

การจำแนกพันธุ์สบู่ดำโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี

Identification of physic nut (*Jatropha curcas* L.) using random amplified polymorphic DNA technique

สุนีย์รัตน์ ศรีเปารยะ^{1*} และ ธเนษฐ โชติกมัท¹

Suneerat Sripaoraya^{1*} and Thanest Chotigamas¹

บทคัดย่อ: ทำการรวบรวมพันธุ์สบู่ดำจากทุกภาคของประเทศ มาศึกษาลักษณะต้นฐานวิทยาและลักษณะทางพันธุกรรมจากพันธุ์ที่รวบรวมได้ทั้งหมด 203 accessions นำ 13 accessions ที่มีศักยภาพในการให้ผลผลิตสูงจากที่ปลูกในแปลงรวบรวมพันธุ์ มาหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยเทคนิคอาร์เอพีดี โดยใช้ไพรเมอร์ชนิด 10 เบส จำนวน 22 ไพรเมอร์ พบว่ามี 17 ไพรเมอร์ ที่ให้ความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอในทั้ง 13 accessions ได้ 143 แถบดีเอ็นเอที่มีขนาดตั้งแต่ 300-2500 bp จำนวนแถบดีเอ็นเอที่ได้อยู่ในช่วง 5-11 แถบดีเอ็นเอต่อไพรเมอร์และมีค่าเฉลี่ย 8.41 แถบดีเอ็นเอต่อไพรเมอร์ จัดกลุ่มความเหมือนและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยใช้ Dice's similarity coefficient และ UPGMA ได้กลุ่มความเหมือนกันทางพันธุกรรม 3 กลุ่ม กลุ่มแรกมี 9 พันธุ์ คือ PTL PNL PRAE ST BRR D1 KUBD 80 และ CLK กลุ่มที่สองมี 4 พันธุ์ คือ SV8 SV3 SV2 และ SR กลุ่มที่สามเป็นสบู่แดงซึ่งเป็นตัวเปรียบเทียบและไม่มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมกับสบู่ดำ ได้ค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมระหว่าง 0.08-0.50 พันธุ์สบู่ดำที่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมมากที่สุดคือ พันธุ์ PTL กับ SR โดยให้ค่า similarity index เท่ากับ 0.08 ในขณะที่พันธุ์ PTL และ พันธุ์ PNL มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมากที่สุด มีค่า similarity index เท่ากับ 0.50 เทคนิคอาร์เอพีดีนี้สามารถใช้ศึกษาความแตกต่างและความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของสบู่ดำได้ ข้อมูลความแตกต่างและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ได้นี้ใช้เป็นข้อมูลในการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์สบู่ดำในโครงการปรับปรุงพันธุ์สบู่ดำต่อไป

คำสำคัญ: สบู่ดำ, อาร์เอพีดี, ความแตกต่างทางพันธุกรรม, ไพรเมอร์, การปรับปรุงพันธุ์พืช

ABSTRACT: This investigation was carried out to collect the physic nut from all parts of Thailand. The study aimed to assess the genetic relationship of 13 potential *Jatropha* accessions 203 collected germplasms of physic nut were collected in over part of the country and were grown in breeding collected field. For estimation of genetic relationships among 13 different high yield potential germplasms of *Jatropha*, random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique based on polymerase chain reaction (PCR) was used for described purpose. Out of 22, 10-random base primers used, 17 primers produced good amplification products and showed polymorphic among physic nut accessions. A total of 143 amplification products were scored and the size of the bands ranged from 300-2500 bp. The number of bands per primer ranged from 5 to 11, with an average of 8.41. The Dice's similarity coefficient and UPGMA (Unweighted pair group method using arithmetic average) were used for clustering. 13 accessions could be separated into 3 groups with similarity index ranging from 0.08-0.50. PTL PNL PRAE ST BRR D1 KUBD 80 and CLK were in the first group. The second group consisted SV8 SV3 SV2 and SR. *Jatropha gossypifolia* L. was no genetic relationship with any physic nut accessions. PTL and SR had 0.08 similarity index giving the most genetic difference whereas PTL and PNL had the most genetic similarity giving 0.50 similarity index. The scientific data presented in this study suggests that RAPD could be used as a valuable tool for estimation of genetic identification and genetic relationship among germplasms of *Jatropha curcas* L. These data can be used as basic information for selection to parental plants for physic nut hybridization and breeding program.

Keywords: *Jatropha*, RAPD, genetic identification, primers, plant breeding

¹ สาขาวิชาพืชศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

Plant Science Division, Faculty of Agriculture, Rajamangala University of Technology Srivijaya

* Corresponding author: suneerat.s@rmutsv.ac.th

บทนำ

สบู่ดำเป็นพืชที่มีศักยภาพในการใช้ประโยชน์ได้สูง โดยเฉพาะเป็นพืชพลังงานทางเลือก แต่ในปัจจุบันนี้การนำสบู่ดำมาใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์ยังมีน้อยมาก อาจจะเป็นเพราะหลายสาเหตุ รวมทั้งการขาดข้อมูลทางวิชาการตั้งแต่เรื่องพันธุ์ การผลิตหรือการแปรรูป ดังนั้นจึงควรมีการวิจัยเพื่อให้ได้ซึ่งข้อมูลทางวิชาการเพื่อนำพืชนี้มาใช้ประโยชน์โดยเฉพาะใช้น้ำมันดีเซลพืช งานชิ้นแรกๆ ที่ควรทำก็คือการรวบรวมพันธุ์สบู่ดำและการจำแนกความแตกต่างของพันธุ์ที่มีในแต่ละท้องถิ่นของไทยและจากต่างประเทศและหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพันธุ์เหล่านี้ โดยทั่วไปความแตกต่างหรือความคล้ายคลึงกันของลักษณะสบู่ดำในแต่ละท้องถิ่นหรือต่างท้องถิ่นกันนั้น ใช้วิธีการจำแนกโดยทั่วไปคือใช้ความแตกต่างของลักษณะภายนอก หรือใช้ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ เช่น ลักษณะใบ ดอก ผล ซึ่งอาจทำให้เกิดความไม่ถูกต้อง โดยเฉพาะในท้องถิ่นหรือบริเวณที่สภาพแวดล้อมบางอย่างสามารถเปลี่ยนแปลงลักษณะของพืชได้ นอกจากนี้ในบางพันธุ์จะมีลักษณะภายนอกที่เหมือนกันมาก ทั้งๆที่มาจากคนละท้องถิ่นหรือเป็นคนละพันธุ์ในกรณีเช่นนี้จะไม่สามารถแยกหรือจำแนกพันธุ์โดยใช้ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ภายนอกได้ จึงต้องใช้วิธีที่สามารถตรวจสอบได้ในระดับดีเอ็นเอ เช่น การใช้เทคนิคอาร์เอฟดีซึ่งจากการตรวจสอบระดับดีเอ็นเอ ทำให้สามารถจำแนกพันธุ์สบู่ดำที่มีลักษณะภายนอกที่เหมือนกัน หรือพันธุ์ที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมได้ผลที่ถูกต้องและแม่นยำ การวิจัยนี้จึงเป็นการรวบรวมพันธุกรรมของสบู่ดำไว้ให้มากที่สุด และศึกษาความแตกต่างรวมทั้งความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยเทคนิคอาร์เอฟดีตรวจสอบเพื่อนำข้อมูลของพันธุ์เหล่านี้มาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์สบู่ดำต่อไปเทคนิคอาร์เอฟดีเป็นวิธีที่ใช้แยกความแตกต่างของพันธุกรรมที่ทำกันมากในปัจจุบัน วิธีนี้สามารถตรวจสอบความแตกต่างของดีเอ็นเอได้ ไม่ว่าจะสกัดดีเอ็นเอส่วนใดของพืชระยะเวลาใด หรือสภาพแวดล้อมแบบไหน การใช้

เทคนิคอาร์เอฟดีตรวจสอบดีเอ็นเอในพืช เป็นวิธีที่ประยุกต์จากเทคนิคการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยการใส่ไพรเมอร์ขนาดสั้นที่มีลำดับเบสไม่จำเพาะกับยีนใดโดยเฉพาะ (Random primers) วิธีนี้ทำได้สะดวกและรวดเร็ว ใช้ดีเอ็นเอในปริมาณน้อย ตรวจสอบผลได้ทันที เป็นเทคนิคที่ง่ายกว่า RFLP ที่ต้องใช้ดีเอ็นเอปริมาณมากกว่าและมีขั้นตอนที่ซับซ้อนกว่า มีการใช้เทคนิคอาร์เอฟดีในการหาความสัมพันธ์และความหลากหลายในสบู่ดำหลายการทดลอง เช่น การทดลองของ Kumer et al. (2009), Ram et al. (2008), Basha and Sujatha (2007) และการทดลองของ Nisya et al. (2009) ซึ่งจากการศึกษาความหลากหลายและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมนี้ทำให้เป็นข้อมูลสำหรับแหล่งพันธุกรรมของสบู่ดำเพื่อใช้ในการผลิตและพัฒนาสบู่ดำในอนาคต

วิธีการศึกษา

1. เก็บรวบรวมพันธุ์สบู่ดำจากแหล่งต่างๆ มาปลูกศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ สันฐานวิทยา ลักษณะประจำพันธุ์และลักษณะทางเขตรกรรมของแต่ละพันธุ์
2. จำแนกความแตกต่างของพันธุ์โดยใช้เทคนิคอาร์เอฟดี
 - 2.1 การสกัดดีเอ็นเอ โดยเก็บตัวอย่างใบอ่อนของสบู่ดำ accessions ต่างๆ จากแปลงรวบรวมพันธุ์จำนวน 12 accessions โดยแต่ละ accession ให้ผลผลิตสูงและมีลักษณะทางการเกษตรที่ดีในแปลงรวบรวมพันธุ์ใช้สบู่แดง (*Jatropha gossypifolia* L.) เป็นตัวเปรียบเทียบรวมทั้ง 13 accessions (Table 1) เก็บใบอ่อนของทั้ง 13 accessions แช่ในไนโตรเจนเหลว ทำการสกัดดีเอ็นเอโดยใช้ชุด Kit ของ DNeasy™ Plant Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany) ดีเอ็นเอที่สกัดได้ถูกเก็บไว้ที่ 4 °C
 - 2.2 หาชนิดของ Random primers (Primer screening) ที่เหมาะสมในการทำ PCR ของสบู่ดำไพรเมอร์ชนิด 10 เบสจำนวน 22 ไพรเมอร์ จากบริษัท

Operon Technologies (Germany) ถูกนำมาใช้ในการคัดเลือกกับสบูดำ 3 พันธุ์คือพันธุ์เฉลิมพระเกียรติ, พันธุ์สตูล และ SV3 เพื่อหาไพรเมอร์ที่เหมาะสมสำหรับการศึกษา

ศึกษาการจำแนกพันธุ์สบูดำในครั้งนี้ ทำการคัดเลือกไพรเมอร์ ที่ให้ PCR products ที่ดีเพื่อใช้ในการทำ PCR

Table 1 13 accessions of physic nut collected from breeding plots, Thungyai, Nakhon SiThammaratprovince

| Samples | Accessions | sources (Province/Country) |
|---------|-----------------------------------|---|
| 1 | PNL (Pisnulok) | Collected from farmer in Prougdang district, Rayong province |
| 2 | PR (Prae) | Collected from Muang, Prae |
| 3 | BRR (Bureerum) | Collected from Nangrong, Bureerum |
| 4 | SR (Surin) | Collected from Sangkra, Surin |
| 5 | KUBD 80 | KUBD project, Parkchong, Nakhonrasima |
| 6 | PTL (Patalung) | Collected from Kunkanun, Patalung |
| 7 | CLK (Chalermphrakit) | Collected from Chalermphrakiet, Nakhon SiThammarat |
| 8 | ST (Satoon) | Collected from Muang, Satoon |
| 9 | SV 3 | Lopburi, Jartropha project, Prof.Dr.ChamnanChatkeaw Head of project |
| 10 | SV 8 | Lopburi, Jartropha project, Prof.Dr.ChamnanChatkeaw Head of project |
| 11 | SV 10 | Lopburi, Jartropha project, Prof.Dr.ChamnanChatkeaw Head of project |
| 12 | D1 | India distributed by Prof.Dr.ChamnanChatkeaw |
| 13 | <i>Jatrophagossypifolia</i> L(WT) | Collected from Saiburee, Pattanee |

2.3 นำดีเอ็นเอมาเพิ่มชิ้นส่วน (DNA amplification) โดยใช้เทคนิค PCR

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้มาทำการเพิ่มชิ้นส่วนโดยใช้ไพรเมอร์ของ OPA, OPF, OPD, OPAD, OPG, OPL, OPR, OPO, OPAL, OPAW, OPT และ OPAB แต่ละปฏิกิริยาของ PCR ประกอบด้วย ดีเอ็นเอต้นแบบเข้มข้น 20 นาโนกรัม ปริมาตร 2 μ l ไพรเมอร์ อย่างละ 2 μ l BlueMix 12.5 μ l และน้ำ deionized 8.5 μ l จะได้ปริมาตรรวม 25 μ l

2.4 วิเคราะห์ข้อมูล จำแนกพันธุ์สบูดำและวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสบูดำ

RAPD markers ของทั้ง 13 พันธุ์ถูกนำมาวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป GeneDirectory และ GeneTools (SynGene, 2007) การหาความสัมพันธ์เหมือนกัน (Pair-wise similarity matrices) และการหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยใช้ Dice's coefficient of similarity ส่วน Dendrogram ถูกสร้างโดยใช้

unweighted pair group method with arithmetic average (UPGMA) ทำการทดลองที่ ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทางพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อ.ทุ่งใหญ่ จ.นครศรีธรรมราช ระหว่างปี พ.ศ.2550 - 2554

ผลการศึกษาและวิจารณ์

1. การเก็บรวบรวมพันธุ์สบูดำ

เก็บรวบรวมพันธุ์สบูดำจากภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคใต้ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้เป็นจำนวน 3, 2, 4 และ 6 พันธุ์ ตามลำดับจากประเทศลาว และประเทศเขมร ประเทศละ 1 พันธุ์ได้พันธุ์จากความร่วมมือทางการวิจัยกับหน่วยงานต่างๆ 4 พันธุ์คือ KUBD20, KUBD78, KUBD80, D1 จากประเทศอินเดีย และจำนวน 181 พันธุ์เป็นพันธุ์ที่ถูกประเมินและคัดเลือกจากจังหวัดขอนแก่น นครราชสีมา ลพบุรี

โดย ศ.ดร.ชำนาญ ฉัตรแก้ว หัวหน้าโครงการและสบูแดง (*Jatropha gossypifolia* L.) จาก 3 จังหวัดคือ จังหวัดปัตตานี จังหวัดอุบลราชธานี จังหวัดยโสธร รวมเชื้อพันธุกรรมสบู่ดำที่เก็บรวบรวมในแปลงรวบรวมพันธุ์ทั้งหมดมีจำนวน 203 พันธุ์

2. หาคความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพันธุ์สบู่ดำโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี

2.1 การคัดเลือกไพรเมอร์ (Primers)

สบู่ดำจำนวน 13 พันธุ์ได้ถูกนำมาใช้ในการคัดเลือกไพรเมอร์ จากไพรเมอร์ชนิด 10 เบส จำนวน 22 ไพรเมอร์ พบว่ามี 17 ไพรเมอร์ ให้รูปแบบของแถบ

ดีเอ็นเอเป็น polymorphic ที่ดีและมีความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอกับสบู่ดำที่ถูกตรวจสอบ โดยให้จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 143 แถบดีเอ็นเอแต่ละไพรเมอร์ให้จำนวนแถบดีเอ็นเออยู่ในช่วงตั้งแต่ 5 ถึง 11 แถบดีเอ็นเอต่อไพรเมอร์ ไพรเมอร์ OPA 4 และไพรเมอร์ OPF 8 ให้ค่าจำนวนแถบดีเอ็นเอน้อยที่สุดคือ 5 แถบดีเอ็นเอ ขณะที่ไพรเมอร์ OPAL 12 และไพรเมอร์ OPF 3 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอมากที่สุดคือ 11 แถบดีเอ็นเอ (Figure 1) โดยค่าเฉลี่ยของแถบดีเอ็นเอต่อไพรเมอร์เท่ากับ 8.41 ขนาดของ PCR products อยู่ใน ช่วงตั้งแต่ 300 ถึง 2500 bp

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13

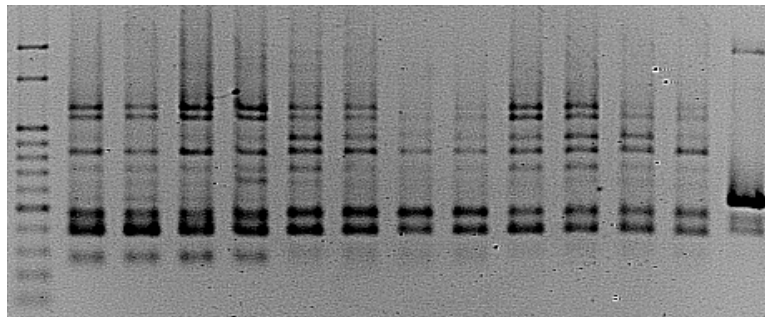


Figure 1 RAPD profiles of OPF3 primer; lanes 1-13=SR,SV2,SV3,SV8,D1,ST, PNL,PTL,BRR,PRAE,KUBD80,CLKandWT respectively, M = 100bp ladder marker.

2.2 การจำแนกความแตกต่างของพันธุ์สบู่ดำและการหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสบู่ดำ

จากการใช้โปรแกรมสำเร็จรูปของ SynGene (2007) ในการจำแนกความแตกต่างและหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสบู่ดำ 13 accessions โดยพันธุ์ที่ 1-12 ใน (Table 1) เป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงและมีลักษณะทางการเกษตรดีจากการปลูกในแปลงรวบรวมพันธุ์ ทำการวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม GeneTools วิเคราะห์ความเข้มข้นของ PCR products โดยใช้น้ำหนักโมเลกุลของ marker มาตรฐานและใช้โปรแกรม GeneDirectory สำหรับการวิเคราะห์

cluster ของสบู่ดำทั้ง 13 accessions พบว่าได้กลุ่มพันธุ์สบู่ดำออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ ดังภาพ dendrogram (Figure 2) โดยที่กลุ่มแรกประกอบด้วยสบู่ดำ 8 พันธุ์คือ PTL PNL PRAE ST BRR D1 KUBD 80 และ CLK กลุ่มที่สองมี 4 พันธุ์คือ SV8 SV3 SV2 และ SR กลุ่มสุดท้ายเป็นสบู่แดงที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบซึ่งพบว่าไม่มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมกับสบู่ดำ ผลการวิเคราะห์ให้ค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมระหว่าง 0.08- 0.50 พันธุ์สบู่ดำที่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมมากที่สุดคือพันธุ์ PTL กับ SR โดยให้ค่าความเหมือนกันเท่ากับ 0.08 ในขณะที่พันธุ์ PTL และ PNL มีความ

ใกล้เคียงทางพันธุกรรมมากที่สุดและให้ค่า ความเหมือนกันเท่ากับ 0.50 ส่วนพันธุ์ D1 มีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับพันธุ์ KUBD 80 มากที่สุดเท่ากับ 0.44 อย่างไรก็ตามพันธุ์ D1 ให้ความแตกต่างทางพันธุกรรมมากที่สุดกับสบูดำพันธุ์ SV2 และพันธุ์ SR คือให้ค่า similarity index เท่ากับ 0.15 และ 0.17 ตามลำดับ พันธุ์จากต่างภูมิภาคพันธุ์ CLK จากจังหวัดนครศรีธรรมราชให้

ความแตกต่างทางพันธุกรรมมากที่สุดกับพันธุ์ SR จากจังหวัดสุรินทร์ คือให้ค่า similarity index เท่ากับ 0.12 ซึ่งทั้ง 2 พันธุ์นี้ หากดูลักษณะทางสัณฐานวิทยาแล้ว จะเหมือนกันมาก ดังนั้นการใช้เทคนิคอาร์เอพีดีครั้งนี้ สามารถจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมได้อย่างมีประสิทธิภาพ

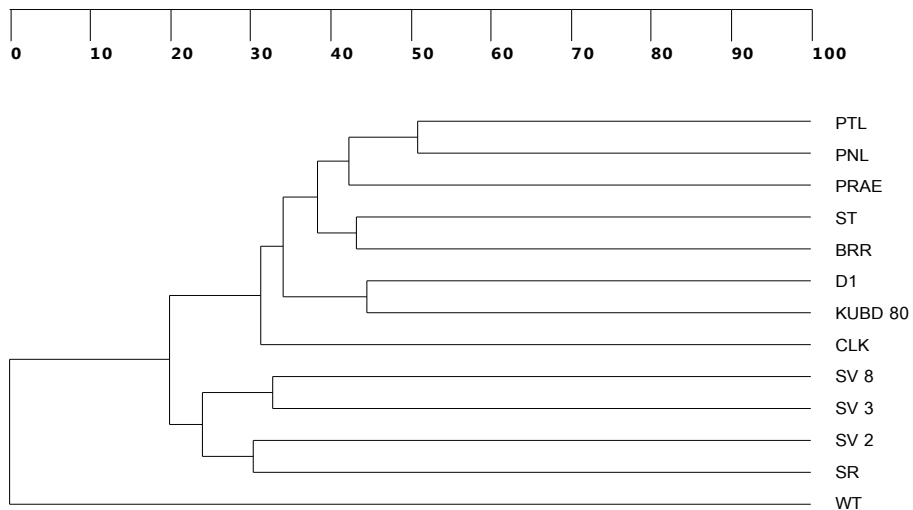


Figure 2 Dendrogram of physic nut13 accessions analyzed using GeneDirectory andDice's similarity coefficient forclustering.

อย่างไรก็ตาม ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสบูดำทั้ง 13 accessions จาก similarity index ใน (Figure 3) จะเห็นว่าสบูแดงให้ค่าความเหมือนกันเป็นศูนย์กับทุกพันธุ์ แสดงว่าสบูแดงไม่มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมกับสบูดำทั้ง 12 พันธุ์ สำหรับสบูดำ 12 พันธุ์ นั้นพบว่าพันธุ์ ST ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงและมีลักษณะทางการเกษตรเช่นลักษณะ จำนวนผลต่อช่อ น้ำหนัก 100 เมล็ด และความต้านทานหนอนขนอบดี นั้นมีความแตกต่างทางพันธุกรรมกับพันธุ์ SR ซึ่งมีปลูกกันในภาคตะวันออกเฉียงเหนือสูงโดยให้ค่า similarity

เท่ากับ 0.13 แม้ว่าพันธุ์ทั้งสองจะมีลักษณะรูปร่างทางสัณฐานวิทยาคล้ายคลึงกัน นอกจากนี้พันธุ์ ST ยังมีความแตกต่างทางพันธุกรรมกับพันธุ์ SV3 สูงคือมีค่า similarity เท่ากับ 0.13 ค่าความแตกต่างและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพันธุ์สบูดำที่ได้สามารถนำมาเป็นข้อมูลใช้ในการคัดเลือกพันธุ์พ่อพันธุ์แม่สบูดำในโครงการผสมพันธุ์และพัฒนาพันธุ์สบูดำให้มีประสิทธิภาพต่อไป

| Accessions | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | |
|------------|----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| PTL | 1 | 1.00 | | | | | | | | | | | | |
| PNL | 2 | 0.50 | 1.00 | | | | | | | | | | | |
| PRAE | 3 | 0.41 | 0.43 | 1.00 | | | | | | | | | | |
| ST | 4 | 0.39 | 0.46 | 0.37 | 1.00 | | | | | | | | | |
| BRR | 5 | 0.35 | 0.38 | 0.33 | 0.43 | 1.00 | | | | | | | | |
| D1 | 6 | 0.31 | 0.47 | 0.35 | 0.33 | 0.37 | 1.00 | | | | | | | |
| KUBD80 | 7 | 0.22 | 0.24 | 0.33 | 0.38 | 0.35 | 0.44 | 1.00 | | | | | | |
| CLK | 8 | 0.39 | 0.41 | 0.30 | 0.26 | 0.24 | 0.28 | 0.27 | 1.00 | | | | | |
| SV8 | 9 | 0.22 | 0.24 | 0.23 | 0.23 | 0.36 | 0.30 | 0.33 | 0.09 | 1.00 | | | | |
| SV3 | 10 | 0.25 | 0.25 | 0.16 | 0.13 | 0.19 | 0.25 | 0.28 | 0.20 | 0.32 | 0.94 | | | |
| SV2 | 11 | 0.10 | 0.17 | 0.14 | 0.15 | 0.17 | 0.15 | 0.20 | 0.18 | 0.23 | 0.27 | 0.94 | | |
| SR | 12 | 0.08 | 0.17 | 0.26 | 0.13 | 0.13 | 0.17 | 0.20 | 0.12 | 0.19 | 0.25 | 0.30 | 1.00 | |
| WT | 13 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 1.00 |

Figure 3 Similarity matrix of physic nut 13 varieties analyzed using Dice's similarity coefficient and UPGMA .

สรุป

เทคนิคอาร์เอพีดีเป็นเทคนิคที่ใช้ได้ดีในการจำแนกความแตกต่างและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสบู่ดำ โดยสามารถบอกพันธุ์สบู่ดำที่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมกันมากเช่นสบู่ดำพันธุ์ PTL พันธุ์ ST กับพันธุ์ SR ซึ่งมีลักษณะทางเขตกรรมเช่นอายุการออกดอก อายุการเก็บเกี่ยว จำนวนผลต่อช่อ จำนวนเมล็ดต่อผล มีความต้านทานแมลงดี สามารถถูกคัดเลือกมาเป็นพันธุ์พ่อพันธุ์แม่ในการผสมพันธุ์เพื่อสร้างพันธุ์ลูกผสมหรือสร้างความแปรปรวนทางพันธุกรรมเพื่อการคัดเลือกพันธุ์ที่ดีในโครงการปรับปรุงพันธุ์สบู่ดำต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณพนักงานภาคสนามของคณะเกษตรศาสตร์ ทุกคนที่ช่วยเหลือเพิ่มเติมด้านแรงงานในแปลงทดลอง ขอกราบขอบพระคุณ ศ.ดร.ชำนาญ วัชรแก้ว หัวหน้าโครงการวิจัยและพัฒนาพันธุ์สบู่ดำที่สนับสนุนพันธุ์สบู่ดำและขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัยในการให้ทุนอุดหนุนการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Basha, S.D. and M. Sujatha. 2007. Inter and intra-population variability of *Jatropha curcas* (L.) characterized by RAPD and ISSR markers and development of population-specific SCAR markers. *Euphytica* 156: 375-386.
- Kumar, R.V., Y.K. Tripathi, P. Shukla, S.P. Ahlawat and V.K. Gupta. 2009. Genetic diversity and relationships among germplasm of *Jatropha curcas* L. revealed by RAPDs. *Trees*. Published online: 03 June 2009. DOI 10.1007/s00468 -009 -0350 -z.
- Nisya, F.N., M. Surahman and E. Santoso. 2009. Study of genetic diversity and genetic relationship of *Jatropha* germplasms from Indonesia and other countries using morphological and molecular markers. *In: Agricultural Biotechnology International Conference: Agricultural Biotechnology for Better Living and a Clean Environment*. 22-25 September 2009. Queen Sirikit National Convention Center, Bangkok.
- Ram, S.G., K.T. Parthiban, R.S. Kumar, V. Thiruvengadam and M. Paramathma. 2008. Genetic diversity among *Jatropha* species as revealed by RAPD markers. *Genet Resour Crop Evol.* 55: 803-809.