

# การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของมันสำปะหลัง ด้วยเทคนิคอาร์เอฟดี

## Study on the Genetic Relationship in Cassava Using RAPD Technique

นฤมล ธนาพันธ์

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์  
ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 13180

เมธิณี เจริญไชย และธีระชัย ธนาพันธ์\*

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต  
ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

**Narumol Thanananta**

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

**Mathinee Charoenchai and Theerachai Thanananta\***

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

---

### บทคัดย่อ

การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของมันสำปะหลังด้วยเทคนิคอาร์เอฟดี โดยใช้ไพรเมอร์แบบสุ่ม 72 ชนิด พบว่าไพรเมอร์ 55 ชนิด สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ เมื่อคัดเลือกไพรเมอร์ 25 ชนิด ที่ให้ลายพิมพ์ดีเอ็นเออย่างชัดเจนมาวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของมันสำปะหลังพันธุ์ปลูก 9 พันธุ์ และพันธุ์ป่า 1 พันธุ์ พบว่าสามารถแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ได้ด้วยแถบดีเอ็นเอที่จำเพาะกับพันธุ์ นอกจากนี้ยังพบไพรเมอร์ที่สามารถจำแนกมันสำปะหลังทั้ง 10 พันธุ์ได้ด้วยไพรเมอร์เพียงชนิดเดียว เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมพบว่าสามารถจำแนกมันสำปะหลังได้เป็น 2 กลุ่ม โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนอยู่ระหว่าง 0.56 ถึง 0.85

**คำสำคัญ :** มันสำปะหลัง, อาร์เอฟดี, ความหลากหลายทางพันธุกรรม, ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

### Abstract

Random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique was used to study the genetic relationship in cassava. Seventy-two random primers were screened and 55 primers could be used

for DNA amplification. Twenty-five primers which gave clear amplified products were selected and used to analyze 9 cultivars and 1 wild species of cassava. The result showed differences among 10 samples with specific DNA band. In addition, some of 25 random primers were able to identify each sample even though using as only one primer. A dendrogram based on polymorphic bands showed genetic similarities among cassavas and it split into 2 groups with similarity coefficients ranging 0.56 to 0.85.

**Keywords:** cassava (*Manihot esculenta*), RAPD (random amplified polymorphic DNA), genetic diversity, genetic relationship

## 1. คำนำ

มันสำปะหลัง (*Manihot esculenta* Crantz) เป็นแหล่งอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่สำคัญของประชากรในทวีปแอฟริกาและอเมริกาใต้ และเป็นแหล่งวัตถุดิบประเภทแป้งที่มีราคาถูกกว่าพืชผลิตแป้งชนิดอื่น ๆ โดยแป้งจากมันสำปะหลังเป็นแป้งที่ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น และไม่ทำให้เกิดภูมิแพ้ จึงนิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องสำอาง ยา และเคมีภัณฑ์ต่าง ๆ (ฝ่ายบริหารคลัสเตอร์และโปรแกรมวิจัย, 2554) นอกจากนั้นยังเป็นพืชพลังงานที่มีศักยภาพสูงสำหรับการผลิตเอทานอล (ethanol)

ประเทศไทยไม่ใช่ผู้ผลิตมันสำปะหลังอันดับหนึ่งของโลก และประชากรไทยไม่ได้บริโภคมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตหลัก ดังนั้นประเทศไทยจึงปลูกมันสำปะหลังเพื่อแปรรูปและส่งออกผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง ได้แก่ มันเส้น มันอัดเม็ด และแป้ง โดยส่งออกผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังเป็นอันดับหนึ่งของโลกติดต่อกันหลายปี แม้มูลค่าการส่งออกจะไม่สูงเมื่อเปรียบเทียบกับ การส่งออกข้าวหรือยางพารา แต่การใช้มันสำปะหลังในประเทศก่อให้เกิดอุตสาหกรรมต่อเนื่องที่มีมูลค่าสูงกว่า 300,000 ล้านบาท และมีการจ้างงานประมาณ 1 ล้านคน ทั้งนี้ไม่นับรวมเกษตรกรผู้ปลูกมัน

สำปะหลังอีก 2.6 ล้านคน (ฝ่ายบริหารคลัสเตอร์และโปรแกรมวิจัย, 2554)

จากข้อมูลดังกล่าว จึงจัดมันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย โดยเป็นพืชที่ปลูกได้ทุกภูมิภาคและปลูกได้ตลอดปี หัวมันสำปะหลังที่ผลิตได้ส่วนใหญ่ใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมมันเส้น มันอัดเม็ด แป้ง และอาหารสัตว์ ซึ่งเป็นสินค้าเกษตรที่ส่งขายต่างประเทศและสร้างรายได้เป็นจำนวนมากแก่ประเทศไทย ดังนั้นการปรับปรุงพันธุ์มันสำปะหลังเพื่อให้ได้พันธุ์ใหม่ที่มีคุณลักษณะเด่นทางพันธุกรรมจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง เพื่อให้สอดคล้องกับความต้องการของตลาดและผู้บริโภค เช่น พันธุ์ที่สังเคราะห์แบ่งในรากสะสมอาหารได้ในปริมาณสูง พันธุ์ที่ให้แป้งเหมาะสมต่อการนำไปแปรรูปเพื่อการผลิตเอทานอลได้ปริมาณมาก (เจริญญา, 2553)

สำหรับการปรับปรุงพันธุ์นั้น การคัดเลือกพันธุ์พ่อแม่เป็นสิ่งสำคัญอย่างยิ่ง โดยการเลือกพันธุ์ที่ผลิตพลาตจะทำให้สิ้นเปลืองทั้งแรงงานงบประมาณ และเวลา ดังนั้นจึงต้องการข้อมูลความหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic diversity) เพื่อให้ทราบถึงความใกล้ชิดระหว่างพันธุ์ที่จะนำมาใช้ในการผสมพันธุ์ ทั้งนี้เพื่อป้องกันการเกิดความถดถอยทางพันธุกรรม (inbreeding

depression) ซึ่งเกิดจากการเลือกพันธุ์พ่อแม่ที่มีความใกล้เคียงกัน (สุพัตรา, 2549)

ด้วยความสำคัญดังกล่าว จึงมีแนวคิดที่จะศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (genetic relationship) ของมันสำปะหลังโดยใช้เทคนิคอาร์เอฟดี (RAPD, random amplified polymorphic DNA) ซึ่งเป็นเทคนิคที่สามารถสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprinting) ได้ด้วยการใช้ไพรเมอร์แบบสุ่ม (random primer) ขนาด 8-12 นิวคลีโอไทด์ (nucleotide) เพียงชนิดเดียว เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์หรือพีซีอาร์ (PCR, polymerase chain reaction) ซึ่งสะดวก รวดเร็ว ใช้ดีเอ็นเอปริมาณน้อย ไม่จำเป็นต้องทราบข้อมูลลำดับเบสของดีเอ็นเอ และประหยัดค่าใช้จ่ายกว่าเทคนิคเครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker) ชนิดอื่น ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการปรับปรุงพันธุ์ในอนาคต

## 2. อุปกรณ์และวิธีการ

### 2.1 พันธุ์มันสำปะหลัง

ตัวอย่างพันธุ์มันสำปะหลังที่ใช้ในการศึกษานี้ จำนวน 10 พันธุ์ ได้แก่ ระยะเวลา 1, ระยะเวลา 2, ระยะเวลา 5, ระยะเวลา 60, ระยะเวลา 90, 5 นาที, ศรีราชา 1, Virgin Island 18, Virgin Island 22 และพันธุ์ป่าของไทย ได้มาจากศูนย์วิจัยพืชไร่ระยะของอำเภอเมือง จังหวัดระยอง

### 2.2 การสกัดดีเอ็นเอ

สกัดดีเอ็นเอจากใบอ่อนของมันสำปะหลังด้วยวิธีประยุกต์จาก Agrawal และคณะ (1992) โดยบดใบในโตรเจนเหลวให้เป็นผงละเอียด แล้วนำผงใบ 2 กรัม บ่มใน extraction buffer [4x CTAB; 4 % cethyl trimethyl ammonium bromide (CTAB), 2.8 M NaCl, 40 mM ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) และ 200 mM Tris-HCl pH 8.0] 10 มิลลิลิตร ซึ่งมี

2-mercaptoethanol 20 ไมโครลิตร ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที เมื่อครบเวลาเติมคลอโรฟอร์ม : ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ (chloroform : isoamyl alcohol = 24:1) 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 12,000 x g เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นจึงแยกสารละลายส่วนบนมาเติม linear polyacrylamide 140 ไมโครลิตร และไอโซโพรพานอล (isopropanol) 7 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและนำไปบ่มที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลานำไปหมุนเหวี่ยงที่ 12,000 x g เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นจึงเทสารละลายทิ้งและล้างตะกอนด้วย washing buffer (10 mM sodium acetate pH 5.2 และ 70 % ethanol) ปล่อยให้แห้งและละลายตะกอนใน RNase buffer (10 mM Tris-HCl pH 8.0 และ 15 mM NaCl) 500 ไมโครลิตร เติมเอนไซม์ RNase A (10 mg/ml) 4 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลากัดด้วยฟีนอล : คลอโรฟอร์ม : ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ (phenol : chloroform : isoamyl alcohol = 25:24:1) 1 ครั้ง และสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม : ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ (24:1) อีก 1 ครั้ง หลังจากนั้นจึงย้ายสารละลายส่วนบนมาเติม linear polyacrylamide 70 ไมโครลิตร โซเดียมอะซิเตต ความเข้มข้น 3 โมลาร์ (pH 5.2) ให้ได้ 10 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตร และไอโซโพรพานอลให้ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 12,000 x g เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นจึงเทสารละลายทิ้งและล้างตะกอนด้วยเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ แล้วล้างตะกอนให้แห้ง แล้วละลายตะกอนด้วย TE buffer (10 mM Tris-HCl pH 8.0 และ 1.0 mM EDTA) ปริมาตร 200-300 ไมโครลิตร

ตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอที่ได้ด้วยวิธีวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260 และ 280

นาโนเมตร (nm) และตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิส (electrophoresis) ในเจลอะกาโรส (agarose gel) 0.8 เปอร์เซ็นต์ (Sambrook *et al.*, 1989)

### 2.3 การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอาร์เอฟดี

การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอมี 2 ขั้นตอน ได้แก่ (1) การตรวจหาไพรเมอร์แบบสุ่มที่ตอบสนองต่อปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์ส โดยรวมดีเอ็นเอมันสำปะหลังทั้ง 10 พันธุ์ เป็นตัวอย่างเดียวกัน และ (2) การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรม โดยคัดเลือกไพรเมอร์ 25 ชนิด ที่ให้ลายพิมพ์ดีเอ็นเออย่างชัดเจนมาตรวจสอบกับดีเอ็นเอมันสำปะหลังแต่ละพันธุ์

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ 100 นาโนกรัม (ng) ในบัฟเฟอร์ 1 เท่า (50 mM KCl, 20 mM Tris-HCl pH 8.4 และ 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>) ซึ่งมีนิวคลีโอไทด์ 4 ชนิด (dATP, dCTP, dGTP และ dTTP) ชนิดละ 200 ไมโครโมลาร์ (μM) ไพรเมอร์แบบสุ่ม 250 นาโนโมลาร์ (nM) และเอนไซม์ Taq DNA polymerase (Invitrogen™ life technology, Brazil) 1 ยูนิต (Wikie *et al.*, 1993) โดยไพรเมอร์แบบสุ่มที่ใช้ 72 ชนิด คือไพรเมอร์ชุด A2, B2, C2, D2, E2 และ F2 จาก Wako Company (Japan) ซึ่งมีขนาด 12 นิวคลีโอไทด์

ปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์สมี 3 ขั้นตอน คือ (1) บ่มที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที จำนวน 1 รอบ (2) บ่มที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที และอุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที จำนวน 40 รอบ และ (3) บ่มที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที จำนวน 1 รอบ (Wikie *et al.*, 1993) แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

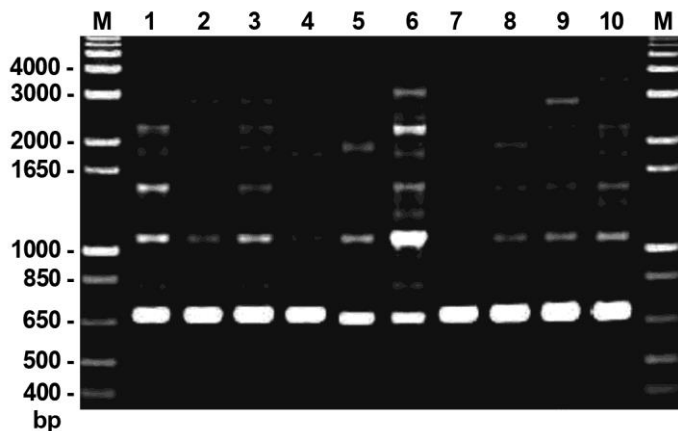
ด้วยเทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิสในเจลอะกาโรส 1.5 เปอร์เซ็นต์ โดยแต่ละตัวอย่างทำ 3 ซ้ำ เพื่อให้ได้ผลการทดลองที่น่าเชื่อถือยิ่งขึ้น

### 2.4 การวิเคราะห์ผล

เปรียบเทียบลายพิมพ์ดีเอ็นเอมันสำปะหลังทั้ง 10 พันธุ์ ที่ได้จากเทคนิคอาร์เอฟดี และเปรียบเทียบความเหมือนและความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอที่ได้ทั้งหมด แล้ววิเคราะห์ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป NTSYS-pc รุ่น 2.0 โดยเลือกวิธีจัดกลุ่มแบบ UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic mean) (Rohlf, 2002)

## 3. ผลและวิจารณ์

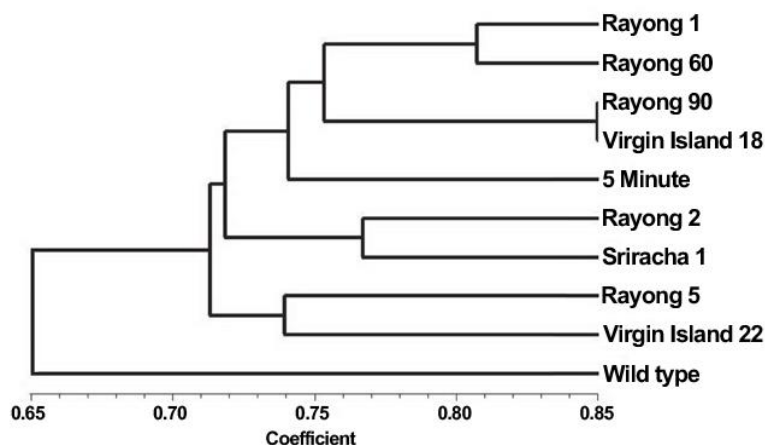
การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอรวมของมันสำปะหลังด้วยเทคนิคอาร์เอฟดีโดยใช้ไพรเมอร์แบบสุ่ม 72 ชนิด พบว่าไพรเมอร์ 55 ชนิด หรือคิดเป็น 76.38 เปอร์เซ็นต์ สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ หลังจากนั้นจึงคัดเลือกไพรเมอร์ 25 ชนิด ที่เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้อย่างชัดเจนมาตรวจสอบกับดีเอ็นเอมันสำปะหลังแต่ละพันธุ์ จำนวน 10 พันธุ์ ปรากฏว่าพบแถบดีเอ็นเอรวมทั้งสิ้น 223 แถบ ซึ่งมีขนาดประมาณ 400-4,000 คู่เบส โดยลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากเทคนิคอาร์เอฟดีมีรูปแบบจำเพาะต่อมันสำปะหลังแต่ละพันธุ์ (รูปที่ 1) และพบแถบดีเอ็นเอบางแถบที่สามารถใช้เป็นเครื่องหมายอาร์เอฟดี (RAPD marker) สำหรับจัดจำแนกพันธุ์มันสำปะหลังได้ นอกจากนี้ยังพบไพรเมอร์ซึ่งให้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่สามารถแยกความแตกต่างของมันสำปะหลังแต่ละพันธุ์ออกจากกันได้ด้วยไพรเมอร์เพียงชนิดเดียว จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ B27 (GGC GGT TAT GAA), C22 (GGT CAC CGA TCC), C31 (TCT GCT GAC CGG) D21, (GGC GAT TCT GCA), E26 (CTG CCT GTA CCA) และ E32 (CAG GAA CAG CAA)



รูปที่ 1 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากเทคนิคอาร์เอฟดีโดยใช้ไพรเมอร์ C22 [M คือดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Invitrogen™ Life Technology, USA), 1-10 คือ ระยอง 1, ระยอง 2, ระยอง 5, ระยอง 60, ระยอง 90, 5 นาที, ศรีราชา 1, Virgin Island 18, Virgin Island 22 และพันธุ์ป่าตามลำดับ]

เมื่อวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากเทคนิคอาร์เอฟดีด้วยโปรแกรม NTSYS-pc รุ่น 2.0 และเลือกวิธีจัดกลุ่มแบบ UPGMA โดยคำนวณค่าดัชนีความเหมือน (similarity index) และแสดงผลในรูปแผนภูมิความสัมพันธ์ (dendrogram) พบว่ามันสำปะหลังที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ จำนวน 10 พันธุ์แบ่งเป็น 2 กลุ่ม (รูปที่ 2) กลุ่ม 1 คือ มันสำปะหลังพันธุ์ปลูก ได้แก่ ระยอง 1, ระยอง 2, ระยอง 5,

ระยอง 60, ระยอง 90, 5 นาที, ศรีราชา 1, Virgin Island 18 และ Virgin Island 22 และกลุ่ม 2 คือมันสำปะหลังพันธุ์ป่า โดยกลุ่ม 1 ซึ่งมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนภายในกลุ่มอยู่ระหว่าง 0.62 ถึง 0.85 เฉลี่ย 0.73 และทั้ง 2 กลุ่ม มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนอยู่ระหว่าง 0.56 ถึง 0.85 เฉลี่ย 0.71 (รูปที่ 3)



รูปที่ 2 แผนภูมิความสัมพันธ์ของมันสำปะหลังที่ได้จากเทคนิคอาร์เอฟดี

|                  |          |          |          |           |           |          |            |                  |                  |           |
|------------------|----------|----------|----------|-----------|-----------|----------|------------|------------------|------------------|-----------|
| Rayong 1         | 1.00     |          |          |           |           |          |            |                  |                  |           |
| Rayong 2         | 0.73     | 1.00     |          |           |           |          |            |                  |                  |           |
| Rayong 5         | 0.78     | 0.75     | 1.00     |           |           |          |            |                  |                  |           |
| Rayong 60        | 0.80     | 0.71     | 0.71     | 1.00      |           |          |            |                  |                  |           |
| Rayong 90        | 0.73     | 0.75     | 0.75     | 0.80      | 1.00      |          |            |                  |                  |           |
| 5 Minute         | 0.72     | 0.69     | 0.70     | 0.75      | 0.75      | 1.00     |            |                  |                  |           |
| Sriracha 1       | 0.74     | 0.76     | 0.67     | 0.75      | 0.73      | 0.67     | 1.00       |                  |                  |           |
| Virgin Island 18 | 0.70     | 0.70     | 0.70     | 0.77      | 0.85      | 0.73     | 0.67       | 1.00             |                  |           |
| Virgin Island 22 | 0.70     | 0.70     | 0.74     | 0.72      | .070      | 0.62     | 0.69       | 0.73             | 1.00             |           |
| Wild type        | 0.67     | 0.60     | 0.56     | 0.68      | 0.64      | 0.66     | 0.63       | 0.72             | 0.66             | 1.00      |
|                  | Rayong 1 | Rayong 2 | Rayong 5 | Rayong 60 | Rayong 90 | 5 Minute | Sriracha 1 | Virgin Island 18 | Virgin Island 22 | Wild type |

**รูปที่ 3** ค่าดัชนีความเหมือนของมันสำปะหลังที่ได้จากเทคนิคอาร์เอฟตี

งานวิจัยนี้แสดงถึงศักยภาพของเทคนิคอาร์เอฟทีในการจำแนกพันธุ์มันสำปะหลังได้ เช่นเดียวกับพืชชนิดอื่น เช่น พริก น้อยหน่า บัวหลวง มะลิ โมก พุด (ธีระชัย และนฤมล, 2543; นฤมล และมานะ, 2549; ธีระชัย, 2550; นฤมล และคณะ, 2554a; นฤมล และคณะ, 2554b; นฤมล และคณะ, 2554c)

#### 4. ສຽງ

การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของ  
มันสำปะหลัง 10 พันธุ์ ด้วยเทคนิคอาร์เอฟที พบว่า  
มันสำปะหลังมีความหลากหลายทางพันธุกรรม โดย  
งานวิจัยนี้ตรวจพบไพรเมอร์ที่สามารถจำแนกมัน  
สำปะหลัง 10 พันธุ์ ได้ด้วยไพรเมอร์เพียงชนิดเดียว  
และเมื่อวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากเทคนิค  
อาร์เอฟทีด้วยโปรแกรม NTSYS พบว่าสามารถ

แบ่งมันสำหรับที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้เป็น 2 กลุ่ม  
ซึ่งแยกระหว่างพันธุ์ปลอกกับพันธุ์ป่า

## 5. กิตติกรรมประกาศ

ตัวอย่างพันธุ์มันสำปะหลังทั้ง 10 พันธุ์  
ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง  
อำเภอเมือง จังหวัดระยอง

## 6. เอกสารอ้างอิง

จริญญา ณรงค์คะชวนะ, 2553, เทคโนโลยีชีวโมเลกุล  
เพื่อการปรับปรุงพันธุ์มันสำปะหลัง, Thai J.  
Genet. 3(2): 95-105.

ธีระชัย ธนानันต์ และณฤมล ธนานันต์, 2543,  
เทคนิคอาร์เอพีดีกับการจำแนกพันธุ์พริก, ว.  
วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 8(1): 6-10.

ธีระชัย รัตนันต์, 2550, การจำแนกน้อยหน้าพันธุ์

- เนื้อและพันธุ์หนึ่งด้วยเครื่องหมายอาร์เอฟดี, ว.วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 15(1): 9-15.
- นฤมล ธนาคันต์ รุจิเรข นพเกษร และธีระชัย ธนาคันต์, 2554a, การใช้เทคนิคอาร์เอฟดี ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพุดสกุล การ์ดีเนีย, ว.วิทยาศาสตร์บูรพา 16(1): 41-46.
- นฤมล ธนาคันต์ และมานะ ขาวเมฆ, 2549, การจำแนกพันธุ์บัวหลวงด้วยเครื่องหมายอาร์เอฟดี, ว.วิจัยและพัฒนาวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ 1(3): 15-23.
- นฤมล ธนาคันต์ ศรีญลักษณ์ นาคขาว และธีระชัย ธนาคันต์, 2554b, การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของโมกและพุดด้วยเทคนิคอาร์เอฟดี, ว.วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 19(1): 1-8.
- นฤมล ธนาคันต์ อรพรรณ บุญประดิษฐ์ และธีระชัย ธนาคันต์, 2554c, การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของมะลิด้วยเทคนิคอาร์เอฟดี, ว.วิทยาศาสตร์ มข. 39(2): 263-269.
- ฝ่ายบริหารคัลส์เตอร์และโปรแกรมวิจัย, 2554, ยุทธศาสตร์วิจัยและพัฒนาอุตสาหกรรมมันสำปะหลังประเทศไทย (พ.ศ. 2555-2559) และโปรแกรมวิจัยและพัฒนา มันสำปะหลัง ภายใต้แผนกลยุทธ์การวิจัยและพัฒนา สวทช. ระยะที่ 2 พ.ศ. 2554-2559, สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ, ปทุมธานี.
- สุพัตรา คงสมมาตย์, 2549, การใช้เทคนิค RAPD และ AFLP ในการจัดจำแนกพันธุ์มันสำปะหลัง, วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- Agrawal, G.K., Pandey, R.N. and Agrawal, V.P., 1992, Isolation of DNA from *Choerospondias asillaris* leaves, Biotech. Biodiv. Lett. 2: 19-24.
- Rohlf, F.J., 2002, NTSYpc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Applied Biostatistics, Inc., New York.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F. and Maniatis, T., 1989, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Ed, Cold Spring Harbor Laboratory, New York.
- Wilkie, S.E., Isaac, P.G. and Slater, R.J., 1993, Random amplified polymorphic DNA (RAPD) marker for genetic analysis in *Allium*, Theor. Appl. Genet. 86: 476-504.