

การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม
และการจำแนกหม้อข้าวหม้อแกงลิงด้วยเทคนิคแฮตอาร์เอพีดี
Assessment of Genetic Relationships and Identification of
Nepenthes spp. Using HAT-RAPD Technique

เกียรติชัย แซ่ไต่, เปรมณัช ขุนปักซี่ และธีระชัย ธนานันต์

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต

ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

นฤมล ธนานันต์*

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์

ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 13180

Kiattichai Saetai, Premmanuch Khunpagsee 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

หม้อข้าวหม้อแกงลิงเป็นพืชกินแมลงชนิดหนึ่งที่มีความสนใจในการเพาะเลี้ยงเป็นลำดับต้น ๆ แต่ปัจจุบันยังมีข้อมูลเกี่ยวกับความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชสกุลนี้ไม่มากนัก ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงใช้เทคนิคแฮตอาร์เอพีดีในการจำแนกหม้อข้าวหม้อแกงลิง จำนวน 8 ตัวอย่าง ซึ่งประกอบด้วยพันธุ์แท้ 5 ชนิด และลูกผสม 3 ตัวอย่าง โดยเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของหม้อข้าวหม้อแกงลิงด้วยไพรเมอร์แบบสุ่ม 72 สาย พบว่าไพรเมอร์ 15 สาย ให้ลายพิมพ์ดีเอ็นเออย่างชัดเจน เมื่อนำไพรเมอร์ทั้ง 15 สาย มาตรวจสอบดีเอ็นเอของหม้อข้าวหม้อแกงลิงแต่ละตัวอย่าง พบว่าสามารถแยกความแตกต่างระหว่างตัวอย่างได้ด้วยแถบดีเอ็นเอที่จำเพาะ นอกจากนี้ยังพบไพรเมอร์แบบสุ่ม C24 ที่สามารถจำแนกหม้อข้าวหม้อแกงลิงทั้ง 8 ตัวอย่าง ได้โดยใช้ไพรเมอร์เพียงสายเดียว เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมพบว่าค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนอยู่ระหว่าง 0.52 ถึง 0.83

คำสำคัญ : หม้อข้าวหม้อแกงลิง; การจำแนก; ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม; แฮตอาร์เอพีดี

Abstract

Nepenthes as a carnivorous plant type, which has been reported to be on top of plat culture list. However it is lack of knowledge about the genetic relationships of this genus. This research, we used the high annealing temperature-random amplified polymorphic DNA (HAT-RAPD) technique to identify 8 samples (5 species and 3 hybrids) of *Nepenthes*. Seventy-two random primers were screened and 15 primers gave clear amplified products and these primers were used to analyze all samples. These results showed polymorphism among 8 samples with specific DNA bands. In addition, we found that the random primer C24 can be used to separate all samples from each other by using only one primer. The dendrogram constructed based on polymorphic bands showed genetic similarities among 8 samples with similarity coefficients ranging from 0.52 to 0.83.

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

1. บทนำ

หม้อข้าวหม้อแกงลิง (*Nepenthes* spp.) มีชื่อสามัญว่า tropical pitcher plant หรือ monkey cup เป็นพืชกินแมลงที่ได้รับความนิยมเฉพาะเลี้ยงเป็นลำดับต้น ๆ เนื่องจากสามารถพบเห็นหม้อข้าวหม้อแกงลิงได้ไม่ยากนัก ส่วนใหญ่มีถิ่นกำเนิดในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และมี 3 ชนิด ที่กระจายพันธุ์ไปไกลทางตะวันออกเฉียงใต้ และมี 2 ชนิด กระจายพันธุ์ไปไกลทางตะวันตกถึงเกาะมาดากัสการ์ หม้อข้าวหม้อแกงลิงเป็นพืชกินแมลงที่มีลักษณะโดดเด่นและนิยมปลูกเป็นไม้ประดับมากที่สุดในเมืองไทย ปัจจุบันมีการค้นพบในธรรมชาติมากกว่า 100 ชนิด และยังมีรายงานการพบชนิดใหม่ ๆ เพิ่มขึ้นทุกปี [1]

หม้อข้าวหม้อแกงลิงส่วนใหญ่เจริญอยู่ในบริเวณที่มีน้ำท่วมขัง ซึ่งเป็นบริเวณที่ขาดธาตุไนโตรเจน ดังนั้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงจึงมีการปรับตัวหรือมีวิวัฒนาการด้วยการเปลี่ยนใบไปเป็นถุงดักแมลงหรือที่เรียกว่าหม้อ (pitcher) ทั้งนี้เพื่อเพิ่มปริมาณธาตุไนโตรเจนให้แก่ต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงนั่นเอง โดยรูปร่างลักษณะที่ใช้ในการจัดจำแนกหม้อข้าวหม้อแกง

ลิงออกจากพืชอื่น ๆ คือ ลักษณะของใบที่เปลี่ยนไปทำหน้าที่พิเศษคือเป็นถุงสำหรับดักจับแมลง โดยจะไม่มีกลีบดอก แต่มีรังไข่อยู่เหนือวงกลีบ (superior ovary) [2]

หม้อข้าวหม้อแกงลิงเป็นพืชใบเลี้ยงคู่ที่เป็นไม้เลื้อย มีใบเดี่ยวรูปขอบขนานถึงรูปไข่ ปลายเรียวแหลม เส้นกลางใบนูนเป็นสันแข็ง ด้านท้องใบยืดยาวออกเป็นสายเรียกว่ามือพัน (tendrils) หรือที่ผู้ปลูกเลี้ยงเรียกกันว่าสายดึง ส่วนปลายพองออกเป็นกระบอกดักเหยื่อที่ผู้ปลูกเลี้ยงนิยมเรียกว่าหม้อ มี 2 ลักษณะตามอายุของพืช ได้แก่ หม้อล่างและหม้อบน มีดอกแยกเพศอยู่ต่างต้นกัน (dioecious) และส่วนใหญ่พบว่าให้ดอกเพศผู้มากกว่าดอกเพศเมีย ช่อดอกเป็นช่อกระจุก (raceme) หรือช่อแยกแขนง (panicle) แต่ละแขนงย่อยมี 1-3 ดอก สำหรับดอกเพศเมีย ยอดเกสรเพศเมียอยู่บนรังไข่รูปรี ส่วนช่อดอกเพศผู้มีขนาดใหญ่ และมีจำนวนดอกมากกว่าช่อดอกเพศเมีย อับเรณูอยู่ส่วนปลาย เมื่อพร้อมผสมพันธุ์จะแตกออก ภายในมีละอองเรณูสีเหลือง เมื่อดอกเพศเมียได้รับการผสมเกสรแล้วจะพัฒนาจนมีขนาดใหญ่ขึ้นเป็นฝักรูปรีเรียวยาว ฝักแก่มีสีน้ำตาล ซึ่ง

เมื่อแก่จัดจะแตกออกเป็น 4 พู ภายในมีเมล็ดเล็ก ๆ คล้ายเส้นด้ายประมาณ 50-500 เมล็ด [1]

ปัจจุบันมีการปรับปรุงพันธุ์หม้อข้าวหม้อแกงลิงด้วยการผสมข้ามพันธุ์ ซึ่งทำให้ได้ลูกผสมใหม่ ๆ ที่จำหน่ายทางการค้าเพิ่มขึ้นหลายพันธุ์ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีจุดประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (genetic relationship) ของหม้อข้าวหม้อแกงลิงในประเทศไทยด้วยการวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่สร้างจากเทคนิคแฮตอาร์เอพีดี (HAT-RAPD, high annealing temperature random amplified polymorphic DNA) โดยใช้ไพรเมอร์แบบสุ่ม (random primer) ขนาด 12 นิวคลีโอไทด์ ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสหรือพีซีอาร์ (PCR, polymerase chain reaction) [3] ซึ่งเป็นเทคนิคที่ทำได้สะดวก รวดเร็ว ใช้ดีเอ็นเอปริมาณน้อย ไม่จำเป็นต้องทราบข้อมูลลำดับดีเอ็นเอ และประหยัดค่าใช้จ่ายกว่าเทคนิคเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิดอื่น [4]

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 ตัวอย่างหม้อข้าวหม้อแกงลิง

หม้อข้าวหม้อแกงลิงที่ใช้ในการวิจัยนี้มี 8 ตัวอย่าง ประกอบด้วยพันธุ์แท้ 5 ชนิด ได้แก่ *Nepenthes mirabilis*, *N. ampullaria*, *N. bicalcarata*, *N. globosa* Viking และ *N. giant tiger* และลูกผสม 3 ตัวอย่าง ได้แก่ ลูกผสม *N. mirabilis* x *N. mirabilis* ลูกผสม *N. viking* x *N. kuchingensis* และลูกผสม *N. viking* x *N. thorelii*

2.2 การสกัดดีเอ็นเอ

สกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีประยุกต์จาก Doyle และ Doyle [5] โดยชั่งชิ้นส่วนใบประมาณ 6 กรัม บัฟเฟอร์สกัด (extraction buffer; 4 % CTAB, 2.5 M NaCl, 0.6 % SDS, 20 mM EDTA pH 8.0, 100 mM tris-HCl pH 8.0 และ 0.1 % sodium

metabisulfite) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร และ polyvinyl pyrrolidone 0.3 กรัม บดให้ละเอียด เติมน้ำ β -mercaptoethanol ปริมาตร 20 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เติมน้ำคลอโรฟอร์ม : ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ (chloroform : isoamyl alcohol = 24:1) ปริมาตร 1 เท่า นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000 x g เป็นเวลา 10 นาที ดูดสารละลายส่วนบนใส่หลอดใหม่ แล้วเติมลิเนียร์พอลิอะคริลาไมด์ (linear polyacrylamide) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และไอโซโพรพานอล (isopropanol) ปริมาตร 1 เท่า นำไปบ่มที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลานำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000 x g เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นจึงแยกสารละลายใส ส่วนบนมาเติมลิเนียร์พอลิอะคริลาไมด์ 140 ไมโครลิตร และไอโซโพรพานอล 7 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและนำไปบ่มที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลานำไปหมุนเหวี่ยงที่ 12,000 x g เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นจึงเทสารละลายทิ้งและล้างตะกอนด้วยบัฟเฟอร์ล้าง (washing buffer; 10 mM sodium acetate pH 5.2 และ 70 % ethanol) ปล่อยให้แห้ง แล้วละลายตะกอนในบัฟเฟอร์อาร์เอ็นเอส (RNase buffer; 10 mM Tris-HCl pH 8.0 และ 15 mM NaCl) 500 ไมโครลิตร เติมนิวคลีโอไซด์ RNase A (10 mg/ml) 4 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลากัดด้วย ฟีนอล : คลอโรฟอร์ม : ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ (phenol : chloroform : isoamyl alcohol = 25:24:1) 1 ครั้ง และสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม : ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ อีก 1 ครั้ง หลังจากนั้นจึงย้ายสารละลายใสส่วนบนมาเติมลิเนียร์พอลิอะคริลาไมด์ 70 ไมโครลิตร และเติมโซเดียมอะซิเตต ความเข้มข้น 3 โมลาร์ (pH 5.2) ให้ได้ 10 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาตร แล้วเติมไอโซโพรพานอลให้ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ ของ

ปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำไปหมุนเหวี่ยงที่ $12,000 \times g$ เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นจึงเทสารละลายทิ้งและล้างตะกอนด้วยเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ แล้วผึ่งตะกอนให้แห้ง แล้วละลายตะกอนด้วยบัฟเฟอร์ทีอี (TE buffer; 10 mM Tris-HCl pH 8.0 และ 1.0 mM EDTA) ปริมาตร 200-300 ไมโครลิตร

ตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอที่ได้ด้วยวิธีวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร (nm) และตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิส (electrophoresis) ในเจลอะกาโรส (agarose gel) 0.8 เปอร์เซ็นต์ [6]

2.3 การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคแฮตอาร์เอฟที

2.3.1 การคัดเลือกชนิดไพรเมอร์

รวมดีเอ็นเอของหม้อข้าวหม้อแกงลิงทั้ง 8 ตัวอย่าง (ในปริมาณเท่า ๆ กัน) เข้าด้วยกัน แล้วนำไปทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสโดยใช้ไพรเมอร์แบบสุ่ม จำนวน 72 สาย แบ่งเป็นไพรเมอร์ชุด A2, B2, C2, D2, E2 และ F2 จากบริษัท Wako Company (ประเทศญี่ปุ่น) และตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิสในเจลอะกาโรสความเข้มข้นร้อยละ 1.5 โดยมวลต่อปริมาตร [7]

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ 100 ng ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสในบัฟเฟอร์ 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 μM ไพรเมอร์แบบสุ่ม 250 nM และเอนไซม์ Taq DNA polymerase (Invitrogen™ life technology, Brazil) 1 ยูนิต [7] ปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสมี 3 ขั้นตอน คือ (1) บ่มที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที จำนวน 1 รอบ (2) บ่มที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที, อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที

และอุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที จำนวน 40 รอบ และ (3) บ่มที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที จำนวน 1 รอบ แล้วตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิสในเจลอะกาโรส 1.5 เปอร์เซ็นต์

2.3.2 การสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

โดยใช้ไพรเมอร์ที่ผ่านการคัดเลือกจากขั้นตอน 2.3.1 มาใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอหม้อข้าวหม้อแกงลิงแต่ละตัวอย่าง และตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิสในเจลอะกาโรส ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 เปอร์เซ็นต์

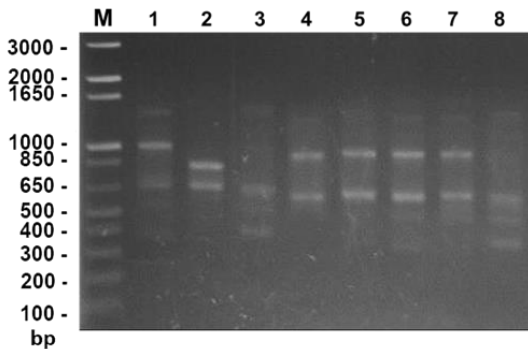
2.4 การวิเคราะห์ผล

เปรียบเทียบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากเทคนิคแฮตอาร์เอฟทีของหม้อข้าวหม้อแกงลิงทั้ง 8 ตัวอย่าง โดยเปรียบเทียบความเหมือนและความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอที่ได้ทั้งหมด แล้ววิเคราะห์ค่าดัชนีความเหมือน (similarity index) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป NTSYS-pc รุ่น 2.0 จากนั้นสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ (dendrogram) ด้วยวิธีการจัดกลุ่มแบบ UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic mean) [8]

3. ผลและวิจารณ์

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอรวมของหม้อข้าวหม้อแกงลิงด้วยเทคนิคแฮตอาร์เอฟทีโดยใช้ไพรเมอร์แบบสุ่ม 72 สาย พบว่าไพรเมอร์ 15 สาย สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ และเมื่อนำไพรเมอร์ 15 สาย นี้มาสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของหม้อข้าวหม้อแกงลิงทั้ง 8 ตัวอย่าง ปรากฏว่าได้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 189 แถบ โดยมีขนาดประมาณ 150-3,000 คู่เบส และพบว่าลายพิมพ์ดีเอ็นเอของหม้อข้าวหม้อแกงลิงที่สร้างจากไพรเมอร์ C24 (5'-CCT-TGG-CAT-CGG-3') ปรากฏแถบ ดีเอ็นเอ 6 แถบ ที่มีขนาดประมาณ 300-2,000 คู่

เบส ซึ่งมีแถบดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะต่อหม้อข้าวหม้อแกงลิงและสามารถใช้แยกความแตกต่างของหม้อข้าวหม้อแกงลิงแต่ละตัวอย่างออกจากกันได้ (รูปที่ 1)

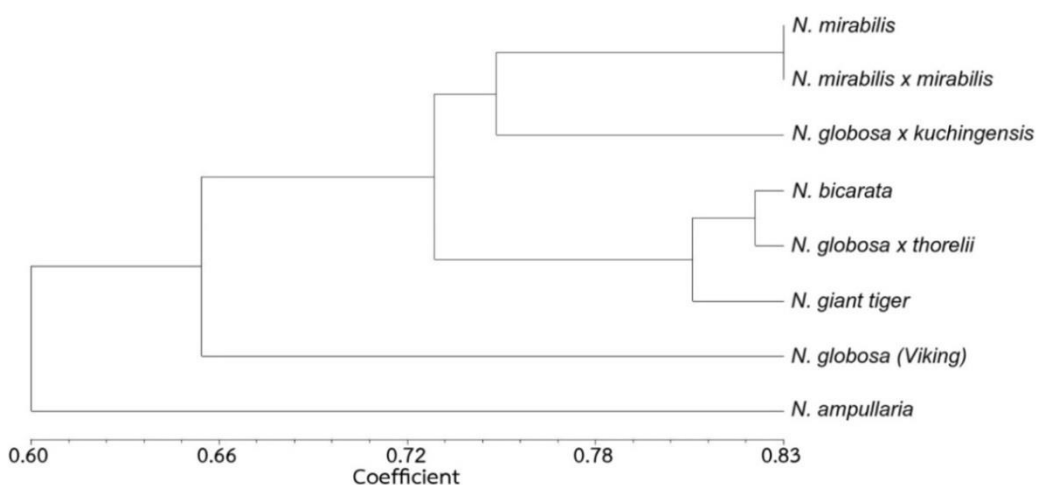


รูปที่ 1 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากเทคนิคแอสตอร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ C24 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Invitrogen™ Life Technology, USA) และ 1-8 คือ *N. mirabilis*, *N. ampullaria*, *N. bicarata*, *N. globosa*, *N. giant tiger*, *N. mirabilis* x *mirabilis* (p), *N. globosa* x *kuchingensis* และ *N. globosa* x *thorelii* ตามลำดับ]

การวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากเทคนิคแอสตอร์เอพีดีด้วยโปรแกรม NTSYS-pc รุ่น 2.0 และเลือกวิธีจัดกลุ่มแบบ UPGMA พบว่าสามารถสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ได้ดังรูปที่ 2 และมีค่าดัชนีความเหมือนระหว่างตัวอย่างดังรูปที่ 3 โดยพบว่าตัวอย่างที่มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ใกล้กันมาก ได้แก่ กลุ่ม *N. bicarata*, *N. globosa* x *thorelii* และ *N. giant tiger* และยังมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้กับกลุ่ม *N. mirabilis*, *N. mirabilis* x *mirabilis* (p) และ *N. globosa* x *kuchingensis* ส่วน *N. globosa* (Viking) และ *N. ampullaria* ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ห่างจากตัวอย่างอื่นที่กล่าวมา

4. สรุป

เมื่อวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของหม้อข้าวหม้อแกงลิง 8 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิคแอสตอร์เอพีดี พบว่าหม้อข้าวหม้อแกงลิงมีความแตกต่างทางพันธุกรรม โดยพบแถบดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะต่อหม้อข้าวหม้อแกงลิงแต่ละตัวอย่าง และพบว่าไพรเมอร์ C24 (5'-CCT-TGG-CAT-CGG-3') สามารถให้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกันทั้ง 8 ตัวอย่าง



รูปที่ 2 แผนภูมิความสัมพันธ์ของหม้อข้าวหม้อแกงลิง 8 ตัวอย่าง ที่ได้จากเทคนิคแอสตอร์เอพีดี

<i>N. mirabilis</i>	1.00								
<i>N. ampullaria</i>	0.63	1.00							
<i>N. bicarata</i>	0.75	0.58	1.00						
<i>N. globosa (Viking)</i>	0.73	0.61	0.68	1.00					
<i>N. giant tiger</i>	0.72	0.62	0.82	0.60	1.00				
<i>N. mirabilis x mirabilis</i>	0.83	0.63	0.73	0.64	0.76	1.00			
<i>N. globosa x kuchingensis</i>	0.74	0.62	0.73	0.68	0.62	0.75	1.00		
<i>N. globosa x thorelli</i>	0.74	0.52	0.82	0.60	0.79	0.73	0.74	1.00	
<i>N. mirabilis</i>									
<i>N. ampullaria</i>									
<i>N. bicarata</i>									
<i>N. globosa (Viking)</i>									
<i>N. giant tiger</i>									
<i>N. mirabilis x mirabilis</i>									
<i>N. globosa x kuchingensis</i>									
<i>N. globosa x thorelli</i>									

รูปที่ 3 ค่าดัชนีความเหมือนของหม้อข้าวหม้อแกงลิง
8 ตัวอย่าง ที่ได้จากเทคนิคแฮตอาร์เอฟดี

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ คุณสุตา เนตรชลายุทธ
คุณวิวรรธน์ หาญกมลศิริ คุณกานต์วี ทวีโรจนกุล
คุณสุภัสชา แจ่มใส และคุณสุชานนท์ เสมแก้ว ที่มีส่วน
ช่วยให้งานวิจัยนี้เสร็จสมบูรณ์

6. เอกสารอ้างอิง

- [1] พิชญ์สิตา ฐิตะเลิศวงศ์, สิริภรณ์ ครัวงูหา, รักษา
สุนันทบุรณ์ และอุฐ เขาวนทวิ, 2554, การศึกษา
ชนิดพันธุ์ไม้ “หม้อข้าวหม้อแกงลิง”
(*Nepenthes*), ศูนย์ศึกษาและพัฒนาวิทยาศาสตร์
ชุมชนที่ 9 สำนักจัดการทรัพยากรป่าไม้ที่ 9,
กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ.
- [2] ก่องกานดา ชยามฤตม, 2541, คู่มือจำแนก

พรรณไม้, ส่วนพฤกษศาสตร์ป่าไม้ สำนักวิชาการ
ป่าไม้ หอพรรณไม้ กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ, 235 น.

- [3] Williams, J.G., Kubelik, A.R., Livak, K.J.,
Rafalski, J.A. and Tingey, S.V., 1990, DNA
polymorphisms amplified by arbitrary
primers are useful as genetic markers,
Nucl. Acids Res. 18: 6531-6535.
- [4] สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, 2552, เครื่องหมายดี
เอ็นเอ : จากพื้นฐานสู่การประยุกต์, สำนักพิมพ์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- [5] 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.
- [6] Sambrook, J., Fritsch, E.F. and Maniatis,
T., 1989, Molecular Cloning: A Laboratory
Manual, 2nd Ed., Cold Spring Harbor
Laboratory, New York.
- [7] นฤมล ธนินันต์, วิชาการวรรณ ประสิทธิ์ และธีระ
ชัย ธนินันต์, 2555, การจำแนกข้าวสาลีพันธุ์
ข้าวดอกมะลิ 105 และสายพันธุ์ปรับปรุงจาก
สายพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 ด้วยเทคนิคแฮตอาร์
เอฟดี, Thai J. Sci. Technol. 1: 169-179.
- [8] Rohlf, F.J., 2002, NTSYpc Numerical
Taxonomy and Multivariate Analysis
System, Applied Biostatistics, Inc.,
New York.