# การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของฟักทองไทย 29 สายพันธุ์ ด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ AFLP

# Assessment of Genetic Relationship in 29 Thai pumpkin cultivars using AFLP markers

**อัญมณี อาวุชานนท์[1*] และ ปณาลี ภู่วรกุลชัย[1]**

**Anyamanee Auvuchanon[1*] and Panalee Pooworakulchai[1]**

**บทคัดย่อ**: ฟักทองพันธุ์การค้าของไทยมีจำนวนมากแต่ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของฟักทองเหล่านั้นมีลักษณะใกล้เคียงกันทั้งทรงผล สีผล ลักษณะผิว ซึ่งมาจากความต้องการของผู้บริโภค ดังนั้นจึงทำการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของฟักทองพันธุ์การค้าของไทย และพันธุ์พื้นเมืองบางพันธุ์ ประกอบด้วยฟักทอง 29 พันธุ์ (พันธุ์ผสมเปิด 5 พันธุ์ พันธุ์ลูกผสม 20 พันธุ์) และพันธุ์พื้นเมือง 4 พันธุ์ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป โดยใช้เทคนิค AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphisms) จากไพรเมอร์จำนวน 28 คู่ไพรเมอร์ พบว่ามีเพียง 7 คู่ไพรเมอร์ ที่พบความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอโดยมีทั้งหมด 168 แถบ วิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน Dice Similarity coefficient และจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA (Unweighted pair group method with arithmetic average) พบว่ามีค่าความเหมือนระหว่าง 0.21-0.96 ที่ค่าดัชนีความเหมือนเฉลี่ย 0.81 สามารถจัดกลุ่มฟักทองได้ 2 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยฟักทองจำนวน 23 พันธุ์ ซึ่งเป็นฟักทองพันธุ์การค้าและพันธุ์พื้นเมืองบางพันธุ์ กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยฟักทองเพียง 2 พันธุ์ และมี 4 พันธุ์ที่ไม่สามารถจัดกลุ่มได้ และเมื่อจัดกลุ่มด้วยวิธี Neighbor-joining method บนพื้นฐานของ Nei's (1972) Standard genetic distance (Ds) สามารถจัดฟักทองได้ 3 กลุ่ม และมี 6 พันธุ์ที่ไม่สามารถจัดกลุ่มได้ จากการศึกษาครั้งนี้ ทำให้ทราบว่าฟักทองพันธุ์การค้าของไทยในปัจจุบันมีความใกล้เคียงกันทางพันธุรรมสูง และสามารถคัดเลือกฟักทองได้ 5 พันธุ์ ที่มีความห่างทางพันธุกรรมกับฟักทองส่วนใหญ่ คือ พันธุ์ Tung K-Tone KPS-1 CM-1 และ EP เพื่อใช้สำหรับเป็นพ่อแม่พันธุ์ในการปรับปรุงพันธุ์และสร้างความหลากหลายทางพันธุกรรมของฟักทองไทยต่อไป

**คำสำคัญ**: การปรับปรุงพันธุ์ฟักทอง, ความหลากหลายทางพันธุกรรม, เครื่องหมายโมเลกุล

**ABSTRACT:** There are several commercial pumpkin cultivars that were selected for similar characteristics such as fruit shape, fresh color, and skin type, and skin color. The hypothesis of this experiment was pumpkin cultivars including commercial cultivar and landrace cultivar in Thailand that are similar of genetic base. The objective of the study is to evaluate genetic diversity of 29 pumpkin cultivars including 25 commercial cultivars (five open pollinated cultivars and 20 $F_1$ hybrid cultivars) and four landrace cultivars using Amplified Fragment Length Polymorphisms (AFLP) markers. From 28 AFLP primers, seven primers were able to amplify 168 polymorphic bands. All cultivars were clustered using UPGMA (Unweighted pair group method with arithmetic average) method based on dice similarity coefficient. Dice similarity coefficients are between 0.21 and 0.96 with the average 0.81. Twenty nine pumpkin cultivars were grouped into 2 groups which group 1 included 23 cultivars that were both commercial and landrace cultivars. Group 2 included two cultivars and four cultivars were out group. When Neighbor-joining clustering method based on standard genetic distance was used, 29 pumpkin cultivars were grouped into 3 groups and six pumpkin cultivars were out group. From two clustering methods, Thai commercial pumpkin cultivars currently was similarity genetic base and five pumpkin cultivars that are Tung, K-Tone, KPS-1, CM-1, and EP selected for parent line in pumpkin breeding program.

**Keywords**: pumpkin breeding, genetic diversity, commercial cultivars, Landrace

[1] ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140
Dept. of Horticulture, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University Kamphaeng Saen Campus 73140

[*] Corresponding author: agrana@ku.ac.th

## บทนำ

พืชในสกุล Cucurbita (2n = 2x = 40) ที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจ คือ *C. pepo C. moschata* และ *C. maxima* ฟักทองส่วนใหญ่ที่ปลูกในประเทศไทยคือ *C. moschata* จากข้อมูลของ AVRDC (2007) รายงานว่า มีพื้นที่ปลูกฟักทองในประเทศไทยประมาณ 112,500 ไร่ คิดเป็น 2.3 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ปลูกผักทั้งหมดในประเทศ ความนิยมบริโภคฟักทองมีมากขึ้น เนื่องจากฟักทองมีปริมาณสารเบต้าแคโรทีนสูงซึ่งเป็นประโยชน์ต่อร่างกาย แต่พบว่าฟักทองในตลาดของไทยมี ขนาด รูปร่าง และสีของผล ที่คล้ายคลึงกันเนื่องจากนักปรับปรุงพันธุ์พัฒนาฟักทองให้มีรูปทรงตามความต้องการของตลาด ดังนั้น การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมฟักทองจึงเป็นสิ่งสำคัญของโครงการปรับปรุงพันธุ์ เนื่องจากฟักทองพันธุ์การค้าของไทยมีความใกล้เคียงกันทางสัณฐานวิทยา ซึ่งอาจเกี่ยวเนื่องจากการใช้เชื้อพันธุกรรมที่มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ใกล้เคียงกัน มีฐานพันธุกรรมแคบและไม่มีความหลากหลายของเชื้อพันธุกรรม ดังนั้น จึงมีผลต่อการคัดเลือกพันธุ์ได้ การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมเพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการเลือกใช้เชื้อพันธุกรรม สำหรับโครงการปรับปรุงพันธุ์ฟักทองร่วมกับการใช้เครื่องหมายโมเลกุล ช่วยให้เกิดความแม่นยำในการปรับปรุงพันธุ์มากขึ้น ซึ่งปัจจุบันเครื่องหมายโมเลกุลมีอยู่หลายชนิด Vos et al. (1995) ได้พัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่เรียกว่า Amplified fragment length polymorphism (AFLP) ขึ้นและมีการนำไปประยุกต์ใช้อย่างแพร่หลายโดยเฉพาะอย่างยิ่งการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม เช่น ใน *Cucumis melo* (Garcia et al., 2000) มะพร้าว (Teulat et al., 2000) *Ipomoea batatas* (Zhang et al., 2000) apricot (Hurtada et al., 2002) แตงโม (Levi et al., 2006) ส่วนในพืชกลุ่มฟักทอง Ferriol et al. (2004) ทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *C. moschata* พบว่า ลักษณะทางสัณฐานวิทยาหลักที่ใช้ในการจัดกลุ่มฟักทองได้ชัดเจนในการศึกษา คือ รูปร่างผล น้ำหนักผล ความยาวผล และความยาวเมล็ด ส่วนเครื่องหมายโมเลกุลสองชนิด คือ AFLP และ SRAP (sequence related amplified polymorphism) สามารถแยกกลุ่ม *C. moschata* ตามแหล่งที่มาของพันธุ์คือ อเมริกา อเมริกาใต้ และสเปน อย่างไรก็ตาม ไม่พบความสัมพันธ์ของลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเครื่องหมายโมเลกุลดังกล่าว Gwanama et al. (2000) ใช้เครื่องหมายโมเลกุลชนิด RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) เพื่อศึกษาฐานพันธุกรรมของ *C. moschata* จากอัฟริกากลางตอนใต้ การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอในฟักทองไทยยังมีรายงานไม่มากนัก อีกทั้งพันธุ์ฟักทองของไทยที่เกษตรกรนิยมปลูกเป็นการค้า มีแหล่งที่มาของเมล็ดพันธุ์ทั้งจากพันธุ์พื้นเมืองที่คัดเลือกและเก็บพันธุ์ไว้ใช้โดยเกษตรกรเอง และเมล็ดพันธุ์จากบริษัทผลิตเมล็ดพันธุ์ เชิงการค้าที่มีทั้ง พันธุ์ผสมเปิด และพันธุ์ลูกผสม ซึ่งข้อดีของพันธุ์ลูกผสมคือให้ผลผลิต คุณภาพดี และมีความสม่ำเสมอ แตกต่างจากพันธุ์ผสมเปิด ฟักทองจึงเป็นพืชที่น่าสนใจในการศึกษา เนื่องจากฟักทองในตลาดเป็นจากบริษัทเอกชนต่างๆ ที่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์เพื่อสนองความต้องการของผู้บริโภค รูปทรงฟักทองมีลักษณะคล้ายคลึงกัน ซึ่งแต่ละพันธุ์จากแต่ละบริษัทมีข้อดีและข้อเสียแตกต่างกัน การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมจะช่วยให้ทราบถึงความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของฟักทองพันธุ์การค้าไทยได้ ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อรวบรวมฟักทองพันธุ์การค้า พันธุ์พื้นเมือง มาประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ AFLP ข้อดีของการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ คือ สามารถศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมได้ทั้งยีโนม และไม่มีอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมมาเกี่ยวข้อง เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาใช้ประโยชน์ในการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์เพื่อสร้างความหลากหลายทางพันธุกรรมและปรับปรุงพันธุ์ฟักทองต่อไป

## วิธีการศึกษา

### ตัวอย่างฟักทอง

ฟักทอง 29 สายพันธุ์ ประกอบด้วยฟักทองพันธุ์การค้า 25 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ผสมเปิด 5 พันธุ์ คือ F-A OL K-GD T-A และ NP พันธุ์ลูกผสม 20 พันธุ์ คือ FT-764 EP SC-TA040 Tum-342 TK-443 KT-573 MK-35 Baby BK JD-2003 Tum-346 CP K-019 KK-207 TT-9 LN-052 Khan RC-80 Tung และ TNK พันธุ์พื้นเมือง 4 พันธุ์ คือ K-Tone จากจังหวัดกาญจนบุรี Srisaket จากจังหวัดศรีสะเกษ CM-1 จากจังหวัดเชียงใหม่ และ KPS-1 จากจังหวัดนครปฐม

### การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของฟักทองด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ AFLP

สกัดดีเอ็นเอฟักทองจากใบอ่อน ที่ทำการเพาะในจานแก้ว ด้วยวิธีประยุกต์จากวิธี CTAB ของ Agrawal et al. (1992) วิเคราะห์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค AFLP เริ่มจากการทำ Digestion ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะสองชนิด คือ *Eco*RI และ *Mse*I เชื่อมต่อชิ้น DNA ที่ตัดแล้วด้วย *Eco*RI adapters และ *Mse*I adapters และการทำ Preselective amplification ที่ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที 1 รอบ จากนั้นเพิ่มปริมาณด้วย 94 องศาเซลเซียส 30 วินาที 56 องศาเซลเซียส 1 นาที 72 องศาเซลเซียส 1 นาที จำนวน 20 รอบ จากนั้นทำ Selective amplification โดยมีการใช้ไพรเมอร์ที่มีลำดับเบสในการคัดเลือกเพิ่มขึ้นที่ปลาย 3' คือ ไพรเมอร์ *Eco*RI primer+3/*Mse*I primer+2 และ *Eco*RI primer+3/*Mse*I primer+3 ที่ 95 องศาเซลเซียส 3 นาที 94 องศาเซลเซียส 30 วินาที 65 องศาเซลเซียส 30 วินาที 72 องศาเซลเซียส 1 นาที ลดอุณหภูมิ annealing ลงรอบละ 1 องศาเซลเซียส นาน 12 รอบ และต่อด้วยปฏิกิริยา 30 รอบที่อุณหภูมิ annealing 56 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่อง PCR (Bio rad T100™ Thermal cycle) ตรวจสอบ DNA ด้วย 6% denaturing polyacrylamide gel electrophoresis ใช้ความต่างศักย์ 400 โวลต์ เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ทำการตรวจสอบผลด้วย silver nitrate staining

ทำการจัดกลุ่ม 2 วิธี คือ UPGMA (Unweighted pair group method with arithmetic average) และ Neighbor-joining ด้วยการนับแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏจากเครื่องหมายดีเอ็นเอ AFLP เลือกเฉพาะแถบดีเอ็นเอที่เห็นชัดเจน โดยการให้คะแนนแถบดีเอ็นเอ คือ ตัวอย่างใดเกิดแถบดีเอ็นเอจะให้ 1 คะแนน ตัวอย่างใดไม่เกิดแถบดีเอ็นเอให้ 0 คะแนน ให้คะแนนแถบดีเอ็นเอให้ครบทุกไพรเมอร์และนำไปคำนวณหาค่า Dice similarity (Nei and Li, 1979) จัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA และนำไปคำนวณหาค่า Distance ด้วยวิธีของ Nei's (1972) Standard genetic distance (Ds) จากนั้นนำไปจัดกลุ่มด้วยวิธี Neighbor-joining clustering

## ผลการศึกษาและวิจารณ์

จากการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของฟักทองพันธุ์การค้าของไทย 29 สายพันธุ์ ด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ AFLP เพื่อเป็นการทดสอบว่าตัวอย่างฟักทองพันธุ์การค้าของไทยมีความหลากหลายมากหรือน้อยเพียงใด หลังจากการทำปฏิกิริยา Selective amplification ด้วยไพรเมอร์ จำนวน 28 คู่ ไพรเมอร์ ประกอบด้วย EcoRI+3/Mse+2 จำนวน 20 คู่ไพรเมอร์ คือ E-AAC/M-CA, E-AAC/M-CG, E-AAC/M-CT, E-ACA/M-CG, E-AAC/M-CC, E-ACA/M-CA, E-ACA/M-CT, E-AGG/M-CT, E-AGG/M-CA, E-AGG/M-CG, E-ACA/M-CC, E-AGG/M-CC, E-ACC/M-CA, E-ACC/M-CG, E-ACC/M-CT, E-ACC/M-CC, E-ACT/M-CA, E-ACT/M-CG, E-ACT/M-CT, E-ACT/M-CC และใช้ไพรเมอร์ EcoRI+3/Mse+3 จำนวน 8 คู่ไพรเมอร์ คือ E-ACT/M-CAC, E-ACT/M-CAT, E-ACA/M-CAC, E-ACA/M-CAT, E-AGG/M-CAC, E-AGG/M-CAT, E-AAC/M-CAC, E-AAC/M-CAT พบว่า ไพรเมอร์ selective amplification ที่เป็น EcoRI+3 / MseI+3 เมื่อทำปฏิกิริยาแล้ว ได้แถบดีเอ็นเอหรือเพิ่มปริมาณ

ดีเอ็นเอได้จำนวนชิ้นที่น้อยหรือไม่สามารถเพิ่มปริมาณได้เลย เนื่องจาก *C. moschata* มีขนาดยีโนม เท่ากับ 416 Mbp (MD et al., 1982) ซึ่งในพืชที่มียีโนมขนาดเล็กนั้น มีขนาดยีโนมเป็น 50-500 Mbp (Thermo Fisher Scientific Inc., 2015) สำหรับการทำ AFLP ในสิ่งมีชีวิตที่มียีโนม ขนาดเล็กควรใช้ไพรเมอร์ที่มีการเพิ่มลำดับเบสในการคัดเลือกจำนวนน้อย เพราะจำนวนชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะมีจำนวนน้อย ในขณะที่การตรวจสอบดีเอ็นเอของสิ่งมีชีวิตที่มียีโนมขนาดใหญ่ ต้องใช้ไพรเมอร์ในการคัดเลือกที่มีการเพิ่มลำดับเบสจำนวนมากขึ้น เพื่อปรับจำนวนชิ้นดีเอ็นเอที่จะเพิ่มปริมาณให้มีจำนวนพอเหมาะ (สุรินทร์, 2552) และจากการศึกษาของ Ferriol et al. (2003) ทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *C. pepo* โดยเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิด AFLP พบว่าคู่ไพรเมอร์ที่นำมาใช้ในการตรวจสอบและให้แถบดีเอ็นเอที่เกิดความแตกต่างจำนวนมากคือ E-ACA/M-CG, E-ACA/M-CT, E-AAC/M-CG, E-AAC/M-CC, E-AGG/M-CA และ E-AGG/M-CT และสอดคล้องกับการศึกษาครั้งนี้ที่ใช้ไพรเมอร์มีเบสคัดเลือก EcoRI+3/Mse+2 เพื่อคัดเลือกชิ้นดีเอ็นเอหลังจากทำการเพิ่มปริมาณแบบ Preselective amplification และสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ดีกว่า EcoRI+3/Mse+3

จากไพรเมอร์ทั้งหมด 28 คู่ไพรเมอร์ มีเพียง 7 คู่ไพรเมอร์เท่านั้น ที่ให้แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกัน โดยเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 480 แถบ แถบดีเอ็นเอที่เกิดความแตกต่างมีจำนวน 168 แถบ คิดเป็น 35 เปอร์เซ็นต์ ชี้ให้เห็นว่าตัวอย่างฟักทองพันธุ์การค้าของไทยที่นำมาศึกษามีความใกล้เคียงทางพันธุกรรมสูง จึงทำให้มีคู่ไพรเมอร์ที่สามารถบอกความแตกต่างได้น้อย อีกทั้งคู่ไพรเมอร์ที่สามารถให้แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างส่วนใหญ่คือ EcoRI+3/Mse+2 หากพิจารณาถึงการใช้เทคนิค AFLP ในพืชชนิดอื่น อาทิ การศึกษาของ Zhang et al. (2007) ได้ใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ AFLP จำนวน 4 คู่ไพรเมอร์ ทำการศึกษาในฝ้าย 8 พันธุ์ จาก 2 สปีชี่ส์ ได้แก่ สปีชี่ส์ *Gossypium hirsutum* และ *G. barbadense* สามารถเพิ่มแถบดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 92 แถบ พบแถบดีเอ็นเอที่เกิดความแตกต่าง 57 แถบ คิดเป็น 62 เปอร์เซ็นต์ ส่วน Du et al. (2009) ได้วิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของ *Diospyros spp.* (Ebenaceae) 28 accessions ด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ AFLP 6 คู่ไพรเมอร์ พบแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 403 แถบ มีแถบดีเอ็นเอที่เกิดความแตกต่าง 370 แถบ คิดเป็น 91.8 เปอร์เซ็นต์ และจากการศึกษาของ Creste et al. (2010) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของอ้อย 82 สายพันธุ์ โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ AFLP จำนวน 5 คู่ไพรเมอร์ พบแถบดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ทั้งหมด 182 แถบ มีแถบดีเอ็นเอที่เกิดความแตกต่าง 145 แถบ คิดเป็น 79.67 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเทคนิค AFLP สามารถนำมาตรวจสอบความหลากลายทางพันธุกรรมได้ดีและสามารถประยุกต์ใช้กับพืชได้หลายชนิด

เมื่อนำแถบดีเอ็นเอที่เกิดความแตกต่างมาวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนด้วยวิธี Dice Similarity และจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA แสดงผลในรูปของ Dendrogram พบว่ามีค่าดัชนีความเหมือนระหว่าง 0.21-0.96 ที่ค่าดัชนีความเหมือนเฉลี่ย 0.81 สามารถจัดกลุ่มฟักทองได้ 2 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยฟักทอง 23 สายพันธุ์ กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยฟักทอง 2 สายพันธุ์

กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย F-A OL Tum-342 Khan RC-80 TNK JD-2003 Tum-346 CP NP Srisaket CM-1 TK-443 SC-TA040 T-A K-019 KK-207 TT-9 KT-573 Baby BK EP และ MK-35 และพบว่ามีพันธุ์ที่มีความใกล้เคียงกันทางพันธุกรรมสูง 3 คู่ ได้แก่ พันธุ์ F-A กับ OL พันธุ์ JD-2003 กับ Tum-346 และ พันธุ์ CP กับ NP ดังนี้

1. พันธุ์ F-A และ OL มีความใกล้ชิดกันสูง มีค่าดัชนีความเหมือนเท่ากับ 0.963 ซึ่งทั้งสองพันธุ์มีที่มาจากบริษัทเดียวกัน และเป็นพันธุ์ที่มีผลทรงแป้น มีพูชัดเจน มีผิวขรุขระและเป็นพันธุ์ผสมเปิดเหมือนกัน

2. พันธุ์ JD-2003 และ Tum-346 มีค่าดัชนีความเหมือนเท่ากับ 0.962 แสดงว่ามีความใกล้เคียง

กันทางพันธุกรรมสูงเช่นกัน มีลักษณะภายนอกที่เหมือนกันคือ ทรงผลมีทรงแป้น ผิวเป็นผิวคางคก ฟักทอง 2 สายพันธุ์นี้แม้ว่าจะมีที่มาต่างบริษัทกัน แต่ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ใกล้เคียงกันนี้อาจเกิดจากการคัดเลือกเพื่อให้ได้ลักษณะภายนอกที่เป็นความต้องการของตลาดที่เหมือนกัน

3. พันธุ์ CP และ NP มีค่าดัชนีความเหมือนเท่ากับ 0.962 พันธุ์ CP เป็นพันธุ์ลูกผสม ผลมีขนาดกลาง ทรงแป้น ผิวขรุขระและมีพูไม่ชัดเจน แต่พันธุ์ NP เป็นพันธุ์ผสมเปิด ผลมีขนาดใหญ่ ทรงแป้น ผิวคางคกและมีพูชัดเจน แต่เมื่อทำการศึกษาแล้วพบว่าทั้งสองพันธุ์มีค่าดัชนีความเหมือนสูง แสดงว่าฟักทองทั้งสองพันธุ์มีฐานพันธุกรรมที่ใกล้เคียงกัน

จากการจัดกลุ่มแบบ UPGMA ฟักทองในกลุ่ม 1 ที่มีค่าดัชนีความเหมือนระหว่าง 0.844-0.955 และแบ่งภายในกลุ่มออกเป็นกลุ่มย่อยได้ 5 กลุ่มย่อย คือ 1A 1B 1C 1D และ 1E โดย

กลุ่ม 1A ฟักทองในกลุ่มนี้มีผลขนาดปานกลางถึงใหญ่ เนื้อหนาสีเหลืองส้มประกอบด้วย F-A OL Tum-342 Khan RC-80 และ TNK

กลุ่ม 1B ประกอบด้วยฟักทองพันธุ์พื้นเมือง คือ Srisaket และ CM-1 และพันธุ์การค้า คือ JD-2003 Tum-346 CP และ NP โดยฟักทอง JD-2003 Tum-346 CP และ NP เป็นพันธุ์การค้าที่มีผลขนาดปานกลาง ผิวมีลักษณะเป็นผิวขรุขระคล้ายผิวคางคก เนื้อมีสีเหลืองเข้ม แต่สำหรับฟักทองพันธุ์พื้นเมือง พันธุ์ Srisaket ผลมีขนาดปานกลาง ผิวเรียบ มีสีเนื้อเป็นสีเหลืองส้ม และ CM-1 รูปทรงผลจะมีลักษณะเป็นทรงรี ผิวเรียบและมีเนื้อเป็นสีเหลืองซีด แต่ถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน อาจเนื่องมาจากมีการนำฟักทองพันธุ์พื้นเมืองเหล่านี้ไปใช้เป็นเชื้อพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์

กลุ่ม 1C ประกอบด้วย K-019 และ KK-207 ฟักทองในกลุ่มนี้มีผลขนาดใหญ่ ทรงแป้น มีพูชัดเจน สีเนื้อมีสีเหลืองส้ม และมีที่มาจากบริษัทเดียวกันจึงมีความชิดทางพันธุกรรม ฟักทองทั้งสองพันธุ์นิยมปลูกในแถบภาคเหนือของไทย ดังนั้นการจัดกลุ่มอยู่ในกลุ่มย่อยเดียวกันนั้นเกิดจากการคัดเลือกเพื่อให้สามารถทนทานต่อสภาพแวดล้อมเดียวกัน

กลุ่ม 1D ประกอบด้วย KT-573 Baby และ BK ฟักทองในกลุ่มนี้เป็นฟักทองพันธุ์ลูกผสม ฟักทองพันธุ์ KT-573 เป็นฟักทองสีผิวเป็นลายข้าวตอก ผลมีขนาดปานกลาง ผลขรุขระเล็กน้อย ทรงผลเป็นทรงแป้น มีพูขนาดใหญ่ เนื้อหนาสีเหลือง พันธุ์ Baby เป็นฟักทองผิวเรียบแต่มีลักษณะผิวคางคกเล็กน้อย ผลมีขนาดเล็ก เนื้อมีสีเหลืองส้ม พันธุ์ BK เป็นฟักทองผิวคางคก มีขนาดเล็ก เนื้อมีสีเหลืองส้ม ฟักทองทั้งสามสายพันธุ์นี้ถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ ปณาลี และคณะ (2555) ทำการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของฟักทองพันธุ์การค้าของไทย 11 สายพันธุ์และฟักทองพันธุ์พื้นเมือง 2 สายพันธุ์ ด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ SRAP จำนวน 8 คู่ไพรเมอร์ พบว่ามีแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่าง 43 แถบ ค่า Dice similarity coefficient อยู่ระหว่าง 0.425 ถึง 0.925 จากการจัดกลุ่มโดยวิธี UPGMA สามารถจัดกลุ่มฟักทองทั้ง 13 สายพันธุ์ได้ 3 กลุ่ม และพบว่า ฟักทองพันธุ์ KT-573 Baby และ BK ถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันเช่นกัน แม้ว่าทั้งสามสายพันธุ์จะมาจากต่างบริษัทกันผลที่ได้แสดงให้เห็นว่า ฟักทองทั้ง 3 พันธุ์ มีฐานพันธุกรรมที่ใกล้เคียงกัน เพียงแต่ทำการคัดเลือกให้มีบางลักษณะโดยเฉพาะลักษณะภายนอกที่แตกต่างกันออกไปเพื่อเป็นทางเลือกให้กับผู้บริโภค

กลุ่ม 1E ประกอบด้วยฟักทอง 2 พันธุ์ คือ EP และ MK-35 มีค่าดัชนีความเหมือนเท่ากับ 0.867 ฟักทองพันธุ์ EP ผลมีลักษณะเป็นพูชัดเจน ผลมีขนาดกลาง เนื้อหนามีสีเหลืองส้ม ทรงผลเป็นแบบ blocky และมีผิวเรียบ แต่ MK-35 มีทรงผลเป็นทรงแป้น และมีผิวขรุขระ และสีผิวผลมีสีเขียวเข้มดำ

กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยฟักทอง 2 สายพันธุ์ ได้แก่ K-GD และ KPS-1 ฟักทองสองสายพันธุ์นี้มีค่าดัชนีความเหมือนเท่ากับ 0.815 K-GD เป็นฟักทองพันธุ์ผสมเปิดและเป็นพันธุ์การค้า ส่วน KPS-1 เป็นฟักทองพื้นเมืองจาก อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ซึ่งฟักทองทั้งสองสายพันธุ์เป็นฟักทองที่มีผลขนาดปานกลาง มีพู เนื้อหนาสีเหลืองเข้ม แต่ทรงผลจะมีลักษณะ

ที่แตกต่างกัน คือ K-GD มีทรงผลเป็นลักษณะคล้ายรูปหัวใจ แต่ KPS-1 มีทรงผลเป็นแบบ blocky

นอกจากนี้ยังมีฟักทองอีก 4 สายพันธุ์ ที่ไม่สามารถจัดกลุ่มได้ ได้แก่ Tung K-Tone LN-052 และ FT-764 เนื่องจาก พันธุ์ Tung มีทรงผลเป็นลักษณะคล้ายน้ำเต้า ผิวเรียบ ไม่มีพู เนื้อมีสีส้ม พันธุ์ K-Tone มีลักษณะเป็นทรงรียาว คล้ายลูกรักบี้ ผิวเรียบ เนื้อบางสีเหลืองเหลืองซีด มีโพรงภายในขนาดใหญ่ ทนโรคได้ดี พันธุ์ LN-052 ผลมีขนาดใหญ่ เป็นทรงแป้น มีพูชัดเจน เนื้อหนามีสีเหลืองส้ม และพันธุ์ FT-764 เป็นฟักทองญี่ปุ่น จัดอยู่ในสปีชี่ร์ *C. maxima* Duchesne. ซึ่งแตกต่างกับฟักทองอีก 28 สายพันธุ์ที่นำมาศึกษา ซึ่งส่วนใหญ่คือ *C. moschata* Duchesne. จึงทำให้ถูกจัดแยกกลุ่มออกมาอย่างชัดเจน และมีฐานพันธุกรรมที่ห่างจากฟักทองสายพันธุ์อื่นที่นำมาศึกษา (**Figure 1**)

เครื่องหมายดีเอ็นเอ AFLP ที่ใช้ศึกษามีความน่าเชื่อถือ เพราะสามารถจัดกลุ่มฟักทองพันธุ์การค้าของไทยได้และสามารถแยกฟักทองที่อยู่ต่างสปีชีส์ออกจากกลุ่มได้ ยังแสดงให้เห็นว่าฐานพันธุกรรมของตัวอย่างฟักทองพันธุ์การค้าของไทยที่นำมาศึกษามีความใกล้เคียงกันสูง ซึ่งจากการศึกษาของ Ferriol et al. (2004) ได้ทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *C. moschata* จำนวน 250 accessions ซึ่งมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกันถึง 47 ลักษณะ แสดงให้เห็นถึงความแปรปรวนสูง เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ SRAP และ AFLP พบว่า สามารถจัดกลุ่มออกเป็นสองกลุ่ม คือกลุ่มที่มีแหล่งกำเนิดอยู่ที่อเมริกาใต้และสเปน

Wu et al. (2011) ได้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *C. moschata* จำนวน 89 accession ในประเทศจีน โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ AFLP จำนวน 9 คู่ไพรเมอร์ พบแถบดีเอ็นเอที่สามารถเพิ่มปริมาณได้ทั้งหมด 500 แถบ มีแถบดีเอ็นเอที่เกิดความแตกต่าง 371 แถบ คิดเป็น 75.57 % ทำการจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA สามารถจัดได้ 5 กลุ่ม ตามแหล่งที่มา คือ จากประเทศเม็กซิโก กัวเตมาลา ฮอนดูรัส เอกวาดอร์และกลุ่มที่มีพันธุกรรมอยู่ในประเทศทางเอเชีย ส่งผลให้เกิดประโยชน์สำหรับการศึกษาพันธุกรรม การเลือกสายพันธุ์ที่มีความแตกต่างกัน เพื่อนำมาใช้ในงานปรับปรุงพันธุ์

จากการจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA สามารถจัดกลุ่มฟักทองทั้ง 29 สายพันธุ์ได้เพียง 2 กลุ่มเท่านั้น แต่ไม่สามารถแยกฟักทองพันธุ์การค้าของไทยส่วนใหญ่ออกจากกันได้ชัดเจนนัก ดังนั้นจึงทำการจัดกลุ่มอีกวิธีคือ วิธี Neighbor-joining วิธีการจัดกลุ่มแบบนี้เป็นวิธีการใหม่ ที่ถูกเสนอขึ้นเพื่อแก้ไข phylogenetic tree จากข้อมูลที่มีความห่างทางวิวัฒนาการ หลักการของวิธีการนี้ คือ การใช้ดัชนีของระยะห่าง (distance) การจับคู่สำหรับการจัดหมวดหมู่ (OTUs = operational taxonomic units) เพื่อลดความยาวของกิ่งก้านสาขาในแต่ละ OTUs เริ่มต้นเหมือนแผนภาพต้นไม้ ความยาวของสาขาเหมือนกับโครงสร้างของต้นไม้ วิธีการนี้สามารถจัดกลุ่มได้อย่างรวดเร็วและสามารถอธิบายได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการจัดกลุ่มวิธีอื่นๆ (Saitou and Nei, 1987) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Tamura et al. (2004) พบว่าวิธี Neighbor-joining เป็นวิธีที่ใช้บ่อยเพราะมีความถูกต้องสูงสำหรับข้อมูลที่มีจำนวนน้อยและสามารถคำนวณได้อย่างรวดเร็ว ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงทำการจัดกลุ่มอีกวิธีคือ วิธี Neighbor-joining พบว่ามีค่าความต่าง (distance) เท่ากับ 0.139 สามารถจัดกลุ่มฟักทองได้ 3 กลุ่ม และมี 6 พันธุ์ที่ไม่สามารถจัดกลุ่มได้ (**Figure 2**)

กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยฟักทอง 15 พันธุ์ ได้แก่ F-A(5) OL(8) Tum-342(21) Khan(40) RC-80(41) JD-2003(31) Tum-346(32) CP(34) Srisaket(52) TK-443(22) KT-573(25) Baby(27) BK(25) T-A(13) และ NP(35) การจัดกลุ่มนี้คล้ายคลึงกับการจัดด้วยวิธี UPGMA ฟักทองในกลุ่มนี้เป็นกลุ่มใหญ่ มีทั้งพันธุ์การค้าทั้งที่เป็นพันธุ์ผสมเปิด พันธุ์ลูกผสมและพันธุ์พื้นเมืองถูกจัดกลุ่มอยู่ด้วยกัน ในการศึกษาครั้งนี้ได้นำฟักทองพันธุ์พื้นเมืองมาทำการศึกษาทั้งหมด 4 พันธุ์ ได้แก่ K-Tone(20) Srisaket(52) CM-1(53) และ KPS-1(58) แต่มีเพียงพันธุ์ Srisaket(52) เท่านั้นที่ถูกจัดรวมอยู่ในกลุ่มที่ 1 พันธุ์ Srisaket เป็นฟักทองพันธุ์

พื้นเมืองที่รวบรวมมาจากจังหวัดศรีสะเกษ เหตุผลที่ทำให้ถูกจัดอยู่ในกลุ่มนี้ เนื่องจากพันธุ์ Srisaket(52) มีที่มาจากพันธุ์การค้า เมื่อเกษตรกรเก็บเมล็ดพันธุ์เพื่อใช้ต่อและคัดเลือกลักษณะปรากฏที่เหมือนกับฟักทองพันธุ์การค้า คือ ผลมีขนาดกลาง ทรงแป้น มีพูชัดเจน ผิวขรุขระ หลังจากนำมาคัดเลือกให้มีลักษณะผิวและเนื้อผลให้แตกต่างไป คือ เนื้อมีสีแดงส้ม และผิวเรียบมีพูไม่ชัดเจน แต่ยังถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับฟักทองพันธุ์การค้าอื่นๆ ส่วนฟักทองพันธุ์การค้าอีก 14 พันธุ์ มีลักษณะที่ปรากฏที่ใกล้เคียงกัน คือ ผิวขรุขระ เป็นทรงแป้น และเนื้อเป็นสีเหลืองเข้ม ลักษณะดังกล่าวเป็นลักษณะที่ผ่านการคัดเลือกจากโปรแกรมการปรับปรุงพันธุ์ เพื่อให้ตรงตามความต้องการของผู้บริโภคในประเทศไทย ส่งผลให้ฟักทองพันธุ์การค้าส่วนใหญ่จึงถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยฟักทอง 5 พันธุ์ ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อย 2A ประกอบด้วยฟักทอง 3 พันธุ์ ได้แก่ KPS-1(58) K-GD(10) และ CM-1(53) พันธุ์ KPS-1(58) มีกิ่งแขนงที่แยกออกไปไกล แต่ยังพบความสัมพันธ์กับกับพันธุ์ K-GD(10) คล้ายคลึงกับการจัดกลุ่มแบบ UPGMA และนอกจากนี้ยังพบว่า มีความใกล้เคียงกันของฟักทอง CM-1(53) เป็นพันธุ์พื้นเมืองที่เก็บรวบรวมมากจากจังหวัดเชียงใหม่ กับพันธุ์ K-GD(10) เป็นพันธุ์การค้าที่เก็บรวบรวมพันธุ์มาจากจังหวัดแพร่ มีค่าความต่างเท่ากับ 0.113

กลุ่ม 2B ประกอบด้วยฟักทอง 2 พันธุ์ ได้แก่ TNK(64) และ SC-TA040(19) ทั้งสองพันธุ์มีที่มาจากคนละบริษัทกัน แม้ว่าขนาดผลจะแตกต่างกันคือ SC-TA040 ผลจะมีขนาดกลาง แต่ TNK ผลจะมีขนาดใหญ่ แต่มีลักษณะที่เหมือนกันคือ ทรงแป้น ผิวขรุขระ เนื้อหนามีสีเหลือง และเป็นฟักทองพันธุ์ลูกผสมเหมือนกัน จึงคาดว่ามีฐานพันธุกรรมที่ใกล้เคียงกัน

กลุ่ม 3 ประกอบด้วยฟักทอง 3 พันธุ์ ได้แก่ K-019(36) KK-207(37) และ TT-9(39) มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้เคียงกันเนื่องจากทั้งสามสายพันธุ์มีที่มาจากบริษัทเดียวกัน มีลักษณะเหมือนกันคือ ผลมีขนาดใหญ่ เป็นทรงแป้น มีพูชัดเจน และเนื้อมีเหลืองส้ม ทั้ง 3 พันธุ์ยังอยู่ในกิ่งแขนงเดียวกับพันธุ์ LN-052(38) และ Tung(62) แต่จากความยาวของแขนงจึงจัดให้ทั้ง LN-052(38) และ Tung(62) ถูกจัดแยกห่างออกมาอย่างชัดเจนเป็น out group

จากแขนงของ dendrogram พบว่า ฟักทองที่มีความห่างทางพันธุกรรมมากที่สุดยังเป็นฟักทองต่างชนิด คือ พันธุ์ FT-764(17) และฟักทองพันธุ์อื่นที่ไม่สามารถจัดกลุ่มได้ คือ พันธุ์ LN-052(38) และ Tung(62) มีกิ่งแขนงเดียวกับฟักทองในกลุ่มที่ 3 ซึ่งกล่าวมาข้างต้นแล้ว พันธุ์ EP(18) และพันธุ์ MK-35(26) แม้จะพบว่าทั้งสองพันธุ์มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม แต่ความยาวของแขนงยังแสดงความห่าง เมื่อเปรียบเทียบกับแขนงของฟักทองในกลุ่มที่ 1 ฟักทองพันธุ์ EP(18) เป็นพันธุ์ที่รวบรวมมาจากต่างประเทศ สามารถปรับตัวได้ดีในประเทศไทย มีรูปทรงแตกต่างกับฟักทองไทย ส่วนพันธุ์ MK-35(26) เป็นพันธุ์ลูกผสมการค้า ผลมีขนาดกลางเหมือนฟักทองไทยทั่วไป และพันธุ์ K-Tone(20) เป็นฟักทองพันธุ์พื้นเมืองที่มาจากจังหวัดกาญจนบุรี ที่คัดเลือกให้มีผลทรงรีคล้ายลูกรักบี้ ขนาดกลาง เนื้อบางและมีสีเหลืองซีด ซึ่งมีลักษณะแตกต่างกับฟักทองพันธุ์การค้าของไทย จึงส่งผลให้ถูกจัดแยกออกไปไม่เข้ากลุ่มใดเลย (Figure 2, Table 1)

จากการจัดกลุ่มด้วยสองวิธีการ ทำให้ทราบว่าฟักทองพันธุ์การค้าของไทยที่นำมาศึกษามีความใกล้เคียงกันทางพันธุกรรมสูง เนื่องจากโปรแกรมการปรับปรุงพันธุ์ฟักทองในประเทศไทย คัดเลือกฟักทองที่มีรูปทรงผล สีเนื้อ และรสชาติ ให้เป็นไปตามความต้องการของผู้บริโภคที่นิยมฟักทองทรงผลแป้น เนื้อสีเหลืองและมีเนื้อเหนียว ดังนั้น ฟักทองการค้าไทยส่วนใหญ่จึงถูกจัดกลุ่มอยู่ด้วยกัน มีเพียงฟักทองที่มีทรงผลแปลกจากฟักทองไทยทั่วๆ ไป ถูกแยกออกมาจากฟักทองกลุ่มใหญ่ และนอกจากนี้ฟักทองต่างชนิดถูกจัดแยกออกมาอย่างชัดเจน ดังนั้น ฟักทองที่มีความห่างทางพันธุกรรมกับฟักทองพันธุ์การค้าของไทยสามารถนำมาใช้เป็นเชื้อพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์ฟักทอง เพื่อเพิ่มความหลากหลายทางพันธุกรรมของ

พันธุ์ฟักทองไทยต่อไปได้ แต่หากนำฟักทองพันธุ์การค้าของไทยในปัจจุบันมาเป็นเชื้อพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์ แม้จะทำให้ได้พันธุ์ที่มีความคล้ายคลึงกับพันธุ์เดิมทั้ง รูปทรง ขนาด สี หรือพู จะส่งผลในงานปรับปรุงพันธุ์ไม่เกิดความก้าวหน้า คณะผู้วิจัยเสนอแนะว่า ควรรวบรวมเชื้อพันธุกรรมที่มีความหลากหลายมีความแตกต่างจากสายพันธุ์เดิมโดยเฉพาะการรวบรวมพันธุ์พื้นเมือง ซึ่งเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการใช้เป็นเชื้อพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์ เพื่อสร้างความหลากหลายทางพันธุกรรมของฟักทองไทย

**Table 1** Group of 29 pumpkin cultivars using UPGMA and Neighbor joining clustering

| | UPGMA | Neighbor-joining |
|---|---|---|
| Group 1 | F-A, OL, Tum-342, Khan, RC-80, TNK, JD-2003, Tum-346, CP, CM-1, TK-443, SC-TA040, T-A, K-019, NP, Srisaket, KK-207, TT-9, KT-573, Baby, BK, EP, MK-35 | F-A, OL, Tum-342, Khan, RC-80, JD-2003, Tum-346, CP, Srisaket, TK-443, KT-573, Baby, BK, T-A, NP |
| Group 2 | K-GD, KPS-1 | 2A : KPS-1, K-GD, CM-1<br>2B : SC-TA040, TNK |
| Group 3 | - | K-019, KK-207, TT-9 |
| Out group | Tung, K-Tone, LN-052, FT-764 | EP, Tung, K-Tone, LN-052, FT-764, MK-35 |

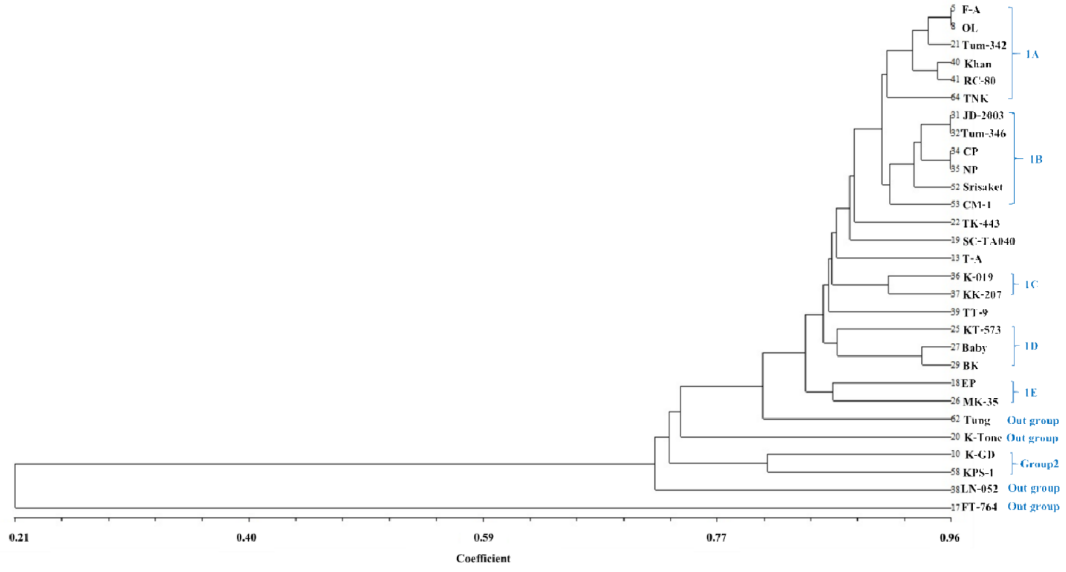


**Figure 1** dendrogram of 29 pumpkin cultivars by UPGMA clustering method

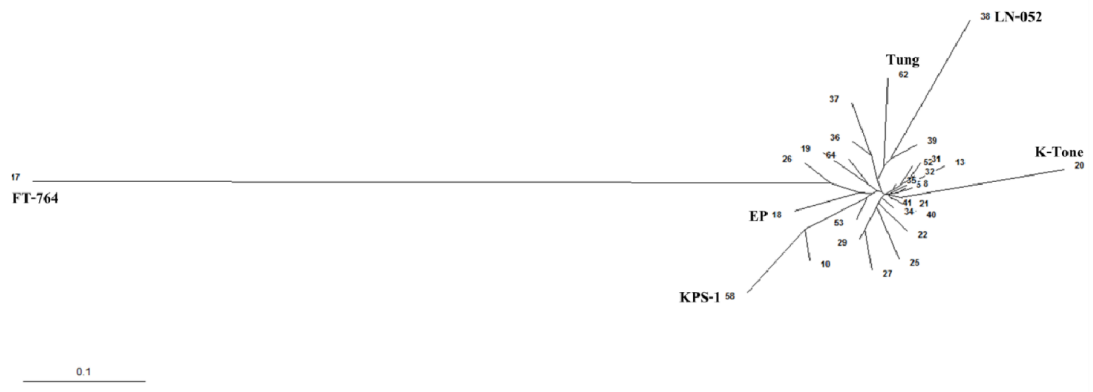


Figure 2 dendrogram of 29 pumpkins cultivars by Neighbor-joining clustering method; F-A(5), OL(8), K-GD(10), T-A(13), FT-764(17), EP(18), SC-TA040(19), K-Tone(20), Tum-342(21), TK-443(22), KT-573(25), MK-35(26), Baby(27), BK(29), JD-2003(31), Tum-346(32), CP(34), NP(35), K-019(36), KK-207(37), LN-052(38), TT-9(39), Khan(40), RC-80(41), Srisaket(52), CM-1(53), Tung(62) and TNK(64)

## สรุป

จากการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของฟักทองทั้ง 29 สายพันธุ์ ด้วยเครื่องหมาย AFLP จัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA ได้ 2 กลุ่ม และวิธี Neighbor-joining ได้ 3 กลุ่ม พบว่าฟักทองพันธุ์การค้าของไทยในปัจจุบันมีความใกล้เคียงกันทางพันธุกรรมที่สูงหรืออาจกล่าวอีกนัยหนึ่งคือมีฐานพันธุกรรมที่แคบ จึงไม่สามารถจัดกลุ่มได้หลากหลายและชัดเจน ฟักทองที่แยกกลุ่มออกจากฟักทองกลุ่มใหญ่ ได้แก่ ฟักทองต่างชนิด ฟักทองพันธุ์พื้นเมืองและฟักทองการค้าที่มีรูปทรงแตกต่างจากฟักทองไทยส่วนใหญ่ ในการศึกษาครั้งนี้สามารถคัดเลือกฟักทองเพื่อใช้เป็นเชื้อพันธุกรรมในการเพิ่มความหลากหลายทางพันธุกรรมของฟักทองไทยได้จำนวน 5 พันธุ์คือ พันธุ์ Tung K-Tone KPS-1 CM-1 และ EP

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่ให้ทุนสนับสนุนในการวิจัย

## เอกสารอ้างอิง

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2552. เครื่องหมายดีเอ็นเอ: จากพื้นฐานสู่การประยุกต์. พิมพ์ครั้งที่ 1 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,กรุงเทพฯ.

ปณาลี ภู่วรกุลชัย, สราวุฒิ เกตุแก้ว, เขมวรรณ ศรีตงกิม, บุบผา คงสมัย และอัญมณี อาวุชานนท์. 2555. การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ SRAP และลักษณะคุณภาพผลของฟักทองพันธุ์การค้าของไทยบางพันธุ์. การประชุมวิชาการแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน ครั้งที่ 9. 1100-1106.

Agawal, G.K., R.N. Pandey, and V.P. Agawal. 1992. Isolation of DNA from Cheorospondias asillaris leaves. Biotech Biodiv Lett. 2: 19-24.

AVRDC. 2007. Available: http://goo.gl/Vp6e7A. Accessed Jan. 15, 2012.

Creste, S., D.M. Sansoli, A.C.S. Tardiani, D.N. Silva, F.K. Goncalves, T.M. Favero, C.N.F. Medeiros, C.S. Festucci, L.A. Carlini-Garcia, M.G.A. Landell, and L.R. Pinto. 2010. Comparison of AFLP, TRAP and SSRs in the estimation of genetic relationships in sugarcane. Sugar Tech. 12(2): 150-154.

Du X.Y., Q.L. Zhang, and Z.R. Luo. 2009. Comparison of four molecular markers for genetic analysis in *Diospyros* L. (Ebenaceae). Plant Syst. 281: 171-181.

Ferriol, M., B. Pico, and F. Nuez. 2003. Genetic diversity of a germplasm collection of *Cucurbita pepo* using SRAP and AFLP markers. Theor Appl Genet. 107: 271-282.

Ferriol, M., B. Picó, P.F. Córdova, and F. Nuez, 2004. Molecular diversity of a germplasm collection of squash (*Cucurbita moschata*) determined by SRAP and AFLP markers. Crop Sci. 44: 653-664.

Garcia, J., M. Oliver, and H. Gomez-Paniagua. 2000. Comparing AFLP, RAPD and RFLP markers for measuring genetic diversity in melon. Theor Appl Genet. 101: 860-864. germplasm using the AFLP technique. Hort. Sci. 38(1): 81-84.

Gwanama, C., M.T. Labuschagne, and A.M. Botha. 2000. Analysis of genetic variation in Cucurbita moschata by random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. Euphytica. 113: 19-24

Hurtada, M.A., A. Westman, E. Beck, G.A. Abbott, G. Llacer, and M.L. Badenes. 2002. Genetic diversity in apricot cultivars based on AFLP markers. Euphytica. 127: 297-301.

Levi, A., C.E. Thomas, T. Trebitsh, A. Salman, J. King, J. Karalius, M. Newman, O.U.K Reddy, Y. Xu, and X. Zhang. 2006. An extended linkage map for watermelon based on SRAP, AFLP, SSR, ISSR and RAPD markers. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 131(3): 393-402.

WebMD. 2015. Vitamins and Supplements Lifestyle Guide. Available: http://goo.gl/yW6LZg. Accessed May. 12, 2015.

Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. Amer. Nat. 106: 283-291.

Nei, M., and W.H. Li. 1979. Mathematical models for studying genetic variation in term of restriction endonucleases. Proc. Natl. Acad. Sci. 76: 5268-5273.

Nei, M., and W.H. Li. 1979. Mathematical models for studying genetic variation in term of restriction endonucleases. Proc. Natl. Acad. Sci. 76: 5268-5273.

Saitou N., and M. Nei. 1987. The Neighbor-joining Method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. Mol. Biol.Evol. 4(4): 406-425.

Tamura, K., M. Nei, and S. Kumar. 2004. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. The National Academy of Sciences of the USA. 101: 11030-11035.

Teulat, B., C. Aldam, R. Trehin, J.H.A. Barker, G.M. Arnold, A. Karp, L. Baudouin, and F. Rognon. 2000. An analysis of genetic diversity in coconut (*Cocos nucifera*) populations from across the geographic range using sequence-tagged microsatellites (SSR) and AFLPs. Theor Appl Genet. 100: 764-771.

Thermo Fisher Scientific Inc. 2015. Selective amplification start-up kit for small plant genome, 50-500 Mbp. Available: https://goo.gl/5XaC3k. Accessed July. 4, 2015.

Vos, P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T. van de Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper, and M. Zabeau. 1995. AFLP: a new technique for DNA Fingerprinting. Nucleic Acids Research. 23(21): 4407-4414.

Wu, J., Z. Chang, Q. Wu, H. Zhan, and S. Xie. 2011. Molecular diversity of Chinese *Cucurbita moschata* germplasm collections detected by AFLP markers. Scientia Horticulturae. 128: 7-13.

Y. Xu, and X. Zhang. 2006. An extended linkage map for watermelon based on SRAP, AFLP, SSR, ISSR and RAPD markers. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 131(3): 393-402

Zhang, D., J. Cervantes, Z. Huaman, E. Carey, and M. Ghislain. 2000. Assessing genetic diversity of sweet potato (Ipomoea batatas (L.) Lam.) cultivars from tropical America using AFLP. Genetic Resources and Crop Evolution. 47: 659-665.