การศึกษาจำแนกสายพันธุ์ทุเรียนลูกผสมชั่วที่ 1 ที่ดีเด่นด้วยเทคนิค DNA Amplification Fingerprinting (DAF)

Identification of Selected F_1 hybrid durians as promising lines by DNA Amplification Fingerprinting (DAF)

ทรงพล สมศรี [1/] ศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล[2/] วนิดา งามเงิน[2/] ธีรวุฒิ วงศ์วรัตน์[2/]

Songpol Somsri[1/] Suchirat Sakuanrungsirikul[2/] Wanida Ngam-Ngern[2/] Therawut Wongvarat[2/]

ABSTRACT

The polymerase chain reaction (PCR) - based DNA Amplification Fingerprinting (DAF) approach was used to investigate genetic relationships among F_1 hybrid durians and their parents including promising lines. Pairwise similarity matrix were developed using band-sharing data generated by the selected 12 out of 180 primers such as Operon A-04, A-06, A-09, A-19, A-20, B-01, B-03, B-16, C-06, G-20, S-01 and S-02. These experiments were conducted at Chanthaburi Horticultural Research Centre and Horticulture Research Institute between October 1999 - September 2005. In the first experiment with 5 F_1 hybrids from the CN x MT cross, there are 31 polymorphisms from a total of 118 produced bands or 26.27 %. Second experiment with 120 F_1 hybrids from 24 crosses, 166 polymorphisms were identified from a total of 276 produced bands or 60.14 %. The third experiment, 156 polymorphic loci from 298 loci or 52.35 % were evaluated for 29 promising F_1 hybrids identification. Dendrograms were constructed using the unweighted pair group method with arithmetic averages (UPGMA), could separate the genotypes of F_1 hybrids, promising F_1 hybrids and their parents into 4, 2 and 3 groups for these experiments, respectively.

Key words : *D. zibethinus*, F_1 hybrids, promising lines, identification, DNA Fingerprinting, DAF

[1/] สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กทม 10900

Horticulture Research Institute, Department of Agriculture, Chatuchak, Bangkok 10900

[2/] ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี อ.แหลมสิงห์ จ.จันทบุรี 22110

Chanthaburi Horticultural Research Centre, Laem Sing district, Chanthaburi province 22110

บทคัดย่อ

การศึกษาและตรวจสอบลักษณะประจำพันธุ์ในระดับพันธุกรรมของทุเรียนลูกผสมชั่วที่ 1 และลูกผสมดีเด่น ด้วยเทคนิค DNA Amplification Fingerprinting (DAF) และศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยวิธี UPGMA จากการใช้ primer ที่คัดเลือกแล้วจำนวน 12 จาก 180 primers ได้แก่ Operon A-04 A-06 A-09 A-19 A-20 B-01 B-03 B-16 C-06 G-20 S-01 และ S-02 ดำเนินการทดลองที่ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี และสถาบันวิจัยพืชสวน ระหว่างตุลาคม พ.ศ. 2542 - กันยายน พ.ศ. 2548 พบว่าในการทดลองที่ 1 สามารถจำแนกทุเรียนลูกผสมชั่วที่ 1 จากคู่ผสมระหว่างพันธุ์แม่ชะนีกับพันธุ์พ่อหมอนทอง 5 ลูกผสม ออกเป็น 4 กลุ่ม โดยพบ polymorphic loci 31 ตำแหน่ง จากจำนวน loci ทั้งหมด 118 ตำแหน่ง คิดเป็น polymorphic loci 26.27 % ในการทดลองที่ 2 สามารถจำแนกทุเรียนลูกผสมชั่วที่ 1 120 ลูกผสม ได้เป็น 2 กลุ่ม โดยพบ polymorphic loci 166 ตำแหน่ง จากจำนวน loci ทั้งหมด 276 ตำแหน่ง คิดเป็น polymorphic loci 60.14 % ในการทดลองที่สาม สามารถจำแนกทุเรียนลูกผสมชั่วที่ 1 ดีเด่น 29 ลูกผสม ได้เป็น 3 กลุ่ม โดยพบ polymorphic loci 156 ตำแหน่ง จากจำนวน loci ทั้งหมด 298 ตำแหน่งคิดเป็น polymorphic loci 52.35 %

คำหลัก : ทุเรียน การจำแนกทุเรียนลูกผสมชั่วที่ 1 ลูกผสมดีเด่น ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ DAF

คำนำ

การจำแนกพันธุ์พืชสามารถจำแนกได้โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่น ลักษณะต้น ใบ ดอก ผลและเมล็ด แต่การจำแนกในสายพันธุ์ที่มีความใกล้ชิดกันอาจเกิดความสับสน และผิดพลาดหากปลูกในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันหรือต่างจากถิ่นเดิม ปัจจุบันมีการนำเทคนิค molecular markers มาช่วยเสริมในการจำแนกและตรวจสอบพันธุ์พืชทั้งพืชใหม่และพืชท้องถิ่น ซึ่งข้อมูลลายพิมพ์ DNA อาจใช้เป็นหลักฐานอย่างหนึ่งในการพิจารณาจดทะเบียนพันธุ์พืชใหม่ เพื่อแสดงความเป็นกรรมสิทธิ์ในพันธุ์พืชใหม่ตามพระราชบัญญัติคุ้มครองพันธุ์พืช พ.ศ. 2542 รวมทั้งพันธุ์ลูกผสมพันธุ์ใหม่ด้วย แสดงความแตกต่างจากพันธุ์เดิม หรืออาจใช้จำแนกพันธุ์พืชป่า พันธุ์พืชพื้นเมือง พันธุ์พืชท้องถิ่นที่เป็นพันธุ์ดั้งเดิมของท้องถิ่น เพื่อประโยชน์ต่อชุมชนในกรณีที่มีผู้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้าต้องแบ่งปันผลประโยชน์ให้แก่ชุมชน

เทคนิค DNA fingerprint เป็นเทคนิคที่ขยายเพิ่มปริมาณนิวคลีโอไทด์ และใช้ตรวจสอบลักษณะประจำพันธุ์ของพืชซึ่งมีหลายเทคนิคที่ได้รับความสนใจและนำมาใช้แพร่หลายในการจำแนกพันธุ์พืช ได้แก่ เทคนิค Restriction fragment length polymorphism (RFLP), Random amplified polymorphic DNA (RAPD), DNA Amplification Fingerprinting (DAF) และ Amplified fragment length polymorphism (AFLP) เป็นต้น โดย DNA Amplification Fingerprinting (DAF) เป็นเทคนิคหนึ่งที่ใช้ไพรเมอร์ oligodeoxynucleoside ที่สั้นมากเพียง 7-8 นิวคลีโอไทด์ ในการหาความสัมพันธ์ของ DNA profile ไพรเมอร์ที่ทำการคัดเลือกจะขยายเพิ่มปริมาณแถบ DNA มีลักษณะเป็น polymorphic คือมีมากกว่าหนึ่งรูปแบบแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างรูปแบบของยีน ซึ่งสามารถศึกษาถึงลักษณะ

การถ่ายทอดทางพันธุกรรมหรือใช้ในการจำแนกลักษณะเฉพาะตัวได้ จากข้อมูลลายพิมพ์ DNA โดยเฉพาะจากเทคนิค DAF สามารถนำไปใช้จำแนกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกัน ไม่ว่าในแบคทีเรีย เชื้อรา พืช และมนุษย์ (Scott *et al.*,1996) เทคนิค DAF ถูกนำมาใช้ประโยชน์ในด้านการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ และลักษณะทางพันธุกรรม (Williams *et al.*, 1990; Caetano-Amolles,1994) ในการตรวจสอบลักษณะประจำพันธุ์และเป็นแกนหลักในการจำแนกความหลากหลายของพันธุ์พืชหลายสกุล (Caetano-Anolles,1994) เช่น จำแนกชนิดของพิทูเนียที่เป็นดอกสีม่วง 3 ชนิด ดอกสีขาว 2 ชนิด ซึ่งเทคนิค RFLP ไม่สามารถจำแนกได้สำเร็จ จำแนกชนิดของมันเทศและผักบุ้ง (Connolly *et al.*, 1994; Jarret and Austin,1994; He *et al.*,1995) จำแนกลูกผสมของ Petunia x Hybrida ได้ 10 สายพันธุ์ (Cerny *et al.*,1996) จำแนกพันธุ์เบญจมาศที่มีลักษณะใกล้ชิดกันได้ (Scott *et al.*, 1996) และยังสามารถใช้ในการจำแนกพันธุ์และเพศในมะละกอได้ (Stiles *et al.*, 1993; Sondur *et al.*, 1996; Somsri *et al.*, 1998, Somsri, 1999) นอกจากนี้อาจใช้ในการจำแนกลักษณะสีเนื้อ ลักษณะเมล็ดลีบ-เมล็ดเต็ม หรือลักษณะถ่ายทอดทางพันธุกรรมต่าง ๆ ได้ เช่น การต้านทานโรคแมลง เป็นต้น ดังนั้น จึงได้มีการนำเทคนิค DNA amplification fingerprinting (DAF) มาใช้ในการจำแนกความสัมพันธ์ของสายพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1 ของทุเรียนกับพ่อแม่พันธุ์ และการตรวจสอบลักษณะประจำพันธุ์ในระดับพันธุกรรมของทุเรียนลูกผสมดีเด่นที่ได้รับการคัดเลือกแล้วในการทดลองครั้งนี้ เพื่อใช้เป็นแนวทางในการวิจัยและพัฒนาด้านปรับปรุงพันธุ์ทุเรียนหรือการคุ้มครองพันธุ์ทุเรียนไทยต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ใบทุเรียน

ใบทุเรียนชนิดต่างๆ พันธุ์ต่างๆ และสายพันธุ์ทุเรียนลูกผสมชั่วที่ 1 ที่ปลูกรวบรวมไว้ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี และสถานีทดลองยางทุ่งเพล จ.จันทบุรี โดยแบ่งเป็น 3 การทดลองคือ

1.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาจำแนกทุเรียนลูกผสมชั่วที่ 1 จำนวน 5 ลูกผสม จาก 1 คู่ผสมกับพ่อแม่พันธุ์ (Table 1)

1.2 การทดลองที่ 2 การศึกษาจำแนกทุเรียนลูกผสมชั่วที่ 1 จำนวน 120 ลูกผสม จาก 24 คู่ผสมกับพ่อแม่พันธุ์ (Table 2)

1.3 การทดลองที่ 3 การศึกษาจำแนกทุเรียนลูกผสมชั่วที่ 1 ดีเด่น จำนวน 29 ลูกผสม จาก 9 คู่ผสมกับพ่อแม่พันธุ์ (Table 3)

2. การสกัด DNA

สารเคมีที่ใช้ในการสกัด DNA คือ cetyltrimethyl ammonium bromide (CTAB) วิธีการของ Graham และคณะ (1994) และนำมาประยุกต์ใช้โดย Somsri และคณะ (1998) และ Somsri, (1999) เลือกใบยอดทุเรียนจำนวน 10 ใบ น้ำหนักประมาณ 0.2 กรัม ทำให้แข็งทันทีโดยเก็บไว้ในไนโตรเจนเหลว นำใบทุเรียนที่ได้มาบดด้วยโกร่งแล้วใส่ในหลอดทดลอง เติม CTAB buffer (2% (W/V) CTAB, 1.4 M NaCl, 100 mM Tris, 20 mM EDTA, pH5.5) 10 มล. แล้วบ่มในน้ำร้อนอุณหภูมิ 55°ซ 20 นาที จากนั้นนำตัวอย่างไปเข้าเครื่องเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที แยกส่วนที่เป็นน้ำใสใส่ในหลอดใหม่โดยเติม

1/2 volumn ของ Chloroform:iso-amyl alcohol (24:1) แล้วนำไปเข้าเครื่องเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที นำส่วนที่เป็นน้ำใสไปใส่ในหลอด Falcon 50 ml tuber แล้วเติม 1/10 volumn ของ 3 M sodium acetate (pH 5.2) และ 2 volumns ของ cold absolute ethanol นำเข้าเครื่องเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที ล้าง DNA ที่ได้ด้วย 70% cold ethanol 3 ครั้ง โดยในแต่ละครั้งนำ DNA ที่ได้เข้าเครื่องเหวี่ยงความเร็ว 3,000 rpm เป็นเวลา 10 นาทีเพื่อให้แน่ใจว่าไม่มีการสูญเสีย DNA เก็บ DNA ให้แห้งด้วยอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1คืน หลังจากนั้นเติม 400 (l TE buffer (pH8.0) ซึ่งมี 10 (l/ml RNasa A (Sigma) แล้วนำไปเก็บที่ 4°ซ จนพร้อมจะนำไปใช้วิเคราะห์คุณภาพและความเข้มข้นของ Genomic DNA โดยใช้เครื่อง UV spectrophotometer จากนั้นนำไปใช้ในการศึกษาจำแนกชนิดพันธุ์ หรือลักษณะถ่ายทอดทางพันธุกรรมต่างๆ ตามขั้นตอนต่อไป

3. การคัดเลือกไพรเมอร์

คัดเลือกไพรเมอร์จากไพรเมอร์สำเร็จรูปของบริษัท Operon จำนวนทั้งหมด 8 ชุด ประกอบด้วย ชุด A B C D E F G และ S โดย 1 ชุด ประกอบด้วย 20 ไพรเมอร์ จากนั้นนำตัวอย่างดีเอ็นเอของพืชในสกุล *Durio* มาชนิดละ 1 ตัวอย่าง มาเพิ่มปริมาณเพื่อทดสอบไพรเมอร์ทั้ง 8 ชุด นำผลที่ได้จากการทำ PCR มาแยกด้วยการทำอิเล็กโทรโพริซิส ด้วยเทคนิค DAF ทำการคัดเลือกไพรเมอร์ที่มีความสามารถในการเพิ่มชิ้นส่วนของดีเอ็นเอและเกิด polymorphism ซึ่งให้ความแตกต่างรูปแบบของแถบดีเอ็นเอ

4. การเพิ่มปริมาณ DNA

DAF Protocol ได้รับการพัฒนาโดย Bentley และ Bassam (1996) และมีการนำมาประยุกต์ใช้โดย Somsri และคณะ (1998) และ Somsri (1999) ทำการคัดเลือก primer 10 mer (Operon Technologies) ใช้แทน primer 8 mer และใช้วงจรอุณหภูมิ (temperature cycles) แบบ "touch down" ที่ระดับอุณหภูมิสูงกว่า Template DNA (25 ng) ถูก amplified ใน 20 µl reaction ซึ่งประกอบด้วย 2.5 mM random 10 mer primers, 10 mM Tris-HCl (pH 8.3) 10 mM KCl, 5 mM MgCl2, 200 µM dNTPs และ 3 units Ampli Taq Stoffel fragment (Perkin Elmer) ส่วนผสม reaction ถูกบรรจุและแสดงปฏิกิริยาใน 200 µl thin-walled PCR tubes ในเครื่อง Perkin Elmer 9600 thermal cycler

Thermocycling protocol ประกอบด้วย

Innitial Denaturation	→	94°ซ 5 นาที
Denaturation	→	94°ซ 30 วินาที
Annealing และ Extension	→	57°ซ, 56°ซ, 55°ซ, 54°ซ, 53°ซ อุณหภูมิละ 1 นาที → 35 รอบ (cycles)

Final extension 72°ซ 5 นาที

5. การแยกแถบ DNA

DNA amplification products (2 μl) กับ 1 μl loading buffer 40% (w/v) urea, 3% Ficoll 400, 10 mM Tris (pH 7.5), 3 mM EDTA, 0.02% (w/v) xylene cyanol, 0.02% (w/v) bromophenol blue)) ถูกแยกด้วย polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) โดยใช้เครื่อง Mini-Protean II apparatus (Bio-Rad) และแถบ DNA จะปรากฏโดยใช้ silver staining (Bassam *et al.*, 1991 ; Bentley *et al.*, 1996 ; Somsri *et al.*, 1998 ; Somsri, 1999)

6. การเตรียม Gel

Polyacrylamide gels ประกอบด้วย 10% (w/v) polyacrylamine, 10% (w/v) urea, 5% (v/v) glycerol และ TBE buffer เพื่อประสิทธิภาพของการ staining ใช้ gel 0.5 mm บน Gel Bond PAGE backing film gels ที่ถูก run ใน TBE ที่ 300 V เป็นเวลา 40 นาที gels ถูกfixed ด้วย 7.5% (v/v) acetic acid เป็นเวลา 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำ 3 ครั้งๆ ละ 2 นาที จากนั้นย้อมด้วย 0.01% (w/v) silver nitrate, 0.15% formaldehyde เป็นเวลา 15 นาที แล้วล้างด้วยน้ำเป็นเวลา 20 วินาที หลังจากนั้น developed ด้วย 3% disodium carbonate, 0.3% (v/v) formaldehyde, 0.02% (w/v) sodium thiosulphate เป็นเวลาประมาณ 2-4 นาที แล้วหยุด developing ด้วย 7.5% (v/v) cold acetic acid เป็นเวลา 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำอีก 5 นาที

Gels ถูกทำให้แห้งโดยปล่อยไว้ข้ามคืนที่อุณหภูมิห้องและเก็บได้อย่างถาวร โดยใส่ในอัลบั้ม ส่วน size marker ใช้ 10 ng ของ pGEM DNA markers (Promega) (Somsri, 1999)

7. การวิเคราะห์ข้อมูล

ความแตกต่างของ DAF band ของแต่ละลักษณะพันธุกรรม ถ้ามีความแตกต่างโดยมีแถบ band บันทึกเป็น (1) ถ้าไม่มีแถบ band บันทึกเป็น (0) นำลายพิมพ์ DNA ด้วยเทคนิค DAF มาวิเคราะห์โดยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป NTSYS pc. รุ่น 2.0 (Rohlf, 1997) และจัดกลุ่มทุเรียนด้วยวิธี unweighted pair grouping method using arithmetic average (UPGMA) (Sneath and Sakal, 1973) แสดงผลในรูปของ phylogenetic tree

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การจำแนกทุเรียนลูกผสมชั่วที่ 1

1.1 การทดลองที่ 1 ใช้ไพรเมอร์ 10 สาย ในการวิเคราะห์ DAF-PCR ของทุเรียนลูกผสมชั่วที่ 1 จากคู่ผสมชะนี x หมอนทอง (Tables 1, 4) พบว่ามี polymorphism 31 ตำแหน่ง จากจำนวนทั้งหมด 118 ตำแหน่งคิดเป็น 26.27 % (Table 4) จากการใช้ primer OPA-04 พบแถบดีเอ็นเอขนาด 334 bp สามารถใช้แยกทุเรียนหมอนทองและทุเรียนลูกผสมชั่วที่ 1 ได้แก่ 5-432-8, 5-441-3 และ 5-233-10 ออกจากทุเรียนชะนีและทุเรียนลูกผสมชั่วที่ 1 ได้แก่ 5-531-3 แล 5-451-5 ได้ (Figure 2)

Table 1. List of 5 F1 hybrid Durians from one cross at Chanthaburi Horticultural Research Center were used for first experiment by DAF analysis.

Crossing	F_1 hybrids
Chani x Monthong	5-432-8, 5-233-10, 5-441-3, 5-451-5, 5-531-3

ส่วน primer OPB-16 พบแถบดีเอ็นเอขนาด 182 bp สามารถใช้แยกทุเรียนลูกผสมชั่วที่ 1 ได้แก่ 5-432-8 ออกจากทุเรียนชะนี ทุเรียนหมอนทอง และทุเรียนลูกผสมชั่วที่ 1 สายพันธุ์อื่นๆ ได้ (Figure 3) primer S01 พบแถบดีเอ็นเอขนาด 500 bp สามารถแยกทุเรียนพันธุ์ หมอนทอง และทุเรียนลูกผสม 5-451-5, 5-441-3, 5-531-3 และ 5-441-3 และไม่พบในทุเรียนพันธุ์ชะนีและลูกผสม 5-233-10 (Figure 4) เมื่อวิเคราะห์และคำนวณค่าดัชนีความเหมือน พบว่าทุเรียนลูกผสมจากคู่ผสมชะนี x หมอนทองและพ่อแม่ มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรม อยู่ในช่วงระหว่าง 84 - 91 % (Table 5) และเมื่อแสดงในรูปของ dendrogram (Figure 1a) ที่ค่าสัมประสิทธิ์เท่ากับ 0.90 พบว่าสามารถจำแนกได้เป็น 4 กลุ่ม ได้แก่

กลุ่มที่ 1 ชะนี, 5-432-8 5-233-10 และ 5-441-3

กลุ่มที่ 2 5-451-5

กลุ่มที่ 3 5-531-3

กลุ่มที่ 4 หมอนทอง (Figure 1a)

จะเห็นได้ว่าทุเรียนลูกผสมอย่างน้อย 3 ลูกผสมอยู่ในกลุ่มเดียวกับพันธุ์แม่ชะนี และอีก 2 ลูกผสมก็มีความใกล้ชิดกับพันธุ์แม่ชะนีมากกว่าพันธุ์หมอนทอง อย่างไรก็ตาม ลูกผสมทั้ง 5 สายพันธุ์มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับพ่อแม่พันธุ์ตั้งแต่ 84 % ขึ้นไป

Table 2. List of 120 F1 hybrid Durians from 24 crosses at Chanthaburi Horticultural Research Center were used for second experiment by DAF analysis.

Crossing	F_1 hybrids
KradumThong x KradumThong	IK1 1-1-1
KradumThong x Chani	IIIK2 2-2-2, IVK2 1-2-2, IK2 3-1, IIIK2 5-3-2, IVK2 5-5-1, IVK2 1-2, IVK2 1-2-1
KradumThong x Monthong	IK3 1-2-1
KradumThong x Kanyao	IK4 1-1
KradumThong x Kop Phikun	IK5 4-1-1, IK5 4-1-2, IK5 4-4-4
KradumThong x Chomphu Sri	IIIK6 5-3-3, IVK6 3-1-3, IVK6 5-2-2, IIK6 4-2, IVK6 2-2-1, IIK6 3-1-1, IVK6 5-1-4, IIK6 3-1-2, IVK6 5-1-1, IVK6 5-2-1

Table 2. (continue)

Crossing	F_1 hybrids
Chani x Kop Phikun	ICN2 3-1-5
Monthong x Kanyao	IIM4 3-1-1, IIM4 3-1-3, IIM4 3-2-2
Monthong x Chomphu Sri	IM6 5-1
Kanyao x Chani	10-251-11, 10-333-7, 10-251-8-1, 10-251-8-2, 10-312-7, 10-221-5, 10-323-1, 10-331-9, 10-311-9, 10-322-7
Kanyao x Monthong	11-212-4, 11-243-6, 11-341-1, 11-343-2, 11-423-8, 11-413-6, 11-353-1, 11-241-9, 11-341-2, 11-413-9
Kanyao x OP	12-12-9-1, 12-49-2, 12-21-9, 12-48-2, 12-23-8, 12-33-4, 12-33-8, 12-21-1, 12-49-14, 12-44-16, 12-44-9, 12-44-7
Chani x Nokyib	ICN6 1-3, IIICN6 1-5, IIICN6 1-12, IIICN6 1-2-5, IIICN6 1-2, IIICN6 1-4-7, IIICN6 1-2-10, IIICN6-4, IIICN6 3-1-5, IIICN6 2-1-13
Chani x Phuag Mani	ICN7 5-2-2, IICN7 4-5, IICN7 4-4, IIICN7 3-3-5, IIICN7 3-3-4
Chani x Chomphu Sri	IIICN5 4-3-6, IIICN5 4-2-11, IIICN5 4-3-1, IIICN 5 4-3-18, ICN 5-1-5
Chani x Kob Suwan	ICN3 4-1-1, ICN3 1-1-4, ICN3 4-2-5, ICN3 2-2-3, ICN3 2-3-1
Chani x Chani	4-42-4, 4-43-2, 4-44-3
Chani x Monthong	5-222-12, 5-422-3, 5-442-8-2, 5-441-13, 5-531-3, 5-442-8-1, 5-451-5, ICNxM2 4-1-7, ICNxM5-1-1, IIICNxM10-7
Chani x Kanyao	6-152-5, 6-422-4, 6-221-8, 6-242-8, 6-413-7
Chani x KobPhikun	7-121-12
Chani x Kathoei Nueadaeng	8-13-3, 8-151-4, 8-221-4, 8-221-1, 8-651-7
Chani x OP	9-69-5
Chani x KobTakhum	ICN4 2-1-3, IICN4 1-3, IICN4 1-4, IIICN4 3-10, IIICN4 3-9
Chani x KradumThong	ICN1 2-12, IIICN1 3-1-1, ICN1 2-2-3, IIICN 3-1-9, IIICN1 3-1-13

1.2 การทดลองที่ 2 ใช้ไพรเมอร์ 12 สาย ในการวิเคราะห์ DAF-PCR ของทุเรียนลูกผสมชั่วที่ 1 จำนวน 120 ลูกผสม จาก 24 ลูกผสม และพันธุ์พ่อแม่ 12 พันธุ์ (Tables 2, 4) พบว่ามี polymorphism 166 ตำแหน่ง จากจำนวนทั้งหมด 276 ตำแหน่งคิดเป็น 60.14 % (Table 4) จากการใช้ primer OPB-16 พบว่าส่วนใหญ่แถบดีเอ็นเอของทุเรียนลูกผสมมีลักษณะคล้ายคลึงกับพ่อแม่พันธุ์ได้ โดยได้มาจากทั้งพันธุ์พ่อและพันธุ์แม่ เช่น คู่ผสมก้านยาว x หมอนทอง ก้านยาว x ชะนี (Figure 5a, 5b) เมื่อวิเคราะห์และคำนวณค่าดัชนีความเหมือน พบว่าทุเรียนลูกผสม 120 ลูกผสม กับพ่อแม่ 12 พันธุ์มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 80 ถึง 99 % และเมื่อแสดงในรูปของ dendrogram (Figure 1b) ที่ค่าสัมประสิทธิ์เท่ากับ 0.85 พบว่า สามารถจำแนกได้เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่

Table 3. List of 29 promising F1 hybrids from 9 crosses at Chanthaburi Horticultural Research Centre were used for this experiment by DAF analysis

Crossing	Promising F1 hybrids
Chani x Chomphu Sri	IIICN5 4-3-6, IIICN5 4-3-18
Chani x Nokyib	IIICN6 1-4-7, IIICN6 1-2-10, IIICN6 3-1-5, IIICN6 2-1-13, IIICN6-4
Chani x Phuag Mani	ICN7 5-2-2
Chani x Monthong	5-222-12, 5-422-3, 5-442-8-2, 5-441-13, 5-531-3, 5-442-8-1, 5-451-5, ICNxM5-1-1, ICNXM2 4-1-7, IIICNxM10-7
Chani x Kanyao	6-152-5, 6-422-4, 6-221-8, 6-242-8, 6-413-7
Chani x Kob Phikun	7-121-12
Chani x OP	9-69-5
Kanyao x Chani	10-251-8-1, 10-251-8-2
Kanyao x Monthong	11-341-1, 11-241-9

กลุ่มที่ 1 11-241-9, 11-341-1, 6-221-8, 6-242-8, 6-152-5, ก้านยาว, 6-422-4, 10-251-8-1, 10-251-8-2, IK1 1-1-1, IK4 1-1, 5-222-12, 5-531-3, 5-422-3, 5-441-13, 5-442-8-2, หมอนทอง พวงมณี 5-442-8-1, 5-451-5, 9-69-5, ICNXM2 4-1-7 และ ICNXM 5-1-1

กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย 7 กลุ่มย่อย ได้แก่ กลุ่มย่อยที่ 1 ชะนี IIICN6 1-4-7, 8-13-3, 8-151-

Table 4. Synthetic deoxyribonucleotides used as primer for amplification of durian DNA in first, second and third experiment

Primers	Nucleotide sequence (5' to 3')	First experiment			Second experiment			Third experiment		
		Band (no.)	Polymorphisms (no.)	% Polymorphism	Band (no.)	Polymorphisms (no.)	% Polymorphism	Band (no.)	Polymorphisms (no.)	% Polymorphism
OPA-04	AAT CGG GCT G	14	3	21.43	17	12	70.58	18	11	61.11
OPA-06	GGT CCC TGA C	18	11	61.11	26	14	53.85	24	11	45.83
OPA-09	GGG TAA CGC C	14	1	7.14	23	13	56.52	26	14	53.85
OPA-19	CAA ACG TCG G	-	-	-	28	21	75.00	29	22	75.86
OPA-20	GTT GCG ATC C	-	-	-	24	16	66.67	22	16	72.72
OPB-01	GTT TCG CTC C	14	1	7.14	21	10	47.62	25	10	40.00
OPB-03	CAT CCC CCT G	15	4	26.67	28	16	54.14	28	17	60.71
OPB-16	TTT GCC CGG A	16	3	18.78	12	7	58.33	17	7	41.18
OPC-06	GAA CGG ACT C	12	3	25.00	26	17	65.38	26	13	50.00
OPG-20	TCT CCC TCA G	-	-	-	21	13	61.90	28	13	46.43
OPS-01	CTA CTG CGC T	15	5	33.33	23	15	65.22	27	13	48.15
OPS-02	CCT CTG ACT G	-	-	-	27	12	44.44	28	9	32.14
Total		**118**	**31**	**26.27**	**276**	**166**	**60.14**	**298**	**156**	**52.33**

4, 8-221-4, 8-221-1, 8-651-7, 4-42-4, 4-43-2, 4-44-3, 6-413-7, 7-121-12, IIICN5 4-3-6, ICN5 1-5, IIICN5 4-2-11, IIICN5 4-3-1, IIICN6 1-2-10, กบพิกุล, ICN7 5-2-2, IICN7 4-5, IICN7 4-4, IIICN7 3-3-5, IIICN7 3-3-4, IIICN5 4-3-18, IIICNXM 10-7, ICN6 1-3, IIICN6 1-5, IIICN6 1-2, IIICN6 1-12 และ IIICN6 1-2-5

กลุ่มย่อยที่ 2 ชมภูศรี, IM6 5-1, IIM4 3-1-1, IIM4 3-1-3, IIM4 3-2-2, IIICN 6-4, IIICN 63-1-5, 8KT, ICN3 4-1-1, กบสุวรรณ, ICN3 1-1-4, ICN3 4-2-5, ICN3 2-2-3, ICN3 2-3-1, ICN4 2-1-3, IICN4 1-3, IICN4 1-4, IIICN4 3-10 และ IIICN4 3-9

กลุ่มย่อยที่ 3 IIICN6 2-1-13, IK5 4-1-1, IK5 4-1-2 และ IK5 4-4-4

กลุ่มย่อยที่ 4 นกหยิบ, 10-251-11, 10-322-7, 10-333-7, 10-312-7, 10-221-5, 10-323-1, 10-331-9 และ กบตาขำ

กลุ่มย่อยที่ 5 11-212-4, 11-243-6, 11-343-2, 11-423-8, 11-341-2, 11-413-6, 11-413-9, 11-353-1

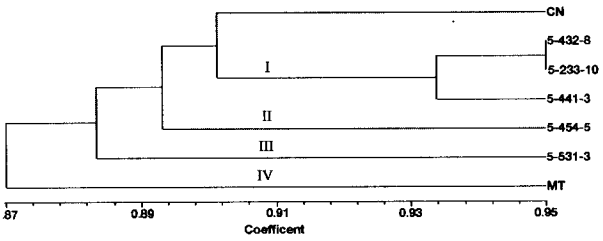
กลุ่มย่อยที่ 6 12-12-9-1, 12-49-2, 12-21-9, 12-48-2, 12-44-9, 12-21-1, 12-49-14, 12-23-8, 12-33-4, 12-33-8, 12-44-7, 12-44-16, กระดุมทอง, IK3 1-2-1, ICN 12-12, IIICN1 3-1-1, ICN1 2-2-3, IIICN1 3-1-13, IIICN1 3-1-9, IVK6 2-2-1, IIIK6 5-3-3, IVK6 3-1-3, IIK6 4-2, IVK6 5-2-2, IIK6 3-1-1, IIK6 3-1-2, IVK6 5-1-4, IVK6 5-1-1 และ IVK6 5-2-1

Table 5. Similarity matrix of genetic distances among the 2 parental cultivars and 5 F_1 hybrids obtained using the DNA amplification fingerprinting (DAF) data in first experiment.

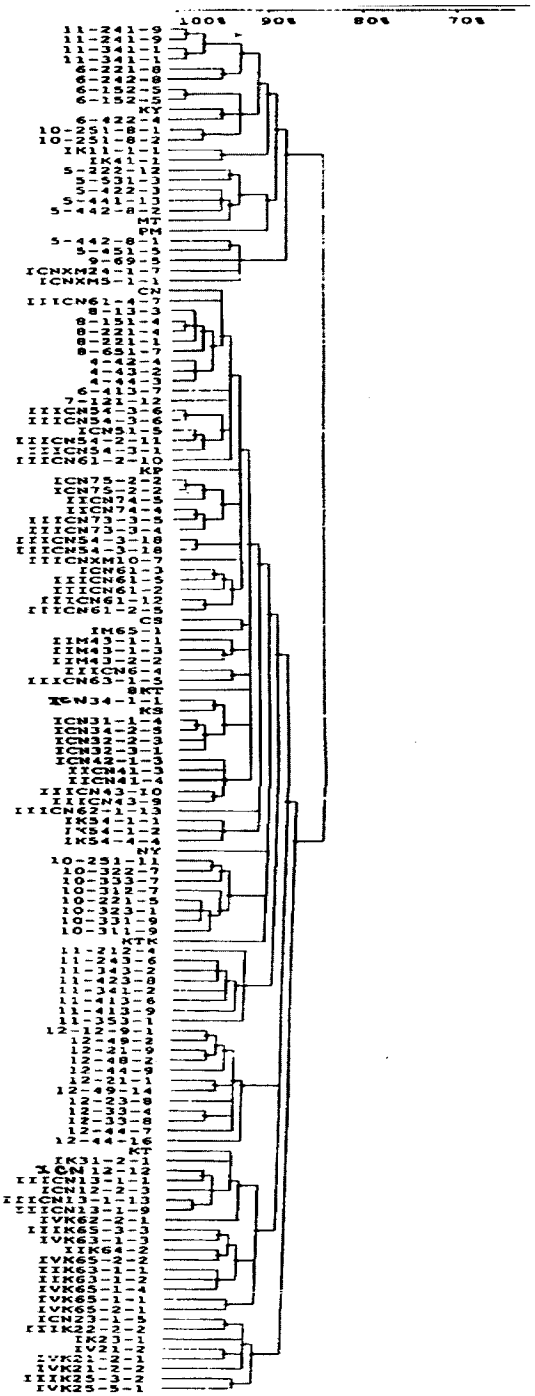
Lines	Chani	Monthong	5-531-3	5-432-8	5-441-3	5-233-10	5-451-5
Chani	1.000						
Monthong	0.875	1.000					
5-531-3	0.841	0.850	1.000				
5-432-8	0.875	0.866	0.900	1.000			
5-441-3	0.916	0.875	0.891	0.925	1.000		
5-233-10	0.908	0.883	0.900	0.950	0.941	1.000	
5-451-5	0.866	0.858	0.875	0.908	0.883	0.908	1.000

Table 6. Similarity matrix of genetic distances among the 6 parental cultivars and 29 promising F_1 hybrids obtained using the DNA amplification fingerprinting (DAF) data in third experiment.

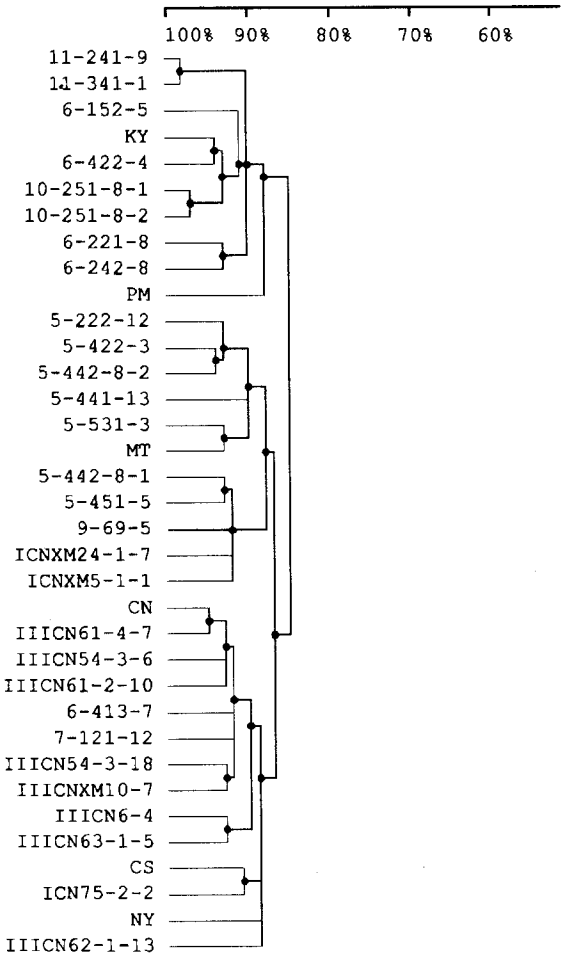
Lines	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8	L9	L10	L11	L12	L13	L14	L15	L16	L17	L18	L19	L20	L21	L22	L23	L24	L25	L26	L27	L28	L29	L30	L31	L32	L33	L34	L35	L36	L37
11-241-9(L2)	1.00	0.98	0.88	0.88	0.86	0.88	0.89	0.88	0.87	0.91	0.91	0.91	0.85	0.88	0.88	0.85	0.88	0.93	0.91	0.87	0.89	0.90	0.90	0.91	0.88	0.91	0.90	0.87	0.88	0.88	0.88	0.90	0.88	0.85	0.87	0.87
11-341-1(L3)		1.00	0.90	0.90	0.87	0.89	0.90	0.89	0.89	0.92	0.91	0.91	0.87	0.90	0.89	0.87	0.88	0.95	0.91	0.87	0.89	0.91	0.91	0.93	0.89	0.92	0.90	0.88	0.88	0.90	0.88	0.91	0.90	0.86	0.88	0.89
5-222-12(L4)			1.00	0.94	0.90	0.88	0.93	0.88	0.91	0.88	0.90	0.90	0.88	0.93	0.90	0.89	0.88	0.89	0.92	0.88	0.88	0.89	0.88	0.88	0.89	0.89	0.90	0.86	0.89	0.91	0.88	0.92	0.91	0.87	0.86	0.90
5-422-3(L5)				1.00	0.93	0.91	0.95	0.91	0.91	0.88	0.90	0.91	0.91	0.93	0.89	0.90	0.90	0.89	0.93	0.88	0.88	0.88	0.88	0.88	0.90	0.89	0.91	0.87	0.89	0.91	0.89	0.93	0.91	0.87	0.87	0.88
5-441-13(L6)					1.00	0.88	0.93	0.88	0.92	0.87	0.88	0.89	0.89	0.92	0.89	0.87	0.86	0.87	0.91	0.87	0.85	0.87	0.88	0.87	0.89	0.87	0.90	0.86	0.88	0.90	0.89	0.91	0.89	0.91	0.89	0.87	0.86	0.88
5-442-8-1(L7)						1.00	0.91	0.93	0.90	0.89	0.88	0.87	0.93	0.91	0.89	0.92	0.92	0.88	0.91	0.86	0.85	0.87	0.87	0.89	0.88	0.87	0.89	0.87	0.88	0.90	0.88	0.91	0.90	0.87	0.88	0.88
5-442-8-2(L8)							1.00	0.91	0.93	0.89	0.90	0.91	0.90	0.94	0.91	0.89	0.90	0.90	0.93	0.87	0.88	0.90	0.91	0.89	0.90	0.90	0.90	0.88	0.90	0.91	0.90	0.92	0.91	0.88	0.87	0.90
5-451-5(L9)								1.00	0.90	0.88	0.88	0.87	0.91	0.91	0.87	0.90	0.91	0.86	0.90	0.86	0.85	0.87	0.87	0.88	0.87	0.86	0.88	0.85	0.89	0.90	0.88	0.89	0.89	0.84	0.87	0.88
5-531-3(L10)									1.00	0.89	0.90	0.89	0.89	0.91	0.89	0.90	0.88	0.88	0.93	0.86	0.86	0.89	0.89	0.89	0.89	0.88	0.91	0.88	0.87	0.90	0.89	0.90	0.88	0.86	0.86	0.89
6-152-5(L11)										1.00	0.91	0.89	0.88	0.92	0.88	0.88	0.91	0.92	0.89	0.88	0.88	0.92	0.92	1.00	0.88	0.92	0.90	0.87	0.87	0.88	0.85	0.91	0.92	0.86	0.86	0.88
6-221-8(L12)											1.00	0.94	0.88	0.91	0.88	0.89	0.89	0.90	0.90	0.87	0.87	0.88	0.88	0.91	0.89	0.89	0.88	0.86	0.87	0.89	0.88	0.90	0.90	0.87	0.88	0.88
6-242-8(L13)												1.00	0.87	0.91	0.89	0.86	0.89	0.91	0.90	0.87	0.89	0.90	0.90	0.89	0.91	0.90	0.90	0.87	0.88	0.90	0.89	0.90	0.90	0.86	0.88	0.89
9-69-5(L14)													1.00	0.92	0.87	0.90	0.90	0.86	0.89	0.87	0.85	0.87	0.87	0.88	0.89	0.87	0.89	0.87	0.89	0.89	0.87	0.91	0.90	0.85	0.86	0.88
CN(L15)														1.00	0.90	0.90	0.92	0.90	0.90	0.89	0.90	0.91	0.92	0.93	0.93	0.92	0.88	0.92	0.93	0.91	0.93	0.95	0.90	0.90	0.92
C9(L16)															1.00	0.88	0.88	0.90	0.90	0.89	0.88	0.90	0.89	0.88	0.88	0.89	0.90	0.91	0.89	0.93	0.89	0.92	0.90	0.87	0.88	0.90
ICNXM24-1-7(L17)																1.00	0.92	0.87	0.91	0.87	0.85	0.86	0.86	0.88	0.88	0.86	0.88	0.87	0.85	0.89	0.88	0.89	0.89	0.86	0.86	0.87
ICNXM5-1-1(L18)																	1.00	0.88	0.89	0.86	0.87	0.88	0.87	0.91	0.89	0.87	0.90	0.88	0.87	0.88	0.87	0.90	0.89	0.86	0.86	0.87
KY(L19)																		1.00	0.90	0.88	0.91	0.93	0.94	0.92	0.90	0.94	0.90	0.88	0.87	0.89	0.87	0.91	0.90	0.87	0.87	0.88
MT(L20)																			1.00	0.87	0.89	0.87	0.88	0.89	0.89	0.89	0.92	0.88	0.90	0.90	0.90	0.90	0.89	0.87	0.88	0.89
NY(L21)																				1.00	0.87	0.86	0.87	0.88	0.86	0.88	0.87	0.88	0.88	0.91	0.89	0.93	0.92	0.89	0.89	0.88
PM(L22)																					1.00	0.88	0.88	0.88	0.87	0.90	0.89	0.90	0.88	0.89	0.87	0.91	0.88	0.85	0.87	0.89
10-251-8-1(L23)																						1.00	0.97	0.92	0.88	0.92	0.89	0.89	0.87	0.90	0.86	0.91	0.91	0.85	0.85	0.88
10-251-8-2(L24)																							1.00	0.92	0.89	0.92	0.91	0.90	0.88	0.91	0.87	0.91	0.91	0.85	0.86	0.89
6-152-5(L25)																								1.00	0.88	0.91	0.89	0.88	0.87	0.88	0.86	0.91	0.92	0.86	0.86	0.88
6-413-7(L26)																									1.00	0.92	0.92	0.89	0.89	0.90	0.88	0.89	0.89	0.87	0.90	0.90
6-422-4(L27)																										1.00	0.92	0.89	0.89	0.91	0.88	0.91	0.92	0.88	0.88	0.91
7-121-12(L28)																											1.00	0.90	0.89	0.92	0.89	0.91	0.91	0.84	0.87	0.90
ICN75-2-2(L29)																												1.00	0.87	0.91	0.88	0.91	0.88	0.86	0.87	0.90
IIICN54-3-18(L30)																													1.00	0.92	0.90	0.90	0.91	0.87	0.89	0.94
IIICN54-3-6(L31)																														1.00	0.91	0.92	0.93	0.88	0.90	0.92
IIICN6-4(L32)																															1.00	0.91	0.90	0.90	0.94	0.90
IIICN61-2-10(L33)																																1.00	0.95	0.90	0.91	0.91
IIICN61-4-7(L34)																																	1.00	0.89	0.90	0.91
IIICN62-1-13(L35)																																		1.00	0.90	0.87
IIICN63-1-5(L36)																																			1.00	0.90
IIICNXM10-7(L37)																																				1.00



a : Dendrogram of F_1 hybrids from 1 crosses and 2 parental cultivars as determined from 118 DAF fragment.



b : Dendrogram of 120 F_1 hybrids from 24 crosses as determined from 298 DAF fragment.



c : Dendrogram of 29 Promising F_1 hybrids from 9 crosses and 6 parental cultivars as determined from 276 DAF fragment.

Figure 1. Dendrogram of durian F_1 hybrids, the pair-wise coefficients of correlation were clustered using UPGMA and assembled into the dendrogram as described in the method.

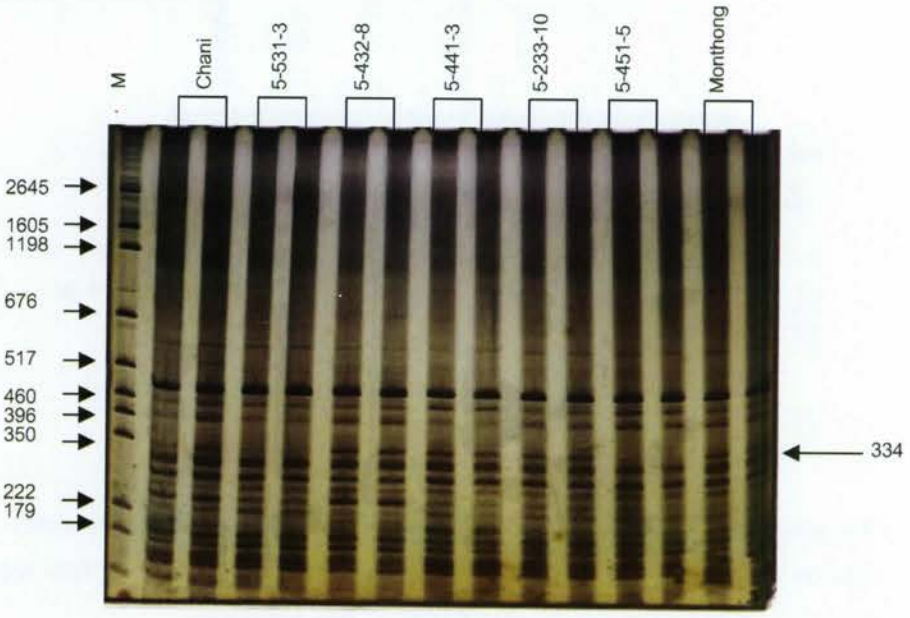


Figure 2. Polyacrylamide gel of DAF-modified durian DNA. DNA from each of the 5 F_1 hybrids and their parents was amplified using primer OPA-04 and separated on a 10% polyacrylamide gel as described in the methods.
Lane M : DNA size markers, 334 is polymorphisms

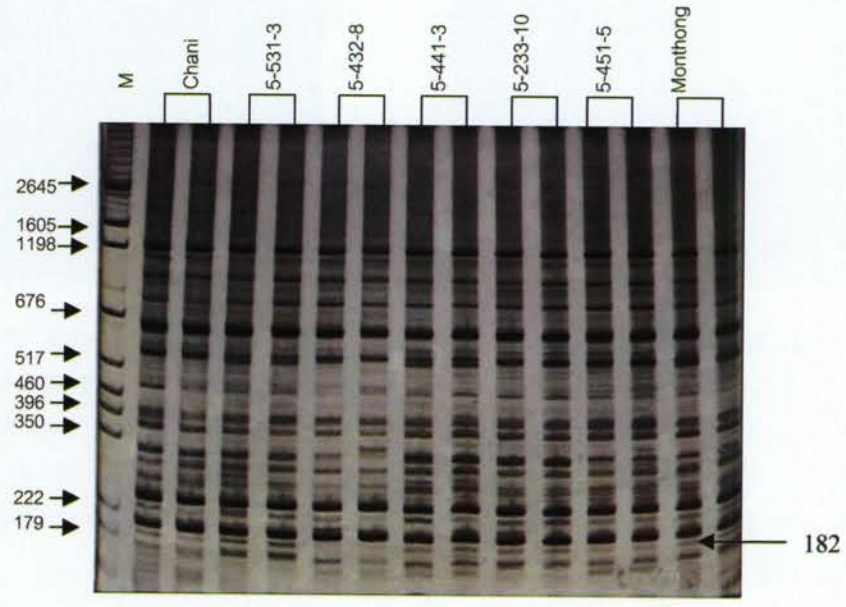


Figure 3. Polyacrylamide gel of DAF-modified durian DNA. DNA from each of the 5 F_1 hybrids and their parents was amplified using primer OPB-16 and separated on a 10% polyacrylamide gel as described in the methods.
Lane M : DNA size markers, 182 is polymorphism

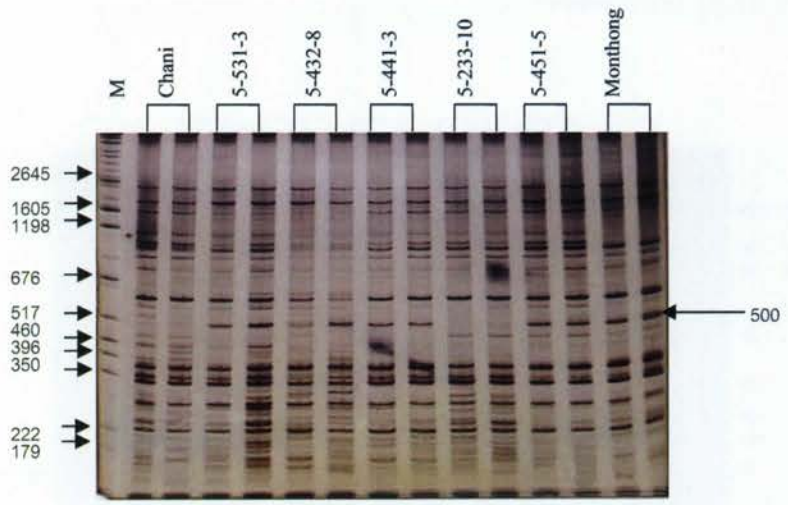
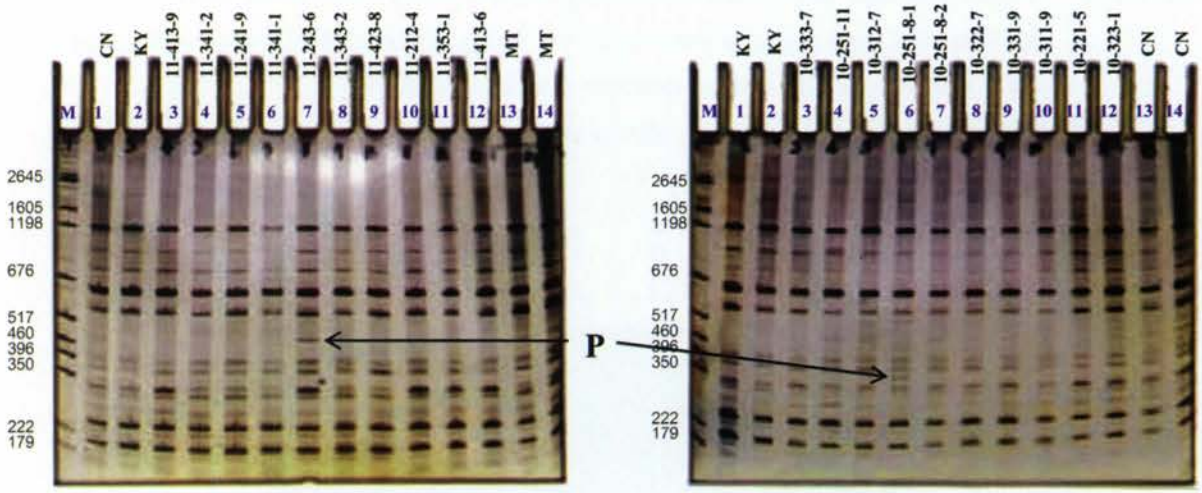


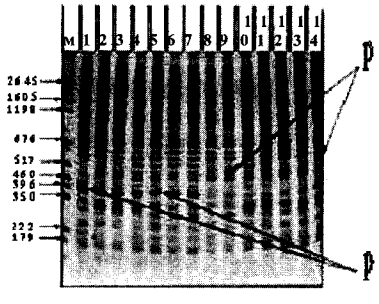
Figure 4. Polyacrylamide gel of DAF-modified durian DNA. DNA from each of the 5 F_1 hybrids and their parents was amplified using primer OPS-01 and separated on a 10% polyacrylamide gel as described in the methods
Lane M : DNA size markers, 500 is polymorphism



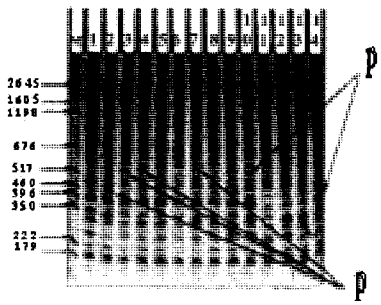
a : 1 = DNA size markers, 2 = Chani, 3 = Kanyao, 4 = 11-413-9, 5 = 11-341-2, 6 = 11-241-9, 7 = 11-341-1, 8 = 11-243-6, 9 = 11-343-2, 10 = 11-423-8, 11 = 11-212-4, 12 = 11-353-1, 13 = 11-413-6, 14, 15 = Monthong

b : 1 = DNA size markers, 2, 3 = Kanyao, 4 = 10-333-7, 5 = 10-251-11, 6 = 10-312-7, 7 = 10-251-8-1, 8 = 10-251-8-2, 9 = 10-322-7, 10 = 10-331-9, 11 = 10-311-9, 12 = 10-221-5, 13 = 10-323-1, 14, 15 = Chani

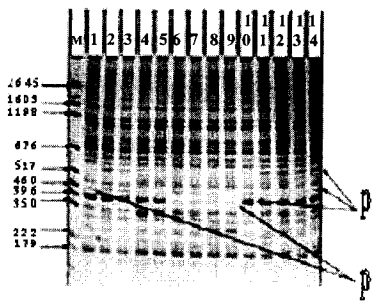
Figure 5. Polyacrylamide gel of DAF-modified durian DNA. DNA from some of the 120 F_1 hybrids and 12 parental cultivars was amplified using primer OPB-16 and separated on a 10% polyacrylamide gel as described in the methods. The cultivar names were shown in Table 2.
Lane M : DNA size markers, P is polymorphism



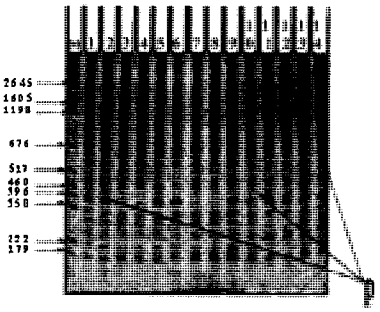
a : 1 = Chani, 2, 3 = 6-152-5, 4, 5 = 6-221-8, 6, 7 =6-242-8, 8 = Kanyao, 9 = Kanyao, 10, 11 = 11-241-9, 12, 13 = 11-341-1, 14 = Monthong



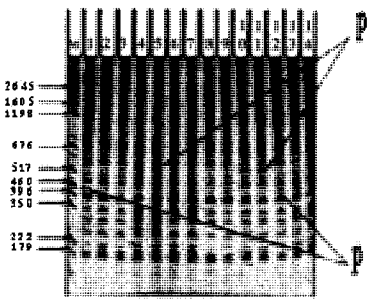
b : 1 = Chani, 2 = IIICN6 1-4-7, 3 = IIICN6 1-2-10, 4 = Nokyib, 5 = Chani , 6 = IIICN5 4-3-6, 7 = Chompu Sri, 8 = Chani, 9 =ICN7 5-2-2, 10 = Phuang Mani, 11 = Kanyao, 12 = 10-251-8-1, 13 = 10-251-8-2, 14 = Chani



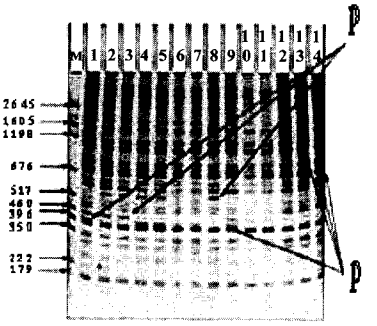
c : 1 = Chani, 2, 3 = 6-413-7, 4, 5 = 6-152-5, 6, 7 = 6-422-4, 8, 9 = Kanyao, 10 = Chani, 11, 12 = 7-121-12, 13, 14 = Monthong



d : 1, 2 = Chani, 3, 4 = 5-422-3, 5, 6 = 5-442-8-2, 7, 8 = 5-441-13, 9, 10 = 5-531-3, 11, 12 = 5-222-12, 13, 14 = Monthong



e : 1 = Chani, 2, 3 = ICNxM5-1-1, 4, 5 = ICNxM2 4-1-7, 6, 7 = 5-442-8-1, 8, 9 = 5-451-5, 10, 11 = Monthong, 12 = chani (op), 13, 14 = 9-69-5



f : 1 = Chani , 2, 3 = IIICN6-4, 4, 5 = IIICN6 3-1-5, 6, 7 = IIICN6 2-1-13, 8 = Nokyib, 9 = Chani, 10, 11 = IIICNxM10-7, 12, 13 = IIICN5 4-3-18, 14 = Monthong

Figure 6. Polyacrylamide gel of DAF-modified durian DNA. DNA from each of the 29 promising F1 hybrids and 6 parental was amplified using primer OPB-16 and separated on a 10% polyacrylamide gel as described in the methods. The cultivar names were shown in Table 3.

Lane M : DNA size markers. P is polymorphism. Number above each lane corresponded to the following cultivars :

กลุ่มย่อยที่ 7 ICN2 3-1-5, IIIK2 2-2-2, IK2 3-1, IVK2 1-2, IVK2 1-2-1, IVK2 1-2-2, IIIK2 5-3-2 และ IVK2 5-5-1 (Figure 1b)

1.3 การทดลองที่ 3 ใช้ไพรเมอร์ 12 สาย ในการวิเคราะห์ DAF-PCR ของทุเรียนลูกผสมชั่วที่ 1 ดีเด่นจำนวน 29 ลูกผสมจาก 9 คู่ผสม และพันธุ์พ่อแม่ (Tables 3, 4) มี polymorphism 156 ตำแหน่ง จากจำนวนทั้งหมด 298 ตำแหน่งคิดเป็น 52.35 % (Table 4) จากการใช้ primer OPB-16 พบว่า ส่วนใหญ่แถบดีเอ็นเอของทุเรียนลูกผสมมีลักษณะคล้ายคลึงกับพ่อแม่พันธุ์ได้โดยได้มาจากทั้งพันธุ์พ่อและพันธุ์แม่ เช่น คู่ผสม ชะนี x ก้านยาว ก้านยาว x หมอนทอง ชะนี x นกหยิบ ชะนี x ชมภูศรี ชะนี x พวงมณี ก้านยาว x ชะนี ชะนี x หมอนทอง และชะนีผสมตามธรรมชาติ (Figure 6) เมื่อนำมาวิเคราะห์และคำนวณค่าดัชนีความเหมือน พบว่าทุเรียนลูกผสมชั่วลูกที่ 1 ดีเด่น 29 ลูกผสม กับพ่อแม่พันธุ์มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 85 ถึง 94 % (Table 6) และเมื่อแสดงในรูป dendrogram (Figure 1c) ที่ค่าสัมประสิทธิ์เท่ากับ 0.90 พบว่า สามารถจำแนกได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่

กลุ่มที่ 1 11-241-9, 11-341-1, 6-152-5, ก้านยาว, 6-422-4, 10-251-8-1, 10-251-8-2, 6-221-8, 6-242-8 และพวงมณี

กลุ่มที่ 2 5-222-12, 5-422-3, 5-442-8-2, 5-441-13, 5-531-3, หมอนทอง, 5-442-8-1, 5-451-5, 9-69-5, ICNXM2 4-1-7 และ ICNXM 5-1-1

กลุ่มที่ 3 ชะนี, IIICN6 1-4-7, IIICN5 4-3-6, IIICN6 1-2-10, 6-413-7, 7-121-12, IIICN5 4-3-18, IIICNXM 10-7, IIICN 6-4, IIICN6 3-1-5, ชมพูศรี, ICN7 5-2-2, นกหยิบ, IIICN6 2-1-13 (Figure 1c)

จะเห็นได้ว่า ทุเรียนลูกผสมมีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับพ่อแม่พันธุ์ในแต่ละกลุ่ม ซึ่งส่วนใหญ่พันธุ์ลูกผสมจะอยู่กลุ่มเดียวกับพันธุ์แม่ อย่างไรก็ตาม มีความแปรปรวนทางพันธุกรรม เนื่องจากทุเรียนเป็นพืชผสมข้าม ลูกผสมที่ได้เมื่อสังเกตจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยเฉพาะลักษณะรูปทรงผลจะมีความหลากหลายซึ่งก็มีทั้งเหมือนพันธุ์พ่อ หรือบางลูกผสมก็เหมือนพันธุ์แม่ อย่างไรก็ตาม มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับพ่อแม่พันธุ์ตั้งแต่ 80 % ขึ้นไป

สรุปผลการทดลอง

- การศึกษาและตรวจสอบลักษณะประจำพันธุ์ในระดับพันธุกรรมโดยใช้เทคนิค DAF สามารถใช้ในการจำแนกสายพันธุ์ลูกผสมกับพ่อแม่พันธุ์ได้
- ทุเรียนลูกผสมมีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับพ่อแม่พันธุ์ตั้งแต่ 80 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป

เอกสารอ้างอิง

Bassam, B.J., Caetono-Anolles, G. and P.M. Gresshoff, 1991. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Anal.* Biochem. 196 : 80-83.

Bentley, S. and B.J. Bassam, 1996. A robust DNA amplification fingerprinting

system applied to analysis of genetic variation within *Fusariun oxysporum* f.sp. *cubense*. *Phytopathol.* 144 : 207-213.

Caetano-Amolles, G. 1994. MAAP : A versatile and universal tool for genome analysis. *Plant Mol. Biol.* 25 : 1011-1026.

Cerny, T.A., Caetano-Anolles, G., Trigiano, R.N. and T.W. Starman. 1996. Molecular phylogeny and DNA amplification fingerprinting of *Petunia*. Theor. *Appl. Genet.* 92: 1009-1016.

Connolly, A.G., Godwin, I.D., Cooper, M. and I.H. DeLacy. 1994. Interpretation of randomly amplified polymorphic DNA marker data for fingerprinting sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) genotypes. *Theor.Appl.Genet.* 88 : 332-336.

Graham, G.C., Mayers, P. and P.M. Gresshoff. 1994. A simple and rapid method for the preparation of fungal genomic DNA for PCR and RAPD analysis. *BioTechnique.* 16: 48-50.

He, G., Prakash, C.S. and R.L. Jarret. 1995. Analysis of genetic diversity in a sweetpotato (*Ipomoea batatas L.*) germplasm collection using DNA amplification fingerprinting. *Genome.* 38 : 938-945.

Jarret, R.L. and D.F. Austin. 1994. Genetic diversity and systematic relationship in sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) and related species as revealed by RAPD analysis. *Genet.Res.Crop Evol.* 41 : 165-173.

Rohlf, F.J. 1997. *NTSYSpc : Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis system, version 2.00.* Exeter software, New York.

Scott, M.C., Caetano-Anolles, G. and R.N. Trigiano. 1996. DNA Amplication Fingerprinting Identifies Closely Related Chrysanthemum Cultivars. *Amer.Soc.Hort.Sci.* 121(6): 1043 -1048.

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

Somsri, S., Fletcher, R.J., Jobin, M., Drew, R. Lawson, W. and M.W. Graham. 1998. Developing molecular markers for sex prediction in papaya (*Carica papaya* L.). *Acta Hort.* 461: 141-148.

Somsri, S. 1999. *Improvement of papaya* (*Carica papaya* L.) for *south-east Queensland : investigation of sex-type and fruit quality.* Ph.D. thesis. University of Queensland, Gatton College, Queensland, *Australia.* 260 p.

Sondur, S.N., Manshardt, R.M. and J.I. Stiles. 1996. A genetic linkage map of pa paya based on randomly amplified

polymorphic DNA markers. *Theoreti cal and Applied Genetics* 93 : 547-553.

Stiles J.I., Lemme C., Sodur S., Morshidi M.B., R. Manshardt 1993. Using randomly amplified polymorphic DNA for evaluating genetic relationships among papaya cultivars. *Theoretical and Applied Genetics* 85 : 697-701.

Williams, J.G.K.,A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rafalski and V.S. Tingey. 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* 18 : 6531-6535.