

การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม
และการจำแนกทุเรียนด้วยเครื่องหมายสก็อต
Assessment of Genetic Relationship and Identification of
Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Using SCoT Markers

ทัศนีย์ สิงห์ศิริรักษ์ และธีระชัย ธานานันต์

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

นฤมล ธานานันต์*

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์
ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 13180

Tassanee Singhsilarak and Theerachai Thanananta

Department of Biotechnology, Faculty of Science and Technology, Thammasat University,
Rangsit Centre, Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 12120

Narumol Thanananta*

Faculty of Science and Technology, Valaya Alongkorn Rajabhat University under Royal Patronage,
Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 13180

บทคัดย่อ

การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของทุเรียนจำนวน 30 พันธุ์ ที่รวบรวมจากสวนบ้านเรา จังหวัดระยอง ด้วยเครื่องหมายสก็อต ซึ่งข้อดีของเครื่องหมายนี้ คือ สะดวก รวดเร็ว ราคาถูก มีความหลากหลาย และมีประสิทธิภาพสูง เมื่อคัดเลือกไพรเมอร์ 80 ชนิด พบว่าไพรเมอร์ 19 ชนิด สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแล้วให้ลายพิมพ์ดีเอ็นเออย่างชัดเจน จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมดที่ปรากฏรวม 277 แถบ มีขนาดประมาณ 200-2,750 คู่เบส เป็นแถบดีเอ็นเอที่ทำให้ความหลากหลาย 219 แถบ คิดเป็น 79.06 เปอร์เซ็นต์ เมื่อสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์จากข้อมูลแถบดีเอ็นเอและจัดกลุ่มแบบ UPGMA ด้วยโปรแกรม NTSYS-pc รุ่น 2.01e พบว่ามีค่าดัชนีความเหมือน 0.67-0.89 สามารถแบ่งทุเรียนเป็น 2 กลุ่ม แต่ไม่สอดคล้องกับการจัดกลุ่มด้วยลักษณะสัณฐานภายนอก และเมื่อวิเคราะห์แผนภูมิความสัมพันธ์ที่ได้จากเครื่องหมายสก็อต แสดงให้เห็นถึงความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของทุเรียนในประเทศไทย แม้ว่าจะมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงก็ตาม

คำสำคัญ : ทุเรียน; ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม; เครื่องหมายสก็อต; แผนภูมิความสัมพันธ์; ค่าดัชนีความเหมือน

Abstract

Study on the genetic relationship of 30 durian cultivars/varieties collected from Suanbanrao durian garden in Rayong province was conducted using start codon targeted (SCoT) markers. The advantages included these markers were simple, fast and inexpensive, with high polymorphism and high efficiency. Selection of primers revealed that 19 out of 80 primers were able to amplify DNA, and giving clear amplified products to construct DNA fingerprints. The total of 277 amplified bands were found ranging in sizes from approximately 200 to 2750 bp. The amount of polymorphic bands were 219 bands (79.06 %). In addition, a dendrogram construction based on polymorphic bands using UPGMA by the NTSYS-pc version 2.01e, showed similarity coefficient ranging from 0.67 to 0.89. The durian samples were divided into 2 groups which were not consistent with the morphological grouping in Thailand. From this analysis, the dendrogram using SCoT markers showed that although the durians had high genetic diversity, they were still closely related.

Keywords: durian; genetic relationship; start codon targeted marker; SCoT; dendrogram; similarity coefficient

1. คำนำ

ทุเรียน (*Durio zibethinus* Murr.) เป็นผลไม้เขตร้อนที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ สำหรับประเทศไทย ทุเรียนได้รับการขนานนามว่าเป็นราชาผลไม้ ด้วยลักษณะภายนอกที่เป็นหนามคล้ายมงกุฏของพระราชาและเนื้อภายในมีรสชาติอร่อยแม้ว่าราคาของทุเรียนจะสูงกว่าผลไม้ชนิดอื่น แต่ก็ยังเป็นที่ยอมรับประทานกันทั่วไป ในประเทศไทยแหล่งปลูกทุเรียนที่สำคัญในเชิงการค้าจะอยู่บริเวณเขตภาคตะวันออก ภาคใต้ และภาคกลาง โดยพันธุ์ที่นิยมปลูก ได้แก่ หมอนทอง ชะนี ก้านยาว พวงมณี และกระดุมทอง (พิทักษ์, 2550)

พันธุ์ทุเรียนในประเทศไทยที่รวบรวมได้มีมากกว่า 200 พันธุ์ (ทรงพล, 2551) สาเหตุที่มีหลากหลายพันธุ์เพราะชาวสวนมักปลูกทุเรียนต้นใหม่จากเมล็ด เนื่องจากขาดแคลนกิ่งตอนหรือกิ่งทาบจากยอดพันธุ์เดิมที่หายากและมีราคาแพงซึ่งทำให้ต้นทุเรียนใหม่ ๆ มีลักษณะที่เปลี่ยนแปลงไปจากพันธุ์ดั้งเดิม และเกิดเป็นทุเรียนพันธุ์ใหม่

ขึ้นมามากมาย (ฐิตาภรณ์ และคณะ, 2549) แล้วมีการตั้งชื่อทุเรียนพันธุ์ใหม่ตามลักษณะต่าง ๆ เช่น ตั้งตามเจ้าของต้น ตัวอย่าง เช่น พันธุ์หลงลับแล ตั้งโดยเจ้าของต้นทุเรียนชื่อหลง อยู่ในอำเภอลับแล จังหวัดอุตรดิตถ์

การปลูกทุเรียนด้วยเมล็ดทำให้ทุเรียนมีความหลายหลายทางพันธุกรรมค่อนข้างสูง มีการจัดกลุ่มทุเรียนในประเทศไทยเป็น 6 กลุ่ม คือ กลุ่มกบ กลุ่มลวง กลุ่มก้านยาว กลุ่มกำป็น กลุ่มทองย้อย และกลุ่มเบ็ดเตล็ด (หิรัญ และคณะ, 2542) โดยจำแนกจากลักษณะสัณฐาน (morphology) ของทรงใบ บริเวณปลายใบ ฐานใบ ทรงผล และหนามผล ซึ่งเป็นลักษณะค่อนข้างคงที่ (สำนักคุ้มครองพันธุ์พืชแห่งชาติ, 2544)

การศึกษาความสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ ด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker) โดยเปรียบเทียบจากลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprinting) ที่มีรูปแบบของแถบดีเอ็นเอจำเพาะต่อสิ่งมีชีวิต จะช่วยในการจำแนกและบ่งบอกความ

แตกต่างของสิ่งมีชีวิตที่ต้องการตรวจสอบได้ โดยเครื่องหมายดีเอ็นเอแบ่งตามเทคนิคการทำเป็น 2 ประเภท คือ (1) เครื่องหมายที่ใช้การไฮบริไดซ์ (hybridization-based marker) เช่น อาร์เอฟแอลพี (RFLP, restriction fragment length polymorphism) (Tanksley *et al.*, 1989) และ (2) เครื่องหมายที่ใช้ปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (PCR-based marker) เช่น อาร์เอฟพีดี (RAPD, random amplified polymorphic DNA) (Zebrowska *et al.*, 2003) สก็อต (SCoT, start codon targeted) (Satya *et al.*, 2015) เอสเอสอาร์ (SSR, simple sequence repeat) (Eric and John, 2005) (สุรีพร, 2546)

เครื่องหมายสก็อตใช้ไพรเมอร์ขนาด 18 นิวคลีโอไทด์ ซึ่งออกแบบให้มีรหัสพันธุกรรม (genetic code) เริ่มต้นในการแปลรหัส (translation) หรือ ATG อยู่ด้วย โดยอุณหภูมิสำหรับให้ไพรเมอร์เข้าจับกับดีเอ็นเอแม่แบบ (DNA template) หรือ annealing temperature (T_a) คือ 50 องศาเซลเซียส (Collard and Mackill, 2009) มีรายงานการวิจัยที่ใช้เครื่องหมายสก็อตในสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นพืช เช่น มะม่วง (Lou *et al.*, 2010) องุ่น (Guo *et al.*, 2012) บอระเพ็ด (Paliwal *et al.*, 2013) มะเขือเทศ (Admad *et al.*, 2014) พืชสกุลมะพลับ (Deng *et al.*, 2015) ฯลฯ ข้อดีของเครื่องหมายสก็อต คือ เป็นเครื่องหมายที่สามารถทำได้สะดวก รวดเร็ว ค่าใช้จ่ายไม่สูงมาก ให้ความหลากหลาย (polymorphism) และมีประสิทธิภาพ

เนื่องจากทุเรียนมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงและยังไม่มีการศึกษาโดยใช้เครื่องหมายสก็อต ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของทุเรียนด้วยเครื่องหมายสก็อต โดยใช้ตัวอย่างพันธุ์ทุเรียนจากสวนบ้านเรา จังหวัดระยอง เพื่อให้ทราบถึงความใกล้ชิดระหว่างพันธุ์ทุเรียนจากการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 ตัวอย่างทุเรียน

พันธุ์ทุเรียนที่ใช้ในงานวิจัย 30 พันธุ์ ได้แก่ (1) กบวัดกล้วย (2) กบเจ้าคุณ (3) ห้าลูกไม้ถึงฝั้ว (4) ลวงทอง (5) นกหยิบ (6) กำปั้งเหลือง (7) กำปั้งเดิม (8) ทองแดง (9) ทองย้อยฉัตร (10) พวงมณี (11) หลงลับแล (12) ทองสุก (13) ต้นใหญ่ (14) ก้านยาว (15) ชะนี (16) ชะนีน้ำตาลทราย (17) หลินลับแล (18) ฉัตรสีทอง (19) ชมพูพาน (20) กะเทยเนื้อขาว (21) ชมพูศรี (22) กำปั้งพวง (23) ธรณีไหว (24) อีสานนายทิพย์ (25) กบพิกุล (26) ทับทิม (27) กบรัศมี (28) เม็ดในก้านยาว (29) ก้านสั้น และ (30) กบสุวรรณ โดยเก็บตัวอย่างใบทุเรียนจากสวนบ้านเรา ซึ่งเป็นสวนทุเรียนในตำบลกระแสน อำเภอกาญจนบุรี จังหวัดระยอง

2.2 การสกัดดีเอ็นเอ

สกัดดีเอ็นเอทั้งหมดจากใบทุเรียนด้วยวิธีประยุกต์จาก Doyle และ Doyle (1987) โดยใช้ใบทุเรียนประมาณ 3 กรัม และสกัดตามวิธีของ วิริสรา และคณะ (2557)

2.3 การตรวจสอบคุณภาพและปริมาณของดีเอ็นเอ

วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายดีเอ็นเอที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร แล้วเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสง โดยสารละลายดีเอ็นเอที่บริสุทธิ์จะมีค่าอัตราส่วน OD_{260}/OD_{280} ประมาณ 1.7-1.8 หลังจากนั้นจึงทำอิเล็กโทรโฟรีซิส (electrophoresis) ในเจลอะกาโรส (agarose gel) ความเข้มข้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ และย้อมด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ (ethidium bromide) ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วนำไปตรวจดูการเรืองแสงของแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต (ultraviolet) และถ่ายภาพเพื่อนำไปวิเคราะห์ผลต่อไป (Sambrook *et al.*, 1989)

2.4 การคัดเลือกไพรเมอร์

คัดเลือกไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณ ดีเอ็นเอและให้แถบดีเอ็นเออย่างชัดเจน โดยเจือจาง ดีเอ็นเอทุเรียน 30 พันธุ์ ให้มีความเข้มข้น 100 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร แล้วนำดีเอ็นเอทุเรียนแต่ละพันธุ์ ผสมลงในหลอดเดียวกันเพื่อใช้เป็นดีเอ็นเอแม่แบบ สำหรับทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (polymerase chain reaction, PCR) ด้วยไพรเมอร์ 80 ชนิด โดยไพรเมอร์ 1-45 อ้างอิงจากงานวิจัยของ Wu และคณะ (2013) และไพรเมอร์ 47-80 อ้างอิงจากงานวิจัยของ Luo และคณะ (2010)

2.5 การสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

คัดเลือกไพรเมอร์สกัดที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอและให้แถบดีเอ็นเออย่างชัดเจน นำมาสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอในทุเรียน 30 พันธุ์ ซึ่งมีขั้นตอนของปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสดังตารางที่ 1 จากนั้นทำอิเล็กโทรโฟเรซิสในเจลอะกาโรส ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ แล้วย้อมแถบดีเอ็นเอด้วย เอธิเดียมโบรไมด์ และตรวจสอบภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต โดยเปรียบเทียบขนาดดีเอ็นเอกับดีเอ็นเอที่ทราบขนาด (DNA ladder) ซึ่งใช้เป็นดีเอ็นเอมาตรฐาน (DNA standard)

2.6 การวิเคราะห์ผล

ตรวจสอบความสัมพันธ์ของทุเรียน 30 พันธุ์ ด้วยการเปรียบเทียบความเหมือน และความ

ตารางที่ 1 อุณหภูมิ เวลา และจำนวนรอบในแต่ละขั้นตอนของปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส

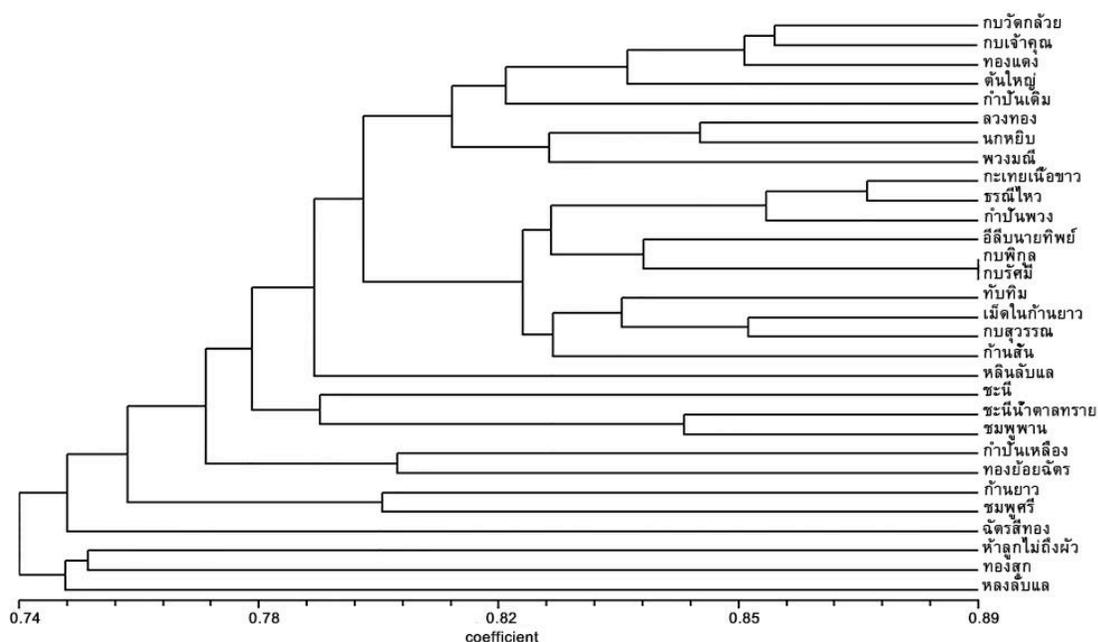
ขั้นตอน	อุณหภูมิ (° C)	เวลา (นาที)	จำนวนรอบ
Initial denaturation	94	3.00	1
Denaturation	94	0.30	40
Annealing	46	0.40	
Extension	72	1.00	
Final extension	72	5.00	1

ต่างของแถบดีเอ็นเอในลายพิมพ์ดีเอ็นเอ โดยถ้าปรากฏแถบดีเอ็นเอจะให้สัญลักษณ์เป็น 1 และถ้าไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอจะให้สัญลักษณ์เป็น 0 แล้วคำนวณดัชนีความเหมือน (similarity coefficient) และสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ (dendrogram) ด้วยโปรแกรม NTSYS-pc รุ่น 2.01e เลือกการจัดกลุ่มแบบ UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic mean) (Rohlf, 2002)

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

การคัดเลือกไพรเมอร์สำหรับเทคนิคสกัดจากไพรเมอร์ 80 ชนิด พบไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของทุเรียน 46 ชนิด คิดเป็น 57.5 เปอร์เซ็นต์ และคัดเลือกไพรเมอร์ที่เพิ่มดีเอ็นเอได้ในปริมาณสูงและให้แถบดีเอ็นเอที่ชัดเจน รวม 19 ชนิด ได้แก่ SCoT22, SCoT23, SCoT31, SCoT35, SCoT46, SCoT47, SCoT48, SCoT52, SCoT53, SCoT54, SCoT66, SCoT67, SCoT68, SCoT71, SCoT72 SCoT73, SCoT74, SCoT76 และ SCoT77 และเมื่อสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของทุเรียน 30 พันธุ์ จากไพรเมอร์ 19 ชนิด พบว่าปรากฏแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 277 แถบ มีขนาดประมาณ 200-2,750 คู่เบส และพบแถบดีเอ็นเอที่ให้ความหลากหลายรูป 219 แถบ คิดเป็น 79.06 เปอร์เซ็นต์ โดยไพรเมอร์ SCoT68 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอมากที่สุด คือ 32 แถบ และไพรเมอร์ SCoT23, SCoT46 และ SCoT47 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอน้อยที่สุด คือ 9 แถบ ซึ่งตัวอย่างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของไพรเมอร์ SCoT71 แสดงดังรูปที่ 1

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของทุเรียน 30 พันธุ์ โดยใช้โปรแกรม NTSYS-pc รุ่น 2.01e และเลือกการจัดกลุ่มแบบ UPGMA แล้วสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ พบว่ามีค่าดัชนีความเหมือน 0.67-0.89 (รูปที่ 2) และได้แผนภูมิความสัมพันธ์ดังรูปที่ 3 เมื่อพิจารณาค่าดัชนีความเหมือน



รูปที่ 3 แผนภูมิความสัมพันธ์ของทุเรียน 30 พันธุ์ ที่ได้จากเทคนิคสก็อต

ชมพูพาน กำป็นเหลือง ทองย้อยฉัตร กำนยาว ชมพูศรี และฉัตรสีทอง ส่วนกลุ่มที่ 2 มีสมาชิก 3 พันธุ์ คือ ทองสุก หลงลับแล และหัวลูกไม้ถึงผิว สำหรับพันธุ์ทุเรียนที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันมากที่สุด คือ กบพิกลงกับกบรัศมี มีค่าดัชนีความเหมือน 0.89 ส่วนพันธุ์ทุเรียนที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันน้อยที่สุด คือ ฉัตรสีทองกับกำนยาว มีค่าดัชนีความเหมือน 0.67

ผลการจัดกลุ่มของทุเรียนที่ได้จากแผนภูมิความสัมพันธ์นั้น จะเห็นว่าแบ่งกลุ่มทุเรียนเป็น 2 กลุ่ม โดยกลุ่ม 1 เป็นกลุ่มใหญ่ที่มีกลุ่มย่อย ๑ ภายใน แต่บางพันธุ์ไม่มีการจัดกลุ่ม เช่น พันธุ์หลินลับแล ซึ่งเป็นพันธุ์ทุเรียนที่มีความสำคัญของจังหวัดอุดรดิตถ์ มีลักษณะพิเศษ คือ เปลือกผลบาง เนื้อละเอียดมาก แห้ง มีสีเหลืองอ่อน กลิ่นอ่อนรสชาติหวานมัน เมล็ดเล็กและลีบ (มนัส, 2545; พิชัย, 2556; พิชัย, 2558) เป็นทุเรียนพันธุ์กลายที่มีลักษณะแปลกกว่าทุเรียนพันธุ์อื่น ส่วนทุเรียนใน

กลุ่มย่อยของกลุ่ม 1 ได้แก่ ชะนี ชะนีน้ำตาลทราย และชมพูพาน จัดว่ามีความใกล้ชิดกัน ถ้าพิจารณาการจัดกลุ่มทุเรียนในประเทศไทยของสำนักคุ้มครองพันธุ์พืชแห่งชาติ ถือว่าอยู่ในกลุ่มลวง ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะใบ รูปทรงผล และลักษณะหนาม กล่าวคือ หากมีลักษณะพื้นฐานเหมือนกันจะจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน แต่ก็พบว่าทุเรียนบางพันธุ์มีลักษณะพื้นฐานต่างกัน แต่ในแผนภูมิความสัมพันธ์แสดงความใกล้เคียงกัน เช่น กำนยาวกับชมพูศรี มีค่าดัชนีความเหมือน 0.80 โดยกำนยาวอยู่ในกลุ่มกำนยาว และชมพูศรีอยู่ในกลุ่มลวง ซึ่งแสดงว่าแผนภูมิความสัมพันธ์ที่ได้ไม่สอดคล้องกับลักษณะพื้นฐานทั้งหมด

กลุ่ม 2 มีสมาชิก 3 พันธุ์คือ ทองสุก หลงลับแล และหัวลูกไม้ถึงผิว มีลักษณะพื้นฐานต่างจากกลุ่มแรก เมื่อพิจารณาแต่ละพันธุ์ พบว่าพันธุ์ทองสุกเป็นทุเรียนพันธุ์ดีที่เหมาะสมสำหรับเพาะปลูก แต่เกษตรกรหากิ่งพันธุ์ไม่ได้ จึงใช้การปลูกจากเมล็ดแทน ทำให้

เกิดทุเรียนพันธุ์กลายขึ้นมากมาย (หิรัญ และคณะ, 2531) ซึ่งในความเป็นจริงพันธุ์ทุเรียนแตกต่างกันที่ เกิดขึ้น ไม่ได้เกิดจากการกลายพันธุ์ (mutation) แต่ เกิดจากการผสมข้ามเกสร (cross pollination) เมล็ด จึงมีการกระจายตัวต่างจากพันธุ์พ่อแม่ และยังคงแสดงให้เห็นว่าพันธุ์ทุเรียนที่ปลูกกันทั่วไปส่วนใหญ่ไม่ใช่ พันธุ์แท้ โดยนิยมปลูกจากเมล็ด เพราะจะทำให้ได้ ลักษณะที่ไม่เหมือนต้นเดิม ส่วนพันธุ์หลงลับแลเป็น พันธุ์ทุเรียนที่มีรสชาติโดดเด่นและมีเอกลักษณ์ เฉพาะตัว เป็นพันธุ์เฉพาะถิ่นที่สร้างชื่อเสียงให้กับ จังหวัดอุตรดิตถ์ และพันธุ์ห้าลูกไม่ถึงฝั้ว จัดเป็น ทุเรียนพันธุ์เล็ก และมีรสชาติอร่อย ซึ่งจากเหตุผลที่ กล่าวข้างต้นจึงอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้ทุเรียนในกลุ่ม 2 มีลักษณะแตกต่างจากกลุ่ม 1

อย่างไรก็ตาม การจัดกลุ่มทุเรียน 30 พันธุ์ ด้วยเครื่องหมายสก็อต เป็นไปในแนวทางเดียวกัน กับงานวิจัยเรื่องการจำแนกทุเรียนจากการรวบรวม พันธุ์ของศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี จังหวัดจันทบุรี จำนวน 130 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิคเอเอฟแอลพี (AFLP, amplified fragment length polymorphism DNA) ซึ่งจัดทุเรียนได้ 2 กลุ่ม โดยกลุ่ม 1 และกลุ่ม 2 เป็นกลุ่มใหญ่ที่แบ่งได้หลายกลุ่มย่อย และบาง พันธุ์ไม่มีการจับกลุ่ม แสดงว่าทุเรียนมีความ หลากหลายทางพันธุกรรมค่อนข้างสูง แต่ก็ยังมีความใกล้เคียงกันทางพันธุกรรม และได้ให้เหตุผลว่า ชาวสวนมักจะนำเมล็ดทุเรียนมาปลูกใหม่ เนื่องจาก กิ่งพันธุ์ดีหายาก การปลูกทุเรียนจากเมล็ดทำให้เกิด ลักษณะใหม่ ๆ ของทุเรียนและมีการตั้งชื่อเป็นพันธุ์ ใหม่ขึ้นมา (ฐิตาภรณ์ และคณะ, 2549) ดังนั้นในประเทศไทยจึงพบพันธุ์ทุเรียนมากกว่า 200 พันธุ์

นอกจากนี้พบว่ามีการวิจัยทุเรียนด้วย เครื่องหมายดีเอ็นเออื่น เช่น วิเคราะห์พันธุกรรม ของทุเรียนพื้นบ้านในภาคใต้โดยใช้เครื่องหมาย ไมโครแซทเทลไลท์ (microsatellite) 67 ตำแหน่ง โดยใช้ โปรแกรม NTSYS และจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA

สามารถแบ่งกลุ่มทุเรียนพื้นบ้านภาคใต้เป็น 6 กลุ่ม มีค่าดัชนีความเหมือน 0.52-0.95 และแผนภูมิ ความสัมพันธ์ที่ได้แยกแต่ละกลุ่มที่มีความสัมพันธ์ กับแหล่งที่มาของตัวอย่าง กล่าวคือ ทุเรียนที่มาจาก พื้นที่เดียวกันจะอยู่ในกลุ่มเดียวกัน แต่ก็มีบาง ตัวอย่างที่กระจายตัวออกไป โดยจัดไปรวมอยู่ใน กลุ่มพื้นที่อื่น (ฐิตา และคณะ, 2557) การศึกษา ความหลากหลายของพันธุ์ทุเรียนพื้นเมืองในจังหวัด นนทบุรีด้วยเครื่องหมายไมโครเอลเอสเอสอาร์ (SSR, simple sequence repeat) 47 ตัวอย่าง ด้วย ไพโรเมอร์ 20 ชนิด พบว่าไพโรเมอร์ 16 ชนิด สามารถ เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอขนาด 142-274 คู่เบส และผล การจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA สามารถจำแนกพันธุ์ ทุเรียนเป็นกลุ่มใหญ่ ๆ แต่ไม่สอดคล้องกับการ จำแนกด้วยลักษณะสัณฐานที่เคยรายงานมาก่อน (เอมอร และคณะ, 2556)

งานวิจัยที่เคยมีรายงานมาก่อนนั้น มีการใช้ เครื่องหมายสก็อตในพีชชนิดหรือสปีชีส์ (species) เดียวกัน ได้แก่ การศึกษาความสัมพันธ์ในกลุ่ม 25 พันธุ์ โดยคัดเลือกไพโรเมอร์ 15 ชนิด ที่สามารถเพิ่ม ปริมาณดีเอ็นเออย่างชัดเจน เมื่อสร้างแผนภูมิ ความสัมพันธ์พบว่ามีความคล้ายคลึงกัน 0.427-0.854 และแบ่งกล้วยไม้ได้ 2 กลุ่ม ซึ่งสอดคล้องกับ จีโนมของกล้วยไม้ โดยกลุ่ม 1 เป็นจีโนม AAB, ABB, BBB และ AB BB มีลักษณะ คือ มีจีโนม B อยู่ด้วย ส่วนกลุ่ม 2 เป็นจีโนม AA และ AAA ลักษณะคือ มี เฉพาะจีโนม A (พรประภา และคณะ, 2560) การ ศึกษาความสัมพันธ์ในข้าวพันธุ์ปลูก 24 พันธุ์ โดย คัดเลือกไพโรเมอร์ 22 ชนิด ที่สามารถเพิ่มปริมาณ ดีเอ็นเออย่างชัดเจน เมื่อสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ พบว่ามีความคล้ายคลึงกัน 0.60-0.91 และแบ่ง ข้าวพันธุ์ปลูกได้ 3 กลุ่ม โดยข้าวพันธุ์ปลูกที่เกิด จากการผสมกันของพ่อแม่เดียวกันจะจัดอยู่ในกลุ่ม เดียวกัน ส่วนข้าวพันธุ์ปลูกที่เกิดจากการผสมกัน ของพ่อแม่ต่างกันจะจัดอยู่กันคนละกลุ่ม (ทัศนีย์ และ

คณะ, 2560)

งานวิจัยที่ศึกษาในต่างชนิดหรือสปีชีส์ด้วยเครื่องหมายสก็อต เช่น การศึกษาในกล้วยไม้สกุลต่าง ๆ เช่น กล้วยไม้สกุลก้านก่อ (*Eria*) (นฤมล และคณะ, 2560) กล้วยไม้รองเท้านารี สกุล *Paphiopedilum* สกุลย่อย *Brachypetalum* หมู่ *Brachypetalum* (ธีระชัย และคณะ, 2560) กล้วยไม้สกุลรองเท้านารี กลุ่มใบเขียว สกุล *Paphiopedilum* (ธีระชัย และคณะ, 2560) ฯลฯ

4. สรุป

งานวิจัยนี้ คัดเลือกไพรเมอร์ได้ 9 จาก 80 ชนิด ที่สามารถเพิ่มดีเอ็นเอในปริมาณสูงและให้แถบดีเอ็นเอที่ชัดเจน เพื่อประเมินความสัมพันธ์ของทุเรียน 30 พันธุ์ เมื่อสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอ พบแถบดีเอ็นเอรวม 277 แถบ มีขนาดประมาณ 200-2,750 คู่เบส เป็นแถบดีเอ็นเอที่ให้ความหลากหลายจำนวน 219 แถบ คิดเป็น 79.06 เปอร์เซ็นต์ โดยไพรเมอร์ SCoT68 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอมากที่สุด (32 แถบ) และไพรเมอร์ SCoT23, SCoT46 และ SCoT47 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอที่น้อยที่สุด (9 แถบ) เมื่อวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NTSYS-pc รุ่น 2.01e และจัดกลุ่มแบบ UPGMA พบว่ามีค่าดัชนีความเหมือน 0.67-0.89 เมื่อพิจารณาค่าดัชนีความเหมือนที่ 0.745 สามารถแบ่งทุเรียนเป็น 2 กลุ่ม กลุ่ม 1 เป็นกลุ่มใหญ่ที่มีกลุ่มย่อยหลายกลุ่ม และบางพันธุ์ไม่จัดเป็นกลุ่ม และกลุ่ม 2 ประกอบด้วย ทองสุก หลงลับแล และห้าลูกไม่ถึงผิว แสดงให้เห็นว่าทุเรียนมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง แต่ก็มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมด้วยเช่นกัน สำหรับพันธุ์ทุเรียนที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันมากที่สุด คือ กบพิกุลกับกบรัศมี มีค่าดัชนีความเหมือน 0.89 ส่วนพันธุ์ทุเรียนที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันน้อยที่สุดคือ ฉัตรสีทองกับก้านยาว มีค่าดัชนีความเหมือน 0.67

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คุณขจร พงศ์สุขนิรันดร์ เจ้าของสวนทุเรียน “สวนบ้านเรา” ตำบลกระแสน อำเภอกาญจนบุรี จังหวัดระยอง ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเก็บตัวอย่างใบทุเรียนสำหรับงานวิจัยนี้

6. รายการอ้างอิง

จิตติภรณ์ สุขโหดุ, อินทิดา จารุเพ็ง, ประไพ โมจิรินทร์, อภิรดี เพิ่มผล, อรุณนิ สระแก้ว, ศิริวรรณ เทียนมงคล, ปิยรัฐ ปรินญาพงษ์ และพรชัย จุฑามาศ, 2549, การจัดจำแนกทุเรียน (*Durio zibethinus* Murr.) โดยใช้เทคนิค AFLP, น. 405-410, การประชุมวิชาการทรัพยากรไทย : สรรพสิ่งล้วนพันเกี่ยว, ศูนย์อนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ, นครราชสีมา.

ทรงพล สมศรี, 2551, ทุเรียนไทยและการปรับปรุงพันธุ์ : กรณีศึกษาพันธุ์จันทบุรี 1 จันทบุรี 2 จันทบุรี 3, สำนักพิมพ์กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

ทัศนีย์ สิงห์ศิลารักษ์, จุฑามาศ เจียมเจือจันทร์, เปรมณัช ขุนปักษี, ธีระชัย ธนานันต์ และนฤมล ธนานันต์, 2560, การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม และการจำแนกข้าวปลุกบางพันธุ์ด้วยเครื่องหมายสก็อต, Thai J. Sci. Technol. 6(3): 253-261.

ธีระชัย ธนานันต์ ทีปกา มีเสงี่ยม และนฤมล ธนานันต์, 2560, การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการระบุชนิดของกล้วยไม้รองเท้านารีสกุล *Paphiopedilum* สกุลย่อย *Brachypetalum* หมู่ *Brachypetalum* ด้วยเครื่องหมายสก็อต, Thai J. Sci. Technol. 6(3): 161-170.

ธีระชัย ธนานันต์, พรประภา ศิริเทพทวี, ภัทรพร คุ่มภัย และนฤมล ธนานันต์, 2560, การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการ

- ระบุชนิดของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีกลุ่มใบเขียวด้วยเครื่องหมายสก็อต, Thai J. Sci. Technol. 6(3): 171-178.
- นฤมล ธนานันต์, จุฑามาต เจียมเจือจันทร์ และธีระชัย ธนานันต์, 2560, การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการระบุชนิดของกล้วยไม้สกุลก้านก้อด้วยเครื่องหมายสก็อต, Thai J. Sci. Technol. 6(3): 153-160.
- พรประภา ศิริเทพทวี, ฐิตาพร มณีเนตร, เปรมณัช ชุณ்பักษ์, ธีระชัย ธนานันต์ และนฤมล ธนานันต์, 2560, การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการจำแนกกล้วยไม้ด้วยเครื่องหมายสก็อต, Thai J. Sci. Technol. 6(3): 272-278.
- พิชัย ไจกล้ำ, 2556, สันฐานวิทยาและสันฐานวิทยาเรณูของทุเรียนพันธุ์หลงลับแล, ว.เกษตร 29(3): 187-194.
- พิชัย ไจกล้ำ, 2558, การติดผลและลักษณะของทุเรียนที่เกิดจากการผสมเกสรในจังหวัดอุตรดิตถ์, ว.เกษตรพระจอมเกล้า33(2):29-37.
- พิทักษ์ ใจคง, 2550, ปฏิบัติการพืชเศรษฐกิจ (Economic Botany Laboratory) : พืชผลไม้, มหาวิทยาลัยรามคำแหง, กรุงเทพฯ. 437 น.
- มนัส ตาเกลี้ยง, 2545, เอกสารทางวิชาการ เรื่องพันธุ์ทุเรียนเมืองลับแล, สถาบันราชภัฏอุตรดิตถ์, อุตรดิตถ์, 17 น.
- วริศรา แทนสง่า, ธีระชัย ธนานันต์ และนฤมล ธนานันต์, 2557, การจำแนกพันธุ์และการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลกุหลาบ (*Aerides*) ด้วยเทคนิคแฮตอาร์เอฟดีและไอเอสเอสอาร์, Thai J. Sci. Technol. 3(2): 102-112.
- สุรีพร เกตุงาม, 2546, เครื่องหมายดีเอ็นเอในงานปรับปรุงพันธุ์พืช, ว.วิชาการมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. 5(2): 37-59.
- สำนักคุ้มครองพันธุ์พืชแห่งชาติ, 2544, ฐานข้อมูลเชื้อพันธุ์ทุเรียน, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- เอมอร รุ่งแจ้งสุวรรณ, ปิยรัชฎ์ เจริญทรัพย์, วิษุวัต สงนวล, อุษณีย์ พิชกรรม และศศิวิมล แสงวงผล, 2556, การศึกษาความหลากหลายของพันธุ์ทุเรียน (*Durio zibethinus* L.) ในจังหวัดนนทบุรีโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลเอสเอสอาร์, น. 45, การประชุมวิชาการพฤกษศาสตร์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 7, มหาวิทยาลัยรามคำแหง, กรุงเทพฯ.
- ฮูตา แก้วศรีสม, กรกช นาคคนอง, และจรัสศรี นवलศรี, 2557, การวิเคราะห์พันธุกรรมของทุเรียนพื้นบ้านในภาคใต้โดยใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์, ว.แก่นเกษตร 42(พิเศษ 3): 271-276.
- Ahmad, S., Sepideh, T. and Mahmood, K., 2014, Efficiency of SCoT and ISSR markers in assessment of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) genetic diversity, Int. J. Bio. Sci. 5: 14-22.
- Collard, B.C.Y. and Mackill, D.J., 2009, Start codon targeted (SCoT) polymorphism: A simple novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants, Plant Mol. Biol. 27: 86-93.
- Deng, L.B., Liang, Q.Z., He, X.H., Lou, C., Chen, H. and Qin, Z.S., 2015, Investigation and analysis of genetic diversity of diospyros germplasms using SCoT molecular markers in Guangxi, PLoS ONE 10(8): e0136510.
- Doyle, J.J. and Doyle, J.L., 1987, A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue, Phytochem. Bull. 19: 11-15.

- Eric T.S. and John R.C., 2005, Simple sequence repeat (SSR) markers for genetic mapping of raspberry and blackberry, J. Am. Soc. Hortic. Sci. 130: 1-7.
- Guo, D.L., Zhang, J.Y. and Liu, C.H., 2012, Genetic diversity in some grape varieties revealed by SCoT analyses, Mol. Biol. 39: 5307-5313.
- Luo, C., He, X.H., Chen, H., Ou S.J. and Gao M.P., 2010, Analysis of diversity and relationships among mango cultivars using start codon targeted (SCoT) markers. Biochem Syst. Ecol. 38: 1176-1184.
- Paliwal, R., Singh, R., Singh, A.M., Kumar, S., Kumar, A. and Singh, R.M., 2013, Molecular characterization of Giloe (*Tinospora cordifolia* (Willd. Miers ex Hook. F. and Thoms.) accessions using start codon targeted (SCoT) markers, Int. J. Med. Arom. Plants 3: 413-422.
- Rohlf, F.J., 2002, NTSYS-pc. Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Applied Biostatistics, Inc., New York.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F. and Maniatis, T., 1989, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Satya, P., Karan, M., Jana, S., Mitra, A., Sharma, A., Karmakar, P.G. and Ray, D.P., 2015, Start codon targeted (SCoT) polymorphism reveals genetic diversity in wild and domesticated populations of ramie (*Boehmeria nivea* L. Gaudich.), a premium textile fiber producing species, Meta Gene 3: 62-70.
- Tanksly, S.D., Young, N.D., Paterson, A.H. and Bonierbale, M.W., 1989, RFLP mapping in plant breeding: New tools for an old science, Biotechnology 7: 257-264.
- Wu, J. M., Li, Y.R., Yang, L.T., Fang, F.X., Song H.Z., Tang, H.Q., Wang, M. and Weng, M.L., 2013, cDNA-SCoT: A novel rapid method for analysis of gene differential expression in sugarcane and other plants, Aust. J. Crop Sci. 7: 659-664.
- Zebrowska, J.I. and Tyrka, M., 2003, The use of RAPD markers for strawberry identification and genetic diversity studies, J. Food Agric. Environ. 1: 115-117.