ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วนศาสตร์)

ปริญญา

ชีววิทยาป่าไม้	ชีววิทยาป่าไม้
สาขา	**ภาควิชา**

เรื่อง ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างชนิดย่อยของกล้วยป่า (*Musa acuminata* Colla) กับกล้วยปลูกกลุ่มจีโนม A โดยใช้ Inter - Simple Sequence Repeat Marker

Genetic Relationship among Subspecies of *Musa acuminata* Colla and Genome A Cultivated Banana Using by Inter - Simple Sequence Repeat Marker

นามผู้วิจัย นายพฤทธิ์ ราชรักษ์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์วิชาญ เอียดทอง, Dr.Agr.)

กรรมการ .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ดวงใจ ศุขเฉลิม, D.Sc.)

กรรมการ .....

(อาจารย์วิภา หงษ์ตระกูล, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา .....

(อาจารย์อุทัยวรรณ แสงวณิช, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์วินัย อาจคงหาญ, M.A.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 5 **เดือน** มีนาคม **พ.ศ.** 2549

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างชนิดย่อยของกล้วยป่า (*Musa acuminata* Colla) กับกล้วยปลูกกลุ่มจีโนม A โดยใช้ Inter - Simple Sequence Repeat Marker

Genetic Relationship among Subspecies of *Musa acuminata* Colla and Genome A Cultivated Banana Using by Inter - Simple Sequence Repeat Marker

โดย

นายพฤทธิ์ ราชรักษ์

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วนศาสตร์)
พ.ศ. 2549

ISBN 974-16-1430-6

พฤทธิ์ ราชรักษ์ 2549: ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างชนิดย่อยของกล้วยป่า (*Musa acuminata* Colla) กับกล้วยปลูกกลุ่มจีโนม A โดยใช้ Inter - Simple Sequence Repeat Marker. ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วนศาสตร์) สาขาชีววิทยาป่าไม้ ภาควิชาชีววิทยาป่าไม้ ประธานกรรมการที่ปรึกษา: ผู้ช่วยศาสตราจารย์วิชาญ เอียดทอง, Dr.Agr. 107 หน้า
ISBN 974-16-1430-6

Musa acuminata มีถิ่นกำเนิดอยู่ในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และถูกจำแนกออกเป็นหลายชนิดย่อยส่วน *Musa balbisiana* มีถิ่นกำเนิดอยู่บริเวณอินเดียและได้รับการปลูกทั่วทุกภาคของไทย กล้วยทั้งสองชนิดนี้ต่างเชื่อว่าเป็นต้นกำเนิดของกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกที่บริโภคได้ จากการเก็บตัวอย่างกล้วยของ *Musa acuminata* ในประเทศไทยจำนวน 12 ตัวอย่าง สามารถจำแนกชนิดย่อยด้วยลักษณะสัณฐานวิทยาได้ 5 ชนิดย่อย คือ กล้วยป่าพม่า กล้วยป่าสยาม กล้วยป่ามะละกา กล้วยป่าปลีเหลือง และกล้วยป่าผลเล็ก และกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูก 33 ตัวอย่าง ประกอบด้วยกล้วยชุดจีโนม AA, AAA, AAB, ABB, ABBB และ BBB รวมทั้ง กล้วยตานี และนำมาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมกับกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกจีโนม A ด้วยเทคนิค inter - simple sequence repeat โดยใช้ไพรเมอร์ 6 ไพรเมอร์จากทั้งหมด 36 ไพรเมอร์ ให้แถบดีเอ็นเอที่สามารถตรวจสอบได้ 128 แถบ มีขนาดระหว่าง 200 – 3,000 bp มีจำนวนอัลลีลต่อไพรเมอร์ 21.33 ค่า allele frequency เท่ากับ 0.18 ค่า polymorphic percentage เท่ากับ 1.0 ค่า heterozygosity เท่ากับ 0.29 ผลการวิเคราะห์ด้วยไพรเมอร์ดังกล่าวนำมาหาค่าดัชนีความคล้ายคลึงเพื่อวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ด้วยวิธี UPGMA และแสดงผลในรูปแบบของแผนภาพความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม พบว่าสามารถจัดกลุ่มตัวอย่างได้ 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย กล้วยไหล กล้วยรัตกัทรี กล้วยหก กล้วยนวล รวมทั้งกล้วยป่าปลีเหลือง และกลุ่มที่ 2 สามารถแยกได้ 3 กลุ่มย่อย คือ กลุ่มย่อยที่ 1 ชนิดย่อยของ *Musa acuminata* ประกอบด้วย กล้วยป่าพม่า กล้วยป่าสยาม และกล้วยป่ามะละกา กลุ่มย่อยที่ 2 กล้วยตานีและกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกจีโนม B ที่เป็นองค์ประกอบ (BBB, ABBB และ ABB) และกลุ่มย่อยที่ 3 กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกจีโนม A ที่เป็นองค์ประกอบ (AA, AAA) และกล้วยป่าผลเล็ก ขณะที่กล้วยในชุดจีโนม AAB ไม่สามารถจัดกลุ่มความสัมพันธ์ได้ชัดเจนด้วยไพรเมอร์ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ทั้ง 3 กลุ่มย่อยภายในกลุ่มที่ 2 มีค่าดัชนีความคล้ายคลึงเฉลี่ยเท่ากับ 0.62, 0.72 และ 0.72 ตามลำดับ ภายในกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกพบว่ากล้วยน้ำไทและกล้วยไข่ทองร่วง เป็นพันธุ์กล้วยปลูกของไทยที่มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้เคียงกับกล้วยป่าผลเล็กมากกว่ากล้วยป่าชนิดย่อยอื่น ในการศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่า *Musa acuminata* ทุกชนิดย่อยมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมกับกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกจีโนม A ที่เป็นองค์ประกอบ

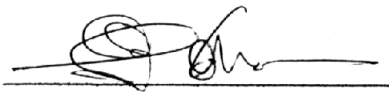
ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่อประธานกรรมการ 28 / พ.ค. / 49

Phruet Racharak 2006: Genetic Relationship among Subspecies of *Musa acuminata* Colla and Genome A Cultivated Banana Using by Inter - Simple Sequence Repeat Marker. Master of Science (Forestry), Major Field: Forest Biology, Department of Forest Biology. Thesis Advisor: Assistant Professor Wichan Eiadthong, Dr.Agr. 107 pages.
ISBN 974-16-1430-6

The originated areas of *Musa acuminata* is distributed naturally in South East Asia and cover many areas in Thailand. As for the originated areas of *Musa balbisiana* is distributed in India and is cultivated all parts of Thailand. Edible bananas and plantains are believing hybrid among two banana species; *M. acuminata* and *M. balbisiana*. Twelve wild banana samples were classified into 5 subspecies which in consist of *Musa acuminata* ssp. *burmannica*, *Musa acuminata* ssp. *siamea*, *Musa acuminata* ssp. *malaccensis*, *Musa acuminata* ssp. *banksii* and *Musa acuminata* ssp. *microcarpa*. Thirty-three cultivated banana samples were in composed of genome AA, AAA, AAB, ABB, ABBB, BBB and *M. balbisiana*. All samples were examined by inter - simple sequence repeat (ISSR). Six primers out of 36 primers revealed a total of 128 alleles, allele size was 200-3,000 bp with an average of allele per primer was 21.33, average of allele frequency was 0.18, polymorphic percentage was 1.0 and heterozygosity was 0.29. Similarity index was calculated based on 128 alleles using UPGMA clustering analysis. The results showed the dendrogram dividing into two clusters. The first cluster was belonging to the outgroup which are *Ensete glaucum* including *M. acuminata* ssp. *banksii* and the second cluster was belonging to wild *M. acuminata* complex, *M. balbisiana* and cultivar group of the cultivated bananas and plantains. The phylogenetic relationship of second cluster could be divided into 3 sub-clusters. The first sub-cluster was *M. acuminata* ssp. *burmannica*, *M. acuminata* ssp. *siamea* and *M. acuminata* ssp. *malaccensis*, the second sub-cluster was *M. balbisiana* and majority of cultivar group of cultivated plantains with have genome 'B' by containing BBB, ABBB and ABB genome. The third sub-cluster was containing of *M. acuminata* ssp. *microcarpa* and the majority of cultivar group of genome 'A' by containing AA and AAA genome. While the dendrogram of AAB genome cultivar group banana could not be distinctly classification when examined with ISSR primers in this study. Similarity index of each sub-cluster within the second cluster was 0.62, 0.72 and 0.72 respectively. The results indicated that 'Kluai Nam Thai' and 'Kluai Khai Thong Roung' had shown an old ancestor for Thai cultivated bananas and more closely phylogenetic relationship to *M. acuminata* ssp. *microcarpa*. All subspecies of *M. acuminata* are related to cultivar group of genome 'A' of cultivated bananas and plantains in Thailand.

Phruet Racharak

Student's signature



Thesis Advisor's signature

28 / 03 / 06

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิชาญ เอียดทอง ประธานกรรมการที่ปรึกษา ที่ได้ช่วยเหลือในการวางแผนงานวิจัยในวิทยานิพนธ์ ตลอดจนให้คำปรึกษาแนะนำและตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. ดวงใจ ศุขเฉลิม กรรมการที่ปรึกษาวิชาเอก อาจารย์ ดร. วิภา หงษ์ตระกูล กรรมการที่ปรึกษาวิชารอง และ อาจารย์ ดร. ดวงพร วรสุนทโรสถ อาจารย์ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำและช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย โครงการทุนวิจัยมหาบัณฑิต สกว. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สัญญาเลขที่ MRG475S025 ที่ช่วยเหลือสนับสนุนเงินทุนในงานวิจัยให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณ สถานีวิจัยปากช่อง อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา ที่เอื้อเฟื้อตัวอย่างกล้วยที่ใช้ในงานวิจัย พี่อ๊อด พี่เสาร์ ที่ช่วยเหลือความสะดวกและคำแนะนำในงานวิจัย นายพรพจน์ อ่อนคง นายเกวลิต สิถิระบุตร นายประจักษ์ อึ้งตระกูล นายวิทยา ศิริราษฎร์ตระกูล กับผู้ร่วมทางที่ถึงไหนถึงกัน ขอบคุณเพื่อนๆ วนศาสตร์ 65 และพี่ๆ วนศาสตร์ รวมทั้งเพื่อนๆ กบฏ103 ทุกท่านที่ช่วยเหลือและเป็นกำลังใจที่ดีเสมอมา

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อไพโรจน์ ราชรักษ์ คุณแม่อุบลรัตน์ ราชรักษ์ พี่ๆน้องๆ ทุกท่านที่เป็นกำลังใจพร้อมทั้งคำปรึกษาที่ดีแก่ข้าพเจ้า สุดท้ายขอขอบพระคุณ นางสาววิรงรอง ดวงใจ ที่อยู่เคียงข้างข้าพเจ้าเสมอมาตลอดทั้งงานวิจัยจนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

พฤทธิ์ ราชรักษ์

มีนาคม 2549

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	20
ผล	36
วิจารณ์	89
สรุป	95
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	98
ภาคผนวก	106

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ถิ่นกระจายพันธุ์ของชนิดและชนิดย่อยของกล้วยป่าที่เป็นบรรพบุรุษของกล้วยรับประทานได้	7
2	การให้คะแนนลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่างๆของกล้วย	10
3	ชื่อพฤกษศาสตร์ ชื่อชนิดย่อย ชื่อพันธุ์ปลูก ชุดจีโนม ชื่อพื้นเมือง สถานที่เก็บและหมายเลขตัวอย่างของกล้วยที่ใช้ในงานวิจัย	22
4	ความเข้มข้นของสารที่ใช้เป็นองค์ประกอบต่างๆในปฏิกิริยา PCR	32
5	โปรแกรมการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยา PCR	32
6	ความเข้มข้นของสารที่ใช้เป็นองค์ประกอบต่างๆในปฏิกิริยา PCR	57
7	โปรแกรมการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยา PCR	57
8	ชนิดของไพรเมอร์ ลำดับเบส percent of G + C และค่า melting temperature (Tm) / annealing temperature (Ta) ที่ใช้ในงานวิจัย	60
9	ชนิดของไพรเมอร์ จำนวนอัลลีล ค่าความถี่ของอัลลีล ขนาดของอัลลีล ค่า polymorphic percentage และ ค่า heterozygosity ที่ใช้ในงานวิจัย	85

ตารางผนวกที่

1	ค่า similarity index จากการเปรียบเทียบค่าดัชนีความคล้ายคลึงกันของแถบดีเอ็นเอตัวอย่าง *M. acuminata*, *M. balbisiana* และพันธุ์กล้วยปลูกทั้ง 45 ตัวอย่าง	107

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยทั่วไปของกล้วย	4
2	ลักษณะสัณฐานวิทยาที่สำคัญในการจำแนกระหว่างจีโนม A และ B	11
3	ถิ่นกำเนิดของกล้วยและการแพร่กระจายไปยังภูมิภาคต่างๆทั่วโลก	12
4	การผสมข้ามพันธุ์และการเกิดวิวัฒนาการของกล้วยรับประทานได้ในปัจจุบัน	14
5	สถานที่เก็บตัวอย่างกล้วยที่ใช้ในงานวิจัย	21
6	ลักษณะสัณฐานวิทยาของ *Musa acuminata* ssp. *microcarpa*	39
7	ลักษณะสัณฐานวิทยาของ *Musa acuminata* ssp. *burmannica*	41
8	ลักษณะสัณฐานวิทยาของ *Musa acuminata* ssp. *banksii*	43
9	ลักษณะสัณฐานวิทยาของ *Musa acuminata* ssp. *malaccensis*	45
10	ลักษณะสัณฐานวิทยาของ *Musa acuminata* ssp. *siamea*	47
11	ลักษณะสัณฐานวิทยาของ *Musa balbisiana*	49
12	เปรียบเทียบลักษณะ male bud ของชนิดย่อยต่างๆของกล้วย *Musa acuminata*	50
13	เปรียบเทียบลักษณะ inflorescence ของชนิดย่อยต่างๆของกล้วย *Musa acuminata*	51
14	ตัวอย่าง genomic DNA ของกล้วยที่ใช้ในงานวิจัย หมายเลข 1-16 คือ ตัวอย่างกล้วยที่ใช้ในงานวิจัย	52
15	รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 841 แถวที่ 1 - 6 คือ กล้วยป่าปลีเหลือง กล้วยป่าผลเล็ก กล้วยตานี กล้วยหก กล้วยไหล และ กล้วยรัตกัทรี ตามลำดับ M คือ 100 bp DNA Ladder Plus	53
16	รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 815 ที่ความเข้มข้นของ $MgCl_2$ ต่างๆกัน คือ 0.2, 0.4, 0.8 และ 2.0 mM ตามลำดับ M คือ 100 bp DNA Ladder Plus	54

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
17	รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 815 ที่ความเข้มข้นต่างๆกันของดีเอ็นเอเริ่มต้น คือ 100, 50, 25, 10 และ 5 ng ตามลำดับ แถว M คือ 100 bp DNA Ladder Plus	55
18	รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 815 ที่ annealing temperature ต่างๆกัน คือ 43° C, 45° C, 47° C, และ 49° C ตามลำดับ	56
19	รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยป่าพม่า (1) กล้วยตานี (2) โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 815 – 835	58
20	รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยป่าพม่า (1) กล้วยตานี (2) โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 812 – 846	59
21	รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยป่าพม่า (1) กล้วยตานี (2) โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 841 – 845	59
22	รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากการสุ่มตรวจหาไพรเมอร์ที่เหมาะสมซ้ำ โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 814 และ 835 เช่นเดียวกับการตรวจสอบในครั้งแรกกับ กล้วยป่าพม่า (1) และ กล้วยตานี (2) C คือ ตัวอย่างควบคุม	61
23	รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 814 กับตัวอย่างกล้วยตานี และ ชนิดย่อยของ *Musa acuminata*	64
24	รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 814 กับตัวอย่างกล้วยป่าปลีเหลือง และกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AA, AAA และ AAB	65
25	รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 814 กับกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AAB ABB, ABBB และ BBB	66

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
26	รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 815 กับตัวอย่างกล้วยตานี และ ชนิดย่อยของ *Musa acuminata*	67
27	รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 815 กับตัวอย่างกล้วยป่าปลีเหลือง และ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AA, AAA และ AAB	68
28	รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 815 กับกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AAB ABB, ABBB และ BBB	69
29	รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 835 กับตัวอย่างกล้วยตานี และ ชนิดย่อยของ *Musa acuminata*	70
30	รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 835 กับตัวอย่างกล้วยป่าปลีเหลือง และ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AA, AAA และ AAB	71
31	รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 835 กับกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AAB ABB, ABBB และ BBB	72
32	รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 840 กับตัวอย่างกล้วยตานี และ ชนิดย่อยของ *Musa acuminata*	73
33	รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 840 กับตัวอย่างกล้วยป่าปลีเหลือง และ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AA, AAA และ AAB	74

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
34	รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 840 กับกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AAB ABB, ABBB และ BBB	75
35	รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 843 กับตัวอย่างกล้วยตานี และ ชนิดย่อยของ *Musa acuminata*	76
36	รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 843 กับตัวอย่างกล้วยป่าปลีเหลือง และ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AA, AAA และ AAB	77
37	รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 843 กับกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AAB ABB, ABBB และ BBB	78
38	รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 844 กับตัวอย่างกล้วยตานี และ ชนิดย่อยของ *Musa acuminata*	79
39	รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 844 กับตัวอย่างกล้วยป่าปลีเหลือง และ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AA, AAA และ AAB	80
40	รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 844 กับกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AAB ABB, ABBB และ BBB	81
41	รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 814, 815, 835, 840, 843 และ 844 ตามลำดับ M คือ100 bp DNA Ladder Plus แถวที่ 1 คือ กล้วยป่าผลเล็ก แถวที่ 2 คือ กล้วยน้ำไท ตามลำดับ	82

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
42	รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 814, 815 และ 835 M คือ 100 bp DNA Ladder Plus แถวที่ 1 คือ กล้วยหก แถวที่ 2 คือ กล้วยไหล แถวที่ 3 คือ กล้วยรัตกัทรี และแถวที่ 4 คือ กล้วยนวล ตามลำดับ	83
43	รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 840, 843 และ 844 M คือ 100 bp DNA Ladder Plus แถวที่ 1 คือ กล้วยหก แถวที่ 2 คือ กล้วยไหล แถวที่ 3 คือ กล้วยรัตกัทรี และแถวที่ 4 คือ กล้วยนวล ตามลำดับ	84
44	แผนภาพความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (dendrogram) ระหว่าง *M. acuminata, M. balbisiana* และพันธุ์กล้วยปลูกด้วยเทคนิค ISSR	87

ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างชนิดย่อยของกล้วยป่า (*Musa acuminata* Colla) กับกล้วยปลูกกลุ่มจีโนม A โดยใช้ Inter - Simple Sequence Repeat Marker

Genetic Relationship among Subspecies of *Musa acuminata* Colla and Genome A Cultivated Banana Using by Inter - Simple Sequence Repeat Marker

คำนำ

กล้วย เป็นพืชที่มีความสำคัญต่อมนุษยชาติมานานนับเป็นพันๆปี โดยที่มนุษย์รู้จักการนำมาใช้ประโยชน์ตั้งแต่ครั้งสมัยโบราณจากการนำส่วนต่างๆของกล้วยมาใช้เป็นอาหาร ดังที่มีหลักฐานพอที่จะเชื่อได้ว่ากล้วยเป็นผลไม้ชนิดแรกที่มนุษย์นำมาเพาะปลูกเมื่อประมาณ 4,000 ปีมาแล้วเพื่อกินเป็นผลไม้และแหล่งพลังงานจากแป้ง

กล้วยจัดอยู่ในวงศ์ Musaceae อันดับ Zingiberales มี 3 สกุล คือ สกุล *Ensete*, *Musella* นิยมปลูกเป็นไม้ดอกไม้ประดับและ สกุล *Musa* เป็นกล้วยที่พบเห็นอยู่ทั่วไป แบ่งออกเป็น 5 section คือ Australimusa, Callimusa, Rhodochlamys, Ingentimusa, และ Eumusa (วิจิตร, 2530) กล้วยรับประทานได้จัดอยู่ใน section Eumusa ได้กำเนิดมาจากกล้วย 2 ชนิด คือ *Musa acuminata* Colla กับ *Musa balbisiana* Colla การจัดจำแนกพันธุ์กล้วยที่นำผลมารับประทานด้วยวิธีของ Simmonds & Shepherd (1955) สามารถจำแนกกล้วยออกเป็นกล้วยปลูกที่มีชุดจีโนม AA, AAA, AAB, ABB และ ABBB โดยพิจารณาจากลักษณะสัณฐานวิทยาของ *Musa acuminata* Colla กับ *Musa balbisiana* Colla เป็นพื้นฐานและต่อมา Silayoi & Babpraserth (1983) เพิ่มกล้วยปลูกชุดจีโนม BBB เข้ามาภายหลังดังที่พบในกล้วยเล็บช้างกุดที่มีโครโมโซม 2n = 33 และเทียบกับลักษณะสัณฐานวิทยาพื้นฐานของ *Musa acuminata* Colla กับ *Musa balbisiana* Colla พบว่าเป็นกล้วยที่มีคะแนนลักษณะสัณฐานวิทยาของ *Musa balbisiana* Colla ส่วนกล้วยที่มีความสำคัญรองลงมา คือ กล้วยใน section Australimusa มีถิ่นกำเนิดอยู่ในภูมิภาค โพลีนีเซีย และ section Callimusa มีถิ่นกำเนิดบริเวณเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ กล้วยทั้งสอง section ปลูกเป็นไม้ดอกไม้ประดับ (Horry *et al.* 1997)

การจัดจำแนกกล้วยด้วยวิธีการให้คะแนนลักษณะสัณฐานวิทยาของ Simmonds & Shepherd (1955) และการตรวจนับจำนวนโครโมโซม สามารถจำแนกกล้วยออกได้เป็นกลุ่มใหญ่ๆ ในรายละเอียดดังที่กล่าวมาแล้ว ยังมีปัญหายุ่งยากเนื่องจากกล้วยที่ปลูกกันอยู่ในปัจจุบันเกิดจากการผสมพันธุ์ตามธรรมชาติและกลายพันธุ์มาทำให้เกิดเป็นพันธุ์กล้วยปลูก (cultivars) มากมาย การศึกษาทางด้านโมเลกุลจึงได้มีการนำมาใช้ในการตรวจสอบลักษณะทางพันธุกรรม เนื่องจากเป็นวิธีการที่ให้ผลการศึกษามีความถูกต้องแม่นยำสูงประกอบกับการนำมาพิจารณาควบคู่กับลักษณะทางสัณฐานวิทยา นับเป็นวิธีการที่ทำให้ผลการศึกษามีความถูกต้องแม่นยำขึ้นไปอีก เทคนิคทางโมเลกุลที่ได้รับความสนใจและนำมาใช้ได้แก่ เทคนิค RAPD (random amplified polymorphic DNA) เป็นเทคนิคที่ใช้ไพรเมอร์เข้าไปเกาะกับดีเอ็นเอเป้าหมายในบริเวณที่มีดีเอ็นเอที่เป็นเบสคู่สมกัน (complementary) โดยไม่จำเป็นต้องทราบว่าไพรเมอร์เข้าไปเกาะกับดีเอ็นเอส่วนใด เทคนิค AFLP (amplified fragment length polymorphism) เป็นเทคนิคที่นำดีเอ็นเอไปตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ จากนั้นนำชิ้นส่วนดีเอ็นเอมาต่อด้วย adapter แล้วเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอดังกล่าว เทคนิค SSR (simple sequence repeat) ใช้ลำดับเบสซ้ำขนาดสั้นๆ ไม่ซับซ้อนเป็นตำแหน่งในการตรวจสอบ ที่กระจายอยู่ทั่วไปในจีโนม และเทคนิค ISSR (inter - simple sequence repeat) เป็นเทคนิคที่ตรวจสอบลำดับเบสที่อยู่ระหว่าง repeat sequence ปัจจุบันใช้ ISSR ในการศึกษาแผนที่ของจีโนมและแยกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตโดยวิธีวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอนับเป็นเทคนิคที่ใช้ตัวอย่างที่มีดีเอ็นเอจำนวนน้อย วิเคราะห์ผลทำได้ง่ายเนื่องจากใช้การสังเกตแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏและไม่ปรากฏและบอกความสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิตระหว่างชนิดหรือแม้กระทั่งระหว่างสกุลได้ดี

วัตถุประสงค์

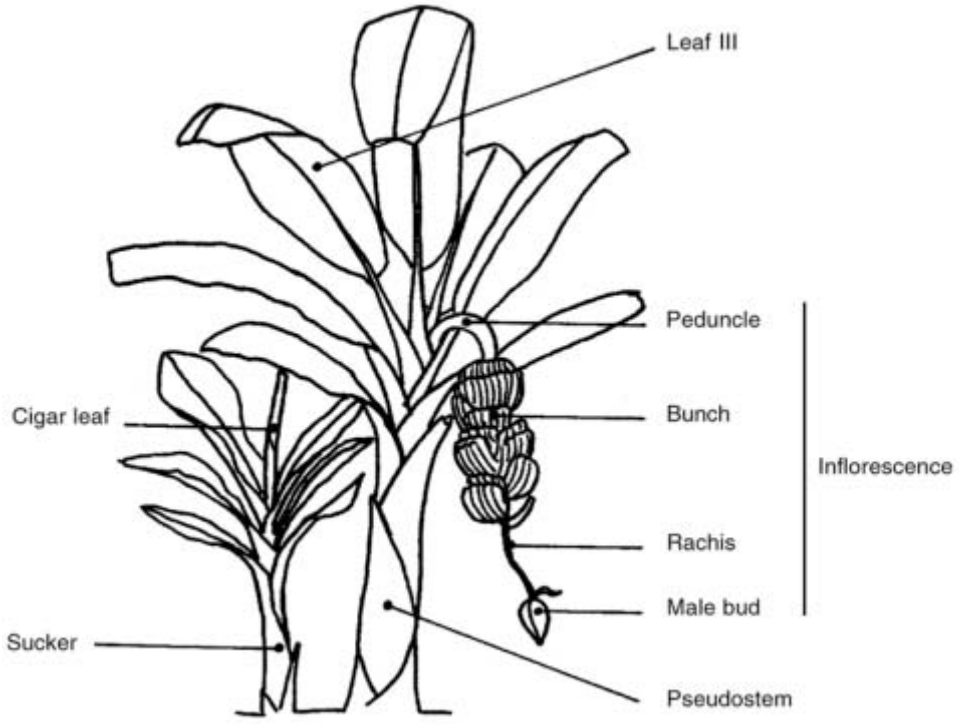
1. วิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างชนิดย่อยของกล้วย *Musa acuminata* กับกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกที่มีจีโนม A เป็นองค์ประกอบ โดยใช้ Inter - Simple Sequence Repeat Marker

2. หาความผันแปรทางพันธุกรรมของชนิดย่อยของกล้วย *Musa acuminata* และศึกษาความใกล้เคียงทางพันธุกรรมกับกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกที่มีจีโนม A เป็นองค์ประกอบในประเทศไทย เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการปรับปรุงพันธุ์

การตรวจเอกสาร

กล้วยเป็นพืชที่ชอบอากาศร้อนชื้น ถิ่นกำเนิดตามธรรมชาติของกล้วยอยู่ในบริเวณเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ทางเหนือของอินเดีย พม่า เขมร ไทย ลาวและจีนตอนใต้ หมู่เกาะอินโดนีเซีย เกาะบอร์เนียว ฟิลิปปินส์ และไต้หวัน (Dodds, 1946) ประเทศที่เป็นถิ่นกำเนิดเหล่านี้จะพบการปลูกกล้วยอยู่เป็นจำนวนมากทั้งที่มีเมล็ดและไม่มีเมล็ดและปลูกกระจัดกระจายอยู่ทั่วไป สาเหตุที่พื้นที่ปลูกกล้วยกระจายบริเวณกว้างออกไปทั่วทุกภูมิภาคของโลกที่เกิดจากการนำไปปลูกด้วยมนุษย์เกิดขึ้นมาตั้งแต่ยุคโบราณที่ได้นำพันธุ์กล้วยจากแหล่งกำเนิดตามธรรมชาติไปปลูกในบริเวณอื่นที่เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง จึงส่งผลให้เกิดการกระจายพันธุ์ของกล้วยปลูกไปยังพื้นที่ต่างๆ หรือเกิดจากสาเหตุการกลายพันธุ์ของกล้วยเองดังที่เรียกว่า somatic mutation หรือ chimera (Stewart R.N. and H. Dermen, 1979) สาเหตุดังกล่าวทำให้เกิดกล้วยพันธุ์ใหม่อยู่ตลอดเวลา

1. <u>ลักษณะสัณฐานวิทยาทั่วไปของกล้วย</u>



<u>ภาพที่ 1</u> ลักษณะสัณฐานวิทยาทั่วไปของกล้วย

ที่มา: Champion (1967)

กล้วยมีลำต้นใต้ดินแบบ เหง้า ชอบพื้นที่ชื้น ใบประกอบด้วยแผ่นใบ ก้านใบ และกาบใบที่มีลักษณะแผ่ออกมาก่อตัวรวมกันเป็นลำต้นเทียม (pseudostem) ที่ใจกลางลำต้นเทียมมีช่อดอกฝังอยู่ และจะเจริญขึ้นเมื่อถึงระยะเวลาเจริญพันธุ์ การจัดเรียงของกาบใบมีทั้งไม่ซ้อนและที่ซ้อนกันเป็นเกลียว

ดอกกล้วยออกเป็นช่อและออกหลังจากใบสุดท้ายเกิดขึ้นแล้วโดยออกที่ส่วนปลายยอด ตำแหน่งเดียวกับใบ หรือบางทีออกทางด้านข้าง ดอกมีใบประดับ (bract) ที่มีสีสด เช่น พืชในสกุล Heliconia (Heliconiaceae), Curcuma (Zingiberaceae) และ Calathea (Maranthaceae) ดอกมีการจัดเรียงแบบ สมมาตรด้านข้าง (zygomorphic) คือมีส่วนประกอบทั้งสองข้างเท่ากัน และมักจะมีการลดรูปบางส่วนรวมกันหรือหายไป ชั้นของวงเกสรเพศผู้จะมีการเปลี่ยนเป็นกลีบดอกเช่นในวงศ์ Marantaceae และ Cannaceae และยังมีการลดอับเรณูเหลือเพียงครึ่งเดียว รังไข่ อยู่ใต้ส่วนประกอบอื่นๆของดอกและประกอบด้วย 3 ช่อง ในแต่ละช่องมีออวุลอยู่ 1 หรือมากกว่า 1 ดังนั้นบางครั้งจะเห็นเหมือนมีเมล็ด 1 เมล็ด เพราะเมล็ดเกิดฝ่อดังที่พบในวงศ์ Marantaceae

ผลของกล้วยมีลักษณะเป็นผลแบบมีเนื้อหนึ่งถึงหลายเมล็ด (berry) เมล็ดของกล้วยมีเนื้อหุ้ม ดังเช่นในสกุล *Musa* เมล็ดส่วนมากมีขนาดใหญ่ แข็ง ดังเช่นเมล็ดของสกุล *Musa* และ *Ensete* (Simmonds and Weatherup, 1990)

2. <u>อนุกรมวิธานพืชในวงศ์กล้วย</u>

การจัดจำแนกตำแหน่งทางอนุกรมวิธานกล้วยใช้ระบบการจัดจำแนกของ Takhtajan (1997)

Class Liliopsida

Subclass B. Commelinidae

Superorder Zingiberanae

Order Musales

Family Musaceae

Genus *Musa*, *Ensete*, *Musella*

กล้วยเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Musaceae ประกอบไปด้วย 3 สกุลคือ *Ensete*, *Musella* และ *Musa* สำหรับกล้วยในสกุล *Ensete* ในเมืองไทยปลูกเป็นไม้ประดับ พบ 2 ชนิด คือ *Ensete superbum* Roxb. และ *Ensete glaucum* Roxb. และสกุล *Musella* เป็นกล้วยที่ปลูกเพื่อใช้เป็นไม้ประดับและมีถิ่นกำเนิดอยู่บริเวณจีนตอนใต้ เช่น *Musella lasiocarpa* (สมรรถชัย, 2542)

กล้วยในสกุล *Musa* ประกอบไปด้วย 5 section คือ Australimusa, Callimusa, Rhodochlamys, Ingentimusa และ Eumusa กล้วยใน section Australimusa เป็นกล้วยที่ถิ่นกระจายพันธุ์อยู่แถบ ปาปัวนิวกินี ออสเตรเลีย อินโดนีเซีย และ ฟิลิปปินส์ และไม่พบกระจายพันธุ์อยู่ในประเทศไทย เช่น กล้วยอะบาก้า (*Musa textilis*) ใช้ทำเชือกมะนิลาและทอผ้า กล้วยใน section Callimusa มีถิ่นกระจายพันธุ์อยู่บริเวณเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และพบกระจายพันธุ์ในประเทศไทย เช่น กล้วยรัตกัทรี (*Musa coccinea*), กล้วยปีซังกะแต (*Musa violascens*) ซึ่งพบปลูกเป็นไม้ประดับ และกล้วยใน section Rhodochlamys พบกระจายพันธุ์แถบตอนเหนือของอินเดีย พม่า และประเทศไทย ส่วนใหญ่ปลูกเป็นไม้ประดับ เช่น กล้วยไหล (*Musa laterita*), กล้วยบัวสีชมพู (*Musa ornata*) ส่วนกล้วยใน section Ingentimusa พบในที่สูง 1,000-2,100 เมตร ในบริเวณหมู่เกาะปาปัวนิวกินี ไม่พบว่ามีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศไทย เช่น *Musa ingens* และ*Musa boman* (พานิชย์, 2542)

ส่วนกล้วยใน section Eumusa ประกอบไปด้วยกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกที่ใช้รับประทานส่วนใหญ่พบเห็นได้ทั่วไปและทั่วโลกมีความหลากชนิดอยู่ถึง 11 ชนิด (Horry *et al.*, 1997) คือ

1. *Musa acuminata* Colla
2. *Musa balbisiana* Colla
3. *Musa schizocarpa* Simmonds
4. *Musa basjoo* P. F. (B.) von Siebold
5. *Musa itinerans* E. E. Cheesm.
6. *Musa flaviflora* Simmonds
7. *Musa sikkimensis* Kurz
8. *Musa cheesmani* Simmonds
9. *Musa nagensium* Prain
10. *Musa halabanensis* W. Meijer
11. *Musa ochracea* K. Shepherd

กล้วย *Musa acuminata* มีถิ่นกระจายพันธุ์บริเวณเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (ตารางที่ 1) มีลำต้นที่แท้จริงอยู่ใต้ดินเรียกว่า เหง้า ส่วนที่โผล่พ้นดินเรียกว่า ลำต้นเทียม กล้วยป่ามีลำต้นเทียมสูง 2.5-3.5 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้นเทียมต่ำกว่า 15 เซนติเมตร บางชนิดย่อยมีขนาดใหญ่กว่า กาบลำต้นเทียมด้านนอกมีปื้นสีดำ มีนวลเล็กน้อยถึงไม่มี ส่วนด้านในสีแดง น้ำยางใส ก้านใบสีชมพูอมแดง เขียว ม่วง แล้วแต่ละชนิดย่อย มีจุดดำ มีครีบ เส้นกลางใบสีเขียว ใบชูขึ้นค่อนข้างตรง ก้านช่อดอกมีขนสั้นอ่อนๆจำนวนมาก กาบปลีรูปค่อนข้างยาวคล้ายกาบเรือ ปลายแหลมหรือมน ด้านบนสีม่วงอมแดง มีนวลเล็กน้อย ด้านล่างที่โคนมีสีแดง เมื่อแก่จะม้วนขึ้นไปทางด้านโคน การเรียงของกาบปลีไม่ค่อยซ้อนทับกันมากและจะมีลักษณะนูนขึ้นที่โคนของกาบปลีเห็นเป็นสันชัดเจน ดอกย่อยมีก้านดอกสั้น ผลมีก้านและมีขนาดเล็ก รูปร่างของผลมีหลายแบบแตกต่างไปตามชนิดย่อย บางชนิดย่อยมีผลโค้งงอ บางชนิดไม่โค้งงอ ผลมีเนื้อน้อยสีขาว รสหวาน มีเมล็ดจำนวนมาก สีดำ ผนังหนาและแข็ง แบ่งออกเป็น 8 ชนิดย่อย ดังตารางที่ 1(Simmonds, 1957)

ตารางที่ 1 ถิ่นกระจายพันธุ์ของชนิดและชนิดย่อยของกล้วยป่าที่เป็นบรรพบุรุษของกล้วยรับประทานได้

ชนิดย่อย	ถิ่นกระจายพันธุ์
1. *Musa acuminata* Colla ssp. *banksii* (F. Muell.) Simmonds	นิวกินี ออสเตรเลีย ซามัว
2. *Musa acuminata* Colla ssp. *errans (Blanco)* R. Valmayor	ฟิลิปปินส์
3. *Musa acuminata* Colla ssp. *burmanica* Simmonds	พม่า
4. *Musa acuminata* Colla ssp *siamea* Simmonds	ไทย อินโดจีน
5. *Musa acuminata* Colla ssp. *malaccensis* (Ridl.) Simmonds	ไทยตอนใต้ มาเลเซีย
6. *Musa acuminata* Colla ssp. *microcarpa* (Beccari) Simmonds	บอร์เนียวตอนเหนือ
7. *Musa acuminata* Colla ssp. *truncata* (Ridl.) Shepherd	มาเลเซีย
8. *Musa acuminata* Colla ssp. *zebrina* L. B. van Houtte	ชวา

ที่มา: Jones (2000)

สำหรับชนิดย่อยของ *Musa acuminata* ที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศไทย 4 ชนิดย่อย (Simmonds, 1986) คือ

1. *Musa acuminata* Colla ssp. *burmanica* Simmonds พบมากทางเหนือของไทย
2. *Musa acuminata* Colla ssp. *malaccensis* (Ridl.) Simmonds พบทางภาคใต้
3. *Musa acuminata* Colla ssp. *microcarpa* (Beccari) Simmonds พบทางภาคใต้
4. *Musa acuminata* Colla ssp. *siamea* Simmonds พบทางภาคตะวันออก

กล้วยอีกหนึ่งชนิดที่อยู่ในสกุล *Musa* และมีความสำคัญคือ *Musa balbisiana* (กล้วยตานี) ซึ่งมีถิ่นกำเนิดอยู่แถบอินเดียและพบปลูกทั่วไปในประเทศไทย ปัจจุบันมีการใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลาย อาทิเช่น ใช้ใบห่อขนม ห่อของ (ศศิวิมล, 2546)

3. <u>การจัดจำแนกกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูก</u>

การจัดจำแนกกล้วยที่ใช้รับประทานได้ในปัจจุบัน ซึ่งใช้การจัดจำแนกของ Simmonds & Shepherd (1955) โดยการให้คะแนน เพื่อแสดงถึงลักษณะความสัมพันธ์ของกล้วยพันธุ์ต่างๆที่มีวิวัฒนาการมาจาก *Musa acuminata* และ *Musa balbisiana* โดยใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาของกล้วยจำนวน 15 ลักษณะ ดังตารางที่ 2 ละภาพที่ 2 ซึ่งเป็นลักษณะที่แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัดของกล้วยทั้งสองชนิด ในกรณีที่ลักษณะสัณฐานวิทยาของกล้วยที่นำมาจำแนกมีลักษณะเหมือน *Musa acuminata* จะให้คะแนน 1 คะแนน แล้วจัดอยู่จีโนม A โดยคำว่า A มาจากคำว่า *acuminata* และในกรณีที่มีลักษณะสัณฐานวิทยาเหมือน *Musa balbisiana* จะให้คะแนน 5 คะแนน แล้วจัดอยู่ในจีโนม B โดยคำว่า B มาจากคำว่า *balbisiana* ถ้าลักษณะสัณฐานวิทยาอยู่ในสถานภาพกึ่งกลางระหว่าง 2 ชนิดนี้ก็ให้คะแนนเป็น 2, 3, 4 ตามความใกล้เคียงกับชนิดใด หลังจากนั้นนำคะแนนที่ได้จากการให้คะแนนทั้ง 15 ลักษณะมารวมคะแนนก็จะได้คะแนนแบ่งออกเป็น 5 กลุ่มต่างๆ โดยคะแนนต่ำสุดคือ 15 คะแนน ซึ่งแสดงว่ากล้วยพันธุ์ดังกล่าวมีความใกล้เคียงกับ *Musa acuminata* ในกรณีที่คะแนนสูงสุดคือ 75 คะแนน แสดงว่ากล้วยพันธุ์นั้นมีความใกล้เคียงกับ *Musa balbisiana* สำหรับคะแนนทั้ง 5 กลุ่มมีดังนี้

คะแนน 15-23 คะแนน ชุดจีโนม AA, AAA มีลักษณะสัณฐานวิทยาใกล้เคียงกับ *Musa acuminata* 100 % คะแนน 26-46 คะแนน ชุดจีโนม AAB มีลักษณะสัณฐานวิทยาใกล้เคียงกับ *Musa acuminata* 66.5 % คะแนน 47-49 คะแนน ชุดจีโนม AB, AABB มีลักษณะสัณฐานวิทยาใกล้เคียงกับ *Musa acuminata* 50.0 % คะแนน 59-63 คะแนน ชุดจีโนม ABB มีลักษณะสัณฐานวิทยาใกล้เคียงกับ *Musa acuminata* 33.5 % คะแนน 67 คะแนน ชุดจีโนม ABBB มีลักษณะสัณฐานวิทยาใกล้เคียงกับ *Musa acuminata* 25.0 % คะแนน 70-75 คะแนน ชุดจีโนม BB, BBB มีลักษณะสัณฐานวิทยาใกล้เคียงกับ *Musa balbisiana* 100 %

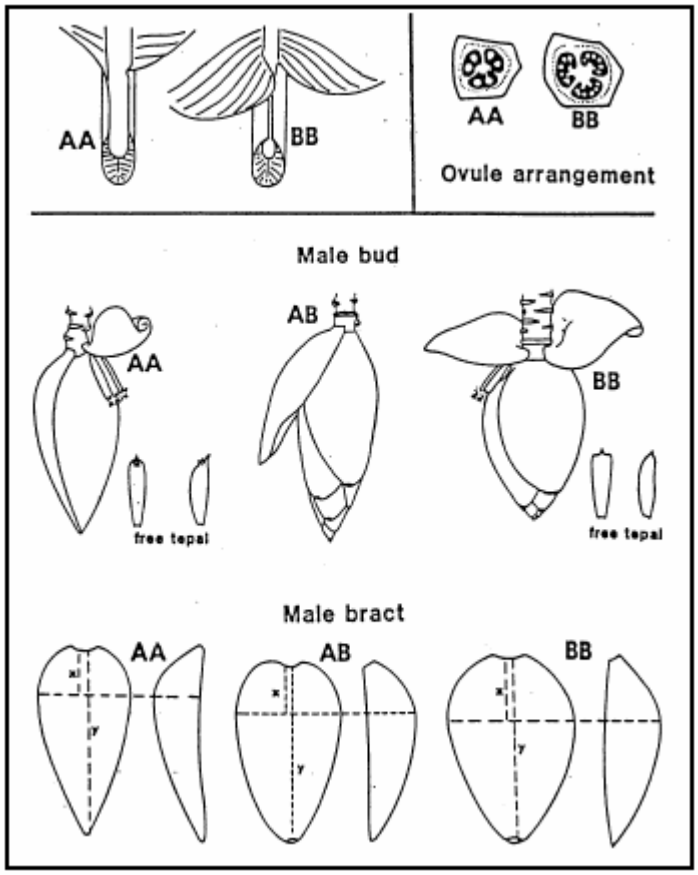
โดยกลุ่มของคะแนน 70-75 คะแนนได้เพิ่มเติมภายหลัง จากการศึกษาพันธุ์กล้วยในประเทศไทยโดย Silayoi & Babpraserth (1983) พบว่ากล้วยเล็บช้างกุดควรจะจัดให้อยู่ในชุด BBB และเมื่อศึกษาโครโมโซมพบว่า 2n = 33 และให้คะแนน พบว่าคะแนนอยู่ระหว่าง 70-75 คะแนน ดังนั้นจึงทำการเพิ่มคะแนนขึ้นอีกหนึ่งกลุ่ม คือ 70-75 คะแนนให้อยู่ในชุดจีโนม BB, BBB ซึ่งเป็นการให้คะแนนที่ค่อนข้างยุ่งยากและต้องอาศัยความชำนาญ ด้วยกล้วยเป็นพืชที่มีโครโมโซม 2, 3, หรือ 4 ชุด การทราบจำนวนโครโมโซมของกล้วยจึงช่วยให้การจำแนกชนิดมีความถูกต้องเพิ่มมากขึ้นและสามารถกระทำได้โดยการนับจำนวนโครโมโซมในระยะ metaphase ภายในดอกของกล้วย

ตัวอย่างกล้วยในชุดจีโนม AA, AAA คือ กล้วยไข่ กล้วยเล็บมือนาง และกล้วยหอมทอง ตัวอย่างกล้วยในชุดจีโนม AAB คือ กล้วยกล้าย กล้วยร้อยหวี กล้วยน้ำฝาด และกล้วยนมสวรรค์ ตัวอย่างกล้วยในชุดจีโนม ABB คือ กล้วยหักมุกเขียว กล้วยหักมุกขาว กล้วยน้ำว้า และกล้วยตีบ ตัวอย่างกล้วยในชุดจีโนม ABBB คือ กล้วยเทพรส และตัวอย่างกล้วยในชุดจีโนม BBB คือกล้วยเล็บช้างกุด กล้วยพม่าแหกคุก กล้วยเทพนม และกล้วยหิน เป็นต้น

ตารางที่ 2 การให้คะแนนลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่างๆของกล้วย

ลักษณะต่างๆ	*Musa acuminata* (A genome)	*Musa balbisiana* (B genome)
1. สีของกาบใบ	มีจุดหรือมีปื้นสีน้ำตาลหรือดำ	มีจุดจางๆหรือไม่มีเลย
2. ร่องของกาบใบ	ขอบของกาบใบตั้งหรือแผ่กางออกมีครีบหรือปีก	ขอบของกาบใบม้วนเข้าหากันจนชิดไม่มีปีก
3. ก้านช่อดอก	มีขน	เรียบไม่มีขน
4. ก้านดอก	สั้น	ยาว
5. ออวุล	มีออวุล 2 แถวในแต่ละช่องของรังไข่	มีออวุล 4 แถวแต่ไม่สม่ำเสมอ
6. ไหลของกาบปลี	อัตราส่วนน้อยกว่า 0.28	อัตราส่วนมากกว่า 0.30
7. การม้วนของกาบปลี	ม้วนขึ้นไปทางด้านหลัง หลังจากดอกบาน	กาบปลีชูตั้งขึ้นเมื่อดอกบานและไม่ม้วนขึ้น
8. รูปร่างของกาบปลี	ใบหอก หรือ รูปไข่แคบๆ	รูปไข่กว้าง
9. ปลายของกาบปลี	แหลม (acute)	มน (obtuse)
10. การซีดของกาบปลี	กาบปลีด้านในซีดเริ่มจากโคนถึงปลาย	มีสีแดงตลอดสม่ำเสมอ
11. รอยแผลของกาบปลี	มีลักษณะโหนกเป็นสันเห็นได้ชัด (prominent)	โหนกไม่เป็นสัน
12. กลีบรวมเดี่ยว (free tepal)	ที่ปลายมีรอยย่นเห็นได้ชัด (corrugate)	ไม่มีรอยย่น
13. สีของดอกตัวผู้	ครีมปนขาว	ชมพูอ่อน
14. สีของดอกตัวเมีย	ส้มค่อนข้างเหลือง	ครีม เหลืองซีดๆหรือชมพูอ่อน
15. สีของกาบ	กาบปลีด้านนอกสีแดง ม่วงเข้ม หรือเหลือง ส่วนด้านในสีชมพู ม่วงเข้ม และเหลือง	ครีม เหลืองซีดหรือชมพูอ่อนๆ ด้านนอกสีม่วงอมน้ำตาลด้านในสีแดงสด

ที่มา: เบญจมาศ (2538)

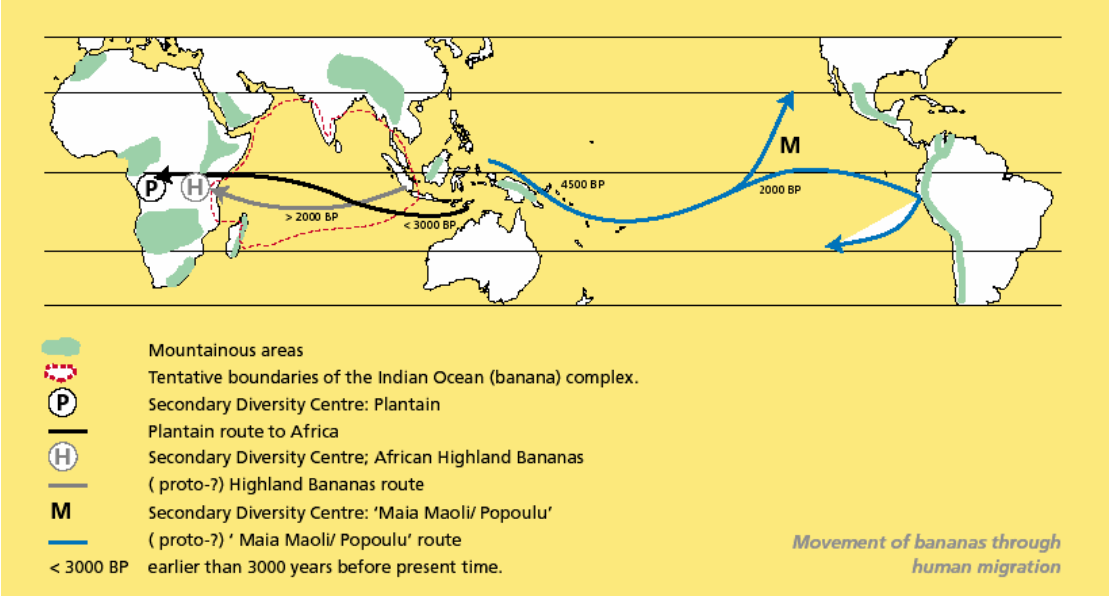


<u>ภาพที่ 2</u> ลักษณะสัณฐานวิทยาที่สำคัญในการจำแนกระหว่างจีโนม A และจีโนม B

ที่มา: Simmonds (1966)

4. การเกิดกล้วยพันธุ์ใหม่

ตามทฤษฎีของ Simmonds and Shepherd (1995) *Musa acuminata* เป็น diploid ที่มีเมล็ดและมีถิ่นกระจายพันธุ์อยู่ในเอเชียอาคเนย์ เกิดปรากฏการณ์ parthenocarpy หรือการเกิดผลที่ไม่ผ่านการผสมเกสรส่งผลให้เกิดความเป็นหมัน (sterility) และมีการคัดเลือกพันธุ์ของมนุษย์ (artificial selection) และการขยายพันธุ์โดยใช้หน่อ (vegetative propagetion) จากความผันแปรที่เกิดจากการกลายพันธุ์ การเพิ่มชุดของโครโมโซม (polyploidization) ตามด้วยการผสมข้ามชนิด (interspecific hybridization) ระหว่าง *Musa acuminata* และ กล้วยตานี ปรากฏการณ์ต่างๆเหล่านี้นำไปสู่พัฒนาการเกิดเป็นกล้วยปลูกพันธุ์ต่างๆมากมายแพร่กระจายไปยังภูมิภาคต่างๆทั่วโลก ดังที่พบอยู่ในปัจจุบัน(ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 ถิ่นกำเนิดของกล้วยและการแพร่กระจายไปยังภูมิภาคต่างๆทั่วโลก
ที่มา: Horry *et al.* (1997)

โดยปกติ การผสมเกสรทำให้เกิดการพัฒนาของผลเกิดจากการที่ออกซิน (auxin) จากละอองเกสรตัวผู้เข้าไปช่วยกระตุ้นให้รังไข่ (ovary) พัฒนาขึ้นเป็นผล การขยายตัวของรังไข่ และภายในผลจะเกิดเป็นเมล็ดที่พัฒนามาจาก ออวุล เพื่อช่วยในการสืบพันธุ์ ในบางครั้งผลจะพัฒนาขึ้นได้เองโดยไม่ผ่านการผสมเกสรจากการสร้างออกซินขึ้นได้เอง (เรียกว่า “ผลลม”) หรือการผสมเกสรด้วยละอองเกสรของคนละพันธุ์ที่ไม่ทำให้เกิดเมล็ดหรือมีการแลกเปลี่ยนของชุด gene บน

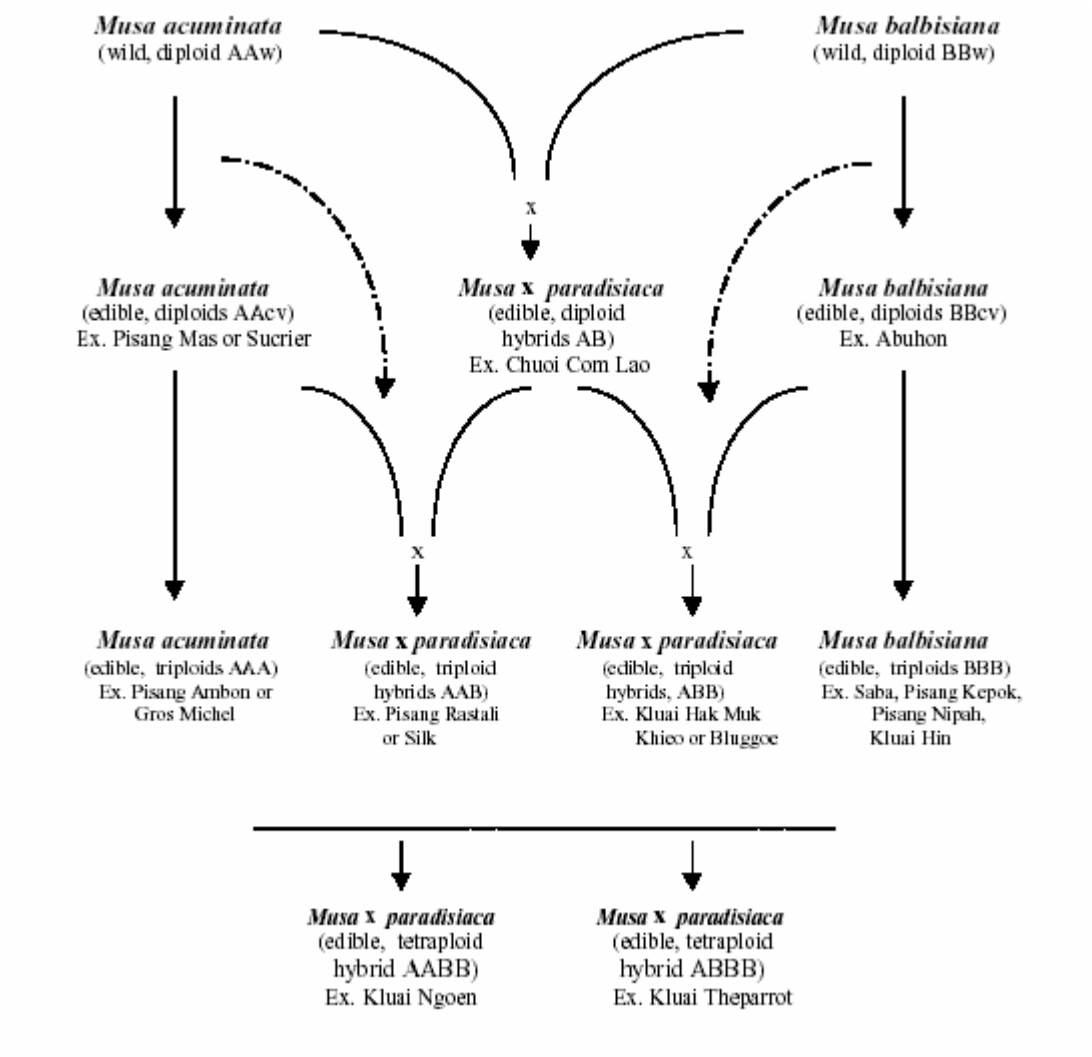
โครโมโซมที่เรียกว่า floating interchange (เบญจมาศ, 2538) หรือแม้กระทั่งการทำลายโดยแมลง (น่าจะปล่อยสารกระตุ้นเข้าสู่รังไข่) ปรากฏการณ์นี้เรียกว่า parthenocarpy การที่กล้วยไม่มีเมล็ดนี้เกิดจากปรากฏการณ์ความเป็นหมัน ในทางพันธุศาสตร์ไม่มีความสัมพันธ์กับ parthenocarpy เพราะกล้วยที่เกิดเป็น ผลลม อาจมีการเกิดเมล็ดได้ ดังเช่น กล้วยน้ำว้า ที่เจริญเติบโตใกล้ *Musa acuminata* อาจมีเมล็ดได้ (Kobayashi, 1985)

การเป็นหมันส่งผลให้เมล็ดไม่เจริญ อาจเป็นเมล็ดลีบ ดังที่พบในแตงโมหรือไม่เกิดเมล็ดเลย ในกรณีของกล้วยปลูก ทั้งนี้ เพราะมีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม โดยเฉพาะการเปลี่ยนแปลงของ gene ที่ควบคุมการติดเมล็ด (ซึ่งมีหลายปัจจัย) ถึงแม้ว่าจะมีการถ่ายละอองเรณูแก่เกสรเพศเมียก็อาจจะไม่เกิดเมล็ดขึ้นเช่นกัน

ในกรณีการคัดเลือกโดยมนุษย์ *Musa acuminata* ซึ่งแต่เดิมมีผลขนาดเล็กเต็มไปด้วยเมล็ด พัฒนาขึ้นมามีผลขนาดใหญ่อันเนื่องมาจาก parthenocarpy และผลของการเป็นหมัน ทำให้มนุษย์คัดเลือกเอาไว้ปลูกเพื่อกินในลำดับต่อไป (Simmonds,1962) ในการสืบพันธุ์นั้น กล้วยจะใช้หน่อที่เกิดขึ้นตามโคนต้นซึ่งจะมีอยู่มากมาย ถึงแม้ว่าจะไม่มีเมล็ดมนุษย์ก็สามารถใช้หน่อในการขยายพันธุ์ได้ (Reynolde, 1929)

การกลายพันธุ์ เป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นในธรรมชาติ จากการเปลี่ยนแปลงของ gene ที่ควบคุมลักษณะ phenotype ต่างๆ สำหรับในกล้วยการกลายพันธุ์เกิดขึ้นอย่างเช่น การเปลี่ยนแปลงของรสชาติ ไม่ว่าการทำให้รสหอมหวานขึ้น หรือการเปลี่ยนแปลงในขนาด สีสัน รูปร่าง ฯลฯ ประกอบกับการเพิ่มชุดของโครโมโซมส่งผลให้พืชมีจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้น เป็นตัวคูณของโครโมโซมชุดพื้นฐาน เช่น 2n = 2x กลายเป็น 2n = 3x (triploid), 4x (tetraploid) กลุ่มพืช polyploidy มักจะมีขนาดที่ใหญ่โต ปราศจากเมล็ด มีรสชาติดีขึ้น แข็งแรง จึงเป็นที่ต้องการของมนุษย์ การเกิด polyploidy เกิดได้มาจากหลายสาเหตุแต่สาเหตุที่สำคัญก็คือการเกิด restitution nucleus ในรังไข่ อันเนื่องมาจากความผิดปรกติในการแบ่งเซลล์แบบ meiosis ของเซลล์สืบพันธุ์ทำให้เซลล์สืบพันธุ์ที่เกิดใหม่มีจำนวนโครโมโซม polyploidy แทนที่จะเป็น n เพราะโครโมโซมที่เพิ่มขึ้นเป็นสองเท่าไม่แยกออกจากกันไปสู่เซลล์ที่เกิดใหม่ทั้งสองเซลล์ เมื่อไข่ 2x ไปผสมกับ sperm ที่มี x เดียว ก็เกิดเป็น zygote ที่มี 3x กลายเป็นพืช triploid ในทำนองเดียวกัน เมื่อไข่ 3x ผสมกับ sperm ที่มี x เดียว ก็เกิดเป็น zygote ที่มี 4x กลายเป็นพืช tetraploid ทำให้เกิดกล้วยพันธุ์ต่างๆขึ้นดังเช่นในปัจจุบัน (ณรงค์, 2546)

การเกิดการผสมข้ามระหว่างชนิดเป็นปัจจัยที่ช่วยเพิ่มจำนวนพันธุ์ปลูกของกล้วย เบญจมาศ (2538) พบว่า การแลกเปลี่ยนชุด gene บนโครโมโซมแบบ differentiated interchange แบบ structural change ทำให้เกิดชนิดย่อยขึ้นและเกิดการผสมข้ามระหว่างชนิดย่อย ดังเช่น การเกิดกล้วยไข่ เชื่อว่าเกิดจาก *Musa acuminata* Colla ssp. *burmanica* ผสมกับ Pisang Linlin (น่าจะเป็น *Musa acuminata* Colla ssp. *malaccensis*) และพบการแบ่งเซลล์ในระยะ metaphase เกิด floating interchange อยู่ 1 แห่ง และ 2 subspecific differentiation จะมีการคัดเลือกโดยมนุษย์ถึงลักษณะการเป็นหมันไม่มีเมล็ดต่อไป ดังภาพที่ 4



ภาพที่ 4 การผสมข้ามพันธุ์และการเกิดวิวัฒนาการของกล้วยรับประทานได้ในปัจจุบัน

ที่มา: (Valmayor *et al*, 2000)

ต่อมาเมื่อเทคโนโลยีทางด้านชีวโมเลกุลมีความก้าวหน้ามากขึ้น ได้มีการพิสูจน์เกี่ยวกับวิวัฒนาการของกล้วยที่รับประทานกันอยู่ในปัจจุบันว่ามีการพัฒนามาจากกล้วยชนิดใดโดย Carreel (1995) ได้ให้สมมุติฐานว่า การเข้าคู่กันของโครโมโซม หรือ ชุดจีโนมของชนิดย่อยต่างๆของ *Musa acuminata* ที่เข้าไปมีส่วนร่วมในการเกิดกล้วยรับประทานได้ในยุคแรกๆของวิวัฒนาการจะเป็นกล้วยที่เกิดจาก *Musa acuminata* ssp. *banksii* และ *Musa acuminata* ssp. *errans* จะมีแป้งมาก และชี้ให้เห็นว่า การเกิดลูกผสมจาก *Musa acuminata* ssp. *malaccensis* หรือ *Musa acuminata* ssp. *zebrina* ที่มีถิ่นกำเนิดบริเวณประเทศอินโดนีเซียและมาเลเซียกล้วยในถิ่นกำเนิดนั้นจะมีรสหวาน จนสามารถกล่าวได้ว่าลูกผสมของ *Musa acuminata* และ *Musa balbisiana* ที่เกิดขึ้นที่ฟิลิปปินส์และได้มีการกระจายไปยัง อินโดจีน ตอนเหนือของพม่า และอินเดีย ผลจากการศึกษายังชี้ให้เห็นว่า กล้วยที่มีชุดจีโนม AAA ที่พบได้ทั่วไป ได้เกิดวิวัฒนาการในลำดับต่อมา (secondary centre of diversity) ในแอฟริกา ประกอบด้วย *Musa acuminata* ssp. *banksii* และ *Musa acuminata* ssp. *zebrina* จนกล่าวได้ว่า กล้วยที่ปลูกอยู่บริเวณพื้นที่สูงของแอฟริกานั้นน่าจะมาจากแหล่งพันธุกรรมบริเวณตะวันตกของอินโดนีเซียคือ *Musa acuminata* ssp. *zebrina* และเขายืนยันว่า A จีโนมของ กล้วยกล้าย และ Maoli เกิดจาก *Musa acuminata* ssp. *banksii* (เบญจมาศ, 2538)

5. <u>การศึกษาทางชีวโมเลกุลของกล้วย</u>

ในปัจจุบันการจำแนกชนิดของกล้วยมีอยู่มากมายหลายวิธี เนื่องมาจากความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีในด้านต่างๆทำให้ทราบว่ากล้วยชนิดต่างๆมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมกันในรูปแบบใดและสามารถบ่งบอกถึงลักษณะความจำเพาะเจาะจงของชนิดและจัดจำแนกชนิดที่มีความใกล้เคียงกันมากๆในระดับชนิดย่อยได้ การจำแนกชนิดของสิ่งมีชีวิตในปัจจุบันได้มีการพัฒนาวิธีการต่างๆเข้ามาช่วยเพิ่มประสิทธิภาพและความแม่นยำในการจำแนก ตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบันในการศึกษาความหลากชนิดของสิ่งมีชีวิตนั้นทำได้โดยการศึกษาอนุกรมวิธาน การเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพ สัณฐานวิทยา ลักษณะเอมบริโอและสรีรวิทยา เป็นวิธีที่ใช้กันมานานและยังคงได้ผลดีในปัจจุบัน (Primrose, 1995) แต่บางครั้งก็เกิดความผิดพลาดได้ในบางกรณีที่มีความใกล้เคียงกันมากจำเป็นต้องให้ผู้ที่มีความชำนาญเท่านั้นจำแนกได้ ดังเช่น ในกรณีของพรรณไม้ป่าหรือไม้ผลที่มีระยะเวลาในการออกดอกออกผลค่อนข้างยาวนาน ส่งผลให้เสียเวลาในการเฝ้ารอระยะเวลาของการเก็บรวบรวมข้อมูล ต่อมาเมื่อมีการนำวิธีการวิเคราะห์ในระดับโมเลกุลโดยใช้เครื่องหมายทางชีวโมเลกุลที่แสดงความแตกต่างหรือ polymorphic ในระดับโปรตีนและดีเอ็นเอ โดยเครื่องหมายโมเลกุลเป็นส่วนช่วยที่สำคัญในการจำแนกหรือตรวจสอบชนิดพืชหรือสัตว์ที่

สามารถตรวจสอบได้ตั้งแต่ต้นกล้าถึงต้นที่โตแล้ว รวมไปถึงการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม และการปรับปรุงพันธุ์พืชได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น(สุรินทร์, 2540)

สำหรับเครื่องหมายทางโมเลกุลมี 2 ระดับ คือ ระดับโปรตีนและระดับดีเอ็นเอ เครื่องหมายทางโมเลกุลระดับโปรตีนเป็นเครื่องหมายที่ใช้ในการตรวจสอบโมเลกุลของโปรตีนชนิดต่างๆโดยใช้ความแตกต่างของโมเลกุลและใช้วิธีการแยกโมเลกุลของโปรตีนด้วยเทคนิค electrophoresis เพื่อย้อมดูแถบสีของโปรตีนจำเพาะโดยใช้สารที่เหมาะสมหรือใช้ตรวจสอบรูปแบบของเอนไซม์บางชนิดหรือไอโซไซม์ต่างๆ (Jeffreys *et al*. 1985)

เครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker) หมายถึง ดีเอ็นเอที่ใช้เป็นเครื่องหมายบ่งชี้ความจำเพาะของสิ่งมีชีวิตตัวหนึ่ง พันธุ์หนึ่ง หรือชนิดหนึ่ง หรือในระดับต่างชนิดเป็นดีเอ็นเอที่อยู่ที่ตำแหน่งหนึ่งๆบนโครโมโซมที่เป็นนิวเคลียดีเอ็นเอหรือดีเอ็นเอในออร์แกเนลล์ (mitochondrial DNA หรือ chloroplast DNA) การที่ใช้ดีเอ็นเอเป็นเครื่องหมายได้เกิดจากความแปรปรวน (variation) ของ nucleotide ในโมเลกุลของดีเอ็นเอหรือเกิด polymorphic ของลำดับเบสในโมเลกุลของดีเอ็นเอนั่นเอง (สุรินทร์, 2539) ที่มาของการศึกษาเครื่องหมายดีเอ็นเอเพื่อใช้บ่งชี้ความแตกต่าง ความหลากหลายทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตทั้งทางปริมาณและคุณภาพ อาจเป็นการจำแนกความแตกต่างภายในชนิดหรือระหว่างชนิดและภายในประชากรก็ได้ (De Langhe, 1986)

การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอในปัจจุบันยังหมายรวมถึงวิธีการตรวจสอบดีเอ็นเอโดยการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค PCR ซึ่งเป็นการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากหลายตำแหน่งพร้อมๆกัน โดยเอนไซม์ DNA polymerase สังเคราะห์ดีเอ็นเอซ้ำๆกันหลายรอบจนกว่าจะได้ปริมาณเท่าที่ต้องการ ซึ่งในปฏิกิริยา PCR จำเป็นต้องอาศัยองค์ประกอบต่างๆ คือ ดีเอ็นเอต้นแบบ, nucleotide 4 ชนิด, buffer, เอนไซม์ *Taq* DNA polymerase, $MgCl_2$ และ ไพรเมอร์ โดยใช้ไพรเมอร์ 2 ชนิดที่จำเพาะกับช่วงของดีเอ็นเอหรือ gene หนึ่งๆโดยต้องทราบลำดับเบสของดีเอ็นเอเป้าหมายก่อนเพื่อเป็นข้อมูลในการสังเคราะห์ไพรเมอร์ โดยไพรเมอร์ที่ใช้จะเข้าเกาะกับดีเอ็นเอเป้าหมายคนละสายและมีปลาย 3′ ในทิศทางเข้าหากัน บริเวณหรือชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่เกิดจากการสังเคราะห์เพิ่มปริมาณจะมีขนาดความยาวเท่ากับชิ้นดีเอ็นเอจากปลายของไพรเมอร์ชนิดหนึ่งถึงปลายของไพรเมอร์อีกชนิดหนึ่ง (สุรินทร์, 2540)

6. <u>เทคนิค ISSR (inter - simple sequence repeat)</u>

ISSR เป็นชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างชุดซ้ำ (repeat sequence) ซึ่งขนาดของ ISSR จะขึ้นอยู่กับระยะห่างของชุดซ้ำ ซึ่งชุดซ้ำจะมีขนาด 1-4 คู่เบส หรือไม่เกิน 10 คู่เบส เช่น $(dA.dT)_n$ $(dCA.dTG)_n$ และ $(dCT.dAG)_n$ชุดซ้ำที่เป็น 3 หรือ 4 คู่เบสก็พบได้เช่นกันแต่พบได้น้อยกว่า ดังนั้นในการสังเคราะห์ไพรเมอร์จำเป็นต้องอาศัยชุดซ้ำดังกล่าวในการออกแบบสังเคราะห์ไพรเมอร์ และ repeat sequence พบกระจายอยู่ทั่วจีโนม ดังนั้นจึงสามารถตรวจสอบสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอได้ครอบคลุมทั้งจีโนม (Godwin, 2005) ปัจจุบันมีการใช้ ISSR กันมากในการศึกษาแผนที่ของจีโนมและจำแนกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตโดยวิธีวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ใช้ดีเอ็นเอจำนวนน้อยวิเคราะห์ผลทำได้ง่ายเนื่องจากใช้การสังเกตแถบดีเอ็นเอและบอกความสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิตระหว่างชนิดหรือแม้กระทั่งระหว่างสกุลได้และสามารถปรับใช้ในการทำแผนที่ยีน (genetic linkage map) บนโครโมโซมได้ (อัญมนี, 2544)

7. <u>งานวิจัยทางชีวโมเลกุลของกล้วย</u>

Jarret (1986) วิเคราะห์ชุดโครโมโซมของกล้วยด้วยไอโซไซม์ (isozyme) โดยใช้เอนไซม์ shikimic acid dehydrogenase (SKDH), malate dehydragenase (MDH), glutamate oxaloacetate transaminase (GOT) และ peroxidase ในการศึกษาสามารถทำให้แบ่งชุดของโครโมโซมกล้วยได้เด่นชัดขึ้นและสามารถจำแนกชนิดย่อยของ *Musa acuminata* ได้แต่การจำแนกกลุ่มพันธุ์ยังไม่สามารถทำโดยใช้เอนไซม์

เกษมศักดิ์ (2535) ศึกษาการจำแนกชุดจีโนมของกล้วยทั้ง *Musa acuminata* และกล้วยปลูกในประเทศไทย พบว่า ไอโซไซม์ GTO ทำให้เกิดแถบสีที่ทำให้แยกกล้วยที่มีโครโมโซมชุด AA AAA AAB ออกจาก ABB ABBB และ BBB ได้และสามารถแยก ABB ออกจาก ABBB และ BBB และแถบสีของเอนไซม์ GOT ยังแยก ABB ABBB BB ออกจาก BBB ได้

Carreel (1995) เปรียบเทียบดีเอ็นเอจากคลอโรพลาสต์และไมโตคอนเดรีย โดยใช้เทคนิค RFLP (restriction fragment length polymorphism) วิเคราะห์กล้วยชุดจีโนม AA จำนวน 128 โคลน และชุดจีโนมอื่นอีก 115 โคลน พบว่าในชุดจีโนม AA 128 โคลน พบดีเอ็นเอของ *Musa acuminata* ssp. *banksii* และ *Musa acuminata* ssp. *errans* ทุกโคลน และในชุดจีโนมอื่นที่ทำการทดลองก็

พบดีเอ็นเอของ *Musa acuminata* ssp. *banksii* และ *Musa acuminata* ssp. *errans* อีกจำนวน 111 โคลน ดังนั้นจึงอาจสรุปว่ากลุ่มพันธุ์ที่เป็นต้นกำเนิดของสายวิวัฒนาการของกล้วยที่รับประทานได้อยู่ในปัจจุบันอาจเกิดมาจาก *Musa acuminata* ssp. *banksii* และ *Musa acuminata* ssp. *errans* ขณะที่กล้วย *Musa acuminata* ssp. *banksii* มีถิ่นกำเนิดบริเวณประเทศปาปัวนิวกินี และ *Musa acuminata* ssp. *errans* มีถิ่นกำเนิดอยู่ที่ฟิลิปปินส์ ดังนั้นกล้วยรับประทานได้น่าจะมีแหล่งกำเนิดมาจาก 2 ประเทศดังกล่าวหรือประเทศใดประเทศหนึ่ง เนื่องจากกล้วยปลูกชุดจีโนม AA ที่เป็นพันธุ์พื้นเมืองพบมากในประเทศปาปัวนิวกินี มากกว่าที่พบในประเทศมาเลเซียและฟิลิปปินส์ (Stover and Simmonds, 1987) ดังนั้น ปาปัวนิวกินี น่าจะเป็นถิ่นกำเนิดแรกของกล้วยรับประทานได้

อัญมณี (2544) ได้ศึกษาจีโนมกล้วยด้วยการตรวจสอบดีเอ็นเอบริเวณ simple sequence repeat (SSR) ร่วมกับการทำ genomic *in situ* hybridization (GISH) ใน *Musa acuminata* และกล้วยลูกผสมของไทย พบว่าจีโนม A ที่พบในกล้วยไข่ หอมทอง ร้อยหวี และ กล้วยน้ำว้า ต่างมีแถบดีเอ็นเอเหมือนกับกล้วยป่าแพร่ และ กล้วยป่าพัทลุง และดีเอ็นเอของกล้วยจีโนม B สามารถไฮบริไดซ์กับโครโมโซมของ *Musa acuminata* ซึ่งมีจีโนม A ได้และสรุปได้ว่า จีโนม A ของกล้วยน้ำว้ามาจากกล้วยป่าพัทลุง ส่วนจีโนม B มาจากกล้วยตานี สำหรับกล้วยร้อยหวีนั้นจีโนม A มาจากทั้งกล้วยป่าแพร่และกล้วยป่าพัทลุง

สมจิตต์ และคณะ (2544) จำแนกพันธุ์กล้วยน้ำว้าโดยเทคนิค RAPD จากการทดลองใช้ไพรเมอร์จำนวน 22 ชนิด ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของกล้วยน้ำว้า จำนวน 19 พันธุ์ โดยเทคนิค RAPD ผลปรากฏว่า มีไพรเมอร์ 11 ชนิด เท่านั้นที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของกล้วยน้ำว้าทั้ง 19 พันธุ์ได้ โดยให้แถบดีเอ็นเอที่สามารถตรวจสอบได้ 151 แถบ มีขนาดดีเอ็นเอตั้งแต่ 210-2443 คู่เบส โดยมี polymorphic bands 114 แถบนอกจากนี้ยังพบว่ามีไพรเมอร์ 5 ชนิด ที่ให้แถบดีเอ็นเอที่เฉพาะในกล้วยบางพันธุ์ คือ ไพรเมอร์ OPA-13 ให้แถบดีเอ็นเอที่เฉพาะขนาด 1404 และ 907 คู่เบสในกล้วยน้ำว้ามุกดาหาร และ ไพรเมอร์ OPC-11, OPC-15, OPD-03 และ OPD-13 ให้แถบดีเอ็นเอที่เฉพาะขนาด 1250, 473, 967 และ 742 bp ในกล้วยน้ำว้านครศรีธรรมราช น้ำว้าไส้เหลือง น้ำว้าอ่องชัยภูมิ และน้ำว้าสุรินทร์ ตามลำดับ

Pillay *et al*. (2000) ใช้เทคนิคทาง RAPD ในการจำแนกชุดจีโนมของกล้วย (A and B genome) โดยใช้ไพรเมอร์ขนาด 10 นิวคลีโอไทด์จำนวน 80 ไพรเมอร์ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของกล้วย *Musa acuminata* ssp. *burmannicoides* โคลน Calcutta 4 (AA genome) และ *Musa*

balbisiana โคลน Honduras (BB genome) พบว่า ไพรเมอร์จำนวน 3 ชนิดประกอบไปด้วย A17, A18, และD10 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นและให้แถบดีเอ็นเอที่เฉพาะในกล้วยที่ใช้ในการจำแนกทั้งสองชนิดได้

Hewell *et al*. (1994) ใช้เทคนิคทาง RAPD สามารถแยกกล้วย *Musa acuminata* ssp. *burmanica* ออกจาก *Musa acuminata Colla* ssp. *malaccensis* ได้โดยใช้ไพรเมอร์ขนาด 10 เบส จำนวน 13 ไพรเมอร์ได้ชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาดต่างๆ 116 ชิ้นส่วนที่เพิ่มปริมาณจากไพเมอร์ 9 ชนิด และความสัมพันธ์ของกล้วยในชุดจีโนมอื่นๆที่นำมาทดลองก็ให้ผลในแนวทางเดียวกับการจัดกลุ่มด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

Olivia *et al*. (1996) ใช้เทคนิคทาง RAPD ในการตรวจสอบลักษณะสัณฐานวิทยาของกล้วยที่ทำให้ต้นเตี้ยในส่วนของเซลล์สืบพันธุ์ของกล้วยหอม Cavendish (AAA genome) โดยทดลองกับตัวอย่างที่มีลักษณะปกติ 57 ตัวอย่างและลักษณะต้นเตี้ย 59 ตัวอย่าง พบว่า ไพรเมอร์ 19 ชนิดจากทั้งหมด 66 ชนิดสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอและแสดงความเป็น polymorphic ได้ระหว่างพันธุ์ที่มีลักษณะปกติและมีลักษณะต้นเตี้ย คิดเป็น 28.8 เปอร์เซ็นต์ แต่ไพรเมอร์ OPJ-04 จะปรากฏแถบดีเอ็นเอขนาด 1.5 กิโลเบสได้เฉพาะในพันธุ์ปกติเท่านั้นและไม่พบแถบของดีเอ็นเอ OPJ-04 ในพันธุ์ที่มีลักษณะต้นเตี้ย ดังนั้นเทคนิคทาง RAPD น่าจะเป็นเครื่องมือในการตรวจสอบพันธุ์ที่มีลักษณะต้นเตี้ยได้

Lysak *et al*. (1999) ได้ทดลองหาขนาดจีโนมของกล้วย พบว่า กล้วยจีโนม A มีขนาดใหญ่กว่ากล้วยในจีโนม B 12 เปอร์เซ็นต์ ขนาดของกล้วยในจีโนม B เช่น กล้วย *Musa balbisiana* มีขนาดจีโนมเฉลี่ย 537 Mbp ส่วนขนาดของจีโนม A ของ *Musa acuminata* ในพันธุ์ต่างๆอยู่ในช่วงเฉลี่ย 591-615 Mbp เช่น กล้วยป่าระยอง (AA) มีขนาด 608 Mbp ขนาดจีโนมของกล้วย ทริพลอยด์ไม่มีความแตกต่างจากกล้วยดิพลอยด์โดยกล้วย Red Dacca, Gros Michel, Gran Enano (AAA) มีขนาด 590-613 Mbp กล้วย Agbagba, Obinol Ewai, Prata (AAB) มีขนาด 559-587 Mbp และกล้วย Pelipita (ABB) มีขนาด 563 Mbp ตามลำดับ

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

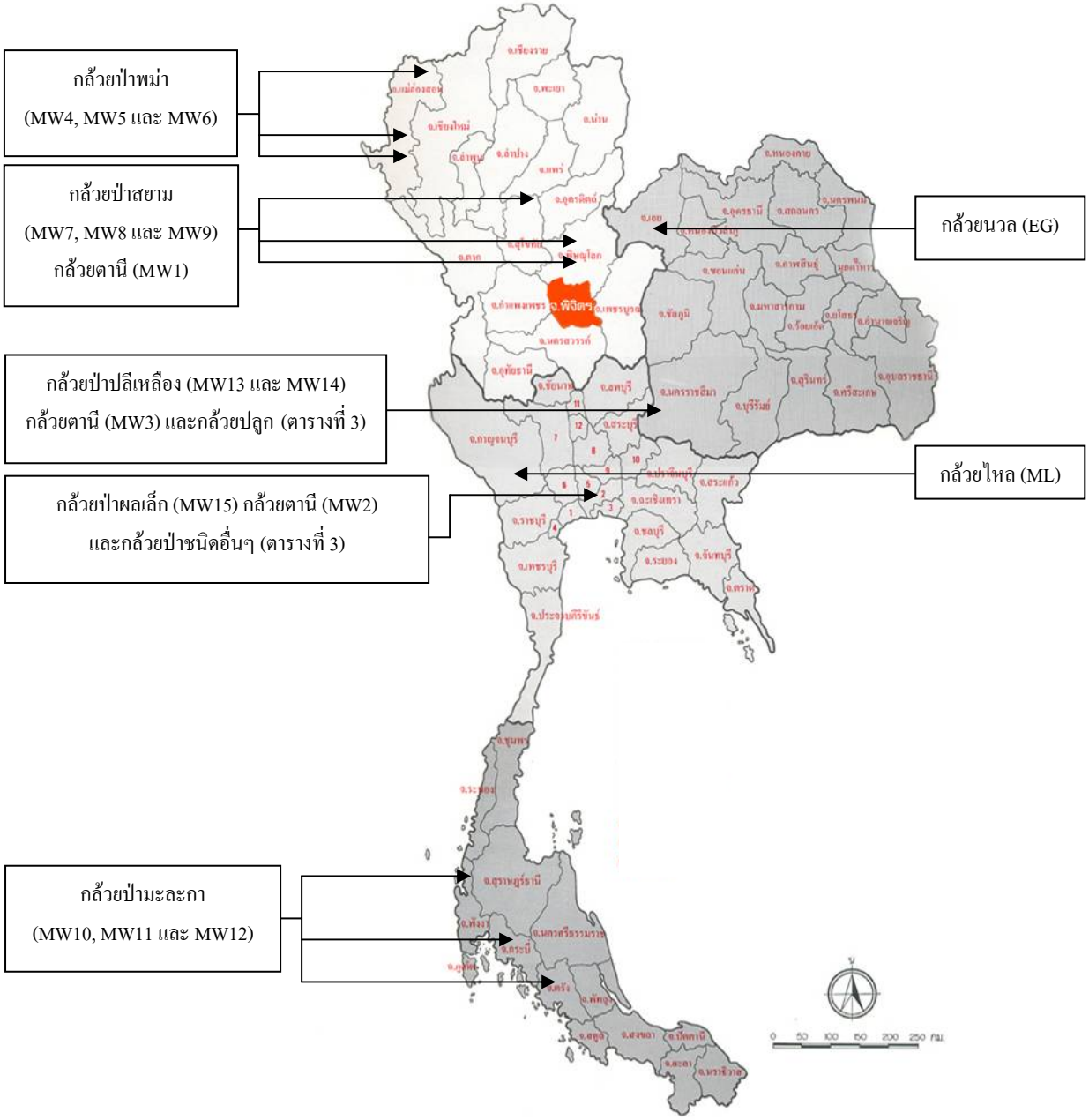
1. ตัวอย่างพืช

ตัวอย่างกล้วยที่นำมาทดลองได้รับความอนุเคราะห์จากแปลงรวบรวมพันธุ์กล้วยสถานีวิจัยปากช่อง จังหวัดนครราชสีมาและเก็บรวบรวมจาก อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี อำเภอนากลาง จังหวัดเลย ประกอบด้วยกล้วยที่เป็นตัวอย่างกล้วยป่าพื้นเมืองและกล้วยปลูกที่เป็นตัวแทนของชุดจีโนมต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 3

2. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ

2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ ได้แก่ โกร่งบดยา อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ตู้เย็นหรือตู้แช่ (refrigeraton and material storage) ตู้อบ (dry oven) ไมโครไปเปต (micro pipet) เครื่องชั่ง (balance meter) หลอดทดลอง (eppendorf tube) หลอดทดลองขนาดเล็ก (micro tube)

2.2 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ ได้แก่ สารละลาย extraction buffer (2% w/v CTAB, 1.4 M NaCl, 20 mM EDTA, 100 mM Tris-HCl (pH 8), 1% w/v PVP (polyvinylpyrrolidon)) สารละลาย 2-mercaptoethanol สารละลาย chloroform : isoamyl alcohol (24 : 1) สารละลาย phenol : chloroform : isoamyl alcohol (25 : 24 : 1) สารละลาย isopropanol สารละลาย wash buffer (76% ethanol, 10 mM ammonium acetate) สารละลาย TE buffer (2 M Tris-HCl (pH 8), 0.5 M EDTA) สารละลาย 1x TBE buffer เอ็นไซม์ RNase A สารละลาย 3M sodium acetate pH 5.2 สารละลาย absolute ethanol สารละลาย 75% ethanol และไนโตรเจนเหลว



ภาพที่ 5 สถานที่เก็บตัวอย่างกล้วยที่ใช้ในงานวิจัย

ตารางที่ 3 ชื่อพฤกษศาสตร์ ชื่อชนิดย่อย ชื่อพันธุ์ปลูก ชุดจีโนม ชื่อพื้นเมือง สถานที่เก็บและหมายเลขตัวอย่างของกล้วยที่ใช้ในงานวิจัย

สกุล	เซคชั่น	ชนิด	ชนิดย่อย	พันธุ์ปลูก	ชุดจีโนม	ชื่อพื้นเมือง	แหล่งเก็บตัวอย่าง (อำเภอ, จังหวัด)	รหัส
Musa	Eumusa	*Musa balbisiana*	-	-	BB	กล้วยตานี	ศรีนคร, สุโขทัย	MW1
Musa	Eumusa	*Musa balbisiana*	-	-	BB	กล้วยตานี	บางเขน, กทม.	MW2
Musa	Eumusa	*Musa balbisiana*	-	-	BB	กล้วยตานี	ปากช่อง, นครราชสีมา	MW3
Musa	Eumusa	*Musa acuminata*	*burmannica*	-	AA	กล้วยป่าพม่า	เมือง, แม่ฮ่องสอน	MW4
Musa	Eumusa	*Musa acuminata*	*burmannica*	-	AA	กล้วยป่าพม่า	เมือง, แม่ฮ่องสอน	MW5
Musa	Eumusa	*Musa acuminata*	*burmannica*	-	AA	กล้วยป่าพม่า	เมือง, แม่ฮ่องสอน	MW6
Musa	Eumusa	*Musa acuminata*	*siamea*	-	AA	กล้วยป่าสยาม	นครไทย, พิษณุโลก	MW7
Musa	Eumusa	*Musa acuminata*	*siamea*	-	AA	กล้วยป่าสยาม	นครไทย, พิษณุโลก	MW8
Musa	Eumusa	*Musa acuminata*	*siamea*	-	AA	กล้วยป่าสยาม	ศรีสัชนาลัย, สุโขทัย	MW9
Musa	Eumusa	*Musa acuminata*	*malaccensis*	-	AA	กล้วยป่ามะละกา	นาโยง, ตรัง	MW10
Musa	Eumusa	*Musa acuminata*	*malaccensis*	-	AA	กล้วยป่ามะละกา	เมือง, กระบี่	MW11
Musa	Eumusa	*Musa acuminata*	*malaccensis*	-	AA	กล้วยป่ามะละกา	ตะกั่วป่า, พังงา	MW12
Musa	Eumusa	*Musa acuminata*	*banksii*	-	AA	กล้วยป่าปลีเหลือง	ปากช่อง, นครราชสีมา	MW13
Musa	Eumusa	*Musa acuminata*	*banksii*	-	AA	กล้วยป่าปลีเหลือง	ปากช่อง, นครราชสีมา	MW14

ตารางที่ 3 (ต่อ)

สกุล	เซคชั่น	ชนิด	ชนิดย่อย	พันธุ์ปลูก	ชุดจีโนม	ชื่อพื้นเมือง	แหล่งเก็บตัวอย่าง (อำเภอ, จังหวัด)	รหัส
Musa	Eumusa	*Musa acuminata*	*microcarpa*	-	AA	กล้วยป่าผลเล็ก	บางบัวทอง, นนทบุรี	MW15
Musa	Eumusa	*Musa itinerans*	-	-	-	กล้วยหก	ปากช่อง, นครราชสีมา	MI
Musa	Rhodochlamys	*Musa laterita*	-	-	-	กล้วยไหล	ทองผาภูมิ, กาญจนบุรี	ML
Musa	Callimusa	*Musa coccinea*	-	-	-	กล้วยรัตกัทรี	จตุจักร, กทม.	MCo
Ensete	-	*Ensete glaucum*	-	-	-	กล้วยนวล	นากลาง, เลย	EG
Musa	Eumusa	Musa (AA group)	-	“Kluai Hom Jom Pa”	AA	กล้วยหอมจำปา	ปากช่อง, นครราชสีมา	MC1
Musa	Eumusa	Musa (AA group)	-	“Kluai Nam Thai”	AA	กล้วยน้ำไท	ปากช่อง, นครราชสีมา	MC2
Musa	Eumusa	Musa (AA group)	-	“Kluai Khai Thong Neoy”	AA	กล้วยไข่ทองเงย	ปากช่อง, นครราชสีมา	MC3
Musa	Eumusa	Musa (AA group)	-	“Kluai Khai Thong Roung”	AA	กล้วยไข่ทองร่วง	ปากช่อง, นครราชสีมา	MC4
Musa	Eumusa	Musa (AA group)	-	“Kluai Leb Mu Nang”	AA	กล้วยเล็บมือนาง	ปากช่อง, นครราชสีมา	MC5
Musa	Eumusa	Musa (AAA group)	-	“Kluai Hom Khieo Kom”	AAA	กล้วยหอมเขียวค่อม	ปากช่อง, นครราชสีมา	MC6
Musa	Eumusa	Musa (AAA group)	-	“Kluai Nak Dang”	AAA	กล้วยนากแดง	ปากช่อง, นครราชสีมา	MC7
Musa	Eumusa	Musa (AAA group)	-	“Kluai Khai BW. 2”	AAA	กล้วยไข่ บว. 2	ปากช่อง, นครราชสีมา	MC8
Musa	Eumusa	Musa (AAA group)	-	“Kluai Khai Pratabong”	AAA	กล้วยไข่พระตะบอง	ปากช่อง, นครราชสีมา	MC9
Musa	Eumusa	Musa (AAA group)	-	“Kluai Hom Thong”	AAA	กล้วยหอมทอง	ปากช่อง, นครราชสีมา	MC10

ตารางที่ 3 (ต่อ)

สกุล	เซคชั่น	ชนิด	ชนิดย่อย	พันธุ์ปลูก	ชุดจีโนม	ชื่อพื้นเมือง	แหล่งเก็บตัวอย่าง (อำเภอ, จังหวัด)	รหัส
Musa	Eumusa	Musa (AAB group)	-	“Kluai Klai”	AAB	กล้วยกล้าย	ปากช่อง, นครราชสีมา	MC11
Musa	Eumusa	Musa (AAB group)	-	“Kluai Roiwi”	AAB	กล้วยร้อยหวี	ปากช่อง, นครราชสีมา	MC12
Musa	Eumusa	Musa (AAB group)	-	“Kluai Nom Sao”	AAB	กล้วยนมสาว	ปากช่อง, นครราชสีมา	MC13
Musa	Eumusa	Musa (AAB group)	-	“Kluai Nam Fad”	AAB	กล้วยน้ำฝาด	ปากช่อง, นครราชสีมา	MC14
Musa	Eumusa	Musa (AAB group)	-	“Kluai Nam Kab Dam”	AAB	กล้วยน้ำกาบดำ	ปากช่อง, นครราชสีมา	MC15
Musa	Eumusa	Musa (ABB group)	-	“Kluai Namwa Sai Leong”	ABB	กล้วยน้ำว้าไส้เหลือง	ปากช่อง, นครราชสีมา	MC16
Musa	Eumusa	Musa (ABB group)	-	“Kluai Namwa Dam”	ABB	กล้วยน้ำว้าดำ	ปากช่อง, นครราชสีมา	MC17
Musa	Eumusa	Musa (ABB group)	-	“Kluai Namwa Khom”	ABB	กล้วยน้ำว้าค่อม	ปากช่อง, นครราชสีมา	MC18
Musa	Eumusa	Musa (ABB group)	-	“Kluai Hak Muk Kheio”	ABB	กล้วยหักมุกเขียว	ปากช่อง, นครราชสีมา	MC19
Musa	Eumusa	Musa (ABB group)	-	“Kluai Hak Muk Khao”	ABB	กล้วยหักมุกขาว	ปากช่อง, นครราชสีมา	MC20
Musa	Eumusa	Musa(ABBB group)	-	“Kluai Theparod”	ABBB	กล้วยเทพรส	ปากช่อง, นครราชสีมา	MC21
Musa	Eumusa	Musa (BBB group)	-	“Kluai Thepanom”	BBB	กล้วยเทพพนม	ปากช่อง, นครราชสีมา	MC22
Musa	Eumusa	Musa (BBB group)	-	“Kluai Phama Hark Kuk”	BBB	กล้วยพม่าแหกคุก	ปากช่อง, นครราชสีมา	MC23
Musa	Eumusa	Musa (BBB group)	-	“Kluai Lep Chang Kut”	BBB	กล้วยเล็บช้างกุด	ปากช่อง, นครราชสีมา	MC24

ตารางที่ 3 (ต่อ)

สกุล	เซคชั่น	ชนิด	ชนิดย่อย	พันธุ์ปลูก	ชุดจีโนม	ชื่อพื้นเมือง	แหล่งเก็บตัวอย่าง (อำเภอ, จังหวัด)	รหัส
Musa	Eumusa	Musa (BBB group)	-	"Kluai Hin"	BBB	กล้วยหิน	ปากช่อง, นครราชสีมา	MC25
Musa	Eumusa	Musa (AA group)	-	"Kluai Nam Thai"	AA	กล้วยน้ำไท	บางบัวทอง, นนทบุรี	MC26

หมายเหตุ การจัดจำแนกพันธุ์กล้วยปลูกออกเป็นชุดจีโนมต่างๆอ้างอิงจาก เบญจมาศ (2538)

3. <u>อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการตรวจสอบคุณภาพและวัดปริมาณดีเอ็นเอ</u>

3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจสอบคุณภาพและวัดปริมาณดีเอ็นเอ ได้แก่ ชุด electrophoresis equipment เครื่อง UV transilluminator อุปกรณ์ในการย้อมเจลและอุปกรณ์ในการถ่ายภาพ

3.2 สารเคมีที่ใช้ในการตรวจสอบคุณภาพและวัดปริมาณดีเอ็นเอ ได้แก่ agarose (Research Organics, INC.) สารละลาย 1x TBE buffer สารละลาย 6x loading buffer (0.25% bromphenol blue, 0.25% xylene cyanol FF, 30% glycerol) สารละลายดีเอ็นเอมาตรฐาน (100 bp DNA ladder plus) สารละลาย ethidium bromide (10 mg/ml)

4. <u>อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาและตรวจสอบ inter - simple sequence repeat</u>

4.1 อุปกรณ์และเครื่องมือในการทำปฏิกิริยาและตรวจสอบ inter - simple sequence repeat ได้แก่ เครื่อง PCR รุ่น iCycler BIO-RAD ไมโครไปเปต หลอดทดลองขนาดเล็ก เครื่องปั่นเหวี่ยงขนาดเล็ก (microcentrifuge)

4.2 สารเคมีที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาและตรวจสอบ inter - simple sequence repeat ได้แก่ 10x PCR buffer (15 mM $MgCl_2$, QIAGEN) แมกนีเซียมคลอไรด์ (25 mM $MgCl_2$, QIAGEN) เอ็นไซม์ *Taq* DNA polymerase (5unit/µl, QIAGEN) สารละลาย dNTP (10 mM, QIAGEN) สารละลาย mineral oil ไพรเมอร์ สารละลายดีเอ็นเอ (DNA template) และ น้ำกลั่นบริสุทธิ์

4.3 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการตรวจสอบผลผลิตที่ได้จากการทำปฏิกิริยาและตรวจสอบ inter - simple sequence repeat ได้แก่อุปกรณ์ต่างๆ ในข้อ 3

5. <u>อุปกรณ์ในการวิเคราะห์ผลลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากเทคนิค inter - simple sequence repeat</u>

5.1 โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป NTSYS pc รุ่น 2.01 (Rohlf, 1997) เพื่อวิเคราะห์หาค่าดัชนีความคล้ายคลึงและจัดทำแผนภาพความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ด้วยวิธี UPGMA (unweighted pair group method using arithmetic average)

วิธีการ

1. การเก็บรวบรวมตัวอย่างพืช

1.1 ทำการเก็บตัวอย่างกล้วยประกอบด้วยส่วนของ ช่อดอกเพศผู้ ใบ และผล จากถิ่นกระจายพันธุ์ตามธรรมชาติและแปลงรวบรวมพันธุ์กล้วยปลูก สถานีวิจัยปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา และจากอำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี อำเภอนากลาง จังหวัดเลย และบางตัวอย่างได้เก็บมาจากแหล่งเพาะปลูกของเกษตรกรรวมทั้งทำการจดบันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยาและนำมาปลูกไว้ที่สวนรุกขชาติ คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ดังภาพที่ 5

1.2 จัดจำแนกกล้วยตัวอย่างและจัดทำรูปวิธาน

2. การเตรียมดีเอ็นเอ

เตรียมดีเอ็นเอจากใบอ่อนของกล้วยโดยใช้วิธีประยุกต์จาก Agrawal *et al.* (1992) และ Doyle and Doyal (1990) มีวิธีการดังนี้

2.1 เลือกใบอ่อนและสดของกล้วยประมาณ 2-3 g และทำความสะอาดด้วยการล้างด้วยน้ำเปล่าประมาณ 2-3 ครั้งและสุดท้ายล้างด้วยน้ำกลั่น เช็ดให้แห้ง

2.2 นำ extraction buffer ใส่ในหลอดทดลอง จำนวน 20 ml และ เติม 2-mercaptoethanol จำนวน 200 µl นำไปอุ่นใน water bath 65 ° C นาน 10-15 นาที

2.3 นำตัวอย่างใบกล้วยประมาณ 2 g บดให้ละเอียดด้วยไนโตรเจนเหลวในโกร่งบดยา

2.4 ย้ายผงตัวอย่างลงในหลอดที่มี extraction buffer อยู่ก่อนแล้วผสมให้เข้ากันและนำไปอุ่นใน water bath 65 ° C นาน 45-60 นาที และค่อยๆผสมให้เข้ากันทุกๆ 15 นาที

2.5 นำตัวอย่างมาบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาประมาณ 5-10 นาที

2.6 เมื่อครบเวลาเติม chloroform : isoamyl alcohol (24 : 1) จำนวน 15 ml ผสมให้เข้ากันจนเป็นสีขาวขุ่น ประมาณ 15 นาที

2.7 นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 8,500 rpm อุณหภูมิ 4 ˚ C เป็นเวลา 10 นาที

2.8 ย้ายสารละลาย ซึ่งลอยตัวอยู่ด้านบนไปใส่ในหลอดทดลอง หลอดใหม่ ระวังอย่าให้ชิ้นส่วนของตัวอย่างติดมาด้วย

2.9 เติม 2-propanol จำนวน 15 ml ที่ผ่านการแช่เย็น -20˚ C แล้วค่อยๆผสมไปมาอย่างช้าๆ

2.10 นำไปแช่เย็นที่ -20 ˚ C นาน 30-45 นาที

2.11 นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 8,500 rpm อุณหภูมิ 4 ˚ C เป็นเวลา 10 นาที

2.12 เทสารละลายในหลอดทดลองออกเหลือไว้แต่เพียงตะกอนของดีเอ็นเอ แล้วเติม wash buffer จำนวน 5 ml เขย่าไปมาอย่างช้าๆ

2.13 นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 8,500 rpm อุณหภูมิ 4 ˚ C เป็นเวลา 10 นาที

2.14 หลังจากนั้นนำตะกอนดีเอ็นเอ ที่ได้ไปตากจนแห้งสนิท ประมาณ 10-30 นาที

2.15 เติม TE buffer 1-4 ml (ขึ้นอยู่กับปริมาณดีเอ็นเอที่ได้) เพื่อละลายดีเอ็นเอที่ได้ที่อุณหภูมิ 37˚ C ประมาณ 20-30 นาที

2.16 เติม RNase A (ความเข้มข้น 10 mg/ml) ในอัตราส่วน 1 ml TE buffer เติม RNase 4 µl และอุ่นที่อุณหภูมิ 37 ˚ C นาน 1 ชั่วโมง ในกรณีที่มีตะกอนให้นำไปปั่นที่ 8,500 rpm อุณหภูมิ 4 ˚ C นาน 10 นาที แล้วดูดเอาเฉพาะสารละลาย

2.17 เติม phenol : chloroform : isoamyl alcohol (25 : 24 : 1) จำนวน 500 µl เขย่าเบาๆแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 8,500 rpm อุณหภูมิ 4 ˚ C เป็นเวลา 10 นาที

2.18 สกัดด้วย chloroform : isoamyl alcohol (24 : 1) จำนวน 500 µl เขย่าเบาๆแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 8,500 rpm อุณหภูมิ 4 ˚ C เป็นเวลา 10 นาที

2.19 ย้ายสารละลายใส่ลงในหลอดทดลอง เติม 3M sodium acetate อัตราส่วน 1 ml TE buffer เติม 3M sodium acetate จำนวน 100 µl ผสมให้เข้ากันแล้วเติม absolute ethanol จำนวน 2.5 ml ต่อ TE buffer 1 ml ที่ผ่านการแช่เย็นที่ -20 ˚ C แล้วค่อยๆผสมไปมาอย่างช้าๆ แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm อุณหภูมิ 4 ˚ C นาน 10 นาที

2.20 ล้างตะกอนด้วยการเติม 75% ethanol จำนวน 1,000 µl แล้วเขย่าไปมาเบาๆ แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm อุณหภูมิ 4 ˚ C นาน 10 นาที และเติมล้างอีก 1 ครั้ง

2.21 นำตะกอนดีเอ็นเอ ไปตากจนแห้งสนิท ประมาณ 20 นาที

2.22 เติม TE buffer ประมาณ 200-500 µl เพื่อละลายตะกอนดีเอ็นเอจนหมดตามความเหมาะสมและนำไปเก็บไว้ที่ อุณหภูมิ -20 ˚ C จนกว่าจะนำไปใช้ต่อไป

3. <u>การตรวจสอบคุณภาพและวัดปริมาณดีเอ็นเอ</u>

การตรวจสอบคุณภาพและวัดปริมาณดีเอ็นเอสามารถกระทำได้โดย วัดการเรืองแสงของดีเอ็นเอที่จับตัวกับ ethidium bromide หลังจากแยกขนาดดีเอ็นเอโดยวิธี electrophoresis

3.1 วิธีวัดการเรืองแสงร่วมกับ ethidium bromide

โดยการนำดีเอ็นเอที่เตรียมได้มาทำ electrophoresis ใน agarose gel แล้วย้อมด้วย ethidium bromide โมเลกุลของ ethidium bromide จะเข้าไปแทรกอยู่ในเกลียวคู่ของดีเอ็นเอ และเมื่อนำไปส่องด้วยแสงอัลตราไวโอเลตจะเกิดการเรืองแสง โดยความเข้มของแสงเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณดีเอ็นเอ เมื่อเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐานที่ทราบปริมาณแล้วจะสามารถบอกปริมาณของดีเอ็นเอตัวอย่างโดยประมาณได้ โดยปริมาณที่ตรวจสอบได้จะเป็นระดับนาโนกรัม ดังนั้นในกรณีที่ปริมาณดีเอ็นเอมีน้อยไม่สามารถวัดการดูดกลืนแสงได้จะใช้วิธีนี้ นอกจากนี้การแยกขนาดดีเอ็นเอด้วยวิธี electrophoresis ยังสามารถบอกคุณภาพของดีเอ็นเอได้ว่ามีการปนเปื้อน

จากอาร์เอ็นเอ ซึ่งจะเห็นเคลื่อนที่ไปได้เร็วกว่าดีเอ็นเอหรือไม่และดีเอ็นเอที่ได้มีขนาดโมเลกุลขนาดไหน มีการแตกหักของโมเลกุลมากน้อยเพียงใด ซึ่งมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

3.1.1 เตรียมถาดสำหรับเท gel ในแนวราบและหวีให้เรียบร้อยและเช็ดหวีและถาดด้วย glycerol เพื่อช่วยในการหล่อลื่น

3.1.2 เตรียม 0.8 % agarose gel โดยการชั่ง agarose 0.8 g และเติม 1x TBE buffer จำนวน 100 ml

3.1.3 เขย่าเบาๆเพื่อช่วยในการละลายและอุ่นด้วยไมโครเวฟ ประมาณ 2 นาที

3.1.4 ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นลงที่อุณหภูมิประมาณ 50 - 55 ° C แล้วเทลงในถาดที่เตรียมไว้ โดยให้ gel หนาประมาณ 5 mm ระมัดระวังไม่ให้เกิดฟองอากาศ

3.1.5 ปล่อยให้ agarose gel เย็นลงจนแข็งตัวที่อุณหภูมิห้อง โดยใช้เวลาประมาณ 30-45 นาที แล้วจึงดึงหวีออก ระวังอย่าให้เกิดการฉีกขาด

3.1.6 เติม 1x TBE buffer ลงไปในถาดสำหรับเท gel เพื่อช่วยในการนำ gel ออกจากถาดได้ง่ายขึ้น

3.1.7 นำแผ่น gel วางลงในเครื่อง electrophoresis equipment แล้วใส่ 1x TBE buffer ให้ท่วม gel โดยให้สูงกว่าแผ่น gel ประมาณ 2-3 mm

3.1.8 ดูดสารละลายดีเอ็นเอ 5 µl ผสมกับ 6x loading buffer 1 µl แล้วหยอดลงใน gel ที่เตรียมไว้

3.1.9 ทำการหยดสารละลายดีเอ็นเอมาตรฐานเพื่อใช้เป็นตัวเปรียบเทียบความเข้มข้นของดีเอ็นเอ

3.1.10 ต่อกระแสไฟฟ้าเข้ากับเครื่อง electrophoresis equipment แล้วเปิดกระแสไฟฟ้าให้มีแรงเคลื่อนไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลาประมาณ 30-45 นาที

3.1.11 นำแผ่น gel ไปย้อมในสารละลาย ethidium bromide ประมาณ 5-15 นาที และนำไปล้างด้วยน้ำเปล่าที่สะอาดเพื่อล้าง ethidium bromide ประมาณ 5 นาที

3.1.12 นำแผ่น gel ที่ได้ไปเรืองแสงภายใต้แสงอัลตราไวโอเลตแล้วทำการบันทึกภาพเพื่อตรวจสอบการปนเปื้อนหรือการแตกหักของดีเอ็นเอและหาปริมาณความเข้มข้นของดีเอ็นเอ

4. <u>การตรวจสอบดีเอ็นเอโดยเทคนิค inter - simple sequence repeat</u>

การทำเทคนิค inter - simple sequence repeat เริ่มจากการตรวจหาไพรเมอร์ที่เหมาะสมโดยนำตัวอย่างดีเอ็นเอจำนวนหนึ่งมาทดสอบด้วยไพรเมอร์ชนิดต่างๆเพื่อตรวจหาชนิดไพรเมอร์ที่เหมาะสมที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

4.1 เลือกชนิดไพรเมอร์ที่เหมาะสมในการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ

4.2 ขั้นตอนและการเตรียมปฏิกิริยา

ขั้นตอนและวิธีการเตรียมปฏิกิริยาในการทำเทคนิค inter - simple sequence repeat มีขั้นตอนดังนี้

4.2.1 เตรียมสารละลายต่างๆ ซึ่งประกอบไปด้วย ดีเอ็นเอ (genomic DNA) เอนไซม์ *Taq* DNA polymerase ไพรเมอร์ สารละลาย dNTP แมกนีเซียมคลอไรด์ 10x PCR buffer น้ำกลั่นบริสุทธิ์และสารละลายดีเอ็นเอมาตรฐาน ดังตารางที่ 4 ผสมลงในหลอดทดลองขนาดเล็กและเติม mineral oil จำนวน 1-2 หยด ในกรณีที่เครื่อง PCR ไม่มีระบบให้ความร้อนที่ฝาเพื่อป้องกันการระเหยของสารละลายต่างๆในปฏิกิริยา

4.2.2 ทำการปั่นเหวี่ยงที่ 8,500 rpm ที่อุณหภูมิ 25 ° C ประมาณ 5-7 วินาที

4.2.3 นำเข้าเครื่อง PCR โดยตั้งอุณหภูมิและเวลาดังตารางที่ 5

ตารางที่ 4 ความเข้มข้นของสารที่ใช้เป็นองค์ประกอบต่างๆในปฏิกิริยา PCR

สารที่ใช้	ปริมาตร (µl)	ความเข้มข้นในปฏิกิริยา
1. ดีเอ็นเอ (20 ng/µl)	3.0	60 ng/15 µl
2. 10x PCR buffer	1.5	1 เท่า
3. $MgCl_2$ (2.5 mM)	0.75	0.125 mM
4. dNTP (2 mM)	0.3	0.04 mM
6. ไพรเมอร์ (5 pmole/µl)	1.0	5 pmole/15 µl
7. *Taq* polymerase (5 unit/µl)	0.25	1.25 unit/15 µl
8. น้ำกลั่น	8.2	-
รวม	15.0	

ที่มา: วิชาญ (ม.ป.ป.)

ตารางที่ 5 โปรแกรมการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยา PCR

	อุณหภูมิ (˚C)	เวลา (นาที)	จำนวนรอบ
1. Denaturation	94	3	1
2. Denaturation	94	1	
Annealing	35	1	40
Extension	72	2	
3. Final extension	72	5	1

ที่มา: อัญมณี (2544)

4.2.4 นำผลที่ได้จากการทำ PCR เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 ˚C เพื่อรอการตรวจสอบต่อไป

4.3 การตรวจสอบผลที่ได้จากการทำ PCR

โดยนำผลตัวอย่างดีเอ็นเอที่ได้จากการทำ PCR มาทำ electrophoresis ใน 1.4 % agarose gel แล้วย้อมด้วย ethidium bromide ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

4.3.1 เตรียมถาดสำหรับเท gel ในแนวราบและหวีให้เรียบร้อย เช็ดหวีและถาดด้วย glycerol เพื่อช่วยในการหล่อลื่น

4.3.2 เตรียม 1.4 % agarose gel โดยการชั่ง agarose 1.4 g และเติม 1x TBE buffer จำนวน 100 ml

4.3.3 เขย่าเบาๆเพื่อช่วยในการละลายและอุ่นด้วยไมโครเวฟ ประมาณ 2 นาทีและทิ้งให้เย็นลงที่อุณหภูมิประมาณ 50 - 55˚ C แล้วเทลงในถาดที่เตรียมไว้โดยให้ gel หนาประมาณ 5 mm ระมัดระวังไม่ให้เกิดฟองอากาศ

4.3.4 ปล่อยให้ agarose gel เย็นลงจนแข็งตัวที่อุณหภูมิ 25˚ C โดยใช้เวลาประมาณ 30-45 นาที แล้วจึงดึงหวีออก ระวังอย่าให้ gel เกิดการฉีกขาด

4.3.5 เติม 1x TBE buffer ลงไปในถาดเพื่อช่วยในการนำ gel ออกจากถาดได้ง่ายขึ้น และนำแผ่น gel วางลงในเครื่อง electrophoresis equipment และใส่ 1x TBE buffer ให้ท่วม gel โดยให้สูงกว่าประมาณ 2-3 mm

4.3.6 ดูดสารละลายดีเอ็นเอ 5 µl ผสมกับ 6x loading buffer 1 µl หยอดลงใน gel ที่เตรียมไว้และทำการหยอดสารละลายดีเอ็นเอมาตรฐานที่ทราบขนาดและความเข้มข้นเพื่อใช้เป็นตัวเปรียบเทียบความเข้มข้นของดีเอ็นเอ

4.3.7 ต่อกระแสไฟฟ้าเข้ากับเครื่อง electrophoresis equipment แล้วเปิดกระแสไฟฟ้าให้มีแรงเคลื่อนไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลาประมาณ 30-45 นาที

4.3.8 นำแผ่น gel ไปย้อมในสารละลาย ethidium bromide ประมาณ 5-15 นาที และนำไปล้างด้วยน้ำเปล่าที่สะอาดประมาณ 5-10 นาที

4.3.9 นำแผ่น gel ที่ได้ไปตรวจสอบการเรืองแสงภายใต้แสงอัลตราไวโอเลตแล้วทำการเก็บบันทึกผลที่ได้

5. <u>การวิเคราะห์ข้อมูล</u>

5.1 ทำการแปลงข้อมูลแถบดีเอ็นเอเป็นข้อมูลแบบ binary และทำการเปรียบเทียบความเหมือนและความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้น โดยตัวอย่างที่พบแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งหนึ่งๆ ให้สัญลักษณ์เป็น 1 ส่วนตัวอย่างที่ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งเดียวกันให้สัญลักษณ์เป็น 0

5.2 คำนวณหาค่าอัลลีลต่อไพรเมอร์ ขนาดของอัลลีล (allele size) ความถี่ของอัลลีล (allele frequency) ค่า polymorphic percentage และค่า heterozygosity (Hn) (Powell *et al*., 1996)

สูตรในการคำนวณ

1. ค่าความถี่ของอัลลีล (allele frequency) (Powell *et al*., 1996)

Allele frequency = จำนวน allele / จำนวน allele ทั้งหมด

2. ค่า polymorphic percentage (Powell *et al*., 1996)

polymorphic percentage = จำนวน polymorphic loci / จำนวน loci ทั้งหมด

3. ค่า Heterozygosity (Hn) (Powell *et al*., 1996)

$$Hn = 1 - \sum P_i^2$$

เมื่อ P_i = ความถี่ของ allele ที่ i โดย P_i ประกอบด้วย P_A และ P_P

P_A = ความถี่ของ allele ที่ไม่ปรากฏ (absent allele)

P_P = ความถี่ของ allele ที่ปรากฏ ณ ตำแหน่งเดียวกัน (present allele)

5.3 คำนวณหาค่าดัชนีความคล้ายคลึง (similarity index) และจัดทำแผนภาพความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ด้วยวิธี UPGMA ด้วยโปรแกรม NTSYS-pc รุ่น 2.01 (Rohlf, 1997)

สูตรในการคำนวณ

Similarity index (S_D) (Nei and Li, 1979)

$$S_D = 2a / 2a+b+c$$

เมื่อ a = จำนวนของ allele ที่ปรากฏทั้ง i และ j

b = จำนวนของ allele ที่ปรากฏใน i แต่ไม่ปรากฏใน j

c = จำนวนของ allele ที่ปรากฏใน j แต่ไม่ปรากฏใน i

b = จำนวนของ allele ที่ไม่ปรากฏทั้งใน i และ j

5.4 วิเคราะห์ สรุป และวิจารณ์ผลการศึกษา

ผล

1. การจำแนกตัวอย่างกล้วยที่ได้จากการเก็บจากภาคสนาม

จากการเก็บตัวอย่างกล้วยทั้งระดับชนิด ชนิดย่อย จากถิ่นกระจายพันธุ์ตามธรรมชาติและพันธุ์ปลูกที่เก็บจากแปลงปลูก ทั้งสิ้น 45 ตัวอย่างแล้วนำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาพร้อมทั้งจำแนกออกเป็นกลุ่มตามหน่วยของการจัดจำแนก ชนิด ชนิดย่อยและพันธุ์ปลูกต่างๆได้ตามตารางที่ 3 และเก็บรวบรวมไว้ที่สวนรุกขชาติคณะวนศาสตร์และดองเก็บตัวอย่างไว้ที่ห้องปฏิบัติการทั่วไป ภาควิชาชีววิทยาป่าไม้ คณะวนศาสตร์

2. รูปวิธานการจัดจำแนกระดับชนิดย่อยของกล้วย *Musa acuminata* ในประเทศไทย

รูปวิธานการจัดจำแนกชนิดย่อยของ *M. acuminata* และ *M. balbisiana* ที่พบในประเทศไทย (Simmonds, 1957; Daniells, 2001) และเพิ่มเติมข้อมูลบางส่วนที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้

1. กาบปลี ม้วนขึ้นเข้าหาโคนปลีเมื่อแก่ ร่องของก้านใบบริเวณโคนมีครีบไม่ห่อตัวเข้าหากัน____2

2. กาบใบ (sheath) ไม่มีไข (waxless) ยกเว้น ในหน่อ (young sucker)_____3

3. ลำต้นเทียม มีเม็ดสีน้ำตาลกระจายหนาแน่น กาบปลี (male bract) ชั้นในมีสีแดงเรื่อๆ ไม่ซ้อนเหลื่อม (imbricate) ปลีรูปใบหอกขนาด 5.0 – 5.5 x 8.2 – 11.0 เซนติเมตร ใบประดับรูปรีถึงมน (obtuse) ขนาด 5.0 x 10.0 เซนติเมตร กลีบรวม สีครีม ยาว 3.1 เซนติเมตร กลีบรวมอิสระ ขนาด 1.0 – 1.2 x 1.3 เซนติเมตร ก้านเกสรเพศเมียตรง (straight) ขนาดยาว 0.1 x 2.5 – 3.0 เซนติเมตร _____**1. *Musa acuminata* ssp. *microcarpa***

3. ลำต้นเทียม มีเม็ดสีจาง กาบปลี ชั้นในมีสีแดงเลือดนก (crimson) ซ้อนเหลื่อม rachis ทำมุมกับลำต้นเทียมประมาณ 45 องศา (at an angle) ปลีรูปใบหอก ขนาด 6.5 – 7.5 x 17.0 – 21.5 เซนติเมตร กลีบรวมยาว 4 – 4.6 เซนติเมตร กลีบ

รวมอิสระขนาด 1.5 – 1.6 x 2.3 – 2.4 เซนติเมตร ก้านเกสรเพศเมียตรงขนาดยาว 3.5 – 5.0 เซนติเมตร____________**2. *Musa acuminata* ssp. *burmannica***

2. กาบใบ มีไข____4

4. กาบใบ มีไขบางๆ ในกลุ่มดอกเพศเมียที่อยู่ด้านบน มีดอกเพศผู้ที่สมบูรณ์อย่างน้อย 1 ดอก ผลกึ่งมน ออวุลมากกว่า 200 ออวุลต่อรังไข่ กาบปลีสีเหลืองหรือสีแดงเรื่อๆ ขนาด 4.5 – 5.0 x 10.0 – 13.0 เซนติเมตร rachis ห้อยลง (falling vertically) หวีกล้วยออกขนานกับพื้น__________________________**3. *Musa acuminata* ssp. *banksii***

4. กาบใบมีไขมาก ในกลุ่มดอกเพศเมียพบว่ามีดอกเพศผู้เป็นหมันทั้งหมด ผลเรียวแหลม (acuminate) ออวุลมีน้อยกว่า 200 ออวุลต่อรังไข่ กาบปลีสีแดงสดหรือม่วงแดง____________________________5

5. กาบปลีไม่แดงสด แก่เร็วหลุดร่วงง่ายและไม่ซ้อนเหลื่อม ปลีรูปลูกข่าง (like a top) ก้านเกสรเพศเมีย (style) โค้งถึงโค้งที่ฐาน rachis ขนานกับพื้น (horizontal) ผลกล้วยส่วนที่อยู่เหนือแกนกลางจะตั้งตรงชี้ขึ้นส่วนผลที่อยู่ด้านล่างของแกนกลางจะโค้งขึ้นด้านบน____**4. *Musa acuminata* ssp. *malaccensis***

5. กาบปลีไม่ม่วงแดงแต่ปลายของกาบปลีมีสีเหลืองติดคงทน และมักจะซ้อนเหลื่อม ปลีรูปใบหอกถึงรูปรี ก้านเกสรเพศเมียตรงจนถึงโค้ง rachis ห้อยลง (falling vertically)___________ ______________________**5. *Musa acuminata* ssp. *siamea***

1. กาบปลี ไม่ม้วนขึ้นเมื่อแก่ ร่องของก้านใบบริเวณโคนมีครีบตั้งตรงโค้งเข้าหาจนชิดติดกัน (margins curved inward) กาบปลีและท้องใบมีไขสีขาว ก้านช่อดอกมีขนสั้นเล็กน้อยถึงไม่มี ลำต้นเทียมสีเขียวใส ไม่มีปื้นสีดำ____**6. *Musa balbisiana***

1. ***Musa acuminata*** ssp. ***microcarpa*** N. W. Simmonds, Kew Bull. 11 (3): 463 – 489 (1956). *M. microcarpa* Beccari, Nelle Foreste di Borneo, 623 (1902); Cheesman, Kew Bull. 1948, 25. *M. truncata* Ridley, J. Fed. Malay States Mus. 4, 80 (1909); Cheesman, Kew Bull. 1948, 26. *M. acuminata* Colla, the Camerons form, of Simmonds, Malayan Nat. J. 10, 3 (1955).

ชื่อท้องถิ่น: กล้วยป่าผลเล็ก

ลำต้นเทียมสูง 2.0 – 2.9 เมตร สอบเรียวถึงกลม มีปื้นสีน้ำตาล น้ำยางใส หน่อขึ้นชิดกับต้นพ่อแม่ แผ่นใบเจริญขนานกับพื้นถึงตั้งตรง รูปขอบขนาน ปลายใบแหลม ปลายตัดหรือเว้าบุ๋ม ขอบใบเรียบหรือเป็นคลื่น ฐานใบรูปลิ่ม มนถึงรูปหัวใจ ฐานก้านใบสีน้ำตาลเข้ม น้ำตาลดำ เป็นจุดขนาดเล็กถึงใหญ่ ร่องของก้านใบบริเวณโคนมีครีบตั้งตรงแผ่ขยายออกเล็กน้อย (open with margins spreading) ก้านใบสีม่วงถึงม่วงแดง ใบยอดอ่อนสีเขียว ไม่มีจุดสี ช่อดอกแบบช่อกระจุก ก้านช่อดอก ยาวมากกว่า 30 เซนติเมตร มีขนนุ่มสั้นจำนวนมาก หวีกล้วยขนานกับพื้น แกนกลางของช่อดอก ตัวผู้ (ปลี) ห้อยลง ปลีรูปใบหอกถึงรูปรี ขนาดเล็ก 5.0 – 5.5 x 8.2 – 11.0 เซนติเมตร กาบปลีรูปรีถึงมน (obtuse) ไม่ซ้อนเหลื่อม กาบปลีชั้นในสีแดงอ่อน กาบปลีด้านนอกสีม่วง ม่วงเข้ม ปลายมน ขนาด 5.0 x 10.0 เซนติเมตร เมื่อแก่กาบปลีจะม้วนจากปลายของกาบปลีเข้าหาโคนของกาบปลี กาบใบไม่มีไขยกเว้นในหน่ออ่อน กลุ่มดอก (hand) ประกอบไปด้วย 2 แถว แถวละ 5 – 7 ดอก รวม 8 - 14 ดอก กลีบรวม สีครีม ขนาดยาว 3.1 เซนติเมตร รอยบุ๋มที่ปลายของกลีบรวมสีเหลือง กลีบรวมอิสระ โค้งมนคล้ายกาบเรือ มีติ่งแหลมสั้นที่ปลาย ขนาด 1.0 – 1.2 x 1.3 เซนติเมตร เกสรเพศผู้ 5 อัน ก้านเกสรเพศผู้ขนาด 0.1 – 0.2 x 1.6 - 2.1 เซนติเมตร อับเรณูติดที่ฐาน ขนาด 0.1 – 0.2 x 1.3 – 1.6 เซนติเมตร ยอดเกสรเพศเมียสีเหลือง ก้านเกสรเพศเมียตรง ขนาดยาว 0.1 x 2.5 – 3.0 ยอดเกสรเพศเมีย (stigma) ขนาด 0.2 x 0.1 - 0.2 เซนติเมตร รังไข่โค้งใต้วงกลีบ สีเขียวแบ่งออกเป็น 3 พู เรียงกัน 2 แถว พลาเซนตารอบแกน ผลมีเนื้อหนึ่งถึงหลายเมล็ด มีหวีประมาณ 5 – 6 หวีต่อเครือ ลักษณะผลกล้วยเรียงตัวโค้งขึ้นด้านบนมีจำนวน 13 - 17 ผลต่อหวีมีความยาวน้อยกว่า 15 เซนติเมตร ผลกล้วยลักษณะตรงเมื่อผ่าตามขวาง ผลมีลักษณะเป็นสันถึงกลม ปลายผลเป็นจุก (bottle-necked) และไม่มีชิ้นส่วนของเกสรเพศเมียแห้งติดอยู่เมื่อผลสุก ดังภาพที่ 6

แหล่งเก็บตัวอย่าง – จังหวัด นนทบุรี (MW15)
ถิ่นกระจายพันธุ์ทั่วโลก – ไทย อินโดนีเซีย มาเลเซีย (Daniells, 2001)

นิเวศวิทยาของแหล่งเก็บตัวอย่างในประเทศไทย – พบเป็นกล้วยปลูกที่ อำเภอ บางบัวทอง จังหวัด นนทบุรี

A.

B.

C.

<u>ภาพที่ 6</u> ลักษณะสัณฐานวิทยาของ *Musa acuminata* ssp. *microcarpa*; A. Habit, B. Inflorescence, C. Male bud

2. ***Musa acuminata*** ssp. ***burmannica*** N. W. Simmonds, Kew Bull. 11 (3): 463 – 489 (1956). *M. acuminata* Colla, the Tavoy form, of Cheesman, Kew Bull. 1948, 27; Dodds and Simmonds, Heredity 2, 101-117 (1948); Simonds, Journ. Genetics 51, 458-69 (1953) and Evolution, 8, 65-74 (1954) (cytogenetics).

ชื่อท้องถิ่น: กล้วยป่าพม่า

ลำต้นเทียมสูง 2.0 – 2.9 เมตร สอบเรียวถึงกลม สีเขียวอ่อนถึงเขียวเหลือง น้ำยางใส หน่อขึ้นชิดกับต้นพ่อแม่ แผ่นใบเจริญขนานกับพื้นถึงตั้งตรง รูปขอบขนาน ปลายใบแหลม ปลายตัดหรือเว้าบุ๋ม ขอบใบเรียบหรือเป็นคลื่น ฐานใบรูปลิ่ม มนถึงรูปหัวใจหลังใบขาวนวลมีไข ฐานก้านใบสีน้ำตาลเข้ม น้ำตาล เป็นจุดขนาดเล็ก ร่องของก้านใบบริเวณโคนมีครีบตั้งตรงแผ่ขยายออกเล็กน้อย (open with margins spreading) ก้านใบสีเขียว เขียวเข้ม ใบยอดอ่อนสีเขียว ไม่มีจุดสี ช่อดอกแบบช่อกระจุก ก้านช่อดอกยาวน้อยกว่า 30 เซนติเมตร มีขนนุ่มสั้นจำนวนมาก แกนกลางของช่อดอก (rachis) ตัวผู้ (ปลี) ทำมุมกับลำต้นเทียมประมาณ 45 องศา (at an angle) ปลีรูปใบหอก ขนาด 6.5 – 7.5 x 17.0 – 21.5 เซนติเมตร กาบปลีรูปรีถึงมน (obtuse) ซ้อนเหลื่อม กาบปลีชั้นในสีแดงสด กาบปลีด้านนอกสีม่วง ชมพูม่วงและม้วนจากปลายของกาบปลีเข้าหาโคนของกาบปลีเมื่อแก่ กาบใบไม่มีไขยกเว้นในหน่ออ่อน กลุ่มดอก ประกอบไปด้วย 2 แถว แถวละ 7 – 8 ดอก กลีบรวมสีครีม ขนาดยาว 4.0 – 4.6 เซนติเมตร รอยบุ๋มที่ปลายของกลีบรวมสีเหลือง กลีบรวมอิสระ โค้งมนคล้ายกาบเรือมีติ่งแหลมสั้นที่ปลาย ขนาด 1.5 – 1.6 x 2.3 – 2.4 เซนติเมตร เกสรเพศผู้ 5 อัน ก้านเกสรเพศผู้ขนาด 0.1 – 0.2 x 1.9- 2.4 เซนติเมตร อับเรณูติดที่ฐาน ขนาด 0.1 – 0.2 x 2.4 – 3.1 เซนติเมตร ยอดเกสรเพศเมียสีเหลือง ก้านเกสรเพศเมียตรง (straight) ขนาดยาว 3.5 – 5.0 เซนติเมตร รังไข่ใต้วงกลีบ (inferior ovary) สีเขียวแบ่งออกเป็น 3 พู เรียงกัน 2 แถว พลาเซนตารอบแกน ผลมีเนื้อหนึ่งถึงหลายเมล็ด มีหวีประมาณ 5 – 8 หวีต่อเครือ ลักษณะผลกล้วยเรียงตัวโค้งขึ้นด้านบนมีจำนวน 16 ผลต่อหวี มีความยาวน้อยกว่า 15 เซนติเมตร ผลกล้วยลักษณะตรงเมื่อผ่าตามขวาง (transverse section) ผลมีลักษณะเป็นสัน ปลายผลเป็นจุก และไม่มีชิ้นส่วนของเกสรเพศเมียแห้งติดอยู่เมื่อผลสุก ดังภาพที่ 7

แหล่งเก็บตัวอย่าง – จังหวัด แม่ฮ่องสอน (MW4-MW6)

ถิ่นกระจายพันธุ์ทั่วโลก – ไทย พม่า (Daniells, 2001)

นิเวศวิทยาของแหล่งเก็บตัวอย่างในประเทศไทย – พบขึ้นตามริมห้วยและพื้นที่เปิดโล่งตามป่าดิบแล้ง

A.

B.

C.

<u>ภาพที่ 7</u> ลักษณะสัณฐานวิทยาของ *Musa acuminata* ssp. *burmannica*; A. Habit, B. Inflorescence, C. Male bud (ภาพบน)

3. ***Musa acuminata*** ssp. ***banksii*** (F. J. H. von Mueller) N. W. Simmonds, Kew Bull. 11 (3): 463 (1956). *M. banksii* F. v. Mueller, Fragm., 4, 132 (1863-4). *M. paradisiaca* subsp. *seminifera* (Lour.) Baker of Christophersen, Flarg Pls of Samoa, B. P. Bishop Mus. Bull., 128, 54 (1935). *M. banksii* var. *muelleriana* Domin, Bibl. Bot., 85, 1 (2), 253 (1915).

ชื่อท้องถิ่น: กล้วยป่าปลีเหลือง

ลำต้นเทียมสูง 2.5 – 3.0 เมตร แผ่นใบเจริญขนานกับพื้นถึงตั้งตรง ลำต้นเทียมสอบเรียว สีเขียวถึงเขียวเหลือง น้ำยางใส หน่อขึ้นชิดกับต้นพ่อแม่ แผ่นใบรูปขอบขนาน ปลายใบแหลม ปลายตัดหรือเว้าบุ๋ม ขอบใบเรียบหรือเป็นคลื่น ฐานใบรูปลิ่ม มนถึงรูปหัวใจ ฐานก้านใบสีน้ำตาลเข้ม เป็นจุดขนาดใหญ่ถึงเป็นปื้น ร่องของก้านใบบริเวณโคนมีครีบตั้งตรงห่อตัวเล็กน้อยแต่ไม่แนบชิดติดกัน (straight with erect margins) ก้านใบสีเขียว ใบยอดอ่อนสีเขียว (cigar leaf) ไม่มีจุดสี ช่อดอกแบบช่อกระจุก ก้านช่อดอกยาวน้อยกว่า 30 เซนติเมตร มีขนนุ่มสั้นจำนวนมาก หวีกล้วยขนานกับพื้น แกนกลางของช่อดอก (rachis) เพศผู้ (ปลี) ห้อยลง (falling vertically) ปลีรูปใบหอกถึงรี ขนาด 4.5 – 5.0 x 10.0 – 13.0 เซนติเมตร กาบปลีแหลมถึงปลายมน (obtuse) ขนาด 5.3 – 6.5 x 11.4 – 22 เซนติเมตร สีเหลืองอมเขียว กาบปลีสั้นหุ้มปลายช่อดอกเพศผู้ (ปลี) ไม่มิด และเมื่อแก่จะม้วนเข้าหาโคนของกาบปลี กาบใบมีไขบางๆ กลุ่มดอก (hand) ประกอบไปด้วย 2 แถว แถวละ 7-8 ดอก รวม 14-17 ดอก กลีบรวม สีครีม ขนาดยาว 3.3 – 3.9 เซนติเมตร รอยบุ๋มที่ปลายของกลีบรวมสีเหลือง กลีบรวมอิสระ โค้งมนคล้ายกาบเรือ มีติ่งแหลมสั้นที่ปลาย ขนาด 1.1 x 1.3 – 2.1 เซนติเมตร เกสรตัวผู้ 5 อัน ก้านเกสรตัวผู้ขนาด 0.2 x 1.3 -1.7 เซนติเมตร อับเรณูติดที่ฐาน ขนาด 0.2 x 0.3 – 1.9 เซนติเมตร ยอดเกสรเพศเมียสีเหลือง ขนาด 0.1 – 0.2 x 0.2 - 0.3 เซนติเมตร ก้านเกสรเพศเมียตรง ขนาด 0.1 x 3.0 – 3.4 เซนติเมตร รังไข่โค้งใต้วงกลีบ สีเขียว แบ่งออกเป็น 3 พู เรียงกัน 2 แถว พลาเซนตารอบแกน ผลมีเนื้อหนึ่งถึงหลายเมล็ด มีหวีประมาณ 5-6 หวีต่อเครือ ลักษณะผลกล้วยเรียงตัวโค้งขึ้นด้านบน มีจำนวน 13 – 16 ผลต่อหวี มีความยาวน้อยกว่า 15 เซนติเมตร ผลค่อนข้างมน (subobtuse) เมื่อผ่าตามขวางผลมีลักษณะเป็นสันเล็กน้อย ปลายผลแหลมถึงมนและไม่มีชิ้นส่วนของเกสรเพศเมียแห้งติดอยู่เมื่อสุก ดังภาพที่ 8

แหล่งเก็บตัวอย่าง – เป็นกล้วยปลูกอยู่ที่ ไร่วงศ์เกษตร อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา (MW13-MW14)

ถิ่นกระจายพันธุ์ทั่วโลก – ปาปัวนิวกินี ออสเตรีย ซามัว (Daniells, 2001)

นิเวศวิทยาของแหล่งเก็บตัวอย่างในประเทศไทย – เป็นกล้วยต่างประเทศที่นำเข้ามาปลูกในประเทศไทย

A.

B.

C.

ภาพที่ 8 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ *Musa acuminata* ssp. *banksii*; A. Habit, B. Inflorescence, C. Male bud

4. ***Musa acuminata*** ssp. ***malaccensis*** (H. N. Ridley) N. W. Simmonds, Kew Bull. 11 (3): 463 – 489 (1956). *M. malaccensis* Ridley, Trans. Linn. Soc. 2, 3, 385 (1893). *M. acuminata* Colla, the selangor form, Cheesman, Kew Bull. 1948, 17 et seq. ; Simmonds, Malayan Nat. J. 10, 3 (1955). *M. flava* Ridl. Loc. Cit. ; Simmonds, Ann. Bot. Lond. 18, 478 (1954).

ชื่อท้องถิ่น: กล้วยป่ามะละกา

ลำต้นเทียมสูง 2.7 - 3.5 เมตร สอบเรียวถึงกลม สีเขียวเข้ม น้ำยางใส หน่อขึ้นชิดกับต้นพ่อแม่ แผ่นใบเจริญขนานกับพื้นถึงตั้งตรง รูปขอบขนาน ปลายใบแหลม ปลายตัดหรือเว้าบุ๋ม ขอบใบเรียบหรือเป็นคลื่น ฐานใบรูปลิ่ม มนถึงรูปหัวใจ ฐานก้านใบสีม่วงเข้มเกือบดำเป็นจุดขนาดใหญ่หรือเป็นปื้น ร่องของก้านใบบริเวณโคนมีครีบตั้งตรงห่อตัวเล็กน้อยไม่แนบชิดติดกัน (straight with erect margins) ก้านใบสีม่วงดำ มีไขเล็กน้อย ใบยอดอ่อนสีเขียว ไม่มีจุดสี ช่อดอกแบบช่อกระจุก ก้านช่อดอกยาวน้อยกว่า 30 เซนติเมตร มีขนนุ่มสั้นจำนวนมาก หวีกล้วยออกขนานกับพื้น แกนกลางช่อดอก (rachis) ตัวผู้ (ปลี) ขนานกับพื้น (horizontal) ปลีรูปลูกข่าง (like a top) ขนาด 4.5 – 7.0 x 9.5 – 13.0 เซนติเมตร กาบปลีรูปรีปลายแหลม (slightly pointed) ไม่ซ้อนเหลื่อม กาบปลีด้านนอกสีม่วงแดง ด้านในสีแดงค่อนข้างขาว (red – whitish) และม้วนจากปลายของกาบปลีเข้าหาโคนของกาบปลีเมื่อแก่ กาบใบมีไขมาก กลุ่มดอก ประกอบไปด้วย 2 แถว แถวละ 7 – 8 ดอก กลีบรวมของดอก สีครีม ขนาดยาว 2.7 – 4.7 เซนติเมตร รอยบุ๋มที่ปลายของกลีบรวมสีเหลือง กลีบรวมอิสระ (free tepal) โค้งมนคล้ายกาบเรือ มีติ่งแหลมสั้นที่ปลาย ขนาด 0.8 – 1.1 x 0.9 – 2.3 เซนติเมตร เกสรเพศผู้ 5 อัน ก้านเกสรเพศผู้ขนาด 0.1 – 0.2 x 1.1- 4.2 เซนติเมตร อับเรณูติดที่ฐาน ขนาด 0.1 – 0.2 x 1.3 -2.3 เซนติเมตร ยอดเกสรเพศเมียสีเหลือง ก้านเกสรเพศเมียโค้งถึงโค้งที่ฐาน (curve at the base) ขนาดยาว 3.0 – 3.9 เซนติเมตร รังไข่ใต้วงกลีบ(inferior ovary) สีเขียวแบ่งออกเป็น 3 พู เรียงกัน 2 แถว พลาเซนตารอบแกน ผลมีเนื้อหนึ่งถึงหลายเมล็ด มีหวีประมาณ 3 – 7 หวีต่อเครือ ลักษณะผลกล้วยเรียงตัวโค้งขึ้นด้านบนมีจำนวน 17 ผลต่อหวีมีความยาวน้อยกว่า 15 เซนติเมตร ผลกล้วยส่วนที่อยู่เหนือแกนกลางจะตรงและส่วนผลที่อยู่ด้านล่างจะโค้งขึ้นด้านบน ผลมีลักษณะเรียวแหลม เมื่อผ่าตามขวางผลมีลักษณะกลมถึงเป็นสัน ปลายผลเป็นจุก และไม่มีชิ้นส่วนของเกสรเพศเมียแห้งติดอยู่เมื่อผลสุก ดังภาพที่ 9

แหล่งเก็บตัวอย่าง – จังหวัด ตรัง (MW10) กระบี่ (MW11) และ พังงา (MW12)
ถิ่นกระจายพันธุ์ทั่วโลก – ไทย มาเลเซีย อินโดนีเซีย (Daniells, 2001)

นิเวศวิทยาของแหล่งเก็บตัวอย่างในประเทศไทย – พบขึ้นตามริมห้วยของป่าดิบแล้งและป่า ดิบชื้น

A.

B.

C.

ภาพที่ 9 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ *Musa acuminata* ssp. *malaccensis* ; A. Habit, B. Inflorescence, C. Male bud

5. ***Musa acuminata*** ssp. ***siamea*** N. W. Simmonds, Kew Bull. 11 (3): 463 – 489 (1956). *M. acuminata* Colla, the Annam form, of Cheesman, Kew Bull. 1948, 27. *M. acuminata* Colla, the Kedah form, of Simmonds, Malayan Nat. J. 10, 3 (1955).

ชื่อท้องถิ่น: กล้วยป่าสยาม

ลำต้นเทียมสูง 2 - 2.5 เมตร สอบเรียว สีเขียว เขียวเหลือง น้ำยางใส หน่อขึ้นชิดกับต้นพ่อแม่ แผ่นใบเจริญขนานกับพื้น รูปขอบขนาน ปลายใบแหลม ปลายตัดหรือเว้าบุ๋ม ขอบใบเรียบหรือเป็นคลื่น ฐานใบรูปลิ่ม มนถึงรูปหัวใจ ฐานก้านใบสีน้ำตาลเข้มเป็นปื้น ร่องของก้านใบบริเวณโคนมีครีบตั้งตรงเปิดออก (wide with erect margins) ก้านใบสีเขียว มีไขสีขาวและมีจุดสีน้ำตาลเป็นปื้น ใบยอดอ่อนสีเขียว ไม่มีจุดสี ช่อดอกแบบช่อกระจุก ก้านช่อดอกยาวน้อยกว่า 30 เซนติเมตร มีขนนุ่มสั้นจำนวนมาก หวีกล้วยออกขนานกับพื้น แกนกลางของช่อดอก ตัวผู้ (ปลี) ห้อยลง (falling vertically) ปลีรูปใบหอก ขนาด 4.3 – 6.5 x 11.0 – 19.2 เซนติเมตร กาบปลียาวเรียวถึงป้อม กาบปลีสีม่วงเมื่ออ่อนมีสีเหลืองตรงปลายของกาบปลีและซ้อนเหลื่อม กาบปลีจะม้วนจากส่วนปลายของกาบปลีเข้าหาโคนของกาบปลีเมื่อกาบปลีแก่ กาบใบมีไขมาก กลุ่มดอกประกอบไปด้วย 2 แถว แถวละ 7 – 8 ดอก กลีบรวมของดอก สีครีม ยาว 3.0 – 4.5 เซนติเมตร รอยบุ๋มที่ปลายของกลีบรวมมีสีเหลือง กลีบรวมอิสระ โค้งมนคล้ายกาบเรือ มีติ่งแหลมสั้นที่ปลาย ขนาด 1.1 – 1.5 x 1.5-1.8 เซนติเมตร เกสรเพศผู้ 5 อัน ก้านเกสรเพศผู้ขนาด 0.1 – 0.2 x 1.2-2.4 เซนติเมตร อับเรณูติดที่ฐาน ขนาด 0.1 – 0.2 x 1.6-2.6 เซนติเมตร ยอดเกสรเพศเมียสีครีม ก้านเกสรเพศเมีย ตรงจนถึงเกือบโค้ง (straight to curved) ขนาดยาว 2.9 – 4.0 เซนติเมตร รังไข่ใต้วงกลีบสีเขียวแบ่งออก เป็น 3 พู เรียงกัน 2 แถว พลาเซนตารอบแกน ผลมีเนื้อหนึ่งถึงหลายเมล็ด มีหวีประมาณ 3 – 6 หวีต่อเครือ ลักษณะผลกล้วยเรียงตัวโค้งขึ้นด้านบนมีจำนวน 13-16 ผลต่อหวีมีความยาวน้อยกว่า 15 เซนติเมตร ผลกล้วยลักษณะเรียวแหลมถึงโค้งเล็กน้อย เมื่อผ่าตามขวาง ผลมีลักษณะกลมถึงเป็นสัน ปลายผลเป็นจุกและไม่มีชิ้นส่วนของเกสรเพศเมียแห้งติดอยู่เมื่อผลสุก ดังภาพที่ 10

แหล่งเก็บตัวอย่าง – จังหวัด พิษณุโลก (MW7-MW8) และ สุโขทัย (MW9)

ถิ่นกระจายพันธุ์ทั่วโลก – พบเฉพาะในประเทศไทย (Daniells, 2001)

นิเวศวิทยาของแหล่งเก็บตัวอย่างในประเทศไทย – พบขึ้นตามริมห้วยและพื้นที่เปิดโล่งตามป่าดิบแล้ง และ ป่าเบญจพรรณ

A.

B.

C.

ภาพที่ 10 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ *Musa acuminata* ssp. *siamea* ; A. Habit, B. Inflorescence, C. Male bud

6. ***Musa balbisiana*** Cheesman, Kew Bull. 1948, 11. *M. sapientum* subsp. *semifera* form *pruinosa* King MSS ex Baker, Ann. Bot 7, 214 (1893); Cheesman, Kew Bull. 1948, 327. *M. sapientum* var. *pruinosa* King MSS ex Cowan and Cowan, Trees of North Bengal, 135 (1929).

ชื่อท้องถิ่น: กล้วยตานี

ลำต้นเทียมสูง 2.9 – 4.8 เมตร ลำต้นกลม สีเขียว ไม่มีปื้นสีดำ น้ำยางใส หน่อขึ้นชิดกับต้นพ่อแม่ แผ่นใบเจริญขนานกับพื้น รูปขอบขนาน ปลายใบแหลม ปลายตัดหรือเว้าปุ่ม ขอบใบเรียบหรือเป็นคลื่น ฐานใบรูปลิ่ม มนถึงรูปหัวใจ หลังใบขาวนวลมีไข ฐานก้านใบสีน้ำตาลเข้มเป็นปื้น ร่องของก้านใบบริเวณโคนมีครีบตั้งตรงโค้งเข้าหาชิดติดกัน (margins curved inward) ก้านใบสีเขียว ใบยอดอ่อนสีเขียว ไม่มีจุดสี ช่อดอกแบบช่อกระจุก ก้านช่อดอก ยาวประมาณ 30 - 60 เซนติเมตร มีขนสั้นเล็กน้อยถึงไม่มีขน หวีกล้วยทำมุมเฉียงกับลำต้นเทียม (slightly angled) หรือห้อยลง (hanging vertically) แกนกลางของช่อดอก (rachis) ตัวผู้ (ปลี) ห้อยลง (falling vertically) หรือทำมุมกับลำต้นเทียม (at an angle) ปลีรูปเรียวค่อนข้างป้อม (intermediate) ขนาด 5.4 – 6.7 x 9 – 14 เซนติเมตร กาบปลีรูปมน ขนาด 6.5 – 9.8 x 10.2 – 11.6 เซนติเมตร กาบปลีด้านนอกสีม่วงเข้ม เมื่อกาบปลีแก่จะกางขึ้นตั้งฉากกับช่อดอกและไม่ม้วนงอ กาบปลีมีไข กลุ่มดอกประกอบไปด้วย 2 แถว แถวละ 5-7 ดอก รวม 10-15 ดอก กลีบรวมของดอก สีครีม ขนาดยาว 3.3 - 3.5 เซนติเมตร รอยปุ่มที่ปลายของกลีบรวมมีสีเหลือง กลีบรวมอิสระ ขนาด 1.1 – 1.3 x 1.8 – 1.9 เซนติเมตร เกสรเพศผู้ 5 อัน ก้านเกสรเพศผู้ขนาด 0.2 x 1.8 – 2.3 เซนติเมตร อับเรณูติดที่ฐาน ขนาด 0.2 x 1.7 – 2.2 เซนติเมตร ยอดเกสรเพศเมียสีครีม ก้านเกสรเพศเมีย (style) สีครีม ตรง (straight) ขนาดยาว 0.1 x 3.0 – 3.3 เซนติเมตร ยอดเกสรเพศเมีย (stigma) ขนาด 0.2 x 0.2 – 0.3 เซนติเมตร รังไข่โค้ง (arched) ใต้วงกลีบสีเขียวแบ่งออกเป็น 3 พู เรียงกัน 2 แถว พลาเซนตารอบแกน ผลมีเนื้อหนึ่งถึงหลายเมล็ด (berry) มีหวีประมาณ 8 หวีต่อเครือ ลักษณะผลกล้วยเรียงตัวตั้งฉากกับแกนกลางมีจำนวน 10 -14 ผลต่อหวีมีความยาวน้อยกว่า 15 เซนติเมตร ผลกล้วยลักษณะยาวตรงถึงโค้งเล็กน้อย เมื่อผ่าตามขวาง ผลมีลักษณะกลมถึงเป็นสัน ปลายผลแหลม (pointed) และไม่มีชิ้นส่วนของเกสรเพศเมียแห้งติดอยู่เมื่อผลสุก ดังภาพที่ 11

แหล่งเก็บตัวอย่าง –จังหวัด สุโขทัย (MW1) กรุงเทพ (MW2) และ นครราชสีมา (MW3)
ถิ่นกระจายพันธุ์ทั่วโลก – ไทย อินเดีย ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย มาเลเซีย (Daniells, 2001)

นิเวศวิทยาของแหล่งเก็บตัวอย่างในประเทศไทย – พบตามบ้านเรือนทั่วไป (ไม่พบในป่าธรรมชาติ)

A.

B.

ภาพที่ 11 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ *Musa balbisiana*; A. Inflorescence, B. Male bud

A.

B.

C.

D.

E.

ภาพที่ 12 เปรียบเทียบลักษณะ male bud ของชนิดย่อยต่างๆของกล้วย *Musa acuminata*; A. *Musa acuminata* ssp. *malaccensis*, B. *Musa acuminata* ssp. *burmannica*, C. *Musa acuminata* ssp. *siamea*, D. *Musa acuminata* ssp. *microcarpa* และ E. *Musa acuminata* ssp. *banksii*

A.

B.

C.

E.

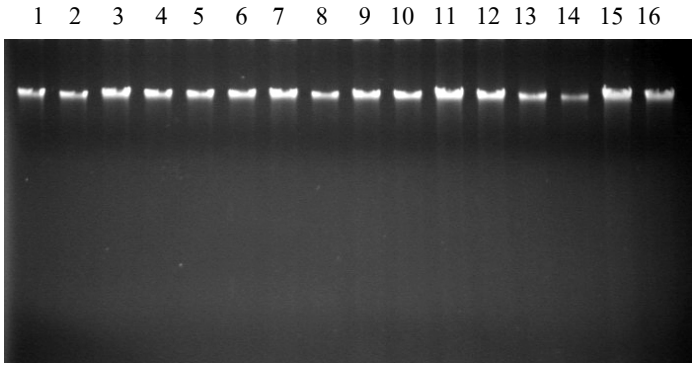
D.

ภาพที่ 13 เปรียบเทียบลักษณะ inflorescence ของชนิดย่อยต่างๆของกล้วย *Musa acuminata*; A. *Musa acuminata* ssp. *malaccensis* , B. *Musa acuminata* ssp. *siamea*, C. *Musa acuminata* ssp. *microcarpa* , D. *Musa acuminata* ssp. *burmannica* และ E. *Musa acuminata* ssp. *banksii*

3. <u>การเตรียมและวิเคราะห์ตัวอย่างดีเอ็นเอด้วยเทคนิค inter - simple sequence repeat</u>

3.1 การเตรียมตัวอย่างจีโนมิคดีเอ็นเอ (genomic DNA)

การเตรียมตัวอย่างดีเอ็นเอทำการเตรียมตัวอย่างจากวิธีการของ Doyle, J.J. and Doyle, J.L. (1990) และ Agrawall *et al.* (1992) และตรวจสอบปริมาณและคุณภาพด้วย electrophoresis ใน agarose gel ให้ปริมาณดีเอ็นเอตัวอย่างประมาณ 100 ng/µl โดยดีเอ็นเอส่วนใหญ่มีความบริสุทธิ์สูง ไม่มีการแตกหักของดีเอ็นเอและการปนเปื้อนของอาร์เอ็นเอและโปรตีน (ภาพที่ 14)

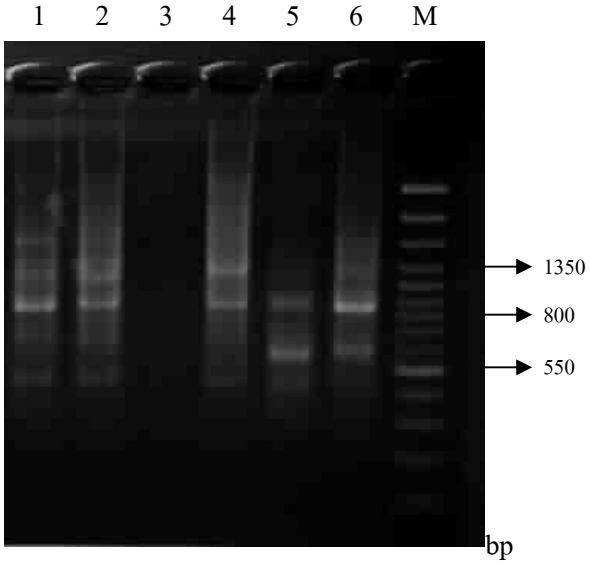


<u>ภาพที่ 14</u> ตัวอย่าง genomic DNA ของกล้วยที่ใช้ในงานวิจัย หมายเลข 1-16 คือ ตัวอย่างกล้วยที่ใช้ในงานวิจัย

3.2 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ต้องการด้วยปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction (PCR)

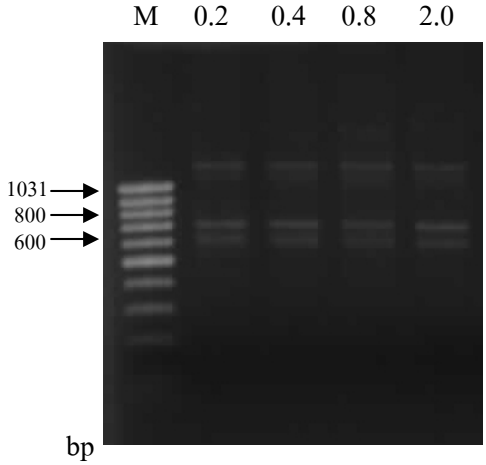
การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจะเกิดขึ้นจำเป็นต้องมีไพรเมอร์ที่มีเบสคู่สมกันกับปลายทั้งสองด้านของดีเอ็นเอบริเวณที่ต้องการเพิ่มปริมาณ โดยไพรเมอร์จะเกาะกับดีเอ็นเอคนละสายและมีปลาย 3' ในทิศทางเข้าหากัน ในกรณีที่ดีเอ็นเอต้นแบบเป็นเกลียวคู่ ไพรเมอร์จะไม่สามารถเข้าไปจับได้และเอนไซม์ DNA polymerase ก็ไม่สามารถสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ได้ต้องทำให้ดีเอ็นเอต้นแบบเกลียวคู่เสียสภาพเป็นสายเดี่ยว (denature) ไพรเมอร์จึงจะมีโอกาสเข้าไปเกาะ (anneal) ตรงบริเวณที่มีเบสคู่สมและเอนไซม์จึงจะสามารถนำ nucleotide ตัวใหม่มาสังเคราะห์ต่อจากไพรเมอร์ได้ (extension)

จากการทดลองเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในขั้นต้นเพื่อทดสอบความเหมาะสมของปฏิกิริยา PCR ด้วยตัวอย่างกล้วยและ ISSR ไพรเมอร์ที่ใช้ในงานวิจัยจากความเข้มข้นของสารต่างๆที่ใช้ในปฏิกิริยา PCR (ตารางที่ 4) และโปรแกรมการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (ตารางที่ 5) ให้ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ไม่ดีเท่าที่ควรดังภาพที่ 15 ดังนั้นจึงควรเปลี่ยนแปลงสภาพต่างๆ ของปฏิกิริยา PCR เพื่อความเหมาะสม เช่น ความเข้มข้นของแมกนีเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้นของดีเอ็นเอเป้าหมาย (DNA template) และอุณหภูมิกับเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา PCR เพื่อให้ได้สภาพที่เหมาะสมที่สุดในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยา PCR



ภาพที่ 15 รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 841 แถวที่ 1 - 6 คือ กล้วยป่าปลีเหลือง กล้วยป่าผลเล็ก กล้วยตานี กล้วยหก กล้วยไหล และ กล้วยรัตกัทรี ตามลำดับ M คือ 100 bp DNA Ladder Plus

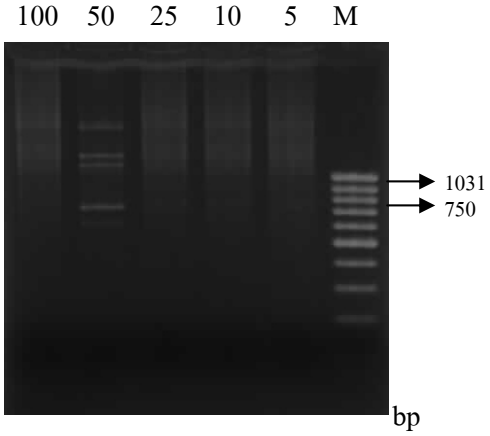
แมกนีเซียมคลอไรด์เป็นสารที่มีความสำคัญของปฏิกิริยา PCR เนื่องจากแมกนีเซียมคลอไรด์มีผลต่อกระบวนการทำงานของเอนไซม์ DNA polymerase ดังนั้นความเข้มข้นที่เหมาะสมของแมกนีเซียมคลอไรด์จึงมีผลต่อการทำงานของ DNA polymerase ในปฏิกิริยา PCR จากผลการทดสอบแมกนีเซียมคลอไรด์โดยใช้แมกนีเซียมคลอไรด์ความเข้มข้นต่างๆ กันคือ 0.2, 0.4, 0.8 และ 2.0 mM ตามลำดับ (ปริมาตรรวมของปฏิกิริยา 15 µl) โดยใช้ตัวอย่างดีเอ็นเอจากการเตรียมข้างต้น 1 ตัวอย่าง ผลที่ได้แสดงดังภาพที่ 16



ภาพที่ 16 รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 815 ที่ความเข้มข้นของ $MgCl_2$ ต่างๆกัน คือ 0.2, 0.4, 0.8 และ 2.0 mM ตามลำดับ M คือ 100 bp DNA Ladder Plus

จากภาพที่ 16 แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของแมกนีเซียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 0.2, 0.4, 0.8 และ 2.0 mM ตามลำดับ มีรูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอชัดเจนและคล้ายคลึงกัน โดยที่ความเข้มข้น 2.0 mM มีรูปแบบที่ชัดเจนที่สุดและมีความคงที่ของแถบดีเอ็นเอมากกว่าความเข้มข้นอื่นๆ ดังนั้นในกรณีนี้จึงควรเลือกใช้ความเข้มข้นของแมกนีเซียมคลอไรด์ที่ 2.0 mM

จากนั้นทำการทดสอบปริมาณดีเอ็นเอที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา PCR เนื่องจากปริมาณดีเอ็นเอที่มากเกินไปหรือน้อยเกินไปมีผลต่อปฏิกิริยา PCR เนื่องจากอาจเกิดการคืนสภาพมาจับตัวกันกลายเป็นเกลียวคู่ได้ใหม่จึงขัดขวางการทำงานของไพรเมอร์หรือถ้ามีปริมาณดีเอ็นเอในปฏิกิริยามากย่อมหมายถึงมีสารเจือปนที่อยู่ในสารละลายดีเอ็นเอมากขึ้นตามไปด้วยทำให้ปฏิกิริยาเกิดไม่ดีเท่าที่ควร ดังนั้นจึงควรทำการทดสอบปริมาณดีเอ็นเอที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยา PCR จากการทดลองใช้ปริมาณดีเอ็นเอเริ่มต้นตั้งแต่ 5-100 ng ผลที่ได้แสดงดังภาพที่ 17

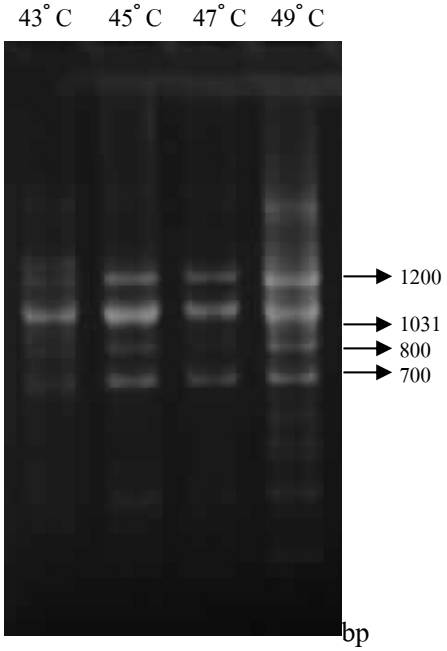


ภาพที่ 17 รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 815 ที่ความเข้มข้นต่างๆกันของดีเอ็นเอเริ่มต้น คือ 100, 50, 25, 10 และ 5 ng ตามลำดับ แถว M คือ 100 bp DNA Ladder Plus

จะเห็นได้ว่าที่ความเข้มข้นของดีเอ็นเอเริ่มต้น 50 ng จะให้แถบของดีเอ็นเอชัดเจนที่สุด ดังนั้นจากการทดลองจึงควรเลือกใช้ปริมาณดีเอ็นเอเริ่มต้นที่ความเข้มข้น 50 ng

อุณหภูมิกับเวลาที่ใช้ในโปรแกรมการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอมีความสำคัญต่อปฏิกิริยา PCR ด้วยเช่นกันเนื่องจากเวลาที่มากเกินไปอาจมีผลต่อการเสียสภาพของดีเอ็นเอหรือเวลาน้อยเกินไปอาจทำให้การจับตัวกันของไพรเมอร์กับดีเอ็นเอไม่ดีพอ ส่วนอุณหภูมิที่สูงหรือต่ำเกินไปย่อมส่งผลต่อการจับของไพรเมอร์กับดีเอ็นเอเป้าหมายอันเป็นผลทำให้เกิดแถบของดีเอ็นเอที่ไม่ใช่แถบเป้าหมายขึ้นได้

จากการหาอุณหภูมิ temperature melting (Tm) และ annealing temperature (Ta) ของไพรเมอร์พบว่าอุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์อยู่ในช่วง 45-47 ˚ C ดังนั้นจึงทำการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของโปรแกรมการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอช่วง annealing เป็นอุณหภูมิที่ 43˚ C, 45˚ C, 47˚ C และ 49˚ C ตามลำดับ เพื่อทดสอบอุณหภูมิที่เหมาะสม ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 18



ภาพที่ 18 รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 815 ที่ annealing temperature ต่างๆกัน คือ 43˚ C, 45˚ C, 47˚ C, และ 49˚ C ตามลำดับ

จากภาพจะเห็นได้ว่า annealing temperature ที่อุณหภูมิ 45˚ C และ 47 ˚ C ให้แถบของดีเอ็นเอเป้าหมายชัดเจนที่สุดส่วนที่อุณหภูมิ 43˚ C และ 49 ˚ C ให้แถบดีเอ็นเอที่ไม่ชัดเจน ดังนั้นจึงควรเลือกใช้อุณหภูมิในช่วง 45˚ C และ 47 ˚ C ในโปรแกรมการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (อุณหภูมิดังกล่าวขึ้นอยู่กับ annealing temperature ของแต่ละไพรเมอร์ด้วย) ความเข้มข้นของสารต่างๆที่ใช้ในปฏิกิริยา PCR และโปรแกรมการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแสดงดังตารางที่ 6 และ 7

ตารางที่ 6 ความเข้มข้นของสารที่ใช้เป็นองค์ประกอบต่างๆในปฏิกิริยา PCR

สารที่ใช้	ปริมาตร (µl)	ความเข้มข้นสุดท้าย ในปฏิกิริยา
1. ดีเอ็นเอ (50 ng/µl)	3.0	150 ng/15 µl
2. 10x PCR buffer	1.5	1 เท่า
3. $MgCl_2$ (25 mM)	1.2	2 mM
4. dNTP (2 mM)	1.5	0.2 mM
5. ไพรเมอร์ (10 pM/µl)	1.0	10 pM/15 µl
6. *Taq* polymerase (5 unit/µl)	0.25	1.25 unit/15 µl
7. น้ำกลั่น	6.55	-
รวม	15.0	

ตารางที่ 7 โปรแกรมการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยา PCR

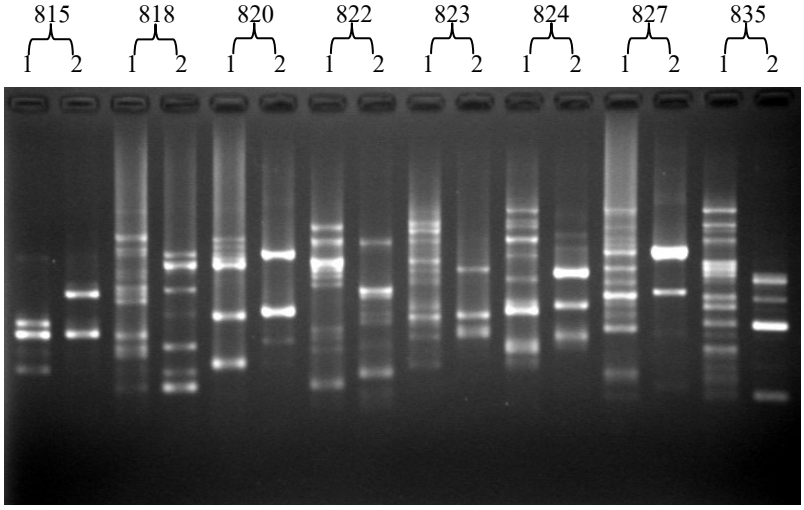
	อุณหภูมิ (˚C)	เวลา (นาที)	จำนวนรอบ
1. Denaturation	94	3	1
2. Denaturation	94	1	
Annealing	45, 47	1	40
Extension	72	2	
3. Final extension	72	5	1

หมายเหตุ อุณหภูมิ 45 ˚C ใช้กับไพรเมอร์ 814 และ 840 ส่วนอุณหภูมิ 47 ˚C ใช้กับไพรเมอร์ 815, 835, 843 และ 844 ตามลำดับ

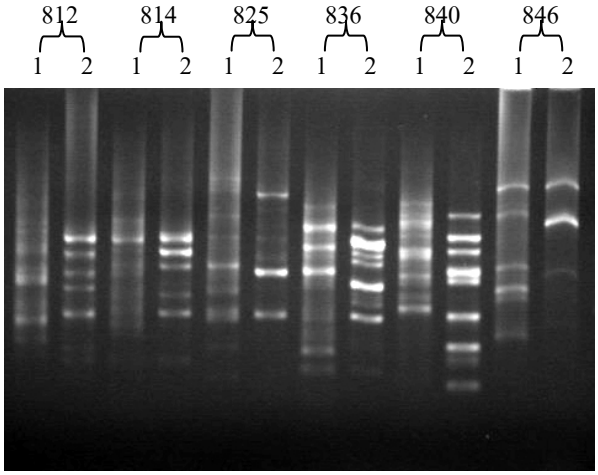
ขั้นตอนการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยา PCR ในเบื้องต้นต้องหาความเหมาะสมของปฏิกิริยาเพื่อช่วยในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ก่อน โดยใช้สารต่างๆในตารางที่ 6 และเงื่อนไขของอุณหภูมิในปฏิกิริยาการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในตารางที่ 7

ผลการตรวจหาไพรเมอร์ที่เหมาะสมโดยใช้ตัวอย่างกล้วยป่าพม่าและกล้วยตานี (เนื่องจากกล้วยทั้ง 2 ชนิดใช้เป็นตัวแทนของกล้วยในจีโนม A และ B ของกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกในปัจจุบัน) กับ ISSR ไพรเมอร์ (oligonucleotide set #9) จาก British Columbia University จำนวน 36 ไพรเมอร์ ผลการทดลองพบว่าไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้คือไพรเมอร์ 812, 814, 815, 818, 820, 822, 823, 824, 825, 827, 835, 836, 840, 841, 843, 844, 845 และ 846 ตามลำดับ รวมทั้งสิ้น 18 ไพเมอร์ ส่วนไพรเมอร์ที่เหลือไม่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้

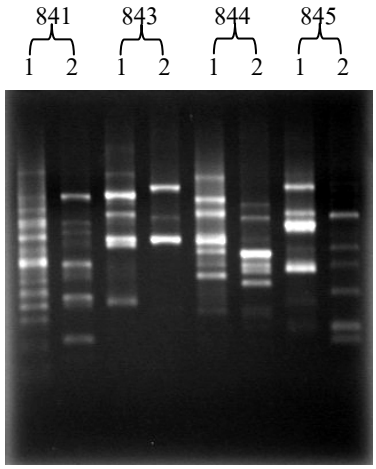
จากไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ดังกล่าวทำการคัดเลือกไพรเมอร์ที่เหมาะสมโดยดูจากความแตกต่างของตำแหน่งแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่งเปรียบเทียบกันโดยคู่ไพรเมอร์ใดมีความแตกต่างกันมาก (polymorphic) ก็นำมาใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป ผลแสดงดังภาพที่ 19-21



ภาพที่ 19 รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยป่าพม่า (1) กล้วยตานี (2) โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 815 - 835



ภาพที่ 20 รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยป่าพม่า (1) กล้วยตานี (2) โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 812 - 846



ภาพที่ 21 รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยป่าพม่า (1) กล้วยตานี (2) โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 841 - 845

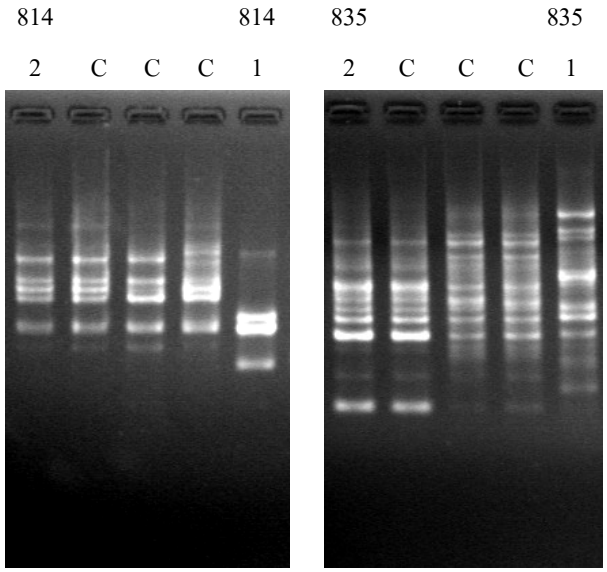
จากการทดลองพบว่ามีไพรเมอร์จำนวน 6 ไพรเมอร์ (คิดเป็น 16.67 เปอร์เซ็นต์) ตารางที่ 8 ที่ให้ความแตกต่างกันระหว่างตัวอย่างกล้วยที่ใช้ในการทดสอบสูง จาก ISSR ไพรเมอร์ คือ ไพรเมอร์ 814, 815, 835, 840, 843 และ 844 ดังแสดงในภาพที่ 19-21 หลังจากคัดเลือกไพรเมอร์ที่ใช้ในงานวิจัยได้แล้วต้องทำการตรวจเช็คไพรเมอร์ซ้ำอีกครั้งหนึ่งเพื่อตรวจสอบความคงที่ของไพรเมอร์ ดังนั้นจึงทำการสุ่มไพรเมอร์จำนวน 2 ไพรเมอร์เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอกับตัวอย่างเดิมคือ

กล้วยป่าพม่าและกล้วยตานี ผลการทดสอบนำมาเปรียบเทียบกับไพรเมอร์ที่ได้กระทำมาแล้ว แสดงดังภาพที่ 22

ตารางที่ 8 ชนิดของไพรเมอร์ ลำดับเบส percent of G + C และค่า melting temperature (Tm) / annealing temperature (Ta) ที่ใช้ในงานวิจัย

Primer	**Base sequencing (5′ - 3′)**	**Percent of G + C**	**Tm / Ta**
814	-CTC TCT CTC TCT CTC TA-	47	50/45
815	-CTC TCT CTC TCT CTC TG-	52	52/47
835	-AGA GAG AGA GAG AGA GYC-	50	52/47
840	-GAG AGA GAG AGA GAG AYT-	44	50/45
843	-CTC TCT CTC TCT CTC TRA-	44	52/47
844	-CTC TCT CTC TCT CTC TRC-	50	52/47

จากภาพที่ 22 จะเห็นได้ว่าไพรเมอร์ที่สุ่มนำมาทดสอบซ้ำ (ไพรเมอร์ 814 และ 835) จากไพรเมอร์ที่คัดเลือกใช้ในงานวิจัยทั้ง 6 ไพรเมอร์สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้เช่นเดียวกับไพรเมอร์ที่คัดเลือกในครั้งแรก กล่าวคือไพรเมอร์สามารถทำซ้ำแล้วให้ผลเหมือนเดิม ดังนั้นไพรเมอร์ดังกล่าวจึงสามารถใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอตัวอย่างในงานวิจัยได้



ภาพที่ 22 รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากการสุ่มตรวจหาไพรเมอร์ที่เหมาะสมซ้ำ โดยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ 814 และ 835 เช่นเดียวกับการตรวจสอบในครั้งแรกกับกล้วยป่าพม่า (1) และกล้วยตานี (2) C คือ ตัวอย่างควบคุม

4. การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่าง *M. acuminata*, *M. balbisiana* และพันธุ์กล้วยปลูก

4.1 การสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค inter - simple sequence repeat

จากลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วย *M. acuminata* และพันธุ์กล้วยปลูกทั้งหมด 45 ตัวอย่าง ที่ตรวจสอบด้วยเทคนิค inter - simple sequence repeat ด้วยไพรเมอร์ 814, 815, 835, 840, 843 และ 844 ตามลำดับ นำผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์ดังกล่าวมาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม โดยเปรียบเทียบถ้ามีแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งเดียวกันในทุกตัวอย่าง กำหนดเป็น “1” ถ้าไม่มีแถบดีเอ็นเอกำหนดเป็น “0” แล้วนำข้อมูลที่ได้มาหาความสัมพันธ์ในรูปของค่าดัชนีความคล้ายคลึง (similarity index) และจัดทำแผนภาพความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ด้วยวิธี UPGMA ด้วยโปรแกรม NTSYS-pc รุ่น 2.01

จากการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค inter - simple sequence repeat ทั้ง 6 ไพรเมอร์จากทั้งหมด 36 ไพรเมอร์ ได้จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 128 แถบ โดยไพรเมอร์ 835 ให้แถบ

ดีเอ็นเอมากที่สุดคือ 25 แถบ ไพรเมอร์ 814 จำนวน 20 แถบไพรเมอร์ 815 จำนวน 22 แถบไพรเมอร์ 840 จำนวน 21 แถบไพรเมอร์ 843 จำนวน 23 แถบและไพรเมอร์ 844 ให้แถบดีเอ็นเอน้อยที่สุดคือ 17 แถบ ซึ่งแถบดีเอ็นเอทั้ง 128 แถบเป็นแถบดีเอ็นเอที่เกิด polymorphic (ความแตกต่างระหว่างตำแหน่ง) ทั้งหมดและไม่มีแถบดีเอ็นเอที่เป็น monomorphic

การตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค inter - simple sequence repeat ของกล้วย *M. acuminata* และ *M. balbisiana* รวมทั้งกล้วยใน section อื่นและพันธุ์กล้วยปลูกรวมทั้งหมด 45 ตัวอย่าง โดยไพรเมอร์ 814 (ภาพที่ 23-25, 41 และ 42) พบว่า สามารถทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 20 แถบ โดยแถบดีเอ็นเอดังกล่าวมีขนาดระหว่าง 2500-350 bp ประกอบไปด้วย 2500, 2000, 1750, 1500, 1350, 1200, 1116, 1031, 950, 900, 800, 750, 700, 650, 600, 550, 500, 450, 400 และ 350 bp ตามลำดับ

การตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค inter - simple sequence repeat ของกล้วย *M. acuminata* และ *M. balbisiana* รวมทั้งกล้วยใน section อื่นและพันธุ์กล้วยปลูกรวมทั้งหมด 45 ตัวอย่าง โดยไพรเมอร์ 815 (ภาพที่ 26-28, 41 และ 42) พบว่า สามารถทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 22 แถบ โดยแถบดีเอ็นเอดังกล่าวมีขนาดระหว่าง 2000-350 bp ประกอบไปด้วย 2000, 1875, 1750, 1500, 1425, 1350, 1275, 1200, 1116, 1031, 950, 900, 850, 800, 750, 700, 650, 600, 550, 500, 450 และ 350 bp ตามลำดับ และสามารถทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มตัวอย่างที่มีจีโนม A กับกลุ่มตัวอย่างที่มีจีโนม B จำนวน 2 แถบ คือ ขนาด 450 และ 700 bp โดยแถบดีเอ็นเอขนาดดังกล่าวปรากฏในลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกลุ่มตัวอย่างจีโนม A แต่ไม่ปรากฏในกลุ่มตัวอย่างจีโนม B

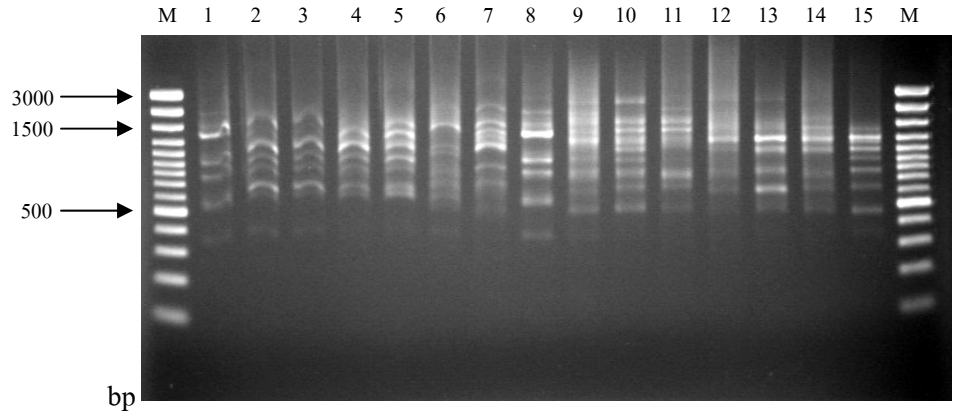
การตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค inter - simple sequence repeat ของกล้วย *M. acuminata* และ *M. balbisiana* รวมทั้งกล้วยใน section อื่นและพันธุ์กล้วยปลูกรวมทั้งหมด 45 ตัวอย่าง โดยไพรเมอร์ 835 (ภาพที่ 29-31, 41 และ 42) พบว่า สามารถทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 25 แถบ โดยแถบดีเอ็นเอดังกล่าวมีขนาดระหว่าง 3000-250 bp ประกอบไปด้วย 3000, 2500, 2250, 2000, 1750, 1500, 1350, 1200, 1116, 1031, 950, 900, 850, 800, 750, 700, 650, 600, 550, 500, 450, 400, 350, 300 และ 250 bp ตามลำดับ และสามารถทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มตัวอย่างที่มีจีโนม A กับกลุ่มตัวอย่างที่มีจีโนม B จำนวน 1 แถบ คือขนาด 1350 bp โดยแถบดี

เอ็นเอขนาดดังกล่าวปรากฏในลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกลุ่มตัวอย่างจีโนม A แต่ไม่ปรากฏในกลุ่มตัวอย่างจีโนม B

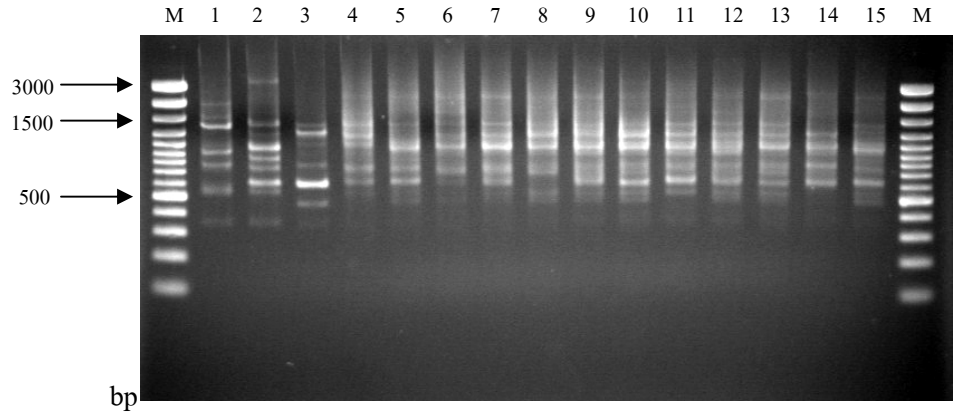
การตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค inter - simple sequence repeat ของกล้วย *M. acuminata* และ *M. balbisiana* รวมทั้งกล้วยใน section อื่นและพันธุ์กล้วยปลูกรวมทั้งหมด 45 ตัวอย่าง โดยไพรเมอร์ 840 (ภาพที่ 32-34, 41 และ 43) พบว่า สามารถทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 21 แถบ โดยแถบดีเอ็นเอดังกล่าวมีขนาดระหว่าง 2500-200 bp ประกอบไปด้วย 2500, 2000, 1750, 1500, 1350, 1200, 1031, 950, 900, 850, 800, 700, 650, 550, 500, 450, 400, 350, 300, 250 และ 200 bp ตามลำดับ

การตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค inter - simple sequence repeat ของกล้วย *M. acuminata* และ *M. balbisiana* รวมทั้งกล้วยใน section อื่นและพันธุ์กล้วยปลูกรวมทั้งหมด 45 ตัวอย่าง โดยไพรเมอร์ 843 (ภาพที่ 35-37, 41 และ 43) พบว่า สามารถทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 23 แถบ โดยแถบดีเอ็นเอดังกล่าวมีขนาดระหว่าง 3000-250 bp ประกอบไปด้วย 3000, 2500, 2000, 1750, 1500, 1350, 1200, 1116, 1031, 950, 900, 800, 750, 700, 650, 600, 550, 500, 450, 400, 350, 300 และ 250 bp ตามลำดับ และสามารถทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มตัวอย่างที่มีจีโนม A กับกลุ่มตัวอย่างที่มีจีโนม B จำนวน 1 แถบ คือขนาด 300 bp โดยแถบดีเอ็นเอดังกล่าวจะปรากฏในลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกลุ่มตัวอย่างจีโนม A แต่ไม่ปรากฏในกลุ่มตัวอย่างจีโนม B ส่วนแถบดีเอ็นเอขนาด 900 bp จะปรากฏในกลุ่มตัวอย่างจีโนม B แต่ไม่ปรากฏในกลุ่มตัวอย่างจีโนม A จึงทำให้สามารถแยกความแตกต่างระหว่างกลุ่มตัวอย่างได้

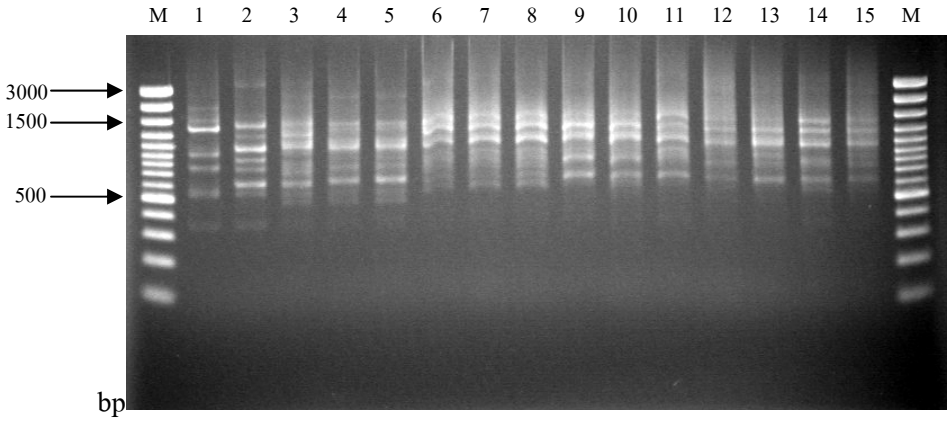
การตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค inter - simple sequence repeat ของกล้วย *M. acuminata* และ *M. balbisiana* รวมทั้งกล้วยใน section อื่นและพันธุ์กล้วยปลูกรวมทั้งหมด 45 ตัวอย่าง โดยไพรเมอร์ 844 (ภาพที่ 38-40, 41 และ 43) พบว่า สามารถทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 17 แถบ โดยแถบดีเอ็นเอดังกล่าวมีขนาดระหว่าง 2500-350 bp ประกอบไปด้วย 2500, 2000, 1750, 1625, 1500, 1350, 1200, 1031, 900, 850, 800, 700, 600, 550, 450, 400 และ 350 bp ตามลำดับ และสามารถทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มตัวอย่างที่มีจีโนม A กับกลุ่มตัวอย่างที่มีจีโนม B จำนวน 2 แถบ คือขนาด 400 และ 600 bp โดยแถบดีเอ็นเอขนาดดังกล่าวปรากฏในลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกลุ่มตัวอย่างจีโนม B แต่ไม่ปรากฏในกลุ่มตัวอย่างจีโนม A ส่วนแถบดีเอ็นเอที่ขนาด 850 bp พบเฉพาะในกลุ่มตัวอย่างกล้วยตานี



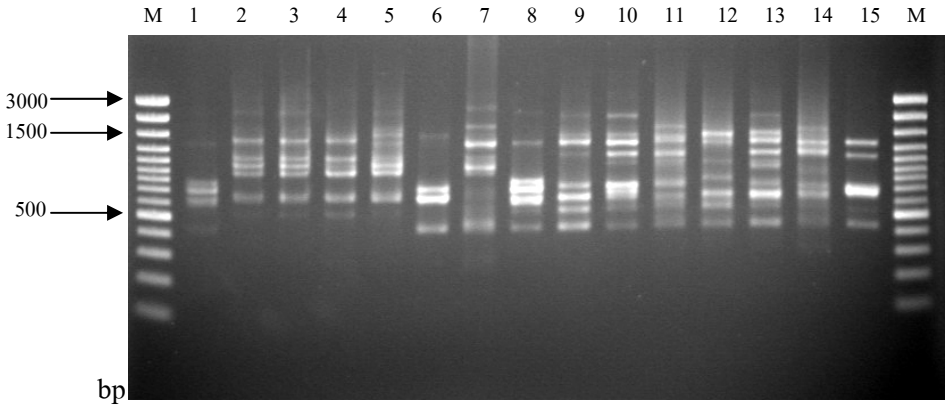
ภาพที่ 23 รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค inter - simple sequence repeat ด้วยไพรเมอร์ 814 M คือ 100 bp DNA Ladder Plus แถวที่ 1 และ 2 คือ ตัวแทนชนิดกล้วยชุดจีโนม AA และ BB ซึ่งประกอบไปด้วยกล้วยป่าพม่าและกล้วยตานี ตามลำดับ แถวที่ 3-5 คือ ตัวอย่างกล้วยตานี (MW1, MW2 และ MW3) แถวที่ 6-8 คือ ตัวอย่างกล้วยป่าพม่า (MW4, MW5 และ MW6) แถวที่ 9-11 คือ ตัวอย่างกล้วยป่าสยาม (MW7, MW8 และ MW9) แถวที่ 12-14 คือ ตัวอย่างกล้วยป่ามะละกา (MW10, MW11 และ MW12) แถวที่ 15 คือ ตัวอย่างกล้วยป่าปลีเหลือง (MW13) ตามลำดับ



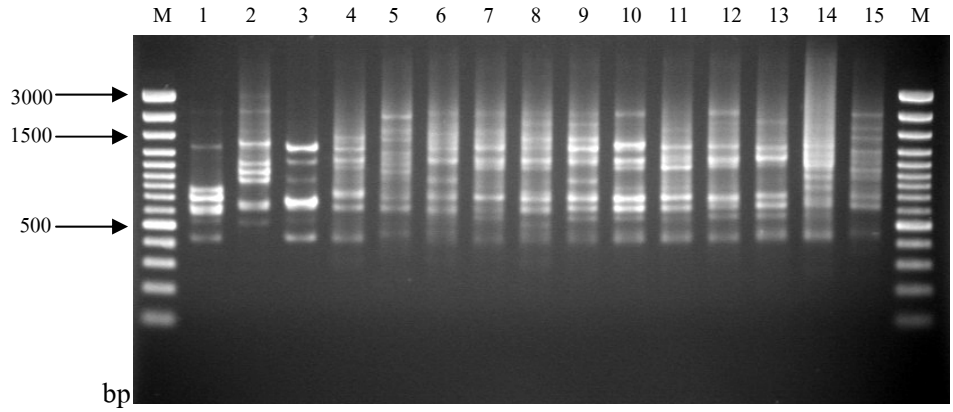
ภาพที่ 24 รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค inter - simple sequence repeat ด้วยไพรเมอร์ 814 M คือ 100 bp DNA Ladder Plus แถวที่ 1 และ 2 คือ ตัวแทนชนิดกล้วยชุดจีโนม AA และ BB ซึ่งประกอบด้วยกล้วยป่าพม่าและกล้วยตานี ตามลำดับ แถวที่ 3 คือ ตัวอย่างกล้วยป่าปลีเหลือง (MW14) แถวที่ 4-8 คือ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AA ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยหอมจำปา กล้วยน้ำไท กล้วยไข่ทองเงย กล้วยไข่ทองร่วง และกล้วยเล็บมือนาง (MC1, MC2, MC3, MC4 และ MC5) แถวที่ 9-13 คือ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AAA ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยหอมเขียวค่อม กล้วยนากแดง กล้วยไข่ บว.2 กล้วยไข่พระตะบอง และ กล้วยหอมทอง (MC6, MC7, MC8, MC9 และ MC10) แถวที่ 14-15 กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AAB ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยกล้าย และ กล้วยร้อยหวี (MC11 และ MC12) ตามลำดับ



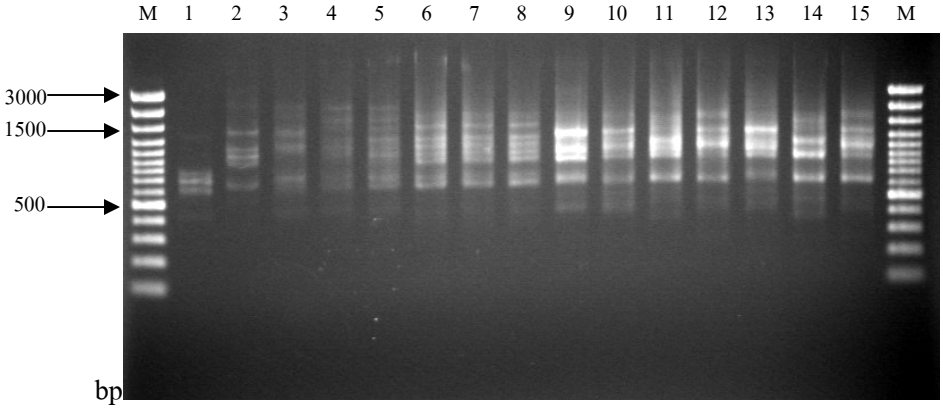
ภาพที่ 25 รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค inter - simple sequence repeat ด้วยไพรเมอร์ 814 M คือ 100 bp DNA Ladder Plus แถวที่ 1 และ 2 คือ ตัวแทนชนิดกล้วยชุดจีโนม AA และ BB ประกอบด้วย กล้วยป่าพม่าและกล้วยตานี ตามลำดับ แถวที่ 3-5 คือ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AAB ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยนมสาว กล้วยน้ำฝาด และกล้วยน้ำกาบดำ (MC13, MC14 และ MC15) แถวที่ 6-10 คือ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม ABB ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยน้ำว้าไส้เหลือง กล้วยน้ำว้าดำ กล้วยน้ำว้าค่อม กล้วยหักมุกเขียว และ กล้วยหักมุกขาว (MC16, MC17, MC18, MC19 และ MC20) แถวที่ 11 คือ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม ABBB ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยเทพรส (MC21) แถวที่ 12-15 คือ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม BBB ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยเทพพนม กล้วยพม่าแหกคุก กล้วยเล็บช้างกุด และกล้วยหิน (MC22, MC23, MC24 และ MC25) ตามลำดับ



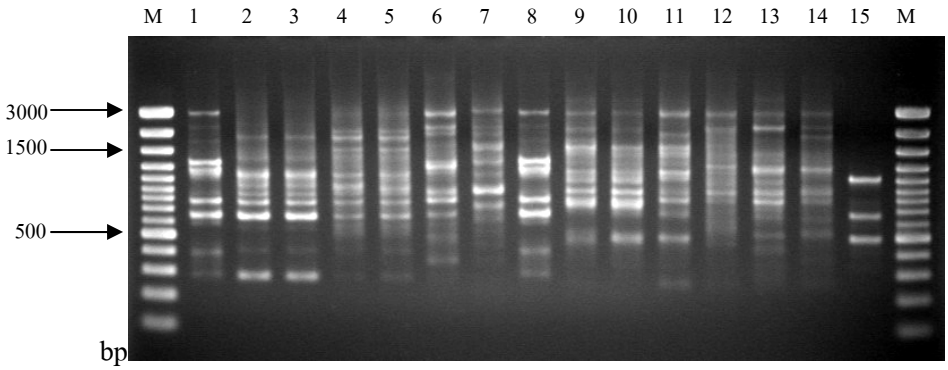
<u>ภาพที่ 26</u> รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค inter - simple sequence repeat ด้วยไพรเมอร์ 815 M คือ 100 bp DNA Ladder Plus แถวที่ 1 และ 2 คือ ตัวแทนชนิดกล้วยชุดจีโนม AA และ BB ซึ่งประกอบไปด้วยกล้วยป่าพม่าและกล้วยตานี ตามลำดับ แถวที่ 3-5 คือ ตัวอย่าง กล้วยตานี (MW1, MW2 และ MW3) แถวที่ 6-8 คือ ตัวอย่างกล้วยป่าพม่า (MW4, MW5 และ MW6) แถวที่ 9-11 คือ ตัวอย่างกล้วยป่าสยาม (MW7, MW8 และ MW9) แถวที่ 12-14 คือ ตัวอย่างกล้วยป่ามะละกา (MW10, MW11 และ MW12) แถวที่ 15 คือ ตัวอย่างกล้วยป่าปลีเหลือง (MW13) ตามลำดับ



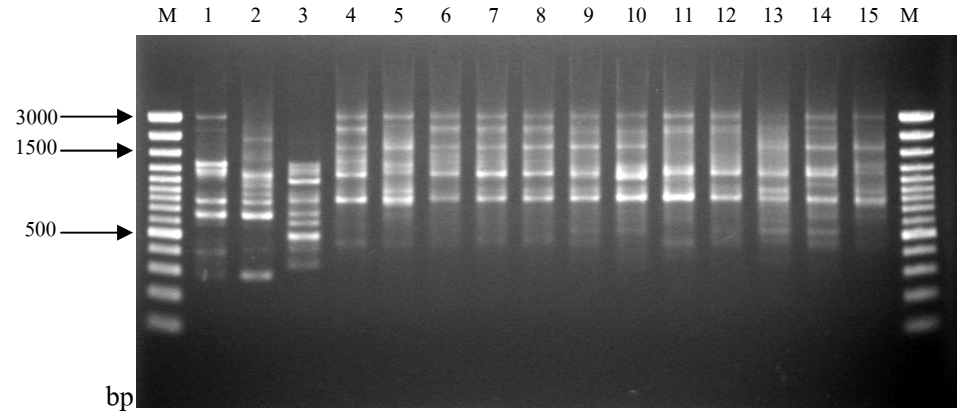
ภาพที่ 27 รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค inter - simple sequence repeat ด้วยไพรเมอร์ 815 M คือ 100 bp DNA Ladder Plus แถวที่ 1 และ 2 คือ ตัวแทนชนิดกล้วยชุดจีโนม AA และ BB ซึ่งประกอบด้วยกล้วยป่าพม่าและกล้วยตานี ตามลำดับ แถวที่ 3 คือ ตัวอย่างกล้วยป่าปลีเหลือง (MW14) แถวที่ 4-8 คือ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AA ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยหอมจำปา กล้วยน้ำไท กล้วยไข่ทองเงย กล้วยไข่ทองร่วง และกล้วยเล็บมือนาง (MC1, MC2, MC3, MC4 และ MC5) แถวที่ 9-13 คือ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AAA ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยหอมเขียวค่อม กล้วยนากแดง กล้วยไข่ บว.2 กล้วยไข่พระตะบอง และ กล้วยหอมทอง (MC6, MC7, MC8, MC9 และ MC10) แถวที่ 14-15 กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AAB ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยกล้าย และ กล้วยร้อยหวี (MC11 และ MC12) ตามลำดับ



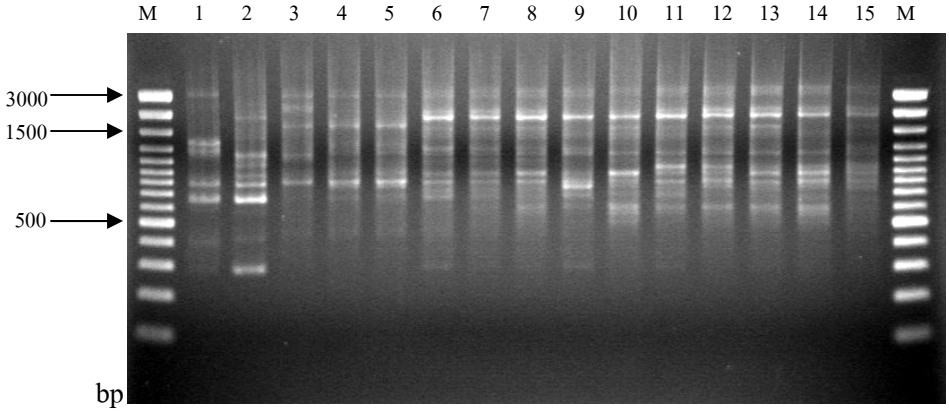
<u>ภาพที่ 28</u> รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค inter - simple sequence repeat ด้วยไพรเมอร์ 815 M คือ 100 bp DNA Ladder Plus แถวที่ 1 และ 2 คือ ตัวแทนชนิดกล้วยชุดจีโนม AA และ BB ประกอบด้วย กล้วยป่าพม่าและกล้วยตานี ตามลำดับ แถวที่ 3-5 คือ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AAB ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยนมสาว กล้วยน้ำฝาด และกล้วยน้ำกาบดำ (MC13, MC14 และ MC15) แถวที่ 6-10 คือ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม ABB ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยน้ำว้าไส้เหลือง กล้วยน้ำว้าดำ กล้วยน้ำว้าค่อม กล้วยหักมุกเขียว และ กล้วยหักมุกขาว (MC16, MC17, MC18, MC19 และ MC20) แถวที่ 11 คือ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม ABBB ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยเทพรส (MC21) แถวที่ 12-15 คือ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม BBB ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยเทพพนม กล้วยพม่าแหกคุก กล้วยเล็บช้างกุด และกล้วยหิน (MC22, MC23, MC24 และ MC25) ตามลำดับ



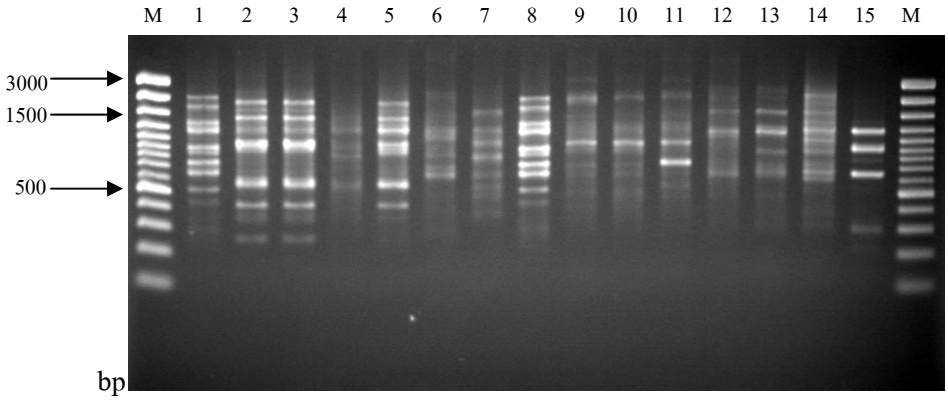
ภาพที่ 29 รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค inter - simple sequence repeat ด้วยไพรเมอร์ 835 M คือ 100 bp DNA Ladder Plus แถวที่ 1 และ 2 คือ ตัวแทนชนิดกล้วยชุดจีโนม AA และ BB ซึ่งประกอบไปด้วยกล้วยป่าพม่าและกล้วยตานี ตามลำดับ แถวที่ 3-5 คือ ตัวอย่าง กล้วยตานี (MW1, MW2 และ MW3) แถวที่ 6-8 คือ ตัวอย่างกล้วยป่าพม่า (MW4, MW5 และ MW6) แถวที่ 9-11 คือ ตัวอย่างกล้วยป่าสยาม (MW7, MW8 และ MW9) แถวที่ 12-14 คือ ตัวอย่างกล้วยป่ามะละกา (MW10, MW11 และ MW12) แถวที่ 15 คือ ตัวอย่างกล้วยป่าปลีเหลือง (MW13) ตามลำดับ



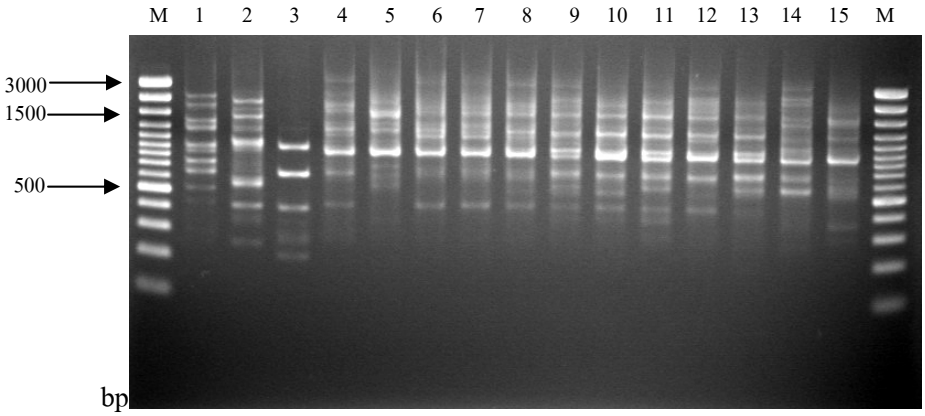
ภาพที่ 30 รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค inter - simple sequence repeat ด้วยไพรเมอร์ 835 M คือ 100 bp DNA Ladder Plus แถวที่ 1 และ 2 คือ ตัวแทนชนิดกล้วยชุดจีโนม AA และ BB ซึ่งประกอบด้วยกล้วยป่าพม่าและกล้วยตานี ตามลำดับ แถวที่ 3 คือ ตัวอย่างกล้วยป่าปลีเหลือง (MW14) แถวที่ 4-8 คือ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AA ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยหอมจำปา กล้วยน้ำไท กล้วยไข่ทองเงย กล้วยไข่ทองร่วง และกล้วยเล็บมือนาง (MC1, MC2, MC3, MC4 และ MC5) แถวที่ 9-13 คือ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AAA ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยหอมเขียวค่อม กล้วยนากแดง กล้วยไข่ บว.2 กล้วยไข่พระตะบอง และ กล้วยหอมทอง (MC6, MC7, MC8, MC9 และ MC10) แถวที่ 14-15 กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AAB ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยกล้าย และ กล้วยร้อยหวี (MC11 และ MC12) ตามลำดับ



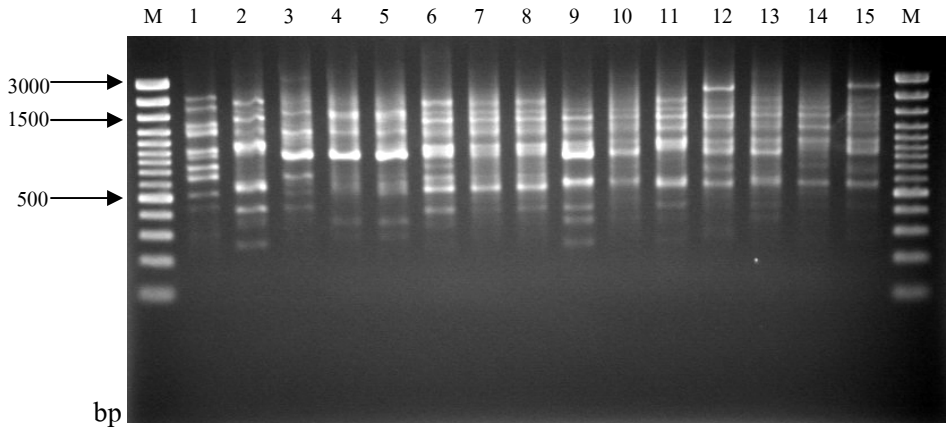
ภาพที่ 31 รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค inter - simple sequence repeat ด้วยไพรเมอร์ 835 M คือ 100 bp DNA Ladder Plus แถวที่ 1 และ 2 คือ ตัวแทนชนิดกล้วยชุดจีโนม AA และ BB ประกอบด้วย กล้วยป่าพม่าและกล้วยตานี ตามลำดับ แถวที่ 3-5 คือ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AAB ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยนมสาว กล้วยน้ำฝาด และกล้วยน้ำกาบดำ (MC13, MC14 และ MC15) แถวที่ 6-10 คือ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม ABB ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยน้ำว้าไส้เหลือง กล้วยน้ำว้าดำ กล้วยน้ำว้าค่อม กล้วยหักมุกเขียว และ กล้วยหักมุกขาว (MC16, MC17, MC18, MC19 และ MC20) แถวที่ 11 คือ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม ABBB ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยเทพรส (MC21) แถวที่ 12-15 คือ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม BBB ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยเทพพนม กล้วยพม่าแหกคุก กล้วยเล็บช้างกุด และกล้วยหิน (MC22, MC23, MC24 และ MC25) ตามลำดับ



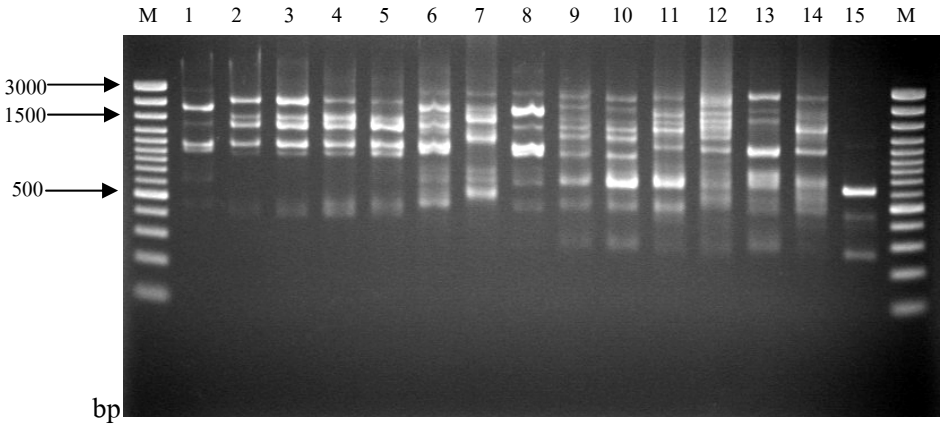
ภาพที่ 32 รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค inter - simple sequence repeat ด้วยไพรเมอร์ 840 M คือ 100 bp DNA Ladder Plus แถวที่ 1 และ 2 คือ ตัวแทนชนิดกล้วยชุดจีโนม AA และ BB ซึ่งประกอบไปด้วยกล้วยป่าพม่าและกล้วยตานี ตามลำดับ แถวที่ 3-5 คือ ตัวอย่าง กล้วยตานี (MW1, MW2 และ MW3) แถวที่ 6-8 คือ ตัวอย่างกล้วยป่าพม่า (MW4, MW5 และ MW6) แถวที่ 9-11 คือ ตัวอย่างกล้วยป่าสยาม (MW7, MW8 และ MW9) แถวที่ 12-14 คือ ตัวอย่างกล้วยป่ามะละกา (MW10, MW11 และ MW12) แถวที่ 15 คือ ตัวอย่างกล้วยป่าปลีเหลือง (MW13) ตามลำดับ



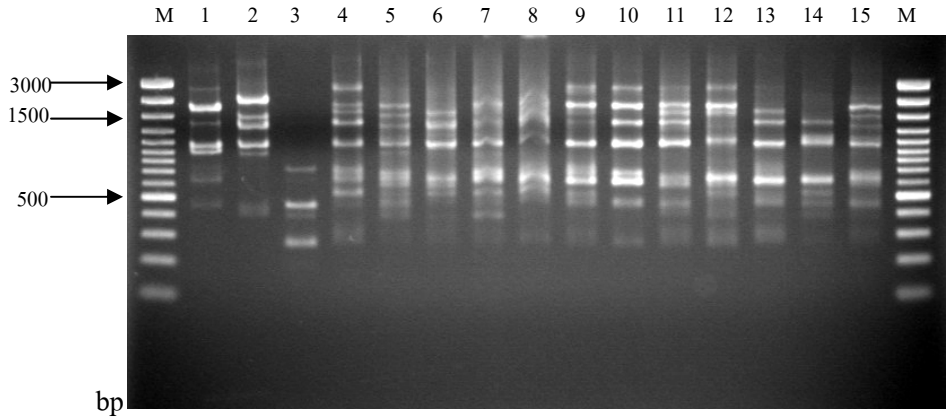
ภาพที่ 33 รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค inter - simple sequence repeat ด้วยไพรเมอร์ 840 M คือ 100 bp DNA Ladder Plus แถวที่ 1 และ 2 คือ ตัวแทนชนิดกล้วยชุดจีโนม AA และ BB ซึ่งประกอบด้วยกล้วยป่าพม่าและกล้วยตานี ตามลำดับ แถวที่ 3 คือ ตัวอย่างกล้วยป่าปลีเหลือง (MW14) แถวที่ 4-8 คือ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AA ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยหอมจำปา กล้วยน้ำไท กล้วยไข่ทองเงย กล้วยไข่ทองร่วง และกล้วยเล็บมือนาง (MC1, MC2, MC3, MC4 และ MC5) แถวที่ 9-13 คือ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AAA ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยหอมเขียวค่อม กล้วยนากแดง กล้วยไข่ บว.2 กล้วยไข่พระตะบอง และ กล้วยหอมทอง (MC6, MC7, MC8, MC9 และ MC10) แถวที่ 14-15 กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AAB ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยกล้าย และ กล้วยร้อยหวี (MC11 และ MC12) ตามลำดับ



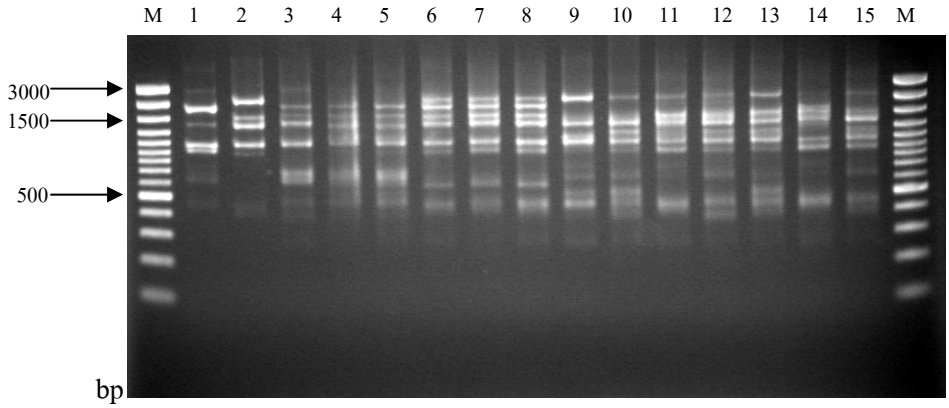
ภาพที่ 34 รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค inter - simple sequence repeat ด้วยไพรเมอร์ 840 M คือ 100 bp DNA Ladder Plus แถวที่ 1 และ 2 คือ ตัวแทนชนิดกล้วยชุดจีโนม AA และ BB ประกอบด้วย กล้วยป่าพม่าและกล้วยตานี ตามลำดับ แถวที่ 3-5 คือ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AAB ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยนมสาว กล้วยน้ำฝาด และกล้วยน้ำกาบดำ (MC13, MC14 และ MC15) แถวที่ 6-10 คือ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม ABB ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยน้ำว้าไส้เหลือง กล้วยน้ำว้าดำ กล้วยน้ำว้าค่อม กล้วยหักมุกเขียว และ กล้วยหักมุกขาว (MC16, MC17, MC18, MC19 และ MC20) แถวที่ 11 คือ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม ABBB ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยเทพรส (MC21) แถวที่ 12-15 คือ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม BBB ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยเทพพนม กล้วยพม่าแหกคุก กล้วยเล็บช้างกุด และกล้วยหิน (MC22, MC23, MC24 และ MC25) ตามลำดับ



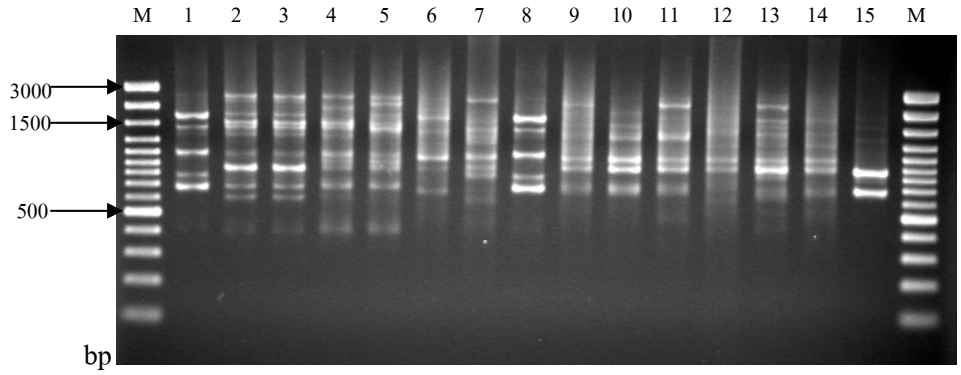
ภาพที่ 35 รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค inter - simple sequence repeat ด้วยไพรเมอร์ 843 M คือ 100 bp DNA Ladder Plus แถวที่ 1 และ 2 คือ ตัวแทนชนิดกล้วยชุดจีโนม AA และ BB ซึ่งประกอบไปด้วยกล้วยป่าพม่าและกล้วยตานี ตามลำดับ แถวที่ 3-5 คือ ตัวอย่าง กล้วยตานี (MW1, MW2 และ MW3) แถวที่ 6-8 คือ ตัวอย่างกล้วยป่าพม่า (MW4, MW5 และ MW6) แถวที่ 9-11 คือ ตัวอย่างกล้วยป่าสยาม (MW7, MW8 และ MW9) แถวที่ 12-14 คือ ตัวอย่างกล้วยป่ามะละกา (MW10, MW11 และ MW12) แถวที่ 15 คือ ตัวอย่างกล้วยป่าปลีเหลือง (MW13) ตามลำดับ



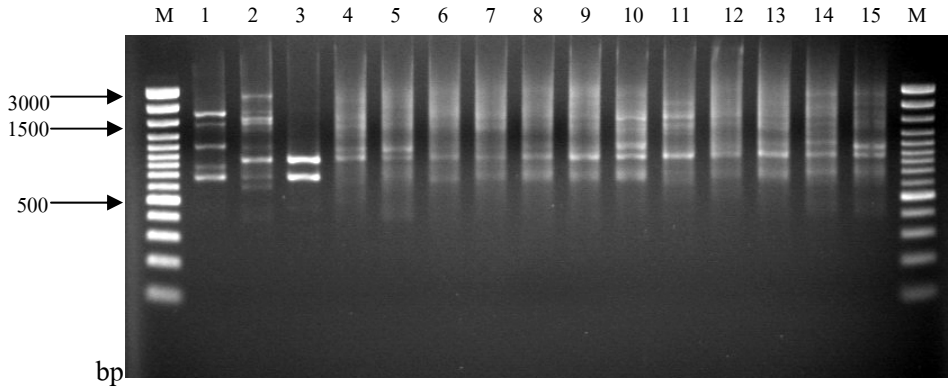
ภาพที่ 36 รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค inter - simple sequence repeat ด้วยไพรเมอร์ 843 M คือ 100 bp DNA Ladder Plus แถวที่ 1 และ 2 คือ ตัวแทนชนิดกล้วยชุดจีโนม AA และ BB ซึ่งประกอบด้วยกล้วยป่าพม่าและกล้วยตานี ตามลำดับ แถวที่ 3 คือ ตัวอย่างกล้วยป่าปลีเหลือง (MW14) แถวที่ 4-8 คือ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AA ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยหอมจำปา กล้วยน้ำไท กล้วยไข่ทองเงย กล้วยไข่ทองร่วง และกล้วยเล็บมือนาง (MC1, MC2, MC3, MC4 และ MC5) แถวที่ 9-13 คือ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AAA ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยหอมเขียวค่อม กล้วยนากแดง กล้วยไข่ บว.2 กล้วยไข่พระตะบอง และ กล้วยหอมทอง (MC6, MC7, MC8, MC9 และ MC10) แถวที่ 14-15 กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AAB ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยกล้าย และ กล้วยร้อยหวี (MC11 และ MC12) ตามลำดับ



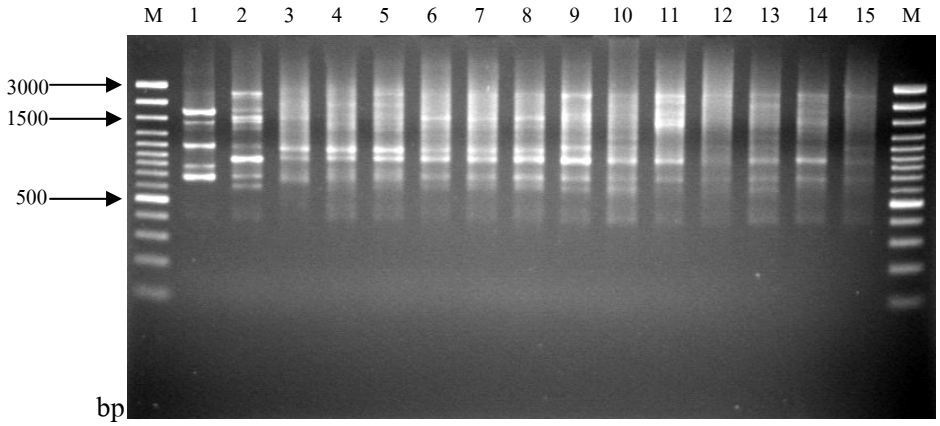
<u>ภาพที่ 37</u> รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค inter - simple sequence repeat ด้วยไพรเมอร์ 843 M คือ 100 bp DNA Ladder Plus แถวที่ 1 และ 2 คือ ตัวแทนชนิดกล้วยชุดจีโนม AA และ BB ประกอบด้วยกล้วยป่าพม่าและกล้วยตานี ตามลำดับ แถวที่ 3-5 คือ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AAB ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยนมสาว กล้วยน้ำฝาด และกล้วยน้ำกาบดำ (MC13, MC14 และ MC15) แถวที่ 6-10 คือ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม ABB ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยน้ำว้าไส้เหลือง กล้วยน้ำว้าดำ กล้วยน้ำว้าค่อม กล้วยหักมุกเขียว และ กล้วยหักมุกขาว (MC16, MC17, MC18, MC19 และ MC20) แถวที่ 11 คือ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม ABBB ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยเทพรส (MC21) แถวที่ 12-15 คือ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม BBB ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยเทพพนม กล้วยพม่าแหกคุก กล้วยเล็บช้างกุด และกล้วยหิน (MC22, MC23, MC24 และ MC25) ตามลำดับ



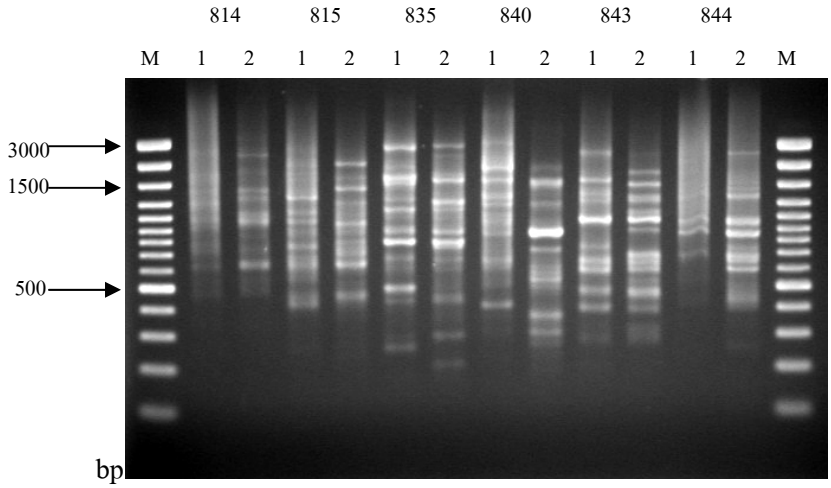
ภาพที่ 38 รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค inter - simple sequence repeat ด้วยไพรเมอร์ 844 M คือ 100 bp DNA Ladder Plus แถวที่ 1 และ 2 คือ ตัวแทนชนิดกล้วยชุดจีโนม AA และ BB ซึ่งประกอบไปด้วยกล้วยป่าพม่าและกล้วยตานี ตามลำดับ แถวที่ 3-5 คือ ตัวอย่าง กล้วยตานี (MW1, MW2 และ MW3) แถวที่ 6-8 คือ ตัวอย่างกล้วยป่าพม่า (MW4, MW5 และ MW6) แถวที่ 9-11 คือ ตัวอย่างกล้วยป่าสยาม (MW7, MW8 และ MW9) แถวที่ 12-14 คือ ตัวอย่างกล้วยป่ามะละกา (MW10, MW11 และ MW12) แถวที่ 15 คือ ตัวอย่างกล้วยป่าปลีเหลือง (MW13) ตามลำดับ



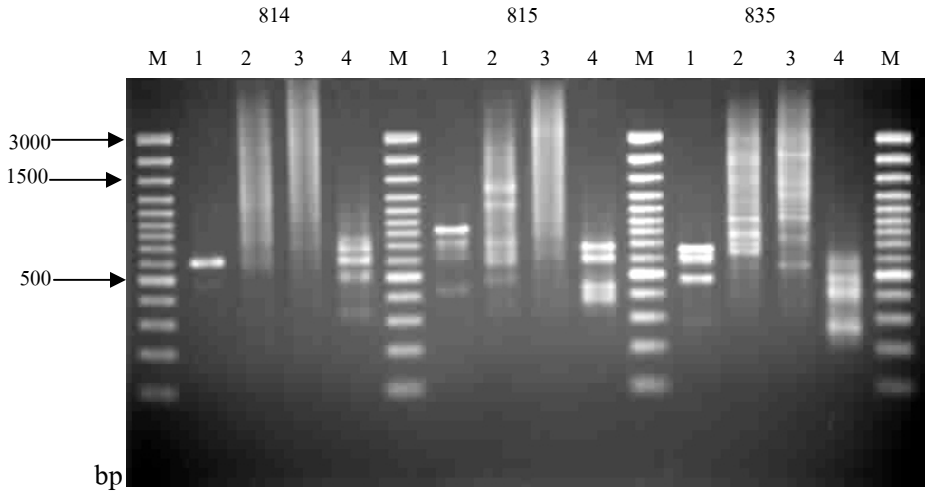
<u>ภาพที่ 39</u> รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค inter - simple sequence repeat ด้วยไพรเมอร์ 844 M คือ 100 bp DNA Ladder Plus แถวที่ 1 และ 2 คือ ตัวแทนชนิดกล้วยชุดจีโนม AA และ BB ซึ่งประกอบด้วยกล้วยป่าพม่าและกล้วยตานี ตามลำดับ แถวที่ 3 คือ ตัวอย่างกล้วยป่าปลีเหลือง (MW14) แถวที่ 4-8 คือ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AA ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยหอมจำปา กล้วยน้ำไท กล้วยไข่ทองเงย กล้วยไข่ทองร่วง และกล้วยเล็บมือนาง (MC1, MC2, MC3, MC4 และ MC5) แถวที่ 9-13 คือ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AAA ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยหอมเขียวค่อม กล้วยนากแดง กล้วยไข่ บว.2 กล้วยไข่พระตะบอง และ กล้วยหอมทอง (MC6, MC7, MC8, MC9 และ MC10) แถวที่ 14-15 กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AAB ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยกล้าย และ กล้วยร้อยหวี (MC11 และ MC12) ตามลำดับ



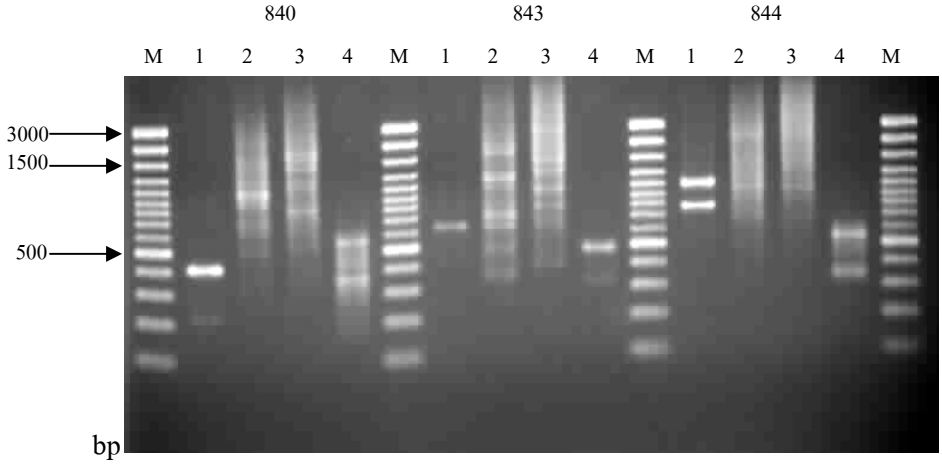
ภาพที่ 40 รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค inter - simple sequence repeat ด้วยไพรเมอร์ 844 M คือ 100 bp DNA Ladder Plus แถวที่ 1 และ 2 คือ ตัวแทนชนิดกล้วยชุดจีโนม AA และ BB ประกอบด้วย กล้วยป่าพม่าและกล้วยตานี ตามลำดับ แถวที่ 3-5 คือ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AAB ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยนมสาว กล้วยน้ำฝาด และกล้วยน้ำกาบดำ (MC13, MC14 และ MC15) แถวที่ 6-10 คือ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม ABB ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยน้ำว้าไส้เหลือง กล้วยน้ำว้าดำ กล้วยน้ำว้าค่อม กล้วยหักมุกเขียว และ กล้วยหักมุกขาว (MC16, MC17, MC18, MC19 และ MC20) แถวที่ 11 คือ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม ABBB ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยเทพรส (MC21) แถวที่ 12-15 คือ กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม BBB ประกอบด้วยตัวอย่างกล้วยเทพพนม กล้วยพม่าแหกคุก กล้วยเล็บช้างกุด และกล้วยหิน (MC22, MC23, MC24 และ MC25) ตามลำดับ



ภาพที่ 41 รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค inter - simple sequence repeat ด้วยไพรเมอร์ 814, 815, 835, 840, 843 และ 844 ตามลำดับ M คือ 100 bp DNA Ladder Plus แถวที่ 1 คือ กล้วยป่าผลเล็ก (MW15) แถวที่ 2 คือ กล้วยน้ำไท (MC26) ตามลำดับ



ภาพที่ 42 รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค inter - simple sequence repeat ด้วยไพรเมอร์ 814, 815 และ 835 M คือ 100 bp DNA Ladder Plus แถวที่ 1 คือ กล้วยหก (MI) แถวที่ 2 คือ กล้วยไหล (ML) แถวที่ 3 คือ กล้วยรัตกัทรี (MCo) และแถวที่ 4 คือ กล้วยนวล (EG) ตามลำดับ



ภาพที่ 43 รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค inter - simple sequence repeat ด้วยไพรเมอร์ 840, 843 และ 844 M คือ 100 bp DNA Ladder Plus แถวที่ 1 คือ กล้วยหก (MI) แถวที่ 2 คือ กล้วยไหล (ML) แถวที่ 3 คือ กล้วยรัตกัทรี (MCo) และแถวที่ 4 คือ กล้วยนวล (EG) ตามลำดับ

การตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค inter - simple sequence repeat ของกล้วย *M. acuminata* และ *M. balbisiana* รวมทั้งกล้วยใน section อื่นและพันธุ์กล้วยปลูกรวมทั้งหมด 45 ตัวอย่างด้วย ISSR ไพรเมอร์จำนวน 6 ไพรเมอร์ (ภาพที่ 23-43) พบว่า สามารถทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 128 แถบ โดยแถบดีเอ็นเอดังกล่าวมีขนาดอัลลีล (allele size) ระหว่าง 3,000-200 bp และมีจำนวนอัลลีลเฉลี่ยต่อไพรเมอร์ (average per primer) เท่ากับ 21.33 ความถี่ของอัลลีล (allele frequency) เท่ากับ 0.18 ค่า polymorphic percentage เท่ากับ 1.00 ค่า heterozygosity เท่ากับ 0.29 ตามลำดับ รายละเอียดแสดงดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 ชนิดของไพรเมอร์ จำนวนอัลลีล ค่าความถี่ของอัลลีล ขนาดของอัลลีล ค่า polymorphic percentage และ ค่า heterozygosity (Hn) ที่ใช้ในงานวิจัย

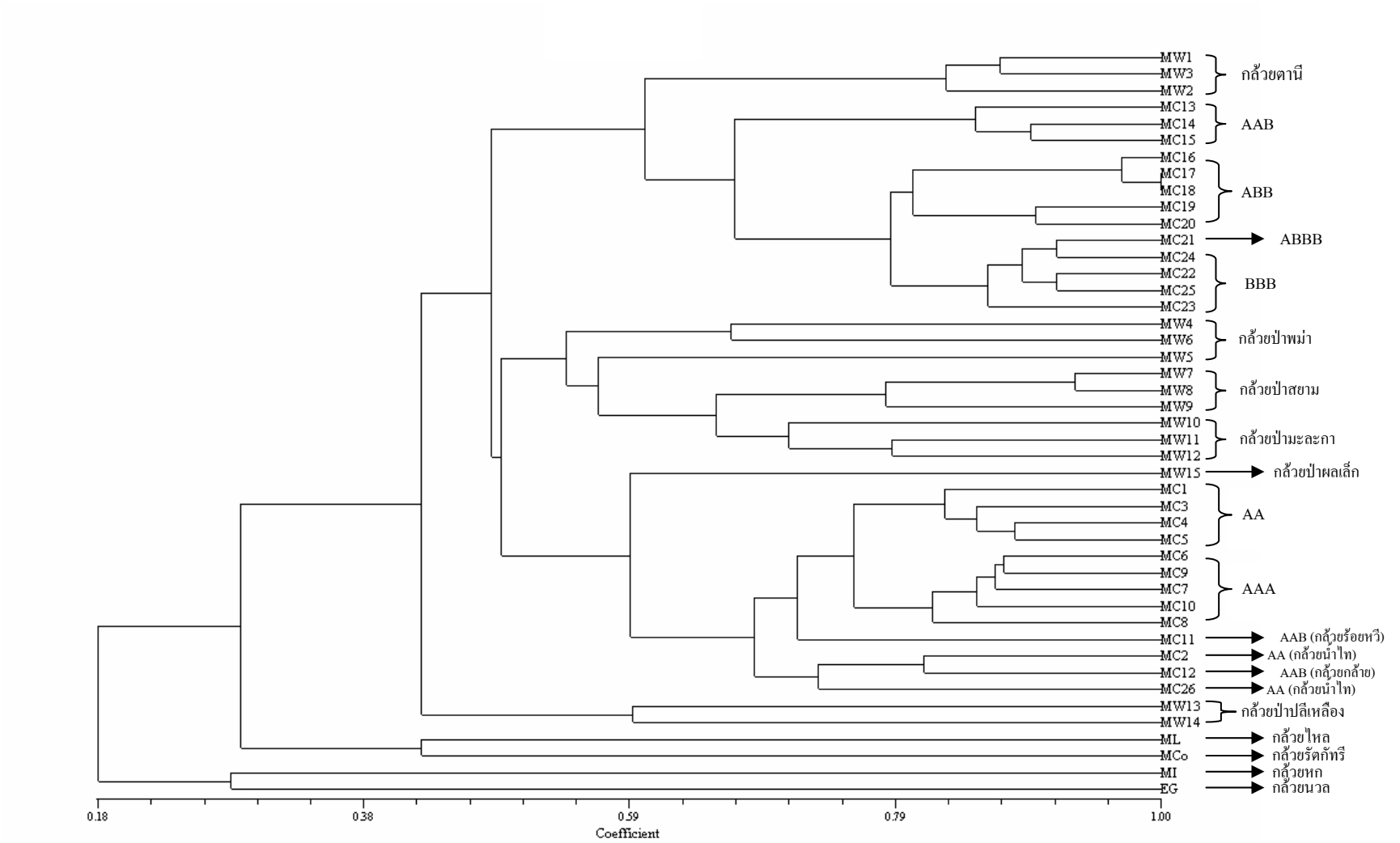
Primer	Number of allele	Allele frequency	Allele size (bp)	Size (bp)	Polymorphic percentage	Heterozygosity (Hn)
814	20	0.17	350-2500	2500, 2000, 1750, 1500, 1350, 1200, 1116, 1031, 950, 900, 800, 750, 700, 650, 600, 550, 500, 450, 400, 350	1.00	0.23
815	22	0.17	350-2000	2000, 1875, 1750, 1500, 1425, 1350, 1275, 1200, 1116, 1031, 950, 900, 850, 800, 750, 700, 650, 600, 550, 500, 450, 350	1.00	0.34
835	25	0.19	250-3000	3000, 2500, 2250, 2000, 1750, 1500, 1350, 1200, 1116, 1031, 950, 900, 850, 800, 750, 700, 650, 600, 550, 500, 450, 400, 350, 300, 250	1.00	0.30
840	21	0.21	200-2500	2500, 2000, 1750, 1500, 1350, 1200, 1031, 950, 900, 850, 800, 700, 650, 550, 500, 450, 400, 350, 300, 250, 200	1.00	0.32
843	23	0.17	250-3000	3000, 2500, 2000, 1750, 1500, 1350, 1200, 1116, 1031, 950, 900, 800, 750, 700, 650, 600, 550, 500, 450, 400, 350, 300, 250	1.00	0.29
844	17	0.19	350-2500	2500, 2000, 1750, 1625, 1500, 1350, 1200, 1031, 900, 850, 800, 700, 600, 550, 450, 400, 350	1.00	0.28
Total	128	-	-	-	-	-
Average	21.33	0.18	-	-	1.00	0.29

4.2 การวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

จากลายพิมพ์ดีเอ็นเอจำนวน 128 แถบนำมาคำนวณหาค่าดัชนีความคล้ายคลึง ด้วยคอมพิวเตอร์โดยใช้โปรแกรม NTSYS-pc รุ่น 2.01 ดังตารางผนวกที่ 1 และจัดทำแผนภาพความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยวิธี UPGMA ดังภาพที่ 44 พบว่าสามารถจัดกลุ่มตัวอย่างได้ 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย กล้วยไหล กล้วยรัตกัทรี กล้วยหก กล้วยนวล รวมทั้งกล้วยป่าปลีเหลือง และกลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยทั้ง 4 ชนิดย่อยของ *Musa acuminata*, กล้วยตานี และกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูก โดยในกลุ่มที่ 2 นี้สามารถแยกได้ 3 กลุ่มย่อย คือ

กลุ่มย่อยที่ 1 ชนิดย่อยของ *Musa acuminata* ตัวอย่างกล้วยในกลุ่มนี้ประกอบไปด้วย กล้วยป่าพม่า (MW4, MW5 และ MW6) มีค่าดัชนีความคล้ายคลึงเท่ากับ 0.59 กล้วยป่าสยาม (MW7, MW8 และ MW9) มีค่าดัชนีความคล้ายคลึงเท่ากับ 0.83 และกล้วยป่ามะละกา (MW10, MW11 และ MW12) มีค่าดัชนีความคล้ายคลึงเท่ากับ 0.74 ช่วงค่าดัชนีความคล้ายคลึงภายในกลุ่มเท่ากับ 0.93-0.47 และค่าดัชนีความคล้ายคลึงเฉลี่ยทั้งหมดภายในกลุ่มเท่ากับ 0.62

กลุ่มย่อยที่ 2 กลุ่มกล้วยตานีและกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกจีโนม B (BBB, ABBB, ABB และ AAB) ตัวอย่างกล้วยในกลุ่มนี้ประกอบไปด้วยกล้วยตานี (MW1, MW2 และ MW3) มีค่าดัชนีความคล้ายคลึงเท่ากับ 0.85 กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม BBB ประกอบไปด้วย กล้วยเทพนม (MC22) กล้วยพม่าแหกคุก (MC23) กล้วยเล็บช้างกุด (MC24) และกล้วยหิน (MC25) มีค่าดัชนีความคล้ายคลึงเท่ากับ 0.89 กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม ABBB ประกอบไปด้วย กล้วยเทพรส (MC21) กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม ABB ประกอบไปด้วย กล้วยน้ำว้าไส้เหลือง (MC16) กล้วยน้ำว้าดำ (MC17) กล้วยน้ำว้าค่อม (MC18) กล้วยหักมุกเขียว (MC19) และกล้วยหักมุกขาว (MC20) มีค่าดัชนีความคล้ายคลึงเท่ากับ 0.87 กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AAB ประกอบไปด้วย กล้วยนมสาว (MC13) กล้วยน้ำฝาด (MC14) และกล้วยน้ำกาบดำ (MC15) มีค่าดัชนีความคล้ายคลึงเท่ากับ 0.87 ช่วงค่าดัชนีความคล้ายคลึงภายในกลุ่มเท่ากับ 0.46-1.00 และค่าดัชนีความคล้ายคลึงเฉลี่ยทั้งหมดภายในกลุ่มเท่ากับ 0.72



ภาพที่ 44 แผนภาพความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (dendrogram) ระหว่าง *M. acuminata, M. balbisiana* และพันธุ์กล้วยปลูกด้วยเทคนิค inter - simple sequence repeat

กลุ่มย่อยที่ 3 กล้วยป่าผลเล็กและกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกจีโนม A (AA, AAA, AAB) ตัวอย่างกล้วยในกลุ่มนี้ประกอบไปด้วย กล้วยป่าผลเล็ก กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AA ประกอบไปด้วย กล้วยหอมจำปา (MC1) กล้วยไข่ทองเงย (MC3) กล้วยไข่ทองร่วง (MC4) กล้วยเล็บมือนาง (MC5) และกล้วยน้ำไท (MC2 และ MC26) มีค่าดัชนีความคล้ายคลึงเท่ากับ 0.76 กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AAA ประกอบไปด้วย กล้วยหอมเขียวค่อม (MC6) กล้วยหอมนากแดง (MC7) กล้วยไข่ บว.2 (MC8) กล้วยไข่พระตะบอง (MC9) และกล้วยหอมทอง (MC10) มีค่าดัชนีความคล้ายคลึงเท่ากับ 0.85 กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AAB ประกอบไปด้วย กล้วยกล้าย (MC11) และ กล้วยร้อยหวี (MC12) มีค่าดัชนีความคล้ายคลึงเท่ากับ 0.72 ช่วงค่าดัชนีความคล้ายคลึงภายในกลุ่มเท่ากับ 0.51-0.89 และค่าดัชนีความคล้ายคลึงเฉลี่ยทั้งหมดภายในกลุ่มเท่ากับ 0.72

ส่วนกล้วยในกลุ่มตัวอย่างที่ 1 ประกอบไปด้วย กล้วยป่าปลีเหลือง (MW13 และ MW14) กล้วยไหล (ML) กล้วยรัตกัทรี (MCo) กล้วยหก (MI) และกล้วยนวล (EG) มีช่วงค่าดัชนีความคล้ายคลึงภายในกลุ่มเท่ากับ 0.05-0.59 และค่าดัชนีความคล้ายคลึงเฉลี่ยทั้งหมดภายในกลุ่มเท่ากับ 0.25

จากแผนภาพแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (dendrogram) ระหว่าง *Musa acuminata* กับพันธุ์กล้วยปลูกจีโนม A พบว่า *Musa acuminata* ที่มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมกับพันธุ์กล้วยปลูกจีโนม A มากที่สุดคือ กล้วยป่าผลเล็ก และเมื่อหาค่าดัชนีความคล้ายคลึงพบว่า กล้วยป่าผลเล็ก มีค่าความคล้ายคลึงกับกล้วยน้ำไท (MC26) มากที่สุด คือ มีค่าดัชนีความคล้ายคลึงเท่ากับ 0.71 รองลงมาคือ กล้วยน้ำไท (MC2) มีค่าดัชนีความคล้ายคลึงเท่ากับ 0.66 กล้วยไข่ทองร่วง (MC4) มีค่าดัชนีความคล้ายคลึงเท่ากับ 0.63 และ กล้วยหอมทอง (MC10) และ กล้วยกล้าย (MC11) มีค่าดัชนีความคล้ายคลึงเท่ากับ 0.62 ตามลำดับ

จากแผนภาพแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (dendrogram) ระหว่างกล้วยตานี (*Musa balbisiana*) กับพันธุ์กล้วยปลูกจีโนม B พบว่ากลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกจีโนม B ที่มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมกับกล้วยตานี มากที่สุดคือ กล้วยเทพรส (MC21) มีค่าดัชนีความคล้ายคลึงเท่ากับ 0.66 รองลงมาคือ กล้วยพม่าแหกคุก (MC23) กล้วยหักมุกเขียว (MC19) กล้วยน้ำว้าไส้เหลือง (MC16) กล้วยน้ำว้าดำ (MC17) กล้วยน้ำว้าค่อม (MC18) มีค่าดัชนีความคล้ายคลึงเท่ากับ 0.65 และกล้วยหักมุกขาว มีค่าดัชนีความคล้ายคลึงเท่ากับ 0.64 ตามลำดับ

วิจารณ์

Musa acuminata ในประเทศไทยมี 4 ชนิดย่อย ประกอบด้วย กล้วยป่าสยาม กล้วยป่าผลเล็ก กล้วยป่ามะละกา และ กล้วยป่าพม่า (เบญจมาศ, 2538) ผลจากการเก็บตัวอย่าง *M. acuminata* และทำการจัดจำแนกในระดับชนิดย่อย พบว่า สามารถจำแนกได้เพิ่ม 1 ชนิดย่อย คือ กล้วยป่าปลีเหลือง ซึ่งพบเป็นชนิดย่อยที่นำเข้ามาปลูกจากต่างประเทศและไม่พบกระจายพันธุ์ในประเทศไทย (Simmonds, 1957) ชนิดย่อยของ *M. acuminata* สามารถจัดจำแนกด้วยการมีไขและไม่มีไขของกาบใบ ซึ่งในกลุ่มที่กาบใบมีไขประกอบด้วย กล้วยป่าปลีเหลือง กล้วยป่ามะละกา และกล้วยป่าสยาม ซึ่ง กล้วยป่าปลีเหลืองสามารถจำแนกได้ด้วยลักษณะของกาบใบมีไขบางๆและมีดอกเพศผู้ที่สมบูรณ์อย่างน้อย 1 ดอก ส่วนกล้วยป่ามะละกา และกล้วยป่าสยาม สามารถจำแนกออกจากกันด้วยลักษณะของการหลุดร่วงของกาบปลีและการซ้อนเหลื่อมของกาบปลี ส่วนในกลุ่มที่กาบใบไม่มีไขประกอบด้วย กล้วยป่าผลเล็ก และกล้วยป่าพม่า สามารถจำแนกออกจากกันได้ด้วยลักษณะเม็ดสีของลำต้นเทียมและการซ้อนเหลื่อมของกาบปลี

การจัดจำแนกชนิดย่อยของ *Musa acuminata* ในการศึกษาครั้งนี้ได้เพิ่มเติมลักษณะของ rachis รูปทรงปลี และลักษณะของผล (Ortiz and Dirk, 1998) เพื่อใช้ประกอบการจัดจำแนก เนื่องจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ใช้จัดจำแนกของ Simmonds (1957) ในบางลักษณะมีความใกล้เคียงกันและยากต่อการวินิจฉัย เช่น เม็ดสีของลำต้นเทียม สีของกาบปลี ซึ่งลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่เพิ่มเติมเข้ามานี้จะช่วยในการจัดจำแนกออกเป็นชนิดย่อยต่างๆได้ชัดเจนยิ่งขึ้น

การสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค inter - simple sequence repeat โดยใช้ไพรเมอร์จำนวน 6 ชนิด คิดเป็น 16.67 % ประกอบไปด้วยไพรเมอร์ 814, 815, 835, 840, 843 และ 844 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอที่สามารถตรวจสอบได้ต่อชนิดไพรเมอร์ เท่ากับ 20, 22, 25, 21, 23 และ 17 แถบ ตามลำดับ รวมทั้งสิ้น 128 แถบ มีจำนวนอัลลีลต่อไพรเมอร์ เท่ากับ 21.33 ความถี่อัลลีล เท่ากับ 0.18 เนื่องจากกล้วยเป็นพืช polyploid มีโครโมโซมหลายชุดที่เกิดจากความผันแปรทางพันธุกรรมสูงจึงทำให้ค่าอัลลีลมีค่ามากตามไปด้วย ค่า heterozygosity เท่ากับ 0.29 ค่า polymorphic percentage เท่ากับ 1.00 เนื่องจากเกิด polymorphic ทุกแถบดีเอ็นเอที่ศึกษา ขนาดดีเอ็นเอที่ได้มีขนาดตั้งแต่ 200 – 3,000 bp โดยไพรเมอร์ 835 มีจำนวนแถบดีเอ็นเอที่สามารถตรวจสอบได้จำนวนมากที่สุด คือ 25 แถบ ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับ percent of G + C ที่มีค่า 50 (มีค่าสูงสุด) และไพรเมอร์ 844 มีจำนวนแถบดีเอ็นเอที่สามารถตรวจสอบได้น้อยที่สุด คือ 19 แถบ ซึ่งมีค่าไม่สอดคล้องกับเปอร์เซ็นต์ G + C

ที่มีค่า 50 เนื่องจากจำนวนแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยไพรเมอร์นี้มีความไม่ชัดเจน ดังนั้นจึงต้องตัดแถบดีเอ็นเอที่ไม่ชัดเจนนั้นออกจึงทำให้จำนวนแถบดีเอ็นเอที่ได้มีค่าน้อย ส่วนในไพรเมอร์อื่นๆจะเห็นได้ว่าให้จำนวนแถบดีเอ็นเอในจำนวนที่ใกล้เคียงกันและสอดคล้องกับ percent of G + C ซึ่งสอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Grapin *et al.* (1998) เมื่อทำการทดลองด้วยเทคนิค STMS (sequence tagged microsatellite site) พบแถบดีเอ็นเอที่เกิด polymorphic จำนวน 72 แถบ จากไพรเมอร์ทั้งหมด 9 ไพรเมอร์ มีค่าเฉลี่ยของอัลลีลต่อไพรเมอร์เท่ากับ 8.0 และ Bhat *et al.* (1995) พบแถบดีเอ็นเอที่เกิด polymorphic จำนวน 605 แถบ จากไพรเมอร์ทั้งหมด 49 ไพรเมอร์ มีค่าเฉลี่ยของอัลลีลต่อไพรเมอร์เท่ากับ 12.0 และ Creste *et al.* (2003) พบแถบดีเอ็นเอที่เกิด polymorphic จำนวน 67 แถบ จากไพรเมอร์ทั้งหมด 11 ไพรเมอร์ มีค่าเฉลี่ยของอัลลีลต่อไพรเมอร์เท่ากับ 6.1 ค่า average heterozygote frequency เท่ากับ 0.90

จากจำนวนแถบดีเอ็นเอที่สามารถตรวจสอบได้ทั้งหมด 128 แถบ พบว่าทุกแถบดีเอ็นเอเกิด polymorphic กับจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 45 ตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจสอบ และไม่มีแถบดีเอ็นเอที่สามารถตรวจสอบได้แถบใดที่พบในตำแหน่งเดียวกันกับทุกตัวอย่าง (monomorphic) ที่ใช้ตรวจสอบ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าไพรเมอร์ที่ใช้ทดสอบนี้มีความเหมาะสมต่อการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของชุดตัวอย่างกล้วยทั้ง 45 ตัวอย่าง (ทั้งระดับชนิด ชนิดย่อยและความแตกต่างระหว่างพันธุ์ที่อยู่ในระดับชุดจีโนมเดียวกันและต่างชุดจีโนมกัน) เนื่องจากมีความแตกต่างกันทุกตำแหน่งที่ตรวจสอบ นอกจากนี้ยังพบว่าไพรเมอร์ให้แถบดีเอ็นเอเฉพาะในตัวอย่างกล้วยจีโนม A ซึ่งประกอบไปด้วยกล้วย *Musa acuminata* และ พันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AA และ AAA คือแถบดีเอ็นเอขนาด 450 และ 700 bp ในไพรเมอร์ 815 แถบดีเอ็นเอขนาด 1,350 bp ในไพรเมอร์ 835 และแถบดีเอ็นเอขนาด 300 bp ในไพรเมอร์ 843 และให้แถบดีเอ็นเอเฉพาะในตัวอย่างกล้วยจีโนม B ซึ่งประกอบไปด้วยกล้วย *Musa balbisiana* และกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AAB, ABB, ABBB และ BBB คือ แถบดีเอ็นเอขนาด 900 bp ในไพรเมอร์ 835 แถบดีเอ็นเอขนาด 400 และ 600 bp ในไพรเมอร์ 844 และให้แถบดีเอ็นเอขนาด 850 bp ในไพรเมอร์ 844 ที่มีความจำเพาะเจาะจงกับกล้วยตานี โดยให้ผลสอดคล้องกับเทคนิค RAPD ที่ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 320 bp และแถบดีเอ็นเอขนาด 100 – 600 bp มีความจำเพาะกับ *Musa acuminata* และให้แถบดีเอ็นเอขนาด 200, 250 และ 300 bp มีความจำเพาะกับ *Musa balbisiana* (Pillay *et al.*, 2000)

จากการวิเคราะห์หาค่าดัชนีความคล้ายคลึง (similarity index) และจัดทำแผนภาพความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยวิธี UPGMA ดังภาพที่ 44 จะเห็นได้ว่าสามารถจัดกลุ่ม

ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมได้ 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย กล้วยไหล กล้วยรัตกัทรี กล้วยหก กล้วยนวล รวมทั้งกล้วยป่าปลีเหลือง และกลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย 4 ชนิดย่อยของ *Musa acuminata*, กล้วยตานี และกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูก ภายในกลุ่มที่ 2 สามารถแยกออกได้ 3 กลุ่มย่อย คือ กลุ่มย่อยที่ 1 ชนิดย่อยของ *Musa acuminata* ประกอบด้วย กล้วยป่าพม่า กล้วยป่าสยาม และกล้วยป่ามะละกา กลุ่มย่อยที่ 2 กล้วยตานีและกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกจีโนม B ที่เป็นองค์ประกอบ (BBB, ABBB และ ABB) และกลุ่มย่อยที่ 3 กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกจีโนม A ที่เป็นองค์ประกอบ (AA, AAA) และ กล้วยป่าผลเล็ก

ชนิดย่อยของ *Musa acuminata* ทั้ง 5 ชนิดย่อยที่ได้จากการจัดจำแนกด้วยลักษณะสัณฐานวิทยาและนำมาหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม พบว่า กล้วยป่าพม่า กล้วยป่าสยาม และ กล้วยป่ามะละกา มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้เคียงกัน มีค่าดัชนีความคล้ายคลึงเท่ากับ 0.62 เช่นเดียวกับ Wong *et al.* (2001, 2002) ที่ได้ศึกษาด้วยเทคนิค AFLP พบว่า กล้วยป่ามะละกา กล้วยป่าพม่า และกล้วยป่าสยาม ถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มเดียวกันและมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้เคียงกัน ส่วนกล้วยป่าปลีเหลืองมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมกับกลุ่มกล้วยป่าพม่า กล้วยป่ามะละกา และ กล้วยป่าสยาม น้อยที่สุดมีค่าดัชนีความคล้ายคลึงอยู่ในช่วง 0.30-0.53 สำหรับกล้วยป่าผลเล็กถูกจัดให้มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้เคียงกับพันธุ์กล้วยปลูกจีโนม A มีค่าดัชนีความคล้ายคลึงอยู่ในช่วง 0.51-0.89 และจะเห็นได้ว่าผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของตัวอย่างที่เป็นชนิดย่อยเดียวกันเมื่อเก็บจากแหล่งกำเนิดต่างกันผลการวิเคราะห์ที่ได้ยังคงแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้เคียงกันเหมือนเดิม ดังที่พบในตัวอย่างของ กล้วยป่ามะละกา และกล้วยป่าสยาม

กล้วยตานีและกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกจีโนม B ผลการศึกษาพบว่า กล้วยตานีถูกจำแนกออกมาจาก *Musa acuminata* ซึ่งให้ผลสอดคล้องเมื่อจัดจำแนกด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและความผันแปรทางพันธุกรรมภายในกลุ่มกล้วยตานีมีน้อยกว่า *Musa acuminata* (Ge *et al.*, 2005) เนื่องจากมีค่าดัชนีความคล้ายคลึงเท่ากับ 0.85 แต่ถึงอย่างไรก็ตามจะเห็นได้จากกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกจีโนม B ที่เป็นองค์ประกอบไม่ว่าชุดจีโนม AAB, ABB, ABBB และ BBB มีความใกล้เคียงทางพันธุกรรมกับกล้วยตานีมากกว่า *Musa acuminata* จากภาพที่ 44 แสดงให้เห็นว่ากล้วยที่รับประทานได้ในกลุ่มนี้ได้รับหน่วยพันธุกรรมมาจากกล้วยตานีมากกว่า *Musa acuminata* ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Creste (2003) ที่พบว่ากลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกจีโนม B ถูกแยกออกมาจากกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกจีโนม A อย่างชัดเจนและกล้วยที่มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้เคียงกับกล้วยตานี คือ กล้วยเทพ

รส (MC21) กล้วยพม่าแหกคุก (MC23) กล้วยหักมุกเขียว (MC19) กล้วยน้ำว้าไส้เหลือง (MC16) กล้วยน้ำว้าดำ (MC17) กล้วยน้ำว้าค่อม (MC18) และ กล้วยหักมุกขาว (MC20) ตามลำดับ

กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกจีโนม A ที่เป็นองค์ประกอบเป็นกลุ่มพันธุ์ที่ประกอบไปด้วยกล้วยที่ใช้รับประทานถูกจัดจำแนกออกจากกลุ่มย่อยที่ 1 และ 2 อย่างชัดเจน เช่นเดียวกับผลการศึกษาของ Creste (2003) และยังพบว่าในกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกจีโนม A นี้ประกอบไปด้วยกล้วยกล้าย และกล้วยร้อยหวี เมื่อพิจารณาด้วยลักษณะสัณฐานวิทยาแล้ว กล้วยทั้งสองพันธุ์ถูกจำแนกรวมอยู่ในกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AAB ที่มีลักษณะสัณฐานวิทยาใกล้เคียงกับกล้วยตานี (เบญจมาศ, 2538) แต่เมื่อทำการจัดจำแนกด้วยความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมแล้ว พบว่า กล้วยทั้งสองพันธุ์ถูกจัดรวมอยู่ในกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AA และ AAA เพราะฉะนั้นกล้วยทั้งสองพันธุ์นี้น่าจะมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้เคียงกับกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AA, AAA มากกว่ากลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกกลุ่มชุดจีโนม AAB

กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AA และ AAA มีความใกล้เคียงทางพันธุกรรมกับกล้วยป่าผลเล็ก มากกว่าชนิดย่อยอื่นของ *Musa acuminata* มีค่าดัชนีความคล้ายคลึงเฉลี่ยทั้งหมดภายในกลุ่มเท่ากับ 0.72 ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Ude (2001) ที่พบว่า กล้วยป่าผลเล็ก มีความใกล้เคียงทางพันธุกรรมกับกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกจีโนม A และกล้วยป่ามะละกามีความใกล้เคียงทางพันธุกรรมกับกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกจีโนม B เมื่อทำการทดลองด้วยเทคนิค AFLP

ภายในกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AA และ AAA พบว่าพันธุ์กล้วยน้ำไท (MC2 และ MC26) มีความใกล้เคียงทางพันธุกรรมกับกล้วยป่าผลเล็ก มากที่สุด มีค่าดัชนีความคล้ายคลึงอยู่ในช่วง 0.66-0.71 รองลงมาคือ กล้วยไข่ทองร่วง (MC4) มีค่าดัชนีความคล้ายคลึงเท่ากับ 0.63 ดังนั้นอาจสรุปได้ว่า กล้วยน้ำไท และ กล้วยไข่ทองร่วง เป็นกล้วยรับประทานได้ในกลุ่มที่มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมกับกล้วยป่าผลเล็ก จนมีสมมุติฐานได้ว่ากล้วยทั้งสองพันธุ์น่าจะมีวิวัฒนาการมาจากกล้วยป่าผลเล็ก

สำหรับชนิดกล้วยไหล กล้วยรัตกัทรี กล้วยหก และกล้วยนวล ถูกจัดอยู่ในกลุ่มความห่างทางพันธุกรรมจากกล้วยที่รับประทานได้ เนื่องจากกล้วยในกลุ่มนี้มีโครโมโซมพื้นฐาน ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และความผันแปรทางพันธุกรรมต่างจากกล้วยในกลุ่มอื่น จากแผนภาพความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม จะเห็นได้ว่ากล้วยไหลมีความใกล้เคียงทางพันธุกรรมกับกล้วยรัตกัทรี

และมีค่าดัชนีความคล้ายคลึงอยู่ที่ 0.43 ขณะที่ กล้วยหก มีความใกล้เคียงทางพันธุกรรมกับกล้วยรัตกัทรีและค่าดัชนีความคล้ายคลึงเท่ากับ 0.28 ซึ่งน้อยมาก แต่ถึงอย่างไรก็ตามกล้วยในกลุ่มนี้สะท้อนให้เห็นถึงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างพันธุ์กล้วยปลูกในกลุ่มจีโนมต่างๆและชนิดย่อยของ *Musa acuminata* ที่จัดให้กล้วยดังกล่าวอยู่ในจีโนมเดียวกันและให้มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้เคียงกัน สำหรับกล้วยที่อยู่ต่างจีโนมกันถูกจัดให้มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมต่างกัน

จะเห็นได้ว่าค่าดัชนีความคล้ายคลึงภายในกลุ่มของ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย กล้วยไหล (section Rhodochlamys) กล้วยรัตกัทรี (section Callimusa) กล้วยหก กล้วยนวล รวมทั้งกล้วยป่าปลีเหลือง และ ในกลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย กลุ่มย่อยที่ 1 ชนิดย่อยของ *Musa acuminata* ประกอบด้วย กล้วยป่าพม่า กล้วยป่าสยาม และกล้วยป่ามะละกา กลุ่มย่อยที่ 2 กล้วยตานีและกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกจีโนม B ที่เป็นองค์ประกอบ (BBB, ABBB และ ABB) และกลุ่มย่อยที่ 3 กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกจีโนม A ที่เป็นองค์ประกอบ (AA, AAA) และ กล้วยป่าผลเล็ก มีค่าดัชนีความคล้ายคลึงภายในกลุ่มเท่ากับ 0.25, 0.62, 0.72 และ 0.72 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าสมาชิกในกลุ่มย่อยที่ 2 และ 3 มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้เคียงกันมากกว่ากลุ่มอื่น เนื่องมาจากกล้วยในกลุ่มดังกล่าวมีความผันแปรทางพันธุกรรมและมีวิวัฒนาการร่วมกันมา ผลการศึกษาสอดคล้องกับ เบญจมาศ (2538) เมื่อจัดจำแนกด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา ช่วงค่าดัชนีความคล้ายคลึงของกล้วยกลุ่มที่ 1 อยู่ในช่วง 0.05-0.59 และทั้ง 3 กลุ่มย่อยของกลุ่มที่ 2 คือ 0.47-0.93 (กลุ่มย่อยที่ 1) 0.46-1.00 (กลุ่มย่อยที่ 2) และ 0.51-0.89 (กลุ่มย่อยที่ 3) ตามลำดับ

สำหรับไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อการวิเคราะห์หาความแตกต่างระหว่างพันธุ์กล้วยปลูกในแต่ละชุดจีโนมเป็นข้อมูลที่มีความสำคัญต่อการจำแนกพันธุ์กล้วยให้มีความชัดเจนยิ่งขึ้นที่จะนำไปเป็นแนวทางในการคัดเลือกพันธุ์กล้วยที่จะหาลักษณะที่ดีไม่ว่าเป็น ความต้านทานโรค ความทนทานต่อสภาพแวดล้อมวิกฤตต่างๆ (Crouch, 1999) ไปใช้ในงานปรับปรุงพันธุ์กล้วยต่อไป ซึ่งกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกที่มีลักษณะที่ดีดังกล่าวมาแล้วนั้นสามารถใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมตรวจสอบและประยุกต์ใช้เพื่อการปรับปรุงพันธุ์ได้ ซึ่งนับว่าเป็นวิธีการที่รวดเร็วกว่าวิธีการปรับปรุงพันธุ์ตามธรรมชาติ (Baurens, 1997) ที่จะต้องใช้ระยะเวลานานกว่าจะได้ผลผลิต รวมทั้งการตรวจสอบลูกผสม อัตราการกลายพันธุ์ ความผันแปรทางพันธุกรรม การถ่ายทอดหน่วยพันธุกรรมระหว่างพ่อ แม่ ลูก รวมทั้งเป็นแบบแผนทางพันธุกรรมที่ใช้ในการตรวจสอบชนิดหรือพันธุ์ใหม่ๆของกล้วยที่ยังขาดการศึกษาซึ่งปรากฏในประเทศไทยอยู่อีกหลายพันธุ์

ถึงอย่างไรก็ตามงานวิจัยครั้งนี้จำเป็นต้องทำการศึกษาให้ละเอียดมากยิ่งขึ้นโดยการเพิ่มจำนวนตัวอย่างและจำนวนไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อพันธุ์กล้วยในแต่ละชุดจีโนมตลอดจนใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลขั้นสูงมาเป็นเครื่องมือที่ช่วยหาข้อมูลในบางประเด็นมาพิจารณาร่วมกับข้อมูลที่ได้รับการศึกษามาแล้วอันจะนำไปสู่การศึกษาจัดทำแผนที่ยีนทั้งจีโนมของกล้วยต่อไปดังที่มีการศึกษาอยู่ในข้าว

สรุป

ผลการศึกษาหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกจีโนม A กับ *Musa acuminata* ในประเทศไทยโดยเทคนิค inter - simple sequence repeat ได้ผลดังนี้

1. สามารถเก็บตัวอย่างชนิดย่อยของ *Musa acuminata* ได้ 5 ชนิดย่อย คือ กล้วยป่าพม่า (*Musa acuminata* ssp. *burmannica*) กล้วยป่าผลเล็ก (*Musa acuminata* ssp. *microcarpa*) กล้วยป่าสยาม (*Musa acuminata* ssp. *siamea*) กล้วยป่าปลีเหลือง (*Musa acuminata* ssp. *banksii*) กล้วยป่ามะละกา (*Musa acuminata* ssp. *malaccensis*) จากตัวอย่างที่เก็บรวบรวม 12 ตัวอย่าง และอีก 1 ชนิด คือ กล้วยตานี (*Musa balbisiana*) จากตัวอย่างที่เก็บรวบรวม 3 ตัวอย่าง

2. ทำการคัดเลือกไพรเมอร์เพื่อใช้วิเคราะห์ด้วยเทคนิค inter - simple sequence repeat ได้ไพรเมอร์ทั้งสิ้นจำนวน 6 ไพรเมอร์จากไพรเมอร์ทั้งหมด 36 ไพรเมอร์ ประกอบด้วยไพรเมอร์ 814, 815, 835, 840, 843 และ 844 ตามลำดับ มีจำนวนแถบดีเอ็นเอที่สามารถตรวจสอบได้ทั้งหมดจำนวน 128 แถบ มีขนาดระหว่าง 200 - 3,000 bp และมีจำนวนอัลลีลต่อไพรเมอร์ เท่ากับ 21.33 ค่าความถี่อัลลีล เท่ากับ 0.18 ค่า polymorphic percentage เท่ากับ 1.00 ค่า heterozygosity เท่ากับ 0.29 percent of G+C อยู่ระหว่าง 44-52 ค่า melting temperature (Tm) เท่ากับ 50 และ 52 ส่วน annealing temperature (Ta) เท่ากับ 45 และ 47 ตามลำดับ

3. จากไพรเมอร์จำนวน 6 ไพรเมอร์ พบแถบดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะต่อกลุ่มตัวอย่างกล้วยจีโนม A คือ แถบดีเอ็นเอขนาด 450 และ 700 bp ของไพรเมอร์ 815 แถบดีเอ็นเอขนาด 1,350 bp ของไพรเมอร์ 835 และแถบดีเอ็นเอขนาด 300 bp ของไพรเมอร์ 843 และให้แถบดีเอ็นเอจำเพาะในกลุ่มตัวอย่างกล้วยจีโนม B คือ แถบดีเอ็นเอขนาด 900 bp ของไพรเมอร์ 835 แถบดีเอ็นเอขนาด 400 และ 600 bp ของไพรเมอร์ 844 และให้แถบดีเอ็นเอขนาด 850 bp ของไพรเมอร์ 844 ที่มีความจำเพาะเจาะจงกับกล้วยตานี

4. จากลายพิมพ์ดีเอ็นเอชนิดกล้วย *Musa acuminata* 12 ตัวอย่าง *Musa balbisiana* 3 ตัวอย่างและพันธุ์กล้วยปลูกทั้ง 30 ตัวอย่าง นำมาวิเคราะห์หาค่าดัชนีความคล้ายคลึง (similarity index) และจัดทำแผนภาพความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ด้วยวิธี UPGMA ด้วยโปรแกรม NTSYS-pc รุ่น 2.01 (Rohlf, 1997) พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มตัวอย่างออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 กลุ่มกล้วย

ใน section Rhodochlamys ประกอบด้วย กล้วยไหล (ML) section Callimusa ประกอบด้วย กล้วยรัตกัทรี (MCo) section Eumusa ประกอบด้วย กล้วยหก (MI) และกล้วยป่าปลีเหลือง (*Musa acuminata* ssp. *banksii*) (MW13 และ MW14) และกล้วยใน สกุล *Ensete* ประกอบด้วย กล้วยนวล (EG) มีช่วงดัชนีความคล้ายคลึงภายในกลุ่มเท่ากับ 0.05-0.59 และค่าดัชนีความคล้ายคลึงเฉลี่ยทั้งหมดภายในกลุ่มเท่ากับ 0.25 และในกลุ่มที่ 2 สามารถแบ่งแยกได้ 3 กลุ่มย่อย คือ

กลุ่มย่อยที่ 1 กลุ่มชนิดย่อยของ *Musa acuminata* ตัวอย่างกล้วยในกลุ่มนี้ประกอบไปด้วย กล้วยป่าพม่า (MW4, MW5 และ MW6) กล้วยป่าสยาม (MW7, MW8 และ MW9) และกล้วยป่ามะละกา (MW10, MW11 และ MW12) ช่วงค่าดัชนีความคล้ายคลึงภายในกลุ่มเท่ากับ 0.93-0.47 และค่าดัชนีความคล้ายคลึงเฉลี่ยทั้งหมดภายในกลุ่มเท่ากับ 0.62

กลุ่มย่อยที่ 2 กลุ่มกล้วยตานี (*Musa balbisiana*) และกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกจีโนม B (BBB, ABBB, ABB และ AAB) ตัวอย่างกล้วยในกลุ่มนี้ประกอบไปด้วยกล้วยตานี (MW1, MW2 และ MW3) กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม BBB ประกอบไปด้วย กล้วยเทพนม (MC22) กล้วยพม่าแหกคุก (MC23) กล้วยเล็บช้างกุด (MC24) และกล้วยหิน (MC25) กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม ABBB ประกอบไปด้วย กล้วยเทพรส (MC21) กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม ABB ประกอบไปด้วย กล้วยน้ำว้าไส้เหลือง (MC16) กล้วยน้ำว้าดำ (MC17) กล้วยน้ำว้าค่อม (MC18) กล้วยหักมุกเขียว (MC19) และกล้วยหักมุกขาว (MC20) กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AAB ประกอบไปด้วย กล้วยนมสาว (MC13) กล้วยน้ำฝาด (MC14) และกล้วยน้ำกาบดำ (MC15) ช่วงค่าดัชนีความคล้ายคลึงภายในกลุ่มเท่ากับ 0.46-1.00 และค่าดัชนีความคล้ายคลึงเฉลี่ยทั้งหมดภายในกลุ่มเท่ากับ 0.72

กลุ่มย่อยที่ 3 กล้วยป่าผลเล็กและกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกจีโนม A (AA, AAA, AAB) ตัวอย่างกล้วยในกลุ่มนี้ประกอบไปด้วย กล้วยป่าผลเล็ก (*Musa acuminata* ssp. *microcarpa*) กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AA ประกอบไปด้วย กล้วยหอมจำปา (MC1) กล้วยไข่ทองเงย (MC3) กล้วยไข่ทองร่วง (MC4) กล้วยเล็บมือนาง (MC5) และกล้วยน้ำไท (MC2 และ MC26) กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AAA ประกอบไปด้วย กล้วยหอมเขียวค่อม (MC6) กล้วยหอมนากแดง (MC7) กล้วยไข่ บว.2 (MC8) กล้วยไข่พระตะบอง (MC9) และกล้วยหอมทอง (MC10) กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AAB ประกอบไปด้วย กล้วยกล้าย (MC11) และ กล้วยร้อยหวี (MC12) ช่วงค่าดัชนีความคล้ายคลึงภายในกลุ่มเท่ากับ 0.51-0.89 และค่าดัชนีความคล้ายคลึงเฉลี่ยทั้งหมดภายในกลุ่มเท่ากับ 0.72

5. กลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AA และ AAA มีความใกล้เคียงทางพันธุกรรมกับกล้วยป่าผลเล็ก (*Musa acuminata* ssp. *microcarpa*) มากที่สุด มีค่าดัชนีความคล้ายคลึงเฉลี่ยทั้งหมดภายในกลุ่มเท่ากับ 0.72 และพันธุ์กล้วยปลูกที่มีความใกล้เคียงทางพันธุกรรมกับกล้วยป่าผลเล็กมากที่สุด คือ กล้วยน้ำไท และ กล้วยไข่ทองร่วง

6. กล้วยกล้าย และ กล้วยร้อยหวี เป็นพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AAB ที่มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมมาอยู่ในกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AA และ AAA และมีความใกล้เคียงทางพันธุกรรมกับกลุ่มพันธุ์กล้วยปลูกชุดจีโนม AA และ AAA มากกว่ากลุ่มจีโนม AAB เมื่อวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยเทคนิค inter - simple sequence repeat

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

เกษมศักดิ์ ผลกร. 2535. **การจำแนกยีโนมของกล้วยด้วยวิธีเคมี.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ณรงค์ โฉมเฉลา. 2546. วิวัฒนาการของกล้วยปลูกที่กินได้, น. 1-3. ใน **การสัมมนาและนิทรรศการกล้วย ครั้งที่ 2**. อาคารภาษาและวัฒนธรรมสยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา จังหวัด นครปฐม, ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.

เบญจมาศ ศิลาย้อย. 2538. **กล้วย**. พิมพ์ครั้งที่ 3. สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ปรีชา ประเทพา. 2543. **พันธุศาสตร์ยุคใหม่ เทคโนโลยีดีเอ็นเอเพื่อการอนุรักษ์ทรัพยากรทางพันธุกรรม.** สำนักพิมพ์อภิชาติการพิมพ์ อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม.

พัชรินทร์ ตัญญะ, พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์, ธีรยุทธ ตู้จินดา และ อภิชาติ วรรณวิจิตร. 2544. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของถั่วเหลืองพันธุ์ไทยและเกาหลีโดยเทคนิค Simple Sequence Repeat (SSR), หน้า 100-110. **สัมมนาวิชาการพันธุศาสตร์ ครั้งที่ 12**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

พัทธมน แสงอินทร์. 2545. **การจำแนกชนิดของ Cycas โดยวิธี Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) และวิธี Random Amplified Polymorphic DNA**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พานิชย์ ยศปัญญา. 2542. **กล้วยดอกกล้วยประดับในประเทศไทย**. สำนักพิมพ์มติชนจำกัดจตุจักร, กรุงเทพฯ.

วาริน วรรณประโพธิ. 2545. **การใช้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอตรวจสอบยางกราด ยางพลวง และยางที่คาดว่าจะเป็นลูกผสม.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิจิตร วังใน. 2530. **กล้วย**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วิชาญ เอียดทอง. ม.ป.ป. **เทคนิคการสกัดดีเอ็นเอ.** ภาควิชาชีววิทยาป่าไม้ คณะวนศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศศิวิมล แสวงผล. 2546. เส้นทางกล้วย: เส้นทางโบราณสู่เส้นขอบฟ้า, น. 35. ใน **การสัมมนา และนิทรรศการกล้วย ครั้งที่ 2**. อาคารภาษาและวัฒนธรรมสยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา จังหวัด นครปฐม, ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.

สมจิตต์ ทินกระโทก, ศรีสังวาลย์ ลายวิเศษกุล, กวี สุจิปุลิ และ เดช วัฒนชัยยิ่งเจริญ. 2544. การจำแนกสายพันธุ์กล้วยน้ำว้าโดยเทคนิค RAPD, น. 126-127. ใน **งานประชุมสัมมนากล้วยนานาชาติ ครั้งที่ 1**. ศูนย์ประชุมแห่งชาติสิริกิติ์, ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศ ไทย จำกัด.

สมรรถชัย ฉัตราคม. 2542. **พันธุ์กล้วยในเมืองไทย.** สำนักพิมพ์มติชนจำกัด, กรุงเทพฯ.

สุธีร์ ดวงใจ. 2543. **การตรวจสอบพันธุกรรมของยูคาลิปตัสคามาลดูเลนซิสด้วยลายพิมพ์ดีเอ็นเอ.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2539. **พันธุวิศวกรรมเบื้องต้น.** พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2540. การจำแนกพันธุ์พืชโดยใช้เครื่องหมายทางโมเลกุล, น. 57-82. *ใน* ธีระชัย ธนานันต์. **การจำแนกพันธุ์พืชโดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, ยุคลธร สถาปนศิริ, สมศักดิ์ อภิสิทธิ์วาณิช, ประดิษฐ์ พงทองคำ, เสาวนีย์ สุพุทธิธาดา และสุมน มาสุธน. 2542. AFLP markers สำหรับการตรวจสอบชนิดของพืชสกุล Gracinia, น. 62-66. *ใน* **รายงานสัมมนาวิชาการพันธุศาสตร์ ครั้งที่ 11,** มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัด นครราชสีมา.

แสงเดือน สายแสงทอง. 2542. **การศึกษาลักษณะ Fingerprinting Genome ของ Xanthomonas campestris pv. glycines สายพันธุ์ต่างๆโดยวิธี Random Amplified Polymorphic DNA.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อัญมณี อาวุชานนท์. 2544. **การประยุกต์ใช้การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอและ Genomic *In Situ* Hybridization ในการศึกษาจีโนมของกล้วยบางชนิด.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Agrawal, G.K., R.N. Pandey and V.P. Agrawal. 1992. Isolation of DNA from Cheorospondias asillaris leaves. **Biotech Biodiv Lett.** 2: 19-24.

Baurens, F.C., J.L. Noyer, C. Lanaud and P.J.L. Lagoda. 1997. Assessment of a species-specific element (Brep 1) in banana. **Theor Appl Genet**. 95: 922-931.

Bhat KV, Jarret Rl, Rana RS. 1995. DNA profiling of banana and plantain cultivars using random amplified polymorphic DNA (RAPD) and rectriction fragment length polymorphic (RFLP) markers. **Eletrophoresis** 16: 1736-1745

Brown, S. M., A. K. Szewc-McFadden and S. Kresovish. 1996. Development and application of simple sequence repeat (SSR) loci for plant genome analysis, pp. 147-156. *In* P. P. Jauhar (ed.). **Method of Genome Analysis in Plant**. Department of Agriculture: Agricultural Res service Northern Crop Science Laboratory State University Station Fargo, North Dakota.

Caetano-Anolles, G. and P.M. Gressoff. 1997. **DNA marker Protocols Application and Overviews.** Wiley-Liss Inc., U.S.A.

Carol Wong, Ruth Kiew, Jin Phang Loh, Leong Huat Gan, Olin Set, Sing Kong Lee, Shawn Lum and Yik Yuen Gan. 2001. Genetic Diversity of the Wild Banana Musa acuminata Colla in Malasia as Evidenced by AFLP. **Annals of Botany** 88 : 1017-1025

Carreel, F., D.Gonzalez de Leon, P. Lagoda, C. Lanaud, C. Jenny, J.P. Horry and H. Tezenas du Montcel. 1995. Ascertaining maternal and paternal lineage within *Musa* by chloroplast and mithocondrial DNA RFLP analyses. **Genome** 45: 679-692.

Champion J. 1967. Notes et documents sur les bananiers et leur culture. **Tome I: Botanique et Génétique**. Institut Français de Recherches Fruitières Outre-Mer (IFAC). Editions SETCO, Paris.

Creste, S., A.T. Neto, S.O. Silva and A. Figueira. 2003. Genetic characterization of banana cultivars (*Musa* spp.) from Brazil using microsatellite markers. **Euphytica** 132: 259-268.

Crouch, J.H., H.K. Crouch, A. Tenkouano and R. Ortiz. 1999. VNTR-based diversity analysis of 2x and 4x full-sib *Musa* hybrids. **Electronic Journal of Biotechnology**. 2(3): 130-139

Daniells J., C. Jenny, D. Karamura and K. Tomekpe. 2001. ***Musa*logue**: a catalogue of *Musa* germplasm. Diversity in the genus *Musa* (E. Arnaud and S. Sharrock, compil.). International Network for the Improvement of Banana and Plantain, Montpellier, France.

De-Langhe, E. 1986. Towards an international strategy for genetic improvement in the genus *Musa,* p. 50. *In* **Banana and Plantain Breeding Strategies**. Proceeding of an International Workshop, 13-17 October 1986. Caims, Australia.

Dice, L.R. 1945. Measure of the amount of ecologic association between species. **Ecology**. 26: 297-302.

Dodds, K.S. 1946. Musa fe i, the indigenous banana of Fiji. **Nature** 157: 729-730

Doyle, J.J. and Doyal, J.L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus** 12: 13-15.

Ge, X.J., M.H. Liu, W.K. Wang, B.A. Schaal and T.Y. Chiang. 2005. Population structure of wild banana, *Musa balbisiana*, in China determined by SSR fringerprinting and cpDNA PCR-RFLP. **Molecular Ecology** 14: 933-944.

Grapin A, Noyer JL, Carreel F, Dambler D, Baurens FC, Lanaud C, Lagoda PJL. 1998. Diploid *Musa acuminata* genetic diversity assayed with sequence tagged microsatellite sites. **Electrophoresis** 19: 1374-1380

Horry J.P., R. Ortiz, E. Arnaud, J.H. Crouch, R.S.B. Ferris, D.R. Jones, N. Mateo, C. Picq and D. Vuylsteke. 1997. Banana and Plantain. Pp. 67-81 *in* **Biodiversity in Trust**. Conservation and use of plant genetic resources in CGIAR centres (D. Fuccillo, L. Sears and P. Stapleton, eds). Cambridge University Press.

Howell EC, Newbury HJ, Swennen RL, With ers LA, Ford-Lloyd BV. 1994. The use of RAPD for indentifying and classifying Musa germplasm. **Genome.** 37(2) : 328-332

Jarret, R. L. and R.E. Litz. 1986. Enzyme polymorphism in *Musa acuminata* Colla. **J. Heredity.** 77: 183 – 188

Jeffreys., A.J., V. Wilson and S.L. Thein. 1985. Individual specific fingerprints of human DNA. **Nature** 316: 76-79

Jones, D.R. 2000. **Diseases of banana, abaca and enset**. CABI Publishing. UK.

Kobayashi, F. 1985. **Fruit Product and Marketing in Asia and the Pacific**. Asian Productivity Organization, Tokyo Japan.

Lysak, M.A., M. Dolezelova, J.P. Horry, R. Swennen and J. Dolezel. 1999. Flow cytometric analysis of nuclear DNA content in Musa. **Theor Appl Genet**. 98: 1344-1350

Nei, M. and W.H Li. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonuclease. **Natl Acad Sci USA.** 79: 5269-5273

Olivia P. Damasco, Glenn C. Graham, Robert J. Henry, Stevew. Adkins, Mike K. Smith. 1996. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) detection of dwarf off-types in micropropagation Cavendish (Musa spp. AAA) banana. **Plant Cell Report** Volume 16 Issue 1/2: 118-123

Ortiz, R. and Dirk Vuylsteke. 1998. Segregation of bunch orientation in plantain and banana hybrids. **Euphytica** 101: 79-82.

Pillay M, Nwakanma DC, Tenkouano A. 2000. Indentification of RAPD markers linked to A and B genome sequence in Musa L. **Genome** 43(5): 763-767

Powell W., M. Morgante, C. Andre, M. Hanafey, J. Vogel, S. Tingey and A. Rafalski. 1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. **Molecular Breedin**g. 2: 225-238.

Primrose, S. B. 1995. **Principle of Genome Analysis**. Blackwell Science Ltd., Massachusettes, U. S. A.

Reynolde, P.K. 1929. **The banana: Its history, cultivation and place among staple food.** Boston and New York Haughton Mifflin Company.

Rohlf, F. J. 1993. A revolution in morphometrics. **Trends in Ecology and Evolution,** 8: 129-132.

Sharma, S.K., M.R. Knox and T.H.N. Ellis. 1996. AFLP analysis of the diversity and Phylogeny of Lens and its comparison with RAPD analysis. **Theor Appl Genet**. 93: 751-758

Silayoi, B. and C. Babpraserth. 1983. **Banana genetic resource exploration in Thailand.** Kasetsart University, Bangkok.

Simmonds, N.W. 1955. Anthocyanin in banana. **Ann. Bot**. 18: 471-482

_____. and K. Shepherds. 1955. The taxonomy and origin of the cultivated bananas. **J. Linn. Soc.** 55: 302-312.

_____. 1957. Classification of the banana. **Kew Bull**. 11: 463-489.

_____. 1962. **The Evolution of the Banana**. Longman, London.

_____. 1966. **Banana.** Longman, New York.

_____. 1986. Classification and breeding of banana, p. 73. *In* **Banana and Plantain Breeding Strategies**. Proceeding of an International Workshop, 13-17 October 1986. Caims, Australia.

_____. and S.T.C. Weatherup. 1990. Numerical taxonomy of the wild bananas. **New Phytol**. 115:567-571.

Singh, A., M.S. Negi, J. Rajagopal, S. Bhatia, U.K. Jomar, P.S. Srivastava and M. Lakshnaikumaran. 1999. Assesment of genetics diversity in Azadirachta indica using AFLP marker. **Theor Appl Genet**. 99: 272-279

Sneath, P. H. A. and R. R. Sokal. 1973. **Numerical Taxonomy**. Freeman, San Francisco.

Stewart, R.N. and H. Dermen. 1979. Ontogeny in monocotyledons as revealed by studies of the developmental anatomy of periclinal chloroplast chimeras. **Amer. J. Bot**. 66: 47-58

Stover. R.H. and N.W. Simmonds. 1987. **Banana 3rd ed**. Longman, London.

Takhtajan, A. 1997. **Diversity and Classification of Flowering Plants**. Columbia University Press, New York.

Ude, G., M. Pillay, D. Nwakanma and A. Tenkouano. Genetical diversity in *Musa acuminata* Colla and *Musa balbisiana* Colla and some of their natural hybrids using AFLP markers. **Theor Appl Genet.** 104(8):1246-1252.

Valmayor, R.V. 2000. Classification and characterization of *Musa exotica, M. alinsanaya* and *M. acuminata* subsp. *errans*. **Inforama** 10(2): 35-39.

Wong, C., R. Kiew, J.P. Loh, L.H. Gan, O. Set, S.K. Lee, S. Lum and Y.Y. Gan. 2001. Genetic diversity of the wild banana *Musa acuminata* Colla in Malaysia as evidenced by AFLP. **Annals of Botany** 88: 1017-1025.

_____, _____ and G. Argent. 2002. Assessment of the validity of the section in *Musa* (Musaceae) using AFLP. **Annals of Botany** 90: 231-238.

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 ค่า Similarity index จากการเปรียบเทียบค่าดัชนีความคล้ายคลึงกันของแถบดีเอ็นเอตัวอย่าง *M. acuminata, M. balbisiana* และพันธุ์กล้วยปลูกทั้ง 45 ตัวอย่าง

ชนิด	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
1	1.00																																												
2	0.81	1.00																																											
3	0.88	0.86	1.00																																									
4	0.46	0.56	0.54	1.00																																								
5	0.40	0.44	0.48	0.56	1.00																																						
6	0.48	0.48	0.53	0.67	0.55	1.00																																					
7	0.40	0.45	0.48	0.51	0.51	0.55	1.00																																				
8	0.45	0.49	0.50	0.53	0.51	0.54	0.93	1.00																																			
9	0.51	0.56	0.54	0.55	0.58	0.58	0.78	0.79	1.00																																		
10	0.33	0.41	0.42	0.47	0.61	0.49	0.63	0.67	0.57	1.00																																	
11	0.45	0.50	0.55	0.56	0.59	0.48	0.67	0.69	0.67	0.75	1.00																																
12	0.46	0.46	0.54	0.61	0.58	0.56	0.63	0.67	0.71	0.68	0.79	1.00																															
13	0.28	0.33	0.33	0.43	0.35	0.41	0.42	0.48	0.44	0.43	0.49	0.53	1.00																														
14	0.40	0.38	0.42	0.38	0.34	0.34	0.30	0.36	0.32	0.43	0.43	0.47	0.59	1.00																													
15	0.44	0.44	0.45	0.51	0.41	0.50	0.44	0.51	0.53	0.47	0.49	0.56	0.48	0.50	1.00																												
16	0.39	0.46	0.43	0.53	0.53	0.52	0.41	0.51	0.48	0.60	0.51	0.50	0.31	0.44	0.58	1.00																											
17	0.41	0.46	0.43	0.53	0.48	0.47	0.39	0.46	0.45	0.52	0.49	0.48	0.31	0.42	0.66	0.83	1.00																										
18	0.32	0.39	0.36	0.49	0.44	0.46	0.39	0.42	0.38	0.45	0.45	0.41	0.31	0.42	0.52	0.81	0.76	1.00																									
19	0.37	0.44	0.40	0.50	0.43	0.47	0.41	0.48	0.43	0.49	0.49	0.48	0.38	0.52	0.63	0.85	0.83	0.86	1.00																								
20	0.35	0.44	0.39	0.45	0.44	0.45	0.39	0.44	0.41	0.47	0.45	0.43	0.29	0.45	0.51	0.84	0.81	0.85	0.89	1.00																							
21	0.40	0.47	0.43	0.53	0.48	0.45	0.51	0.55	0.52	0.54	0.53	0.50	0.38	0.49	0.53	0.79	0.76	0.77	0.83	0.87	1.00																						
22	0.44	0.51	0.47	0.53	0.48	0.52	0.53	0.59	0.55	0.57	0.56	0.55	0.41	0.47	0.60	0.79	0.74	0.69	0.81	0.80	0.86	1.00																					
23	0.46	0.54	0.52	0.53	0.53	0.49	0.46	0.53	0.52	0.52	0.51	0.50	0.44	0.44	0.56	0.70	0.70	0.68	0.70	0.71	0.81	0.86	1.00																				
24	0.40	0.50	0.44	0.54	0.52	0.46	0.49	0.54	0.51	0.59	0.60	0.49	0.42	0.43	0.52	0.77	0.72	0.78	0.79	0.81	0.88	0.88	0.82	1.00																			
25	0.47	0.55	0.51	0.56	0.52	0.48	0.49	0.54	0.56	0.56	0.55	0.56	0.45	0.51	0.62	0.73	0.76	0.71	0.76	0.77	0.86	0.86	0.80	0.85	1.00																		
26	0.47	0.57	0.52	0.48	0.51	0.45	0.44	0.47	0.53	0.50	0.49	0.56	0.44	0.47	0.62	0.63	0.71	0.66	0.71	0.67	0.75	0.77	0.76	0.70	0.81	1.00																	
27	0.51	0.59	0.54	0.53	0.45	0.42	0.38	0.43	0.45	0.41	0.44	0.42	0.33	0.41	0.59	0.71	0.82	0.63	0.71	0.72	0.70	0.73	0.71	0.68	0.72	0.72	1.00																
28	0.46	0.52	0.53	0.51	0.46	0.47	0.41	0.46	0.53	0.44	0.49	0.56	0.51	0.44	0.51	0.48	0.45	0.43	0.39	0.40	0.45	0.51	0.54	0.49	0.55	0.54	0.51	1.00															
29	0.46	0.52	0.53	0.51	0.46	0.45	0.38	0.44	0.51	0.41	0.47	0.54	0.44	0.44	0.46	0.48	0.45	0.40	0.39	0.37	0.43	0.45	0.48	0.43	0.49	0.49	0.54	0.87	1.00														
30	0.52	0.55	0.57	0.49	0.47	0.43	0.42	0.45	0.51	0.45	0.52	0.54	0.45	0.48	0.47	0.49	0.49	0.42	0.44	0.42	0.49	0.51	0.51	0.47	0.55	0.57	0.62	0.84	0.90	1.00													
31	0.60	0.57	0.65	0.49	0.45	0.46	0.43	0.45	0.53	0.46	0.54	0.56	0.38	0.51	0.52	0.49	0.53	0.45	0.49	0.49	0.55	0.53	0.53	0.50	0.59	0.58	0.63	0.69	0.72	0.82	1.00												
32	0.60	0.59	0.65	0.47	0.43	0.47	0.43	0.46	0.52	0.47	0.55	0.56	0.41	0.51	0.52	0.49	0.54	0.43	0.49	0.50	0.56	0.54	0.52	0.51	0.59	0.59	0.61	0.70	0.70	0.80	0.97	1.00											
33	0.60	0.59	0.65	0.47	0.43	0.47	0.43	0.46	0.52	0.47	0.55	0.56	0.41	0.51	0.52	0.49	0.54	0.43	0.49	0.50	0.56	0.54	0.52	0.51	0.59	0.59	0.61	0.70	0.70	0.80	0.97	1.00	1.00										
34	0.67	0.64	0.70	0.51	0.49	0.52	0.42	0.44	0.55	0.45	0.56	0.58	0.45	0.55	0.49	0.43	0.46	0.39	0.46	0.44	0.48	0.51	0.51	0.47	0.54	0.56	0.56	0.70	0.70	0.77	0.82	0.83	0.83	1.00									
35	0.60	0.64	0.64	0.48	0.46	0.48	0.39	0.42	0.55	0.45	0.54	0.56	0.44	0.47	0.46	0.43	0.46	0.38	0.46	0.44	0.48	0.51	0.48	0.47	0.54	0.56	0.53	0.66	0.66	0.73	0.79	0.80	0.80	0.90	1.00								
36	0.66	0.63	0.69	0.43	0.39	0.41	0.40	0.42	0.54	0.40	0.50	0.51	0.45	0.53	0.49	0.44	0.46	0.39	0.46	0.44	0.51	0.46	0.46	0.45	0.53	0.55	0.54	0.64	0.64	0.68	0.82	0.85	0.85	0.79	0.78	1.00							
37	0.56	0.60	0.60	0.43	0.42	0.41	0.42	0.45	0.56	0.40	0.45	0.49	0.42	0.43	0.49	0.44	0.46	0.42	0.46	0.44	0.51	0.49	0.49	0.47	0.53	0.55	0.51	0.61	0.61	0.63	0.77	0.76	0.76	0.72	0.81	0.87	1.00						
38	0.64	0.65	0.67	0.42	0.40	0.42	0.40	0.43	0.52	0.44	0.48	0.49	0.40	0.49	0.48	0.44	0.44	0.40	0.47	0.45	0.52	0.49	0.47	0.48	0.53	0.55	0.52	0.58	0.56	0.63	0.79	0.82	0.82	0.83	0.88	0.89	0.89	1.00					
39	0.60	0.59	0.64	0.47	0.43	0.44	0.41	0.43	0.58	0.41	0.49	0.55	0.47	0.47	0.51	0.42	0.47	0.40	0.45	0.43	0.50	0.48	0.50	0.46	0.54	0.56	0.53	0.63	0.63	0.65	0.79	0.78	0.78	0.73	0.77	0.92	0.92	0.83	1.00				
40	0.58	0.62	0.61	0.44	0.43	0.44	0.35	0.39	0.53	0.41	0.44	0.50	0.43	0.49	0.48	0.45	0.47	0.43	0.50	0.48	0.53	0.53	0.50	0.49	0.56	0.61	0.56	0.57	0.57	0.62	0.77	0.75	0.75	0.76	0.83	0.86	0.92	0.86	0.92	1.00			
41	0.52	0.53	0.49	0.52	0.42	0.46	0.40	0.50	0.54	0.46	0.46	0.47	0.33	0.46	0.71	0.62	0.73	0.54	0.62	0.61	0.59	0.62	0.60	0.56	0.61	0.55	0.74	0.47	0.50	0.53	0.55	0.51	0.51	0.55	0.50	0.48	0.51	0.49	0.52	0.52	1.00		
42	0.23	0.21	0.22	0.36	0.19	0.27	0.18	0.20	0.24	0.20	0.23	0.26	0.37	0.31	0.30	0.15	0.19	0.08	0.15	0.08	0.14	0.17	0.15	0.15	0.25	0.19	0.16	0.22	0.18	0.15	0.16	0.16	0.16	0.21	0.19	0.15	0.08	0.11	0.12	0.12	0.20	1.00	
43	0.29	0.39	0.31	0.39	0.41	0.33	0.28	0.29	0.43	0.31	0.40	0.40	0.27	0.17	0.38	0.27	0.32	0.26	0.27	0.24	0.28	0.30	0.32	0.27	0.34	0.38	0.34	0.39	0.36	0.36	0.35	0.36	0.36	0.41	0.43	0.27	0.33	0.34	0.31	0.31	0.28	0.24	1.00
44	0.27	0.24	0.27	0.19	0.25	0.20	0.14	0.16	0.23	0.32	0.28	0.21	0.08	0.19	0.37	0.24	0.33	0.27	0.24	0.22	0.23	0.23	0.24	0.22	0.24	0.28	0.26	0.25	0.21	0.22	0.26	0.27	0.27	0.26	0.25	0.25	0.25	0.24	0.26	0.23	0.32	0.05	0.43
45	0.14	0.16	0.17	0.21	0.10	0.15	0.12	0.14	0.18	0.10	0.15	0.16	0.17	0.24	0.16	0.16	0.19	0.14	0.19	0.16	0.18	0.21	0.19	0.23	0.25	0.16	0.21	0.11	0.11	0.13	0.14	0.11	0.11	0.18	0.16	0.13	0.13	0.16	0.14	0.14	0.17	0.28	0.21

หมายเหตุ ลำดับที่ 1-15 ตัวอย่างกล้วย MW1-MW15 ลำดับที่ 16-41 ตัวอย่างกล้วย MC1-MC26 ลำดับที่ 42-45 ตัวอย่างกล้วย MI ML Mco และ EG ตามลำดับ