การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม และการจำแนกพริกด้วยเครื่องหมายสก๊อต

Genetic Relationship Assessment and Identification of Pepper Using SCoT Markers

ทีปกา มีเสงี่ยม, เปรมณัช ขุนปักษี และธีระชัย ธนานันต์

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

นฤมล ธนานันต์*

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 13180

Teepaka Meesangiem, Premmanuch Kunpuksri 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

พริกเป็นเครื่องเทศชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการปรุงแต่งอาหารของคนไทย อีกทั้งยังสามารถใช้ประโยชน์ทางยาได้ด้วย แต่ปัจจุบันการจำแนกพริกในแต่ละรายงานยังไม่ค่อยตรงกัน ดังนั้นการนำเครื่องหมายดีเอ็นเอมาใช้การจำแนกพริกจึงมีความจำเป็น งานวิจัยนี้จึงนำเครื่องหมายสก๊อตมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการจำแนกพริกในประเทศไทย โดยสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างพริก 15 พันธุ์ มาตรวจสอบกับไพรเมอร์ 80 ชนิด พบว่าไพรเมอร์ 41 ชนิด สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ (คิดเป็น 51.25 เปอร์เซ็นต์) แล้วจึงสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของพริกด้วยไพรเมอร์ 22 ชนิด ที่เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้อย่างชัดเจนและให้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่มีความหลากรูปสูง โดยพบแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นทั้งหมด 222 แถบ ขนาด 250-3,000 คู่เบส เมื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นพบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน 0.56-0.93 และเมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์โดยเลือกวิธีจัดกลุ่มแบบ UPGMA สามารถจำแนกพริกเป็น 3 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 เป็นพริก *Capsicum annuum* L. กลุ่มที่ 2 เป็นพริกที่มีถิ่นกำเนิดในต่างประเทศและพันธุ์ลูกผสม และกลุ่มที่ 3 เป็นพริก *C. frutescens* L. ซึ่งการจัดกลุ่มนี้สอดคล้องกับพันธุ์และลักษณะสัญฐานของพริก โดยข้อมูลที่ได้จากการวิจัยนี้เป็นประโยชน์ในการจำแนกพริกและสามารถนำไปวางแผนการปรับปรุงพันธุ์เพื่อส่งเสริมการปลูกเพื่อขายทางการค้าต่อไป

*Corresponding author: narumolpla@yahoo.com
DOI: 10.14456/tjst.2017.16

คำสำคัญ : พริก; เครื่องหมายสก๊อต; ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม; การจำแนก; เครื่องหมายดีเอ็นเอ

Abstract

Pepper (*Capsicum* spp.) is an important spice crop for food seasoning and pharmaceutical use. Nowadays, classification of pepper is necessary because many reports showed different result in classification of peppers. Then, start codon targeted (SCoT) markers were applied for identification and analysis of genetic relationship of the peppers in Thailand. The total 80 primers were screened and 41 primers or 51.25 percent of them could be used for DNA amplification. Twenty-two primers with clear amplified products and high polymorphism were selected to create DNA fingerprinting. A total of 222 DNA bands was amplified ranging from 250 to 3,000 bp in size. By comparison the differences in DNA banding patterns, similarity coefficients were ranged from 0.56 to 0.93. The dendrogram was constructed using unweighted pair group method with arithmetic average (UPGMA) and the 15 samples were classified into 3 groups. The first group was *C. annuum* L. The second group included the imported pepper and hybrid species. The third group comprised *C. frutescens* L. The *Capsicum* cultivars groups identified by this method is well corresponded with those of morphological characters. Finally, these results indicated that the SCoT markers are capable to verify and classify the peppers, and could be further used in the breeding program.

Keywords: pepper; SCoT marker; genetic relationship; identification; DNA marker

1. คำนำ

พริกเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Solanaceae มีแหล่งกำเนิดในเขตร้อนของทวีปอเมริกา ได้แก่ อเมริกากลางและอเมริกาใต้ (อรพินธุ์, 2015) พริกจัดเป็นเครื่องเทศ (spice) ชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญในการประกอบอาหารสำหรับคนไทยเป็นอย่างมาก นอกจากมีประโยชน์ในด้านปรุงแต่งรสชาติของอาหารแล้ว พริกยังมีประโยชน์ทางยาอีกด้วย สารสำคัญในพริกคือแคปไซซิน (capsaicin) สามารถช่วยบรรเทา อาการปวดหลัง ขา เอว และตามข้อต่าง ๆ (วันดี และพิเชษฐ์, 2538) นอกจากนี้ยังมีสารที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบ (Surh, 2002; Spiller *et al*., 2008; Mueller, 2012) แต่การบริโภคพริกมากอาจเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งในกระเพาะและริดสีดวงทวารได้ (Carnllo *et al*., 1993; Altomare *et al*., 2006) ปัจจุบันพบว่าการจำแนกพริกในรายงานแต่ละฉบับนั้นไม่ตรงกัน เนื่องจากการใช้ชื่อท้องถิ่นของพริก และแต่ละชนิดก็แบ่งย่อยเป็นหลายพันธุ์และหลายสายพันธุ์ อีกทั้งมีความหลากหลายในเรื่องของรูปร่าง สี รสชาติความเผ็ด และการต้านทานโรค ซึ่งมีผลต่อการตลาดของพริก จึงมีความเห็นว่าควรมีการจัดจำแนกพริกพันธุ์ต่าง ๆ โดยประยุกต์ใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker) ในการการตรวจสอบด้วยการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprint)

โดยเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ตรวจสอบด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสเป็นพื้นฐาน (PCR-based DNA fingerprint) นั้นทำได้ง่าย สะดวก และรวดเร็ว เพราะมีขั้นตอนไม่ยุ่งยาก เช่น ไอเอส-เอสอาร์ (ISSR, inter simple sequence repeat)

(Zhang *et. al*., 2010) แฮตอาร์เอพีดี (HAT-RAPD, high annealing temperature random amplified polymorphic DNA) (William *et al*., 1990) สก๊อต (SCoT, start codon targeted) โดยใช้ไพรเมอร์ที่ออกแบบให้จับกับลำดับนิวคลีโอไทด์ (nucleotide) บริเวณตำแหน่งเริ่มต้นของการแปลรหัส (start codon, ATG) ซึ่งมีขนาด 18-24 นิวคลีโอไทด์ และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสหรือพีซีอาร์ (polymerase chain reaction, PCR) (Collard and Mackill, 2009) แล้วจึงตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprint) ด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส (electro-phoresis) ซึ่งจะปรากฏแถบดีเอ็นเอเมื่อย้อมด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ (ethidium bromide) และตรวจดูภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตหรือยูวี (UV, ultraviolet) (ธีระชัย และนฤมล, 2543)

โดยในรายงานการวิจัยหลายฉบับได้เสนอว่าเครื่องหมายสก๊อตมีประสิทธิภาพมากกว่าเครื่องหมายอื่น (Gorji *et al*., 2011; Wu *et al*., 2013) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงใช้เครื่องหมายสก๊อตเพื่อสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอสำหรับประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและจำแนกพริก โดยข้อมูลที่ได้จะมีประโยชน์ต่อการวางแผนการอนุรักษ์พันธุ์พริกและการปรับปรุงพันธุ์พริกเพื่อส่งเสริมให้เกษตรกรเพาะปลูกขายทางการค้าต่อไป

2. อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

2.1 พริก

ตัวอย่างพริก 15 พันธุ์ ได้แก่ (1) พริกหวาน (2) พริกม่วง (3) พริกขี้หนูต้นเตี้ย (4) พริกฟักทอง (5) พริกเจ็ดสียักษ์ (6) พริกขี้หนูช่อ ม.ข. (7) พริกน้อย (8) พริกนิ้วมือนาง (9) พริกน้อยผลยาว (10) พริกยักษ์เขียว (11) พริกตุ้มประดับ (12) พริกหนุ่ม (13) พริกหยวก (14) พริกชี้ฟ้าแดง และ (15) พริกชี้ฟ้าเขียว ได้รับมาจากโครงการวิจัยของ รองศาสตราจารย์ ดร. ธีระชัย ธนานันต์

2.2 การสกัดดีเอ็นเอ

สกัดดีเอ็นเอจากใบพริก 15 พันธุ์ ด้วยวิธีประยุกต์จาก Doyle และ Doyle (1987) ตามวิธีของนฤมล และคณะ (2555) แล้วตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสงยูวีที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร และตรวจสอบคุณภาพของดีเอ็นเอด้วยวิธีการทำอิเล็กโทรโฟรีซิสในเจลอะกาโรส (agarose gel) ความเข้มข้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ (Sambrook *et al*., 1989)

2.3 การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

2.3.1 การตรวจหาไพรเมอร์ที่ตอบสนองต่อปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส

โดยรวมดีเอ็นเอของพริกในปริมาณที่เท่ากันทั้ง 15 พันธุ์ เพื่อเป็นดีเอ็นเอแม่แบบ (DNA template) ในปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส ไพรเมอร์ที่ใช้มีขนาด 18 นิวคลีโอไทด์ จำนวน 80 ชนิด (Luo *et al*., 2010; Wu *et al*., 2013) และปฏิกิริยาลูกโซ่-พอลิเมอเรสมีปริมาตรสุดท้ายเป็น 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วยดีเอ็นเอ 100 นาโนกรัม ในบัฟเฟอร์ 1 เท่า (50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl (pH 9.1), และ 0.1 % Triton™ X-100 และ 2.5 mM $MgCl_2$) และมีนิวคลีโอไทด์ 4 ชนิด คือ dATP, dCTP, dGTP และ dTTP ชนิดละ 200 ไมโครโมลาร์ (μM) ไพรเมอร์ 250 นาโนโมลาร์ (nM) และเอนไซม์ *Taq* DNA polymerase (Vivantis technologies Sdn. Bhd., Malaysia) 1 ยูนิต (Unit) (นฤมล และคณะ, 2555)

ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรสมี 3 ขั้นตอน คือ (1) บ่มที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที จำนวน 1 รอบ (2) บ่มที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที, บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 40 วินาที และบ่มที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที จำนวน 40 รอบ และ (3) บ่มที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที จำนวน 1 รอบ (Collard and Mackill, 2009) ตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส

ในเจลอะกาโรสความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นคัดเลือกไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของพริกได้

2.3.2 การสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

ใช้ไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเออย่างชัดเจนมาตรวจสอบกับดีเอ็นเอของพริกทั้ง 15 พันธุ์ อีกครั้ง โดยทำอิเล็กโทรโฟรีซิสในเจลอะกาโรสความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ย้อมด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ และถ่ายภาพเจลด้วยเครื่องถ่ายและบันทึกภาพเจล (gel documentation)

2.4 การวิเคราะห์ผล

เปรียบเทียบความเหมือนและความต่างของลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดขึ้น โดยพันธุ์ที่พบแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งหนึ่งให้สัญลักษณ์เป็น 1 ส่วนพันธุ์ที่ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งเดียวกันให้สัญลักษณ์เป็น 0 แล้วคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน (similarity coefficient) และสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ (dendrogram) ด้วยโปรแกรม NTSYS-pc รุ่น 2.0e โดยเลือกวิธีการจัดกลุ่มแบบ UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic Mean) (Rohlf, 2002)

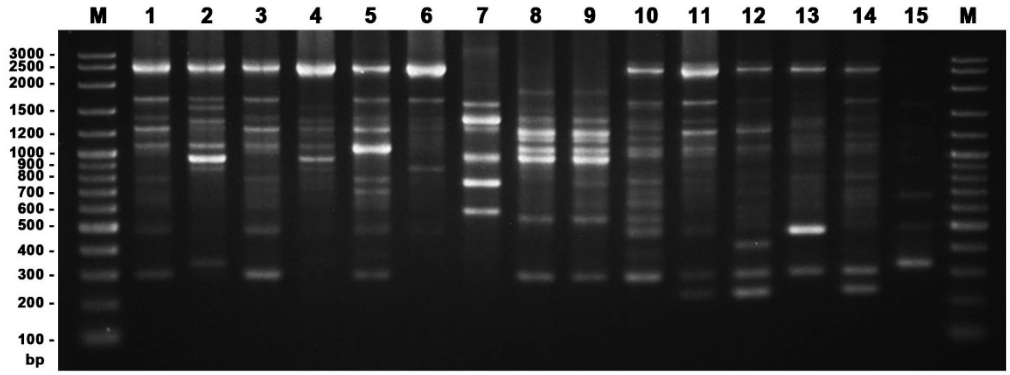
3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

การคัดเลือกไพรเมอร์เบื้องต้น จากไพรเมอร์จำนวน 80 ชนิด พบไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอพริกได้ 41 ชนิด คิดเป็น 51.25 เปอร์เซ็นต์ โดยไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้อย่างชัดเจนและให้ความหลากรูปของแถบดีเอ็นเอสูงมี 22 ชนิด ได้แก่ SCoT23, SCoT31, SCoT36, SCoT46, SCoT47, SCoT48, SCoT61, SCoT62, SCoT63, SCoT65, SCoT66, SCoT67, SCoT68, SCoT69, SCoT70, SCoT71, SCoT72, SCoT73, SCoT75, SCoT77, SCoT79 และ SCoT80 เมื่อตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของพริกพบว่ามีแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 222 แถบ ขนาด 250-3000 คู่เบส (base pairs, bp) เป็นแถบดีเอ็นเอที่ไม่มีความหลากรูป (monomorphic band) 35 แถบ และแถบดีเอ็นเอที่ให้ความหลากรูป (polymorphic band) 187 แถบ ตัวอย่างลายพิมพ์ดีเอ็นที่ได้จากไพรเมอร์ SCoT69 แสดงดังรูปที่ 1 ซึ่งมีแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นถึง 20 แถบ โดยไพรเมอร์นี้ให้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่มีความหลากรูป 100 เปอร์เซ็นต์

เมื่อวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยโปรแกรม NTSYS สามารถคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนได้ดังรูปที่ 2 มีค่าตั้งแต่ 0.56 ถึง 0.93 เมื่อพิจารณาที่ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน 0.696 สามารถแบ่งพริกทั้ง 15 พันธุ์ ออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ได้แก่ พริกหวาน พริกขี้หนูต้นเตี้ย พริกเจ็ดสียักษ์ พริกยักษ์เขียว พริกหยวก พริกซี้ฟ้าแดง พริกหนุ่ม พริกตุ้มประดับ และพริกซี้ฟ้าเขียว ซึ่งเป็นพริกในกลุ่ม *Capsicum annuum* L. ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับ ธีระชัย และนฤมล (2543) ที่รายงานว่าพริกยักษ์เขียว พริกหยวก พริกซี้ฟ้าแดง พริกหนุ่ม พริกตุ้มประดับ และพริกซี้ฟ้าเขียว จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันโดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี กลุ่มที่ 2 ได้แก่ พริกม่วง พริกฟักทอง และพริกขี้หนูช่อ ม.ข. ซึ่งพริกม่วงและพริกฟักทองเป็นพริกที่มีถิ่นกำเนิดจากต่างประเทศ และพริกขี้หนูช่อ ม.ข. เป็นพันธุ์ลูกผสมของพริกขี้หนู กลุ่มที่ 3 ได้แก่ พริกน้อย พริกนิ้วมือนาง และพริกน้อยผลยาว เป็นพริกในกลุ่ม *C. frutescens* L. ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน (รูปที่ 3) และให้ผลสอดคล้องกับงานวิจัยของ ธีระชัย และนฤมล (2543)

เมื่อพิจารณาแผนภูมิความสัมพันธ์ พบว่าพริกนิ้วมือนางกับพริกน้อยผลยาวมีความใกล้ชิดกันมากที่สุด มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน 0.93 ส่วนพริกที่มีความแตกต่างกันมากที่สุดมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน 0.56 คือ พริกน้อยผลยาวกับพริกฟักทอง โดยพริกน้อยผลยาวเป็นพริกในกลุ่ม *C. frutescens* L. ส่วนพริกฟักทองเป็นพริกในกลุ่ม *C.*

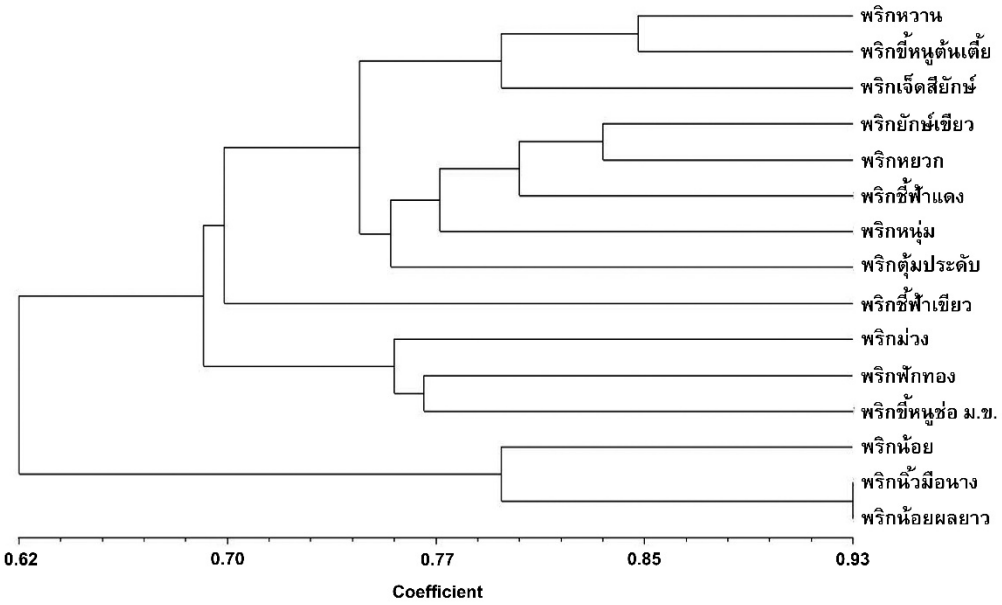
annuum L. (สุชีลา, 2536) อีกทั้งพริกฟักทองมีลักษณะของผลที่แตกต่างจากพริกน้อยผลยาวอย่างชัดเจน โดยการจัดกลุ่มนี้ให้ผลสอดคล้องกับพันธุ์และลักษณะสัณฐาน (morphology) ของพริกด้วย



รูปที่ 1 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของพริก 15 พันธุ์ ที่ได้จากเครื่องหมายสก๊อตโดยใช้ไพรเมอร์ SCoT69 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน (GeneRuler™ 100 bp Plus DNA Ladder, Thermo Scientific™), 1-15 คือ พันธุ์พริก ได้แก่ (1) พริกหวาน (2) พริกม่วง (3) พริกขี้หนูต้นเตี้ย (4) พริกฟักทอง (5) พริกเจ็ดสียักษ์ (6) พริกขี้หนูช่อ ม.ข. (7) พริกน้อย (8) พริกนิ้วมือนาง (9) พริกน้อยผลยาว (10) พริกยักษ์เขียว (11) พริกตุ้มประดับ (12) พริกหนุ่ม (13) พริกหยวก (14) พริกขี้ฟ้าแดง และ (15) พริกขี้ฟ้าเขียว]

พริกหวาน	1.00														
พริกม่วง	0.82	1.00													
พริกขี้หนูเตี้ย	0.86	0.77	1.00												
พริกฟักทอง	0.77	0.78	0.74	1.00											
พริกเจ็ดสียักษ์	0.89	0.81	0.85	0.78	1.00										
พริกขี้หนูช่อ ม.ข.	0.79	0.77	0.71	0.77	0.80	1.00									
พริกน้อย	0.69	0.67	0.69	0.64	0.70	0.72	1.00								
พริกนิ้วมือนาง	0.72	0.66	0.74	0.63	0.72	0.70	0.82	1.00							
พริกน้อยผลยาว	0.72	0.67	0.73	0.63	0.72	0.70	0.82	0.95	1.00						
พริกยักษ์เขียว	0.82	0.78	0.85	0.75	0.79	0.74	0.73	0.71	0.73	1.00					
พริกตุ้มประดับ	0.79	0.78	0.83	0.75	0.78	0.70	0.69	0.70	0.70	0.84	1.00				
พริกหนุ่ม	0.78	0.73	0.81	0.69	0.78	0.72	0.74	0.69	0.71	0.84	0.80	1.00			
พริกหยวก	0.80	0.74	0.84	0.72	0.78	0.68	0.71	0.72	0.71	0.86	0.81	0.83	1.00		
พริกขี้ฟ้าแดง	0.76	0.75	0.80	0.73	0.73	0.71	0.70	0.71	0.70	0.82	0.78	0.81	0.86	1.00	
พริกขี้ฟ้าเขียว	0.68	0.68	0.74	0.62	0.71	0.65	0.71	0.63	0.65	0.74	0.66	0.75	0.75	0.75	1.00
	รองเท้านารีฝาหอย	พริกม่วง	พริกขี้หนูเตี้ย	พริกฟักทอง	พริกเจ็ดสียักษ์	พริกขี้หนูช่อ ม.ข.	พริกน้อย	พริกนิ้วมือนาง	พริกน้อยผลยาว	พริกยักษ์เขียว	พริกตุ้มประดับ	พริกหนุ่ม	พริกหยวก	พริกขี้ฟ้าแดง	พริกขี้ฟ้าเขียว

รูปที่ 2 ค่าดัชนีความเหมือนของพริก 15 พันธุ์ ที่ได้จากเครื่องหมายสก๊อต



รูปที่ 3 แผนภูมิความสัมพันธ์ของพริก 15 พันธุ์ ที่ได้จากเครื่องหมายสก๊อต

ผลการวิจัยดังที่กล่าวมาแล้ว แสดงให้เห็นว่าเครื่องหมายสก๊อตสามารถประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและจำแนกพริกได้เช่นเดียวกับพืชอื่น เช่น ถั่วลิสง (Qian *et.al.*, 2010) มันฝรั่ง (Gorji *et al*., 2011) มะม่วง (Luo *et.al*, 2010) รักแกนมอ (กรองทอง และคณะ, 2557) และปาล์ม (Qurainy *et al*., 2015) นอกจากนั้นยังมีการพัฒนาเครื่องหมายสก๊อตเป็นเครื่องหมายสการ์ (SCAR, sequence characterized amplified region) ได้สำเร็จในสบู่ดำ (Mulpuri *et al*., 2013) ซึ่งสามารถแยกความแตกต่างของสบู่ดำที่เป็นพิษและไม่เป็นพิษได้ด้วยไพรเมอร์เพียง 1-2 ชนิด และมีการประยุกต์ใช้เครื่องหมายสก๊อตในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชในวงศ์ Solanaceae โดย Shahlaei และคณะ (2014) ได้ศึกษาความหลากหลายของมะเขือเทศ ซึ่งพบว่าเครื่องหมายสก๊อตสามารถใช้ระบุพันธุ์มะเขือเทศได้ อีกทั้งยังพบว่าเครื่องหมายสก๊อตมีประสิทธิภาพในการจำแนกสูงกว่าเครื่องหมายไอเอสเอสอาร์ ดังนั้นเครื่องหมายสก๊อตจึงสามารถใช้ในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงเมื่อเปรียบเทียบกับเครื่องหมายอื่น (Gorji *et al*., 2011)

นอกจากนั้นรายงานการวิจัยในประเทศไทยยังพบการใช้เครื่องหมายสก๊อตเพื่อการประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการระบุชนิดของกล้วยไม้สกุลก้านก่อ (นฤมล และคณะ, 2560) การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการระบุชนิดของกล้วยไม้รองเท้านารีสกุล *Paphiopedilum* สกุลย่อย *Brachypetalum* หมู่ Brachypetalum (ธีระชัย และคณะ, 2560) การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการระบุชนิดของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีกลุ่มใบเขียว (ธีระชัย และคณะ, 2560)

อย่างไรก็ตาม เครื่องหมายดีเอ็นเอประเภทต่าง ๆ ก็สามารถใช้ประเมินความสัมพันธ์และจำแนกพันธุ์พืชได้ เช่น นฤมล และคณะ (2554) ใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดีในการศึกษาความสัมพันธ์

ทางพันธุกรรมของโมกและพุด เกียรติชัย และคณะ (2557) ใช้เครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีจำแนกและประเมินความสัมพันธ์ของหม้อข้าวหม้อแกงลิง และยังมีการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลกุหลาบด้วยเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดี ซึ่งพบไพรเมอร์ที่สามารถจำแนกกล้วยไม้สกุลกุหลาบ 15 พันธุ์ ได้ด้วยการใช้ไพรเมอร์เพียงชนิดเดียว (นฤมล และคณะ, 2557) อีกทั้งยังมีการนำเทคนิคพีซีอาร์มาประยุกต์ใช้ในการตรวจสอบแบคทีเรียในน้ำดื่มด้วยวิธีที่ไม่ต้องสกัดแยกดีเอ็นเอจากแบคทีเรียได้สำเร็จ (นฤมล และคณะ, 2552)

4. สรุป

การใช้เครื่องหมายสก๊อตในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพริก 15 พันธุ์ โดยใช้ไพรเมอร์ขนาด 18 นิวคลีโอไทด์ จำนวน 80 ชนิด เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส พบไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่มีความหลากรูปสูงและชัดเจน 22 ชนิด ได้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 222 แถบ เป็นแถบดีเอ็นเอที่ไม่มีความหลากรูป 35 แถบ และเป็นแถบดีเอ็นเอที่ให้ความหลากรูป 187 แถบ

เมื่อเปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้น คำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน พบว่ามีค่า 0.56-0.93 จากนั้นวิเคราะห์ความสัมพันธ์โดยเลือกวิธีการจัดกลุ่มแบบ UPGMA เมื่อพิจารณาที่ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน 0.696 สามารถจำแนกพริกเป็น 3 กลุ่ม โดยข้อมูลจากการวิจัยนี้สามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการวางแผนการปรับปรุงพันธุ์พริก

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอบคุณ คุณณัฐวรรณ เถาลิโป้ คุณครินภรณ์ ยอดเสนีย์ คุณอัญญรัตน์ เตชะนันท์ และคุณภักดิภรณ์ วงศาโรจน์ ที่มีส่วนร่วมทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี

6. รายการอ้างอิง

กรองทอง ใจแก้วแดง, วิชาญ เอียดทอง และสุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, 2557, การวิเคราะห์ความผันแปรทางพันธุกรรมของต้นรักแกนมอในประเทศไทยโดยใช้เครื่องหมาย Start Codon Targeted (SCoT), Thai J. Forest. 33. 2: 19-27.

เกียรติชัย แซ่ไต่, เปรมณัช ขุนปักษี, ธีระชัย ธนานันต์ และนฤมล ธนานันต์, 2557, การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการจำแนกหม้อข้าวหม้อแกงลิงด้วยเทคนิคแฮตอาร์เอพีดี, ว. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 2: 237-242.

ธีระชัย ธนานันต์ และนฤมล ธนานันต์, 2543, เทคนิคอาร์เอพีดีกับการจำแนกพันธุ์พริก, ว. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 8(1): 6-10.

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

ธีระชัย ธนานันต์, พรประภา ศิริเทพทวี, ภัทรพร คุ้มภัย และนฤมล ธนานันต์, 2560, การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการระบุชนิดของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีกลุ่มใบเขียวด้วยเครื่องหมายสก๊อต, Thai J. Sci. Technol. 6: 171-178.

นฤมล ธนานันต์ และธีระชัย ธนานันต์, 2552, การประยุกต์เทคนิคพีซีอาร์เพื่อตรวจสอบบคทีเรียซัลโมเนลลาในน้ำดื่ม, ว.วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 17(2): 37-42.

นฤมล ธนานันต์, จุฑามาศ เจียมเจือจันทร์ และธีระชัย ธนานันต์, 2560, การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการระบุชนิดของกล้วยไม้สกุลก้านก่อด้วยเครื่องหมายสก๊อต, Thai J. Sci. Technol. 6: 152-160.

นฤมล ธนานันต์, วริสรา แทนสง่า และธีระชัย ธนานันต์, 2557, การประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลกุหลาบด้วยเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดี, ว. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 3: 317-326.

นฤมล ธนานันต์, วิภาวรรณ ประสิทธิ์ และธีระชัย ธนานันต์, 2555, การจำแนกข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ปรับปรุงจากพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ด้วยเทคนิคแฮตอาร์เอพีดี, Thai J. Sci. Tech. 1: 169-179.

นฤมล ธนานันต์, ศรัญลักษณ์ นาคขาว และธีระชัย ธนานันต์, 2554, การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของโมกและพุดด้วยอาร์เอพีดี, ว. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 19(1): 1-8.

วันดี วงศ์สมุทร และพิเชษฐ์ อาภานันทิกุล, 2538, ยาเตรียมแคปไซซินอยด์, ภาควิชาสรีรวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ.

สุชีลา เตชะวงศ์เสถียร, 2536, การผลิตการตลาดพริก : ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ พันธุ์และการจัดจำแนก และการเขตกรรมพริก, กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ, 18 น.

อรพินธุ์ สฤษดิ์นา, 2015, การประเมินค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของพริกโดยเทคนิคเครื่องหมายโมเลกุลเอสเอสอาร์, น. 201-206, การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 14, สวนนงนุช, ชลบุรี.

Altomare, D.F., Rinaldi, M., Torre, F.L., Scardigno, D., Roveran, A., Canuti, S., Morea, G. and Spazzafumo, L., 2006, Red hot chili pepper and hemorrhoids: The explosion of a myth: Results of a prospective, randomized, placebo-controlled, crossover trial, Dis. Colon Rectum. 49: 1018-1023.

Carnllo, L.C., Avila, M.H. and Dubrow, R., 1993, Chili pepper consumption and gastric cancer in mexico: A case-control study, Am. J. Epidemiol. 139: 263-271.

Collard, B.C.Y. and Mackill, D.J. 2009. Start codon targeted (SCoT) polymorphism: A simple, novel DNA marker technique for generating gene-targeted marker in plants. Plant Mol. Biol. Rep. 27: 86-93.

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.

Gorji, A.M., Poczai, P., Polgar, Z. and Taller, J. 2011. Efficiency of amplified dominant markers (SCoT, ISSR and RAPD) for diagnostic fingerprinting, Am. J. Bot. 3: 226-237.

Luo, C., Hea, X.H., Chena, H., Oua, S.J. and Gaoa, M.P., 2010, Analysis of diversity and relationships among mango cultivars using Start codon targeted (SCoT) markers, Biochem. Syst. Ecol. 6:1176-1184.

Mueller, M., Hobiger, S. and Jungbauer, A., 2010, Anti-inflammatory activity of extracts from fruits, herbs and spices, Food Chem. 122: 987-996.

Mulpuri, S., Muddanuru, T. and Francis, G., 2013, Start codon targeted (SCoT) polymorphism in toxic and non-toxic accessions of *Jatropha curcas* L. and

development of a codominant SCAR marker, Plant Sci. 207: 117-127.

Qian, X.F., Jing, J., Chun, Z.R., Qiang, H.Z., Qiong, H.L., Zhong, L., Jian, Z.W. and Hua, T.R., 2010, Application of SCoT molecular marker in genus *Arachis*, Acta Agronomica Sinica 36: 2055-2061.

Qurainy, F.A., Khan, S., Nadeem, M. and Tarroum, M., 2015, SCoT marker for theassessment of genetic diversity in Saudi Arabian date Palm cultivar, Pak. J. Bot. 47: 637-643.

Rohlf, F.J., 2002, NTSYpc 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, New York.

Spiller, F., Alves, M.K., Vieira, S.M., Carvalho, T.A., Leite, C.E., Lunardelli, A., Poloni, J.A., Cunha, F.Q. and Oliveira, J.R., 2008, Anti-inflammatory effects of red pepper (*Capsicum baccatum*) on carrageenan- and antigen-induced inflammation, J. Pharm. Pharmacol. 60: 473-478.

Surh, Y.J., 2002, Anti-tumor promoting potential of selected spice ingredients with anti-oxidative and anti-inflammatory activities: A short review, Food Chem. Toxicol. 40: 1091-1097.

Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A. and Tingey, S.U., 1990, DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers, Nucl. Acids Res. 8: 6531-6535.

Wu, J.M., Li, Y.R., Yang, L.T., Fang, F.X., Song, H.Z., Tang, G.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.

Zhang, F., Lv, Y., Dong, H. and Guo, S., 2010, Analysis of genetic stability through inter simple sequence repeats molecular markers in micro propagated plantlets of *Anoectochilus* form osanus Hayata, a medicinal plant, Biol. Pharm. Bull. 33. 3: 384-388.