วารสารผลิตกรรมการเกษตร
JOURNAL OF AGRICULTURAL PRODUCTION
MJU

ว. ผลิตกรรมการเกษตร 3(1):87-97
J. Agri. Prod.

ความคงตัวทางพันธุกรรมของฝรั่ง

Genetic Stability of Guava (*Psidium guajava* L.)

จันทร์เพ็ญ สะระ[1*] ฉันทนา วิชรัตน์[2] ธีรนุช เจริญกิจ[3] และ แสงทอง พงษ์เจริญกิต[4]

Junpen Sara[1*] Chantana Witcharat[2] Theeranuch Jaroenkit[2] and Saengtong Pongjaroenkit[4]

[1] สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ ประเทศไทย 50290

[2] สาขาวิชาพืชผัก คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ ประเทศไทย 50290

[3] สาขาวิชาไม้ผล คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ ประเทศไทย 50290

[4] สาขาวิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ ประเทศไทย 50290

[1] The Office of Agricultural Research and Extension, Maejo University, Chiang Mai, Thailand, 50290

[2] Division of Vegetable Technology, Faculty of Agriculture Production, Maejo University, Chiang Mai, Thailand, 50290

[3] Division of Pomology Technology, Faculty of Agriculture Production, Maejo University, Chiang Mai, Thailand, 50290

[4] Program in Genetics, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai, Thailand, 50290

[*] Corresponding author: junpen_s@mju.ac.th

(Received: 9 February 2021; Revised: 7 April 2021; Accepted: 9 April 2021)

Abstract

Guava (*Psidium guajava* Linn.) is a fruit which has high vitamin C content. The major guava production had been done several countries including Thailand. There are numerous guavas in Thailand, however history and genetics database of guava were not varietally clear. Guava identification is useful for breeding program. In this study, eighteen guava varieties were detected genetic stability by phenotype and DNA fingerprint. The phenotype was collected characteristic with leaves color, fruit color, pulp fruit color and leaves color of selfing progenies segregation. The DNA fingerprint was verified nine SSR markers. The result shows that, the seedling segregation of 18 guava cultivars were separated into 2 groups follow by the seedling leaves color; 1) the leaves color of progenies different from mother plant was 12 cultivars 2) the leaves color of progenies not different from

mother plant was 6 cultivars. There was indicated non-genetic stability 6 guava cultivars by phenotype. The DNA fingerprint were examined among 18 guava cultivars with SSR markers. There was found that, only Putsa variety shows DNA pattern the same with their mother form nine SSR markers while 17 guava cultivars appeared the DNA pattern different from their mother and within progenies group. Thus, both of the phenotype and DNA fingerprint be able to demonstrate Putsa as highest genetic stability guava.
Keywords: guava, genetic stability, phenotype, DNA fingerprint

บทคัดย่อ

ฝรั่ง (*Psidium guajava* L.) เป็นผลไม้ที่มีวิตามินซีสูง มีแหล่งผลิตอยู่ในหลายประเทศรวมถึงประเทศไทย ซึ่งฝรั่งหลายพันธุ์มีประวัติพันธุ์ไม่ชัดเจน แต่การจำแนกพันธุ์ฝรั่งมีความจำเป็นในการปรับปรุงพันธุ์ในอนาคต ในการวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความคงตัวทางพันธุกรรมของฝรั่งจำนวน 18 พันธุ์ ด้วยลักษณะปรากฏโดยเก็บข้อมูลลักษณะสีใบ สีผิวของผล สีเนื้อ และการกระจายตัวของลูกที่ได้จากการผสมตัวเอง ร่วมกับการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมาย SSR จำนวน 9 ไพรเมอร์ ผลการศึกษา พบว่า จากลักษณะที่ปรากฏของลูกที่ได้จากการผสมตัวเองมี 2 กลุ่ม คือ กลุ่มสีใบของต้นลูกไม่แตกต่างจากต้นแม่ มีจำนวน 12 พันธุ์ และกลุ่มสีใบของต้นลูกแตกต่างจากต้นแม่ มีจำนวน 6 พันธุ์ ซึ่งกลุ่มหลังสามารถระบุได้ว่าฝรั่งพันธุ์เหล่านี้ไม่มีความคงตัวทางพันธุกรรม เมื่อตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของฝรั่งจำนวน 18 พันธุ์ ด้วยเครื่องหมาย SSR พบว่า มีเพียงพันธุ์พุทรามีลายพิมพ์ดีเอ็นเอของต้นแม่และลูกเหมือนกันทุกต้นในทุกเครื่องหมายที่ใช้ในการศึกษาแสดงว่าฝรั่งพันธุ์พุทรามีความคงตัวทางพันธุกรรมสูงสุด ในขณะที่ฝรั่งอีก 17 พันธุ์ ไม่มีความคงตัวทางพันธุกรรม เนื่องจากมีลายพิมพ์ดีเอ็นเอของต้นแม่และต้นลูกมีความแตกต่างกันในบางเครื่องหมาย จึงสามารถสรุปได้ว่าฝรั่งพันธุ์พุทรามีความคงตัวทางพันธุกรรมสูงจากทั้งลักษณะปรากฏและลายพิมพ์ดีเอ็นเอ
คำสำคัญ: ฝรั่ง ความคงตัวทางพันธุกรรม ลักษณะปรากฏ ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

คำนำ

ฝรั่ง (*Psidium guajava* L.) มีจำนวนโครโมโซม 2n=22 (Mehmood *et al*., 2016) มีถิ่นกำเนิดอยู่ในเขตร้อน เป็นผลไม้ที่อุดมไปด้วยเส้นใย วิตามินเอ วิตามินซี และกรดโฟลิค (Ahmed *et al*., 2011) โดยเฉพาะวิตามินซีมีมากกว่าส้ม 3-6 เท่า (Youssef and Ibrahim, 2016) มีแหล่งผลิตที่สำคัญอยู่ในหลายประเทศทั่วโลก (Shiva *et al*., 2017) รวมถึงประเทศไทยที่สามารถปลูกฝรั่งได้ในทุกภูมิภาคของประเทศไทย มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อม (พจณีย์, 2554) ซึ่งประเทศไทยมีฝรั่งหลายพันธุ์ ทั้งที่เป็นพันธุ์พื้นเมืองของไทยและพันธุ์ที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ จากการสำรวจพบว่ามีฝรั่งจำนวน 15 พันธุ์ที่ขึ้นทะเบียนกับ

สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช (สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช, 2563) โดยการปลูกฝรั่งในประเทศไทยยังคงเป็นการปลูกเชิงเดี่ยว เนื่องจากพันธุ์ฝรั่งนิยมขายในท้องตลาดส่วนใหญ่เป็นพันธุ์ที่มีผลสีเขียว เช่น กิมจู และแป้นสีทอง เป็นต้น การปรับปรุงพันธุ์ฝรั่งจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง เนื่องจากในปัจจุบันสภาพแวดล้อมมีความแปรปรวนตลอดเวลา (กระทรวงพลังงาน, 2563) ซึ่งส่งผลต่อการเจริญเติบโตของต้นพืช รวมทั้งส่งเสริมให้โรคและแมลงต่าง ๆ ปรับตัวให้เข้าทำลายพืชได้มากยิ่งขึ้น หากมีการเข้าทำลายของโรคหรือแมลงที่จำเพาะกับพันธุ์ฝรั่งบางพันธุ์จะส่งผลกระทบอย่างมาก การปรับปรุงพันธุ์ฝรั่งในประเทศไทยสามารถแบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ การคัดเลือกและผสมข้ามพันธุ์ ซึ่งการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้พันธุ์ใหม่นั้นใช้เวลานาน เนื่องจากใช้ระยะเวลาในการคัดเลือกยาวนาน ประกอบกับในไม้ผลจะมีระยะเยาว์วัย (juvenile) ยาวนาน อย่างไรก็ตามประวัติความเป็นมาของฝรั่งในประเทศไทยยังมีหลายพันธุ์ที่ไม่ปรากฏความเป็นมาแน่ชัด ดังนั้นการคัดเลือกพันธุ์ต่าง ๆ เพื่อนำมาใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในโครงการปรับปรุงพันธุ์จึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง โดยเฉพาะถ่ายทอดลักษณะต่าง ๆ จากรุ่นพ่อแม่ไปยังรุ่นลูก เนื่องจากจะมีผลต่อวิธีการคัดเลือกในการปรับปรุงพันธุ์ ซึ่งปัจจัยสำคัญที่จะทำให้การปรับปรุงพันธุ์พืชประสบความสำเร็จ คือ การคัดเลือกลักษณะที่ต้องการได้อย่างถูกต้องแม่นยำ และมีประสิทธิภาพ (อรรัตน์, 2548)

ปัจจุบันมีการนำเครื่องหมายดีเอ็นเอมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ เนื่องจากเป็นการคัดเลือกในระดับดีเอ็นเอ ซึ่งอิทธิพลของสภาพที่แวดล้อมไม่ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลง (อรรัตน์, 2548) เช่น การใช้เครื่องหมาย Simple Sequence DNA Repeats (SSR) ในการตรวจสอบมะม่วงลูกผสม (กิตติพัฒน์และธัญพิสิษฐ์, 2545) การตรวจสอบลำไยลูกผสมด้วยเครื่องหมาย Sequence Characterized Amplified Region (SCAR) (จันทร์เพ็ญ และคณะ, 2560) การสร้างแผนที่พันธุกรรมในฝรั่ง โดยใช้เครื่องหมาย Sequence-Related Amplified Polymorphic (SRAP) และ SSR (Padmaker *et al*., 2015) นอกจากนี้ยังสามารถตรวจสอบความบริสุทธิ์ทางพันธุกรรมในข้าว ข้าวโพดพันธุ์ต่าง ๆ และพืชตระกูลกะหล่ำ (จรรยา และคณะ, 2553; ศุภลักษ์ และจิระ, 2560; Yea *et al*., 2013) ในงานวิจัยครั้งนี้จึงได้ทำการศึกษาความคงตัวทางพันธุกรรมของฝรั่งพันธุ์ต่าง ๆ ในระยะต้นกล้า ด้วยลักษณะปรากฏ (phenotype) และตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA finger print) ด้วยเครื่องหมาย SSR ของต้นลูกที่ได้จากการผสมตัวเองของฝรั่งที่ใช้ในการศึกษาเพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้น ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการปรับปรุงพันธุ์ฝรั่งต่อไปในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

พันธุ์ฝรั่งที่ใช้ในการวิจัย

พันธุ์ฝรั่งที่ใช้ในการวิจัยเป็นฝรั่งที่มีเมล็ด จำนวน 18 พันธุ์ ได้แก่ พุทรา (Putsa) แป้นสีทอง (Paenseethong) ฮ่องเต้ (Hongta) กิมจู (Kimju) วังชมภู (Wangchompoo) แม่โจ้ 343 (Maejo 343) ปุยฝ้าย (Puyphai) ขี้นก (Kheenok) ชมพูพันธุ์ทิพย์ (Chompoopuntip) ขี้นกไส้แดง (Kheenok-Saidang) รจนา (Rotjana) สามสีกรอบ (Samsikrob) แป้นไส้แดง (Paen-Saidang) ไข่มุกไต้หวัน (Kaimooktaiwan) เพชรน้ำผึ้ง (Petnamphueng) พิจิตร 13-10 (Pijit 13-10) ม่วง (Mung) และแดง (Dang)

การศึกษาลักษณะปรากฏของฝรั่ง

เก็บข้อมูลลักษณะปรากฏของฝรั่ง ได้แก่ สีใบ สีผิวของผล สีเนื้อ แล้วทำการครอบดอกฝรั่งทั้ง 18 พันธุ์ เพื่อป้องกันการผสมข้ามโดยแมลง เมื่อผลฝรั่งอายุประมาณ 5 เดือน นำมาเพาะเมล็ดจนกระทั่งต้นกล้ามีใบอ่อนเกิดขึ้น จากนั้นเก็บข้อมูลการกระจายตัวของต้นกล้าต้นลูกฝรั่ง โดยสังเกตลักษณะสีของใบ เนื่องจากเป็นลักษณะที่เห็นได้ง่าย จากนั้นสุ่มเก็บใบอ่อนของต้นแม่และต้นกล้าที่ได้จากการผสมตัวเองของต้นแม่ จำนวน 10 ต้น เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

การศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอของฝรั่ง

การสกัดดีเอ็นเอ

นำใบอ่อนของฝรั่งประมาณ 0.2 กรัม มาบดในสารละลาย mCTAB เพื่อสกัดดีเอ็นเอ โดยใช้วิธี CTAB ดัดแปลง (Hwang and Kim, 2000) ตรวจสอบคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอด้วยการทำ 1% อะกาโรสเจล อิเล็กโทรฟอรีซิส ในสารละลาย TBE ความเข้มข้น 1 เท่า ใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที ย้อมชิ้นส่วนดีเอ็นเอด้วย RedSafe™ Nucleic Acid Staining Solution (iNtRON Biotechnology, Korea) เก็บสารละลายดีเอ็นเอไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้งาน

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์ SSR

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้มาเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค PCR ร่วมกับไพรเมอร์ SSR (Padmakar *et al*., 2015) จำนวน 9 ไพรเมอร์ (Table 1) เพื่อวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ โดยปฏิกิริยาประกอบด้วยดีเอ็นเอประมาณ 20 นาโนกรัมต่อปฏิกิริยาบัฟเฟอร์สำเร็จรูป 1 เท่า MyTaq™ Red Mix (BIOLINE, USA) ใช้ไพรเมอร์ความเข้มข้นสุดท้าย 0.5 ไมโครโมล่าร์ สภาวะที่ใช้ คือ 94 องศาเซลเซียส 4 นาที สำหรับขั้นตอนการ denaturing จากนั้นทำ 35 รอบของ denaturing ที่ 94 องศาเซลเซียส 30 วินาที, annealing 55 องศาเซลเซียส 60 วินาที และ extension 72 องศาเซลเซียส 90 วินาที ตามด้วย final extension 72 องศาเซลเซียส นาน 7 นาที วิเคราะห์ผลผลิต PCR ด้วย 3% อะกาโรสเจล อิเล็กโทรฟอรีซิส ในสารละลาย TBE ความเข้มข้น 1 เท่า ใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 60 นาที ย้อมชิ้นส่วนดีเอ็นเอด้วย RedSafe™ Nucleic Acid Staining Solution (iNtRON Biotechnology, Korea)

Table 1 The SSR primer sequences used for DNA amplification in this study

Primer name	Forward sequence (5' to 3')	Reverse sequence (5' to 3')
mPgCIR19	AAAATCCTGAAGACGAAC	TATCAGAGGCTTGCATTA
mPgCIR27	AGCACTTAGGGACAAATTCA	CTCACTCTCCTCCATTCAAG
mPgCIR31	TCTCACTGATGCAACTTTTC	CCCATTTTCATCTCAAAGTC
mPgCIR93	GCATCATGTGTTTGAACGAT	AAGTGTGCGTTCTCCATCT
mPgCIR96	ACGCTGCAAACGATACTAAT	AACTCACACGAGCACAGAG
mPgCIR100	CTAGAAGTCGAAGAATGGAA	TTTGTTAGTATCGGAGTCGAG
mPgCIR102	AATTGGTGTAGCATCTGGA	GCCTACCATGAACAGAGAAA
mPgCIR105	CCTCCTTCGCTCTACATAAA	ATTACCCCACGAACATATCA
mPgCIR111	CAACCTCGTTTGAGTCTTCT	AACATCATTGGGACCATTC

การวิเคราะห์ความคงตัวทางพันธุกรรมของฝรั่ง

หลังจากทำการเก็บข้อมูลลักษณะปรากฏแล้ว ถ้าพบว่ามีการกระจายตัวของสีใบในต้นลูก จะระบุได้ทันทีว่าฝรั่งเหล่านั้นไม่มีความคงตัวทางพันธุกรรม จากนั้นจะทำการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมาย SSR เพื่อดูการกระจายตัวต่อไป หากพบว่าลายพิมพ์ดีเอ็นเอของต้นลูกมีความแตกต่างกัน ก็จะถูกระบุว่าฝรั่งเหล่านั้นไม่มีความคงตัวทางพันธุกรรมเช่นเดียวกัน

ผลการวิจัยและวิจารณ์

การศึกษาลักษณะปรากฏของฝรั่ง

การศึกษาลักษณะปรากฏของฝรั่งจำนวน 18 พันธุ์ พบว่า สามารถแบ่งฝรั่งออกเป็น 5 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มที่ 1 ใบและผลมีสีเขียว เนื้อในมีสีขาว และสีใบของต้นลูก มีสีเขียว มีจำนวนทั้งหมด 8 พันธุ์ ได้แก่ พุทรา แป้นสีทอง ฮ่องเต้ กิมจู วังชมพู แม่โจ้ 343 ปุยฝ้าย และขี้นก กลุ่มที่ 2 ใบและผลมีสีเขียว เนื้อในมีสีแดง และสีใบของต้นลูก มีสีเขียว มีจำนวน 3 พันธุ์ ได้แก่ ชมพูพันธุ์ทิพย์ ขี้นกไส้แดง และรจนา กลุ่มที่ 3 ใบและผลมีสีเขียว เนื้อในมีสีแดง และสีใบของต้นลูกมีการกระจายตัวออกเป็นสีเขียวและสีแดง จำนวน 5 พันธุ์ ได้แก่ สามสีกรอบ แป้นไส้แดง ไข่มุกไต้หวัน เพชรน้ำผึ้ง และพิจิตร 13-10 กลุ่มที่ 4 ใบ ผล เนื้อในมีสีแดง แต่สีใบของต้นลูก มีการกระจายตัวออกสีเขียวและสีแดง มีเพียงพันธุ์เดียว คือ ม่วง และกลุ่มที่ 5 ใบ ผล เนื้อในรวมทั้งสีใบของต้นลูกมีสีแดง มีเพียงพันธุ์เดียว คือ แดง (Table 2)

Table 2 Characteristics of guava cultivars and their progenies

No.	Name of cultivar	Leaves color	Fruit color	pulp fruit color	Leaves color of progenies
1	Putsa	green	green	white	green
2	Paenseethong	green	green	white	green
3	Hongta	green	green	white	green
4	Kimju	green	green	white	green
5	Wangchompoo	green	green	white	green
6	Maejo 343	green	green	white	green
7	Puyphai	green	green	white	green
8	Kheenok	green	green	white	green
9	Chompoopuntip	green	green	red	green
10	Kheenok-Saidang	green	green	red	green
11	Rotjana	green	green	red	green
12	Samsikrob	green	green	red	green/red
13	Paen- Saidang	green	green	red	green/red
14	Kaimooktaiwan	green	green	red	green/red
15	Petnamphueng	green	green	red	green/red
16	Pijit 13-10	green	green	red	green/red
17	Mung	red	red	red	green/red
18	Dang	red	red	red	red

จากข้อมูลการกระจายตัวของลักษณะสีใบของต้นกล้าในรุ่นลูกในฝรั่งแต่ละพันธุ์ สามารถแบ่งกลุ่มได้ 2 กลุ่ม คือ กลุ่มสีใบของต้นลูกไม่แตกต่างจากต้นแม่ มีจำนวน 12 พันธุ์ และกลุ่มสีใบของต้นลูกแตกต่างจากต้นแม่ มีจำนวน 6 พันธุ์ ทำให้สามารถสรุปได้ว่าฝรั่งพันธุ์สามสีกรอบ แป้นไส้แดง ไข่มุกไต้หวัน เพชรน้ำผึ้ง และพิจิตร 13-10 ไม่มีความคงตัวทางพันธุกรรม ซึ่งในการปรับปรุงพันธุ์ถ้าต้นพ่อหรือแม่ไม่มีความคงตัวทางพันธุกรรมส่งผลให้เกิดการกระจายในรุ่นลูกได้ (ศุภลักษ์ และจิระ, 2558) ซึ่งหลักการนี้สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ฝรั่งพันธุ์ใหม่ ๆ ที่เกิดขึ้นในประเทศไทย เช่น การปรับปรุงฝรั่งพันธุ์หวานพิรุณที่อาศัยต้นแม่พันธุ์แป้นยักษ์สีทองซึ่งไม่มีความคงตัวทางพันธุกรรม มาเพาะเมล็ดและปลูกคัดเลือกฝรั่งพันธุ์เคยูการ์ด เบอร์ 1 ที่เกิดจากการคัดเลือกพันธุ์จากลูกผสมเปิดของฝรั่งพันธุ์พื้นเมือง ฝรั่งพันธุ์พันธุ์แม่โจ้ 341 เกิดจากการคัดเลือกมาจากต้นเพาะเมล็ดพันธุ์โบมองท์ (Beaumont) (สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช, 2564)

การศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอของฝรั่ง

ฝรั่งจำนวน 18 พันธุ์ ถูกนำมาศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมาย SSR จำนวน 9 ไพรเมอร์ โดยเปรียบเทียบกับพันธุ์แม่ พบว่า มีฝรั่งพันธุ์พุทรา (Putsa) เพียงพันธุ์เดียวที่มีลายพิมพ์ดีเอ็นเอของต้นแม่และต้นลูก ทั้ง 10 ต้น ไม่แตกต่างกันและแสดงแถบดีเอ็นเอเหมือนต้นแม่ทั้ง 9 ไพรเมอร์ (Figure 1) แสดงว่า ฝรั่งพันธุ์พุทรามีความคงตัวทางพันธุกรรมสูงที่สุด

ในขณะที่พันธุ์แป้นสีทอง สามสีกรอบ และแป้นไส้แดง มีลายพิมพ์ดีเอ็นเอของต้นลูกทั้ง 10 ต้น แตกต่างกัน จำนวน 3 ไพรเมอร์ และ มีลายพิมพ์ดีเอ็นเอของต้นลูกทั้ง 10 ต้น ไม่แตกต่างกัน จำนวน 6 ไพรเมอร์ พันธุ์ขี้นกไส้แดง และพิจิตร 13-10 มีลายพิมพ์ดีเอ็นเอของต้นลูกทั้ง 10 ต้น แตกต่างกัน จำนวน 4 ไพรเมอร์ และมีลายพิมพ์ดีเอ็นเอของต้นลูกทั้ง 10 ต้น ไม่แตกต่างกันจำนวน 5 ไพรเมอร์ พันธุ์แม่โจ้ 343 เพชรน้ำผึ้ง และปุยฝ้าย มีลายพิมพ์ดีเอ็นเอของต้นลูกทั้ง 10 ต้น แตกต่างกัน จำนวน 5 ไพรเมอร์ และลายพิมพ์ดีเอ็นเอของต้นลูกทั้ง 10 ต้น ไม่แตกต่างกัน จำนวน 4 ไพรเมอร์ พันธุ์กิมจูมีลายพิมพ์ดีเอ็นเอของต้นลูกทั้ง 10 ต้น แตกต่างกัน จำนวน 6 ไพรเมอร์ และมีลายพิมพ์ดีเอ็นเอของต้นลูกทั้ง 10 ต้น ไม่แตกต่างกัน จำนวน 3 ไพรเมอร์ พันธุ์ม่วงและไข่มุกไต้หวันมีลายพิมพ์ดีเอ็นเอของต้นลูกทั้ง 10 ต้น แตกต่างกัน จำนวน 7 ไพรเมอร์ และมีลายพิมพ์ดีเอ็นเอของต้นลูกทั้ง 10 ต้น ไม่แตกต่างกัน จำนวน 2 ไพรเมอร์ พันธุ์ฮ่องเต้และวังชมภูมีลายพิมพ์ดีเอ็นเอของต้นลูกทั้ง 10 ต้น แตกต่างกัน จำนวน 8 ไพรเมอร์ และลายพิมพ์ดีเอ็นเอของต้นลูกทั้ง 10 ต้น ไม่แตกต่างกันจำนวน 1 ไพรเมอร์ พันธุ์ชมพูพันธุ์ทิพย์รจนา และขี้นกมีลายพิมพ์ดีเอ็นเอของต้นลูกทั้ง 10 ต้น แตกต่างกัน ทั้ง 9 ไพรเมอร์ แสดงว่าเป็นกลุ่มมีความไม่คงตัวทางพันธุกรรมสูงที่สุด ในขณะที่พันธุ์แดงมีลายพิมพ์ดีเอ็นเอของต้นลูกทั้ง 10 ต้น แตกต่างกันเพียงแค่เครื่องหมายเดียว คือ เครื่องหมาย mPgCIR 19 (Figure 2) และมีลายพิมพ์ดีเอ็นเอของต้นลูกทั้ง 10 ต้น ไม่แตกต่างกัน จำนวน 8 ไพรเมอร์ (Table 3) แสดงว่าเป็นฝรั่งที่มีความไม่คงตัวทางพันธุกรรมต่ำที่สุด

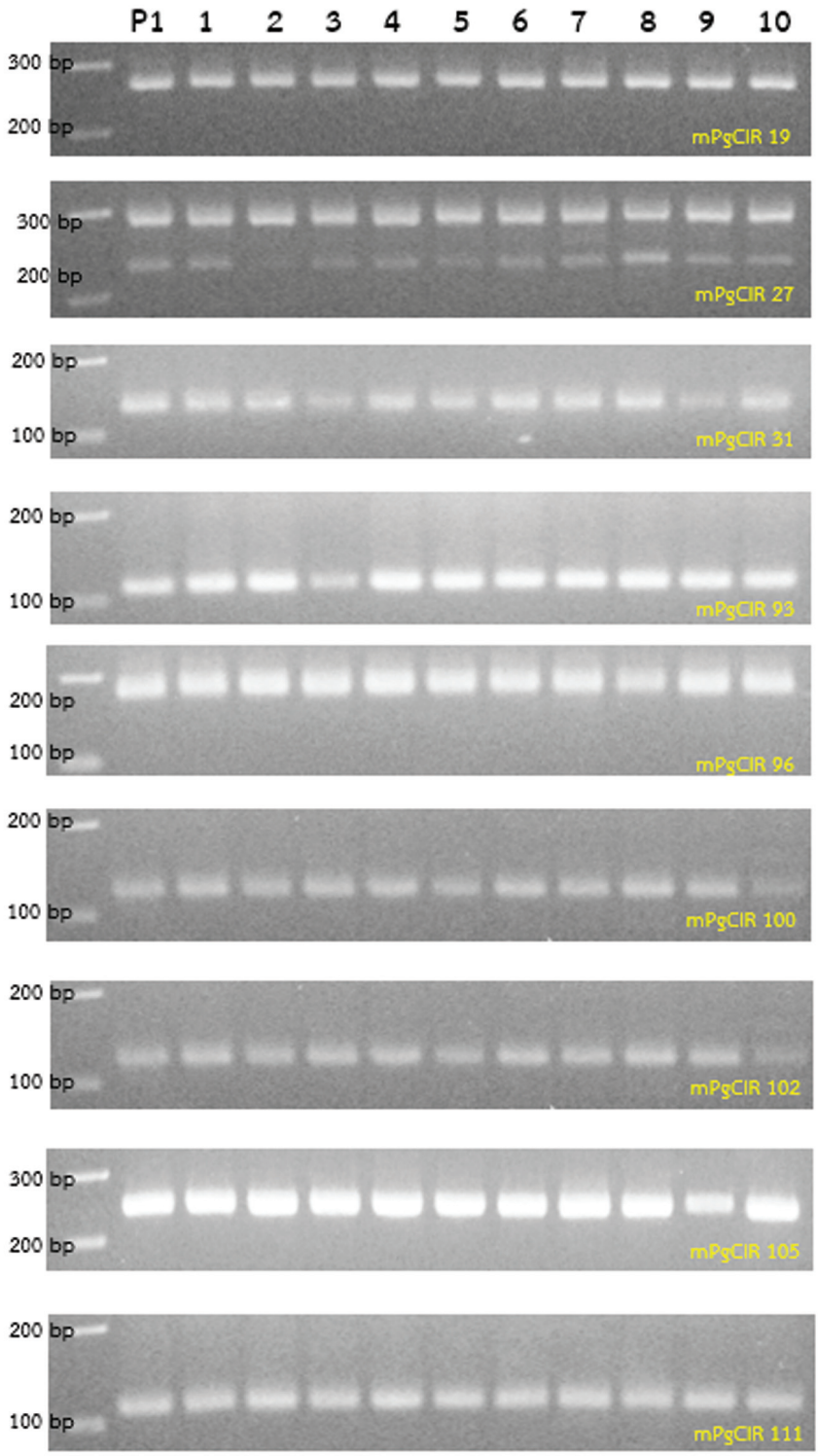

Figure 1 DNA amplification with 9 SSR markers of Putsa (P1) and their progenies (1-10)

จะเห็นได้ว่าจากการตรวจสอบด้วยลักษณะปรากฏจะพบว่าพันธุ์ฝรั่งไม่มีความคงตัวทางพันธุกรรมเพียงจำนวน 6 พันธุ์ แต่เมื่อนำมาตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมาย SSR สามารถระบุพันธุ์ฝรั่งได้มากถึง 17 พันธุ์ ที่ไม่มีความคงตัวทางพันธุกรรม จากการตรวจสอบด้วยเครื่องหมาย SSR มากถึง 9 ตำแหน่ง ซึ่งใช้เครื่องหมายมากกว่าการตรวจสอบความบริสุทธิ์ทางพันธุกรรมของข้าวโพดหวานลูกผสมพันธุ์สงขลา 84-1 ที่ใช้เครื่องหมาย SSR เพียงแค่ 3 ตำแหน่ง (ศุภลักษ์ และจิระ, 2015) และการตรวจสอบการปนเปื้อนของข้าววัชพืชในเมล็ดพันธุ์ข้าว ที่ใช้เครื่องหมาย SSR ในการตรวจสอบจำนวน 7 ตำแหน่ง (จรรยา และคณะ, 2553) และการศึกษาความบริสุทธิ์ของเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีด้วยเครื่องหมาย SSR, RAPD, ISSR และ SRAP จำนวน 7 เครื่องหมาย (Yea *et al*., 2013) ดังนั้นหากต้องการศึกษาแผนที่ยีนของฝรั่ง สามารถใช้ประชากรในรุ่นที่ 1 แทนประชากร 2 ตามกระบวน Pseudo-Testcross (Grattapagli and Sederoff, 1994; วิภาวี และคณะ, 2553) ซึ่งสามารถนำข้อมูลมาต่อยอดในการปรับปรุงพันธุ์ฝรั่งได้ต่อไปในอนาคต

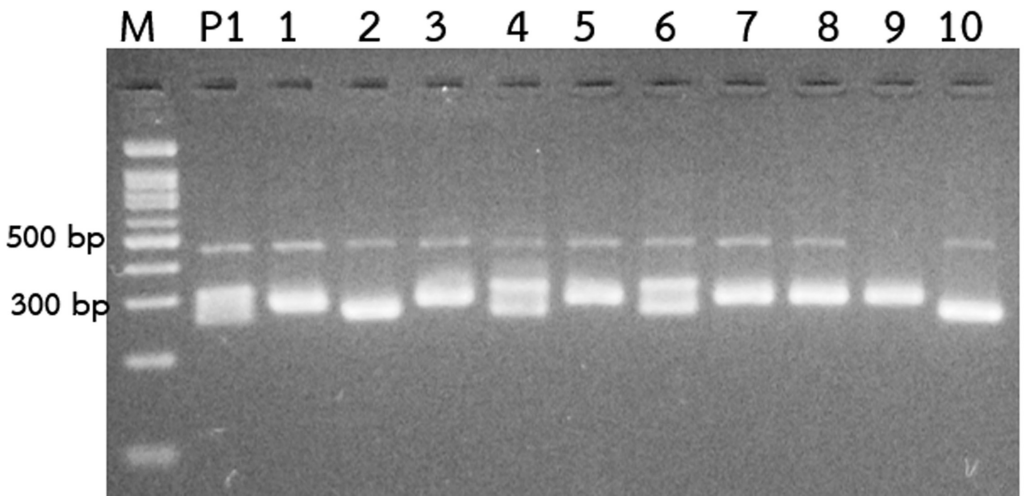

Figure 2 DNA amplification with mPgCIR 19 markers of Dang and their progenies

Table 3 Genotyping of guava progenies with 9 SSR markers

No.	Name of cultivar	Leaves color of F_1 progenies	mPgCIR 19	mPgCIR 27	mPgCIR 31	mPgCIR 93	mPgCIR 96	mPgCIR 100	mPgCIR 102	mPgCIR 105	mPgCIR 111
1	Putsa	green	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
2	Paenseethong	green	✓	✓	x	x	x	✓	✓	✓	✓
3	Hongta	green	x	x	x	x	x	x	x	✓	x
4	Kimju	green	x	✓	✓	x	x	x	✓	x	x
5	Wangchompoo	green	x	x	x	x	x	x	x	✓	x
6	Maejo 343	green	x	✓	✓	x	x	✓	✓	x	x
7	Puyphai	green	x	✓	x	✓	x	x	✓	✓	x
8	Kheenok	green	x	x	x	x	x	x	x	x	x
9	Chompoopuntip	green	x	x	x	x	x	x	x	x	x
10	Kheenok-Saidang	green	✓	✓	✓	x	x	x	x	✓	✓
11	Rotjana	green	x	x	x	x	x	x	x	x	x
12	Samsikrob	green-red	x	x	✓	✓	✓	✓	✓	✓	x
13	Paen- Saidang	green-red	x	x	✓	✓	✓	x	✓	✓	✓
14	Kaimooktaiwan	green-red	x	x	✓	x	✓	x	x	x	x
15	Petnamphueng	green-red	x	x	x	x	✓	✓	✓	x	✓
16	Pijit 13-10	green-red	✓	✓	✓	✓	x	x	x	✓	x
17	Mung	green-red	x	x	x	x	✓	x	x	✓	x
18	Dang	red	x	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓

Remark: ✓ = DNA bands of progenies are the same pattern; X = DNA bands of progenies are not the same pattern

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาความคงตัวทางพันธุกรรมของฝรั่งจำนวน 18 พันธุ์ พบว่า เมื่อตรวจสอบด้วยลักษณะปรากฏมีการกระจายตัวของสีใบของต้นกล้าของลูกในพันธุ์ฝรั่งจำนวน 6 พันธุ์ ซึ่งสามารถระบุได้ว่าไม่มีความคงตัวทางพันธุกรรมด้วยลักษณะปรากฏ และจากตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของฝรั่งด้วยเครื่องหมาย SSR จำนวน 9 ไพรเมอร์ พบว่า ฝรั่งพันธุ์พุทรามีความคงตัวทางพันธุกรรมสูงที่สุด ในขณะที่พันธุ์อื่น ๆ อีก 17 พันธุ์ ไม่มีความคงตัวทางพันธุกรรม ซึ่งจากการศึกษาข้อมูลเบื้องต้นนี้สามารถนำพันธุ์ที่ไม่มีความคงตัวทางพันธุกรรม

เหล่านี้ไปปลูกเพื่อคัดเลือกในรุ่นลูกชั่วที่ 1 โดยไม่ต้องทำการผสมข้ามพันธุ์ ซึ่งทำให้เกิดฝรั่งพันธุ์ใหม่ ๆ ต่อไปในอนาคตได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากโครงการปรับปรุงพันธุ์ไม้ผลศูนย์พัฒนาพันธุ์พืชจักรพันธ์เพ็ญศิริ รหัสโครงการ ชัยพัฒนา-62-001 มูลนิธิชัยพัฒนา ปีงบประมาณ 2562-2564

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงพลังงาน. 2563. “ลดโลกร้อน” ด้วยตัวเรา. แหล่งข้อมูล http://www.eppo.go.th/images/Infromation_service/Publication/Knowledge/green%20the%20earth.pdf (20 ธันวาคม 2563)

กิตติพัฒน์ อุโฆษกิจ และธัญสิษฐ์ พวงจิก. 2545. การปรับปรุงพันธุ์มะม่วงไทยโดยการใช้เครื่องหมายโมเลกุล SSR. รายงานการวิจัย. มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. กรุงเทพฯ.

จรรยา มณีโชติ วันเพ็ญ ศรีทองชัย ศันสนีย์ จำจด และกิ่งกาญจน์ พิชญกุล. 2553. การใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลเพื่อตรวจสอบการปนเปื้อนของข้าววัชพืชในเมล็ดพันธุ์ข้าว. แหล่งข้อมูล https://www.doa.go.th/research/attachment.php?aid=978 (22 ธันวาคม 2563)

จันทร์เพ็ญ สะระ ฉันทนา วิชรัตน์ ธีรนุช เจริญกิจ พาวิน มะโนชัย และแสงทอง พงษ์เจริญกิต. 2560. การพัฒนาเครื่องหมาย SCAR ด้วยเทคนิค Touchdown PCR เพื่อตรวจสอบลำไยลูกผสม. น. 46-54. 7-8 ธันวาคม. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. เชียงใหม่.

พจณีย์ มะลิชื่น. 2554. การศึกษาการผสมพันธุ์ชั่วที่ 1 จากการผสมข้ามฝรั่ง 3 พันธุ์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน, คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิภาวี ชั้นโรจน์ กัลยารัตน์ ภู่สุดแสวง ขวัญใจ พิพัฒน์เจริญวงศ์ และกิตติพัฒน์ อุโฆษกิจ. 2553. การสร้างแผนที่พันธุกรรมของปาล์มน้ำมัน. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 18(4): 1-11.

ศุภลักษ์ สัตยสมิทสถิต และจิระ สุวรรณประเสริฐ. 2560. การตรวจสอบความบริสุทธิ์ทางพันธุกรรมของข้าวโพดหวานลูกผสมพันธุ์ชัยนาท 2 โดยเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSRs. น. 224-232. 31 มกราคม-3 กุมภาพันธ์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช. 2563. รายชื่อพันธุ์พืชขอขึ้นทะเบียน และพันธุ์พืชที่ได้รับการขึ้นทะเบียนแล้ว (ร.พ.2). แหล่งข้อมูล http://www.doa.go.th/pvp/?page_id=509 (15 ธันวาคม 2563)

อรรัตน์ มงคลพร. 2548. เครื่องหมายโมเลกุลเพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืช. จรัลสนิทวงศ์การพิมพ์, กรุงเทพฯ.

Ahmed, B., M.A. Mannan and S.A. Hossain. 2011. Molecular characterization of guava (*Psidium guajava* L.) germplasm by RAPD analysis. International Journal of Natural Sciences. 1(3): 62-67.

Grattapaglia, D. and R. Sederoff. 1994. Genetic Linkage Maps of *Eucalyptus grandis* and *Eucalyptus urophylla* Using a Pseudo-Testcross: Mapping

Strategy and RAPD Markers. Genetics. 137: 1121-1137.

Mehmood, A., S. Luo, N. M. Ahmad, C. Dong, T. Mahmood, Y. Sajjad, M. J. Jaskani and P. Sharp. 2016. Molecular variability and phylogenetic relationships of guava (*Psidium guajava* L.) cultivars using inter-primer binding site (iPBS) and microsatellite (SSR) markers. Genet Resour Crop Evol. 63: 1345-1361.

Padmakara, B., C. Kanupriyaa, P. Madhavi Lathaa, K. S. Prashanta, M. R. Dineshb, D. Sailaja and C. Aswatha. 2015. Development of SRAP and SSR marker-based genetic linkage maps of guava (*Psidium guajava* L.). Scientia Horticulturae. 192: 158-165.

Shiva, B., A. Nagaraja, R. Singh and M. Srivastav. 2017. Genetic Diversity of Guava Genotype Evaluated Using RAPD Molecular Marker. International Journal of Genetics. 9(5): 272-274.

Yea, S., Y. Wanga, D. Huangb, J. Li, Y. Gonga, L. Xua and L. Liua. 2013. Genetic purity testing of F1 hybrid seed with molecular markers in cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*). Scientia Horticulturae. 155: 92-96.