

พันธุกรรมของไม้พะยุง *Dalbergia cochinchinensis* Pierre
Genetics of the Thai Rosewood, *Dalbergia cochinchinensis* Pierre

นลินี รุ่งเรืองศรี¹ และ ทูเรียน ทาเจริญ¹

Nalinee Roongruangsree and Turean Tacharoen

¹ หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิตสาขาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

บทคัดย่อ

รายงานการศึกษาค้นคว้าความหลากหลายทางพันธุกรรมของไม้พะยุง ซึ่งเป็นไม้ป่าเนื้อแข็งคุณภาพสูงที่มีถิ่นเฉพาะอยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยและประเทศเพื่อนบ้านแถบอินโดจีน ผลจากวิธีการทางไซโตเจเนติกส์ชี้ว่าเนื้อเยื่อจากปลายรากและยอดอ่อนของต้นกล้าไม้พะยุงมีจำนวนโครโมโซม $2n=20$ และมีรูปร่างโครโมโซมขนาดเล็ก เทคนิคที่ให้ผลดีคือ การแยกโปรโตพลาสต์แล้วย้อมโครโมโซมด้วยสี Giemsa หรือสีฟลูออเรสเซนต์ DAPI ได้ทดลองวิธีที่ใช้เทคนิค FISH กับโพรบยาวประมาณ 750 คู่เบสที่มีลำดับ ITS (internal transcribed spacers) ซึ่งเป็นส่วนของยีน rRNA เป็นครั้งแรก ผลการวิเคราะห์ดีเอ็นเอที่ใช้ปฏิกิริยาพีซีอาร์สามารถจำแนกไม้พะยุงออกจากไม้สกุลใกล้เคียง (*Dalbergia*) ชนิดอื่น โดยวิธี PCR-RFLP ที่ใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ *RsaI* และ *MspI* ตัดบริเวณ ITS การพยายามจำแนกไม้พะยุงโดยเทคนิค RAPD ได้ผลน้อยและไม่คงที่ การวิเคราะห์โดยเทคนิค PCR-RFLP กับส่วนหนึ่ง (1400 คู่เบส) ของยีน *rbcL* ในคลอโรพลาสต์พบว่า ไม่มีความแตกต่างระหว่างตัวอย่างไม้พะยุงจากต่างถิ่นในภาคอีสาน (จ.อุบลราชธานี จ.สุรินทร์ จ.อุดรธานี) ในการเตรียมตัวอย่างดีเอ็นเอสามารถใช้เนื้อเยื่อด้านในจากเปลือกของลำต้นแทนใบได้ แม้จะมีสารเจือปนอยู่บ้าง การศึกษาหาความหลากหลายทางพันธุกรรมเพื่อการอนุรักษ์ไม้ชนิดนี้ไม่ให้สูญพันธุ์คงต้องปรับปรุงวิธีการและอาศัยเครื่องหมายโมเลกุลอย่างอื่นอีก

คำสำคัญ: โครโมโซมของไม้พะยุง การสกัด DNA ของไม้พะยุง เทคนิค PCR-RFLP และ RAPD

Abstract

Preliminary investigation of genetic diversity of the Thai rosewood (Payoong; *Dalbergia cochinchinensis*) the high-quality hardwood tree geographically distributed only in the Northeast of Thailand and neighboring Indochina was conducted. Cytogenetic techniques revealed the chromosome number of $2n=20$ and a karyotype of small-sized chromosomes (1-10 μm) by protoplast dropping protocol followed by Giemsa and DAPI staining. FISH was attempted with the labeled probe (about 750 bp) obtained from the PCR-amplified ITS of ribosomal RNA genes. PCR-based DNA RFLP analysis using *RsaI* and *MspI* distinguished *D. cochinchinensis* from other *Dalbergia* species. RAPD technique showed a few and inconsistent results with limited random primers. Efforts were made to detect any differences in the PCR-amplified region (1400 bp) of the chloroplast *rbcL* gene by *AluI*, *RsaI*, and *MspI* enzymic digestion. All *Dalbergia cochinchinensis* DNA samples of different provincial origins from the Northeast showed the same fragment patterns. In this study DNA extracted from readily available bark-lining tissues as well as leaves were used in spite of some phenolic compound contaminants. Future studies in search of genetic diversity for conservation of this threatened forest tree would require some technical improvement and more extensive molecular research.

Key words: chromosomes of *Dalbergia cochinchinensis*, DNA extraction, PCR-RFLP and RAPD