บทความวิจัย (Research Article)

# การจำแนกพันธุ์และการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลหวายหมู่แคลิสตาด้วยเครื่องหมายสก๊อต

# Identification and Genetic Relationship Assessment of *Dendrobium* Section Callista Using SCoT Markers

ฐิตาพร มณีเนตร และธีระชัย ธนานันต์

*สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์*
*ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120*

นฤมล ธนานันต์*

*คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์*
*ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 13180*

Thitaporn Maneenet and Theerachai Thanananta

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

Narumol Thanananta*

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

**Received: September 25, 2017; Accepted: October 10, 2017**

## บทคัดย่อ

ปัจจุบันการจำแนกชนิดของกล้วยไม้ด้วยลักษณะสัณฐานทำได้ยาก สามารถเกิดความผิดพลาดง่าย และจำเป็นต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญในการจำแนก งานวิจัยนี้จึงได้ประยุกต์ใช้เครื่องหมายสก๊อตในการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอเพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลหวายหมู่แคลิสตา 14 ชนิด โดยคัดเลือกไพรเมอร์สก๊อต 80 ชนิด และได้ 12 ชนิด ที่ให้แถบดีเอ็นเอที่ชัดเจน แล้วจึงสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลหวายหมู่แคลิสตาทั้งหมด จากนั้นจึงวิเคราะห์ควาหลากหลายทางพันธุกรรม พบว่าสามารถแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ด้วยแถบดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะกับตัวอย่าง และเมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมพบว่าสามารถจัดกลุ่มกล้วยไม้สกุลหวายหมู่แคลิสตาทั้ง 14 ตัวอย่าง เป็น 8 กลุ่ม โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน 0.14-0.63

**คำสำคัญ :** กล้วยไม้สกุลหวาย; หมู่แคลิสตา; ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม; สก๊อต

## Abstract

The identification of orchid species based on morphology is difficult and may have a high error rate as the specialist is needed. Therefore, this research used start codon targeted (SCoT) markers

**Corresponding author: narumolpla@yahoo.com*

DOI: 10.14456/tjst.2019.59

to analyze the genetic relationship of 14 species in the genus *Dendrobium* section Callista. The total of 80 primers was used for screening. Then 12 primers were selected and used to identify all samples. A dendrogram based on polymorphic bands was constructed and used to analyze the relationship among these orchids. The results showed 8 groups of similarity coefficients ranging from 0.14 to 0.63.

**Keywords:** *Dendrobium*; Callista; genetic relationship; start codon targeted (SCoT)

## 1. คำนำ

กล้วยไม้เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว จัดอยู่ในวงศ์ Orchidaceae เป็นพืชที่มีอายุยืนนานหลายปี มีจำนวนชนิดมากที่สุดในบรรดาไม้ดอก และยังเป็นพืชที่มีวิวัฒนาการและการปรับตัวอย่างสูงในหลายรูปแบบ ดังนั้นจึงกระจายพันธุ์อยู่ทั่วทุกภูมิภาคของโลก ดอกกล้วยไม้มีความหลากหลายทั้งสีสัน ลวดลาย ขนาด รูปทรง และกลิ่น ทำให้เป็นไม้ตัดดอกที่ได้รับความนิยมทั่วโลก กล้วยไม้เป็นพืชที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย สามารถสร้างรายได้เข้าประเทศเป็นจำนวนมาก โดยมีการผลิตกล้วยไม้สกุลหวายมากกว่าสกุลอื่น (สมศักดิ์, 2540)

กล้วยไม้สกุลหวายเป็นกล้วยไม้สกุลใหญ่ที่สุด เป็นที่รู้จักและนิยมปลูกกันเป็นจำนวนมาก พบกล้วยไม้สกุลนี้ตามธรรมชาติมากกว่า 150 ชนิด มีรูปร่างลักษณะแตกต่างกันไป (อบฉันท์, 2543) นักพฤกษศาสตร์จัดจำแนกกล้วยไม้สกุลหวายเป็น 4 หมู่ ได้แก่ หมู่ฟาแลนแนนเธ (Phalaenanthe) หมู่เซอราโทเบียม (Ceratobium) หมู่แคลลิสตา (Callista) และหมู่ไนโกรเฮอร์ซูเธ (Nigrohirsutae) (Baker and Baker, 1996) ซึ่งแต่ละหมู่มีรูปร่างลักษณะทั้งดอก ใบ และลำลูกกล้วยต่างกันไป บางชนิดมีสีและใบคล้ายกัน แต่มีดอกต่างกัน จึงมักสับสนได้ง่าย (มาลินี, 2538)

ด้วยเหตุผลดังกล่าวข้างต้น ผู้วิจัยจึงต้องการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการระบุพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตา 14 ชนิด ด้วยเครื่องหมายสก๊อต (SCoT, start codon targeted marker) โดยเครื่องหมายสก๊อตนั้นเป็นเครื่องหมายโมเลกุลแบบหนึ่ง ซึ่งพัฒนาขึ้นโดย Collard และ Mackill (2009) โดยใช้ไพรเมอร์สก๊อต (SCoT primer) ขนาด 18 นิวคลีโอไทด์ ที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์ ATG (รหัสพันธุกรรมเริ่มต้นในการสร้างสายนิวคลีโอไทด์) อยู่ด้วย และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (polymerase chain reaction, PCR) โดยใช้อุณหภูมิสำหรับการจับของไพรเมอร์กับดีเอ็นเอแม่แบบ (annealing temperature) 50 องศาเซลเซียส แล้วตรวจสอบผลผลิตด้วยการทำอิเล็กโทรโฟรีซิส (electrophoresis) ในเจลอะกาโรส (agarose gel)

ไพรเมอร์สก๊อตจะเข้าจับกับดีเอ็นเอแม่แบบบริเวณที่มีลำดับเบสคู่สมกัน สามารถตรวจสอบได้หลายตำแหน่งพร้อมกัน หากการเข้าคู่นั้นเกิดขึ้นในทิศทางที่เหมาะสม จะมีการเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างไพรเมอร์ทั้งสอง โดยในทางปฏิบัติจริงต้องทดลองใช้ไพรเมอร์หลาย ๆ ชนิด เพื่อคัดเลือกไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอทุกตัวอย่าง แล้วนำมาสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprint) และตรวจสอบความแตกต่างกัน โดยอาศัยหลักการว่าดีเอ็นเอของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดจะมีความแตกต่างกันในการเรียงลำดับของนิวคลีโอไทด์ ดังนั้นหากสิ่งมีชีวิตมีลำดับนิวคลีโอไทด์ต่างกันย่อมมีลายพิมพ์ดีเอ็นเอต่างกัน และหากสิ่งมีชีวิตมีความใกล้ชิดกันมากย่อมมีลายพิมพ์ดีเอ็นเอคล้ายกัน (สุรินทร์, 2552)

ข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยนี้สามารถระบุชนิดของกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตา และแสดงถึงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (genetic relationship)

ของกล้วยไม้ทั้ง 14 ชนิด เพื่อประยุกต์ใช้ในการวางแผนอนุรักษ์และปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

## 2. อุปกรณ์และวิธีการ

### 2.1 ตัวอย่างกล้วยไม้

กล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตา จำนวน 14 ชนิด ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ได้แก่ (1) เอื้องมัจฉา (*D. palpebrae* Lindl.) (2) เอื้องมัจฉานุ (*D. farmer* Paxton) (3) เอื้องมัจฉาเหลือง (*D. griffithianum* Lindl.) (4) เอื้องม่อนไข่ (*D. thyrsiflorum* Rchb.f.) (5) เอื้องม่อนไข่เหลี่ยม (*D. densiflorum* Lindl.) (6) เอื้องคำ (*D. chrysotoxum* Lindl.) (7) เอื้องคำตาดำ (*D. chrysotoxum* var. suavissimum) (8) เอื้องผึ้ง (*D. lindleyi* Steud.) (9) เอื้องคำฝอยอินเดีย (*D. brymerianum* Rchb.f.) (10) เอื้องจำปาน่าน (*D. sulcatum* Lindl.) (11) เอื้องผาเวียง (*D. albosanguineum* Lindl.) (12) เอื้องคำปากไก่ (*D. trigonopus* Rchb.f.) (13) เอื้องคำป๊อก (*D. harveyanum* Rchb.f.) และ (14) เอื้องคำผักปราบ (*D. ochreatum* Lindl.)

### 2.2 การสกัดดีเอ็นเอ

สกัดดีเอ็นเอจากใบกล้วยไม้ด้วยวิธีประยุกต์จาก Doyle และ Doyle (1987) ตามวิธีของนฤมล และคณะ (2555) จากนั้นตรวจสอบคุณภาพของดีเอ็นเอด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสในเจลอะกาโรส 0.8 เปอร์เซ็นต์ และตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร (nm) (Sambrook *et al*., 1989)

### 2.3 การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

เทคนิคสก๊อตมี 2 ขั้นตอน คือ (1) การตรวจหาไพรเมอร์สก๊อตที่ตอบสนองต่อปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส โดยรวมดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตา ทั้ง 14 ชนิด ในปริมาณเท่ากันเข้าด้วยกัน จากนั้นทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสโดยใช้ไพรเมอร์ 80 ชนิด (Luo *et al*., 2010; Wu *et al*., 2013) แล้วคัดเลือกไพรเมอร์ที่ให้ลายพิมพ์ดีเอ็นเออย่างชัดเจน และ (2) การสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตา แต่ละชนิดด้วยไพรเมอร์ที่คัดเลือกได้

การทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสเพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอประกอบด้วยดีเอ็นเอ 100 นาโนกรัม (ng) บัฟเฟอร์ 1 เท่า (50 mM KCl, 20 mM Tris-HCl pH 8.4 และ 2.5 mM $MgCl_2$) ซึ่งมีนิวคลีโอไทด์ 4 ชนิด (dATP, dCTP, dGTP และ dTTP) ชนิดละ 200 ไมโครโมลาร์ (μM) ไพรเมอร์สก๊อต 250 นาโนโมลาร์ (nM) และเอนไซม์ *Taq* DNA polymerase (Vivantis technologies Sdn Bhd., Malaysia) 1 ยูนิต (Unit) โดยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสมี 3 ขั้นตอน คือ (1) บ่มที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที จำนวน 1 รอบ (2) บ่มที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที, อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที และอุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที จำนวน 40 รอบ และ (3) บ่มที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที จานวน 1 รอบ (นฤมล และคณะ, 2555) แล้วตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอในเจลอะกาโรสความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ด้วยเทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิส

### 2.4 การวิเคราะห์ผล

เปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นจากการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมายสก๊อตในกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตา ทั้ง 14 ชนิด โดยบันทึกรูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่ได้จากไพรเมอร์แต่ละชนิด และผลรวมที่ได้จากไพรเมอร์ทั้งหมดเพื่อใช้แยกชนิดกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตา และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตา แต่ละชนิด โดยการเปรียบเทียบความเหมือนและความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้น พันธุ์ที่พบแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งหนึ่งจะให้สัญลักษณ์เป็น 1 ส่วนพันธุ์ที่ไม่พบแถบ ดีเอ็นเอที่ตำแหน่งเดียวกันจะให้สัญลักษณ์

เป็น 0 แล้วเปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นทั้งหมดจากทุกพันธุ์โดยใช้โปรแกรม NTSYS-pc 2.01e (Rohlf, 2002) จากนั้นคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนและสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยวิธี UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic mean)

## 3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

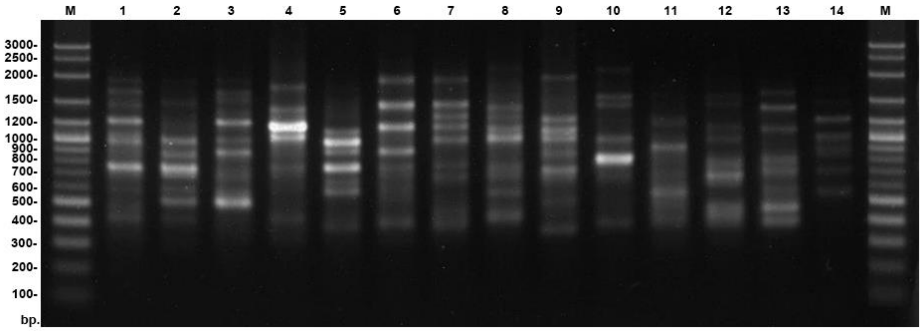
การตรวจสอบเบื้องต้นโดยการใช้ไพรเมอร์สก๊อต 80 ชนิด เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตา 14 ชนิด พบว่ามีไพรเมอร์ 50 ชนิด สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอหรือคิดเป็น 62.5 เปอร์เซ็นต์

เมื่อคัดเลือกไพรเมอร์ที่เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ปริมาณสูงอย่างชัดเจนและให้แถบดีเอ็นเอหลายแถบ 12 ชนิด ได้แก่ SCoT12, SCoT20, SCoT21, SCoT22, SCoT40, SCoT50, SCoT51, SCoT60, SCoT67, SCoT68, SCoT71 และ SCoT77 นำมาสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตา ปรากฏแถบดีเอ็นเอรวมทั้งสิ้น 284 แถบ ขนาดประมาณ 210-3,000 คู่เบส และมีความหลากรูปของแถบดีเอ็นเอ 99.6 เปอร์เซ็น (ตารางที่ 1) โดยไพรเมอร์ทั้ง 12 ชนิด ที่เลือกมาสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอนั้น สามารถแยกกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตา ออกจากกันทั้ง 14 ชนิด รูปที่ 1 เป็นตัวอย่างแถบดีเอ็นเอที่ได้จากไพรเมอร์ SCoT51 ซึ่งให้แถบดีเอ็นเอที่มีความหลากรูปมากที่สุด คือ 28 แถบ

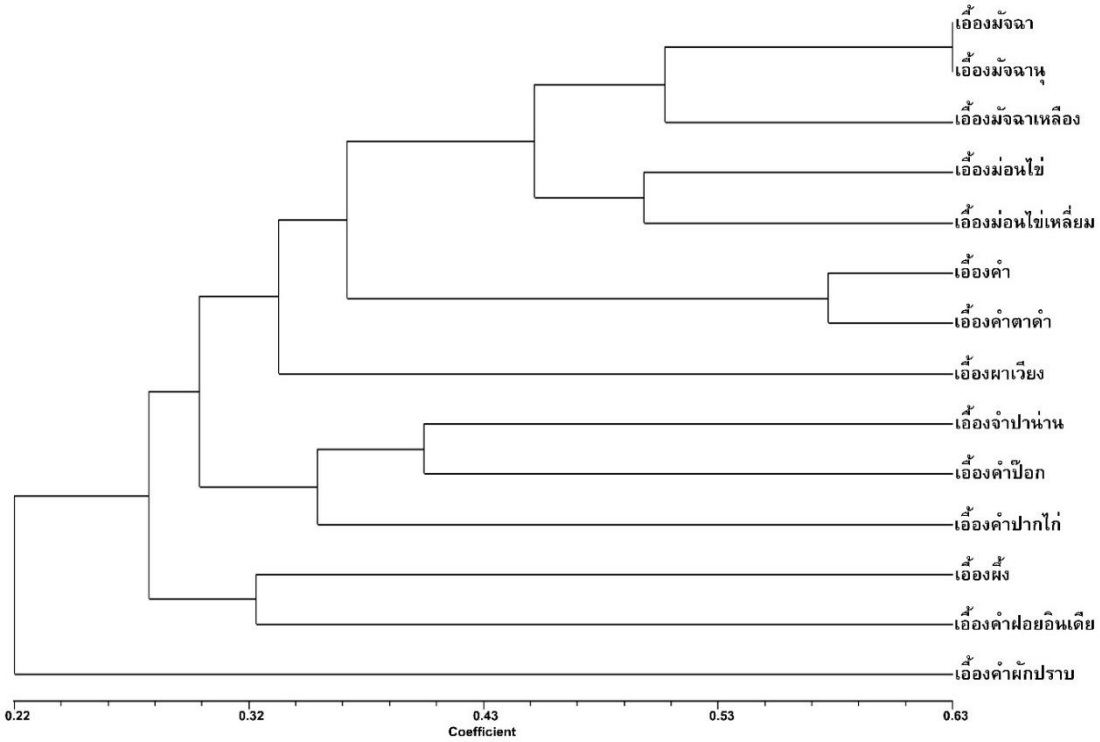
เมื่อวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอด้วยโปรแกรม NTSYS-pc 2.0e1 คำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนได้ 0.14-0.63 (รูปที่ 2) เมื่อพิจารณาแผนภูมิความสัมพันธ์ที่ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน 0.37 สามารถแบ่งกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตาทั้ง 14 ชนิด เป็น 8 กลุ่ม คือ กลุ่ม 1 ได้แก่ เอื้องมัจฉา เอื้อง

**ตารางที่ 1** ไพรเมอร์สก๊อต 12 ชนิด ที่ใช้สร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตา 14 ชนิด

| ชื่อไพรเมอร์ | ลำดับนิวคลีโอไทด์ (5′→3′) | จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด | จำนวนแถบดีเอ็นเอที่มีความหลากรูป | จำนวนแถบดีเอ็นเอที่ไม่มีความหลากรูป | เปอร์เซ็นต์ความหลากรูป |
|---|---|---|---|---|---|
| SCoT12 | ACGACATGGCGACCAACG | 21 | 21 | 0 | 100.0 |
| SCoT20 | ACCATGGCTACCACCGCG | 20 | 20 | 0 | 100.0 |
| SCoT21 | ACGACATGGCGACCCACA | 23 | 23 | 0 | 100.0 |
| SCoT22 | AACCATGGCTACCACCAC | 20 | 19 | 1 | 95.0 |
| SCoT40 | ACGACATGGCGACCACGT | 26 | 26 | 0 | 100.0 |
| SCoT50 | ACAATGGCTACCACTGGG | 21 | 21 | 0 | 100.0 |
| SCoT51 | ACAATGGCTACCACTGTC | 28 | 28 | 0 | 100.0 |
| SCoT60 | ACAATGGCTACCACCACA | 22 | 22 | 0 | 100.0 |
| SCoT67 | ACCATGGCTACCAGCGGC | 23 | 23 | 0 | 100.0 |
| SCoT68 | ACCATGGCTACCAGCGTC | 28 | 28 | 0 | 100.0 |
| SCoT71 | CCATGGCTACCACCGCCG | 24 | 24 | 0 | 100.0 |
| SCoT77 | CCATGGCTACCACTACCC | 28 | 28 | 0 | 100.0 |




**รูปที่ 1** ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตา โดยใช้ไพรเมอร์ SCoT51 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp plus DNA Ladder (GeneRuler$^{TM}$ 100 bp Plus DNA Ladder, Thermo Scientific™), 1-14 คือ กล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตา 14 ชนิด]




**รูปที่ 2** แผนภูมิความสัมพันธ์ของกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตา 14 ชนิด

มัจฉานุ เอื้องมัจฉาเหลือง เอื้องม่อนไข่ และเอื้องม่อนไข่เหลี่ยม กลุ่ม 2 ได้แก่ เอื้องคำ และเอื้องคำตาดำ กลุ่มที่ 3 ได้แก่ เอื้องผาเวียง กลุ่ม 4 ได้แก่ เอื้องจำปาน่าน และเอื้องคาป๊อก กลุ่ม 5 ได้แก่ เอื้องคำปากไก่ กลุ่ม 6 ได้แก่ เอื้องคำผึ้ง กลุ่มที่ 7 ได้แก่ เอื้องคำฝอยอินเดีย และกลุ่มที่ 8 ได้แก่ เอื้องคำผักปราบ

เมื่อพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนของกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตา 14 ชนิด ที่ได้จากเครื่องหมายสก๊อต พบว่าเอื้องมัจฉาและเอื้อง

มัจฉานุมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันมากที่สุด คือ 0.63 ในขณะที่เอื้องม่อนไข่เหลี่ยมและเอื้องคำผักปราบมีความแกต่างกันมากที่สุด คือ 0.14 (รูปที่ 3) ซึ่งผลที่ได้เป็นไปในทางเดียวกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่วิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการจำแนกกล้วยไม้สกุลหวายหมู่แคลิสตาโดยใช้เครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดี (ฐิตาพร, 2560)

| | เอื้องมัจฉา | เอื้องมัจฉานุ | เอื้องมัจฉาเหลือง | เอื้องม่อนไข่ | เอื้องม่อนไข่เหลี่ยม | เอื้องคำ | เอื้องคำตาดำ | เอื้องผึ้ง | เอื้องคำฝอยอินเดีย | เอื้องจำปาน่าน | เอื้องผาเวียง | เอื้องคำปากไก่ | เอื้องคำป๊อก | เอื้องคำผักปราบ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| เอื้องมัจฉา | 1.00 | | | | | | | | | | | | | |
| เอื้องมัจฉานุ | 0.63 | 1.00 | | | | | | | | | | | | |
| เอื้องมัจฉาเหลือง | 0.53 | 0.48 | 1.00 | | | | | | | | | | | |
| เอื้องม่อนไข่ | 0.45 | 0.39 | 0.47 | 1.00 | | | | | | | | | | |
| เอื้องม่อนไข่เหลี่ยม | 0.49 | 0.45 | 0.44 | 0.50 | 1.00 | | | | | | | | | |
| เอื้องคำ | 0.45 | 0.38 | 0.32 | 0.29 | 0.43 | 1.00 | | | | | | | | |
| เอื้องคำตาดำ | 0.44 | 0.43 | 0.33 | 0.27 | 0.31 | 0.58 | 1.00 | | | | | | | |
| เอื้องผึ้ง | 0.30 | 0.24 | 0.29 | 0.35 | 0.28 | 0.29 | 0.25 | 1.00 | | | | | | |
| เอื้องคำฝอยอินเดีย | 0.32 | 0.31 | 0.31 | 0.26 | 0.29 | 0.28 | 0.33 | 0.33 | 1.00 | | | | | |
| เอื้องจำปาน่าน | 0.32 | 0.34 | 0.29 | 0.25 | 0.30 | 0.24 | 0.31 | 0.26 | 0.29 | 1.00 | | | | |
| เอื้องผาเวียง | 0.34 | 0.33 | 0.36 | 0.39 | 0.37 | 0.25 | 0.31 | 0.25 | 0.32 | 0.30 | 1.00 | | | |
| เอื้องคำปากไก่ | 0.33 | 0.33 | 0.32 | 0.29 | 0.36 | 0.24 | 0.29 | 0.21 | 0.20 | 0.31 | 0.30 | 1.00 | | |
| เอื้องคำป๊อก | 0.28 | 0.31 | 0.29 | 0.31 | 0.28 | 0.27 | 0.30 | 0.24 | 0.25 | 0.40 | 0.37 | 0.39 | 1.00 | |
| เอื้องคำผักปราบ | 0.21 | 0.22 | 0.27 | 0.16 | 0.14 | 0.25 | 0.24 | 0.21 | 0.17 | 0.23 | 0.22 | 0.24 | 0.28 | 1.00 |

**รูปที่ 3** ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนของกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตา 14 ชนิด

งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าเครื่องหมายสก๊อตมีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ความผันแปรทางพันธุกรรม (genetic variation) ของกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตา ได้เช่นเดียวกับกล้วยไม้สกุลก้านก่อ (นฤมล และคณะ, 2560) กล้วยไม้รองเท้านารีสกุล *Paphiopedilum* สกุลย่อย *Brachypetalum* หมู่ Brachypetalum (ธีระชัย และคณะ, 2560a) และกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีกลุ่มใบเขียว (ธีระชัย และคณะ, 2560c) หรือพืชอื่น เช่น รักแกนมอ (กรองทอง และคณะ, 2557) ลิลลี่ (Gao *et al*., 2014) อินทผาลัม (Al-Qurainy *et al*., 2015) ข้าว (ทัศนีย์ และคณะ, 2560) พริก (ทีปกา และคณะ, 2560) กล้วย (พรประภา และคณะ, 2560) กระท้อน (ธีระชัย และคณะ, 2560b) ทุเรียน (ทัศนีย์ และคณะ, 2561) นอกจากนั้นเครื่องหมายสก๊อตยังมีประสิทธิภาพในการประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้ได้ไม่ต่างจากเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิดอื่น เช่น การใช้เครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีและเครื่องหมายไอเอสเอสอาร์เพื่อจำแนกกล้วยไม้สกุลหวาย กลุ่มเอื้องสาย (ฐิติพร และคณะ, 2557) กล้วยไม้สกุลสิงโตกลอกตาหมู่สิงโตสยาม (เกียรติชัย, 2557) กล้วยไม้สกุลกุหลาบ (วริสรา, 2557)

## 4. สรุป

การตรวจสอบเบื้องต้นโดยใช้ไพรเมอร์สก๊อต 80 ชนิด พบไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอและให้แถบดีเอ็นเออย่างชัดเจน 12 ชนิด เมื่อสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตา 14 พันธุ์ พบแถบดีเอ็นเอรวม 284 แถบ เมื่อวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NTSYS-pc 2.01e และเลือกวิธีการจัดกลุ่มแบบ UPGMA คำนวณค่าดัชนีความเหมือนได้ 0.14-0.63 และเมื่อพิจารณาที่ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน 0.37 สามารถจัดกล้วยไม้สกุลหวาย หมู่แคลิสตา 14 ชนิด เป็น 8 กลุ่ม

## 5. รายการอ้างอิง


กรองทอง ใจแก้วแดง, วิชาญ เอียดทอง และสุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, 2556, การวิเคราะห์ความผันแปรทางพันธุกรรมของต้นรักแกนมอในประเทศไทยโดยใช้เครื่องหมาย Start Codon Targeted (SCoT), Thai J. For. 33(2): 19-27.

เกียรติชัย แซ่ไต่, ธีระชัย ธนานันต์ และนฤมล ธนานันต์, 2557, การจำแนกและการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลสิงโตกลอกตาหมู่สิงโตสยามด้วยเทคนิคแฮตอาร์เอพีดีและไอเอสเอสอาร์, Thai J. Sci. Technol. 3(2): 92-101.

ฐิตาพร มณีนเตร, ธีระชัย ธนานันต์ และนฤมล ธนานันต์, 2560, การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการจำแนกกล้วยไม้สกุลหวายหมู่แคลิสตาด้วยเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดี, Thai J. Sci. Technol 6(4): 316-323.

ฐิติพร โท้มโสภา, ธีระชัย ธนานันต์ และนฤมล ธนานันต์, 2557, การจำแนกและการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลหลายกลุ่มเอื้องสายด้วยเทคนิคแฮตอาร์เอพีดีและไอเอสเอสอาร์, Thai J. Sci. Technol. 3(2): 82-91.

ทัศนีย์ สิงห์ศิลารักษ์, จุฑามาศ เจียมเจือจันทร์, เปรมณัช ขุนปักษี, ธีระชัย ธนานันต์ และนฤมล ธนานันต์, 2560, การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการจำแนกข้าวปลูกบางพันธุ์ด้วยเครื่องหมายสก๊อต, Thai J. Sci. Technol. 6(3): 252-261.

ทัศนีย์ สิงห์ศิลารักษ์, ธีระชัย ธนานันต์ และนฤมล ธนานันต์, 2561, การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการจำแนกทุเรียนด้วยเครื่องหมายสก๊อต, Thai J. Sci. Technol. 7(3): 213-222.

ทีปกา มีเสงี่ยม, เปรมณัช ขุนปักษี, ธีระชัย ธนานันต์ และนฤมล ธนานันต์, 2560, การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการจำแนกพริกด้วยเครื่องหมายสก๊อต, Thai J. Sci. Technol. 6(3): 262-270.

ธีระชัย ธนานันต์, ทีปกา มีเสงี่ยม และนฤมล ธนานันต์, 2560a, การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการระบุชนิดของกล้วยไม้รองเท้านารีสกุล *Paphiopedilum* สกุลย่อย *Brachypetalum* หมู่ Brachypetalum ด้วยเครื่องหมายสก๊อต, Thai J. Sci. Technol. 6(2): 161-170.

ธีระชัย ธนานันต์, ทีปกา มีเสงี่ยม และสุพัตรา โพธิ์เอี่ยม, 2560b, การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกระท้อนด้วยเครื่องหมายสก๊อต, ว.วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 25(6): 1015-1024.

ธีระชัย ธนานันต์, พรประภา ศิริเทพทวี, ภัทรพร คุ้มภัย และนฤมล ธนานันต์, 2560c, การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการระบุชนิดของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีกลุ่มใบเขียวด้วยเครื่องหมายสก๊อต, Thai J. Sci. Technol. 6(2): 171-178.

นฤมล ธนานันต์, จุฑามาศ เจียมเจือจันทร์ และธีระ

ชัย ธนานันต์, 2560, การประเมินวามสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการระบุชนิดของกล้วยไม้สกุลก้านก่อด้วยเครื่องหมายสก๊อต, Thai J. Sci. Technol. 6(2): 152-160.

นฤมล ธนานันต์, วิภาวรรณ ประสิทธิ์ และธีระชัย ธนานันต์, 2555, การจำแนกข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ปรับปรุงจากพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ด้วยเทคนิคแฮตอาร์เอพีดี, Thai J. Sci. Tech. 1(3): 169-179.

พรประภา ศิริเทพทวี, ฐิตาพร มณีเนตร, เปรมณัช ขุนปักษี, ธีระชัย ธนานันต์ และนฤมล ธนานันต์, 2560, การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการจำแนกกล้วยด้วยเครื่องหมายสก๊อต, Thai J. Sci. Technol. 6(2): 271-278.

มาลินี อนุพันธ์สกุล, 2538, กล้วยไม้, สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วริสรา แทนสง่า, ธีระชัย ธนานันต์ และนฤมล ธนานันต์, 2557, การจำแนกและการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลกุหลาบด้วยเทคนิคแฮตอาร์เอพีดีและไอเอสเอสอาร์, Thai J. Sci. Technol. 3(2):102-112.

สมศักดิ์ รักไพบูลย์สมบัติ, 2540, การปลูกเลี้ยงกล้วยไม้จากประสบการณ์, บริษัท ธรรมสาร จำกัด, กรุงเทพฯ.

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, 2552, เครื่องหมายดีเอ็นเอจากพื้นฐานสู่การประยุกต์, สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อบฉันท์ ไทยทอง, 2543, กล้วยไม้เมืองไทย, บมจ. อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง, กรุงเทพฯ.

Al-Qurainy, F., Khan, S., Nadeem, M. and Tarroum, M., 2015, SCoT marker for the assessment of genetic diversity in Saudi Arabian date palm cultivars, Pak. J. Bot. 47: 637-643.

Baker, M.L. and Baker, C.O., 1996, Orchid Species Culture Dendrobium, Timber Press, Portland.

Collard, B.C.Y. and Mackill, D.J., 2009, Start codon targeted (SCoT) polymorphism: A simple novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants, Plant Mol. Biol. Rep. 27: 86-93.

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

Gao, Y.H., Zhu, Y.Q., Tong, Z.K., Xu, Z.Y., Jiang, X.F., Jiang, X.F. and Huang, C.H., 2014, Analysis of genetic diversity and relationships among genus *Lycoris* based on start codon targeted (SCoT) marker, Biochem. System. Ecol. 57: 221-226.

Luo, C., Hea, X.H., Chena, H., Oua, S.J. and Gaoa, M.P., 2010, Analysis of diversity and relationships among mango cultivars using start codon targeted (SCoT) markers, Biochem. System. Ecol. 6: 1176-1184.

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, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory, New York.

Wu, J.M., Li, Y.R., Yang, L.T., Fang, F.X., Song, H.Z., Tang, G.Q., Wang, M. and Weng, M.L., 2013, cDNA-SCoT: A novel rapid method for analysis of gene differential expression in sugarcane and other plants, Aust. J. Crop Sci. 7: 659-664.