การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการจำแนกขมิ้นด้วยเทคนิคแฮตอาร์เอพีดี

Genetic Relationship Analysis and Identification of *Curcuma* Using HAT-RAPD Technique

วริสรา แทนสง่า และธีระชัย ธนานันต์

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

บุญหงษ์ จงคิด

ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

นฤมล ธนานันต์*

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์
ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 13180

Warisara Tansa-nga and Theerachai Thanananta

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

Boonhong Chongkid

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

Narumol Thanananta*

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

บทคัดย่อ

การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของขมิ้น 6 ชนิด จำนวน 10 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิคแฮตอาร์เอพีดี โดยใช้ไพรเมอร์แบบสุ่ม 72 สาย พบว่าไพรเมอร์ 35 สาย สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ เมื่อคัดเลือกไพรเมอร์ 20 สาย ที่ให้ลายพิมพ์ดีเอ็นเออย่างชัดเจนมาวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรม พบว่าสามารถแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ได้ด้วยแถบดีเอ็นเอที่จำเพาะกับตัวอย่าง นอกจากนั้นยังพบไพรเมอร์ที่สามารถจำแนกขมิ้นทั้ง 10 ตัวอย่าง ได้ด้วยไพรเมอร์เพียงไพรเมอร์เดียว เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมพบว่าสามารถจำแนกขมิ้นทั้ง 10 ตัวอย่าง เป็น 4 กลุ่ม โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนอยู่ระหว่าง 0.38 ถึง 0.83

***Corresponding author:** narumolpla@yahoo.com* *DOI: 10.14456/tjst.2014.12*

คำสำคัญ : ขมิ้น; การจำแนกพันธุ์; ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม; แฮตอาร์เอพีดี

Abstract

High annealing temperature - random amplified polymorphic DNA (HAT-RAPD) technique was used to study the genetic relationship among 10 samples of 6 *Curcuma* species. Thirty-five random primers out of seventy-two were successful for DNA amplification. In this study, we selected 20 random primers which gave clear amplified products for genetic analysis. The result showed significant differences among 6 species and also showed bands in each sample. Moreover, we found 10 random primers which tended to be DNA markers for *Curcuma* identification. A dendrogram constructed based on polymorphic bands showed genetic similarities among 6 *Curcuma* species and were separated into 4 clusters with similarity coefficients ranging from 0.38 to 0.83.

Keywords: *Curcuma*; identification; genetic relationship; HAT-RAPD

1. คำนำ

ขมิ้นเป็นพืชสมุนไพรที่มีประโยชน์หลายด้าน ได้แก่ เป็นยารักษาโรค ประกอบอาหาร เป็นส่วนประกอบเครื่องสำอาง เป็นต้น โดยขมิ้นมีคุณประโยชน์ทางยา เช่น ขมิ้นช่วยรักษาโรคกระเพาะและแก้ท้องอืดท้องเฟ้อได้ (โครงการสมุนไพรเพื่อการพึ่งตนเอง, 2533) ในเหง้าของขมิ้นชันมีสารออกฤทธิ์สำคัญคือน้ำมันหอมระเหย (volatile oil) ซึ่งมีฤทธิ์ในการฆ่าแบคทีเรียและราช่วยขับลม และรักษาแผลพุพอง นอกจากนี้ยังพบสารสีเหลืองที่ชื่อว่าเคอร์คูมิน (curcumin) (โครงการสมุนไพรกับการสาธารณสุขมูลฐานโดยความช่วยเหลือขององค์การยูนิเซฟ, 2529) ซึ่งปริมาณของสารเคอร์คิวมินในเหง้าของขมิ้นในแต่ละชนิดมีไม่เท่ากัน (บุญหงษ์, 2548) สำหรับการประกอบอาหาร มักนิยมนำขมิ้นไปใช้แต่งกลิ่นและสีของอาหาร เช่น แกงไตปลา แกงกะหรี่ ส่วนในด้านเครื่องสำอาง มีการใช้ขมิ้นเป็นส่วนประกอบเนื่องจากสรรพคุณของขมิ้นที่มีฤทธิ์ฆ่าแบคทีเรียและราได้ นอกจากนี้ยังสามารถลดการอักเสบ จึงนำมาใช้ในการรักษาสิว โดยเครื่องสำอางที่มีส่วนประกอบของขมิ้น เช่น สบู่ แป้ง โลชั่น (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2546)

ด้วยความสำคัญดังกล่าว ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic diversity) ของขมิ้นโดยใช้เทคนิคแฮตอาร์เอพีดี (HAT-RAPD, high annealing temperature - random amplified polymorphic DNA) ซึ่งเป็นเทคนิคที่สร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprinting) ด้วยการใช้ไพรเมอร์แบบสุ่ม (random primer) ขนาด 8-12 นิวคลีโอไทด์ (nucleotide) โดยเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสหรือพีซีอาร์ (PCR, polymerase chain reaction) (Williams *et al*., 1990) ซึ่งสะดวก รวดเร็ว ใช้ดีเอ็นเอปริมาณน้อย ไม่จำเป็นต้องทราบข้อมูลลำดับดีเอ็นเอ และประหยัดค่าใช้จ่ายกว่าเทคนิคเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิดอื่น (สุรินทร์, 2552)

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของขมิ้นและตรวจหาเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดี (HAT-RAPD marker) ที่

สามารถจำแนกชนิดของขมิ้น ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการปรับปรุงพันธุ์และการอนุรักษ์

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 ตัวอย่างขมิ้น

ตัวอย่างขมิ้นที่ใช้ในงานวิจัยนี้มี 6 ชนิด (species) 10 ตัวอย่าง ได้แก่ ขมิ้นอ้อย [*Curcuma zedoaria* (Berg) Roscoe] ขมิ้นขาว (*Curcuma mangga* Valeton & Zijp.) ขมิ้นทอง (*Curcuma longa* Linn.) ขมิ้นดำ (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) ขมิ้นพื้นเมืองของจังหวัดอุบลราชธานี (*Curcuma* sp.) และขมิ้นชัน (*Curcuma longa* Linn.) จาก 5 จังหวัด คือ ชุมพร กรุงเทพมหานคร แพร่ สุราษฎร์ธานี และสงขลา

2.2 การสกัดดีเอ็นเอ

นำใบอ่อนของขมิ้นทั้ง 10 ตัวอย่าง มาสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีประยุกต์จาก Doyle และ Doyle (1987) ตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอที่ได้ด้วยวิธีวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร (nm) และตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิส (electrophoresis) ในเจลอะกาโรส (agarose gel) 0.8 เปอร์เซ็นต์ (Sambrook *et al*., 1989)

2.2 การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคแฮตอาร์เอพีดี

2.2.1 การตรวจหาไพรเมอร์แบบสุ่มที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส โดยรวมดีเอ็นเอของขมิ้นทั้ง 10 ตัวอย่างเข้าด้วยกัน แล้วนำไปทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสโดยใช้ไพรเมอร์แบบสุ่ม ทั้งหมด 6 ชุด ชุดละ 12 สาย คือไพรเมอร์ชุด A2, B2, C2, D2, E2 และ F2 จากบริษัท Wako Company (Japan) ซึ่งมีขนาด 12 นิวคลีโอไทด์

2.2.2 การสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของของขมิ้น โดยคัดเลือกไพรเมอร์ที่ให้ลายพิมพ์ดีเอ็นเออย่างชัดเจนมาตรวจสอบกับดีเอ็นเอของขมิ้นแต่ละตัวอย่าง โดยได้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสซ้ำ 3 ครั้ง ทั้งนี้เพื่อยืนยันผลลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (นฤมล และคณะ, 2555)

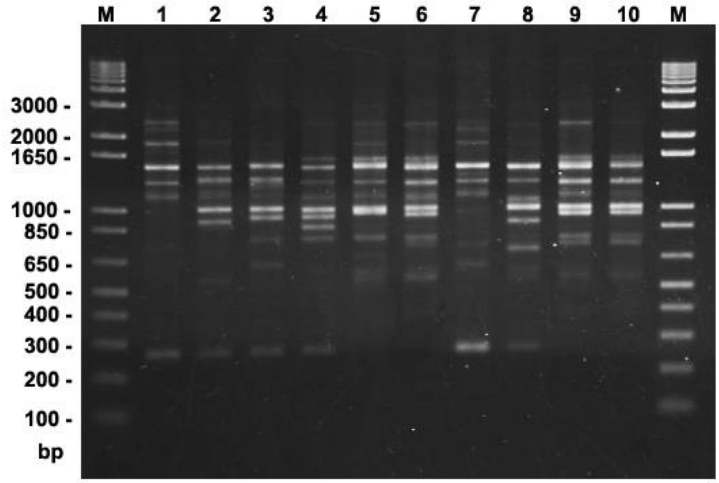
2.3 การวิเคราะห์ผล

เปรียบเทียบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของขมิ้นแต่ละตัวอย่างที่ได้จากเทคนิคแฮตอาร์เอพีดี โดยเปรียบเทียบความเหมือนและความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอที่ได้ทั้งหมด แล้ววิเคราะห์ค่าดัชนีความเหมือน (similarity index) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป NTSYS-pc รุ่น 2.0 และสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ (dendrogram) ด้วยวิธีการจัดกลุ่มแบบ UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic mean) (Rohlf, 2002)

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอรวมของขมิ้นด้วยเทคนิคแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์แบบสุ่ม 72 สาย พบว่าไพรเมอร์ 35 สาย (หรือคิดเป็น 48.61 เปอร์เซ็นต์) สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ เมื่อคัดเลือกไพรเมอร์แบบสุ่ม 20 สาย ที่เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้อย่างชัดเจนมาสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของขมิ้นแต่ละชนิด จำนวน 6 ชนิด 10 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิคแฮตอาร์เอพีดี ปรากฏว่าพบแถบดีเอ็นเอรวมทั้งสิ้น 219 แถบ ขนาดประมาณ 300-3,000 คู่เบส ซึ่งเป็นแถบดีเอ็นเอที่พบเหมือนกันทุกชนิด (monomorphic band) 16 แถบ (หรือคิดเป็น 7.31 เปอร์เซ็นต์) และเป็นแถบดีเอ็นเอที่พบต่างกันในแต่ละชนิด (polymorphic band) 203 แถบ (หรือคิดเป็น 92.69 เปอร์เซ็นต์) โดยลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากเทคนิคแฮตอาร์เอพีดีนั้นมีรูปแบบจำเพาะต่อขมิ้นแต่ละชนิด (รูปที่ 1) และพบแถบดีเอ็นเอบางแถบที่สามารถใช้เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอสำหรับจัดจำแนกตัวอย่างของขมิ้นได้ นอกจากนี้ยังพบไพรเมอร์ซึ่งให้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่สามารถแยก

ความแตกต่างของขมิ้นแต่ละชนิดออกจากกันได้ด้วยไพรเมอร์เดียว จำนวน 11 สาย ได้แก่ A31 (5′-AAGGCGCGAACG-3′), B27 (5′-GGCGGTTATGAA-3′), C21 (5′-GGAGAGCGGACG-3′), C22 (5′-GGTCACCGATCC-3′), D23 (5′-ACCATCAAACGG-3′), D31 (5′-GGAGGTCGACCA-3′), E22 (5′-GGAATGGAACCG-3′), E23 (5′-AGGTACGCCGCA-3′), E32 (5′-CAGGAACAGCAA-3′), F23 (5′-CCATCCGCACGA-3′) และ F31 (5′-ATCGTGACGCCG-3′)



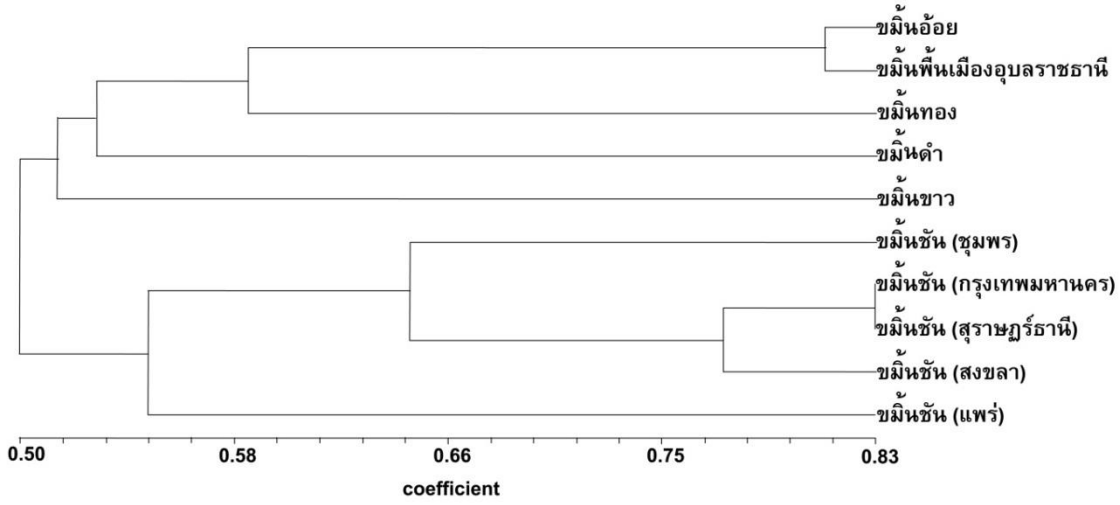
รูปที่ 1 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากเทคนิคแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ A31 [M คือดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Invitrogen™ Life Technology, USA), 1-10 คือ ขมิ้นอ้อย ขมิ้นขาว ขมิ้นทอง ขมิ้นดำ ขมิ้นชัน (ชุมพร) ขมิ้นชัน (กรุงเทพมหานคร) ขมิ้นพื้นเมืองของจังหวัดอุบลราชธานี ขมิ้นชัน (แพร่) ขมิ้นชัน (สุราษฎร์ธานี) และขมิ้นชัน (สงขลา) ตามลำดับ]

เมื่อวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากเทคนิคแฮตอาร์เอพีดีด้วยโปรแกรม NTSYS-pc รุ่น 2.0 และเลือกวิธีจัดกลุ่มแบบ UPGMA โดยคำนวณค่าดัชนีความเหมือนและสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ พบว่าขมิ้นทั้ง 10 ตัวอย่าง ที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนอยู่ระหว่าง 0.38 ถึง 0.83 เฉลี่ย 0.61 (รูปที่ 2) ถ้าพิจารณาที่ค่าดัชนีความเหมือน 0.53 พบว่าสามารถแบ่งขมิ้นทั้ง 10 ตัวอย่าง เป็น 4 กลุ่ม คือ กลุ่ม 1 ได้แก่ ขมิ้นอ้อย ขมิ้นพื้นเมืองอุบลราชธานี และขมิ้นทอง กลุ่ม 2 ได้แก่ ขมิ้นดำ กลุ่ม 3 ได้แก่ ขมิ้นขาว และกลุ่ม 4 ได้แก่ ขมิ้นชัน (ชุมพร) ขมิ้นชัน (กรุงเทพมหานคร) ขมิ้นชัน (สุราษฎร์ธานี) ขมิ้นชัน (สงขลา) และขมิ้นชัน (แพร่) (รูปที่ 3) ผลการวิจัยนี้แสดงว่าขมิ้นมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง โดยแถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างตัวอย่างสามารถใช้เป็นเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีสำหรับการจำแนกขมิ้น และแถบดีเอ็นเอบางแถบที่จำเพาะต่อตัวอย่างสามารถพัฒนาเป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอที่จำเพาะต่อชนิดของขมิ้นได้ นอกจากนั้นผลการวิจัยนี้ยังเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญสำหรับใช้ประโยชน์ด้านการศึกษาวิจัยและการวางแผนอนุรักษ์ในอนาคต โดยผลงานวิจัยนี้ช่วยสนับสนุนศักยภาพของเทคนิคแฮตอาร์เอพีดีในการจำแนกพันธุ์พืชต่าง ๆ ที่เคยรายงานมาแล้ว ได้แก่ ข้าวขาวดอกมะลิ 105 (นฤมล และคณะ, 2555) พืชวงศ์จำปา (วริสรา และ

คณะ, 2556) กล้วยสกุลมิวซา (ฐิติพร, 2556) แพรเซี่ยงไฮ้ (เกียติชัย และคณะ, 2556) กล้วยไม้ช้าง (นฤมล และคณะ, 2556a) กล้วยไม้สกุลหวายกลุ่มเอื้องสาย (นฤมล และคณะ, 2557) และหม้อข้าวหม้อแกงลิง (เกียติชัย และคณะ, 2557)

	ขมิ้นอ้อย	ขมิ้นขาว	ขมิ้นทอง	ขมิ้นดำ	ขมิ้นชัน (ชุมพร)	ขมิ้นชัน (กรุงเทพมหานคร)	ขมิ้นพื้นเมืองอุบลราชธานี	ขมิ้นชัน (แพร่)	ขมิ้นชัน (สุราษฎร์ธานี)	ขมิ้นชัน (สงขลา)
ขมิ้นอ้อย	1.00									
ขมิ้นขาว	0.51	1.00								
ขมิ้นทอง	0.58	0.52	1.00							
ขมิ้นดำ	0.54	0.50	0.50	1.00						
ขมิ้นชัน (ชุมพร)	0.54	0.51	0.57	0.51	1.00					
ขมิ้นชัน (กรุงเทพมหานคร)	0.53	0.41	0.53	0.46	0.68	1.00				
ขมิ้นพื้นเมืองอุบลราชธานี	0.81	0.52	0.60	0.54	0.58	0.52	1.00			
ขมิ้นชัน (แพร่)	0.46	0.52	0.53	0.38	0.56	0.53	0.50	1.00		
ขมิ้นชัน (สุราษฎร์ธานี)	0.49	0.41	0.53	0.47	0.64	0.83	0.49	0.53	1.00	
ขมิ้นชัน (สงขลา)	0.48	0.43	0.58	0.52	0.63	0.75	0.51	0.58	0.80	1.00

รูปที่ 2 ค่าดัชนีความเหมือนของขมิ้นทั้ง 10 ตัวอย่าง ที่ได้จากเทคนิคแฮตอาร์เอพีดี



รูปที่ 3 แผนภูมิความสัมพันธ์ของขมิ้นทั้ง 10 ตัวอย่าง ที่ได้จากเทคนิคแฮตอาร์เอพีดี

4. สรุป

การตรวจสอบขมิ้นทั้ง 6 ชนิด 10 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิคแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์แบบสุ่ม 20 สาย พบว่าสามารถแยกความแตกต่างระหว่างชนิดได้ด้วยแถบดีเอ็นเอจำเพาะกับชนิด และตรวจพบไพรเมอร์ 11 สาย ที่สามารถจำแนกขมิ้นได้ด้วยไพรเมอร์เดียว เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมพบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนอยู่ระหว่าง 0.38 ถึง 0.83 และแผนภูมิความสัมพันธ์ของขมิ้นที่ได้จากเทคนิคแฮตอาร์เอพีดีที่ค่าดัชนีความเหมือน 0.53 สามารถแยกขมิ้นได้เป็น 4 กลุ่ม

5. เอกสารอ้างอิง

เกียรติชัย แซ่ไต่, เปรมณัช ขุนปักษี, ธีระชัย ธนานันต์ และนฤมล ธนานันต์, 2556, การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของแพรเซี่ยงไฮ้ (*Portulaca grandiflora*) ด้วยเทคนิคแฮตอาร์เอพีดี, Thai J. Genet. S1: 226-229.

เกียรติชัย แซ่ไต่, เปรมณัช ขุนปักษี, ธีระชัย ธนานันต์ และนฤมล ธนานันต์, 2557, การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการจำแนกหม้อข้าวหม้อแกงลิงด้วยเทคนิคแฮตอาร์เอพีดี. ว.วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 22: 237-242.

โครงการสมุนไพรกับการสาธารณสุขมูลฐานโดยความช่วยเหลือขององค์การยูนิเซฟ, 2529, คู่มือสมุนไพร เล่มที่ 3 : อาหารสมุนไพร, สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข, กรุงเทพฯ, 79 น.

โครงการสมุนไพรเพื่อการพึ่งตนเอง, 2533, ขมิ้นชันรักษาโรคกระเพาะ, กรุงเทพฯ, 100 น.

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

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

นฤมล ธนานันต์, ฐิติพร โท้มโสภา และธีระชัย ธนานันต์, 2557, การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลหวายกลุ่มเอื้องสายด้วยเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดี, ว.วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 22: 99-108.

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

นฤมล ธนานันต์, วิภาวรรณ ประสิทธิ์ และธีระชัย ธนานันต์, 2555, การจำแนกข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ปรับปรุงจากพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ด้วยเทคนิคแฮตอาร์เอพีดี, Thai J. Sci. Technol. 1: 169-188.

นฤมล ธนานันต์, สุรีพร พุ่มเอี่ยม และธีระชัย ธนานันต์, 2556, การจำแนกพันธุ์และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้ช้างและลูกผสมด้วยเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดี, ว. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 21: 360-370.

บุญหงษ์ จงคิด, 2548, การปรับปรุงพันธุ์ขมิ้นชันเพื่อเพิ่มผลผลิตและคุณภาพ, รายงานโครงการวิจัย, ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต, ปทุมธานี, 30 น.

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

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2546, เครื่องสำอางจากสมุนไพร, กรุงเทพฯ, 159 น.

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, 2552, เครื่องหมายดีเอ็นเอ : จากพื้นฐานสู่การประยุกต์, สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ, 269 น.

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

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

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

Williams, J.G.K., A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rafalski and S.V. Tinggey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucl. Acids Res. 18:6531-6535.