รายงานสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการระดับชาติ
ด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเครือข่ายภาคใต้

ครั้งที่ 3 ประจำปี 2561

# รวมบทความ
# วิจัย
# PROCEEDINGS

*"ขับเคลื่อนวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีสู่นวัตกรรม สร้างมูลค่า เพื่อความมั่นคง มั่งคั่ง ยั่งยืน"*

11 - 12 กุมภาพันธ์ 2561

โดย

สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา(สกอ.)
มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา
มหาวิทยาลัยราชภัฏภูเก็ต
มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
มหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี
มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
และวิทยาลัยพยาบาลบรมราชชนนี นครศรีธรรมราช

# ศึกษาการประยุกต์ใช้เทคนิคเครื่องหมายDNAในการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรปาล์มน้ำมันปลูกในพื้นที่อำเภอหนองจิก จังหวัดปัตตานี

# Microsatellite Marker Techniques Analyzed the Oil Palm Population Genetic in Nongchik, Pattani Province

**รอกีเยาะ เจ๊ะหลง[1] ปรียา แก้วอ่อน[1] และ จารุ นิคม[2*]**

**Rokeeyoh Cehlong[1] Priya Kaew-on[1] and Jaru Nikom[2*]**

## บทคัดย่อ

การศึกษาวิจัยในครั้งนี้จะทำการคำนวณความแปรผันทางพันธุกรรมของสวนปาล์มน้ำมันเกษตรกรด้วยการใช้เทคนิค Microsatellite marker โดยทำการทดสอบกับดีเอ็นเอตัวอย่างใบปาล์มอ่อน 10 ตัวอย่างจากกลุ่มประชากรปาล์มน้ำมันจากอำเภอหนองจิก จังหวัดปัตตานี กับ primer จำนวน 10 primer (Zhoun et al, 2015) ทำการตรวจสอบผลด้วย Agarose gel electrophoresis แล้วนำมาวิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรม MEGA Program โดยใช้สร้างแผนผังความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของวิธี UPGMA ผลคือมีการแบ่งกลุ่มประชากรเป็น 2 กลุ่มต่อมาใช้โปรแกรม Arlquin Program ในการคำนวน Genetic diversity โดยใช้ค่า Nucleotide diversity และค่า Haplotype diversity แสดงผลว่า ประชากรมีขนาดใหญ่คงที่และมีการเกิดวิวัฒนาการ เกิดการแปรผันของพันธุกรรมและการวิเคราะห์ความแตกต่างของประชากรใช้ค่า Population pairwise (Fst's) เท่ากับ 0.66853 และค่า Fst P-values เท่ากับ .00 แสดงว่ามีความแตกต่างกันของพันธุกรรมระดับประชากรทั้ง 2 กลุ่มจากค่าดังกล่าวอาจบ่งชี้ได้ว่าอาจจะมีความแปรผันของพันธุกรรมในระดับประชากรอย่างน้อย 2 กลุ่มในกลุ่มประชากรปาล์มน้ำมันในพื้นที่อำเภอหนองจิก จังหวัดปัตตานี จึงจะเห็นได้ว่าการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอนี้ สามารถที่จะใช้ในการทดสอบความแปรผันทางพันธุกรรมในระดับประชากรได้

**คำสำคัญ:** ความหลากหลายทางพันธุกรรม; ปาล์มน้ำมัน; เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์

[1]นักศึกษาหลักสูตรชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา

[2] อาจารย์ที่ปรึกษา หลักสูตรชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา

[*]CorrespondingAuthor

## Abstract

The objective in this study that observes oil palm genetic variation, plants in Nongchik Pattani with Microsatellite marker technique. 10 samples of DNA extraction from young leaf were amplified with 10 primers (Zhoun et al, 2015) and were observed by agarose gel electrophoresis method. The microsatellite fragments were analyzed with MEGA program and calculated genetic diversity by Arlquin Program. The UPGMA dendrogram in these results were separated genetic relationship clades in two major groups (Nongchik1 and Nongchik2). Nucleotide diversity and Haplotype diversity values from Nongchik1 and Nongchik2 indicate that genetic variation in Nongchik2 is Neutral Selection but Nongchik1 is not seem. In Population pairwise (Fst's) between Nongchik1 and Nongchik2 is 0.66853 and Fst P-values p-value that show significant. From these results indicate that have different genetic variation between population in Nongchik1 and Nongchik2. This study might show that Microsatellite marker technique able to analyze genetic variation diversity in oil palm plant population in Nongchik, Pattani.

**Keyword:** Genetic diversity; Oil palm; Microsatellite Markers

## บทนำ

การพัฒนาเชิงพื้นที่ (Area based approach) เป็นทิศทางที่สำคัญที่รัฐบาลใช้ปฏิรูปประเทศไทยไปสู่การพัฒนาที่ยั่งยืน ทางรัฐบาลปัจจุบันได้เล็งเห็นจังหวัดชายแดนภาคใต้ว่าเป็นพื้นที่ที่มีศักยภาพอย่างสูงต่อการลงทุนในการพัฒนาเศรษฐกิจของประเทศไทย เพราะมีความอุดมสมบูรณ์เอื้อยต่อปัจจัยในการผลิตในด้านต่างๆ ทั้งทรัพยากรทางธรรมชาติ ทรัพยากรมนุษย์ ลักษณะภูมิประเทศ และสถาบันการศึกษา หน่วยงานการวิจัย เกิดโมเดล "สามเหลี่ยมการพัฒนาอย่างยั่งยืน" การเป็นเมืองต้นแบบอุตสาหกรรมเกษตร เป็นหนึ่งในวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาเมืองต้นแบบการพัฒนาอย่างยั่งยืน พืชตระกูลปาล์มน้ำมัน เป็นพืชที่รัฐบาลได้สนับสนุนให้เกษตรกรนำมาเพาะปลูกเพื่อสร้างรายได้ให้กับตัวเอง สภาพพื้นที่ที่เหมาะสมกับการปลูกพืชปาล์มน้ำมันคือ ภาคใต้ของประเทศไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งสามจังหวัดชายแดนใต้ของประเทศไทย ซึ่งเกษตรกรได้หันมาปลูกพืชตระกูลปาล์มน้ำมันกันมากขึ้น

พืชปาล์มน้ำมัน (*Elaeis guineensis Jacq*) เป็นสายพันธุ์พืชเศรษฐกิจใบเลี้ยงเดียวที่มีอายุยืนยาว เติบโตในเขตร้อนชื้น ซึ่งเป็นพืชที่ผลิตน้ำมันอันดับหนึ่งของโลก ผลิตภัณฑ์น้ำมันจากปาล์มน้ำมันจึงมีความต้องการจำนวนมาก และเป็นแหล่งของสารอาหารในการผลิตวิตามินเอในปริมาณสูง จัดจำแนกอยู่วงศ์ Arecaceae (Tranbarger, et al, 2012) ปาล์มน้ำมันเป็นพืชที่ถูกนำมาผลิตน้ำมันมากที่สุดใน 10 ปีที่ผ่านมา เนื่องจากปาล์มน้ำมันสามารถเพาะปลูกในพื้นที่ร้อนชื้นได้เท่านั้น จึงมีแค่ 42 ประเทศเท่านั้นที่ผลิตได้ ประเทศมาเลเซีย อินโดนีเซีย โคลัมเบีย และไทย อยู่ในกลุ่มประเทศที่สามารถเพาะปลูกปาล์มน้ำมันได้ดี ปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการผลิตน้ำมันของปาล์มน้ำมันนอกจากสภาวะพื้นที่เพาะปลูก ภูมิอากาศ และสารอาหาร คือสายพันธุ์ที่ใช้เพาะปลูก ต้องเป็นสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตน้ำมันสูง สายพันธุ์ที่นำมาเพาะปลูกปัจจุบันเป็นสายพันธุ์ลูกผสม ซึ่งจะแสดงความหลากหลายทางพันธุกรรมมากขึ้นเมื่อนำเมล็ดมาปลูกในรุ่นต่อไป จะก่อให้เกิดปัญหาต่อเกษตรกรในด้านการให้ผลผลิตน้ำมันต่ำกว่าเดิม

เครื่องหมายทางชีวโมเลกุล (Molecular marker) เป็นเครื่องหมายทางพันธุกรรม (Genetic marker) ที่ช่วยในการจัดจำแนกที่มีความถูกต้อง และมีความแม่นยำสูง จะใช้สารชีวโมเลกุลในสิ่งมีชีวิตนั้นๆ เป็นตัวบ่งชี้ ส่วนเครื่องหมายทางสัณฐานวิทยา (morphological markers) เป็นเครื่องหมายที่ใช้ในงานปรับปรุงพรรณพืชมานาน แต่ลักษณะดังกล่าวมักจะแปรผันไปตามสภาวะแวดล้อมที่แปรเปลี่ยนไป ทำให้เกิดความผิดพลาดในการจัดจำแนกความแตกต่างของสายพันธุ์ นอกจากนี้การเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยายังไม่สามารถแยกความแตกต่างของสายพันธุ์พืชบางชนิดที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมได้ ปัจจุบันเครื่องหมายโมเลกุลที่นิยมนำมาใช้ในการจัด

จำแนกพืช คือ microsatellite หรือ simple sequence repeat (SSR) ซึ่งมีข้อดีคือ มีการถ่ายทอดพันธุกรรมแบบร่วม มีการกระจายอยู่ทั่วทั้ง genome และมีอัตราการเกิด polymorphic ค่อนข้างสูง พืชตระกูลปาล์มน้ำมันได้มีการใช้เทคนิค SSR ในงานที่เกี่ยวข้องกับเครื่องหมายทางพันธุกรรมอย่างแพร่หลาย (Zhou et al, 2015; Xiao et al, 2014; Tranbarger et al, 2012) การสำรวจเครื่องหมายพันธุกรรมเป็นเครื่องมือหนึ่งในการสำรวจการกระจายสายพันธุ์ของประชากรปาล์มน้ำมันที่เกษตรกรในพื้นที่สามจังหวัดชายแดนใต้เพาะปลูก สามารถบ่งชี้ความแปรปรวนของสายพันธุ์ที่จะเกิดขึ้น ความเสี่ยงต่อการกลายพันธุ์ และการสูญพันธุ์ของประชากรปาล์มน้ำมันเพื่อเป็นฐานข้อมูลสำคัญในการปรับปรุงสายพันธุ์ ปกป้องสายพันธุ์ และเปรียบเทียบความเหมือน หรือความแตกต่างกับสายพันธุ์อื่นๆ เพื่อสามารถคัดเลือกสายพันธุ์ที่ผลิตน้ำมันมีปริมาณ และคุณภาพที่ดีที่สุด ในการแนะนำให้เกษตรกรปลูก ในต่างประเทศการนำเทคโนโลยีการใช้เครื่องหมาย DNA มาทำการวิเคราะห์ความหลากหลายของพืชปาล์มน้ำมันจะสามารถแยกความแตกต่างของพืชไม่ว่าจะเป็นในระดับประชากร (Population) ระดับชนิด (Species) หรือ ระดับสายพันธุ์ (Breeding Lines) ได้อย่างถูกต้อง และแม่นยำ ปัจจัยด้านสภาพแวดล้อมภายนอกต่างๆ ไม่มีผลต่อการวิเคราะห์ จะช่วยประหยัดเวลา พื้นที่เพาะปลูก แรงงาน ค่าใช้จ่าย ตลอดจนลดทอนความยุ่งยากต่างๆ ของกระบวนการลง ช่วยเพิ่มรายได้แก่เกษตรกรได้ ในการศึกษาครั้งนี้ เราจะทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของตัวอย่างประชากรปาล์มที่ปลูกอยู่ในพื้นสามจังหวัดชายแดนภาคใต้ ด้วยเทคนิคการประยุกต์ใช้เครื่องหมายทางชีวโมเลกุล เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานทางสายพันธุ์ที่สำคัญเพื่อการวางแผนการปรับปรุงสายพันธุ์ให้มีการผลิตน้ำมันดีขึ้น จากการศึกษาวิจัยนำมาซึ่งประโยชน์ในการศึกษาลักษณะของความหลากหลายทางพันธุกรรมในพื้นที่ อำเภอหนองจิก จังหวัดปัตตานี และเป็นการส่งเสริมการเพาะปลูกขยายพันธุ์ปาล์มน้ำมันซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจต่อไป ดังนั้นการพัฒนาสายพันธุ์ปาล์มน้ำมันและชนิดต้นกล้าที่ให้ผลผลิตได้มากและทนต่อสภาพแวดล้อมเพื่อให้มีน้ำมันเพียงพอต่อความต้องการของประชากรและเป็นผลผลิตที่มีคุณภาพ

## วัตถุประสงค์ของการวิจัย

การใช้เทคนิคเครื่องหมาย DNA ในการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมปาล์มน้ำมันของตัวอย่างประชากรปาล์มใน อำเภอหนองจิก จังหวัดปัตตานี

## วิธีดำเนินการวิจัย

เก็บตัวอย่างใบปาล์มอ่อนในพื้นที่อำเภอหนองจิก จังหวัดปัตตานี โดยระยะห่างของต้นปาล์มแต่ละต้นห่างกัน 50 เมตรจากนั้นทำความสะอาดใบปาล์มอ่อนด้วยแอลกอฮอล์ 70 % จากนั้นตัดใบปาล์มอ่อนเป็นชิ้นเล็ก ๆ นำไปเก็บไว้ในตู้แช่ อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จากนั้นสกัดดีเอ็นเอของใบปาล์มน้ำมันด้วยชุดสกัด Plant Genomic DNA Extraction Mini Kit จากนั้นนำ Genomic DNA มาทำปฏิกิริยา PCR ด้วย 10 primer (CAG6, CCT5, TGT5, CAC5, TCTT5, TCT6, GCC7, ATG5, Al4 และ CTC5) (Zhoun et al, 2015) ดังแสดงในตารางที่ 2 หลังจากนั้นทำการตรวจสอบด้วยเทคนิค agarose gel electropholysis แล้ววิเคราะห์ผลจากการทำ Gel Electrophoresis ด้วยโปรแกรม MEGA7 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) และวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยใช้โปรแกรม Arlequin

| Condition | Temperature (°C) | Time |
|---|---|---|
| Initial activation | 94 | 5 min |
| Denaturation | 94 | 30 seconds |
| Annealing | 58.4 | 30 seconds |
| Extension | 72 | 1 min |
| Final extention | 72 | 5 min |

**ตารางที่ 1** แสดงสภาวะการทำปฏิกิริยา PCR

| No. | Primer sequences | Tm (C) | Size (bp) |
|---|---|---|---|
| 1 | F: CGCCCTCTGCTAAGTGCTAT<br>R: TGAAAGAAAACCTTATGTGTCCA | 58.4 | 180 |
| 2 | F: GACGGCAGCTCCCTTCTT<br>R: TGTGTCGATTGGTCCTCTTG | 58.4 | 238 |
| 3 | F: ATTTGCAGTTGCAGGGTTCT<br>R: GCAGCAGCAACAGATTCAAA | 58.4 | 202 |
| 4 | F: ACTCCAAAACCAAACCACCA<br>R: CATAAAATCCGGATGCTGCT | 58.4 | 199 |
| 5 | F: GGCTGGCTTCCCTAATTTTT<br>R: CCTGCCCTGTCCATTCTTTA | 58.4 | 236 |
| 6 | F: TCCCTCTCACGCTCTCTGTT<br>R: CTGGTGTGCCAACCTAAACC | 58.4 | 202 |
| 7 | F: CCGGCTCAAGATCCAAAG<br>R: ACTAGCGAGCCACTGAGAGC | 58.4 | 213 |
| 8 | F: TAGAAGATGGCTTCCGACGA<br>R: TTCCTCTCCTCCTCCTCCTC | 58.4 | 233 |
| 9 | F: ACCTGTTTGCATGGAACCTT<br>R: TTTCAACCGCCAAAGTCTTC | 58.4 | 202 |
| 10 | F: TTCGGTTTGATTGCCGTTAT<br>R: ATCTGTCCTCCCCGGTAACT | 58.4 | 205 |

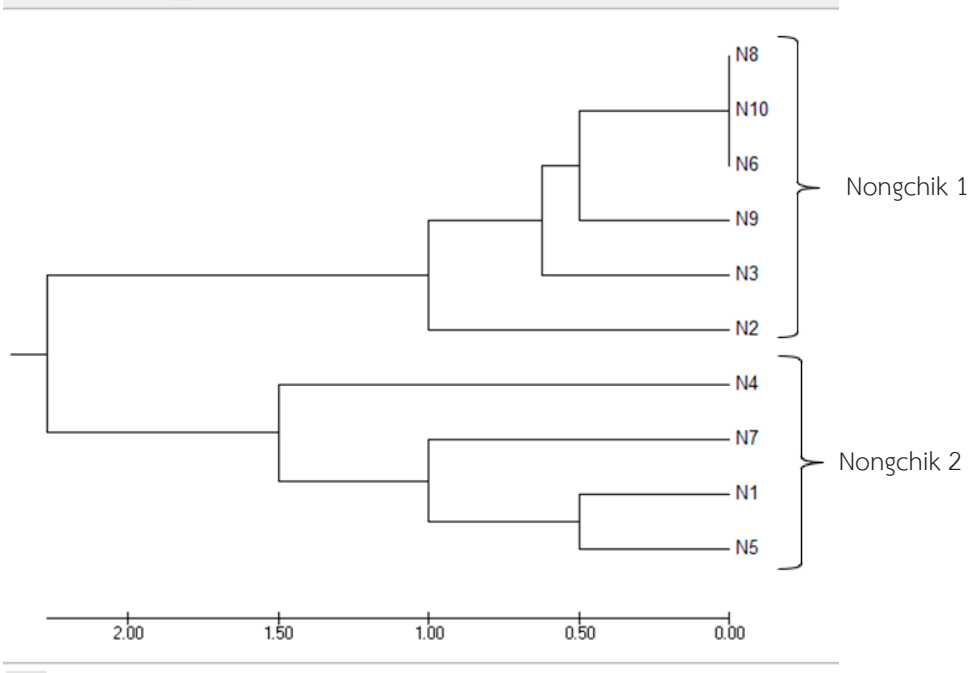
**ตารางที่ 2** แสดงลำดับเบสไพรเมอร์ 10 คู่

## ผลการวิจัย

จากการเก็บตัวอย่างใบปาล์มอ่อนในพื้นที่อำเภอหนองจิก จังหวัดปัตตานีแล้วนำมาสกัดดีเอ็นเอของใบปาล์มน้ำมันด้วยชุดสกัด จากนั้นนำ Genomic DNA มาทำปฏิกิริยาพีซีอาร์กับชุด primer และหลังจากนั้นทำการตรวจสอบด้วย Gel Electropholysis แล้วนำมาวิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรมทางคอมพิวเตอร์ จากรูปภาพที่1 แสดงการสร้างแผนภูมิต้นไม้ในการวิเคราะห์สร้างจากโปรแกรม MEGA ใช้วิธีการสร้างแผนภูมิจาก UPGMA Tree และใช้วิธีการสร้าง Model แบบ Non differences ให้เห็นว่ากลุ่มประชากรปาล์มน้ำมันที่นำมาศึกษาจะแบ่งกลุ่มออกเป็นสองกลุ่มคือกลุ่มที่1 (Nongchik1) จะมี N2, N3, N6, N8, N9, N10 และกลุ่มที่2 (Nongchik2) มี N1, N4, N5, N7 ซึ่งแบ่งกลุ่มตามความใกล้ชิดในแต่ละกิ่งของแผนภูมิต้นไม้

จากตารางที่ 3 ดังกล่าวจะเห็นได้ว่าค่า Haplotype diversity ในกลุ่มหนองจิก 1 มีค่าเท่ากับ0.7333+/-0.1552 และค่า Nucleotide diversity มีค่าเท่ากับ 0.08666+/-0.080921 ในกลุ่มหนองจิก 2 มีค่า Haplotype diversity เท่ากับ1.0000+/-0.1768และค่า Nucleotide diversity มีค่าเท่ากับ 0.266667+/-0.212374 จะเห็นได้ว่าค่า Haplotype diversity และค่า Nucleotide diversity ในกลุ่มหนองจิก 1 มีค่าที่ต่ำกว่ากลุ่มหนองจิก 2 ดังนั้นความแปรผันทางพันธุกรรมภายในประชากรในกลุ่มนั้นน่าจะเป็นแบบ Non Neutral Selection มีความหลากหลายทางพันธุกรรมที่คล้ายคลึงกัน และกลุ่มหนองจิก 2 มีค่าที่สูงกว่าหนองจิก 1 ดังนั้นความแปรผันทางพันธุกรรมภายในประชากรในกลุ่มนั้นน่าจะเป็นแบบเบี่ยงเบนเข้าสู่ Neutral Selection มีความหลากหลายทางพันธุกรรมที่แตกต่างกัน

จากตารางที่ 4 แสดงค่า Population pairwise (Fst's) เท่ากับ 0.66853 และค่า Fst P-values เท่ากับ .00 ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความแตกต่าง จากผลการวิเคราะห์สามารถบ่งชี้ได้ว่ากลุ่มประชากร Nongchik1และ Nongchik2 มีความแปรผันทางพันธุกรรมระหว่างประชากรแตกต่างกันในระดับค่าความเชื่อมั่นที่ 95%




รูปที่ 1 ภาพแผนภูมิต้นไม้ Dedrogram จากโปรแกรมMEGA

| Haplotype diversity | | Nucleotide diversity | |
|---|---|---|---|
| Nongchik 1 | Nongchik 2 | Nongchik 1 | Nongchik 2 |
| 0.7333+/-0.1552 | 1.0000+/-0.1768 | 0.08666+/-0.080921 | 0.266667+/-0.212374 |

**ตารางที่ 3** แสดงความแปรผันของพันธุกรรภายในกลุ่มตัวอย่างประชากรปาล์มน้ำมัน อ.หนองจิก จ.ปัตตานี ด้วยโปรแกรม Arlequin

| Population | Fst's | Fst's p-value (0.05) |
|---|---|---|
| Nongchik 1, Nongchik2 | 0.66853 | 0.00000 |

**ตารางที่ 4** แสดงความแปรผันของพันธุกรรมระหว่างกลุ่มตัวอย่างประชากรปาล์มน้ำมัน อ.หนองจิก จ.ปัตตานี ด้วยโปรแกรม Arlequin

## สรุปผลการวิจัย

การศึกษาตัวอย่างใบอ่อนของปาล์มน้ำมัน มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอในการวิเคราะห์ความหลากหลายของประชากรปาล์มน้ำมันในพื้นที่ อำเภอหนองจิก จังหวัดปัตตานี การศึกษาการใช้เครื่องหมายดีเอ็นจากตัวอย่างใบปาล์มอ่อนในประชากรปาล์มน้ำมันในพื้นที่อำเภอหนองจิก จังหวัดปัตตานี ด้วยการทำข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ด้วย primer 10 แบบสามารถแยกกลุ่มตัวอย่างได้ 2 กลุ่มอย่างชัดเจน พบว่าค่า Haplotype diversity และค่า Nucleotide diversity บ่งชี้ว่ารูปแบบความแปรผันภายในประชากรทั้ง 2 กลุ่มนั้นมีความแตกต่างกัน ส่วนค่า Population pairwise (Fst's) ค่า p-value อยู่ที่ .00 บ่งชี้ว่าความแปรผันทางพันธุกรรมมีความแตกต่างระหว่างประชากร 2 กลุ่ม จากผลการทดลองสามารถกล่าวสรุปได้ว่าผลการวิจัยนี้แสดงให้เห็นการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอสามารถทดสอบความแปรผันของประชากร ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและความแตกต่างของกลุ่มตัวอย่างประชากรได้

## การอภิปรายผล

การวิเคราะห์ความแปรผันทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตตั้งแต่ระดับสายพันธุ์จนถึงประชากรมีรายงานเกี่ยวกับการประยุกต์ใช้ของเทคนิค Microsatellite หรือ SSR ในสิ่งมีชีวิตหลากหลายชนิด เช่นในปลากะพงขาวมีรายงานการนำเทคนิคเครื่องหมาย Microsatellite นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางพันธุกรรมในประชากรที่เลี้ยงในแหล่งเพาะพันธุ์เปรียบเทียบจากแหล่งธรรมชาติ (Sodsuk et al, 2012) ในกลุ่มของสายพันธุ์พืช มีรายงานการตรวจสอบโดยการประยุกต์ใช้เครื่องหมาย Microsatellite ในกลุ่มสายพันธุ์พืชที่มีคุณสมบัติในการผลิตน้ำมันเหมือนพืชตระกูลปาล์มน้ำมัน เศรษฐา และมัลลิกา (Siripin and Jindasing, 2012) ได้นำเครื่องหมาย SSR มาทำการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของพันธุ์ถั่วเหลืองฝักสด ในปีเดียวกันมีรายงานการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะพร้าวด้วยเทคนิค ISSR (Inter-Simple Sequence Repeat) (นภาพร และอนุชิรา, 2012) ส่วนของพืชตระกูลปาล์มน้ำมันมีการนำเทคนิค SSR มาประยุกต์ใช้ในงานวิจัยมากมาย Billotte และคณะ (2005) มีการสร้างแผนที่ genome ของลูกผสมระหว่างปาล์มน้ำมันสายพันธุ์ Tenera และ Dura ด้วยเทคนิค AFLP และ SSR ในงานวิจัยของชญานีย์ และสมปอง (Sangwan และ Te-chato, 2015) ทำการศึกษาการประเมินความแปรปรวนทางพันธุกรรมของต้นกล้าปาล์มน้ำมันในหลอดทดลองที่พัฒนาจากโซมาติกเอ็มบริโอด้วยการทรีตด้วยเอธิลมีเทนซัลโฟเนต (EMS) ด้วยเครื่องหมาย SSR จากการศึกษาพบว่า EMS ที่ความเข้มข้นสูงส่งผลต่อการออกดอกของต้นกล้าและทำให้รูปแบบของดีเอ็นเปลี่ยนแปลงไปเมื่อตรวจสอบด้วยเทคนิค SSR ปีค.ศ. 2014 มีการศึกษาเกี่ยวกับการพัฒนา และการประยุกต์ใช้เครื่องหมาย SSR บ่งบอกลักษณะจำเพาะทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันที่สามารถเจริญ

ในพื้นที่ภูมิอากาศหนาวเย็นจากผลการศึกษาพบว่าเทคนิค เครื่องหมาย SSR นั้นสามารถบ่งบอกลักษณะทางพันธุกรรมที่แตกต่างของปาล์มน้ำมันที่สามารถเจริญในพื้นที่ภูมิอากาศหนาวเย็นเมื่อเปรียบเทียบกับปาล์มน้ำมันที่เจริญในเขตร้อนชื้น (Xiao et al, 2014) ต่อมาได้มีการศึกษาความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ภายในสายพันธุ์ของพืชตระกูลปาล์มด้วยเทคนิคเครื่องหมาย SSR ซึ่งสามารถบ่งชี้ลักษณะทางพันธุกรรมที่แตกต่างระหว่างสายพันธุ์ *E. guineensis* และสายพันธุ์ *P.dactylifera* (Xiao et al, 2015) มีรายงานการวิจัยที่ใช้เครื่องหมาย SSR ในการวิเคราะห์การจัดจำแนกทางพันธุกรรม และลักษณะโครงสร้างพันธุกรรมของประชากรปาล์มน้ำมัน *(Elaeis guineensis)* เปรียบเทียบระหว่างพื้นที่ในประเทศจีน และมาเลเซีย (Zhoun et al, 2015) จากงานที่กล่าวมาจะแสดงให้เห็นได้ว่าการใช้เครื่องหมาย Microsatellite สามรถนำมาใช้ในการวิเคราะห์ความแปรผันทางพันธุกรรม ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและความแตกต่างภายในกลุ่มประชากรของปาล์มน้ำมันได้ ควรที่จะมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อที่จะสามารถนำไปใช้เป็นเครื่องหมายแสดงความแตกต่างของสายพันธุ์ปาล์มน้ำมันในประเทศไทยได้

## ข้อเสนอแนะ

ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมด้วยการเพิ่มพื้นที่ของศึกษา และจำนวนตัวอย่างให้มาขึ้นเพื่อบ่งชี้ถึงความแปรผันของประชากรปาล์มน้ำมันได้อย่างใกล้เคียงที่สุด

## บรรณานุกรม

นภาพร แก้วดวงดี และ อนุชิรา แซ่ตั้ง. (2555). ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสายพันธุ์มะพร้าว. ก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์ ปีที่ 12 (1)

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. (2552). เครื่องหมายดีเอ็นเอ: จากพื้นฐานสู่การประยุกต์. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุรีพร เกตุงาม. (2546). เครื่องหมายโมเลกุลในงานปรับปรุงพันธุ์พืช. วารสารวิชาการ ม.อบ. มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. 5:37-58.

Billotte N, Marseillac N, Risterucci AM, Adon B, Brottier P, Baurens FC, Singh R, Herra A, Asmady H, Billot C, Amblard P, Durand-Gasselin T, Courtois B, Asmono DS, Cheah C, Rohde W, Ritter E and Charrier A (2005). Microsatellite-based high density linkage map in oil palm (Elaeis guineensis Jacq.). Theor Appl Genet 110: 754–765

Brown SM, Szewc-McFadden AK and Kresovish S (1996). Development and application of simple sequence repeat (SSR) loci for plant genome analysis. In. Methods of plant genome analysis: Their merits and pitfalls. Jauhar, P.P. (ed.). CRS Press, Boca Raton, FL. U.S.A.

Chua CK, Ong KP and Zainuriah A (2007). Kulim's experiences with establishing Mucuna bracteata under oil palm: In: Mucuna Bracteata, Goh, K.J. and S.B. Chiu (eds.). Agricultural crop trust (ACT), Petaling Jaya, Malaysia

Macfarlane A (1975). Olfaction in the development of social preferences in the human neonate. In: Macfarlane A (ed) Ciba Found Symp 33: 103-117

Maria M, Clyde MM and Cheah SC (1995) Cytological analysis of Elaeis guineensis (tenera) chromosomes. Elaeis 7: 122-134

Mayes S, Jack PL, Marshall DF and Corley RHV (1997) Construction of a RFLP genetic linkage map for oil palm *(Elaeis guineensis* Jacq.). Genome 4: 116-122

Poncet VM, Rondeau C, Trachant A, Cayrel S, Hamon A, Kochko D. and Hamon P. (2006) SSR mining in coffee tree EST databases: potentian use of EST-SSRs as makers for the *Coffea* genus. Mol. Gen. Genomics. 276: 436-449.

Sangwan C and Te-chato S (2015) Assessment of Genetic Variation of *In Vitro*-Seedling Oil Palm Developed from Somatic Embryos after Treating with Ethylmethane Sulfonate (EMS) by SSR marker. Songklanakarin Journal of Plant Science 2: 29-33

Sathish DK and Mohankumar C (2007) RAPD markers for identifying oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) parental varieties (*dura* & *pisifera*) and the hybrid *tenera*. Indian Journal of Biotechnology 6: 354-358

Siripin S and Jindasing M (2012) Genetics Diversity in Vegetable Soybean Cultivars by SSR Markers. Agricultural Sci. J. 43(2)(Suppl.): 525-528

Sodsuk PK, Praipanapong S, Sain-in N, Sodsuk S and Pewnain P (2012) Microsatellite-based analysis of genetic variation in hatchery populations of Asian seabass, *Lates calcarifer* (BLOCH, 1790). Thai J. Genet. 5(2) :166-182

Stewart CN and Via LE (1993). A rapid CTAB DNA isolation technique useful for RAPD fingerprinting and other PCR applications. Biotechniques 14: 748-750.

Tranbarger TJ, Kluabmongkol W, Sangsrakru D, Morcillo F, Tregear JW, Tragoonrung S and Billotte N (2012) SSR markers in transcripts of genes linked to post-transcriptional and transcriptional regulatory functions during vegetative and reproductive development of Elaeis guineensis. BMC Plant Biology 12:1

Xiao Y, Lixia Z, Xia W, Mason AS, Yang Y, Ma Z and Peng M (2014) Exploiting transcriptome data for the development and characterization of gene-based SSR markers related to cold tolerance in oil palm (Elaeis guineensis). BMC Plant Biology. 14:384.

Xiao Y, Xia W, Ma J, Mason AS, Fan H, Shi P, Lei X, Ma Z and Peng M (2016) Genome-Wide Identification and Transferability of Microsatellite Markers between Palmae Species. Front. Plant Sci. 7:1578.

Zhou LX, Xiao Y, Xia W and Yang YD (2015) Analysis of genetic diversity and population structure of oil palm (*Elaeis guineensis*) from China and Malaysia based on species-specific simple sequence repeat markers. Genetics and Molecular Research 14 (4): 16247-162.