

ญาทวี รัตนมณี 2553: การพัฒนาเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลต์สำหรับสนุ่ดำ
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พันธุศาสตร์) สาขาพันธุศาสตร์ ภาควิชาพันธุศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ภา หงษ์ตระกูล, Ph.D. 120 หน้า

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิดไมโครแซทเทลไลต์ เพื่อการจัดจำแนกพันธุ์ และระบุพันธุ์จำเพาะในสนุ่ดำ (*Jatropha curcas* L.) โดยวิธี enrichment โดยใช้ไบโอดีเอ็นเอไลโกนิวคลีโอไทด์ โพรบชนิด B-(GA)₁₅, B-(CA)₁₅, B-(ACC)₁₀ และ B-(CCT)₁₀ และคัดเลือกโคลนที่ให้ผลบวกด้วยเทคนิค dot blot hybridization จากการตรวจสอบพบโคลนที่เป็นบวก 108 โคลน เมื่อนำโคลนจำนวน 97 โคลน ไปหาลำดับเบสพบว่า มีลำดับเบสแบบไมโครแซทเทลไลต์รวม 58 โคลน คิดเป็น 59.79 เปอร์เซ็นต์ ของโคลนที่ส่งหาลำดับเบส โดยส่วนใหญ่เป็นลำดับไมโครแซทเทลไลต์แบบ dinucleotide repeat ชนิด (GA)_n คิดเป็น 32.76 เปอร์เซ็นต์ และ trinucleotide repeat (GGA)_n คิดเป็น 20.70 เปอร์เซ็นต์ สามารถออกแบบไพรเมอร์ได้ทั้งหมด 38 คู่ และนำมาใช้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของสนุ่ดำ 125 ตัวอย่าง ที่รวบรวมจากประเทศไทย และต่างประเทศ พบ 5 คู่ไพรเมอร์ ให้ความแตกต่างของขนาดดีเอ็นเอในตัวอย่างที่ศึกษา โดยมีจำนวน 2 แอลลีลต่อตำแหน่ง มีค่า PICs (Polymorphic Information Contents) อยู่ในช่วง 0.15-0.22 และค่า PIC เฉลี่ยเท่ากับ 0.21 เมื่อวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอโดยใช้โปรแกรม NTSYSpc-2.20k พบว่า สามารถแบ่งสนุ่ดำทั้ง 125 ตัวอย่างได้เป็น 2 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มสนุ่ดำพันธุ์ที่มีพืชในประเทศ และจากต่างประเทศ และกลุ่มที่ 2 แบ่งเป็น 2 กลุ่มย่อยเป็นสนุ่ดำพันธุ์ไม่มีพืชจากประเทศเม็กซิโก ค่าความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.72-1.00 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสนุ่ดำ 67 ตัวอย่าง โดยใช้เครื่องหมายไอเอสเอสอาร์ด้วยไพรเมอร์ 8 ชนิด พบว่าให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 96 แถบ โดยเป็น polymorphic bands 16 แถบ มีค่า PICs อยู่ในช่วง 0.00-0.36 และค่า PIC เฉลี่ยเท่ากับ 0.06 เมื่อวิเคราะห์การจัดกลุ่มทางพันธุกรรม พบว่าสามารถแบ่งตัวอย่างที่ศึกษาได้เป็น 2 กลุ่ม คือ สนุ่ดำพันธุ์มีพืช และสนุ่ดำพันธุ์ไม่มีพืช โดยมีค่าความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.91-1.00 การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุล AS-PCR (Allele Specific-PCR) จำเพาะกับยีนในกระบวนการสังเคราะห์กรดไขมันจำนวน 6 ยีน ได้แก่ *KASIII* (beta-ketoacyl-ACP synthase III), *KASII* (beta-ketoacyl-ACP synthase II), *SAD* (stearoyl-ACP desaturase), *FatA* (acyl-ACP thioesterase), *FAD3* (ω -3 fatty acid desaturase) และ *FAD6* (ω -6 fatty acid desaturase) โดยใช้ลำดับเบสของยีนพืชจากฐานข้อมูล GenBank และตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยเทคนิค DFLP (DNA Fragment Length Polymorphism) และเทคนิค SSCP (Single Strand Conformational Polymorphism) กับสนุ่ดำ 125 ตัวอย่าง พบว่าให้แถบดีเอ็นเอเพียงรูปแบบเดียว แสดงให้เห็นว่าสนุ่ดำมีความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำมาก อย่างไรก็ตามเครื่องหมายโมเลกุลจำเพาะกับยีนทั้ง 6 ยีน ให้แถบดีเอ็นเอต่างรูปแบบในพืชสกุล *Jatropha* ชนิดอื่น ได้แก่ สนุ่แดง (*Jatropha gossypifolia*) เข็มปัตตาเวีย (*Jatropha integerrima*) ฝิ่นต้น (*Jatropha multifida*) และละหุ่ง (*Ricinus communis*) ซึ่งเป็นพืชในวงศ์ Euphorbiaceae เช่นเดียวกับสนุ่ดำ เครื่องหมายโมเลกุลจำเพาะกับยีนนี้ สามารถใช้ในการตรวจสอบความเป็นลูกผสมในการผสมข้ามชนิด และข้ามสกุล และเพื่อโครงการปรับปรุงพันธุ์สนุ่ดำต่อไปในอนาคต