การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการจำแนกกล้วยไม้สกุลหวายหมู่แคลิสตาด้วยเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดี

Analysis of Genetic Relationship and Identification of *Dendrobium* Section Callista Using HAT-RAPD Markers

ฐิตาพร มณีเนตร และธีระชัย ธนานันต์

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

นฤมล ธนานันต์*

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์
ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 13180

Thitaporn Maneenet and Theerachai Thanananta

Department of Biotechnology, Faculty of Science and Technology, Thammasat University,
Rangsit Centre, Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 12120

Narumol Thanananta*

Faculty of Science and Technology, Valaya Alongkorn Rajabhat University under Royal Patronage,
Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 13180

บทคัดย่อ

กล้วยไม้สกุลหวายเป็นกล้วยไม้สกุลใหญ่ที่สุด พบแพร่กระจายพันธุ์ในบริเวณกว้าง ทั้งในทวีปเอเชียและหมู่เกาะในมหาสมุทรแปซิฟิก จำแนกเป็น 20 หมู่ ประเทศไทยพบกล้วยไม้สกุลหวายในธรรมชาติมากกว่า 130 ชนิด ซึ่งมีบางหมู่น่าสนใจ เช่น หมู่แคลิสตา ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตา 14 ชนิด ด้วยเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดี โดยใช้ไพรเมอร์แบบสุ่ม 72 ชนิด และพบว่าไพรเมอร์ 26 ชนิด สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ หลังจากนั้นจึงคัดเลือกไพรเมอร์ 14 ชนิด ที่ให้แถบดีเอ็นเอที่ชัดเจนและนำมาสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ซึ่งพบว่าสามารถแยกความแตกต่างระหว่างชนิดได้ด้วยแถบดีเอ็นเอที่จำเพาะ เมื่อสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์พบว่าสามารถจัดกลุ่มกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตาเป็น 7 กลุ่ม โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนอยู่ระหว่าง 0.12 ถึง 0.61

คำสำคัญ : กล้วยไม้สกุลหวาย; หมู่แคลิสตา; ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม; การจำแนก; แฮตอาร์เอพีดี

Abstract

Dendrobium is the largest orchid genus which distributed over a large area in Asia and some islands in the Pacific Ocean. They have been classified into 20 sections. In Thailand, there are more

**Corresponding author: narumolpla@yahoo.com*

than 130 *Dendrobium* species in the nature. Among these, Callista is one of the interesting sections. Therefore, this research used HAT-RAPD markers to analyze genetic relationship among 14 species of the genus *Dendrobium*, in the section Callista. The total of 72 random primers was used to screen, and 26 primers could be used for DNA amplification. Then 14 primers were selected to create the DNA fingerprinting. It was found that each of *Dendrobium* species can be distinguished by the specific DNA bands. A dendrogram based on polymorphic bands was applied to analyze the relationship among these orchids, and to classify them into 7 clusters with the similarity coefficients ranging from 0.12 to 0.61.

Keywords: *Dendrobium*; Callista; genetic relationship; identification; HAT-RAPD

1. คำนำ

กล้วยไม้มีความหลากหลายทั้งสีสันลวดลาย ขนาด รูปทรง และกลิ่น ทำให้เป็นไม้ตัดดอกยอดนิยมไปทั่วโลก ข้อมูลจากกระทรวงพาณิชย์พบว่า กล้วยไม้เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทยสามารถทำรายได้เข้าประเทศ โดยมีการขยายตลาดและเพิ่มปริมาณการส่งออกมากขึ้นทุกปี และยังพบว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ของกล้วยไม้ที่ส่งออกจากประเทศไทยเป็นกล้วยไม้สกุลหวายและพันธุ์ลูกผสมของสกุลหวาย ทั้งนี้เนื่องจากกล้วยไม้สกุลหวายเป็นกล้วยไม้สกุลใหญ่ที่สุด เป็นที่รู้จักและนิยมปลูกกันเป็นจำนวนมาก ในประเทศไทยพบกล้วยไม้สกุลหวายเป็นกลุ่มใหญ่ที่สุด คือ พบในธรรมชาติมากกว่า 130 ชนิด ซึ่งมีรูปร่างลักษณะแตกต่างกันไป นักพฤกษศาสตร์ได้จำแนกกล้วยไม้สกุลหวายเป็น 20 หมู่ ได้แก่ หมู่ฟาแลนแนนเธ (Phalaenanthe) หมู่เซอราโทเบียม (Ceratobium) หมู่แคลิสตา (Callista) หมู่ไนโกรเฮอร์ซูเธ (Nigro-hirsutae) เป็นต้น (Baker and Baker, 1996) มีรูปร่างลักษณะทั้งดอก ใบ และลำลูกกล้วยแตกต่างกันไป บางชนิดมีสีและใบคล้ายกัน แต่มีดอกต่างกัน ดังนั้นจึงมักจะสับสนได้ง่าย (มาลินี, 2538)

ด้วยเหตุผลดังที่กล่าวมา ผู้วิจัยจึงต้องการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและจำแนกกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตาด้วยแฮตอาร์เอพีดี (HAT-RAPD, high annealing temperature-random amplified polymorphic DNA) ซึ่งเป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker) ที่พัฒนาขึ้นเพื่อใช้ตรวจสอบความแตกต่างของสิ่งมีชีวิต โดยเป็นเทคนิคที่ดัดแปลงมาจากเทคนิคอาร์เอพีดีที่คิดค้นโดย Williams และคณะ เมื่อปี ค.ศ. 1990 (Weising *et al*., 2005) เป็นเครื่องหมายที่วิเคราะห์ความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอที่สร้างได้ง่ายที่สุด เนื่องจากไม่ต้องทราบข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ (nucleotide) เพื่อใช้ออกแบบไพรเมอร์ ดังนั้นจึงสามารถใช้ได้กับสิ่งมีชีวิตทุกชนิด อาศัยหลักการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (polymerase chain reaction, PCR) แบบสุ่ม (Welsh and McClean, 1990; William *et al*., 1990) เมื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส โดยการจับของไพรเมอร์แบบสุ่ม (random primer) จะเพิ่มปริมาณได้ก็ต่อเมื่อตำแหน่งที่ไพรเมอร์จับกับดีเอ็นเอนั้นอยู่ห่างกันไม่มาก และจับในทิศทางตรงข้ามกันแบบหันปลาย 3′ เข้าหากัน ซึ่งจะทำให้เกิดการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอระหว่างไพรเมอร์ทั้งสอง จากนั้นจะแยกขนาดดีเอ็นเอด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส (electro-phoresis) และตรวจสอบด้วยการย้อมด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ (ethidium bromide) ซึ่งในทางปฏิบัติต้องทดลองใช้ไพรเมอร์หลาย ๆ ชนิด เพื่อหาไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ และตรวจสอบความ

แตกต่างของลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprint) มีหลักการว่าดีเอ็นเอของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดจะมีความแตกต่างในการเรียงลำดับของนิวคลีโอไทด์ ดังนั้นสิ่งมีชีวิตที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์ต่างกันย่อมมีลายพิมพ์ดีเอ็นเอต่างกัน และสิ่งมีชีวิตที่มีความใกล้ชิดกันมากจะมีลายพิมพ์ดีเอ็นเอคล้ายคลึงกัน (สุรินทร์, 2552) โดยผลงานวิจัยนี้สามารถจำแนกกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตาได้ และสามารถบอกถึงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตาแต่ละชนิด และสามารถนำข้อมูลที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในการวางแผนอนุรักษ์และปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 กล้วยไม้สุกลหวาย

กล้วยไม้สุกลหวาย หมู่แคลิสตา 14 ชนิด ที่ใช้ในงานวิจัย ได้แก่ (1) เอื้องมัจฉา (*D. palpebrae* Lindl.) (2) เอื้องมัจฉานุ (*D. farmer* Paxton) (3) เอื้องมัจฉาเหลือง (*D. griffithianum* Lindl.) (4) เอื้องม่อนไข่ (*D. thyrsiflorum* Rchb. f.) (5) เอื้องม่อนไข่เหลี่ยม (*D. densiflorum* Lindl.) (6) เอื้องคำ (*D. chrysotoxum* Lindl.) (7) เอื้องคำตาดำ (*D. chrysotoxum* var. suavissimum) (8) เอื้องผึ้ง (*D. lindleyi* Steud.) (9) เอื้องคำฝอยอินเดีย (*D. brymerianum* Rchb. f.) (10) เอื้องจำปาน่าน (*D. sulcatum* Lindl.) (11) เอื้องผาเวียง (*D. albosanguineum* Lindl.) (12) เอื้องคำปากไก่ (*D. trigonopus* Rchb. f.) (13) เอื้องคำป๊อก (*D. harveyanum* Rchb. f.) และ (14) เอื้องคำผักปราบ (*D. ochreatum* Lindl.)

2.2 การสกัดดีเอ็นเอ

สกัดดีเอ็นเอจากใบกล้วยไม้ด้วยวิธีที่ประยุกต์จาก Doyle และ Doyle (1987) ตามวิธีของนฤมล และคณะ (2555) หลังจากนั้นตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอที่ได้ด้วยวิธีวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร (nm) (Sambrook *et al*., 1989) และตรวจสอบคุณภาพของดีเอ็นเอด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสในเจลอะกาโรส (agarose gel) 0.8 เปอร์เซ็นต์

2.3 การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

เทคนิคแฮตอาร์เอพีดี มี 2 ขั้นตอน คือ

2.3.1 การตรวจหาไพรเมอร์แบบสุ่มที่ตอบสนองต่อปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส โดยรวมดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตาทั้ง 14 ชนิด ในปริมาณเท่า ๆ กันเข้าด้วยกัน แล้วทำปฏิกิริยาโดยใช้ไพรเมอร์แบบสุ่ม ขนาด 12 นิวคลีโอไทด์ จำนวน 72 ชนิด คือ ไพรเมอร์ชุด A2, B2, C2, D2, E2 และ F2 จากบริษัท Wako Company (Japan)

2.3.2 การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ โดยเลือกไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเออย่างชัดเจนมาสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตาแต่ละชนิด

การทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสเพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ประกอบด้วยดีเอ็นเอ 100 นาโนกรัม (ng) บัฟเฟอร์ 1 เท่า (50 mM KCl, 20 mM Tris-HCl pH 8.4 และ 2.5 mM $MgCl_2$) ซึ่งมีนิวคลีโอไทด์ 4 ชนิด (dATP, dCTP, dGTP และ dTTP) ชนิดละ 200 ไมโครโมลาร์ (μM) ไพรเมอร์แบบสุ่ม 250 นาโนโมลาร์ (nM) และเอนไซม์ *Taq* DNA polymerase (Invitrogen™ life technology, Brazil) 1 ยูนิต โดยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสมี 3 ขั้นตอน คือ (1) บ่มที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที จานวน 1 รอบ (2) บ่มที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที, อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที และอุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที จานวน 40 รอบ และ (3) บ่มที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที จำนวน 1 รอบ (นฤมล และคณะ, 2555) แล้วตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอในเจลอะกาโรส 1.5 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส

2.4 การวิเคราะห์ผล

เปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นจากการทำแฮตอาร์เอพีดีในกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตาทั้ง 14 ชนิด บันทึกแบบแผนของดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นจากไพรเมอร์แต่ละชนิด และผลรวมที่ได้จากไพรเมอร์ทั้งหมด เพื่อนำไปหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม โดยการเปรียบเทียบความเหมือนความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้น พันธุ์ที่พบแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งหนึ่งจะให้สัญลักษณ์เป็น 1 ส่วนพันธุ์ที่ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งเดียวกันนั้นจะให้สัญลักษณ์เป็น 0 แล้วเปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นทั้งหมดจากทุกไพรเมอร์และทุกชนิดของกล้วยไม้สกุลหวาย โดยใช้โปรแกรม NTSYS-pc รุ่น 2.01e (Rohlf, 2002)

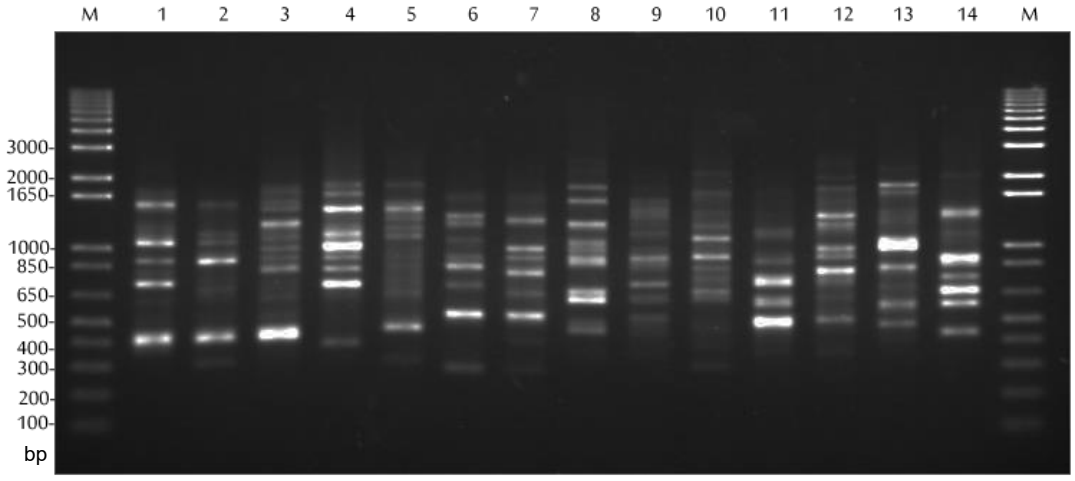
3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

การตรวจสอบเบื้องต้นโดยการใช้ไพรเมอร์แบบสุ่ม 72 ชนิด เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตา พบไพรเมอร์ 26 ชนิด ที่เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ หรือคิดเป็น 36.11 เปอร์เซ็นต์

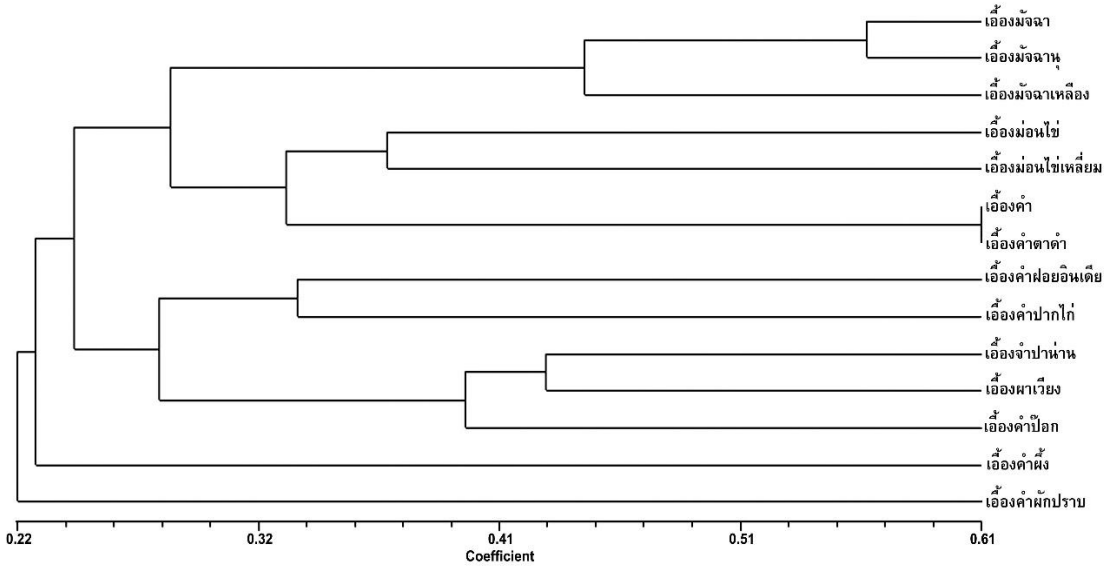
เมื่อคัดเลือกไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเออย่างชัดเจนและให้แถบดีเอ็นเอหลายแถบ จำนวน 14 ชนิด มาสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตา 14 ชนิด พบไพรเมอร์บางชนิดที่สามารถแยกความแตกต่างของกล้วยไม้แต่ละชนิดออกจากกันได้โดยใช้เพียงไพรเมอร์เดียว 6 ชนิด ได้แก่ ไพรเมอร์ A22, A24, A30, B22, D31 และ E24

ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตา 14 ชนิด พบแถบดีเอ็นเอรวม 252 แถบ มีขนาดตั้งแต่ 200 ถึง 2,900 คู่เบส (base pairs, bp) โดยรูปที่ 1 เป็นตัวอย่างลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากไพรเมอร์ A22 ซึ่งให้แถบดีเอ็นเอที่มีความหลากรูปมากที่สุด (จำนวน 29 แถบ) และมีความหลากรูป (polymorphism) 100 เปอร์เซ็นต์

ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตา 14 ชนิด พบแถบดีเอ็นเอรวม 252 แถบ มีขนาดตั้งแต่ 200 ถึง 2,900 คู่เบส (base pairs, bp) โดยรูปที่ 1 เป็นตัวอย่างลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากไพรเมอร์ A22 ซึ่งให้แถบดีเอ็นเอที่มีความหลากรูปมากที่สุด (จำนวน 29 แถบ) และมีความหลากรูป



รูปที่ 1 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตาโดยใช้ไพรเมอร์ A22 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 kb plus DNA Ladder (Invitrogen™ life Technology, USA), 1-14 คือ กล้วยไม้สกุลหวายหมู่แคลิสตา 14 ชนิด พบแถบดีเอ็นเอที่มีความหลากรูป 29 แถบ



รูปที่ 2 แผนภูมิความสัมพันธ์ของกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตา 14 ชนิด ที่ได้จากแฮตอาร์เอพีดี

(polymorphism) 100 เปอร์เซ็นต์

เมื่อวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอด้วยโปรแกรม NTSYS พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนตั้งแต่ 0.12 ถึง 0.61 (รูปที่ 2) และเมื่อพิจารณาที่ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน 0.33 สามารถแบ่งกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตาเป็น 7 กลุ่ม คือ กลุ่ม 1 ได้แก่ เอื้องมัจฉา เอื้องมัจฉานุ และเอื้องมัจฉาเหลือง กลุ่มที่ 2 ได้แก่ เอื้องม่อนไข่ และเอื้องม่อนไข่เหลี่ยม กลุ่ม 3 ได้แก่ เอื้องคำ และเอื้องคำตาคำ กลุ่มที่ 4 ได้แก่ เอื้องคำฝอยอินเดีย และเอื้องคำปากไก่ กลุ่ม 5 ได้แก่ เอื้องจำปาน่าน เอื้องผาเวียง และเอื้องคำป๊อก กลุ่ม 6 ได้แก่ เอื้องคำผึ้ง และกลุ่ม 7 ได้แก่ เอื้องคำผักปราบ

แผนภูมิความสัมพันธ์ของกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตา 14 ชนิด ที่ได้จากแฮตอาร์เอพีดี พบว่าเอื้องคำและเอื้องคำตาดำมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันมากที่สุด คือ มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน 0.61 ในขณะที่เอื้องคำป๊อกและเอื้องมัจฉานุมีความแตกต่างกันมากที่สุด คือ มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน 0.12 (รูปที่ 3)

ผลการวิจัยดังกล่าวมานั้นแสดงให้เห็นว่าแฮตอาร์เอพีดีสามารถวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมได้เช่นเดียวกับงานวิจัยของ ฐิติพร และคณะ (2557) ใช้แฮตอาร์เอพีดีและไอเอสเอสอาร์ในการจำแนกกล้วยไม้สกุลหวาย กลุ่มเอื้องสาย 13 พันธุ์ พบว่าเทคนิคทั้งสองสามารถจำแนกกล้วยไม้สกุลหวาย กลุ่มเอื้องสาย 13 พันธุ์ เป็น 7 กลุ่ม ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับลักษณะสัณฐาน (morphology) งานวิจัยของ เกียรติชัย และคณะ (2557) จำแนกและวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลสิงโตกลอกตา หมู่สิงโตสยามที่พบในประเทศไทย 12 พันธุ์ ด้วยแฮตอาร์เอพีดีและไอเอสเอสอาร์ พบว่าแฮตอาร์เอพีดีและไอเอสเอสอาร์ร่วมกันให้ผลดีที่สุด วริสรา และคณะ (2557) ใช้แฮตอาร์เอพีดีและไอเอสเอสอาร์จำแนกพันธุ์กล้วยไม้สกุลกุหลาบ 13 พันธุ์ โดยใช้ไพรเมอร์แฮตอาร์เอพีดี 20 ชนิด และไพรเมอร์ไอเอสเอสอาร์ 10 ชนิด พบว่าปรากฏแถบดีเอ็นเอที่มีความหลากรูป 157 แถบ ซึ่งสามารถจำแนกกล้วยไม้สกุลกุหลาบเป็น 5 กลุ่ม

นอกจากนี้ยังมีการใช้แฮตอาร์เอพีดีวิเคราะห์

ความหลากหลายทางพันธุกรรมและการประเมินความสัมพันธ์ในพืชอื่นอีกหลายชนิด ได้แก่ พืชในวงศ์จำปา (วริสรา และคณะ, 2556) กล้วยสกุลมิวซา (ฐิติพร และคณะ, 2556) แพรเซี่ยงไฮ้ (เกียรติชัย และคณะ, 2556) หม้อข้าวหม้อแกงลิง (เกียรติชัย และคณะ, 2557) ผักกาด (จาตุรงค์ และคณะ, 2557) ขมิ้น (วริสรา และคณะ, 2557) ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และข้าวสายพันธุ์กลายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (ฐิติพร และคณะ, 2557) ข้าวมีสี (จาตุรงค์ และคณะ, 2557) กล้วยไม้สกุลหวายกลุ่มเอื้องสาย (นฤมล, 2557) กล้วยไม้สกุลแวนด้าหมู่เข็ม (จินต์, 2558) และเทคนิคแฮตอาร์เอพีดียังสามารถใช้ในการตรวจสอบการกลายในถั่วเขียว (จาตุรงค์ และคณะ, 2556) ได้อีกด้วย

	เอื้องมัจฉา	เอื้องมัจฉานุ	เอื้องมัจฉาเหลือง	เอื้องม่อนไข่	เอื้องม่อนไข่เหลี่ยม	เอื้องคำ	เอื้องคำตาดำ	เอื้องผึ้ง	เอื้องคำฝอยอินเดีย	เอื้องจำปาน่าน	เอื้องผาเวียง	เอื้องคำปากไก่	เอื้องคำป๊อก	เอื้องคำผักปราบ
เอื้องมัจฉา	1.00													
เอื้องมัจฉานุ	0.56	1.00												
เอื้องมัจฉาเหลือง	0.44	0.46	1.00											
เอื้องม่อนไข่	0.31	0.34	0.34	1.00										
เอื้องม่อนไข่เหลี่ยม	0.32	0.32	0.30	0.37	1.00									
เอื้องคำ	0.30	0.26	0.19	0.36	0.37	1.00								
เอื้องคำตาดำ	0.21	0.26	0.24	0.30	0.29	0.61	1.00							
เอื้องผึ้ง	0.24	0.22	0.21	0.21	0.22	0.30	0.26	1.00						
เอื้องคำฝอยอินเดีย	0.20	0.17	0.27	0.25	0.30	0.26	0.30	0.24	1.00					
เอื้องจำปาน่าน	0.26	0.19	0.26	0.22	0.17	0.28	0.30	0.26	0.22	1.00				
เอื้องผาเวียง	0.25	0.20	0.28	0.30	0.31	0.41	0.32	0.16	0.32	0.43	1.00			
เอื้องคำปากไก่	0.26	0.19	0.29	0.20	0.15	0.19	0.16	0.21	0.33	0.32	0.22	1.00		
เอื้องคำป๊อก	0.18	0.12	0.23	0.29	0.17	0.33	0.25	0.22	0.23	0.38	0.42	0.36	1.00	
เอื้องคำผักปราบ	0.22	0.19	0.20	0.22	0.20	0.22	0.22	0.22	0.25	0.18	0.21	0.29	0.25	1.00

รูปที่ 3 ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนของกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตา 14 ชนิด ที่ได้จากแฮตอาร์เอพีดี

4. สรุป

การตรวจสอบดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตา 14 ชนิด ด้วยแฮตอาร์เอพีดี โดยเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์แบบสุ่ม 14 ชนิด พบว่าลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นมีความแตกต่างกัน เมื่อวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอและสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์พบว่าสามารถจำแนกกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตาเป็น 7 กลุ่ม โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนอยู่ระหว่าง 0.12 ถึง 0.61

5. รายการอ้างอิง

เกียรติชัย แซ่ไต่, ธีระชัย ธนานันต์ และนฤมล ธนานันต์, 2557, การจำแนกและการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลสิงโตกลอกตาหมู่สิงโตสยามด้วยเทคนิคแฮตอาร์เอพีดีและไอเอสเอสอาร์, Thai J. Sci. Technol. 3: 92-101.

เกียรติชัย แซ่ไต่, เปรมณัช ขุนปักษี, ธีระชัย ธนานันต์ และนฤมล ธนานันต์, 2556, การ

ประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของแพรเซี่ยงไฮ้ (*Portulaca grandiflora*) ด้วยเทคนิคแฮตอาร์เอพีดี, Thai J. Genet. S1: 226-229.

จาตุรงค์ สัมฤทธิ์, ธีระชัย ธนานันต์ และนฤมล ธนานันต์, 2557, การจำแนกพันธุ์และการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของข้าวมีสีด้วยเทคนิคแฮตอาร์เอพีดีและไอเอสเอสอาร์, Thai J. Sci. Technol. 3: 113-122.

จาตุรงค์ สัมฤทธิ์, ธีระชัย ธนานันต์ และนฤมล ธนานันต์, 2556, การประยุกต์เทคนิคแฮตอาร์เอพีดีเพื่อตรวจสอบการกลายในถั่วเขียว, Thai J. Genet. S1: 248-252.

จาตุรงค์ สัมฤทธิ์, เปรมณัช ขุนปักษี, ธีระชัย ธนานันต์ และนฤมล ธนานันต์, 2557, การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการจำแนกผักกาดด้วยเทคนิคแฮตอาร์เอพีดี, Thai J. Sci. Technol. 3: 23-28.

จินต์ ทองสม, นฤมล ธนานันต์ และธีระชัย ธนานันต์, 2558, ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลแวนด้าหมู่เข็มด้วยแฮตอาร์เอพีดีและไอเอสเอสอาร์, ว.วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 23: 476-484.

ฐิติพร โท้มโสภา, ธีระชัย ธนานันต์ และนฤมล ธนานันต์, 2557, การจำแนกและการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลหวาย กลุ่มเอื้องสายด้วยเทคนิคแฮตอาร์เอพีดีและไอเอสเอสอาร์, Thai J. Sci. Technol. 3: 82-91.

ฐิติพร โท้มโสภา, ธีระชัย ธนานันต์, บุญหงษ์ จงคิด และนฤมล ธนานันต์, 2557, ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และข้าวสายพันธุ์กลายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ด้วยเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดี, Thai J. Sci. Technol. 3: 36-44.

ฐิติพร โท้มโสภา, เปรมณัช ขุนปักษี, ธีระชัย ธนานันต์ และนฤมล ธนานันต์, 2556, การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของกล้วยสกุลมิวซาด้วยเทคนิคแฮตอาร์เอพีดี, Thai J. Genet. S1: 201-205.

นฤมล ธนานันต์, ฐิติพร โท้มโสภา และธีระชัย ธนานันต์, 2557, การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในกล้วยไม้สกุลหวาย กลุ่มเอื้องสายด้วยเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดี, ว.วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 22: 102-108.

นฤมล ธนานันต์, วิภาวรรณ ประสิทธ์ และธีระชัย ธนานันต์, 2555, การจำแนกข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ปรับปรุงจากพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ด้วยเทคนิคแฮตอาร์เอพีดี, Thai J. Sci. Technol. 1: 169-179.

มาลินี อนุพันธ์สกุล, 2538, กล้วยไม้, พิมพ์ครั้งที่ 1, สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วริสรา แทนสง่า, ธีระชัย ธนานันต์ และนฤมล ธนานันต์, 2557, การจำแนกและการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลกุหลาบด้วยเทคนิคแฮตอาร์เอพีดีและไอเอสเอสอาร์, Thai J. Sci. Technol. 3: 102-112.

วริสรา แทนสง่า, ธีระชัย ธนานันต์, บุญหงษ์ จงคิด และนฤมล ธนานันต์, 2557, การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการจำแนกขมิ้นด้วยเทคนิคแฮตอาร์เอพีดี, Thai J. Sci. Technol. 3: 29-35.

วริสรา แทนสง่า, เปรมณัช ขุนปักษี, ธีระชัย ธนานันต์ และนฤมล ธนานันต์, 2556, การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชในวงศ์จำปาด้วยเทคนิคแฮตอาร์เอพีดี, Thai J. Genet. S1: 196-200.

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, 2552, เครื่องหมายดีเอ็นเอจากพื้นฐานสู่การประยุกต์, สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Baker, M.L. and Baker, C.O., 1996, Orchid Species Culture Dendrobium, Timber Press, Portland.

Doyle, J.J. and Doyle, J.L., 1987, A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue, Phytochem. Bull. 19: 11-15.

Rohlf, F.J., 2002, NTSYSpc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Applied Biostatistics, Inc., New York.

Sambrook, J., Fritsch, E.F. and Maniatis, T., 1989, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory, New York.

Weising, K., Nybom, H., Wolf, K., and Kahl, G. 2005. DNA Finger Printing in Plants, 2nd Ed.), CRS Press, Boca Raton, F.L.

Welsh, J. and McClelland, M., 1990, Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers, Nucl. Acids Res. 18: 7213-7218.