

ลักษณะประจำพันธุ์กับการประเมินและลายพิมพ์ดีเอ็นเอของพันธุ์ฝ้าย



นางสาวทัศนวิวรรณ ก้อนจันทร์เทศ

สถาบันวิทยบริการ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาพฤกษศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2544

ISBN 974-03-0459-1

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CHARACTERIZATION AND EVALUATION AND DNA FINGERPRINT OF COTTON CULTIVARS



MISS TASANEewan KONJANTHES

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science in Plant Science in Botany

Department of Botany  
Faculty of Science  
Chulalongkorn University  
Academic Year 2001  
ISBN 974-03-0459-1

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ลักษณะประจำพันธุ์กับการประเมินและลายพิมพ์ดีเอ็นเอของพันธุ์ฝ้าย
โดย	นางสาวทัศนีวรรณ ก้อนจันทร์เทศ
สาขาวิชา	พฤกษศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ ดร. ต่อศักดิ์ สีลานันท์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ดร. ปริญา สีนุญเรือง

---

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วน  
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์  
(รองศาสตราจารย์ ดร. วันชัย โพธิ์พิจริต)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ  
(รองศาสตราจารย์สุมิตรา คงชื่นสิน)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา  
(อาจารย์ ดร. ต่อศักดิ์ สีลานันท์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม  
(ดร. ปริญา สีนุญเรือง)

..... กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์บุศบรณ ณ สงขลา)

สภามหาวิทยาลัยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นางสาวทัศนวิวรรณ ก้อนจันทร์เทศ : ลักษณะประจำพันธุ์กับการประเมินและลายพิมพ์  
ดีเอ็นเอของพันธุ์ฝ้าย. (CHARACTERIZATION AND EVALUATION AND DNA  
FINGERPRINT OF COTTON CULTIVARS) อาจารย์ที่ปรึกษา : อาจารย์ ดร. ต่อศักดิ์  
สีลานันท์, อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : ดร. ปริญญา สีนุญเรือง, 70 หน้า.  
ISBN 974-03-0459-1.

ฝ้ายเป็นพืชในสกุล *Gossypium* วงศ์ Malvaceae และเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญ  
ต่ออุตสาหกรรมสิ่งทอของประเทศ จึงมีการผลิตฝ้ายพันธุ์ดีเด่นที่ให้ผลผลิตสูงและต้านทานต่อโรค  
และแมลง ซึ่งในอนาคตจะมีการจดทะเบียนพันธุ์ฝ้ายดังกล่าวเพื่อป้องกันการละเมิดทรัพย์สินทาง  
ปัญญา ในการจดทะเบียนคุ้มครองพันธุ์ฝ้ายนั้นต้องพิจารณาลักษณะประจำพันธุ์ต่างๆเพื่อจำแนก  
แต่ละพันธุ์ออกจากกัน งานวิจัยนี้ได้ทำการตรวจสอบและประเมินลักษณะประจำพันธุ์จำนวน 49  
ลักษณะในฝ้าย 10 พันธุ์ 5 สายพันธุ์ซึ่งประกอบด้วยฝ้ายพันธุ์ปลูก และพันธุ์พื้นเมือง (*G. hirsutum*,  
*G. barbadense*, *G. arboreum*) เป็นระยะเวลา 2 ฤดูเพาะปลูก เพื่อศึกษาทั้งลักษณะทาง  
คุณภาพและปริมาณรวมทั้งลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เหมาะสมต่อการใช้จำแนกความแตกต่างระหว่าง  
พันธุ์/สายพันธุ์ โดยทำการทดสอบที่ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ อ. ตากฟ้า จ.นครสวรรค์ จาก  
การศึกษาพบลักษณะสำคัญที่สามารถใช้ในการระบุความแตกต่างระหว่างฝ้ายทั้ง 15 พันธุ์/สาย  
พันธุ์ ได้จำนวน 32 ลักษณะซึ่งส่วนใหญ่เป็นลักษณะทางด้านการสืบพันธุ์ (reproductive  
character) และลักษณะทางด้านการเจริญเติบโต (vegetative character) ตามลำดับ สำหรับการ  
ใช้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากวิธีการ RAPD เพื่อใช้แสดงลักษณะประจำพันธุ์ของฝ้ายแต่ละสายพันธุ์นั้นไม่  
พบแถบดีเอ็นเอจำเพาะ (unique band) ที่จะใช้ระบุแต่ละสายพันธุ์ได้ แสดงให้เห็นว่าเทคนิค  
RAPD อาจเป็นวิธีการที่ไม่เหมาะสมสำหรับการระบุพันธุ์/สายพันธุ์ ทั้งนี้สาเหตุหนึ่งอาจเนื่องมาจาก  
พันธุ์ฝ้ายที่นำมาศึกษาในครั้งนี้มีฐานพันธุกรรม (genetic base) แคบ

ภาควิชา.....พฤกษศาสตร์.....: ลายมือชื่อนิสิต.....  
สาขาวิชา.....พฤกษศาสตร์.....: ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....  
ปีการศึกษา.....2544.....: ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

## 4172298823 : MAJOR BOTANY

KEY WORDS : COTTON/CHARACTERIZATION/EVALUATION/RAPD/  
DNA FINGERPRINT.

TASANEEWAN KONJANTHES : CHARACTERIZATION  
AND EVALUATION AND DNA FINGERPRINT OF  
COTTON CULTIVARS. THESIS ADVISOR : TOSAK  
SEELANANT, Ph.D., THESIS CO-ADVISOR: PARINYA  
SEBUNRUANG, Ph.D. 70 pp.  
ISBN 974-03-0459-1.

Cotton is a member of the genus *Gossypium* of the family Malvaceae and is the economic important plant in Thai textile industry. There are many elite cottons that are high yield and more resistant to pests and pathogens. In the future, these cultivars will be registered to protect owners' intellectual property. To do that, all traits will be used to distinguish each cultivar. This thesis is carried out in order to investigate any quantitative and qualitative traits as well as DNA fingerprint for cotton cultivar identification. Forty-nine traits were characterized in 15 varieties of native and elite cotton cultivars during 2 planting seasons at the Nakhon Sawan Field Crops Research Center. The results showed that thirty-two important traits used to distinguish each cultivar. Almost are reproductive character and vegetative character. The RAPD-based DNA fingerprint for characterized individual found no unique band for identifying any cultivar. The result suggested that RAPD-based DNA fingerprint may not be suitable for characterizing cotton cultivars. This might be due to a narrow genetic base of elite cotton cultivars.

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Department ..... Botany ..... Student's signature .....

Field of study ..... Botany ..... Advisor's signature .....

Academic year ..... 2001 ..... Co-advisor's signature .....

## กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. ต่อศักดิ์ สีลานันท์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาเป็นที่ปรึกษาและให้คำแนะนำต่างๆตลอดการทำวิจัยและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ ขอกราบขอบพระคุณ ดร. ปริญญา สีนุญเรือง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วมที่กรุณาให้คำแนะนำต่างๆตลอดจนดูแลเป็นอย่างดีตลอดระยะเวลาการทำวิจัยในภาคสนาม และตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ สุมิตรา กงจีนสิน ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ บุศบรรณ ณ สงขลา กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ ตลอดจนช่วยกรุณาชี้แนะแนวทางการศึกษาและเป็นกำลังใจสำหรับผู้เขียน สำหรับผู้เขียนเสมอมา อาจารย์วราลักษณ์ ดันติบรรพกุล สำหรับคำปรึกษาด้านสถิติในงานวิจัย

ขอขอบคุณท่านผู้อำนวยการศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ที่อนุเคราะห์ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ฝ้ายและอำนวยความสะดวกสำหรับสถานที่ทำการศึกษาวิจัย ขอขอบคุณคุณคุณศรีวิไล ลาภบรรจบที่เอื้อเฟื้อที่พักตลอดช่วงเวลาที่เก็บข้อมูลในแปลงทดลอง ขอขอบคุณคุณคุณสาธิต อารีรักษ์และครอบครัว คุณอมรา ไตรศิริ คุณวีรวัฒน์ นิลรัตนคุณ คุณเสาวคนธ์ ขุนนวล และพี่ๆ นักวิชาการทุกท่านที่ให้คำปรึกษาและช่วยเหลือเป็นอย่างดีตลอดระยะเวลาการเก็บข้อมูล ขอขอบคุณหน่วยวิเคราะห์เส้นใยสำหรับการวิเคราะห์ลักษณะคุณภาพเส้นใย ตลอดจนเจ้าหน้าที่และพนักงานทุกท่านโดยเฉพาะหน่วยวิจัยฝ้ายที่ได้อำนวยความสะดวกและให้ความร่วมมือเป็นอย่างดีในการเก็บข้อมูลในแปลงทดลอง

ขอขอบคุณท่านผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1 สำหรับการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์โปรตีนและน้ำมันในเมล็ด

การวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย (BRT) และบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ขอขอบคุณมา ณ ที่นี้

ขอขอบคุณ อาจารย์อัญชติ ใจดี คุณฐปนา อัครเอกปัญญา คุณรักชนก โคโต คุณชนิตา ปาติยะวุฒิ คุณสหัส จันทนาอรพินทร์ คุณศิริวรรณ คุณฐานันท์ ประทุมมินทร์ และพี่น้องภาควิชาพฤกษศาสตร์ทุกท่านสำหรับความช่วยเหลือในเรื่องต่างๆ และกำลังใจที่มีให้กันเสมอมา

และท้ายที่สุดนี้ขอขอบคุณบิดา-มารดาและครอบครัวของผู้เขียนที่ได้ให้ชีวิต สติปัญญา กำลังใจและการสนับสนุนเงินทุนในการศึกษา

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ซ
สารบัญรูปภาพ.....	ฅ
อธิบายคำศัพท์.....	ญ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
ความสำคัญและประโยชน์ของฝ้าย.....	3
ความหลากหลายของฝ้าย.....	3
ลักษณะประจำพันธุ์กับความต้านทานโรคและแมลง.....	5
อิทธิพลของสิ่งแวดล้อมต่อผลผลิตของฝ้าย.....	6
เครื่องหมายทางโมเลกุลที่ใช้ในการศึกษาความหลากหลายของฝ้าย.....	7
ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกับการจดทะเบียนพันธุ์พืช.....	8
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการศึกษา.....	10
1. อุปกรณ์การศึกษา.....	10
2. วิธีการศึกษา.....	12
บทที่ 4 ผลการศึกษา.....	20
1. การศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ในแปลงทดลอง.....	20
2. การศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยวิธีการ RAPD.....	48
บทที่ 5 อภิปรายผลการศึกษา.....	55
บทที่ 6 สรุปผลการศึกษา.....	62
รายการอ้างอิง.....	64
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	70

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ลักษณะที่ศึกษา วิธีการและช่วงเวลาที่ใช้ในการบันทึกข้อมูล.....	12
2 ลักษณะประจำพันธุ์จำนวน 48 ลักษณะของฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์.....	21
3 จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอแบบ monomorphic band และแบบ polymorphic band.....	48



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



สารบัญรูปภาพ

รูปภาพที่	หน้า
1 ลักษณะของใบฝ้าย.....	42
2 ลักษณะของต้นฝ้าย.....	43
3 ลักษณะของดอกฝ้าย.....	44
4 รูปร่างของสมอฝ้าย.....	45
5 ลักษณะผิวสมอของฝ้าย.....	46
6 ลักษณะปุยฝ้าย.....	47
7 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ไพรเมอร์ UBC- 23.....	49
8 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยใช้ไพรเมอร์ UBC- 73.....	50
9 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยใช้ไพรเมอร์ UBC- 88.....	51
10 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ไพรเมอร์ UBC- 89.....	52
11 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ไพรเมอร์ UBC- 95.....	53

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## อธิบายคำศัพท์

คำศัพท์	คำแปล	ความหมาย
Cultivar	พันธุ์ปลูก/พันธุ์	พันธุ์ที่ใช้ในการปลูก
Elite line	สายพันธุ์ดีเด่น	สายพันธุ์ดีที่ผ่านการคัดเลือกมาจนถึงขั้นตอนทดสอบในไร่เกษตรกร สายพันธุ์ที่มีลักษณะที่ดีเหมาะสำหรับการนำไปใช้ประโยชน์
Line	สายพันธุ์	กลุ่มที่มีบรรพบุรุษร่วมกัน/กลุ่มที่โตมาจากการผสมตัวเองซ้ำๆ
Native variety	พันธุ์พื้นเมือง	พันธุ์ที่มีถิ่นกำเนิดในบริเวณหรือประเทศนั้นๆ
Recommended variety	พันธุ์แนะนำ	พันธุ์พื้นเมืองหรือพันธุ์ที่นำมาจากแหล่งอื่นและใช้ปลูกกันทั่วไปรวมทั้งผ่านการพัฒนาหรือปรับปรุงตามขั้นตอนวิชาการมีข้อมูลสนับสนุนพอสมควรและมีลักษณะที่เหมาะสมจะแนะนำให้ใช้ประโยชน์ทั้งนี้ต้องผ่านการพิจารณาเห็นชอบจากกรมวิชาการเกษตร
Variety	พันธุ์	กลุ่มที่มีลักษณะเหมือนกันและแตกต่างจากกลุ่มอื่น

ที่มา : ชีรศักดิ์ มานูพิรพันธ์ และคณะ,2542. คู่มือคำศัพท์ด้านปรับปรุงพันธุ์พืชไร่ พ.ศ. 2542

# บทที่ 1

## บทนำ

### ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ฝ้ายเป็นพืชเส้นใยในที่อยู่ในวงศ์ Malvaceae สกุล *Gossypium* ซึ่งมีความสำคัญอย่างมากต่อเศรษฐกิจของประเทศไทย ปัจจุบันอุตสาหกรรมสิ่งทอได้มีการขยายตัวสูงขึ้น (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2540) เพื่อเป็นการเพิ่มศักยภาพการแข่งขันในตลาดโลกให้สูงขึ้น จึงต้องมีข้อมูลและเทคโนโลยีการผลิตฝ้ายที่เหมาะสม ซึ่งต้องมีการวิจัยปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ต้านทานโรคและแมลงศัตรู รวมทั้งเพิ่มผลผลิตและคุณภาพเส้นใย โดยได้มีการนำเชื้อพันธุ์หรือพันธุ์ฝ้ายจากต่างประเทศเข้ามาศึกษามากมาย เช่น สหรัฐอเมริกา อังกฤษ จีน ออสเตรเลีย ปากีสถานตลอดจนอเมริกาใต้ และใช้ในการผสมข้ามพันธุ์ เพื่อถ่ายทอดลักษณะที่ดีบางอย่างที่เป็นประโยชน์ในการคัดเลือก และสร้างเป็นสายพันธุ์/พันธุ์ฝ้ายใหม่ที่ดี และหลังจากทำการทดสอบว่าเป็นพันธุ์ที่ดีแล้วจึงเริ่มขยายพันธุ์แนะนำให้เกษตรกรปลูก ในระยะเวลา 20 ปีที่ผ่านมา กรมวิชาการเกษตรได้ประกาศแนะนำพันธุ์ฝ้ายที่ใช้ส่งเสริมให้ปลูกอยู่ 5 พันธุ์ คือ ตากฟ้า 1 ศรีสำโรง 2 ศรีสำโรง 3 นครสวรรค์ 1 และศรีสำโรง 60 (ปริญญา สิญญะเรือง, 2543) และในปัจจุบันได้ดำเนินการปรับปรุงและหาสายพันธุ์ฝ้ายที่ดีเพิ่มขึ้นอีกหลายสายพันธุ์ ซึ่งบางพันธุ์ได้ทำสำเร็จแล้ว บางสายพันธุ์ยังอยู่ในระยะการปลูกทดลองเพื่อศึกษาความคงตัวของลักษณะประจำพันธุ์ และในอนาคตอันใกล้นี้จะมีฝ้ายพันธุ์ใหม่ ออกมาแนะนำให้เกษตรกรปลูกซึ่งมีชื่อในขณะนี้ คือ GDPSR38-136 (ปริญญา สิญญะเรือง, 2543)

เมื่อมีการค้นคว้าวิจัยและพัฒนาพันธุ์พืชขึ้นมาใหม่นั้น จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการกฎหมายที่มีประสิทธิภาพในการให้การคุ้มครองสิทธิของผู้ค้นพบหรือผู้เป็นเจ้าของงานวิจัย สำหรับฝ้ายนั้นได้กำหนดให้มีการจดทะเบียนพันธุ์ฝ้ายตามร่างพระราชบัญญัติคุ้มครองพันธุ์พืช พ.ศ. 2542 ซึ่งรับผิดชอบโดยสำนักคุ้มครองพันธุ์พืชแห่งชาติ กรมวิชาการเกษตร โดยส่วนของข้อมูลลักษณะประจำพันธุ์ที่ต้องแจ้งในการขอจดทะเบียนพันธุ์ฝ้ายนั้น ปัจจุบันได้จัดทำขึ้นมาใหม่โดยใช้หลักเกณฑ์ซึ่งได้มาจากการผสมผสานและดัดแปลงระหว่าง หลักเกณฑ์เดิมซึ่งกำหนดโดยกรมวิชาการเกษตร หลักเกณฑ์ของ IPGRI (International Plant Genetic Resources Institute) และหลักเกณฑ์ของ UPOV (International Union for the Protection of New Varieties of Plant)

อนึ่งข้อมูลลักษณะประจำพันธุ์ฝ้ายที่สำคัญที่เพิ่มขึ้นมาลักษณะหนึ่งคือ DNA fingerprint ซึ่งเป็นลักษณะสำคัญที่จะช่วยในการจำแนกความแตกต่างของสายพันธุ์ฝ้ายได้ แต่ลักษณะนี้ยังไม่เป็นที่แพร่หลายและยังขาดข้อมูลตลอดจนขั้นตอนในการปฏิบัติที่ชัดเจน ดังนั้นงานวิจัยครั้งนี้จึงต้องการที่จะพัฒนาการใช้ marker ที่เหมาะสมในการทำ DNA fingerprint เพื่อที่จะสามารถนำไปใช้ในการจำแนกความแตกต่างระหว่างพันธุ์/สายพันธุ์ฝ้ายได้อย่างชัดเจน ตลอดจนทำการทดสอบและประเมินการใช้งานแบบประเมินลักษณะประจำพันธุ์ฝ้ายที่ได้พัฒนาขึ้นมาเพื่อใช้ในการขอดทะเบียนพันธุ์ฝ้ายว่ามีความเหมาะสมและมีความสะดวกต่อการนำไปใช้ปฏิบัติจริงเพียงใด รวมทั้งทราบถึงข้อบกพร่องและอุปสรรคในทางปฏิบัติเพื่อจะได้มีการนำไปพิจารณาปรับปรุงแก้ไขเพื่อให้เป็นหลักเกณฑ์มาตรฐานที่มีประสิทธิภาพและสะดวกต่อการใช้งานในโอกาสต่อไป

### วัตถุประสงค์

1. ศึกษาและประเมินลักษณะประจำพันธุ์โดยละเอียดของฝ้าย
2. พัฒนาการใช้ marker ที่เหมาะสมในการทำ DNA fingerprint เพื่อนำไปช่วยในการจำแนกพันธุ์ฝ้ายในประเทศไทย

### ขอบเขตของการศึกษา

ศึกษาลักษณะประจำพันธุ์โดยละเอียดของฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ ในฝ้าย 3 ชนิดคือ *Gossypium hirsutum* L. *G. arboreum* L. และ *G. barbadense* L. ในสภาพไร่ ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ อ. ตากฟ้า จ.นครสวรรค์ และศึกษา DNA fingerprint ของฝ้ายในห้องปฏิบัติการภาควิชา พฤษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้รายละเอียดที่สำคัญเกี่ยวกับลักษณะประจำพันธุ์ในการตรวจสอบพันธุ์ฝ้าย เพื่อนำไปเป็นข้อมูลประกอบการขอดทะเบียนพันธุ์ฝ้าย
2. ได้วิธีการที่เหมาะสมในการจัดทำ DNA fingerprint

## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 1. ความสำคัญและประโยชน์ของฝ้าย

ฝ้ายเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญมากชนิดหนึ่ง ฝ้ายใช้เป็นตัวดัดในการผลิตเส้นด้ายและทอผ้า เมล็ดฝ้ายใช้สกัดน้ำมันเป็นอาหาร และใช้ในอุตสาหกรรม เมล็ดหลังสกัดน้ำมันจะมีโปรตีนสูง ฝ้ายหรือเส้นใยที่แยกออกจากเมล็ด เป็นสิ่งที่ให้ประโยชน์ต่อมนุษย์เป็นอย่างมาก เช่น เครื่องนุ่งห่ม ใช้ทำเป็นเสื่อ กางเกง หมวก ชุดชั้นใน และอื่นๆเครื่องใช้ในบ้าน ฝ้ายคลุมเตียง ฝ้ายปูที่นอน ฝ้ายห่ม ฝ้ายนวม ฝ้ายสักหลาด ฝ้ายมาน ฝ้ายเย็บที่นอน และอื่นๆอีกมากมาย อุตสาหกรรมใช้ในการทำยางรถยนต์ เบาะที่นั่ง เชือก ถุง สายพาน ฝ้ายไบ ท่อส่งน้ำ และการผลิตเส้นใยเทียม (rayon)(ชูเกียรติ อธิราชย์, 2527)

#### 2. ความหลากหลายของฝ้าย

ฝ้ายจัดอยู่ในวงศ์ Malvaceae สกุล *Gossypium* ซึ่งประกอบด้วยพืชมากกว่า 20 ชนิด (species) ฝ้ายที่นำมาปลูกเป็นการค้าในปัจจุบันมี 4 ชนิดคือ (ปริญญา สีนุญเรือง, 2543; พยนต์ คุ้มภัยและคณะ, 2539)

1. *G. hirsutum* หรือ Upland cotton มีจำนวนโครโมโซม  $2n = 4x = 52$  เป็นชนิดที่มีการพัฒนาของพันธุ์มากที่สุด ได้นำไปปลูกเป็นการค้า สำคัญต่อเศรษฐกิจและสังคมมนุษย์มากและให้ผลผลิตต่อหน่วยพื้นที่สูงสุด

2. *G. barbadense* หรือ American-Egyptian cotton มีจำนวนโครโมโซม  $2n = 4x = 52$  เป็นฝ้ายพวกเส้นใยยาว ความสำคัญรองลงมาจากฝ้ายชนิดแรก ยังไม่มีการปลูกเป็นการค้าในประเทศไทย ฝ้ายชนิดนี้ให้เส้นใยคุณภาพสูง ใช้ทอผ้าชนิดเนื้อละเอียด เนื้อผ้าบาง ปลูกมากในแถบฮิปป์และตอนใต้ของรัสเซีย และบางแหล่งของสหรัฐอเมริกา ถึงแม้ว่าจะมีความสามารถในการปรับตัวได้ดีต่อสภาพแวดล้อมของการปลูกฝ้ายของไทยเรา แต่ก็ยังมีขนาดสมอเล็ก การติดสมอไม่ดก จึงให้ผลผลิตต่ำกว่าฝ้ายชนิดแรกอยู่ 2-3 เท่า ทำให้ไม่คุ้มค่าต่อการลงทุนปลูกเป็นการค้า ผลตอบแทนในเชิงเศรษฐศาสตร์อาจยังไม่มีความเหมาะสมเทียบเท่ากับฝ้ายชนิดแรก

3. *G. arboreum* หรือ Asiatic cotton มีจำนวนโครโมโซม  $2n = 2x = 26$  เป็นฝ้ายพันธุ์

พื้นเมือง (Native Cottons) ที่พบการปลูกและนำไปใช้ในอุตสาหกรรมปั่นด้าย ทอผ้าในครัวเรือนของเกษตรกรในท้องถิ่นของภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ลักษณะสำคัญของฝ้ายพวกนี้จะยังคงเป็นพืชป่าอยู่ค่อนข้างมาก จึงมีความทนทานต่อแมลงศัตรูต่างๆ ได้ดี ด้วยเหตุที่เป็นฝ้ายอายุยาว ผลผลิตที่ได้ขึ้นอยู่กับจำนวนครั้งของการเก็บเกี่ยวการแตกข้อใหม่และกิ่งใหม่ที่จะเกิดอย่างทีละน้อยๆ ค่อยๆ สะสม เป็นระยะเวลายาวนานหลายเดือน ระดับน้ำใต้ดิน ความชื้นในดิน จึงเป็นปัจจัยสำคัญต่อการกำหนดจำนวนการติดสมอและผลผลิตที่ได้ ในสภาพการปลูกในหุบเขาใกล้กับบริเวณป่าไม้ใหญ่ในแหล่งเดิม จึงมักจะปรากฏว่าให้ผลผลิตสูงกว่าการนำลงมาปลูกในสภาพไร่พื้นราบ

4. *G. herbaceum* หรือ Asiatic cotton มีจำนวนโครโมโซม  $2n = 2x = 26$  มีแหล่งที่มาจากรัฐแคลิฟอร์เนีย สหรัฐอเมริกา ให้ผลผลิตได้ดีปานกลางและสูงกว่าพวกฝ้ายดุ่น (ฝ้ายน้อย) เป็นพันธุ์ที่ต้านทานต่อโรคใบหงิกฝ้ายแต่ยังคงลักษณะความเป็นพืชป่าอยู่ค่อนข้างสูง

ในปัจจุบันฝ้ายที่ใช้ปลูกเป็นการค้าส่วนใหญ่ได้มาจาก *Gossypium hirsutum* หรือ upland cotton ประมาณ 90% ของผลผลิตทั้งหมด (ปริญญา สิบญูเรือง, 2543) ส่วนอีก 8% ได้มาจาก *G. barbadense* และที่เหลือได้มาจากฝ้ายชนิดอื่นๆ (Lee, 1984) ซึ่งฝ้ายชนิดต่าง ๆ เหล่านี้มีความแตกต่างกันพอสมควร ทั้งด้านความยาวของเส้นใย ความเหนียว และความละเอียดอ่อนของเส้นใย ตลอดจนลักษณะของต้นพืชและสมอฝ้าย ซึ่งลักษณะดังกล่าวนี้มีความสำคัญเนื่องจากนักปรับปรุงพันธุ์จะพัฒนาพันธุ์ใหม่ๆ ขึ้นมาโดยผ่านการคัดเลือกขึ้นพื้นฐานทางด้านสัณฐานวิทยา และ สรีรวิทยา จินดาและคณะ (2537) รายงานว่า การปรับปรุงพันธุ์พืชในส่วนของการผสมเกสรนั้น นักวิจัยเน้นเนื้อหาในด้านการสร้างพันธุ์ฝ้ายที่ให้ผลผลิตสูง มีคุณภาพเส้นใยดี สามารถปลูกให้ผลดีในแหล่งปลูกฝ้ายทั่วไป และมีความต้านทานต่อโรคและแมลงศัตรูฝ้าย เพื่อเป็นการลดการใช้สารกำจัดแมลงและลดปัญหาสภาพแวดล้อมปนเปื้อนไปด้วยสารพิษ

โดยทั่วไปใบฝ้ายมีลักษณะเป็นแฉก ในพวกฝ้ายใบกระเจี๊ยบ หรือใบแฉกแคบ (okra leaf) อาจจะมี 3 แฉก และในบางชนิดก็จะเป็นแฉกเดี่ยว ลักษณะฝ้ายใบแฉกแบบใบกระเจี๊ยบ (okra leaf) ทำให้ต้นฝ้ายไม่ทึบ ช่วยลดปัญหาสมอเน่าได้ (Wilson and George, 1982) และ ฝ้ายที่มีขนบ้างเล็กน้อยจะถูกหนอนเจาะสมอที่ชื่อว่า *Heliothis zea* ทำลายน้อยกว่าฝ้ายที่ไม่มีขน (Lukéfah, 1966) Dick (1969) กล่าวว่าจำนวนขนและการมีหรือไม่มีต่อมน้ำหวานในฝ้ายมีผลต่อจำนวนประชากรแมลงศัตรูพืชหลายชนิด Lukéfah และคณะ (1966) พบว่าฝ้ายที่ไม่มีต่อมน้ำหวานล่อแมลงช่วยลดประชากรของหนอนเจาะสมอสีชมพูที่ชื่อว่า *Pectinophora gossypiella* นอกจากนี้การไม่มีต่อมน้ำหวาน (nectariless) บริเวณเส้นกลางใบ โคนกลีบเลี้ยง และริ้วประดับจะมีส่วนช่วย

ทำให้หนอนวางไข่ลดลงถึง 40% เนื่องจากขาดน้ำหวานที่เป็นอาหาร (Lukefahr et al., 1965) นอกจากนี้มีรายงานว่า ฝ้ายที่ไม่มีต่อมน้ำหวานล่อแมลงจะช่วยลดปริมาณของโรคสมอได้ด้วย เนื่องจากไม่มีรูต่อมน้ำหวาน ซึ่งเป็นทางเข้าของเชื้อโรคต่าง ๆ (จินดา จันทรอ่อน, 2527) ลักษณะของใบประกอบหรือรีวประดับที่อยู่ติดกับกลีบรองเลี้ยงแคบ ม้วนหรือบิด (frego bract) ช่วยลดปัญหาโรคสมอเนา การใช้ฝ้ายที่มีแฉกใบแคบ (okra leaf) และรีวประดับดอกแคบ (frego bract) ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการใช้สารเคมีกำจัดแมลงได้ดีขึ้น (Boquet et al., 1979)

ลักษณะสีของดอก โดยทั่วไปแล้ว ดอกฝ้ายที่พบทั่วไปจะมีสีเหลืองอ่อน ๆ คริมหรือเกือบขาวเมื่อเริ่มออกหรือเริ่มบาน พอดอกมีอายุหรือถูกผสมก็จะเปลี่ยนเป็นสีชมพู และแดง ตามลำดับก่อนจะห่อใบ ในระยะดอกเริ่มออกนั้น บางพวกหรือบางพันธุ์ก็อาจจะมีสีแตกต่างกันไป เช่น สีเหลืองจัด และที่โคนกลีบดอกด้านในจะเป็นสีแดงหรือม่วง ซึ่งมีบริเวณมากน้อยแตกต่างกันไป ฝ้ายบางชนิดมีทั้งดอกสีขาวและเหลือง เช่น ฝ้ายต้นพื้นเมืองของไทย Buie (1928) รายงานว่า จำนวนของดอกจะเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ ในตอนแรก และจะเพิ่มในระดับที่มากที่สุดที่ 5 ถึง 6 สัปดาห์ภายหลังการติดสมอ

ส่วนใหญ่ต้นฝ้ายมักจะเป็นสีเขียว สีม่วง แดง เหลืออยู่ทั่วไปไม่แดงเข้มทั้งต้น แต่ก็มีพวกฝ้ายต้นแดง (red plant) ฝ้ายที่มีลำต้นสีแดง ใบแดง จะมีเปลือยไฟเข้าทำลายน้อยกว่าฝ้ายต้นเขียวและใบเขียว เนื่องจากฝ้ายแดงไม่ค่อยดึงดูดแมลง (Beckham, 1969) แต่มีเปลือยอ่อนและหนอนอเมริกันเจาะสมอฝ้ายตามใบและต้นในปริมาณที่มากกว่าฝ้ายเขียว (จินดา จันทรอ่อนและคณะ, 2523) และให้ผลผลิตต่ำกว่าฝ้ายที่มีต้นและใบที่เขียว โดยปกติแล้วฝ้ายแดงมีแอนโทไซยานินในใบมาก จึงมีผลทำให้คลอโรฟิลล์สำหรับการสังเคราะห์แสงน้อยลง ผลผลิตจึงมักสู้ฝ้ายเขียวปกติไม่ได้ (จินดา จันทรอ่อนและคณะ, 2523)

### 3. ลักษณะประจำพันธุ์กับความต้านทานโรคและแมลง

เมล็ดของฝ้ายชนิด upland cotton ที่มีคุณภาพดีจะงอกภายใน 5 วันถ้าปลูกในดินร่วนภายใต้สภาวะอบอุ่น ความชื้นพอเหมาะ แต่อย่างไรก็ตามเมล็ดของพวกนี้จะสามารถรักษาระยะพักตัวต่อไปอีกได้จนกว่าจะถึงเวลาที่พร้อมจะงอกอย่างแท้จริง การงอกช้ากว่าปกติของฝ้ายชนิดนี้มักจะมีสาเหตุมาจากการมีเมล็ดที่แข็ง (hardness) หรือจากคุณสมบัติเลือกผ่านของเชื้อหุ้มเมล็ด ตลอดจนสารยับยั้งการงอก (Walhook, 1956)

งามขึ้น รัตนดิลก (2532) รายงานว่า พันธุ์ฝ้ายที่มีขนหนามีผลทำให้พฤติกรรมของแมลงเปลี่ยนแปลงไป ลักษณะใบเรียบ (smooth leaf) อาจทำให้ขาดความต้านทานต่อแมลงจำพวกปากดูด เช่น เพลี้ยจักจั่น เพราะไม่มีขนที่มุดำตัวแมลง แต่สำหรับแมลงบางชนิด เช่นแมลงหวี่ขาวกลับไม่มารบกวนฝ้ายชนิดนี้ จึงช่วยลดความสกปรกของปุ๋ยในการเก็บเกี่ยวด้วยเครื่องจักร จำนวนคนที่ปรากฏอยู่บนใบฝ้าย ไม่ว่าจะเป็นที่แผ่นใบหรือเส้นใบก็มีผลต่อเพลี้ยจักจั่นอย่างมาก ตลอดจนช่วยยับยั้งการวางไข่ของ boll weevil ทำให้ลดจำนวนต้นที่ถูกทำลายเนื่องจากการวางไข่ (Maxwell, 1980) แต่ลักษณะใบขนกลับมีผลต่อความอ่อนแอต่อเพลี้ยไฟ (FAO, 1983) เช่นเดียวกับจินดา จันทร์อ่อนและคณะ (2523) ที่รายงานว่า ฝ้ายใบขนถูกทำลายจากเพลี้ยจักจั่นน้อยกว่าฝ้ายใบเรียบ แต่กลับถูกเพลี้ยไฟและแมลงหวี่ขาวรบกวนมากกว่าฝ้ายใบเรียบ Smith (1966) ได้รายงานว่าฝ้ายที่มีใบมีขนปกคลุมทำให้ปุ๋ยฝ้ายที่เก็บเกี่ยวได้สกปรกและปริมาณของขนบนใบมีความสัมพันธ์กับส่วนต่างๆ ของใบ กล่าวคือ ขนบริเวณด้านล่างของใบ กลางใบ และได้ผิวใบมีปริมาณต่างกัน บริเวณผิวใบด้านล่างนั้นมีขนจำนวนมาก ส่วนผิวใบด้านบนนั้นขนส่วนใหญ่จะปรากฏอยู่บริเวณเส้นกลางใบและเส้นแขนงใบ รูปร่างของขนใบมีทั้งแบบตั้ง แบบนอน และเป็นแฉกคล้ายดาว (Ramey, 1962) ในปี 1981 และ 1982 Wilson และ George ได้ทำการทดลองเปรียบเทียบการเข้าทำลายเมล็ดของหนอนสีชมพูระหว่างฝ้ายพันธุ์ใบเรียบและกิ่งใบเรียบพบว่า พันธุ์ใบเรียบมีความอ่อนแอต่อแมลงในตอนต้นฤดูปลูกมากกว่าพันธุ์กิ่งใบเรียบ แต่ต้านทานต่อแมลงปากกัดมากกว่า

สำหรับฝ้ายที่มีต่อมสารพิษสูง (high gossypol) ที่ใบและกลีบเลี้ยง (sepal) จะทำให้หนอนวางไข่น้อยลง (Lukafahr et al., 1969) เนื่องจากสารก๊อซซิปอล (Gossypol) ซึ่งจัดว่าเป็นสารพิษ มีผลต่อการเจริญเติบโตของหนอนเจาะสมอฝ้าย และยังมีรายงานว่า ฝ้ายพันธุ์ดังกล่าว บางชนิดที่มีต่อมสารพิษอยู่สูงหรือจุดสีดำมาก ต้านทานต่อหนอนเจาะสมอฝ้ายได้ด้วย (จินดา จันทร์อ่อน, 2527)

#### 4. อิทธิพลของสิ่งแวดล้อมต่อผลผลิตของฝ้าย

Munro (1971) เสนอว่า ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมมีความสำคัญต่อการหลุดร่วงของสมอมากกว่าวิธีการปลูก

ในปี 1961 Stockton, Doneen และ Walhood รายงานว่า ความสูงของต้น การผลิตดอก และการหลุดร่วงของสมอจะเพิ่มขึ้นถ้าปริมาณน้ำเพิ่มมากขึ้นไป แต่การให้น้ำนาน ๆ ครั้งหรือการให้น้ำน้อยเกินไป จะทำให้ดอกไม้หลุดร่วงง่าย แต่การสร้างดอกจะลดลงอย่างมากซึ่งทำให้จำนวนสมอลดลงไปด้วย และ Marani และ Horwitz (1963) จึงสรุปว่าการให้น้ำเพียง 1 ครั้งในช่วงต้นของ



การบานของดอก จะช่วย เพิ่มผลผลิตปุ๋ย จำนวนสมอ และขนาดของสมอได้มากกว่าระยะการเจริญเติบโตอื่น Millhollon (1961) พบว่าการขาดไนโตรเจนในพืชเป็นสาเหตุที่ทำให้สมอร่วง และความชื้นในดินเกี่ยวข้องกับการหลุดร่วงของสมอ เนื่องจากมีผลต่อการนำเข้าไปในโตรเจน จำนวนของแมลงศัตรูฝ้ายหลายชนิดได้รับอิทธิพลจากจำนวนขนและการมีหรือไม่มีต่อมน้ำหวาน (Davis, 1969) และในปี 1966 Meredith พบว่าฝ้ายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงไม่จำเป็นต้องมีเมล็ดจำนวนมากต่อสมอ

## 5. เครื่องหมายทางโมเลกุลที่ใช้ในการศึกษาความหลากหลายของฝ้าย

เทคโนโลยีชีวภาพเป็นเครื่องมือที่มีประโยชน์สำหรับนักปรับปรุงพันธุ์พืช และมีบทบาทในการพัฒนาพืชพันธุ์ใหม่ที่มีคุณลักษณะดีเด่นได้อย่างรวดเร็ว อีกทั้งยังคงลักษณะดั้งเดิมที่ดีเอาไว้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (จุลภาค คูนวงศ์, 2542) ความหลากหลายที่เป็นผลมาจากการผสมพันธุ์ได้ถูกทำการพัฒนาการศึกษาโดยการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐาน โพรตีนในเมล็ด ไอโซไซม์ และการใช้เครื่องหมายทางโมเลกุล (DNA marker) (Gepts, 1993) ด้วยข้อจำกัดของการใช้ลักษณะทางสัณฐานและไอโซไซม์คือ มีระดับความผันแปรไม่มาก จึงได้มีการนำเครื่องหมายที่มีความผันแปรจำนวนมาก (polymorphic marker) มาใช้วัดความสัมพันธ์และความหลากหลายทางพันธุกรรมด้วยวิธีการที่เชื่อถือได้

เครื่องหมายทางโมเลกุล (Molecular genetic markers) ได้ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อเป็นเครื่องมือสำคัญในการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์และความหลากหลายทางพันธุกรรม ได้มีการนำเทคนิคต่างๆมาใช้ดังนี้

1. เทคนิค Restriction Fragment Length Polymorphisms (RFLPs) เป็นวิธีที่ใช้เอ็นไซม์ที่มีความจำเพาะตัดดีเอ็นเอของพืชและอาศัยความแตกต่างของชิ้นส่วนดีเอ็นเอจำเพาะที่ตัดได้ตามชนิดของเอ็นไซม์จำเพาะกับโมเลกุลเครื่องหมายที่ใช้ในการตรวจสอบนั้นๆ แต่มีข้อเสียคือ ต้องใช้เวลาในการศึกษานานและค่าใช้จ่ายสูง (Tatineni et al., 1996)

2. เทคนิค Random Amplified Polymorphic DNAs (RAPDs) นำมาใช้ในการจัดจำแนกทางอนุกรมวิธานและตรวจสอบความเกี่ยวข้องกัน (Hadry et al., 1992) และได้มีการทดสอบถึงความสามารถของวิธี RAPDs ว่ามีประสิทธิภาพในระดับเดียวกันกับวิธี RFLPs ในการตรวจสอบและจำแนกความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างจีโนไทป์ของ *Brassica oleracea* L. (Santos et al., 1994) และระหว่างลูกผสมของ *B. napus* (Halliden et al., 1994) ประโยชน์ของวิธี RAPD ก็คือความเร็ว และความง่ายในการทำ และด้วยเหตุผลดังกล่าววิธีการนี้จึงได้ถูกนำไปใช้กับพืชหลาย

ชนิดเช่น บรอกโคลี่ และกระหล่ำดอก (Hu and Quiros 1991; Kresovich et al., 1992) โกโก้ (Wilde et al., 1992) ถั่ว (Kaemmer et al., 1992; Howell et al., 1994) มะละกอ (Stiles et al., 1993) แอปเปิ้ล (Koller et al., 1993) หัวหอม (Wilkie et al., 1993) ทานตะวัน (Lawson et al., 1994) นอกจากนี้ยังมีพืชในสกุลผักกาด (*Brassica* L.) (Denmeke et al., 1992; Jain et al., 1994), พืชในสกุลมะเขือเทศ (*Lycopersicon* Miller) (Williams and St. Clair, 1993) พืชในสกุลข้าว (*Oryza* L.) (Yu and Nguyen, 1994; Chandrashekar และ Nguyen, 1993) พืชในสกุลกาแฟ (*Coffea* L.) (Orozco-Castillo et al., 1994) พืชในสกุลถั่วอัลฟาฟา (*Medicago* L.) (Yu and Pauls, 1993) พืชในสกุลมะละกอ (*Carica* L.) (Stiles et al., 1993) พืชในสกุลข้าวสาลี (*Hordeum* L.) (Gonzalez and Ferrer, 1993; Tinker et al., 1993) พืชในสกุลแคฝรั่ง (*Gliricidia* Kunth) (Chalmers et al., 1992) และพืชในกลุ่มกล้วย (*Musa* L.) (Kaemmer et al., 1992)

การศึกษาในฝ้ายส่วนมากมักเป็นการนำเครื่องหมายโมเลกุลมาใช้ในด้านไบโอเทคโนโลยีเพื่อการปรับปรุงพันธุ์หรือการจัดทำแผนที่พันธุกรรม หรือศึกษาอื่นที่เกี่ยวข้องกับคุณภาพหรือผลผลิตของฝ้ายมากกว่าจะใช้เป็นการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอ อย่างไรก็ตามก็มีการศึกษาในลักษณะนี้เช่นกันดังการศึกษาของ Cantrell และ คณะ (1993) ได้ทำการตรวจสอบลักษณะประจำพันธุ์ฝ้ายลูกผสมระหว่าง *G. hirsutum* กับ *G. barbadense* โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล (molecular marker) Multani และ Lyon (1995) ได้ทำการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอของฝ้ายพันธุ์ก้าวหน้าของออสเตรเลียด้วยเครื่องหมายโมเลกุลแบบ RAPD และ Tatineni และคณะ (1996) ได้ทำการตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของฝ้ายสายพันธุ์ก้าวหน้า (Elite cotton) โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเทคนิค RAPD

## 6. ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ กับการจดทะเบียนสิทธิพันธุ์พืช

ในการแสดงสิทธิเพื่อประกอบการจดทะเบียนสิทธิพันธุ์พืช จะต้องมีการแสดงหลักฐานความแตกต่างของพันธุ์พืช โดยปกติจะใช้หลักเกณฑ์ทางพฤกษศาสตร์ ด้านสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา การแสดงออกของผลผลิต และการตรวจวัดผลด้วยเครื่องมือบางชนิด แต่ลักษณะดังกล่าวอาจมีการเปลี่ยนแปลงไปได้เนื่องจากสภาพแวดล้อมเช่น อุณหภูมิ ความชื้นของอากาศและดิน แร่ธาตุที่ใส่ให้ต้นพืชตลอดจนพื้นที่การปลูกพืชพันธุ์นั้น ๆ แต่ในส่วนของโครโมโซมหรือยีนของพืชจะไม่มีเปลี่ยนแปลงมากนัก เพราะการเปลี่ยนแปลงของยีนคือการเปลี่ยนแปลงในระดับดีเอ็นเอ ก็คือการเปลี่ยนพันธุ์ไปนั่นเอง (ศรีสุข พูนผลกุล, 2543)

ดังนั้นในปัจจุบันจึงมีการใช้วิชาการโมเลกุลเครื่องหมายดีเอ็นเอเพื่อจัดทำลายพิมพ์เอกลักษณ์ดีเอ็นเอสำหรับสนับสนุนการจดทะเบียนพันธุ์พืช โดยการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอนี้มีเทคนิคที่นิยมใช้อยู่ 2 ชนิดคือ 1). เทคนิคเอนไซม์ตัดจำเพาะ (RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphisms) ซึ่งทำได้โดยการตัดดีเอ็นเอของตัวอย่างที่ต้องการศึกษาด้วย Restriction Enzymes แยกขนาดของดีเอ็นเอ ที่ถูกตัดแล้วด้วยกระแสไฟฟ้า บนตัวกลางที่เป็นวุ้นหรือโพลิเมอร์ จากนั้นย้ายดีเอ็นเอจากตัวกลางไว้บนแผ่นเมมเบรน ตรวจสอบความแตกต่าง(polymorphism) ของ banding pattern โดยทำปฏิกิริยากู้ผสมกับตัวตรวจจำเพาะที่เรียกว่า Prob ที่ติดฉลากด้วยสารรังสีหรือปลดรังสี ทำให้ allele ที่ต้องการปรากฏขึ้น 2). เทคนิคการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (PCR; Polymerase Chain Reaction) เป็นการใช้ Random primer 1 สายในขบวนการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในหลอดทดลองโดยใช้เครื่อง PCR หลังจากนั้นจึงทำการวิเคราะห์แถบที่ปรากฏ ซึ่งได้แก่ RAPD Technique, DAF, และ Microsatellite PCR เป็นต้น

เทคโนโลยีทางพันธุวิศวกรรมที่นำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอเพื่อการพิสูจน์ความเหมือนและความแตกต่างของพันธุ์พืชสามารถใช้เป็นหลักฐานเพื่อประกอบการขึ้นทะเบียนพันธุ์พืชได้ อย่างไรก็ตามการพัฒนาเทคโนโลยีด้านการตรวจสอบโดยใช้ลายพิมพ์ดีเอ็นเออาจทำได้โดยการสร้างไพรเมอร์จำเพาะที่มีการออกแบบให้เหมาะสมแทนการใช้ไพรเมอร์แบบสุ่ม และการหาข้อมูลเพื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติจะทำให้การตรวจวิเคราะห์แม่นยำและรวดเร็วมากยิ่งขึ้น (ณัฐหทัย เอพาณิชและหทัยรัตน์ อุไรรงค์, 2543)

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### บทที่ 3

## วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการศึกษา

### 1. อุปกรณ์การศึกษา

#### 1.1 พืชทดลอง

พันธุ์ฝ้ายที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ได้จากศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ อ. ตากฟ้า จ. นครสวรรค์

รวมพันธุ์/สายพันธุ์ในการวิจัยทั้งสิ้น 10 พันธุ์ 5 สายพันธุ์ จาก 4 กลุ่มพันธุ์ ซึ่งอยู่ใน 3 ชนิดดังนี้

1.1.1 ฝ้ายพันธุ์แนะนำชนิด *G. hirsutum* ( $2n = 4x = 52$ ) จำนวน 7 พันธุ์

1.1.1.1 ศรีตำโรง 60 (SR 60)

1.1.1.2 ศรีตำโรง 2 (SR 2)

1.1.1.3 นครสวรรค์ 1 (NS 1)

1.1.1.4 ศรีตำโรง 3 (SR 3)

1.1.1.5 ตากฟ้า 1 (TF 1)

1.1.1.6 Deltapine smoot leaf (DPSL)

1.1.1.7 Reba BTK (BTK 12)

1.1.2 ฝ้ายพันธุ์พื้นเมืองชนิด *G. arboreum* ( $2n = 2x = 26$ ) จำนวน 2 พันธุ์

1.1.2.1 ตุ่นน้ำตาล (ฝ้ายน้อย)

1.1.2.2 ตุ่นขาว (ฝ้ายน้อย)

1.1.3 ฝ้ายพันธุ์เส้นใยยาวพิเศษชนิด *G. barbadense* ( $2n = 4x = 52$ ) จำนวน 1 พันธุ์

1.1.3.1 Pima 79-106

### 1.1.4 ฝ้ายสายพันธุ์ก๊าวหน้าชนิด *G. hirsutum* ( $2n = 4x = 52$ ) จำนวน 5 สายพันธุ์

- 1.1.4.1 45-4-3
- 1.1.4.2 H2-34-107 BC
- 1.1.4.3 DI5-GBE4
- 1.1.4.4 GDPN 34-24
- 1.1.4.5 GDPSR 38-136

## 1.2 วัสดุอุปกรณ์

### 1.2.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการปลูกฝ้ายและเก็บข้อมูลในแปลงทดลอง

- |                       |   |
|-----------------------|---|
| 1. จอบ                | 2. เวอร์เนียร์ ไม้มเมตร                               |
| 3. รถไถ               | 4. สไลด์และกระจกปิดสไลด์                              |
| 5. อุปกรณ์วัดระยะปลูก | 6. กิ่ง dissection microscope                         |
| 7. ป้ายชื่อพันธุ์     | 8. เครื่องหีบฝ้าย                                     |
| 9. ปูย                | 10. เครื่อง stelometer                                |
| 11. ยาฆ่าแมลง         | 13. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง และ 4 ตำแหน่ง               |
| 13. กระดาษคั่นไม้     | 14. เครื่อง fibrograph                                |
| 15. ถุงผ้า ถุงตาข่าย  | 16. เครื่องวัดความละเอียดอ่อน (cotton fineness meter) |

### 1.2.2 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

- |                              |  |
|------------------------------|--|
| 1. โกร่ง                     | 2 Tris base                            |
| 3. ถ้วยกระเบื้อง             | 4. Boric acid                          |
| 5. หลอดทดลอง                 | 6. Hexadecyl triammonium (CTAB)        |
| 7. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง     | 8. Glucose                             |
| 9. อ่างปรับอุณหภูมิ          | 10. Na <sub>2</sub> -EDTA              |
| 11. เครื่องปั่นเหวี่ยง       | 12. Polyvinylpyrrolidone (PVP 4        |
| 13. ไนโตรเจนเหลว             | 14. Diethyldithiocarbamic acid (DIECA) |
| 15. อะกาโรสเจล (Agarose gel) | 16. Chloroform-isoamyl alcohol (24:1)  |

17. Ethedium bromide

18. เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (Programmable Thermal Controller รุ่น PTC-100™)

## 2. วิธีดำเนินการศึกษา

### 2.1 การศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ในแปลงทดลอง

ปลูกฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 3 ซ้ำ โดยมีขนาดพื้นที่แปลงย่อย/พันธุ์ 65 ตารางเมตรหรือ 5.00 x 13 เมตร ปลูกพันธุ์/สายพันธุ์ละ 4 แถวๆละ 26 ต้น และมีระยะปลูก 1.25 X 0.5 เมตร ทำการศึกษาเป็นระยะเวลา 2 ฤดูเพาะปลูกโดยแต่ละฤดูปลูกนั้น ใช้เวลาในการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์นาน 8 เดือน คือ เริ่มตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2542 ถึง เดือนมกราคม 2543 และเดือนมิถุนายน 2543 ถึง เดือนมกราคม 2544 โดยทำการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ตั้งแต่เมล็ดงอกจนถึงลักษณะภายหลังการเก็บเกี่ยวการสุ่มตัวอย่างเพื่อศึกษาลักษณะต่างๆ จะกระทำใน 2 แถวกลาง โดยตัดต้นที่หัวแถวและท้ายแถวออกข้างละ 1 ต้น บันทึกข้อมูลลักษณะต่างๆ ดังตารางที่ 1 โดยการสุ่ม 10 ต้น/แถว รวมเป็นจำนวนต้นที่ใช้ในการศึกษา 20 ต้นในแต่ละสายพันธุ์ สำหรับความยาว ความกว้าง และขนาดของสมอ สุ่มวัดจาก 10 สมอ/ต้น จำนวน 20 ต้น โดยลักษณะที่ศึกษาและวิธีการบันทึกนั้น ได้มาจากการผสมผสานและดัดแปลงระหว่างหลักเกณฑ์การบันทึกข้อมูลลักษณะประจำพันธุ์ของกรมวิชาการเกษตร หลักเกณฑ์ของ IPGRI และหลักเกณฑ์ของ UPOV ดังปรากฏในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ลักษณะที่ศึกษา วิธีการและช่วงเวลาที่ใช้ในการบันทึกข้อมูล

ตารางที่ 1 (ต่อ) ลักษณะที่ศึกษา วิธีการและช่วงเวลาที่ใช้ในการบันทึกข้อมูล

ลักษณะที่ศึกษา	วิธีการบันทึก	เวลายบันทึก
การศึกษาลักษณะของต้น		
1. สีของลำต้น	บันทึกลักษณะของสีที่บริเวณลำต้น	เมื่อฝ้ายอายุ 7 วัน
2. สีของลำต้น	บันทึกลักษณะของสีที่บริเวณลำต้น	เมื่อฝ้ายอายุ 60 วัน

ตารางที่ 1 (ต่อ) ลักษณะที่ศึกษา วิธีการและช่วงเวลาที่ใช้ในการบันทึกข้อมูล

ลักษณะที่ศึกษา	วิธีการบันทึก	เวลาบันทึก
3. ทรงต้น	บันทึกลักษณะทรงต้น โดยแบ่งเป็น 3 กลุ่ม คือทรงกระบอก ทรงกรวย และทรงแผ่กระจาย	เมื่อฝ้ายอายุ 60 วันขึ้นไป
4. ขนบนลำต้น	ตัดชิ้นส่วนของลำต้นจากยอดลงมาข้อที่ 8-10 ให้มีขนาด 1 X 1 ซม. แล้วนับขนภายใต้กล้อง dissecting microscope	เมื่อฝ้ายอายุ 60 วันขึ้นไป
5. ความสูงของลำต้น	วัดจากผิวดินถึงปลายยอดลำต้น	หลังเก็บเกี่ยวครั้งสุดท้าย
<b>การศึกษาลักษณะของใบ</b>		
6. สีของใบ	ศึกษาสีของใบบริเวณกลางลำต้น	เมื่อฝ้ายอายุ 60 วันขึ้นไป
7. ต่อมนำหวานหลังใบ	บันทึกลักษณะโดยพลิกหลังใบศึกษา	เมื่อฝ้ายอายุ 60 วันขึ้นไป
8. ขนบนใบ	ตัดชิ้นส่วนของใบพืชที่สมบูรณ์ที่สุด บริเวณกลางลำต้น ขนาด 1 X 1 ซม. แล้วนำไปนับภายใต้กล้อง dissecting microscope	เมื่อฝ้ายอายุ 60 วันขึ้นไป
9. รูปร่างของใบ	บันทึกรูปร่างของใบ โดยแบ่งเป็น 3 กลุ่ม คือ ใบปกติ ใบเป็นแฉก และใบเป็นแฉกหยักลึกมาก	เมื่อฝ้ายอายุ 60 วันขึ้นไป
10. ขอบใบ	บันทึกลักษณะจากใบที่สมบูรณ์ที่สุด	เมื่อฝ้ายอายุ 60 วันขึ้นไป
11. จักใบ	บันทึกลักษณะจากใบที่สมบูรณ์ที่สุด	เมื่อฝ้ายอายุ 60 วันขึ้นไป
12. ต่อมพิษบนเส้นใบ	บันทึกลักษณะต่อมพิษที่หลังใบ	เมื่อฝ้ายอายุ 60 วันขึ้นไป
<b>การศึกษาลักษณะของดอก</b>		
13. สีของกลีบดอก	บันทึกเมื่อดอกเริ่มบานในเวลาเช้า	เมื่อฝ้ายอายุ 60 วันขึ้นไป
14. จุดสีบนกลีบดอก	ตัดกลีบดอกออกมาแล้วใช้เวอร์เนียร์วัดกว้าง X ยาว ของจุดสี	เมื่อฝ้ายอายุ 60 วันขึ้นไป
15. สีของอับเรณู	บันทึกเมื่อดอกเริ่มบานในเวลาเช้า	เมื่อฝ้ายอายุ 60 วันขึ้นไป
16. ลักษณะของริ้วประดับ	บันทึกลักษณะริ้วประดับจากดอกฝ้ายที่สมบูรณ์ที่สุด	เมื่อฝ้ายอายุ 60 วันขึ้นไป

ตารางที่ 1 (ต่อ) ลักษณะที่ศึกษา วิธีการและช่วงเวลาที่ใช้ในการบันทึกข้อมูล

ลักษณะที่ศึกษา	วิธีการบันทึก	เวลาบันทึก
17. ต่อมพิษที่รีวประดับ	ตัดชิ้นส่วนของรีวประดับให้มีขนาด 0.5 X 0.5 ซม. แล้วนำไปนับภายใต้กล้อง dissecting microscope	เมื่อฝ้ายอายุ 60 วันขึ้นไป
18. ต่อมพิษที่กลีบเลี้ยง	ตัดชิ้นส่วนของกลีบเลี้ยงให้มีขนาด 0.5 X 0.5 ซม. แล้วนำไปนับภายใต้กล้อง dissecting microscope	เมื่อฝ้ายอายุ 60 วันขึ้นไป
<b>การศึกษาลักษณะของกิ่งกระโดงและกิ่งผล</b>		
19. จำนวนกิ่งกระโดงต่อต้น	นับจากข้อที่เกิดใบจริงเป็นข้อที่ 1 และนับข้อต่อไปจนถึงข้อที่ติดกิ่งผล	หลังเก็บเกี่ยวครั้งสุดท้าย
20. ความยาวของกิ่งกระโดงที่ยาวที่สุด	วัดจากโคนกิ่งไปจนสุดปลายกิ่งของกิ่งผลกิ่งแรก	หลังเก็บเกี่ยวครั้งสุดท้าย
21. ข้อแรกที่ติดกิ่งผล	นับจำนวนกิ่งที่เป็นกิ่งกระโดง (กิ่งที่มีลักษณะคล้ายกับลำต้นที่สอง) ที่มีทั้งหมดต่อต้น	หลังเก็บเกี่ยวครั้งสุดท้าย
22. ความยาวของกิ่งผลกิ่งแรก	วัดจากโคนกิ่งไปจนสุดปลายกิ่งของกิ่งกระโดงกิ่งแรก	หลังเก็บเกี่ยวครั้งสุดท้าย
23. จำนวนกิ่งผลต่อต้น	นับจำนวนกิ่งผลที่มีทั้งหมดต่อต้น	หลังเก็บเกี่ยวครั้งสุดท้าย
<b>การศึกษาลักษณะของสมอ</b>		
24. รูปร่างของสมอ	บันทึกลักษณะของสมอจากสมอในช่วงกลางต้น	เมื่อมีการเจริญเป็นสมอในช่วงที่สอง
25. ต่อมพิษที่สมอ	ตัดชิ้นส่วนสมอให้มีขนาด 1 X 1 ซม. แล้วนำไปนับภายใต้กล้อง dissecting microscope	เมื่อฝ้ายเริ่มติดสมอในระยะที่สอง
26. ความยาวของสมอ	สุ่มเก็บสมอบริเวณกลางต้นแล้วนำมาวัดตั้งแต่ฐานสมอจนจรดปลายสมอ	เมื่อปลายสมอเริ่มปริเล็กน้อย
27. ความกว้างของสมอ	สุ่มเก็บสมอบริเวณกลางต้นแล้วนำมาวัดส่วนที่กว้างที่สุดของสมอ	เมื่อปลายสมอเริ่มปริเล็กน้อย



**ตารางที่ 1 (ต่อ) ลักษณะที่ศึกษา วิธีการและช่วงเวลาที่ใช้ในการบันทึกข้อมูล**

ลักษณะที่ศึกษา	วิธีการบันทึก	เวลาบันทึก
28. ขนาดของสมอ	สุ่มเก็บปุ๋ยฝ้ายทั้งหมดจากสมอบริเวณกลางต้นแล้วนำมาชั่ง	การเก็บเกี่ยวครั้งที่ 2
29. ความยาวของก้านสมอ	สุ่มวัดความยาวของก้านสมอบริเวณกลางต้น	หลังเก็บเกี่ยวแล้ว
30. การแตกของสมอ	บันทึกลักษณะการแตกของสมอ โดยแบ่งเป็น 3 ลักษณะ คือ เปิดปกติ เปิดปานกลาง และเปิดด้านลม	หลังสมอแตก
31. จำนวนช่องภายในสมอ	นับจำนวนช่องจากพูที่แตก	หลังเก็บเกี่ยว
<b>การศึกษาลักษณะของเมล็ด</b>		
32. จำนวนเมล็ดต่อสมอ	เก็บปุ๋ยฝ้ายจาก 1 สมอ มาทำการนับเมล็ด	เมื่อสมอแตกในครั้งที่สอง
33. น้ำหนัก 100 เมล็ด	สุ่มชั่งน้ำหนัก 100 เมล็ด	หลังจากหีบปุ๋ยออกมา
34. ปุ๋ยสันตติเมล็ด	บันทึกลักษณะจากเมล็ดที่ผ่านการหีบ	หลังเก็บเกี่ยว
35. สีของปุ๋ยสันตติเมล็ด	บันทึกลักษณะจากเมล็ดที่ผ่านการหีบ	หลังเก็บเกี่ยว
36. เปอร์เซ็นต์ของน้ำมันในเมล็ด	ทำการศึกษาในห้องปฏิบัติการ	หลังเก็บเกี่ยว
37. เปอร์เซ็นต์โปรตีนในเมล็ด	ทำการศึกษาในห้องปฏิบัติการ	หลังเก็บเกี่ยว
<b>การศึกษาลักษณะของปุ๋ยและเส้นใย</b>		
38. สีของปุ๋ยฝ้าย	บันทึกลักษณะจากเมล็ดที่ผ่านการทำความสะอาดและหีบแล้ว	หลังเก็บเกี่ยว

ตารางที่ 1 (ต่อ) ลักษณะที่ศึกษา วิธีการและช่วงเวลาที่ใช้ในการบันทึกข้อมูล

ลักษณะที่ศึกษา	วิธีการบันทึก	เวลาบันทึก
39. เปอร์เซ็นต์เส้นใย	สุ่มตัวอย่างฝ้ายปุ๋ยทั้งเมล็ดประมาณ 200 กรัมจำนวน 2 ตัวอย่างนำมาหีบเอาปุ๋ยออกจากเมล็ด นำปุ๋ยไปชั่งน้ำหนักแล้วคำนวณหา เปอร์เซ็นต์เทียบกับน้ำหนักปุ๋ยทั้งหมด โดยเปอร์เซ็นต์ปุ๋ย $= \frac{\text{น้ำหนักเฉพาะปุ๋ย}}{\text{น้ำหนักปุ๋ยทั้งหมด}} \times 100$	หลังชั่งน้ำหนักผลผลิต
40. ความเหนียวของกลุ่มเส้นใย	สุ่มตัวอย่างจากปุ๋ยที่ได้จากการเปอร์เซ็นต์ไปวัดความเหนียวกลุ่มเส้นใยโดยใช้เครื่อง Stelometer	หลังจากหาเปอร์เซ็นต์ปุ๋ย
41. อัตราส่วนความสม่ำเสมอ	คำนวณจากสูตร = $50\% \frac{\text{span length}}{\text{span length}}$ $2.5\% \text{ span length}$	เมื่อวิเคราะห์เส้นใยในห้องปฏิบัติการ
42. ความละเอียดอ่อนของเส้นใย	สุ่มตัวอย่างจากปุ๋ยที่ได้จากการหาเปอร์เซ็นต์ปุ๋ย ไปวัดค่าความละเอียดอ่อนโดยใช้เครื่อง cotton fineness meter	เมื่อวิเคราะห์เส้นใยในห้องปฏิบัติการ
43. ความยาวเส้นใย	สุ่มตัวอย่างจากปุ๋ยที่ได้จากการหา %ปุ๋ย ไปวัดหาความยาวในห้องปฏิบัติการโดยใช้เครื่อง fibrograph	หลังจากหาเปอร์เซ็นต์ปุ๋ย
<b>การศึกษาลักษณะของอายุ</b>		
44. อายุถึงวันงอก	วันที่ต้นกล้าโผล่พ้นผิวดินและคลี่กางใบเลี้ยงเต็มที่ โดยสังเกตจาก 50% ของจำนวนต้นทั้งหมด	เมื่อมีส่วนของต้นกล้าโผล่พ้นผิวดิน
45. อายุถึงวันดอกบาน	นับตั้งแต่วันงอกจนถึงวันที่ดอกแรกบาน โดยสังเกตจาก 50% ของต้นทั้งหมด	เมื่อดอกแรกเริ่มบาน
46. อายุถึงวันสมอแตก	นับตั้งแต่วันที่งอกจนถึงวันที่สมอเริ่มแตกจาก 50% ของจำนวนต้นทั้งหมด	เมื่อสมอแรกเริ่มแตก

ตารางที่ 1 (ต่อ) ลักษณะที่ศึกษา วิธีการและช่วงเวลาที่ใช้ในการบันทึกข้อมูล

ลักษณะที่ศึกษา	วิธีการบันทึก	เวลาบันทึก
47. อายุวันเก็บเกี่ยว	<p>คำนวณจากสูตร</p> $\frac{(A1XB1)+(A2XB2)+\dots+(AnXBn)}{\text{น้ำหนักผลผลิตรวมทั้งหมด}}$ <p>A1 = อายุการเก็บเกี่ยวครั้งที่ 1 (วัน) นับจากวันงอกจนถึงวันเก็บเกี่ยวครั้งที่ 1  A2 = อายุการเก็บเกี่ยวครั้งที่ 2 (วัน) นับจากวันงอกจนถึงวันเก็บเกี่ยวครั้งที่ 2  An = อายุการเก็บเกี่ยวครั้งที่ n (วัน) นับจากวันงอกจนถึงวันเก็บเกี่ยวครั้งที่ n  B1 = น้ำหนักผลผลิตครั้งที่ 1  B2 = น้ำหนักผลผลิตครั้งที่ 2  Bn = น้ำหนักผลผลิตครั้งที่ n</p>	วันเก็บเกี่ยวฝ้ายแต่ละครั้ง
การศึกษาเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคใบหงิก		
48. เปอร์เซ็นต์การเป็นโรคใบหงิก	นับจำนวนต้นที่เป็นโรคใบหงิกจาก 2 แถวกลางในแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์ ทุกพันธุ์/สายพันธุ์ โดยนับเดือนละ 1 ครั้งเป็นเวลา 4 เดือน ให้นับซ้ำต้นเดิมที่เป็นโรคในเดือนก่อนร่วมไปด้วย	เริ่มตั้งแต่ฝ้ายอายุได้ 1 เดือนไปจนถึงฝ้ายอายุได้ 4 เดือน

## 2.2 การศึกษาสายพิมพ์ดีเอ็นเอ

2.2.1 การสกัดดีเอ็นเอ กรรมวิธีที่ใช้ในการวิจัยนี้ได้ดัดแปลงจากวิธีของ Paterson และคณะ (1993) ซึ่งมีวิธีการดังนี้

2.2.1.1 นำใบพืชที่มีอายุ 1 เดือนหนัก 1 กรัมมาบดให้ละเอียดในโกร่งโดยใช้ไนโตรเจนเหลว แล้วจึงถ่ายตัวอย่างพืชที่บดแล้วใส่ในหลอดทดลองปั่นเหวี่ยง เติมนสารละลาย cotton DNA extraction [0.35 M glucose, 0.1 M tris-HCL (pH 8.0), 0.005 M Na<sub>2</sub>-EDTA (pH8.0), 2% (w/v) polyvinylpyrrolidone (PVP40), 0.1% (w/v) diethyldithiocarbamic acid (DIECA)] ปริมาตร 5 มล. ผสมให้ตัวอย่างพืชเปียกโดยทั่ว

2.2.1.2 นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 2700×g เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเทสารละลายตอนบนและเศษเซลล์ทิ้งเก็บตะกอนไว้ในหลอดเดิม

2.2.1.3. ใส่สารละลาย cotton nuclei lysis buffer [0.1M Tris-HCL (pH8.0), 1.4 M. NaCl, 0.02 M Na<sub>2</sub>-EDTA (pH 8.0), 2% (w/v) CTAB (hexadecyl triammonium bromide), 2% (w/v) PVP40, 0.1% (w/v) DIECA] ปริมาณ 2 มล. ในหลอดปั่นเหวี่ยง เขย่าเบาๆ ให้ตะกอนกระจายตัวออกมา แล้วนำไปแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 – 30 นาที

2.2.1.4 เติมน CIA (Chloroform – isoamyl alcohol mixture) ในปริมาณที่เท่ากับปริมาตรสารละลายในหลอดปั่นเหวี่ยง ปิดฝาให้แน่นแล้วผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยกลับหลอดไปมาอย่างเบาๆ แล้วนำปั่นที่ 2700×g นาน 5 นาที ดูดสารละลายชั้นบนไปใส่ในหลอดใหม่ที่สะอาด

2.2.1.5 เติมน Isopropanol ที่แช่เย็น (-20C) ปริมาตร 0.6 เท่าของปริมาตรสารละลายที่ดูดเก็บได้ เอียงหลอดให้สารละลายผสมเข้ากันอย่างเบา เพื่อให้ดีเอ็นเอตกตะกอน ใช้ขอแก้วขนาดเล็กเกี่ยวสาย ดีเอ็นเอขึ้นมา ทำความสะอาดโดยแกว่งในเอทานอล 70% แล้วเอาชิ้นมาระเหยเอทานอลพอหมาดๆ

2.2.1.6 สารละลายดีเอ็นเอในสารละลาย TE แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

2.2.2 การทำ RAPD โดยวิธีพีซีอาร์ (PCR-polymerase chain reaction amplification)

ปฏิกิริยาพีซีอาร์ทำในปริมาตร 25 ไมโครลิตร ซึ่งประกอบด้วย ดีเอ็นเอ 25 นาโนกรัม บัฟเฟอร์ 1x แมกนีเซียมคลอไรด์ 2 มิลลิโมลาร์ ไพรเมอร์ 0.4 ไมโครโมลาร์ นิวคลีโอไทด์ 200 ไมโครโมลาร์ เอ็นไซม์ (Taq enzyme) 1 ยูนิต สภาวะที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ใช้จำนวนรอบ 40 รอบ โดยแต่ละ รอบประกอบด้วยขั้นตอนการแยกสายดีเอ็นเอ อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที ตามด้วยขั้นตอนจับคู่ของไพรเมอร์กับดีเอ็นเอของต้นแบบที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส นาน 1

นาที่ และขั้นตอนสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที และเมื่อครบจำนวนรอบให้คงอุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส ต่อไปอีก 5 นาที

### 2.2.3 การแยกแถบดีเอ็นเอด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟเรซิส

ดีเอ็นเอที่จากการทำ RAPD-PCR amplification จะนำมาแยกโดยให้เคลื่อนที่ภายใต้สนามไฟฟ้าในตัวกลางที่เป็น agarose gel ความเข้มข้น 2.0% ในสารละลาย TBE และใช้กำลังไฟฟ้า 50 โวลต์ (2 โวลต์ต่อความยาวเจล 1 ซม.) จากนั้นย้อมแถบดีเอ็นเอด้วย เอทidium บรอมได์ (Ethidium bromide) นาน 15 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำเปล่า แล้วนำไปส่องด้วยเครื่อง UV transilluminator และบันทึกภาพด้วยกล้องดิจิทัล



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทที่ 4

### ผลการศึกษา

#### 1. การศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ในแปลงทดลอง

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย ที่ได้ดำเนินการในฤดูเพาะปลูกปี 2542 และ 2543 ซึ่งประกอบด้วยพันธุ์ฝ้ายทั้งหมดจำนวน 10 พันธุ์ 5 สายพันธุ์ โดยส่วนใหญ่เป็นฝ้ายชนิด *G. hirsutum* มากที่สุดคือจำนวน 12 พันธุ์/สายพันธุ์ รองลงมาเป็นฝ้ายชนิด *G. arboreum* จำนวน 2 พันธุ์ และชนิดพันธุ์ *G. barbadense* จำนวน 1 พันธุ์ จากการศึกษาลักษณะสำคัญต่างๆประจำพันธุ์ สามารถจำแนกผลการศึกษาและประเมินคุณค่าทางแหล่งพันธุกรรมพืชของฝ้ายแต่ละชนิดได้ ดังตารางที่ 2

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2 แสดงลักษณะประจำพันธุ์จำนวน 48 ลักษณะของฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ที่ทำการศึกษา  
 ในแปลงทดลอง ปี 2543/2544 สถานที่ทำการทดลอง ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์  
 อ. ดากฟ้า จ. นครสวรรค์ หมายเลขพันธุ์เป็นดังนี้ พันธุ์ที่ 1 หมายถึง SR60 พันธุ์ที่ 2  
 หมายถึง SR2 พันธุ์ที่ 3 หมายถึง NS1 พันธุ์ที่ 4 หมายถึง SR3 พันธุ์ที่ 5 หมายถึง TF1  
 พันธุ์ที่ 6 หมายถึง DPSL พันธุ์ที่ 7 หมายถึง BTK12 พันธุ์ที่ 8 หมายถึง ตุ่นน้ำตาล พันธุ์  
 ที่ 9 หมายถึง ตุ่นขาว พันธุ์ที่ 10 หมายถึง Pima 79-106 สายพันธุ์ที่ 11 หมายถึง 45-4-3  
 สายพันธุ์ที่ 12 หมายถึง H2-34-107BC สายพันธุ์ที่ 13 หมายถึง DI 5-GBE4 สายพันธุ์ที่  
 14 หมายถึง GDPN 34-24 สายพันธุ์ที่ 15 หมายถึง GDPSR 38-136

ลักษณะที่ศึกษา	ฝ้ายพันธุ์/สายพันธุ์ที่														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1. สีของลำต้น 7 วันหลังออก															
- เขียว								+	+						
- ม่วงเขียว															
- แดง	+	+	+	+	+	+	+			+	+	+	+	+	+
2. สีของลำต้น 60 วันหลังออก															
- เขียว		+			+	+	+			+	+	+	+		+
- ม่วงเขียว	+		+											+	
- แดง				+				+	+						
3. ทรงต้น															
- ทรงกระบอก															
- ทรงกรวย			+	+				+	+						
- ทรงแผ่กระจาย	+	+			+	+	+			+	+	+	+	+	+

ตารางที่ 2 (ต่อ) แสดงลักษณะประจำพันธุ์จำนวน 48 ลักษณะของฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ที่ทำการศึกษาในแปลงทดสอบ ปี 2542/2543 สถานที่ทำการทดสอบ ศูนย์วิจัยพืชไร่ นครสวรรค์ อ. ดากฟ้า จ. นครสวรรค์

ลักษณะที่ศึกษา	ฝ้ายพันธุ์/สายพันธุ์ ที่														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
4. ขนบนลำต้น															
- ลำต้นเกลี้ยง										+					
- ขนสั้นปกคลุมปานกลาง	+					+								+	+
- ขนยาวปกคลุมปานกลาง		+	+	+	+						+	+	+		
- ขนสั้นปกคลุมมาก									+	+					
- ขนยาวปกคลุมมาก								+							
5. ความสูงของต้น															
- น้อยกว่า 1.00 เมตร															
- 1.00-1.50 เมตร	+	+	+	+	+	+	+			+	+	+	+	+	+
- 1.51-2.00 เมตร															
- มากกว่า 2.00 เมตร									+	+					
6. สีของใบ															
- เขียว	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
- แดง															
- ม่วง															
7. ต่อมเหงื่อหลังใบ															
- มี	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
- ไม่มี															
8. ขนบนใบ															
- มี								+	+	+	+				
- ไม่มี	+	+	+	+	+	+					+	+	+	+	+
9. รูปร่างของใบ															
- ใบฝ้ายปกติ	+		+	+		+	+							+	
- ใบเป็นแฉก		+			+					+	+	+		+	+
- ใบเป็นแฉกหยักลึกมาก									+	+					





ตารางที่ 2 (ต่อ) แสดงลักษณะประจำพันธุ์จำนวน 48 ลักษณะของฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ที่ทำการศึกษาในแปลงทดสอบ ปี 2542/2543 สถานที่ทำการทดสอบ ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ อ. ดากฟ้า จ. นครสวรรค์

ลักษณะที่ศึกษา	ฝ้ายพันธุ์/สายพันธุ์ ที่														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
17. ต่อมพิษที่รีวระดับ															
- มีมาก										+					
- มี	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+
- ไม่มี															
18. ต่อมพิษที่กลีบเลี้ยง															
- มีมาก															
- มี	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
- ไม่มี															
19. จำนวนกิ่งกระโดงต่อต้น															
- 0															
- 1															
- 2			+	+											
- 3	+				+	+					+		+	+	+
- มากกว่า 3		+					+	+	+	+		+			
20. ความยาวของกิ่งกระโดงที่ยาวที่สุด															
- น้อยกว่า 50 ซม.															
- 50-100 ซม.											+				
- มากกว่า 100 ซม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+
21. ข้อแรกที่ติดกิ่งผล															
- น้อยกว่าข้อที่ 3															
- ข้อที่ 3-5															
- ข้อที่ 5-7	+	+	+	+	+	+	+			+	+	+	+	+	+
- มากกว่าข้อที่ 7								+	+						









ตารางที่ 2 (ต่อ) แสดงลักษณะประจำพันธุ์จำนวน 48 ลักษณะของฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ที่ทำการศึกษาในแปลงทดสอบ ปี 2542/2543 สถานที่ทำการทดสอบ ศูนย์วิจัยพืชไร่ นครสวรรค์ อ. ดากฟ้า จ. นครสวรรค์

ลักษณะที่ศึกษา	ฝ้ายพันธุ์/สายพันธุ์ ที่														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
42. ความสม่ำเสมอของเส้นใย															
- น้อยกว่า 41															
- 41-43															
- 44-46															
- 47-48															
- มากกว่า 49	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
43. ความละเอียดอ่อนของเส้นใย (ไมโครแนร์)															
- น้อยกว่า 3.0															
- 3.0-3.9		+			+					+			+		+
- 4.0-4.9	+		+	+		+	+				+	+		+	
- 5.0-5.9															
- 6.0 หรือมากกว่า								+	+						
44. อายุถึงวันงอก															
- น้อยกว่า 5 วันหลังปลูก															
- 5-7 วันหลังปลูก	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
- 8-10 วันหลังปลูก															
- มากกว่า 10 วันหลังปลูก															
45. อายุถึงวันดอกบาน															
- น้อยกว่า 35 วันหลังงอก															
- 35-40 วันหลังงอก															
- 41-45 วันหลังงอก	+		+										+		
- 46-50 วันหลังงอก				+	+	+				+	+			+	+
- 51-55 วันหลังงอก		+					+					+			
- มากกว่า 55 วันหลังงอก								+	+						

ตารางที่ 2 (ต่อ) แสดงลักษณะประจำพันธุ์จำนวน 48 ลักษณะของฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ที่ทำการศึกษาในแปลงทดสอบ ปี 2542/2543 สถานที่ทำการทดสอบ ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ อ. ดากฟ้า จ. นครสวรรค์

ลักษณะที่ศึกษา	ฝ้ายพันธุ์/สายพันธุ์ ที่														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
46. อายุถึงวันสมอแตก															
- น้อยกว่า 100 วันหลังงอก															
- 100-110 วันหลังงอก	+	+	+	+	+	+				+	+	+	+	+	+
- 111-120 วันหลังงอก									+	+					
- 121-130 วันหลังงอก							+								
- มากกว่า 130 วันหลังงอก															
47. อายุการเก็บเกี่ยว															
- น้อยกว่า 100 วันหลังงอก															
- 100-120 วันหลังงอก															
- 121-150 วันหลังงอก	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+
- มากกว่า 150 วันหลังงอก							+								
48. เปอร์เซ็นต์การเป็นโรคใบหงิก (%)	0.0	0.0	0.7	0.7	0.0	0.0	3.7	0.0	0.7	0.0	0.0	0.8	1.7	0.0	0.0

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## 1.1 การศึกษาลักษณะของลำต้น

### 1.1.1 ลีของลำต้น 7 วันหลังงอก

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า มีเพียงพันธุ์ที่ 8 และ 9 เท่านั้นที่ลีของลำต้น 7 วันหลังงอกเป็นสีเขียว ส่วนอีก 13 พันธุ์/สายพันธุ์ที่เหลือมีลีของลำต้น 7 วันหลังงอกเป็นสีแดง

### 1.1.2 ลีของลำต้น 60 วันหลังงอก

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า ลักษณะลีของลำต้น 60 วันหลังงอกของพันธุ์ที่ 4, 8 และ 9 นั้นมีสีแดง พันธุ์/สายพันธุ์ที่ 2 5 6 7 10 11 12 13 และ 15 นั้นมีลีลำต้นเป็นสีเขียว ส่วนในพันธุ์/สายพันธุ์ที่ 1 3 และ 14 มีลีของลำต้นเป็นสีม่วงเขียว

### 1.1.3 ทรงต้น

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบลักษณะทรงต้น 2 ลักษณะคือ ทรงกรวยและทรงแผ่กระจาย โดยลักษณะทรงต้นแบบกรวยนั้นพบในพันธุ์ที่ 3 4 8 และ 9 ส่วนอีก 11 พันธุ์/สายพันธุ์ที่เหลือมีทรงต้นแบบแผ่กระจาย

### 1.1.4 ขนบนลำต้น

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า พันธุ์ที่ 10 เพียงพันธุ์เดียวเป็นฝ้ายที่มีลำต้นเกลี้ยง ส่วนฝ้ายที่มีลักษณะขนสั้นปกคลุมปานกลาง ได้แก่ พันธุ์/สายพันธุ์ที่ 1 6 14 และ 15 ฝ้ายที่มีลักษณะขนยาวปกคลุมปานกลาง ได้แก่ พันธุ์/สายพันธุ์ที่ 2 3 4 5 11 12 และ 13 และฝ้ายที่มีขนสั้นปกคลุมมาก ได้แก่ พันธุ์ที่ 8 และ 9 ส่วนพันธุ์ที่ 7 นั้นเป็นฝ้ายที่มีขนยาวปกคลุมมาก

### 1.1.5 ความสูงของลำต้น

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า มีเพียงพันธุ์ที่ 8 และ 9 ที่มีความสูงมากกว่า 2.00 ส่วนอีก 13 พันธุ์/สายพันธุ์มีความสูงอยู่ในช่วง 1.00 ถึง 1.50 เมตร

## 1.2 การศึกษาลักษณะของใบ

### 1.2.1 สีของใบ

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า ฝ้ายทั้ง 15 พันธุ์/สายพันธุ์ มีใบสีเขียวทั้งหมด

### 1.2.2 ต่อมาน้ำหวานหลังใบ

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า ฝ้ายทั้ง 15 พันธุ์/สายพันธุ์ มีต่อมน้ำหวานที่หลังใบทุกพันธุ์/สายพันธุ์

### 1.2.3 ขนบนใบ

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า พันธุ์ที่ 7 8 9 และ 10 มีขนบนใบ ส่วนอีก 11 พันธุ์/สายพันธุ์เป็นพันธุ์ที่ไม่มีขนบนใบ

### 1.2.4 รูปร่างของใบ

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า พันธุ์ที่ 8 และ 9 มีรูปร่างของใบเป็นแบบแฉกหยักลึกมาก พันธุ์/สายพันธุ์ที่ 2 5 10 11 12 14 และ 15 รูปร่างใบมีลักษณะเป็นแฉก ส่วนในพันธุ์/สายพันธุ์ที่ 1 3 4 6 7 และ 13 มีรูปร่างใบเป็นแบบปกติ

### 1.2.5 ขอบใบ

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า มีเพียงสายพันธุ์ที่ 11 เท่านั้นที่มีลักษณะขอบใบหยัก ส่วนอีก 14 พันธุ์/สายพันธุ์ที่เหลือมีลักษณะขอบใบเรียบ

### 1.2.6 จักใบ

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า พันธุ์/สายพันธุ์ที่ 1 2 3 5 8 9 10 11 12 และ 15 มีลักษณะจักใบยก ส่วนในพันธุ์/สายพันธุ์ที่ 4 6 7 13 และ 14 มีลักษณะจักใบเรียบ

### 1.2.7 ต่อมพิชบนเส้นใบ

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า ฝ้ายทุกพันธุ์/สายพันธุ์มีต่อมพิชบนเส้นใบ

## 1.3 การศึกษาลักษณะของดอก

### 1.3.1 สีของกลีบดอก

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า พันธุ์ที่ 10 เท่านั้นที่มีสีของกลีบดอกเป็นสีเหลือง พันธุ์ที่ 8 และ 9 มีสีกลีบดอกสีเหลืองอ่อน ส่วนอีก 12 พันธุ์/สายพันธุ์ที่เหลือมีสีของกลีบดอกเป็นสีขาวครีม

### 1.3.2 จุดสีบนกลีบดอก

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า มีเพียง 3 พันธุ์เท่านั้นที่มีจุดสีบนกลีบดอก โดยพบว่าพันธุ์ที่ 8 และ 9 มีจุดสีขนาดใหญ่บนกลีบดอก ส่วนพันธุ์ที่ 10 มีจุดสีขนาดเล็กบนกลีบดอก

### 1.3.3 สีของอับเรณู

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า มีเพียง 4 พันธุ์ที่มีอับเรณูเป็นสีเหลือง คือพันธุ์/สายพันธุ์ ที่ 8 9 10 และ 13 ส่วนอีก 11 พันธุ์/สายพันธุ์ที่เหลือมีสีของอับเรณูเป็นสีครีม

### 1.3.4 ลักษณะของริ้วประดับ

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่าพบว่าทุกสายพันธุ์มีริ้วประดับแบบปกติ

### 1.3.5 ต่อมพิษที่ริ้วประดับ

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่าฝ้ายส่วนใหญ่มีต่อมพิษที่ริ้วประดับในปริมาณปกติ มีเพียงพันธุ์ที่ 10 เท่านั้นที่มีปริมาณต่อมพิษที่ริ้วประดับในปริมาณมาก

### 1.3.6 ต่อมพิษที่กลีบเลี้ยง

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่าฝ้ายทุกพันธุ์/สายพันธุ์ มีปริมาณต่อมพิษที่กลีบเลี้ยงในระดับปกติ

## 1.4 ศึกษาลักษณะของกิ่งผลและกิ่งกระโดง

### 1.4.1 ชื่อแรกที่ติดกิ่งผล

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า มีเพียงพันธุ์ที่ 8 และ 9 เท่านั้นที่ตำแหน่งของชื่อแรกที่ติดกิ่งผลอยู่สูงกว่าชื่อที่ 7 ส่วนอีก 13 พันธุ์/สายพันธุ์ที่เหลือมีตำแหน่งของชื่อแรกที่ติดกิ่งผลอยู่ในช่วงชื่อที่ 5-7

#### 1.4.2 ความยาวของกิ่งผลกิ่งแรก

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า พันธุ์ที่ 8 9 และ 10 มีความยาวของกิ่งผลกิ่งแรกน้อยกว่า 50 เซนติเมตร ส่วนอีก 12 พันธุ์/สายพันธุ์ที่เหลือนั้นมีความยาวของกิ่งผลกิ่งแรกอยู่ในช่วง 50-100 เซนติเมตร

#### 1.4.3 จำนวนกิ่งผลต่อต้น

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า พันธุ์/สายพันธุ์ที่ 1 3 4 6 8 9 10 13 และ 14 มีจำนวนกิ่งผลต่อต้นมากกว่า 15 กิ่ง และพันธุ์/สายพันธุ์ที่ 2 5 7 11 12 และ 15 มีจำนวนกิ่งผลประมาณ 10-15 กิ่ง

#### 1.4.4 จำนวนกิ่งกระโดงต่อต้น

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า พันธุ์/สายพันธุ์ที่ 1 5 6 11 13 14 และ 15 มีจำนวนกิ่งกระโดงต่อต้น 3 กิ่ง พันธุ์/สายพันธุ์ที่ 2 7 8 9 10 และ 12 มีจำนวนกิ่งกระโดงต่อต้นมากกว่า 3 กิ่ง และพันธุ์ที่ 3 และ 4 มีจำนวนกิ่งกระโดง 2 กิ่ง

#### 1.4.5 ความยาวของกิ่งกระโดงที่ยาวที่สุด

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า พันธุ์ที่ 10 นั้นมีกิ่งกระโดงที่ยาวที่สุดยาวประมาณ 50-100 เซนติเมตร ส่วนพันธุ์/สายพันธุ์อื่นๆ ที่เหลือมีความยาวของกิ่งกระโดงที่ยาวที่สุดมากกว่า 100 เซนติเมตร

### 1.5 ลักษณะของสมอ

#### 1.5.1 รูปร่างของสมอ

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า พันธุ์/สายพันธุ์ที่ 1 2 5 และ 12 นั้นมีสมอรูปร่างกลม พันธุ์/สายพันธุ์ที่ 3 4 6 7 11 13 14 และ 15 สมอมีรูปร่างแบบรูปไข่ และในพันธุ์ที่ 8 9 และ 10 มีรูปร่างของสมอเป็นแบบกรวย

### 1.5.2 ต่อมพิษที่สมอ

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า พันธุ์ที่ 8 9 10 12 มีระดับของต่อมพิษที่สมอในระดับสูง ส่วนใน 11 พันธุ์/สายพันธุ์ที่เหลือมีต่อมพิษที่สมอในระดับปกติ

### 1.5.3 ความยาวของสมอ

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า พันธุ์/สายพันธุ์ ที่ 7 และ 15 มีความยาวสมอมากกว่า 5 เซนติเมตร ส่วนใน 13 พันธุ์/สายพันธุ์ที่เหลือมีความยาวของสมออยู่ระหว่าง 3-5 เซนติเมตร

### 1.5.4 ความกว้างของสมอ

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า พันธุ์/สายพันธุ์ ที่ 1 2 5 6 7 11 12 13 14 และ 15 มีความกว้างของสมออยู่ระหว่าง 3-5 เซนติเมตร ส่วนพันธุ์/สายพันธุ์ ที่ 3 4 8 9 และ 10 มีความกว้างสมอน้อยกว่า 3 เซนติเมตร

### 1.5.5 ขนาดของสมอ

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า ฝ้ายพันธุ์/สายพันธุ์ ที่ 1 2 7 และ 15 มีขนาดของสมอใหญ่มีน้ำหนักปุยทั้งเมล็ดต่อสมอมากกว่า 6 กรัม และพันธุ์/สายพันธุ์ ที่ 3 4 5 6 10 11 12 13 และ 14 มีขนาดของสมอปานกลาง มีน้ำหนักปุยทั้งเมล็ดต่อสมอ 3-6 กรัม ส่วนพันธุ์ที่ 8 และ 9 สมอมีขนาดเล็ก มีน้ำหนักปุยทั้งเมล็ดต่อสมอน้อยกว่า 3 กรัม

### 1.5.6 ความยาวของก้านสมอ

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า ฝ้ายทุกพันธุ์/สายพันธุ์ มีความยาวก้านสมออยู่ในช่วง 2-3 เซนติเมตร

### 1.5.7 การแตกของสมอ

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า พันธุ์ที่ 1 5 7 มีการแตกของสมอแบบปกติ ส่วนพันธุ์/สายพันธุ์ที่ 3 4 6 11 13 และ 15 มีการแตกของสมอแบบปานกลาง และพันธุ์/สายพันธุ์ที่ 2 8 9 10 12 และ 14 การแตกของสมอเป็นแบบด้านทานลมปุยฝ้ายไม่หลุดร่วงง่าย

### 1.5.8 จำนวนช่องภายใน 1 สมอ

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า พันธุ์/สายพันธุ์ที่ 1 2 5 13 และ 15 มีจำนวนช่องภายใน 1 สมอจำนวน 5 ช่อง พันธุ์/สายพันธุ์ที่ 3 4 6 7 8 9 10 11 12 และ 14 มีจำนวนช่องภายใน 1 สมอ น้อยกว่า 5 ช่อง

## 1.6 ลักษณะของเมล็ด

### 1.6.1 จำนวนเมล็ดต่อสมอ

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า มีเพียง พันธุ์ที่ 10 นั้นที่มีจำนวนเมล็ดน้อยกว่า 20 เมล็ดต่อสมอ ในอีก 11 พันธุ์/สายพันธุ์ที่เหลือมีจำนวนเมล็ดประมาณ 30-40 เมล็ดต่อสมอ

### 1.6.2 ขนาดของเมล็ด

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า พันธุ์/สายพันธุ์ที่ 1 7 12 และ 13 เมล็ดมีขนาดใหญ่ โดยมีน้ำหนัก 100 เมล็ดมากกว่า 10 กรัม ส่วนพันธุ์/สายพันธุ์ที่ 2 3 4 5 6 10 11 14 และ 15 มีเมล็ดขนาดปานกลาง โดยมีน้ำหนัก 100 เมล็ดประมาณ 5-10 กรัม และพันธุ์ที่ 8 และ 9 มีเมล็ดขนาดเล็กมีน้ำหนัก 100 เมล็ดน้อยกว่า 5 กรัม

### 1.6.3 ปุยสันติคเมล็ด

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า มีเพียงพันธุ์ที่ 8 และ 9 มีปริมาณปุยสันติคเมล็ดมาก ส่วนใน 13 พันธุ์/สายพันธุ์ที่เหลือมีปริมาณปุยสันติคเมล็ดเล็กน้อย

### 1.6.4 สีของปุยสันติคเมล็ด

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า พันธุ์ที่ 8 มีสีของปุยสันติคเมล็ดเป็นสีน้ำตาล และพันธุ์ที่ 10 มีสีของปุยสันติคเมล็ดเป็นสีขาวอมเขียว ส่วนอีก 13 พันธุ์/สายพันธุ์ที่เหลือมีสีของปุยสันติคเมล็ดเป็นสีขาว

### 1.6.5 เเปอร์เซ็นต์น้ำมันในเมล็ด

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า พันธุ์/สายพันธุ์ ที่ 1 3 4 7 11 และ 14 มีปริมาณน้ำมันในเมล็ด 15-20% ส่วนในพันธุ์/สายพันธุ์ ที่ 2 5 6 10 12 13 และ 15 มีปริมาณน้ำมันในเมล็ด 20 - 25% และพันธุ์ที่ 8 และ 9 มีเปอร์เซ็นต์น้ำมันในเมล็ดน้อยกว่า 15%

### 1.6.6 เเปอร์เซ็นต์โปรตีนในเมล็ด

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า พันธุ์/สายพันธุ์ ที่ 6 7 และ 15 มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนในเมล็ด 20-25% ส่วนพันธุ์ที่ 8 และ 9 มีปริมาณโปรตีนในเมล็ดมากกว่า 25% และอีก 10 พันธุ์/สายพันธุ์ที่เหลือมีเปอร์เซ็นต์โปรตีนในเมล็ด 15-20%

## 1.7 ลักษณะของปุยฝ้าย

### 1.7.1 สีของปุย

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า



พันธุ์ที่ 8 มีปุ๋ยสีน้ำตาล พันธุ์ที่ 10 มีปุ๋ยสีครีม ส่วนอีก 13 พันธุ์/สายพันธุ์ที่เหลือมีปุ๋ยสีขาว

#### 1.7.2 เปอร์เซ็นต์เส้นใย

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า พันธุ์ที่ 7 8 9 และ 10 มีเปอร์เซ็นต์เส้นใยอยู่ในช่วง 30-35 % ส่วนอีก 11 พันธุ์/สายพันธุ์ ที่เหลือ มีเปอร์เซ็นต์เส้นใยอยู่ในช่วง 36-40%

#### 1.7.3 ความเหนียวของกลุ่มเส้นใย

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า พันธุ์/สายพันธุ์ ที่ 1 5 9 13 และ 15 มีความเหนียวของกลุ่มเส้นใยประมาณ 22-24 กรัม/เท็กซ์ พันธุ์/สายพันธุ์ ที่ 2 3 4 6 7 8 11 12 และ 14 มีความเหนียวของกลุ่มเส้นใยประมาณ 19-21 กรัม/เท็กซ์ และพันธุ์ที่ 10 นั้นมีความเหนียวของกลุ่มเส้นใยประมาณ 25-28 กรัม/เท็กซ์

#### 1.7.4 ความยาวของกลุ่มเส้นใย

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า พันธุ์/สายพันธุ์ ที่ 1 2 3 4 5 7 11 และ 12 มีความยาวของกลุ่มเส้นใย 1.00-1.14 นิ้ว พันธุ์/สายพันธุ์ ที่ 6 10 13 14 และ 15 มีความยาวของกลุ่มเส้นใย 1.15-1.29 นิ้ว และพันธุ์ที่ 8 และ 9 มีความยาวของกลุ่มเส้นใยสั้นกว่า 1.00 นิ้ว

#### 1.7.5 ความสม่ำเสมอของเส้นใย

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า ฝ้ายทุกพันธุ์/สายพันธุ์มีความสม่ำเสมอของเส้นใยมากกว่า 49%

#### 1.7.6 ความละเอียดอ่อนของเส้นใย

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า พันธุ์/สายพันธุ์ ที่ 1 3 4 6 7 11 12 และ 14 มีความละเอียดอ่อนของเส้นใยอยู่ในช่วง 4.0-4.9

ไมโครเนร์ พันธุ์/สายพันธุ์ ที่ 2 5 10 13 และ 15 มีความละเอียดอ่อนของเส้นใยอยู่ในช่วง 3.0 ถึง 3.9 ไมโครเนร์ ส่วนพันธุ์ที่ 8 และ 9 มีความละเอียดอ่อนของเส้นใยอยู่ในช่วง 6.0 ไมโครเนร์

## 1.8 อายุ

### 1.8.1 อายุถึงวันงอก

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า ฝ้ายทุกพันธุ์/สายพันธุ์มีอายุถึงวันงอกอยู่ในช่วง 5-7 วัน

### 1.8.2 อายุถึงวันออกดอก

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า ฝ้ายพันธุ์/สายพันธุ์ ที่ 1 3 และ 13 มีอายุถึงวันออกดอก อยู่ในช่วง 41-45 วันหลังงอก พันธุ์/สายพันธุ์ ที่ 2 7 และ 12 มีอายุถึงวันออกดอก อยู่ในช่วง 51-55 วันหลังงอก พันธุ์/สายพันธุ์ ที่ 4 5 6 10 11 14 และ 15 มีอายุถึงวันออกดอกอยู่ในช่วง 46-50 วันหลังงอก ส่วนพันธุ์ที่ 8 และ 9 มีอายุถึงวันออกดอกมากกว่า 55 วันหลังงอก

### 1.8.3 อายุถึงวันสมอแตก

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า พันธุ์ที่ 1-6 และพันธุ์/สายพันธุ์ที่ 10-15 มีอายุถึงวันสมอแตกอยู่ระหว่าง 100-110 วัน ส่วนพันธุ์ที่ 8 และ 9 นั้นมีอายุถึงวันสมอแตกอยู่ในช่วง 111-120 วัน และพันธุ์ที่ 7 มีอายุถึงวันสมอแตกอยู่ในช่วง 121-130 วัน

### 1.8.4 อายุเก็บเกี่ยว

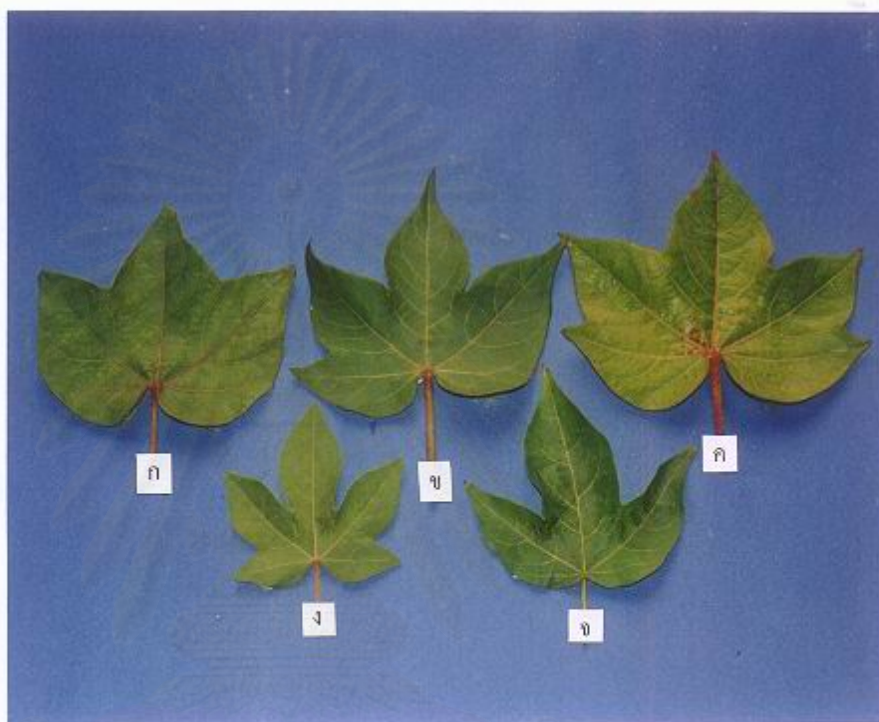
จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดลองพบว่า มีพันธุ์ที่ 7 เพียงพันธุ์เดียวที่มีอายุการเก็บเกี่ยวมากกว่า 150 วันหลังงอก ส่วนอีก 14 พันธุ์/สายพันธุ์ที่เหลือ มีอายุการเก็บเกี่ยวอยู่ในช่วงระหว่าง 121-150 วันหลังงอก

### 1.9 การศึกษาเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคใบหงิก

จากการศึกษาความอ่อนแอต่อโรคใบหงิก ของฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ เป็นระยะเวลา 4 เดือน โดยเริ่มตั้งแต่เดือนแรกที่งอก พบว่าพันธุ์ที่ 7 เป็นพันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคใบหงิกสูงที่สุดคือ 3.7 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือพันธุ์/สายพันธุ์ที่ 13 12 3 4 และ 9 ตามลำดับ โดยพันธุ์ที่ 3 4 และ 9 นั้นมีเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคใบหงิกในระดับเดียวกัน



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 1 ลักษณะของใบไม้

ก.) *G. hirsutum* [ พันธ์ูที่ 1 3 4 6 7 และสายพันธ์ูที่ 13 ]

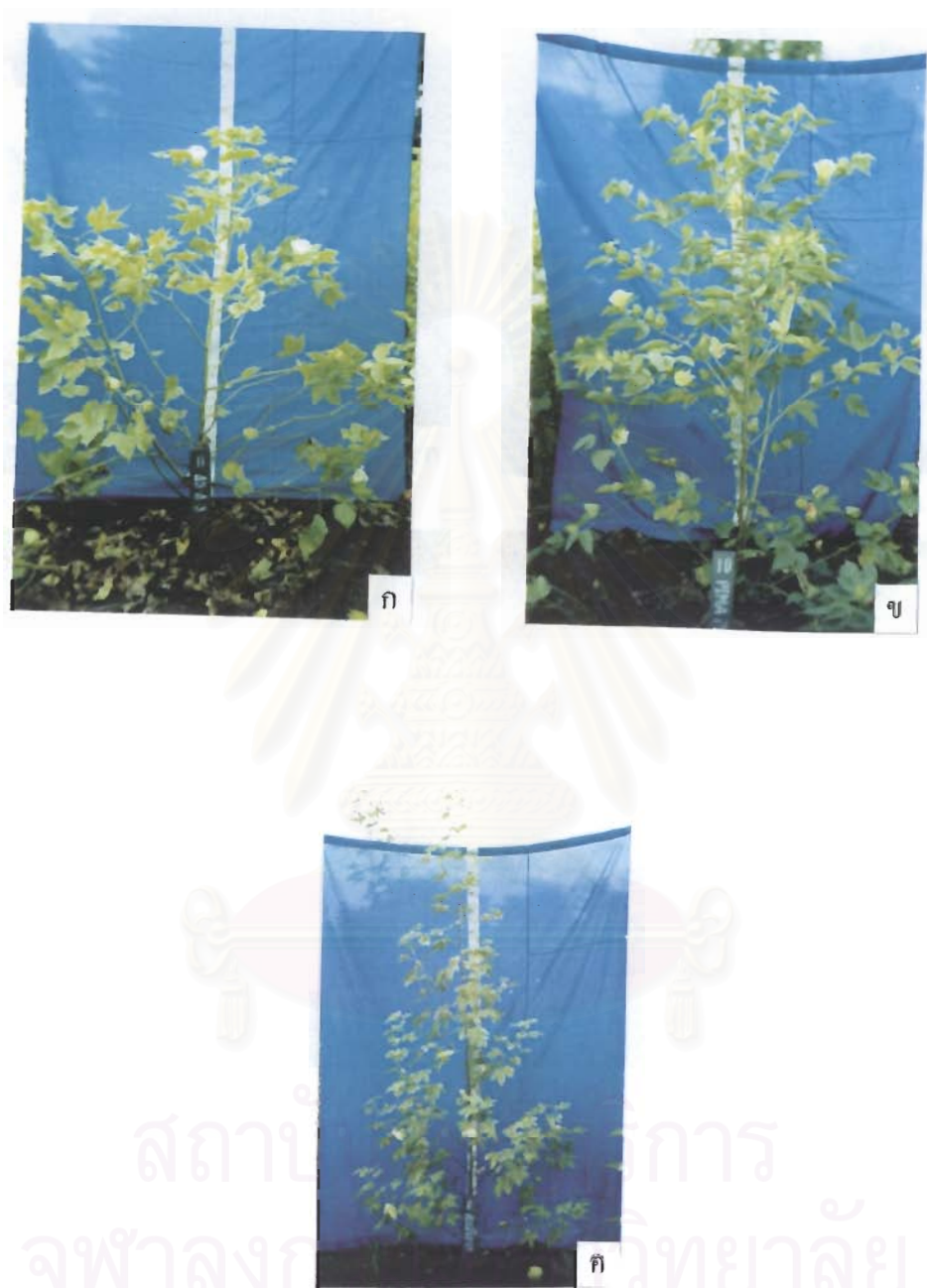
ข.) *G. hirsutum* [ พันธ์ูที่ 2 และ สายพันธ์ูที่ 12 ]

ค.) *G. hirsutum* [ พันธ์ูที่ 5 สายพันธ์ูที่ 11 14 15 ]

ง.) *G. arboreum* [ พันธ์ูที่ 8 และ 9 ]

จ.) *G. barbadense* [ พันธ์ูที่ 10 ]

สถาบันวิจัยการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 2 ลักษณะของต้นฝ้าย

- ก.) *G. hirsutum* [ พันธุ์ที่ 1 – 7 และสายพันธุ์ที่ 11 12 13 14 และ 15 ]  
 ข.) *G. barbadense* [ พันธุ์ที่ 10 ]  
 ค.) *G. arboreum* [ พันธุ์ที่ 8 และ 9 ]



รูปที่ 3 ลักษณะของดอกฝ้าย

ก.) *G. hirsutum* [ พันธุ์ที่ 1 – 7 และสายพันธุ์ที่ 11 12 14 และ 15]

ข.) *G. hirsutum* [ สายพันธุ์ที่ 13 ]

ค.) *G. barbadense* [ พันธุ์ที่ 10 ]

ง.) *G. arboreum* [ พันธุ์ที่ 8 และ 9 ]



รูปที่ 4 รูปร่างของสมอฝ้าย

ก.) *G. hirsutum* [ พันธุ์ที่ 1 2 5 และสายพันธุ์ที่ 12 ]

ข.) *G. hirsutum* [ พันธุ์ที่ 3 4 6 7 และสายพันธุ์ที่ 11 13 14 และ 15 ]

ค.) *G. barbadense* [ พันธุ์ที่ 10 ]

ง.) *G. arboreum* [ พันธุ์ที่ 8 และ 9 ]



รูปที่ 5 ลักษณะผิวสมอของฝ้าย

สามสมอแฉวบน *G. hirsutum* [พันธุ์ที่ 1-7 และสายพันธุ์ที่ 11 12 13 14 และ 15]

สามสมอแฉวล่าง จากด้านซ้าย สมอที่ 1 และ 2 *G. arboreum* [พันธุ์ที่ 8 และ 9]

จากด้านซ้ายแฉวล่างสมอที่ 3 *G. barbadense* [พันธุ์ที่ 10]





ก



ข



ค



ง

รูปที่ 6 ลักษณะฝ้าย

ก.) *G. hirsutum* [ พันธุ์ที่ 1 - 7 และสายพันธุ์ที่ 11 12 13 14 และ 15 ]

ข.) *G. barbadense* [ พันธุ์ที่ 10 ]

ค.) *G. arboreum* [ พันธุ์ที่ 8 ]

ง.) *G. arboreum* [ พันธุ์ที่ 9 ]

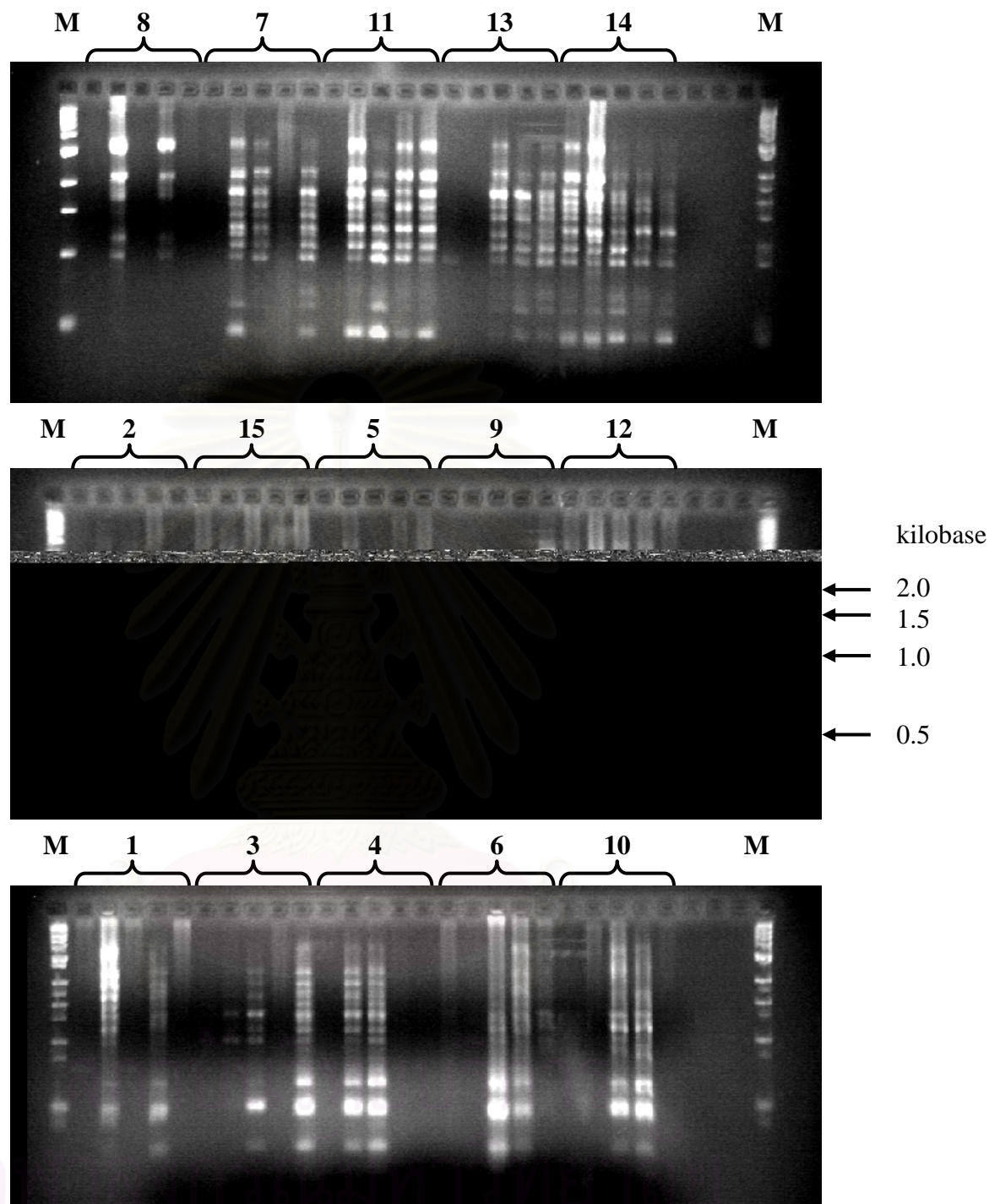
## 2. การศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยวิธีการ RAPD

จากผลการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอของฝ้าย 15 สายพันธุ์โดยเทคนิค RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) ซึ่งใช้ไพรเมอร์จำนวน 5 ไพรเมอร์ (รูปที่ 1-5) ซึ่งผ่านการคัดเลือกและทดสอบจากไพรเมอร์จำนวน 27 ไพรเมอร์ ผลการศึกษาได้แถบดีเอ็นเอรวมทั้งสิ้น 53 แถบ โดยเป็นแถบดีเอ็นเอแบบ monomorphic band จำนวน 1 แถบ ส่วนที่เหลืออีก 5 แถบ เป็นแถบดีเอ็นเอแบบ polymorphic band (ตารางที่ 3)

**ตารางที่ 3** แสดงจำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบแบบ Monomorphic band และ Polymorphic band

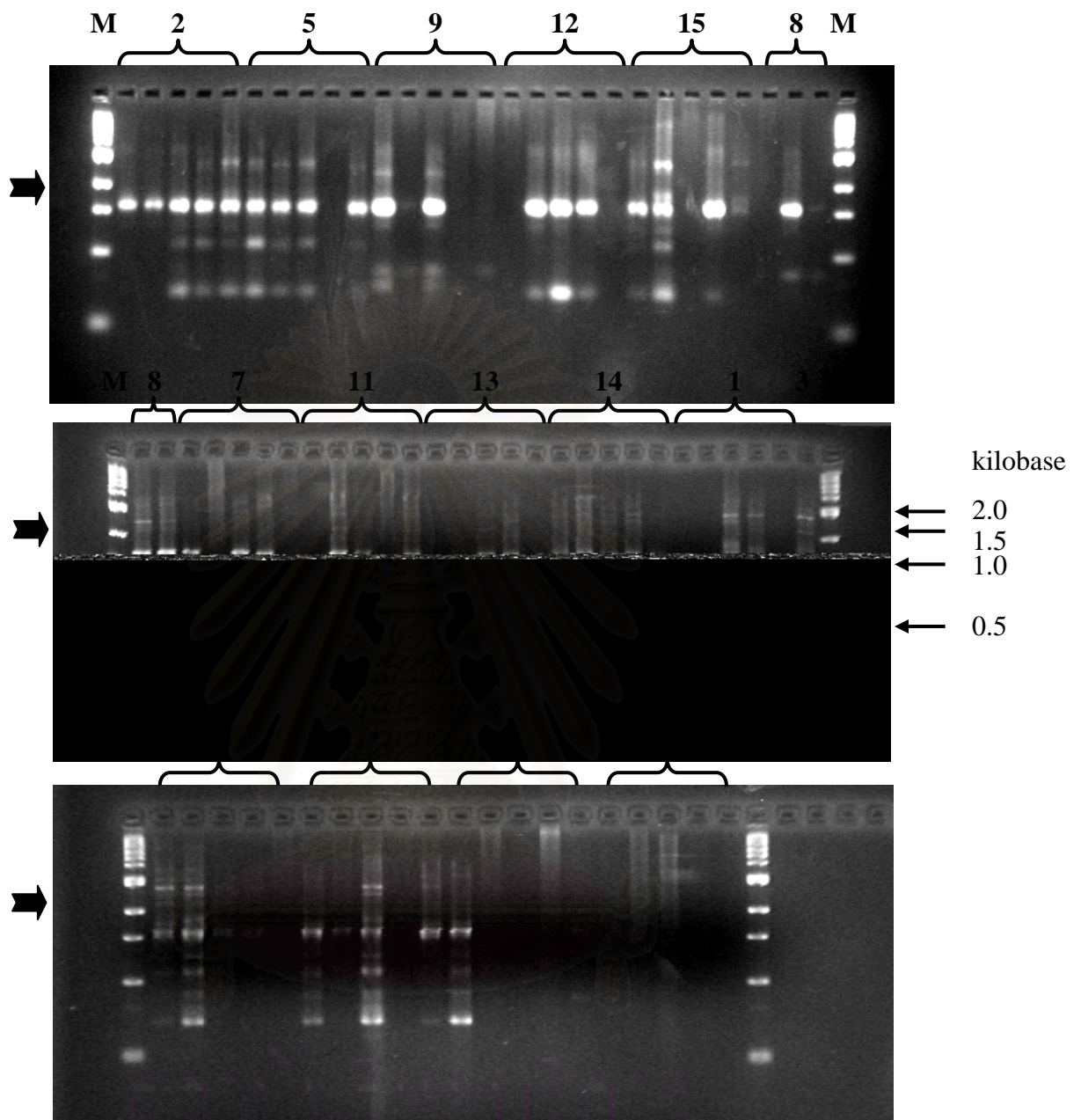
Primer	จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด	Monomorphic band	Polymorphic band
23	18	0	18
73	7	1	6
88	9	0	9
89	12	0	12
95	7	0	7
รวม	53	1	52

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



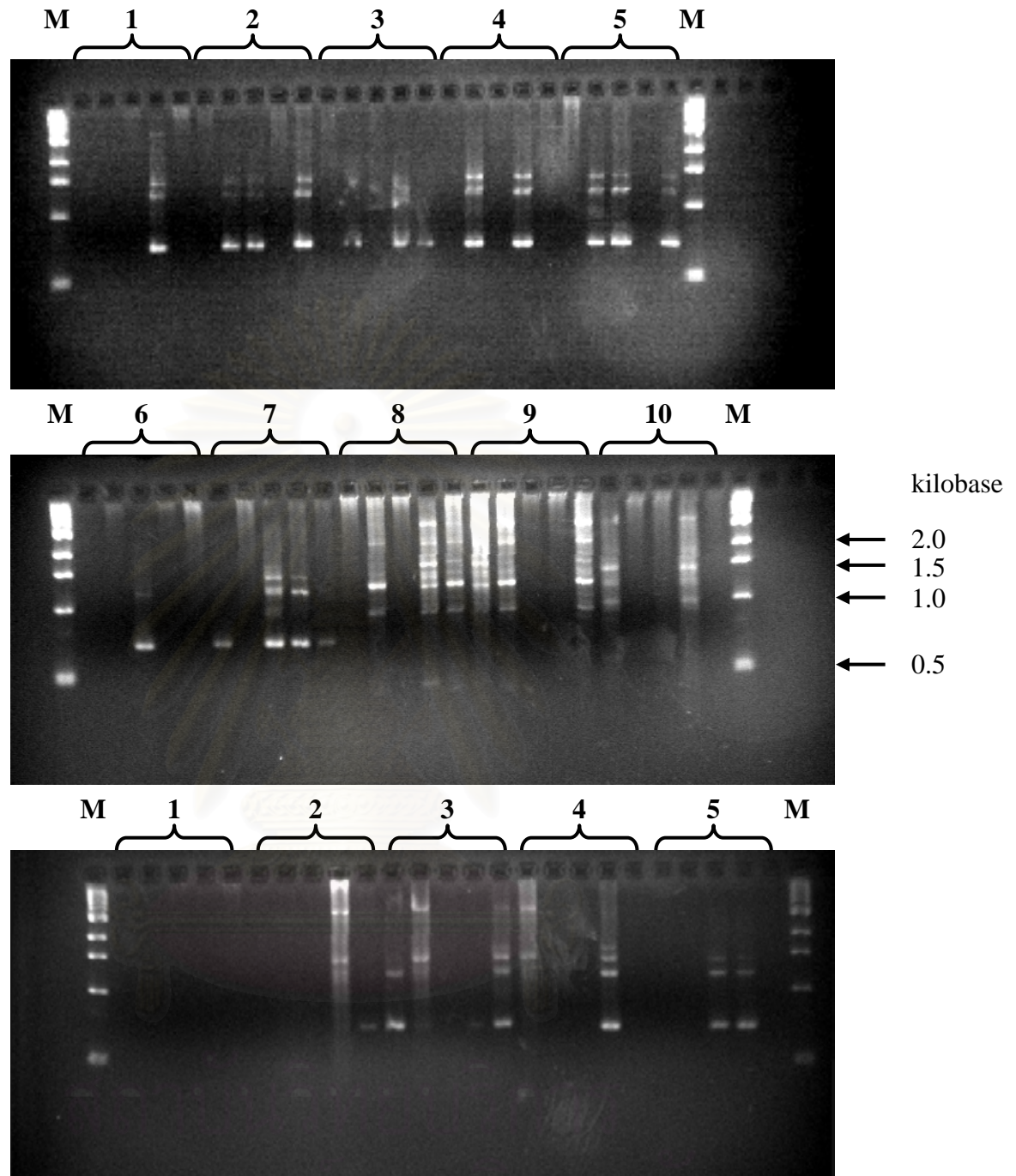
รูปที่ 1 แสดงผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ไพรเมอร์ UBC-23

โดย 1 = พันธุ์ SR60 2 = พันธุ์ SR2 3 = พันธุ์ NS1 4 = พันธุ์ SR3 5 = พันธุ์ TF1 6 = พันธุ์ DPSL 7 = พันธุ์ BTK12 8 = พันธุ์ตุ่นน้ำตาล 9 = พันธุ์ตุ่นขาว 10 = พันธุ์ Pima 79-106 11 = สายพันธุ์ 45-4-3 12 = สายพันธุ์ H2-34-107BC 13 = สายพันธุ์ DI5-GBE4 14 = สายพันธุ์ GDPN34-24 15 = สายพันธุ์ GDPSR38-136 M หมายถึง Maker



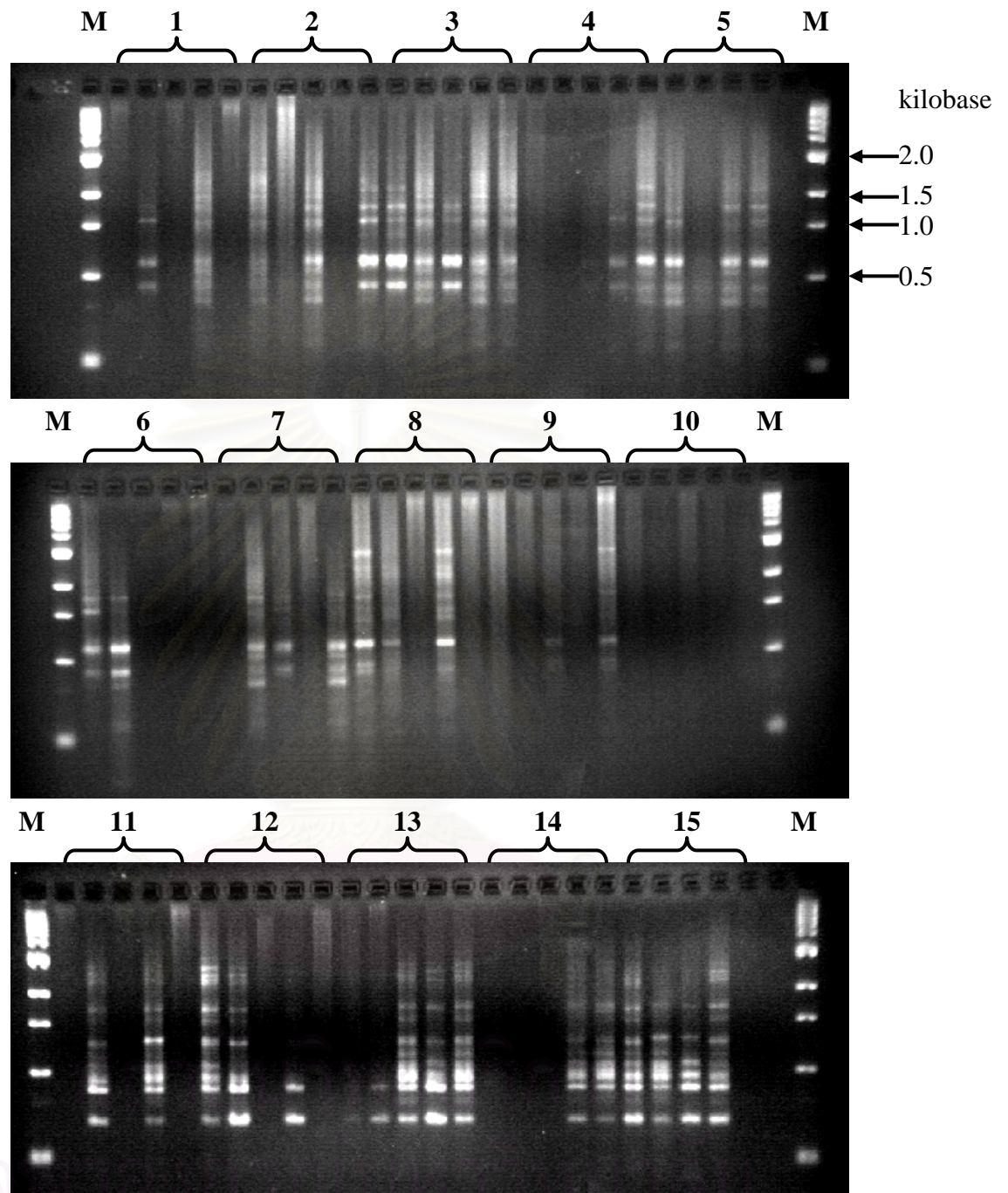
รูปที่ 2 แสดงผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ไพรเมอร์ UBC-73

โดย 1 = พันธุ์ SR60 2 = พันธุ์ SR2 3 = พันธุ์ NS1 4 = พันธุ์ SR3 5 = พันธุ์ TF1  
 6 = พันธุ์ DPSL 7 = พันธุ์ BTK12 8 = พันธุ์ตุ่นน้ำตาล 9 = พันธุ์ตุ่นขาว  
 10 = พันธุ์ Pima 79-106 11 = สายพันธุ์ 45-4-3 12 = สายพันธุ์ H2-34-107BC  
 13 = สายพันธุ์ DI5-GBE4 14 = สายพันธุ์ GDPN34-24 15 = สายพันธุ์ GDPSR38-136 M หมายถึง Maker



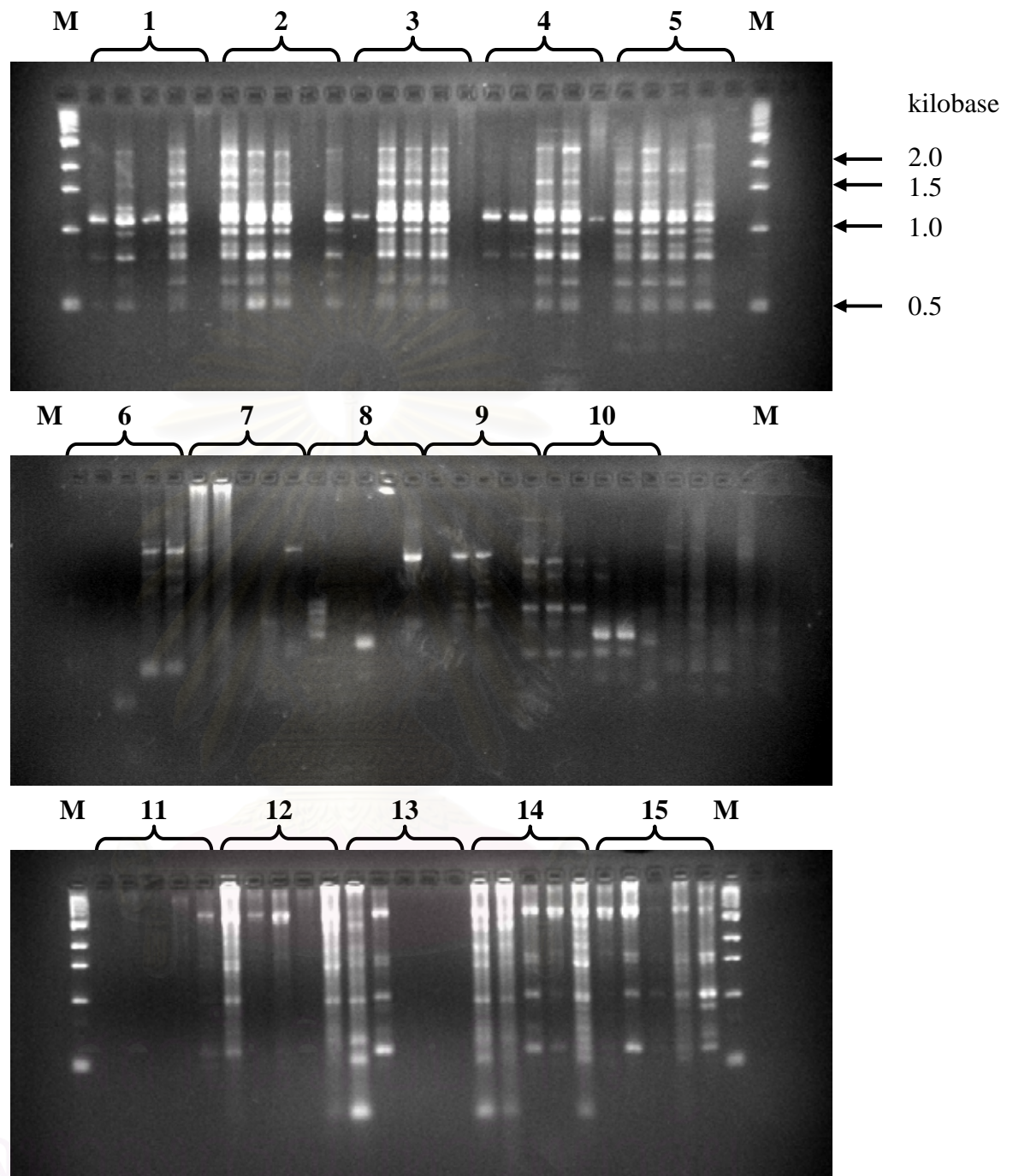
รูปที่ 3 แสดงผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ไพรเมอร์ UBC-88

โดย 1 = พันธุ์ SR60 2 = พันธุ์ SR2 3 = พันธุ์ NS1 4 = พันธุ์ SR3 5 = พันธุ์ TF1 6 = พันธุ์ DPSL 7 = พันธุ์ BTK12 8 = พันธุ์ตุ่นน้ำตาล 9 = พันธุ์ตุ่นขาว 10 = พันธุ์ Pima 79-106 11 = สายพันธุ์ 45-4-3 12 = สายพันธุ์ H2-34-107BC 13 = สายพันธุ์ DI5-GBE4 14 = สายพันธุ์ GDPN34-24 15 = สายพันธุ์ GDPSR38-136 M หมายถึง Maker



รูปที่ 4 แสดงผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ไพรเมอร์ UBC-89

โดย 1 = พันธุ์ SR60 2 = พันธุ์ SR2 3 = พันธุ์ NS1 4 = พันธุ์ SR3 5 = พันธุ์ TF1 6 = พันธุ์ DPSL 7 = พันธุ์ BTK12 8 = พันธุ์ตุ่นน้ำตาล 9 = พันธุ์ตุ่นขาว 10 = พันธุ์ Pima 79-106 11 = สายพันธุ์ 45-4-3 12 = สายพันธุ์ H2-34-107BC 13 = สายพันธุ์ DI5-GBE4 14 = สายพันธุ์ GDPN34-24 15 = สายพันธุ์ GDPSR38-136 M หมายถึง Maker



รูปที่ 5 แสดงผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ไพรเมอร์ UBC-95

โดย 1 = พันธุ์ SR60 2 = พันธุ์ SR2 3 = พันธุ์ NS1 4 = พันธุ์ SR3 5 = พันธุ์ TF1 6 = พันธุ์ DPSL 7 = พันธุ์ BTK12 8 = พันธุ์ตุ่นน้ำตาล 9 = พันธุ์ตุ่นขาว 10 = พันธุ์ Pima 79-106 11 = สายพันธุ์ 45-4-3 12 = สายพันธุ์ H2-34-107BC 13 = สายพันธุ์ DI5-GBE4 14 = สายพันธุ์ GDPN34-24 15 = สายพันธุ์ GDPSR38-136 M หมายถึง

ไพรมอร์ UBC-23 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งสิ้น 18 แถบ โดยไม่พบแถบดีเอ็นเอแบบ monomorphic band พบแต่แถบดีเอ็นเอแบบ polymorphic band เป็นจำนวนทั้งสิ้น 18 แถบ (รูปที่ 1)

ไพรมอร์ UBC-73 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งสิ้น 7 แถบ โดยเป็นแถบดีเอ็นเอแบบ monomorphic band เพียง 1 แถบ (รูปที่ 2 แถบที่มีลูกศรชี้ด้านซ้าย) ที่เหลืออีก 6 แถบเป็นดีเอ็นเอแบบ polymorphic band (รูปที่ 2)

ไพรมอร์ UBC-88 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งสิ้น 9 แถบ โดยไม่พบแถบดีเอ็นเอแบบ monomorphic band พบแต่แถบดีเอ็นเอแบบ polymorphic band ทั้งหมด 9 แถบ (รูปที่ 3)

ไพรมอร์ UBC-89 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งสิ้น 12 แถบ โดยไม่พบแถบดีเอ็นเอแบบ monomorphic band พบแต่แถบดีเอ็นเอแบบ polymorphic band เป็นจำนวนทั้งสิ้น 12 แถบ (รูปที่ 4)

ไพรมอร์ UBC-95 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งสิ้น 7 แถบ โดยไม่พบแถบดีเอ็นเอแบบ monomorphic band พบแต่แถบดีเอ็นเอแบบ polymorphic band เป็นจำนวนทั้งสิ้น 7 แถบ (รูปที่ 5)

จากการศึกษาพบว่า ไพรมอร์ UBC-73 เป็นไพรมอร์เดียวที่ให้แถบดีเอ็นเอทั้งแบบ monomorphic band และ polymorphic band ส่วนอีก 4 ไพรมอร์ที่เหลือให้แถบดีเอ็นเอแบบ polymorphic band เท่านั้น และไพรมอร์ UBC-23 เป็นไพรมอร์ที่ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอมากที่สุด



## บทที่ 5

### อภิปรายผลการศึกษา

#### 1. การศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ในแปลงทดลอง

จากการศึกษาและประเมินลักษณะประจำพันธุ์ฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ที่ทำการเพาะปลูกในแปลงทดลอง ณ ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ อ. ตากฟ้า จ.นครสวรรค์ สามารถแบ่งลักษณะประจำพันธุ์ได้เป็น 3 ประเภท คือ กลุ่มลักษณะการเจริญเติบโต (vegetative character) กลุ่มลักษณะด้านการสืบพันธุ์ (reproductive character) และกลุ่มลักษณะทางด้านเวลา (timing character) โดยได้พบว่ามีบางลักษณะที่เป็นประโยชน์ต่อการระบุความแตกต่างระหว่างพันธุ์/สายพันธุ์และชนิด

กลุ่มลักษณะด้านการเจริญเติบโต ได้แก่ ลักษณะของลำต้นและใบซึ่งจากการศึกษาพบว่ามีลักษณะสำคัญจำนวน 11 ลักษณะที่สามารถนำไปใช้ในการระบุพันธุ์/สายพันธุ์ได้โดยเป็นลักษณะของลำต้น 7 ลักษณะ ซึ่งได้แก่ สีของลำต้น (7 และ 60 วันหลังจากงอก) ทรงต้น ขนบนลำต้น ความสูงของลำต้น จำนวนกิ่งกระโดงและความยาวของกิ่งกระโดงกิ่งที่ยาวที่สุด ส่วนลักษณะของใบนั้นพบลักษณะสำคัญ 4 ลักษณะที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการจำแนกความแตกต่างระหว่างพันธุ์/สายพันธุ์และชนิด ซึ่งได้แก่ ลักษณะขนใบ รูปร่างใบ ขอบใบ จักใบ ส่วนลักษณะที่ไม่สามารถใช้ในการระบุความแตกต่างในฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ที่ทำการศึกษานั้นได้แก่ สีของใบ ต่อม้ำหวานหลังใบและต่อมพิชบนเส้นใบและเมื่อพิจารณาโดยรวมแล้วพบว่า กลุ่มลักษณะทางด้านการเจริญเติบโต สามารถใช้จำแนก ความแตกต่างระหว่างพันธุ์/สายพันธุ์ได้เพียง 5 พันธุ์/สายพันธุ์ แต่สามารถใช้กลุ่มลักษณะดังกล่าวจำแนกความแตกต่างระหว่างชนิดได้อย่างชัดเจน

กลุ่มลักษณะการสืบพันธุ์ อันได้แก่ ลักษณะของดอก ผล และเมล็ดซึ่งในการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ในฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ พบลักษณะที่เป็นประโยชน์ต่อการระบุความแตกต่างของชนิดและพันธุ์ฝ้ายได้จำนวน 18 ลักษณะ โดยแบ่งเป็นลักษณะของดอกจำนวน 3 ลักษณะ คือ สีของกลีบดอก จุดสีบนกลีบดอก สีของอับเรณู ลักษณะของผล จำนวน 10 ลักษณะ ซึ่งได้แก่ จำนวนกิ่งผลต่อต้น ความยาวกิ่งผลกิ่งแรก ลักษณะของสมอ ขนาดของสมอ การแตกของสมอ สีของปุยเปอร์เซ็นต์เส้นใย ความเหนียวของกลุ่มเส้นใย ความยาวของเส้นใย และความละเอียดอ่อนของเส้นใย และลักษณะของเมล็ดจำนวน 5 ลักษณะ อันได้แก่ ขนาดของเมล็ด จำนวนเมล็ดต่อสมอ ปุยสั้นติดเมล็ด เปอร์เซ็นต์น้ำมันและโปรตีนในเมล็ด ส่วนลักษณะที่ไม่สามารถใช้ในการระบุความ

แตกต่างระหว่างชนิดและพันธุ์/สายพันธุ์ของฝ้ายที่ทำการศึกษาทั้ง 15 พันธุ์/สายพันธุ์นั้นมีจำนวน 10 ลักษณะ ได้แก่ ลักษณะของริ้วประดับ ต่อมพิษที่ริ้วประดับ ต่อมพิษที่กลีบเลี้ยง ต่อมพิษที่สมอ ความยาวของสมอ ความกว้างของสมอ ความยาวของก้านสมอ จำนวนช่องภายใน 1 สมอ จำนวนเมล็ดต่อสมอตลอดจนอัตราความสม่ำเสมอของเส้นใยและเมื่อพิจารณาโดยรวมแล้วทำให้ทราบว่า การใช้กลุ่มลักษณะด้านการสืบพันธุ์ในการจำแนกความแตกต่างระหว่างพันธุ์/สายพันธุ์สามารถทำได้เพียงจำนวน 4 สายพันธุ์ แต่สามารถใช้แยกความแตกต่างระหว่างชนิดของ *G. arboreum*, *G. hirsutum* และ *G. barbadense* ได้อย่างชัดเจน

สำหรับลักษณะที่เกี่ยวข้องด้านเวลา (timing character) นั้นประกอบด้วย อายุวันงอก อายุวันออกดอก อายุวันแตกสมอและอายุการเก็บเกี่ยว เป็นกลุ่มลักษณะหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการระบุพันธุ์/สายพันธุ์และชนิดเช่นกัน โดยพบ 3 ลักษณะคือ อายุวันออกดอก อายุถึงวันสมอแตก และอายุถึงวันเก็บเกี่ยวเท่านั้นที่สามารถใช้ระบุความแตกต่างระหว่างพันธุ์/สายพันธุ์ฝ้ายทั้ง 15 พันธุ์/สายพันธุ์ที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ ส่วนช่วงอายุถึงวันงอกนั้นไม่สามารถใช้แยกได้ทั้งพันธุ์/สายพันธุ์และชนิด

เมื่อพิจารณาลักษณะประจำพันธุ์โดยรวมแล้วพบว่าการที่จะแยกฝ้ายพันธุ์/สายพันธุ์ใดพันธุ์/สายพันธุ์หนึ่งออกจากพันธุ์อื่น ๆ นั้นไม่สามารถใช้กลุ่มลักษณะใดเพียงกลุ่มลักษณะเดียวในการจำแนกความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ฝ้ายได้ครบทั้ง 15 พันธุ์/สายพันธุ์ กล่าวคือ การใช้กลุ่มลักษณะทางการเจริญ (vegetative character) เพียงกลุ่มลักษณะเดียวสามารถจำแนกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ฝ้ายได้ 5 พันธุ์/สายพันธุ์จากกลุ่มฝ้ายจำนวน 15 พันธุ์/สายพันธุ์ ซึ่งได้แก่ พันธุ์ NS1, SR3, PIMA79-106, 45-4-3 และ GDPN34-24 ส่วนการใช้กลุ่มลักษณะทางด้านการสืบพันธุ์ทำให้สามารถแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ได้เพิ่มขึ้นอีก 4 พันธุ์/สายพันธุ์ คือ SR2, ศูนย์น้ำตาล, H2-34-107BC และ DI5-GBE4 และการใช้กลุ่มลักษณะทางด้านเวลาทำให้สามารถแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ได้เพิ่มขึ้น 1 พันธุ์ คือ BTK 12 ส่วนอีก 5 พันธุ์/สายพันธุ์ที่เหลือจำเป็นต้องใช้ 2 กลุ่มลักษณะขึ้นไปร่วมกันในการจำแนกความแตกต่าง โดยการใช้กลุ่มลักษณะทางด้านการเจริญเติบโต ร่วมกับกับกลุ่มลักษณะทางด้านการสืบพันธุ์ สามารถช่วยจำแนกพันธุ์ได้อีก 2 พันธุ์ คือ SR60 และ ศูนย์ขาว ส่วนอีก 3 พันธุ์/สายพันธุ์ที่เหลือจำเป็นต้องใช้ลักษณะร่วมกันระหว่างกลุ่มลักษณะด้านการสืบพันธุ์และกลุ่มลักษณะทางด้านเวลาเพื่อแยกความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ฝ้ายซึ่งจำแนกได้เพิ่มขึ้นอีก 1 พันธุ์คือ TF1 ส่วนอีก 2 พันธุ์/สายพันธุ์ที่เหลือคือ DPSL และ GDPSR38-136 นั้นต้องใช้ลักษณะทั้ง 3 กลุ่มร่วมกัน คือ กลุ่มลักษณะการเจริญเติบโต กลุ่มลักษณะด้านการสืบพันธุ์ และกลุ่มลักษณะด้านเวลา จึงจะสามารถจำแนกความแตกต่างระหว่างพันธุ์/สายพันธุ์ได้

สำหรับการจำแนกความแตกต่างระหว่างชนิดของฝ้ายทั้งสามชนิดคือ *G. arboreum*, *G. hirsutum* และ *G. barbadense* นั้นสามารถใช้ลักษณะในกลุ่มลักษณะทางด้านการเจริญเติบโต กลุ่มลักษณะด้านการสืบพันธุ์ และกลุ่มลักษณะด้านเวลาในการแยกชนิดฝ้ายออกจากกันอย่างชัดเจน กล่าวคือ สามารถแยกฝ้ายชนิด *G. arboreum* ซึ่งเป็นพวกดิพลอยด์ (diploid  $2n = 2x = 26$ ) ออกจากฝ้ายชนิด *G. hirsutum* และ *G. barbadense* ซึ่งเป็นพวกเตตราพลอยด์ (tetraploid  $2n = 4x = 52$ ) โดยใช้ลักษณะใดลักษณะหนึ่งจากลักษณะจำนวน 16 ลักษณะ ดังนี้ คือ สีของลำต้น ความสูงของต้น รูปร่างของใบ สีของกลีบดอก จุดสีบนกลีบดอก ข้อแรกที่ติดกิ่งผล ขนาดของสมอ ขนาดของเมล็ด ปุยที่ติดเมล็ด เปอร์เซ็นต์น้ำมันในเมล็ด เปอร์เซ็นต์โปรตีนในเมล็ด ความยาวเส้นใย ความละเอียดอ่อนของเส้นใย อายุถึงวันดอกบานและอายุถึงวันสมอแตก ในทำนองเดียวกันการแยกฝ้ายชนิด *G. barbadense* ออกจาก *G. hirsutum* ก็สามารทำได้โดยการพิจารณาลักษณะใดลักษณะหนึ่งจากทางด้านการเจริญเติบโต ลักษณะด้านการสืบพันธุ์และลักษณะด้านเวลาได้โดยใช้ลักษณะหนึ่งจากลักษณะจำนวน 11 ลักษณะ ดังต่อไปนี้ คือ ขนบนลำต้น ความยาวของกิ่งกระโดง สีของกลีบดอก จุดขนบนกลีบดอก สีของอับละอองเกสรตัวผู้ ต่อมพิษที่รีวระดับที่ยาวที่สุด รูปร่างของสมอ จำนวนเมล็ดต่อสมอ สีของปุยสันติดเมล็ด สีของปุยฝ้ายและความเหนียวของกลุ่มเส้นใย

อย่างไรก็ตามบางลักษณะซึ่งน่าจะเป็นลักษณะที่มีการแสดงออกอย่างคงที่ แต่จากการสังเกตพบว่าพันธุ์หนึ่งๆมีการแสดงออกไม่เท่ากัน เนื่องจากมีอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้อง ตัวอย่างเช่นสีของลำต้นพบว่าต้นฝ้ายที่ได้รับแสงแดดมากจะมีสีแดงกว่าต้นที่ได้รับแสงมากกว่า นอกจากนี้ยังพบว่าภายในต้นเดียวกันยังมีการแสดงออกไม่สม่ำเสมอ กล่าวคือ ลำต้นด้านที่ได้รับแสงแดดมากกว่าจะมีสีของลำต้นเป็นสีม่วงแดงหรือแดง ในขณะที่ลำต้นอีกข้างหนึ่งที่ไม่ค่อยได้รับแสงหรือได้รับแสงในระดับที่น้อยๆจะมีลำต้นสีเขียว

สำหรับลักษณะความต้านทานต่อโรคซึ่งเป็นอีกกลุ่มลักษณะหนึ่งที่สำคัญนั้น ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการศึกษาลักษณะความต้านทานต่อโรคใบหงิกเพียงลักษณะเดียวเนื่องจากเป็นโรคที่สำคัญอันดับหนึ่งของฝ้ายโดยมีสาเหตุจากเชื้อไวรัสซึ่งมีเพลี้ยอ่อนฝ้าย (*Aphis gossypii* Glover.) เป็นพาหะ (นงลักษณ์ ศรีนทุ, 2514) ลักษณะอาการของโรคใบหงิก (leaf roll disease) มีลักษณะอาการคล้ายกับโรคที่เกิดกับฝ้ายในประเทศอาฟริกาที่เรียกว่า blue disease (Halliwell and Cauguil, 1981) ลักษณะอาการของฝ้ายที่เป็นโรคนั้น ขอบใบจะม้วนหรือคู้มลง ช่วงข้อต่อของลำต้นจะสั้น ถ้าเป็นโรคในระยะกล้า ต้นจะแคระแกร็น ถ้าเป็นโรคในระยะหลังฝ้ายอายุมากอาการจะแสดงที่ยอดมีลักษณะเป็นพุ่ม สมอมีขนาดปกติแต่จำนวนสมอจะลดลงมาก ใบอ่อนของฝ้ายที่เป็นโรคมียลักษณะเป็นใบสีเขียวอ่อน (vein clearing) กว่าต้นปกติ ใบอ่อนเล็กน้อย เมื่อแก่ลักษณะดังกล่าวอาจ

หายไป เมื่อจับบีบใบดังกล่าวมีลักษณะเปราะ กรอบ ผิวเป็นมัน(สมชาย กันหลง และคณะ, 2540) โดยในฝ้าย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ที่ทำการศึกษานี้พบ 9 พันธุ์/สายพันธุ์ที่ไม่เป็นโรคใบหงิก ส่วนอีก 6 พันธุ์/สายพันธุ์ที่มีอาการของโรคใบหงิกนั้น มีระดับการเป็นโรคใบหงิกอยู่ในช่วง 0.7 - 3.7% ซึ่งเมื่อยึดถือตามหลักเกณฑ์การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคเปรียบเทียบปฏิบัติการเกิดโรคใบหงิกของสมชาย กันหลงและคณะ (2540) ที่กำหนดว่าถ้ามีจำนวนต้นเป็นโรคใบหงิกอยู่ในช่วง 1 - 10% นั้นถือว่ามีความต้านทาน ถ้ามีจำนวนต้นเป็นโรค 11 - 40% นั้นถือว่ามีความต้านทานปานกลาง และถ้ามีจำนวนต้นเป็นโรค 41 - 100% ถือว่าไม่มีความต้านทาน นั้นพบว่า ฝ้ายทั้ง 15 พันธุ์/สายพันธุ์ที่ทำการศึกษานี้มีความต้านทานต่อโรคใบหงิก โดยผลที่ได้จากการศึกษานี้สามารถนำข้อมูลที่ได้ไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานประกอบการคัดเลือกพันธุ์ฝ้ายที่มีความต้านทานต่อโรคใบหงิกได้

ตั้งแต่อดีตถึงปัจจุบันได้มีการศึกษาถึงลักษณะประจำพันธุ์และการประเมินในฝ้ายอย่างมากมาย ส่วนใหญ่เน้นไปทางลักษณะทางด้านผลผลิตกับปัจจัยทางชีวภาพ (biotic factor) และปัจจัยจากสิ่งแวดล้อม (abiotic factor) ที่มีผลต่อลักษณะดังกล่าว เช่น การศึกษาเกี่ยวกับการเจริญและพัฒนาของเมล็ดและเส้นใยในฝ้าย ชนิด *G. hirsutum* (Berry and Kohel, 1975) การศึกษาถึงอิทธิพลของเปอร์เซ็นต์เส้นใย ขนาดของสมอและขนาดของเมล็ดที่มีผลต่อความเหนียวของเส้นใย (Culp and Harrell, 1975) ผลของลักษณะใบเรียบที่มีต่อคุณภาพเส้นใยของฝ้ายชนิด *G. hirsutum* (Lee, 1984) การศึกษาถึงความแปรผันของปริมาณสารก๊อสซิปอลินเมล็ด (seed gossypol) ในฝ้ายชนิด *G. barbadense* การศึกษาถึงลักษณะมีขน ฤดูกาลที่มีผลต่อคุณภาพเส้นใยของพวก *G. hirsutum* (Wilson and Shepherd, 1987)

ในปี 1996 Tatineni และคณะได้ทำการศึกษาถึงความหลากหลายของแหล่งพันธุกรรมฝ้ายพันธุ์ดีเด่น (Elite cotton) โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเทคนิค RAPD ซึ่งในส่วนของการศึกษาลักษณะทางสัณฐานนั้น ได้ทำการศึกษาลักษณะสำคัญของฝ้ายจำนวน 19 ลักษณะคือ จำนวนข้อต่อต้น ความโปร่งแสงของใบ จำนวนแฉกต่อใบ ความลึกของแฉกของใบ รูปร่างของแฉกกลางใบ เนื้อใบ ขนาดของต่อน้ำหวานที่ใบ รูปร่างของรอยหยักที่ริ้วประดับ ต่อมพิษที่กลีบเลี้ยง รูปร่างของแฉกกลีบเลี้ยงเลี้ยง สีของกลีบดอก สีของละอองเรณู ผิวของสมอ จำนวนช่อง รูปร่างของสมอ ความยาวของใบ ความยาวของกลีบดอก ความยาวของเกสรตัวเมีย และพบว่ามีความสามารถจำแนกความแตกต่างระหว่างฝ้ายชนิด *G. barbadense* กับ *G. hirsutum* ได้จำนวน 8 ลักษณะซึ่งได้แก่ ความยาวของใบ ความลึกของแฉกใบ รูปร่างของรอยหยักที่ริ้วประดับ ต่อมพิษที่กลีบเลี้ยง สีของกลีบดอก จุดสีบนกลีบดอก สีของละอองเรณู และผิวของสมอ

จากลักษณะสำคัญ 8 ลักษณะดังกล่าวพบ 5 ลักษณะที่สามารถนำมาใช้จำแนกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ต่างๆในชนิด *G. hirsutum* ได้นั้นคือ ความลึกของแฉกใบ รูปร่างของรอยหยักที่ริ้วประดับ ต่อมพิษที่กลีบเลี้ยง จุดสีบนกลีบดอก และ สีของอับเรณู แต่สำหรับ *G. barbadense* นั้นไม่สามารถจำแนกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ด้วยลักษณะดังกล่าวได้เลย

จากการศึกษางานดังกล่าวของ Tatineni และคณะ (1996) พบว่ามีลักษณะสำคัญที่สามารถนำมาประยุกต์เพิ่มเติมจากลักษณะประจำพันธุ์ที่ได้ทำการศึกษาในงานวิจัยนี้ ได้แก่ ความยาวของใบ ความลึกของแฉกใบ รูปร่างของรอยหยักที่ริ้วประดับ และผิวของสมอ ซึ่งการเพิ่มเติมดังกล่าวจะก่อให้เกิดประโยชน์ต่อการจัดจำแนกความแตกต่างระหว่างพันธุ์/สายพันธุ์ฝ้ายได้มากขึ้น

## 2. การศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิค RAPD

การศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิค RAPD ที่ใช้ไพรเมอร์จำนวน 5 ไพรเมอร์ พบแถบดีเอ็นเอจำนวน 53 แถบ ซึ่งเป็นแถบดีเอ็นเอแบบ monomorphic band จำนวน 1 แถบ ส่วนอีก 52 แถบเป็นแถบดีเอ็นเอแบบ polymorphic band อย่างไรก็ตามในจำนวนแถบดีเอ็นเอทั้ง 52 แถบ นั้นไม่พบแถบดีเอ็นเอแถบใดที่เป็นแถบดีเอ็นเอจำเพาะ (unique band) ของพันธุ์/สายพันธุ์ใดสายพันธุ์หนึ่ง ซึ่งจากการศึกษาในครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าเทคนิค RAPD นั้นอาจเป็นวิธีการที่ไม่เหมาะสมสำหรับที่จะใช้ในการศึกษาความแตกต่างระหว่างพันธุ์ของฝ้ายทั้ง 15 พันธุ์/สายพันธุ์ที่นำมาทำการศึกษา

ในประเทศออสเตรเลีย Mutani และ Lyon (1995) ได้ทำการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอของฝ้ายพันธุ์ปลูกและพันธุ์ปรับปรุงชนิด *G. hirsutum* จำนวน 14 พันธุ์โดยใช้เทคนิค RAPD และใช้ไพรเมอร์จำนวน 30 ไพรเมอร์ จากผลการศึกษาพบแถบดีเอ็นเอจำเพาะ (unique band) 171 แถบ จากแถบดีเอ็นเอที่ได้ทั้งหมด 453 แถบ โดยที่ 104 แถบเป็นแถบที่จำเพาะกับชนิด *G. barbadense* ส่วนในชนิด *G. hirsutum* นั้นจะพบว่ามี 1-3 แถบที่จำเพาะ ยกเว้นบางพันธุ์ที่อาจมี 10-19 แถบที่จำเพาะ และจะเห็นว่าในบางพันธุ์ก็ไม่พบเครื่องหมายพันธุกรรมที่เป็นแถบจำเพาะสำหรับแต่ละพันธุ์เลยแม้แต่แถบเดียว ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเทคนิค RAPD นั้นไม่เหมาะสมกับการใช้ในการศึกษาความแตกต่างในระดับพันธุ์ฝ้าย ซึ่งการทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Iqbal และคณะ(1997) ที่ได้ทำการศึกษาถึงความหลากหลายระหว่างพันธุ์ของฝ้ายพันธุ์ดีเด่น (Elite cotton) ด้วยวิธีการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค RAPD โดยทำการศึกษาในฝ้าย 23 สายพันธุ์และใช้ไพรเมอร์จำนวน 50

ไพรมอร์ ซึ่งผลการศึกษาพบว่า ไม่มีไพรมอร์ตัวใดที่สามารถทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอที่ระบุพันธุ์ฝ้ายหนึ่งจากอีกพันธุ์หนึ่งได้อย่างชัดเจน ซึ่ง Iqbal และคณะได้ให้เหตุผลว่าอาจเป็นเพราะพันธุ์ฝ้ายที่นำมาศึกษานั้นมีฐานพันธุกรรม (Genetic base) ที่แคบ ทำนองเดียวกันกับงานทดลองของ ChuangDong และคณะ (1995) ที่ทำการศึกษาความแตกต่างระหว่างพันธุ์ฝ้ายชนิด *G. hirsutum* จำนวน 4 พันธุ์โดยใช้ไพรมอร์จำนวน 14 ไพรมอร์ พบว่ามี 11 ไพรมอร์ที่ทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอ แต่ไม่มีแถบดีเอ็นเอใดเลยที่สามารถใช้แยกแต่ละพันธุ์ออกจากกันได้

นอกจากนี้ Wang Xin Yu และคณะ (1997) ได้ทำการศึกษาความแตกต่างระหว่างพันธุ์ของฝ้ายอายุเก็บเกี่ยวสั้น (short-season cotton) ในประเทศจีน ในฝ้ายกลุ่ม *G. hirsutum* จำนวน 25 พันธุ์ ด้วยเทคนิค RAPD โดยใช้ไพรมอร์จำนวน 18 ไพรมอร์ พบว่าสามารถนำแถบดีเอ็นเอที่ได้มาจัดแบ่งได้เป็น 4 กลุ่มย่อยแต่ไม่สามารถใช้แยกแต่ละพันธุ์ออกจากกันได้ ซึ่งเหตุผลหนึ่งคือฝ้ายที่นำมาศึกษานั้นมีฐานพันธุกรรมที่แคบและใกล้ชิดกัน จากงานวิจัยดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าเทคนิค RAPD นั้นมีศักยภาพในระดับที่ต่ำมากสำหรับการนำมาใช้เป็นเครื่องมือศึกษาความแตกต่างในระดับพันธุ์ของฝ้าย

Khali และคณะ (1998) ได้ทำการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ของฝ้ายที่ปลูกเป็นการค้าของประเทศอียิปต์ชนิด *G. barbadense* โดยใช้เทคนิค RAPD จำนวน 4 พันธุ์โดยใช้ไพรมอร์ 10 ไพรมอร์แต่มีแถบดีเอ็นเอแบบ polymorphic band เพียง 7 แถบเท่านั้น ในขณะที่ Tatinei และคณะ (1996) ได้ศึกษาถึงความหลากหลายของฝ้ายพันธุ์ดีเด่น (Elite cotton) จำนวน 16 พันธุ์จากฝ้ายชนิด *G. barbadense* และ *G. hirsutum* โดยใช้ทั้งลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะของลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ผลการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอแบบ RAPD ซึ่งใช้ไพรมอร์ถึง 80 ไพรมอร์ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า 27 ไพรมอร์ให้แถบดีเอ็นเอแบบ monomorphic band ส่วนอีก 53 ไพรมอร์นั้นให้แถบดีเอ็นเอ 153 แถบที่เป็นแถบดีเอ็นเอแบบ polymorphic band และเฉลี่ยแล้วพบแถบดีเอ็นเอ 1.7 แถบต่อไพรมอร์ซึ่งน้อยมากโดยช่วงจำนวนแถบดีเอ็นเอแบบนี้อยู่ในช่วง 1-4 แถบในไพรมอร์หนึ่ง ๆ

จากงานทดลองและการศึกษาของนักวิจัยที่ทำการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยเทคนิค RAPD ในฝ้ายแสดงให้เห็นว่าในฝ้ายพันธุ์ที่ได้รับการปรับปรุง มีฐานพันธุกรรมแคบ ทั้งนี้เห็นได้จากการแสดงความผันแปรทางพันธุกรรม ของลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค RAPD ที่ค่อนข้างต่ำ นอกจากนี้อาจเป็นไปได้ที่เครื่องหมายพันธุกรรมที่นำมาใช้ในการศึกษาเป็น

เครื่องหมายทางพันธุกรรมที่ไม่มีความผันแปรหรือมีต่ำมาก ดังนั้นการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากเทคนิค RAPD เพื่อนำไปศึกษาความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์นั้นอาจเป็นวิธีการที่ไม่เหมาะสม



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทที่ 6

### สรุปผลการการศึกษา

จากการตรวจสอบและประเมินลักษณะประจำพันธุ์ฝ้ายจำนวน 49 ลักษณะซึ่งประกอบด้วยลักษณะที่ทำการศึกษาในแปลงทดลองและลักษณะที่ทำการศึกษาในห้องปฏิบัติการ โดยทำการศึกษากับฝ้ายจำนวน 15 พันธุ์/สายพันธุ์ จากฝ้าย 3 ชนิดคือ *G. hirsutum* *G. barbadense* และ *G. arboreum* ได้ดำเนินการในฤดูเพาะปลูกปี 2543/2544 สรุปผลการวิจัยได้ดังนี้

1. ลักษณะประจำพันธุ์ที่เป็นประโยชน์ต่อการจำแนกความแตกต่างระหว่างพันธุ์/สายพันธุ์ได้นั้นมีจำนวน 32 ลักษณะ ส่วนอีก 16 ลักษณะนั้นไม่สามารถใช้ในการระบุความแตกต่างระหว่างพันธุ์/สายพันธุ์ฝ้ายที่ใช้ในการศึกษารั้งนี้ทั้ง 15 พันธุ์/สายพันธุ์ได้ โดยลักษณะที่เป็นประโยชน์ต่อการจำแนกความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์นั้นประกอบลักษณะที่อยู่ในกลุ่มลักษณะทางด้านการสืบพันธุ์ (Reproductive character) มากที่สุดโดยมีจำนวน 18 ลักษณะ รองลงมาคือกลุ่มลักษณะทางการเจริญเติบโต (Vegetative character) โดยมีจำนวน 11 ลักษณะ และกลุ่มลักษณะทางด้านเวลา (Timing character) จำนวน 3 ลักษณะ

2. จากการศึกษาพบว่าไม่สามารถใช้กลุ่มลักษณะประจำพันธุ์ เพียงกลุ่มใดกลุ่มหนึ่งในการจำแนกพันธุ์/สายพันธุ์ของฝ้ายได้ทั้ง 15 พันธุ์/สายพันธุ์ที่นำมาทำการศึกษาในครั้งนี้ จำเป็นต้องใช้อย่างน้อย 2 กลุ่มลักษณะประจำพันธุ์ขึ้นไป จึงจะสามารถจำแนกความแตกต่างได้ครบทั้ง 15 พันธุ์/สายพันธุ์

3. ในการจำแนกชนิดฝ้ายอันได้แก่ *G. arboreum* *G. hirsutum* และ *G. barbadense* สามารถใช้ลักษณะใดลักษณะหนึ่งเพียงลักษณะเดียวในลักษณะต่อไปนี้คือ ความสูงของต้น รูปร่างของใบ สีของกลีบดอก จุดบนกลีบดอก ข้อแรกที่ติดกิ่งผล ขนาดของสมอ ขนาดของเมล็ด ปลายสันติดเมล็ด เปอร์เซ็นต์น้ำมันในเมล็ด เปอร์เซ็นต์โปรตีนในเมล็ด ความยาวเส้นใย ความละเอียดอ่อนของเส้นใย อายุถึงวันดอกบาน และอายุถึงวันสมอแตก เพื่อระบุความแตกต่างระหว่างฝ้ายชนิด *G. arboreum* ซึ่งเป็นฝ้ายพวกดิพลอยด์ (diploid) ออกจากฝ้ายพวกเตตราพลอยด์ (tetraploid) คือ *G. hirsutum* และ *G. barbadense* และการจำแนกฝ้ายชนิด *G. barbadense* ออกจากชนิด



*G. hirsutum* นั้นสามารถใช้ลักษณะใดลักษณะหนึ่งดังต่อไปนี้ก็เพียงพอต่อการจำแนกชนิด คือ ขนบนลำต้น สีของกลีบดอก ความยาวของกิ่งกระโดง จุดบนกลีบดอก สีของอับละอองเกสรตัวผู้ ต่อมพิษที่รีวประดับ รูปร่างของสมอ จำนวนเมล็ดต่อสมอ สีของปุยสั้นติดเมล็ด สีของปุยฝ้าย และความเหนียวของเส้นใย

4. การนำลายพิมพ์ดีเอ็นเอแบบ RAPD เพื่อใช้เป็นลักษณะประจำพันธุ์ของแต่ละสายพันธุ์พบว่า ไม่สามารถใช้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอแบบ RAPD เพื่อการนี้ได้ซึ่งสาเหตุอาจเป็นไปได้ว่าพันธุ์ฝ้ายที่ทำการศึกษาโดยเฉพาะพันธุ์ปรับปรุงมีฐานพันธุกรรมที่แคบมาก และเทคนิค RAPD นี้อาจเป็นวิธีการที่ไม่เหมาะสมสำหรับใช้ในการระบุความแตกต่างระหว่างพันธุ์/สายพันธุ์ของฝ้ายที่ทำการศึกษาทั้ง 15 พันธุ์/สายพันธุ์

#### ปัญหาและอุปสรรค

1. ในการเก็บข้อมูลในแปลงงานทดลอง ต้องพบกับปัญหาปริมาณน้ำฝนมากจนเกินไป ทำให้เกิดความยากลำบากในการเก็บบันทึกข้อมูล ตลอดจนปริมาณน้ำฝนที่มากจนเกินไปก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ลักษณะประจำพันธุ์บางลักษณะมีความคลาดเคลื่อนไป

2. โรคและแมลงศัตรูพืช มีผลอย่างมากต่อลักษณะประจำพันธุ์ การเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชอย่างรุนแรง ทำให้การเก็บข้อมูลบางลักษณะเกิดปัญหา

3. ผลผลิตที่ได้จากการสกัดดีเอ็นเอ บางตัวอย่างมีสารอื่นนอกจากดีเอ็นเอปะปนอยู่มากเกินไป ทำให้คุณภาพของดีเอ็นเอลดลง และเกิดปัญหาในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ

#### ข้อเสนอแนะ

1. ควรใช้จำนวนไพรเมอร์ให้มากขึ้นเพื่อจะได้ไพรเมอร์ที่สามารถทำให้แต่ละสายพันธุ์มีแถบดีเอ็นเอที่ต่างกัน

2. ควรทดลองใช้เทคนิคอื่นๆ นอกจากเทคนิค RAPD เพื่อให้ได้ marker ที่เหมาะสมกับการใช้งานอย่างแท้จริง

## รายการอ้างอิง

### ภาษาไทย

เกรียงศักดิ์ สุวรรณธราดล. 2542. “พระราชบัญญัติคุ้มครองพันธุ์พืช พ.ศ. 2542 ใครได้ใครเสีย”

เอกสารประกอบการสัมมนาทางวิชาการปรับปรุงพันธุ์พืชครั้งที่ 5 จัดโดยสมาคมปรับปรุงพันธุ์และขยายพันธุ์พืชแห่งประเทศไทย ร่วมกับกรมวิชาการเกษตร สมาคมเมล็ดพันธุ์พืชแห่งประเทศไทยและมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วันที่ 13-14 ธันวาคม 2542.

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร. (เอกสารไม่ตีพิมพ์เผยแพร่)

งามชื่น รัตนดิกล และคนอื่นๆ. 2532. รายงานการวิจัยโครงการพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตฝ้ายในเขตกลุ่มแม่กลองใหญ่. นครปฐม:คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จินดา จันทร์อ่อน. 2527. พันธุ์ศาสตร์. เอกสารวิชาการเรื่องฝ้าย. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

จินดา จันทร์อ่อน และคนอื่นๆ. 2537. การคัดเลือกพันธุ์/สายพันธุ์ฝ้ายสำหรับปลูกในเขตเหนือ-สายพันธุ์ด้านทานแมลงปากดูด (เพลี้ยจักจั่น). รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2537. ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ สถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

จินดา จันทร์อ่อน, จรัสพร ถาวรสุข, ศักดา เสือประสงค์, ยศพร จันทุม และชูเกียรติ อิศรชต์. 2527. การปรับปรุงพันธุ์ฝ้ายให้ต้านทานต่อแมลง VI. การคัดเลือกสายพันธุ์ฝ้ายไฮบริดมีขนและริ้วประดับดอกแคบ จากลูกผสมซับซ้อน. สรุปผลการวิจัยฝ้าย ปี 2526-27. ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ สถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

จินดา จันทร์อ่อน และคนอื่นๆ. 2532. การเปรียบเทียบพันธุ์และสายพันธุ์ฝ้ายที่ต้านทานหนอนเจาะสมอฝ้าย. รายงานประจำปี 2532. กลุ่มพืชเส้นใย กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

จุลภาค คุ่นวงศ์. 2542. จีโนมของพืชและพันธุวิศวกรรม. การประชุมเชิงปฏิบัติการเรื่องพันธุ์วิศวกรรมด้านพืช. หน่วยปฏิบัติการพันธุวิศวกรรมด้านพืช. ศูนย์พันธุ์และเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์เขตกำแพงแสน นครปฐม.

ชูเกียรติ อิศรชต์. 2527. ประวัติและความสำคัญ. เอกสารวิชาการเรื่องฝ้าย. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

ณัฐหทัย เอพาณิช และ หทัยรัตน์ อุไรรงค์. 2543. ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของข้าวไทย. พัฒนาการเกษตรไทยยุคเทคโนโลยีชีวภาพ. สำนักงานวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

- นงลักษณ์ ศรีนทุ. 2514. การศึกษาการถ่ายทอดเชื้อของโรคใบหงิกของฝ้าย. รายงานประจำปี พ.ศ. 2514 เล่มที่ 2 ศูนย์เกษตรภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. สำนักงานปลัดกระทรวง เกษตร. กรุงเทพฯ.
- ธีรศักดิ์ มานูพิรพันธ์ และคนอื่นๆ. 2542. คู่มือคำศัพท์ด้านปรับปรุงพันธุ์พืชไร่ พ.ศ. 2542. สถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย.
- ปริญญา สีนุญเรือง. 2543. พันธุ์ฝ้ายและพืชตัดต่อพันธุกรรม. ในเอกสารประกอบการฝึกอบรม การใช้เทคโนโลยีในการเพิ่มผลผลิตฝ้าย จัดที่ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ 12-14 มิถุนายน 2543. (เอกสารไม่ตีพิมพ์เผยแพร่)
- พยนต์ คุ่มภัย, ทินกร พรหมศิริราช, ไพฑูริย์ นาคาพันธุ์ และ บังอร ธารพล. 2539. การรวบรวม และศึกษาพันธุ์ฝ้าย. รายงานผลการทดลองฝ้ายปี 2538/39. ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ สถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร.
- ศรีสุข พูนผลกุล. 2543. ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกับพระราชบัญญัติคุ้มครองพันธุ์พืช พ.ศ. 2542. พัฒนาการเกษตรไทยยุคเทคโนโลยีชีวภาพ. สำนักงานวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.
- สมชาย กันหลง, อมรรัตน์ ภูไพบูลย์, จงรัชต์ จารุเนตร และทวี เก่าศิริ. 2540. ปฏิกริยาของฝ้าย NuCOTN บางพันธุ์ต่อโรคใบหงิกและโรคไหม้. วารสารโรคพืช ปีที่ 12: 129-135. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2540. สถิติการเกษตรของประเทศไทย. เอกสารสถิติการเกษตร เล่มที่ 28 กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

#### ภาษาอังกฤษ

- Beckham, C.M. 1969. Color preference and flight habits of thrips associated with cotton. **J. Econ. Entomol** 62(3) : 12-13.
- Boguet, D.J, B.R. Williams, and D.M. Walker. 1979. Evaluating new cotton varieties. **Louisiana Agriculture** 22(3) : 12-13.
- Buie, T. S. 1928. The fruiting habits of cotton plant. **J. Am.Soc. Agron.** 20: 193-201.
- Cantrell, R.G., and D.D. Davis. 1993. Characterization of *G.hirsutum* X *G. barbadense* breeding lines using molecular markers. p. 1551-1553. In J. Herber (ed.), **Proceedings**

**of Beltwide Production Conference., National. Cotton Council of America,**

Memphis, TN.

- Chalmers, K.J., R. Waught, J. I. Sprent, A. J. Simons, and W. Powell. 1992. Detection of genetic variation between and within populations of *Gliricidia sepium* and *G. masculata* using RAPD markers. **Heredity** 69: 465-472.
- Chandrashekhar, P. J., and H. T. Nguyen. 1993. Application of the random amplified polymorphism among wild and cultivated tetraploid wheats. **Theor. Appl. Genet.** 36: 602-609.
- Culp, T. W., D.C. Harrell, and T. Kerr. 1979. Some genetic implications in the transfer of high fiber strength genes to upland cotton. **Crop Sci.** 19 : 481-484.
- Davis Dick. 1969. Agronomic and Fiber Properties of Smooth, Nectariless 'Acala' Cotton. **Crop Sci.** 9 : 817-819.
- Demeke, T., R. P. Adams, and R. Chibbar. 1992. Potential taxonomic use of RAPD. A case study in *Brassica*. **Theor. Appl. Genet.** 84: 990-994.
- Dos Santos, J. B., J. Nienhuis, P.W. Skorch, J. Tivang, and M.K. Slocum. 1994. Comparison of RAPD and RFLP genetic markers in determining genetic similarity among Brassica. **Theor. Appl. Genet.** 84: 990-994.
- Geng ChuanDong, Gong Zhen Zhen, Huang JunQ, Zhang ZhangLing. 1995. Identification of differences between cotton cultivars (*G. hirsutum*) using the RAPD method. **Jiangsu Journal of Agricultural Sciences** 11: 21-24.
- Gepts, P. 1993. The use of molecular and biochemical markers in crop evolution studies. P. 51-94. In Mk. Hecht (ed.) **Evolutionary biology**, vol.27. Plenum Press, New York.
- Gonzalez, J.M., and E. Ferrer. 1993. Random amplified polymorphic DNA analysis in *Hordeum* species. **Genome** 36: 1029-1031.
- Hadrys, H., M. Balick, and B. Schierwater. 1992. Application of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in molecular ecology. **Mol. Eco.** 1: 55-63.
- Hallden, C., N.O. Nilsson, I. M. Rading, and T. Sall. 1994. Evaluation of RFLP and RAPD markers in comparison of *Brassica napus* breeding lines. **Theor. Appl. Genet.** 88: 123-128.

- Halliwell R.S., and Cauquil J. 1981. Viruses and Mycoplasmalike Organism. Pages 56-59. In **Compendium of Cotton Diseases**. G.M. Watkins, ed. The American Phytopathological Society. Minnesota.
- Howell, E.C., Newbury, H.J., Swennen, R.L., Withers. L.A., and Ford-Lloyd, B.V. 1994. The use of RAPD for identifying and classifying *Musa* germplasm. **Genome**. 37: 328-332.
- Hu. J., and Quiros, C.F. 1991. Identification of broccoli and cauliflower cultivars with RAPD markers. **Plant Cell Rep**. 10: 505- 511.
- Iqbal M.J., N. Aziz, N.A. Saced. Y. Zafar. And K.A Malik. 1997. Genetic diversity evaluation of some elite cotton varieties by RAPD analysis. **Theor Appl Genet**. 94: 139-144.
- Jain, A., S. Bhatia, S.S. Banga, S. Prakash and M. Lakshmikumaran. 1994. Potential use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique to study the genetic diversity in Indian mustard (*Brassica juncea*) and its relationship to heterosis. **Theor. Appl. Genet**. 88: 116-122.
- Kaemmer, D., R. Afza, K. Weising, G. Kahl, and F.J. Novak. 1992. Oligonucleotide and amplification fingerprinting of wild species and cultivars of bananas (*Musa* spp.) **Bio/Technology** 10: 1030-1035.
- Khalil, M.S., Momtaz, O. A., Saad, O.S., Madkour, M. A. 1998. Molecular characterization among three Egyptian cotton varieties. **Egyptian Journal of Physiological Sciences** 22: 339-356.
- Koller, B., Lehmann, A., McDermott, J.M., and Gessler, C. 1993. Identification of apple cultivars using RAPD markers. **Theor. Appl. Genet**. 85: 901-904.
- Kresovich, S., Williams, J.G.K., McFerson, J.R., Routman, E.J., and Schaal, B.A. 1992. Characterization of genetic identities and relationships of *Brassica oleracea* L. via a random amplified poly DNA assay. **Theor. Appl. Genet**. 85: 190-196
- Lawson, W.R., Henry, R.J., Kochman, J.k., and Kong, G.A. 1994. Genetic diversity in sunflower (*Helianthus annuus* L.) as revealed by random amplified polymorphic DNA analysis. **Aust. J. Agric. Res**. 45: 1319-1327.
- Lee, J.A. 1984. Effects of plant smoothness on agronomic traits of upland cotton. **Crop Sci**. 24 ; 583-587.
- Lukefahr, M. J., D. F. Martin, and J. R. Meyer. 1965. Plant resistance to five *Lepidoptera* attacking cotton. **J. Econ. Ent**. 58: 516-8.

- Lukefahr, M. J., C. B. Cowan, T. R. Pfrimmer, and L.W. Noble. 1966. Resistance of experimental cotton strain 1514 to the bollworm and cotton fleahopper. **J. Econ. Ent.** 59: 393-395.
- Merdith, W.R., Jr., and R.R. Bridge. 1973. Yield, yield component and fiber property variation of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) within and among environments. **Crop Sci.** 13 : 307-312.
- Munro, J.M. 1971. An analysis of earliness in cotton. **Cotton Grow. Rev.** 48: 28-41.
- Multani D.S. and B. R. Lyon. 1995. Genetic fingerprinting of Australian cotton cultivar with RAPD markers. **Genome** 38 : 1005-1008.
- Orozco-Castillo, C., K. J. Chalmers, R. Waugh, and W. Powell. 1994. Detection of genetic diversity and selective gene introgression in coffee using RAPD markers. **Theor. Appl. Genet.** 87: 934-940.
- Paterson, A.H., C.L. Brubaker, and J.F. Wendel. 1994. A rapid method for extraction of cotton (*Gossypium* spp.) genomic DNA suitable for RFLP or PCR analysis. **Plant Mol. Biol. Rep.** 11(2):122-127.
- Ramey, H. H. 1962. Genetics of plant pubescence in upland cotton. **Crop Sci.** 2: 256.
- Stiles, J.I., Lemme, C., Sondur, S., Morshidi, M.B., Manshardt, R. 1993. Using randomly amplified polymorphic DNA for evaluating genetic relationships among papaya cultivars. **Theor. Appl. Genet.** 85: 697-701.
- Stiles, J.I., C. Lemme, S. Sondur, M.B. Morshidi, and R. Manshardt. 1993. Using randomly amplified polymorphic DNA for evaluating genetic relationships among papaya cultivars. **Theor. Appl. Genet.** 85: 697-701.
- Talineni V., R. G. Cantrell, and D.D. Davis. 1996. Genetic Diversity in Elite Cotton Germplasm Determined by Morphological Characteristics and RAPDs. **Crop Sci.** 36 : 186-193.
- Tinker, N.A., M.G. Fortin, and D.E. Mather. 1993. Random amplified polymorphic DNA and pedigree relationships in spring barley. **Theor. Appl. Geet.** 85: 976-984.
- Wang XinYu, Guo WangZhen; Zhang TianZhen, and Ppon JiaJu. 1997. Analysis of RAPD fingerprinting on shoot-scsioned cotton cutivared in China. **Acta Agronomic Sinica.** 23: 669-679.
- Wilde, J., Waugh, R., and Powell, W. 1992. Genetic fingerprinting of Theobroma clones using randomly amplified polymorphic DNA marker. **Theor. Appl. Genet.** 83: 871-875.

- Wilkie, S.E., Issac, P.G., and Slater, R.J. 1993. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers for genetic analysis in *Allium*. **Theor. Appl. Genet.** 86: 497-504.
- Williams, C.E., and D.A. St. Clair. 1993. Phenetic relationships and levels of variability detected by restriction fragment length polymorphism and random amplified polymorphic DNA analysis of cultivated and wild accessions of *Lycopersicon esculentum*. **Genome.** 36: 619-630.
- Wilson, F.D., and B.W. George. 1982. Effects of okra-leaf, frego bract, and smooth-leaf mutant on pink bollworm damage and agronomic properties of cotton. **Crop Sci.** 22:798-801.
- Yu, K.F., and K. P. Pauls. 1993. Rapid estimation of genetic relatedness among heterogeneous populations of alfalfa by random amplification of bulked genomic DNA samples. **Theor. Appl. Genet.** 86: 788-794.
- Yu, L.X., and H.T. Nguyen. 1994. Genetic variation detected with RAPD markers among upland and lowland rice cultivars (*Oryza sativa* L.). **Theor. Appl. Genet.** 87: 668-672.



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวทัศนวิวรรณ ก้อนจันทร์เทศ เกิดวันที่ 13 สิงหาคม พ.ศ. 2519 ที่จังหวัดนครสวรรค์ สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ในปีการศึกษา 2540 และสำเร็จการศึกษาศิลปศาสตรบัณฑิต (เกียรตินิยมอันดับ 2) สาขาสื่อสารมวลชน คณะมนุษยศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง ในปีการศึกษา 2541 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตร วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาพฤกษศาสตร์ ที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อพ.ศ. 2541



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย