ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะพร้าว

(Genetic Relationships of Coconut Varieties)

นภาพร แก้วดวงดี* อนุชิรา แซ่ตั้ง*

*สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา 1061 ถนนอิสรภาพ แขวงหิรัญรูจี เขตธนบุรี กรุงเทพฯ 10600

บทคัดย่อ

มะพร้าว (*Cocos nucifera* L.) อยู่ในวงศ์ Arecaceae เป็นไม้ผลเมืองร้อนที่สามารถแพร่กระจายไปยังสถานที่ต่าง ๆ ทั่วโลกได้ ในประเทศไทยมะพร้าวเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญมาก เพราะมีการใช้ประโยชน์ในทุกส่วนของมะพร้าว มะพร้าวมีหลายสายพันธุ์ลักษะเด่นแตกต่างกันไป ดังนั้นจึงเก็บตัวอย่างมะพร้าวจำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ มะพร้าวพวงร้อย มะพร้าวน้ำหอม มะพร้าวไฟ มะพร้าวกะทิ เพื่อนำมาศึกษาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยมีหมากนวลเป็นกลุ่มนอก โดยสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยวิธี Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) การทดลองใช้ไพรเมอร์ 33 แบบ พบว่าไพรเมอร์ 16 แบบสามารถสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของทุกตัวอย่างได้อย่างชัดเจน โดยเกิดแถบดีเอ็นเอจำนวน 112 ตำแหน่ง และได้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 381 แถบ จากนั้นนำแถบดีเอ็นเอที่ได้มาวิเคราะห์และสร้างเดนโดรแกรมด้วยวิธี UPGMA พบว่าเดนโดรแกรม (dendrogram) สามารถแยกมะพร้าวแต่ละสายพันธุ์ออกจากกันได้ โดยมะพร้าวพวงร้อยกับมะพร้าวน้ำหอมมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกันมากกว่าสายพันธุ์อื่น ๆ มีค่าความเหมือนทางพันธุกรรม (Genetic Similarity: S) เท่ากับ 0.82 เพราะมาจากบรรพบุรุษเดียวกัน และมะพร้าวไฟมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกับมะพร้าวกะทิมีค่า S เท่ากับ 0.79 จากการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะพร้าวนี้ จะช่วยส่งเสริมให้เกิดการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติและแหล่งพันธุกรรมพืชต่อไป

คำสำคัญ: มะพร้าว/ การวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ/ เทคนิค ISSR

Abstract

Coconut (*Cocos nucifera* L.) is a member of the family Arecaceae. It is a tropical fruit that can be found through various locations around the world. It is one of the most economically important plants in Thailand. All parts of the plant can be used for foods or house-hold devices. There are several cultivars grown in Thailand, with some unique characters for each of them. Four cultivars of coconuts including 'Poungroi' coconut, 'Nam Hom' coconut, 'Fai' coconut, and 'Ka-thi' coconut were collected for genetic analysis with 'Mak nuan' (*Veitchia merrillii* (Becc.) H.E) as an outgroup. The genetic relationships analysis of coconut was performed by Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) technique. Out of 33 primers screened 16 successful primers produced clear banding patterns with 381 total bands consisting of 112 positions. The banding patterns were used for dendrogram construction by UPGMA method. The dendrogram clearly distinguishes all studied cultivars. 'Poungroi' coconut is closely related to 'Nam Hom' coconut than others with genetic similarity value (S) of 0.82, where '*Fai*' coconut is closely related to 'Ka-thi' coconut with S of 0.79. The genetic analysis of coconut cultivars is useful for extension of genetic conservation of plant germplasm.

Keywords: *Cocos nucifera* L./ DNA fingerprinting/ Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR)

บทนำ

ปัจจุบันประเทศไทยมีการใช้ทรัพยากรธรรมชาติไปโดยไม่มีขีดจำกัดและรวดเร็วมากดังนั้นจึงทำให้ความหลากหลายทางพันธุกรรมของทรัพยากรเหล่านี้อาจจะสูญหายไป อันเนื่องมาจากความไม่รู้เท่าทันของมนุษย์ในการนำทรัพยากรมาใช้และจากการเติบโตของจำนวนประชากรเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ตลอดจนการบุกรุกทำลายการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมทางธรรมชาติ ทำให้ระบบนิเวศทางธรรมชาติของพืชเกิดการเปลี่ยนแปลงจนทำให้พืชบางชนิดได้สูญพันธุ์ได้ ซึ่งปัจจุบันประเทศไทยกำลังประสบปัญหาเกี่ยวกับผลผลิต เนื่องมาจากพื้นที่ในการผลิตมีจำนวนลดลง จึงต้องมีการจำแนกและการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชไว้ ซึ่งจะเป็นบทบาทที่สำคัญอย่างยิ่งที่จะดำรงทรัพยากรเหล่านี้ให้ยั่งยืนเพื่อให้สามารถดำรงไว้ซึ่งพันธุกรรมพืชและป้องกันไม่ให้สูญพันธุ์ไปจากทรัพยากรธรรมชาติ ดังเช่น มะพร้าว เป็นต้น

มะพร้าวเป็นพืชในตระกูลปาล์มเช่นเดียวกับปาล์มน้ำมัน หมาก ตาล และลาน มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Cocos nucifera* L. ชื่อวงศ์ Arecaceae มะพร้าวเป็นไม้ผลเมืองร้อนและเป็นพันธุ์ไม้เก่าแก่ของโลกชนิดหนึ่งที่สามารถแพร่กระจายไปยังสถานที่ต่างๆ ทั่วโลกได้

เป็นพืชพรรณที่พบเห็นได้ทั่วไปตามพื้นที่ชายทะเลทุกแห่ง สันนิษฐานว่ามีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปอเมริกา คือ เกาะในมหาสมุทรแปซิฟิก มหาสมทุรอินเดีย และทวีปเอเชีย (นฤมล มานิพพาน, 2548) ในประเทศไทยมะพร้าวเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญยิ่ง เพราะทุกๆ ส่วนของมะพร้าว ตั้งแต่ใบ ราก ยอด รวมถึงผลสด หรือผลแก่ นับเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งในประเทศและต่างประเทศนำมาซึ่งรายได้ที่สำคัญทางเศรษฐกิจให้กับประเทศอีกทางหนึ่ง นอกจากนี้มะพร้าวยังเป็นพืชผสมข้ามพันธุ์โดยแต่ละต้นที่ได้จึงไม่เป็นพันธุ์แท้ เพราะอาศัยหลักทางการผสมพันธุ์ที่เป็นไปโดยธรรมชาติ จึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาด้านต่างๆ ทั้งในแง่สัณฐานวิทยาและเทคนิคทางอณูชีววิทยา ดังนั้น ISSR เป็นเทคนิคทางอณูชีวโมเลกุลที่มีประสิทธิภาพสูง สามารถนำมาใช้ในการตรวจสอบความแตกต่างระดับสายพันธุ์ (Wolfe *et al.*, 1998) เพื่อช่วยในการจำแนกสายพันธุ์ได้อย่างถูกต้อง และแสดงระดับความสัมพันธ์หรือความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของพืชแต่ละชนิดได้ เพื่อใช้ในการสนับสนุนการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์พืชได้ (สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, 2552)

การวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสำคัญของการจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมะพร้าว โดยใช้เทคนิควิธี ISSR ซึ่งเป็นวิธีที่ศึกษาทั้งจีโนม (Genome) ที่คล้ายคลึงกับวิธี RAPD แต่มีความจำเพาะมากกว่า สามารถทำซ้ำได้ง่ายกว่า เกิดลักษณะความแตกต่างได้สูง (High Polymorphism) ใช้เวลาในการศึกษาน้อย เป็นวิธีที่ไม่ยุ่งยากซับซ้อน ในการวิเคราะห์ระดับโมเลกุลเพื่อสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ที่สามารถนำไปใช้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม สายพันธุ์และลายพิมพ์ดีเอ็นเอของสายพันธุ์มะพร้าวเพื่อเป็นการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชในท้องถิ่นแหล่งปลูก

วิธีการวิจัย

1. การเก็บ และเตรียมตัวอย่างพืช

สำรวจและเก็บตัวอย่างมะพร้าว 4 สายพันธุ์ ได้แก่ มะพร้าวพวงร้อย มะพร้าวน้ำหอม มะพร้าวไฟ มะพร้าวกะทิ และเก็บหมากนวล (*Veitchia merrillii* (Becc.) H.E. Moore) ซึ่งเป็นพืชในวงศ์เดียวกัน เพื่อเป็นพืชเปรียบเทียบ (Out Group) โดยเลือกเก็บพืชที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่มีความสมบูรณ์ เพื่อใช้ในการระบุชนิดและสายพันธุ์ด้วยลักษณะสัณฐานวิทยา แล้วระบุชนิดและสายพันธุ์ตามเอกสารอ้างอิงต่างๆ (วาสนา วงษ์ใหญ่, 2525; ณรงค์ โฉลเฉลา, 2530; พานิชย์ ยศปัญญา, 2544; Child, 1974) เมื่อระบุชนิดของพืชได้แล้ว เก็บใบอ่อนจากแต่ละตัวอย่างไว้ที่ -20°C เพื่อนำมาสกัดดีเอ็นเอในห้องปฏิบัติการ

2. การสกัดดีเอ็นเอการตรวจสอบคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอจากมะพร้าว

สกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างมะพร้าว 4 ตัวอย่าง โดยใช้วิธีของ Porebski, *et al.* (1997) ตามขั้น ตอนดังต่อไปนี้ อุ่น Extraction buffer ที่อุณหภูมิ 65°C เวลา 3 นาที ตัดใบอ่อนพืชขนาด 0.5 cm^2 เติม Extraction buffer 600 µl

และ PVP 0.03 g บดตัวอย่างให้ละเอียดแล้วเท ตัวอย่างที่บดลงหลอด กำจัด RNA ด้วย Rnase A 20 µl นำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 65°C เวลา 30 นาที และกลับหลอดทุก ๆ 5 นาที กำจัดเศษเซลล์และโปรตีนด้วย Chloform : Isoamyl alcohol (24:1) ปริมาตร 1 เท่า ผสมให้เข้ากันและปั่นเหวี่ยง 6,000 rpm 5 นาที จากนั้นดูดสารละลายส่วนบนใส่หลอดใหม่ เติม 2-propanol ปริมาตร 1 เท่าของปริมาตรตัวอย่าง นำมาแช่เย็นที่อุณหภูมิ –20°C เป็นเวลา 30 นาทีเพื่อตกตะกอนดีเอ็นเอแล้วปั่นเหวี่ยง 10,000 rpm 10 นาที เทสารละลายทิ้งแล้วล้างตะกอนดีเอ็นเอที่ได้ด้วย 70 % Ethanol 500 µl แล้วปั่นเหวี่ยง 10,000 rpm นาน 2 นาที เท Ethanol ทิ้ง เปิดฝาและตั้งทิ้งไว้ให้ Ethanol ระเหย 10 นาที เติม 10 mM Tris-HCl 80 µl แล้วนำไปตรวจสอบคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอด้วย 0.8% agarose ด้วยวิธี Gel Electrophoresis แล้วเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน (λ Hind III DNA Ladder, Invitrogen)

3. การสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยวิธี Inter Simple Sequence Repeat (ISSR)

สร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ด้วยวิธีการ Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) โดยมีขั้นตอนดังนี้ ผสมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 3.9 µl/10 µl, 2X GoTaq 5.0 µl/10 µl, 25 mM $MgCl_2$ 0.4 µl/10 µl และ 50 µM Primer 0.2 µl/10 µl และนำไปใส่เครื่องปั่นเหวี่ยงเพื่อเป็นการผสมสารให้เข้ากัน จากนั้นแบ่งใส่หลอดทดลองหลอดละ 9.5 µl เติมดีเอ็นเอปริมาตร 0.5 µl นำไปเข้าเครื่องพีซีอาร์ จำนวนปฏิกิริยาพีซีอาร์ทั้งหมด 35 รอบ (ตารางที่ 1) แล้วตรวจสอบผลผลิตพีซีอาร์ด้วย 1.2% agarose โดยวิธี Gel Electrophoresis

ตารางที่ 1 ขั้นตอนการกำหนดสภาวะในการทำปฏิกิริยาด้วยเทคนิคพีซีอาร์

ขั้นตอนที่	อุณหภูมิ (°C)	เวลา	จำนวนรอบ
1) Predenaturation	94	3 min	1
2) Denaturing	94	30 sec	35
Annealing	50	30 sec	
Extension	72	2 min	
3) Final extension	72	7 min	1
4) Stop/Store	4	∞	-

4. การวิเคราะห์

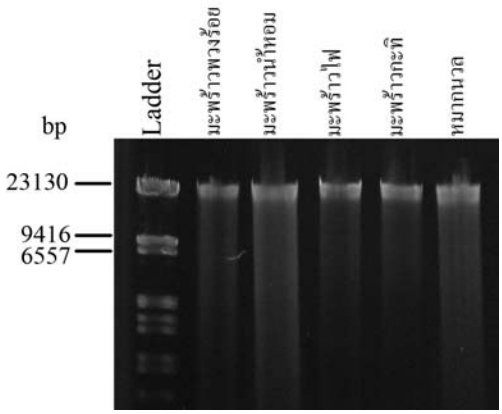
นำข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยการให้ตัวเลขในการเกิดแถบดีเอ็นเอของแต่ละสายพันธุ์ โดยสายพันธุ์ที่ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งหนึ่งๆ จะให้ตัวเลขเป็น 1 ส่วนสายพันธุ์ที่ไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งนั้นให้ตัวเลขเป็น 0 ข้อมูลการปรากฏและไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอนี้จะถูกนำมาเปรียบเทียบความเหมือนทางพันธุกรรม (Similarity) ทั้ง 5 ตัวอย่าง เปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นทั้งหมดโดย

การสร้าง Dendrogram ตามขั้นตอนของ UPGMA ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ (NTSYS) pc version 2.10p (Rohlf, 1998) ซึ่งจะคำนวณความสัมพันธ์ระหว่างแต่ละตัวอย่างและสร้างเป็น Phylogenetic Tree

ผลการวิจัย

1. ผลการสกัดดีเอ็นเอ

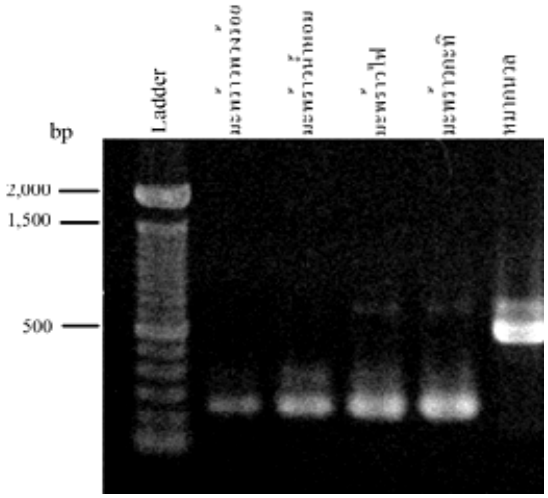
จากการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างมะพร้าวที่นำมาศึกษาทั้ง 5 ชนิด แล้วตรวจสอบคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้ด้วยวิธี Gel Electrophoresis ใน 0.8% agarose แล้วนำไปเปรียบเทียบกับแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน พบว่าดีเอ็นเอที่ได้มีคุณภาพและปริมาณที่ดี (ภาพที่ 1)



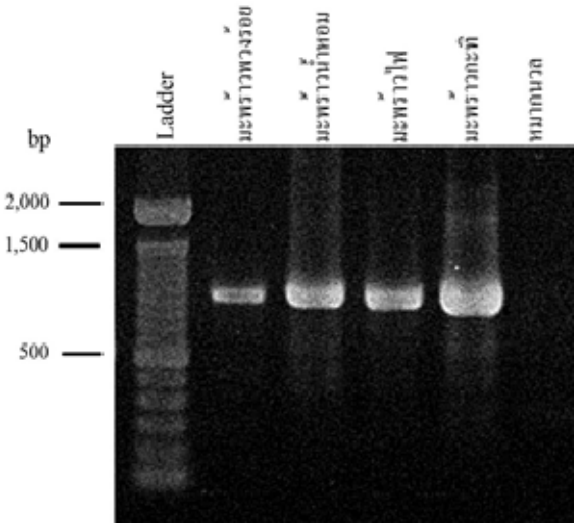
ภาพที่ 1 คุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอตรวจสอบด้วย 0.8% Agarose Gel Electrophoresis

2. ลายพิมพ์ดีเอ็นเอและการวิเคราะห์ทางพันธุกรรม

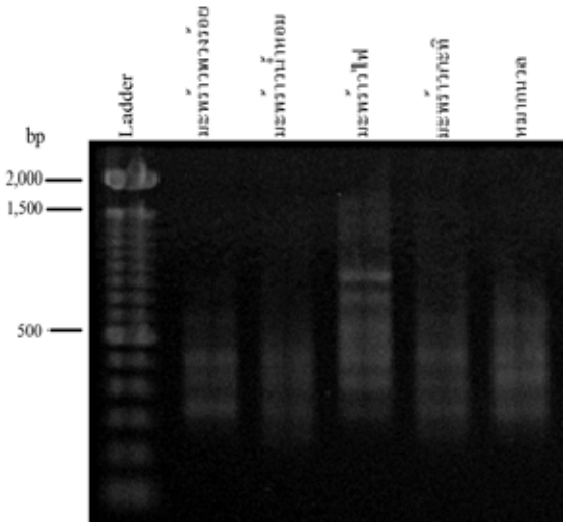
จากการทดสอบไพรเมอร์ที่เหมาะสมต่อการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยวิธี ISSR โดยใช้ไพรเมอร์ทั้งหมด 33 แบบ พบว่าไพร-เมอร์ 16 แบบที่มีความเหมาะสมต่อการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ได้แก่ ไพรเมอร์ที่มีลำดับเบส $(CT)_8TG$, $(CT)_8AC$, $(CA)_6AC$, $(CA)_6AG$, $(GA)_6GG$, $(GAG)_3GC$, $(GTG)_3GC$, $(AG)_8G$, $(AG)_7AA$, $(AG)_8C$, $(CA)_9T$, $(CA)_9G$, $(AG)_7AAA$, $(AG)_7AAC$, $(AG)_7AAG$ และ $(AG)_7AAT$ ดังตารางที่ 2 สามารถสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมะพร้าวได้ และเกิดแถบดีเอ็นเอจำนวน 112 ตำแหน่งเทียบเท่ากับ 112 ลักษณะ และได้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 381 แถบ ดังภาพที่ 2-17 เมื่อนำข้อมูลแถบดีเอ็นเอที่ได้ไปสร้าง Phylogenetic Tree ด้วยโปรแกรม NTSYS pc version 2.10p เพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะพร้าวได้ผลดังภาพที่ 18 และได้ค่าความเหมือนทางพันธุกรรม (Similarity Index) ดังตารางที่ 3



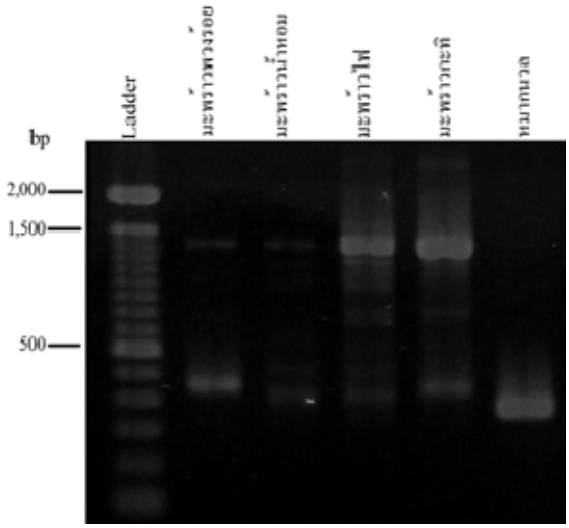
ภาพที่ 2 P1



ภาพที่ 3 P2



ภาพที่ 4 P3



ภาพที่ 5 P4

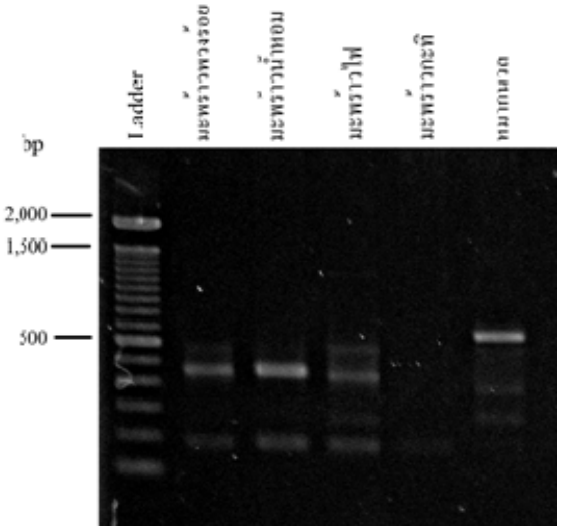
ภาพที่ 2-5 แสดงแถบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นจากไพรเมอร์ที่ P1-P4

P1 ไพรเมอร์ที่มีลำดับเบส CTCTCT CTCTCTCTCTTG

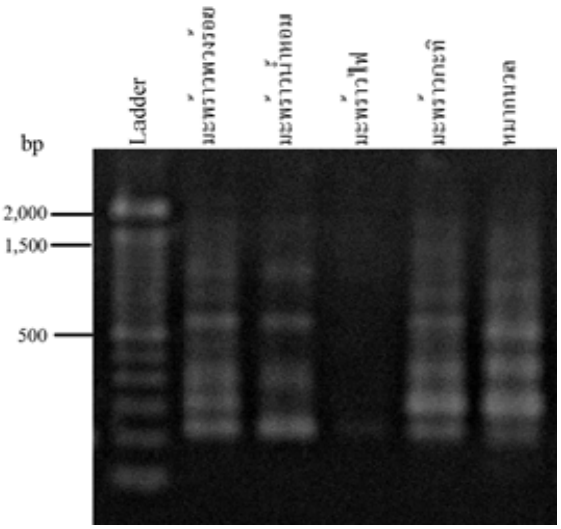
P2 ไพรเมอร์ที่มีลำดับเบส CTCTCTCTCTCTC TCTAC

P3 ไพรเมอร์ที่มีลำดับเบส CACACACACACAAC

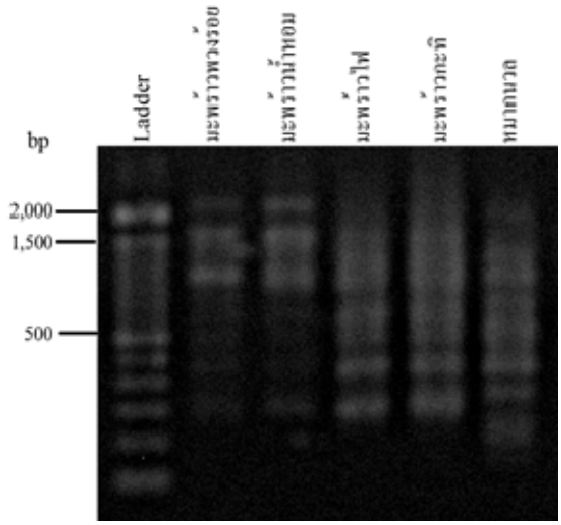
P4 ไพรเมอร์ที่มีลำดับเบส CACACACACACAAG



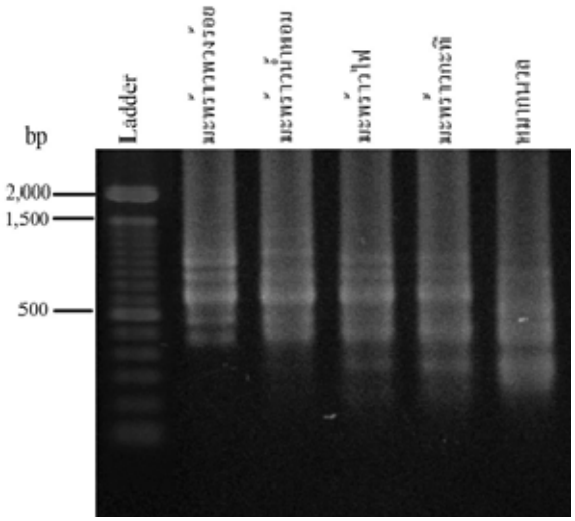
ภาพที่ 6 P5



ภาพที่ 7 P6



ภาพที่ 8 P7



ภาพที่ 9 P8

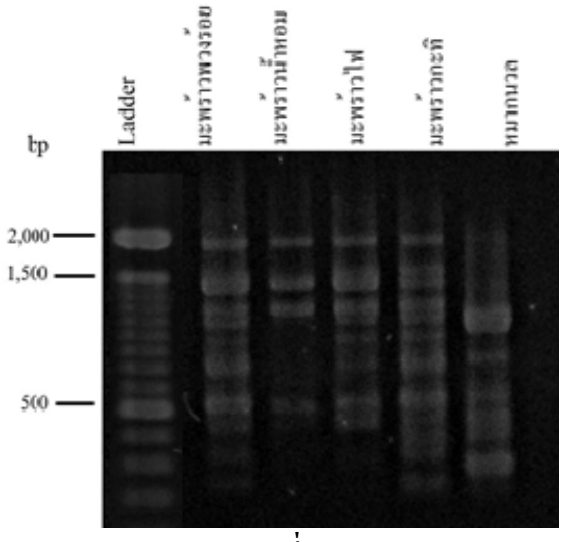
ภาพที่ 6-9 แสดงแถบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นจากไพรเมอร์ที่ P5-P8

P5 ไพรเมอร์ที่มีลำดับเบส GAGAGAGAGAGAGG

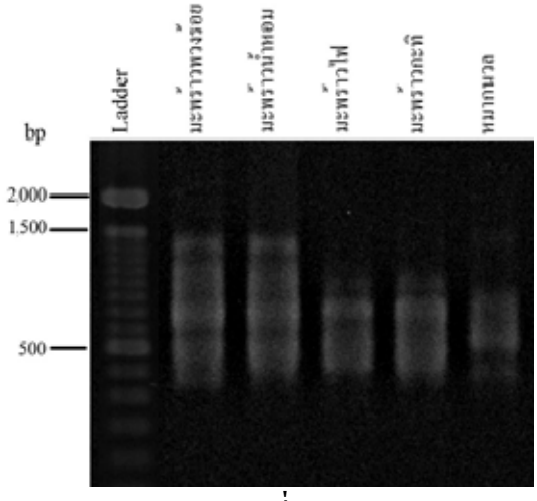
P6 ไพรเมอร์ที่มีลำดับเบส GAGGAGGAGGC

P7 ไพรเมอร์ที่มีลำดับเบส GTGGTGGTGGC

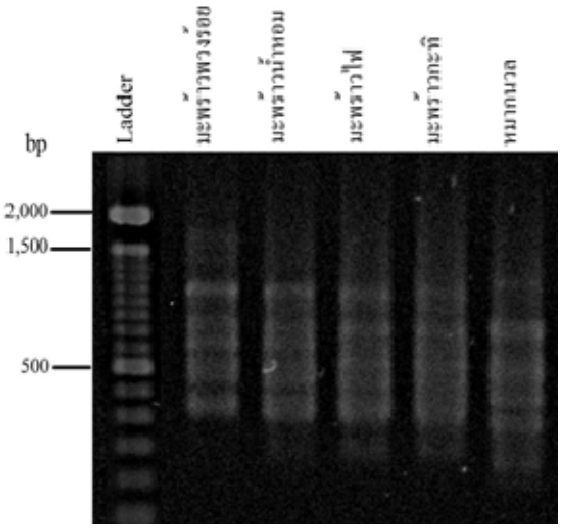
P8 ไพรเมอร์ที่มีลำดับเบส AGAGAGAGAGAGAGAGG



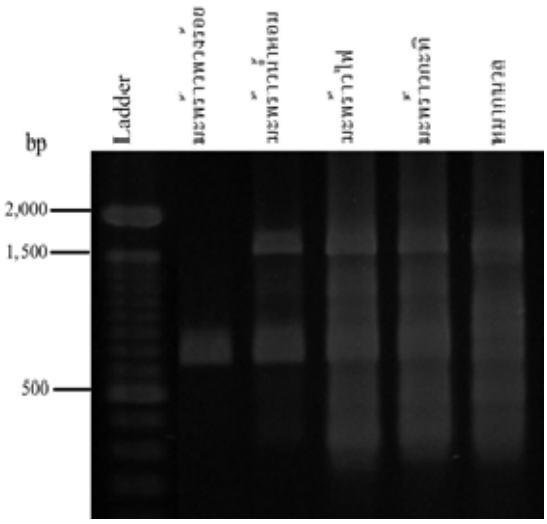
ภาพที่ 10 P9



ภาพที่ 11 P10



ภาพที่ 12 P11



ภาพที่ 13 P12

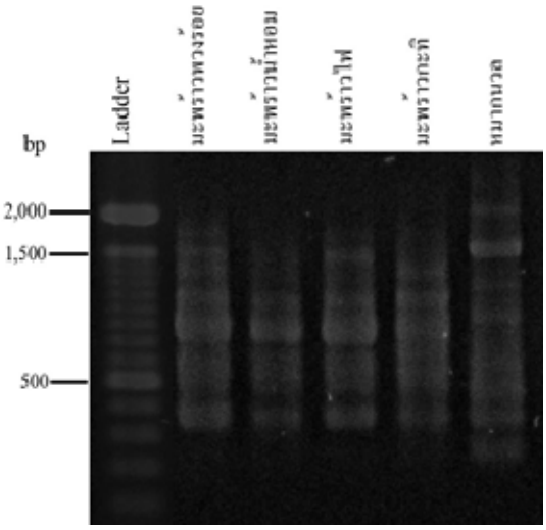
ภาพที่ 9-13 แสดงแถบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นจากไพรเมอร์ที่ P9-P12

P9 ไพรเมอร์ที่มีลำดับเบส AGAGAGAGAGAGAGAA

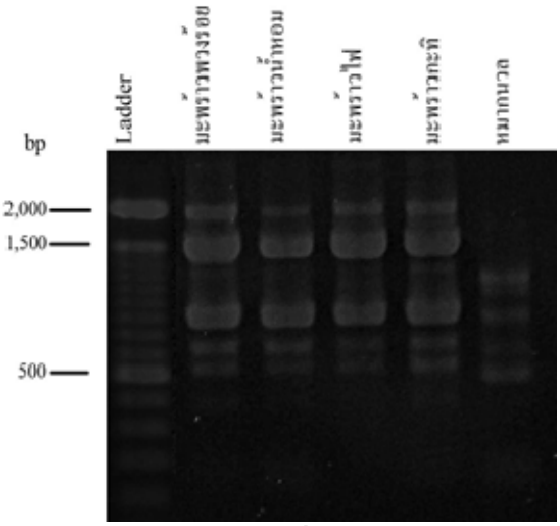
P10 ไพรเมอร์ที่มีลำดับเบส AGAGAGAGAGAGAGAGC

P11 ไพรเมอร์ที่มีลำดับเบส CACACACACACACACACAT

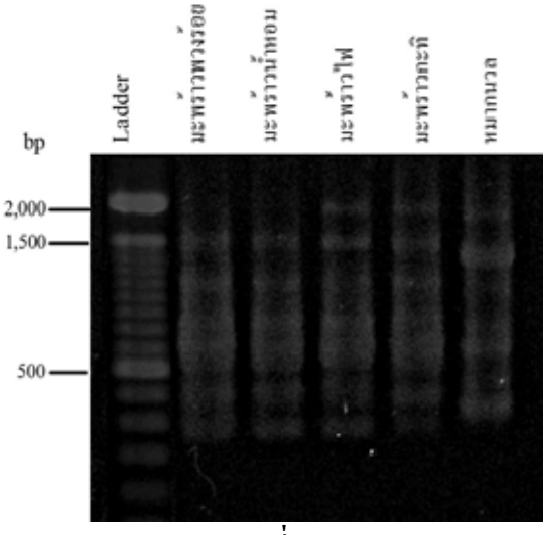
P12 ไพรเมอร์ที่มีลำดับเบส CACACAC ACACACACACAG



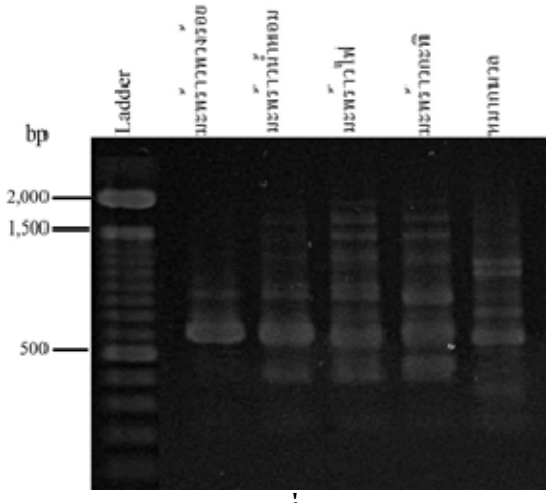
ภาพที่ 14 P13



ภาพที่ 15 P14



ภาพที่ 16 P15



ภาพที่ 17 P16

ภาพที่ 14-17 แสดงแถบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นจากไพรเมอร์ที่ P13-P16

P13 ไพรเมอร์ที่มีลำดับเบส AGAGAGAGAGAGAGAAA

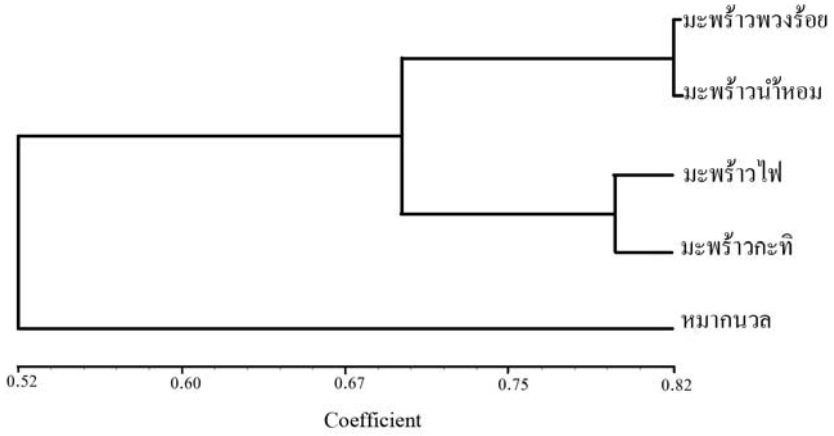
P14 ไพรเมอร์ที่มีลำดับเบส AGAGAGAGAGAGAGAAC

P15 ไพรเมอร์ที่มีลำดับเบส AGAGAGAGAGAGAGAAG

P16 ไพรเมอร์ที่มีลำดับเบส AGAGAGAGAGAGAGAAT

ตารางที่ 2 ลำดับเบสของไพรเมอร์จำนวน 16 ชนิด ที่ใช้สร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยวิธี ISSR

ไพรเมอร์	ลำดับนิวคลีโอไทด์
P1	CTCTCTCTCTCTCTCTTG
P2	CTCTCTCTCTCTCTCTAC
P3	CACACACACACAAC
P4	CACACACACACAAG
P5	GAGAGAGAGAGAGG
P6	GAGGAGGAGGC
P7	GTGGTGGTGGC
P8	AGAGAGAGAGAGAGAGG
P9	AGAGAGAGAGAGAGAA
P10	AGAGAGAGAGAGAGAGC
P11	CACACACACACACACACAT
P12	CACACACACACACACACAG
P13	AGAGAGAGAGAGAGAAA



ภาพที่ 18 เดนโดรแกรม (dendrogram) แสดงความสัมพันธ์ของตัวอย่างพืชจากข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยวิธี ISSR กับไพรเมอร์ 16 แบบ วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NTSYS pc version 2.10p

ตารางที่ 3 ค่าความเหมือนทางพันธุกรรม (Similarity Index) จากลายพิมพ์ดีเอ็นด้วยวิธี ISSR วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NTSYS pc version 2.10p

ตัวอย่าง	มะพร้าวพวงร้อย	มะพร้าวน้ำหอม	มะพร้าวไฟ	มะพร้าวกะทิ	หมากนวล
มะพร้าวพวงร้อย	1.00				
มะพร้าวน้ำหอม	0.82	1.00			
มะพร้าวไฟ	0.63	0.72	1.00		
มะพร้าวกะทิ	0.70	0.73	0.79	1.00	
หมากนวล	0.52	0.48	0.56	0.52	1.00

อภิปรายผล

การวิเคราะห์ทางพันธุกรรมของมะพร้าว 4 สายพันธุ์ ได้แก่ มะพร้าวพวงร้อย มะพร้าวน้ำหอม มะพร้าวไฟ มะพร้าวกะทิ ด้วยข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากวิธี ISSR ผลจากไพรเมอร์ 16 แบบ สามารถแยกมะพร้าว 4 สายพันธุ์ออกจากกันได้อย่างชัดเจน โดยมีค่าความเหมือนทางพันธุกรรม (S) เป็น 0.63-0.82 ซึ่งมีค่าค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับเกณฑ์ ซึ่ง Weier, *et al.* (1982) ตั้งไว้ว่า พืชชนิดเดียวกันควรมีค่า S เท่ากับ 0.85–1.00 อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาลักษณะทางสัณฐานวิทยาแล้วยังไม่สามารถแยกมะพร้าว 4 สายพันธุ์นี้เป็นคนละชนิดได้ แต่จากค่า S ที่ได้ทำให้ทราบว่ามะพร้าวแต่ละสายพันธุ์มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง จึงมีแนวโน้มในการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนไปได้ดี นอกจากนี้ยังพบว่ามะพร้าวพวงร้อยกับมะพร้าวน้ำหอมมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันมากกว่าสายพันธุ์อื่น โดยมีค่า S ถึง 0.82 มีค่าใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Pradeep, *et al.* (2011) พบว่าค่าความเหมือนทางพันธุกรรมของมะพร้าวมีค่าอยู่ระหว่าง 0.76 และสามารถจัดกลุ่มมะพร้าวได้เป็น 3 กลุ่มเช่นเดียวกัน และยังสอดคล้องกับการรายงานของ Manimekalai & Nagarajan (2010) พบว่ามะพร้าวแต่ละสายพันธุ์มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงในภูมิภาคแปซิฟิกใต้ ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่คล้ายคลึงกันของ วาสนา วงษ์ใหญ่ (2525) ณรงค์ โฉลเฉลา (2530) นฤมล มานิพพาน (2548)

การศึกษาครั้งนี้นี้ทำให้ทราบว่า การสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยวิธี ISSR เหมาะสมในการวิเคราะห์พันธุกรรมของสายพันธุ์มะพร้าว ซึ่งวิธีนี้สามารถใช้ได้ดีกับการวิเคราะห์พันธุกรรมในพืชกลุ่มอื่นๆ ด้วย เช่น ตาลโตนด (รัฐพร พรหมแก้ว, 2549) กล้วยไม้ (รุ่งลาวัลย์ สุดมูล, 2551) พริก (อรุณรัตน์

ฉวีราช, 2552) ถั่วเหลืองฝักสด (พรพันธ์ ภู่พร้อมพันธุ์ และ พิจิตรา วงศ์ชูเวช, 2553)

สรุปผล

จากการทดลองสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยวิธี ISSR ของมะพร้าว เป็นเทคนิคหนึ่งที่มีความเหมาะสมในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของมะพร้าวในระดับหนึ่ง โดยไม่จำเป็นต้องทราบข้อมูลลำดับเบสของจีโนมของมะพร้าว ซึ่งต้องอาศัยต้นทุนสูงในการทำวิจัยและจากการวิจัยครั้งนี้สามารถแยกจำแนกสายพันธุ์ออกจากกันได้ พบว่า มะพร้าวพวงร้อยกับมะพร้าวน้ำหอมมีค่าความเหมือนทางพันธุกรรม (Genetic Similarity Index : S) อยู่ที่ 0.82 ส่วนมะพร้าวไฟกับมะพร้าวกะทิมีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมอยู่ที่ 0.79 ในการศึกษาครั้งนี้จำเป็นต้องมีกลุ่มนอก คือ หมากนวลเพื่อเปรียบเทียบและยืนยันว่าสายพันธุ์มะพร้าวมีสายวิวัฒนาการมาด้วยกัน โดยที่มีกลุ่มนอกแยกออกไป ซึ่งจะเป็นประโยชน์เมื่อมีการนำสายพันธุ์จากแหล่งพันธุกรรมทั่วโลกมาคัดเลือกเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ในประเทศไทยเพื่อให้ได้พันธุ์ที่มีผลผลิตสูงและคุณภาพดีต่อไปในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ในการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จ-เจ้าพระยาและขอขอบคุณห้องปฏิบัติการชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่อำนวยความสะดวกและช่วยให้การวิจัยในครั้งนี้ประสบผลสำเร็จ

เอกสารอ้างอิง

ณรงค์ โฉมเฉลา. (2530). **เชื้อพันธุ์มะพร้าว**. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ห้างหุ้นส่วนจำกัดฟันนีพับบลิชชิ่ง.

นฤมล มานิพพาน. (2548). **การเพาะปลูกและขยายพันธุ์มะพร้าว**. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์ส่งเสริมอาชีพธุรกิจ เพชรกะรัต.

พรพันธ์ ภู่พร้อมพันธุ์ และ พิจิตรา วงศ์ชูเวช. (2553). **รายงานผลการวิจัยเรื่อง การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลืองฝักสดไทยโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล**. จังหวัดเชียงใหม่: คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

พาณิชย์ ยศปัญญา. (2544). **มะพร้าวพืชสารพัดประโยชน์**. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มติชน.

รุ่งลาวัลย์ สุดมูล. (2551). **การศึกษาความสัมพันธ์ในระดับจีนและตรวจหาชิ้นดีเอ็นเอที่เกี่ยวข้องกับลักษณะเฉพาะของกล้วยไม้สกุลหวาย**. วิทยานิพนธ์ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาชีวเคมี บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

รัฐพร พรหมแก้ว. (2549). **การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในกลุ่มประชากรตาลโตนด (Borassus flabellifer Linn.) โดยใช้เทคนิค**

RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) และ ISSR (Inter Simple Sequence Repeat). วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

วาสนา วงษ์ใหญ่. (2525). **พฤกษศาสตร์พืชเศรษฐกิจ มะพร้าว.** นครปฐม: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน.

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. (2552). **เครื่องหมายดีเอ็นเอ : จากพื้นฐานสู่การประยุกต์.** กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อรุณรัตน์ ฉวีราช. (2552). **อนุกรมวิธานระดับโมเลกุลของพืช**. จังหวัดขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

Child, R. (1974). **Coconuts**. 2nd ed. London: Longmans Green & Co.

Manimekalai, R., & Nagarajan, P. (2010). SSR and ISSR Markers based Population Genetic Structure of Coconut (*Cocos nucifera* L.) Germplasm Accessions. **Indian Journal of Plant Genetic Resources**, 23: 87-92.

Porebski, S., Bailey, L.G., & Baum, B.R. (1997). Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. **Plant Molecular Biology Reporter**, 15: 8-15.

Pradeep Kumar, S., Manimekalai, R., & Ranjitha Kumari, B.D. (2011). Microsatellite Marker based Characterization of South Pacific Coconut (Cocos nucifera L.) Accessions. **International Journal of Plant Breeding and Genetics**, 5: 34-43.

Rohlf, F.J. (1998). **NTSYpc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System**. New York: Applied Biostatistics Inc.

Weier, T.E., Stocking, C.R., Barbour, M.G., & Rost, T.L. (1982). **Botany: An Introducation to Plant Biology**, 6th edition. New York: John Wiley and Sans.

Wolfe, A.D., Xiang, Q.Y., & Kephart, S.R. (1998). Assessing hybridization in natural populations of enstemon (Scrophulariaceae) using hypervariable inter simple sequence repeat (ISSR) bands. **Molecular Ecology**, 7: 1107-1125.