

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของไผ่โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลเอสเอสอาร์

Genetic diversity of bamboo using SSR markers

ณัฐริการ์ นวลศรี¹ นภัส นุ่มสกุล¹ สุมาลี พิมพันธ์² สุรเชษฐ เอี่ยมสำอาง^{2*}

Nattharika Nualsri¹, Napas Numsakul¹, Sumalee Phimphan², Surachest Aiumsamang^{2*}

¹ นักศึกษาสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

¹ Student of Biology program, Faculty of Science and Technology, Phetchabun Rajabhat University

² สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

² Biology program, Faculty of Science and Technology, Phetchabun Rajabhat University

*Corresponding author E-mail: toptthesun1978@gmail.com

(Received: Sept16, 2022; Revised: Dec4, 2022; Accepted: Dec14, 2022)

บทคัดย่อ

ไผ่เป็นพืชตระกูลหญ้าและเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอกที่คล้ายคลึงกัน จึงจำเป็นต้องอาศัยเครื่องมือที่มีความแม่นยำในการจำแนก ซึ่งเครื่องหมายเอสเอสอาร์เป็นเครื่องมือที่น่าสนใจและให้ผลที่แม่นยำ ดังนั้นงานวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของไผ่ในจังหวัดเพชรบูรณ์ ได้แก่ ไผ่ขาง ไผ่บง ไผ่เปาะ ไผ่ดำ ไผ่ไร่ ไผ่เหลือง ไผ่บงดำ ไผ่สีสุก ไผ่หลอด ไผ่คายดำ ไผ่น้ำเต้า ไผ่หนาม และไผ่จันทน์ โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลชนิดเอสเอสอาร์จำนวน 3 คู่ จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (Polymerase Chain Reaction) แสดงแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกัน (Polymorphism) เกิดขึ้นทั้งหมด 10 แถบ มีความคล้ายคลึงทางพันธุกรรม (Similarity Coefficient) อยู่ระหว่าง 0.55-1.00 สามารถจำแนกไผ่ออกเป็น 2 กลุ่ม แสดงให้เห็นว่าเครื่องหมายโมเลกุลชนิดเอสเอสอาร์สามารถบ่งบอกความหลากหลายทางพันธุกรรมของไผ่ 13 ชนิดพันธุ์ได้

คำสำคัญ : ไผ่ ความหลากหลายทางพันธุกรรม เครื่องหมายโมเลกุลเอสเอสอาร์

Abstract

The bamboo is Gramineae commercially important crop of Thailand and have similar externalities. Therefore, it is necessary to use an instrument that is accurate to classify. The SSR marker is an interesting and accurate tool. Therefore, this research is to study the genetic diversity of bamboo in Phetchabun Province, such as *Bambusa Bambos*, *Gigantochloa albociliata*, *Bambusa vulgaris*, *Bambusa tulda*, *Dendrocalamus strictus*, *Bambusa vulgaris*, *Bambusa oldhamii*, *Bambusa nutans*, *Dendrocalamus giganteus*, *Bambusa vulgaris*, *Bambusa blumeana*, *Neohouzeaus mekongensis* and *Gigintochloa compressa* by using three SSRs markers. From the increase in DNA content using the Polymerase Chain Reaction, 10 polymorphisms were shown with a genetic similarity. Coefficient was between 0.55-1.00. It can be divided into two groups clearly and indicating that the SSR molecular markers were able to identify the genetic diversity of thirteen bamboo species.

Keywords : bamboo, genetic diversity, SSR marker

บทนำ

ไผ่เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวอยู่ในวงศ์ Poacea และวงศ์ย่อย Bambusoideae ซึ่งเป็นพืชที่สามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วทั้งในเขตอบอุ่นและเขตร้อน มีความสำคัญทางเศรษฐกิจเป็นอย่างมาก มีการนำส่วนต่าง ๆ ของไผ่มาใช้ประโยชน์ได้อย่างหลากหลาย เช่น นิยมนำหน่อมาบริโภค อีกทั้งยังมีความสำคัญในอุตสาหกรรมอาหารกระป๋องแปรรูป เนื้อไม้หรือส่วนของลำไผ่ เป็นส่วนของลำต้นนิยมนำไปผลิตเฟอร์นิเจอร์ รากไผ่มีส่วนช่วยป้องกันการพังทลายของดิน [1] สำหรับ ประเทศไทยได้มีการสำรวจและค้นพบไผ่ทั้งหมด 12 สกุล 82 ชนิดพันธุ์ [2] และพบมากที่สุดในภาคเหนือ ปัจจุบันพื้นที่ป่าไผ่เหลือเพียงร้อยละ 30 ของพื้นที่ในประเทศ [3] การจำแนกไผ่นั้นสามารถทำได้โดยการดูลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่น ลักษณะใบ ลำต้น เส้นรอบวงสีของลำต้น ความหนาของลำต้น เป็นต้น หรือการจำแนกโดยลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของไผ่ เช่น เหง้า กาบลำ ดอก และช่อดอก เป็นต้น [1] อย่างไรก็ตาม การจำแนกสายพันธุ์ของไผ่ชนิดต่าง ๆ ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา หากขาดประสบการณ์และไม่มีความเชี่ยวชาญมากพออาจทำให้การระบุชนิดพันธุ์ของไผ่เกิดความผิดพลาดได้ ดังนั้น จำเป็นต้องนำเครื่องหมายโมเลกุล (Molecular marker) หรือเครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker) เข้ามาใช้ เนื่องจากมีความสามารถในการจำแนกลักษณะเฉพาะของสิ่งมีชีวิตได้ในระดับโมเลกุลโดยการตรวจสอบในระดับดีเอ็นเอโดยตรง จึงมีความแม่นยำสูงและมีประสิทธิภาพในการบ่งชี้ลักษณะและความแตกต่างทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต ในปัจจุบันเครื่องหมายดีเอ็นเอหรือเครื่องหมายโมเลกุล มีบทบาทเป็นอย่างมากในงานด้านพันธุศาสตร์การปรับปรุงพันธุ์พืชเนื่องจากมีอิทธิพลของสภาพแวดล้อมที่น้อยเป็นผลทำให้การคัดเลือกหรือการจัดจำแนกสิ่งมีชีวิตแม่นยำมากขึ้น [4] เทคนิคเอสเอสอาร์ (Simple Sequence Repeat) หรือเทคนิค Microsatellite คือลำดับดีเอ็นเอที่ซ้ำกันเป็นชุด ๆ แม้จะไม่ใช้การเปรียบเทียบลำดับดีเอ็นเอทั้งหมดของจีโนมแต่ลำดับดีเอ็นเอดังกล่าวนั้นจะมีความจำเพาะสูง (Unique sequence) ในแต่ละชนิดพันธุ์ของสิ่งมีชีวิตจึงเป็นหนึ่งในเครื่องหมายโมเลกุลที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากเทคนิคนี้เมื่อเปรียบเทียบกับเทคนิคอื่นแล้วนับเป็นวิธีที่ทำได้ง่าย ให้ข้อมูลมีความแม่นยำสูง มีความแตกต่างทางพันธุกรรมในลำดับเบสของดีเอ็นเอหรือระดับโพลิมอร์ฟิซึมสูง (Polymorphism) ด้วยเหตุนี้จึงถูกนำมาใช้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของไผ่ ได้แก่ ไผ่หนาม (*Bambusa Bambos*) ไผ่ไร่ (*Gigantochloa albociliata*) ไผ่เหลือง (*Bambusa vulgaris*) ไผ่บงดำ (*Bambusa tulda*) ไผ่ซาง (*Dendrocalamus strictus*) ไผ่น้ำเต้า (*Bambusa vulgaris*) ไผ่จีน (*Bambusa oldhamii*) ไผ่บง (*Bambusa nutans*) ไผ่เป่าะ (*Dendrocalamus giganteus*) ไผ่ดำ (*Bambusa vulgaris*) ไผ่สีสุก (*Bambusa blumeana*) ไผ่หลอด (*Neohouzeaus mekongensis*) และ ไผ่คายดำ (*Gigintochloa compressa*) โดยการนำข้อมูลที่ได้มาจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA (Unweighted pair group method using arithmetic average) ซึ่งเป็นวิธีการทางอัลกอริทึม (Algorithm) ที่มีการคำนวณค่าความคล้ายคลึง (Similarity) หรือระยะห่าง (Distance) ของตัวอย่างที่ทำการศึกษาจากนั้นนำมาจับกลุ่มที่มีความคล้ายคลึงสูงสุดหรือระยะห่างต่ำสุด วิธีการ Distance matrix method สามารถแสดงผลการวิเคราะห์ได้เพียง dendrogram เท่านั้น จากนั้นเปรียบเทียบประสิทธิภาพการจัดกลุ่มโดยใช้วิธีการประเมินค่า Cophenetic

correlation coefficient (r) ซึ่งเป็นค่าที่ตรวจสอบ dendrogram บ่งบอกผลของการจัดกลุ่มว่าดีมากน้อยเพียงใด พิจารณาจากค่า goodness of fit โดยที่ถ้าหาก r มีค่ามากกว่า 0.9 ถือว่าจัดกลุ่มได้ดีมาก, r มีค่าอยู่ระหว่าง 0.8-0.9 ถือว่าจัดกลุ่มได้ดี, r มีค่าอยู่ระหว่าง 0.7-0.8 ถือว่าจัดกลุ่มได้ปานกลาง, r มีค่าน้อยกว่า 0.7 ถือว่าจัดกลุ่มได้ไม่ดี [5] งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของไม้ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลเอสเอสอาร์เพื่อให้เห็นถึงความใกล้ชิดทางพันธุกรรมและการจำแนกสายพันธุ์เพื่อเป็นฐานข้อมูลในการวางแผนการพัฒนาสายพันธุ์และการอนุรักษ์พันธุกรรมต่อไป

วิธีการดำเนินการวิจัย

เก็บรวบรวมตัวอย่างไม้จากสวนไม้เฉลิมพระเกียรติจังหวัดเพชรบูรณ์ ทั้ง 13 ชนิดพันธุ์ ได้แก่ ไม้ยาง ไม้เบง ไม้เปาะ ไม้ดำ ไม้ไร่ ไม้เหลียง ไม้งา ไม้ส้ ไม้หลด ไม้ค้าย ไม้ไผ่เต่า ไม้หนาม และไม้จันทน์ โดยตัดเอาช่วงใบอ่อนมาเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส นำมาสกัดดีเอ็นเอโดยใช้ชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป (Genomic DNA Extraction Kit Mini) No. YGP50 ของบริษัท RBC Bioscience, Taiwan โดยใช้ใบอ่อนปริมาณ 100 มิลลิกรัม บดร่วมกับไนโตรเจนเหลวจนเป็นผงละเอียด และเติมสารละลายตามวิธีที่ผู้ผลิตแนะนำจนเสร็จกระบวนการ และนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเพื่อใช้งานต่อไป

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีการปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (Polymerase chain reaction; PCR) ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลชนิดเอสเอสอาร์ (Simple Sequence Repeat) ดังแสดงในตารางที่ 1 ทำปฏิกิริยากับดีเอ็นเอของไม้ทั้ง 13 ชนิดพันธุ์ ซึ่งใช้ส่วนผสมของสารละลายมีดังนี้ nuclease-free water ปริมาตร 19 ไมโครลิตร 2x taq master mix 25 ไมโครลิตร primer 2 ไมโครลิตร และดีเอ็นเอต้นแบบความเข้มข้น 10 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร ปริมาตร 2 ไมโครลิตร โดยขั้นตอนมีดังนี้ Initial denaturation 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นทำปฏิกิริยาเป็นรอบ ตั้งแต่ขั้นตอน denaturation 94 องศาเซลเซียส, annealing 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที และ extension 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที ทั้งหมด 35 รอบ และขั้นตอน final extension 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที

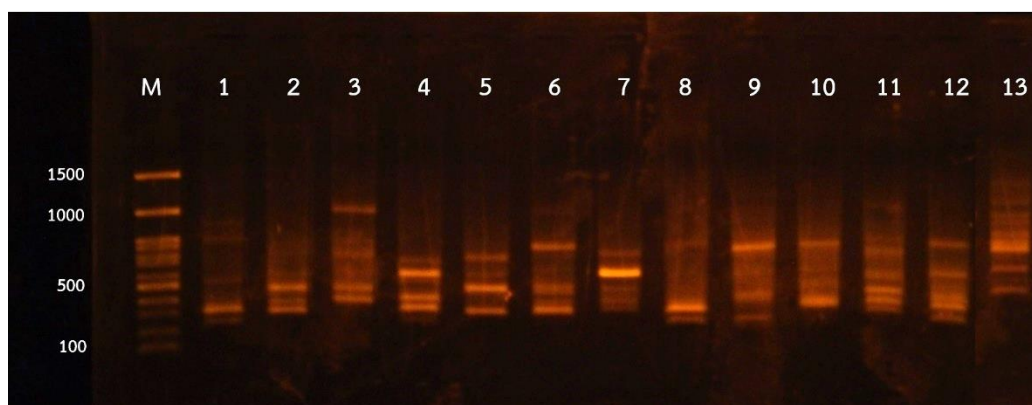
ตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสด้วยการแยกชิ้นส่วนดีเอ็นเอบน 1% agarose gel โดยอาศัยเทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิส (Gel electrophoresis) และเครื่อง gel documentation เพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของไม้ซึ่งวิเคราะห์ข้อมูลจากการปรากฏและไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอของไม้ในแต่ละชนิดพันธุ์และเปรียบเทียบขนาดของชิ้นส่วนดีเอ็นเอซึ่งเป็นผลมาจากผลผลิตพีซีอาร์โดยใช้ดีเอ็นเอมาร์กเกอร์ 1 kp ใช้ระบบตัวเลขบันทึกผลโดยการปรากฏแถบดีเอ็นเอในสัญลักษณ์เป็น 1 และไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอให้สัญลักษณ์เป็น 0 บันทึกข้อมูลทุกตำแหน่งของแถบดีเอ็นเอนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ข้อมูลทางคอมพิวเตอร์ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป NTSYS pc version 2.11a ด้วยวิธี UPGMA (Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Averaging) เพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์และจัดกลุ่มแบบลำดับขั้น (Hierarchical Clustering) ของไม้แบบ Dendrogram และวิเคราะห์ค่าความคล้ายคลึงทางพันธุกรรม (Similarity Coefficient) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป NTSYS pc version 2.11a

ตารางที่ 1. ไพรเมอร์ SSR ที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอไผ่ในการทดลอง

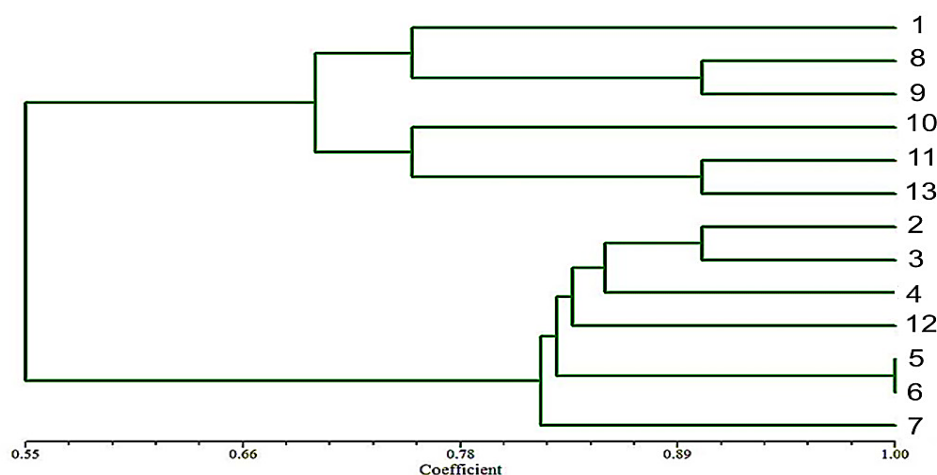
No.	Name	Sequence	Reference
1	Sasa500 F	GCAGATTGCCGTTGTTTAG	(Kitamura et al., 2009) [6]
	Sasa500 R	GGAGGGCCAAGAGGTTACA	
2	Aar05 F	GGGGCTCATAGAGGATTGC	(Aluana G et al., 2011) [7]
	Aar05 R	GGGGTAGGTTGTGACATCC	
3	Aar12 F	CATTGCTCATTGGACATTGG	(Aluana G et al., 2011) [7]
	Aar12 R	TGACATTGTAAGAGTCCCCATT	

ผลการวิจัย

จากการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของไผ่ทั้งหมด 13 ชนิดพันธุ์ในสวนไผ่เฉลิมพระเกียรติ จังหวัดเพชรบูรณ์ เมื่อนำจีโนมิกส์ดีเอ็นเอที่ได้จากการสกัดดีเอ็นเอ มาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์ (Polymerase chain reaction) โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลชนิดเอสเอสอาร์จำนวน 3 คู่ไพรเมอร์ทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกัน (Polymorphism) จำนวน 1 ไพรเมอร์ คือ Sasa500 [6] ไพรเมอร์เอสเอสอาร์ดังกล่าวแสดงแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นได้ทั้งหมด 61 แถบ (ภาพที่ 1) มีค่าความคล้ายคลึงทางพันธุกรรม (Similarity Coefficient) อยู่ระหว่าง 0.55-1.00 (ภาพที่ 2) มีค่าเฉลี่ยความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.63 แสดงให้เห็นว่าเครื่องหมายโมเลกุลชนิดเอสเอสอาร์สามารถบ่งบอกความหลากหลายทางพันธุกรรมของไผ่ทั้ง 13 ชนิดพันธุ์ได้ มีค่า r เท่ากับ 0.8 เมื่อนำข้อมูลที่ได้จากการปรากฏและไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอของไผ่ในแต่ละชนิดพันธุ์มาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของไผ่ด้วยวิธี UPGMA เพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์และจัดกลุ่มแบบลำดับขั้นของไผ่แบบ Dendrogram โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป NTSYS pc version 2.11a สามารถจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของไผ่ออกเป็น 2 กลุ่ม (ภาพที่ 2) ดังนี้ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย ไผ่ชาง (*Dendrocalamus strictus*) ไผ่สีสุก (*Bambusa blumeana*) ไผ่หลอด (*Neohouzeaus mekongensis*) ไผ่คายดำ (*Gigintochloa compressa*) ไผ่น้ำเต้า (*Bambusa vulgaris*) และไผ่จีน (*Bambusa oldhamii*) และกลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย ไผ่บง (*Bambusa nutans*) ไผ่เปาะ (*Dendrocalamus giganteus*) ไผ่ดำ (*Bambusa vulgaris*) ไผ่หนาม (*Bambusa Bambos*) ไผ่ไร่ (*Gigantochloa albociliata*) ไผ่เหลียง (*Bambusa vulgaris*) และไผ่บงดำ (*Bambusa tulda*)



ภาพที่ 1 รูปแบบอัลลีลของไฟในสวนไฟเฉลิมพระเกียรติจากจังหวัดเพชรบูรณ์ จากการใช้เครื่องหมายโมเลกุลชนิดเอสเอสอาร์ของไพรเมอร์ Sasa500; lane M คือ DNA ladder 1 kb, 1-13 คือ ไฟช้าง (*Dendrocalamus strictus*) ไฟบง (*Bambusa nutans*) ไฟเปาะ (*Dendrocalamus giganteus*) ไฟดำ (*Bambusa vulgaris*) ไฟไร่ (*Gigantochloa albociliata*) ไฟเหลือง (*Bambusa vulgaris*) ไฟบงดำ (*Bambusa tulda*) ไฟสีสุก (*Bambusa blumeana*) ไฟหลอด (*Neohouzeaus mekongensis*) ไฟคายนดำ (*Gigintochloa compressa*) ไฟน้ำเต้า (*Bambusa vulgaris*) ไฟหนาม (*Bambusa Bambos*) และไฟจีน (*Bambusa oldhamii*) ตามลำดับ



ภาพที่ 2 การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของไฟในสวนไฟเฉลิมพระเกียรติจากจังหวัดเพชรบูรณ์ โดยใช้วิธี UPGMA โดย 1 = ไฟช้าง (*Dendrocalamus strictus*) 2 = ไฟบง (*Bambusa nutans*) 3 = ไฟเปาะ (*Dendrocalamus giganteus*) 4 = ไฟดำ (*Bambusa vulgaris*) 5 = ไฟไร่ (*Gigantochloa albociliata*) 6 = ไฟเหลือง (*Bambusa vulgaris*) 7 = ไฟบงดำ (*Bambusa tulda*) 8 = ไฟสีสุก (*Bambusa blumeana*) 9 = ไฟหลอด (*Neohouzeaus mekongensis*) 10 = ไฟคายนดำ (*Gigintochloa compressa*) 11 = ไฟน้ำเต้า (*Bambusa vulgaris*) 12 = ไฟหนาม (*Bambusa Bambos*) และ 13 = ไฟจีน (*Bambusa oldhamii*) ตามลำดับ

สรุปผลการวิจัยและวิจารณ์

จากการศึกษาพบว่า การใช้เครื่องหมายโมเลกุล SSR ให้ผลในการจำแนกไฟออกเป็นกลุ่มได้ 2 กลุ่ม โดยไฟกลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย ไฟชาง (*Dendrocalamus strictus*) ไฟสีสุก (*Bambusa blumeana*) ไฟหลอด (*Neohouzeaus mekongensis*) ไฟคายดำ (*Gigintochloa compressa*) ไฟน้ำเต้า (*Bambusa vulgaris*) และไฟจีน (*Bambusa oldhamii*) และกลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย ไฟบง (*Bambusa nutans*) ไฟเปาะ (*Dendrocalamus giganteus*) ไฟดำ (*Bambusa vulgaris*) ไฟหนาม (*Bambusa Bambos*) ไฟไร่ (*Gigantochloa albociliata*) ไฟเหลือง (*Bambusa vulgaris*) และไฟบงดำ (*Bambusa tulda*) ซึ่งจะเห็นได้ว่า ทั้งในกลุ่มที่ 1 มีตัวอย่างการจำแนกไฟในสกุล *Bambusa* ไว้ในกลุ่มนี้ ได้แก่ ไฟสีสุก (*Bambusa blumeana*) ไฟน้ำเต้า (*Bambusa vulgaris*) และ ไฟจีน (*Bambusa oldhamii*) แต่ก็พบว่าไฟในสกุลนี้ถูกจัดไว้ในกลุ่มที่ 2 ด้วยเช่นกัน ได้แก่ ไฟบง (*Bambusa nutans*) ไฟดำ (*Bambusa vulgaris*) ไฟหนาม (*Bambusa Bambos*) ไฟเหลือง (*Bambusa vulgaris*) และไฟบงดำ (*Bambusa tulda*) ด้วยเช่นกัน ซึ่งให้ผลไปในลักษณะเดียวกันในสกุล *Dendrocalamus* และ *Gigintochloa* ซึ่งพบการถูกจัดจำแนกอยู่ในทั้ง 2 กลุ่ม แม้การใช้เครื่องหมายโมเลกุลจะให้ผลในการจำแนกที่อาจยังมีประสิทธิภาพในการจำแนกได้ในระดับหนึ่ง อย่างไรก็ตาม ยังสามารถจำแนกไฟสายพันธุ์ต่าง ๆ ออกจากกันได้อย่างชัดเจน ตัวอย่างการวิจัยของ สุจิตรา จางตระกูล (2553) [8] ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับไฟชางนวลจาก 4 สถานที่ที่ต่างกันพบว่าการแบ่งออกถึงสองกลุ่ม กล่าวได้ว่า ไฟที่ใช้ทำการศึกษาในงานวิจัยนี้อาจมีลักษณะที่แตกต่างทางพันธุกรรมกันไปตามสถานที่เก็บตัวอย่าง หรือการศึกษาของ อนุชสา บุญชาญ และ กิตติพัฒน์ อุโฆษกิจ (2555) [9] ได้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของไฟในประเทศไทยโดยใช้เครื่องหมาย EST-SSR จากการศึกษาไฟ 11 สกุล 32 สปีชีส์ เครื่องหมายโมเลกุลดังกล่าว สามารถจำแนกไฟออกเป็น 5 กลุ่ม โดยแต่ละสกุลมีการกระจายตัวอยู่ในกลุ่มต่าง ๆ เนื่องจากไฟมีความแปรปรวนทางพันธุกรรมค่อนข้างสูง เครื่องหมายโมเลกุลชนิดนี้ช่วยแยกความแตกต่างของจีโนไทป์ (genotype) ให้ค่า polymorphic สูงและง่ายต่อการวิเคราะห์ผล [10] การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของข้าวในประเทศอินเดีย 15 ชนิด โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลชนิดเอสเอสอาร์ จำนวน 30 ไพรเมอร์ บนตำแหน่งโครโมโซมที่ 7-12 สามารถจัดกลุ่มชนิดพันธุ์ของข้าวได้เป็น 11 กลุ่ม ด้วยวิธี UPGMA [11] และจากการศึกษาความหลากหลายของกาแฟ (*Coffea arabica*) ในพื้นที่อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์โดยใช้เทคนิคเครื่องหมายโมเลกุลเอสเอสอาร์ โดยนำกาแฟทั้งหมด 10 สายต้น (clonal plantation) มาสกัดดีเอ็นเอและเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอไรเซชันในปฏิกิริยานี้ใช้เอสเอสอาร์จำนวน 9 คู่ไพรเมอร์และพบลักษณะความแตกต่างทางพันธุกรรมในลำดับเบสของดีเอ็นเอ (polymorphism) 3 ไพรเมอร์คือ Sat172, Sar227, M24 จากการศึกษพบว่า SSR จำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมของกาแฟออกเป็นกลุ่มได้ทั้งหมด 3 กลุ่มดังนี้ กลุ่มที่หนึ่งประกอบด้วยสายต้น (7-1,7), (5-6,63), (5-3,63), (5-3,104), (5-4,104), (5-2,74), (5-2,87), (4-1,1), (4-1,53) กลุ่มที่สองและกลุ่มที่สามคือสายต้น (7-4,5) และ (4-1,35) ตามลำดับ [12] การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของทานตะวัน โดยใช้เครื่องมือโมเลกุลชนิดเอสเอสอาร์และอาร์เอฟดี ผลจากการเปรียบเทียบกับเครื่องหมายเอสเอสอาร์

และอาร์เอพีดีในการประเมินความแตกต่างทางพันธุกรรมของทานตะวันพบว่า เครื่องหมายเอสเอสอาร์ตรวจพบความแตกต่างทางพันธุกรรมหรือให้ค่า PIC เท่ากับ 0.64 ซึ่งให้ค่าที่สูงกว่าเครื่องหมายอาร์เอพีดีค่า PIC เท่ากับ 0.4 นอกจากนี้ยังให้ค่าความเหมือนทางพันธุกรรมเฉลี่ย (genetic similarity) เท่ากับ 0.31 สูงกว่าค่าจากเครื่องหมายอาร์เอพีดีเท่ากับ 0.22 [10] จากการศึกษาในครั้งนี้ เครื่องหมายโมเลกุล SSR สามารถใช้ตรวจสอบเพื่อระบุความแตกต่างทางพันธุกรรมและจำแนกไฟออกเป็นกลุ่มได้ ซึ่งเป็นการเพิ่มเครื่องมือในการคัดเลือกทางพันธุกรรมเพื่อใช้ในการระบุเอกลักษณ์สายพันธุ์ การจำแนกความแตกต่าง รวมไปถึงเป็นประโยชน์ต่อการวางแผนในการปรับปรุงพันธุ์ไฟ และการอนุรักษ์พันธุกรรมของไฟต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้ห้องปฏิบัติการและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ ขอขอบคุณสำนักงานทางหลวงที่ 6 เพชรบูรณ์ที่ให้ความอนุเคราะห์ในด้านการสำรวจและศึกษาสายพันธุ์ไฟ ขอขอบคุณนางสาวณัฐฉิณท์ วันเพ็ญ ที่ให้ความรู้และทักษะการทำงานในห้องปฏิบัติการ อาจารย์ทุกท่าน และพี่ น้องนักศึกษาสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ทุกคน

เอกสารอ้างอิง

- [1] สุทัศน์ เดชวิสิทธิ์. (2544). *การปลูกไม้ไฟ*. (พิมพ์ครั้งที่ 2). นนทบุรี: สำนักพิมพ์เกษตรสาส์น.
- [2] รุ่งรัตน์ ศรีนวกุล. (2550). *การให้บริการปรึกษาแนะนำเชิงลึกโรงงานอุตสาหกรรมเครื่องเรือนไม้ไฟ*. งานศึกษาวิจัย ส่วนพัฒนาอุตสาหกรรมเครื่องเรือน สำนักพัฒนาอุตสาหกรรมรายสาขา กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม.
- [3] สำนักฟื้นฟูและพัฒนาพื้นที่อนุรักษ์. (2555). *การสำรวจไม้ไฟของประเทศไทย(Bamboo Inventory in Thailand พ.ศ. 2552)*. สืบค้นจาก <http://www.dnp.go.th/inventory/download/รายงานไฟทั่วประเทศ.pdf>. (สืบค้นเมื่อวันที่ 7 ตุลาคม 2564).
- [4] สรพงศ์ เบญจศรี. (2554). เครื่องหมายโมเลกุลสำหรับการปรับปรุงพันธุ์พืช. *วารสารวิทยาศาสตร์ มช.*, 2554(39), 350-363.
- [5] จินตนา อิงคินันท์. (2550). *เอกสารประกอบการสอนวิชาการวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ*. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.
- [6] Kitamura, K., Yanazawa, M., Sugiyama, N., Miura, H., Iizuka-Kogo, A., Kusaka, M., Omichi, K., Suzuki, R., Kato-Fukui, Y., Kamiirisa, K., et al. (2002). Mutation of ARX causes abnormal development of forebrain and testes in mice and X-linked lissencephaly with abnormal genitalia in humans. *Nat Genet.*, 32(3), 359-369.

- [7] Abreu, A. G., Grombone-Guaratini, M. T., Monteiro, M., Pinheiro, J. B., Tombolato, A. F.C., & Zucchi, M. I. (2011). Development of microsatellite markers for *Aulonemia aristulata* (Poaceae) and cross-amplification in other bamboo species. *American journal of botany*, 98(4), e90-e92.
- [8] สุจิตรา จางตระกูล (2553). การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของไผ่ชางนวล (*Dendrocalamus membranaceus*) ในประเทศไทยโดยใช้ Microsatellite Markers. กรุงเทพฯ: กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพันธุ์พืช.
- [9] อนุชสา บุญชาญ และ กิตติพัฒน์ อุโฆษกิจ. (2555). การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของไผ่ในประเทศไทยโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลชนิด EST-SSR จากอ้อย. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 20(1), 37-48.
- [10] หนูเดือน เมืองแสน จิตติพร มะชิโกวา และ วปัญจมา จรรยาเลิศอดุล. (2560). การประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของทานตะวันโดยเครื่องหมายโมเลกุลชนิดเอสเอสอาร์และอาร์เอฟดี. Suranaree University of Technology Intellectual Repository. สืบค้นจาก <http://sutir.sut.ac.th:8080/jspui/bitstream/123456789/7053/2/Fulltext.pdf>. (สืบค้นเมื่อวันที่ 10 มกราคม 2565).
- [11] Chakravarthi, B.K., & Naravaneni, R. (2006). SSR marker based DNA fingerprinting and diversity study in rice (*Oryza sativa* L). *Afr. J. Biotechnol.*, 5, 684-688.
- [12] สุรเชษฐ เอี่ยมสำอาง และ สุมาลี พิมพ์พันธ์. (2563). ความหลากหลายทางพันธุกรรมของกาแฟ (*Coffea arabica*) ในพื้นที่อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ โดยเทคนิคเครื่องหมายโมเลกุลเอสเอสอาร์ (Genetic Diversity in Coffee (*Coffea arabica*) from Khao Kho District Phetchabun Province by SSR Marker Technique). *แก่นเกษตร*, 48(ฉบับพิเศษ 1), 515-524.
- [13] Kitamura, K., Saitoh, T., Matsuo, A., & Suyama, Y. (2009). Development of microsatellite markers for the dwarf bamboo species *Sasa cernua* and *Sasa kurilensis* (Poaceae) in northern Japan. *Molecular Ecology Resources*, 9(6), 1470-1472.