

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



242732

เครื่องหมายโมเดลของประชากรมะเดื่อหอม (*Ficus hirta* Vahl.)
และมะเดื่อปดอง (*Ficus hispida* L.f.) ในพื้นที่
พื้นที่ป่าเขตร้อน จังหวัดเชียงใหม่

วรรณ ไพเรือง

วิทยาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
มีนาคม 2554



เครื่องหมายโมเลกุลของประชากรมะเดื่อหอม (*Ficus hirta* Vahl.)
และมะเดื่อปล้อง (*Ficus hispida* L.f.) ในพื้นที่
พื้นที่ป่าเขตร้อน จังหวัดเชียงใหม่



วรรณ ไร่เรือง

วิทยานิพนธ์นี้เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัยเพื่อเป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
มีนาคม 2554

เครื่องหมายโมเดลของประชากรมะเดื่อหอม (*Ficus hirta* Vahl.)
และมะเดื่อปล้อง (*Ficus hispida* L.f.) ในพื้นที่
พื้นที่ป่าเขตร้อน จังหวัดเชียงใหม่

วรรณ ไร่เรือง

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาชีววิทยา

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
อ.ดร.ยานิตย์ ชารานาย

.....อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
ผศ.ดร.ประสิทธิ์ วงศ์พัฒน์วงศ์

.....กรรมการ
ผศ.ดร.ประสิทธิ์ วงศ์พัฒน์วงศ์

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
ผศ.ดร.สิริวดี ชมเดช

.....กรรมการ
ผศ.ดร.สิริวดี ชมเดช

8 มีนาคม 2554

© ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเชียงใหม่

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยชิ้นนี้สำเร็จลงได้ด้วยความช่วยเหลือจากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประสิทธิ์ วังภคพัฒน์วงศ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สิริวิติ ชมเดช ที่กรุณาให้คำแนะนำ ความช่วยเหลือ ตลอดจนช่วยแก้ไขข้อบกพร่อง และปัญหาต่าง ๆ จนงานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณอาจารย์ ดร.เขาวนิศย์ ธาราฉาย ที่กรุณาเป็นประธานกรรมการสอบและแก้ไขงานวิจัยนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณ คุณเน้ง ฅนอมวรกุล เจ้าหน้าที่หน่วยวิจัยการฟื้นฟูป่า สำหรับความช่วยเหลือ ในการเก็บตัวอย่างภาคสนามพื้นที่บ้านแม่สาใหม่

ขอขอบคุณ พี่ ๆ น้อง ๆ และเพื่อนๆ ในห้องปฏิบัติการอนุชีววิทยาทุกคน ที่ให้ความช่วยเหลือและสอนเทคนิคต่าง ๆ ในการทำงานในห้องปฏิบัติการ

ขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่ได้อบรมสั่งสอน ให้ความรู้และคำปรึกษาแก่ข้าพเจ้า ตลอดมา

ขอขอบพระคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ได้อำนวยความสะดวกด้านสถานที่ วัสดุอุปกรณ์ และงบประมาณในการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพ ในประเทศไทย (โครงการ BRT) รหัสโครงการ T_253011 ที่ได้สนับสนุนเงินทุนของงานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณโครงการพัฒนาและส่งเสริมผู้มีความสามารถพิเศษทางด้านวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยี (พสวท.) ที่ได้สนับสนุนทุนการศึกษาและเงินสนับสนุนบางส่วนของงานวิจัยครั้งนี้

สุดท้ายนี้ ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และทุกคนในครอบครัว ที่อบรมเลี้ยงดู ข้าพเจ้าเป็นอย่างดี และเป็นกำลังใจที่ดีตลอดมา

วรรณ ไร่เรือง

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

เครื่องหมายโมเลกุลของประชากรมะเดื่อหอม
(*Ficus hirta* Vahl.) และมะเดื่อปล้อง (*Ficus hispida* L.f.)
ในพื้นที่พื้นฟูป่าเขตร้อน จังหวัดเชียงใหม่

ผู้เขียน

นายวรกร ไผ่เรือง

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผศ.ดร.ประสิทธิ์ วงศ์พัฒน์วงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
ผศ.ดร.ศิริวดี ชมเดช อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

242732

การฟื้นฟูป่าโดยใช้พรรณไม้โครงสร้างในเขตภาคเหนือของไทยได้ริเริ่มมาตั้งแต่ พ.ศ. 2540 (ค.ศ. 1997) โดยหน่วยวิจัยการฟื้นฟูป่า มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในปัจจุบันได้มีการติดตามผลการฟื้นฟูป่าโดยใช้พรรณไม้โครงสร้างว่าประสบความสำเร็จตามที่คาดไว้หรือไม่ เช่น การประเมินผลการกลับคืนมาของความหลากหลายทางชีวภาพ ชนิดพืชที่ศึกษาคือ พืชสกุลมะเดื่อ (*Ficus*) ที่มีความสำคัญมาก (keystone species) วิธีหนึ่งของการประเมินผลการกลับคืนมาของความหลากหลายทางชีวภาพ คือการใช้เครื่องหมายโมเลกุลที่สามารถพิสูจน์พันธุกรรมของพืช ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้จะประยุกต์ใช้เครื่องหมายโมเลกุลชนิด Amplified fragment length polymorphism (AFLP) สำหรับมะเดื่อหอม (*Ficus hirta* Vahl.) และมะเดื่อปล้อง (*Ficus hispida* L.f.) ซึ่งมีการกระจายพันธุ์ของต้นกล้าอยู่ทั่วไปในพื้นที่ฟื้นฟูป่าบ้านแม่สาใหม่ อ.แมริม จ.เชียงใหม่โดยเก็บตัวอย่างใบของต้นกล้ามะเดื่อในป่าธรรมชาติ แปลงฟื้นฟูปี 1998 (อายุ 12 ปี) 2002 (อายุ 8 ปี) และแปลงควบคุม (แปลงที่ไม่ได้ปลูกพรรณไม้โครงสร้าง) เป็นชนิด *F. hirta* และ *F. hispida* จำนวนรวม 102 และ 32 ต้น ตามลำดับ โดยพบว่ามะเดื่อหอมทั้ง 5 ประชากรมีค่าเปอร์เซ็นต์ polymorphism อยู่ในช่วง 43.14-97.06% โดยแปลงปลูกปี 1998 มีค่าเปอร์เซ็นต์ polymorphism สูงที่สุด 97.06% และมะเดื่อปล้องทั้ง 2 ประชากร มีค่าเปอร์เซ็นต์ polymorphism ที่อยู่ระหว่าง 81.19-88.12 % โดยแปลงปลูกปี 1998 มีค่าเปอร์เซ็นต์ polymorphism มากกว่าป่าธรรมชาติ และพบความ

242732

หลากหลายทางพันธุกรรมของมะเดื่อหอมสูงสุดในแปลงปลูกปี 1998 และมีความหลากหลายทางพันธุกรรมรองลงมาในแปลงปลูกปี 2002 แปลงปลูกควบคุม ป่าธรรมชาติตามลำดับ มะเดื่อหอมทั้ง 5 กลุ่มประชากรมีระยะห่างทางพันธุกรรมไม่แตกต่างกันมากนัก และสามารถจัดกลุ่มได้ 3 คือ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยแปลงปลูกปี 2002 และแปลงควบคุม กลุ่มที่ 2 ป่าธรรมชาติ และกลุ่มที่ 3 คือแปลงปลูกปี 1998 และไม่สามารถจัดความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของมะเดื่อปล้องได้ เนื่องจากมีเพียง 2 กลุ่มประชากร

Thesis Title	Molecular Markers of <i>Ficus hirta</i> Vahl. and <i>Ficus hispida</i> L.f Populations in Tropical Forest Restoration Areas, Chiang Mai Province		
Author	Mr. Worradorn Phairung		
Degree	Master of Science (Biology)		
Thesis Advisory Committee	Asst. Prof. Dr. Prasit Wangpakapattanawong	Advisor	
	Asst. Prof. Dr. Siriwadee Chomdej	Co-advisor	

ABSTRACT

242732

Forest restoration plots using framework species method have been established in areas of northern Thailand since 1997 by the Forest Restoration Research Unit (FORRU), Chiang Mai University, Thailand. The forest restoration plots are monitored for their success, e.g. biodiversity recovery. *Ficus* spp. is well-known as “keystone species”. One method of assessing plant genetic diversity is using molecular markers, e.g. Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP), to genetically identify plants for *Ficus hirta* Vahl. and *Ficus hispida* L.f. The study site was at Ban Mae Sa Mai, Mae Rim district, Chiang Mai, Thailand, by collecting *Ficus* spp. in an area of natural forests and forest restoration plots planted in 1998 (12 years old), 2002 (8 years old) and control (without planting). *F. hirta* and *F. hispida* were collected for 102 and 32 individuals, respectively. The percentages of polymorphic loci in 5 populations of *F. hirta* range from 43.14 to 97.06% and the highest percentage of polymorphic loci was the 1998 forest restoration plot 97.06%. Furthermore, the percentages of polymorphic loci in 2 populations of *F. hispida* range from 81.19 to 88.12 % and the percentage of polymorphic in the 1998 forest restoration plot was

242732

more than that of national forest. In addition, the highest genetic diversity of *F. hirta* was found in the 1998 forest restoration plot, the 2002 forest restoration plot, control and natural forests, respectively. Five populations of *F. hirta* could be divided into three groups; the first group was composed of the 2002 forest restoration plot and control, the second was composed of natural forests and the last was composed of the 1998 forest restoration plot. Genetic relationships of *F. hispida* could not be drawn because there were only 2 populations.

สารบัญ	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ค
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ฉ
สารบัญ	๗
สารบัญตาราง	ณ
สารบัญภาพ	ญ
อักษรย่อและสัญลักษณ์	ฎ
บทที่ 1 บทนำและวัตถุประสงค์	1
บทที่ 2 ทบทวนเอกสาร	3
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการวิจัย	17
บทที่ 4 ผลการวิจัย	28
บทที่ 5 อภิปรายผลการวิจัย	59
บทที่ 6 สรุปผลการวิจัย	66
เอกสารอ้างอิง	67
ภาคผนวก	73
ประวัติผู้เขียน	82

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ DNA adapter และ primer ที่ใช้ในการวิเคราะห์ AFLP โดยการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ <i>EcoRI</i> และ <i>MseI</i>	22
2 ชนิดและจำนวนตัวอย่างพืชสกุลมะเดื่อที่เก็บได้จากป่าธรรมชาติและพื้นที่ฟื้นฟูป่า	28
3 ค่าความบริสุทธิ์ และปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้ของพืชสกุลมะเดื่อ	30
4 คู่มือไพรเมอร์จำนวน 7 คู่ ที่คัดเลือกได้จากจำนวนคู่มือไพรเมอร์ทั้งหมด 64 คู่ ของมะเดื่อหอม	31
5 คู่มือไพรเมอร์จำนวน 7 คู่ ที่คัดเลือกได้จากจำนวนคู่มือไพรเมอร์ทั้งหมด 64 คู่ ของมะเดื่อปล้อง	31
6 ความหลากหลายทางพันธุกรรมของมะเดื่อหอมใน 5 กลุ่มประชากร	34
7 ความหลากหลายทางพันธุกรรมของมะเดื่อปล้องใน 2 กลุ่มประชากร	34
8 ค่าความใกล้ชิดทางพันธุกรรม (Genetic identity, I) และระยะห่างทางพันธุกรรม (Genetic distance, D) ระหว่างประชากรมะเดื่อหอมทั้ง 5 กลุ่ม	35
9 ค่าสัมประสิทธิ์เอฟ (F-coefficient) ของมะเดื่อหอม	36
10 ค่าสัมประสิทธิ์เอฟ (F-coefficient) ของมะเดื่อปล้อง	36
11 ข้อมูลพิกัด GPS ของต้นกล้ามะเดื่อหอมแปลงฟื้นฟูป่าปี 1998	38
12 ข้อมูลพิกัด GPS ของต้นกล้ามะเดื่อหอมแปลงฟื้นฟูป่าปี 2002	41
13 ข้อมูลพิกัด GPS ของต้นกล้ามะเดื่อหอมแปลงฟื้นฟูควบคุม	44
14 ข้อมูลพิกัด GPS ของต้นกล้ามะเดื่อหอมป่าธรรมชาติคงเข่งเส้นบน	47
15 ข้อมูลพิกัด GPS ของต้นกล้ามะเดื่อหอมป่าธรรมชาติคงเข่งเส้นล่าง	50
16 ข้อมูลพิกัด GPS ของต้นกล้ามะเดื่อปล้องแปลงฟื้นฟูป่าปี 1998	53
17 ข้อมูลพิกัด GPS ของต้นกล้ามะเดื่อปล้องป่าธรรมชาติ	56

สารบัญภาพ

รูป		หน้า
1	กลไกของวิธีพรรณไม้โครงสร้าง	4
2	ส่วนประกอบของข้อดอกชนิดไซโคเนียมในพืชสกุลมะเดื่อ	6
3	<i>Ficus hirta</i> Vahl.	7
4	<i>Ficus hispida</i> L.f.	8
5	ขั้นตอนของเทคนิค AFLP โดยใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ <i>MseI</i> และ <i>EcoRI</i>	12
6	พืชสกุลมะเดื่อชนิด ที่พบบริเวณพื้นที่ฟื้นฟูป่า บริเวณบ้านแม่สาใหม่ อ.แมริม จ.เชียงใหม่	29
7	การตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอของ <i>F. hirta</i> ด้วย 1% Agarose gel electrophoresis	30
8	ภาพลายพิมพ์ AFLP ของ <i>F. hirta</i> ที่ได้จากการทำ electrophoresis จากการใช้ คุ้ไพรเมอร์ E-AAC / M-CCA จากตัวอย่างแปลงปลูกปี 1998	32
9	ภาพลายพิมพ์ AFLP ของ <i>F. hispida</i> ที่ได้จากการทำ electrophoresis จากการใช้คุ้ไพรเมอร์ E-AAC / M-CCA จากตัวอย่างแปลงปลูกและป่าดงแข่ง	33
10	ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของประชากรต้นกล้ามะเดื่อหอมทั้ง 5 แหล่ง	37
11	แผนที่ประชากรต้นกล้ามะเดื่อหอมที่พบบริเวณแปลงฟื้นฟูป่าปี 1998	39
12	ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของประชากรต้นกล้ามะเดื่อหอมแปลงฟื้นฟูป่าปี 1998	40
13	แผนที่ประชากรต้นกล้ามะเดื่อหอมที่พบบริเวณแปลงฟื้นฟูป่าปี 2002	42
14	ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของประชากรต้นกล้ามะเดื่อหอมแปลงฟื้นฟูป่าปี 2002	43
15	แผนที่ประชากรต้นกล้ามะเดื่อหอมที่พบบริเวณแปลงฟื้นฟูป่าควบคุม	45
16	ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของประชากรต้นกล้ามะเดื่อหอมแปลงฟื้นฟูป่าควบคุม	46
17	แผนที่ประชากรต้นกล้ามะเดื่อหอมที่พบบริเวณป่าธรรมชาติดงแข่งเส้นบน	48
18	ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของประชากรต้นกล้ามะเดื่อหอมป่าธรรมชาติ ดงแข่งเส้นบน	49
19	แผนที่ประชากรต้นกล้ามะเดื่อหอมที่พบบริเวณป่าธรรมชาติดงแข่งเส้นล่าง	51

สารบัญภาพ (ต่อ)

รูป		หน้า
20	ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของประชากรต้นกล่ำมะเดื่อหอมป่าธรรมชาติ ดงเข่งเส้นล่าง	52
21	แผนที่ประชากรต้นกล่ำมะเดื่อปล้องที่พบบริเวณแปลงฟื้นฟูป่าปี 1998	54
22	ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของประชากรต้นกล่ำมะเดื่อปล้องแปลงฟื้นฟูป่าปี 1998	55
23	แผนที่ประชากรต้นกล่ำมะเดื่อปล้องที่พบบริเวณป่าธรรมชาติ	57
24	ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของประชากรต้นกล่ำมะเดื่อปล้องป่าธรรมชาติ	58

อักษรย่อและสัญลักษณ์

A	Adenine
APS	Ammonium persulfate
AgNO ₃	Silver nitrate
bp	Base pair
C	Cytocine
CTAB	Cethyl trimethyl ammonium bromide
DNA	Deoxynucleic acid
dATP	Deoxyadenocine triphosphate
dH ₂ O	Distilled water
dNTP	Deoxynucleotide triphosphate
EDTA	Ethylenediaminetetracetic acid
G	Guanine
M	molar
MgCl ₂	Magnesium chloride
mM	millimolar
Na ₂ CO ₃	Sodium carbonate
NaOAc	Sodium acetate
ng	nanogram
nm	nanometer
PCR	Polymerase chian reaction
rpm	round per minute
SDS	Sodium dodecylsulfate
T	Thymine
TAE buffer	Tris-Acetate-EDTA buffer
TBE buffer	Tris-Borate-EDTA buffer

TE	Tris-EDTA buffer
TEMED	N, N, N', N'-tetramethylenediamine
U	Unit
UV	Ultraviolet
μl	microliter
V	Volt
W	Watt
°C	Centigrade Degree