

ผลการวิจัย

1. เชื้อพันธุกรรมกล้วยไม้สกุลม้าวิง

1.1 เชื้อพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลม้าวิง

เชื้อพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลม้าวิงที่นำมาศึกษาครั้งนี้ได้มาจากการเก็บรวบรวมมาจาก 5 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดอุบลราชธานี จังหวัดร้อยเอ็ด จังหวัดมุกดาหาร จังหวัดเลย และจังหวัดศรีสะเกษ โดยได้นำมาอนุบาลที่เรือนเพาะชำที่คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี โดยกำหนดรหัสต้นดังนี้ (ตารางที่ 3)

- รหัส NK เก็บรวบรวมมาจากบ้านหนองครก ภูผลาญใหญ่ อ.บุณฑริก จ.อุบลราชธานี จำนวน 6 สายต้น
- รหัส CM ซื้อจากแม่รำพึง ต.ช่องเม็ก อ. สิรินคร จ. อุบลราชธานี จำนวน 9 สายต้น
- รหัส DB เก็บรวบรวมจาก ต.ช่องเม็ก อ. สิรินคร จ. อุบลราชธานี จำนวน 2 สายต้น
- รหัส PK เก็บรวบรวมมาจากภูซ้องคำ อ. กุดข้าวปุ้น จ. อุบลราชธานี จำนวน 2 สายต้น
- รหัส MV ซื้อจากแม่รำพึง ต.ช่องเม็ก อ. สิรินคร จ. อุบลราชธานี จำนวน 5 สายต้น
- รหัส MVP เก็บรวบรวมมาจาก อ.โพธิ์ไทร จ. อุบลราชธานี จำนวน 10 สายต้น
- รหัส RO ซื้อจากชาวบ้าน จ.ร้อยเอ็ด จำนวน 3 สายต้น
- รหัส MDD ซื้อที่ตลาดอินโดจีน อ. เมือง จ. มุกดาหาร จำนวน 11 สายต้น
- รหัส MDM ซื้อที่ตลาดอินโดจีน อ. เมือง จ. มุกดาหาร จำนวน 12 สายต้น
- รหัส PT เก็บรวบรวมมาจากอุทยานแห่งชาติภูผาเทิบ จ. มุกดาหาร จำนวน 4 สายต้น
- รหัส TT เก็บรวบรวมมาจากหมู่บ้านทับทิมสยาม จ. ศรีสะเกษ จำนวน 2 สายต้น
- รหัส LO เก็บรวบรวมมาจาก จ. เลย จำนวน 2 สายต้น

ตารางที่ 3 แสดงรายชื่อกล้วยไม้สกุลม้าวี่งที่รวบรวมจากสถานที่ต่างๆ 5 จังหวัด ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 69 สายต้น

ลำดับ	รหัสพันธุ์	ชื่อพันธุ์	สถานที่รวบรวม
1	RO3	แดงอุบล	จ.ร้อยเอ็ด (ซื้อจากชาวบ้าน)
2	RO4	แดงอุบล	จ.ร้อยเอ็ด (ซื้อจากชาวบ้าน)
3	RO10	แดงอุบล	จ.ร้อยเอ็ด (ซื้อจากชาวบ้าน)
4	LO1	แดงอุบล	อ. ผานกเค้า จ. เลย
5	LO2	ม้าวี่ง	อ. ทองผาภูมิ จ. เลย
6	NK1	แดงอุบล	บ้านหนองครก ภูพลานูใหญ่ อ. บุนนาค จ.อุบลราชธานี
7	NK4	แดงอุบล	บ้านหนองครก ภูพลานูใหญ่ อ. บุนนาค จ.อุบลราชธานี
8	NK6	แดงอุบล	บ้านหนองครก ภูพลานูใหญ่ อ. บุนนาค จ.อุบลราชธานี
9	NK7	แดงอุบล	บ้านหนองครก ภูพลานูใหญ่ อ. บุนนาค จ.อุบลราชธานี
10	NK8	แดงอุบล	บ้านหนองครก ภูพลานูใหญ่ อ. บุนนาค จ.อุบลราชธานี
11	NK9	แดงอุบล	บ้านหนองครก ภูพลานูใหญ่ อ. บุนนาค จ.อุบลราชธานี
12	DB6	แดงอุบล	ต. ช้องเม็ก อ. สิรินคร จ. อุบลราชธานี
13	DB8	แดงอุบล	ต. ช้องเม็ก อ. สิรินคร จ. อุบลราชธานี
14	CM1	แดงอุบล	ต. ช้องเม็ก อ. สิรินคร จ. อุบลราชธานี (ซื้อจากแม่รำพึง)
15	CM3	แดงอุบล	ต. ช้องเม็ก อ. สิรินคร จ. อุบลราชธานี (ซื้อจากแม่รำพึง)
16	CM8	แดงอุบล	ต. ช้องเม็ก อ. สิรินคร จ. อุบลราชธานี (ซื้อจากแม่รำพึง)
17	CM11	แดงอุบล	ต. ช้องเม็ก อ. สิรินคร จ. อุบลราชธานี (ซื้อจากแม่รำพึง)
18	CM12	แดงอุบล	ต. ช้องเม็ก อ. สิรินคร จ. อุบลราชธานี (ซื้อจากแม่รำพึง)
19	CM13	แดงอุบล	ต. ช้องเม็ก อ. สิรินคร จ. อุบลราชธานี (ซื้อจากแม่รำพึง)
20	CM16	แดงอุบล	ต. ช้องเม็ก อ. สิรินคร จ. อุบลราชธานี (ซื้อจากแม่รำพึง)
21	CM17	แดงอุบล	ต. ช้องเม็ก อ. สิรินคร จ. อุบลราชธานี (ซื้อจากแม่รำพึง)
22	PK4	แดงอุบล	ภูฆ้องคำ อ. กุดข้าวปุ้น จ. อุบลราชธานี
23	PK8	แดงอุบล	ภูฆ้องคำ อ. กุดข้าวปุ้น จ. อุบลราชธานี
24	TT3	แดงอุบล	หมู่บ้านทับทิมสยาม จ. ศรีสะเกษ
25	TT7	แดงอุบล	หมู่บ้านทับทิมสยาม จ. ศรีสะเกษ
26	MDD1	แดงอุบล	อ. เมือง จ. มุกดาหาร (ซื้อที่ตลาดอินโดจีน)
27	MDD2	แดงอุบล	อ. เมือง จ. มุกดาหาร (ซื้อที่ตลาดอินโดจีน)
28	MDD3	แดงอุบล	อ. เมือง จ. มุกดาหาร (ซื้อที่ตลาดอินโดจีน)

ลำดับ	รหัสพันธุ์	ชื่อพันธุ์	สถานที่รวบรวม
29	MDD6	แดงอุบล	อ. เมือง จ. Mukdahan (ซื้อที่ตลาดอินโดจีน)
30	MDD9	แดงอุบล	อ. เมือง จ. Mukdahan (ซื้อที่ตลาดอินโดจีน)
31	MDD10	แดงอุบล	อ. เมือง จ. Mukdahan (ซื้อที่ตลาดอินโดจีน)
32	MDD11	แดงอุบล	อ. เมือง จ. Mukdahan (ซื้อที่ตลาดอินโดจีน)
33	MDD15	แดงอุบล	อ. เมือง จ. Mukdahan (ซื้อที่ตลาดอินโดจีน)
34	MDD17	แดงอุบล	อ. เมือง จ. Mukdahan (ซื้อที่ตลาดอินโดจีน)
35	MDD20	ม้าวิ่ง	อ. เมือง จ. Mukdahan (ซื้อที่ตลาดอินโดจีน)
36	MDD22	แดงอุบล	อ. เมือง จ. Mukdahan (ซื้อที่ตลาดอินโดจีน)
37	MDD26	แดงอุบล	อ. เมือง จ. Mukdahan (ซื้อที่ตลาดอินโดจีน)
38	MV1	ม้าวิ่ง	ต. ช้องเม็ก อ. สิรินคร จ. อุบลราชธานี (ซื้อจากแม่รำพึง)
39	MV3	ม้าวิ่ง	ต. ช้องเม็ก อ. สิรินคร จ. อุบลราชธานี (ซื้อจากแม่รำพึง)
40	MV4	ม้าวิ่ง	ต. ช้องเม็ก อ. สิรินคร จ. อุบลราชธานี (ซื้อจากแม่รำพึง)
41	MV6	ม้าวิ่ง	ต. ช้องเม็ก อ. สิรินคร จ. อุบลราชธานี (ซื้อจากแม่รำพึง)
42	MV8	ม้าวิ่ง	ต. ช้องเม็ก อ. สิรินคร จ. อุบลราชธานี (ซื้อจากแม่รำพึง)
43	MVP2	ม้าวิ่ง	อ. โพธิ์ไทร จ. อุบลราชธานี
44	MVP17	ม้าวิ่ง	อ. โพธิ์ไทร จ. อุบลราชธานี
45	MVP19	ม้าวิ่ง	อ. โพธิ์ไทร จ. อุบลราชธานี
46	MVP24	ม้าวิ่ง	อ. โพธิ์ไทร จ. อุบลราชธานี
47	MVP26	ม้าวิ่ง	อ. โพธิ์ไทร จ. อุบลราชธานี
48	MVP27	ม้าวิ่ง	อ. โพธิ์ไทร จ. อุบลราชธานี
49	MVP30	ม้าวิ่ง	อ. โพธิ์ไทร จ. อุบลราชธานี
50	MVP39	ม้าวิ่ง	อ. โพธิ์ไทร จ. อุบลราชธานี
51	MVP42	ม้าวิ่ง	อ. โพธิ์ไทร จ. อุบลราชธานี
52	MVP43	ม้าวิ่ง	อ. โพธิ์ไทร จ. อุบลราชธานี
53	CM9	ม้าวิ่ง	ต. ช้องเม็ก อ. สิรินคร จ. อุบลราชธานี (ซื้อจากแม่รำพึง)
54	PT1	ม้าวิ่ง	อุทยานแห่งชาติภูผาเทิบ จ. Mukdahan
55	PT2	ม้าวิ่ง	อุทยานแห่งชาติภูผาเทิบ จ. Mukdahan
56	PT4	ม้าวิ่ง	อุทยานแห่งชาติภูผาเทิบ จ. Mukdahan
57	PT5	ม้าวิ่ง	อุทยานแห่งชาติภูผาเทิบ จ. Mukdahan
58	MDM5	ม้าวิ่ง	อ. เมือง จ. Mukdahan (ซื้อที่ตลาดอินโดจีน)

ลำดับ	รหัสพันธุ์	ชื่อพันธุ์	สถานที่รวบรวม
59	MDM7	ม้าวี่ง	อ. เมือง จ. Mukdahan (ซื้อที่ตลาดอินโดจีน)
60	MDM11	ม้าวี่ง	อ. เมือง จ. Mukdahan (ซื้อที่ตลาดอินโดจีน)
61	MDM14	ม้าวี่ง	อ. เมือง จ. Mukdahan (ซื้อที่ตลาดอินโดจีน)
62	MDM15	ม้าวี่ง	อ. เมือง จ. Mukdahan (ซื้อที่ตลาดอินโดจีน)
63	MDM17	ม้าวี่ง	อ. เมือง จ. Mukdahan (ซื้อที่ตลาดอินโดจีน)
64	MDM18	ม้าวี่ง	อ. เมือง จ. Mukdahan (ซื้อที่ตลาดอินโดจีน)
65	MDM19	ม้าวี่ง	อ. เมือง จ. Mukdahan (ซื้อที่ตลาดอินโดจีน)
66	MDM21	ม้าวี่ง	อ. เมือง จ. Mukdahan (ซื้อที่ตลาดอินโดจีน)
67	MDM22	ม้าวี่ง	อ. เมือง จ. Mukdahan (ซื้อที่ตลาดอินโดจีน)
68	MDM23	ม้าวี่ง	อ. เมือง จ. Mukdahan (ซื้อที่ตลาดอินโดจีน)
69	DR1**	ม้าบิน	ชุมพร

หมายเหตุ ** DR1 กล้วยไม้ม้าบิน (*Doritis pulcherrima* var. *chumpornensis*) เป็นกล้วยไม้สกุล

ม้าวี่งที่มีการกระจายพันธุ์ ทางภาคใต้ของประเทศไทยใช้เป็นพันธุ์เปรียบเทียบความแตกต่าง

1.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาบางลักษณะของกล้วยไม้สกุลม้าวี่งที่รวบรวมจากสถานที่ต่างๆ 5 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดอุบลราชธานี จังหวัดร้อยเอ็ด จังหวัดมุกดาหาร จังหวัดเลย และจังหวัดศรีสะเกษ จำนวน 68 สายต้น และมีกล้วยไม้ม้าบินจากจังหวัดชุมพร ใช้เป็นสายพันธุ์เปรียบเทียบอีก 1 สายต้น รวมทั้งสิ้น 69 สายต้น สามารถจำแนกเป็นกล้วยไม้แดงอุบล จำนวน 35 สายต้น กล้วยไม้ม้าวี่ง จำนวน 33 สายต้น (ตารางที่ 4) โดยกล้วยไม้สกุลม้าวี่งแต่ละชนิดจะมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาทั้งดอก และใบแตกต่างกันโดยภาพรวม ดังนี้

กล้วยไม้แดงอุบล

- ลักษณะดอกพื้ง ขนาดดอกใหญ่กว่ากล้วยไม้ม้าวี่ง
- ลักษณะใบใหญ่มีทั้งใบเขียวยาว ใบเขียวกลมสั้น ใบเขียวขอบน้ำตาลแดง ใบเขียวจุดน้ำตาลกว้างกลม ใบเขียวจุดน้ำตาลเรียวยาว ใบแดงยาว
- สีกลีบดอกมีตั้งแต่สีชมพูอ่อน – ม่วงเข้ม
- สีปากดอก จะมีสีเหมือนกลีบดอก สีส่อนกว่ากลีบดอก สีเข้มกว่ากลีบดอก สี Sidelobe บนปากมีสีเหลือง เหลืองส้ม ชมพูอ่อน ม่วง
- สีก้านดอก จะมีทั้งสีเขียว และสีเขียวยาวเหลือง ดังตารางที่ 4 ภาพที่ 2 และ 3

กล้วยไม้ม้าวิ่ง

- ลักษณะดอกของกล้วยไม้ม้าวิ่งจะลู่ ดอกจะมีขนาดเล็ก
- ลักษณะของใบมีทั้งใบเรียวยาว ใบเรียวกเล็ก ใบกลมยาว ใบกลมสั้น จุดและขอบใบสีเขียว สีน้ำตาล ตลอดจนสีเขียวทั้งใบ
- สิกลิตดอกมีตั้งแต่สีขาวไปจนถึงสีม่วงเข้ม
- สีปากดอก จะมีสีเหมือนกลีบดอก สีส่อนกว่ากลีบดอก สีเข้มกว่ากลีบดอก มีสีเหลือง เหลืองส้ม ชมพูอ่อน และสีม่วง
- สีก้านดอก จะมีทั้งสีเขียว และสีเขียวเหลือง ดังตารางที่ 4 ภาพที่ 4 และ 5

การจำแนกความแตกต่างของกล้วยไม้ม้าวิ่งและแดงอุบลที่ยังไม่มีการเจริญเติบโตเต็มที่ โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาทำได้ค่อนข้างยาก เนื่องจากกล้วยไม้แดงอุบลและม้าวิ่งมีลักษณะใบที่คล้ายคลึงกัน อย่างไรก็ตามแต่เมื่อถึงระยะการเจริญเติบโตเต็มที่ที่สามารถแยกความแตกต่างได้ โดยเฉพาะในระยะออกดอกจะมีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน ซึ่งจะต้องใช้ระยะเวลา 3 ถึง 4 ปี การใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาในการจำแนกความแตกต่างของสายพันธุ์ สามารถใช้ลักษณะความแตกต่างที่ปรากฏให้เห็นอย่างชัดเจน ซึ่งเป็นวิธีที่ทำได้ง่าย สะดวก ไม่ต้องใช้อุปกรณ์หรือเทคโนโลยีใด แต่ต้องใช้บุคลากรที่มีความรู้ ความชำนาญและประสบการณ์เกี่ยวกับพืชนั้นพอสมควร อย่างไรก็ตามการใช้ลักษณะสัณฐานวิทยามีข้อจำกัดในการจำแนกความแตกต่างของสายพันธุ์ที่มีความใกล้เคียงกันทางพันธุกรรมสูง อีกทั้งการแสดงออกของลักษณะต่างๆเป็นผลเนื่องมาจากพันธุกรรม และบางลักษณะมักผันแปรไปตามอิทธิพลของสภาพแวดล้อม และผลจากอิทธิพลร่วมจากปฏิกริยาระหว่างสภาพแวดล้อมกับสารพันธุกรรมเข้ามาเกี่ยวข้อง ดังนั้นจึงจำเป็นต้องหาเครื่องบ่งชี้ชนิดอื่นมาประกอบ เพื่อช่วยให้การจำแนกความแตกต่างของสายพันธุ์นั้นมีความถูกต้อง ปัจจุบันมีการนำเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอมาช่วยในการจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมและศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต ซึ่งให้ผลแม่นยำ ไม่มีอิทธิพลของสภาพแวดล้อมมาเกี่ยวข้อง เนื่องจากเป็นการจำแนกที่จีโนไทป์โดยตรง ดังนั้นจึงมีการนำเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอมาใช้ในการศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรมของกล้วยไม้มากขึ้น



ตารางที่ 4 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้สกุลมาวี่งจำนวน 69 สายต้น

ลำดับ	รหัสพันธุ์	ชื่อพันธุ์	ลักษณะใบ/จุดสี	ลักษณะดอก	สีดอก	สีปากดอก	สีกลีบดอก
1	RO3	แดงอุบล	ใบเรียวยาว จุดสีน้ำตาล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
2	RO4	แดงอุบล	ใบเรียวยาว จุดสีน้ำตาล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
3	RO10	แดงอุบล	ใบเรียวยาว จุดสีน้ำตาล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
4	LO1	แดงอุบล	ใบเรียวยาว	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
5	LO2	มาวี่ง	ใบเรียวยาว จุดสีเขียวเข้มเล็กน้อย	ลู	ขาว	ขาว	เขียว
6	NK1	แดงอุบล	ใบเรียวยาว จุดสีเขียวเข้มเล็กน้อย	ผ้ง	สีม่วงอ่อน	มีสีม่วงเข้ม	สีซีขาว
7	NK4	แดงอุบล	ใบเรียวยาว จุดสีน้ำตาล	ผ้ง	ม่วงเข้ม	สีม่วงเข้มกว่ากลีบดอก	สีซีขาว
8	NK6	แดงอุบล	ใบเรียวยาว จุดสีน้ำตาล	ผ้ง	ม่วงอ่อน	สีม่วงเข้ม	สีเหลืองเขียว
9	NK7	แดงอุบล	ใบเรียวยาว จุดสีเขียวเข้มเล็กน้อย	ผ้ง	ม่วงเข้ม	สีส้ม	สีซีขาว
10	NK8	แดงอุบล	ใบเรียวยาว จุดสีน้ำตาล	ผ้ง	ม่วงเข้มมาก	สีม่วงเข้มกว่ากลีบดอก	สีเหลืองเขียว
11	NK9	แดงอุบล	ใบเรียวยาว จุดสีเขียวเข้ม	ผ้ง	ดอกสีชมพู	สีชมพูเข้มกว่ากลีบดอก	สีเหลืองเขียว
12	DB6	แดงอุบล	ใบเรียวยาว จุดและขอบสีน้ำตาล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
13	DB8	แดงอุบล	ใบเรียวยาว จุดสีน้ำตาล	ผ้ง	ม่วงอ่อน	สีส้มเล็กน้อย	สีซีขาว
14	CM1	แดงอุบล	ใบเรียวยาวเล็ก จุดสีน้ำตาล	ผ้ง	ม่วงเข้ม	สีม่วงเข้มกว่ากลีบดอก	เหลืองเขียว
15	CM3	แดงอุบล	ใบเรียวยาว จุดสีน้ำตาล	ผ้ง	ม่วงอ่อน	สีม่วงอ่อน	สีเหลืองเขียว
16	CM8	แดงอุบล	ใบเรียวยาว จุดสีน้ำตาล	ผ้ง	ม่วงเข้ม	สีม่วงเข้ม	เหลืองเขียว
17	CM11	แดงอุบล	ใบเรียวยาว จุดสีน้ำตาล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
18	CM12	แดงอุบล	ใบเรียวยาว จุดสีน้ำตาล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
19	CM13	แดงอุบล	ใบเรียวยาว จุดสีน้ำตาล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล

ลำดับ	รหัสพันธุ์	ชื่อพันธุ์	ลักษณะใบ/จุดสี	ลักษณะดอก	สีดอก	สีปากดอก	สีเก้านดอก
20	CM16	แดงอุบล	ใบเรียวยาว จุดสีน้ำตาล	ฝิ่ง	ม่วงอ่อน	สีเหลือง	สีเขียว
21	CM17	แดงอุบล	ใบเรียวยาว จุดสีน้ำตาล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
22	PK4	แดงอุบล	ใบเรียวยาว	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
23	PK8	แดงอุบล	ใบเรียวกว้าง จุดสีน้ำตาล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
24	TT3	แดงอุบล	ใบเขียวเรียวยาว จุดสีเขียวเข้ม	ลู	ม่วงอ่อน	เหลือง	สีเหลืองเขียว
25	TT7	แดงอุบล	ใบเขียวเรียวยาว จุดสีเขียวทั่วทั้งใบ	ลู	ม่วงอ่อน	เหลืองเล็กน้อย	สีเหลืองเขียว
26	MDD1	แดงอุบล	ใบเรียวยาว จุดสีน้ำตาล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
27	MDD2	แดงอุบล	ใบเรียวยาว จุดสีเขียวเข้ม	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
28	MDD3	แดงอุบล	ใบเรียวยาว จุดสีน้ำตาล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
29	MDD6	แดงอุบล	ใบเรียวยาว จุดสีน้ำตาล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
30	MDD9	แดงอุบล	ใบเรียวยาว จุดสีน้ำตาล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
31	MDD10	แดงอุบล	ใบเรียวยาว จุดและพื่นสีน้ำตาล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
32	MDD11	แดงอุบล	ใบเรียวยาว จุดสีน้ำตาล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
33	MDD15	แดงอุบล	ใบเรียวยาว จุดสีน้ำตาล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
34	MDD17	แดงอุบล	ใบเรียวยาว จุดสีน้ำตาล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
35	MDD20	ม่วง	ใบเรียวยาว จุดสีน้ำตาล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
36	MDD22	แดงอุบล	ใบเรียวกว้าง จุดสีเขียวเข้ม	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
37	MDD26	แดงอุบล	ใบเรียวกว้าง จุดสีเขียวเข้ม	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
38	MV1	ม่วง	ใบกลมสันต่างสีขาว	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
39	MV3	ม่วง	ใบกลมสัน จุดสีน้ำตาล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล

ลำดับ	รหัสพันธุ์	ชื่อพันธุ์	ลักษณะใบ/จุดสี	ลักษณะดอก	สีดอก	สีปากดอก	สีกลีบดอก
40	MV4	ม่วง	ใบเรียวยาวเล็ก	คู่	ม่วงอ่อน	สีส้มเข้ม	เหลืองเขียว
41	MV6	ม่วง	ใบกลมสั้น จุดสีน้ำตาล	คู่	สีม่วง	สีแดงเข้ม (เลือดหมู)	เขียว
42	MV8	ม่วง	ใบกลมสั้น จุดสีเขียวเข้ม	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
43	MVP2	ม่วง	ใบเรียวยาว จุดสีน้ำตาล	คู่	สีขาว	สีส้มเข้ม	เหลืองเขียว
44	MVP17	ม่วง	ใบเรียวยาวเล็ก จุดและขอบสีน้ำตาล	คู่	ม่วงเข้ม	ม่วงเข้มกว่ากลีบดอก (แดงเลือดหมู)	เหลืองเขียว
45	MVP19	ม่วง	ใบเรียวยาวเล็ก จุดและขอบสีน้ำตาล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
46	MVP24	ม่วง	ใบเรียวยาวเล็ก จุดและขอบสีน้ำตาล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
47	MVP26	ม่วง	ใบเรียวยาว จุดสีน้ำตาล	คู่	สีม่วงอ่อน	สีม่วงเข้ม	เหลืองเขียว
48	MVP27	ม่วง	ใบเรียวยาวเล็ก จุดและขอบสีน้ำตาล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
49	MVP30	ม่วง	ใบเรียวยาวเล็ก จุดและขอบสีน้ำตาล	คู่	สีขาว	สีเหลือง	เหลืองเขียว
50	MVP39	ม่วง	ใบเรียวยาว จุดสีน้ำตาล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
51	MVP42	ม่วง	ใบเรียวยาวเล็ก จุดและขอบสีน้ำตาล	คู่	สีขาว	สีเหลือง	เหลืองเขียว
52	MVP43	ม่วง	ใบเรียวยาวเล็ก จุดและขอบสีน้ำตาล	คู่	ม่วงอ่อนเกือบขาว	เข้มกว่ากลีบดอก	เหลืองเขียว
53	CM9	ม่วง	ใบกลมสั้น จุดสีเขียวเข้มเล็กน้อย	คู่	ม่วงอ่อนเกือบขาว	สีเหลืองส้ม	สีเขียว
54	PT1	ม่วง	ใบเรียวยาวเล็ก จุดสีน้ำตาล	คู่	ม่วงอ่อนเกือบขาว	สีเหลืองเข้ม	เหลืองเขียว
55	PT2	ม่วง	ใบเรียวยาวเล็ก จุดสีน้ำตาล	คู่	ม่วงอ่อน	สีส้มเข้ม	เหลืองเขียว
56	PT4	ม่วง	ใบเรียวยาวเล็ก สีเขียวตลอดใบ	คู่	ม่วงอ่อนเกือบขาว	สีเหลืองเข้ม	เขียว
57	PT5	ม่วง	ใบเรียวยาวเล็ก จุดและขอบสีน้ำตาล	คู่	กลีบดอกสีม่วงอ่อน	สีเหลืองเข้ม	เหลืองเขียว
58	MDM5	ม่วง	ใบเรียวยาวเล็ก สีเขียวตลอดใบ	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล

ลำดับ	รหัสพันธุ์	ชื่อพันธุ์	ลักษณะใบ/จุดสี	ลักษณะดอก	สีดอก	สีปากดอก	สีก้านดอก
59	MDM7	ม้าวิ่ง	ใบเรียวยาว จุดสีเขียวเข้ม	ดู	สีม่วงเข้ม	ส้มเล็กน้อย	เขียว
60	MDM11	ม้าวิ่ง	ใบเรียวยาว สีเขียวเข้ม	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
61	MDM14	ม้าวิ่ง	ใบเรียวยาว สีเขียวเข้มตลอดใบ	ดู	ม่วงอ่อน	ชมพูเข้ม(ม่วงเข้ม)	เขียวอมม่วง
62	MDM15	ม้าวิ่ง	ใบเรียวยาว จุดและขอบสีน้ำตาล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
63	MDM17	ม้าวิ่ง	ใบเรียวยาว สีเขียวตลอดทั้งใบ	ดู	ขาว	ม่วงอ่อน	เขียว
64	MDM18	ม้าวิ่ง	ใบเรียวยาว จุดและขอบสีน้ำตาล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
65	MDM19	ม้าวิ่ง	ใบเรียวยาว จุดและขอบสีน้ำตาล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
66	MDM21	ม้าวิ่ง	ใบเรียวยาว สีเขียวตลอดใบ	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
67	MDM22	ม้าวิ่ง	ใบเรียวยาว จุดสีน้ำตาล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
68	MDM23	ม้าวิ่ง	ใบเรียวยาว จุดสีน้ำตาล	ดู	ขาว	ส้มอมเหลือง	เหลืองเขียว
69	DR1	ม้าบิน	ใบเรียวยาวสีเขียว	ดอกมีปีกหยัก ผึ่ง	สีม่วง	สีม่วง	เหลืองเขียว

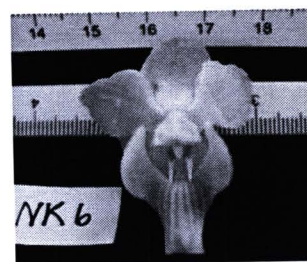
หมายเหตุ** ไม่มีข้อมูล คือ ยังไม่ออกดอก



NK1



NK4



NK6



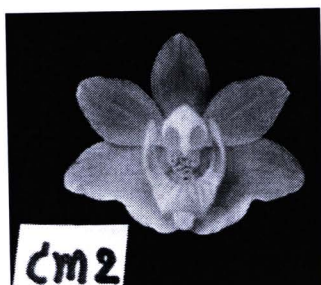
NK7



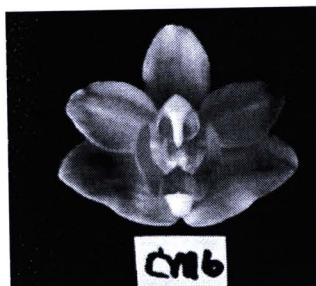
NK8



NK9



CM2



CM6



DB8

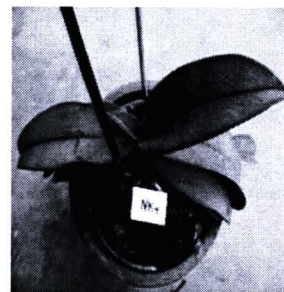
ภาพที่ 2 แสดงตัวอย่างความแตกต่างลักษณะดอกภายในกลุ่มของกล้วยไม้แดงอุบล



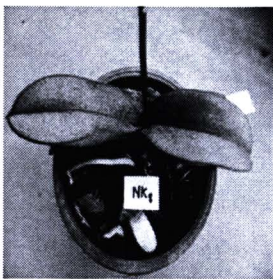
NK4



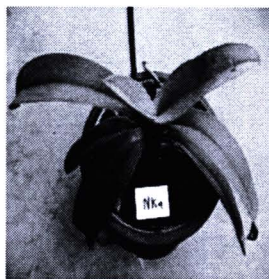
NK6



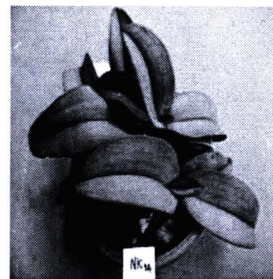
NK7



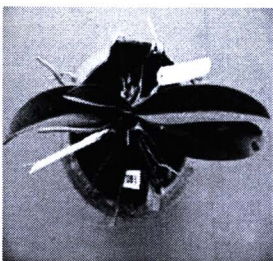
NK8



NK9



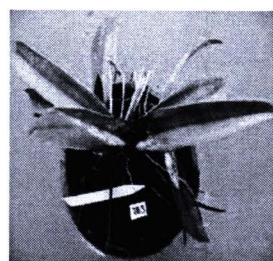
NK14



CM1

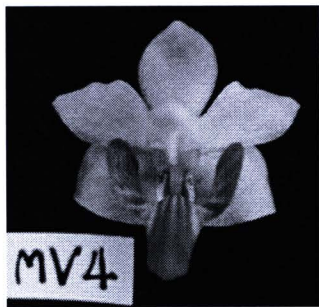


CM2

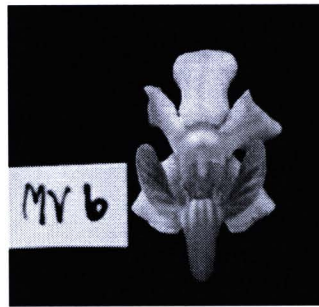


CM3

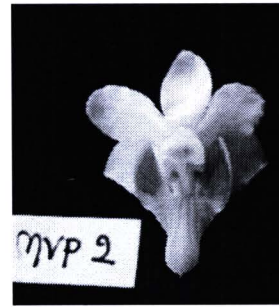
ภาพที่ 3 แสดงตัวอย่างความแตกต่างลักษณะต้นภายในกลุ่มของกล้วยไม้แดงอุบล



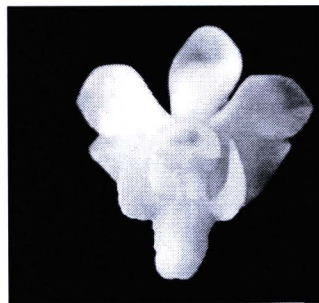
MV4



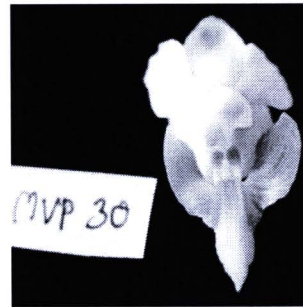
MV6



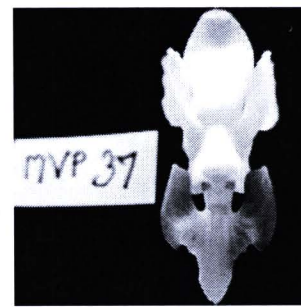
MVP2



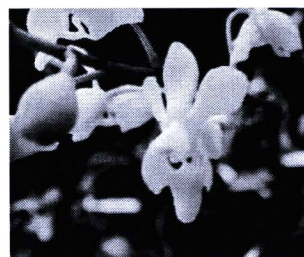
MVP23



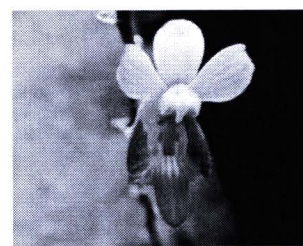
MVP30



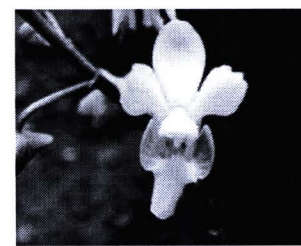
MVP37



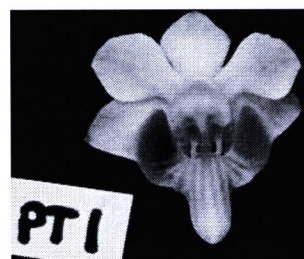
MDM17



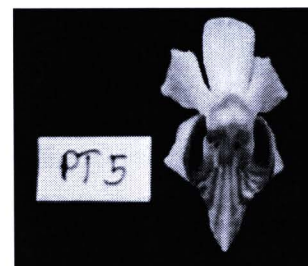
MDM36



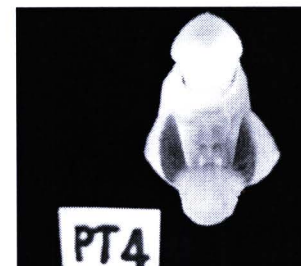
MDM23



PT1

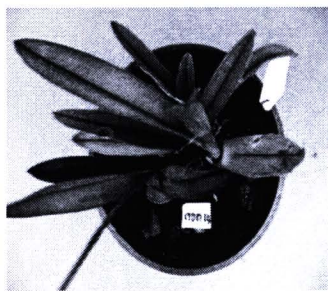


PT5

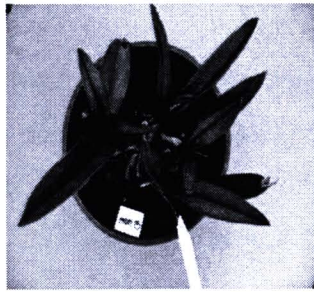


PT4

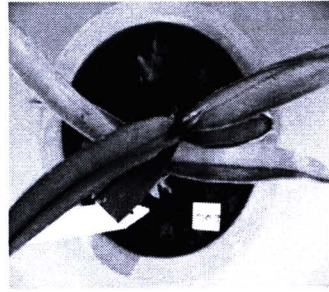
ภาพที่ 4 แสดงตัวอย่างความแตกต่างของลักษณะดอกภายในกลุ่มกล้วยไม้ม้าวิ่ง



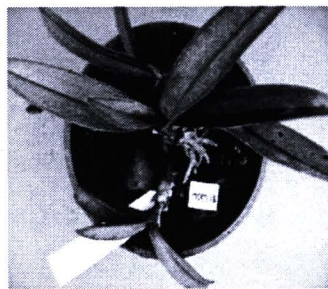
MDM14



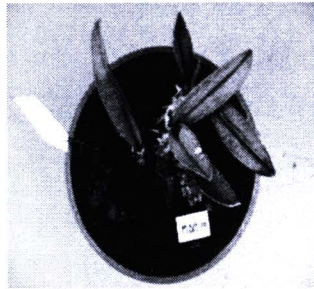
MDM15



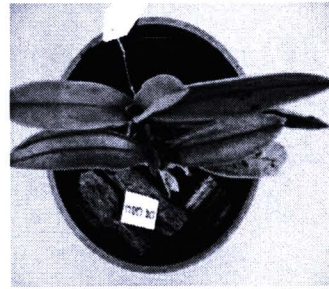
MDM17



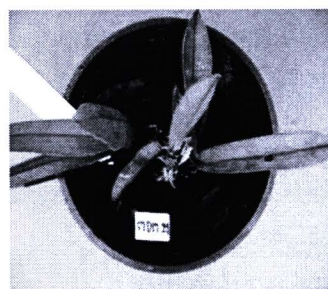
MDM18



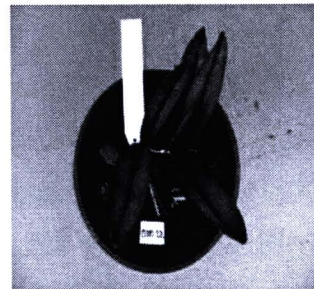
MDM19



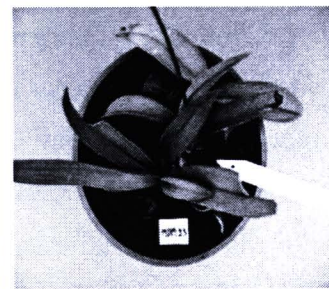
MDM20



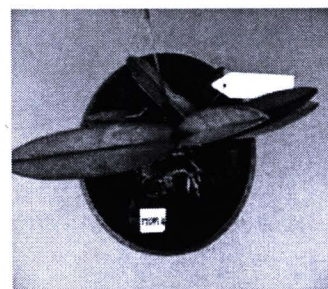
MDM21



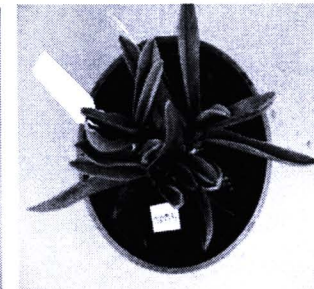
MDM22



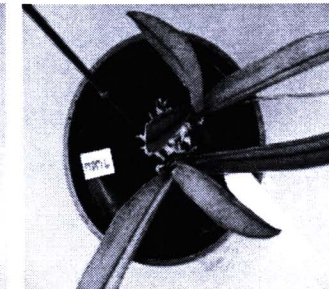
MDM23



MDM4



MDM5



MDM6

ภาพที่ 5 แสดงตัวอย่างความแตกต่างลักษณะต้นภายในกลุ่มของกล้วยไม้ม้าวิ่ง

2. การสกัดดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลม้าวิง

การศึกษาเปรียบเทียบวิธีการสกัดดีเอ็นเอที่เหมาะสมของกล้วยไม้สกุลม้าวิง โดยทำการเปรียบเทียบวิธีการสกัดดีเอ็นเอ 4 วิธี ได้แก่

วิธีที่ 1: 2% CTAB method (ดัดแปลงจาก Lodhi et al., 1994)

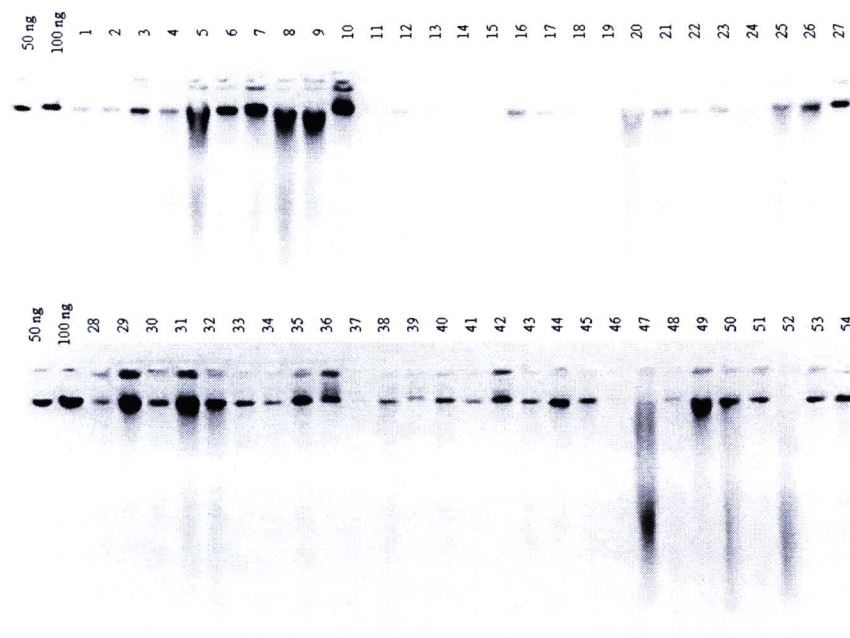
วิธีที่ 2: Modification CTAB method (Knapp and Chandlee, 1996)

วิธีที่ 3: 2%CTAB with phenol-chloroform (Sue et al., 1997)

วิธีที่ 4: 20% SDS (ดัดแปลงจาก Dellaporta et al., 1983)

จากผลการศึกษา พบว่า วิธีการสกัดดีเอ็นเอทั้ง 4 วิธี ให้ปริมาณดีเอ็นเอแตกต่างกัน ดังนี้ วิธีที่ 1 การใช้ 2% CTAB method (ดัดแปลงจาก Lodhi et al., 1994) ปริมาณดีเอ็นเอที่ได้มีความเข้มข้นประมาณ 2.5 ไมโครกรัม สารละลายดีเอ็นเอที่ได้มีลักษณะเหลืองและเหนียวหนืด บ่งชี้ได้ว่าวิธีนี้มีปัญหาการเกิด oxidation และการเจือปนของสารโพลีแซคคาไรด์ วิธีที่ 2 Modification CTAB method (Knapp and Chandlee, 1996) ปริมาณดีเอ็นเอที่ได้มีความเข้มข้นประมาณ 2 ไมโครกรัม สารละลายดีเอ็นเอที่ได้บางตัวอย่างใส บางตัวอย่างมีสีน้ำตาล และเหนียวหนืดเล็กน้อย บ่งชี้ได้ว่าการสกัดดีเอ็นเอวิธีนี้มีการเจือปนของสารโพลีแซคคาไรด์ และการเกิด oxidation วิธีที่ 3 การใช้ 2% CTAB with phenol-chloroform (Sue et al., 1997) วิธีนี้ความเข้มข้นของดีเอ็นเอที่ได้จะมีปริมาณน้อยประมาณ 1 ไมโครกรัม เมื่อเทียบกับการสกัดดีเอ็นเอทั้ง 3 วิธี สารละลายดีเอ็นเอใสและไม่เหนียวหนืด วิธีที่ 4 การใช้ 20 % SDS (ดัดแปลงจาก Dellaporta et al., 1983) ปริมาณดีเอ็นเอที่ได้มีความเข้มข้นประมาณ 10 ไมโครกรัม สารละลายดีเอ็นเอที่ได้ใส และเหนียวหนืด แสดงว่ามีการปนเปื้อนของสารประกอบ phenolic และสารพวกโพลีแซคคาไรด์มาก

วิธีการสกัดดีเอ็นเอโดยใช้ 2% CTAB with phenol-chloroform ของ Sue et al. (1997) มีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการสร้างไลบรารีจีโนมดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลม้าวิงอย่างมีประสิทธิภาพ โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี และเอเอฟแอลพี สารละลายดีเอ็นเอที่ได้สะอาด ใสไม่มีสี ไม่มีการปนเปื้อนของ โพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) และสารประกอบ phenolic เมื่อนำสารละลายดีเอ็นเอที่ได้ไปวัดปริมาณความเข้มข้นด้วยวิธีอเล็กโทรโพลีซีส โดยใช้กะลาโรสความเข้มข้น 1.2 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ปริมาณดีเอ็นเอที่ได้มีตั้งแต่ 5-10 ไมโครกรัม โดยเปรียบเทียบกับปริมาณดีเอ็นเอมาตรฐาน (Lambda DNA (Fermentas)) ดังภาพที่ 6



ภาพที่ 6 แสดงปริมาณแถบดีเอ็นเอที่สกัดได้ของกล้วยไม้สกุลม้าวิงจำนวน 54 สายต้นโดยใช้วิธี 2% CTAB with phenol-chloroform ของ Sue et al. (1997) เมื่อเทียบกับปริมาณดีเอ็นเอมาตรฐาน (Lambda DNA 50 และ 100 ng (Fermentas)) (1- 54 คือ RO3, RO4, RO10, NK1, NK4, NK6, NK7, NK8, NK9, CM3, CM8, CM11, CM12, CM13, CM16, CM17, PK4, PK8, DB6, DB8, MDD1, MDD2, MDD3, MDD6, MDD10, MDD11, MDD15, MDD17, MDD20, MDD22, MDD26, CM9, MV4, MV8, MVP2, MVP19, MVP24, MVP26, MVP27, MVP30, MVP39, MVP42, PT1, PT2, PT4, PT5, MDM5, MDM7, MDM14, MDM15, MDM18, MDM19, MDM21, MDM22 ตามลำดับ)

3. การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลม้าวิงโดยใช้เทคนิคอาร์เอฟดี (Genetic diversity analysis of *Doritis* germplasm using RAPD technique)

3.1 เชื้อพันธุกรรมกล้วยไม้สกุลม้าวิงที่ใช้ศึกษา

นำเชื้อพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลม้าวิงจำนวน 50 สายต้น จาก 3 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดอุบลราชธานี จังหวัดร้อยเอ็ด และจังหวัดมุกดาหาร ที่นำมาอนุบาลที่เรือนเพาะชำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี มาศึกษาการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอาร์เอฟดี (ตารางที่ 5 และตารางที่ 4)

3.2 การศึกษาระดับความเข้มข้นของสารละลายที่เหมาะสมในปฏิกิริยาอาร์เอฟดี

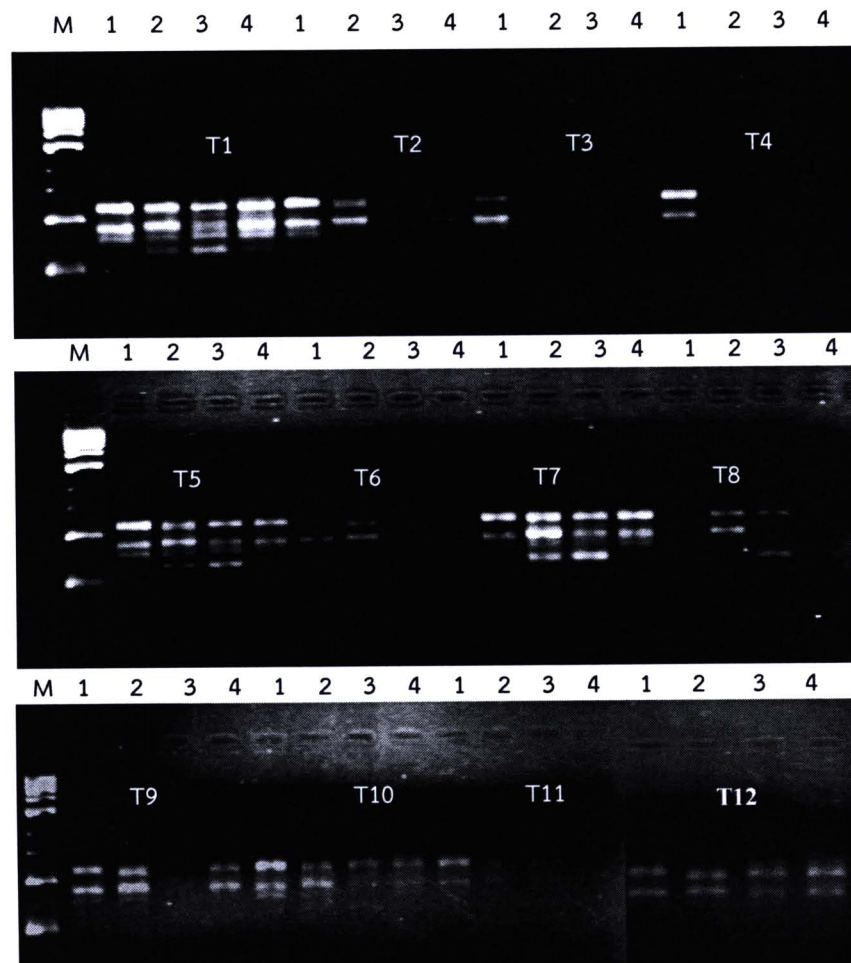
การศึกษาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายที่เหมาะสมในปฏิกิริยา อาร์เอฟดี-พีซีอาร์ ในกล้วยไม้สกุลม้าวิง โดยใช้ไพรเมอร์ OPA01 กำหนดตัวแปรขององค์ประกอบสารละลายที่จะศึกษา 3 ตัวแปร ได้แก่ ความเข้มข้นของดีเอ็นเอต้นแบบ 2 ระดับ (10 และ 20 นาโนกรัม) ความเข้มข้นของแมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2$) ที่ระดับความเข้มข้น 3 ระดับ (2, 2.5 และ 3 มิลลิโมลาร์) และความเข้มข้น *Taq* DNA polymerase 2 ระดับ (0.5 ยูนิต และ 1 ยูนิต) กำหนดความเข้มข้นของ dNTPs และ ไพรเมอร์คงที่ คือ dNTPs เข้มข้น 200 ไมโครโมลาร์ และ 0.6 ไมโครโมลาร์ ในปฏิกิริยาปริมาตรรวม 20 ไมโครลิตร จากการทดสอบเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยปฏิกิริยาพีซีอาร์ในตำหรับการทดลองทั้งหมด 12 ตำหรับการทดลอง (treatment) พบว่ามี 7 ตำหรับการทดลอง ที่มีระดับความเข้มข้นของสารละลายที่เป็นองค์ประกอบของปฏิกิริยาพีซีอาร์ที่เหมาะสม สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ ได้แก่ ตำหรับการทดลองที่ 1, 2, 5, 6, 7, 10 และ 12 (ตารางที่ 6) และเมื่อทำการทดลองซ้ำโดยใช้ไพรเมอร์อาร์เอฟดี OPA02 พบว่าตำหรับการทดลองที่ให้แถบดีเอ็นเอที่สม่ำเสมอและชัดเจนคือ ตำหรับการทดลองที่ 5 โดยความเข้มข้นของสารละลายที่ใช้ คือ ดีเอ็นเอต้นแบบ 10 นาโนกรัม, *Taq* DNA polymerase 1 ยูนิต และ ความเข้มข้นของแมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2$) 2.5 มิลลิโมลาร์ จะให้แถบดีเอ็นเอชัดเจนทุกตัวอย่างการทดลอง และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารละลายที่ใช้ในการทดลอง พบว่า ตำหรับการทดลองที่ 5 มีความเหมาะสมที่สุดเนื่องจากใช้องค์ประกอบของสารละลายในปฏิกิริยาพีซีอาร์น้อย แต่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ แถบดีเอ็นเอที่ชัดเจน (ภาพที่ 7) แสดงว่าปริมาณองค์ประกอบของส่วนผสมต่างๆที่เหมาะสมนี้สามารถนำไปใช้ในปฏิกิริยาอาร์เอฟดี-พีซีอาร์เพื่อใช้ในการจำแนกความแตกต่างของกล้วยไม้สกุลม้าวิงโดยใช้ ไพรเมอร์อาร์เอฟดี อื่นๆได้

ตารางที่ 5 แสดงรายชื่อกล้วยไม้สกุลม้าวี่ง จำนวน 50 สายต้น ที่ใช้ในการสร้างลายพิมพ์อาร์เอฟอี

ลำดับ	รหัสพันธุ์	ชื่อพันธุ์	ลำดับ	รหัสพันธุ์	ชื่อพันธุ์
1	RO4	แดงอุบล	26	MDD17	แดงอุบล
2	RO10	แดงอุบล	27	MDD20	ม้าวี่ง
3	NK4	แดงอุบล	28	MDD22	แดงอุบล
4	NK6	แดงอุบล	29	MDD26	แดงอุบล
5	NK7	แดงอุบล	30	CM9	ม้าวี่ง
6	NK8	แดงอุบล	31	MV4	ม้าวี่ง
7	NK9	แดงอุบล	32	MV8	ม้าวี่ง
8	CM3	แดงอุบล	33	MVP2	ม้าวี่ง
9	CM8	แดงอุบล	34	MVP19	ม้าวี่ง
10	CM11	แดงอุบล	35	MVP24	ม้าวี่ง
11	CM12	แดงอุบล	36	MVP26	ม้าวี่ง
12	CM13	แดงอุบล	37	MVP27	ม้าวี่ง
13	CM16	แดงอุบล	38	MVP30	ม้าวี่ง
14	CM17	แดงอุบล	39	MVP39	ม้าวี่ง
15	PK4	แดงอุบล	40	MVP42	ม้าวี่ง
16	PK8	แดงอุบล	41	PT1	ม้าวี่ง
17	DB6	แดงอุบล	42	PT2	ม้าวี่ง
18	DB8	แดงอุบล	43	PT4	ม้าวี่ง
19	MDD1	แดงอุบล	44	PT5	ม้าวี่ง
20	MDD2	แดงอุบล	45	MDM7	ม้าวี่ง
21	MDD3	แดงอุบล	46	MDM14	ม้าวี่ง
22	MDD6	แดงอุบล	47	MDM15	ม้าวี่ง
23	MDD10	แดงอุบล	48	MDM18	ม้าวี่ง
24	MDD11	แดงอุบล	49	MDM21	ม้าวี่ง
25	MDD15	แดงอุบล	50	MDM22	ม้าวี่ง

ตารางที่ 6 ระดับความเข้มข้นของสารละลายที่เหมาะสมของปฏิกิริยาพีซีอาร์ในกล้วยไม้สกุลน้ำว้าง

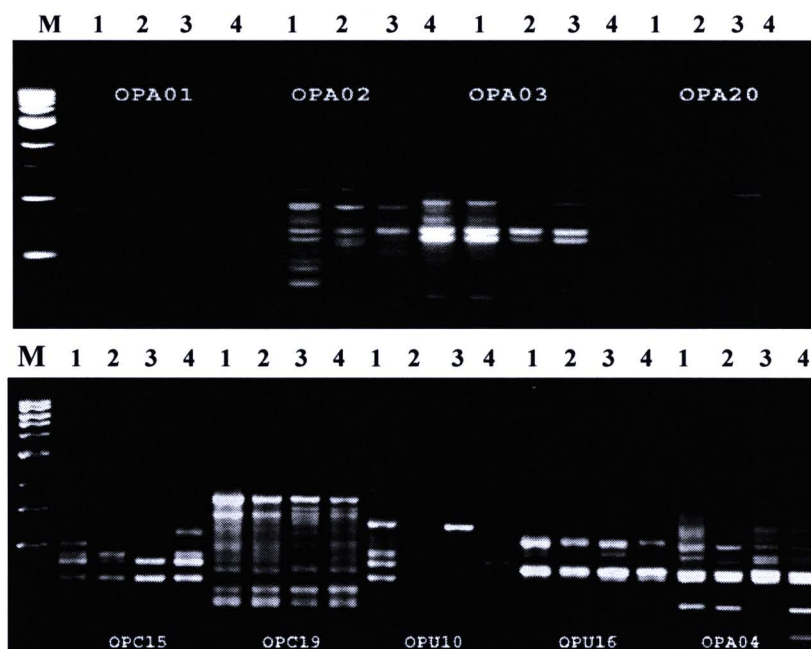
Treatments (T)	Variable parameter			dNTPs concentration (uM)	Primer concentration (uM)
	DNA template (ng)	Taq DNA polymerase (U)	MgCl ₂ (mM)		
1	10	0.5	2	200	0.6
2	10	0.5	2.5	200	0.6
5	10	1	2.5	200	0.6
6	10	1	3	200	0.6
7	20	0.5	2	200	0.6
10	20	1	2	200	0.6
12	20	1	3	200	0.6



ภาพที่ 7 อะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซิสแสดงผลการศึกษาระดับความเข้มข้นของสารละลายที่เหมาะสมในปฏิกิริยาอาร์เอพีดี-พีซีอาร์ โดยใช้ไพรเมอร์ OPA 01 จำนวน 12 สำหรับการทดลอง (T1-12) ในกล้วยไม้สกุลม้าวี่ จำนวน 4 สายต้น (M = 1 Kb ladder (Fermentas), 1 = MDD3, 2 = MDD11, 3 = MDM14, 4 = MDM15)

3.3 การคัดเลือกไพรเมอร์อาร์เอพีดีเพื่อใช้ในการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุล ม้าวัง (RAPD primers screening for Doritis fingerprint)

การคัดเลือกไพรเมอร์ที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อ
พันธุกรรมกล้วยไม้สกุลม้าวังในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยใช้องค์ประกอบของสารละลายใน
ปฏิกิริยาพีซีอาร์ที่ได้จากการการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายที่เหมาะสมในปฏิกิริยาพีซีอาร์
ได้แก่ ปริมาณความเข้มข้นของดีเอ็นเอต้นแบบ 10 นาโนกรัม, แมกนีเซียมคลอไรด์เข้มข้น 3 มิลลิโม
ลาร์, Taq DNA polymerase เข้มข้น 1 ยูนิต, dNTPs 200 ไมโครโมลาร์, ไพรเมอร์อาร์เอพีดี 0.6
ไมโครโมลาร์ และ 1x buffer แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 20 ไมโครลิตร โดยทำการเพิ่ม
ปริมาณดีเอ็นเอในกล้วยไม้แดงอุบล จำนวน 2 สายต้น และกล้วยไม้ม้าวัง จำนวน 2 สายต้น โดยใช้
ไพรเมอร์อาร์เอพีดีทั้งหมด จำนวน 110 ไพรเมอร์ พบว่าไพรเมอร์อาร์เอพีดีที่สามารถเพิ่มปริมาณดี
เอ็นเอได้มีจำนวน 32 ไพรเมอร์ (ภาพที่ 8) และไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอที่ชัดเจน และแสดงความ
แตกต่างระหว่างพันธุ์ (polymorphism) สามารถนำมาสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลม้าวัง
จำนวน 50 สายต้น มีจำนวน 27 ไพรเมอร์ ดังรายละเอียดในตารางที่ 7



ภาพที่ 8 อะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซิสแสดงผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากการคัดกรอง
ไพรเมอร์อาร์เอพีดีในกล้วยไม้สกุลม้าวัง 4 สายต้น (M = 1 kb ladder (Fermentas),
1 = MDD3, 2 = MDD11, 3 = MDM14, 4 = MDM15) โดยใช้ไพรเมอร์ OPA01, OPA02,
OPA03, OPA20, OPC15, OPC19, OPU10, OPU16 และ OPA04

ตารางที่ 7 แสดงลำดับเบสของไพรเมอร์อาร์เอพีดี และเปอร์เซ็นต์ GC content ที่จะนำไปสร้าง
 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลม้าวิง จำนวน 50 สายต้น

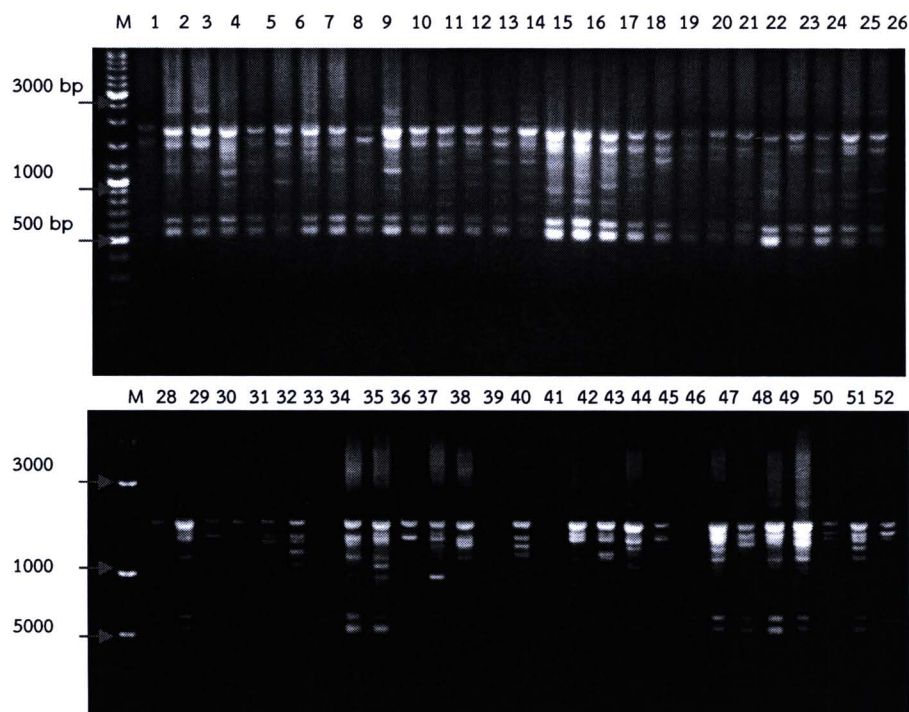
ลำดับที่	sequence name	sequence 5'-3'	% GC content
1	OPA01	5'-CAGGCCCTTC-3'	70
2	OPA 02	5'-TGCCGAGCTG-3'	70
3	OPA 03	5'-AGTCAGCCAC-3'	60
4	OPA 08	5'-GTGACGTAGG3'	60
5	OPA12	5'-TCGGCGATAG-3'	60
6	OPA16	5'-AGCCAGCGAA-3'	60
7	OPA20	5'-GTTGCGATCC-3'	60
8	OPB 01	5'-GTTTCGCTCC-3'	60
9	OPB04	5'-GGACTGGAGT-3'	70
10	OPB15	5'-GGAGGGTGTT-3'	60
11	OPB 20	5'-GGACCCTTAC-3'	60
12	OPC 02	5'-GTGAGGCGTC-3'	70
13	OPC 05	5'-GATGACCGCC-3'	70
14	OPC 15	5'-GACGGATCAG-3'	60
15	OPC 19	5'-GTTGCCAGCC-3'	70
16	OPC 20	5'-ACTTCGCCAC-3'	60
17	OPD 11	5'-AGCGCCATTG-3'	60
18	OPD 20	5'-ACCCGGTCAC-3'	70
19	OPE05	5'-TCAGGGAGGT-3'	70
20	OPK 07	5'-AGCGAGCAAG-3'	60
21	OPR 04	5'-CCCGTAGCAC-3'	70
22	OPR 15	5'-GGACAACGAG-3'	60
23	OPF 06	5'-GGGAATTCCC-3'	60
24	OPF 14	5'-TGCTGCAGGT-3'	60
25	OPU02	5'-CTGAGGTCTC-3'	60
26	OPU10	5'-ACCTCGCCAC-3'	70
27	OPU18	5'-GAGGTCCACA-3'	60

3.4 การสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิคอาร์เอฟพีดี (RAPD fingerprints)

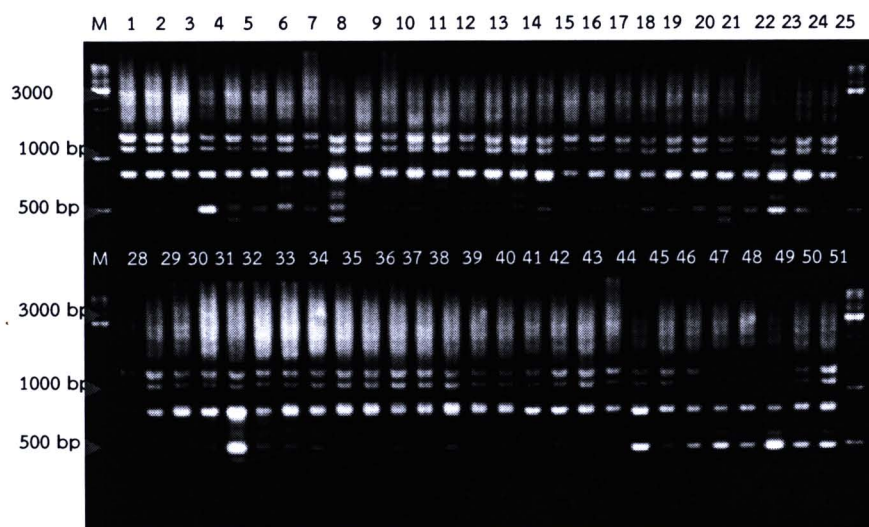
จากการคัดกรองไพรเมอร์ที่เหมาะสมที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลม้าวังได้จำนวน 27 ไพรเมอร์ โดยไพรเมอร์ดังกล่าวมีแถบดีเอ็นเอชัดเจนและแสดงความแตกต่างระหว่างพันธุ์ มีค่า GC content ประมาณ 60-70 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 7) นำไพรเมอร์อาร์เอฟพีดีมาสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลม้าวัง จำนวน 50 สายต้น พบว่า สามารถสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอได้เครื่องหมายอาร์เอฟพีดีทั้งหมด (total bands) จำนวน 336 แถบ และได้เครื่องหมายอาร์เอฟพีดีที่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์กล้วยไม้สกุลม้าวัง (polymorphic bands) จำนวน 204 เครื่องหมาย จำนวนเครื่องหมายที่ได้ มีตั้งแต่ 2 ถึง 15 เครื่องหมายต่อไพรเมอร์ เฉลี่ย 7 เครื่องหมายต่อไพรเมอร์ ขนาดของแถบดีเอ็นเอที่ได้ (fragment length) มีตั้งแต่ 400 ถึง 3000 คู่เบส (ตารางที่ 8 ภาพที่ 9 และ 10) โดยไพรเมอร์ OPD20 ให้จำนวนเครื่องหมายอาร์เอฟพีดีสูงสุด คือ 15 เครื่องหมาย มีขนาดของแถบดีเอ็นเอตั้งแต่ 600 ถึง 2500 คู่เบส รองลงมาคือไพรเมอร์ OPA01 OPB01 OPE05 OPF06 และ OPF14 โดยมีเครื่องหมายอาร์เอฟพีดีจำนวน 11 เครื่องหมาย ส่วนไพรเมอร์ที่มีจำนวนเครื่องหมายอาร์เอฟพีดีน้อยสุดคือไพรเมอร์ OPA03 OPA08 และ OPB04 โดยมีเครื่องหมายอาร์เอฟพีดีจำนวน 2 เครื่องหมาย (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 8 แสดงลำดับเบสของไพรเมอร์อาร์เอพีดี จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด (total bands) จำนวนแถบดีเอ็นเอที่แสดงความแตกต่างของ (polymorphic bands) และขนาดของแถบดีเอ็นเอ (fragment length- bp) จำนวน 27 ไพรเมอร์

ลำดับ	Primer	Nucleotide sequence	Total bands	Polymorphic bands	Fragment length (bp)
1	OPA01	CAGGCCCTTC	16	11	800-3000
2	OPA02	TGCCGAGCTG	14	6	600-1500
3	OPA03	AGTCAGCCAC	10	2	750-800
4	OPA08	GTGACGTAGG	8	2	550-600
5	OPA12	TCGGCGATAG	11	6	650-1300
6	OPA16	AGCCAGCGAA	12	10	800-1800
7	OPA20	GTTGCGATCC	12	6	600-1500
8	OPB01	GTTTCGCTCC	15	11	600-4000
9	OPB04	GGACTGGAGT	7	2	1200-1400
10	OPB15	GGAGGGTGTT	11	6	1000-1600
11	OPB20	GGACCCTTAC	10	8	600-1500
12	OPC02	GTGAGGCGTC	17	7	500-2000
13	OPC05	GATGACCGCC	15	9	700-2100
14	OPC15	GACGGATCAG	13	9	900-2500
15	OPC19	GTTGCCAGCC	11	8	900-1500
16	OPC20	ACTTCGCCAC	8	6	400-1000
17	OPD11	AGCGCCATTG	12	6	500-1200
18	OPD20	ACCCGGTCAC	20	15	600-2500
19	OPE05	TCAGGGAGGT	11	11	750-2500
20	OPF06	GGGAATTCCC	13	11	500-2500
21	OPF14	TGCTGCAGGT	15	11	500-1500
22	OPK07	AGCGAGCAAG	16	5	1400-2100
23	OPR04	CCCGTAGCAC	13	8	700-1300
24	OPR15	GGACAACGAG	9	6	550-1300
25	OPU02	CTGAGGTCTC	12	11	700-2000
26	OPU10	ACCTCGCCAC	10	4	1000-1600
27	OPU18	GAGGTCCACA	15	7	500-1500
Total			336	204	



ภาพที่ 9 อะกาโรสเจลอิลีกโทรโฟริซิสแสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลมาวี่งจำนวน 54 สายต้น โดยใช้ไพรเมอร์ OPC 19 (M = DNA ladder mix (Fermentas), 1- 54 คือ RO3, RO4, RO10, NK1, NK4, NK6, NK7, NK8, NK9, CM3, CM8, CM11, CM12, CM13, CM16, CM17, PK4, PK8, DB6, DB8, MDD1, MDD2, MDD3, MDD6, MDD10, MDD11, MDD15, MDD17, MDD20, MDD22, MDD26, CM9, MV4, MV8, MVP2, MVP19, MVP24, MVP26, MVP27, MVP30, MVP39, MVP42, PT1, PT2, PT4, PT5, MDM5, MDM7, MDM14, MDM15, MDM18, MDM19, MDM21, MDM22 ตามลำดับ)



ภาพที่ 10 อะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิสแสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลม้าวิง
จำนวน 54 สายต้น โดยใช้ไพรเมอร์ OPC 20 (M = DNA ladder mix (Fermentas),
1- 54 คือ RO3, RO4, RO10, NK1, NK4, NK6, NK7, NK8, NK9, CM3, CM8, CM11,
CM12, CM13, CM16, CM17, PK4, PK8, DB6, DB8, MDD1, MDD2, MDD3, MDD6,
MDD10, MDD11, MDD15, MDD17, MDD20, MDD22, MDD26, CM9, MV4, MV8,
MVP2, MVP19, MVP24, MVP26, MVP27, MVP30, MVP39, MVP42, PT1, PT2,
PT4, PT5, MDM5, MDM7, MDM14, MDM15, MDM18, MDM19, MDM21, MDM22
ตามลำดับ)



3.5 การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลม้าวิงโดยเครื่องหมายอาร์เอพีดี (Analysis of Doritis genetic diversity using RAPD markers)

ความใกล้ชิดทางพันธุกรรม (Genetic Similarity coefficient)

จากการบันทึกข้อมูลของแถบดีเอ็นเอที่แสดงความแตกต่าง (polymorphic bands) ในกล้วยไม้สกุลม้าวิง 50 สายต้น นำมาวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรม โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ NTSYS version 2.2 (Rohlf 2004) คำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมด้วยวิธีของ Dice (Dice's similarity coefficient) พบว่า ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลม้าวิง 50 สายต้น มีค่าตั้งแต่ 0.43 ถึง 0.98 คิดเป็นเฉลี่ยเท่ากับ 0.69 (ตารางที่ 7) โดยสายต้น MVP30 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมากที่สุดกับสายต้น MVP39 (0.98) และสายต้น MVP42 (0.98) รองลงมาคือสายต้น MVP39 กับสายต้น MVP42 (0.97) สายต้น MVP19 กับสายต้น MVP24 (0.95) ตามลำดับ ซึ่งกล้วยไม้กลุ่มนี้รวบรวมจาก อ.โพธิ์ไทร จ. อุบลราชธานี สายต้น RO4 กับสายต้น RO10 (0.91) รวบรวมจากจังหวัดร้อยเอ็ด ส่วนสายต้น CM9 ที่รวบรวมจากช่องเม็ก อ.สิรินธร จ.อุบลราชธานี (ซื้อจากชาวบ้าน) มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมน้อยที่สุดกับสายต้น NK9 (0.43) ที่รวบรวมจากบ้านหนองครก ภูพลาญใหญ่ อ. บุณทริก จ. อุบลราชธานี

จากการวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรม พบว่า

- กลุ่มรหัส RO ที่รวบรวมจากจังหวัดร้อยเอ็ดจำนวน 2 สายต้นคือ สายต้น RO4 และสายต้น RO10 มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมสูงถึง 0.91
- กลุ่มรหัส NK ที่รวบรวมจากบ้านหนองครก ภูพลาญใหญ่ อ.บุณทริก จ.อุบลราชธานี จำนวน 5 สายต้น คือ สายต้น NK4, NK6, NK7, NK8 และ NK9 จากการวิเคราะห์ความเหมือนทางพันธุกรรม พบว่า มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมตั้งแต่ 0.59 – 0.85 โดยสายต้น NK4 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมกับสายต้น NK8 มากที่สุด รองลงมากับสายต้น NK7 โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรม เท่ากับ 0.85 และ 0.78 ตามลำดับ ส่วนสายต้น NK9 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมค่อนข้างน้อยกับสายต้น NK6 โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.59
- กลุ่มรหัส CM ที่รวบรวมจาก ช่องเม็ก อ.สิรินธร จ.อุบลราชธานี (ซื้อจากชาวบ้าน) ประกอบด้วยกล้วยไม้แดงอุบลจำนวน 7 สายต้น คือ สายต้น CM3, CM8, CM11, CM12, CM13, CM16 และ CM17 และกล้วยไม้ม้าวิง 1 สายต้น คือ สายต้น CM9 จากการวิเคราะห์ความเหมือนทางพันธุกรรม พบว่า มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมตั้งแต่ 0.49-0.82 โดยสายต้น CM11 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมากที่สุดกับสายต้น CM13 (0.82) รองลงมาคือสายต้น CM11 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมกับสายต้น CM12 (0.77) และสายต้น

CM3 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมกับสายต้น CM8 (0.76) ส่วนสายต้น CM9 พบว่ามีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมค่อนข้างต่ำภายในกลุ่มกับสายต้น CM11 (0.49), สายต้น CM13 (0.51), สายต้น CM16 (0.54), สายต้น CM30 (.55), สายต้น CM17 (0.56), สายต้น CM12 และสายต้น CM8 (0.59) เป็นต้น ทั้งนี้เป็นผลเนื่องมาจากสายต้น CM9 มีลักษณะทางพันธุกรรมที่แตกต่างจากสมาชิกภายในกลุ่มซึ่งเป็นกล้วยไม้แดงอุบล โดยอาจเป็นกล้วยไม้ม้าวิ่ง และจากข้อมูลทางสัณฐานวิทยาแสดงผลสอดคล้องกับการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม โดยสายต้น CM9 จะมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างจากกล้วยไม้แดงอุบล คือใบจะกลมสั้น ลักษณะดอกจะลุ่ไปทางด้านหลังคล้ายม้าวิ่ง ก้านดอกเล็ก สั้น กลีบดอกสีม่วงอ่อนเกือบขาว บ่งชี้ได้ว่าสายต้น CM9 เป็นกล้วยไม้ม้าวิ่ง ดังนั้นผลการวิเคราะห์ทางพันธุกรรมสอดคล้องกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา ทำให้สายต้น CM9 มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมค่อนข้างต่ำกับสมาชิกภายในกลุ่มที่เก็บรวบรวมจากช่องเม็ก อ.สิรินธร จ.อุบลราชธานี

- กลุ่มรหัส PK เป็นกลุ่มของกล้วยไม้แดงอุบลที่รวบรวมจาก ภูซ้องคำ อ. กุดข้าวปุ้น จ. อุบลราชธานี จำนวน 2 สายต้น คือสายต้น PK6 และสายต้น PK8 โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.68

- กลุ่มรหัส DB เป็นกลุ่มของกล้วยไม้แดงอุบลที่รวบรวมจาก ช่องเม็ก อ.สิรินธร จ.อุบลราชธานี จำนวน 2 สายต้น คือสายต้น DB6 และสายต้น DB8 โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.68

- กลุ่มรหัส MDD เป็นกลุ่มของกล้วยไม้แดงอุบลที่รวบรวมจาก ตลาดอินโดจีน อ. เมือง จ. มุกดาหาร จำนวน 11 สายต้น ได้แก่ สายต้น MDD1, MDD2, MDD3, MDD6, MDD10, MDD11, MDD15, MDD17, MDD20, MDD22 และ MDD26 จากการวิเคราะห์ความเหมือนทางพันธุกรรม พบว่า มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมตั้งแต่ 0.54-0.74 โดยสายต้น MDD3 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมกับสายต้น MDD1 (0.74) และสายต้น MDD15 (0.74) มากที่สุด รองลงมาคือสายต้น MDD2 กับสายต้น MDD26 (0.72) และสายต้น MDD10 กับสายต้น MDD15 (0.72) ส่วนสายต้น MDD11 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมค่อนข้างน้อยกับสายต้น MDD26 (0.58) รองลงมาคือสายต้น MDD1 กับสายต้น MDD26 (0.54) จากการบันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่า กล้วยไม้ในกลุ่มนี้ มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่คล้ายคลึงกัน โดยมีลักษณะคล้ายคลึงกับกล้วยไม้แดงอุบล

- กลุ่มรหัส MV เป็นกลุ่มของกล้วยไม้ม้าวิ่งที่รวบรวมจาก ช่องเม็ก อ. สิรินธร จ. อุบลราชธานี จำนวน 2 สายต้น คือสายต้น MV4 และสายต้น MV8 โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.68

- กลุ่มรหัส MVP เป็นกลุ่มของกล้วยไม้พันธุ์ที่รวบรวมจาก อ.โพธิ์ไทร จังหวัดอุบลราชธานี จำนวน 8 สายต้น ได้แก่ สายต้น MVP2, MVP19, MVP24, MVP26, MVP27, MVP30, MVP39 และ MVP42 จากการวิเคราะห์ความเหมือนทางพันธุกรรม พบว่า มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมค่อนข้างสูงภายในกลุ่มตั้งแต่ 0.70-0.98 โดยสายต้น MVP30 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมสูงสุดกับสายต้น MVP39 และสายต้น MVP42 (0.98) รองลงมาคือสายต้น MVP39 กับสายต้น MVP42 (0.97) สายต้น MVP19 กับสายต้น MVP24 (0.95) ส่วนสายต้น MVP24 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมค่อนข้างต่ำกับสายต้น MVP42 โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.70

- กลุ่มรหัส PT เป็นกลุ่มของกล้วยไม้พันธุ์ที่รวบรวมจากอุทยานแห่งชาติภูผาเทิบ จังหวัดมุกดาหาร จำนวน 4 สายต้น ได้แก่ สายต้น PT1, PT2, PT4 และ PT5 จากการวิเคราะห์ความเหมือนทางพันธุกรรม พบว่า สมาชิกภายในกลุ่มมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมตั้งแต่ 0.70-0.78 โดยสายต้น PT2 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมากที่สุดกับสายต้น PT4 (0.78) รองลงมาคือ สายต้น PT1 กับสายต้น PT2 (0.73) และสายต้น PT4 (0.73) และสายต้น PT4 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมค่อนข้างต่ำกับสายต้น PT5 (0.70)

- กลุ่มรหัส MDM เป็นกลุ่มของกล้วยไม้พันธุ์ที่รวบรวมมาจาก ตลาดอินโดจีน อ.เมือง จ. มุกดาหาร จำนวน 6 สายต้น ได้แก่ สายต้น MDM7, MDM14, MDM15, MDM18, MDM21, และ MDM22 จากการวิเคราะห์ความเหมือนทางพันธุกรรม พบว่า มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมสูงตั้งแต่ 0.72-0.82 โดยสายต้น MDM15 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมากที่สุดกับสายต้น MDM22 (0.82) รองลงมาคือสายต้น MDM21 กับสายต้น MDM7 (0.81) และสายต้น MDM22 (0.81) ส่วนสายต้น MDM5 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมค่อนข้างต่ำกับสายต้น MDM22 (0.61)

จากการวิเคราะห์ความเหมือนทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลม้าวิง พบว่า สามารถบ่งบอกข้อมูลทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลม้าวิงได้อย่างชัดเจน ซึ่งข้อมูลทางพันธุกรรมนั้นสอดคล้องกับข้อมูลทางลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้พันธุ์ และกล้วยไม้แดงอุบล ซึ่งกล้วยไม้พันธุ์จะมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างจากกล้วยไม้แดงอุบลอย่างชัดเจน แต่ลักษณะความแตกต่างดังกล่าวนี้สามารถแสดงให้เห็นชัดเจนในระยะที่มีการเจริญเติบโตทางด้านลำต้นเต็มที่ และระยะออกดอก และจากการศึกษา พบว่ากล้วยไม้พันธุ์ที่มีแหล่งกำเนิด และพื้นที่การเจริญเติบโตที่แตกต่างกันจะมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ต่างกัน ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากความแตกต่างของสภาพแวดล้อม และความอุดมสมบูรณ์ของดินที่มีผลต่อการเจริญเติบโตการขยายพันธุ์ และการกระจายพันธุ์ กล้วยไม้ที่รวบรวมมาจากพื้นที่เดียวกัน หรือใกล้เคียงกันจะมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมภายในกลุ่มสูง เนื่องจากเกิดการผสมภายในกลุ่มเดียวกัน (inbreeding) ดังนั้นการใช้

สภาพพื้นที่ (geographical classification) ของแหล่งกำเนิดที่แตกต่างกัน สามารถนำมาใช้ในการจัดกลุ่มความสัมพันธ์ได้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Li et al. (2002)

ตารางที่ 9 ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนของ Dice (Dice's Similarity coefficient) ของกล้วยไม้สกุลต่างจำนวน 50 ตัวอย่างโดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี จำนวน 204 เครื่องหมาย

	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.NK4	1.00																									
2.NK6	0.71	1.00																								
3.NK7	0.78	0.75	1.00																							
4.NK8	0.85	0.67	0.68	1.00																						
5.NK9	0.67	0.59	0.60	0.62	1.00																					
6.CM3	0.70	0.73	0.72	0.66	0.59	1.00																				
7.CM8	0.59	0.62	0.65	0.59	0.55	0.67	1.00																			
8.CM11	0.70	0.70	0.69	0.66	0.63	0.76	0.62	1.00																		
9.CM12	0.70	0.73	0.77	0.63	0.57	0.70	0.65	0.77	1.00																	
10.CM13	0.71	0.74	0.68	0.66	0.63	0.71	0.61	0.82	0.71	1.00																
11.CM16	0.70	0.70	0.70	0.65	0.63	0.73	0.63	0.75	0.71	0.74	1.00															
12.CM17	0.62	0.68	0.68	0.59	0.61	0.69	0.62	0.70	0.71	0.69	0.75	1.00														
13.PK4	0.64	0.69	0.72	0.63	0.59	0.74	0.62	0.72	0.73	0.69	0.73	0.68	1.00													
14.PK8	0.72	0.75	0.75	0.67	0.61	0.71	0.72	0.72	0.73	0.67	0.74	0.66	0.68	1.00												
15.DB6	0.65	0.70	0.63	0.62	0.60	0.67	0.65	0.67	0.68	0.68	0.64	0.58	0.67	0.75	1.00											
16.DB8	0.74	0.68	0.71	0.69	0.62	0.67	0.60	0.68	0.70	0.70	0.72	0.65	0.74	0.75	0.68	1.00										
17.MDD1	0.61	0.70	0.63	0.60	0.55	0.63	0.68	0.60	0.61	0.65	0.68	0.67	0.63	0.72	0.67	0.71	1.00									
18.MDD2	0.67	0.70	0.72	0.64	0.60	0.75	0.64	0.68	0.70	0.65	0.72	0.65	0.74	0.72	0.66	0.69	0.70	1.00								
19.MDD3	0.66	0.65	0.66	0.70	0.60	0.68	0.64	0.66	0.67	0.65	0.67	0.67	0.63	0.73	0.64	0.74	0.71	0.70	1.00							
20.MDD6	0.70	0.68	0.68	0.60	0.67	0.68	0.63	0.69	0.68	0.69	0.66	0.66	0.67	0.70	0.75	0.74	0.74	0.69	0.67	1.00						
21.MDD10	0.66	0.62	0.65	0.67	0.56	0.65	0.62	0.67	0.66	0.63	0.61	0.66	0.62	0.70	0.67	0.69	0.67	0.70	0.70	0.64	1.00					
22.MDD11	0.64	0.53	0.57	0.63	0.62	0.60	0.58	0.63	0.57	0.61	0.62	0.67	0.62	0.62	0.59	0.67	0.68	0.65	0.71	0.66	0.69	1.00				
23.MDD15	0.65	0.60	0.66	0.65	0.58	0.71	0.66	0.70	0.68	0.66	0.70	0.71	0.65	0.69	0.61	0.70	0.68	0.68	0.74	0.67	0.72	0.70	1.00			
24.MDD17	0.64	0.67	0.68	0.62	0.59	0.65	0.61	0.67	0.69	0.68	0.71	0.70	0.72	0.72	0.70	0.70	0.66	0.68	0.63	0.63	0.63	0.63	0.67	1.00		
25.MDD20	0.64	0.66	0.64	0.59	0.60	0.67	0.64	0.67	0.62	0.61	0.64	0.62	0.63	0.69	0.60	0.61	0.67	0.66	0.63	0.64	0.62	0.61	0.69	0.67	1.00	
26.MDD22	0.69	0.71	0.67	0.72	0.61	0.71	0.59	0.64	0.66	0.69	0.67	0.65	0.67	0.69	0.65	0.74	0.70	0.67	0.69	0.67	0.68	0.64	0.69	0.70	0.66	
27.MDD26	0.69	0.65	0.71	0.64	0.57	0.71	0.56	0.70	0.68	0.62	0.67	0.61	0.70	0.71	0.65	0.66	0.54	0.72	0.64	0.66	0.66	0.58	0.64	0.64	0.62	
28.CM9	0.51	0.56	0.59	0.53	0.43	0.55	0.59	0.49	0.59	0.51	0.54	0.56	0.54	0.61	0.54	0.57	0.57	0.61	0.57	0.58	0.55	0.52	0.59	0.52	0.51	
29.MV4	0.63	0.69	0.68	0.60	0.54	0.69	0.63	0.67	0.67	0.64	0.70	0.65	0.66	0.69	0.68	0.66	0.65	0.67	0.63	0.66	0.61	0.56	0.67	0.69	0.65	
30.MV8	0.69	0.63	0.68	0.60	0.51	0.67	0.57	0.66	0.65	0.68	0.65	0.57	0.62	0.69	0.62	0.65	0.61	0.61	0.64	0.58	0.60	0.52	0.61	0.65	0.63	

ตารางที่ 9 ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนของ Dice (Dice's Similarity coefficient) ของกล้วยไม้สกุลกล้วยจำนวน 50 ตัวอย่างโดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี จำนวน 204 เครื่องหมาย (ต่อ)

	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
31.MVP2	0.65	0.67	0.64	0.61	0.59	0.68	0.63	0.72	0.69	0.72	0.69	0.63	0.72	0.69	0.63	0.70	0.60	0.68	0.65	0.61	0.62	0.56	0.64	0.69	0.68	0.73
32.MVP19	0.64	0.69	0.66	0.60	0.57	0.71	0.62	0.69	0.71	0.68	0.70	0.63	0.69	0.71	0.63	0.67	0.64	0.70	0.65	0.64	0.62	0.52	0.69	0.68	0.67	0.70
33.MVP24	0.65	0.69	0.66	0.62	0.55	0.72	0.62	0.70	0.69	0.68	0.71	0.62	0.69	0.71	0.63	0.68	0.61	0.70	0.65	0.62	0.62	0.54	0.68	0.69	0.67	0.70
34.MVP26	0.65	0.66	0.66	0.61	0.56	0.68	0.59	0.71	0.68	0.68	0.65	0.65	0.67	0.64	0.58	0.63	0.65	0.65	0.62	0.62	0.62	0.56	0.63	0.65	0.69	0.67
35.MVP27	0.64	0.67	0.66	0.60	0.55	0.67	0.64	0.68	0.69	0.65	0.66	0.61	0.68	0.70	0.60	0.64	0.60	0.69	0.61	0.55	0.60	0.56	0.62	0.68	0.69	0.71
36.MVP30	0.63	0.68	0.69	0.57	0.55	0.70	0.61	0.66	0.68	0.65	0.68	0.66	0.67	0.64	0.59	0.65	0.64	0.70	0.61	0.61	0.60	0.58	0.65	0.63	0.70	0.64
37.MVP39	0.64	0.69	0.70	0.55	0.55	0.69	0.62	0.63	0.68	0.65	0.67	0.66	0.67	0.65	0.59	0.67	0.65	0.72	0.62	0.62	0.61	0.58	0.64	0.65	0.66	0.65
38.MVP42	0.63	0.69	0.70	0.55	0.55	0.67	0.61	0.63	0.68	0.62	0.67	0.66	0.67	0.67	0.60	0.68	0.64	0.70	0.62	0.61	0.60	0.58	0.64	0.64	0.68	0.64
39.PT1	0.71	0.65	0.64	0.61	0.57	0.60	0.53	0.65	0.64	0.66	0.64	0.59	0.64	0.68	0.60	0.68	0.64	0.61	0.56	0.66	0.58	0.58	0.61	0.63	0.61	0.63
40.PT2	0.71	0.66	0.67	0.67	0.63	0.66	0.60	0.68	0.70	0.68	0.70	0.64	0.65	0.68	0.65	0.64	0.61	0.62	0.67	0.62	0.56	0.63	0.68	0.68	0.63	0.67
41.PT4	0.66	0.63	0.69	0.59	0.58	0.67	0.58	0.64	0.72	0.64	0.68	0.63	0.66	0.66	0.66	0.66	0.63	0.68	0.63	0.66	0.60	0.60	0.66	0.63	0.61	0.66
42.PT5	0.56	0.64	0.56	0.53	0.51	0.57	0.50	0.59	0.63	0.66	0.62	0.58	0.62	0.60	0.63	0.57	0.62	0.57	0.51	0.58	0.52	0.52	0.51	0.59	0.50	0.58
43.MDM7	0.65	0.66	0.64	0.59	0.58	0.66	0.56	0.64	0.69	0.63	0.67	0.67	0.67	0.61	0.58	0.63	0.64	0.63	0.63	0.59	0.66	0.60	0.64	0.66	0.61	0.67
44.MDM14	0.65	0.63	0.63	0.62	0.67	0.62	0.57	0.63	0.67	0.70	0.65	0.65	0.66	0.63	0.63	0.65	0.60	0.59	0.56	0.63	0.61	0.59	0.54	0.66	0.56	0.69
45.MDM15	0.67	0.67	0.61	0.62	0.58	0.65	0.60	0.68	0.67	0.71	0.65	0.67	0.67	0.67	0.66	0.68	0.74	0.68	0.65	0.64	0.66	0.66	0.67	0.64	0.62	0.68
46.MDM18	0.65	0.60	0.62	0.61	0.52	0.64	0.59	0.61	0.68	0.64	0.68	0.63	0.71	0.64	0.62	0.65	0.65	0.66	0.60	0.62	0.63	0.60	0.68	0.67	0.58	0.63
47.MDM21	0.64	0.71	0.65	0.60	0.59	0.67	0.61	0.64	0.69	0.67	0.71	0.71	0.69	0.67	0.65	0.69	0.71	0.70	0.63	0.65	0.66	0.62	0.71	0.71	0.66	0.71
48.MDM22	0.68	0.65	0.65	0.66	0.58	0.62	0.53	0.65	0.63	0.68	0.63	0.64	0.65	0.66	0.60	0.70	0.67	0.66	0.63	0.62	0.64	0.59	0.65	0.65	0.61	0.67
49.RO4	0.76	0.73	0.71	0.74	0.60	0.72	0.68	0.77	0.71	0.72	0.71	0.66	0.68	0.70	0.67	0.73	0.66	0.67	0.73	0.69	0.66	0.64	0.71	0.67	0.70	0.72
50.RO10	0.72	0.66	0.65	0.71	0.59	0.68	0.67	0.77	0.67	0.73	0.67	0.64	0.66	0.71	0.68	0.68	0.62	0.62	0.68	0.61	0.71	0.66	0.71	0.67	0.64	0.67

ตารางที่ 9 ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนของ Dice (Dice's Similarity coefficient) ของกล้วยไม้สกุลมวงจำนวน 50 ตัวอย่างโดยใช้เครื่องหมายอาร์เอสดี จำนวน 204 เครื่องหมาย (ต่อ)

	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
25.MDD20	1.00																									
26.MDD22	0.66	1.00																								
27.MDD26	0.62	0.62	1.00																							
28.CM9	0.51	0.55	0.54	1.00																						
29.MV4	0.65	0.67	0.62	0.65	1.00																					
30.MV8	0.63	0.63	0.63	0.59	0.68	1.00																				
31.MVP2	0.68	0.73	0.65	0.55	0.70	0.69	1.00																			
32.MVP19	0.67	0.70	0.64	0.56	0.71	0.70	0.80	1.00																		
33.MVP24	0.67	0.70	0.64	0.55	0.73	0.70	0.79	0.95	1.00																	
34.MVP26	0.69	0.67	0.61	0.52	0.69	0.67	0.75	0.78	0.80	1.00																
35.MVP27	0.69	0.71	0.65	0.58	0.68	0.68	0.82	0.75	0.75	0.72	1.00															
36.MVP30	0.70	0.64	0.66	0.57	0.65	0.63	0.74	0.71	0.70	0.74	0.74	1.00														
37.MVP39	0.66	0.65	0.67	0.60	0.66	0.65	0.74	0.71	0.70	0.72	0.74	0.98	1.00													
38.MVP42	0.68	0.64	0.67	0.60	0.66	0.66	0.74	0.71	0.70	0.73	0.73	0.98	0.97	1.00												
39.PT1	0.61	0.63	0.62	0.51	0.64	0.64	0.70	0.69	0.70	0.70	0.66	0.66	0.66	0.67	1.00											
40.PT2	0.63	0.67	0.64	0.54	0.64	0.65	0.66	0.65	0.67	0.65	0.67	0.64	0.64	0.64	0.73	1.00										
41.PT4	0.61	0.66	0.67	0.61	0.65	0.66	0.68	0.66	0.68	0.69	0.70	0.72	0.72	0.72	0.73	0.78	1.00									
42.PT5	0.50	0.58	0.58	0.52	0.59	0.59	0.60	0.59	0.57	0.62	0.60	0.64	0.65	0.65	0.71	0.70	0.70	1.00								
43.MDM7	0.61	0.67	0.63	0.54	0.71	0.62	0.72	0.67	0.69	0.71	0.68	0.68	0.69	0.69	0.67	0.67	0.70	0.66	1.00							
44.MDM14	0.56	0.69	0.62	0.53	0.61	0.61	0.72	0.60	0.60	0.62	0.65	0.68	0.69	0.69	0.64	0.69	0.70	0.67	0.74	1.00						
45.MDM15	0.62	0.68	0.62	0.56	0.64	0.58	0.70	0.67	0.64	0.65	0.67	0.67	0.67	0.67	0.66	0.63	0.67	0.67	0.75	0.78	1.00					
46.MDM18	0.58	0.63	0.65	0.56	0.64	0.65	0.68	0.68	0.66	0.65	0.66	0.68	0.68	0.69	0.71	0.67	0.74	0.71	0.72	0.72	0.74	1.00				
47.MDM21	0.66	0.71	0.67	0.57	0.71	0.63	0.70	0.68	0.68	0.69	0.71	0.72	0.71	0.72	0.68	0.69	0.73	0.66	0.81	0.79	0.78	0.79	1.00			
48.MDM22	0.61	0.67	0.62	0.51	0.66	0.59	0.66	0.62	0.62	0.69	0.64	0.66	0.66	0.67	0.68	0.64	0.68	0.64	0.72	0.76	0.82	0.76	0.81	1.00		
49.RO4	0.70	0.72	0.65	0.56	0.64	0.66	0.70	0.68	0.70	0.67	0.67	0.65	0.64	0.63	0.66	0.69	0.64	0.55	0.65	0.58	0.66	0.58	0.64	0.62	1.00	
50.RO10	0.64	0.67	0.60	0.56	0.62	0.67	0.69	0.62	0.64	0.65	0.67	0.60	0.58	0.58	0.64	0.68	0.63	0.59	0.64	0.58	0.67	0.59	0.65	0.64	0.91	1.00

การจัดกลุ่มทางพันธุกรรม (Cluster analysis)

การจัดกลุ่มทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลม้าวิงที่นำมาศึกษาจำนวน 50 สายต้นได้มาจากการนำค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรม (Genetic similarity coefficient) มาคำนวณโดยวิธี UPGMA (Unweighted pair group method based on arithmetic mean) ผลของการจัดกลุ่มทางพันธุกรรมสามารถแสดงในรูปของ phylogenetic tree

จากการวิเคราะห์ UPGMA ของกล้วยไม้สกุลม้าวิงที่รวบรวมจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือจำนวน 3 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดอุบลราชธานี จังหวัดร้อยเอ็ด และจังหวัดมุกดาหาร พบว่าสามารถจัดกลุ่มทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลม้าวิงได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ (cluster) โดยสามารถแยกความแตกต่างระหว่างกลุ่มของกล้วยไม้แดงอุบล และกลุ่มของกล้วยไม้ม้าวิง ได้อย่างชัดเจน ที่ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรม 0.65 (ภาพที่ 11) ซึ่งการจัดกลุ่ม UPGMA cluster analysis นี้ให้ผลสอดคล้องกับการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ในการจัดกลุ่มและจำแนกความแตกต่างระหว่างกล้วยไม้แดงอุบล และม้าวิง โดยมีรายละเอียดแต่ละกลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 (Cluster I) คือ กลุ่มของกล้วยไม้ม้าวิง ประกอบด้วย 2 กลุ่มย่อย (sub clusters) ได้แก่

กลุ่มย่อยที่ 1 (Sub-Clusters I) มีสมาชิก จำนวน 10 สายต้น สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อย ได้แก่

- กลุ่มย่อยที่ 1.1 (Sub cluster I-I) ประกอบด้วยกล้วยไม้ม้าวิงจำนวน 6 สายต้น ได้แก่ MDM7, MDM21, MDM14, MDM15, MDM22 และMDM18 โดยสายต้น MDM22 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมากที่สุดกับสายต้น MDM15 (0.82) และMDM21 (0.81) รองลงมาคือสายต้นMDM21 กับสายต้น MDM14 และ MDM18 (0.79) ซึ่งกล้วยไม้กลุ่มนี้เป็นกล้วยไม้ที่ซื้อมาจากตลาดอินโดจีน จังหวัดมุกดาหาร อาจเป็นไปได้ว่ามีแหล่งที่มาจากแหล่งเดียวกัน กล้วยไม้ในกลุ่มนี้มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่คล้ายคลึงกัน คือลักษณะใบส่วนใหญ่จะเป็นแบบใบเรียวยาว

- กลุ่มย่อยที่ 1.2 (Sub cluster I-II) ประกอบด้วยกล้วยไม้ม้าวิงจำนวน 4 สายต้น ได้แก่ PT1, PT2, PT4 และ PT5 โดยสายต้น PT2 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมากที่สุดกับสายต้น PT4 (0.78) กล้วยไม้ทั้ง 4 สายต้นนี้มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่คล้ายกัน คือ ลักษณะใบเรียวยาว กลีบดอกจะลู่ ส่วนสีกลีบดอกมีตั้งแต่สีม่วงอ่อนไปจนถึงสีขาว กล้วยไม้กลุ่มนี้รวบรวมมาจากแหล่งเดียวกัน คือ อุทยานแห่งชาติภูผาเทิบ จังหวัดมุกดาหาร

กลุ่มย่อยที่ 2 (Sub- Clusters II) ประกอบด้วยกล้วยไม้ม้าวิงจำนวน 11 สายต้น ได้แก่MDD20, MV4, MVP2, MVP27, MVP19, MVP24, MVP26, MVP30, MVP39, MVP42 (รวบรวมมาจาก อ.โพธิ์ไทร จังหวัดอุบลราชธานี) และMV8 (ซื้อจากชาวบ้าน ต.ช่องเม็ก อ. สิรินคร จังหวัดอุบลราชธานี) โดยสายต้น MVP30 มีค่าความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมากที่สุดกับสายต้น

MVP39 และสายต้น MVP42 (0.98) รองลงมาคือสายต้น MVP39 กับสายต้น MVP42 (0.97) ส่วนสายต้น MV8 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมต่ำที่สุดกับสายต้น MVP30 (0.63) โดยกล้วยไม้มาว้างในกลุ่มนี้มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่คล้ายคลึงกันมาก คือ มีลักษณะใบเรียวยาว และสั้น มีจุดและขอบสีน้ำตาล

กลุ่มที่ 2 (Cluster II) เป็นกลุ่มของกล้วยไม้แดงอุบล ประกอบด้วยสมาชิกจำนวน 26 สายต้น สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มย่อย ได้แก่

กลุ่มย่อยที่ 1 (Sub- Cluster I) ประกอบด้วยกล้วยไม้แดงอุบลจำนวน 4 สายต้นได้แก่ MDD3, MDD15, MDD10 และ MDD11 โดยสายต้น MDD3 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมากที่สุดในกลุ่มกับสายต้น MDD15 (0.74) และสายต้น MDD10 มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมน้อยกับสายต้น MDD11 (0.69) จะเห็นได้ว่ากล้วยไม้แดงอุบลกลุ่มนี้รวบรวมมาจากสภาพพื้นที่เดียวกัน คือ ซอยที่ตลาดอินโดจีน จังหวัดมุกดาหาร

กลุ่มย่อยที่ 2 (Sub- Clusters II) ประกอบด้วย 2 กลุ่มย่อย ได้แก่

- กลุ่มย่อยที่ 2.1 (Sub- Clusters II-I) ประกอบด้วยกล้วยไม้แดงอุบลจำนวน 5 สายต้นได้แก่ PK8 (มาจากภูซ้องคำ อ. กุดข้าวปุ้น จังหวัดอุบลราชธานี), DB8 และ DB6 (มาจาก ต.ช่องเม็ก อ.สิรินธร จังหวัดอุบลราชธานี), MDD6 และ MDD1 (ซ้อยที่ตลาดอินโดจีน จังหวัดมุกดาหาร) โดยสายต้น PK8 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมากที่สุดกับสายต้น DB8 (0.75) สายต้น DB6 กับสายต้น MDD6 (0.75) กล้วยไม้แดงอุบลในกลุ่มนี้รวบรวมมาจากสถานที่แตกต่างกัน แต่จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน เนื่องจากมีพันธุกรรมและลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่คล้ายคลึงกัน คือ ลักษณะใบจะใหญ่เรียวยาว มีจุดสีน้ำตาลทั้งใบ

- กลุ่มย่อยที่ 2.2 (Sub- Clusters II-II) ประกอบด้วยกลุ่มย่อย 2 กลุ่มได้แก่

- กลุ่มย่อยที่ 1 มีสมาชิกจำนวน 18 สายต้นประกอบด้วยกล้วยไม้แดงอุบลจำนวน 12 สายต้น ได้แก่ สายต้น RO4, RO10 (ซ้อยจากชาวบ้าน จังหวัดร้อยเอ็ด), NK6 และ NK7 (บ้านหนองครก ภูพลาญใหญ่ อ.บุญทริก จังหวัดอุบลราชธานี), CM12, CM3, CM16 และ CM17 (มาจากช่องเม็ก อ.สิรินธร จังหวัดอุบลราชธานี), MDD2, MDD26 และ MDD17 (ซ้อยที่ตลาดอินโดจีน จังหวัดมุกดาหาร) และ PK4 (มาจากภูซ้องคำ อ.กุดข้าวปุ้น จังหวัดอุบลราชธานี) โดยสายต้น RO4 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมากที่สุดกับสายต้น RO10 (0.91) รองลงมาคือสายต้น NK7 กับสายต้น CM12 (0.77) ส่วนสายต้นที่มีความใกล้ชิดกันน้อยที่สุดภายในกลุ่มคือ สายต้น MDD26 กับสายต้น RO10 (0.60)

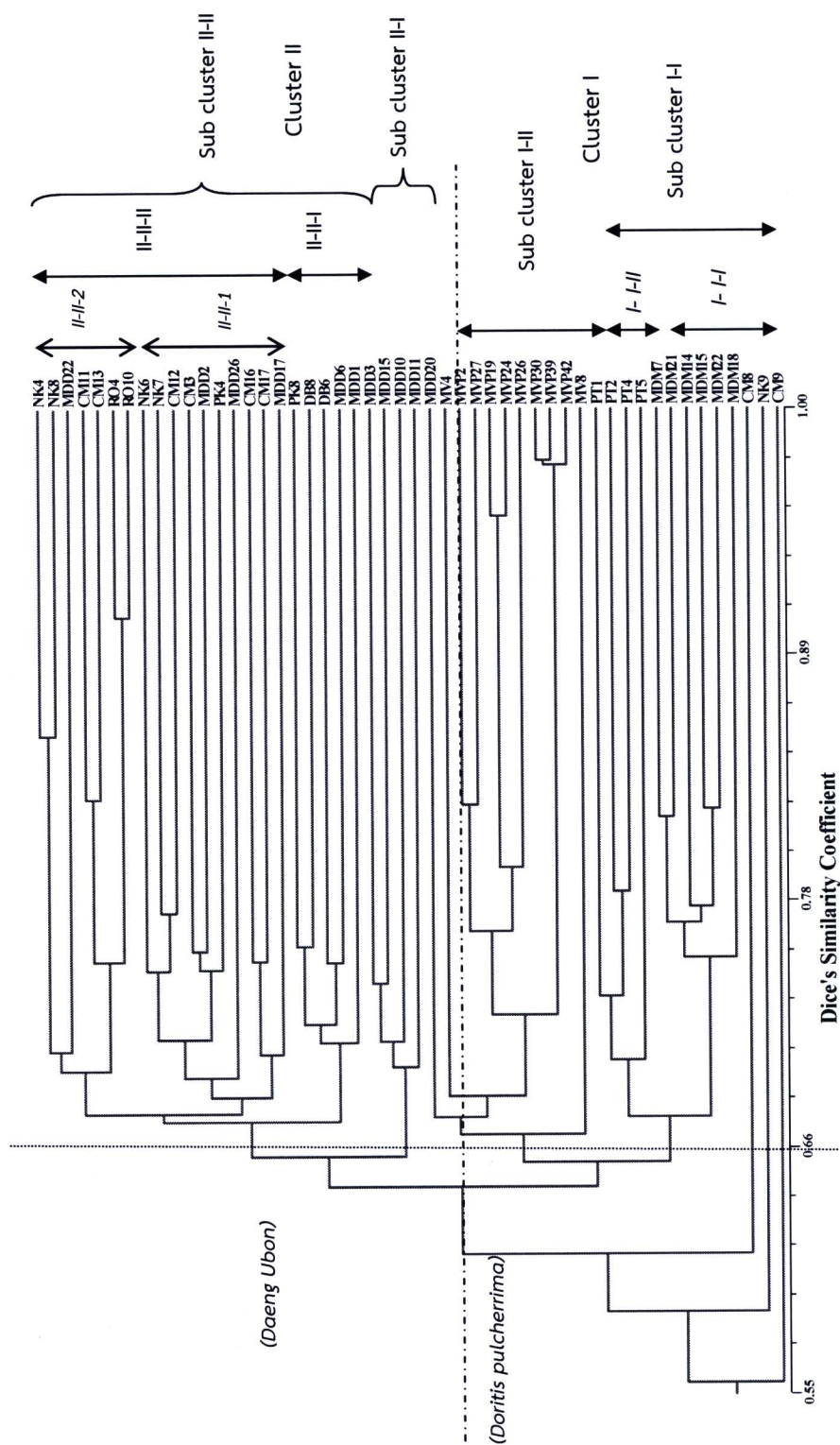
- กลุ่มย่อยที่ 2 ประกอบด้วยกล้วยไม้แดงอุบลจำนวน 6 สายต้น ได้แก่ สายต้น NK4 และ NK8 (มาจากบ้านหนองครก ภูพลาญใหญ่ อ.บุญทริกจังหวัดอุบลราชธานี), MDD22 (ซ้อยที่ตลาดอินโดจีน จังหวัดมุกดาหาร), CM11 และ CM13 (มาจากช่องเม็ก อ.สิรินธร จังหวัด

อุบลราชธานี) โดยสายต้นที่มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมากที่สุดภายในกลุ่มคือสายต้น NK4 กับสายต้น NK8 (0.85) รองลงมาคือสายต้น CM11 กับสายต้น CM13 (0.82)

การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดย UPGMA ด้วยวิธีของ Dice (Dice's similarity coefficient) ให้ผลสอดคล้องกับการจำแนกกล้วยไม้แดงอุบล และกล้วยไม้ม้าวัง โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา คือ ลักษณะใบ ลักษณะดอก สีของกลีบดอก สีปากดอก และสีก้านดอก เป็นต้น โดยกล้วยไม้ม้าวังจะมีลักษณะดอกคู่ ดอกจะมีขนาดเล็ก ลักษณะของใบมีทั้งใบเรียวยาว ใบเรียวกว้าง ใบกลมยาว ใบกลมสั้น จุดและขอบใบสีเขียว สีน้ำตาล ตลอดจนสีเขียวทั้งใบ สีกลีบดอกมีตั้งแต่สีขาวไปจนถึงสีม่วงเข้ม สีปากดอก จะมีสีเหมือนกลีบดอก สีอ่อนกว่ากลีบดอก สีเข้มกว่ากลีบดอก มีสีเหลือง เหลืองส้ม ชมพูอ่อนและสีม่วง สีก้านดอก จะมีทั้งสีเขียว และสีเขียวเหลือง

ส่วนกล้วยไม้แดงอุบลจะมีลักษณะดอกเดี่ยว ขนาดดอกใหญ่กว่ากล้วยไม้ม้าวัง ลักษณะใบใหญ่มีทั้งใบเรียวยาว ใบเรียวกว้าง ใบเขียวขอบน้ำตาลแดง ใบเขียวจุดน้ำตาลกว้างกลม ใบเขียวจุดน้ำตาลเรียวยาว ใบแดงยาว สีกลีบดอกมีตั้งแต่สีชมพูอ่อน – ม่วงเข้ม สีปากดอก จะมีสีเหมือนกลีบดอก สีอ่อนกว่ากลีบดอก สีเข้มกว่ากลีบดอก สี Sidelobe บนปากมีสีเหลือง เหลืองส้ม ชมพูอ่อน ม่วง สีก้านดอก จะมีทั้งสีเขียว และสีเขียวเหลือง

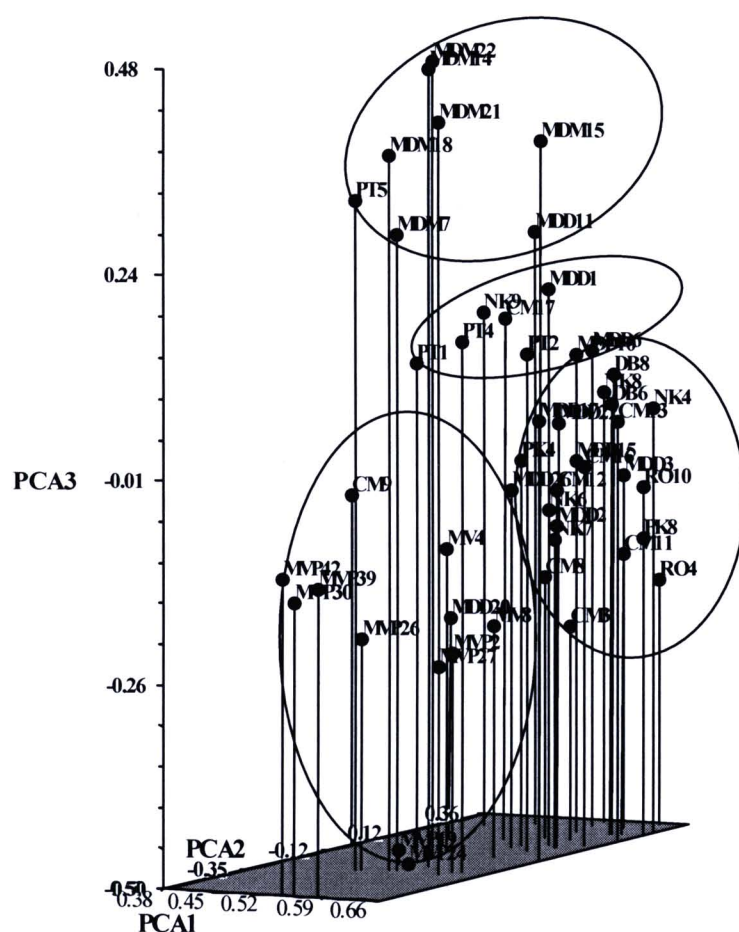
ค่าความน่าเชื่อถือของการจัดกลุ่มทางพันธุกรรม สามารถประเมินได้จากค่า cophenetic correlation coefficient ซึ่งเป็นค่าของผลคูณ similarity matrix ของการจัดกลุ่ม และค่า cophenetic value matrix ถ้าค่า cophenetic correlation coefficient น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.7 ถือว่าการจัดกลุ่มไม่ดี ค่าอยู่ระหว่าง 0.7-0.8 ถือว่าเป็นการจัดกลุ่มได้ปานกลาง ค่าอยู่ระหว่าง 0.8-0.9 ถือว่าเป็นการจัดกลุ่มที่ดี และค่าอยู่ระหว่าง 0.9 -1.0 ถือว่าเป็นการจัดกลุ่มที่ดีมาก จากการวิเคราะห์ค่า cophenetic correlation coefficient ของกล้วยไม้สกุลม้าวังโดยใช้เครื่องหมายอาร์เอฟดี จำนวน 204 เครื่องหมาย มีค่าเท่ากับ 0.75 แสดงว่าการจัดกลุ่มความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลม้าวังโดยใช้เครื่องหมายอาร์เอฟดีมีความน่าเชื่อถือในระดับปานกลาง



ภาพที่ 11 Dendrogram แสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลนางแว้งจำนวน 50 สายต้น ด้วยวิธี UPGMA โดยใช้เครื่องหมายอาร์เอสดี จำนวน 204 เครื่องหมาย

การวิเคราะห์ปัจจัยหลัก (Principal component analysis: PCA)

การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลมาว้างโดยการวิเคราะห์ปัจจัยหลัก (Principal component analysis: PCA) ที่มีองค์ประกอบหลักที่ 1, 2 และ 3 ครอบคลุมความแปรปรวน 32.86 เปอร์เซ็นต์, 6.13 เปอร์เซ็นต์ และ 4.72 เปอร์เซ็นต์ ของความแปรปรวนทั้งหมดตามลำดับ ค่าผลรวมของปัจจัยหลักสามพารามิเตอร์แรกสามารถอธิบายความผันแปรทั้งหมดของการประเมินความเหมือนทางพันธุกรรมได้ 43.71 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการจัดกลุ่มโดยวิธี PCA ให้ผลสอดคล้องกับการจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA cluster analysis และการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาในการจำแนก (ภาพที่ 12)



ภาพที่ 12 การจัดกลุ่มทางพันธุกรรมโดยการวิเคราะห์ปัจจัยหลัก (PCA) ของเชื้อพันธุกรรมกล้วยไม้สกุลมาว้างจำนวน 50 ตัวอย่าง โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลอาร์เอฟดี จำนวน 204 เครื่องหมาย

ตารางที่ 10 แสดงรายชื่อกล้วยไม้สกุลม้าวี่ง จำนวน 51 สายต้น ที่ใช้ในการสร้างลายพิมพ์เอเอฟแอลพี

ลำดับ	รหัสพันธุ์	ชื่อพันธุ์	ลำดับ	รหัสพันธุ์	ชื่อพันธุ์
1	RO3	แดงอุบล	27	MV1	ม้าวี่ง
2	RO4	แดงอุบล	28	MV3	ม้าวี่ง
3	RO10	แดงอุบล	29	MV4	ม้าวี่ง
4	LO1	แดงอุบล	30	MV6	ม้าวี่ง
5	LO2	ม้าวี่ง	31	MVP2	ม้าวี่ง
6	DB6	แดงอุบล	32	MVP17	ม้าวี่ง
7	DB8	แดงอุบล	33	MVP19	ม้าวี่ง
8	MDD2	แดงอุบล	34	MVP24	ม้าวี่ง
9	MDD3	แดงอุบล	35	MVP26	ม้าวี่ง
10	MDD6	แดงอุบล	36	MVP27	ม้าวี่ง
11	MDD9	แดงอุบล	37	MVP42	ม้าวี่ง
12	MDD10	แดงอุบล	38	MVP43	ม้าวี่ง
13	MDD11	แดงอุบล	39	PT1	ม้าวี่ง
14	MDD15	แดงอุบล	40	PT2	ม้าวี่ง
15	MDD20	ม้าวี่ง	41	MDM5	ม้าวี่ง
16	MDD22	แดงอุบล	42	MDM11	ม้าวี่ง
17	NK1	แดงอุบล	43	MDM14	ม้าวี่ง
18	NK7	แดงอุบล	44	MDM15	ม้าวี่ง
19	CM1	แดงอุบล	45	MDM17	ม้าวี่ง
20	CM8	แดงอุบล	46	MDM18	ม้าวี่ง
21	CM11	แดงอุบล	47	MDM19	ม้าวี่ง
22	CM13	แดงอุบล	48	MDM21	ม้าวี่ง
23	CM16	แดงอุบล	49	MDM22	ม้าวี่ง
24	TT3	แดงอุบล	50	MDM23	ม้าวี่ง
25	TT7	แดงอุบล	51	DR1	ม้าบิน
26	CM9	ม้าวี่ง			

4. การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลม้าวิงโดยเทคนิคเอเอฟแอลพี (Genetic diversity analysis of *Doritis* germplasm using AFLP technique)

4.1 เชื้อพันธุกรรมกล้วยไม้สกุลม้าวิง

นำเชื้อพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลม้าวิง ที่เก็บรวบรวมสถานที่ต่างๆ ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จาก 5 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดอุบลราชธานี จังหวัดร้อยเอ็ด จังหวัดมุกดาหาร จังหวัดเลย และจังหวัดศรีสะเกษ จำนวน 51 สายต้น ที่ปลูกไว้ในเรือนเพาะชำ มาเป็นตัวแทนในการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคเอเอฟแอลพี โดยมีกล้วยไม้ม้าบิน (DR1) จากจังหวัดชุมพร ใช้เป็นพันธุ์เปรียบเทียบ (ตารางที่ 10 และตารางที่ 4)

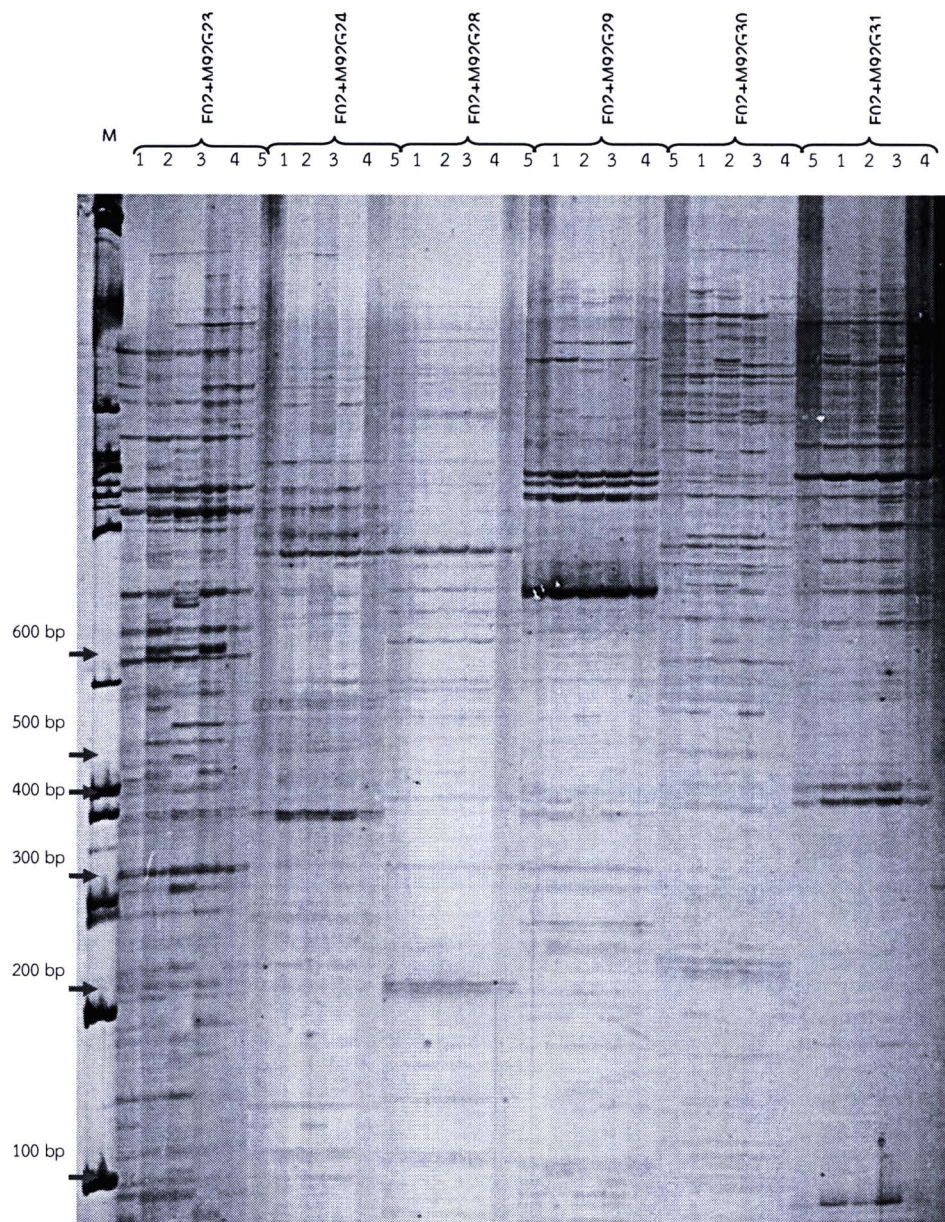
4.2 การคัดเลือกไพรเมอร์เอเอฟแอลพี (AFLP primer screening)

การสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอในขั้นตอน Selective amplification โดยใช้ไพรเมอร์ *EcoRI*+3/*MseI*+3 นั้นจากการคัดกรองไพรเมอร์เอเอฟแอลพี (*EcoRI*+ 3 / *MseI*+3) จำนวน 40 คู่ (ตารางที่ 11) ในกล้วยไม้สกุลม้าวิง 5 สายต้น ได้แก่ สายต้น MVP 26, MVP19, TT7, MVP 17 และ MVP39 พบว่า มีไพรเมอร์ เอเอฟแอลพี จำนวน 29 คู่ สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลม้าวิงทั้ง 5 สายต้น แต่ และมีเพียง 12 คู่ไพรเมอร์ที่ให้แถบลายพิมพ์ดีเอ็นเอชัดเจน และมีจำนวน polymorphic band จำนวนมาก (ตารางที่ 11 และภาพที่ 13 และ14) ซึ่งเหมาะสำหรับการนำไปสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอ เพื่อใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลม้าวิงต่อไป

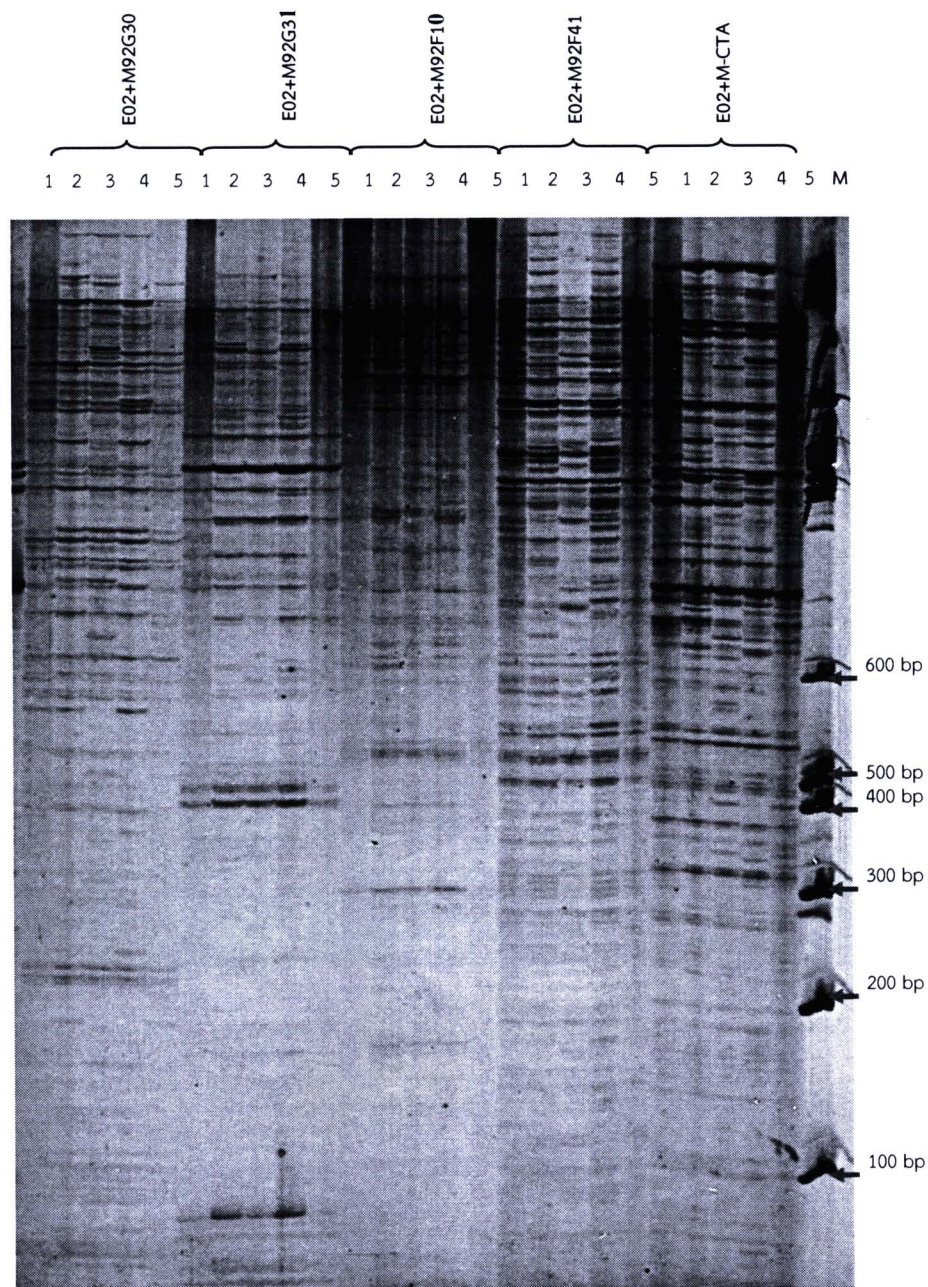
ตารางที่ 11 แสดงคู่ไพรเมอร์เอเอฟแอลพีที่ใช้ในการคัดเลือกเบื้องต้นสำหรับกล้วยไม้สกุลม้าวิงจำนวน 40 คู่ไพรเมอร์

<i>EcoRI</i> / <i>MseI</i> primers	M-CAG (92G23)	M-CAT (92G24)	M-CTG (92G29)	M-CTC (92G30)	M-CTT (92G31)	M-CAC (92F10)	M-CAA (92F41)	M-CTA
E-ACA (S92S05)			x	x		√	√	x
E-AAC (E01)	x	x		√		x		x
E-AAG (EO2)	√	x	x	√	√		x	√
E-ACC (E04)	x	x	√	√	x	x	x	x
E-ACG (E05)	x		√	√			√	

**หมายเหตุ: √ = คู่ไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปฏิกิริยาดีเอ็นเอ และแสดงแถบดีเอ็นเอที่ชัดเจนและนำไปใช้สร้างลายพิมพ์เอเอฟแอลพี
 X = คู่ไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ แต่ไม่ชัดเจน



ภาพที่ 13 แสดงตัวอย่างลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการคัดกรองไพรเมอร์เอเอฟแอลพี (*EcoRI*+ 3 *MseI*+3) จำนวน 6 คู่ไพรเมอร์ ได้แก่ E02+M92G23 (E-AAG/M-CAG), E02+M92G24 (E-AAG/M-CAT), E02+M92G28 (E-AAG/M-CTA), E02+M92G29 (E-AAG/CTG), E02+M92G30 (E-AAG/M-CTC), E02+M92G31 (E-AAG/M-CTT) M = 100 bp DNA standard maker (Fermentas) (1 = MVP 26, 2 = MVP19, 3 = TT7, 4 = MVP 17, 5 = MVP39)



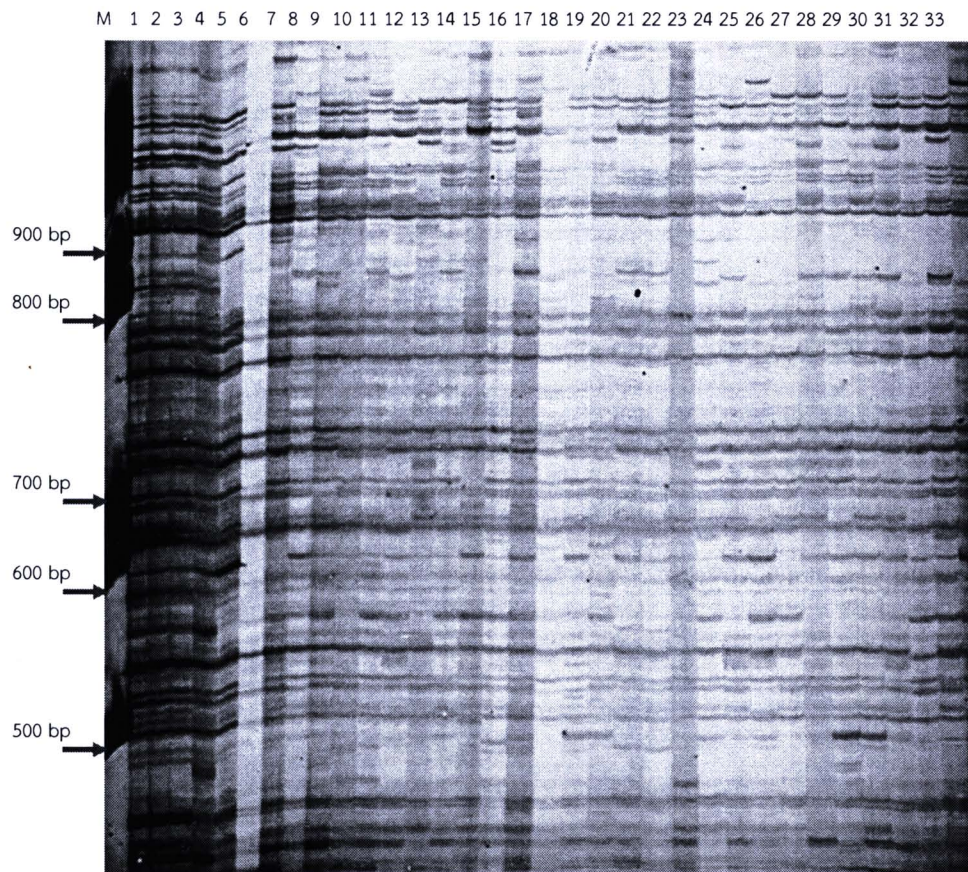
ภาพที่ 14 แสดงตัวอย่างลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการคัดกรองไพรเมอร์เอเอฟแอลพี (EcoRI+ 3 / MseI+3) จำนวน 5 คู่ไพรเมอร์ ได้แก่ E02+M92G30 (E-AAG/M-CTC), E02+M92G31 (E-AAG/M-CTT), E02+M92F10 (E-AAG/M-CAC), E02+M92F41 (E-AAG/M-CAA), E02+M-CTA (E-AAG/M-CTA), M = 100 bp DNA standard maker (Fermentas) (1 = MVP 26, 2 = MVP19, 3 = TT7, 4 = MVP 17, 5 = MVP39)

4.3 การสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยเทคนิคเอเอฟแอลพี (AFLP fingerprints)

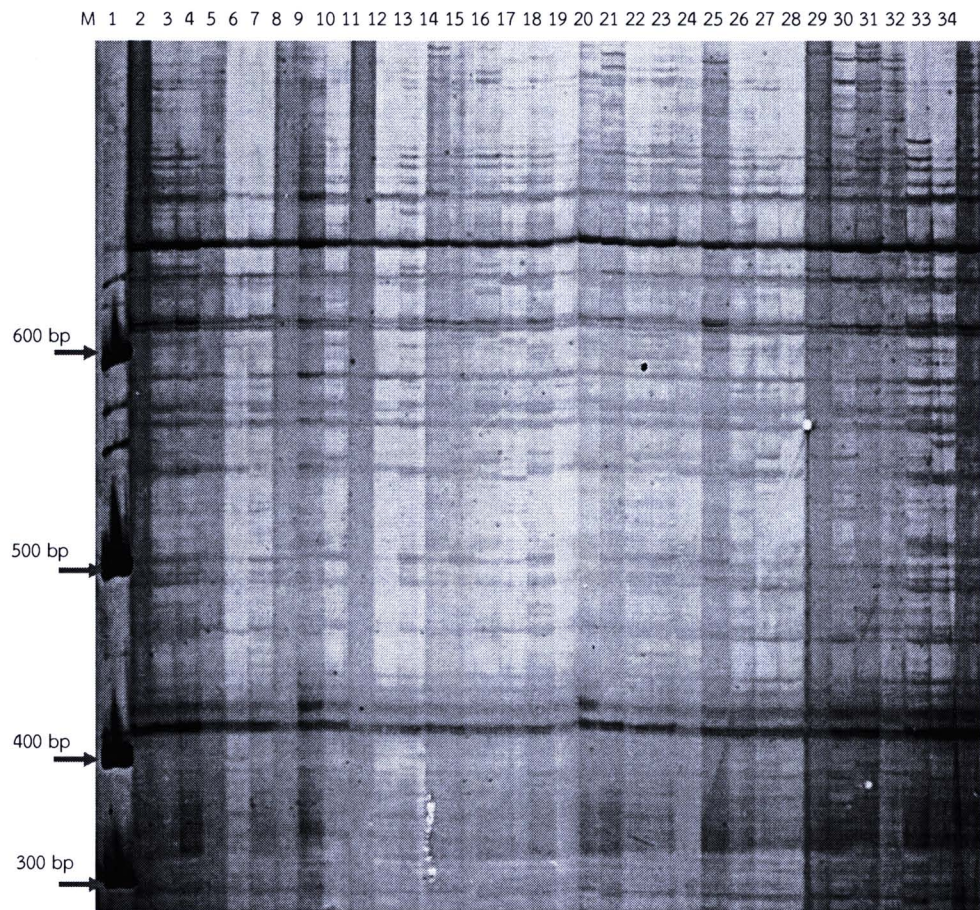
จากการคัดกรองไพรเมอร์เอเอฟแอลพี (*EcoRI*+ 3/ *MseI*+3) จำนวน 40 คู่ไพรเมอร์ สามารถคัดเลือกไพรเมอร์เอเอฟแอลพีที่ให้แถบดีเอ็นเอชัดเจน จำนวน 12 คู่ไพรเมอร์ นำมาใช้ในการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลม้าวิงจำนวน 51 ตัวอย่าง (ดังภาพที่ 15-18) พบว่า สามารถสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอได้จำนวนแถบดีเอ็นเอ ทั้งหมด จำนวน 810 แถบ มีจำนวน polymorphic markers ได้จำนวน 319 เครื่องหมาย คิดเป็นค่าเฉลี่ย 26.58 เครื่องหมายต่อคู่ไพรเมอร์ แถบดีเอ็นเอ (marker size) ที่ได้มีขนาดตั้งแต่ 200 -1000 bp จำนวนเครื่องหมายเอเอฟแอลพีที่ได้มีตั้งแต่ 17 – 40 เครื่องหมาย (ตารางที่ 12) โดยไพรเมอร์คู่ E-AAG/M-CAG ให้จำนวนเครื่องหมายสูงสุด คือ 40 เครื่องหมาย คิดเป็น 57.14 % ของจำนวนเครื่องหมายทั้งหมด แถบดีเอ็นเอ (marker size) ที่ได้มีขนาดตั้งแต่ 300 -800 bp ไพรเมอร์คู่ E-ACA/M-CAA ให้จำนวนเครื่องหมายน้อยสุด คือ 17 เครื่องหมาย คิดเป็น 23.61 % ของจำนวนเครื่องหมายทั้งหมด แถบดีเอ็นเอ (marker size) ที่ได้มีขนาดตั้งแต่ 300 -800 bp

ตารางที่ 12 จำนวนแถบดีเอ็นเอที่ได้จากกล้วยไม้สกุลม้าวิงจำนวน 51 สายต้นจาก AFLP fingerprints และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่แสดงความแตกต่าง (polymorphic band)

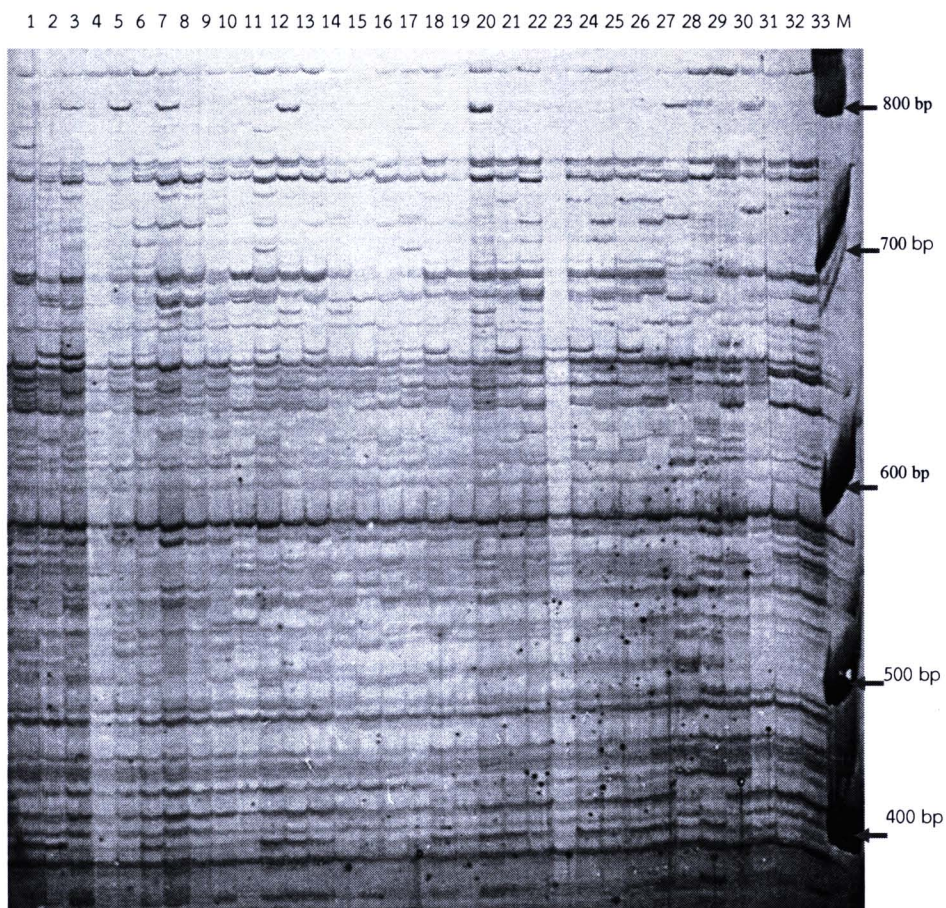
AFLP primers		Number of band		Polymorphic bands (%)
<i>EcoRI</i>	<i>MseI</i>	Total bands	Polymorphic bands	
AAC	CTC	64	22	34.38
AAG	CAG	70	40	57.14
	CTT	67	21	31.34
	CTC	80	36	45.00
	CTA	67	30	44.78
	CTG	67	30	44.78
ACA	CAC	75	25	33.33
	CAA	72	17	23.61
ACC	CAG	78	21	26.92
	CTA	61	23	37.70
ACG	CTG	60	28	46.67
	CAA	56	28	50.00
	CTC	60	28	46.67
Total		810	319	
Mean		67.5	26.58	39.80



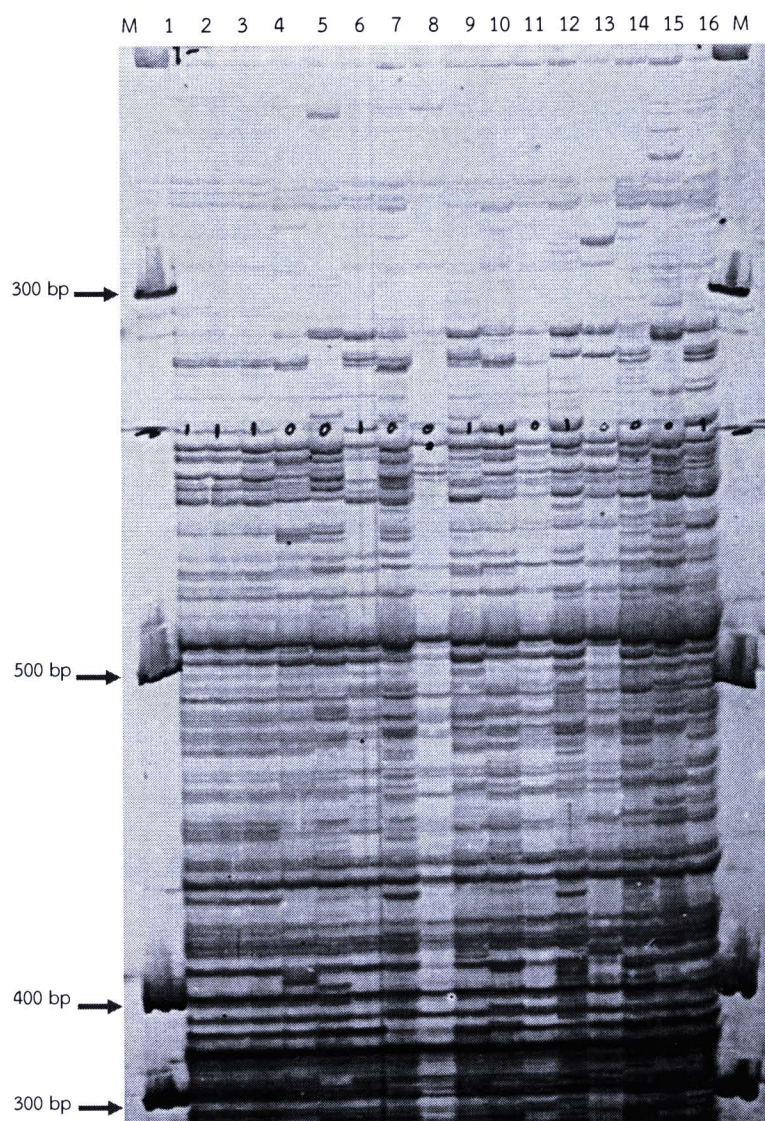
ภาพที่ 15 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลม้าวิงในกล้วยไม้สกุลม้าวิงจำนวน 33 สายต้น โดยใช้ไพรเมอร์เอเอฟแอลพี E02/M92G30 (E-AAG/M-CTC) (M = 100 bp DNA standard maker (Fermentas); 1=RO3, 2=RO4, 3= RO10, 4=LO1, 5=LO2, 6=DB6, 7=DB8, 9=MDD2, 10=MDD3, 11=MDD6, 12=MDD9, 13=MDD10, 14=MDD11, 15=MDD15, 16=MDD20, 17=MDD22, 18=NK1, 19=NK7, 20=CM1, 22= CM8, 23= CM11, 24= CM13, 25= CM16, 26=PT1, 27=PT2, 28=TT3, 29=TT7, 30=MV1, 31=MV3, 32=MV4, 33=MV6)



ภาพที่ 16 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลม้าวิงในกล้วยไม้สกุลม้าวิงจำนวน 34 สายต้น โดยใช้ไพรเมอร์เอเอฟแอลพี E02/M92G31 (E-AAG/M-CTT) (M = 100 bp standard maker (Fermentas); 1=RO3, 2=RO4, 3= RO10, 4=LO1, 5=LO2, 6=DB6, 7=DB8, 9=MDD2, 10=MDD3, 11=MDD6, 12=MDD9, 13=MDD10, 14=MDD11, 15=MDD15, 16=MDD20, 17=MDD22, 18=NK1, 19=NK7, 20=CM1, 22= CM8, 23= CM11, 24= CM13, 25= CM16, 26=PT1, 27=PT2, 28=TT3, 29=TT7, 30=MV1, 31=MV3, 32=MV4, 33=MDM5, 34=MDM11)



ภาพที่ 17 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลม้าวิงในกล้วยไม้สกุลม้าวิงจำนวน 33 สายต้น โดยใช้ไพรเมอร์เอเอฟแอลพี E02/M-CTA (E-AAG/M-CTA) (M = 100 bp standard maker (Fermentas); 1=MDD20, 2=MDD22, 3=NK1, 4=NK7, 5=CM1, 6= CM8, 7= CM11, 8= CM13, 9= CM16, 10=PT1, 11=PT2, 12=TT3, 13=TT7, 14=MV1, 15=MV3, 16=MV4, 17=MV6, 18=MDM5, 19=MDM11, 20= MDM14, 21=MDM15, 22=MDM17, 23=MDM18, 24=MDM19, 25=MDM21, 26=MDM22, 27=MDM23, 28=CM9, 29=DR1, 30=MVP2, 31=MVP17, 32=MVP19, 33=MVP24)

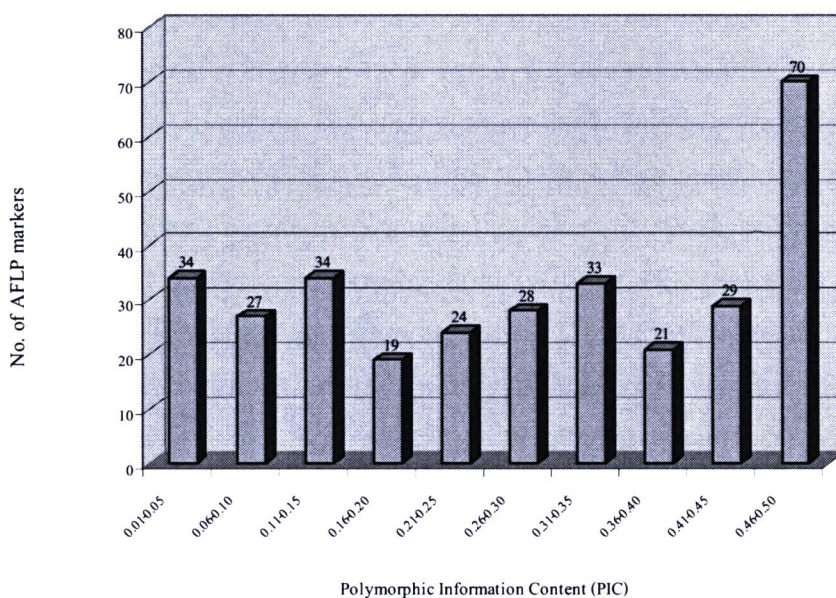


ภาพที่ 18 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลม้าวิงในกล้วยไม้สกุลม้าวิงจำนวน 16 สาย
ต้น โดยใช้ไพรเมอร์เอเอฟแอลพี E02/M-CTA (E-AAG/M-CTA) (M = 100 bp standard
maker (Fermentas); 1=RO3, 2=RO4, 3= RO10, 4=LO1, 5=LO2, 6=DB6, 7=DB8,
9=MDD2, 10=MDD3, 11=MDD6, 12=MDD9, 13=MDD10, 14=MDD11, 15=MDD15,
16=MDD20)

4.4 การวิเคราะห์ข้อมูลเอเอฟแอลพี (AFLP data analysis)

Polymorphic information content (PIC)

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลม้าวิงสามารถประเมินได้จากค่า Polymorphic information content (PIC) หรือ Heterozygosities ซึ่ง PIC ของเครื่องหมายเอเอฟแอลพีเป็นค่าที่บ่งบอกโอกาสที่จะพบตัวอย่างที่สุ่มมาโดยสุ่ม 2 ตัวอย่างที่มีความแตกต่างกัน (polymorphism) ที่ตำแหน่งของ marker โดยค่า PIC ของเครื่องหมายเอเอฟแอลพีมีค่าระหว่าง 0.0-0.50 เนื่องจากเครื่องหมายเอเอฟแอลพีเป็น dominant marker (ซ่มสมบูรณ์) หมายถึง ครึ่งหนึ่งของตัวอย่างปรากฏแถบดีเอ็นเอ และอีกครึ่งหนึ่งของตัวอย่างไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอ ที่แต่ละตำแหน่ง ผลการคำนวณค่า PIC ของกล้วยไม้สกุลม้าวิงจำนวน 51 ตัวอย่าง พบว่า ค่า PIC score ของเครื่องหมายเอเอฟแอลพี จำนวน 319 เครื่องหมาย มีค่าตั้งแต่ 0.01-0.50 โดยค่า PICs ในช่วง 0.46-0.50 คิดเป็น 70 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนเครื่องหมายทั้งหมด (ภาพที่ 19) แสดงให้เห็นว่ากล้วยไม้สกุลม้าวิงที่นำมาศึกษาครั้งนี้มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง



ภาพที่ 19 การกระจายตัวของค่า Polymorphic information content (PIC) ของเครื่องหมายเอเอฟแอลพี 319 เครื่องหมายในกล้วยไม้สกุลม้าวิง จำนวน 51 ตัวอย่าง

ความใกล้ชิดทางพันธุกรรม (Genetic similarity)

ความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรม หรือความเหมือนกันทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลม้าวิง จำนวน 51 ตัวอย่าง สามารถประเมินได้โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมโดยวิธีของ Dice (Dice's Similarity coefficient) จากการวิเคราะห์ พบว่า ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมมีค่าตั้งแต่ 0.46 - 0.98 โดยมีค่าเฉลี่ย 0.67 และพบว่า สายต้น RO3 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมากที่สุดกับสายต้น RO4 โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.98 รองลงมาคือสายต้น RO4 กับสายต้น RO10 มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.97 ซึ่งทั้งสามสายต้นนี้รวบรวมมาจากสถานที่เดียวกัน (รวบรวมจากจังหวัดร้อยเอ็ด) และสายต้น MDM19 รวบรวมจากจังหวัดมุกดาหาร มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมน้อยที่สุดกับสายต้น LO1 ที่รวบรวมจากจังหวัดเลย โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.46 (ตารางที่ 11)

- กลุ่มรหัส DB ที่รวบรวมจาก ช่างเม็ก อ. สิรินคร จ. อุบลราชธานี จำนวน 2 สายต้น คือ สายต้น DB6 และสายต้น DB8 โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.75 ทั้งสองสายต้นนี้รวบรวมมาจากสถานที่เดียวกัน มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายกัน

- กลุ่มรหัส CM ที่รวบรวมจาก ช่างเม็ก อ. สิรินคร จ. อุบลราชธานี (ซื้อจากชาวบ้าน) ประกอบด้วยกล้วยไม้แดงอุบล จำนวน 5 สายต้น และกล้วยไม้ม้าวิง 1 สายต้น พบว่า มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมตั้งแต่ 0.57-0.95 โดยสายต้น CM11 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมากที่สุดกับสายต้น CM13 โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.95 รองลงมาคือสายต้น CM16 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมกับสายต้น CM8 และสายต้น CM8 (0.77) ส่วนสายต้น CM9 พบว่ามีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมค่อนข้างน้อยภายในกลุ่ม กับสายต้น CM18 กับสายต้น CM13 (0.57) เนื่องจากในกลุ่มนี้คือกลุ่มของกล้วยไม้แดงอุบล และสายต้น CM 9 เป็นกล้วยไม้ม้าวิงจึงทำให้มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมค่อนข้างน้อยภายในกลุ่มเดียวกันและมีลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกันคือ กลีบดอกของสายต้น CM 9 จะเป็นสีขาว ลักษณะดอกคู่ ส่วนแดงอุบลดอกจะพู่ ซึ่งสามารถแยกความแตกต่างกันได้ชัดเจน

- กลุ่มรหัส RO ที่รวบรวมจากจังหวัดร้อยเอ็ด จำนวน 3 สายต้นคือ สายต้น RO3, RO4 และ RO10 พบว่า ทั้งสามสายต้นมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมภายในกลุ่มสูง โดยสายต้น RO3 มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมากที่สุดกับสายต้น RO4 (0.98) และสายต้น RO4 กับ RO10 (0.97) เนื่องจากทั้งสามสายต้นนี้มีที่มาจากแหล่งเดียวกัน และมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่เหมือนกัน

- กลุ่มรหัส LO ที่รวบรวมจากจังหวัดเลย คือสายต้น LO1 และสายต้น LO2 พบว่าค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมมีค่าเท่ากับ 0.69 โดยสายต้น LO1 เป็นกล้วยไม้แดงอุบล พบที่

อำเภอด่านช้าง มีลักษณะลำต้นตั้งตรง และใบมีสีเขียวเรียวยาว ส่วนสายต้น LO2 เป็นกล้วยไม้ม้วน พบที่อำเภอด่านช้าง มีลักษณะลำต้นขนาดเล็ก กลีบดอกสีขาว และใบมีสีเขียวเรียวยาว

- กลุ่มรหัส MDD ที่รวบรวมจาก ตลาดอินโดจีน อ. เมือง จ. Mukdahan จำนวน 9 สายต้น พบว่า มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมตั้งแต่ 0.63-0.77 โดยสายต้น MDD2 มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมกับสายต้น MDD9 และสายต้น MDD15 (0.77) และสายต้น MDD20 กับสายต้น MDD22 (0.77) ส่วนสายต้น MDD20 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมค่อนข้างน้อยกับสายต้น MDD6 โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.63

- กลุ่มรหัส NK ที่รวบรวมจากบ้านหนองครก ภูผาใหญ่ อ. บุณฑริก จ. อุบลราชธานี จำนวน 2 สายต้น คือ สายต้น NK1 และ NK7 พบว่า มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.75

- กลุ่มรหัส TT รวบรวมจากหมู่บ้านทับทิมสยาม จ. ศรีสะเกษ จำนวน 2 สายต้น คือ สายต้น TT3 และสายต้น TT7 พบว่า มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.76 กลุ่มนี้เป็นกลุ่มกล้วยไม้แดงอุบล ซึ่งมีลักษณะลำต้นและใบ ลำต้นตั้งตรง ขนาดสั้น ใบมีลักษณะสีเขียวเรียวยาว ลักษณะดอกมีขนาดใหญ่ ดอกมีสีม่วงอ่อน – ม่วงเข้ม ปากดอกมีสีเหมือนกลีบดอก หรือมีสีเข้มกว่ากลีบดอก

- กลุ่มรหัส PT รวบรวมจากอุทยานแห่งชาติภูผาเทิบ จ. Mukdahan จำนวน 2 สายต้น คือ สายต้น PT1 และสายต้น PT2 พบว่า มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.71 กลุ่มนี้เป็นกลุ่มกล้วยไม้ม้วน ลักษณะทั่วไป คือ ลำต้นตั้งตรง ปลายใบแหลม สีใบมีหลายลักษณะ เช่น ใบเขียวยาว ใบเขียวจุดน้ำตาลเรียวยาว ใบแดงลักษณะดอก มีขนาดเล็ก สีของดอกมีความแปรปรวน สีดอกมีตั้งแต่สีขาวไปจนถึงสีม่วงเข้ม ปากมีสีเข้มกว่ากลีบดอก

- กลุ่มรหัส MV ที่รวบรวมจาก ช่างเม็ก อ. สิรินคร จ. อุบลราชธานี จำนวน 4 สายต้น คือ สายต้น MV1, MV3, MV4 และสายต้น MV6 ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมมีค่าตั้งแต่ 0.62-0.71 โดยสายต้น MV4 มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมากที่สุดในสายต้น MV6 (0.71) ลักษณะโดยทั่วไปของกล้วยไม้กลุ่มนี้จะเป็นกล้วยไม้ม้วนทั้งหมด คือ ลำต้นตั้งตรง ขนาดสั้น ปลายใบกลม ลักษณะใบมีหลายแบบ เช่น ใบเขียวกลมสั้น ใบเขียวขอบน้ำตาลแดง ใบเขียวจุดน้ำตาลกว้างกลม ลักษณะดอกมีขนาดเล็ก สีกลีบดอกมีตั้งแต่สีขาวถึงม่วง ปากมีสีเข้มกว่ากลีบดอก

- กลุ่มรหัส MVP ที่รวบรวมจาก อ. โพธิ์ไทร จ. อุบลราชธานี จำนวน 8 สายต้น คือ สายต้น MVP2, MVP17, MVP19, MVP24, MVP26, MVP27, MVP42 และสายต้น MVP43 ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมมีค่าค่อนข้างสูงตั้งแต่ 0.61-0.95 โดยสายต้น MVP19 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมกับสายต้น MVP24 (0.96) และสายต้น MVP2 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมน้อย

ที่สุดภายในกลุ่มกับสายต้น MVP27 (0.61) จะเห็นได้ว่ากลุ่มนี้จะเป็นกลุ่มของกล้วยไม้ม้าวิ่ง ลักษณะ ลำต้นตั้งตรง ขนาดสั้น ใบมีขนาดเล็ก ลักษณะใบมีหลายแบบ เช่น ใบเขียวเรียวยาว ใบเขียวกลมสั้น ใบเขียวขอบน้ำตาลแดง ใบเขียวจุดน้ำตาลกว้างกลม ใบเขียวจุดน้ำตาลเรียวยาว ใบแดงยาว ลักษณะ ดอกกลุ่ม มีขนาดเล็ก สีกีบดอกมีตั้งแต่สีขาวจนถึงม่วงเข้ม ปากมีสีเหมือนกลีบดอก สีอ่อนกว่ากลีบดอก สีเข้มกว่ากลีบดอก

- กลุ่มรหัส MDM ที่รวบรวมมาจาก ตลาดอินโดจีน อ. เมือง จ. Mukdahan จำนวน 10 สายต้น คือสายต้น MDM5, MDM11, MDM14, MDM15, MDM17, MDM18, MDM19, MDM21, MDM22, และสายต้น MDM23 ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมมีค่าตั้งแต่ 0.62-0.94 โดยสายต้น MDM19 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมากที่สุดกับสายต้นMDM22 และสายต้น MDM15 (0.94) รองลงมาคือสายต้น MDM17 กับสายต้น MDM21 (0.85) สายต้น MDM23 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมค่อนข้างน้อยกับสายต้น MDM14 (0.62) กลุ่มนี้จะเป็นกลุ่มของกล้วยไม้ม้าวิ่งที่มีลักษณะลำต้นตั้งตรง ขนาดสั้น ใบมีขนาดเล็ก ปลายใบแหลม ลักษณะดอกกลุ่ม มีขนาดเล็ก สีของกลีบดอกมีตั้งแต่สีขาวจนถึงสีม่วงเข้ม สีปากดอกมีตั้งแต่สีเข้มกว่ากลีบดอก สีส้มอมเหลือง สีม่วงอ่อน ไปจนถึงสีม่วงเข้ม

การจัดกลุ่มของกล้วยไม้สกุลม้าวิ่ง โดยการวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมภายในกลุ่มที่เก็บรวบรวมมาจากแหล่งเดียวกัน พบว่า มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมภายในกลุ่มค่อนข้างสูง ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางพันธุกรรมสอดคล้องกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้ดังกล่าว

ตารางที่ 13 ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมของ Dice (Dice's Similarity coefficient) ในกล้วยไม้สกุลม่วงจำนวน 51 ตัวอย่าง โดยใช้จากเครื่องหมายเอเอฟแอลพี จำนวน 319 เครื่องหมาย

	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.DB6	1.00																									
2.DB8	0.75	1.00																								
3.DR1	0.52	0.57	1.00																							
4.CM1	0.70	0.75	0.50	1.00																						
5.CM8	0.71	0.74	0.55	0.70	1.00																					
6.CM11	0.72	0.76	0.59	0.72	0.68	1.00																				
7.CM13	0.72	0.76	0.58	0.69	0.70	0.95	1.00																			
8.CM16	0.71	0.76	0.58	0.74	0.77	0.76	0.77	1.00																		
9.CM9	0.57	0.58	0.53	0.61	0.57	0.58	0.57	0.60	1.00																	
10.RO3	0.69	0.76	0.51	0.74	0.67	0.72	0.72	0.72	0.62	1.00																
11.RO4	0.69	0.75	0.50	0.75	0.66	0.72	0.72	0.73	0.61	0.98	1.00															
12.RO10	0.73	0.75	0.50	0.72	0.67	0.71	0.72	0.73	0.61	0.95	0.97	1.00														
13.LO1	0.74	0.71	0.46	0.70	0.69	0.72	0.75	0.73	0.59	0.74	0.74	0.74	1.00													
14.LO2	0.70	0.72	0.55	0.66	0.70	0.65	0.64	0.72	0.55	0.68	0.68	0.69	0.69	1.00												
15.MDD2	0.73	0.77	0.52	0.74	0.71	0.75	0.76	0.74	0.64	0.75	0.74	0.74	0.77	0.71	1.00											
16.MDD3	0.68	0.74	0.57	0.73	0.71	0.73	0.71	0.71	0.61	0.68	0.69	0.71	0.68	0.63	0.72	1.00										
17.MDD6	0.70	0.72	0.52	0.69	0.70	0.74	0.72	0.72	0.55	0.70	0.70	0.70	0.72	0.68	0.72	0.73	1.00									
18.MDD9	0.74	0.77	0.50	0.72	0.76	0.72	0.71	0.76	0.65	0.74	0.72	0.77	0.76	0.73	0.77	0.73	0.75	1.00								
19.MDD10	0.69	0.75	0.58	0.71	0.71	0.70	0.71	0.73	0.60	0.71	0.70	0.70	0.65	0.67	0.70	0.75	0.74	0.73	1.00							
20.MDD11	0.67	0.70	0.52	0.67	0.69	0.65	0.66	0.72	0.56	0.65	0.63	0.63	0.64	0.66	0.69	0.70	0.68	0.72	0.72	1.00						
21.MDD15	0.69	0.76	0.53	0.71	0.71	0.73	0.73	0.74	0.59	0.72	0.72	0.72	0.69	0.67	0.77	0.72	0.76	0.75	0.73	0.71	1.00					
22.MDD20	0.62	0.69	0.50	0.70	0.66	0.64	0.64	0.67	0.54	0.64	0.64	0.66	0.61	0.61	0.69	0.69	0.63	0.68	0.66	0.66	0.70	1.00				
23.MDD22	0.73	0.75	0.55	0.73	0.72	0.71	0.71	0.72	0.66	0.71	0.71	0.72	0.71	0.64	0.73	0.75	0.73	0.75	0.74	0.67	0.77	0.69	1.00			
24.NK1	0.70	0.70	0.55	0.70	0.68	0.70	0.71	0.75	0.60	0.67	0.69	0.70	0.72	0.67	0.71	0.76	0.74	0.73	0.73	0.68	0.72	0.68	0.77	1.00		
25.NK7	0.71	0.76	0.57	0.74	0.73	0.73	0.71	0.74	0.64	0.70	0.70	0.70	0.72	0.66	0.76	0.73	0.72	0.74	0.70	0.67	0.74	0.67	0.72	0.75	1.00	
26.TT3	0.64	0.70	0.53	0.75	0.69	0.68	0.66	0.71	0.63	0.69	0.68	0.66	0.66	0.64	0.70	0.69	0.66	0.67	0.71	0.65	0.70	0.66	0.70	0.68	0.73	
27.TT7	0.74	0.76	0.55	0.74	0.76	0.75	0.74	0.78	0.61	0.72	0.72	0.73	0.73	0.72	0.75	0.74	0.74	0.77	0.75	0.70	0.77	0.67	0.76	0.77	1.00	
28.PT1	0.64	0.72	0.55	0.67	0.70	0.68	0.68	0.70	0.58	0.66	0.64	0.67	0.63	0.62	0.70	0.71	0.67	0.71	0.70	0.64	0.65	0.67	0.69	0.72	0.66	
29.PT2	0.63	0.72	0.57	0.71	0.67	0.67	0.68	0.71	0.66	0.66	0.65	0.64	0.64	0.62	0.67	0.74	0.67	0.68	0.70	0.66	0.69	0.61	0.71	0.70	0.69	
30.MV1	0.63	0.67	0.50	0.61	0.64	0.64	0.66	0.68	0.58	0.65	0.63	0.64	0.63	0.58	0.65	0.64	0.61	0.63	0.62	0.60	0.65	0.60	0.64	0.65	0.62	
31.MV3	0.58	0.63	0.49	0.60	0.60	0.58	0.58	0.63	0.61	0.61	0.60	0.62	0.58	0.58	0.63	0.61	0.58	0.61	0.60	0.54	0.58	0.58	0.63	0.62	0.59	
32.MV4	0.65	0.68	0.47	0.62	0.64	0.60	0.62	0.63	0.62	0.64	0.64	0.67	0.64	0.62	0.63	0.66	0.61	0.64	0.60	0.56	0.61	0.56	0.70	0.65	0.64	
33.MV6	0.60	0.67	0.51	0.67	0.65	0.63	0.65	0.66	0.63	0.64	0.64	0.64	0.64	0.61	0.65	0.69	0.68	0.65	0.63	0.59	0.65	0.56	0.71	0.68	0.65	

ตารางที่ 13 ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมของ Dice (Dice's Similarity coefficient) ในกล้วยไม้สกุลน้ำว้างจำนวน 51 ตัวอย่าง โดยใช้เครื่องหมาย เอเอฟแอลพี จำนวน 319 เครื่องหมาย (ต่อ)

	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
34.MVP2	0.56	0.66	0.56	0.60	0.59	0.57	0.57	0.62	0.55	0.62	0.61	0.59	0.56	0.59	0.61	0.63	0.58	0.61	0.57	0.56	0.56	0.57	0.60	0.61	0.62	0.58
35.MVP17	0.63	0.66	0.58	0.60	0.62	0.64	0.65	0.66	0.59	0.64	0.64	0.67	0.60	0.66	0.65	0.64	0.58	0.64	0.60	0.60	0.64	0.60	0.65	0.62	0.62	0.59
36.MVP19	0.60	0.66	0.54	0.60	0.65	0.63	0.64	0.64	0.57	0.62	0.61	0.60	0.61	0.63	0.61	0.64	0.60	0.60	0.61	0.58	0.62	0.56	0.64	0.65	0.64	0.60
37.MVP24	0.63	0.67	0.54	0.62	0.67	0.64	0.65	0.65	0.57	0.63	0.62	0.61	0.62	0.65	0.64	0.64	0.62	0.63	0.63	0.60	0.63	0.57	0.64	0.65	0.65	0.63
38.MVP26	0.63	0.66	0.60	0.66	0.68	0.61	0.61	0.68	0.59	0.62	0.61	0.60	0.59	0.62	0.65	0.67	0.61	0.61	0.66	0.60	0.63	0.54	0.63	0.67	0.63	0.64
39.MVP27	0.64	0.65	0.61	0.60	0.68	0.60	0.59	0.68	0.58	0.59	0.58	0.60	0.60	0.66	0.64	0.65	0.62	0.68	0.64	0.62	0.63	0.55	0.66	0.67	0.65	0.63
40.MVP42	0.60	0.62	0.55	0.58	0.64	0.61	0.60	0.65	0.57	0.57	0.57	0.57	0.61	0.65	0.60	0.61	0.62	0.64	0.60	0.59	0.61	0.58	0.62	0.65	0.62	0.63
41.MVP43	0.63	0.64	0.59	0.58	0.66	0.61	0.59	0.68	0.52	0.60	0.60	0.61	0.60	0.69	0.62	0.62	0.62	0.63	0.66	0.58	0.64	0.59	0.64	0.66	0.65	0.66
42.MDM5	0.69	0.68	0.54	0.65	0.66	0.69	0.69	0.67	0.56	0.66	0.66	0.67	0.66	0.66	0.68	0.68	0.67	0.70	0.67	0.61	0.66	0.65	0.67	0.69	0.65	0.67
43.MDM11	0.68	0.74	0.58	0.69	0.70	0.70	0.70	0.70	0.62	0.72	0.71	0.71	0.70	0.71	0.74	0.69	0.66	0.70	0.68	0.68	0.68	0.63	0.67	0.69	0.75	0.70
44.MDM14	0.63	0.67	0.55	0.64	0.63	0.62	0.62	0.67	0.62	0.63	0.64	0.64	0.64	0.67	0.69	0.64	0.62	0.62	0.65	0.59	0.65	0.64	0.61	0.66	0.66	0.70
45.MDM15	0.65	0.64	0.56	0.60	0.68	0.61	0.64	0.66	0.58	0.60	0.61	0.64	0.63	0.62	0.64	0.66	0.64	0.65	0.64	0.60	0.65	0.66	0.64	0.70	0.66	0.63
46.MDM17	0.67	0.70	0.55	0.68	0.65	0.67	0.69	0.71	0.62	0.67	0.68	0.72	0.67	0.66	0.71	0.70	0.66	0.71	0.63	0.66	0.68	0.63	0.68	0.72	0.70	0.66
47.MDM18	0.64	0.64	0.54	0.68	0.65	0.64	0.64	0.65	0.65	0.62	0.62	0.63	0.66	0.65	0.68	0.69	0.68	0.69	0.64	0.58	0.67	0.63	0.68	0.71	0.69	0.65
48.MDM19	0.63	0.66	0.53	0.61	0.67	0.63	0.65	0.65	0.58	0.60	0.61	0.65	0.61	0.64	0.64	0.66	0.64	0.65	0.62	0.58	0.64	0.65	0.64	0.69	0.66	0.63
49.MDM21	0.66	0.71	0.55	0.64	0.68	0.64	0.67	0.67	0.59	0.66	0.67	0.68	0.67	0.66	0.70	0.70	0.65	0.67	0.62	0.65	0.66	0.62	0.67	0.69	0.74	0.64
50.MDM22	0.63	0.69	0.54	0.61	0.68	0.62	0.65	0.66	0.57	0.61	0.61	0.65	0.62	0.64	0.63	0.64	0.66	0.66	0.64	0.60	0.66	0.64	0.65	0.67	0.66	0.63
51.MDM23	0.61	0.66	0.54	0.62	0.62	0.63	0.63	0.68	0.58	0.65	0.64	0.64	0.65	0.64	0.70	0.63	0.64	0.69	0.69	0.61	0.66	0.57	0.70	0.70	0.67	0.64

ตารางที่ 13 ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมของ Dice (Dice's Similarity coefficient) ในกล้วยไม้สกุลมาวี่จำนวน 51 ตัวอย่าง โดยใช้เครื่องหมาย
เอเฟอแอลพี จำนวน 319 เครื่องหมาย (ต่อ)

	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51
26.TT3	1.00																									
27.TT7		1.00																								
28.PT1			1.00																							
29.PT2				1.00																						
30.MV1					1.00																					
31.MV3						1.00																				
32.MV4							1.00																			
33.MV6								1.00																		
34.MVP2									1.00																	
35.MVP17										1.00																
36.MVP19											1.00															
37.MVP24												1.00														
38.MVP26													1.00													
39.MVP27														1.00												
40.MVP42															1.00											
41.MVP43																1.00										
42.MDM5																	1.00									
43.MDM11																		1.00								
44.MDM14																			1.00							
45.MDM15																				1.00						
46.MDM17																					1.00					
47.MDM18																						1.00				
48.MDM19																							1.00			
49.MDM21																								1.00		
50.MDM22																									1.00	
51.MDM23																										1.00

การจัดกลุ่มทางพันธุกรรม (Cluster analysis)

การจัดกลุ่มทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลม้าวิง จำนวน 51 สายต้น ได้มาจากค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรม (Genetic similarity coefficient) นำมาจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยวิธี unweighted pair group method on the basis of arithmetic averages (UPGMA) (Sneath and Sokal, 1973) ผลการจัดกลุ่มของกล้วยไม้สกุลม้าวิง พบว่าสามารถจัดกลุ่มทางพันธุกรรมของกล้วยไม้ม้าวิง ได้เป็น 4 กลุ่มใหญ่ โดยสามารถแยกความแตกต่างระหว่างกลุ่มของกล้วยไม้ม้าวิง และแดงอุบลได้อย่างชัดเจน ที่ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรม 0.70 (ภาพที่ 20) โดยมีรายละเอียดดังนี้

กลุ่มที่ 1 (Cluster I) เป็นกลุ่มของกล้วยไม้ม้าวิงทั้งหมด จำนวน 8 สายต้น ซึ่งได้รวบรวมจาก อ. โพธิ์ไทร จ. อุบลราชธานี ได้แก่ สายต้น MVP2, MVP17, MVP19, MVP24, MVP26, MVP27, MVP42 และสายต้น MVP43 โดยสายต้น MVP26 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมากที่สุดกับสายต้น MVP43 โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.82 รองลงมาคือสายต้น MVP24 กับสายต้น MVP19 มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.76 และสายต้น MVP27 กับสายต้น MVP17 มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมน้อยที่สุดภายในกลุ่มเท่ากับ 0.59

กลุ่มที่ 2 (Cluster II) เป็นกลุ่มของกล้วยไม้ม้าวิงทั้งหมด จำนวน 5 สายต้น ได้แก่ สายต้น PT2, MV1, MV3, MV4 และสายต้น MV6 โดยสายต้น PT2 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมากที่สุดกับสายต้น MV6 และสายต้น MV4 โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.82 และ 0.71 ตามลำดับ และสายต้น PT2 มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมน้อยที่สุดกับสายต้น MV3 เท่ากับ 0.59

กลุ่มที่ 3 (Cluster III) เป็นกลุ่มของกล้วยไม้ม้าวิงทั้งหมด จำนวน 10 สายต้น ที่รวบรวมมาจากจังหวัดมุกดาหารทั้งหมด ได้แก่สายต้น MDM5, MDM11, MDM14, MDM15, MDM17, MDM19, MDM21, MDM22, MDM23 และสายต้น MDM18 โดยสายต้น MDM14 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมากที่สุดกับสายต้น MDM15 โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.78 รองลงมาคือสายต้น MDM5 กับสายต้น MDM11 มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.78 และสายต้น MDM19 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมน้อยที่สุดกับสายต้น MDM11 และสายต้น MDM18 โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.53

นอกจากนี้แล้วยังมีกล้วยไม้สกุลม้าวิง จำนวน 4 สายต้น ที่จัดอยู่ระหว่างกลุ่มของกล้วยไม้แดงอุบลและกล้วยไม้ม้าวิง ได้แก่ สายต้น LO2, PT1, MDD11 และสายต้น MDD20 ซึ่งพบว่า ทั้ง 4 สายต้นนี้เป็นกล้วยไม้ม้าวิง ซึ่งพิจารณาร่วมกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยสายต้น LO2 และ PT1 จะมีลักษณะดอกกลุ่ม ขนาดดอกเล็ก สีขาว และสายต้น MDD11 และ MDD20 ขณะที่ต้นยังเล็กจัดอยู่ในกลุ่มของกล้วยไม้แดงอุบล แต่จากการจัดกลุ่มโดยใช้ความใกล้ชิดทางพันธุกรรม พบว่า จัดอยู่ใน

กลุ่มของกล้วยไม้ม้าวีง ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยดูได้จากเมื่อต้นมีการเจริญเติบโตเต็มที่ (แต่ยังไม่ออกดอก) พบว่า ลักษณะใบจะเรียวยาวเล็ก มีจุดสีน้ำตาลทั้งใบ ซึ่งการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ร่วมกับการใช้เครื่องหมายเอเอฟแอลพี สามารถระบุได้ว่าทั้ง 4 สายต้นนี้เป็นกล้วยไม้ม้าวีงอย่างชัดเจน

กลุ่มที่ 4 (Cluster VI) กลุ่มใหญ่นี้เป็น กลุ่มของกล้วยไม้แดงอุบลทั้งหมด ประกอบด้วยสมาชิกจำนวน 21 สายต้นประกอบด้วย 3 กลุ่มย่อย ดังนี้

กลุ่มย่อยที่ 1 (Sub cluster I) ประกอบด้วยกล้วยไม้แดงอุบล 2 สายต้น ได้แก่สายต้น CM1 และสายต้น TT3 ซึ่งมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.75

กลุ่มย่อยที่ 2 (Sub cluster II) ประกอบด้วยกล้วยไม้แดงอุบล จำนวน 6 สายต้น ได้แก่ สายต้น MDD3, NK1, MDD6, MDD15, MDD22 และสายต้น MDD10 โดยสายต้น MDD15 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมากที่สุดกับสายต้น MDD22 โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.77 และมีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมน้อยที่สุดกับสายต้น NK1 โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.72

กลุ่มย่อยที่ 3 (Sub cluster III) ประกอบด้วยกล้วยไม้แดงอุบล จำนวน 9 สายต้น ได้แก่ สายต้น DB8, MDD2, MDD9, NK7, CM8, CM16, TT7, CM11 และสายต้น CM13 โดยสายต้น CM11 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมากที่สุดกับสายต้น CM13 โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.95 ส่วนสายต้น CM8 กับสายต้น CM11 มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมน้อยที่สุดภายในกลุ่มเท่ากับ 0.68

กลุ่มย่อยที่ 4 (Sub cluster VI) ประกอบด้วยกล้วยไม้แดงอุบล จำนวน 5 สายต้น ได้แก่ สายต้น RO3, RO4, RO10, LO1, และสายต้น DB6 เป็นต้น โดยสายต้น RO3 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมากที่สุดกับสายต้น RO4 โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.98 รองลงมาคือสายต้น RO4 กับสายต้น RO10 มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.97 และสายต้น RO3 กับสายต้น DB6 ซึ่งมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมน้อยที่สุดภายในกลุ่มเท่ากับ 0.69

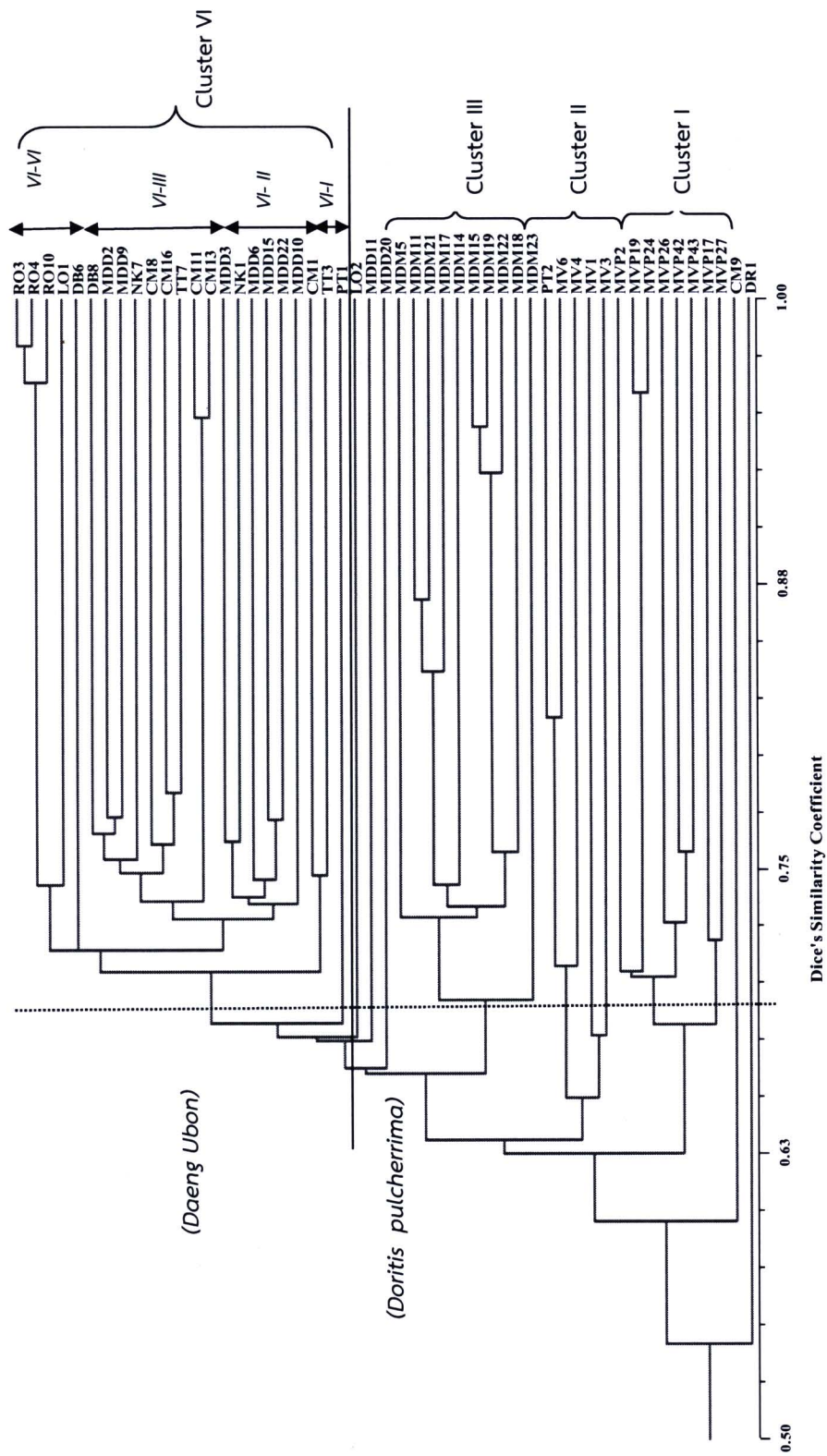
นอกจากนี้ยังมีกล้วยไม้จำนวน 2 สายต้นคือ CM9 ที่แยกออกจากกลุ่มโดยไม่สามารถจัดเข้ากลุ่มใดได้เลย โดยสายต้นนี้มีลักษณะใบกลม คล้ายลักษณะใบของกล้วยไม้แดงอุบล แต่ขนาดเล็ก และสั้นกว่า กลีบดอกจะลู่ สีขาว ซึ่งเป็นลักษณะประจำพันธุ์ของกล้วยไม้ม้าวีง และกล้วยไม้ม้าบินคือ DR1 (*Doritis pulcherrima* var. *chumpornensis*) ที่เป็นกล้วยไม้สกุลม้าวีงสายพันธุ์หนึ่งที่มีแหล่งการกระจายพันธุ์อยู่ทางภาคใต้ของประเทศไทย พบมากบริเวณจังหวัดชุมพร เนื่องจากกล้วยไม้ม้าบินเป็นคนละชนิดกัน ที่มีพันธุกรรมที่แตกต่างกันจึงไม่สามารถจัดเข้ากลุ่มใดได้



จากผลการจัดกลุ่มความเหมือนทางพันธุกรรมด้วยวิธี UPGMA โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมของ Dice ที่ได้จากเครื่องหมายเอเอฟแอลพี จำนวน 319 เครื่องหมาย ให้ผลการจัดกลุ่มกล้วยไม้ม้าวัง และกล้วยไม้แดงอุบลได้อย่างชัดเจน และผลของการจัดกลุ่มทางพันธุกรรมสอดคล้องกับการจำแนกโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้ดังกล่าวโดยกล้วยไม้ม้าวังจะมีลักษณะดอกคู่ ดอกจะมีขนาดเล็ก ลักษณะของใบมีทั้งใบเรียวยาว ใบเรียวเล็ก ใบกลมยาว ใบกลมสั้น จุดและขอบใบสีเขียว สีน้ำตาล ตลอดจนสีเขียวทั้งใบ สีสกลีบดอกมีตั้งแต่สีขาวไปจนถึงสีม่วงเข้ม สีปากดอก จะมีสีเหมือนกลีบดอก สีอ่อนกว่ากลีบดอก สีเข้มกว่ากลีบดอก มีสีเหลือง เหลืองส้ม ชมพูอ่อนและสีม่วง สีก้านดอก จะมีทั้งสีเขียว และสีเขียวเหลือง

ส่วนกล้วยไม้แดงอุบลจะมีลักษณะดอกเดี่ยว ขนาดดอกใหญ่กว่ากล้วยไม้ม้าวัง ลักษณะใบใหญ่มีทั้งใบเรียวยาว ใบเขียวกลมสั้น ใบเขียวขอบน้ำตาลแดง ใบเขียวจุดน้ำตาลกว้างกลม ใบเขียวจุดน้ำตาลเรียวยาว ใบแดงยาว สีสกลีบดอกมีตั้งแต่สีชมพูอ่อน – ม่วงเข้ม สีปากดอก จะมีสีเหมือนกลีบดอก สีอ่อนกว่ากลีบดอก สีเข้มกว่ากลีบดอก สี Sidelobe บนปากมีสีเหลือง เหลืองส้ม ชมพูอ่อน ม่วง สีก้านดอก จะมีทั้งสีเขียว และสีเขียวเหลือง

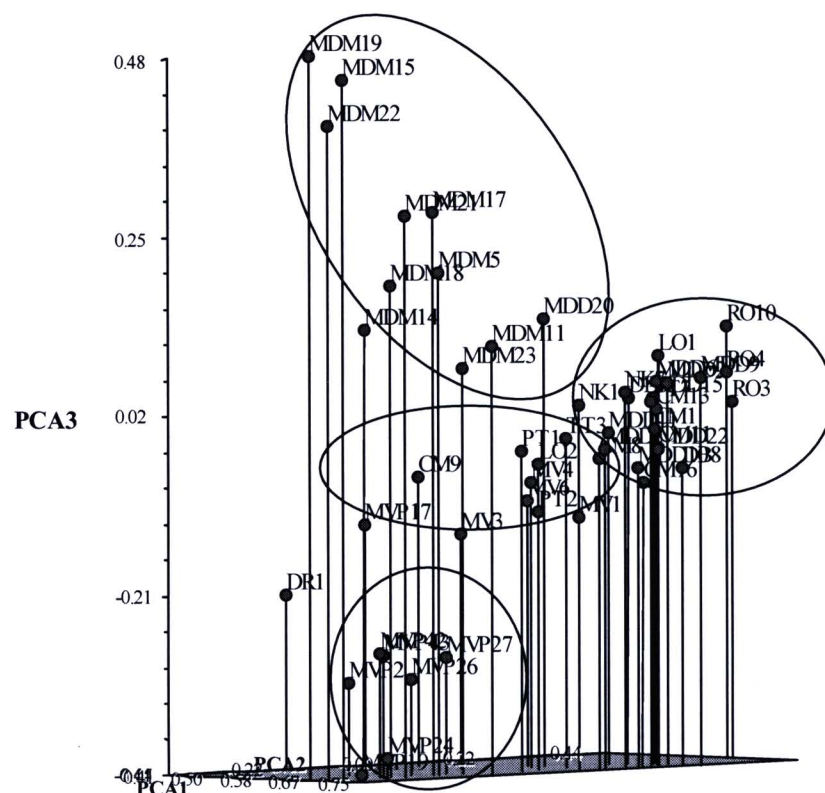
ค่าความน่าเชื่อถือของการจัดกลุ่มทางพันธุกรรม สามารถประเมินได้จากค่าค่า cophenetic correlation coefficient ซึ่งเป็นค่าที่ได้จากผลคูณระหว่าง similarity matrix ของการจัดกลุ่ม และค่า cophenetic value matrix ถ้าค่า cophenetic correlation coefficient น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.7 ถือว่าการจัดกลุ่มไม่ดี ค่าอยู่ระหว่าง 0.7-0.8 ถือว่าเป็นการจัดกลุ่มได้ปานกลาง ค่าอยู่ระหว่าง 0.8-0.9 ถือว่าเป็นการจัดกลุ่มที่ดี และค่าอยู่ระหว่าง 0.9-1.0 ถือว่าเป็นการจัดกลุ่มที่ดีมาก ค่า cophenetic correlation coefficient (r) ของกล้วยไม้สกุลม้าวังที่ศึกษานี้มีค่าเท่ากับ 0.86 แสดงว่าการจัดกลุ่มความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลม้าวังโดยใช้เครื่องหมายเอเอฟแอลพีมีเป็นการจัดกลุ่มที่ดี และมีความน่าเชื่อถือสูง



ภาพที่ 20 Dendrogram แสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลกล้วยไม้จำนวน 51 สายต้นด้วยวิธี UPGMA โดยใช้เครื่องหมายเอพแอลพี จำนวน 319 เครื่องหมาย

การวิเคราะห์ปัจจัยหลัก (Principal component analysis: PCA)

การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลม้าวังโดยการวิเคราะห์ปัจจัยหลัก (PCA) ที่มีองค์ประกอบหลักที่ 1, 2 และ 3 ครอบคลุมความแปรปรวน 43.54 เปอร์เซ็นต์ 5.52 เปอร์เซ็นต์ และ 3.75 เปอร์เซ็นต์ ของความแปรปรวนทั้งหมดตามลำดับ ค่าผลรวมของปัจจัยหลักสามพารามิเตอร์แรกสามารถอธิบายความผันแปรทั้งหมดของการประเมินความเหมือนทางพันธุกรรมได้ 52.82 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการจัดกลุ่มโดยวิธี PCA ให้ผลสอดคล้องกับการจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA cluster analysis และจัดกลุ่มโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 21)



ภาพที่ 21 การจัดกลุ่มทางพันธุกรรมโดยการวิเคราะห์ปัจจัยหลัก (PCA) ของเชื้อพันธุกรรมกล้วยไม้สกุลมารีจจำนวน 51 ตัวอย่าง โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลเอเอฟแอลพี จำนวน 319 เครื่องหมาย

5. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเทคนิคอาร์เอพีดี และเทคนิคเอเอฟแอลพี ในการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลม้าวิง

5.1 เชื้อพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลม้าวิง

นำเชื้อพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลม้าวิง จำนวน 32 สายต้น ที่รวบรวมมาจาก 3 จังหวัด (จังหวัดร้อยเอ็ด, จังหวัดอุบลราชธานี และจังหวัดมุกดาหาร) ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มาใช้ในการศึกษาการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเครื่องหมายอาร์เอพีดีและเอเอฟแอลพี ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลม้าวิง (ตารางที่ 14 และตารางที่ 3)

5.2 การสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลม้าวิง

5.2.1 ลายพิมพ์อาร์เอพีดี (RAPD fingerprint)

สร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอในเชื้อพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลม้าวิงจำนวน 32 สายต้น โดยใช้ไพรเมอร์อาร์เอพีดีจำนวน 21 ไพรเมอร์ พบว่า ได้เครื่องหมายอาร์เอพีดีที่แสดงความแตกต่าง (polymorphism) ระหว่างสายต้นที่ศึกษาทั้งหมด จำนวน 165 เครื่องหมาย ไพรเมอร์อาร์เอพีดีที่ใช้สามารถให้เครื่องหมายโมเลกุลหรือแสดงแถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างสายต้น มีจำนวนตั้งแต่ 2 ถึง 15 เครื่องหมาย โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 8.25 เครื่องหมายต่อไพรเมอร์ โดยไพรเมอร์ OPD20 ให้จำนวนเครื่องหมายอาร์เอพีดีสูงสุด คือ 15 เครื่องหมาย และไพรเมอร์ OPA03 ให้จำนวนเครื่องหมายอาร์เอพีดีน้อยสุดคือจำนวน 2 เครื่องหมาย แถบดีเอ็นเอที่ได้ (fragment size) มีขนาดตั้งแต่ 400 ถึง 3000 คู่เบส (ตารางที่ 15)

5.2.2 ลายพิมพ์เอเอฟแอลพี (AFLP fingerprint)

สร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิคเอเอฟแอลพีในเชื้อพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลม้าวิงจำนวน 32 สายต้น โดยใช้ไพรเมอร์เอเอฟแอลพีจำนวน 12 คู่ไพรเมอร์ พบว่า ได้เครื่องหมายเอเอฟแอลพีที่แสดงความแตกต่างของตัวอย่าง จำนวน 299 เครื่องหมาย คู่ไพรเมอร์เอเอฟแอลพีสามารถใช้แสดงแถบดีเอ็นเอที่แตกต่าง มีจำนวนค่าตั้งแต่ 17 ถึง 40 เครื่องหมาย โดยมีค่าเฉลี่ย 24 เครื่องหมายต่อคู่ไพรเมอร์โดยคู่ไพรเมอร์ E-AAG/M-CAG ให้จำนวนเครื่องหมายสูงสุดคือ 40 เครื่องหมาย และคู่ไพรเมอร์ E-ACA/M-CAA ให้จำนวนเครื่องหมายน้อยสุดคือ 17 เครื่องหมาย แถบดีเอ็นเอ (fragment size) ที่ได้มีขนาดตั้งแต่ 200 -1000 bp (ตารางที่ 16)

ตารางที่ 14 แสดงรายชื่อกล้วยไม้สกุลม้าวิงที่ใช้ในการเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างเทคนิค อาร์เอฟดี และเทคนิคเอเอฟแอลพี

1	รหัสพันธุ์	ชื่อพันธุ์	ลำดับ	รหัสพันธุ์	ชื่อพันธุ์
1	RO4	แดงอุบล	17	MDD22	แดงอุบล
2	RO10	แดงอุบล	18	CM9	ม้าวิง
3	NK7	แดงอุบล	19	MV4	ม้าวิง
4	CM8	แดงอุบล	20	MVP2	ม้าวิง
5	CM11	แดงอุบล	21	MVP19	ม้าวิง
6	CM13	แดงอุบล	22	MVP24	ม้าวิง
7	CM16	แดงอุบล	23	MVP26	ม้าวิง
8	DB6	แดงอุบล	24	MVP27	ม้าวิง
9	DB8	แดงอุบล	25	MVP42	ม้าวิง
10	MDD2	แดงอุบล	26	PT1	ม้าวิง
11	MDD3	แดงอุบล	27	PT2	ม้าวิง
12	MDD6	แดงอุบล	28	MDM14	ม้าวิง
13	MDD10	แดงอุบล	29	MDM15	ม้าวิง
14	MDD11	แดงอุบล	30	MDM18	ม้าวิง
15	MDD15	แดงอุบล	31	MDM21	ม้าวิง
16	MDD20	แดงอุบล	32	MDM22	ม้าวิง

ตารางที่ 15 แสดงลำดับเบสของไพรเมอร์อาร์เอพีดี เปอร์เซ็นต์ GC content จำนวนแถบดีเอ็นเอที่แสดงถึงความแตกต่างของ (polymorphic bands) และขนาดของแถบดีเอ็นเอ (fragment length-bp)

ลำดับ	Primer	Nucleotide sequence (5'- 3')	% GC content	Polymorphi c bands	Fragment length (bp)
1	OPA01	CAGGCCCTTC	70	11	800-3000
2	OPA02	TGCCGAGCTG	70	6	600-1500
3	OPA03	AGTCAGCCAC	60	2	750-800
4	OPA12	TCGGCGATAG	60	6	650-1300
5	OPA16	AGCCAGCGAA	60	10	800-1800
6	OPA20	GTTGCGATCC	60	6	600-1500
7	OPB01	GTTTCGCTCC	60	11	600-4000
8	OPB15	GGAGGGTGTT	60	6	1000-1600
9	OPB20	GGACCCTTAC	60	8	600-1500
10	OPC02	GTGAGGCGTC	70	7	500-2000
11	OPC05	GATGACCGCC	70	9	700-2100
12	OPC15	GACGGATCAG	60	9	900-2500
13	OPC19	GTTGCCAGCC	70	7	900-1500
14	OPC20	ACTTCGCCAC	60	6	400-1000
15	OPD11	AGCGCCATTG	60	6	500-1200
16	OPD20	ACCCGGTCAC	70	15	600-2500
17	OPF06	GGAATTCCC	60	11	500-2500
18	OPF14	TGCTGCAGGT	60	10	500-1500
19	OPR04	CCCGTAGCAC	70	7	700-1300
20	OPR15	GGACAACGAG	60	5	550-1300
21	OPU18	GAGGTCCACA	60	7	500-1500
Total				165	

ตารางที่ 16 จำนวนแถบดีเอ็นเอที่ได้จากกล้วยไม้สกุลม้าวิงจำนวน 32 สายต้นจาก AFLP fingerprints และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่แสดงความแตกต่าง (polymorphic band)

Selective nucleotides		number of band		Polymorphic bands (%)
<i>EcoRI</i>	<i>MseI</i>	Total	Polymorphic	
AAC	CTC	64	20	6.69
AAG	CAG	70	38	12.71
	CTT	67	18	6.02
	CTC	80	33	11.04
	CTA	67	28	9.36
	CAC	75	25	8.36
ACA	CAA	72	17	5.69
	CAG	78	21	7.02
ACC	CTA	61	22	7.36
	CTG	60	26	8.70
ACG	CAA	56	27	9.03
	CTC	60	24	8.03
Total		810	299	100.00
Mean		67.5	24.92	8.33

5.2.3 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างเทคนิคอาร์เอพีดี และเทคนิคเอเอฟแอลพี ในการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลม้าวิง

จากการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลม้าวิง จำนวน 32 สายต้นโดยใช้ เทคนิคอาร์เอพีดี และเอเอฟแอลพี พบว่า จากปฏิกิริยาอาร์เอพีดี จำนวน 22 assays สามารถเพิ่ม ปริมาณดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลม้าวิงได้ 272 ตำแหน่ง โดยมีจำนวน polymorphic marker จำนวน 165 เครื่องหมาย คิดเป็นค่าเฉลี่ยของจำนวน polymorphic marker เท่ากับ 7.5 เครื่องหมาย ต่อไพรเมอร์ (ตารางที่ 17) ในขณะที่การใช้เทคนิคเอเอฟแอลพี สร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ในกล้วยไม้สกุลม้าวิง จำนวน 32 สายต้นนั้น พบว่า จากปฏิกิริยาเอเอฟแอล จำนวน 12 assays สามารถสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอได้จำนวน polymorphic marker สูงถึง 299 เครื่องหมาย คิดเป็น ค่าเฉลี่ยของจำนวน polymorphic marker สูงถึง 26.58 เครื่องหมายต่อคู่ไพรเมอร์ ซึ่งสูงกว่า จำนวนเครื่องหมายอาร์เอพีดีถึง 3.5 เท่า และเมื่อพิจารณาค่า effective multiplex ratio ซึ่งเป็น

ค่าที่บ่งบอกถึงจำนวนของ polymorphic marker ที่ได้ในหนึ่งปฏิกิริยา และค่า Marker index ซึ่งเป็นค่าของผลคูณระหว่างค่า effective multiplex ratio และค่า heterozygosity ของเครื่องหมายเอเอฟแอลพี มีค่าเท่ากับ 26.58 และ 7.44 ตามลำดับ พบว่า ค่า effective multiplex ratio และค่า marker index ของเครื่องหมายเอเอฟแอลพีสูงกว่าเครื่องหมายอาร์เอพีดี ซึ่งมีค่าเท่ากับ 7.5 และ 2.55 ตามลำดับ คิดเป็น 3.5 เท่า และ 2.9 เท่าตามลำดับ ดังนั้นเครื่องหมายเอเอฟแอลพีจึงมีความเหมาะสมในการนำมาสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอ เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ตารางที่ 17 แสดงการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเครื่องหมายอาร์เอพีดี และเครื่องหมายเอเอฟแอลพีในการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอในกล้วยไม้สกุลม้าวัง 32 สายต้น

Characters	RAPD	AFLP
Number of assays unit	22	12
Number of polymorphic bands	165	299
Number of monomorphic bands	107	511
Average number of polymorphic bands per assay unit	7.5	26.58
Number of loci	272	810
Number of loci per assay unit	12.7	67.5
Expected heterozygosity of the polymorphic loci ^a	0.34	0.28
Fraction of polymorphic loci	0.61	0.37
Effective multiplex ratio ^b	7.5	26.58
Marker index ^c	2.55	7.44

หมายเหตุ ^a Expected heterozygosity of the polymorphic loci ($1 - \sum_{i=1}^k p_i^2$)
^b Effective multiplex ratio หมายถึง จำนวนของ polymorphic marker ต่อ ผลบวกของจำนวนของ polymorphic bands และจำนวน monomorphic bands หรือ หมายถึง จำนวนของ polymorphic marker ที่ได้ในหนึ่งปฏิกิริยา
^c ค่า Marker index หมายถึง ค่าของผลคูณระหว่างค่า Effective multiplex ratio และค่า Heterozygosity

5.3 การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลม้าวิง (*Genetic diversity analysis of Doritis germplasm*)

5.3.1 การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลม้าวิงโดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี (*Genetic diversity of Doritis using RAPD marker*)

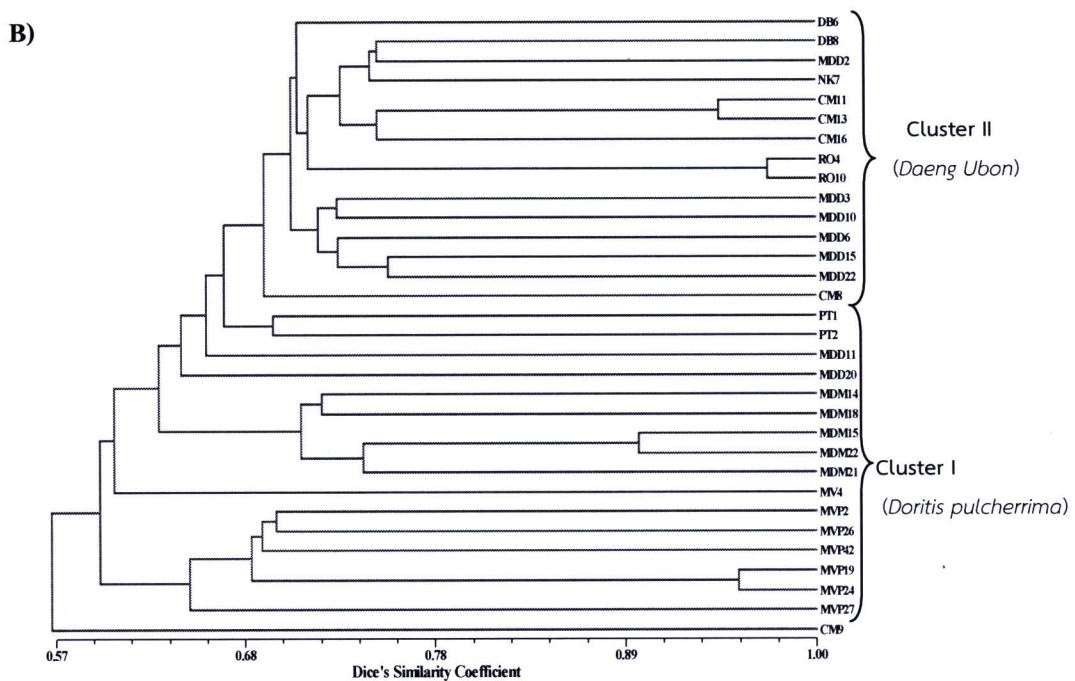
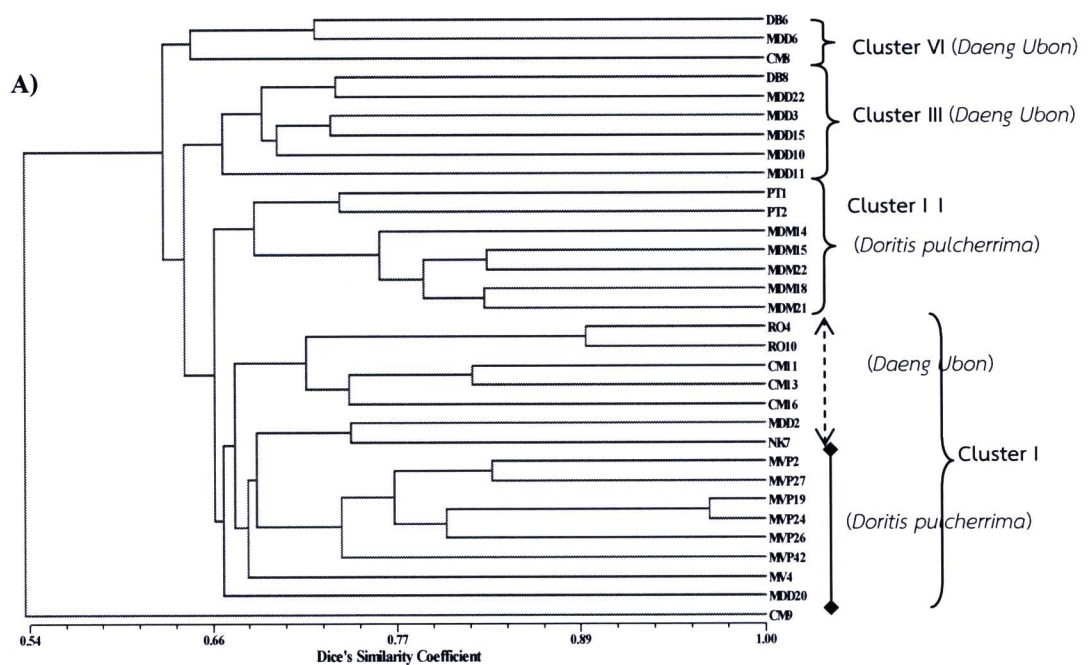
จากข้อมูล binary data ของลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลม้าวิง จำนวน 32 สายต้น โดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี จำนวน 165 เครื่องหมาย นำมาวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมด้วยวิธีของ Dice (Dice's Similarity coefficient) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ NTSYS-pc version 2.2 พบว่า ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมมีค่าตั้งแต่ 0.47 ถึง 0.97 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.69 (ตารางที่ 18) โดยสายต้น MVP19 มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมมากที่สุดกับสายต้น MVP24 (0.97) ซึ่งทั้งสองสายต้นนี้เป็นกล้วยไม้ม้าวิงที่รวบรวมมาจากสถานที่เดียวกัน คือ อ.โพธิ์ไทร จ.อุบลราชธานี ส่วนสายต้น CM9 ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมต่ำสุดกับสายต้น MDD20 และสายต้น CM19 (0.47) จากการนำค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมมาจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม โดยวิธี UPGMA (cluster analysis) พบว่า สามารถจัดกลุ่มได้เป็นสี่กลุ่ม ซึ่งแยกกลุ่มกล้วยไม้แดงอุบล และกลุ่มกล้วยไม้ม้าวิงได้อย่างชัดเจน ซึ่งผลการจัดกลุ่มนี้สอดคล้องกับการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาในการจำแนกความแตกต่างของกล้วยไม้ม้าวิงและกล้วยไม้แดงอุบล (ภาพที่ 22 A) เมื่อวิเคราะห์ค่า cophenetic correlation coefficient ของการจัดกลุ่มกล้วยไม้สกุลม้าวิง โดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี จำนวน 165 เครื่องหมาย พบว่าค่าเท่ากับ 0.76 บ่งชี้ได้ว่าการจัดกลุ่มทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลม้าวิงโดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดีนี้ มีความน่าเชื่อถือปานกลาง

ตารางที่ 18 ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนของ Dice ของกลายไม้สกุลมัววี่จำนวน 32 สายต้น ที่ได้จากเครื่องหมายอาร์เอพีดี จำนวน 165 เครื่องหมาย

	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	27	28	29	30	31	32
1.D86	1.00																															
2.D88	0.65	1.00																														
3.PT1	0.58	0.67	1.00																													
4.PT2	0.65	0.63	0.73	1.00																												
5.RO4	0.66	0.73	0.66	0.67	1.00																											
6.RO10	0.67	0.65	0.65	0.68	0.69	1.00																										
7.MDD2	0.63	0.70	0.63	0.62	0.70	0.61	1.00																									
8.MDD3	0.61	0.72	0.54	0.64	0.69	0.62	0.70	1.00																								
9.MDD6	0.72	0.72	0.65	0.63	0.69	0.59	0.71	0.66	1.00																							
10.MDD10	0.64	0.68	0.58	0.54	0.64	0.69	0.71	0.69	0.63	1.00																						
11.MDD11	0.53	0.65	0.56	0.60	0.62	0.63	0.62	0.69	0.64	0.67	1.00																					
12.MDD15	0.58	0.68	0.61	0.67	0.69	0.67	0.70	0.73	0.66	0.71	0.68	1.00																				
13.MDD20	0.58	0.59	0.61	0.61	0.70	0.64	0.66	0.63	0.64	0.61	0.61	0.70	1.00																			
14.MDD22	0.63	0.73	0.63	0.68	0.69	0.63	0.67	0.69	0.65	0.67	0.63	0.69	0.64	1.00																		
15.NK7	0.61	0.69	0.64	0.67	0.71	0.63	0.74	0.64	0.65	0.63	0.53	0.64	0.62	0.65	1.00																	
16.MV4	0.68	0.64	0.63	0.62	0.62	0.61	0.66	0.60	0.67	0.60	0.53	0.69	0.63	0.64	0.67	1.00																
17.MVP2	0.64	0.71	0.70	0.66	0.71	0.69	0.70	0.63	0.63	0.63	0.54	0.67	0.69	0.75	0.67	0.70	1.00															
18.MVP19	0.62	0.67	0.69	0.66	0.70	0.63	0.73	0.66	0.64	0.61	0.51	0.72	0.66	0.70	0.65	0.69	0.81	1.00														
19.MVP24	0.61	0.66	0.70	0.66	0.69	0.63	0.70	0.64	0.62	0.59	0.50	0.68	0.66	0.68	0.64	0.69	0.79	0.97	1.00													
20.MVP26	0.56	0.62	0.71	0.63	0.67	0.65	0.64	0.60	0.63	0.63	0.52	0.62	0.68	0.65	0.65	0.67	0.76	0.80	0.80	1.00												
21.MVP27	0.60	0.64	0.66	0.66	0.71	0.68	0.69	0.61	0.55	0.62	0.55	0.65	0.68	0.73	0.67	0.67	0.83	0.77	0.77	0.72	1.00											
22.MVP42	0.59	0.70	0.70	0.65	0.66	0.58	0.72	0.65	0.64	0.63	0.58	0.66	0.69	0.67	0.73	0.67	0.76	0.73	0.72	0.73	0.74	1.00										
23.MDM14	0.61	0.64	0.63	0.68	0.56	0.56	0.59	0.54	0.63	0.57	0.56	0.53	0.55	0.70	0.63	0.59	0.69	0.58	0.57	0.61	0.64	0.69	1.00									
24.MDM15	0.65	0.70	0.69	0.64	0.68	0.68	0.69	0.66	0.65	0.66	0.65	0.68	0.63	0.69	0.61	0.64	0.73	0.67	0.64	0.66	0.72	0.69	0.77	1.00								
25.MDM18	0.62	0.67	0.73	0.69	0.60	0.59	0.68	0.62	0.61	0.64	0.58	0.69	0.58	0.65	0.64	0.66	0.70	0.67	0.67	0.65	0.67	0.69	0.72	0.76	1.00							
26.MDM21	0.65	0.71	0.72	0.70	0.63	0.60	0.69	0.61	0.65	0.64	0.62	0.71	0.65	0.69	0.67	0.72	0.74	0.70	0.69	0.69	0.75	0.75	0.79	0.80	0.83	1.00						
27.MDM22	0.58	0.70	0.71	0.64	0.61	0.61	0.66	0.60	0.61	0.61	0.55	0.64	0.63	0.68	0.66	0.67	0.69	0.65	0.63	0.70	0.69	0.70	0.76	0.83	0.77	0.81	1.00					
28.CM8	0.64	0.57	0.51	0.59	0.66	0.66	0.66	0.63	0.64	0.60	0.55	0.66	0.62	0.58	0.64	0.63	0.62	0.62	0.60	0.57	0.65	0.62	0.55	0.61	0.61	0.64	0.53	1.00				
29.CM11	0.66	0.65	0.67	0.67	0.76	0.74	0.69	0.62	0.70	0.65	0.59	0.67	0.68	0.63	0.68	0.66	0.72	0.70	0.68	0.70	0.69	0.64	0.61	0.70	0.60	0.65	0.64	0.59	1.00			
30.CM13	0.68	0.69	0.67	0.68	0.72	0.71	0.65	0.63	0.71	0.61	0.56	0.64	0.62	0.69	0.67	0.64	0.71	0.66	0.65	0.67	0.65	0.62	0.68	0.73	0.63	0.69	0.68	0.59	0.82	1.00		
31.CM16	0.62	0.70	0.61	0.68	0.72	0.64	0.70	0.64	0.65	0.58	0.56	0.70	0.65	0.66	0.71	0.69	0.68	0.70	0.69	0.64	0.65	0.69	0.63	0.66	0.67	0.72	0.61	0.63	0.76	0.72	1.00	
32.CM9	0.53	0.55	0.50	0.51	0.52	0.51	0.61	0.53	0.56	0.52	0.50	0.59	0.47	0.52	0.59	0.63	0.53	0.56	0.53	0.52	0.54	0.61	0.49	0.55	0.57	0.55	0.51	0.58	0.47	0.49	0.50	1.00

5.3.2 การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลม้าวิงโดยใช้เครื่องหมายเอเอฟแอลพี (Genetic diversity of Doritis using AFLP marker)

จากข้อมูล binary data ของสายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลม้าวิง จำนวน 32 สายต้น โดยใช้เครื่องหมายเอเอฟแอลพี จำนวน 299 เครื่องหมาย นำมาวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมด้วยวิธีของ Dice (Dice's Similarity coefficient) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ NTSYS-pc version 2.2 พบว่า ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมที่ได้อยู่ระหว่าง 0.51 ถึง 0.97 คิดเป็นค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.68 (ตารางที่ 19) โดยสายต้นที่มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมากที่สุดคือ สายต้น RO3 และสายต้น RO10 (0.97) ซึ่งเป็นกล้วยไม้แดงอุบลที่รวบรวมมาจากแหล่งเดียวกัน คือชื่อจากชาวบ้าน จ. ร้อยเอ็ด และสายต้นที่มีความใกล้ชิดกันน้อยที่สุด คือ สายต้น CM9 กับสายต้น MDD20 เมื่อนำข้อมูลค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมมาจัดกลุ่มทางพันธุกรรม โดยวิธี UPGMA พบว่า สามารถจัดกลุ่มของกล้วยไม้แดงอุบล แยกออกจากกล้วยไม้ม้าวิงได้ชัดเจน ผลการจัดกลุ่มโดยวิธี UPGMA cluster analysis สอดคล้องกับการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาในการจำแนกความแตกต่าง (ภาพที่ 22 B) เมื่อวิเคราะห์ค่า cophenetic correlation coefficient พบว่า มีค่าเท่ากับ 0.88 บ่งชี้ได้ว่า การจัดกลุ่มทางพันธุกรรมโดยใช้เครื่องหมายเอเอฟแอลพี จำนวน 299 เครื่องหมาย เป็นการจัดกลุ่มที่ดี มีความน่าเชื่อถือสูง



ภาพที่ 22 Dendrogram แสดงการจัดกลุ่มทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลม้าวิงจำนวน 32 สายต้น โดยวิธี UPGMA cluster analysis A): การจัดกลุ่มโดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดีจำนวน 165 เครื่องหมาย B) การจัดกลุ่มโดยใช้เครื่องหมายเอเอฟแอลพีจำนวน 299 เครื่องหมาย

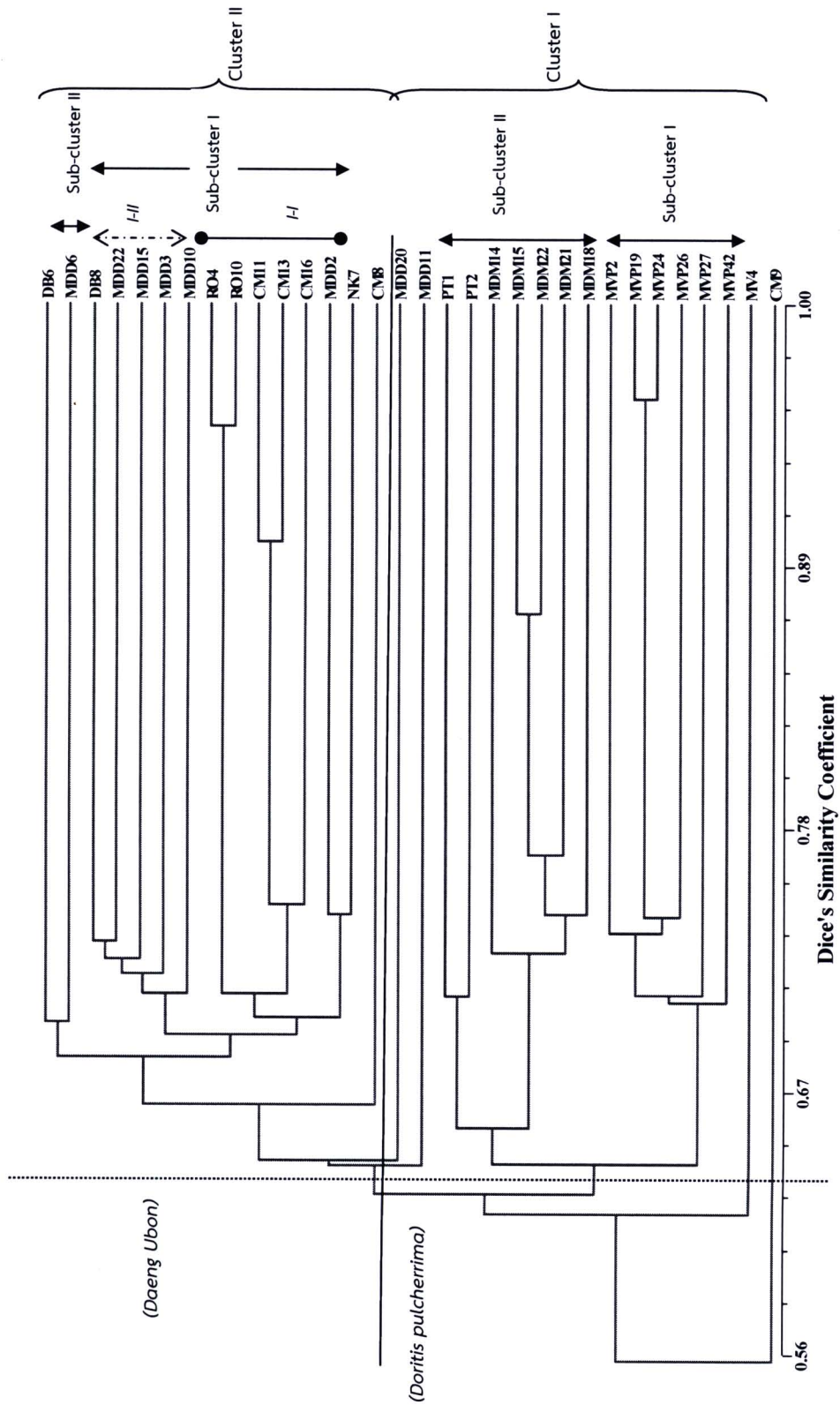
5.3.3 การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลม้าวิงโดยใช้
เครื่องหมายอาร์เอพีดี และเอเอฟแอลพี (Genetic diversity analysis of *Doritis* germplasm
using RAPD and AFLP markers)

จากข้อมูลสายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลม้าวิง จำนวน 32 สายต้น โดยใช้
เครื่องหมายอาร์เอพีดี จำนวน 165 เครื่องหมาย และเครื่องหมายเอเอฟแอลพี จำนวน 299
เครื่องหมาย นำมาบันทึกข้อมูลแบบ binary data ได้เครื่องหมายรวมทั้งสิ้น 464 เครื่องหมาย
จากนั้นนำข้อมูล binary data ไปวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมของ Dice
(Dice's genetic similarity) พบว่า ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุล
ม้าวิง จำนวน 32 สายต้นมีค่าตั้งแต่ 0.50 ถึง 0.96 คิดเป็นค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.67 (ตารางที่ 20) โดย
พบว่า สายต้น MVP19 มีความใกล้ชิดกันมากที่สุดกับสายต้น MVP24 (0.96) (อ.โพธิ์ไทร
จ. อุบลราชธานี) รองลงมาคือสายต้น RO4 กับสายต้น RO10 (0.95) (ชื่อจากชาวบ้าน จ. ร้อยเอ็ด)
ส่วนสายต้น CM9 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมน้อยที่สุดกับสายต้น MDD20 (0.50) จากนั้นนำ
ข้อมูลค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมของ Dice ไปจัดกลุ่มโดยวิธี UPGMA พบว่า
สามารถจัดกลุ่มของกล้วยไม้สกุลม้าวิงได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ ซึ่งแยกกลุ่มกล้วยไม้ม้าวิง และกล้วยไม้
แดงอุบลได้อย่างชัดเจน ที่มูลค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรม 0.67 (ภาพที่ 23) โดย
กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มของกล้วยไม้ม้าวิง ประกอบด้วยสมาชิก จำนวน 14 สายต้น ได้แก่ สายต้น PT1,
PT2, MDM14, MDM15, MDM22, MDM21, MDM18, MVP2, MVP19, MVP24, MVP26,
MVP27, MVP42 และสายต้น MV4 และ กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มของกล้วยไม้แดงอุบล ประกอบด้วย
สมาชิกจำนวน 14 สายต้น ได้แก่ สายต้น DB6, DB8, RO4, RO10, NK7, MDD6, MDD22,
MDD15, MDD10, MDD2, CM11, CM13, CM16 และสายต้น CM8

เมื่อวิเคราะห์ค่าความเชื่อมั่นในการจัดกลุ่ม (UPGMA cluster) โดยใช้เครื่องหมายอาร์
เอพีดี และเครื่องหมายเอเอฟแอลพี รวมจำนวน 464 เครื่องหมายโดยวิเคราะห์ค่า cophenetic
correlation coefficient มีค่าเท่ากับ 0.87 บ่งชี้ว่าการจัดกลุ่มทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลม้าวิง
จำนวน 32 สายต้น โดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี และเอเอฟแอลพี รวมกันนี้เป็นการจัดกลุ่มที่ดี ซึ่ง
การจัดกลุ่มที่ได้นี้สอดคล้องกับการจัดกลุ่มโดยใช้เครื่องหมายเอเอฟแอลพี (จำนวน 299
เครื่องหมาย) และการจัดกลุ่มโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ตารางที่ 20 ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนของ Dice ของกล้วยไม้สกุลน้ำว้าจำนวน 32 สายต้น ที่ได้จากเครื่องหมายอาร์เอพีดี และเอฟเอฟแอลพีจำนวน 464 เครื่องหมาย

	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	27	28	29	30	31	32	
1.DB6	1.00																																
2.D2.DB8		1.00																															
3.PT1			1.00																														
4.PT2				1.00																													
5.RO4					1.00																												
6.RO10						1.00																											
7.MDD2							1.00																										
8.MDD3								1.00																									
9.MDD6									1.00																								
10.MDD10										1.00																							
11.MDD11											1.00																						
12.MDD15												1.00																					
13.MDD20													1.00																				
14.MDD22														1.00																			
15.NK7															1.00																		
16.MV4																1.00																	
17.MVP2																	1.00																
18.MVP19																		1.00															
19.MVP24																			1.00														
20.MVP26																				1.00													
21.MVP27																					1.00												
22.MVP42																						1.00											
23.MDM14																							1.00										
24.MDM15																								1.00									
25.MDM18																									1.00								
26.MDM21																										1.00							
27.MDM22																											1.00						
28.CM8																												1.00					
29.CM11																													1.00				
30.CM13																														1.00			
31.CM16																															1.00		
32.CM9																																1.00	



ภาพที่ 23 Dendrogram แสดงการจัดกลุ่มทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลมั่งกิ้ง จำนวน 32 สายต้น ด้วยวิธี UPGMA โดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี จำนวน 165 เครื่องหมาย และเครื่องหมายเอฟแอลพี จำนวน 299 เครื่องหมาย