

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของต้นประ (Elateriospermum tapos)
 ในป่าดั้งเดิมและป่าปลูกในอุทยานแห่งชาติเขานัน จังหวัดนครศรีธรรมราช
 โดยวิเคราะห์จากลำดับนิวคลีโอไทด์จากยีน *MaturaseK* ในคลอโรพลาสต์ดีเอ็นเอ
 Genetic Diversity of the Parah Tree (*Elateriospermum tapos*) in
 Primitive Forests and Planted Forests in Khao Nan National Park,
 Nakhon Si Thammarat Province, Analyzed from Nucleotide
 Sequences from the *MaturaseK* Gene in Chloroplast DNA

วรวิฑู มีสุข¹ วีระเกียรติ ทรัพย์มี¹ พัฒนพร รินทจักร² และจุฑามาศ ศุภพันธ์^{3*}
 Worawitoo Meesook¹, Verakiat Supmee¹, Phatthanaporn Rinthajak²
 and Juthamas Suppapan^{3*}

บทคัดย่อ

ต้นประ (*Elateriospermum tapos*) เป็นพันธุ์ไม้ป่าและพืชเศรษฐกิจระดับท้องถิ่นที่แพร่กระจายในภาคใต้ของประเทศไทย อุทยานแห่งชาติเขานันมีพื้นที่ป่าประมาณใหญ่ซึ่งปัจจุบันมีการนำเมล็ดพันธุ์ประจากป่าดั้งเดิมเพื่อนำมาปลูกเป็นป่าปลูก ดังนั้นจึงควรมีการตรวจสอบลักษณะทางพันธุกรรมเพื่อใช้เป็นข้อมูลในการจัดการป่าปลูก การศึกษาครั้งนี้วิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของต้นประในป่าดั้งเดิมและป่าปลูกในอุทยานแห่งชาติเขานัน จังหวัดนครศรีธรรมราช โดยวิเคราะห์จากลำดับนิวคลีโอไทด์จากยีน *maturaseK* ในคลอโรพลาสต์ดีเอ็นเอขนาด 772 คู่เบส ผลการศึกษาพบว่าต้นประในป่าดั้งเดิมมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงกว่าต้นประในป่าปลูก พบการแยกกลุ่มประชากรเป็น 2 กลุ่ม คือ ต้นประจากป่าดั้งเดิมและต้นประจากป่าปลูก อีกทั้งพบแนวโน้มในการแยกสายวิวัฒนาการของต้นประในป่าปลูกออกจากต้นประในป่าดั้งเดิม จากผลการศึกษาในครั้งนี้คณะผู้วิจัยแนะนำในการจัดการทางพันธุกรรมควรมีการจัดการแยกกันระหว่างต้นประจากป่าดั้งเดิมและต้นประจากป่าปลูก ทั้งนี้เพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนทางพันธุกรรม

คำสำคัญ: พันธุกรรม ต้นประ ยีนในคลอโรพลาสต์ อุทยานแห่งชาติเขานัน

¹ สาขาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

² อุทยานแห่งชาติเขานัน จังหวัดนครศรีธรรมราช

³ คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

* Corresponding author e-mail: jutamas_sup@nstru.ac.th

DOI: <https://doi.org/10.65217/wichchajinstru.2023.v42i1.256104>

Received: 5 September 2022, Revised: 3 October 2022, Accepted: 17 October 2022

Abstract

The parah tree (*Elateriospermum tapos*) is a species of wild and local economic plant that spreads in the south of Thailand. Khao Nan National Park has a large parah forest area where parah seeds from the primitive forest are now being used for planting. Therefore, genetic traits should be examined as for the information in the management of planting forests. This study aimed to analyze the genetic diversity of parah trees in primitive forests and forests planted in Khao Nan National Park. It was analyzed from nucleotide sequences from the *maturaseK* gene in a 772 based pairs of DNA chloroplasts. The findings indicated that parah trees in primitive forests have a higher genetic diversity than parahs in planted forests. We found a separation of two population groups: parah trees from primitive forests and parah trees from planted forests. We also found a tendency to separate the evolutionary line of parah trees in planted forests from parah trees in primitive forests. Based on the results of this study, we suggest that genetic management should be managed separately between parah trees from primitive forests and parah trees from planted forests to avoid genetic contamination.

Keywords: Genetics, Parah tree, Chloroplast DNA, Khao Nan National Park

บทนำ

ต้นประ (Elateriospermum tapos) เป็นพืชในวงศ์ Euphorbiaceae จัดเป็นพืชชนิดเดียวในสกุล Elateriospermum ที่พบแพร่กระจายในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้โดยเฉพาะในภาคใต้ของประเทศไทย (วิสุทธิ์ และรังสิมา, 2550) ต้นประเป็นไม้ยืนต้นที่เจริญเติบโตในเขตป่าดงดิบหรือตามภูเขาที่มีความชื้นสูง สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายอย่าง โดยเฉพาะเมล็ดประซึ่งมีโปรตีนสูงเป็นประโยชน์ต่อร่างกาย สามารถนำมาเป็นส่วนผสมในอาหารได้หลายชนิด เช่น เบเกอรี่ น้ำสลัด ไส้กรอก และไอศกรีม เป็นต้น (Choonhahirun, 2010) จัดได้ว่าต้นประเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของชุมชนในท้องถิ่น อุทยานแห่งชาติเขานันมีพื้นที่ป่าประที่คาดว่าจะมีขนาดใหญ่ที่สุดในโลก (ปริญญา และคณะ, 2561) โดยประชาชนในพื้นที่มีการใช้ประโยชน์จากต้นประ โดยเก็บเมล็ดประเพื่อนำมาแปรรูปเป็นอาหารชนิดต่าง ๆ นอกจากนี้ยังนำเมล็ดประมาปลูกบริเวณสวนยางพาราหรือปลูกเป็นแนวรั้วเพื่อเก็บผลผลิตโดยไม่ต้องเข้าไปเก็บในเขตอุทยานฯ การนำเมล็ดประจากต่างพื้นที่มาปลูกร่วมกันอาจทำให้มีการปนเปื้อนทางพันธุกรรมจากการผสมพันธุ์กับต้นพันธุ์ดั้งเดิม ดังนั้นจึงควรศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมเพื่อเป็นแหล่งข้อมูลสำหรับการพิจารณาจัดการทรัพยากรต้นประในพื้นที่

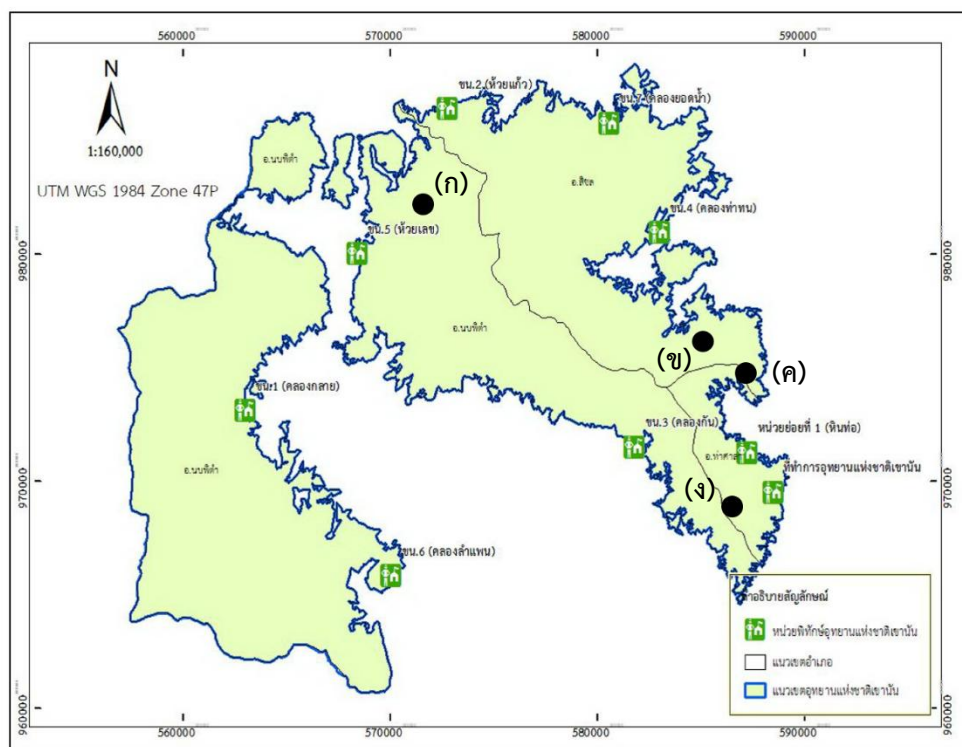
การศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของต้นประในพื้นที่อุทยานแห่งชาติเขานันมีการศึกษาโดยจุฑามาศ และคณะ (2563) ซึ่งศึกษาจากลำดับนิวคลีโอไทด์จากยีน ribulose-bisphosphate carboxylase ในคลอโรพลาสต์ดีเอ็นเอ พบการแบ่งกลุ่มประชากรออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มประชากร

ต้นประในอำเภอนบพิตำและกลุ่มประชากรต้นประจากประเทศมาเลเซียและบรูไน สำหรับการศึกษาครั้งนี้ทำการศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของต้นประโดยการศึกษาจากลำดับนิวคลีโอไทด์จากยีน *maturaseK* ในคลอโรพลาสต์ดีเอ็นเอ โดยใช้ตัวอย่างต้นประที่อยู่ในป่าดั้งเดิมและในป่าปลูก เพื่อตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรม ผลการศึกษาครั้งนี้จะเป็นประโยชน์ในการพิจารณาการปลูกต้นประทดแทนในธรรมชาติหรือแนวทางในการปลูกต้นประเชิงพาณิชย์โดยหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนทางพันธุกรรมและยังคงความหลากหลายทางพันธุกรรมของต้นประในพื้นที่ไว้

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่างต้นประ

เก็บตัวอย่างใบสดของต้นประเพื่อนำมาสกัดดีเอ็นเอในห้องปฏิบัติการ โดยพื้นที่เก็บตัวอย่างแบ่งเป็นส่วนพื้นที่ป่าดั้งเดิม ได้แก่ หน่วยพิทักษ์อุทยานห้วยเลข จำนวน 40 ต้น และหน่วยพิทักษ์อุทยานน้ำตกหินท้อ จำนวน 40 ต้น ส่วนพื้นที่ป่าปลูก ได้แก่ บ้านหินท้อ จำนวน 28 ต้น และที่ทำการอุทยานแห่งชาติเขานัน จำนวน 10 ต้น โดยคัดเลือกจากต้นประที่มีอายุมากกว่า 25 ปี (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 พื้นที่เก็บตัวอย่างต้นประ ได้แก่ หน่วยพิทักษ์อุทยานห้วยเลข (ป่าดั้งเดิม) (ก) หน่วยพิทักษ์อุทยานน้ำตกหินท้อ (ป่าดั้งเดิม) (ข) บ้านหินท้อ (ป่าปลูก) (ค) และที่ทำการอุทยานแห่งชาติเขานัน (ป่าปลูก) (ง)

2. การสกัดดีเอ็นเอ

นำใบประสมมาสกัด genomic DNA โดยใช้ชุดสกัด Thermo Scientific Phire Plant Direct PCR Kit และใช้วิธีการที่บริษัทแนะนำ

3. การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายด้วยการทำปฏิกิริยาลูกโซ่ (PCR) ใช้ไพรเมอร์ที่ได้จากการออกแบบโดยใช้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *maturaseK* จากฐานข้อมูล GenBank หมายเลข accession number AB268044.1 เป็นต้นแบบ ซึ่งได้ไพรเมอร์ดังนี้ ET_matK_F 5' GCC AAT GAT TCT AAC CAA AAT CC 3' และ ET_matK_R 5' CCC GGA TCG GTT TAC TAA TG 3' จากนั้นเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายในหลอดพีซีอาร์ซึ่งประกอบด้วย nuclease free water 19.5 ไมโครลิตร 2x Phire Plant Direct PCR Master Mix 25 ไมโครลิตร forward primer 2 ไมโครลิตร และ reverse primer 2 ไมโครลิตร นำหลอดทดลองมาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายด้วยเครื่อง PCR MS Major Science Major cycler โดยใช้ขั้นตอน initial denaturation ที่อุณหภูมิ 98 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเข้าสู่ขั้นตอน denaturation ที่อุณหภูมิ 98 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วินาที annealing ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วินาที และ extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วินาที โดยขั้นตอน denaturation-annealing-extension ใช้จำนวน 40 รอบ และขั้นตอนสุดท้ายคือ final extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที

4. การหาลำดับนิวคลีโอไทด์

ตรวจสอบผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายด้วยเทคนิค agarose gel electrophoresis เมื่อพบว่าถูกต้องจึงนำไปทำให้บริสุทธิ์ด้วย Gel/PCR Purification Mini Kit (FAVORGEN, BIOTECHCORP.) แล้วส่งตัวอย่างดีเอ็นเอเป้าหมายเพื่อหาลำดับนิวคลีโอไทด์ที่หน่วยบริการ (1st Base Laboratory, Malaysia)

5. การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรม

5.1 การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรม

เมื่อได้ผลลำดับนิวคลีโอไทด์ ทำการตรวจสอบความถูกต้องของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ โดยนำไปเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *maturaseK* จากฐานข้อมูล GenBank Accession นำลำดับนิวคลีโอไทด์มา alignment ด้วยโปรแกรม ClustalW version 2.0.12 (Larkin *et al.*, 2007) แล้วตรวจสอบความถูกต้องอีกครั้ง จากนั้นวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรม ได้แก่ ค่าความหลากหลายของลำดับเบส (nucleotide diversity: π ; Nei, 1987) ค่าความหลากหลายของแฮพลไทป์ (haplotype diversity: h ; Nei, 1987) และค่า polymorphic site ด้วยโปรแกรม DnaSP version 5 (Librado and Rozas, 2009) ทดสอบการเบี่ยงเบนจากประชากรสมมูลโดยการวิเคราะห์ค่า Fu's F_s (Fu, 1997) และค่า Tajima's D (Tajima, 1989) ใช้การทำซ้ำ 10,000 permutations ด้วยโปรแกรม ARLEQUIN version 3.5.1.2 (Excoffier and Lischer, 2010)

5.2 การวิเคราะห์โครงสร้างพันธุศาสตร์ประชากร

ทำการทดสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมด้วยวิธีที่เป็นอิสระต่อกัน 4 วิธี ได้แก่

- 1) วิเคราะห์โครงสร้างพันธุศาสตร์ประชากรด้วยวิธี analysis of molecular variance (AMOVA) โดยแบ่งการวิเคราะห์เป็นสองระดับ คือ แบบที่หนึ่งทำการแบ่งประชากรเป็น 4 กลุ่มตามพื้นที่เก็บตัวอย่าง (single region) คือ หน่วยพิทักษ์อุทยานห้วยเลฯ หน่วยพิทักษ์อุทยานน้ำตกหินท้อ บ้านหินท้อ และที่ทำการอุทยานแห่งชาติเขานัน และแบบที่สองทำการแบ่งประชากรเป็น 2 กลุ่มตามสภาพป่า (primitive forest x planted forest) ได้แก่ ป่าดั้งเดิม (หน่วยพิทักษ์อุทยานห้วยเลฯและหน่วยพิทักษ์อุทยานน้ำตกหินท้อ) และป่าปลูก (บ้านหินท้อและที่ทำการอุทยานแห่งชาติเขานัน) โดยใช้โปรแกรม ARLEQUIN version 3.5.1.2 (Excoffier and Lischer, 2010) ใช้การทำซ้ำ 10,000 permutations
- 2) วิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรด้วยวิธี pairwise F_{ST} โดยใช้การทำซ้ำ 10,000 permutations ด้วยโปรแกรม ARLEQUIN version 3.5.1.2 (Excoffier and Lischer, 2010)
- 3) วิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (phylogenetic tree) ของต้นประจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของแต่ละตัวอย่าง โดยใช้วิธี Neighbor-joining ตามโมเดล kimura 2-parameter โดยใช้ค่า bootstrap 1,000 ครั้ง ด้วยโปรแกรม MEGA version 6 (Tamura *et al.*, 2013) และ 4) สร้างแผนผังความสัมพันธ์ระหว่างแฮปโลไทป์ (MSN) ด้วยโปรแกรม ARLEQUIN version 3.5.1.2 (Excoffier and Lischer, 2010) ใช้การทำซ้ำ 10,000 permutations

ผลการวิจัย

1. ความหลากหลายทางพันธุกรรม

จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *maturaseK* ในตัวอย่างต้นประจำนวน 118 ต้น โดยวิเคราะห์จากลำดับนิวคลีโอไทด์ขนาด 772 คู่เบส พบตำแหน่ง polymorphic sites 68 ตำแหน่ง สามารถจำแนกแฮปโลไทป์ได้เป็น 5 แฮปโลไทป์ สำหรับค่าความหลากหลายของแฮปโลไทป์ (h) และค่าความหลากหลายของลำดับเบส (π) ของประชากรรวม มีค่า 0.417 และ 0.032 ตามลำดับ ส่วนค่า Tajima's D และ Fu's F_s ของประชากรรวม มีค่า -0.893 และ -1.551 ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 1) โดยมีแฮปโลไทป์ที่พบได้ในหลายประชากร (shared haplotype) จำนวน 3 แฮปโลไทป์ คือ แฮปโลไทป์ HAP 1 HAP 2 และ HAP 3 และมีแฮปโลไทป์ที่พบเฉพาะในประชากร (rare haplotype) จำนวน 2 แฮปโลไทป์ คือ แฮปโลไทป์ HAP 4 ซึ่งพบเฉพาะในพื้นที่ป่าปลูกบ้านหินท้อ และแฮปโลไทป์ HAP 5 ซึ่งพบเฉพาะในพื้นที่ป่าปลูกที่ทำการอุทยานแห่งชาติเขานัน (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 ค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมวิเคราะห์จากลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *maturaseK* ในคลอโรพลาสต์ดีเอ็นเอของต้นประไในป่าดั้งเดิมและป่าปลูกในอุทยานแห่งชาติเขานัน

พื้นที่เก็บ ตัวอย่าง ป่าประ (collecting sites)	จำนวน ตัวอย่าง (N)	ตำแหน่ง polymorphic sites	ตำแหน่ง แฮพโลไทป์	ค่าความ หลากหลาย ของแฮพโลไทป์ (h) (mean±SD)	ค่าความ หลากหลาย ของลำดับเบส (π) (mean±SD)	Tajima's D	Fu's Fs
(ก)	40	66	2	0.467±0.048	0.039±0.004	-3.554	-4.028
(ข)	40	66	3	0.518±0.069	0.039±0.004	-3.516	-3.452
(ค)	28	65	3	0.140±0.087	0.011±0.006	-1.802	-2.746
(ง)	10	1	2	0.200±0.154	0.000±0.000	-1.111	-4.123
รวม	118	68	5	0.417±0.047	0.032±0.003	1.039	-2.758

หมายเหตุ - (ก) = หน่วยพิทักษ์อุทยานห้วยเลข (ป่าดั้งเดิม)

- (ข) = หน่วยพิทักษ์อุทยานน้ำตกหินท้อ (ป่าดั้งเดิม)

- (ค) = บ้านหินท้อ (ป่าปลูก)

- (ง) = ที่ทำการอุทยานแห่งชาติเขานัน (ป่าปลูก)

ตารางที่ 2 การกระจายของแฮพโลไทป์จากลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *maturaseK* ในคลอโรพลาสต์ดีเอ็นเอของต้นประไในป่าดั้งเดิมและป่าปลูกในอุทยานแห่งชาติเขานัน

แฮพโลไทป์	(ก)	(ข)	(ค)	(ง)	รวม
HAP 1	26	26	26	9	87
HAP 2	14	10	-	-	24
HAP 3	-	4	1	-	5
HAP 4	-	-	1	-	1
HAP 5	-	-	-	1	1
รวม	40	40	28	10	118

หมายเหตุ - (ก) = หน่วยพิทักษ์อุทยานห้วยเลข (ป่าดั้งเดิม)

- (ข) = หน่วยพิทักษ์อุทยานน้ำตกหินท้อ (ป่าดั้งเดิม)

- (ค) = บ้านหินท้อ (ป่าปลูก)

- (ง) = ที่ทำการอุทยานแห่งชาติเขานัน (ป่าปลูก)

2. โครงสร้างพันธุศาสตร์ประชากร

จากการศึกษาโครงสร้างพันธุศาสตร์ประชากรโดยการวิเคราะห์โดยแบ่งกลุ่มประชากรเป็น 2 รูปแบบ คือ 1) เมื่อแบ่งกลุ่มประชากรตามพื้นที่เก็บตัวอย่าง ได้แก่ หน่วยพิทักษ์อุทยานห้วยเลข หน่วยพิทักษ์อุทยานน้ำตกหินท้อ บ้านหินท้อ และที่ทำการอุทยานแห่งชาติเขานัน พบว่ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมเกิดขึ้น ($\Phi_{ST} = 0.109$ และ $p = 0.010$) (ตารางที่ 3) และ 2) เมื่อวิเคราะห์โดยแบ่งกลุ่มประชากรเป็นกลุ่มประชากรป่าดั้งเดิมและป่าปลูก พบว่ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมโดยมีค่า $\Phi_{CT} = 0.206$ และมีค่า $p = 0.023$ (ตารางที่ 3) ผลการวิเคราะห์ระยะห่างทางพันธุกรรมด้วยวิธี

pairwise F_{ST} พบว่ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรป่าดั้งเดิมหน่วยพิทักษ์อุทยานห้วยเลกกับป่าปลูกบ้านหินท้อและที่ทำการอุทยานแห่งชาติเขานัน และพบว่าป่าดั้งเดิมหน่วยพิทักษ์อุทยานน้ำตกหินท้อมีความแตกต่างทางพันธุกรรมกับป่าปลูกบ้านหินท้อและที่ทำการอุทยานแห่งชาติเขานัน (ตารางที่ 4) ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการพบว่าสามารถแยกกลุ่มออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม 1 ประกอบด้วยแฮโพลไทป์ HAP 2 HAP 3 และ HAP 4 ส่วนกลุ่ม 2 ประกอบด้วยแฮโพลไทป์ HAP 1 และ HAP 5 (ภาพที่ 2) ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างแฮโพลไทป์พบว่าสามารถแยกกลุ่มออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม 1 ประกอบด้วยแฮโพลไทป์ HAP 2 HAP 3 และ HAP 4 ส่วนกลุ่ม 2 ประกอบด้วยแฮโพลไทป์ HAP 1 และ HAP 5 โดยแต่ละกลุ่มแยกจากกันด้วยการกลายพันธุ์จำนวน 64 ครั้ง (ภาพที่ 3)

ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์โครงสร้างพันธุศาสตร์ประชากรของต้นประไในป่าดั้งเดิมและป่าปลูกในอุทยานแห่งชาติเขานัน ทดสอบด้วยวิธี AMOVA

แหล่งความแปรปรวน (source of variation)	df	ค่าผลรวมของ ความเบี่ยงเบน กำลังสอง (sum of squares)	ส่วนประกอบ ความ แปรปรวน (variance components)	ร้อยละความ แปรปรวน (percentage of variation)	p-value
1. ตามพื้นที่เก็บตัวอย่าง (single region)					
1.1 ระหว่างประชากร (among populations)	3	153.756	1.427Va	10.99	$\Phi_{ST} = 0.109^*$
1.2 ภายในประชากร (within populations)	114	1317.829	11.559Vb	89.01	
รวม	117	1471.585	12.987		
2. ตามสภาพป่าประ: ป่าดั้งเดิมและป่าปลูก (primitive forest x planted forest)					
2.1 ระหว่างกลุ่ม (among groups)	1	150.895	2.910Va	20.64	$\Phi_{CT} = 0.206^*$
2.2 ระหว่างประชากร ภายในกลุ่ม (among populations within groups)	2	2.861	-0.370Vb	-2.62	$\Phi_{SC} = 0.180^*$
2.3 ภายในประชากร (within populations)	114	1317.829	11.559Vc	81.99	$\Phi_{ST} = -0.033^*$
รวม	117	1471.585	14.099		

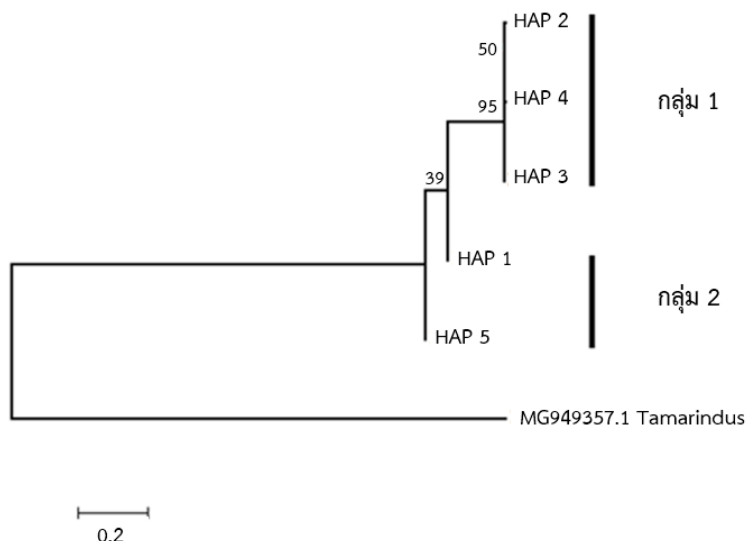
หมายเหตุ: - * และตัวอักษรในแต่ละสดมภ์แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 4 ความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างกลุ่มของต้นประในป่าดั้งเดิมและป่าปลูกในอุทยานแห่งชาติเขานัน ทดสอบด้วยวิธี pairwise F_{ST}

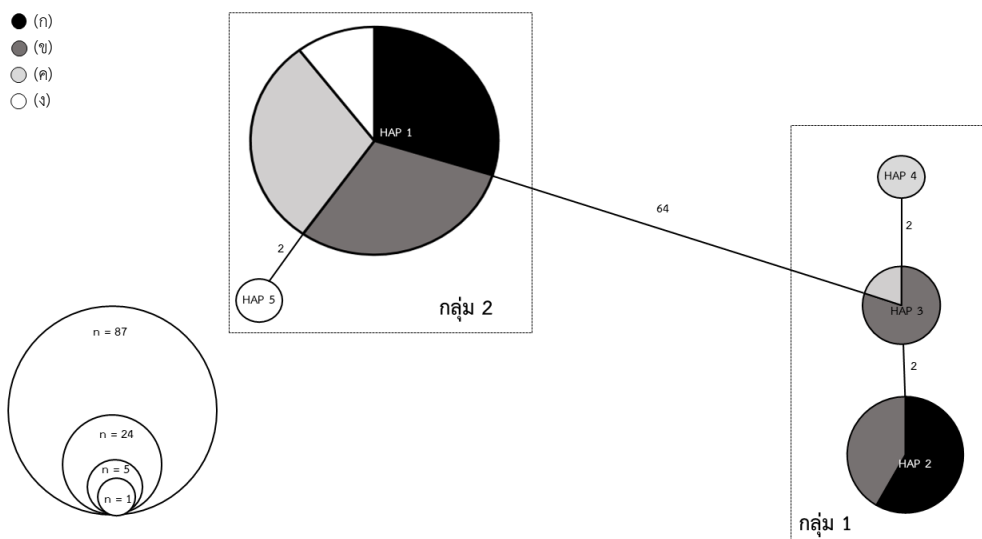
ประชากร	(ก)	(ข)	(ค)	(ง)
(ก)	-			
(ข)	-0.024	-		
(ค)	0.173*	0.170*	-	
(ง)	0.206*	0.204*	-0.018	-

หมายเหตุ - * มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

- (ก) = หน่วยพิทักษ์อุทยานห้วยเลข (ป่าดั้งเดิม)
- (ข) = หน่วยพิทักษ์อุทยานน้ำตกหินท้อ (ป่าดั้งเดิม)
- (ค) = บ้านหินท้อ (ป่าปลูก)
- (ง) = ที่ทำการอุทยานแห่งชาติเขานัน (ป่าปลูก)



ภาพที่ 2 ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยวิเคราะห์จากลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *maturaseK* ในคลอโรพลาสต์ดีเอ็นเอของต้นประที่ขึ้นในป่าดั้งเดิมและป่าปลูกในอุทยานแห่งชาติเขานัน สร้างโดยวิธี neighbor-joining ตามโมเดล Kimura 2-parameter โดยการซ้ำ 1,000 ครั้ง และมี outgroup คือ *Tamarindus indica* (MG949357.1)



ภาพที่ 3 แผนผังแสดงความสัมพันธ์ระหว่างแฮพลไทป์: ขนาดวงกลมแสดงตามสัดส่วนของจำนวนสมาชิกในแต่ละแฮพลไทป์ เส้นที่เชื่อมระหว่างแฮพลไทป์ คือ การเกิดการกลายพันธุ์ และตัวเลขที่ปรากฏบนเส้นเชื่อมระหว่างแฮพลไทป์ คือ จำนวนครั้งของการกลายพันธุ์

(ก) = หน่วยพิทักษ์อุทยานห้วยเลข (ป่าดั้งเดิม)
 (ข) = หน่วยพิทักษ์อุทยานน้ำตกหินท้อ (ป่าดั้งเดิม)
 (ค) = บ้านหินท้อ (ป่าปลูก)
 (ง) = ที่ทำการอุทยานแห่งชาติเขานัน (ป่าปลูก)

การอภิปรายผลการวิจัย

1. ความหลากหลายทางพันธุกรรม

จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *maturaseK* ในต้นประที่ศึกษาครั้งนี้พบว่า ค่าความหลากหลายของลำดับเบส (nucleotide diversity) ของต้นประในพื้นที่ป่าดั้งเดิม ได้แก่ พื้นที่หน่วยพิทักษ์อุทยานห้วยเลขและหน่วยพิทักษ์อุทยานน้ำตกหินท้อมีค่าสูงกว่าต้นประในพื้นที่ป่าปลูก ได้แก่ บ้านหินท้อและที่ทำการอุทยานแห่งชาติเขานัน โดยค่าความหลากหลายของลำดับเบสเป็นค่าที่บ่งบอกถึงการเกิดโพลิมอร์ฟิซึม (polymorphism) ภายในประชากร (Nei and Li, 1979) ดังนั้นจึงแสดงว่าต้นประในพื้นที่ป่าดั้งเดิมมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงกว่าต้นประในพื้นที่ป่าปลูก และจากการกระจายของแฮพลไทป์พบว่าประชากรส่วนใหญ่มีแฮพลไทป์ที่พบได้ในหลายประชากร (shared haplotype) จำนวน 3 แฮพลไทป์และเป็นแฮพลไทป์ที่พบเฉพาะประชากร (rare haplotype) จำนวน 2 แฮพลไทป์ โดยมีค่าความหลากหลายของแฮพลไทป์ (haplotype diversity) อยู่ในช่วง 0.140-0.518 ซึ่งแสดงว่ามีความหลากหลายของแฮพลไทป์ปานกลาง (Ma et al., 2010) และพบว่าต้นประในพื้นที่ป่าดั้งเดิมมีความหลากหลายของแฮพลไทป์สูงกว่าต้นประในพื้นที่ป่าปลูกอีกด้วย ผลความสัมพันธ์ระหว่างค่าความหลากหลายของแฮพลไทป์และค่าความหลากหลายของลำดับเบส พบว่าในทุกกลุ่มประชากรมีรูปแบบความสัมพันธ์โดยมีค่าความหลากหลายของแฮพลไทป์

สูงกว่าค่าความหลากหลายของลำดับเบส ซึ่งความสัมพันธ์ดังกล่าวจะเกิดในประชากรที่เคยมีการขยายขนาดประชากรในช่วงเวลาไม่นาน โดยเกิดจากการที่ประชากรมีการกลายพันธุ์เพื่อการปรับตัวให้อยู่รอด และมีการสะสมรูปแบบการกลายพันธุ์ที่เหมาะสมอย่างรวดเร็ว (Watterson, 1984) ความสัมพันธ์ในรูปแบบดังกล่าวเคยมีรายงานจากการศึกษาในต้นประของจังหวัดนครศรีธรรมราชโดยวิเคราะห์จากลำดับนิวคลีโอไทด์จากยีน *ribulose-bisphosphate carboxylase* (จุฑามาศ และคณะ, 2563) และการศึกษาในต้นนาบุตรของจังหวัดนครศรีธรรมราชโดยวิเคราะห์จากลำดับนิวคลีโอไทด์จากยีน *beta subunit of RNA polymerase* (จุฑามาศ และคณะ, 2562) ผลการทดสอบการเบี่ยงเบนไปจากสมดุลของประชากร (neutrality test) พบว่าค่า Tajima's *D* และ Fu's *F_s* มีค่าติดลบซึ่งบ่งบอกว่าประชากรต้นประมีการคัดเลือกการกลายพันธุ์ที่ไม่เหมาะสมทิ้งไป (purifying selection) ทำให้ประชากรที่อยู่รอดเป็นประชากรที่เหมาะสมในพื้นที่นั้นซึ่งจะทำให้ประชากรมีความสามารถในการขยายขนาดประชากรได้ดีขึ้น (Yang, 2006) อีกทั้งค่า Fu's *F_s* เป็นค่าพารามิเตอร์ที่เหมาะสมกับการใช้ทดสอบการขยายขนาดประชากรที่ทดสอบโดยเครื่องหมายพันธุกรรมที่มีการถ่ายทอดทางแม่ (maternal inheritance) (Ramirez-Soriano *et al.*, 2008) ซึ่งพบว่ามีค่าติดลบจึงแสดงว่าประชากรต้นประในการศึกษาครั้งนี้ น่าจะเคยมีช่วงเวลาที่มีการขยายขนาดประชากรมาก่อน รูปแบบของการเบี่ยงเบนไปจากสมดุลของประชากรแบบดังกล่าวในจังหวัดนครศรีธรรมราชเคยมีการรายงานในต้นประโดยวิเคราะห์จากลำดับนิวคลีโอไทด์จากยีน *ribulose-bisphosphate carboxylase* (จุฑามาศ และคณะ, 2563) และการศึกษาในต้นนาบุตรโดยวิเคราะห์จากลำดับนิวคลีโอไทด์จากยีน *beta subunit of RNA polymerase* (จุฑามาศ และคณะ, 2562)

2. โครงสร้างทางพันธุศาสตร์ประชากร

จากการวิเคราะห์โครงสร้างพันธุศาสตร์ประชากรพบว่ามี ความแตกต่างทางพันธุกรรมของต้นประในพื้นที่ป่าดั้งเดิม ได้แก่ พื้นที่หน่วยพิทักษ์อุทยานห้วยเลฆและหน่วยพิทักษ์อุทยานน้ำตกหินท่อกับต้นประในพื้นที่ป่าปลูก ได้แก่ บ้านหินท่อกและที่ทำการอุทยานแห่งชาติเขานัน โดยผลการทดสอบ AMOVA และ pairwise *F_{ST}* ซึ่งเป็นการทดสอบตามสมมติฐานอันเนื่องมาจากการมีปัจจัยจากการขัดขวางการถ่ายเทของยีน (gene flow) เป็นผลให้มีความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรเกิดขึ้น ซึ่งสาเหตุของความแตกต่างทางพันธุกรรมดังกล่าวน่าจะเป็นผลมาจากการนำเมล็ดต้นประในพื้นที่ดั้งเดิมมาปลูกในพื้นที่นอกเหนือจากบริเวณป่าดั้งเดิมซึ่งเป็นการแยกกลุ่มของประชากรด้วยการกระทำของมนุษย์ จึงอาจเป็นผลให้มีการถูกคัดเลือกและทำให้มีความแตกต่างทางพันธุกรรมเกิดขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมที่พบว่าต้นประในพื้นที่ป่าปลูกมีความหลากหลายทางพันธุกรรมน้อยกว่าต้นประในพื้นที่ป่าดั้งเดิม การเกิดความแตกต่างทางพันธุกรรมเนื่องมาจากการนำต้นไม้ในดั้งเดิมมาปลูกเชิงการค้า เช่น ต้นแพร์ (*Pyrus sp.*) 16 สายพันธุ์ในประเทศอิตาลี (Bennici *et al.*, 2020) ต้นบุกคางคก (*Amorphophallus paeoniifolius*) ในประเทศจีน (Gao *et al.*, 2017) และต้นพริกไทย (*Capsicum annuum*) ในประเทศเม็กซิโก (Hernández-Verdugo *et al.*, 2001) สำหรับผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการและแผนผังแสดงความสัมพันธ์ระหว่างแฮปโลไทป์ซึ่งเป็นการวิเคราะห์รูปแบบวิวัฒนาการของดีเอ็นเอของต้นประจากยีน *maturaseK* พบว่ามีแนวโน้มในการแบ่งแยกกลุ่มทางประชากรออกเป็นสองกลุ่มซึ่งเป็นหลักฐานว่าประชากรต้นประจากป่าดั้งเดิมที่นำมาปลูกทดแทนเพื่อเป็นป่าปลูกมีแนวโน้มที่จะมีการแบ่งแยก

ทางวิวัฒนาการจากต้นประที่ขึ้นตามธรรมชาติ สอดคล้องกับผลการศึกษาในต้น ice-cream-bean (*Inga edulis*) ที่ขึ้นในป่า Peruvian Amazon ประเทศบราซิลและมีการนำมาปลูกในพื้นที่การเกษตร ซึ่งพบหลักฐานว่าสายพันธุ์ที่นำมาปลูกมีความคล้ายคลึงกับสายพันธุ์ที่ขึ้นในป่าดั้งเดิมและมีแนวโน้มว่าสายพันธุ์ที่นำมาปลูกมีการแยกมาจากสายพันธุ์ในป่าดั้งเดิม (Rollo *et al.*, 2020) เช่นเดียวกัน จากผลการเกิดโครงสร้างพันธุศาสตร์ประชากรที่เกิดขึ้นแสดงว่าต้นประที่เกิดในธรรมชาติมีความแตกต่างทางพันธุกรรมกับต้นประที่มีการปลูกเพื่อเป็นพืชเชิงเศรษฐกิจ ดังนั้นในการจัดการควรแบ่งแยกการจัดการในแต่ละพื้นที่ เช่น มีการขยายพันธุ์ต้นประที่เป็นป่าปลูกเพิ่มเติมหรือมีการตรวจสอบทางพันธุกรรมของต้นประในป่าดั้งเดิมว่ามีพันธุกรรมแบบเดียวกับต้นประที่จะทำเป็นป่าปลูกหรือไม่ หากมีลักษณะทางพันธุกรรมที่ตรงกันจึงจะสามารถนำมาปลูกในพื้นที่ป่าปลูกได้ ทั้งนี้เพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนทางพันธุกรรมของต้นประในป่าดั้งเดิมและต้นประในป่าปลูก

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของต้นประในป่าดั้งเดิมและป่าปลูกในอุทยานแห่งชาติเขานัน จังหวัดนครศรีธรรมราช โดยวิเคราะห์จากลำดับนิวคลีโอไทด์จากยีน *maturaseK* ในคลอโรพลาสต์ดีเอ็นเอขนาด 772 คู่เบส ผลการศึกษาพบว่าประชากรต้นประในป่าดั้งเดิมมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงกว่าต้นประในพื้นที่ป่าปลูก และจากการศึกษาโครงสร้างพันธุศาสตร์ประชากรสามารถแบ่งประชากรได้เป็น 2 กลุ่ม คือประชากรต้นประในป่าดั้งเดิมและประชากรต้นประในป่าปลูก ซึ่งน่าจะเกิดจากการคัดเลือกเพื่อนำต้นประในธรรมชาติมาแยกปลูกเพื่อเป็นพืชเชิงเศรษฐกิจ และพบหลักฐานทางวิวัฒนาการว่าต้นประในป่าปลูกมีการแยกทางวิวัฒนาการมาจากต้นประในป่าดั้งเดิม

ข้อเสนอแนะ

จากผลการศึกษาครั้งนี้มีข้อเสนอแนะว่าควรมีการตรวจสอบเพื่อยืนยันผลอีกครั้งด้วยเครื่องหมายพันธุกรรมจากนิวเคลียส เช่น เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลต์ เพื่อให้ผลที่แม่นยำสำหรับใช้ประกอบการพิจารณาการจัดการต้นประในเขตอุทยานแห่งชาติเขานัน จังหวัดนครศรีธรรมราช

กิตติกรรมประกาศ

ทุนวิจัยในการศึกษานี้ได้รับการสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยภายใต้โครงการทำทนายไทย (ABC) ปีที่ 2 มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช ขอขอบคุณหัวหน้าอุทยานแห่งชาติเขานัน เจ้าหน้าที่อุทยานทุกท่านที่ช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างและการเดินทางในเส้นทางป่าประในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- จุฑามาศ ศุภพันธ์ วีระเกียรติ ทรัพย์มี และพัฒนพร รินทจักร. (2563). ความหลากหลายทางพันธุกรรมของต้นประ (Elateriospermum tapos) ในอำเภอนบพิตำ จังหวัดนครศรีธรรมราช. *วารสารวิจัยราชภัฏพระนคร สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 16(1), 115-126.
- จุฑามาศ ศุภพันธ์ วรางคณา ทรัพย์สิน นันทพร ชันทพร วีระเกียรติ ทรัพย์มี วรวิฑู มีสุข และสุภัตฤทธิรัตน์. (2562). ความหลากหลายทางพันธุกรรมของต้นนาแคบุตร (*Mesua ferrea* L.) ในจังหวัดนครศรีธรรมราช. *การประชุมวิชาการชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สช. ครั้งที่ 9 ทรัพยากรไทย : ชาวบ้านไทยได้ประโยชน์*. นครราชสีมา.
- ปริญญา หม่อมพิบูลย์ วันดี แก้วสุวรรณ อนรรักษ์ ตรีเพชร และธราดล วัฒนนาวิน. (2561). แนวทางการพัฒนาเทคโนโลยีการแปรรูปผลิตภัณฑ์จากเมล็ดประในเชิงพาณิชย์. *วารสารวิชา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช*, 37(พิเศษ), 114-128.
- วิสุทธิ์ ไบไม้ และรังสิมา ตัณฑเลขา. (2550). *เขานัน-ป่าเมฆธรรมชาติกับภาวะโลกร้อน*. กรุงเทพฯ: กรุงเทพฯ จำกัด.
- Bennici, S., Guardo, M., Distefano, G., Casas, G.L., Ferlito, F., Franceschi, P.D., Dondini, L., Gentile, A. and Malfa, S.L. (2020). Deciphering S-RNase allele patterns in cultivated and wild accessions of Italian Pear Germplasm. *Forest*, 11(11), doi: <https://doi.org/10.3390/f11111228>.
- Choonhahirun, A. (2010). Proximate composition and functional properties of Pra (*Elateriospermum tapos* Blume) seed flour. *African Journal of Biotechnology*, 9(36), 5946-5949.
- Excoffier, L. and Lischer, H.E.L. (2010). Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10(3), 564-567, doi: <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x>.
- Fu, F.X. (1997). Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*, 147(2), 915-925, doi: <https://doi.org/10.1093/genetics/147.2.915>.
- Gao, Y., Yin, S., Wu, L., Dai, D., Wang, H., Liu, C. and Tang, L. (2017). Genetic diversity and structure of wild and cultivated *Amorphophallus paeoniifolius* populations in southwestern China as revealed by RAD-seq. *Scientific Reports*, 7(1), doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-14738-6>.
- Hernández-Verdugo, S., Luna-Reyes, R. and Oyama, K. (2001). Genetic structure and differentiation of wild and domesticated populations of *Capsicum annum* (Solanaceae) from Mexico. *Plant Systematics and Evolution*, 226(3), 129-142, doi: <https://doi.org/10.1007/s006060170061>.

- Larkin, M.A., Blackshields, G., Brown, N.P., Chenna, R., McGettigan, P.A., McWilliam, H., Valentin, F., Wallace, I.M., Wilm, A., Lopez, R., Thompson, J.D., Gibson, T.J. and Higgins, D.G. (2007). Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*, 23(21), 2947-2948, doi: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm404>.
- Librado, P. and Rozas, J. (2009). DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11), 1451-1452, doi: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp187>.
- Ma, C., Cheng, Q., Zhang, Q., Zhuang, P. and Zhao, Y. (2010). Genetic variation of *Coilia ectenes* (Clupeiformes: Engraulidae) revealed by the complete cytochrome b sequences of mitochondrial DNA. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 385(1-2), 14-19, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2010.01.015>.
- Nei, M. (1987). *Molecular evolutionary genetics*. New York: Columbia University press.
- Nei, M. and Li, W.H. (1979). Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 76(10), 5269-5273, doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.76.10.5269>.
- Ramirez-Soriano, A., Ramos-Onsins, S.E., Rozas, J., Calafell, F. and Navarro, A. (2008). Statistical power analysis of neutrality tests under demographic expansions, contractions and bottlenecks with recombination. *Genetics*, 179(1), 555-567, doi: <https://doi.org/10.1534/genetics.107.083006>.
- Rollo, A., Ribeiro, M.M., Costa, R.L., Santos, C., Clavo, Z.M., Mandak, B., Kalousova, M., Vebrova, H., Chuqulin, E., Torres, S.G., Aguilar, R.M.V., Hlavsa, T. and Lojka, B. (2020). Genetic structure and pod morphology of *Inga edulis* cultivated vs. wild populations from the Peruvian Amazon. *Forests*, 11(6), doi: <https://doi.org/10.3390/f11060655>.
- Tajima, F. (1989). Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123(3), 585-595, doi: <https://doi.org/10.1093/genetics/123.3.585>.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipinski, A. and Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30(12), 2725-2729, doi: <https://doi.org/10.1093/molbev/mst197>.
- Watterson, G.A. (1984). Allele frequencies after a bottleneck. *Theoretical Population Biology*, 26(3), 387-407, doi: [https://doi.org/10.1016/0040-5809\(84\)90042-X](https://doi.org/10.1016/0040-5809(84)90042-X).
- Yang, Z. (2006). *Computational molecular evolution*. New York: Oxford University press.