

**บทที่ 4**  
**ผลการทดลอง**

การทดลองที่ 1 เปรียบเทียบเทคนิค RAPD และ HAT – RAPD เพื่อศึกษาความแตกต่างลายพิมพ์ดีเอ็นเอพืชกลุ่มกระเจียว 27 ชนิด

ลายพิมพ์ดีเอ็นเอพืชกลุ่มกระเจียวที่ได้จากเทคนิค RAPD และ HAT – RAPD โดยการเตรียมดีเอ็นเอจากใบอ่อน และทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในปฏิกิริยา PCR ได้สุ่มใช้ไพรเมอร์ขนาดความยาว 10 นิวคลีโอไทด์ จำนวน 3 ไพรเมอร์ คือ OPV08 OPA20 และ OPG13 เมื่อตรวจสอบผลผลิตที่ได้จากปฏิกิริยา PCR ด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส พบว่าจำนวนแถบดีเอ็นเอในกระเจียว 27 ชนิดที่ได้จากเทคนิค HAT – RAPD มีจำนวนมากกว่าแถบดีเอ็นเอที่ได้จากเทคนิค RAPD (ตาราง 4) นอกจากนี้แถบดีเอ็นเอแต่ละแถบที่ได้จากเทคนิค HAT – RAPD ส่วนใหญ่ไม่เป็นปื้น แถบดีเอ็นเอจึงมีความคมชัดสูง ทำให้เห็นแถบดีเอ็นเอแต่ละแถบแยกกันอย่างชัดเจน ซึ่งต่างจากแถบดีเอ็นเอที่ได้จากเทคนิค RAPD จะมี smear ทำให้แถบดีเอ็นเอมีลักษณะเป็นปื้น แถบดีเอ็นเอจึงมีความคมชัดต่ำ และแถบดีเอ็นเอแต่ละแถบแยกออกจากกันไม่ชัดเจน (ภาพ 11 - 13)

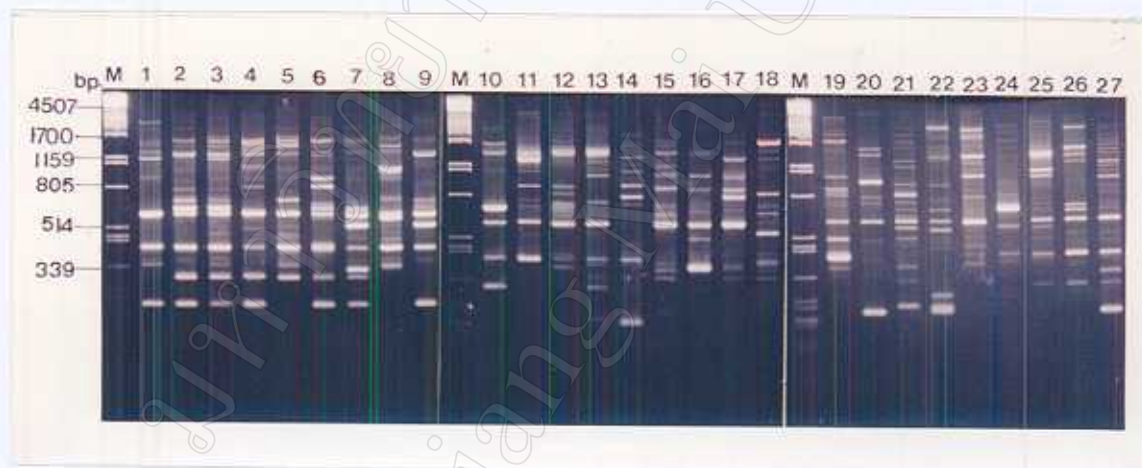
ตาราง 4 จำนวนแถบดีเอ็นเอในพืชกลุ่มกระเจียว 27 ชนิด แยกด้วยเทคนิค RAPD และ HAT-RAPD

ไพรเมอร์	จำนวนแถบดีเอ็นเอ	
	เทคนิค HAT – RAPD	เทคนิค RAPD
OPV08	301	242
OPA20	320	266
OPG13	230	191



RAPD - OPV08

ก



HAT - OPV08

ข

ภาพ 11 แถบดีเอ็นเอของพืชกลุ่มกระเจียวที่ได้จากไพรเมอร์ OPV08

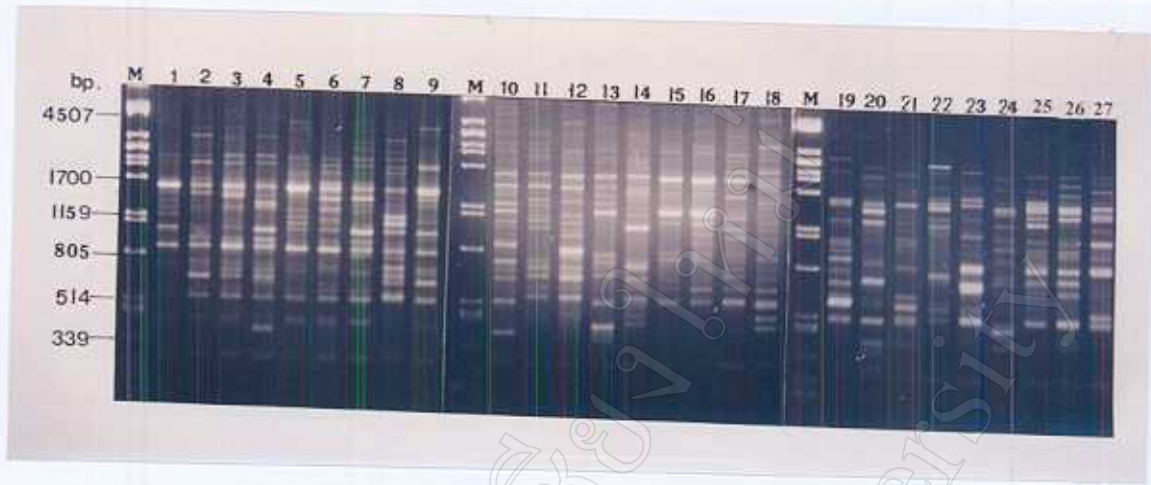
ก) เทคนิค RAPD

ข) เทคนิค HAT - RAPD

M =  $\lambda$ -DNA/ *Pst* I marker

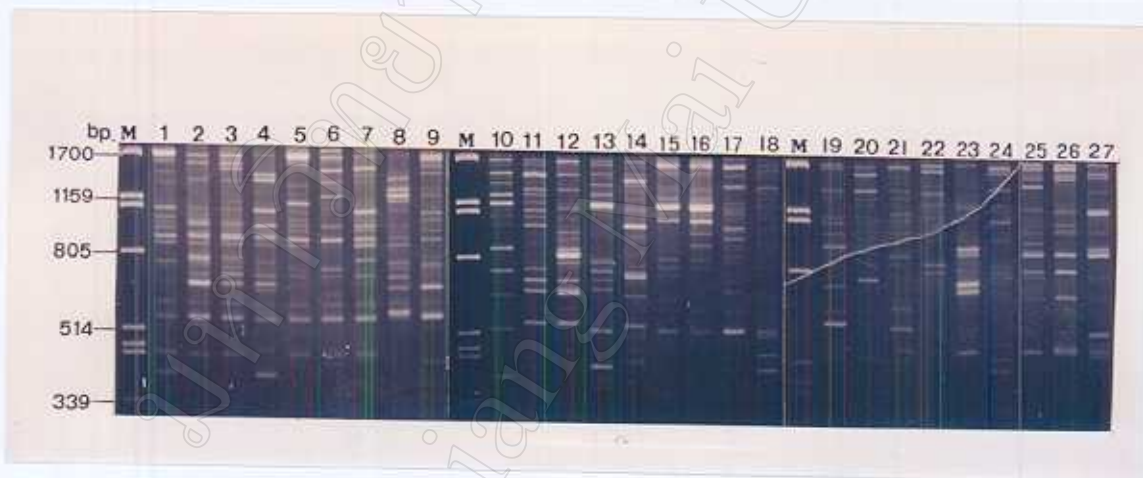
1 - 27 ชนิดพืชที่ทดสอบ (ตาราง 1)

ตัวเลขด้านซ้าย แสดงจำนวนคู่เบส



RAPD - OPA20

ก



HAT - OPA20

ข

ภาพ 12 แถบดีเอ็นเอของพืชกลุ่มกระเจียวที่ได้จากไพรเมอร์ OPA20

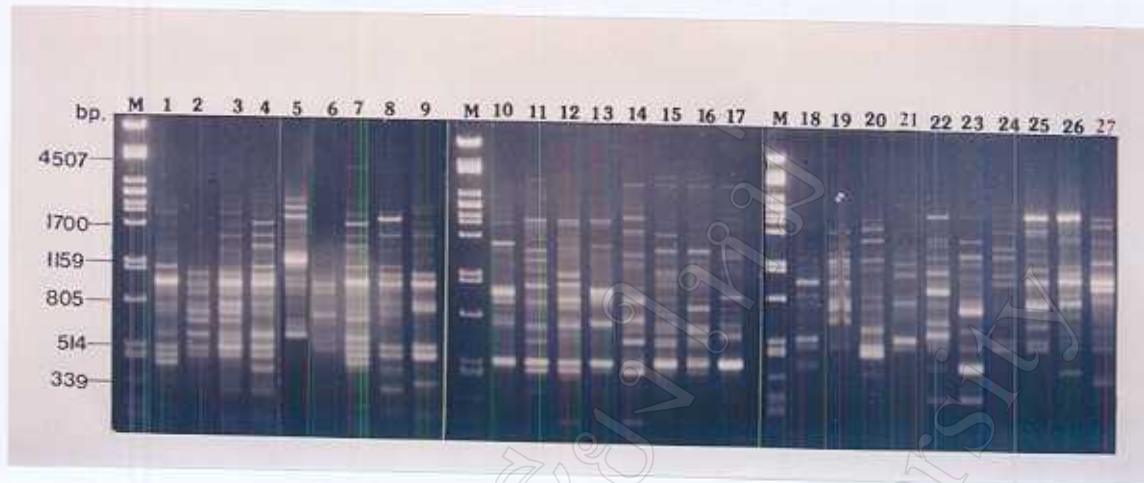
ก) เทคนิค RAPD

ข) เทคนิค HAT - RAPD

M =  $\lambda$ -DNA/ *Pst* I marker

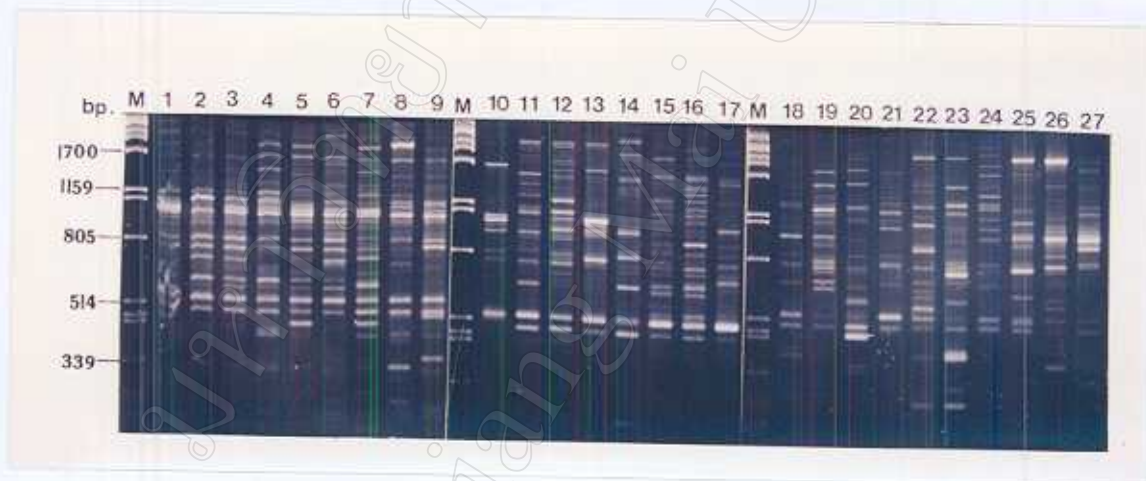
1 - 27 ชนิดพืชที่ทดสอบ (ตาราง 1)

ตัวเลขด้านซ้าย แสดงจำนวนคู่เบส



RAPD - OPG13

ก



HAT - OPG13

ข

ภาพ 13 แถบดีเอ็นเอของพืชกลุ่มกระเจียวที่ได้จากไพรเมอร์ OPG13

ก) เทคนิค RAPD

ข) เทคนิค HAT - RAPD

M =  $\lambda$ -DNA/ *Pst* I marker

1 - 27 ชนิดพืชที่ทดสอบ (ตาราง 1)

ตัวเลขด้านซ้าย แสดงจำนวนคู่เบส



การทดลองที่ 2 การวิเคราะห์พันธุกรรมพืชกลุ่มกระเจียว 27 ชนิด ด้วยเทคนิค HAT - RAPD

จากการทดลองที่ 1 เมื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค HAT - RAPD พบว่าสามารถให้แถบดีเอ็นเอที่มีความคมชัดและมีจำนวนมากกว่าแถบดีเอ็นเอที่ได้จากเทคนิค RAPD ดังนั้นจึงได้เลือกเทคนิค HAT - RAPD มาวิเคราะห์พันธุกรรมพืชกลุ่มกระเจียว (*Curcuma* spp.) จำนวน 27 ชนิด เพื่อให้ได้แถบดีเอ็นเอที่มีขนาดโมเลกุลแตกต่างกันเกิดเป็นลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprint) โดยการทดลองครั้งนี้ได้สุ่มใช้ไพรเมอร์จำนวน 16 ไพรเมอร์ (ภาคผนวก ตาราง 1) เมื่อนำการปรากฏและไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอในแต่ละตำแหน่งมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างกระเจียวแต่ละชนิดด้วย cluster analysis ในแต่ละไพรเมอร์สามารถแสดงผลได้ดังนี้

ไพรเมอร์ OPA20 สามารถสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่เป็น polymorphic band ขนาดโมเลกุลอยู่ในช่วง 370 - 1700 คู่เบส (ภาพ 14 ก) จำนวน 41 แถบ เมื่อวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้น โดยพิจารณาจากการปรากฏ และไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอในแต่ละตำแหน่ง (ภาคผนวก ตาราง 2) สามารถจำแนกพืชกลุ่มกระเจียวทั้ง 27 ชนิด ได้ดังนี้ (ภาพ 15)

กลุ่มย่อยที่ 1 ได้แก่ ทับทิมสยาม และปทุมรัตน์ ซึ่งเกิดแถบดีเอ็นเอเหมือนกันในตำแหน่งที่ 10, 24, 25, 31, 33 และ 40

กลุ่มย่อยที่ 2 ได้แก่ บัวลายกาญจน์ หิงห้อย (2n) ปทุมมา และบัวโกเมน ซึ่งเกิดแถบดีเอ็นเอเหมือนกันในตำแหน่งที่ 10

กลุ่มย่อยที่ 3 ได้แก่ ช่อมรดก มีความแตกต่างจากกระเจียวแต่ละกลุ่ม ดังนี้

ต่างจากกลุ่มย่อยที่ 1 เพราะไม่เกิดแถบดีเอ็นเอในตำแหน่งที่ 10, 24, 25, 31 และ 33

ต่างจากกลุ่มย่อยที่ 2 เพราะไม่เกิดแถบดีเอ็นเอในตำแหน่งที่ 10

ต่างจากกลุ่มย่อยที่ 4 เพราะไม่เกิดแถบดีเอ็นเอในตำแหน่งที่ 6, 11, 16 และ 28

ต่างจากกลุ่มย่อยที่ 5 เพราะไม่เกิดแถบดีเอ็นเอในตำแหน่งที่ 17 และ 28

ต่างจากกลุ่มย่อยที่ 6 เพราะไม่เกิดแถบดีเอ็นเอในตำแหน่งที่ 2, 10, 22, 23, 34, 38 และ 41

ต่างจากกลุ่มย่อยที่ 7 เพราะไม่เกิดแถบดีเอ็นเอในตำแหน่งที่ 12, 28, 30 และ 39

ต่างจากกลุ่มย่อยที่ 8 เพราะไม่เกิดแถบดีเอ็นเอในตำแหน่งที่ 12 และ 41

ต่างจากกลุ่มย่อยที่ 9 เพราะไม่เกิดแถบดีเอ็นเอในตำแหน่งที่ 12

กลุ่มย่อยที่ 4 ได้แก่ กระเจียว C2 ว่านชักมดลูก ว่านมหาเมฆ พลอยชมพู กระเจียว Cm และขมิ้นอ้อย ซึ่งเกิดแถบดีเอ็นเอเหมือนกันในตำแหน่งที่ 6, 11, 16 และ 28

กลุ่มย่อยที่ 5 ได้แก่ กระเจียวกาบแดง และกระเจียวดอกขาว ซึ่งเกิดแถบดีเอ็นเอเหมือนกันในตำแหน่งที่ 17, 27 และ 28

กลุ่มย่อยที่ 6 ได้แก่ เพชรเชียงใหม่ และบัวชั้น ซึ่งเกิดแถบดีเอ็นเอเหมือนกันในตำแหน่งที่ 2, 10, 22, 23, 34, 38 และ 41

กลุ่มย่อยที่ 7 ได้แก่ ขมิ้นขาวชนิดหัวเล็ก ขมิ้นชัน และกระเจียวไก่ขัน ซึ่งเกิดแถบดีเอ็นเอเหมือนกันในตำแหน่งที่ 12, 28, 30 และ 39

กลุ่มย่อยที่ 8 ได้แก่ นพเก้า กุหลาบ และกระปุกสีน้ำหมาก ซึ่งเกิดแถบดีเอ็นเอเหมือนกันในตำแหน่งที่ 12, 26, 27 และ 41

กลุ่มย่อยที่ 9 ได้แก่ พลอยทักษิณ บัวสีส้ม กระเจียวส้ม และบัวสีขาวลาว ซึ่งเกิดแถบดีเอ็นเอเหมือนกันในตำแหน่งที่ 12 และ 40

ไพรมเมอร์ OPAX17 สามารถสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่เป็น polymorphic band ขนาดโมเลกุลอยู่ในช่วง 540 – 2070 คู่เบส (ภาพ 14 ข) จำนวน 21 แถบ เมื่อวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้น โดยพิจารณาจากการปรากฏ และไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอในแต่ละตำแหน่ง (ภาคผนวก ตาราง 3) สามารถจำแนกพืชกลุ่มกระเจียวทั้ง 27 ชนิด ได้ดังนี้ (ภาพ 16)

กลุ่มย่อยที่ 1 ได้แก่ กระเจียว C2 ว่านชัชมดลูก ขมิ้นอ้อย ว่านมหาเมฆ พลอยชมพู และกระเจียว Cm ซึ่งเกิดแถบดีเอ็นเอเหมือนกันในตำแหน่งที่ 8, 10, 14, 15 และ 17

กลุ่มย่อยที่ 2 ได้แก่ ปทุมมา กุหลาบ และขมิ้นขาวชนิดหัวเล็ก ซึ่งเกิดแถบดีเอ็นเอเหมือนกันในตำแหน่งที่ 5, 10, และ 11

กลุ่มย่อยที่ 3 ได้แก่ กระเจียวดอกอาว กระเจียวไก่ขัน และกระเจียวกาบแดง ซึ่งเกิดแถบดีเอ็นเอเหมือนกันในตำแหน่งที่ 4, 8, 10, 11, 15 และ 17

กลุ่มย่อยที่ 4 ได้แก่ หิงห้อย (2n) บัวสีขาวลาว นพเก้า และบัวลายกาญจน์ ซึ่งเกิดแถบดีเอ็นเอเหมือนกันในตำแหน่งที่ 10, 11 และ 15

กลุ่มย่อยที่ 5 ได้แก่ ทับทิมสยาม ปทุมรัตน์ และบัวโกเมน ซึ่งเกิดแถบดีเอ็นเอเหมือนกันในตำแหน่งที่ 5, 10, 13, และ 18

กลุ่มย่อยที่ 6 ได้แก่ บัวสีส้ม และบัวชั้น ซึ่งเกิดแถบดีเอ็นเอเหมือนกันในตำแหน่งที่ 5, 7 และ 16

กลุ่มย่อยที่ 7 ได้แก่ เพชรเชียงใหม่ พลอยทักษิณ และกระเจียวส้ม ซึ่งเกิดแถบดีเอ็นเอเหมือนกันในตำแหน่งที่ 7, 10, และ 15

กลุ่มย่อยที่ 8 ได้แก่ กระปุกสีน้ำหมาก ขมิ้นชัน และช่อมรกต ซึ่งเกิดแถบดีเอ็นเอเหมือนกันในตำแหน่งที่ 5 และ 15

จากการวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอในแต่ละตำแหน่งจากไพรเมอร์ OPA20 และ OPAX17 พบว่าการแบ่งกลุ่มกระเจียวที่ได้จากทั้ง 2 ไพรเมอร์ไม่สอดคล้องกับลักษณะทางพฤกษศาสตร์ การเจริญเติบโตด้านการออกดอก การเจริญเติบโตของลำต้นจริงหรือเหง้า (rhizome) และจำนวนโครโมโซมของต้นพืชที่นำมาศึกษา ดังนั้นจึงได้นำการปรากฏและไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอในแต่ละตำแหน่งที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA20 จำนวน 41 แถบ และ OPAX17 จำนวน 21 แถบ รวมเป็น 62 แถบ มาวิเคราะห์ร่วมกันเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างชนิดสามารถจำแนกพืชกลุ่มกระเจียวที่นำมาศึกษาออกเป็น 7 กลุ่ม ดังนี้ (ภาพ 17)

กลุ่มย่อยที่ 1 ได้แก่ กระเจียว C2 วานชักมดลูก ขมิ้นอ้อย พลอยชมพู กระเจียว Cm และ ว่านมหาเมฆ ซึ่งเกิดแถบดีเอ็นเอเหมือนกันในตำแหน่งที่ 6, 11, 16 และ 28 จากไพรเมอร์ OPA20 และตำแหน่งที่ 8, 10, 14, 15 และ 17 จากไพรเมอร์ OPAX17

กลุ่มย่อยที่ 2 ได้แก่ กระเจียวกาบแดง กระเจียวดอกขาว และกระเจียวไก่ขัน ซึ่งเกิดแถบดีเอ็นเอเหมือนกันในตำแหน่งที่ 17 และ 28 จากไพรเมอร์ OPA20 และตำแหน่งที่ 4, 8, 10, 11, 15 และ 17 จากไพรเมอร์ OPAX17

กลุ่มย่อยที่ 3 ได้แก่ กระปุกสีน้ำหมาก นพเก้า กระเจียวกุหลาบ ขมิ้นขาวชนิดหัวเล็ก และขมิ้นชัน ซึ่งเกิดแถบดีเอ็นเอเหมือนกันในตำแหน่งที่ 12 และ 41 จากไพรเมอร์ OPA20 และตำแหน่งที่ 5 และ 15 จากไพรเมอร์ OPAX17

กลุ่มย่อยที่ 4 ได้แก่ พลอยทักษิณ บัวสีส้ม เพชรเรียงใหม่ บัวชั้น และกระเจียวส้ม ซึ่งเกิดแถบดีเอ็นเอเหมือนกันในตำแหน่งที่ 41 จากไพรเมอร์ OPA20 และตำแหน่งที่ 7 จากไพรเมอร์ OPAX17

กลุ่มย่อยที่ 5 ได้แก่ ทับทิมสยาม และปทุมรัตน์ ซึ่งเกิดแถบดีเอ็นเอเหมือนกันในตำแหน่งที่ 10, 24, 25, 31 และ 40 จากไพรเมอร์ OPA20 และตำแหน่งที่ 5, 10, 13 และ 18 จากไพรเมอร์ OPAX17

กลุ่มย่อยที่ 6 ได้แก่ หิงห้อย (2n) บัวสีขาวลาว บัวลายกาญจน์ ปทุมมา และบัวโกเมน ซึ่งเกิดแถบดีเอ็นเอเหมือนกันในตำแหน่งที่ 10, 11 และ 18 จากไพรเมอร์ OPAX17

กลุ่มย่อยที่ 7 ได้แก่ ซ่อมรดก มีความแตกต่างจากกระเจียวแต่ละกลุ่ม ดังนี้

ต่างจากกลุ่มย่อยที่ 1 เพราะไม่เกิดแถบดีเอ็นเอในตำแหน่งที่ 6, 11, 16 และ 28 จากไพรเมอร์ OPA20 และตำแหน่งที่ 8, 10, 14 และ 17 จากไพรเมอร์ OPAX17

ต่างจากกลุ่มย่อยที่ 2 เพราะไม่เกิดแถบดีเอ็นเอในตำแหน่งที่ 17 และ 28 จากไพรเมอร์ OPA20 และตำแหน่งที่ 4, 8, 10, 11 และ 17 จากไพรเมอร์ OPAX17

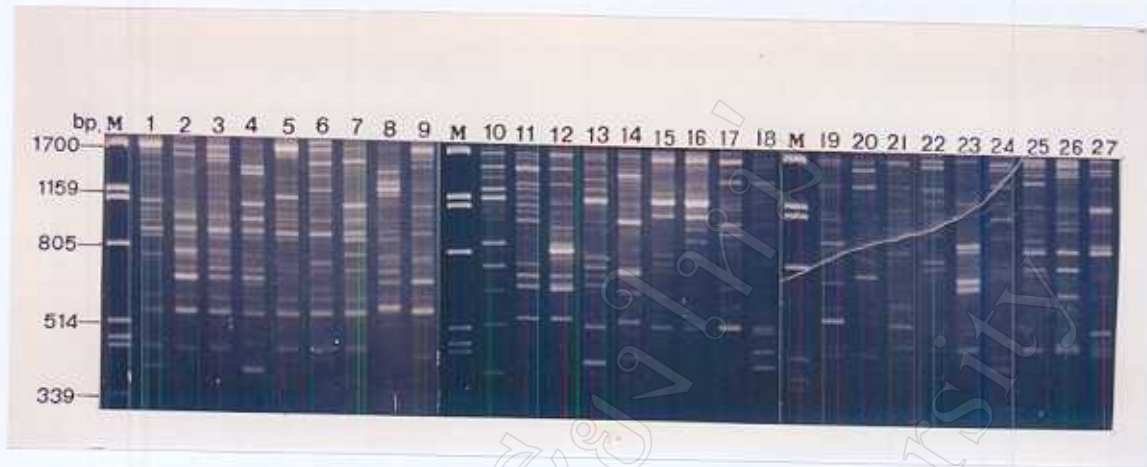
ต่างจากกลุ่มย่อยที่ 3 เพราะไม่เกิดแถบดีเอ็นเอในตำแหน่งที่ 12 และ 41 จากไพรเมอร์ OPA20

ต่างจากกลุ่มย่อยที่ 4 เพราะไม่เกิดแถบดีเอ็นเอในตำแหน่งที่ 41 จากไพรเมอร์ OPA20 และตำแหน่งที่ 7 จากไพรเมอร์ OPAX17

ต่างจากกลุ่มย่อยที่ 5 เพราะไม่เกิดแถบดีเอ็นเอในตำแหน่งที่ 10, 24, 25 และ 31 ใน จากไพรเมอร์ OPA20 และตำแหน่งที่ 10, 13 และ 18 จากไพรเมอร์ OPAX17

ต่างจากกลุ่มย่อยที่ 6 เพราะไม่เกิดแถบดีเอ็นเอในตำแหน่งที่ 10, 11 และ 18 จากไพรเมอร์ OPAX17





OPA20

ก



OPAX17

ข

ภาพ 14 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกระเจียว 27 ชนิด จากไพรเมอร์ชนิดที่ 1 และ 2

ก) ไพรเมอร์ OPA20

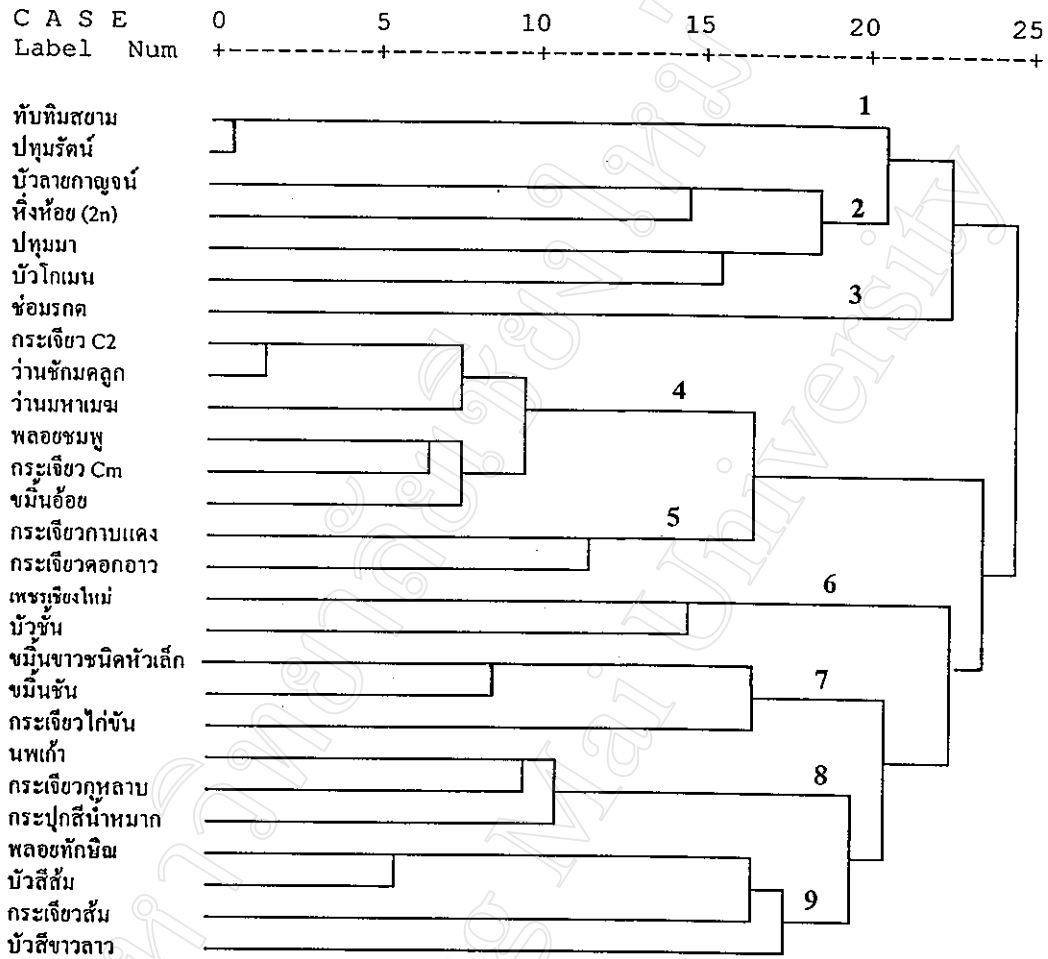
ข) ไพรเมอร์ OPAX17

M =  $\lambda$ -DNA/ *Pst* I marker

1 - 27 ชนิดพืชที่ทดสอบ (ตาราง 1)

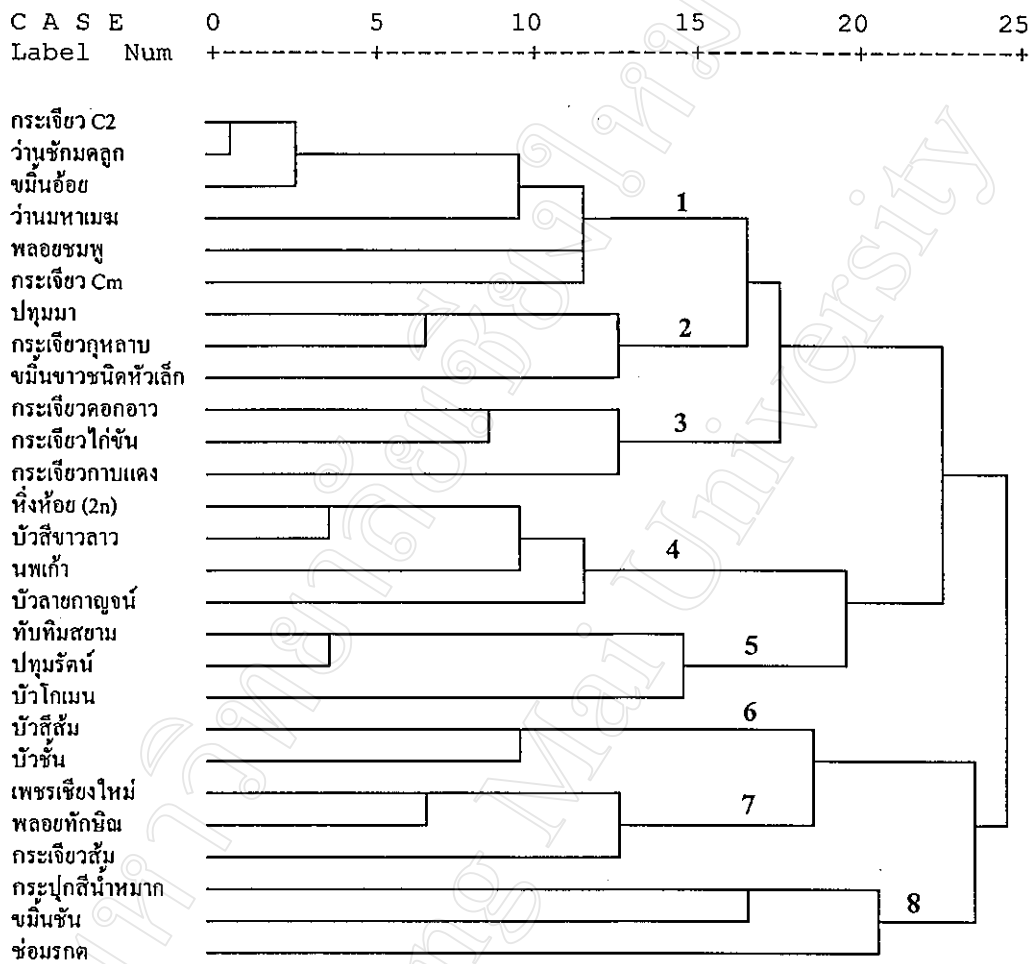
ตัวเลขด้านซ้าย แสดงจำนวนคู่เบส

Dendrogram Using Average Linkage (Between Groups)



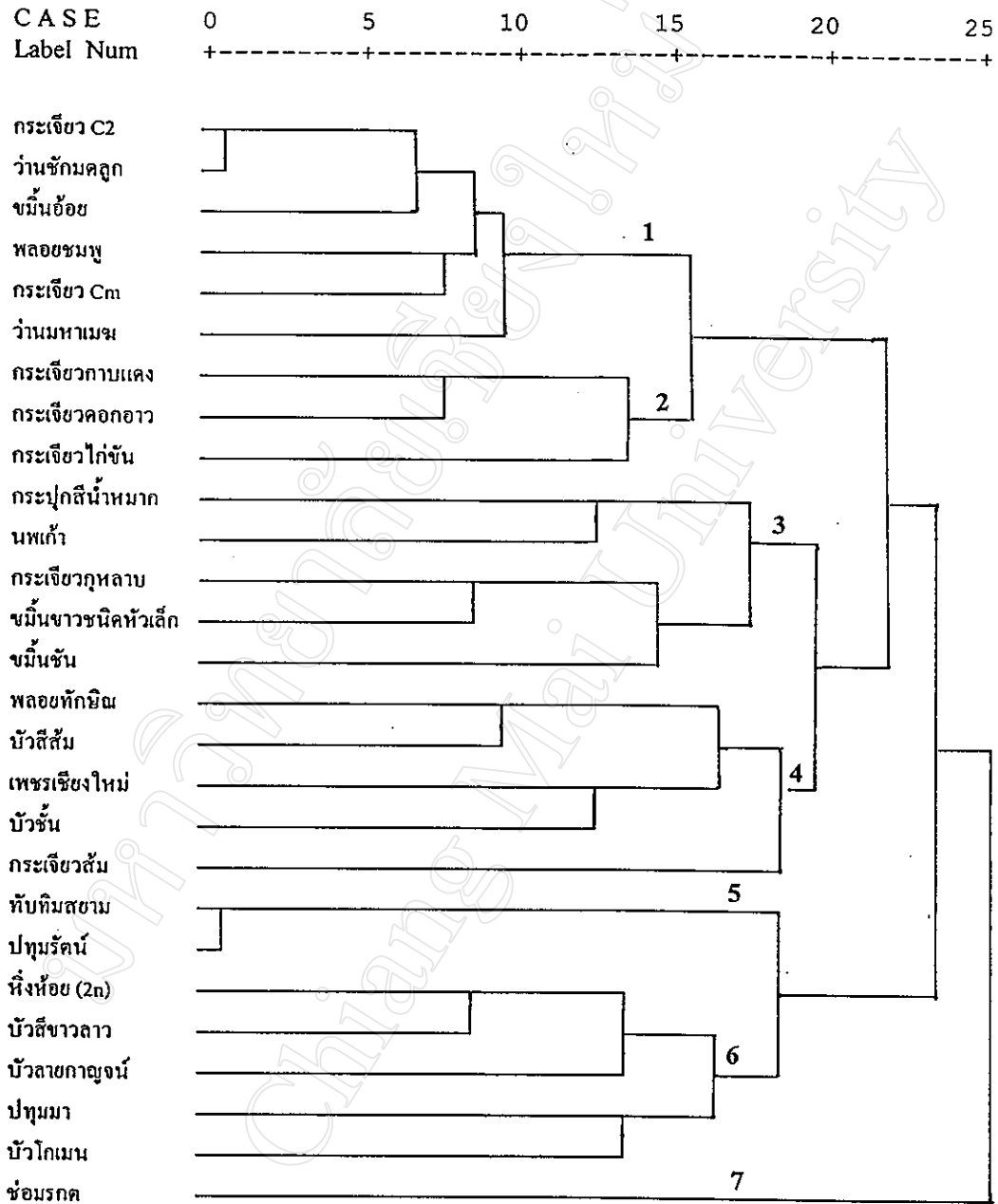
ภาพ 15 Dendrogram แสดงความสัมพันธ์ใกล้ชิดระหว่างกระเจียว 27 ชนิด จากการใช้โปรแกรม OPA20

## Dendrogram Using Average Linkage (Between Groups)



ภาพ 16 Dendrogram แสดงความสัมพันธ์ใกล้ชิดระหว่างกระเจียว 27 ชนิด  
จากการใช้โปรแกรม OPAX17

Dendrogram Using Average Linkage (Between Groups)



ภาพที่ 17 Dendrogram แสดงความสัมพันธ์ใกล้เคียงระหว่างกระเจียว 27 ชนิด จากการใช้โปรแกรม OPA20 และ OPAX17

จากการนำข้อมูลการปรากฏและไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอจำนวน 62 แถบ ที่ได้จากไพรเมอร์ OPA20 และ OPAX17 มาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชกลุ่มกระเจียวจำนวน 27 ชนิด พบว่าการแบ่งกลุ่มกระเจียวดังกล่าวยังไม่สอดคล้องกับลักษณะทางพฤกษศาสตร์ การเจริญเติบโตด้านการออกดอก ลักษณะการเจริญเติบโตของเหง้า และจำนวนโครโมโซมของต้นพืชที่นำมาศึกษา ดังนั้นจึงได้เพิ่มจำนวนแถบดีเอ็นเอเพื่อให้การศึกษาแม่นยำยิ่งขึ้นโดยเพิ่มไพรเมอร์อีก 7 ไพรเมอร์ ได้แก่ OPA11 OPAQ06 OPAQ12 OPAB04 OPG13 OPG14 และ OPV08 รวมเป็น 9 ไพรเมอร์ ซึ่งสามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่มีลักษณะทั้ง polymorphic และ monomorphic (ตาราง 5) (ภาพ 18 – 21) และเมื่อนำข้อมูลการปรากฏและไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอจาก 9 ไพรเมอร์ (ภาคผนวก ตาราง 2 - 10) รวมทั้งหมด 235 แถบ มาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมทำให้สามารถแบ่งกลุ่มกระเจียวที่นำมาศึกษาได้เป็น 6 กลุ่มใหญ่ (ภาพ 22) ดังนี้

กลุ่ม 1 ได้แก่ กระเจียว C2 ว่านชัคมดลูก ว่านมหาเมฆ กระเจียวกาบแดง ขมิ้นอ้อย พลอยชมพู กระเจียว Cm กระเจียวดอกอาว และกระเจียวไก่ขัน ซึ่งเกิดแถบดีเอ็นเอเหมือนกันที่ขนาดโมเลกุลต่าง ๆ ในแต่ละไพรเมอร์ ดังนี้ OPA20<sub>885</sub> OPAX17<sub>990, 1110, 1440, 1700</sub> OPAQ06<sub>264, 514, 540, 1093, 1380</sub> OPAQ12<sub>780, 950, 1005</sub> OPAB04<sub>810</sub> OPG13<sub>500, 540, 780, 1005</sub> OPG14<sub>900, 960, 1185</sub> และ OPV08<sub>450, 570, 1110</sub>

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ภายในกลุ่มสามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้ดังนี้

กลุ่มย่อย 1.1 ได้แก่ กระเจียว C2 ว่านชัคมดลูก ว่านมหาเมฆ กระเจียวกาบแดง ขมิ้นอ้อย พลอยชมพู และกระเจียว Cm ซึ่งเกิดแถบดีเอ็นเอเหมือนกันที่ขนาดโมเลกุลต่าง ๆ ในแต่ละไพรเมอร์ดังนี้ OPA20<sub>540, 885</sub> OPAX17<sub>990, 1110, 1440, 1700</sub> OPA11<sub>1680</sub> OPAQ12<sub>530, 780, 950, 1005</sub> OPB04<sub>810</sub> OPAQ06<sub>264, 514, 540, 630, 1093, 1159, 1380, 1560</sub> OPG13<sub>500, 540, 625, 780, 1005</sub> OPG14<sub>900, 960, 1185</sub> และ OPV08<sub>300, 450, 570, 1110</sub> กลุ่มย่อย 1.1 นี้ยังสามารถแยกออกได้ดังนี้

กลุ่มย่อย 1.1.1 ได้แก่ กระเจียว C2 ว่านชัคมดลูก ว่านมหาเมฆ และกระเจียวกาบแดง ซึ่งเกิดแถบดีเอ็นเอเหมือนกันที่ขนาดโมเลกุลต่าง ๆ ในแต่ละไพรเมอร์ดังนี้ OPA20<sub>540, 885</sub> OPAX17<sub>990, 1110, 1159, 1440, 1700</sub> OPA11<sub>1680</sub> OPAQ06<sub>264, 514, 540, 630, 1093, 1159, 1380, 1560</sub> OPAQ12<sub>530, 780, 950, 1005</sub> OPAB04<sub>810, 1230, 3000</sub> OPG13<sub>500, 540, 585, 625, 780, 810, 1005</sub> OPG14<sub>900, 960, 1080, 1185</sub> และ OPV08<sub>225, 300, 450, 570, 780, 1110</sub>

กลุ่มย่อย 1.1.2 ได้แก่ ขมิ้นอ้อย พลอยชมพู และกระเจียว Cm ซึ่งเกิดแถบดีเอ็นเอเหมือนกันที่ขนาดโมเลกุลต่าง ๆ ในแต่ละไพรเมอร์ดังนี้ OPA20<sub>448, 540, 600, 855, 885</sub> OPA11<sub>960, 1320, 1680</sub> OPAX17<sub>540, 770, 990, 1110, 1380, 1440</sub> OPAQ06<sub>264, 514, 540, 630, 805, 1093, 1159, 1380, 1560, 2280, 3500</sub> OPAQ12<sub>530, 780, 950, 1005</sub> OPAB04<sub>810</sub> OPG13<sub>450, 500, 540, 625, 780, 1005, 1035</sub> OPG14<sub>900, 960, 1185</sub> และ OPV08<sub>440, 450, 570, 1110</sub>

กลุ่มย่อย 1.2 ได้แก่ กระจีวดอกอ่าว และกระจีวไก่อ้น ซึ่งเกิดแถบดีเอ็นเอเหมือนกันที่  
ขนาดโมเลกุลต่าง ๆ ในแต่ละไพรเมอร์ดังนี้ OPA20<sub>660, 885</sub> OPAX17<sub>720, 990, 1110, 1159, 1200, 1440, 1700</sub>  
OPA11<sub>840, 930, 1620</sub> OPAQ06<sub>264, 480, 514, 540, 630, 840, 1093, 1260, 1380, 2560</sub> OPAQ12<sub>630, 780, 950, 1005</sub> OPAB04<sub>810, 1620</sub>  
OPG13<sub>500, 540, 780, 960, 1005</sub> OPG14<sub>448, 735, 900, 960, 1080, 1185</sub> และ OPV08<sub>450, 570, 1110</sub>

กลุ่ม 2 ได้แก่ กระจีวภูเขา ขมิ้นขาวชนิดหัวเล็ก และขมิ้นชัน ซึ่งเกิดแถบดีเอ็นเอ  
เหมือนกันที่ขนาดโมเลกุลต่าง ๆ ในแต่ละไพรเมอร์ดังนี้ OPA20<sub>555, 705, 885, 1500, 1600</sub> OPAX17<sub>770, 990,</sub>  
1440 OPA116<sub>690, 1620</sub> OPAQ06<sub>264, 630, 870, 1020, 1093, 1290, 1380, 2220</sub> OPAQ12<sub>255, 630, 780, 950, 1005</sub> OPAB04<sub>385</sub>  
OPG13<sub>500, 540</sub> OPG14<sub>448, 900, 1185</sub> และ OPV08<sub>300, 450, 570, 690, 720</sub>

กลุ่ม 3 ได้แก่ เพชรเชียงใหม่ บัวชั้น พลอยทักษิณ บัวสีส้ม และกระจีวส้ม ซึ่งเกิดแถบ  
ดีเอ็นเอเหมือนกันที่ขนาดโมเลกุลต่าง ๆ ในแต่ละไพรเมอร์ดังนี้ OPA20<sub>1500, 1700</sub> OPAQ06<sub>264, 1020</sub>  
OPAQ12<sub>780, 950, 1005</sub> OPG13<sub>500, 780</sub> OPG14<sub>900, 1185</sub> และ OPV08<sub>410</sub>

กลุ่ม 4 ได้แก่ ทับทิมสยาม ปทุมรัตน์ ปทุมมา บัวโกเมน และบัวลายกาญจน์ ซึ่งเกิดแถบ  
ดีเอ็นเอเหมือนกันที่ขนาดโมเลกุลต่าง ๆ ในแต่ละไพรเมอร์ดังนี้ OPA20<sub>535</sub> OPAX17<sub>770, 1110, 1830</sub>  
OPAQ06<sub>900, 1093, 2520</sub> OPAQ12<sub>780, 950</sub> OPAB04<sub>1050</sub> OPG13<sub>500, 540, 645</sub> OPG14<sub>900, 1460</sub> และ OPV08<sub>380</sub>

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ภายในกลุ่มสามารถแบ่งกลุ่มเป็นย่อยได้ดังนี้

กลุ่มย่อย 4.1 ได้แก่ ทับทิมสยาม ปทุมรัตน์ และปทุมมา ซึ่งเกิดแถบดีเอ็นเอ  
เหมือนกันที่ขนาดโมเลกุลต่าง ๆ ในแต่ละไพรเมอร์ดังนี้ OPA20<sub>535, 1620</sub> OPAX17<sub>770, 1110, 1830</sub>  
OPA11<sub>540, 1230</sub> OPAQ06<sub>900, 960, 1093, 2520</sub> OPAQ12<sub>630, 780, 950, 1005</sub> OPAB04<sub>1050, 3000</sub> OPG13<sub>500, 540, 645</sub>  
OPG14<sub>900, 1460, 1740</sub> และ OPV08<sub>380, 540, 990</sub>

กลุ่มย่อย 4.2 ได้แก่ บัวโกเมน และบัวลายกาญจน์ ซึ่งเกิดแถบดีเอ็นเอเหมือน  
กันที่ขนาดโมเลกุลต่าง ๆ ในแต่ละไพรเมอร์ดังนี้ OPA20<sub>535, 980, 1350</sub> OPAX17<sub>770, 1110, 1159, 1440, 1830</sub>  
OPA11<sub>264</sub> OPAQ06<sub>264, 448, 468, 690, 900, 1093, 1200, 1380, 2443, 2525</sub> OPAQ12<sub>780, 950</sub> OPAB04<sub>810, 1020, 1050, 2280</sub>  
OPG13<sub>500, 540, 1005</sub> OPG14<sub>900, 1080, 1093, 1460</sub> และ OPV08<sub>380, 410, 440, 780, 1700</sub>

กลุ่ม 5 ได้แก่ กระจีวสีน้ำหมาก และนพเก้า ซึ่งเกิดแถบดีเอ็นเอเหมือนกันที่ขนาด  
โมเลกุลต่าง ๆ ในแต่ละไพรเมอร์ดังนี้ OPA20<sub>555, 810, 855, 1700</sub> OPAX17<sub>770, 1440, 2070</sub> OPAB04<sub>1110, 3000</sub>  
OPAQ06<sub>810, 1093, 1290</sub> OPAQ12<sub>242, 660, 780, 950, 1650</sub> OPG13<sub>255, 390, 500, 540, 765</sub> OPV08<sub>540, 750, 1110</sub>



และ OPG14<sub>448, 660, 900, 1080, 1159, 1185, 1460, 1860</sub>

กลุ่ม 6 ได้แก่ หิ้งห้อย (2n) บัวสี่ขาวลาว และช่อมรกต ซึ่งเกิดแถบดีเอ็นเอเหมือนกันที่ขนาดโมเลกุลต่าง ๆ ในแต่ละไพรเมอร์ดังนี้ OPA20<sub>1620</sub> OPAX17<sub>1440</sub> OPAQ06<sub>264, 810, 1093</sub> OPAQ12<sub>780, 950, 1093</sub> OPG13<sub>500, 540</sub> OPG14<sub>900, 1460</sub> OPV08<sub>1110</sub>

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ภายในกลุ่มสามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้ดังนี้

กลุ่มย่อย 6.1 ได้แก่ หิ้งห้อย 2n และบัวสี่ขาวลาว ซึ่งเกิดแถบดีเอ็นเอเหมือนกันที่ขนาดโมเลกุลต่าง ๆ ในแต่ละไพรเมอร์ดังนี้ OPA20<sub>1350, 1620</sub> OPAX17<sub>1110, 1159, 1440, 1830</sub> OPAB04<sub>1020, 1700</sub> OPAQ06<sub>264, 810, 840, 870, 1093, 1159</sub> OPAQ12<sub>390, 780, 950, 1093</sub> OPG13<sub>500, 540, 1140</sub> OPG14<sub>900, 1460</sub> และ POV08<sub>380, 540, 750, 1110</sub>

กลุ่มย่อย 6.2 ได้แก่ ช่อมรกต โดยต่างจากกลุ่มย่อย 6.1 เนื่องจากไม่เกิดแถบดีเอ็นเอในตำแหน่งที่กระเจียวกลุ่มย่อย 6.1 เกิดร่วมกันในแต่ละไพรเมอร์ดังนี้ OPA20<sub>1350</sub> OPAX17<sub>1110, 1159, 1830</sub> OPAQ06<sub>840, 870, 1159</sub> OPAQ12<sub>390</sub> OPAB04<sub>1020, 1700</sub> OPG13<sub>1140</sub> OPV08<sub>380, 540, 750</sub>

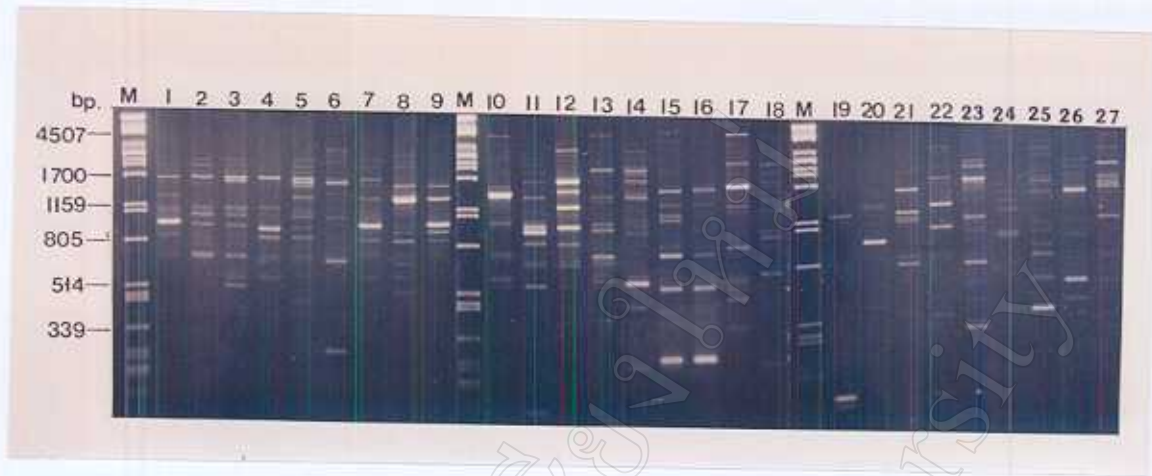
โดยกลุ่มต่าง ๆ เหล่านี้มีความสอดคล้องกับการเจริญเติบโตด้านการออกดอก ลักษณะการเจริญเติบโตของลำต้นจริงหรือแห้ง ลักษณะช่อดอก และจำนวนโครโมโซมส่วนใหญ่ของต้นพืชที่นำมาศึกษา

ตาราง 5 ขนาดและจำนวนแถบดีเอ็นเอที่สังเคราะห์โดยใช้ไพรเมอร์ 9 ชนิด

ไพรเมอร์	ขนาดแถบดีเอ็นเอ (คู่เบส)	จำนวนแถบดีเอ็นเอ (แถบ)	จำนวนแถบดีเอ็นเอ		% แถบดีเอ็นเอ ที่มีขนาดโมเลกุล แตกต่างกัน
			Polymorphic band	Monomorphic band	
OPA20	370 – 1700	41	41	-	100
OPAX17	540 – 2070	21	21	-	100
OPA11	150 – 1680	29	29	-	100
OPAQ06	264 – 3500	32	32	-	100
OPAQ12	242 – 1800	22	20	2	90.9
OPAB04	350 – 3000	16	16	-	100
OPG13	255 – 1140	24	22	2	91.6
OPG14	270 – 1860	22	21	1	95.4
OPV08	200 - 1700	28	28	-	100
แถบดีเอ็นเอรวม		235	230	5	-

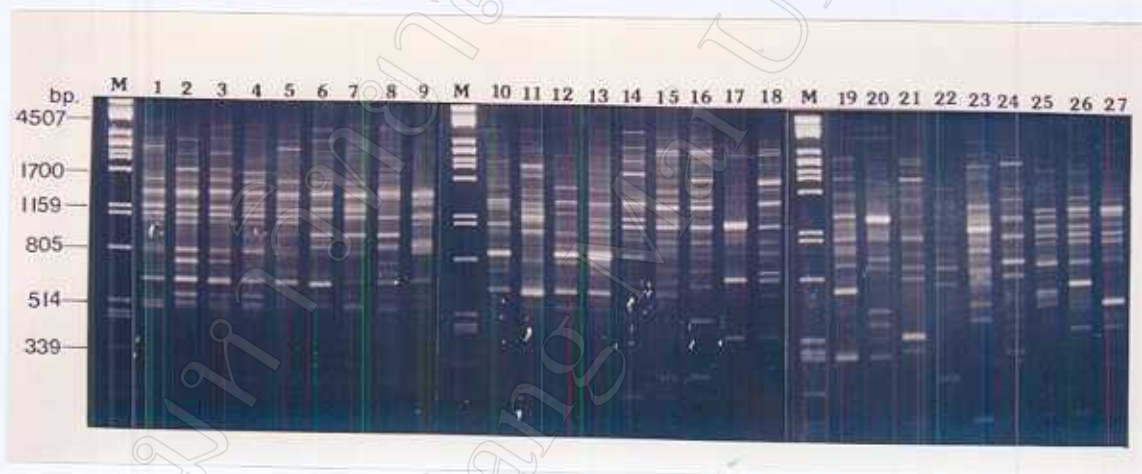
นอกจากนี้การทดลองครั้งนี้ยังพบว่า มี 5 ไพรมเมอร์ จากที่ศึกษาทั้งหมด 16 ไพรมเมอร์ ได้แก่ OPB15 OPG15 OPG18 OPG20 และ OPA07 ไม่สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอสายใหม่ได้ และมี 2 ไพรมเมอร์ ได้แก่ OPA08 และ OPB20 สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอสายใหม่ได้ แต่ขนาด โมเลกุลดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นจากพีซแต่ละชนิดไม่มีความแตกต่างกัน (monomorphic band) หรือแตกต่างกันน้อยมากจึงไม่สามารถนำมาใช้แยกความแตกต่างของกระเจียวที่นำมาศึกษาได้

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Chiang Mai University



OPA11

ก



OPAQ06

ข

ภาพ 18 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกระเจียว 27 ชนิด จากไพรเมอร์ชนิดที่ 3 และ 4

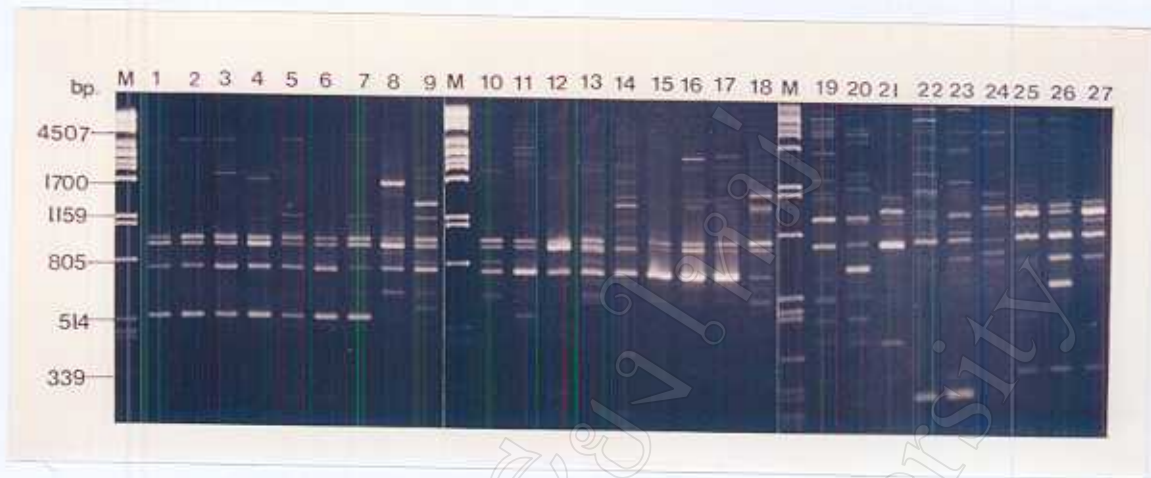
ก) ไพรเมอร์ OPA11

ข) ไพรเมอร์ OPAQ06

M =  $\lambda$ -DNA/ *Pst* I marker

1 - 27 ชนิดพืชที่ทดสอบ (ตาราง 1)

ตัวเลขด้านซ้าย แสดงจำนวนคู่เบส



OPAQ12

ก



OPAB04

ข

ภาพ 19 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกระเจียว 27 ชนิด จากไพรเมอร์ชนิดที่ 5 และ 6

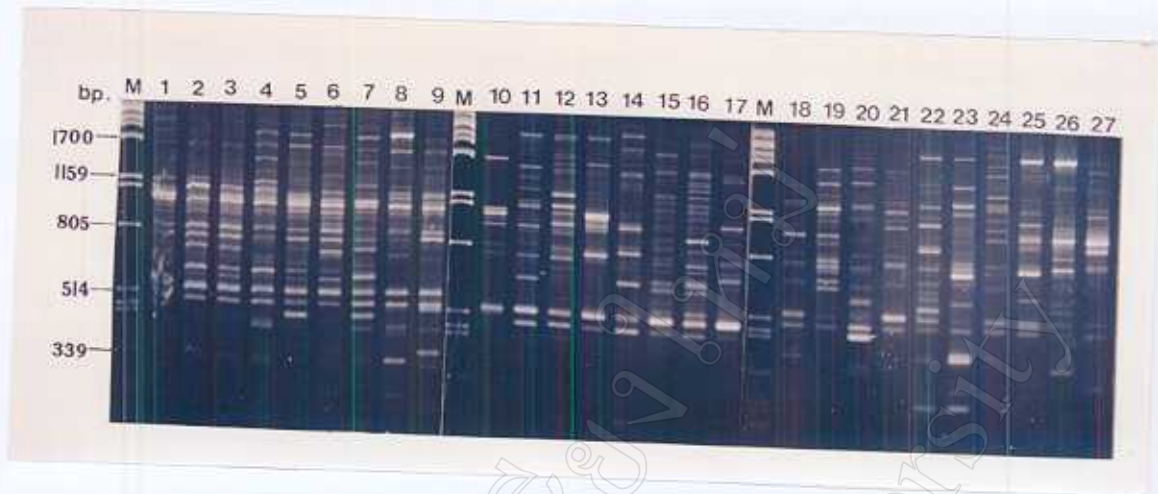
ก) ไพรเมอร์ OPAQ12

ข) ไพรเมอร์ OPAB04

M =  $\lambda$ -DNA/ *Pst* I marker

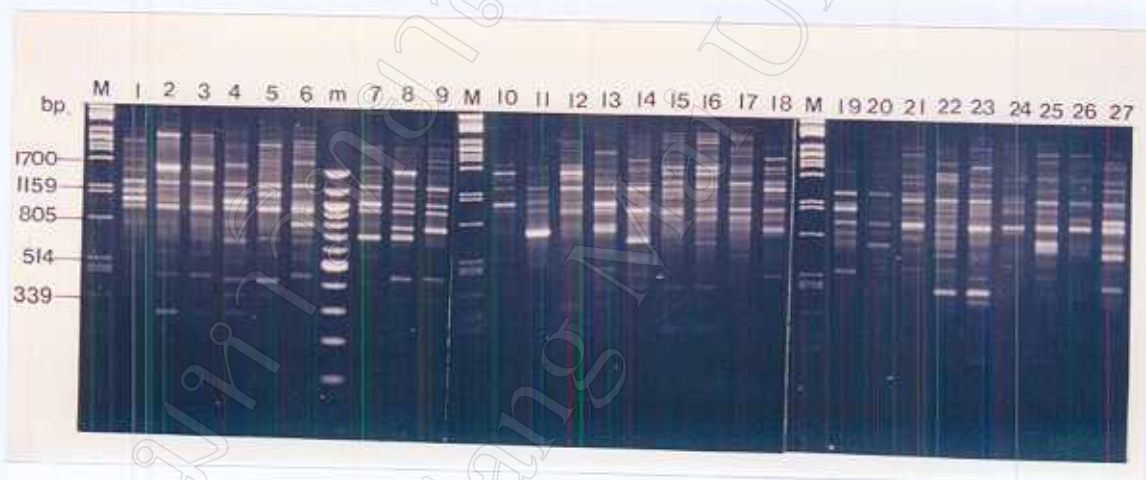
1 - 27 ชนิดพืชที่ทดสอบ (ตาราง 1)

ตัวเลขด้านซ้าย แสดงจำนวนคู่เบส



OPG13

ก



OPG14

ข

ภาพ 20 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกระเจียว 27 ชนิด จากไฟรเมอร์ชนิดที่ 7 และ 8

ก) ไฟรเมอร์ OPG13

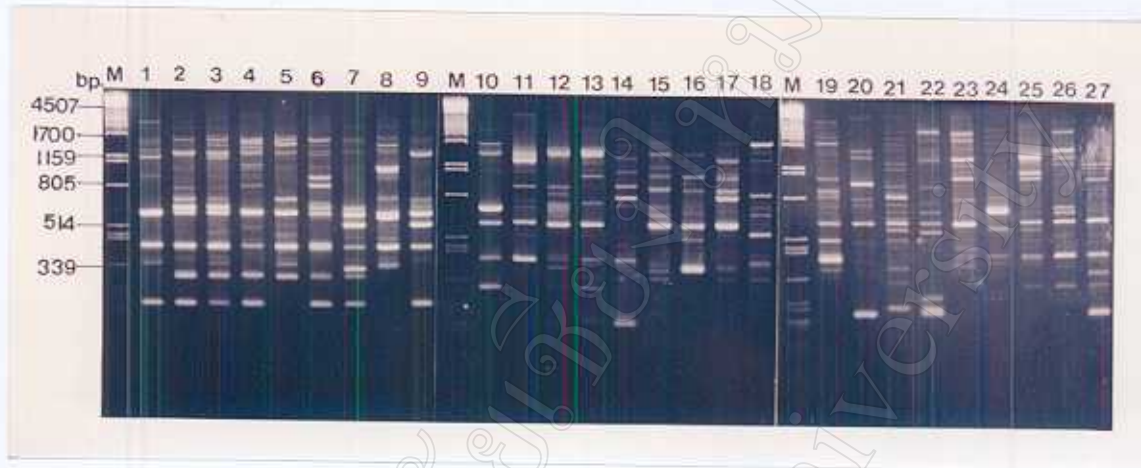
ข) ไฟรเมอร์ OPG14

M =  $\lambda$ -DNA/ *Pst* I marker

1 - 27 ชนิดพืชที่ทดสอบ (ตาราง 1)

ตัวเลขด้านซ้าย แสดงจำนวนคู่เบส



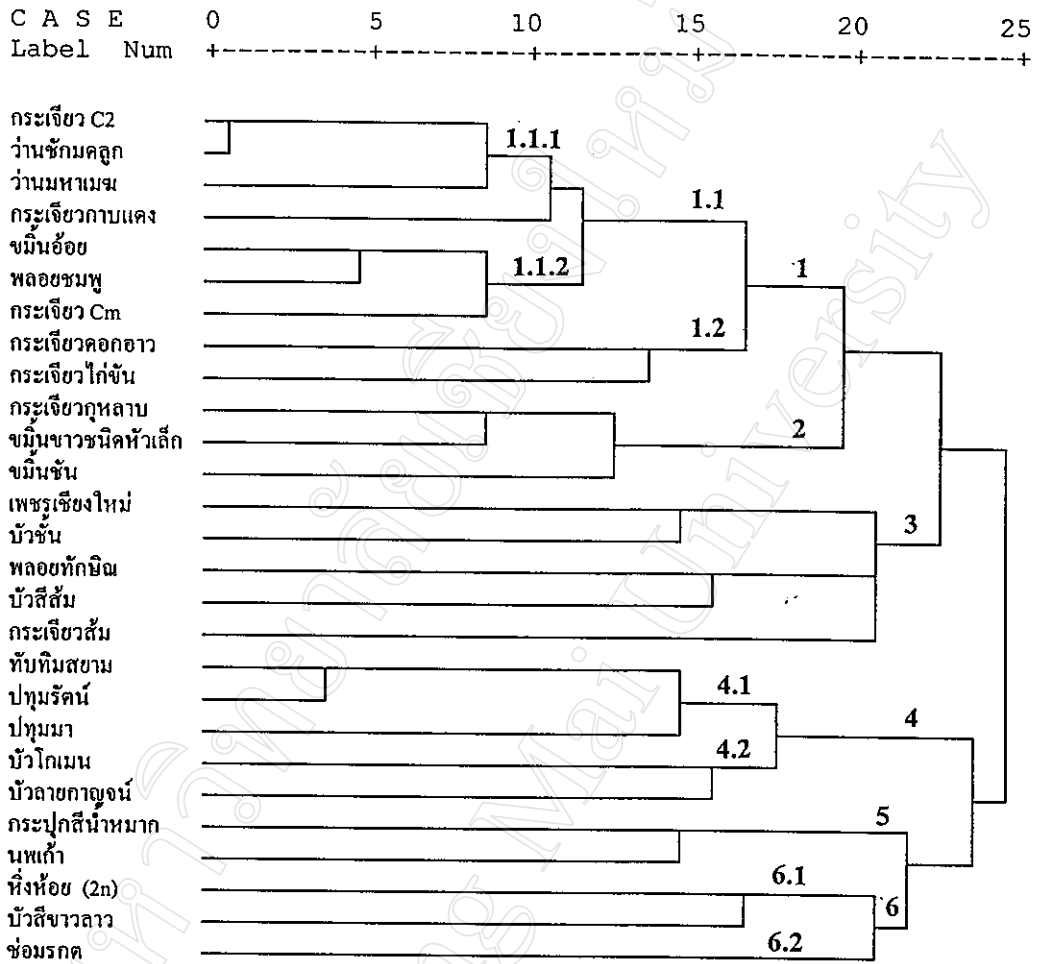


OPV08

- ภาพ 21 ภายพิมพ์ดีเอ็นเอกระเจียว 27 ชนิด จากไฟรเมอร์ชนิดที่ 9  
ไฟรเมอร์ที่ใช้คือ OPV08  
M =  $\lambda$ -DNA/ *Pst*-I marker  
1 – 27 ชนิดพืชที่ทดสอบ (ตาราง 1)  
ตัวเลขด้านซ้าย แสดงจำนวนคู่เบส



Dendrogram Using Average Linkage (Between Groups)



ภาพที่ 22 Dendrogram แสดงความสัมพันธ์ใกล้ชิดระหว่างกระเจียว 27 ชนิด จากการใช้ 9 ไพรมอร์ ได้แก่ OPA20 OPAX17 OPA11 OPAQ06 OPAQ12 OPAB04 OPG13 OPG14 และ OPV08