทยพบว่ามีการใช้ส้มแขกกันแพร่หลายในจังหวัดสงขลา ยะลา ปัตตานี นราธิวาส ภูเก็ต ระนอง และพังงา โดยเฉพาะสายพันธุ์ที่พบใน จ.ภูเก็ต พังงา ระนอง กระบี่ คือ *Garcinia pedunculata* ซึ่งชาวพื้นเมืองเรียกส้มแขกชนิดนี้ว่า **ส้มควาย** ส่วนใหญ่ชาวบ้านจะใช้สำหรับปรุงอาหารให้มีรสเปรี้ยว เนื่องจากมีรสเปรี้ยวและใช้รักษาคุณภาพของปลาและเนื้อให้คงความสดไว้ แต่เนื่องจากการพัฒนาและขยายตัวของพืชเศรษฐกิจชนิดอื่นๆ ทำให้พืชท้องถิ่นกลายเป็นพืชที่ถูกมองข้าม ส่วนใหญ่มีการปลูกไว้เพียงบริเวณที่พักอาศัย หรือแซมอยู่ในสวนไม้ผลชนิดอื่นเพียงไม่กี่ต้น เราจึงควรยกระดับ ส้มแขกให้มีบทบาทเป็นที่รู้จักอย่างแพร่หลาย ตลอดจนส่งเสริมให้เกษตรกรหันมาตระหนักถึงคุณค่าให้มากขึ้น อีกทั้งเกษตรกรยังขาดข้อมูลรวมทั้งเทคโนโลยีในการผลิตส้มแขก ภาครัฐจึงควรทำการศึกษาหาพันธุ์ดีที่มีปริมาณสารสำคัญสูงและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตเพื่อที่จะได้เทคโนโลยีการผลิตที่

เหมาะสม พร้อมที่จะถ่ายทอดแก่เกษตรกร ที่จะทำให้การผลิตส้มแขกได้ผลตอบแทนมากที่สุดและมีการขยายผลถ่ายทอดความรู้สู่เกษตรกรเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

7. วิธีดำเนินการ

7.1 เปรียบเทียบพันธุ์ส้มแขกในพื้นที่ภาคใต้ตอนบน

- อุปกรณ์
  1) พันธุ์ส้มแขกที่คัดเลือกจากแหล่งต่างๆ ในพื้นที่ภาคใต้ตอนบนจำนวน 8 พันธุ์ จากผลการสำรวจและศึกษาพันธุ์ส้มแขกที่ปลูกในพื้นที่ภาคใต้ตอนบน จ.ภูเก็ต พังงา นครศรีธรรมราช และกระบี่
  2) เครื่องมือและปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
- วิธีการ

1) แบบและวิธีการทดลอง

- แบบและวิธีการทดลอง

แผนการทดลอง วางแผนแบบ RCB มีจำนวน 8 กรรมวิธี 10 ซ้ำ

กรรมวิธี คือ พันธุ์ส้มแขกที่คัดเลือกจาก จ.ภูเก็ต พังงา นครศรีธรรมราช และกระบี่ จังหวัดละ 2 พันธุ์ รวม 8 กรรมวิธี

ซ้ำ คือแปลงย่อย (plot) แต่ละกรรมวิธีทำการทดลองซ้ำละ 1 ต้น/แปลงย่อย (Single-tree plots)

2) วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. การเตรียมแปลง
   - ปรับพื้นที่และตากดิน
   - วางแนวระยะปลูก 8x8 เมตร และขุดหลุมลึก 50 เซนติเมตร
   - รองก้นหลุมด้วยปุ๋ยอินทรีย์ (แบบบรรจุถุง) จำนวน 5 กิโลกรัมต่อต้น

2. การเตรียมต้นพันธุ์
   - คัดเลือกต้นพันธุ์ส้มแขกจาก จ.ภูเก็ต พังงา นครศรีธรรมราช และกระบี่จังหวัดละ 2 ต้น
   - เตรียมต้นตอที่ได้จากการเพาะเมล็ด อายุ 8-10 เดือน
   - เปลี่ยนยอดด้วยกิ่งพันธุ์ที่ให้ผลผลิตแล้วจากต้นตัวเมียพันธุ์ดีที่คัดเลือกแล้ว มาทำการเสียบยอดอย่างน้อยพันธุ์ละ 10 ต้น
   - เมื่อต้นที่เสียบยอดสำเร็จอายุประมาณ 1 ปี เตรียมลงปลูกในหลุมที่เตรียมไว้

3) การบันทึกข้อมูล

1. เก็บตัวอย่างดินเพื่อวิเคราะห์ลักษณะ ความอุดมสมบูรณ์และธาตุอาหาร
2. บันทึกข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับต้นส้มแขกที่ปลูกเปรียบเทียบ ดังนี้
   - ลักษณะการเจริญเติบโต คือ ขนาดทรงพุ่ม ความสูงและขนาดของต้น

- ศึกษาและบันทึกข้อมูลเบื้องต้นที่เกี่ยวข้องอื่นๆ คือโรค ศัตรูพืช และลักษณะการทำลาย

7.2 การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของส้มแขกโดยใช้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

- อุปกรณ์

ส้มแขกที่เสียบยอดจากส้มแขกในพื้นที่ 4 จังหวัดในภาคใต้ ได้แก่ พังงา กระบี่ ภูเก็ต และนครศรีธรรมราช จำนวน 8 ต้น (ภาคผนวก ตารางที่ 1)

1. สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมดีเอ็นเอ การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค PCR และการตรวจสอบดีเอ็นเอที่ได้

- **วิธีการทดลอง**

1. การสกัด DNA ใช้ชุดสกัดสำเร็จรูป DNAsecure plant Kit (Tiangen) โดยใช้ใบอ่อน
2. การตรวจสอบปริมาณของดีเอ็นเอ

หาความเข้มข้นของดีเอ็นเอที่เตรียมไว้โดยนำไปเปรียบเทียบกับ DNA ที่มีความเข้มข้นมาตรฐาน (Lambda DNA Standard) โดยนำมาทำอิเล็กโตรโฟรีซิสบนอะกาโรสเจลความเข้มข้น 0.8% เมื่อได้ความเข้มข้นของดีเอ็นเอตัวอย่างแล้ว เจือจางดีเอ็นเอด้วยน้ำกลั่น ให้มีความเข้มข้น 100 นาโนกรัม/ไมโครลิตร

3. การทำปฏิกิริยา AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) ใช้วิธีการของ VOS และคณะ (1995)

3.1 Digestion

นำดีเอ็นเอซึ่งมีความเข้มข้นประมาณ 0.5 ไมโครกรัม มาย่อยด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ 2 ชนิด คือ EcoRI (5 unit) และ Mse I (5 unit) ใน universal fast digest buffer (Thermo Scientific) ในปริมาตร 40 ไมโครลิตร ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

3.2 Ligation

นำดีเอ็นเอที่ถูกย่อยแล้วมาต่อด้วย adapter ที่มีลำดับเบสตรงกับที่จดจำของเอนไซม์ตัดจำเพาะทั้ง 2 ชนิด (EcoRI – adapter และ Mse I – adapter) โดยการเติมบัฟเฟอร์ 10 ไมโครลิตรที่ประกอบด้วย 5 pmol EcoRI-adapter, 50 pmol Mse I –adapter, 10Xligase buffer (400 mM Tris-HCl pH 7.8, 100 mM MgCl2, 100 mM DTT, 5 mM ATP) (Thermo Scientific) และ 1 unit T4 DNA ligase ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เวลา 3 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาแล้วนำมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อประมาณ 10 เท่า เก็บที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส

EcoRI –adapter 5’-CTCGTACACTGCCTACC CATCTGACGCATCCTTAA-3’

Mse I – adapter 5’-GACGATGAGTCCTGAG TACTCAGGACTCAT-3’

3.3 Pre-amplification (PCR I)

นำดีเอ็นเอที่ทำการย่อยและต่อกับ adapter แล้ว และเจือจางลง 10 เท่า ปริมาตร 5 ไมโครลิตร นำมาทำการเพิ่มปริมาณ DNA โดยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยใช้ Primer ที่มี

selective nucleotide เบส 1 เบส โดยใช้ primer ด้าน EcoRI และ MseI ปริมาณ 75 นาโนกรัม ในปฏิกิริยาที่ประกอบด้วย 500 mM KCl , 15 mM $MgCl_2$, 100 mM Tris-HCl pH 9.0, 2mM dNTPs และ Taq DNA polymerase 1 unit ในปริมาตรรวม 50 ไมโครลิตร ทำปฏิกิริยาด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิอัตโนมัติ Gene Amp PCR System 9700 (Perkin-Elmer) มีรายละเอียดของอุณหภูมิดังนี้ 94 องศาเซลเซียส 30 วินาที 56 องศาเซลเซียส 1 นาที 72 องศาเซลเซียส 1 นาที จำนวน 20 รอบ เมื่อเสร็จสิ้นปฏิกิริยาเจือจางด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ 10 เท่า และเก็บที่ –20 องศาเซลเซียส

3.4 Amplification (PCR II)

นำDNA ที่ได้จากขั้นตอน PCR I 5 ไมโครลิตร ทำการเพิ่มปริมาณ DNA โดยการคัดเลือกชิ้นที่จะเพิ่มปริมาณด้วย primer ที่เป็นเบสคู่สมกับ adapter แต่มีปลายยื่นจาก adapter ด้วย 3’ จำนวน 3 เบส (+ 3 selective nucleotide) รายละเอียดของไพรเมอร์แสดงไว้ในตารางที่ 2 ปฏิกิริยาประกอบด้วย EcoRI และ MseI primer ปริมาณ 30 นาโนกรัม, 500 mM KCl, 15 mM $MgCl_2$, 100 mM Tris-HCl pH 9.0, 2 mM dNTPs และ Taq DNA polymerase 0.4 unit ปริมาตรที่ใช้ 20 ไมโครลิตร ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส 30 วินาที 65 องศาเซลเซียส 30 วินาที โดยการลดอุณหภูมิทุก 1 องศาเซลเซียส จนกระทั่งอุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส (เฉพาะขั้นตอน annealing) 72 องศาเซลเซียส 1 นาที จำนวน 34 รอบ ด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิอัตโนมัติหยุดปฏิกิริยาด้วย 10 ไมโครลิตร loading dye (95% formamide, 10 mM NaOH, 0.05% Bromophenol Blue และ 0.05% xylene cyanol)

4. การตรวจผล

นำดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่ มาแยกความแตกต่าง ในเจลอะคลิลาไมด์ 4.5 เปอร์เซ็นต์ {40% (acrylamide:bis-acrylamide = 29:1)}, 7.5 M urea และ 5xTBE Buffer โดยวิธีเจลอิเลคโตรโฟลิซิส โดยใช้กระแสไฟฟ้า 50 วัตต์ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง 40 นาที ย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยซิลเวอร์ไนเตรท (Benbouza *et al*. (2006) นำแผ่นเจลแช่และเขย่า ใน 10% Absolute ethanol, 0.5% acetic acid ปริมาตร 1 ลิตร 5 นาที แล้วนำมาย้อมด้วยสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท (1.5 g $AgNO_3$, 1.5 ml 37% HCOH, 22-24 องศาเซลเซียส) 7 นาที นำเจลผ่านน้ำสะอาดแล้วทำให้เจลปรากฏแถบดีเอ็นเอด้วย Developer Solution (15 g NaOH, 2 ml 37% HCOH) ที่อุณหภูมิประมาณ 22-24 องศาเซลเซียส ปริมาตร 1 ลิตร เขย่าจนปรากฏแถบดีเอ็นเอ จึงหยุดปฏิกิริยาด้วย 10% Absolute ethanol, 0.5% acetic ปริมาตร 1 ลิตร ล้างเจลด้วยน้ำสะอาด 3 นาที แล้วผึ่งเจลให้แห้งเพื่อตรวจสอบผลต่อไป

5. การวิเคราะห์ข้อมูล

1. เลือกแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกัน (polymorphic bands) โดยให้ 1 แทนแถบที่ปรากฏในตำแหน่ง (loci) นั้นๆ และ 0 แทนตำแหน่งที่ไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอ

2. นำมาหาค่า Similarity coefficient โดยใช้ค่าสหสัมพันธ์ของ Dice (1945) = 2Nx,y/ Nx+Ny โดยที่ Nxy คือจำนวนแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากันระหว่างพันธุ์ที่ x และพันธุ์ที่ y, Nx และ Ny เป็นจำนวนแถบดีเอ็นเอที่มีทั้งหมดในพันธุ์ที่ x และพันธุ์ที่ y
3. จัดกลุ่มโดยวิธี UPGMA และใช้โปรแกรม NTSYS-pc Ver.2.0 (Rohlf, 1997) ในการวิเคราะห์

- เวลาและสถานที่

ระยะเวลาดำเนินการปี 2554-2558

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรภูเก็ต

ศูนย์วิจัยยางฉะเชิงเทรา

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

การทดลองเปรียบเทียบพันธุ์ส้มแขกในพื้นที่ภาคใต้ตอนบนของศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรภูเก็ต เริ่มการทดลองตั้งแต่ปีพ.ศ. 2554 โดยศูนย์ฯ ได้ดำเนินการสำรวจการกระจายพันธุ์ส้มแขกจากแหล่งต่างๆ คือ จ. ภูเก็ต, พังงา, นครศรีธรรมราชและกระบี่ ด้วยวิธีการสุ่มแหล่งปลูกแบบบังเอิญ (Accidental Sampling) โดยการสุ่มตัวอย่างแบบง่าย (Simple Random Sampling) ซึ่งจากการสำรวจพบส้มแขก 2 ลักษณะ

- **ลักษณะที่ 1**

ลักษณะลำต้น มีลักษณะตั้งตรง สูงประมาณ 30 เมตร การแตกกิ่งจะลู่ลงตามลำต้น ใบมีลักษณะแคบค่อนข้างยาวมีสีเขียวเข้มเป็นมันขอบใบเรียบ

ลักษณะผล ผลคล้ายฟักทองขนาดเล็ก มีพูชัดเจนประมาณ 14 พูต่อผล ผลอ่อนมีสีเขียว เมื่อสุกผลจะมีสีเหลืองและที่ขั้วผลจะมีกลีบเลี้ยงติดอยู่เห็นชัดเจนลักษณะนี้ (สำรวจพบที่ อำเภอตะกั่วป่า จังหวัดพังงา จำนวน 1 ต้นซึ่งจากการศึกษาข้อมูล พบว่า คล้ายกับลักษณะของส้มแขกที่พบมากในจังหวัดปัตตานี, นราธิวาสและยะลา)

- **ลักษณะที่ 2**

ลักษณะลำต้น มีลักษณะลำต้นตั้งตรงและกึ่ง อยู่ระหว่าง 5-30 เมตร และการแตกกิ่งจะแตกขนานกับพื้นดิน ลักษณะทรงพุ่มคล้ายต้นมังคุด ใบมีลักษณะใบใหญ่สีเหลืองอมเขียวถึงสีเขียว เห็นเส้นใบชัดเจน ขอบใบเรียบ แผ่นใบมีทั้งห่อและใบแผ่

ลักษณะผลผลคล้ายผลฝรั่งมีพูแต่เห็นไม่ชัดเจน ผลอ่อนมีสีเขียว เมื่อสุกผลจะมีสีเหลือง ที่ขั้วผลจะมีกลีบเลี้ยงอยู่อยู่ระหว่างผลกับขั้วผลแต่เห็นไม่ชัดเจน ขนาดผลใหญ่

(สำรวจพบที่บ้านคีรีวง อำเภอลานสกา จังหวัดนครศรีธรรมราช , อำเภอทับปุด จังหวัดพังงา และอำเภอถลางและอำเภอกะทู้ จังหวัดภูเก็ต)

ในปีพ.ศ. 2555 ศูนย์ฯ ได้คัดเลือกต้นส้มแขกพันธุ์ดีจาก 4 จังหวัดๆ ละ 2 ต้น รวม 8 ต้น (กรรมวิธี) เป็นส้มแขกพันธุ์ดีที่มีลักษณะเป็นแบบที่ 2 คือ *Garcinia pedunculata*

1. ต้นส้มควายพันธุ์ดีที่คัดเลือกจากภูเก็ต คือ คุณอุไร และคุณณัฐมน

2. ต้นส้มควายพันธุ์ดีที่คัดเลือกจากพังงา คือ คุณสุนทร และคุณอุดมศิลป์
3. ต้นส้มควายพันธุ์ดีที่คัดเลือกจากนครศรีธรรมราช คือ คุณบุญพา และคุณเยาวณี
4. ต้นส้มควายพันธุ์ดีที่คัดเลือกจากกระบี่ คือ คุณบุญชู และคุณโสพิศ

3. ปี 2556

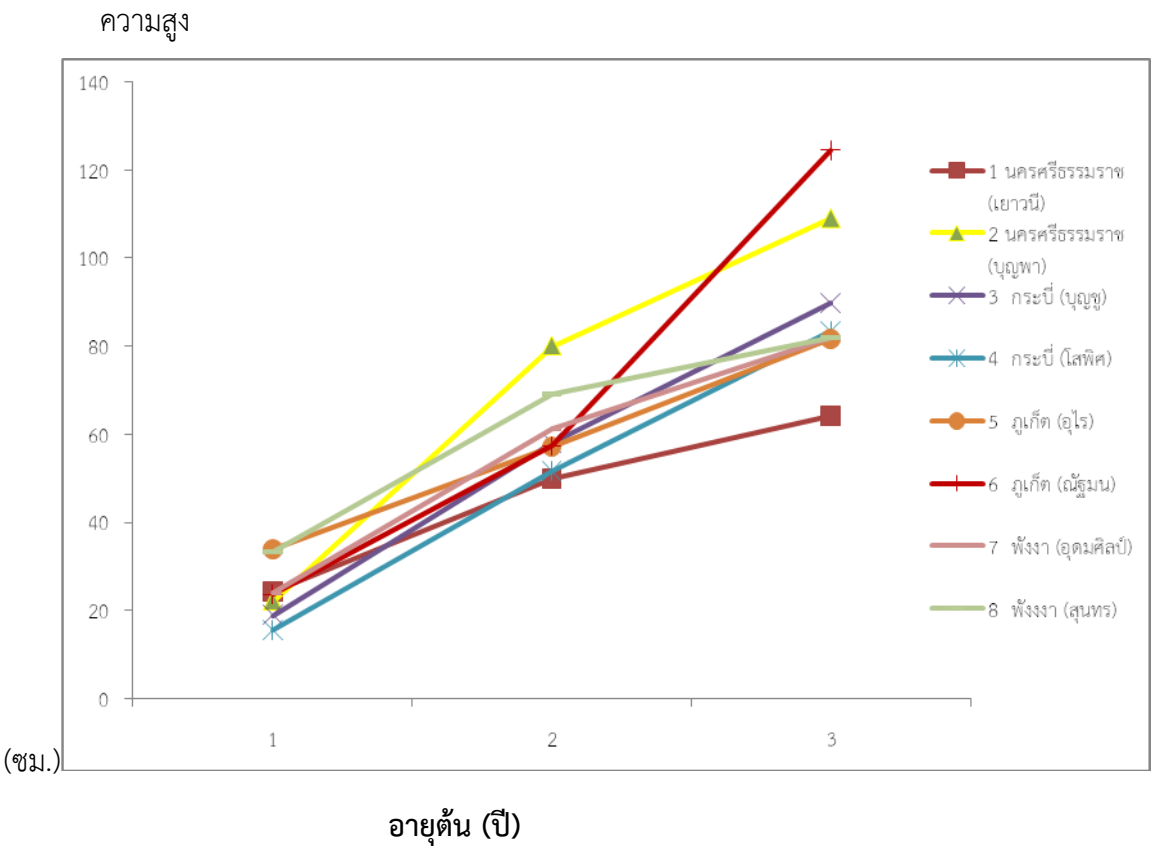
- ดำเนินการปลูกต้นส้มแขกพันธุ์ดีในเดือนสิงหาคม 2556
- ค่า pH เฉลี่ย 5.93 อินทรียวัตถุเฉลี่ย 1.843% ฟอสฟอรัสเฉลี่ย 46.7 mg/kg
  โพแทสเซียมเฉลี่ย 115.8 mg/kg แมกนีเซียมเฉลี่ย 114.2 mg/kg
- ข้อมูลการเจริญเติบโตเบื้องต้น
  - ความสูง 15.6-33.97 เซนติเมตร
  - เส้นผ่าศูนย์กลางของลำต้น 0.595- 0.896 เซนติเมตร
  - รัศมีทรงพุ่ม : ทิศเหนือ-ใต้ มีขนาด 29.3-39.2 เซนติเมตร
    : ทิศตะวันออก-ตะวันตกมีขนาด 29.45-36.8 เซนติเมตร
- กรรมวิธีที่ดีที่สุดคือ กรรมวิธีที่ 1 คือ ต้นส้มแขกของคุณอุไร จังหวัดภูเก็ต ความสูงของต้นเฉลี่ยสูงสุด คือ 33.97 เซนติเมตร และเส้นผ่าศูนย์กลางของลำต้นเฉลี่ยสูงสุด คือ 0.896 เซนติเมตร
- การตรวจสอบโรคและแมลงของส้มแขกไม่พบการเข้าทำลาย
- จากการวัดการเจริญเติบโตในปี 2558 อายุต้น 3 ปี พบว่า **กรรมวิธีที่ 6** มีการเจริญเติบโตดีที่สุดคือ 124.67 เซนติเมตร และเมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วนการเจริญเติบโตยังพบว่า กรรมวิธีที่ 6 มีอัตราสูงที่สุดคือ 100.867 เซนติเมตร (ตารางที่ 1 และ 2)

ตารางที่ 1 แสดงค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตส้มแขกพันธุ์ดี

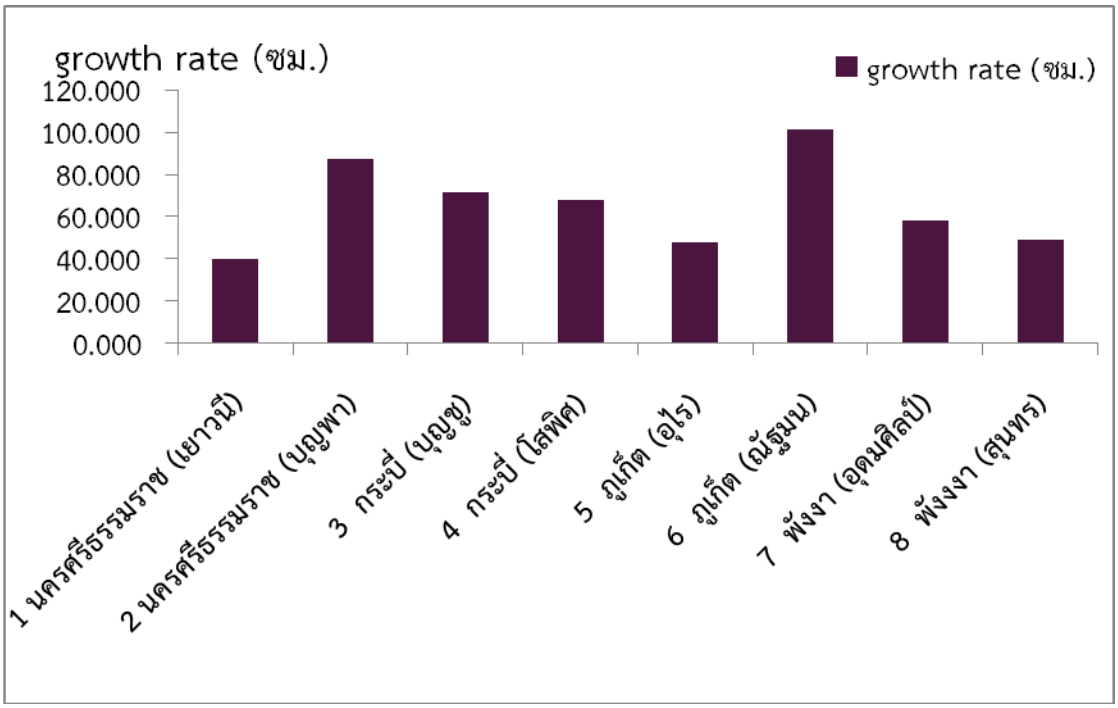
กรรมวิธี	อายุต้น (ปี)		
	1	2	3
1 นครศรีธรรมราช (เยาวนี)	24.38	50	64.25
2 นครศรีธรรมราช (บุญพา)	22.15	80.25	109.25
3 กระบี่ (บุญชู)	18.98	58.17	90.00
4 กระบี่ (โสพิศ)	15.6	51.75	83.50
5 ภูเก็ต (อุไร)	33.97	57.22	81.71
6 ภูเก็ต (ณัฐมน)	23.8	57.5	124.67
7 พังงา (อุดมศิลป์)	24	61.5	82.14
8 พังงงา (สุนทร)	33.5	69.14	82.00

ตารางที่ 2 แสดงค่า growth rate ของความสูงต้นส้มแขกระหว่างปีที่ 1 และปีที่ 3 (ซม.)

กรรมวิธี	growth rate (ซม.)
1 นครศรีธรรมราช (เยาวนี)	39.870
2 นครศรีธรรมราช (บุญพา)	87.100
3 กระบี่ (บุญชู)	71.020
4 กระบี่ (โสพิศ)	67.900
5 ภูเก็ต (อุไร)	47.744
6 ภูเก็ต (ณัฐมน)	100.867
7 พังงา (อุดมศิลป์)	58.143
8 พังงงา (สุนทร)	48.500



กราฟที่ 1 แสดงความสูงของต้นส้มแขก(ซม.) ในปีที่ 1-3



กราฟที่ 2 แสดงค่า growth rate ของความสูงต้นส้มแขกระหว่างปีที่ 1 และปีที่ 3 (ซม.)

การทดลองนี้ ศูนย์ฯ ได้ดำเนินการติดต่อศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ เพื่อหาสารสำคัญ คือสาร HCA ในส้มแขกแห้งตามกรรมวิธี 8 กรรมวิธี พบว่า ปริมาณสารสำคัญคือ HCA จากตัวอย่างแห้งจำนวน 8 ตัวอย่าง พบว่า ปริมาณสาร HCA ระหว่าง 184.88-245.34 มิลลิกรัมต่อกรัม โดยกรรมวิธีที่ 7 ตัวอย่างส้มแขกแห้งจากจังหวัดพังงา ของคุณสุนทร มีปริมาณสารสูงที่สุดคือ 245.34 มิลลิกรัมต่อกรัม และกรรมวิธีที่ 5 ตัวอย่างส้มแขกแห้งจากจังหวัดกระบี่ ของคุณบุญชู มีปริมาณสารน้อยที่สุดคือ 184.88 มิลลิกรัมต่อกรัม (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ข้อมูลปริมาณสารสำคัญ (HCA) ที่วิเคราะห์ได้จากตัวอย่างสดและตัวอย่างแห้งของส้มแขกจากศวพ. ภูเก็ต

กรรมวิธี	หน่วย	ปริมาณ HCA ± SD
1 นครศรีธรรมราช (เยาวนี)	มิลลิกรัมต่อกรัม	**198.29±0.26**
2 นครศรีธรรมราช (บุญพา)	มิลลิกรัมต่อกรัม	**211.79±**0.18
3 กระบี่ (บุญชู)	มิลลิกรัมต่อกรัม	**184.88±**0.08
4 กระบี่ (โสพิศ)	มิลลิกรัมต่อกรัม	**225.87±**0.12

5 ภูเก็ต (อุไร)	มิลลิกรัมต่อกรัม	**221.33±**0.17
6 ภูเก็ต (ณัฐมน)	มิลลิกรัมต่อกรัม	**207.46±**0.12
7 พังงา (อุดมศิลป์)	มิลลิกรัมต่อกรัม	**235.50±**0.29
8 พังงงา (สุนทร)	มิลลิกรัมต่อกรัม	**245.34±**0.15

ส้มแขกในพื้นที่ภาคใต้ตอนบนของศูนย์ฯ คือ *Garcinia pedunculata* ได้ศึกษาความแตกต่างของต้นพันธุ์ที่นำมาศึกษา โดยใช้โมเลกุลเครื่องหมาย (Molecular Marker) ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของส้มแขกในเขตภาคใต้ 4 จังหวัด พบว่า การใช้เทคนิค AFLP ในการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยใช้ primer ทั้งหมด 10 คู่ ในการศึกษาความสัมพันธ์ของส้มแขกจำนวน 8 ต้น ซึ่ง primer ทั้ง 10 คู่ แสดงแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 88 แถบ ซึ่งแต่ละแถบไม่มีความแตกต่างกันในแต่ละต้น แสดงว่าส้มแขกใน 4 พื้นที่ที่ได้เก็บตัวอย่างมามีพันธุกรรมเดียวกัน โดย primer ACG/CAA (EcoRI/MseI) แสดงแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 7 แถบ primer ACG/CTC (EcoRI/MseI) แสดงแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 7 แถบ primer ACA/CAA (EcoRI/MseI) แสดงแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 13 แถบ primer ACA/CTC (EcoRI/MseI) แสดงแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 9 แถบ primer ACG/CTA (EcoRI/MseI) แสดงแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 12 แถบ primer ACG/CAT (EcoRI/MseI) แสดงแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 12 แถบ primer ACA/CTA (EcoRI/MseI) แสดงแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 5 แถบ ACA/CAT (EcoRI/MseI) แสดงแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 7 แถบ primer AGG/CAA (EcoRI/MseI) แสดงแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 7 แถบ primer AGG/CTC (EcoRI/MseI) แสดงแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 9 แถบ ขนาดตั้งแต่ 80-310 คู่เบส (ภาคผนวก ภาพที่ 1) แต่เนื่องจากแถบดีเอ็นเอที่ได้ไม่มีความแตกต่างกัน จึงไม่ต้องวิเคราะห์การจัดกลุ่ม จากผลการทดลอง เทคนิค AFLP สามารถใช้ในการจัดจำแนกพันธุกรรมของส้มแขกได้ แต่เนื่องจากจำนวนพันธุกรรมและแหล่งที่เก็บที่นำมาศึกษามีจำนวนน้อย จึงอาจจะทำให้ไม่เห็นความหลากหลายของพันธุกรรม หรืออาจเป็นไปได้ว่าส้มแขกที่อยู่ในเขตพื้นที่ 4 จังหวัดที่ได้เก็บมาศึกษามีพันธุกรรมเดียว แต่เนื่องจากสภาพแวดล้อมจึงทำให้ลักษณะการแสดงออกของสัณฐานวิทยาแตกต่างกัน ดังนั้นจึงควรมีการเก็บตัวอย่างที่แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกันเพิ่มเติม มาศึกษาเพื่อเปรียบเทียบกับลักษณะพันธุกรรม เพื่อเป็นการตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมอีกครั้ง

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ส้มแขกเป็นที่รู้จักเฉพาะถิ่นในภาคใต้ซึ่งศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรภูเก็ตได้ดำเนินปลูกเปรียบพันธุ์ส้มแขกพันธุ์ดีในพื้นที่ภาคใต้ตอนบน โดยระยะเวลาการดำเนินการเริ่มในปี 2554 สิ้นสุดปี 2558 รวมระยะเวลาการดำเนินงาน 5 ปีนั้น ต้นส้มแขกที่คัดเลือกจาก 4 จังหวัด คือ ภูเก็ต พังงา นครศรีธรรมราชและกระบี่ จังหวัดละ 4 ต้น ซึ่งจากการศึกษาต้นส้มแขกทดลองทั้ง 8 กรรมวิธี ไม่มีความแตกต่างกันทางพันธุกรรม โดยปลูกใน

แปลงเปรียบเทียบพันธุ์ส้มแขกในพื้นที่ภาคใต้ตอนบน สำหรับศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ เพื่อคัดเลือกต้นพันธุ์ดีซึ่งส้มแขกพันธุ์ดีที่ เกษตรกรต้องการคือ ผลใหญ่ ดก ให้ผลผลิตตลอดทั้งปี อีกทั้งทางการค้ายังต้องการส้มแขกที่มีสารสำคัญสูง คือ กรดไฮดรอกซี่ซิตริกแอซิค (HCA) แต่เนื่องจากส้มแขกที่ปลูกในแปลงเปรียบเทียบพันธุ์นั้นมีอายุ 3 ปี ซึ่งยังไม่ให้ผลผลิต ดังนั้นศูนย์ฯ ได้เก็บตัวอย่างส้มแขกจากแหล่งปลูกเดิมเพื่อหาปริมาณกรดไฮดรอกซี่ซิตริกแอซิค (HCA) โดยตัวอย่างส้มแขกแห้งจากจังหวัดพังงาของคุณสุนทร มีปริมาณสารสูงที่สุดคือ 245.34 มิลลิกรัมต่อกรัม

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

การรวบรวมพันธุ์ส้มแขกในพื้นที่ของศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรภูเก็ตนี้สามารถเป็นพื้นที่หนึ่งที่รวบรวมพันธุ์ส้มแขก ชนิด *Garcinia pedunculata* สำหรับเป็นแหล่งศึกษาเรียนรู้การผลิตส้มแขกที่อาจจะมีประโยชน์ต่อไปในอนาคตไม่มากก็น้อย

11. คำขอบคุณ (ถ้ามี)

ขอขอบพระคุณดร.ฐิตาภรณ์ ภูมิไชย์ นักวิชาการเกษตรชำนาญการ สถาบันวิจัยยาง สำหรับการ ใช้เทคนิค AFLP ในการจัดจำแนกพันธุกรรมของส้มแขกสำหรับการทดลองนี้ เจ้าหน้าที่ของกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 7 สำหรับการตรวจวิเคราะห์ดิน และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ของศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรภูเก็ตทุกท่านที่ให้ความร่วมมือร่วมใจในการปฏิบัติงานนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

12. เอกสารอ้างอิง

สุวณิช ชัยนาค. 2556. รายงานผลของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา สยามบรมราชกุมารี ในกิจกรรมที่ 4 อนุรักษ์และใช้ประโยชน์พันธุกรรมพืช (วิเคราะห์ตัวอย่างดิน น้ำ และด้านโภชนาการพืช รวม 90 ตัวอย่าง). เอกสารประกอบการประชุมสำนักงานเกษตรและสหกรณ์จังหวัดภูเก็ต.

Benbouza H., Jacquemin J.M., Baudoin J.P., Mergeai G. 2006. Optimization of a reliable, fast, cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrylamide gels. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 10(2):77–81.

Dice, L. R. 1945. Measures of the amount of ecology association between species. Ecology. 26:297-302.

Rohlf, F. J. 1997. NTSYS-pc (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System), version 2.0. Exeter Software, New York.

Vos, P. R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T. Van de Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J.

Peleman, M. Kuiper and M. Zabeau. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucl. Aci. Res. 23:4407-4414.

13. ภาคผนวก

ภาพที่ 1 ส้มแขกที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Garcinia atroviridis*

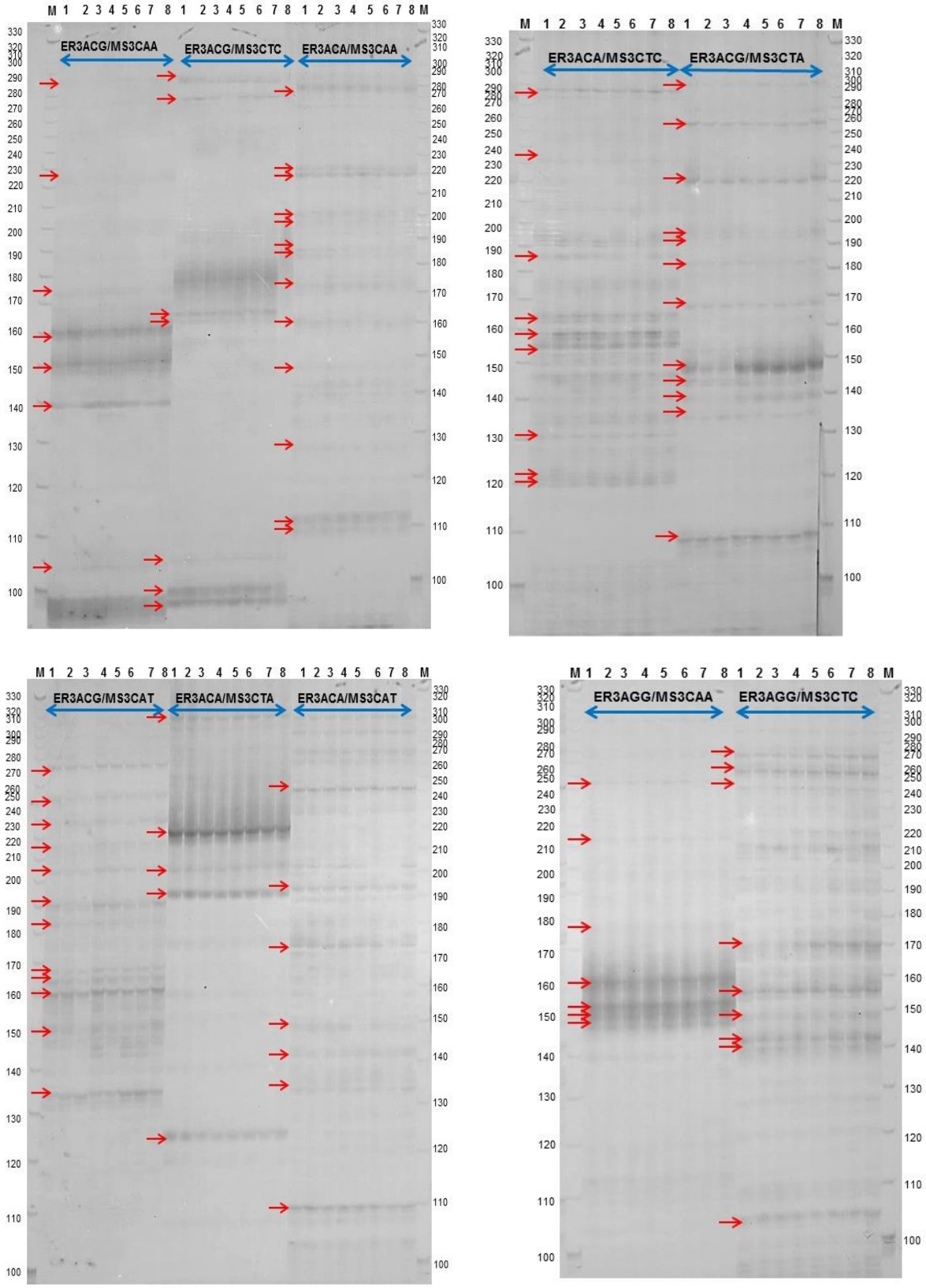
ภาพที่ 2 ส้มแขกที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Garcinia pedunculata*

ตารางที่ 1 แสดงรายละเอียดแหล่งที่มาและความเข้มข้นดีเอ็นเอของตัวอย่างส้มแขก

รหัสต้น	แหล่งที่เก็บ	ความเข้มข้นดีเอ็นเอ (นาโนกรัม/ไมโครลิตร)
1	อุดมศิลป์ พังงา	1029.6
2	อุไร ภูเก็ต	1546.5
3	บุญชู กระบี่	1962.5
4	โสพิศ กระบี่	880.8
5	ณัฐมน ภูเก็ต	187.3
6	สุนทร พังงา	243.5
7	เยาวนี นครศรีธรรมราช	448.4
8	บุญพา นครศรีธรรมราช	1330.7

ตารางที่ 2 แสดงลำดับไพรเมอร์จำนวน 7 หมายเลข ที่ใช้ในการจำแนกพันธุกรรมของส้มแขก

หมายเลข	รหัสไพรเมอร์	ลำดับของเบส (5’-3’)
1	ERACG	AGA CTG CGT ACC AAT TCA CG
2	ERACA	AGA CTG CGT ACC AAT TCA CA
3	ERAGG	AGA CTG CGT ACC AAT TCA GG
4	MSCAA	GAT GAG TCC TGA GTA ACA A
5	MSCTC	GAT GAG TCC TGA GTA ACT C
6	MSCTA	GAT GAG TCC TGA GTA ACT A
7	MSCAT	GAT GAG TCC TGA GTA ACA T



ภาพที่ 3 แสดงแถบดีเอ็นเอของส้มแขกจำนวน 8 ต้น วิเคราะห์ด้วยเทคนิค AFLP โดยใช้ primer ACG/CAA (EcoRI/MseI) ACG/CTC (EcoRI/MseI) ACA/CAA (EcoRI/MseI) ACA/CTC (EcoRI/MseI ACG/CTA (EcoRI/MseI)

ACG/CAT (EcoRI/MseI) ACA/CTA (EcoRI/MseI) ACA/CAT (EcoRI/MseI) AGG/CAA (EcoRI/MseI) และ AGG/CTC (EcoRI/MseI)

ข้อมูลโภชนาการ

การศึกษาส้มแขกนั้นศูนย์ฯ ไม่ได้ดำเนินการศึกษาคุณค่าทางโภชนาการ แต่สุวณิช (2556) ได้รายงานผลของการศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของส้มแขกจากการได้รับการสนับสนุนจากจังหวัดภูเก็ตในส่วนของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา สยามบรมราชกุมารี ในกิจกรรมที่ 4 อนุรักษ์และใช้ประโยชน์พันธุกรรมพืช (วิเคราะห์ตัวอย่าง ดิน น้ำ และด้านโภชนาการพืช รวม 90 ตัวอย่าง) ได้รายงานว่า จากการเก็บตัวอย่างส้มแขกในตัวอย่างที่ 22 โดยเก็บตัวอย่างจากบ้านเลขที่ 47 ม.7 ต. ฉลอง จ.ภูเก็ต มีคุณค่าทางโภชนาการพืช คือ มี %โปรตีน 3.37 %ไขมัน 1.55 %ความชื้น 10.35 %เถ้า 1.77 และตัวอย่างที่ 23 สถานที่เก็บตัวอย่างคือบ้านเลขที่ 27 ม.1 ต.เทพกระษัตรี อ.เมือง จ. ส้มแขก (ผล) มีคุณค่าทางโภชนาการพืช คือ มี %โปรตีน 3.06 %ไขมัน 2.75 %ความชื้น 9.90 %เถ้า 2.87 ภูเก็ต ซึ่งลักษณะส้มแขกที่เก็บได้ในตัวอย่างที่ 23 นั้นตรงกับส้มแขกลักษณะที่ 1 คือ ส้มแขก ***Garcinia atroviridis*** และตัวอย่างที่ 22 นั้นตรงกับส้มแขกลักษณะที่ 2 คือส้มแขก *Garcinia pedunculata*