การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางพันธุกรรมที่สัมพันธ์กับลักษณะดอกของกล้วยไม้สกุลช้าง

Analysis of Genetic Variation Associated with Flower Characteristics of Genus *Rhynchostylis*

สุพัตรา เจริญภักดี[1/] และ วีณัน บัณฑิตย์[1/]

Supattra Charoenpakdee[1/] and Weenun Bundithya[1/]

Abstract : Genetic variation associated with flower characteristics of *Rhynchostylis coelestis* Rchb.f. and *Rhynchostylis gigantea* Ridl. were studied by RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA) technique using 24 primers. It was found that primers: OPAK01, OPAK11, OPD16, OPF10, OPF12 and OPF16 for *Rhynchostylis coelestis*; OPAK10, OPD05, OPD10 , OPF07 and OPF10 for *Rhynchostylis gigantea* were able to show genetic relationships. This RAPD technique has potentials for identification of genetic variation associated with flower characteristics of Genus *Rhynchostylis*.

Keywords : *Rhynchostylis*, genetic variation, RAPD

บทคัดย่อ : การนำเทคนิคอาร์เอพีดีมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางพันธุกรรมที่สัมพันธ์กับลักษณะสีดอกของกล้วยไม้สกุลช้าง 2 กลุ่ม คือ 1) กลุ่มเขาแกะ (*Rhynchostylis coelestis* Rchb.f.) ได้แก่ เขาแกะเผือก และเขาแกะธรรมดา 2) กลุ่มช้าง (*Rhynchostylis gigantea* Ridl.) ได้แก่ ช้างแดง ช้างเผือก ช้างกระ และช้างประหลาด เมื่อนำดีเอ็นเอไปเพิ่มปริมาณ โดยใช้ไพรเมอร์ 24 ชนิด พบว่า ไพรเมอร์ที่สามารถนำมาจัดกลุ่มแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกลุ่มเขาแกะได้ คือ ไพรเมอร์ OPAK01, OPAK11, OPD16, OPF10, OPF12 และ OPF16 ส่วนกลุ่มช้าง คือ ไพรเมอร์ OPAK10, OPD05, OPD10 , OPF07 และ OPF10 เทคนิคอาร์เอพีดีนี้มีศักยภาพในการบ่งชี้ความแตกต่างทางพันธุกรรมที่สัมพันธ์กับลักษณะสีดอกของกล้วยไม้สกุลช้างได้

คำสำคัญ : กล้วยไม้สกุลช้าง ความแปรปรวนทางพันธุกรรม อาร์เอพีดี

[1/] ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

[1/] Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand.

คำนำ

กล้วยไม้เป็นไม้ดอกไม้ประดับที่มีการส่งออกมากที่สุดของไทย โดยมีการส่งออกมากว่า 35 ปี ในปัจจุบันมีการส่งออกทั้งในลักษณะต้น และตัดดอก เป็นมูลค่าไม่น้อยกว่า 1,200 ล้านบาทต่อปี หรือคิดเป็นร้อยละ 85 ของการส่งออกไม้ดอกไม้ประดับทั้งหมด ปริมาณ และมูลค่าการส่งออกกล้วยไม้ของไทยเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง คาดว่าในอนาคตจะเป็นพืชที่นำรายได้จำนวนมากมาสู่ประเทศไทย (อานนท์, 2547)

กล้วยไม้สกุลช้าง (*Rhynchostylis*) อยู่ในวงศ์ Orchidaceae เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว (กลุ่มเกษตรสัญจร, 2541) พบในเอเชีย จากอินเดีย พม่า ไทย ลาว บอร์เนียว และฟิลิปปินส์ มีการเจริญเติบโตแบบโมโนโพเดียล (monopodial) คล้ายแวนด้า (ชวลิต, 2542) จัดเป็นกล้วยไม้ที่มีช่องาม ดอกมีกลิ่นหอม ซึ่งได้รับความสนใจนำมาปลูกเลี้ยง ตลอดจนทำการผสมพันธุ์ เพื่อให้ได้กล้วยไม้ลูกผสมที่มีลักษณะดีเด่นยิ่งขึ้นไป กล้วยไม้สกุลช้างที่น่าสนใจ คือ

Rhynchostylis gigantea Ridl. หรือ ช้าง แบ่งเป็นพันธุ์ต่าง ๆ ตามสีของดอก คือ ช้างเผือก มีกลีบดอกและปากมีสีขาวล้วน ช้างแดง มีกลีบดอกและปากมีสีแดงอมม่วง ช้างกระ หรือ ช้างค่อม มีกลีบดอกพื้นสีขาว มีจุดสีแดงอมม่วงขนาดสม่ำเสมอกระจายทั้งดอก และช้างประหลาด ซึ่งเกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่างช้างแดงกับช้างกระ (อานนท์, 2547) บางต้นมีจุดกระเพียงเล็กน้อยเกือบเป็นช้างเผือก หรือมีจุดกระมากมาย เป็นปื้นโต ๆ (ไพบูลย์, 2521)

Rhynchostylis coelestis Rchb.f. หรือ เขาแกะ แบ่งเป็นพันธุ์ต่าง ๆ ตามสีของดอก คือ เขาแกะธรรมดา กลีบดอกสีขาว มีแต้มสีม่วงคราม ที่ปลายกลีบทุกกลีบ ปากมีสีม่วงครามมากกว่าที่กลีบ และเขาแกะเผือก มีดอกสีขาวบริสุทธิ์

การนำเทคนิคทางชีวโมเลกุลเข้ามาช่วยในการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางพันธุกรรมของพืช ช่วยลดปัญหาในการจำแนกสายพันธุ์ที่สับสน ให้ถูกต้องแม่นยำขึ้น เป็นการสนับสนุนงานทางด้านการปรับปรุงพันธุ์ การผลิตเมล็ดพันธุ์พืชให้ตรงตามพันธุ์ และการคัดเลือกสายพันธุ์พืชในขณะที่ต้นยังเล็กไม่สามารถเห็นลักษณะที่สนใจ อีกทั้งยังช่วยจำแนกต้นที่เกิดการกลายพันธุ์ได้เร็วขึ้น สามารถตรวจสอบความแตกต่างของพันธุ์ (cultivar) และชนิด (species) พืช ซึ่งเทคนิคอาร์เอพีดี (RAPD, Randomly Amplified Polymorphic DNA) เป็นเทคนิคทางชีวโมเลกุลวิธีการหนึ่งที่มีประสิทธิภาพในการจำแนกพันธุ์พืชในระดับจีโนไทป์ (Yu and Nguyen, 1994) การศึกษาครั้งนี้จึงได้นำเทคนิคอาร์เอพีดีมาใช้ในการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางพันธุกรรมในระดับดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลช้าง

วิธีการทดลอง

ตัวอย่างพืช

กล้วยไม้สกุลช้าง 2 ชนิด คือ 1) เขาแกะ (*R. coelestis* Rchb.f.) ได้แก่ เขาแกะธรรมดา และเขาแกะเผือก ชนิดละ 10 ต้น และ 2) ช้าง (*R. gigantea* Ridl.) ได้แก่ ช้างกระ ช้างแดง ช้างเผือก และช้างประหลาด ชนิดละ 5 ต้น

การสกัดดีเอ็นเอ

นำใบที่สมบูรณ์จากตำแหน่งที่ 3-4 นับจากยอดของกล้วยไม้สกุลช้าง 1 กรัม มาบดให้ละเอียด สกัดดีเอ็นเอโดยวิธีการของ Doyle and Doyle (1990) แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C ตรวจสอบคุณภาพ และความเข้มข้นของดีเอ็นเอด้วยเจลอะกาโรส 1.5% ใน 1× TAE buffer

ปฏิกิริยาพีซีอาร์

ดีเอ็นเอถูกเพิ่มปริมาณใน reaction mixture ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ประกอบด้วย 1× PCR buffer, 1.5 mM $MgCl_2$, 100 µM dNTPs (dATP, dTTP, dCTP, dGTP), 1.0 Unit *Taq* DNA Polymerase (INVITROGEN), 100 ng. ไพรเมอร์ 10-20 ng. DNA template และ deionized water ปฏิกิริยาพีซีอาร์มีขั้นตอนดังนี้ 94 °C-180 วินาที, 45 รอบ 94 °C-45 วินาที 40 °C-45 วินาที 72 °C-60 วินาที, 72 °C-180 วินาที แล้วนำดีเอ็นเอที่ได้ไปแยกในเจลอะกาโรส 1.5% ใช้ความต่าง

ศักย์ 50 โวลต์ นาน 150 นาที บันทึกภาพด้วยโปรแกรม Gene Snap

ไพรเมอร์ที่ใช้ในการศึกษา (Operon Technology Alamada, USA) จำนวน 24 ชนิด คือ OPAK01, OPAK05, OPAK06, OPAK10, OPAK11, OPAK17, OPAK20, OPD05, OPD10, OPD11, OPD16, OPD17, OPD18, OPD19, OPD20, OPF03, OPF07, OPF08, OPF10, OPF11, OPF12, OPF13, OPF16 และ OPF17

การวิเคราะห์ข้อมูล

คำนวณขนาดโมเลกุลด้วยโปรแกรม Gene Tool ประมวลผลความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในระดับดีเอ็นเอด้วย Gene Directory โดยใช้ UPGMA cluster analysis

ผลการทดลอง

การใช้เทคนิคอาร์เอพีดีในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของกล้วยไม้สกุลช้าง สามารถให้แถบดีเอ็นเอที่มีขนาดโมเลกุลแตกต่างกัน เกิดเป็นแถบเครื่องหมายดีเอ็นเอเฉพาะตัวในแต่ละกลุ่มสี (ไม่ได้แสดงข้อมูล) เมื่อนำการปรากฏ หรือไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอในแต่ละตำแหน่งมาพิจารณาความสัมพันธ์ด้วย UPGMA cluster analysis จากไพรเมอร์ที่แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอชัดเจน เลือกจัดกลุ่มที่เปอร์เซ็นต์ความเหมือนทางพันธุกรรม ซึ่งมีแนวโน้มที่การแสดงออกของแถบมีความสัมพันธ์กับลักษณะทางฟีโนไทป์ที่สนใจ คือ ลักษณะสีของดอก ดังนี้

แบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอภายในกลุ่มกล้วยไม้เขาแกะ (*Rhynchostylis coelestis* Rchb.f.)

การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้กลุ่มเขาแกะธรรมดาที่มีปลายกลีบดอก และปากสีม่วง กับกล้วยไม้เขาแกะเผือกที่มีกลีบดอก และปากสีขาวทั้งหมด ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดีโดยใช้ 15 ไพรเมอร์ คือ OPAK01, OPAK05, OPAK06, OPAK11, OPD16, OPD17, OPD18, OPD19, OPD20, OPF03, OPF10, OPF11, OPF12, OPF16 และ OPF17 ผลที่ได้สามารถจัดเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอไม่ชัดเจน ได้แก่ OPD18 และกลุ่มที่แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอชัดเจน ได้แก่ OPAK01, OPAK05, OPAK06, OPAK11, OPD16, OPD17, OPD19, OPD20, OPF03, OPF10, OPF11, OPF12, OPF16 และ OPF17 โดยแสดงผลตัวอย่างลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (ภาพที่ 1) และเดนโดรแกรม (ภาพที่ 2) ที่ได้จากไพรเมอร์ OPD16 ซึ่งที่ความเหมือนทางพันธุกรรม 66 เปอร์เซ็นต์ สามารถแบ่งตัวอย่างพืชเป็น 2 กลุ่ม โดยเขาแกะเผือกทั้งหมดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน ส่วนเขาแกะธรรมดา 8 ตัวอย่างถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

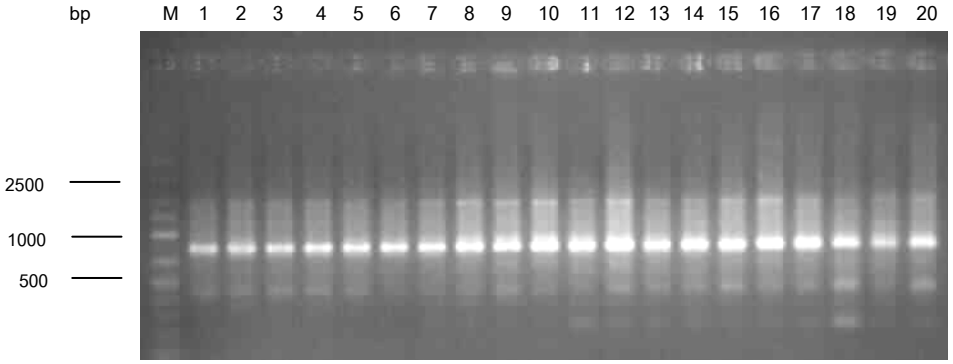


Figure 1 DNA fingerprint of *Rhynchostylis coelestis* alba (1-10) and normal (11-20) by primer OPD16, M = standard marker.

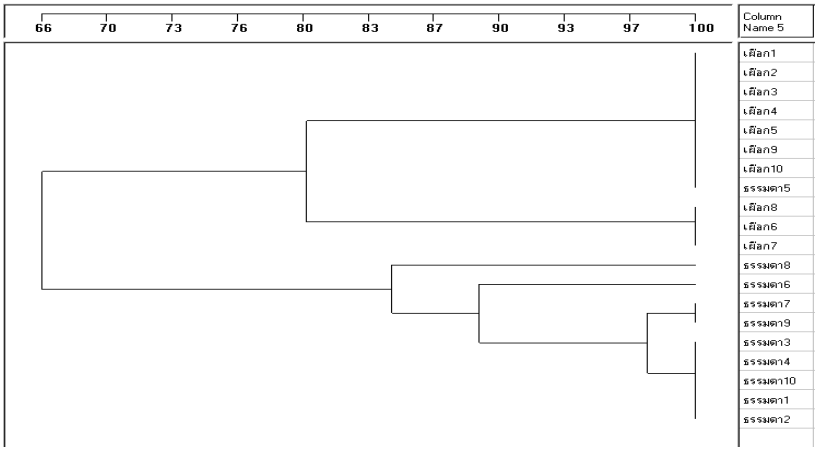


Figure 2 Dendrogram based on RAPD data of *Rhynchostylis coelestis* alba and normal as analyzed by UPGMA (primer OPD16).

แบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอภายในกลุ่มกล้วยไม้ช้าง (*Rhynchostylis gigantea* Ridl.)

การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้ช้าง 4 ชนิด คือ 1) ช้างแดงมีดอกสีแดง (สีแดงอมม่วง) ทั้งดอก 2) ช้างเผือกมีดอกสีขาวทั้งดอก 3) ช้างกระบางต้นพื้นดอกสีขาวมีประจุดสีม่วงแดง โดยขนาด และจำนวนของความหนาแน่นของจุดค่อนข้างสม่ำเสมอ และ 4) ช้างประหลาดมีจุดสีม่วงแดง โดยขนาด และจำนวนของความหนาแน่นของจุดไม่สม่ำเสมอแตกต่างกันไป โดยใช้ไพรเมอร์ 14 ชนิด คือ OPAK01, OPAK06, OPAK10, OPAK17, OPAK20, OPD05, OPD10, OPD11, OPD18, OPD20, OPF07, OPF08, OPF10, และ OPF13 ผลที่ได้แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ไม่แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ได้แก่ OPAK17 และกลุ่มที่แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ได้แก่ OPAK01, OPAK06, OPAK10, OPAK20, OPD05, OPD10, OPD11, OPD18, OPD20, OPF07, OPF08, OPF10 และ OPF13 โดยแสดงผลตัวอย่างลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (ภาพที่ 3) และเดนโดรแกรม (ภาพที่ 4) ที่ได้จากไพรเมอร์ OPF10 ซึ่งสามารถจำแนกกลุ่มตัวอย่างช้างแดงออกจากกลุ่มอื่นได้ และมีความเหมือนทางพันธุกรรมภายในกลุ่มที่ระดับ 37% ภายในกลุ่มช้างกระมีความเหมือนทางพันธุกรรมประมาณ 34% โดยมีช้างเผือกปน 1 ตัวอย่าง และสามารถแยกจากกลุ่มอื่น ๆ ได้ โดยมีความเหมือนทางพันธุกรรมกับกลุ่มตัวอย่างอื่น ๆ เพียง 8% อย่างไรก็ตาม ไพรเมอร์ OPF10 ไม่เหมาะสมในการจัดกลุ่มช้างเผือกและช้างประหลาด เนื่องจากแถบดีเอ็นเอมีการกระจายตัวมาก จำแนกได้ไม่ชัดเจน

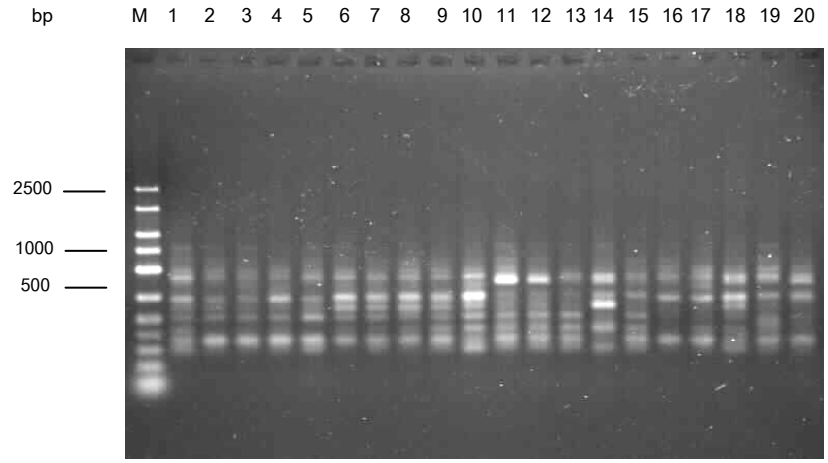


Figure 3 DNA fingerprint of *Rhynchostylis gigantea* var. *rubum* (1-5), *alba* (6-10), *illustre* (11-15), and *strange* (16-20) by primer OPF10, M = standard marker.

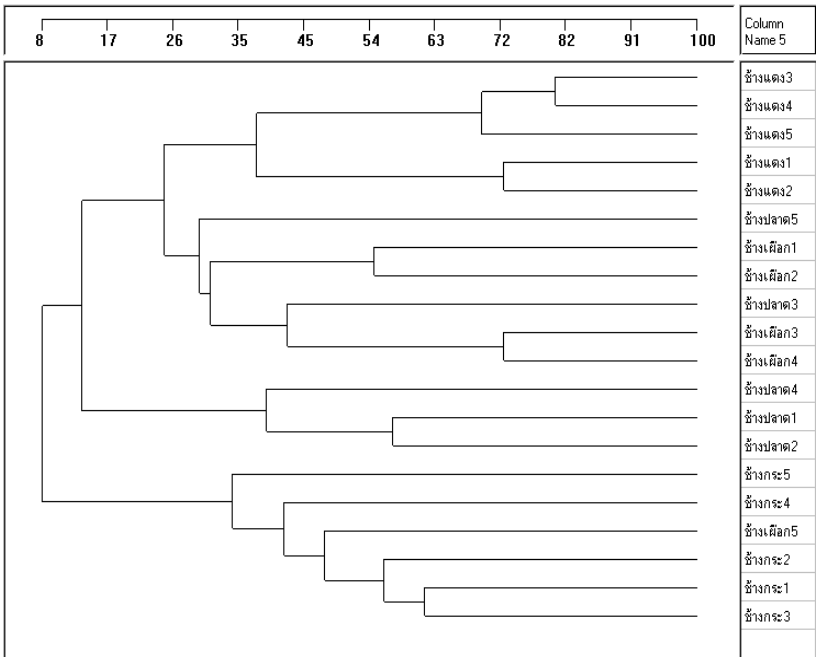


Figure 4 Dendrogram based on RAPD data of *Rhynchostylis gigantea* var. *rubum*, *alba*, *illustre*, and *strange*, as analyzed by UPGMA (primer OPF10).

วิจารณ์ผลการทดลอง

แบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอภายในกลุ่มกล้วยไม้เขาแกะ (*Rhynchostylis coelestis* Rchb.f.)

การใช้เทคนิคอาร์เอพีดี เพื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนทางพันธุกรรมของกลุ่มกล้วยไม้เขาแกะ ปรากฏลักษณะของลายพิมพ์ดีเอ็นเอเป็นแบบ polymorphic band ในทุกไพรเมอร์ แบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม คือ

1) **กลุ่มที่แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอไม่ชัดเจน** เป็นปื้นไม่สามารถแยกแถบแต่ละแถบออกจากกัน ได้แก่ ไพรเมอร์ OPD18

2) **กลุ่มที่แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอได้ชัดเจนแต่ไม่เหมาะสมต่อการนำมาจัดกลุ่มทางพันธุกรรม** ได้แก่ กลุ่มที่มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมมาก พบเปอร์เซ็นต์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมต่ำ เนื่องจากเป็นกลุ่มไพรเมอร์ที่เข้าไปเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในบริเวณที่มีความหลากหลายในจีโนม ได้ polymorphic band จำนวนมาก แม้จะเป็นกลุ่มกล้วยไม้เขาแกะธรรมดา หรือกลุ่มกล้วยไม้เขาแกะเผือกเหมือนกัน ได้แก่ OPAK05, OPAK06, OPD19, OPD20, OPF03, OPF11 และ OPF17 ส่วน OPD17 นั้นเกิด polymorphic band เพียงเล็กน้อย อาจเนื่องจากไพรเมอร์เข้าไปเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในส่วนที่ไม่แตกต่างกันในจีโนม หรือ PCR product จากต่างบริเวณในจีโนมมีขนาดเท่ากัน นอกจากนั้นแล้วการใช้ไพรเมอร์ที่มีความยาวน้อยเพียง 10 นิวคลีโอไทด์ ทำให้ไม่จำเพาะเจาะจงกับลักษณะสีของดอก เนื่องจากไพรเมอร์สามารถเข้าจับกับดีเอ็นเอต้นแบบได้หลายตำแหน่ง ซึ่งอาจปรับการทดลองโดยเพิ่มความยาวของไพรเมอร์

3) **กลุ่มที่แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอได้ชัดเจนสามารถนำมาจัดกลุ่มแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมได้** ได้แก่ ไพรเมอร์ OPAK01, OPAK11, OPD16, OPF10, OPF12 และ OPF16 สามารถแยกเขาแกะธรรมดาออกจากเขาแกะเผือกได้ โดยแต่ละไพรเมอร์มีเปอร์เซ็นต์ความเหมือนทางพันธุกรรมแตกต่างกันไป เนื่องจากเข้าไปเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในตำแหน่งที่แตกต่างกันในจีโนม

แบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอภายในกลุ่มกล้วยไม้ช้าง (*Rhynchostylis gigantea* Ridl.)

จากการใช้ไพรเมอร์ 14 ชนิด เข้าสุ่มจับกับดีเอ็นเอต้นแบบของกลุ่มกล้วยไม้ช้างแดง ช้างเผือก ช้างกระ และช้างเผือก ส่วนใหญ่ปรากฏลักษณะของลายพิมพ์ดีเอ็นเอเป็นแบบ polymorphic band ผลที่ได้พิจารณาเป็น 3 กลุ่ม คือ

1) **กลุ่มที่ไม่สามารถเกิด** PCR product ได้แก่ ไพรเมอร์ OPAK17

2) **กลุ่มที่แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอได้ชัดเจนแต่ไม่เหมาะสมต่อการนำมาจัดกลุ่มทางพันธุกรรมตามลักษณะสีของดอก** ได้แก่ กลุ่มที่มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมมาก เป็นกลุ่มไพรเมอร์ที่เข้าไปเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในบริเวณที่มีความหลากหลายในจีโนม จึงทำให้เปอร์เซ็นต์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมต่ำ แม้จะเป็นกลุ่มกล้วยไม้ช้างแดง ช้างเผือก ช้างกระ หรือช้างประหลาดเหมือนกัน ได้แก่ OPAK06 และ OPD18 ส่วน OPAK01, OPAK20, OPD11, OPD20 และ OPF13 นั้นเกิด polymorphic band เพียงเล็กน้อย เนื่องจากไพรเมอร์เข้าไปเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในส่วนที่มีลำดับเบส หรือขนาดของดีเอ็นเอต้นแบบไม่แตกต่างกันในจีโนม จึงทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดโมเลกุลไม่แตกต่างกัน นอกจากนี้ยังพบว่ามีการกระจายตัวของแถบดีเอ็นเอที่พบในช้างประหลาดในกลุ่มตัวอย่างช้างแดง และช้างกระ เนื่องมาจากกล้วยไม้กลุ่มช้างประหลาดนั้น เกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่างกลุ่มช้างแดง และช้างกระ (อานนท์, 2547) เหตุผลส่วนหนึ่งของความยากในการจำแนกกลุ่มกล้วยไม้ช้างตามลักษณะสีดอกนั้นอาจเนื่องมาจากธรรมชาติของพืชโดยกล้วยไม้เป็นพืชที่มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมสูงมาก สามารถผสมพันธุ์กันได้ในสกุลเดียวกัน หรือข้ามสกุลก็ได้ คือ จัดเป็นพวก highly heterozygous (ณัฐา, 2545) ซึ่งต้นกล้วยไม้ที่ใช้ในการศึกษานั้นมีแหล่งที่มาต่างกันและล้วนเป็นต้นที่เกิดจากเมล็ด ดังนั้นจึงเป็นการยากที่จะแยกกลุ่มกล้วยไม้ช้างออกจากกัน ซึ่งการสุ่มตัวอย่าง และความสม่ำเสมอของประชากรเป็นปัจจัยสำคัญในการตรวจสอบ

3) **กลุ่มที่แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอได้ชัดเจน สามารถนำมาจัดกลุ่มแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมได้ตามลักษณะสีของดอก** ได้แก่ ไพรเมอร์ OPAK10 สามารถจำแนกช้างกระออกจากกลุ่มอื่นได้ ไพรเมอร์ OPD05, OPD10, OPF07 และ OPF10 สามารถจำแนกช้างแดงออกจากกลุ่มอื่นได้ โดยแต่ละไพรเมอร์มีเปอร์เซ็นต์ความเหมือนทางพันธุกรรมแตกต่างกันไป เนื่องจากเข้าไปเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในตำแหน่งที่แตกต่างกันในจีโนม

สรุปผลการทดลอง

การนำเทคนิคอาร์เอพีดีมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลช้างใช้ ไพรเมอร์ขนาด 10 นิวคลีโอไทด์ จำนวน 24 ไพรเมอร์ สุ่มจับกับดีเอ็นเอต้นแบบในกลุ่มกล้วยไม้เขาแกะ และกลุ่มกล้วยไม้ช้าง แบ่งไพรเมอร์ที่ใช้ได้ 3 กลุ่ม คือ

1) กลุ่มที่แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอไม่ชัดเจน ในกลุ่มกล้วยไม้เขาแกะ คือ ไพรเมอร์ OPD18 หรือกลุ่มที่ไม่สามารถเกิด PCR product ได้ ในกลุ่มกล้วยไม้ช้าง คือ ไพรเมอร์ OPAK17

2) กลุ่มที่กลุ่มที่แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอได้ชัดเจน แต่ไม่เหมาะสมต่อการนำมาจัดกลุ่มทางพันธุกรรม ในกลุ่มกล้วยไม้เขาแกะ คือ ไพรเมอร์ OPAK05, OPAK06, OPD17, OPD19, OPD20, OPF03, OPF11 และ OPF17 ในกลุ่มกล้วยไม้ช้าง คือ ไพรเมอร์ OPAK01, OPAK06, OPAK20, OPD11, OPD18, OPD20 และ OPF13

3) กลุ่มที่แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอได้ชัดเจน สามารถนำมาจัดกลุ่มแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมได้ คือ ในกลุ่มกล้วยไม้เขาแกะ คือ ไพรเมอร์ OPAK01, OPAK11, OPD16, OPF10, OPF12 และ OPF16 ในกลุ่มกล้วยไม้ช้าง คือ ไพรเมอร์ OPAK10, OPD05, OPD10, OPF07 และ OPF10

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้จัดทำ ขอขอบคุณ ดร. พิมพ์ใจ อาภาวัชรุตม์ ดร. ณัฐา ควรประเสริฐ โครงการพัฒนาคุณภาพไม้ดอกทางเศรษฐกิจ (กล้วยไม้) และโครงการย่อยบัณฑิตศึกษาและวิจัย (Ag-biotech) คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มเกษตรสัญจร. 2541. กล้วยไม้. พิมพ์ครั้งที่ 5. สำนักพิมพ์ฐานเกษตรกรรม, นนทบุรี. 62 หน้า.

ชวลิต ดาบแก้ว. 2542. การปลูกเลี้ยงกล้วยไม้สำหรับผู้แรกเริ่ม. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ. 75 หน้า.

ณัฐา ควรประเสริฐ. 2545. กล้วยไม้วิทยา 1. เอกสารประกอบการสอน. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 76 หน้า.

ไพบูลย์ ไพรีพ่ายฤทธิ์. 2521. ตำรากล้วยไม้สำหรับผู้เริ่มเล่น .ห้างหุ้นส่วนสามัญนิติบุคคล อาทรการพิมพ์, กรุงเทพฯ. 112 หน้า.

อานนท์ เชยจำรูญ. 2547. คู่มือการเพาะขยายพันธุ์กล้วยไม้ตัดดอกเพื่อการส่งออก. นิตยสารยิ้ม เศรษฐกิจ. นานาสาส์น, นนทบุรี. 96 หน้า.

Doyle, L.J. and J.J. Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12: 13-14.

Yu, L.X. and H.T. Nguyen. 1994. Genetic variation detected with RAPD markers among upland and lowland rice cultivars (*Oryza sativa* L.). Theoretical and Applied Genetics 87: 668-672.