

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด ปี 2561

1. ขุดโครงการวิจัย การคุ้มครองและบริหารจัดการทรัพยากรพันธุกรรมพืชตามกฎหมายภายในและระหว่างประเทศ
2. โครงการวิจัย วิจัยความหลากหลายทางพันธุกรรมและพฤกษเคมีของพืชพื้นเมืองทั่วไปที่มีศักยภาพในท้องถิ่นในแปลงรวบรวมพันธุ์และ/หรือถิ่นที่อยู่
3. ชื่อการทดลอง ศึกษาวิจัยลักษณะทางพันธุกรรม ลักษณะประจำพันธุ์ และพฤกษเคมีของมะขามป้อม (*Phyllanthus emblica* L.) ในแปลงรวบรวมพันธุ์และถิ่นที่อยู่ เพื่อการใช้ประโยชน์ด้านการเกษตร
Research and study on Plant Genetic Characteristics and Phytochemicals of *Phyllanthus emblica* L. in Germplasm Resources and *In-situ* for Agricultural Utilization.
4. คณะผู้ดำเนินงาน
หัวหน้าการทดลอง นางสาววิภาดา แสงสร้อย^{1/} ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแพร่
ผู้ร่วมงาน นายธรรรงค์ คนชม^{1/} ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแพร่
นางสาวประนอม ใจอ้าย^{1/} ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแพร่
นางวิลาสินี จิตต์บรรจง^{2/} สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช
นายปิติคมน์ พืชดำรงกุล^{1/} ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแพร่
5. บทคัดย่อ

Abstract

Genetic characteristics and the phytochemicals study of *Phyllanthus emblica* L. on germplasm resources and *In-situ* for agricultural utilization, from 2016 to 2018. The survey found the source of *Phyllanthus emblica* L. from Phrae, Phayao, Lampang, Mae Hong Son, Nan, Chiang Rai, Chiang Mai and Kanchanaburi. The area elevation ranges from 100 to 1,200 meters above mean sea level. People we use to food, medicine, living and ritual beliefs. The scion have brought to propagate by cleft grafting in the station. The sizes of the fruit are different, size between 1.5 - 2.5 cm. The smallest size (1.5 cm) is CM-01, the size of about 3 cm, including PY-01 and NN-01. The highest at 1.26 cm is K-01. The minimum thickness is CM-01 and CR-04. The size is 0.43 cm and 0.46 cm respectively. It was found that the high vitamin C content found in variety NN-03, LP-01 and PR-06, contained 887, 1190 and 1240 mg/100 g. The lowest antioxidant index values are PY-02 and MH-01 as 1.53 and 1.1, respectively while PY-01, CR-04 and CM-01 are the highest vitamin C content as 9.44, 9.25 and 8.34 respectively.

Analysis of genetic diversity by molecular markers and identification of *Phyllanthus emblica* L. the species of by RAPD technique can divide 15 samples into 2 large groups, which can divide PR-01 and K-01 from 13 samples and in 13 samples, this K-02 is different from other species and 12 samples can be divided by genetic characteristics into 2 subgroups by subgroups. No. 1, consisting of varieties of PR-02, PY-03, PR-03, K-05, K-03, PR-04, PY-01 and CM-06 and subgroup 2 comprising PY-02, K-06, PR-05 and PR-06. The result show a wide and diverse genetic base of *Phyllanthus emblica* L.

บทคัดย่อ

การ ศึกษาวิจัยลักษณะทางพันธุกรรม ลักษณะประจำพันธุ์ และพฤกษเคมีของมะขามป้อม (*Phyllanthus emblica* L.) ในแปลงรวบรวมพันธุ์และถิ่นที่อยู่ เพื่อการใช้ประโยชน์ด้านการเกษตร ดำเนินการในปี พ.ศ. 2559-2561 ได้สำรวจมะขามป้อมจากแหล่งต่างๆ ในพื้นที่จังหวัดแพร่ พะเยา ลำปาง แม่ฮ่องสอน น่าน เชียงราย เชียงใหม่ และกาญจนบุรี ความสูงของพื้นที่จากระดับน้ำทะเล ตั้งแต่ 100-1,200 เมตร มีการใช้ประโยชน์จากมะขามป้อมทั้งในด้านอาหาร ยารักษาโรค การใช้สอย และพิธีกรรมความเชื่อ ได้นำกิ่งพันธุ์มาขยายพันธุ์ด้วยวิธีเปลี่ยนยอดในแปลงทดลอง ขนาดผลของมะขามป้อมมีความแตกต่างกัน มะขามป้อมส่วนใหญ่มีขนาดผลระหว่าง 1.5 - 2.5 ซม. โดยขนาดผลเล็กที่สุดประมาณ 1.5 ซม. คือ CM-01 ขนาดผลประมาณ 3 ซม. ได้แก่ PY-01 และ NN-01 ส่วนขนาดผลใหญ่ที่สุด คือ K-01 มีขนาด 3.85 ซม. ที่มีปริมาณเนื้อหนาทันที่สุดที่ 1.26 ซม. คือ K-01 ส่วนความหนาเนื้อน้อยที่สุด ได้แก่ CM-01 และ CR-04 มีขนาด 0.43 ซม. และ 0.46 ซม. ตามลำดับ สำหรับปริมาณสารสำคัญในผล พบว่า ปริมาณวิตามินซีที่สูงคือ NN-03 LP-01 และ PR-06 มีปริมาณ 887 1,190 และ 1240 มก./100 ก. ส่วนค่าดัชนีสารต้านอนุมูลอิสระ PY-02 และ MH-01 มีค่าต่ำที่สุด คือ 1.53 และ 1.1 ตามลำดับ ในขณะที่ PY-01, CR-04 และ CM-01 มีค่าสูงที่สุด คือ 9.44, 9.25 และ 8.34 ตามลำดับ

การวิเคราะห์ ความหลากหลายทางพันธุกรรม ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลและ จำแนกชนิดพันธุ์ของมะขามป้อมด้วยเทคนิค RAPD สามารถแบ่งมะขามป้อมจำนวน 15 ตัวอย่าง ได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ โดยสามารถแบ่งพันธุ์วังหงส์ (PR-01) และแป้นสยาม (K-01) ออกจาก 13 ตัวอย่าง และในจำนวน 13 ตัวอย่างนี้ ลูกท้อ (K-02) จะแตกต่างจากสายพันธุ์อื่น และจำนวน 12 ตัวอย่าง สามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อย จำนวน 2 กลุ่มย่อย โดยกลุ่มย่อยที่ 1 ประกอบด้วย พันธุ์ปากกาง (PR-02) น้ำคะ (PY-03) ปางเคาะ (PR-03) แม่ลูกดก (K-05) สีกาแพ (K-03) นาควา (PR-04) หนองห้า (PY-01) และดงเย็น (CM-06) และกลุ่มย่อยที่ 2 ประกอบด้วย ห้วยลึก (PY-02) หยกมณี (K-06) บ่อแก้ว (PR-05) และนาพูน (PR-06) มะขามป้อมที่ได้จากการสำรวจมีฐานพันธุกรรมที่กว้างและมีความหลากหลาย

^{1/} ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแพร่ 205 ม.5 ต.วังหงส์ อ.เมือง จ.แพร่ 54000 โทรศัพท์ (054) 556-526 โทรสาร (054) 556-526 อีเมล phare@doa.in.th

^{2/} สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900 โทรศัพท์ (02) 579 4127 โทรสาร (02) 5790548 อีเมล pvpo@doa.in.th

คำนำ

มะขามป้อม (Indian gooseberry, Malacca tree) เป็นไม้ผลยืนต้นในวงศ์ EUPHORBIACEAE มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Phyllanthus emblica* L. พบได้ตามป่าเขาทั่วไปในแถบเอเชีย เป็นที่รู้จักกันดีทั้งในประเทศไทย จีน อินเดีย เนปาล มาเลเซีย ศรีลังกา บังคลาเทศ และญี่ปุ่น มีการนำเอาส่วนต่าง ๆ ของมะขามป้อมมาใช้เป็นยาพื้นบ้านรักษาโรค ทั้งส่วนของใบ ลำต้น ราก ผล หรือเปลือกลำต้น คุณสมบัติที่สำคัญในผลมะขามป้อม คือ มีวิตามินซีและแทนนินสูง ในประเทศไทยมีการใช้มะขามป้อมเป็นส่วนประกอบของตำรับยาพื้นบ้านและยาแผนโบราณ ในการแพทย์แบบอายุรเวท มะขามป้อมมีสรรพคุณรักษาโรค เป็นยาบำรุงสุขภาพ ยาอายุวัฒนะ บำรุงสมอง บำรุงสายตา แก้ไอ รักษาอาการหืด หลอดลมอักเสบ วัณโรคปอด ลดเบาหวาน ไขข้ออักเสบ ธาตุพิการ อาหารไม่ย่อย โรคท้องร่วง ฯลฯ เหตุสำคัญที่ทำให้มะขามป้อมได้รับความสนใจอย่างมากจากทั่วโลกในปัจจุบัน คือ สรรพคุณในการป้องกันโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ

มะขามป้อมมีองค์ประกอบทางเคมีทั้งสารประเภทแทนนิน และสารประกอบฟีนอลซึ่งมีคุณค่าในการนำไปใช้เป็นสมุนไพร (Yang และคณะ, 2012) รวมทั้งการที่มะขามป้อมมีวิตามินซีสูง (ascorbic acid) ซึ่งมีคุณสมบัติในการต่อต้านอนุมูลอิสระ (Scartezzini และคณะ, 2006) จึงทำให้มีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยมีรายงานการศึกษาวิจัย เช่น การลดอาการปวด (analgesic) ลดอาการไอ (anti-tussive) ต้านมะเร็ง (anticancer) ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ลดการอักเสบ (anti-inflammatory) ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้มีประสิทธิภาพในการป้องกันและรักษาโรคต่างๆ เช่น โรคมะเร็ง โรคหลอดเลือด โรคเบาหวาน โรคแผลในกระเพาะอาหาร โรคโลหิตจางโรคตับ และโรคหัวใจ เป็นต้น (Dasaroju และ Gottumukkala, 2014; Moazzem Hossen และคณะ, 2015) นอกจากมะขามป้อมมีสรรพคุณทางยาแล้ว ยังมีคุณค่าสูงมากด้านธุรกิจทางด้านยา อาหารเสริม และผลิตภัณฑ์ความงาม ได้มีการนำ สารสำคัญจากมะขามป้อมหรือมะขามป้อมสดและ แห้งมาเป็นองค์ประกอบในเครื่องสำอางและอาหาร เช่น ผลิตภัณฑ์ลิปกลอส ไร้อาหารที่มีส่วนผสมของไลโปโซมสารสกัดมะขามป้อม (จันทิมา และคณะ, 2554) ศึกษาการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากมะขามป้อม (วรรณภา และคณะ, 2556)

Dasaroju และ Gottumukkala (2014) ได้รวบรวมงานวิจัยเกี่ยวกับสารสำคัญ และฤทธิ์ทางชีวภาพของมะขามป้อม โดยพบว่า มะขามป้อมมีสารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง เช่น วิตามินซี (ascorbic acid) กรดอะมิโน (amino acids: glutamic acid, proline, aspartic acid, alanine, cystine, lysine) และแร่ธาตุ (minerals) และมีองค์ประกอบทางเคมี และสารสำคัญจำนวนมาก เช่น แทนนิน (tannins) อัลคาลอยด์ (alkaloids) และสารฟีนอลิก (phenols) โดยสารประเภทแทนนิน ได้แก่ Emblicanin A, Emblicanin B และ gallic acid และมีรายงานการศึกษาวิจัยด้านสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น การลดอาการปวด (analgesic) ลดอาการไอ (anti-tussive) ต้านมะเร็ง (anticancer) (Rajesh kumar และคณะ, 2003; Luo และคณะ, 2011; Zhong และคณะ, 2011; Sanjay และคณะ, 2013) ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) (Prakash และคณะ, 2011; จรัสรัตน์ และคณะ, 2555) ลดการอักเสบ (antiinflammatory) ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้มีประสิทธิภาพในการป้องกันและรักษาโรคต่างๆ เช่น โรคมะเร็ง โรคหลอดเลือด โรคเบาหวาน โรคแผลในกระเพาะอาหาร โรคโลหิตจาง โรคตับ และโรคหัวใจ เป็นต้น

ผลมะขามป้อม นอกจากจะจำหน่ายในรูปผลสดแล้วยังตากผลแห้งหรือแปรรูป เป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ จำหน่ายได้ ขณะนี้ยังขาดวัตถุดิบอีกจำนวนมาก เนื่องจากมะขามป้อม เป็นพืชสมุนไพรในบัญชียาหลักแห่งชาติ ซึ่งจะถูกนำมาใช้ผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ยาหลายชนิด ในประเทศไทย ผลผลิตมะขามป้อม ส่วนใหญ่หรือเรียกได้ว่าทั้งหมดเก็บรวบรวมจากป่าธรรมชาติ การเก็บผลปะปนกันมาจากหลายต้นหลายแหล่ง ทำให้ไม่สามารถควบคุมปริมาณหรือคาดเดาปริมาณผลผลิตแต่ละปีได้ และไม่สามารถควบคุมคุณภาพ และปริมาณสารสำคัญในผล ซึ่งเป็นตัวกำหนดคุณภาพของผลิตภัณฑ์ โดยเฉพาะการนำไปผลิตเป็นอาหารเพื่อสุขภาพหรือผลิตภัณฑ์ยา ในด้านการอนุรักษ์ทรัพยากรและสิ่งแวดล้อม การเก็บเกี่ยวผลผลิตจากป่ามาบริโภคหรือนำมาจำหน่ายเป็นวิถีชีวิตที่ไม่

ยั่งยืน นอกจากจะเสี่ยงต่อการใช้ประโยชน์จากป่าแบบเกินกำลังผลิตแล้ว มีการเก็บเกี่ยวแบบไม่ถูกวิธี เนื่องจากต้นมะขามป้อมในป่าลำต้นสูงมาก ต้องใช้วิธีตัดกิ่งก้านลงมาเพื่อเก็บผล ผลจึงบอบช้ำเสียหาย การปลูกรมะขามป้อมในรูปแบบของสวนผลไม้ที่มีการจัดการอย่างถูกต้องและเหมาะสม จึงได้รับความสนใจมากขึ้น หากต้องการให้มีการส่งเสริมในการใช้มาตรการในการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพอย่างยั่งยืน จำเป็นต้องมีการศึกษาสำรวจความหลากหลาย นิเวศวิทยาและการกระจายพันธุ์พร้อมกับศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา การจำแนกชนิด ข้อมูลภูมิปัญญาท้องถิ่นด้านความหลากหลายของพืชในชุมชนต่างๆ การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม พร้อมทั้ง ให้นำมาจัดทำตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิงเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพมหานคร วิชาการเกษตร เพื่อประโยชน์ต่อการเรียนรู้ด้านพฤกษศาสตร์ นอกจากนี้ข้อมูลที่ได้จากการศึกษา จะนำไปสู่การจัดทำบัญชีทรัพยากรชีวภาพด้านพืชของประเทศไทย และเพื่อให้เกิดการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน จึงมีการศึกษาหาสารสำคัญในพืชหรือพฤกษเคมีที่มีศักยภาพที่จะนำไปใช้ประโยชน์ในเชิงอุตสาหกรรมและพาณิชย์ ซึ่งจะทำให้เห็นคุณค่าในการอนุรักษ์ชนิดพันธุ์พืชพื้นเมืองเหล่านั้น เพื่อการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน

ในปี 2555-2558 โครงการวิจัยและพัฒนาการผลิตมะขามป้อมอย่างมีคุณภาพ ภายใต้ชุดโครงการวิจัยและพัฒนาการผลิตพืชเศรษฐกิจเฉพาะพื้นที่ภาคเหนือตอนบน ได้สำรวจและรวบรวมมะขามป้อมพันธุ์ดีจากแหล่งต่างๆ ในพื้นที่ภาคเหนือตอนบนพื้นที่ 2 ไร่ ในแปลงทดลองของศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแพร่ พบว่า มีหลายต้นที่มีลักษณะดี ติดผลดก ผลขนาดใหญ่ แต่ยังไม่มีการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมและลักษณะทางพฤกษเคมี ดังนั้น จึงควรมีการศึกษาวิจัยลักษณะทางพันธุกรรม ลักษณะประจำพันธุ์ และพฤกษเคมีของมะขามป้อมในแปลงรวบรวมพันธุ์ และถิ่นที่อยู่เพื่อการใช้ประโยชน์ด้านการเกษตร

7. วิธีดำเนินการ

- อุปกรณ์

1) ต้นมะขามป้อม

2) วัสดุการเกษตร ได้แก่ ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 ปุ๋ยอินทรีย์ สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช

อุปกรณ์ระบบน้ำ

3) อุปกรณ์ขยายพันธุ์พืช ได้แก่ กรรไกร มีด เทปพลาสติก เชือกฟาง

- วิธีการ

1. ศึกษารวบรวมข้อมูลทุติยภูมิเกี่ยวกับ ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ การจำแนกชนิด แหล่งแพร่กระจายพันธุ์ของมะขามป้อม การใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ ข้อมูลด้านพฤกษเคมีของมะขามป้อมจากเอกสาร ตำราทางวิชาการและข้อมูลที่บันทึกในตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิงที่เก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์พืชต่างๆ

2. สำรวจและเก็บรวบรวมภาคสนาม รวบรวมข้อมูลความรู้ด้านการใช้ประโยชน์ของมะขามป้อมในถิ่นที่อยู่โดยการสอบถาม ซึ่งประกอบด้วย ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ลักษณะประจำพันธุ์ นิเวศวิทยา ส่วนที่นำมาใช้ประโยชน์ และวิธีการใช้ประโยชน์

3. จำแนกชนิดของมะขามป้อมโดยอาศัยความรู้ด้านอนุกรมวิธานพืช การใช้ตำราด้านอนุกรมวิธานพืช ร่วมกับการเทียบเคียงกับตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิงในพิพิธภัณฑ์พืช และบรรยายลักษณะทางพฤกษศาสตร์โดยอาศัยข้อมูลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

4. นำตัวอย่างพืชในแปลงรวบรวมพันธุ์ และ/หรือถิ่นที่อยู่ วิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรม

4.1 วิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยใช้เทคนิค RAPD

1) การเก็บตัวอย่าง เก็บตัวอย่างใบมะขามป้อมจากศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแพร่ ซึ่งเป็นแหล่งรวบรวมพันธุ์มะขามป้อม

2) การศึกษาด้วยเครื่องหมายโมเลกุล

2.1 นำตัวอย่างใบเพื่อใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ โดยหลังการเก็บใบ นำใบมาทำความสะอาดด้วยการล้างน้ำ และผึ่งให้แห้ง เก็บในถุงพลาสติก ปิดปากถุงให้สนิท แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส จนกว่าจะมีการนำมาใช้สกัดดีเอ็นเอ

2.2 การสกัดดีเอ็นเอ โดยการสกัดดีเอ็นเอจะทำการสกัดจากใบอ่อนโดยใช้วิธี CTAB ดัดแปลงจากวิธีการสกัดดีเอ็นเอของ Doyle และ Doyle (1987) เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

2.3 การตรวจสอบคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอ ด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสง และวิธีเจลิอิเล็กโทรโฟรีซิส เพื่อการวิเคราะห์ขนาดชิ้นดีเอ็นเอเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด 1000 คู่เบส นำไปวิเคราะห์ภาพเจลโดยใช้ชุดถ่ายภาพอะกาโรสเจล (gel documentary system) ที่ผ่านเครื่องส่องแถบดีเอ็นเอ (UV transmission)

2.4 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค RAPD ตามวิธีของ William และคณะ (1990) นำดีเอ็นเอที่สกัดได้จากขั้นตอนที่ 2.2 เจือจางกับสายละลาย TE buffer ให้ได้ความเข้มข้น 50 นาโนกรัม/ไมโครลิตร โดยไพรเมอร์ของเทคนิคนี้จะมีลำดับนิวคลีโอไทด์เป็นแบบสุ่ม สายสั้นๆ จำนวน 10 นิวคลีโอไทด์ และจะทำการสุ่มจับกับดีเอ็นเอทั่วทั้งจีโนม ในขั้นตอนแรกคัดเลือก ตัวอย่างมะขามป้อมมา 2 ตัวอย่าง ที่มีลักษณะภายนอกที่แตกต่างกัน เพื่อทำการทดลองกับไพรเมอร์จำนวน 30 ไพรเมอร์ แสดงชื่อไพรเมอร์ และ ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค RAPD ในตารางที่ 2 หลังจากนั้นคัดเลือกไพรเมอร์ใน 30 ไพรเมอร์ที่สามารถให้แถบดีเอ็นเอชัดเจน และ แสดงความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอ นำไพรเมอร์ที่คัดเลือกแล้วมาใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในตัวอย่างมะขามป้อมทั้งหมดที่เก็บรวบรวมได้ โดยเติมสารเคมีที่เป็นส่วนประกอบลงในหลอดทดลองขนาด 0.2 มิลลิลิตร ในระดับความเข้มข้นตั้งแต่ต้น ปริมาตร และความเข้มข้นสุดท้ายที่ใช้สำหรับ 1 ตัวอย่าง ดังตารางที่ 7 ผสมสารให้เข้ากันด้วยการ Vortex และ Spin down นำเข้าเครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม โดยใช้อุณหภูมิ เวลา และจำนวนรอบดัดแปลงจากวิธีของ William และคณะ (1990) เมื่อได้ผลผลิตพีซีอาร์ นำมาตรวจสอบแถบดีเอ็นเอด้วยวิธีอะกาโรสอิเล็กโทรโฟรีซิส ความเข้มข้นเจล 2 % (แสดงรายละเอียดในขั้นตอนการวิเคราะห์ด้วยวิธีอะกาโรสอิเล็กโทรโฟรีซิส) หลังจากนั้นนำมาให้คะแนนแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้น (Score band) (แสดงรายละเอียดในขั้นตอนการวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอด้วยเทคนิค RAPD)

2.5 การวิเคราะห์โดยวิธีอะกาโรสอิเล็กโทรโฟรีซิส ในการตรวจสอบคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีอะกาโรสอิเล็กโทรโฟรีซิสในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ คือ ดีเอ็นเอที่สกัดได้จากใบ มะขามป้อมในขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอ และผลผลิตพีซีอาร์จาก ขั้นตอนการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค RAPD ซึ่งจะใช้อะกาโรสที่มีความเข้มข้น 2% ชั่งและละลายผงอะกาโรสในสารละลาย TBE buffer ความเข้มข้น 1X ด้วยความร้อนจากไมโครเวฟ จนผงอะกาโรสละลายเป็นเนื้อเดียวกันกับสารละลาย TBE buffer รองนกระทั่งเจลเย็น เทเจลลงในถาดเจลที่มีหัวเสียบเจลเพื่อทำให้เกิดหลุมสำหรับหยอดดีเอ็นเอ รองนเจลแข็งตัวหรือสังเกตว่าสีของเจลเปลี่ยนจากสีใสไปเป็นสีขุ่น แล้วนำเจลที่แข็งแล้วไปใส่ในอ่างสำหรับรันเจลในชุดอิเล็กโทรโฟรีซิส เท TBE buffer ความเข้มข้น 1X ให้ท่วมหน้าเจล จากนั้นนำดีเอ็นเอที่ต้องการวิเคราะห์ ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ผสมกับสีย้อม (Dye) ความเข้มข้น 6X ปริมาตร 1 ไมโครลิตร หยอดดีเอ็นเอที่ผสมกับ Dye แล้ว ลงในหลุมที่เกิดจากเอาหัวเสียบเจลออก หยอดดีเอ็นเอมาตรฐาน (DNA marker) ขนาด 100 คู่เบส ในหลุมแรกและหลุมสุดท้าย ปริมาตร 3 ไมโครลิตร ให้ปล่อยกระแสไฟฟ้าผ่าน 100 โวลต์ นานประมาณ 30 นาที เมื่อครบเวลาแล้ว นำเจลไปแช่ในสารละลาย Ethidium bromide ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/ไมโครลิตร นาน 10 นาที เมื่อครบเวลาแล้ว นำเจลแช่ในน้ำกลั่นเพื่อล้าง Ethidium bromide ส่วนเกินออก ประมาณ 10 นาที หลังจากนั้นนำเจลที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยชุดถ่ายภาพอะกาโรสเจลที่ผ่านเครื่องส่องแถบดีเอ็นเอ ซึ่งมีรังสี UV ทำให้สามารถมองเห็นแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้น เปรียบเทียบขนาดแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นกับดีเอ็นเอมาตรฐาน

2.6 การวิเคราะห์ข้อมูลของแถบดีเอ็นเอ

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากลายพิมพ์ดีเอ็นเอ แพลตฟอร์มขนาดขึ้นดีเอ็นเอ หรือแถบดีเอ็นเอ ที่เกิดขึ้นของแต่ละไพรเมอร์โดยการให้คะแนนแบบ binary data matrix โดยให้คะแนนเป็น 1 เมื่อมีการปรากฏของแถบดีเอ็นเอ และให้คะแนนเป็น 0 เมื่อไม่มีการปรากฏของแถบดีเอ็นเอ ณ ตำแหน่งเดียวกันของแต่ละตัวอย่าง นำคะแนนที่เกิดขึ้นโดยใช้ดัชนีความคล้ายคลึง (similarity index, SI) โดย SI จะมีค่าตั้งแต่ 0-1 โดย SI=0 หมายถึงตัวอย่างที่เปรียบเทียบกับกันไม่มีแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันเลย SI=1 หมายถึงตัวอย่างที่เปรียบเทียบกับกันมีแถบดีเอ็นเอเหมือนกันทั้งหมด แล้วนำข้อมูลการปรากฏและไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่บันทึกได้นั้นมาหาค่าเปรียบเทียบความเหมือนและความแตกต่าง สามารถคำนวณหาความแตกต่างทางพันธุกรรมของประชากร (Genetic distance, D) แล้วจึงสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (Dendrogram) ด้วยวิธี Unweight pair-group method (UPGMA) ตามวิธีของ Nei และ Li (1979) จากโปรแกรม Numerical Taxonomy System (NTsys) v2.01e

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกลักษณะนิเวศวิทยา

ทำการบันทึกสภาพทางนิเวศวิทยาของพื้นที่ที่พบและการกระจายพันธุ์ของมะขามป้อมที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ และลักษณะประจำพันธุ์ ถ่ายภาพเพื่อประกอบการบันทึกลักษณะภายนอกของต้นพืช รวมถึงการนำไปใช้ประโยชน์

2. บันทึกลักษณะสัณฐานวิทยาของส่วนประกอบของมะขามป้อม ได้แก่ ลำต้น ใบ ดอก ผล และเมล็ด ในระยะที่ส่วนต่างๆเจริญเติบโต

3. ผลวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรม

- เวลาสถานที่ ปีที่เริ่มต้น 2559 ปีที่สิ้นสุด 2561

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแพร่ อำเภอเมือง จังหวัดแพร่

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

ดำเนินการศึกษาระหว่างเดือนตุลาคม 2559 – เดือนกันยายน 2561 สืบค้นและรวบรวมมะขามป้อมได้จำนวนทั้งสิ้น 23 ตัวอย่าง จากจังหวัดแพร่ 5 ตัวอย่าง พะเยา 3 ตัวอย่าง ลำปาง 1 ตัวอย่าง แม่ฮ่องสอน 2 ตัวอย่าง น่าน 2 ตัวอย่าง เชียงใหม่ 2 ตัวอย่าง เชียงราย 4 ตัวอย่าง และกาญจนบุรี 4 ตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 1 ได้เก็บกิ่งพันธุ์มะขามป้อมมาขยายจำนวน แหล่งละ 10 ต้น ด้วยวิธีเปลี่ยนยอดบนต้นตอพันธุ์พื้นเมือง แล้วนำมาปลูกรวบรวมไว้ในแปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแพร่ อ.เมือง จ.แพร่ ซึ่งมีแปลงรวบรวมพันธุ์เดิมอยู่แล้วส่วนหนึ่ง พื้นที่ 2 ไร่

จากข้อมูลองค์ประกอบผลผลิตของมะขามป้อมจากแหล่งต่างๆ พบว่า ขนาดผลมะขามป้อมมีความแตกต่างกัน มะขามป้อมส่วนใหญ่มีขนาดผลระหว่าง 1.5 ถึง 2.5 ซม. โดยขนาดผลเล็กที่สุดประมาณ 1.5 ซม. คือ CM-01 ขนาดผลประมาณ 2 ซม. (1.87- 2.28 ซม.) มีจำนวน 7 หมายเลข ได้แก่ PR-05, PR-06, NN-03, CR-01, CR-02, CR-03 และ CR-04 ขนาดผลประมาณ 2.5 ซม. (2.44- 2.78 ซม.) มีจำนวน 7 หมายเลข ได้แก่ PR-01, PR-02, PR-03, PY-02, LP-01, MH-01 และ MH-02 ขนาดผลประมาณ 3 ซม. (2.91-3.25 ซม.) มีจำนวน 3 หมายเลข ได้แก่ PY-01 และ NN-01 ส่วนขนาดผลใหญ่ที่สุดคือ K-01 มีขนาด 3.85 ซม. ในจำนวนนี้มีหมายเลขที่มีปริมาณเนื้อหนามากที่สุดคือ 1.26 ซม. คือหมายเลข K-01 รองลงมาคือ CM-06 มีความหนาเนื้อ 1.08 ซม. ส่วนความหนาเนื้อน้อยที่สุดมี 2 หมายเลข ได้แก่ CM-01 และ CR-04 มีขนาด 0.43 ซม. และ 0.46 ซม. ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

มะขามป้อมที่พบในถิ่นที่อยู่และที่อยู่ในแปลงรวบรวมพันธุ์ มี ลักษณะทรงพุ่ม ที่แตกต่างกัน มี ทั้งทรงพุ่มโปร่งและทรงพุ่มแน่น สีของใบอ่อนมีความแตกต่างกัน คือ มีสีเขียว เขียวอ่อน และสีเขียวปนม่วงแดง สีของใบแก่ มีสีเขียวอ่อน และสีเขียวแก่ สีของผล มีสีเขียว และเขียวอ่อน (ตารางที่ 3)

ในด้านปริมาณ สารสำคัญ ได้แก่ วิตามินซี และค่าดัชนีสารต้านอนุมูลอิสระ ทำการวิเคราะห์ใน 18 ตัวอย่าง พบว่า มีปริมาณวิตามินซีแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 มีปริมาณวิตามินซีในระดับประมาณ 400 มก./100 ก. (351-491 มก./100 ก.) มีจำนวน 8 หมายเลข ได้แก่ PR-02, PR-05, PY-02, CR-01, CR-02, CR-03, CR-04 และ CM-01 กลุ่มที่ 2 มีปริมาณวิตามินซีในระดับประมาณ 600 มก./100 ก. (590-750 มก./100 ก.) มีจำนวน 7 หมายเลข ได้แก่ PR-01, PR-03, PY-01, MH-01, MH-02 NN-01 และ K-01 ส่วน NN-03 LP-01 และ PR-06 มีปริมาณ 887 1,190 และ 1240 มก./100 ก. ซึ่งมีปริมาณสูง

ส่วนค่าดัชนีสารต้านอนุมูลอิสระ พบว่า ส่วนใหญ่มีค่าที่ 6 แบ่งได้เป็น 4 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 มีค่าประมาณ 1 (1.10-1.53) ได้แก่ PY-02 และ MH-01 กลุ่มที่ 2 มีค่าประมาณ 4 (3.40-4.41) ได้แก่ MH-02, PR-05 และ CR-02 กลุ่มที่ 3 มีค่าประมาณ 6 (5.44-7.02) ได้แก่ PR-01, PR-02, PR-03, PR-06, NN-03, CR-01, CR-03 และ NN-01 กลุ่มที่ 4 มีค่าประมาณ 9 (8.34-9.44) ได้แก่ PY-01, CR-04 และ CM-01 ส่วนค่าดัชนีสารต้านอนุมูลอิสระพบว่า PY-02 และ MH-01 มีค่าต่ำที่สุด คือ 1.53 และ 1.1 ตามลำดับ ในขณะที่ PY-01, CR-04 และ CM-01 มีค่าสูงที่สุด คือ 9.44, 9.25 และ 8.34 ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ปริมาณวิตามินซีและค่าดัชนีสารต้านอนุมูลอิสระในผลมะขามป้อม ไม่ได้ขึ้นอยู่กับขนาดของผล มะขามป้อมที่มีปริมาณวิตามินซีสูง ได้แก่ PR-06, NN-03, PR-03, PR-01 และที่มีดัชนีสารต้านอนุมูลอิสระสูง ได้แก่ PY-01, CR-04, CM-01 เหมาะสำหรับนำไปเป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมยาสมุนไพร อาหารเสริมสุขภาพ และเครื่องสำอาง ส่วนมะขามป้อมที่มีขนาดใหญ่และเนื้อผลหนา ได้แก่ K-01 CM-06 และ LP-01 เหมาะสำหรับแปรรูปเป็นมะขามป้อมแช่อิ่ม มะขามป้อมอบแห้ง ผงขัดผิว ซึ่งจะช่วยเพิ่มมูลค่าผลผลิต จึงควรสนับสนุนปลูกมะขามป้อมพันธุ์ดังกล่าวเชิงการค้า โดยเลือกพันธุ์ปลูกตามวัตถุประสงค์ที่ตลาดต้องการ

มะขามป้อม เป็นพืชที่มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพร อาหาร เครื่องดื่ม และเวชสำอาง ปัจจุบันกระแสความนิยมผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากธรรมชาติมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เนื่องจากผู้บริโภคเชื่อมั่นว่ามีความปลอดภัย และมีประสิทธิภาพเท่าเทียมหรือสูงกว่าเครื่องสำอางที่ผลิตจากสารเคมี

มะขามป้อม เป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก-กลาง สูง 8-12 เมตร เปลือกนอกสีน้ำตาลอมเทา ผิวเรียบหรือค่อนข้างเรียบ เปลือกในสีชมพู ใบ เป็นใบเดี่ยว สีเขียว เรียงตัวอยู่ตรงข้ามกัน และอยู่ชิดกัน (มองดูคล้ายลักษณะเป็นใบประกอบ) รูปขอบขนานติดยาวกลับ กว้าง 0.25-0.5 ซม. ยาว 0.8-12 ซม. เส้นแขนงใบไม่ชัดเจน ก้านใบสั้นมาก

ดอก ขนาดเล็กแยกเพศ มีดอกตัวผู้และดอกตัวเมียอยู่ปะปนกันจำนวนมาก แต่อยู่บนกิ่งหรือต้นเดียวกัน มีกลีบเลี้ยง 6 กลีบ ดอกสีขาวหรือขาวนวล ดอกเพศผู้ มีเกสรตัวผู้ 3 อัน ฐานรองดอกมีต่อม 6 ต่อม ดอกเพศเมียมีฐานรองดอกเป็นรูปถ้วย ขอบถ้วยหยัก รังไข่มี 3 ช่อง หลอดท่อรังไข่ปลายแยกเป็น 2 แฉก ไม่เท่ากัน

ผล ทรงกลม แบน ผลอ่อนมีสีเขียวอ่อน ผลแก่มีสีเขียวอ่อนค่อนข้างใส มีเส้นริ้วๆ ตามยาว มี 6 เส้น เนื้อผลรสฝาดเปรี้ยว ขมและอมหวาน เปลือกหุ้มเมล็ดแข็งมี 6 เส้น เมล็ดมี 6 เมล็ด

ผล มีเมล็ดแข็ง ที่มีเนื้อหนากิ่งแข็งกึ่งนิ่ม และฉ่ำน้ำ เรียกว่า Drupe

องค์ประกอบของผล ได้แก่

1. เปลือกและเนื้อผล (exocarp) หรือผนังชั้นนอก
2. ผนังชั้นกลาง (mesocarp)
3. ชั้นใน มีเนื้อแข็ง (endocarp)
4. ช่องบรรจุเมล็ด (chamber)
5. เมล็ด (seed)

ตารางที่ 1 การสำรวจมะขามป้อมจากพื้นที่ต่างๆ และแหล่งที่เก็บตัวอย่าง

พื้นที่	จำนวน (แหล่ง)	รหัส	แหล่งที่เก็บตัวอย่าง
แพร่	5	PR-01 PR-02 PR-03 PR-05 PR-06	บ้านวังหงส์ ต.วังหงส์ อ.เมือง จ.แพร่ บ้านปางกาง ต.ปากกาง อ.ลอง จ.แพร่ บ้านปางเคาะ ต.ไทรย้อย อ.เด่นชัย จ.แพร่ บ้านบ่อแก้ว ต.ไทรย้อย อ.เด่นชัย จ.แพร่ บ้านนาพูน ต.วังลึก อ.วังชิ้น จ.แพร่
พะเยา	3	PY-01 PY-02 PY-03	บ้านหนองห้า ต.ร่มเย็น อ.เชียงคำ จ.พะเยา บ้านหนองห้า ต.ร่มเย็น อ.เชียงคำ จ.พะเยา บ้านน้ำคะ ต.ผาซำน้อย อ.ปง จ.พะเยา
ลำปาง	1	LP-01	ต.เวียงตาล อ.ห้างฉัตร จ.ลำปาง
แม่ฮ่องสอน	2	MH-01 MH-02	บ้านในสอย ต.ปางหมู อ.เมือง จ.แม่ฮ่องสอน บ้านในสอย ต.ปางหมู อ.เมือง จ.แม่ฮ่องสอน
น่าน	2	NN-01 NN-03	บ้านธงน้อย ต.ตุ้มโฮม อ.เมือง จ.น่าน บ้านผาตูบ ต.ผาสิงห์ อ.เมือง จ.น่าน
เชียงใหม่	2	CM-01 CM-06	บ.แบแล ต.ยางเปียง อ.อมก๋อย จ.เชียงใหม่ บ.ดงเย็น ต.บ้านแปะ อ.จอมทอง จ.เชียงใหม่
เชียงราย	4	CR-01 CR-02 CR-03 CR-04	ต.แม่เจดีย์ใหม่ อ.เวียงป่าเป้า จ.เชียงราย ต.แม่เจดีย์ใหม่ อ.เวียงป่าเป้า จ.เชียงราย ต.แม่เจดีย์ใหม่ อ.เวียงป่าเป้า จ.เชียงราย ต.แม่เจดีย์ใหม่ อ.เวียงป่าเป้า จ.เชียงราย
กาญจนบุรี	4	K-01 K-02 K-03 K-04	บ้านโกรกตารอด ต.หนองตากยา อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี บ้านโกรกตารอด ต.หนองตากยา อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี บ้านโกรกตารอด ต.หนองตากยา อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี บ้านโกรกตารอด ต.หนองตากยา อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี

ตารางที่ 2 องค์ประกอบผลผลิตของมะขามป้อมจากการสำรวจในพื้นที่ต่างๆ

พื้นที่	รหัส	ขนาดเส้นผ่าศก.ผล (ซม.)	ขนาดเส้นผ่าศก.เมล็ด (ซม.)	ความหนาเนื้อ (ซม.)	น้ำหนักผล (กรัม)	จำนวนผล/ กก.
แพร่	PR-01	2.44	1.14	0.66	6.67	150
	PR-02	2.78	1.31	0.75	9.80	98
	PR-03	2.57	1.10	0.72	8.43	120
	PR-05	2.02	0.95	0.67	6.03	165
	PR-06	1.99	0.99	0.53	5.56	179
พะเยา	PY-01	3.01	1.32	0.88	11.92	81
	PY-02	2.55	0.92	0.85	9.09	110
	PY-03	2.74	1.09	0.79	11.36	88
ลำปาง	LP-01	2.49	1.12	0.92	11.36	88
แม่ฮ่องสอน	MH-01	2.44	1.08	0.69	8.55	117
	MH-02	2.51	1.07	0.77	8.77	114
น่าน	NN-01	2.91	1.21	0.79	13.93	67
	NN-03	2.30	1.03	0.65	5.23	191
เชียงใหม่	CM-01	1.63	0.86	0.43	2.25	467
เชียงราย	CR-01	2.28	0.90	0.68	6.25	178
	CR-02	2.18	1.03	0.59	5.64	176
	CR-03	2.01	0.85	0.57	3.93	262
	CR-04	1.87	0.88	0.46	3.82	265
กาญจนบุรี	K-01	3.85	1.32	1.26	28.83	34

ตารางที่ 3 ลักษณะประจำพันธุ์ของมะขามป้อมในแปลงรวบรวมพันธุ์และถิ่นที่อยู่

พื้นที่	รหัส	แหล่งเก็บตัวอย่าง	ลักษณะทรงพุ่ม	สีของ ใบอ่อน	สีของ ใบแก่	สีของผล
แพร่	PR-01	แปลงรวบรวมพันธุ์	พุ่มโปร่ง	Green144A	Green139A	Green144B
	PR-02	แปลงรวบรวมพันธุ์	พุ่มแน่น	Green144A	Green135A	Green144B
	PR-03	แปลงรวบรวมพันธุ์	พุ่มแน่น	Green143B	Green139A	Green144B
	PR-05	แปลงรวบรวมพันธุ์	พุ่มโปร่ง	Green144A	Green139A	Green144B
	PR-06	แปลงรวบรวมพันธุ์	พุ่มโปร่ง	Green144A	Green139A	Green144B
พะเยา	PY-01	แปลงรวบรวมพันธุ์	พุ่มแน่น	Green143B	Green143A	Green144B
	PY-02	แปลงรวบรวมพันธุ์	พุ่มแน่น	Red 53 A	Green139A	Green145B
	PY-03	แปลงรวบรวมพันธุ์	พุ่มโปร่ง	Green143B	Green141A	Green144B
ลำปาง	LP-01	แปลงรวบรวมพันธุ์	พุ่มแน่น	Green137A	Green136B	Green144B
แม่ฮ่องสอน	MH-01	ถิ่นที่อยู่	พุ่มแน่น	Green144A	Green139A	Green144A
	MH-02	ถิ่นที่อยู่	พุ่มแน่น	Green143B	Green137A	Green144A
น่าน	NN-01	แปลงรวบรวมพันธุ์	พุ่มแน่น	Red 53 A	Green136B	Green144B
	NN-03	แปลงรวบรวมพันธุ์	พุ่มโปร่ง	Green144B	Green139A	Green144B
เชียงใหม่	CM-01	ถิ่นที่อยู่	พุ่มแน่น	Green143B	Green137A	Green143C
เชียงราย	CR-01	ถิ่นที่อยู่	พุ่มแน่น	Green143B	Green136B	Green143B
	CR-02	ถิ่นที่อยู่	พุ่มแน่น	Green143B	Green136B	Green143B
	CR-03	ถิ่นที่อยู่	พุ่มแน่น	Green143B	Green136B	Green143B
	CR-04	ถิ่นที่อยู่	พุ่มแน่น	Red 53 A	Green141B	Green143B
กาญจนบุรี	K-01	แปลงรวบรวมพันธุ์	พุ่มแน่น	Green144A	Green136B	Green145A

ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญของมะขามป้อมจากแหล่งต่างๆ

พื้นที่	รหัส	แหล่งที่มา	ปริมาณ วิตามินซี (มก./100 ก.)	ค่าดัชนี สารต้าน อนุมูลอิสระ	แหล่งเก็บตัวอย่าง
แพร่	PR-01	บ.วังหงส์ ต.วังหงส์ อ.เมือง	704	5.44	แปลงรวบรวมพันธุ์
	PR-02	บ.ท่าเตื่อ ต.ปากกาง อ.ลอง	433	6.67	แปลงรวบรวมพันธุ์
	PR-03	บ.ปางเคาะ ต.ไทรย้อย อ.เด่นชัย	750	5.66	แปลงรวบรวมพันธุ์
	PR-05	บ.บ่อแก้ว ต.ไทรย้อย อ.เด่นชัย	444	4.25	ถิ่นที่อยู่
	PR-06	บ.วังลึก ต.นาพูน อ.วังชิ้น	1,240	6.75	ถิ่นที่อยู่
ลำปาง	LP-01	บ.วังหงส์ ต.วังหงส์ อ.เมือง	1,190	5.79	แปลงรวบรวมพันธุ์
พะเยา	PY-01	บ.หนองห้า ต.ร่มเย็น อ.เชียงคำ	642	9.44	แปลงรวบรวมพันธุ์
	PY-02	บ.หนองห้า ต.ร่มเย็น อ.เชียงคำ	425	1.53	ถิ่นที่อยู่
แม่ฮ่องสอน	MH-01	บ.ในสอย ต.ปางหมู อ.เมือง	590	1.10	ถิ่นที่อยู่
	MH-02	บ.ในสอย ต.ปางหมู อ.เมือง	590	3.40	ถิ่นที่อยู่
น่าน	NN-01	บ.รงน้อย ต.ตุ๊ใต้ อ.เมือง	606	7.20	แปลงรวบรวมพันธุ์
	NN-03	บ.ผาตูป ต.ผาสิงห์ อ.เมือง	887	6.49	ถิ่นที่อยู่
เชียงใหม่	CM-01	บ.แบแล ต.ยางเปียง อ.อมก๋อย	491	8.34	ถิ่นที่อยู่
เชียงราย	CR-01	ต.แม่เจดีย์ใหม่ อ.เวียงป่าเป้า	351	5.50	ถิ่นที่อยู่
	CR-02	ต.แม่เจดีย์ใหม่ อ.เวียงป่าเป้า	459	4.41	ถิ่นที่อยู่
	CR-03	ต.แม่เจดีย์ใหม่ อ.เวียงป่าเป้า	416	6.34	ถิ่นที่อยู่
	CR-04	ต.แม่เจดีย์ใหม่ อ.เวียงป่าเป้า	379	9.25	ถิ่นที่อยู่
กาญจนบุรี	K-01	บ.โกรกตารอด ต.หนองตากยา อ.ท่าม่วง	579	5.34	ถิ่นที่อยู่

มะขามป้อม เป็นพืชกระจายพันธุ์ ในพื้นที่ราบ หุบเขา และไหล่เขา ความสูงของพื้นที่จากระดับน้ำทะเล ตั้งแต่ 100-1,200 เมตร ลักษณะวิสัยเป็นไม้ต้น ถิ่นที่อยู่บนดิน ใบสีเขียว สีเขียวอ่อน ผลมีสีเขียวเข้ม สีเขียวอ่อน สีเขียวอมเหลือง สีน้ำตาล จากการสอบถามเกษตรกรและชาวบ้านในพื้นที่สำรวจ พบว่า มีการใช้ประโยชน์จาก ส่วนต่างๆของมะขามป้อม ได้แก่ ผล กิ่ง ใบ ยาง และเปลือก ทั้งในด้านอาหาร ยารักษาโรค การใช้สอย และ พิธีกรรมความเชื่อ (ตารางที่ 5) มะขามป้อมเป็นไม้ผลัดใบ จะทิ้งใบจนหมดทั้งต้นราวเดือนธันวาคมถึง กลางเดือน มกราคม จากนั้นจะผลิใบใหม่ บางต้นที่อายุมากกว่า 4 ปี จะผลิยอดอ่อนพร้อมออกดอก มีการพัฒนาช่อดอกถึง ระยะดอกบาน ใช้เวลาประมาณ 1 เดือน แล้วกลีบดอกโรย มีการพัฒนาผลอ่อน ตั้งแต่เดือนมีนาคม จนถึงเวลาสุก แก่ราวเดือนพฤศจิกายน ถึง ต้นเดือนธันวาคม ใช้เวลาประมาณ 7-8 เดือน ขึ้นอยู่กับพันธุ์ โดยผลแก่อาจติดบนกิ่ง ได้นานถึง 3 เดือน

ตารางที่ 5 แบบบันทึกข้อมูลภาคสนามการสำรวจมะขามป้อมในแหล่งต่างๆ และการใช้ประโยชน์

แหล่ง ที่พบ	ความสูง จากน้ำทะเล (เมตร)	สภาพพื้นที่	ถิ่นที่อยู่	ลักษณะ วิสัย	การใช้ประโยชน์จากมะขามป้อม
แพร์ PR-01 PR-02 PR-03 PR-05 PR-06	200 150 150 200 250	ที่ราบ ที่ราบ ที่ราบ ที่ราบ ที่ราบ	บนดิน บนดิน บนดิน บนดิน บนดิน	ไม้ต้น ไม้ต้น ไม้ต้น ไม้ต้น ไม้ต้น	ผลสด เคี้ยวค่อยๆกลืนทำให้ชุ่มคอ แก้กระหายน้ำ แก้หวัด แก้ไอ ละลายเสมหะ ช่วยบำรุงสายตา บำรุงตับ ใบ กิ่ง ใช้ในพิธีสะเดาะเคราะห์ เชื่อว่าจะรอดพ้นจากสิ่งอัปมงคล ยางผล หยอดตา แก้อาการอักเสบ ลำต้น ทำฟืนคุณภาพดีมาก ปมกิ่ง เคี้ยวแก้ไอ
พะเยา PY-01 PY-02	1,200 800	หุบเขา หุบเขา	บนดิน บนดิน	ไม้ต้น ไม้ต้น	เปลือก ขูดผสมในลาบเนื้อสัตว์ ช่วยดับกลิ่นคาว ทำให้รสชาติดีขึ้น น้ำต้มเปลือก แก้ปวดท้อง ราก ต้มเป็นยาลดไข้ ฟอกเลือด
ลำปาง LP-01	200	ที่ราบ	บนดิน	ไม้ต้น	น้ำคั้นจากผล ผสมน้ำผึ้ง จิบเป็นยาแก้ไอ แก้เจ็บคอ ผลแห้ง แขน้ำต้มก่อนนอน เป็นยาระบาย เนื้อผลแห้ง แก้บิด ท้องเสีย บำรุงหัวใจ
แม่ฮ่องสอน MH-01 MH-02	400 400	ที่ราบ ที่ราบ	บนดิน บนดิน	ไม้ต้น ไม้ต้น	เปลือก ทาเกลือ เเผาไฟ นำไปแช่น้ำดื่ม ช่วยให้เจริญอาหาร ผลอ่อน หุบ ต้ม ย้อมผ้าให้สีเขียวอ่อน เปลือกต้ม ย้อมเครื่องมือจับปลา ผล ทำเครื่องต้ม หมักทำไวน์
น่าน NN-01 NN-03	250 250	ที่ราบ ที่ราบ	บนดิน บนดิน	ไม้ต้น ไม้ต้น	ผลสด บำรุงตับ คั้นดื่มชุ่มคอ แก้ไอ เจ็บคอ ผลแห้ง ต้มดื่มทุกเช้า ช่วยให้ระบบเลือดไหลเวียนดี ราก ต้มลดไข้
เชียงใหม่ CM-01	1,200	ไหล่เขา	บนดิน	ไม้ต้น	ผลสด หุบผลผสมเกลือ และน้ำผึ้ง ทำให้ชุ่มคอ ละลายเสมหะ น้ำคั้นบำรุงตับ ผลแห้ง แขน้ำสระผม ทำให้ผมนุ่มสลวย และรากผมแข็งแรง
เชียงราย					เปลือก นำมาต้ม แก้ท้องเสีย

แหล่ง ที่พบ	ความสูง จากน้ำทะเล (เมตร)	สภาพพื้นที่	ถิ่นที่อยู่	ลักษณะ วิสัย	การใช้ประโยชน์จากมะขามป้อม
CR-01	300	ที่ราบ	บนดิน	ไม้ต้น	ผลอ่อน ทูบ ต้ม ย้อมผ้าให้สีเขียวอ่อน
CR-02	300	ที่ราบ	บนดิน	ไม้ต้น	ผลสด แกักระหายน้ำ บรรเทาหวัด นำไปทำน้ำหมักผสมอาหารปลา ทำให้ปลาโตมากขึ้นและไม่เป็นโรค
CR-03	300	ที่ราบ	บนดิน	ไม้ต้น	ผลแห้ง เป็นส่วนประกอบของตำรับยา “ตรีผลา” ทำชาสมุนไพร
CR-04	300	ที่ราบ	บนดิน	ไม้ต้น	
กาญจนบุรี					
K-01	250	ที่ราบ	บนดิน	ไม้ต้น	ผลสด ทำเครื่องดื่ม ผสมน้ำผึ้ง ดับร้อนแก้กระหาย
K-02	250	ที่ราบ	บนดิน	ไม้ต้น	เนื้อผลสด ทำน้ำพริก แยม มะขามป้อมกวน แอ้มอบแห้ง
K-03	250	ที่ราบ	บนดิน	ไม้ต้น	เคี้ยวกับน้ำมันมะพร้าว ใช้หมักผสมป้องกันผมหงอก บำรุงหนังศีรษะ ช่วยให้รากผมแข็งแรง
K-04	250	ที่ราบ	บนดิน	ไม้ต้น	ป้องกันรังแค ลดการหลุดร่วงของเส้นผม
					เนื้อผลบดแห้ง ชงกับน้ำอุ่นแก้เจ็บคอ ทำผงขัดหน้า ทำสบู่ โลชั่นนอมนมผิว

ผู้ให้ข้อมูลการใช้ประโยชน์จากมะขามป้อม

1. นายเจริญพร ชัยยะกิจ อายุ 57 ปี บ้านนาคูหา 1/5 ม.5 ต.สวนเขื่อน อ.เมือง จ.แพร่
2. นายศรีรัตน์ คำผาเชื้อ อายุ 61 ปี บ้านแม่ปาน 26/2 ม.2 ต.แม่ปาน อ.ลอง จ.แพร่
3. นางยุพิน กุลสุทธิเสถียร อายุ 52 ปี บ้านหนองสุวรรณ ม.8 ต.บ้านกลาง อ.สอง จ.แพร่
4. นายขวลิต วงศ์ดี อายุ 34 ปี บ้านวังพ่อน 177 ม.11 ต.หัวเมือง อ.สอง จ.แพร่
5. นายเขียว สอนลาว อายุ 82 ปี บ้านบ่อหลวง 67 ม.1 ต.บ่อเกลือใต้ อ.บ่อเกลือ จ.น่าน
6. นางบุญตา ยอดวาฤทธิ์ อายุ 60 ปี บ้านบ่อหลวง 34 ม.1 ต.บ่อเกลือใต้ อ.บ่อเกลือ จ.น่าน
7. นายอุทัย บุญเขตอุดร อายุ 43 ปี บ้านหนองห้า ม.16 ต.ร่มเย็น อ.เชียงคำ จ.พะเยา
8. นายสุนทร ศรีทอง อายุ 35 ปี บ้านผาบ่อง 193 ม.5 ต.ผาบ่อง อ.เมือง จ.แม่ฮ่องสอน
9. นางกัลยา เกษะกากลาง อายุ 47 ปี บ้านบ่อแก้ว 775 ม.15 ต.บ่อแก้ว อ.เมือง จ.ลำปาง
10. น.ส.วิลาสลักษณ์ ว่องไว อายุ 55 ปี ต.แม่เหียะ อ.เมือง จ.เชียงใหม่
11. นายนัด ไชยมงคล อายุ 56 ปี ต.วาปี อ.แม่สรวย จ.เชียงราย
12. นางขวัญจิต คงนัทธิ อายุ 41 ปี บ้านโกรกตรोट 78/1 ม.6 ต.หนอง ตากยา อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี

ได้ข้อมูล การใช้ประโยชน์ จากมะขามป้อม ด้านการประมง โดยการสัมภา ษณ์ นายจำนงค์ บุญเลิศ เกษตรกรผู้เลี้ยงปลานิลบ้านปากวาว ต.เมืองพาน อ.พาน จ.เชียงราย ซึ่งเป็นผู้ได้รับรางวัลเกษตรกรดีเด่นของ อาชีพเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ประจำปี 2551 ได้นำผลมะขามป้อมมาผลิตเป็นน้ำหมักมะขามป้อมในการเสริมวิตามิน ให้พ่อแม่พันธุ์ปลานิล ใช้ผสมอาหารให้ปลากิน ทำให้พ่อแม่พันธุ์แข็งแรงมีภูมิต้านทานโรค มีปริมาณไข่มาก ลูกที่ได้มี อัตราการรอดสูง และสารแทนนินในผลมะขามป้อมมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

ขั้นตอน การหมักน้ำมะขามป้อม

1. นำมะขามป้อมมาล้างให้สะอาด จำนวน 10 กิโลกรัม ลงในถังหมัก ขนาด 20 ลิตร
2. เติมน้ำเปล่าลงในถัง จำนวน 12 ลิตร ใส่น้ำตาลทรายแดง จำนวน 2 กิโลกรัม
3. คนจนน้ำตาลละลายหมด ปิดฝาหมักทิ้งไว้ประมาณ 3-6 เดือน จึงนำมาใช้ได้

วิธีการใช้

นำน้ำหมักที่ได้ปริมาณ 10 ซีซี ต่อน้ำ 1 ลิตร คนให้เข้ากัน นำไปคลุกเคล้ากับอาหาร 10 กิโลกรัม ผึ่งลม ให้แห้งแล้วจึงนำไปให้ปลา ผสมให้กินทุกมื้อ

ในปี 2560 ได้สำรวจแหล่งกระจายพันธุ์ของต้นมะขามป้อมในพื้นที่ อ.อมก๋อย จ.เชียงใหม่ ซึ่งเป็นแหล่ง ใหญ่ที่มีการซื้อขายผลมะขามป้อมกันมากที่สุดในภาคเหนือ มีโรงงานแปรรูปผลผลิต และมีการวางแผนการรับซื้อ ล่วงหน้า พื้นที่ดังกล่าวมีความสูงจากระดับน้ำทะเล 930 -970 เมตร พบมะขามป้อมในพื้นที่ 6 ตำบล ได้แก่ ต.อม ก๋อย ต.ยางเปียง ต.ม่อนจอง ต.นาเกียน ต.สบโขง และ ต.แม่ตึ่น ชาวบ้านได้รวบรวมผลผลิตและนำมาจำหน่าย ที่โรงงานแปรรูปในพื้นที่โครงการศูนย์เรียนรู้พัฒนาอมก๋อยตามพระราชดำริ ซึ่งให้การสนับสนุนให้ราษฎรปลูก มะขามป้อมร่วมกับป่า โดยร่วมมือกันกับหลายหน่วยงาน ได้แก่ กรมป่าไม้ กรมวิชาการเกษตร กรมส่งเสริม การเกษตร และกรมพัฒนาที่ดิน นอกจากนี้ ยังรับซื้อผลผลิตจากแหล่งจังหวัดใกล้เคียงนำมาแปรรูปด้วย ได้แก่ อ . สบเมย อ.แม่ออนน้อย อ.ขุนยวม จ.แม่ฮ่องสอน และ อ.ท่าสองยาง จ.ตาก วัตถุดิบผลมะขามป้อมสด 1 ตัน คั้นน้ำ ได้ปริมาณ 500-600 กิโลกรัม นำส่งให้โรงงานน้ำผลไม้ บริษัท มาลีสามพราน จำกัด (มหาชน) ต.ยายชา อ.สาม พราน จ.นครปฐม และโรงงานแปรรูปและพัฒนาผลิตภัณฑ์ โครงการหลวงดอยคำ ต.แม่เหียะ อ.เมือง จ.เชียงใหม่

ข้อมูลจากการสำรวจป่าในพื้นที่ป่าสงวนแห่งชาติป่าอมก๋อย ของกรมป่าไม้ ในพื้นที่ 50,000 ไร่ พบ มะขามป้อมเป็นไม้ยืน ต้น (ขนาดลำต้นเฉลี่ย 15.79 ซม.) จำนวน 365,714 ต้น ไม้หนุ่ม 460,606 ต้น และลูกไม้ 2,868,293 ต้น มะขามป้อมถือว่าเป็นพืชที่เกี่ยวข้องกับวิถีชีวิตของชนเผ่ากระเหรี่ยง มูเซอ และม้ง นอกจากนี้ ยัง ได้มีการประเมินมูลค่าการใช้ประโยชน์ของมะขามป้อม สมอไทย สมอทิพย์ รัก และเห็ด เพื่อหาแนวทางในการ ช่วยเหลือชุมชนให้อยู่ร่วมกันกับป่าอย่างยั่งยืน ให้ราษฎรมีรายได้เสริมจากป่า การฝึกทักษะพื้นฐานด้านอาชีพเพื่อ เพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์จากป่า และการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมอย่างยั่งยืนต่อไป

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของมะขามป้อม

1. การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างใบมะขามป้อม จำนวน 16 ตัวอย่าง แสดงรหัสและชื่อ ดังตารางที่ 6

2. การศึกษาด้วยเครื่องหมายโมเลกุล

2.1 นำตัวอย่างใบเพื่อใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ โดยหลังการเก็บใบ นำใบมาทำความสะอาดด้วยการล้างน้ำ และผึ่งให้แห้ง เก็บในถุงพลาสติก ปิดปากถุงให้สนิท แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส จนกว่าจะมีการนำมาใช้สกัดดีเอ็นเอ

2.2 การสกัดดีเอ็นเอ โดยการสกัดดีเอ็นเอจะทำการสกัดจากใบอ่อนโดยใช้วิธี CTAB ดัดแปลงจากวิธีการสกัดดีเอ็นเอของ Doyle และ Doyle (1987) เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

2.3 การตรวจสอบคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอ ด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสง และวิธีเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส เพื่อการวิเคราะห์ขนาดชิ้นดีเอ็นเอเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด 1000 คู่เบส นำไปวิเคราะห์ภาพเจลโดยใช้ชุดถ่ายภาพอะกาโรสเจล (gel documentary system) ที่ผ่านเครื่องส่องแถบดีเอ็นเอ (UV transmission)

2.4 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค RAPD ตามวิธีของ William และคณะ (1990)

2.5 การวิเคราะห์โดยวิธีอะกาโรสอิเล็กโทรโฟรีซิส

2.6 การวิเคราะห์ข้อมูลของแถบดีเอ็นเอ

ตารางที่ 6 แสดงรหัส และรายชื่อตัวอย่างมะขามป้อม จำนวน 16 ตัวอย่าง

รหัสตัวอย่าง	ชื่อสายพันธุ์	รหัสตัวอย่าง	ชื่อสายพันธุ์
PE01	ปากก่าง	PE09	ปางเคาะ
PE02	อินเดียห้างฉัตร	PE10	ลูกท้อ
PE03	น้ำคะ	PE11	ห้วยลึก
PE04	สีกาแพ	PE12	หนองห้า
PE05	แม่ลูกดก	PE13	บ่อแก้ว
PE06	วังหงส์	PE14	ดงเย็น
PE07	นาคูหา	PE15	หยมณีนี
PE08	แป้นสยาม	PE16	นาพูน

ตารางที่ 7 แสดงชื่อไพรเมอร์ และลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์ที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค RAPD จำนวน 30 ไพรเมอร์

ไพรเมอร์	ลำดับนิวคลีโอไทด์ (5'-3')	ไพรเมอร์	ลำดับนิวคลีโอไทด์ (5'-3')
OPA01	CAGGCCCTTC	OPA16	AGCCAGCGAA
OPA02	TGCCGAGCTG	OPA17	GACCGCTTGT
OPA03	AGTCAGCCAC	OPC02	GTGAGGCGTC
OPA04	AATCGGGCTG	OPC04	CCGCATCTAC
OPA05	AGGGGTCTTG	OPC05	GATGACCGCC
OPA06	GGTCCCTGAC	OPC06	GAACGGACTC
OPA07	GAAACGGGTG	OPC08	TGGACCGGTG
OPA08	GTGACGTAGG	OPC14	TGCGTGCTTG
OPA09	GGGTAACGCC	OPC16	CACACTCCAG
OPA10	GTGATCGCAG	OPAM03	CTTCCCTGTG
OPA11	CAATCGCCGT	OPAM12	TCTCACCGTC
OPA12	TCGGCGATAG	OPAM16	TGGCGGTTTG
OPA13	CAGCACCCAC	OPT01	GGGCCACTCA
OPA14	TCTGTGCTGG	OPT10	CCTTCGGAAG
OPA15	TTCCGAACCC	OPT20	GACCAATGCC

การวิเคราะห์ข้อมูลของแถบดีเอ็นเอ

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากลายพิมพ์ดีเอ็นเอ แปลผลขนาดชิ้นดีเอ็นเอ หรือแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นของแต่ละไพรเมอร์โดยการให้คะแนนแบบ binary data matrix โดยให้คะแนนเป็น 1 เมื่อมีการปรากฏของแถบดีเอ็นเอ และให้คะแนนเป็น 0 เมื่อไม่มีการปรากฏของแถบดีเอ็นเอ ณ ตำแหน่งเดียวกันของแต่ละตัวอย่าง นำคะแนนที่เกิดขึ้นโดยใช้ดัชนีความคล้ายคลึง (similarity index, SI) โดย SI จะมีค่าตั้งแต่ 0-1 โดย SI=0 หมายถึง ตัวอย่างที่เปรียบเทียบกับกันไม่มีแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันเลย SI=1 หมายถึงตัวอย่างที่เปรียบเทียบกับกันมีแถบดีเอ็นเอเหมือนกันทั้งหมด แล้วนำข้อมูลการปรากฏและไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่บันทึกได้นั้นมาหาค่าเปรียบเทียบความเหมือนและความแตกต่าง สามารถคำนวณหาความแตกต่างทางพันธุกรรมของประชากร (Genetic distance, D) แล้วจึงสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (Dendrogram) ด้วยวิธี Unweight pair-group method (UPGMA) ตามวิธีของ Nei และ Li (1979) จากโปรแกรม Numerical Taxonomy System (NTsys) v2.01e

ผลการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม

1. การศึกษาหาไพรเมอร์ที่เหมาะสม

จากการทดลองตรวจหาชนิดของไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลชนิด RAPD ทดสอบกับไพรเมอร์จำนวน 30 ไพรเมอร์ โดยทดสอบกับตัวอย่างขามป้อมจำนวน 2 ตัวอย่าง คือ แป้นสยาม (PE08) และ ปางเคาะ (PE09) ที่มีลักษณะสัณฐานทางภายนอกแตกต่างกันอย่างมาก พบว่าไพรเมอร์ในชุด OPA และ OPC สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอกับตัวอย่างที่ใช้ทดลองได้ แต่มีเพียง 5 ไพรเมอร์ ได้แก่ OPA04, OPA11, OPA12, OPA16 และ OPC06 ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแล้วให้แถบดีเอ็นเอที่คมชัดเจน และมีความแตกต่างกัน แถบไม่มากจนไม่สามารถวิเคราะห์ได้ น่าจะสามารถนำไปวิเคราะห์เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของมะขามป้อมในทุกตัวอย่างได้ ซึ่งจาก 5 ไพรเมอร์นี้ได้ทำการทดลองซ้ำ (Reproducibility) ในแต่ละไพรเมอร์จำนวน 2 ครั้ง เพื่อเป็นการยืนยันความน่าเชื่อถือของการทดลองด้วยเทคนิค RAPD ซึ่งผลการทดลอง

พบว่าให้แถบดีเอ็นเอที่ค่อนข้างใกล้เคียงกับการทดลองในครั้งแรก โดยให้ชั้นดีเอ็นเอมีขนาดตั้งแต่ 300 -1300 คู่เบส ชั้นดีเอ็นเอที่สามารถเพิ่มปริมาณได้มีจำนวนน้อยสุดคือ 2 แถบ อย่างไรก็ตามในไพรเมอร์ OPAM3, OPAM12 และ OPAM16 ไม่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ รวมทั้ง ไพรเมอร์ OPT1, OPT10 และ OPT20 ที่ให้แถบเป็นลักษณะ smear ที่จางมาก ดังแสดงในภาพที่ 2 ถึงภาพที่ 5

2. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของตัวอย่างมะขามป้อม

จากการนำไพรเมอร์ที่คัดเลือกได้จำนวน 5 ไพรเมอร์ ได้แก่ OPA04, OPA11, OPA12, OPA16 และ OPC06 มาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในทุกตัวอย่าง พบว่า ตัวอย่างอินเดียห้างฉัตร (PE02) มีปริมาณดีเอ็นเอน้อยมาก ไม่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ จึงเหลือตัวอย่างที่นำมาศึกษาเพียง 15 ตัวอย่าง โดยไพรเมอร์ที่สามารถสร้างแถบดีเอ็นเอได้มีจำนวนมากที่สุดคือ OPC06 แสดงไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของตัวอย่างมะขามป้อมได้ และขนาดชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่สามารถเพิ่มได้ในแต่ละไพรเมอร์ ดังตารางที่ 5 และแสดงแถบดีเอ็นเอที่สร้างขึ้นด้วยไพรเมอร์ OPA12 ดังรูปที่ 6 จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์ทั้ง 5 ไพรเมอร์สามารถสร้างแถบดีเอ็นเอรวมทั้งสิ้น 103 แถบ เป็นแถบดีเอ็นเอแบบพอลิเมอร์ฟิสิก 79 แถบ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์พอลิเมอร์ฟิสิก 76.70% การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ด้วยเทคนิค RAPD ด้วยการหาค่า Genetic similarity ด้วยวิธีการทางสถิติแบบ Simple matching coefficient แล้วนำข้อมูลสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยวิธี UPGMA ด้วยโปรแกรม NTSys เวอร์ชัน 2.0e พิจารณาค่าสัมประสิทธิ์ในช่วง 0.68 - 0.98 ที่ 0.68 สามารถแบ่งมะขามป้อมจำนวน 15 ตัวอย่าง ได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ โดยสามารถแบ่งเป็นสยาม (K-01) และวังหงส์ (PR-01) ออกจาก 13 ตัวอย่าง และในจำนวน 13 ตัวอย่างนี้ ลูกท้อ จะแตกต่างจากสายพันธุ์อื่น และจำนวน 12 ตัวอย่างสามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยจำนวน 2 กลุ่มย่อย โดย

กลุ่มย่อยที่ 1 ประกอบด้วย ปากกาง (PR-02) น้ำคะ (PY-03) ปางเคาะ (PR-03) แม่ลูกตก (K-05)

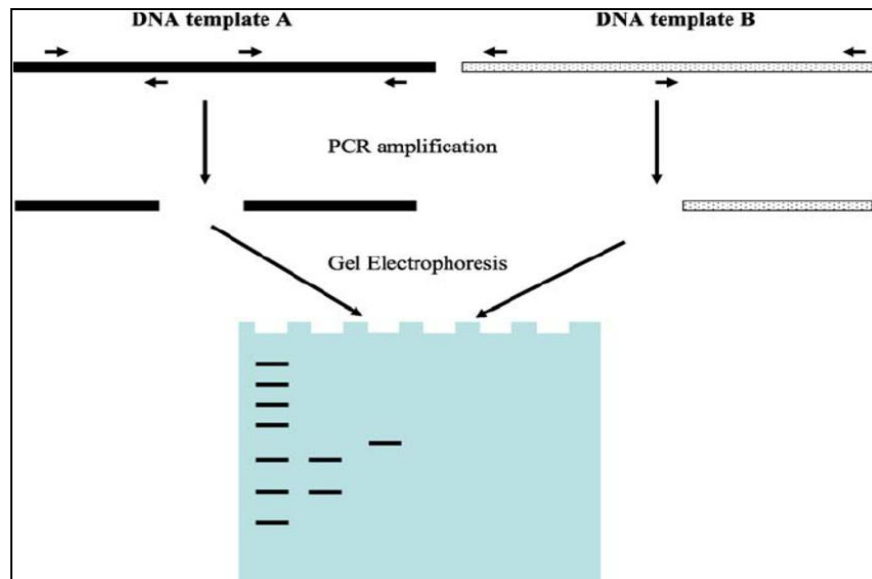
สีกาแฟ (K-03) นาคุหา (PR-04) หนองห้า (PY-01) และดงเย็น (CM-06)

กลุ่มย่อยที่ 2 ประกอบด้วย ห้วยลึก (PY-02) หยกมณี (K-06) บ่อแก้ว (PR-05) และนาพูน (PR-06)

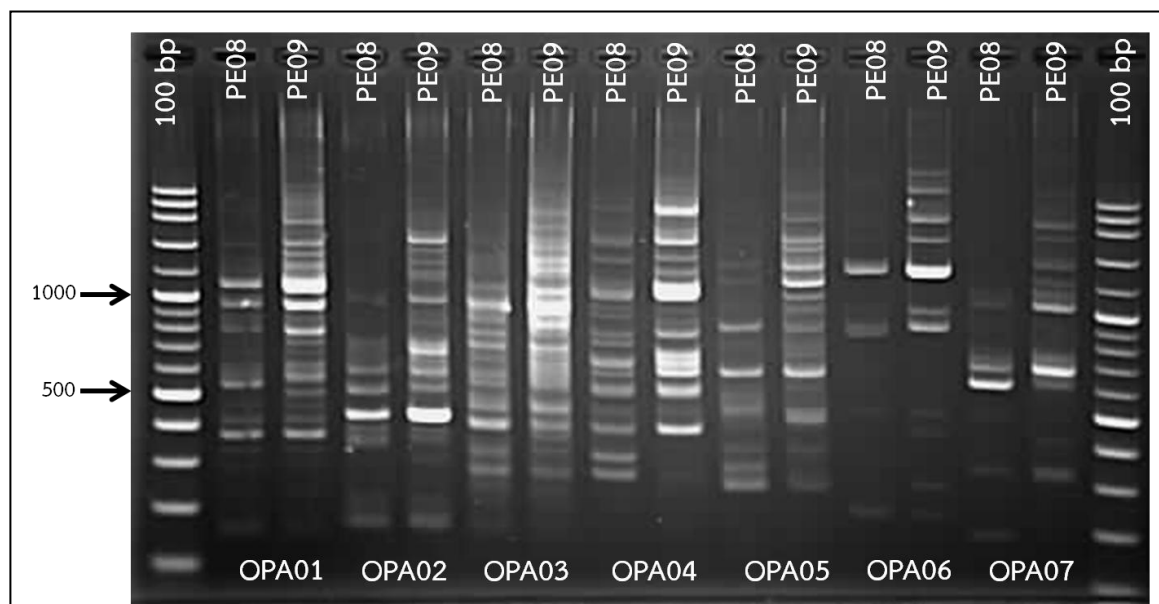
จากผลการตรวจวิเคราะห์นี้ แสดงให้เห็นว่ามะขามป้อมที่สำรวจได้มีฐานพันธุกรรมที่กว้าง และมีความหลากหลาย ในจำนวนตัวอย่างที่นำมาศึกษานี้ มีเพียงโดยยังพบว่า พันธุ์ปากกาง (PR-02) น้ำคะ (PY-03) มีความใกล้ชิดกันถึง 98 เปอร์เซ็นต์ น่าจะมาจากพันธุกรรมเดียวกัน และอาจจะเป็นพันธุ์เดียวกัน ในขณะที่กลุ่มตัวอย่างอื่นอาจจัดเป็นพันธุ์ หรือสายพันธุ์ได้ ตัวอย่างเช่น แป้นสยาม และ วังหงส์

ดังนั้น ผลการตรวจ ความหลากหลายทางพันธุกรรมของมะขามป้อมแสดงให้เห็นว่าทุกหมายเลขยกเว้น ปากกาง น้ำคะ มีพันธุกรรมในระดับดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน การผลิตสารสำคัญในปริมาณที่แตกต่างกันจึงไม่ได้ เกิดจากผลของสภาพแวดล้อม ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัย การศึกษาถึงรูปร่างและองค์ประกอบทางเคมี ของมะขามป้อม โดยศึกษาด้านสัญญาณวิทยาและองค์ประกอบทางเคมี (morpho-chemical variability) ของ Singh และคณะ (2012) ในประเทศอินเดีย และ Mawalagedera และคณะ (2014) ในประเทศศรีลังกา และปริมาณ phenolic และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่มีความแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ (Scalzo และคณะ, 2005)

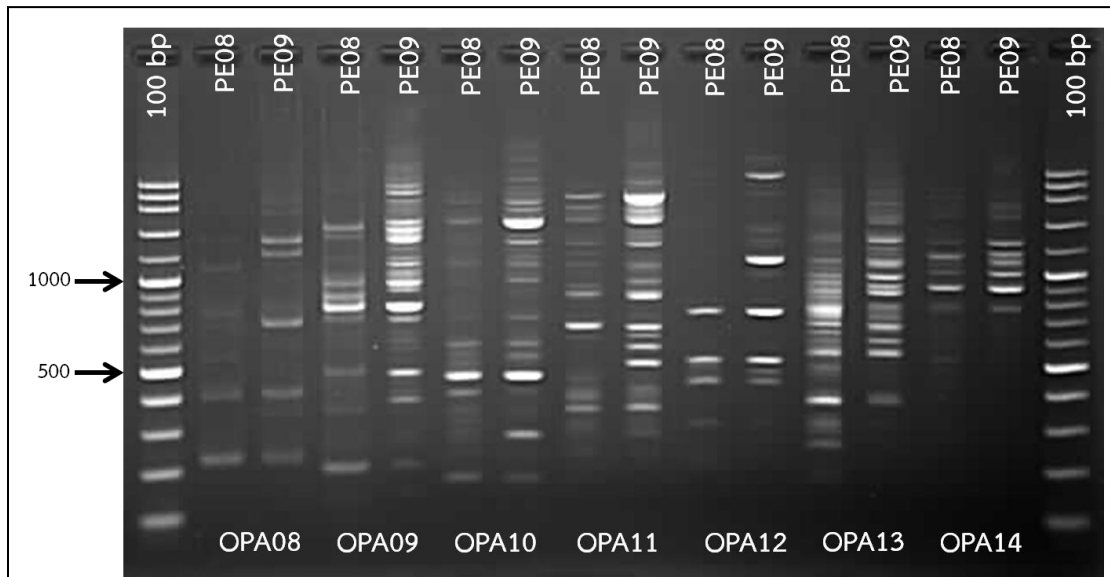
แสดงแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของมะขามป้อม 15 ตัวอย่าง ดังภาพที่ 7



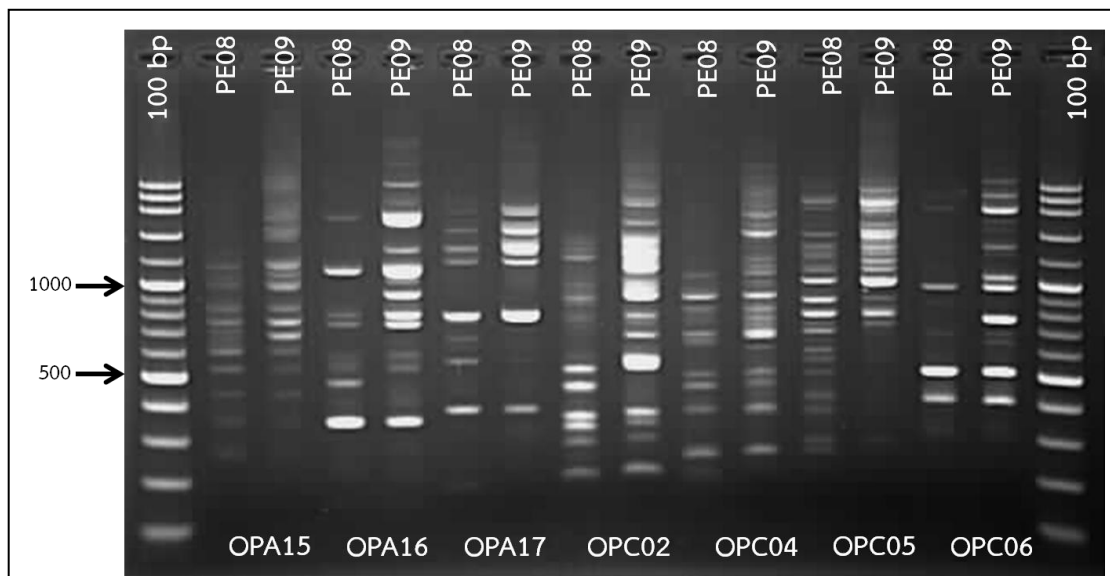
ภาพที่ 1 แสดงการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค RAPD และแสดงตำแหน่งเกาะแบบสุ่มของไพรเมอร์ RAPD บนจีโนมิกดีเอ็นเอของตัวอย่าง A และ B



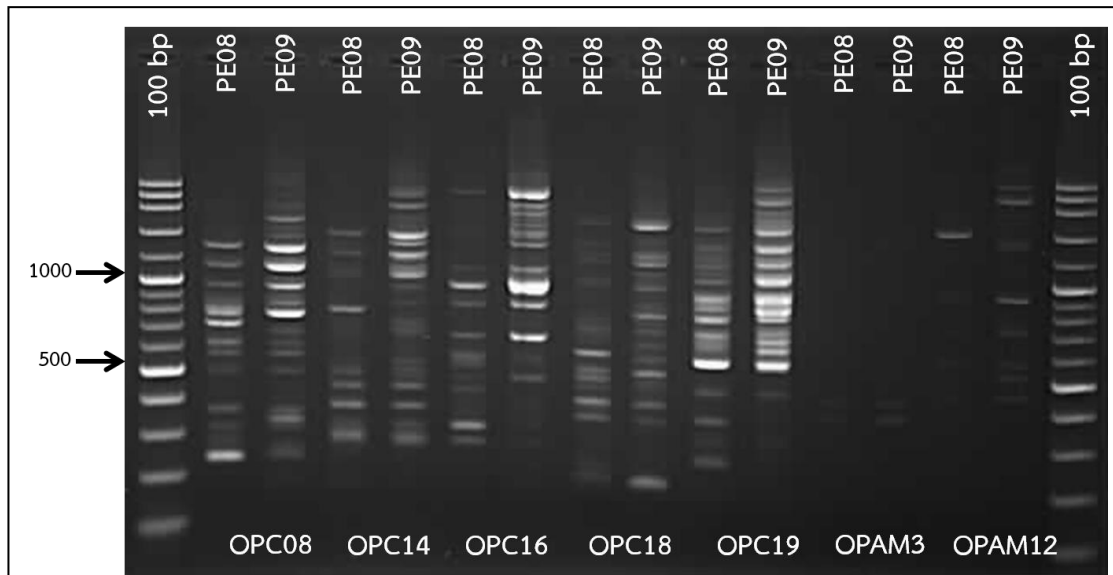
ภาพที่ 2 แสดงแถบดีเอ็นเอจากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมายโมเลกุลชนิด RAPD ด้วยไพรเมอร์ OPA01-OPA07 ในตัวอย่างแป้นสยาม (PE08) และปางเคาะ (PE09) โดยช่องที่ 1 และช่องที่ 17 เป็นดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด 100 คู่เบส



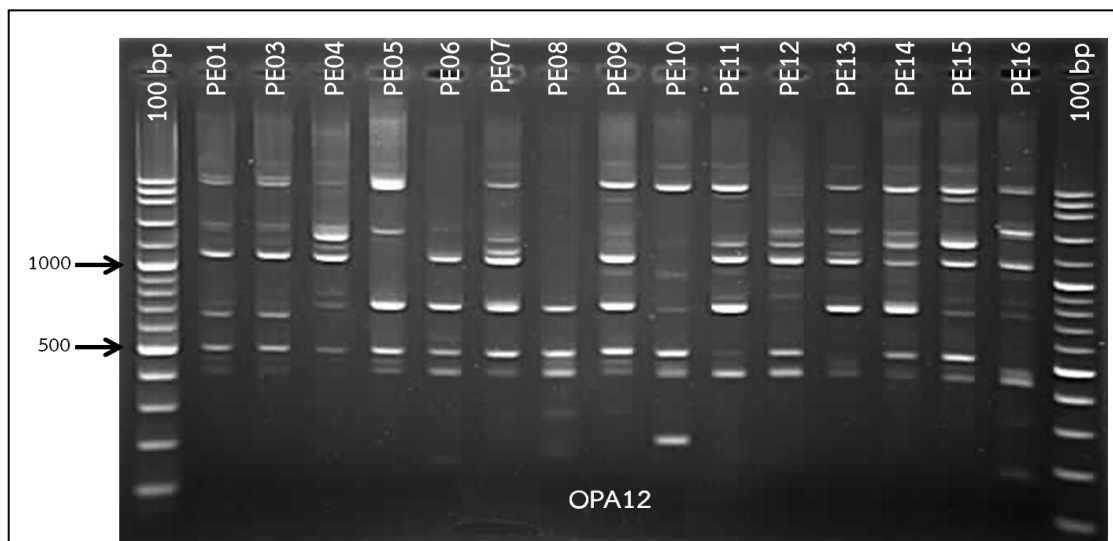
ภาพที่ 3 แสดงแถบดีเอ็นเอจากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมายโมเลกุลชนิด RAPD ด้วยไพรเมอร์ OPA08-OPA14 ในตัวอย่างแป้นสยาม (PE08) และปางเคาะ (PE09) โดยช่องที่ 1 และช่องที่ 17 เป็นดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด 100 คู่เบส



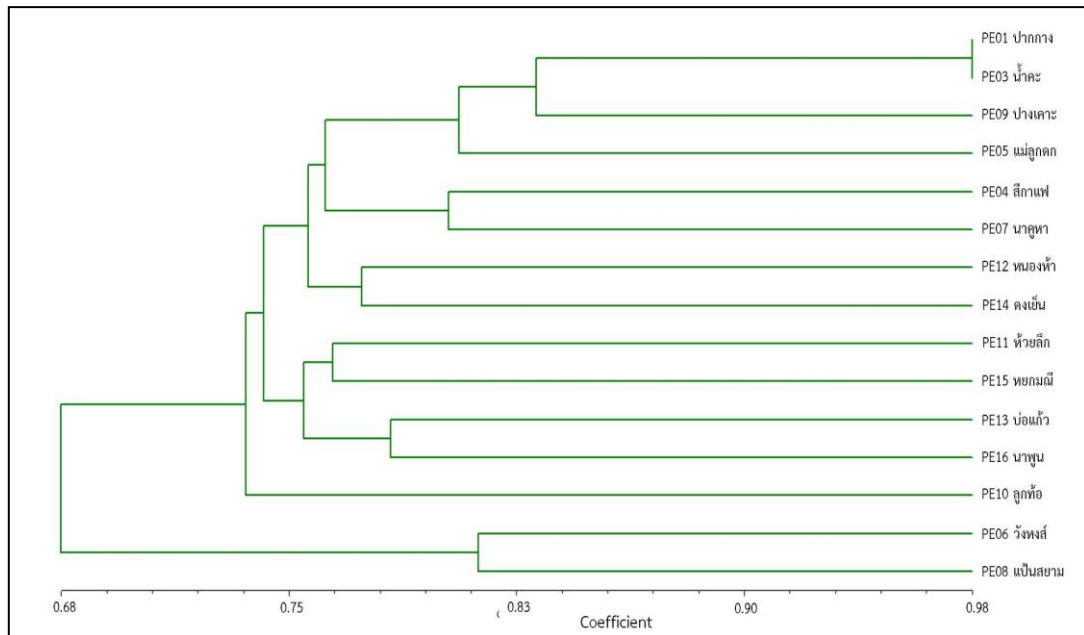
ภาพที่ 4 แสดงแถบดีเอ็นเอจากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมายโมเลกุลชนิด RAPD ด้วยไพรเมอร์ OPA15-OPA17, OPC02, OPC04-OPC06 ในตัวอย่างแป้นสยาม (PE08) และปางเคาะ (PE09) โดยช่องที่ 1 และช่องที่ 17 เป็นดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด 100 คู่เบส



ภาพที่ 5 แสดงแถบดีเอ็นเอจากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมายโมเลกุลชนิด RAPD ด้วยไพรเมอร์ OPC08, OPC14, OPC16, OPC18, OPC19, OPAM03 และ OPAM12 ในตัวอย่างแป้งสาลี (PE08) และแป้งเคาะ (PE09) โดยช่องที่ 1 และช่องที่ 17 เป็นดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด 100 คู่เบส



ภาพที่ 6 แสดงแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างมะขามป้อมจากเครื่องหมายโมเลกุลชนิด RAPD ด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส ในไพรเมอร์ OPA12 โดยช่องที่ 1 และช่องที่ 17 เป็นดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด 100 คู่เบส ช่องที่ 2-15 เป็นช่องของแถบดีเอ็นเอตัวอย่าง



ภาพที่ 7 แสดงแผนภาพความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะขามป้อมจำนวน 15 ตัวอย่างจากเทคนิค RAPD ด้วยวิธี UPGMA โดยโปรแกรม NTSys 2.0e

ปากกาง (PR-02)	น้ำคะ (PY-03)	ปางเคาะ (PR-03)	แม่ลูกดก (K-05)
สีกาแฟ (K-03)	นาคูหา (PR-04)	หนองห้า (PY-01)	ดงเย็น (CM-06)
หัวยล็ก (PY-02)	พยคมณี (K-06)	บ่อแก้ว (PR-05)	นาพูน (PR-06)
ลูกท้อ (K-02)	วังหงส์ (PR-01)	แป้นสยาม (K-01)	

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

มะขามป้อมเป็นพืชที่มีฐานพันธุกรรมกว้างและมีความหลากหลาย ขนาดผลมีความแตกต่างกัน ส่วนใหญ่มีขนาดผลระหว่าง 1.5 - 2.5 ซม. โดย CM-01 มีขนาดผลเล็กที่สุดประมาณ 1.5 ซม. ขนาดผลประมาณ 3 ซม. ได้แก่ PY-01 และ NN-01 ส่วนขนาดผลใหญ่ที่สุดคือ K-01 มีขนาด 3.85 ซม. และมีปริมาณเนื้อหนามากที่สุด 1.26 ซม. มะขามป้อมปริมาณวิตามินซีที่สูงคือ NN-03 LP-01 และ PR-06 มีปริมาณ 887 1,190 และ 1240 มก./100 ก. ตามลำดับ ส่วนค่าดัชนีสารต้านอนุมูลอิสระ PY-01, CR-04 และ CM-01 มีค่าสูงที่สุด คือ 9.44, 9.25 และ 8.34 ตามลำดับ

การวิเคราะห์ ความหลากหลายทางพันธุกรรม ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลและ จำแนกชนิดพันธุ์ของมะขามป้อมด้วยเทคนิค RAPD สามารถแบ่งมะขามป้อมจำนวน 15 ตัวอย่าง ได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ โดยสามารถแบ่งพันธุ์วังหงส์ (PR-01) และแป้นสยาม (K-01) ออกจาก 13 ตัวอย่าง และในจำนวน 13 ตัวอย่างนี้ ลูกท้อ (K-02) จะแตกต่างจากสายพันธุ์อื่น และจำนวน 12 ตัวอย่างสามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อย จำนวน 2 กลุ่มย่อย โดยกลุ่มย่อยที่ 1 ประกอบด้วย พันธุ์ปากกาง (PR-02) น้ำคะ (PY-03) ปางเคาะ (PR-03) แม่ลูกตลก (K-05) สีกาแพ (K-03) นาควหา (PR-04) หนองห้า (PY-01) และดงเย็น (CM-06) และกลุ่มย่อยที่ 2 ประกอบด้วย ห้วยลึก (PY-02) หยกมณี (K-06) บ่อแก้ว (PR-05) และนาพูน (PR-06)

มะขามป้อม เป็นพืชทนแล้งที่มีคุณค่าทางโภชนาการและสารสำคัญที่โดดเด่น มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพร อาหาร เครื่องดื่ม และเวชสำอาง สามารถนำมาแปรรูปได้ผลิตภัณฑ์ที่หลากหลาย ช่วยเพิ่มมูลค่าผลผลิต และสร้างรายได้ให้แก่เกษตรกรและชุมชน จึงควรสนับสนุนการปลูกมะขามป้อม โดยเลือกพันธุ์ปลูกตามวัตถุประสงค์ตามที่ตลาดต้องการ

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

- ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรน่าน อ.เมือง จ.น่าน ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแม่ฮ่องสอน อ.เมือง จ.แม่ฮ่องสอน ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่ อ.ฝาง จ.เชียงใหม่ และศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร อ.เมือง จ.พิจิตร ได้จัดทำแปลงแม่พันธุ์ แห่งละ 2 ไร่ เพื่อขยายกล่อมมะขามป้อมพันธุ์ดี ได้แก่ พันธุ์ PR-01, PR-02, PR-03 PR-06 และ K-01 ให้แก่เกษตรกรในพื้นที่โครงการพระราชดำริภาคเหนือตอนบนและภาคเหนือตอนล่าง
- ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ อ.ตากฟ้า จ.นครสวรรค์ จัดทำ แปลงแม่พันธุ์มะขามป้อม เพื่อขยายกล่อมพันธุ์ดี พันธุ์ PR-01, PR-02, PY-02, PR-06 และ K-01 ในพื้นที่โครงการเพาะและขยายกิ่งไม้ผลพันธุ์ดี ของมูลนิธิชัยพัฒนา อ.ตากฟ้า จ.นครสวรรค์ เพื่อจำหน่ายและแจกจ่ายให้แก่เกษตรกรที่สนใจ
- ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ อ.เมือง จ.ศรีสะเกษ ได้จัดทำแปลงแม่พันธุ์มะขามป้อม พื้นที่ 1 ไร่เพื่อขยายกล่อมพันธุ์ดี พันธุ์ PR-01 ให้แก่เกษตรกรปลูก ในโครงการแปรรูปวัตถุดิบพืชสมุนไพรให้ได้มาตรฐาน เพื่อยกระดับคุณภาพวัตถุดิบสมุนไพรและสร้างอัตลักษณ์ด้านคุณภาพให้แก่สมุนไพรของจังหวัดศรีสะเกษ ให้ได้มาตรฐานตามระบบการปฏิบัติทางการเกษตรที่เหมาะสม (GAP) โดยจะขยายพื้นที่ ปลูกเป้าหมาย 20 ไร่ ปลูกใช้พื้นที่นาร่องใน อ.โพธิ์ศรีสุวรรณ จ.ศรีสะเกษ เพื่อผลิตวัตถุดิบส่งโรงพยาบาลห้วยทับทัน อ.ห้วยทับทัน จ.ศรีสะเกษ สำหรับ ผลิตยาน้ำแก้ไอมะขามป้อม แล้วส่ง ไปยังโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
- โรงพยาบาลสอง อ.สอง จ.แพร่ ได้สร้างเกษตรกรเครือข่ายผู้ผลิตมะขามป้อม พันธุ์ PR-01 ของจังหวัดแพร่ พื้นที่ 150 ไร่ เพื่อผลิตวัตถุดิบสำหรับนำไปใช้ทำยาน้ำแก้ไอ กลุ่มงานแพทย์แผนไทยของโรงพยาบาลสองเพื่อแจกจ่ายให้แก่โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลในพื้นที่ 8 จังหวัดภาคเหนือตอนบน

โดยมีศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแพร่เป็นผู้ถ่ายทอดความรู้ด้านการปลูกและดูแลรักษา มะขามป้อม ให้แก่เกษตรกรเพื่อให้ได้ผลผลิตสูงและมีคุณภาพ เกษตรกรได้มาเรียนรู้และฝึกปฏิบัติการ ขยายพันธุ์ เปลี่ยนยอด โดยมีเจ้าหน้าที่คอยแนะนำและให้คำปรึกษา

- โรงพยาบาลเจ้าพระยาอภัยภูเบศร ต.ท่าแกม อ.เมือง จ.ปราจีนบุรี เตรียมจัดทำแปลงแม่พันธุ์มะขามป้อม ที่มีปริมาณวิตามินซีสูง เพื่อขยายกล้าพันธุ์ดีให้แก่เกษตรกรเครือข่ายในพื้นที่ จ.ปราจีนบุรี และ จ.สระแก้ว ซึ่งทางโรงพยาบาลยังต้องการวัตถุดิบอีกจำนวนมากในการผลิตยาแก้ไอทั้งชนิดน้ำและชนิดเม็ด
- มหาวิทยาลัยแม่โจ้-แพร่ เฉลิมพระเกียรติ ต.แม่ทราย อ.ร้องกวาง จ.แพร่ ใช้แปลงรวบรวมพันธุ์ มะขามป้อม เป็นสถานที่ศึกษาของนักศึกษาสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช ในปี พ.ศ.2559-2561 เพื่อเป็นประโยชน์ต่อการฝึกสหกิจศึกษารวมทั้งประกอบอาชีพในอนาคต
- สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร ใช้แปลง รวบรวมพันธุ์มะขามป้อม เก็บตัวอย่างศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมมะขามป้อม และเป็น สถานที่ศึกษาของนักศึกษาภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
- ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแพร่ ได้ผลิตกล้ามะขามป้อมพันธุ์ดี จำนวน 500 ต้น ในปี 2558-2561 สนับสนุนแก่หน่วยงานต่างๆ เพื่อนำไปปลูกและขยายกิ่งพันธุ์ดี ดังนี้
 1. โครงการบ้านเล็กในป่าใหญ่ตามพระราชดำริ บ้านหนองห้า ต.ร่มเย็น อ.เชียงคำ จ.พะเยา
 2. โครงการศูนย์เรียนรู้การพัฒนาเกษตรอ่างเก็บน้ำห้วยไฟ อันเนื่องมาจากพระราชดำริ อ.ภูซาง จ.พะเยา
 3. โครงการศูนย์เรียนรู้การพัฒนามก้อยตามพระราชดำริ ต.อมก๋อย อ.อมก๋อย จ.เชียงใหม่
 4. โครงการฟาร์มตัวอย่างตามพระราชดำริ บ้านดงเย็น ต.บ้านแปะ อ.จอมทอง จ.เชียงใหม่
 5. โครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริพื้นที่ดอยยาว ดอยผาหม่น และดอยผาจีบ อ.เวียงแก่น จ.เชียงราย
 6. โครงการสวนสมเด็จพระศรีนครินทร์ราชมราชชนนี ต.สามพระยา อ.ชะอำ จ.เพชรบุรี
 7. ดำเนินการพืชช่องเม็ก อ.พิบูลมังสาหาร จ.อุบลราชธานี

กลุ่มเป้าหมาย : นักวิจัย นักวิชาการและบุคลากรในสังกัดกรมวิชาการเกษตร รวมถึงมหาวิทยาลัย หน่วยงานภาครัฐและภาคเอกชนต่างๆ นักอนุกรมวิธานพืช นักปรับปรุงพันธุ์พืช นักเรียน นักศึกษา ประชาชนทั่วไปที่มีความสนใจด้านความหลากหลายทางชีวภาพด้านพืช

11. คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ โครงการศูนย์เรียนรู้การพัฒนามก้อยตามพระราชดำริ บ้านหริม ต.อมก๋อย อ.อมก๋อย จ.เชียงใหม่ เจ้าหน้าที่ โครงการฟาร์มตัวอย่างอันเนื่องมาจากพระราชดำริ บ้านดงเย็น ต.บ้านแปะ อ.จอมทอง จ.เชียงใหม่ เจ้าหน้าที่โครงการบ้านเล็กในป่าใหญ่ตามพระราชดำริ บ้านหนองห้า ต.ร่มเย็น อ.เชียงคำ จ.พะเยา และเจ้าหน้าที่กรมป่าไม้ และกรมอุทยาน สัตว์ป่าและพันธุ์พืช ที่อำนวยความสะดวกในการสำรวจพื้นที่ และเก็บตัวอย่าง และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ ผู้ช่วยนักวิจัย ของศูนย์วิจัยและพัฒนาการแพร่ทุกท่านที่ช่วยปฏิบัติงานภาคสนาม จนทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

12. เอกสารอ้างอิง

จรัสรัตน์ ปานโคก, อรพิน เกิดชูชื่น และณัฐฐา เลาหลูจิตต์. 2555. ประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพืชสมุนไพรไทยบางชนิด. วารสารวิทยาศาสตร์การเกษตร. 43(2) (พิเศษ): 361-364.

- จันทิมา หอมกลบ, หทัยรัตน์ ริมศิริ, สุพนิดา วินิจนัย, นคร เหลืองประเสริฐ และวิชัย หฤทัยธนาสันต์. 2554. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ลิปกลอสไคร่าข้าวที่มีส่วนผสมของไลโปโซมสารสกัดมะขามป้อม. ในเรื่องเติมการประชุมทางวิชาการ ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49: สาขาอุตสาหกรรมเกษตร ระหว่างวันที่ 1-4 ก.พ. 2554. 630-640.
- วรรณภา ทาบโลกา, จินตนา เป็นรัมย์ และ นภาลัย ไยบัว. 2556. ผลของปริมาณแอลกอฮอล์และสภาวะการให้อากาศ ต่อปริมาณวิตามินซีและการผลิตน้ำส้มสายชูหมักมะขามป้อม. ในเรื่องเติมการประชุมทางวิชาการของ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 51: สาขาส่งเสริมการเกษตรและคหกรรม ระหว่าง วันที่ 5-7 ก.พ. 2556. 439- 446.
- Dasaroju, S. and Gottumukkala, K.M. 2014. Current trends in the research of *Embllica officinalis* (Amla): A pharmacological perspective. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review. 24(2): 150-159.
- Doyle, J.J. and Doyle, J.L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochemical Bulletin, 19, 11-15.
- Luo, W., Zhao, M., Yang, B., Ren, J., Shen, G. and Rao, G. 2011. Antioxidant and antiproliferative capacities of phenolics purified from *Phyllanthus emblica* L. fruit. Food Chemistry. 126(1): 277-282
- Mawalagedera, S.M.U.P., Perera, G.A.D. and Sooriyapathirana, S.D.S.S. 2014. Morphological characterization of drupes reveals a higher diversity of *Phyllanthus emblica* germplasm in Anuradhapura, Kandy and Kurunegala Districts of Sri Lanka. Ceylon Journal of Science (Bio. Sci.). 43 (1): 125-135.
- Moazzem Hossen, S.M., Sarkar, R., Mahmud, S. and Abdul Aziz, N.M. 2015. Medicinal potential of *Phyllanthus emblica* (Linn.) fruits extracts: biological and pharmacological activities. BritishJournal of Pharmaceutical Research. 4(12): 1486-1499
- Nei, M. and W. Li. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proc. Natl. Acad. Sci. 76: 5269-5273.
- Prakash, D., Upadhyay, G., Pushpangadan, P. and Gupta, C. 2011. Antioxidant and free radical scavenging activities of some fruits. Journal of Complementary and Integrative Medicine. 8(1):1-16.
- Rajesh kumar, N.V., Pillai, M.R. and Kuttan, R. 2003. Induction of apoptosis in mouse and human carcinoma cell lines by *Embllica officinalis* polyphenols and its effect on chemical carcinogenesis. Journal of Experimental and Clinical Cancer Research. 22(2): 201-212
- Sanjay, K., Singh, M.K., Yadav, S.S. and Gupta, V. 2013. Immunomodulatory role of *Embllica officinalis* in arsenic induced oxidative damage and apoptosis in thymocytes of mice. BMC Complementary and Alternative Medicine. 13: 193-197.
- Scalzo, J., Politi, A., Pellegrini, N., Mezzetti, B. and Battino, M. 2005. Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. Nutrition. 21: 207-213

- Scartezzini, C., Antognoni, F., Raggi, M.A., Poli, F. and Sabbioni, C. 2006. Vitamin C content and antioxidant activity of the fruit and of the Ayurvedic preparation of *Emblica officinalis* Gaertn. *Journal of Ethnopharmacology*. 104: 113-118
- Singh, B., Uniyal, A. K., Rawat, S. M. and Rana, D.K. 2012. Estimation of genetic variability in *Phyllanthus emblica* L. - Towards a contribution in sustainable rural development. *Journal of Horticulture and Forestry*. 4: 92-95
- Williams, J.G., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A. and Tingey, S.V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*. 18(22): 6531-6535.
- Yang, B., Kortessniemi, M., Liu, P., Karonen, M. and Salminen, J.P. 2012. Analysis of hydrolysable tannins and other phenolic compounds in emblic leaf flower (*Phyllanthus emblica* L.) fruits by high performance liquid chromatography- electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 60: 8672-8683
- Zhong, Z., Wu, D., Huang, J., Liang, H., Pan, Z., Zhang, W. and Lu, H. 2011. Progalin A isolated from the acetone ether part of the leaves of *Phyllanthus emblica* L. induces apoptosis of human hepatocellular carcinoma BEL-7404 cells by up-regulation of Bax expression and downregulation of Bcl-2 expression. *Journal of Ethnopharmacology*. 133(2): 765-772.

13. ภาคผนวก



ภาพภาคผนวกที่ 1 การสำรวจและเก็บตัวอย่างมะขามป้อมในพื้นที่ภาคเหนือตอนบน



ภาพภาคผนวกที่ 2 ลักษณะใบ ดอก ผล และเมล็ดของมะขามป้อม



ก) LP-01



ข) K-01



ค) PY-01



ง) PR-06

ภาพภาคผนวกที่ 3 ลักษณะผลและเนื้อผลของมะขามป้อม LP-01, K-01, PY-01 และ PR-06



ภาพภาคผนวกที่ 4 การขยายพันธุ์มะขามป้อมด้วยวิธีเปลี่ยนยอด ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแพร่