

นิพนธ์ต้นฉบับ

การวิเคราะห์ความผันแปรทางพันธุกรรมของต้นรักแกนมอในประเทศไทย
โดยใช้เครื่องหมาย Start Codon Targeted (SCoT)

Genetic Variation Analysis of Wax Tree (*Rhus succedanea* L.) in Thailand
by Start Codon Targeted (SCoT) Markers

กรองทอง ใจแก้วแดง^{1*}

วิชาญ เอียดทอง¹

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล²

Krongthong Jaikaewdang^{1*}

Wichan Eiadthong¹

Surin Peyachoknagul²

¹คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

Faculty of Forestry, Kasetsart University Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

* Corresponding Author, E-mail: kangaroo_rabbit@hotmail.com

²คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

Faculty of Science, Kasetsart University Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

รับต้นฉบับ 18 กรกฎาคม 2556

รับลงพิมพ์ 22 สิงหาคม 2556

ABSTRACT

The genetic variation study among 96 samples of wax tree (*Rhus succedanea* L.) was used five suitable primers of Start Codon Targeted (SCoT) markers; SCoT46, SCoT47, SCoT48, SCoT52 and SCoT55. It could be generated 36 bands of 800 to 3,000 bp. Thirty-four bands (94.44) were polymorphic. Heterozygosity (H) ranged from 0.21 to 0.39 with the average of 0.28. Polymorphic information content (PIC) ranged from 0.299 to 0.375. The coefficient of genetic differentiation (*Gst*) average was 0.275. The dendrogram was constructed using unweighted pair group method with arithmetic average (UPGMA) based on Jaccard's similarity coefficients that were 0.130 to 0.923 and classified into 10 groups. This result demonstrated that genetic variation of wax tree L. was high. It could be used as a genetic database for wax tree improvement, domestication and genetic resource conservation in the future.

Keywords: Genetic variation, Wax tree, SCoT marker

บทคัดย่อ

การศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรมของต้นรักแกนมอจำนวน 96 ตัวอย่าง โดยใช้เครื่องหมาย Start Codon Targeted (SCoT) พบไพรเมอร์ที่มีความเหมาะสมจำนวน 5 ไพรเมอร์ คือ SCoT46 SCoT47 SCoT48 SCoT52 และ SCoT55 สามารถให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 36 แถบ มีขนาดอยู่ในช่วง 800-3,000 คู่เบส โดย 34 แถบเป็นแถบ

ดีเอ็นเอที่ไฮโฟลิมอร์ฟิก คิดเป็น 94.44 เปอร์เซ็นต์ของแถบดีเอ็นเอทั้งหมด ค่าเฮเทอโรไซโกซิตีมีค่าอยู่ในช่วง 0.21-0.39 เฉลี่ยเท่ากับ 0.28 ค่า polymorphic information content มีค่าอยู่ในช่วง 0.299-0.375 และค่า coefficient of genetic differentiation มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.275 ผลการจัดกลุ่มด้วยวิธี unweighted pair group method with arithmetic average พบว่าค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมที่คำนวณด้วยสูตรของ Jaccard อยู่ในช่วง 0.130-0.923 สามารถแบ่งตัวอย่างต้นรักแถมมอที่ทำการศึกษออกเป็น 10 กลุ่ม การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างต้นรักแถมมอมีความผันแปรทางพันธุกรรมสูง สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการปรับปรุงพันธุ์และอนุรักษ์แหล่งพันธุกรรมในประเทศไทยต่อไป

คำสำคัญ: ความผันแปรทางพันธุกรรม ต้นรักแถมมอ เครื่องหมาย SCoT

คำนำ

ยางรักเป็นวัชพืชมรดกชาติที่เป็นกลุ่มสารโพลีเมอร์ มีคุณลักษณะเป็นชันเหนียว สามารถเคลือบพื้นผิวให้เป็นเงามันคงความใหม่แก่วัสดุได้นาน ทนต่อความร้อน ความชื้น กรดหรือด่างอ่อนๆ อีกทั้งยังใช้เชื่อมติดและปรับผิววัสดุให้เรียบได้เป็นอย่างดี (จุลทรรศน์, 2551) จากหลักฐานทางโบราณคดีพบว่าในประเทศไทยรู้จักการนำยางรักมาใช้ประโยชน์นานกว่า 4,000 ปี ด้วยการนำมาใช้เคลือบผิวภาชนะต่างๆ ให้มีความสวยงามและคงทน จนกลายเป็นมรดกทางวัฒนธรรมอีกแขนงหนึ่งของไทย มีความเป็นเอกลักษณ์ทางวัฒนธรรมเฉพาะตัวในระดับท้องถิ่นและระดับชาติของเอเชีย (วีระชัย, 2551)

รักแถมมอเป็นไม้ต้นขนาดเล็กถึงขนาดกลาง นิเวศแหล่งกระจายพันธุ์พบในป่าดิบแล้งและป่าดิบเขา ในเขตภูมิอากาศทุ่งหญ้าเขตร้อนและมรสุมเขตร้อนที่ระดับความสูงจากระดับน้ำทะเลปานกลาง 600-2,000 เมตร ในประเทศไทยมีการสำรวจพบที่จังหวัดนครนายก นครราชสีมา ชัยภูมิ เพชรบูรณ์ พิษณุโลก เชียงใหม่ ลำปาง เชียงราย และน่าน (วิชาญและคณะ, 2555) น้ำยางของต้นรักแถมมอมีคุณสมบัติคล้ายกับต้นรักใหญ่ (*Gluta usitata* (Wall.) Ding Hou) และรักน้ำเกลี้ยง (*Gluta laccifera* (Pierre) Ding Hou) (วิชาญ, 2554) ช่วงฝีมือช่วงรักในประเทศไทยเวียดนามและไต้หวัน นำน้ำยางจากต้นรักแถมมอมาใช้ประโยชน์กันอย่างแพร่หลาย (Niimura et al., 1996; Wu et al., 2002) การใช้ยางรักแถมมอ

ในประเทศเวียดนาม พบว่าส่วนใหญ่นำไปประกอบงาน ประณีตศิลป์ประเภทงานเขียนรักลงสี และใช้ยางรักทาเคลือบผิวภาชนะที่เป็นพื้นไม้ได้แก่ ถ้วย ชาม แก้วกันไม้ และเครื่องเรือน (วิชาญและคณะ, 2555) ในประเทศไทย ยังไม่มีรายงานการนำน้ำยางของรักต้นแถมมอมาใช้ประโยชน์ในงานหัตถกรรมมาก่อน การศึกษาครั้งนี้ คาดว่าผลที่ได้จากการศึกษาจะช่วยให้ช่างรักไทยนำยางรักดิบจากต้นรักแถมมอมาใช้เพื่อทดแทนยางรักจากต้นรักใหญ่และรักน้ำเกลี้ยง ที่ปัจจุบันงานเครื่องรักไทย ต้องประสบภาวะการขาดแคลนยางรักดิบที่ได้จากต้นรักใหญ่และรักน้ำเกลี้ยงเป็นอย่างมาก การศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรมของต้นรักแถมมอจะเป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อหาพันธุ์กรรมที่ดีและเหมาะสมต่อการนำไปปรับปรุงพันธุ์และการปลูกสร้างสวนป่าเพื่อผลิตน้ำยางใช้ในอนาคต ทั้งนี้เนื่องจากการเก็บเกี่ยวน้ำยางรักดิบของต้นรักแถมมอหลังจากการปลูกมีอายุสั้นกว่าต้นรักใหญ่และรักน้ำเกลี้ยง (วิชาญ, 2554)

Start Codon Targeted (SCoT) เป็นเครื่องหมายทางโมเลกุลถูกพัฒนาขึ้นโดย Collard and Mackill (2009) โดยใช้ไพรเมอร์ขนาด 18 นิวคลีโอไทด์เพียงชนิดเดียวเพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธี polymerase chain reaction (PCR) แล้วแยกขนาดดีเอ็นเอโดยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส เป็นเทคนิคที่ปฏิบัติการได้ง่าย ค่าใช้จ่ายไม่สูง ไพรเมอร์ที่ใช้เป็น universal primer ผลการตรวจสอบ

มีความน่าเชื่อถือ เกิดโพลิเมอร์ฟิซิมและมีประสิทธิภาพต่อการระบุความแตกต่างทางพันธุกรรมของพืชได้ (Collard and Mackill, 2009)

การนำเครื่องหมายทางโมเลกุลมาใช้ศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรมของต้นรักแกนมอเป็นวิธีที่มีความถูกต้องน่าเชื่อถือ มีความแม่นยำสูง และสามารถวิเคราะห์ผลได้อย่างรวดเร็ว ในการศึกษาครั้งนี้จึงเลือกใช้เครื่องหมาย SCoT เพื่อศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรมของต้นรักแกนมอ เพราะจะช่วยทำให้ทราบความแตกต่างทางพันธุกรรมได้อย่างแท้จริง ประกอบกับข้อมูลทางพันธุกรรมของต้นรักแกนมอในประเทศไทยยังไม่มีการศึกษามาก่อน การศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรมของต้นรักแกนมอจึงเป็นข้อมูล

พื้นฐานที่จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการปรับปรุงพันธุ์และอนุรักษ์แหล่งพันธุกรรมต้นรักแกนมอในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

ตัวอย่างพืชและการสกัดดีเอ็นเอ

นำตัวอย่างใบรักแกนมอจาก 6 แหล่งประชากรในประเทศไทย จำนวน 96 ตัวอย่าง (Table 1) สกัดดีเอ็นเอจากใบรักแกนมอตามวิธีที่ประยุกต์มาจากวิธีการสกัดของ Agrawal *et al.* (1992) ตรวจสอบคุณภาพและวัดปริมาณดีเอ็นเอ ด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟเรซิส โดยใช้เจลอะกาโรสที่มีความเข้มข้น 1% นำแผ่นเจลที่ได้ไปส่องดูภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต และบันทึกภาพ

Table 1 Sample sources of *Rhus succedanea* L. used in this study.

No.	Sources	Number of samples
1	Nakhon Nayok (NN)	8
2	Phitsanulok (PL)	12
3	Phetchabun (PB)	8
4	Chiang Mai (CM)	9
5	Kamphaeng Phet (KP)	3
6	Nakhon Ratchasima (NR)	56

การตรวจสอบดีเอ็นเอโดยใช้เครื่องหมาย SCoT

ทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ โดยสุ่มตัวอย่างดีเอ็นเอที่สกัดได้มาทดสอบกับไพรเมอร์ที่ได้จากการศึกษาของ Luo *et al.* (2010) จำนวน 24 ไพรเมอร์ได้แก่ SCoT37 ถึง SCoT60 ปฏิกิริยาประกอบด้วย สารละลายดีเอ็นเอ (25 นาโนกรัม/ไมโครลิตร), 10X PCR buffer, 5 mM dNTP, 15 mM MgCl₂, 0.25 μM primer, 1.25 unit Taq DNA polymerase และเติมน้ำกลั่นให้มีปริมาตรรวม 20 ไมโครลิตร โดยใช้เครื่องควบคุมอุณหภูมิอัตโนมัติ C1000™ Thermal Cycler (BIORAD)

โปรแกรมที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์คือ ขั้นที่ 1 94 องศาเซลเซียส 3 นาที ขั้นที่ 2 94 องศาเซลเซียส 50 วินาที ขั้นที่ 3 50 องศาเซลเซียส 1 นาที ขั้นที่ 4 72 องศาเซลเซียส 2 นาที ทำซ้ำขั้นที่ 2-4 36 รอบ และขั้นที่ 5 72 องศาเซลเซียส 5 นาที ตรวจสอบผลผลิตพีซีอาร์ ด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟเรซิส ที่ความเข้มข้น 2% ใช้ 100 bp plus DNA ladder (Fermentas) เป็นดีเอ็นเอมาตรฐานเปรียบเทียบกับย้อมด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ ตรวจสอบแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต และบันทึกภาพเก็บไว้เป็นข้อมูลในการวิเคราะห์

Table 2 List and sequences of each primer used in this study.

Primer ID	Sequences (5'-3')	Annealing temperature (°C)	% G/C
SCoT46	ACAATGGCTACCACTGAG	50	50
SCoT47	ACAATGGCTACCACTGCC	50	56
SCoT48	ACAATGGCTACCACTGGC	50	56
SCoT52	ACAATGGCTACCACTGCA	50	50
SCoT55	ACAATGGCTACCACTACC	50	50

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของต้นรักแกนมอ โดยใช้ข้อมูลจากแถบดีเอ็นเอที่สังเคราะห์ขึ้นเปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งเดียวกันของทุกตัวอย่าง ตำแหน่งที่ปรากฏแถบดีเอ็นเอให้ค่าเป็น 1 ถ้าไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอให้ค่าเป็น 0 จำนวนค่าเฮเทอโรไซโกซิติ (heterozygosity; H) (Nei's gene diversity) ค่า polymorphic information content (PIC) ค่าสัมประสิทธิ์ความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากร (coefficient of genetic differentiation; *Gst*) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป POPGENE version 1.31 (Yeh *et al.*, 1999) ค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมด้วยสูตรของ Jaccard และสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (dendrogram) ด้วยวิธี unweighted pair group method with arithmetic average (UPGMA) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป NTSYS-pc version 2.10m (Rohlf, 2000)

ผลและวิจารณ์

ผลการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอของต้นรักแกนมอ จำนวน 96 ตัวอย่าง ด้วยเครื่องหมาย SCoT จากการคัดเลือกไพรเมอร์จำนวน 24 ไพรเมอร์ พบไพรเมอร์ที่มีความเหมาะสมจำนวน 5 ไพรเมอร์ คือ SCoT46 SCoT47 SCoT48 SCoT52 และ SCoT55 (Table 2) ที่ให้

แถบดีเอ็นเอชัดเจนและสามารถใช้แยกความแตกต่างของตัวอย่างทั้งหมดได้ โดยแถบดีเอ็นเอมีขนาดประมาณ 800-3,000 คู่เบส จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 36 แถบ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.2 แถบต่อไพรเมอร์ เป็นแถบดีเอ็นเอที่ให้โพลิมอร์ฟิก 34 แถบ คิดเป็น 94.44 เปอร์เซ็นต์ของแถบดีเอ็นเอทั้งหมด แสดงว่าตัวอย่างต้นรักแกนมอ ที่ทำการศึกษา มีความผันแปรทางพันธุกรรมสูง โดยไพรเมอร์ SCoT46 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอมากที่สุด 10 แถบ และไพรเมอร์ SCoT52 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอน้อยที่สุด 5 แถบ จำนวนค่า H พบว่าค่าที่ได้อยู่ในช่วง 0.21-0.39 เฉลี่ยเท่ากับ 0.28 โดยเครื่องหมายที่มีค่า H สูงสุดคือเครื่องหมาย SCoT48 และที่มีค่า H ต่ำสุดคือเครื่องหมาย SCoT46 และ SCoT47 ส่วนค่า PIC เป็นค่าที่ใช้วัดความแตกต่างทางพันธุกรรมของเครื่องหมายดีเอ็นเอแต่ละตำแหน่ง พบว่าค่าที่ได้อยู่ในช่วง 0.299-0.375 โดยเครื่องหมาย SCoT48 และ SCoT52 มีค่า PIC สูงที่สุดคือ 0.375 และเครื่องหมาย SCoT46 มีค่า PIC ต่ำที่สุดคือ 0.299 โดยมีค่า PIC เฉลี่ยเท่ากับ 0.345 แสดงว่าโอกาสที่จะพบตัวอย่างที่สุ่มมาแบบสุ่ม 2 ตัวอย่างมีความแตกต่างกัน โดยค่า H และ PIC ของ dominant marker จะมีค่าต่ำกว่า co-dominant marker ซึ่งมีค่าสูงสุดเท่ากับ 0.5 จำนวนค่า *Gst* พบว่ามีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.275 แสดงว่าแหล่งประชากรมีความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างแหล่งประชากรมากที่สุด (Table 3)

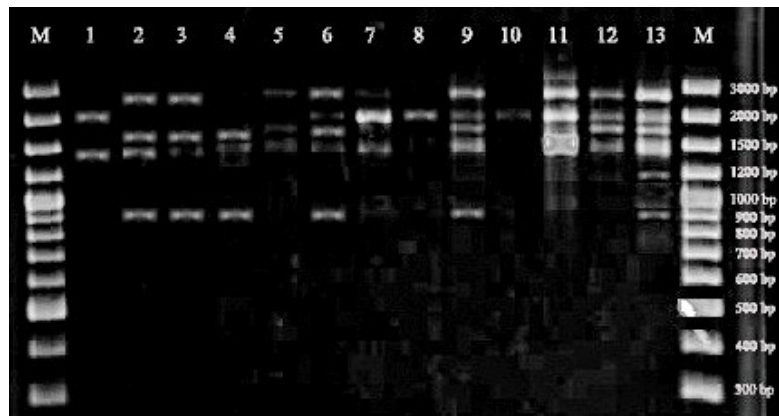


Figure 1 Amplification products generated by primer SCoT48 with thirteen DNA templates. Lanes 1-13; NN6, PL4, PL5, PL6, KP1, KP2, NR1, NR2, NR26, NR34, NR36, NR47, NR56 and M for 100 bp plus DNA ladder.

Table 3 Polymorphisms, H, PIC and Gst values in 96 samples of *Rhus succedanea* as revealed by SCoT markers.

Primer ID	Size of bands (bp)	No. of scoreable bands	No. of polymorphic bands	% of polymorphic bands	H	PIC	Gst
SCoT46	850-3,000	10	10	100.00	0.21	0.299	
SCoT47	800-3,000	9	7	77.78	0.21	0.303	
SCoT48	900-2,500	6	6	100.00	0.39	0.375	
SCoT52	1,200-2,700	5	5	100.00	0.33	0.375	
SCoT55	800-3,000	6	6	100.00	0.27	0.374	
Total	-	36	34	-	-	-	-
Average	-	7.2	6.8	94.44	0.28	0.345	0.275

เมื่อวิเคราะห์การจัดกลุ่มและสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยวิธี UPGMA ด้วยค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมที่คำนวณด้วยวิธีของ Jaccard อยู่ในช่วง 0.130-0.923 สามารถจัดกลุ่มตัวอย่างต้นรักแกนมออกเป็น 10 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 และ 2 แบ่งที่ระดับความคล้ายคลึงเท่ากับ 0.43 กลุ่มที่ 3 และ 4 แบ่งที่ระดับความคล้ายคลึงเท่ากับ 0.50 กลุ่มที่ 5 และ 6 แบ่งที่ระดับความคล้ายคลึงเท่ากับ 0.49 กลุ่มที่ 7 และ 8 แบ่งที่ระดับความคล้ายคลึงเท่ากับ 0.40 กลุ่มที่ 9 และ 10 แบ่งที่ระดับความคล้ายคลึงเท่ากับ 0.36 (Figure 2)

กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยตัวอย่างมาจากแหล่งประชากร จังหวัดนครนายก 5 ตัวอย่าง (NN1, NN2, NN3, NN7, NN8) ตัวอย่างมาจากแหล่งประชากรจังหวัดพิษณุโลก 11 ตัวอย่าง (PL1, PL2, PL3, PL4, PL5, PL7, PL8, PL9, PL10, PL11, PL12) ตัวอย่างมาจากแหล่งประชากรจังหวัดเพชรบูรณ์ 6 ตัวอย่าง (PB1, PB2, PB4, PB5, PB6, PB8) ตัวอย่างมาจากแหล่งประชากรจังหวัดเชียงใหม่ 3 ตัวอย่าง (CM3, CM5, CM9) ตัวอย่างมาจากแหล่งประชากรจังหวัดกำแพงเพชร 3 ตัวอย่าง (KP1, KP2, KP3) และตัวอย่างมาจากแหล่งประชากรจังหวัดนครราชสีมา 5 ตัวอย่าง (NR24, NR26, NR28, NR45,

NR56) ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีบางตัวอย่างจากทั้ง 6 แหล่งประชากร ในกลุ่มนี้พบว่าตัวอย่าง PL5 และ PL8 มีความใกล้เคียงทางพันธุกรรมมากที่สุด มีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.905

กลุ่มที่ 2 มีเพียงตัวอย่างเดียวมาจากแหล่งประชากร จังหวัดเชียงใหม่ (CM1)

กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วยตัวอย่างมาจากแหล่งประชากร จังหวัดนครนายก 2 ตัวอย่าง (NN4, NN5) ตัวอย่างมาจากแหล่งประชากรจังหวัดเพชรบูรณ์ 1 ตัวอย่าง (PB7) และตัวอย่างมาจากแหล่งประชากรจังหวัดนครราชสีมา 24 ตัวอย่าง (NR1, NR3, NR4, NR6, NR7, NR8, NR11, NR12, NR15, NR16, NR25, NR31, NR36, NR37, NR38, NR39, NR40, NR41, NR47, NR48, NR49, NR50, NR51, NR55)

กลุ่มที่ 4 ประกอบด้วยตัวอย่างมาจากแหล่งประชากรจังหวัดนครราชสีมา 19 ตัวอย่าง (NR9, NR14, NR17, NR18, NR19, NR20, NR21, NR22, NR23, NR29, NR30, NR33, NR34, NR35, NR42, NR43, NR44, NR53, NR54) ในกลุ่มนี้พบว่าตัวอย่าง NR18 และ NR30 กับ NR14 และ NR23 มีความใกล้เคียงทางพันธุกรรมมากที่สุด มีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.923

กลุ่มที่ 5 ประกอบด้วยตัวอย่างมาจากแหล่งประชากรจังหวัดนครราชสีมา 3 ตัวอย่าง (NR27, NR32, NR46)

กลุ่มที่ 6 มีเพียงตัวอย่างเดียวมาจากแหล่งประชากร จังหวัดนครราชสีมา (NR10)

กลุ่มที่ 7 ประกอบด้วยตัวอย่างมาจากแหล่งประชากร จังหวัดนครนายก 1 ตัวอย่าง (NN6) และตัวอย่างมาจากแหล่งประชากรจังหวัดเชียงใหม่ 5 ตัวอย่าง (CM2, CM4, CM6, CM7, CM8)

กลุ่มที่ 8 มีเพียงตัวอย่างเดียวมาจากแหล่งประชากร จังหวัดนครราชสีมา (NR52)

กลุ่มที่ 9 ประกอบด้วยตัวอย่างมาจากแหล่งประชากร จังหวัดนครราชสีมา 3 ตัวอย่าง (NR2, NR13, NR5)

กลุ่มที่ 10 ประกอบด้วยตัวอย่างมาจากแหล่งประชากร จังหวัดพิษณุโลก 1 ตัวอย่าง (PL6) และตัวอย่างมาจากแหล่งประชากร จังหวัดเพชรบูรณ์ 1 ตัวอย่าง (PB3)

ผลการสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมที่อยู่ในช่วง 0.130-0.923 พบว่าตัวอย่างต้นรักแกนมอส่วนใหญ่ในแต่ละกลุ่มไม่มีความสัมพันธ์กับแหล่งที่มาของแต่ละแหล่งประชากร เมื่อพิจารณาแหล่งประชากรพบว่าแหล่งประชากร จังหวัดนครราชสีมา มีการกระจายของตัวอย่างในกลุ่มต่างๆ มากที่สุด เนื่องจากแหล่งประชากรนี้เป็นแปลงปลูกรวบรวมพันธุ์ที่นำมาปลูกรักแกนมอมาจากหลายแหล่งในประเทศเวียดนาม จึงมีความผันแปรทางพันธุกรรมมากจากผลการศึกษาของ Hiraoka and Watanabe (2010) ตรวจสอบหาแหล่งกำเนิดและสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของต้นรักแกนมอในประเทศญี่ปุ่น ด้วยเครื่องหมายไมโครแซตเทลไลท์ 12 ตำแหน่ง วิเคราะห์ด้วยวิธี principal coordinate analysis (PCA) คำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมและค่า pairwise *F_{st}* พบว่าแหล่งประชากรจากภาคตะวันตกและแหล่งประชากร จังหวัดชิลี มีความใกล้เคียงทางพันธุกรรมมากกว่าแหล่งประชากร จังหวัดโอเอกินะวะ ดังนั้นแหล่งประชากร จังหวัดโอเอกินะวะ จึงเป็นแหล่งที่เหมาะสมต่อการคัดเลือกพันธุ์ต้นรักแกนมอ เนื่องจากค่าความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมน้อยกว่าแหล่งประชากรจากภาคตะวันตกกับแหล่งประชากร จังหวัดชิลี

จากการศึกษาครั้งนี้สามารถใช้เครื่องหมาย SCoT ในการแยกความแตกต่างทางพันธุกรรมของต้นรักแกนมอได้และยังเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการศึกษาวิจัยด้านความผันแปรทางพันธุกรรมให้กว้างขวางยิ่งขึ้นที่จะนำไปสู่การวางแผนอนุรักษ์แหล่งพันธุกรรม ตลอดจนการปลูกสร้างสวนป่าต้นรักแกนมอต่อไปในอนาคต หากได้เพิ่มจำนวนไพรเมอร์ รวมทั้งใช้เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลท์ที่สามารถจำแนกความแตกต่างระหว่างเฮเตอโรไซโกตและโฮโมไซโกตในการตรวจสอบความผันแปรทางพันธุกรรม อาจทำให้ได้ข้อมูลความผันแปรทางพันธุกรรมของต้นรักแกนมอมากยิ่งขึ้น

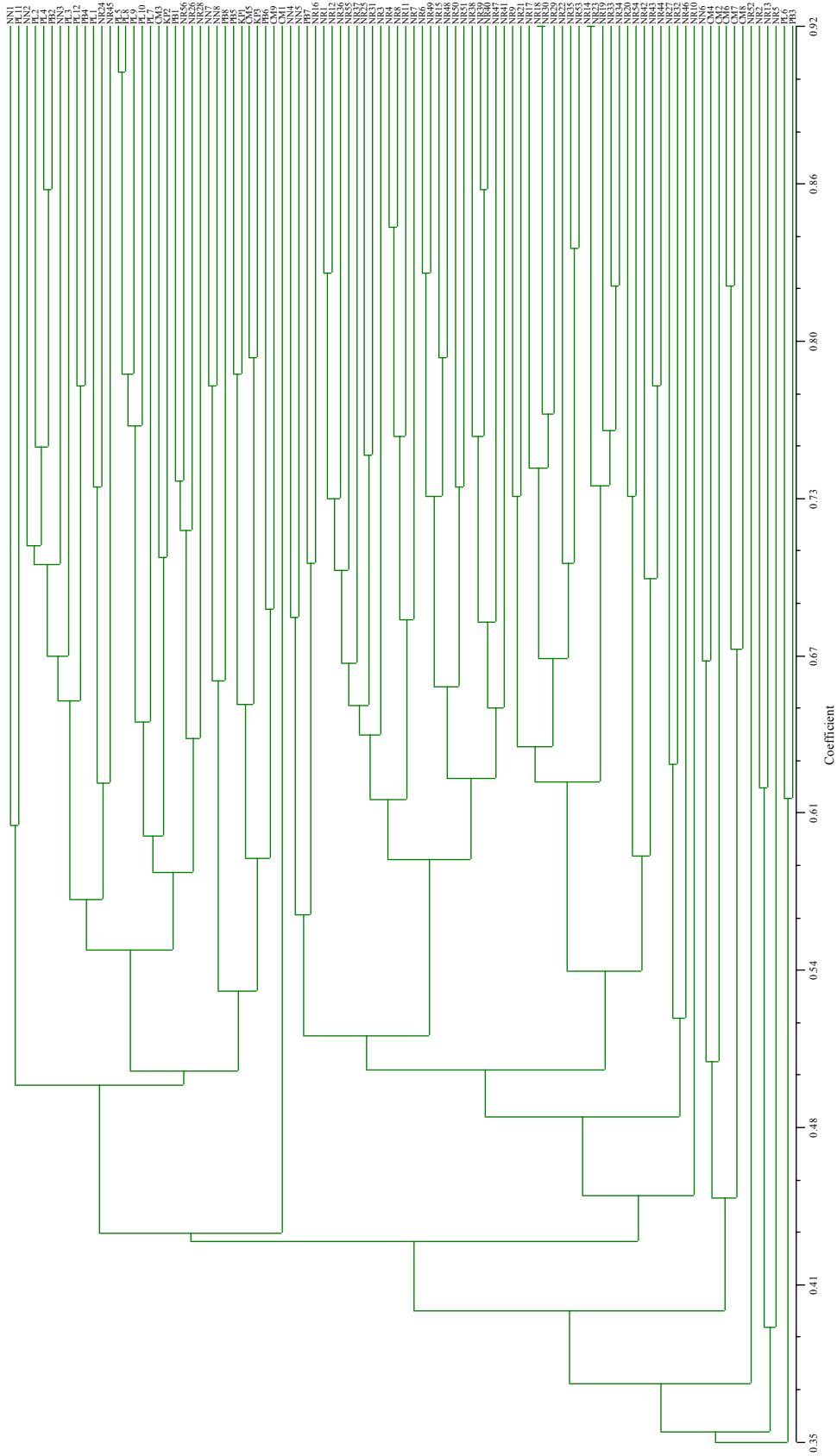


Figure 2 Dendrogram based on UPGMA analysis of genetic similarity of 96 samples of *Rhus succedanea* L. obtained from SCoT markers.

สรุป

การศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรมของต้นรักแกนมอจำนวน 96 ตัวอย่าง ด้วยเครื่องหมาย SCoT ที่เหมาะสมจำนวน 5 ไพรเมอร์ คือ SCoT46 SCoT47 SCoT48 SCoT52 และ SCoT55 ที่ให้แถบดีเอ็นเอชัดเจนและสามารถใช้จำแนกความแตกต่างของตัวอย่างทั้งหมดได้ พบว่าแถบดีเอ็นเอมีขนาดอยู่ในช่วง 800-3,000 คู่เบส จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 36 แถบ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.2 แถบต่อไพรเมอร์ เป็นแถบดีเอ็นเอที่ให้โพลิมอร์ฟิก 34 แถบ คิดเป็น 94.44 เปอร์เซ็นต์ของแถบดีเอ็นเอทั้งหมด แสดงว่าตัวอย่างต้นรักแกนมอที่ทำการศึกษามีความผันแปรทางพันธุกรรมสูง ค่า H มีค่าอยู่ในช่วง 0.21-0.39 เฉลี่ยเท่ากับ 0.28 ค่า PIC มีค่าอยู่ในช่วง 0.299-0.375 ของเครื่องหมายดีเอ็นเอแต่ละตำแหน่ง และค่า Gst เฉลี่ยเท่ากับ 0.275 เมื่อวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมด้วยสูตรของ Jaccard มีค่าอยู่ในช่วง 0.130-0.923 สามารถจัดกลุ่มตัวอย่างต้นรักแกนมอได้เป็น 10 กลุ่มจากการศึกษาครั้งนี้พบว่าสามารถใช้เครื่องหมาย SCoT ในการตรวจสอบความผันแปรทางพันธุกรรมของต้นรักแกนมอได้ และใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการวางแผนการอนุรักษ์แหล่งพันธุกรรมและการปลูกสร้างสวนป่าของต้นรักแกนมอต่อไป

คำนิยม

ขอขอบคุณมูลนิธิโครงการหลวงรหัสโครงการ 30353927 ที่สนับสนุนทุนวิจัยและขอขอบคุณหัวหน้าภาควิชาชีววิทยาป่าไม้ที่ให้ความอนุเคราะห์ใช้ห้องปฏิบัติการชีวโมเลกุล ภาควิชาชีววิทยาป่าไม้ คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

จุลทรรศน์ พยาฆรานนท์. 2551. ยางรักในฟิลิปไทย, น.9-16. ใน ศิริชัย หวังเจริญตระกูล. สัมมนา

- วิชาการศึกษายางรักเพื่ออนุรักษ์ภูมิปัญญาไทย อันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี. กรมศิลปากร กระทรวงวัฒนธรรม, กรุงเทพฯ.
- วิชาญ เอียดทอง. 2554. ความหลากหลายของพรรณไม้ให้ยางรักและศักยภาพของการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย. ใน นิทรรศการงานวิจัย “บนเส้นทางงานวิจัยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ปี 2554”. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- _____. กรองทอง ใจแก้วแดงและ สุวรรณ ตั้งมิตรเจริญ. 2555. การปรับปรุงและพัฒนาต้นรักแกนมอเพื่อผลิตยางรักดิบในงานหัตถกรรมเครื่องรักไทย, น. 129-137. ใน การประชุมวิชาการผลงานวิจัยของมูลนิธิโครงการหลวง 2555 เฉลิมพระเกียรติสมเด็จพระนางเจ้าฯ พระบรมราชินีนาถ เนื่องในโอกาสพระราชพิธีมหามงคลเฉลิมพระชนมพรรษา 80 พรรษา 12 สิงหาคม 2555. ฝ่ายวิจัย มูลนิธิโครงการหลวง, เชียงใหม่.
- วีระชัย ณ นคร. 2551. ไม้รักใหญ่ทรัพยากรทรงคุณค่า, น.17-28. ใน ศิริชัย หวังเจริญตระกูล. สัมมนาวิชาการศึกษายางรักเพื่ออนุรักษ์ภูมิปัญญาไทย อันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี. กรมศิลปากร กระทรวงวัฒนธรรม, กรุงเทพฯ.
- Agarwal, G. K., R. N. Pandey and V. P. Agrawal. 1992. Isolation of DNA from *Choerospondias asillaris* leaves. **Biotech. Biodiv. Lett.** 2: 19-24.
- Collard, B. C. Y. and D. J. Mackill. 2009. Start Codon Targeted (SCoT) Polymorphism: a simple novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants. **Plant Mol. Biol. Rep.** 27: 86-93.
- Hiraoka, Y. and A. Watanabe. 2010. Development and characterization of microsatellites, clone

- identification, and determination of genetic relationships among *Rhus succedanea* L. individuals. **J. Jpn. Soc. Hort. Sci.** 79: 141-149.
- Luo, C., X.-H. He, H. Chen, S.-J. Ou and M.-P. Gao. 2010. Analysis of diversity and relationships among mango cultivars using start codon targeted (SCoT) markers. **Biochem. Syst. Ecol.** 38: 1176-1184.
- Niimura, N., T. Miyakoshi, J. Onodera and T. Higuchi. 1996. Characterization of *Rhus vernicifera* and *Rhus succedanea* lacquer films and their pyrolysis mechanisms studied using two-stage pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry. **J. Anal. Appl. Pyrolysis** 37: 199-209.
- Rohlf, F. J. 2000. **NTSYSpc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Version 2.1.** Exeter Software. Setauket, New York.
- Wu, P.-L., S.-B. Lin, C.-P. Huang and R.-Y. Chiou. 2002. Antioxidative and cytotoxic compounds extracted from the sap of *Rhus succedanea*. **J. Nat. Prod.** 65: 1719-1721.
- Yeh, F.C., R.C. Yang and T. Boyle. 1999. **POPGENE version 1.31 Microsoft Window-base Freeware for Population Genetic Analysis.** University of Alberta and Center of International Forestry Research, Alberta, Canada.
-