

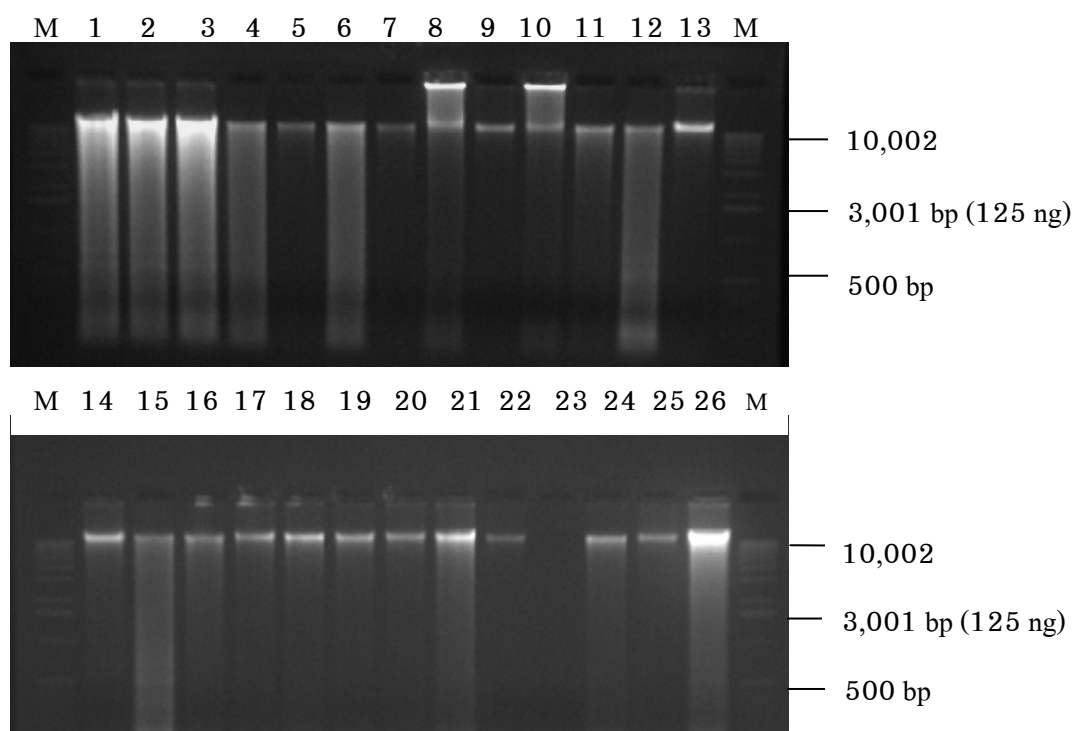
ผลและวิจารณ์

1. การสกัดดีเอ็นเอจากไข่

ผลจากการสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธี CTAB จากใบอ่อนของไข่ ตามวิธีที่ประยุกต์มาจากวิธีการสกัดของ Doyle and Doyle (1990) และ Changtragoon *et al.* (1996) แล้วนำมาวัดปริมาณและคุณภาพด้วยวิธีอีเล็กโตรโฟรีซิสบนแผ่นอะกาโรส เปรียบเทียบความเข้มข้นกับดีเอ็นเอมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้น 125 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร (ng/ μ l) พบว่าดีเอ็นเอที่สกัดได้มีความเข้มข้นประมาณ 250–500 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร จากน้ำหนักใบอ่อนของไข่ 0.2 กรัม นอกจากนี้ยังพบการแตกหักของดีเอ็นเอและการปนเปื้อนของโพลีแซคคาไรด์ โปรตีนและอาร์เอ็นเอ โดยเห็นแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏมีลักษณะไม่คมชัด ดังภาพที่ 20 ปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้ มีปริมาณแตกต่างกันซึ่งไม่ขึ้นกับชนิดของไข่แต่ขึ้นกับอายุและความสดของใบไข่ที่นำมาสกัด โดยใบอ่อนและสดเหมาะที่จะนำมาสกัดดีเอ็นเอมากที่สุด เนื่องจากจะให้ปริมาณมากและคุณภาพดีเอ็นเอที่ดี

ปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้มีปริมาณต่ำ เนื่องจากในการสกัดใช้ปริมาณใบเพียง 0.2 กรัม แต่ปริมาณดีเอ็นเอที่ได้ก็เพียงพอที่จะนำมาศึกษาโดยเทคนิคเอเอฟแอลพี (AFLP) ซึ่งต้องการดีเอ็นเอเริ่มต้นเพียง 1–2 ไมโครกรัม (สุรินทร์, 2545) ส่วนการแตกหักของดีเอ็นเอและการปนเปื้อนของโพลีแซคคาไรด์ โปรตีนและอาร์เอ็นเอ อาจแก้ไขได้ การลดการแตกหักของดีเอ็นเอโดยการเพิ่มความเข้มข้นของ EDTA ในสารละลายสำหรับสกัด ซึ่ง EDTA เมื่อรวมตัวกับสารจำพวกโลหะประจุบวกจึงสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์นิวคลีเอสได้ (Weising *et al.*, 1995) หรืออาจลดการออกซิไดซ์ของสารในกลุ่มฟีนอลิก โดยการเพิ่มความเข้มข้นของเบต้าเมอแคปโทเอทานอล (β -mercaptoethanol) หรืออาจใช้พีวีพี (polyvinylpyrrolidone, PVP) ซึ่งเป็นสารทำหน้าที่ยับยั้งการออกซิไดซ์ (antioxidant) ในการสกัดดีเอ็นเอเช่นเดียวกัน สำหรับการลดการปนเปื้อนของโปรตีนอาจแก้ไขได้โดยเพิ่มขั้นตอนสกัดด้วยสารละลายฟีนอลต่อคลอโรฟอร์ม ก่อนการสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม แต่อย่างไรก็ตาม พบว่าสารละลายดีเอ็นเอที่สกัดได้มีการปนเปื้อนของสารจำพวกโพลีแซคคาไรด์ที่เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ สังเกตจากการมีดีเอ็นเอตกค้างอยู่ภายในหลอดของอะกาโรสเจลในการทำอีเล็กโตรโฟรีซิส เนื่องจากสารจำพวกนี้มีโมเลกุลขนาดใหญ่เมื่อเข้าไปเกาะกับดีเอ็นเอแล้วทำให้ไม่สามารถเคลื่อนตัวผ่านเจลได้ การลดโพลีแซคคาไรด์ส่วนเกินทำได้โดยการเพิ่มความเข้มข้นของ CTAB ระหว่างขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอ (Doyle and Doyle, 1990) หรือทำการตกตะกอนดีเอ็นเอซ้ำอีกครั้งด้วยโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 2 โมลาร์และเอทานอลบริสุทธิ์ (absolute ethanol) ปริมาตร 2 เท่า ซึ่งการตกตะกอนดีเอ็นเอในสภาพเกลือสูง

โพลีแซคคารไนด์จะไม่ตกตะกอน จึงสามารถแยกดีเอ็นเอบริสุทธิ์ได้ โดยการทดลองนี้ได้เพิ่มความเข้มข้นของ CTAB และ PVP ระหว่างขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอเพื่อลดโพลีแซคคารไนด์และยับยั้งการออกซิไดซ์ของสารในกลุ่มฟีนอลิก ทำให้สามารถลดการปนเปื้อนของสารดังกล่าวให้น้อยลงได้



ภาพที่ 20 การวัดคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอของไผ่ 26 ชนิด แถว 1-26 คือ 1. ไผ่บงดำ (*Bambusa tulda*) 2. ไผ่รวกดำ (*Thyrsostachys oliveri*) 3. ไผ่ข้าวหลาม (*Cephalostachyum pergracile*) 4. ไผ่ป่า (*Bambusa bambos*) 5. ไผ่รวก (*Thyrsostachys siamensis*) 6. ไผ่ตงพันธุ์ศรีปราชญ์ (*Dendrocalamus asper*) 7. ไผ่สีทอง (*Schizostachyum brachycladum*) 8. ไผ่เหลือง (*Bambusa vulgaris* Shrader ex. H. Wendland) 9. ไผ่หวาน (*Bambusa* sp.) 10. ไผ่บงใหญ่ (*Dendrocalamus brandisii*) 11. ไผ่ขางนวล (*Dendrocalamus membranaceus*) 12. ไผ่กำยาน (*Bambusa vulgaris* (Green variety)) 13. ไผ่ตง (*Dendrocalamus asper*) 14. ไผ่ปล้องยาว 15. ไผ่เลี้ยง (*Bambusa multiplex*) 16. ไผ่เพ็ก (*Vietnamosasa pusilla*) 17. ไผ่หลอด (*Neohouzeaua mekongensis*) 18. ไผ่หก (*Dendrocalamus hamiltonii*) 19. ไผ่มันหมู 20. ไผ่สีสุก (*Bambusa blumeana*) 21. ไผ่เลี้ยงมัน 22. ไผ่ไร่ (*Gigantochloa albociliata*) 23. ไผ่น้ำเต้า (*Bambusa vulgaris* Shrader cv. Wamin (Brandis)) 24. ไผ่ผาก (*Gigantochloa densa*) 25. ไผ่ลำมะลอก (*Bambusa longispiculata*) 26. ไผ่กระแสน แถว M คือ แลบดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด 1 Kb ladder

2. การศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของไผ่

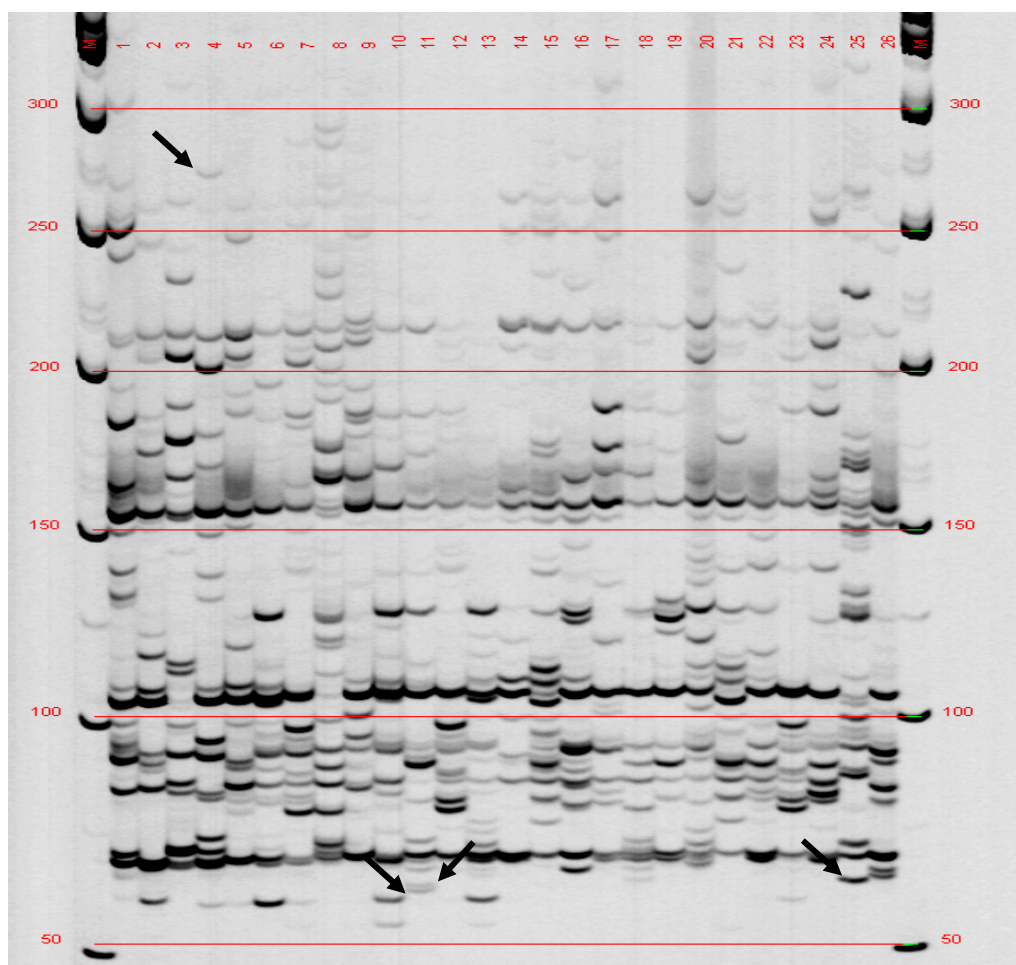
2.1 การคัดเลือกคู่ไพรเมอร์ที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการศึกษา

จากการนำไพรเมอร์จำนวน 64 คู่ มาเพิ่มจำนวนชิ้นดีเอ็นเอในขั้นตอน selective amplified และแยกขนาดด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิสภายใต้ตัวกลางชนิด non-denature polyacrylamide gel แล้วคัดเลือกคู่ไพรเมอร์ที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการศึกษา ซึ่งเป็นคู่ไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มจำนวนชิ้นดีเอ็นเอได้ดี ให้แถบดีเอ็นเอที่ชัดเจน และเป็นคู่ที่แสดงความแตกต่างของไผ่แต่ละชนิดในการศึกษาครั้งนี้ พบไพรเมอร์ที่เหมาะสมจำนวนทั้งหมด 14 คู่ ในแต่ละคู่ให้แถบดีเอ็นเอที่ชัดเจน เป็นคู่ที่แสดงความแตกต่างของไผ่แต่ละชนิดและมีจำนวนแถบดีเอ็นเอตั้งแต่ 30-62 แถบ ได้แก่คู่ E-AAC/M-CAA, E-AAC/M-CAT, E-AAC/M-CTC, E-ACA/M-CAA, E-ACA/M-CAG, E-ACA/M-CTC, E-ACC/M-CAC, E-ACC/M-CTA, E-ACC/M-CTC, E-ACC/M-CTG, E-ACC/M-CTT, E-AGC/M-CTG, E-AGG/M-CTC และ E-AGG/M-CTT ตามลำดับ ดังตารางที่ 5 และภาพที่ 21-34 พร้อมทั้งแสดงตำแหน่งแถบดีเอ็นเอจำเพาะที่ปรากฏในแต่ละคู่ไพรเมอร์ (สัญลักษณ์ลูกศร)

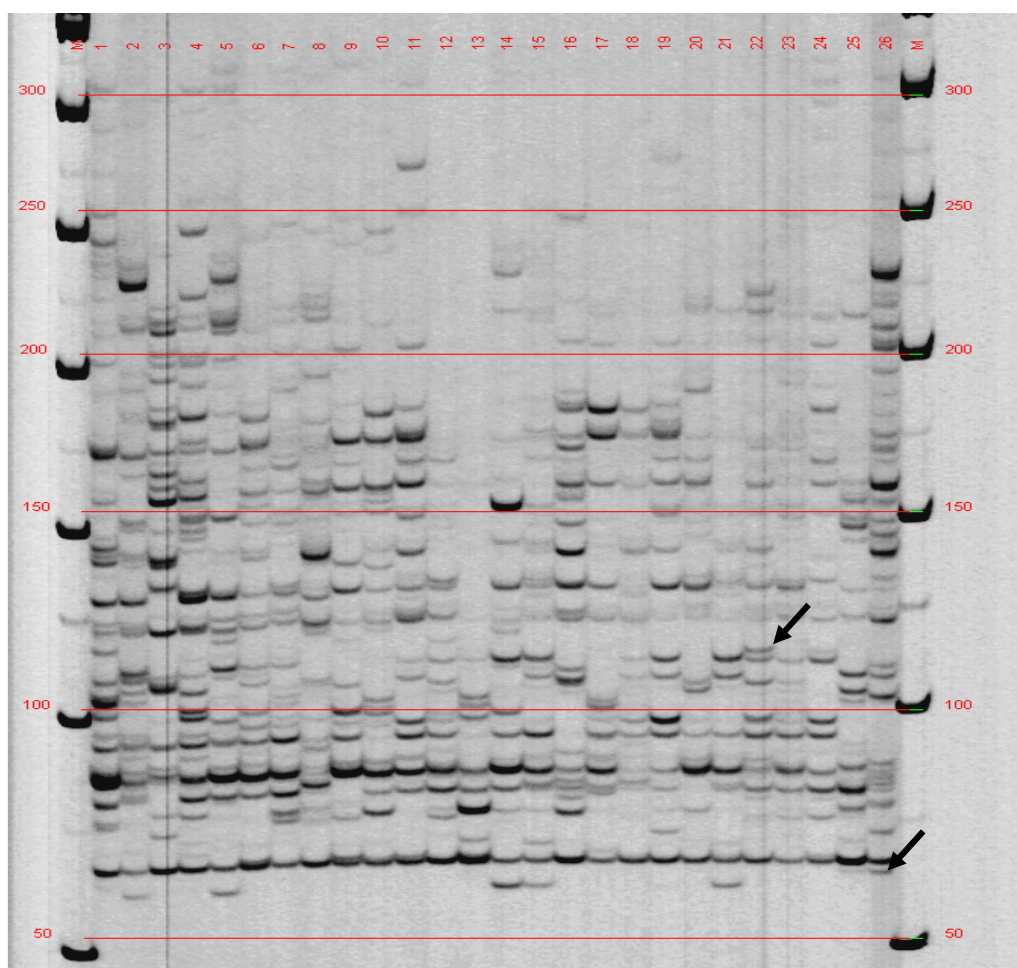
ตารางที่ 5 แสดงคู่ไพรเมอร์ที่คัดเลือกและใช้ทดสอบในการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของไผ่ชนิดต่าง ๆ

คู่ไพรเมอร์ E/M	M-CAA	M-CAC	M-CAG	M-CAT	M-CTA	M-CTC	M-CTG	M-CTT
E-AAC	*			*		*		
E-AAG								
E-ACA	*		*			*		
E-ACC		*			*	*	*	*
E-ACG								
E-ACT								
E-AGC							*	
E-AGG						*		*

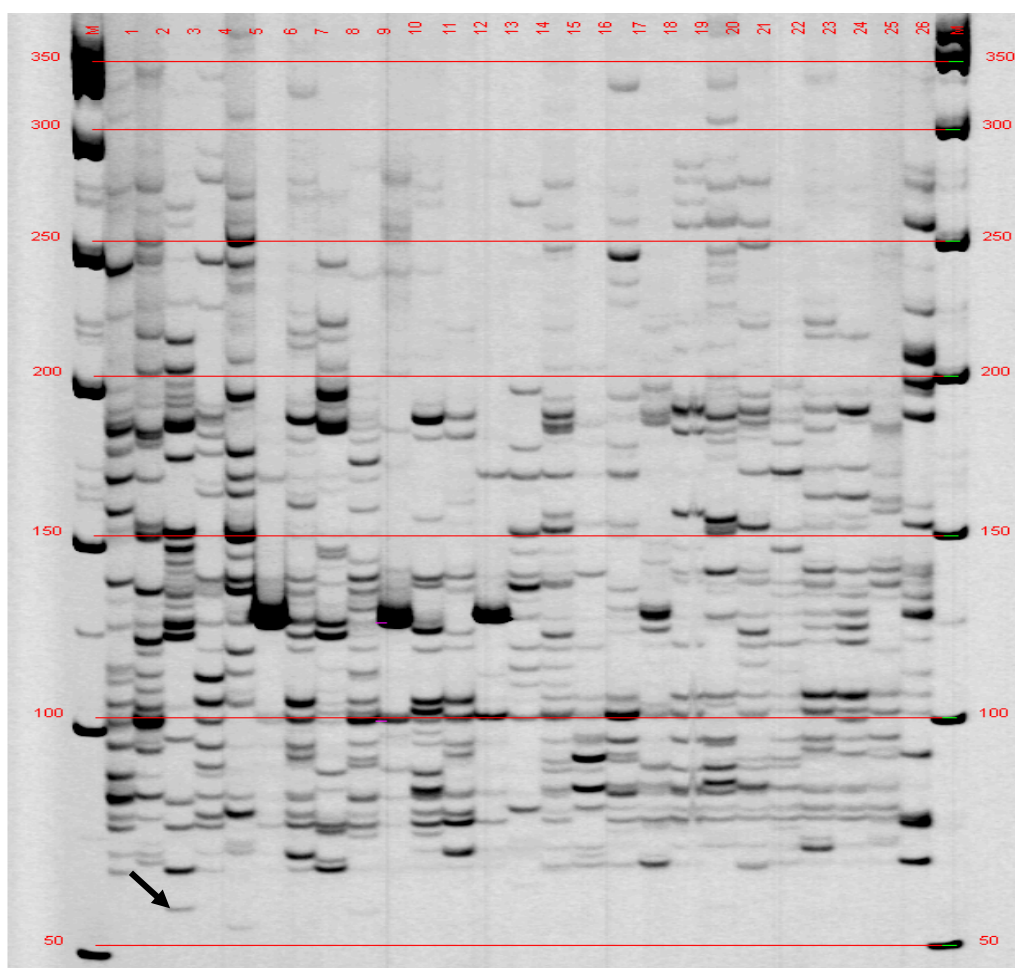
หมายเหตุ * คู่ไพรเมอร์ที่เหมาะสม



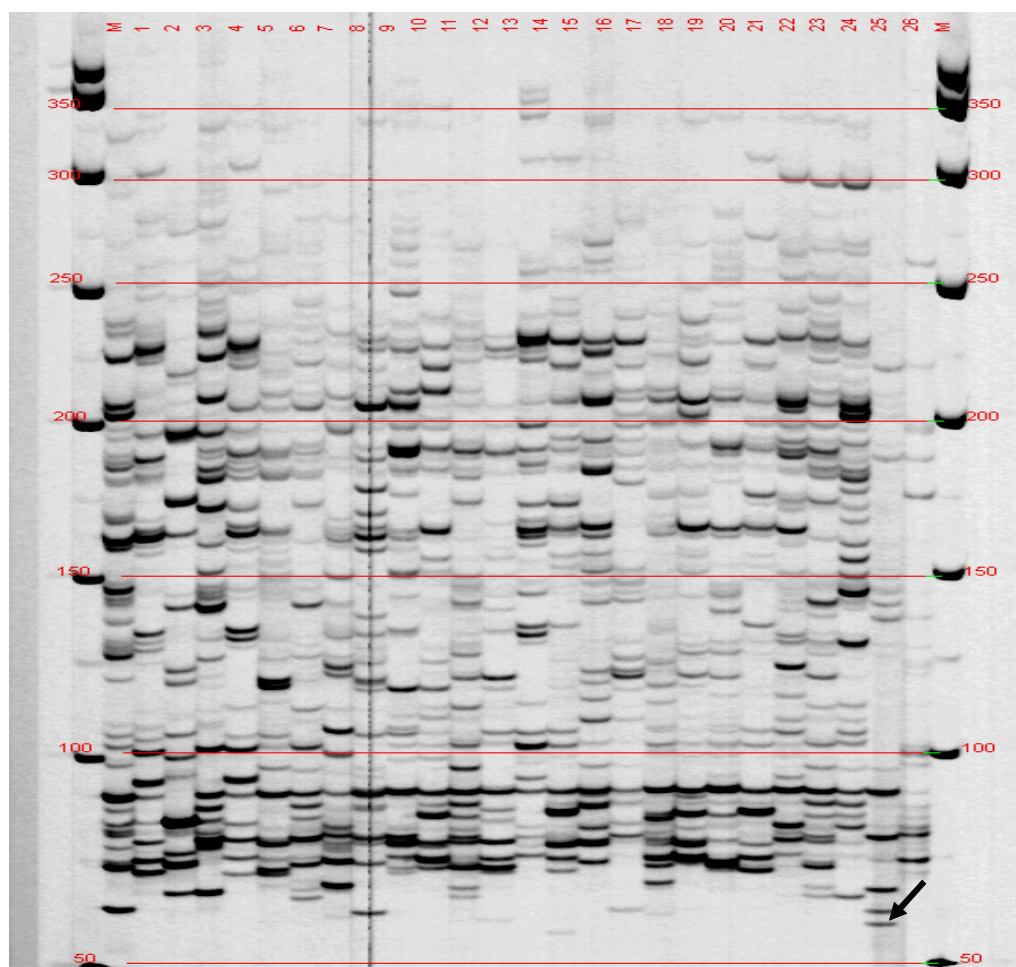
ภาพที่ 21 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากคู่ไพรเมอร์ E-AAC/M-CAA ของไผ่ 26 ชนิด แถว 1-26 คือ 1. ไผ่บงดำ (*Bambusa tulda*) 2. ไผ่รวกดำ (*Thyrsostachys oliveri*) 3. ไผ่ข้าวหลาม (*Cephalostachyum pergracile*) 4. ไผ่ป่า (*Bambusa bambos*) 5. ไผ่รวก (*Thyrsostachys siamensis*) 6. ไผ่ตงพันธุ์ศรีปราชญ์ (*Dendrocalamus asper*) 7. ไผ่สีทอง (*Schizostachyum brachycladum*) 8. ไผ่เหลียง (*Bambusa vulgaris* Shrader ex. H. Wendland) 9. ไผ่หวาน (*Bambusa* sp.) 10. ไผ่บงใหญ่ (*Dendrocalamus brandisii*) 11. ไผ่ขางนวล (*Dendrocalamus membranaceus*) 12. ไผ่กำยาน (*Bambusa vulgaris* (Green variety)) 13. ไผ่ตง (*Dendrocalamus asper*) 14. ไผ่ปล้องยาว 15. ไผ่เลี้ยง (*Bambusa multiplex*) 16. ไผ่เพ็ก (*Vietnamosasa pusilla*) 17. ไผ่หลอด (*Neohouzeaua mekongensis*) 18. ไผ่ทก (*Dendrocalamus hamiltonii*) 19. ไผ่มันหมู 20. ไผ่สีสุก (*Bambusa blumeana*) 21. ไผ่เลี้ยงมัน 22. ไผ่ไร่ (*Gigantochloa albociliata*) 23. ไผ่น้ำเต้า (*Bambusa vulgaris* Shrader cv. Wamin (Brandis)) 24. ไผ่ผาก (*Gigantochloa densa*) 25. ไผ่ลำมะลอก (*Bambusa longispiculata*) 26. ไผ่กระแสน แถว M คือ แลบดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด 50 bp ladder (ลูกศรแสดงตำแหน่งของแลบดีเอ็นเอจำเพาะ)



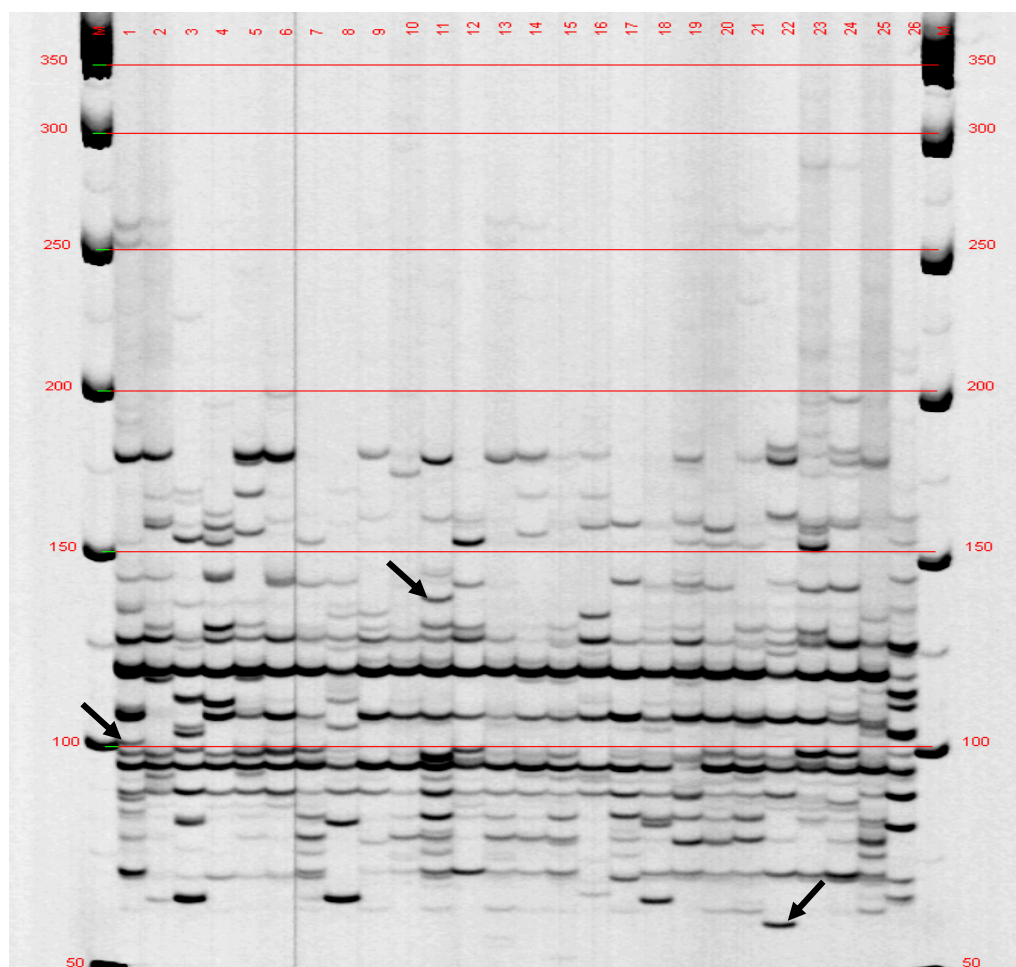
ภาพที่ 22 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากคู่ไพรเมอร์ E-AAC/M-CAT ของไผ่ 26 ชนิด แถว 1-26 คือ 1. ไผ่บงดำ (*Bambusa tulda*) 2. ไผ่รวกดำ (*Thyrsostachys oliveri*) 3. ไผ่ข้าวหลาม (*Cephalostachyum pergracile*) 4. ไผ่ป่า (*Bambusa bambos*) 5. ไผ่รวก (*Thyrsostachys siamensis*) 6. ไผ่ตงพันธุ์ศรีปราชญ์ (*Dendrocalamus asper*) 7. ไผ่สีทอง (*Schizostachyum brachycladum*) 8. ไผ่เหลือง (*Bambusa vulgaris* Shrader ex. H. Wendland) 9. ไผ่หวาน (*Bambusa* sp.) 10. ไผ่บงใหญ่ (*Dendrocalamus brandisii*) 11. ไผ่ขางนวล (*Dendrocalamus membranaceus*) 12. ไผ่กำยาน (*Bambusa vulgaris* (Green variety)) 13. ไผ่ตง (*Dendrocalamus asper*) 14. ไผ่ปล้องยาว 15. ไผ่เลี้ยง (*Bambusa multiplex*) 16. ไผ่เพ็ก (*Vietnamosasa pusilla*) 17. ไผ่หลอด (*Neohouzeaua mekongensis*) 18. ไผ่หก (*Dendrocalamus hamiltonii*) 19. ไผ่มันหมู 20. ไผ่สีสุก (*Bambusa blumeana*) 21. ไผ่เลี้ยงมัน 22. ไผ่ไร่ (*Gigantochloa albociliata*) 23. ไผ่น้ำเต้า (*Bambusa vulgaris* Shrader cv. Wamin (Brandis)) 24. ไผ่ผาก (*Gigantochloa densa*) 25. ไผ่ล้ามะลอก (*Bambusa longispiculata*) 26. ไผ่กระแสน แถว M คือ แลบดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด 50 bp ladder (ลูกศรแสดงตำแหน่งของแลบดีเอ็นเอจำเพาะ)



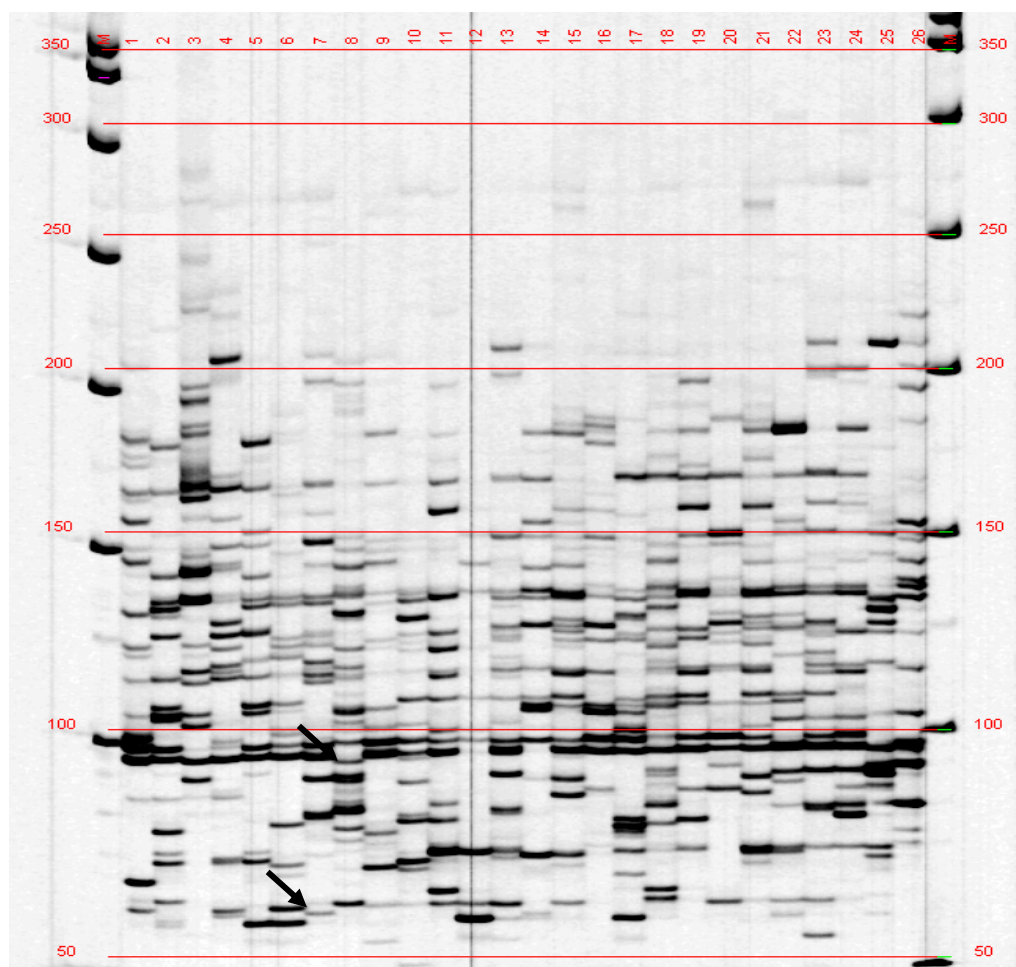
ภาพที่ 23 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากคู่ไพรเมอร์ E-AAC/M-CTC ของไผ่ 26 ชนิด แถว 1-26 คือ 1. ไผ่บงดำ (*Bambusa tulda*) 2. ไผ่รวกดำ (*Thyrsostachys oliveri*) 3. ไผ่ข้าวหลาม (*Cephalostachyum pergracile*) 4. ไผ่ป่า (*Bambusa bambos*) 5. ไผ่รวก (*Thyrsostachys siamensis*) 6. ไผ่ตงพันธุ์ศรีปราชญ์ (*Dendrocalamus asper*) 7. ไผ่สีทอง (*Schizostachyum brachycladum*) 8. ไผ่เหลือง (*Bambusa vulgaris* Shrader ex. H. Wendland) 9. ไผ่หวาน (*Bambusa* sp.) 10. ไผ่บงใหญ่ (*Dendrocalamus brandisii*) 11. ไผ่ขางนวล (*Dendrocalamus membranaceus*) 12. ไผ่กำยาน (*Bambusa vulgaris* (Green variety)) 13. ไผ่ตง (*Dendrocalamus asper*) 14. ไผ่ปล้องยาว 15. ไผ่เลี้ยง (*Bambusa multiplex*) 16. ไผ่เพ็ก (*Vietnamosasa pusilla*) 17. ไผ่หลอด (*Neohouzeaua mekongensis*) 18. ไผ่หก (*Dendrocalamus hamiltonii*) 19. ไผ่มันหมู 20. ไผ่สีสุก (*Bambusa blumeana*) 21. ไผ่เลี้ยงมัน 22. ไผ่ไร่ (*Gigantochloa albociliata*) 23. ไผ่น้ำเต้า (*Bambusa vulgaris* Shrader cv. Wamin (Brandis)) 24. ไผ่ผาก (*Gigantochloa densa*) 25. ไผ่ล้ามะลอก (*Bambusa longispiculata*) 26. ไผ่กระแสน แถว M คือ แลบดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด 50 bp ladder (ลูกศรแสดงตำแหน่งของแลบดีเอ็นเอจำเพาะ)



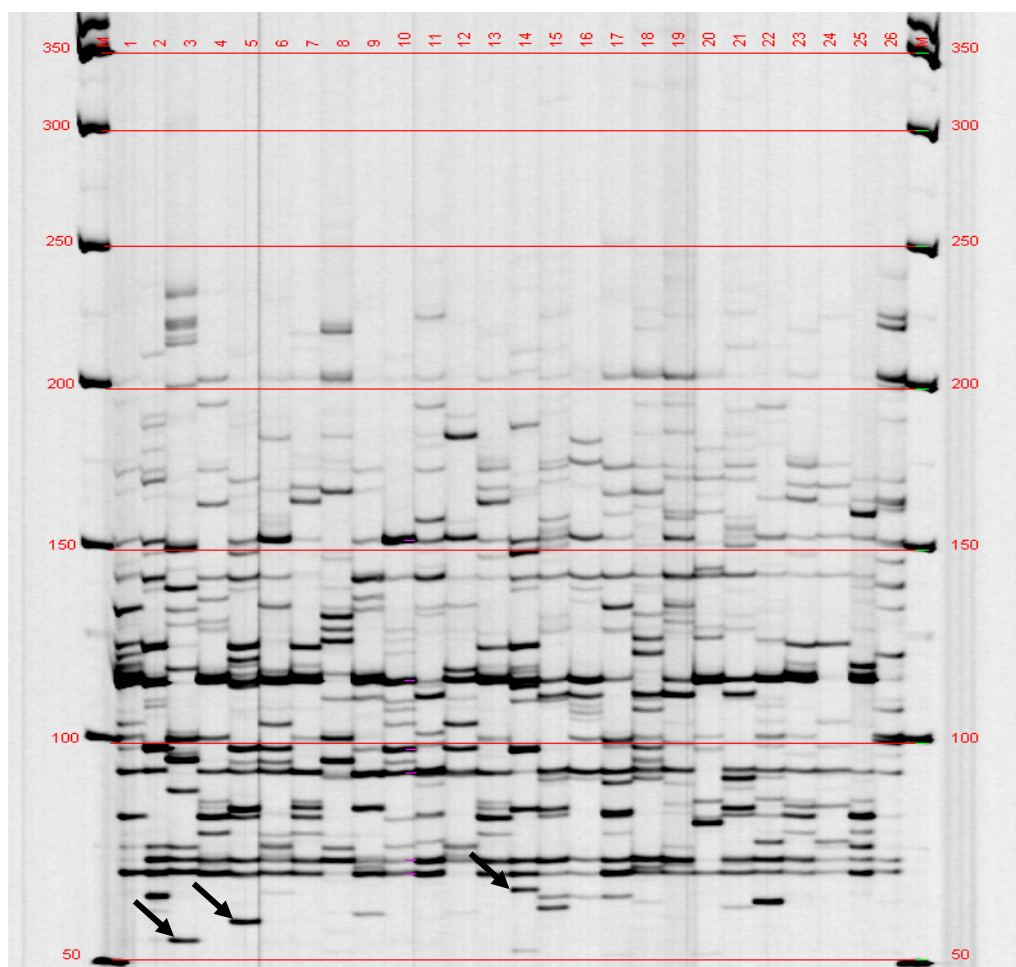
ภาพที่ 24 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากคูไพรเมอร์ E-ACA/M-CAA ของไผ่ 26 ชนิด แถว 1-26 คือ 1. ไผ่บงดำ (*Bambusa tulda*) 2. ไผ่รวกดำ (*Thyrsostachys oliveri*) 3. ไผ่ข้าวหลาม (*Cephalostachyum pergracile*) 4. ไผ่ป่า (*Bambusa bambos*) 5. ไผ่รวก (*Thyrsostachys siamensis*) 6. ไผ่ตงพันธุ์ศรีปราชญ์ (*Dendrocalamus asper*) 7. ไผ่สีทอง (*Schizostachyum brachycladum*) 8. ไผ่เหลือง (*Bambusa vulgaris* Shrader ex. H. Wendland) 9. ไผ่หวาน (*Bambusa* sp.) 10. ไผ่บงใหญ่ (*Dendrocalamus brandisii*) 11. ไผ่ขางนวล (*Dendrocalamus membranaceus*) 12. ไผ่กำยาน (*Bambusa vulgaris* (Green variety)) 13. ไผ่ตง (*Dendrocalamus asper*) 14. ไผ่ปล้องยาว 15. ไผ่เลี้ยง (*Bambusa multiplex*) 16. ไผ่เพ็ก (*Vietnamosasa pusilla*) 17. ไผ่หลอด (*Neohouzeaua mekongensis*) 18. ไผ่หก (*Dendrocalamus hamiltonii*) 19. ไผ่มันหมู 20. ไผ่สีสุก (*Bambusa blumeana*) 21. ไผ่เลี้ยงมัน 22. ไผ่ไร่ (*Gigantochloa albociliata*) 23. ไผ่น้ำเต้า (*Bambusa vulgaris* Shrader cv. Wamin (Brandis)) 24. ไผ่ผาก (*Gigantochloa densa*) 25. ไผ่ลำมะลอก (*Bambusa longispiculata*) 26. ไผ่กระแสน แถว M คือ แลบดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด 50 bp ladder (ลูกศรแสดงตำแหน่งของแลบดีเอ็นเอจำเพาะ)



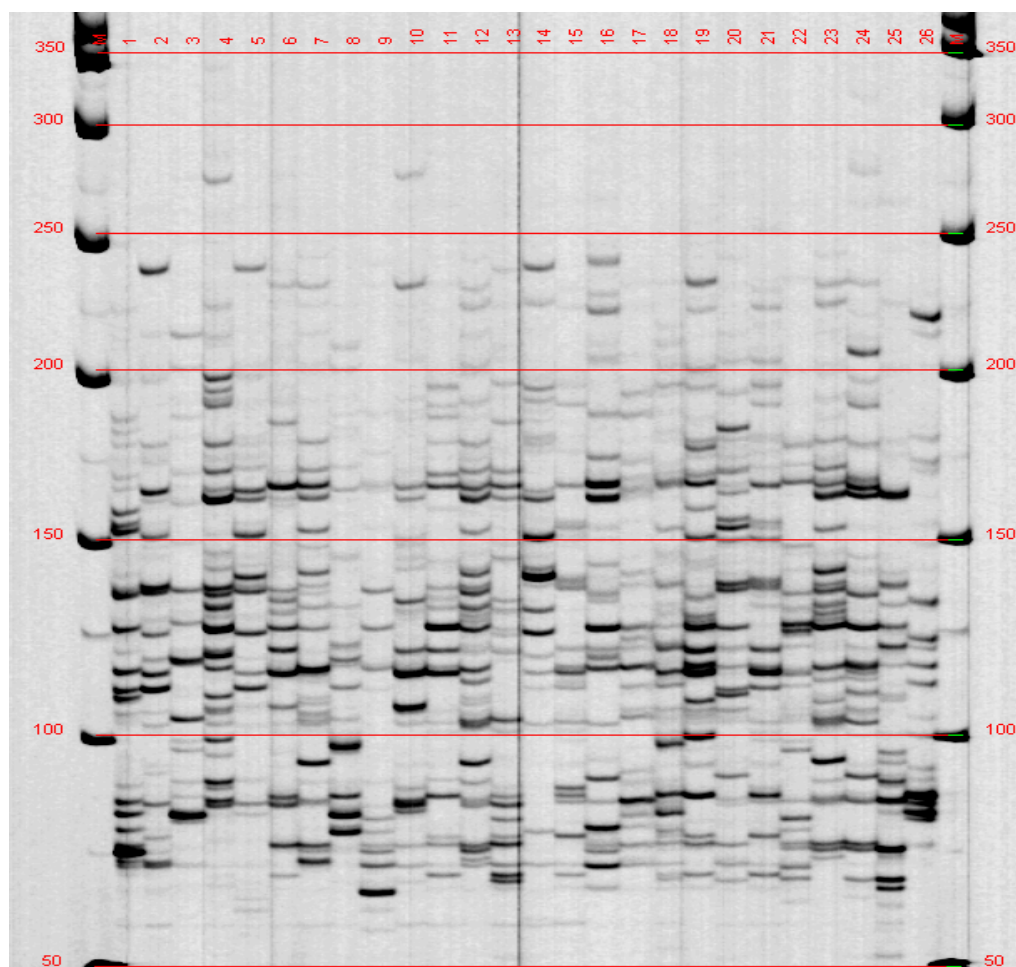
ภาพที่ 25 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากคู่ไพรเมอร์ E-ACA/M-CAG ของไผ่ 26 ชนิด แถว 1-26 คือ 1. ไผ่บงดำ (*Bambusa tulda*) 2. ไผ่รวกดำ (*Thyrsostachys oliveri*) 3. ไผ่ข้าวหลาม (*Cephalostachyum pergracile*) 4. ไผ่ป่า (*Bambusa bambos*) 5. ไผ่รวก (*Thyrsostachys siamensis*) 6. ไผ่ตงพันธุ์ศรีปราชญ์ (*Dendrocalamus asper*) 7. ไผ่สีทอง (*Schizostachyum brachycladum*) 8. ไผ่เหลือง (*Bambusa vulgaris* Shrader ex. H. Wendland) 9. ไผ่หวาน (*Bambusa* sp.) 10. ไผ่บงใหญ่ (*Dendrocalamus brandisii*) 11. ไผ่ชางนวล (*Dendrocalamus membranaceus*) 12. ไผ่กำยาน (*Bambusa vulgaris* (Green variety)) 13. ไผ่ตง (*Dendrocalamus asper*) 14. ไผ่ปล้องยาว 15. ไผ่เลี้ยง (*Bambusa multiplex*) 16. ไผ่เพ็ก (*Vietnamosasa pusilla*) 17. ไผ่หลอด (*Neohouzeaua mekongensis*) 18. ไผ่หก (*Dendrocalamus hamiltonii*) 19. ไผ่มันหมู 20. ไผ่สีสุก (*Bambusa blumeana*) 21. ไผ่เลี้ยงมัน 22. ไผ่ไร่ (*Gigantochloa albociliata*) 23. ไผ่น้ำเต้า (*Bambusa vulgaris* Shrader cv. Wamin (Brandis)) 24. ไผ่ผาก (*Gigantochloa densa*) 25. ไผ่ลำมะลอก (*Bambusa longispiculata*) 26. ไผ่กระแสน แถว M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด 50 bp ladder (ลูกศรแสดงตำแหน่งของแถบดีเอ็นเอจำเพาะ)



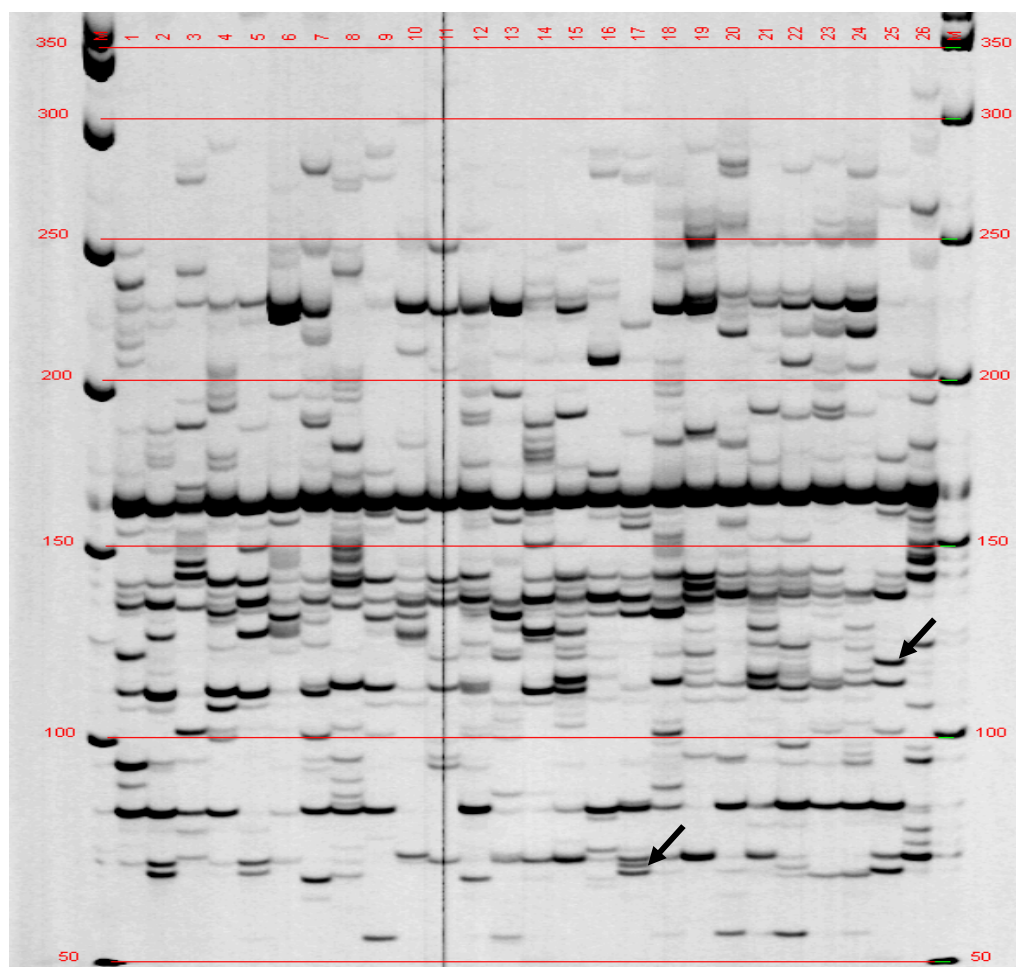
ภาพที่ 26 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากคู่ไพรเมอร์ E-ACA/M-CTC ของไผ่ 26 ชนิด แถว 1-26 คือ 1. ไผ่บงดำ (*Bambusa tulda*) 2. ไผ่รวกดำ (*Thyrsostachys oliveri*) 3. ไผ่ข้าวหลาม (*Cephalostachyum pergracile*) 4. ไผ่ป่า (*Bambusa bambos*) 5. ไผ่รวก (*Thyrsostachys siamensis*) 6. ไผ่ตงพันธุ์ศรีปราชญ์ (*Dendrocalamus asper*) 7. ไผ่สีทอง (*Schizostachyum brachycladum*) 8. ไผ่เหลียง (*Bambusa vulgaris* Shrader ex. H. Wendland) 9. ไผ่หวาน (*Bambusa* sp.) 10. ไผ่บงใหญ่ (*Dendrocalamus brandisii*) 11. ไผ่ชางนวล (*Dendrocalamus membranaceus*) 12. ไผ่กำยาน (*Bambusa vulgaris* (Green variety)) 13. ไผ่ตง (*Dendrocalamus asper*) 14. ไผ่ปล้องยาว 15. ไผ่เหลียง (*Bambusa multiplex*) 16. ไผ่เพ็ก (*Vietnamosasa pusilla*) 17. ไผ่หลอด (*Neohouzeaua mekongensis*) 18. ไผ่หก (*Dendrocalamus hamiltonii*) 19. ไผ่มันหมู 20. ไผ่สีสุก (*Bambusa blumeana*) 21. ไผ่เหลียงมัน 22. ไผ่ไร่ (*Gigantochloa albociliata*) 23. ไผ่น้ำเต้า (*Bambusa vulgaris* Shrader cv. Wamin (Brandis)) 24. ไผ่ผาก (*Gigantochloa densa*) 25. ไผ่ลำมะลอก (*Bambusa longispiculata*) 26. ไผ่กระแสน แถว M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด 50 bp ladder (ลูกศรแสดงตำแหน่งของแถบดีเอ็นเอจำเพาะ)



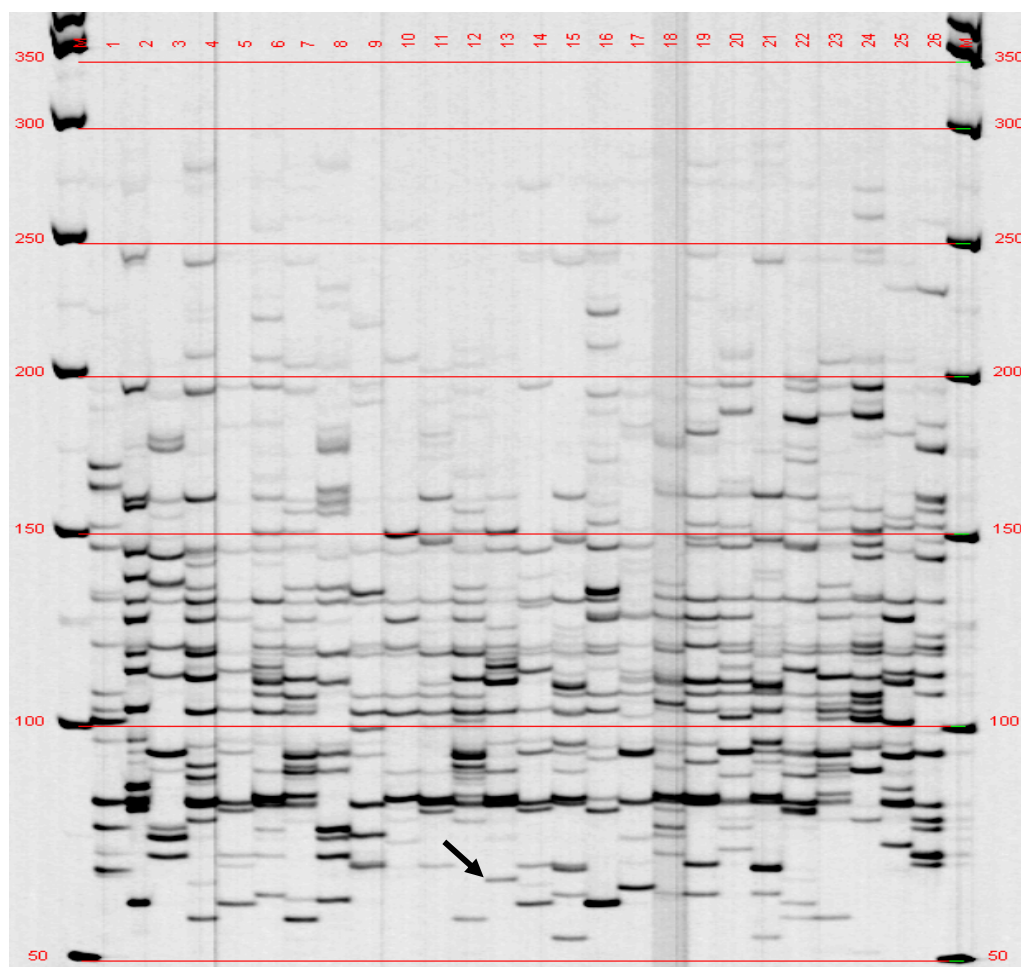
ภาพที่ 27 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากคู่ไพรเมอร์ E-ACC/M-CAC ของไผ่ 26 ชนิด แถว 1-26 คือ 1. ไผ่บงดำ (*Bambusa tulda*) 2. ไผ่รวกดำ (*Thyrsostachys oliveri*) 3. ไผ่ข้าวหลาม (*Cephalostachyum pergracile*) 4. ไผ่ป่า (*Bambusa bambos*) 5. ไผ่รวก (*Thyrsostachys siamensis*) 6. ไผ่ตงพันธุ์ศรีปราชญ์ (*Dendrocalamus asper*) 7. ไผ่สีทอง (*Schizostachyum brachycladum*) 8. ไผ่เหลียง (*Bambusa vulgaris* Shrader ex. H. Wendland) 9. ไผ่หวาน (*Bambusa* sp.) 10. ไผ่บงใหญ่ (*Dendrocalamus brandisii*) 11. ไผ่ชางนวล (*Dendrocalamus membranaceus*) 12. ไผ่กำยาน (*Bambusa vulgaris* (Green variety)) 13. ไผ่ตง (*Dendrocalamus asper*) 14. ไผ่ปล้องยาว 15. ไผ่เลียง (*Bambusa multiplex*) 16. ไผ่เพ็ก (*Vietnamosasa pusilla*) 17. ไผ่หลอด (*Neohouzeaua mekongensis*) 18. ไผ่ทก (*Dendrocalamus hamiltonii*) 19. ไผ่มันหมู 20. ไผ่สีสุก (*Bambusa blumeana*) 21. ไผ่เลียงมัน 22. ไผ่ไร่ (*Gigantochloa albociliata*) 23. ไผ่น้ำเต้า (*Bambusa vulgaris* Shrader cv. Wamin (Brandis)) 24. ไผ่ผาก (*Gigantochloa densa*) 25. ไผ่ล้ามะลอก (*Bambusa longispiculata*) 26. ไผ่กระแสน แถว M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด 50 bp ladder (ลูกศรแสดงตำแหน่งของแถบดีเอ็นเอจำเพาะ)



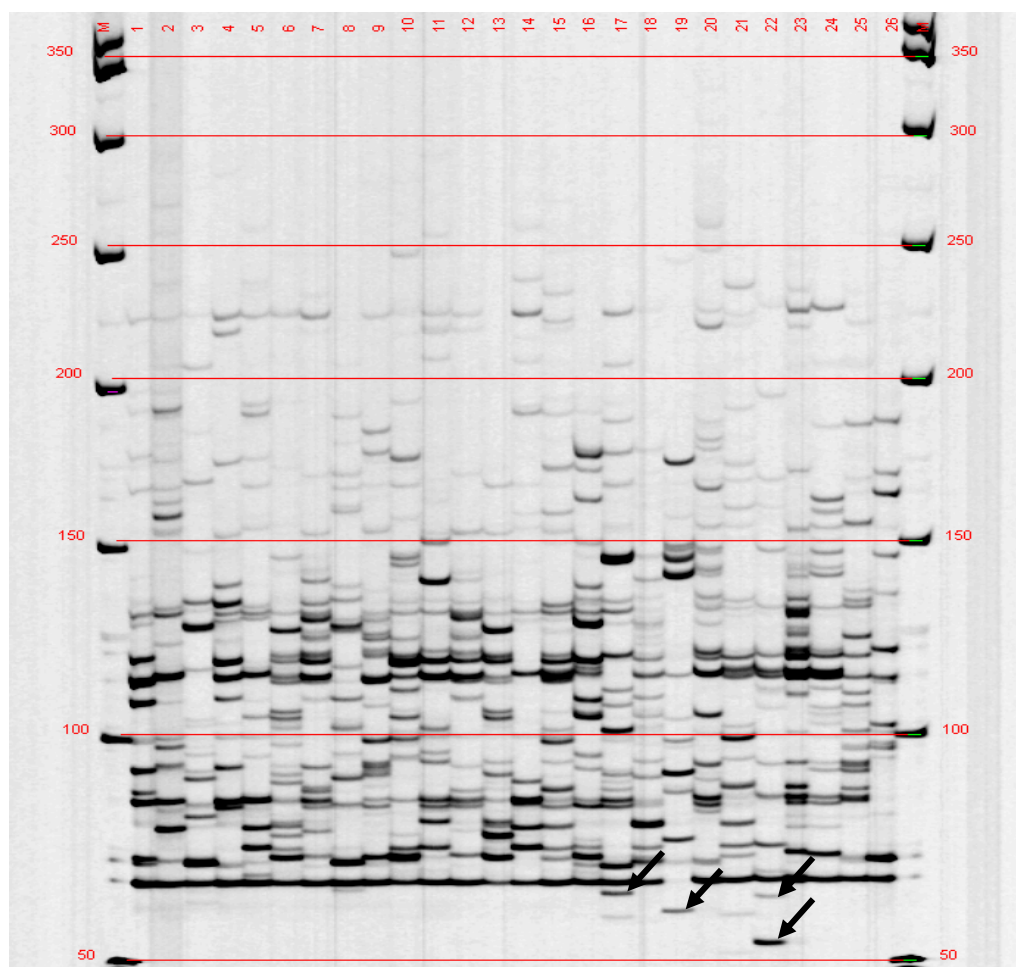
ภาพที่ 28 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากคู่ไพรเมอร์ E-ACC/M-CTA ของไผ่ 26 ชนิด แถว 1-26 คือ 1. ไผ่บงดำ (*Bambusa tulda*) 2. ไผ่รวกดำ (*Thyrsostachys oliveri*) 3. ไผ่ข้าวหลาม (*Cephalostachyum pergracile*) 4. ไผ่ป่า (*Bambusa bambos*) 5. ไผ่รวก (*Thyrsostachys siamensis*) 6. ไผ่ตงพันธุ์ศรีปราชญ์ (*Dendrocalamus asper*) 7. ไผ่สีทอง (*Schizostachyum brachycladum*) 8. ไผ่เหลียง (*Bambusa vulgaris* Shrader ex. H. Wendland) 9. ไผ่หวาน (*Bambusa* sp.) 10. ไผ่บงใหญ่ (*Dendrocalamus brandisii*) 11. ไผ่ชางนวล (*Dendrocalamus membranaceus*) 12. ไผ่กำยาน (*Bambusa vulgaris* (Green variety)) 13. ไผ่ตง (*Dendrocalamus asper*) 14. ไผ่ปล้องยาว 15. ไผ่เลียง (*Bambusa multiplex*) 16. ไผ่เพ็ก (*Vietnamosasa pusilla*) 17. ไผ่หลอด (*Neohouzeaua mekongensis*) 18. ไผ่หก (*Dendrocalamus hamiltonii*) 19. ไผ่มันหมู 20. ไผ่สีสุก (*Bambusa blumeana*) 21. ไผ่เลียงมัน 22. ไผ่ไร่ (*Gigantochloa albociliata*) 23. ไผ่น้ำเต้า (*Bambusa vulgaris* Shrader cv. Wamin (Brandis)) 24. ไผ่ผาก (*Gigantochloa densa*) 25. ไผ่ลำมะลอก (*Bambusa longispiculata*) 26. ไผ่กระแสน แถว M คือ แลบดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด 50 bp ladder



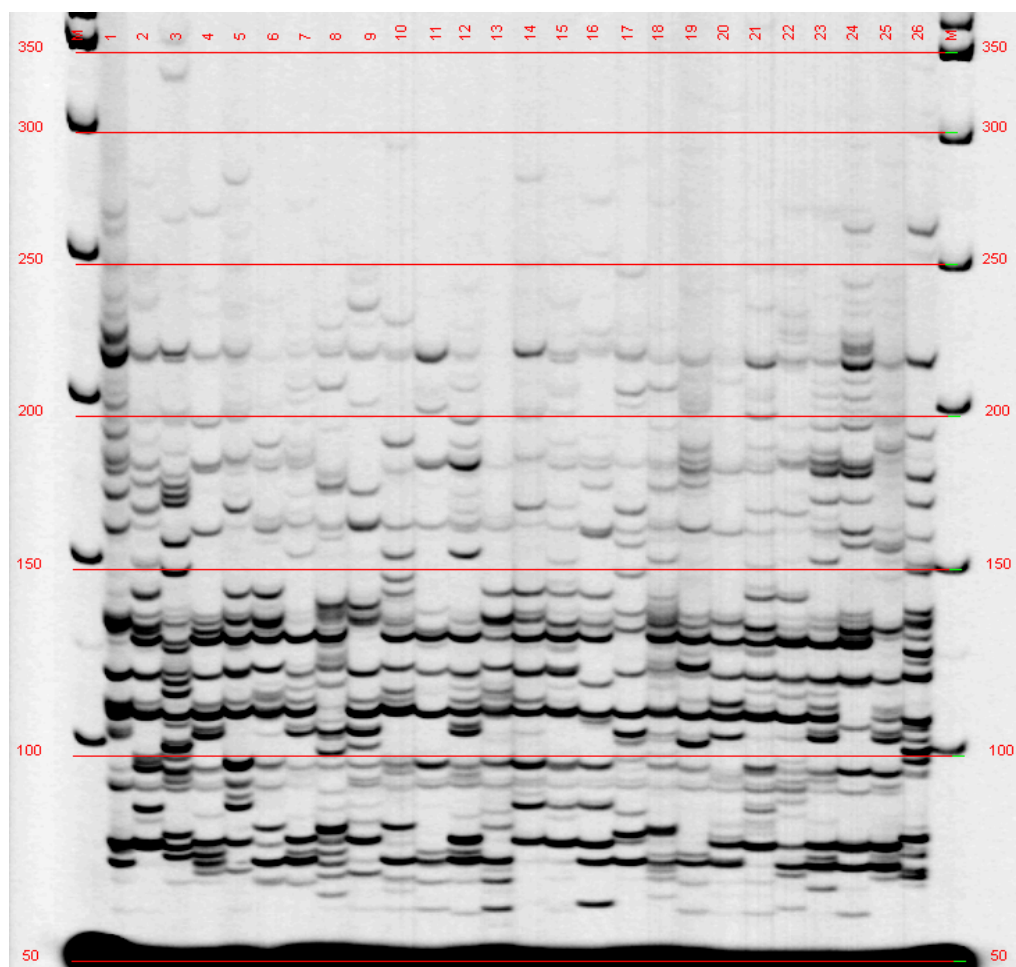
ภาพที่ 29 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากคู่ไพรเมอร์ E-ACC/M-CTC ของไผ่ 26 ชนิด แถว 1-26 คือ 1. ไผ่บงดำ (*Bambusa tulda*) 2. ไผ่รวกดำ (*Thyrsostachys oliveri*) 3. ไผ่ข้าวหลาม (*Cephalostachyum pergracile*) 4. ไผ่ป่า (*Bambusa bambos*) 5. ไผ่รวก (*Thyrsostachys siamensis*) 6. ไผ่ตงพันธุ์ศรีปราชญ์ (*Dendrocalamus asper*) 7. ไผ่สีทอง (*Schizostachyum brachycladum*) 8. ไผ่เหลือง (*Bambusa vulgaris* Shrader ex. H. Wendland) 9. ไผ่หวาน (*Bambusa* sp.) 10. ไผ่บงใหญ่ (*Dendrocalamus brandisii*) 11. ไผ่ชางนวล (*Dendrocalamus membranaceus*) 12. ไผ่กำยาน (*Bambusa vulgaris* (Green variety)) 13. ไผ่ตง (*Dendrocalamus asper*) 14. ไผ่ปล้องยาว 15. ไผ่เลี้ยง (*Bambusa multiplex*) 16. ไผ่เพ็ก (*Vietnamosasa pusilla*) 17. ไผ่หลอด (*Neohouzeaua mekongensis*) 18. ไผ่ทก (*Dendrocalamus hamiltonii*) 19. ไผ่มันหมู 20. ไผ่สีสุก (*Bambusa blumeana*) 21. ไผ่เลี้ยงมัน 22. ไผ่ไร่ (*Gigantochloa albociliata*) 23. ไผ่น้ำเต้า (*Bambusa vulgaris* Shrader cv. Wamin (Brandis)) 24. ไผ่ผาก (*Gigantochloa densa*) 25. ไผ่ลำมะลอก (*Bambusa longispiculata*) 26. ไผ่กระแสน แถว M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด 50 bp ladder (ลูกศรแสดงตำแหน่งของแถบดีเอ็นเอจำเพาะ)



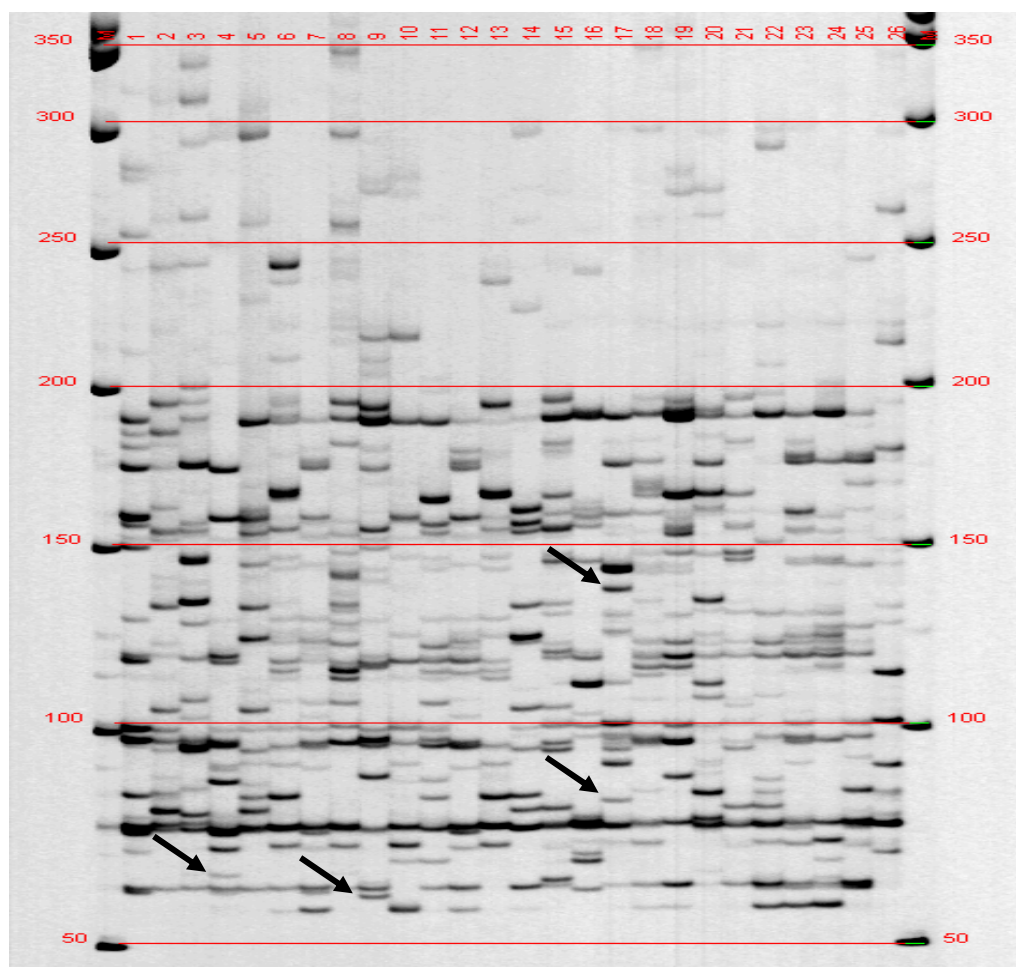
ภาพที่ 30 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากคู่ไพรเมอร์ E-ACC/M-CTG ของไผ่ 26 ชนิด แถว 1-26 คือ 1. ไผ่บงดำ (*Bambusa tulda*) 2. ไผ่รวกดำ (*Thyrsostachys oliveri*) 3. ไผ่ข้าวหลาม (*Cephalostachyum pergracile*) 4. ไผ่ป่า (*Bambusa bambos*) 5. ไผ่รวก (*Thyrsostachys siamensis*) 6. ไผ่ตงพันธุ์ศรีปราชญ์ (*Dendrocalamus asper*) 7. ไผ่สีทอง (*Schizostachyum brachycladum*) 8. ไผ่เหลือง (*Bambusa vulgaris* Shrader ex. H. Wendland) 9. ไผ่หวาน (*Bambusa* sp.) 10. ไผ่บงใหญ่ (*Dendrocalamus brandisii*) 11. ไผ่ชางนวล (*Dendrocalamus membranaceus*) 12. ไผ่กำยาน (*Bambusa vulgaris* (Green variety)) 13. ไผ่ตง (*Dendrocalamus asper*) 14. ไผ่ปล้องยาว 15. ไผ่เลี้ยง (*Bambusa multiplex*) 16. ไผ่เพ็ก (*Vietnamosasa pusilla*) 17. ไผ่หลอด (*Neohouzeaua mekongensis*) 18. ไผ่ทก (*Dendrocalamus hamiltonii*) 19. ไผ่มันหมู 20. ไผ่สีสุก (*Bambusa blumeana*) 21. ไผ่เลี้ยงมัน 22. ไผ่ไร่ (*Gigantochloa albociliata*) 23. ไผ่น้ำเต้า (*Bambusa vulgaris* Shrader cv. Wamin (Brandis)) 24. ไผ่ผาก (*Gigantochloa densa*) 25. ไผ่ลำมะลอก (*Bambusa longispiculata*) 26. ไผ่กระแสน แถว M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด 50 bp ladder (ลูกศรแสดงตำแหน่งของแถบดีเอ็นเอจำเพาะ)



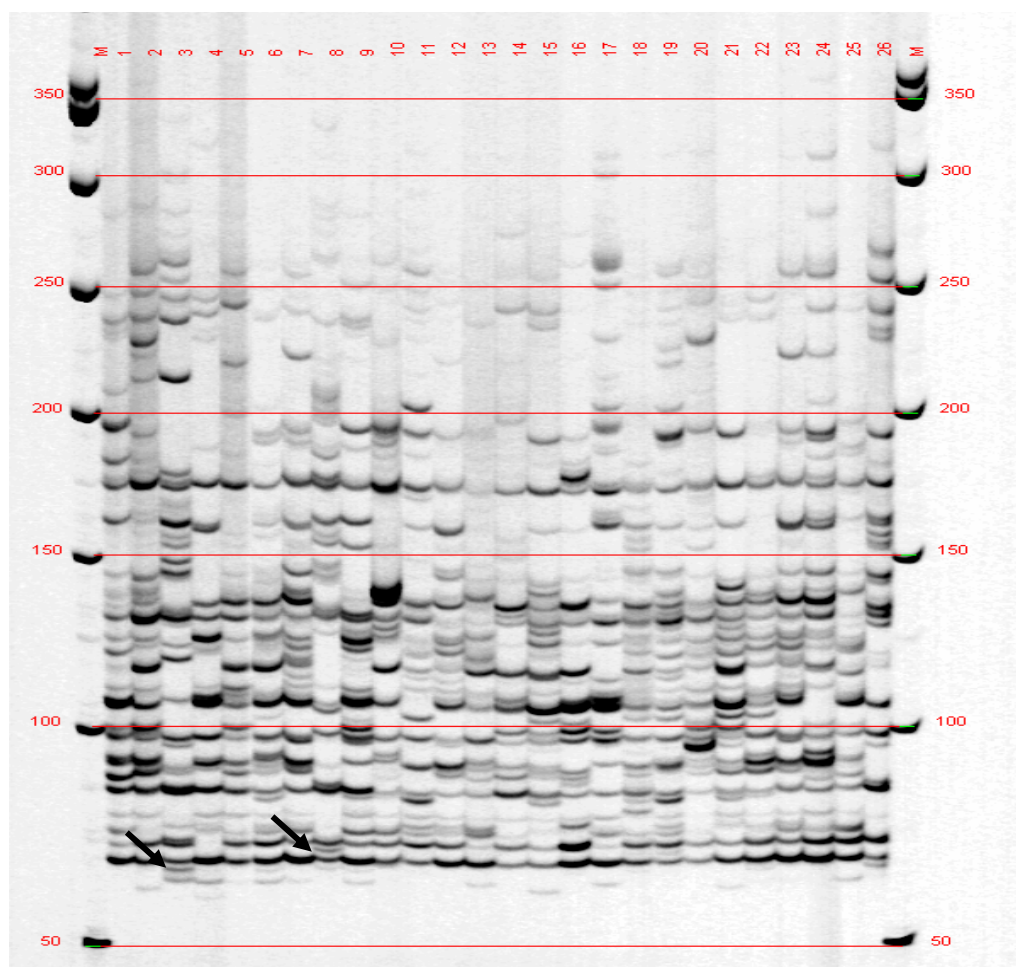
ภาพที่ 31 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากคูไพรเมอร์ E-ACC/M-CTT ของไม้ 26 ชนิด แถว 1-26 คือ 1. ไม้บงดำ (*Bambusa tulda*) 2. ไม้รวกดำ (*Thyrsostachys oliveri*) 3. ไม้ข้าวหลาม (*Cephalostachyum pergracile*) 4. ไม้ป่า (*Bambusa bambos*) 5. ไม้รวก (*Thyrsostachys siamensis*) 6. ไม้ตงพันธุ์ศรีปราชญ์ (*Dendrocalamus asper*) 7. ไม้สีทอง (*Schizostachyum brachycladum*) 8. ไม้เหลื่อง (*Bambusa vulgaris* Shrader ex. H. Wendland) 9. ไม้หวาน (*Bambusa* sp.) 10. ไม้บงใหญ่ (*Dendrocalamus brandisii*) 11. ไม้ชางนวล (*Dendrocalamus membranaceus*) 12. ไม้กำยาน (*Bambusa vulgaris* (Green variety)) 13. ไม้ตง (*Dendrocalamus asper*) 14. ไม้ปล้องยาว 15. ไม้เลี้ยว (*Bambusa multiplex*) 16. ไม้เพ็ก (*Vietnamosasa pusilla*) 17. ไม้หลอด (*Neohouzeaua mekongensis*) 18. ไม้หก (*Dendrocalamus hamiltonii*) 19. ไม้มันหมู 20. ไม้สีสุก (*Bambusa blumeana*) 21. ไม้เลี้ยวมัน 22. ไม้ไร่ (*Gigantochloa albociliata*) 23. ไม้หน้าเต้า (*Bambusa vulgaris* Shrader cv. Wamin (Brandis)) 24. ไม้ผาก (*Gigantochloa densa*) 25. ไม้ลำมะลอก (*Bambusa longispiculata*) 26. ไม้กระแสน แถว M คือ แลบดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด 50 bp ladder (ลูกศรแสดงตำแหน่งของแลบดีเอ็นเอจำเพาะ)



ภาพที่ 32 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากคู่ไพรเมอร์ E-AGC/M-CTG ของไผ่ 26 ชนิด แถว 1-26 คือ 1. ไผ่บงดำ (*Bambusa tulda*) 2. ไผ่รวกดำ (*Thyrsostachys oliveri*) 3. ไผ่ข้าวหลาม (*Cephalostachyum pergracile*) 4. ไผ่ป่า (*Bambusa bambos*) 5. ไผ่รวก (*Thyrsostachys siamensis*) 6. ไผ่ตงพันธุ์ศรีปราชญ์ (*Dendrocalamus asper*) 7. ไผ่สีทอง (*Schizostachyum brachycladum*) 8. ไผ่เหลียง (*Bambusa vulgaris* Shrader ex. H. Wendland) 9. ไผ่หวาน (*Bambusa* sp.) 10. ไผ่บงใหญ่ (*Dendrocalamus brandisii*) 11. ไผ่ชานวล (*Dendrocalamus membranaceus*) 12. ไผ่กำยาน (*Bambusa vulgaris* (Green variety)) 13. ไผ่ตง (*Dendrocalamus asper*) 14. ไผ่ปล้องยาว 15. ไผ่เหลียง (*Bambusa multiplex*) 16. ไผ่เพ็ก (*Vietnamosasa pusilla*) 17. ไผ่หลอด (*Neohouzeaua mekongensis*) 18. ไผ่หก (*Dendrocalamus hamiltonii*) 19. ไผ่มันหมู 20. ไผ่สีสุก (*Bambusa blumeana*) 21. ไผ่เหลียงมัน 22. ไผ่ไร่ (*Gigantochloa albociliata*) 23. ไผ่น้ำเต้า (*Bambusa vulgaris* Shrader cv. Wamin (Brandis)) 24. ไผ่ผาก (*Gigantochloa densa*) 25. ไผ่ล้ามะลอก (*Bambusa longispiculata*) 26. ไผ่กระแสน แถว M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด 50 bp ladder



ภาพที่ 33 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากคูไพรเมอร์ E-AGG/M-CTC ของไผ่ 26 ชนิด แถว 1-26 คือ 1. ไผ่บงดำ (*Bambusa tulda*) 2. ไผ่รวกดำ (*Thyrsostachys oliveri*) 3. ไผ่ข้าวหลาม (*Cephalostachyum pergracile*) 4. ไผ่ป่า (*Bambusa bambos*) 5. ไผ่รวก (*Thyrsostachys siamensis*) 6. ไผ่ตงพันธุ์ศรีปราชญ์ (*Dendrocalamus asper*) 7. ไผ่สีทอง (*Schizostachyum brachycladum*) 8. ไผ่เหลือง (*Bambusa vulgaris* Shrader ex. H. Wendland) 9. ไผ่หวาน (*Bambusa* sp.) 10. ไผ่บงใหญ่ (*Dendrocalamus brandisii*) 11. ไผ่ชางนวล (*Dendrocalamus membranaceus*) 12. ไผ่กำยาน (*Bambusa vulgaris* (Green variety)) 13. ไผ่ตง (*Dendrocalamus asper*) 14. ไผ่ปล้องยาว 15. ไผ่เลี้ยง (*Bambusa multiplex*) 16. ไผ่เพ็ก (*Vietnamosasa pusilla*) 17. ไผ่หลอด (*Neohouzeaua mekongensis*) 18. ไผ่ทก (*Dendrocalamus hamiltonii*) 19. ไผ่มันหมู 20. ไผ่สีสุก (*Bambusa blumeana*) 21. ไผ่เลี้ยงมัน 22. ไผ่ไร่ (*Gigantochloa albociliata*) 23. ไผ่น้ำเต้า (*Bambusa vulgaris* Shrader cv. Wamin (Brandis)) 24. ไผ่ผาก (*Gigantochloa densa*) 25. ไผ่ลำมะลอก (*Bambusa longispiculata*) 26. ไผ่กระแสน แถว M คือ แลบดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด 50 bp ladder (ลูกศรแสดงตำแหน่งของแลบดีเอ็นเอจำเพาะ)



ภาพที่ 34 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากคู่ไพรเมอร์ E-AGG/M-CTT ของไผ่ 26 ชนิด แถว 1-26 คือ 1. ไผ่บงดำ (*Bambusa tulda*) 2. ไผ่รวกดำ (*Thyrsostachys oliveri*) 3. ไผ่ข้าวหลาม (*Cephalostachyum pergracile*) 4. ไผ่ป่า (*Bambusa bambos*) 5. ไผ่รวก (*Thyrsostachys siamensis*) 6. ไผ่ตงพันธุ์ศรีปราชญ์ (*Dendrocalamus asper*) 7. ไผ่สีทอง (*Schizostachyum brachycladum*) 8. ไผ่เหลียง (*Bambusa vulgaris* Shrader ex. H. Wendland) 9. ไผ่หวาน (*Bambusa* sp.) 10. ไผ่บงใหญ่ (*Dendrocalamus brandisii*) 11. ไผ่ชางนวล (*Dendrocalamus membranaceus*) 12. ไผ่กำยาน (*Bambusa vulgaris* (Green variety)) 13. ไผ่ตง (*Dendrocalamus asper*) 14. ไผ่ปล้องยาว 15. ไผ่เลี้ยง (*Bambusa multiplex*) 16. ไผ่เพ็ก (*Vietnamosasa pusilla*) 17. ไผ่หลอด (*Neohouzeaua mekongensis*) 18. ไผ่หก (*Dendrocalamus hamiltonii*) 19. ไผ่มันหมู 20. ไผ่สีสุก (*Bambusa blumeana*) 21. ไผ่เลี้ยงมัน 22. ไผ่ไร่ (*Gigantochloa albociliata*) 23. ไผ่น้ำเต้า (*Bambusa vulgaris* Shrader cv. Wamin (Brandis)) 24. ไผ่ผาก (*Gigantochloa densa*) 25. ไผ่ล้ามะลอก (*Bambusa longispiculata*) 26. ไผ่กระแสน แถว M คือ แลบดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด 50 bp ladder (ลูกศรแสดงตำแหน่งของแลบดีเอ็นเอจำเพาะ)

2.2 จำนวนร้อยละของแถบดีเอ็นเอในสภาวะหลากหลายรูปแบบ (percentage of polymorphism) และจำนวนแถบดีเอ็นเอเฉลี่ยต่อคู่ไพรเมอร์

เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบรูปแบบและจำนวนแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏในไฟทั้งหมด 26 ชนิด โดยใช้ไพรเมอร์จำนวน 14 คู่ พบว่าส่วนใหญ่มีความแตกต่างกัน โดยพบจำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 642 แถบ เป็นแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกัน 12 แถบ และแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน 630 แถบ เมื่อนำมาคำนวณหาจำนวนแถบดีเอ็นเอเฉลี่ยต่อคู่ไพรเมอร์ มีค่าเท่ากับ 45.86 แถบ คิดเป็นสัดส่วนค่าโพลิมอร์ฟิซึม (polymorphism) ที่เกิดขึ้นมีค่าเท่ากับ 98.13 เปอร์เซ็นต์ตารางที่ 6 แสดงว่ากลุ่มไฟที่ทำการศึกษามีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง ซึ่งรูปแบบความแตกต่างของดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นจากไฟที่ทำการศึกษา แสดงให้เห็นถึงการเกิดการกลายโดยเบสที่ตำแหน่งจดจำของเอนไซม์ตัดจำเพาะมีการเปลี่ยนแปลง อาจหายไปหรือเกิดตำแหน่งเอนไซม์ ตัดจำเพาะเพิ่มขึ้นมาใหม่ การมีชิ้นส่วนของดีเอ็นเอเพิ่มขึ้นหรือขาดหายไป และมีการจัดเรียงตัวของโมเลกุลดีเอ็นเอใหม่ในช่วงระหว่างตำแหน่งจำเพาะเดิม ทำให้ขนาดชิ้นดีเอ็นเอเปลี่ยนแปลงไป (Lee *et al.*, 1997) ผลที่ได้สอดคล้องกับการทดลองของ Loh *et al.* (2000) ซึ่งศึกษาความหลากหลายและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยเทคนิคเอเอฟแอลพีของไฟ 15 ชนิด โดยใช้ไพรเมอร์จำนวน 8 คู่ (E-AAC/M-CAA, E-AAG/M-CAC, E-ACA/M-CAG, E-ACC/M-CAT, E-ACT/M-CTC, E-AGC/M-CTG, E-AGG/M-CTT) พบว่ามีจำนวนแถบดีเอ็นเอ 646 แถบ แบ่งเป็นแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกัน 43 แถบ แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน 603 แถบ จำนวนแถบดีเอ็นเอเฉลี่ยต่อคู่ไพรเมอร์มีค่าเท่ากับ 75.3 แถบ เมื่อคิดเป็นสัดส่วนค่าโพลิมอร์ฟิซึมเท่ากับ 93.34 เปอร์เซ็นต์ แต่การศึกษาในครั้งนี้แตกต่างจากการทดลองของ Loh *et al.* (2000) ซึ่งใช้การแยกขนาดโดยตัวกลางชนิด denaturing polyacrylamide gel ที่แยกขนาดดีเอ็นเอในรูปสายเดี่ยวแล้วย้อมด้วย silver nitrate ทำให้สามารถแยกความแตกต่างของชิ้น ดีเอ็นเอได้ดีและชัดเจนกว่าตัวกลางแบบ non-denaturing polyacrylamide gel ซึ่งจะแยกดีเอ็นเอในรูปสายคู่และตรวจสอบโดยย้อมสีด้วย เอธิเดียมโบรไมด์ เนื่องจากการแยกดีเอ็นเอเส้นคู่ทำให้ชิ้นดีเอ็นเอที่มีขนาดใกล้เคียงกันอยู่ชิดกันมากจนทำให้ไม่สามารถแยกความแตกต่างได้อย่างชัดเจน

ตารางที่ 6 จำนวนร้อยละของแถบดีเอ็นเอในสภาวะหลากหลายรูปแบบ (percentage of polymorphism) และจำนวนแถบดีเอ็นเอเฉลี่ยต่อคูไพรเมอร์

คูไพรเมอร์	จำนวนแถบ ดีเอ็นเอ ที่แตกต่างกัน	จำนวนแถบ ดีเอ็นเอ ที่เหมือนกัน	จำนวนแถบ ดีเอ็นเอทั้งหมด (แถบ)	เปอร์เซ็นต์ Polymorphism	จำนวนแถบดีเอ็นเอ เฉลี่ยต่อคูไพรเมอร์
1. E-AAC/M-CAA	60	2	62	96.77	
2. E-AAC/M-CAT	28	2	30	93.33	
3. E-AAC/M-CTC	43	-	43	100.00	
4. E-ACA/M-CAA	56	-	56	100.00	
5. E-ACA/M-CAG	38	2	40	95.00	
6. E-ACA/M-CTC	46	-	46	100.00	
7. E-ACC/M-CAC	40	1	41	97.56	
8. E-ACC/M-CTA	43	-	43	100.00	
9. E-ACC/M-CTC	43	1	44	97.73	
10. E-ACC/M-CTG	45	-	45	100.00	
11. E-ACC/M-CTT	51	-	51	100.00	
12. E-AGC/M-CTG	59	-	59	100.00	
13. E-AGG/M-CTC	44	1	45	97.78	
14. E-AGG/M-CTT	34	3	37	91.89	
รวม	630	12	642	98.13	45.86

2.3 วิเคราะห์แถบดีเอ็นเอจำเพาะของไม้แต่ละชนิดที่ปรากฏในแต่ละคูไพรเมอร์

การวิเคราะห์หาจำนวนแถบดีเอ็นเอจำเพาะของไม้แต่ละชนิดที่ปรากฏในแต่ละคูไพรเมอร์ พบว่าคูไพรเมอร์ที่ปรากฏแถบดีเอ็นเอจำเพาะมากที่สุด ได้แก่คูไพรเมอร์ E-AAC/M-CAA (ภาพที่ 21) E-ACC/M-CTT (ภาพที่ 31) และ E-AGG/M-CTC (ภาพที่ 33) ให้แถบดีเอ็นเอจำเพาะจำนวน 4 แถบ รองลงมาคือ คูไพรเมอร์ E-ACA/M-CAG (ภาพที่ 25) และ E-ACC/M-CAC (ภาพที่ 27) ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอจำเพาะจำนวน 3 แถบ และไม้ที่ปรากฏแถบดีเอ็นเอจำเพาะมีจำนวน 18 ชนิด และไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอจำเพาะจำนวน 8 ชนิด โดยไม้ที่ให้แถบดีเอ็นเอจำเพาะมากที่สุดในจำนวน 14 คูไพรเมอร์ คือไผ่ไร่ (*Gigantochloa albociliata*) พบจำนวน 4 แถบ รองลงมาคือไผ่ข้าวหลาม (*Cephalostachyum pergracile*) ไผ่ชางนวล (*Dendrocalamus membranaceus*) ไผ่หลอด (*Neohouzeaua mekongensis*) และ ไผ่ลำมะลอก (*Bambusa longispiculata*) ซึ่งพบแถบดีเอ็นเอจำเพาะจำนวน 3 แถบ ดังตารางที่ 7 ในจำนวนนี้มีไม้กระแสน ปล้องยาว และไผ่มันหมู ซึ่งเป็นไผ่ที่ยังไม่มีการกำหนดชื่อวิทยาศาสตร์ พบว่าปรากฏแถบดีเอ็นเอจำเพาะชนิดละ 1 แถบในคูไพรเมอร์

E-AAC/ M-CAT (ภาพที่ 22) E-ACC/M-CAC (ภาพที่ 27) และ E-ACC/ M-CTT (ภาพที่ 31) ตามลำดับ โดยแถบดีเอ็นเอจำเพาะที่ปรากฏในแต่ละคูไพรเมอร์ของไฟแต่ละชนิดสามารถนำมาพัฒนาเป็นเครื่องหมายโมเลกุลที่จำเพาะสำหรับการตรวจสอบและจำแนกสายพันธุ์ไฟต่อไป ซึ่งจากงานวิจัยระดับโมเลกุลของไฟที่ผ่านมาได้มุ่งเน้นที่จะพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลที่จำเพาะต่อชนิดพันธุ์เพื่อใช้ในการจำแนกและการตรวจสอบพันธุ์ โดย Das *et al.* (2005) ได้พัฒนาโมเลกุลเครื่องหมายจำเพาะเพื่อใช้ในการจำแนกชนิดพันธุ์ไฟ 2 ชนิด คือ *Bambusa tulda* และ *B. balcooa* เป็นเครื่องหมายที่พัฒนามาจากแถบดีเอ็นเอจำเพาะที่ปรากฏในการวิเคราะห์พันธกรรมไฟด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี คือ Bt₆₀₉ และ Bb₈₃₆ แล้วนำมาหาลำดับเบสและออกแบบเป็นโมเลกุลเครื่องหมาย เรียกว่า SCAR (sequence characterized amplified region) ผลจากการพัฒนาพบว่าเครื่องหมาย Bt₆₀₉ และ Bb₈₃₆ สามารถจำแนกไฟทั้ง 2 ชนิด (*B. tulda* และ *B. balcooa*) ออกจากกลุ่มไฟที่นำมาศึกษาและมีความจำเพาะต่อชนิดไฟดังกล่าว สามารถใช้เป็นเครื่องหมายในการตรวจสอบชนิดพันธุ์ในอุตสาหกรรมเยื่อกระดาษได้ เป็นอีกหนึ่งงานวิจัยที่สามารถประยุกต์ใช้ความรู้ทางด้านโมเลกุลมาช่วยในการจำแนกและการตรวจสอบพันธุ์ นอกจากนี้เครื่องหมายเอเอฟแอลพี ก็มีนำมาวิเคราะห์และตรวจสอบหาแถบดีเอ็นเอที่จำเพาะในพืชหลายชนิด โดยยุคลธร (2542) ได้ทำการวิเคราะห์จีโนมของพืชในสกุล *Garcinia* จำนวน 22 ตัวอย่าง เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและหาแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันจากนั้นทำการพัฒนาแถบดีเอ็นเอดังกล่าวจำนวน 2 แถบ เมื่อนำมาตรวจสอบกับดีเอ็นเอมังคุดชนิดต่างๆ พบว่าให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันสามารถใช้เป็นเครื่องหมายโมเลกุลที่จำเพาะในการจำแนกชนิดพืชได้ ดังนั้นเทคนิคเอเอฟแอลพี จึงเป็นเทคนิคที่เหมาะสมสามารถที่จะนำมาศึกษาความหลากหลาย ความแปรปรวน หรือความบริสุทธิ์ของสายพันธุ์ของสิ่งมีชีวิตที่มีความใกล้ชิดกันมาก และสามารถพัฒนาแถบดีเอ็นเอจำเพาะที่ปรากฏในแต่ละคูไพรเมอร์ เพื่อใช้ในการจำแนกชนิดและสายพันธุ์พืชได้

2.4 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของไฟที่ทำการศึกษาทั้งหมด 26 ชนิด ซึ่งได้จากการนำข้อมูลของขนาดและจำนวนชิ้นดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณด้วยเทคนิคเอเอฟแอลพี จากทั้งหมด 14 คูไพรเมอร์ พบแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 642 แถบ โดยแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันจำนวน 630 แถบ และแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันจำนวน 12 แถบ เมื่อนำมาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NTSYS-pc version 2.01e (Rohlf, 1993) โดยใช้สูตรของ Nei and Li (1979) คำนวณหาดัชนีความเหมือนและความแตกต่างของตัวอย่างที่ละคู่สลับกัน (similarity index) จนครบทุกตัวอย่าง (ตารางที่ 8) จากนั้นนำค่าที่ได้จากการเปรียบเทียบมาจัดกลุ่มความสัมพันธ์โดยใช้วิธี unweighed

pair group method of arithmetic average (UPGMA) (Sneath and Sokal, 1973) ซึ่งแสดงผลในรูปแบบของ phylogenetic tree (ภาพที่ 35)

ผลการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยวิธี UPGMA แสดงผลในรูปแบบของ phylogenetic tree พบว่าสามารถแบ่งไผ่ออกเป็น 5 กลุ่ม ตามความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ปรากฏ ดังนี้ กลุ่มแรกประกอบไปด้วย (1) ไผ่บงดำ (*Bambusa tulda*) (9) ไผ่หวาน (*B. sp.*) (17) ไผ่หลอด (*Neohouzeaua mekongensis*) (4) ไผ่ป่า (*B. bambos*) (7) ไผ่สีทอง (*Schizostachyum brachycyladum*) (23) ไผ่น้ำเต้า (*B. vulgaris* Shrader cv. Wamin (Brandis)) (12) ไผ่กำยาน (*B. vulgaris* (Green variety)) (24) ไผ่ผาก (*Gigantochloa densa*) (16) ไผ่เพ็ก (*Vietnamosasa pusilla*) และ (20) ไผ่สีสุก (*B. blumeana*) ในกลุ่มนี้พบว่า ไผ่สีทอง และไผ่น้ำเต้า มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมากที่สุด มีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.75 กลุ่มที่สองประกอบด้วย (2) ไผ่รวกดำ (*Thyrsostachys oliveri*) (5) ไผ่รวก (*T. siamensis*) (14) ไผ่ปล้องยาว (11) ไผ่ขางนวล (*Dendrocalamus membranaceus*) (19) ไผ่มันหมู (15) ไผ่เลี้ยง (*Bambusa multiplex*) (21) ไผ่เลี้ยงมัน (22) ไผ่ไร่ (*Gigantochloa albociliata*) (6) ไผ่ตง (*D. asper*) (13) ไผ่ตงพันธุ์ศรีปราชญ์ (*D. asper*) และ (10) ไผ่บงใหญ่ (*D. brandisii*) ในกลุ่มที่สองนี้ไผ่ที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมากที่สุดคือ ไผ่เลี้ยง (*B. multiplex*) และไผ่เลี้ยงมัน (ยังไม่ได้รับการกำหนดชื่อวิทยาศาสตร์) ไผ่เลี้ยงมันมีลักษณะคล้ายไผ่เลี้ยงแต่บริเวณผิวลำจะมี ความมันวาวกว่า ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าเป็นไผ่ชนิดเดียวกันแต่ถูกตั้งชื่อแยกออกไปตามลักษณะเด่น ทางสัณฐานวิทยามีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.76 ไผ่ปล้องยาวและไผ่มันหมู (ยังไม่ได้ การกำหนดชื่อวิทยาศาสตร์) มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับไผ่รวกและไผ่ขางนวล ซึ่งมีค่า ความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.73 และ 0.66 จึงมีแนวโน้มเป็นไปได้ว่าอาจจะเป็นไผ่ ที่อยู่ในสกุล *Thyrsostachys* และ *Dendrocalamus* กลุ่มที่สามถูกแยกออกจากกลุ่มอย่างชัดเจน ซึ่งมี เพียงชนิดเดียวคือ (25) ไผ่ล่ำมะลอก (*Bambusa longispiculata*) กลุ่มที่สี่ในกลุ่มนี้ประกอบไปด้วย (3) ไผ่ข้าวหลาม (*Cephalostachyum pergracile*) และ (26) ไผ่กระแสน ในกลุ่มนี้ไผ่กระแสน ซึ่งเป็น ไผ่ที่ยังไม่มีการกำหนดชื่อวิทยาศาสตร์นั้นมีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับไผ่ข้าวหลามมากที่สุด มีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.51 อาจเป็นไปได้ว่าอาจจะเป็นไผ่ที่อยู่ในสกุล *Cephalostachyum* ซึ่งเป็นสกุลเดียวกับไผ่ข้าวหลาม กลุ่มที่ห้าในกลุ่มนี้ประกอบไปด้วย (8) ไผ่เหลียง (*Bambusa vulgaris* Shrader ex. H. Wendl.) และ (18) ไผ่ทก (*Dendrocalamus hamiltonii*)

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของไผ่ 26 ชนิด จากการวิเคราะห์โดยใช้ NTSYS-pc version 2.01e (Rohlf, 1993) ซึ่งสามารถแยกไผ่ออกเป็น 5 กลุ่ม ค่า similarity index อยู่ในช่วงระหว่าง 0.76–0.29 เมื่อพิจารณาค่าดังกล่าวแล้วมีค่าไม่สูงมากมีการกระจายตัวกว้าง

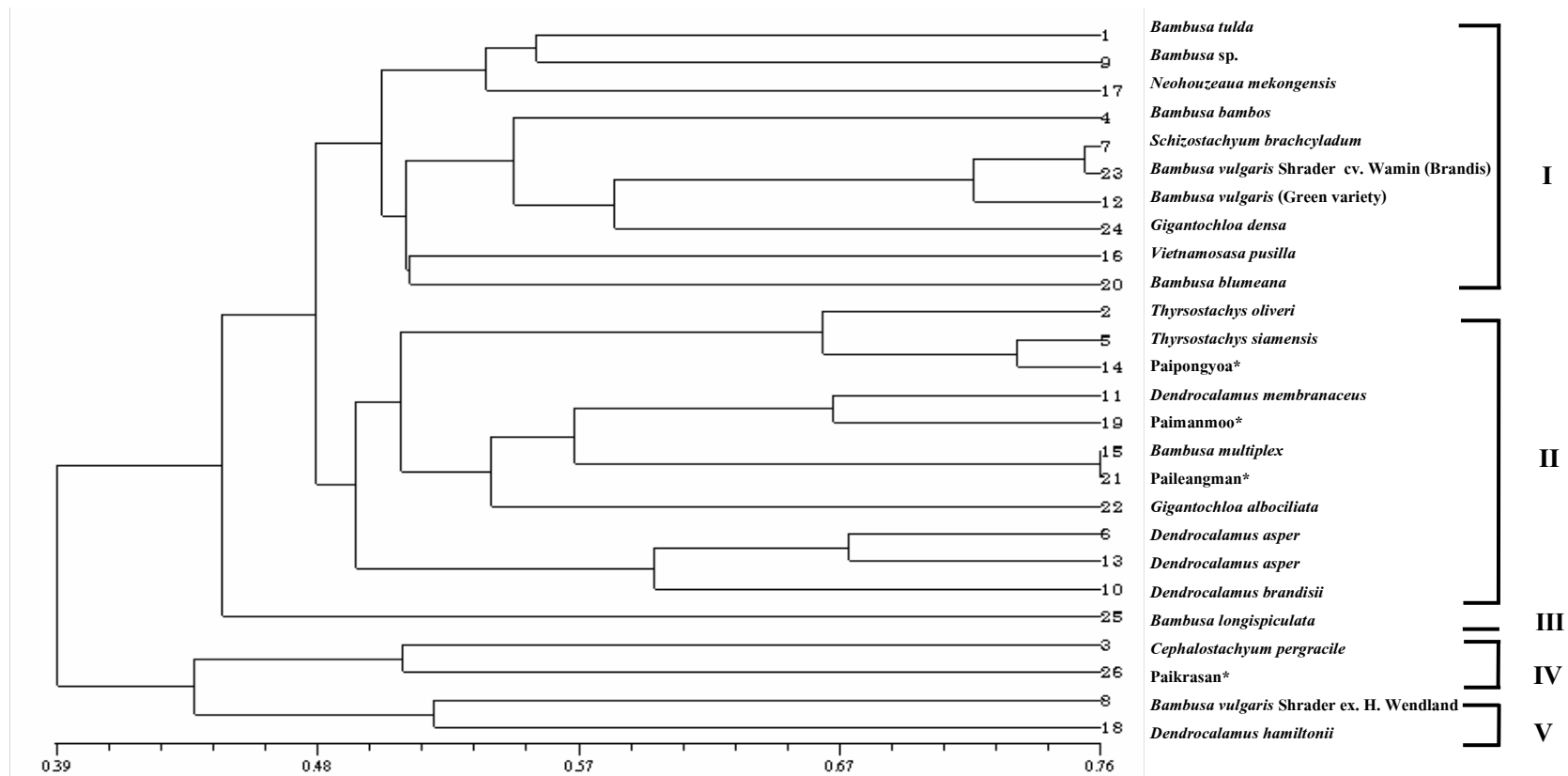
แสดงให้เห็นว่าไผ่ที่ทำการศึกษามีความแตกต่างทางพันธุกรรมมาก ผลการจัดกลุ่มระหว่างไผ่แต่ละชนิดแตกต่างกับระบบการจัดจำแนกชนิดพันธุ์โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ดังรายงานของ Loh *et al.* (2000) ซึ่งทำการศึกษาความแปรปรวนและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของไผ่ในเผ่าย่อย Bambusinae จำนวน 15 ชนิด โดยใช้เทคนิคเอเอฟแอลพี อธิบายว่าไผ่ที่ทำการศึกษามีการจัดกลุ่มที่แตกต่างจากระบบการจัดจำแนกชนิดพันธุ์โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา บางกลุ่มประกอบด้วยหลายสกุล บางชนิดจัดอยู่ต่างสกุลแต่กลับมีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกันมาก ปัญหาดังกล่าวเกิดจากการขาดดอกของไผ่ที่มาช่วยในการจัดจำแนก เนื่องจากไผ่บางชนิดมีอายุการออกดอกที่แตกต่างกัน บางชนิดมีอายุการออกดอกที่ยาวนาน บางชนิดไม่มีรายงานของการออกดอก และลักษณะทางสัณฐานวิทยานั้นมีความแปรปรวนไปตามสิ่งแวดล้อมได้ง่าย และเมื่อพิจารณาในระดับสกุล พบว่า ไผ่ในสกุล *Schizostachyum*, *Neohouzeaua*, *Thyrsostachys* และ *Vietnamosasa* มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับสกุล *Bambusa* มากกว่าสกุล *Gigantochloa* และ *Dendrocalamus* นอกจากนี้ไผ่ในสกุล *Bambusa* และ *Dendrocalamus* มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมสูง สังเกตได้จากการจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่กระจายออกไป ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการศึกษาความสัมพันธ์และความแปรปรวนในระดับโมเลกุลต่อไป ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยที่ได้ศึกษามาก่อน โดยใช้เครื่องหมายอาร์เอฟพีดี (Gielis *et al.*, 1997; Nayak *et al.*, 2003; Sun *et al.*, 2006) และเอเอฟแอลพี (Loh *et al.*, 2000)

ตารางที่ 7 แสดงจำนวนแถบดีเอ็นเอจำเพาะที่ปรากฏในแต่ละคูไพรเมอร์ของไม้แต่ละชนิด

ชนิดไม้/คูไพรเมอร์	E-AAC/ MCAA	E-AAC/ MCAT	E-AAC/ MCTC	E-ACN/ MCAA	E-ACN/ MCAG	E-ACA/ M-CTC	E-ACC/ M-CAC	E-ACC/ M-CTA	E-ACC/ M-CTC	E-ACC/ M-CTG	E-ACC/ M-CTT	E-AGC/ M-CTG	E-AGG/ M-CTC	E-AGG/ M-CTT	รวม
1. ไผ่บงดำ (<i>Bambusa talda</i>)	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
2. ไผ่รวกดำ (<i>Thyrsostachys oliveri</i>)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3. ไผ่ข้าวหลาม (<i>Cephalostachyum pergracile</i>)	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	3
4. ไผ่ป่า (<i>Bambusa bambos</i>)	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	2
5. ไผ่รวก (<i>Thyrsostachys siamensis</i>)	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
6. ไผ่ตงพันธุ์ศรีปราชญ์ (<i>Dendrocalamus asper</i>)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
7. ไผ่สีทอง (<i>Schizostachyum brachycladum</i>)	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
8. ไผ่เหลือง (<i>Bambusa vulgaris</i> Shrader ex. H. Wendland)	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	2
9. ไผ่หวาน (<i>Bambusa</i> sp.)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1
10. ไผ่บงใหญ่ (<i>Dendrocalamus brandisii</i>)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11. ไผ่ชางนวล (<i>Dendrocalamus membranaceus</i>)	2	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
12. ไผ่กำยาน (<i>Bambusa vulgaris</i> (Green variety))	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
13. ไผ่ตง (<i>Dendrocalamus asper</i>)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1
14. ไผ่ปล้องยาว (ยังไม่ได้รับการกำหนดชื่อวิทยาศาสตร์)	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
15. ไผ่เลี้ยง (<i>Bambusa multiplex</i>)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16. ไผ่เพ็ก (<i>Vietnamosasa pusilla</i>)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
17. ไผ่หลอด (<i>Neohouzeaua mekongensis</i>)	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-	1	-	3
18. ไผ่หก (<i>Dendrocalamus hamiltonii</i>)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1
19. ไผ่มันหมู (ยังไม่ได้รับการกำหนดชื่อวิทยาศาสตร์)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1
20. ไผ่สีสุก (<i>Bambusa blumeana</i>)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21. ไผ่เลี้ยงมัน (ยังไม่ได้รับการกำหนดชื่อวิทยาศาสตร์)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22. ไผ่ไร่ (<i>Gigantochloa albociliata</i>)	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	2	-	-	-	4
23. ไผ่น้ำเต้า (<i>Bambusa vulgaris</i> Shrader cv. Wamin (Brandis))	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24. ไผ่ผาก (<i>Gigantochloa densa</i>)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25. ไผ่ลำมะลอก (<i>Bambusa longispiculata</i>)	1	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	3
26. ไผ่กระแสน (ยังไม่ได้รับการกำหนดชื่อวิทยาศาสตร์)	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
รวม	4	2	1	1	3	2	3	-	2	1	4	2	4	2	

ตารางที่ 8 แสดงค่า similarity index ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับค่าความคล้ายคลึงกันของแถบดีเอ็นเอไฟ 26 ชนิด

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
1	1.00																									
2	0.46	1.00																								
3	0.39	0.37	1.00																							
4	0.54	0.49	0.35	1.00																						
5	0.50	0.69	0.36	0.48	1.00																					
6	0.49	0.49	0.36	0.47	0.50	1.00																				
7	0.55	0.49	0.40	0.60	0.49	0.52	1.00																			
8	0.37	0.36	0.50	0.38	0.30	0.39	0.36	1.00																		
9	0.56	0.46	0.38	0.49	0.46	0.50	0.51	0.34	1.00																	
10	0.46	0.45	0.33	0.45	0.49	0.62	0.48	0.35	0.47	1.00																
11	0.51	0.48	0.36	0.51	0.48	0.54	0.55	0.38	0.51	0.57	1.00															
12	0.53	0.45	0.34	0.58	0.43	0.51	0.72	0.36	0.54	0.46	0.52	1.00														
13	0.43	0.41	0.29	0.43	0.44	0.67	0.49	0.32	0.43	0.58	0.54	0.44	1.00													
14	0.46	0.63	0.33	0.46	0.73	0.49	0.48	0.31	0.47	0.50	0.46	0.44	0.48	1.00												
15	0.47	0.54	0.34	0.46	0.57	0.54	0.54	0.36	0.49	0.52	0.57	0.52	0.52	0.54	1.00											
16	0.49	0.47	0.37	0.51	0.46	0.51	0.51	0.40	0.49	0.51	0.54	0.51	0.44	0.47	0.52	1.00										
17	0.55	0.44	0.37	0.49	0.46	0.47	0.51	0.36	0.53	0.44	0.49	0.46	0.41	0.42	0.46	0.48	1.00									
18	0.46	0.45	0.40	0.44	0.42	0.52	0.49	0.52	0.45	0.52	0.56	0.49	0.49	0.40	0.50	0.50	0.41	1.00								
19	0.50	0.52	0.38	0.45	0.47	0.57	0.52	0.38	0.47	0.51	0.66	0.48	0.50	0.46	0.55	0.50	0.49	0.53	1.00							
20	0.54	0.43	0.38	0.49	0.46	0.46	0.53	0.36	0.50	0.48	0.51	0.52	0.47	0.46	0.46	0.52	0.48	0.49	0.52	1.00						
21	0.46	0.54	0.38	0.44	0.56	0.49	0.49	0.31	0.47	0.47	0.57	0.46	0.48	0.52	0.76	0.45	0.45	0.48	0.60	0.48	1.00					
22	0.53	0.50	0.39	0.48	0.54	0.50	0.52	0.35	0.49	0.45	0.55	0.48	0.47	0.50	0.52	0.49	0.48	0.47	0.55	0.54	0.55	1.00				
23	0.55	0.50	0.37	0.56	0.51	0.51	0.75	0.34	0.51	0.50	0.55	0.71	0.47	0.48	0.54	0.51	0.46	0.47	0.49	0.54	0.54	0.56	1.00			
24	0.55	0.45	0.36	0.47	0.44	0.49	0.59	0.33	0.48	0.48	0.51	0.53	0.46	0.46	0.48	0.52	0.45	0.45	0.52	0.49	0.48	0.57	0.64	1.00		
25	0.45	0.45	0.35	0.49	0.40	0.41	0.51	0.33	0.46	0.42	0.44	0.51	0.43	0.42	0.43	0.44	0.49	0.37	0.42	0.45	0.43	0.45	0.52	0.42	1.00	
26	0.43	0.40	0.51	0.43	0.32	0.40	0.39	0.45	0.35	0.38	0.42	0.35	0.34	0.31	0.38	0.39	0.42	0.41	0.41	0.36	0.36	0.38	0.36	0.41	0.39	1.00



ภาพที่ 35 การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของไผ่ 26 ชนิด ในลักษณะ phylogenetic tree วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NTSYS-pc version 2.01e (Rohlf, 1993)

หมายเหตุ: * ยังไม่ได้รับการกำหนดชื่อวิทยาศาสตร์

3. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรไผ่ป่า

3.1 จำนวน ขนาดของอัลลีลและอัลลีลเฉลี่ยของประชากรไผ่ป่า

จากการตรวจสอบจำนวนและขนาดของอัลลีลในประชากรไผ่ป่า (*Bambusa bambos*) 9 ประชากร ประชากรละ 30 ตัวอย่าง โดยไมโครแซทเทลไลท์ 9 ตำแหน่ง พบว่าแต่ละตำแหน่งปรากฏจำนวนและขนาดอัลลีลที่แตกต่างกัน ตั้งแต่ 3-16 อัลลีล มีจำนวนอัลลีลทั้งหมด 55 รูปแบบ คิดเป็นจำนวนอัลลีลเฉลี่ยต่อตำแหน่งทั้งหมดเท่ากับ 6.11 โดยตำแหน่ง DTLBb 47 พบจำนวนอัลลีลมากที่สุด 16 อัลลีล (ขนาด 130-200 คู่เบส) รองลงมาคือตำแหน่ง BTLBb 50 จำนวน 9 อัลลีล (ขนาด 135 -155 คู่เบส) และตำแหน่ง DTLBb 1 (ขนาด 225-300 คู่เบส) DTLBb 8 (ขนาด 150-170 คู่เบส) พบจำนวนอัลลีลน้อยที่สุดเพียง 3 อัลลีล ดังตารางที่ 9 และภาพที่ 36-39 ซึ่งแต่ละตำแหน่งมีการกระจายตัวของอัลลีลเป็นทั้งแบบโฮโมไซกัสและเฮเทอโรไซกัส โดยอัลลีลหรือแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นในการศึกษาในครั้งนี้บางส่วนมีลักษณะไม่เป็น single band มีลักษณะเป็น ladder band คือเกิดแถบดีเอ็นเอหลายแถบติดกัน ซึ่งแถบดีเอ็นเอที่เพิ่มขึ้นนี้เรียกว่า stutter band การเกิดแถบดีเอ็นเอในลักษณะนี้เป็นลักษณะที่พบได้ทั่วไปจากการตรวจสอบดีเอ็นเอบริเวณที่เป็นไมโครแซทเทลไลท์ (Pemberton *et al.*, 1995) ซึ่งมีผลมาจากการทำงานผิดพลาดของเอนไซม์ดีเอ็นเอโพลีเมอร์เรส ในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์ หรือเกิดจากการคลายตัวไม่สมบูรณ์ของผลผลิตพีซีอาร์ก่อนนำไปแยกด้วยอะครีลาไมด์เจล การเกิด stutter band มักเกิดกับไมโครแซทเทลไลท์ชนิดไดนิวคลีโอไทด์ (dinucleotide) มากกว่าไตรนิวคลีโอไทด์ (trinucleotide) ส่งผลให้การวิเคราะห์ขนาดและจำนวนอัลลีลผิดพลาดและยากในการแยกโฮโมไซโกตออกจากเฮเทอโรไซโกตหากอัลลีลนั้นห่างกันเพียง 2 เบส (O'Reilly and Wright, 1995) โดยรูปแบบของอัลลีลและจำนวนอัลลีลเฉลี่ยต่อตำแหน่งที่เกิดขึ้นมีค่าสูงกว่าการศึกษาของ Nayak and Rout (2005) ที่ศึกษาในไผ่ *Bambusa arundinacea* โดยใช้ไมโครแซทเทลไลท์ 8 ตำแหน่ง พบจำนวนอัลลีล 2-6 อัลลีล จำนวนอัลลีลเฉลี่ยต่อตำแหน่งทั้งหมดเท่ากับ 4.6

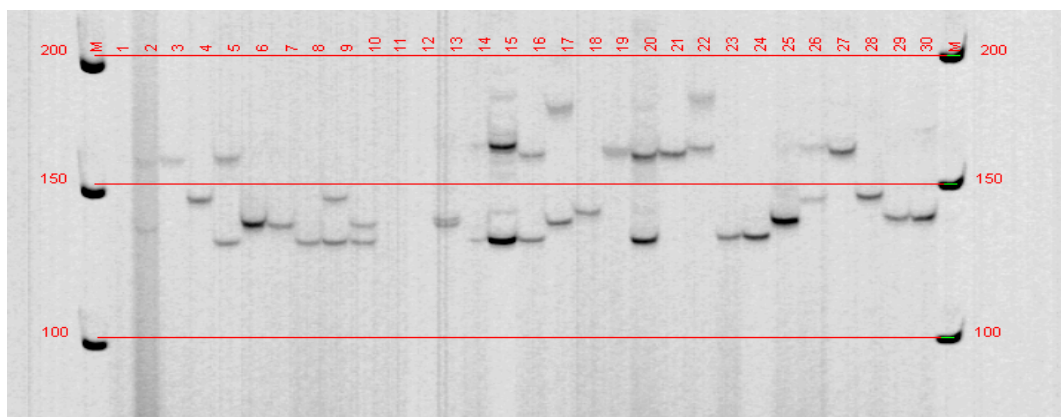
3.2 effective number of alleles (n_e)

เมื่อวิเคราะห์ค่า effective number of allele ของไมโครแซทเทลไลท์ทั้ง 9 ตำแหน่ง พบว่าทั้ง 9 ตำแหน่งแสดงรูปแบบอัลลีลที่แตกต่างกันมีค่า effective number of allele เท่ากับ 1.16, 1.27, 1.48, 5.31, 1.49, 10.13, 6.30, 2.04 และ 1.28 ตามลำดับ โดยเฉลี่ยทุกตำแหน่งเท่ากับ 3.38 ดังตารางที่ 9 และในประชากรไผ่ป่าทั้ง 9 แหล่ง มีค่าดังนี้ กาญจนบุรี 1

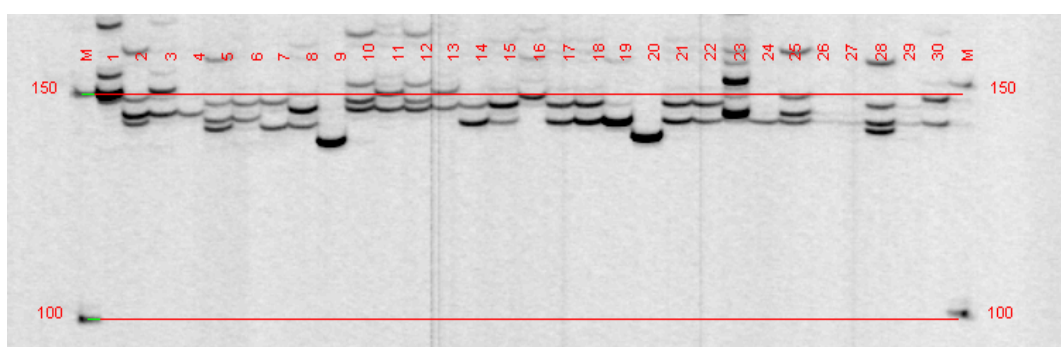
(อ. บ่อพลอย) (2.5096) กาญจนบุรี 2 (อ. ไทรโยค) (2.6943) กาญจนบุรี 3 (อ. ทองผาภูมิ) (2.1116) ลำปาง (2.5606) เชียงใหม่ (2.0029) อุบลราชธานี (2.3846) เลย (2.4492) สระแก้ว (2.1356) และสุราษฎร์ธานี (1.9940) (ตารางที่ 10) จากการพิจารณาในประชากรไผ่ป่า 9 ประชากร พบว่าค่า effective number of allele เฉลี่ยทุกตำแหน่งมีค่าเท่ากับ 2.31 ซึ่งมีค่าต่ำกว่าจำนวนอัลลีลเฉลี่ยต่อตำแหน่งทั้งหมด (6.11) สาเหตุดังกล่าวอาจเกิดจากบางประชากรมีบางอัลลีลที่เป็น rare allele (ภาพที่ 38) ซึ่งโอกาสที่อัลลีลเหล่านั้นจะสูญหายไปในการมีสูง และอาจส่งผลให้ความหลากหลายในประชากรไผ่ป่าในอนาคตมีการเปลี่ยนแปลงได้

ตารางที่ 9 แสดงจำนวนและขนาดอัลลีลของเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลต์

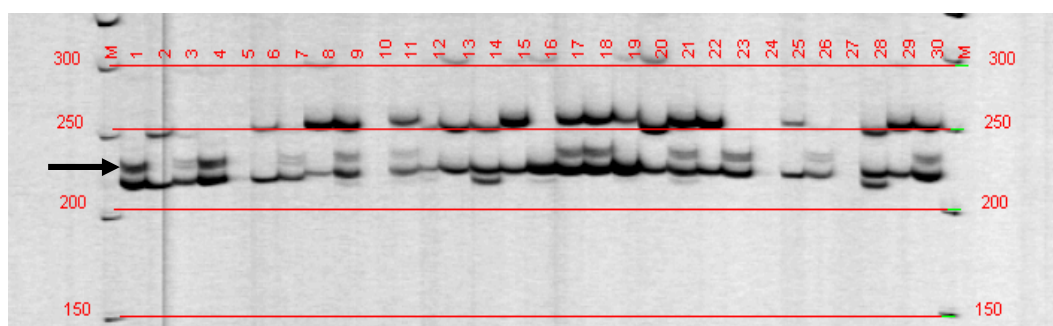
ไพรเมอร์/ ตำแหน่ง	จำนวนอัลลีล ต่อตำแหน่ง (n_a)	effective number of alleles (n_e)	ขนาดของอัลลีล (คู่เบส)
1. DTLBb 1	3	1.16	225-300
2. DTLBb 8	3	1.27	150-170
3. DTLBb 15	4	1.48	250-300
4. DTLBb 20	8	5.31	270-300
5. DTLBb 29	4	1.49	150-170
6. DTLBb 47	16	10.13	130-200
7. DTLBb 50	9	6.30	135-155
8. AJ507491	4	2.04	140-150
9. AJ507492	4	1.28	200-230
รวม	55	30.46	
เฉลี่ย	6.11	3.38	



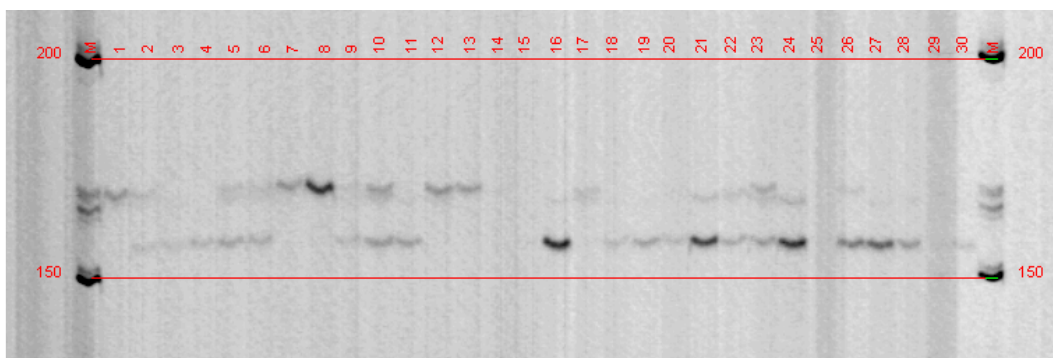
ภาพที่ 36 รูปแบบอัลลีลของประชากรไผ่ป่า (*Bambusa bambos*) จังหวัดเชียงใหม่ จากเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลต์ที่ตำแหน่ง DTLBb 47



ภาพที่ 37 รูปแบบอัลลีลของประชากรไผ่ป่า (*Bambusa bambos*) จังหวัดกาญจนบุรี 1 (อ. บ่อพลอย) จากเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลต์ที่ตำแหน่ง DTLBb 50



ภาพที่ 38 รูปแบบอัลลีลของประชากรไผ่ป่า (*Bambusa bambos*) จังหวัดเลย จากเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลต์ที่ตำแหน่ง DTLBb 1 (ลูกศรแสดงตำแหน่งของ rare allele ที่พบในประชากร)



ภาพที่ 39 รูปแบบอัลลีลของประชากรไผ่ป่า (*Bambusa bambos*) จังหวัดเชียงใหม่ จากเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลต์ที่ตำแหน่ง DTLBb 8

3.3 ความถี่อัลลีล (allele frequency) แต่ละตำแหน่งของไผ่ป่า

จากการคำนวณหาความถี่อัลลีลใดๆ ในไมโครแซทเทลไลต์ 9 ตำแหน่ง ของประชากรไผ่ป่า (*Bambusa bambos*) พบว่าบางประชากรมีรูปแบบอัลลีลที่เป็น fixed allele ซึ่งไม่มีความหลากหลายของรูปแบบอัลลีล ในไมโครแซทเทลไลต์บางตำแหน่ง ดังนั้นค่าความถี่ของอัลลีลที่ได้จึงมีค่าเท่ากับ 1.00 เช่น ประชากรกาญจนบุรี 1 (อ. บ่อพลอย) กาญจนบุรี 2 (อ. ไทรโยค) และกาญจนบุรี 3 (อ. ทองผาภูมิ) ในไมโครแซทเทลไลต์ตำแหน่ง DTLBb 1 และบางประชากรมีความหลากหลายของรูปแบบอัลลีล โดยมีค่าความถี่ของอัลลีลแตกต่างกันไปดังตารางที่ 10 ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความหลากหลายและความแปรปรวนทางพันธุกรรมที่เกิดขึ้น ในประชากรของไผ่ป่าแหล่งต่างๆ

ตารางที่ 10 แสดงค่าความถี่ของอัลลีล (allele frequency) แต่ละตำแหน่งของเครื่องหมาย
ไมโครแซทเทลโลไทป์ในประชากรไผ่ป่า (*Bambusa bambos*)

ไพรเมอร์/ ตำแหน่ง	อัลลีล	ค่าความถี่อัลลีล (allele frequency) ของไผ่ป่าแต่ละประชากร								
		กาญจนบุรี 1	กาญจนบุรี 2	กาญจนบุรี 3	ลำปาง	เชียงใหม่	อุบลราชธานี	เลย	สระแก้ว	สุราษฎร์ธานี
DTLBb 1	1	0.0167	-	-	-	-	0.0167	0.0333	0.3667	0.0833
	2	0.9833	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.8333	0.9333	0.6333	0.9167
	3	-	-	-	-	-	-	0.0333	-	-
DTLBb 8	1	-	-	-	0.3500	0.5926	-	1.0000	-	0.1333
	2	1.0000	1.0000	1.0000	0.6500	0.4074	0.9722	-	1.0000	0.8667
	3	-	-	-	-	-	0.0278	-	-	-
DTLBb 15	1	-	-	-	0.9500	0.0167	-	-	-	-
	2	1.0000	0.9833	1.0000	0.0500	0.9833	1.0000	0.3000	0.1000	0.8500
	3	-	-	-	-	-	-	0.7000	0.9000	0.1500
	4	-	0.0167	-	-	-	-	-	-	-
DTLBb 20	1	-	0.0600	0.0345	-	-	0.1905	-	-	-
	2	-	0.1800	0.0690	-	-	0.1617	-	-	-
	3	-	0.3600	0.3276	-	-	0.1905	-	-	-
	4	-	0.2400	0.3966	0.4625	0.1000	0.2857	0.2800	0.3929	-
	5	0.1538	0.0800	0.1207	0.0385	-	0.1677	0.4400	0.2679	0.0667
	6	0.5000	0.0400	0.0345	0.0962	-	-	0.2600	0.0714	0.9333
	7	0.3467	0.0200	0.0172	0.4038	0.9000	-	0.0200	0.2321	-
	8	-	0.0200	-	-	-	-	-	0.0357	-
DTLBb 29	1	-	-	-	0.0500	0.0179	-	-	-	-
	2	0.6833	0.8500	0.9167	0.9162	0.8750	0.1000	1.0000	0.9000	0.9667
	3	0.2167	0.0833	0.0833	-	0.0179	0.9000	-	0.1000	0.0333
	4	0.1000	0.0667	-	0.0333	0.0893	-	-	-	-
DTLBb 47	1	0.0208	-	-	-	0.2593	0.0833	0.1154	0.0333	-
	2	-	-	0.0192	-	0.1852	0.0417	0.0769	0.2333	-
	3	0.0208	-	-	-	0.1111	0.1042	0.0385	0.3167	0.0167
	4	0.0625	0.0345	-	-	0.1296	0.0833	0.0577	0.3500	0.1667
	5	0.2500	0.1379	0.0577	0.1833	-	0.1677	0.2885	0.0667	0.1500
	6	0.1458	0.1379	0.0385	0.1500	0.0926	0.2708	0.0385	-	0.3500
	7	0.1458	0.1379	0.2308	0.1333	0.1481	0.0833	0.1731	-	0.1000
	8	-	0.0862	0.2308	0.1833	0.0370	0.0625	0.1154	-	0.1167
	9	0.1250	0.1034	0.2500	0.2000	-	0.0625	0.0769	-	0.0667
	10	0.0833	0.0690	0.0192	0.0333	-	0.0417	0.0192	-	0.0333
	11	0.0417	0.0172	0.0192	0.0333	-	-	-	-	-
	12	0.0208	0.1207	0.0577	-	-	-	-	-	-
	13	0.0417	0.1207	0.0769	0.0833	0.0185	-	-	-	-
	14	-	-	-	-	0.0185	-	-	-	-
	15	0.0417	0.0172	-	-	-	-	-	-	-
	16	-	0.0172	-	-	-	-	-	-	-
DTLBb 50	1	0.0667	-	-	0.0870	-	-	-	-	-
	2	0.0667	0.3889	0.0833	0.2609	-	0.1522	-	-	0.2000
	3	0.3333	0.0185	0.4667	0.1522	0.0500	0.5217	-	0.0179	-
	4	0.1000	0.3148	0.0333	0.2391	-	0.1739	0.2500	0.0357	0.4000
	5	0.2167	0.0741	0.2333	0.1087	0.5333	0.1087	0.2333	0.1964	-
	6	0.1000	0.1481	0.0500	0.0217	0.4167	0.0217	0.1833	0.5179	0.1833

ตารางที่ 10 (ต่อ)

ไพรเมอร์/ ตำแหน่ง	อัลลีล	ค่าความถี่อัลลีล (allele frequency) ของไผ่ป่าแต่ละประชากร								
		กาญจนบุรี 1	กาญจนบุรี 2	กาญจนบุรี 3	ลำปาง	เชียงใหม่	อุบลราชธานี	เลย	สระแก้ว	สุราษฎร์ธานี
AJ507491	7	0.0833	0.0556	0.1167	0.0870	-	0.0217	0.2167	0.1250	0.0167
	8	0.0333	-	0.0617	0.0435	-	-	0.1167	0.0893	0.1500
	9	-	-	-	-	-	-	-	0.0179	0.050
	1	0.8833	0.7414	0.8617	0.3500	0.4500	0.9677	0.2167	0.3167	0.4833
	2	0.0167	-	-	-	-	0.0333	-	-	-
	3	0.0833	0.2586	0.1833	0.5833	0.500	-	0.6833	0.6500	0.5167
AJ507492	4	0.0167	-	-	0.0667	-	-	0.1000	0.0333	-
	1	0.8833	0.0500	0.0617	0.0500	0.0500	0.0333	0.0833	0.1333	0.0333
	2	0.0167	0.8500	0.9500	0.9167	0.8833	0.9677	0.8833	0.6833	0.9500
	3	0.0833	0.0667	0.0333	0.0333	0.0667	-	0.0167	0.1500	0.0167
n_e^*		2.5069	2.6943	2.1116	2.5606	2.0029	2.3846	2.4492	2.1356	1.9944

หมายเหตุ * n_e = effective number of alleles

3.4 เปอร์เซ็นต์โพลีมอร์ฟิก (percentage of polymorphic loci)

จากการศึกษาเปอร์เซ็นต์โพลีมอร์ฟิกที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ($p = 0.05$) ของไผ่ป่า (*Bambusa bambos*) 9 แหล่ง มีค่าดังนี้ กาญจนบุรี 1 (อ. บ่อพลอย) (66.67%) กาญจนบุรี 2 (อ. ไทรโยค) (77.78%) กาญจนบุรี 3 (อ. ทองผาภูมิ) (66.67%) ลำปาง (88.89%) เชียงใหม่ (77.78%) อุบลราชธานี (55.55%) เลย (77.78%) สระแก้ว (88.89%) และสุราษฎร์ธานี (88.89%) โดยแหล่งที่มีค่าเปอร์เซ็นต์โพลีมอร์ฟิกมากที่สุดได้แก่ จังหวัดลำปาง สระแก้ว และสุราษฎร์ธานี (ตารางที่ 11) เมื่อพิจารณาพบว่าค่าที่ได้จากการศึกษานี้มีค่าต่ำกว่า 100% แสดงว่าไมโครแซทเทลไลต์ที่ใช้ในการศึกษาทั้งหมด 9 ตำแหน่ง มีบางตำแหน่งในบางประชากรที่เป็นโมโนมอร์ฟิก คือ มีจำนวนแอมป์ดีเอ็นเอเพียงแถบเดียว แต่ค่าเปอร์เซ็นต์โพลีมอร์ฟิกที่ได้ในแต่ละประชากรมีค่าที่สูง (66.67-88.89%) โดยเฉลี่ยทุกตำแหน่งมีค่าเท่ากับ 76.54% แสดงให้เห็นว่าตำแหน่งไมโครแซทเทลไลต์ที่ทำการศึกษามีความแปรปรวนของลำดับเบสของดีเอ็นเอ ซึ่งสาเหตุที่ทำให้มีความหลากหลายหรือความแปรปรวนทางพันธุกรรม เนื่องจากเกิดการกลายพันธุ์ขึ้นในตำแหน่งไมโครแซทเทลไลต์ ซึ่งสาเหตุการกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นมาจากการเข้าคู่ผิดตำแหน่งของลำดับเบส (slippage strand mispairing) ขณะที่มีการจำลองตัวของโมเลกุลดีเอ็นเอ (DNA replication) ส่งผลให้เกิดการขาดหายไป (deletion) หรือการสอดแทรก (insertion) ของเบส (Levinson and Gutman, 1987; Wolff *et al.*, 1991) เมื่อพิจารณาค่าจำนวนอัลลีลเฉลี่ยต่อตำแหน่งและเปอร์เซ็นต์โพลีมอร์ฟิกพอจะสรุปได้ว่า ไผ่ป่าที่ศึกษามีความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากรค่อนข้างสูง

3.5 ค่าเฮเทอโรไซโกซิตี (heterozygosity)

ค่าเฮเทอโรไซโกซิตีจากการสังเกต (observed heterozygosity, H_o) และค่าเฮเทอโรไซโกซิตีจากค่าคาดหวัง (expected heterozygosity, H_e) ของประชากรไผ่ป่า (*Bambusa bambos*) จำนวน 9 แหล่ง แสดงไว้ในตารางที่ 11 ซึ่งพบว่าค่าเฮเทอโรไซโกซิตีจากการสังเกตของประชากรไผ่ป่ามีค่าอยู่ในช่วง 0.263-0.333 โดยประชากรจังหวัดสระแก้วมีค่าเฮเทอโรไซโกซิตีจากการสังเกตมากที่สุด (0.333) รองลงมาคือประชากรกาญจนบุรี 1 (อ. บ่อพลอย) (0.332) ส่วนประชากรกาญจนบุรี 3 (อ. ทองผาภูมิ) มีค่าเฮเทอโรไซโกซิตีจากการสังเกตต่ำที่สุด (0.263) ค่าเฉลี่ยทุกประชากรมีค่าเท่ากับ 0.294 ซึ่งค่าเฮเทอโรไซโกซิตีจากการสังเกตของประชากรไผ่ป่าที่ศึกษามีค่าใกล้เคียงกับการรายงานของ Nayak and Rout (2005) ที่ศึกษาในไผ่ *Bambusa arundinacea* โดยใช้ไมโครแซทเทลไลต์ 8 ตำแหน่ง พบว่าค่าเฮเทอโรไซโกซิตีจากการสังเกตมีค่าอยู่ในช่วง 0.0-0.357 ส่วนค่าเฮเทอโรไซโกซิตีจากค่าคาดหวัง ซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงความหลากหลายทางพันธุกรรม พบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 0.314-0.440 ในแต่ละประชากรนั้นมีค่าใกล้เคียงกัน โดยประชากรไผ่ป่าจังหวัดสระแก้วมีค่าเฮเทอโรไซโกซิตีจากค่าคาดหวังมากที่สุด (0.440) และประชากรไผ่ป่าจังหวัดกาญจนบุรี 3 (อ. ทองผาภูมิ) มีค่าเฮเทอโรไซโกซิตีจากค่าคาดหวังต่ำที่สุด (0.314) ค่าเฉลี่ยทุกประชากรมีค่าเท่ากับ 0.369 โดยค่าเฮเทอโรไซโกซิตีจากค่าคาดหวังของประชากรไผ่ป่าที่ศึกษามีค่าแตกต่างจากการรายงานของ Nayak and Rout (2005) ที่ศึกษาในไผ่ *Bambusa arundinacea* โดยใช้ไมโครแซทเทลไลต์ 8 ตำแหน่ง พบว่าค่าเฮเทอโรไซโกซิตีจากการสังเกตมีค่าอยู่ในช่วง 0.128-0.789 เมื่อเปรียบเทียบค่าเฮเทอโรไซโกซิตีจากค่าคาดหวังที่ได้ในครั้งนี้นี้พบว่า มีค่าต่ำกว่าการศึกษาในข้าวป่า (*Oryza rufipogon* Griff.) (0.491) (Zhou *et al.*, 2003) แต่สูงกว่าการศึกษาใน weedy rice (*Oryza* sp.) (0.053) (Yu *et al.*, 2005) และเมื่อพิจารณาพบว่าทุกประชากรมีค่าเฮเทอโรไซโกซิตีจากการสังเกตต่ำกว่าค่าเฮเทอโรไซโกซิตีจากค่าคาดหวัง ซึ่งหมายความว่าไผ่ป่าที่ศึกษาแสดงรูปแบบเฮเทอโรไซโกตจำนวนน้อยกว่าที่ควรจะเป็นตามสมมูลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก (Hardy-Weinberg Equilibrium) ลักษณะดังกล่าวนี้อาจเกิดจากตัวอย่างที่ใช้จำนวนน้อย (Lessios, 1992) ไม่ครอบคลุมพอที่จะทำให้พบจีโนไทป์ที่เป็นตัวแทนของประชากรนั้น สาเหตุที่สองอาจเกิดจากไผ่ป่าจำนวน 30 ตัวอย่าง ที่นำมาวิเคราะห์นี้เป็นตัวอย่างที่มาจากกลุ่มประชากรที่มีความแตกต่างกันทำให้เกิดปรากฏการณ์ที่เรียกว่า Wahlund effect ซึ่งมีผลทำให้ค่าเฮเทอโรไซโกซิตีจากการสังเกตน้อยกว่าค่าคาดหวังได้เช่นกัน (Hedrick, 1985) สาเหตุอีกประการที่อาจเป็นไปได้คือบางตำแหน่งในบริเวณที่ไพรเมอร์เกาะมีการกลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ทำให้ผลผลิตพีซีอาร์ที่ไม่สามารถเพิ่มปริมาณได้หรือที่เรียกว่าเกิด null allele ขึ้น โดย null allele เกิดจากการกลายในส่วนของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ไพรเมอร์จับเกาะลักษณะนี้เป็นลักษณะที่พบได้ทั่วไปในการ

วิเคราะห์บริเวณไมโครแซทเทลไลท์ทำให้ค่าเฮเทอโรไซโกซิตีต่ำกว่าความจริง (Rico *et al.*, 1997) อย่างไรก็ตาม การศึกษาครั้งนี้พบความผิดปกติในลักษณะของ null allele ในไมโครแซทเทลไลท์บางตำแหน่ง นอกจากนี้การเกิดลักษณะของ homoplasious allele ซึ่งเป็นอัลลีลที่มีขนาดเท่ากันแต่มีลำดับเบสซ้ำที่แตกต่างกันมักพบในไมโครแซทเทลไลท์ประเภท compound หรือ imperfect repeat เนื่องจากการเกิดการกลายในลำดับเบสซ้ำในบางครั้งจะเกิดในบริเวณที่ต่างกัน แต่ความแตกต่างของเบสซ้ำที่เปลี่ยนแปลงไปนี้ทำให้ขนาดของอัลลีลเปลี่ยนแปลงไปเกิดเป็นอัลลีลที่มีขนาดเท่ากันแต่มีลำดับเบสแตกต่างกัน ซึ่งอาจส่งผลให้การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในและระหว่างประชากร มีความถูกต้องและความน่าเชื่อถือลดน้อยลง ซึ่งผลของ homoplasious allele สามารถตรวจสอบได้จากข้อมูลทางวิวัฒนาการและการหาลำดับเบส (Angers and Bernatchez, 1997; Taylor *et al.*, 1999) จากผลการศึกษาดังกล่าวจะต้องทำการทดสอบสมมูลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กของประชากรไผ่ป่าเพื่อยืนยันอีกครั้ง

3.6 การทดสอบสมมูลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กของประชากรไผ่ป่า (Hardy –Weinberg Equilibrium)

การทดสอบสมมูลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กของประชากรไผ่ป่า 9 ประชากร เมื่อพิจารณาแต่ละตำแหน่ง พบว่ามีไมโครแซทเทลไลท์ในบางตำแหน่งที่มีความถี่จีโนไทป์ไม่อยู่ในสมมูลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก โดยมีค่าแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ มีเพียงตำแหน่ง AJ507492 ที่อยู่สมมูลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กในทุกประชากร และเมื่อพิจารณาในแต่ละประชากร พบว่าประชากรส่วนใหญ่มีแนวโน้มที่มีความถี่จีโนไทป์อยู่ในสมมูลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก ($p < 0.05$) โดยมีค่า p -value ที่ไม่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงตามตารางที่ 12

ตารางที่ 11 แสดงจำนวนตัวอย่างเฉลี่ย ค่าเฉลี่ยอัลลีลต่อตำแหน่ง ค่าเฉลี่ยเฮเทอโรไซโกซิตีจากการสังเกต (H_o) และค่าเฉลี่ยเฮเทอโรไซโกซิตีจากการคาดหมาย (H_e) ในประชากรไผ่ป่า (*Bambusa bambos*)

ประชากร	จำนวน ตัวอย่าง เฉลี่ย	จำนวนอัลลีลต่อตำแหน่ง									ค่าเฉลี่ย อัลลีลต่อ ประชากร	ค่าเฉลี่ย		Polymorphic loci (%)
		DTLBb1	DTLBb8	DTLBb15	DTLBb20	DTLBb29	DTLBb47	DTLBb50	AJ507491	AJ507492		H_o	H_e	
กาญจนบุรี 1	28.67	2	1	1	3	3	12	8	4	3	4.11	0.332	0.374	66.67
กาญจนบุรี 2	28.89	1	1	2	8	3	12	6	2	4	4.33	0.305	0.376	77.78
กาญจนบุรี 3	29.44	1	1	1	7	2	10	7	2	3	3.77	0.263	0.314	66.67
ลำปาง	28.77	1	2	2	4	3	8	8	3	3	3.77	0.278	0.415	88.89
เชียงใหม่	28.55	1	2	2	2	4	9	3	2	3	3.11	0.284	0.340	77.78
อุบลราชธานี	26.22	2	2	1	5	2	10	6	2	2	3.55	0.265	0.334	55.55
เลย	29.00	3	1	2	4	1	10	5	3	4	3.66	0.272	0.398	77.78
สระแก้ว	29.55	2	1	2	5	2	5	7	3	4	3.44	0.333	0.440	88.89
สุราษฎร์ธานี	30.00	2	2	2	2	2	8	6	2	3	3.22	0.318	0.334	88.89
ค่าเฉลี่ย	28.78	1.66	1.44	1.66	4.44	2.44	9.33	6.22	2.55	3.22	3.66	0.294	0.369	76.54

ตารางที่ 12 แสดงค่าการทดสอบสมมติฐานดี-ไวเบิร์กของประชากรไผ่ป่า (*Bambusa bambos*)

ประชากร/ ตำแหน่ง	<i>p</i> -value								
	DTLBb1	DTLBb8	DTLBb15	DTLBb20	DTLBb29	DTLBb47	DTLBb50	AJ507491	AJ507492
กาญจนบุรี 1	1.0000 ^{ns}	**	**	0.1134 ^{ns}	0.0000 [*]	0.5964 ^{ns}	1.0000 ^{ns}	0.3253 ^{ns}	0.2247 ^{ns}
กาญจนบุรี 2	**	**	1.0000 ^{ns}	0.1870 ^{ns}	0.0991 ^{ns}	0.0620 ^{ns}	0.0198 ^{ns}	1.000 ^{ns}	1.0000 ^{ns}
กาญจนบุรี 3	**	**	**	0.0010 [*]	0.0045 [*]	0.6262 ^{ns}	0.0251 ^{ns}	0.2247 ^{ns}	0.0508 ^{ns}
ลำปาง	**	0.0006 [*]	1.0000 ^{ns}	1.0000 ^{ns}	0.1650 ^{ns}	0.0598 ^{ns}	0.0146 ^{ns}	0.0068 ^{ns}	0.1650 ^{ns}
เชียงใหม่	**	0.6989 ^{ns}	1.0000 ^{ns}	1.0000 ^{ns}	1.0000 ^{ns}	0.0379 ^{ns}	0.0010 [*]	0.0000 [*]	1.0000 ^{ns}
อุบลราชธานี	0.5628 ^{ns}	1.0000 ^{ns}	**	0.6326 ^{ns}	0.0001 [*]	0.2921 ^{ns}	0.0335 ^{ns}	1.0000 ^{ns}	1.0000 ^{ns}
เลย	1.0000 ^{ns}	**	0.0003 [*]	0.1041 ^{ns}	**	0.3821 ^{ns}	0.0481 ^{ns}	1.0000 ^{ns}	0.3253 ^{ns}
สระแก้ว	0.0018 [*]	**	0.0001 [*]	0.0000 [*]	0.0001 [*]	0.6817 ^{ns}	0.0090 ^{ns}	1.0000 ^{ns}	0.1009 ^{ns}
สุราษฎร์ธานี	1.0000 ^{ns}	0.0579 ^{ns}	0.0001 [*]	0.0009 [*]	0.0169 ^{ns}	0.7076 ^{ns}	0.2643 ^{ns}	0.0006 [*]	1.0000 ^{ns}

หมายเหตุ ns คือ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

* คือ ค่า *p*-value < 0.05 มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

** คือ ไม่สามารถคำนวณค่าทางสถิติได้เนื่องจากตำแหน่งนั้นมีเพียงอัลลีลเดียว

3.7 คำนวณระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากร

คำนวณระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรไผ่ป่า 9 ประชากร จากการคำนวณโดยใช้ Nei's genetic distance (Nei, 1972) มีค่าอยู่ระหว่าง 0.0476-0.5824 โดยประชากรที่มีระยะห่างทางพันธุกรรมน้อยที่สุด คือกลุ่มประชากรจังหวัดกาญจนบุรี 2 (อ. ไทรโยค) กับจังหวัดกาญจนบุรี 3 (อ. ทองผาภูมิ) (0.0476) และประชากรที่มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรมากที่สุด คือกลุ่มประชากรจังหวัดสระแก้วกับจังหวัดเชียงใหม่ มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.5824 (ตารางที่ 13)

ตารางที่ 13 แสดงค่าระยะห่างทางพันธุกรรมของไผ่ป่า (*Bambusa bambos*) 9 ประชากร (genetic distance (ล่าง) genetic identity (บน))

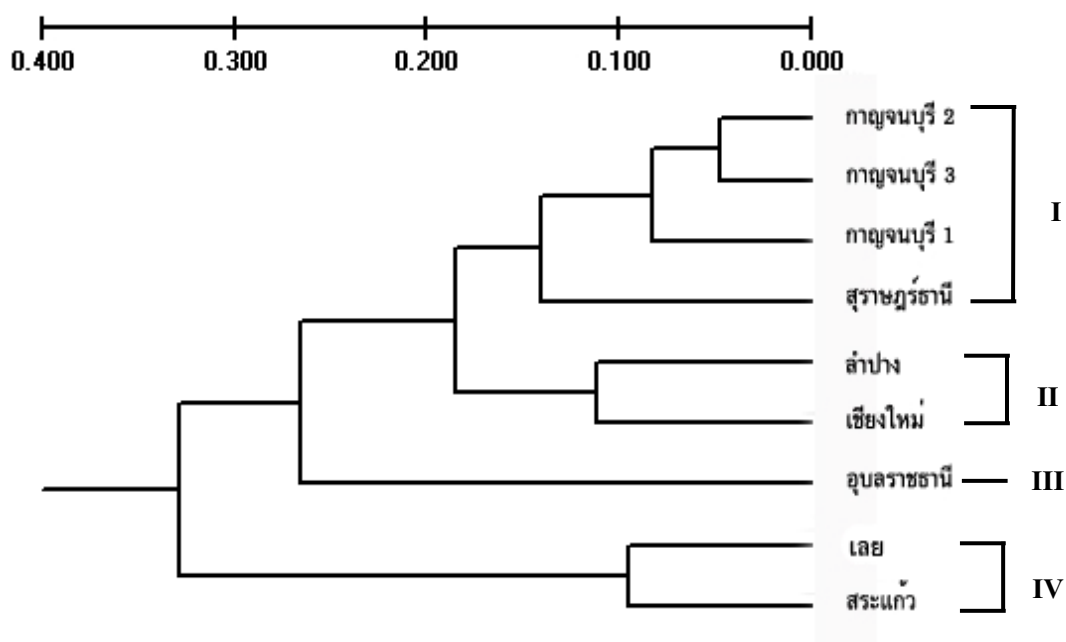
	กาญจนบุรี 1	กาญจนบุรี 2	กาญจนบุรี 3	ลำปาง	เชียงใหม่	อุบลราชธานี	เลย	สระแก้ว	สุราษฎร์ธานี
กาญจนบุรี 1	****	0.9147	0.9261	0.8642	0.8014	0.8644	0.7744	0.6686	0.8953
กาญจนบุรี 2	0.0892	****	0.9535	0.9069	0.7784	0.8374	0.8095	0.6987	0.8756
กาญจนบุรี 3	0.0768	0.0476	****	0.8962	0.7830	0.8568	0.8007	0.6921	0.8383
ลำปาง	0.1460	0.0977	0.1096	****	0.8948	0.7317	0.8380	0.7291	0.8802
เชียงใหม่	0.2214	0.2505	0.2447	0.1111	****	0.6337	0.7150	0.6777	0.7571
อุบลราชธานี	0.1458	0.1775	0.1545	0.3124	0.4561	****	0.6185	0.5585	0.7072
เลย	0.2557	0.2114	0.2223	0.1768	0.3355	0.4805	****	0.9039	0.8543
สระแก้ว	0.4026	0.3585	0.3681	0.3159	0.3890	0.5824	0.0951	****	0.7123
สุราษฎร์ธานี	0.1106	0.1324	0.1764	0.1275	0.2782	0.3464	0.1575	0.3392	****

3.8 แผนภาพความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของประชากรไผ่ป่า

จากค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรไผ่ป่า 9 ประชากร เมื่อนำมาจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยวิธี unweighted pair group method of average (UPGMA) และแสดงผลในรูปแบบของ phylogenetic tree ดังภาพที่ 40 พบว่าประชากรของไผ่ป่าที่นำมาศึกษาสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 กลุ่ม โดยกลุ่มแรกประกอบด้วยประชากรจังหวัดกาญจนบุรี 1 (อ. บ่อพลอย) จังหวัดกาญจนบุรี 2 (อ. ไทรโยค) จังหวัดกาญจนบุรี 3 (อ. ทองผาภูมิ) และจังหวัดสุราษฎร์ธานี โดยในกลุ่มนี้ประชากรไผ่ป่าในพื้นที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี ซึ่งเป็นประชากรในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับประชากรไผ่ป่าในกลุ่มจังหวัดกาญจนบุรี (อ. บ่อพลอย อ. ไทรโยค และ อ. ทองผาภูมิ) ซึ่งไม่สอดคล้องกับถิ่นกำเนิดและสภาพภูมิศาสตร์ สาเหตุดังกล่าวอาจเกิดจากประชากรไผ่ป่าในพื้นที่จังหวัดสุราษฎร์ธานีเป็นประชากรที่มีการ

กระจายพันธุ์อยู่ในพื้นที่เกษตรกรรม และอาจมีทั้งที่เป็นประชากรดั้งเดิมอาศัยอยู่ร่วมกับประชากรจากแหล่งอื่นที่นำเข้ามาขยายพันธุ์โดยประชาชนในพื้นที่นั้น ๆ ซึ่งอาจส่งผลต่อ gene pool ในประชากรได้ และทำให้ผลการศึกษาที่ได้ไม่สอดคล้องกับถิ่นกำเนิดและสภาพภูมิศาสตร์ ส่วนกลุ่มที่สองประกอบไปด้วยประชากรจังหวัดเชียงใหม่และจังหวัดลำปางซึ่งเป็นประชากรไผ่ป่าในกลุ่มภาคเหนือ กลุ่มที่สามประกอบด้วยจังหวัดอุบลราชธานี และกลุ่มที่สี่ประกอบไปด้วย จังหวัดเลยและจังหวัดสระแก้ว ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมบ่งบอกถึงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากรไผ่ป่าแต่ละแหล่ง โดยกลุ่มประชากรที่มีระดับพันธุกรรมคล้ายกันจะมีค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance) ต่ำที่สุด แต่ถ้ามีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมสูง แสดงว่ากลุ่มประชากรดังกล่าวมีความแตกต่างทางพันธุกรรมมาก

เมื่อพิจารณาผลของการจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม พบว่าบางกลุ่มของประชากรไผ่ป่ามีการจัดกลุ่มที่สอดคล้องกับถิ่นกำเนิดและสภาพภูมิศาสตร์ ทั้งในกลุ่มที่เป็นพื้นที่ในจังหวัดกาญจนบุรี (อ. บ่อพลอย อ. ไทรโยค และ อ. ทองผาภูมิ) กลุ่มพื้นที่ในกลุ่มภาคเหนือ และกลุ่มพื้นที่ในแถบภาคตะวันออกเฉียงเหนือ แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลต์ที่ใช้ในการศึกษาและประชากรไผ่ป่าในแต่ละแหล่งมีความจำเพาะทางพันธุกรรม จากข้อมูลดังกล่าวอาจนำมาใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาโมเลกุลเครื่องหมายที่มีความจำเพาะต่อประชากรในแต่ละแหล่งได้



ภาพที่ 40 แผนผังความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากรไผ่ป่า (*Bambusa bambos*)

9 ประชากร จากการจัดกลุ่มโดยวิธี UPGMA ด้วยโปรแกรม TFPGA version 1.3

(Miller, 1997)

3.9 ค่าสัมประสิทธิ์เอฟ (F-coefficient)

ค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมภายในประชากร (F_s) และค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมของประชากรทั้งหมด (F_{it}) เฉลี่ยทุกตำแหน่งมีค่าเท่ากับ 0.2060 และ 0.4007 ส่วนค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากร (F_{st}) มีค่าอยู่ระหว่าง 0.2132–0.2957 โดยมีค่าเฉลี่ยทุกตำแหน่งเท่ากับ 0.2432 (ตารางที่ 14) ซึ่งจากการทดสอบค่าเฉลี่ยทุกตำแหน่งด้วยวิธี Bootstrapping ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% พบว่าประชากรไผ่ป่าที่ทำการศึกษาในครั้งนี้แบ่งออกเป็นประชากรย่อย และเมื่อพิจารณาค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากร (F_{st}) โดย Wright (1978) ได้ให้ความหมายของค่า (F_{st}) ไว้ว่าค่าอยู่ระหว่าง 0–0.05 แสดงว่าประชากรมีความแตกต่างทางพันธุกรรมน้อย ค่าอยู่ระหว่าง 0.05–0.15 แสดงว่าประชากรมีความแตกต่างทางพันธุกรรมปานกลาง ส่วนค่าอยู่ระหว่าง 0.15–0.25 แสดงว่าประชากรมีความแตกต่างทางพันธุกรรมมาก และถ้ามีค่าตั้งแต่ 0.25 ขึ้นไป แสดงว่าประชากรมีความแตกต่างทางพันธุกรรมมากที่สุด ดังนั้นจากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าประชากรไผ่ป่าที่ทำการศึกษามีความแตกต่างทางพันธุกรรมค่อนข้างสูง (0.2432) เมื่อพิจารณาค่าที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่ามีค่าต่ำกว่าการศึกษาในข้าวป่า

(*Oryza rufipogon* Griff.) (0.5199) (Zhou *et al.*, 2003) และ weedy rice (*Oryza* sp.) (0.6560) (Yu *et al.*, 2005)

ตารางที่ 14 แสดงค่าสัมประสิทธิ์เอฟ (F-coefficient) ในแต่ละตำแหน่งของเครื่องหมาย
ไมโครแซทเทลไลต์ในประชากรไผ่ป่า (*Bambusa bambos*)

ตำแหน่ง	F_{it} (F)	F_{st} (Theta P)	F_{is} (f)
DTLBb 1	0.4217	0.2515	0.2273
DTLBb 8	0.3947	0.2428	0.2007
DTLBb 15	0.3634	0.2132	0.1909
DTLBb 20	0.3813	0.2350	0.1912
DTLBb 29	0.3749	0.2327	0.1853
DTLBb 47	0.4495	0.2957	0.2184
DTLBb 50	0.4249	0.2742	0.2076
AJ507491	0.4322	0.2478	0.2452
AJ507492	0.4155	0.2612	0.2088
ค่าเฉลี่ย	0.4007	0.2432	0.2060

หมายเหตุ ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 %

การศึกษาครั้งนี้เป็นครั้งแรกของประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของไผ่ป่า (*Bambusa bambos*) ที่อยู่ตามแหล่งธรรมชาติของประเทศไทย ข้อมูลที่ได้จะเป็นประโยชน์ในแง่ข้อมูลพื้นฐานทางด้านการศึกษาทางพันธุศาสตร์ของไผ่ป่า และใช้เป็นตัวชี้วัดระดับความหลากหลายทางพันธุกรรม เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการกำหนดโปรแกรมการอนุรักษ์ทั้งแบบในถิ่นกำเนิด (*in situ* conservation) และแบบนอกถิ่นกำเนิด (*ex situ* conservation) สำหรับการจัดการและการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรไผ่ป่าอย่างยั่งยืนและมีประสิทธิภาพ โดยแหล่งที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงจะบ่งชี้ถึงความแตกต่างในระดับพันธุกรรมที่ควบคุมกลไกการทำงาน ส่งผลให้แหล่งดังกล่าวมีศักยภาพในการอยู่รอดด้วยตัวเองในธรรมชาติ เมื่อสภาวะแวดล้อมในแหล่งนั้นมีการเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม รวมถึงความสามารถในการต้านทานโรคระบาดที่อาจเกิดขึ้นได้ในอนาคตมากกว่าแหล่งที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำกว่า และมีคุณลักษณะทางพันธุกรรมที่ดีในแง่แหล่งพันธุกรรม เพื่อการปรับปรุงพันธุ์ ดังนั้นแนวทางในการอนุรักษ์ควรรวบรวมข้อมูลที่มีทั้งหมดไม่ว่าจะเป็นข้อมูลด้านการกระจายพันธุ์ จำนวน

ประชากรในแต่ละแหล่ง ความอุดมสมบูรณ์ของระบบนิเวศในพื้นที่ และปัจจัยคุกคามจากภายนอก เช่น กิจกรรมของมนุษย์ เพื่อนำมาประกอบการตัดสินใจในการเลือกวิธีในการอนุรักษ์ต่อไป โดยประชากรที่มีจำนวนสมาชิกจำนวนมาก และอยู่ในระบบนิเวศที่สมบูรณ์เพียงพอต่อการเกิดกิจกรรมที่ส่งผลต่อการรักษาโครงสร้างทางพันธุกรรมไว้ได้สมควรที่จะใช้วิธีอนุรักษ์แบบในถิ่นกำเนิด และประชากรที่อยู่ในสถานะที่มีปัจจัยเสี่ยงต่อสมดุลควรอนุรักษ์แบบนอกถิ่นกำเนิด

ซึ่งจากการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของไผ่ป่า 9 ประชากร สามารถนำข้อมูลที่ได้จากค่าเฮเทอโรไซโกซิตีจากค่าคาดหวัง (H_e) ดังตารางที่ 11 ซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงความหลากหลายทางพันธุกรรม มาเป็นแนวทางในการอนุรักษ์ โดยประชากรไผ่ป่าจังหวัดสระแก้ว ควรที่จะทำการอนุรักษ์แบบในถิ่นกำเนิด เนื่องจากมีค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมมากที่สุด และเป็นประชากรที่อยู่ในพื้นที่อุทยานแห่งชาติปางสีดา ซึ่งเป็นพื้นที่ป่าอนุรักษ์ที่มีความอุดมสมบูรณ์ ทั้งปัจจัยทางระบบนิเวศที่เอื้อต่อการอนุรักษ์ จะทำให้ได้ผลการอนุรักษ์ที่มีประสิทธิภาพ และประชากรไผ่ป่าจังหวัดลำปางควรจะทำอนุรักษ์ ทั้งในถิ่นและนอกถิ่นกำเนิด โดยการเก็บตัวอย่างของแหล่งดังกล่าวมาขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เพื่อหาแนวทางในการจัดทำ gene bank และใช้ประโยชน์ในอนาคตต่อไป เนื่องจากแหล่งดังกล่าวถึงแม้จะเป็นพื้นที่ป่าอนุรักษ์ แต่ความอุดมสมบูรณ์ทางปัจจัยทางระบบนิเวศที่เอื้อต่อการอนุรักษ์มีน้อย ซึ่งการอนุรักษ์ในถิ่นกำเนิดเพียงอย่างเดียวจะทำให้ความหลากหลายทางพันธุกรรมลดลงได้ในอนาคต นอกจากนี้ประชากรไผ่ป่าในพื้นที่จังหวัดสุราษฎร์ธานีและจังหวัดกาญจนบุรี 1 (อ. บ่อพลอย) ซึ่งเป็นประชากรในพื้นที่ภาคใต้และภาคตะวันตกของประเทศไทย มีความหลากหลายทางพันธุกรรม (H_e) ค่อนข้างสูง ดังตารางที่ 11 เมื่อเทียบกับกลุ่มประชากรที่ศึกษา ควรทำการอนุรักษ์นอกถิ่นกำเนิด โดยการเก็บตัวอย่างของแหล่งดังกล่าวมาขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ และหาแนวทางในการจัดทำ gene bank เช่นเดียวกัน เนื่องจากแหล่งดังกล่าวเป็นประชากรที่มีการกระจายพันธุ์อยู่ในพื้นที่เกษตรกรรม และเป็นพื้นที่ที่มีการขยายตัวของชุมชน จึงมีการบุกรุกและทำลายเพื่อความต้องการใช้พื้นที่ ดังนั้นแหล่งดังกล่าวจึงมีความเสี่ยงสูงต่อการสูญเสียฐานพันธุกรรมของไผ่ป่าในพื้นที่ได้