รายงานโครงการวิจัย

วิจัยและปรับปรุงพันธุ์มะม่วง ระยะที่ 2

Research and Improvement on Mango: Phase 2

สมพงษ์ สุขเขตต์

Somphong Sukkhet

ปี พ.ศ. 2562

รายงานโครงการวิจัย

วิจัยและปรับปรุงพันธุ์มะม่วง ระยะที่ 2

Research and Improvement on Mango: Phase 2

สมพงษ์ สุขเขตต์

Somphong Sukkhet

ปี พ.ศ. 2562

สารบัญ

สารบัญ	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	1
ผู้วิจัย	2
บทนำ	3
บทคัดย่อ	3
การทดลองที่ 1 การศึกษาและคัดเลือกพันธุ์มะม่วงลูกผสมสายพันธุ์ใหม่เพื่อการส่งออก	6
การทดลองที่ 2 ฐานข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมะม่วงพันธุ์ไทย พันธุ์ต่างประเทศ และพันธุ์ลูกผสม เพื่อการใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์	14
การทดลองที่ 3 การศึกษารวบรวมพันธุ์มะม่วงอกร่อง	27
บทสรุปและข้อเสนอแนะ	39
บรรณานุกรม	40

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ สามารถดำเนินการสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี โดยได้รับความอนุเคราะห์ และความร่วมมือจากหน่วยงานและบุคคลหลายฝ่ายด้วยกัน คณะผู้ดำเนินการขอขอบคุณ

กรมวิชาการเกษตร ในการให้การสนับสนุนทุนปฏิบัติงานการวิจัย

เจ้าหน้าที่ฝ่ายสถิติ กรมวิชาการเกษตร ที่ให้คำแนะนำในการวางแผนการทดลอง

ผู้ช่วยวิจัยที่ปฏิบัติงานทุกท่าน ตลอดจนเจ้าหน้าที่ฝ่ายบันทึกข้อมูลที่ได้รวบรวมข้อมูล ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาวิจัย

ผู้บังคับบัญชาที่สนับสนุน และช่วยดำเนินการ ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลงด้วยดี

ผู้วิจัย

สมพงษ์ สุขเขตต์	Somphong Sukkhet
ธวัชชัย นิ่มกิ่งรัตน์	Tawatchai nimkingrat
รัชนี ศิริยาน	Ratchanee Siriyan
ประภาพร ฉันทานุมัติ	Prapaporn Chantanumat
ทวีศักดิ์ แสงอุดม	thaveesak Sangudom
ศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล	Suchirat Sa-nguanrangsirikul
วิลาวัณย์ ใคร่ครวญ	wilawan kraikruan
ศิริพร วรกุลดำรงชัย	Siriporn Worakuldamrongchai
ศศิมา เมืองแก้ว	Sasima Muangkwaew

บทนำ

มะม่วงเป็นไม้ผลที่สำคัญของประเทศไทย มีพื้นที่ปลูกมากกว่า 2 ล้านไร่ ผลผลิตประมาณ 2.1 ล้านตัน ประเทศไทยจัดเป็นผู้ผลิตมะม่วงเป็นอันดับ 4 ของโลก รองจากประเทศอินเดีย แมกซิโก และปากีสถาน พันธุ์มะม่วงที่เป็นที่รู้จักของตลาดต่างประเทศมีจำกัด พันธุ์ที่ได้รับความนิยม คือ น้ำดอกไม้เบอร์ 4 และน้ำดอกไม้สีทอง ซึ่งส่งออกในรูปผลไม้สด และบรรจุกระป๋อง ส่งออกไปยังต่างประเทศ เช่น ญี่ปุ่น ออสเตรเลีย สหรัฐอเมริกา เนเธอร์แลนด์ นิวซีแลนด์ และรัสเซีย พันธุ์มะม่วงของไทยมีมากกว่า 170 พันธ์ แต่เป็นที่นิยมปลูกและเป็นที่รู้จักของผู้บริโภค มีเพียง 10-20 พันธุ์ จึงจะเห็นได้ว่า เรายังขาดการนำพันธุกรรมที่มีอยู่มาใช้ประโยชน์อย่างจริงจัง โดยนำพันธุ์กรรมที่มีจุดเด่นของแต่ละสายพันธุ์ นำมาผสมข้ามพันธุ์เพื่อให้ได้มะม่วงพันธุ์ใหม่ที่มีลักษณะทางการเกษตรที่ดี นำเสนอแก่ผู้บริโภคไม่ว่าจะเป็นการบริโภคดิบ บริโภคสุก หรือการแปรรูป เพื่อเปิดตลาดมะม่วงของไทยให้มีความหลากหลายมากยิ่งขึ้น ในการสร้างมะม่วงลูกผสมศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษได้ดำเนินงานวิจัยการรวบรวมพันธุ์และการสร้างลูกผสมมะม่วงพันธุ์ใหม่เพื่อการส่งออก ซึ่งการดำเนินงานดังกล่าว ได้มีการผสมข้ามพันธุ์มะม่วง เพื่อสร้างมะม่วงลูกผสมและคัดเลือกให้ได้พันธุ์ใหม่ แต่เนื่องจากการขยายพันธุ์มะม่วงด้วยการเพาะเมล็ด เกิดต้นกล้าจากเมล็ดที่เกิดจากการผสมข้ามพันธุ์มากกว่า 1 ต้น ทำให้ไม่สามารถแยกต้นกล้าลูกผสมออกจากต้นกล้าที่เป็นพันธุ์แม่ได้ และมะม่วงที่เกิดจากการเพาะเมล็ดต้องใช้ระยะเวลานานในการติดผล จึงจะทราบต้นที่เป็นลูกผสม ดังนั้นการใช้เครื่องหมายโมเลกุลเพื่อช่วยในการคัดเลือก จะช่วยแก้ปัญหาการแยกต้นมะม่วงลูกผสมจากต้นพ่อแม่ได้ นอกจากนี้ยังมีการศึกษารวบรวมพันธุ์มะม่วงอกร่อง เพื่อการพัฒนาสายพันธุ์ให้เหมาะกับการผลิตเชิงการค้ามากขึ้น และคงเอกลักษณ์ความโดดเด่นของมะม่วงพันธุ์ไทยหนึ่งเดียวของบ้านเรา ที่ใช้สำหรับรับประทานคู่กับข้าวเหนียวได้อร่อยที่สุด

บทคัดย่อ

การวิจัยและปรับปรุงพันธุ์มะม่วงระยะที่ 2 ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ และศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี เริ่มดำเนินการ ตุลาคม 2558 สิ้นสุด กันยายน 2562 ระยะเวลา 4 ปี ประกอบไปด้วย 3 การทดลอง คือ 1)การศึกษาและคัดเลือกพันธุ์มะม่วงลูกผสมสายพันธุ์ใหม่เพื่อการส่งออก 2) ฐานข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมะม่วงพันธุ์ไทยพันธุ์ต่างประเทศ และพันธุ์ลูกผสม เพื่อการใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ 3) การศึกษารวบรวม

พันธุ์มะม่วงอกร่อง ผลการทดลองที่ 1 การศึกษาและคัดเลือกพันธุ์มะม่วงลูกผสมสายพันธุ์ใหม่เพื่อการส่งออก สามารถรวบรวมต้นแม่พันธุ์มะม่วงลูกผสมจำนวน 80 สายต้น จากศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษจำนวน 58 สายต้น และศูนย์วิจัยพืชสวนสุโขทัยจำนวน 22 สายต้น นำมาสร้างแปลงการศึกษาและคัดเลือกพันธุ์มะม่วงลูกผสมสายพันธุ์ใหม่เพื่อการส่งออก โดยการเพิ่มประชากรของมะม่วงด้วยการขยายพันธุ์โดยวิธีเสียบข้าง (Side-grafting) จำนวน 6 ต้น/สายต้น ในปี 2562 สามารถเพิ่มปริมาณมะม่วงได้ 63 สายต้น และมีเพียง 1 สายต้นที่ให้ผลผลิต คือ Sensation x ศรีสะเกษ 0072 โดยผลมีลักษณะคล้ายพันธุ์น้ำดอกไม้ และสีผลคล้ายพันธุ์ Sensation ผลการทดลองที่ 2 สามารถเก็บลักษณะสัณฐานวิทยาของใบมะม่วง 34 พันธุ์/สายพันธุ์ การสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นดำเนินการในมะม่วง 29 พันธุ์/สายพันธุ์ โดยใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ จำนวน 50 ไพรเมอร์ ดำเนินการในมะม่วง 2 ชุด โดยในมะม่วงชุดที่ 1 เป็นพันธุ์ต่างประเทศและกลุ่มน้ำดอกไม้ จำนวน 24 พันธุ์/สายพันธุ์ สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ 48 ไพรเมอร์ พบแถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่าง 185 แถบ หลังจากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์หาค่า similarity coefficient แล้วสร้างเดนโดรแกรมด้วยโปรแกรม NTSYS pc 2.1 เพื่อศึกษาหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม และศึกษาโครงสร้างภายในของลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมะม่วงสายพันธุ์ต่างๆ ด้วยโปรแกรม Structure v.2.3 สามารถจัดกลุ่มมะม่วงเป็น 7 กลุ่ม โดยพบว่า มะม่วงลูกผสมเป็นลูกผสมในกลุ่มน้ำดอกไม้ทั้งหมด มีเพียง 1 สายพันธุ์ที่ไม่เป็นลูกผสมแต่จัดอยู่ในกลุ่มน้ำดอกไม้เช่นกัน ในมะม่วงชุดที่ 2 เป็นพันธุ์ลูกผสมทั้งหมด 5 สายพันธุ์ พบว่า การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ จำนวน 25 ไพรเมอร์ พบแถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่าง 85 แถบ เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม สามารถจัดกลุ่มมะม่วงได้ 4 กลุ่ม โดยสายพันธุ์ ศก.0092 มีความแตกต่างมากที่สุดในกลุ่ม ผลการทดลองที่ 3 สามารถรวบรวมมะม่วงอกร่องได้จำนวน 19 ตัวอย่าง ขยายพันธุ์โดยใช้วิธีการเสียบกิ่งข้างบนต้นตอมะม่วงแก้วนำไปปลูกลงแปลงในแปลงทดลองศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี ห้วยสะพานหิน จำแนกความแตกต่างของพันธุ์โดยใช้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากใบอ่อนก่อนเพสลาด โดยดำเนินการที่ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ ศึกษาโครงสร้างภายในของลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมะม่วงอกร่องสายพันธุ์ต่างๆ ด้วยโปรแกรม Structure v.2.3 สามารถจัดกลุ่มมะม่วงอกร่องเป็น 3 กลุ่ม ส่วนการจำแนกด้วยลักษณะทรงพุ่มและผลขณะดิบสามารถแบ่งเบื้องต้นได้อย่างน้อย 5 กลุ่ม ดำเนินการระหว่างปี 2560-2562 สำหรับต้นมะม่วงที่ปลูกลงแปลงจะมีการบันทึกข้อมูลลักษณะประจำพันธุ์โดยใช้แบบบันทึกของ IBGRI Descriptor for Mango ต่อไป

คำสำคัญ : การคัดเลือกพันธุ์ มะม่วงลูกผสมสายพันธุ์ใหม่ ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ การวิเคราะห์ลักษณะทางพันธุกรรม รวบรวมพันธุ์ มะม่วงอกร่อง

Abstract

The research and improvement on mango: Phase 2 was conducted at Sisaket Horticultural Research Center and Chantaburi Horticultural Research Center for four years from October 2015 to September 2019. The project consisted of three experiments including 1) study and selection on new hybrid mango varieties for export 2) DNA fingerprint database of Thai, introduced and hybrid mangos for breeding and 3) collection of Mango var. Ok-rong for further breeding. The result of the first experiment, the study and selection on new hybrid mango varieties for export, could collected 80 hybrid mango, 58 clones from Sisaket Horticultural Research Center and 22 clones from Sukothai Horticultural Research Center. These clones were multiplied by side-grafting for 6 plants per clone. In 2019, the grafting has been done for 63 clones. The hybrid mango, Sensation x Sisaket 0072 has produced flowers and fruit-set. The appearance of fruit shape was similar to Nam Dok Mai variety and the skin color was similar to Sensation variety. The result of the second experiment, DNA fingerprint database of Thai, introduced and hybrid mangos for breeding, Morphological leaves of 34 mangos were recorded. DNA fingerprint were analyzed in 29 mangos with 50 microsatellite primers. The experiments were studied in two set. The first set included 24 of Thai, introduced and hybrid mango. The DNA was amplified by 48 primer pairs which showed 185 polymorphic DNA bands. The DNA bands were analyzed for similarity coefficient and clustering using NTSYS pc 2.1. The genetic analysis and DNA structure were analyzed by STRUCTURE v2.3. According to the dendrogram, mango samples were divided into 7 groups. It was found that hybrid mango varieties were in the entire Nam Dokmai group. There was only one variety was not hybrid but also in Nam Dokmai group. The second set included five hybrid mango varieties. The DNA was amplified by 25 microsatellite primers which gave 85 polymorphic bands. Hybrid mango was divided into four groups and SK0092 was mostly difference. The result of the third experiment, collection of mango var. Ok-rong for further breeding, The collection of 19 clone of ok-rong mango was conducted between 2017 – 2019. Scion from the old plant which brought to grafted to the kwew mango until their ready to grown in the field at Chantaburi Horticultural Research Center. The DNA fingerprint was used to difference classification from the young leaves. The genetic analysis and DNA structure were analyzed by STRUCTURE v2.3. There were at three groups of

mango. The classification with canopy and raw fruit could divided into five groups. The plant characteristic in each clone was noted along to IBGRI the descriptor of Mango.

Keywords: selection, new hybrid mango varieties**,** DNA fingerprint, Genetic analysis, Germplasm collection, Ok-rong mango

การทดลองที่ 1 การศึกษาและคัดเลือกพันธุ์มะม่วงลูกผสมสายพันธุ์ใหม่เพื่อการส่งออก

Study and selection on new hybrid mango varieties for export

คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง	นายสมพงษ์	สุขเขตต์	สังกัด	ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ
ผู้ร่วมงาน	นายธวัชชัย	นิ่มกิ่งรัตน์	สังกัด	ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ
	นางสาวรัชนี	ศิริยาน	สังกัด	ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ
	นางสาวประภาพร	ฉันทานุมัติ	สังกัด	ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ
	นายทวีศักดิ์	แสงอุดม	สังกัด	สถาบันวิจัยพืชสวน

คำสำคัญ : การคัดเลือกพันธุ์ มะม่วงลูกผสมสายพันธุ์ใหม่

Keywords : Mango selection, New hybrid mango varieties

บทคัดย่อ

การศึกษาและคัดเลือกพันธุ์มะม่วงลูกผสมสายพันธุ์ใหม่เพื่อการส่งออก ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ ระยะเวลาดำเนินการตุลาคม 2558 ถึงกันยายน 2562 รวม 4 ปี ไม่มีการวางแผนการทดลอง สามารถรวบรวมต้นแม่พันธุ์มะม่วงลูกผสมจำนวน 80 สายต้น จากศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษจำนวน 58 สายต้น และศูนย์วิจัยพืชสวนสุโขทัยจำนวน 22 สายต้น นำมาสร้างแปลงการศึกษาและคัดเลือกพันธุ์มะม่วงลูกผสมสายพันธุ์ใหม่เพื่อการส่งออก โดยการเพิ่มประชากรของมะม่วงด้วยการขยายพันธุ์โดยวิธีเสียบข้าง (Side-grafting) จำนวน 6 ต้น/สายต้น ในปี 2562 สามารถเพิ่มปริมาณมะม่วงได้ 63 สายต้น และมีเพียง 1 สายต้นที่ให้ผลผลิตคือ Sensation x ศรีสะเกษ 0072 โดยผลมีลักษณะคล้ายพันธุ์น้ำดอกไม้ และสีผลคล้ายพันธุ์ Sensation

Abstract

The objective of this study was to study and select hybrid mango varieties for export. The hybrid mango selection was established at Sisaket Horticultural Research Center for 4 years from October 2015 to September 2019. There was not experimental design. Eighty hybrid mango varieties were collected, 58 clones from Sisaket Horticultural Research Center and 22 clones from Sukothai Horticultural Research Center. These clones were multiplied by side-grafting for 6 plants per clone. In 2019, the grafting has been done for 63 clones. The hybrid mango, Sensation x Sisaket 0072 has produced flowers and fruit-set. The appearance of fruit shape was similar to Nam Dok Mai variety and the skin color was similar to Sensation variety.

บทนำ

มะม่วงเป็นไม้ผลที่สำคัญของประเทศไทย มีพื้นที่ปลูกมากกว่า 2 ล้านไร่ ผลผลิตประมาณ 2.1 ล้านตัน ประเทศไทยจัดเป็นผู้ผลิตมะม่วงเป็นอันดับ 4 ของโลก รองจากประเทศอินเดีย แมกซิโก และปากีสถาน พันธุ์มะม่วงที่เป็นที่รู้จักของตลาดต่างประเทศมีจำกัด พันธุ์ที่ได้รับความนิยม คือ น้ำดอกไม้เบอร์ 4 และน้ำดอกไม้สีทอง

ซึ่งส่งออกในรูปผลไม้สด และบรรจุกระป๋อง ส่งออกไปยังต่างประเทศ เช่น ญี่ปุ่น ออสเตรเลีย สหรัฐอเมริกา เนเธอร์แลนด์ นิวซีแลนด์ และรัสเซีย พันธุ์มะม่วงของไทยมีมากกว่า 170 พันธ์ แต่เป็นที่นิยมปลูกและเป็นที่รู้จักของผู้บริโภค มีเพียง 10-20 พันธุ์ จึงจะเห็นได้ว่า เรายังขาดการนำพันธุกรรมที่มีอยู่มาใช้ประโยชน์อย่างจริงจัง โดยนำพันธุ์กรรมที่มีจุดเด่นของแต่ละสายพันธุ์ นำมาผสมข้ามพันธุ์เพื่อให้ได้มะม่วงพันธุ์ใหม่ที่มีลักษณะทางการเกษตรที่ดี นำเสนอแก่ผู้บริโภคไม่ว่าจะเป็นการบริโภคดิบ บริโภคสุก หรือการแปรรูป เพื่อเปิดตลาดมะม่วงของไทยให้มีความหลากหลายมากยิ่งขึ้น

ระเบียบวิธีการวิจัย

- อุปกรณ์

1. ต้นตอมะม่วงแก้ว เพื่อทำการขยายพันธุ์มะม่วงลูกผสม
2. ยอดพันธุ์มะม่วงลูกผสม จำนวน 80 คู่ผสม ที่รวบรวมจากศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ และศูนย์วิจัยพืชสวนสุโขทัย
3. สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช
4. วัสดุคลุมดิน ฟางข้าว
5. ปุ๋ยอินทรีย์ ปุ๋ยเคมี สูตร 15-15-15 13-13-21 และ 12-24-12

อุปกรณ์บันทึกข้อมูล

- วิธีการทดลอง

การวางแผนการทดลอง ไม่มีการวางแผนการทดลอง

วิธีดำเนินงาน

1. นำต้นมะม่วงลูกผสมที่ได้จากการเพาะเมล็ดลงปลูกในแปลงแม่พันธุ์จำนวน 58 สายต้น
2. นำยอดพันธุ์มะม่วงลูกผสมจากศูนย์วิจัยพืชสวนสุโขทัยมาทำการขยายพันธุ์โดยวิธีเสียบข้าง จำนวน 22 สายต้น
3. การสร้างแปลงศึกษาและคัดเลือกมะม่วงลูกผสมสายพันธุ์ใหม่เพื่อการส่งออก
   3.1 ปลูกต้นตอมะม่วงแก้ว ใช้ระยะปลูก 6x6 เมตร (ระยะระหว่างต้นxระยะระหว่างแถว) ขนาดหลุม กว้าง x ยาว x ลึก (80 x 80 x 80 ซม.) ใส่ปุ๋ยคอกรองก้นหลุม 5 กก./หลุม หินฟอสเฟส 500 กรัม/หลุม ปุ๋ยเคมี 15-15-15 อัตรา 150 กรัม ปูนขาว 200 กรัม/หลุม
   3.2 ทำการขยายกิ่งพันธุ์มะม่วงลูกผสมทั้ง 80 สายต้น ที่รวบรวมมาจากแปลงแม่พันธุ์มะม่วงลูกผสมจากศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ และศูนย์วิจัยพืชสวนสุโขทัย ด้วยวิธีการเสียบข้าง (Side grafting) จำนวนสายต้นละ 6 ต้น

3.3 การใส่ปุ๋ย ใส่ปีละ 2 ครั้ง ๆ แรกใส่ต้นฤดูฝน ช่วงเดือนมิถุนายน ครั้งที่สองปลายเดือนกันยายน

4. การฝากยอดพันธุ์มะม่วงลูกผสมกับต้นมะม่วงที่พร้อมจะให้ผลผลิตโดยวิธีเสียบข้าง เพื่อประเมินการออกดอกและติดผลของมะม่วงลูกผสม จำนวน 60 คู่ผสม

การบันทึกข้อมูล

ทำการเก็บข้อมูลการออกดอกติดผล ผลผลิตและประเมินผลผลิตมะม่วงลูกผสมแต่ละคู่ผสมจากแปลงมะม่วงลูกผสมต้นแม่พันธุ์และต้นที่นำยอดพันธุ์มะม่วงลูกผสมไปฝาก เพื่อทำการคัดเลือกต้นที่มีผลผลิตและคุณภาพที่ดี

- เวลาและสถานที่

เริ่มดำเนินการ ตุลาคม 2558 สิ้นสุด กันยายน 2562 ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ

ผลการวิจัย

1. ดูแลรักษาต้นแม่พันธุ์มะม่วงลูกผสมจำนวน 58 สายต้น
2. การสร้างแปลงศึกษาและคัดเลือกมะม่วงลูกผสมสายพันธุ์ใหม่เพื่อการส่งออก

2.1 ปี 2560 ได้ทำการปลูกต้นตอมะม่วงแก้ว และดูแลรักษาให้ต้นสมบูรณ์พร้อมที่จะทำการเปลี่ยนยอดมะม่วงลูกผสม

2.2 ปี 2561 ทำการเปลี่ยนยอดมะม่วงลูกผสมกับต้นตอมะม่วงแก้วที่เตรียมไว้ในปี 2560 เพื่อเป็นการเพิ่มประชากรของมะม่วงลูกผสมโดยการเปลี่ยนยอดมะม่วงลูกผสมที่ได้จากแปลงแม่พันธุ์ จำนวน 63 สายต้น โดยปลูกสายต้นละ 6 ต้น ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 พันธุ์มะม่วงลูกผสมในแปลงคัดเลือกพันธุ์จำนวน 63 คู่ผสม

ลำดับ	คู่ผสม	ลำดับ	คู่ผสม	ลำดับ	คู่ผสม
1	Irwin 1 x มหาชนก	22	Kensington x มหาชนก	43	ศก 0080 x R2E2 30
2	Irwin 2 x มหาชนก	23	น้ำดอกไม้สีทอง x Salam(ยาว) 1	44	ศก 0080 x R2E2 31
3	Irwin 3 x มหาชนก	24	น้ำดอกไม้สีทอง x Salam(ยาว) 2	45	R2E2 x ศก 0082 33
4	Irwin 4 x มหาชนก	25	น้ำดอกไม้สีทอง x Salam(ยาว) 3	46	R2E2 x น้ำดอกไม้สีทอง 34
5	salam(ยาว) 1 x มหาชนก	26	น้ำดอกไม้สีทอง x Salam(ยาว) 5	47	R2E2 x น้ำดอกไม้สีทอง 35
6	salam(ยาว) 2 x มหาชนก	27	น้ำดอกไม้สีทอง x Salam(ยาว) 6	48	R2E2 x น้ำดอกไม้สีทอง 36
7	salam(ยาว) 3 x มหาชนก	28	น้ำดอกไม้สีทอง x Salam(ยาว) 7	49	R2E2 x น้ำดอกไม้สีทอง 37
8	salam(ยาว) 4 x มหาชนก	29	น้ำดอกไม้สีทอง x R2E2 8	50	Lippen x ศก 0072 38
9	salam(ยาว) 5 x มหาชนก	30	น้ำดอกไม้สีทอง x R2E2 9	51	Lippen x ศก 0072 40

10	salam (ยาว) 6 x มหาชนก	31	ศก 0080 x Lippen 11	52	Lippen x ศก 0072 41
11	Duncan x มหาชนก	32	น้ำดอกไม้ x Kensington 12	53	Lippen x ศก 0072 42
12	Duncan x มหาชนก 1	33	น้ำดอกไม้ x kensington 13	54	น้ำดอกไม้สีทอง x ศก 0005 45
13	Duncan 3 x มหาชนก	34	น้ำดอกไม้ x Kensington 14	55	ศก 0005 x น้ำดอกไม้สีทอง 46
14	Keitte 1 x มหาชนก	35	น้ำดอกไม้ x Kensington 15	56	salam(ยาว) x น้ำดอกไม้สีทอง 47
15	Keitte 2 x มหาชนก	36	น้ำดอกไม้ x Kensington 16	57	ศก 0082 x kensington 49
16	Keitte 3 x มหาชนก	37	น้ำดอกไม้ x Kensington 17	58	ศก 0082 x kensington 50
17	Keitte 4 x มหาชนก	38	น้ำดอกไม้ x Kensington 20	59	ศก 0082 x kensington 51
18	Keitte 5 x มหาชนก	39	น้ำดอกไม้ x Kensington 21	60	ศก 0080 x kent 55
19	Keitte 6 x มหาชนก	40	ศก 0080 x Lippen 22	61	ศก 0072 x Sensation 59
20	Keitte 7 x มหาชนก	41	ศก 0080 x R2E2 25	62	ศก 0072 x Sensation 60
21	Jing hong x มหาชนก	42	ศก 0080 x R2E2 28	63	Lippen x ศก 0080 63

3. มะม่วงพันธุ์ลูกผสมที่นำยอดพันธุ์ไปฝากไว้กับต้นมะม่วงที่พร้อมจะให้ผลผลิตจำนวน 60 สายต้น ในปี 2562 ปรากฏว่าไม่สามารถออกดอกและติดผล
4. เก็บข้อมูลการออกดอกและติดผลของมะม่วงลูกผสม ในปี 2562 สามารถให้ผลผลิตจำนวน 1 คู่ผสม คือ มะม่วงลูกผสมพันธุ์ Sensation x ศรีสะเกษ 0072 ดังข้อมูลต่อไปนี้

น้ำหนักผลเฉลี่ย อยู่ที่ 366 กรัม ความกว้างผลเฉลี่ย อยู่ที่ 7.22 เซนติเมตร ความยาวผลเฉลี่ย อยู่ที่ 16.5 เซนติเมตร และความหนาผล อยู่ที่ 6.14 เซนติเมตร (ตารางที่ 2)

น้ำหนักเมล็ดเฉลี่ย อยู่ที่ 47 กรัม ความกว้างเมล็ด อยู่ที่ 4.12 เซนติเมตร ความยาวเมล็ดเฉลี่ย 13.78 เซนติเมตร และความหนาผลเฉลี่ย อยู่ที่ 2.02 เซนติเมตร (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ข้อมูลน้ำหนักผล ขนาดผล น้ำหนักเมล็ด และขนาดเมล็ดมะม่วงลูกผสมพันธุ์ Sensation x ศรีสะเกษ 0072

พันธุ์	ผลที่	น้ำหนักผล (กรัม)	ขนาดผล (ซม.)			น้ำหนักเมล็ด (กรัม)	ขนาดเมล็ด (ซม.)		
			กว้าง	ยาว	หนา		กว้าง	ยาว	หนา
Sensation x ศก.0072	1	410	7.8	18	6.1	50	4.2	15	2.1
	2	370	7.4	16	6.3	55	4.6	13	2.2
	3	280	6.5	15	5.8	40	3.5	12.5	1.8
	4	440	7.4	17.5	6.3	50	4.2	14.4	2
	5	330	7	16	6.2	40	4.1	14	2
เฉลี่ย		366	7.22	16.5	6.14	47	4.12	13.78	2.02

น้ำหนักเนื้อเฉลี่ย อยู่ที่ 225 กรัม น้ำหนักเปลือกเฉลี่ย อยู่ที่ 47 กรัม ความหนาเนื้อเฉลี่ย อยู่ที่ 1.68 กรัม ความหนาเปลือกเฉลี่ย อยู่ที่ 0.14 กรัม และเปอร์เซ็นต์ความหวานเฉลี่ย อยู่ที่ 18.02 Brix (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ข้อมูลน้ำหนักเนื้อ น้ำหนักเปลือก ความหนาเนื้อ ความหนาเปลือก และเปอร์เซ็นต์ความหวานมะม่วงลูกผสมพันธุ์ Sensation x ศรีสะเกษ 0072

พันธุ์	ผลที่	น้ำหนักเนื้อ (กรัม)	น้ำหนักเปลือก (กรัม)	ความหนาเนื้อ (กรัม)	ความหนาเปลือก (กรัม)	ความหวาน (Brix)
Sensation x ศก.0072	1	270	45	1.5	0.2	16.4
	2	225	45	1.6	0.1	19.0
	3	170	35	1.5	0.1	17.7
	4	280	55	2.2	0.2	20.2
	5	180	55	1.6	0.1	16.8
เฉลี่ย		225	47	1.68	0.14	18.02

น้ำหนักเมล็ดเนื้อในเฉลี่ย อยู่ที่ 27 กรัม ความกว้างเมล็ดเนื้อในเฉลี่ย อยู่ที่ 3.67 เซนติเมตร ความยาวเมล็ดเนื้อใน อยู่ที่ 7.48 เซนติเมตร และความหนาเมล็ดเนื้อใน อยู่ที่ 1.66 เซนติเมตร (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ข้อมูลน้ำหนักเมล็ดเนื้อใน และขนาดเมล็ดเนื้อในมะม่วงลูกผสมพันธุ์ Sensation x ศรีสะเกษ 0072

พันธุ์	ผลที่	น้ำหนักเมล็ดเนื้อใน (กรัม)	ขนาดเมล็ดเนื้อใน (ซม.)		
			กว้าง	ยาว	หนา
Sensation x ศก.0072	1	30	3.5	7.7	1.7
	2	35	3.6	8.3	1.9
	3	20	3.2	7.6	1.4
	4	25	4	7.2	1.7
	5	25	3.9	6.6	1.6
เฉลี่ย		27	3.64	7.48	1.66

ข้อมูลสีเปลือกมะม่วงลูกผสมพันธุ์ Sensation x ศรีสะเกษ 0072 พบว่าสีเปลือกดิบ คือ G 138 B สีเปลือกสุกคือ YON 114 A สีเนื้อดิบ คือ Y 4 C สีเนื้อสุก คือ YO 21 B (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ข้อมูลสีเปลือกผลและสีเนื้อผลมะม่วงลูกผสมพันธุ์ Sensation x ศรีสะเกษ 0072

พันธุ์	สีเปลือกผล ดิบ	สีเปลือกผลสุก	สีเนื้อผล ดิบ	สีเนื้อผล สุก
Sensation x ศก.0072	G 138 B	YON 114 A	Y 4 C	YO 21 B

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การศึกษาและคัดเลือกมะม่วงลูกผสมสายพันธุ์ใหม่เพื่อการส่งออก สามารถรวบรวมมะม่วงลูกผสม จากศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษจำนวน 58 สายต้น และศูนย์วิจัยพืชสวนสุโขทัยจำนวน 22 สายต้น นำมาสร้างแปลงคัดเลือกพันธุ์ได้จำนวน 63 สายต้น โดยมีประชากรสายพันธุ์ละ 6 ต้น ในปี 2562 มะม่วงลูกผสมได้ออกดอกติดผลจำนวน 1 สายต้นคือ สายต้น Sensation x ศรีสะเกษ 0072 ซึ่งมีลักษณะทรงผลคล้ายน้ำดอกไม้ สีเปลือกผลดิบ G 138 B สีเปลือกผลสุก YON 114 A

เอกสารอ้างอิง

จุรีพร วิทยาสนธยา. 2530. ผลวิเคราะห์คุณภาพมะม่วงพันธุ์ต่างประเทศ 10 พันธุ์. รายงานการวิเคราะห์บริษัทอาหารสยามจำกัด. 28 หน้า

ฉลองชัย แบบประเสริฐ. 2537. พันธุ์มะม่วงอุตสาหกรรมและการปรับปรุงพันธุ์. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 9 หน้า

ฉลองชัย แบบประเสริฐ. 2531. มะม่วงคั้นน้ำ. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 8 หน้า

บุหลัน พิทักษ์ผล สุจินดา นิมมานิตย์ น้อย สาริกภูติ วารุณี วรัญญานนท์ สุภารัตน์ เรืองมณีไพฑูรย์ และ ศุภารัตน์ ชวนะ. 2523. มะม่วงบรรจุกระป๋อง รวมเรื่องเกี่ยวกับมะม่วง ชมรมผู้พัฒนามะม่วงแห่งประเทศไทย. หน้า 87-100.

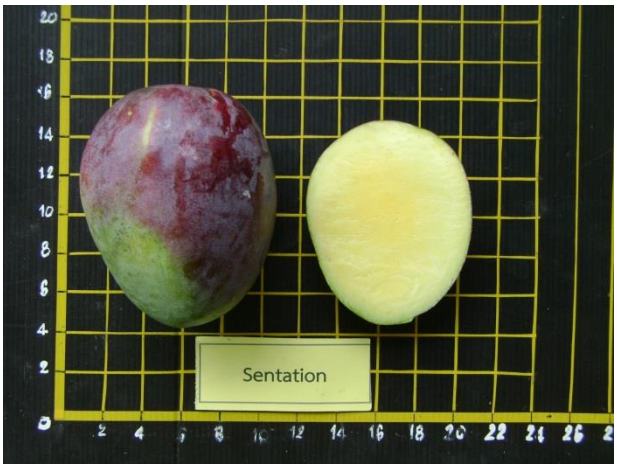
วิจิตร วังใน สัมฤทธิ์ เฟื่องจันทร์ ฉลองชัย แบบประเสริฐ โสฬส จินดาประเสริฐ ทวีเกียรติ ยิ้มสวัสดิ์ อำนวย คำตื้น สมเกียรติ จันทรกระจ่าง แววจักร กองพลพรหม ประเสริฐ อนุพันธ์ และไสว สุหร่าย. 2531. การปรับปรุงพันธุ์มะม่วง. โดยสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ มหาวิทยาลัยขอนแก่นมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และสำนักงานเกษตรภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. 31 หน้า

จุลภาค คุ้นวงษ์. 2542. เทคโนโลยีชีวภาพและการปรับปรุงพันธุ์มะม่วง. สาระไม้ผล 4(3) : 12-13

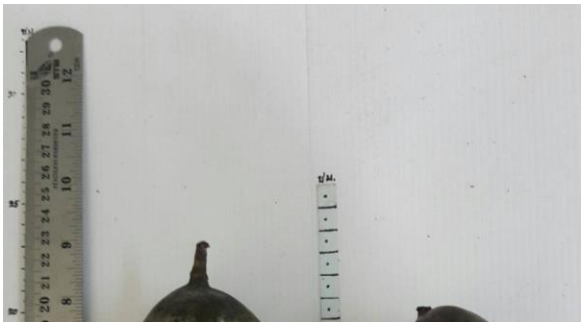
ภาคผนวก

ภาพที่ 1 แปลงศึกษาและคัดเลือกพันธุ์มะม่วงลูกผสมสายพันธุ์ใหม่เพื่อการส่งออก

ภาพที่ 2 การฝากยอดมะม่วงลูกผสมไว้กับต้นมะม่วงที่พร้อมให้ผลผลิต



X



ภาพที่ 3 มะม่วงลูกผสม Sensation x ศก. 0072

การทดลองที่ 2 ฐานข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมะม่วงพันธุ์ไทย พันธุ์ต่างประเทศ และพันธุ์ลูกผสม เพื่อการใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์

DNA fingerprint database of Thai, introduced and hybrid mangos for breeding

คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง	นางสาวรัชนี	ศิริยาน	สังกัด ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ
ผู้ร่วมงาน	นายสมพงษ์	สุขเขตต์	สังกัด ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ
	นายธวัชชัย	นิ่มกิ่งรัตน์	สังกัด ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ
	นางสาวศุจิรัตน์	สงวนรังศิริกุล	สังกัด ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น

คำสำคัญ: มะม่วงลูกผสม ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ การวิเคราะห์ลักษณะทางพันธุกรรม

Keywords: Hybrid mango, DNA fingerprint, Genetic analysis

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมะม่วงพันธุ์ไทย พันธุ์ต่างประเทศ และพันธุ์ลูกผสม โดยเก็บลักษณะสัณฐานวิทยาของใบมะม่วง 34 พันธุ์/สายพันธุ์ การสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นดำเนินการในมะม่วง 29 พันธุ์/สายพันธุ์ โดยใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ จำนวน 50 ไพรเมอร์ ดำเนินการในมะม่วง 2 ชุด โดยในมะม่วงชุดที่ 1 เป็นพันธุ์ต่างประเทศและกลุ่มน้ำดอกไม้ จำนวน 24 พันธุ์/สายพันธุ์ สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ 48 ไพรเมอร์ พบแถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่าง 185 แถบ หลังจากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์หาค่า similarity coefficient แล้วสร้างเดนโดรแกรมด้วยโปรแกรม NTSYS pc 2.1 เพื่อศึกษาหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม และศึกษาโครงสร้างภายในของลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมะม่วงสายพันธุ์ต่างๆ ด้วยโปรแกรม Structure v.2.3 สามารถจัดกลุ่มมะม่วงเป็น 7 กลุ่ม โดยพบว่า มะม่วงลูกผสมเป็นลูกผสมในกลุ่มน้ำดอกไม้ทั้งหมด มีเพียง 1 สายพันธุ์ที่ไม่เป็นลูกผสมแต่จัดอยู่ในกลุ่มน้ำดอกไม้เช่นกัน ในมะม่วงชุดที่ 2 เป็นพันธุ์ลูกผสมทั้งหมด 5 สายพันธุ์ พบว่า การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ จำนวน 25 ไพรเมอร์ พบแถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่าง 85 แถบ เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม สามารถจัดกลุ่มมะม่วงได้ 4 กลุ่ม โดยสายพันธุ์ ศก.0092 มีความแตกต่างมากที่สุดในกลุ่ม

Abstract

This study aimed to study on DNA fingerprint of Thai, introduced and hybrid mangos. Morphological leaves of 34 mangos were recorded. DNA fingerprint were analyzed in 29 mangos with 50 microsatellite primers. The experiments were studied in two set. The first set included 24 of Thai, introduced and hybrid mango. The DNA was amplified by 48 primer pairs which showed 185 polymorphic DNA bands. The DNA bands were analyzed for similarity coefficient and clustering using NTSYS pc 2.1. The genetic analysis and DNA structure were analyzed by STRUCTURE v2.3. According to the dendrogram, mango samples were divided into 7 groups. It was found that hybrid mango varieties were in the entire Nam Dokmai group. There was only one variety was not hybrid but also in Nam Dokmai group. The second set included five hybrid mango varieties. The DNA was amplified by 25 microsatellite primers which gave 85 polymorphic bands. Hybrid mango was divided into four groups and SK0092 was mostly difference.

บทนำ

มะม่วงจัดเป็นไม้ผลเศรษฐกิจที่สำคัญอีกชนิดหนึ่ง เนื่องจากปลูกง่าย โตเร็ว รับประทานได้ทั้งผลสุกและผลดิบ สำหรับมะม่วงในประเทศไทย มีรายงานไว้ถึง 250 สายพันธุ์ บางสายพันธุ์มีลักษณะคล้ายกัน บางสายพันธุ์มีลักษณะแตกต่างกัน บางสายพันธุ์อาจจะมีชื่อเรียกหลายชื่อแตกต่างกัน ตามสภาพภูมิประเทศที่เป็นแหล่งปลูก

จากการที่มีชื่อเรียกแตกต่างกันก็เป็นสาเหตุให้เกิดความสับสนในการจำแนกสายพันธุ์ได้ง่าย การศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ตามหลักเกณฑ์ของ IPGRI ของมะม่วงที่รวบรวมไว้ และการวิเคราะห์ลักษณะภายนอกพบว่ามีบางลักษณะที่คล้ายคลึงกัน จึงได้จัดแบ่งกลุ่มมะม่วงพันธุ์ต่างๆ โดยศึกษาจากลักษณะทรงพุ่มต้น ใบ ช่อดอก และผล โดยใช้ลักษณะใบและทรงผลเป็นหลัก และลักษณะอื่นๆ เป็นองค์ประกอบ ซึ่งสามารถจำแนกกลุ่มได้เป็น 8 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มแก้ว กลุ่มเขียวเสวย กลุ่มน้ำดอกไม้ กลุ่มหนังกลางวัน กลุ่มอกร่อง กลุ่มพราหมณ์ กลุ่มผลกลม และกลุ่มเบ็ดเตล็ด (สำนักคุ้มครองพันธุ์พืชแห่งชาติ, 2544) ซึ่งการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์โดยใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียว อาจเกิดความผิดพลาดได้ง่าย เนื่องจากลักษณะบางลักษณะแยกจากกันได้ยากหรือไม่แตกต่างกันเลย ลักษณะบางลักษณะอาจเกิดจากสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน ดังนั้น การทราบข้อมูลความแตกต่างในระดับดีเอ็นเอ เพื่อใช้สนับสนุนลักษณะทางสัณฐานวิทยา จะทำให้การจำแนกพันธุ์รวดเร็วและถูกต้องมากขึ้น การทราบความใกล้ชิดทางพันธุกรรมจะเป็นประโยชน์ต่อการปรับปรุงพันธุ์มะม่วง โดยเฉพาะการสร้างมะม่วงพันธุ์ใหม่จากพันธุ์ลูกผสม ซึ่งต้องการพ่อแม่ที่มีความแตกต่างกันทางพันธุกรรมมาก

ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษได้ดำเนินงานวิจัย การรวบรวมพันธุ์และการสร้างลูกผสมมะม่วงพันธุ์ใหม่เพื่อการส่งออก ซึ่งการดำเนินงานดังกล่าว ได้มีการผสมข้ามพันธุ์มะม่วง เพื่อสร้างมะม่วงลูกผสมและคัดเลือกให้ได้พันธุ์ใหม่ แต่เนื่องจากการขยายพันธุ์มะม่วงด้วยการเพาะเมล็ด เกิดต้นกล้าจากเมล็ดที่เกิดจากการผสมข้ามพันธุ์มากกว่า 1 ต้น ทำให้ไม่สามารถแยกต้นกล้าลูกผสมออกจากต้นกล้าที่เป็นพันธุ์แม่ได้ และมะม่วงที่เกิดจากการเพาะเมล็ดต้องใช้ระยะเวลานานในการติดผล จึงจะทราบต้นที่เป็นลูกผสม ดังนั้นการใช้เครื่องหมายโมเลกุลเพื่อช่วยในการคัดเลือก จะช่วยแก้ปัญหาการแยกต้นมะม่วงลูกผสมจากต้นพ่อแม่ได้

ระเบียบวิธีการวิจัย

- อุปกรณ์

มะม่วงพันธุ์/สายพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ พันธุ์ไทย พันธุ์ต่างประเทศและพันธุ์ลูกผสม สารเคมีในการวิเคราะห์ลักษณะทางพันธุกรรม ได้แก่ dNTP, Taq DNA polymerase, agarose ฯลฯ

- วิธีการ

1. เก็บข้อมูลลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงสายพันธุ์ต่างๆที่เก็บรวบรวมไว้ในศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ เพื่อเป็นฐานข้อมูลของมะม่วงแต่ละสายพันธุ์

2. เก็บตัวอย่างใบมะม่วงสายพันธุ์ต่างๆ นำมาสกัดดีเอ็นด้วยวิธี CTAB วัดปริมาณและคุณภาพดีเอ็นเอ

3. เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ไพรเมอร์ Microsatellite ด้วยเครื่อง PCR ตามวิธีการของ Begun *et al.* (2012) เมื่อปฏิกิริยาสิ้นสุด นำผลผลิตที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ตรวจสอบผลการปรากฏของแถบดีเอ็นเอด้วยเทคนิคโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโตรโฟเรซีส ที่ความเข้มข้น 4.5% ย้อมเจลด้วยสีย้อมซิลเวอร์ไนเตรท ($AgNO_3$) แล้วนำไปวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่ปรากฏบนแผ่นเจลภายใต้แสงยูวี เปรียบเทียบขนาดของแถบดีเอ็นเอที่ได้กับดีเอ็นเอมาตรฐาน วิเคราะห์ลักษณะลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมะม่วงสายพันธุ์ต่างๆ โดยบันทึกการปรากฏหรือไม่ปรากฏของแถบดีเอ็นเอ จัดกลุ่มด้วยวิธี Unweighted pair group arithmetic average (UPGMA) วิเคราะห์

ลักษณะลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมะม่วงพันธุ์/สายพันธุ์ต่างๆ เปรียบเทียบกับการจำแนกสายพันธุ์โดยใช้ลักษณะสัณฐานวิทยา เพื่อจัดทำเป็นฐานข้อมูลพันธุ์มะม่วงในประเทศไทย

4. เก็บใบมะม่วงลูกผสมที่ต้องการตรวจสอบมาสกัดดีเอ็นเอ คัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลที่แยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อแม่ นำมาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของมะม่วงพันธุ์ลูกผสม เปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอกับพันธุ์พ่อแม่

การบันทึกข้อมูล

ข้อมูลลักษณะสัณฐานวิทยาของมะม่วงพันธุ์/สายพันธุ์ต่างๆ ข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมะม่วงพันธุ์ต่างๆ และมะม่วงลูกผสม

เวลาและสถานที่ เริ่มต้น ปี 2559 สิ้นสุด ปี 2562 รวม 4 ปี **สถานที่** ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ

ผลการวิจัย

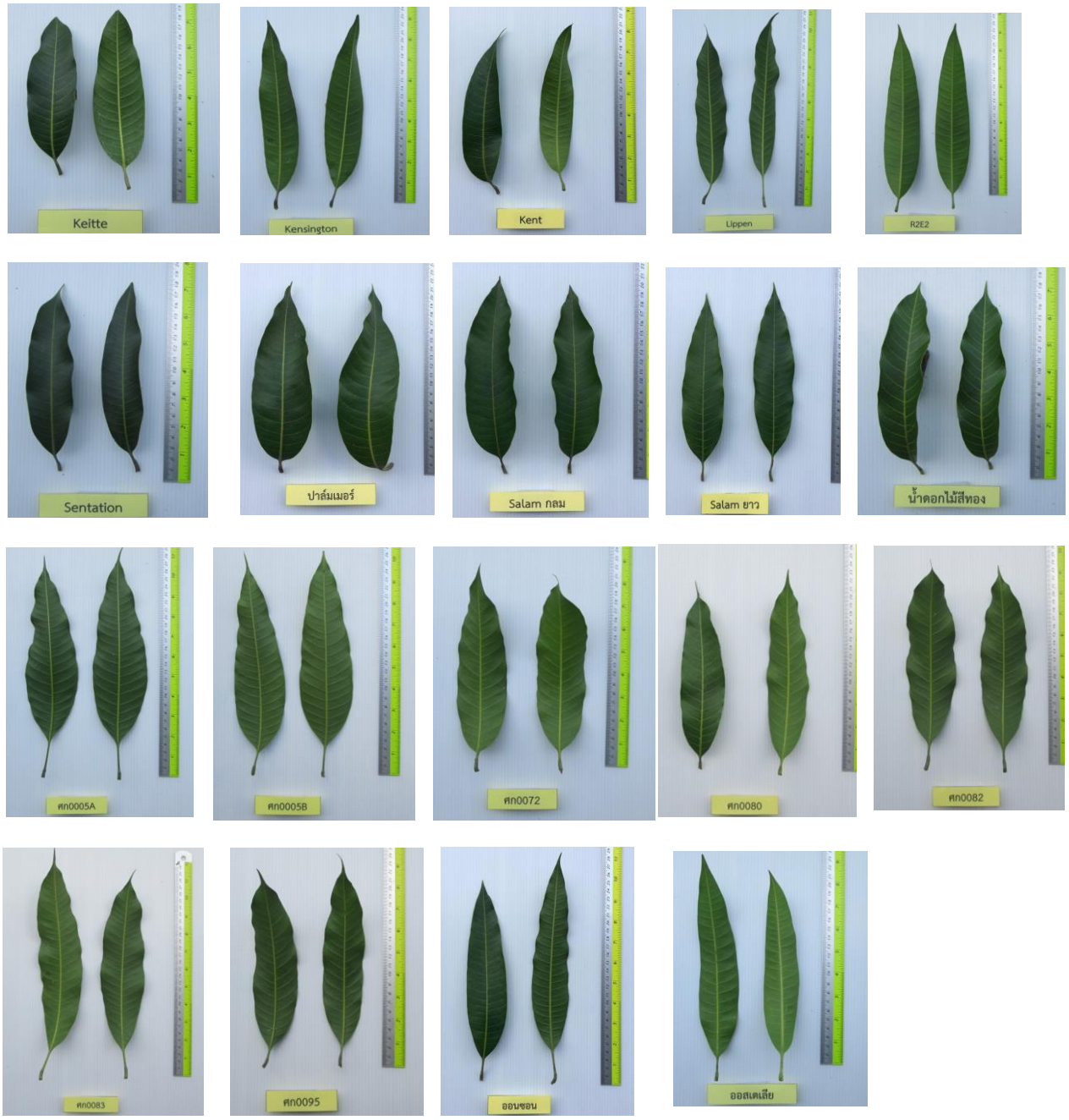
1. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาใบของมะม่วงพันธุ์ต่างประเทศและพันธุ์ลูกผสม

บันทึกข้อมูลลักษณะสัณฐานวิทยาใบของมะม่วงพันธุ์ต่างประเทศและพันธุ์ลูกผสม ตามคู่มือการตรวจสอบลักษณะพันธุ์พืชมะม่วงสำหรับพนักงานเจ้าหน้าที่ของสำนักคุ้มครองพันธุ์พืช จำนวน 34 พันธุ์/สายพันธุ์ ได้แก่ Keitte, Kensington, Kent, Lippen, R2E2, Sensation, Palmer, Salamผลกลม, Salamผลยาว, ศก.0005A, ศก.0005B, ศก.0072, ศก.0080, ศก.0082, ศก.0083, ศก.0095, ออนซอน, ออสเตรเลีย, Ruby, Kohrade Lahor, Brook, indiaเล็ก, indiaใหญ่, Duncan, Betti, Vilard Amabalaci, Yin Kwe, Kartha Kolomban, Lata, Sunset, Pandian, Shwehintho และ Sientalon โดยเก็บใบมะม่วงที่เจริญเติบโตเต็มที่แล้วด้านนอกทรงพุ่มบริเวณกลางลำต้น พันธุ์/สายพันธุ์ละ 20 ใบ บันทึกลักษณะของใบมะม่วง (ตารางที่ 1) ถ่ายภาพของใบมะม่วงแต่พันธุ์ /สายพันธุ์ (ภาพที่ 1)

ตารางที่ 1 ลักษณะสัณฐานวิทยาด้านใบของมะม่วงพันธุ์ต่างประเทศและพันธุ์ลูกผสม

ลำดับที่	สายพันธุ์	ความยาวใบ (ซม.)	ความกว้างใบ (ซม.)	รูปร่างใบ	สีใบแก่	รูปร่างส่วนฐานใบ	รูปร่างส่วนปลายใบ
1	Keitte	18.6	5.8	รูปไข่	เขียวแก่	แหลม	เรียวแหลม
2	Kensington	20.0	5.1	ขอบขนาน	เขียวแก่	แหลม	เรียวแหลม
3	Kent	16.8	4.2	ขอบขนาน	เขียวแก่	แหลม	เรียวแหลม
4	Lippen	23.1	5.2	ขอบขนาน	เขียวแก่	แหลม	เรียวแหลม
5	R2E2	19.4	4.6	ขอบขนาน	เขียวแก่	แหลม	เรียวแหลม
6	Sensation	16.9	4.2	ขอบขนาน	เขียวแก่	แหลม	เรียวแหลม
7	Palmer	16.8	4.7	ขอบขนาน	เขียว	แหลม	สอบเรียว
8	Salamกลม	18.4	5.1	รี	เขียว	แหลม	สอบเรียว
9	Salamยาว	18.3	4.9	ขอบขนาน	เขียว	แหลม	สอบเรียว
10	ศก.0005A	24.1	6.6	รี	เขียวแก่	แหลม	เรียวแหลม
11	ศก.0005B	22.8	6.3	รี	เขียวแก่	แหลม	เรียวแหลม
12	ศก.0072	21.5	5.8	ขอบขนาน	เขียวแก่	แหลม	เรียวแหลม
13	ศก.0080	19.5	4.9	ขอบขนาน	เขียวแก่	แหลม	เรียวแหลม
14	ศก.0082	21.5	5.5	ขอบขนาน	เขียวแก่	แหลม	เรียวแหลม
15	ศก.0083	21.3	5.1	ขอบขนาน	เขียว	แหลม	เรียวแหลม
16	ศก.0095	25.5	6.0	ขอบขนาน	เขียว	แหลม	เรียวแหลม
17	ออนซอน	21.0	4.5	ขอบขนาน	เขียว	แหลม	เรียวแหลม
18	ออสเตรเลีย	19.5	4.4	ขอบขนาน	เขียวอมเหลือง	แหลม	สอบเรียว
19	Ruby	16.0	5.0	ขอบขนาน	เขียว	แหลม	สอบเรียว
20	Kohrade	19.9	4.7	ขอบขนาน	เขียว	แหลม	เรียวแหลม
21	Lahor india	18.2	5.0	รี	เขียว	แหลม	สอบเรียว
22	Brook	16.7	5.1	ไข่	เขียว	แหลม	เรียวแหลม
23	india เล็ก	17.5	3.6	ขอบขนาน	เขียวแก่	แหลม	สอบเรียว
24	india ใหญ่	17.8	4.5	ขอบขนาน	เขียว	แหลม	สอบเรียว
25	Dundan	21.1	5.6	ไข่	เขียว	แหลม	เรียวแหลม
26	Betti	15.8	3.7	ขอบขนาน	เขียว	แหลม	สอบเรียว
27	Vilard Amabalaci	16.6	4.1	ขอบขนาน	เขียวแก่	แหลม	สอบเรียว
28	Yin Kwe	19.7	4.5	ขอบขนาน	เขียวแก่	แหลม	เรียวแหลม
29	Kartha Kolomban	18.3	5.0	รี	เขียวอมเหลือง	แหลม	สอบเรียว
30	Lata	20.0	5.5	รี	เขียวแก่	แหลม	สอบเรียว
31	Sun Set	17.8	5.2	ไข่	เขียวแก่	แหลม	เรียวแหลม
32	Pandian	20.2	5.4	รี	เขียวแก่	แหลม	สอบเรียว

33	Shwehintho	19.0	4.7	รี	เขียว		แหลม	สอบเรียว
34	Sientalon	20.4	4.5	ขอบขนาน	เขียว		แหลม	สอบเรียว



ภาพที่ 1 ลักษณะใบมะม่วงพันธุ์ต่างประเทศและพันธุ์ลูกผสม

2. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาใบของมะม่วงพันธุ์ไทย

เก็บข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยาใบของมะม่วง ตามคู่มือการตรวจสอบลักษณะพันธุ์พืชมะม่วงสำหรับพนักงานเจ้าหน้าที่ของสำนักคุ้มครองพันธุ์พืช จำนวน 9 พันธุ์ (ตารางที่ 2) โดยเก็บใบมะม่วงที่เจริญเติบโตเต็มที่แล้วด้านนอกทรงพุ่มบริเวณกลางลำต้น พันธุ์ละ 20 ใบ บันทึกลักษณะของใบมะม่วงแต่ละพันธุ์

ตารางที่ 2 ลักษณะสัณฐานวิทยาด้านใบของมะม่วงพันธุ์ไทย

ลำดับที่	พันธุ์	ความยาวใบ (ซม.)	ความกว้างใบ (ซม.)	รูปร่างใบ	สีใบแก่	รูปร่างส่วนฐานใบ	รูปร่างส่วนปลายใบ
1	ทองดำ	18.4	4.7	ขอบขนาน	เขียว	แหลม	เรียวแหลม
2	โอชารส	16.2	4.5	ขอบขนาน	เขียว	แหลม	เรียวแหลม
3	ศรีสยาม	17.9	4.1	ขอบขนาน	เขียว	แหลม	เรียวแหลม
4	พญาก้อม	20.5	4.3	รี	เขียว	แหลม	สอบเรียว
5	มรกต	19.5	5.4	รี	เขียว	แหลม	เรียวแหลม
6	อกร่องสกลนคร	16.6	4.2	รี	เขียว	แหลม	สอบเรียว
7	เวียดนาม	18.4	4.9	ขอบขนาน	เขียวแก่	แหลม	สอบเรียว
8	น้ำดอกไม้ตาเลี๊ยบ	19.4	5.2	ขอบขนาน	เขียวอมเหลือง	แหลม	เรียวแหลม
9	น้ำดอกไม้สีทอง	20.4	5.2	ขอบขนาน	เขียวอมเหลือง	แหลม	เรียวแหลม

3. การสกัดดีเอ็นเอมะม่วงพันธุ์ไทย พันธุ์ต่างประเทศและพันธุ์ลูกผสม

เก็บใบอ่อนมะม่วง จำนวน 29 พันธุ์/สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์น้ำดอกไม้ น้ำดอกไม้สีทอง น้ำดอกไม้ตาเลี๊ยบ อกร่องตาเปรื่อง ออนซอน ออสเตรเลีย Salamยาว Salamกลม R2E2 Kensington Indiaเล็ก Indiaใหญ่ Aroomanis Lippen Kent Keitte Sensation ศก.0003 ศก.0005 ศก.0006 ศก.0009 ศก.0005A ศก.0005B ศก.0072 ศก.0080 ศก.0082 ศก.0083 ศก.0092 และ ศก.0095 สกัดดีเอ็นเอจากใบอ่อนมะม่วงตามวิธีการของ Fulton *et al.* (1995) โดยมีขั้นตอนดังนี้ ตัดใบมะม่วงเป็นชิ้นเล็กๆ โดยตัดเส้นกลางใบออก ใส่ใบลงในโกร่ง เติม Microprep buffer ปริมาตร 150 ไมโครลิตร บดใบให้ละเอียด เติม Microprep buffer ปริมาตร 600 ไมโครลิตร หลังจากนั้นใส่ลงในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร บ่มที่ 65 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที เติม Chloroform : Isoamyl (24:1) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองแล้วกลับหลอดไปมาเพื่อให้สารละลายเข้ากัน ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ดูดสารละลายส่วนใสใส่หลอดใหม่ เติม Chloroform : Isoamyl (24:1) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร อีกครั้ง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ดูดสารละลายส่วนใสใส่หลอดใหม่ เติม Isopropanol (เย็นจัด) ปริมาตรเท่ากับส่วนใส กลับหลอดไปมาเบาๆ เพื่อให้ดีเอ็นเอตกตะกอน ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที เทสารละลายทิ้ง

ให้เหลือเฉพาะส่วนตะกอนดีเอ็นเอ ล้างด้วย 70% ethanol ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว รอบ 10,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที เทสารส่วนบนทิ้ง ให้เหลือเฉพาะตะกอนดีเอ็นเอ ตากตะกอนดีเอ็นเอให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง นานประมาณ 2-3 ชั่วโมง ละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย TE buffer ปริมาตร 50 ไมโครลิตร เก็บที่อุณหภูมิ -4 องศาเซลเซียส กำจัดอาร์เอ็นเอด้วย RNaseA 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที วัดความเข้มข้นของดีเอ็นเอด้วยเครื่อง Nucleic Acid Analyzer (Nano-200) ผลการสกัดดีเอ็นเอจากใบมะม่วงที่ใช้เป็นพันธุ์พ่อแม่พบว่า ดีเอ็นเอมะม่วง จำนวน 18 พันธุ์ มีคุณภาพค่อนข้างดี โดยมีความเข้มข้นประมาณ 1,000-4,000 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร

4. **การทดสอบหาสภาพที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยา PCR**

(1) ทดสอบการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในปฏิกิริยาพีซีอาร์ ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วย ดีเอ็นเอ 25 นาโนกรัม, 1X PCR buffer, MgCl2 2.5 มิลลิโมลาร์, dNTP 0.2 มิลลิโมลาร์, Primer 0.25 ไมโครโมลาร์ และ *Taq* DNA polymerase (Promega) 1 ยูนิต ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ใช้อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ดังนี้ denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ตามด้วย denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที annealing ที่อุณหภูมิที่เหมาะสมของแต่ละไพรเมอร์ (Begum *et al*., 2012) นาน 30 วินาที และ extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที ทำปฏิกิริยาจำนวน 40 รอบ และ final extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 8 นาที หลังจากนั้นนำผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้ (PCR product) มาทำการแยกขนาดดีเอ็นเอ ด้วยวิธีเจลอิเล็กโทรโฟรีซิสโดยใช้อะกาโรส 1.5 เปอร์เซ็นต์

(2) วิธีของ Kumar *et al*. (2013) ในองค์ประกอบพีซีอาร์ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วยดีเอ็นเอ 50 นาโนกรัม 1X PCR buffer $MgCl_2$ 2 มิลลิโมลาร์ dNTP 0.015 มิลลิโมลาร์, Primer 0.5 ไมโครโมลาร์ และ Taq DNA polymerase (Promega) 0.5 ยูนิต ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ใช้อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ดังนี้ Denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ตามด้วย Denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที Annealing ที่อุณหภูมิที่เหมาะสมของแต่ละไพรเมอร์ (Begum *et al*., 2012) นาน 1 นาที และ Extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที ทำปฏิกิริยาจำนวน 40 รอบ และ Final extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที หลังจากนั้นนำผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้ (PCR product) มาทำการแยกขนาดดีเอ็นเอ ด้วยวิธีเจลอิเล็กโทรโฟรีซิสโดยใช้อะกาโรส 1.5 เปอร์เซ็นต์

(3) วิธีของ Willams *et al*. (1990) ในองค์ประกอบพีซีอาร์ ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ประกอบด้วย ดีเอ็นเอ 50 นาโนกรัม 1X PCR buffer $MgCl_2$ 2 มิลลิโมลาร์ dNTP 0.1 มิลลิโมลาร์ primer 0.2 ไมโครโมลาร์ และ Taq DNA polymerase (Promega) 0.5 ยูนิต ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ใช้อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ดังนี้ Denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ตามด้วย denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที annealing ที่อุณหภูมิที่เหมาะสมของแต่ละไพรเมอร์ (Begum *et al*., 2012) นาน 1 นาที และ Extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที ทำปฏิกิริยาจำนวน 40 รอบ และ Final

extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที หลังจากนั้นนำผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้ (PCR product) มาทำการแยกขนาดดีเอ็นเอ ด้วยวิธีเจลอิเล็กโทรโฟรีซิสโดยใช้อะกาโรส 1.5 เปอร์เซ็นต์

(4) วิธีของ Ravishankar *et al*. (2011) ในองค์ประกอบพีซีอาร์ ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วย ดีเอ็นเอ 50 นาโนกรัม Tris-HCL 67 มิลลิโมลาร์ $(NH_4)SO_4$ 18 มิลลิโมลาร์ $MgCl_2$ 2 มิลลิโมลาร์ dNTP 0.1 มิลลิโมลาร์, primer 0.2 ไมโครโมลาร์ และ Taq DNA polymerase (Promega) 0.5 ยูนิต ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ใช้อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ดังนี้ Denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ตามด้วย Denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที Annealing ที่อุณหภูมิที่เหมาะสมของแต่ละไพรเมอร์ (Begum *et al*., 2012) นาน 1 นาที และ Extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที ทำปฏิกิริยาจำนวน 40 รอบ และ Final extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที หลังจากนั้นนำผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้ (PCR product) มาทำการแยกขนาดดีเอ็นเอ ด้วยวิธีเจลอิเล็กโทรโฟรีซิสโดยใช้อะกาโรส 1.5 เปอร์เซ็นต์

ผลการทดสอบหาสภาพที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธี PCR พบว่า วิธีของ Williams *et al.* (1990) เมื่อนำผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้มาทำการแยกขนาดดีเอ็นเอ ด้วยวิธีเจลอิเล็กโทรโฟรีซิสโดยใช้อะกาโรส 1.5 เปอร์เซ็นต์ สามารถเห็นแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างชัดเจนกว่าการใช้องค์ประกอบ PCR ตามวิธีอื่นๆ หลังจากได้สภาพที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแล้ว ได้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอตามวิธีการดังกล่าวในมะม่วงทุกพันธุ์/สายพันธุ์ โดยได้ดำเนินการในเครื่องหมาย SSR และนำไปแยกแถบดีเอ็นเอด้วยวิธีโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิส

5. การสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมะม่วงพันธุ์ไทย พันธุ์ต่างประเทศและพันธุ์ลูกผสม

5.1 การสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมะม่วงพันธุ์ไทย พันธุ์ต่างประเทศและพันธุ์ลูกผสม ชุดที่ 1

การสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมะม่วงพันธุ์ไทยและพันธุ์ต่างประเทศ จำนวน 17 พันธุ์ ได้แก่ น้ำดอกไม้ indiaเล็ก indiaใหญ่ Salamกลม Salamยาว Kent Aroomanis น้ำดอกไม้สีทอง ออนซอน ออสเตรเลีย Keitte Kensington Sensation Lippen R2E2 อกร่องตาเปรื่อง และน้ำดอกไม้ตาเลี๊ยบ มะม่วงลูกผสมในกลุ่มน้ำดอกไม้ จำนวน 7 สายพันธุ์ ได้แก่ ศก.0072 ศก.0080 ศก.0082 ศก.0083 ศก.0095 ศก.0005A ศก.0005B ดำเนินการโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล Microsatellite จำนวน 50 ไพรเมอร์ พบว่า สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในปฏิกิริยาพีซีอาร์ได้และให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่าง จำนวน 185 แถบจาก 48 ไพรเมอร์ และแถบดีเอ็นเอที่ไม่แตกต่างจำนวน 2 แถบจาก 2 ไพรเมอร์

หลังจากนั้นจะได้นำแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏจากไพรเมอร์ต่างๆ นำไปวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่ปรากฏบนแผ่นเจล เปรียบเทียบขนาดของแถบดีเอ็นเอที่ได้กับดีเอ็นเอมาตรฐาน วิเคราะห์ลักษณะลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมะม่วงพันธุ์ต่างๆ โดยบันทึกการปรากฏของแถบดีเอ็นเอเท่ากับ 1 หรือการไม่ปรากฏของแถบดีเอ็นเอเท่ากับ 0 วิเคราะห์ข้อมูลโดยโปรแกรม NTSYS pc 2.1 วิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน (Similarity coefficient) (ภาพที่ 2) โดยมะม่วงที่มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนมากที่สุด คือ พันธุ์อกร่องตาเปรื่องและน้ำดอกไม้ตาเลี๊ยบ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนเท่ากับ 0.96 หรือ 96 เปอร์เซ็นต์ และพันธุ์ที่มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนน้อยที่สุด คือ

Salam ยาว และ ศก.0005A อกร่องตาเปรื่อง น้ำดอกไม้ตาเลี๊ยบ โดยมีค่าเท่ากับ 0.47 หรือ 47 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นจัดกลุ่มด้วยวิธี Unweighted pair group arithmetic average (UPGMA) และศึกษาโครงสร้างภายในของลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมะม่วงสายพันธุ์ต่างๆ ด้วยโปรแกรม Structure v.2.3 (ภาพที่ 3) สามารถจัดกลุ่มมะม่วงเป็น 7 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่ม 1 ได้แก่ น้ำดอกไม้ ศก.0072 ออสเตรเลีย น้ำดอกไม้สีทอง และออนซอน

กลุ่ม 2 ได้แก่ Aroomanis ศก.0083 อกร่องตาเปรื่อง น้ำดอกไม้ตาเลี๊ยบ ศก.0080 ศก.0005A ศก. 0005B ศก.0082 ศก.0095 และ Sensation

กลุ่ม 3 ได้แก่ India เล็ก และ Keitte

กลุ่ม 4 ได้แก่ Salam กลม Kensington และ R2E2

กลุ่ม 5 ได้แก่ Kent และ Lippen

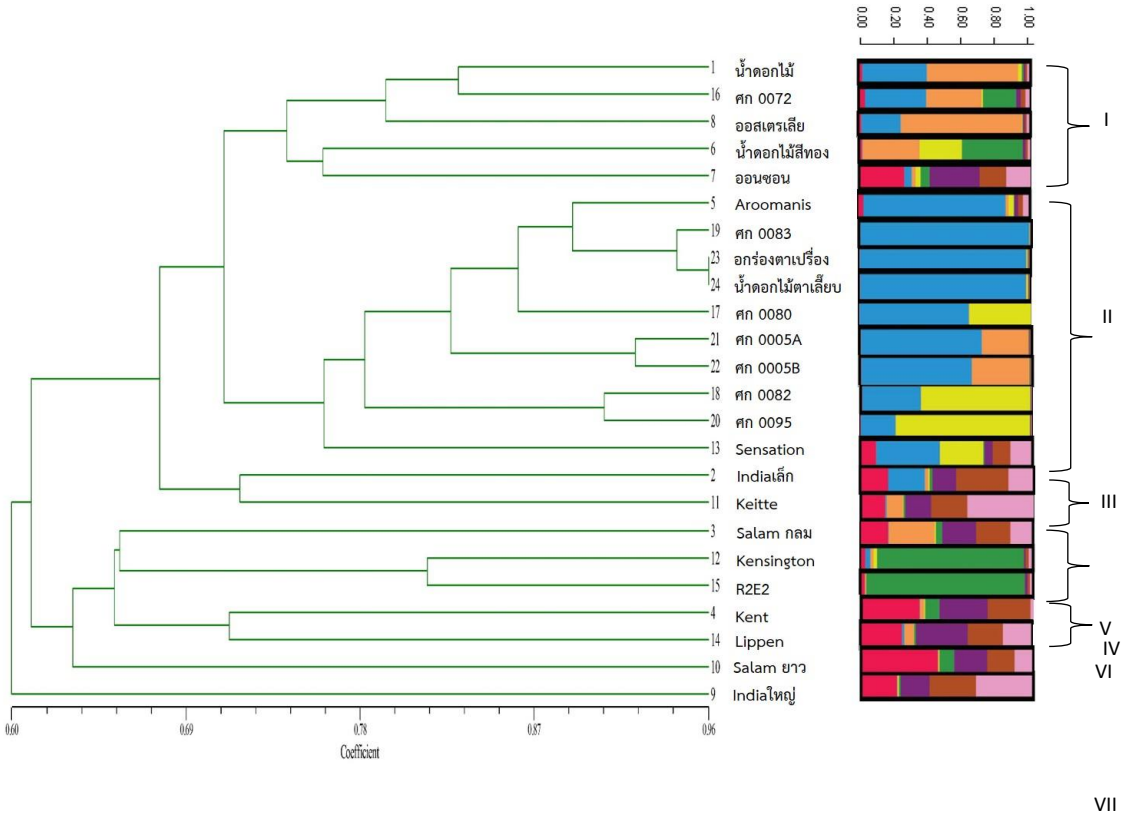
กลุ่ม 6 ได้แก่ Salam ยาว

กลุ่ม 7 ได้แก่ India ใหญ่

VAR	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1	1																							
2	0.74	1.00																						
3	0.70	0.66	1.00																					
4	0.66	0.60	0.66	1.00																				
5	0.76	0.71	0.58	0.54	1.00																			
6	0.78	0.64	0.70	0.72	0.64	1.00																		
7	0.73	0.66	0.67	0.69	0.70	0.76	1.00																	
8	0.81	0.68	0.73	0.64	0.74	0.71	0.69	1.00																
9	0.60	0.64	0.60	0.61	0.56	0.63	0.64	0.57	1.00															
10	0.57	0.56	0.61	0.65	0.47	0.64	0.65	0.59	0.58	1.00														
11	0.71	0.72	0.62	0.67	0.66	0.67	0.69	0.71	0.67	0.56	1.00													
12	0.70	0.69	0.68	0.67	0.62	0.75	0.73	0.66	0.64	0.61	0.68	1.00												
13	0.65	0.65	0.61	0.57	0.79	0.63	0.65	0.63	0.66	0.51	0.67	0.64	1.00											
14	0.72	0.66	0.63	0.71	0.61	0.65	0.71	0.69	0.60	0.61	0.70	0.65	0.56	1.00										
15	0.59	0.58	0.63	0.67	0.48	0.71	0.65	0.57	0.60	0.66	0.63	0.81	0.56	0.63	1.00									
16	0.83	0.70	0.69	0.74	0.74	0.79	0.76	0.77	0.63	0.63	0.72	0.73	0.64	0.76	0.65	1.00								
17	0.74	0.68	0.60	0.57	0.82	0.68	0.70	0.67	0.58	0.51	0.63	0.61	0.81	0.60	0.51	0.73	1.00							
18	0.71	0.71	0.61	0.60	0.81	0.71	0.70	0.65	0.62	0.52	0.60	0.67	0.78	0.58	0.54	0.72	0.87	1.00						
19	0.80	0.73	0.60	0.56	0.90	0.65	0.70	0.75	0.57	0.48	0.63	0.64	0.76	0.64	0.48	0.78	0.88	0.82	1.00					
20	0.71	0.66	0.63	0.63	0.78	0.72	0.70	0.64	0.59	0.55	0.60	0.66	0.78	0.59	0.55	0.71	0.84	0.90	0.78	1.00				
21	0.74	0.68	0.61	0.54	0.84	0.62	0.65	0.80	0.55	0.47	0.64	0.60	0.71	0.61	0.48	0.75	0.78	0.73	0.88	0.68	1.00			
22	0.78	0.69	0.63	0.58	0.82	0.67	0.67	0.79	0.52	0.50	0.67	0.64	0.69	0.64	0.51	0.78	0.76	0.72	0.85	0.68	0.92	1.00		
23	0.82	0.74	0.61	0.59	0.89	0.65	0.70	0.75	0.58	0.47	0.64	0.63	0.75	0.67	0.48	0.79	0.85	0.82	0.95	0.81	0.83	0.82	1.00	
24	0.78	0.70	0.57	0.57	0.88	0.64	0.70	0.72	0.56	0.47	0.63	0.60	0.76	0.66	0.48	0.78	0.88	0.80	0.94	0.78	0.83	0.83	0.96	1.00

<u>หมายเหตุ</u> 1 = น้ำดอกไม้ 2 = India เล็ก 3 = Salam กลม 4 = Kent 5 = Aroomanis
6 = น้ำดอกไม้สีทอง 7 = ออนซอน 8 = ออสเตรเลีย 9 = Indiaใหญ่ 10 = Salam ยาว 11 = Keitte
12 = Kensington 13 = Sensation 14 = Lippen 15 = R2E2 16 = ศก.0072 17 = ศก.0080
18 = ศก.0082 19 = ศก.0083 20 = ศก.0095 21 = ศก.005A 22 = ศก.005B 23 = อกร่องตาเปรื่อง
24 = น้ำดอกไม้ตาเลี๊ยบ

ภาพที่ 2 ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนของมะม่วง 24 พันธุ์/สายพันธุ์



ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของมะม่วงโดยใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์

5.2 การสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมะม่วงพันธุ์ลูกผสม ชุดที่ 2

การสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอเพื่อใช้แยกความแตกต่างทางพันธุกรรมของมะม่วงลูกผสม ศก.0003 ศก.0005 ศก.0006 ศก.0009 และ ศก.0092 โดยหลังจากมะม่วงแตกใบอ่อนได้เก็บใบอ่อนของมะม่วงลูกผสม จำนวน 5 สายพันธุ์ นำมาสกัดดีเอ็นเอ โดยใช้วิธีข้างต้นและวัดความเข้มข้นของดีเอ็นเอด้วยเครื่อง Nucleic Acid Analyzer (Nano-200) เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีพีซีอาร์ ใช้ไพรเมอร์จำนวน 25 ไพรเมอร์ หลังจากนั้นนำมาแยกแถบดีเอ็นเอด้วยวิธีโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิสโดยใช้เจล 4.5 เปอร์เซ็นต์ และย้อมด้วยซิลเวอร์ไนเตรท ผลการศึกษา พบแถบดีเอ็นเอจำนวน 103 แถบ และมีแถบที่เป็น Polymorphic จำนวน 85 แถบ วิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมะม่วงพันธุ์ลูกผสม โดยดูจากการปรากฏหรือไม่ปรากฏของแถบดีเอ็นเอในแต่ละไพรเมอร์เทียบกันในมะม่วงแต่ละสายพันธุ์ และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมตามวิธีการข้างต้น โดยมะม่วงที่มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนมากที่สุด คือ ศก.0006 และศก.0009 โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนเท่ากับ 0.806 หรือ 80.6 เปอร์เซ็นต์ และพันธุ์ที่มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนน้อยที่สุด คือ ศก.0005 และ ศก.0092 โดยมีค่าเท่ากับ 0.602

หรือ 60.2 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 4) หลังจากนั้นจัดกลุ่มด้วยวิธี Unweighted pair group arithmetic average (UPGMA) และศึกษาโครงสร้างภายในของลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมะม่วงสายพันธุ์ต่างๆ ด้วยโปรแกรม Structure v.2.3 (ภาพที่ 5) สามารถแบ่งกลุ่มมะม่วงลูกผสมตามความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมได้ 4 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ได้แก่ ศก.0003

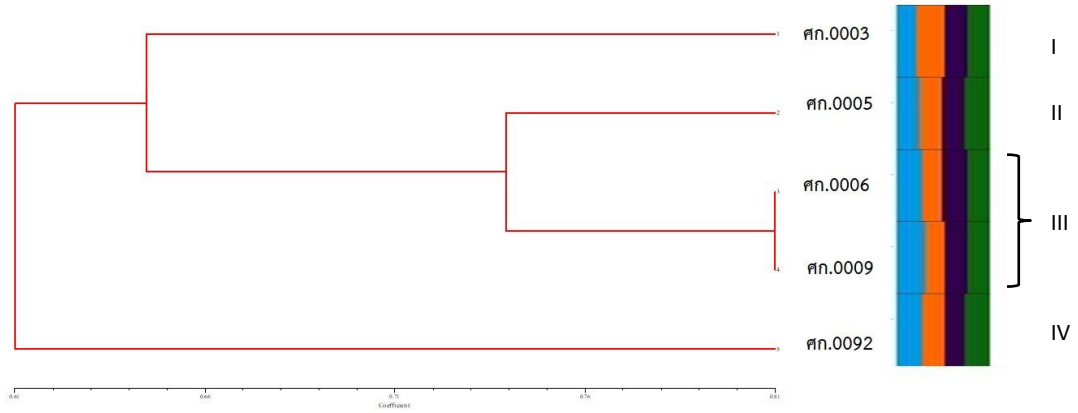
กลุ่มที่ 2 ได้แก่ ศก.0005

กลุ่มที่ 3 ได้แก่ ศก.0006 และ ศก.0009

กลุ่มที่ 4 ได้แก่ ศก.0092

สายพันธุ์	ศก.0003	ศก.0005	ศก.0006	ศก.0009	ศก.0092
ศก.0003	1.000				
ศก.0005	0.680	1.000			
ศก.0006	0.650	0.699	1.000		
ศก.0009	0.612	0.777	0.806	1.000	
ศก.0092	0.612	0.602	0.631	0.612	1.000

ภาพที่ 4 ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนของมะม่วงลูกผสม 5 สายพันธุ์



ภาพที่ 5 ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของมะม่วงลูกผสมโดยใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์

จากการสืบประวัติการปรับปรุงพันธุ์พบว่า มะม่วงลูกผสม 4 สายพันธุ์ คือ ศก.0003 ศก.0005 ศก.0006 และ ศก.0009 จัดอยู่ในกลุ่มมะม่วงแก้ว โดยมีประวัติพันธุ์ดังนี้

ศก.0003 เกิดจาก บุญบันดาล x ศก.007

ศก.0005 เกิดจาก ศก.007 x บุญบันดาล

ศก.0006 เกิดจาก ศก.007 x Keitt

ศก.0009 เกิดจาก ศก.007 x Ruby

ผลการทดลองพบว่า มะม่วงลูกผสม 2 สายพันธุ์ คือ ศก.0006 และ ศก.0009 มีความคล้ายคลึงกันมากที่สุด เนื่องจากทั้งสองสายพันธุ์มี ศก.007 เป็นต้นแม่ แต่ยังไม่สามารถระบุได้ว่าทุกสายพันธุ์เป็นลูกผสมหรือไม่ เนื่องจากการศึกษาในครั้งนี้ไม่ได้เทียบกับมะม่วงสายพันธุ์ ศก.007 ดังนั้น ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมโดยนำตัวอย่างมะม่วงที่มีประวัติการเป็นพ่อแม่พันธุ์และในกลุ่มมะม่วงแก้วมาเทียบด้วย ส่วนสายพันธุ์ ศก.0092 อยู่ในกลุ่มมะม่วงน้ำดอกไม้ ควรจะมีการนำมะม่วงกลุ่มน้ำดอกไม้มาเทียบด้วย

การคัดเลือกไพรเมอร์ที่ใช้แยกความแตกต่างของมะม่วงลูกผสมแต่ละคู่ผสม โดยการทดสอบในพันธุ์พ่อแม่ สามารถคัดเลือกไพรเมอร์ที่ใช้แยกความแตกต่างของมะม่วงแต่ละคู่ผสมได้ ซึ่งจะได้ทดสอบไพรเมอร์เหล่านี้ในมะม่วงลูกผสมคู่ต่างๆ ต่อไป

1. Lippen × ศก.0083 จำนวน 1 ไพรเมอร์
2. น้ำดอกไม้ตาเลี๊ยบ × ศก.0095 จำนวน 2 ไพรเมอร์
3. ศก.0083 × Salam ยาว จำนวน 1 ไพรเมอร์
4. ศก.0080 × Kent จำนวน 7 ไพรเมอร์
5. น้ำดอกไม้สีทอง × Salam ยาว จำนวน 21 ไพรเมอร์
6. ศก.0080 × Lippen จำนวน 8 ไพรเมอร์
7. ศก.0082 × Kensington จำนวน 8 ไพรเมอร์
8. ศก.0080 x R2E2 จำนวน 8 ไพรเมอร์
9. น้ำดอกไม้สีทอง x R2E2 จำนวน 21 ไพรเมอร์
10. น้ำดอกไม้สีทอง x Salam ยาว จำนวน 20 ไพรเมอร์
11. ศก.0072 x Sensation จำนวน 7 ไพรเมอร์
12. ศก.0083 x Kensington จำนวน 1 ไพรเมอร์
13. R2E2 x น้ำดอกไม้สีทอง จำนวน 21 ไพรเมอร์

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมะม่วงพันธุ์ไทย พันธุ์ต่างประเทศ และพันธุ์ลูกผสม ดำเนินการในมะม่วงจำนวน 29 พันธุ์/สายพันธุ์ แบ่งเป็น 2 ชุด ชุดที่ 1 ประกอบด้วย มะม่วงพันธุ์ไทยกลุ่มน้ำดอกไม้ มะม่วงต่างประเทศ และมะม่วงลูกผสมที่มีลักษณะคล้ายน้ำดอกไม้ การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมสามารถ

แบ่งกลุ่มมะม่วงได้เป็น 7 กลุ่ม โดยพบว่า มะม่วงลูกผสม 5 สายพันธุ์ มีความเป็นลูกผสมของมะม่วงน้ำดอกไม้ ยกเว้น ศก.0083 ซึ่งมีความเหมือนมะม่วงน้ำดอกไม้ตาเลี๊ยบและอกร่องตาเปรื่อง 94 และ 93 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จึงไม่จัดเป็นลูกผสมการจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมะม่วงชุดที่ 2 ซึ่งเป็นมะม่วงลูกผสมในกลุ่มแก้ว และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมพบว่า สามารถจัดกลุ่มได้ 4 กลุ่ม โดย ศก.0006 และ ศก.0009 มีความเหมือนกันมากที่สุดโดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนสูงสุดจึงจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน ดังนั้น ควรมีการศึกษาเพิ่มเติม โดยการนำมะม่วงที่มีประวัติเป็นพ่อแม่พันธุ์มาศึกษาร่วมด้วย

เอกสารอ้างอิง

สำนักคุ้มครองพันธุ์พืชแห่งชาติ. 2546. ฐานข้อมูลเชื้อพันธุ์พืช: มะม่วง เล่ม 2. กรมวิชาการเกษตร, จตุจักร, กรุงเทพ.

Begun, H., M.T. Reddy, S. Malathi, B.P. Reddy, S. Arcahk, J. Nagaraju and E.A. Siddiq. 2012. Molecular analysis for genetic distinctiveness and relationships of indigenous landraces with popular cultivars of mango (Mangifera indica L.) in Andhra Pradesh, India. The Asian and Aus. J. of Plant Sci and Biotech 6(1): 24-37.

Fulton, T.M., J. Chunwongse and S.D. Tanksley. 1995. Microprep protocol for extraction of DNA from tomato and other herbaceous plants. Plant Mol. Biol. Rep. 13(3): 207-209.

Kumar, M., V. Ponnuswami, P. Nagarajan, P. Jeyakumar and N. Senthi. 2013. Molecular characterization of ten mango cultivars using simple sequences repeat (SSR) markers. African J. of Biotech. 12(47): 6568-6573.

Ravishankar ,K.V., B.M.H. Reddy, L. Anand and M.R. Dinesh. 2011. Development of new microsatellite markers from Mango (*Mangifera indic*a) and cross-species amplifi cation. Americ. J. Bot. 98: e96-e99.

Williams, J.G.K., A.Kubbelik, K.J. Livak, J.A. Rafiski and S.V. Tinjey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Research 18: 6531-6535.

การทดลองที่ 3 การศึกษารวบรวมพันธุ์มะม่วงอกร่อง

Collection of Mango var. Ok-rong for further breeding

คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง	วิลาวัณย์ ใคร่ครวญ	สังกัด	สถาบันวิจัยพืชสวน
ผู้ร่วมงาน	สมพงษ์ สุขเขตต์	สังกัด	ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ
	รัชนี ศิริยาน	สังกัด	ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ
	ศิริพร วรกุลดำรงชัย	สังกัด	ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี
	ศศิมา เมืองแก้ว	สังกัด	ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี

คำสำคัญ : มะม่วงอกร่อง รวบรวมพันธุ์

Key word : Germplasm collection, Ok-rong mango, *Mangifera indica*

บทคัดย่อ

รวบรวมยอดพันธุ์มะม่วงอกร่องจากแปลงปลูกหรือในบริเวณบ้านเรือนที่มีมะม่วงอกร่องปรากฏอยู่ หรือกิ่งพันธุ์จากการทาบกิ่งจากแหล่งจำหน่ายมะม่วงที่มีหลักแหล่งแน่นอน ได้มะม่วงอกร่องจำนวน 19 ตัวอย่างใช้วิธีการเสียบกิ่งข้างบนต้นตอมะม่วงแก้วเพื่อขยายพันธุ์แล้วนำไปปลูกลงแปลงในแปลงทดลองศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี ห้วยสะพานหิน จำแนกความแตกต่างของพันธุ์โดยใช้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ จากใบอ่อนก่อนเพสลาด โดยดำเนินการที่ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ จากการจำแนกด้วยวิธีดังกล่าว สามารถแบ่งแยกความแตกต่างได้ 3 กลุ่ม ส่วนการจำแนกด้วยลักษณะทรงพุ่มและผลขณะดิบสามารถแบ่งเบื้องต้นได้อย่างน้อย 5 กลุ่ม ดำเนินการระหว่างปี 2560-2562 สำหรับต้นมะม่วงที่ปลูกลงแปลงจะมีการบันทึกข้อมูลลักษณะประจำพันธุ์โดยใช้แบบบันทึกของ IBGRI Descriptor for Mango ต่อไป

ABSTRACT

The collection of 19 clone of ok-rong mango was conducted between 2017 – 2019. Scion from the old plant which brought to grafted to the kwew mango until their ready to grown in the field at Chantaburi Horticultural Research Center. The plant characteristic in each clone was noted along to IBGRI the descriptor of Mango. The DNA fingerprint was used to difference classification from the young leaves. There were at least - groups of classed was showed from 19 clone of testing.

บทนำ

มะม่วงอกร่องเป็นมะม่วงรับประทานสุกที่คนไทยทุกคนรู้จักดี ที่เมื่อจะรับประทานข้าวเหนียวมูลจะต้องเลือกรับประทานกับมะม่วงอกร่องเท่านั้น เอกลักษณ์โดดเด่นของมะม่วงอกร่อง คือ มีรสหวานแหลม เนื้อละเอียด เมื่อดิบเนื้อสีขาวขุ่น มีความเป็นแป้งมาก รสเปรี้ยวจัด เมื่อผลสุกเนื้อจะมีสีเหลืองนวล รสหวานจัด แต่มีข้อเสียคือมีเสี้ยนมาก บอบช้ำง่ายเพราะเปลือกผลบางทำให้วางตลาดได้ไม่นาน พันธุ์ดั้งเดิมมีผลขนาดเล็ก ในปัจจุบันพบว่ามะม่วงอกร่องหารับประทานได้ยาก โดยเฉพาะในช่วง 10 ปีที่ผ่านมาถึงปัจจุบัน เนื่องจากในช่วงดังกล่าวมีมะม่วงพันธุ์ใหม่ๆ เกิดขึ้น ซึ่งมีลักษณะทางการเกษตรเหมาะสมกับการผลิตเชิงการค้า เช่น มะม่วงน้ำดอกไม้มีผลขนาด

ใหญ่ เปลือกหนา ทนการขนส่ง มะม่วงเขียวเสวย ผลใหญ่ รับประทานได้ทั้งดิบและสุก ทำให้ออกผลตลอดปีได้ มะม่วงมหาชนก สีสวย สามารถทำน้ำคั้นได้ดี ฯลฯ จึงทำให้พื้นที่ที่เคยปลูกมะม่วงอกร่องเดิมถูกทดแทนด้วยการปลูกมะม่วงพันธุ์ใหม่ๆ ประกอบกับมะม่วงอกร่องเดิมเริ่มมีอายุมากขึ้นๆ เมื่อถึงอายุขัยมะม่วงเหล่านี้จึงตายไป ขณะเดียวกันไม่มีการปลูกต้นใหม่ทดแทน ทำให้ผลผลิตมะม่วงอกร่องสู่ตลาดน้อยลง จึงได้มีการรวบรวมและศึกษาลักษณะประจำพันธุ์เพื่ออนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมของมะม่วงอกร่องที่มีอยู่ เพื่อการพัฒนาสายพันธุ์ให้เหมาะกับการผลิตเชิงการค้ามากขึ้น และคงเอกลักษณ์ความโดดเด่นของมะม่วงพันธุ์ไทยหนึ่งเดียวของบ้านเราที่ใช้สำหรับรับประทานคู่กับข้าวเหนียวได้อร่อยที่สุด

ระเบียบวิธีการวิจัย

- อุปกรณ์

1. ยอดพันธุ์มะม่วงอกร่อง 14 สายพันธุ์จากการรวบรวม
2. อุปกรณ์บันทึกข้อมูล
3. อุปกรณ์การเกษตร
4. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์และสารเคมี
5. แบบบันทึกข้อมูลลักษณะประจำพันธุ์มะม่วง The Descriptor for Mango (IBGRI)

- วิธีการ

1. รวบรวมพันธุ์มะม่วงอกร่องจากแหล่งปลูกต่างๆในประเทศไทย ทั้งจากการสืบค้นข้อมูลพื้นที่ที่มีรายงานหรือมีการจำหน่ายผลผลิตมะม่วงอกร่องในเชิงการค้า ประสานงานกับเจ้าหน้าที่ระดับพื้นที่ เจ้าหน้าที่กรมส่งเสริมการเกษตร ซื้อกิ่งพันธุ์มะม่วงอกร่องจากผู้ขายที่มีความน่าเชื่อถือ (มีสถานที่ขายเป็นหลักแหล่ง) เพื่อนำกิ่งพันธุ์ดีของมะม่วงอกร่องอย่างน้อย 12 สายพันธุ์ มาปลูกและบันทึกลักษณะประจำพันธุ์เบื้องต้น ตาม descriptor ของ IBGRI ปลูกรวบรวมไว้ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี

2. การจำแนกสายพันธุ์มะม่วงอกร่องด้วยเครื่องหมายโมเลกุล เก็บตัวอย่างใบมะม่วงอกร่องสายพันธุ์ต่างๆ นำมาสกัดดีเอ็นด้วยวิธี CTAB วัดปริมาณและคุณภาพดีเอ็นเอ ด้วยเครื่องวัดค่าดูดกลืนแสงและเจลอิเลคโตรโฟเรซีส จากนั้นเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ไพรเมอร์ Miicrosatellite ด้วยเครื่อง PCR เมื่อปฏิกิริยาสิ้นสุด นำผลผลิตที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ด้วยวิธีเจลอิเล็กโทรโฟรีซิสในเจลโพลีอะคริลาไมด์ (4.5% Polyacrylamide 60 ml, 10% APS 410 µl, TEMED 65 µl) แยกขนาดของดีเอ็นเอโดยใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้า 60 วัตต์นานประมาณ 2 ชั่วโมง จากนั้นย้อมด้วยซิลเวอร์ไนเตรท 0.1 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบขนาดของแถบดีเอ็นเอที่ได้กับดีเอ็นเอมาตรฐาน แล้ววิเคราะห์ลักษณะลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมะม่วงอกร่องสายพันธุ์ต่างๆ โดยบันทึกการปรากฏหรือไม่ปรากฏของแถบดีเอ็นเอ จัดกลุ่มด้วยวิธี Unweighted pair group arithmetic average (UPGMA)

3. จัดทำฐานข้อมูลพันธุ์มะม่วงอกร่องที่ได้รวบรวมไว้

- การบันทึกข้อมูล

1. ข้อมูลแหล่งรวบรวม ชื่อเกษตรกร ภาพถ่ายต้นพันธุ์เดิม
2. ลักษณะประจำพันธุ์ในส่วนของลักษณะต้น และผลผลิตในบางพันธุ์ (เดิมการทดลองจะสิ้นสุดในปี 2564 แต่ต้องสิ้นสุดก่อนเวลาที่กำหนดไว้เนื่องจาก ผอ.แผนงานวิจัยไม้ผลเศรษฐกิจประสงค์จะสร้างแผนงานมะม่วงใหม่เพื่อดำเนินงานปี 2563 เกรงว่าจะเกิดความซ้ำซ้อน)
3. ความแตกต่างของสายพันธุ์ตามลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

- เวลาและสถานที่ เริ่มต้นตุลาคม 2560 สิ้นสุดกันยายน 2562 แหล่งรวบรวมพันธุ์ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ เพชรบุรี ชัยภูม จันทบุรี ราชบุรี กาญจนบุรี แปลงปลูกศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี และห้องปฏิบัติการศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ

ผลการวิจัย

1. การสำรวจและรวบรวมพันธุ์มะม่วงอกร่องจากแหล่งปลูก

- ได้ยอดพันธุ์มะม่วงอกร่องจากแหล่งปลูกในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ เพชรบุรี จันทบุรี ราชบุรี กรุงเทพฯ กาญจนบุรีอุบลราชธานี และชัยภูมิ จำนวน 19 ต้น
- เพิ่มปริมาณโดยเสียบยอดแบบข้างบนต้นตอมะม่วงแก้ว อย่างน้อย 5 ต้นตอต้นที่รวบรวมได้
- ต้นที่เสียบกิ่งแล้ว 2 ต้นปลูกลงกระถาง เพื่อใช้ในการจำแนกพันธุ์ด้วยลายพิมพ์ดีเอ็นเอ โดยใช้ใบอ่อนระยะใกล้เพสลาด
- ต้นพันธุ์ที่ได้จากการเสียบกิ่งจำนวน 2 ต้นนำไปปลูกลงแปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี โดยใช้ระยะปลูก 4x4 เมตร เพื่อเป็นต้นแม่สำหรับขยายเพิ่มจำนวนเป็น 12 ต้นต่อสายพันธุ์ (ขยายในแปลงอีก 10 ต้น) เพื่อบันทึกลักษณะประจำพันธุ์ โดยมีมะม่วงอกร่องจำนวน 13 สายพันธุ์ที่ปลูกลงแปลง และได้ดำเนินการเสียบยอดครบถ้วนเมื่อวันที่ 18 กุมภาพันธ์ ปัจจุบันมีมะม่วงอกร่อง 2 สายพันธุ์ที่ปลูกลงแปลงและเริ่มให้ผลผลิตครั้งแรกแล้ว

2. การสกัดดีเอ็นเอจากใบมะม่วง

สกัดดีเอ็นเอจากใบอ่อนมะม่วงตามวิธีการของ Fulton *et al.* (1995) โดยมีขั้นตอนดังนี้ ตัดใบมะม่วงเป็นชิ้นเล็กๆ โดยตัดเส้นกลางใบออก ใส่ใบลงในโกร่ง เติม Microprep buffer ปริมาตร 150 ไมโครลิตร บดใบให้ละเอียด เติม Microprep buffer ปริมาตร 600 ไมโครลิตร หลังจากนั้นใส่ลงในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร บ่มที่ 65 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที เติม Chloroform : Isoamyl (24:1) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองแล้วกลับหลอดไปมาเพื่อให้สารละลายเข้ากัน ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ดูดสารละลายส่วนใสใส่หลอดใหม่ เติม Chloroform : Isoamyl (24:1) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร อีกครั้ง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ดูดสารละลายส่วนใสใส่หลอดใหม่ เติม Isopropanol (เย็นจัด) ปริมาตรเท่ากับส่วนใส กลับหลอดไปมาเบาๆ เพื่อให้ดีเอ็นเอตกตะกอน ปั่นเหวี่ยงด้วย

ความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที เทสารละลายทิ้ง ให้เหลือเฉพาะส่วนตะกอนดีเอ็นเอ ล้างด้วย 70% ethanol ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที เทสารส่วนบนทิ้ง ให้เหลือเฉพาะตะกอนดีเอ็นเอ ตากตะกอนดีเอ็นเอให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง นานประมาณ 2-3 ชั่วโมง ละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย TE buffer ปริมาตร 50 ไมโครลิตร เก็บที่อุณหภูมิ -4 องศาเซลเซียส กำจัดอาร์เอ็นเอด้วย RNaseA 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที วัดความเข้มข้นของดีเอ็นเอด้วยเครื่อง Nucleic Acid Analyzer (Nano-200)

ผลการสกัดดีเอ็นเอจากใบมะม่วงอกร่อง พบว่า ตัวอย่างมะม่วงอกร่อง ทั้ง 37 สายพันธุ์ มีคุณภาพดี โดยมีสายพันธุ์ที่มีความเข้มข้นของดีเอ็นเอน้อย ได้แก่ อกร่อง 13, อกร่อง 14, อกร่องทอง 37, อกร่องมัน 25 และอกร่องวิเชียร 23 ซึ่งมีเข้มข้นเพียง 17.46, 26.80, 17.53, 14.72 และ 95.59 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร ตามลำดับ ตรวจสอบคุณภาพของดีเอ็นเอด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟเรซีส (ภาพที่ 1) โดยมีความเข้มข้นของดีเอ็นเอตามตารางที่ 3

ตารางที่ 1 ที่มาของสายพันธุ์มะม่วงอกร่อง 19 สายพันธุ์

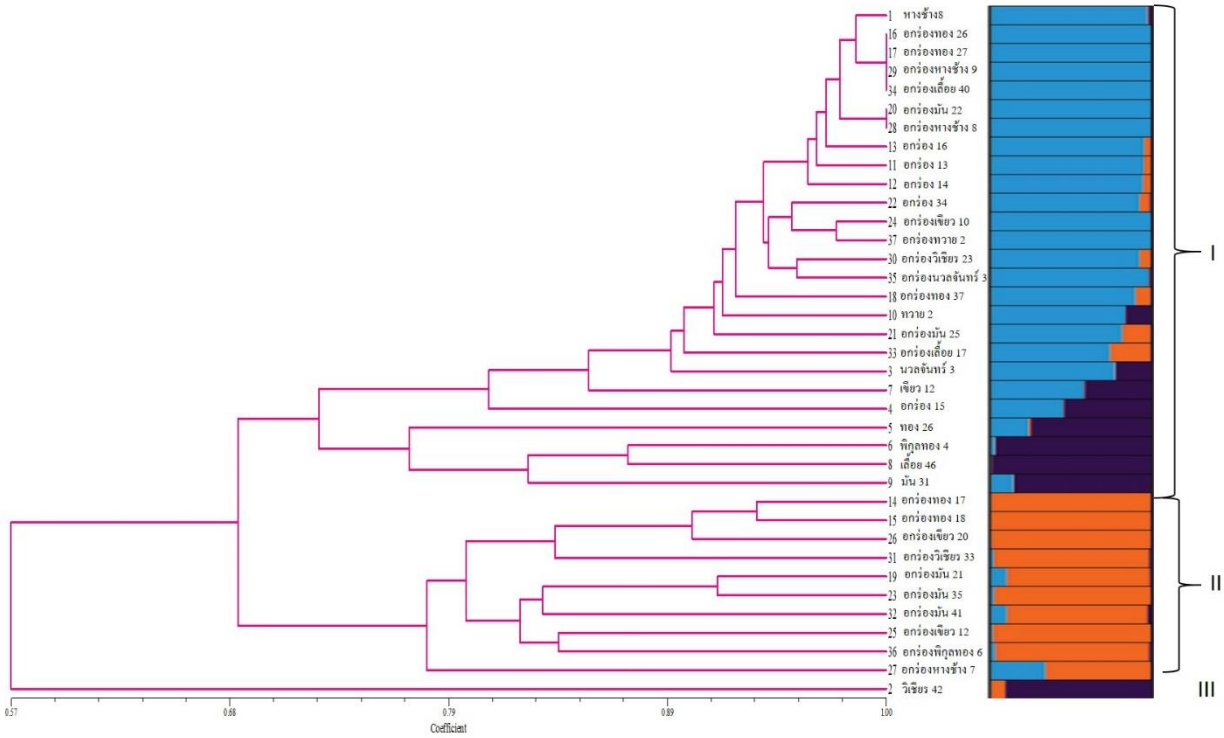
ลำดับที่	ชื่อตามลักษณะที่พบ	ชื่อเกษตรกร	จังหวัด	อายุ (ปี)
001	อกร่องทอง (1)	ศวพ.กาญจนบุรี	กาญจนบุรี	10 ปี
002	อกร่องดั้งเดิม 1	นายสุนทร แซ่ตั้ง	44ม.4 ต.ไร่ใหม่ อ.สามร้อยยอด จ.ประจวบคีรีขันธ์	5 ปี
003	อกร่องทองโบราณ	นายสุนทร แซ่ตั้ง	44ม.4 ต.ไร่ใหม่ อ.สามร้อยยอด จ.ประจวบคีรีขันธ์	20 ปี
004	อกร่องพิกุลทอง (1)	นายสุนทร แซ่ตั้ง	44ม.4 ต.ไร่ใหม่ อ.สามร้อยยอด จ.ประจวบคีรีขันธ์	15 ปี
005	อกร่องมัน (1)	นายสุนทร แซ่ตั้ง	44ม.4 ต.ไร่ใหม่ อ.สามร้อยยอด จ.ประจวบคีรีขันธ์	20 ปี
006	อกร่องดั้งเดิม (2)	นางอัมพร เส็งประชา	9 ม.5 ต.ศาลาลัย อ.สามร้อยยอด จ.ประจวบคีรีขันธ์	20 ปี
007	อกร่องทอง (2)	นางอัมพร เส็งประชา	9 ม.5 ต.ศาลาลัย อ.สามร้อยยอด จ.ประจวบคีรีขันธ์	5 ปี
008	อกร่องดั้งเดิม (3)	นางบรรจง นิ่มมาก	144 ม.3 ต.หนองหญ้าปล้อง อ.หนองหญ้าปล้อง จ.เพชรบุรี	20 ปี
009	อกร่องทอง (3)	นางดอกไม้ คนบุญ	6/2 ม.1 ต.ยางน้ำกลัดใต้ อ.หนองหญ้าปล้อง จ.เพชรบุรี	25 ปี

010	อกร่องทอง (4)	นางชั้น ทรวิน	5 ม.1 ต.ยางน้ำกลัดใต้ อ.หนองหญ้าปล้อง จ.เพชรบุรี	20 ปี
011	อกร่องวิเชียร	ตลาดนัดจตุจักร	จ.กรุงเทพฯ	1 ปี
012	อกร่องเขียว (1)	นางออง บุญปกป้อง	69 ม.1 ต. ยางน้ำกลัดใต้ อ.หนองหญ้าปล้อง จ.เพชรบุรี	40 ปี
013	อกร่องทอง(5)	นางอำพร เลาหพันธ์พงศ์	73 ม.6 ต.คลองน้ำเค็ม อ.แหลมสิงห์ จ.จันทบุรี	50 ปี
014	อกร่องเขียว (2)	นางใหญ่ กอบสุข	37/2 ม.4 ต.บางสระกำ อ.แหลมสิงห์ จ.จันทบุรี	20 ปี
015	อกร่องนวลจันทร์	ตลาดนัดจตุจักร	กรุงเทพฯ	1 ปี
016	อกร่องหางช้าง	ตลาดนัดธนบุรี 2	กรุงเทพฯ	1 ปี
017	อกร่องเลื้อย	นายปรีชา ใคร่ครวญ	79 ม.1 ต.หนองหญ้า อ.เมือง จ.กาญจนบุรี	8 ปี
018	อกร่องทวาย	ศวร.อุบลราชธานี	จ.อุบลราชธานี	50 ปี
019	อกร่องมัน (2)	ตลาดนัดจตุจักร	กรุงเทพฯ	1 ปี

ตารางที่ 4 ความเข้มข้นและคุณภาพของดีเอ็นเอมะม่วงอกร่องสายพันธุ์ต่างๆ

No.	lines	DNA concentration	
		ng/ul	A260/A280
1	หางช้าง 8	5,041	1.10
2	วิเชียร 42	2,223	1.46
3	นวลจันทร์ 3	5,034	1.12
4	อกร่อง 15	2,474	1.12
5	ทอง 26	4,923	1.58
6	พิกุลทอง 4	4,807	1.91
7	เขียว 12	5,023	1.14
8	เลื้อย 46	1,779	1.06
9	มัน 31	4,978	1.33
10	ทวาย 2	1,668	1.04
1	อกร่อง 13	17.46	0.88
2	อกร่อง 14	26.80	0.99
3	อกร่อง 16	1,675	1.46
4	อกร่องทอง 17	2,246	1.25
5	อกร่องทอง 18	1,496	0.82
6	อกร่องทอง 26	1,289	1.35
7	อกร่องทอง 27	433.8	1.23
8	อกร่องทอง 37	17.53	1.11
9	อกร่องมัน 21	2,484	1.16
10	อกร่องมัน 22	656.7	1.14

No.	lines	DNA concentration	
		ng/ul	A260/A280
11	อกร่องมัน 25	14.72	1.47
12	อกร่องมัน 34	2,109	1.35
13	อกร่องมัน 35	2,258	1.33
14	อกร่องเขียว 10	768.4	1.58
15	อกร่องเขียว 12	471.1	1.35
16	อกร่องเขียว 20	1,630	1.50
17	อกร่องหางช้าง 7	1,185	1.51
18	อกร่องหางช้าง 8	2,539	1.11
19	อกร่องหางช้าง 9	2,663	1.12
20	อกร่องวิเชียร 23	95.59	1.21
21	อกร่องวิเชียร 33	401.2	1.40
22	อกร่องวิเชียร 41	3,077	1.08
23	อกร่องเลื้อย17	80.40	1.59
24	อกร่องเลื้อย 40	417.2	1.63
25	อกร่องนวลจันทร์ 3	410.5	1.25
26	อกร่องพิกุลทอง 6	952.3	1.68
27	อกร่องทวาย 2	1,864	1.04



ภาพที่ 1 dendrogram แสดงความสัมพันธ์ระหว่างมะม่วงอกร่องสายพันธุ์ที่รวบรวมได้

การวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมะม่วงอกร่อง 19 ตัวอย่างที่ปลูกลงแปลง 2-4 ต้นต่อตัวอย่างในแปลง แล้วสุ่มเก็บเฉพาะต้นที่มีใบอ่อนระยะก่อนเพสลาดจำนวน 37 ต้น โดยวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่ปรากฏบนแผ่นเจล เปรียบเทียบขนาดของแถบดีเอ็นเอที่ได้กับดีเอ็นเอมาตรฐาน โดยบันทึกการปรากฏของแถบดีเอ็นเอเท่ากับ 1 หรือการไม่ปรากฏของแถบดีเอ็นเอเท่ากับ 0 วิเคราะห์ข้อมูลโดยโปรแกรม NTSYS pc 2.1 วิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน (Similarity coefficient) โดยมะม่วงอกร่องมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนระหว่าง 0.44-0.99 โดยมะม่วงอกร่องที่มีความเหมือนกันมากที่สุด คือ หางช้าง8 อกร่องทอง26 อกร่องทอง27 อกร่องหางช้าง9 และอกร่องเลื้อย40 โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนเท่ากับ 0.99 หรือ 99 เปอร์เซ็นต์ และพันธุ์ที่มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนน้อยที่สุด มี 2 คู่ คือ หางช้าง8 และ วิเชียร42 โดยมีค่าเท่ากับ 0.44 หรือ 44 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นจัดกลุ่มด้วยวิธี Unweighted pair group arithmetic average (UPGMA) และศึกษาโครงสร้างภายในของลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมะม่วงอกร่องสายพันธุ์ต่างๆ ด้วยโปรแกรม Structure v.2.3 (ภาพที่ 2) สามารถจัดกลุ่มมะม่วงอกร่องเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยมะม่วงอกร่อง 21 ต้นตามประวัติที่รวบรวม ได้แก่ มะม่วงอกร่องอกร่องหางช้าง 2 ต้น อกร่องทอง 1 ต้น อกร่องเลื้อย 4 ต้น อกร่องมัน 4 ต้น อกร่องพื้นเมือง 4 ต้น อกร่องเขียว 2 ต้น อกร่องทวาย 1 ต้น อกร่องวิเชียร 1ต้น อกร่องนวลจันทร์ 1 ต้น และอกร่องพิกุลทอง 1 ต้น

กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยมะม่วงอกร่อง 10 สายพันธุ์ ได้แก่
อกร่องทอง 2 ต้น อกร่องเขียว 1 ต้น อกร่องวิเชียร 2 ต้น อกร่องมัน 2 ต้น
อกร่องพิกุลทอง 1 ต้น และอกร่องหางช้าง 1 ต้น

กลุ่มที่ 3 มี 1 ต้น คือ อกร่องวิเชียร 1 ต้น

จากการเปรียบเทียบประวัติของพันธุ์ ชื่อที่ใช้เรียกทั่วไป ลักษณะที่ปรากฏ และการจัดกลุ่มของมะม่วงอกร่องโดยใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์และโครงสร้างทางพันธุกรรมของมะม่วงอกร่องสายพันธุ์ต่างๆทำให้ทราบว่ามีมะม่วงอกร่องที่รวบรวมได้ทั้งหมด 15 สายพันธุ์ ประกอบด้วย มะม่วงอกร่องหางช้าง 2 สายพันธุ์ (ลำดับที่ 7 และลำดับที่ 8,9) มะม่วงอกร่องทอง 2 สายพันธุ์ (ลำดับที่ 17,18 และ 27) มะม่วงอกร่องเลื้อย 1 สายพันธุ์ (ลำดับที่ 37,40,46,47) มะม่วงอกร่องมัน 2 สายพันธุ์ (ลำดับที่ 21,35 และ 22,25,31,34) อกร่องพื้นเมือง มี 1 สายพันธุ์ (ลำดับที่13,14,15,16) มะม่วงอกร่องเขียวมี 2 สายพันธุ์ (ลำดับที่ 10,12 และ 20) มะม่วงอกร่องทวาย มี 1 สายพันธุ์ (ลำดับที่ 2) มะม่วงอกร่องวิเชียร มี 3 สายพันธุ์ (ลำดับที่23 และ 33, 41 และ 42) อกร่องนวลจันทร์ มี 1 สายพันธุ์ (ลำดับที่ 3) มะม่วงอกร่องพิกุลทองมี 2 สายพันธุ์ (ลำดับที่ 4 และ 6)

ลักษณะจากการจำแนกด้วยลักษณะ phenotype

จากการติดตามลักษณะของมะม่วงอกร่องที่รวบรวมมาแล้วนำมาปลูกในแปลงทดลอง พบความแตกต่างที่สามารถแยกด้วยสายตาจากลักษณะของทรงพุ่ม และผลดิบ มีอย่างน้อย 5 กลุ่ม (ลักษณะ) ประกอบด้วย

1. มะม่วงอกร่องพันธุ์ดั้งเดิม เป็นมะม่วงอกร่องที่มีรูปร่างที่เป็นที่พบเห็นทั่วไป (ภาพที่) คือมีรูปร่างผลแบบ และมีร่องด้านข้างของผลชัดเจน กลุ่มนี้ประกอบด้วย มะม่วงอกร่องเขียว และมะม่วงอกร่องทอง โดยที่มะม่วงอกร่องเขียวจะมีผลขนาดเล็ก ผิวผล (เปลือก) มีสีเขียวเข้ม มักออกผลเป็นช่อ ส่วนมะม่วงอกร่องทองจะมีผลขนาดใหญ่กว่ามะม่วงอกร่องเขียว ผิวผลเป็นสีเขียวอ่อน ติดผลทั้งแบบเดี่ยวและแบบช่อ
2. มะม่วงอกร่องที่มีผลขนาดใหญ่ ทรงผลค่อนข้างยาว เป็นมะม่วงอกร่องที่มีร่องด้านข้างผลค่อนข้างตื้นหรือไม่มีร่อง ผลมีขนาดใหญ่กว่ามะม่วงอกร่องในกลุ่มแรกอย่างชัดเจน ผิวผลมีสีเขียวอ่อนๆ ประกอบด้วยมะม่วงอกร่อง 3 ตัวอย่าง คือมะม่วงอกร่องนวลจันทร์ ที่มีความแตกต่างจากอีก 2 ตัวอย่างอย่างชัดเจน ที่ลักษณะของปลายผลที่งอเล็กน้อย ส่วนอีก 2 ตัวอย่างคือมะม่วงอกร่องเลื้อยและมะม่วงอกร่องพิกุลทองจะมีลักษณะผลใกล้เคียงกัน แต่แตกต่างกันที่ลักษณะของทรงพุ่มที่แตกต่างกันเล็กน้อย ตรงที่ทรงพุ่มของมะม่วงอกร่องเลื้อยจะมีกิ่งทอดยาวในแนวขนานกันพื้นดิน ขณะที่มะม่วงอกร่องพิกุลทองจะมีทรงพุ่มที่ตั้งตรงมากกว่า อย่างไรก็ตามลักษณะทรงพุ่มที่แตกต่าง

กันนี้อาจเป็นผลมาจากการขยายพันธุ์จากกิ่งที่มีตำแหน่งในต้นเดิมแตกต่างกัน ซึ่งจะส่งผลให้เกิดลักษณะทรงพุ่มที่แตกต่างกันได้ () ทั้งสามตัวอย่างมักติดผลเป็นช่อ ตั้งแต่ 3 ผลขึ้นไป

3. มะม่วงอกร่องมัน เป็นมะม่วงอกร่องที่มีผลขนาดใหญ่ แต่เล็กกว่ากลุ่มที่ 2 เล็กน้อย มีผิวผลเป็นสีเขียวเข้ม มักติดผลเป็นผลเดี่ยว มีบ้างที่ติดผล 2 ผลในหนึ่งช่อ มะม่วงตัวอย่างนี้อาจได้จากการปรับปรุงพันธุ์ที่อาจจะมีพ่อ หรือ แม่เป็นมะม่วงเขียวเสวย
4. มะม่วงอกร่องที่มีปลายผลแหลม จากการรวบรวมพบว่ามีมะม่วงอกร่องอย่างน้อย 2 ตัวอย่างที่มีลักษณะปลายผลแหลม คล้ายมะม่วงน้ำดอกไม้ จากการรวบรวมในครั้งนี้มี 2 ตัวอย่างที่มีลักษณะดังกล่าวคือมะม่วงอกร่อง 2 และมะม่วงอกร่องวิเชียร (ภาพที่)
5. มะม่วงอกร่องทวาย เป็นลักษณะที่แตกต่างโดยเวลาในการออกดอกติดผล พบว่ามะม่วงอกร่องตัวอย่างนี้ให้ออกดอกค่อนข้างเร็วกว่าตัวอย่างอื่นๆ ลักษณะอื่นๆที่พบคือผลจะมีนาดค่อนข้างเล็กโดยขนาดผลจะใกล้เคียงกับมะม่วงอกร่องเขียว

ภาพที่ 1 เกษตรกรเจ้าของพันธุ์มะม่วงอกร่อง 4 ตัวอย่าง

มะม่วงอกร่องบ้าน

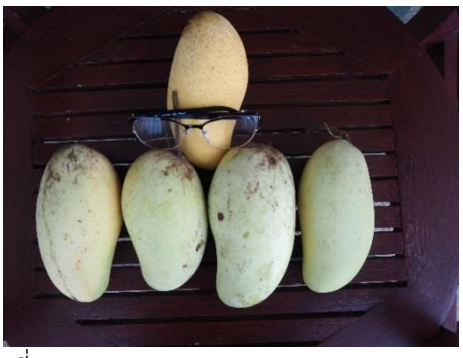
มะม่วงอกร่องเกษตร

มะม่วงอกร่องดั้งเดิมต้นอายุ 20 ปี

มะม่วงอกร่องพิกุลทอง

ต้นมะม่วงอกร่องทอง

มะม่วงอกร่องตัวอย่างที่ 6



มะม่วงอกร่องตัวอย่างที่ 7

มะม่วงอกร่องตัวอย่างที่ 8

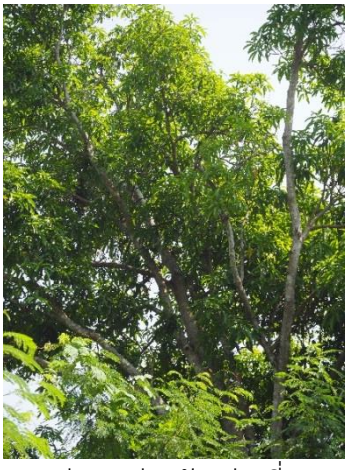
ผู้ประสานงานกรมส่งเสริม (เพชรบุรี และหนองหญ้าปล้อง)

มะม่วงอกร่องตัวอย่างที่ 10

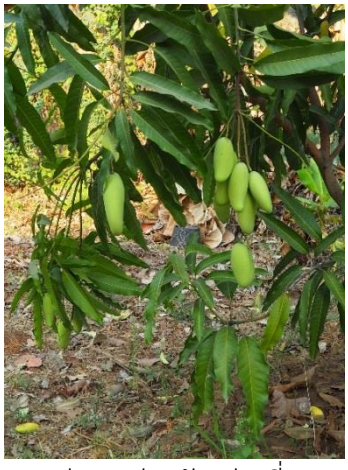
มะม่วงอกร่องตัวอย่างที่ 11

มะม่วงอกร่องตัวอย่างที่ 12

มะม่วงอกร่องตัวอย่างที่ 13



มะม่วงอกร่องตัวอย่างที่ 14



มะม่วงอกร่องตัวอย่างที่ 17

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

1. รวบรวมมะม่วงอกร่องทั้งพันธุ์ดั้งเดิมและพันธุ์ใหม่ๆที่ได้จากการกลายพันธุ์และการปรับปรุงพันธุ์ จำนวน 19 ตัวอย่าง

2. มีข้อมูลลักษณะประจำพันธุ์ตามระบบของ IBGRI จำนวน 2 สายพันธุ์ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ทั้งในแง่ของการปรับปรุงพันธุ์และพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตให้ดียิ่งขึ้น โดยจะต้องดำเนินการต่อจนครบทุกสายพันธุ์ในช่วงถัดไป เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการปรับปรับปรุง พัฒนาพันธุ์ที่จะทำให้สามารถเพิ่มตลาดใหม่ได้มากขึ้นอีก นอกเหนือจากการบริโภคภายในประเทศของคนไทย
3. มีฐานข้อมูลในระดับดีเอ็นเอที่สามารถแยกความแตกต่าง อันจะเป็นประโยชน์ด้านการแสดงความเป็นเจ้าของพันธุ์ของคนไทย

เอกสารอ้างอิง

เปรม ณ สงขลา กรกัญญา อักษรเนียม วรรณภา เสนาดี อทิพัฒน์ บุญเพิ่มราศี ปานศิริ นิบุญธรรม.2560. สถาปัตยกรรการจัดการทรงพุ่มไม้ผล. พิมพ์ครั้งที่ 2 หจก. เฟรม อัพ ดีไซน์ 168 หน้า

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

การศึกษาและคัดเลือกพันธุ์มะม่วงลูกผสมสายพันธุ์ใหม่เพื่อการส่งออก สามารถรวบรวมต้นแม่พันธุ์มะม่วงลูกผสมจำนวน 80 สายต้นนำมาสร้างแปลงศึกษาและคัดเลือกพันธุ์มะม่วงลูกผสมสายพันธุ์ใหม่เพื่อการส่งออกจำนวน 63 สายต้น ในปี 2562 มีเพียง 1 สายต้น ที่ให้ผลผลิตคือ Sensation x ศรีสะเกษ 0072 การศึกษาฐานข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมะม่วงพันธุ์ไทย พันธุ์ต่างประเทศ และพันธุ์ลูกผสม เพื่อใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์สามารถเก็บลักษณะสัณฐานวิทยาในมะม่วงได้ 34 พันธุ์ สร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอมะม่วง 29 พันธุ์ โดยแบ่งเป็น 2 ชุด ชุดที่ 1 เป็นพันธุ์ต่างประเทศและน้ำดอกไม้จำนวน 24 พันธุ์ เมื่อวิเคราะห์โครงสร้างของลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยโปรแกรม Structure v.2.3 สามารถจัดกลุ่มมะม่วงได้ 7 กลุ่ม โดยพบว่ามะม่วงลูกผสมเป็นลูกผสมในกลุ่มน้ำดอกไม้ทั้งหมดมีเพียง 1 สายพันธุ์ ที่ไม่เป็นลูกผสม แต่อยู่ในกลุ่มน้ำดอกไม้ ชุดที่ 2 เป็นพันธุ์ลูกผสมทั้งหมด

5 สายพันธุ์ เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมสามารถจัดกลุ่มได้ 4 กลุ่ม โดยสายพันธุ์ศก.0092 มีความแตกต่างมากที่สุดในกลุ่ม สายพันธุ์ศก.0006 และ ศก.0009 มีความคล้ายคลึงกันมากที่สุด เนื่องจากทั้ง 2 สายพันธุ์มีศก.0007 เป็นต้นแม่

การศึกษารวบรวมพันธุ์มะม่วงอกร่อง สามารถรวบรวมได้ 19 ตัวอย่าง ทำการขยายพันธุ์โดยวิธีเสียบข้างนำลงปลูกในแปลงรวบรวมพันธุ์ มีการส่งตัวอย่างนำไปวิเคราะห์ดีเอ็นเอ ผลการวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน(Similality coefficient) มะม่วงอกร่องมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนอยู่ระหว่าง 0.44-0.99 โดยมะม่วงอกร่องที่มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนมากที่สุด คือ อกร่องหางช้าง 8 อกร่องทอง 26 อกร่องทอง 27 อกร่องหางช้าง 9 และอกร่องเลื้อย 40 โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนเท่ากับ 0.99 หรือ 99 เปอร์เซ็นต์ และพันธุ์ที่มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนน้อยสุดคือ หางช้าง 8 และ วิเชียร 42 โดยมีค่าเท่ากับ 0.44 หรือ 44 เปอร์เซ็นต์ และศึกษาโครงสร้างภายในลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมะม่วงอกร่องพันธุ์ต่างๆด้วยโปรแกรม Structure v.2.3 สามารถจัดกลุ่มมะม่วงได้ 3 กลุ่ม

บรรณานุกรม

จุรีพร วิทยาสนธยา. 2530. ผลวิเคราะห์คุณภาพมะม่วงพันธุ์ต่างประเทศ 10 พันธุ์. รายงานการวิเคราะห์บริษัทอาหารสยามจำกัด. 28 หน้า

จุลภาค คุ้นวงษ์. 2542. เทคโนโลยีชีวภาพและการปรับปรุงพันธุ์มะม่วง. สาระไม้ผล 4(3) : 12-13

ฉลองชัย แบบประเสริฐ. 2537. พันธุ์มะม่วงอุตสาหกรรมและการปรับปรุงพันธุ์. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 9 หน้า

ฉลองชัย แบบประเสริฐ. 2531. มะม่วงคั้นน้ำ. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 8 หน้า

บุหลัน พิทักษ์ผล สุจินดา นิมมานิตย์ น้อย สาริกภูติ วารุณี วรัญญานนท์ สุภารัตน์ เรืองมณีไพฑูรย์ และ ศุภารัตน์ ชวนะ. 2523. มะม่วงบรรจุกระป๋อง รวมเรื่องเกี่ยวกับมะม่วง ชมรมผู้พัฒนามะม่วงแห่งประเทศไทย. หน้า 87-100.

เปรม ณ สงขลา กรกัญญา อักษรเนียม วรรณภา เสนาดี อทิพัฒน์ บุญเพิ่มราศี ปานศิริ นิบุญธรรม.2560.

วิจิตร วังใน สัมฤทธิ์ เฟื่องจันทร์ ฉลองชัย แบบประเสริฐ โสฬส จินดาประเสริฐ ทวีเกียรติ ยิ้มสวัสดิ์ อำนวย คำตื้น สมเกียรติ จันทรกระจ่าง แววจักร กองพลพรหม ประเสริฐ อนุพันธ์ และไสว สุหร่าย. 2531. การปรับปรุงพันธุ์มะม่วง. โดยสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ มหาวิทยาลัยขอนแก่นมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และสำนักงานเกษตรภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. 31 หน้า

สถาปัตยกรรมการจัดการทรงพุ่มไม้ผล. พิมพ์ครั้งที่ 2 หจก. เฟรม อัพ ดีไซน์ 168 หน้า

สำนักคุ้มครองพันธุ์พืชแห่งชาติ. 2546. ฐานข้อมูลเชื้อพันธุ์พืช: มะม่วง เล่ม 2. กรมวิชาการเกษตร, จตุจักร, กรุงเทพ.

Begun, H., M.T. Reddy, S. Malathi, B.P. Reddy, S. Arcahk, J. Nagaraju and E.A. Siddiq. 2012. Molecular analysis for genetic distinctiveness and relationships of indigenous landraces with popular cultivars of mango (Mangifera indica L.) in Andhra Pradesh, India. The Asian and Aus. J. of Plant Sci and Biotech 6(1): 24-37.

Fulton, T.M., J. Chunwongse and S.D. Tanksley. 1995. Microprep protocol for extraction of DNA from tomato and other herbaceous plants. Plant Mol. Biol. Rep. 13(3): 207-209.

Kumar, M., V. Ponnuswami, P. Nagarajan, P. Jeyakumar and N. Senthi. 2013. Molecular characterization of ten mango cultivars using simple sequences repeat (SSR) markers. African J. of Biotech. 12(47): 6568-6573.

Ravishankar ,K.V., B.M.H. Reddy, L. Anand and M.R. Dinesh. 2011. Development of new microsatellite markers from Mango (*Mangifera indic*a) and cross-species amplifi cation. Americ. J. Bot. 98: e96-e99.

Williams, J.G.K., A.Kubbelik, K.J. Livak, J.A. Rafiski and S.V. Tinjey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Research 18: 6531-6535.