

เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลต์ของสบู่ดำที่สามารถนำไปใช้ในพืชชนิดอื่นที่มีความสัมพันธ์ภายในสกุลและต่างสกุล

Cross transferability of *Jatropha curcas* derived microsatellite to intra generic and inter generic species

พัชรีย์ ลาโคตร¹, ชัชวาล จันทราสุริยารัตน์² และ สุรีพร เกตุงาม^{1,2*}

Patcharee Lakote¹, Chatchawan Jantasuriyarat² and Sureeporn Kate-ngam^{1,2*}

บทคัดย่อ: ทดสอบการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยไมโครแซทเทลไลต์ของสบู่ดำ (*Jatropha curcas*) ในพืชภายในสกุล *Jatropha* และ พืชต่างสกุลในวงศ์ *Euphorbiaceae* จากการทดสอบไพรเมอร์ จำนวน 17 คู่ พบว่า มีไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในพืชภายในสกุล *Jatropha* ได้แก่ *J. gossypifolia* *J. integririma*, *J. multifida* และ *J. podagica* ได้จำนวน 15, 12, 11 และ 11 คู่ไพรเมอร์ คิดเป็น 88.2%, 70.6%, 64.7% และ 64.7% ของไพรเมอร์ทั้งหมด ตามลำดับ และมีไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในพืชต่างสกุล ได้แก่ มันสำปะหลัง ยางพารา และ ละหุ่ง จำนวน 8, 5 และ 2 คู่ คิดเป็น 41.1%, 29.4% และ 11.8% ของไพรเมอร์ทั้งหมด ตามลำดับ และ พบว่าไพรเมอร์ JCT16 และ JCT27 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ในทุกพืชที่ทดสอบ จากการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอในพืชดังกล่าว จำนวน 20 ตัวอย่าง พบอัลลีลรวมทั้งสิ้น 72 อัลลีล คิดเป็นค่าเฉลี่ย 4 อัลลีลต่อคู่ไพรเมอร์ วิเคราะห์ความสัมพันธ์ความเหมือนทางพันธุกรรมด้วยวิธีของ Jaccard และจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยวิธี UPGMA พบว่าสามารถจัดกลุ่มพืชในสกุล *Jatropha* ออกจากพืชสกุลอื่นๆ ได้อย่างชัดเจน ผลจากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลต์ของสบู่ดำสามารถนำมาใช้เป็นเครื่องมือในการศึกษาพันธุกรรมของพืชที่มีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกัน รวมทั้งการศึกษาพันธุกรรมเปรียบเทียบในพืชดังกล่าวได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำสำคัญ: สบู่ดำ ไมโครแซทเทลไลต์ การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในพืชต่างชนิด/ต่างสกุล พืชวงศ์ *Euphorbiaceae*

ABSTRACT: Cross species/genera DNA amplification of microsatellite markers, developed from *Jatropha curcas*, were tested within the genus *Jatropha* and other *Euphorbiaceae* genera. Out of 17 microsatellite markers investigated: 15 (88.2%), 12 (70.6%), 11 (64.7%) and 11 (64.7%) were successfully amplified in 4 *Jatropha* species namely *J. gossypifolia*, *J. integririma*, *J. multifida* and *J. podagica*, respectively. Moreover, 8 (41.1%), 5 (29.4%) and 2 (11.8%) markers were amplified in *M. esculenta*, *H. brasiliensis* and *R. communis* respectively. JCT16 and JCT27 primers can amplify DNA all 7 plant accessions tested. A total of 72 alleles were detected in 20 plant accessions studied, with an average of 4 alleles per locus. Jaccard's similarity coefficient and UPGMA cluster analysis were performed and the results showed that plant species belonging to *Jatropha* genus was clearly separated from other plant species from other genera. Transferability of *J. curcas* microsatellites provides powerful tools for genetic relationship assessment of related plant species as well as their comparative genomic studies.

Keywords: *Jatropha curcas* microsatellite, cross species/genera amplification, *Euphorbiaceae*

¹ ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อุบลราชธานี 34190

Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, UbonRatchathani University, UbonRatchathani 34190, Thailand

² ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

Department of Genetics, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

* Corresponding author: sureeporn.k@ubu.ac.th

บทนำ

ไมโครแซทเทลไลท์ (microsatellite) หรือ เอสเอสอาร์ (SSR: simple sequence repeat) เป็นลำดับดีเอ็นเอที่มีเบสซ้ำเรียงต่อเนื่องกัน ตั้งแต่ 1-6 เบส โดยทั่วไปเบสซ้ำเหล่านี้จะมีลำดับเบสที่จำเพาะซ้ำกับเบสซ้ำ จากลักษณะเฉพาะดังกล่าว สามารถนำมาพัฒนาเป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอบ่งบอกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตได้ เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์มีลักษณะเด่นคือ มีโพลิมอร์ฟิซึมสูง สามารถบ่งบอกความแตกต่างในระดับสปีชีส์ มีความเฉพาะเจาะจงและเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในตำแหน่งที่แน่นอน (locus specific) แสดงลักษณะแบบข่มร่วมกัน (co-dominant markers) ทำให้สามารถบ่งบอกสภาพพันธุกรรมแบบโฮโมไซกัสและเฮเทโรไซกัสได้ (สุริพร, 2546; Brown et al., 1996; Poncet et al., 2006) ความแตกต่างของขนาดดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้เกิดจากความผันแปรของจำนวนชุดเบสซ้ำ การกลายพันธุ์เฉพาะที่และการเพิ่มขึ้นหรือขาดหายไปในบริเวณของเบสซ้ำ รวมทั้งในบริเวณที่ซ้ำกับเบสซ้ำ (Choudhary et al., 2009.) ปัจจุบัน มีการนำเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์มาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืชอย่างกว้างขวาง และพบว่าเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ที่พัฒนาจากพืชชนิดหนึ่งสามารถนำไปใช้ในการศึกษาพันธุกรรมของพืชที่อยู่ในสกุลเดียวกัน หรือต่างสกุลในวงศ์เดียวกันได้ (cross transferability) ซึ่งมีการกล่าวถึงในพืชหลายชนิด ได้แก่ การใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ของข้าวสาลีในข้าวไรน์ ไมโครแซทเทลไลท์ของกาแฟในพืชสกุล *Coffea* ไมโครแซทเทลไลท์ของแอปพริคอตและองุ่นในพืชวงศ์เดียวกัน ไมโครแซทเทลไลท์ของพริกในพืชสกุล *Capsicum* และต่างสกุลที่อยู่ในวงศ์ *Solanaceae* เป็นต้น (Poncet et al., 2006; Castro et al., 2012)

ดังนั้น วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ เพื่อทดสอบการใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ที่พัฒนาจากสบู่ดำในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของพืชภายในสกุล *Jatropha* และพืชสำคัญทางเศรษฐกิจต่างสกุลในวงศ์ *Euphobiaceae* เพื่อใช้ประโยชน์ในการศึกษาพันธุกรรมของพืชดังกล่าวต่อไป

วิธีการศึกษา

การสกัดดีเอ็นเอ

รวบรวมตัวอย่างของพืชในวงศ์ *Euphobiaceae* ประกอบด้วย พืชในสกุล *Jatropha* ได้แก่ สบู่ดำ (*J. curcas*) สบู่แดง (*J. gossypifolia*) มะละกอฝรั่ง หรือ ผื่นต้น (*J. multifida*) หนุมารนั่งแท่น (*J. podagrica*) บัตตาเวีย (*J. intergerima*) และพืชต่างสกุล ได้แก่ มันสำปะหลัง (*Manihot esculenta*) ยางพารา (*Hevea brasiliensis*) และ ละหุ่ง (*Ricinus communis*) รวมจำนวน 20 ตัวอย่าง (Table 1) สกัดดีเอ็นเอจากใบอ่อนของพืชดังกล่าวด้วยวิธีการดัดแปลงจาก Doyle และ Doyle (1990) และ ตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีเจลอเล็กโทรโฟรีซิสเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน (Fermentas) โดยใช้ฮอกกาโรสความเข้มข้น 1%

การตรวจสอบการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ของสบู่ดำ

นำดีเอ็นเอของพืชภายในสกุล *Jatropha* และพืชต่างสกุลในวงศ์ *Euphobiaceae* (Table 1) มาทดสอบการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ไพรเมอร์ไมโครแซทเทลไลท์ของสบู่ดำที่เป็น perfect repeat ชนิดเบสซ้ำ 2 เบส และ 3 เบส จำนวน 17 คู่ ในปฏิกิริยาพีซีอาร์ ปริมาตร 20 μ L ซึ่งประกอบด้วย ดีเอ็นเอต้นแบบ 30 ng 1X PCR buffer dNTPs 200 μ M G-microsatellite primer 0.2 μ M 1.5 mM และ Taq DNA polymerase (Promega) 1 ยูนิต โดยสังเคราะห์ดีเอ็นเอด้วยเครื่อง Perkin Elmer thermal cycler โดยใช้ PCR profile ดังนี้ อุณหภูมิ 94 °C นาน 3 นาที ตามด้วยโปรแกรมการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ จำนวน 35 รอบ ที่อุณหภูมิ 94 °C นาน 30 วินาที อุณหภูมิ annealing 45 วินาที และอุณหภูมิ 72 °C 1 นาที และอุณหภูมิสุดท้าย 72 °C นาน 7 นาที นำผลของพีซีอาร์ที่ได้ไปแยกขนาดดีเอ็นเอด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสในโพลีอะครีลาไมด์เจลความเข้มข้น 6 % แล้วย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยซิลเวอร์ไนเตรท ทำการทดสอบซ้ำ 2 ครั้ง เพื่อยืนยันผล

Table 1 List of plant accessions used in this study and their collection sites.

Code	Crop species	Collection site
1. Jc-A03	<i>J. curcas</i>	UbonRatchathani Field Crop Research Center
2. Jc-A08	<i>J. curcas</i>	UbonRatchathani Field Crop Research Center
3. Jc-D1	<i>J. curcas</i>	UbonRatchathani Field Crop Research Center
4. Jc-No.2	<i>J. curcas</i>	KhonKaen University
5. Jc-Senegal	<i>J. curcas</i>	KhonKaen Field Crop Research Center
6. Jc-Mexico	<i>J. curcas</i>	KhonKaen Field Crop Research Center
7. Jg-01	<i>J. gossypifolai</i>	UbonRatchathaniProvince
8. Jg-02	<i>J. gossypifolai</i>	UbonRatchathaniProvince
9. Jm-01	<i>J. multifida</i>	UbonRatchathaniProvince
10. Jm-02	<i>J. multifida</i>	UbonRatchathaniProvince
11. Jp-01	<i>J. podagica</i>	UbonRatchathaniProvince
12. Jp-02	<i>J. podagica</i>	UbonRatchathaniProvince
13. Ji-01	<i>J. intergerima</i>	UbonRatchathaniProvince
14. Ji-02	<i>J. intergerima</i>	UbonRatchathaniProvince
15. Rc-R37	<i>R. communis</i>	UbonRatchathani Field Crop Research Center
16. Rc-TCO208	<i>R. communis</i>	UbonRatchathani Field Crop Research Center
17. Me-KU 50	<i>M. esculenta</i>	UbonRatchathani Field Crop Research Center
18. Me-5natee	<i>M. esculenta</i>	UbonRatchathani Field Crop Research Center
19. Hb-RRIM600	<i>H. brasiliensis</i>	UbonRatchathani Field Crop Research Center
20. Hb-RRUT251	<i>H. brasiliensis</i>	UbonRatchathani Field Crop Research Center

การวิเคราะห์ข้อมูล

บันทึกข้อมูลอัลลีลในรูปแบบไบนารีโดยกำหนดให้แถบดีเอ็นเอที่ปรากฏ และไม่ปรากฏ เป็น 1 และ 0 ตามลำดับวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมด้วยวิธีของ Jaccard (Jaccard's coefficient) และจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ด้วยวิธี Unweighted Pair Group Method on the basis of arithmetic Averages (UPGMA) ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ NTSYS-pc package (Rohlf, 2004)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การทดสอบการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของพืชภายในสกุลและต่างสกุล โดยใช้ไมโครแซทเทลไลท์ของสบู่ดำ

จากการทดสอบการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ไพรเมอร์ไมโครแซทเทลไลท์ที่พัฒนาจากสบู่ดำจำนวน 17 คู่ไพรเมอร์ (Table 2) ในพืชสกุล *Jatropha* จำนวน 4 ชนิด พบว่า มีไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มดีเอ็นเอได้ใน *J. gossypifolai*, *J. intergerima*, *J. multifida* และ *J. podagica* จำนวน 15, 12, 11 และ 11 คู่ไพรเมอร์ คิดเป็น 88.2%, 70.6%, 64.7% และ 64.7% ของคู่ไพรเมอร์

ทั้งหมด ตามลำดับ และไพรเมอร์ไมโครแซทเทลไลต์ดังกล่าวสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในมันสำปะหลังยางพารา และ ละหุ่งได้ จำนวน 8, 5 และ 2 คู่ไพรเมอร์ คิดเป็น 41.1%, 29.4% และ 11.8% ของคู่ไพรเมอร์ทั้งหมด ตามลำดับ (Table 2 และ 3) โดยพบว่าไพรเมอร์ JCT16 และ JCT27 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ในพืชที่นำมาทดสอบทุกชนิด และไพรเมอร์ JcSbr3_35 JCT16 JCT27 MPN005 MPN006 MPN008 MPN020 และ mJCENA 100 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ในพืชสกุล *Jatropha* จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในพืชที่นำมาศึกษาครั้งนี้ จำนวน 20 ตัวอย่าง พบอัลลีลรวมทั้งสิ้น 72 อัลลีล โดยพบอัลลีลในแต่ละคู่ไพรเมอร์ ตั้งแต่ 2 -10 อัลลีล คิดเป็นค่าเฉลี่ย 4 อัลลีลต่อคู่ไพรเมอร์ ไพรเมอร์ของสบู่ดำที่นำมาทดสอบครั้งนี้สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในพืชภายในสกุล *Jatropha* ได้มากกว่าพืชต่างสกุล สอดคล้องกับการศึกษาของ Yadav et al. (2011) ซึ่งพบว่า EST-SSR ของสบู่ดำสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในพืชภายในสกุล *Jatropha* มากกว่าพืชต่างสกุล การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของไมโครแซทเทลไลต์ภายในสกุลและต่างสกุลได้มากหรือน้อย (transferability) ขึ้นอยู่กับความใกล้ชิดทางพันธุกรรม จากรายงานการศึกษาของ Demdoun et al., (2012) และ Poncet et al. (2006) พบว่า transferability ของไมโครแซทเทลไลต์ในพืชสกุลเดียวกันจะมีอัตราสูงกว่าพืชต่างสกุล อย่างไรก็ตาม พบว่า ไมโครแซทเทลไลต์ที่พบใน EST (EST-

microsatellite) จะสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในพืชต่างชนิดและต่างสกุลได้ในอัตราที่สูงกว่า G-microsatellite โดยเฉพาะในไม้ยืนต้น (tree species) และพืชตระกูลถั่ว ทั้งนี้เนื่องมาจาก EST-microsatellite พัฒนามาจากยีนที่มีการอนุรักษ์ (gene conserve) (Demdoun et al., 2012)

การจัดกลุ่มทางพันธุกรรมของพืชวงศ์ *Euphobiaceae*

จากการวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมด้วยวิธีของ Jaccard ของพืชวงศ์ *Euphobiaceae* ที่ศึกษา จำนวน 20 ตัวอย่าง โดยใช้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ จากเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลต์จำนวน 72 อัลลีล พบว่า สามารถจัดกลุ่มพืชสกุล *Jatropha* ซึ่งประกอบด้วย *J. gossypifolia*, *J. multifida*, *J. podagica* และ *J. intergerima* ออกจากพืชสกุลอื่นในวงศ์ *Euphobiaceae* ได้อย่างชัดเจน และภายในกลุ่มสกุล *Jatropha* สามารถจัดเป็นกลุ่มย่อยได้ 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มย่อยที่ 1 ประกอบด้วยสบู่ดำ (*J. curcas*) กลุ่มย่อยที่ 2 ประกอบด้วย *J. gossypifolia* และ *J. intergerima* และกลุ่มย่อยที่ 3 ประกอบด้วย *J. multifida* และ *J. podagica* (Figure 1) ผลจากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลต์มีประสิทธิภาพ ในการนำมาศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชที่มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรม โดยเฉพาะในพืชที่มาจากบรรพบุรุษร่วมกัน

Table 2 Number of amplified *Jatropha curcas* microsatellite markers and amplification rate between intra and inter-genera.

	Species/Genera	Total markers	No. of amplified markers	Amplification Rate (%)
Intra-genera	<i>J. gossypifolia</i>	17	15	88.2
	<i>J. multifida</i>	17	12	70.6
	<i>J. podagica</i>	17	11	64.7
	<i>J. intergerima</i>	17	11	64.7
Inter-genera	<i>Manihotesculenta</i>	17	8	47.1
	<i>Heveabrasiliensis</i>	17	5	29.4
	<i>Ricinuscommunis</i>	17	2	11.8

Table 3 Primer sequences used in cross transferability, repeat motif, annealing temperature, size range of products, number of alleles and Inter and Intra-genera amplification.

Marker	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')	Source	Tm (°C)	Repeat motif	Size range	No. of alleles	Intra-genera amplification					Inter-genera amplification		
								JG	JM	JP	JI	ME	HB	RC	
1. JCSbr3_69-1	gaggctggttcacatg	tcaggcagatgtctcacatg	Yatavee et al. 2009	57	(GA)20	152-170	4	/	x	/	/	x	x	x	x
2. JCSbr3_17	cgaccattgatcagtccta	catgattgcatctgtggc	Yatavee et al. 2009	57	(CT)16	185-189	3	x	x	x	/	/	x	x	x
3. JCSbr3_34	cttcacacagaagtcacac	tctagcgtcactgtatcc	Yatavee et al. 2009	55	(GA)11	254-270	3	/	x	x	/	x	x	x	x
4. JCSbr3_35	catcagtgccaattgaagt	cagccatctgaaggttagc	Yatavee et al. 2009	55	(CT)14	254-260	4	/	/	/	/	x	x	x	x
5. JCNRM_58	agccatctgaaggttagc	catcagtgccaattgaag	Yatavee et al. 2009	51	(GA)15	158-170	5	/	/	x	x	/	x	x	x
6. MPN005	tctctattgacgaccacaat	aagcagaattagacctctcc	Tanya et al. 2011	55	(AT)6	236-248	4	/	/	/	/	/	/	/	x
7. MPN006	ctcttccctgtgggttg	acctctcccttggctgc	Tanya et al. 2011	55	(AT)7	130-150	5	/	/	/	/	x	/	/	x
8. MPN008	ccctgtggcttggcttta	acctctcccttggctgc	Tanya et al. 2011	57	(AT)7	128-150	5	/	/	/	/	x	/	/	x
9. MPN016	tgggatgtgggtgtatgt	tgcactggaaagactgatttatt	Tanya et al. 2011	53	(GT)5	264-280	7	/	/	/	/	/	x	/	x
10. MPN020	ggccaagaagaattgtcg	tctccatggctataaaaagca	Tanya et al. 2011	53	(AATT)3	150-152	2	/	/	/	/	/	x	/	x
11. JCT16	gcctccagcatcttcaalc	aacaatcccatctctcctc	Phumichai et al. 2011	60	(GT)11	188-240	10	/	/	/	/	/	/	/	/
12. JCT27	gccattagaatgacggcta	tgcgtgaagcttgattgga	Phumichai et al. 2011	60	(CT)17	247-260	5	/	/	/	/	/	/	/	/
13. JCT195	tcaatcgtggtctaagttcc	ctgccattgctatccaggtc	Phumichai et al. 2011	58	(GA)25	250-360	3	x	x	x	x	/	x	x	x
14. mJCENA41	cttcttaccctcatcctt	aaagccaggacatactgaa	Bressan et al. 2012	55	(AC) 18	160-170	3	x	x	x	/	x	x	x	x
15. mJCENA106	aaggacgcagaaagagaagtgtg	ttcgaggaagtgaagaagac	Bressan et al. 2012	57	(AGA) 8	252-256	4	x	/	/	/	x	x	x	x
16. mJCENA108	gtgggtgtctaccctattt	gcctcttttcttctgtt	Bressan et al. 2012	57	(GAA)10	270-274	2	x	x	x	/	x	x	x	x
17. mJCENA110	gcgtagaacacaggaaacata	actctcaagtgtgtatggc	Bressan et al. 2012	57	(GT)14	350-354	3	/	/	/	/	x	x	x	x

Note: JG = *J. gossypifolia*, JM = *J. multifida*, JP = *J. podagrica*, JI = *J. integerrima*, ME = *Manihotesculenta*, HB = *Hevea brasiliensis* and RC = *Richus communis*

/ = amplification success, x = non-amplification

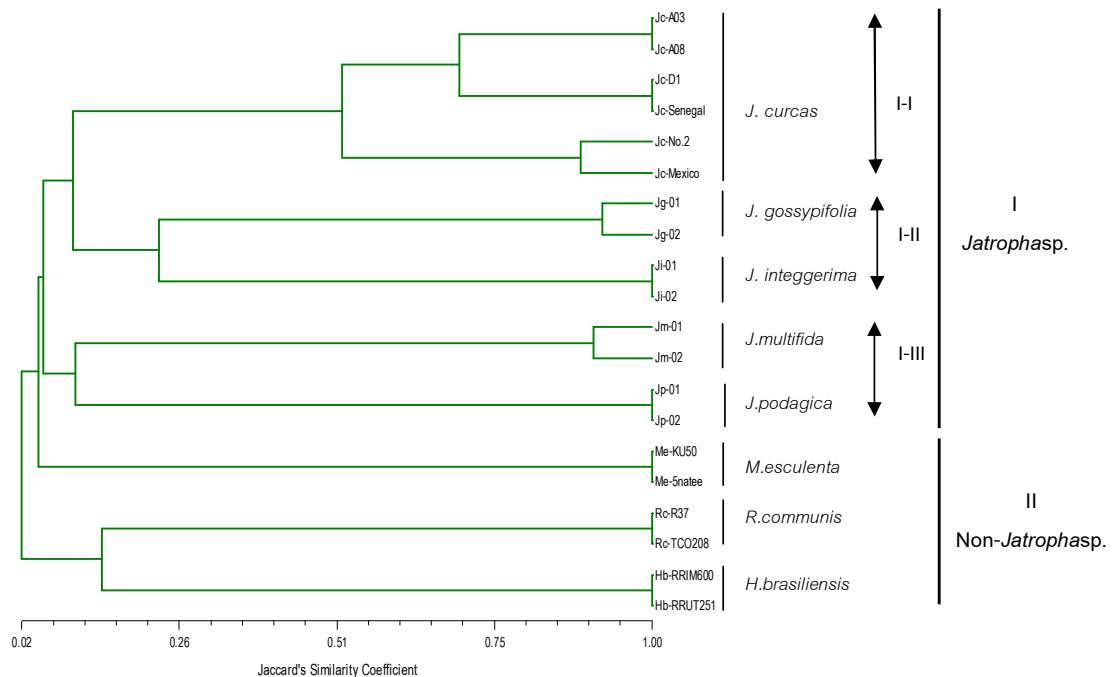


Figure 1 Dendrogram shows genetic relationship between plant accessions using UPGMA based on 72 SSR alleles.

สรุป

ไมโครแซทเทลไลต์ของสบู่ดำสามารถนำไปเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในพืชภายในสกุล *Jatropha* ได้มากกว่าพืชต่างสกุล โดยมีไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ในพืชสกุล *Jatropha* และพืชต่างสกุล จำนวน 8 คู่ และ 2 คู่ ตามลำดับ เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลต์ดังกล่าวสามารถนำมาศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชภายในสกุล *Jatropha* และต่างสกุล ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ผลการศึกษาครั้งนี้บ่งชี้ว่า ไพรเมอร์ JCT16 และ JCT27 สามารถนำไปใช้ในการศึกษาพันธุกรรมในพืชต่างสกุลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจได้ในอนาคต

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช) ระดับบัณฑิตศึกษาประจำปีงบประมาณ 2554 คณะเกษตรศาสตร์มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี และมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี และขอขอบคุณศูนย์วิจัยพืชไร่อุบลราชธานี ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น และ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครราชสีมา ที่ให้การสนับสนุนเชื้อพันธุกรรมที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

ญาติวิรัตน์มณี สุรินทร์ ปิยะโชคนากุล นิตยศรี แสงเดือน และ วิชา หงษ์ตระกูล. 2552. การพัฒนาเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลต์สำหรับสบู่ดำ. Thai J. Genet. 2: 145-154.

- สุธีพร เกตุงาม. 2546. เครื่องหมายโมเลกุลในงานปรับปรุงพันธุ์พืช. วารสารวิชาการ ม.อบ. มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. 5:37-58.
- Bressan, E.D. A., D.C. Scotton, R. R. Ferreira, E.C. Jorge, A. M. Sebbenn, L. S. Gerald and A. Figueira. 2012. Development of microsatellite primers for *Jatropha curcas* (Euphorbiaceae) and transferability to congeners. Am. J. Bot. 99: 237–239.
- Brown, S.M., A.K. Szewc-McFadden and S. Kresovich. 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.
- Castro, P., J. Gil, A. Cabrera and R. Moreno. 2012. Assessment of genetic diversity and phylogenetic relationship in *Asparagus* species related to *Asparagus officinalis*. Genet. Resour. Crop. Evol. doi 10.1007/s10722-012-9918-3.
- Choudhary, S., N.K. Sethy, B. Shokeen and S. Bhatia. 2009. Development of chickpea EST-SSR markers and analysis of allelic variation across related species. Theor. Appl. Genet. 118: 591-608.
- Demdoum, S., F. Munoz, I. Delgado, J. Valderrabano and A. Wunsch. 2012. EST-SSR cross-amplification and genetic similarity on *Onobrychis* genus. Genet. Resour. Crop. Evol. doi 10.1007/s10722-011-9681-x
- Doyle, J.J. and J.L. Doyle. 1990. A rapid total DNA preparation procedure for fresh plant tissue. Focus 12: 13-15.
- Rohlf F. J 2004. NTSYSpc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System version 2.02 Exeter Software, Setauket, NY.
- Poncet, V.M. Rondeau, C. Trachant, A. Cayrel, S. Hamon, A. D. Kochko and P. Hamon. 2006. SSR mining in coffee tree EST databases: potential use of EST-SSRs as makers for the *Coffea* genus. Mol. Gen. Genomics. 276: 436-449.
- Sudheer, P.D.V.N., S.G. Mastan, H. Rahman, C.R. Prakash, S. Singh and M.P. Reddy. 2011. Cross species amplification ability of novel microsatellites isolated from *Jatropha curcas* and genetic relationship with sister taxa. Mol. Biol. Rep. 38: 1383-1388.
- Tanya P., S. Dachapak, M.M. Tar and P. Srinives. 2011. New microsatellite markers classifying nontoxic and toxic *Jatropha curcas*. J. Genet. 90: 76–78.
- Yadav, H.K., A. Ranjan, M. H. Asif, S. Mantri. S.V. Sawant and R. Tuli. 2011. EST-derived SSR markers in *Jatropha curcas* L.: development, characterization, polymorphism, and transferability across the species/genera. Tree Genet. Genomes. 7: 207-219.