

ชื่อวิทยานิพนธ์	การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในกลุ่มประชากรตาลโตนด (<i>Borassus flabellifer</i> Linn.) โดยใช้เทคนิค RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) และ ISSR (Inter Simple Sequence Repeat)
ผู้เขียน	นางสาวรัฐพร พรหมแก้ว
สาขาวิชา	พืชศาสตร์
ปีการศึกษา	2549

บทคัดย่อ

การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในกลุ่มประชากรตาลโตนด (*Borassus flabellifer* Linn.) ที่เก็บรวบรวมจาก อำเภอสีหิงพระ อำเภอสิงหนคร อำเภอรโนด จังหวัดสงขลา และอำเภอบ้านลาด จังหวัดเพชรบุรี จำนวน 116 ต้น โดยพิจารณาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ร่วมกับ การใช้เครื่องหมาย RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) และ ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ทำการบันทึก เช่น สีผล ขนาดและรูปร่างผล ลักษณะเมล็ด และลักษณะช่อดอก พบว่าสีผลเป็นลักษณะภายนอกที่แยกความแตกต่างของประชากรตาลโตนดเพศเมียได้ชัดเจนที่สุด โดยสามารถจำแนกได้เป็น 3 กลุ่มคือ กลุ่มผลสีดำ กลุ่มผลสีน้ำตาล และกลุ่มผลสีเหลือง สำหรับการศึกษโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล ทำการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างโดยใช้สารละลาย CTAB (Hexadecyl Trimethyl-Ammonium Bromide) จากการศึกษาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบสุ่มด้วยเทคนิค RAPD สามารถคัดเลือกไพรเมอร์ชนิด 10 เบส จำนวน 200 ชนิด ที่ให้แถบดีเอ็นเอชัดเจนและมีความแตกต่างกันในตัวอย่างที่ทดสอบได้ 8 ชนิด และเมื่อนำไพรเมอร์ดังกล่าวมาทดสอบกับตัวอย่างดีเอ็นเอของตาลโตนดจำนวน 116 ตัวอย่าง พบว่าได้แถบดีเอ็นเอทั้งสิ้น 75 แถบ เป็นแถบที่ให้ความแตกต่างจำนวน 33 แถบ หรือ 44 เปอร์เซ็นต์ เฉลี่ย 4 แถบต่อไพรเมอร์ ส่วนการศึกษาด้วยเทคนิค ISSR นั้น ทำการทดสอบกับไพรเมอร์ 6 ชนิด ที่เป็นชุดซ้ำของ AGG, AG, CT และ AC พบว่าได้แถบดีเอ็นเอทั้งสิ้น 97 แถบ เป็นแถบที่ให้ความแตกต่างจำนวน 67 แถบ หรือ 69.07 เปอร์เซ็นต์ เฉลี่ย 11.51 แถบต่อไพรเมอร์ การวิเคราะห์ความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมโดยใช้วิธี UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Average) จากโปรแกรม SPSS for Windows Version 11.0 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลจากเดนโดรแกรม เมื่อใช้แถบดีเอ็นเอจากเทคนิค RAPD สามารถแบ่งกลุ่มตาลโตนดที่ทำการทดสอบได้เป็น 11 กลุ่ม โดยมีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมระหว่าง 0.6806 - 0.9688 ส่วนข้อมูลจากเทคนิค ISSR สามารถแบ่งกลุ่มตาลโตนดได้เป็น 15 กลุ่ม โดยมีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุ

กรรมระหว่าง 0.5401 - 0.9286 แสดงให้เห็นว่าตาลโตนดที่ทำการศึกษาจากจังหวัดสงขลาและเพชรบุรีมีฐานพันธุกรรมค่อนข้างแคบ โดยแต่ละกลุ่มประกอบด้วยตาลโตนดที่มีสีผลต่างๆ ปะปนกัน ซึ่งไม่ขึ้นกับแหล่งที่มาของตัวอย่าง และไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะต่อกลุ่มประชากรกลุ่มใดกลุ่มหนึ่ง หรือให้อेกลักษณะอย่างชัดเจน

Thesis Title	Study on Genetic Relationship in Palmyra Palm (<i>Borassus flabellifer</i> Linn.) Populations by RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) and ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) Techniques
Author	Miss Rattaporn Promkaew
Major Program	Plant Science
Academic Year	2006

ABSTRACT

The genetic relationship in 116 palmyra palm (*Borassus flabellifer* Linn.) collected from different areas in Songkhla (Amphoe Sathingpra, Singhanakorn and Ranode) and Petchaburi (Amphoe Ban-Lad) provinces was investigated using RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) and ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) techniques. Morphological characters such as fruit color, seeds and inflorescence were also recorded. From observation, the fruit color seemed to be the only visible characteristic that could be used to distinguish a female palmyra palm. Based on this characteristic, female plants can be separated into 3 groups: black, brown, and yellow skinned. For molecular analysis, young leaves of 116 accessions were harvested and DNA was extracted using CTAB (Hexadecyl Trimethyl - Ammonium Bromide) buffer. Two hundred 10-base oligonucleotide primers for RAPD were first screened and 8 primers that generated clear polymorphic fragments were chosen for genetic analysis in 116 accessions of palmyra palm. A total of 75 amplified fragments were obtained from 8 primers with an average of 4 polymorphic fragments per primer. Six ISSR primers of repeat units AGG, AG, CT and AC produced total 97 amplified fragments, of which 67 (69.07%) were polymorphic with an average of 11 polymorphic fragments per primer. Dendrograms showing genetic similarities among palmyra palm accessions were constructed based on polymorphic bands of RAPD and ISSR using

UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Average). Cluster analysis was performed by the SPSS for Windows Version 11.0 program. Based on RAPD and ISSR analysis, 116 accessions could be separated into 11 and 15 groups with similarity coefficients ranging from 0.6806 - 0.9688 and 0.5401 - 0.9286, respectively. The results indicated a narrow genetic diversity of palmyra palm in Songkhla and Petchaburi provinces. The clusterings were not correlated to geographical location of collected samples and there was no specific fragment common to any group of samples.

กิตติกรรมประกาศ

กราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.จรัสศรี นวลศรี ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำในการทำวิจัยและการแก้ไขปัญหาต่าง ๆ ตลอดระยะเวลาการศึกษา รวมถึงตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ และขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.สมปอง เตชะโต รองศาสตราจารย์ ดร.ธีระ เอกสมทราเมษฐ์ กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.สายัณห์ สดุดี ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และรองศาสตราจารย์ ดร.สมศักดิ์ อภิสัทธาวิช กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้ถูกต้องสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย และภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยในการทำวิทยานิพนธ์ และให้ความอนุเคราะห์ห้องปฏิบัติการ ตลอดจนวัสดุอุปกรณ์ต่าง ๆ

ขอขอบคุณ คุณสุวิมล กลศึก คุณสายชล จันมาก บุคลากรภาควิชาพืชศาสตร์ เพื่อนๆ พี่ๆ และน้องๆ ทุกคน ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัย รวมถึงผู้ที่ให้ความอนุเคราะห์เอื้อเฟื้อตัวอย่างตาลโตนดในการทำวิจัยทุกท่าน

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่ให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจให้ผู้เขียนมาโดยตลอดจนสำเร็จการศึกษา

รัฐพร พรหมแก้ว