

RESEARCH ARTICLE

การทดสอบคู่ผสมปาล์มน้ำมัน: เครื่องหมายโมเลกุลสไนป์สในพ่อแม่พันธุ์ของคู่ผสม โครงการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันรอบที่ 3 ของกรมวิชาการเกษตร

Oil Palm Progeny Test: SNP Markers in the Parents of Hybrid Crosses of the Third Oil Palm Breeding Project of the Department of Agriculture

สุวิมล กลศึก^{1*} อรรรัตน์ วงศ์ศรี¹ สุจิตรา พรหมเชื้อ¹ และเตือนจิตร เพ็ชรธูม¹

Suvimon Konlasuk¹, Ornrat Wongsri¹, Sujitra Promchae¹, and Tuenjit Pethrrun¹

¹ ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน กรมวิชาการเกษตร

¹ Suratthani Oil Palm Research Center, Field and Renewable Energy Crops Research Institute, Department of Agriculture

*Corresponding author: s_konlasuk@outlook.co.th

| Received: 02 May 2025 | Revised: 20 November 2025 | Accepted: 3 December 2025

บทคัดย่อ

โครงการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันรอบที่ 3 ของกรมวิชาการเกษตร เป็นการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันเพื่อเพิ่มผลผลิตทะลายสดและผลผลิตน้ำมัน โดยได้คัดเลือกปาล์มน้ำมันแม่พันธุ์ดुरา (D) 23 สายพันธุ์ และพ่อพันธุ์เทเนอรา 17 สายพันธุ์ สำหรับสร้างคู่ผสม (D x T) การศึกษาครั้งนี้ดำเนินการตรวจสอบนิวคลีโอไทด์บนยีน MADS-box ในปาล์มน้ำมันพ่อแม่พันธุ์ดังกล่าว ทั้งนี้เพื่อใช้เป็นเครื่องหมายโมเลกุลสไนป์สคัดเลือกพ่อพันธุ์ฟิลิเฟอรา (P) และตรวจสอบความถูกต้องของการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมเทเนอรา (D x P) จากการตรวจสอบนิวคลีโอไทด์ ที่ตำแหน่งสไนป์ส SNPENG C (272) SNPTaYa (279) และ SNPLaAV (308) ด้วยเทคนิค Real-time PCR พบว่าแม่พันธุ์ดुरาทั้ง 23 สายพันธุ์ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์และมีนิวคลีโอไทด์เป็น T A และ C ที่สไนป์ส SNPENG C, SNPTaYa และ SNPLaAV ตามลำดับ พ่อพันธุ์เทเนอราสายพันธุ์ 398/925T 1446/412T 154/1233T 2/496T 4/1075T 5/170T 9/908T และ 10/815T มีสไนป์สที่ตำแหน่ง SNPTaYa เป็น A/T พ่อพันธุ์เทเนอราสายพันธุ์ 102/417T 197/654T 71/563T 1/481T และ 3/359T มีสไนป์สที่ตำแหน่ง SNPENG C เป็น T/C และพ่อพันธุ์เทเนอราสายพันธุ์ 49/86T 520/184T 6/207T และ 8/1027T มีสไนป์สที่ตำแหน่ง SNPLaAV เป็น C/A เครื่องหมายโมเลกุลสไนป์สที่ได้ในการศึกษาในครั้งนี้ ช่วยให้การคัดเลือกต้นพ่อฟิลิเฟอรา การผลิตพันธุ์ลูกผสมเทเนอราดีเด่น และการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันในรอบถัดไป มีความถูกต้อง แม่นยำ และก้าวหน้าได้เร็วขึ้น

คำสำคัญ: เครื่องหมายโมเลกุลสไนป์ส ดुरา เทเนอรา ยีน MADS-box การปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมัน

Abstract

The third oil palm breeding project conducted by the Department of Agriculture aims to improve fresh fruit bunch (FFB) and oil yield. In this study, 23 lines of maternal *Dura* and 17 lines

of paternal *Tenera* were selected to generate hybrid crosses (*Dura* × *Tenera*, D × T). The objective was to detect single nucleotide polymorphisms (SNPs) at specific positions within the MADS-box gene in parental palms and to utilize these SNP markers for identifying *Pisifera* pollen donors and validating the genetic identity of *Tenera* hybrid seeds. SNP detection at positions SNPENG (272), SNPTaYa (279), and SNPLaAV (308) was performed using the TaqMan real-time PCR technique. The maternal *Dura* palms showed no nucleotide variation at these positions, consistently displaying T, A, and C at SNPENG, SNPTaYa, and SNPLaAV, respectively. In contrast, the paternal *Tenera* lines exhibited SNP polymorphisms: eight lines (398/925T 1446/412T 154/1233T 2/496T 4/1075T 5/170T 9/908T and 10/815T) had an A/T genotype at SNPTaYa, five lines (102/417T 197/654T 71/563T 1/481T and 3/359T) had a T/C genotype at SNPENG, and four lines (49/86T 520/184T 6/207T and 8/1027T) had a C/A genotype at SNPLaAV. These SNP markers are promising tools for improving the precision of *Pisifera* parent selection and hybrid seed validation in oil palm breeding programs.

Keywords: SNP markers, *Dura*, *Tenera*, MADS-box gene, oil palm breeding

1. บทนำ

การปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันให้ได้พันธุ์ดี มีคุณภาพ และสอดคล้องกับความต้องการของอุตสาหกรรม เป็นหัวใจหลักของการพัฒนาปาล์มน้ำมันและน้ำมันปาล์ม ปาล์มน้ำมันแอฟริกัน (*Elaeis guineensis*) สามารถแยกความแตกต่างตามความหนาของกะลาได้เป็น ดูรา (*Dura*) ฟิสเฟอรา (*Pisifer*) และเทเนอรา (*Tenera*) โดยดูราติดผลดี ผลมีกะลาหนา เปอร์เซ็นต์น้ำมันต่อผลปานกลาง ฟิสเฟอรา มีดอกตัวเมียเป็นหมัน ทำให้ติดผลน้อยมาก ผลลีบ ไม่มีกะลา เปอร์เซ็นต์น้ำมันต่อผลสูง แต่เปอร์เซ็นต์น้ำมันต่อทะลายต่ำ และเทเนอราซึ่งเป็นลูกผสมระหว่างดูราและฟิสเฟอรา ผลมีกะลาบาง ติดผลดี เปอร์เซ็นต์น้ำมันต่อผลและเปอร์เซ็นต์น้ำมันต่อทะลายสูงกว่าดูรา (Corley and Tinker, 2016) ปาล์มน้ำมันเทเนอราจึงเป็นปาล์มน้ำมันที่ได้รับการส่งเสริมให้ปลูกเป็นการค้า กรมวิชาการเกษตรได้ดำเนินการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันอย่างต่อเนื่องตามโครงการวิจัยและพัฒนาปาล์มน้ำมันแห่งประเทศไทย (Escobar and Blaak, 1990) โดยการประยุกต์ใช้วิธีการคัดเลือกแบบวงจรสลับ (Reciprocal recurrent selection) (Department of Agriculture, 2005) ปัจจุบันกำลังดำเนินการโครงการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันรอบที่ 3 ทั้งนี้ปาล์มน้ำมันฟิสเฟอรา มีดอกตัวเมียเป็นหมัน ทำให้ไม่สามารถขยายพันธุ์ต้นพ่อพันธุ์ฟิสเฟอราได้ด้วยวิธีการผสมตัวเอง ดังนั้นโปรแกรมปรับปรุงพันธุ์แต่ละรอบจึงทดสอบคู่ผสมโดยใช้เทเนอราเป็นต้นพ่อแทนฟิสเฟอรา และสร้างสวนพ่อพันธุ์ฟิสเฟอราด้วยการผสมตัวเองของต้นพ่อพันธุ์เทเนอรา หลังจากนั้นเมื่อโปรแกรมปรับปรุงพันธุ์ดำเนินการเสร็จสิ้นในแต่ละรอบ จึงคัดเลือกคู่ผสมที่ดีเด่นมาผลิตลูกผสมเทเนอรา โดยคัดเลือกต้นพ่อฟิสเฟอราจากสวนพ่อพันธุ์ที่ได้ดำเนินการไว้มาเป็นต้นพ่อพันธุ์ผสมข้ามกับต้นแม่พันธุ์ดูรา เพื่อสร้างลูกผสมเทเนอราส่งต่อไปยังเกษตรกรต่อไป อย่างไรก็ตามการแยกความแตกต่างระหว่างฟิสเฟอราและเทเนอราเพื่อคัดเลือกต้นฟิสเฟอราจากสวนพ่อพันธุ์ที่ได้มาจากการผสมตัวเองของต้นเทเนอราโดยใช้ลักษณะสัญญาณวิทยานั้นทำได้ยาก บางครั้งปาล์มน้ำมันเทเนอรา มีการแสดงออกคล้ายกับปาล์มน้ำมันฟิสเฟอรา คือ มีผลลีบและไม่มีเนื้อใน หรือบางผลมีเนื้อในแต่มีกะลาบางมากคล้ายกับไม่มีกะลา ดังนั้นการใช้ลักษณะสัญญาณวิทยามาเป็นมาตรฐานการคัดเลือกเพียงอย่างเดียว จึงยังให้ประสิทธิภาพและความแม่นยำในการคัดเลือกไม่มากพอ ควรใช้

การคัดเลือกในระดับดีเอ็นเอเข้ามาร่วมด้วย เพื่อให้เกิดความแม่นยำมากขึ้น อีกทั้งยังสามารถตรวจสอบความถูกต้องของการผลิตเมล็ดพันธุ์และต้นกล้าพันธุ์ของลูกผสมเทเนอร์าได้อีกด้วย

มีรายงานการใช้เครื่องหมายโมเลกุลเพื่อศึกษาความหลากหลายและแยกความแตกต่างของปาล์มน้ำมันในระดับดีเอ็นเอ ได้แก่ RFLP (Mayes *et al.*, 1997) RAPD (Moretzsohn *et al.*, 2000; Sathish and Mohankumar, 2007) SSR (Billotte *et al.*, 2005) และ CAPS (Kalyana Babu *et al.*, 2017) เป็นต้น รวมทั้งมีการศึกษาลักษณะความหนาของกะลาในปาล์มน้ำมันซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับยีน MADS-box โดย Singh *et al.* (2013) ได้รายงานไว้ว่าการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์หรือสโนปส์ (Single nucleotide polymorphism; SNPs) บางตำแหน่งบนยีน MADS-box มีความจำเพาะในปาล์มน้ำมัน เช่นเดียวกับ Urairong *et al.* (2017) ค้นพบสโนปส์บริเวณยีน MADS-box ในเชื้อพันธุ์กรรมปาล์มน้ำมันของกรมวิชาการเกษตร จึงได้พัฒนาไพรเมอร์และโพรบที่จำเพาะต่อสโนปส์แต่ละตำแหน่ง ได้แก่ SNPENG C (272) SNPTaYa (279) และ SNPLaAV (308) เพื่อใช้แยกความแตกต่างของปาล์มน้ำมันดูรา เทเนอร์า และฟิสิเฟอร่า

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง SNPENG C (272) SNPTaYa (279) และ SNPLaAV (308) บนยีน MADS-box ในปาล์มน้ำมันแม่พันธุ์ดูราและพ่อพันธุ์เทเนอร์าที่ใช้สร้างคู่ผสมในโครงการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันรอบที่ 3 ของกรมวิชาการเกษตร เพื่อใช้เป็นเครื่องหมายโมเลกุลสโนปส์ในการคัดเลือกต้นพ่อพันธุ์ฟิสิเฟอร่าและตรวจสอบความถูกต้องของการผลิตเมล็ดพันธุ์และต้นกล้าพันธุ์ของลูกผสมเทเนอร์า รวมทั้งเป็นเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับการตรวจสอบเชื้อพันธุ์กรรมเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันต่อไป

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 เชื้อพันธุ์กรรมปาล์มน้ำมัน

การทดลองนี้ทำการศึกษาในปาล์มน้ำมันแม่พันธุ์ดูราและพ่อพันธุ์เทเนอร์าที่ใช้เพื่อสร้างคู่ผสมในขั้นตอนการทดสอบคู่ผสม โครงการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันรอบที่ 3 ของกรมวิชาการเกษตร

ปาล์มน้ำมันแม่พันธุ์ดูราที่ใช้ในการสร้างคู่ผสมในโครงการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันรอบที่ 3 ของกรมวิชาการเกษตร จำนวน 23 สายพันธุ์ เป็นดูรากลุ่มพันธุ์ Deli จำนวน 21 สายพันธุ์ ได้แก่ 162/543D, 165/501D, 301/427D, 302/470D, 305/497D, 308/414D, 238/752D, 245/12D, 269/472D, 275/1066D, 278/454D, 282/14D, 297/3D, 306/3148D, 217/1562D, 219/1543D, 242/244D, 203/1606D, 201/742D, 236/14D และ 220/439D และกลุ่มพันธุ์ kzemba-Deli จำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ 199/357D และ 227/229D

ปาล์มน้ำมันพ่อพันธุ์เทเนอร์าที่ใช้ในการสร้างคู่ผสมในโครงการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันรอบที่ 3 ของกรมวิชาการเกษตร จำนวน 17 สายพันธุ์ ได้แก่ 398/925T, 102/417T, 49/86T, 197/654T, 71/563T, 1446/412T, 520/184T, 154/1233T, 1/481T, 2/496T, 3/359T, 4/1075T, 5/170T, 6/207T, 8/1027T, 9/908T และ 10/815T (Table 1)

Table 1 The sources of paternal *Tenera* lines.

Paternal			
<i>Tenera</i> line	Parental pair	Parental pair background	Parent type
398/925T	159/398T self	TAN544:137T x TAN544:180T	Tanzania -Tanzania
5/170T	159/398T x 117/88T	(TAN544:137T x TAN544:180T) x (TAN544:180T self)	(Tanzania-Tanzania) x Tanzania
1446/412T	122/1446T self	IRH629:316T x HC129:1009P	Calabar-AVROS
154/1233T	125/154T self	(DAM588:368T x HC129:1009P)	Calabar-AVROS
10/815T	122/1446T x 129/1426T	(IRH629:316T x HC129:1009P) x (IRH618:158T x HC129:1056P)	(Calabar-AVROS) x (LaMe- AVROS)
49/86T	101/49T self	HC129:933T	AVROS
520/184T	139/520T self	IRH621:31T x IRH629:316T	LaMe-Calabar
6/207T	139/520T x 122/1446T	(IRH621:31T x IRH629:316T) x (IRH629:316T x HC129:1009P)	(LaMe-Calabar) x (Calabar- AVROS)
8/1027T	138/391T x 139/520T	(IRH618:158T x IRH619:26T) x (IRH621:31T x IRH629:316T)	LaMe x (LaMe-Calabar)
102/417T	140/102T self	GHA608:504T x C9023:73T	Nigeria-Yangambi
1/481T	140/102T x 122/427T	(GHA608:504T x C9023:73T) x C9023:73T self)	(Nigeria-Yangambi) x Yangambi
3/359T	132/1415 x 140/102T	(C9023:73T x HC129:1056P) x (GHA608:504T x C9023:73T)	(Yangmbi-AVROS) x (Nigeria- Yangambi)
9/908T	140/102T x 122/1446T	(GHA608:504T x C9023:73T) x (IRH629:316T x HC129:1009P)	(Nigeria-Yangambi) x (Calabar-AVROS)
2/496T	132/1415T x 122/427T	(C9023:73T x HC129:1056P) x (C9023:73T self)	(Yangmbi-AVROS) x (Yangmbi)
4/1075T	141/158T x 125/154T	(DAM588:368T x DAM585:343T) x (DAM588:368T x HC129:1009P)	(DAMI x DAMI) x (DAMI- AVROS)
197/654T	114/197T self	GHA648 self	Ghana
71/563T	136/71T self	(CAM235:511T x CAM236:64T)	(Ekona x Ekona)

2.2 การตรวจสอบนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่งสนิปส์ SNPENG C SNPTaYa และ SNPLaAV บนยีน MADS-box
ตรวจสอบนิวคลีโอไทด์บนยีน MADS-box ที่ตำแหน่ง SNPENG C SNPTaYa และ SNPLaAV ด้วยเทคนิค
Real-time PCR โดยใช้เทคโนโลยี TaqMan SNP Genotyping (Uairong *et al.*, 2017) ตามขั้นตอนดังนี้
การสกัดดีเอ็นเอ

สกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างใบปาล์มน้ำมันโดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์ CTAB (Cetyltrimethylammonium
bromide) (Doyle and Doyle, 1990) ตรวจสอบปริมาณและคุณภาพดีเอ็นเอที่สกัดได้โดยวัดค่าการดูดกลืนแสง

ที่ช่วงคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer คำนวณค่าการดูดกลืนแสงที่ได้กลับมาเป็นปริมาณดีเอ็นเอ

การเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยเทคนิค Real-time PCR

เจือจางดีเอ็นเอที่ทราบปริมาณแล้วด้วย TE (Tris-EDTA) buffer ให้มีความเข้มข้น 50 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร เพื่อใช้เป็นดีเอ็นเอแม่พิมพ์ในการทำ Real-time PCR โดยใช้ไพรเมอร์และโพรบ 3 ชุด ที่จำเพาะต่อนิวคลีโอไทด์ทั้ง 3 ตำแหน่ง บนยีน MADS-box ดังนี้

ชุดที่ 1 ไพรเมอร์และโพรบที่จำเพาะต่อนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง SNPENG C

ไพรเมอร์เส้นที่ 1 Forward primer: 5'-GCCGGCAGGTCACCTTTCT-3'

ไพรเมอร์เส้นที่ 2 Reverse primer: 5'-GGAGAAGACAATAAGGGCAACCT-3'

โพรบเส้นที่ 1 Hybridization probe: VIC-5'-AAATGGACTGCTGAAGAA-Q-(MQB)-3'

โพรบเส้นที่ 2 Hybridization probe: FAM-5'-TGGACTGCCGAAGAA-Q-(MQB)-3'

ชุดที่ 2 ไพรเมอร์และโพรบที่จำเพาะต่อนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง SNPTaYa

ไพรเมอร์เส้นที่ 1 Forward primer: 5'-GCCGGCAGGTCACCTTTCT-3'

ไพรเมอร์เส้นที่ 2 Reverse primer: 5'-GGAGAAGACAATAAGGGCAACCT-3'

โพรบเส้นที่ 1 Hybridization probe: VIC-5'-CAACTCATAAGCTTTCTTC-Q-(MQB)-3'

โพรบเส้นที่ 2 Hybridization probe: FAM-5'-CTCATAAGCATTCTTC-Q-(MQB)-3'

ชุดที่ 3 ไพรเมอร์และโพรบที่จำเพาะต่อนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง SNPLaAV

ไพรเมอร์เส้นที่ 1 Forward primer: 5'-GCCGGCAGGTCACCTTTCT-3'

ไพรเมอร์เส้นที่ 2 Reverse primer: 5'-CCGGCTGGAGAAGACAATAAGG-3'

โพรบเส้นที่ 1 Hybridization probe: VIC-5'-CTTTGTGATGCTGAGGTT-Q-(MQB)-3'

โพรบเส้นที่ 2 Hybridization probe: FAM-5'-CTTTGTGATGATGAGGTT-Q-(MQB)-3'

ทำปฏิกิริยา PCR ด้วยปริมาตรรวม 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วย 2xTaq Man® Genotyping master mix ปริมาตร 10 ไมโครลิตร 20x Assay primer and probe ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ดีเอ็นเอแม่พิมพ์ปริมาตร 1 ไมโครลิตร น้ำกลั่นปริมาตร 8 ไมโครลิตร ตั้งอุณหภูมิปฏิกิริยา 2 ระดับ คือ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที จำนวน 1 รอบ ตามด้วยอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วินาที และ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 วินาที จำนวน 40 รอบ

3. ผลการทดลอง

การทดลองครั้งนี้เป็นการตรวจสอบนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่งสนิปส์บนยีน MADS-box 3 ตำแหน่ง ได้แก่ ตำแหน่ง SNPENG C (272) SNPTaYa (279) และ SNPLaAV (308) (Urairong *et al.*, 2017) ด้วยเทคนิค Real-time PCR โดยใช้เทคโนโลยี TaqMan SNP Genotyping ในปาล์มน้ำมันแม่พันธุ์และพ่อพันธุ์ที่ใช้เพื่อการสร้างคู่ผสม (D xT) ในขั้นตอนการทดสอบคู่ผสม โครงการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันรอบที่ 3 ของกรมวิชาการเกษตร ได้แก่ แม่พันธุ์ดูรา 23 สายพันธุ์ และพ่อพันธุ์เทเนอร่า 17 สายพันธุ์ ซึ่งปลูกรวบรวมไว้ ณ ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี

นิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง SNPENG C SNPTaYa และ SNPLaAV บนยีน MADS-box ในปาล์มน้ำมันแม่พันธุ์ดูรา

ปาล์มน้ำมันแม่พันธุ์ดราฟท์ 23 สายพันธุ์ เป็นดราฟท์กลุ่มพันธุ์ Deli 21 สายพันธุ์ และ kazemba 2 สายพันธุ์ ผลการตรวจสอบนิวคลีโอไทด์พบว่า ไม่มีการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์บนสปีส์ทั้ง 3 ตำแหน่ง โดยมีนิวคลีโอไทด์บนตำแหน่ง SNPENG C SNPTaYa และ SNPLaAV เป็น T A และ C ตามลำดับ (Table 2 และ Figure 1) สอดคล้องกับรายงานของ Urairong *et al.* (2017) ที่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์บนตำแหน่งสปีส์ทั้ง 3 ตำแหน่งนี้ ในปาล์มน้ำมันดราฟท์ของกลุ่มพันธุ์ Deli Dami Ekona Ghana LaMe Nigeria Tanzania Yangambi AVROS และ Calabar

นิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง SNPENG C SNPTaYa และ SNPLaAV บนยีน MADS-box ในปาล์มน้ำมันพ่อพันธุ์เทนอรา

จากการตรวจสอบนิวคลีโอไทด์พบว่า ปาล์มน้ำมันพ่อพันธุ์เทนอราแต่ละสายพันธุ์มีการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์ และมีนิวคลีโอไทด์แต่ละตำแหน่งแตกต่างกันขึ้นกับกลุ่มพันธุ์และที่มาของสายพันธุ์นั้น ๆ กล่าวคือ พ่อพันธุ์เทนอราสายพันธุ์ 398/925T และ 5/170T เป็นปาล์มน้ำมันกลุ่มพันธุ์ Tanzania โดยสายพันธุ์ 398/925T ได้มาจากเทนอรา 159/398T กลุ่มพันธุ์ Tanzania ผสมตัวเอง ส่วนสายพันธุ์ 5/170T ได้มาจาก 159/398T (Tanzania) ผสมข้ามกับเทนอราสายพันธุ์ 117/88T (Tanzania) ผลการตรวจสอบนิวคลีโอไทด์ พบว่า 398/925T และ 5/170T มีนิวคลีโอไทด์บนตำแหน่ง SNPENG C SNPTaYa และ SNPLaAV เป็น T A/T และ C ตามลำดับ มีการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง SNPTaYa (Table 2 และ Fig. 1)

พ่อพันธุ์เทนอราสายพันธุ์ 1446/412T เป็นปาล์มน้ำมันกลุ่มพันธุ์ Calabar-AVROS ได้มาจากเทนอรา 122/1446T Calabar-AVROS) ผสมตัวเอง ส่วนสายพันธุ์ 154/1233T ได้มาจากเทนอรา 125/154T (DAMI-AVROS) ผสมตัวเอง และสายพันธุ์ 10/815T ได้มาจากเทนอรา 122/1446T (Calabar-AVROS) ผสมข้ามกับเทนอรา 129/1426T (LaMe-AVROS) ผลการตรวจสอบนิวคลีโอไทด์ พบว่าพ่อพันธุ์เทนอราทั้ง 3 สายพันธุ์มีนิวคลีโอไทด์บนตำแหน่ง SNPENG C SNPTaYa และ SNPLaAV เป็น T A/T และ C ตามลำดับ มีการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง SNPTaYa โดยสายพันธุ์ 1446/412T ได้รับอัลลีล A มาจาก Calabar และอัลลีล T มาจาก AVROS (HC129:1009P) สายพันธุ์ 154/1233T ได้รับอัลลีล A มาจาก DAMI และอัลลีล T มาจาก AVROS (HC129:1009P) และสำหรับสายพันธุ์ 10/815T มีความเป็นไปได้ 3 รูปแบบ คือ อัลลีล A มาจาก Calabar และอัลลีล T มาจาก AVROS (HC129:1056P) หรือ อัลลีล A มาจาก LaMe และอัลลีล T มาจาก AVROS (HC129:1009P) หรือ อัลลีล A มาจาก AVROS (HC129:1056P) และอัลลีล T มาจาก AVROS (HC129:1009P) (Table 2 และ Fig. 1)

พ่อพันธุ์เทนอราสายพันธุ์ 49/86T เป็นปาล์มน้ำมันกลุ่มพันธุ์ AVROS ได้มาจากเทนอรา 101/49T (HC129:933T; AVROS) ผสมตัวเอง พบว่ามีนิวคลีโอไทด์บนตำแหน่ง SNPENG C SNPTaYa และ SNPLaAV เป็น T A และ C/A ตามลำดับ และมีการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง SNPLaAV เช่นเดียวกับพ่อพันธุ์เทนอราสายพันธุ์ 520/184T ได้มาจากเทนอรา 139/520T (LaMe-Calabar) ผสมตัวเอง ส่วนพ่อพันธุ์เทนอราสายพันธุ์ 6/207T ได้มาจากเทนอรา 139/520T (LaMe-Calabar) ผสมข้ามกับเทนอรา 122/1446T (Calabar-AVROS) และพ่อพันธุ์เทนอราสายพันธุ์ 8/1027T ได้มาจากเทนอรา 138/391T (LaMe) ผสมข้ามกับเทนอรา 139/520T (LaMe-Calabar) ผลการตรวจสอบนิวคลีโอไทด์ พบว่าพ่อพันธุ์เทนอราทั้ง 3 สายพันธุ์มีนิวคลีโอไทด์บนตำแหน่ง SNPENG C SNPTaYa และ SNPLaAV เป็น T A และ C/A ตามลำดับ และมีการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง SNPLaAV โดยสายพันธุ์ 520/184T ได้รับอัลลีล C มาจาก Calabar และอัลลีล A ได้รับมาจาก LaMe สายพันธุ์ 6/207T ได้รับอัลลีล C มาจาก Calabar หรือ AVROS (HC129:1009P) ส่วนอัลลีล A มาจาก LaMe และ

สายพันธุ์ 8/1027T ได้รับอัลลีล C มาจาก LaMe หรือ Calabar ส่วนอัลลีล T ได้รับมาจาก LaMe (Table 2 และ Fig. 1)

Table 2 Nucleotides at SNPENG SNPTaYa and SNPLaAV on MADS-box gene obtained from maternal *Dura* and paternal *Tenera*.

Oil palm	Nucleotide		
	SNPENG	SNPTaYa	SNPLaAV
Maternal <i>Dura</i> , 23 lines	T	A	C
Paternal <i>Tenera</i> , 17 lines			
398/925T	T	A/T	C
5/170T	T	A/T	C
1446/412T	T	A/T	C
154/1233T	T	A/T	C
10/815T	T	A/T	C
49/86T	T	A	C/A
520/184T	T	A	C/A
6/207T	T	A	C/A
8/1027T	T	A	C/A
102/417T	T/C	A	C
1/481T	T/C	A	C
3/359T	T/C	A	C
9/908T	T	A/T	C
2/496T	T	A/T	C
4/1075T	T	A/T	C
197/654T	T/C	A	C
71/563T	T/C	A	C

พ่อพันธุ์เทเนอราสายพันธุ์ 102/417T ได้มาจากเทเนอรา 140/102T (Nigeria-Yangambi) ผสมตัวเอง พ่อพันธุ์เทเนอราสายพันธุ์ 1/481T ได้มาจากเทเนอรา 140/102T (Nigeria-Yangambi) ผสมข้ามกับ 122/427T (Yangambi) และพ่อพันธุ์เทเนอราสายพันธุ์ 3/359T ได้มาจากเทเนอรา 132/1415 (Yangambi-AVROS) ผสมข้ามกับเทเนอรา 140/102T (Nigeria-Yangambi) ผลการตรวจสอบนิวคลีโอไทด์ พบว่าพ่อพันธุ์เทเนอราทั้ง 3 สายพันธุ์มีนิวคลีโอไทด์บนตำแหน่ง SNPENG SNPTaYa และ SNPLaAV เป็น T/C A และ C ตามลำดับ มีการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง SNPENG โดยทั้ง 3 สายพันธุ์ได้รับอัลลีล T มาจาก Yangambi และอัลลีล C มาจาก Nigeria (Table 2 และ Fig. 1)

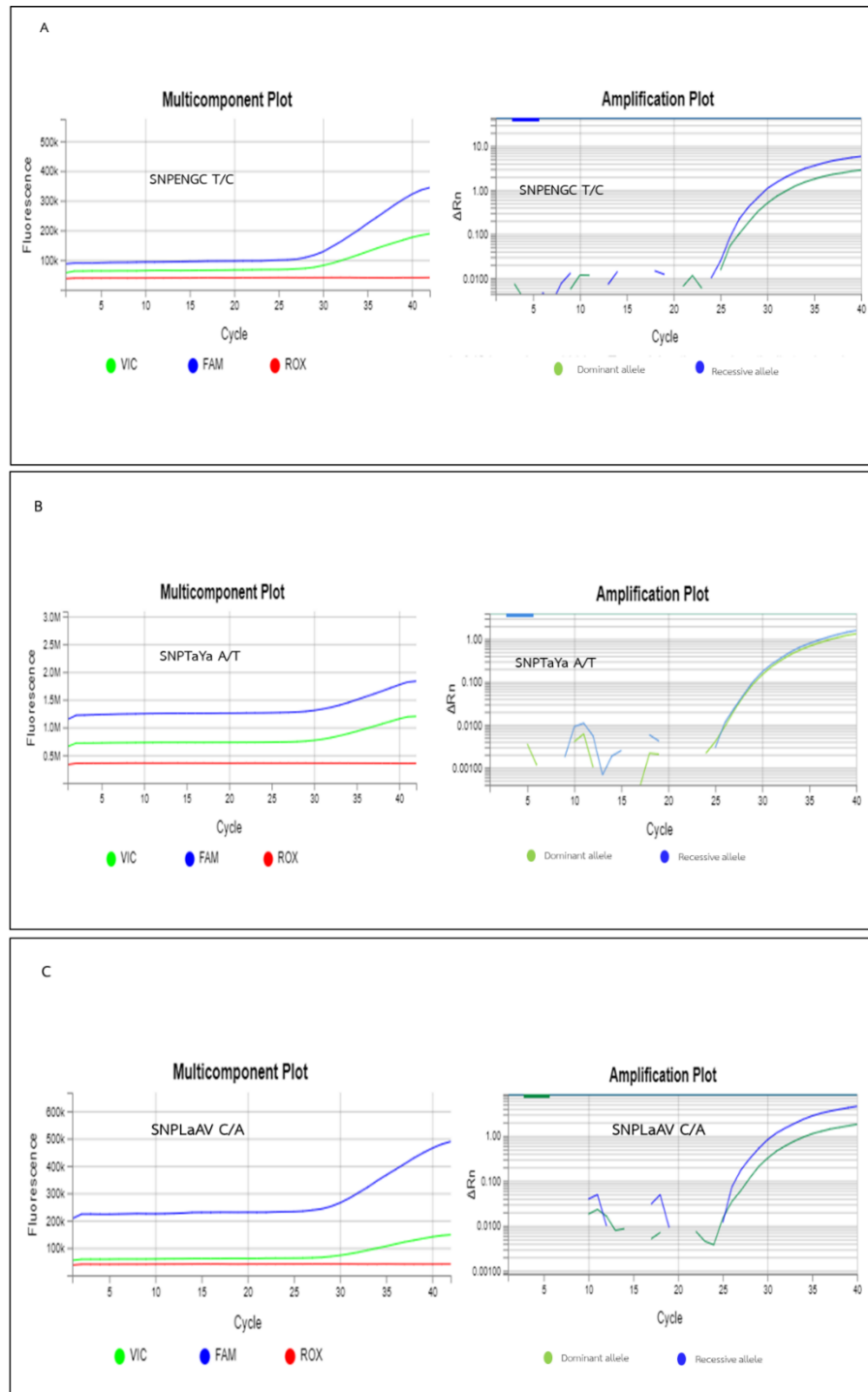


Figure 1 Multicomponent plot and amplification plot of real-time PCR obtained from paternal Tenera palms, allele T/C at SNPENG C (A), allele A/T at SNPTaYa (B), and allele C/A at SNPLaAV (C).

พ่อดพันธุ์เทเนอราสายพันธุ์ 9/908T ได้มาจากเทเนอรา 140/102T (Nigeria-Yangambi) ผสมข้ามกับเทเนอรา 122/1446T (Calabar-AVROS) ผลการตรวจสอบนิวคลีโอไทด์ พบว่ามีนิวคลีโอไทด์บนตำแหน่ง SNPENG SNPTaYa และ SNPLaAV เป็น T A/T และ C ตามลำดับ มีการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง SNPTaYa ซึ่งมีความเป็นไปได้ คือ อัลลีล A มาจาก Nigeria หรือ Yangambi และอัลลีล T มาจาก AVROS (HC129:1009P) หรือ อัลลีล A มาจาก AVROS (HC129:1009P) หรือ Calabar และอัลลีล T มาจาก Yangambi เช่นเดียวกับพ่อดพันธุ์เทเนอราสายพันธุ์ 2/496T ได้มาจากเทเนอรา 132/1415 (Yangambi-AVROS) ผสมข้ามกับเทเนอรา 122/427T (Yangambi) ผลการตรวจสอบนิวคลีโอไทด์ พบว่ามีนิวคลีโอไทด์บนตำแหน่ง SNPENG SNPTaYa และ SNPLaAV เป็น T A/T และ C ตามลำดับ มีการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง SNPTaYa โดยอัลลีล A มาจาก Yangambi ส่วนอัลลีล T มาจาก Yangambi หรือ AVROS (HC129:1056P) และพ่อดพันธุ์เทเนอราสายพันธุ์ 4/1075T ได้มาจากเทเนอรา 141/158T (DAMI) ผสมข้ามกับเทเนอรา 125/154T (DAMI-AVROS) ผลการตรวจสอบนิวคลีโอไทด์ พบว่ามีนิวคลีโอไทด์บนตำแหน่ง SNPENG SNPTaYa และ SNPLaAV เป็น T A/T และ C ตามลำดับ มีการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง SNPTaYa โดยอัลลีล A มาจาก DAMI ส่วนอัลลีล T มาจาก AVROS (HC129:1009P) (Table 2 และ Fig. 1)

พ่อดพันธุ์เทเนอราสายพันธุ์ 197/654T ได้มาจากเทเนอรา 114/197T (Ghana) ผสมตัวเอง มีนิวคลีโอไทด์บนตำแหน่ง SNPENG SNPTaYa และ SNPLaAV เป็น T/C A และ C ตามลำดับ มีการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง SNPENG ส่วนพ่อดพันธุ์เทเนอราสายพันธุ์ 71/563T ได้มาจากเทเนอรา 136/71T (Ekona) ผสมตัวเอง มีนิวคลีโอไทด์บนตำแหน่ง SNPENG SNPTaYa และ SNPLaAV เป็น T/C A และ C ตามลำดับ มีการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง SNPENG เช่นกัน (Table 2 และ Fig. 1)

4. วิจารณ์ผลการทดลอง

สนิปส์เป็นการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์ที่สามารถเกิดขึ้นได้ภายในสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกันหรือเกิดขึ้นระหว่างคู่โครโมโซมของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ (Riju and Arunachalam, 2009) ปาล์มน้ำมันกลุ่มพันธุ์ Calabar Nigeria Ghana และ Ekona มีการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง SNPENG ปาล์มน้ำมันกลุ่มพันธุ์ Tanzania และ Yangambi มีการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง SNPTaYa และปาล์มน้ำมันกลุ่มพันธุ์ LaMe มีการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง SNPLaAV ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Urairong *et al.* (2017) นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์ในปาล์มน้ำมันกลุ่มพันธุ์ Tanzania ที่ได้จากการทดลองครั้งนี้ยังสอดคล้องกับรายงานของ Signh *et al.* (2013) ซึ่งรายงานไว้ว่า ปาล์มน้ำมันเทเนอรากลุ่มพันธุ์ Tanzania มีนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง 279 (SNPTaYa) เป็น A/T และปาล์มน้ำมันเทเนอรากลุ่มพันธุ์ Nigeria มีนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง 272 (SNPENG) เป็น T/C

ปาล์มน้ำมันฟิลิปปินเอสายพันธุ์ HC129:1009P และ HC129:1056P ซึ่งเป็นปาล์มน้ำมันกลุ่มพันธุ์ AVROS และเป็นพี่น้องกับปาล์มน้ำมันเทเนอราสายพันธุ์ HC129:933T ทั้งสามสายพันธุ์นี้มาจาก Family เดียวกัน คือ HC129 (Escobar and Blaak, 1990) จากผลการตรวจสอบนิวคลีโอไทด์ในพ่อดพันธุ์เทเนอราสายพันธุ์ 1446/412T 154/1233T 10/815T 2/496T 9/908T และ 4/1075T ทำให้ทราบได้ว่าเทเนอราที่เกี่ยวข้องกับฟิลิปปินเอสายพันธุ์ HC129:1009P และ HC129:1056P มีสนิปส์ที่ตำแหน่งเดียวกัน คือ SNPTaYa ส่วนผลการตรวจสอบนิวคลีโอไทด์จากสายพันธุ์ 49/86T ทำให้ทราบว่าปาล์มน้ำมันเทเนอราที่เกี่ยวข้องกับเทเนอราสายพันธุ์ HC129:933T มีสนิปส์ที่ตำแหน่ง SNPLaAV ซึ่งให้เห็นว่าประชากรปาล์มน้ำมันกลุ่มพันธุ์ AVROS ใน Family HC129 มีสนิปส์เกิดขึ้นอย่างน้อย 2 ตำแหน่ง ผลการศึกษานี้เป็นการค้นพบเพิ่มเติมจากรายงานของ Urairong

et al. (2017) ที่รายงานไว้ว่า ปาล์มน้ำมันกลุ่มพันธุ์ AVROS ของกรมวิชาการเกษตรมีสปีส์เกิดขึ้นที่ตำแหน่ง SNPLaAV เพียงตำแหน่งเดียว อย่างไรก็ตาม *Sign et al.* (2013) ได้รายงานไว้ว่า ปาล์มน้ำมันฟิลิปปินส์ AVROS มีการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์จาก A เป็น T ที่ตำแหน่ง 279 (SNPTaYa) เช่นกัน

การเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่งสปีส์อย่างน้อย 2 ตำแหน่ง บนยีน MADS-box นี้มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโน ดังรายงานของ *Signh et al.* (2013) ที่รายงานไว้ว่าการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์จาก A เป็น T ในฟิลิปปินส์ของปาล์มน้ำมันกลุ่มพันธุ์ Tanzania ทำให้กรดอะมิโนบน domain ของ MADS-box DNA binding และ dimerization เปลี่ยนจาก Lysine เป็น Asparagine และการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์จาก T เป็น C ในฟิลิปปินส์ของปาล์มน้ำมันกลุ่มพันธุ์ Nigeria ทำให้กรดอะมิโนเปลี่ยนจาก Leucine เป็น Proline ดังนั้นจึงถือได้ว่าการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่งสปีส์ดังกล่าวเป็นไปในลักษณะ nonsynonymous (Riju and Arunachalam, 2009)

5. สรุปผลการทดลอง

นิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง SNPTaYa (A/T)) มีความจำเพาะกับพ่อพันธุ์เทเนอราสายพันธุ์ 398/925T 1446/412T 154/1233T 2/496T 4/1075T 5/170T 9/908T และ 10/815T นิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง SNPENG (T/C) มีความจำเพาะกับพ่อพันธุ์เทเนอราสายพันธุ์ 102/417T 197/654T 71/563T 1/481T และ 3/359T และ นิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง SNPLaAV (C/A) มีความจำเพาะกับพ่อพันธุ์เทเนอราสายพันธุ์ 49/86T 520/184T 6/207T และ 8/1027T โดยเครื่องหมายโมเลกุลสปีส์ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ สามารถช่วยให้การคัดเลือกต้นพ่อพันธุ์เพอรา การผลิตพันธุ์ลูกผสมเทเนอราดีเด่น และการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันในรอบถัดไป มีความถูกต้อง แม่นยำ และก้าวหน้าได้เร็วขึ้น ทั้งนี้เพื่อความถูกต้องควรดำเนินการควบคู่ไปกับการตรวจสอบรายละเอียดประวัติพันธุ์และควรให้ผลสอดคล้องกัน

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม (สกว.) และกรมวิชาการเกษตร ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณในการวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- Billotte, N., Marseillac, N., Risterucci, A.M., Adon, B., Brottier, P., Baurens, F.C., Singh, R., Herran, A., Asmady, H., Durand-Gasselin, T., Courtois, B., Asmono, D., Cheah, C.S., Rohde, W., Ritter, E., and Charrier, A. (2005). Microsatellite-based high density linkage map in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Theoretical and Applied Genetics*, 110, 754–765. <http://doi:10.1007/s00122-004-1901-8>
- Corley, R.H.V., and Tinker, P.B. (2016). *The Oil Palm*. Hoboken: Wiley-Blackwell.
- Department of Agriculture. (2005). *Oil Palm*. Bangkok: Dokya. (in Thai)
- Doyle, J.J., and Doyle, J.L. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12, 13–15.
- Escobar, R., and Blaak, A. (1990). Thailand oil palm breeding programs. Thailand Oil Palm Research and Development Project.

- Kalyana Babu, B.K., Mathur, R.K., Kumar, P.N., Ramajayam, D., Ravichandran, G., Venu MVB, and Sparjan Babu, S. (2017). Development, identification and validation of CAPS marker for SHELL trait which governs dura, pisifera and tenera fruit forms in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). PLoS ONE, 12, e0171933. <http://doi:10.1371/journal.pone.0171933>
- Mayes, S., Jack, P.L., and Corley, R.H.V. (1997). Construction of a RFLP genetic linkage map for oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). Genome, 40, 116–122. <http://doi:10.1139/g97-016>
- Moretzsohn, M.C., Nunes, C.D.M., Ferreira, M.E., and Grattapaglia, D. (2000). RAPD linkage mapping of the shell thickness locus in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). Theoretical and Applied Genetics, 100, 63–70. <https://doi.org/10.1007/s001220050009>
- Riju, A., Arunachalam, V. (2009). Interspecific differences in single nucleotide polymorphisms (SNPs) and indels in expressed sequence tag libraries of oil palm *Elaeis guineensis* and *E. oleifera*. Nature Preceding. <https://doi.org/10.1038/npre.2009.3593.2>
- Sathish, D.K., 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.
- Singh, R., Low, E-T.L., Ooi, L.C-L., Ong-Abdullah, M., Chin, T.N., Nagappan, J., Nookiah, R., Amiruddin, M.D., Rosli, R., Manaf, M.A.A., Chan, K-L., Halim, M.A., Azizi, N., Lakey, N., Smith, S.W., Budiman, M.A., Hogan, M., Bacher, B., Brunt, A.V., Wang, C., Ordway, J.M., Sambanthamurthi, R., and Martienssen, R.A. (2013). The oil palm *Shell* gene controls oil yield and encodes a homologue of SEEDSTICK. Nature, 15, 340–344. <http://doi:10.1038/nature12356>
- Urairong, H., Wongsri, O., and Jaroensati Tanaka, N. (2017). Molecular marker for analysis of genetics diversity and identification of oil palm hybrid varieties. Thai Agricultural Research Journal, 35, 117–135. <http://doi.org/10.14456/thaidoa-agres.2017.9> (in Thai)

Disclaimer: The opinions expressed in the articles are solely those of the authors and do not necessarily reflect the views of the editorial board or the Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University.