

| | | |
|----------------------------------|--|------------|
| Thesis Title | Genetic Diversity and Germplasm Collection of <i>Elaeagnus latifolia</i> L. | |
| Author | Mrs. Pratoomporn Yingthongchai | |
| Degree | Doctor of Philosophy (Biotechnology) | |
| Thesis Advisory Committee | | |
| | Assistant Professor Dr. Daruni Naphrom | Advisor |
| | Associate Professor Dr. Prasartporn Smitamana | Co-advisor |
| | Associate Professor Dr. Danai Boonyakiat | Co-advisor |

ABSTRACT

Elaeagnus latifolia L. is an endemic fruit plant scatteringly found in the upper north of Thailand. It has long been known by the local people and valuable in local markets. It is an important plant because of its value. Fruit and leaf were useful for food, medicinal plant and others. *E. latifolia* have declined rapidly in number and disappeared from many locations. Therefore, characterization of the genetic diversity is important for sustainable genetic conservation and increase use of plant genetic resources. Studies of genetic diversity have employed morphological traits, chromosome characteristic, propagation and DNA based markers, RAPD and ISSR.

Collections of *E. latifolia* were done in 8 provinces of the upper North of Thailand, i.e. Chiang Mai, Chiang Rai, Lamphun, Lampang, Mae Hong Son, Nan, Phrae and Phayao. One hundred and ninety five accessions were collected from local villages, gardens and fields for the characteristic analysis and propagation.

E. latifolia was scandent shrub. Fruit was a drupe-like achene. Sour and sweet plant types were found. Fruits size varied from small to large. Eight forms of fruit shapes were identified. The reproductive stage was developed during October to April while vegetative stage was developed during May to September. The parameters evaluated from fruits were as following; fruit weight, titratable acid (TA), total soluble solids content (TSS), total sugar, vitamin A, C and E contents, total polyphenol and total antioxidant.

Factors influencing the success of cutting; types of wood and IBA concentration (0-10 g/l), were evaluated. No interaction of wood types and IBA concentrations was noticed in March and June cutting on the rooting percentage, root numbers and root lengths. Semi-hardwood cuttings in June significantly gave higher rooting percentage and length, whereas cuttings treated with 10 g/l IBA in March and June showed significantly difference in all indices than the others.

Best chromosomal studies were obtained from the root tip samples collected at 9.00 a.m. and staining in 1.5% lacto-propionic orcein or carbol fuchsin dye. The chromosome number was $2n = 28$ which was the first report for *E. latifolia*. Pollen grains of *E. latifolia* were similarly in shape and quite small in size. Pollen shape was oblate-spheroidal. Pollen aperture was a triporate and the exine sculpture was psilate.

RAPD and ISSR markers were used for genetic diversity analysis: 7 and 14 primers were screened for RAPD and ISSR markers respectively. Either RAPD or ISSR primers were successfully used to amplify all the accessions and showed high degrees of polymorphism. Results indicated that *E. latifolia* populations had high levels of genetic variation. However, ISSR markers were more effective in clustering the target population than RAPD markers.

| | | |
|--------------------------------|--|----------------------|
| ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ | ความหลากหลายทางพันธุกรรมและการเก็บรวบรวมเชื้อพันธุ์ของมะหลอด | |
| ผู้เขียน | นางประทุมพร ยิ่งธงชัย | |
| ปริญญา | วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) | |
| คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ | ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ดรุณี นาพรหม | อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก |
| | รองศาสตราจารย์ ดร. ประสาทพร สมิตะมาน | อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม |
| | รองศาสตราจารย์ ดร. ดนัย บุญยเกียรติ | อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม |

บทคัดย่อ

มะหลอดเป็นไม้ผลพื้นเมืองที่พบมากบริเวณภาคเหนือตอนบนของประเทศไทยและเป็นที่รู้จักของชาวบ้านมาเป็นเวลานานและมีคุณค่าในตลาดพื้นบ้าน มะหลอดเป็นพืชที่มีความสำคัญด้านคุณค่าในการใช้ประโยชน์ ผลและใบมีคุณค่าทางด้านอาหาร ด้านสมุนไพร และด้านอื่นๆ ปัจจุบันจำนวนมะหลอดได้ลดลงอย่างรวดเร็วและหายไปจากหลายพื้นที่ ดังนั้นการศึกษาทางด้านความหลากหลายทางพันธุกรรมจึงมีความสำคัญต่อการเก็บรักษาพันธุกรรมอย่างยั่งยืนและเพิ่มการใช้ประโยชน์ของแหล่งพันธุกรรมพืช การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมนี้ได้รวมถึงงานทางด้านสัณฐานวิทยา ลักษณะโครโมโซม การขยายพันธุ์ และการศึกษาด้านดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิคอาร์เอฟดีและไอเอสเอสอาร์

การสำรวจและรวบรวมพันธุ์มะหลอดจากพื้นที่ 8 จังหวัดของภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย ได้แก่ เชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน ลำปาง แม่ฮ่องสอน น่าน แพร่ และพะเยา โดยพบมะหลอดจำนวน 195 ต้นพันธุ์ที่รวบรวมมาจากหมู่บ้านในชนบท สวนหลังบ้าน แปลงเกษตรและทุ่งนา สำหรับนำมาศึกษาลักษณะต่างๆและการขยายพันธุ์

มะหลอดเป็นไม้พุ่มรอเลื้อย ผลเป็นเมล็ดเดี่ยวล่อน รสชาติของผลมีทั้งรสเปรี้ยวและรสหวาน ขนาดของผลมีตั้งแต่ขนาดเล็กจนถึงขนาดใหญ่ พบรูปทรงผลถึง 8 แบบ สำหรับการเจริญเติบโต พบว่า มีการพัฒนาของดอกและผลระหว่างเดือนตุลาคมถึงเดือนเมษายน และช่วงการเจริญเติบโตทางลำต้นอยู่ระหว่างเดือนพฤษภาคมถึงเดือนกันยายนของทุกปี

ลักษณะต่างๆของผลมะหลอดที่ศึกษาแล้วได้แก่ น้ำหนักผล ปริมาณกรดที่ไทเตรทได้ เปอร์เซ็นต์ปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำได้ ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณวิตามินเอ ซี และ อี ปริมาณโพสเฟอรัสทั้งหมด และปริมาณแอนติออกซิแดนท์

การปักชำกิ่งได้ศึกษาความสัมพันธ์ของปัจจัย 2 อย่าง ได้แก่ ชนิดของเนื้อไม้ คือ กิ่งแก่ และ กิ่งกึ่งแก่กึ่งอ่อน ร่วมกับการใช้ฮอร์โมน IBA ที่ระดับความเข้มข้น 0-10 กรัมต่อลิตร โดยปักชำเปรียบเทียบกัน 2 ช่วงเวลา คือ เดือนมีนาคม และเดือนมิถุนายน พบว่า ไม่มีสหสัมพันธ์ร่วมกันระหว่าง ชนิดของเนื้อไม้กับการใช้ฮอร์โมน IBA ต่อ เปอร์เซ็นต์การออกราก จำนวนราก และความยาวราก แต่ว่า ผลของชนิดกิ่งชำพบว่า การปักชำกิ่งกึ่งแก่กึ่งอ่อนในเดือนมิถุนายนให้เปอร์เซ็นต์การออกรากและความยาวรากแตกต่างจากการปักชำกิ่งแก่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่ผลของความเข้มข้นของ IBA พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติต่อ เปอร์เซ็นต์การออกราก จำนวนรากและความยาวรากของกิ่งชำทั้งในเดือนมีนาคมและมิถุนายน โดยการปักชำกิ่งด้วย IBA ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การออกราก จำนวนราก และความยาวราก สูงกว่าการปักชำความเข้มข้นอื่น

การศึกษาโครโมโซมของมะหลอดพบว่า เวลาที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่างปลายรากคือ 9.00 น. แล้วนำมาย้อมด้วยสีย้อม lacto-propionic orcein หรือ carbol fuchsin โดยพบจำนวนโครโมโซมของมะหลอด $2n = 28$ และเป็นการรายงานจำนวนโครโมโซมของมะหลอดเป็นครั้งแรก การศึกษาสัณฐานวิทยาของเรณูพบว่า เรณูของมะหลอดมีลักษณะเป็นเรณูเดี่ยว ขนาดค่อนข้างเล็ก รูปทรงคล้ายทรงกลม มีช่องเปิด 3 ช่อง ผิวเรณูมีลักษณะเรียบ

การนำเครื่องหมายโมเลกุลแบบอาร์เอฟดีและไอเอสเอสอาร์มาวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมพบว่า จำนวนไพรเมอร์ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอาร์เอฟดีมีจำนวน 7 ชนิดและเทคนิคไอเอสเอสอาร์มีจำนวน 14 ชนิด ตามลำดับ โดยไพรเมอร์จากอาร์เอฟดีและไอเอสเอสอาร์แสดงผลสำเร็จในการวิเคราะห์ตัวอย่างมะหลอดทั้งหมด และแสดงการมีแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันค่อนข้างสูงในมะหลอดแต่ละต้นพันธุ์ ซึ่งเป็นดัชนีบ่งบอกถึงระดับความหลากหลายทางพันธุกรรมที่มีอยู่สูงในประชากรของมะหลอดที่ทำการศึกษารั้งนี้ อย่างไรก็ตามเทคนิคไอเอสเอสอาร์ให้ผลการวิเคราะห์ที่มีประสิทธิภาพดีกว่าเทคนิคอาร์เอฟดี