สัญญาเลขที่ R256130044

อภินันทนาการ

# รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

## การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยน้ำว้ามะลิอ่องแท้โดยเทคนิค SRAP (sequence-related amplified polymorphism) และ iPBS (inter primer binding site)

## Detection of DNA Fingerprinting among 'Kluai Namwa' (ABB group) using SRAP and iPBS Techniques


คณะผู้วิจัย

1. ดร. ฐนิตา บุญสร้างสม คณะเกษตรศาสตร์ ฯ
2. รศ.ดร. คำรพ รัตนสุต คณะเกษตรศาสตร์ ฯ
3. ผศ.ดร. กวี สุจิปุลิ คณะเกษตรศาสตร์ ฯ



สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยนเรศวร
วันลงทะเบียน 21 มี.ค. 2565
เลขทะเบียน 1049953
เลขเรียกหนังสือ ว SB 379 .B2 ร122ร 2561



สนับสนุนโดย

งบประมาณแผ่นดินมหาวิทยาลัยนเรศวร

ปีงบประมาณ 2561

# การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยน้ำว้ามะลิอ่องแท้ โดยเทคนิค SRAP (sequence-related amplified polymorphism) และ iPBS (inter primer binding site)

## บทคัดย่อ

กล้วยและ plantains เป็นพืชที่มีความสำคัญเป็นอันดับสี่ของโลก กล้วยกินได้หลายชนิด สามารถนำมารับประทานเป็นขนมหวานและนำมาประกอบอาหาร โดยมีกำเนิดมาจากการผสมข้ามพันธุ์ระหว่างกล้วยป่า (*Musa acuminata* Colla) ซึ่งมีจีโนมแบบ AA กับกล้วยตานี (*Musa balbisiana* Colla) ซึ่งมีจีโนมแบบ BB กล้วยน้ำว้าเป็นพันธุ์กล้วยพื้นเมืองของไทยและเป็นพันธุ์กล้วยที่พบมากที่สุดในประเทศ มีจีโนมแบบ ABB ซึ่งมีความผันแปรทางพันธุกรรมมากที่สุดในบรรดาพันธุ์กล้วยทั้งหลายและเป็นความผันแปรที่เกิดขึ้นเองในธรรมชาติ การจำแนกเชื้อพันธุกรรมของ *Musa* (ABB group) มีความซับซ้อนและยังคงเป็นสิ่งที่ท้าทาย ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมและความสัมพันธ์ระหว่างกล้วยสกุลมิวซาจำนวน 28 สายพันธุ์ ซึ่งประกอบด้วยกลุ่มจีโนมที่แตกต่างกัน 3 กลุ่มคือ AA, BB และ ABB และกล้วยน้ำว้ามะลิอ่องจำนวน 16 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิค SRAP และ iPBS พบว่าไพรเมอร์จำนวน 33 ชนิด สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอและให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 328 แถบ เป็นแถบดีเอ็นเอที่แสดงพอลิมอร์ฟิซึมจำนวน 302 แถบ หรือคิดเป็น 92.07 เปอร์เซ็นต์ ค่า PIC มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.23 นำค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมของตัวอย่างกล้วยจำนวน 28 ตัวอย่าง มาคำนวณด้วยวิธี Dice's coefficient สามารถจัดกลุ่มความสัมพันธ์ด้วยวิธี UPGMA โดยแบ่งกลุ่มตัวอย่างกล้วยที่ใช้ในการศึกษาออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ และเมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างกล้วยน้ำว้ามะลิอ่องจำนวน 16 ตัวอย่าง พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มตัวอย่างกล้วยน้ำว้ามะลิอ่องที่ใช้ในการศึกษาได้ออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่เช่นกัน ผลที่ได้จากการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยด้วยเทคนิคระดับโมเลกุลนี้จะเป็นประโยชน์สำหรับการเก็บรวบรวมพันธุกรรม การอนุรักษ์ และการระบุจีโนมของกล้วยสกุลมิวซาในการปรับปรุงพันธุ์กล้วยน้ำว้าในอนาคต

# Detection of DNA Fingerprinting among 'Kluai Namwa' (ABB group) using SRAP and iPBS Techniques


## Abstract

Bananas and plantains are the fourth most important crop in the world. Many edible bananas including dessert and cooking types were derived from intraspecific hybridization between subspecies of *Musa acuminata* Colla (A genome) and *Musa balbisiana* Colla (B genome). Among cooking bananas, Pisang Awak or Kluai Namwa is the most common banana with an ABB genome in cultivation and is favored over varieties for its multiple uses. A large number of cultivars were released through hybridization, frequent somatic mutations and human selection for their tasty fruit. However, the identification of *Musa* germplasm (ABB group) is complicated and remains a challenge. In this study, two molecular markers, sequence-related amplified polymorphism (SRAP) and inter - primer binding site (iPBS), were used to assess the genetic diversity and relationship among 28 *Musa* cultivars, comprising of three different genome groups (AA, BB and ABB) and 16 'Kluai Namwa Mali-Ong' samples. 33 of 64 SRAP primer combinations producing clear DNA bands were selected to amplify the genomic DNA of samples. A total of 328 differently sized fragments were scored, of which 302 (92.07%) were polymorphic with an average 0.23 PIC value and characterized all of the 28 *Musa* cultivars. UPGMA dendrograms based on the Dice's similarity coefficient were constructed. The results showed that all 28 *Musa* samples could be classified into two major clusters (I & II). Furthermore, dendrogram derived from seven SRAP markers showed that all 16 'Kluai Namwa Mali-Ong' samples could be categorized into two major groups. The results based on this polymorphic RAPD and SRAP information will be useful for germplasm collection, conservation and Musa genome identification in breeding programs in the future.

# กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน กองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยนเรศวร ประจำปีงบประมาณ 2561 เพื่อให้เป็นไปตามยุทธศาสตร์การพัฒนาประเทศตามแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ได้แก่ ยุทธศาสตร์การวิจัยที่ 3: การสร้างความเข้มแข็งทางเศรษฐกิจและแข่งขันได้อย่างยั่งยืน นโยบายและยุทธศาสตร์การวิจัยของชาติ ได้แก่ ยุทธศาสตร์การวิจัยที่ 5: พัฒนาและเสริมสร้างความเข้มแข็งของโครงสร้างพื้นฐานด้านการวิจัยและพัฒนาของประเทศ เพื่อยกระดับการเสริมสร้างสังคมวิจัยในระดับท้องถิ่นและชุมชนให้มีศักยภาพเข้มแข็งในการวิจัยและพัฒนา 1.3 พัฒนาและแก้ไขปัญหาในพื้นที่ เกษตรเพื่อความยั่งยืนและการสร้างความสามารถในการแข่งขัน ตลอดจนให้เป็นไปตามนโยบายและแผนกลยุทธ์ของมหาวิทยาลัยนเรศวร ได้แก่ การเพิ่มมูลค่าสินค้าเกษตรเพื่อการส่งออกและลดการนำเข้า โดยมุ่งเน้นการวิจัยเกี่ยวกับการเพิ่มมูลค่าสินค้าเกษตรและเพิ่มผลิตภาพการผลิตเพื่อพัฒนาศักยภาพสินค้าเกษตรที่สร้างรายได้หลักจากการส่งออกและสร้างรายได้ให้กับชุมชน รวมทั้งการพัฒนาเทคโนโลยีใหม่และการพัฒนาคุณภาพสินค้า มาตรฐานสินค้าตลอดจนความปลอดภัยของอาหาร (food safety)

ตัวอย่างกล้วยที่ใช้ในการศึกษาในครั้งนี้ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพการเกษตร จังหวัดพิษณุโลก (พันธุ์พืชเพาะเลี้ยง) ต.งิ้วงาม อ.เมือง จ.พิษณุโลก และสถานีวิจัยปากช่อง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา

ดร. ฐนิตา บุญสร้างสม

มกราคม 2563

# สารบัญ

สารบัญ ..... ก
สารบัญตาราง ..... ข
สารบัญภาพ ..... ค
คำนำ ..... 1
วัตถุประสงค์ ..... 2
การตรวจเอกสาร ..... 3
อุปกรณ์และวิธีการวิจัย ..... 20
อุปกรณ์ ..... 20
วิธีการ ..... 22
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง ..... 27
สรุปและข้อเสนอแนะ ..... 38
สรุปผลการทดลอง ..... 38
ข้อเสนอแนะ ..... 39
เอกสารและสิ่งอ้างอิง ..... 40

# สารบัญตาราง

**ตารางที่ 1** ความแตกต่างระหว่างกล้วยป่า (*M. acuminata*) และกล้วยตานี (*M. balbisiana*) (เบญจมาศ, 2538) ..... 6
**ตารางที่ 2** ตัวอย่างกล้วยที่ใช้ในการศึกษาจำนวน 28 ตัวอย่าง ..... 20
**ตารางที่ 3** ตัวอย่างกล้วยน้ำว้ามะลิอ่องที่ใช้ในการศึกษาจำนวน 16 ตัวอย่าง ..... 21
**ตารางที่ 4** ไพรเมอร์เอสอาร์เอพีที่ใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของกล้วยน้ำว้า (Li and Quiros, 2001) ..... 23
**ตารางที่ 5** สารที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์แบบเอสอาร์เอพี ..... 24
**ตารางที่ 6** ชื่อไพรเมอร์ ขนาดของอัลลีล จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่แสดงพอลิมอร์ฟิซึม เปอร์เซ็นต์พอลิมอร์ฟิซึม และค่า PIC ..... 31
**ตารางที่ 7** ค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมของตัวอย่างกล้วยจำนวน 28 ตัวอย่าง ที่วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SRAP คำนวณด้วยวิธี Dice's coefficient ..... 34
**ตารางที่ 8** ค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมของตัวอย่างกล้วยน้ำว้ามะลิอ่องจำนวน 16 ตัวอย่าง ที่วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SRAP คำนวณด้วยวิธี Dice's coefficient ..... 36

# สารบัญภาพ

**ภาพที่ 1** ลักษณะที่สำคัญในการจำแนกระหว่างกล้วยป่า (*M. acuminata* Colla) และกล้วยตานี (*M. balbisiana* Colla) (เบญจมาศ, 2538)..... 5
**ภาพที่ 2** ความหลากหลายของจีโนมกล้วยและการพัฒนาของกล้วยที่กินได้ (edible banana) ชนิดต่าง ๆ (Valmayor et al., 2000)..... 9
**ภาพที่ 3** การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมาย SRAP (sequence related amplified polymorphism) (Poczai et al., 2013)..... 18
**ภาพที่ 4** การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมาย iPBS (inter - primer binding site) (Poczai et al., 2013)..... 19
**ภาพที่ 5** ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วย โดยใช้ไพรเมอร์ Me1/Em1 (M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp Plus DNA ladder, 1 - 28 คือ ตัวอย่างกล้วยที่ใช้ในการศึกษา)..... 27
**ภาพที่ 6** ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วย โดยใช้ไพรเมอร์ Me1/Em2 (M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp Plus DNA ladder, 1 - 28 คือ ตัวอย่างกล้วยที่ใช้ในการศึกษา)..... 27
**ภาพที่ 7** ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วย โดยใช้ไพรเมอร์ Me1/Em3 (M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp Plus DNA ladder, 1 - 28 คือ ตัวอย่างกล้วยที่ใช้ในการศึกษา)..... 28
**ภาพที่ 8** ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วย โดยใช้ไพรเมอร์ Me1/Em4 (M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp Plus DNA ladder, 1 - 28 คือ ตัวอย่างกล้วยที่ใช้ในการศึกษา)..... 28
**ภาพที่ 9** ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วย โดยใช้ไพรเมอร์ Me1/Em5 (M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp Plus DNA ladder, 1 - 28 คือ ตัวอย่างกล้วยที่ใช้ในการศึกษา)..... 28
**ภาพที่ 10** ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วย โดยใช้ไพรเมอร์ Me1/Em6 (M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp Plus DNA ladder, 1 - 28 คือ ตัวอย่างกล้วยที่ใช้ในการศึกษา)..... 29
**ภาพที่ 11** ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วย โดยใช้ไพรเมอร์ Me1/Em7 (M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp Plus DNA ladder, 1 - 28 คือ ตัวอย่างกล้วยที่ใช้ในการศึกษา)..... 29
**ภาพที่ 12** ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วย โดยใช้ไพรเมอร์ Me1/Em8 (M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp Plus DNA ladder, 1 - 28 คือ ตัวอย่างกล้วยที่ใช้ในการศึกษา)..... 29
**ภาพที่ 13** ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วย โดยใช้ไพรเมอร์ Me2/Em1 (M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp Plus DNA ladder, 1 - 28 คือ ตัวอย่างกล้วยที่ใช้ในการศึกษา)..... 30
**ภาพที่ 14** ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วย โดยใช้ไพรเมอร์ Me2/Em4 (M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp Plus DNA ladder, 1 - 28 คือ ตัวอย่างกล้วยที่ใช้ในการศึกษา)..... 30

**ภาพที่ 15** ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วย โดยใช้ไพรเมอร์ Me2/Em5 (M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp Plus DNA ladder, 1 - 28 คือ ตัวอย่างกล้วยที่ใช้ในการศึกษา)..... 30
**ภาพที่ 16** ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วย โดยใช้ไพรเมอร์ Me2/Em7 (M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp Plus DNA ladder, 1 - 28 คือ ตัวอย่างกล้วยที่ใช้ในการศึกษา)..... 31
**ภาพที่ 17** แผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของตัวอย่างกล้วยจำนวน 28 ตัวอย่าง สร้างด้วยวิธี UPGMA โดยอาศัยข้อมูลจากเครื่องหมาย SRAP ด้วยโปรแกรม FreeTree ร่วมกับโปรแกรม TreeView..... 35
**ภาพที่ 18** แผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยน้ำว้ามะลิอ่องจำนวน 16 ตัวอย่าง สร้างด้วยวิธี UPGMA โดยอาศัยข้อมูลจากเครื่องหมาย SRAP ด้วยโปรแกรม FreeTree ร่วมกับโปรแกรม TreeView..... 37

# การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยน้ำว้ามะลิอ่องแท้โดยเทคนิค SRAP (sequence-related amplified polymorphism) และ iPBS (inter primer binding site)

# Detection of DNA Fingerprinting among 'Kluai Namwa' (ABB group) using SRAP and iPBS Techniques

## คำนำ

กล้วยเป็นไม้ผลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย มีการปลูกกล้วยเพื่อการค้าการส่งออก และการบริโภคกันอย่างแพร่หลาย ผลิตภัณฑ์กล้วยตากนับเป็นสินค้าประเภทของฝากที่อยู่คู่จังหวัดพิษณุโลกมายาวนาน โดยธุรกิจการผลิตกล้วยตากมีมากมายหลากหลายรูปแบบและเติบโตอย่างก้าวกระโดด มีตลาดที่ขยายตัวขึ้นอย่างรวดเร็วทั้งภายในประเทศและต่างประเทศ ด้วยการขยายตัวของตลาดที่รวดเร็วจึงส่งผลกระทบต่อกระบวนการผลิต ทั้งในด้านปัจจัยการผลิตและการรักษาคุณภาพและมาตรฐานผลิตภัณฑ์เป็นอย่างมาก โดยกล้วยน้ำว้ามะลิอ่องมีความเหมาะสมมากที่สุดสำหรับแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์กล้วยตากเนื่องจากมีขนาดที่พอเหมาะ รสชาติหวาน กลิ่นหอม และสีสวย เมื่อกล้วยน้ำว้ามะลิอ่องมีไม่เพียงพอที่จะนำเข้าสู่กระบวนการผลิต ทำให้โรงงานผลิตกล้วยตากต้องรับกล้วยจากหลายแหล่งเพาะปลูกและหลายสายพันธุ์เข้าสู่กระบวนการผลิต ทำให้ส่งผลเสียต่อระบบการผลิตเนื่องจากความยากต่อการควบคุมคุณภาพและมาตรฐานการผลิตกล้วยตาก ตลอดจนโรงงานยังไม่มีวิธีการที่เหมาะสมในการจำแนกสายพันธุ์กล้วยน้ำว้ามะลิอ่องออกจากกล้วยสายพันธุ์อื่นได้ เช่น สายพันธุ์ปากช่อง 50 โดยทั่วไปการจำแนกสายพันธุ์กล้วยน้ำว้าทำได้โดยพิจารณาจากลักษณะภายนอกที่ปรากฏเท่านั้น ซึ่งทำได้ยากและขาดความแม่นยำ เนื่องจากอิทธิพลของสภาพแวดล้อมมีผลต่อการแสดงออกของลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้วย ดังนั้นจึงมีความจำเป็นในการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอและศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของกล้วยน้ำว้ามะลิอ่องแท้และกล้วยน้ำว้าสายพันธุ์ใกล้เคียงด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล ซึ่งให้ผลการตรวจสอบที่รวดเร็วและแม่นยำ ไม่ขึ้นกับสภาพแวดล้อม เพื่อประโยชน์ในการรับรองพันธุ์ในอนาคต

# วัตถุประสงค์

เพื่อตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอและศึกษาความหลายหลายทางพันธุกรรมของกล้วยน้ำว้ามะลิอ่องแท้และกล้วยน้ำว้าสายพันธุ์ใกล้เคียง โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล ได้แก่ เทคนิค SRAP (Sequence-Related Amplified Polymorphism) และเทคนิค iPBS (inter-Primer Binding Site) เพื่อนำไปใช้เป็นข้อมูลในการรับรองพันธุ์และปรับปรุงพันธุ์ต่อไปในอนาคต

# การตรวจเอกสาร

## 1. กล้วย

ตามหลักการจำแนกพืชวงศ์กล้วย กล้วยจัดอยู่ในอาณาจักรพืช (Kingdom: Plantae) หมวดพืชมีดอก (Angiosperm) พืชใบเลี้ยงเดี่ยว (Monocotyledons) อยู่ในวงศ์ Musaceae ในอันดับ (order) Scitamineae หรือ Zingiberales ประกอบด้วย 8 วงศ์ (families) คือ

1. วงศ์พุทธรักษา (Cannaceae) มี 1 สกุล พบประมาณ 50 ชนิด ได้แก่ พุทธรักษา

2. วงศ์คล้า (Marantaceae) มี 31 สกุล พบมากกว่า 550 ชนิด ใช้เป็นไม้ประดับ ไม้ใบ ได้แก่ คล้าเสือโคร่ง คลุ้ม สาคู สาคูด่าง สาดขาว สาดแดง แววมยุรา

3. วงศ์ขิง (Zingiberaceae) มี 51 สกุล พบกว่า 1,500 ชนิด เป็นวงศ์ที่แบ่งเป็นสกุลและชนิดมากที่สุดใน 8 วงศ์ นิยมนำมาเป็นเครื่องเทศน์หรือสมุนไพร ได้แก่ ขิง ข่า ขมิ้น เร่ว กระวาน กระทือ ดาหลา เป็นต้น

4. วงศ์เอื้องหมายนา (Costaceae) มี 4 สกุล พบประมาณ 150 ชนิด ได้แก่ เอื้องหมายนา และขิงอินโดนีเซีย

5. วงศ์ลัมบา (Lowiaceae) มี 1 สกุล พบ 11 ชนิด ได้แก่ พืชในสกุล Orchidantha ซึ่งไม่มีในประเทศไทย

6. วงศ์ธรรมรักษา (Heliconiacea) มี 1 สกุล พบถึง 250 – 300 ชนิด ดอกมีรูปทรงแปลกตาสีสันฉูดฉาด จึงใช้เป็นไม้ประดับตัดดอกในหลายประเทศ ได้แก่ ก้ามกุ้ง ธรรมรักษา

7. วงศ์ปักษาสวรรค์ (Strelitziaceae) มี 3 สกุล พบ 7 ชนิด ได้แก่ เฮลิโคเนีย ปักษาสวรรค์ กล้วยพัด

8. วงศ์กล้วย (Musaceae) มี 3 สกุล (Genera) พบ 65 ชนิด (Species) และพบกว่า 1,000 พันธุ์ (Clones)

ปัจจุบันพืชวงศ์กล้วยประกอบด้วย 3 สกุล (Genera) คือ *Ensete*, *Musa* และ *Musella* ในสกุล *Musa* แบ่งกลุ่มตามเลขโครโมโซม ($x$ = 1n) เป็น 3 หมู่ (sections) คือ Ingentimusa ($x$ = 7), Callimusa ($x$ = 10) และ Musa ($x$ = 11) ส่วนสกุล *Ensete* และสกุล *Musella* มีจำนวนโครโมโซม 9 ($x$ = 9) เท่ากัน โดย $x$ เป็นจำนวนโครโมโซมพื้นฐานของพืชในกลุ่มหรือสกุลใดสกุลหนึ่ง พืชที่เป็น basic diploid species จะมีจำนวนโครโมโซมในเซลร่างกาย (autosome) เท่ากับ $2n = 2x$ และในเซลสืบพันธุ์เท่ากับ $n = x$ ส่วนพืชที่มีโครโมโซม $2n = 3x$ เรียกว่า triploid และ $2n = 4x$ เรียกว่า tetraploid เป็นต้น

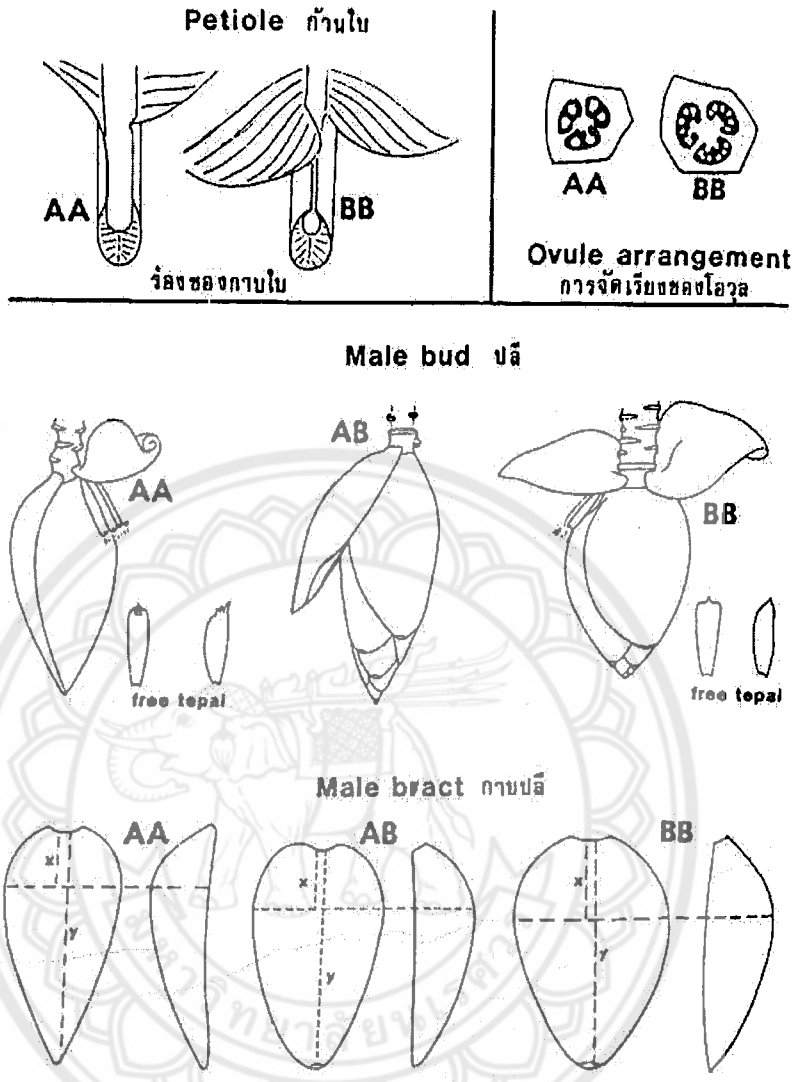
โดยกล้วยในสกุล *Ensete* (*x* = *9*) หรือสกุลกล้วยโทน เป็นสกุลกล้วยที่ไม่มีการแตกหน่อขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด ผลรับประทานไม่ได้ ปัจจุบันมี 8 ชนิด (species) แต่ในประเทศไทยมี 2 ชนิด (species) คือ *Ensete superbum* Roxb. หรือกล้วยผา ซึ่งมีต้นเตี้ยประมาณ 0.5 เมตร และ *Ensete glaucum* Roxb. หรือกล้วยนวล มีลำต้นเทียมสูง 5-6 เมตร กล้วยทั้ง 2 ชนิดไม่มีประโยชน์ทางเศรษฐกิจ แต่ในแอฟริกาตะวันออกมี *Ensete ventricosum* ใช้ทำเส้นใย ทำแห้ง และรับประทานแทนผัก (เบญจมาศ ศิลาย้อย, 2538; สมรรถชัย ฉัตราคม, 2541)

ส่วนกล้วยสกุล *Musa* (*x* = 7, *x* = 10, *x* = 11) มีการแตกกอและแตกหน่อ แบ่งออกเป็น 5 พวก (Section) คือ

1. Australimusa มีถิ่นกำเนิดอยู่ในแถบรัฐควีนส์แลนด์ถึงฟิลิปปินส์ ใช้ประโยชน์จากเส้นใยและผล เช่น *M. textilis* ใช้ทำเชือกมะนิลา เสื้อผ้า หรือกล้วยฟีไอ (Fei) เป็นกล้วยที่มีแป้งมาก เป็นอาหารคนในแถบหมู่เกาะแปซิฟิก
2. Callimusa มีถิ่นกำเนิดในอินโดจีนและอินโดนีเซีย เช่น กล้วยรัตนกัทลี (ไม้ประดับ)
3. Eumusa มีถิ่นกำเนิดในอินเดียตอนเหนือ อินโดจีน หมู่เกาะซามัว ใช้ประโยชน์จากผลและเส้นใย
4. Rhodochlamys มีถิ่นกำเนิดในอินเดียตอนเหนือ อินโดจีน เป็นไม้ประดับ เช่น กล้วยบัว
5. Ingentimusa พบในปาปัวนิวกินีบนที่สูงระหว่าง 1,000 - 2,100 เมตร เป็นไม้ประดับ (สมรรถชัย ฉัตราคม, 2541)

**2. การจำแนกชนิดของกล้วยปลูกหรือกล้วยกินได้ในกลุ่ม Eumusa**

กล้วยกินได้จัดอยู่ในกลุ่ม Eumusa และถือกำเนิดมาจากกล้วยป่า 2 สปีชีส์ (Species) คือ กล้วยป่า (*M. acuminata* Colla) และกล้วยตานี (*M. balbisiana* Colla) ซึ่งกล้วยป่าทั้งสองชนิดนี้มีลักษณะแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด (ภาพที่ 1) ดังนั้นกล้วยกินได้ที่เกิดมาเป็นพันธุ์ต่างๆ จึงอาจจำแนกโดยใช้พื้นฐานของ Simmonds และ Shepherd (1955) โดยการใช้การให้คะแนนเพื่อเป็นการบ่งชี้ถึงความสัมพันธ์ของกล้วยป่าที่เป็นบรรพบุรุษทั้ง 2 ชนิด โดยใช้ลักษณะภายนอก 15 ลักษณะที่มีความแตกต่างกันชัดเจนระหว่างกล้วยป่า (*M. acuminata*) และกล้วยตานี (*M. balbisiana*) (ตารางที่ 1)




**ภาพที่ 1** ลักษณะที่สำคัญในการจำแนกระหว่างกล้วยป่า (*M. acuminata* Colla) และกล้วยตานี (*M. balbisiana* Colla) (เบญจมาศ, 2538)

**ตารางที่ 1** ความแตกต่างระหว่างกล้วยป่า (*M. acuminata*) และกล้วยตานี (*M. balbisiana*) (เบญจมาศ, 2538)

| ลักษณะ | กล้วยป่า *M. acuminate* (A genome) | กล้วยตานี *M. balbisiana* (B genome) |
|---|---|---|
| 1. สีของกาบใบ | มีจุดหรือปื้นสีน้ำตาลหรือดำ | มีจุดจางๆ หรือไม่มีเลย |
| 2. ร่องของกาบใบ | ขอบของก้านใบตั้งหรือแผ่กางออก มีครีบหรือปีก | ขอบของก้านใบม้วนเข้าหากันจนชิดไม่มีปีก |
| 3. ก้านช่อดอก | มีขน | เรียบ ไม่มีขน |
| 4. ก้านดอก | สั้น | ยาว |
| 5. โอวุล (รังไข่) | มีโอวุล 2 แถวในแต่ละช่องของรังไข่ | มีโอวุล 4 แถว แต่ไม่สม่ำเสมอ |
| 6. ไหล่ของกาบปลี | อัตราส่วน < 0.28 | อัตราส่วน > 0.30 |
| 7. การม้วนของกาบปลี | กาบปลีม้วนขึ้นไปทางหลัง หลังจากดอกบาน | กาบปลีชูตั้งขึ้นเมื่อดอกบาน, ไม่ม้วนขึ้น |
| 8. รูปร่างของกาบปลี | Lanceolate หรือ ovate แคบ | Ovate กว้าง |
| 9. ปลายของกาบปลี | แหลม (acute) | มน (obtuse) |
| 10. การซีดของกาบปลี | กาบปลีด้านในซีด เริ่มจากโคนถึงปลาย | มีสีแดงตลอดสม่ำเสมอ |
| 11. รอยแผลของกาบปลี | เป็นโหนกสันเห็นชัด (prominent) | โหนกไม่เป็นสัน |
| 12. กลีบของดอกตัวผู้ (free tepal) | ที่ปลายมีรอยย่นเห็นชัด (corrugate) | ไม่มีรอยย่น |
| 13. สีของดอกตัวผู้ | ครีมปนขาว | ชมพูอ่อน |
| 14. สีของดอกตัวเมีย | ส้มค่อนข้างเหลือง | ครีม เหลืองซีดหรือชมพูอ่อนๆ |
| 15. สีของกาบปลี | กาบปลีด้านนอกสีแดง ม่วงเข้มหรือเหลือง ส่วนด้านในมีสีชมพู ม่วงเข้มและเหลือง | ด้านนอกสีม่วงอมน้ำตาล ด้านในสีแดงสด |

ดังนั้นจึงทำให้เกิดกล้วยกินได้หลากหลายพันธุ์ ถ้าลักษณะกล้วยที่นำมาจำแนกมีลักษณะเหมือน *M. acuminata* ถือว่าได้ยีนมาจากกล้วยป่า ให้ 1 คะแนนและมีจีโนม (genome) เป็นแบบ A ถ้าหากกล้วยที่นำมาจำแนกมีลักษณะเหมือน *M. balbisiana* ถือว่าได้ยีนมาจากกล้วยตานี ให้ 5

คะแนนและมีจีโนมเป็นแบบ B แต่ถ้าลักษณะของกล้วยอยู่ระหว่าง 2 สปีชีส์ ให้คะแนน 2, 3 หรือ 4 แล้วแต่จีโนมของกล้วยทั้ง 2 ชนิด คือ

15-23 คะแนน จัดอยู่ในกลุ่มจีโนม AA และ AAA มียีน *M. acuminate* 100%

26-46 คะแนน จัดอยู่ในกลุ่มจีโนม AAB มียีน *M. acuminate* 66%

49 คะแนน จัดอยู่ในกลุ่มจีโนม AB มียีน *M. acuminate* 50%

59-63 คะแนน จัดอยู่ในกลุ่มจีโนม ABB มียีน *M. acuminate* 33%

67 คะแนน จัดอยู่ในกลุ่มจีโนม ABBB มียีน *M. acuminate* 25%

70-75 คะแนน จัดอยู่ในกลุ่มจีโนม BB มียีน *M. balbisiana* 100%

**3. สาเหตุของความผันแปรทางพันธุกรรมของกล้วย**

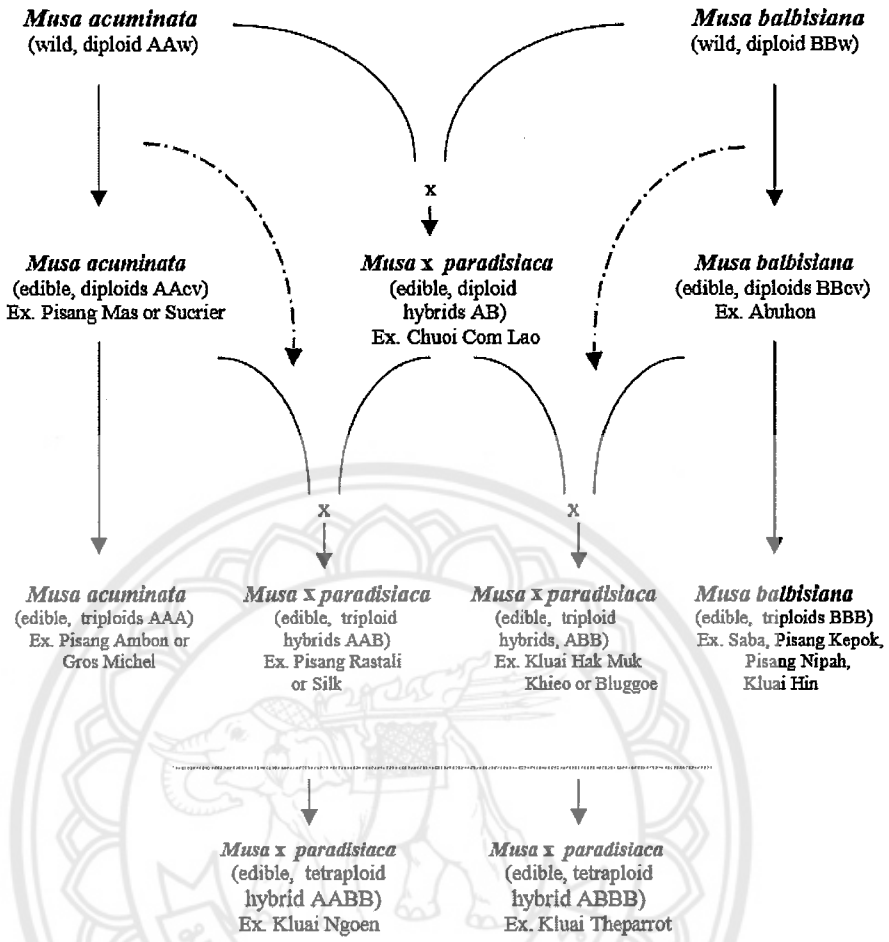
กล้วยมีความหลากหลายในเชื้อพันธุ์ (genetic resources) มากมายและมีการกระจายพันธุ์ทางภูมิศาสตร์ไปยังถิ่นต่างๆ ในเขตร้อนและกึ่งร้อนทั่วโลก Simmonds และ Shepherd (1995) พบว่าภูมิภาค Indo-Malesian ซึ่งครอบคลุมภูมิภาคเอเชียอาคเนย์เป็นส่วนใหญ่เป็นศูนย์กลางหลักของความผันแปรทางพันธุกรรมของกล้วยปลูก โดยกล้วยป่าชนิด *M. acuminata* Colla ซึ่งเป็น diploid ที่มีเมล็ดและมีการกระจายพันธุ์อยู่ในเอเชียอาคเนย์เป็นบรรพบุรุษหลักของกล้วยปลูกที่กินได้แทบทุกชนิด วิวัฒนาการที่นำไปสู่การเกิดความผันแปรทางพันธุกรรมของกล้วยปลูกสามารถอธิบายได้จากปรากฏการณ์ดังต่อไปนี้

**3.1 การเกิดผลโดยไม่ผ่านการผสมเกสร (parthenocarpy)** โดยปกติการผสมเกสรทำให้เกิดการพัฒนาของผลไม้ ออกซิน (auxin) จากละอองเกสรจะเข้าไปช่วยกระตุ้นให้รังไข่ (ovary) พัฒนาเป็นผลไม้ ทำให้มีการขยายตัวของรังไข่และภายในผล และเกิดเป็นเมล็ดจากการพัฒนาของออวุล (ovule) แต่ในบางครั้งผลไม้จะพัฒนาขึ้นได้เองโดยไม่ต้องผ่านการผสมเกสรจากการสร้างออกซินขึ้นได้เอง เรียกว่า ผลลม (parthenocarphic fruit) หรือการผสมเกสรด้วยละอองเกสรคนละชนิดที่ไม่ทำให้เกิดเมล็ดแต่ทำให้เกิดผลลม หรือการทำร้ายโดยแมลงที่ปล่อยสารกระตุ้นเข้าสู่รังไข่ ปรากฏการณ์นี้เรียกว่า parthenocarpy เป็นผลทำให้กล้วยป่ามีขนาดผลที่ใหญ่ขึ้น แม้ว่าปรากฏการณ์นี้มักจะทำให้กล้วยไม่มีเมล็ด แต่การที่กล้วยไม่มีเมล็ดนี้เกิดจากปรากฏการณ์ความเป็นหมัน (sterility) ซึ่งในทางพันธุศาสตร์ไม่มีความสัมพันธ์กับ parthenocarpy เพราะกล้วยที่เกิดผลลมอาจมีการเกิดเมล็ดได้ เช่น กล้วยน้ำว้าที่เจริญเติบโตใกล้กล้วยป่าอาจมีเมล็ดได้ (ณรงค์ โฉมเฉลา, 2547)

**3.2 การเกิดความเป็นหมัน (sterility)** การเป็นหมันทำให้เมล็ดไม่เจริญ เมล็ดมีลักษณะลีบหรืออาจไม่มีเมล็ด พบได้ในกล้วยปลูกและแตงโม ทั้งนี้เพราะมีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุศาสตร์ โดยเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของยีนที่ควบคุมการติดเมล็ด ดังนั้นแม้จะมีการผสมเกสรก็จะไม่เกิดเมล็ด

**3.3 การเพิ่มจำนวนชุดของโครโมโซม (polyploidization)** เป็นปรากฏการณ์ที่ทำให้พืชมีจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้น เช่น จาก 2n = 2x (diploid) กลายเป็น 2n = 3x (triploid), 4x (tetraploid) เป็นต้น พืชโพลีพลอยด์ (polyploid) มักจะมีขนาดที่ใหญ่โตและไม่มีเมล็ด มีรสชาติดี มีความทนทานและแข็งแรงขึ้น ฯลฯ ซึ่งเกิดได้จากหลายสาเหตุ ได้แก่ การเกิด restitution nucleus ในรังไข่ อันเนื่องมาจากความผิดปกติในการแบ่งเซลล์ แบบ meiosis ของเซลล์สืบพันธุ์ ทำให้เซลล์สืบพันธุ์ที่เกิดขึ้นมีจำนวนโครโมโซมเป็น 2x แทนที่จะเป็น x เดียว จากนั้นโครโมโซมที่เพิ่มขึ้นเป็นสองเท่าไม่แยกออกจากกันแต่รวมกันอยู่ในเซลล์เดียว เมื่อไข่ 2x ไปผสมกับสเปิร์มที่มี x เดียว จะเกิดเป็นไซโกตที่มีโครโมโซม 3x กลายเป็นพืช triploid ในทำนองเดียวกัน ถ้าไข่ 3x ไปผสมกับสเปิร์มที่มี x เดียว ก็จะเกิดเป็นไซโกตที่มีโครโมโซม 4x หรือ tetraploid สำหรับในกล้วยนั้นพบว่ามีกลุ่มที่มี 3x ได้แก่ กลุ่มที่พัฒนามาจากกล้วยป่า (*M. acuminate* Colla) (2n=2x=22) ซึ่งมีจีโนม AA เกิดเป็น AAA และกลุ่มที่พัฒนามาจากกล้วยตานี (*M. balbisiana* Colla) (2n=2x=22) ซึ่งมีจีโนม BB เกิดเป็น BBB

**3.4 การผสมพันธุ์ระหว่างชนิด (interspecific hybridization)** เกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่างกล้วยป่า (*Musa acuminate* Colla) ซึ่งมีจีโนม AA กับกล้วยตานี (*M. balbisiana* Colla) ซึ่งมีจีโนม BB เกิดเป็นลูกผสมที่มีจีโนม AB และเมื่อเกิดปรากฏการณ์ polyploidization ก็จะเกิดเป็นกล้วยกลุ่มใหม่ที่มีจีโนม AAB (2n=3x=33), ABB (2n=3x=33), ABBB (2n=4x=44) และ AABB (2n=4x=44) (ภาพที่ 2)




**ภาพที่** 2 ความหลากหลายของจีโนมกล้วยและการพัฒนาของกล้วยที่กินได้ (edible banana) ชนิดต่าง ๆ (Valmayor et al., 2000)

**3.5 การคัดเลือกโดยมนุษย์ (artificial selection)** การที่กล้วยป่าซึ่งแต่เดิมมีผลขนาดเล็กและมีเมล็ดมาก พัฒนาขึ้นมาจนมีผลขนาดใหญ่ (เนื่องจากการติดผลโดยไม่ผสมเกสร) และไม่มีเมล็ด (เนื่องจากการเกิดความเป็นหมัน) ทำให้มนุษย์คัดเลือกเอาไปปลูกเพื่อกินผล

**3.6 การขยายพันธุ์โดยใช้หน่อ (vegetative propagation)** กล้วยเป็นพืชที่มีหน่อออกตามโคนต้นเป็นจำนวนมาก ดังนั้นกล้วยสามารถขยายพันธุ์ได้จากหน่อแม้ว่าจะไม่มีเมล็ด เป็นที่น่าสังเกตว่ากล้วยเป็นพืชปลูกที่อาศัยมนุษย์ในการอยู่รอด และวิวัฒนาการไม่ได้ขึ้นอยู่กับธรรมชาติดังเช่นพืชป่าทั่วไป (ณรงค์ โฉมเฉลา, 2547)

**3.7 การกลายพันธุ์ (mutation)** เป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นในธรรมชาติ เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของยีนที่ควบคุมลักษณะต่างๆ เป็นผลทำให้เกิดวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต การกลายพันธุ์ที่

พบในกล้วย ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงของรสชาติ กล้วยมีรสหอมหวานขึ้น หรือการเปลี่ยนแปลงในขนาด สีสัน รูปร่าง ฯลฯ ทำให้เกิดเป็นพันธุ์ต่างๆ ดังที่มีปรากฏในปัจจุบัน (ณรงค์ โฉมเฉลา, 2547)

**4. กล้วยน้ำว้า**

กล้วยน้ำว้าเป็นพันธุ์กล้วยพื้นเมืองของไทยที่มีกำเนิดมาจากการผสมพันธุ์ระหว่างกล้วยป่า (*Musa acuminate* Colla) ที่มีจีโนม AA กับกล้วยตานี (*M. balbisiana* Colla) ที่มีจีโนมแบบ BB โดยมีกล้วยตานีเป็นแม่ และเกิดปรากฏการณ์ non-disjunction ทำให้ไข่ไม่ลดจำนวนโครโมโซมลงครึ่งหนึ่งตามปกติ (22 โครโมโซม) เมื่อไปผสมกับละอองเกสรซึ่งลดจำนวนโครโมโซมลงครึ่งหนึ่ง (11 โครโมโซม) จึงเกิดเป็นกล้วยน้ำว้าที่มีจำนวนโครโมโซมเป็นแบบ triploid (2n=3x=33) และมีจีโนมแบบ ABB ณรงค์และสมรรถชัย (2547) ตั้งสมมุติฐานว่ากล้วยน้ำว้าน่าจะมีกำเนิดในประเทศไทย โดยกล้วยน้ำว้าสามารถปลูกและขึ้นได้ดีในทุกภาคของประเทศไทย เนื่องจากมีความสามารถในการปรับตัวให้เข้ากับถิ่นที่อยู่ในประทศไทยได้เป็นอย่างดี มีความทนทานต่อสภาพแห้งแล้ง และเป็นที่รู้จักมาช้านาน นอกจากนี้ยังพบว่ากล้วยน้ำว้ามีความผันแปรทางพันธุกรรมมากที่สุดในบรรดากล้วยพันธุ์ต่างๆ และเป็นความผันแปรที่เกิดขึ้นเองในธรรมชาติ ซึ่งการผันแปรจะปรากฏให้เห็นในรูปของสายพันธุ์ มีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย เช่น ลักษณะของสีผิว การปรากฏของแป้งที่ผิว ความหนาของเปลือก สีของเนื้อ และความสูงของลำต้น เป็นต้น

**ลักษณะทางพฤกศาสตร์ของกล้วยน้ำว้า**

**ชื่อสามัญ:** Pisang Awak
**ชื่อวิทยาศาสตร์:** *Musa* (ABB group) "Kluai Namwa"
**แหล่งที่พบ:** พบได้ทุกภาคของไทย

**ต้น** ลำต้นสูง 2 - 5 เมตรแล้วแต่สายพันธุ์ มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 15 ซม. กาบลำต้นด้านนอกมีสีเขียวอ่อน มีประดำบ้างเล็กน้อย

**ใบ** ก้านใบมีร่องค่อนข้างแคบ เส้นกลางใบสีเขียว

**ดอก** ก้านช่อดอกไม่มีขน ปลีรูปไข่ค่อนข้างป้อม ปลายป้านด้านนอกสีแดงอมม่วงมีนวลหนาด้านในมีสีแดงเข้ม

**ผล** โดยทั่วไปจะมี 10 หวีต่อเครือ แต่บางสายพันธุ์อาจจะมีมากกว่า 20 หวี เช่น กล้วยน้ำว้าดง กล้วยน้ำว้าตะนาวศรี กล้วยน้ำว้าโชควิเชียร เป็นต้น ผลมีขนาดเล็ก รสหวาน เนื้อสีเหลือง เปลือกหนากว่ากล้วยไข่แต่มีความยาวใกล้เคียงกัน

ลักษณะโดยทั่วไปของกล้วยน้ำว้าจะชอบอากาศร้อนชื้นและอบอุ่น มีอุณหภูมิที่พอเหมาะประมาณ 15 - 35 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่ต่ำทำให้กล้วยแทงปลีหรือแยกดอกได้ช้า ควรมีความชื้นสัมพัทธ์อย่างน้อย 60% ปริมาณฝนตกเฉลี่ย 200 - 220 มิลลิเมตรต่อเดือน ส่วนดินที่เหมาะสมควรเป็นดินที่มีความสมบูรณ์และมีการระบายน้ำดี ระยะเวลาตั้งแต่ปลูกจนออกปลีกล้วยประมาณ 8 - 9 เดือน และหลังจากออกปลีประมาณ 4 เดือนจึงสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ (อภิชาติและพัชรี, 2559)

**5. สายพันธุ์กล้วยน้ำว้า**

กล้วยน้ำว้าในประเทศไทยมีมากกว่า 10 สายพันธุ์ โดยแต่ละสายพันธุ์ (strain) จะมีลักษณะประจำพันธุ์ที่แตกต่างกันเพียงเล็กน้อยแต่ยังคงมีลักษณะทั่วไปของกล้วยน้ำว้าอยู่ ซึ่งลักษณะประจำพันธุ์ที่แตกต่างกันเป็นผลจากการกลายพันธุ์ของกล้วยน้ำว้าในธรรมชาติและการคัดเลือกโดยมนุษย์ ตามลำดับ ณรงค์และสมรรถชัย (2547) ได้รวบรวมและรายงานลักษณะของกล้วยน้ำว้าสายพันธุ์ต่างๆ ดังนี้

**5.1 น้ำว้ากาบขาว** มีลักษณะเด่น คือ กาบบริเวณโคนต้นมีสีเขียวนวลเจือชมพู กาบถัดเข้าไปสีเขียวอ่อนเจือชมพู มีลักษณะสีขาวนวลกว่าน้ำว้าสายพันธุ์อื่นๆ มีเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นยาว 28 - 30 ซม. ความสูง 350 - 380 ซม. มีปลีขนาดใหญ่ 1 เครือมีจำนวนผล 11 - 14 หวี ๆ ละ 14 - 16 ผล รูปเหลี่ยม ยาว เปลือกบาง ผลดิบมีสีเขียวนวล ผลสุกเปลือกมีสีเหลืองนวล เนื้อในสีขาว ไส้เหลือง รสหวานหอม ไม่อมเปรี้ยว

**5.2 น้ำว้าขาว** กล้วยน้ำว้าสายพันธุ์นี้มีเนื้อของผลสีขาวค่อนข้างฟู และพบว่าไส้ค่อนข้างขาวมากกว่าเหลือง มีลำต้นค่อนข้างสูงกว่าสายพันธุ์อื่นๆ โดยมีความสูงประมาณ 400 - 450 ซม. ใน 1 เครือมี 5 - 10 หวี

**5.3 น้ำว้าขันหมาก** เนื่องจากพบว่ามีก้านงวงยาวกว่าปรกติในบางต้น ส่งผลให้รอยแผลที่กาบหุ้มปลีแรกอยู่ด้านในของงวงเสมือนเป็นการรองรับงวง ลักษณะทั่วไปของกล้วยน้ำว้าสายพันธุ์นี้ คือ ลำต้นสูง กาบด้านนอกสีเขียวเข้ม กาบถัดเข้าไปสีเขียวอ่อนเจือขาว โคนต้นอวบ ปลีมีขนาดใหญ่ เครือหนึ่งมี 12 - 16 หวี บางต้นที่สมบูรณ์มากๆ อาจพบถึง 20 หวี ๆ ละ 12 - 14 ผล ผลรูปเหลี่ยม ยาว เปลือกหนา ก้านผลยาวเกือบ 1 ใน 3 ของผล ผลดิบเปลือกมีสีเขียวนวล ผลสุกเปลือกมีสีครีม เนื้อในสีขาวฟู ไส้กลางเกือบขาว รสหวานหอม

**5.4 น้ำว้าเขียว** ลักษณะทั่วไป คือ เป็นกล้วยที่มีลำต้นสูงปานกลางประมาณ 320 - 350 ซม. เครือหนึ่งมี 9 - 11 หวี ๆ ละ 12 - 16 ผล ผลดิบเป็นเหลี่ยม สีเขียวหม่น เมื่อเริ่มสุกเปลือกจะมีสีเหลืองจำปา ยกเว้นตรงเหลี่ยมผลยังมีสีเขียวอยู่ เนื้อในมีสีเหลืองค่อนข้างเหนียว มีทั้งไส้สีเหลืองและ

ไส้แดง รสหวาน อาจพบมีการติดเมล็ดแบนๆ บ้าง ผลละ 2 - 3 เมล็ด นอกจากนี้ผลแก่อาจมีจุดสีสนิมประปรายคล้ายกับกล้วยน้ำว้าดำ

**5.5 น้ำว้าค่อม (น้ำว้าเตี้ย น้ำว้าปีนัง น้ำว้าส่งเสริม 36)** พบว่าน่าจะมี 2 สายพันธุ์ย่อย คือ (1) ต้นมีลักษณะอวบใหญ่ สูง 180 - 220 ซม. ปลีขนาดใหญ่ เครือหนึ่งมี 9 - 12 หวี ผลเกือบทั้งหมดมีขนาดเล็ก บางผลลีบ ผลสุกจะมีเนื้อสีขาวไส้สีเหลือง รสหวานไม่มาก (2) ลำต้นมีขนาดเล็กกว่า สูงประมาณ 150 - 180 ซม. กาบด้านนอกสีเขียวนวล ปลีขนาดกลาง เครือหนึ่งมี 5 - 7 หวี ๆ ละ 10 - 12 ผล ขนาดผลค่อนข้างเล็ก ผลดิบสีเขียวนวล ผลสุกสีเหลืองนวล เปลือกบาง เนื้อในสีขาวครีม ไส้เหลือง รสหวานไม่มาก

5.6 **น้ำว้าด่าง** เกิดจากการกลายพันธุ์ทั้งตามธรรมชาติและจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ทำให้เกิดลักษณะใบด่าง เพราะเนื้อเยื่อประกอบด้วยเซลล์ที่มีคลอโรฟิลด์สลับกับที่ไม่มีคลอโรฟิลด์จึงเกิดอาการด่างเขียว-ขาว บางครั้งส่วนที่มีสีขาวเกิดมีรงควัตถุสีเหลือง ทำให้ส่วนที่ด่างกลายเป็นสีเหลืองอ่อน เกิดอาการด่างเขียว - เหลือง แต่ขนาดและตำแหน่งของอาการด่างแตกต่างกัน ส่วนลักษณะอื่นๆ ยังคงเหมือนกับสายพันธุ์ดั้งเดิมทุกประการ แต่อาจมีขนาดของส่วนต่าง ๆ เล็กลง เพราะพืชด่างจะสร้างอาหารจากการสังเคราะห์แสงได้น้อยลงเนื่องจากใบมีปริมาณของคลอโรฟิลด์น้อยลง

5.7 **น้ำว้าดง** จัดเป็นสายพันธุ์น้ำว้าที่มีลำต้นสูงใหญ่กว่าสายพันธุ์อื่นๆ โดยมีความสูงกว่า 450 ซม. กาบด้านนอกสีเขียวจัด ทางใบยาวและมีสีเขียวเข้มเป็นมันคล้ายใบกล้วยหักมุก ปลีมีขนาดใหญ่มาก เครือหนึ่งๆ มีผล 14 - 18 หวี ๆ ละ 16 - 17 ผลใหญ่ เปลือกหนา เมื่อยังดิบผลมีสีเขียวสด ผลสุกมีสีเหลืองเข้ม เนื้อสีครีม ไส้เหลือง ค่อนข้างเหนียว ถ้าสุกเต็มที่รสจะค่อนข้างฝาด หากออกเครือในช่วงฤดูแล้งจะพบการติดเมล็ดมากถึงผลละ 5 - 10 เมล็ด เป็นสายพันธุ์ที่ทนทานต่อน้ำท่วมและฝนแล้งได้ดี

**5.8 น้ำว้าดำ (Siamese Blue น้ำว้าไฟ น้ำว้าแดง น้ำว้าสำริด)** กล้วยสายพันธุ์นี้มีหลายชื่อ การขยายพันธุ์ด้วยหน่อมีลักษณะโดยทั่วไปเหมือนต้นเดิม คือ ลำต้นสูงปานกลาง ประมาณ 280 - 310 ซม. เครือหนึ่งมี 5 - 9 หวี ๆ ละ 12 - 14 ผล ผลดิบเปลือกมีสีเขียวหม่นแต่คล้ายน้ำว้าเขียว แล้วค่อยๆ มีจุดสีสนิมเกิดขึ้นจากปลายผลจนครอบคลุมทั้งผล เมื่อผลเริ่มแก่ สีสนิมจะเริ่มเปลี่ยนเข้มขึ้นเป็นสีน้ำตาลอมส้มเกือบดำ ผิวเปลือกไม่เรียบเหมือนกล้วยน้ำว้าอื่นๆ ผลสุกจะมีเนื้อในสีขาวเหลือง เหนียว รสหวานจัด กลิ่นหอม ไส้เหลือง เก็บได้นานกว่า 2 สัปดาห์โดยผลไม่หลุดจากขั้วแต่เปลือกจะลอกยาก ส่วนต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีความแปรปรวนค่อนข้างสูง คือ (1) สีของเปลือกผลมีตั้งแต่สีเขียวธรรมดาถึงเขียวหม่น มีจุดสนิมที่เปลือกเล็กน้อยไปจนถึงน้ำตาลอมส้มเกือบดำ

เต็มผล บริเวณขั้วและเปลือกด้านในของบางเครือมีสีเขียว (2) จำนวนผลต่อเครือ เกือบทั้งหมดมี 11 - 14 หวี ซึ่งมากกว่าต้นที่ขยายพันธุ์จากหน่อเดิมแต่ขนาดของผลเล็กลงเกือบเท่าผลของกล้วยน้ำว้าค่อม ผลมีขนาดไม่สม่ำเสมอและติดเมล็ดแม้ว่าจะปลูกในพื้นที่มีความอุดมสมบูรณ์สูง กล้วยน้ำว้าสายพันธุ์นี้มีธาตุโปแตสเซียมสูงกว่ากล้วยพันธุ์อื่น ๆ

**5.9 น้ำว้าตะนาวศรี** ลักษณะทั่วไป คือ มีลำต้นสูง 450 - 480 ซม. กาบด้านนอกสีเขียวสด ปลีขนาดใหญ่ เครือใหญ่และยาวมาก เครือหนึ่งๆ มี 14 - 20 หวี ๆ ละ 14 - 16 ผล ผลใหญ่และมีขนาดสม่ำเสมอกัน ผลดิบเปลือกสีเขียวนวล ผลสุกสีเหลืองครีม เนื้อในผลสีขาวฟู ไส้เกือบขาว รสหวานหอม ไม่ฝาด จากการตรวจสอบพบว่ามีลักษณะใกล้เคียงกับกล้วยน้ำว้าขาว แต่ให้ผลและเครือขนาดใหญ่กว่า

**5.10 น้ำว้านวล (น้ำว้านวลจันทร์ น้ำว้าเงิน)** มีลำต้นสูงประมาณ 320 - 350 ซม. กาบลำต้นด้านนอกสีเขียวอ่อนเจือชมพู ปลีขนาดกลาง หนึ่งเครือมี 7 - 9 หวี ๆ ละ 12 - 14 ผล ผลดิบสีเขียวนวลอมฟ้า เป็นเหลี่ยม ค่อนข้างยาว ก้านผลด้านในมีสีม่วงแดงจางๆ ผลแก่ค่อนข้างกลม สีนวลชัดเจน (ใกล้เคียงกับสีกล้วยหักมุกนวล) เปลือกค่อนข้างหนา ผลสุกเปลือกสีเหลืองนวล เนื้อสีขาว ไส้เหลือง กล้วยน้ำว้านวลมีความแตกต่างกับกล้วยน้ำว้าทั่วไปคือ มีลำต้นที่สูงกว่า และเครือหนึ่ง ๆ มีมากกว่า 14 หวี ผลมีเหลี่ยมเมื่อสุก เนื้อค่อนข้างแข็ง

**5.11 น้ำว้ามหาราช** ลักษณะมีก้านยาวกว่าปกติ โดยทั่วไปคล้ายกับกล้วยน้ำว้ากาบขาว หรือ กล้วยน้ำว้าป่าโมก จนน่าจะถือเป็นพันธุ์เดียวกันได้

**5.12 น้ำว้ามะลิอ่อง** มีลำต้นสูงปานกลาง โดยสูงประมาณ 350 ซม. ไปจนถึงสูงมากกว่า 450 ซม. เครือหนึ่งๆ มี 9 - 16 หวี ผลอ้วนป้อม เบียดกันแน่นจนไม่เป็นระเบียบ ผลดิบมีสีเขียวอ่อนถึงเขียวนวล ผลสุกเปลือกบาง สีเหลืองจำปา เนื้อสีครีม ไส้เหลือง ถ้าไม่งอมจะมีรสหวานอมเปรี้ยวเล็กน้อย พบว่ากล้วยสายพันธุ์นี้มี 2 สายพันธุ์ย่อย คือ น้ำว้ามะลิอ่องเขียว และน้ำว้ามะลิอ่องขาว โดยทั้งสองสายพันธุ์ย่อยมีความแตกต่างกันที่ผิวเปลือก เมื่อดิบสีเขียวนวลกว่า ส่วนผลสุกเปลือกมีสีครีม

**5.13 น้ำละโว้** มีลำต้นขนาดกลาง สูงประมาณ 320 ซม. ก้านงวงใหญ่ ยาว ผลอ่อนเมื่ออายุ 35 วันมีขนาดใหญ่กว่ากล้วยน้ำว้าสายพันธุ์อื่นเกือบเท่าตัว ผลยาวเหยียดตรง สีเขียวเข้ม มีเหลี่ยมชัดเจน

**5.14 น้ำว้าลูกไส้ดำ** ลักษณะทั่วไป มีลำต้นขนาดกลาง สูงไม่เกิน 320 ซม. เครือหนึ่งๆ มี 5 - 7 หวี ๆ ละ 12 - 14 ผล เมื่อดิบสีเขียวด้าน เปลือกหนา ผลสุกสีเหลืองส้ม เมื่อผ่าตามยาวเนื้อสีครีม ไส้เหลือง ค่อนข้างใหญ่ มีเมล็ดขนาดเมล็ดงาเรียงกันเป็นเส้นสีดำ

**5.15 น้ำว้าสวน (น้ำว้าทองมาเอง น้ำว้าทองลอยมา)** ลักษณะเด่นของกล้วยสายพันธุ์นี้คือ มีลำต้นขนาดกลาง กาบลำต้นด้านนอกบริเวณโคนสูงขึ้นมาประมาณ 1 เมตรมีสีน้ำตาลแดง กาบด้านในสีเขียวเจือชมพู ปลีมีขนาดกลาง เครือหนึ่งมี 7 - 12 หวี ผลค่อนข้างใหญ่ เปลือกสีเขียวเข้ม มีเหลี่ยมเล็กน้อย ผลแก่เปลี่ยนเป็นสีเหลืองจัดจนเกือบเป็นสีทอง เปลือกค่อนข้างบาง เนื้อสีขาว เหนียว ไส้เหลือง รสหวานหอม เมื่องอมผลไม่เละ

**5.16 น้ำว้าไส้แดง (น้ำว้าในอ่อน น้ำว้าทองแดงไพสาลี)** เป็นกล้วยน้ำว้าที่มีลักษณะของต้นและผลที่ยังไม่แก่จัดใกล้เคียงกับกล้วยน้ำว้ามะลิอ่องมากจนแทบแยกไม่ออก แต่เมื่อผลสุกเปลือกมีสีเหลืองนวลแตกต่างจากน้ำว้ามะลิอ่องที่มีสีเหลืองจำปา เมื่อผ่าผลตามยาวจะพบว่าไส้ค่อนข้างใหญ่ สีเหลืองส้ม เนื้อข้าง ๆ มีสีส้มเจือชมพู (ไม่ถึงกับแดง) ผลสุกงอมมีรสหวาน

**5.17 น้ำว้าไส้เหลือง (น้ำว้าเหลือง)** เป็นสายพันธุ์กล้วยน้ำว้าที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมมาก โดยเฉพาะสีของไส้ ซึ่งมีไส้เหลือง ไส้ขาว และไส้แดง (ในขณะที่กล้วยน้ำว้าส่วนใหญ่จะมีไส้เหลือง เช่น น้ำว้ามะลิอ่อง น้ำว้าสวน น้ำว้าเขียว น้ำว้าดง และน้ำว้าค่อม) แต่กล้วยในกลุ่มไส้เหลืองแทบทุกสายพันธุ์เมื่อผลสุกใหม่ ๆ จะมีรสหวานอมเปรี้ยวเล็กน้อย และเนื้อค่อนข้างนิ่ม ลำต้นขนาดกลาง สูงไม่เกิน 380 ซม. กาบลำต้นสีเหลืองเจือเขียว เครือหนึ่งๆ มี 7 - 9 หวี ผลอ่อนสีเขียวนวล ผลแก่จัดค่อนข้างอ้วน เปลือกหนา เมื่อสุกมีสีเหลืองนวล เนื้อสีครีมค่อนข้างนิ่ม ไส้เหลือง ไม่มีเมล็ด รสหวานอมเปรี้ยวเล็กน้อย

**5.18 น้ำว้าปากช่อง 50** เป็นสายพันธุ์ที่อาจารย์กัลยาณี สุวิทวัส นักวิจัยชำนาญการพิเศษ สถานีวิจัยปากช่อง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ทำการศึกษาวิจัย ลักษณะประจำพันธุ์ คือ มีผลผลิตสูงและคุณภาพผลดี โดยให้ผลผลิตโดยเฉลี่ย 30 กิโลกรัมขึ้นไป และมีจำนวนหวีเฉลี่ย 10 หวีขึ้นไป มีลำต้นสูงใหญ่ (สูงกว่า 300 ซม. และรอบวงต้นยาวกว่า 90 ซม.) โคนต้นมีสีเขียวอมชมพู กาบใบด้านนอกสีเขียว มีปื้นดำเล็กน้อย กาบใบด้านในสีเหลืองอมเขียว มีปื้นสีแดง แผ่นใบด้านล่างโค้งมนทั้ง 2 ด้านเท่ากัน ร่องของกาบใบม้วนเข้าหากันจนชิดก้านใบด้านล่าง แผ่นใบสีเขียวอมชมพู สีของกาบปลีด้านนอกสีม่วงแดง ด้านในสีแดงเข้มสม่ำเสมอ ผลดิบมีสีเขียว ผลสุกมีสีเหลือง ไส้ผลสีเหลือง มีอัตราการเจริญเติบโตสูง ผลผลิตที่ได้สูงสุด 30.6 กิโลกรัมต่อต้น จำนวนหวีต่อเครือ 11.6 หวี และมี

18.5 ผลต่อหวีโดยเฉลี่ย ผลมีขนาดใหญ่สม่ำเสมอ ก้านผลค่อนข้างยาว 3.7 ซม. เปลือกค่อนข้างหนา เนื้อแน่น มีความหวานโดยเฉลี่ย 26.9% Brix (กัลยาณี สุวิทวัส, 2554)

**5.19 น้ำว้ายักษ์ (กล้วยน้ำว้าพระราชทาน)** เป็นสายพันธุ์ดั้งเดิมที่สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารีพระราชทานให้กับชาวบ้านที่ทุ่งกุลาร้องไห้ จังหวัดสุรินทร์ปลูก ลักษณะโดยทั่วไปของกล้วยน้ำว้าสายพันธุ์นี้ คือ ผลมีขนาดใหญ่กว่ากล้วยน้ำว้าพันธุ์ทั่วไปมาก น้ำหนักต่อหวี 7 - 8 กิโลกรัม (15 - 18 ผลต่อหวี) และอาจหนักได้เกือบ 100 กิโลกรัม รสชาติหวานกว่ากล้วยน้ำว้าทั่วไปแม้ยังไม่แก่เต็มที่ เนื้อแน่น ไม่เละ ไส้กลางไม่แข็ง (อภิชาติและพัชรี, 2559)

5.20 **น้ำว้าโชควิเชียร** เป็นพันธุ์ที่ค้นพบโดยคุณวิเชียร เนียมจ้อย อำเภอบางใหญ่ จังหวัดนนทบุรี มีลักษณะเด่น คือ ผลจะสั้น ป้อม กลม อ้วน 1 เครือจะมีประมาณ 8 - 15 หวี และ 1 หวีมีประมาณ 17 - 19 ผล กล้วยมีรสชาติดี นุ่ม เก็บได้นาน มีขั้วเหนียว (อภิชาติและพัชรี, 2559)

5.21 **น้ำว้าท่ายาง** เป็นพันธุ์ที่มีแหล่งกำเนิดที่อำเภอท่ายาง จังหวัดเพชรบุรี ลักษณะพันธุ์คือมีไส้เหลือง ผลใหญ่กว่าสายพันธุ์มะลิอ่อง ไม่มีเมล็ด ผลมน ยาว ต้นสมบูรณ์มี 15 - 18 หวีต่อเครือ หนึ่งหวีมี 22 - 25 ผล ต้นสูงประมาณ 300 - 500 ซม. รสชาติหวาน เนื้อนิ่ม ไส้นุ่ม และหอม (อภิชาติและพัชรี, 2559)

**6. เทคนิคพีซีอาร์**

ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (polymerase chain reaction) หรือ พีซีอาร์ เป็นเทคนิคที่ใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมาย ซึ่งอยู่ในสารละลายรวมกับดีเอ็นเออื่น โดยไม่จำเป็นต้องทำให้ชิ้นดีเอ็นเอดังกล่าวบริสุทธิ์ก่อน สามารถแยกส่วนของดีเอ็นเอที่สนใจได้โดยไม่ต้องนำไปขยายเพิ่มปริมาณในเซลล์หรือนำไปโคลน การทำพีซีอาร์คือการสังเคราะห์ดีเอ็นเอโดยใช้เอนไซม์ดีเอ็นเอโพลีเมอเรสซ้ำกันหลาย ๆ รอบ เพื่อให้ได้ดีเอ็นเอปริมาณเพิ่มขึ้นเป็นทวีคูณ การสังเคราะห์ดีเอ็นเอจะเกิดขึ้นได้จำเป็นต้องมีไพรเมอร์ด้วย ดังนั้นจึงใช้ไพรเมอร์ 2 ชนิดที่มีเบสคู่สมกับปลายทั้ง 2 ด้านของดีเอ็นเอบริเวณที่ต้องการเพิ่มปริมาณ โดยไพรเมอร์จะเกาะกับดีเอ็นเอคนละสายและมีปลาย 3' ในทิศทางเข้าหากัน ดังนั้นข้อกำหนดในการทำพีซีอาร์คือต้องทราบลำดับเบสของดีเอ็นเอบริเวณที่ต้องการเพิ่มปริมาณ ซึ่งอาจทราบลำดับเบสทั้งหมดหรือทราบเฉพาะส่วนปลายก็ได้ เพื่อการออกแบบสังเคราะห์ไพรเมอร์มาใช้ในปฏิกิริยาต่อไป บริเวณหรือชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่เกิดการสังเคราะห์เพิ่มปริมาณขึ้นจะมีขนาดความยาวเท่ากับชิ้นดีเอ็นเอจากปลาย 5' ของไพรเมอร์หนึ่งถึงปลาย 5' ของไพรเมอร์อีกชนิดหนึ่งนั่นเอง

ไพรเมอร์ที่ใช้เป็นโอลิโกนิวคลีโอไทด์ความยาวประมาณ 20 - 35 เบส วิธีการทำพีซีอาร์ คือ สกัดดีเอ็นเอจากเซลล์ นำมาใส่รวมกับไพรเมอร์ บัฟเฟอร์ ดีออกซีไรโบนิวคลีโอไซด์ไตรฟอสเฟต (dNTP) ทั้ง 4 ชนิด ทำให้ดีเอ็นเอต้นแบบแยกเป็นสายเดี่ยว (denaturation) โดยใช้ความร้อนแล้วลดอุณหภูมิลงอย่างรวดเร็ว เพื่อให้ไพรเมอร์ที่มีเบสเป็นคู่สมกับส่วนปลายของชิ้นดีเอ็นเอเป้าหมายและมีปริมาณมากกว่าชิ้นดีเอ็นเออื่น ๆ เข้ามาจับคู่กับส่วนของดีเอ็นเอที่ต้องการ (annealing) ขั้นสุดท้ายจึงเปลี่ยนอุณหภูมิให้พอเหมาะกับการทำงานของเอนไซม์ดีเอ็นเอโพลีเมอเรส พร้อมทั้งใส่เอนไซม์ลงในปฏิกิริยา เอนไซม์จะทำหน้าที่สังเคราะห์ดีเอ็นเอต่อจากไพรเมอร์ (primer extension) โดยมีดีเอ็นเอเป้าหมายเดิมเป็นต้นแบบ เมื่อปฏิกิริยาดำเนินไปครบทั้ง 3 ขั้นตอน โมเลกุลดีเอ็นเอเป้าหมายจะเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า เช่น จากเดิมมี 1 โมเลกุลจะเพิ่มเป็น 2 โมเลกุล ดังนั้นถ้าทำปฏิกิริยาซ้ำกัน (denaturation – annealing - extension) หลาย ๆ รอบ ปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายจะเพิ่มขึ้นจาก 1 เป็น 2, 4, 8, ... เท่าไปเรื่อย ๆ จนถึง 2n เท่า เมื่อปฏิกิริยาผ่านไป n รอบ (สุรินทร์, 2552)

**7. เครื่องหมายดีเอ็นเอ**

เครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker) หมายถึง ดีเอ็นเอที่ใช้เป็นเครื่องหมายบ่งชี้ความจำเพาะของสิ่งมีชีวิตตัวหนึ่ง สายพันธุ์หนึ่ง สปีชีส์หนึ่ง หรือในระดับต่างสปีชีส์ เป็นดีเอ็นเอที่อยู่ที่ตำแหน่งหนึ่ง ๆ บนโครโมโซม (nuclear DNA) หรือดีเอ็นเอในออร์แกเนลล์ (mitochondrial DNA หรือ chloroplast DNA) การที่สามารถใช้ดีเอ็นเอเป็นเครื่องหมายได้เนื่องจากเกิดความแปรปรวน (variation) ของนิวคลีโอไทด์ในโมเลกุลของดีเอ็นเอ หรือเกิดโพลีมอร์ฟิซึม (polymorphism) ของลำดับเบสในโมเลกุลของดีเอ็นเอ

วิธีตรวจสอบโพลีมอร์ฟิซึมของดีเอ็นเอ (DNA polymorphism) ทำได้โดยการหาลำดับเบสในโมเลกุลของดีเอ็นเอ (DNA sequencing) หรือตรวจสอบโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ วิธีการตรวจสอบอาจทำได้โดยใช้วิธีไฮบริไดเซชันหรือวิธีเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิคพีซีอาร์เป็นหลัก

**7.1 การตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยวิธีไฮบริไดเซชัน (Hybridization-based DNA fingerprinting)** ทำได้โดยสกัดดีเอ็นเอจากเซลล์นำมาตัดโดยเอนไซม์ตัดจำเพาะ แล้วแยกขนาดดีเอ็นเอโดยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซีส ถ่ายดีเอ็นเอลงสู่แผ่นเมมเบรนฟิลเตอร์ แล้วไฮบริไดซ์กับโพรบที่ติดฉลากด้วยสารกัมมันตรังสีหรือสารปลอดรังสี ตรวจสอบผลที่เกิดขึ้น จะปรากฏแถบดีเอ็นเอหลายแถบมีลักษณะจำเพาะกับแต่ละพันธุ์

**7.2 การตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยวิธีพีซีอาร์ (PCR-based DNA fingerprinting)** โดยทำการวิเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากกระบวนการเพิ่มปริมาณในหลอดทดลอง เพื่อใช้ตรวจสอบดีเอ็นเอ ซึ่งถ้าเป็นการตรวจสอบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งเฉพาะเพียงตำแหน่งเดียว (single locus) จะใช้ไพรเมอร์ 2 ชนิดที่จำเพาะกับช่วงของดีเอ็นเอหรือยีนหนึ่ง ๆ โดยต้องทราบลำดับเบสของดีเอ็นเอเป้าหมายก่อน

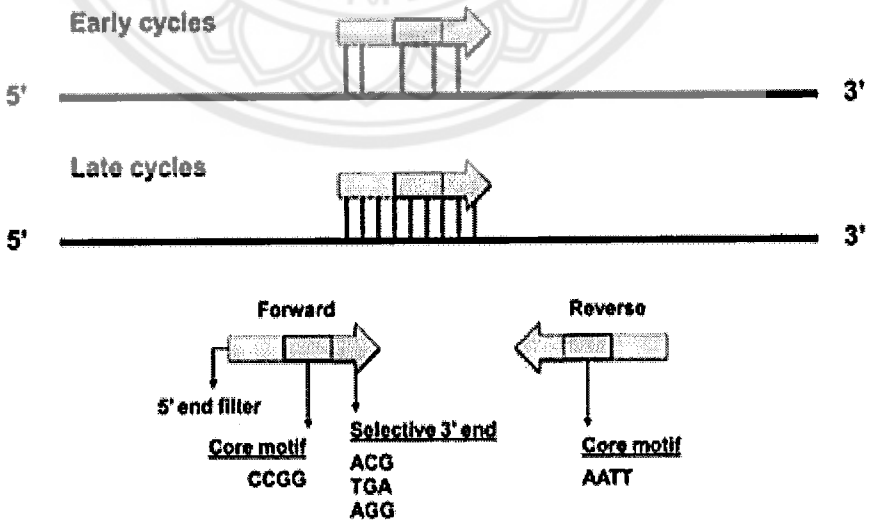
เพื่อเป็นข้อมูลในการสังเคราะห์ไพรเมอร์ แล้วจึงใช้ไพรเมอร์ 2 ชนิดนั้นเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายเพื่อตรวจสอบยืนยันว่ามียีนดังกล่าว เช่น ในการถ่ายยีนหรือตรวจสอบโพลีมอร์ฟิซึมระหว่างพันธุ์พืชหรือสัตว์ ในกรณีที่ตรวจสอบดีเอ็นเอจากหลายตำแหน่ง (multi-locus) ไพรเมอร์ที่ใช้มักจะเป็นชนิดสุ่มรหัสเพียงชนิดเดียวมาใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอให้มีปริมาณเพิ่มขึ้นในบางแห่งเท่านั้น เมื่อดีเอ็นเอมีมากขึ้นก็สามารถนำมาวิเคราะห์โดยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซีสและย้อมแถบดีเอ็นเอบางแถบได้

การวิเคราะห์เครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker) หรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่าเครื่องหมายทางโมเลกุล (molecular marker) นอกจากจะใช้เพื่อศึกษาการจัดเรียงตัวของดีเอ็นเอส่วนต่าง ๆ ในจีโนมหรือการทำแผนที่ของยีนแล้ว ยังสามารถใช้ตรวจสอบความหลากหลาย (polymorphism) ของพันธุ์ ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของพันธุ์ ตรวจสอบพันธุ์พ่อแม่และทดสอบลูกผสม ศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต หาเครื่องหมายทางโมเลกุลที่ใช้ตรวจสอบหรือบ่งชี้ลักษณะจำเพาะ เช่น ความต้านทานต่อโรค ความต้านทานต่อสภาพแวดล้อมบางอย่าง ซึ่งจะนำไปสู่การโคลนยีนโดยอาศัยแผนที่ (map-based cloning) ได้ด้วย (สุรินทร์, 2552)

เครื่องหมายดีเอ็นเอโดยวิธีเทคนิคพีซีอาร์ที่นิยมใช้จำแนกสายพันธุ์พืชมีหลายชนิด ได้แก่ เครื่องหมายดีเอ็นเอชนิดอาร์เอพีดี (RAPD, Random Amplified Polymorphic DNA) เป็นวิธีตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิคพีซีอาร์แบบหนึ่งที่ไม่จำเป็นต้องทราบข้อมูลเกี่ยวกับลำดับเบสของดีเอ็นเอเป้าหมาย เนื่องจากไพรเมอร์ที่ใช้ไม่จำเพาะเจาะจงกับดีเอ็นเอบริเวณใด มีหลักการคือ ใช้ไพรเมอร์ขนาดสั้น 8 - 12 นิวคลีโอไทด์ เพียงชนิดเดียวเพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบสุ่ม แล้วแยกขนาดของดีเอ็นเอที่ได้โดยการทำอิเล็กโทรโฟรีซิสในเจลอะกาโรส แล้วย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ (สุรินทร์, 2552) ซึ่งจะปรากฏแถบดีเอ็นเอที่เรืองแสงยูวี สามารถตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของสิ่งมีชีวิตได้ มีการนำเทคนิคอาร์เอพีดีมาใช้ในการจำแนกพืชหลายชนิด เช่น การจำแนกและประเมินความสัมพันธุ์ทางพันธุกรรมของกล้วย โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี (Jain et al., 2007, Ruangsuttapha et al., 2007) อย่างไรก็ตามเทคนิคอาร์เอพีดีนี้มีข้อเสียคือ ทำซ้ำได้ยาก สำหรับเทคนิค HAT-RAPD (High Annealing Temperature Random Amplified Polymorphic DNA) เป็นเทคนิคที่ดัดแปลงจากเทคนิคอาร์เอพีดีโดยเลือกใช้ไพรเมอร์ที่มีค่า GC สูงและเพิ่มอุณหภูมิในขั้นตอน annealing ให้สูงขึ้น เพื่อลดจำนวน non-specific DNA ลง และเพิ่มความจำเพาะเจาะจงของไพรเมอร์ในการเข้าจับดีเอ็นเอต้นแบบ (Eimert et al., 2003) สำหรับในกล้วยน้ำว้า กัลยาณีและคณะ (2557) จำแนกกล้วยน้ำว้า 8 พันธุ์ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้จาก (1) ลักษณะความสูงต้น (2) ลักษณะสีผิวของผลดิบ สีของผลสุก และสีไส้กลางของผลกล้วย โดยผลการจำแนกมีความใกล้เคียงกับการจำแนกด้วยเทคนิค HAT-RAPD ซึ่งพบว่า 28 จาก 97 ไพรเมอร์ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันและสามารถแยกกล้วยน้ำว้าออกได้ปีน 2 กลุ่มหลัก แต่การจำแนกดังกล่าวยังไม่สามารถแยกกล้วยน้ำว้ามะลิอ่องออกจากกล้วยน้ำว้าปากช่อง 50 หรือไส้เหลืองอุบลได้

## 8. เทคนิคเอสอาร์เอพี (SRAP, Sequence - Related Amplified Polymorphism)

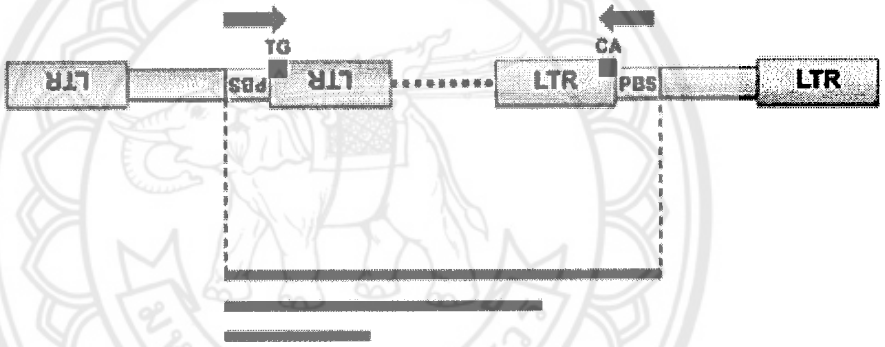
เทคนิคเอสอาร์เอพี (SRAP, sequence-related amplified polymorphism) ถูกคิดค้นและพัฒนาโดย Li และ Quiros (2001) เป็นเทคนิคที่นำเอาเทคนิคพีซีอาร์มาใช้เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในส่วนของ open reading frame (ORFs) ด้วยไพรเมอร์ 2 ชนิด คือ ไพรเมอร์ส่วนหน้า (forward primer) และไพรเมอร์ส่วนหลัง (reverse primer) แต่ละไพรเมอร์มีขนาด 17 และ 18 นิวคลีโอไทด์ตามลำดับ ไพรเมอร์ของเทคนิค SRAP มีลักษณะพิเศษ คือ ที่ปลาย 3' มีเบสคัดเลือกสามเบส และส่วนถัดมาของไพรเมอร์ฟอร์เวิร์ดเป็นเบส CCGG เพื่อจำเพาะกับลำดับเบสบริเวณ exon ในขณะที่ไพรเมอร์รีเวิร์สเป็นเบส AATT เพื่อจำเพาะกับลำดับเบสบริเวณ intron ขณะที่ปลาย 5' เป็นลำดับเบสที่ไม่มีความจำเพาะเรียกว่าลำดับเบสส่วนเติม (filler sequence) ลำดับเบสส่วนเติมของไพรเมอร์ส่วนหน้าและไพรเมอร์ส่วนหลังต้องไม่เหมือนกัน (ภาพที่ 3) ไพรเมอร์ต้องไม่เกิด hairpin หรือ secondary structure และต้องมี GC สูง 40 - 50 เปอร์เซ็นต์ เทคนิค SRAP มีความสามารถในการทำซ้ำ (reproducible) สูง ให้แถบที่มีความแตกต่างกัน (polymorphic band) สูง ไม่จำเป็นต้องทราบข้อมูลของลำดับเบสของสิ่งมีชีวิตที่ต้องการศึกษา สามารถตรวจสอบดีเอ็นเอได้ครั้งละหลายตำแหน่งพร้อมกัน อีกทั้งทำได้ง่ายและรวดเร็ว จึงมีการนำเทคนิค SRAP มาศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชหลายชนิด เช่น แก่นตะวัน (*Helianthus tuberosus* L.), ฟักทอง (*Cucurbita pepo* L.) และ พืชสกุลมัลเบอรี่ (*Morus* spp.) (ดลรัชต์ และคณะ, 2553; Ferriol et al., 2003; Zhao et al., 2009)




**ภาพที่ 3** การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมาย SRAP (sequence related amplified polymorphism) (Poczai et al., 2013)

**9. เทคนิคไอพีบีเอส (iPBS, inter - Primer Binding Site)**

เทคนิคไอพีบีเอส (iPBS, inter - Primer Binding Site) เป็นเทคนิคใหม่ที่พัฒนาขึ้นโดย Kalendar และคณะ (2010) โดยอาศัยหลักการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากการใช้รูปแบบไพรเมอรที่มีขนาด 12 - 18 นิวคลีโอไทด์ บริเวณ tRNA เข้าไปสุ่มจับกับดีเอ็นเอเป้าหมายของ long terminal repeat (LTR) บริเวณ retrotransposon (ภาพที่ 4) ซึ่งเป็นบริเวณที่ลำดับเบสของดีเอ็นเอมักเกิดการผันแปรทางพันธุกรรมได้ง่าย พบในสิ่งมีชีวิตในกลุ่มยูคาริโอตทุกชนิด มีการนำเทคนิคไอพีบีเอสมาใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและความสัมพันธ์ในพืชหลายชนิด (Kalendar et al., 2010; Smykal et al., 2011; Alzohairy et al., 2014) เช่น แอปริคอต (Baranek et al., 2012) องุ่น (Guo et al., 2014) ฝรั่ง (Mehmood et al., 2013) และ อินทผลัม (Al-Najm et al., 2016)




**ภาพที่** 4 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมาย iPBS (inter - primer binding site) (Poczai et al., 2013)

ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีจุดมุ่งหมายเพื่อตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอและศึกษาความหลายหลายทางพันธุกรรมของกล้วยน้ำว้ามะลิอ่องแท้และกล้วยน้ำว้าสายพันธุ์ใกล้เคียง โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล ได้แก่ เทคนิค SRAP (sequence - related amplified polymorphism) และเทคนิค iPBS (inter - primer binding site) เพื่อนำไปใช้เป็นข้อมูลในการรับรองพันธุ์และปรับปรุงพันธุ์ต่อไปในอนาคต

# อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

## อุปกรณ์

### ตัวอย่างกล้วยที่ใช้ในการศึกษา

ตัวอย่างกล้วยจำนวน 28 ตัวอย่าง ประกอบด้วย 3 จีโนม ได้แก่ กล้วยที่มีจีโนมแบบ AA ได้แก่ กล้วยป่าและกล้วยไข่ จำนวน 4 ตัวอย่าง กล้วยที่มีจีโนมแบบ BB ได้แก่ กล้วยตานี จำนวน 3 ตัวอย่าง เพื่อใช้เป็นพันธุ์เปรียบเทียบ และกล้วยน้ำว้า (ABB genome) จำนวน 21 ตัวอย่าง (ตารางที่ 2) โดยรวบรวมได้จากศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพการเกษตร จังหวัดพิษณุโลก (พันธุ์พืชเพาะเลี้ยง) ต.งิ้วงาม อ.เมือง จ.พิษณุโลก และสถานีวิจัยปากช่อง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา และทำการรวบรวมหน่อพันธุ์กล้วยน้ำว้ามะลิอ่องจำนวน 16 หน่อ จากแหล่งปลูกของเกษตรกรและแหล่งจำหน่ายหน่อพันธุ์ใน อ.บางกระทุ่ม จ.พิษณุโลก และจังหวัดอื่น ๆ ดังตารางที่ 3

**ตารางที่** 2 ตัวอย่างกล้วยที่ใช้ในการศึกษาจำนวน 28 ตัวอย่าง

| ตัวอย่างที่ | ชื่อพันธุ์กล้วย | สถานที่เก็บตัวอย่าง | ชนิดของจีโนม |
|---|---|---|---|
| | *Musa acuminata* (AA/AAA group) | | |
| 1 | กล้วยป่าแพร่ 'Kluai Pa-Phrae' | PC | AA/AAA |
| 2 | กล้วยหอมจำปา 'Kluai Hom Champa' | PC | AA/AAA |
| 3 | กล้วยไข่เกษตรศาสตร์ 2 'Kluai Khai Kasetsart 2' | PC | AA |
| 4 | กล้วยไข่กำแพงเพชร 'Kluai Khai Kham Phangphaet' | PC | AA |
| | *Musa balbisiana* (BB group) | | |
| 5 | กล้วยตานีอีสาน 'Kluai Tani Eisan' | PC | BB |
| 6 | กล้วยตานีเหนือ 'Kluai Tani Nuea' | PC | BB |
| 7 | กล้วยตานีดำ 'Kluai Tani Dam' | PC | BB |
| | *Musa x paradisiaca* (ABB group) | | |
| 8 | กล้วยน้ำว้าดำ 'Kluai Namwa Dam' | PL | ABB |
| 9 | กล้วยน้ำว้าอุบล 'Kluai Namwa Ubon' | PL | ABB |
| 10 | กล้วยน้ำว้าเงิน 'Kluai Namwa Ngoen' | PL | ABB |
| 11 | กล้วยน้ำว้ามะลิอ่อง 'Kluai Namwa Mali Ong' | PL | ABB |
| 12 | กล้วยน้ำว้าปากช่อง 50 'Kluai Namwa Pak Chong 50' | PL | ABB |
| 13 | กล้วยน้ำว้าค่อม 'Kluai Namwa Khom' | PL | ABB |

| | | | |
|---|---|---|---|
| 14 | กล้วยน้ำว้าพระราชทาน 'Kluai Namwa Phrarachthan' | PL | ABB |
| 15 | กล้วยน้ำว้าไส้เหลือง 'Kluai Namwa Sai Lueang' | PL | ABB |
| 16 | กล้วยน้ำว้านวล 'Kluai Namwa Nuan' | PL | ABB |
| 17 | กล้วยน้ำว้าไส้ดำ 'Kluai Namwa Sai Dam' | PL | ABB |
| 18 | กล้วยน้ำว้าเขียว 'Kluai Namwa Khiao' | PL | ABB |
| 19 | กล้วยนมหมี 'Kluai Nom Mi' | PL | ABB |
| 20 | กล้วยหิน 'Kluai Hin' | PL | BBB |
| 21 | กล้วยน้ำว้าท่ายาง 'Kluai Namwa Tha Yang' | PL | ABB |
| 22 | กล้วยน้ำว้ากาบขาว 'Kluai Namwa Kab Khao' | PL | ABB |
| 23 | กล้วยน้ำว้าสวน 'Kluai Namwa Suan' | PC | ABB |
| 24 | กล้วยน้ำโว้ 'Kluai Nam Wo' | PC | ABB |
| 25 | กล้วยน้ำว้าตะนาวศรี 'Kluai Namwa Ta Now Sri' | PC | ABB |
| 26 | กล้วยหักมุกนวล 'Kluai Hakmuk Nuan' | PL | ABB |
| 27 | กล้วยหักมุกเขียว 'Kluai Hakmuk Khieo' | PL | ABB |
| 28 | กล้วยหักมุกทอง 'Kluai Hakmuk Thong' | PL | ABB |

PC - สถานีวิจัยปากช่อง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา

PL - ศูนย์พันธุ์พืชเพาะเลี้ยง ต.งิ้วงาม อ.เมือง จ.พิษณุโลก

**ตารางที่ 3** ตัวอย่างกล้วยน้ำว้ามะลิอ่องที่ใช้ในการศึกษาจำนวน 16 ตัวอย่าง

| ตัวอย่างที่ | ชื่อพันธุ์กล้วย | สถานที่เก็บตัวอย่าง |
|---|---|---|
| 1 | กล้วยน้ำว้ามะลิอ่อง 'Kluai Namwa Mali Ong' | ศูนย์พันธุ์พืชเพาะเลี้ยง งิ้วงาม จ.พิษณุโลก |
| 2 | กล้วยน้ำว้ามะลิอ่อง 'Kluai Namwa Mali Ong' | ศูนย์พันธุ์พืชเพาะเลี้ยง งิ้วงาม จ.พิษณุโลก |
| 3 | กล้วยน้ำว้ามะลิอ่อง 'Kluai Namwa Mali Ong' | ศูนย์พันธุ์พืชเพาะเลี้ยง งิ้วงาม จ.พิษณุโลก |
| 4 | กล้วยน้ำว้ามะลิอ่อง 'Kluai Namwa Mali Ong' | มูลนิธิชัยพัฒนา อ.บางกระทุ่ม จ.พิษณุโลก |
| 5 | กล้วยน้ำว้ามะลิอ่อง 'Kluai Namwa Mali Ong' | มูลนิธิชัยพัฒนา อ.บางกระทุ่ม จ.พิษณุโลก |
| 6 | กล้วยน้ำว้ามะลิอ่อง 'Kluai Namwa Mali Ong' | มูลนิธิชัยพัฒนา อ.บางกระทุ่ม จ.พิษณุโลก |
| 7 | กล้วยน้ำว้ามะลิอ่อง 'Kluai Namwa Mali Ong' | มูลนิธิชัยพัฒนา อ.บางกระทุ่ม จ.พิษณุโลก |
| 8 | กล้วยน้ำว้ามะลิอ่อง 'Kluai Namwa Mali Ong' | ศูนย์วิจัยปากช่อง อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา |
| 9 | กล้วยน้ำว้ามะลิอ่อง 'Kluai Namwa Mali Ong' | อ.อัมพวา จ.สมุทรสงคราม |
| 10 | กล้วยน้ำว้ามะลิอ่อง 'Kluai Namwa Mali Ong' | อ.ท่ายาง จ.เพชรบุรี |
| 11 | กล้วยน้ำว้ามะลิอ่อง 'Kluai Namwa Mali Ong' | สวนบัวอุบลชาติ จ.สุพรรณบุรี |
| 12 | กล้วยน้ำว้ามะลิอ่อง 'Kluai Namwa Mali Ong' | อ.อู่ทอง จ.สุพรรณบุรี |
| 13 | กล้วยน้ำว้ามะลิอ่อง 'Kluai Namwa Mali Ong' | อ.หนองใหญ่ จ.ชลบุรี |
| 14 | กล้วยน้ำว้ามะลิอ่อง 'Kluai Namwa Mali Ong' | ไร่คีรีพญา จ.เพชรบูรณ์ |

| | | |
|---|---|---|
| 15 | กล้วยน้ำว้ามะลิอ่อง 'Kluai Namwa Mali Ong' | อ.แก่งคอย จ.สระบุรี |
| 16 | กล้วยน้ำว้ามะลิอ่อง 'Kluai Namwa Mali Ong' | อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี |

## วิธีการ

### 1. การเตรียมตัวอย่างพืช

เก็บใบอ่อนของกล้วย โดยใบอ่อนจะมีลักษณะม้วนงอหรือคลี่ออกมาเพียงเล็กน้อย เนื่องจากใบอ่อนมีเส้นใยน้อย ทำให้เซลล์แตกและปลดปล่อยดีเอ็นเอออกมาได้ง่ายกว่าใบแก่ ดีเอ็นเอที่ได้จะมีปริมาณมากและคุณภาพดี ทำการตัดใบดังกล่าวใส่ในถุงพลาสติก มัดปากถุงให้แน่น แล้วนำไปแช่ในน้ำแข็งทันที เพื่อนำไปสกัดดีเอ็นเอต่อไป

### 2. การสกัดแยกดีเอ็นเอจากพืช

สกัดแยกดีเอ็นเอจากใบอ่อนของตัวอย่างกล้วย โดยใช้ชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป Genomic DNA Isolation Kit (Plant) (PureDirex) (BIO-HELIX Co., LTD., Taiwan)

### 3. การตรวจสอบคุณภาพและวัดปริมาณดีเอ็นเอ

การตรวจสอบคุณภาพและวัดปริมาณดีเอ็นเอ สามารถทำได้ 2 วิธี คือ วัดค่าการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเลต (UV) โดยใช้เครื่องสเปกโทรโฟโทมิเตอร์ (spectrophotometer) หรือวัดการเรืองแสงของดีเอ็นเอที่จับตัวกับสีย้อมสารพันธุกรรม (red safe DNA dye)

#### 3.1 วิธีวัดการดูดกลืนแสง

วิธีนี้เป็นการตรวจสอบความบริสุทธิ์และวัดปริมาณดีเอ็นเอจากการวัดค่า optical density (OD) ซึ่งเป็นค่าการดูดแสงที่ความยาวช่วงคลื่น 260 นาโนเมตร หรือ $OD_{260}$ โดยหาความเข้มข้นของดีเอ็นเอได้จาก

**ความเข้มข้นของสารละลายดีเอ็นเอ (µg/ml) = $OD_{260}$ x 50 µg/ml x dilution factor**

ส่วนการวัดค่าการดูดแสงที่ความยาวช่วงคลื่น 280 นาโนเมตร หรือ $OD_{280}$ จะใช้เพื่อคำนวณหาอัตราส่วนความบริสุทธิ์ของดีเอ็นเอ โดยค่า $OD_{260}/OD_{280}$ มีค่าระหว่าง 1.7 - 1.8 แสดงว่าดีเอ็นเอที่สกัดได้เป็นเกลียวคู่บริสุทธิ์ แต่ถ้าอัตราส่วนสูงกว่า 1.8 แสดงว่ามีอาร์เอ็นเอเจือปนอยู่ และถ้าอัตราส่วนต่ำกว่า 1.8 แสดงว่ามีการเจือปนของโปรตีนหรือฟีนอล

### 3.2 วิธีวัดการเรืองแสงร่วมกับสีย้อมสารพันธุกรรม (red safe DNA dye)

วิธีนี้ทำโดยนำดีเอ็นเอที่เตรียมได้มาทำอิเล็กโทรโฟรีซิสในอะกาโรสเจล แล้วย้อมด้วยสีย้อมสารพันธุกรรม (red safe DNA dye) โมเลกุลของสีย้อมสารพันธุกรรม (red safe DNA dye) จะเข้าไปแทรกอยู่ในเกลียวคู่ของดีเอ็นเอ และเมื่อนำไปส่องดูด้วยแสงอัลตราไวโอเลตจะเกิดการเรืองแสง โดยความเข้มของแสงเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณดีเอ็นเอ เมื่อเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐานที่ทราบปริมาณแล้วจะสามารถบอกปริมาณดีเอ็นเอตัวอย่างโดยประมาณได้ นอกจากนี้การแยกขนาดดีเอ็นเอด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสยังสามารถบอกคุณภาพของดีเอ็นเอได้ด้วยว่ามีการปนเปื้อนของอาร์เอ็นเอหรือไม่ ซึ่งหากมีการปนเปื้อนของอาร์เอ็นเอจะมีลักษณะเป็นปื้นและเคลื่อนที่ไปเร็วกว่าดีเอ็นเอ ดีเอ็นเอที่ได้มีขนาดโมเลกุลใหญ่ขนาดไหน และมีการแตกหักของโมเลกุลมากน้อยเพียงใด

### 4. การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมายเอสอาร์เอพี

#### 4.1 การคัดเลือกไพรเมอร์ที่เหมาะสม

ทำการคัดเลือกไพรเมอร์ที่เหมาะสมโดยนำไพรเมอร์เอสอาร์เอพีทั้งหมด 64 คู่ผสม ประกอบด้วย forward primer และ reverse primer อย่างละ 8 ชนิด (ตารางที่ 4) มาทำปฏิกิริยาพีซีอาร์กับจีโนมิกดีเอ็นเอตัวอย่างกล้วยเพียง 1 ตัวอย่างก่อน ในการทดลองนี้เลือกใช้สารละลายดีเอ็นเอหมายเลข 4 ที่สกัดไว้ เพื่อคัดเลือกไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ และให้แถบดีเอ็นเอที่ชัดเจน

**ตารางที่** 4 ไพรเมอร์เอสอาร์เอพีที่ใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของกล้วยน้ำว้า (Li and Quiros, 2001)

| No. | Forward primers | Sequences (5' → 3') (17 bp) | No. | Reverse primers | Sequences (5' → 3') (18 bp) |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Me1 | TGAGTCCAAACCGGATA | 9 | Em1 | GACTGCGTACGAATTAAT |
| 2 | Me2 | TGAGTCCAAACCGGAGC | 10 | Em2 | GACTGCGTACGAATTTGC |
| 3 | Me3 | TGAGTCCAAACCGGAAT | 11 | Em3 | GACTGCGTACGAATTGAC |
| 4 | Me4 | TGAGTCCAAACCGGACC | 12 | Em4 | GACTGCGTACGAATTTGA |
| 5 | Me5 | TGAGTCCAAACCGGAAG | 13 | Em5 | GACTGCGTACGAATTAAC |
| 6 | Me6 | TGAGTCCAAACCGGTAA | 14 | Em6 | GACTGCGTACGAATTGCA |
| 7 | Me7 | TGAGTCCAAACCGGTCC | 15 | Em7 | GACTGCGTACGAATTCAA |
| 8 | Me8 | TGAGTCCAAACCGGTGC | 16 | Em8 | GACTGCGTACGAATTCTG |

### 4.2 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีพีซีอาร์

นำสารละลายดีเอ็นเอตัวอย่างทั้งหมดมาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอกับไพรเมอร์เอสอาร์เอพีที่เลือกไว้ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ โดยเตรียมสารละลายสำหรับทำพีซีอาร์ตามตารางที่ 5

**ตารางที่ 5** สารที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์แบบเอสอาร์เอพี

| สารที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ | ปริมาตร (ไมโครลิตร) |
|---|---|
| 1. สารละลายดีเอ็นเอ (50 ng/ul) | 1.0 |
| 2. 2x Quick Taq HS DyeMix | 5.0 |
| 3. Forward primer | 0.7 |
| 4. Reverse primer | 0.7 |
| 5. $H_2O$ | 2.6 |
| **ปริมาตรรวม** | **10.0** |

ผสมสารละลายให้เข้ากันแล้วนำเข้าเครื่องพีซีอาร์โดยใช้อุณหภูมิและเวลาในการทำปฏิกิริยาดังนี้

**ขั้นตอนที่ 1**

Denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที จำนวน 1 รอบ

**ขั้นตอนที่ 2**

Denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที
Annealing ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที } จำนวน 5 รอบ
Extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที

Denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที
Annealing ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที } จำนวน 35 รอบ
Extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที

**ขั้นตอนที่ 3**

Extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จำนวน 1 รอบ

แล้วเก็บผลผลิตพีซีอาร์ไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาทำอิเล็กโทรโฟรีซิส

ว SB
379
.B2
จ1225
ฉ61
1049753

สำนักหอสมุด
21 มี.ค. 2565

**4.3 การตรวจสอบผลผลิตพีซีอาร์**

ตรวจสอบชิ้นดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้จากการทำพีซีอาร์ และเปรียบเทียบขนาดของผลผลิตพีซีอาร์กับขนาดดีเอ็นเอมาตรฐาน โดยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสในอะกาโรสเจลความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ในบัฟเฟอร์ 1X TBE โดยผ่านกระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ ประมาณ 30 - 40 นาที ย้อมเจลด้วย Safe DNA Dye (Hydragreen™, USA) จากนั้นนำเจลไปส่องดูภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต แล้วถ่ายภาพเก็บไว้

**5. การวิเคราะห์ผลจากลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากเทคนิค SRAP**

5.1 บันทึกแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างว่านที่ปรากฏบนแผ่นเจลเป็นข้อมูลไบนารี (binary) โดยแปลงข้อมูลแถบดีเอ็นเอที่ได้และบันทึกผลเป็นสัญลักษณ์ “1” เมื่อปรากฏแถบดีเอ็นเอ และ “0” เมื่อไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอ จากนั้นนำข้อมูลแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นทั้งหมดไปวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System (NTSYS) pc version 2.1m คำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมด้วยวิธี Dice’s coefficient ดังสมการ

$$\text{Dice's coefficient} = \frac{2a}{(2a + b + c)}$$

เมื่อ a = จำนวนแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นทั้ง 2 พันธุ์
b = จำนวนแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นในพันธุ์ i แต่ไม่พบในพันธุ์ j
c = จำนวนแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นในพันธุ์ j แต่ไม่พบในพันธุ์ i

จากนั้นสร้างแผนภูมิทางพันธุกรรมด้วยวิธี unweighted pair group method of arithmetic average (UPGMA) (Sneath and Sokal, 1973) เพื่อแสดงผลในรูปแบบของ phylogenetic tree และคำนวณค่า cophenetic correlation coefficient (r) เพื่อตรวจสอบความเหมาะสมในการจัดกลุ่ม (Mantel, 1967; Sokal and Rohlf, 1994) วิเคราะห์ความเชื่อมั่นของการจัดกลุ่มด้วยค่า bootstrap ซึ่งทำซ้ำจำนวน 1,000 ครั้ง ค่าที่ได้จะแสดงเป็นเปอร์เซ็นต์ของโอกาสที่การจัดกลุ่มให้ผลคงเดิม โดยใช้โปรแกรม Winboot (Yap and Nelson, 1996)

5.2 คำนวณหาร้อยละของจำนวนแถบดีเอ็นเอที่แสดงโพลีมอร์ฟิซึม (percentage of polymorphism) และจำนวนแถบดีเอ็นเอเฉลี่ยต่อไพรเมอร์

$$\text{Percentage of polymorphism} = \frac{\text{จำนวนแถบดีเอ็นเอที่แสดงโพลีมอร์ฟิซึม x 100}}{\text{จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด}}$$

5.3 คำนวณค่า Polymorphic Information Content (PICs) จากสูตร

$$PICs = 1 - \sum_{i=1}^{k} p_i^2$$

โดย $P_i$ คือ ความถี่ของแอลลีลที่ i ซึ่ง $P_i$ ประกอบด้วย $P_a$ (absent allele) และ $P_p$ (present allele) ค่า PICs เป็นค่าที่บอกโอกาสที่จะพบความแตกต่างระหว่างตัวอย่าง 2 ตัวอย่างที่เลือกมาแบบสุ่ม

**6. สถานที่ทำการทดลอง**

6.1 ห้องปฏิบัติการชีววิทยาโมเลกุล ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

6.2 ศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพการเกษตร จังหวัดพิษณุโลก (พันธุ์พืชเพาะเลี้ยง) ต.งิ้วงาม อ.เมือง จ.พิษณุโลก

6.3 สถานีวิจัยปากช่อง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา

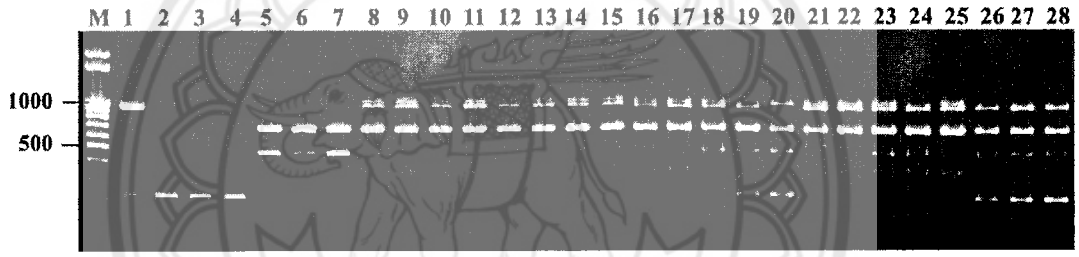
**7. ระยะเวลาทำการวิจัย**

เริ่มทำการวิจัย เดือนตุลาคม พ.ศ. 2560 และสิ้นสุดการวิจัย เดือนกันยายน พ.ศ. 2562

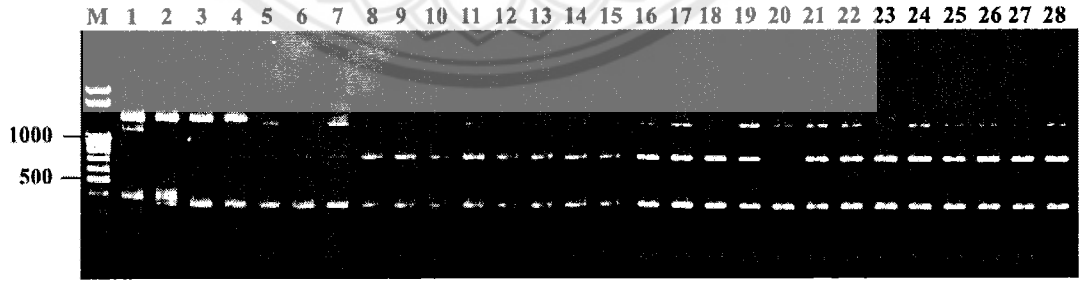
# ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**1. การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยจำนวน 28 ตัวอย่าง**

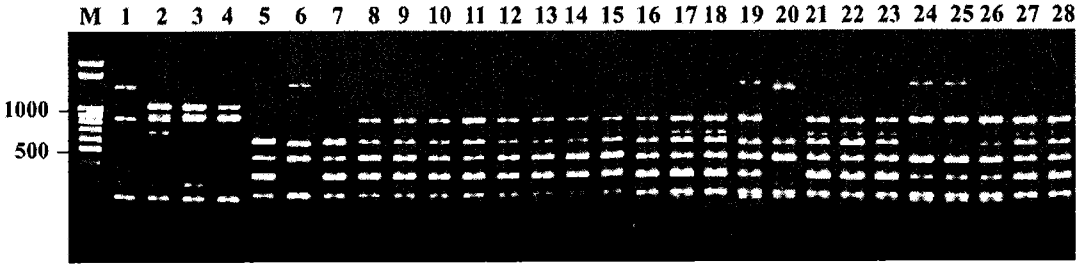
จากการทดสอบไพรเมอร์เอสอาร์เอพีจำนวน 64 คู่ผสมกับจีโนมิกดีเอ็นเอของกล้วยน้ำว้า (จีโนม ABB) กล้วยป่า (จีโนม AA) และกล้วยตานี (จีโนม BB) พบว่าไพรเมอร์ทั้ง 64 คู่ผสมสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ หรือคิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นคัดเลือกคู่ไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของกล้วยน้ำว้าได้ดีและให้แถบดีเอ็นเอที่ชัดเจน จำนวน 36 คู่ไพรเมอร์ นำมาตรวจสอบกับดีเอ็นเอตัวอย่างกล้วยสายพันธุ์ต่าง ๆ จำนวน 28 ตัวอย่างด้วยเทคนิคพีซีอาร์ แล้วนำผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้มาทำอิเล็กโทรโฟรีซีสในอะกาโรสเจลความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 5 - ภาพที่ 16) โดยแต่ละตัวอย่างทำ 3 ซ้ำ เพื่อให้ได้ผลการทดลองที่น่าเชื่อถือยิ่งขึ้น



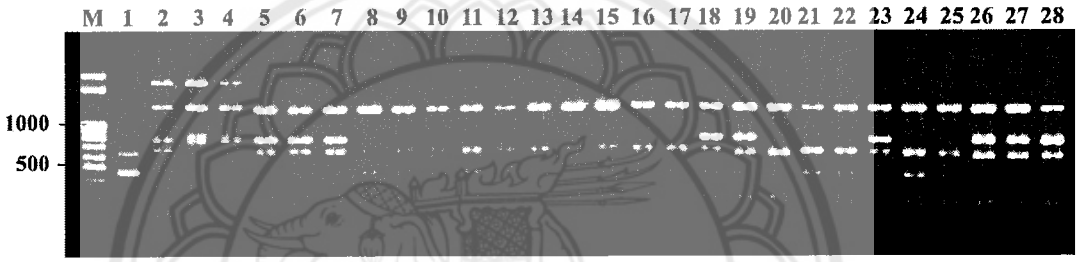

**ภาพที่** 5 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วย โดยใช้ไพรเมอร์ Me1/Em1 (M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp Plus DNA ladder, 1 - 28 คือ ตัวอย่างกล้วยที่ใช้ในการศึกษา)



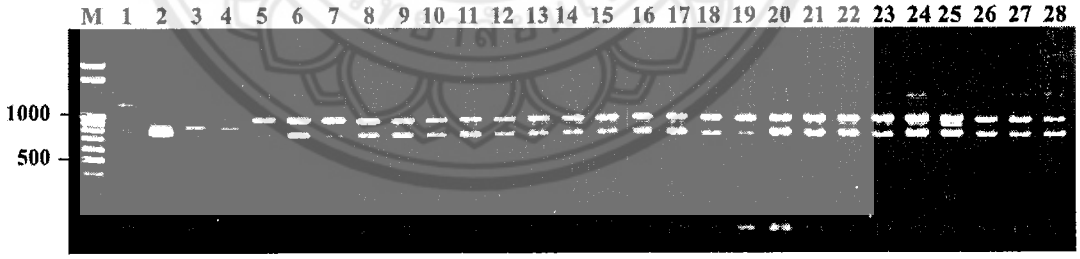

**ภาพที่ 6** ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วย โดยใช้ไพรเมอร์ Me1/Em2 (M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp Plus DNA ladder, 1 - 28 คือ ตัวอย่างกล้วยที่ใช้ในการศึกษา)



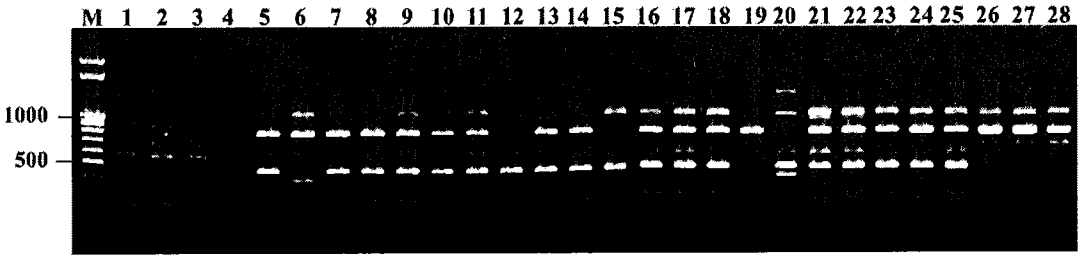

**ภาพที่ 7** ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วย โดยใช้ไพรเมอร์ Me1/Em3 (M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp Plus DNA ladder, 1 - 28 คือ ตัวอย่างกล้วยที่ใช้ในการศึกษา)



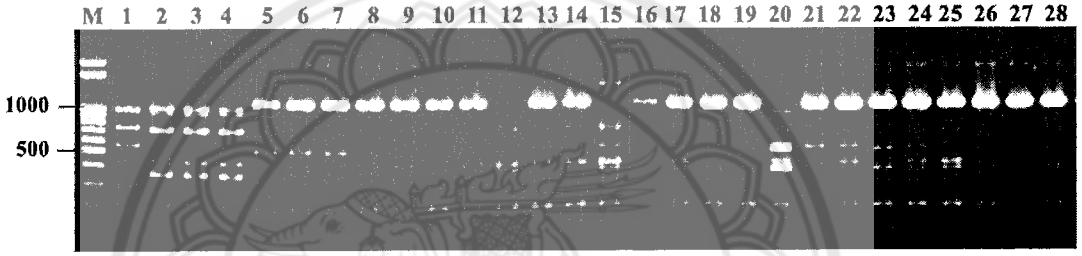

**ภาพที่ 8** ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วย โดยใช้ไพรเมอร์ Me1/Em4 (M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp Plus DNA ladder, 1 - 28 คือ ตัวอย่างกล้วยที่ใช้ในการศึกษา)



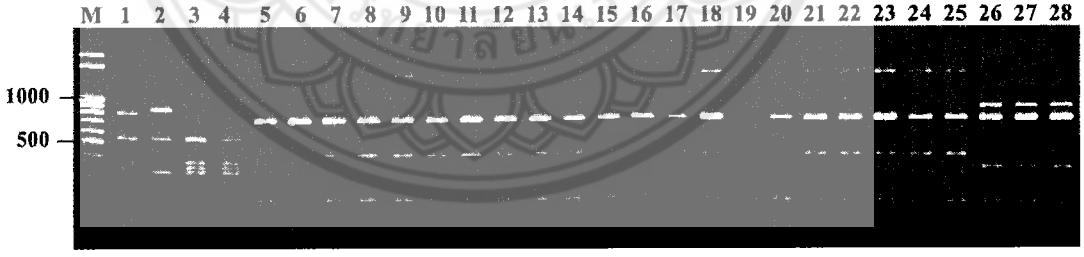

**ภาพที่ 9** ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วย โดยใช้ไพรเมอร์ Me1/Em5 (M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp Plus DNA ladder, 1 - 28 คือ ตัวอย่างกล้วยที่ใช้ในการศึกษา)



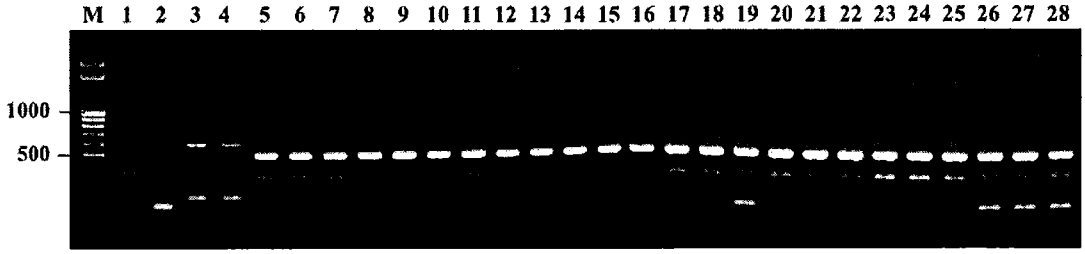

**ภาพที่ 10** ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วย โดยใช้ไพรเมอร์ Me1/Em6 (M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp Plus DNA ladder, 1 - 28 คือ ตัวอย่างกล้วยที่ใช้ในการศึกษา)



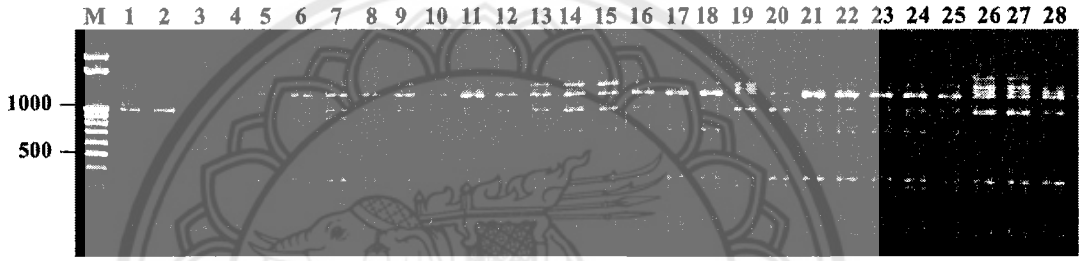

**ภาพที่ 11** ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วย โดยใช้ไพรเมอร์ Me1/Em7 (M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp Plus DNA ladder, 1 - 28 คือ ตัวอย่างกล้วยที่ใช้ในการศึกษา)



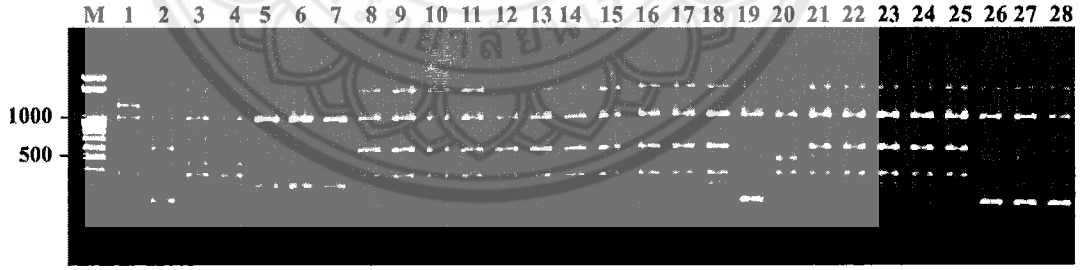

**ภาพที่ 12** ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วย โดยใช้ไพรเมอร์ Me1/Em8 (M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp Plus DNA ladder, 1 - 28 คือ ตัวอย่างกล้วยที่ใช้ในการศึกษา)



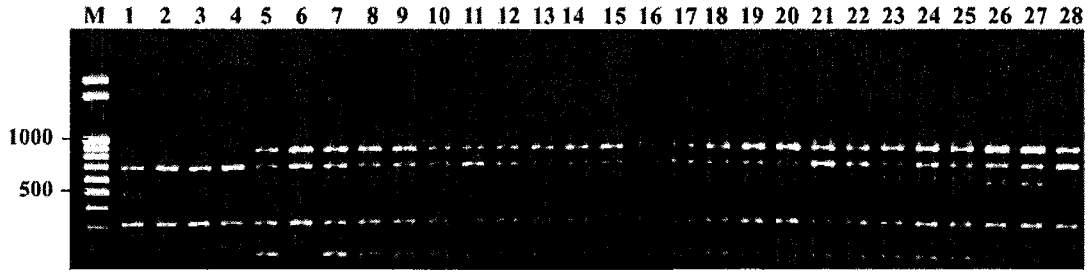

**ภาพที่ 13** ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วย โดยใช้ไพรเมอร์ Me2/Em1 (M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp Plus DNA ladder, 1 - 28 คือ ตัวอย่างกล้วยที่ใช้ในการศึกษา)




**ภาพที่** 14 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วย โดยใช้ไพรเมอร์ Me2/Em4 (M คือ แถบ**ดีเอ็นเอมาตรฐาน** 100 bp Plus DNA ladder, 1 - 28 คือ ตัวอย่างกล้วยที่ใช้ในการศึกษา)




**ภาพที่ 15** ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วย โดยใช้ไพรเมอร์ Me2/Em5 (M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp Plus DNA ladder, 1 - 28 คือ ตัวอย่างกล้วยที่ใช้ในการศึกษา)




**ภาพที่ 16** ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วย โดยใช้ไพรเมอร์ Me2/Em7 (M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp Plus DNA ladder, 1 - 28 คือ ตัวอย่างกล้วยที่ใช้ในการศึกษา)

จากการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยโดยใช้ไพรเมอร์เอสอาร์เอพีจำนวน 33 ชนิด พบว่าไพรเมอร์แต่ละชนิดให้จำนวนแถบดีเอ็นเออยู่ระหว่าง 4 - 16 แถบ (ตารางที่ 6) โดยไพรเมอร์ Me1/Em4 และ Me2/Em5 สามารถสังเคราะห์ดีเอ็นเอได้มากที่สุด 14 แถบ มีขนาดประมาณ 200 - 3,000 คู่เบส และ 180 - 2,300 คู่เบส ตามลำดับ ส่วนไพรเมอร์ Me2/Em1 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอน้อยที่สุด จำนวน 6 แถบ มีขนาดประมาณ 200-600 คู่เบส รวมจำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 328 แถบ หรือเฉลี่ย 9.94 แถบต่อคู่ไพรเมอร์ เป็นแถบดีเอ็นเอที่แสดงพอลิมอร์ฟิซึมจำนวน 302 แถบ และเป็นแถบดีเอ็นเอที่ไม่แสดงความแตกต่างระหว่างตัวอย่างจำนวน 26 แถบ โดยมีแถบดีเอ็นเอที่แสดงพอลิมอร์ฟิซึมเฉลี่ย 9.15 แถบต่อคู่ไพรเมอร์หรือ 92.07 เปอร์เซ็นต์ของแถบดีเอ็นเอทั้งหมด

**ตารางที่ 6** ชื่อไพรเมอร์ ขนาดของอัลลีล จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่แสดงพอลิมอร์ฟิซึม เปอร์เซ็นต์พอลิมอร์ฟิซึม และค่า PIC

| ลำดับที่ | ชื่อไพรเมอร์ | ขนาดของอัลลีล (คู่เบส) | จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด | จำนวนแถบดีเอ็นเอที่แสดงพอลิมอร์ฟิซึม | เปอร์เซ็นต์พอลิมอร์ฟิซึม (%) | ค่า PIC |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Me1/Em1 | 200 - 1200 | 11 | 11 | 100.0 | 0.32 |
| 2 | Me1/Em2 | 200 - 1800 | 9 | 8 | 88.89 | 0.18 |
| 3 | Me1/Em3 | 200 - 2000 | 12 | 11 | 91.67 | 0.27 |
| 4 | Me1/Em4 | 200 - 3000 | 14 | 13 | 92.86 | 0.24 |
| 5 | Me1/Em5 | 150 - 1500 | 10 | 9 | 90.00 | 0.16 |
| 6 | Me1/Em6 | 200 - 1000 | 11 | 11 | 100.0 | 0.26 |
| 7 | Me1/Em7 | 220 - 1200 | 11 | 8 | 72.73 | 0.19 |
| 8 | Me1/Em8 | 180 - 2500 | 13 | 13 | 100.0 | 0.31 |
| 9 | Me2/Em1 | 200 - 600 | 6 | 6 | 100.0 | 0.22 |
| 10 | Me2/Em4 | 300 - 1800 | 11 | 10 | 90.91 | 0.21 |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 11 | Me2/Em5 | 180 - 2300 | 14 | 12 | 85.71 | 0.25 |
| 12 | Me2/Em7 | 100 - 900 | 13 | 11 | 84.62 | 0.22 |
| 13 | Me3/Em1 | 200 - 1600 | 10 | 10 | 100.0 | 0.27 |
| 14 | Me3/Em7 | 200 - 1200 | 6 | 6 | 100.0 | 0.26 |
| 15 | Me3/Em8 | 250 - 1300 | 8 | 7 | 87.50 | 0.29 |
| 16 | Me4/Em2 | 150 - 1500 | 8 | 6 | 75.00 | 0.21 |
| 17 | Me4/Em3 | 250 - 2000 | 9 | 8 | 88.89 | 0.23 |
| 18 | Me4/Em7 | 280 - 600 | 6 | 5 | 83.33 | 0.22 |
| 19 | Me4/Em8 | 250 - 1400 | 16 | 15 | 93.75 | 0.27 |
| 20 | Me5/Em1 | 300 - 700 | 4 | 4 | 100.0 | 0.27 |
| 21 | Me5/Em3 | 250 - 2000 | 9 | 9 | 100.0 | 0.34 |
| 22 | Me5/Em5 | 200 -1300 | 6 | 5 | 83.33 | 0.24 |
| 23 | Me5/Em8 | 300 - 1000 | 9 | 8 | 88.89 | 0.20 |
| 24 | Me6/Em2 | 200 - 1600 | 11 | 10 | 90.91 | 0.23 |
| 25 | Me6/Em3 | 350 - 1400 | 10 | 10 | 100.0 | 0.20 |
| 26 | Me6/Em4 | 300 - 1200 | 6 | 5 | 83.33 | 0.16 |
| 27 | Me6/Em5 | 200 - 1500 | 10 | 10 | 100.0 | 0.24 |
| 28 | Me6/Em6 | 250 - 1700 | 12 | 12 | 100.0 | 0.16 |
| 29 | Me6/Em7 | 190 -1500 | 10 | 10 | 100.0 | 0.23 |
| 30 | Me6/Em8 | 200 - 1200 | 10 | 9 | 90.00 | 0.24 |
| 31 | Me7/Em1 | 200 - 1600 | 11 | 11 | 100.0 | 0.24 |
| 32 | Me7/Em2 | 150 - 1200 | 10 | 9 | 90.00 | 0.20 |
| 33 | Me7/Em4 | 100 - 1500 | 12 | 10 | 83.33 | 0.19 |
| **Total** | | | 328 | 302 | - | - |
| **Average** | | | 9.94 | 9.15 | 92.07 | 0.23 |

จากการนำผลลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้มาคำนวณค่า Polymorphic Information Content (PICs) ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกถึงโอกาสที่จะพบว่าตัวอย่างที่สุ่มมา 2 ตัวอย่างมีความแตกต่างกันมากน้อยเพียงใด พบว่าค่า PICs มีค่าอยู่ระหว่าง 0.16 - 0.34 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.23 แสดงถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของกล้วยที่ใช้ในการศึกษาในระดับปานกลาง แสดงให้เห็นว่าเทคนิค SRAP มีประสิทธิภาพในการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยสายพันธุ์ต่างๆ การศึกษานี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Phothipan et al. (2005) ที่ได้ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยจีโนม AA AAB และ BB จำนวน 29 ตัวอย่างด้วยเทคนิค RAPD และ SRAP พบว่าทั้งสองเทคนิคให้ผลการทดลองไปในแนวทางเดียวกัน โดยแต่ละตัวอย่างให้แถบดีเอ็นเอส่วนใหญ่เหมือนกัน แต่พบแถบดีเอ็น

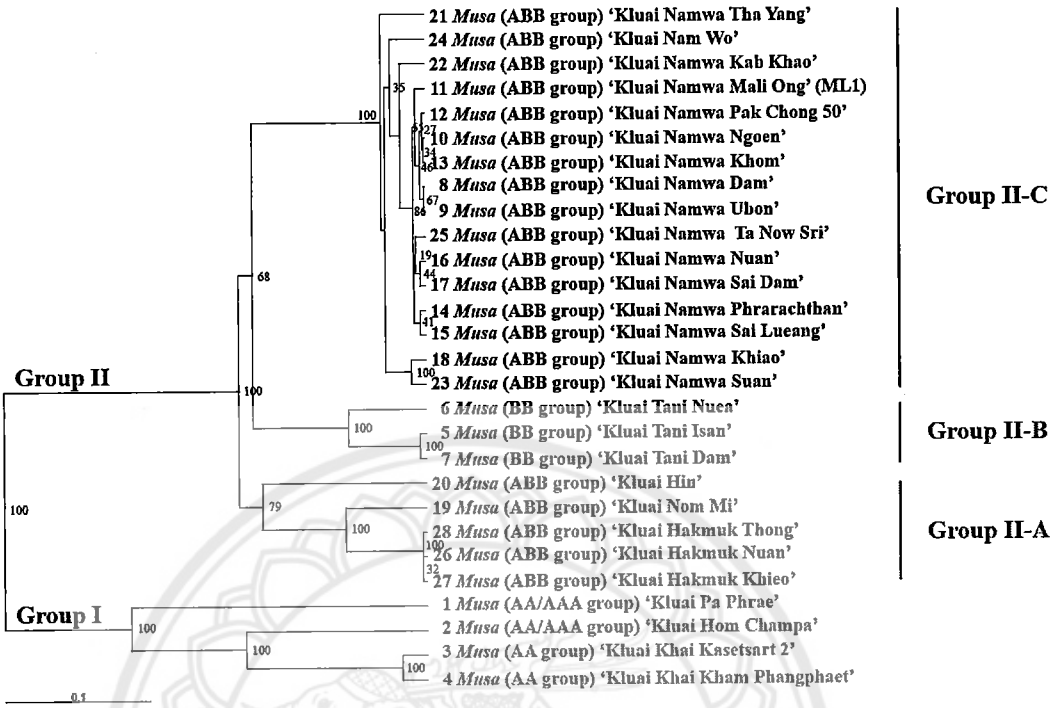
เอบางตำแหน่งที่จำเพาะกับตัวอย่างชนิดใดชนิดหนึ่งเท่านั้น ซึ่งช่วยให้สามารถแยกพืชต่างชนิดออกจากกันได้

จากการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยน้ำว้า กล้วยป่า และกล้วยตานีสายพันธุ์ต่างๆ จำนวน 28 ตัวอย่าง โดยใช้ไพรเมอร์เอสอาร์เอพีจำนวน 33 คู่ไพรเมอร์ พบว่าไพรเมอร์แต่ละชนิดให้จำนวนแถบดีเอ็นเออยู่ระหว่าง 4 - 16 แถบ รวมจำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 328 แถบ หรือเฉลี่ย 9.94 แถบต่อคู่ไพรเมอร์ เป็นแถบดีเอ็นเอที่แสดงพอลิมอร์ฟิซึมจำนวน 302 แถบ และเป็นแถบดีเอ็นเอที่ไม่แสดงความแตกต่างระหว่างตัวอย่างจำนวน 26 แถบ โดยมีแถบดีเอ็นเอที่แสดงพอลิมอร์ฟิซึมเฉลี่ย 9.15 แถบต่อคู่ไพรเมอร์หรือ 92.07 เปอร์เซ็นต์ของแถบดีเอ็นเอทั้งหมด นำข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการตรวจสอบด้วยเทคนิค SRAP มาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมต่อไป

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของตัวอย่างกล้วยน้ำว้า กล้วยป่า และกล้วยตานีสายพันธุ์ต่าง ๆ จำนวน 28 ตัวอย่าง ได้จากการนำข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากเทคนิค SRAP มาคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมด้วยวิธีของ Dice's coefficient (Dice, 1945) โดยใช้โปรแกรม FreeTree ร่วมกับโปรแกรม TreeView พบว่าค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.288 - 1.000 (ตารางที่ 7) และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.757 จากนั้นนำค่าที่ได้มาจัดกลุ่มความสัมพันธ์ด้วยวิธี UPGMA (Sneath and Sokal, 1973) พบว่าสามารถจัดกลุ่มแสดงความใกล้ชิดทางพันธุกรรมในรูปแบบของ phylogenetic tree โดยแบ่งตัวอย่างกล้วยที่ใช้ศึกษาออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ (ภาพที่ 17) คือ กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มของตัวอย่างกล้วยป่า (กล้วยป่าแพร่ และ กล้วยหอมจำปา) และกล้วยไข่ (กล้วยไข่เกษตรศาสตร์ 2 และ กล้วยไข่กำแพงเพชร) ที่มีจีโนมแบบ AA ส่วนกลุ่มที่ 2 แบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มย่อย (A, B และC) โดยกล้วยน้ำว้าทั้ง 16 ตัวอย่าง ซึ่งมีจีโนมแบบ ABB จะถูกจัดอยู่ในกลุ่ม C (II-C) กล้วยตานีทั้ง 3 ตัวอย่างที่มีจีโนมแบบ BB อยู่ในกลุ่มย่อย B (II-B) ส่วนกล้วยหักมุก กล้วยนมหมี และกล้วยหิน ซึ่งมีจีโนมแบบ ABB จะถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน (II-A) ส่วนผลการวิเคราะห์ค่า bootstrap พบว่าค่า bootstrap ส่วนใหญ่มีค่าสูงกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าในการจัดกลุ่มแต่ละครั้ง ผลการจัดกลุ่มได้ผลเหมือนเดิมสูง การจัดกลุ่มมีความน่าเชื่อถือ ส่วนค่า bootstrap ที่มีค่าต่ำกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ที่มักพบในกลุ่มย่อย อาจมีสาเหตุมาจากการสลับที่การจัดกลุ่มภายในกลุ่มย่อยเกิดขึ้น จึงทำให้ค่า bootstrap ที่ได้มีค่าต่ำ

**ตารางที่ 7** ค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมของตัวอย่างกล้วยจำนวน 28 ตัวอย่าง ที่วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SRAP คำนวณด้วยวิธี Dice's coefficient

| No. | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1.000 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | 0.570 | 1.000 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3 | 0.604 | 0.757 | 1.000 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4 | 0.608 | 0.748 | 0.966 | 1.000 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 5 | 0.315 | 0.327 | 0.301 | 0.291 | 1.000 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 6 | 0.316 | 0.329 | 0.332 | 0.311 | 0.688 | 1.000 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 7 | 0.312 | 0.330 | 0.304 | 0.288 | 0.991 | 0.898 | 1.000 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 8 | 0.402 | 0.457 | 0.450 | 0.422 | 0.764 | 0.753 | 0.774 | 1.000 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 9 | 0.403 | 0.459 | 0.451 | 0.423 | 0.761 | 0.756 | 0.771 | 0.997 | 1.000 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 10 | 0.406 | 0.456 | 0.454 | 0.425 | 0.765 | 0.754 | 0.770 | 0.992 | 0.995 | 1.000 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 11 | 0.413 | 0.452 | 0.450 | 0.422 | 0.764 | 0.748 | 0.769 | 0.985 | 0.982 | 0.987 | 1.000 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 12 | 0.406 | 0.456 | 0.454 | 0.425 | 0.765 | 0.749 | 0.770 | 0.992 | 0.990 | 0.995 | 0.987 | 1.000 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 13 | 0.404 | 0.455 | 0.453 | 0.424 | 0.768 | 0.752 | 0.773 | 0.995 | 0.992 | 0.997 | 0.990 | 0.997 | 1.000 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 14 | 0.407 | 0.462 | 0.460 | 0.426 | 0.762 | 0.751 | 0.767 | 0.987 | 0.990 | 0.990 | 0.977 | 0.985 | 0.987 | 1.000 | | | | | | | | | | | | | | |
| 15 | 0.408 | 0.457 | 0.461 | 0.427 | 0.759 | 0.753 | 0.769 | 0.985 | 0.987 | 0.982 | 0.969 | 0.982 | 0.979 | 0.992 | 1.000 | | | | | | | | | | | | | |
| 16 | 0.406 | 0.460 | 0.459 | 0.425 | 0.771 | 0.749 | 0.775 | 0.985 | 0.982 | 0.987 | 0.980 | 0.987 | 0.990 | 0.992 | 0.985 | 1.000 | | | | | | | | | | | | |
| 17 | 0.410 | 0.459 | 0.457 | 0.424 | 0.763 | 0.742 | 0.768 | 0.977 | 0.974 | 0.979 | 0.987 | 0.979 | 0.982 | 0.985 | 0.977 | 0.992 | 1.000 | | | | | | | | | | | |
| 18 | 0.413 | 0.446 | 0.433 | 0.416 | 0.781 | 0.749 | 0.785 | 0.947 | 0.944 | 0.944 | 0.957 | 0.944 | 0.947 | 0.939 | 0.932 | 0.942 | 0.950 | 1.000 | | | | | | | | | | |
| 19 | 0.437 | 0.437 | 0.446 | 0.422 | 0.747 | 0.752 | 0.751 | 0.774 | 0.776 | 0.775 | 0.774 | 0.769 | 0.772 | 0.782 | 0.784 | 0.780 | 0.778 | 0.758 | 1.000 | | | | | | | | | |
| 20 | 0.421 | 0.470 | 0.485 | 0.458 | 0.720 | 0.720 | 0.725 | 0.763 | 0.760 | 0.759 | 0.758 | 0.764 | 0.762 | 0.761 | 0.768 | 0.770 | 0.763 | 0.739 | 0.789 | 1.000 | | | | | | | | |
| 21 | 0.406 | 0.451 | 0.432 | 0.420 | 0.748 | 0.725 | 0.758 | 0.948 | 0.945 | 0.945 | 0.953 | 0.945 | 0.947 | 0.935 | 0.932 | 0.943 | 0.945 | 0.925 | 0.769 | 0.743 | 1.000 | | | | | | | |
| 22 | 0.404 | 0.449 | 0.441 | 0.418 | 0.757 | 0.741 | 0.768 | 0.969 | 0.966 | 0.966 | 0.974 | 0.966 | 0.969 | 0.956 | 0.954 | 0.964 | 0.967 | 0.941 | 0.762 | 0.747 | 0.963 | 1.000 | | | | | | |
| 23 | 0.413 | 0.457 | 0.433 | 0.410 | 0.786 | 0.749 | 0.790 | 0.947 | 0.944 | 0.944 | 0.952 | 0.944 | 0.947 | 0.944 | 0.937 | 0.947 | 0.950 | 0.980 | 0.764 | 0.739 | 0.915 | 0.936 | 1.000 | | | | | |
| 24 | 0.394 | 0.444 | 0.425 | 0.397 | 0.792 | 0.766 | 0.797 | 0.954 | 0.951 | 0.951 | 0.954 | 0.951 | 0.954 | 0.952 | 0.944 | 0.954 | 0.952 | 0.937 | 0.770 | 0.739 | 0.911 | 0.944 | 0.947 | 1.000 | | | | |
| 25 | 0.399 | 0.464 | 0.446 | 0.418 | 0.774 | 0.747 | 0.779 | 0.987 | 0.985 | 0.985 | 0.982 | 0.985 | 0.987 | 0.985 | 0.977 | 0.987 | 0.985 | 0.950 | 0.768 | 0.763 | 0.940 | 0.967 | 0.950 | 0.967 | 1.000 | | | |
| 26 | 0.428 | 0.461 | 0.454 | 0.443 | 0.743 | 0.726 | 0.748 | 0.739 | 0.741 | 0.734 | 0.729 | 0.729 | 0.732 | 0.747 | 0.749 | 0.740 | 0.733 | 0.730 | 0.891 | 0.774 | 0.734 | 0.727 | 0.735 | 0.746 | 0.738 | 1.000 | | |
| 27 | 0.428 | 0.461 | 0.454 | 0.443 | 0.738 | 0.721 | 0.743 | 0.734 | 0.736 | 0.729 | 0.724 | 0.724 | 0.727 | 0.742 | 0.744 | 0.735 | 0.728 | 0.724 | 0.886 | 0.769 | 0.728 | 0.722 | 0.730 | 0.740 | 0.733 | 0.995 | 1.000 | |
| 28 | 0.428 | 0.461 | 0.454 | 0.443 | 0.738 | 0.721 | 0.743 | 0.734 | 0.736 | 0.729 | 0.729 | 0.724 | 0.727 | 0.742 | 0.744 | 0.735 | 0.733 | 0.730 | 0.891 | 0.769 | 0.734 | 0.722 | 0.735 | 0.740 | 0.733 | 0.995 | 0.995 | 1.000 |




**ภาพที่** 17 แผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของตัวอย่างกล้วยจำนวน 28 **ตัวอย่าง สร้างด้วย** วิธี UPGMA โดยอาศัยข้อมูลจากเครื่องหมาย SRAP ด้วยโปรแกรม FreeTree **ร่วมกับโปรแกรม** TreeView

## 2. การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยน้ำว้ามะลิอ่องจำนวน 16 ตัวอย่าง

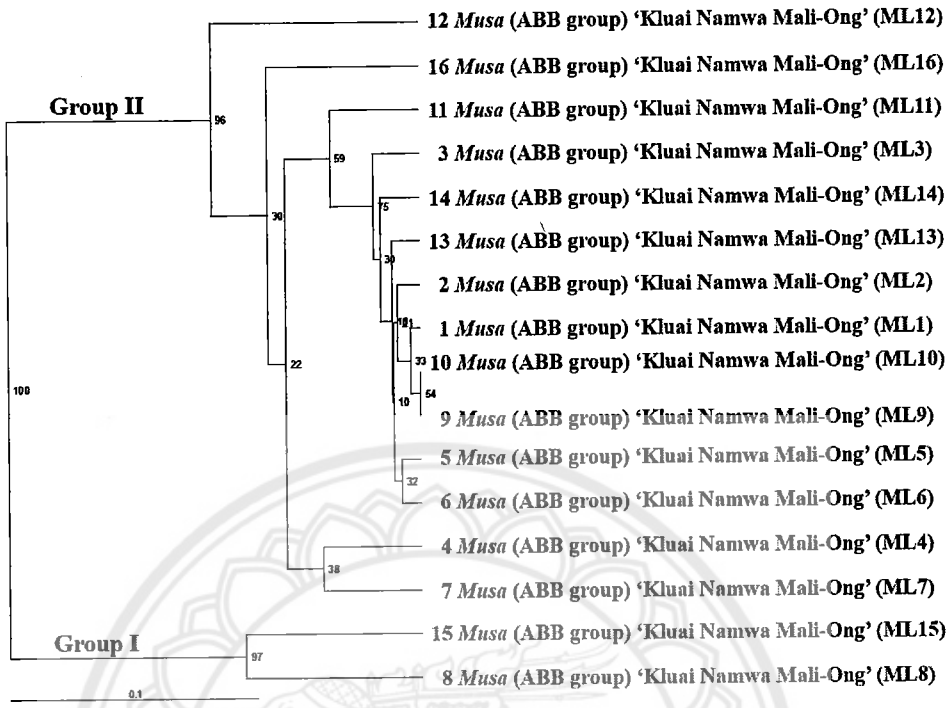
จากการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยน้ำว้ามะลิอ่องจำนวน 16 ตัวอย่าง โดยใช้ไพรเมอร์ SRAP จำนวน 7 คู่ไพรเมอร์ พบว่าไพรเมอร์แต่ละชนิดให้จำนวนแถบดีเอ็นเออยู่ระหว่าง 5 - 7 แถบ โดยไพรเมอร์ Me6/Em7 สามารถสังเคราะห์ดีเอ็นเอได้มากที่สุด 7 แถบ มีขนาดประมาณ 180 - 1,200 คู่เบส ส่วนไพรเมอร์ Me1/Em6 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอน้อยที่สุด จำนวน 5 แถบ มีขนาดประมาณ 200 - 1,000 คู่เบส รวมจำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 39 แถบ หรือเฉลี่ย 5.57 แถบต่อคู่ไพรเมอร์ เป็นแถบดีเอ็นเอที่แสดงพอลิมอร์ฟิซึมจำนวน 24 แถบ และเป็นแถบดีเอ็นเอที่ไม่แสดงความแตกต่างระหว่างตัวอย่างจำนวน 15 แถบ โดยมีแถบดีเอ็นเอที่แสดงพอลิมอร์ฟิซึมเฉลี่ย 3.43 แถบต่อคู่ไพรเมอร์

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของตัวอย่างกล้วยน้ำว้ามะลิอ่องจำนวน 16 ตัวอย่าง พบว่าค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.571 - 1.000 (ตารางที่ 8) และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.875 จากนั้นนำค่าที่ได้มาจัดกลุ่มความสัมพันธ์ด้วยวิธี UPGMA (Sneath and

Sokal, 1973) พบว่าสามารถจัดกลุ่มแสดงความใกล้ชิดทางพันธุกรรมในรูปแบบของ phylogenetic tree โดยแบ่งตัวอย่างกล้วยน้ำว้ามะลิอ่องที่ใช้ศึกษาออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ (ภาพที่ 18) คือ กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มของตัวอย่างกล้วยน้ำว้ามะลิอ่องจำนวน 2 ตัวอย่างที่เก็บมาจากศูนย์วิจัยปากช่อง อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา และ อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี ส่วนกลุ่มที่ 2 คือ ตัวอย่างกล้วยน้ำว้ามะลิอ่องจำนวน 14 ตัวอย่าง ที่เก็บรวบรวมจากแหล่งปลูกของเกษตรกรและแหล่งจำหน่ายหน่อพันธุ์ใน อ.บางกระทุ่ม จ.พิษณุโลก และจังหวัดอื่น ๆ ในประเทศไทย

**ตารางที่** 8 ค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมของตัวอย่างกล้วยน้ำว้ามะลิอ่องจำนวน 16 ตัวอย่าง ที่วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SRAP คำนวณด้วยวิธี Dice's coefficient

| Samples | ML1 | ML2 | ML3 | ML4 | ML5 | ML6 | ML7 | ML8 | ML9 | ML10 | ML11 | ML12 | ML13 | ML14 | ML15 | ML16 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **ML1** | 1.000 | | | | | | | | | | | | | | | |
| **ML2** | 0.977 | 1.000 | | | | | | | | | | | | | | |
| **ML3** | 0.961 | 0.969 | 1.000 | | | | | | | | | | | | | |
| **ML4** | 0.883 | 0.878 | 0.909 | 1.000 | | | | | | | | | | | | |
| **ML5** | 0.976 | 0.969 | 0.969 | 0.876 | 1.000 | | | | | | | | | | | |
| **ML6** | 0.977 | 0.970 | 0.969 | 0.894 | 0.985 | 1.000 | | | | | | | | | | |
| **ML7** | 0.924 | 0.902 | 0.933 | 0.920 | 0.917 | 0.918 | 1.000 | | | | | | | | | |
| **ML8** | 0.680 | 0.680 | 0.694 | 0.703 | 0.673 | 0.680 | 0.733 | 1.000 | | | | | | | | |
| **ML9** | 0.992 | 0.985 | 0.969 | 0.876 | 0.984 | 0.985 | 0.917 | 0.694 | 1.000 | | | | | | | |
| **ML10** | 0.992 | 0.985 | 0.969 | 0.876 | 0.984 | 0.985 | 0.917 | 0.694 | 1.000 | 1.000 | | | | | | |
| **ML11** | 0.928 | 0.938 | 0.921 | 0.840 | 0.921 | 0.922 | 0.847 | 0.646 | 0.937 | 0.937 | 1.000 | | | | | |
| **ML12** | 0.814 | 0.828 | 0.860 | 0.916 | 0.825 | 0.828 | 0.849 | 0.786 | 0.825 | 0.825 | 0.804 | 1.000 | | | | |
| **ML13** | 0.976 | 0.969 | 0.952 | 0.857 | 0.984 | 0.969 | 0.898 | 0.688 | 0.984 | 0.984 | 0.919 | 0.821 | 1.000 | | | |
| **ML14** | 0.968 | 0.961 | 0.944 | 0.864 | 0.960 | 0.961 | 0.889 | 0.695 | 0.976 | 0.976 | 0.927 | 0.829 | 0.976 | 1.000 | | |
| **ML15** | 0.630 | 0.611 | 0.624 | 0.674 | 0.602 | 0.611 | 0.682 | 0.857 | 0.624 | 0.624 | 0.571 | 0.709 | 0.615 | 0.622 | 1.000 | |
| **ML16** | 0.904 | 0.881 | 0.862 | 0.826 | 0.879 | 0.881 | 0.833 | 0.721 | 0.897 | 0.897 | 0.842 | 0.784 | 0.895 | 0.920 | 0.691 | 1.000 |




**ภาพที่ 18** แผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยน้ำว้ามะลิอ่องจำนวน 16 ตัวอย่าง สร้างด้วยวิธี UPGMA โดยอาศัยข้อมูลจากเครื่องหมาย SRAP ด้วยโปรแกรม FreeTree ร่วมกับโปรแกรม TreeView

# สรุปและข้อเสนอแนะ

## สรุปผลการทดลอง

1. จากการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยน้ำว้า กล้วยป่า และกล้วยตานีสายพันธุ์ต่างๆ จำนวน 28 ตัวอย่าง ด้วยไพรเมอร์ SRAP จำนวน 33 คู่ไพรเมอร์ พบว่าไพรเมอร์แต่ละชนิดให้จำนวนแถบดีเอ็นเออยู่ระหว่าง 4 - 16 แถบ รวมจำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 328 แถบ หรือเฉลี่ย 9.94 แถบต่อคู่ไพรเมอร์ เป็นแถบดีเอ็นเอที่แสดงพอลิมอร์ฟิซึมจำนวน 302 แถบ และเป็นแถบดีเอ็นเอที่ไม่แสดงความแตกต่างระหว่างตัวอย่างจำนวน 26 แถบ โดยมีแถบดีเอ็นเอที่แสดงพอลิมอร์ฟิซึมเฉลี่ย 9.15 แถบต่อคู่ไพรเมอร์หรือ 92.07 เปอร์เซ็นต์ของแถบดีเอ็นเอทั้งหมด เมื่อนำข้อมูลจากการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอมาคำนวณค่า PICs พบว่าค่า PICs มีค่าอยู่ระหว่าง 0.16 - 0.34 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.23

2. จากการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยน้ำว้ามะลิอ่องจำนวน 16 ตัวอย่าง โดยใช้ไพรเมอร์ SRAP จำนวน 7 คู่ไพรเมอร์ พบว่าไพรเมอร์แต่ละชนิดให้จำนวนแถบดีเอ็นเออยู่ระหว่าง 5 - 7 แถบ โดยไพรเมอร์ Me6/Em7 สามารถสังเคราะห์ดีเอ็นเอได้มากที่สุด 7 แถบ มีขนาดประมาณ 180 - 1,200 คู่เบส ส่วนไพรเมอร์ Me1/Em6 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอน้อยที่สุด จำนวน 5 แถบ มีขนาดประมาณ 200 - 1,000 คู่เบส รวมจำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 39 แถบ หรือเฉลี่ย 5.57 แถบต่อคู่ไพรเมอร์ เป็นแถบดีเอ็นเอที่แสดงพอลิมอร์ฟิซึมจำนวน 24 แถบ และเป็นแถบดีเอ็นเอที่ไม่แสดงความแตกต่างระหว่างตัวอย่างจำนวน 15 แถบ โดยมีแถบดีเอ็นเอที่แสดงพอลิมอร์ฟิซึมเฉลี่ย 3.43 แถบต่อคู่ไพรเมอร์

3. การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของตัวอย่างกล้วยน้ำว้า กล้วยป่า และกล้วยตานีสายพันธุ์ต่าง ๆ จำนวน 28 ตัวอย่าง ได้จากการนำข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากเทคนิค SRAP มาคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมด้วยวิธีของ Dice's coefficient (Dice, 1945) โดยใช้โปรแกรม FreeTree ร่วมกับโปรแกรม TreeView พบว่าค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.288 - 1.000 และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.757 สามารถจัดกลุ่มแสดงความใกล้ชิดทางพันธุกรรมในรูปแบบของ phylogenetic tree โดยแบ่งตัวอย่างกล้วยที่ใช้ศึกษาออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่

4. การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของตัวอย่างกล้วยน้ำว้ามะลิอ่องจำนวน 16 ตัวอย่าง พบว่าค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.571 - 1.000 และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.875 สามารถจัดกลุ่มแสดงความใกล้ชิดทางพันธุกรรมในรูปแบบของ phylogenetic tree โดยแบ่งตัวอย่างกล้วยน้ำว้ามะลิอ่องที่ใช้ศึกษาออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่

## ข้อเสนอแนะ

1. จากการศึกษาในครั้งนี้ การเก็บรวบรวมตัวอย่างกล้วยน้ำว้ายังไม่ครอบคลุมทุกจังหวัดของประเทศไทย ดังนั้นเพื่อให้ได้ผลการศึกษาที่ชัดเจนมากยิ่งขึ้นควรเพิ่มจำนวนตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาให้ครอบคลุมทุกจังหวัดของประเทศไทย ซึ่งอาจจะพบตัวอย่างที่มีความแตกต่างจากตัวอย่างที่ทำการศึกษาในครั้งนี้

2. ควรทำการเก็บข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพิ่มเติม เช่น ขนาดและรูปร่างใบ สีของก้านใบ ความยาวของก้านดอก สีและการแตกของลำต้น การม้วนของกาบปลี สีของกาบปลี เป็นต้น เพื่อใช้เป็นข้อมูลร่วมในการจัดจำแนกชนิดของตัวอย่างกล้วยสกุลมิวซาและกล้วยน้ำว้าสายพันธุ์ต่างๆ ว่ามีความสอดคล้องกับการจัดกลุ่มที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้หรือไม่

3. ควรมีการยืนยันผลด้วยวิธีการเปลี่ยนแถบดีเอ็นเอให้สามารถตรวจสอบได้ด้วยวิธีพีซีอาร์แบบจำเพาะ (SCAR marker) โดยการตัดแถบดีเอ็นเอแล้วนำมาโคลนแล้วหาลำดับเบส จากนั้นนำไพรเมอร์คู่ใหม่ที่ออกแบบได้ไปเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากตัวอย่างเดิม ซึ่งจะเป็นการเพิ่มความละเอียดของข้อมูลในระดับดีเอ็นเอให้สูงขึ้น

# เอกสารและสิ่งอ้างอิง


กัลยาณี สุวิทวัส. 2554. กล้วยน้ำว้าปากช่อง 50. นิทรรศการงานวิจัย บนเส้นทางงานวิจัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ปี 2554 งานเกษตรแฟร์ ประจำปี 2554

กัลยาณี สุวิทวัส, นงลักษณ์ เทียนเสรี, ภาสันต์ ศารทูลทัต, พินิจ กรินทร์ธัญญกิจ และ พิมพ์นิภา เพ็งช่าง. 2557. การจำแนกกล้วยน้ำว้าโดยใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาและลายพิมพ์ดีเอ็นเอ. **แก่นเกษตร** 42: 186-191.

ดลรัชต์ สุดหล้า ปรียา พวงส าลี หวังสมนึก พิเชษฐ์ศักดิ์ ศรีวงศ์ พินิจ หวังสมนึก สนั่น จอกลอย และ อารันต์ พัฒโนทัย. 2553. **ความหลากหลายของแก่นตะวันจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล SRAPs.** ใน: การประชุมวิชาการเกษตร ครั้งที่ 11 คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น. 476-481.

ณรงค์ โฉมเฉลา. 2547. **กล้วยปลูก.** วารสารเครือข่ายพืชปลูกพื้นเมืองไทย 4: 13-14.

ณรงค์ โฉมเฉลา และ สมรรถชัย ฉัตราคม. 2547. **สายพันธุ์กล้วยน้ำว้า.** วารสารเครือข่ายพืชปลูกพื้นเมืองไทย 4: 19-23.

เบญจมาศ ศิลาย้อย. 2538. **กล้วย.** พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: บริษัท ประชาชน จำกัด.

สมรรถชัย ฉัตราคม. 2541. พันธุ์กล้วยในเมืองไทย. ใน **กล้วยในเมืองไทย.** หน้า 17-37. กรงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์มติชน.

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2552. **เครื่องหมายดีเอ็นเอ: จากพื้นฐานสู่การประยุกต์.** สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อภิชาติ ศรีสะอาด และ พัชรี สำโรงเย็น. 2559. **กล้วยน้ำว้าสายพันธุ์ยักษ์.** พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: นาคา อินเตอร์มีเดีย จำกัด.

Al-Najm A., Luo S., Ahmad N.M., Trethowan R. 2016. Molecular variability and genetic relationships of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars based on inter-primer binding site (iPBS) markers. **Aust. J. Crop Sci.** 10: 732-740.

Alzohairy A.M., Gyulai G., Ramadan M.F., Edris S., Sabir J.S.M., Jansen R.K., Eissa H.F., Bahieldin A. 2014. Retrotransposon-based molecular markers for assessment of genomic diversity. **Funct. Plant Biol.** 41: 781-789.

Baranek M., Meszaros M., Sochorova J., Cechova J., Raddova J., 2012. Utility of retrotransposon-derived marker systems for differentiation of presumed clones of the apricot cultivar Velkopavlovicka. **Sci. Hortic.** 143: 1-6.

Eimert K., Reutter G. and Strolka B. 2003. Fast and reliable detection of doubled-haploids in Asparagus officinalis by stringent RAPD-PCR. **J. Agr. Sci.** 141: 73-78.

Ferriol, M., Picó, B. and Nuez, F. 2003. Genetic diversity of a germplasm collection of *Cucurbita pepo* using SRAP and AFLP markers. **Theor. Appl. Genet.** 107: 271-282.

Guo D.L., Guo M.X., Hou X.G., Zhang G.H. 2014. Molecular diversity analysis of grape varieties based on iPBS markers. **Biochem. Syst. Ecol.** 52: 27-32.

Jain P.K., Saini M.L., Pathak H., Gupta P.K. 2007. Analysis of genetic variation in different banana (*Musa* species) variety using random amplified polymorphic DNAs (RAPDs). **African J. Biotech.** 6: 1987- 1989.

Kalendar R., Antonius K., Smykal P., Schulman A. 2010. iPBS: a universal method for DNA fingerprinting and retrotransposon isolation. **Theor. Appl. Genet.** 121: 1419-1430.

Li, G., and Quiros, C.F. 2001. Sequence related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: it application to mapping and gene tagging in the Brassica. **Theor. Appl. Genet.** 130: 445-461.

Mehmood A., Jaskani M.J., Saeed A., Rashid A. 2013. Evaluation of genetic diversity in open pollinated guava by iPBS primers. **Pak. J. Agr. Sci.** 50: 591-597.

Phothipan, S., Silayoi, B., Wanichkul, K. and S. Apisitwanich. 2005. Genetic relationship among bananas in AA, AAB and BB groups using random amplified polymorphic DNA (RAPD) and sequence related amplified polymorphism (SRAP) techniques. **Kasetsart J. (Nat. Sci.)** 39: 703-710.

Poczai, P., Varga, I., Laos, M., Cseh, A., Bell, N., Valkonen, J. P., et al. 2013. Advances in plant gene-targeted and functional markers: a review. **Plant Methods** 9, 6.

Ramsey J. and Schemske D.W. 1998. Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. **Annual Review of Ecology and Systematics** 29: 467-501.

Ruangsuttapha, S., K. Eimert, M.B. Schroder, B. Silayoi, J. Denduangboripant and K. Kanchanapoom. 2007. Molecular phylogeny of banana cultivars from Thailand based on HAT-RAPD markers. **Genet. Resour. Crop Evol.** 54: 1565-1572.

Simmonds, N.W. and Shepherd, K. 1955. The taxonomy and origins of the cultivated bananas. Journal of the Linnean Society of London. **Botany** 55: 302-312.

Smykal P., Bacova-Kerteszova N., Kalendar R., Corander J., Schulman A.H. Pavelek M. 2011. Genetic diversity of cultivated flax (*Linum usitatissimum* L.) germplasm assessed by retrotransposon-based markers. **Theor. Appl. Genet.** 122: 1385-1397.

Sneath P.H.A. and Sokal R.R. 1973. **Numerical taxonomy: the principles and practice of numerical classification.** San Francisco: Freeman, 573 p.

Valmayor R. V., S. H. Jamaluddin, B. Silayoi, S. Kusumo, L. D. Danh, O. C. Pascua and R. R. C. Espino. 2000. **Banana cultivar names and synonyms in Southeast Asia.** International Network for the Improvement of Banana and Plaintain – Asia and the Pacific Office, Los Banos, Laguna, Philippines.

Zhao, W., Fang, R., Pan, Y., Yang, Y., Chung, J.W., Chung, L. and Park, Y.J. 2009. Analysis of genetic relationships of mulberry (*Morus* L.) germplasm using Sequence-related amplified polymorphism (SRAP) marker. **Afr. J. Biotechnol.** 8: 2604-2610.

**บทความสำหรับการเผยแพร่**

Boonsrangsom, T., Phetnin, B., Ratanasut, K. and Sujipuli, K. 2020. Assessment of genetic diversity among *Musa* cultivars based on sequence - related amplified polymorphism technique. **Naresuan University Journal: Science and Technology (NUJST)**, 28(2): xxx-xxx.