ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์ชีวผลิตภัณฑ์)

ปริญญา

วิทยาศาสตร์ชีวผลิตภัณฑ์ — **สาขา**

วิทยาศาสตร์ — **สายวิชา**

เรื่อง การประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของสับปะรดพันธุ์ Smooth Cayenne (ปัตตาเวีย) โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ

Evaluation of Genetic Variation of Pineapple Smooth Cayenne Variety (Pattavia) Using DNA Marker

นามผู้วิจัย นางสาวมุนินทร์ เปรมปรีดิ์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

(รองศาสตร์ตราจารย์สิริภัทร์พราหมณีย์, Ph.D.)

รักษาราชการแทนหัวหน้าสายวิชา .....

(อาจารย์อนามัย ดำเนตร, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... **เดือน** ..... **พ.ศ.** .....

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของสับปะรดพันธุ์ Smooth Cayenne (ปัตตาเวีย) โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ

Evaluation of Genetic Variation of Pineapple Smooth Cayenne variety (Pattavia) Using DNA Marker

โดย

นางสาวมุนินทร์ เปรมปรีดิ์

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์ชีวผลิตภัณฑ์)

พ.ศ. 2557

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

มุนินทร์ เปรมปรีดิ์ 2557: การประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของสับปะรดพันธุ์ Smooth Cayenne (ปัตตาเวีย) โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์ชีวผลิตภัณฑ์) สาขาวิทยาศาสตร์ชีวผลิตภัณฑ์ สายวิชาวิทยาศาสตร์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์สิริภัทร์ พราหมณีย์, Ph.D. 151 หน้า

ประเทศไทยมีปริมาณการส่งออกสับปะรดกระป๋องเป็นอันดับ 1 ของโลก โดยเฉพาะพันธุ์ Smooth Cayenne หรือที่เรียกว่า พันธุ์ปัตตาเวีย มีความสำคัญต่อการผลิตอุตสาหกรรมสับปะรดกระป๋องแต่ไม่ได้รับความสนใจในการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์ให้มีผลผลิตและคุณภาพที่ดี วัตถุประสงค์ในงานวิจัยนี้เพื่อประเมินทางพันธุกรรมของสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียที่ปลูกใน จ. ประจวบคีรีขันธ์ โดยใช้วิธีเครื่องหมายดีเอ็นเอ (RAPD) ตัวอย่างที่ใช้ศึกษาเก็บมาจาก 4 อำเภอ ได้แก่ อ.หัวหิน อ.สามร้อยยอด อ.บางสะพาน และ อ.นิคม ในแต่ละพื้นที่พบรูปทรงสับปะรดต่างกัน ได้แก่ ทรงกระบอก ทรงเจดีย์ ทรงลูกเล็ก ทรงเดาะจุก และทรงหลายจุก แต่ละตัวอย่างเก็บมา 3 ซ้ำ รวม 51 ตัวอย่าง เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิค RAPD ใช้ไพรเมอร์เส้นเดี่ยวจำนวน 10 ไพรเมอร์ พบว่ามี 6 ไพรเมอร์ ได้แก่ universal primer 3, OPA-02, OPA-04, OPA-08, OPA-10 และ OPA-18 ที่เกิดรูปแบบของแถบดีเอ็นเอในสภาพหลากรูปแบบ การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ความเหมือนทางพันธุกรรมด้วย โปรแกรมคอมพิวเตอร์ NTSYS-pc รุ่น 2.01d และจัดกลุ่มในรูปของ phylogenetic tree พบว่าพันธุ์ปัตตาเวียที่ปลูกในแต่ละพื้นที่มีรูปทรงที่หลากหลาย และจากการใช้ RAPD marker วิเคราะห์จาก สถานที่ปลูกสับปะรดโดยทั้ง 4 สถานที่ ให้ผลทางพันธุกรรมที่หลากหลายพบว่า ในแต่ละสถานที่มี การจัดกลุ่มของรูปทรงที่แตกต่างกัน มีค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงมีค่าอยู่ระหว่าง 0.59-0.89 และค่าความคล้ายคลึงอยู่ระหว่าง 0.4912-1.0000 ส่วนการวิเคราะห์จากรูปทรงพบว่าสับปะรดทั้ง 5 รูปทรงมีพันธุกรรมที่เฉพาะของแต่ละสถานที่ สามารถแบ่งกลุ่มกันได้อย่างชัดเจน ค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงมีค่าอยู่ระหว่าง 0.51-0.91 และค่าความคล้ายคลึงอยู่ระหว่าง 0.4032-1.0000 ซึ่งเกิดจากการทำเกษตรกรรมของแต่ละสถานที่ไม่เหมือนกันหรือสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม นอกจากนี้การใช้พันธุ์ที่นำมาปลูก จะใช้เฉพาะในสถานที่นั้น จึงเห็นได้ว่าสับปะรดปัตตาเวียมีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมเกิดขึ้น เพื่อให้การผลิตสับปะรดในอุตสาหกรรมมีมาตรฐานที่ดี จึงควรให้ความสนใจในการคัดเลือกพันธุ์ให้มีรูปทรงกระบอกตามที่ต้องการมาขยายพันธุ์ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในอนาคตต่อไป

_____ _____ ____/____/_____

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Munin Prempree 2014: Evaluation of Genetic Variation of Pineapple Smooth Cayenne Variety (Pattavia) Using DNA Marker. Master of Science (Bioproducts Science), Major Field: Bioproducts Science, Division of Science. Thesis Advisor: Assistant Professor Siripatr Prammanee, Ph.D. 151 pages.

Thailand is the number one top export of canned pineapple in the world, especially using Smooth Cayenne variety or it was called Pattavia. Pattavia variety is an importance for this industrial but little attention has been paid to improve this cultivar for good yield and good quality. The aim of this study is to evaluate genetic variation of Pattavia pineapple from Prachuap khiri khan province using the RAPD marker technique. The samples were collected from 4 districts such as Hua Hin, Sam Roi Yod, Bangsaphan and Nikhom. There are different shapes of fruits in each area which are cylindrical shape, jadi shape, small fruit, crown off and multiple crowns. The samples were collected for 3 replications, the total is 51 samples. DNA samples was increased by using RAPD technique and ten primers were used. It was found that six primers: universal primer 3, OPA-02, OPA-04, OPA-08, OPA-10 and OPA-18, showed polymorphic. Analysis of genetic similarity using NTSYS-pc, 2.01d and a phylogenetic tree showed that Pattavia varities were cultivated in each area were different shapes. Use of RAPD markers to analyze four locations showed different genetic results. In each location, categorization of the pineapple shapes was different with similarity coefficients of 0.59-0.89 and similarity value of 0.4912-1.0000. Analysis of shapes showed that the five shapes of pineapple had genetic traits specific to each location and can be categorized clearly with similarity coefficients of 0.51-0.91 and similarity value of 0.4032-1.0000. The diversity of genetics might be derived from different agricultural cultivates or inappropriate environment. In addition to cultivate of pineapples were used the plants in that location, it could be seen that the genetic changing occur in the field. To improve productivity of industrial, cayenne pineapples varieties should be cylindrical shape and should be selected carefully and propagated for future use.

_____ _____ ____/____/_____

Student's signature Thesis Advisor's signature

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.สิริภัทร์ พราหมณีย์ ประธานกรรมการที่ปรึกษาที่ได้ให้การสนับสนุน ให้คำปรึกษาถึงหัวข้อ วิธีการดำเนินการวิจัย และตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ รวมทั้งเป็นกำลังใจให้ตลอดมา

ขอขอบคุณทุนวิจัยมหาบัณฑิต สกว.สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ภายใต้โครงการเชื่อมโยงภาคการผลิตกับงานวิจัย ทุน สกว.-อุตสาหกรรม ในการสนับสนุนเงินทุนวิจัย

ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ไพบูลย์ กวินเลิศวัฒนา บริษัท ไทย ออร์คิดส์ แล็บ จำกัด ในการสนับสนุนเงินทุนวิจัย และให้คำปรึกษา แนะนำช่วยเหลืออย่างดีตลอดมา

ขอขอบคุณบริษัท กุยบุรีผลไม้กระป๋อง จำกัด ตำบลกุยบุรี อำเภอกุยบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ที่ให้ความอนุเคราะห์และเอื้อเฟื้อสถานที่เก็บตัวอย่างสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียที่ใช้ในการวิจัย

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อและคุณแม่ สำหรับกำลังใจที่เป็นพลังให้สู้กับอุปสรรคต่างๆ และส่งเสริมการศึกษาของข้าพเจ้าด้วยดีตลอดมา

มุนินทร์ เปรมปรีดิ์

ตุลาคม 2556

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(9)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	30
อุปกรณ์	30
วิธีการ	37
ผลและวิจารณ์	41
ผล	41
วิจารณ์	57
สรุปและข้อเสนอแนะ	62
สรุป	62
ข้อเสนอแนะ	64
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	65
ภาคผนวก	75
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	151

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	พื้นที่เก็บเกี่ยวผลผลิต และผลผลิตต่อไร่ของสับปะรดของไทย	11
2	รายชื่อ รูปทรงและแหล่งที่มาของสับปะรด 51 ตัวอย่าง ที่รวบรวมจากแปลงปลูกในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (กุยบุรี)	30
3	ไพรเมอร์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์จำนวน 10 ไพรเมอร์ และอุณหภูมิในขั้นตอน annealing	34

ตารางผนวกที่

1	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ universal primer 3 กับตัวอย่างสับปะรดจาก อ.หัวหิน	88
2	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ universal primer 3 กับตัวอย่างสับปะรดจาก ต.สามร้อยยอด	89
3	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ universal primer 3 กับตัวอย่างสับปะรดจาก อ.บางสะพาน	90
4	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ universal primer 3 กับตัวอย่างสับปะรดจาก อ.นิคม	91
5	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-02 กับตัวอย่างสับปะรด อ.หัวหิน	92
6	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-02 กับตัวอย่างสับปะรด ต.สามร้อยยอด	93
7	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-02 กับตัวอย่างสับปะรด อ.บางสะพาน	94

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
8	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-02 กับตัวอย่างสับปะรด อ.นิคม	95
9	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-04 กับตัวอย่างสับปะรด อ.หัวหิน	96
10	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-04 กับตัวอย่างสับปะรด ต.สามร้อยยอด	97
11	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-04 กับตัวอย่างสับปะรด อ.บางสะพาน	98
12	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-04 กับตัวอย่างสับปะรด อ.นิคม	99
13	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-08 กับตัวอย่างสับปะรด อ.หัวหิน	100
14	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-08 กับตัวอย่างสับปะรด ต.สามร้อยยอด	101
15	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-08 กับตัวอย่างสับปะรด อ.บางสะพาน	102
16	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-08 กับตัวอย่างสับปะรด อ.นิคม	103
17	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-10 กับตัวอย่างสับปะรด อ.หัวหิน	104
18	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-10 กับตัวอย่างสับปะรด ต.สามร้อยยอด	105

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
19	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-10 กับตัวอย่างสับปะรด อ.บางสะพาน	106
20	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-10 กับตัวอย่างสับปะรด อ.นิคม	107
21	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-18 กับตัวอย่างสับปะรด อ.หัวหิน	108
22	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-18 กับตัวอย่างสับปะรด ต.สามร้อยยอด	109
23	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-18 กับตัวอย่างสับปะรด อ.บางสะพาน	110
24	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-18 กับตัวอย่างสับปะรด อ.นิคม	111
25	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ universal primer 3 กับตัวอย่างสับปะรดทรงกระบอก	112
26	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ universal primer 3 กับตัวอย่างสับปะรดทรงเจดีย์	113
27	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ universal primer 3 กับตัวอย่างสับปะรดทรงลูกเล็ก	114
28	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ universal primer 3 กับตัวอย่างสับปะรดทรงเดาะจุก	115
29	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ universal primer 3 กับตัวอย่างสับปะรดทรงหลายจุก	116

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
30	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-02 กับตัวอย่างสับปะรดทรงกระบอก	117
31	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-02 กับตัวอย่างสับปะรดทรงเจดีย์	118
32	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-02 กับตัวอย่างสับปะรดทรงลูกเล็ก	119
33	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-02 กับตัวอย่างสับปะรดทรงเตาะจุก	120
34	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-02 กับตัวอย่างสับปะรดทรงหลายจุก	121
35	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-04 กับตัวอย่างสับปะรดทรงกระบอก	122
36	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-04 กับตัวอย่างสับปะรดทรงเจดีย์	123
37	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-04 กับตัวอย่างสับปะรดทรงลูกเล็ก	124
38	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-04 กับตัวอย่างสับปะรดทรงเตาะจุก	125
39	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-04 กับตัวอย่างสับปะรดทรงหลายจุก	126
40	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-08 กับตัวอย่างสับปะรดทรงกระบอก	127

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
41	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-08 กับตัวอย่างสับปะรดทรงเจดีย์	128
42	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-08 กับตัวอย่างสับปะรดทรงลูกเล็ก	129
43	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-08 กับตัวอย่างสับปะรดทรงเดาะจุก	130
44	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-08 กับตัวอย่างสับปะรดทรงหลายจุก	131
45	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-10 กับตัวอย่างสับปะรดทรงกระบอก	132
46	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-10 กับตัวอย่างสับปะรดทรงเจดีย์	133
47	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-10 กับตัวอย่างสับปะรดทรงลูกเล็ก	134
48	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-10 กับตัวอย่างสับปะรดทรงเดาะจุก	135
49	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-10 กับตัวอย่างสับปะรดทรงหลายจุก	136
50	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-18 กับตัวอย่างสับปะรดทรงกระบอก	137
51	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-18 กับตัวอย่างสับปะรดทรงเจดีย์	138

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
52	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-18 กับตัวอย่างสับปะรดทรงลูกเล็ก	139
53	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-18 กับตัวอย่างสับปะรดทรงเตาะจุก	140
54	ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-18 กับตัวอย่างสับปะรดทรงหลายจุก	141
55	ค่าความเหมือน (similarity matrix) ของสับปะรดที่ทำปฏิกิริยาด้วยเทคนิค RAPD ที่ได้จากตัวอย่างของ อ.หัวหิน	142
56	ค่าความเหมือน (similarity matrix) ของสับปะรดที่ทำปฏิกิริยาด้วยเทคนิค RAPD ที่ได้จากตัวอย่างของ ต.สามร้อยยอด	143
57	ค่าความเหมือน (similarity matrix) ของสับปะรดที่ทำปฏิกิริยาด้วยเทคนิค RAPD ที่ได้จากตัวอย่างของ อ.บางสะพาน	144
58	ค่าความเหมือน (similarity matrix) ของสับปะรดที่ทำปฏิกิริยาด้วยเทคนิค RAPD ที่ได้จากตัวอย่างของ อ.นิคม	145
59	ค่าความเหมือน (similarity matrix) ของสับปะรดรูปทรงกระบอกที่ผ่านเทคนิค RAPD	146
60	ค่าความเหมือน (similarity matrix) ของสับปะรดรูปทรงเจดีย์ที่ทำปฏิกิริยาด้วยเทคนิค RAPD	147
61	ค่าความเหมือน (similarity matrix) ของสับปะรดรูปทรงลูกเล็กที่ทำปฏิกิริยาด้วยเทคนิค RAPD	148

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
62	ค่าความเหมือน (similarity matrix) ของสับปะรดรูปทรงเดาะจุกที่ทำปฏิกิริยาด้วยเทคนิค RAPD	149
63	ค่าความเหมือน (similarity matrix) ของสับปะรดรูปทรงหลายจุกที่ทำปฏิกิริยาด้วยเทคนิค RAPD	150

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะรูปทรงของสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียที่นำมาใช้ในการศึกษา	33
2	แสดงแถบดีเอ็นเอที่สกัดได้จากเนื้อสับปะรดทั้งหมด 51 ตัวอย่าง ก แถบดีเอ็นเอที่สกัดได้จาก อ.หัวหิน ข แถบดีเอ็นเอที่สกัดได้จาก ต.สามร้อยยอด ค แถบดีเอ็นเอที่สกัดได้จาก อ.บางสะพาน และ ง แถบดีเอ็นเอที่สกัดได้จาก อ.นิคม	42
3	phylogenetic tree ตัวอย่างสับปะรดของ อ.หัวหิน ทั้งหมด 15 ตัวอย่าง ที่วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NTSYSpc 2.2 โดยอาศัยข้อมูลความเหมือน (similarity) ที่คำนวณจากเทคนิค RAPD	46
4	phylogenetic tree ตัวอย่างสับปะรดของ ต.สามร้อยยอด ทั้งหมด 12 ตัวอย่าง ที่วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NTSYSpc 2.2 โดยอาศัยข้อมูลความเหมือน (similarity) ที่คำนวณจากเทคนิค RAPD	47
5	phylogenetic tree ตัวอย่างสับปะรดของ อ.บางสะพาน ทั้งหมด 12 ตัวอย่าง ที่วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NTSYSpc 2.2 โดยอาศัยข้อมูลความเหมือน (similarity) ที่คำนวณจากเทคนิค RAPD	48
6	phylogenetic tree ตัวอย่างสับปะรดของ อ.นิคม ทั้งหมด 12 ตัวอย่าง ที่วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NTSYSpc 2.2 โดยอาศัยข้อมูลความเหมือน (similarity) ที่คำนวณจากเทคนิค RAPD	49
7	phylogenetic tree ตัวอย่างของสับปะรดทรงกระบอก ทั้งหมด 12 ตัวอย่าง จาก 4 สถานที่ ที่วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NTSYSpc 2.2 โดยอาศัยข้อมูลความเหมือน (similarity) ที่คำนวณจากเทคนิค RAPD	52
8	phylogenetic tree ตัวอย่างของสับปะรดทรงเจดีย์ ทั้งหมด 12 ตัวอย่าง จาก 4 สถานที่ ที่วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NTSYSpc 2.2 โดยอาศัยข้อมูลความเหมือน (similarity) ที่คำนวณจากเทคนิค RAPD	53

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
9	phylogenetic tree ตัวอย่างของสับปะรดทรงลูกเล็ก ทั้งหมด 12 ตัวอย่าง จาก 4 สถานที่ ที่วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NTSYSpc 2.2 โดยอาศัยข้อมูลความเหมือน (similarity) ที่คำนวณจากเทคนิค RAPD	54
10	phylogenetic tree ตัวอย่างของสับปะรดทรงเดาะจุก ทั้งหมด 9 ตัวอย่าง จาก 3 สถานที่ ที่วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NTSYSpc 2.2 โดยอาศัยข้อมูลความเหมือน (similarity) ที่คำนวณจากเทคนิค RAPD	55
11	phylogenetic tree ตัวอย่างของสับปะรดทรงหลายจุก ทั้งหมด 6 ตัวอย่าง จาก 2 สถานที่ ที่วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NTSYSpc 2.2 โดยอาศัยข้อมูลความเหมือน (similarity) ที่คำนวณจากเทคนิค RAPD	56

ภาพผนวกที่

1	รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยไพรเมอร์ universal primer 3 โดยใช้เทคนิค RAPD ก แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.หัวหิน ข แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก ต.สามร้อยยอด ค แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.บางสะพาน และ ง แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.นิคม	76
2	รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยไพรเมอร์ OPA-02 โดยใช้เทคนิค RAPD ก แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.หัวหิน ข แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก ต.สามร้อยยอด ค แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.บางสะพาน และ ง แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.นิคม	78

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่		หน้า
3	รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยไพรเมอร์ OPA-04 โดยใช้เทคนิค RAPD ก แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.หัวหิน ข แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก ต.สามร้อยยอด ค แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.บางสะพาน และ ง แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.นิคม	80
4	รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยไพรเมอร์ OPA-08 โดยใช้เทคนิค RAPD ก แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.หัวหิน ข แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก ต.สามร้อยยอด ค แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.บางสะพาน และ ง แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.นิคม	82
5	รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยไพรเมอร์ OPA-10 โดยใช้เทคนิค RAPD ก แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.หัวหิน ข แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก ต.สามร้อยยอด ค แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.บางสะพาน และ ง แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.นิคม	84
6	รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยไพรเมอร์ OPA-18 โดยใช้เทคนิค RAPD ก แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.หัวหิน ข แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก ต.สามร้อยยอด ค แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.บางสะพาน และ ง แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.นิคม	86

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของสับปะรดพันธุ์ Smooth Cayenne (ปัตตาเวีย) โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ

Evaluation of Genetic Variation of Pineapple Smooth Cayenne variety (Pattavia) Using DNA Marker

คำนำ

สับปะรดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญมากพืชหนึ่งของประเทศไทย จากข้อมูลของสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร ในปี 2555 (มกราคม-ตุลาคม) มีเนื้อที่เก็บเกี่ยว 646,610 ไร่ ผลผลิต 2.52 ล้านตัน ผลผลิตต่อไร่ 3,895 กิโลกรัม จังหวัดที่ปลูกมากที่สุดได้แก่ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ผลผลิตออกมาช่วงเดือน มีนาคม-มิถุนายน โดยพันธุ์ปัตตาเวียเหมาะสำหรับนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น สับปะรดกระป๋อง น้ำสับปะรด สับปะรดแช่แข็ง เป็นต้น ส่วนพันธุ์ตราดสีทองนั้น นิยมรับประทานผลสดและอบแห้ง จากข้อมูลของ Global Trade Atlas ประเทศไทยเป็นประเทศผู้ส่งออกสับปะรดกระป๋องและน้ำสับปะรดกระป๋องรายใหญ่ของโลก ครองตำแหน่งอันดับ 1 มาหลายสมัย แบบทิ้งห่างคู่แข่งอย่าง ฟิลิปปินส์ และอินโดนีเซีย โดยในปี พ.ศ. 2554 ปริมาณการส่งออกอยู่ที่ 500,000 ตัน คิดเป็นมูลค่ากว่า 20,000 ล้านบาท ไทยครองส่วนแบ่งตลาดสูงสุดอยู่ที่ร้อยละ 52.7 รองลงมาคือ ฟิลิปปินส์ร้อยละ 15 และอินโดนีเซียร้อยละ 13 แต่ทว่าในปี พ.ศ. 2554 ไทยมีอัตราการขยายตัวจากปีก่อนต่ำกว่าคู่แข่งทั้งสอง โดยขยายตัวอยู่ที่ร้อยละ 41.9 ส่วนประเทศฟิลิปปินส์มีการขยายตัวสูงสุดคือร้อยละ 55.6 และอินโดนีเซียร้อยละ 47 ตลาดส่งออกที่สำคัญได้แก่ สหรัฐอเมริกา สหภาพยุโรป และญี่ปุ่น ทั้งนี้ ผู้นำเข้ามองว่าสินค้าไทยเป็นสินค้าที่มีคุณภาพและได้มาตรฐานความปลอดภัย (Food Safety)

คู่แข่งสำคัญคือ ฟิลิปปินส์ และอินโดนีเซีย ซึ่งเป็นประเทศเพื่อนบ้านที่ให้ผลผลิตใกล้เคียงกับไทย นอกจากนี้ ยังมีประเทศคู่แข่งสำคัญอย่างบราซิลและคอสตาริก้า โดยข้อมูลจาก FAO ระบุว่า ปี พ.ศ. 2553 ฟิลิปปินส์มีผลผลิตสูงถึง 2.39 ล้านตัน อยู่ในลำดับหนึ่งของโลก รองลงมาคือ บราซิล 2.1 ล้านตัน คอสตาริก้า 1.91 ล้านตัน ส่วนปริมาณผลผลิตของไทยอยู่เป็นลำดับ 4 คือ 1.97 ล้านตัน และอินโดนีเซียตามมาเป็นลำดับ 7 มี 1.88 ล้านตัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

แต่อย่างไรก็ตาม ประเทศไทยยังเป็นอันดับหนึ่งในการส่งออกสับปะรดกระป๋องของโลก ตามด้วยฟิลิปปินส์ซึ่งเป็นอันดับที่ 2 มีผลผลิตต่อไร่สูงกว่าไทยค่อนข้างมาก ฟิลิปปินส์มีพื้นที่ปลูกขนาดใหญ่เพื่อป้อนโรงงานโดยตรงทำให้สามารถควบคุมปริมาณและคุณภาพสับปะรดให้สอดคล้องกับความต้องการของโรงงานแปรรูปได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้มีชาวต่างชาติมาลงทุนประมาณ 90% ของผลผลิต จึงมีการส่งเสริมเทคโนโลยีการผลิตและสายพันธุ์สับปะรด รวมทั้งดำเนินธุรกิจแบบครบวงจรทำให้การผลิตมีการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง ประเทศจีนก็เช่นกันกำลังเข้ามาแย่งตลาดการค้าของไทย เพราะจีนได้เปรียบเรื่องต้นทุนแรงงานที่ต่ำกว่าไทย รวมถึงสภาพภูมิประเทศเป็นพื้นที่ราบ เหมาะต่อการเพาะปลูก และสภาพอากาศดี ปัจจุบันมีการแย่งตลาดของไทยในสหรัฐอเมริกาอย่างต่อเนื่อง ถ้าประเทศไทยยังคงผลิตสับปะรดโดยไม่มีการพัฒนาการผลิตโดยเฉพาะเรื่องพันธุ์ ซึ่งเป็นสิ่งสำคัญในการเพิ่มผลผลิตและคุณภาพในอนาคต จึงน่าที่จะต้องให้ความสำคัญในการนำเทคโนโลยีมาใช้ในการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์ปลูก ถ้าไม่เร่งพัฒนาการผลิตสับปะรดของไทย ต่อไปในอนาคตเราอาจถูกประเทศคู่แข่งแย่งตลาดสำคัญๆไป

ดังนั้นงานวิจัยนี้ จึงเห็นว่าพันธุ์สับปะรดที่ปลูกมาเป็นเวลานานโดยเฉพาะพันธุ์ในกลุ่ม Cayenne ได้แก่พันธุ์ปัตตาเวีย (Smooth Cayenne) ที่มีความสำคัญต่อการผลิตอุตสาหกรรมสับปะรด ซึ่งไม่ได้รับความสนใจในการพัฒนาปรับปรุงให้มีผลผลิตและคุณภาพที่ดี ทำให้พันธุ์ที่ปลูกมีโอกาสเกิดลักษณะทางรูปร่างทรงต้น ผล และพันธุกรรมที่เปลี่ยนแปลงไป ดังนั้นการศึกษาการประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของสับปะรดในกลุ่ม Smooth Cayenne โดยใช้เทคนิคเครื่องหมายดีเอ็นเอ โดยเปรียบเทียบกับลักษณะทาง Morphology และสถานที่ปลูก เพื่อจะได้มีการคัดเลือกต้นพันธุ์ที่ดี เพื่อเป็นแม่พันธุ์นำไปขยายพันธุ์ต่อไปในอนาคต

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาการประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของสับปะรดในกลุ่ม Smooth Cayenne โดยใช้เทคนิคเครื่องหมายดีเอ็นเอ โดยเปรียบเทียบกับลักษณะทาง Morphology และสถานที่ปลูก

2. เพื่อให้ได้ DNA marker ในการวินิจฉัยสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียในกลุ่ม Smooth Cayenne ที่ถูกต้อง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การตรวจเอกสาร

สับปะรด [*Ananas comosus* (L.) Merr.]

สับปะรดมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Ananas comosus* (L.) Merr. ลักษณะสำคัญของพืชสกุลนี้ คือ มีจุกที่ยอด อยู่ในตระกูล Bromeliaceae สับปะรดเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวจำพวกไม้เนื้ออ่อนที่มีอายุหลายปี สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ได้ดี ปลูกได้ในดินแทบทุกแห่งในประเทศไทย มีช่อดอกที่ส่วนยอดของลำต้น ซึ่งเมื่อเจริญเป็นผลแล้วจะเจริญต่อไปโดยตาที่ลำต้นจะเติบโตเป็นต้นใหม่ได้อีก สับปะรดแบ่งออกตามลักษณะความเป็นอยู่ได้ 3 ประเภทใหญ่ ๆ คือ พวกที่มีระบบรากหาอาหารอยู่ในดิน หรือ เรียกว่าไม้ดิน พวกอาศัยอยู่ตามคาคบไม้หรือลำต้นไม้ใหญ่ ได้แก่ ไม้อากาศต่าง ๆ ที่ไม่แย่งอาหารจากต้นไม้ที่มันเกาะอาศัยอยู่ พวกนี้ส่วนใหญ่จะเป็นไม้ประดับและพวกที่เจริญเติบโตบนผาหินหรือโขดหิน ส่วนสับปะรดที่เราใช้บริโภคจัดเป็นไม้ดิน แต่ยังมีลักษณะบางประการของไม้อากาศเอาไว้ คือ สามารถเก็บน้ำไว้ตามซอกใบได้เล็กน้อยมีเซลล์พิเศษสำหรับเก็บน้ำเอาไว้ในใบ ทำให้ทนทานในช่วงแล้งได้

สับปะรดสามารถแยกออกจากพืชในสกุลอื่นได้โดยดูจากลักษณะของผลที่เป็นผลรวม ซึ่งเกิดจากผลย่อยหลายผลเจริญมาเชื่อมต่อกันจนดูเป็นผลๆ เดียว (Syncarpous type) ซึ่งลักษณะแบบนี้จะไม่พบในสกุลอื่น นักวิทยาศาสตร์ได้จำแนกสับปะรดไว้เป็นหมวดหมู่ดังนี้

Class : Angiospermae

Subclass : Monocotyledonae

Order : Farinosae

Family : Bromeliaceae

Genus : *Ananas* and *Pseudananas*

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Collins (1960) ได้จัดจำแนกสับปะรดออกเป็น 2 สกุล (Genus) คือ

1. สกุล *Pseudananas* สับปะรดในสกุลนี้มีลักษณะเป็นไม้ป่า ไม่นิยมปลูกเป็นการค้า มีจำนวนโครโมโซม 2n = 100 มีลักษณะที่สำคัญ คือ ผลขนาดเล็ก ไม่มีจุก ไม่มีตะเกียง เนื้อผลสีขาวใส ก้านผลแข็งและยาว มีปริมาณน้ำตาลและปริมาณกรดในเนื้อผลต่ำ แต่มีข้อดีคือ ระบบรากที่แข็งแรง ต้านทานต่อโรครากเน่า และโคนเน่าได้ดี

2. สกุล *Ananas* สับปะรดในสกุลนี้มีจำนวนโครโมโซม 2n = 50 แบ่งตามลักษณะที่แตกต่างกันในลักษณะที่สำคัญๆ แบ่งออกเป็น 5 ชนิด (Species) (จารุพันธ์, 2526; จินดารัตน์, 2541; Collins, 1960; Smith *et.al*, 1992) คือ

2.1 *Ananas ananassoides* (Baker) สับปะรดชนิดนี้มีลักษณะที่สำคัญ คือ มีปริมาณน้ำตาลและปริมาณกรดสูง กลิ่นและรสชาติดี ต้านทานต่อโรครากเน่าและโคนเน่า (Root rot และ Heart rot) ต้านทานต่อโรคเหี่ยวซึ่งมีสาเหตุมาจากไส้เดือนฝอย (Nematode) เจริญเติบโตได้ดี แม้ในดินที่มีความสมบูรณ์ต่ำ และสภาพอากาศแห้งแล้ง เนื่องจากมีระบบรากที่แข็งแรง แต่มีข้อเสีย คือ ผลมีขนาดเล็กมาก เนื้อสีขาว มีเยื่อใยมาก

2.2 *Ananas bracteatus* (Lindley) สับปะรดชนิดนี้มีลักษณะที่สำคัญ คือ ผลมีขนาดใหญ่กว่า *Ananas ananassoides* มีระบบรากที่แข็งแรง ลำต้นเจริญเติบโตได้ดี ต้านทานต่อโรครากเน่าและโคนเน่าได้ดี แต่มีข้อเสีย คือ เนื้อผลมีสีเหลือง-ขาว มีเยื่อใยมาก ก้านผลยาว ผลเป็นรูปกรวย มักจะมีหลายจุกเสมอ

2.3 *Ananas lucidus* (Miller) สับปะรดชนิดนี้มีลักษณะที่สำคัญ คือ ต้านทานต่อโรคยอดเน่า และรากเน่า แต่ลักษณะอื่นๆ ไม่ดีเมื่อเปรียบเทียบกับสับปะรดชนิดอื่น จึงไม่นิยมมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์สับปะรด

2.4 *Ananas nanas* (Smith) สับปะรดชนิดนี้มีลักษณะที่สำคัญ คือ เป็นสับปะรดแคระ ผลมีขนาดเล็ก ยาวเพียง 1-2 นิ้ว เท่านั้น ไม่สามารถนำมารับประทานได้ นิยมนำมาปลูกในกระถางใช้ประโยชน์เป็นไม้ประดับมากกว่าปลูกเพื่อประโยชน์จากผล

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.5 *Ananas comosus* (L.) Merr. สับปะรดชนิดนี้นิยมปลูกกันโดยทั่วไป จัดเป็นไม้ผลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในหลายๆ ประเทศ โดยเฉพาะประเทศในเขตร้อน สับปะรดชนิดนี้มีพันธุ์ต่างๆ ที่นิยมปลูกกันหลายพันธุ์ ซึ่งสามารถแบ่งพันธุ์ต่างๆ เหล่านี้ออกเป็น 5 กลุ่ม (Group) ใหญ่ๆ โดยใช้เกณฑ์การพิจารณาจากลักษณะทางด้านรูปร่าง รูปทรง คุณภาพ และรสชาติ ซึ่งส่วนมากจะเป็นรูปพรรณสัณฐานภายนอกจากที่สังเกตได้ (Phenotype) เป็นเกณฑ์มาตรฐาน (จารุพันธ์, 2526; Leal and Soule, 1977; Py *et al*., 1987; Cabot, 1989)

2.5.1 กลุ่มคะยีน (Cayenne) เป็นพันธุ์ที่นิยมปลูกมากที่สุดทั้งเพื่อใช้บริโภคผลสด และใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมสับปะรดกระป๋อง ได้แก่ พันธุ์ปัตตาเวีย กัลกัตตา และนางแล เป็นพันธุ์ที่นิยมปลูกอย่างแพร่หลายในไทย ผลทรงกระบอก ใบจะมีสีเขียวจัดเป็นมัน อาจมีจุดหรือแถบสีม่วงคล้ำ ขอบใบไม่มีหนาม หรือมีเพียงเล็กน้อยตรงบริเวณปลายใบ ในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์เรียกว่า พันธุ์ตาดำ และพันธุ์ตาแดง สำหรับพันธุ์ตาแดงเมื่อผลสุกจะเก็บได้นานกว่าพันธุ์ตาดำ ซึ่งพันธุ์ตาดำเมื่อสุกต้องรีบตัดไปจำหน่ายทันที หากทิ้งไว้นานๆ จะทำให้รสชาติสับปะรดเสียไป เนื่องจากน้ำตาลในผลสับปะรดเปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์

2.5.2 กลุ่มควีน (Queen) สับปะรดในกลุ่มนี้มีขนาดของต้น และขนาดผลที่เล็กกว่ากลุ่มแรกเล็กน้อย ผลทรงกระบอก ตาลึก เปลือกสีเหลือง ใบมีสีเขียวอ่อนแถบสีชมพูบริเวณตรงกลางใบ ได้แก่ พันธุ์ภูเก็ต พันธุ์สวี พันธุ์สิงคโปร์ บางครั้งเรียกสับปะรดฝรั่ง แทนการเรียก พันธุ์ภูเก็ต พันธุ์สวี แหล่งปลูกที่ใหญ่อยู่ในจังหวัดภูเก็ต ลักษณะเฉพาะตัว คือ หวานกรอบ สีเหลืองสม่ำเสมอทั้งผล มีเยื่อใยน้อย มีกลิ่นหอม แต่ข้อเสีย คือ แกนใหญ่ ไม่เหมาะแก่การทำสับปะรดกระป๋อง

2.5.3 กลุ่มสแปนนิช (Spanish) มีขนาดของต้น และผลอยู่ระหว่างกลางของกลุ่มคะยีนกับกลุ่มควีน มีใบที่บางกว่าพันธุ์ปัตตาเวีย ขอบใบมีหนามแหลมรูปโค้งงอ ผลมีรูปร่างกลม น้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 1.0-1.5 กิโลกรัม ตานูน ขนาดของตาใหญ่กว่ากลุ่มคะยีน เนื้อข้างในมีสีเหลืองจาง มีปริมาณเยื่อใยค่อนข้างสูง แกนผลเหนียว กลิ่น มีรสชาติต่างไปจากสองกลุ่มแรก ทนต่อน้ำขัง ทนต่อโรครากเน่า และไส้เน่าที่เกิดจากเชื้อไฟทอฟทอราได้ดี สับปะรดกลุ่มนี้ส่วนใหญ่ปลูกในแถบทะเลแคริเบียน และแม็กซิโก ตัวอย่างของสับปะรดพันธุ์นี้ปลูกในประเทศไทย ได้แก่ พันธุ์อินทรชิต เทพรส หรืออินทรชิตแดง และพันธุ์ขาว หรืออินทรชิตเขียว

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.5.4 กลุ่มไมเพียว (Maipure หรือ Perolera) นิยมใช้ในการบรรจุกระป๋อง ขอบใบเรียบตลอด ผลหนักประมาณ 0.8-2.5 กิโลกรัม ผลทรงกระบอกค่อนข้างไปทางกลม เปลือกสีเหลืองถึงแดง เนื้อขาวถึงเหลืองเข้ม แกนเล็กถึงปานกลาง หวานกว่ากลุ่มคะยีน เส้นใยมาก เนื้อนุ่มฉ่ำน้ำ สับปะรดพันธุ์นี้นิยมปลูกในแถบอเมริกากลางและใต้ เวเนซูลา และโคลัมเบีย มีพันธุ์ที่ปลูก คือ พันธุ์ไมเพียว และ Bumanguea ในอเมริกากลาง พันธุ์ที่นิยมปลูก คือ Monte Lirio

2.5.5 กลุ่มอะบาคาซิ (Abacaxi หรือ Pernambuco) บรรจุกระป๋องได้ไม่ดี ใบมีหนามที่ขอบใบ ผลหนักประมาณ 1.4 กิโลกรัม ผลทรงกลม เปลือกสีเหลือง เนื้อสีเหลืองอ่อนถึงขาว แกนเล็กถึงเล็กมาก รสหวาน เนื้อนุ่ม ฉ่ำน้ำ ต้านทานโรค สับปะรดในกลุ่มนี้ที่ปลูกในบราซิลและไอวอรี่โคสต คือ พันธุ์ Abacaxi ส่วนที่คิวบา อเมริกาใต้ และอเมริกากลางคือ พันธุ์ Sugar Loaf ส่วนพันธุ์ Papelion และ Venezualana ปลูกที่ เวเนซูเอลา

สัณฐานวิทยาของสับปะรด (Morphology of pineapple)

จินดารัตน์ (2541) รวบรวมลักษณะสัณฐานวิทยาของสับปะรดและรายงานว่า สับปะรดที่ปลูกทั่วไปจะใช้ส่วนของลำต้นคือ จุก (Crown) หน่อ (Sucker) และตะเกียง (Slip) เป็นส่วนขยายพันธุ์ อายุการให้ผลของสับปะรดในประเทศไทยถ้าปลูกจากจุกจะใช้เวลาประมาณ 15-20 เดือน ผลสับปะรดนั้นพัฒนามาจากช่อดอกที่เกิดขึ้นที่ปลายยอดของลำต้น และเมื่อผลพัฒนาไปได้ระยะหนึ่ง ตาที่อยู่ตามมุมใบของลำต้นจะเจริญเติบโตขึ้นมาเป็นหน่อ หลังจากเก็บเกี่ยวสับปะรดจากต้นแม่ (Plant crop) ไปแล้วต้นสับปะรดต้นเดิมก็จะค่อยๆ ตายไป หน่อที่เจริญมาจากตาตามมุมใบจะเจริญเติบโตขึ้นมาเป็นต้นสับปะรดใหม่ เรียกว่า สับปะรดหน่อรุ่นแรก (First ratoon) เมื่อให้ผลแล้ว ตาบริเวณมุมใบของหน่อรุ่นแรกจะเจริญเติบโตเป็นต้นใหม่ได้อีก เรียกว่าสับปะรดหน่อรุ่นที่สอง (Second ratoon) การเกิดต้นใหม่ทดแทนกันเช่นนี้ จะดำเนินไปได้หลายรอบถ้ามีสภาพแวดล้อมที่เอื้ออำนวยต่อการเจริญเติบโต ส่วนประกอบต่างๆ ที่สำคัญของสับปะรดมีดังนี้

1. ราก สับปะรดเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่มีอายุหลายปี เมื่อเจริญเติบโตเต็มที่แล้วพุ่มใบกว้างและสูงประมาณ 100 เซนติเมตร รากเป็นระบบรากฝอย (Fibrous root system) ประกอบด้วยราก adventitious root เป็นจำนวนมากเกิดจากจุดกำเนิดราก ซึ่งมีอยู่ทั่วไปตามมุมใบของลำต้นทั้งส่วนที่อยู่ใต้ผิวดินและส่วนที่อยู่เหนือผิวดิน รากที่อยู่ใต้ผิวดินเรียกว่ารากดิน (Soil root) รากเหล่านี้กระจายอยู่ในผิวดินตื้นๆ ถ้าดินมีสภาพร่วนซุยดีรากอาจหยั่งลึกลงในดินได้มากกว่า 50 เซนติเมตร รากที่เกิดตามมุมใบบนส่วนของลำต้นที่อยู่เหนือผิวดินเรียกว่ารากมุมใบ (Axillary root) มักเกิด

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เวียนอยู่รอบลำต้นตามมุมใบและอาจช่วยดูดน้ำและธาตุอาหารให้ต้นสับปะรดได้ในบางโอกาสที่มีสภาพแวดล้อมเหมาะสม แต่ในสภาพปกติรากเหล่านี้จะมีสารซูเบอริน (Suberin) สะสมอยู่และอยู่ในสภาพพักตัว (Foote, 1956)

2. ลำต้น ลำต้นของสับปะรดมีลักษณะสั้นและหนาคล้ายกระบอง (Py *et al*., 1987) มีความยาว 20-30 เซนติเมตร ส่วนที่กว้างที่สุดจะกว้างประมาณ 5 เซนติเมตร ลำต้นส่วนที่อยู่เหนือพื้นดินมักจะตั้งตรง ส่วนที่อยู่ใต้ผิวดินจะโค้งเล็กน้อยโดยเฉพาะถ้าต้นสับปะรดนั้นขยายพันธุ์มาจากส่วนของหน่อหรือตะเกียง เนื่องจากหน่อและตะเกียงเจริญออกมาจากตาทางด้านข้างของต้นแม่จึงมีส่วนโค้งเล็กน้อยที่บริเวณโคนต้นที่ติดอยู่กับต้นแม่ ต้นที่ขยายพันธุ์มาจากจุกส่วนใหญ่จะมีลำต้นตั้งตรง ตามลำต้นมีลักษณะเป็นข้อและปล้องสั้นตามรอยต่อของใบที่หลุดออกไปจากลำต้น (Leaf scar) ช่วงของปล้องยาว 2-5 มิลลิเมตร ปล้องที่ยาวที่สุดอยู่บริเวณส่วนกลางค่อนไปทางส่วนบนของลำต้นซึ่งเป็นส่วนที่มีอัตราการเจริญเติบโตเร็วกว่าส่วนอื่น ตามมุมใบมีตาซึ่งเจริญเติบโตขึ้นมาเป็นหน่อได้ หน่อที่เจริญมาจากตาบนลำต้นที่อยู่เหนือพื้นดินเรียกว่าหน่อข้างหรือหน่ออากาศ (Shoot หรือ Air sucker) ส่วนหน่อที่เจริญมาจากตาบนลำต้นที่ระดับผิวดินหรือใต้ดินเรียกว่าหน่อดิน (Ground sucker)

3. ใบ ใบสับปะรดมีลักษณะเรียวยาวและเป็นร่องโค้ง ช่วยให้ใบมีความแข็งแรงและทนทานต่อการหักพับได้ดีเป็นพิเศษ การเรียงตัวของใบเป็นแบบเวียนรอบลำต้น มีรอบการเรียงตัว (phyllotaxy) เท่ากับ 5/13 หรือจำนวนใบที่เกิดเวียนรอบลำต้นไปได้ 5 รอบจะมีจำนวนใบเท่ากับ 13 ใบ และใบที่ 14 จะเกิดตรงกับตำแหน่งของใบที่ 1 (Collins, 1960) ลักษณะของใบเรียวยาวเป็นร่องโค้งและเรียงตัวเวียนรอบลำต้นสับปะรดแบบนี้มีความสำคัญในการดำรงชีวิตในสภาพแวดล้อมที่มีน้ำน้อย ละอองฝนและน้ำค้างที่ตกลงมาสัมผัสกับพุ่มใบ จะถูกรวบรวมมาไว้ที่ส่วนโคนต้นให้รากในดินหรือรากตามมุมใบใช้ประโยชน์ได้

4. ช่อดอกและดอก ลักษณะช่อดอกของสับปะรดในปัจจุบันมีวิวัฒนาการมาจากบรรพบุรุษที่มีช่อดอกแบบ Raceme มีดอกย่อยและ Bract เชื่อมติดกันจนเกือบสมบูรณ์และอยู่รวมกันบนแกนกลางของช่อดอก ช่อดอกของสับปะรดแต่ละช่อดอกมีดอกย่อย 100-200 ดอก และแกนกลางของช่อดอกเป็นส่วนที่ต่อเนื่องมาจากก้านช่อดอกซึ่งเป็นเนื้อเยื่อเจริญที่เป็นการต่อเนื่องรูปแบบการเกิดใบ อย่างไรก็ตามจะมองเห็นการเรียงตัวของดอกย่อยจากโคนผลไปสู่ปลายผลได้เป็น 2 แถว แนวหนึ่งเรียงไปทางขวาอีกแนวหนึ่งเรียงไปทางซ้าย การเรียงตัวของดอกย่อยทั้งสองแนวนี้มีความเอียงไม่เท่ากัน โดยแนวหนึ่งจะมีความเอียงมากกว่าอีกแนวหนึ่ง ในช่อดอกปกติจำนวนแถวของ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ดอกย่อยในแต่ละแนวจะมีจำนวนคงที่ แนวนอนมีจำนวน 8 แถวและแนวตั้งมีจำนวน 13 แถว ลักษณะเช่นนี้ทำให้ประเมินจำนวนดอกย่อยหรือตาของผลสับปะรดได้โดยนับจำนวนดอกย่อยในแนวนอนและคูณด้วย 8 แต่จำนวนของดอกย่อยอาจจะมากหรือน้อยกว่านี้ได้เล็กน้อย เนื่องจากบางแถวอาจมีจำนวนดอกย่อยมากกว่าแถวอื่นอยู่ 1-2 ดอก

ดอกย่อยแต่ละดอกเป็นดอกสมบูรณ์เพศ มีส่วนประกอบต่างๆ คือ Bract 1 อัน กลีบเลี้ยง 3 กลีบ กลีบดอก 3 กลีบ เกสรตัวผู้ 6 อัน เรียงเป็นสองวงๆ ละ 3 แฉก เกสรตัวเมียมีความยาวมากกว่าเกสรตัวผู้เล็กน้อยและมีขนาดสั้นกว่ากลีบดอกเล็กน้อย กลีบดอกมีสีขาวที่โคนและสีม่วงอมฟ้าที่ส่วนปลาย รูปร่างของกลีบดอกเป็นแบบยาวรี ยาวประมาณ 16 มิลลิเมตร กว้างประมาณ 5 มิลลิเมตร กลีบดอกเจริญอยู่ชิดกันมากตั้งแต่โคนถึงปลายทำให้มีช่องเปิดเพียงเล็กน้อย (Krauss, 1949)

5. ผล ผลของสับปะรดสามารถพัฒนาได้โดยไม่ต้องมีการผสมเกสร (Parthenocarpy) การผสมตัวเองเกิดขึ้นไม่ได้ เนื่องจากหลอดเกสรตัวผู้ (Pollen tube) ในดอกของสับปะรดต้นเดียวกันไม่สามารถเจริญผ่านก้านเกสรตัวเมียไปจนถึงรังไข่ สับปะรดจึงมีผลในลักษณะเป็นผลรวม (Multiple fruit) (Brewbaker and Gorrez, 1967) เกิดขึ้นจากการเชื่อมติดกันของผนังรังไข่และส่วนประกอบของดอกย่อยที่เรียงตัวอยู่ติดกันบนแกนกลางของช่อดอก ส่วนบนสุดของผลจะเป็นกลุ่มของใบจะเจริญไปพร้อมๆ กับผลและพัฒนาเป็นจุกต่อไป แกนกลางของจุกและผลสับปะรดเป็นส่วนที่เจริญมาจากเนื้อเยื่อเจริญที่ปลายยอดของต้นสับปะรด

พันธุ์ทางการค้าของสับปะรดในประเทศไทย

พันธุ์สับปะรด (*Ananas comosus*) ที่ปลูกเป็นการค้าทั่วไปสามารถแบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม ตามลักษณะรูปร่างของใบและผล ดังนี้คือ กลุ่ม Cayenne, Queen, Spanish, Perolera และ Pernambuco สำหรับพันธุ์สับปะรดที่ปลูกในประเทศไทยนั้น พบอยู่เพียง 3 กลุ่ม คือ กลุ่ม Cayenne, Queen และ Spanish ส่วนพันธุ์ที่นิยมปลูกสำหรับแปรรูป บริโภคผลสด หรือส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศ ได้แก่ พันธุ์ปัตตาเวีย ซึ่งอยู่ในกลุ่ม Cayenne และพันธุ์ภูเก็ตซึ่งอยู่ในกลุ่ม Queen สับปะรดทั้งสอง พันธุ์นี้มีลักษณะเด่นที่สำคัญแตกต่างกัน ดังนี้ (จารุพันธุ์, 2526)

1. พันธุ์ปัตตาเวีย สับปะรดพันธุ์นี้มีลักษณะเป็นทรงพุ่ม สูงประมาณ 93-120 เซนติเมตร ลำต้นสูง 20-25 เซนติเมตร มีใบประมาณ 60-80 ใบ ขนาดของใบยาวประมาณ 81-97 เซนติเมตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กว้าง 6.5 เซนติเมตร ใบสีเขียวเข้มเป็นร่องที่ตรงกลาง ผิวใบด้านบนเป็นเงา ด้านใต้ใบจะมีสีออกเทาเงิน ขอบใบเรียบ กลางใบมักมีสีแดงอมน้ำตาล ปลายใบมีหนามเล็กน้อย หรืออาจมีหนามที่ขอบใบด้วย ผลมีน้ำหนัก 2.3-3.6 กิโลกรัม รูปทรงเป็นรูปทรงกระบอก เปลือกผลมีสีเขียวอมดำเมื่อแก่ ตาหรือผลย่อยจะตื้นแบนกว่าพันธุ์อื่นๆ มีผลย่อยขนาดประมาณ 2-2.5 เซนติเมตร ในทุกผลย่อยจะมีกลีบรองดอกหุ้มอยู่ โดยจะมีกลีบเลี้ยงรวมอยู่ด้วยกับกลีบรองดอก ทำให้นูนขึ้นมาเล็กน้อย เนื้อของผลจะมีสีเหลืองซีด หรือเหลืองอ่อน แต่สีจะเข้มขึ้นในฤดูร้อน ผลไม่มีเมล็ด น้ำสับปะรดมีอัตราการเป็นกรด 0.4-0.7 กรัมต่อน้ำสับปะรด 100 มิลลิลิตร ค่าความเป็นกรดเฉลี่ยประมาณ 4.0 และอยู่ในช่วง 3.9-4.1 และมีน้ำตาล 12-16 องศาบริกซ์ จุกโดยปกติจะมีเพียงจุกเดียว ตะเกียงบนผลจะมี 0-10 หน่อ ขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ของต้นแม่ หน่อข้างอยู่ที่ซอกใบจะมีประมาณ 0-3 หน่อ และมีความยาวประมาณ 35-40 เซนติเมตร ขนาดของผลที่เหมาะแก่การบรรจุกระป๋องควรมีขนาดผลกว้างประมาณ 4.5-5 นิ้ว รูปร่างควรเป็นทรงกระบอก น้ำหนักที่เหมาะสมที่สุดควรอยู่ในช่วง 1.25-1.40 กิโลกรัมต่อผล

2. พันธุ์ภูเก็ตหรือพันธุ์ตราดสีทอง สับปะรดพันธุ์นี้มีลักษณะเป็นทรงพุ่มขนาดเล็ก มีความสูงจากพื้นดินถึงยอดจุกประมาณ 66 เซนติเมตร ใบเฉลี่ยยาว 53 เซนติเมตร โคนใบสีเขียวตองอ่อน มีแถบสีแดงตอนกลาง ของใบ และปลายใบ ทำให้ใบมีสีชมพูปนแดง ขอบใบมีหนามเรียงตัวอยู่อย่างไม่เป็นระเบียบ หนามสีชมพูอมแดง ก้านผลมีสีแดงอมชมพู ก้านผลสั้นเพียง 7-12 เซนติเมตร ผลย่อยนูนเด่นชัด กลีบเลี้ยงด้านบนมีสีแดงปนชมพู ผลมีน้ำหนักประมาณ 1 กิโลกรัม ทรงผลค่อนข้างยาวเป็นทรงกระบอกสม่ำเสมอทั้งผล ปริมาณเส้นใยต่ำมาก เนื้อกรอบ มีความหวานสูงประมาณ 16.2-18.2 องศาบริกซ์ ปริมาณกรดซิตริก ประมาณ 0.54-0.68 เปอร์เซ็นต์ รวมทั้งแกนผลมีขนาดค่อนข้างใหญ่ เนื้อมีโพรงมาก

แหล่งเพาะปลูกสับปะรดที่สำคัญอยู่ที่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ระยอง ชลบุรี เพชรบุรี พิษณุโลก ผลผลิตออกมากในช่วงเดือนมีนาคม-มิถุนายน พฤศจิกายน-มกราคม ผลผลิตสับปะรดสดภายในประเทศร้อยละ 70-80 จะส่งเข้าโรงงานแปรรูป ที่เหลือใช้บริโภคสดภายในประเทศร้อยละ 20-30

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 1 พื้นที่เก็บเกี่ยวผลผลิต และผลผลิตต่อไร่ของสับปะรดของไทย

ปี	พื้นที่เก็บเกี่ยว (ไร่)	ผลผลิต (ล้านตัน)	ผลผลิตต่อไร่ (กิโลกรัม)
2551	581,972	2.28	3,915
2552	566,599	1.89	3,427
2553	583,200	1.93	3,300
2554	645,981	2.58	4,012
2555	646,610	2.52	3,895

ที่มา: FAO, สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2554)

ปี 2555 คาดว่าจะมีพื้นที่เพาะปลูกสับปะรดประมาณ 0.647 ล้านไร่ เพิ่มขึ้นจากปี 2554 ร้อยละ 0.43 และคาดว่าจะมีผลผลิตรวมประมาณ 2.52 ล้านตัน ลดลงจากปี 2554 ร้อยละ 2.70 เนื่องจากการปรับเปลี่ยนพื้นที่ไปปลูกอ้อยโรงงาน และมันสำปะหลังในจังหวัดอุทัยธานี สุพรรณบุรี และกาญจนบุรี รวมถึงต้นยางและปาล์มน้ำมันที่ปลูกแซมด้วยสับปะรดเริ่มโต จนไม่สามารถปลูกสับปะรดได้อีกต่อไป ในจังหวัดเลย หนองคาย นครพนม อุทัยธานี จันทบุรี ตราด ระยอง และชลบุรี แต่เนื่องด้วยทางภาคเหนือมีการปลูกเพิ่มในพื้นที่ว่างเชิงเขาตั้งแต่ปี 2553-2554 และเกษตรกรบางส่วนมีการปลูกแซมในสวนมะพร้าวและสวนยางที่ปลูกใหม่ จึงทำให้เนื้อที่เก็บเกี่ยวใกล้เคียงกับปี 2554 สำหรับผลผลิตในปี 2555 ที่คาดว่าจะลดลงจากปีที่ผ่านมา เนื่องจากเกิดภาวะฝนทิ้งช่วงในแหล่งผลิตจังหวัดประจวบคีรีขันธ์และเพชรบุรี ส่งผลให้น้ำหนักสับปะรดลดลง จึงทำให้ผลผลิตในภาพรวมลดลง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ความหลากหลายทางพันธุกรรม (Genetic Diversity)

ความหลากหลายทางพันธุกรรม (Genetic diversity) หมายถึง ความหลากหลายของยีน (Gene) ที่มีอยู่ในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด สิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกันอาจมียีนแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ ความแตกต่างทางพันธุกรรมมีสาเหตุมาจากการกลายพันธุ์ (Mutation) ซึ่งอาจเกิดขึ้นในระดับยีนหรือโครโมโซม ในการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศอาศัยกลไกการ Crossing over ทำให้ยีนเกิดการสลับที่หรือรวมตัวกันใหม่แล้วถูกถ่ายทอดไปสู่รุ่นต่อๆ ไปในประชากร อย่างไรก็ตามประชากรของสิ่งมีชีวิตใดชนิดหนึ่งจะรวมตัวเป็นกลุ่มและผสมพันธุ์กันภายในกลุ่มเผ่าพันธุ์ของตนทำให้เกิดการถ่ายทอดยีนเกิดขึ้นเฉพาะภายในประชากรของสปีชีส์เดียวกันกลุ่มยีนของประชากรสิ่งมีชีวิตเดียวกันเรียกว่า Gene pool การถ่ายทอดยีนแต่ละรุ่นต้องประสบกับแรงกดดันทางวิวัฒนาการ (Evolutionary forces) เช่น การคัดเลือกโดยธรรมชาติ การอพยพ ความผันแปรทางพันธุกรรม เป็นต้น ทำให้โครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรในแต่ละรุ่นเปลี่ยนแปลงไปก่อให้เกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรต่าง ๆ ของสปีชีส์ ประชากรของสปีชีส์อาจจะมีลักษณะจำเพาะ (Speciation) ในแต่ละพื้นที่มีสาเหตุจากการโดดเดี่ยวทางภูมิศาสตร์ (Geographic isolation) อันเกิดจากแยกกลุ่มประชากร (Splitting) ของสิ่งมีชีวิตโดยสภาพทางภูมิศาสตร์มีสภาพภูมิศาสตร์เป็นตัวสกัดกั้น (Barrier) ทำให้สิ่งมีชีวิตมีพัฒนาการที่เฉพาะตัวขึ้นมาเป็นสปีชีส์ใหม่ โดยการผสมข้ามพันธุ์หรือผสมกันเองภายใต้ข้อจำกัดทางภูมิศาสตร์ทำให้มีความหลากหลายของพันธุกรรมขึ้น (Marsh and Grossa, 1996)

ปรีชา (2543) ได้สรุปความสำคัญของความหลากลายทางพันธุกรรมแบ่งออกได้เป็น 3 ประเด็นหลักคือ

1. ทำให้มีศักยภาพในกระบวนการวิวัฒนาการ (Evolutionary potential) โดยสิ่งมีชีวิตชนิดใดก็ตามที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงกว่าจะมีความสามารถในการเกิดเปลี่ยนวิวัฒนาการ ได้ดีกว่าสิ่งมีชีวิตที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมน้อยกว่า เมื่อเกิดมีสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. การสูญเสียประสิทธิภาพในการแพร่พันธุ์ (Fitness) ของประชากร โดยพบว่าประชากรใดก็ตามที่สูญเสียความหลากหลายทางพันธุกรรม มักประสบกับปัญหาต่างๆ ที่เกิดขึ้นกับประชากรนั้นๆ ได้แก่ อัตราการตายสูงในรุ่นลูก ความสามารถในการสืบพันธุ์ต่ำ

3. ทรัพยากรทางพันธุกรรมมีคุณค่าต่อวิถีชีวิตมนุษย์ (Utilitarian values) ความหลากหลายทางพันธุกรรมเป็นแหล่งที่มนุษย์สามารถนำไปใช้ประโยชน์ทั้งในด้านเศรษฐกิจ สังคม และวัฒนธรรมนั้นมีความสำคัญในแง่เป็นแหล่งของปัจจัยสี่ของมนุษย์ เป็นจุดกำเนิดของวัฒนธรรมท้องถิ่นที่มีความหลากหลาย

การจัดจำแนกสิ่งมีชีวิต

สิ่งมีชีวิตในโลกมีอยู่มากมายหลายล้านชนิด และไม่มีสิ่งมีชีวิตใดที่มีลักษณะเหมือนกันทุกประการ ดังนั้นเพื่อความสะดวกที่จะศึกษาและนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ จึงต้องมีการแบ่งสิ่งมีชีวิตออกเป็นหมวดหมู่โดยมีหลักเกณฑ์ในการพิจารณาหลายประการ

1. พิจารณาลักษณะสัณฐานวิทยาของสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ ว่าเหมือนหรือคล้ายกันเพียงใด ซึ่งการนำลักษณะโครงสร้างที่เห็นเด่นชัดมาเป็นเกณฑ์ในการจัดจำแนกสิ่งมีชีวิตแม้ว่าจะสะดวกและรวดเร็ว แต่บางครั้งก็เกิดความผิดพลาดได้ในกรณีที่สิ่งมีชีวิตมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันมาก ต้องใช้ความชำนาญเท่านั้นจึงจะสามารถแยกความแตกต่างได้

2. พิจารณาจากแบบแผนการเจริญของสิ่งมีชีวิตตั้งแต่แรก โดยอาศัยหลักที่ว่าสิ่งมีชีวิตมีความสัมพันธ์กันมากเพียงใดก็ย่อมจะมีวิธีการคล้ายกันมากเท่านั้น

3. พิจารณาถึงพฤติกรรมความสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิตกับสิ่งแวดล้อม ตลอดจนการแพร่กระจายทางภูมิศาสตร์ของสิ่งมีชีวิตชนิดนั้นๆ ด้วย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จากหลักเกณฑ์ที่กล่าวมาแล้วเหมาะสมสำหรับจัดจำแนกสิ่งมีชีวิตกลุ่มใหญ่ หรือกลุ่มที่มีความสัมพันธ์ห่างไกลกัน แต่ถ้าต้องการแบ่งเป็นกลุ่มย่อยๆ หรือกลุ่มที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกัน จำเป็นต้องใช้ความรู้ในศาสตร์แขนงอื่นๆ เช่น เคมี ชีวเคมี สถิติ พันธุศาสตร์ สรีรวิทยา เป็นต้น ช่วยในการศึกษาวิจัยเพื่อให้การจัดจำแนกสิ่งมีชีวิตนั้นๆ มีความถูกต้องมากที่สุด (วิสุทธิ์ และคณะ, 2530)

เครื่องหมายโมเลกุล (Molecular Markers)

การจำแนกความหลากหลายทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตทำโดยการศึกษาอนุกรมวิธาน การเปรียบเทียบทางกายวิภาค (Anatomy) สัณฐานวิทยา (Morphology) การศึกษาเอมบริโอ (Embryo) และสรีรวิทยา (Physiology) (สุรินทร์, 2540) เพื่อบอกถึงสายพันธุ์พืชนั้น บางครั้งยังไม่เพียงพอต่อการแยกความแตกต่างให้ชัดเจนและแม่นยำได้ เนื่องจากอิทธิพลของสภาพแวดล้อมที่พืชนั้นขึ้นอยู่ การแยกความแตกต่างของสายพันธุ์โดยใช้ลักษณะที่พืชแสดงออก หรือลักษณะทางฟีโนไทป์ของพืชนั้น อาจได้รับอิทธิพลจากสภาพแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้อง ดังนั้นจึงจำเป็นต้องอาศัยวิธีการทางด้านโมเลกุล มาช่วยแยกความแตกต่างของพืชแต่ละสายพันธุ์ในระดับโมเลกุล ซึ่งปัจจุบันเป็นที่นิยม ดังนั้นที่ผ่านมาจึงได้มีการพัฒนาวิธีการในการตรวจสอบสายพันธุ์ของสิ่งมีชีวิตโดยการใช้อิเล็กโตรโฟรีซิสของไอโซไซม์มาใช้ในการแยกความแตกต่างของสายพันธุ์ที่มีความใกล้ชิดกันทางจีโนไทป์ (สมิต และประวิทย์, 2532; Bassiri, 1976; Stegemann, 1984)

ในการศึกษาเครื่องหมายโมเลกุลนั้นสามารถใช้ในการหาความหลากหลายทางพันธุกรรม (Genetic diversity) ของสิ่งมีชีวิตทั้งทางด้านปริมาณและคุณภาพ ซึ่งเป็นการจำแนกความแตกต่างในระหว่างและภายในสปีชีส์ (between and species) หรือระหว่างและภายในประชากร (between individuals and between population) เครื่องหมายที่ใช้บ่งบอกความแตกต่างมี 2 ประเภท (สุรินทร์, 2545) คือ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1. เครื่องหมายทางสัณฐานวิทยา (Morphology marker) เป็นเครื่องหมายที่สามารถมองเห็นได้ คือ ลักษณะที่แตกต่างกันของสิ่งมีชีวิต เช่น ลักษณะสีกลีบของดอกกุหลาบ ลักษณะสีตา เป็นต้น ข้อดีของเครื่องหมายชนิดนี้คือ ไม่ซับซ้อน สามารถมองเห็นได้ด้วยตา แต่มีข้อจำกัดคือ จำนวนน้อยและที่สำคัญคือ การแสดงออกของลักษณะทางสัณฐานวิทยามักได้รับผลกระทบโดยตรงจากสภาพแวดล้อม เช่น ความอุดมสมบูรณ์ของดินหรือปุ๋ย เป็นต้น (อมรรัตน์, 2548)

2. เครื่องหมายทางโมเลกุล (Molecular marker) มี 2 ระดับ คือ ระดับโปรตีนและดีเอ็นเอ

2.1 เครื่องหมายโปรตีน (protein marker) เป็นวิธีการจัดจำแนกความแตกต่างของโปรตีนต่างๆ ในแต่ละสิ่งมีชีวิต เช่น โปรตีนที่สะสมในเมล็ด เอนไซม์ต่างๆ ได้แก่ ไอโซไซม์ (Isozyme) เป็นกลุ่มของเอนไซม์ต่างชนิดกันที่ทำหน้าที่เดียวกัน และอัลโลไซม์ (Allozyme) เป็นกลุ่มของเอนไซม์ที่ผลิตมาจากอัลลีลที่ต่างกันจากยีนตัวเดียวกัน เคลื่อนตัวผ่านเจลไม่เท่ากัน ทำให้เกิดความแตกต่างในสิ่งมีชีวิตแต่ละต้นหรือแต่ละตัวที่มีเอนไซม์ต่างแบบกัน ส่วนคุณสมบัติที่สำคัญของโมเลกุลเครื่องหมายชนิดนี้คือเป็น Codominant marker แต่วิธีนี้มีข้อด้อยคือ ชนิดของเอนไซม์ที่เป็นไอโซไซม์และอัลโลไซม์ที่สามารถนำมาตรวจสอบความแตกต่างนั้นมีจำนวนจำกัด ประโยชน์จากการใช้ไอโซไซม์ เช่น การศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรมของพืช การจัดหมวดหมู่พืช การตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเมล็ดพันธุ์พืช งานด้านการปรับปรุงพันธุ์ การศึกษาวิวัฒนาการของพืช และการศึกษาสรีรวิทยาของพืช แต่เนื่องจากการตรวจสอบมีข้อจำกัดอยู่บ้าง เนื่องจากเอนไซม์และโปรตีนเป็นผลจากการแสดงกิจกรรมของยีน ซึ่งสภาพแวดล้อมและสภาพในเนื้อเยื่อของพืชเองมีอิทธิพลต่อการแสดงออก ทำให้การตรวจสอบมีความแปรปรวนหรือมีข้อผิดพลาดอยู่บ้าง ปัจจุบันจึงนิยมใช้เทคนิคลายพิมพ์ดีเอ็นเอมาใช้ในการจัดจำแนกพันธุ์พืช

2.2 เครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker) ตั้งแต่ปี 1970 เป็นต้นมาได้ค้นพบวิธีการต่างๆ ทางชีวเคมี เช่น การแยกเอนไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ เอนไซม์สำหรับเชื่อมต่อดีเอ็นเอ และเอนไซม์สำหรับตัดดีเอ็นเอที่ตำแหน่งจำเพาะ เป็นต้น ประกอบกับการค้นพบว่าเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอมีพื้นฐานมาจากความแตกต่างกันในลำดับเบสดีเอ็นเอที่ตำแหน่งต่างๆ ของจีโนม หรือที่เรียกว่าดีเอ็นเอโพลีมอฟิซึม (DNA polymorphism) (McCouch and Tankslay, 1991; Paterson, 1996; วิชัยและคณะ, 2541) ในจีโนมของแต่ละสิ่งมีชีวิต และมีเทคนิคมากมายในการ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตรวจและใช้ประโยชน์จากการเกิดความแตกต่างของลำดับดีเอ็นเอ ซึ่งจะได้ชิ้นดีเอ็นเอที่ใช้เป็นตัวแทนหรือเครื่องหมายของลักษณะใดลักษณะหนึ่งเรียกว่า molecular marker หรือ DNA marker หรือดีเอ็นเอเครื่องหมาย และถ้าหากดีเอ็นเอเครื่องหมายนี้ให้ความแตกต่างกันระหว่างสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด เราเรียกว่า polymorphic marker โดยเทคนิคในการจัดจำแนกสายพันธุ์ในระดับดีเอ็นเอสามารถแยกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ เทคนิคที่อาศัยหลักการ hybridization และเทคนิคที่อาศัยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์ (polymerase chain reaction)

การตรวจสอบในระดับดีเอ็นเอมีข้อดีกว่าการตรวจสอบโปรตีนคือ โมเลกุลของดีเอ็นเอมีความเสถียรกว่าจึงเก็บไว้ได้นาน สามารถวิเคราะห์จากตัวอย่างที่เก็บได้ไว้เป็นเวลานานและดีเอ็นเอเป็นองค์ประกอบที่มีอยู่ในเซลล์เกือบทุกเซลล์ในปริมาณเท่ากัน จึงสามารถตรวจสอบดีเอ็นเอจากเนื้อเยื่อใดๆ ของระยะการเจริญเติบโตหรือทางสรีรวิทยาใดก็ได้โดยไม่ขึ้นกับสภาพแวดล้อม และสามารถตรวจสอบดีเอ็นเอจากส่วนที่เป็นยีนหรือไม่ใช่ยีนก็ได้ (สุรินทร์, 2545)

เทคนิคที่อาศัยหลักการ Hybridization

เทคนิคที่อาศัยหลักการ hybridization มีเพียงเทคนิคเดียว คือ RFLP (restriction fragment length polymorphism) หมายถึง ความแตกต่างหรือความหลากหลายของดีเอ็นเอที่เกิดจากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ มีขั้นตอนคือ ตัด genomic DNA ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ เป็นข้อมูลทางพันธุกรรมของโมเลกุลดีเอ็นเอที่อยู่ในเซลล์สิ่งมีชีวิต เก็บอยู่ในนิวเคลียสและออร์แกเนลล์บางชนิด ได้แก่ คลอโรพลาส์และไมโตคอนเดรีย แล้วนำไปแยกขนาดของดีเอ็นเอที่ได้โดยใช้ gel electrophoresis ย้ายชิ้นดีเอ็นเอไปยังเมมเบรน (membrane) และไฮบริไดซ์ด้วยโพรบเพื่อหาชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่เป็นคู่สมกับโพรบซึ่งเป็นโอลิโกนิวคลีโอไทด์สายสั้นๆ ซึ่งอาจจะทราบหรือไม่ทราบลำดับเบสก็ได้ ความแตกต่างของชิ้นดีเอ็นเอจากเทคนิค RFLP เกิดจากดีเอ็นเอมีการเปลี่ยนลำดับเบสต่างไปจากเดิม โดยมีสาเหตุมาจาก

1. เกิด point mutation ทำให้ตำแหน่งจดจำของเอนไซม์หายไปหรือเพิ่มขึ้นมา

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. เกิดการเพิ่มขึ้นหรือหายไปของดีเอ็นเอบางส่วนในบริเวณที่อยู่ระหว่างตำแหน่งจดจำของเอนไซม์ 2 ตำแหน่ง มีผลให้ชิ้นดีเอ็นเอที่ตัดได้มีขนาดต่างไปจากเดิม

3. เกิดการหายไปของดีเอ็นเอส่วนที่มีตำแหน่งจดจำเอนไซม์มีผลให้มีตำแหน่งจดจำหายไป

4. เกิดการจัดเรียงตัวใหม่ของดีเอ็นเอ (DNA rearrangement)

ซึ่งสาเหตุดังกล่าวทำให้ขนาดของชิ้นดีเอ็นเอที่ผ่านการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะเปลี่ยนแปลงไป เกิดโพลีมอร์ฟิซึมที่สามารถนำไปใช้ในการทำแผนที่พันธุกรรม ศึกษาความหลากหลายของสิ่งมีชีวิต คุณสมบัติของเทคนิคนี้คือ จะได้ codominant marker คือ ความสามารถตรวจสอบอัลลีลที่เป็นโฮโมไซกัส (homozygous) และเฮทเทอร์โรไซกัส (Heterozygous) ได้ (สุรินทร์, 2545)

เทคนิคที่อาศัยพีซีอาร์ (Polymerase Chain Reaction, PCR)

Saiki *et al.* (1985) ได้ประยุกต์วิธีการมาจากเทคนิค polymerase chain reaction ซึ่งเป็นการนำเอาความรู้ในอดีตมาเกี่ยวเนื่องกับความรู้เรื่อง 1.) การเพิ่มจำนวนตัวเองของดีเอ็นเอในสิ่งมีชีวิต (DNA replication) โดยมีเอนไซม์ DNA polymerase และ RNA primer ซึ่งเป็นกระบวนการที่ประกอบด้วย 3 ขั้นตอนคือ ดีเอ็นเอเกลียวคู่แยกออกเป็นสายเดี่ยวโดยการใช้ความร้อนสูง (DNA template denature) เกิดการจับตัวกันของไพรเมอร์กับดีเอ็นเอสายเดี่ยวที่เป็นต้นแบบ (primer annealing) และมีการสังเคราะห์ดีเอ็นเอต่อจากส่วนของไพรเมอร์ที่เป็นต้นแบบ (primer extension) 2.) การค้นพบ Klenow fragment ของ DNA polymerase ที่มีคุณสมบัติทั้ง $5' \longrightarrow 3'$ DNA polymerase และ $3' \longrightarrow 5'$ exonuclease โดยอาศัยคุณสมบัติ $5' \longrightarrow 3'$ DNA polymerase activity และ 3.) เทคนิคการติดฉลากบนดีเอ็นเอตัวตรวจสอบด้วยวิธี Random primed DNA labeling โดยมีหลักการคือ การสังเคราะห์ complementary DNA strand ต่อจากปลาย $3'$-OH ของ random hexanucleotide primer กระบวนการทำงานนี้ประกอบด้วย 3 ขั้นตอนเหมือนกับในกระบวนการ DNA replication

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พีซีอาร์ (PCR) เทคนิคนี้พัฒนาขึ้นเมื่อปี 1985 โดย Kary Mullis และคณะแห่งบริษัท Cetus Corporation เป็นเทคนิคที่ใช้ในการโคลนยีนหรือเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอในหลอดทดลอง (*in vitro* enzymatic amplification of DNA) โดยใช้เอนไซม์ที่ทนต่อความร้อนสูงซึ่งเริ่มต้นจากปริมาณดีเอ็นเอเพียงเล็กน้อย (ส่วนใหญ่อยู่ในช่วงระดับนาโนกรัม, 1 นาโนกรัม = 10^{-9} กรัม) ในการทำ PCR ในแต่ละรอบจะประกอบด้วย 3 ขั้นตอนได้แก่

1. Denaturation step (denaturing) เป็นขั้นตอนที่ดีเอ็นเอแม่พิมพ์ที่อยู่เป็นเกลียวคู่ถูกทำให้แยกออกจากกันเป็นสายเดี่ยว 2 สายโดยใช้ความร้อนสูงอุณหภูมิประมาณ 90-95 องศาเซลเซียส

2. Annealing step (primer annealing) ไพรเมอร์ทั้ง 2 ไพรเมอร์จะเข้าจับ (anneal) ที่ตำแหน่งจำเพาะของดีเอ็นเอสายเดี่ยวทั้ง 2 สาย อุณหภูมิในช่วงนี้จะลดลงอยู่ที่ 40-60 องศาเซลเซียส

3. Elongation step (primer extension or polymerization) ขั้นตอนนี้เอนไซม์ *Taq* DNA polymerase จะทำงานโดยการเติมนิวคลีโอไทด์เข้าที่ปลาย 3′ ของไพรเมอร์ สายดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นใหม่จะยาวไปเรื่อยๆ จากบริเวณที่ปลายทั้งสองของไพรเมอร์ที่จับอยู่บนสายดีเอ็นเอแม่พิมพ์ทั้งสองสายทำให้บริเวณที่ต้องการจะถูกจำลองได้โดยสมบูรณ์ อุณหภูมิที่ใช้ในขั้นตอนนี้คือ 72 องศาเซลเซียส

ปฏิกิริยาทั้ง 3 ขั้นตอนจะดำเนินไปเรื่อยๆ ตามจำนวนรอบที่ตั้งไว้อยู่ในช่วง 25-50 รอบ จนกระทั่งสิ้นสุดจะได้ผลผลิตของปฏิกิริยา หรือที่เรียกว่า amplicon หรือ PCR product (ปรีชา, 2543)

การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยวิธีการ PCR มีมากมายวิธีที่นิยมใช้กันมากได้แก่

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1. อาร์เอพีดี (random amplified polymorphic DNA, RAPD) เป็นเทคนิคที่พัฒนาขึ้นโดย Williams *et al.* ในปี 1990 เป็นการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบสุ่มโดยใช้ไพรเมอร์สายสั้นๆ ความยาวประมาณ 10 นิวคลีโอไทด์ คุณสมบัติที่สำคัญ คือ สะดวก รวดเร็ว ไม่จำเป็นต้องใช้ข้อมูลจากลำดับเบส และใช้ปริมาณดีเอ็นเอเริ่มต้นน้อย แต่ดีเอ็นเอเครื่องหมายจากเทคนิคนี้เป็นแบบ dominant marker คืออาจสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้เฉพาะบางอัลลีลเท่านั้น แสดงผลในรูปการเกิดแถบดีเอ็นเอในตำแหน่งนั้นๆ

2. เอเอฟแอลพี (amplified fragment length polymorphism, AFLP) เป็นเทคนิคที่พัฒนาขึ้นโดย Zabeau และ Vos นักวิจัยของบริษัท Keygene N.V.ประเทศเนเธอร์แลนด์ และได้ จดสิทธิบัตรในปี ค.ศ. 1993 เป็นเทคนิคที่รวบรวม หลักการของ RFLPและ RAPD เข้าไว้ด้วยกัน หลักการคือตัดดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ 2 ชนิด และต่อเข้ากับ adapter ของเอนไซม์ทั้งสอง แล้วเพิ่มปริมาณด้วยไพรเมอร์ที่จำเพาะกับ adapter นั้นๆ คุณสมบัติที่สำคัญคือ สามารถตรวจสอบความแตกต่างได้สูง อีกทั้งเป็นได้ทั้ง codominant และ dominant marker แต่มีข้อด้อยคือ ยุ่งยาก และซับซ้อน

3. เอสเอสอาร์ (simple sequence repeat, SSR) ในปี 1989 โดย Tautz อาศัยหลักการกระจายตัวของเบสซ้ำในสิ่งมีชีวิตโดยสร้างไพรเมอร์ที่จำเพาะกับส่วนต้น และปลายของเบสซ้ำนั้น แล้วทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ซึ่งจะพบความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอ เนื่องจากการมีจุดซ้ำไม่เท่ากัน เทคนิคนี้จะได้ codominant marker และมีความจำเพาะเจาะจงบนจีโนม

4. เอสเอสซีพี (single-strand conformational polymorphism) เป็นเทคนิคที่ค้นพบโดย Orita *et al.* ในปี 1989 เป็นวิธีการตรวจหาความแตกต่างของลำดับเบส ในขั้นดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณจากไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะ อาศัยหลักการเคลื่อนที่ของดีเอ็นเอสายเดี่ยว (single-strand DNA) บนแผ่นเจลที่ขดหรือพันกันเกิดเป็นโครงสร้างจำเพาะขึ้นกับองค์ประกอบของเบสบนสายดีเอ็นเอ ซึ่งโครงสร้างที่จำเพาะนี้จะส่งผลต่อการเคลื่อนที่บนแผ่นเจล คุณสมบัติของเทคนิคนี้คือมีดีเอ็นเอเครื่องหมายแบบ codominant marker และสามารถตรวจพบการกลายแม้เพียงตำแหน่งเดียวได้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5. ซีเอฟแอลพี (cleavase fragment length polymorphism, CFLP) เทคนิคนี้ถูกค้นพบในปี 1986 โดย Brow *et al*. เป็นเทคนิคที่พัฒนามาจากเทคนิค SSCP โดยดีเอ็นเอสายเดี่ยวจะงอพับ และจับกันเป็นวงเกิดเป็นโครงสร้างที่เรียกว่า hairpin หรือ stem loop เนื่องจากเกิดการจับคู่กันของเบสที่เป็นคู่สมกันที่อยู่บนดีเอ็นเอสายเดียวกันหลังจากนั้นใช้เอนไซม์ leavase I ซึ่งสามารถจดจำตำแหน่งและตัดสายดีเอ็นเอตรงจุดที่เชื่อมระหว่างดีเอ็นเอสายเดี่ยวกับดีเอ็นเอสายคู่มาทำปฏิกิริยากับดีเอ็นเอสายเดี่ยวที่มีโครงสร้าง hairpin ดังนั้นจะได้ชิ้นดีเอ็นเอที่มีขนาดต่างๆ กันเพิ่มขึ้นมา เทคนิคนี้สามารถตรวจสอบหาความแตกต่างของชิ้นดีเอ็นเอ 2 ตัวอย่างที่มีลำดับเบสแตกต่างกันแบบที่มีการเพิ่มขึ้น หรือขาดหายไปของลำดับเบสในสายดีเอ็นเอ หรือมีลำดับเบสที่แตกต่างกันที่มีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ hairpin

เทคนิค Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)

RAPD เป็นวิธีที่คิดค้นโดย Williams และคณะ ในปี 1990 เป็นเทคนิคที่ใช้หลักการเดียวกันกับเทคนิค PCR แต่ต่างกันตรงที่ไพรเมอร์เป็นแบบสุ่มเท่านั้น เทคนิคนี้เรียกว่า PCR with arbitrary primer (AP-PCR) โดยจะใช้ไพรเมอร์ที่มีขนาดสั้นๆ นิยมใช้ 10 นิวคลีโอไทด์ ที่มี GC content ค่อนข้างสูงประมาณ 60-70 เปอร์เซ็นต์ (ต่ำสุด 50 เปอร์เซ็นต์) ไพรเมอร์เหล่านี้เป็นไพรเมอร์ที่มีการจับกับดีเอ็นเอแม่พิมพ์แบบสุ่ม มีการสุ่มหาลำดับเบสเป้าหมาย (target sequence) ที่กระจายอยู่ใน genomic DNA ที่ใช้เป็นแม่พิมพ์ การจับกันระหว่างไพรเมอร์กับลำดับเบสเป้าหมายนี้มี 2 กรณีคือจับกันได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และจับได้บางส่วน หลังการจับกันจะได้ดีเอ็นเอสายใหม่เกิดขึ้นเรียกว่า amplified DNA fragment จนขั้นสุดท้ายจะได้ ผลผลิตของปฏิกิริยา และนำไปแยกชิ้นดีเอ็นเอเหล่านี้โดยใช้เทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซีส ซึ่งอาจใช้ SDS-PAGE หรือ agarose ก็ได้ ชิ้นส่วนของดีเอ็นเอใดๆ นั้นไม่สามารถทราบลำดับเบสเลย (anonymous DNA sequence) การปรากฏและการไม่ปรากฏของชิ้นส่วนดีเอ็นเอใดๆ นั้นเราสามารถเปรียบเทียบระหว่างสิ่งมีชีวิตที่ใช้ในการศึกษาที่อาจจะเป็นสปีชีส์เดียวกันจากคนละประชากร จะได้ข้อมูลในการประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมได้ หรือบางกรณีอาจใช้เป็นข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอได้ (ปรีชา, 2543) พอลิมอร์ฟิซึมของ RAPD เกิดจากการเกาะของไพรเมอร์กับดีเอ็นเอในตำแหน่งที่ต่างกันทำให้ได้จำนวนและขนาดของชิ้นดีเอ็นเอที่เปลี่ยนไป หรืออาจเกิดจากการมีชิ้นส่วนของดีเอ็นเอแทรกบริเวณที่ไพรเมอร์เข้าเกาะกับดีเอ็นเอ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

(addition) หรือเกิดจากการขาดหายไปของชิ้นส่วนดีเอ็นเอตำแหน่งที่ไพรเมอร์เข้าเกาะ (deletion) หรือเกิดการแทนที่หรือเปลี่ยนแปลงของเบสบริเวณที่ไพรเมอร์เกาะกับดีเอ็นเอ ทำให้ไม่เกิดแถบดีเอ็นเอ ซึ่งการมีและไม่มีแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งหนึ่งๆ มักเกิดขึ้นมากกว่าการเปลี่ยนแปลงขนาดของดีเอ็นเอ และแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นจากเทคนิค RAPD ยังแสดงการข่ม (dominant) ต่อการไม่เกิดแถบดีเอ็นเอจึงไม่สามารถตรวจสอบเฮทเทอร์โรไซกัส (กฤษณา, 2546; Costa *et al*., 2002; Rameau *et al*., 1998) ข้อดีของวิธีการนี้คือ ทำได้ง่าย รวดเร็ว ต้องการดีเอ็นเอปริมาณน้อย ไม่ต้องใช้สารกัมมันตรังสี RAPD ดีมีประโยชน์ในแง่ของการปรับปรุงพันธุ์พืช การศึกษาพันธุศาสตร์ประชากร การศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพ และศึกษาตัวอย่างที่มีปริมาณมาก ซึ่งประโยชน์ของการใช้เทคนิค RAPD ในการจำแนกสายพันธุ์พืชมีดังนี้

1. สะดวกรวดเร็ว โดยสามารถสกัดดีเอ็นเอจากใบอ่อนของพืช ผลการตรวจสามารถทราบผลได้ทันที ในขณะที่การใช้วิธีการปลูกทดสอบในแปลงปลูกอาจต้องรอจนกว่าพืชนั้นๆ เจริญเติบโตเต็มที่เสียก่อน

2. สภาพแวดล้อม ไม่มีอิทธิพลต่อดีเอ็นเอของพืช ในขณะที่การใช้เอนไซม์หรือโปรตีนตรวจสอบ สภาพแวดล้อมจะมีอิทธิพลอย่างมาก

3. วิธีการตรวจสอบไม่ยุ่งยากซับซ้อน การวิเคราะห์ผลพิจารณาจากการปรากฏ หรือไม่ปรากฏของแถบดีเอ็นเอ และสามารถทำการตรวจสอบได้อย่างไม่จำกัด เพียงแต่เปลี่ยนไพรเมอร์ โดยที่ส่วนประกอบหรือสภาพแวดล้อมอื่นๆ ของการทดลองจะไม่เปลี่ยนแปลง

4. ใช้ตัวอย่างพืชที่นำมาตรวจสอบในปริมาณที่น้อยมาก โดยเฉพาะพืชผสมตัวเองถ้าพืชนั้นมีความสม่ำเสมออยู่แล้ว ใช้ใบอ่อนเพียง 2-3 ใบ ก็เพียงพอที่จะนำมาสกัดดีเอ็นเอ ส่วนพืชผสมข้ามการสุ่มตัวอย่างและความสม่ำเสมอของประชากร เป็นปัจจัยที่สำคัญในการตรวจสอบ ควรสุ่มตัวอย่างให้มากพอที่จะเป็นตัวแทนของประชากรทั้งหมด

5. เป็นวิธีการทางชีววิธี ที่ไม่ใช้สารกัมมันตรังสี จึงค่อนข้างปลอดภัยต่อผู้ปฏิบัติงาน เพียงแต่คอยระวังสารเคมีบางอย่างที่อาจเป็นอันตรายเท่านั้น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

6. ไม่จำเป็นต้องใช้ probe ที่เฉพาะเจาะจงของแต่ละพืช เพียงแต่ใช้ไพรเมอร์ซึ่งสามารถนำมาใช้ได้กับพืชทุกชนิด

7. สามารถตรวจสอบได้ทั้งจีโนมของพืชซึ่งมีระยะของพอลิมอร์ฟิซึมสูงและทำให้สามารถประเมินการกระจายตัวทางพันธุกรรมของพืชที่นำมาศึกษาได้ อีกทั้งสามารถนำมาตรวจสอบความตรงตามพันธุ์ หรือปลอมปนของพันธุ์ ตลอดจนนำมาประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืช เช่น การหาเครื่องหมายโมเลกุล ที่ควบคุมลักษณะที่ต้องการทำให้ขจัดอิทธิพลของสภาพแวดล้อมออกไปได้ในการคัดเลือกพันธุ์

ตัวอย่างรายงานการศึกษาด้วยวิธี RAPD เป็นวิธีการที่ประสบผลสำเร็จแล้วในพืชหลายชนิดดังนี้

Koller *et al*. (1992) จัดจำแนกสายพันธุ์แอปเปิ้ลจำนวน 11 สายพันธุ์โดยใช้วิธีการ RAPD ซึ่งสกัดดีเอ็นเอจากใบอ่อนแอปเปิล โดยใช้วิธีการเติมคลอโรฟอร์มผสมเอมิลแอลกอฮอล์ ในอัตราส่วน 24:1 ซึ่งเป็นวิธีการที่ดัดแปลงมาจาก Dellaporta *et al.* ในปี 1983 และเอนไซม์ Rnase แล้วนำไปเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยวิธีการ PCR พบแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏแตกต่างกันตามสายพันธุ์ของแอปเปิลทั้ง 11 สายพันธุ์ และยังพบว่าความเข้มข้นของดีเอ็นเอที่ได้จากการสกัดนั้นมีผลกับความชัดเจนของแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏจากการทำ RAPD ซึ่งการใช้เทคนิคดังกล่าวสามารถใช้ในการแยกความแตกต่างของสายพันธุ์แอปเปิลทั้ง 11 สายพันธุ์ได้

Tinker *et al*. (1993) ได้ศึกษาการใช้เทคนิค RAPD ในข้าวบาร์เลย์สายพันธุ์แท้ 27 สายพันธุ์ และพวกที่เป็น double-haploid อีก 20 สายพันธุ์ โดยใช้ไพรเมอร์ที่มีลำดับ 10 นิวคลีโอไทด์จำนวน 33 ไพรเมอร์ ซึ่งสกัดดีเอ็นเอจากใบอ่อนด้วย CTAB buffer พบว่าไพรเมอร์ 19 ชนิดทำให้เกิดโพลิมอร์ฟิซึม ที่แตกต่างกัน 31 แบบ ซึ่งเป็นเครื่องหมายทางพันธุกรรมที่เป็น dominant ยกเว้น 1 แบบที่เป็น codominant จากการวิเคราะห์ด้วย Southern hybridization

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Yamamoto *et al*. (1994) ได้ศึกษาการใช้เทคนิค RAPD เพื่อใช้ในการจัดจำแนกสายพันธุ์ในข้าวและกะหล่ำ ซึ่งทำการสกัดดีเอ็นเอจากข้าว 37 สายพันธุ์ โดยการใช้เมล็ดที่มีอายุ 1 เดือน ตามวิธีการของ Murry และ Thompson (1980) จากการใช้ไพรเมอร์ 21 ชนิด พบว่า 13 ชนิดเกิดลักษณะโพลิมอร์ฟิซึมในข้าวเกิด 5 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในกะหล่ำเกิด 47 เปอร์เซ็นต์ จากไพเมอร์ทั้งหมด 20 ชนิด แถบดีเอ็นเอที่ได้จากการทำ RAPD สามารถนำไปใช้ในการสร้างแผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ของสายพันธุ์ และชิ้นดีเอ็นเอบางชิ้นจะจำเพาะต่อสายพันธุ์บางสายพันธุ์ ทำให้สามารถนำไปใช้บ่งชี้ในการคัดเลือกสายพันธุ์ที่ต้องการในอนาคตได้

Yu and Nguyen (1994) ได้ศึกษาการใช้เทคนิค RAPD เพื่อใช้ในการตรวจหาพันธุกรรมของข้าว ระหว่างข้าวนาดอนและข้าวนาลุ่ม โดยสกัดจีโนมจากใบของข้าวในระยะที่มีใบ 6 ใบ พบว่า ไพรเมอร์ทั้ง 42 ไพรเมอร์สามารถทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 260 แถบ และ 80 เปอร์เซ็นต์ของแถบดีเอ็นเอที่ได้นั้นแสดงลักษณะที่เป็นโพลิมอร์ฟิซึม ซึ่งข้อมูลดังกล่าวสามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์เพื่อสร้างแผนภูมิทางพันธุกรรมของข้าวได้

Wong *et al.* (1997) ได้ออกแบบไพรเมอร์ที่ใช้ในการทำเครื่องหมายโมเลกุลในมันสำปะหลังโดยวิธี RAPD โดยมีการออกแบบไพรเมอร์ 30 ชนิด ที่มีปริมาณ G-C ที่ 60-80 เปอร์เซ็นต์ ที่มีขนาด 10 และ 12 นิวคลีโอไทด์ ในการทำ RAPD ผลที่ได้จากการทำ PCR นำมาตรวจสอบผลพบว่า ไพรเมอร์ที่มีปริมาณ G+C สูงจะให้ผลของ RAPD สูงกว่าไพรเมอร์ที่มี G+C ต่ำ นอกจากนี้ยังพบว่าลำดับเบสไซโตซีน ต่อกันจำนวน 4-6 ตัว ที่ปลายด้าน 5′ และ 3′ จะช่วยให้เกิดการเพิ่มจำนวนของชิ้นดีเอ็นเอได้ดี และผลจากการทดลองสามารถใช้ผลของ RAPD ที่เกิดจากการใช้ไพรเมอร์แต่ละชนิด มาใช้ร่วมกับการจัดจำแนกสายพันธุ์มันสำปะหลัง 8 สายพันธุ์ออกจากกันได้ และยังพบไพรเมอร์ที่มีแนวโน้มในการที่จะสามารถแยกสายพันธุ์ที่มีไซยาไนด์สูงและต่ำออกจากกันได้

Nassar *et al.* (1998) ได้ศึกษาลักษณะทางสรีรวิทยาของ embryo sacs และเครื่องหมาย RAPD (RAPD marker) ของลูกผสมรุ่น F_2 ของมันสำปะหลัง ระหว่าง *Manihot sichotoma X M. esculenta* กับ Branca Santa Catarina และระหว่าง *Manihot sichotoma X M. esculenta* กับ *M.*

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

glaziovii พบว่า ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของสายพันธุ์ลูกผสมที่ได้มีรูปแบบที่เหมือนกัน และพบว่ามีเพียงร้อยละ 2 ของลูกผสมที่ได้เท่านั้นที่มีลายพิมพ์ดีเอ็นเอต่างกัน

Carvalho *et al.* (2000a) ศึกษาการจัดจำแนกสายพันธุ์มันสำปะหลังโดยวิธีการทางสัณฐานวิทยา และวิธีการ RAPD เพื่อใช้ในการเก็บรวบรวมความหลากหลายทางพันธุกรรมของมันสำปะหลังจำนวน 94 ตัวอย่าง จากการจัดจำแนกทั้ง 2 วิธีการพบว่า การจัดจำแนกมันสำปะหลังโดยวิธีการสัณฐานวิทยา สามารถจัดจำแนกแบ่งมันสำปะหลังออกได้เป็น 22 กลุ่มอย่างชัดเจน ส่วนการจัดจำแนกโดยใช้วิธีการ RAPD สามารถจัดจำแนกมันสำปะหลังออกได้เป็น 18 กลุ่มอย่างชัดเจน ซึ่งการใช้วิธีการ RAPD จะให้ความละเอียดมากกว่าการจัดจำแนกโดยวิธีการทางสัณฐานวิทยา ดังนั้นจึงสามารถนำวิธีการจัดจำแนกทั้งสองวิธีมาใช้ร่วมกันในการจัดจำแนกสายพันธุ์มันสำปะหลังให้ได้ประสิทธิภาพและความแม่นยำมากยิ่งขึ้น

Carvalho *et al.* (2000b) ได้นำวิธีการ RAPD มาใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของมันสำปะหลัง โดยการนำพันธุ์มันสำปะหลังจำนวน 59 ตัวอย่าง ที่เป็นตัวแทนจาก World Core Collection และจากแหล่งที่พบ (agroecological) ต่างๆ จากศูนย์กลางความหลากหลายทางพันธุกรรมมันสำปะหลังแห่งหนึ่ง พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มมันสำปะหลังได้ 9 กลุ่มชัดเจนโดยมาจากโคลัมเบีย 2 กลุ่ม มาจากบราซิล 2 กลุ่มและอีก 5 กลุ่มมาจากแหล่งต่างๆ ในบราซิล จากผลการทำRAPD ดังกล่าวสามารถนำไปใช้ในการบอกความหลากหลายทางพันธุกรรมของมันแต่ละพื้นที่เพื่อใช้ในการศึกษาถึงต้นกำเนิดมันสำปะหลังต่อไป

Asante and Offei (2003) ใช้เทคนิค RAPD ในการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของมันสำปะหลังจำนวน 50 โคลน โดยใช้ไพรเมอร์คือ OPK-01, OPR-02, OPR-09 และ OPJ-14 พบแถบดีเอ็นเอที่เกิดพอลิมอร์ฟิซึมทั้งหมด 41 แถบ ค่าความหลากหลายของแถบดีเอ็นเอของไพรเมอร์ทั้ง 4 ชุดอยู่ในช่วง 90-100 เปอร์เซ็นต์ ในการวิเคราะห์ค่า genetic distance พบว่าประชากรที่มาจาก Nkoranza และสายพันธุ์ที่ปรับปรุงมีความแตกต่างทางพันธุกรรม 20.3 เปอร์เซ็นต์ ประชากรที่มาจาก Asonafo และ Dormaa มีความแตกต่างทางพันธุกรรมน้อยที่สุด

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสับปะรด

สยามและคณะ (2550) ได้ทำการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุ์กรรมของสับปะรดพันธุ์ปลูกในประเทศไทยจำนวน 9 สายพันธุ์ ได้แก่ ภูแล สวี ตราดสีทอง ภูเก็ต ปัตตาเวีย อินทรชิตแดง อินทรชิตขาว เพชรบุรี 1 และนางแล โดยวิธี RAPD นั้น พบว่าไพเมอร์จำนวน 7 ไพเมอร์จาก 40 ไพเมอร์สามารถให้แถบดีเอ็นเอได้ โดยได้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 206 แถบ มีขนาด 510 ถึง 4,700 คู่เบส มีเปอร์เซ็นต์ polymorphism เท่ากับ 70.4% และเมื่อวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม NTSTS-pc version 2.01e พบว่ามีความคล้ายคลึง (similarity coefficients) อยู่ในช่วง 0.643-0.963 เมื่อทำการจัดกลุ่มในรูปของ dendrogram พบว่าสามารถแยกความแตกต่างได้ 3 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยสับปะรดสายพันธุ์ภูเก็ต ภูแล ตราดสีทอง สวี และเพชรบุรี 1 กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย อินทรชิตแดง อินทรชิตขาว กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วย ภูแล และปัตตาเวีย ซึ่งการจัดกลุ่มได้สอดคล้องกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสับปะรด โดยกลุ่มที่ 1 เป็น Queen group กลุ่มที่ 2 เป็น Spanish group กลุ่มที่ 3 เป็น Cayenne group ตามลำดับ สับปะรดพันธุ์อินทรชิตแดง และอินทรชิตขาว มีค่าความคล้ายคลึงเท่ากับ 0.963 สับปะรดพันธุ์ภูแล และภูเก็ต มีค่าความคล้ายคลึงอยู่ที่ 0.950 อาจจะเป็นไปได้ว่า สับปะรดทั้งสองพันธุ์ในแต่ละคู่เป็นพันธุ์เดียวกันแต่เกิดการกลายพันธุ์ขึ้น จึงทำให้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาแตกต่างกันออกไป หรืออาจเกิดจากความแตกต่างของสภาพแวดล้อม การเพาะปลูก และอิทธิพลอื่นๆ

Ruas และคณะ (1995) ใช้เทคนิค RAPD ในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสับปะรด 4 กลุ่ม ได้แก่ Perole, Smooth Cayene, Primavera และ Perolera พบว่า สับปะรดในกลุ่ม Smooth Cayene และ Primavera มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมากที่สุด รองลงมาคือกลุ่ม Perolera ส่วนสับปะรดในกลุ่ม Perole มีความแตกต่างทางพันธุกรรมจากทั้ง 3 กลุ่ม อาจเนื่องมาจากการเพาะปลูกที่มาจากคนละพื้นที่ ซึ่งได้ศึกษาทั้งความสัมพันธ์จากโครงสร้างของพืชและลักษณะการใช้ประโยชน์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Sripaoraya และคณะ (2001) ใช้เทคนิค RAPD กับ 8 สายพันธุ์สับปะรด 2 พันธุ์ผสมและ 2 สปีชีส์ป่า สับปะรดถูกแบ่งเป็นกลุ่ม Cayenne, Queen, Spanish, Maipure และ Abacaxi สมาชิกของสามกลุ่มแรกถูกวิเคราะห์ในการศึกษานี้ สายพันธุ์ Tradsithong, Phuket, Sawee และ Tainan ที่มีใบเกลียวจากกลุ่ม Queen ในกลุ่ม Pattavia, Nanglae และ Petburi no. 2 (กลุ่ม Cayenne) เกลียวบนปลายใบไม้ Intrachitdang มักถูกจัดอยู่ในกลุ่ม Spanish ซึ่งในทาง morphologically คล้ายกับกลุ่ม Queen การวิเคราะห์ DNA ถูกเปรียบเทียบจากไพร์เมอร์ที่มีการสร้าง เดนโดรแกรม ผลลัพธ์ยืนยันการจำแนกทาง morphological สำหรับ 7 จาก 8 สายพันธุ์ที่มีกลุ่ม Queen และ Cayenne เป็นกลุ่มแยก อย่างไรก็ตาม cv. Intrachitdang มีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับกลุ่ม Cayenne มากกว่า 2 สปีชีส์ป่าอยู่นอกกลุ่ม การวิเคราะห์ RAPD สามารถถูกใช้สำรวจความสัมพันธ์ภายใน Germplasm สับปะรด

Maureen (2002) ความหลากหลายทางพันธุกรรมของสับปะรดทั้ง 22 จีโนไทป์ถูกวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค RAPD มีการศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับการสกัด DNA ปฏิกิริยาของกระบวนการ PCR ความเข้มข้นของ $MgCl_2$ และการใช้ไพร์เมอร์ Operon สำหรับการสกัด DNA มีการค้นพบวิธี Doyle และ Doyle (1987) ที่มีการดัดแปลงเล็กน้อยเพื่อให้เป็นวิธีการสกัด DNA สับปะรดที่ดีกว่าวิธี CTAB มีการทำตามการผสมและเงื่อนไข PCR มาตรฐาน ยกเว้นขั้น annealing จะใช้อุณหภูมิ 40 ^{o}C ในการทำปฏิกิริยา ไพร์เมอร์ 53 Operon ถูกใช้เพื่อวิเคราะห์ DNA ของ Smooth Cayenne, Queen และพันธุ์ผสม จาก 12 ไพร์เมอร์ มี 4 ไพร์เมอร์ (OPC-19, OPV-08, OPN-14 และ OPS-12) ให้ผลการวิเคราะห์ DNA ที่สม่ำเสมอจาก 22 จีโนไทป์ในการทดลองซ้ำกัน ท้ายสุดไพร์เมอร์เดียวเท่านั้น (OPS-12) ผลิตการมีลักษณะหลายรูปแบบต่อเนื่องในทั้ง 22 จีโนไทป์ ผลลัพธ์ของการศึกษานี้จะถูกใช้วิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของจีโนไทป์ที่กำลังถูกศึกษา

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Nguyen Thi Lang และคณะ (2003) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของสับปะรดที่ปลูกในประเทศเวียดนามจำนวน 30 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิค RAPD marker โดยใช้สับปะรดในกลุ่ม Cayenne และกลุ่ม Queen การวิเคราะห์ใช้โปรแกรม UPGMA พบว่าเกิดความคล้ายคลึงของสับปะรดทั้ง 2 กลุ่มอาจเป็นพันธุ์เดียวกัน แต่เกิดการกลายพันธุ์ขึ้น เนื่องจากการผสมพันธุ์กับสับปะรดสายพันธุ์อื่นที่ปลูกในบริเวณเดียวกันจึงทำให้เกิดสับปะรดในกลุ่ม Cayenne ขึ้น

Santos และคณะ (2008) วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้คือการประเมินความหลากหลายของพันธุกรรมในสับปะรด หลังช่วงการเพาะย่อยที่สี่ อาหารเลี้ยงเชื้อประกอบด้วยเกลือ MS วิตามิน ซูโครส 3% ของเหลวเสริมด้วย 6-benzylaminopurine (BAP) ที่ความเข้มข้น 0.125, 0.25, 0.5, 1.0 และ 2.0 มก/ลิตร การเพิ่ม BAP มีผลต่อการเกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมที่แสดงโดยใช้เครื่องบ่งชี้ RAPD จากทั้งหมด 520 ไพร์เมอร์ที่ถูกทดสอบ 44 ถูกเลือกและขยาย 402 แบนด์ที่มีลักษณะเดียว (97.2%) และ 18 แบนด์ที่มีลักษณะหลายรูปแบบ (2.8%) แฟรกเมนท์หลายรูปแบบถูกสร้างโดย 12 ไพร์เมอร์ (OPA-01, OPA-20, OPB-01, OPB-19, OPC-19, OPF-13, OPL-17, OPM-13, OPP-16, OPT-07, OPV-19, และ OPX-03) ในบรรดาไพร์เมอร์ที่ระบุการมีลักษณะหลายรูปแบบ OPA-01, OPA-20, OPB-19, OPC-19, OPL-17, OPP-16 และ OPX-3 หนึ่งแบนด์หลายรูปแบบและ OPF-13 ขยายสามแบนด์ ในการศึกษานี้เทคนิค RAPD มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการแสดงการเกิดความผันแปรของโคลนที่เกิดขึ้นช่วงขั้นตอนการขยายพันธุ์แบบไมโครของสับปะรดในอาหารที่มี BAP เสริม เราสามารถตรวจพบความผันแปรของพันธุกรรมในช่วงแรกของการพัฒนาพืช

Maureen และคณะ (2009) เอกลักษณ์ของโคลนต่างๆ ของพันธุ์สับปะรดหลักๆ เช่น Smooth Cayenne, Queen และ Red Spanish ไม่ชัดเจน ความหลากหลายทางพันธุกรรมของ 22 จีโนไทป์ถูกวิเคราะห์ DNA โดยใช้ เทคนิค RAPD 62 ไพรเมอร์ decamer oligonucleotide Operon ถูกนำมาใช้สำหรับปฏิกิริยา PCR ไพร์เมอร์ทั้ง 5 คือ OPS-12, OPY-15, OPAV-03, OPAV-06 และ OPAK-19 ถูกใช้ในการวิเคราะห์ความหลากหลาย ไพร์เมอร์ทั้ง 5 ขยายแฟรกเมนท์ 40 ชิ้นซึ่ง 85% มีหลายรูปแบบ แต่ละไพร์เมอร์ผลิต 5-13 แฟรกเมนท์ที่มีขนาดระหว่าง 0.40-2.36 Kb และถูกจัดกลุ่มโดยการวิเคราะห์กลุ่มตามการจับคู่ค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงกัน dendogram ของ 22 จีโน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ไทป์แยกสายพันธุ์สับปะรดเป็น 4 กลุ่มหลัก ๆ คือ 1) Red Spanish และพันธุ์ผสม 2) สายพันธุ์ Smooth Cayenne 3) พันธุ์ผสมระหว่าง Smooth Cayenne และ Queen และ 4) สายพันธุ์ Queen อย่างไรก็ตาม cv. Pernambuco และพันธุ์ผสมระหว่าง Smooth Cayenne และ *Ananas lucidus* Miller อยู่ในกลุ่มที่แยกออกไป ความหลากหลายทางพันธุกรรมของสายพันธุ์ 19 *Ananas comosus* (L.) Merr นั้นใกล้ชิดกันตามที่ระบุโดย ค่าสัมประสิทธิ์ของความคล้ายคลึงกันสูง แต่ความหลากหลายจะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มพันธุ์ป่าในเครือเดียวกันเข้าไป ผลลัพธ์แสดงให้เห็นว่า *A.comosus* มาจากจีโนไทป์เดียวแต่เนื่องจากการเลือกของมนุษย์ โคลนที่มีประโยชน์จึงถูกแยกและวิวัฒนาเป็นพันธุ์ใหม่ มีการเสนอแนะว่าเพื่อเสริมสร้างความหลากหลายทางพันธุกรรมของสับปะรด สามารถทำการเพาะพันธุ์เพื่อให้มีการกลายพันธุ์และความผันแปรของโครโมโซมได้ โดยการผสมพันธุ์ *A.comosus* กับสปีชีส์ที่เชื่อมโยงกัน (เช่น *A. lucidus*, *A. bracteatus, A. ananassoides*) เพื่อเพิ่มความหลากหลายทางพันธุกรรมของสายพันธุ์สับปะรด

Tong He-lin และคณะ (2010) พัฒนาเครื่องบ่งชี้ จีโนม SSR จากสับปะรดสายพันธุ์หนึ่งซึ่งคือ Tainong 17 โดยใช้วิธี Selectively Amplified Microsatellite (SAM) และตรวจลักษณะหลายรูปแบบของเครื่องบ่งชี้ SSR เหล่านี้ใน 16 ชนิด ในการศึกษานี้ไลบรารี่ SAM จาก Tainong 17 ถูกคัดกรองด้วย 2 ไพร์เมอร์และอแดปเตอร์ไพร์เมอร์ ลำดับทั้งหมด 86 ลำดับถูกพัฒนาและโมทีฟ 94 SSR จาก 86 ลำดับถูกระบุโดยใช้ซอฟต์แวร์ MISA โมทีฟ 91 จาก 94 SSR เป็น Dinucleotide Repeats (DNR) โมทีฟ GA/TC เห็นได้บ่อยมากที่สุดใน DNR ซึ่งคิดเป็น 57.14% (52/91) ตามด้วย AC/GT (42.86%) 3 SSR โมทีฟที่เหลือเป็น Nucleotide Repeat เดี่ยว ไม่พบโมทีฟของ 3 Nucleotide Repeats จากไพร์เมอร์ 3 คู่มีผลิตภัณฑ์ขนาดตามที่คาด และที่ถูกขยายอย่างสำเร็จ 24 คู่ จาก 24 ไพร์เมอร์ 13 ไพร์เมอร์ขยาย DNA หลายรูปแบบ ซึ่งสามารถเป็นเครื่องบ่งชี้ SSR ที่มีประโยชน์สำหรับการวิจัยเช่นลายนิ้วมือ ความหลากหลายทางพันธุกรรมและตำแหน่งของยีนส์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Vanijajiva (2012) Inter Simple Sequence Repeats (ISSR) ถูกใช้ประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมและความสัมพันธ์ด้านพันธุกรรมระหว่างสับปะรด 15 พันธุ์ที่เพิ่มขึ้น (*Ananas comosus* (L.) Merr.) DNA พันธุกรรมถูกสกัดจากตัวอย่างใบไม้สด 9 ไพร์เมอร์ ISSR ถูกเลือกเพื่อการวิเคราะห์และ 4 ไพร์เมอร์ (ISSR1, ISSR3, ISSR 4 และ ISSR 5) ถูกเลือกเพื่อทำการวิเคราะห์เพิ่มเติม แฟรกเมนท์ DNA 56 ส่วนทั้งหมดที่มีขนาด 100-2000 bp ถูกขยาย 27 ชนิด (48.21%) เป็นลักษณะหลายรูปแบบ เดนโดรแกรมที่แสดงความคล้ายคลึงกันทางพันธุกรรมของสับปะรดถูกสร้างตามแบนด์หลายรูปแบบโดยใช้โปรแกรม SPSS (เวอร์ชัน 18) ตามผลลัพธ์จากเดนโดรแกรมสามกลุ่มสามารถถูกแยกด้วยค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงกันที่มีตั้งแต่ 0.316-0.968 กลุ่มแรกประกอบด้วย Intrachitdang และ Intrachitkhao กลุ่มที่สองประกอบด้วย Pattavia, Nanglae และ Lakata กลุ่มที่สามประกอบด้วย Tadum, Tainan, Pattanie, Phulae, Petburi, Sawee, Phuket และ Tradsithong ตามลำดับ ดังนั้นการวิเคราะห์ ISSR จึงเป็นวิธีที่รวดเร็วและเหมาะกับการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในบรรดา Intrachit และอื่นๆ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างพืชที่ใช้ในการวิเคราะห์ด้วยวิธี RAPD

สับปะรดที่ใช้ในการจัดจำแนกที่ได้จากแหล่งต่างๆ แสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 รายชื่อ รูปทรงและแหล่งที่มาของสับปะรด 51 ตัวอย่าง ที่รวบรวมจากแปลงปลูกใน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (กุยบุรี) โดยใช้รูปทรงละ 3 ซ้ำในแต่ละสถานที่ (4 สถานที่)

ลำดับที่	ชื่อสับปะรด	ลักษณะรูปทรง	แหล่งที่มา
1	A1(1)	ทรงกระบอก	อ.หัวหิน จ.ประจวบคีรีขันธ์
2	A1(2)	ทรงกระบอก	อ.หัวหิน จ.ประจวบคีรีขันธ์
3	A1(3)	ทรงกระบอก	อ.หัวหิน จ.ประจวบคีรีขันธ์
4	B1(1)	ทรงเจดีย์	อ.หัวหิน จ.ประจวบคีรีขันธ์
5	B1(2)	ทรงเจดีย์	อ.หัวหิน จ.ประจวบคีรีขันธ์
6	B1(3)	ทรงเจดีย์	อ.หัวหิน จ.ประจวบคีรีขันธ์
7	C1(1)	ลูกเล็ก	อ.หัวหิน จ.ประจวบคีรีขันธ์
8	C1(2)	ลูกเล็ก	อ.หัวหิน จ.ประจวบคีรีขันธ์
9	C1(3)	ลูกเล็ก	อ.หัวหิน จ.ประจวบคีรีขันธ์
10	D1(1)	เดาะจุก	อ.หัวหิน จ.ประจวบคีรีขันธ์
11	D1(2)	เดาะจุก	อ.หัวหิน จ.ประจวบคีรีขันธ์
12	D1(3)	เดาะจุก	อ.หัวหิน จ.ประจวบคีรีขันธ์
13	E1(1)	หลายจุก	อ.หัวหิน จ.ประจวบคีรีขันธ์
14	E1(2)	หลายจุก	อ.หัวหิน จ.ประจวบคีรีขันธ์
15	E1(3)	หลายจุก	อ.หัวหิน จ.ประจวบคีรีขันธ์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ลำดับที่	ชื่อสับปะรด	ลักษณะรูปทรง	แหล่งที่มา
16	A2(1)	ทรงกระบอก	อ.สามร้อยยอด จ.ประจวบคีรีขันธ์
17	A2(2)	ทรงกระบอก	อ.สามร้อยยอด จ.ประจวบคีรีขันธ์
18	A2(3)	ทรงกระบอก	อ.สามร้อยยอด จ.ประจวบคีรีขันธ์
19	B2(1)	ทรงเจดีย์	อ.สามร้อยยอด จ.ประจวบคีรีขันธ์
20	B2(2)	ทรงเจดีย์	อ.สามร้อยยอด จ.ประจวบคีรีขันธ์
21	B2(3)	ทรงเจดีย์	อ.สามร้อยยอด จ.ประจวบคีรีขันธ์
22	C2(1)	ลูกเล็ก	อ.สามร้อยยอด จ.ประจวบคีรีขันธ์
23	C1(2)	ลูกเล็ก	อ.สามร้อยยอด จ.ประจวบคีรีขันธ์
24	C2(3)	ลูกเล็ก	อ.สามร้อยยอด จ.ประจวบคีรีขันธ์
25	D2(1)	เดาะจุก	อ.สามร้อยยอด จ.ประจวบคีรีขันธ์
26	D2(2)	เดาะจุก	อ.สามร้อยยอด จ.ประจวบคีรีขันธ์
27	D2(3)	เดาะจุก	อ.สามร้อยยอด จ.ประจวบคีรีขันธ์
28	A3(1)	ทรงกระบอก	อ.บางสะพาน จ.ประจวบคีรีขันธ์
29	A3(2)	ทรงกระบอก	อ.บางสะพาน จ.ประจวบคีรีขันธ์
30	A3(3)	ทรงกระบอก	อ.บางสะพาน จ.ประจวบคีรีขันธ์
31	B3(1)	ทรงเจดีย์	อ.บางสะพาน จ.ประจวบคีรีขันธ์
32	B3(2)	ทรงเจดีย์	อ.บางสะพาน จ.ประจวบคีรีขันธ์
33	B3(3)	ทรงเจดีย์	อ.บางสะพาน จ.ประจวบคีรีขันธ์
34	C3(1)	ลูกเล็ก	อ.บางสะพาน จ.ประจวบคีรีขันธ์
35	C3(2)	ลูกเล็ก	อ.บางสะพาน จ.ประจวบคีรีขันธ์
36	C3(3)	ลูกเล็ก	อ.บางสะพาน จ.ประจวบคีรีขันธ์
37	D3(1)	เดาะจุก	อ.บางสะพาน จ.ประจวบคีรีขันธ์
38	D3(2)	เดาะจุก	อ.บางสะพาน จ.ประจวบคีรีขันธ์
39	D3(3)	เดาะจุก	อ.บางสะพาน จ.ประจวบคีรีขันธ์

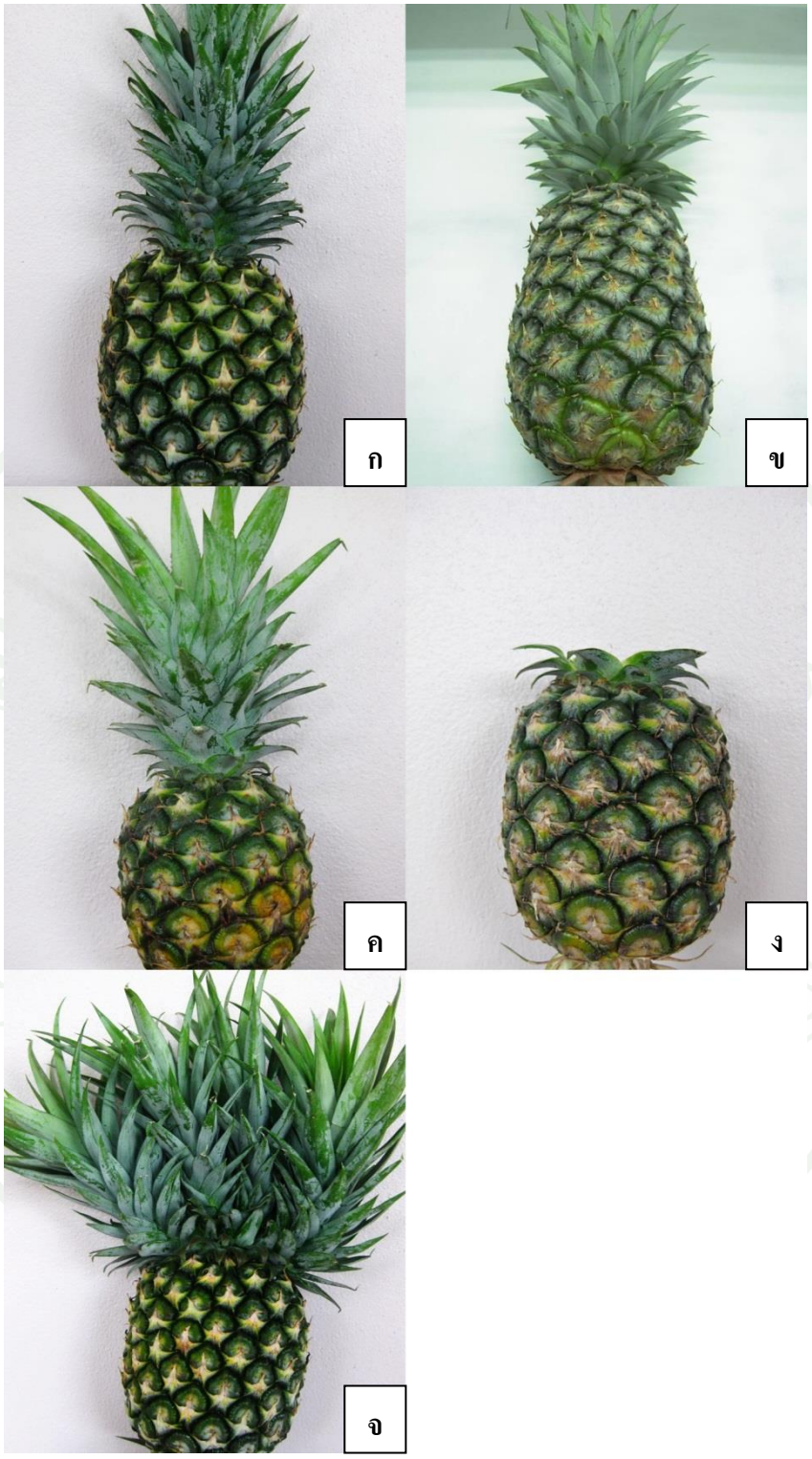
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ลำดับที่	ชื่อสับปะรด	ลักษณะรูปทรง	แหล่งที่มา
40	A4(1)	ทรงกระบอก	อ.นิคม จ.ประจวบคีรีขันธ์
41	A4(2)	ทรงกระบอก	อ.นิคม จ.ประจวบคีรีขันธ์
42	A4(3)	ทรงกระบอก	อ.นิคม จ.ประจวบคีรีขันธ์
43	B4(1)	ทรงเจดีย์	อ.นิคม จ.ประจวบคีรีขันธ์
44	B4(2)	ทรงเจดีย์	อ.นิคม จ.ประจวบคีรีขันธ์
45	B4(3)	ทรงเจดีย์	อ.นิคม จ.ประจวบคีรีขันธ์
46	C4(1)	ลูกเล็ก	อ.นิคม จ.ประจวบคีรีขันธ์
47	C4(2)	ลูกเล็ก	อ.นิคม จ.ประจวบคีรีขันธ์
48	C4(3)	ลูกเล็ก	อ.นิคม จ.ประจวบคีรีขันธ์
49	E4(1)	หลายจุก	อ.นิคม จ.ประจวบคีรีขันธ์
50	E4(2)	หลายจุก	อ.นิคม จ.ประจวบคีรีขันธ์
51	E4(3)	หลายจุก	อ.นิคม จ.ประจวบคีรีขันธ์

หมายเหตุ ในการศึกษาครั้งนี้จะใช้รหัสย่อ แทนการเรียกชื่อลักษณะรูปทรงสับปะรดตามแหล่งที่มาที่ต่างๆ กัน ดังนี้ ทรงกระบอกจาก อ.หัวหิน รหัสย่อคือ #A1 ทรงเจดีย์จาก อ.หัวหิน รหัสย่อคือ #B1 ทรงลูกเล็กจาก อ.หัวหิน รหัสย่อคือ #C1 ทรงเดาะจุกจาก อ.หัวหิน รหัสย่อคือ #D1 ทรงหลายจุกจาก อ.หัวหิน รหัสย่อคือ #E1 ทรงกระบอกจาก อ.สามร้อยยอด รหัสย่อคือ #A2 ทรงเจดีย์จาก อ.สามร้อยยอดรหัสย่อคือ #B2 ทรงลูกเล็กจาก อ.สามร้อยยอด รหัสย่อคือ #C2 ทรงเดาะจุกจาก อ.สามร้อยยอด รหัสย่อคือ #D2 ทรงกระบอกจาก อ.บางสะพาน รหัสย่อคือ #A3 ทรงเจดีย์จาก อ.บางสะพาน รหัสย่อคือ #B3 ทรงลูกเล็กจาก อ.บางสะพาน รหัสย่อคือ #C3 ทรงเดาะจุกจาก อ.บางสะพาน รหัสย่อคือ #D3 ทรงกระบอกจาก อ.นิคม รหัสย่อคือ #A4 ทรงเจดีย์จาก อ.นิคม รหัสย่อคือ #B4 ทรงลูกเล็กจาก อ.นิคม รหัสย่อคือ #C4 ทรงหลายจุกจาก อ.นิคม รหัสย่อคือ #E4 จำนวนซ้ำของสับปะรดแต่ละรูปทรงในแต่ละสถานที่แทนด้วย (1) คือซ้ำที่ 1 (2) คือซ้ำที่ 2 และ (3) คือซ้ำที่ 3

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 1 ลักษณะรูปทรงของสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียที่นำมาใช้ในการศึกษา **ก**=สับปะรดทรงกระบอก **ข**=สับปะรดทรงเจดีย์ **ค**=สับปะรดทรงลูกเล็ก, **ง**=สับปะรดทรงเตาะจุก และ **จ**=สับปะรดทรงหลายจุก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. RAPD markers

ประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอด้วยวิธี RAPD ออกแบบ primer ประมาณ 10 primer (primer ละ 10 เบส) คัดเลือก primer จาก universal primer kit (Phramacia) และจากรายชื่อใน operon แสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ไพรเมอร์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา PCR จำนวน 10 ไพรเมอร์ และอุณหภูมิในขั้นตอน Annealing

RAPD Primer	5' - 3' Sequence	$T_A(^OC)$
Universal Primer 2	GTTTCGCTCC	37
Universal Primer 3	GTAGACCCGT	37
Universal Primer 6	CCCGTCAGCA	37
OPA-01	CAGGCCCTTC	37
OPA-02	TGCCGAGCTG	37
OPA-04	AATCGGGCTG	37
OPA-08	GTGACGTAGG	37
OPA-10	GTGATCGCAG	37
OPA-16	AGCCAGCGAA	37
OPA-18	AGGTGACCGT	37

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. สารเคมี

สารเคมีทั่วไป

- Agarose (Vivantis)
- Chloroform (LAB-Scan)
- DNAzol Reagent (Invitrogen)
- Edthidium bromide
- Ethanol (Merck)
- Ethylenediaminetetraacetic acid (Bio basic INC.)
- Isopropanol (Merck)
- Magnesium chloride
- Phenol (Merck)
- Sodium acetate (Ajax Finechem)
- Tris Base (Vivantis)
- Tris-Hydrochloride (USBiologica)

เอนไซม์และนิวคลีโอไทด์

- dNTPs (Invitrogen)
- *Taq* DNA polymerase (Invitrogen)
- RNase (Promega)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. เครื่องมือ

- Flour-s™ MultiImager (Bio-Rad)
- GeneAmp PCR system 2400 (Perkin Elmer)
- High speed centrifuge GS-15R (Beckman)
- Power supply PowerPac 300 (Bio-Rad)
- Horizontal electrophoresis GNA-200 (Pharmacia Biotech)
- UV-visible spectrophotometer ultrospec 30000 (Pharmacia Biotech)

5. โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำหรับประมวลผล

- โปรแกรม NTSYS pc version 2.01d

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิธีการ

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของสับปะรดด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล

1. การสกัดตัวอย่างดีเอ็นเอ

สกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างพืชที่ใช้ศึกษาทั้งหมด 51 ตัวอย่าง (ตารางที่ 2) โดยใช้เนื้อของสับปะรด 0.3-0.6 กรัม บดตัวอย่างด้วยไนโตรเจนเหลวให้ละเอียดเป็นผงและใส่ในหลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่มีชุดสกัด DNAzol ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ดูดส่วนใสด้านบนใส่ในหลอดทดลองใหม่ปริมาตร 440 ไมโครลิตร เติม absolute ethanol ปริมาตร 440 ไมโครลิตร (ปริมาตร 1 เท่าของสารละลายตะกอน) กลับหลอดไปมาเบาๆ 8-10 ครั้ง บ่มที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง

นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เทน้ำใสส่วนบนทิ้ง ล้างตะกอนด้วย ethanol 70 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 600 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที จำนวน 2 ครั้ง คว่ำหลอดที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้ตะกอนบริเวณก้นหลอดแห้ง ละลายตะกอนใน TE buffer (50 มิลลิโมลาร์ tris-HCl pH 8.0, 10 มิลลิโมลาร์ EDTA) ปริมาตร 30 ไมโครลิตร

เติม RNase (1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 2 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-15 นาที หลังจากนั้น บ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที และแช่น้ำแข็งเป็นเวลา 10 นาที เก็บดีเอ็นเอไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปใช้ต่อไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. การวิเคราะห์ดีเอ็นเอ

2.1 การตรวจสอบคุณภาพและความเข้มข้นของดีเอ็นเอโดยใช้ Spectrophotometer

ตรวจสอบความบริสุทธิ์และวัดความเข้มข้นของดีเอ็นเอโดยนำสารละลายดีเอ็นเอไปวัดค่า optical density (OD) ซึ่งเป็นค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวช่วงคลื่น 260 นาโนเมตร หรือ OD_{260} เพื่อหาความเข้มข้นของดีเอ็นเอดังนี้

ความเข้มข้นของสารละลายดีเอ็นเอ (µg/ml) = OD_{260} x 50 x dilution factor

การวัดค่าการดูดกลืนแสงของดีเอ็นเอจะวัดที่ความยาวช่วงคลื่น 280 นาโนเมตร (OD_{280}) เพื่อใช้ในการคำนวณอัตราส่วนความบริสุทธิ์ของดีเอ็นเอ ถ้าค่า OD_{260}/OD_{280} อยู่ระหว่าง 1.7-1.8 แสดงว่าดีเอ็นเอที่สกัดได้เป็นเกลียวคู่บริสุทธิ์ แต่ถ้าอัตราส่วนมากกว่า 1.8 แสดงว่ามีอาร์เอ็นเอเจือปน (Sambrook *et at.*, 1989)

2.2 การแยกขนาดและตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอด้วยวิธี agarose gel electrophoresis

ผสมสารละลายดีเอ็นเอที่สกัดได้กับ 6X loading buffer (bromophenol blue 0.25 เปอร์เซ็นต์, xylene cyanol FF 0.25 เปอร์เซ็นต์ และ glycerol 30 เปอร์เซ็นต์) ตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอด้วยวิธี gel electrophoresis ใช้ lambda DNA/*Hin*dIII digest เป็นแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน ใช้ agarose 1 เปอร์เซ็นต์ ใน 1X TAE buffer (1X TAE ประกอบด้วย tris base 4.84 กรัม, glacial acetic acid 11.42 มิลลิลิตร, EDTA 0.5 โมลาร์ pH 8.0 20 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร) และใช้กระแสไฟฟ้าที่มีความต่างศักย์ไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลาประมาณ 30-40 นาที ตรวจดูแถบดีเอ็นเอจากการย้อมเจลด้วย ethidium bromide 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น 10 นาที ตรวจดูภายใต้แสงอุลตร้าไวโอเลตด้วยเครื่อง UV transilluminator บันทึกภาพโดยใช้เครื่อง Fluor-s ™ Multilmager และเปรียบเทียบขนาดของดีเอ็นเอกับดีเอ็นเอมาตรฐาน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (polymerase chain reaction; PCR)

วิธี random amplified polymorphic DNA (RAPD)

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR โดยการนำดีเอ็นเอที่สกัดได้จากทุกตัวอย่างมาทำปฏิกิริยา PCR ด้วยไพรเมอร์ RAPD ได้แก่ Universal Primer 2, Universal Primer 3, Universal Primer 6, OPA-01, OPA-02, OPA-04, OPA-08, OPA-10, OPA-16 และ OPA-18 โดยมีส่วนผสมของปฏิกิริยา PCR ในปริมาตรทั้งหมด 25 ไมโครลิตร ประกอบด้วยสารละลายความเข้มข้นสุดท้าย คือ PCR buffer 1X, magnesium chloride 2 มิลลิโมล, deoxynucleotide triphosphate 0.2 มิลลิโมล, RAPD primer 25 พิคโคโมล และ *Tag* DNA polymerase 1 ยูนิต แล้วจึงนำไปเข้าเครื่องควบคุมอุณหภูมิอัตโนมัติโดยใช้เครื่อง DNA thermal cycler (Perkin Elmer GeneAmp PCR system 2400) ตั้งโปรแกรมโดยใช้อุณหภูมิที่ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จำนวน 1 รอบ และที่ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที ที่ 37 องศาเซลเซียส (เหมือนกันทุกไพรเมอร์) เป็นเวลา 1 นาที ที่ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที ทำซ้ำจนครบ 30 รอบ หลังจากนั้นตามด้วย 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จำนวน 1 รอบ และที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำไปใช้ต่อ วิเคราะห์ผลที่ได้จากปฏิกิริยา PCR โดยวิธี agarose gel electrophoresis

4. การวิเคราะห์ดีเอ็นเอจากปฏิกิริยา PCR ด้วยวิธี RAPD

4.1 การเตรียมเจล agarose gel 1 เปอร์เซ็นต์

เตรียมเจล agarose gel 1 เปอร์เซ็นต์ โดยชั่ง agarose 2 กรัม เติมน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร ให้ความร้อนจนกระทั่งผง agarose ละลายหมด คนให้สารเข้ากันหมด นำภาชนะไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เพื่อให้อุณหภูมิลดลงประมาณ 30 นาที ก่อนที่จะเทลงบนภาชนะรองรับที่เข้ากับชุด electrophoresis รอเวลา 30-45 นาที เพื่อรอให้เจลแข็งตัว เติม 1X TBE buffer ผสมสารละลายดีเอ็นเอ 3 ไมโครลิตร กับ loading buffer 2 ไมโครลิตร หยอดดีเอ็นเอลงในแต่ละช่อง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ของแผ่นเจลและหยอดสารละลายดีเอ็นเอมาตรฐาน (lambda DNA/*Hin*dIII digest) ในช่องแรกและช่องสุดท้ายของแผ่นเจล เปิดกระแสไฟฟ้าที่ความต่างศักย์ 100 โวลต์ เป็นเวลาประมาณ 2 ชั่วโมง

4.2 ตรวจสอบดีเอ็นเอด้วยการย้อมด้วยสารละลาย ethidium bromide (EtBr)

นำเจลแช่ในสารละลาย EtBr (10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) 10-15 นาที หลังจากนั้นแช่ในน้ำกลั่นประมาณ 15 นาที ก่อนที่จะนำมาถ่ายภาพบันทึกภาพ

4.3 การวิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์

วิเคราะห์ผลลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากเทคนิค RAPD ในแต่ละตัวอย่าง ตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่สำคัญและชัดเจน อ่านแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏบนเจลและบันทึกข้อมูล โดยกำหนดสัญลักษณ์เลข “1” กับการเกิดแถบดีเอ็นเอ และ”0” กับการไม่เกิดแถบดีเอ็นเอ นำผลมาวิเคราะห์หาค่า similarity index ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System (NTSYS-pc) รุ่น 2.01d (Rohlf, 2000) โดยใช้สูตรของ Nei and Li (1979) ซึ่งผลในส่วนนี้จะใช้ในการเปรียบเทียบความเหมือนและความแตกต่างระหว่างพันธุกรรมของสับปะรด ผลของการคำนวณจะเป็นตัวเลขที่อยู่ระหว่างเลข “0.0000” ถึงเลข “1.0000” โดยตัวอย่างในแต่ละรูปทรงใดที่แตกต่างกันมากจะมีค่าดังกล่าวเข้าใกล้ค่า 0.0000 และที่มีความคล้ายคลึงกันมากค่าดังกล่าวจะเข้าใกล้ค่า 1.0000 โดยค่าทั้งหมดจะแสดงในรูปแบบของตารางดัชนีความคล้ายคลึง (similarity matrix) เพื่อง่ายต่อการตรวจสอบข้อมูลระหว่างพันธุกรรม

หลังจากนั้นนำค่า similarity index มาคำนวณหาค่าความเหมือน ในรูปแบบการจัดกลุ่มตัวอย่างด้วยวิธี unweighted pair group method using arithmetic mean (UPGMA) (Sneath and Sokal, 1973) แสดงผลในรูปแบบของ phylogenetic tree เพื่อแบ่งกลุ่มของรูปร่างต่างๆ ของสับปะรดในแต่ละสถานที่ ค่าที่ได้จะเป็นค่า similarity coefficient หรือค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงกัน โดยเป็นค่าที่ใช้บ่งบอกความคล้ายกันระหว่างกลุ่ม หรือบ่งบอกช่วงความคล้ายคลึงกันของตัวอย่างที่นำมาศึกษาทั้งหมด

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลและวิจารณ์

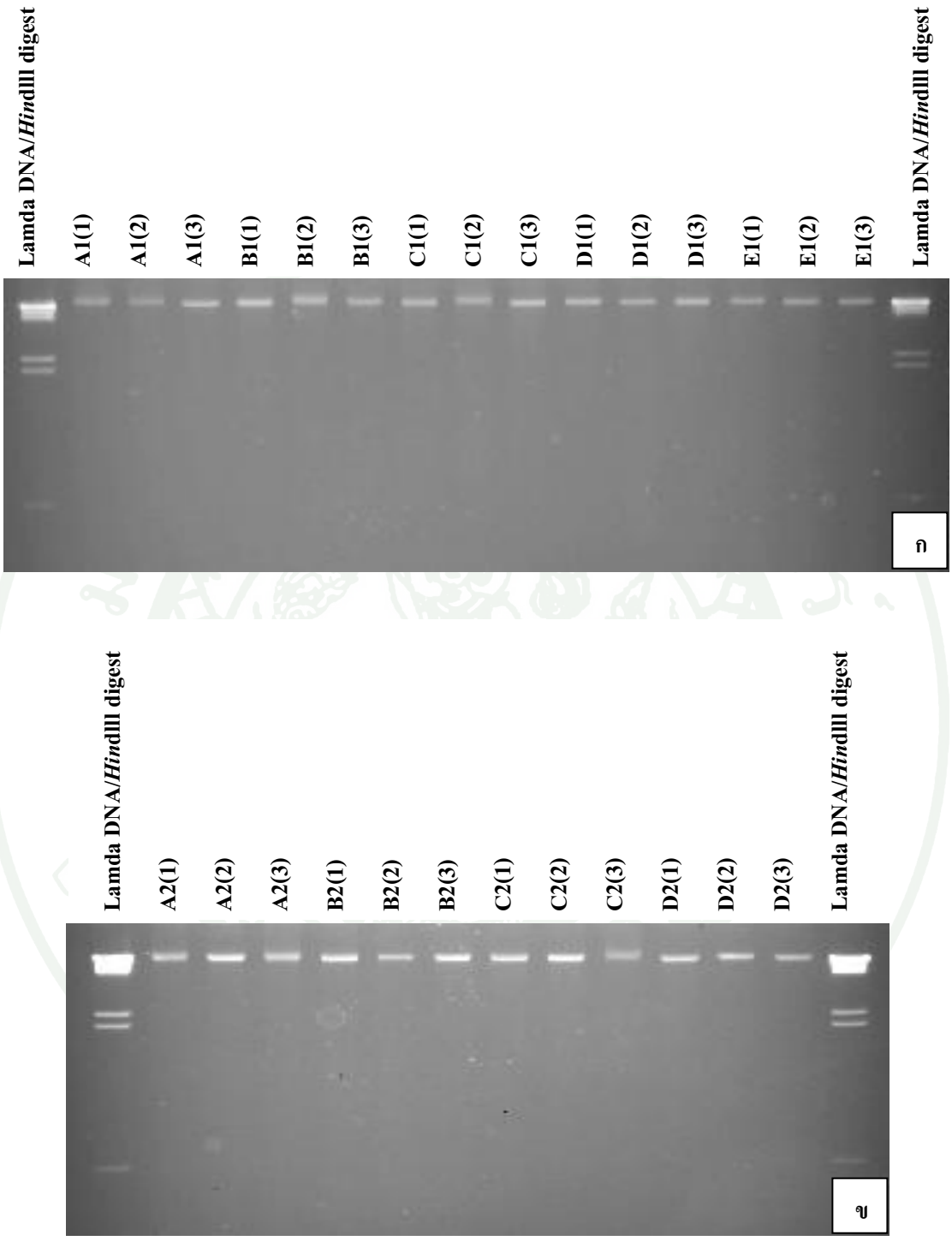
ผล

1. การศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรมของสับปะรดโดยตรวจสอบด้วยวิธี RAPD

สกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างสับปะรดทั้ง 51 ตัวอย่าง ผลของดีเอ็นเอที่ได้จากการตรวจสอบความบริสุทธิ์ด้วยการวัดค่าดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร พบว่าดีเอ็นเอที่สกัดได้อยู่ในเกณฑ์ที่ดี ซึ่งค่าอัตราส่วนระหว่าง A260/280 มีค่าอยู่ในระหว่าง 1.60-1.90 (ช่วงที่เหมาะสมคือ 1.8-2.0) มีเพียงบางตัวอย่างที่ต้องนำไปกำจัดอาร์เอ็นเอที่ปนเปื้อนอีกครั้งหนึ่ง ซึ่งสามารถตรวจสอบได้จากการวิเคราะห์ด้วยอิเล็กโตรโฟรีซีสบนแผ่นอะกาโรสเจล (agarose gel electrophoresis) (ภาพที่ 2ก-ง) หลังจากนั้นนำดีเอ็นเอที่ได้ทุกตัวอย่างปรับค่าความเข้มข้นให้เท่ากันที่ 5 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร เพื่อนำไปเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยกระบวนการ PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่เป็น RAPD จำนวน 10 สาย มีขนาดความยาว 10 นิวคลีโอไทด์ (ตารางที่ 3)

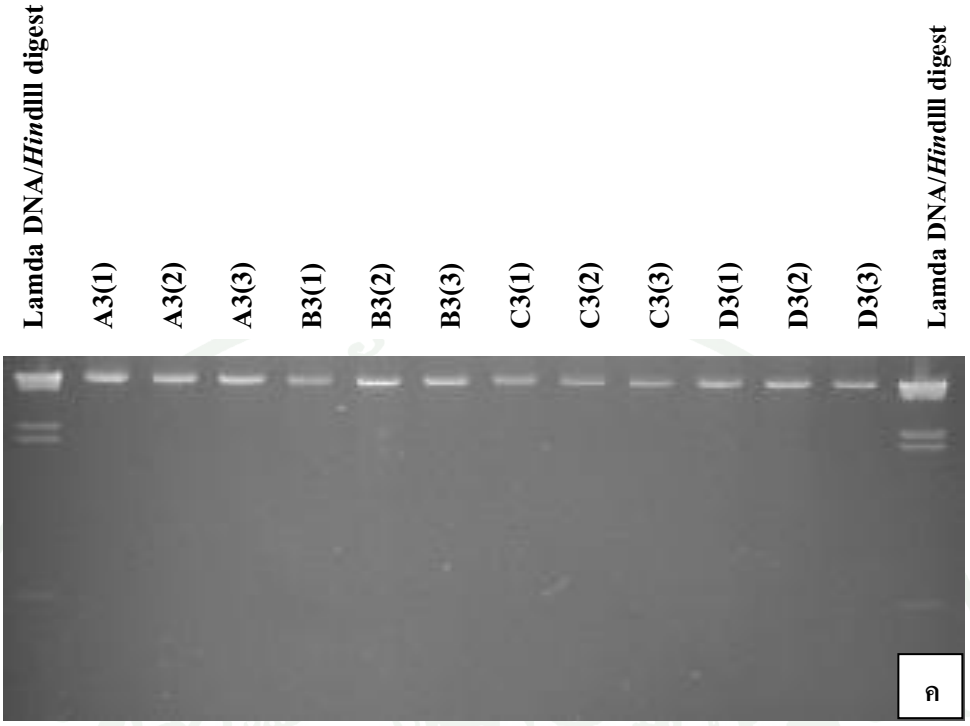
จากการใช้เทคนิค RAPD ในการทดลองครั้งนี้ใช้ไพรเมอร์ทั้งหมด 10 ไพรเมอร์ โดยมีเพียง 6 ไพรเมอร์ที่เกิดแถบดีเอ็นเอที่ค่อนข้างชัดเจน โดยรูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วย RAPD ไพรเมอร์ แสดงดังภาพผนวกที่ 1-6

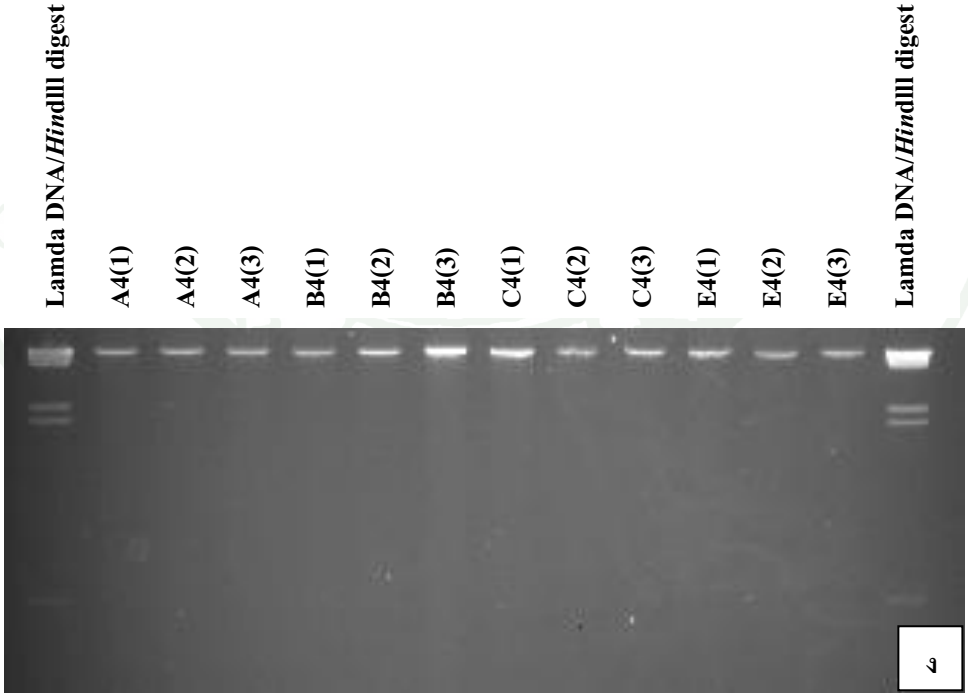
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 2 แสดงแถบดีเอ็นเอที่สกัดได้จากเนื้อสับปะรดทั้งหมด 51 ตัวอย่าง **ก** แถบดีเอ็นเอที่สกัดได้จาก อ.หัวหิน **ข** แถบดีเอ็นเอที่สกัดได้จาก อ.สามร้อยยอด **ค** แถบดีเอ็นเอที่สกัดได้จาก อ.บางสะพาน และ **ง** แถบดีเอ็นเอที่สกัดได้จาก อ.นิคม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์





ภาพที่ 2 (ต่อ)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. การวิเคราะห์ผลด้วยเครื่องหมายโมเลกุล RAPD

2.1 การวิเคราะห์ผลด้วยเครื่องหมายโมเลกุล RAPD ของสับปะรดทั้ง 4 สถานที่

จากการนำผลของแถบดีเอ็นเอทั้ง 4 สถานที่ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยอิเล็กโตรโฟรีซีสบนแผ่นเจลอะกาโรส (agarose gel electrophoresis) (ภาพผนวกที่ 1-6) มาลงคะแนน โดยใช้เลข “1” เกิดแถบดีเอ็นเอ และ “0” ไม่เกิดแถบดีเอ็นเอในตำแหน่งนั้นๆ (ตารางผนวกที่ 1-24) พบว่าได้แถบดีเอ็นเอรวมทั้งหมด 218 แถบ โดย อ.หัวหินได้แถบดีเอ็นเอ 57 แถบ ค่าเฉลี่ยแถบดีเอ็นเอเท่ากับ 9.50 แถบต่อไพรเมอร์ อ.สามร้อยยอดได้แถบดีเอ็นเอ 56 แถบ ค่าเฉลี่ยดีเอ็นเอเท่ากับ 9.33 แถบต่อไพรเมอร์ อ.บางสะพานได้แถบดีเอ็นเอ 52 แถบ ค่าเฉลี่ยแถบดีเอ็นเอเท่ากับ 8.67 แถบต่อไพรเมอร์ และอ.นิคมได้แถบดีเอ็นเอ 53 แถบ ค่าเฉลี่ยแถบดีเอ็นเอเท่ากับ 8.83 แถบต่อไพรเมอร์

แถบดีเอ็นเอที่เกิดจาก RAPD ไพรเมอร์จำนวน 6 สาย สามารถตรวจนับได้มากสุด 15 แอลลีล อ.บางสะพาน โลกัส OPA-08 และสามารถตรวจนับได้น้อยสุด 5 แอลลีล อ.บางสะพาน โลกัส universal primer 3 และ อ.สามร้อยยอด โลกัส OPA-02 แสดงดังตารางภาคผนวกที่ 1-24

นำผลที่ได้ข้างต้นมาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยโปรแกรม NTSYS-pc 2.01d คำนวณหาค่า similarity จากตัวอย่างสับปะรดทั้ง 51 ตัวอย่าง ในการเปรียบเทียบความเหมือนและความแตกต่าง ค่าที่คำนวณจากแถบคะแนนดีเอ็นเอมีค่าอยู่ระหว่าง 0 ถึง 1 ความเหมือนกันจะมีมากขึ้นเมื่อค่าที่คำนวณได้มีค่าเข้าใกล้ 1 และต่างกันมากขึ้นเมื่อค่าดังกล่าวเข้าใกล้ 0 เปรียบเทียบข้อมูลทั้งหมดด้วยตารางค่า similarity matrix หลังจากนั้นนำข้อมูลดังกล่าวจัดกลุ่มตัวอย่างด้วยวิธี unweighted pair group method using arithmetic mean (UPGMA) เพื่อสร้าง phylogenic tree แสดงความสัมพันธ์ระหว่างสับปะรดทั้ง 51 ตัวอย่าง จาก 4 สถานที่และรูปทรงที่แตกต่างกันทั้ง 5 ลักษณะ พบว่า อ.หัวหิน มีค่า similarity coefficient อยู่ระหว่าง 0.60-0.89 และมีค่า similarity matrix อยู่ระหว่าง 0.4912-1.0000 อ.สามร้อยยอด มีค่า similarity coefficient อยู่ระหว่าง 0.61-0.80 และมีค่า similarity matrix อยู่ระหว่าง 0.5357-1.0000 อ.บางสะพาน มีค่า similarity coefficient อยู่ระหว่าง 0.59-0.79 และมีค่า similarity matrix อยู่ระหว่าง 0.4807-1.0000 และ อ.นิคม มีค่า similarity coefficient อยู่ระหว่าง 0.66-0.89 และมีค่า similarity matrix อยู่ระหว่าง 0.5849-1.0000

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

(ตารางผนวกที่ 55-58) และข้อมูลที่ได้จาก phylogenetic tree สามารถแบ่งกลุ่มสับปะรดในแต่ละสถานที่ออกเป็นกลุ่มดังนี้

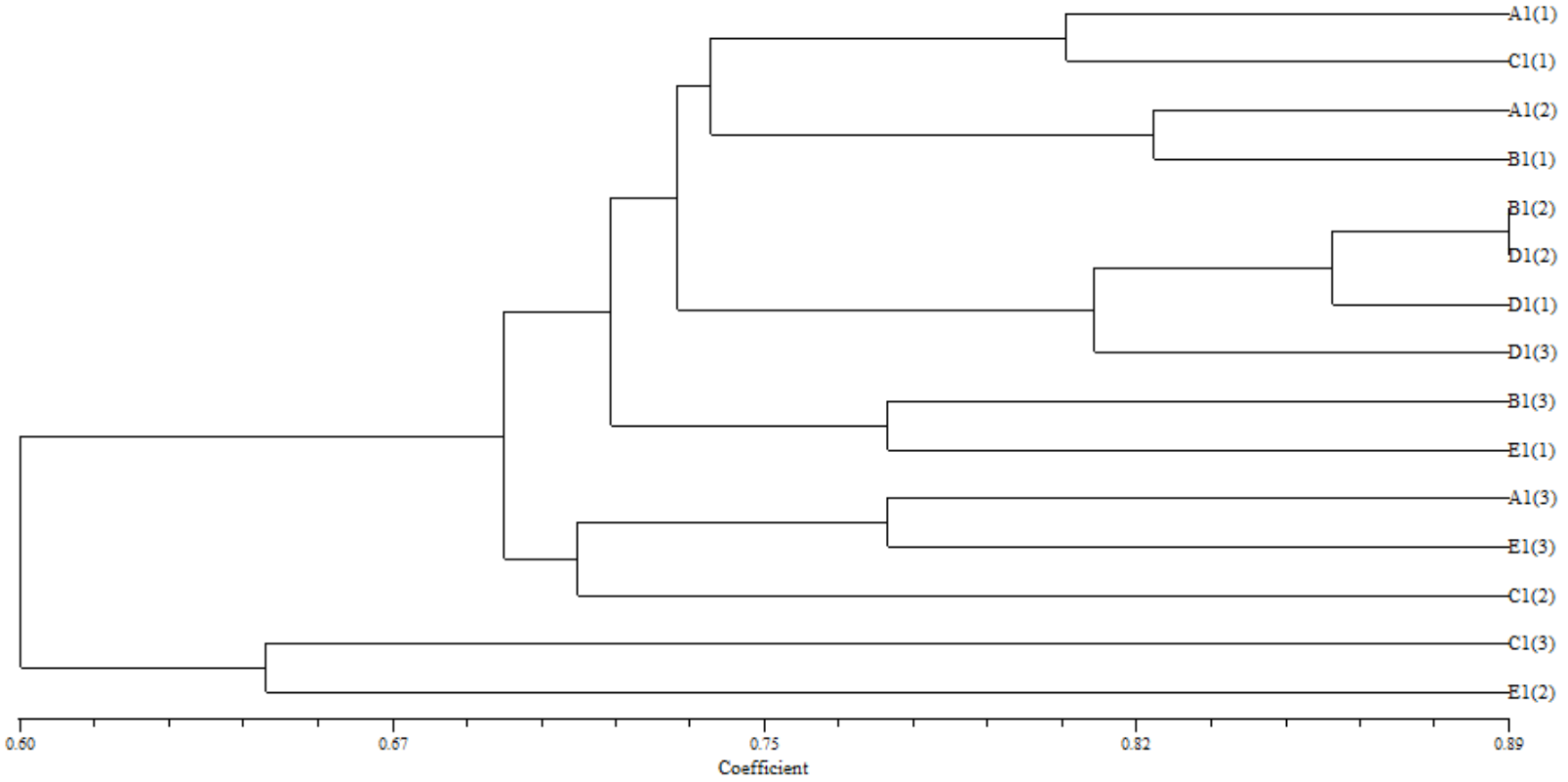
อ.หัวหิน สามารถแบ่งสับปะรดได้เป็น 5 กลุ่ม (ภาพที่ 3)ได้แก่ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย สับปะรดทรงกระบอก [A1(1), A1(2)] สับปะรดทรงเจดีย์ [B1(1)] สับปะรดทรงลูกเล็ก [C1(1)] กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย สับปะรดทรงเจดีย์ [B1(2)] และสับปะรดทรงเดาะจุก [D1(1), D1(2), D1(3)] กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วย สับปะรดทรงเจดีย์ [B1(3)] สับปะรดทรงหลายจุก [E1(1)] กลุ่มที่ 4 ประกอบด้วย สับปะรดทรงกระบอก [A1(3)] สับปะรดทรงลูกเล็ก [C1(2)] สับปะรดทรงหลายจุก [E1(3)] และกลุ่มที่ 5 สับปะรดทรงลูกเล็ก [C1(3)] สับปะรดทรงหลายจุก [E1(2)]

อ.สามร้อยยอด สามารถแบ่งสับปะรดได้เป็น 4 กลุ่ม (ภาพที่ 4)ได้แก่ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย สับปะรดทรงกระบอก [A2(1), A2(2)] กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย สับปะรดทรงลูกเล็ก [C2(1), C2(2)] และสับปะรดทรงเดาะจุก [D2(1), D2(2), D2(3)] กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วย สับปะรดทรงกระบอก [A2(3)] สับปะรดทรงเจดีย์ [B2(2), B2(3)] และสับปะรดทรงลูกเล็ก [C2(3)] กลุ่มที่ 4 ประกอบด้วย สับปะรดทรงเจดีย์ [B2(1)]

อ.บางสะพาน สามารถแบ่งสับปะรดได้เป็น 3 กลุ่ม (ภาพที่ 5) ได้แก่ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย สับปะรดทรงกระบอก [A3(1), A3(2)] สับปะรดทรงลูกเล็ก [C3(3)] และสับปะรดทรงเดาะจุก [D3(1)] กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย สับปะรดทรงเจดีย์ [B3(2), B3(3)] สับปะรดทรงลูกเล็ก [C3(1), C3(2)] และสับปะรดทรงเดาะจุก [D3(2)] กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วย สับปะรดทรงกระบอก [A3(3)] สับปะรดทรงเจดีย์ [B3(1)] และสับปะรดทรงเดาะจุก [D3(3)]

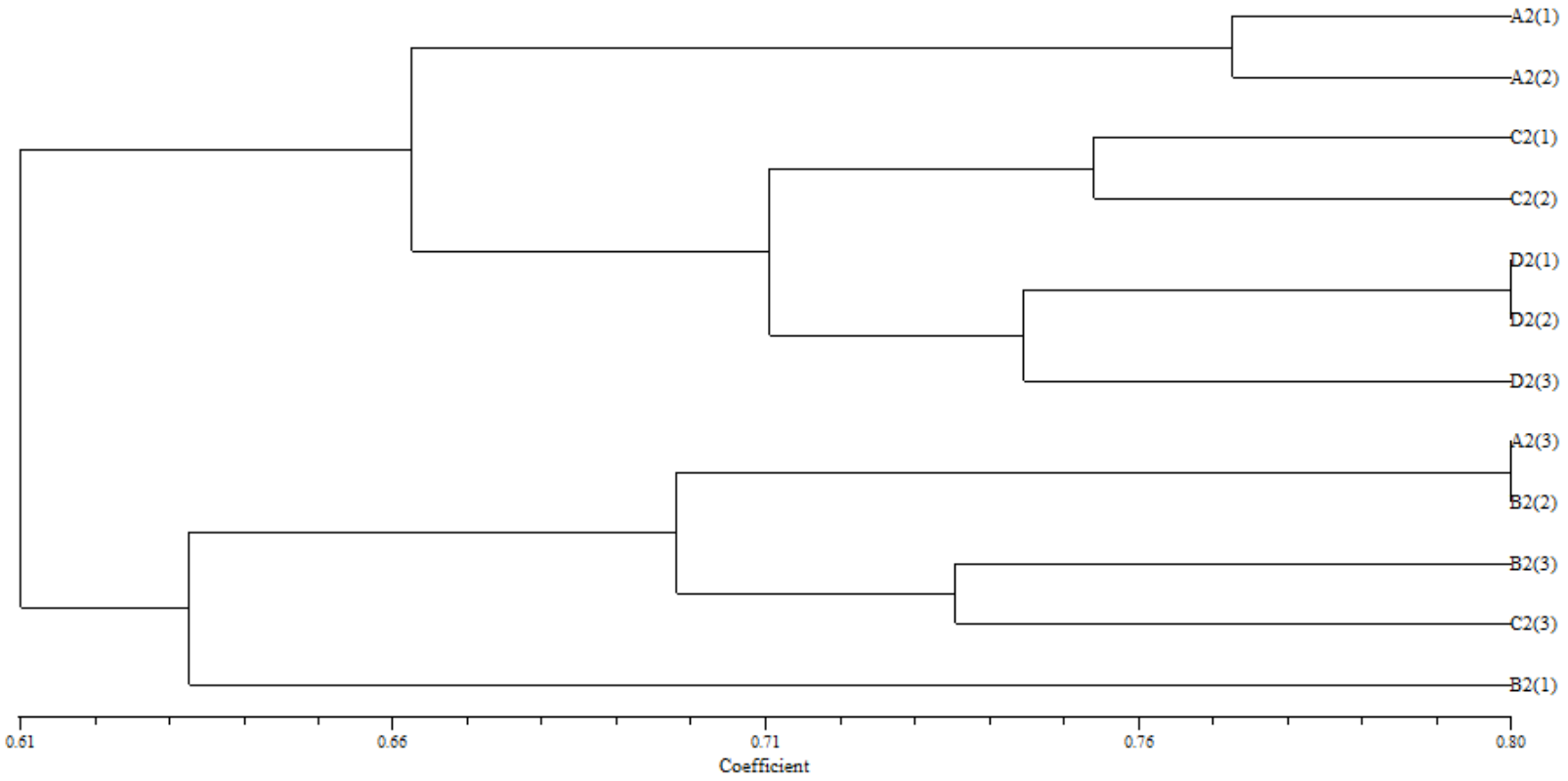
อ.นิคม สามารถแบ่งสับปะรดได้เป็น 4 กลุ่ม (ภาพที่ 6) ได้แก่ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย สับปะรดทรงกระบอก [A4(1), A4(2), A4(3)] กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย สับปะรดทรงหลายจุก [E4(1)] กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วย สับปะรดทรงเจดีย์ [B4(1), B4(2), B4(3)] และสับปะรดทรงลูกเล็ก [C4(1), C4(2)] กลุ่มที่ 4ประกอบด้วย สับปะรดทรงลูกเล็ก [C4(3)] และสับปะรดทรงหลายจุก [E4(2), E4(3)]

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



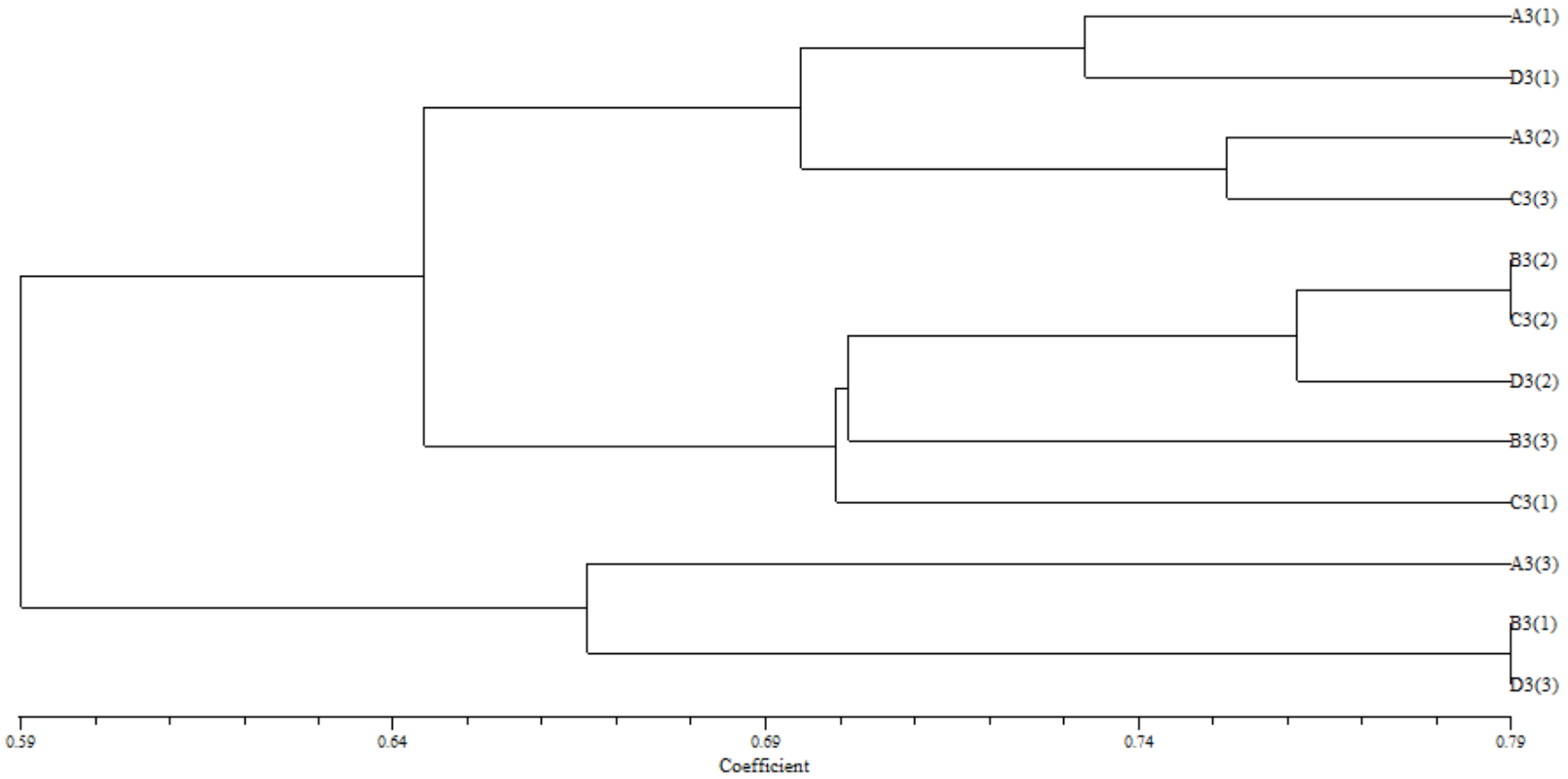
ภาพที่ 3 phylogenetic tree ตัวอย่างสับปะรดของ อ.หัวหิน ทั้งหมด 15 ตัวอย่าง ที่วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NTSYS-pc 2.01d โดยอาศัยข้อมูลความเหมือน (similarity) และจัดกลุ่มตัวอย่างด้วยวิธี UPGMA

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



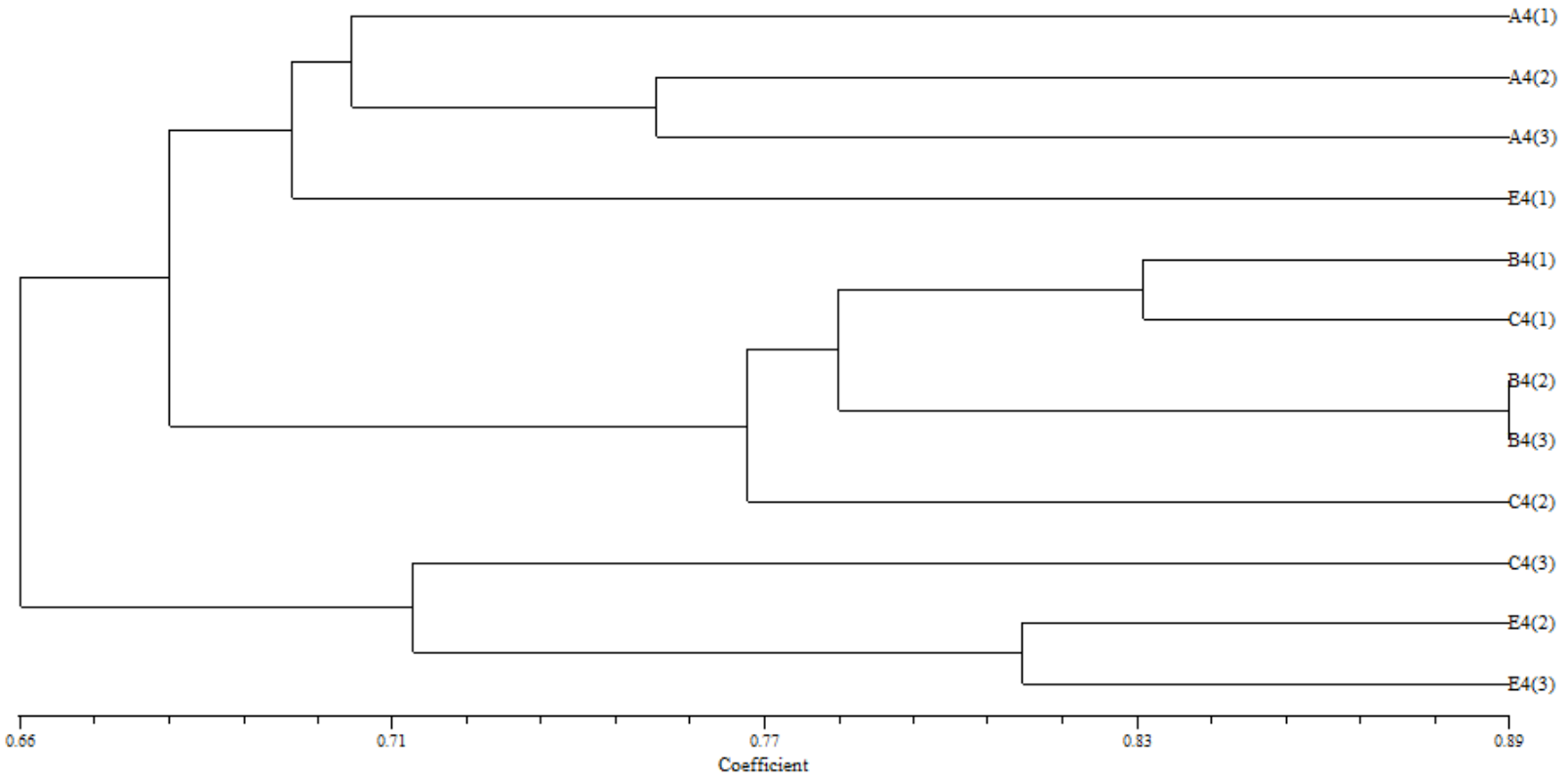
ภาพที่ 4 phylogenetic tree ตัวอย่างสับปะรดของ อ.สามร้อยยอด ทั้งหมด 12 ตัวอย่าง ที่วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NTSYS-pc 2.01d โดยอาศัยข้อมูลความเหมือน (similarity) และจัดกลุ่มตัวอย่างด้วยวิธี UPGMA

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 5 phylogenetic tree ตัวอย่างสับปะรดของ อ.บางสะพาน ทั้งหมด 12 ตัวอย่าง ที่วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NTSYS-pc 2.01d โดยอาศัยข้อมูลความเหมือน (similarity) และจัดกลุ่มตัวอย่างด้วยวิธี UPGMA

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 6 phylogenetic tree ตัวอย่างสับปะรดของ อ.นิคม ทั้งหมด 12 ตัวอย่าง ที่วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NTSYS-pc 2.01d โดยอาศัยข้อมูลความเหมือน (similarity) และจัดกลุ่มตัวอย่างด้วยวิธี UPGMA

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. การวิเคราะห์ผลด้วยเครื่องหมายโมเลกุล RAPD ของสับปะรดทั้ง 5 รูปทรง

และจากการนำผลของแถบดีเอ็นเอของสับปะรดแต่ละรูปทรงที่ได้จากการทำอิเล็กโตรโฟรีซีสบนแผ่นเจลอะกาโรส (agarose gel electrophoresis) มาลงคะแนน (ตารางภาคผนวกที่ 25-54) ลักษณะเช่นเดียวกันกับด้วยเครื่องหมายโมเลกุล RAPD ของสับปะรดทั้ง 4 สถานที่ พบว่าได้แถบดีเอ็นเอรวมทั้งหมด 318 แถบ โดย สับปะรดทรงกระบอกได้แถบดีเอ็นเอ 65 แถบ ค่าเฉลี่ยแถบดีเอ็นเอเท่ากับ 10.83 แถบต่อไพรเมอร์ สับปะรดทรงเจดีย์ได้แถบดีเอ็นเอ 65 แถบ ค่าเฉลี่ยดีเอ็นเอเท่ากับ 10.83 แถบต่อไพรเมอร์ สับปะรดทรงลูกเล็กได้แถบดีเอ็นเอ 65 แถบ ค่าเฉลี่ยแถบดีเอ็นเอเท่ากับ 10.83 แถบต่อไพรเมอร์ สับปะรดทรงเตาะจุกได้แถบดีเอ็นเอ 62 แถบ ค่าเฉลี่ยแถบดีเอ็นเอเท่ากับ 10.33 แถบต่อไพรเมอร์ และสับปะรดทรงหลายจุกได้แถบดีเอ็นเอ 61 แถบ ค่าเฉลี่ยแถบดีเอ็นเอเท่ากับ 10.17 แถบต่อไพรเมอร์

นำผลที่ได้ข้างต้นมาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยโปรแกรม NTSYS-pc 2.01d พบว่า สับปะรดรูปทรงกระบอก มีค่า similarity coefficient อยู่ระหว่าง 0.52-0.80 และมีค่า similarity matrix อยู่ระหว่าง 0.4307-1.0000 สับปะรดรูปทรงเจดีย์ มีค่า similarity coefficient อยู่ระหว่าง 0.57-0.91 และมีค่า similarity matrix อยู่ระหว่าง 0.4153-1.0000 สับปะรดรูปทรงลูกเล็ก มีค่า similarity coefficient อยู่ระหว่าง 0.52-0.82 และมีค่า similarity matrix อยู่ระหว่าง 0.4153-1.0000 สับปะรดรูปทรงเตาะจุก มีค่า similarity coefficient อยู่ระหว่าง 0.53-0.89 และมีค่า similarity matrix อยู่ระหว่าง 0.4032-1.0000 และสับปะรดรูปทรงหลายจุก ค่า similarity coefficient อยู่ระหว่าง 0.51-0.84 และมีค่า similarity matrix อยู่ระหว่าง 0.4426-1.0000 (ตารางผนวกที่ 59-63) และข้อมูลที่ได้จาก phylogenetic tree สามารถแบ่งกลุ่มสับปะรดในแต่ละรูปทรงออกเป็นกลุ่มดังนี้

สับปะรดทรงกระบอก สามารถแบ่งสับปะรดได้เป็น 4 กลุ่ม (ภาพที่ 7) ได้แก่ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย สับปะรดจาก อ.หัวหิน [A1(1), A1(2), A1(3)] กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย สับปะรดจาก อ.สามร้อยยอด [A2(1), A2(2), (A2(3)] กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วย สับปะรดจาก อ.บางสะพาน [A3(1), A3(2), A3(3)] และกลุ่มที่ 4 ประกอบด้วย สับปะรดจาก อ.นิคม [A4(1), A4(2), A4(3)]

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

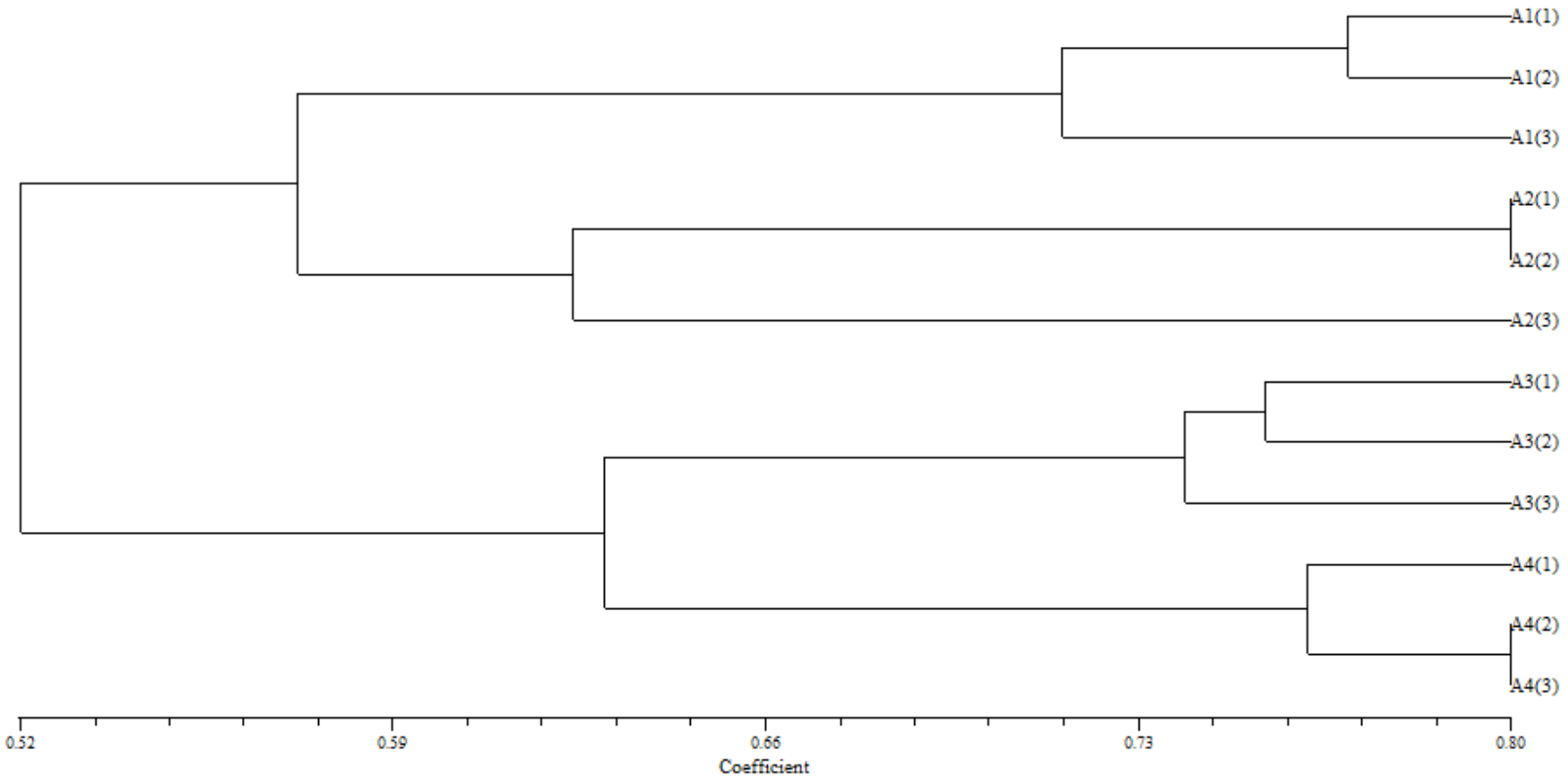
สับปะรดทรงเจดีย์ สามารถแบ่งสับปะรดได้เป็น 4 กลุ่ม (ภาพที่ 8) ได้แก่ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย สับปะรดจาก อ.หัวหิน [B1(1), B1(2), B1(3)] กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยสับปะรดจาก อ.สามร้อยยอด [B2(1), B2(2), B2(3)] กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วย สับปะรดจาก อ.บางสะพาน [B3(1), (B3(2), B3(3)] กลุ่มที่ 4 ประกอบด้วยสับปะรดจาก อ.นิคม [B4(1), B4(2), B4(3)]

สับปะรดทรงลูกเล็ก สามารถแบ่งสับปะรดได้เป็น 4 กลุ่ม (ภาพที่ 9) ได้แก่ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย สับปะรดจาก อ.หัวหิน [C1(1), C1(2), C1(3)] กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย สับปะรดจาก อ.บางสะพาน [C3(1), C3(2), C3(3)] กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วย สับปะรดจาก อ.นิคม [C4(1), C4(2), C4(3)] กลุ่มที่ 4 ประกอบด้วย สับปะรดจาก อ.สามร้อยยอด [C2(1), C2(2), (C2(3)]

สับปะรดทรงเตาะจุก สามารถแบ่งสับปะรดได้เป็น 3 กลุ่ม (ภาพที่ 10) ได้แก่ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย สับปะรดจาก อ.หัวหิน [D1(1), D1(2), D1(3)] กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย สับปะรดจาก อ.บางสะพาน [D3(1), D3(2), D3(3)] กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วย สับปะรดจาก อ.สามร้อยยอด [D2(1), D2(2), D2(3)]

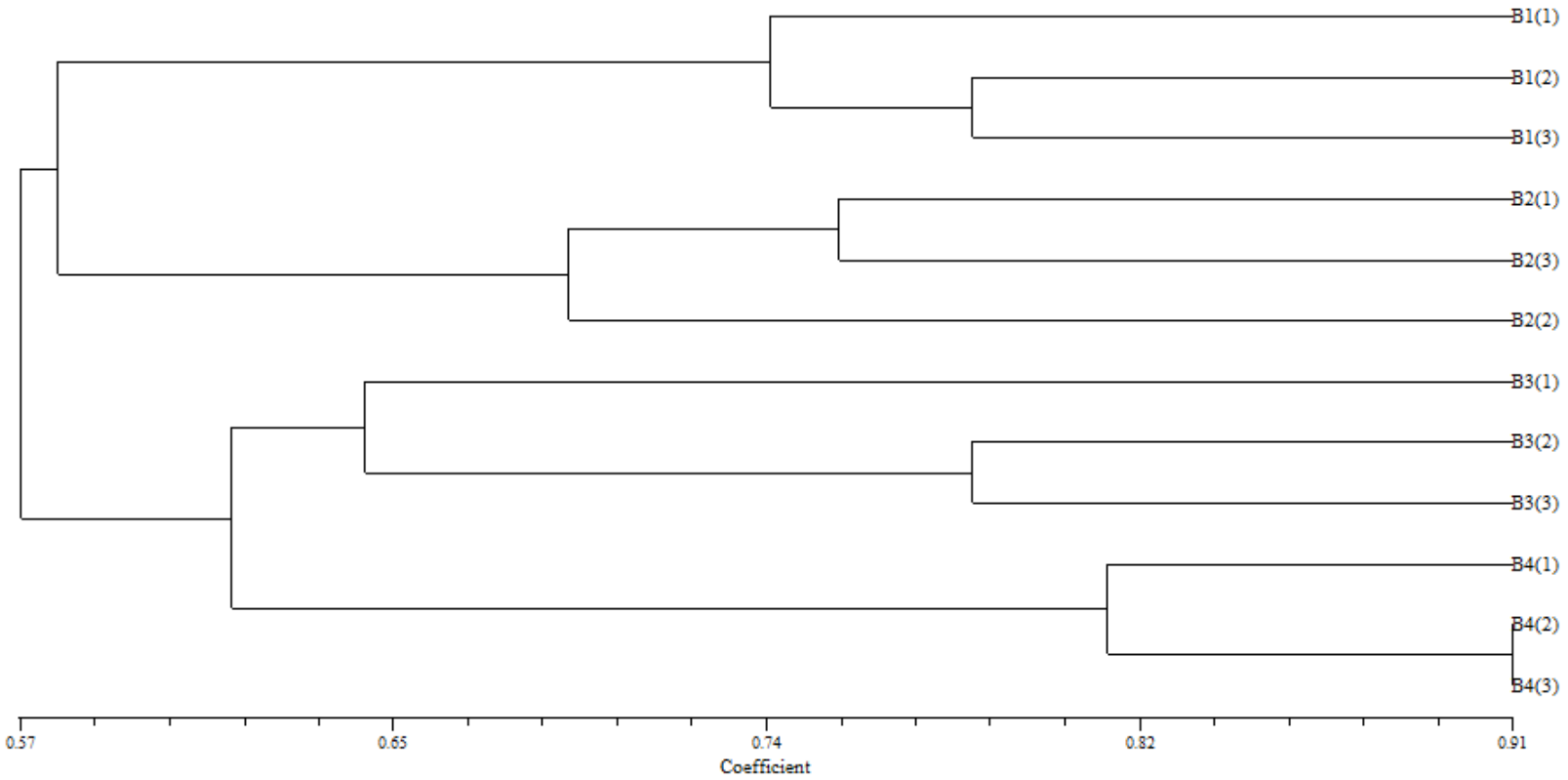
สับปะรดทรงหลายจุก สามารถแบ่งสับปะรดได้เป็น 2 กลุ่ม (ภาพที่ 11) ได้แก่ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย สับปะรดจาก อ.หัวหิน [E1(1), E1(2), E1(3)] กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย สับปะรดจาก อ. นิคม [E4(1), E4(2), E4(3)]

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



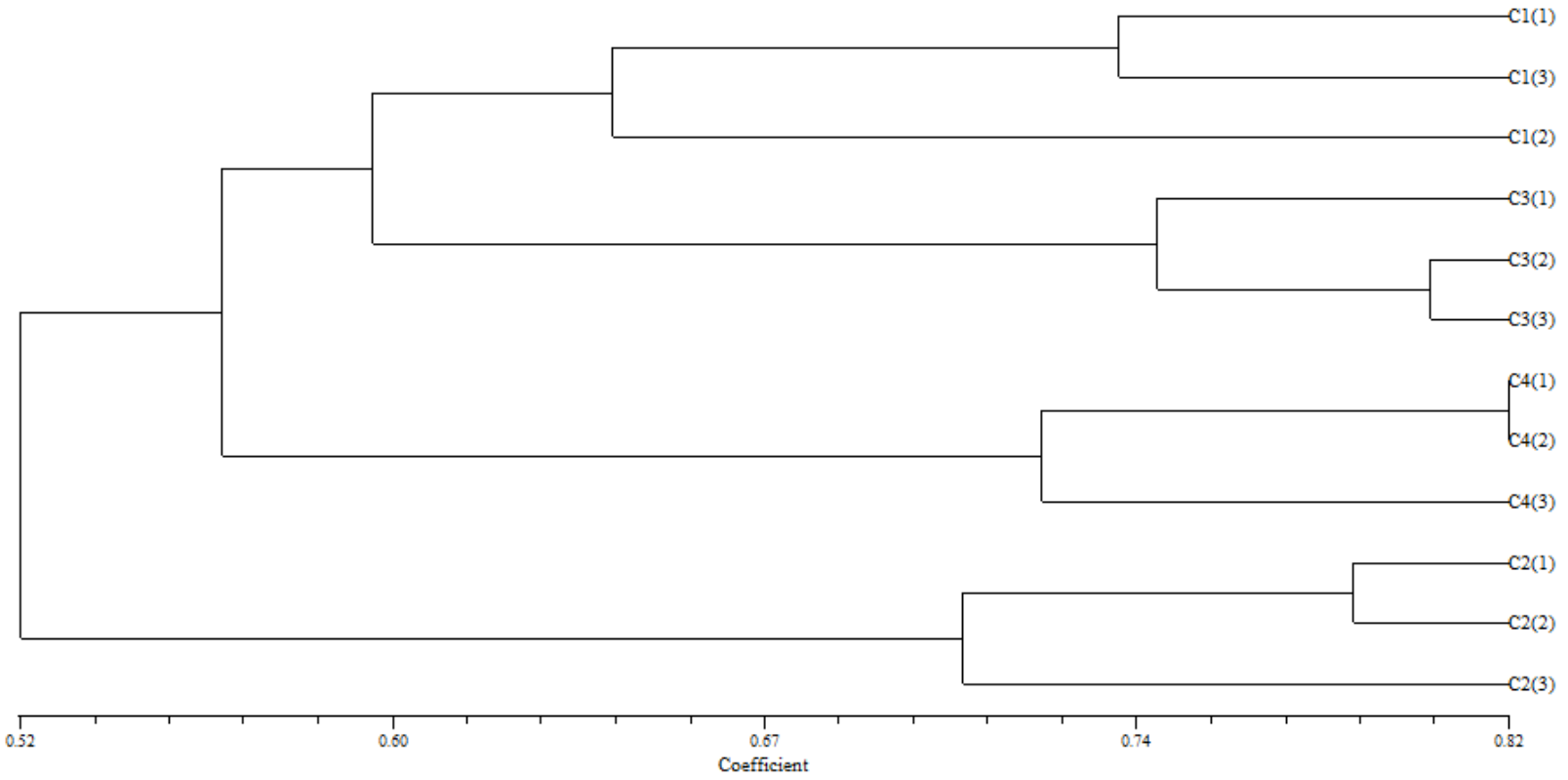
ภาพที่ 7 phylogenetic tree ตัวอย่างของสับปะรดทรงกระบอก ทั้งหมด 12 ตัวอย่าง จาก 4 สถานที่ ที่วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NTSYS-pc 2.01d โดยอาศัยข้อมูลความเหมือน (similarity) ที่คำนวณจากเทคนิค UPGMA

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



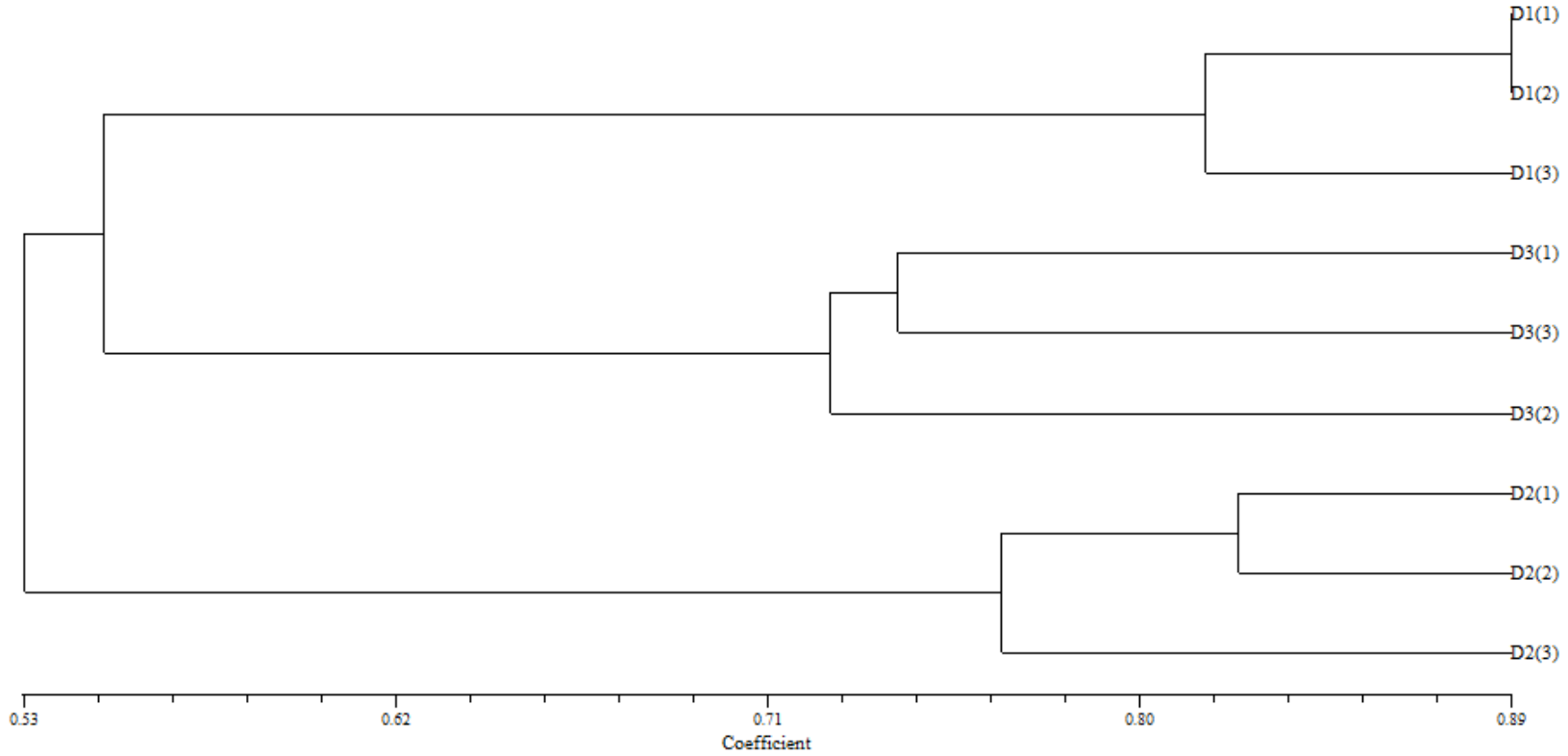
ภาพที่ 8 phylogenetic tree ตัวอย่างของสับปะรดทรงเจดีย์ ทั้งหมด 12 ตัวอย่าง จาก 4 สถานที่ ที่วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NTSYS-pc 2.01d โดยอาศัยข้อมูลความเหมือน (similarity) และจัดกลุ่มตัวอย่างด้วยวิธี UPGMA

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



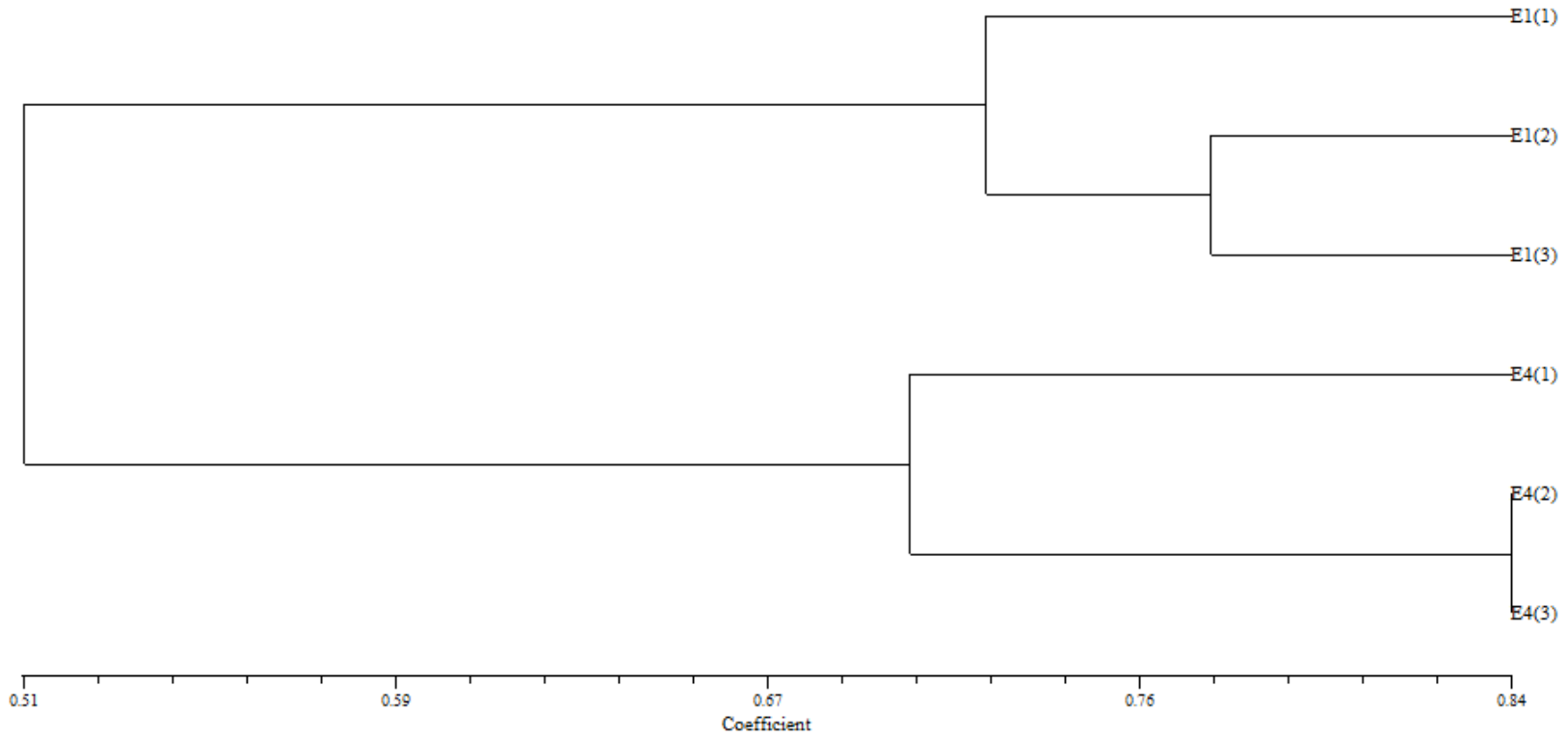
ภาพที่ 9 phylogenetic tree ตัวอย่างของสับปะรดทรงลูกเล็ก ทั้งหมด 12 ตัวอย่าง จาก 4 สถานที่ ที่วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NTSYS-pc 2.01d โดยอาศัยข้อมูลความเหมือน (similarity) และจัดกลุ่มตัวอย่างด้วยวิธี UPGMA

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 10 phylogenetic tree ตัวอย่างของสับปะรดทรงเดาะจุก ทั้งหมด 9 ตัวอย่าง จาก 3 สถานที่ ที่วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NTSYS-pc 2.01d โดยอาศัยข้อมูลความเหมือน (similarity) และจัดกลุ่มตัวอย่างด้วยวิธี UPGMA

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 11 phylogenetic tree ตัวอย่างของสับปะรดทรงหลายจุก ทั้งหมด 6 ตัวอย่าง จาก 2 สถานที่ ที่วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NTSYS-pc 2.01d โดยอาศัยข้อมูลความเหมือน (similarity) และจัดกลุ่มตัวอย่างด้วยวิธี UPGMA

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิจารณ์

จากการสกัดดีเอ็นเอของสับปะรดด้วยการใช้ชุดสกัด DNAzol เมื่อตรวจสอบดีเอ็นเอที่สกัดจากเนื้อสับปะรดโดยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซีสบนแผ่นอะกาโรสเจล พบว่า มีการปนเปื้อนของอาร์เอ็นเออยู่จำนวนมาก ซึ่งจะเห็นเป็นแถบจางๆ ไม่ชัดเจนยาวลงมา และเมื่อตรวจสอบหลังจากการเติมเอนไซม์อาร์เอ็นเอเอสเพื่อใช้ในการกำจัดอาร์เอ็นเอ พบว่า แถบดีเอ็นเอที่ปรากฏมีความสะอาดและคมชัดมากขึ้น

การทดสอบไพรเมอร์ที่ใช้ในการสังเคราะห์ดีเอ็นเอสับปะรด พบว่า เมื่อนำดีเอ็นเอที่เกิดจากการสังเคราะห์ด้วยเทคนิค RAPD โดยใช้ Universal primer จำนวน 10 ชุด มาแยกขนาดของดีเอ็นเอบนแผ่นอะกาโรสเจลเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐานด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซีส ย้อมแผ่นเจลด้วยเอทธิเดียมโบรไมด์ และส่องด้วยแสงอุลตร้าไวโอเลต ซึ่งสามารถสังเคราะห์ดีเอ็นเอได้หลายแถบและปรากฏแถบที่ชัดเจน (major band)

การตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมสับปะรดในกลุ่มปัตตาเวียด้วยวิธี RAPD โดยแยกความแตกต่างทางพันธุกรรมของสับปะรดแบ่งตามสถานที่ทั้ง 4 สถานที่ คือ อ.หัวหิน อ.สามร้อยยอด อ.บางสะพาน และ อ.นิคม ในสถานที่เดียวกันพบรูปทรงของสับปะรดมีความหลากหลาย และแต่ละรูปทรงมีพันธุกรรมที่ต่างกัน เกิดความแตกต่างทางพันธุกรรมอย่างมาก ในบางกลุ่มสับปะรดรูปทรงเหมือนกันอยู่ในกลุ่มเดียวกัน แต่ในกลุ่มนั้นยังพบว่ามีสับปะรดรูปทรงอื่นอยู่ในกลุ่มนั้นด้วย เช่นสับปะรดใน อ.หัวหิน กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย สับปะรดทรงเจดีย์ [B1(2)] และสับปะรดทรงเดาะจุก [D1(1), D1(2), D3(2)] ส่วนสับปะรดรูปทรงกระบอก ซึ่งเป็นรูปทรงที่ตรงตามลักษณะสัณฐานวิทยาของสับปะรดกลุ่มปัตตาเวียแบ่งแยกความหลากหลายจากสถานที่นั้นรวมอยู่ในกลุ่มของสับปะรดรูปทรงอื่นๆ ได้ทุกรูปทรง อาจเป็นเพราะเกิดการกลาย (mutation) ของสับปะรดทรงกระบอก ซึ่งถ้าเปรียบเทียบจากรูปทรงสับปะรด (ภาพที่ 1) ทรงเจดีย์ ทรงลูกเล็ก ทรงเดาะจุกและทรงหลายจุก จะมีลักษณะคล้ายกับทรงกระบอก อาจจะต่างกันที่ขนาดผลและลักษณะของจุก (crown) ทำให้การจัดกลุ่มพันธุกรรมมีความคล้ายหรือใกล้เคียงกัน เช่นสับปะรดใน อ.หัวหิน กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย สับปะรดทรงกระบอก [A1(1), A1(2)] สับปะรดทรงเจดีย์ [B1(1)]

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สับปะรดทรงลูกเล็ก [C1(1)] สับปะรดใน อ.บางสะพาน กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย สับปะรดทรงกระบอก [A3(1), A3(2)] สับปะรดทรงลูกเล็ก [C3(3)] และสับปะรดทรงเดาะจุก [D3(1)]

การตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมสับปะรดในกลุ่มปัตตาเวียด้วยวิธี RAPD โดยแยกความแตกต่างทางพันธุกรรมของสับปะรดแบ่งตามรูปทรงทั้ง 5 ลักษณะ คือ ทรงกระบอก ทรงเจดีย์ ทรงลูกเล็ก ทรงเดาะจุก และทรงหลายจุก จากทั้งหมด 5 ลักษณะ แต่ละลักษณะไม่พบว่ามีความหลากหลายทางพันธุกรรม สับปะรดแต่ละรูปทรงที่มาจากต่างสถานที่ในรูปทรงเดียวกันนั้นมีความคล้ายหรือใกล้เคียงกันแบ่งกลุ่มกันได้อย่างชัดเจนกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรม โดยแยกความแตกต่างทางพันธุกรรมของสับปะรดแบ่งตามสถานที่ เช่น สับปะรดทรงกระบอก กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย สับปะรดจาก อ.หัวหิน [A1(1), A1(2), A1(3)] กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย สับปะรดจาก อ.สามร้อยยอด [A2(1), A2(2), (A2(3)] กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วย สับปะรดจาก อ.บางสะพาน [A3(1), A3(2), A3(3)] และกลุ่มที่ 4 ประกอบด้วย สับปะรดจาก อ.นิคม [A4(1), A4(2), A4(3)] ซึ่งรูปทรงเดียวกัน เช่น ทรงกระบอกในแต่ละสถานที่จะจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

ผลจากการตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมสับปะรดในกลุ่มปัตตาเวียด้วยวิธี RAPD โดยแยกความแตกต่างทางพันธุกรรมของสับปะรดแบ่งตามสถานที่และรูปทรงทำให้ทราบว่า พันธุ์ปัตตาเวียที่ปลูกในแต่ละพื้นที่มีตัวอย่างรูปทรงที่ต่างกัน และจากการใช้ RAPD marker วิเคราะห์จากสถานที่ปลูกสับปะรดพบว่า ในแต่ละสถานที่มีการจัดกลุ่มของรูปทรงสับปะรดที่แตกต่างกัน แม้จะปลูกในสถานที่เดียวกัน ส่วนการวิเคราะห์จากรูปทรงสับปะรดพบว่า รูปทรงเดียวกันจะมีพันธุกรรมที่เหมือนกัน เนื่องจากมีพันธุกรรมเฉพาะในแต่ละสถานที่ ทำให้แบ่งกลุ่มกันได้อย่างชัดเจน ซึ่งเกิดจากการทำเกษตรกรรมของแต่ละสถานที่ไม่เหมือนกัน อีกทั้งการขยายพันธุ์สับปะรดปัตตาเวียจากต้นแม่พันธุ์เมื่อนำไปขยายพันธุ์โดยการใช้หน่อหรือตะเกียงทำให้ต้นสับปะรดใหม่ได้รับพันธุกรรมจากต้นแม่ไปด้วย ทำให้เกิดพันธุกรรมที่วนเวียน และลักษณะนี้สามารถถ่ายทอดไปสู่รุ่นลูกหลานได้ และสาเหตุที่ทำให้พบสับปะรดหลายรูปทรงเนื่องมาจากสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม การได้รับอุณหภูมิที่สูงหลังจากได้รับสารบังคับการออกดอก การแบ่งตัวอย่างรวดเร็วของเซลล์ของต้นหรือช่อดอกในระยะการเจริญเติบโตมีผลทำให้ผลบิดเบี้ยวจน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เสียรูปหรือมีรูปร่างเปลี่ยนไป หรือบางครั้งการได้รับน้ำและปุ๋ยอย่างกะทันหันในช่วงพร้อมที่จะออกดอกภายหลังจากผ่านช่วงแล้งมานานก็ทำให้เกิดลักษณะดังกล่าวได้เช่นกัน(Nakasone and Paull, 1998)จึงเห็นได้ว่าสับปะรดปัตตาเวียที่นิยมใช้เป็นสับปะรดอุตสาหกรรมมีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมเกิดขึ้น จากการศึกษางานวิจัยอื่นๆ ที่เกี่ยวกับสับปะรดส่วนใหญ่แล้วจะเป็นการศึกษาโดยใช้สับปะรดหลายสายพันธุ์ เช่น สยามและคณะ (2550) ได้วิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของสับปะรดที่ปลูกในประเทศไทยจำนวน 9 สายพันธุ์ ได้แก่ ภูแล สวี ตราดสีทอง ภูเก็ต ปัตตาเวีย อินทรชิตแดง อินทรชิตขาว เพชรบุรี1 และนางแล ผลการทดลองพบว่าเกิดความแตกต่างทางพันธุกรรมของสับปะรดทั้ง 9 สายพันธุ์ ส่วนงานวิจัยของ Vanijajiva (2012) ทำการประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างสับปะรด 15 พันธุ์ ผลการทดลองพบความคล้ายคลึงกันทางพันธุกรรม สับปะรดกลุ่มแรกประกอบด้วย Intrachitdang และ Intrachitkhao กลุ่มที่สองประกอบด้วย Pattavia, Nanglae และ Lakata กลุ่มที่สามประกอบด้วย Tadum, Tainan, Pattanie, Phulae, Petburi, Sawee, Phuket และ Tradsithong ตามลำดับ แต่ยังไม่พบงานวิจัยที่ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของสับปะรดในพันธุ์เดียวกัน ในงานวิจัยของเราจึงทำการทดลองในเฉพาะสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียพันธุ์เดียว ผลการทดลองพบว่า สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียมีความหลากหลายทางพันธุกรรม แม้ปลูกในสถานที่เดียวกัน ยังพบรูปทรงที่แตกต่างกันและมีพันธุกรรมที่แตกต่างกันอีกด้วย

จากการศึกษา แสดงให้เห็นว่าสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย มีการพัฒนาพันธุ์น้อยมาก มีการเสื่อมคุณลักษณะอันเนื่องมาจากการกลายพันธุ์ เกิดความหลากหลายทางฟีโนไทป์ (phenotypic variation) เป็นการเปลี่ยนแปลงที่ไม่ถาวรของสายต้นที่เกิดจากการเปลี่ยนรูปร่างลักษณะและนิสัยของพืช เมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน เช่น สาลี่พันธุ์บาร์ตเลตต์ (Bartlett) ที่ปลูกในมลรัฐวอชิงตัน และรัฐโอเรกอน จะมีผลรูปร่างยาวดังสาลี่ทั่วๆ ไป ถ้านำไปปลูกในมลรัฐแคลิฟอร์เนีย ซึ่งมีสภาพภูมิอากาศต่างกัน จะมีผลรูปร่างกลมคล้ายแอปเปิล ขนาดผล รูปร่างผล และลักษณะอื่นๆ ที่ปรากฏอาจแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับความแข็งแรง ขนาดของต้นและอายุของพืช เป็นอิทธิพลของสภาพแวดล้อมที่มีต่อต้นแม่และถ่ายทอดไปถึงรุ่นลูก แต่ไม่ได้มีผลอย่างถาวรต่อพันธุกรรมของพืชนั้น เป็นต้น (สกุลศักดิ์, 2556) อีกปัจจัยที่ทำให้เกิดความหลากหลายทางพันธุกรรม คือ เกิดการเสื่อมถอยทางพันธุกรรม พืชผสมข้ามตามธรรมชาติโดยทั่วไปจะมีอัตราการผสมข้ามไม่น้อยกว่า

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ร้อยละ 70 กลไกที่ส่งเสริมให้เกิดการผสมข้ามของพืชแต่ละชนิดแตกต่างกัน ได้แก่ การสร้างดอกเพศผู้หรือดอกเพศเมียอยู่คนละต้นกัน (dioecious plant) หรืออยู่ในต้นเดียวกันเป็นพวกดอกแยกเพศ (monoecious plant) ซึ่งประสิทธิภาพในการผสมข้ามพันธุ์ขึ้นกับช่วงเวลาการบานของดอกเพศผู้และดอกเพศเมียที่อยู่ในต้นเดียวกัน พืชที่มีดอกสมบูรณ์เพศ หรือดอกกะเทย อาจเกิดการผสม ข้ามได้ถ้าเกสรเพศผู้แก่ก่อนเกสรเพศเมีย (protandry) นอกจากนี้ อาจเกิดการขัดขวางไม่ให้เกิดการผสมตัวเอง หรือเกิดการผสมตัวเองไม่ติด (self-incompatibility) พบในสับปะรด และทานตะวันบางพันธุ์ ผลของการผสมพันธุ์ระหว่างสายพันธุ์ที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรม และนำไปสู่การคงตัวทางพันธุกรรม ส่งผลให้ยีนด้อยที่มีผลทางลบแสดงออกได้ก่อให้เกิดการเสื่อมถอยของลักษณะต่างๆ ขึ้น เรียกว่า Inbreeding depression ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้ลักษณะคุณภาพที่ไม่ดีแสดงออก ความแข็งแรงของต้นพืช ผลผลิตและลักษณะอื่นๆ ลดลง เป็นต้น (ชเนษฎ์, 2553)

เมื่อเปรียบเทียบสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียกับสาลีพันธุ์บาร์ตเลตต์ พบว่ามีความคล้ายคลึงกัน คือ สาลี่เป็นพืชที่ต้องการผสมข้ามพันธุ์ในการติดผล ถึงแม้บางพันธุ์สามารถติดผลได้เอง แต่ถ้ามีการผสมข้ามพันธุ์จะทำให้มีการติดผลเพิ่มขึ้น และจะใช้ส่วนปลายยอดในการขยายพันธุ์ ส่วนสับปะรดปัตตาเวียส่วนใหญ่จะใช้หน่อหรือตะเกียงในการขยายพันธุ์ และในแต่ละพื้นที่ที่ปลูกจะพบรูปร่างของสับปะรดที่ต่างกัน อาจมีผลมาจากการกลายพันธุ์เกิดการเปลี่ยนแปลงทางฟีโนไทป์เมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมหรือการทำเกษตรกรรมที่แตกต่างกันในแต่ละพื้นที่เช่นเดียวกับสาลี่พันธุ์บาร์ตเลตต์ สับปะรดเป็นพืชที่มีกลไกในการป้องกันการผสมตัวเอง แต่สามารถผสมข้ามพันธุ์ได้ จากรายงานของ อรุณและคณะ (2547) ได้ทำการผสมพันธุ์สับปะรดภูเก็ตและสับปะรดปัตตาเวีย เพื่อทำการศึกษาการพัฒนาผลของสับปะรดพันธุ์ภูเก็ต หลังจากช่อดอกสิ้นสุดการบานพบว่า ความกว้างและความยาวของผลจะเพิ่มตามอายุที่เพิ่มขึ้น ลูกผสมที่ได้ส่วนมากให้ผลขนาดเล็กแต่บางต้นจะมีขนาดผลใหญ่กว่าต้นแม่พันธุ์

การศึกษาความหลากหลายหรือความแปรปรวนทางพันธุกรรมของพืช สามารถทำได้โดยอาศัยวิธีการดั้งเดิมคือการใช้ลักษณะสัณฐานเป็นตัวเปรียบเทียบ แต่เนื่องจากข้อจำกัดหลายประการทำให้การใช้ลักษณะสัณฐานไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอในการแยกความแตกต่างทางพันธุกรรม การใช้เทคนิคทางด้านชีวโมเลกุลจึงเข้ามามีบทบาทเป็นอย่างมาก เครื่องหมายโมเลกุลได้ถูกนำมาใช้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อย่างกว้างขวางในการศึกษาทางด้านพันธุศาสตร์และการปรับปรุงพันธุ์พืช เนื่องจากมีหลายวิธี และสามารถศึกษาได้ในทุกระยะของการเจริญเติบโตพืช แม้แต่ระยะต้นกล้า ทำให้มีข้อได้เปรียบอย่างมากโดยเฉพาะพืชที่มีวงจรชีวิตยาวนาน นอกจากนี้การแสดงออกของเครื่องหมายโมเลกุลจะไม่มีอิทธิพลของสภาพแวดล้อมมาเกี่ยวข้อง

อย่างไรก็ตามการตรวจสอบด้วยวิธี RAPD เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพและเหมาะสมกับการหาความหลากหลายทางพันธุกรรมสับปะรดที่ใกล้ชิดกันมาก ทำได้ง่ายไม่ซับซ้อน ค่าใช้จ่ายไม่สูง ใช้ปริมาณดีเอ็นเอน้อยประมาณ 25-100 นาโนกรัมต่อปฏิกิริยา (Winter and Kahl, 1995) ทำได้รวดเร็ว และให้ข้อมูลในการวิเคราะห์มากเพราะ RAPD ไพรเมอร์ที่ใช้ในวิธีการนี้เป็นไพเมอร์ที่ไม่จำเพาะเจาะจงต่อตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่งบนจีโนม จึงมีโอกาสที่ไพรเมอร์จะเข้าเกาะได้หลายตำแหน่ง (สุรินทร์, 2545) นอกจากนี้ยังมีการใช้เทคนิค RAPD ในการจำแนกความแตกต่างของพันธุ์พืชที่ต้านทานแมลง ต้านทานโรค การตรวจสอบความบริสุทธิ์ของลูกผสม การทำแผนที่ยีนและหาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของพืช และสิ่งมีชีวิตอื่นๆ

การใช้เทคนิค RAPD มีข้อจำกัดที่สำคัญอย่างหนึ่ง คือ จะไวต่อปฏิกิริยา เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงปฏิกิริยาเพียงเล็กน้อยอาจได้ผลที่แตกต่างออกไป ดังนั้นแต่ละครั้งที่ทำการทดลองขนาด และปริมาณของชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จะเปลี่ยนแปลงไป (Ellsworth *et al.*, 1993*)* และคุณภาพดีเอ็นเอต้นแบบมีผลต่อการสังเคราะห์ของดีเอ็นเอผลผลิต ซึ่งในปัจจุบันเครื่องมือที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอของบริษัทต่างๆ มีให้เปรียบเทียบ และเลือกใช้ตามความเหมาะสมในแต่ละพืช

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่าในปัจจุบันสับปะรดกลุ่มปัตตาเวีย (Smooth Cayenne) ที่ปลูกในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ จาก อ.หัวหิน, อ.สามร้อยยอด, อ.บางสะพาน และ อ.นิคม มีรูปทรงที่หลากหลาย สามารถเก็บตัวอย่างที่มีรูปร่างแตกต่างกันไป ซึ่งพบลักษณะรูปทรงสับปะรด 5 ลักษณะคือ ทรงกระบอก (A) ทรงเจดีย์ (B) ทรงลูกเล็ก (C) ทรงเตาะจุก (D) และทรงหลายจุก (E)

การวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล RAPD โดยการทดลองมีดังต่อไปนี้คือ การใช้เทคนิค RAPD กับตัวอย่างสับปะรดทั้ง 51 ตัวอย่างโดยใช้ไพรเมอร์ความยาว 10 นิวคลีโอไทด์ 6 ชนิด ได้แก่ universal primer 3, OPA-02, OPA-04, OPA-08, OPA-10 และ OPA-18 พบการสังเคราะห์ดีเอ็นเอทั้งหมดจำนวน 218 แถบ นำข้อมูลของการเกิดแถบดีเอ็นเอจัดกลุ่มตัวอย่างด้วยวิธี UPGMA โดยค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงของสับปะรดทั้ง 4 สถานที่ มีค่าอยู่ระหว่าง 0.59-0.89 และค่าความคล้ายคลึงอยู่ระหว่าง 0.4912-1.0000 และค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงของสับปะรดทั้ง 5 รูปทรง มีค่าอยู่ระหว่าง 0.51-0.91 และค่าความคล้ายคลึงอยู่ระหว่าง 0.4032-1.0000 (ตัวอย่างในแต่ละรูปทรงใดที่แตกต่างกันมากจะมีค่าความคล้ายคลึงเข้าใกล้ค่า 0.0000 และที่มีความคล้ายคลึงกันมากค่าดังกล่าวจะเข้าใกล้ค่า 1.0000)

วิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล RAPD ด้วยไพรเมอร์ที่ต่างกัน โดยวิเคราะห์จากสถานที่แล้วนำมาวิเคราะห์สร้าง phylogenic tree แสดงความสัมพันธ์ของสับปะรดทั้ง 4 สถานที่ สับปะรดจาก อ.หัวหิน แบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม สับปะรดจาก อ.สามร้อยยอด แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม สับปะรดจาก อ.บางสะพาน แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม และสับปะรดจาก อ.นิคม แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม (ภาพที่ 3-6) โดยทั้ง 4 สถานที่ ให้ผลทางพันธุกรรมที่หลากหลายพบว่า ในแต่ละสถานที่มีการจัดกลุ่มของรูปทรงที่แตกต่างกัน ส่วนการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล RAPD โดยวิเคราะห์จากรูปทรง และทำการวิเคราะห์สร้าง phylogenic tree แสดงความสัมพันธ์ของสับปะรดทั้ง 5 รูปทรง โดยรูป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ทรงกระบอก ทรงเจดีย์ และทรงลูกเล็กแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ทรงเดาะจุก แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม และทรงหลายจุกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม(ภาพที่ 7-11) ซึ่ง สับปะรดทั้ง 5 รูปทรงที่มาจากสถานที่เดียวกันกันมีพันธุกรรมที่เฉพาะของแต่ละสถานที่สามารถแบ่งกลุ่มกันได้อย่างชัดเจน

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย ความหลากหลายที่เกิดขึ้นนั้น ยังไม่สามารถสรุปแน่ชัดได้ แต่อาจเกิดจากสาเหตุดังนี้ 1.)เกิดการกลายพันธุ์ เกิดการหลากหลายของฟีโนไทป์ เกิดจากการเปลี่ยนรูปร่างลักษณะและนิสัยของพืช เมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน ทำให้พบรูปร่างของสับปะรดหลายรูปทรงในแต่ละสถานที่ปลูก 2.)เกิดจากการเสื่อมถอยทางพันธุกรรมของสับปะรด เกิดการผสมข้ามพันธุ์หรือการผสมพันธุ์ระหว่างสายพันธุ์ที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรม ส่งผลให้ยีนด้อยที่มีผลทางลบแสดงออกได้ ก่อให้เกิดการเสื่อมถอยของลักษณะต่างๆ ขึ้น เป็นสาเหตุทำให้ลักษณะคุณภาพที่ไม่ดีแสดงออกมา 3.)การขยายพันธุ์สับปะรดปัตตาเวียจากต้นแม่พันธุ์เมื่อนำไปขยายพันธุ์โดยการใช้หน่อหรือตะเกียง ทำให้ต้นสับปะรดใหม่ได้รับพันธุกรรมจากต้นแม่ไปด้วย ทำให้เกิดพันธุกรรมที่วนเวียน และลักษณะนี้สามารถถ่ายทอดไปสู่รุ่นลูกหลานได้ 4.)การทำเกษตรกรรมของแต่ละพื้นที่ต่างกัน การได้รับอุณหภูมิที่สูงหรือสารเคมี สารบังคับการออกดอก ทำให้เกิดการแบ่งตัวอย่างรวดเร็วของเซลล์ของต้นหรือช่อดอกในระยะการเจริญเติบโตมีผลทำให้ผลบิดเบี้ยวจนเสียรูปหรือมีรูปร่างเปลี่ยนไป หรือบางครั้งการได้รับน้ำและปุ๋ยอย่างกะทันหันในช่วงพร้อมที่จะออกดอกภายหลังจากผ่านช่วงแล้งมานานก็ทำให้เกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมของสับปะรดได้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาดังกล่าวพบว่า สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียที่ปลูกที่ อ.กุยบุรี จ.ประจวบคีรีขันธ์ ซึ่งมีระยะเวลาการปลูกมาเป็นเวลานาน เกิดความหลากหลายทางพันธุกรรม มีรูปร่างแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัดเจน แม้ว่าจะปลูกในพื้นที่เดียวกัน และที่สำคัญจะเห็นได้ว่าแต่ละรูปทรงจะมีพันธุกรรมที่เหมือนกัน หรือคล้ายคลึงกัน เมื่อปลูกในสถานที่เดียวกัน และจะแตกต่างกันในสถานที่ต่างกัน ดังนั้น จึงควรให้ความสนใจในการปรับปรุงพันธุ์ โดยคัดเลือกพันธุ์ปัตตาเวียที่มีรูปทรงและรสชาติที่ต้องการ นำมาขยายพันธุ์ด้วยวิธีปกติหรือถ้าต้องการจำนวนมากควรใช้วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และเผยแพร่ต่อไป เพื่อให้ได้พันธุ์ที่มีพันธุกรรมที่ถูกต้องกับพันธุ์ปัตตาเวีย ที่มีรูปทรงกระบอกตามที่ต้องการ และกำจัดพันธุ์ที่มีรูปทรงอื่นที่ไม่ต้องการทิ้งไป การพัฒนาพันธุ์ดังกล่าวนี้ จะสามารถผลิตสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียที่มีคุณภาพ มาตรฐานที่ดี เหมาะสมกับการผลิตสับปะรดเพื่ออุตสาหกรรมสับปะรดกระป๋อง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กฤษณา โกวิทวณิช. 2546. **การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชอาหารสัตว์บางชนิดและตรวจสอบพันธุ์กลายที่เกิดจากการเหนี่ยวนำด้วยรังสีโดยรังสีโดยเทคนิค AFLP**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

คมสัน อ่อนช้อย. 2550**. การศึกษาความหลากหลายของปาล์มน้ำมันโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล Simple Sequence Repeat (SSR)**. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จารุพันธุ์ ทองแถม, ม.ล. 2526. **สับปะรดและอุตสาหกรรมสับปะรดในประเทศไทย**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

จินดารัฐ วีระวุฒิ. 2541. **สับปะรดและสรีรวิทยาการเจริญเติบโตของสับปะรด.** ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ชเนษฎ์ ม้าลำพอง. 2553. **การปรับปรุงพันธุ์พืชผสมข้าม**. แหล่งที่มา: www.agri.kps.ku.ac.th, 3 ตุลาคม 2556.

ชูศักดิ์ จอมพุก. 2541. สับปะรด, น. 187-190. *ใน* **พฤกษศาสตร์พืชเศรษฐกิจ.** ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ทิพวัลย์ อยู่ชา, ฉัฐพร คุ้นวงศ์ และจุลภาค คุ้นวงศ์. 2549. **การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์การค้าโดยใช้เครื่องหมายชนิดไมโครแซทเทลไลท์**. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร ปีที่37. (2): 163-174. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

นฤมล เข็มกลัดเงิน, โชคชัย เอกทัศนาวรรณ และวิภา หงส์ตระกูล. 2547. **การพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอเพื่อการตรวจสอบการปลอมปนของเมล็ดข้าวโพดลูกผสม**. โครงงานอุตสาหกรรมสำหรับปริญญาตรี. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

บุษราคัม ป้อมทอง. 2545. **การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของหญ้าแฝกในประเทศไทยในระดับโมเลกุล**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปัณฑารีย์ แต้ประยูร. 2549. **การใช้เครื่องหมายโมเลกุลSimple Sequence Repeat (SSR) ในการจัดกลุ่มปาล์มน้ำมัน**. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปรีชา ประเทพา. 2543. **พันธุศาสตร์ยุคใหม่: เทคโนโลยีดีเอ็นเอเพื่อการอนุรักษ์ทรัพยากรพันธุกรรม**. พิมพ์ครั้งที่1. อภิชาตการพิมพ์, มหาสารคาม.

พัชรินทร์ ตัญญะ, พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์, ธีรยุทธ ตู้จินดา และอภิชาติ วรรณวิจิตร. 2544. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของถั่วเหลืองพันธุ์ไทยและเกาหลีโดยเทคนิค Simple Sequence Repeat (SSR), น. 100-104. *ใน* **รายงานการประชุมวิชาการพันธุศาสตร์ครั้งที่ 12 เรื่องพันธุศาสตร์ยุคต์ยีน**. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

วิชัย บุญแสง, อัญชลี ทัศนาขจร, ชัยณรงค์ วงศ์ธีรทรัพย์, นุสรา สิทธิดิลกรัตน์ และสกล พันธุ์ยิ้ม. 2541. **ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ: จากสารพันธุกรรมสู่เทคโนโลยีพิสูจน์บุคคล**. สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. กรุงเทพ. 86หน้า.

วิเชียร กีรตินิจกาล. 2549. **การใช้เทคนิคไมโครแซทเทลไลท์ในการถอดรหัสขมิ้นชันเพื่อหาสารเคอร์คูมิน**. โครงการวิจัยเพื่อจัดจำแนกสายพันธุ์ขมิ้นชัน. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ

วิสุทธิ์ ใบไม้, พงศ์พันธ์ กองทอง, พวงเพ็ญ ศิริรักษ์, พเยาว์ บุญประกอบ, พานี เชี่ยววานิช, พุฒิพงศ์ วรวุฒิ, มาลียา เครือตราชู, วัชโรบล ชีวคุปต์, ศรีสุมนต์ สีตะธนี, สมศักดิ์ กลิ่นสุข, สุมณฑา พรหมบุญ, สุรนันต์ สุภัทรพันธุ์ และอรรถ บุญนิธิ. 2530. **ชีววิทยา**. โครงการปรับปรุงหลักสูตรวิทยาศาสตร์ระดับมหาวิทยาลัย, ทบวงมหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. 819 น.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ศานนท์ สุขสถาน. 2552. **การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของสบู่ดำโดยใช้เทคนิคโมเลกุล Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)**. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สกุลศักดิ์ โอฬารสกุล. 2556. **ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับการขยายพันธุ์พืชแบบไม่อาศัยเพศ**. แหล่งที่มา: www.aggiefac.lpru.ac.th, 3 ตุลาคม 2556.

สุพัตรา คงสมมาตย์. 2549. **การใช้เทคนิคRAPD และAFLP ในการจัดจำแนกสายพันธุ์มันสำปะหลัง**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมิต บุญเสริมสุข และประวิทย์ จิตต์จำนงค์. 2532. **การศึกษา isozyme กับพรรณไม้ป่า**. เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการ. เสนอในที่ประชุมฝ่ายวนวัฒวิจัยกองบำรุงกรมป่าไม้, กรุงเทพฯ. 5น.

สยาม ภพลือชัย, สมฤดี อ้นโต และประภัสสร ดำรงกุล อึ้งวณิชยพันธ์. 2550. **ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสับปะรดพันธุ์ปลูกในประเทศไทย โดยวิธีอาร์เอพีดี**. ว. สงขลานครินทร์ วทท. 29(6): 1491-1497.

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2540. **การถ่ายฝากยีนไคโมทริปซินอินฮิบิเตอร์สู่ข้าวโดยการใช้เครื่องยิงอนุภาค**. สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 16 น.

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2545. **จีโนมและเครื่องหมายดีเอ็นเอปฏิบัติการอาร์เอพีดีและเอเอฟแอลพี**. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุรินทร์ นิลสำราญจิต. 2554. **การขยายพันธุ์พืช**. แหล่งที่มา: web.agri.cmu.ac.th, 3 ตุลาคม 2556.

สุรีพร เกตุงาม. 2546. เครื่องหมายดีเอ็นเอในงานปรับปรุงพันธุ์พืช. **วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี**. 5(2): 37-58.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2555. **สับปะรดและผลิตภัณฑ์สับปะรด**. แหล่งที่มา: www.dft.go.th, 25 พฤษภาคม 2555.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2554. **สถานการณ์สินค้าสับปะรดและผลิตภัณฑ์สับปะรด ไตรมาศ 4 ปี 2554**. แหล่งที่มา: www.dft.go.th, 25 พฤษภาคม 2555.

เสกศิริ เสือแก้ว. 2552. **การหาความหลากหลายทางพันธุกรรมของสบู่ดำสายพันธุ์อินเดียและไทยที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR)**. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อภิชาติ วรรณวิจิตร, สมวงษ์ ตระกูลรุ่ง และธีรยุทธ ตู้จินดา. 2544. เทคโนโลยีชีวภาพกับการปรับปรุงพันธุ์ข้าว. น. 79-121. *ใน* ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. **วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีกับข้าวไทย**. ปทุมธานี.

อมรรัตน์ มงคลพร. 2548. **เครื่องหมายโมเลกุลเพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืช**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.

อรุณ โสตถิกุล, สุธีกานต์ โสตถิกุล และเจนจิรา จาติ. 2547. **คุณภาพสับปะรดพันธุ์ภูเก็ตและลักษณะลูกผสมชั่วที่ 1ที่ปลูกในจังหวัดลำปาง**. สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล, ลำปาง.

Asante, I.K. and S.K. Offei. 2003. RAPD-based genetic diversity study of fifty cassava (*Manihot esculenta* Crantz) genotypes. **Euphytica**. 131: 113-119.

Bassiri, A. 1976. Barley cultivar identification by use of isozyme: electrophoretic pattern. **Can. J. Plant Sci**. 56: 1-6.

Billotte, N., A.M. Risterucci, E. Barcelos, J.L.Noyer, P. Amblard and F.C. Baurens. 2001. Development, characterization and across-taxa utility of oil palm (*Elaies quineensis* Jacq.) microsatellite markers. **Genome**. 44: 413-425.

Brewbaker, J.L., and Gorrez, D.D. 1967. Genetics of self-incompatibility in the monocot genera, *Ananas* (pineapple) and *Gasteria*. **American Journal of Botany,** 54: 611-616.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Brown, S.M., A. K. Szewc-McFadden and S. Kresovish. 1996. Development and application of simple sequence repeat (SSR) loci for plant genome analysis. *In* **Methods of plant genome analysis: Their merits and pitfalls**. Jauhar, P.P. (ed.). CRS Press, Boca raton, FL. U.S.A.

Cabot, C. 1989. Breeding pineapple. **Agritrop**. 14(1): 28.

Carvalho, L. J., A. M. Thro and A. D. Vilarinhos. 2000a. Mophological descriptors and random amplified polymorphic DNA (RAPD) marker used to assess the genetic diversity of cassava (*Manihot esculenta* Crantz), pp. 51-64. *In* **Cassava Biotechnology**. Embrapa, Brazil. 626 p.

Carvalho, L. J., A. M. Thro and A. D. Vilarinhos. 2000b. Genetic diversity of cassava (*Manihot Esculenta* Crantz) in a germplasm collection assessed by RAPD assay, pp. 80-92. *In* **Cassava Biotechnology**. Embrapa, Brazil. 626 p.

Collins, J.L. 1960. The Pineapple Botany, **Cultivation and Utilization**. 19: 773-778.

Costa, P., D. Pot, C. Dubos, J.M. Frigerio, C. Pionneau, C. Bodenes, E. Bertocchi, M.T. Cervera, D.L. Remington and C. Plomion. 2002. A genetic map of maritime pine based on AFLP, RAPD and protein markers. **Theor. Appl. Genet**. 100: 39-48.

Cregan, P.B. and C.V. Quigley. 1997. Simple sequence repeat DNA marker analysis. pp. 173-185. InG. Caetono-Anolles and P.M. Gresshaf, eds. **DNA markers: Protocols, Applications and Overviews**. Wiley-Liss, Inc., New York.

Ellsworth , D.L., K.D. Rittenhouse and R.L. Honeycutt. 1993. Artifactual variation in randomly amplified polymorphic DNA banding patterns. **Biotechnique**. 14: 214-217.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Foote, M. V. 1956. The root system of the pineapple. **Queensland Fruit and Vegetable News**, 5: 444-445.

James, N., Wen-Chy Chu, R. Walter and B.C.R. Perry. 2000. Development of multiplex sets of simple sequence repeat DNA markers covering the soybean genome. **Molecular breeding**. 6: 175-183.

Karp, A. and K.T. Edwards. 1997. DNA marker: a global overview. pp. 1-13. InG. Caerano-Anolles and P.M. Gresshoff, eds. **DNA Marker Protocols: Applications And Overviews**. Wiley-Liss Inc., New York.

Koller, B., A. Lehmann, J. M. McDermott and C. Gessler. 1992. Identification of apple cultivars using RAPD marker. **Theor. Appl. Genet**. 85: 901-904.

Krauss, B. H. 1949. Anatomy of the vegetative organs of the pineapple, *Ananas comosus* (L.) Merr. (Concluded). The root and cork. **The Botanical Gazette,** 110**:** 550-587.

Leal, F.J. and J. Soule. 1977. 'Maipure' a new spineless group of pineapple cultivars. **HortSci**. 12(4): 301-305.

Li, W., D.F. Zhang, Y.M. Wei, Z.H. Yan andY.L. Zheng. 2006. Genetic diversity of *Triticum turgidum* L. based on microsatellite markers. **Russian J. of Gene**. 42(3): 311–316.

March, W.M. and J.M.Jr. Grossa. 1996. Environmental geography science land use and earth system. **John wiley and Sons, lnc**., Canada.

Maureen Bonna C. lnes. 2002. Genetic characterization of pineapple germplasm using randomly amplified polymorphic DNA. **Philippine Journal of Crop Science**. p. 71.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Maureen Bonna C. lnes, Pablito M. Magdalita, Celia D. Dela Vina, Felipe S. Dela Cruz Jr and Violeta N. Villegas. 2009. Randomly Amplified polymorphic DNA (RAPD) Analysis to Reveal Genetic Relationships Among Pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr.) Genotypes. **Philippine Journal of Crop Science (PJCS)**. 34(3): 1-10.

McCouch, S., and Tankslay, S.D. 1991. Development and use of restriction fragment length polymorphisms in rice breeding and genetic. *In*. **Rice biotechnology**. Khush, G.S. and Toenniessen, G.H. (eds.) CAB International. Wallingford. Oxon, UK. pp. 109- 133.

M.D.M. Santos, G.C.S. Buso and A.C. Torres. 2008. Evaluation of genetic variability in micropropagated propagules of ornamental pineapple [*Ananas comosus* var.*bracteatus* (Lindley) Coppens and Leal] using RAPD markers. **Genetics and Molecular Research**. 7(4): 1097-1105.

M. J. KINSUAT and S . V . KUMAR. 2007. Polymorphic microsatellite and cryptic simple repeat sequence markers in pineapples (*Ananas comosus* var. *comosus*). **Molecular Ecology Notes**. 1032–1035.

Morgante, M. and A.M. Olivieri. 1993. PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. **Plant J**. 3: 175-182.

Nakasone, H.Y. and R.E. Paull. 1998. Tropical fruits. **CAB Intl, Wallingford, U.K**., 445 pp.

Nassar, N.M.A., M.A. Vieira, C. Vieira and D. Grattapaglia. 1998. A molecular and embryonic study of apomixes in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Euphytica**. 102(1): 9-13.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Nei, M. and W.H.Li. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**. 76: 5269-5273.

Nguyen thi Lang, Pham thi Be Tu and Bui Chi Buu. 2003. Genetic evidence for the origin of cayenne pineapple. **Omonrice**. 11: 143-147.

Paterson, A.H. 1996. Genome mapping in plants. **Academic Press, Inc**., San Diego, California, U.S.A.

Paulo M. Ruas, Claudete F. Ruas, Daniel J. Fairbanks, William Ralph Anderson and Jose Renato S. Cabral. 1995. Genetic relationship among four varieties of pineapple, *Ananas comosus*, revealed by random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. **Brazilian Journal of Genetics**. 18(3): 413-416.

Powell, W., C. Machray and J. Provan. 1996. Polymorphism revealed by simple sequence repeats. **Trends in Plant Sci**. 1: 215-222.

Py, C., J.J. Lacoeuilhe and C. Teisson. 1987. The Pineapple Cultivation and Use. **G.P. Maisonneuve & Larose**. France.

Remeau, C., D. Denoue, F. Fraval, K. Haurogne, J. Josserand, V. Laucou, S. Batge and I.C. Murfet. 1998. Genetic mapping in pea. 2. Identification of RAPD and SCAR markers linked to genes affecting plant architecture. **Theor. Appl. Genet**. 97: 916-928.

Rohlf, F.J. 2000. NTYSYS-pc: numerical taxonomy and multivariate system, version 2.1**.** **Exeyer Publications**, New York.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Saiki, R. K., S. Scarf, F. Faloona, K. B. Mullks, G. T. Horn, H. A. Erlich and N. Amheim. 1985. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequence and restriction site analysis for diagnosis of sickle-cell anemia. **Sceince**. 230: 1350-1354.

Smith, N.J.H, J.T. Williams, D.L. Plucknett and J.P. Talbot. 1992. Tropical Forests and Their Crops. **Cornell University London.** 568 p.

Sneath, P.M. and P.R. Sokal. 1973. Numerical taxonomy: the principles and practice of numerical classification. **W.H. Freeman**, San Francisco.

Stegemann, H. 1984. Retrospect on 25 years of cultivar identification by protein patterns and prospects for the future. **Seed Sci. Tcehno**. 15: 20-31.

S. Sripaoraya, N. W. Blackhall, R. Marchant, J. B. Power, K. C. Lowe and M. R. Davey. 2001. Relationship in pineapple by random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. **Plant Breeding**. 120: 265-267.

Tinker, N. A., M. G. Fortin and D. E. Mather. 1993. Random amplified polymorphic DNA and pedigree relationships in spring barley. **Theor. Appol. Genet**. 67: 25-33.

TONG He-lin, FENG Su-ping, CHEN You, CHEN Ye-yuan, SUN Guang-ming, WU Yao-ting. 2010. Development of molecular markers from genomic-SSR of Pineapple (*Ananas comosus*). **Journal of Fruit Science**.

Vanijajiva, O. 2012. Assessment of genetic diversity and relationship in pineapple cultivars from Thailand using ISSR marker. **Journal of Agricultural Technology**. 8(5): 1829-1838.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Williams, J. G. K., A. E. Kubelik, K. J. Levak, J. A. Rafalski and S. C. Tingey. 1990. DNA polymorphism amplified by arbitary primer are useful as genetic marker. **Nucl. Acids Res**. 18: 6531-6535.

Winter, P. and Kahl, G. 1995. Molecular marker technologies for plant improvement. World J. Microbiol. **Biotechnol**. 11: 438-448

Wong, H. L., H. H. Yeoh, S. H. Lim and K. L. Looi. 1997. Design of primers for RAPD analyses of cassava (*Manihot esculenta*). **Phytochemistry**. 46: 805-810.

Yamamoto, T., A. Nishikawa and K. Oeda. 1994. DNA polymorphisms in *Oryza sativa* L. and *Lactuca sativa* L. amplified by arbitrary primed PCR**. Euphytica**. 78: 143-148.

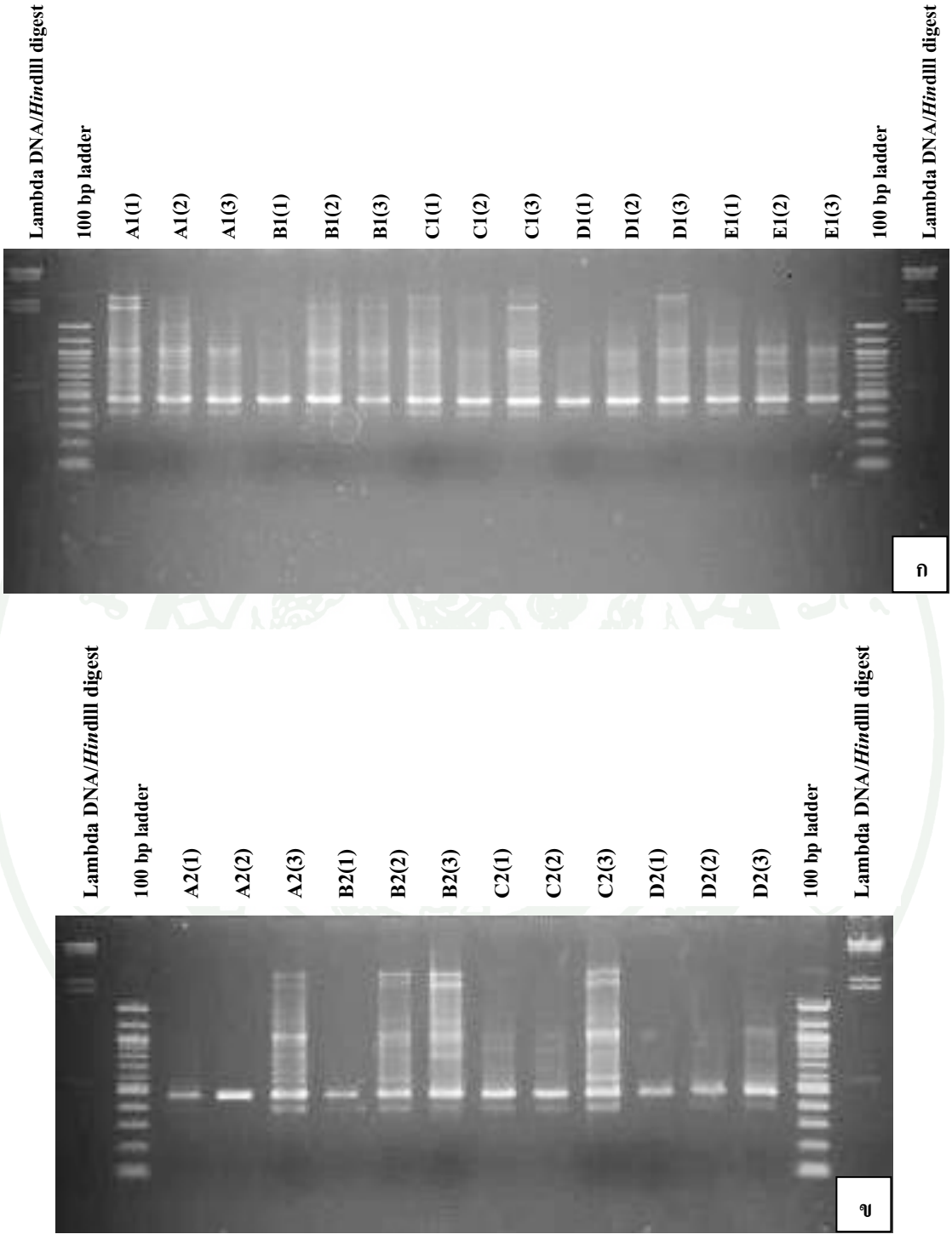
Yu, L. X. and H. T. Nquyen. 1994. Genetic variation detected with RAPD markers among upland and low land rice (*Oryza sativa* L.). **Theor. Appl. Genet**. 87: 668-672.

Zehdi S., M. Trifi, N. Billotte, M. Marrakchi and J.C. Pintaud. 2004. Genetic diversity of Tunisian date palms *(Phoenix dactylifera* L.) revealed by nuclear microsatellite polymorphism. **Hereditas.** 141: 278-287.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

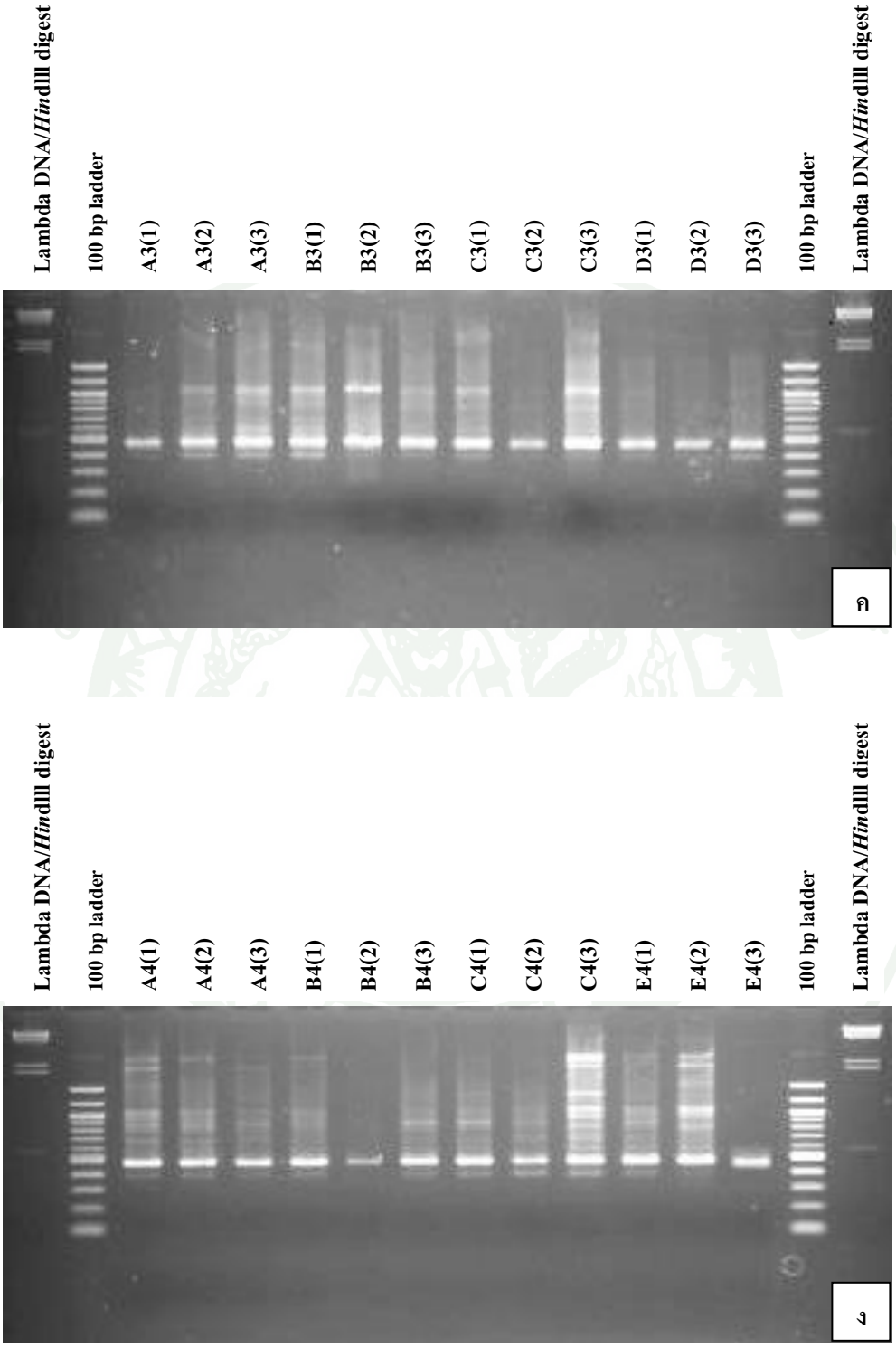
ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



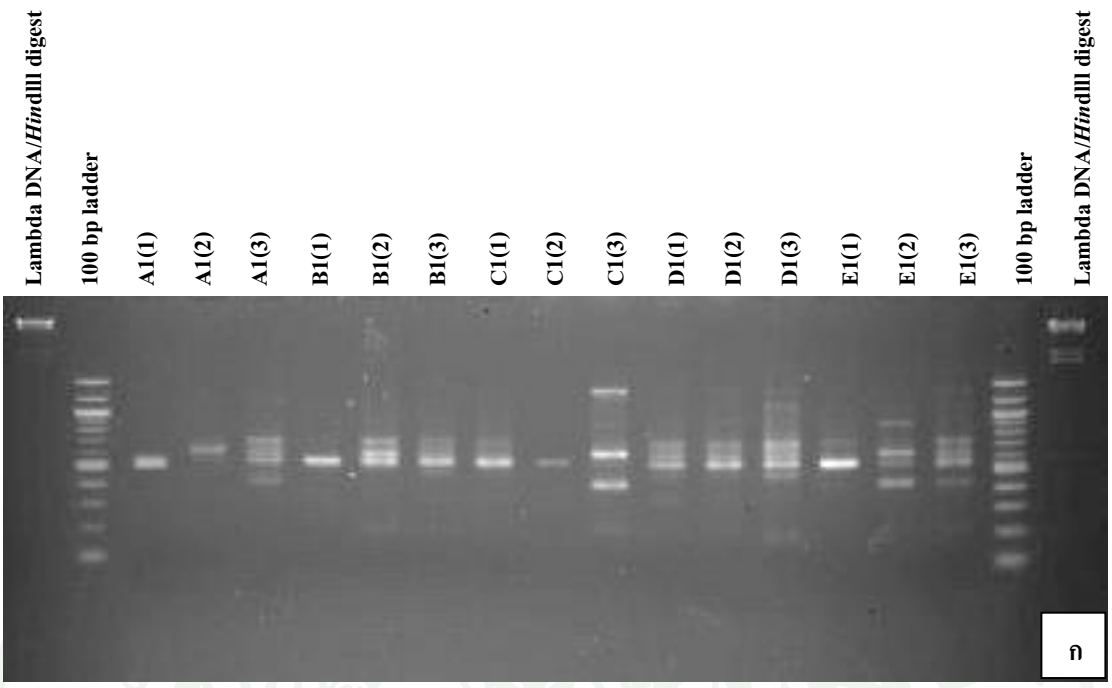
ภาพผนวกที่ 1 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยไพรเมอร์ universal primer 3 โดยใช้เทคนิค RAPD **ก** แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.หัวหิน **ข** แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.สามร้อยยอด **ค** แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.บางสะพาน และ **ง** แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.นิคม

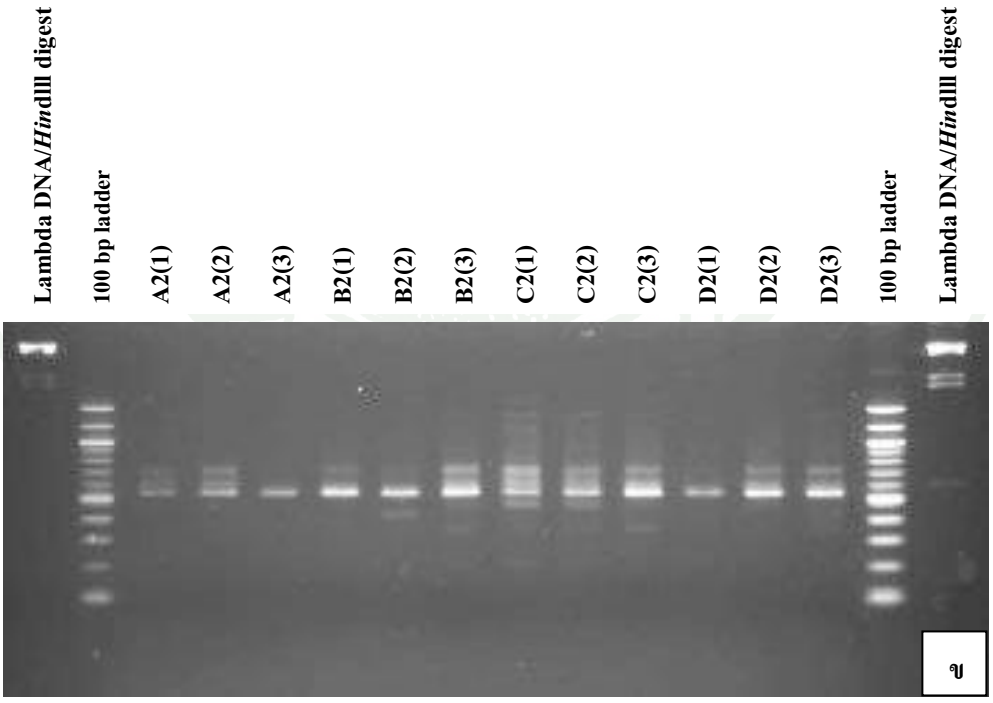
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพผนวกที่ 1 (ต่อ)

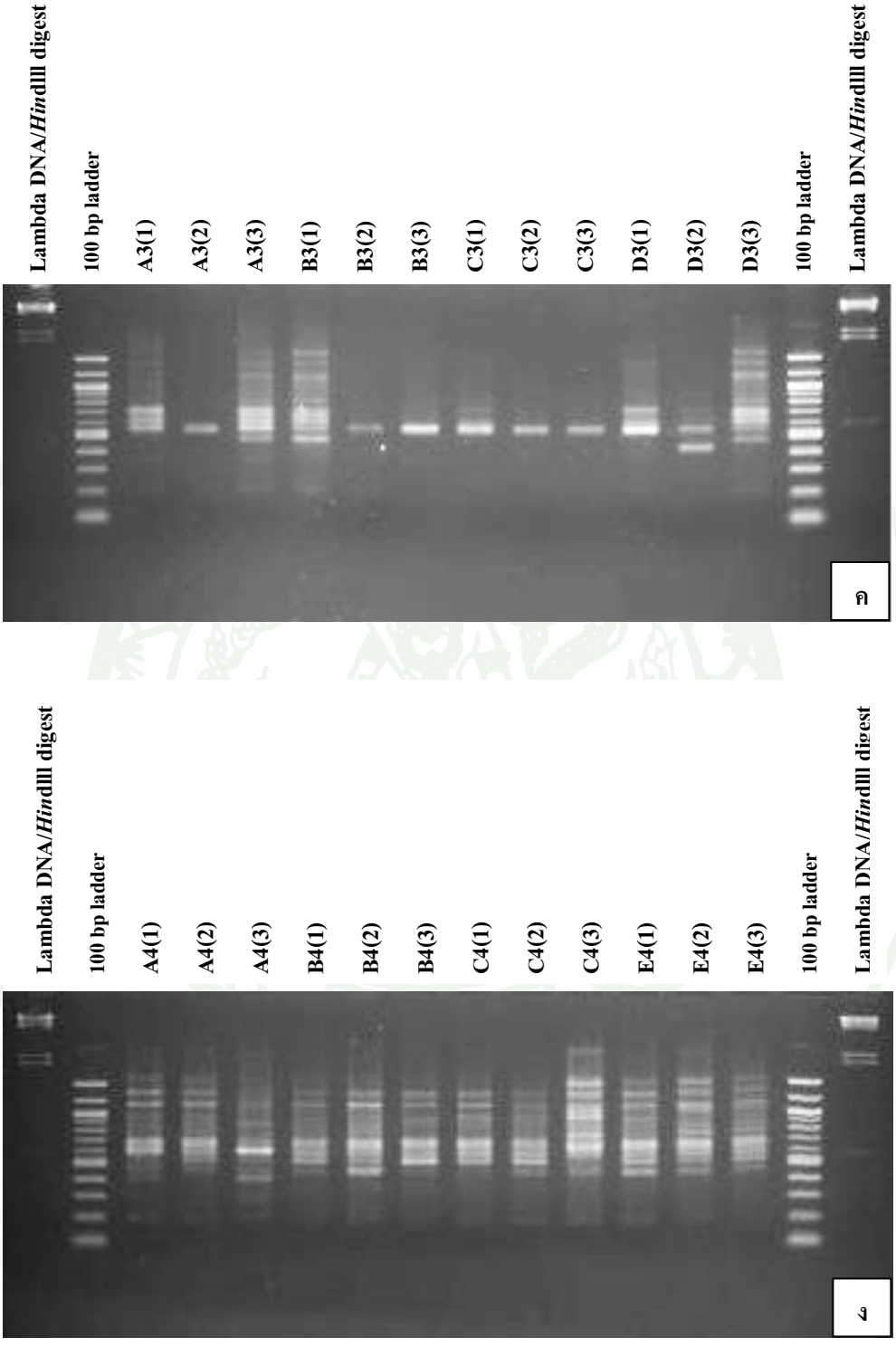
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์





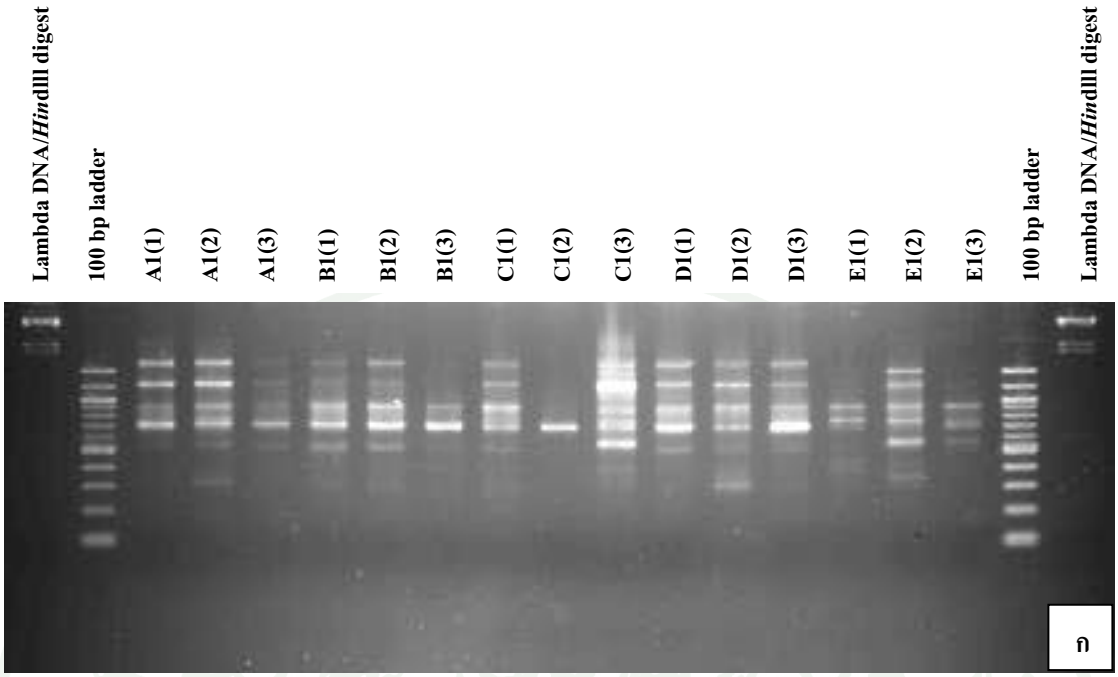
ภาพผนวกที่ 2 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยไพรเมอร์ OPA-02 โดยใช้เทคนิค RAPD **ก** แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.หัวหิน **ข** แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.สามร้อยยอด **ค** แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.บางสะพาน และ **ง** แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.นิคม

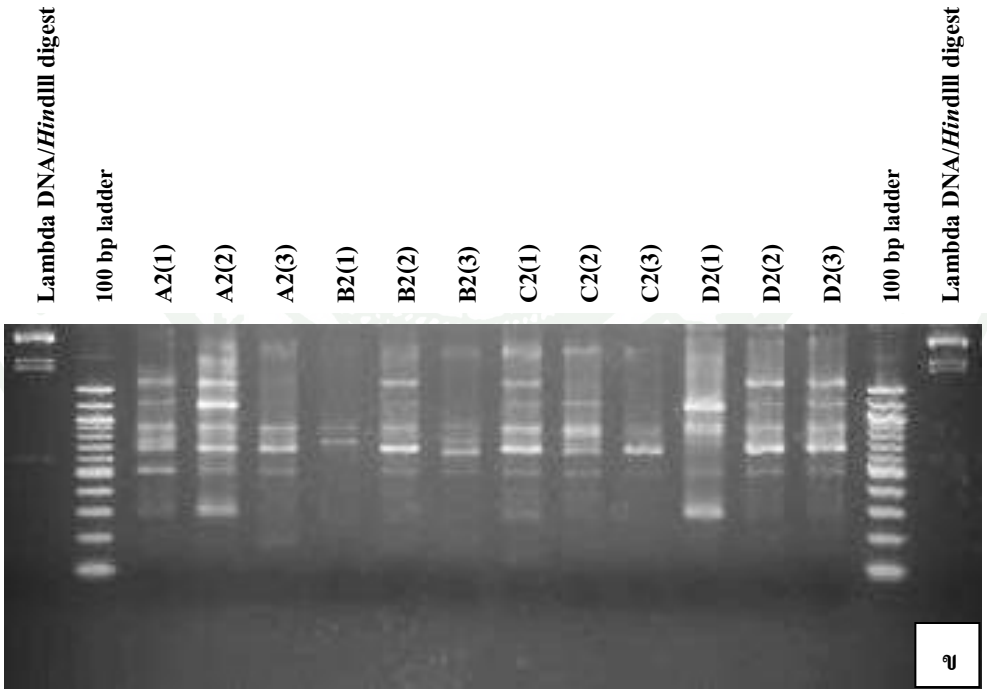
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพผนวกที่ 2 (ต่อ)

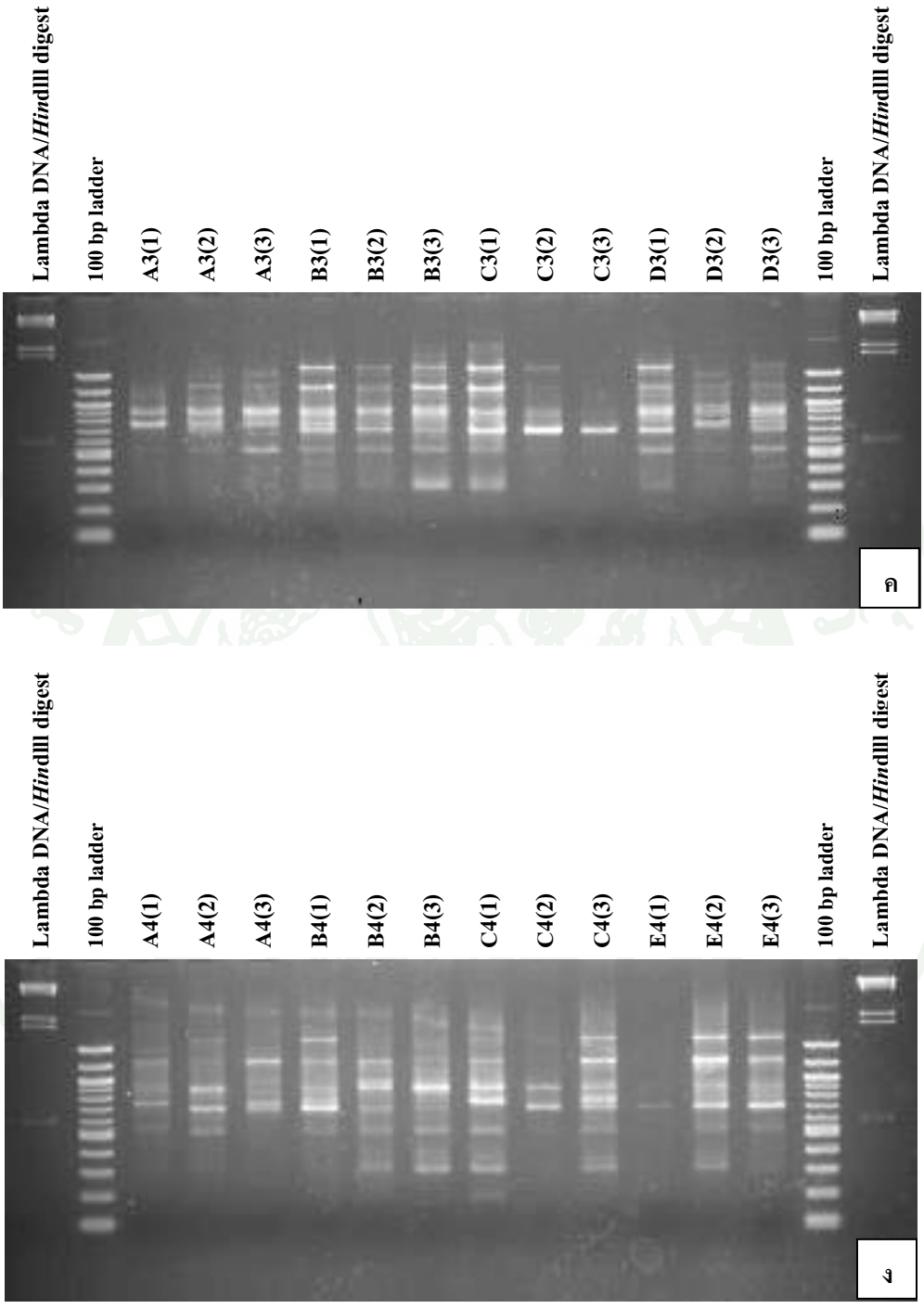
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์





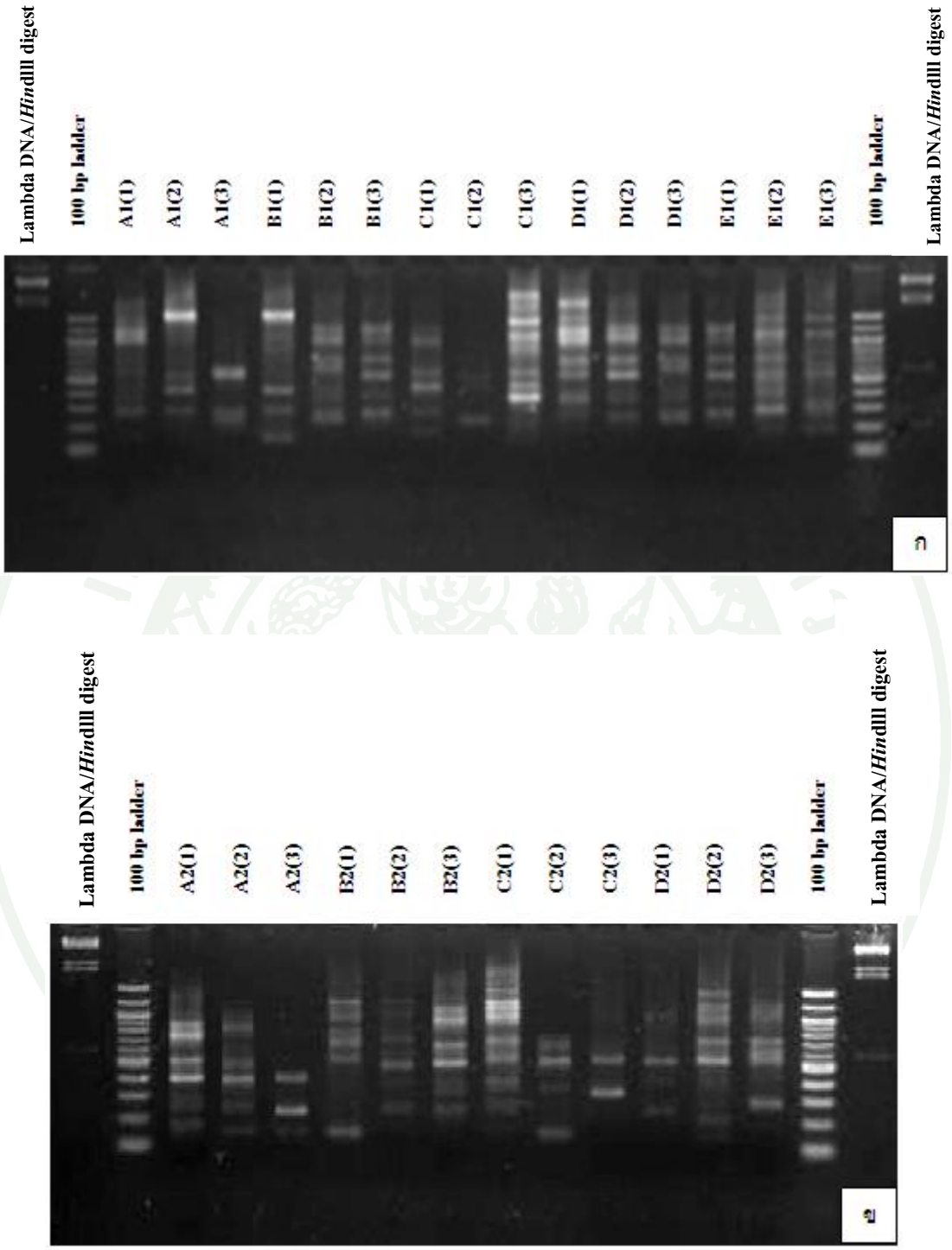
ภาพผนวกที่ 3 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยไพรเมอร์ OPA-04 โดยใช้เทคนิค RAPD **ก** แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.หัวหิน **ข** แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.สามร้อยยอด **ค** แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.บางสะพาน และ **ง** แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.นิคม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



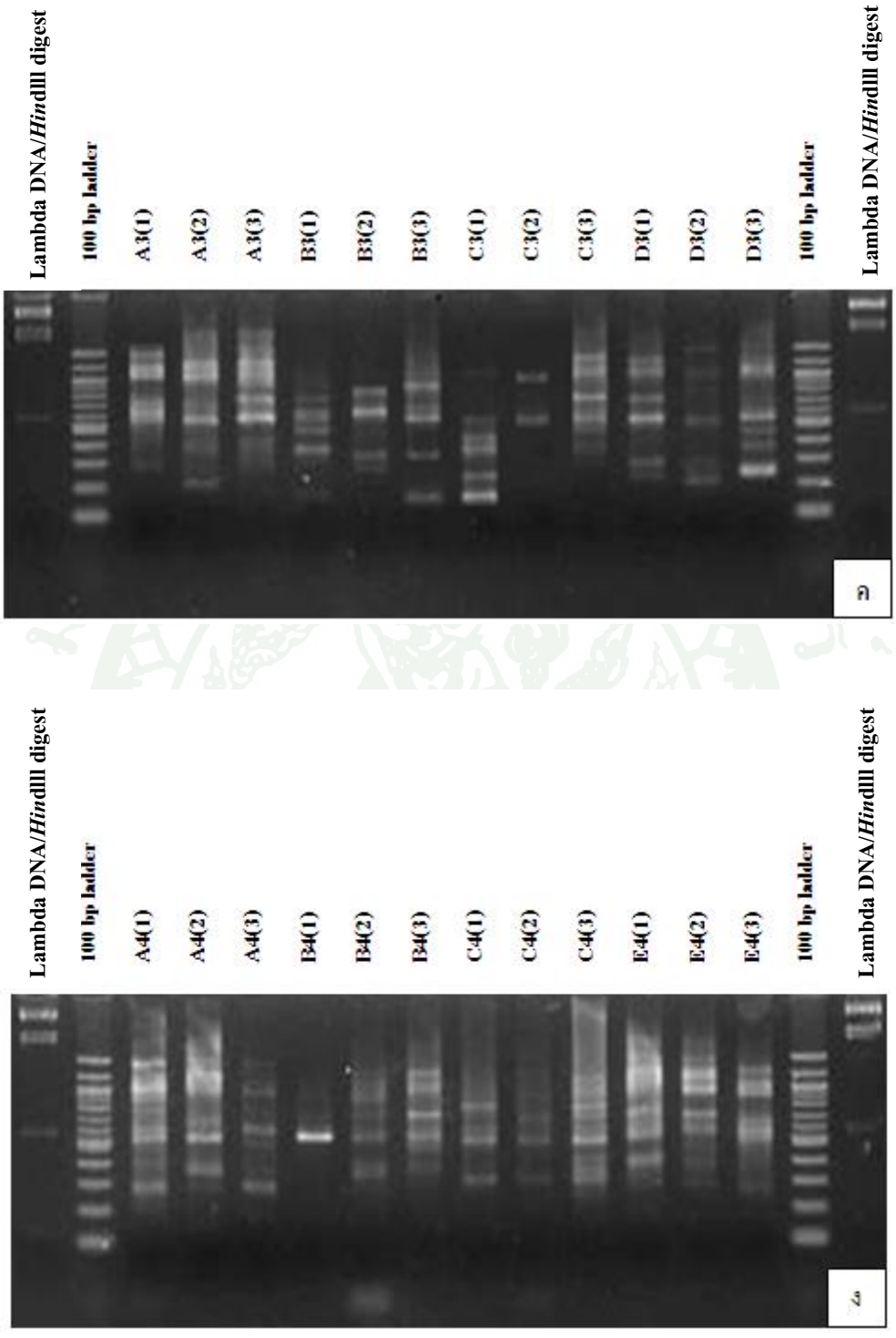
ภาพผนวกที่ 3 (ต่อ)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



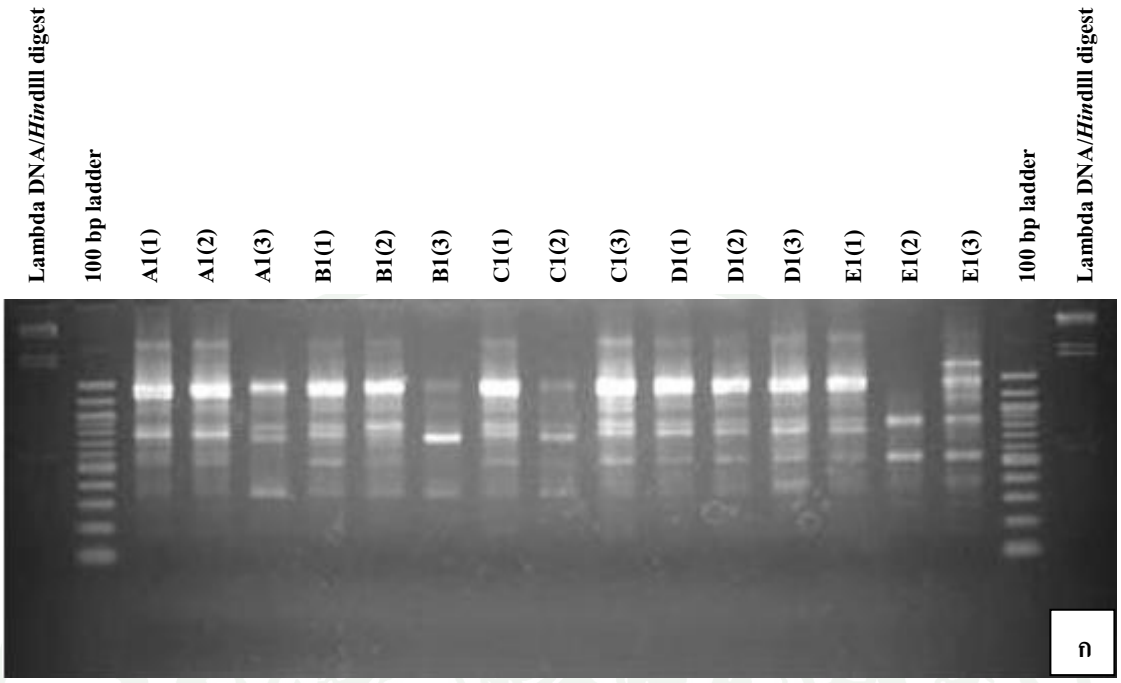
ภาพผนวกที่ 4 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยไพรเมอร์ OPA-08 โดยใช้เทคนิค RAPD **ก** แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.หัวหิน **ข** แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.สามร้อยยอด **ค** แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.บางสะพาน และ **ง** แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.นิคม

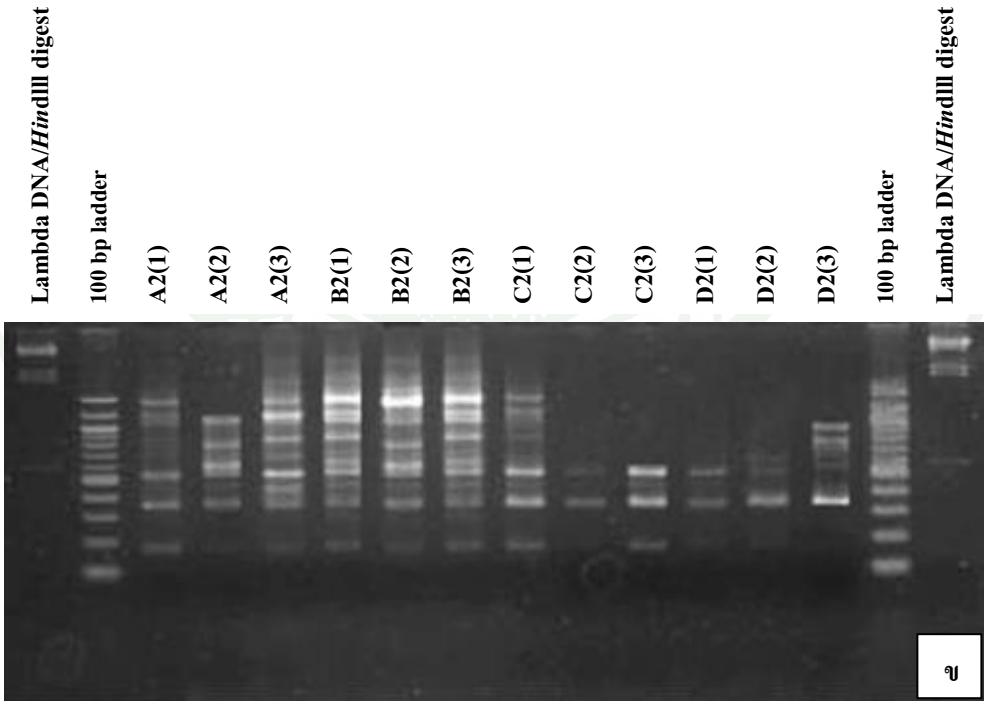
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพผนวกที่ 4 (ต่อ)

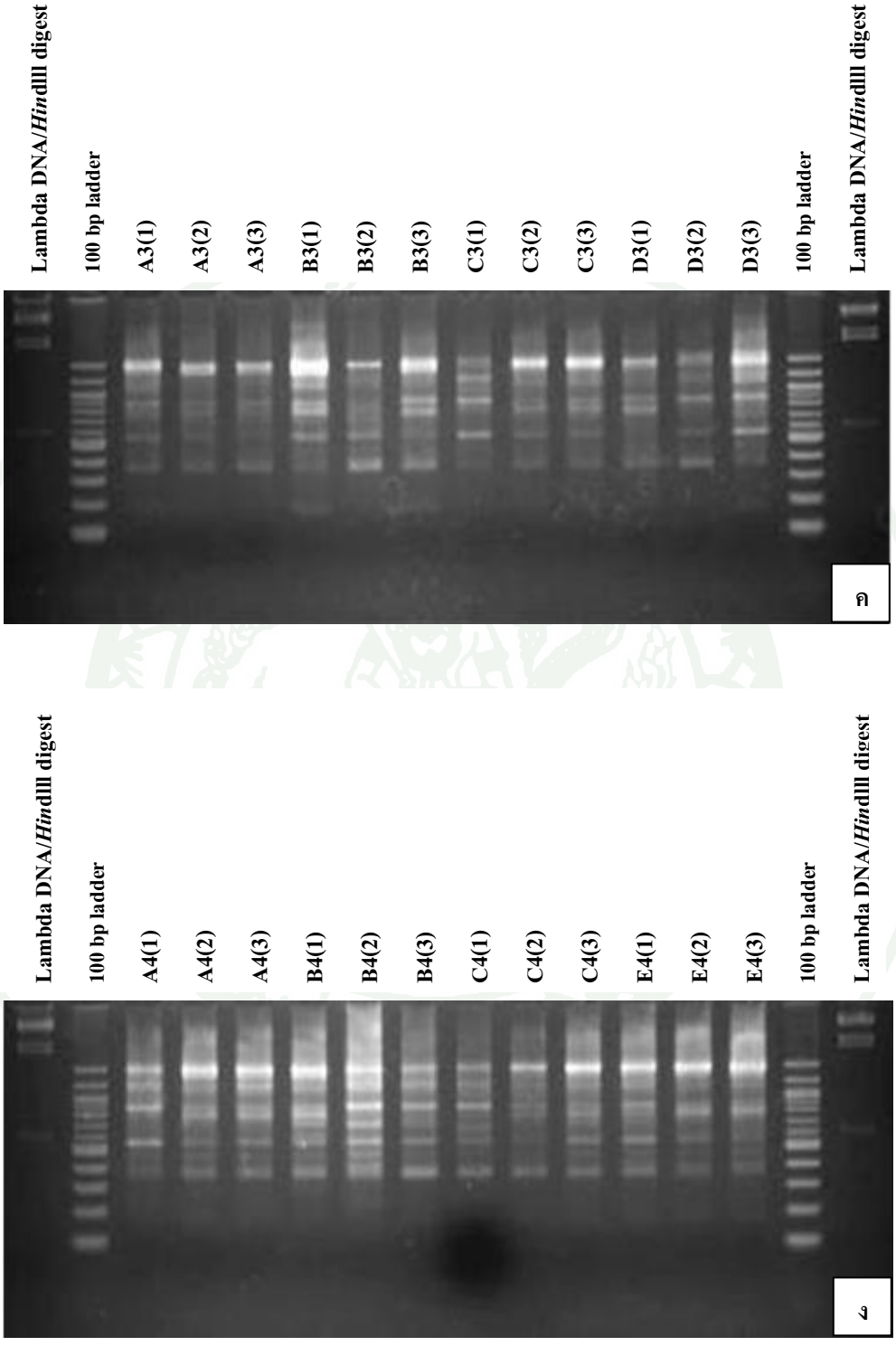
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์





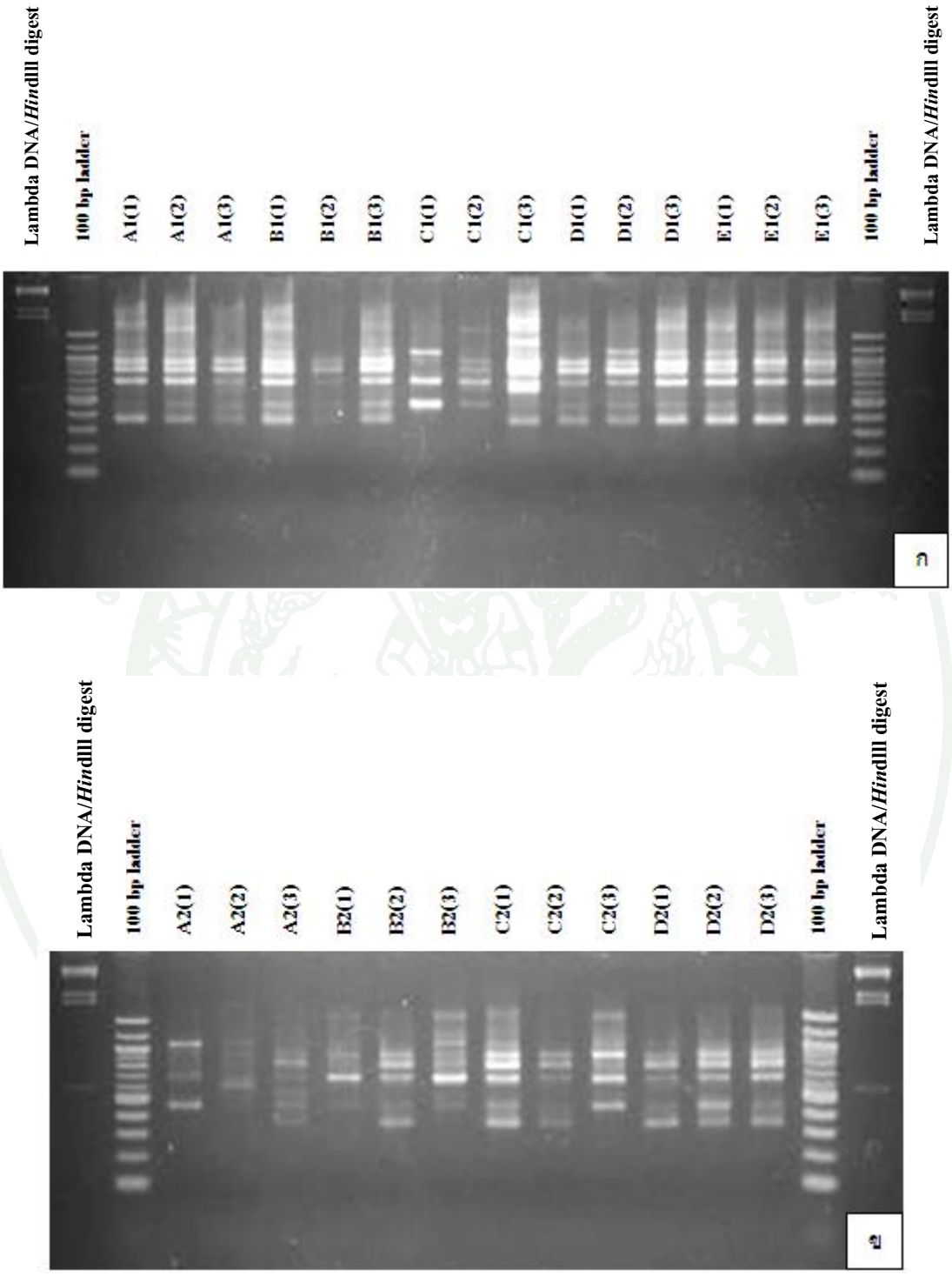
ภาพผนวกที่ 5 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยไพรเมอร์ OPA-10 โดยใช้เทคนิค RAPD **ก** แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.หัวหิน **ข** แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.สามร้อยยอด **ค** แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.บางสะพาน และ **ง** แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.นิคม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



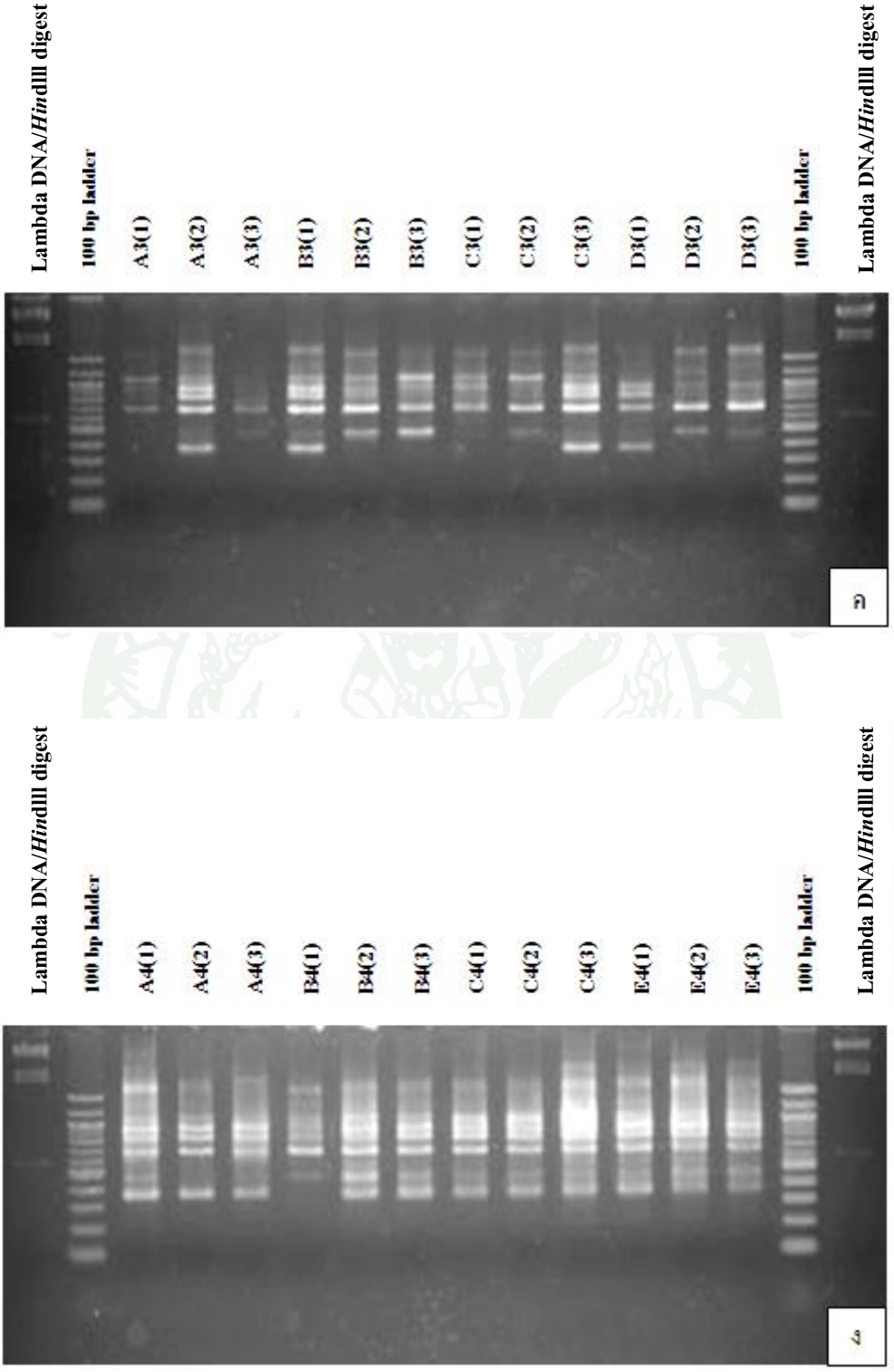
ภาพผนวกที่ 5 (ต่อ)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพผนวกที่ 6 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยไพรเมอร์ OPA-18 โดยใช้เทคนิค RAPD **ก** แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.หัวหิน **ข** แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.สามร้อยยอด **ค** แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.บางสะพาน และ **ง** แถบดีเอ็นเอที่ได้จาก อ.นิคม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพผนวกที่ 6 (ต่อ)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 1 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ universal primer 3 กับตัวอย่างสับปะรด อ.หัวหิน

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ universal primer 3							
	1	2	3	4	5	6	7	8
A1(1)	1	1	1	1	1	1	1	1
A1(2)	0	0	1	1	0	0	1	1
A1(3)	0	0	1	0	0	1	1	1
B1(1)	0	0	0	0	0	0	1	1
B1(2)	0	1	1	1	0	0	1	1
B1(3)	0	1	1	1	0	0	1	1
C1(1)	1	1	1	1	0	1	1	1
C1(2)	0	0	1	0	0	0	1	1
C1(3)	1	1	1	1	1	1	1	1
D1(1)	0	0	0	0	0	0	1	1
D1(2)	0	0	1	1	0	0	1	1
D1(3)	1	0	1	1	0	0	1	1
E1(1)	0	0	1	1	1	1	1	1
E1(2)	0	0	1	1	1	1	1	1
E1(3)	0	0	1	1	1	1	1	1

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 2 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ universal primer 3 กับตัวอย่างสับปะรดจาก อ.สามร้อยยอด

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ universal primer 3							
	1	2	3	4	5	6	7	8
A2(1)	0	0	0	0	0	0	1	0
A2(2)	0	0	0	0	0	0	1	0
A2(3)	1	1	1	1	1	1	1	1
B2(1)	0	0	0	0	0	0	1	1
B2(2)	1	1	1	1	1	1	1	1
B2(3)	1	1	1	1	1	0	1	1
C2(1)	0	0	0	1	1	0	1	1
C2(2)	0	0	0	1	1	0	1	1
C2(3)	1	1	1	1	1	1	1	1
D2(1)	0	0	0	1	0	0	1	0
D2(2)	0	0	0	0	0	0	1	0
D2(3)	0	0	1	0	0	0	1	1

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 3 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ universal primer 3 กับตัวอย่างสับปะรดจาก อ.บางสะพาน

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ universal primer 3				
	1	2	3	4	5
A3(1)	0	0	0	1	1
A3(2)	1	0	1	1	1
A3(3)	1	1	1	1	1
B3(1)	1	1	1	1	1
B3(2)	1	0	1	1	1
B3(3)	1	0	0	1	1
C3(1)	1	1	1	1	1
C3(2)	0	0	0	1	1
C3(3)	1	1	1	1	1
D3(1)	0	0	0	1	1
D3(2)	0	0	0	1	1
D3(3)	0	0	0	1	1

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 4 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ universal primer 3 กับตัวอย่างสับปะรดจาก อ.นิคม

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ universal primer 3								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
A4(1)	1	1	1	0	1	1	0	1	1
A4(2)	1	0	1	0	1	1	0	1	1
A4(3)	0	1	0	0	1	1	0	1	1
B4(1)	1	0	0	0	1	0	0	1	1
B4(2)	0	0	0	0	0	0	0	1	0
B4(3)	0	0	0	0	1	0	0	1	1
C4(1)	0	0	0	0	1	0	0	1	1
C4(2)	0	0	1	0	1	1	0	1	1
C4(3)	1	1	0	1	1	1	1	1	1
E4(1)	1	1	0	1	1	1	1	1	1
E4(2)	1	1	1	1	1	0	1	1	1
E4(3)	0	0	0	0	0	0	1	1	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 5 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-02 กับตัวอย่างสับปะรด อ.หัวหิน

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-02							
	1	2	3	4	5	6	7	8
A1(1)	0	0	0	0	0	1	0	0
A1(2)	0	0	0	0	1	0	0	0
A1(3)	0	0	0	1	1	1	0	1
B1(1)	0	0	0	0	0	1	0	0
B1(2)	0	0	0	1	1	1	0	0
B1(3)	0	0	0	1	0	1	0	0
C1(1)	0	0	0	1	0	1	0	0
C1(2)	0	0	0	0	0	1	0	0
C1(3)	1	0	0	0	1	0	0	1
D1(1)	0	0	0	1	1	1	0	0
D1(2)	0	0	0	1	1	1	0	0
D1(3)	1	1	0	1	1	1	1	0
E1(1)	0	0	0	1	0	1	0	0
E1(2)	0	0	1	0	1	1	0	1
E1(3)	0	0	0	1	1	1	0	1

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 6 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-02 กับตัวอย่างสับปะรด อ.สามร้อยยอด

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-02				
	1	2	3	4	5
A2(1)	1	1	1	0	0
A2(2)	1	1	1	0	0
A2(3)	0	0	1	0	0
B2(1)	1	0	1	0	0
B2(2)	0	0	1	0	1
B2(3)	1	1	1	0	0
C2(1)	1	1	1	1	0
C2(2)	1	1	1	1	0
C2(3)	1	1	1	0	0
D2(1)	0	0	1	0	0
D2(2)	1	1	1	0	0
D2(3)	1	1	1	0	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 7 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-02 กับตัวอย่างสับปะรด อ.บางสะพาน

ดีเอ็นเอ สับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-02								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
A3(1)	0	1	0	0	1	1	1	0	0
A3(2)	0	0	0	0	0	0	1	0	0
A3(3)	0	1	1	1	1	1	1	1	0
B3(1)	1	1	1	1	1	1	1	1	0
B3(2)	0	0	0	0	0	0	1	0	0
B3(3)	0	0	0	0	0	0	1	0	0
C3(1)	0	0	0	0	0	0	1	0	0
C3(2)	0	0	0	0	0	0	1	0	0
C3(3)	0	0	0	0	0	0	1	0	0
D3(1)	0	1	0	0	1	0	1	0	0
D3(2)	0	0	0	0	0	0	1	0	1
D3(3)	1	1	1	1	1	1	1	1	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 8 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-02 กับตัวอย่างสับปะรด อ.นิคม

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-02										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
A4(1)	0	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0
A4(2)	0	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0
A4(3)	0	0	0	1	0	1	1	1	0	1	1
B4(1)	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	0
B4(2)	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	0
B4(3)	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1	0
C4(1)	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0
C4(2)	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	0
C4(3)	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0
E4(1)	0	1	1	1	1	0	1	0	1	1	0
E4(2)	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
E4(3)	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 9 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-04 กับตัวอย่างสับปะรด อ.หัวหิน

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-04								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
A1(1)	1	0	1	1	0	1	0	0	0
A1(2)	1	0	1	1	0	1	1	0	1
A1(3)	1	0	1	1	0	1	1	0	0
B1(1)	1	0	1	1	0	1	1	0	0
B1(2)	1	0	1	1	0	1	1	0	0
B1(3)	0	0	0	1	0	1	0	0	0
C1(1)	1	0	1	1	0	1	1	0	0
C1(2)	0	0	0	0	0	1	0	0	0
C1(3)	1	1	1	1	0	1	1	1	0
D1(1)	1	0	1	1	0	1	1	0	0
D1(2)	1	0	1	1	0	1	1	0	1
D1(3)	1	0	1	1	0	1	1	0	0
E1(1)	0	0	0	1	1	0	0	0	0
E1(2)	0	1	1	1	1	0	1	1	0
E1(3)	0	0	0	1	0	1	1	0	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 10 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-04 กับตัวอย่างสับปะรด ต.สามร้อยยอด

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-04								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
A2(1)	0	0	1	1	1	1	1	1	1
A2(2)	1	1	1	1	1	1	1	1	1
A2(3)	1	0	0	1	1	1	1	1	0
B2(1)	0	0	0	0	1	1	0	0	0
B2(2)	1	0	1	1	1	1	1	1	0
B2(3)	1	0	0	0	1	1	1	1	0
C2(1)	1	0	1	1	1	0	1	1	1
C2(2)	1	0	0	1	1	0	1	1	0
C2(3)	0	0	0	0	1	0	1	0	0
D2(1)	0	1	0	1	1	0	0	1	1
D2(2)	0	0	1	1	1	0	1	1	0
D2(3)	0	0	1	1	1	0	1	1	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 11 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-04 กับตัวอย่างสับปะรด อ.บางสะพาน

ดีเอ็นเอ สับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-04								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
A3(1)	0	0	0	0	1	1	0	0	0
A3(2)	0	0	1	1	1	1	0	0	0
A3(3)	0	0	1	1	1	0	0	1	0
B3(1)	1	0	1	1	1	0	1	1	0
B3(2)	1	1	1	1	1	0	1	1	0
B3(3)	1	1	1	1	1	0	1	1	1
C3(1)	1	0	1	0	1	0	1	1	1
C3(2)	1	0	0	0	1	0	1	0	0
C3(3)	0	0	0	0	0	0	1	0	0
D3(1)	1	1	1	1	1	1	1	1	0
D3(2)	0	1	1	1	1	1	0	0	0
D3(3)	1	1	1	1	1	0	1	1	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 12 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-04 กับตัวอย่างสับปะรด อ.นิคม

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-04						
	1	2	3	4	5	6	7
A4(1)	0	1	0	1	0	1	0
A4(2)	1	0	1	0	1	1	0
A4(3)	0	1	0	1	1	0	0
B4(1)	1	1	1	1	1	1	0
B4(2)	0	1	1	0	1	1	1
B4(3)	0	1	1	0	0	1	1
C4(1)	0	1	1	1	1	1	1
C4(2)	0	0	1	0	1	0	0
C4(3)	1	1	1	1	1	1	1
E4(1)	0	0	0	0	1	0	0
E4(2)	1	1	1	0	1	1	1
E4(3)	1	1	1	0	1	1	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 13 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-08 กับตัวอย่างสับปะรด อ.หัวหิน

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-08												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
A1(1)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
A1(2)	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0
A1(3)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
B1(1)	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1
B1(2)	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	0
B1(3)	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0
C1(1)	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0
C1(2)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
C1(3)	1	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1	1	0
D1(1)	0	1	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0
D1(2)	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0
D1(3)	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	0
E1(1)	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	1	0
E1(2)	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	1	1	1
E1(3)	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 14 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-08 กับตัวอย่างสับปะรด อ.สามร้อยยอด

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-08													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
A2(1)	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0
A2(2)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
A2(3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
B2(1)	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1
B2(2)	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
B2(3)	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
C2(1)	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0
C2(2)	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1
C2(3)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
D2(1)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
D2(2)	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
D2(3)	0	1	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 15 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-08 กับตัวอย่างสับปะรด อ.บางสะพาน

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-08														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
A3(1)	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
A3(2)	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0
A3(3)	1	1	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0
B3(1)	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0
B3(2)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
B3(3)	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1
C3(1)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	1
C3(2)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
C3(3)	0	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
D3(1)	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0
D3(2)	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
D3(3)	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 16 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-08 กับตัวอย่างสับปะรด อ.นิคม

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-08									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A4(1)	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1
A4(2)	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1
A4(3)	1	0	1	0	0	0	0	1	1	1
B4(1)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
B4(2)	0	1	1	1	0	0	0	1	1	0
B4(3)	0	1	1	0	0	1	0	1	1	0
C4(1)	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1
C4(2)	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1
C4(3)	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1
E4(1)	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1
E4(2)	1	1	1	0	0	1	1	1	0	1
E4(3)	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 17 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-10 กับตัวอย่างสับปะรด อ.หัวหิน

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-10								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
A1(1)	1	0	1	1	1	0	1	1	0
A1(2)	1	0	1	1	1	0	1	1	0
A1(3)	0	0	1	0	1	1	1	0	1
B1(1)	1	0	1	1	1	1	1	1	1
B1(2)	1	0	1	1	1	1	0	1	1
B1(3)	0	0	1	0	1	0	1	0	1
C1(1)	1	0	1	1	1	1	1	1	0
C1(2)	0	0	1	1	0	1	1	1	1
C1(3)	1	0	1	1	1	1	1	1	0
D1(1)	1	0	1	1	1	1	1	1	0
D1(2)	1	0	1	1	1	1	1	1	0
D1(3)	1	0	1	1	1	1	1	1	1
E1(1)	1	0	1	1	1	1	1	1	0
E1(2)	0	0	0	0	0	1	0	1	0
E1(3)	0	1	1	0	1	1	0	1	1

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 18 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-10 กับตัวอย่างสับปะรด อ.สามร้อยยอด

ดีเอ็นเอ สับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-10										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
A2(1)	1	1	1	0	0	0	0	1	0	1	1
A2(2)	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	0
A2(3)	1	1	0	0	1	0	0	1	1	1	1
B2(1)	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	0
B2(2)	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	0
B2(3)	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	0
C2(1)	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0
C2(2)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
C2(3)	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0
D2(1)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1
D2(2)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1
D2(3)	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 19 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-10 กับตัวอย่างสับปะรด อ.บางสะพาน

ดีเอ็นเอ สับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-10						
	1	2	3	4	5	6	7
A3(1)	1	0	1	1	1	1	1
A3(2)	1	1	0	1	1	0	1
A3(3)	1	0	0	1	1	0	1
B3(1)	1	1	1	1	1	1	1
B3(2)	1	0	0	0	0	1	1
B3(3)	1	1	0	1	1	0	1
C3(1)	1	0	1	1	0	1	1
C3(2)	1	0	0	1	1	1	1
C3(3)	1	0	0	1	1	1	1
D3(1)	1	0	0	1	1	0	1
D3(2)	1	0	0	1	0	1	1
D3(3)	1	0	1	1	1	1	1

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 20 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-10 กับตัวอย่างสับปะรด อ.นิคม

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-10							
	1	2	3	4	5	6	7	8
A4(1)	1	1	1	0	0	1	1	1
A4(2)	1	1	1	1	0	1	1	1
A4(3)	1	1	1	1	0	1	1	1
B4(1)	1	1	1	1	1	1	1	1
B4(2)	1	1	1	0	1	1	1	1
B4(3)	1	1	1	0	1	1	1	1
C4(1)	1	1	1	0	1	1	1	1
C4(2)	1	1	1	1	0	1	1	1
C4(3)	1	1	1	1	1	1	1	1
E4(1)	1	1	1	1	1	1	1	1
E4(2)	1	1	0	1	0	1	1	1
E4(3)	1	1	0	1	0	1	1	1

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 21 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-18 กับตัวอย่างสับปะรด อ.หัวหิน

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-18									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A1(1)	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1
A1(2)	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1
A1(3)	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1
B1(1)	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
B1(2)	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1
B1(3)	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
C1(1)	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0
C1(2)	0	1	0	1	1	1	1	0	1	0
C1(3)	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
D1(1)	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1
D1(2)	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1
D1(3)	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1
E1(1)	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
E1(2)	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
E1(3)	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 22 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-18 กับตัวอย่างสับปะรด อ.สามร้อยยอด

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-18								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
A2(1)	0	0	1	0	0	1	1	1	0
A2(2)	0	0	1	1	1	0	1	0	0
A2(3)	0	0	0	1	1	1	1	1	1
B2(1)	1	0	1	1	1	0	1	1	0
B2(2)	0	0	0	1	1	1	1	1	1
B2(3)	1	1	1	1	1	1	1	1	0
C2(1)	1	0	1	1	1	1	1	1	1
C2(2)	0	0	0	1	1	1	1	0	1
C2(3)	1	0	1	1	1	0	1	1	0
D2(1)	0	0	1	1	1	1	1	1	1
D2(2)	0	0	1	1	1	1	1	1	1
D2(3)	0	0	1	1	1	1	1	1	1

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 23 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-18 กับตัวอย่างสับปะรด อ.บางสะพาน

ดีเอ็นเอ สับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-18						
	1	2	3	4	5	6	7
A3(1)	0	1	1	1	1	0	0
A3(2)	1	1	1	1	1	0	1
A3(3)	0	0	0	0	1	1	0
B3(1)	1	1	1	1	1	1	1
B3(2)	1	1	1	1	1	1	0
B3(3)	0	1	1	0	1	1	0
C3(1)	1	1	1	0	1	0	0
C3(2)	1	1	0	1	1	1	0
C3(3)	1	1	1	1	1	0	1
D3(1)	0	0	1	1	1	0	1
D3(2)	1	1	1	1	1	1	0
D3(3)	1	1	1	1	1	1	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 24 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-18 กับตัวอย่างสับปะรด อ.นิคม

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-18							
	1	2	3	4	5	6	7	8
A4(1)	0	1	1	1	1	1	1	1
A4(2)	0	1	1	1	1	1	0	1
A4(3)	0	1	1	1	1	1	0	1
B4(1)	0	1	1	1	1	1	1	0
B4(2)	0	1	1	1	1	1	1	1
B4(3)	0	1	1	1	1	1	1	1
C4(1)	0	1	1	1	1	1	1	1
C4(2)	0	1	1	1	1	1	1	1
C4(3)	1	1	1	1	1	1	1	1
E4(1)	0	1	1	1	1	1	1	1
E4(2)	1	1	1	1	1	1	1	1
E4(3)	1	1	1	1	1	1	1	1

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 25 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ universal primer 3 กับตัวอย่างสับปะรดทรงกระบอก

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ universal primer 3								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
A1(1)	1	1	1	1	1	1	1	1	1
A1(2)	0	0	1	1	0	0	1	1	0
A1(3)	0	0	1	0	0	1	1	1	0
A2(1)	0	0	0	0	0	0	1	0	0
A2(2)	0	0	0	0	0	0	1	0	0
A2(3)	1	1	1	1	1	1	1	1	0
A3(1)	0	0	0	1	1	0	0	0	0
A3(2)	1	0	1	1	1	0	0	0	0
A3(3)	1	1	1	1	1	0	0	0	0
A4(1)	1	1	1	0	1	1	0	1	1
A4(2)	1	0	1	0	1	1	0	1	1
A4(3)	0	1	0	0	1	1	0	1	1

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 26 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ universal primer 3 กับตัวอย่างสับปะรดทรงเจดีย์

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ universal primer 3								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
B1(1)	0	0	0	0	0	0	1	1	0
B1(2)	0	1	1	1	0	0	1	1	0
B1(3)	0	1	1	1	0	0	1	1	0
B2(1)	0	0	0	0	0	0	1	1	0
B2(2)	1	1	1	1	1	1	1	1	0
B2(3)	1	1	1	1	1	0	1	1	0
B3(1)	1	1	1	1	1	0	0	0	0
B3(2)	1	0	1	1	1	0	0	0	0
B3(3)	1	0	0	1	1	0	0	0	0
B4(1)	1	0	0	0	1	0	0	1	1
B4(2)	0	0	0	0	0	0	0	1	0
B4(3)	0	0	0	0	1	0	0	1	1

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 27 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ universal primer 3 กับตัวอย่างสับปะรดทรงลูกเล็ก

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ universal primer 3								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
C1(1)	1	1	1	1	0	1	1	1	0
C1(2)	0	0	1	0	0	0	1	1	0
C1(3)	1	1	1	1	1	1	1	1	0
C2(1)	0	0	0	1	1	0	1	1	0
C2(2)	0	0	0	1	1	0	1	1	0
C2(3)	1	1	1	1	1	1	1	1	0
C3(1)	1	1	1	1	1	0	0	0	0
C3(2)	0	0	0	1	1	0	0	0	0
C3(3)	1	1	1	1	1	0	0	0	0
C4(1)	0	0	0	0	1	0	0	1	1
C4(2)	0	0	1	0	1	1	0	1	1
C4(3)	1	1	0	1	1	1	1	1	1

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 28 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ universal primer 3 กับตัวอย่างสับปะรดทรงเดาะจุก

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ universal primer 3							
	1	2	3	4	5	6	7	8
D1(1)	0	0	0	0	0	0	1	1
D1(2)	0	0	1	1	0	0	1	1
D1(3)	1	0	1	1	0	0	1	1
D2(1)	0	0	0	1	0	0	1	0
D2(2)	0	0	0	0	0	0	1	0
D2(3)	0	0	1	0	0	0	1	1
D3(1)	0	0	0	1	1	0	0	0
D3(2)	0	0	0	1	1	0	0	0
D3(3)	0	0	0	1	1	0	0	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 29 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ universal primer 3 กับตัวอย่างสับปะรดทรงหลายจุก

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ universal primer 3								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
E1(1)	0	0	1	1	1	1	1	1	0
E1(2)	0	0	1	1	1	1	1	1	0
E1(3)	0	0	1	1	1	1	1	1	0
E4(1)	1	1	0	1	1	1	1	1	1
E4(2)	1	1	1	1	1	0	1	1	1
E4(3)	0	0	0	0	0	0	1	1	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 30 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-02 กับตัวอย่างสับปะรดทรงกระบอก

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-02										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
A1(1)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
A1(2)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
A1(3)	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0
A2(1)	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
A2(2)	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
A2(3)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
A3(1)	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
A3(2)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
A3(3)	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
A4(1)	0	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0
A4(2)	0	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0
A4(3)	0	0	0	1	0	1	1	1	0	1	1

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 31 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-02 กับตัวอย่างสับปะรดทรงเจดีย์

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-02										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
B1(1)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
B1(2)	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0
B1(3)	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
B2(1)	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
B2(2)	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
B2(3)	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
B3(1)	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
B3(2)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
B3(3)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
B4(1)	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	0
B4(2)	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	0
B4(3)	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 32 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-02 กับตัวอย่างสับปะรดทรงลูกเล็ก

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-02										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
C1(1)	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
C1(2)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
C1(3)	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
C2(1)	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
C2(2)	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
C2(3)	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
C3(1)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
C3(2)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
C3(3)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
C4(1)	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0
C4(2)	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	0
C4(3)	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 33 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-02 กับตัวอย่างสับปะรดทรงเดาะจุก

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-02								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
D1(1)	0	0	0	1	1	1	0	0	0
D1(2)	0	0	0	1	1	1	0	0	0
D1(3)	1	1	0	1	1	1	1	0	0
D2(1)	0	0	1	0	0	0	0	0	0
D2(2)	1	1	1	0	0	0	0	0	0
D2(3)	1	1	1	0	0	0	0	0	0
D3(1)	0	1	0	0	1	0	1	0	0
D3(2)	0	0	0	0	0	0	1	0	1
D3(3)	1	1	1	1	1	1	1	1	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 34 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-02 กับตัวอย่างสับปะรดทรงหลายจุก

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-02										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
E1(1)	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
E1(2)	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0
E1(3)	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0
E4(1)	0	1	1	1	1	0	1	0	1	1	0
E4(2)	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
E4(3)	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 35 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-04 กับตัวอย่างสับปะรดทรงกระบอก

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-04								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
A1(1)	1	0	1	1	0	1	0	0	0
A1(2)	1	0	1	1	0	1	1	0	1
A1(3)	1	0	1	1	0	1	1	0	0
A2(1)	0	0	1	1	1	1	1	1	1
A2(2)	1	1	1	1	1	1	1	1	1
A2(3)	1	0	0	1	1	1	1	1	0
A3(1)	0	0	0	0	1	1	0	0	0
A3(2)	0	0	1	1	1	1	0	0	0
A3(3)	0	0	1	1	1	0	0	1	0
A4(1)	0	1	0	1	0	1	0	0	0
A4(2)	1	0	1	0	1	1	0	0	0
A4(3)	0	1	0	1	1	0	0	0	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 36 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-04 กับตัวอย่างสับปะรดทรงเจดีย์

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-04								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
B1(1)	0	0	0	0	1	1	0	0	0
B1(2)	1	0	1	1	1	1	1	1	0
B1(3)	1	0	0	0	1	1	1	1	0
B2(1)	1	0	1	1	1	0	1	1	0
B2(2)	1	1	1	1	1	0	1	1	0
B2(3)	1	1	1	1	1	0	1	1	1
B3(1)	1	0	1	1	1	0	1	1	0
B3(2)	1	1	1	1	1	0	1	1	0
B3(3)	1	1	1	1	1	0	1	1	1
B4(1)	1	1	1	1	1	1	0	0	0
B4(2)	0	1	1	0	1	1	1	0	0
B4(3)	0	1	1	0	0	1	1	0	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 37 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-04 กับตัวอย่างสับปะรดทรงลูกเล็ก

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-04								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
C1(1)	1	0	1	1	0	1	1	0	0
C1(2)	0	0	0	0	0	1	0	0	0
C1(3)	1	1	1	1	0	1	1	1	0
C2(1)	1	0	1	1	1	0	1	1	1
C2(2)	1	0	0	1	1	0	1	1	0
C2(3)	0	0	0	0	1	0	1	0	0
C3(1)	1	0	1	0	1	0	1	1	1
C3(2)	1	0	0	0	1	0	1	0	0
C3(3)	0	0	0	0	0	0	1	0	0
C4(1)	0	1	1	1	1	1	1	0	0
C4(2)	0	0	1	0	1	0	0	0	0
C4(3)	1	1	1	1	1	1	1	0	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 38 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-04 กับตัวอย่างสับปะรดทรงเดาะจุก

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-04								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
D1(1)	1	0	1	1	0	1	1	0	0
D1(2)	1	0	1	1	0	1	1	0	1
D1(3)	1	0	1	1	0	1	1	0	0
D2(1)	0	1	0	1	1	0	0	1	1
D2(2)	0	0	1	1	1	0	1	1	0
D2(3)	0	0	1	1	1	0	1	1	0
D3(1)	1	1	1	1	1	1	1	1	0
D3(2)	0	1	1	1	1	1	0	0	0
D3(3)	1	1	1	1	1	0	1	1	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 39 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-04 กับตัวอย่างสับปะรดทรงหลายจุก

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-04								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
E1(1)	0	0	0	1	1	0	0	0	0
E1(2)	0	1	1	1	1	0	1	1	0
E1(3)	0	0	0	1	0	1	1	0	0
E4(1)	0	0	0	0	1	0	0	0	0
E4(2)	1	1	1	0	1	1	1	0	0
E4(3)	1	1	1	0	1	1	0	0	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 40 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-08 กับตัวอย่างสับปะรดทรงกระบอก

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-08														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
A1(1)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0
A1(2)	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0
A1(3)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
A2(1)	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
A2(2)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
A2(3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
A3(1)	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
A3(2)	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0
A3(3)	1	1	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0
A4(1)	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0
A4(2)	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0
A4(3)	1	0	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 41 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-08 กับตัวอย่างสับปะรดทรงเจดีย์

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-08														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
B1(1)	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0
B1(2)	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0
B1(3)	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0
B2(1)	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0
B2(2)	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
B2(3)	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
B3(1)	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0
B3(2)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
B3(3)	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1
B4(1)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
B4(2)	0	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
B4(3)	0	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 42 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-08 กับตัวอย่างสับปะรดทรงลูกเล็ก

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-08														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
C1(1)	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0
C1(2)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
C1(3)	1	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	0
C2(1)	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0
C2(2)	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0
C2(3)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
C3(1)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	1
C3(2)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
C3(3)	0	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
C4(1)	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0
C4(2)	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0
C4(3)	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 43 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-08 กับตัวอย่างสับปะรดทรงเดาะจุก

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-08														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
D1(1)	0	1	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0
D1(2)	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0
D1(3)	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0
D2(1)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
D2(2)	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
D2(3)	0	1	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0
D3(1)	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0
D3(2)	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
D3(3)	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 44 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-08 กับตัวอย่างสับปะรดทรงหลายจุก

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-08												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
E1(1)	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	1	0
E1(2)	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	1	1	1
E1(3)	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1
E4(1)	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
E4(2)	1	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0
E4(3)	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	0	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 45 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-10 กับตัวอย่างสับปะรดทรงกระบอก

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-10										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
A1(1)	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0
A1(2)	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0
A1(3)	0	0	1	0	1	1	1	0	1	0	0
A2(1)	1	1	1	0	0	0	0	1	0	1	1
A2(2)	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	0
A2(3)	1	1	0	0	1	0	0	1	1	1	1
A3(1)	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0
A3(2)	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0
A3(3)	1	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0
A4(1)	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0
A4(2)	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0
A4(3)	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 46 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-10 กับตัวอย่างสับปะรดทรงเจดีย์

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-10										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
B1(1)	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0
B1(2)	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0
B1(3)	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0
B2(1)	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	0
B2(2)	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	0
B2(3)	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	0
B3(1)	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
B3(2)	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
B3(3)	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0
B4(1)	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
B4(2)	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0
B4(3)	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 47 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-10 กับตัวอย่างสับปะรดทรงลูกเล็ก

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-10										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
C1(1)	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0
C1(2)	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0	0
C1(3)	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0
C2(1)	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0
C2(2)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
C2(3)	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0
C3(1)	1	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0
C3(2)	1	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0
C3(3)	1	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0
C4(1)	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0
C4(2)	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0
C4(3)	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 48 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-10 กับตัวอย่างสับปะรดทรงเดาะจุก

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-10										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
D1(1)	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0
D1(2)	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0
D1(3)	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0
D2(1)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1
D2(2)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1
D2(3)	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1
D3(1)	1	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0
D3(2)	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0
D3(3)	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 49 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-10 กับตัวอย่างสับปะรดทรงหลายจุก

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-10								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
E1(1)	1	0	1	1	1	1	1	1	0
E1(2)	0	0	0	0	0	1	0	1	0
E1(3)	0	1	1	0	1	1	0	1	1
E4(1)	1	1	1	1	1	1	1	1	0
E4(2)	1	1	0	1	0	1	1	1	0
E4(3)	1	1	0	1	0	1	1	1	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 50 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-18 กับตัวอย่างสับปะรดทรงกระบอก

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-18									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A1(1)	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1
A1(2)	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1
A1(3)	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1
A2(1)	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0
A2(2)	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0
A2(3)	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0
A3(1)	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0
A3(2)	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0
A3(3)	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
A4(1)	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0
A4(2)	0	1	1	1	1	1	0	1	0	0
A4(3)	0	1	1	1	1	1	0	1	0	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 51 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-18 กับตัวอย่างสับปะรดทรงเจดีย์

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-18									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
B1(1)	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
B1(2)	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1
B1(3)	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
B2(1)	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0
B2(2)	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0
B2(3)	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
B3(1)	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
B3(2)	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
B3(3)	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0
B4(1)	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0
B4(2)	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0
B4(3)	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 52 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-18 กับตัวอย่างสับปะรดทรงลูกเล็ก

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-18									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
C1(1)	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0
C1(2)	0	1	0	1	1	1	1	0	1	0
C1(3)	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
C2(1)	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0
C2(2)	0	0	0	1	1	1	1	0	1	0
C2(3)	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0
C3(1)	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0
C3(2)	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0
C3(3)	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0
C4(1)	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0
C4(2)	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0
C4(3)	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 53 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-18 กับตัวอย่างสับปะรดทรงเดาะจุก

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-18									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
D1(1)	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1
D1(2)	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1
D1(3)	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1
D2(1)	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0
D2(2)	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0
D2(3)	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0
D3(1)	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0
D3(2)	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
D3(3)	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 54 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPA-18 กับตัวอย่างสับปะรดทรงหลายจุก

ดีเอ็นเอสับปะรด	แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA-18									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
E1(1)	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
E1(2)	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
E1(3)	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
E4(1)	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0
E4(2)	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
E4(3)	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 55 ค่าความเหมือน (similarity matrix) ของสับปะรดที่ทำปฏิกิริยาด้วยเทคนิค RAPD ที่ได้จากตัวอย่างของ อ.หัวหิน

ตัวอย่าง	A1(1)	A1(2)	A1(3)	B1(1)	B1(2)	B1(3)	C1(1)	C1(2)	C1(3)	D1(1)	D1(2)	D1(3)	E1(1)	E1(2)	E1(3)
A1(1)	1.0000														
A1(2)	0.7368	1.0000													
A1(3)	0.6315	0.7192	1.0000												
B1(1)	0.7368	0.8245	0.7192	1.0000											
B1(2)	0.7017	0.7192	0.7894	0.7192	1.0000										
B1(3)	0.7368	0.6842	0.7192	0.6842	0.7543	1.0000									
C1(1)	0.8070	0.7543	0.7543	0.7192	0.7894	0.6842	1.0000								
C1(2)	0.6667	0.6842	0.7543	0.7543	0.7192	0.7192	0.6842	1.0000							
C1(3)	0.7543	0.7017	0.5964	0.6315	0.5964	0.5614	0.7017	0.4912	1.0000						
D1(1)	0.6140	0.7017	0.7719	0.7017	0.8421	0.6667	0.7368	0.6667	0.5789	1.0000					
D1(2)	0.7017	0.8245	0.7894	0.7192	0.8947	0.7543	0.8245	0.6842	0.6315	0.8771	1.0000				
D1(3)	0.7192	0.7368	0.7017	0.7368	0.8421	0.7368	0.7368	0.6667	0.6491	0.7543	0.8421	1.0000			
E1(1)	0.7543	0.7017	0.6667	0.7017	0.7017	0.7719	0.7017	0.6667	0.6140	0.7192	0.7719	0.7192	1.0000		
E1(2)	0.5789	0.5614	0.5964	0.5614	0.5263	0.5614	0.4912	0.5263	0.6491	0.5438	0.5614	0.5087	0.6842	1.0000	
E1(3)	0.6842	0.6667	0.7719	0.7017	0.6667	0.7368	0.6315	0.6667	0.6491	0.5789	0.6667	0.6491	0.7192	0.7543	1.0000

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 56 ค่าความเหมือน (similarity matrix) ของสับปะรดที่ทำปฏิกิริยาด้วยเทคนิค RAPD ที่ได้จากตัวอย่างของ อ.สามร้อยยอด

ตัวอย่าง	A2(1)	A2(2)	A2(3)	B2(1)	B2(2)	B2(3)	C2(1)	C2(2)	C2(3)	D2(1)	D2(2)	D2(3)
A2(1)	1.0000											
A2(2)	0.7678	1.0000										
A2(3)	0.5714	0.5535	1.0000									
B2(1)	0.6785	0.6250	0.5714	1.0000								
B2(2)	0.5535	0.6428	0.8035	0.5892	1.0000							
B2(3)	0.6071	0.5892	0.7142	0.7142	0.6964	1.0000						
C2(1)	0.6785	0.6250	0.6428	0.6428	0.6250	0.6785	1.0000					
C2(2)	0.6071	0.6607	0.6785	0.6071	0.6607	0.6071	0.7500	1.0000				
C2(3)	0.5892	0.6071	0.6964	0.6607	0.6785	0.7321	0.6250	0.6964	1.0000			
D2(1)	0.6964	0.7500	0.6250	0.6250	0.6071	0.5178	0.6250	0.7321	0.6428	1.0000		
D2(2)	0.7142	0.6964	0.5357	0.6428	0.5892	0.5714	0.7857	0.7500	0.6250	0.8035	1.0000	
D2(3)	0.5714	0.6250	0.5714	0.5714	0.6250	0.5714	0.6428	0.7142	0.6250	0.6964	0.7857	1.0000

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 57 ค่าความเหมือน (similarity matrix) ของสับปะรดที่ทำปฏิกิริยาด้วยเทคนิค RAPD ที่ได้จากตัวอย่างของ อ.บางสะพาน

ตัวอย่าง	A3(1)	A3(2)	A3(3)	B3(1)	B3(2)	B3(3)	C3(1)	C3(2)	C3(3)	D3(1)	D3(2)	D3(3)
A3(1)	1.0000											
A3(2)	0.6923	1.0000										
A3(3)	0.6923	0.6538	1.0000									
B3(1)	0.5961	0.5961	0.6730	1.0000								
B3(2)	0.5576	0.6346	0.4807	0.5769	1.0000							
B3(3)	0.5192	0.6346	0.5192	0.5384	0.7307	1.0000						
C3(1)	0.5576	0.6730	0.5192	0.6153	0.7307	0.6923	1.0000					
C3(2)	0.7307	0.6923	0.5384	0.5961	0.7884	0.7115	0.7115	1.0000				
C3(3)	0.7115	0.7500	0.5576	0.6153	0.6538	0.5384	0.6538	0.7500	1.0000			
D3(1)	0.7307	0.7307	0.6538	0.5961	0.5961	0.6730	0.5576	0.6538	0.6346	1.0000		
D3(2)	0.7115	0.7500	0.5576	0.5384	0.7307	0.6538	0.6538	0.7884	0.6153	0.6730	1.0000	
D3(3)	0.6923	0.5769	0.6538	0.7884	0.5576	0.5192	0.5576	0.6153	0.5192	0.6923	0.6730	1.0000

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 58 ค่าความเหมือน (similarity matrix) ของสับปะรดที่ทำปฏิกิริยาด้วยเทคนิค RAPD ที่ได้จากตัวอย่างของ อ.นิคม

ตัวอย่าง	A4(1)	A4(2)	A4(3)	B4(1)	B4(2)	B4(3)	C4(1)	C4(2)	C4(3)	E4(1)	E4(2)	E4(3)
A4(1)	1.0000											
A4(2)	0.7358	1.0000										
A4(3)	0.6792	0.7547	1.0000									
B4(1)	0.6226	0.7358	0.7169	1.0000								
B4(2)	0.6226	0.6981	0.6415	0.7735	1.0000							
B4(3)	0.6603	0.6981	0.6415	0.7735	0.8867	1.0000						
C4(1)	0.6792	0.6415	0.6603	0.8301	0.7924	0.7924	1.0000					
C4(2)	0.6792	0.7547	0.7358	0.7924	0.7547	0.7547	0.7735	1.0000				
C4(3)	0.6603	0.6226	0.6037	0.6603	0.5849	0.6603	0.7169	0.6037	1.0000			
E4(1)	0.6792	0.7169	0.6981	0.7169	0.6037	0.6415	0.6981	0.7358	0.7169	1.0000		
E4(2)	0.6981	0.6981	0.6037	0.6603	0.5849	0.6226	0.6792	0.6037	0.7735	0.7169	1.0000	
E4(3)	0.6603	0.6603	0.6037	0.6981	0.7358	0.6603	0.6792	0.7169	0.6603	0.6037	0.8113	1.0000

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 59 ค่าความเหมือน (similarity matrix) ของสับปะรดรูปทรงกระบอกที่ผ่านเทคนิค RAPD

ตัวอย่าง	A1(1)	A1(2)	A1(3)	A2(1)	A2(2)	A2(3)	A3(1)	A3(2)	A3(3)	A4(1)	A4(2)	A4(3)
A4(1)	1.0000											
A1(2)	0.7692	1.0000										
A1(3)	0.6769	0.7538	1.0000									
A2(1)	0.4769	0.5538	0.4923	1.0000								
A2(2)	0.5230	0.6307	0.6307	0.8000	1.0000							
A2(3)	0.6307	0.6153	0.5846	0.6307	0.6153	1.0000						
A3(1)	0.6153	0.5692	0.5076	0.4615	0.5384	0.4307	1.0000					
A3(2)	0.6769	0.6615	0.4769	0.5230	0.5384	0.5846	0.7538	1.0000				
A3(3)	0.5538	0.5384	0.5384	0.4615	0.4769	0.5538	0.7538	0.7230	1.0000			
A4(1)	0.5538	0.4461	0.4461	0.4923	0.4769	0.5230	0.6000	0.6000	0.6307	1.0000		
A4(2)	0.5230	0.5384	0.5076	0.4923	0.5384	0.5230	0.6615	0.6615	0.6615	0.7846	1.0000	
A4(3)	0.5076	0.4923	0.4923	0.4461	0.4923	0.4769	0.6461	0.6153	0.5846	0.7384	0.8000	1.0000

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 60 ค่าความเหมือน (similarity matrix) ของสับปะรดรูปทรงเจดีย์ที่ทำปฏิกิริยาด้วยเทคนิค RAPD

ตัวอย่าง	B1(1)	B1(2)	B1(3)	B2(1)	B2(2)	B2(3)	B3(1)	B3(2)	B3(3)	B4(1)	B4(2)	B4(3)
B4(1)	1.0000											
B1(2)	0.7538	1.0000										
B1(3)	0.7230	0.7846	1.0000									
B2(1)	0.5846	0.4615	0.5846	1.0000								
B2(2)	0.6000	0.6615	0.5692	0.6461	1.0000							
B2(3)	0.5846	0.5230	0.6153	0.7538	0.7384	1.0000						
B3(1)	0.5538	0.6153	0.6153	0.4769	0.6153	0.6923	1.0000					
B3(2)	0.6153	0.5230	0.5538	0.5076	0.6153	0.6000	0.6615	1.0000				
B3(3)	0.5846	0.5538	0.5230	0.4153	0.4923	0.5076	0.6307	0.7846	1.0000			
B4(1)	0.6307	0.5692	0.5384	0.5538	0.5692	0.5538	0.7076	0.6461	0.6769	1.0000		
B4(2)	0.6000	0.5076	0.5384	0.6769	0.5692	0.6153	0.6153	0.5846	0.5538	0.8153	1.0000	
B4(3)	0.6000	0.5076	0.5384	0.6461	0.5692	0.5846	0.5846	0.6153	0.5538	0.8153	0.9076	1.0000

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตาราง**ผนวกที่ 61** ค่าความเหมือน (similarity matrix) ของสับปะรดรูปทรงลูกเล็กที่ทำปฏิกิริยาด้วยเทคนิค RAPD

ตัวอย่าง	C1(1)	C1(2)	C1(3)	C2(1)	C2(2)	C2(3)	C3(1)	C3(2)	C3(3)	C4(1)	C4(2)	C4(3)
C1(1)	1.0000											
C1(2)	0.7230	1.0000										
C1(3)	0.7384	0.5538	1.0000									
C2(1)	0.4923	0.4307	0.5384	1.0000								
C2(2)	0.5846	0.5846	0.4769	0.7846	1.0000							
C2(3)	0.5692	0.5692	0.5538	0.6769	0.7384	1.0000						
C3(1)	0.5846	0.5538	0.5692	0.4461	0.4769	0.5538	1.0000					
C3(2)	0.6000	0.6615	0.5230	0.4923	0.6153	0.5692	0.7692	1.0000				
C3(3)	0.6461	0.5846	0.6000	0.4769	0.4769	0.6153	0.7230	0.8000	1.0000			
C4(1)	0.5538	0.5230	0.5692	0.4769	0.4769	0.4307	0.5076	0.6153	0.5384	1.0000		
C4(2)	0.5230	0.5846	0.5076	0.5384	0.5076	0.4923	0.5692	0.6461	0.5692	0.8153	1.0000	
C4(3)	0.6307	0.4153	0.6769	0.5846	0.5230	0.5384	0.5230	0.5692	0.5846	0.7692	0.6769	1.0000

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 62 ค่าความเหมือน (similarity matrix) ของสับปะรดรูปทรงเดาะจุกที่ทำปฏิกิริยาด้วยเทคนิค RAPD

ตัวอย่าง	D1(1)	D1(2)	D1(3)	D2(1)	D2(2)	D2(3)	D3(1)	D3(2)	D3(3)
D1(1)	1.0000								
D1(2)	0.8870	1.0000							
D1(3)	0.7741	0.8548	1.0000						
D2(1)	0.5000	0.5483	0.4032	1.0000					
D2(2)	0.5161	0.4677	0.4193	0.8225	1.0000				
D2(3)	0.6451	0.6612	0.6129	0.7258	0.8064	1.0000			
D3(1)	0.5645	0.5806	0.5645	0.5483	0.5645	0.5967	1.0000		
D3(2)	0.4838	0.5322	0.5483	0.5967	0.5161	0.5161	0.7258	1.0000	
D3(3)	0.5645	0.5483	0.5967	0.4516	0.5322	0.5322	0.7419	0.7258	1.0000

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 63 ค่าความเหมือน (similarity matrix) ของสับปะรดรูปทรงหลายจุกที่ทำปฏิกิริยาด้วยเทคนิค RAPD

ตัวอย่าง	E1(1)	E1(2)	E1(3)	E4(1)	E4(2)	E4(3)
E1(1)	1.0000					
E1(2)	0.7049	1.0000				
E1(3)	0.7377	0.7704	1.0000			
E4(1)	0.6065	0.4426	0.5081	1.0000		
E4(2)	0.5245	0.5245	0.4590	0.7540	1.0000	
E4(3)	0.5573	0.5245	0.4590	0.6557	0.8360	1.0000

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ	นางสาวมุนินทร์ เปรมปรีดิ์
เกิดวันที่	13 เมษายน พ.ศ.2529
สถานที่เกิด	อำเภอบ้านโป่ง จังหวัดราชบุรี
ประวัติการศึกษา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต(วิทยาศาสตร์ชีวภาพ)
ผลงานดีเด่นและ/หรือรางวัลทางวิชาการ	รางวัลงานวิจัยประเภทชมเชย การประชุมวิชาการและแสดงผลงานวิจัยระดับชาติ ครั้งที่ ๓ มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา มหาวิทยาลัยศิลปากร และมหาวิทยาลัยกรุงเทพ ในหัวข้อเรื่อง การประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของสับปะรดพันธุ์ Smooth Cayenne (ปัตตาเวีย) โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนวิจัยมหาบัณฑิต สกว.สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ภายใต้โครงการเชื่อมโยงภาคการผลิตกับงานวิจัย ทุน สกว.-อุตสาหกรรม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์