

การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม และการจำแนกกล้วยด้วยเครื่องหมายสก็อต Genetic Relationship Assessment and Identification of Banana Using SCoT Markers

พรประภา สิริเทพทวี, จิตาพร มณีเนตร, เปรมณัช ขุนปักษ์

และธีระชัย ธนานันต์

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

นฤมล ธนานันต์*

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์

ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 13180

Pornprapa Siritheptawee, Thitaporn Maneenet, Premmanuch Kunpuksri
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

บทคัดย่อ

กล้วยจัดอยู่ในวงศ์ Musaceae มีถิ่นกำเนิดในบริเวณเอเชียและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีการปลูกอย่างแพร่หลาย กล้วยเป็นผลไม้ที่ประชากรโลกนิยมบริโภคเป็นอาหาร มีคุณค่าทางอาหารสูง ปัจจุบันประเทศไทยมีการผลิตกล้วยเพื่อส่งออก จนเป็นสินค้าส่งออกที่สร้างรายได้ให้กับประเทศ เนื่องจากกล้วยเป็นพืชที่มีวิวัฒนาการมายาวนานและมีการผสมกันเองในธรรมชาติ และอาจมีการกลายพันธุ์เกิดขึ้นได้ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงลักษณะพันธุกรรมนี้ ทำให้เกิดกล้วยพันธุ์ต่าง ๆ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและจำแนกกล้วยด้วยเครื่องหมายสก็อต โดยคัดเลือกไพรเมอร์ จำนวน 80 ชนิด พบว่าไพรเมอร์ 15 ชนิด สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอกล้วยและให้แถบดีเอ็นเอที่ชัดเจน เมื่อสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วย 25 พันธุ์ พบว่าปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ให้ผลหลากหลาย 220 แถบ เมื่อนำข้อมูลแถบดีเอ็นเอไปสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ด้วยวิธีการจัดกลุ่มแบบ UPGMA โดยใช้โปรแกรม NTSYS พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน 0.427-0.854 และสามารถจำแนกกล้วยเป็น 2 กลุ่ม ซึ่งผลการวิจัยนี้สามารถใช้ในการวางแผนอนุรักษ์พันธุกรรมและปรับปรุงพันธุ์กล้วยต่อไป

คำสำคัญ : กล้วย; เครื่องหมายสก็อต; ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม; การจำแนก; เครื่องหมายดีเอ็นเอ

Abstract

Banana belongs to the family Musaceae which is native to Asia and Southeast Asia, and later widely grows in most countries. With a high nutrition value, it becomes one of the most popular fruits for consumption. In Thailand, it has been currently produced for export to many countries. Naturally, banana has been evolved for a long time. Natural hybrids together with mutation might create many cultivars. Therefore, Start codon targeted (SCoT) marker was used to identify and investigate the genetic relationship of 25 banana cultivars. The total of 80 primers was screened and 15 primers could be used for DNA amplification giving clear amplified products to construct DNA fingerprints. The total of 220 polymorphic bands was found. A dendrogram, which constructed base on polymorphic bands using UPGMA by the NTSYS program, showed genetic similarities among 25 cultivars with similarity coefficients ranging from 0.427 to 0.854 and divided these bananas into 2 clusters. These results indicated that the SCoT markers are capable to specify banana, and can be used in the breeding program for genetic resource conservation in the future.

Keywords: banana; start codon targeted (SCoT); genetic relationship; identification; DNA marker

1. คำนำ

กล้วย (*Musa* spp.) จัดอยู่ในวงศ์ Musaceae มีถิ่นกำเนิดในบริเวณเอเชียและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ซึ่งปัจจุบันมีการปลูกอย่างแพร่หลาย โดยประเทศอินเดียปลูกกล้วยมากที่สุดในโลก กล้วยมีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ คือ เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ลำต้นอยู่ใต้ดิน ไม่มีลำต้นที่แท้จริงบนดิน ลำต้นที่เห็นบนดินเป็นลำต้นเทียม แผ่นใบเรียวยาว มีเส้นใบมาก ช่วงที่มีการเกิดลำต้นใหม่ก้านใบจะมีขนาดใหญ่และใบจะม้วนแน่นในช่วงแรกและค่อย ๆ คลี่ออก และเมื่อโตเต็มที่กล้วยจะมีดอกหรือปลีเรียงกันตามความยาว ด้านบนเป็นดอกตัวเมีย ตรงกลางเป็นดอกกะเทย ตอนล่างเป็นดอกตัวผู้ และดอกจะมีการเจริญไล่จากดอกตัวเมียลงมา เมื่อเป็นผลหรือหวี เนื้อผลจะนุ่มเมื่อสุก เมล็ดมีขนาดเล็กและลักษณะกลม ๆ แต่ค่อนข้างหากกล้วยที่มีเมล็ดได้ยาก (เบญจมาศ, 2545) เนื่องจากคนไม่นิยม

รับประทานกล้วยที่มีเมล็ด ดังนั้นจึงไม่ปลูกเพื่อการค้าทั่วไป

กล้วยเป็นผลไม้ที่ประชากรโลกนิยมบริโภคเป็นอาหาร และคนไทยนิยมนำมาบริโภคให้ทารกและคนชรารับประทาน เนื่องจากสามารถกลืนและย่อยได้ง่าย มีคุณค่าทางอาหารสูง ปัจจุบันประเทศไทยมีการผลิตกล้วยเพื่อส่งออกจนกลายเป็นสินค้าส่งออกที่สร้างรายได้ให้กับประเทศ (กรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ, 2559) นอกจากจะใช้ผลเพื่อรับประทานแล้ว ส่วนอื่นๆ ของกล้วยก็ยังสามารถใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย ทั้งส่วนก้านใบหรือลำต้นเทียม (pseudostem) ใบ ปลี และราก จึงทำให้กล้วยเป็นพืชที่มีคุณค่าประโยชน์นานาประการ

เนื่องจากกล้วยเป็นพืชที่มีวิวัฒนาการมายาวนาน จึงมีความผันแปรทางพันธุกรรม (genetic variation) สูง และอาจเกิดการกลายพันธุ์ขึ้นได้จากการเปลี่ยนแปลงลักษณะพันธุกรรมเมื่อชุดยีน

ไปปลูกตามแหล่งต่าง ๆ ทำให้มีกล้วยพันธุ์ต่าง ๆ มากมาย พบว่าในประเทศอินเดียมีพันธุ์กล้วยมากที่สุด ปัจจุบันวิธีการจำแนกกล้วยทำได้ด้วยการใช้ลักษณะภายนอก ร่วมกับการนับจำนวนโครโมโซม โดยกล้วยที่บริโภคในปัจจุบันนั้นมีบรรพบุรุษมาจากกล้วยป่าและกล้วยตานี ซึ่งมีจีโนมที่แตกต่างกัน และลูกผสมที่เกิดจากทั้ง 2 พันธุ์ นี้ก็มีจีโนมต่างกันด้วย (เบญจมาศ, 2548) ส่วนประเทศไทยมีรายงานว่าสามารถรวบรวมพันธุ์กล้วยได้ถึง 323 พันธุ์ และเมื่อจำแนกตามระบบพบว่า มีเพียง 53 พันธุ์ (เบญจมาศ, 2545) อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันเริ่มมีการนำเครื่องหมายโมเลกุล (molecular marker) มาใช้ในการประเมินความสัมพันธ์และการจำแนกพืชอย่างหลากหลาย ซึ่งสามารถจำแนกหรือระบุพันธุ์ของพืชได้ดียิ่งขึ้น และยังสามารถนำข้อมูลไปใช้ในการวางแผนอนุรักษ์และปรับปรุงพันธุ์ได้ด้วย

ด้วยเหตุนี้ ผู้วิจัยจึงได้ประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและจำแนกกล้วยด้วยเครื่องหมายสก็อต (SCoT, start codon targeted) ซึ่งเป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker) ที่เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์หรือพีซีอาร์ (PCR, polymerase chain reaction) ด้วยไพรเมอร์ที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์ (nucleotide) ATG [รหัสเริ่มต้นของการแปลรหัส (translation)] อยู่ด้วย (Collard and Mackill, 2009) โดยเครื่องหมายสก็อตมีข้อดี คือ สามารถทำได้ง่าย ค่าใช้จ่ายไม่สูงนัก และผลการตรวจสอบมีความน่าเชื่อถือ

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 กล้วย

กล้วยที่ใช้ในการวิจัย 25 พันธุ์ ได้แก่ (1) กล้วยเทพรส (2) กล้วยไข่ชุมแพ (3) กล้วยตะกุก (4) กล้วยหักมุกนวล (5) กล้วยช้างกุฎีไสล (6) กล้วยน้ำว้ากาบขาว (7) กล้วยนิ้วมือนาง (8) กล้วยตานีแก้วจันทร์ (9) กล้วยจีน (10) กล้วย

ทองแขก (11) กล้วยหักมุกทอง (12) กล้วยหอมทองค่อม (13) กล้วยมาฮอย (14) กล้วยนาถ (15) กล้วยหอมทิพย์ (16) กล้วยหอมจันทร์ (17) กล้วยหอมกระเหรียง (18) กล้วยกุ้งเขียว (19) กล้วยหอมทองคอดด (20) กล้วยนำหมาก (21) กล้วยหอมทองกาบดำ (22) กล้วยหวาน (23) กล้วยเนื้อทอง (24) กล้วยหอมหนองบัวลำภู และ (25) กล้วยหอมทอง โดยเก็บตัวอย่างใบกล้วยจากสวนสมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ฯ ถนนกำแพงเพชร 2 แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร

2.2 การสกัดแยกดีเอ็นเอ

สกัดแยกดีเอ็นเอจากใบของกล้วยด้วยวิธีประยุกต์จาก Doyle และ Doyle (1987) ตามวิธีของ นฤมล และคณะ (2555) แล้วตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสงยูวี (UV, ultraviolet) ที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร และตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอด้วยวิธีการทำอิเล็กโทรโฟรีซิส (electrophoresis) ในเจลอะกาโรส (agarose) ความเข้มข้นร้อยละ 0.8 และคำนวณอัตราส่วนระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260 กับ 280 นาโนเมตร (Sambrook *et al.*, 1989)

2.3 การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprint) ด้วยเครื่องหมายสก็อตมี 2 ขั้นตอน คือ

2.3.1 การตรวจหาไพรเมอร์ที่ตอบสนองต่อปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์ โดยรวมดีเอ็นเอของกล้วยทั้ง 25 พันธุ์ เข้าด้วยกัน ในปริมาณเท่า ๆ กัน เพื่อใช้เป็นดีเอ็นเอแม่แบบ (DNA template) สำหรับทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์ โดยไพรเมอร์มีขนาด 18 นิวคลีโอไทด์ จำนวน 80 ชนิด (Luo *et al.*, 2010; Wu *et al.*, 2013) แล้วตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสในเจลอะกาโรสความเข้มข้นร้อยละ 1.5

2.3.2 คัดเลือกไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอกล้วย และให้แถบดีเอ็นเอที่ชัดเจน

นำมาสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยทั้ง 25 พันธุ์ ปฏิกริยาถูกโซฟอลิเมอเรสประกอบด้วย ดีเอ็นเอ 100 นาโนกรัม ในบัฟเฟอร์ 1 เท่า (50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl pH 9.1, 0.1 % Triton™ X-100 และ 2.5 mM MgCl₂) และมีนิวคลีโอไทด์ 4 ชนิด คือ dATP, dCTP, dGTP และ dTTP ชนิดละ 200 ไมโครโมลาร์ (μM) ไพรเมอร์ 250 นาโนโมลาร์ (nM) และเอนไซม์ *Taq* DNA polymerase (Vivantis technologies Sdn. Bhd., Malaysia) 1 ยูนิต (Unit) โดยมีปริมาตรรวม 20 ไมโครลิตร (นฤมล และคณะ, 2555)

การทำปฏิกริยาถูกโซฟอลิเมอเรสมี 3 ขั้นตอน คือ (1) บ่มที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที จำนวน 1 รอบ (2) บ่มที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที, บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที และบ่มที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที จำนวน 40 รอบ และ (3) บ่มที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที จำนวน 1 รอบ (นฤมล และคณะ, 2555)

2.4 การวิเคราะห์ผล

เปรียบเทียบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยทั้ง 25 พันธุ์ โดยเปรียบเทียบความเหมือนและความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้น พันธุ์ที่พบแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งหนึ่งจะให้สัญลักษณ์เป็น 1 ส่วนพันธุ์ที่ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งเดียวกันนั้นจะให้สัญลักษณ์เป็น 0 แล้วหาค่าดัชนีความเหมือน (similarity coefficient) และสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ (dendrogram) ด้วยวิธีการจัดกลุ่มแบบ UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic Mean) โดยใช้โปรแกรม NTSYS-pc รุ่น 2.0 (Rohlf, 2002)

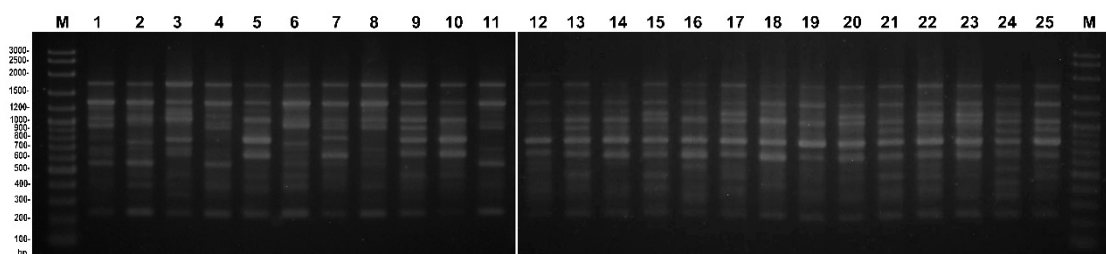
3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกริยาถูกโซฟอลิเมอเรสสำหรับเครื่องขยายสก็อตด้วยไพรเมอร์

ขนาด 18 นิวคลีโอไทด์ จำนวน 80 ไพรเมอร์ พบว่า ไพรเมอร์ 15 ชนิด ได้แก่ SCoT50, SCoT52, SCoT53, SCoT56, SCoT63, SCoT64, SCoT65, SCoT66, SCoT67, SCoT69, SCoT70, SCoT71, SCoT73, SCoT75 และ SCoT76 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอกล้วยและให้แถบดีเอ็นเอที่ชัดเจน ดังนั้นจึงนำมาสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยทั้ง 25 พันธุ์ ซึ่งปรากฏว่าได้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 234 แถบ ขนาด 250-2,600 คู่เบส (bp, base pair) ซึ่งตัวอย่างลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากไพรเมอร์ SCoT67 แสดงดังรูปที่ 1

เมื่อวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากเครื่องหมายสก็อตโดยใช้โปรแกรม NTSYS และเลือกวิธีจัดกลุ่มแบบ UPGMA พบว่าได้ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน 0.427-0.854 ดังรูปที่ 2 โดยกล้วยเนื้อทองกับกล้วยหวานมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนสูงสุด คือ 0.854 ในขณะที่กล้วยหอมทองกับกล้วยตานีกัวจันท์มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนต่ำที่สุด คือ 0.427 ซึ่งสามารถแบ่งกลุ่มกล้วยเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ได้แก่ กล้วยเทพรส กล้วยไข่มุมแพ กล้วยช้างกุฎีไสลัย กล้วยน้ำว้ากบขาว กล้วยจิน กล้วยทองแขก กล้วยตะกุก กล้วยหักมุกนวล กล้วยหักมุกทอง กล้วยนิ้วมีอนาง และกล้วยตานีกัวจันท์ และกลุ่มที่ 2 ได้แก่ กล้วยหอมทองค่อม กล้วยมาฮอย กล้วยนาก กล้วยหอมทิพย์ กล้วยหอมจันทร์ กล้วยหอมกระเหรี่ยง กล้วยกุ้งเขียว กล้วยหอมทองคอดด กล้วยน้ำหามาก กล้วยหวาน กล้วยเนื้อทอง กล้วยหอมทองกบดำ กล้วยหอมหนองบัวลำภู และกล้วยหอมทอง ดังรูปที่ 3

เมื่อพิจารณาแผนภูมิความสัมพันธ์ของกล้วยทั้ง 25 ชนิด พบว่าการแบ่งกลุ่มสอดคล้องกับจีโนมกล้วย โดยกลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยกล้วยจีโนม AAB, ABB, BBB และ ABBS (มีจีโนม B ด้วย) ส่วนกลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยกล้วยจีโนม AA และ AAA (มีเฉพาะจีโนม A) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ วิฑิตพร



รูปที่ 1 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอกล้วยโดยใช้ไพรเมอร์ SCot67 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน (GeneRuler™ 100 bp Plus DNA Ladder, Thermo Scientific™), 1-25 คือ พันธุ์กล้วย ได้แก่ (1) กล้วยเทพรส (2) กล้วยไข่ชุมแพ (3) กล้วยตะกุก (4) กล้วยหักมุกนวล (5) กล้วยช้างกุฎีไส้ลาย (6) กล้วยน้ำว้ากาบขาว (7) กล้วยนิ้วมือนาง (8) กล้วยตานีแก้วจันทร์ (9) กล้วยจิน (10) กล้วยทองแขก (11) กล้วยหักมุกทอง (12) กล้วยหอมทองค่อม (13) กล้วยมาฮอย (14) กล้วยนาก (15) กล้วยหอมทิพย์ (16) กล้วยหอมจันทร์ (17) กล้วยหอมกระเหรี่ยง (18) กล้วยกุ้งเขียว (19) กล้วยหอมทองคอดต (20) กล้วยน้ำหมาก (21) กล้วยหอมทองกาบดำ (22) กล้วยหวาน (23) กล้วยเนื้อทอง (24) กล้วยหอมหนองบัวลำภู และ (25) กล้วยหอมทอง]

กล้วยเทพพร	1.000																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																	</
------------	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----

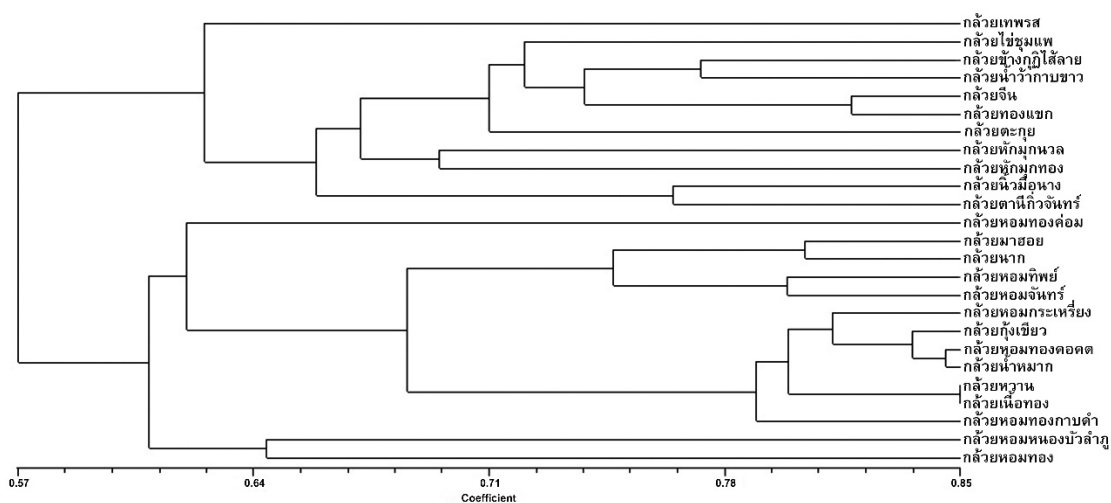
รูปที่ 2 ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนของกล้วยทั้ง 25 พันธุ์ ที่ได้จากเครื่องหมายสก็อต

และคณะ (2556) ที่ศึกษาความสัมพันธ์ของกล้วย
สกุลมีวชาด้วยเทคนิคแฮตอาร์เอพีดี (HAT-RAPD,
high annealing temperature-random amplified

polymorphic DNA) พบว่าสามารถจำแนกกล้วยทั้ง 10 พันธุ์ ออกจากกันได้ โดยกล้วยน้ำว้ากาบขาวกับกล้วยหักมุกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน ซึ่งสอดคล้องกับ

งานวิจัยนี้ที่กล้วยน้ำว้ากาบขาว กล้วยหักมุกนวล และกล้วยหักมุกทองจัดเป็นกลุ่มเดียวกัน นอกจากนี้ยังมีรายงานอื่นที่ได้ศึกษาความสัมพันธ์ของกล้วยโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ ได้แก่ แอสอาร์เอฟดี (Ruangsuttapha et al., 2007) เอเอฟแอลพี (AFLP, amplified fragment length polymorphism) (El-

Khishin et al., 2009) อาร์เอฟดี (RAPD, random amplified polymorphic DNA) และไอเอสเอสอาร์ (ISSR, inter simple sequence repeat) (Poerba and Ahmad, 2010) ซึ่งสามารถจำแนกกล้วยต่าง ๆ และใช้ประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมได้



รูปที่ 3 แผนภูมิความสัมพันธ์ของกล้วยทั้ง 25 พันธุ์ ที่ได้จากเครื่องหมายสก็อต

รายงานการวิจัยในประเทศไทยนั้น พบว่าเริ่มมีการใช้เครื่องหมายสก็อต เช่น การวิเคราะห์ความผันแปรทางพันธุกรรม (genetic variation) ของต้นรักแกนมอ (กรองทอง และคณะ, 2557) การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการระบุชนิดของกล้วยไม้สกุลก้านก่อ (นฤมล และคณะ, 2560) การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการระบุชนิดของกล้วยไม้รองเท้านารีสกุล *Paphiopedilum* สกุลย่อย *Brachypetalum* หมู่ *Brachypetalum* (ธีระชัย และคณะ, 2560) การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการระบุชนิดของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีกลุ่มใบเขียว (ธีระชัย และคณะ, 2560)

4. สรุป

การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการจำแนกกล้วย 25 พันธุ์ ด้วยเครื่องหมายสก็อตโดยใช้ไพรเมอร์แบบสุ่ม 15 ไพรเมอร์ พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน 0.427-0.854 เมื่อสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์โดยใช้โปรแกรม NTSYS และเลือกการจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA สามารถจัดกลุ่มกล้วยเป็น 2 กลุ่ม ซึ่งสอดคล้องกับจีโนม ดังนั้นเครื่องหมายสก็อตจึงเป็นเครื่องหมายที่มีประสิทธิภาพในการประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการจำแนกกล้วยเช่นเดียวกับเครื่องหมายดีเอ็นเอประเภทอื่น

5. กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับความอนุเคราะห์ตัวอย่างใบกล้วยจากสวนสมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ฯ และ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ คุณญาดา พูลเกษม คุณภัทรา นิษฐ์ ลิขิตพัฒนานุกุล คุณภัทรวี นิลพลับ คุณกชพร โชติมนโนธรรม คุณภาณุสรณ์ หุ่นทรัพย์ และคุณยศ ภัทร เหลือบุญชู ที่มีส่วนช่วยให้งานวิจัยนี้สำเร็จ ลุล่วงได้ด้วยดี

6. รายการอ้างอิง

กรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ, รอบรู้เศรษฐกิจ ตามติดตลาดโลก, แหล่งที่มา : http://www.ditp.go.th/contents_attach/144911/144911.pdf, 14 มกราคม 2560.

กรทอง ทองใจแก้วแดง, วิชาญ เอียดทอง และสุนิษฐ์ ปิยะโชคณากุล, 2557, การวิเคราะห์ความผันแปรทางพันธุกรรมของต้นรักแกนมอในประเทศไทยโดยใช้เครื่องหมาย Start Codon Targeted (SCoT), Thai J. Forest. 33: 19-27.

ฐิติพร ไท่มโสภา, เปรมณัช ขุนปักษ์, ชีระชัย ธนนานันต์ และนฤมล ธนนานันต์, 2556, การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของกล้วยสกุลมิวชาด้วยเทคนิคแฮตอาร์เอฟดี, Thai J. Genet. S1: 201-205.

ชีระชัย ธนนานันต์, ทิปปกา มีเสงี่ยม และนฤมล ธนนานันต์, 2560, การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการระบุชนิดของกล้วยไม้รองเท้านารีสกุล *Paphiopedilum* สกุลย่อย *Brachypetalum* หมู่ *Brachypetalum* ด้วยเครื่องหมายสก็อต, Thai J. Sci. Technol. 6: 161-170.

ชีระชัย ธนนานันต์, พรประภา ศิริเทพทวี, ภัทรพร คุ่มภัย และนฤมล ธนนานันต์, 2560, การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการระบุชนิดของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีกลุ่มใบเขียวด้วยเครื่องหมายสก็อต, Thai J. Sci. Technol. 6: 171-178.

นฤมล ธนนานันต์, วิภาวรรณ ประสิทธิ์ และชีระชัย

ธนนานันต์, 2555, การจำแนกข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ปรับปรุงจากพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ด้วยเทคนิคแฮตอาร์เอฟดี, Thai J. Sci. Technol. 1: 169-188.

นฤมล ธนนานันต์, จุฑามาต เจียมเจือจันทร์ และชีระชัย ธนนานันต์, 2560, การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการระบุชนิดของกล้วยไม้สกุลก้านก้อด้วยเครื่องหมายสก็อต, Thai J. Sci. Technol. 6: 152-160.

เบญจมาศ ศิลาอ้อย, 2545, กล้วย, สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

เบญจมาศ ศิลาอ้อย, 2548, สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน เล่ม 30 โครงการสารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน โดยพระราชประสงค์ในพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว, สำนักพิมพ์สำนักงานกลาง หอรัษฎากรพิพัฒน์ ในพระบรมมหาราชวัง, กรุงเทพฯ.

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., 1978, A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue, Phytochem. Bull. 19: 11-15.

El-Khishin, D.A., Belatus, E.L., El-Hamid, A.A. and Radwan, K.H., 2009, Molecular characterization of banana cultivars (*Musa* spp.) from Egypt using AFLP, Res. J. Agric. Biol. Sci. 5: 272-279.

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. Syst. Ecol. 6: 1176-1184.

- Poerba, Y.S. and Ahmad, F., 2010, Genetic variability among 18 cultivars of cooking bananas and plantains by RAPD and ISSR markers, *Biodiversitas* 11: 118-123.
- Rohlf, F.J., 2002, NTSYS-pc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Applied Biostatistics, Inc., New York.
- Ruangsuttapha, S., Eimert, K. and Schroder, M.B., 2007, Molecular phylogeny of banana cultivars from Thailand based on HAT-RAPD markers, *Genet. Resour. Crop Evol.* 54: 1565-1572.
- 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.