

รายงานการดำเนินงาน
โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
หน่วยงาน คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง
ประจำปีงบประมาณ 2557

1. โครงการการทำ DNA Fingerprint ของพันธุ์พืชในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง
2. ผู้รับผิดชอบโครงการ

ดร.สมรักษ์ รอดเจริญ หัวหน้าโครงการ
นางสาวสดศรี อัยกิม ผู้ร่วมโครงการ

3. ลักษณะโครงการ (ตรงตามกิจกรรมของโครงการพันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริ)
กิจกรรมที่ 5 กิจกรรมศูนย์ข้อมูลพันธุกรรมพืชกิจกรรมที่
4. งบประมาณสนับสนุนและงบประมาณที่ใช้จริง
250,000 บาท
5. วัตถุประสงค์ของโครงการ
 1. เพื่อสำรวจเก็บตัวอย่างพันธุ์กรรมพืชในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง
 2. เพื่อศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอพันธุกรรมพืชท้องถิ่นในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง
6. สถานที่ดำเนินการ
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง
เลขที่ 179 หมู่ที่ 3 ต. ไม้ฝาด อ. สีเกา จ. ตรัง 92150.
7. วัน/เดือน/ปี ที่ดำเนินการ เดือนตุลาคม 2556 ถึงเดือนกันยายน 2557
8. ระยะเวลาดำเนินการ(ระบุแผนการดำเนินงานและผลการดำเนินงาน)

กิจกรรม	เดือน											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. สำรวจเก็บตัวอย่างพันธุ์กรรมพืช	←————→											
2. ศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอพันธุกรรมพืชท้องถิ่น			←————→									
3. จัดทำรายงาน											←————→	

7. ขั้นตอนการดำเนินงาน
 1. สำรวจเก็บตัวอย่างพันธุ์กรรมพืชในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง
เก็บตัวอย่างพืชที่ได้มาตรวจเช็คชนิดจากข้อมูลการสำรวจพันธุ์พืชของโครงการที่ผ่านมา นำตัวอย่าง
มาเตรียมสำหรับนำไปวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอพันธุกรรมพืชต่อไป

2. ศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอพันธุกรรมพืชท้องถิ่นในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขต
ตรัง

นำตัวอย่างพืชศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอ โดยเลือกใช้เทคนิค AFLP

8. ขั้นตอนการดำเนินงาน

ตัวชี้วัดเชิงปริมาณ

1. การสำรวจพรรณพืชบริเวณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตตรัง อำเภอสิเกา จังหวัดตรัง

1.1 วัสดุอุปกรณ์ และวิธีการศึกษา

วัสดุอุปกรณ์

วัสดุและอุปกรณ์ในการสำรวจพรรณพืช บริเวณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล อำเภอสิเกา จังหวัดตรัง มีดังนี้

1. อุปกรณ์สำหรับบันทึกข้อมูลและถ่ายภาพ ประกอบด้วย กล้องถ่ายภาพ พร้อมอุปกรณ์ต่าง ๆ
2. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างพรรณไม้แห้ง
 - กรรไกรตัดกิ่ง พร้อมด้วยถุงพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่างพรรณพืช
 - กระดาษแข็งสำหรับทำป้ายบันทึกข้อมูลต่าง ๆ เช่น หมายเลข วัน เดือน ปี สถานที่เก็บ พร้อมเชือกสำหรับผูกติดกับพรรณไม้
3. อุปกรณ์ในการทำตัวอย่างพรรณไม้แห้ง และสารเคมีที่ใช้ในการดองตัวอย่างพืช
 - ตู้อบพรรณไม้
 - ตู้แช่แข็งความเย็นจัด
 - แผงอัดพรรณไม้ พร้อมด้วยกระดาษลูกฟูก และกระดาษหนังสือพิมพ์
 - กระดาษแข็งสำหรับติดตัวอย่างพรรณไม้แห้ง กระดาษบันทึกข้อมูลพรรณไม้
 - ขวดและน้ำยาดองตัวอย่างพรรณไม้ (เอธิลแอลกอฮอล์ 70 % และกลีเซอริน)
4. อุปกรณ์ที่ใช้ในการวินิจฉัยชื่อพืช
 - กล้องสเตริโอ
 - อุปกรณ์ผ่าตัดเพื่อตรวจสอบลักษณะพืช
 - เอกสารวิชาการแยกชนิด

1.2 วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่าง

1.1 สำรวจพื้นที่ศึกษา และเก็บรวบรวมพรรณพืช บันทึกข้อมูลที่เกี่ยวข้อง พร้อมถ่ายภาพประกอบ

1.2 นำตัวอย่างพืชที่รวบรวมได้มาอัดแห้ง เพื่อใช้ในการตรวจสอบชนิดต่อไป

2. การวิเคราะห์ข้อมูล

2.1 นำตัวอย่างพรรณไม้มาตรวจสอบชนิดตามหลักอนุกรมวิธานพืช

2.2 ตัวอย่างพืชที่ไม่สามารถตรวจสอบชนิดได้ไปเทียบกับตัวอย่างที่มีในพิพิธภัณฑ์พืช
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ (PSU)

2.3 จัดทำคำบรรยายลักษณะทางพฤกษศาสตร์

2.4 ตัวอย่างพรรณพืชที่ได้ ทำเป็นตัวอย่างแห้ง เก็บรักษาไว้ที่ คณะการแพทย์แผนไทย

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ (PSU) และสถาบันเทคโนโลยีราชมงคล อำเภอสิเกา จังหวัดตรัง

ผลการศึกษา

จากการศึกษาพรรณไม้ป่าชายหาดบริเวณหาดราชมงคล อำเภอสีเกา จังหวัดตรังครั้งนี้ รวบรวมพรรณไม้ได้ทั้งสิ้นจำนวน 20 ชนิด

รายละเอียดและลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของพรรณพืชที่สำรวจพบ

1. ชื่อ เท้ายายม่อม

ชื่ออื่น พญารากเดียว ไม้เท้าฤาษี กาสะลอง จรดพระธณี ดอกคาน ปั้งหลวง ปั้งขม พญาเล็งจอน เล็งจอนใต้ หญ้าลิ้นจ๊อน ฟินพี โฟพั้ง พมพี พอกวอ

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Clerodendrum petasites* (Lour.) S. Moore

ชื่อวงศ์ Lamiaceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่มขนาดเล็ก ลำต้นเรียวเล็ก ตั้งตรง สูง 1-2 เมตร แตกกิ่งก้านน้อย ปลายกิ่งเป็นสี่เหลี่ยม ใบเดี่ยว ออกบริเวณข้อๆ ละ 3-5 ใบ รูปแถบยาว ขนาด 1.5-2.5 x 15-20 เซนติเมตร ปลายใบแหลม ดอกออกเป็นช่อบริเวณปลายกิ่งและซอกใบ ดอกย่อยสีขาว โคนกลีบเชื่อมติดกันเป็นรูปหลอดยาวประมาณ 10-12 ซม. ปลายกลีบแยกเป็น 5 แฉก ฐานรองดอกเป็นรูปถ้วย ปลายแยก 5 แฉก สีเขียว เมื่อแก่เปลี่ยนเป็นสีแดง เกสรเพศผู้สีม่วงแดง 4 อัน ยื่นยาวพ้นกลีบดอก ผลกลม ผิวมัน มี 4-5 พูติดกัน เมื่อสุกสีดำ ขนาดผ่าศูนย์กลาง 4-6 มม.

การกระจายพันธุ์ อินเดีย ในประเทศไทยพบทั่วไปตามป่าเปิด ริมหาด
2. ชื่อ นกกอน

ชื่ออื่น กือนอง ขัตนะ ชุมเส็ด ตานา มะรวด ยมน้อย.

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cleistanthus polyphyllus* F.N.Williams

ชื่อวงศ์ Euphorbiaceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่ม สูงประมาณ 2-4 เมตร แตกกิ่งก้านเป็นพุ่มแน่น ใบเดี่ยว เรียงตัวสลับ ใบรูปรี หรือรูปไข่กลับ โคนใบสอบ ปลายใบเป็นติ่งแหลม ขอบใบเรียบ ดอกขนาดเล็ก ออกบริเวณซอกใบ มีสีขาว ก้านดอกสั้นมาก หรือไม่มี ผลขนาดเล็ก มี 3 พู ปลายผลมีเกสรเพศเมียติดอยู่

การกระจายพันธุ์ พบทั่วไปตามป่าโปร่ง
3. ชื่อ กาฝากมะม่วง

ชื่ออื่น -

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.

ชื่อวงศ์ Loranthaceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

พืชเบียน (parasitic plant) แยกกินอาหารจากต้นพืชที่เกาะอาศัยอยู่ เปลือกสีเทา มีจุดสีน้ำตาล กระจายทั่วกิ่ง กิ่งอ่อนมีขนปกคลุม ใบเดี่ยว เรียงตัวตรงข้ามกัน รูปรี ขนาด 3.6-4 x 6-10 เซนติเมตร แผ่นใบหนาเรียบ ปลายใบแหลม ขอบใบเรียบ ฐานใบแหลม เส้นใบ 3 คู่ ไม่ชัดเจนทั้ง 2 ด้าน ยกเว้นเส้นกลางใบ ใบแห้งมีสีน้ำตาล ก้านใบยาว 0.8 – 1 เซนติเมตร ช่อดอกออกบริเวณข้อ หรือซอกใบเป็นช่อแบบกระจะ แต่ละช่อมีดอกย่อยประมาณ 2-7 ดอก ทุกส่วนมีมีขนสีขาว นุ่มปกคลุม ก้านดอกย่อยสั้นมาก ประมาณ 1 มิลลิเมตร แต่ละดอกมีใบประดับรองรับ 1 อัน รูปไข่ ปลายแหลม ขนาด 2 x 2 มิลลิเมตร กลีบเลี้ยงเชื่อม

ติดกันเป็นรูปประฆัง ปลายหยักเว้าเป็น 5 แฉก กลีบดอกเชื่อมติดกันเป็นหลอด ยาวประมาณ 1 -1.5 เซนติเมตร ส่วนปลายกลีบดอกมี 5 แฉก แต่ละแฉกยาว 4-6 มิลลิเมตร ด้านนอกมีขนสีขาวปกคลุม ด้านในเรียบ เกสรเพศผู้มี 5 อัน ส่วนล่างแนบติดกับกลีบดอก ก้านชูเกสรเพศผู้ยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร อับเรณู ยาวประมาณ 2 มิลลิเมตร ก้านชูเกสรเพศเมียยาวเท่ากับก้านชูเกสรเพศผู้ ยอดเกสรเพศเมียกลม

การกระจายพันธุ์ ไทย เวียดนาม มาเลเซีย

10. ชื่อ ตั้ว

ชื่ออื่น ตั้ว ยูรูตง (นราธิวาส)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cratoxylum cochinchinense* (Lour.) Blume

ชื่อวงศ์ Clusiaceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้ยืนต้น สูงประมาณ 5-7 เมตร เปลือกอ่อนเป็นแผ่น ลำต้นมีหนามแหลมกระจายห่าง ๆ ใบเดี่ยว เรียงตัวตรงข้ามกัน หรือเยื้องกันเล็กน้อย ใบรูปรีแกมรูปแกม ขนาด 2.5-3.5 x 5-11 เซนติเมตร ปลายใบแหลมมน ขอบใบเรียบ ฐานใบแหลม แผ่นใบบาง ผิวเรียบ ใบแห้งมีสีน้ำตาล ก้านใบยาว 3 มิลลิเมตร เส้นใบ 10-12 คู่ ไม่เด่นชัด เส้นกลางใบด้านล่างนูนเด่น ผลแบบแคปซูล ออกเป็นช่อแบบกระจุก ทรงรี ขนาด 0.5 x 1 เซนติเมตร ห่อหุ้มด้วยกลีบเลี้ยง 5 กลีบ แต่ละกลีบเรียงซ้อนทับกัน ความยาวของกลีบเลี้ยงน้อยกว่าผลเล็กน้อย ก้านผลยาวประมาณ 3-4 มิลลิเมตร

การกระจายพันธุ์ อินโดจีน พม่า ไทย สุมาตรา อินโดนีเซีย บอร์เนียว ฟิลิปปินส์

5. ชื่อ ตาเปิดตาไก่

ชื่ออื่น ลอบอาด (กะเหรี่ยง-เชียงใหม่) ตาไก่ใบกว้าง (ทั่วไป)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Ardisia crenata* Sims

ชื่อวงศ์ Myrsinaceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่มสูงประมาณ 1-2 เมตร ลำต้นกลมเรียบ ใบเดี่ยว เรียงตัวสลับกัน รูปไข่กลับ ขนาด 2-3 x 5-7 เซนติเมตร ปลายใบแหลม ขอบใบเว้าเป็นคลื่น ฐานใบแหลม แผ่นใบหนา เรียบ มีจุดสีดำกระจายทั่วทั้งใบ เส้นใบ 12-15 คู่ ไม่ชัดเจนทั้งด้านบนและด้านล่าง ก้านใบยาว 0.5 เซนติเมตร ดอกออกเป็นช่อแบบซี่ร่มบริเวณ ปลายกิ่ง ก้านดอกย่อยยาว 0.5 -1 เซนติเมตร กลีบเลี้ยงมี 5 กลีบ ขนาด 1-2 มิลลิเมตร รูปไข่ ปลายแหลม เรียงตัวซ้อนกัน มีจุดสีดำกระจายทั่ว กลีบดอกสีขาวแกมสีชมพู มี 5 กลีบ รูปไข่ ปลายแหลม ขนาด 3-5 มิลลิเมตร มีจุดสีดำกระจาย เกสรเพศผู้สีเหลือง มี 5 อัน เกสรเพศเมียมี 1 อัน

การกระจายพันธุ์ อินเดีย พม่า จีน เวียดนาม ฟิลิปปินส์ มาเลเซีย

6. ชื่อ กระดุกไก่อ่า

ชื่ออื่น -

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Prismatomeris griffithii* Ridl.

ชื่อวงศ์ Rubiaceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่มขนาดเล็ก สูงประมาณ 1.5-2 เมตร ใบเดี่ยว ออกตรงข้ามกัน มีหูใบขนาดเล็กระหว่างก้านใบ เปลือกต้นสีขาวนวล ใบรูปรี หรือรูปรีแกมรูปขอบขนาน ขนาด 2-3 x 10-12 เซนติเมตร ผิวใบเกลี้ยง ปลายใบเรียวแหลม ขอบใบเรียบ ฐานใบสอบ ก้านใบยาวประมาณ 1 เซนติเมตร ดอกออกเป็นช่อบริเวณปลายกิ่ง หรือ

ชอกใบ ดอกย่อยสีขาว โคนกลีบเชื่อมกันเป็นหลอด ปลายกลีบแยกเป็น 5 แฉก ผลกลม สีเขียว เมื่อสุกเปลี่ยนเป็นสีดำ ผิวเกลี้ยง

การกระจายพันธุ์ พบทั่วไปตามป่าดิบชื้น

7. ชื่อ ลิเกายุง

ชื่ออื่น กระฉอดหนู รีบูปาดิ ลิบูช็อนิง

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Lygodium microphyllum* (Cav.) R. Br.

ชื่อวงศ์ Schizaeaceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

พืชพวกเฟิน ลำต้นเรียวเล็กเลื้อยพันต้นอื่น ใบประกอบ 3 ชั้น ชั้นที่ 2 เรียงตัวตรงข้ามกัน แต่ละก้านห่างกัน 5-7 เซนติเมตร ก้านยาว 4-5 เซนติเมตร ใบย่อยเรียงตัวสลับกัน แต่ละก้านมีใบย่อย 4-5 คู่ รูปไข่ขนาด 1 x 1.5-2 เซนติเมตร ใบย่อยที่สร้างสปอร์ ขอบใบแยกเป็นแฉก ๆ คล้ายนิ้วมือ ด้านล่างของแต่ละแฉกสร้างอับสปอร์เรียงตัว 2 ชั้น ใบย่อยที่ไม่สร้างสปอร์ปลายมนหรือหยักเว้า ขอบใบเรียบ ฐานใบปานตรง การกระจายพันธุ์ พบทุกภาคทั่วประเทศไทย เขตร้อนชื้นในเอเชียและแอฟริกา

8. ชื่อ มะม่วงหิมพานต์

ชื่ออื่น กะแตแก (มลายู-นราธิวาส) กายี (ตรัง) ตำหยาว ทัยล่อ ส้มม่วงชูหน่วย (ภาคใต้) นายอ (มลายู-ยะลา) มะม่วงกาสอ (อุตรดิตถ์) มะม่วงกุลา มะม่วงลังกา มะม่วงสินทน มะม่วงหยอด (ภาคเหนือ) มะม่วงทูนหน่วย ส้มม่วงทูนหน่วย (สุราษฎร์ธานี) มะม่วงยางหุย มะม่วงเลือดล่อ (ระนอง) มะม่วงไม่รู้หาว มะม่วงหิมพานต์ (ภาคกลาง) มะม่วงสีโท (เชียงใหม่) มะโ (เงี้ยว-แม่ฮ่องสอน) ยาโงย ยาร่วง (ปัตตานี)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Anacardium occidentale* L.

ชื่อวงศ์ Anacardiaceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้ยืนต้นขนาดกลาง สูงประมาณ 5-7 เมตร ใบเดี่ยว สีเขียวเข้ม ออกสลับกัน รูปไข่กลับ โคนใบสอบ ปลายใบมนปาน กว้าง 6-12 ซม. ยาว 7.5-18 ซม. ดอกออกเป็นช่อบริเวณปลายกิ่ง สีแดงอมม่วงหรือสีครีม กลิ่นหอมเอียน ช่อดอกยาว 12-19 ซม. ดอกย่อยมีขนาดผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 ซม. กลีบดอก 5 กลีบ เกสรเพศผู้ 8-10 อัน มีหนึ่งอันที่ยาวกว่าอันอื่น ผลแข็งคล้ายรูปไต ฐานรองดอกเมื่อแก่จะขยายขนาดใหญ่ คล้ายผลชมพู สีเหลือง หรือแดง มี 1 เมล็ด ติดอยู่ที่ส่วนปลายรูปไต ยาว 2.5-3 ซม. สีนํ้าตาลอมเทา

การกระจายพันธุ์ เป็นพืชปลูก พบมากทางภาคใต้ ปัจจุบันปลูกได้ทุกภาค

9. ชื่อ ตีนนก

ชื่ออื่น กาสามปึก กะพุน ตะพุน กานน สมอกานน ไข่เนา โคนสมอ ตะพุน ตะพุนทอง ตะพุ่ม สะพุนทอง นน สมอตีนเป็ด สมอตีนนก นนเด็น เน่า สมอบ่วง สมอป่า สมอหิน สวองหิน ลือแม

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Vitex pinnata* L.

ชื่อวงศ์ Lamiaceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้ยืนต้นขนาดเล็ก สูงประมาณ 3-5 เมตร เปลือกสีน้ำตาล กิ่งอ่อนทรงสี่เหลี่ยม มีขนปกคลุม ใบประกอบ มี 3 ใบย่อย ใบกลางใหญ่สุด รูปไข่แกมรูปรี ขนาด 3-5 x 8-12 เซนติเมตร มีขนปกคลุมทั้ง 2 ด้าน เส้นใบมี 14-16 คู่ เส้นใบด้านล่างเด่นชัดมากกว่าด้านบน ปลายใบเรียวแหลม ขอบใบเรียบ ฐานใบมน หรือแหลม ดอกออกเป็นช่อบริเวณปลายกิ่ง แต่ละดอกมีใบประดับรองรับ 1 คู่ ขนาด 1 x 2 มิลลิเมตร มีขนปก

คลุ่ม ก้านดอกย่อยยาวประมาณ 2 มิลลิเมตร กลีบเลี้ยงเชื่อมติดกันเป็นรูปถ้วย ปลายหยักเว้าเป็น 4 แฉก เล็กน้อย ด้านนอกมีขนปกคลุม กลีบดอกเป็นหลอด ยาว 6 มิลลิเมตร ปลายแยกเป็น 5 แฉก แต่ละแฉกยาว 4 มิลลิเมตร ด้านนอกมีขนปกคลุม เกสรเพศผู้มี 4 อัน ติดอยู่บริเวณโคนกลีบดอก ก้านเกสรเพศผู้ยาวประมาณ 1 เซนติเมตร เกสรเพศเมียมี 1 อัน ยอดเกสรเพศเมียแยกเป็น 2 แฉก ผลกลม สีดำ เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 7 มิลลิเมตร

การกระจายพันธุ์ อินเดีย พม่า มาเลเซีย

10. ชื่อ หวายลิง
ชื่ออื่น หวายเียบจาก หวายลี
ชื่อวิทยาศาสตร์ *Flagellaria indica* L.
ชื่อวงศ์ Flagellariaceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้เลื้อย ยาวประมาณ 5-6 เมตร ลำต้นกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3 มิลลิเมตร ผิวเรียบ ใบเดี่ยว เรียงตัวตรงข้ามกัน ใบรูปแถบ ขนาด 0.8-1 x 8-15 เซนติเมตร ปลายใบเปลี่ยนแปลงเป็นมือเกาะช่วยพยุงลำต้น ขอบใบเรียบ ฐานใบกลม แผ่นใบเรียบ ก้านใบยาวประมาณ 2 มิลลิเมตร กาบใบห่อหุ้มลำต้นยาวประมาณ 2 เซนติเมตร ผลออกบริเวณปลายยอด เป็นช่อแยกแขนง ทรงกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 มิลลิเมตร ปลายผลเป็นติ่งแหลม ผลสุกสีแดง

การกระจายพันธุ์ ไทย มาเลเซีย อินโดจีน ออสเตรเลีย ศรีลังกา

11. ชื่อ เข็มป่า
ชื่ออื่น เข็มแดง
ชื่อวิทยาศาสตร์ *Ixora javanica* (Blume) DC.
ชื่อวงศ์ Rubiaceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่ม สูง 1-2 เมตร ใบเดี่ยว เรียงตัวตรงข้ามกัน รูปรี ขนาด 2-8 x 3-11 เซนติเมตร ปลายใบแหลม ขอบใบเรียบ ฐานใบแหลม เส้นใบ 9-11 คู่ ก้านใบยาวประมาณ 0.7 เซนติเมตร ดอกออกเป็นช่อบริเวณปลายกิ่ง ก้านดอกย่อยยาวประมาณ 0.2 เซนติเมตร กลีบเลี้ยงเป็นหลอดยาวประมาณ 0.2 เซนติเมตร ส่วนปลายแยกเป็น 4 แฉก กลีบดอกมีสีเหลืองถึงสีส้ม เป็นหลอดยาวประมาณ 3 เซนติเมตร ส่วนปลายแยกเป็น 4 แฉก เกสรเพศผู้มี 4 อัน ติดบนกลีบดอก ยอดเกสรเพศเมียส่วนปลายแยกเป็น 2 แฉก

การกระจายพันธุ์ มาเลเซีย ไทย

12. ชื่อ มะเดื่อปล้อง
ชื่ออื่น เตื่อป่อง (นครราชสีมา กรุงเทพมหานคร) เตื่อปล้อง (นครศรีธรรมราช สระบุรี ภาคเหนือ)
เตื่อสาย (เชียงใหม่) ตะเอน่า เอาแห่น (แม่ฮ่องสอน)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Ficus hispida* L.f.

ชื่อวงศ์ Moraceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่มหรือไม้ยืนต้นขนาดเล็ก สูง 3-5 เมตร ลำต้นเป็นข้อปล้อง กลวง มีร่องรอยใบร่วงชัดเจน เปลือกสีน้ำตาล มีขนสากมือ มียางขาว ใบเดี่ยวเรียงตัวตรงข้ามกัน แผ่นใบหนา รูปขอบขนาน หรือรูปรี ขนาด 9-11 x 20-22 เซนติเมตร ปลายใบเรียวแหลม ขอบใบหยัก ฐานใบกลม เส้นใบ 5-6 คู่ เติบโตทั้ง 2 ด้าน ผิวใบมี

ขนสากรมือทั้ง 2 ด้าน โดยเฉพาะด้านล่างหนาแน่นกว่า ก้านใบยาว 1-2 เซนติเมตร ผลออกบริเวณลำต้น รูปไข่กลับ ขนาด 1-1.5 x 1.5-2 เซนติเมตร ผิวมีขนสากรมือ ก้านผลยาวประมาณ 1 เซนติเมตร
การกระจายพันธุ์ ไทย จีน อินเดีย มาเลเซีย ออสเตรเลีย

13. ชื่อ ส้านใหญ่

ชื่ออื่น ตีครือเหมาะ(กะเหรี่ยงแดง) ลำส้าน(ลัวะ) ไม้ส้านหลวง(ไทใหญ่) เปี้ยวกับ(เมี่ยน) - สมปรุ ลำนกวาง ส้านท่า ส้านใหญ่ ส้านป่า (เชียงใหม่) แส้น (นครศรีธรรมราช ตรัง)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Dillenia obovata* (Blume) Hoogl.

ชื่อวงศ์ Dilleniaceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้ยืนต้น สูงประมาณ 5-10 เมตร มักออกดอกก่อนเริ่มผลิใบใหม่ ใบอ่อนมีสีม่วงแกมชมพู ใบรูปไข่กลับ ขนาด 10 x 30 เซนติเมตร ปลายใบกลม ขอบใบเรียบ ฐานใบสอบเรียวแหลม แผ่นใบหนา เส้นใบประมาณ 32 เส้น เด่นชัดมาก โดยเฉพาะบริเวณหลังใบ ก้านใบยาว 3-4 เซนติเมตร ดอกเดี่ยว ออกบริเวณปลายกิ่ง ก้านดอกย่อยยาวประมาณ 3 เซนติเมตร กลีบเลี้ยงมี 5 กลีบ รูปไข่ ขนาด 1.5 x 3 เซนติเมตร ด้านนอกมีขนปกคลุม กลีบดอกสีเหลือง มี 5 กลีบ รูปช้อน กลีบบางใส หลุดร่วงง่าย ขนาด 3 x 5 เซนติเมตร เกสรเพศผู้มีจำนวนมาก ก้านชูอับเรณูยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร ก้านชูเกสรเพศเมียยาวเกือบ 2 เท่าของก้านชูอับเรณู

การกระจายพันธุ์ พบบริเวณป่าเปิด หรือพื้นที่โล่งแจ้งไทย (นครราชสีมา จันทบุรี ตรวต กาญจนบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร ระนอง สุราษฎร์ธานี พังงา ภูเก็ต สงขลา สตูล ปัตตานี) พม่า อินโดนีเซีย มาเลเซีย สุมาตรา ซวา

14. ชื่อ ราม

ชื่ออื่น รามใหญ่ พุรงกาสา รังพิสา

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Ardisia cf. elliptica* Thunb

ชื่อวงศ์ Myrsinaceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่มสูงประมาณ 2-3 เมตร ใบเดี่ยว เรียงตัวตรงข้ามกัน รูปไข่กลับ หรือรูปรีแกมรูปไข่กลับ ขนาด 4-5.5 x 9-11 เซนติเมตร ปลายใบมนหรือแหลม ขอบใบเรียบ ฐานใบสอบ แผ่นใบหนา แห้งแล้วมีสีน้ำตาล ผิวใบเกลี้ยง เส้นใบมี 14-16 เส้น ไม่ชัดเจน ก้านใบยาว 0.6-0.8 เซนติเมตร ผลเป็นช่อแบบซี่ร่ม ก้านช่อผลยาวประมาณ 2.5 เซนติเมตร ก้านผลย่อยยาวประมาณ 1 เซนติเมตร แต่ละช่อมีประมาณ 6-8 ผล กลีบเลี้ยงเชื่อมติดกันที่ฐาน ส่วนปลายแยกเป็น 5 แฉก ปลายแฉกกลมมน มีขน และจุดสีดำ ผลกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5 เซนติเมตร ผิวมีจุดสีดำหนาแน่น ปลายผลเป็นติ่งแหลม

การกระจายพันธุ์ ไทย ตอนใต้ของอินเดีย กัมพูชา มาเลเซีย อินโดนีเซีย

15. ชื่อ ทุ่งฟ้า

ชื่ออื่น กระทุ่งฟ้าให้ ทุ่งฟ้าไก่ (ชุมพร) ดินเทียน (สงขลา) ทุ่งฟ้า (ภาคใต้)

พวมพร้าว (ปัตตานี)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Alstonia macrophylla* Wall. ex G. Don. Share.

ชื่อวงศ์ Apocynaceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

เป็นไม้ยืนต้น สูงประมาณ 10-15 เมตร มียางสีขาวขุ่นทุกส่วนของต้น ใบเดี่ยว เรียงตัวแบบเป็นวงรอบข้อ 3-4 ใบ รูปหอกกลับ ขนาด 8-9 x 23-27 เซนติเมตร ฐานใบรูปลิ้ม ขอบใบเรียบ ปลายใบมีติ่งแหลม เส้นใบแบบร่างแห 20-25 คู่ แผ่นใบบนมัน แผ่นใบล่างมีขนสั้นนุ่ม ก้านใบยาว 1-2 เซนติเมตร ดอกสีขาว ออกเป็นช่อแขนงบริเวณปลายกิ่ง ดอกเป็นหลอด ปลายแยก 5 แฉก เกสรเพศผู้ 5 อัน ผลเป็นฝัก เรียวยาว ออกเป็นคู่ ยาวประมาณ 25-30 เซนติเมตร เมื่อแก่แตกออก 2 ซีก เมล็ดมีปีกบางใส

การกระจายพันธุ์ อินเดีย เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ นิวกีนิ และประเทศไทย

16. ชื่อ เชียงพรัานางแอ
ชื่ออื่น สีพันนางแอ (เหนือ) นกข่อ สัมปออง (เชียงใหม่) บงคต (พร) โองนัง (อุตรดิตถ์) แก๊ก วงคต องคต (ลำปาง) แคนแห้ง ต่อไส้ สันพรัานางแอ (กลาง) ร่มคมขวาน (กรุงเทพมหานคร) ชิงพรั้า (ตราด ประจวบคีรีขันธ์) บงม้ง (ปราจีนบุรี อุตรดิตถ์) ม่วงม้ง หมักม้ง (ปราจีนบุรี) สีพัน (ใต้) เชียงพรัานางแอ (ชุมพร)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Carallia brachiata* (Lour.) Merr.

ชื่อวงศ์ Rhizophoraceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้ยืนต้น สูง 5-7 เมตร เปลือกเรียบ สีเทา ใบเดี่ยวเรียงตัวตรงข้ามกัน แผ่นใบหนา ใบรูปไข่กลับ หรือรูปรี ขนาด 3-7 x 7-15 เซนติเมตร ปลายใบแหลม ขอบใบหยักเป็นซี่เล็ก ๆ เล็กน้อย ฐานใบแหลม เส้นใบ 12-14 คู่ มีจุดสีดำกระจายทั่วทั้งแผ่นใบ เส้นกลางใบนูนเด่นสีเหลือง แผ่นใบด้านบนเป็นมันวาว ก้านใบยาว 1 เซนติเมตร หูใบพบบริเวณใบอ่อน รูปแถบ ปลายแหลม ยาว 0.5-1.5 เซนติเมตร ดอกออกเป็นช่อกระจุกขนาดเล็ก มีน้ำยางสีเหลืองเคลือบ แต่ละช่อมีดอกย่อยประมาณ 2-4 ดอก ก้านดอกย่อยสั้นมาก กลีบเลี้ยงมี 6 กลีบ ยาวประมาณ 2 มิลลิเมตร กลีบดอกลักษณะบางใส มี 6 กลีบ ยาว 1.5 มิลลิเมตร เกสรเพศผู้มี 12 อัน แบ่งเป็น 2 วง ๆ ละ 6 อัน ก้านเกสรเพศผู้ยาว 1.5 มิลลิเมตร เกสรเพศเมียมี 1 อัน ก้านเกสรเพศเมียยาว 1 มิลลิเมตร ยอดเกสรเพศเมียแผ่กว้าง มี 4-6 พู

การกระจายพันธุ์ มาเลเซีย ในไทยพบทั่วไปตามป่าเบญจพรรณ ป่าดิบแล้ง ป่าพรุน้ำจืด และป่าดิบชื้น

17. ชื่อ มะลิป่า

ชื่ออื่น มะลิวัลย์ มะลิป่า มะลิวัน

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Jasminum elongatum* (Bergius) Willd.

ชื่อวงศ์ Oleaceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้เลื้อย เถาเรียวเล็ก กิ่งอ่อนมีขนปกคลุม ใบเดี่ยว เรียงตัวตรงข้ามกัน รูปไข่ ขนาด 3-4 x 8-10 เซนติเมตร ปลายใบเรียวแหลมเป็นหาง ขอบใบเรียบ ฐานใบกลม เส้นใบ 3-4 คู่ มองเห็นชัดเจนเพียง 2 คู่ เส้นใบเชื่อมต่อกันก่อนถึงขอบใบ ผิวใบเกลี้ยง ก้านใบยาว 1 เซนติเมตร ดอกออกเป็นช่อบริเวณซอกใบ แต่ละช่อมีประมาณ 5 ดอกย่อย มีขนขนาดเล็กสีขาวกระจายห่าง ๆ ช่อดอกมีใบประดับรูปแถบรองรับ ยาวประมาณ 0.3 เซนติเมตร ก้านช่อดอกยาวประมาณ 1.5 - 3 เซนติเมตร ก้านดอกย่อยยาวประมาณ 0.5-1.2 เซนติเมตร กลีบเลี้ยงส่วนฐานเชื่อมติดกันเป็นหลอด ส่วนปลายแยกเป็น 5 แฉก มีขนปกคลุม กลีบดอกสีขาว ส่วนฐานเชื่อมติดกันเป็นหลอด ยาวประมาณ 1.3 เซนติเมตร ส่วนปลายแยกเป็น 6 แฉก

การกระจายพันธุ์ ไทย (นครราชสีมา ระนอง ชุมพร พังงา ปัตตานี) มาเลเซีย

18. ชื่อ กะดังบาย
 ชื่ออื่น คณะนางใบ บังบายต้นข้างเงิน ทองจ้วม ทองด้อม เขืองแข้งม้า กะดัง เขือง บังใบ กะดังใบ
 ชื่อวิทยาศาสตร์ *Leea indica* (Burm.f.) Merr.
 ชื่อวงศ์ Leeaceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่ม สูงประมาณ 1.5-3 ม. ใบประกอบรูปขนนก 1-2 ชั้นปลายคี่ ก้านใบยาว 2-6.5 ซม. ใบย่อยมี 5-9 ใบ เรียงตรงข้าม รูปรีถึงขอบขนาน ปลายใบเรียวแหลม ขอบใบจักฟันเลื่อยซ้อน ฐานใบมน ขนาด 6-25x 2.5-8 ซม. ผิวใบเกลี้ยง ก้านใบยาว 0.5 -1 ซม. เส้นใบ 6-12 คู่ ผลออกเป็นช่อ ผลรูปทรงกลม เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 ซม. มี 5 เมล็ด ผลแก่สีแดงเข้มถึงดำ
 การกระจายพันธุ์ พบทั่วไปตามป่าดิบชื้น

19. ชื่อ มะหาด
 ชื่ออื่น กาแย ขนุนป่า ตาแป ตาแปง มะหาดใบใหญ่ หาดหนูน หาด
 ชื่อวิทยาศาสตร์ *Artocarpus lacucha* Roxb.
 ชื่อวงศ์ Moraceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้ยืนต้นสูง 5-10 เมตร เปลือกอ่อนเป็นแผ่นสีแดง มีน้ำยางใส กิ่งอ่อนมีขนปกคลุม ใบเดี่ยว เรียงตัวตรงข้ามกัน รูปไข่กลับ หรือรูปขอบขนานแกมรูปรี ขนาด 5-9 x 9-20 เซนติเมตร ปลายใบเป็นติ่งแหลม ขอบใบเรียบหรือหยักเล็กน้อย ฐานใบแหลม เส้นใบ 8-12 คู่ เส้นใบด้านล่างเด่นชัดมากกว่าด้านบน แผ่นใบหนา ใบอ่อนมีขนปกคลุมทั้ง 2 ด้าน ก้านใบยาว 0.8 -1 เซนติเมตร ผลกลม ขนาด 1.2-1.5 x 1.5 - 2.5 เซนติเมตร ผิวสากมือ ผลสุกสีส้ม เนื้อผลนุ่ม ฉ่ำน้ำ
 การกระจายพันธุ์ มาเลเซีย สิงคโปร์ อินเดีย

20. ชื่อ พะยอม
 ชื่ออื่น กะยอม ขะยอม พะยอมแดง แคน พะยอมทอง ยางหยวก
 ชื่อวิทยาศาสตร์ *Shorea roxburghii* G. Don.
 ชื่อวงศ์ Dipterocarpaceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้ต้นขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ สูง 15-30 เมตร กิ่งอ่อนเกลี้ยง เรือนยอดเป็นพุ่มแคบๆ เปลือกหนา สีน้ำตาลหรือเทา เป็นสะเก็ดหนาและแตกเป็นร่องตามยาว ใบเดี่ยว รูปขอบขนาน ขนาด 3.5-4 x 8-10 เซนติเมตร โคนใบมน ปลายใบมน หรือหยัก ขอบใบเป็นคลื่น ผิวใบเกลี้ยงเป็นมัน เส้นใบย่อย 15-20 คู่ ก้านใบยาว 2-2.5 เซนติเมตร ดอก ออกเป็นช่อบริเวณปลายกิ่ง สีขาวนวล กลิ่นหอม กลีบเลี้ยง มี 5 กลีบ เรียงบิดเวียน เกสรเพศผู้มี 15 อัน ผล รูปกระสวย มีปีกสั้น 2 ปีก ยาวประมาณ 2 เซนติเมตร ปีกยาว 3 ปีก ยาวประมาณ 8 เซนติเมตร
 การกระจายพันธุ์ ขึ้นตามป่าเบญจพรรณแล้ง และป่าดิบแล้งทั่วไป

2. การตรวจสอบพันธุกรรมโดยเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิด AFLP

รายชื่อตัวอย่าง

- 1) ท้าวยายม่อม
- 2) นกนอน
- 3) กาฝากมะม่วง
- 4) ตั้ว
- 5) ตาเปิดตาไก่
- 6) กระจูดไก่ป่า
- 7) ลิมาয়่ง
- 8) มะม่วงหิมพานต์
- 9) ตีนนก
- 10) หวายลิง

การสกัดดีเอ็นเอ

สกัดดีเอ็นเอโดย ดัดแปลงจากวิธีการของ doyle and dolye (1987) ซึ่งใช้ 2% CTAB เป็นส่วนประกอบใน exaction buffer

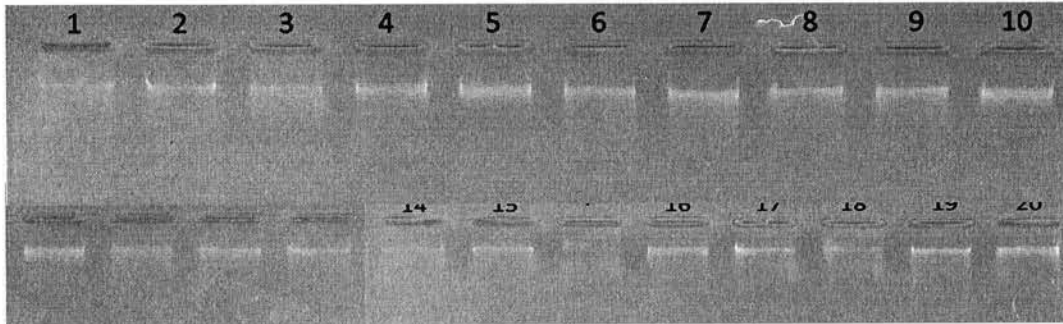
1. ตัดใบตัวอย่างให้เป็นชิ้นเล็กๆ ใส่ลงในหลอดขนาด 1.5 ml ประมาณครึ่งหลอด เติม 2% CTAB buffer 700 ไมโครลิตร บดใบข้าวให้ละเอียดโดยใช้เม็คบีดส์ประมาณ 2 นาที
2. นำหลอดใสในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ที่ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
3. เติม chloroform: isoamyl (24: 1) 700 ไมโครลิตร แล้วพลิกหลอดไปมาเบาๆ ประมาณ 200 ครั้ง
4. ปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที
5. ดูดส่วนใสด้านบน 400 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดใหม่
6. เติม isopropanol เย็นจัด 400 ไมโครลิตร พลิกหลอดไปมาเบาๆ
7. ปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที แล้วเทส่วนใสทิ้งให้เหลือแต่ตะกอนดีเอ็นเอ
8. ล้างดีเอ็นเอด้วย เอทานอล 70% 500 ไมโครลิตร
9. ปั่นเหวี่ยง ที่ 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที แล้วเทส่วนใสทิ้งให้เหลือแต่ตะกอนดีเอ็นเอ
10. ทำขั้นตอนที่ 8 และ 9 ซ้ำอีกครั้ง
11. ตากตะกอนดีเอ็นเอที่อุณหภูมิห้องประมาณ 1 ชั่วโมง ให้ดีเอ็นเอแห้ง
12. เติม 1X TE buffer 100 ไมโครลิตร แล้วแช่ตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส ไว้ค้างคืนเพื่อให้ดีเอ็นเอละลายใน 1X TE buffer ให้หมด

การตรวจสอบและปรับความเข้มข้นของดีเอ็นเอที่สกัดได้

ตรวจสอบความเข้มข้นของดีเอ็นเอ โดยเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน (lamda DNA) ด้วยวิธี gel electrophoresis โดยใช้อะกาโรสเจลความเข้มข้น 1% ใน 1X TBE Buffer ใช้กระแสไฟฟ้าที่ความต่างศักย์ 100 โวลต์ 30 นาที วิธีการตรวจสอบใช้ staining dye ผสมกับ ดีเอ็นเอในอัตราส่วน 4:1 โหลดลงในเจล และตรวจสอบแถบดีเอ็นเอผ่านหลอดฟลูออเรสเซนซ์จากเครื่องถ่ายภาพเจล จากนั้นหาความเข้มข้นของดีเอ็นเอตัวอย่างโดยเทียบความสว่างกับแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน ปรับความเข้มข้นของดีเอ็นเอโดยเจือจางด้วยน้ำ

(dH₂O) ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 25 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อรักษาสภาพของดีเอ็นเอ

ผลการสกัดดีเอ็นเอ



ประเมินความเข้มข้นของดีเอ็นเอตัวอย่างโดยเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน หรือแลมด้าดีเอ็นเอ

ตัวอย่างที่ 1 ทำยายม่อม	ความเข้มข้น	80	ng/μl
ตัวอย่างที่ 2 นกนอน	„	100	ng/μl
ตัวอย่างที่ 3 กาฝาก	„	80	ng/μl
ตัวอย่างที่ 4 แด้ว	„	100	ng/μl
ตัวอย่างที่ 5 ตาเบ็ดตาไก่	„	100	ng/μl
ตัวอย่างที่ 6 กระดุกไก่ป่า	„	80	ng/μl
ตัวอย่างที่ 7 ลิ้ม	„	80	ng/μl
ตัวอย่างที่ 8 มะม่วงหิมพาน	„	100	ng/μl
ตัวอย่างที่ 9 ดินน้ำ	„	100	ng/μl
ตัวอย่างที่ 10 หวายลิง	„	100	ng/μl

การตรวจสอบจีโนมไทป์โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอชนิด AFLP

การตรวจสอบจีโนมไทป์โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอชนิด AFLP มี 4 ขั้นตอนดังนี้

1. ขั้นตอน digestion คือการตัด genomic DNA ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ 2 ชนิด ได้แก่ เอนไซม์ตัดจำเพาะที่เป็น rare cutter คือ *EcoRI* ที่มีตำแหน่งจดจำขนาด 6 คู่เบส (G/AATTC) และเอนไซม์ตัดจำเพาะที่เป็น frequent cutter คือ *MseI* ที่มีตำแหน่งจดจำขนาด 4 คู่เบส (T/TAA) จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง

ตารางที่ 1 องค์ประกอบและปริมาตรสารที่ใช้ในปฏิกิริยาการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ

สารที่ใช้ในปฏิกิริยา	ความเข้มข้นที่ใช้	ปริมาตรที่ใช้ (μl)
DNA (25 ng/μl)	250 ng	10
NBE buffer 4 (10X)	1X	4
<i>EcoRI</i> (20 U/μl)	0.25 U	0.125
<i>MseI</i> (10 U/μl)	0.25 U	0.25
dH ₂ O	-	25.625
รวม	-	40

2. ขั้นตอน ligation คือการต่อเชื่อมชิ้นดีเอ็นเอกับ adapter โดยใช้เอนไซม์ T4 ligase นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 16 ชั่วโมง โดย adapter จะมีลำดับเบสที่จำเพาะกับลำดับเบสจากรอยตัดของเอนไซม์ตัดจำเพาะทั้ง 2 ชนิดคือ

<i>EcoRI</i> adapter	5'-CTCGTAGACTGCGTACC-3' 3'-AATTGGTACGCAGTCTAC-5'
<i>MseI</i> adapter	5'-GACGATGAGTCCTGAG-3' 3'-TACTCAGGACTCAT-5'

ตารางที่ 2 องค์ประกอบและปริมาตรสารที่ใช้ในปฏิกิริยาการต่อย adapter

สารที่ใช้ในปฏิกิริยา	ความเข้มข้นที่ใช้	ปริมาตรที่ใช้ (μl)
NBE buffer 4 (10X)	1 X	1
<i>EcoRI</i> adapter (5 μM)	0.5 μM	1
<i>MseI</i> adapter (50 μM)	5 μM	1
ATP (10 mM)	0.1 mM	0.1
T4 ligase enzyme (5 U/μl)	1 U	0.2
dH ₂ O	-	6.7
รวม	-	10

3. ขั้นตอน pre-amplification คือการเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR ครั้งที่ 1 โดยใช้ไพรเมอร์ที่เพิ่มนิวคลีโอไทด์ 1 ตัวที่ปลาย 3'

ตารางที่ 3 องค์ประกอบและปริมาตรสารที่ใช้ในปฏิกิริยาการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอครั้งที่ 1

สารที่ใช้ในปฏิกิริยา	ความเข้มข้นที่ใช้	ปริมาตรที่ใช้ (μl)
Digest and ligase product dilution	-	2.5
Taq buffer (10X)	1 X	2.5
MgCl ₂ (25 mM)	1.5 mM	1.5
dNTPs (1 mM)	0.2 mM	5
<i>EcoRI</i> 1 selective base primer (5 μM)	0.2 μM	1
<i>MseI</i> 1 selective base primer (5 μM)	0.2 μM	1
Taq polymerase enzyme (5U/μl)	1 U	0.2
dH ₂ O	-	11.3
รวม	-	25

ตารางที่ 4 ปฏิบัติการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอครั้งที่ 1

ขั้นตอน	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา	
Denature	94	30 วินาที	} 20 รอบ
Annealing	56	1 นาที	
Extension	72	1 นาที	
Final extension	72	5 นาที	

4. ขั้นตอน amplification คือการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR ครั้งที่ 2 โดยใช้ไพรเมอร์ที่เพิ่มนิวคลีโอไทด์ 3 ตัว ที่ปลาย 3' ของไพรเมอร์

ตารางที่ 5 องค์ประกอบและปริมาตรสารที่ใช้ในปฏิบัติการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอครั้งที่ 2

สารที่ใช้ในปฏิกิริยา	ความเข้มข้นที่ใช้	ปริมาตรที่ใช้ (μl)
PCR1 product dilution	-	5
Taq buffer (10X)	1 X	2
MgCl ₂ (25 mM)	1.5 mM	1.2
dNTPs (1 mM)	0.2 mM	4
<i>EcoRI</i> 3 selective base primer (5 μM)	0.25 μM	1
<i>MseI</i> 3 selective base primer (5 μM)	0.25 μM	1
Taq polymerase enzyme (5U/μl)	0.5 U	0.1
dH ₂ O	-	5.7
รวม		20

ตารางที่ 6 ปฏิบัติการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอครั้งที่ 2

ขั้นตอน	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา	
Denature	94	30 วินาที	} 30 รอบ
Annealing	65 – 57 (-0.7 องศา/รอบ)	1 นาที	
Extension	72	1 นาที	
Denature	94	30 วินาที	
Annealing	56	30 วินาที	
Extension	72	1 นาที	

วิเคราะห์ผลจากการทำปฏิกิริยา PCR

การตรวจสอบขนาดของดีเอ็นเอด้วยวิธี Polyacrylamide Gel Electrophoresis (PAGE)

ดีเอ็นเอที่เกิดจากปฏิกิริยา PCR จะไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ ดังนั้นเพื่อตรวจหาดีเอ็นเอ ผลผลิตจะต้องนำตัวอย่างที่ทำ PCR มาแยกหาดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิคที่เรียกว่า polyacrylamide gel

electrophoresis ซึ่งเป็นวิธีที่มีความสามารถในการแยกดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างของเบสเพียง 1 เบสได้ โดยใช้ polyacrylamide gel เป็นตัวกลาง มีขั้นตอนดังนี้

1. เตรียมชุด polyacrylamide gel electrophoresis โดยการแช่ chamber ด้วย 95% ethanol 3 ครั้ง เพื่อทำความสะอาด ตามด้วย clear view เพื่อป้องกันเจลเกาะติดกับ chamber ตามด้วย ethanol 95 เปอร์เซ็นต์ อีก 2 ครั้ง เพื่อเกลี่ยสารให้ทั่ว และแช่กระจกด้วย ethanol 95 เปอร์เซ็นต์ 3 ครั้ง เพื่อทำความสะอาด ตามด้วยสารผสม (0.5 Acetic acid + ethanol 95 เปอร์เซ็นต์) : bind silane ในอัตราส่วน 1 มิลลิลิตร : 2 ไมโครลิตร แบ่งครึ่งแช่ 2 ครั้ง ตามด้วย ethanol 95 เปอร์เซ็นต์ อีก 2 ครั้ง หลังจากนั้นนำ chamber และกระจกมาประกอบเข้าชุดโดยวาง spacer ไว้ตรงขอบทั้งสองข้างของ chamber ก่อนที่จะวางกระจกทับเพื่อให้เกิดช่องว่างระหว่าง chamber กับกระจก แล้ววางกระจกโดยหันด้านที่แช่ดีเอ็นเอ chamber ใช้ clipหนีบกระจกทั้งสองแผ่นให้ติดกัน

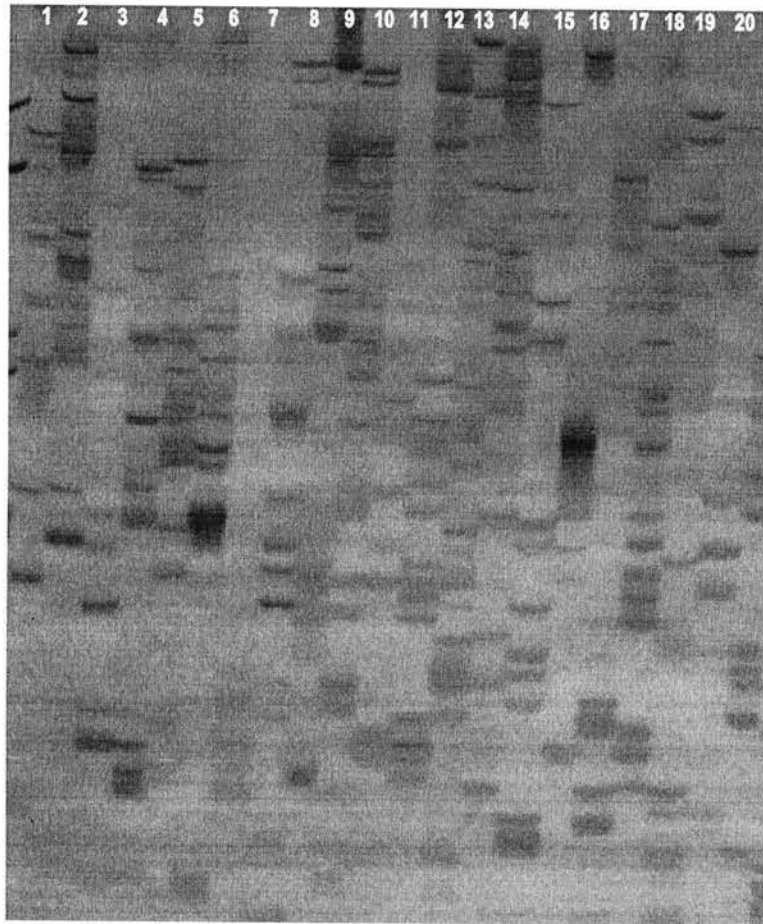
เตรียมเจลโดยมีส่วนประกอบคือ 6 เปอร์เซ็นต์ acrylamide gel 50 ml, 10 เปอร์เซ็นต์ APS 300 ไมโครลิตร และ TEMED 100 ไมโครลิตร เทเจลที่ผสมเรียบร้อยแล้วลงในช่องระหว่างกระจกทั้งสองแผ่นจนเต็ม แล้วเสียบหัวด้านที่ไม่มีซีลแหลมลงไปด้านบน ตั้งทิ้งไว้รอให้เจลเซตตัวประมาณ 2 ชั่วโมง

2. การตรวจสอบขนาดของดีเอ็นเอ มีขั้นตอนดังนี้ เมื่อเจลเซตตัวดีแล้ว ใช้น้ำล้างกระจกด้านนอกให้สะอาด ประกอบกระจก เข้ากับตัวฐาน เท 1x TBE buffer ส่วนของกระจกก่อน โดยเทให้ท่วมขอบ gel ส่วนที่เหลือให้เทที่ฐานเพื่อเป็นสะพานกระแสไฟฟ้า จากนั้นดึงหัวออก ต่อสายไฟเข้ากับเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า pre-run โดยใช้กำลังไฟที่ 100 วัตต์ 30 นาที เมื่อครบเวลาปิดเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า เสียบหัวโดยให้ด้านแหลมปักลงเจล หยอดตัวอย่าง PCR product 4 ไมโครลิตร ลงในช่องแต่ละช่องจนครบ โดยเว้นช่องแรกไว้เพื่อหยอด DNA marker เปิดเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้าใช้กำลังไฟที่ 45 วัตต์ ประมาณ 15 นาที ดึงหัวออกแล้ว run ต่อประมาณ 1 ชั่วโมง 30 นาที หรือจนกระทั่งแถบสีของ dye ถึง 15 เซนติเมตรจากช่องหยอดเริ่มต้น จากนั้นปิดเครื่องแล้วเท buffer ออกนำกระจกออกจากเครื่อง แยกกระจกออกจาก chamber นำเจลที่ได้ไปย้อมเพื่อตรวจสอบแถบดีเอ็นเอ

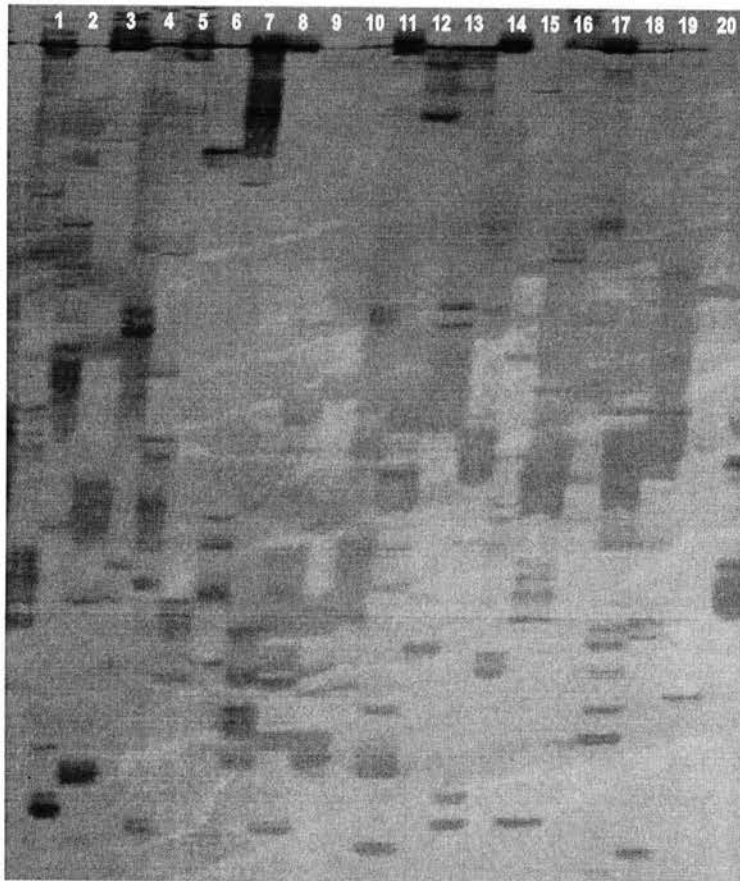
3. ย้อมสีแถบดีเอ็นเอด้วย silver nitrate (AgNO_3) ตามวิธีการของ Benbouza *et al.* (2006) โดยนำกระจกที่มีเจลติดอยู่แช่ในสารละลาย fixer นำไปแช่บนเครื่องเขย่า ทิ้งไว้ 5 นาที เมื่อครบเวลานำกระจกออกมาแช่สารละลาย silver nitrate เขย่าบนเครื่องเขย่า 7 นาที จากนั้นนำกระจกออกมาล้าง silver nitrate ส่วนเกินออก โดยนำกระจกจุ่มลงในน้ำกลั่นแล้วยกกระจกขึ้นทันที ย้ายกระจกมาแช่ในสารละลาย developer เขย่าจนแถบดีเอ็นเอปรากฏ จากนั้นนำออกมาแช่ในสารละลาย fixer อีกประมาณ 1 นาที แล้วนำกระจกล้างน้ำกลั่นโดยเขย่าทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที และผึ่งให้แห้ง

ผลการวิเคราะห์ขนาดของดีเอ็นเอด้วยวิธี Polyacrylamide Gel Electrophoresis (PAGE)

คู่ที่1 ER_GAT/MS_GAG



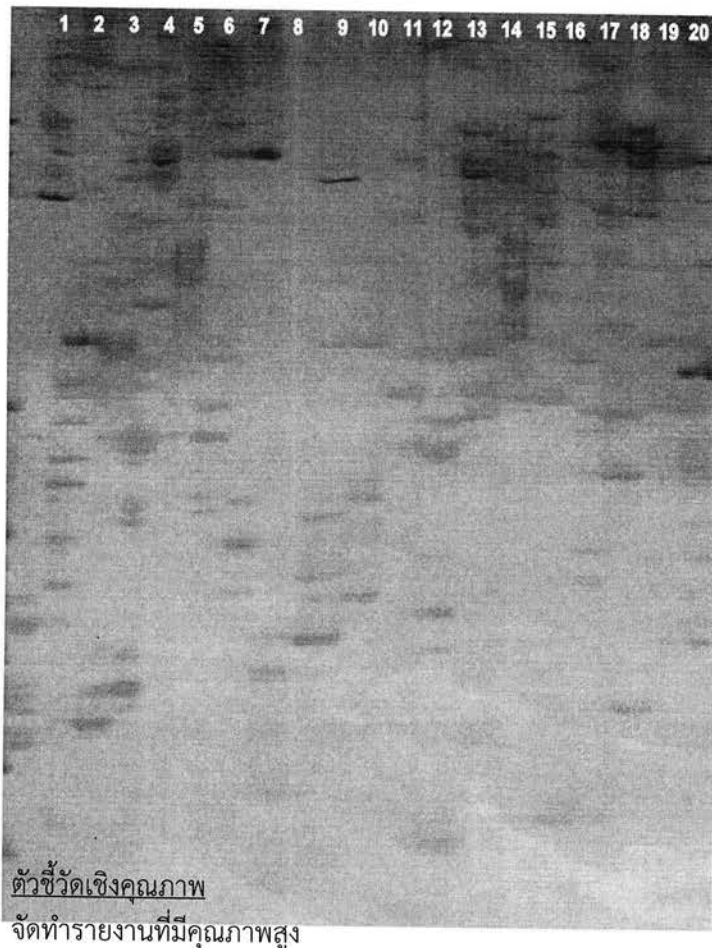
รูปที่ 2 ER_GTAVMS_GCA



ชุดที่ 3 ER_GAG/MS_GTA



คู่มือที่ 4 ER_GCT/MS_GTC



ตัวชี้วัดเชิงคุณภาพ

จัดทำรายงานที่มีคุณภาพสูง

10. สรุปผลการประเมินการดำเนินงานในโครงการ เพื่อนำไปสู่การพัฒนาในปีถัดไป

สำรวจเก็บตัวอย่างพันธุ์กรรมพืชบริเวณชายหาดในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง จำนวน 20 ชนิด นำตัวอย่างพรรณไม้มาตรวจสอบชนิดตามหลักอนุกรมวิธานพืช ตัวอย่างพืชที่ไม่สามารถตรวจสอบชนิดได้ไปเทียบกับตัวอย่างที่มีในพิพิธภัณฑ์พืชมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ (PSU) พร้อมทั้งจัดทำคำบรรยายลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ตัวอย่างพรรณพืชที่ได้ ทำเป็นตัวอย่างแห้ง เก็บรักษาไว้ที่ คณะการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ (PSU) และสถาบันเทคโนโลยีราชมงคล อําเภอสีเกา จังหวัดตรัง

ศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอพันธุ์กรรมพืชท้องถิ่นในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง นำตัวอย่างพืชศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอ โดยเลือกใช้เทคนิค AFLP

ลงชื่อหัวหน้าโครงการ

(ดร.สมรักษ์ รอดเจริญ)

30/กันยายน/2557