

ความผันแปรลักษณะทางไอโซไซม์ของมะม่วงแก้วสายต้นคัด

Variation in Isozyme Characteristics of Selected Clones of Mango cv. Kaew

ปฐมา เดชะ^{1/} และ ธวัชชัย รัตนชเลศ^{1/}

Patama Decha^{1/} and Tavatchai Radanachales^{1/}

Abstract : 52 selected Kaew mango clones from eight provinces of the Upper North were studied in order to compare isozyme characteristics for the identification purpose. Isozyme characteristics were studied by polyacrylamide gel electrophoresis technique. Enzyme from seven month-old leaves was extracted by Tris-buffer 0.1 M, pH 8.2. Twenty-two percent of gel concentration was suitable for acid phosphatase and esterase, while 7.5 percent concentration was suitable for peroxidase. It was found that the three isozyme systems: acid phosphatase, esterase and peroxidase separately could identify 52 clones into 10, 4 and 15 groups respectively. Using the combination of three isozyme systems, the 52 clones could be grouped into 20 clones and other 9 groups.

บทคัดย่อ : การศึกษามะม่วงแก้วสายต้นคัดจำนวน 52 สายต้น จาก 8 จังหวัดภาคเหนือตอนบน เพื่อเปรียบเทียบลักษณะทางชีวเคมีสำหรับการจำแนกกลุ่มการศึกษารูปแบบไอโซไซม์โดยเทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิส จากใบแก่อายุ 7 เดือน ด้วยสารสกัด Tris-buffer 0.1 M, pH 8.2 ใช้ตัวกลาง โพลีอะคริลาไมด์เจล ความเข้มข้น 22 เปอร์เซ็นต์ที่เหมาะสม สำหรับไอโซไซม์ acid phosphatase และ esterase ขณะที่ 7.5 เปอร์เซ็นต์สำหรับไอโซไซม์ peroxidase สามารถจำแนก สายต้นมะม่วงแก้วออกได้เป็น 10, 4 และ 15 กลุ่มตามลำดับ เมื่อนำไอโซไซม์ทั้ง 3 ชนิดมารวมวิเคราะห์ ทำให้สามารถ จำแนกมะม่วงแก้วทั้ง 52 สายต้น ออกได้เป็น 20 สายต้น และอีก 9 กลุ่ม

Index words : มะม่วงแก้ว อิเล็กโทรโฟรีซิส ไอโซไซม์ การจัดจำแนก
mango cv. Kaew, electrophoresis, isozyme, identification

^{1/} ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

^{1/} Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand.

คำนำ

มะม่วงเป็นไม้ผลเขตร้อนที่มีการปลูกในประเทศไทยมาเป็นเวลานาน จวบจนปัจจุบันมะม่วงกลายเป็นไม้ผลที่นิยมปลูกกันทั่วไปทุกภาค (ไพโรจน์, 2539) จากสถิติขององค์การอาหาร และเกษตร (FAO) ในปี พ.ศ. 2538 ประเทศไทย เป็นผู้ผลิตมะม่วงเป็นอันดับ 4 ของโลก มีพื้นที่ การปลูกมะม่วง 2,195,000 ไร่ ให้ผลผลิตแล้ว 1,366,000 ไร่ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2543) โดยที่พื้นที่การปลูกมะม่วงได้เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องมาโดยตลอดซึ่งเป็นผลจากนโยบายการปรับปรุง โครงสร้างและระบบการผลิตทางเกษตรของรัฐบาล ตั้งแต่ปี 2535 เป็นต้นมา (เปรมปรี, 2540) ที่ผ่านมารัฐบาลได้มีการส่งเสริมให้ปลูกมะม่วงเฉพาะพันธุ์เศรษฐกิจเพิ่มมากขึ้นจนทำให้มะม่วงพันธุ์ดั้งเดิมและที่ให้ผลผลิตในเชิงเศรษฐกิจไม่ได้ออกผลผลิตเลยจนทำให้แหล่งยืนปลูกทำลาย หรือไม่มีการรวบรวมพันธุ์ดังกล่าวไว้ (วิชาญ, 2543)

มะม่วงแก้วเป็นพันธุ์ที่มีการปลูกมากที่สุดในประเทศไทย ซึ่งรวมทั้งพื้นที่ในเขตภาคเหนือตอนบน มะม่วงแก้วเป็นพันธุ์ที่มีความหลากหลายในสายต้นค่อนข้างสูง เนื่องจากเกือบทั้งหมดยังปลูกจากเมล็ด ขณะที่มะม่วงพันธุ์การค้าอื่น ๆ ได้ขยายพันธุ์โดยวิธีอื่นที่ไม่ใช่เมล็ดแล้ว ซึ่งการขยายพันธุ์แบบใช้เมล็ดนั้น ต้นกล้าที่ได้แต่ละต้นแม้จะมาจากเมล็ดเดียวกัน ก็อาจมีพันธุ์กรรมและลักษณะทางสัณฐาน ตลอดจนนิสัยการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน ธวัชชัย (2540) ได้นำความหลากหลายในสายต้นดังกล่าวมาใช้ประโยชน์ในการคัดเลือกเพื่อหามะม่วงสายต้นดีที่สุด สำหรับภาคเหนือตอนบน อย่างไรก็ตามมะม่วงแก้วสายต้นดีที่องถิ่นที่คัดเลือก

ไว้ในเบื้องต้นนั้น ยังขาดข้อมูลพื้นฐานของแต่ละสายต้น ซึ่งลักษณะทางชีวเคมีเป็นข้อมูลที่จะช่วยจำแนกสายต้นมะม่วงได้ในระดับหนึ่งการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบลักษณะทางไอโซไซม์สำหรับการจำแนกกลุ่มมะม่วงแก้ว

อุปกรณ์และวิธีการ

การวิเคราะห์ลักษณะทางชีวเคมีโดยใช้เทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิสศึกษาแบบของไอโซไซม์ ในใบมะม่วงแก้ว 52 สายต้นคัดจาก 8 จังหวัดภาคเหนือตอนบน ในต้นลูกที่ได้จากการต่อกิ่งโดยคัดแปลงจากวิธีการของเพิ่มพงษ์และคณะ (2538) เลือกเก็บใบที่สะอาดไม่เป็นโรคอายุ 7 เดือน ล้างด้วยน้ำกลั่นแล้วแช่ให้แห้งตัดเส้นใบออกแล้วหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ชั่ง 3 กรัม บรรจุในถุงพลาสติกเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส แล้วนำมาสกัดเอนไซม์โดยใช้ไนโตรเจนเหลวเพื่อช่วยให้บดง่ายขึ้น เติม extraction buffer [Tris buffer 0.1 M, pH 8.2 ปริมาณ 5 มิลลิลิตร] และ polyvinylpyrrolidone (PVP) 0.36 กรัม จากนั้นนำส่วนผสมที่เข้ากันดีไปแยกด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงสารชนิดควบคุมความเร็วด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วแยกสารละลายใสด้านบนที่ได้ลงในหลอดใส่สารขนาดเล็กความจุ 1.5 มิลลิลิตรแล้วนำไปหมุนเหวี่ยงอีกครั้งด้วยความเร็วและอุณหภูมิเดิม เป็นเวลา 10 นาที แยกสารละลายใสด้านบนลงในหลอดใส่สารเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส แล้วเติม marker dye solution ในอัตราส่วน 1:9 ก่อนนำไปทำอิเล็กโตรโฟรีซิสโดยใช้เจลหนา 1.0 มิลลิเมตร separating gel สูง 12.5 เซนติเมตร และ stacking gel สูง 3-4 เซนติเมตร แล้วนำเจลที่ได้มาข้อมสีเพื่อ

ศึกษาไอโซไซม์ 3 ชนิดคือ acid phosphatase, esterase และ peroxidase บันทึกตำแหน่งจำนวนของแถบสีที่เกิดขึ้น ถ่ายภาพเขียนแผนภาพ zymogram จากแถบโปรตีนของไอโซไซม์แต่ละ ชนิดพร้อมแสดงค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ (relative migration, Rf) (อาร์กิสตรา, 2537) ของแถบโปรตีน ของไอโซไซม์พิจารณาการมีและไม่มีแถบสีของ ไอโซไซม์ และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่าง สายต้น (cluster analysis) ด้วยโปรแกรม SPSS release 6.0

ผลการทดลอง

การทำอิเล็กโทรโฟริซิสเพื่อใช้ในการจำแนกสายต้นของมะม่วงแก้วทั้ง 52 สายต้น โดยใช้ไอโซไซม์ 3 ชนิดคือ acid phosphatase, esterase และ peroxidase ให้ผลดังนี้

1. ไอโซไซม์ acid phosphatase พบ จำนวนแถบสีทั้งหมด 10 แถบ โดยมีค่า Rf เท่ากับ 0.300, 0.579, 0.638, 0.690, 0.843, 0.962, 1.010, 1.029, 1.048 และ 1.093 นำไปเขียนแผนภาพ (ภาพที่ 1) จากการวิเคราะห์เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างมะม่วงแก้วทั้ง 52 สายต้น โดยพิจารณาจากการมีและไม่มีแถบสีของไอโซไซม์ acid phosphatase สามารถจำแนกสายต้นมะม่วงแก้ว ได้ 10 กลุ่มดังนี้

กลุ่มที่ 1 จำนวน 31 สายต้น ได้แก่ MCC 5, 13, 14, 15, 17, 25, 30, 37, 41, 43, 45, 46, 50, 51, 53, 54, 56, 60, 62, 64, 65, 66, 71, 77, 84, 85, 88, 89, 91, 92 และ 93 มีจำนวนแถบ 9 แถบ มีค่า Rf เท่ากับ 0.300, 0.579, 0.638, 0.690, 0.843, 0.962, 1.010, 1.029 และ 1.048 ตามลำดับ

กลุ่มที่ 2 จำนวน 5 สายต้น ได้แก่ MCC 7, 55, 63, 75 และ 81 มีจำนวนแถบ 6 แถบ มีค่า Rf เท่ากับ 0.300, 0.638, 0.690, 0.843, 0.962 และ 1.048 ตามลำดับ

กลุ่มที่ 3 จำนวน 5 สายต้น ได้แก่ MCC 2, 4, 29, 70 และ 90 มีจำนวนแถบ 8 แถบ มีค่า Rf เท่ากับ 0.300, 0.579, 0.638, 0.690, 0.843, 0.962, 1.010 และ 1.048 ตามลำดับ

กลุ่มที่ 4 จำนวน 3 สายต้น ได้แก่ MCC 23, 40 และ 94 มีจำนวนแถบ 7 แถบ มีค่า Rf เท่ากับ 0.300, 0.638, 0.690, 0.843, 0.962, 1.029 และ 1.048 ตามลำดับ

กลุ่มที่ 5 จำนวน 2 สายต้น ได้แก่ MCC 47 และ 49 มีจำนวนแถบ 8 แถบ มีค่า Rf เท่ากับ 0.300, 0.638, 0.690, 0.843, 0.962, 1.010, 1.029 และ 1.048 ตามลำดับ

กลุ่มที่ 6 จำนวน 2 สายต้น ได้แก่ MCC 57 และ 68 มีจำนวนแถบ 7 แถบ มีค่า Rf เท่ากับ 0.300, 0.579, 0.638, 0.690, 0.843, 0.962 และ 1.048 ตามลำดับ

กลุ่มที่ 7 จำนวน 1 สายต้น ได้แก่ MCC 16 มีจำนวนแถบ 8 แถบ มีค่า Rf เท่ากับ 0.300, 0.638, 0.690, 0.843, 0.962, 1.010, 1.048 และ 1.093 ตามลำดับ

กลุ่มที่ 8 จำนวน 1 สายต้น ได้แก่ MCC 26 มีจำนวนแถบ 10 แถบ มีค่า Rf เท่ากับ 0.300, 0.579, 0.638, 0.690, 0.843, 0.962, 1.010, 1.029, 1.048 และ 1.093 ตามลำดับ

กลุ่มที่ 9 จำนวน 1 สายต้น ได้แก่ MCC 83 มีจำนวนแถบ 7 แถบ มีค่า Rf เท่ากับ 0.300, 0.638, 0.690, 0.843, 0.962, 1.010 และ 1.048 ตามลำดับ

กลุ่มที่ 10 จำนวน 1 สายต้น ได้แก่ MCC 87 มีจำนวนแถบ 8 แถบ มีค่า Rf เท่ากับ 0.300, 0.579, 0.638, 0.690, 0.843, 0.962, 1.029 และ 1.048 ตามลำดับ

ไอโซไซม์ acid phosphatase สามารถจำแนกมะม่วงแก้วออกมาได้อย่างชัดเจนจำนวน 4 สายต้น ได้แก่ MCC 16, 26, 83 และ 87 ส่วน สายต้น

ที่จำแนกไม่ได้มีจำนวน 48 สายต้น ซึ่งแยกออกได้เป็น 6 กลุ่ม คือกลุ่มที่ 1-6 ข้างต้น

2. ไอโซไซม์ esterase พบจำนวนแถบสีทั้งหมด 7 แถบ โดยมีค่า Rf เท่ากับ 0.300, 0.583,

0.629, 0.671, 0.843, 0.962 และ 1.038 นำไปเขียนแผนภาพ (ภาพที่ 2) จากการวิเคราะห์เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างมะม่วงแก้วทั้ง 52 สายต้น โดยพิจารณาจากการมีและไม่มีแถบสีของไอโซไซม์

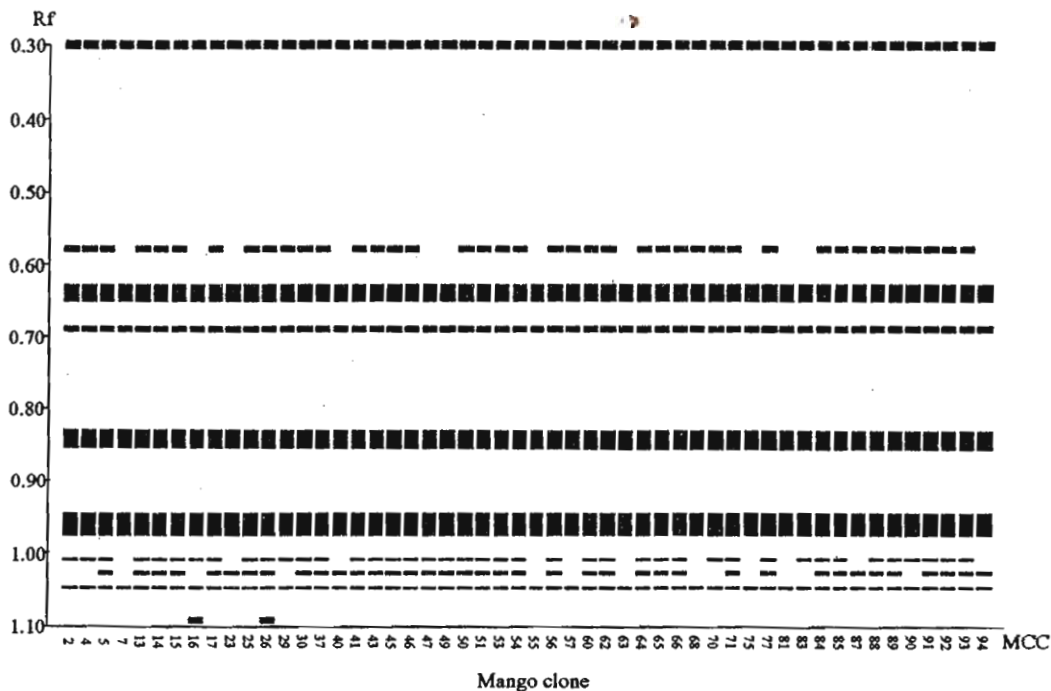


Figure 1 Zymogram of acid phosphatase isozyme of 52 Kaew mango clones.

esterase สามารถจำแนกสายต้นมะม่วงแก้วได้ 4 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 จำนวน 46 สายต้น ได้แก่ MCC 2, 4, 5, 13, 14, 17, 23, 25, 29, 30, 37, 40, 41, 43, 45, 46, 47, 49, 50, 53, 54, 55, 56, 57, 60, 62, 63, 64, 65, 66, 68, 70, 71, 75, 77, 81, 84, 85, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93 และ 94 มีจำนวนแถบ 7 แถบ มีค่า Rf เท่ากับ 0.300, 0.583, 0.629, 0.671, 0.843, 0.962 และ 1.038 ตามลำดับ

กลุ่มที่ 2 จำนวน 4 สายต้น ได้แก่ MCC 7, 15, 16 และ 83 มีจำนวนแถบ 6 แถบ มีค่า Rf เท่ากับ 0.300, 0.629, 0.671, 0.843, 0.962 และ 1.038

ตามลำดับ

กลุ่มที่ 3 จำนวน 1 สายต้น ได้แก่ MCC 26 มีจำนวนแถบ 5 แถบ มีค่า Rf เท่ากับ 0.300, 0.629, 0.843, 0.962 และ 1.038 ตามลำดับ

กลุ่มที่ 4 จำนวน 1 สายต้น ได้แก่ MCC 51 มีจำนวนแถบ 5 แถบ มีค่า Rf เท่ากับ 0.300, 0.671, 0.843, 0.962 และ 1.038 ตามลำดับ

ไอโซไซม์ esterase สามารถจำแนกมะม่วงแก้วออกมาได้อย่างชัดเจนจำนวน 2 สายต้น ได้แก่ MCC 26 และ 51 ส่วนสายต้นที่จำแนกไม่ได้มีจำนวน 50 สายต้น ซึ่งแยกออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่ 1 และ 2 ข้างต้น

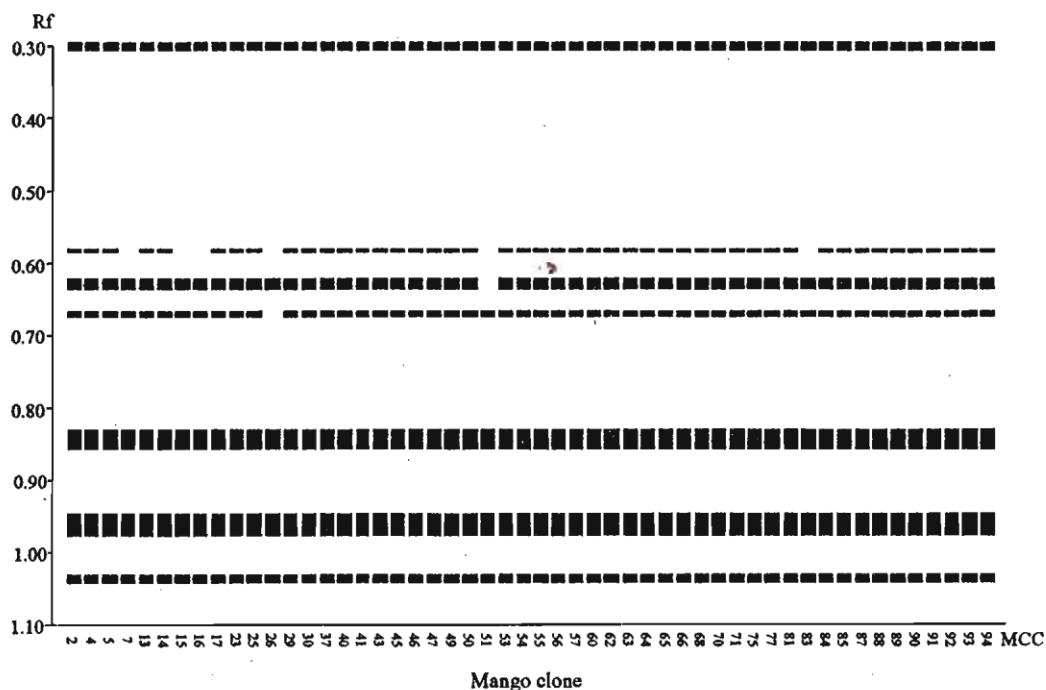


Figure 2 Zymogram of esterase isozyme of 52 Kaew mango clones.

3. ไอโซไซม์ peroxidase พบจำนวนแถบสีทั้งหมด 18 แถบ โดยมีค่า Rf เท่ากับ 0.130, 0.169, 0.223, 0.250, 0.270, 0.539, 0.561, 0.571, 0.581, 0.596, 0.618, 0.691, 0.718, 0.750, 0.782, 0.816, 0.831 และ 0.890 นำไปเขียนแผนภาพ (ภาพที่ 3) จากการวิเคราะห์เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างมะม่วงแก้วทั้ง 52 สายต้น โดยพิจารณาจากการมีและไม่มีแถบสีของ ไอโซไซม์ peroxidase ทำให้สามารถจำแนกสายต้นมะม่วงแก้วได้ 15 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 จำนวน 14 สายต้น ได้แก่ MCC 4, 40, 41, 46, 54, 60, 63, 71, 81, 84, 85, 87, 89 และ 93 มีจำนวนแถบ 11 แถบ มีค่า Rf เท่ากับ 0.130, 0.223, 0.250, 0.270, 0.539, 0.561, 0.581, 0.618, 0.691, 0.718 และ 0.816 ตามลำดับ

กลุ่มที่ 2 จำนวน 8 สายต้น ได้แก่ MCC 2, 29, 37, 51, 57, 65, 92 และ 94 มีจำนวนแถบ 12 แถบ มีค่า Rf เท่ากับ 0.130, 0.223, 0.250, 0.270, 0.539,

0.561, 0.581, 0.618, 0.691, 0.718, 0.750 และ 0.816 ตามลำดับ

กลุ่มที่ 3 จำนวน 7 สายต้น ได้แก่ MCC 13, 14, 25, 50, 55, 66 และ 77 มีจำนวนแถบ 13 แถบ มีค่า Rf เท่ากับ 0.130, 0.223, 0.250, 0.270, 0.539, 0.561, 0.581, 0.618, 0.691, 0.718, 0.750, 0.782 และ 0.816 ตามลำดับ

กลุ่มที่ 4 จำนวน 6 สายต้น ได้แก่ MCC 5, 30, 53, 56, 68 และ 83 มีจำนวนแถบ 14 แถบ มีค่า Rf เท่ากับ 0.130, 0.223, 0.250, 0.270, 0.539, 0.561, 0.581, 0.618, 0.691, 0.718, 0.750, 0.782, 0.816 และ 0.890 ตามลำดับ

กลุ่มที่ 5 จำนวน 3 สายต้น ได้แก่ MCC 15, 17 และ 43 มีจำนวนแถบ 10 แถบ มีค่า Rf เท่ากับ 0.130, 0.223, 0.250, 0.270, 0.539, 0.561, 0.581, 0.618, 0.691 และ 0.718 ตามลำดับ

กลุ่มที่ 6 จำนวน 3 สายต้น ได้แก่ MCC 47,

90 และ 91 มีจำนวนแถบ 8 แถบ มีค่า Rf เท่ากับ 0.130, 0.223, 0.250, 0.270, 0.539, 0.561, 0.581 และ 0.691 ตามลำดับ

กลุ่มที่ 7 จำนวน 2 สายต้น ได้แก่ MCC 16 และ 26 มีจำนวนแถบ 10 แถบ มีค่า Rf เท่ากับ 0.130, 0.223, 0.250, 0.270, 0.539, 0.561, 0.581, 0.691, 0.718 และ 0.816 ตามลำดับ

กลุ่มที่ 8 จำนวน 2 สายต้น ได้แก่ MCC 64 และ 70 มีจำนวนแถบ 10 แถบ มีค่า Rf เท่ากับ 0.130, 0.223, 0.250, 0.270, 0.539, 0.561, 0.581, 0.618, 0.691 และ 0.816 ตามลำดับ

กลุ่มที่ 9 จำนวน 1 สายต้น ได้แก่ MCC 7 มีจำนวนแถบ 13 แถบ มีค่า Rf เท่ากับ 0.130, 0.223, 0.250, 0.270, 0.539, 0.571, 0.596, 0.618, 0.691, 0.718, 0.750, 0.782 และ 0.816 ตามลำดับ

กลุ่มที่ 10 จำนวน 1 สายต้น ได้แก่ MCC 23 มีจำนวนแถบ 15 แถบ มีค่า Rf เท่ากับ 0.130, 0.223, 0.250, 0.270, 0.539, 0.561, 0.581, 0.618, 0.691, 0.718, 0.750, 0.782, 0.816, 0.831 และ 0.890 ตามลำดับ

กลุ่มที่ 11 จำนวน 1 สายต้น ได้แก่ MCC 45 มีจำนวนแถบ 10 แถบ มีค่า Rf เท่ากับ 0.130, 0.223, 0.250, 0.270, 0.539, 0.571, 0.596, 0.618, 0.691 และ 0.718 ตามลำดับ

กลุ่มที่ 12 จำนวน 1 สายต้น ได้แก่ MCC 49 มีจำนวนแถบ 9 แถบ มีค่า Rf เท่ากับ 0.130, 0.223, 0.250, 0.270, 0.539, 0.561, 0.581, 0.691 และ 0.816 ตามลำดับ

กลุ่มที่ 13 จำนวน 1 สายต้น ได้แก่ MCC 62 มีจำนวนแถบ 8 แถบ มีค่า Rf เท่ากับ 0.130, 0.223, 0.250, 0.270, 0.539, 0.561, 0.581 และ 0.816 ตามลำดับ

กลุ่มที่ 14 จำนวน 1 สายต้น ได้แก่ MCC 75 มีจำนวนแถบ 13 แถบ มีค่า Rf เท่ากับ 0.130, 0.223, 0.250, 0.270, 0.539, 0.561, 0.581, 0.618, 0.691, 0.718, 0.750, 0.816 และ 0.890 ตามลำดับ

กลุ่มที่ 15 จำนวน 1 สายต้น ได้แก่ MCC 88 มีจำนวนแถบ 9 แถบ มีค่า Rf เท่ากับ 0.130, 0.169, 0.223, 0.250, 0.270, 0.539, 0.561, 0.581 และ 0.618 ตามลำดับ

ไอโซไซม์ peroxidase สามารถจำแนกมะม่วงแก้วออกมาได้อย่างชัดเจนจำนวน 7 สายต้น ได้แก่ MCC 7, 23, 45, 49, 62, 75 และ 88 ส่วนสายต้นที่จำแนกไม่ได้มีจำนวน 45 สายต้นซึ่งแยกออกได้เป็น 8 กลุ่ม คือกลุ่มที่ 1-8 ข้างต้น

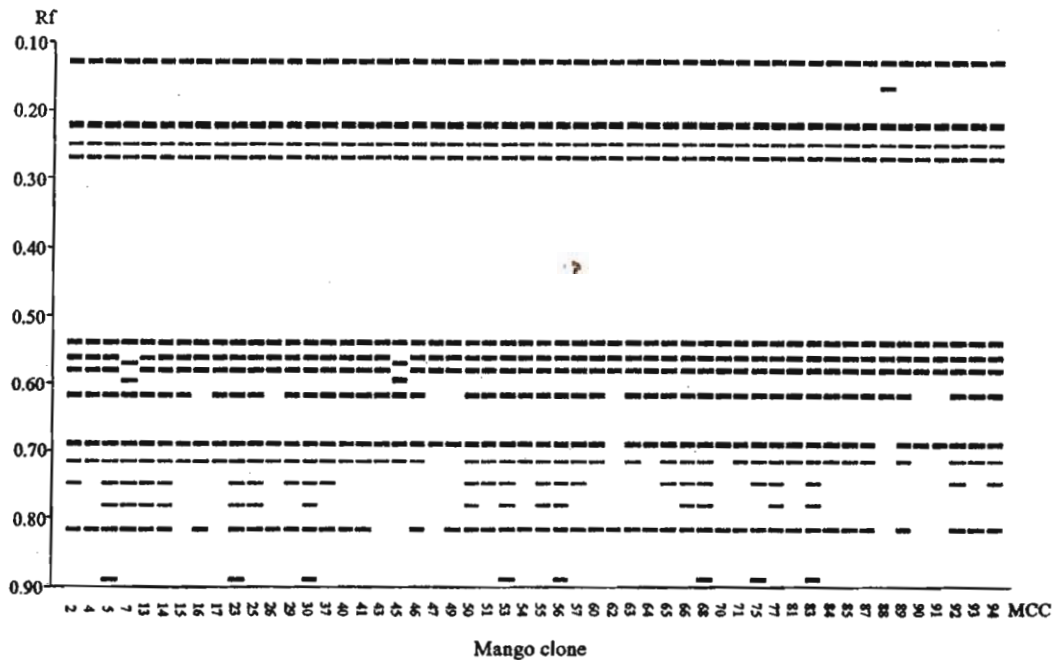


Figure 3 Zymogram of peroxidase isozyme of 52 Kaew mango clones.

จากการวิเคราะห์เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างมะม่วงแก้วทั้ง 52 สายต้น โดยพิจารณาจากการมีและไม่มีแถบสี ไอโซไซม์ peroxidase จำแนกมะม่วงแก้วออกได้เป็น 7 สายต้นและอีก 15 กลุ่ม acid phosphatase สามารถแยกกลุ่มที่ 1, 2, 3, 4, 6 และ 7 ซึ่งแยกได้ในตอนแรกโดยไอโซไซม์ peroxidase และสามารถจำแนกมะม่วงแก้วออกจากกันอย่างชัดเจนได้เพิ่มเติมอีกจำนวน 11 สายต้น ได้แก่ MCC 4, 16, 26, 40, 47, 55, 57, 68, 83, 87 และ 94 ส่วนไอโซไซม์ esterase พบว่าสามารถแยกกลุ่มที่แยกไม่ได้ด้วยไอโซไซม์ acid phosphatase ออกได้อีกและจำแนกสายต้นมะม่วงแก้วออกจากกันอย่างชัดเจนได้ 2 สายต้น ได้แก่ MCC 15 และ 51 จากการใช้ไอโซไซม์ 3 ชนิดรวมกันสามารถจำแนกสายต้นมะม่วงแก้ว 52 สายต้น ออกเป็น 20 สายต้นเดี่ยว ได้แก่ MCC 4, 7, 15, 16, 23, 26, 40, 45, 47, 49, 51, 55, 57, 62, 68, 75, 83, 87, 88 และ 94 ส่วนสายต้นที่เหลือมีจำนวน 32 สายต้น สามารถแยกออกได้เป็น 9 กลุ่ม

ดังนี้

กลุ่มที่ 1 จำนวน 9 สายต้น ได้แก่ MCC 41, 46, 54, 60, 71, 84, 85, 89 และ 93

กลุ่มที่ 2 จำนวน 6 สายต้น ได้แก่ MCC 13, 14, 25, 50, 66 และ 77

กลุ่มที่ 3 จำนวน 4 สายต้น ได้แก่ MCC 5, 30, 53 และ 56

กลุ่มที่ 4 จำนวน 3 สายต้น ได้แก่ MCC 37, 65 และ 92

กลุ่มที่ 5 จำนวน 2 สายต้น ได้แก่ MCC 2 และ 29

กลุ่มที่ 6 จำนวน 2 สายต้น ได้แก่ MCC 17 และ 43

กลุ่มที่ 7 จำนวน 2 สายต้น ได้แก่ MCC 63 และ 81

กลุ่มที่ 8 จำนวน 2 สายต้น ได้แก่ MCC 64 และ 70

กลุ่มที่ 9 จำนวน 2 สายต้น ได้แก่ MCC 90 และ 91 ดังภาพที่ 4

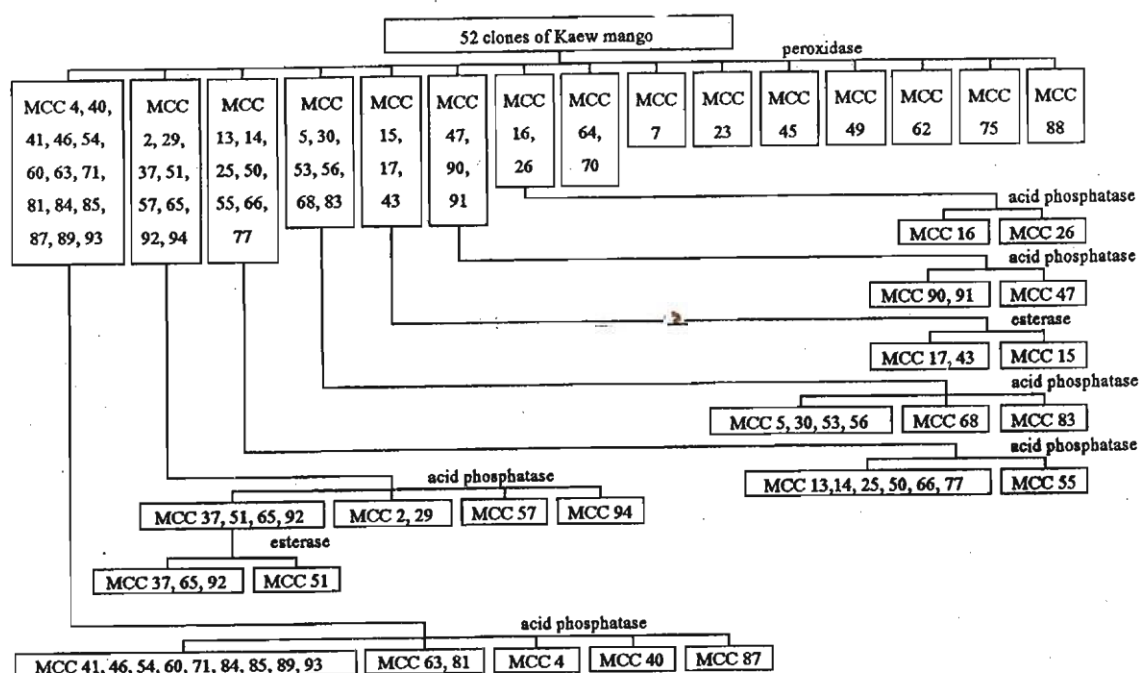


Figure 4 Identical chart of 52 Kaew mango clones by acid phosphatase, esterase and peroxidase.

วิจารณ์ผลการทดลอง

ตัวอย่างที่นำมาสกัดเอนไซม์โดยใช้ใบแก่อายุ 7 เดือน สามารถให้แถบสีที่ชัดเจน และมีจำนวนแถบสีมากกว่าใบที่มีอายุน้อยกว่าความเข้มข้นของเจล ใช้ความเข้มข้นของ stacking gel เท่ากันคือ 4 เปอร์เซ็นต์ ในไอโซไซม์ทั้ง 3 ชนิด ซึ่งโดยทั่วไปแล้วจะใช้ที่ความเข้มข้น 3-5 เปอร์เซ็นต์ (พิสสรรณ, 2531) ในขณะที่ separating gel ในการศึกษาไอโซไซม์ peroxidase ใช้ความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ ค่าเปอร์เซ็นต์ T เท่ากับ 30 และค่าเปอร์เซ็นต์ C เท่ากับ 2.67 ให้แถบสีที่ชัดเจนและกระจายดีที่สุดเทียบกับเมื่อใช้ความเข้มข้นของเจลที่สูงหรือต่ำกว่านี้ สำหรับไอโซไซม์ acid phosphatase และ esterase ต้องใช้ความเข้มข้นของเจลสูงถึง 22 เปอร์เซ็นต์ ค่าเปอร์เซ็นต์ T เท่ากับ 30 และค่าเปอร์เซ็นต์ C เท่ากับ 6 จึงจะสามารถเห็นแถบสีของไอโซไซม์ได้ ซึ่งปกติความเข้มข้นของเจลที่เหมาะสมสำหรับการแยก

โปรตีนมีค่าเปอร์เซ็นต์ T ประมาณ 5-15 และค่าเปอร์เซ็นต์ C ประมาณ 2-4 แสดงให้เห็นว่าไอโซไซม์ acid phosphatase และ esterase ประกอบด้วยโมเลกุลที่มีมวลโมเลกุลต่ำมาก กล่าวคือมีขนาดมวลโมเลกุลต่ำกว่า 15,000 (อาภัสสร, 2537) และเป็นที่สังเกตว่ามีบางโมเลกุลที่มีขนาดเล็กมากจนเคลื่อนที่ได้ไกลกว่า marker จึงทำให้ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์บางตัวมีค่ามากกว่า 1 ปริมาณสารสกัดจากการศึกษาไอโซไซม์ peroxidase พบว่าสารสกัดปริมาณ 50 ไมโครลิตรเหมาะสมที่สุดเทียบกับเมื่อใช้มากหรือน้อยกว่านี้ สำหรับไอโซไซม์ acid phosphatase และ esterase พบว่าสารสกัดปริมาณ 70 ไมโครลิตรเหมาะสมที่สุดเทียบกับเมื่อใช้มากหรือน้อยกว่านี้ กล่าวคือ ทำให้เห็นแถบสีจำนวนมากและชัดเจนที่สุด

ในการจำแนกสายต้นมะม่วงแก้วได้พิจารณาจากการมีและไม่มีแถบสีเพียงอย่างเดียว เนื่องจากความเข้มและความหนาของแถบสีมีความแปรปรวนหลายระดับมากไม่อาจจะแบ่งแยกได้

อย่างเด่นชัดหากนำมาพิจารณาด้วยจะทำให้การจำแนกเกิดความผิดพลาดขึ้นได้

ไอโซไซม์ peroxidase แสดงแถบสีที่สามารถนำมาเปรียบเทียบกันได้ 18 แถบจำนวนใกล้เคียงกับการศึกษาลักษณะไอโซไซม์ peroxidase ของมะม่วงในประเทศไทย ซึ่งเพิ่มพงษ์และ คณะ (2538) ใช้ตัวกลางเป็นพอลิอะคริลาไมด์เจลเหมือนกัน แต่ใช้ความเข้มข้นของ separating gel ต่ำกว่าคือ 7เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบว่ามีแถบสีอยู่ระหว่าง 16-19 แถบ ส่วนมะม่วงแก้วในการศึกษา นี้มี 17 แถบเท่า ๆ กับพันธุ์ หนองแซง พิมเสนมัน อกร่อง และหนังกลางวัน

ไอโซไซม์ acid phosphatase และ esterase ไม่พบว่ามีผู้ศึกษาโดยใช้ตัวกลางเป็นพอลิอะคริลาไมด์เจลแต่ในการศึกษาครั้งนี้ไอโซไซม์ acid phosphatase แสดงแถบสีที่ชัดเจนและนำมาเปรียบเทียบได้ 10 แถบ ในขณะที่ไอโซไซม์ esterase แสดงแถบสีที่นำมาเปรียบเทียบได้ 7 แถบ อย่างไรก็ตามการใช้เทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิสในการศึกษาลักษณะไอโซไซม์ สามารถใช้จำแนกสายต้นมะม่วงแก้วได้ในระดับหนึ่ง โดยเฉพาะไอโซไซม์ peroxidase ที่แสดงแถบสีได้ถึง 18 แถบและแสดงความแตกต่างได้พอสมควร ในขณะที่ ไอโซไซม์ acid phosphatase และ esterase แสดงแถบที่ชัดเจนและแบ่งกลุ่มได้น้อยกว่าและเมื่อใช้ทั้ง 3 ไอโซไซม์พิจารณาร่วมกันทำให้แบ่งกลุ่มได้มากยิ่งขึ้น ซึ่งถ้าเพิ่มชนิดของไอโซไซม์ที่ศึกษาอีกก็อาจจะแยกสายต้นของมะม่วงแก้วทั้งหมดออกจากกันได้

สรุปผลการทดลอง

การทำอิเล็กโตรโฟรีซิสโดยใช้ไอโซไซม์สามารถแยกสายต้นมะม่วงแก้ว 52 สายต้นออกจากกันได้ เฉพาะไอโซไซม์ acid phosphatase แยก

มะม่วงแก้วได้ 4 สายต้น และอีก 6 กลุ่ม ไอโซไซม์ esterase แยกมะม่วงได้ 2 สายต้น และ 2 กลุ่ม และไอโซไซม์ peroxidase แยกมะม่วงแก้วได้ 7 สายต้น และอีก 8 กลุ่มเมื่อนำไอโซไซม์ทั้ง 3 ชนิดมาพิจารณาร่วมกัน สามารถจำแนกมะม่วง แก้วทั้ง 52 สายต้นออกได้เป็น 20 สายต้นและอีก 9 กลุ่ม

เอกสารอ้างอิง

- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2543. คู่มือพืชสวนเศรษฐกิจ. กองส่งเสริมพืชสวน กรมส่งเสริมการเกษตร, กรุงเทพฯ. 314 น.
- รัชชัย รัตนกุล. 2540. รายงานความก้าวหน้าของโครงการในรอบ 6 เดือนที่ 1 ระหว่าง 1 มีนาคม - 31 สิงหาคม 2540. โครงการการคัดเลือกการพัฒนาและการขยายพันธุ์มะม่วงอุตสาหกรรมสายพันธุ์ดีที่ปรับตัวแล้วบนที่ดอนอาศัยน้ำฝน. ศูนย์วิจัยเพื่อเพิ่มผลผลิตทางเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 32 น.
- เปรมปรี ติ สงขลา. 2540. มะม่วงของเรา ณ วันนี้ และวันข้างหน้า. วารสารเกษตรการเกษตร 21 (6): 46-50.
- พิศสุวรรณ เขียมสมบัติ. 2531. อิเล็กโตรโฟรีซิส, น. 1-13. ในเอกสารประกอบการฝึกอบรมทางวิชาการเทคนิคทางอิเล็กโตรโฟรีซิสในการ จำแนกพันธุ์พืช. สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.
- เพิ่มพงษ์ ศรีประเสริฐศักดิ์ สมนึก พรหมแดง สุภาพร นทีวัฒนาและพิศสุวรรณ เขียมสมบัติ. 2538. เพอร์ออกซิเดส ไอโซไซม์ในมะม่วง, น. 91-101. ในรายงานผลการวิจัยศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

ไพโรจน์ ผลประสิทธิ์. 2539. พ่อขุนฯ ดันกำเนิดพันธุ์และ
เจ้าของมะม่วงสวนแรกของไทย. วารสารเกษตร
การเกษตร 20 (7) : 46-52.
วิชาญ เอียคทอง. 2543. แหล่งพันธุกรรมของมะม่วงตอน
ที่ 1. วารสารเกษตรการเกษตร 24 (7) : 81-89.

อภัสสรราชมิกท์. 2537. เทคนิคอิเล็กทรอนิกส์. ภาควิชา
สรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 106 น.