รหัสโครงการ SUT1-1-104-48-12-30

รายงานการวิจัย

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของต้นลานในประเทศไทย ด้วยการใช้เทคนิค AFLP

(Genetic Diversity and Variation among Thai *Corypha* Populations as Revealed by AFLP Markers)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ดร.พงศ์เทพ สุวรรณวารี

สาขาวิชาชีววิทยา

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ปีงบประมาณ พ.ศ. 2548

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

ตุลาคม 2553

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยชิ้นนี้สำเร็จได้ด้วยการช่วยเหลือของบุคคล และหน่วยงานหลาย ๆ แห่ง ขอขอบคุณ พัฒนา สมนิยาม และนักศึกษาบัณฑิตศึกษาสาขาวิชาชีววิทยาสิ่งแวดล้อมที่ช่วยเหลือในการออกสำรวจ และเก็บตัวอย่างภาคสนาม เจ้าหน้าที่ของอุทยานแห่งชาติทับลาน อ.นาดี จ.ปราจีนบุรี ที่ให้ความรู้ คำแนะนำ เกี่ยวกับธรรมชาติของลานในพื้นที่ ขอขอบคุณสวนนงนุช จ.ชลบุรี และสวนแสนปาล์ม จ.นครปฐม ที่เอื้อเฟื้อตัวอย่างลานเพื่อใช้เป็นตัวอย่างอ้างอิง ผศ.ดร.กนกพร ไตรวิทยากร และนักศึกษาที่สถาบันอณูชีววิทยาและพันธุศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ช่วยสกัดและวิเคราะห์ DNA ตลอดจนชาวบ้านและคนในพื้นที่ ที่ให้ความรู้ ช่วยอำนวยความสะดวก นำทาง และเก็บตัวอย่างให้ ขอขอบคุณ นางสาวเนตรนภา พงเพ็ชร และนางสาวศศิวิมล รู้การ ที่ช่วยจัดทำรายงานวิจัยฉบับนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ และงานวิจัยนี้จะไม่เกิดขึ้นหากไม่ได้รับการสนับสนุนทางการเงินจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

พงศ์เทพ สุวรรณวารี

บทคัดย่อ

ในอดีตพืชสกุลลาน *Corypha* พบกระจายพันธุ์ทั่วไปในประเทศไทย ปัจจุบันพบในธรรมชาติน้อยมาก เนื่องจากชาวบ้านบุกรุกทำลายถิ่นอาศัยของลาน และตัดต้นหรือยอดของลานมาใช้ประโยชน์ทางเศรษฐกิจ พบป่าลานธรรมชาติผืนสุดท้ายของประเทศไทยอยู่ในพื้นที่อุทยานแห่งชาติทับลาน จังหวัดปราจีนบุรีเท่านั้น จึงได้ทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชในสกุลลานในประเทศไทยด้วยการใช้เทคนิค AFLP โดยได้ทำการรวบรวมตัวอย่างของลานป่า (*C. lecomtei* Becc.), ลานวัด (*C. umbraculifera* L.) และลานพรุ (*C. utan* Lam.) จากจังหวัดลำปาง, ขอนแก่น, ปราจีนบุรี, นครปฐม, สุราษฎร์ธานี และสตูล มาสกัดดีเอ็นเอ และทดสอบด้วยไพรเมอร์ *Eco*RI+CAA/*M*seI+GAA, CAA/GAG, CAG/GAT และ CAG/GCA จากไพรเมอร์ที่ทำการทดสอบให้แถบดีเอ็นเอชัดเจนทั้งหมด 217 แถบ เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมโดยใช้โปรแกรม NTSYS สามารถแบ่งประชากรได้ 7 กลุ่ม โดยมีค่าเฉลี่ยเฮตเทอโรไซโกซิตี้ของ *C. lecomtei*, *C. umbraculifera* และ *C. utan* มีค่าอยู่ระหว่าง 0.165–0.209, 0.220 และ 0.072–0.086 ตามลำดับ และมีค่าเปอร์เซ็นต์โพลีมอร์ฟิคโลไซของ *C. lecomtei*, *C. umbraculifera* และ *C. utan* มีค่าอยู่ระหว่าง 49.30–59.44%, 76.03% และ 19.81–24.42% ตามลำดับ จากข้อมูลที่ได้แสดงให้เห็นว่าพืชสกุลลานในประเทศไทยมีความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำส่งผลให้มีความเสี่ยงสูงต่อการสูญพันธุ์

Abstracts

In the past, the *Corypha* plants were found nationwide in Thailand. Currently, *Corypha* remains rare in natural habitats because people have turned forests into agricultural and urban areas. They also cut the shoots and trunks for economic benefits As a result, *Corypha* plants were destroyed. Nowadays, only Thaplan National Park has an extensive natural population of *C. lecomtei*. Therefore, AFLP study techniqe was used to genetic diversity and variation among *Corypha* species. Leaf samples of Lan Pha (*C. lecomtei* Becc.), Lan Wat (*C. umbraculifera* L.) and Lan Pru (*C. utan* Lam.) were collected from different localities in Lampang, Khon Kaen, Prachin Buri, Nakhon Pathom, Surat Thani and Satun Provinces. DNA of samples then were extracted. Four primers (*Eco*RI+CAA/*M*seI+GAA, CAA/GAG, CAG/GAT and CAG/GCA) were chosen for further analysis. A total of 217 AFLP fragments were detected. A dendrogram showed that genetic similarities among *Corypha* species were constructed based on polymorphic bands using the NTSYS program. From the dendrogram, seven clusters could be separated. The average observed heterozygosity of *C. lecomtei*, *C. umbraculifera* and *C. utan* was between 0.165–0.209, 0.220 and 0.072–0.086, respectively. The percentage of observed polymorphic loci of *C. lecomtei*, *C. umbraculifera* and *C. utan* was between 49.30–59.44%, 76.03% and 19.81–24.42%, respectively. The results indicated that genetic variations of Thai *Corypha* populations decreased, leading to a high risk of extinction.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญ และที่มาของปัญหาการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.4 ข้อตกลงเบื้องต้น	2
1.5 ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย	3
บทที่ 2 เอกสารหรืองานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 ข้อมูลทั่วไป	4
2.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์	6
2.3 การใช้ประโยชน์	9
2.4 การจำแนกต้นลานที่พบในประเทศไทย	11
2.5 เทคนิคเอเอฟแอลพี	14
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	
3.1 วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล	16
3.2 วิธีวิเคราะห์ข้อมูล	17
บทที่ 4 ผลการวิจัย และวิจารณ์ผล	
4.1 ผลการวิจัย และวิจารณ์ผล	21
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ	
5.1 สรุปผลการวิจัย	26
5.2 ข้อเสนอแนะ	26
เอกสารอ้างอิง	27
ภาคผนวกข้อมูลของต้นลานที่ใช้ในการศึกษา	30
ประวัติผู้วิจัย	34

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	การกระจายพันธุ์ของพืชสกุลลานในโลก	4
ตารางที่ 2	เปรียบเทียบลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของต้นลานทั้ง 3 ชนิด ที่พบในประเทศไทย	12
ตารางที่ 3	ชนิด และสถานที่ที่พบต้นลานในประเทศไทย	12
ตารางที่ 4	สถานที่ และจำนวนตัวอย่างต้นลานที่ใช้ในการศึกษา	16
ตารางที่ 5	ลำดับของ Adapters, Pre-selective และ Selective Primers ที่ใช้ในการวิเคราะห์ AFLP	19
ตารางที่ 6	ความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *C. lecomtei*, *C. umbraculifera* และ *C. utan*	23

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 1	การกระจายพันธุ์ของพืชสกุลลานทั้ง 7 ชนิดที่พบในโลก	5
ภาพที่ 2	พืชสกุลลานที่พบในประเทศไทย ได้แก่ A: ลานป่า (*C. lecomtei*) B: ลานวัด (*C. umbraculifera*) และ C: ลานพรุ (*C. utan*)	5
ภาพที่ 3	ลักษณะทางพฤษศาสตร์ของลาน ได้แก่ A: ลำต้นของต้นลาน B: ใบแบบ Palmate leaf และ C: ขอบก้านใบทั้งสองข้างมีหนาม	6
ภาพที่ 4	การเจริญของช่อดอกลาน A: ระยะเริ่มแทงช่อดอกส่วนยอดของลำต้น และ B: ดอกลานที่พัฒนาเป็นผล	7
ภาพที่ 5	ลักษณะสัณฐานของดอกและผลของต้นลาน	8
ภาพที่ 6	การพัฒนาของผลลานเป็นเมล็ดเพื่อการสืบพันธุ์ A: ผลลานอ่อน B: ผลลานแก่ และ C: การสะสมอาหารภายในเมล็ดลาน	9
ภาพที่ 7	การใช้ประโยชน์จากใบลานอ่อน A: ใบลานอ่อนตากแห้ง B: ผลิตภัณฑ์จักสานจากใบลาน และ C: การทอหางอวนใบลาน	10
ภาพที่ 8	การใช้ประโยชน์จากส่วนต่างๆ ของลาน A: ก้านใบลานนำมาทำเป็นเชือก B: ลำต้นลานเป็นอาหารสำหรับด้วง และ C: ผลอ่อนลานนำมาทำลูกลานเชื่อม	10
ภาพที่ 9	การกระจายของลานชนิดต่างๆ ในประเทศไทย	13
ภาพที่ 10	ตัวอย่างดีเอ็นเอต้นลานแต่ละชนิดในแต่ละสถานที่สกัดได้	21
ภาพที่ 11	แผนที่การเก็บตัวอย่างต้นลานในการศึกษา	22
ภาพที่ 12	ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการตามแบบ UPGMA ระหว่างลานแต่ละชนิด	24

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญ และที่มาของปัญหาการวิจัย

ลานเป็นพืชชนิดหนึ่งในวงศ์ปาล์ม (Family: Palmae หรือ Arecaceae) ที่มีความสำคัญต่อชีวิตความเป็นอยู่ของคนไทยมาอย่างยาวนาน ผลผลิตแทบทุกส่วนของต้นลานสามารถนำมาใช้ประโยชน์เพื่อการดำรงชีวิตทั้งด้านอุปโภค และบริโภคนับตั้งแต่อดีตถึงปัจจุบัน เช่น ใบลานอ่อนใช้จารึกคำสั่งสอนในพระพุทธศาสนา เรียกว่า "คัมภีร์ใบลาน" หรือใช้จักสานผลิตภัณฑ์ เช่น หมวก, กระเป๋า และของที่ระลึก ฯลฯ ใบลานแก่สามารถนำมามุงหลังคา ทำผนังบ้าน และเป็นพืชสมุนไพรแก้อักเสบฟกช้ำ บวม ก้านใบใช้มัดสิ่งของแทนเชือก ทำคันกลดพระธุดงค์ ลำต้นมาตัดเป็นท่อนๆ ทำฟืนหุงต้มหรือนำมาเลี้ยงด้วง ผลอ่อนนำมารับประทานเป็นของหวาน และรากเป็นพืชสมุนไพรแก้ไข้หวัด (กองอุตสาหกรรม, 2526)

ต้นลานในประเทศไทยพบจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ ลานป่า (*Corypha lecomtei* Becc.), ลานวัด (*Corypha umbraculifera* L.) และลานพรุ (*Corypha utan* Lam.) พบขึ้นกระจายทั่วประเทศไทย (พูลศักดิ์, 2548 และ Hodel, 1998) ปัจจุบันได้พบป่าลานธรรมชาติผืนสุดท้ายของประเทศไทยในพื้นที่อุทยานแห่งชาติทับลาน จังหวัดปราจีนบุรี (กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช, 2549) ยิ่งไปกว่านั้นในภาคใต้พื้นที่จังหวัดนครศรีธรรมราช ต้นลานถูกทำลายเพื่อนำไปใช้เพาะเลี้ยงตัวด้วงเป็นอย่างมาก (มารวย, 2553) ต้นลานบางชนิดยังจัดเป็นพืชที่มีสถานภาพใกล้สูญพันธุ์ของโลก โดยองค์กร International Union for Conservation of Nature and Natural Resources (IUCN) ได้จัด *Corypha taliera* อยู่ในบัญชีแดง (Red Data List) ของสหภาพเพื่อการอนุรักษ์ธรรมชาติ ในระดับความเสี่ยงที่จะสูญพันธุ์จากธรรมชาติ (Extinct in the Wild) (Markey, 2009) ซึ่งเดิม *Corypha taliera* เป็นพืชเฉพาะถิ่น (endemic species) ใน Birbhum เบงกอลตะวันตก ประเทศอินเดีย (Srivastava et al., 2007) และที่สำคัญข้อมูลทางด้านความหลากหลายทางพันธุกรรมของต้นลานยังไม่มีการรายงานมาก่อน

ดังนั้นการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของต้นลานในประเทศไทยโดยใช้เทคนิค Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) จะเป็นเทคนิคที่เหมาะกับต้นลาน เนื่องจากได้มีการใช้ศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรมของตาลโตนดซึ่งอยู่ใน Subfamily Coryphoideae เดียวกันกับต้นลานในเขตอำเภอสทิงพระและสิงหนคร จังหวัดสงขลา แล้วพบว่าตาลโตนดมีความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำ (เกษศิรินทร์ และคณะ, 2550) ผลที่ได้จากการวิจัยในครั้งนี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่มีค่าในการอนุรักษ์ ก่อให้เกิดความเข้าใจการกระจายพันธุ์ของต้นลาน รวมถึงช่วยในการปรับปรุงพันธุ์ของต้นลานในอนาคต

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาความแตกต่างของลักษณะสัณฐานภายนอก และพันธุกรรมของต้นลานแต่ละชนิดที่เจริญเติบโตในพื้นที่ต่างๆ ของประเทศไทย
2. ศึกษาความสัมพันธ์ของการแพร่กระจาย และความแปรปรวนทางพันธุกรรมของต้นลานป่าในเขตอุทยานแห่งชาติทับลาน จังหวัดปราจีนบุรี

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

การเก็บตัวอย่างจะครอบคลุมพื้นที่ที่มีการรายงานการพบต้นลานแต่ละชนิดในแต่ละภาคของประเทศไทย เพื่อศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างของต้นลานแต่ละชนิดรวมถึงความแปรปรวนทางพันธุกรรมอันเนื่องมาจากความแตกต่างของพื้นที่ และเน้นการเก็บตัวอย่างที่อุทยานแห่งชาติทับลาน จังหวัดปราจีนบุรี เพื่อศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมภายในกลุ่มประชากรของต้นลาน โดยใช้เทคนิคระดับโมเลกุล นำใบของต้นลานมาแช่แข็งแล้วนำมาสกัด DNA เพื่อหาแบนของ DNA โดยวิธี Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) (Mekanawakul et al., 2003) และนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณระยะห่างทางพันธุกรรม แล้ววิเคราะห์หาความคล้ายคลึง โดยวิธี Unweighted Pair Group Method with Arithmetics mean (UPMGA) ของโปรแกรมทางคอมพิวเตอร์ NTSYS (version 1.70) (Rohf, 1992)

1.4 ข้อตกลงเบื้องต้น

ต้นลานพบขึ้นกระจายทั่วไปในแต่ละภูมิภาคของประเทศไทย ลานป่านั้นพบใน ภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ลานพรุพบมากในภาคใต้ ส่วนลานวัดนั้นมีประวัติถูกนำเข้ามาปลูกจากประเทศอินเดีย และศรีลังกา จึงพบเฉพาะตามวัด และแหล่งชุมชน ความใกล้เคียง และห่างกันในสายวิวัฒนาการอันยาวนานของลานแต่ละชนิดนั้น สามารถรู้ได้จากการศึกษาความคล้ายคลึงหรือต่างกันของอัลลีนใน DNA ซึ่งการใช้เทคนิค AFLP เป็นเทคนิคที่สามารถเปรียบเทียบ Polymorphism ของจีนในพืชต่างชนิดกัน และยังเป็นเครื่องมือแสดงให้เห็นความหลากหลายทางพันธุกรรมในพืชแต่ละชนิดด้วย

การที่สิ่งมีชีวิตมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง จะเป็นหลักประกันว่าสิ่งมีชีวิตนั้นจะมีศักยภาพในการวิวัฒนาการ และปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไป ส่วนสิ่งมีชีวิตที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำจะสูญเสียความสามารถในการปรับตัวหรือเกิดความอ่อนแอในสายพันธุ์อันเนื่องมาจากการผสมเฉพาะในเครือญาติ นอกจากนั้นความหลากหลายทางพันธุกรรมในสิ่งมีชีวิตยังเป็นประโยชน์ต่อมนุษย์ที่สามารถคัดเลือกพันธุ์ที่มีลักษณะที่ตนต้องการ การที่ต้นลาน

เจริญเติบโตในที่ต่างกัน มีความแตกต่างของสิ่งแวดล้อมก็อาจทำให้ลานมีลักษณะ และผลผลิตที่ต่างกันได้

ในอดีตต้นลานนั้นแพร่กระจายไปทั่วไปในประเทศไทย ปัจจุบันถูกทำลายลงจนเหลือเพียงป่าลานธรรมชาติผืนสุดท้ายที่อุทยานแห่งชาติทับลาน การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของต้นลานในบริเวณนี้เทียบกับตัวอย่างจากส่วนอื่นๆ ของประเทศไทยจะทำให้เราเข้าใจลักษณะการกระจายพันธุ์ของต้นลานจากในอดีต และยังเป็นข้อมูลพื้นฐานในการอนุรักษ์พันธุ์ลานในอนาคต

1.5 ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

1. ก่อตั้งห้องวิจัยความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
2. พบวิธีการจำแนกชนิดของต้นลานโดยใช้วิธีศึกษาระดับโมเลกุล
3. พบความสัมพันธ์ของพื้นที่ทางภูมิศาสตร์กับความหลากหลายทางพันธุกรรมของต้นลานในประเทศไทย
4. ฝึกฝนการวิจัยของนักวิจัยรุ่นใหม่
5. หน่วยงานต่างๆ สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้แก่ สถาบันการศึกษาต่างๆ, อุทยานแห่งชาติทับลาน และอื่นๆ, กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติ และสิ่งแวดล้อม, กระทรวงเกษตร และสหกรณ์ และนักวิจัยที่จะมาทำการวิจัยทางพันธุศาสตร์, อนุกรมวิธาน, ประชากรศาสตร์ และนิเวศวิทยา

บทที่ 2
เอกสารหรืองานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

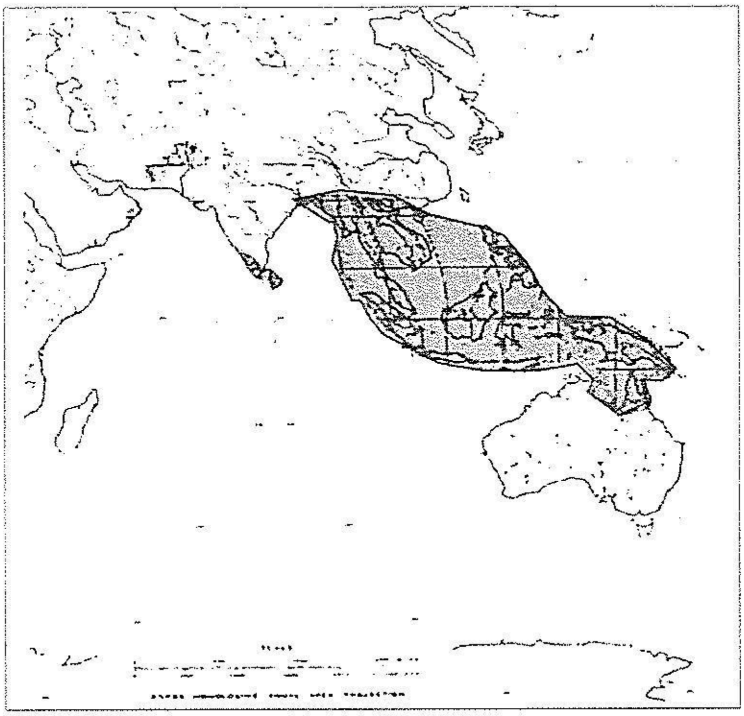
2.1 ข้อมูลทั่วไป

ต้นลาน (*Corypha* spp.) อยู่ในวงศ์ Arecaceae หรือ Palmae ภาษากรีก แปลว่า สุดยอดเป็นพันธุ์ไม้สกุลเดียวที่มีช่อดอกใหญ่ที่สุดในโลก มีช่อดอกที่สูงมากกว่า 30 ฟุต และมีดอกเป็นจำนวนมากที่สุดในบรรดาพันธุ์ไม้ด้วยกัน กล่าวคือ มีดอกมากกว่า 60 ล้านดอกในต้นหนึ่ง ลักษณะพิเศษของต้นลานอีกประการคือ เมื่อให้ผลแล้วต้นจะตายลงทันทีที่เมล็ดแก่ร่วงหมดแล้ว (Monocarpic) ลักษณะใบของต้นลานจะมีลักษณะเป็นรูปใบพัด (Palmate leaf) นอกจากนี้ลานยังเป็น Hermaphroditic ซึ่งหมายถึง มีเกสรเพศผู้ และเกสรเพศเมียอยู่ในดอกเดียวกัน จากการศึกษาพบว่ามีลานในโลกอยู่ประมาณ 7 ชนิด (ตารางที่ 1) มีการกระจายจากศรีลังกา อินเดีย ถึงทางใต้ของจีน เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มาเลเซีย นิวกินี และตอนเหนือของออสเตรเลีย (ภาพที่ 1) นอกจากนี้หลักฐานทางฟอสซิลของ *Corypha wilkinsonii* Chandler ที่ถูกพบใน Eocene London Clay ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับต้นลานยุคปัจจุบัน *Corypha olivaeformis* (Harley, 2006 และ Uhl and Dransfield, 1987) แถบมาเลเซีย สำหรับประเทศไทยพบต้นลาน 3 ชนิด ได้แก่ *Corypha lecomtei* Becc., *Corypha umbraculifera* L., และ *Corypha utan* Lam. (Hodel, 1998) (ภาพที่ 2)

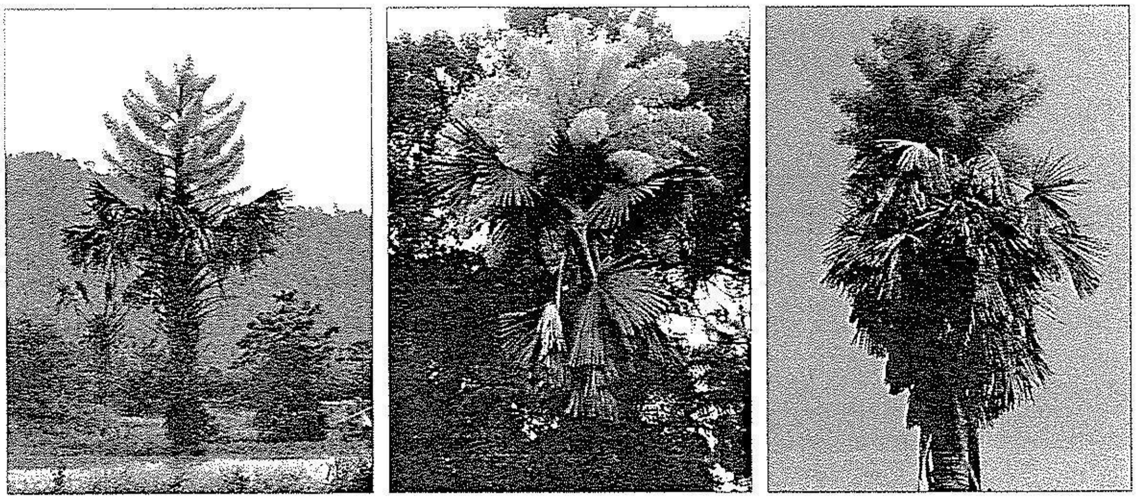
ตารางที่ 1 การกระจายพันธุ์ของพืชสกุลลานในโลก (Dorsey, 2010; Hodel, 1998 และ Wikimedia, 2010)

ชนิด	ชื่อสามัญ	บริเวณที่พบ
Corypha griffithiana Becc.	-	พม่า
Corypha lecomtei Becc.	-	ไทย, ตอนใต้ของจีน, เวียดนาม, กัมพูชา และลาว
Corypha macropoda Kurz	-	อินเดีย
Corypha microclada Becc.	-	ฟิลิปปินส์
Corypha taliera (Roxb.) DC.	-	อินเดีย
Corypha umbraculifera L.	Talipot Palm	อินเดีย, ศรีลังกา พม่า และไทย
Corypha utan Lam. *	Gebang Palm, Buri Palm และ Cabbage Palm	อินเดีย, ไทย, มาเลเซีย, นิวกินี และออสเตรเลีย

* หรือ *Corypha elata*



ภาพที่ 1 การกระจายพันธุ์ของพืชสกุลลานทั้ง 7 ชนิดที่พบในโลก มีการกระจายพันธุ์จากศรีลังกา, อินเดีย, พม่า, ไทย, ตอนใต้ของจีน, ลาว, เวียดนาม, กัมพูชา, ฟิลิปปินส์, มาเลเซีย, นิวกินี และออสเตรเลีย (Hodel, 1998)



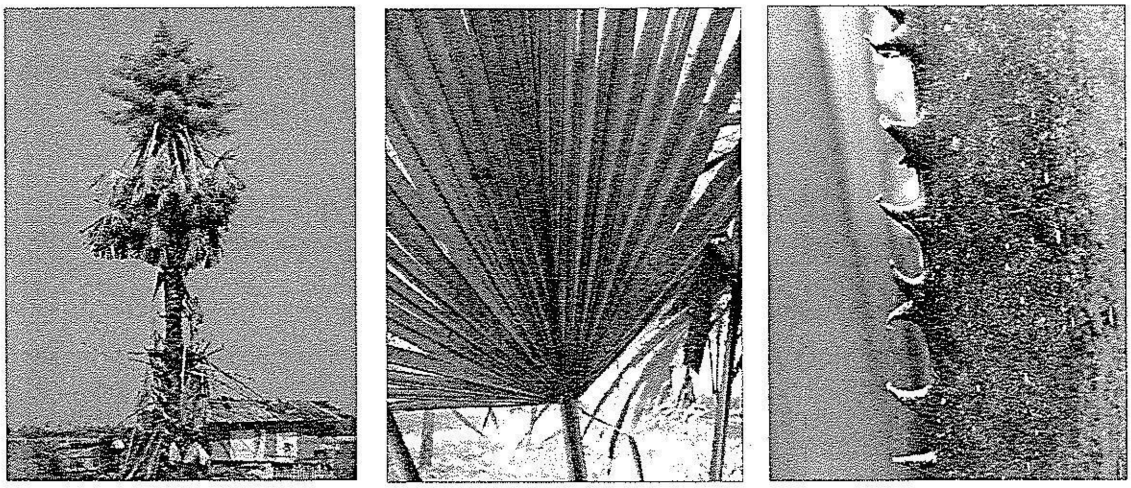
A B C

ภาพที่ 2 พืชสกุลลานที่พบในประเทศไทย ได้แก่ A: ลานป่า (*C.lecomtei*) B: ลานวัด (*C. umbraculifera*) และ C: ลานพรุ (*C. utan*) ซึ่งอยู่ในสกุลที่จัดเป็นพืชที่มีช่อดอกที่ใหญ่ที่สุดในโลก

2.2 ลักษณะทางพฤษศาสตร์

2.2.1 ลักษณะลำต้น เริ่มจากหัวในดินจะผลิตยอดอ่อนแทงทะลุขึ้นมาเป็นใบอ่อน โคนใบมีกาบใบติดอยู่กับหัวภายในดิน กาบนี้จะไม่หลุดออกไป ลานจะผลิตใบอ่อนปีละ 2–4 ใบ ส่วนของใบที่โผล่พ้นดินก็จะขาดไป ส่วนก้านที่เหลือจะกลายมาเป็นลำต้น ใบที่ออกจากลำต้นใต้ดินออกเป็นรูปเกลียวทับกันหมุนไปรอบๆ ลำต้น เมื่อใบอ่อนส่วนที่โผล่เหนือดินหลุดออกส่วนล่างจะเปลี่ยนไปเป็นลำต้นใต้ดินที่มองไม่เห็น ส่วนของลำต้นจะเห็นได้ชัดระยะสูง 25–30 เซนติเมตร เท่านั้น ระยะต่อไปกาบใบจะติดอยู่กับลำต้น จะหลุดออกก็ส่วนที่เป็นใบแท้เท่านั้น กาบแห้งเหล่านั้นจะติดอยู่รอบลำต้น (ภาพที่ 3A) ถัดขึ้นไปจนถึงใบที่ยังไม่แก่ ลานที่ออกดอกจะมีความสูงเฉลี่ยระหว่าง 14–20 เมตร หากแกะกาบรอบต้นจะเห็นเป็นเปลือกแข็งหุ้มลำต้น (กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช, 2549)

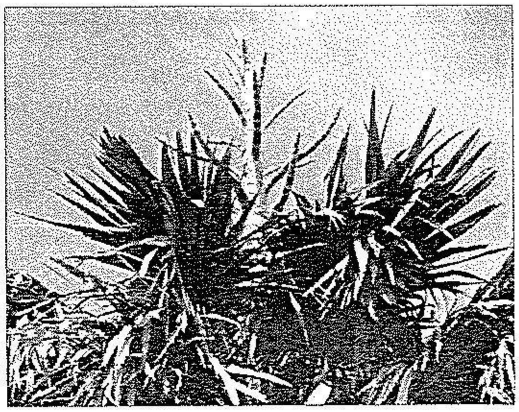
2.2.2 ลักษณะใบ มีเส้นใบ (Vein) แผ่ออกจากจุดเดียวกันของก้านใบ ใบมีขนาดใหญ่มาก รูปทรงของใบเป็นแบบ Palmate leaf (ภาพที่ 3B) ก้านใบมีลักษณะยาวเรียวโคนใหญ่ ขอบก้านใบโค้งเข้าหากันเล็กน้อย ทำให้หลังของก้านใบส่วนล่างนูน ส่วนบนเว้า ขอบก้านทั้งสองข้างมีหนามเล็กๆ คล้ายฟันเลื่อย (ภาพที่ 3C) โคนก้านใหญ่ งุ้มกว้างประมาณ 25–30 เซนติเมตร ยาว 2.5–3.0 เมตร ส่วนตรงปลายใบแยกจากกัน ความยาวของใบประมาณ 3–4 เมตร ความกว้างที่แผ่ออกไปประมาณ 4.5–6.0 เมตร



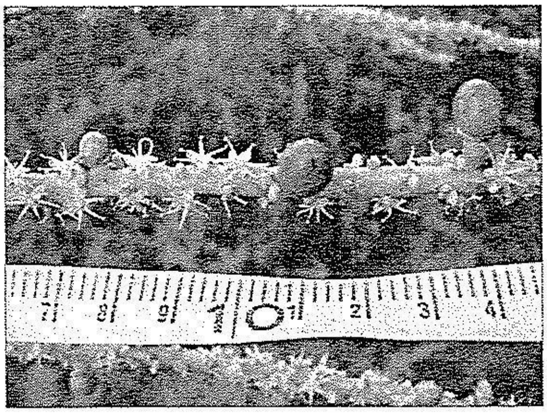
A B C

ภาพที่ 3 ลักษณะทางพฤษศาสตร์ของลานได้แก่ A: ลำต้นเดี่ยวตั้งตรง B: ใบแบบ Palmate leaf และ C: ขอบก้านใบทั้งสองข้างมีหนาม

2.2.3 ลักษณะดอก ต้นลานที่เจริญเติบโตเต็มที่แล้ว เช่น ลานป่าจะเริ่มมีการเจริญเติบโตของช่อดอกในประมาณเดือนพฤษภาคม ส่วนลานวัด และลานพรุอยู่ในช่วงประมาณเดือนพฤศจิกายน เริ่มแรกของการออกดอกจะมีหน่อเป็นรูปทรงกรวยใหญ่แข็งปลายแหลมโผล่ขึ้นที่ปลายสุดของลำต้นก่อน (ภาพที่ 4A) รอบหน่อนี้ห่อหุ้มด้วยกาบสีเขียว หน่อจะเจริญเติบโตขึ้นไปเรื่อยๆ ส่วนกาบก็จะห่อหุ้มเฉพาะตอนล่าง ขณะที่หน่อเพิ่มความสูงก็จะมีกิ่งอื่นๆ แตกแยกออกมาทางด้านข้างในเส้นรอบวงเดียวกัน 2–3 กิ่ง แต่ละกิ่งมีกาบสีเขียวหุ้มอยู่ที่โคน กิ่งเหล่านี้แต่ละกิ่งจะมีแขนงแตกแยกย่อยออกไปอีก จากนั้นจึงมีก้านดอกแยกออกไปแขนงละ 12–15 ก้าน ยาวประมาณ 15–17 เซนติเมตร ดอกเริ่มบานออกบนก้านเป็นกลุ่มๆ กลุ่มหนึ่งมี 5–7 ดอก ดอกมีขนาดเล็กมาก รูปร่างยาวรีขณะยังไม่บานยาว 2–2.5 มิลลิเมตร ลักษณะรูปดอกถ้ามองในแนวตั้งเห็นเป็นรูปเหลี่ยมมี 3 มุม ช่อดอกหนึ่งมีกลุ่มของดอก 50–60 กลุ่ม ในดอกเดียวกันจะไม่บานพร้อมกัน ตรงฐานดอกติดกับก้านดอกจะมีกลีบเลี้ยงอยู่รอบ 3 อัน ตรงโคนเชื่อมติดกัน ปลายแยกออกจากกันมีอยู่ 3 กลีบ ยาว 0.7–1 มิลลิเมตร ถัดเข้าไปเป็นกลีบดอกมีอยู่ 3 กลีบ ยาว 1–1.5 มิลลิเมตร ดอกสีขาวอมเหลือง ดอกขณะบานจะเห็นเกสรเพศผู้ชูขึ้นด้วยก้านเล็ก ดอกหนึ่งจะมีเกสรเพศผู้อยู่ 6 อัน มีลักษณะเป็นพลูติดกันสองพลูสีเหลือง เกสรเพศผู้นี้จะล้อมรอบเกสรเพศเมีย ก้านชูเกสรเพศเมียสั้นกว่าก้านชูเกสรเพศผู้ รังไข่มองเห็นได้ชัดมีอยู่ 3 ช่อง แต่เมื่อเกิดการผสมแล้วดอกหนึ่งจะเกิดเป็นผลลานได้ 1 ผล การผสมเกสรอาศัยลม และแมลง (ภาพที่ 4B) และ (ภาพที่ 5)

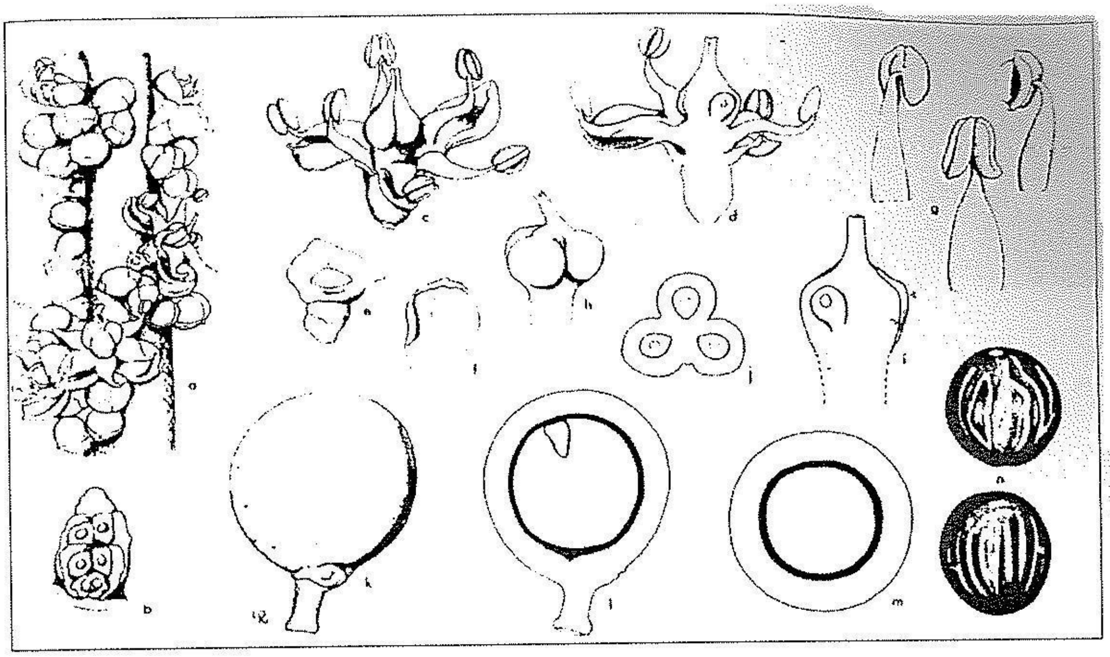


A



B

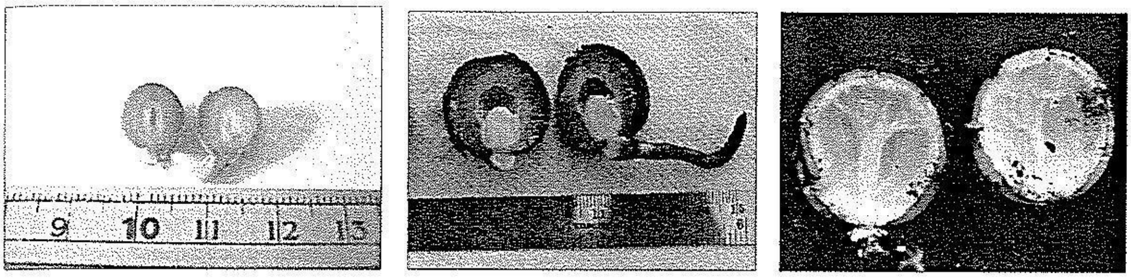
ภาพที่ 4 การเจริญของช่อดอกลาน A: ระยะเริ่มแทงช่อดอกส่วนยอดของลำต้น และ B: ดอกลานที่พัฒนาเป็นผล



ภาพที่ 5 ลักษณะสัณฐานของดอกและผลของต้นลาน (Uhl and Dransfield, 1987)

A. ออกดอกเป็นกลุ่มบนก้านดอก
B. การพัฒนาของดอกแบ่งเป็นกลุ่ม 5-7 ดอก
C. ดอกหนึ่งจะมีเกสรเพศผู้อยู่ 6 อัน
D. ลักษณะของดอกมองในแนวตั้งฉาก
E. ชั้นวงกลีบเลี้ยง
F. กลีบดอก
G. เกสรเพศผู้
H. เกสรเพศเมีย
I. เกสรเพศเมียผ่าตามขวาง
J. รังไข่ผ่าตามขวาง
K– M. ลักษณะของผลและผลผ่าตามขวาง
N. เมล็ดที่แก่แล้ว

2.2.4 ลักษณะผล ลานแต่ละชนิดจะเริ่มมีผลอ่อน เช่น ลานป่าเริ่มเป็นผลตั้งแต่เดือนกรกฎาคม ลานวัด และลานพรุประมาณเดือนมกราคม และผลจะแก่ร่วงจากต้น และเป็นเมล็ดอีก 1 ปีต่อมา ผลอยู่เป็นกลุ่มประมาณกลุ่มละ 3–4 ผล ติดอยู่กับก้านดอกแบบ Sessils จะเห็นมีขั้ว Pedicel เกาะติดอยู่กับก้านดอกยาว 1 มิลลิเมตร ผลกลมรีเหมือนรูปไข่มีเปลือกหุ้ม Exocarp ขณะยังอ่อนอยู่สีเขียวมีเนื้อในสีขาวหนา 2–2.5 มิลลิเมตร (ภาพที่ 6A) ผลแก่มีเปลือกแข็ง Mesocarp หนา 1 มิลลิเมตร หุ้มเนื้อในสุด Endocarp อีกชั้นหนึ่งเปลือกแข็งนี้มีสีดำ กลางผลกลวงมีน้ำใสบรรจุอยู่รสหวาน (ภาพที่ 6B) ผลลานจัดอยู่ในจำพวกไม้เมล็ดแข็ง Drupe



A B C

ภาพที่ 6 การพัฒนาของผลลานเป็นเมล็ดเพื่อการสืบพันธุ์ A: ผลลานอ่อน B: ผลลานแก่ และ C: การสะสมอาหารภายในเมล็ดลาน

2.2.5 การขยายพันธุ์ ลานขยายพันธุ์ได้ด้วยเมล็ดอย่างเดียว ต้องการความชื้นสูง อุณหภูมิในดินสูงพอสมควร การเจริญเติบโตเป็นไปโดยรากแก้วจะแทงออกมาก่อนทางท้ายผล โดยใช้เวลาการงอกในระยะแรก 7–10 วัน เปลือกหุ้มจะแตกให้ยอดแหลมแข็งแทงออกมา และแทงลึกลงในดิน ขณะเดียวกันเนื้ออ่อนภายในจะเปลี่ยนเป็นอาหาร โดยสะสมอยู่บริเวณรากที่งอกก่อนเป็นจุดขาวๆ ซึ่งต่อไปจะใหญ่ขึ้นจนกลายเป็นจาวขนาดใหญ่เต็มผล จากวันที่เริ่มงอกไปประมาณ 40–60 วัน (ภาพที่ 6C) รากแก้วจะแทงลงได้ลึก 32–35 เซนติเมตร ต่อมารากฝอยจะเริ่มแตกออกจากรากแก้ว ระยะนี้รากฝอยจะถูกสร้างขึ้นเรื่อยๆ พร้อมกับการเกิดใบโดยใบเริ่มแทงออกจากรากแก้วโผล่ขึ้นมาเหนือดิน

2.3 การใช้ประโยชน์

2.3.1 ใบลานอ่อน ส่วนของใบที่นำมาใช้ประโยชน์เป็นใบอ่อนที่ตัดจากยอดลาน เมื่อตัดและกรีดออกจากทางใบแล้ว นำไปตากแดดประมาณ 2–3 วัน (ภาพที่ 7A) จึงนำมามัดเก็บไว้จักสาน คนไทยโบราณนิยมนำใบลานมาทำเป็นหนังสือเรียกว่า “คัมภีร์ใบลาน” สามารถเก็บรักษาทนทานเป็นเวลาหลายร้อยปี มด ปลวก มอด ไม่กิน ปัจจุบันยังนิยมใช้ใบลานอ่อนนำมาพิมพ์เป็นการ์ด นามบัตร ที่คั่นสมุดต่างๆ นอกจากนี้ใบลานอ่อนยังใช้ทำประโยชน์หลายอย่าง ใช้จักสานผลิตภัณฑ์ของใช้ (ภาพที่ 7B) เช่น หมวก งอบ พัด กระเป๋า เสื่อ ภาชนะต่างๆ ในครัวเรือน ของเล่นเด็ก ของที่ระลึก เครื่องประดับตกแต่งบ้าน เช่น ปลาตะเพียน โมบายรูปสัตว์นานาชนิด ตลอดจนประดิษฐ์ชฎา อย่างงดงามสำหรับการแสดงการละเล่นต่างๆ ในภาคใต้ใช้ยอดลานจากต้นลานมาฉีกเป็นใบๆ แล้วสางออกเป็นเส้นๆ นำไปปั่นเป็นเส้นยาวๆ คล้ายด้าย จากนั้นจึงนำไปทอคล้ายการทอผ้าเป็นแผ่น เรียกว่า “ห่งอวน” หรือ “หางอวน” (ภาพที่ 7C) สามารถนำไปประดิษฐ์เป็นเครื่องใช้ต่างๆ ได้สวยงาม เช่น หมวก กระเป๋า ที่รองจาน เป็นต้น ชาวประมงใช้แผ่นหางอวนทำเป็นถุงรูปสามเหลี่ยม สำหรับไว้ต่อปลายอวน เพื่อใช้เป็นถุงในการจับกุ้ง และเคยได้อีกด้วย นอกจากนั้นนำมาสานเป็นซองใส่ยาเส้น สามารถดัดแปลงใช้เป็นซองใส่แว่นตาได้ดี

A B C

ภาพที่ 7 การใช้ประโยชน์จากใบลานอ่อน A: ใบลานอ่อนตากแห้ง B: ผลิตภัณฑ์จักสานจากใบลาน และ C: การทอหางอวนใบลาน

2.3.2 ใบลานแก่ นำมาทำเป็นวัสดุก่อสร้างบ้านเรือน โดยนำมาใช้มุงหลังคา และทำผนังหรือฝาบ้าน กันแดดกันฝน มีความทนทานได้ดี และนำใบลานมาเผาไฟเป็นยาเย็นดับพิษอักเสบ ฟกช้ำบวม และพิษต่างๆ

2.3.3 ก้านใบ ก้านใบที่ตัดจากต้นลาน นับตั้งแต่โคนก้านใกล้ลำต้นจนถึงปลายใบ ใช้ทำประโยชน์หลายอย่าง เช่น ทำเป็นวัสดุก่อสร้างบ้านเรือน ใช้ทำโครงสร้าง ไม้ขื่อ แป และผนังบ้าน นำมามัดสิ่งของแทนเชือกเนื่องจากมีความเหนียว (ภาพที่ 8A) ส่วนกระดูกลานใช้ทำคันกลดพระธุดงค์ นอกจากนั้นยังนำไปใช้ทำขอบภาชนะจักสานทั่วไป เช่น ขอบกระด้ง ตะแกรง กระบุง ตะกร้า

2.3.4 ลำต้น นำมาตัดเป็นท่อนๆ สำหรับเป็นที่นั่งเล่น ใช้ตกแต่งประดับสวน นำมาเลี้ยงด้วง (ภาพที่ 8B) ทำฟืนเป็นเชื้อเพลิงหุงต้ม ทำเป็นครก และสาก

2.3.5 ผล ลูกลานอ่อน ลักษณะเป็นพวงๆ คล้ายลูกหมาก นำเอาเนื้อในมารับประทานคล้ายกับเนื้อของจาวตาล ใช้เชื่อมทำขนมแบบลูกจากเชื่อม (ภาพที่ 8C) ส่วนเปลือกของลูกลานรับประทานแล้วเป็นยาขับถ่ายระบายได้ดี หรือทุบลูกลานทั้งเปลือกโยนลงในลำธาร ทำให้ปลาเมา แต่ไม่ถึงตาย สะดวกแก่การจับปลา

2.3.6 ราก รากลานใช้ฝนรับประทานแก้ร้อน ขับเหงื่อ แก้ไขหวัด

A B C

ภาพที่ 8 การใช้ประโยชน์จากส่วนต่างๆ ของลาน A: ก้านใบลานนำมาทำเป็นเชือก B: ลำต้นลานเป็นอาหารสำหรับด้วง และ C: ผลอ่อนลานนำมาทำลูกลานเชื่อม

2.4 การจำแนกต้นลานที่พบในประเทศไทย

ต้นลานที่พบในประเทศไทยสามารถแยกด้วยลักษณะทางพฤกษศาสตร์ได้ (ตารางที่ 2) แต่ต้นลานทั้ง 3 ชนิดมีลักษณะใกล้เคียงกันมาก

Corypha lecomtei Becc. หรือ ลานป่า, ลานกบินทร์ มีความสูงประมาณ 5 เมตร ใบของลานชนิดนี้จะเรียกว่า Costapalmate ซึ่งมีลักษณะของใบ คือ ใบจะไม่แผ่ออกให้แบนกว้างใหญ่เหมือนใบพัด (Palmate leaf) ธรรมดาทั่วๆไป แต่จะพับใบห่อลู่ลง เนื่องจากใบย่อยไม่ได้แตกออกจากจุดเดียวกัน นอกจากนี้ขอบของก้านใบมีแถบสีดำกว้าง 1.5 เซนติเมตร พบในป่าแห้งแล้ง ป่าเขตมรสุม หรือพื้นที่เปิดโล่งตามริมแม่น้ำหรือพื้นที่น้ำท่วมในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคตะวันออกของประเทศไทย ที่ความสูงจากระดับน้ำทะเล 100–600 เมตร ต้นลานชนิดนี้พบเป็นจำนวนมากที่อุทยานแห่งชาติทับลาน จ.ปราจีนบุรี, บ้านทะลุ จ.สระบุรี, บ้านดงลาน จ.ขอนแก่น และยังพบอีกหลายแห่งในประเทศไทย เช่น จ.ลพบุรี, จ.ตาก, จ.พิษณุโลก และ จ.นครปฐม (ตารางที่ 3 และภาพที่ 9) นอกจากนี้ยังพบในทางตอนใต้ของจีน เวียดนาม กัมพูชา และลาว

Corypha umbraculifera L. หรือ Talipot palm (ภาษาละตินแปลว่า ให้ร่มเงา) หรือ ลานวัด, ลานเชียงใหม่ มีความสูงของลำต้นสูงกว่า *C. lecomtei* คือมีความสูงประมาณ 25 เมตร กาบใบมีสีเขียวปนเหลือง ซึ่งกาบใบจะหุ้มห่อเกือบรอบลำต้น ที่ก้านใบมีหนามเลื่อยสั้นๆ อยู่ 2 ข้างริมขอบก้านใบ ลานชนิดนี้จะมีขนาดของใบ และช่อดอกใหญ่ที่สุดในโลก สามารถพบได้ในพื้นที่เขตมรสุม หรือบริเวณป่าเปิดทางใต้ของอินเดีย ศรีลังกา และบางทีก็พบในเขตป่าชื้นที่มีความสูงจากระดับน้ำทะเลถึง 700 เมตร ของพม่า ลานชนิดนี้ไม่ค่อยพบในป่าธรรมชาติส่วนใหญ่มนุษย์จะปลูกขึ้นมา สำหรับในประเทศไทยสามารถพบได้ทั่วไปทางภาคเหนือ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพื้นที่ที่มนุษย์อาศัยอยู่หรือในวัด

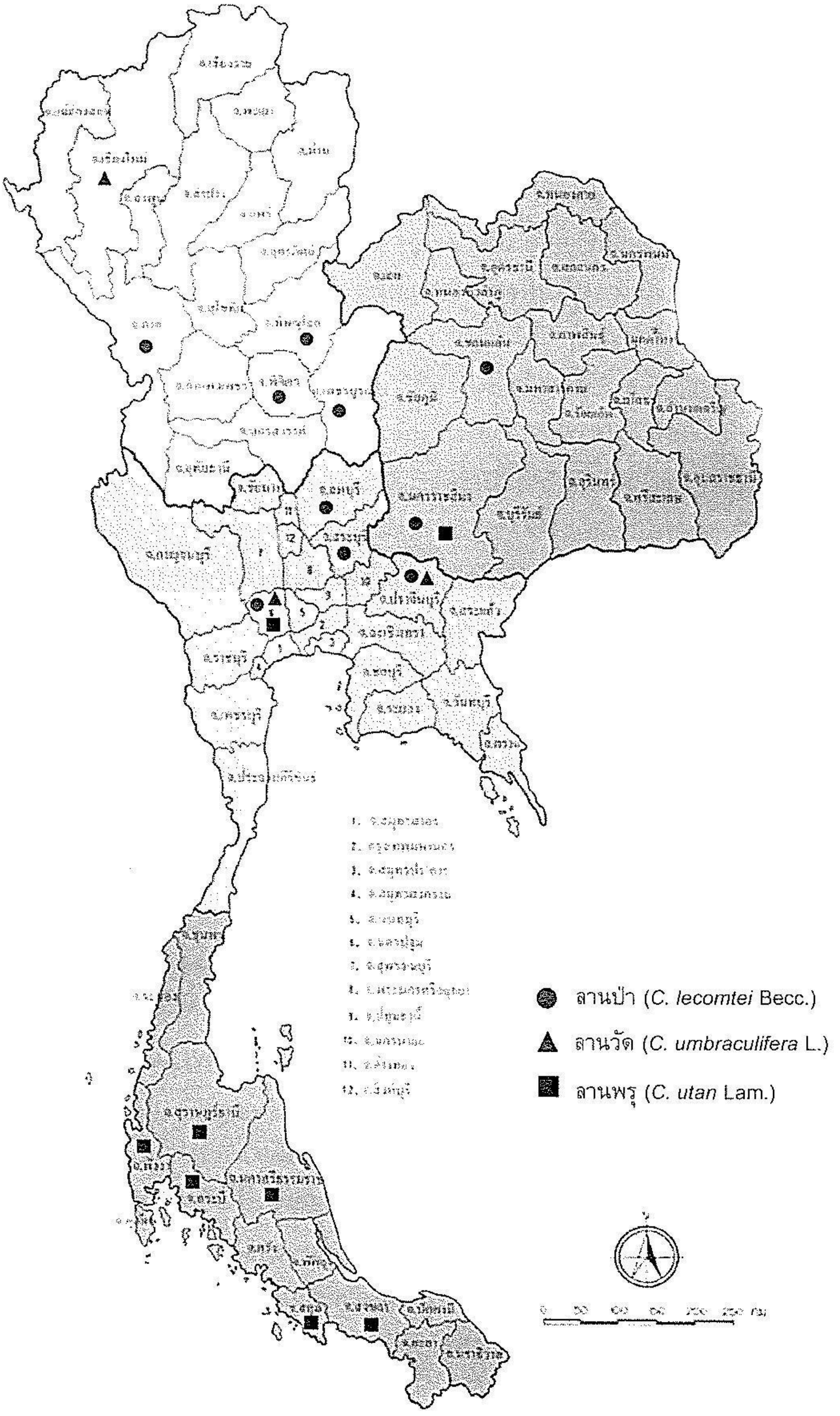
Corypha utan Lam. หรือ ลานพรุ จะมีลักษณะคล้ายกับลานวัด ยกเว้นบริเวณกาบใบ และก้านใบสามารถพบได้จากตะวันออกเฉียงเหนือของอินเดียถึงตะวันออกเฉียงใต้ของเอเชีย หมู่เกาะฟิลิปปินส์ หมู่เกาะแปซิฟิก และทางเหนือของออสเตรเลีย โดยปาล์มชนิดนี้จะพบทั่วไปทางตอนกลาง และทางใต้ของไทยที่มีความสูงจากระดับน้ำทะเล 300 เมตร ส่วนใหญ่สามารถพบได้ที่ จ.สตูล, จ.สงขลา, จ.นครศรีธรรมราช, จ.กระบี่, จ.พังงา, ทางตอนใต้ของ จ.สุราษฎร์ธานี จนถึงตอนกลางของ จ.นครปฐม และ จ.นครราชสีมา

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของต้นลานทั้ง 3 ชนิดที่พบในประเทศไทย (พูลศักดิ์, 2548 และ Hodel, 1998)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์	ลานป่า (*C. lecomtei* Becc.)	ลานวัด (*C. umbraculifera* L.)	ลานพรุ (*C. utan* Lam.)
ลำต้น	ลำต้นเดี่ยว สูงประมาณ 15-20 เมตร	ลำต้นเดี่ยว สูงประมาณ 25 เมตร	ลำต้นเดี่ยว สูงประมาณ 25-30 เมตร
กาบใบ-ก้านใบ	ก้านใบยาว 2.50-5.0 เมตร	กาบใบอ้วน สีเขียวอมเหลือง ก้านใบยาว 2.50-3.0 เมตร	ผิวกาบใบ และก้านใบมีขุยสีขาวปกคลุม ก้านใบยาว 2.50-3.50 เมตร
หนามขอบก้านใบ	หนามแหลมเรียงกันถี่ ยาว 7-10 มิลลิเมตร กระดูกลานมีแถบสีดำเห็นชัดเจนกว้าง 1.5 เซนติเมตร	หนามแหลมเรียงกันหนาแน่น ยาว 1 เซนติเมตร กระดูกลานมีแถบสีดำน้อย	หนามแหลมมากปลายโค้งสีดำ ยาว 2.50 เซนติเมตร กระดูกลานมีแถบสีดำน้อย
ใบ	ใบขนาด 3x3 ตารางเมตร สีเขียวอมเทา แผ่นใบโค้ง แบ่งเป็น 140 ใบย่อย ขนาด 8x200 ตารางเซนติเมตร ปลายใบห้อยลง	ใบขนาด 2.5-3.0 x 2.5-3.0 ตารางเมตร สีเขียว แผ่นใบเป็นคลื่น แฉกแบ่งออก ½ ของใบ มี 110 แฉก ขนาด 4 - 6.5 x 75-150 ตารางเซนติเมตร	ใบขนาด 3x3 ตารางเมตร สีเขียวเข้ม เส้นกลางใบโค้งแฉกแบ่งออกเป็น ¾ ของใบ มีจำนวนใบ 80-90 ใบ ขนาด 7-8x170 ตารางเซนติเมตร มองแล้วค่อนข้างแข็ง
ช่อดอก และดอกย่อย	ช่อดอกรูปพีระมิด ลักษณะกระจายออก ดอกย่อยสีขาวอมเหลือง	ช่อดอกรูปพีระมิด ลักษณะกระจายออก ดอกย่อยสีขาวอมเหลือง	ช่อดอกรูปไข่ ลักษณะกระจุกอยู่รวมหนาแน่น ดอกย่อยสีขาวครีม
ผล	ผลสดแบบมีเนื้อเมล็ดเดียว ทรงกลมแกมรูปรี ขนาด 6x7-8 ตารางเซนติเมตร	ผลสดแบบมีเนื้อเมล็ดเดียว ทรงกลมขนาด 3.5-4.5 เซนติเมตร	ผลสดแบบมีเนื้อเมล็ดเดียว ทรงกลมขนาด 2.5-3 เซนติเมตร

ตารางที่ 3 ชนิด และสถานที่ที่พบต้นลานในประเทศไทย (กองอุตสาหกรรม, 2526)

ชื่อพื้นเมืองของไทย	ชื่อวิทยาศาสตร์	ลักษณะ	สถานที่
ลาน (ภาคกลาง) ลานป่า ลานกบินทร์	*Corypha lecomtei* Becc.	ปาล์มพื้นเมืองของไทย	ตาก, พิษณุโลก, พิจิตร,เพชรบูรณ์, ลพบุรี, ขอนแก่น,นครราชสีมา, สระบุรี, นครปฐม และปราจีนบุรี
ลาน (ภาคกลาง) ลานวัด ลานเชียงใหม่ ลานหมื่นเทิง (ภาคเหนือ)	*Corypha umbraculifera* L.	ปาล์มต่างประเทศ	เชียงใหม่, นครปฐม และปราจีนบุรี
ลาน (ภาคใต้) ลานพรุ	*Corypha utan* Lam.	ปาล์ม	สตูล, สงขลา, กระบี่,นครศรีธรรมราช, พังงา, สุราษฎร์ธานี, นครปฐม และนครราชสีมา



ภาพที่ 9 การกระจายของลานชนิดต่างๆ ในประเทศไทย

2.5 เทคนิคเอเอฟแอลพี

เทคนิคเอเอฟแอลพี (Amplified fragment length polymorphism, AFPL) เป็นเทคนิคที่ใช้ตรวจสอบความแตกต่างของชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ แล้วนำมาเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่จำลองตัวหรือพีซีอาร์ (Polymerase chain reaction, PCR) สามารถตรวจสอบสิ่งมีชีวิตได้โดยไม่ขึ้นกับระยะการเจริญเติบโต และสภาพแวดล้อม ไม่จำเป็นต้องทราบลำดับดีเอ็นเอ สามารถทำได้รวดเร็ว มีความคงตัว สามารถทำซ้ำๆ ให้ผลเหมือนเดิม และได้แถบดีเอ็นเอจำนวนมาก (สุรินทร์, 2545) จึงมีแนวโน้มว่าจะให้แถบดีเอ็นเอที่บ่งชี้ความแตกต่างทางพันธุกรรมของต้นลานในประเทศไทยได้

เทคนิคเอเอฟแอลพีสามารถนำไปใช้ศึกษาได้ทั้งในพืช และสัตว์ เทคนิคเอเอฟแอลพีที่ใช้ศึกษาในสัตว์ เช่น อุทัยรัตน์ (2543) พบว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมในปลาทะเลกับปลาน้ำจืดมีความแตกต่างกัน ในขณะที่ปลาทะเลมีแนวโน้มความหลากหลายระหว่างประชากรต่ำ เนื่องจากมีการอพยพไปมาระหว่างประชากร ส่วนปลาน้ำจืดมีความแตกต่างระหว่างประชากรในระดับสูง เนื่องจากมีสิ่งกีดขวางทางภูมิศาสตร์จำกัดการผสมข้ามระหว่างประชากร นอกจากนี้ สัมพันธ์ และคณะ (2544) ได้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาดุกลำพัน (*Prophagorus nieuhofii*) ในประเทศไทย พบว่า ปลาจากพรุบาเจาะ มีความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำที่สุด อาจเนื่องมาจากในอดีตที่ผ่านมาบริเวณพรุบาเจาะเสื่อมโทรม และถูกบุกรุกทำลายทำให้บางประชากรเท่านั้นที่อยู่ได้ เมื่อมีการปรับปรุงแหล่งที่อยู่อาศัยใหม่ทำ ให้ประชากรนี้มีการเพิ่มจำนวนขึ้นแต่ยังมีความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำ

ในพืชวงศ์ปาล์มได้ใช้เทคนิคเอเอฟแอลพีศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของมะพร้าว (*Cocos nucifera* L.) โดยใช้ไพรเมอร์ *Eco*RI กับ *M*seI จำนวน 8 คู่ไพรเมอร์ ทดสอบมะพร้าวสายพันธุ์ต้นสูง (Typita) ต้นกลาง (Aurantiaca) และต้นเตี้ย (Nana) พบว่าต้นขนาดกลางมีความสัมพันธุ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกับต้นเตี้ยมากกว่าต้นสูง ซึ่งจะเป็นข้อมูลในการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ของมะพร้าว (Perera et al.,1998) และได้มีการใช้เทคนิคเอเอฟแอลพีร่วมกับ isozyme ศึกษาความหลากหลายในปาล์มน้ำมัน (*Elaeis guineensis Jacq*) ในประชากรจาก Cameroon, Deli, Lvory Coast และ Zaire ของ Indonesian Oil Palm Research Institute (IOPRI) พบว่าประชากรปาล์มน้ำมันที่ศึกษาส่วนใหญ่เป็นการผสมพันธุ์ภายในประชากรของ African ซึ่งอาจจะให้ผลผลิตดีกว่าการผสมพันธุ์กันระหว่าง African กับ Deli (Purba et al., 2000) นอกจากนี้ยังใช้ศึกษาความแตกต่างของประชากร peach palm จากแหล่งธรรมชาติ และแหล่งปลูกทางการค้าจากแม่น้ำ Paranapura และ Cuiparilo ใน Peruvian Amazon พบว่าประชากรของ peach palm จากแหล่งธรรมชาติไม่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมส่วนจากแหล่งปลูกทางการค้าประชากรมีความแตกต่างทางพันธุกรรม อาจเนื่องมาจากประชากรมีการเคลื่อนย้ายยีน (gene flow) และเกิดการคัดเลือกพันธุ์ จึงทำให้เกิดความแตกต่างทาง

พันธุกรรมของประชากร (Adin et al, 2004) และการศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรมของตาลโตนดในเขตอำเภอสทิงพระและสิงหนคร จังหวัดสงขลา โดยใช้เทคนิคเอเอฟแอลพี 20 คู่ไพรเมอร์ พบว่าตาลโตนดมีความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำ เนื่องจากผลการทดลองพบแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกัน (monomorphic band) 80.22% อาจเพราะตาลโตนดเป็นพืชอายุยืน คือ ประมาณ 80 ปี ทำให้การเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมเกิดขึ้นได้ช้า (เกษศิรินทร์ และคณะ, 2550)

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วิธีการเก็บรวมรวมข้อมูล

ตัวอย่างทั้งหมด 65 ตัวอย่าง ของต้นลานถูกสุ่มจาก 6 จังหวัดในประเทศไทย โดย 28 ตัวอย่างเป็นลานชนิด *C. lecomtei* จาก จ.ปราจีนบุรี 10 ตัวอย่าง, จ.ขอนแก่น 10 ตัวอย่าง และ จ.ลำปาง 8 ตัวอย่าง ส่วนอีก 10 ตัวอย่างเป็นลานชนิด *C. umbraculifera* จาก จ.ลำปาง ส่วนที่เหลือ 27 ตัวอย่างเป็นลานชนิด *C. utan* ซึ่งได้มาจาก จ.นครปฐม 10 ตัวอย่าง จ.สุราษฎร์ธานี 7 ตัวอย่าง และ จ.สตูล 10 ตัวอย่าง ในการศึกษาครั้งนี้ยังได้มีการเพิ่มตัวอย่างของลานแต่ละชนิด ซึ่งได้มาจากสวนนงนุช จ.ชลบุรี และสวนแสนปาล์ม จ.นครปฐม เพื่อช่วยระบุ และเป็นพืชอ้างอิง (ตารางที่ 4) นอกจากนี้ในการศึกษาได้ทำการบันทึกขนาดต้นของพืช ความสูงจากระดับน้ำทะเล และใช้ GPS ช่วยในการระบุตำแหน่ง ส่วนวิธีการเก็บใบอ่อนถูกตัดให้ได้ขนาด 5x10 ตารางเซนติเมตร ใส่ในถุงพลาสติก เก็บรักษาในกล่องด้วยอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาวิเคราะห์ตรวจสอบลักษณะของดีเอ็นเอในห้องปฏิบัติการ

ตารางที่ 4 สถานที่ และจำนวนตัวอย่างต้นลานที่ใช้ในการศึกษา

ชนิด	สถานที่	จำนวนตัวอย่าง
C. lecomtei	1. อุทยานแห่งชาติทับลาน อ.นาดี จังหวัดปราจีนบุรี	10
	2. อ.ชุมแพ และ อ.สีชมพู จังหวัดขอนแก่น	10
	3. อ.เมือง และ อ.เกาะคา จังหวัดลำปาง	8
C. umbraculifera	1. อ.เมือง และ อ.เกาะคา จังหวัดลำปาง	10
C. utan	1. อ.กำแพงแสน และ อ.นครชัยศรี จ.นครปฐม	10
	2. อ.พุนพิน และ อ.เมือง จ.สุราษฎร์ธานี	7
	3. อ.ทุ่งหว้า และ อ.ระงู จ.สตูล	10

หมายเหตุ: 1. เพิ่มตัวอย่างจากสวนนงนุช อ.สัตหีบ จ.ชลบุรี จำนวนชนิดละ 1 ตัวอย่าง ได้แก่ *C. lecomtei*, *C. umbraculifera* และ *C. utan* 2. เพิ่มตัวอย่างจากสวนแสนปาล์ม อ.กำแพงแสน จ.นครปฐมจำนวนชนิดละ 1 ตัวอย่าง ได้แก่ *C. lecomtei* และ *C. utan*

3.2 วิธีวิเคราะห์ข้อมูล

3.2.1 การสกัดดีเอ็นเอ (DNA Extraction)

จีโนมของดีเอ็นเอถูกสกัดจากตัวอย่างของใบตามวิธีของ Fulton et al. (1995) โดยมีวิธีการสกัดดังนี้

1. ใช้เนื้อเยื่อของใบ 100 มิลลิกรัม ใส่ในโตรเจนเหลว ในหลอดไมโครเซ็นตริฟิวจ์ ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่บรรจุสารละลาย (750 ไมโครลิตร) ของ extraction buffer 2.5 ส่วน (0.35 M sorbiol, 0.1M tris-base, 5 mM EDTA, pH 7.5) นำเนื้อเยื่อของใบขนาด 100 มิลลิกรัม ที่อยู่ในไนโตรเจนเหลวไปใส่ Nuclei lysis buffer 2.5 ส่วน (0.2 M tris, 0.05 M EDTA, 2 M NaCl, 2% CTAB sarkosyl) และ 0.25 กรัมของ sodium bisulfite per 100 มิลลิลิตร ที่อุ่นไว้ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

2. ตัวอย่างที่ผสมแล้วจะถูกบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และถูกผสมเข้าด้วยกันโดยใช้ vortex เป็นเวลา 10 วินาที

3. เติม chloroform: isoamyl alcohol (24:1) 700 ไมโครลิตร ผสมกันโดยใช้ vortex เป็นเวลา 10 วินาที และเซ็นติฟิวจ์หรือปั่นเหวี่ยงที่ 8,944 xg ณ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที

4. ใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายส่วนบน 500 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดใหม่ เติม cold isopropanol 400 ไมโครลิตร หลังจากนั้นกลับหลอดไปมาเป็นเวลา 30 วินาที และทำการปั่นเหวี่ยงที่ 8,944 xg ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 นาที

5. เทส่วนที่เป็นน้ำทิ้ง เติม washing buffer 500 ไมโครลิตรของ 80% ethanol แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 8,944 xg ณ อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 นาที

6. เทส่วนที่เป็นน้ำทิ้ง คว่ำหลอดบนกระดาษซับให้แห้งหรือปล่อยให้แห้งในอากาศ แล้วละลายตะกอนใน TE buffer 200 ไมโครลิตร (10 mM tris-HCl, pH 8.0, 1mM EDTA) และเติม RNaseA (5 mg/ml)

7. ตัวอย่างจีโนมดีเอ็นเอที่ถูกสกัดจะถูกวิเคราะห์ความเข้มข้นและความบริสุทธิ์ โดยใช้ spectrophotometry และ DNA electrophoresis

3.2.2 การวิเคราะห์เอเอฟแอลพี (AFLP Analysis)

การวิเคราะห์เอเอฟแอลพี (Amplified Fragment Length Polymorphism) ตามเทคนิคของ Vos et al. (1995) มีวิธีการดังนี้

1. นำดีเอ็นเอ 500 นาโนกรัม มาตัดด้วยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะ 2 ชนิด คือ *Eco*RI กับ *M*seI ทำปริมาตรสุดท้ายหลังการย่อยเป็น 20ไมโครลิตร ดังนั้นจะพบว่าในปริมาตรดังกล่าวจะมี

ส่วนประกอบคือ 500 นาโนกรัมของดีเอ็นเอ, 1xNE2 Buffer, เอนไซม์ *Eco*RI และ *M*seI อย่างละ 5U และ1 ไมโครลิตรของ bovine serum albumin

2. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสตลอดคืน และบ่มต่อที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ซึ่งการบ่มดังกล่าวไม่ได้กระตุ้นปฏิกิริยาการย่อย

3. การเชื่อมต่อดีเอ็นเอกับ adapter โดยนำดีเอ็นเอที่ตัดไว้มาเติม *Eco*RI และ *M*seI adapter 30 ไมโครลิตร ซึ่งมี *Eco*RI adapter 0.5 µM, *M*seI adapter 5 µM, 1X ligase buffer และ 1 U ของ T4 DNA ligase

4. ปฏิกิริยาดังกล่าวถูกบ่มที่อุณหภูมิ 16 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 16 ชั่วโมง

5. สำหรับการทำ pre-selective amplification จะใช้ 2 ไพรเมอร์ ซึ่งมีส่วนประกอบของ *Eco*RI และ *M*seI adapter จากนั้นเพิ่มเบสลงไป 1 เบส ตำแหน่งปลาย 3' (*Eco*RI+N และ *M*seI+N ตามลำดับ)

6. ปฏิกิริยา pre- amplification ทำโดยใช้ 10 pM *Eco*RI+N primer, 10 pM *M*seI+N primer, 200 µM dNTP, 1X PCR buffer, 1.5 mM $MgCl_2$ และ 1 U *Taq* DNA polymerase

7. การทำ PCR ประกอบด้วยทำ 1 รอบ ที่ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที, 28 รอบที่ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที, 56 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที, 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที และ 1 รอบ ที่ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที

8. pre-selective amplification ที่ได้จะถูกเจือจาง 50 เท่าในน้ำกลั่น และ 1 ไมโครลิตรจากการเจือจางจะใช้เป็นเป้าหมายสำหรับ pre-selective amplification ร่วมกับ *Eco*RI และ *M*seI primer ซึ่งจะถูกเพิ่มเบส 3 เบสของปลาย 3' (*Eco*RI+NNN และ *M*seI+NNN)

9. ในการศึกษาครั้งนี้ *Eco*RI+C และ*M*seI+Gprimer ถูกใช้ในขั้นpre-selective amplification ขณะที่ขั้นตอนการเพิ่มเบส 3 เบสของ *Eco*RI และ *M*seI primer อยู่ในขั้น selective amplification ซึ่งประกอบไปด้วย *Eco*RI+CAA/*M*seI+GAA, CAA/GAG, CAG/GAT และ CAG/GCA โดยชื่อของแต่ละไพรเมอร์กับการเลือกเบสที่เฉพาะจะใช้ในขั้นตอนนี้ (ตารางที่ 5)

10. ปฏิกิริยา PCR จะถูกทำร่วมกับ 10 pM *Eco*RI+CNN, 10 pM *M*seI+GNN, 200 µM dNTP, 1X PCR buffer, 1,5 mM $MgCl_2$ และ 1 U *Taq* DNA polymerase ซึ่งมีปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 20 ไมโครลิตร

11. ขณะที่ PCR profiles ถูกปรับแต่งให้เป็น touch-down PCR ซึ่งเป็นการทำพีซีอาร์โดยใช้สภาวะที่เข้มงวดมาก (high stringency) ในรอบแรก และค่อยๆ ลดลงในรอบต่อมาตามลำดับ วิธีการคือทำ 1 รอบ ของ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที, 11 รอบ ที่ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วินาที, 65 องศาเซลเซียส (-0.7 °C/รอบ) เป็นเวลา 30 วินาที, 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 วินาที

และ 25 รอบ ที่ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วินาที, 56 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที, 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 วินาที (+1 วินาทีต่อรอบ)

12. ผลผลิต PCR ถูกผสมรวมกับหนึ่งเท่าของ denaturing solution (98% formamide, 0.05% xylene cyanol และ 0.04% bromophenol blue) โดย denature ถูกผสมที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที และเก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นเวลา 10 นาที ก่อนทำบน 5% denaturing polyacrylamide gel

13. Gel electrophoresis จะถูกรันเป็นเวลา 2 ชั่วโมงกับ voltage 1,200 V, 30 mA และ 50 W ต่อ glass plate set

14. นำเจลที่ได้ไปย้อมด้วยซิลเวอร์ตามวิธีของ Sambrook and Russell (2001) เพื่อตรวจสอบแถบดีเอ็นเอ

ตารางที่ 5 ลำดับของ Adapters, Pre-selective และ Selective Primers ที่ใช้ในการวิเคราะห์ AFLP

Adapters and Primers		Sequence (5'-3')
Adapters	*Eco*RI adapter 1	CTCGTAGACTGCGTACC
	*Eco*RI adapter 2	AATTGGTACGCAGTCTAC
	*Mse*I adapter 1	GACGATGAGTCCTGAG
	*Mse*I adapter 2	TACTCAGGACTCAT
Pre-selective Primers	*Eco*RI-C	GACTGCGTACCAATTCC
	*Mse*I-G	GATGAGTCCTGAGTAAG
Selective Primers	*Eco*RI-CAA	GACTGCGTACCAATTC**CAA**
	*Eco*RI-CAG	GACTGCGTACCAATTC**CAG**
	*Mse*I-GAA	GATGAGTCCTGAGTAA**GAA**
	*Mse*I-GAG	GATGAGTCCTGAGTAA**GAG**
	*Mse*I-GAT	GATGAGTCCTGAGTAA**GAT**
	*Mse*I-GCA	GATGAGTCCTGAGTAA**GCA**

3.2.3 การวิเคราะห์ข้อมูล (Data Analysis)

ทำการบันทึกคะแนนของจีโนไทป์ของแต่ละตัวอย่าง จากนั้นข้อมูลของจีโนไทป์จะถูกทำเป็นกลุ่มตามชนิดและตำแหน่ง ในลักษณะการเกิดและไม่เกิดแถบดีเอ็นเอ บนเจลที่ตำแหน่งเดียวกัน ตำแหน่งแถบดีเอ็นเอเทียบได้กับ ตำแหน่งยีน 1 ตำแหน่ง โดยกำหนดสัญลักษณ์ "1" เมื่อเกิดแถบดีเอ็นเอ และ "2" เมื่อไม่เกิดแถบดีเอ็นเอ ที่ตำแหน่งเดียวกัน ข้อมูลของแต่ละกลุ่มจะถูกวิเคราะห์ตามวิธีของ Triwitayakorn et al. (2006) โดยใช้ TFPGA 1.3 (Miller, 1997) และความถูกต้องของระยะห่างของพันธุกรรมสำหรับตัวอย่างขนาดเล็กใช้ UPGMA tree based on Nei (1978) เพื่อตรวจสอบความสัมพันธ์ระหว่างระยะห่างของ geographic และ genetic (TFPGA 1.3) และเพื่อเป็นการเพิ่มความมั่นใจในโครงสร้างต้นไม้โดยข้อมูลดั้งเดิม จะใช้ bootstrapping กับ 1000 permutations คำนวณค่าต่างๆ ทางพันธุกรรมดังนี้

(1) ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์โพลีมอร์ฟิก (polymophic : *P*) และค่าเฮตเทอโรไซโกซิตี้ (heterozygosity : *H* (unbiased))

คำนวณหาเปอร์เซ็นต์แถบดีเอ็นเอที่แสดงความแปรผันทางพันธุกรรม (polymorphism) ประชากรต้นลานตามวิธีการของ Hawksworth (1995)

จากสูตร $P = 100\ (p/n)$

เมื่อ p คือจำนวนแถบดีเอ็นเอที่แสดงความผันแปรจากจำนวนแถบทั้งหมด n แถบ

คำนวณหาค่าเฮตเทอโรไซโกซิตี้ (heterozygosity: *H* (unbiased)) ความหลากหลายภายในประชากรต้นลานตามวิธีการของ Nei (1978)

(2) เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างประชากร

คำนวณระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างประชากรต้นลานโดยคำนวณค่า Nei's unbiased (1978) minimum distances ระหว่างประชากรต้นลานตามวิธีการของ Nei (1978)

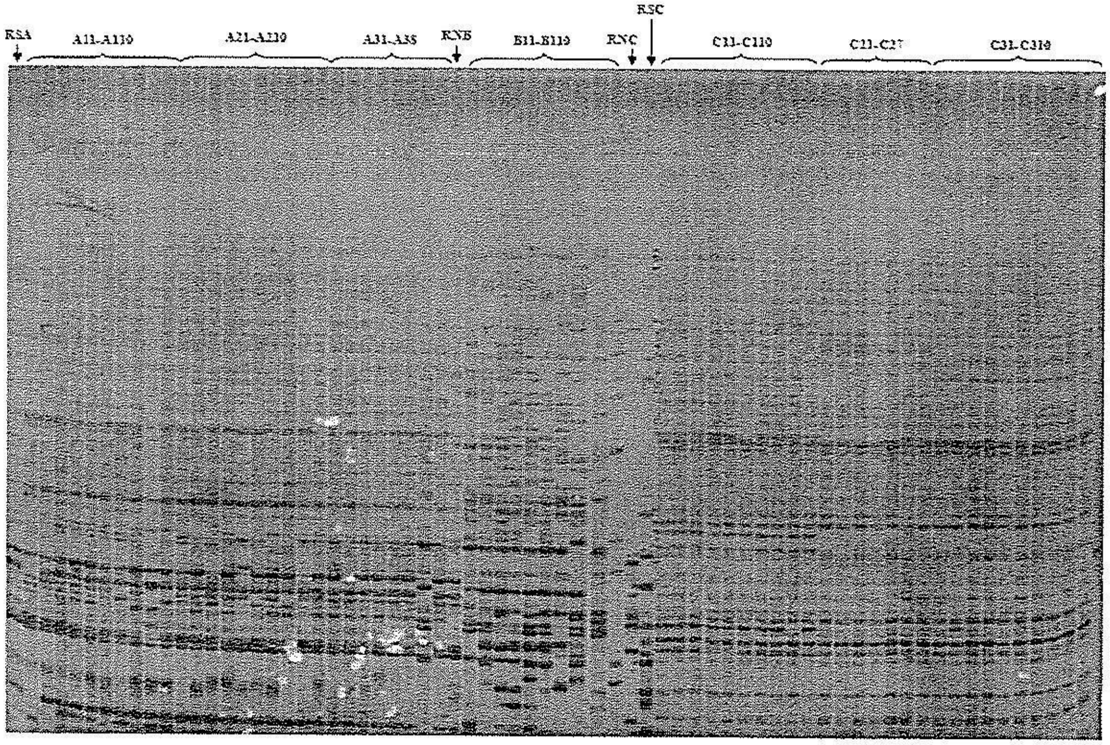
(3) แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (phylogenetic dendrogram)

นำระยะห่างทางพันธุกรรมที่ได้มาสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ด้วยวิธี unweighted pairgroup method with arithmetic means (UPGMA)

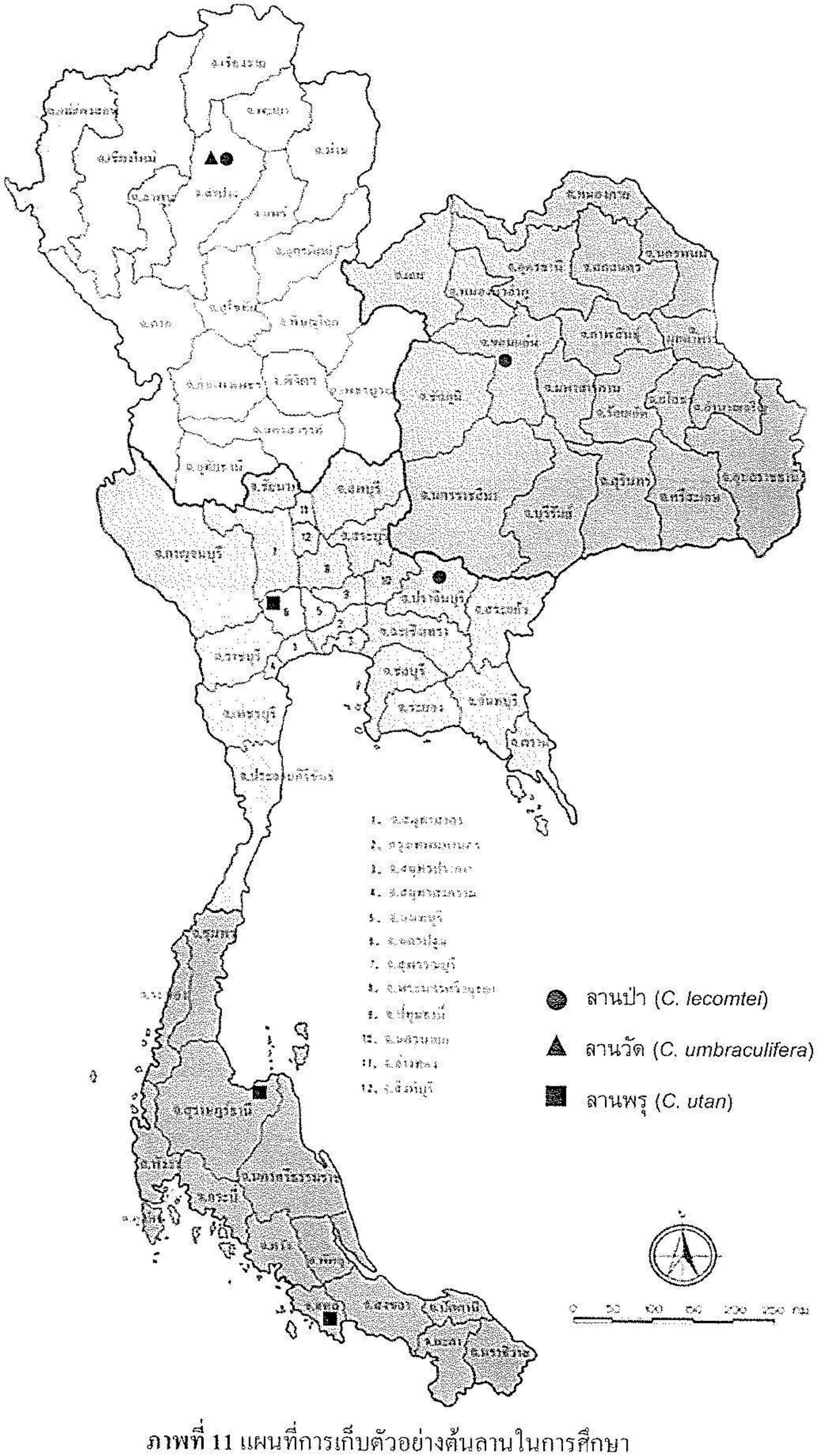
บทที่ 4
ผลการวิจัย และวิจารณ์ผล

4.1 ผลการวิจัย และวิจารณ์ผล

ปริมาณของตัวอย่างทั้งหมด 65 ตัวอย่าง ของต้นลานถูกเก็บจาก 6 จังหวัดในประเทศไทย ดังตารางภาคผนวกที่ 1 ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 7 กลุ่มประชากรตามชนิด (ภาพที่ 10) และสถานที่ (ภาพที่ 11) นอกจากนี้ยังได้มีการเพิ่มตัวอย่างของแต่ละชนิด เพื่อใช้เป็นตัวอย่างอ้างอิง จีโนม DNA ของแต่ละตัวอย่างถูกสกัดจากเนื้อเยื่อใบ และวิเคราะห์ Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) โดยพบว่าทั้งหมดของ 217 Polymorphic Band ถูกระบุโดยการใช้การผสม 4 AFLP Primer ซึ่งการระบุสามารถทำได้โดยการให้คะแนน และบันทึกจีโนไทป์ หลังจากนั้นทำการวิเคราะห์พันธุกรรมโดยการใช้ TFPGA 1.3 ซึ่งข้อมูลจะถูกวิเคราะห์ตามชนิด และตำแหน่ง Z



ภาพที่ 10 ตัวอย่างดีเอ็นเอต้นลานแต่ละชนิดในแต่ละสถานที่สกัดได้ RSA ลานป่าจาก จ.นครปฐม, A11-A110 ลานป่าจาก จ.ปราจีนบุรี, A21-A210 ลานป่าจาก จ.ขอนแก่น, A31-A38 ลานป่าจาก จ.ลำปาง, RNB ลานเชียงใหม่ จากสวนนงนุช จ.ชลบุรี, B11-B110 ลานเชียงใหม่จาก จ.ลำปาง, RNC ลานพรุจากสวนนุช จ.ชลบุรี, RSC ลานพรุจาก จ.นครปฐม, C11-C110 ลานพรุจาก จ.นครปฐม, C21-C27 ลานพรุจาก จ.สุราษฎร์ธานี และ C31-C310 ลานพรุจาก จ.สตูล

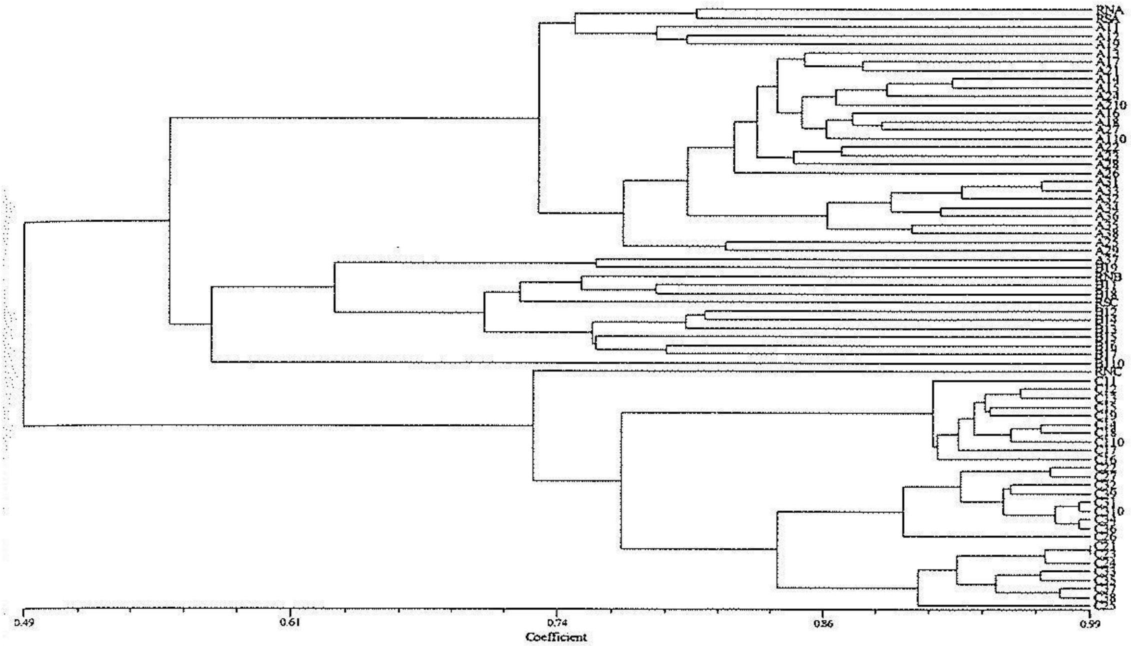


ภาพที่ 11 แผนที่การเก็บตัวอย่างต้นลานในการศึกษา

สำหรับสามประชากรของ *C. lecomtei* มีค่าความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยเฮตเทอโรไซโกซิตี้ระหว่าง 0.165 (จ.ขอนแก่น) ถึง 0.209 (จ.ลำปาง) และเมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของ Polymorphic Loci ที่ระดับ 99% มีค่าอยู่ระหว่าง 49.30% (จ.ขอนแก่น) ถึง 59.44% (จ.ลำปาง) ประชากรทั้งสามรวมทั้งตัวอย่างอ้างอิงถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มที่มี node เหมือนกัน ซึ่งเป็นประชากรที่ใกล้เคียงที่สุดที่ถูกพบใน จ.ปราจีนบุรี และ จ.ขอนแก่น (ตารางที่ 6) การวิเคราะห์ข้อมูลของประชากร *C. umbraculifera* พบว่ามีค่าเฉลี่ยเฮตเทอโรไซโกซิตี้ และเปอร์เซ็นต์ของ Polymorphic Loci ที่ระดับ 99% มีค่าเท่ากับ 0.220 และ 76.03% ตามลำดับ ซึ่งสามารถคาดการณ์ได้ว่าอยู่ในกลุ่มที่มี node เหมือนกันกับกลุ่มตัวอย่างอ้างอิง ส่วนจำนวนสามประชากรของ *C.utan* ก็ถูกพบว่าอยู่ในกลุ่มที่มี node เหมือนกันกับกลุ่มอ้างอิงเช่นเดียวกัน เมื่อพิจารณาวัดระยะห่างทั้งหมด ประชากรที่ใกล้เคียงกันมากที่สุดถูกพบจาก จ.สุราษฎร์ธานี และ จ.สตูล ผลดังกล่าวสอดคล้องกับระยะห่างทาง Geological ของสองจังหวัดที่ตั้งอยู่ทางใต้ของประเทศกับ จ.นครปฐม ซึ่งตั้งอยู่ตอนกลางของประเทศ และมีค่าความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยเฮตเทอโรไซโกซิตี้อยู่ระหว่าง 0.072 (จ.นครปฐม) ถึง 0.086 (จ.สตูล) และเมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของ Polymorphic Loci ที่ระดับ 99% มีค่าอยู่ระหว่าง 19.81% (จ.นครปฐม) ถึง 23.50% (จ.สตูล)

ตารางที่ 6 ความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *C. lecomtei*, *C. umbraculifera* และ *C. utan*

ชนิด	สถานที่	จำนวนตัวอย่าง	Average Heterozygosity	Percentage of Polymorphic Loci using the 99% criterion
C. lecomtei	ปราจีนบุรี	10	0.188	51.15
	ขอนแก่น	10	0.165	49.30
	ลำปาง	8	0.209	59.44
		ค่าเฉลี่ย	**0.187**	**53.30**
C. umbraculifera	ลำปาง	10	**0.220**	**76.03**
C. utan	นครปฐม	10	0.072	19.81
	สุราษฎร์ธานี	7	0.080	24.42
	สตูล	10	0.086	23.50
		ค่าเฉลี่ย	**0.079**	**22.58**



ภาพที่ 12 ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการตามแบบ UPGMA ระหว่างลานแต่ละชนิด ซึ่งกำหนดรหัสดังนี้

กลุ่มลานอ้างอิง	กลุ่มตัวอย่างลานป่า	กลุ่มตัวอย่างลานวัด	กลุ่มตัวอย่างลานพรุ
RNA ลานป่าจากสวนนงนุช จ.ชลบุรี	A1 จังหวัดปราจีนบุรี	B1 จังหวัดลำปาง	C1 จังหวัดนครปฐม
RNB ลานวัดจากสวนนงนุช จ.ชลบุรี	A2 จังหวัดขอนแก่น		C2 จังหวัดสุราษฎร์ธานี
RNC ลานพรุจากสวนนงนุช จ.ชลบุรี	A3 จังหวัดลำปาง		C3 จังหวัดสตูล
RSA ลานป่าจากสวนแสนปาล์ม จ.นครปฐม			
RSC ลานพรุจากสวนแสนปาล์ม จ.นครปฐม			

ผลการวิเคราะห์ความใกล้ชิดทางพันธุกรรมระหว่างต้นลาน 3 ชนิดโดยใช้เทคนิค AFLP สามารถจัดกลุ่มของต้นลานทั้ง 3 ชนิด ตามลำดับความสัมพันธ์ดังแสดงในภาพที่ 12 กล่าวคือ ลานป่ามีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมกับลานวัดมากกว่าลานพรุ ผลที่ได้แสดงให้เห็นประชากรของ *C. lecomtei* และ *C. umbraculifera* มีความใกล้เคียงทางพันธุกรรมมากกว่า *C.utan* และถึงแม้ว่าประชากรทั้งหมดจะมีค่าเฉลี่ยเฮตเทอโรไซโกซิตี้ต่ำเหมือนกัน แต่ประชากรของ *C.utan* มีค่าเฉลี่ยเฮตเทอโรไซโกซิตี้ต่ำที่สุด เป็นไปได้ที่ต้นลานมีโอกาสผสมตัวเอง (Self-pollinated) หรือต้นลานแพร่กระจายในพื้นที่จำกัด เช่น ลานป่าจาก จ.ขอนแก่น และลานพรุจาก จ.นครปฐม ทำให้สมาชิกประชากรไม่มีการแยกตัวออกจากประชากรเดิม นอกจากนั้นเป็นไปได้ว่าในอดีตที่ผ่านมาแหล่งอาศัยของต้นลานทั้ง 3 ชนิด อาจเกิดการถูกบุกรุกทำลาย ทำให้บางประชากรเท่านั้นที่รอดชีวิต เมื่อมีการปรับปรุงแหล่งอาศัยทำให้ประชากรเพิ่มขึ้นแต่ก็ยังมีความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำ (สัมพันธ์ และคณะ, 2544) และต้นลานมีการเจริญเติบโตช้า กว่าจะออกดอกใช้เวลานานถึง 60-80 ปี ทำให้การ

เปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมเกิดขึ้นได้ช้าคล้ายกับต้นตาลโตนดที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำเหมือนกัน เมื่อใช้เทคนิค AFLP ในการศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรม (เกษศิรินทร์ และคณะ, 2550) ดังนั้นต้นลานทั้ง 3 ชนิดที่พบในประเทศไทยจึงมีความเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ (Threatened species) สูง

Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) เป็นเทคนิคที่เหมาะสมในการศึกษาพันธุกรรม และความสัมพันธ์ใกล้ชิดทางพันธุกรรมของต้นลานในประเทศไทย ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างมากในการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช เพื่อใช้เป็นฐานข้อมูลสำหรับการใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ รวมถึงการปรับปรุงพันธุ์ในอนาคต ในอดีตการศึกษาพันธุกรรมพืช และการจำแนกกลุ่มพืช ทำได้โดยอาศัยความแตกต่างทางสัณฐานวิทยาอย่างไรก็ตามการอาศัยลักษณะสัณฐานมีข้อจำกัดหลายประการ โดยเฉพาะอย่างยิ่งพืชที่มีลักษณะใกล้เคียงกันดังนั้นการใช้เทคนิคทางด้านชีวโมเลกุลจะเป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพในการศึกษาดังกล่าวเห็นได้จากสามารถจัดจำแนก A37 ลานป่าจาก จ.ลำปาง จัดอยู่ในกลุ่มของลานวัด และ RSC ลานพรุจาก จ.นครปฐม จัดอยู่ในกลุ่มของลานวัด

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

เมื่อพิจารณาต้นลานทั้ง 3 ชนิด ผลที่ได้แสดงให้เห็นประชากรของ *C. lecomtei* และ *C. umbraculifera* มีความใกล้เคียงทางพันธุกรรมมากกว่า *C.utan* และถึงแม้ว่าประชากรทั้งหมดจะมีค่าเฉลี่ยเฮตเทอโรไซโกซิตี้ต่ำเหมือนกัน แต่ประชากรของ *C.utan* มีค่าเฉลี่ยเฮตเทอโรไซโกซิตี้ต่ำที่สุด ดังนั้นการวิจัยสามารถสรุปได้ว่าต้นลานทั้ง 3 ชนิดที่พบในประเทศไทยมีความเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ (Threatened species)

Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) เป็นเทคนิคที่เหมาะสมในการศึกษาพันธุกรรม และความสัมพันธ์ใกล้ชิดทางพันธุกรรมของต้นลานในประเทศไทย ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างมากในการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช เพื่อใช้เป็นฐานข้อมูลสำหรับการใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ รวมถึงการปรับปรุงพันธุ์ในอนาคต

5.2 ข้อเสนอแนะ

ควรเพิ่มคู่ไพรเมอร์ให้มากขึ้นได้ เพื่อจะได้แถบ DNA ของชนิดต้นลานได้ชัดเจนมากขึ้น นอกจากนั้นควรมีการพัฒนาลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprint) ที่มีลักษณะจำเพาะกับแต่ละชนิดของต้นลาน หรือเพาะขยายพันธุ์โดยใช้เทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (tissue culture) ชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ (mutation) เพื่อให้ได้ต้นลานที่มีพันธุกรรมแตกต่างไปจากเดิม

เอกสารอ้างอิง

กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช. (2549). **ร่างแผนการจัดการอุทยานแห่งชาติทับลาน เล่ม 2 แผนการจัดการ**. กรุงเทพฯ: บริษัท แอ๊ดวานซ์ โปรเกรส เนวิเกชั่น เซ็นเตอร์ จำกัด.

กองอุตสาหกรรม. (2526). **ลาน และผลิตภัณฑ์จากลาน**. กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม: กรุงเทพฯ. 210 หน้า.

เกษศิรินทร์ รัทจร, อุบลวรรณ อุโพธิ์, เปลื้อง สุวรรณมณี และอรุณรัศมิ์ วณิชชานนท์. (2550). **การจำแนกตาลโตนดโดยใช้เครื่องหมายเอเอฟแอลพี**. การประชุมวิชาการพันธุศาสตร์แห่งชาติ ครั้งที่ 15 วันที่ 23-25 พฤษภาคม 2550. สงขลา.

พูลศักดิ์ วัชรากร. (2548). **ปาล์มและปรงในป่าไทย**. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์บ้านและสวน. 272 หน้า.

มารวย เมฆานวกุล. (2553). โครงการ **"แผนที่ภูมินิทัศน์ภาคใต้: ฐานเศรษฐกิจและทุนวัฒนธรรม" ลาน: พันธุ์ไม้**. [ออนไลน์]. ได้มาจาก: www.sru.ac.th/TRF/Documents/0093.pdf

สัมพันธ์ จันทร์ดำ, อุทัยรัตน์ ณ นคร และปรัชญา มุสิกสินธร. (2544). **ความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาดุกลำพัน (*Prophagorus nieuhofii*) ในประเทศไทย**. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 39 5-7 ก.พ. 2544. หน้า 104-112.

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. (2545). **จีโนมและเครื่องหมายโมเลกุล: ปฏิบัติการอาร์เอพีดีและเอเอฟแอลพี**. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อุทัยรัตน์ ณ นคร. (2543). **พันธุศาสตร์สัตว์น้ำ**. คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 203 หน้า.

Adin, A., J.C. Weber, M.C. Sotelo, H. Vidaurre, B. Vosean and M.J. Smulders. (2004). Genetic differentiation and trade among population of peach palm (*Bactris gasipeaes* Kunth) in the Peruvian Amazon-implication for genetic resource management. **Theoretical and Applied Genetics**. 108: 1564-1573.

Dorsey, J. (2010). **A List of the Palms of the World** [On-line]. Available: http://www.plantapalm.com/vpe/misc/palmsoftheworld.PDF

Fulton, T.M., J. Chunwongse and S.D. Tanksley. (1995). Microprep protocol for extraction of DNA from tomato and other herbaceous plants. **Plant Molecular Biology Reporter**. 13: 207-209.

Harley, M. M. (2006). A summary of fossil records for Arecaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society**. 151: 39-67.

Hawksworth, D.L.(1995). **Biodiversity, Measurement and Estimation**. Chapman & Hall, Oxford. 140 pp.

Hodel, D. R. (1998). **The Palms and Cycads of Thailand**. Lawrence, Kansas: Allen Press.

Markey, P. (2009). **The world's rarest wild palm tree Corypha taliera is dying**. [On-line]. Available: http://www.trebrown.com/articles/blog/?p=110

Mekanawakul, M., M.L.C. Thongtham, P. Chalermglin, P. Srifah and N. Juntawong. (2003) Diversity and genetic variation among population of Thai Cycads revealed by AFLP markers. **Suranaree Journal of Science and Technology**. 10: 317-328.

Miller, M. P. (1997). **Tool for Population Genetic Analysis (TFPGA) version 1.3.** Department of Biology Science, North Arizona University, Arizona.

Nei, M. (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**. 89: 583–590.

Perera, L., J.R. Russell, J. Provan, J. W. Mcnicol and W. Powell. (1998). Evaluating genetic relationships between indigenous coconut (*Cocos nucifera* L.) accessions from Sri Lanka by means of AFLP profiling. **Theoretical and Applied Genetics**. 96: 545-550.

Purba, A.R., J.L. Noyer, L. Baudouin, X. Perrier, S. Hamon and P.J. Lagoda. (2000). A new aspect of genetic diversity of Indonesian oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) revealed by isoenzyme and AFLP markers and its consequences for breeding. **Theoretical and Applied Genetics**. 101: 956-961.

Rohf, F. J. (1992). NTSYS-PC. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, version 1.70. Exeter Software, Applied Biostatistics Inc., New York.

Sambrook, J. and D. W. Russell. (2001). **Molecular Cloning: A Laboratory Manual**. In Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York.

Srivastava, R. C. and R. K. Choudhary. (2007). Is *Corypha talliera* (Arecaceae), the most handsome palm of India, extinct?. **Current Science** 93:127.

Triwitayakorn K., B. Moolmuang, S. Sraphet, S. Panyim, A. Na-Chiangmai and D.R. Smith. (2006). Analysis of genetic diversity of the Thai swamp buffalo (*Bubalus bubalis*) using cattle microsatellite DNA markers. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**. 19: 617-621.

Uhl, N. W. and J. Dransfield. (1987). **Genera Palmarum: A Classification of Palms Based on the Work of Harold E. Moore Jr**. Lawrence, Kansas: Allen Press.

Vos P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T. Van de Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper and M. Zabeau. (1995). AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Research**. 23: 4407-4414.

Wikimedia (2010). ***Corypha*** [On-line]. Available: http://en.wikipedia.org/wiki/*Corypha*.

ภาคผนวก

ข้อมูลของต้นลานที่ใช้ในการศึกษา

ตารางภาคผนวก ข้อมูลขนาดของต้น; สถานที่เก็บตัวอย่าง, พิกัดทางภูมิศาสตร์ และความสูงจากระดับน้ำทะเล ของตัวอย่างทั้งหมด

รหัส	ชนิด	ขนาดของต้น	สถานที่เก็บตัวอย่าง	พิกัด		ความสูงจากระดับน้ำทะเล (เมตร)
				UTM (ค่า X)	UTM (ค่า Y)	
A11	*C. lecomtei*	ต้นใหญ่	อ.นาดี จ.ปราจีนบุรี	0809312	1563739	30.4
A12	*C. lecomtei*	ต้นเล็ก	อ.นาดี จ.ปราจีนบุรี	0812792	1571500	69.0
A13	*C. lecomtei*	ต้นเล็ก	อ.นาดี จ.ปราจีนบุรี	0814879	1572085	96.9
A14	*C. lecomtei*	ต้นเล็ก	อ.นาดี จ.ปราจีนบุรี	0812396	1574068	72.8
A15	*C. lecomtei*	ต้นเล็ก	อ.นาดี จ.ปราจีนบุรี	0812279	1576658	75.8
A16	*C. lecomtei*	ต้นเล็ก	อ.นาดี จ.ปราจีนบุรี	0810471	1580162	80.5
A17	*C. lecomtei*	ต้นเล็ก	อ.นาดี จ.ปราจีนบุรี	0813271	1579423	94.4
A18	*C. lecomtei*	ต้นเล็ก	อ.นาดี จ.ปราจีนบุรี	0813265	1579422	85.9
A19	*C. lecomtei*	ต้นเล็ก	อ.นาดี จ.ปราจีนบุรี	0808627	1583945	308
A110	*C. lecomtei*	ต้นเล็ก	อ.นาดี จ.ปราจีนบุรี	0807994	1584048	354
A21	*C. lecomtei*	ต้นปานกลาง	อ.ชุมแพ จ.ขอนแก่น	0819618	1851486	268
A22	*C. lecomtei*	ต้นเล็ก	อ.ชุมแพ จ.ขอนแก่น	0819679	1851787	280
A23	*C. lecomtei*	ต้นเล็ก	อ.ชุมแพ จ.ขอนแก่น	0180174	1853449	283
A24	*C. lecomtei*	ต้นเล็ก	อ.สีชมพู จ.ขอนแก่น	0180184	1856354	302
A25	*C. lecomtei*	ต้นเล็ก	อ.สีชมพู จ.ขอนแก่น	0819237	1860136	343
A26	*C. lecomtei*	ต้นเล็ก	อ.สีชมพู จ.ขอนแก่น	0818649	1861107	369
A27	*C. lecomtei*	ต้นเล็ก	อ.สีชมพู จ.ขอนแก่น	0183239	1860093	340
A28	*C. lecomtei*	ต้นปานกลาง	อ.สีชมพู จ.ขอนแก่น	0815173	1859838	322
A29	*C. lecomtei*	ต้นเล็ก	อ.สีชมพู จ.ขอนแก่น	0188403	1859845	291
A210	*C. lecomtei*	ต้นปานกลาง	อ.สีชมพู จ.ขอนแก่น	0194475	1857545	223
A31	*C. lecomtei*	ต้นปานกลาง	อ.เมือง จ.ลำปาง	18°17.881'	099°28.222'	269
A32	*C. lecomtei*	ต้นเล็ก	อ.เมือง จ.ลำปาง	18°17.889'	099°28.147'	257
A33	*C. lecomtei*	ต้นใหญ่	อ.เมือง จ.ลำปาง	18°17.939'	099°28.189'	248
A34	*C. lecomtei*	ต้นปานกลาง	อ.เกาะคา จ.ลำปาง	18°12.789'	099°20.301'	244
A35	*C. lecomtei*	ต้นใหญ่	อ.เกาะคา จ.ลำปาง	18°12.809'	099°20.318'	270
A36	*C. lecomtei*	ต้นปานกลาง	อ.เกาะคา จ.ลำปาง	18°12.803'	099°20.286'	255
A37	*C. lecomtei*	ต้นเล็ก	อ.เกาะคา จ.ลำปาง	18°12.960'	099°23.275'	213

รหัส	ชนิด	ขนาดของต้น	สถานที่เก็บตัวอย่าง	พิกัด		ความสูงจากระดับน้ำทะเล (เมตร)
				GPS (N)	GPS (E)	
A38	*C. lecomtei*	ต้นใหญ่	อ.เกาะคา จ.ลำปาง	18°12.998'	099°23.313'	249
B11	*C. umbraculifera*	ต้นใหญ่	อ.เมือง จ.ลำปาง	18°19.287'	099°30.899'	241
B12	*C. umbraculifera*	ต้นใหญ่	อ.เมือง จ.ลำปาง	18°19.297'	099°30.852'	230
B13	*C. umbraculifera*	ต้นเล็ก	อ.เมือง จ.ลำปาง	18°19.276'	099°30.893'	248
B14	*C. umbraculifera*	ต้นเล็ก	อ.เมือง จ.ลำปาง	18°17.883'	099°28.328'	240
B15	*C. umbraculifera*	ต้นใหญ่	อ.เมือง จ.ลำปาง	18°17.889'	099°28.273'	249
B16	*C. umbraculifera*	ต้นใหญ่	อ.เกาะคา จ.ลำปาง	18°13.001'	099°23.320'	244
B17	*C. umbraculifera*	ต้นใหญ่	อ.เกาะคา จ.ลำปาง	18°13.002'	099°23.322'	234
B18	*C. umbraculifera*	ต้นใหญ่	อ.เกาะคา จ.ลำปาง	18°13.000'	099°23.403'	227
B19	*C. umbraculifera*	ต้นใหญ่	อ.เมือง จ.ลำปาง	18°19.277'	099°30.864'	241
B110	*C. umbraculifera*	ต้นเล็ก	อ.เมือง จ.ลำปาง	18°19.270'	099°30.878'	237
C11	*C. utan*	ต้นใหญ่	อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม	14°01.072'	099°58.956'	127
C12	*C. utan*	ต้นใหญ่	อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม	14°01.135'	099°58.587'	216
C13	*C. utan*	ต้นใหญ่	อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม	14°01.697'	099°58.256'	7.9
C14	*C. utan*	ต้นปานกลาง	อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม	13°54.265'	100°05.121'	2.5
C15	*C. utan*	ต้นเล็ก	อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม	13°53.101'	100°06.766'	2.2
C16	*C. utan*	ต้นเล็ก	อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม	13°53.567'	100°07.045'	4.4
C17	*C. utan*	ต้นปานกลาง	อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม	13°53.583'	100°08.208'	1.4
C18	*C. utan*	-	อ.นครชัยศรี จ.นครปฐม	-	-	-
C19	*C. utan*	-	อ.นครชัยศรี จ.นครปฐม	-	-	-
C110	*C. utan*	-	อ.นครชัยศรี จ.นครปฐม	-	-	-
C21	*C. utan*	ต้นปานกลาง	อ.พุนพิน จ.สุราษฎร์ธานี	09°06.938'	099°12.796'	15.1
C22	*C. utan*	ต้นปานกลาง	อ.พุนพิน จ.สุราษฎร์ธานี	09°07.351'	099°12.699'	5.1
C23	*C. utan*	ต้นเล็ก	อ.เมือง จ.สุราษฎร์ธานี	09°07.577'	099°12.529'	6.0
C24	*C. utan*	ต้นใหญ่	อ.เมือง จ.สุราษฎร์ธานี	09°07.356'	099°13.084'	5.0
C25	*C. utan*	ต้นใหญ่	อ.เมือง จ.สุราษฎร์ธานี	09°07.502'	099°12.776'	5.7
C26	*C. utan*	ต้นเล็ก	อ.เมือง จ.สุราษฎร์ธานี	09°07.502'	099°12.776'	5.7
C27	*C. utan*	ต้นใหญ่	อ.เมือง จ.สุราษฎร์ธานี	09°06.938'	099°12.796'	15.1

รหัส	ชนิด	ขนาดของต้น	สถานที่เก็บตัวอย่าง	พิกัด		ความสูงจากระดับน้ำทะเล (เมตร)
				GPS (N)	GPS (E)	
C31	*C. utan*	ต้นใหญ่	อ.ทุ่งหว้า จ.สตูล	-	-	-
C32	*C. utan*	ต้นเล็ก	อ.ระงู จ.สตูล	06°57.437'	099°46.572'	5.5
C33	*C. utan*	ต้นปานกลาง	อ.ระงู จ.สตูล	06°55.516'	099°47.273'	10.9
C34	*C. utan*	ต้นปานกลาง	อ.ระงู จ.สตูล	06°54.731'	099°47.345'	9.7
C35	*C. utan*	ต้นเล็ก	อ.ระงู จ.สตูล	06°53.666'	099°47.309'	4.5
C36	*C. utan*	ต้นปานกลาง	อ.ระงู จ.สตูล	06°54.556'	099°47.287'	2.1
C37	*C. utan*	ต้นปานกลาง	อ.ระงู จ.สตูล	06°55.019'	099°47.363'	2.7
C38	*C. utan*	ต้นเล็ก	อ.ระงู จ.สตูล	06°54.958'	099°47.453'	11.2
C39	*C. utan*	ต้นเล็ก	อ.ระงู จ.สตูล	06°54.966'	099°47.554'	15.3
C310	*C. utan*	ต้นเล็ก	อ.ระงู จ.สตูล	06°54.253'	099°47.290'	15.3
RNA	*C. lecomtei*	-	สวนนงนุช จ.ชลบุรี	-	-	-
RNB	*C. umbraculifera*	-	สวนนงนุช จ.ชลบุรี	-	-	-
RNC	*C. utan*	-	สวนนงนุช จ.ชลบุรี	-	-	-
RSA	*C. lecomtei*	-	สวนแสนปาล์ม จ.นครปฐม	-	-	-
RSC	*C. utan*	-	สวนแสนปาล์ม จ.นครปฐม	-	-	-

ประวัติผู้วิจัย

1. ชื่อ (ภาษาไทย) ดร. พงศ์เทพ สุวรรณวารี

(ภาษาอังกฤษ) Dr. Pongthep Suwanwaree

2. หมายเลขประจำตัวประชาชน 3-2601-00290-27-5

3. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์

4. หน่วยงานที่อยู่ที่ติดต่อได้ พร้อมโทรศัพท์ โทรสาร และ email

สาขาวิชาชีววิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา 30000

โทรศัพท์ 044 - 224633, โทรสาร 044 – 224633

E-mail : ptsuwan@hotmail.com, pongthep@ccs.sut.ac.th

5. ประวัติการศึกษา

2546 Ph.D (Crop and Soil Science), Michigan State University, U.S.A.

2537 วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2534 วิทยาศาสตรบัณฑิต (พฤกษศาสตร์) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขา

Ecology, Environmental Science, Botany, Soil Science, Wildlife Ecology

7. ผลงานวิชาการ

จันทวงศ์, นิรันดร์ และ **พงศ์เทพ สุวรรณวารี**, 2537, ผลของซัลเฟอร์ไดออกไซด์ต่อกายวิภาคของใบ ปริมาณ คลอโรฟิลล์ และการสะสมซัลเฟอร์, วารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, ปีที่ 26 ล.2 ก.ค.-ธ.ค.

Somniyam, P. and **P. Suwanwaree**. 2009. The diversity and distribution of terrestrial earthworms in Sakaerat Environmental Research Station and adjacent areas, Nakhon Ratchasima, Thailand. *World Applied Science Journal*. 6 (2): 221-226

Smith, R. G., McSwiney, C. P., Grandy, A. S., **Suwanwaree, P.**, Snider, R. M. and G. P. Robertson. 2008. Diversity and abundance of earthworms across an agricultural land-use intensity gradient. *Soil & Tillage Research.* 100: 83-88

Suwanwaree, P. and P. Phiapalath. 2008. The local livelihood and natural resource management survey and its implication on the integrated conservation and development projects: a case study in Attapeu, Lao PDR. *KKU Science Journal.* 36 (Supplement): 199-211

Suwanwaree, P. and P. Phiapalath. 2006. Environmental policy of Lao PDR: a review, *Environment and Natural Resources Journal.* 4: 1-16

Suwanwaree, P. and G.P. Robertson. 2005. Methane oxidation in forest, successional, and no-till agricultural ecosystems: effects of nitrogen and soil disturbance. *Soil Science Society of America Journal.* 69:1722-1729

8. งานวิจัยที่ดำเนินการเสร็จสิ้น

1. Effects of Sulfur Dioxide on Sulfur Accumulation and Anatomical Effects of Plants on High Terrain of Mae Moh's Project Area 1993-1994 แหล่งทุนสนับสนุน:การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย (สถานภาพ :ผู้ร่วมวิจัย)

2. การสำรวจนิเวศวิทยาป่าไม้ในที่สูงของเหมืองถ่านหิน และโรงไฟฟ้าแม่เมาะ จังหวัดลำปาง ปี พ.ศ. 2535-2536 แหล่งทุนสนับสนุน: การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย (สถานภาพ: ผู้ร่วมวิจัย)

3. การจัดทำแผนแม่บทการจัดการอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ ฉบับที่ 2 ปี พ.ศ. 2535-2536 แหล่งทุนสนับสนุน: กรมป่าไม้ (สถานภาพ; ผู้ร่วมวิจัย)

4. การศึกษาผลกระทบสิ่งแวดล้อมของสายส่งไฟฟ้าแรงสูง แม่เมาะ 3 – เชียงใหม่ 3 ปี พ.ศ. 2535 แหล่งทุนสนับสนุน: การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย (สถานภาพ: ผู้ร่วมวิจัย)

5. การศึกษาผลกระทบสิ่งแวดล้อมของการทำเหมืองหินปูน และหินดินดาน ในจังหวัดลำปาง ปี พ.ศ. 2535 แหล่งทุนสนับสนุน: บริษัทเอกชน (สถานภาพ: ผู้ร่วมวิจัย)

6. Patterns and Effects of Disturbance on Methane Oxidation in Terrestrial Ecosystems (U.S.A.) 2002-2003 แหล่งทุนสนับสนุน: National Science Foundation (สถานภาพ: ผู้ร่วมวิจัย)

7. Earthworm Diversity and Abundance in Kellogg Biological Station, Michigan แหล่งทุนสนับสนุน: National Science Foundation (สถานภาพ: ผู้ร่วมวิจัย)

8. ความสัมพันธ์ของความหลากหลายของผีเสื้อและระบบนิเวศน์ป่าแบบต่างๆ ในสถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา แหล่งทุนสนับสนุน: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (สถานภาพ: หัวหน้าโครงการ)

9. แนวโน้มการเกิด และแนวทางการป้องกันปรากฏการณ์ยูโทรฟีเคชั่น ในพื้นที่ลุ่มน้ำลำตะคอง จ.นครราชสีมา แหล่งทุนสนับสนุน: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (สถานภาพ: หัวหน้าโครงการ)

10. ความหลากหลายของไส้เดือนดินในอุทยานแห่งชาติทับลาน แหล่งทุนสนับสนุน: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (สถานภาพ: หัวหน้าโครงการ)

9. งานวิจัยที่กำลังดำเนินการ

1. การศึกษาลักษณะทางนิเวศวิทยาและการใช้ประโยชน์ในท้องถิ่นของต้นลานป่า (*Corypha lecomtei* Becc.) ในพื้นที่อุทยานแห่งชาติทับลาน แหล่งทุนสนับสนุน: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (สถานภาพ: หัวหน้าโครงการ)

2. การจัดการขยะและน้ำเสียโดยชุมชนมีส่วนร่วม ในเขตเทศบาลนครราชสีมา แหล่งทุนสนับสนุน: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (สถานภาพ: หัวหน้าโครงการ)

3. การประเมินสถานการณ์คุณภาพน้ำของบึงละหาน จังหวัดชัยภูมิ แหล่งทุนสนับสนุน: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (สถานภาพ: หัวหน้าโครงการ)

4. การศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี แหล่งทุนสนับสนุน: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (สถานภาพ: หัวหน้าโครงการ)