

Abstract

Fagaceae (beech family) includes 7–12 genera and 600–1000 species distributed worldwide. In Thailand, this family comprises four genera: *Castanopsis* (D. Don) Spach. (chestnut, mostly evergreen, 33 species); *Lithocarpus* Blume (stone oak, mostly evergreen, 56 species); *Quercus* L. (oak, mostly deciduous, 29 species); and *Trigonobalanus* Forman (evergreen, one species). In this study, twenty-four species were investigated: nine *Castanopsis*, six *Lithocarpus*, eight *Quercus* species and *Trigonobalanus doichangensis*. The plants under study were from Khun Mae Kuong Forest in Doi Saket district, Chiang Mai province. All samples were collected in the field, representing three types of habitats, i.e. hill-evergreen forest and hill-evergreen forest with pine, both at relatively high elevation (1000–1800 m), and dry-deciduous forest at altitudes below 800 m. At each location, 5 – 30 m tall and 30 – 100 m apart, were randomly selected, marked with identification number, and local names recorded together with their position/map within the forest. Leaf buds, and flower buds if available, from individual trees were collected for chromosome isolation. Twigs with fully grown leaves, fruits (acorns) and flowers were collected for taxonomic identification and kept as voucher specimens. The species belonging to *Castanopsis*, *Lithocarpus* and *Quercus* were found to be generally diploid with the chromosome number $2n = 24$, and the basic number $x = 12$ was confirmed in a number of species with meiosis. On the other hand, *T. doichangensis* was found, by both mitotic and meiotic analyses, to be diploid with $2n = 14$ and $x = 7$. Chromosomal mapping of the highly repetitive 18S-25S and 5S ribosomal genes by fluorescence *in situ* hybridisation (FISH) was performed. Most species showed four 18S-25S rDNA sites (two pairs) and two 5S rDNA sites (one pair: para-centromeric locus). On the other hand, two species, *C. argentea* and *Q. brandisianus*, had only one pair of 18S-25S rDNA genes. In general, the ribosomal gene maps based on both sequences together can be used to support the taxonomic classification, at least at the genus level. In *Castanopsis*, the 18S-25S and the 5S genes were localized on three different chromosome pairs, and comprised species-specific maps. On the other hand, the ribosomal genes in *Lithocarpus* and *Quercus* were found only on two chromosome pairs, because one of the two 18S-25S rDNA loci was localized on the same chromosome as the 5S rDNA locus. Based on this ribosomal FISH mapping, *T. doichangensis* appears to be closely related to the oak genera *Lithocarpus* and *Quercus*. The FISH markers may be used to clarify discrepancies arising from morphological assessments.

บทคัดย่อ

ไม้วงศ์ก่อกระจายตัวอยู่ทั่วโลก ประกอบด้วย 7-12 สกุล 600-1000 ชนิด สำหรับในประเทศไทย มีอยู่ 4 สกุล ได้แก่ สกุลก่อหนาม (มีอยู่ 33 ชนิด) สกุลก่อตาหมู (มีอยู่ 56 ชนิด) สกุลก่อตลับ (มีอยู่ 29 ชนิด) และสกุลก่อสามเหลี่ยม (มีอยู่ 1 ชนิด) ในการศึกษาครั้งนี้ ได้ศึกษาไม้วงศ์ก่อจำนวน 24 ชนิด ได้แก่ สกุลก่อหนาม 9 ชนิด สกุลก่อตาหมู 6 ชนิด สกุลก่อตลับ 8 ชนิด และสกุลก่อสามเหลี่ยม 1 ชนิด โดยเก็บตัวอย่างพืชจากพื้นที่ป่าขุนแม่กว้ง อำเภออดอยสะแก จังหวัดเชียงใหม่ โดยเก็บตัวอย่างพืชจากป่า 3 แบบ ได้แก่ ป่าดิบเขา ป่าดิบเขาผสมสน ซึ่งอยู่ในพื้นที่สูง (สูงจากระดับน้ำทะเล 1000-1800 เมตร) และป่าดิบแล้ง ซึ่งสูงจากระดับน้ำทะเลน้อยกว่า 800 เมตร ในแต่ละสภาพป่าสุ่มเก็บตัวอย่างต้นไม้ที่มีความสูงประมาณ 5-30 เมตร และแต่ละต้นอยู่ห่างกันประมาณ 30-100 เมตร ทำเครื่องหมายต้นไม้ที่เก็บตัวอย่างและบันทึกชื่อพื้นเมืองและตำแหน่งของต้นไม้ลงในแผนที่ เก็บตัวอย่างตาใบและตาดอก (ถ้ามี) เพื่อศึกษาโครโมโซม เก็บตัวอย่างกิ่งที่มีใบ ผล และดอก เพื่อใช้จำแนกชนิด และทำเป็นตัวอย่างแห้ง จากผลการศึกษาโครโมโซมพบว่า ไม้วงศ์ก่อในสกุลก่อหนาม สกุลก่อตาหมู และก่อตลับ มีจำนวนโครโมโซมเป็นดิพลอยด์ คือ $2n = 24$ และผลจากการศึกษาโครโมโซมจากการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส ทำให้ยืนยันได้ว่ามีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเป็น $x = 12$ นอกจากนี้ในการศึกษาการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสและไมโอซิสของก่อสามเหลี่ยมยังพบว่ามีจำนวนโครโมโซม $2n = 14$ และ $x = 7$ ผลจากการศึกษา 18S-25S และ 5S ไรโบโซมอลยีน ด้วยเทคนิค fluorescence *in situ* hybridisation (FISH) พบว่าไม่ก่อเกือบทุกชนิดมี 18S-25S ไรโบโซมอลยีนอยู่ 4 ตำแหน่ง (2 คู่) และ 5S ไรโบโซมอลยีนอยู่ 2 ตำแหน่ง (1 คู่ อยู่ใกล้เซนโทรเมียร์) อย่างไรก็ตาม มีไม้วงศ์ก่ออยู่ 2 ชนิดคือ *C. argentea* และ *Q. brandisianus* ซึ่งมี 18S-25S ไรโบโซมอลยีนอยู่ 2 ตำแหน่ง นอกจากนี้ผลจากการศึกษาจำนวนและตำแหน่งของไรโบโซมอลยีนบนโครโมโซมยังช่วยในการจำแนกไม้วงศ์ก่อในระดับสกุลได้ โดยสกุลก่อหนาม ไรโบโซมอลยีนทั้งสามคู่อยู่บนโครโมโซมคนละคู่ ส่วนในสกุลก่อตาหมูและก่อตลับพบว่า 18S-25S ไรโบโซมอลยีน คู่หนึ่งอยู่บนโครโมโซมแท่งเดียวกับ 5S ไรโบโซมอลยีน จึงพบโครโมโซมที่มีไรโบโซมอลยีนอยู่เพียง 2 คู่ ผลจากจำนวนและตำแหน่งของไรโบโซมอลยีนแสดงให้เห็นว่า ก่อสามเหลี่ยมมีความสัมพันธ์กับไม้วงศ์ก่อสกุลก่อตาหมูและสกุลก่อตลับ และเทคนิค FISH อาจช่วยแก้ปัญหาในการจำแนกชนิดในกรณีที่มีลักษณะสัณฐานวิทยาคล้ายกันมากได้

Keywords : Karyotype, Fluorescence *in situ* hybridization (FISH), Fagaceae, *Castanopsis*, *Lithocarpus*, *Quercus*, *Trigonobalanus*