การศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของทุเรียนหลงลับแลที่ปลูกในจังหวัดอุตรดิตถ์

Isozyme Pattern Investigation of *Durio zibethinus* Murr. var. Long Lab-lae Plantation in Uttaradit Province

พิชัย ใจกล้า[1/]

บทคัดย่อ

การศึกษารูปแบบไอโซไซม์เพื่อใช้ในการจำแนกความแตกต่างของทุเรียนพันธุ์หลงลับแล จำนวน 20 ตัวอย่าง ในพื้นที่ตำบลนานกกก อำเภอลับแล จังหวัดอุตรดิตถ์ โดยใช้วิธีโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซีสโดยการสกัดไอโซไซม์จากใบด้วย 0.2 M Tris-HCl pH 8.4 ศึกษาเอนไซม์จำนวน 6 ระบบ ได้แก่ acid phosphatase (ACP), esterase (EST), glutamate oxaloacetate transminase (GOT), leucine aminopeptidase (LAP), malate dehydrogenase (MDH) และ peroxidase (POX) พบว่า ทุเรียนพันธุ์หลงลับแลให้รูปแบบไอโซไซม์ที่ชัดเจนและแตกต่างกันที่ระดับ 0.75 และเมื่อนำมาวิเคราะห์และหาความสัมพันธ์ สามารถแบ่งออกเป็น 7 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ 1 (L06) กลุ่มที่ 2 (L14) กลุ่มที่ 3 (L13, L15, L19 และ L20) กลุ่มที่ 4 (L03, L07 และ L11) กลุ่มที่ 5 (L05, L08 และ L10) กลุ่มที่ 6 (L04, L09, L12, L17 และ L18) และกลุ่มที่ 7 (L01 และ L02)

คำสำคัญ: ทุเรียน ไอโซไซม์ อิเล็กโทรโฟรีซีส

Abstract

Isozyme pattern analysis was carried out to identify 20 samples of *Durio zibethinus* Murr. var. Long Lab-lae plantation in Tambon Na Nok Kok, Lab-lae District, Uttaradit province via polyacrylamide gel electrophoresis. The leaves were extracted using 0.2M Tris-HCl pH 8.4. Isozyme patterns of 6 enzyme systems, i.e. acid phosphatase (ACP), esterase (EST), glutamate oxaloacetate transminase (GOT), leucine aminopeptidase (LAP), malate dehydrogenase (MDH) and peroxidase (POX) were studied. The results showed that, Long Lab-lae variety produced distinct and different isozyme patterns within 0.75. These were distincted in 7 groups contained with group 1 (L06), group 2 (L14), group 3 (L13, L15, L19 and L20), group 4 (L03, L07 and L11), group 5 (L05, L08 and L10), group 6 (L04, L09, L12, L17 and L18) and group 7 (L01 and L02).

Keywords: *Durio zibethinus* L., isozyme, electrophoresis

คำนำ

ทุเรียน (*Durio zibethinus* Murr.) มีถิ่นกำเนิดในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ประเทศไทย ฟิลิปปินส์ มาเลเซีย อินโดนีเซีย เป็นต้น ทุเรียนในประเทศไทยมีชนิดพันธุ์จำนวนมากมาย แต่ที่จัดว่ามีคุณค่าทางเศรษฐกิจนั้นมีเพียง 60-80 พันธุ์ (เกศิณี, 2546) พื้นที่ที่นิยมปลูกทุเรียนเป็นจำนวนมาก ได้แก่ จังหวัดจันทบุรี ชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช นอกจากนี้ยังพบในจังหวัดอุตรดิตถ์ซึ่งเป็นแหล่งผลิตทุเรียนในระบบวนเกษตร (Agroforesty) มีลักษณะภูมิประเทศเป็นภูเขาและที่ราบหุบเขา สภาพภูมิอากาศร้อนชื้น มีอุณหภูมิระหว่าง 25-30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ 75-85 เปอร์เซ็นต์ (พิชัยและสุทธิรัตน์, 2549) ปัจจุบันทุเรียนหลงลับแลได้รับความนิยมปลูกกันมากเนื่องจากเป็นพันธุ์ที่มีราคาสูงและเป็นที่ต้องการของตลาด โดยมีลักษณะเด่นคือ น้ำหนักผล 700-800 กรัม

[1/] ภาควิชาเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์ 53000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปลือกผลมีสีเหลืองเขียว เนื้อมากและละเอียด เหนียว รสชาติหวานมัน เมล็ดน้อย (มนัส, 2545) การศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ของทุเรียนในแต่ละพันธุ์มีความสำคัญในการบ่งบอกเอกลักษณ์ การศึกษารูปแบบไอโซไซม์เป็นวิธีการศึกษาในการตรวจสอบและจำแนกลักษณะประจำพันธุ์ได้ นอกจากนี้ยังสามารถนำข้อมูลมาหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมได้อีกด้วย (Shields *et al*., 1986) มีรายงานการวิจัยที่มีการศึกษารูปแบบไอโซไซม์ที่เกี่ยวข้องกับไม้ชนิดต่าง ๆ ดังนี้ Aradhya *et al.* (1995) ศึกษาความหลากหลายของไอโซไซม์ลิ้นจี่ (*Litchi chinensis* Sonn.) จำนวน 49 พันธุ์ โดยใช้เอนไซม์ 8 ระบบ พบว่า ที่ระดับความเหมือนทางพันธุกรรม 50 เปอร์เซ็นต์ สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ และการเปรียบเทียบรูปแบบไอโซไซม์แสดงให้เห็นว่าพันธุ์ที่มีชื่อเฉพาะต่าง ๆ มีรูปแบบไอโซไซม์ที่แสดงออกของยีนต่างกัน และพันธุ์ที่เรียกชื่อต่างกันมีรูปแบบไอโซไซม์ที่มีลักษณะเฉพาะเหมือนกัน นอกจากนี้มีการศึกษาของ Protopapadakis and Papanikolaou (1999) ใช้เอนไซม์ 4 ระบบ ได้แก่ malate dehydrogenase (MDH), glutamate oxaloacetate transminase (GOT), tetrazolium oxidase (TO) และ esterase (EST) เพื่อหาความหลากหลายทางพันธุกรรมของมะนาว และสามารถแสดงความแตกต่างในระดับชนิดได้ กล่าวคือ *Citrus limon* พันธุ์ปลูก 7 ชนิด *C. aurantifolia* 1 ชนิด *C. lalifolia* พันธุ์ปลูก 1 ชนิด *C. meyeri* พันธุ์ปลูก 1 ชนิด และพันธุ์ปลูกที่คัดเลือกในท้องถิ่น 2 ตัวอย่าง มาวิเคราะห์ความผันแปรโดยใช้เอนไซม์ 4 ระบบ โดยรูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์ GOT ประกอบด้วยแถบไอโซไซม์ 2 แถบ ส่วน MDH แสดงแถบ 1-3 แถบ สำหรับ TO แสดงแถบ 2 แถบ และ EST ไม่เกิดแถบ นอกจากนี้ในปัจจุบันยังมีอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับการตรวจพิสูจน์พันธุ์พืชและการวิเคราะห์ทางพันธุกรรมคือการใช้เครื่องหมายทางชีวเคมี (biochemical markers) เช่น restriction fragment length polymorphisms (RFLP) และ random amplified polymorphic DNAs (RAPD) เป็นต้น โดย RFLP ใช้ความแตกต่างของขนาดดีเอ็นเอที่เกิดจากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ (restriction enzyme) สามารถตรวจสอบได้โดยอาศัยหลักการเข้าคู่ (hybridization) ของดีเอ็นเอที่มีเบสคู่สมกันระหว่างดีเอ็นเอตรวจสอบ (probe) กับชิ้นดีเอ็นเอเหล่านั้น ทำให้ตรวจพบความแตกต่างของสายพันธุ์พืชได้ แต่มีข้อจำกัดคือขั้นตอนยุ่งยากและใช้เวลานาน ตลอดจนใช้แรงงานและค่าใช้จ่ายสูง สำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค RAPD ใช้หลักการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยปฏิกิริยาลูกซ่าจำลองตัวแบบสุ่ม โดยพืชแต่ละชนิดมีการจัดเรียงตัวของลำดับเบสของดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน หากสายพันธุ์พืชที่นำมาตรวจสอบมีความแตกต่างกันของสารพันธุกรรม การจำลองตัวของดีเอ็นเอจะแตกต่างกัน ทำให้ได้จำนวนและชิ้นของดีเอ็นเอที่มีขนาดแตกต่างกันและสามารถนำไปใช้บ่งบอกชนิดของสายพันธุ์ได้ (สุรีพร, 2546) ดังนั้นการจำแนกพันธุ์จึงมีได้หลายวิธี ซึ่งการศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของทุเรียนพันธุ์หลงลับแลในครั้งนี้เป็นการศึกษาข้อมูลเอกลักษณ์ประจำพันธุ์และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยการวิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์ ซึ่งมีประโยชน์เป็นอย่างมากกับงานด้านการจำแนกพันธุ์พืชสำหรับพืชที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายคลึงกันหรือใกล้เคียงกัน นอกจากนี้เทคนิคดังกล่าวเป็นวิธีการที่ไม่แพงและสามารถวิเคราะห์ผล ได้รวดเร็ว

อุปกรณ์และวิธีการ

ศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของทุเรียนพันธุ์หลงลับแลในพื้นที่ตำบลนานกกก อำเภอลับแล จังหวัดอุตรดิตถ์ จำนวน 20 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นต้นทุเรียนที่มีอายุไม่ต่ำกว่า 10 ปี และปลูกในสวนที่ได้รับการรับรองมาตรฐาน GAP การศึกษารูปแบบไอโซไซม์ใช้เทคนิคโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซีส โดยเตรียมตัวอย่างตามวิธี ดังนี้

สกัดโปรตีนจากใบของพืชทดลองตัวอย่างละ 1 กรัม โดยบดตัวอย่างใบในโกร่งพร้อมกับเติมไนโตรเจนเหลวเพื่อให้สามารถบดได้ง่ายขึ้น และใส่สารสกัดคือ 0.2 M Tris-HCl pH 8.4 ปริมาณ 3 มิลลิลิตร และ polyvinylpolypyrolidone (PVPP) 0.1 กรัม (Schmid,1980; Shields *et al*.,1986) จากนั้นบดให้ละเอียดจนเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปหมุนเหวี่ยงเพื่อแยกตะกอนออกด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 15,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 นาที (Paisooksantivatana *et al*., 2001; Chokthaweepanich, 2002) จากนั้นจึงใช้ไมโครปิเปตดูดเอาเฉพาะสารละลายใสส่วนบนเก็บไว้เพื่อวิเคราะห์ต่อไป นำตัวอย่างไปวิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์ด้วยระบบเอนไซม์ 6 ระบบ ได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

acid phosphatase (ACP), esterase (EST), glutamate oxaloacetate transminase (GOT), leucine aminopeptidase (LAP), malate dehydrogenase (MDH) และ peroxidase (POX)

ศึกษารูปแบบไอโซไซม์จากตำแหน่งจำนวนแถบสีและความหนาของแถบสีที่เกิดขึ้น บันทึกภาพของแถบสีแล้วเขียนไซโมแกรม นำค่าที่ได้ไปหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมตามวิธีการของ Sneath and Sokal (1973) และนำข้อมูลที่ได้มาหาความแตกต่างของสายพันธุ์ด้วยคอมพิวเตอร์โดยใช้โปรแกรม Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis Version 2.21i (NTSYSpc 2.21i) (Rohlf, 2005)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การศึกษารูปแบบไอโซไซม์จากระบบเอนไซม์ 6 ระบบ คือ ACP, EST, GOT, LAP, MDH และ POX ในทุเรียนหลงลับแลจำนวน 20 ตัวอย่าง พบว่า มีการแสดงออกของเอนไซม์ 5 ระบบคือ ACP, EST, GOT, MDH และ POX ดังแสดงใน Figure 1 ส่วนเอนไซม์ LAP ไม่มีการแสดงออก

ระบบเอนไซม์ 5 ระบบแสดงรูปแบบไอโซไซม์ที่แตกต่างกัน มีค่า Rf และความหนาของแถบแตกต่างกัน ดังนี้ **รูปแบบไอโซไซม์** ACP ปรากฏแถบสีที่ตำแหน่งแตกต่างกันจำนวน 3 แถบ มีค่า Rf เท่ากับ 0.273, 0.400 และ 0.536 ความหนาของแถบ 2, 2 และ 1 มิลลิเมตร ตามลำดับ **รูปแบบไอโซไซม์** EST ปรากฏแถบสีที่ตำแหน่งแตกต่างกันจำนวน 3 แถบ มีค่า Rf เท่ากับ 0.100, 0.245 และ 0.427 ความหนาของแถบ 1, 3 และ 3 มิลลิเมตร ตามลำดับ **รูปแบบไอโซไซม์** GOT ปรากฏแถบสีจำนวน 1 แถบ มีค่า Rf เท่ากับ 0.445 ความหนาของแถบ 3 มิลลิเมตร **รูปแบบไอโซไซม์** MDH ปรากฏแถบสีที่ตำแหน่งแตกต่างกันจำนวน 2 แถบ มีค่า Rf เท่ากับ 0.445 และ 0.473 ความหนาของแถบ 7 และ 4 มิลลิเมตร ตามลำดับ **รูปแบบไอโซไซม์** POX ปรากฏแถบสีจำนวน 1 แถบ มีค่า Rf เท่ากับ 0.336 ความหนาของแถบ 3 และ 7 มิลลิเมตร เมื่อนำรูปแบบไอโซไซม์ที่ปรากฏแถบสีทั้ง 5 ระบบ ได้แก่ ACP, EST, GOT, MDH และ POX มาจัดกลุ่ม สามารถจัดชุดรูปแบบการแสดงออกของแถบสีได้เป็น 4, 2, 1, 2 และ 1 ชุด ตามลำดับ (Figure 2)

เมื่อวิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์ทั้ง 5 ระบบ จัดกลุ่มการกระจายตัวตามการปรากฏและไม่ปรากฏแถบสี แล้วเขียนแผนภาพ allozyme (Figure 3) นำรูปแบบมาวิเคราะห์ค่าความสัมพันธ์โดยหาค่าความสัมพันธ์ด้วย UPGMA cluster analysis แสดงผลในรูปแบบของเดนโดรแกรม พบว่า ที่ค่า coefficient เท่ากับ 0.5-1.0 สามารถจำแนกกลุ่มตัวอย่างพืชได้เป็น 7 กลุ่ม ดังนี้ **กลุ่มที่ 1** มีจำนวน 1 ตัวอย่าง คือ L06 **กลุ่มที่ 2** มีจำนวน 1 ตัวอย่าง คือ L14 **กลุ่มที่ 3** มีจำนวน 4 ตัวอย่าง คือ L13 L15 L19 และ L20 **กลุ่มที่ 4** มีจำนวน 3 ตัวอย่าง คือ L03 L07 และ L11 **กลุ่มที่ 5** มีจำนวน 3 ตัวอย่าง คือ L05 L08 และ L10 **กลุ่มที่ 6** มีจำนวน 6 ตัวอย่าง คือ L04 L09 L12 L16 L17 และ L18 และ **กลุ่มที่ 7** มีจำนวน 2 ตัวอย่าง คือ L01 และ L02

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

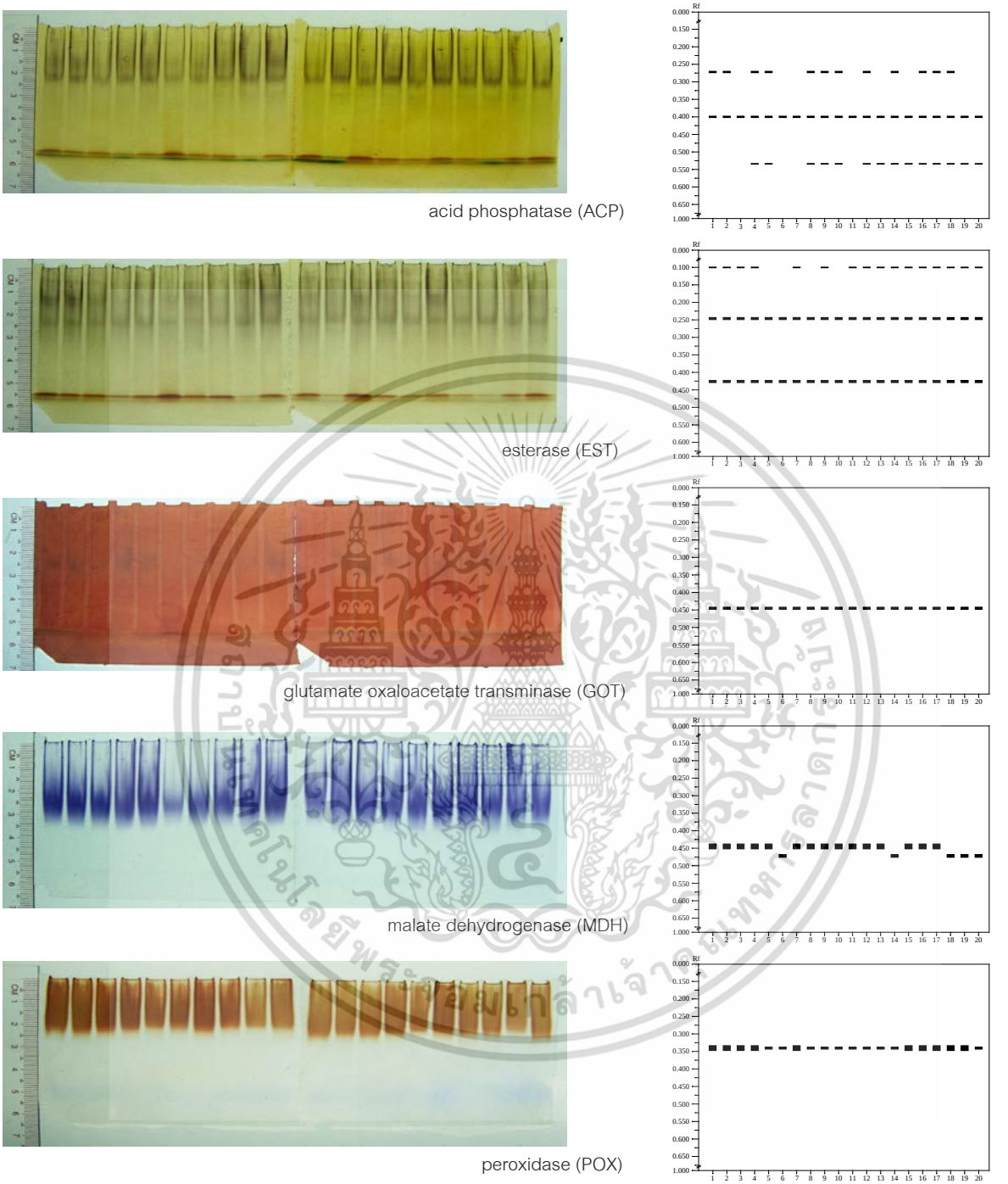

Figure 1 ACP, EST, GOT, MDH, POX band patterns and zymograms of *Durio zibethinus* Murr. var. Long Lab-lae

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

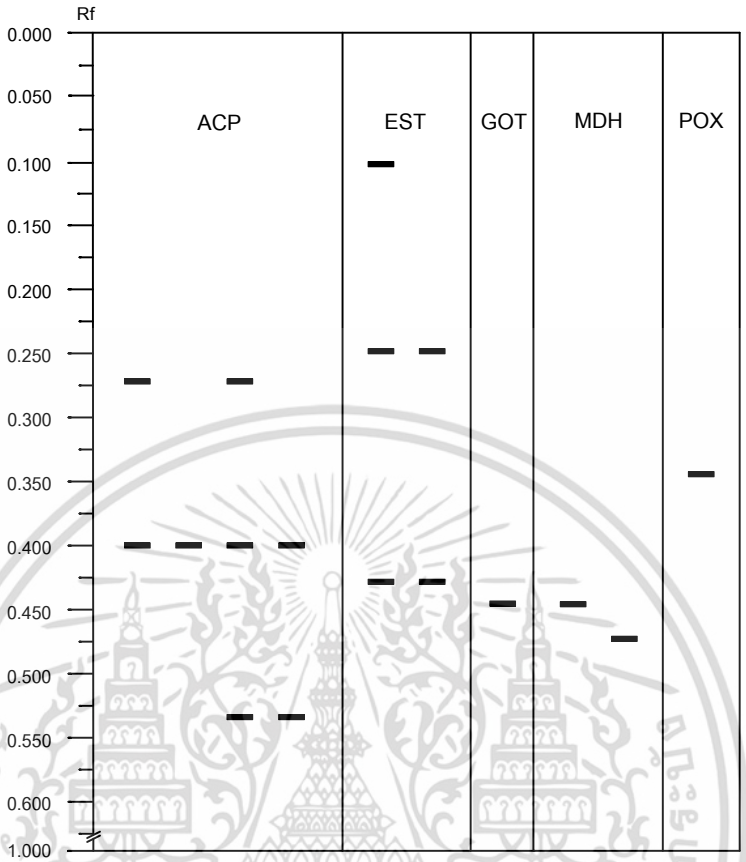

Figure 2 Schematic zymogram of representative phenotypes of *Durio zibethinus* Murr. var. Long Lab-lae reproduced from ACP, EST, GOT, MDH and POX enzyme systems

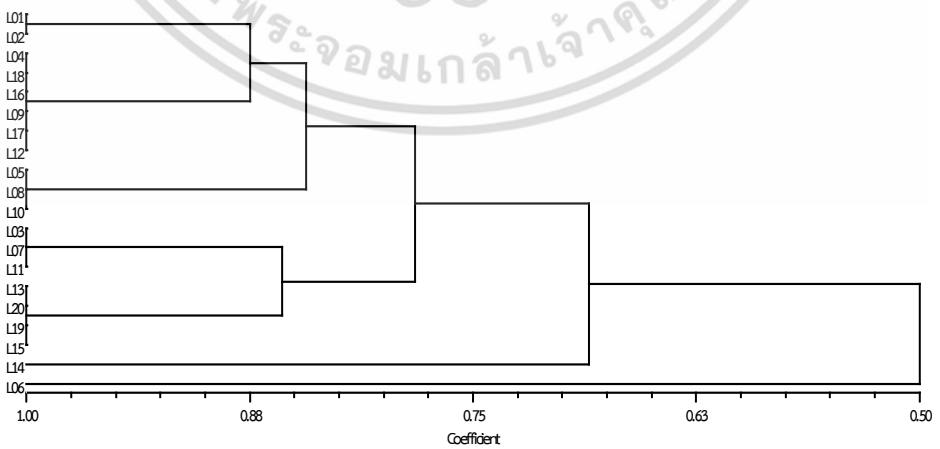

Figure 3 Dendrogram showing genetical relatedness of *Durio zibethinus* Murr. var. Long Lab-lae

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของทุเรียนหลงลับแลด้วยระบบเอนไซม์ ACP, EST, GOT, MDH และ POX พบว่า ปรากฏแถบสีของไอโซไซม์ที่ชัดเจน สามารถนำมาใช้หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยใช้แถบร่วมภายในกลุ่ม (monomorphic band) การเคลื่อนที่ของแถบที่มีลักษณะเหมือนกันเกิดจากปริมาณความเข้มข้นของแถบไอโซไซม์เท่ากันดังที่ปรากฏแต่ละเอนไซม์

การแยกกลุ่มทุเรียนหลงลับแลโดยใช้โปรตีนจากใบสามารถแสดงความผันแปรที่อาจมีในประชากรที่อยู่ในอีโคไทป์เดียวกัน หรือพืชชนิดเดียวกันต่างต้นกันจะมีรูปแบบไอโซไซม์แตกต่างกันเพียงเล็กน้อย Weeden and Wendel (1989) พบว่าลักษณะของโครงสร้างเอนไซม์ ACP, EST และ MDH มีโครงสร้างโมเลกุลแบบ dimmer ส่วน GOT มีโครงสร้างโมเลกุลแบบ hexamer มีจำนวนแถบไอโซไซม์ 1-3 แถบ ซึ่งเอนไซม์ที่ทำการศึกษามีลักษณะที่สอดคล้องกัน

การเกิดแถบของไอโซไซม์แต่ละชนิดมีความเกี่ยวข้องกับจำนวนโลกัส (locus) จำนวนรูปแบบของยีนหรืออัลลีล (allele) ต่อโลกัส และโครงสร้างโมเลกุลของเอนไซม์ (quaternary structure of enzyme) และอาจเกิดจากคุณสมบัติของเอนไซม์แต่ละชนิดที่อยู่ในพืชมีความจำเพาะ (specific) ของเอนไซม์ในการทำปฏิกิริยากับ substrate ได้แตกต่างกันออกไป และเมื่อเปรียบเทียบแถบสี ACP, EST, MDH และ POX มีแถบสีที่เข้ม แสดงว่ามีปริมาณและกิจกรรมในใบพืชมาก ส่วน GOT ปรากฏแถบไม่ชัด อาจเกิดจากเอนไซม์เกิดการแปลงสภาพ (denature) หรือในการสกัดมีสารฟีนอลหรือแทนนิลปนอยู่ในตัวอย่าง ส่วน LAP ไม่ปรากฏแถบอาจเกิดจากตัวอย่างอยู่ในสภาพ inactive หรือเกิดการแปลงสภาพไป

จากรูปแบบไอโซไซม์ที่ปรากฏแถบสีจากระบบเอนไซม์จำนวน 5 ระบบ เมื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NTSYSpc สามารถแบ่งกลุ่มพืชได้ สอดคล้องกับ สุภาพและคณะ (2546) ได้ศึกษาเทคนิคไอโซไซม์ในการจำแนกพันธุ์ทุเรียนพันธุ์การค้า 4 พันธุ์ ได้แก่ หมอนทอง กระดุม ก้านยาว และชะนี โดยใช้เอนไซม์จำนวน 9 ระบบ พบไอโซไซม์ที่เป็นประโยชน์ในการจำแนกความแตกต่างของพันธุ์ทุเรียนที่ศึกษาเพียง 5 ระบบ คือ malate dehydrogenase, peroxidase, esterase, 6-phosphogluconate dehydrogenase และ phosphoglucomutase ซึ่งวิธีการดังกล่าวเป็นการศึกษาและประยุกต์วิธีการทางชีวเคมีในการจำแนกพันธุ์และติดตามลักษณะทางพันธุกรรมที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้การวิเคราะห์ไอโซไซม์ยังใช้กับการศึกษาไม้ผลอีกหลายชนิด เช่น พืชสกุลมังคุด ลางสาด และมะม่วง (ศุจิรัตน์และคณะ, 2554; Coroza-Almontero and Espino, 2010) อย่างไรก็ดี หากได้มีการศึกษาในระดับดีเอ็นเอร่วมด้วยอาจช่วยให้จำแนกความแตกต่างได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น ดังการศึกษาของศุจิรัตน์และคณะ (2554) ซึ่งได้จำแนกพืชสกุลมังคุด (*Garcinia* spp.) จำพวกชะมวง (*Garcinia cowa* Roxb.) โดยการวิเคราะห์ไอโซไซม์ peroxidase พบว่ามีชะมวงอย่างน้อย 7 ชนิดในกลุ่มตัวอย่าง และเมื่อตรวจสอบในระดับดีเอ็นเอด้วยวิธี RAPD และวิเคราะห์ cluster analysis พบว่าสามารถจำแนกความแตกต่างทางสายพันธุ์ของชะมวงได้

ดังนั้นข้อมูลที่ได้จากการศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของทุเรียนพันธุ์หลงลับแลที่ปลูกในพื้นที่จังหวัดอุตรดิตถ์นี้จึงเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญในการนำไปใช้ประโยชน์สำหรับการศึกษาด้านอื่น ๆ ต่อไป

สรุป

จากการศึกษารูปแบบไอโซไซม์ 6 ระบบ พบว่า เอนไซม์ ACP, EST, GOT, MDH และ POX ปรากฏแถบสี ส่วน LAP ไม่ปรากฏแถบสี และสามารถแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของทุเรียนหลงลับแลได้ที่ระดับ 0.5-1.0 แบ่งได้ 7 กลุ่ม ค่าที่ได้สามารถเป็นเครื่องมือสนับสนุนงานด้านอนุกรมวิธานได้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่สนับสนุนงานวิจัย และคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

เกศิณี ระมิงค์วงศ์. 2546. การจัดจำแนกไม้ผล. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 417 น.

มนัส ดาเกลี้ยง. 2545. พันธุ์ทุเรียนเมืองลับแล. คณะเกษตรศาสตร์และสิ่งแวดล้อม สถาบันราชภัฏอุตรดิตถ์, อุตรดิตถ์. 17 น.

พิชัย ใจกล้า และสุทธิรัตน์ ปาลาศ. 2549. สัณฐานวิทยาและจำนวนโครโมโซมลางสาดพื้นเมืองลับแล. วารสารเกษตร 22(1): 61-65.

ศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล สุภาพ สุนทรนนท์ และสุขวัฒน์ จันทรปรรณิก. 2554. การศึกษาเทคนิคการวิเคราะห์ไอโซไซม์และดีเอ็นเอเพื่อการจำแนกพืชในสกุล *Durio*, *Garcinia* และ *Lansium*. ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 3, ขอนแก่น. 55 น.

สุภาพ สุนทรนนท์ ศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล สุขวัฒน์ จันทรปรรณิก และพะยงค์ เก่งกาจ. 2546. การใช้เทคนิคไอโซไซม์ในการจำแนกพันธุ์และ clone ทุเรียนพันธุ์การค้า. พืชสวนจันทบุรี สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร, จันทบุรี. 47 น.

สุรีพร เกตุงาม. 2546. เครื่องหมายดีเอ็นเอในงานปรับปรุงพันธุ์พืช. วารสารวิชาการ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี 5(2): 37-59.

Aradhya, M.K., F.T. Zee and R.M. Manshardt. 1995. Isozyme variation in Lychee (*Litchi chinensis* Sonn.). Scientia Horticulturae 63 : 21-35.

Chokthaweepanich, H. 2002. Classification of the genus *Curcuma* (Zingiberaceae) based on morphological characters and isozyme pattern. M.S. Thesis in Agriculture, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok. 195 p.

Coroza-Almontero, C. and R.R.C. Espino. 2010. Genetic characterization of mango (*Mangifera indica* L.) cultivars through isozyme analysis. Philipp Agric Scientist 93(2) : 238-244.

Paisooksantivatana, Y., S. Kako and H. Seko. 2001. Isozyme polymorphism in *Curcuma alismatifolia* Gagnep. (Zingiberaceae) populations from Thailand. Scientia Horticulturae 88 : 299-307.

Protopapadakis, E. and X. Papanikolaou. 1999. Use of four isozymatic systems in lemon and lemon-like citrus cultivars to detect their genetic diversity. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology 74 : 26-29.

Rohlf, F.J. 2005. NTSYSpc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Version 2.21i. Exeter software, New York.

Schmid, A. 1980. Electrophoresis techniques. Department of Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Bangkok. 106 p.

Shields, C.R., T.J. Orton and C.W. Stuber. 1986. An outline of general resource needs and procedures for the electrophoretic separation of active enzymes from plant tissue. pp. 443-468. *In* Tanksley, S.D. and T.J. Orton (eds.). Isozymes in plant genetics and breeding: part A. Elsevier Science Publisher B.V., Amsterdam.

Sneath, P.H.A. and R.R. Sokal. 1973. Numerical Taxonomy. Freeman, Sanfrancisco. 573 p.

Weeden, N.F. and J.F. Wendel. 1989. Genetics of plant isozyme. pp. 46-72. *In* Soltis, D.E. and P.S. Soltis (eds.). Isozymes in Plant Biology. Dioscorides Press, Portland, Oregon.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้