



การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการระบุพันธุ์กล้วยไม้รองเท้านารี  
กลุ่มไบสีเขียวด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ

โดย

นางสาวพรประภา ศิริเทพทวี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)  
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ  
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์  
ปีการศึกษา 2559  
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการระบุพันธุ์กล้วยไม้รองเท้านารี  
กลุ่มใบสีเขียวด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ

โดย

นางสาวพรประภา ศิริเทพทวี



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)  
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ  
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์  
ปีการศึกษา 2559  
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

GENETIC RELATIONSHIP ASSESSMENT AND IDENTIFICATION OF  
STRAP-LEAF *PAPHIOPEDILUM* USING DNA MARKERS

BY

MISS PORNPRAPA SIRITHEPTAWEE



A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS  
FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)

DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY  
FACULTY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY

THAMMASAT UNIVERSITY

ACADEMIC YEAR 2016

COPYRIGHT OF THAMMASAT UNIVERSITY

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์  
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

วิทยานิพนธ์

ของ

นางสาวพรประภา ศิริเทพทวิ

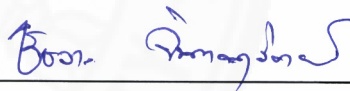
เรื่อง

การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการระบุพันธุ์กล้วยไม้รองเท้านารี  
กลุ่มใบสีเขียวด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ


ได้รับการตรวจสอบและอนุมัติ ให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

เมื่อ วันที่ 30 มิถุนายน พ.ศ. 2560

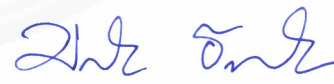
ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชวัล จันทราสุริยรัตน์)


กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

  
(รองศาสตราจารย์ ดร. ซีระชัย ชนานันต์)

กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นฤมล ชนานันต์)

กรรมการสอบวิทยานิพนธ์

  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมจิต ดำริห์อนันต์)

คณบดี

  
(รองศาสตราจารย์ ปกรณ์ เสริมสุข)

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการระบุพันธุ์กล้วยไม้รองเท้านารีกลุ่มไบสีเขียวด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ
ชื่อผู้เขียน	นางสาวพรประภา ศิริเทพทวี
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
สาขาวิชา/คณะ/มหาวิทยาลัย	สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รองศาสตราจารย์ ดร. ชีระชัย ธานานันต์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นฤมล ธานานันต์
ปีการศึกษา	2559

### บทคัดย่อ

รองเท้านารีเป็นไม้ดอกที่พบได้ตามธรรมชาติในพื้นที่ป่า ในปัจจุบันรองเท้านารีจัดเป็นไม้ดอกที่ได้รับความนิยมในการปลูกและส่งออกไปยังต่างประเทศเป็นจำนวนมาก เนื่องด้วยเป็นพืชที่มีสีสันของดอกที่สวยงามและหลากหลาย และมีการปรับปรุงพันธุ์ ทำให้เกิดลูกผสมมากมาย ที่มีลักษณะบานทนและสีดอกที่สวยงามและหลากหลายและเพิ่มมูลค่าของรองเท้านารีด้วย นอกจากนี้รองเท้านารียังเจริญเติบโตและออกดอกช้า โดยออกดอก 1 หรือ 2 ปีต่อครั้ง ซึ่งลักษณะของไบนั้นมีความคล้ายกันมาก ทำให้การระบุชนิดของรองเท้านารีเป็นไปได้ยาก จำเป็นต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญในการจำแนกชนิด ดังนั้นผู้วิจัยจึงศึกษาการจำแนกชนิดและประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีด้วยเครื่องหมายสก็อต แสตอาร์เอพีดี และลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณจำเพาะของยีน *matK*, *rbcl*, *rpoC1* และซันตีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* กับ *psbA* จากผลการวิจัยพบว่าเครื่องหมายสก็อตและเครื่องหมายแสตอาร์เอพีดีสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีทั้ง 15 ชนิด และให้แถบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ชัดเจน เมื่อสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอ พบว่าแถบดีเอ็นเอที่ได้มีความหลากหลายทั้งหมด 219 และ 248 แถบ ตามลำดับ เมื่อสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ด้วยวิธีจัดกลุ่มแบบ UPGMA สามารถจำแนกกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีเป็น 3 กลุ่ม นอกจากนี้การใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณจำเพาะของยีน *matK*, *rpoC1*, *rbcl* และซันตีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH*

(2)

และ *psbA* สามารถใช้ระบุชนิดของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี 20 ชนิด และแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ได้ให้ผลสอดคล้องกับแผนภูมิความสัมพันธ์จากเครื่องหมายสก็อตและแฮตอาร์เอพีดี

**คำสำคัญ:** กล้วยไม้สกุลรองเท้านารี, แฮตอาร์เอพีดี, สก็อต, ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณจำเพาะ



Thesis Title	GENETIC RELATIONSHIP ASSESSMENT AND IDENTIFICATION OF STRAP-LEAF <i>PAPHIOPEDILUM</i> USING DNA MARKERS
Author	Miss Pornprapa Siritheptawee
Degree	Master of science (Biotechnology)
Major Field/Faculty/University	Department of Biotechnology Faculty of Science and Technology Thammasat University
Thesis Advisor	Associate Professor Theerachai Thanananta
Thesis Co-Advisor	Assistant Professor Narumol Thanananta
Academic Years	2016

### ABSTRACT

*Paphiopedilum* is one of abundant species of orchids in the wild. It is currently become a popular indoor potted plant, as well as the orchid cut-flowers exported to many countries. Besides its beautiful and colorful flowers, more colorful with various hybrid cultivars, could be produced. In addition, *Paphiopedilum* is a slow grower, and blossoms one to two years once. As its leaves are quite similar, species classification by using morphology are difficult, and the specialists for species classification are required. Therefore, SCoT, HAT-RAPD marker and specific nucleotide sequence were used to identify and investigate the genetic relationship of *Paphiopedilum*. SCoT and HAT-RAPD markers could be used for DNA amplification giving clear amplified products to construct DNA fingerprints of 15 *Paphiopedilum* species, with the totals of 219 and 248 polymorphic bands, respectively. A dendrogram, which constructed based on polymorphic bands using UPGMA, divided these orchids into 3 clusters. In addition, nucleotide sequence of specific genes *matK*, *rpoC1*, *rbcl* and *trnH-psbA* can be used to identify 20 species of orchid species and phylogenetic tree resemble with dendrogram.

**Keywords:** *Paphiopedilum*; HAT-RAPD; SCoT; nucleotide sequence of specific genes





## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. อีระชัย ธนानันต์ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นฤมล ธนานันต์ ที่ให้คำแนะนำในการดำเนินงานวิจัยตลอดจนแก้ปัญหาต่าง ๆ และยังช่วยเหลือและอนุเคราะห์อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัยชิ้นนี้ นอกจากนี้ยังคอยเป็นแรงผลักดันให้ผู้วิจัยทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี และขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชัชวาล จันทราสุริยารัตน์ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมจิต คำรือหนันต์ ที่คอยให้คำแนะนำ เพื่อแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ในงานวิจัยชิ้นนี้ ตลอดจนร่วมเป็นกรรมการในการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

ขอขอบคุณ สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ สำหรับอุปกรณ์เครื่องมือวิจัย และสถานที่ทำวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ที่ได้มอบทุนอุดหนุนการทำวิทยานิพนธ์เพื่อนำไปสู่การตีพิมพ์เผยแพร่ ประจำปี 2559 และทุนสนับสนุนงานวิจัยประเภททุนวิจัยทั่วไป สำหรับนักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา ประจำปี 2560 เพื่อสนับสนุนด้านค่าใช้จ่ายในการเรียนของผู้วิจัย

ขอขอบคุณ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ที่ได้มอบทุนนำเสนองานวิทยานิพนธ์/สารนิพนธ์ ภายในประเทศ ประจำปี 2560 และทุนบัณฑิตเรียนดีเพื่อศึกษาต่อระดับบัณฑิตศึกษา ประจำปี 2558 เพื่อสนับสนุนด้านค่าใช้จ่ายในการเรียนของผู้วิจัย

ขอขอบคุณ อาจารย์ เจ้าหน้าที่ และพืนักวิทยาศาสตร์ที่คอยอำนวยความสะดวกเรื่องอุปกรณ์และสารเคมี รวมถึงการดำเนินงานด้านเอกสารทุกอย่างในวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณ รุ่นพี่ เพื่อนห้องปฏิบัติการ B407 และเพื่อนในสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ โดยเฉพาะ นางสาวทีปกา มีเสงี่ยม ที่คอยช่วยเหลือและให้คำแนะนำมาโดยตลอด

ขอขอบคุณ นางสาวนงนาฏ ลัคนาธิติ นายไชยวัฒน์ ศิริเทพทวี และนางลัดดา ลัคนาธิติ ที่อุปการะให้โอกาสทางการศึกษา คอยสนับสนุน และขอบคุณน้องสาว นางสาวศิริรัตน์ ศิริเทพทวีที่นารักที่คอยให้กำลังใจเรื่อยมา ทำให้ผู้วิจัยทำงานสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้ง จึงใคร่ขอขอบพระคุณทุกท่านเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

นางสาวพรประภา ศิริเทพทวี

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	(1)
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	(3)
กิตติกรรมประกาศ	(5)
สารบัญตาราง	(10)
สารบัญภาพ	(12)
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ปัญหาที่ต้องการทราบจากการศึกษา	2
1.4 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.5 สถานที่ทำการวิจัย	2
บทที่ 2 วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 กกล้วยไม้	3
2.2 การจำแนกกล้วยไม้	3
2.2.1 จำแนกตามลักษณะการอาศัย	3
2.2.2 จำแนกตามลักษณะการเจริญเติบโต	3
2.2.3 จำแนกตามหลักพฤกษศาสตร์	4
2.3 ลักษณะส่วนต่าง ๆ ของกล้วยไม้	4
2.4 กล้วยไม้สกุลรองเท้านารี	5

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.5 การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลทางพันธุกรรม	15
2.5.1 เครื่องหมายดีเอ็นเอ	15
2.5.1.1 แสตอาร์เอพีดี	15
2.5.1.2 สก็อต	18
2.5.1.3 ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณจำเพาะ	19
บทที่ 3 วิธีการวิจัย	22
3.1 อุปกรณ์	22
3.2 สารเคมี	22
3.2.1 การสกัดดีเอ็นเอ	22
3.2.2 ปฏิกริยาลูกโซ่พอลิเมอไรเซชัน	23
3.2.3 การวิเคราะห์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิส	23
3.3 วิธีการดำเนินงาน	23
3.3.1 กล้วยไม้สกุลรองเท้านารีที่ใช้ในงานวิจัย	23
3.3.2 การสกัดดีเอ็นเอ	25
3.3.3 การตรวจสอบคุณภาพและปริมาณของดีเอ็นเอ	26
3.3.4 วิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส	26
3.3.5 การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ	26
3.3.5.1 เครื่องหมายแสตอาร์เอพีดี	26
3.3.5.2 เครื่องหมายสก็อต	29
3.3.5.3 การสร้างเครื่องหมายลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณจำเพาะ	32
3.3.6 การวิเคราะห์ผล	33
3.3.6.1 เครื่องหมายแสตอาร์เอพีดี และเครื่องหมายสก็อต	33
3.3.6.2 การใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณจำเพาะ	34
3.3.6.3 เปรียบเทียบผลที่ได้จากเครื่องหมายดีเอ็นเอทั้ง 3 ชนิด	34

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	35
4.1 เครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดี	35
4.1.1 การเพิ่มปริมาณของดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี ต่อไพรเมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม	35
4.1.2 การศึกษาความสัมพันธ์ของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี ด้วยเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดี	47
4.2 เครื่องหมายสก็อต	49
4.2.1 การเพิ่มปริมาณของดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี ต่อไพรเมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม	49
4.2.2 การศึกษาความสัมพันธ์ของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี ด้วยเครื่องหมายสก็อต	61
4.3 การใช้เครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีร่วมกับสก็อต	61
4.4 เครื่องหมายลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณจำเพาะ	64
4.4.1 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณจำเพาะภายในคลอโรพลาสต์	64
4.4.2 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์	68
4.4.2.1 บริเวณยีน <i>matK</i>	70
4.4.2.2 บริเวณยีน <i>rbcl</i>	80
4.4.2.3 บริเวณยีน <i>rpoC1</i>	90
4.4.2.4 บริเวณขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน <i>trnH</i> และ <i>psbA</i>	99
4.5 การศึกษาเครื่องหมายลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณจำเพาะร่วมกัน 2 ยีน	120
4.6 การศึกษาเครื่องหมายลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณจำเพาะร่วมกัน 3 ยีน	123

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.7 การศึกษาเครื่องหมายลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณจำเพาะร่วมกัน 4 ยีน	125
4.8 อภิปรายผล	126
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	130
5.1 สรุปผลการวิจัย	130
5.2 ข้อเสนอแนะ	131
รายการอ้างอิง	132
ภาคผนวก	138
ภาคผนวก ก	139
ภาคผนวก ข	140
ประวัติผู้เขียน	169

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 กล้วยไม้สกุลรองเท้านารีที่ใช้ในงานวิจัย	6
3.1 กล้วยไม้สกุลรองเท้านารี <i>Paphiopedilum</i> สกุลย่อย <i>Paphiopedilum</i> หมู่ <i>Paphiopedilum</i>	23
3.2 กล้วยไม้สกุลรองเท้านารี <i>Paphiopedilum</i> สกุลย่อย <i>Paphiopedilum</i> หมู่ <i>Stictopetalum</i>	24
3.3 กล้วยไม้สกุลรองเท้านารี <i>Paphiopedilum</i> สกุลย่อย <i>Paphiopedilum</i> หมู่ <i>Thiopetalum</i>	24
3.4 กล้วยไม้สกุลรองเท้านารี <i>Paphiopedilum</i> สกุลย่อย <i>Polyantha</i> หมู่ <i>Mastigopetalum</i>	24
3.5 กล้วยไม้สกุลรองเท้านารี <i>Paphiopedilum</i> สกุลย่อย <i>Polyantha</i> หมู่ <i>Mystropetalum</i>	24
3.6 กล้วยไม้สกุลรองเท้านารี <i>Paphiopedilum</i> สกุลย่อย <i>Cochlopetalum</i>	25
3.7 ไพรเมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดี ชุด A-F	27
3.8 องค์ประกอบของสารที่ใช้ในปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส	29
3.9 แสดงอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส	29
3.10 ไพรเมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของเครื่องหมายสกัด	30
3.11 แสดงอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส	32
3.12 ไพรเมอร์ที่ใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณตำแหน่งจำเพาะของยีน	32
3.13 องค์ประกอบของสารที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณนิวคลีโอไทด์ของตำแหน่งจำเพาะ	33
3.14 แสดงอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส	33
4.1 เลขลำดับการฝากลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณจำเพาะในฐานข้อมูล NCBI	69
4.2 ตำแหน่งของนิวคลีโอไทด์ ยีน <i>matK</i> ที่เกิดความหลากหลาย	76
4.3 ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนของยีน <i>matK</i>	77
4.4 ตำแหน่งของนิวคลีโอไทด์ ยีน <i>rbcl</i> ที่เกิดความหลากหลาย	87
4.5 ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนของยีน <i>rbcl</i>	87
4.6 ตำแหน่งของนิวคลีโอไทด์ ยีน <i>rpoC1</i> ที่เกิดความหลากหลาย	96
4.7 ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนของยีน <i>rpoC1</i>	96

### สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.8 ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์บริเวณขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน <i>trnH</i> และ <i>psbA</i> ที่เกิดความหลากหลาย	112



## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 หลักการของเครื่องหมายอาร์เอพีดี	16
2.2 หลักการของเครื่องหมายสก็อต	18
4.1 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ A22	35
4.2 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ A29	36
4.3 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ A30	36
4.4 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ A32	37
4.5 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ B22	37
4.6 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ B23	38
4.7 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ B25	38
4.8 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ C21	39
4.9 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ C22	39
4.10 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ C28	40
4.11 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ D23	40
4.12 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ E22	41



## สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.13 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ E23	41
4.14 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ E32	42
4.15 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ F23	42
4.16 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ F25	43
4.17 ค่าดัชนีความเหมือนกันของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีด้วยเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดี	48
4.18 แผนภูมิความสัมพันธ์ของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีด้วยเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดี	48
4.19 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ SCoT13	49
4.20 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ SCoT32	50
4.21 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ SCoT33	50
4.22 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ SCoT40	51
4.23 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ SCoT46	51
4.24 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ SCoT50	52
4.25 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ SCoT51	52
4.26 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ SCoT52	53

## สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.27 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ SCoT53	53
4.28 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ SCoT54	54
4.29 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ SCoT55	54
4.30 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ SCoT57	55
4.31 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ SCoT65	55
4.32 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ SCoT66	56
4.33 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ SCoT68	56
4.34 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ SCoT73	57
4.35 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ SCoT76	57
4.36 ค่าดัชนีความเหมือนกันของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีด้วยเครื่องหมายสก็อต	62
4.37 แผนภูมิความสัมพันธ์ของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีด้วยเครื่องหมายสก็อต	62
4.38 ค่าดัชนีความเหมือนกันของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี ด้วยเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีร่วมกับเครื่องหมายสก็อต	63
4.39 แผนภูมิความสัมพันธ์ของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี ด้วยเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีร่วมกับเครื่องหมายสก็อต	63
4.40 ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีน <i>matK</i>	64
4.41 ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีน <i>rbcl</i>	65
4.42 ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีน <i>rpoC1</i>	66

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.43 ผลการเพิ่มปริมาณขึ้นดีเอ็นเอบริเวณระหว่างซิงยีน <i>trnH</i> กับ <i>psbA</i>	67
4.44 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน <i>matK</i>	70
4.45 ค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี เมื่อวิเคราะห์ด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ยีน <i>matK</i>	78
4.46 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี วิเคราะห์จากยีน <i>matK</i> สร้างโดยวิธี maximum likelihood	79
4.47 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน <i>rbcl</i>	80
4.48 ค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี เมื่อวิเคราะห์ด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ยีน <i>rbcl</i>	88
4.49 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี วิเคราะห์จากยีน <i>rbcl</i> สร้างโดยวิธี maximum likelihood	89
4.50 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน <i>rpoC1</i>	90
4.51 ค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี เมื่อวิเคราะห์ด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ยีน <i>rpoC1</i>	97
4.52 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี วิเคราะห์จากยีน <i>rpoC1</i> สร้างโดยวิธี maximum likelihood	98
4.53 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีนระหว่างซิงยีน <i>trnH</i> กับยีน <i>psbA</i>	99
4.54 ค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีเมื่อวิเคราะห์ ด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณซิงยีนดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน <i>trnH</i> และ <i>psbA</i>	118
4.55 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี วิเคราะห์จากบริเวณซิงยีนดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน <i>trnH</i> และ <i>psbA</i> สร้างโดยวิธี maximum likelihood	119

### สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.56 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีวิเคราะห์ จากยีน <i>rbcL</i> ร่วมกับยีน <i>rpoC1</i> และจัดกลุ่มด้วยวิธี maximum likelihood	120
4.57 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีวิเคราะห์ จากยีน <i>rbcL</i> ร่วมกับยีน <i>matK</i> และจัดกลุ่มด้วยวิธี maximum likelihood	120
4.58 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีวิเคราะห์ จากยีน <i>rbcL</i> ร่วมกับบริเวณซันดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน <i>trnH</i> และ <i>psbA</i> และจัดกลุ่มด้วยวิธี maximum likelihood	121
4.59 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีวิเคราะห์ จากยีน <i>rpoC1</i> ร่วมกับยีน <i>matK</i> และจัดกลุ่มด้วยวิธี maximum likelihood	121
4.60 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีวิเคราะห์ จากยีน <i>rpoC1</i> ร่วมกับบริเวณซันดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน <i>trnH</i> และ <i>psbA</i> และจัดกลุ่มด้วยวิธี maximum likelihood	122
4.61 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีวิเคราะห์ จากยีน <i>matK</i> ร่วมกับบริเวณซันดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน <i>trnH</i> และ <i>psbA</i> และจัดกลุ่มด้วยวิธี maximum likelihood	122
4.62 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีวิเคราะห์จาก ยีน <i>rbcL</i> , <i>rpoC1</i> ร่วมกับยีน <i>matK</i> และจัดกลุ่มด้วยวิธี maximum likelihood	123
4.63 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีวิเคราะห์ จากยีน <i>rbcL</i> , <i>rpoC1</i> ร่วมกับบริเวณซันดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน <i>trnH</i> และ <i>psbA</i> และจัดกลุ่มด้วย maximum likelihood	123

### สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.64 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีวิเคราะห จากยีน <i>rbcL</i> , <i>matK</i> ร่วมกับบริเวณซีเอ็นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน <i>trnH</i> และ <i>psbA</i> และจัดกลุ่มด้วยวิธี maximum likelihood	124
4.65 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีวิเคราะห จากยีน <i>rpoC1</i> , <i>matK</i> ร่วมกับบริเวณซีเอ็นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน <i>trnH</i> และ <i>psbA</i> และจัดกลุ่มด้วยวิธี maximum likelihood	124
4.66 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีวิเคราะห จากยีน <i>rbcL</i> , <i>rpoC1</i> , <i>matK</i> ร่วมกับบริเวณซีเอ็นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่าง ยีน <i>trnH</i> และ <i>psbA</i> และจัดกลุ่มด้วยวิธี maximum likelihood	125

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ที่มาและความสำคัญ

กล้วยไม้เป็นจัดเป็นไม้ดอกที่พบได้ตามธรรมชาติในพื้นที่ป่า กระจายอยู่ทั่วโลกและมีประมาณ 19,000 ชนิด จัดเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว วงศ์ออร์คิดเซีย (Orchidaceae) โดยประเทศไทยได้มีการจัดจำแนกชนิดของกล้วยไม้มากกว่า 1,154 ชนิดตามธรรมชาติ แบ่งออกได้ 176 สกุล นอกจากนี้ยังมีลูกผสมที่มาจากการปรับปรุงพันธุ์อีกหลายชนิด จะเห็นได้ว่ากล้วยไม้เป็นไม้ดอกที่มีความหลากหลายมากที่สุด ในปัจจุบันกล้วยไม้จัดเป็นไม้ดอกที่ได้รับความนิยมในการปลูกและส่งออกไปยังต่างประเทศเป็นจำนวนมาก เนื่องด้วยเป็นพืชที่มีอายุยืนนานหลายปี มีสีสันของดอกที่สวยงามและหลากหลายจึงนิยมนำไปประดับตกแต่งอาคารและสถานที่ บางชนิดมีกลิ่นหอมซึ่งทำให้ผ่อนคลาย สาเหตุเหล่านี้จึงทำให้มีการปรับปรุงพันธุ์ ทำให้เกิดลูกผสมอีกมากมาย ซึ่งมีลักษณะบานทนและสีดอกที่สวยงามและหลากหลาย ซึ่งเพิ่มมูลค่าของกล้วยไม้อีกด้วย

กล้วยไม้สกุลรองเท้านารี เป็นกล้วยไม้ที่ขึ้นตามพื้นดิน ชอบขึ้นตามใบไม้และแสงส่องถึง พบในเขตอบอุ่น และเขตร้อนแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ลักษณะของกล้วยไม้สกุลนี้คือ มีลำต้นสั้น ใบเรียงตัวสลับสองข้างต้น ดอกมีลักษณะ กลีบนอก 2 กลีบ กลีบในมี 2 กลีบคู่ข้างและ 1 กลีบปาก ซึ่งมีลักษณะเป็นถุง คล้ายหั่วรองเท้านารี จึงเรียกกล้วยไม้สกุลนี้ว่า รองเท้านารี ช่อดอกจะอยู่ที่ยอด อาจมีจำนวนดอกไม่มากนักหรืออาจมีแค่ 1 ดอก ใบมีลักษณะสีเขียวและรี ในประเทศไทยพบ 18 ชนิด ซึ่งมีลักษณะดอกและใบคล้ายกัน ส่งผลให้จำแนกชนิดโดยใช้รูปร่างสันฐานทำได้ยาก จึงต้องใช้เครื่องหมายโมเลกุลเข้ามาช่วยระบุชนิดและประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี เพื่อเป็นประโยชน์ในการอนุรักษ์พันธุ์และปรับปรุงพันธุ์ต่อไปในอนาคต

จากความสำคัญข้างต้น ผู้วิจัยจึงศึกษาในระดับโมเลกุลใช้เครื่องหมายโมเลกุลเพื่อระบุชนิดและประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี 20 ชนิด ด้วยเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดี (HAT-RAPD, high annealing temperature - random amplified polymorphic DNA) สก็อต (SCoT, start codon targeted) และลำดับนิวคลีโอไทด์ (nucleotide sequences) จากนั้นวิเคราะห์ความน่าเชื่อถือของเครื่องหมายดีเอ็นเอทั้ง 3 ชนิด ด้วยการเปรียบเทียบผลของแผนภูมิความสัมพันธ์ (dendrogram) และแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (phylogenetic tree)

## 1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 จำแนกและศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีทั้ง 20 ชนิด โดยใช้เครื่องหมายแอสตาร์เอพีดี เครื่องหมายสก็อตและลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณจำเพาะ

1.2.2 เพื่อเปรียบเทียบแผนภูมิความสัมพันธ์และแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ได้จาก เครื่องหมายแอสตาร์เอพีดี เครื่องหมายสก็อตและลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณจำเพาะ

## 1.3 ปัญหาที่ต้องการทราบจากการศึกษา

เปรียบเทียบประสิทธิภาพของเครื่องหมายดีเอ็นเอทั้ง 3 ชนิด สามารถจำแนกและศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีได้หรือไม่

## 1.4 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี 20 ชนิด ได้แก่ รองเท้านารีอินทนนท์ รองเท้านารีอินทนนท์คอแดง รองเท้านารีอินชิกเน่หรือรองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง รองเท้านารีอินทนนท์ลาว รองเท้านารีเหลืองเลย รองเท้านารีเหลืองกระบี่ รองเท้านารีโรสศลิเดียนุ่ม รองเท้านารีไพรมูเรียนุ่ม รองเท้านารีตอยตุงกาญจน์ รองเท้านารีสไปเซเรียนุ่ม รองเท้านารีเมืองกาญจน์ รองเท้านารีตอยตุง รองเท้านารีเชียงดาว รองเท้านารีเฮนรียานุ่ม รองเท้านารีเฮเลน รองเท้านารีทรานเลียนอนุ่ม รองเท้านารีแพรสแทนส์ รองเท้านารีฟิลิปปินส์เอนซิส รองเท้านารีซูปาร์ดีโอ และรองเท้านารีกล้วยโคไฟลลุม โดยใช้เครื่องหมายแอสตาร์เอพีดี เครื่องหมายสก็อต และลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณจำเพาะ

## 1.5 สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการ B403 และ B407 อาคารเรียนและปฏิบัติการคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี

## บทที่ 2

### วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 กล้ายไม้

กล้ายไม้เป็นไม้ดอกที่มีสีสันสวยงามและมีประมาณ 19,000 ชนิดทั่วโลก จัดเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว (Monocotyledonous plant) วงศ์ออร์คิดีเดซีอี (Orchidaceae) พบได้เขตร้อนหรือแม้แต่บริเวณที่มีน้ำแข็งปกคลุม ซึ่งกล้ายไม้เป็นไม้ดอกที่มีชนิดมากที่สุด (อบฉันท, 2543)

#### 2.2 การจำแนกกล้ายไม้

##### 2.2.1 จำแนกตามลักษณะการอาศัย

กล้ายไม้มีการแบ่งตามลักษณะการอาศัยออกเป็น 3 แบบ

##### 2.2.1.1 กล้ายไม้อิงอาศัย

กล้ายไม้ประเภทนี้จะมียึดเกาะบนต้นไม้ใหญ่ โดยกล้ายไม้ในกลุ่มนี้เช่น สกุลง่า พ้ามุ่ย สกุลง่า และสกุลง่าสังโตกลอกตา เป็นต้น ในประเทศไทยพบกล้ายไม้กลุ่มนี้มากที่สุด

##### 2.2.1.2 กล้ายไม้ดิน

กล้ายไม้กลุ่มนี้พบชนิดรองมาจากกล้ายไม้อิงอาศัย มีลักษณะลำต้นหรือรากอยู่บนผิวดินหรือใต้ดิน

##### 2.2.1.3 กล้ายไม้อาศัยบนหิน

กล้ายไม้กลุ่มนี้จะอาศัยอยู่บนหิน มักพบว่าอยู่ใกล้กับมอสและไลเคน กล้ายไม้ในกลุ่มนี้ เช่น เอื้องคำหิน เป็นต้น (สลิล และนฤมล, 2545)

##### 2.2.2 จำแนกตามลักษณะการเจริญเติบโต

##### 2.2.2.1 การเจริญเติบโตทางปลายยอด

เป็นลักษณะที่เจริญเติบโตทางยอดได้ไม่มีขีดจำกัด ซึ่งกล้ายไม้ในกลุ่มนี้จะแตกจากข้อที่อยู่ไกลจากยอดหรืออาจจะแตกจากโคนต้นเดิม กล้ายไม้ในกลุ่มนี้ได้แก่ สกุลง่าเข็ม สกุลง่าพ้ามุ่ยและสกุลง่าซ่าง เป็นต้น

##### 2.2.2.2 การเจริญเติบโตทางด้านข้างของลำต้น

เป็นลักษณะที่เจริญจากโคนต้นเดิมเท่านั้นและมักจะมีลำลูกกล้าย เพื่อสะสมอาหาร กล้ายไม้ในกลุ่มนี้ได้แก่ สกุลง่าสังโตกลอกตาและสกุลง่าเอื้องเทียน เป็นต้น (อบฉันท, 2543; สลิล และนฤมล, 2545)



### 2.2.3 จำแนกตามหลักพฤกษศาสตร์

เนื่องด้วยกล้วยไม้มีหลากหลายชนิดและมีจำนวนมาก นักพฤกษศาสตร์จึงต้องจัดจำแนกเพื่อให้เป็นระบบหมวดหมู่ นักพฤกษศาสตร์จึงได้จำแนกวงศ์ของกล้วยไม้ออกเป็นวงศ์ย่อย แบ่งกล้วยไม้ออกเป็น 6 วงศ์ย่อย

#### 2.2.3.1 Apostasioideae

กล้วยไม้ในวงศ์ย่อยนี้มีลักษณะโบราณคล้ายวงศ์ลิลลี่ กล้วยไม้ในวงศ์นี้เป็นกล้วยไม้ดิน ไม่มีกลีบปาก เกสรตัวผู้ 3 หรือ 2 ซึ่งต่างจากวงศ์ย่อยอื่น

#### 2.2.3.2 Cyripedioideae

กล้วยไม้ในวงศ์ย่อยนี้มีลักษณะกลีบเลี้ยงด้านล่างเชื่อมติดกันเป็นอันเดียว มีกลีบปากคล้ายถุง กล้วยไม้ในกลุ่มนี้ได้แก่ รองเท้านารี

#### 2.2.3.3 Neottioideae

กล้วยไม้ในวงศ์ย่อยนี้มีลักษณะมีเหง้าทอดไปตามผิวดิน นอกจากนี้ยังมีรากสะสมอาหารอยู่ใต้ดิน มีเกสรตัวผู้ 1 อัน กลุ่มละอองเรณูจับกันเป็นก้อน

#### 2.2.3.4 Cyripedioideae

กล้วยไม้ในวงศ์ย่อยนี้มีลักษณะคล้ายกับวงศ์ย่อยนีโอทีโออยดีอี แต่กลุ่มละอองเรณูมีก้านไปยึดติดกับแผ่นเยื่อบาง

#### 2.2.3.5 Cyripedioideae

กล้วยไม้ในวงศ์ย่อยนี้มีลักษณะใบและลำต้นที่หลากหลายและต่างกัน มีเกสรตัวผู้ 1 อัน และส่วนใหญ่กลุ่มละอองเรณูไม่มีก้าน

#### 2.2.3.6 Cyripedioideae

กล้วยไม้ในวงศ์ย่อยนี้มีลักษณะคล้ายกับวงศ์ย่อยเอพิเดนดรอยดีอี แต่กลุ่มละอองเรณูเหนียวและค่อนข้างแข็งกว่าเอพิเดนดรอยดีอี

## 2.3 ลักษณะส่วนต่าง ๆ ของกล้วยไม้

### 2.3.1 ราก

ลักษณะรากของกล้วยไม้จะเกิดตามโคนต้นหรืออาจเกิดตรงข้อ ซึ่งแต่ละชนิดจะมีจำนวนและขนาดรากที่แตกต่างกัน รากของกล้วยไม้ นอกจากจะเป็นรากยึดเกาะแล้ว บางชนิดยังเป็นรากสังเคราะห์ด้วยแสงได้อีกด้วย เช่น พญาไร้ใบ บางชนิดรากจะพองออกทำหน้าที่เป็นรากสะสมอาหารในพวกกล้วยไม้ดิน เป็นต้น

### 2.3.2 ใบ

ใบของกล้วยไม้มีขนาดและรูปร่างที่หลากหลายตามแต่ชนิดของกล้วยไม้ บางชนิดใบลดรูปไม่เจริญ เช่น พญาไร้ใบ ส่วนชนิดที่มีใบก็ยังแบ่งเป็นพวกที่ทิ้งใบและไม่ทิ้งใบ โดยพวกที่ไม่ทิ้งใบจะมีลักษณะแผ่นใบอวบน้ำ หนาและแข็ง ส่วนพวกที่ทิ้งใบจะมีลักษณะใบบาง (อบฉันท, 2543)

### 2.3.3 ดอก

ดอกกล้วยไม้มีสีสันสวยงาม ซึ่งแต่ละชนิดจะมีรูปร่างดอกและสีต่างกันไป ดอกของกล้วยไม้ประกอบไปด้วย 6 กลีบ แบ่งเป็นกลีบนอก 3 กลีบ และกลีบใน 3 กลีบ ซึ่งกลีบนอก 3 กลีบนั้นจะแบ่งเป็นกลีบบน 1 กลีบ กลีบล่าง 2 กลีบซึ่งบางชนิดกลีบนี้จะรวมกันเหมือนเป็นกลีบเดียวกัน เช่น รองเท้านารี ส่วนกลีบในนั้น จะแบ่งเป็นกลีบบน 2 กลีบ อีก 1 กลีบจะมีลักษณะต่างจากกลีบบนทั้ง 2 ซึ่งเรียกว่า ปาก ภายในปากจะมี

เกสรเพศผู้และเกสรเพศเมีย เมื่อผสมพันธุ์แล้วจะพัฒนากลายเป็นฝัก ซึ่งภายในมีเมล็ดสำหรับเป็นกล้วยไม้ต่อไป (ชวลิต, 2542)

### 2.3.4 ลำต้น

ลำต้นของกล้วยไม้มี 2 แบบคือ 1.ลำต้นเทียมหรือลำลูกกล้วย 2.ลำต้นแท้ โดยลำลูกกล้วยมีหน้าที่กักเก็บอาหาร สามารถแตกหน่อใหม่ได้ กล้วยไม้ที่มีลำลูกกล้วยได้แก่ สกุลแคทลียาและสกุลหวาย เป็นต้น ส่วนลำต้นแท้นั้นมีลักษณะที่สามารถเจริญเติบโตทางยอด และมีตาที่ทำหน้าที่แตกหน่อใหม่ กล้วยไม้แบบลำต้นแท้ที่ไม่มีลำลูกกล้วย ได้แก่ สกุลแวนด้าและรองเท้านารี เป็นต้น (กมลวรรณ, 2552)

### 2.3.5 ผลหรือฝัก



ผลหรือฝักของกล้วยไม้นั้นแต่ละชนิดจะมีรูปร่างต่างกันไป ภายในฝักของกล้วยไม้จะมีเมล็ดอยู่เป็นล้านเมล็ด ซึ่งเมล็ดมีลักษณะเป็นผงละเอียด นอกจากนี้ภายในเมล็ดไม่มีอาหารสะสมและใบเลี้ยงไม่เจริญอีกด้วย ในการงอกตามธรรมชาติของเมล็ดกล้วยไม้นั้นต้องอาศัยราไมคอร์ไรซาและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการงอกและเจริญเติบโต ถึงจะสามารถงอกและเจริญเติบโตเป็นต้นใหม่ได้

## 2.4 กล้วยไม้สกุลรองเท้านารี

กล้วยไม้สกุลรองเท้านารีเป็นกล้วยไม้ที่ได้รับความนิยมในการปลูก ใบมีลักษณะอวบน้ำ สีเขียวหรืออาจมีลวดลายขึ้นอยู่กับชนิดของรองเท้านารี ใบมีการเรียงตัวสลับกันทั้ง 2 ข้าง ลำต้นสั้น มีลักษณะดอกที่มีสีสันสวยงามและหลากหลาย ดอกของรองเท้านารีสามารถบานทนเป็นอาทิตย์หรืออาจมากกว่านั้น (อบฉันท, 2543) ลักษณะดอกมีกลีบนอก 3 กลีบ และกลีบใน 3 กลีบ โดยกลีบนอกบนมี 1 กลีบ กลีบล่าง 2 กลีบซึ่งกลีบนี้จะรวมกันเหมือนเป็นกลีบเดียวกัน กลีบในนั้น จะแบ่งเป็นกลีบบน 2 กลีบ อีก 1 กลีบจะมีลักษณะต่างจากกลีบบนทั้ง 2 ซึ่งเรียกว่า ปาก รูปร่างคล้ายกับหัวรองเท้า

สตรี เส้าเกสรจะประกอบไปด้วยเกสรเพศผู้และเกสรเพศเมีย โดยเกสรเพศเมียจะมีแผ่นยื่นออกมาเป็นรอยบุ๋ม เว้า แต่ละชนิดจะมีลักษณะของดอกที่แตกต่างกันออกไป ร่องเท้านารีชอบขึ้นตามใบไม้ที่ผุ ดินร่วนซุย ไม่มีลำลูกกล้วย จัดเป็นกล้วยไม้กึ่งดิน แหล่งกำเนิดของกล้วยไม้สกุลร่องเท้านารีคือเขตร้อนแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และเขตบอร์เนียว (ชวลิต, 2542)

ตารางที่ 2.1 กล้วยไม้สกุลร่องเท้านารีที่ใช้ในงานวิจัย

ชื่อสามัญ/วิทยาศาสตร์	ลักษณะทางพฤกษศาสตร์	ลักษณะดอก
<b>สกุลย่อย <i>Paphiopedilum</i> หมู่ <i>Paphiopedilum</i></b>		
1. ร่องเท้านารีอินทนนท์ <i>Paphiopedilum villosum</i> (Lindl.) Stein	- ใบค่อนข้างบางและอ่อน สีเขียว ดอกมีขนาดประมาณ 7-9 เซนติเมตร มี 1 ดอกต่อ 1 ช่อ ลักษณะเด่นคือ ดอกใหญ่ บานทน - แหล่งกระจายพันธุ์คือ พบในประเทศไทยตามป่าดิบทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ  (อบฉันท, 2543)	 ภาพโดย : นางสาวพรประภา ศิริเทพทวี
2. ร่องเท้านารีอินทนนท์คอแดง <i>Paphiopedilum barbigerum</i> var. <i>coccineum</i>	- ใบลักษณะสีเขียว กว้าง 0.5 – 1.5 เซนติเมตร ยาว 8 - 14 เซนติเมตร จัดเป็นดอกเดี่ยว ยาว 14 – 18 เซนติเมตร กลีบดอกสีน้ำตาลอมม่วง ขอบบิดเป็นคลื่น - แหล่งกระจายพันธุ์คือ เวียดนาม  <a href="http://www.slipperorchids.info/paphdatasheets/paphiopedilum/coccineum/index.html">http://www.slipperorchids.info/paphdatasheets/paphiopedilum/coccineum/index.html</a>	  <a href="http://www.slippertalk.com/forum/showthread.php?t=13430&amp;page=2">http://www.slippertalk.com/forum/showthread.php?t=13430&amp;page=2</a>




## ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

ชื่อสามัญ/วิทยาศาสตร์	ลักษณะทางพฤกษศาสตร์	ลักษณะดอก
<p>3. รองเท้านารีอินทนนท์ หรือรองเท้านารีอินทนนท์ ใบกว้าง <i>Paphiopedilum</i> <i>insigne</i> (Wallich ex Lindley) Pfitzer</p>	<p>- ใบสีเขียวหนาและแข็ง ดอกเดี่ยว กลีบ นอกบนสีเหลืองอ่อน มีเส้นสีเขียว ขอบ ปิดเป็นคลื่น กลีบดอกสีเหลือง ขอบปิด เป็นคลื่นเล็กน้อย กระเป๋ามันสีเหลือง</p> <p>- แหล่งกระจายพันธุ์คือ ตะวันออก เฉียงเหนือของอินเดีย ตะวันออกของ เนปาล และทางภาคเหนือของไทย (อุไร, 2549)</p>	 <p><a href="http://slipperorchids.info/paphdatasheets/paphiopedilum/insigne/index.html">http://slipperorchids.info/paphdatasheets/paphiopedilum/insigne/index.html</a></p>
<p>4. รองเท้านารีอินทนนท์ ลาว <i>Paphiopedilum</i> <i>gratrixianum</i> (Mast.) Guillaumin</p>	<p>- ใบสีเขียว โคนกาบใบมีจุดสีม่วงแดง กลีบนอกบนสีขาว โคนกลีบสีเขียวและมี แต้มสีม่วงเข้ม กลีบดอกสีเหลืองและมี เส้นสีน้ำตาลอมม่วงอยู่กึ่งกลางกลีบ กระเป๋าสีเหลืองอมน้ำตาล จัดเป็นดอก เดี่ยว</p> <p>- แหล่งกระจายพันธุ์คือ ไทย ลาว และ เวียดนาม (อุไร, 2549)</p>	 <p>ภาพโดย : นางสาว พรประภา ศิริเทพทวี</p>
<p>5. รองเท้านารีเหลือง กระปี่ <i>Paphiopedilum exul</i> (Ridl) Rolfe</p>	<p>- ใบสีเขียว ดอกเดี่ยวกว้าง 6 เซนติเมตร กลีบเลี้ยงขอบสีขาว กลางกลีบสีเขียว กลีบเลี้ยงบนรูปรี มีจุดสีม่วง กลีบดอก หยาบเป็นคลื่น กระเป๋าสีน้ำตาลอมเหลือง</p> <p>- แหล่งกระจายพันธุ์คือ ชุมพรและกระปี่ (สถิล และนฤมล, 2545)</p>	 <p>ภาพโดย : นางสาว พรประภา ศิริเทพทวี</p>

## ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

ชื่อสามัญ/วิทยาศาสตร์	ลักษณะทางพฤกษศาสตร์	ลักษณะดอก
<p>6. รองเท้านารีตอยตุ่ง <i>Paphiopedilum charlesworthii</i> (Rolfe) Pfitzer</p>	<p>- ใบค่อนข้างหนา ยาว 15 เซนติเมตร กว้าง 3 เซนติเมตร ดอกเดี่ยวยาว 8 – 15 เซนติเมตร กว้าง 9 เซนติเมตร กลีบนอกบนสีขาว มีเส้นสีม่วงเป็นร่างแหจำนวนมาก กลีบดอกสีเขียวอ่อนมีเส้นสีม่วงพาดจำนวนมาก</p> <p>- แหล่งกระจายพันธุ์คือ ตะวันออกของพม่า ตอนใต้ของจีน และภาคเหนือไทย</p> <p><a href="http://slipperorchids.info/paphdatasheets/paphiopedilum/charlesworthii/index.html">http://slipperorchids.info/paphdatasheets/paphiopedilum/charlesworthii/index.html</a></p>	 <p>ภาพโดย : นางสาวพรประภา ศิริเทพทวี</p>
<p>7. รองเท้านารีตอยตุ่งกาญจน์ <i>Paphiopedilum vejarutianum</i> O.Gruss &amp; Roellke</p>	<p>- ใบกว้าง 1.5 – 2 เซนติเมตร ยาว 16 – 20 เซนติเมตร ใบมีสีเขียวอาจพบจุดหรือเส้นประสีม่วงแดงบนเส้นกลางใบหรือหลังใบได้ เป็นดอกเดี่ยว กลีบนอกบนสีขาว โคนสีม่วงอมน้ำตาล กลีบดอกสีเหลืองอมเขียว กระเป๋าสีเหลืองมีเส้นสีม่วง</p> <p>- แหล่งกระจายพันธุ์คือ ทางตะวันตกเฉียงใต้ของจีนและไทย</p> <p><a href="http://www.orchidspecies.com/paphvejarutianum.htm">http://www.orchidspecies.com/paphvejarutianum.htm</a></p>	 <p><a href="http://www.orchidspecies.com/paphvejarutianum.htm">http://www.orchidspecies.com/paphvejarutianum.htm</a></p>

## ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

ชื่อสามัญ/วิทยาศาสตร์	ลักษณะทางพฤกษศาสตร์	ลักษณะดอก
8. รองเท้านารี เฮนรียานุม <i>Paphiopedilum henryanum</i> Braem	<ul style="list-style-type: none"> <li>- เป็นดอกเดี่ยว ขนาดยาว 12 - 15 เซนติเมตร มีสีม่วง ใบมีสีเขียวเข้ม ลำต้นขนาดเล็กและเป็นรองเท้านารีหายากหายาก</li> <li>- แหล่งกระจายพันธุ์คือ จีนและตอนเหนือของเวียดนาม</li> </ul> <p><a href="http://www.orchidspecies.com/paphhenryanum.htm">http://www.orchidspecies.com/paphhenryanum.htm</a></p>	 <p><a href="http://www.orchidspecies.com/paphhenryanum.htm">http://www.orchidspecies.com/paphhenryanum.htm</a></p>
9. รองเท้านารีเฮลเลน <i>Paphiopedilum helenae</i> f. aureum O.Gruss & Roeth	<ul style="list-style-type: none"> <li>- เป็นรองเท้านารีที่มีขนาดเล็กที่สุดในจีน ใบสีเขียว มีจุดสีม่วงเล็กน้อยตรงฐานใบยาว 4 - 7 เซนติเมตร จัดเป็นดอกเดี่ยว</li> <li>- แหล่งกระจายพันธุ์คือ ตอนเหนือของเวียดนามและตอนใต้ของจีน</li> </ul> <p><a href="http://www.orchidspecies.com/paphhellenae.htm">http://www.orchidspecies.com/paphhellenae.htm</a></p>	 <p><a href="http://www.orchidspecies.com/paphhellenae.htm">http://www.orchidspecies.com/paphhellenae.htm</a></p>
10. รองเท้านารี ทรานเลียนอุม <i>Paphiopedilum tranlienianum</i> O.Gruss & H.Perner	<ul style="list-style-type: none"> <li>- มีขนาดเล็ก ใบสีเขียว มีขนาดยาว 10 - 18 เซนติเมตร เป็นดอกเดี่ยว กลีบดอกบนปลายพลั่วเป็นคลื่น โคนกลีบสีเหลือง</li> <li>- แหล่งกระจายพันธุ์คือ ตอนเหนือของเวียดนามเท่านั้น</li> </ul> <p><a href="http://www.orchidspecies.com/paphtranlienianum.htm">http://www.orchidspecies.com/paphtranlienianum.htm</a></p>	 <p><a href="http://www.orchidspecies.com/paphtranlienianum.htm">http://www.orchidspecies.com/paphtranlienianum.htm</a></p>

## ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

ชื่อสามัญ/วิทยาศาสตร์	ลักษณะทางพฤกษศาสตร์	ลักษณะดอก
<b>สกุลย่อย <i>Paphiopedilum</i> หมู่ Stictopetalum</b>		
11. รองเท้านารี เหลืองเลย <i>Paphiopedilum</i> <i>hirsutissimum</i> var. <i>esquirelei</i>	- ใบสีเขียวหนาเป็นมัน ยาว 28 – 36 เซนติเมตร ดอกเดี่ยว ขนาด 8 – 10 เซนติเมตร กลีบนอกบนสีเหลืองอมเขียว มีจุดสีน้ำตาล กลีบดอกสีชมพู มีจุดสีน้ำตาลอมเหลือง ขอบกลีบบิดเล็กน้อย กระจ่าสีเหลืองและมีจุดสีม่วงกระจายทั่ว - แหล่งกระจายพันธุ์คือ ตะวันออกเฉียงเหนือของจีน เวียดนาม ในไทยคือทางภาคเหนือและตะวันออกเฉียงเหนือ (อุไร, 2549)	 <p>ภาพโดย : นางสาว พรประภา ศิริเทพทวี</p>
<b>สกุลย่อย <i>Paphiopedilum</i> หมู่ Thiopetalum</b>		
12. รองเท้านารี สไปเซเรียนุม <i>Paphiopedilum</i> <i>spicerianum</i> (Rchb.f) Pfitz.	- ใบสีเขียวหนา โคนกามีจุดสีม่วง ใบยาว 20 – 25 เซนติเมตร กว้าง 3 – 3.5 เซนติเมตร เป็นดอกเดี่ยวขนาด 5 – 7 เซนติเมตร กลีบนอกบนสีขาว โคนกลีบสีเขียว ส่วนกลีบดอกสีเขียวอมเหลืองและมีเส้นสีน้ำตาลแดงกึ่งกลางกลีบ กระจ่ามีสีน้ำตาลแดง - แหล่งกระจายพันธุ์คือ พม่าและตะวันออกเฉียงเหนือของอินเดีย (อุไร, 2549)	 <p><a href="http://slipperorchids.info/paphdatasheets/paphiopedilum/spicerianum/index.html">http://slipperorchids.info/paphdatasheets/paphiopedilum/spicerianum/index.html</a></p>



## ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

ชื่อสามัญ/วิทยาศาสตร์	ลักษณะทางพฤกษศาสตร์	ลักษณะดอก
<b>สกุลย่อย <i>Polyantha</i> หมู่ <i>Mastigopetalum</i></b>		
13. รองเท้านารี แพรสแทนส์ <i>Paphiopedilum            praestans</i> (Rchb.f) Pfitz	- ใบสีเขียวยาว 40 เซนติเมตร ช่อดอก มี 2 - 5 ดอก ขนาดยาว 30 - 5 เซนติเมตร กลีบดอกสีม่วงอมเขียว น้ำตาลบิดเป็นเกลียว กลีบนอกบนสี ขาว มีเส้นสีน้ำตาลเข้มพาดยาวจำนวน มาก  - แหล่งกระจายพันธุ์คือแถบอินโดนี ซีย และรัฐเอกราชปาปัวนิวกินี  <a href="http://slipperorchids.info/paphdatasheets/polyantha/praestans/index.html">http://slipperorchids.info/paphdatasheets/polyantha/praestans/index.html</a>	  <a href="http://slipperorchids.info/paphdatasheets/polyantha/praestans/index.html">http://slipperorchids.info/paphdatasheets/polyantha/praestans/index.html</a>
14. รองเท้านารี ฟิลิปปีนส์เอนซิส <i>Paphiopedilum            philippinense</i> (Rchb.f) Stein	- ใบเขียวหนายาว 30 - 35 เซนติเมตร กว้าง 2.5 - 4 เซนติเมตร 1 ช่อดอกมี ดอกประมาณ 3 - 5 ดอก ดอกมีขนาด กว้าง 7 - 8 เซนติเมตร ยาว 15 - 20 เซนติเมตร กลีบนอกบนสีขาวและมี เส้นมีม่วงแดง กลีบดอกบิดเป็นเกลียว มีแต้มสีม่วงเข้มที่กึ่ง กลางกลีบ กระเป๋าสีเหลือง  - แหล่งกระจายพันธุ์คือ ฟิลิปปีนส์และ มาเลเซีย  (อุไร, 2549)	  <a href="http://slipperorchids.info/paphdatasheets/polyantha/philippinense/index.html">http://slipperorchids.info/paphdatasheets/polyantha/philippinense/index.html</a>



ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

ชื่อสามัญ/วิทยาศาสตร์	ลักษณะทางพฤกษศาสตร์	ลักษณะดอก
15. รองเท้านารี โรธสคิลเดียนุม <i>Paphiopedilum            rothschildianum</i> (Rchb.f.) Stein	- ใบสีเขียวและตั้งขึ้น ยาว 50 – 55 เซนติเมตร ดอกกว้าง 14 – 15 เซนติเมตร กลีบนอกบนสีเหลือง มีเส้นสีน้ำตาลเข้ม กลีบดอกสีเหลืองมีเส้นริ้ว และมีจุดสีน้ำตาลแดงจำนวนมาก กระจเป้าน้ำตาลแดงเข้ม - แหล่งกระจายพันธุ์คือ หมู่เกาะบอร์เนียวในมาเลเซีย (อุไร, 2549)	 <p>ภาพโดย : นางสาวพรประภา ศิริเทพทวี</p>
16. รองเท้านารี ซุปาร์ดีโอ <i>Paphiopedilum            supardii</i> Braem & Lob	- ใบสีเขียวอมดำมันเงา ขนาดยาว 20 - 50 เซนติเมตร กว้าง 3 – 6 เซนติเมตร ช่อดอก 1 ช่อจะมีดอกประมาณ 3 - 7 ดอก ขนาด 30 - 45 เซนติเมตร กลีบนอกบนสีเขียวมีเส้นสีม่วงดำพาด กระจเป้านีม่วงแดง - แหล่งกระจายพันธุ์คือ อินโดนีเซีย <a href="http://slipperorchids.info/paphd atasheets/polyantha/supardii/index.html">http://slipperorchids.info/paphd atasheets/polyantha/supardii/index.html</a>	 <p><a href="http://www.orchidspecies.com/paphsupardii.htm">http://www.orchidspecies.com/paphsupardii.htm</a></p>

## ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

ชื่อสามัญ/วิทยาศาสตร์	ลักษณะทางพฤกษศาสตร์	ลักษณะดอก
<b>สกุลย่อย <i>Polyantha</i> หมู่ <i>Mystropetalum</i></b>		
17. รองเท้านารีเมืองกาญจน์ <i>Paphiopedilum parishii</i> (Rchb.f) Stein	<p>- ใบสีเขียว ช่อดอกมีดอก 3 – 7 ดอก ต่อช่อ ดอกกว้าง 5 - 6 เซนติเมตร กลีบดอกเป็นคลื่นและบิดเป็นเกลียว โคนกลีบสีเขียวอมเหลือง ปลายกลีบสีม่วง กลีบนอกบนรูปไข่กลับ กระจเป่าสีเขียวอมเหลือง มีเส้นสีน้ำตาล</p> <p>- แหล่งกระจายพันธุ์คือ พม่า ตะวันตกเฉียงใต้ของจีน และทางตะวันตกของไทย</p> <p>(สลิล และนฤมล, 2545)</p>	 <p><a href="http://slipperorchids.info/paphdatasheets/polyantha/parishii/index.html">http://slipperorchids.info/paphdatasheets/polyantha/parishii/index.html</a></p>
18. รองเท้านารีเชียงดาว <i>Paphiopedilum dianthum</i> Tang & Wang	<p>- ใบยาว 20 – 50 เซนติเมตร ใบหนา และแข็งสีเขียวเข้ม ด้านล่างสีเขียวอ่อน ดอกช่อโดยมี 2 – 5 ดอกต่อช่อ ขนาดดอก 7 - 10 เซนติเมตร กลีบดอกสีเขียวบิดเป็นเกลียว กลีบนอกบนสีขาว</p> <p>- แหล่งกระจายพันธุ์คือ เวียดนามและจีน</p> <p><a href="http://slipperorchids.info/paphdatasheets/polyantha/dianthum/index.html">http://slipperorchids.info/paphdatasheets/polyantha/dianthum/index.html</a></p>	 <p><a href="http://slipperorchids.info/paphdatasheets/polyantha/dianthum/index.html">http://slipperorchids.info/paphdatasheets/polyantha/dianthum/index.html</a></p>

## ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

ชื่อสามัญ/วิทยาศาสตร์	ลักษณะทางพฤกษศาสตร์	ลักษณะดอก
<b>สกุลย่อย <i>Cochlopetalum</i></b>		
19. รองเท้านารี ไพรมูเรียม <i>Paphiopedilum            primulinum</i> M.W. Wood & P. Taylor	- ใบสีเขียวหนายาว 15 – 17 เซนติเมตร 1 ช่อ ดอกมี 4 – 6 ดอกต่อช่อ ดอกมีขนาด 6 – 6.5 เซนติเมตร กลีบนอกบนสีเหลือง ซึ่งกึ่งกลางมีสีเขียวเรื่อ กลีบดอกสีขาวขอบสีเหลือง กลีบเป็นมัน กระเป่าสีเหลือง - แหล่งกระจายพันธุ์คือ ตอนเหนือของเกาะสุมาตราในอินโดนีเซีย (อุไร, 2549)	 <a href="http://www.orchidspecies.com/paphprimulinum.htm">http://www.orchidspecies.com/paphprimulinum.htm</a>
20. รองเท้านารีกล้วย โคไฟลลุม <i>Paphiopedilum            glaucophyllum</i> J.J. Smith	- ใบสีเขียวเข้ม หนาและแข็ง มีขนาดยาว 18 – 25 เซนติเมตร มีดอก 1 - 2 ดอกต่อ 1 ช่อ ดอกมีขนาด 7 - 8.5 เซนติเมตร กลีบนอกบนรูปไข่มีสีเขียวอมเหลือง โคนกลีบมีจุดสีม่วงแดงเล็กน้อย กลีบนอกล่างสีเขียวอ่อนรูปรี กลีบดอกรูปแถบ สีขาวมีจุดประม่วงแดง บิดเป็นเกลียว - แหล่งกระจายพันธุ์คือ ทางตะวันออกของหมู่เกาะซาวา (อุไร, 2549)	 <a href="http://slipperorchids.info/paphdatasheets/cochlopetalum/glaucophyllum/index.html">http://slipperorchids.info/paphdatasheets/cochlopetalum/glaucophyllum/index.html</a>

## 2.5 การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลทางพันธุกรรม

การจำแนกพันธุ์พืชจะดูจากขนาด รูปร่าง สีและลักษณะใบพืช เป็นต้น (Qurainy *et al.*, 2015) ซึ่งเป็นสัณฐานวิทยาหรือลักษณะภายนอก แต่อย่างไรก็ตาม ลักษณะทางสัณฐานวิทยาจะเปลี่ยนแปลงไปตามสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนไป ทำให้การจำแนกพันธุ์พืชนั้นเกิดความผิดพลาดได้ โดยเฉพาะพันธุ์พืชบางชนิด ไม่สามารถแยกความแตกต่างได้ เนื่องจากมีความใกล้เคียงกันทางพันธุกรรมเป็นอย่างมากและมีลักษณะที่คล้ายคลึงกันมาก (สุรีพร, 2546) ต่อมาได้พัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker) เพื่อใช้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในพืช (Qurainy *et al.*, 2015)

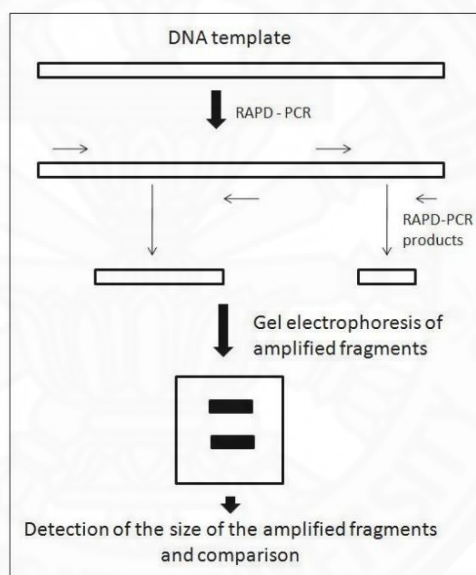
### 2.5.1 เครื่องหมายดีเอ็นเอ

เครื่องหมายดีเอ็นเอ หมายถึง ลำดับเบสช่วงหนึ่งของดีเอ็นเอที่ใช้เป็นเครื่องหมายบ่งชี้ความจำเพาะของสิ่งมีชีวิต โดยดีเอ็นเอในสิ่งมีชีวิตพบได้ที่นิวเคลียส ไมโทคอนเดรียและคลอโรพลาสต์ (สุรินทร์, 2552) ซึ่งดีเอ็นเอสามารถถ่ายทอดไปยังลูกหลานได้ ทำให้พืชแต่ละพันธุ์จะมีลักษณะที่จำเพาะ ความแตกต่างหรือโพลิมอร์ฟิซึม (polymorphisms) ทำให้สามารถแยกความแตกต่างของพืชได้ จึงนำมาใช้เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอ เครื่องหมายดีเอ็นเอแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ hybridization-base marker และ PCR-based marker (สุรีพร, 2546) ข้อดีของเครื่องหมายดีเอ็นเอคือ ไม่ขึ้นกับสภาพแวดล้อม สามารถตรวจสอบดีเอ็นเอได้ทุกระยะการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิต จากทุกเนื้อเยื่อ นอกจากนี้ดีเอ็นเอสามารถเก็บได้เป็นเวลานาน (สุรินทร์, 2552) ดังนั้นจึงใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอเพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในพืช ตัวอย่างเครื่องหมายดีเอ็นเอ เช่น random amplified polymorphic DNA (RAPD) (Popluechai, 2007) และ inter simple sequence repeat (ISSR) (da Costa *et al.*, 2011) เป็นต้น

#### 2.5.1.1 แสตอาร์เอพีดี

เครื่องหมายแสตอาร์เอพีดี (HAT-RAPD, high annealing temperature- random amplified polymorphic DNA) เป็นเทคนิคที่ถูกพัฒนามาจากอาร์เอพีดี ซึ่งใช้อุณหภูมิระหว่าง 40-46 °C เพื่อให้แถบดีเอ็นเอมีความคมชัดมากยิ่งขึ้น มีความหลากหลายรูปของแถบดีเอ็นเอ นอกจากนี้ยังเพิ่มความจำเพาะในการเข้าจับของไพรเมอร์ ซึ่งข้อจำกัดของอาร์เอพีดีคือ แถบที่ได้ไม่คมชัด ดังนั้นเครื่องหมายแสตอาร์เอพีดี จึงเป็นเครื่องหมายที่เข้ามาแก้ไขจุดบกพร่องนี้ โดยเครื่องหมายแสตอาร์เอพีดี ใช้หลักการเช่นเดียวกับเครื่องหมายอาร์เอพีดี ซึ่งเครื่องหมายอาร์เอพีดีสามารถตรวจสอบดีเอ็นเอตัวอย่างได้และสามารถบอกความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากรที่แตกต่างกันได้ (Wangspa *et al.*, 2005) หลักการของเครื่องหมายอาร์เอพีดีคือ ไพรเมอร์จะเข้าจับกับดีเอ็นเอเป้าหมายในบริเวณที่เป็นเบสคู่สม โดยการจับนั้นจะจับแบบสุ่มกระจายทั่วจีโนม ขนาด

ไพรเมอร์ที่ใช้คือ 10 นิวคลีโอไทด์ (สุรินทร์, 2552) การเพิ่มขึ้นส่วนดีเอ็นเอนั้นจะใช้ปฏิกิริยา ลูกโซ่พอลิเมอเรสโดยการเข้าจับของไพรเมอร์จะจับกับบริเวณที่เป็นเบสคู่สมและไพรเมอร์ต้องเข้าจับกับดีเอ็นเอโดยมีทิศทางที่เหมาะสม จึงจะสามารถเพิ่มจำนวนชิ้นดีเอ็นเอได้ ขนาดชิ้นดีเอ็นเอที่ได้มีขนาดจนถึง 30 kb ซึ่งถูกแยกได้ในเจลอะกาโรสความเข้มข้นร้อยละ 1.5 - 2.0 เปอร์เซ็นต์ เครื่องหมายอาร์เอพีดีเป็นเครื่องหมายที่แสดงการข้ามแบบข้ามสมบูรณ์ ซึ่งไม่สามารถบอกเฮเทอโรไซโกตได้ (Kumar *et al.*, 2011) ข้อดีของอาร์เอพีดีคือ ทำได้ง่ายและรวดเร็ว แต่ก็มีข้อเสียคือ ในการทำซ้ำอาจให้ผลไม่เหมือนเดิม เนื่องจากเครื่องหมายอาร์เอพีดีมีความไวต่อสภาวะต่างๆ เช่น การปรับเปลี่ยนสภาวะของปฏิกิริยาแต่ละรอบ และความเข้มข้นของแมกนีเซียมไอออน เป็นต้น ดังนั้นจึงต้องระวังเป็นอย่างมากในการทดลอง (สุรินทร์, 2552)



ภาพที่ 2.1 หลักการของเครื่องหมายอาร์เอพีดี

ที่มา : Arif *et al.*, 2010

เครื่องหมายอาร์เอพีดีถูกนำมาใช้ในการประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมในพืชที่ใกล้สูญพันธุ์หลายชนิด (Arif *et al.*, 2010)

Popluechai และคณะ (2007) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของสับปะรดในประเทศไทย จำนวน 9 พันธุ์ ได้แก่ ภูแล ภูเก็ต นางแล อินทรชิตแดง อินทรชิตขาว ปัตตาเวีย ตราดสีทอง สวีและเพชรบุรีโดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี จาก 40 ไพรเมอร์ พบว่าให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 206 แถบ และแถบดีเอ็นเอที่มีความหลากหลายรูปคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ 70.4 เปอร์เซ็นต์ เมื่อหาค่า

สัมประสิทธิ์ความคล้าย พบว่าอยู่ในช่วง 0.643 - 0.963 โดยอินทรชิตแดงและอินทรชิตขาวมีค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายเท่ากับ 0.963 อาจเป็นไปได้ว่าสับปะรดทั้ง 2 พันธุ์ อาจเป็นพันธุ์เดียวกันแต่เกิดการกลายพันธุ์ ทำให้รูปร่างลักษณะฐานวิทยาเปลี่ยนไป หรืออาจเกิดจากความแตกต่างของสภาพแวดล้อมการเพาะปลูก เป็นต้น ซึ่งจากผลการวิจัยได้นำไปใช้ประโยชน์ในการเพิ่มพันธุ์ใหม่ๆของสับปะรดของไทยในอนาคต

Anuntalabhochai และคณะ (2008) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของมะเดื่อ ซึ่งใช้เครื่องหมายแอสตอาร์เอพีดี โดยมะเดื่อเป็นพืชที่ยากต่อการจำแนกด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา ดังนั้นจึงใช้เครื่องหมายแอสตอาร์เอพีดีมาทำการจำแนกพันธุ์มะเดื่อ จำนวน 20 พันธุ์ จากจังหวัดสกลนคร ใช้ไพรเมอร์ทั้งหมด 8 ชนิด ให้แถบดีเอ็นเอที่มีความหลากหลายทั้งหมด 172 แถบ เมื่อสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ด้วยวิธีUPGMA สามารถจัดกลุ่มของมะเดื่อออกได้เป็น 3 กลุ่ม ซึ่งไพรเมอร์ทั้ง 8 ชนิด สามารถจำแนกพันธุ์ของมะเดื่อได้ นอกจากนี้ยังสามารถนำไปประยุกต์ทำ SCAR marker ได้สำเร็จ

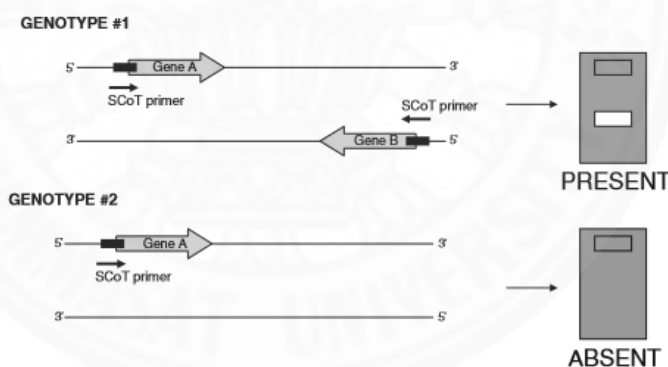
Datta และคณะ (2012) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของถั่วเขียวในประเทศอินเดีย โดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี ในการศึกษาครั้งนี้ใช้พันธุ์ถั่วเขียวจำนวน 24 พันธุ์ ใช้ไพรเมอร์จำนวนไพรเมอร์ 60 ไพรเมอร์ แต่มี 33 ไพรเมอร์เท่านั้นที่สามารถนำมาทำซ้ำได้และให้แถบดีเอ็นเอที่ชัดเจน ให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 249 แถบ เป็นแถบดีเอ็นเอที่มีความหลากหลายทั้งหมด 224 แถบ โดยไพรเมอร์ OPD-7 ให้แถบดีเอ็นเอที่มีความหลากหลายสูงสุดคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ จากผลการวิจัยครั้งนี้สามารถศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพันธุ์ถั่วเขียวได้

ฐิติพร (2557) ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลหวายกลุ่มเอื้องสาย ซึ่งใช้เครื่องหมายแอสตอาร์เอพีดีมาตรวจสอบพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวาย 15 พันธุ์ เป็นกล้วยไม้กลุ่มเอื้องสาย 14 พันธุ์ ไพรเมอร์ที่ใช้ทั้งหมด 72 ชนิด พบว่ามีไพรเมอร์ 51 ชนิด สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ เมื่อคัดเลือกไพรเมอร์ 24 ชนิดที่ให้แถบดีเอ็นเอชัดเจน พบว่ามีไพรเมอร์ 20 ชนิด ที่สามารถจำแนกกล้วยไม้สกุลหวายทั้ง 15 พันธุ์ได้ โดยใช้ไพรเมอร์เพียงชนิดเดียว จากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าเครื่องหมายแอสตอาร์เอพีดีสามารถระบุชนิดของกล้วยไม้สกุลหวายกลุ่มเอื้องสาย ซึ่งมีประโยชน์ในการวางแผนการผสมพันธุ์เพื่อพัฒนาพันธุ์ใหม่ ๆ ได้



### 2.5.1.2 สก็อต

เครื่องหมายสก็อต (SCoT, start codon targeted) เป็นเครื่องหมายที่ถูกพัฒนาโดย Collard และ Mackill (2009) โดยใช้ไพรเมอร์ที่มีลำดับเบสคือ ATG อยู่ในไพรเมอร์ ซึ่งจะออกแบบไพรเมอร์ให้ ATG อยู่เริ่มต้นของสายนิวคลีโอไทด์ ไพรเมอร์ที่ให้มีขนาด 18 นิวคลีโอไทด์ หลักการของเครื่องหมายสก็อตคือ ไพรเมอร์จะเข้าไปจับกับเบสคู่สมบนสายดีเอ็นเอแบบสุ่ม เมื่อจับกันในตำแหน่งที่เหมาะสมจะสามารถเพิ่มจำนวนขึ้นดีเอ็นเอได้ โดยใช้ปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอไรเซชัน อุณหภูมิสำหรับ annealing คือ 50 องศาเซลเซียส ข้อดีของเครื่องหมายสก็อตคือทำได้ง่าย ค่าใช้จ่ายไม่สูง แถบดีเอ็นเอมีความหลากหลายสูงและมีประสิทธิภาพ สามารถระบุความแตกต่างทางพันธุกรรมได้ แต่เครื่องหมายสก็อตจัดเป็นเป็นเครื่องหมายที่แสดงการข้ามแบบข้ามสมบูรณ ซึ่งไม่สามารถบอกความแตกต่างระหว่างโฮโมไซโกตและเฮเทอโรไซโกตได้ (Collard and Mackill, 2009; กรองทอง และคณะ, 2014) เครื่องหมายสก็อตสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการศึกษาความหลากหลายในพืชเนื่องจากบริเวณรอบ ๆ ATG เป็นบริเวณที่มีความอนุรักษ์อย่างสูงในพืชหลาย ๆ พันธุ์ อย่างไรก็ตามควรใช้เครื่องหมายอื่นร่วมศึกษาด้วย เช่น เครื่องหมายอาร์เอฟดีและเครื่องหมายไอเอสเอสอาร์ในการวิเคราะห์ความหลากหลายในพืช (Collard และ Mackill, 2009)



ภาพที่ 2.2 หลักการของเครื่องหมายสก็อต

ที่มา : Collard และ Mackill, 2009

Bhattacharyya และคณะ (2013) ศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของกล้วยไม้ *Dendrobium nobile* Lindl. ซึ่งเป็นพันธุ์ป่า โดยเก็บจากส่วนต่าง ๆ ของภาคตะวันออกเฉียงเหนือของอินเดีย จากนั้นวิเคราะห์โดยใช้พันธุกรรมโดยใช้เครื่องหมายสก็อต ใช้ไพรเมอร์ 36 ชนิดและเลือกใช้ 16 ชนิดมาศึกษา ให้แถบดีเอ็นเอที่มีความหลากหลาย 127 แถบ จากงานวิจัยสามารถนำมาใช้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมซึ่งเป็นพืชทางการแพทย์ นอกจากนี้ยังอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมของกล้วยไม้ *Dendrobium nobile* Lindl. ต่อไป

Gao และคณะ (2014) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและความสัมพันธ์ของลิลลี่ โดยใช้เครื่องหมายสก็อต ไพเรเมอร์ที่ใช้ 57 ชนิด แต่พบว่ามี 23 ชนิดที่สามารถให้แถบดีเอ็นเอที่ชัดเจนและทำซ้ำให้ผลที่เหมือนเดิม พบแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 157 แถบ เป็นแถบดีเอ็นเอที่มีความหลากหลายคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ 82.5 เปอร์เซ็นต์ จากการวิจัยสามารถนำไปปรับปรุงพันธุกรรมและอนุรักษ์เชื้อทางพันธุกรรมของลิลลี่ ซึ่งเป็นพืชที่สำคัญทางการแพทย์

Rajesh และคณะ (2015) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของต้นมะพร้าว 23 สายพันธุ์ (10 พันธุ์สูงและ 13 พันธุ์เตี้ย) ซึ่ง 23 พันธุ์นี้มาจากหลายพื้นที่ โดยเลือกใช้เครื่องหมายสก็อตสำหรับหาวิวัฒนาการของมะพร้าว ในการวิจัยครั้งนี้คัดเลือกไพเรเมอร์จำนวน 25 ไพเรเมอร์ พบไพเรเมอร์ที่มีความเหมาะสม 15 ไพเรเมอร์ โดยมีจำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 102 แถบ เป็นแถบดีเอ็นเอที่มีความหลากหลายคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ได้ 88 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทำการเปรียบเทียบรูปแบบของแถบดีเอ็นเอของแต่ละตัวอย่าง พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายอยู่ระหว่าง 0.37 - 0.91 ซึ่งค่าที่ได้จะนำไปใช้สร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ โดยใช้วิธี UPGMA ผลการวิจัยพบว่าเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SCoT สามารถตรวจสอบความหลากหลายของต้นมะพร้าวแต่ละพันธุ์ได้

Qurainy และคณะ (2015) ศึกษาหาความหลากหลายทางพันธุกรรมของต้นอินทผาลัมในประเทศซาอุดีอาระเบีย โดยเลือกใช้เครื่องหมายสก็อต เลือกใช้เครื่องหมาย 36 ชนิด แต่พบว่ามีเพียง 11 ไพเรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอที่ชัดเจน ค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายอยู่ระหว่าง 0.885 - 0.91 พบว่าพันธุ์ suk2 และพันธุ์ suk4 มีค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายเท่ากับ 1 หมายความว่ามีความเหมือนทางพันธุกรรมที่ใกล้เคียงกันมากที่สุด ต่างจาก suk4 และ suk3 ซึ่งความหลากหลายทางพันธุกรรมเป็นสิ่งที่สำคัญมากสำหรับการอนุรักษ์พันธุ์พืชในธรรมชาติ โดยป้องกันพืชจากสภาพแวดล้อมที่เป็นไป ซึ่งสิ่งแวดล้อมที่เปลี่ยนไปอาจทำให้พืชเปลี่ยนแปลงได้เมื่อผ่านไปเป็นระยะเวลา

### 2.5.1.3 ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณจำเพาะ

การระบุชนิดของสิ่งมีชีวิตมีความยากลำบาก เนื่องจากมีข้อจำกัดเช่น ข้อมูลลักษณะของสิ่งมีชีวิตไม่พอเพียงหรือแม้กระทั่งการดองที่ทำให้สีหรือลักษณะผิดไป ส่งผลให้นักวิทยาศาสตร์ยังไม่สามารถระบุชนิดของสิ่งมีชีวิตบางชนิดได้ ดังนั้นจึงต้องหาวิธีแก้ไข จึงได้พัฒนาโดยใช้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์หรือเรียกว่า DNA barcode มาช่วยระบุชนิดของสิ่งมีชีวิต โดยการใช้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์สามารถบอกถึงวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตได้อีกด้วย นักวิทยาศาสตร์จึงใช้วิธีนี้มาจำแนกหรือระบุชนิดของสิ่งมีชีวิต ซึ่งวัตถุประสงค์ของ DNA barcode จะเป็นเครื่องมือสากลที่ใช้ระบุชนิดสิ่งมีชีวิตจำพวกยูคาริโอต โดยใช้เทคนิคทางชีววิทยาระดับโมเลกุล (พรณรงค์ และอรุณรัตน์, 2554)

DNA barcode เป็น molecular-based identification system ที่ผสมผสานกับชีวสารสนเทศศาสตร์ (bioinformatics) โดยลำดับนิวคลีโอไทด์จากดีเอ็นเอมีศักยภาพในการแยกและ



ระบุชนิดของสิ่งมีชีวิต ซึ่งจะเรียกว่า ดีเอ็นเอมาตรฐาน (standard DNA) มักเป็นดีเอ็นเอช่วงสั้น ๆ (150 - 800 คู่เบส) อาจมีเพียง 1 ตำแหน่งหรือหลายตำแหน่งในจีโนมก็ได้ เมื่อดีเอ็นเอมาตรฐานถูกเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอไรเซชันแล้ว จะนำไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอมาตรฐานในบริเวณเดียวกัน บริเวณ ITS โดย Kress *et al.*, (2005) ได้นำลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS (Internal Transcribed Spacer) ซึ่งมีอยู่ 2 บริเวณ คือ ITS1 และ ITS2 โดยบริเวณ ITS จะเป็นบริเวณที่แทรกอยู่ภายในชุดยีน ribosomal DNA ซึ่งอยู่ในนิวเคลียส เป็นบริเวณดีเอ็นเอมาตรฐาน ร่วมกับ intergenic spacer *trnH-psbA* ของคลอโรพลาสต์ดีเอ็นเอ นิยมนำมาศึกษาในพืชหลายชนิด แต่ต่อมาพบว่าบริเวณ ITS ไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้เป็นดีเอ็นเอมาตรฐาน เนื่องจากในพืชส่วนใหญ่ชุดยีน rDNA ในจีโนมมีหลายซ้ำ อาจทำให้เกิดการเพิ่มปริมาณบริเวณ ITS จากคนละชุดยีนกัน ทำให้เกิดความผิดพลาดได้เนื่องจากคนละตำแหน่งกัน (วุฒิพงศ์, 2011)

C BOL Plant Working Group (2009) ทดสอบดีเอ็นเอมาตรฐานจากคลอโรพลาสต์จีโนมทั้งหมด 7 บริเวณ ได้แก่ *rbcL*, *rpoB*, *rpoC1*, *matK*, *trnH-psbA*, *atpF-atpH* และ *psbK-psbI* เพื่อนำมาใช้เป็นดีเอ็นเอมาตรฐานในการสร้าง DNA barcode

- บริเวณ *trnH-psbA* ซึ่งเป็น intergenic spacer (non-coding region) ยีน *psbA* (photosystem II protein D1) เป็นยีนที่สร้างโปรตีนซึ่งเป็นองค์ประกอบของ photosystem II ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช และยีน *trnH* คือ ซีนดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน (tRNA-His) เป็นยีนในส่วนที่ไม่ได้แปลรหัสไปเป็นโปรตีนของคลอโรพลาสต์ โดยถูกถอดรหัสได้เป็น tRNA<sup>his</sup> (GUG) และจะจับกับกรดอะมิโนฮิสทีดีน (histidine: H) เพื่อนำไปสู่การต่อสายพอลิเปปไทด์ (polypeptide) นอกจากจะใช้ยีนบริเวณนี้แล้ว ควรใช้ร่วมกับยีนอื่นเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพ เช่น ยีน *rbcL* และยีน *matK*
- *rbcL* เป็นยีนในคลอโรพลาสต์จีโนม ทำหน้าที่ในการถอดรหัสเอนไซม์ ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (RubisCO) ซึ่งเป็นเอนไซม์ในการเร่งปฏิกิริยาในวัฏจักรคัลวิน ความยาวของยีนมีขนาดประมาณ 1,400 คู่เบส ซึ่งพืชแต่ละชนิดอาจมีขนาดไม่เท่ากันได้
- *matK* เป็นยีนทำหน้าที่ถอดรหัสเอนไซม์ maturase ซึ่งเกี่ยวข้องกับ Group II introns splicing ความยาวประมาณ 1,500 คู่เบส ข้อดีของยีนนี้คือมีความแปรผันสูงซึ่งเหมาะที่จะนำมาทดลอง แต่ก็มีข้อเสียคือ การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีนนี้มีโอกาสน้อยมาก ในกลุ่มพืชไร่เมล็ดและพืชกลุ่มจิมโนสเปิร์ม ส่วนพืชดอกใหญ่ผลดีที่สุด จึงเหมาะที่จะทำในพืชดอก

- *rpoC1* เป็นยีนทำหน้าที่ในการแปลรหัสได้เป็นพอลิเพปไทด์ที่เป็นองค์ประกอบของเอนไซม์อาร์เอ็นเอพอลิเมอเรส (RNA polymerase) ซึ่งอยู่ในคลอโรพลาสต์ (วุฒิปงศ์, 2554)

ณัฐกร และคณะ (2554) ศึกษาพืชสกุล *Alpinia* มีทั้งหมด 17 ชนิด โดยใช้วิธี DNA barcode ในการเพิ่มขึ้นดีเอ็นเอของยีน *rpoB* และ *rpoC1* พบว่ายีน *rpoB* สามารถจำแนกพืชได้ 10 ชนิด ส่วน *rpoC1* สามารถจำแนกได้ 8 ชนิด อย่างไรก็ตามต้องใช้ยีนหลายตำแหน่งมาวิเคราะห์ร่วมกัน

นฤมล และคณะ (2557) จำแนกข้าว 10 พันธุ์ โดยเป็นข้าวเจ้า 8 พันธุ์ และข้าวเหนียว 2 พันธุ์ โดยใช้ยีน *rbcl* และ *rpoC1* ซึ่งสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการจำแนกพันธุ์ข้าวได้ โดยพบว่ายีน *rbcl* มีความสามารถในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมดีกว่า *rpoC1* เมื่อดูการเปลี่ยนแปลงลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcl* โดยพบลักษณะทรานสเวอร์ชันถึง 16 ตำแหน่ง และพบว่าตำแหน่งที่ 123 มีความจำเพาะต่อข้าวหอมแดง และยีน *rpoC1* พบอินเดล 2 ตำแหน่ง

นฤมล และคณะ (2558) จำแนกกล้วยไม้สกุลหวายกลุ่มเอื้องสาย ซึ่งการจำแนกกล้วยไม้ด้วยลักษณะสัณฐานมักมีความยุ่งยากและสับสน โดยการศึกษาครั้งนี้ได้ศึกษากลุ่มเอื้องสายจำนวน 13 ตัวอย่าง โดยเพิ่มขึ้นดีเอ็นเอของยีน *matK* และ *rpoC1* ในคลอโรพลาสต์ พบว่ายีน *matK* สามารถจำแนกกล้วยไม้สกุลหวายกลุ่มเอื้องสายได้ 7 ชนิด ส่วนยีน *rpoC1* สามารถจำแนกกล้วยไม้สกุลหวายได้ 13 ชนิด

## บทที่ 3 วิธีการวิจัย

### 3.1 อุปกรณ์

อุปกรณ์ ได้แก่ ตู้อบแห้ง (hot air oven), เครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูง (high speed refrigerated centrifuge), เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง (pH meter), เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (Perkin Elmer; Gene Amp PCR system 2400), เครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า (power supply; BIO-RAD, U.S.A.), เครื่องทำความเย็น (freezer), ชุดอุปกรณ์อิเล็กโทรโฟรีซิส (electrophoresis set), หม้อนึ่งความดัน (autoclave), เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่งไฟฟ้า (electric balance), เครื่องปรับอุณหภูมิด้วยน้ำ (water bath), เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer), ตู้ดูดควัน (Fume Hood), ชุดโม่บดตัวอย่าง (mortar และ pestle), เครื่องผสม (vortex mixer), เตาไมโครเวฟ (microwave), หลอดเซนตริฟิวจ์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร และ 50 มิลลิลิตร, ปิเปตต์อัตโนมัติ (automatic pipettes) และทิวขนาดต่าง ๆ

### 3.2 สารเคมี

#### 3.2.1 การสกัดดีเอ็นเอ

สารที่ใช้ ได้แก่ ซีทิลไตรเมทิลแอมโมเนียมโบรไมด์ (cetyltrimethyl ammonium bromide, CTAB), โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 2.5 โมลาร์, โซเดียมเมตาไบซัลเฟต (sodium metabisulfite), โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (sodium dodecyl sulfate, SDS), ไอโซโพรพานอล (isopropanol), โซเดียมอะซิเตต (sodium acetate) pH 5.2 ความเข้มข้น 3 โมลาร์, พอลิไวนิลไพโรลิโดน (Polyvinyl pyrrolidone, PVP), คลอโรฟอร์ม (chloroform), ฟีนอล (phenol), เอทิลีนไดอามีนเตตราอะซิติก (ethylene diamine tetra acetic acid, EDTA) pH 8.0 ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์, ทริสไฮโดรคลอริกแอซิด (Tris-HCl) pH 8.0 ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์, ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ (isoamyl alcohol), เอทานอลบริสุทธิ์ (absolute ethanol), เบต้าเมอแคปโทเอทานอล ( $\beta$ -mercaptoethanol), ลิเนียร์พอลิอะครีลาไมด์ (linear polyacrylamide), เอนไซม์ RNase A และสารละลายบัฟเฟอร์ TE

### 3.2.2 ปฏิกริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (polymerase chain reaction, PCR)

สารที่ใช้ ได้แก่ เอนไซม์ *Taq* DNA polymerase (RBC) ความเข้มข้น 5 ยูนิตต่อไมโครลิตร, สารละลายบัฟเฟอร์ A ความเข้มข้น 10 เท่า, แมกนีเซียมคลอไรด์ ( $MgCl_2$ ) ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ และ dNTPs (deoxyribonucleotide triphosphate) ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์

### 3.2.3 การวิเคราะห์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิส

สารที่ใช้ ได้แก่ เจลอะกาโรส (agarose gel), สารละลายบัฟเฟอร์ TAE ความเข้มข้น 0.5 เท่า, สารละลายบัฟเฟอร์ DNA loading ความเข้มข้น 6 เท่า และเอทีเดียมโบรไมด์ (ethidium bromide) ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

## 3.3 วิธีดำเนินงาน

### 3.3.1 กล้ายไม้สกุลรองเท้านารีที่ใช้ในงานวิจัย

กล้ายไม้สกุลรองเท้านารีทั้ง 20 ชนิด จากรองศาสตราจารย์ ดร.ธีระชัย ธนानันต์ ได้แก่ ตารางที่ 3.1 กล้ายไม้สกุลรองเท้านารี *Paphiopedilum* สกุลย่อย *Paphiopedilum* หมู่

*Paphiopedilum*

ลำดับที่	กล้ายไม้สกุลรองเท้านารี	ชื่อวิทยาศาสตร์
1	รองเท้านารีอินทนนท์	<i>Paphiopedilum villosum</i> (Lindl.) Stein
2	รองเท้านารีอินทนนท์ คอแดง	<i>Paphiopedilum barbigerum</i> var. <i>coccineum</i>
3	รองเท้านารีอินทนนท์ใบ กว้าง	<i>Paphiopedilum insigne</i> (Wallich ex Lindley) Pfitzer
4	รองเท้านารีอินทนนท์ลาว	<i>Paphiopedilum gratixianum</i> (Mast.) Guillaumin
5	รองเท้านารีเหลืองกระบี่	<i>Paphiopedilum exul</i> (Ridl) Rolfe
6	รองเท้านารีดอยตุง	<i>Paphiopedilum charlesworthii</i> (Rolfe) Pfitzer
7	รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์	<i>Paphiopedilum vejvarutianum</i> O.Gruss & Roellke
8	รองเท้านารีเฮนรียานุม	<i>Paphiopedilum henryanum</i> Braem
9	รองเท้านารีเฮเลน	<i>Paphiopedilum helenae</i> f. <i>aureum</i> O.Gruss & Roeth
10	รองเท้านารีทรานเลียนอนุม	<i>Paphiopedilum tranlienianum</i> O.Gruss & H.Perner

ตารางที่ 3.2 กล้วยไม้สกุลรองเท้านารี *Paphiopedilum* สกุลย่อย *Paphiopedilum* หมู่  
Stictopetalum

ลำดับที่	กล้วยไม้สกุลรองเท้านารี	ชื่อวิทยาศาสตร์
1	รองเท้านารีเหลืองเลย	<i>Paphiopedilum hirsutissimum</i> var. <i>esquirolei</i>

ตารางที่ 3.3 กล้วยไม้สกุลรองเท้านารี *Paphiopedilum* สกุลย่อย *Paphiopedilum* หมู่  
Thiopetalum

ลำดับที่	กล้วยไม้สกุลรองเท้านารี	ชื่อวิทยาศาสตร์
1	รองเท้านารีสไปเซเรียนุ่ม	<i>Paphiopedilum spicerianum</i> (Rchb.f) Pfitz.

ตารางที่ 3.4 กล้วยไม้สกุลรองเท้านารี *Paphiopedilum* สกุลย่อย *Polyantha* หมู่  
Mastigopetalum

ลำดับที่	กล้วยไม้สกุลรองเท้านารี	ชื่อวิทยาศาสตร์
1	รองเท้านารีแพรสแทนส์	<i>Paphiopedilum praestans</i> (Rchb.f) Pfitz
2	รองเท้านารีฟิลิปปินส์เอนซิส	<i>Paphiopedilum philippinense</i> (Rchb.f) Stein
3	รองเท้านารีโรธสคิลเดียนุ่ม	<i>Paphiopedilum rothschildianum</i> (Rchb.f.) Stein
4	รองเท้านารีซูปาร์ดีโอ	<i>Paphiopedilum supardii</i> Braem & Lob

ตารางที่ 3.5 กล้วยไม้สกุลรองเท้านารี *Paphiopedilum* สกุลย่อย *Polyantha* หมู่  
Mystropetalum

ลำดับที่	กล้วยไม้สกุลรองเท้านารี	ชื่อวิทยาศาสตร์
1	รองเท้านารีเมืองกาญจน์	<i>Paphiopedilum parishii</i> (Rchb.f) Stein
2	รองเท้านารีเชียงดาว	<i>Paphiopedilum dianthum</i> Tang & Wang

ตารางที่ 3.6 กล้วยไม้สกุลรองเท้านารี *Paphiopedilum* สกุลย่อย *Cochlopetalum*

ลำดับที่	กล้วยไม้สกุลรองเท้านารี	ชื่อวิทยาศาสตร์
1	รองเท้านารีไพรมุเรียนุ่ม	<i>Paphiopedilum primulinum</i> M.W.Wood & P. Taylor
2	รองเท้านารีกล้วยโคไฟลุลุม	<i>Paphiopedilum glaucophyllum</i> J.J.Smith

### 3.3.2 การสกัดดีเอ็นเอ

ทำการสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีประยุกต์จาก Doyle และ Doyle (1987) โดยขังใบอ่อนของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีประมาณ 3-4 กรัม ต่อมาเติมบัฟเฟอร์สกัด (extraction buffer ที่ประกอบด้วย 4 % CTAB 2.5M NaCl 0.6 % SDS 20 mM EDTA pH 8.0 100 mM Tris-HCl pH 8.0 และ 0.1 % sodium metabisulfite) ซึ่งอุ่นไว้ในอ่างน้ำอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ใส่พอลิไวนิลไพโรลิโดน 0.3 กรัม ลงในโกร่ง ทำการบดให้ละเอียดจนเป็นเนื้อเดียวกัน ไม่ควรบดแรงจนเกินไปเนื่องจากจะทำให้ดีเอ็นเอขาดได้ ต่อมาเทส่วนผสมทั้งหมดลงในหลอดเซนตริฟิวจ์ขนาด 50 มิลลิลิตร จากนั้นเติมเบต้าเมอแคปโตเอทานอล ปริมาตร 20 ไมโครลิตร แล้วนำไปปั่นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง กลับหลอดไปมาเป็นระยะๆ เพื่อผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นวางไว้ให้เย็นลงเท่ากับอุณหภูมิห้อง ทำการเติม คลอโรฟอร์ม : ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ (24:1) ปริมาตร 1 เท่า ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน ด้วยการกลับหลอดไปมาเบา ๆ นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที และดูดสารละลายส่วนบนใส่หลอดใหม่ แล้วเติมลิเนียร์พอลิอะครีลาไมด์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และ ไอโซโพรพานอล ปริมาตร 1 เท่า ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยการกลับหลอดไปมาเบา ๆ แล้วนำไปปั่นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลานำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำมาเทสารละลายส่วนใสทิ้งและล้างตะกอนด้วยเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ตะกอนแห้งด้วยการระเหยเอทานอลที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที (เปิดฝาหลอด) ละลายตะกอนด้วย TE buffer ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติม RNase A ปริมาตร 2.5 ไมโครลิตร แล้วนำไปปั่นที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ต่อมาทำการถ่ายลงสู่หลอดเซนตริฟิวจ์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร จำนวน 2 หลอดๆละ 500 ไมโครลิตร เติม ฟีนอล : คลอโรฟอร์ม : ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ (25:24:1) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยการกลับหลอดไปมาเบาๆ แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เมื่อครบเวลาทำการดูดสารละลายใสส่วนบนลงสู่หลอดใหม่ แล้วเติม คลอโรฟอร์ม : ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยการกลับหลอดไปมาเบา ๆ แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นดูดสารละลายใสส่วนบนใส่หลอดใหม่ แล้วเติมลิเนียร์พอลิอะครีลาไมด์

ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ต่อมาเติมสารละลาย sodium acetate ความเข้มข้น 3 โมลาร์ ที่ pH 5.2 จำนวน 10 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรทั้งหมด ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยการกลับหลอดไปมาเบา ๆ แล้วเติม ไอโซโพรพานอลปริมาตร 1 เท่า ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยการกลับหลอดไปมาเบา ๆ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลานำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ทำการเทสารละลายส่วนใสทิ้งแล้วล้างตะกอนด้วย 70 เปอร์เซ็นต์เอทานอล ทำให้ตะกอนแห้งด้วยการระเหยเอทานอลที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที (เปิดฝาหลอด) จากนั้นละลายตะกอนด้วย TE buffer ปริมาตร 100 ไมโครลิตร แล้วนำสารละลายดีเอ็นเอไปไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

### 3.3.3 การตรวจสอบคุณภาพและปริมาณของดีเอ็นเอ

นำตัวอย่างดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีที่สกัดได้มาทำการตรวจสอบคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอ ซึ่งใช้เจลอะกาโรสความเข้มข้นร้อยละ 0.8 เปอร์เซ็นต์ ทำการย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยเอทิเดียมโบรไมด์ ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 5 นาที แล้วตรวจสอบด้วยเครื่อง gel documentation ต่อมาทำการตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเล็ตด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ จากนั้นทำการเจือจางสารละลายดีเอ็นเอโดยทำการปิเปตน้ำกลั่น 245 ไมโครลิตรผสมกับดีเอ็นเอ 5 ไมโครลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตรและคำนวณอัตราส่วน ( $OD_{260}/OD_{280}$ )

### 3.3.4 วิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส

นำผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอไรเซชันแยกด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสในอะกาโรสเจลที่ความเข้มข้น 1.8 เปอร์เซ็นต์ ในสารละลายบัฟเฟอร์ TAE นำผงเจลใส่ในขวดรูปชมพู่ นำไปละลายด้วยความร้อนโดยใช้เตาไมโครเวฟ เทใส่ถาดเจลและทิ้งไว้ 45 นาทีจนเจลแข็งตัว นำผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอไรเซชันที่ต้องการวิเคราะห์ใส่ลงไปใน 10 ไมโครลิตรซึ่งผสมกับ dry 2 ไมโครลิตร พร้อมทั้งใส่ชุดดีเอ็นเอมาตรฐานเพื่อเป็นตัวบอกขนาดของชิ้นดีเอ็นเอ ใช้แรงไฟฟ้า 100 โวลต์ เมื่อเสร็จแล้วทำการย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยเอทิเดียมโบรไมด์ ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 5 นาที แล้วทำการตรวจสอบด้วยเครื่อง gel documentation

### 3.3.5 การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

#### 3.3.5.1 เครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดี

ทำการเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอไรเซชัน ดีเอ็นเอตัวอย่างที่ใช้คือกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีทั้งหมด 15 ชนิด ดังนี้ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์คอดแดง (3) รองเท้านารีอินชิกเน่หรือรองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารีเหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรธสคิลเดียนุม (8) รองเท้านารีไพรมูเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม



(11) รองแท่นารี่เมืองกาญจน์ (12) รองแท่นารี่ดอยตุง (13) รองแท่นารี่เชียงดาว (14) รองแท่นารี่เฮนรียานุม และ (15) รองแท่นารี่แพรสแทนส์ โดยนำดีเอ็นเอแต่ละตัวอย่างมาเจือจางให้มีความเข้มข้น 100 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร ต่อมาคัดสารละลายดีเอ็นเอแต่ละตัวอย่างที่ทำการเจือจางแล้วตัวอย่างละ 10 ไมโครลิตร ใส่หลอดเซนตริฟิวจ์ขนาด 1.5 มิลลิลิตรในหลอดเดียวกัน (Mixed DNA) เลือกใช้ไพรเมอร์ที่มีขนาด 12 นิวคลีโอไทด์ จำนวน 6 ชุด คือชุด A B C D E และ F รวมทั้งหมด 72 ชนิด (Wako Company, Japan) (ตารางที่ 3.7) ทำการคัดเลือกไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอชัดเจน จากนั้นนำไพรเมอร์แต่ละชนิดที่ให้แถบดีเอ็นเอชัดเจนมาทำต่อไป โดยองค์ประกอบของสารที่ใช้ในปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสตามตารางที่ 3.8 และในตารางที่ 3.9 แสดงอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส จากนั้นนำผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสมาแยกด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสในอะกาโรสตามขั้นตอน 3.3.4

ตารางที่ 3.7 ไพรเมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดี ชุด A-F

	ชื่อไพรเมอร์	ลำดับเบส (5' → 3')		ชื่อไพรเมอร์	ลำดับเบส (5' → 3')
<b>ชุดA</b>	A21	AGAATTGGACGA	<b>ชุดD</b>	D21	GGCGATTCTGCA
	A22	GCCTGCCTCACG		D22	TGCCCACTACGG
	A23	ACTGACCTAGTT		D23	ACCATCAAACGG
	A24	CTCCTGCTGTTG		D24	GTGCAATTTGGC
	A25	CTCAGCGATACG		D25	GTTTTGTCACCG
	A26	ACTGAGAAAATA		D26	GATGAGCTAAAA
	A27	ATCGCGGAATAT		D27	AGAATGTCCGTA
	A28	ATTTGGATAGGG		D28	ACTGAGGGGGGA
	A29	GGTTCGGGAATG		D29	ATCAAGTATCCA
	A30	GACCTGCGATCT		D30	GAGACTACCGAA
	A31	AAGGCGGAACG		D31	GGAGGTCGACCA
	A32	TTGCCGGGACCA		D32	AAGCTGGGGGGA



ตารางที่ 3.7 (ต่อ)

<b>ชุดB</b>	B21	AAGCCTATACCA	<b>ชุดE</b>	E21	TGCTTCGTATTA
	B22	GGTGACTGGTGG		E22	GGAATGGAACCG
	B23	GGTGCCGGAGCA		E23	AGGTACGCCGCA
	B24	CACACTACTTAT		E24	CCGGAGTGGATG
	B25	AGCACTGAATCT		E25	ATCGTTACAGTA
	B26	ATGAGAAAGGAA		E26	CTGCCTGTACCA
	B27	GGCGGTTATGAA		E27	CCATTGTCCGTA
	B28	GTCATTAAAGCT		E28	CGCCCTGCAGTA
	B29	GCCATCGAAAAA		E29	GTTATGCAAGGG
	B30	CTTAGGTTACGT		E30	TACCTGGTTGAT
	B31	CACAAGGAACAT		E31	GAGGACAGCAA
	B32	ATCGCGGCTTAT		E32	CAGGAACAGCAA
<b>ชุดC</b>	C21	GGAGAGCGGACG	<b>ชุดF</b>	F21	AACCTTTAGGGC
	C22	GGTCACCGATCC		F22	AAGAGGGTTGAC
	C23	CCGTCTTTTCTG		F23	CCATCCGCACGA
	C24	CCTTGGCATCGG		F24	ACTGTTATAACG
	C25	AGATTCTTACTG		F25	CCAGATCCGAAT
	C26	GCGTTCGAACGA		F26	CTCAGCATTGAT
	C27	GCATTGCAATCG		F27	CAGGTGGGAGTA
	C28	GTCGACGCATCA		F28	CCAAGATCCATT
	C29	GTCGCCTTACCA		F29	GCCGCTAATATG
	C30	TATTGGGATTGG		F30	ACTTTCGCCGAA
	C31	TCTGCTGACCGG		F31	ATCGTGACGCCG
	C32	TCTACACGAAGT		F32	TTCAACATCGAC

ตารางที่ 3.8 องค์ประกอบของสารที่ใช้ในปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส

สาร	ปริมาตร (ไมโครลิตร)
100 ng/μl ดีเอ็นเอ	1.000
10X บัฟเฟอร์ A	2.000
2 mM dNTP	2.000
25 mM MgCl <sub>2</sub>	2.000
5 μM ไพร์เมอร์	1.000
5 unit/μl Taq DNA polymerase	0.125
ddH <sub>2</sub> O	11.875
รวม	20

ตารางที่ 3.9 แสดงอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส

ขั้นตอน	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (นาที)	จำนวนรอบ
Initiation Denaturation	94	3.00	1
Denaturation	94	0.30	40
Annealing	46	0.30	
Extension	72	1.00	
Final Extension	72	5.00	1

### 3.3.5.2 เครื่องหมายสก็อต

ทำการเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส ดีเอ็นเอตัวอย่างที่ใช้คือกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีทั้งหมด 15 ชนิด ดังนี้ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์คอดแดง (3) รองเท้านารีอินชิกเน่หรือรองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารีเหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม (8) รองเท้านารีไพรมูเรียนุม (9) รองเท้านารีตอยตุ้งกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีตอยตุ้ง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุม และ (15) รองเท้านารีแพรสแทนส์ โดยนำดีเอ็นเอแต่ละตัวอย่างมาเจือจางให้มีความเข้มข้น 100 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร ต่อมาดูดสารละลายดีเอ็นเอแต่ละตัวอย่างที่ทำการเจือจางแล้ว

ตัวอย่างละ 10 ไมโครลิตร ใส่หลอดเซนตริฟิวจ์ขนาด 1.5 มิลลิลิตรในหลอดเดียวกัน (Mixed DNA) เลือกใช้ไพรเมอร์ที่มีขนาด 18 นิวคลีโอไทด์ จำนวนทั้งหมด 80 ชนิด โดยไพรเมอร์ SCoT1-46 (Sigma) และ SCoT47-80 (Macrogen) (ตารางที่ 3.10) ทำการคัดเลือกไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอชัดเจน จากนั้นนำไพรเมอร์แต่ละชนิดที่ให้แถบดีเอ็นเอชัดเจนมาทำต่อไป โดยองค์ประกอบของสารที่ใช้ในปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอไรเซชันตามตารางที่ 3.8 และในตารางที่ 3.11 แสดงอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอไรเซชัน จากนั้นนำผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอไรเซชันมาแยกด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสในอะกาโรสตามขั้นตอน 3.3.4

ตารางที่ 3.10 ไพรเมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของเครื่องหมายสก็อต

ชื่อไพรเมอร์	ลำดับเบส (5' → 3')	ชื่อไพรเมอร์	ลำดับเบส (5' → 3')
SCoT1	CAACAATGGCTACCACCA	SCoT41	CAATGGCTACCACTGACA
SCoT2	CAACAATGGCTACCACCC	SCoT42	CAATGGCTACCATTAGCG
SCoT3	CAACAATGGCTACCACCG	SCoT43	CAATGGCTACCACCGCAG
SCoT4	CAACAATGGCTACCACCT	SCoT44	CAATGGCTACCATTAGCC
SCoT5	CAACAATGGCTACCACGA	SCoT45	ACAATGGCTACCACTGAC
SCoT6	CAACAATGGCTACCACGC	SCoT46	ACAATGGCTACCACTGAG
SCoT7	CAACAATGGCTACCACGG	SCoT47	ACAATGGCTACCACTGCC
SCoT8	CAACAATGGCTACCACGT	SCoT48	ACAATGGCTACCACTGGC
SCoT9	CAACAATGGCTACCAGCA	SCoT49	ACAATGGCTACCACTGCG
SCoT10	CAACAATGGCTACCAGCC	SCoT50	ACAATGGCTACCACTGGG
SCoT11	AAGCAATGGCTACCACCA	SCoT51	ACAATGGCTACCACTGTC
SCoT12	ACGACATGGCGACCAACG	SCoT52	ACAATGGCTACCACTGCA
SCoT13	ACGACATGGCGACCATCG	SCoT53	ACAATGGCTACCACCGAC
SCoT14	ACGACATGGCGACCACGC	SCoT54	ACAATGGCTACCACCAGC
SCoT15	ACGACATGGCGACCGCGA	SCoT55	ACAATGGCTACCACTACC
SCoT16	ACCATGGCTACCACCGAC	SCoT56	ACAATGGCTACCACTAGC
SCoT17	ACCATGGCTACCACCGAG	SCoT57	ACAATGGCTACCACTACG
SCoT18	ACCATGGCTACCACCGCC	SCoT58	ACAATGGCTACCACTAGG
SCoT19	ACCATGGCTACCACCGGC	SCoT59	ACAATGGCTACCACCATC

ตารางที่ 3.10 (ต่อ)

SCoT20	ACCATGGCTACCACCGCG	SCoT60	ACAATGGCTACCACCACA
SCoT21	ACGACATGGCGACCCACA	SCoT61	CAACAATGGCTACCACCG
SCoT22	AACCATGGCTACCACCAC	SCoT62	ACCATGGCTACCACGGAG
SCoT23	CACCATGGCTACCACCAG	SCoT63	ACCATGGCTACCACGGGC
SCoT24	CACCATGGCTACCACCAT	SCoT64	ACCATGGCTACCACGGTC
SCoT25	ACCATGGCTACCACCGGG	SCoT65	ACCATGGCTACCACGGCA
SCoT26	ACCATGGCTACCACCGTC	SCoT66	ACCATGGCTACCAGCGAG
SCoT27	ACCATGGCTACCACCGTG	SCoT67	ACCATGGCTACCAGCGGC
SCoT28	CCATGGCTACCACCGCCA	SCoT68	ACCATGGCTACCAGCGTC
SCoT29	CCATGGCTACCACCGGCC	SCoT69	ACCATGGCTACCAGCGCA
SCoT30	CCATGGCTACCACCGGCG	SCoT70	ACCATGGCTACCAGCGCG
SCoT31	CCATGGCTACCACCGCCT	SCoT71	CCATGGCTACCACCGCCG
SCoT32	CCATGGCTACCACCGCAC	SCoT72	CCATGGCTACCACCGCCC
SCoT33	CCATGGCTACCACCGCAG	SCoT73	CCATGGCTACCACCGGCT
SCoT34	ACCATGGCTACCACCGCA	SCoT74	CCATGGCTACCACCGGCA
SCoT35	CATGGCTACCACCGGCC	SCoT75	CCATGGCTACCACCGGAG
SCoT36	GCAACAATGGCTACCACC	SCoT76	CCATGGCTACCACTACCG
SCoT37	CAATGGCTACCACTAGCC	SCoT77	CCATGGCTACCACTACCC
SCoT38	CAATGGCTACCACTAACG	SCoT78	CCATGGCTACCACTAGCA
SCoT39	CAATGGCTACCACTAGCG	SCoT79	CCATGGCTACCACTAGCT
SCoT40	CAATGGCTACCACTACAG	SCoT80	CCATGGCTACCACTAGCG

ตารางที่ 3.11 แสดงอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอไรเซชัน

ขั้นตอน	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (นาที)	จำนวน รอบ
Initiation Denaturation	94	3.00	1
Denaturation	94	0.30	} 40
Annealing	50	0.30	
Extension	72	1.00	
Final Extension	72	5.00	1

### 3.3.5.3 การสร้างเครื่องหมายลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณจำเพาะ

นำดีเอ็นเอตัวอย่างกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี 20 ชนิด จาก 3.3.1 มาเจือจางให้มีความเข้มข้น 100 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร ทำการเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอไรเซชันของยีน *matK*, *rpoC 1*, *rbcl* และบริเวณขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA* เป็นไพรเมอร์ชนิดที่มีลำดับสากล (universal primer) ตามตารางที่ 3.12 และองค์ประกอบของสารที่ใช้ในปฏิกิริยา ลูกโซ่พอลิเมอไรเซชันตามตารางที่ 3.13 และในตารางที่ 3.14 แสดงอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในปฏิกิริยา ลูกโซ่พอลิเมอไรเซชัน จากนั้นนำผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอไรเซชันมาแยกด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส ในอะกาโรสตามขั้นตอน 3.3.4

ตารางที่ 3.12 ไพรเมอร์ที่ใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณตำแหน่งจำเพาะของยีน

ยีน	ชื่อไพรเมอร์	ลำดับเบส (5'→3')	อ้างอิง
<i>matK</i>	<i>matK_F_1</i>	TAATTTACGATCAATTCATTC	CBOL, 2005
	<i>matK_F_2</i>	TCTGGAGTCTTTCTTGAGCG	CBOL, 2005
	<i>matK_R</i>	GTTCTAGCACAAAGAAAGTCG	CBOL, 2005
<i>rpoC 1</i>	<i>Rpoc1_F</i>	GTGGATACACTTCTTGATAATGG	CBOL, 2009
	<i>Rpoc1_R</i>	TGAGAAAACATAAGTAAACGGGC	CBOL, 2009
<i>rbcl</i>	<i>rbcl_F</i>	TCACCACAAACAGAACTAAAGC	CBOL, 2005
	<i>rbcl_R</i>	GGCACAAAATAAGAAACGATCTC	CBOL, 2005
<i>trnH-psbA</i>	<i>psbA3_F</i>	GTTATGCATGAACGTAATGCTC	Shaw <i>et al.</i> , 2005
	<i>trnHf_05</i>	CGCGCATGGTGGATTCACAATCC	Shaw <i>et al.</i> , 2005

ตารางที่ 3.13 องค์ประกอบของสารที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณนิวคลีโอไทด์ของตำแหน่งจำเพาะ

สาร	ปริมาตร (ไมโครลิตร)
100 ng/μl ดีเอ็นเอ	2.00
10X บัฟเฟอร์	4.00
25 mM MgCl <sub>2</sub>	4.00
2 mM dNTP	4.00
5 μM F Primer	2.00
5 μM R Primer	2.00
5 unit/μl <i>Taq</i> DNA polymerase	0.25
ddH <sub>2</sub> O	21.75
ปริมาตรรวม	40

ตารางที่ 3.14 แสดงอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในปฏิกิริยาอุณหภูมิพอลิเมอไรเซชัน

ขั้นตอน	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (นาที)	จำนวนรอบ
Initiation Denaturation	94	1.00	1
Denaturation	94	0.30	} 35
Annealing	53	0.40	
Extension	72	1.00	
Final Extension	72	5.00	1

### 3.3.6 การวิเคราะห์ผล

#### 3.3.6.1 เครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดี และเครื่องหมายสก็อต

เปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นในกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี 15 ชนิด ทำการนับแถบของดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นในแต่ละไพรเมอร์ จากนั้นทำการรวมผลรวมจำนวนแถบดีเอ็นเอที่ได้จากไพรเมอร์ทั้งหมดเพื่อใช้ในการคัดแยกชนิด ต่อมาหาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการระหว่างกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีแต่ละชนิด โดยการเปรียบเทียบความเหมือนและความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้น ซึ่งถ้าพบแถบดีเอ็นเอจะให้สัญลักษณ์เป็น 1 และที่ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งเดียวกันจะให้

สัญลักษณ์เป็น 0 จากนั้นใช้โปรแกรม NTSYS-pc รุ่น 2.01e ทำการเปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นทั้งหมด

### 3.3.6.2 การใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณจำเพาะ

นำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสไปทำการหาลำดับเบส โดยการส่ง sequencing แล้วนำลำดับเบสที่ได้จากกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีทั้ง 20 ชนิด มาเทียบกันทั้งหมดซึ่งใช้โปรแกรม ClustalW ในการวิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีทั้ง 20 ชนิด ว่ามีเบสไหนต่างกันหรือเหมือนกันบ้าง นำผลที่ได้มาสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ (dendrogram) ด้วยโปรแกรม MEGA 7 (Molecular evolutionary genetics analysis version 7)

### 3.3.6.3 เปรียบเทียบผลที่ได้จากเครื่องหมายดีเอ็นเอทั้ง 3 ชนิด

ทำการสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์จากเครื่องหมายดีเอ็นเอทั้ง 3 ชนิด เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการแบ่งกลุ่มกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีทั้ง 20 ชนิด โดยเปรียบเทียบกับลักษณะสัณฐานของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีทั้ง 20 ชนิดด้วย



## บทที่ 4

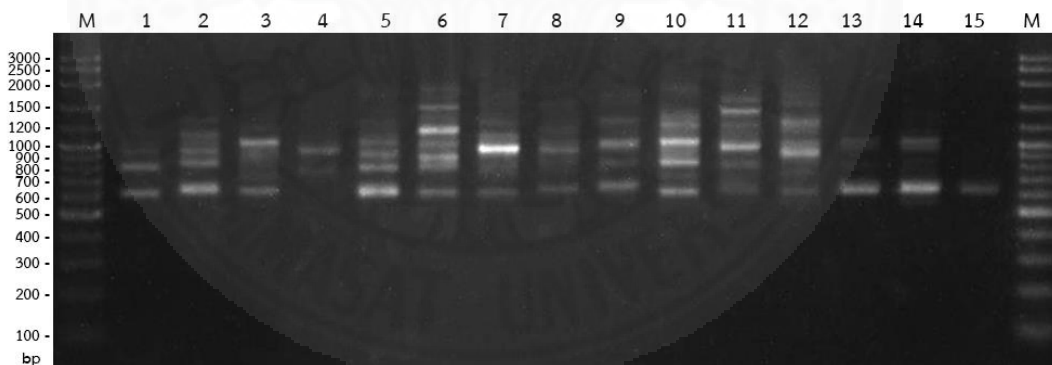
### ผลการวิจัยและอภิปรายผล

#### 4.1 เครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดี

##### 4.1.1 การเพิ่มปริมาณของดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีต่อไพรเมอร์ลำดับ

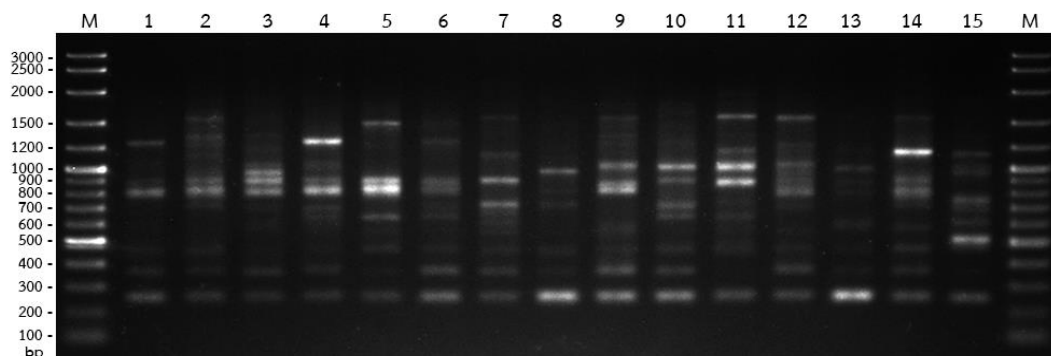
##### นิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม

จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอรวมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีจำนวน 15 ชนิด ด้วยเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดี โดยใช้ไพรเมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่มจำนวน 72 ไพรเมอร์ พบว่าไพรเมอร์จำนวน 23 ไพรเมอร์ สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีได้ คิดเป็น 31.94 เปอร์เซ็นต์ และไพรเมอร์จำนวน 16 ไพรเมอร์ สามารถเพิ่มลายพิมพ์ดีเอ็นเอได้อย่างชัดเจน คิดเป็น 22.22 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ A22, A29, A30, A32, B22, B23, B25, C21, C22, C28, D23, E22, E23, E32, F23 และ F25 นำไพรเมอร์ 16 ไพรเมอร์ มาสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีทั้ง 15 ชนิด ปรากฏแถบดีเอ็นเอรวมทั้งหมด 249 แถบ ซึ่งมีขนาดประมาณ 100 ถึง 2,300 คู่เบส โดยตำแหน่งแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏความหลากหลาย (polymorphisms) มีจำนวน 248 แถบ ดังภาพที่ 4.1-4.16

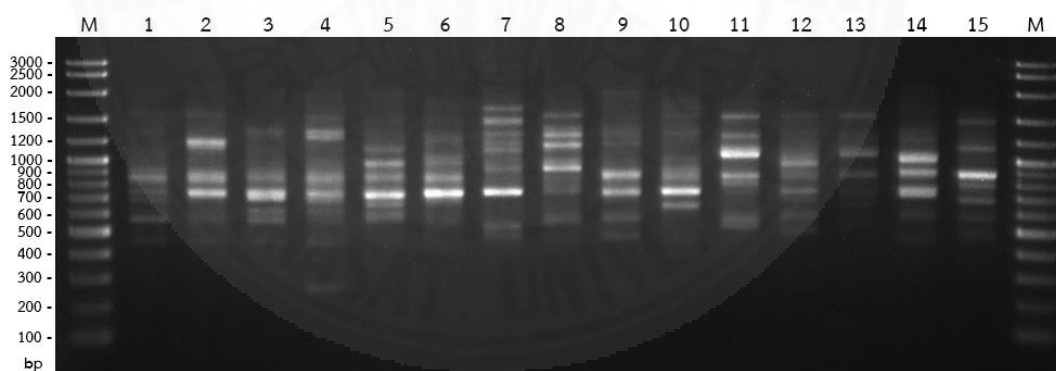


ภาพที่ 4.1 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ A22 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารีเหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม (8) รองเท้านารีไพรมุเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงใหม่ (14) รองเท้านารีเฮนรี่านุม และ (15) รองเท้านารีแพดสแทนส์ ตามลำดับ]

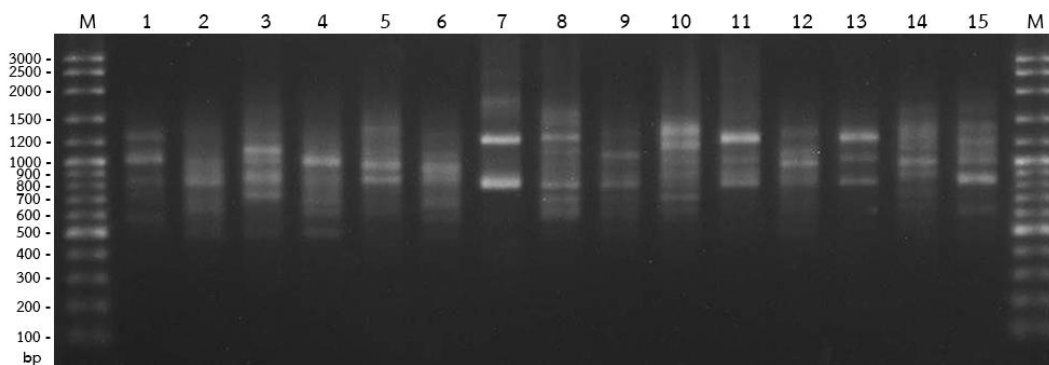




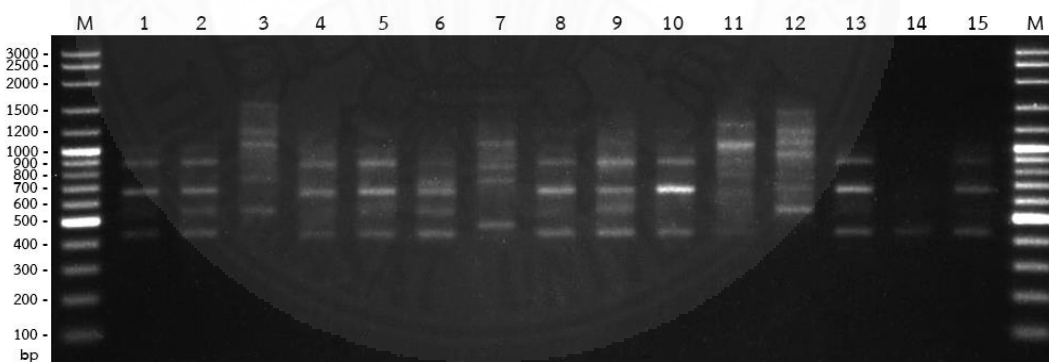
ภาพที่ 4.2 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแอสตาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ A29 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารีเหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสศศิลเดียนุม (8) รองเท้านารีไพรมุเรียนุม (9) รองเท้านารีตอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีตอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุม และ (15) รองเท้านารีแพรสแทนส์ ตามลำดับ]



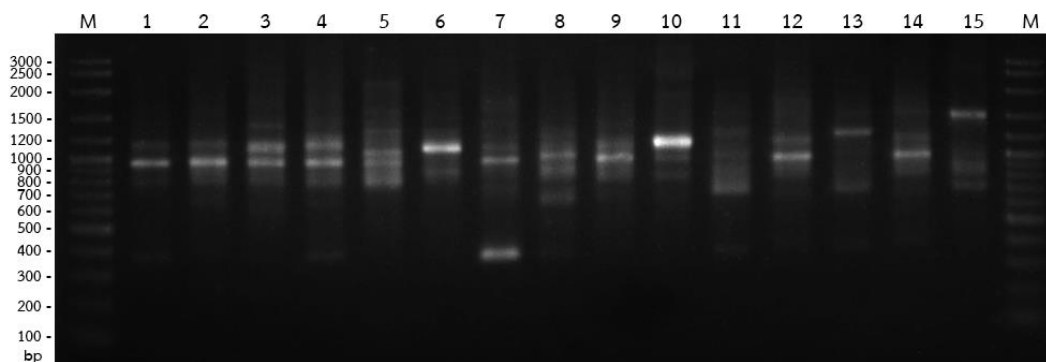
ภาพที่ 4.3 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแอสตาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ A30 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารีเหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสศศิลเดียนุม (8) รองเท้านารีไพรมุเรียนุม (9) รองเท้านารีตอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีตอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุม และ (15) รองเท้านารีแพรสแทนส์ ตามลำดับ]



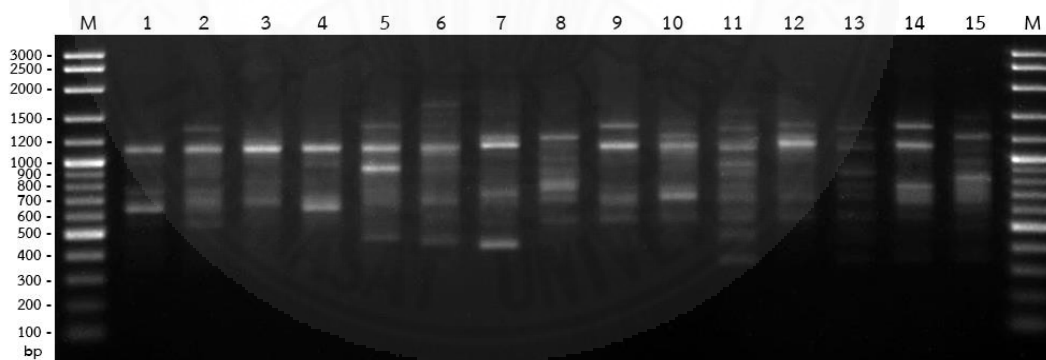
ภาพที่ 4.4 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ A32 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารีเหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม (8) รองเท้านารีไพรมุเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุม และ (15) รองเท้านารีแพรสแทนส์ ตามลำดับ]



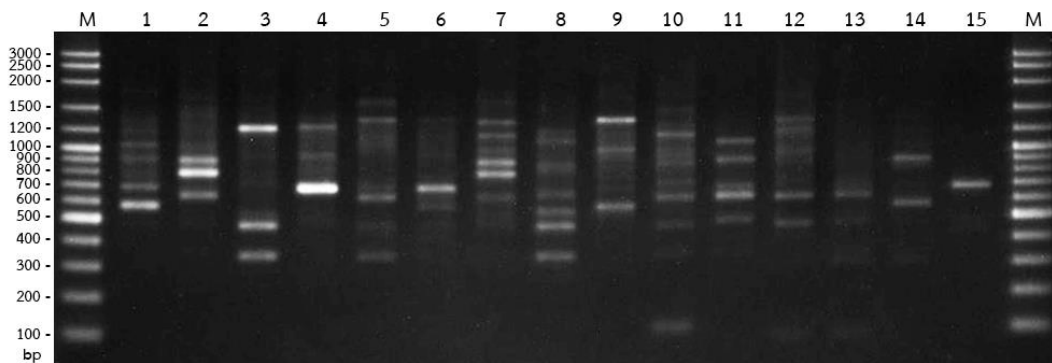
ภาพที่ 4.5 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ B22 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารีเหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม (8) รองเท้านารีไพรมุเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุม และ (15) รองเท้านารีแพรสแทนส์ ตามลำดับ]



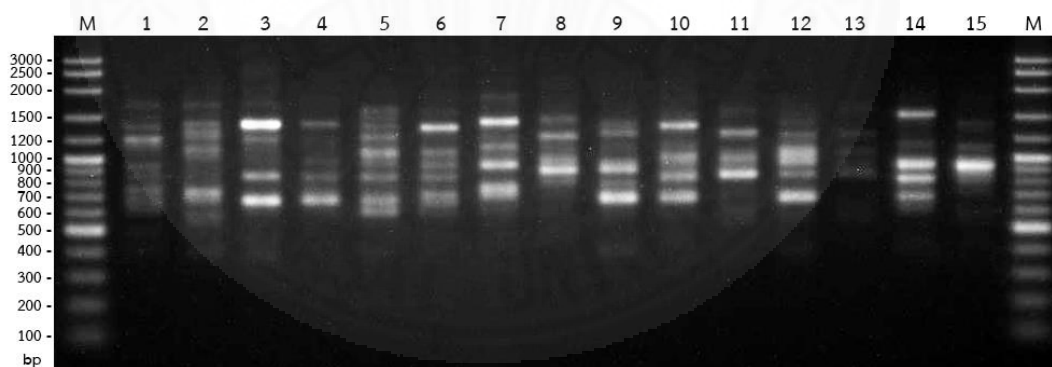
ภาพที่ 4.6 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแอสตาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ B23 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารีเหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม (8) รองเท้านารีไพรมูเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุม และ (15) รองเท้านารีแพรสแทนส์ ตามลำดับ]



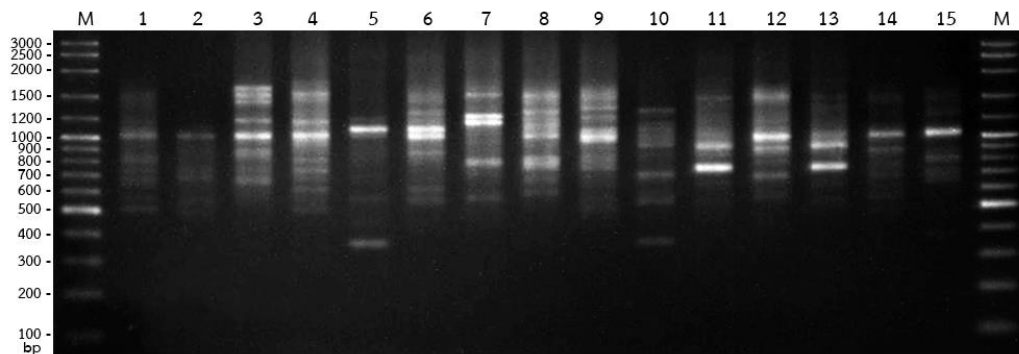
ภาพที่ 4.7 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแอสตาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ B25 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารีเหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม (8) รองเท้านารีไพรมูเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุม และ (15) รองเท้านารีแพรสแทนส์ ตามลำดับ]



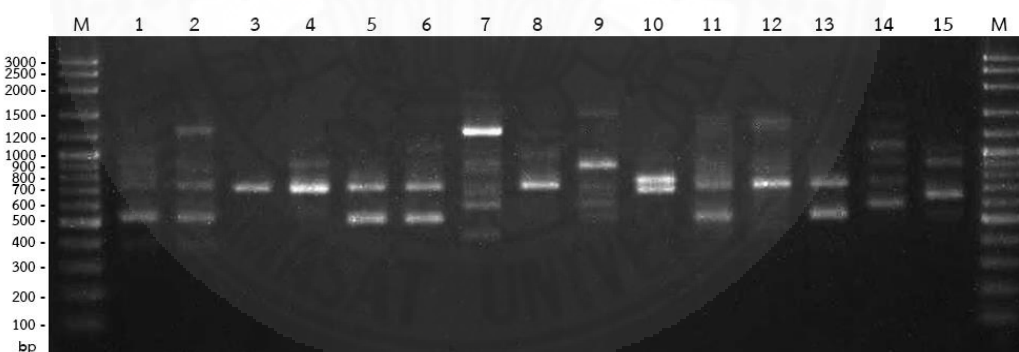
ภาพที่ 4.8 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ C21 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารีเหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม (8) รองเท้านารีไพรมูเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุม และ (15) รองเท้านารีแพรสแทนส์ ตามลำดับ]



ภาพที่ 4.9 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ C22 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารีเหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม (8) รองเท้านารีไพรมูเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุม และ (15) รองเท้านารีแพรสแทนส์ ตามลำดับ]

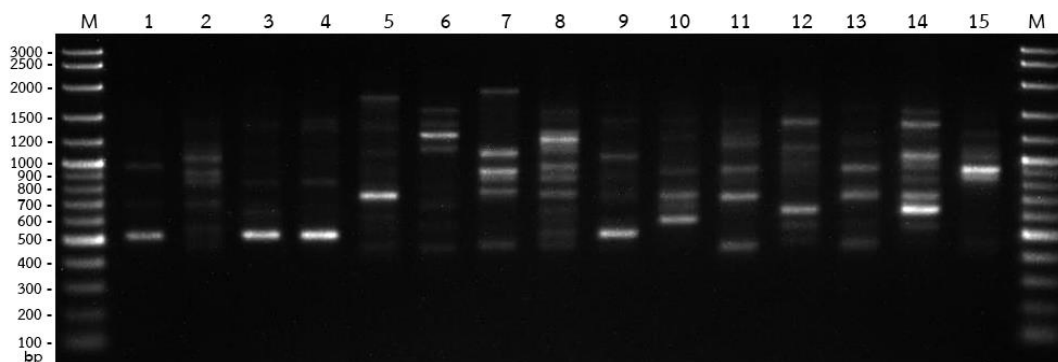


ภาพที่ 4.10 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ C28 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารีเหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม (8) รองเท้านารีไพรมูเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุม และ (15) รองเท้านารีแพรสแทนส์ ตามลำดับ]

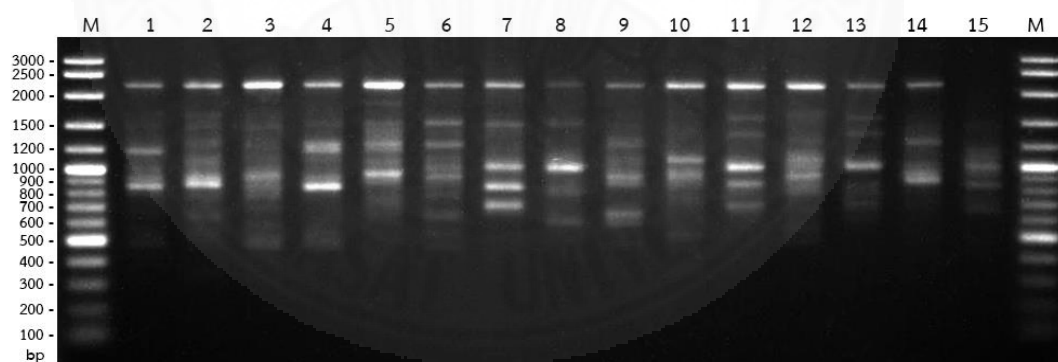


ภาพที่ 4.11 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ D23 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารีเหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม (8) รองเท้านารีไพรมูเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุม และ (15) รองเท้านารีแพรสแทนส์ ตามลำดับ]

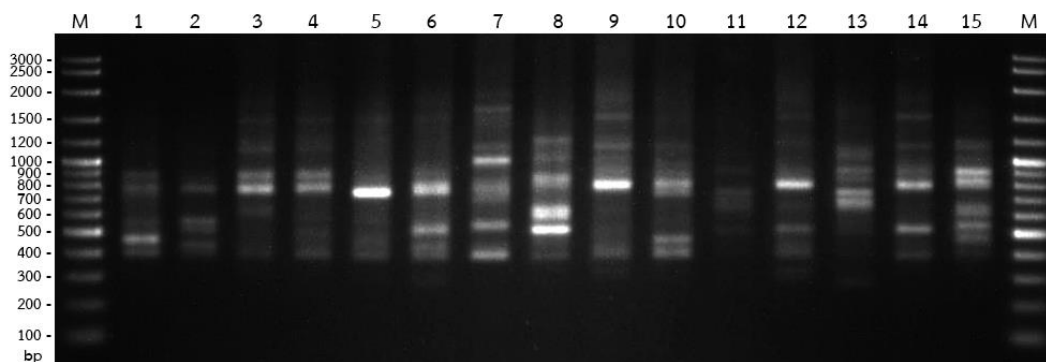




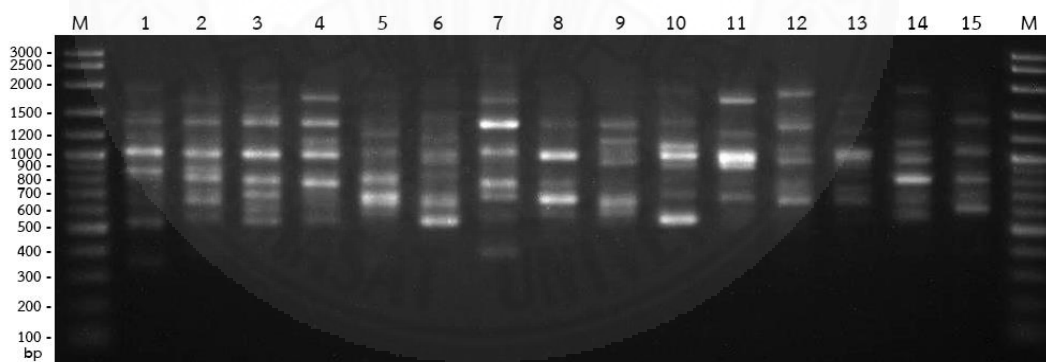
ภาพที่ 4.12 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ E22 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารีเหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสคิลเดียนุ่ม (8) รองเท้านารีไพรมูเรียนุ่ม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุ่ม (11) รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุ่ม และ (15) รองเท้านารีแพรสแทนส์ ตามลำดับ]



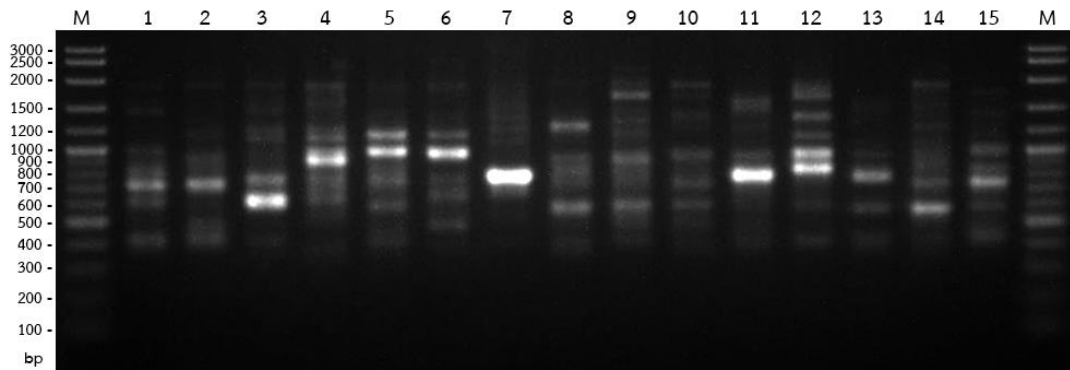
ภาพที่ 4.13 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ E23 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารีเหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสคิลเดียนุ่ม (8) รองเท้านารีไพรมูเรียนุ่ม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุ่ม (11) รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุ่ม และ (15) รองเท้านารีแพรสแทนส์ ตามลำดับ]



ภาพที่ 4.14 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ E32 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารีเหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม (8) รองเท้านารีไพรมุเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุม และ (15) รองเท้านารีแพรสแทนส์ ตามลำดับ]



ภาพที่ 4.15 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ F23 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารีเหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม (8) รองเท้านารีไพรมุเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุม และ (15) รองเท้านารีแพรสแทนส์ ตามลำดับ]



ภาพที่ 4.16 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอฟดีโดยใช้ไพรเมอร์ F25 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารีเหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม (8) รองเท้านารีไพรมูเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุม และ (15) รองเท้านารีแพรสแทนส์ ตามลำดับ]



มีไฟรเมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม 10 ไฟรเมอร์ ที่สามารถจำแนกด้วยไม้สกุสรองเท้าনারีออกเป็น 15 กลุ่ม ได้แก่ A29, A30, B25, C21, C22, C28, E22, E23, F23 และ F25

มีไฟรเมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม 1 ไฟรเมอร์ ที่สามารถจำแนกด้วยไม้สกุสรองเท้าনারีออกเป็น 14 กลุ่ม คือ A22

มีไฟรเมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม 3 ไฟรเมอร์ ที่สามารถจำแนกด้วยไม้สกุสรองเท้าনারีออกเป็น 13 กลุ่ม ได้แก่ A32, D23 และ E32

มีไฟรเมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม 1 ไฟรเมอร์ ที่สามารถจำแนกด้วยไม้สกุสรองเท้าনারีออกเป็น 11 กลุ่ม คือ B23

มีไฟรเมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม 1 ไฟรเมอร์ ที่สามารถจำแนกด้วยไม้สกุสรองเท้าনারีออกเป็น 7 กลุ่ม คือ B22

โดยไฟรเมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่มสามารถสร้างแถบดีเอ็นเอ ที่จำเพาะต่อกล้วยไม้สกุสรองเท้าনারีได้ดังต่อไปนี้

ไฟรเมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม A22 ปรากฏแถบความหลากหลาย 16 แถบ อีกทั้งยังสามารถสร้างแถบแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 1,900, 1,600 และ 900 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อรองเท้าনারีเหลืองกระบี่ ขนาดประมาณ 1,800 และ 1,500 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อรองเท้าনারีเมืองกาญจน์ ขนาดประมาณ 1,050 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อรองเท้าনারีอินทนนท์คอแดง (ภาพที่ 4.1)

ไฟรเมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม A29 ปรากฏแถบความหลากหลาย 17 แถบ อีกทั้งสามารถสร้างแถบแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 1,500 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อรองเท้าনারีเหลืองเลย ขนาดประมาณ 1,350 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อรองเท้าনারีอินทนนท์คอแดง ขนาดประมาณ 850 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อรองเท้าনারีดอยตุงกาญจน์ ขนาดประมาณ 500 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อรองเท้าনারีแพرسแทนส์ (ภาพที่ 4.2)

ไฟรเมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม A30 ปรากฏแถบความหลากหลาย 22 แถบ อีกทั้งสามารถสร้างแถบแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 1,700 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อรองเท้าনারีโรสคิลเดียนุม ขนาดประมาณ 1,050 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อรองเท้าনারีเฮนรียานุม ขนาดประมาณ 700 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อรองเท้าনারีอินทนนท์ ขนาดประมาณ 270 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อรองเท้าনারีอินทนนท์ลาว (ภาพที่ 4.3)

ไฟรเมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม A32 ปรากฏแถบความหลากหลาย 9 แถบ อีกทั้งสามารถสร้างแถบแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 1,700 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อรองเท้าনারีโรสคิลเดียนุม (ภาพที่ 4.4)

ไฟเบอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม B22 ปรากฏแถบความหลากหลาย 10 แถบ อีกทั้งสามารถสร้างแถบแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 1,500 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นาริอินทนนท์ใบกว้าง ขนาดประมาณ 1,300 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นาริเมืองกาญจน์ ขนาดประมาณ 990 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นาริตอยตุ้ง ขนาดประมาณ 500 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นาริโรสคิลเดียนุม (ภาพที่ 4.5)

ไฟเบอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม B23 ปรากฏแถบความหลากหลาย 11 แถบ อีกทั้งสามารถสร้างแถบแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 2,300 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นาริเหลืองเลย ขนาดประมาณ 1,450 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นาริอินทนนท์ใบกว้าง ขนาดประมาณ 1,200 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นาริเฮนรียานุม ขนาดประมาณ 700 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นาริไพรมูเรียนุม (ภาพที่ 4.6)

ไฟเบอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม B25 ปรากฏแถบความหลากหลาย 18 แถบ อีกทั้งสามารถสร้างแถบแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 1,800 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นาริเหลืองกระบี่ ขนาดประมาณ 1,600 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นาริเมืองกาญจน์ ขนาดประมาณ 1,500 และ 850 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นาริแพรสแทนส์ ขนาดประมาณ 480 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นาริเหลืองกระบี่ ขนาดประมาณ 450 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นาริโรสคิลเดียนุม (ภาพที่ 4.7)

ไฟเบอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม C21 ปรากฏแถบความหลากหลาย 15 แถบ อีกทั้งสามารถสร้างแถบแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 1,500 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นาริเหลืองเลย ขนาดประมาณ 500 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นาริไพรมูเรียนุม (ภาพที่ 4.8)

ไฟเบอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม C22 ปรากฏแถบความหลากหลาย 19 แถบ อีกทั้งสามารถสร้างแถบแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 1,900 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นาริโรสคิลเดียนุม ขนาดประมาณ 1,400 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นาริอินทนนท์ ขนาดประมาณ 600 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นาริเหลืองเลย ขนาดประมาณ 560 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นาริอินทนนท์คองแดง (ภาพที่ 4.9)

ไฟเบอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม C28 ปรากฏแถบความหลากหลาย 19 แถบ อีกทั้งสามารถสร้างแถบแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 1,600 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นาริอินทนนท์ใบกว้าง (ภาพที่ 4.10)

ไฟเบอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม D23 ปรากฏแถบความหลากหลาย 13 แถบ อีกทั้งสามารถสร้างแถบแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 1,500 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นาริตอยตุ้งกาญจน์ ขนาดประมาณ 1,400 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นาริตอยตุ้ง ขนาดประมาณ 1,000 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นาริไพรมูเรียนุม ขนาดประมาณ 800 และ 700 คู่เบส แสดง

ความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นไปเซเรียนุ่ม ขนาดประมาณ 650 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นแพรสแทนส์ (ภาพที่ 4.11)

ไพรมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม E22 ปรากฏแถบความหลากหลาย 17 แถบ อีกทั้งสามารถสร้างแถบแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 1,950 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นโรธสคิลเดียนุ่ม ขนาดประมาณ 1,900 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นลีองเลย (ภาพที่ 4.12)

ไพรมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม E23 ปรากฏแถบความหลากหลาย 18 แถบ อีกทั้งสามารถสร้างแถบแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 1,900 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นลีองเลย (ภาพที่ 4.13)

ไพรมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม E32 ปรากฏแถบความหลากหลาย 14 แถบ อีกทั้งสามารถสร้างแถบแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 1,700 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นโรธสคิลเดียนุ่ม ขนาดประมาณ 1,300 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นไพรมูเรียนุ่ม (ภาพที่ 4.14)

ไพรมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม F23 ปรากฏแถบความหลากหลาย 16 แถบ อีกทั้งสามารถสร้างแถบแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 1,300 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นรีดอยตุง ขนาดประมาณ 400 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นโรธสคิลเดียนุ่ม ขนาดประมาณ 350 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นอินทนนท์ (ภาพที่ 4.15)

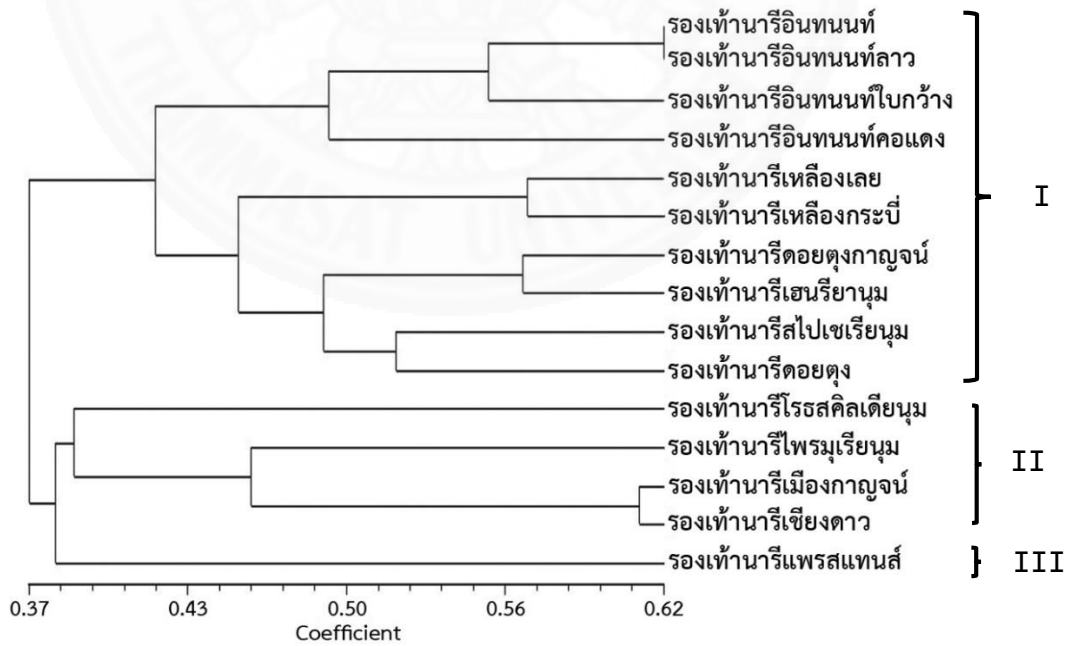
ไพรมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม F25 ปรากฏแถบความหลากหลาย 14 แถบ (ภาพที่ 4.16)

#### 4.1.2 การศึกษาความสัมพันธ์ของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีด้วยเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดี

เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ด้วยโปรแกรม NTSYS-pc รุ่น 2.01e และเลือกจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA สามารถสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์จากลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ซึ่งมีค่าดัชนีความเหมือนอยู่ระหว่าง 0.252 ถึง 0.624 (ภาพที่ 4.17) และเมื่อพิจารณาที่ค่าดัชนีความเหมือนที่ตำแหน่ง 0.38 พบว่าสามารถแยกกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 แบ่งเป็น 3 กลุ่มย่อย คือกลุ่มย่อยที่ 1.1 ได้แก่ รองเท้านารีอินทนนท์ รองเท้านารีอินทนนท์ลาว และ รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง กลุ่มย่อยที่ 1.2 ได้แก่ รองเท้านารีเหลืองเลย และ รองเท้านารีเหลืองกระบี่ กลุ่มย่อยที่ 1.3 ได้แก่ รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ รองเท้านารีเฮนรี่านุ่ม รองเท้านารีสไปเซเรียนุ่ม และ รองเท้านารีดอยตุง กลุ่มที่ 2 ได้แก่ รองเท้านารีโรสคิลเดียนุ่ม รองเท้านารีไพรมูเรียนุ่ม รองเท้านารีเมืองกาญจน์ และ รองเท้านารีเชียงดาว กลุ่มที่ 3 ได้แก่ รองเท้านารีแพรสแทนส์ ถึงแม้ว่าเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีสามารถใช้แยกกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีทั้ง 15 ชนิด ออกจากกันและจัดกลุ่มได้ 3 กลุ่ม แต่พบว่าที่ค่าดัชนีความเหมือน 0.62 ไม่สามารถแยกรองเท้านารีอินทนนท์ และ รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (ภาพที่ 4.18)

รองเท้านารีอินทนนท์	1.000																		
รองเท้านารีอินทนนท์คอแดง	0.538	1.000																	
รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง	0.496	0.446	1.000																
รองเท้านารีอินทนนท์ลาว	0.624	0.486	0.611	1.000															
รองเท้านารีเหลืองเลย	0.394	0.430	0.428	0.414	1.000														
รองเท้านารีเหลืองกระบี่	0.449	0.506	0.440	0.467	0.570	1.000													
รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม	0.367	0.442	0.333	0.373	0.331	0.333	1.000												
รองเท้านารีไพรม์เรียนุม	0.360	0.446	0.431	0.418	0.390	0.415	0.440	1.000											
รองเท้านารีคอดุงกาญจน์	0.361	0.490	0.422	0.435	0.459	0.484	0.366	0.436	1.000										
รองเท้านารีสไปเซเรียนุม	0.397	0.378	0.375	0.403	0.510	0.427	0.347	0.379	0.476	1.000									
รองเท้านารีเมืองกาญจน์	0.351	0.323	0.252	0.305	0.434	0.318	0.408	0.425	0.286	0.384	1.000								
รองเท้านารีคอดุง	0.319	0.397	0.476	0.381	0.514	0.458	0.301	0.385	0.520	0.517	0.403	1.000							
รองเท้านารีเชียงดาว	0.385	0.394	0.346	0.301	0.478	0.360	0.317	0.493	0.412	0.406	0.614	0.441	1.000						
รองเท้านารีเฮนรียานุม	0.394	0.430	0.441	0.469	0.370	0.411	0.371	0.403	0.568	0.455	0.395	0.500	0.418	1.000					
รองเท้านารีแพรสแทนส์	0.391	0.329	0.353	0.412	0.307	0.310	0.380	0.386	0.331	0.382	0.308	0.302	0.448	0.380	1.000				

ภาพที่ 4.17 ค่าดัชนีความเหมือนกันของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีด้วยเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดี

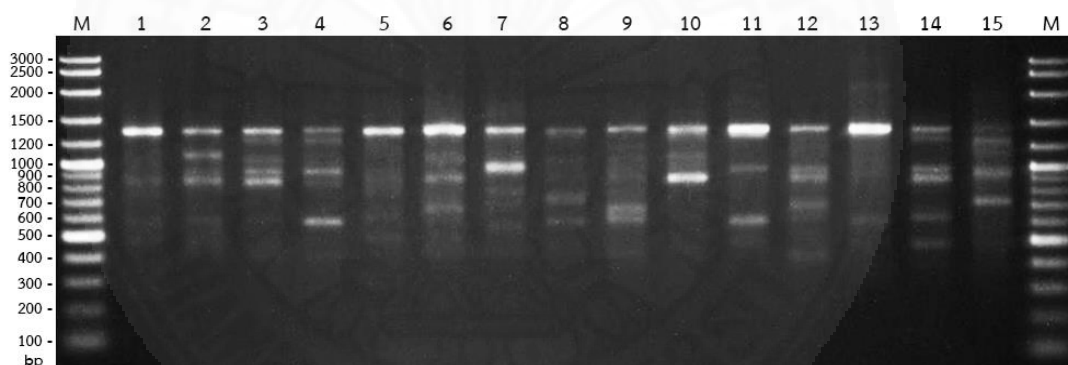


ภาพที่ 4.18 แผนภูมิความสัมพันธ์ของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีด้วยเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดี

## 4.2 เครื่องหมายสก็อต

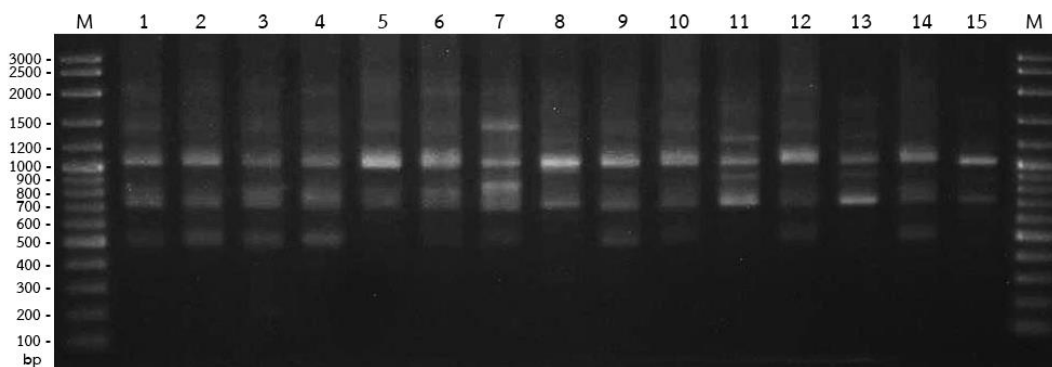
### 4.2.1 การเพิ่มปริมาณของดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีต่อไพรเมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม

จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอรวมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีจำนวน 15 ชนิด ด้วยเครื่องหมายสก็อต ซึ่งใช้ไพรเมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่มจำนวน 80 ไพรเมอร์ พบว่าไพรเมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่มจำนวน 28 ไพรเมอร์ สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีได้ คิดเป็น 35 เปอร์เซ็นต์ และไพรเมอร์จำนวน 17 ไพรเมอร์ สามารถเพิ่มลายพิมพ์ดีเอ็นเอได้อย่างชัดเจน คิดเป็น 21.25 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ SCoT13, SCoT32, SCoT33, SCoT40, SCoT46, SCoT50, SCoT51, SCoT52, SCoT53, SCoT54, SCoT55, SCoT57, SCoT65, SCoT66, SCoT68, SCoT73 และ SCoT76 จากนั้นนำไพรเมอร์ 17 ไพรเมอร์ มาสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีทั้ง 15 ชนิด ปรากฏแถบดีเอ็นเอรวมทั้งหมด 230 แถบ ซึ่งมีขนาดประมาณ 300 ถึง 2,700 คู่เบส โดยตำแหน่งแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏความหลากหลายมีจำนวน 219 แถบ ดังภาพที่ 4.19-4.35

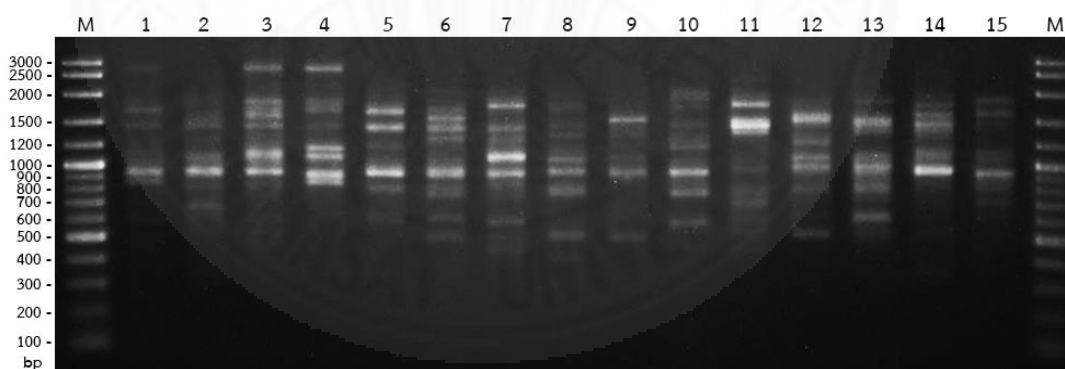


ภาพที่ 4.19 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอฟดีโดยใช้ไพรเมอร์ SCoT13 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์ คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารี เหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม (8) รองเท้านารี ไพรมูเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุม และ (15) รองเท้านารีแพรสแทนส์ ตามลำดับ]

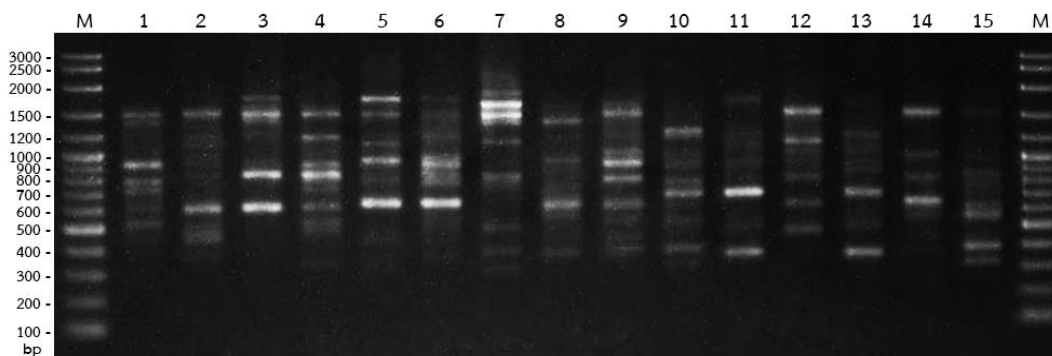




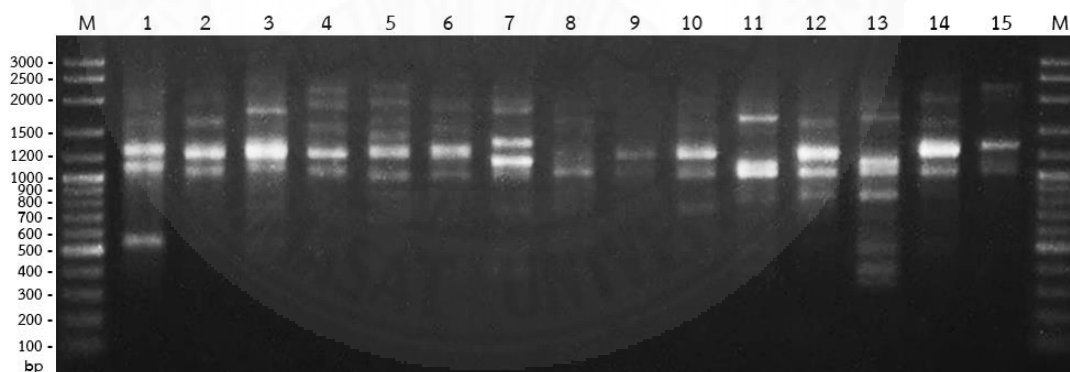
ภาพที่ 4.20 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกลายไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ SCoT32 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์ คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารี เหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม (8) รองเท้านารี ไพรมูเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุม และ (15) รองเท้านารีแพรสแทนส์ ตามลำดับ]



ภาพที่ 4.21 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกลายไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ SCoT33 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์ คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารี เหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม (8) รองเท้านารี ไพรมูเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุม และ (15) รองเท้านารีแพรสแทนส์ ตามลำดับ]

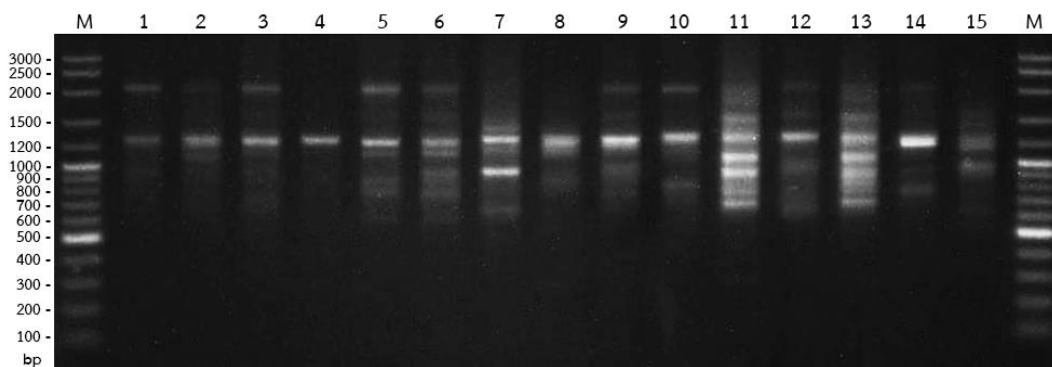


ภาพที่ 4.22 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ SCoT40 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์ คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารี เหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม (8) รองเท้านารี ไพรมูเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุม และ (15) รองเท้านารีแพรสแทนส์ ตามลำดับ]

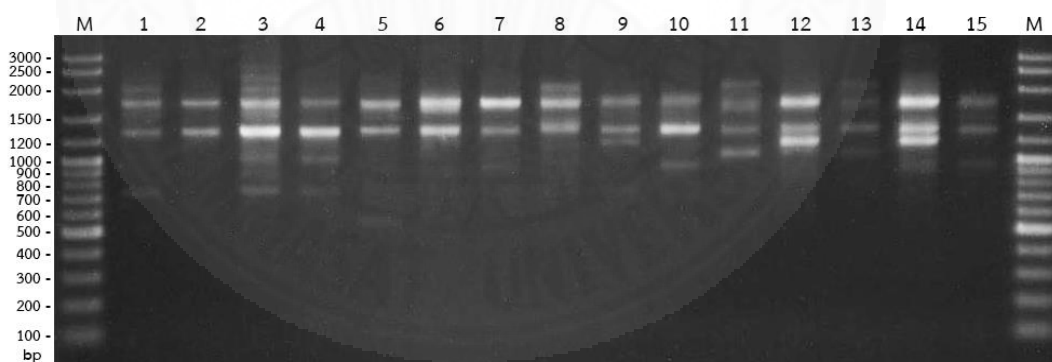


ภาพที่ 4.23 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ SCoT46 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์ คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารี เหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม (8) รองเท้านารี ไพรมูเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุม และ (15) รองเท้านารีแพรสแทนส์ ตามลำดับ]

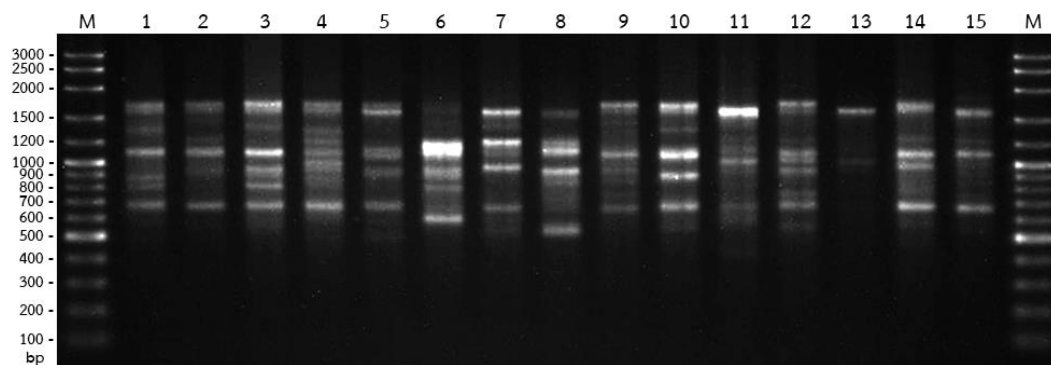




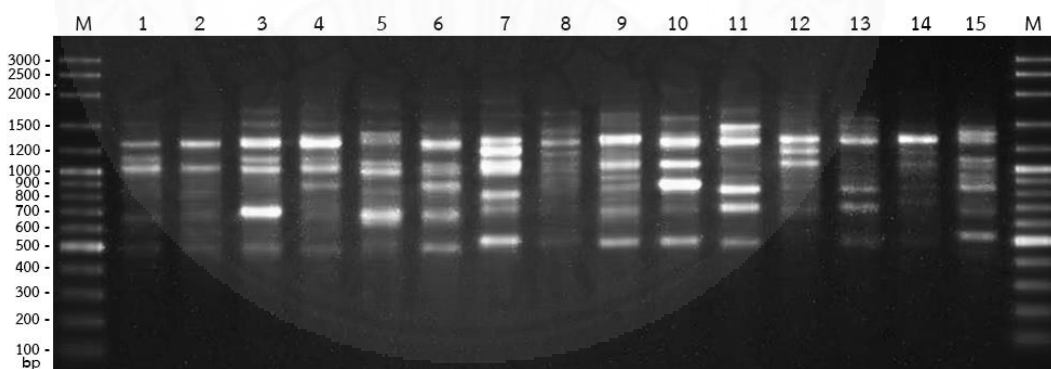
ภาพที่ 4.24 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอฟดีโดยใช้ไพรเมอร์ SCoT50 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์ คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารี เหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม (8) รองเท้านารี ไพรมูเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุม และ (15) รองเท้านารีแพรสแทนส์ ตามลำดับ]



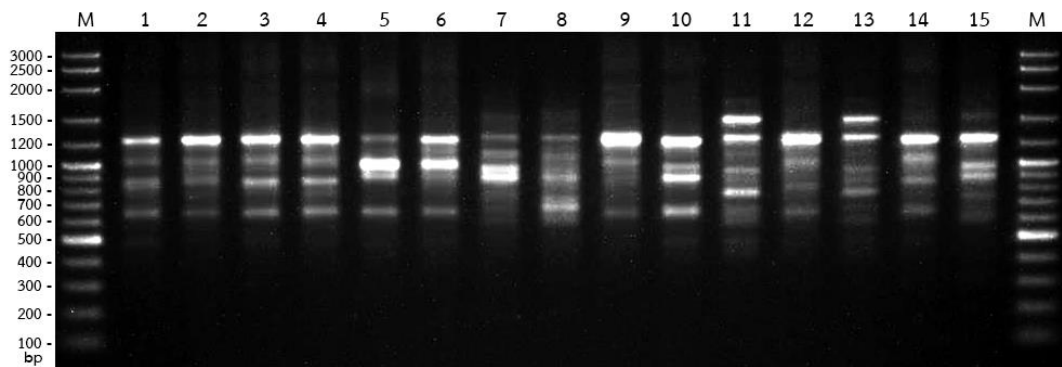
ภาพที่ 4.25 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอฟดีโดยใช้ไพรเมอร์ SCoT51 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์ คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารี เหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม (8) รองเท้านารี ไพรมูเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุม และ (15) รองเท้านารีแพรสแทนส์ ตามลำดับ]



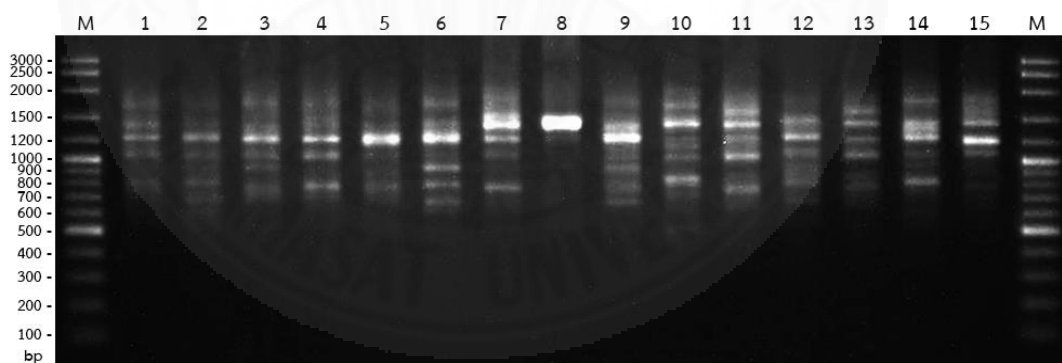
ภาพที่ 4.26 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกลายไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอฟดีโดยใช้ไพรเมอร์ SCoT52 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์ คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารี เหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม (8) รองเท้านารี ไพรมูเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุม และ (15) รองเท้านารีแพรสแทนส์ ตามลำดับ]



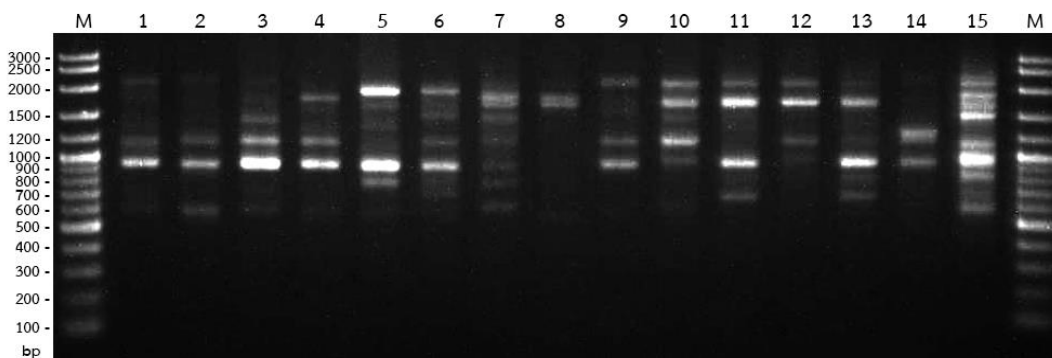
ภาพที่ 4.27 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกลายไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอฟดีโดยใช้ไพรเมอร์ SCoT53 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์ คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารี เหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม (8) รองเท้านารี ไพรมูเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุม และ (15) รองเท้านารีแพรสแทนส์ ตามลำดับ]



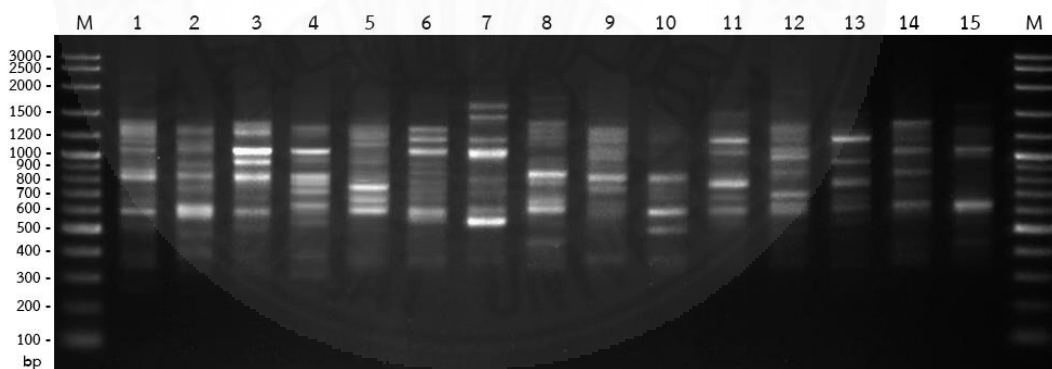
ภาพที่ 4.28 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตตอร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ SCoT54 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์ คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารี เหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม (8) รองเท้านารี ไพรมูเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุม และ (15) รองเท้านารีแพรสแทนส์ ตามลำดับ]



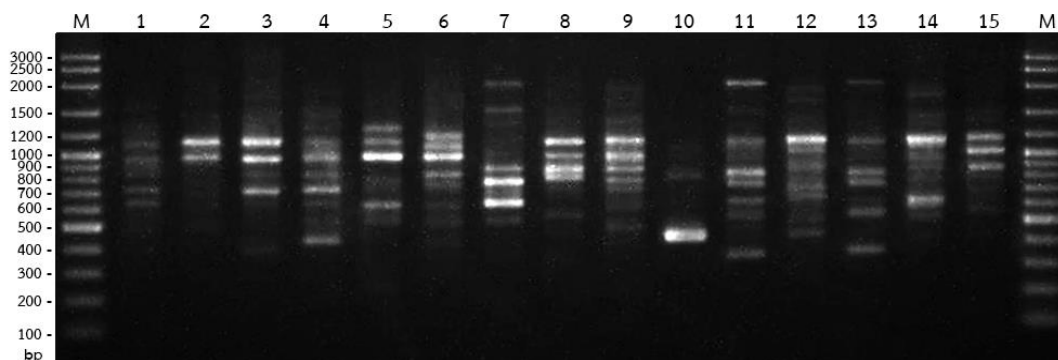
ภาพที่ 4.29 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตตอร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ SCoT55 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์ คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารี เหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม (8) รองเท้านารี ไพรมูเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุม และ (15) รองเท้านารีแพรสแทนส์ ตามลำดับ]



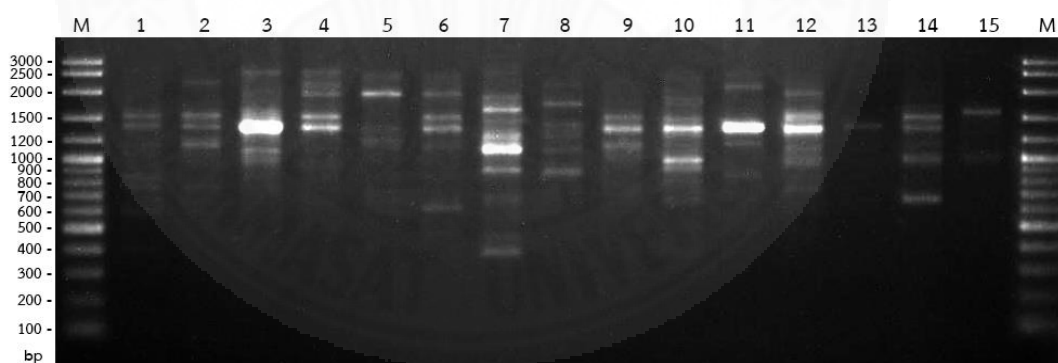
ภาพที่ 4.30 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ SCoT57 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์ คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารี เกลี้ยงเลย (6) รองเท้านารีเกลี้ยงกระบี่ (7) รองเท้านารีไรศคิลเดียนุม (8) รองเท้านารี ไรรมุเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเสนรียานุม และ (15) รองเท้านารีแพรสแทนส์ ตามลำดับ]



ภาพที่ 4.31 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ SCoT65 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์ คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารี เกลี้ยงเลย (6) รองเท้านารีเกลี้ยงกระบี่ (7) รองเท้านารีไรศคิลเดียนุม (8) รองเท้านารี ไรรมุเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเสนรียานุม และ (15) รองเท้านารีแพรสแทนส์ ตามลำดับ]

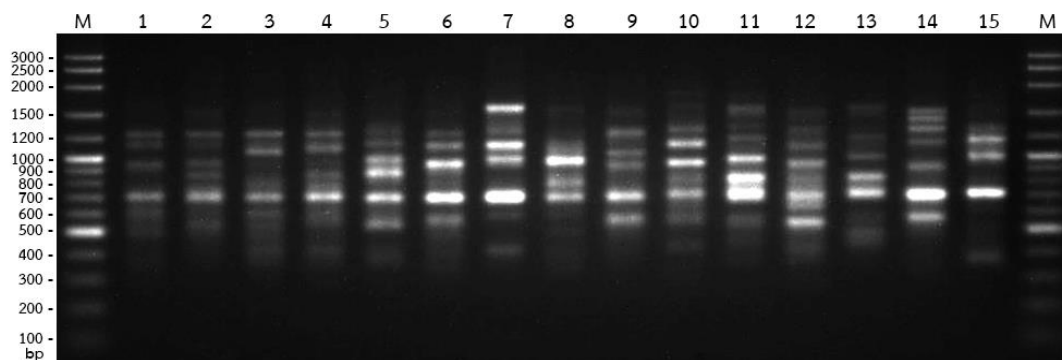


ภาพที่ 4.32 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ SCoT66 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์ คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารี เหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม (8) รองเท้านารี ไพรมูเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุม และ (15) รองเท้านารีแพรสแทนส์ ตามลำดับ]

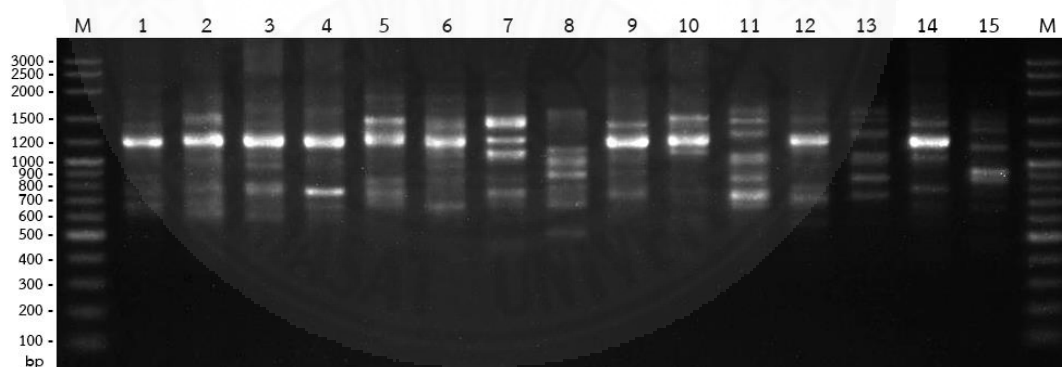


ภาพที่ 4.33 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ SCoT68 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์ คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารี เหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม (8) รองเท้านารี ไพรมูเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุม และ (15) รองเท้านารีแพรสแทนส์ ตามลำดับ]





ภาพที่ 4.34 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตตอร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ SCoT73 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์ คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารี เหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม (8) รองเท้านารี ไพรมูเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุม และ (15) รองเท้านารีแพรสแทนส์ ตามลำดับ]



ภาพที่ 4.35 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จากเครื่องหมายแฮตตอร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ SCoT76 [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์ คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารี เหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม (8) รองเท้านารี ไพรมูเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุม และ (15) รองเท้านารีแพรสแทนส์ ตามลำดับ]

มีไพรมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม 7 ไพรมอร์ ที่สามารถจำแนกกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี ออกเป็น 15 กลุ่ม ได้แก่ SCoT33, SCoT53, SCoT65, SCoT66, SCoT68, SCoT73 และ SCoT76

มีไพรมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม 4 ไพรมอร์ ที่สามารถจำแนกกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี ออกเป็น 14 กลุ่ม ได้แก่ SCoT13, SCoT40, SCoT46 และ SCoT57

มีไพรมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม 3 ไพรมอร์ ที่สามารถจำแนกกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี ออกเป็น 12 กลุ่ม ได้แก่ SCoT50, SCoT52 และ SCoT55

มีไพรมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม 1 ไพรมอร์ ที่สามารถจำแนกกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี ออกเป็น 11 กลุ่ม คือ SCoT51

มีไพรมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม 1 ไพรมอร์ ที่สามารถจำแนกกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี ออกเป็น 10 กลุ่ม คือ SCoT54

มีไพรมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม 1 ไพรมอร์ ที่สามารถจำแนกกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี ออกเป็น 4 กลุ่ม คือ SCoT32

โดยไพรมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่มสามารถสร้างแถบดีเอ็นเอ ที่จำเพาะต่อกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีได้ดังต่อไปนี้

ไพรมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม SCoT13 ปรากฏแถบความหลากหลาย 11 แถบ อีกทั้งสามารถสร้างแถบแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 1,100 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อรองเท้านารี อินทนนท์คอแดง ขนาดประมาณ 400 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อรองเท้านารีดอยตุง (ภาพที่ 4.19)

ไพรมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม SCoT132 ปรากฏแถบความหลากหลาย 15 แถบ อีกทั้งสามารถสร้างแถบแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 1,500 และ 850 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อรองเท้านารีโรสคิลเดียนุม ขนาดประมาณ 1,100 และ 950 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อรองเท้านารีเมืองกาญจน์ (ภาพที่ 4.20)

ไพรมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม SCoT33 ปรากฏแถบความหลากหลาย 15 แถบ อีกทั้งสามารถสร้างแถบแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 2,000 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อรองเท้านารีสไปเซเรียนุม ขนาดประมาณ 400 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อรองเท้านารีไพรมุเรียนุม (ภาพที่ 4.21)

ไพรมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม SCoT40 ปรากฏแถบความหลากหลาย 16 แถบ อีกทั้งสามารถสร้างแถบแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 2,000 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อรองเท้านารีโรสคิลเดียนุม ขนาดประมาณ 1,400 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อรองเท้านารีไพรมุเรียนุม ขนาดประมาณ 1,100 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อรองเท้านารีเหลืองเลย ขนาดประมาณ 550 และ 350 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อรองเท้านารีแพรสแทนส์ (ภาพที่ 4.22)

ไพรมอร์ลำนับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม SCoT46 ปรากฏแถบความหลากหลาย 13 แถบ อีกทั้งสามารถสร้างแถบแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 550 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท้านารีอินทนนท์ ขนาดประมาณ 500 และ 400 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท้านารีเชียงดาว (ภาพที่ 4.23)

ไพรมอร์ลำนับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม SCoT50 ปรากฏแถบความหลากหลาย 12 แถบ อีกทั้งสามารถสร้างแถบแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 1,400 และ 650 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท้านารีโรสคิลเดียนุม (ภาพที่ 4.24)

ไพรมอร์ลำนับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม SCoT51 ปรากฏแถบความหลากหลาย 7 แถบ อีกทั้งสามารถสร้างแถบแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 2,300 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง ขนาดประมาณ 550 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท้านารีเหลือ้งเลย (ภาพที่ 4.25)

ไพรมอร์ลำนับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม SCoT52 ปรากฏแถบความหลากหลาย 8 แถบ อีกทั้งสามารถสร้างแถบแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 900 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท้านารีอินทนนท์ (ภาพที่ 4.26)

ไพรมอร์ลำนับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม SCoT53 ปรากฏแถบความหลากหลาย 14 แถบ อีกทั้งสามารถสร้างแถบแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 950 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (ภาพที่ 4.27)

ไพรมอร์ลำนับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม SCoT54 ปรากฏแถบความหลากหลาย 7 แถบ (ภาพที่ 4.28)

ไพรมอร์ลำนับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม SCoT55 ปรากฏแถบความหลากหลาย 8 แถบ (ภาพที่ 4.29)

ไพรมอร์ลำนับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม SCoT57 ปรากฏแถบความหลากหลาย 11 แถบ (ภาพที่ 4.30)

ไพรมอร์ลำนับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม SCoT65 ปรากฏแถบความหลากหลาย 22 แถบ อีกทั้งสามารถสร้างแถบแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 1,700 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท้านารีไพรมูเรียนุม ขนาดประมาณ 1,000 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท้านารีดอยตุง ขนาดประมาณ 500 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท้านารีสไปเซเรียนุม ขนาดประมาณ 300 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท้านารีอินทนนท์ลาว (ภาพที่ 4.31)

ไพรมอร์ลำนับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม SCoT66 ปรากฏแถบความหลากหลาย 21 แถบ อีกทั้งสามารถสร้างแถบแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 1,900 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท้านารีเฮนรียานุม ขนาดประมาณ 1,600 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท้านารีโรสคิลเดียนุม ขนาด



ประมาณ 1,300 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นีเหลืองเลย ขนาดประมาณ 1,050 และ 900 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นีแพรสแทนส์ ขนาดประมาณ 450 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นีอินทนนท์ลาว ขนาดประมาณ 400 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นีเชียงดาว ขนาดประมาณ 390 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นีเมืองกาญจน์ (ภาพที่ 4.32)

ไพรมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม SCoT68 ปรากฏแถบความหลากหลาย 19 แถบ อีกทั้งสามารถสร้างแถบแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 1,900, 1,200 และ 400 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นีโรสคิลเดียนุม ขนาดประมาณ 1,700 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นีไพรมูเรียนุม ขนาดประมาณ 950 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นีสไปเซเรียนุม ขนาดประมาณ 600 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นีเหลืองกระบี่ (ภาพที่ 4.33)

ไพรมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม SCoT73 ปรากฏแถบความหลากหลาย 17 แถบ อีกทั้งสามารถสร้างแถบแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 1,900 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นีสไปเซเรียนุม ขนาดประมาณ 1,550 และ 1,450 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นีเฮนรียานุม ขนาดประมาณ 1,100 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นีตอยตุ่งกาญจน์ ขนาดประมาณ 550 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นีเหลืองเลย (ภาพที่ 4.34)

ไพรมอร์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม SCoT76 ปรากฏแถบความหลากหลาย 14 แถบ อีกทั้งสามารถสร้างแถบแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 1,900 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นีเหลืองเลย ขนาดประมาณ 1,100 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นีโรสคิลเดียนุม ขนาดประมาณ 500 คู่เบส แสดงความจำเพาะต่อร่องเท่านั้นีไพรมูเรียนุม (ภาพที่ 4.35)

#### 4.2.2 การศึกษาความสัมพันธ์ของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีด้วยเครื่องหมายสก็อต

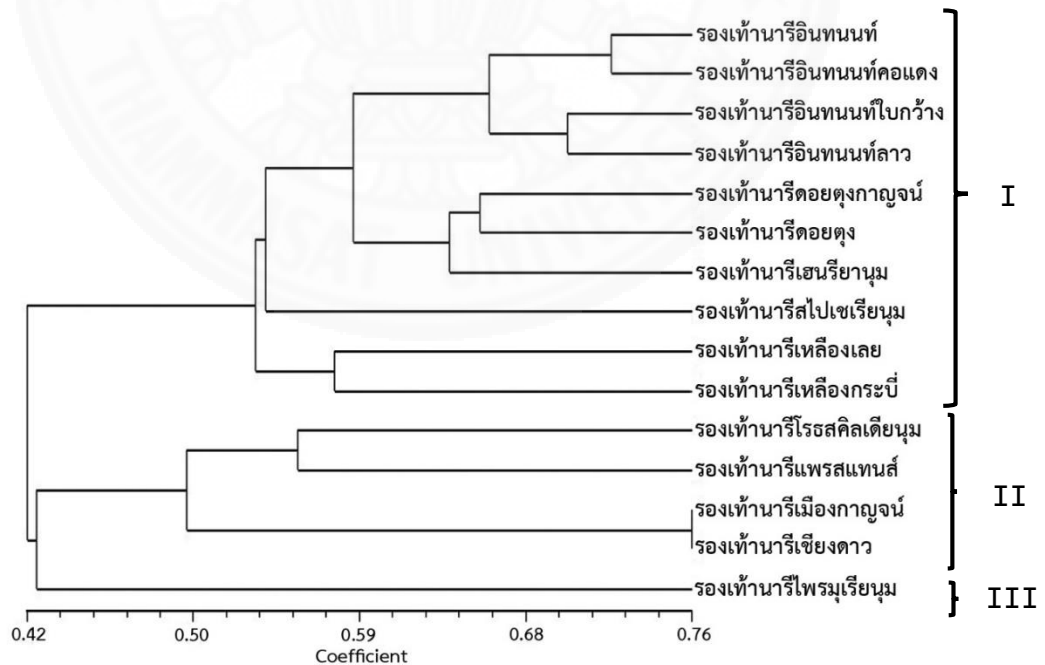
เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ด้วยโปรแกรม NTSYS-pc รุ่น 2.01e และเลือกจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA สามารถสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์จากลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ซึ่งมีค่าดัชนีความเหมือนอยู่ระหว่าง 0.3514 ถึง 0.7613 (ภาพที่ 4.36) และเมื่อพิจารณาที่ค่าดัชนีความเหมือนที่ตำแหน่ง 0.425 พบว่าสามารถแยกกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 แบ่งเป็น 3 กลุ่มย่อย คือ กลุ่มย่อยที่ 1.1 ได้แก่ รองเท้านารีอินทนนท์ รองเท้านารีอินทนนท์คอแดง รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง รองเท้านารีอินทนนท์ลาว รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ รองเท้านารีดอยตุง และรองเท้านารีเฮนรียานุม กลุ่มย่อยที่ 1.2 ได้แก่ รองเท้านารีสไปเซเรียนุม กลุ่มย่อยที่ 1.3 ได้แก่ รองเท้านารีเหลืองเลย และรองเท้านารีเหลืองกระบี่ กลุ่มที่ 2 ได้แก่ รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม รองเท้านารีแพรสแทนส์ รองเท้านารีเมืองกาญจน์ และ รองเท้านารีเชียงดาว กลุ่มที่ 3 ได้แก่ รองเท้านารีไพรมูเรียนุม ถึงแม้ว่าเครื่องหมายสก็อตสามารถใช้แยกกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีทั้ง 15 ชนิด ออกจากกันและจัดกลุ่มได้ 3 กลุ่ม แต่พบว่าที่ค่าดัชนีความเหมือน 0.76 ไม่สามารถแยกรองเท้านารีเมืองกาญจน์ และ รองเท้านารีเชียงดาว (ภาพที่ 4.37)

#### 4.3 การใช้เครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีร่วมกับสก็อต

เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ด้วยโปรแกรม NTSYS-pc รุ่น 2.01e และเลือกจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA พบว่าค่าดัชนีความเหมือนอยู่ระหว่าง 0.327 ถึง 0.692 (ภาพที่ 4.38) เมื่อพิจารณาที่ค่าดัชนีความเหมือนที่ตำแหน่ง 0.45 พบว่าสามารถแยกกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีเป็น 4 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 แบ่งเป็น 3 กลุ่มย่อย คือกลุ่มย่อยที่ 1.1 ได้แก่ รองเท้านารีอินทนนท์ รองเท้านารีอินทนนท์คอแดง รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง และ รองเท้านารีอินทนนท์ลาว กลุ่มย่อยที่ 1.2 ได้แก่ รองเท้านารีเหลืองเลย และรองเท้านารีเหลืองกระบี่ กลุ่มย่อยที่ 1.3 ได้แก่ รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ รองเท้านารีเฮนรียานุม รองเท้านารีดอยตุง และ รองเท้านารีสไปเซเรียนุม กลุ่มที่ 2 ได้แก่ รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม และ รองเท้านารีแพรสแทนส์ กลุ่มที่ 3 ได้แก่ รองเท้านารีไพรมูเรียนุม กลุ่มที่ 4 ได้แก่ รองเท้านารีเมืองกาญจน์ และ รองเท้านารีเชียงดาว การวิเคราะห์เครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีร่วมกับเครื่องหมายสก็อตสามารถใช้แยกกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีทั้ง 15 ชนิดได้และแผนภูมิความสัมพันธ์ที่ได้คล้ายกับแผนภูมิความสัมพันธ์ที่ได้จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีและเครื่องหมายสก็อต (ภาพที่ 4.39)

รองเท้านารีอินทนนท์	1.000																		
รองเท้านารีอินทนนท์คอแดง	0.720	1.000																	
รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง	0.671	0.667	1.000																
รองเท้านารีอินทนนท์ลาว	0.662	0.628	0.697	1.000															
รองเท้านารีเหลืองเลย	0.537	0.527	0.486	0.548	1.000														
รองเท้านารีเหลืองกระบี่	0.565	0.586	0.595	0.533	0.577	1.000													
รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม	0.403	0.416	0.476	0.446	0.456	0.494	1.000												
รองเท้านารีโพรมุเรียนุม	0.375	0.407	0.406	0.386	0.364	0.441	0.408	1.000											
รองเท้านารีคอตุงกาญจน์	0.630	0.656	0.599	0.576	0.473	0.622	0.424	0.416	1.000										
รองเท้านารีสไปเซเรียนุม	0.586	0.516	0.531	0.469	0.496	0.567	0.446	0.397	0.569	1.000									
รองเท้านารีเมืองกาญจน์	0.403	0.444	0.415	0.398	0.392	0.408	0.509	0.435	0.452	0.408	1.000								
รองเท้านารีคอตุง	0.596	0.618	0.556	0.562	0.441	0.617	0.461	0.446	0.652	0.569	0.463	1.000							
รองเท้านารีเชียงดาว	0.353	0.366	0.370	0.351	0.429	0.389	0.500	0.463	0.421	0.446	0.761	0.422	1.000						
รองเท้านารีเฮนรียานุม	0.565	0.587	0.539	0.559	0.489	0.504	0.413	0.434	0.625	0.552	0.453	0.648	0.380	1.000					
รองเท้านารีพรสแทนส์	0.385	0.432	0.414	0.423	0.418	0.391	0.558	0.391	0.425	0.481	0.497	0.454	0.500	0.473	1.000				

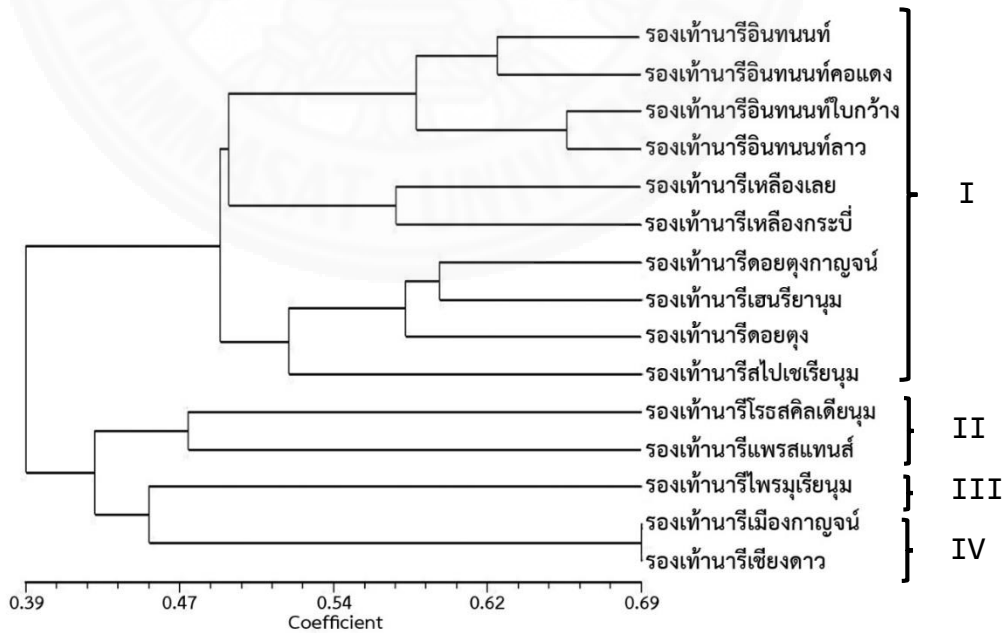
ภาพที่ 4.36 ค่าดัชนีความเหมือนกันของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีด้วยเครื่องหมายสก็อต



ภาพที่ 4.37 แผนภูมิความสัมพันธ์ของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีด้วยเครื่องหมายสก็อต

รวงเท้านารีอินทนนท์	1.000																			
รวงเท้านารีอินทนนท์คอแดง	0.622	1.000																		
รวงเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง	0.584	0.551	1.000																	
รวงเท้านารีอินทนนท์ลาว	0.643	0.554	0.655	1.000																
รวงเท้านารีเหลืองเลย	0.464	0.475	0.457	0.481	1.000															
รวงเท้านารีเหลืองกระบี่	0.505	0.544	0.517	0.500	0.573	1.000														
รวงเท้านารีโรสคิลเดียนุม	0.385	0.429	0.408	0.411	0.395	0.415	1.000													
รวงเท้านารีไพรม์เรียนุม	0.367	0.429	0.419	0.403	0.378	0.427	0.424	1.000												
รวงเท้านารีตอยตุงกาญจน์	0.487	0.564	0.507	0.503	0.466	0.549	0.395	0.427	1.000											
รวงเท้านารีสไปเซเรียนุม	0.489	0.442	0.453	0.436	0.504	0.495	0.397	0.387	0.520	1.000										
รวงเท้านารีเมืองกาญจน์	0.377	0.381	0.335	0.353	0.413	0.363	0.461	0.430	0.367	0.396	1.000									
รวงเท้านารีตอยตุง	0.456	0.502	0.517	0.473	0.478	0.536	0.384	0.414	0.583	0.543	0.433	1.000								
รวงเท้านารีเชียงดาว	0.368	0.381	0.358	0.327	0.453	0.375	0.415	0.478	0.416	0.426	0.692	0.431	1.000							
รวงเท้านารีเฮนรียานุม	0.476	0.502	0.490	0.514	0.427	0.455	0.392	0.417	0.594	0.502	0.424	0.572	0.399	1.000						
รวงเท้านารีพรสแทนส์	0.388	0.377	0.384	0.417	0.362	0.350	0.473	0.388	0.376	0.431	0.404	0.379	0.475	0.425	1.000					

ภาพที่ 4.38 ค่าดัชนีความเหมือนกันของกล้วยไม้สกุลรวงเท้านารีด้วยเครื่องหมายแอสตาร์ทเอพี ร่วมกับเครื่องหมายสก็อต

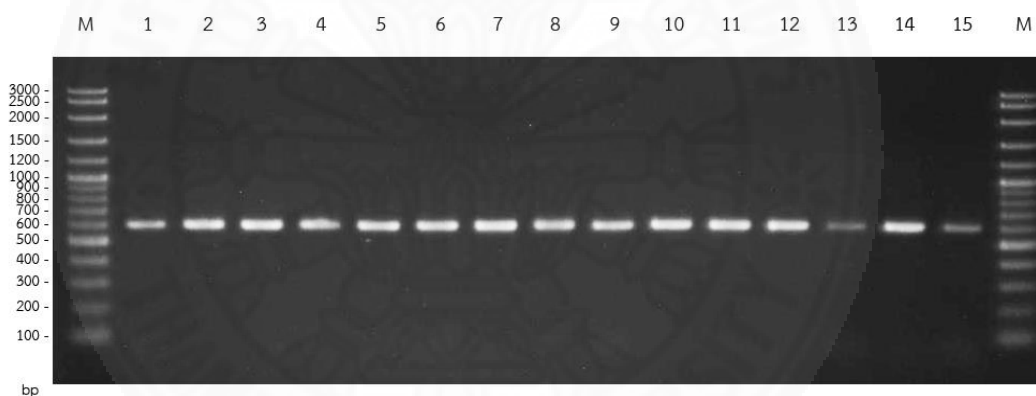


ภาพที่ 4.39 แผนภูมิจำนวนสัมพันธ์ของกล้วยไม้สกุลรวงเท้านารีด้วยเครื่องหมายแอสตาร์ทเอพีที่ร่วมกับเครื่องหมายสก็อต

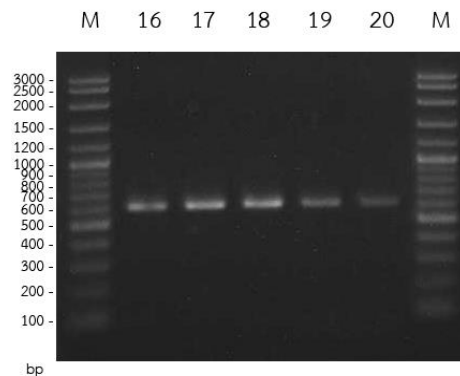
#### 4.4 เครื่องหมายลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณจำเพาะ

##### 4.4.1 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณจำเพาะภายในคลอโรพลาสต์

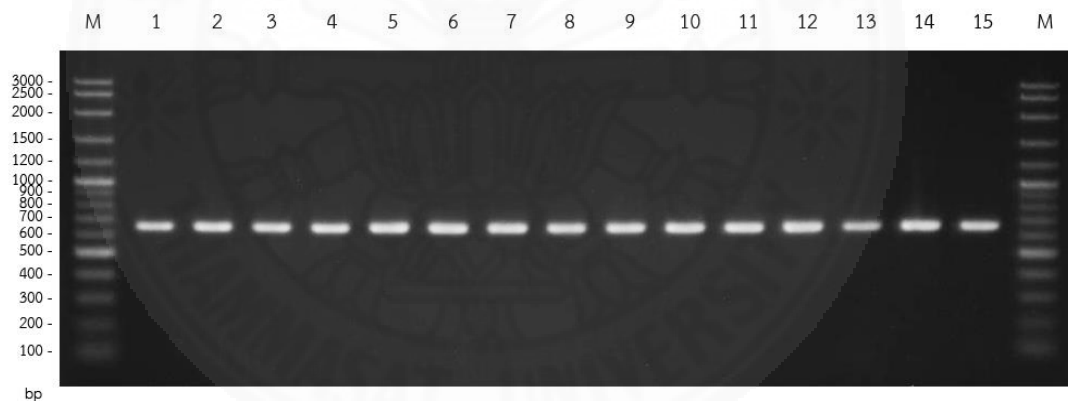
การเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอของยีนทั้ง 4 ยีน คือ *matK*, *rbcL*, *rpoC1* และชิ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* กับ *psbA* ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอดังกล่าวในกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีทั้ง 20 ชนิด และ นำตัวอย่างที่ได้ส่งเพื่อหาลำดับนิวคลีโอไทด์พบว่า ยีน *matK* มีขนาด 605 คู่เบส (ภาพที่ 4.40) ยีน *rbcL* มีขนาด 663 คู่เบส (ภาพที่ 4.41) ยีน *rpoC1* มีขนาด 554 คู่เบส (ภาพที่ 4.42) และชิ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA* มีขนาด 242-1102 คู่เบส แต่พบว่าชิ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* กับ *psbA* ของรองเท้านารีเหลืองเลย มีขนาดต่างจากรองเท้านารีชนิดอื่นเป็นอย่างมาก โดยมีขนาด 242 คู่เบส และรองเท้านารีเหลืองกระบี่มีขนาด 1,102 คู่เบส ซึ่งมีขนาดมากกว่ารองเท้านารีชนิดอื่น (ภาพที่ 4.43)



ภาพที่ 4.40 ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีน *matK* [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารีเหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรธสคิลเตียนุม (8) รองเท้านารีไพรมุเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว และ (14) รองเท้านารีเฮนรียานุม (15) รองเท้านารีเฮเลน ตามลำดับ]

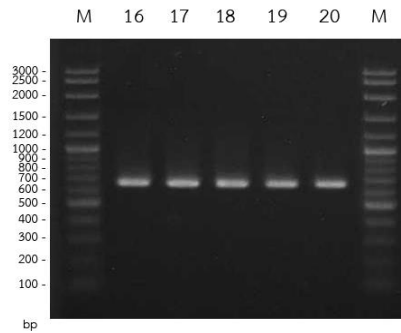


ภาพที่ 4.40 (ต่อ) ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีน *matK* [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 16-20 คือ (16) รองเท้าณารีทรานเลียยนอนุม (17) รองเท้าณารีแพรสแทนส์ (18) รองเท้าณารีฟิลิปปินส์เอนซิส (19) รองเท้าณารีซูปาร์ติโอ และ (20) รองเท้าณารีกลัวโคไฟลลุมตามลำดับ]

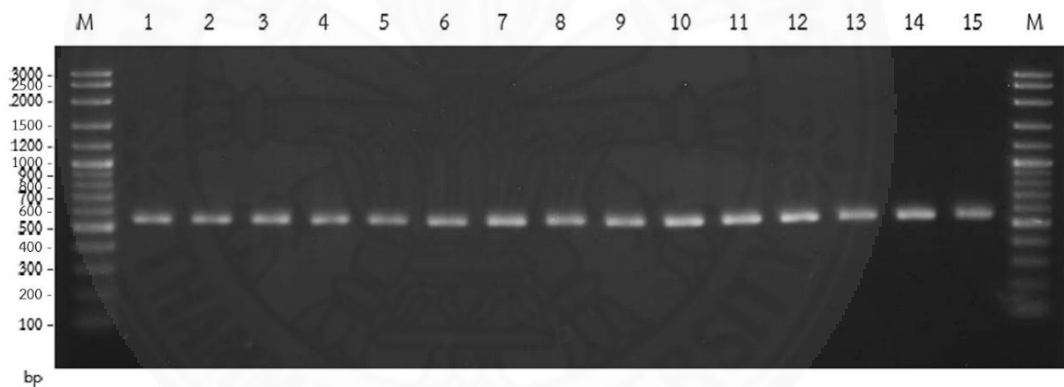


ภาพที่ 4.41 ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีน *rbcl* [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองเท้าณารีอินทนนท์ (2) รองเท้าณารีอินทนนท์คอดแดง (3) รองเท้าณารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้าณารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้าณารีเหลืองเลย (6) รองเท้าณารีเหลืองกระปี (7) รองเท้าณารีโรสคิลเดียนุม (8) รองเท้าณารีไพรมุเรียนุม (9) รองเท้าณารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้าณารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้าณารีเมืองกาญจน์ (12) รองเท้าณารีดอยตุง (13) รองเท้าณารีเชียงดาว และ (14) รองเท้าณารีเฮนรียนุม (15) รองเท้าณารีเฮเลน ตามลำดับ]

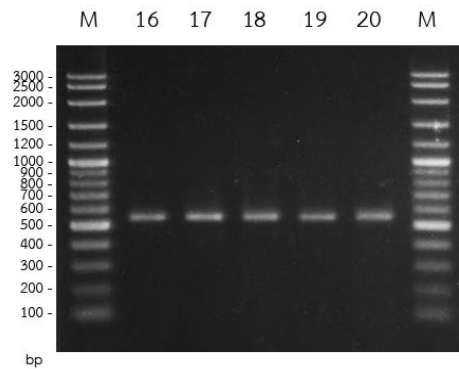




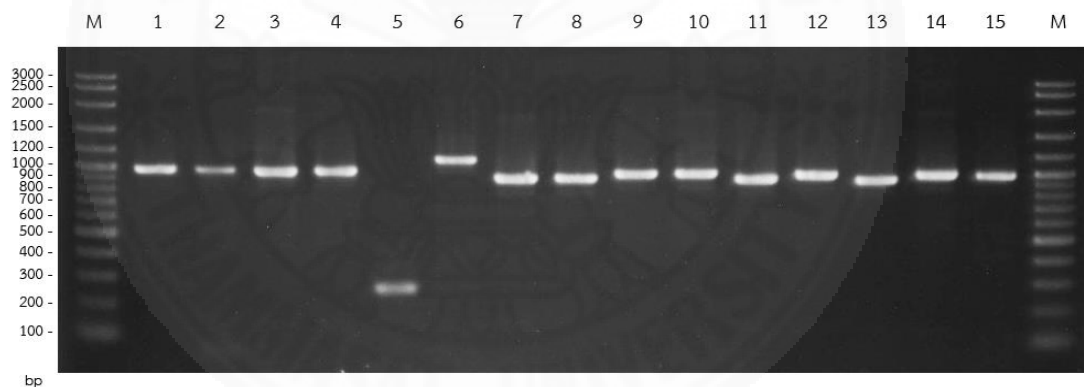
ภาพที่ 4.41 (ต่อ) ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีน *rbcL* [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 16-20 คือ (16) รองแท่นาริทรานเลียนอนุม (17) รองแท่นาริแพรสแทนส์ (18) รองแท่นาริฟิลิปปินส์เอนซิส (19) รองแท่นาริซูปาร์ดีโอ และ (20) รองแท่นาริก้าวโคไฟลลุม ตามลำดับ]



ภาพที่ 4.42 ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีน *rpoC1* [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองแท่นาริอินทนนท์ (2) รองแท่นาริอินทนนท์คอแดง (3) รองแท่นาริอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองแท่นาริอินทนนท์ลาว (5) รองแท่นาริเหลียงเลย (6) รองแท่นาริเหลียงกระบี่ (7) รองแท่นาริโรสคิลเดียนุม (8) รองแท่นาริไพรมูเรียนุม (9) รองแท่นาริคอยตุงกาญจน์ (10) รองแท่นาริสไปเซเรียนุม (11) รองแท่นาริเมื่องกาญจน์ (12) รองแท่นาริคอยตุง (13) รองแท่นาริเชียงดาว และ (14) รองแท่นาริเฮนรียานุม (15) รองแท่นาริเฮเลน ตามลำดับ]

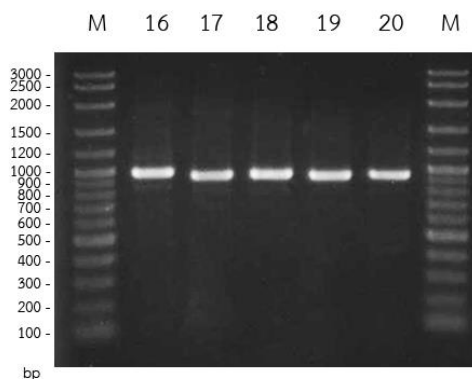


ภาพที่ 4.42 (ต่อ) ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีน *rpoC1* [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 16-20 คือ (16) รองเท้าনারิทรานเลียนอนุม (17) รองเท้าনারิแพรสแทนส์ (18) รองเท้าনারิฟิลิปปินส์เอนซิส (19) รองเท้าনারิซูปาร์ดีโอ และ (20) รองเท้าনারิก้าวโคไฟลลุม ตามลำดับ]



ภาพที่ 4.43 ผลการเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอบริเวณระหว่างชิ้นยีน *tmH* กับ *psbA* [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 1-15 คือ (1) รองเท้าনারิอินทนนท์ (2) รองเท้าনারิอินทนนท์คอดแดง (3) รองเท้าনারิอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้าনারิอินทนนท์ลาว (5) รองเท้าনারิเหลืองเลย (6) รองเท้าনারิเหลืองกระบี่ (7) รองเท้าনারิโรสคิลเดียนุม (8) รองเท้าনারิไพรมูเรียนุม (9) รองเท้าনারิดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้าনারิสไปเซเรียนุม (11) รองเท้าনারิเมื่องกาญจน์ (12) รองเท้าনারิดอยตุง (13) รองเท้าনারิเชียงดาว และ (14) รองเท้าনারิเฮนรียานุม (15) รองเท้าনারิเฮเลน ตามลำดับ]





ภาพที่ 4.43 (ต่อ) ผลการเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอบริเวณระหว่างชิ้นยีน *trnH* กับ *psbA* [M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) และ 16-20 คือ (16) รองเท้านารีทรานเลี่ยนอนุม (17) รองเท้านารีแพรสแทนส์ (18) รองเท้านารีฟิลิปปินส์เอนซิส (19) รองเท้านารีซูปาร์ดีโอ และ (20) รองเท้านารีกล้วยโคไฟลลุม ตามลำดับ]

#### 4.4.2 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

จากการเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอทั้ง 4 ยีน *matK*, *rbcl*, *rpoC1* และชิ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA* ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอไรส และส่งตัวอย่างชิ้นดีเอ็นเอที่ได้ทั้ง 4 ยีน เพื่อหาลำดับนิวคลีโอไทด์ นำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มีความคล้ายคลึงกับกล้วยไม้สกุลเดียวกันทั้ง 4 ยีน จึงนำฝากเก็บลำดับนิวคลีโอไทด์ไว้ในฐานข้อมูล Genbank ของ NCBI และได้รับหมายเลขเฉพาะ (accession number) (ตารางที่ 4.1) จากนั้นนำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีทั้ง 20 ชนิด มาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม ClustalW เพื่อดูความเหมือนและความต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้ง 4 ยีน พบว่ายีน *matK* มีตำแหน่งลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เกิดการเปลี่ยนแปลง 13 ตำแหน่ง (ภาพที่ 4.44) (ตารางที่ 4.2) ยีน *rbcl* มีตำแหน่งลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เกิดการเปลี่ยนแปลง 4 ตำแหน่ง (ภาพที่ 4.47) (ตารางที่ 4.4) ยีน *rpoC1* มีตำแหน่งลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เกิดการเปลี่ยนแปลง 4 ตำแหน่ง (ภาพที่ 4.50) (ตารางที่ 4.6) และชิ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA* มีตำแหน่งลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เกิดการเปลี่ยนแปลง 970 ตำแหน่ง (ภาพที่ 4.53) (ตารางที่ 4.8)

ตารางที่ 4.1 เลขลำดับการฝากลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณจำเพาะในฐานข้อมูล NCBI

ชนิดกล้วยไม้	accession number ของลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณจำเพาะ			
	<i>matK</i>	<i>rbcL</i>	<i>rpoC1</i>	<i>trnH-psbA</i>
รองเท้านารีอินทนนท์	KX755549	KX755529	KX755509	KX977091
รองเท้านารีอินทนนท์คอแดง	KX755550	KX755530	KX755510	KX977092
รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง	KX755551	KX755531	KX755511	KX977093
รองเท้านารีอินทนนท์ลาว	KX755552	KX755532	KX755512	KX977094
รองเท้านารีเหลืองเลย	KX755553	KX755533	KX755513	KX977095
รองเท้านารีเหลืองกระบี่	KX755554	KX755534	KX755514	KX977096
รองเท้านารีโรสคิลเดียนุ่ม	KX755555	KX755535	KX755515	KX977097
รองเท้านารีไพรมุเรียนุ่ม	KX755556	KX755536	KX755516	KX977098
รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์	KX755557	KX755537	KX755517	KX977099
รองเท้านารีสไปเซเรียนุ่ม	KX755558	KX755538	KX755518	KX977100
รองเท้านารีเมืองกาญจน์	KX755559	KX755539	KX755519	KX977101
รองเท้านารีดอยตุง	KX755560	KX755540	KX755520	KX977102
รองเท้านารีเชียงดาว	KX755561	KX755541	KX755521	KX977103
รองเท้านารีเฮนรียานุ่ม	KX755562	KX755542	KX755522	KX977104
รองเท้านารีเฮเลน	KX755563	KX755543	KX755523	KX977105
รองเท้านารีทรานเลียนอนุ่ม	KX755564	KX755544	KX755524	KX977106
รองเท้านารีแพรสแทนส์	KX755565	KX755545	KX755525	KX977107
รองเท้านารีฟิลิปปินส์เอนซิส	KX755566	KX755546	KX755526	KX977108
รองเท้านารีซูปาร์ติโอ	KX755567	KX755547	KX755527	KX977109
รองเท้านารีกล้วยโคไฟลุ่ม	KX755568	KX755548	KX755528	KX977110

#### 4.4.2.1 บริเวณยีน *matK*

บริเวณยีน *matK* มีลำดับนิวคลีโอไทด์ 605 คู่เบส เปรียบเทียบ  
ด้วยวิธี multiple alignment โดยโปรแกรม ClustalW แสดงดังนี้

```

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          10          20          30          40          50          60
5      TCTGGAGTCTTTCTTGAGCGAACACATTTCTATCTAAAAATAGAGCATCTTATAGTAGTG
6      TCTGGAGTCTTTCTTGAGCGAACACATTTCTATCTAAAAATAGAGCATCTTATAGTAGTG
1      TCTGGAGTCTTTCTTGAGCGAACACATTTCTATCTAAAAATAGAGCATCTTATAGTAGTG
2      TCTGGAGTCTTTCTTGAGCGAACACATTTCTATCTAAAAATAGAGCATCTTATAGTAGTG
3      TCTGGAGTCTTTCTTGAGCGAACACATTTCTATCTAAAAATAGAGCATCTTATAGTAGTG
4      TCTGGAGTCTTTCTTGAGCGAACACATTTCTATCTAAAAATAGAGCATCTTATAGTAGTG
15     TCTGGAGTCTTTCTTGAGCGAACACATTTCTATCTAAAAATAGAGCATCTTATAGTAGTG
16     TCTGGAGTCTTTCTTGAGCGAACACATTTCTATCTAAAAATAGAGCATCTTATAGTAGTG
14     TCTGGAGTCTTTCTTGAGCGAACACATTTCTATCTAAAAATAGAGCATCTTATAGTAGTG
12     TCTGGAGTCTTTCTTGAGCGAACACATTTCTATCTAAAAATAGAGCATCTTATAGTAGTG
9      TCTGGAGTCTTTCTTGAGCGAACACATTTCTATCTAAAAATAGAGCATCTTATAGTAGTG
10     TCTGGAGTCTTTCTTGAGCGAACACATTTCTATCTAAAAATAGAGCATCTTATAGTAGTG
8      TCTGGAGTCTTTCTTGAGCGAACACATTTCTATCTAAAAATAGAGCATCTTATAGTAGTG
19     TCTGGAGTCTTTCTTGAGCGAACACATTTCTATCTAAAAATAGAGCATCTTATAGTAGTG
11     TCTGGAGTCTTTCTTGAGCGAACACATTTCTATCTAAAAATAGAGCATCTTATAGTAGTG
13     TCTGGAGTCTTTCTTGAGCGAACACATTTCTATCTAAAAATAGAGCATCTTATAGTAGTG
7      TCTGGAGTCTTTCTTGAGCGAACACATTTCTATCTAAAAATAGAGCATCTTATAGTAGTG
20     TCTGGAGTCTTTCTTGAGCGAACACATTTCTATCTAAAAATAGAGCATCTTATAGTAGTG
18     TCTGGAGTCTTTCTTGAGCGAACACATTTCTATCTAAAAATAGAGCATCTTATAGTAGTG
17     TCTGGAGTCTTTCTTGAGCGAACACATTTCTATCTAAAAATAGAGCATCTTATAGTAGTG
*****

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          70          80          90          100         110         120
5      TGTGTAATTCCTTTTCAGAAGATCCTATGCTTTCTCAAGGATACTTTCATGCATTATGTT
6      TGTGTAATTCCTTTTCAGAAGATCCTATGCTTTCTCAAGGATACTTTCATGCATTATGTT
1      TGTGTAATTCCTTTTCAGAAGATCCTATGCTTTCTCAAGGATACTTTCATGCATTATGTT
2      TGTGTAATTCCTTTTCAGAAGATCCTATGCTTTCTCAAGGATACTTTCATGCATTATGTT
3      TGTGTAATTCCTTTTCAGAAGATCCTATGCTTTCTCAAGGATACTTTCATGCATTATGTT
4      TGTGTAATTCCTTTTCAGAAGATCCTATGCTTTCTCAAGGATACTTTCATGCATTATGTT
15     TGTGTAATTCCTTTTCAGAAGATCCTATGCTTTCTCAAGGATACTTTCATGCATTATGTT
16     TGTGTAATTCCTTTTCAGAAGATCCTATGCTTTCTCAAGGATACTTTCATGCATTATGTT
14     TGTGTAATTCCTTTTCAGAAGATCCTATGCTTTCTCAAGGATACTTTCATGCATTATGTT
12     TGTGTAATTCCTTTTCAGAAGATCCTATGCTTTCTCAAGGATACTTTCATGCATTATGTT
9      TGTGTAATTCCTTTTCAGAAGATCCTATGCTTTCTCAAGGATACTTTCATGCATTATGTT
10     TGTGTAATTCCTTTTCAGAAGATCCTATGCTTTCTCAAGGATACTTTCATGCATTATGTT
8      TGTGTAATTCCTTTTCATAAGATCCTATGCTTTCTCAAGGATACTTTCATGCATTATGTT
19     TGTGTAATTCCTTTTCATAAGATCCTATGCTTTCTCAAGGATACTTTCATGCATTATGTT
11     TGTGTAATTCCTTTTCATAAGATCCTATGCTTTCTCAAGGATACTTTCATGCATTATGTT
13     TGTGTAATTCCTTTTCATAAGATCCTATGCTTTCTCAAGGATACTTTCATGCATTATGTT
7      TGTGTAATTCCTTTTCATAAGATCCTATGCTTTCTCAAGGATACTTTCATGCATTATGTT
20     TGTGTAATTCCTTTTCATAAGATCCTATGCTTTCTCAAGGATACTTTCATGCATTATGTT
18     TGTGTAATTCCTTTTCATAAGATCCTATGCTTTCTCAAGGATACTTTCATGCATTATGTT
17     TGTGTAATTCCTTTTCATAAGATCCTATGCTTTCTCAAGGATACTTTCATGCATTATGTT
*****

```

```
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
      130      140      150      160      170      180
5 CGATATCAAGGAAAGGCAATTCTGGCTTCAAAGGGAACCTTATTCTGATGAATAAATGG
6 CGATATCAAGGAAAGGCAATTCTGGCTTCAAAGGGAACCTTATTCTGATGAATAAATGG
1 CGATATCAAGGAAAGGCAATTCTGGCTTCAAAGGGAACCTTATTCTGATGAATAAATGG
2 CGATATCAAGGAAAGGCAATTCTGGCTTCAAAGGGAACCTTATTCTGATGAATAAATGG
3 CGATATCAAGGAAAGGCAATTCTGGCTTCAAAGGGAACCTTATTCTGATGAATAAATGG
4 CGATATCAAGGAAAGGCAATTCTGGCTTCAAAGGGAACCTTATTCTGATGAATAAATGG
15 CGATATCAAGGAAAGGCAATTCTGGCTTCAAAGGGAACCTTATTCTGATGAATAAATGG
16 CGATATCAAGGAAAGGCAATTCTGGCTTCAAAGGGAACCTTATTCTGATGAATAAATGG
14 CGATATCAAGGAAAGGCAATTCTGGCTTCAAAGGGAACCTTATTCTGATGAATAAATGG
12 CGATATCAAGGAAAGGCAATTCTGGCTTCAAAGGGAACCTTATTCTGATGAATAAATGG
9 CGATATCAAGGAAAGGCAATTCTGGCTTCAAAGGGAACCTTATTCTGATGAATAAATGG
10 CGATATCAAGGAAAGGCAATTCTGGCTTCAAAGGGAACCTTATTCTGATGAATAAATGG
8 CGATATCAAGGAAAGGCAATTCTGGCTTCAAAGGGAACCTTATTCTGATGAATAAATGG
19 CGATATCAAGGAAAGGCAATTCTGGCTTCAAAGGGAACCTTATTCTGATGAATAAATGG
11 CGATATCAAGGAAAGGCAATTCTGGCTTCAAAGGGAACCTTATTCTGATGAATAAATGG
13 CGATATCAAGGAAAGGCAATTCTGGCTTCAAAGGGAACCTTATTCTGATGAATAAATGG
7 CGATATCAAGGAAAGGCAATTCTGGCTTCAAAGGGAACCTTATTCTGATGAATAAATGG
20 CGATATCAAGGAAAGGCAATTCTGGCTTCAAAGGGAACCTTATTCTGATGAATAAATGG
18 CGATATCAAGGAAAGGCAATTCTGGCTTCAAAGGGAACCTTATTCTGATGAATAAATGG
17 CGATATCAAGGAAAGGCAATTCTGGCTTCAAAGGGAACCTTATTCTGATGAATAAATGG
*****
```

```
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
      190      200      210      220      230      240
5 AAATTCATCTTGTGAATTTTGGCAATCTTATTTTCACTTTTGGTCTCAACCGTATAGG
6 AAATTCATCTTGTGAATTTTGGCAATCTTATTTTCACTTTTGGTCTCAACCGTATAGG
1 AAATTCATCTTGTGAATTTTGGCAATCTTATTTTCACTTTTGGTCTCAACCGTATAGG
2 AAATTCATCTTGTGAATTTTGGCAATCTTATTTTCACTTTTGGTCTCAACCGTATAGG
3 AAATTCATCTTGTGAATTTTGGCAATCTTATTTTCACTTTTGGTCTCAACCGTATAGG
4 AAATTCATCTTGTGAATTTTGGCAATCTTATTTTCACTTTTGGTCTCAACCGTATAGG
15 AAATTCATCTTGTGAATTTTGGCAATCTTATTTTCACTTTTGGTCTCAACCGTATAGG
16 AAATTCATCTTGTGAATTTTGGCAATCTTATTTTCACTTTTGGTCTCAACCGTATAGG
14 AAATTCATCTTGTGAATTTTGGCAATCTTATTTTCACTTTTGGTCTCAACCGTATAGG
12 AAATTCATCTTGTGAATTTTGGCAATCTTATTTTCACTTTTGGTCTCAACCGTATAGG
9 AAATTCATCTTGTGAATTTTGGCAATCTTATTTTCACTTTTGGTCTCAACCGTATAGG
10 AAATTCATCTTGTGAATTTTGGCAATCTTATTTTCACTTTTGGTCTCAACCGTATAGG
8 AAATTCATCTTGTGAATTTTGGCAATCTTATTTTCACTTTTGGTCTCAACCGTATAGG
19 AAATTCATCTTGTGAATTTTGGCAATCTTATTTTCACTTTTGGTCTCAACCGTATAGG
11 AAATTCATCTTGTGAATTTTGGCAATCTTATTTTCACTTTTGGTCTCAACCGTATAGG
13 AAATTCATCTTGTGAATTTTGGCAATCTTATTTTCACTTTTGGTCTCAACCGTATAGG
7 AAATTCATCTTGTGAATTTTGGCAATCTTATTTTCACTTTTGGTCTCAACCGTATAGG
20 AAATTCATCTTGTGAATTTTGGCAATCTTATTTTCACTTTTGGTCTCAACCGTATAGG
18 AAATTCATCTTGTGAATTTTGGCAATCTTATTTTCACTTTTGGTCTCAACCGTATAGG
17 AAATTCATCTTGTGAATTTTGGCAATCTTATTTTCACTTTTGGTCTCAACCGTATAGG
*****
```

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|  
                  250          260          270          280          290          300  
5 ATCCATATAAAGCAATTATCCAACCTATTCCTTCTCTTTTCTGGGGTATTTTTCAAGTGTA  
6 ATCCATATAAAGCAATTATCCAACCTATTCCTTCTCTTTTCTGGGGTATTTTTCAAGTGTA  
1 ATCCATATAAAGCAATTATCCAACCTATTCCTTCTCTTTTCTGGGGTATTTTTCAAGTGTA  
2 ATCCATATAAAGCAATTATCCAACCTATTCCTTCTCTTTTCTGGGGTATTTTTCAAGTGTA  
3 ATCCATATAAAGCAATTATCCAACCTATTCCTTCTCTTTTCTGGGGTATTTTTCAAGTGTA  
4 ATCCATATAAAGCAATTATCCAACCTATTCCTTCTCTTTTCTGGGGTATTTTTCAAGTGTA  
15 ATCCATATAAAGCAATTATCCAACCTATTCCTTCTCTTTTCTGGGGTATTTTTCAAGTGTA  
16 ATCCATATAAAGCAATTATCCAACCTATTCCTTCTCTTTTCTGGGGTATTTTTCAAGTGTA  
14 ATCCATATAAAGCAATTATCCAACCTATTCCTTCTCTTTTCTGGGGTATTTTTCAAGTGTA  
12 ATCCATATAAAGCAATTATCCAACCTATTCCTTCTCTTTTCTGGGGTATTTTTCAAGTGTA  
9 ATCCATATAAAGCAATTATCCAACCTATTCCTTCTCTTTTCTGGGGTATTTTTCAAGTGTA  
10 ATCCATATAAAGCAATTATCCAACCTATTCCTTCTCTTTTCTGGGGTATTTTTCAAGTGTA  
8 ATCCATATAAAGCAATTATCCAACCTATTCCTTCTCTTTTCTGGGGTATTTTTCAAGTGTA  
19 ATCCATATAAAGCAATTATCCAACCTATTCCTTCTCTTTTCTGGGGTATTTTTCAAGTGTA  
11 ATCCATATAAAGCAATTATCCAACCTATTCCTTCTCTTTTCTGGGGTATTTTTCAAGTGTA  
13 ATCCATATAAAGCAATTATCCAACCTATTCCTTCTCTTTTCTGGGGTATTTTTCAAGTGTA  
7 ATCCATATAAAGCAATTATCCAACCTATTCCTTCTCTTTTCTGGGGTATTTTTCAAGTGTA  
20 ATCCATATAAAGCAATTATCCAACCTATTCCTTCTCTTTTCTGGGGTATTTTTCAAGTGTA  
18 ATCCATATAAAGCAATTATCCAACCTATTCCTTCTCTTTTCTGGGGTATTTTTCAAGTGTA  
17 ATCCATATAAAGCAATTATCCAACCTATTCCTTCTCTTTTCTGGGGTATTTTTCAAGTGTA  
\*\*\*\*\*

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|  
                  310          320          330          340          350          360  
5 CTAGAAAATCATTTCGTAGTAAGAAATAAAATGCTAGAGAATTCATTTATAATAAAATATT  
6 CTAGAAAATCATTTCGTAGTAAGAAATAAAATGCTAGAGAATTCATTTATAATAAAATATT  
1 CTAGAAAATCATTTCGTAGTAAGAAATAAAATGCTAGAGAATTCATTTATAATAAAATATT  
2 CTAGAAAATCATTTCGTAGTAAGAAATAAAATGCTAGAGAATTCATTTATAATAAAATATT  
3 CTAGAAAATCATTTCGTAGTAAGAAATAAAATGCTAGAGAATTCATTTATAATAAAATATT  
4 CTAGAAAATCATTTCGTAGTAAGAAATAAAATGCTAGAGAATTCATTTATAATAAAATATT  
15 CTAGAAAATCATTTCGTAGTAAGAAATAAAATGCTAGAGAATTCATTTATAATAAAATATT  
16 CTAGAAAATCATTTCGTAGTAAGAAATAAAATGCTAGAGAATTCATTTATAATAAAATATT  
14 CTAGAAAATCATTTCGTAGTAAGAAATAAAATGCTAGAGAATTCATTTATAATAAAATATT  
12 CTAGAAAATCATTTCGTAGTAAGAAATAAAATGCTAGAGAATTCATTTATAATAAAATATT  
9 CTAGAAAATCATTTCGTAGTAAGAAATAAAATGCTAGAGAATTCATTTATAATAAAATATT  
10 CTAGAAAATCATTTCGTAGTAAGAAATAAAATGCTAGAGAATTCATTTATAATAAAATATT  
8 CTAGAAAATCATTTCGTAGTAAGAAATAAAATGCTAGAGAATTCATTTATAATAAAATATT  
19 CTAGAAAATCATTTCGTAGTAAGAAATAAAATGCTAGAGAATTCATTTATAATAAAATATT  
11 CTAGAAAATCATTTCGTAGTAAGAAATAAAATGCTAGAGAATTCATTTATAATAAAATATT  
13 CTAGAAAATCATTTCGTAGTAAGAAATAAAATGCTAGAGAATTCATTTATAATAAAATATT  
7 CTAGAAAATCATTTCGTAGTAAGAAATAAAATGCTAGAGAATTCATTTATAATAAAATATT  
20 CTAGAAAATCATTTCGTAGTAAGAAATAAAATGCTAGAGAATTCATTTATAATAAAATATT  
18 CTAGAAAATCATTTCGTAGTAAGAAATAAAATGCTAGAGAATTCATTTATAATAAAATATT  
17 CTAGAAAATCATTTCGTAGTAAGAAATAAAATGCTAGAGAATTCATTTATAATAAAATATT  
\*\*\*\*\*

```
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          370      380      390      400      410      420
5 ATGACTCATAGATTATATACCATAGTCCCAGTCATGTCTCTTATTGGATCATTGTCGAAA
6 ATGACTCATAGATTATATACCATAGTCCCAGTCATGTCTCTTATTGGATCATTGTCGAAA
1 ATGACTCATAGATTATATACCATAGTCCCAGTCATGTCTCTTATTGGATCATTGTCGAAA
2 ATGACTCATAGATTATATACCATAGTCCCAGTCATGTCTCTTATTGGATCATTGTCGAAA
3 ATGACTCATAGATTATATACCATAGTCCCAGTCATGTCTCTTATTGGATCATTGTCGAAA
4 ATGACTCATAGATTATATACCATAGTCCCAGTCATGTCTCTTATTGGATCATTGTCGAAA
15 ATGACTCATAGATTATATACCATAGTCCCAGTCATGTCTCTTATTGGATCATTGTCGAAA
16 ATGACTCATAGATTATATACCATAGTCCCAGTCATGTCTCTTATTGGATCATTGTCGAAA
14 ATGACTCATAGATTATATACCATAGTCCCAGTCATGTCTCTTATTGGATCATTGTCGAAA
12 ATGACTCATAGATTATATACCATAGTCCCAGTCATGTCTCTTATTGGATCATTGTCGAAA
9 ATGACTCATAGATTATATACCATAGTCCCAGTCATGTCTCTTATTGGATCATTGTCGAAA
10 ATGACTCATAGATTATATACCATAGTCCCAGTCATGTCTCTTATTGGATCATTGTCGAAA
8 ATGACTCATAGATTATATACCATAGTCCCAGTCATGTCTCTTATTGGATCATTGTCGAAA
19 ATGACTCATAGATTATATACCATAGTCCCAGTCATGTCTCTTATTGGATCATTGTCGAAA
11 ATGACTCATAGATTATATACCATAGTCCCAGTCATGTCTCTTATTGGATCATTGTCGAAA
13 ATGACTCATAGATTATATACCATAGTCCCAGTCATGTCTCTTATTGGATCATTGTCGAAA
7 ATGACTCATAGATTATATACCATAGTCCCAGTCATGTCTCTTATTGGATCATTGTCGAAA
20 ATGACTCATAGATTATATACCATAGTCCCAGTCATGTCTCTTATTGGATCATTGTCGAAA
18 ATGACTCATAGATTATATACCATAGTCCCAGTCATGTCTCTTATTGGATCATTGTCGAAA
17 ATGACTCATAGATTATACACCATAGTCCCAGTCATGTCTCTTATTGGATCATTGTCGAAA
** *****
```

```
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          430      440      450      460      470      480
5 GCTCAATTTTGTACTGTATTGGGTCATCCTATTAGTAAACCGATCTGGACCGATTTATCG
6 GCTCAATTTTGTACTGTATTGGGTCATCCTATTAGTAAACCGATCTGGACCGATTTATCG
1 GCTCAATTTTGTACTGTATTGGGTCATCCTATTAGTAAACCGATCTGGACCGATTTATCG
2 GCTCAATTTTGTACTGTATTGGGTCATCCTATTAGTAAACCGATCTGGACCGATTTATCG
3 GCTCAATTTTGTACTGTATTGGGTCATCCTATTAGTAAACCGATCTGGACCGATTTATCG
4 GCTCAATTTTGTACTGTATTGGGTCATCCTATTAGTAAACCGATCTGGACCGATTTATCG
15 GCTCAATTTTGTACTGTATTGGGTCATCCTATTAGTAAACCGATCTGGACCGATTTATCG
16 GCTCAATTTTGTACTGTATTGGGTCATCCTATTAGTAAACCGATCTGGACCGATTTATCG
14 GCTCAATTTTGTACTGTATTGGGTCATCCTATTAGTAAACCGATCTGGACCGATTTATCG
12 GCTCAATTTTGTACTGTATTGGGTCATCCTATTAGTAAACCGATCTGGACCGATTTATCG
9 GCTCAATTTTGTACTGTATTGGGTCATCCTATTAGTAAACCGATCTGGACCGATTTATCG
10 GCTCAATTTTGTACTGTATTGGGTCATCCTATTAGTAAACCGATCTGGACCGATTTATCG
8 GCTCAATTTTGTACTGTATTGGGTCATCCTATTAGTAAACCGATCTGGACCGATTTATCG
19 GCTCAATTTTGTACTGTATTGGGTCATCCTATTAGTAAACCGATCTGGACCGATTTATCG
11 GCTCAATTTTGTACTGTATTGGGTCATCCTATTAGTAAACCGATCTGGACCGATTTATCG
13 GCTCAATTTTGTACTGTATTGGGTCATCCTATTAGTAAACCGATCTGGACCGATTTATCG
7 GCTCAATTTTGTACTGTATTGGGTCATCCTATTAGTAAACCGATCTGGACCGATTTATCG
20 GCTCAATTTTGTACTGTATTGGGTCATCCTATTAGTAAACCGATCTGGACCGATTTATCG
18 GCTCAATTTTGTACTGTATTGGGTCATCCTATTAGTAAACCGATCTGGACCGATTTATCG
17 GCTCAATTTTGTACTGTATTGGGTCATCCTATTAGTAAACCGATCTGGACCGATTTATCG
*****
```

```
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
      490      500      510      520      530      540
5 GATTCTGATATTATTGATCGATTTTCCCGGATATGTAGAAATCTTTGTCGTTATCACAGT
6 GATTCTGATATTATTGATCGATTTTCCCGGATATGTAGAAATCTTTGTCGTTATCACAGT
1 GATTCTGATATTATTGATCGATTTTCCCGGATATGTAGAAATCTTTGTCGTTATCACAGT
2 GATTCTGATATTATTGATCGATTTTCCCGGATATGTAGAAATCTTTGTCGTTATCACAGT
3 GATTCTGATATTATTGATCGATTTTCCCGGATATGTAGAAATCTTTGTCGTTATCACAGT
4 GATTCTGATATTATTGATCGATTTTCCCGGATATGTAGAAATCTTTGTCGTTATCACAGT
15 GATTCTGATATTATTGATCGATTTTCCCGGATATGTAGAAATCTTTGTCGTTATCACAGT
16 GATTCTGATATTATTGATCGATTTTCCCGGATATGTAGAAATCTTTGTCGTTATCACAGT
14 GATTCTGATATTATTGATCGATTTTCCCGGATATGTAGAAATCTTTGTCGTTATCACAGT
12 GATTCTGATATTATTGATCGATTTTCCCGGATATGTAGAAATCTTTGTCGTTATCACAGT
9 GATTCTGATATTATTGATCGATTTTCCCGGATATGTAGAAATCTTTGTCGTTATCACAGT
10 GATTCTGATATTATTGATCGATTTTCCCGGATATGTAGAAATCTTTGTCGTTATCACAGT
8 GATTCTGATATTATTGATCGATTTTCCCGGATATGTAGAAATCTTTGTCGTTATCACAGT
19 GATTCTGATATTATTGATCGATTTTCCCGGATATGTAGAAATCTTTGTCGTTATCACAGT
11 GATTCTGATATTATTGATCGATTTTCCCGGATATGTAGAAATCTTTGTCGTTATCACAGT
13 GATTCTGATATTATTGATCGATTTTCCCGGATATGTAGAAATCTTTGTCGTTATCACAGT
7 GATTCTGATATTATTGATCGATTTTCCCGGATATGTAGAAATCTTTGTCGTTATCACAGT
20 GATTCTGATATTATTGATCGATTTTCCCGGATATGTAGAAATCTTTGTCGTTATCACAGT
18 GATTCTGATATTATTGATCGATTTTCCCGGATATGTAGAAATCTTTGTCGTTATCACAGT
17 GATTCTGATATTATTGATCGATTTTCCCGGATATGTAGAAATCTTTGTCGTTATCACAGT
*****
```

```
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
      550      560      570      580      590      600
5 GGATCCTCAAAAAAACAGGTTTTGTATCGTATAAAGTATATACTTCGACTTTCTTGTGCT
6 GGATCCTCAAAAAAACAGGTTTTGTATCGTATAAAGTATATACTTCGACTTTCTTGTGCT
1 GGATCCTCAAAAAAACAGGTTTTGTATCGTATAAAGTATATACTTCGACTTTCTTGTGCT
2 GGATCCTCAAAAAAACAGGTTTTGTATCGTATAAAGTATATACTTCGACTTTCTTGTGCT
3 GGATCCTCAAAAAAACAGGTTTTGTATCGTATAAAGTATATACTTCGACTTTCTTGTGCT
4 GGATCCTCAAAAAAACAGGTTTTGTATCGTATAAAGTATATACTTCGACTTTCTTGTGCT
15 GGATCCTCAAAAAAACAGGTTTTGTATCGTATAAAGTATATACTTCGACTTTCTTGTGCT
16 GGATCCTCAAAAAAACAGGTTTTGTATCGTATAAAGTATATACTTCGACTTTCTTGTGCT
14 GGATCCTCAAAAAAACAGGTTTTGTATCGTATAAAGTATATACTTCGACTTTCTTGTGCT
12 GGATCCTCAAAAAAACAGGTTTTGTATCGTATAAAGTATATACTTCGACTTTCTTGTGCT
9 GGATCCTCAAAAAAACAGGTTTTGTATCGTATAAAGTATATACTTCGACTTTCTTGTGCT
10 GGATCCTCAAAAAAACAGGTTTTGTATCGTATAAAGTATATACTTCGACTTTCTTGTGCT
8 GGATCCTCAAAAAAACAGGTTTTGTATCGTATAAAGTATATACTTCGACTTTCTTGTGCT
19 GGATCCTCAAAAAAACAGGTTTTGTATCGTATAAAGTATATACTTCGACTTTCTTGTGCT
11 GGATCCTCAAAAAAACAGGTTTTGTATCGTATAAAGTATATACTTCGACTTTCTTGTGCT
13 GGATCCTCAAAAAAACAGGTTTTGTATCGTATAAAGTATATACTTCGACTTTCTTGTGCT
7 GGATCCTCAAAAAAACAGGTTTTGTATCGTATAAAGTATATACTTCGACTTTCTTGTGCT
20 GGATCCTCAAAAAAACAGGTTTTGTATCGTATAAAGTATATACTTCGACTTTCTTGTGCT
18 GGATCCTCAAAAAAACAGGTTTTGTATCGTATAAAGTATATACTTCGACTTTCTTGTGCT
17 GGATCCTCAAAAAAACAGGTTTTGTATCGTATAAAGTATATACTTCGACTTTCTTGTGCT
*****
```

```

        . . . . |
        605
5      AGAAC
6      AGAAC
1      AGAAC
2      AGAAC
3      AGAAC
4      AGAAC
15     AGAAC
16     AGAAC
14     AGAAC
12     AGAAC
9      AGAAC
10     AGAAC
8      AGAAC
19     AGAAC
11     AGAAC
13     AGAAC
7      AGAAC
20     AGAAC
18     AGAAC
17     AGAAC

        * * * * *

```

ภาพที่ 4.44 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *matK* [1-20 คือ กล้ายไม้รองเท้านารี ได้แก่ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์คอดแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารีเหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม (8) รองเท้านารีไพรมุเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารี เมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุม (15) รองเท้านารีเฮเลน (16) รองเท้านารีทรานเลียนอนุม (17) รองเท้านารีแพรสแทนส์ (18) รองเท้านารีฟิลิปปินส์เอนซิส (19) รองเท้านารีซูปาร์ดิโอ และ (20) รองเท้านารีกล้วยโคไฟลลุม (รูปแบบการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์   คือ อินเดล (Indel)   คือ ทรานสเวอร์ชัน   คือ ไพริมิดีนทรานสิชัน   คือ พิวรีนทรานสิชัน   คือ แบบผสม)]



ตารางที่ 4.2 ตำแหน่งของนิวคลีโอไทด์ ยีน *matK* ที่เกิดความหลากหลาย

ตำแหน่ง นิวคลีโอไทด์	ชนิดกล้วยไม้ *	รูปแบบการ เปลี่ยนแปลง	รูปแบบการกลาย
34	11, 13	G เป็น A	พิวรีนทรานสิชัน
78	7, 8, 11, 13, 17, 18, 19, 20	G เป็น T	ทรานสเวอร์ชัน
96	17	C เป็น A	ทรานสเวอร์ชัน
186	10	T เป็น G	ทรานสเวอร์ชัน
193	11, 13	G เป็น T	ทรานสเวอร์ชัน
315	5	G เป็น T	ทรานสเวอร์ชัน
349	1, 2, 3, 4, 9, 10, 12, 14, 15, 16	A เป็น C	ทรานสเวอร์ชัน
363	7, 17, 18, 20	G เป็น A	พิวรีนทรานสิชัน
378	17	T เป็น C	ไพริมิดีนทรานสิชัน
390	7	A เป็น C	ทรานสเวอร์ชัน
500	17	G เป็น T	ทรานสเวอร์ชัน
506	17	G เป็น T	ทรานสเวอร์ชัน
556	17	C เป็น A	ทรานสเวอร์ชัน

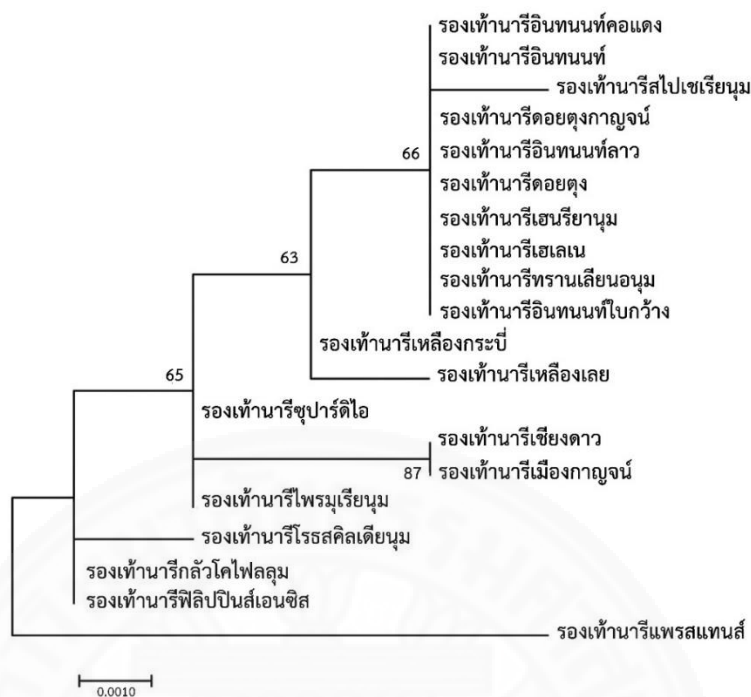
\*1-20 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารีเหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสคิลเดียนูม (8) รองเท้านารีไพรมูเรียนูม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนูม (11) รองเท้านารี เมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานูม (15) รองเท้านารีเฮเลน (16) รองเท้านารีทรานเทียนอนูม (17) รองเท้านารีแพรสแทนส์ (18) รองเท้านารีฟิลิปปินส์เอนซิส (19) รองเท้านารีซูปาร์ดีไอ และ (20) รองเท้านารีกล้วยโคไฟลุ่ม

ตารางที่ 4.3 ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนของยีน *matK*

ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์	ชนิดกล้วยไม้*	รูปแบบการเปลี่ยนแปลงของนิวคลีโอไทด์	การเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโน
34	11, 13	G เป็น A	Val เป็น Ile
78	7, 8, 11, 13, 17, 18, 19, 20	G เป็น T	Gly เป็น His
186	10	T เป็น G	Phe เป็น Leu
193	11, 13	G เป็น T	Val เป็น Ile
315	5	G เป็น T	Leu เป็น Phe
349	1, 2, 3, 4, 9, 10, 12, 14, 15, 16	A เป็น C	Ile เป็น Leu
363	7, 17, 18, 20	G เป็น A	Met เป็น Ile
500	17	G เป็น T	Arg เป็น Leu
506	17	G เป็น T	Cys เป็น Phe
556	17	C เป็น A	Gln เป็น Lys

\*1-20 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารีเหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระปี่ (7) รองเท้านารีโรสคิลเดียนุ่ม (8) รองเท้านารีไพรมูเรียนุ่ม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุ่ม (11) รองเท้านารี เมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุ่ม (15) รองเท้านารีเฮเลน (16) รองเท้านารีทรานเลียนน่ม (17) รองเท้านารีแพรสแทนส์ (18) รองเท้านารีฟิลิปปินส์เอนซิส (19) รองเท้านารีซูปาร์ดีไอ และ (20) รองเท้านารีกล้วยโคไฟลุ่ม





ภาพที่ 4.46 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีวิเคราะห์จากยีน *matK* สร้างโดยวิธี maximum likelihood

จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ยีน *matK* ด้วยโปรแกรม MEGA รุ่น 7 พบค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี จำนวน 20 ชนิด เท่ากับ 0.000-0.015 (ภาพที่ 4.45) พบตำแหน่งการเปลี่ยนแปลงลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมด 13 ตำแหน่ง มี 3 รูปแบบ คือ พิวรีนทรานสิชัน ทรานสเวอร์ชัน และไพริมิดีนทรานสิชัน (ตารางที่ 4.2) และพบการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนทั้งหมด 10 ตำแหน่ง (ตารางที่ 4.3) เมื่อสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีทั้ง 20 ชนิด โดยใช้วิธี maximum likelihood (ภาพที่ 4.46) พบว่าสามารถจำแนกรองเท้านารีออกได้ 7 ชนิด ได้แก่ รองเท้านารีสไปเซเรียนุม รองเท้านารีเหลืองกระบี่ รองเท้านารีเหลืองเลย รองเท้านารีซูปาร์ดิโอ รองเท้านารีไพรมูเรียนุม รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม และรองเท้านารีแพรสแทนส์ นอกจากนี้สามารถจัดกลุ่มกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี สกุลย่อย *Paphiopedilum* เป็นกลุ่มเดียวกันได้ ได้แก่ รองเท้านารีอินทนนท์คอแดง รองเท้านารีอินทนนท์ รองเท้านารีสไปเซเรียนุม รองเท้านารีคอยตุงกาญจน์ รองเท้านารีอินทนนท์ลาว รองเท้านารีคอยตุง รองเท้านารีเฮนรียานุม รองเท้านารีเฮลเลน รองเท้านารีทรานเลียนอนุม รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง รองเท้านารีเหลืองกระบี่ และรองเท้านารีเหลืองเลย

#### 4.4.2.2 บริเวณยีน *rbcL*

บริเวณยีน *rbcL* มีลำดับนิวคลีโอไทด์ 663 คู่เบส เปรียบเทียบด้วย

วิธี multiple alignment โดยโปรแกรม ClustalW แสดงดังนี้

```

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          10          20          30          40          50          60
8      TCACCACAAAACAGAAACTAAAGCAAGCGTCGGATTTAAAGCTGGTGTAAAGATTACAAA
17     TCACCACAAAACAGAAACTAAAGCAAGCGTCGGATTTAAAGCTGGTGTAAAGATTACAAA
1      TCACCACAAAACAGAAACTAAAGCAAGCGTCGGATTTAAAGCTGGTGTAAAGATTACAAA
2      TCACCACAAAACAGAAACTAAAGCAAGCGTCGGATTTAAAGCTGGTGTAAAGATTACAAA
3      TCACCACAAAACAGAAACTAAAGCAAGCGTCGGATTTAAAGCTGGTGTAAAGATTACAAA
4      TCACCACAAAACAGAAACTAAAGCAAGCGTCGGATTTAAAGCTGGTGTAAAGATTACAAA
5      TCACCACAAAACAGAAACTAAAGCAAGCGTCGGATTTAAAGCTGGTGTAAAGATTACAAA
6      TCACCACAAAACAGAAACTAAAGCAAGCGTCGGATTTAAAGCTGGTGTAAAGATTACAAA
7      TCACCACAAAACAGAAACTAAAGCAAGCGTCGGATTTAAAGCTGGTGTAAAGATTACAAA
9      TCACCACAAAACAGAAACTAAAGCAAGCGTCGGATTTAAAGCTGGTGTAAAGATTACAAA
10     TCACCACAAAACAGAAACTAAAGCAAGCGTCGGATTTAAAGCTGGTGTAAAGATTACAAA
11     TCACCACAAAACAGAAACTAAAGCAAGCGTCGGATTTAAAGCTGGTGTAAAGATTACAAA
12     TCACCACAAAACAGAAACTAAAGCAAGCGTCGGATTTAAAGCTGGTGTAAAGATTACAAA
13     TCACCACAAAACAGAAACTAAAGCAAGCGTCGGATTTAAAGCTGGTGTAAAGATTACAAA
14     TCACCACAAAACAGAAACTAAAGCAAGCGTCGGATTTAAAGCTGGTGTAAAGATTACAAA
15     TCACCACAAAACAGAAACTAAAGCAAGCGTCGGATTTAAAGCTGGTGTAAAGATTACAAA
16     TCACCACAAAACAGAAACTAAAGCAAGCGTCGGATTTAAAGCTGGTGTAAAGATTACAAA
18     TCACCACAAAACAGAAACTAAAGCAAGCGTCGGATTTAAAGCTGGTGTAAAGATTACAAA
20     TCACCACAAAACAGAAACTAAAGCAAGCGTCGGATTTAAAGCTGGTGTAAAGATTACAAA
19     TCACCACAAAACAGAAACTAAAGCAAGCGTCGGATTTAAAGCTGGTGTAAAGATTACAAA
*****

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          70          80          90          100         110         120
8      TTGACTTATTATACTCCTGACTACGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGA
17     TTGACTTATTATACTCCTGACTACGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGA
1      TTGACTTATTATACTCCTGACTACGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGA
2      TTGACTTATTATACTCCTGACTACGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGA
3      TTGACTTATTATACTCCTGACTACGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGA
4      TTGACTTATTATACTCCTGACTACGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGA
5      TTGACTTATTATACTCCTGACTACGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGA
6      TTGACTTATTATACTCCTGACTACGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGA
7      TTGACTTATTATACTCCTGACTACGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGA
9      TTGACTTATTATACTCCTGACTACGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGA
10     TTGACTTATTATACTCCTGACTACGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGA
11     TTGACTTATTATACTCCTGACTACGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGA
12     TTGACTTATTATACTCCTGACTACGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGA
13     TTGACTTATTATACTCCTGACTACGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGA
14     TTGACTTATTATACTCCTGACTACGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGA
15     TTGACTTATTATACTCCTGACTACGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGA
16     TTGACTTATTATACTCCTGACTACGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGA
18     TTGACTTATTATACTCCTGACTACGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGA
20     TTGACTTATTATACTCCTGACTACGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGA
19     TTGACTTATTATACTCCTGACTACGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGA
*****

```

```

      ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
      130      140      150      160      170      180
8      GTAACTCCTCAACCGGGAGTTCCGCCTGAAGAAGCAGGGGCTGCGGTAGCTGCCGAATCT
17     GTAACTCCTCAACCGGGAGTTCCGCCTGAAGAAGCAGGGGCTGCGGTAGCTGCCGAATCT
1      GTAACTCCTCAACCGGGAGTTCCGCCTGAAGAAGCAGGGGCTGCGGTAGCTGCCGAATCT
2      GTAACTCCTCAACCGGGAGTTCCGCCTGAAGAAGCAGGGGCTGCGGTAGCTGCCGAATCT
3      GTAACTCCTCAACCGGGAGTTCCGCCTGAAGAAGCAGGGGCTGCGGTAGCTGCCGAATCT
4      GTAACTCCTCAACCGGGAGTTCCGCCTGAAGAAGCAGGGGCTGCGGTAGCTGCCGAATCT
5      GTAACTCCTCAACCGGGAGTTCCGCCTGAAGAAGCAGGGGCTGCGGTAGCTGCCGAATCT
6      GTAACTCCTCAACCGGGAGTTCCGCCTGAAGAAGCAGGGGCTGCGGTAGCTGCCGAATCT
7      GTAACTCCTCAACCGGGAGTTCCGCCTGAAGAAGCAGGGGCTGCGGTAGCTGCCGAATCT
9      GTAACTCCTCAACCGGGAGTTCCGCCTGAAGAAGCAGGGGCTGCGGTAGCTGCCGAATCT
10     GTAACTCCTCAACCGGGAGTTCCGCCTGAAGAAGCAGGGGCTGCGGTAGCTGCCGAATCT
11     GTAACTCCTCAACCGGGAGTTCCGCCTGAAGAAGCAGGGGCTGCGGTAGCTGCCGAATCT
12     GTAACTCCTCAACCGGGAGTTCCGCCTGAAGAAGCAGGGGCTGCGGTAGCTGCCGAATCT
13     GTAACTCCTCAACCGGGAGTTCCGCCTGAAGAAGCAGGGGCTGCGGTAGCTGCCGAATCT
14     GTAACTCCTCAACCGGGAGTTCCGCCTGAAGAAGCAGGGGCTGCGGTAGCTGCCGAATCT
15     GTAACTCCTCAACCGGGAGTTCCGCCTGAAGAAGCAGGGGCTGCGGTAGCTGCCGAATCT
16     GTAACTCCTCAACCGGGAGTTCCGCCTGAAGAAGCAGGGGCTGCGGTAGCTGCCGAATCT
18     GTAACTCCTCAACCGGGAGTTCCGCCTGAAGAAGCAGGGGCTGCGGTAGCTGCCGAATCT
20     GTAACTCCTCAACCGGGAGTTCCGCCTGAAGAAGCAGGGGCTGCGGTAGCTGCCGAATCT
19     GTAACTCCTCAACCGGGAGTTCCGCCTGAAGAAGCAGGGGCTGCGGTAGCTGCCGAATCT
      *****

```

```

      ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
      190      200      210      220      230      240
8      TCTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACTGATGGACTTACCAGTCTTGATCGTTACAAA
17     TCTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACTGATGGACTTACCAGTCTTGATCGTTACAAA
1      TCTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACTGATGGACTTACCAGTCTTGATCGTTACAAA
2      TCTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACTGATGGACTTACCAGTCTTGATCGTTACAAA
3      TCTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACTGATGGACTTACCAGTCTTGATCGTTACAAA
4      TCTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACTGATGGACTTACCAGTCTTGATCGTTACAAA
5      TCTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACTGATGGACTTACCAGTCTTGATCGTTACAAA
6      TCTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACTGATGGACTTACCAGTCTTGATCGTTACAAA
7      TCTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACTGATGGACTTACCAGTCTTGATCGTTACAAA
9      TCTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACTGATGGACTTACCAGTCTTGATCGTTACAAA
10     TCTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACTGATGGACTTACCAGTCTTGATCGTTACAAA
11     TCTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACTGATGGACTTACCAGTCTTGATCGTTACAAA
12     TCTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACTGATGGACTTACCAGTCTTGATCGTTACAAA
13     TCTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACTGATGGACTTACCAGTCTTGATCGTTACAAA
14     TCTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACTGATGGACTTACCAGTCTTGATCGTTACAAA
15     TCTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACTGATGGACTTACCAGTCTTGATCGTTACAAA
16     TCTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACTGATGGACTTACCAGTCTTGATCGTTACAAA
18     TCTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACTGATGGACTTACCAGTCTTGATCGTTACAAA
20     TCTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACTGATGGACTTACCAGTCTTGATCGTTACAAA
19     TCTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACTGATGGACTTACCAGTCTTGATCGTTACAAA
      *****

```

```

      ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
      250      260      270      280      290      300
8      GGACGATGCTACCACATCGAAGCCGTTGTTGGAGAGGAAAAATCAATATATTGCTTATGTA
17     GGACGATGCTACCACATCGAAGCCGTTGTTGGAGAGGAAAAATCAATATATTGCTTATGTA
1      GGACGATGCTACCACATCGAAGCCGTTGTTGGAGAGGAAAAATCAATATATTGCTTATGTA
2      GGACGATGCTACCACATCGAAGCCGTTGTTGGAGAGGAAAAATCAATATATTGCTTATGTA
3      GGACGATGCTACCACATCGAAGCCGTTGTTGGAGAGGAAAAATCAATATATTGCTTATGTA
4      GGACGATGCTACCACATCGAAGCCGTTGTTGGAGAGGAAAAATCAATATATTGCTTATGTA
5      GGACGATGCTACCACATCGAAGCCGTTGTTGGAGAGGAAAAATCAATATATTGCTTATGTA
6      GGACGATGCTACCACATCGAAGCCGTTGTTGGAGAGGAAAAATCAATATATTGCTTATGTA
7      GGACGATGCTACCACATCGAAGCCGTTGTTGGAGAGGAAAAATCAATATATTGCTTATGTA
9      GGACGATGCTACCACATCGAAGCCGTTGTTGGAGAGGAAAAATCAATATATTGCTTATGTA
10     GGACGATGCTACCACATCGAAGCCGTTGTTGGAGAGGAAAAATCAATATATTGCTTATGTA
11     GGACGATGCTACCACATCGAAGCCGTTGTTGGAGAGGAAAAATCAATATATTGCTTATGTA
12     GGACGATGCTACCACATCGAAGCCGTTGTTGGAGAGGAAAAATCAATATATTGCTTATGTA
13     GGACGATGCTACCACATCGAAGCCGTTGTTGGAGAGGAAAAATCAATATATTGCTTATGTA
14     GGACGATGCTACCACATCGAAGCCGTTGTTGGAGAGGAAAAATCAATATATTGCTTATGTA
15     GGACGATGCTACCACATCGAAGCCGTTGTTGGAGAGGAAAAATCAATATATTGCTTATGTA
16     GGACGATGCTACCACATCGAAGCCGTTGTTGGAGAGGAAAAATCAATATATTGCTTATGTA
18     GGACGATGCTACCACATCGAAGCCGTTGTTGGAGAGGAAAAATCAATATATTGCTTATGTA
20     GGACGATGCTACCACATCGAAGCCGTTGTTGGAGAGGAAAAATCAATATATTGCTTATGTA
19     GGACGATGCTACCACATCGAAGCCGTTGTTGGAGAGGAAAAATCAATATATTGCTTATGTA
      *****

```

```

      ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
      310      320      330      340      350      360
8      GCTTATCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTG
17     GCTTATCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTG
1      GCTTATCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTG
2      GCTTATCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTG
3      GCTTATCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTG
4      GCTTATCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTG
5      GCTTATCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTG
6      GCTTATCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTG
7      GCTTATCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTG
9      GCTTATCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTG
10     GCTTATCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTG
11     GCTTATCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTG
12     GCTTATCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTG
13     GCTTATCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTG
14     GCTTATCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTG
15     GCTTATCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTG
16     GCTTATCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTG
18     GCTTATCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTG
20     GCTTATCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTG
19     GCTTATCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTG
      *****

```



```

      ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
      370      380      390      400      410      420
8  GGTAATGTATTTGGTTTCAAAGCCCTGCGAGCTCTACGTCTGGAAGATCTACGAATTCCC
17 GGTAATGTATTTGGTTTCAAAGCCCTGCGAGCTCTACGTCTGGAAGATCTACGAATTCCC
1  GGTAATGTATTTGGTTTCAAAGCCCTGCGAGCTCTACGTCTGGAAGATCTACGAATTCCC
2  GGTAATGTATTTGGTTTCAAAGCCCTGCGAGCTCTACGTCTGGAAGATCTACGAATTCCC
3  GGTAATGTATTTGGTTTCAAAGCCCTGCGAGCTCTACGTCTGGAAGATCTACGAATTCCC
4  GGTAATGTATTTGGTTTCAAAGCCCTGCGAGCTCTACGTCTGGAAGATCTACGAATTCCC
5  GGTAATGTATTTGGTTTCAAAGCCCTGCGAGCTCTACGTCTGGAAGATCTACGAATTCCC
6  GGTAATGTATTTGGTTTCAAAGCCCTGCGAGCTCTACGTCTGGAAGATCTACGAATTCCC
7  GGTAATGTATTTGGTTTCAAAGCCCTGCGAGCTCTACGTCTGGAAGATCTACGAATTCCC
9  GGTAATGTATTTGGTTTCAAAGCCCTGCGAGCTCTACGTCTGGAAGATCTACGAATTCCC
10 GGTAATGTATTTGGTTTCAAAGCCCTGCGAGCTCTACGTCTGGAAGATCTACGAATTCCC
11 GGTAATGTATTTGGTTTCAAAGCCCTGCGAGCTCTACGTCTGGAAGATCTACGAATTCCC
12 GGTAATGTATTTGGTTTCAAAGCCCTGCGAGCTCTACGTCTGGAAGATCTACGAATTCCC
13 GGTAATGTATTTGGTTTCAAAGCCCTGCGAGCTCTACGTCTGGAAGATCTACGAATTCCC
14 GGTAATGTATTTGGTTTCAAAGCCCTGCGAGCTCTACGTCTGGAAGATCTACGAATTCCC
15 GGTAATGTATTTGGTTTCAAAGCCCTGCGAGCTCTACGTCTGGAAGATCTACGAATTCCC
16 GGTAATGTATTTGGTTTCAAAGCCCTGCGAGCTCTACGTCTGGAAGATCTACGAATTCCC
18 GGTAATGTATTTGGTTTCAAAGCCCTGCGAGCTCTACGTCTGGAAGATCTACGAATTCCC
20 GGTAATGTATTTGGTTTCAAAGCCCTGCGAGCTCTACGTCTGGAAGATCTACGAATTCCC
19 GGTAATGTATTTGGTTTCAAAGCCCTGCGAGCTCTACGTCTGGAAGATCTACGAATTCCC
*****

```

```

      ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
      430      440      450      460      470      480
8  ACTTCTTATTCCAAAACTTTCCAAGGTCCACCTCATGGCATCCAAGTTGAAAGAGATAAA
17 CCTTCTTATTCCAAAACTTTCCAAGGTCCACCTCATGGCATCCAAGTTGAAAGAGATAAA
1  CCTTCTTATTCCAAAACTTTCCAAGGTCCACCTCATGGCATCCAAGTTGAAAGAGATAAA
2  CCTTCTTATTCCAAAACTTTCCAAGGTCCACCTCATGGCATCCAAGTTGAAAGAGATAAA
3  CCTTCTTATTCCAAAACTTTCCAAGGTCCACCTCATGGCATCCAAGTTGAAAGAGATAAA
4  CCTTCTTATTCCAAAACTTTCCAAGGTCCACCTCATGGCATCCAAGTTGAAAGAGATAAA
5  CCTTCTTATTCCAAAACTTTCCAAGGTCCACCTCATGGCATCCAAGTTGAAAGAGATAAA
6  CCTTCTTATTCCAAAACTTTCCAAGGTCCACCTCATGGCATCCAAGTTGAAAGAGATAAA
7  CCTTCTTATTCCAAAACTTTCCAAGGTCCACCTCATGGCATCCAAGTTGAAAGAGATAAA
9  CCTTCTTATTCCAAAACTTTCCAAGGTCCACCTCATGGCATCCAAGTTGAAAGAGATAAA
10 CCTTCTTATTCCAAAACTTTCCAAGGTCCACCTCATGGCATCCAAGTTGAAAGAGATAAA
11 CCTTCTTATTCCAAAACTTTCCAAGGTCCACCTCATGGCATCCAAGTTGAAAGAGATAAA
12 CCTTCTTATTCCAAAACTTTCCAAGGTCCACCTCATGGCATCCAAGTTGAAAGAGATAAA
13 CCTTCTTATTCCAAAACTTTCCAAGGTCCACCTCATGGCATCCAAGTTGAAAGAGATAAA
14 CCTTCTTATTCCAAAACTTTCCAAGGTCCACCTCATGGCATCCAAGTTGAAAGAGATAAA
15 CCTTCTTATTCCAAAACTTTCCAAGGTCCACCTCATGGCATCCAAGTTGAAAGAGATAAA
16 CCTTCTTATTCCAAAACTTTCCAAGGTCCACCTCATGGCATCCAAGTTGAAAGAGATAAA
18 CCTTCTTATTCCAAAACTTTCCAAGGTCCACCTCATGGCATCCAAGTTGAAAGAGATAAA
20 CCTTCTTATTCCAAAACTTTCCAAGGTCCACCTCATGGCATCCAAGTTGAAAGAGATAAA
19 CCTTCTTATTCCAAAACTTTCCAAGGTCCACCTCATGGCATCCAAGTTGAAAGAGATAAA
*****

```



```
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
      490      500      510      520      530      540
8 TTGAACAAGTACGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTA AACCAA AATGGGATTATCC
17 TTGAACAAGTACGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTA AACCAA AATGGGATTATCC
1 TTGAACAAGTACGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTA AACCAA AATGGGATTATCC
2 TTGAACAAGTACGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTA AACCAA AATGGGATTATCC
3 TTGAACAAGTACGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTA AACCAA AATGGGATTATCC
4 TTGAACAAGTACGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTA AACCAA AATGGGATTATCC
5 TTGAACAAGTACGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTA AACCAA AATGGGATTATCC
6 TTGAACAAGTACGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTA AACCAA AATGGGATTATCC
7 TTGAACAAGTACGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTA AACCAA AATGGGATTATCC
9 TTGAACAAGTACGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTA AACCAA AATGGGATTATCC
10 TTGAACAAGTACGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTA AACCAA AATGGGATTATCC
11 TTGAACAAGTACGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTA AACCAA AATGGGATTATCC
12 TTGAACAAGTACGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTA AACCAA AATGGGATTATCC
13 TTGAACAAGTACGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTA AACCAA AATGGGATTATCC
14 TTGAACAAGTACGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTA AACCAA AATGGGATTATCC
15 TTGAACAAGTACGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTA AACCAA AATGGGATTATCC
16 TTGAACAAGTACGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTA AACCAA AATGGGATTATCC
18 TTGAACAAGTACGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTA AACCAA AATGGGATTATCC
20 TTGAACAAGTACGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTA AACCAA AATGGGATTATCC
19 TTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTA AACCAA AATGGGATTATCC
*****
```

```
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
      550      560      570      580      590      600
8 GCAAAAACTACGGTAGAGCGGTTTATGAATGTCTACGGGGTGGACTTGATTTTACTAAG
17 GCAAAAACTACGGTAGAGCGGTTTATGAATGTCTACGGGGTGGACTTGATTTTACTAAG
1 GCAAAAACTACGGTAGAGCGGTTTATGAATGTCTACGGGGTGGACTTGATTTTACTAAG
2 GCAAAAACTACGGTAGAGCGGTTTATGAATGTCTACGGGGTGGACTTGATTTTACTAAG
3 GCAAAAACTACGGTAGAGCGGTTTATGAATGTCTACGGGGTGGACTTGATTTTACTAAG
4 GCAAAAACTACGGTAGAGCGGTTTATGAATGTCTACGGGGTGGACTTGATTTTACTAAG
5 GCAAAAACTACGGTAGAGCGGTTTATGAATGTCTACGGGGTGGACTTGATTTTACTAAG
6 GCAAAAACTACGGTAGAGCGGTTTATGAATGTCTACGGGGTGGACTTGATTTTACTAAG
7 GCAAAAACTACGGTAGAGCGGTTTATGAATGTCTACGGGGTGGACTTGATTTTACTAAG
9 GCAAAAACTACGGTAGAGCGGTTTATGAATGTCTACGGGGTGGACTTGATTTTACTAAG
10 GCAAAAACTACGGTAGAGCGGTTTATGAATGTCTACGGGGTGGACTTGATTTTACTAAG
11 GCAAAAACTACGGTAGAGCGGTTTATGAATGTCTACGGGGTGGACTTGATTTTACTAAG
12 GCAAAAACTACGGTAGAGCGGTTTATGAATGTCTACGGGGTGGACTTGATTTTACTAAG
13 GCAAAAACTACGGTAGAGCGGTTTATGAATGTCTACGGGGTGGACTTGATTTTACTAAG
14 GCAAAAACTACGGTAGAGCGGTTTATGAATGTCTACGGGGTGGACTTGATTTTACTAAG
15 GCAAAAACTACGGTAGAGCGGTTTATGAATGTCTACGGGGTGGACTTGATTTTACTAAG
16 GCAAAAACTACGGTAGAGCGGTTTATGAATGTCTACGGGGTGGACTTGATTTTACTAAG
18 GCAAAAACTACGGTAGAGCGGTTTATGAATGTCTACGGGGTGGACTTGATTTTACTAAG
20 GCAAAAACTACGGTAGAGCGGTTTATGAATGTCTACGGGGTGGACTTGATTTTACTAAG
19 GCAAAAACTACGGTAGAGCGGTTTATGAATGTCTACGGGGTGGACTTGATTTTACTAAG
*****
```

```
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|  
             610       620       630       640       650       660  
8 GATGATGAAAACGTGAACTCACAACCATTTATGCGTTGGAGAGATCGTTTCTTATTTTGT  
17 GATGATGAAAACGTGAACTCACAACCATTTATGCGTTGGAGAGATCGTTTCTTATTTTGT  
1 GATGATGAAAACGTGAACTCACAACCATTTATGCGTTGGAGAGATCGTTTCTTATTTTGT  
2 GATGATGAAAACGTGAACTCACAACCATTTATGCGTTGGAGAGATCGTTTCTTATTTTGT  
3 GATGATGAAAACGTGAACTCACAACCATTTATGCGTTGGAGAGATCGTTTCTTATTTTGT  
4 GATGATGAAAACGTGAACTCACAACCATTTATGCGTTGGAGAGATCGTTTCTTATTTTGT  
5 GATGATGAAAACGTGAACTCACAACCATTTATGCGTTGGAGAGATCGTTTCTTATTTTGT  
6 GATGATGAAAACGTGAACTCACAACCATTTATGCGTTGGAGAGATCGTTTCTTATTTTGT  
7 GATGATGAAAACGTGAACTCACAACCATTTATGCGTTGGAGAGATCGTTTCTTATTTTGT  
9 GATGATGAAAACGTGAACTCACAACCATTTATGCGTTGGAGAGATCGTTTCTTATTTTGT  
10 GATGATGAAAACGTGAACTCACAACCATTTATGCGTTGGAGAGATCGTTTCTTATTTTGT  
11 GATGATGAAAACGTGAACTCACAACCATTTATGCGTTGGAGAGATCGTTTCTTATTTTGT  
12 GATGATGAAAACGTGAACTCACAACCATTTATGCGTTGGAGAGATCGTTTCTTATTTTGT  
13 GATGATGAAAACGTGAACTCACAACCATTTATGCGTTGGAGAGATCGTTTCTTATTTTGT  
14 GATGATGAAAACGTGAACTCACAACCATTTATGCGTTGGAGAGATCGTTTCTTATTTTGT  
15 GATGATGAAAACGTGAACTCACAACCATTTATGCGTTGGAGAGATCGTTTCTTATTTTGT  
16 GATGATGAAAACGTGAACTCACAACCATTTATGCGTTGGAGAGATCGTTTCTTATTTTGT  
18 GATGATGAAAACGTGAACTCACAACCATTTATGCGTTGGAGAGATCGTTTCTTATTTTGT  
20 GATGATGAAAACGTGAACTCACAACCATTTATGCGTTGGAGAGATCGTTTCTTATTTTGT  
19 GATGATGAAAACGTGAACTCACAACCATTTATGCGTTGGAGAGATCGTTTCTTATTTTGT  
*****
```



	...
	663
8	GCC
17	GCC
1	GCC
2	GCC
3	GCC
4	GCC
5	GCC
6	GCC
7	GCC
9	GCC
10	GCC
11	GCC
12	GCC
13	GCC
14	GCC
15	GCC
16	GCC
18	GCC
20	GCC
19	GCC
	***

ภาพที่ 4.47 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcl* [1-20 คือ กล้วยไม้รองเท้านารี ได้แก่

(1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารีเหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระปี่ (7)รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม (8) รองเท้านารีไพรมูเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารี เมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุม (15) รองเท้านารีเฮเลน (16) รองเท้านารีทรานเลียนอนุม (17) รองเท้านารีแพรสแทนส์ (18) รองเท้านารีฟิลิปปินส์เอนซิส (19) รองเท้านารีซูปาร์ดีโอ และ (20) รองเท้านารีกล้วยโคไฟลลุม (รูปแบบการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์    คือ อินเดล (Indel)    คือ ทรานสเวอร์ชัน    คือ ไพริมิดีนทรานสิชัน    คือ พิวรีนทรานสิชัน    คือ แบบผสม])

ตารางที่ 4.4 ตำแหน่งของนิวคลีโอไทด์ ยีน *rbcl* ที่เกิดความหลากหลาย

ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์	ชนิดกลายไม้ *	รูปแบบการเปลี่ยนแปลง	รูปแบบการกลาย
159	19	G เป็น C	ทรานสเวอร์ชัน
421	8	C เป็น A	ทรานสเวอร์ชัน
492	19	C เป็น T	ไพริมิดีนทรานสชัน
501	17	C เป็น T	ไพริมิดีนทรานสชัน

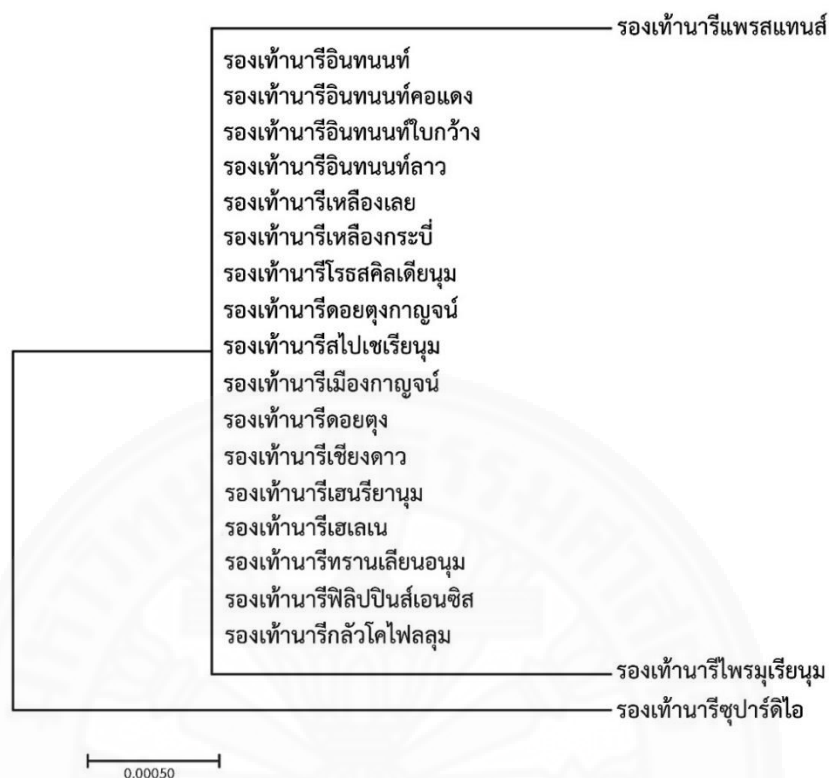
\*1-20 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารีเหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม (8) รองเท้านารีไพรมูเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารี เมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุม (15) รองเท้านารีเฮเลน (16) รองเท้านารีทรานเลียนอนุม (17) รองเท้านารีแพรสแทนส์ (18) รองเท้านารีฟิลิปปินส์เอนซิส (19) รองเท้านารีซูปาร์ดีโอ และ (20) รองเท้านารีกล้วยโคไฟลลุม

ตารางที่ 4.5 ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนของยีน *rbcl*

ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์	ชนิดกลายไม้*	รูปแบบการเปลี่ยนแปลงของนิวคลีโอไทด์	การเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโน
421	8	C เป็น A	Pro เป็น Thr

\*1-20 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารีเหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม (8) รองเท้านารีไพรมูเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารี เมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุม (15) รองเท้านารีเฮเลน (16) รองเท้านารีทรานเลียนอนุม (17) รองเท้านารีแพรสแทนส์ (18) รองเท้านารีฟิลิปปินส์เอนซิส (19) รองเท้านารีซูปาร์ดีโอ และ (20) รองเท้านารีกล้วยโคไฟลลุม





ภาพที่ 4.49 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรวงเท้านารีวิเคราะห์จากยีน *rbcl* สร้างโดยวิธี maximum likelihood

จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ยีน *rbcl* ด้วยโปรแกรม MEGA รุ่น 7 พบค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรวงเท้านารี จำนวน 20 ชนิด เท่ากับ 0.000-0.005 (ภาพที่ 4.48) พบตำแหน่งการเปลี่ยนแปลงลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมด 4 ตำแหน่ง มี 2 รูปแบบ คือ ทรานสเวอร์ชัน และไพรมิตินทรานสชัน (ตารางที่ 4.4) และพบการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนทั้งหมด 1 ตำแหน่ง (ตารางที่ 4.5) เมื่อสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรวงเท้านารีทั้ง 20 ชนิด โดยใช้วิธี maximum likelihood (ภาพที่ 4.49) พบว่าสามารถจำแนกกล้วยไม้สกุลรวงเท้านารีได้ 3 ชนิด ได้แก่ รวงเท้านารีแพรสแทนส์ รวงเท้านารีไพรมูเรียนุม และ รวงเท้านารีซูปาร์ดีโอ

#### 4.4.2.3 บริเวณยีน *rpoC1*

บริเวณยีน *rpoC1* มีลำดับนิวคลีโอไทด์ 554 คู่เบส เปรียบเทียบ

ด้วยวิธี multiple alignment โดยโปรแกรม ClustalW แสดงดังนี้

```

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          10          20          30          40          50          60
1  GTGGATACACTTCTTGATAATGGGATCCGCGGACAGCCCATGAGAGATGGTCATAATAAAA
2  GTGGATACACTTCTTGATAATGGGATCCGCGGACAGCCCATGAGAGATGGTCATAATAAAA
3  GTGGATACACTTCTTGATAATGGGATCCGCGGACAGCCCATGAGAGATGGTCATAATAAAA
4  GTGGATACACTTCTTGATAATGGGATCCGCGGACAGCCCATGAGAGATGGTCATAATAAAA
19 GTGGATACACTTCTTGATAATGGGATCCGCGGACAGCCCATGAGAGATGGTCATAATAAAA
20 GTGGATACACTTCTTGATAATGGGATCCGCGGACAGCCCATGAGAGATGGTCATAATAAAA
18 GTGGATACACTTCTTGATAATGGGATCCGCGGACAGCCCATGAGAGATGGTCATAATAAAA
16 GTGGATACACTTCTTGATAATGGGATCCGCGGACAGCCCATGAGAGATGGTCATAATAAAA
15 GTGGATACACTTCTTGATAATGGGATCCGCGGACAGCCCATGAGAGATGGTCATAATAAAA
14 GTGGATACACTTCTTGATAATGGGATCCGCGGACAGCCCATGAGAGATGGTCATAATAAAA
13 GTGGATACACTTCTTGATAATGGGATCCGCGGACAGCCCATGAGAGATGGTCATAATAAAA
12 GTGGATACACTTCTTGATAATGGGATCCGCGGACAGCCCATGAGAGATGGTCATAATAAAA
11 GTGGATACACTTCTTGATAATGGGATCCGCGGACAGCCCATGAGAGATGGTCATAATAAAA
10 GTGGATACACTTCTTGATAATGGGATCCGCGGACAGCCCATGAGAGATGGTCATAATAAAA
9  GTGGATACACTTCTTGATAATGGGATCCGCGGACAGCCCATGAGAGATGGTCATAATAAAA
8  GTGGATACACTTCTTGATAATGGGATCCGCGGACAGCCCATGAGAGATGGTCATAATAAAA
17 GTGGATACACTTCTTGATAATGGGATCCGCGGACAGCCCATGAGAGATGGTCATAATAAAA
7  GTGGATACACTTCTTGATAATGGGATCCGCGGACAGCCCATGAGAGATGGTCATAATAAAA
6  GTGGATACACTTCTTGATAATGGGATCCGCGGACAGCCCATGAGAGATGGTCATAATAAAA
5  GTGGATACACTTCTTGATAATGGGATCCGCGGACAGCCCATGAGAGATGGTCATAATAAAA
*****

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          70          80          90          100         110         120
1  GTTTATAAGTCATTTTCCGATGTAATTGAAGGTAAAGAAGGAAGATTTTCGTGAGACTCTG
2  GTTTATAAGTCATTTTCCGATGTAATTGAAGGTAAAGAAGGAAGATTTTCGTGAGACTCTG
3  GTTTATAAGTCATTTTCCGATGTAATTGAAGGTAAAGAAGGAAGATTTTCGTGAGACTCTG
4  GTTTATAAGTCATTTTCCGATGTAATTGAAGGTAAAGAAGGAAGATTTTCGTGAGACTCTG
19 GTTTATAAGTCATTTTCCGATGTAATTGAAGGTAAAGAAGGAAGATTTTCGTGAGACTCTG
20 GTTTATAAGTCATTTTCCGATGTAATTGAAGGTAAAGAAGGAAGATTTTCGTGAGACTCTG
18 GTTTATAAGTCATTTTCCGATGTAATTGAAGGTAAAGAAGGAAGATTTTCGTGAGACTCTG
16 GTTTATAAGTCATTTTCCGATGTAATTGAAGGTAAAGAAGGAAGATTTTCGTGAGACTCTG
15 GTTTATAAGTCATTTTCCGATGTAATTGAAGGTAAAGAAGGAAGATTTTCGTGAGACTCTG
14 GTTTATAAGTCATTTTCCGATGTAATTGAAGGTAAAGAAGGAAGATTTTCGTGAGACTCTG
13 GTTTATAAGTCATTTTCCGATGTAATTGAAGGTAAAGAAGGAAGATTTTCGTGAGACTCTG
12 GTTTATAAGTCATTTTCCGATGTAATTGAAGGTAAAGAAGGAAGATTTTCGTGAGACTCTG
11 GTTTATAAGTCATTTTCCGATGTAATTGAAGGTAAAGAAGGAAGATTTTCGTGAGACTCTG
10 GTTTATAAGTCATTTTCCGATGTAATTGAAGGTAAAGAAGGAAGATTTTCGTGAGACTCTG
9  GTTTATAAGTCATTTTCCGATGTAATTGAAGGTAAAGAAGGAAGATTTTCGTGAGACTCTG
8  GTTTATAAGTCATTTTCCGATGTAATTGAAGGTAAAGAAGGAAGATTTTCGTGAGACTCTG
17 GTTTATAAGTCATTTTCCGATGTAATTGAAGGTAAAGAAGGAAGATTTTCGTGAGACTCTG
7  GTTTATAAGTCATTTTCCGATGTAATTGAAGGTAAAGAAGGAAGATTTTCGTGAGACTCTG
6  GTTTATAAGTCATTTTCCGATGTAATTGAAGGTAAAGAAGGAAGATTTTCGTGAGACTCTG
5  GTTTATAAGTCATTTTCCGATGTAATTGAAGGTAAAGAAGGAAGATTTTCGTGAGACTCTG
*****

```



```

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
      130      140      150      160      170      180
1 CTTGGTAAACGGGTCGATTATTCGGGGCGTTCTGTTCATTGTCGTGGGTCCTTTGCTTTCA
2 CTTGGTAAACGGGTCGATTATTCGGGGCGTTCTGTTCATTGTCGTGGGTCCTTTGCTTTCA
3 CTTGGTAAACGGGTCGATTATTCGGGGCGTTCTGTTCATTGTCGTGGGTCCTTTGCTTTCA
4 CTTGGTAAACGGGTCGATTATTCGGGGCGTTCTGTTCATTGTCGTGGGTCCTTTGCTTTCA
19 CTTGGTAAACGGGTCGATTATTCGGGGCGTTCTGTTCATTGTCGTGGGTCCTTTGCTTTCA
20 CTTGGTAAACGGGTCGATTATTCGGGGCGTTCTGTTCATTGTCGTGGGTCCTTTGCTTTCA
18 CTTGGTAAACGGGTCGATTATTCGGGGCGTTCTGTTCATTGTCGTGGGTCCTTTGCTTTCA
16 CTTGGTAAACGGGTCGATTATTCGGGGCGTTCTGTTCATTGTCGTGGGTCCTTTGCTTTCA
15 CTTGGTAAACGGGTCGATTATTCGGGGCGTTCTGTTCATTGTCGTGGGTCCTTTGCTTTCA
14 CTTGGTAAACGGGTCGATTATTCGGGGCGTTCTGTTCATTGTCGTGGGTCCTTTGCTTTCA
13 CTTGGTAAACGGGTCGATTATTCGGGGCGTTCTGTTCATTGTCGTGGGTCCTTTGCTTTCA
12 CTTGGTAAACGGGTCGATTATTCGGGGCGTTCTGTTCATTGTCGTGGGTCCTTTGCTTTCA
11 CTTGGTAAACGGGTCGATTATTCGGGGCGTTCTGTTCATTGTCGTGGGTCCTTTGCTTTCA
10 CTTGGTAAACGGGTCGATTATTCGGGGCGTTCTGTTCATTGTCGTGGGTCCTTTGCTTTCA
9 CTTGGTAAACGGGTCGATTATTCGGGGCGTTCTGTTCATTGTCGTGGGTCCTTTGCTTTCA
8 CTTGGTAAACGGGTCGATTATTCGGGGCGTTCTGTTCATTGTCGTGGGTCCTTTGCTTTCA
17 CTTGGTAAACGGGTCGATTATTCGGGGCGTTCTGTTCATTGTCGTGGGTCCTTTGCTTTCA
7 CTTGGTAAACGGGTCGATTATTCGGGGCGTTCTGTTCATTGTCGTGGGTCCTTTGCTTTCA
6 CTTGGTAAACGGGTCGATTATTCGGGGCGTTCTGTTCATTGTCGTGGGTCCTTTGCTTTCA
5 CTTGGTAAACGGGTCGATTATTCGGGGCGTTCTGTTCATTGTCGTGGGTCCTTTGCTTTCA
*****

```

```

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
      190      200      210      220      230      240
1 TTACATCAATGTGGATTACCTCGAGAAATAGCAATAGAGCTCTTCCAAACATTTGTAATT
2 TTACATCAATGTGGATTACCTCGAGAAATAGCAATAGAGCTCTTCCAAACATTTGTAATT
3 TTACATCAATGTGGATTACCTCGAGAAATAGCAATAGAGCTCTTCCAAACATTTGTAATT
4 TTACATCAATGTGGATTACCTCGAGAAATAGCAATAGAGCTCTTCCAAACATTTGTAATT
19 TTACATCAATGTGGATTACCTCGAGAAATAGCAATAGAGCTCTTCCAAACATTTGTAATT
20 TTACATCAATGTGGATTACCTCGAGAAATAGCAATAGAGCTCTTCCAAACATTTGTAATT
18 TTACATCAATGTGGATTACCTCGAGAAATAGCAATAGAGCTCTTCCAAACATTTGTAATT
16 TTACATCAATGTGGATTACCTCGAGAAATAGCAATAGAGCTCTTCCAAACATTTGTAATT
15 TTACATCAATGTGGATTACCTCGAGAAATAGCAATAGAGCTCTTCCAAACATTTGTAATT
14 TTACATCAATGTGGATTACCTCGAGAAATAGCAATAGAGCTCTTCCAAACATTTGTAATT
13 TTACATCAATGTGGATTACCTCGAGAAATAGCAATAGAGCTCTTCCAAACATTTGTAATT
12 TTACATCAATGTGGATTACCTCGAGAAATAGCAATAGAGCTCTTCCAAACATTTGTAATT
11 TTACATCAATGTGGATTACCTCGAGAAATAGCAATAGAGCTCTTCCAAACATTTGTAATT
10 TTACATCAATGTGGATTACCTCGAGAAATAGCAATAGAGCTCTTCCAAACATTTGTAATT
9 TTACATCAATGTGGATTACCTCGAGAAATAGCAATAGAGCTCTTCCAAACATTTGTAATT
8 TTACATCAATGTGGATTACCTCGAGAAATAGCAATAGAGCTCTTCCAAACATTTGTAATT
17 TTACATCAATGTGGATTACCTCGAGAAATAGCAATAGAGCTCTTCCAAACATTTGTAATT
7 TTACATCAATGTGGATTACCTCGAGAAATAGCAATAGAGCTCTTCCAAACATTTGTAATT
6 TTACATCAATGTGGATTACCTCGAGAAATAGCAATAGAGCTCTTCCAAACATTTGTAATT
5 TTACATCAATGTGGATTACCTCGAGAAATAGCAATAGAGCTCTTCCAAACATTTGTAATT
*****

```

```

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
      250      260      270      280      290      300
1 CGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCTAACACAGGGATTGCTAAAAGCAAATTAGG
2 CGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCTAACACAGGGATTGCTAAAAGCAAATTAGG
3 CGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCTAACACAGGGATTGCTAAAAGCAAATTAGG
4 CGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCTAACACAGGGATTGCTAAAAGCAAATTAGG
19 CGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCTAACACAGGGATTGCTAAAAGCAAATTAGG
20 CGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCTAACACAGGGATTGCTAAAAGCAAATTAGG
18 CGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCTAACACAGGGATTGCTAAAAGCAAATTAGG
16 CGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCTAACACAGGGATTGCTAAAAGCAAATTAGG
15 CGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCTAACACAGGGATTGCTAAAAGCAAATTAGG
14 CGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCTAACACAGGGATTGCTAAAAGCAAATTAGG
13 CGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCTAACACAGGGATTGCTAAAAGCAAATTAGG
12 CGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCTAACACAGGGATTGCTAAAAGCAAATTAGG
11 CGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCTAACACAGGGATTGCTAAAAGCAAATTAGG
10 CGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCTAACACAGGGATTGCTAAAAGCAAATTAGG
9 CGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCTAACACAGGGATTGCTAAAAGCAAATTAGG
8 CGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCTAACACAGGGATTGCTAAAAGCAAATTAGG
17 CGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCTAACACAGGGATTGCTAAAAGCAAATTAGG
7 CGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCTAACACAGGGATTGCTAAAAGCAAATTAGG
6 CGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCTAACACAGGGATTGCTAAAAGCAAATTAGG
5 CGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCTAACACAGGGATTGCTAAAAGCAAATTAGG
*****

```

```

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
      310      320      330      340      350      360
1 GAAAAAGATCCCATTGTATGGGAAATACTTCAAGAAGTTATGCGGGGACATCCTATATTG
2 GAAAAAGATCCCATTGTATGGGAAATACTTCAAGAAGTTATGCGGGGACATCCTATATTG
3 GAAAAAGATCCCATTGTATGGGAAATACTTCAAGAAGTTATGCGGGGACATCCTATATTG
4 GAAAAAGATCCCATTGTATGGGAAATACTTCAAGAAGTTATGCGGGGACATCCTATATTG
19 GAAAAAGATCCCATTGTATGGGAAATACTTCAAGAAGTTATGCGGGGACATCCTATATTG
20 GAAAAAGATCCCATTGTATGGGAAATACTTCAAGAAGTTATGCGGGGACATCCTATATTG
18 GAAAAAGATCCCATTGTATGGGAAATACTTCAAGAAGTTATGCGGGGACATCCTATATTG
16 GAAAAAGATCCCATTGTATGGGAAATACTTCAAGAAGTTATGCGGGGACATCCTATATTG
15 GAAAAAGATCCCATTGTATGGGAAATACTTCAAGAAGTTATGCGGGGACATCCTATATTG
14 GAAAAAGATCCCATTGTATGGGAAATACTTCAAGAAGTTATGCGGGGACATCCTATATTG
13 GAAAAAGATCCCATTGTATGGGAAATACTTCAAGAAGTTATGCGGGGACATCCTATATTG
12 GAAAAAGATCCCATTGTATGGGAAATACTTCAAGAAGTTATGCGGGGACATCCTATATTG
11 GAAAAAGATCCCATTGTATGGGAAATACTTCAAGAAGTTATGCGGGGACATCCTATATTG
10 GAAAAAGATCCCATTGTATGGGAAATACTTCAAGAAGTTATGCGGGGACATCCTATATTG
9 GAAAAAGATCCCATTGTATGGGAAATACTTCAAGAAGTTATGCGGGGACATCCTATATTG
8 GAAAAAGATCCCATTGTATGGGAAATACTTCAAGAAGTTATGCGGGGACATCCTATATTG
17 GAAAAAGATCCCATTGTATGGGAAATACTTCAAGAAGTTATGCGGGGACATCCTATATTG
7 GAAAAAGATCCCATTGTATGGGAAATACTTCAAGAAGTTATGCGGGGACATCCTATATTG
6 GAAAAAGATCCCATTGTATGGGAAATACTTCAAGAAGTTATGCGGGGACATCCTATATTG
5 GAAAAAGATCCCATTGTATGGGAAATACTTCAAGAAGTTATGCGGGGACATCCTATATTG
*****

```

```

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
      370      380      390      400      410      420
1 TTGAATAGAGCACCTACCCTCCATAGATTAGGCATACAGGCGTTCCAACCCATTTTAGTG
2 TTGAATAGAGCACCTACCCTCCATAGATTAGGCATACAGGCGTTCCAACCCATTTTAGTG
3 TTGAATAGAGCACCTACCCTCCATAGATTAGGCATACAGGCGTTCCAACCCATTTTAGTG
4 TTGAATAGAGCACCTACCCTCCATAGATTAGGCATACAGGCGTTCCAACCCATTTTAGTG
19 TTGAATAGAGCACCTACCCTCCATAGATTAGGCATACAGGCGTTCCAACCCATTTTAGTG
20 TTGAATAGAGCACCTACCCTCCATAGATTAGGCATACAGGCGTTCCAACCCATTTTAGTG
18 TTGAATAGAGCACCTACCCTCCATAGATTAGGCATACAGGCGTTCCAACCCATTTTAGTG
16 TTGAATAGAGCACCTACCCTCCATAGATTAGGCATACAGGCGTTCCAACCCATTTTAGTG
15 TTGAATAGAGCACCTACCCTCCATAGATTAGGCATACAGGCGTTCCAACCCATTTTAGTG
14 TTGAATAGAGCACCTACCCTCCATAGATTAGGCATACAGGCGTTCCAACCCATTTTAGTG
13 TTGAATAGAGCACCTACCCTCCATAGATTAGGCATACAGGCGTTCCAACCCATTTTAGTG
12 TTGAATAGAGCACCTACCCTCCATAGATTAGGCATACAGGCGTTCCAACCCATTTTAGTG
11 TTGAATAGAGCACCTACCCTCCATAGATTAGGCATACAGGCGTTCCAACCCATTTTAGTG
10 TTGAATAGAGCACCTACCCTCCATAGATTAGGCATACAGGCGTTCCAACCCATTTTAGTG
9 TTGAATAGAGCACCTACCCTCCATAGATTAGGCATACAGGCGTTCCAACCCATTTTAGTG
8 TTGAATAGAGCACCTACCCTCCATAGATTAGGCATACAGGCGTTCCAACCCATTTTAGTG
17 TTGAATAGAGCACCTACCCTCCATAGATTAGGCATACAGGCGTTCCAACCCATTTTAGTG
7 TTGAATAGAGCACCTACCCTCCATAGATTAGGCATACAGGCGTTCCAACCCATTTTAGTG
6 TTGAATAGAGCACCTACCCTCCATAGATTAGGCATACAGGCGTTCCAACCCATTTTAGTG
5 TTGAATAGAGCACCTACCCTCCATAGATTAGGCATACAGGCGTTCCAACCCATTTTAGTG
*****

```

```

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
      430      440      450      460      470      480
1 GAAGGGCGCGCTATTTGTTTACACCCATTAGTTTGTAAAGGGCTTCAATGCAGACTTTGAT
2 GAAGGGCGCGCTATTTGTTTACACCCATTAGTTTGTAAAGGGCTTCAATGCAGACTTTGAT
3 GAAGGGCGCGCTATTTGTTTACACCCATTAGTTTGTAAAGGGCTTCAATGCAGACTTTGAT
4 GAAGGGCGCGCTATTTGTTTACACCCATTAGTTTGTAAAGGGCTTCAATGCAGACTTTGAT
19 GAAGGGCGCGCTATTTGTTTACACCCATTAGTTTGTAAAGGGCTTCAATGCAGACTTTGAT
20 GAAGGGCGCGCTATTTGTTTACACCCATTAGTTTGTAAAGGGCTTCAATGCAGACTTTGAT
18 GAAGGGCGCGCTATTTGTTTACACCCATTAGTTTGTAAAGGGCTTCAATGCAGACTTTGAT
16 GAAGGGCGCGCTATTTGTTTACACCCATTAGTTTGTAAAGGGCTTCAATGCAGACTTTGAT
15 GAAGGGCGCGCTATTTGTTTACACCCATTAGTTTGTAAAGGGCTTCAATGCAGACTTTGAT
14 GAAGGGCGCGCTATTTGTTTACACCCATTAGTTTGTAAAGGGCTTCAATGCAGACTTTGAT
13 GAAGGGCGCGCTATTTGTTTACACCCATTAGTTTGTAAAGGGCTTCAATGCAGACTTTGAT
12 GAAGGGCGCGCTATTTGTTTACACCCATTAGTTTGTAAAGGGCTTCAATGCAGACTTTGAT
11 GAAGGGCGCGCTATTTGTTTACACCCATTAGTTTGTAAAGGGCTTCAATGCAGACTTTGAT
10 GAAGGGCGCGCTATTTGTTTACACCCATTAGTTTGTAAAGGGCTTCAATGCAGACTTTGAT
9 GAAGGGCGCGCTATTTGTTTACACCCATTAGTTTGTAAAGGGCTTCAATGCAGACTTTGAT
8 GAAGGGCGCGCTATTTGTTTACACCCATTAGTTTGTAAAGGGCTTCAATGCAGACTTTGAT
17 GAAGGGCGCGCTATTTGTTTACACCCATTAGTTTGTAAAGGGCTTCAATGCAGACTTTGAT
7 GAAGGGCGCGCTATTTGTTTACACCCATTAGTTTGTAAAGGGCTTCAATGCAGACTTTGAT
6 GAAGGGCGCGCTATTTGTTTACACCCATTAGTTTGTAAAGGGCTTCAATGCAGACTTTGAT
5 GAAGGGCGCGCTATTTGTTTACACCCATTAGTTTGTAAAGGGCTTCAATGCAGACTTTGAT
*****

```

```
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
      490      500      510      520      530      540
1 GGGGATCAAATGGCTGTTACGTACCTTTATCTTTGGAAGCTCAAGCGGAAGCCCGTTTA
2 GGGGATCAAATGGCTGTTACGTACCTTTATCTTTGGAAGCTCAAGCGGAAGCCCGTTTA
3 GGGGATCAAATGGCTGTTACGTACCTTTATCTTTGGAAGCTCAAGCGGAAGCCCGTTTA
4 GGGGATCAAATGGCTGTTACGTACCTTTATCTTTGGAAGCTCAAGCGGAAGCCCGTTTA
19 GGGGATCAAATGGCTGTTACGTACCTTTATCTTTGGAAGCTCAAGCGGAAGCCCGTTTA
20 GGGGATCAAATGGCTGTTACGTACCTTTATCTTTGGAAGCTCAAGCGGAAGCCCGTTTA
18 GGGGATCAAATGGCTGTTACGTACCTTTATCTTTGGAAGCTCAAGCGGAAGCCCGTTTA
16 GGGGATCAAATGGCTGTTACGTACCTTTATCTTTGGAAGCTCAAGCGGAAGCCCGTTTA
15 GGGGATCAAATGGCTGTTACGTACCTTTATCTTTGGAAGCTCAAGCGGAAGCCCGTTTA
14 GGGGATCAAATGGCTGTTACGTACCTTTATCTTTGGAAGCTCAAGCGGAAGCCCGTTTA
13 GGGGATCAAATGGCTGTTACGTACCTTTATCTTTGGAAGCTCAAGCGGAAGCCCGTTTA
12 GGGGATCAAATGGCTGTTACGTACCTTTATCTTTGGAAGCTCAAGCGGAAGCCCGTTTA
11 GGGGATCAAATGGCTGTTACGTACCTTTATCTTTGGAAGCTCAAGCGGAAGCCCGTTTA
10 GGGGATCAAATGGCTGTTACGTACCTTTATCTTTGGAAGCTCAAGCGGAAGCCCGTTTA
9 GGGGATCAAATGGCTGTTACGTACCTTTATCTTTGGAAGCTCAAGCGGAAGCCCGTTTA
8 GGGGATCAAATGGCTGTTACGTACCTTTATCTTTGGAAGCTCAAGCGGAAGCCCGTTTA
17 GGGGATCAAATGGCTGTTACGTACCTTTATCTTTGGAAGCTCAAGCGGAAGCCCGTTTA
7 GGGGATCAAATGGCTGTTACGTACCTTTATCTTTGGAAGCTCAAGCGGAAGCCCGTTTA
6 GGGGATCAAATGGCTGTTACGTACCTTTATCTTTGGAAGCTCAAGCGGAAGCCCGTTTA
5 GGGGATCAAATGGCTGTTACGTACCTTTATCTTTGGAAGCTCAAGCGGAAGCCCGTTTA
*****
```



```

      ....|....|....
                    554
1      CTTATGTTTTCTCA
2      CTTATGTTTTCTCA
3      CTTATGTTTTCTCA
4      CTTATGTTTTCTCA
19     CTTATGTTTTCTCA
20     CTTATGTTTTCTCA
18     CTTATGTTTTCTCA
16     CTTATGTTTTCTCA
15     CTTATGTTTTCTCA
14     CTTATGTTTTCTCA
13     CTTATGTTTTCTCA
12     CTTATGTTTTCTCA
11     CTTATGTTTTCTCA
10     CTTATGTTTTCTCA
9      CTTATGTTTTCTCA
8      CTTATGTTTTCTCA
17     CTTATGTTTTCTCA
7      CTTATGTTTTCTCA
6      CTTATGTTTTCTCA
5      CTTATGTTTTCTCA
      *****

```

ภาพที่ 4.50 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rpoC1* [1-20 คือ กล้วยไม้รองเท้านารี ได้แก่

(1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารีเหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระปี่ (7)รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม (8) รองเท้านารีไพรมูเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารี เมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุม (15) รองเท้านารีเฮเลนเน (16) รองเท้านารีทรานเลียนอนุม (17) รองเท้านารีแพรสแทนส์ (18) รองเท้านารีฟิลิปปินส์เอนซิส (19) รองเท้านารีซูปาร์ดีโอ และ (20) รองเท้านารีกล้วยโคไฟลุ่ม (รูปแบบการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์ ■ คือ อินเดล (Indel) ■ คือ ทรานสเวอร์ชัน ■ คือ ไพรமிดีนทรานสิชัน ■ คือ พิวรีนทรานสิชัน ■ คือ แบบผสม])

ตารางที่ 4.6 ตำแหน่งของนิวคลีโอไทด์ ยีน *rpoC1* ที่เกิดความหลากหลาย

ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์	ชนิดกลายไ้ม *	รูปแบบการเปลี่ยนแปลง	รูปแบบการกลาย
147	9	G เป็น T	ทรานสเวอร์ชัน
235	7	G เป็น T	ทรานสเวอร์ชัน
381	8, 17	C เป็น A	ทรานสเวอร์ชัน
447	5	A เป็น C	ทรานสเวอร์ชัน

\*1-20 คือ (1) รองแท่นารีนินทนนท์ (2) รองแท่นารีนินทนนท์คอดแดง (3) รองแท่นารีนินทนนท์ใบกว้าง (4) รองแท่นารีนินทนนท์ลาว (5) รองแท่นารีเหลืองเลย (6) รองแท่นารีเหลืองกระบี่ (7) รองแท่นารีโรสคิลเดียนุม (8) รองแท่นารีไพรมูเรียนุม (9) รองแท่นารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองแท่นารีสไปเซเรียนุม (11) รองแท่นารี เมืองกาญจน์ (12) รองแท่นารีดอยตุง (13) รองแท่นารีเชียงดาว (14) รองแท่นารีเฮนรียานุม (15) รองแท่นารีเฮเลน (16) รองแท่นารีทรานเลียนอนุม (17) รองแท่นารีแพรสแทนส์ (18) รองแท่นารีฟิลิปปินส์เอนซิส (19) รองแท่นารีซูปาร์ดีไอ และ (20) รองแท่นารีกัวโคไฟลลุม

ตารางที่ 4.7 ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนของยีน *rpoC1*

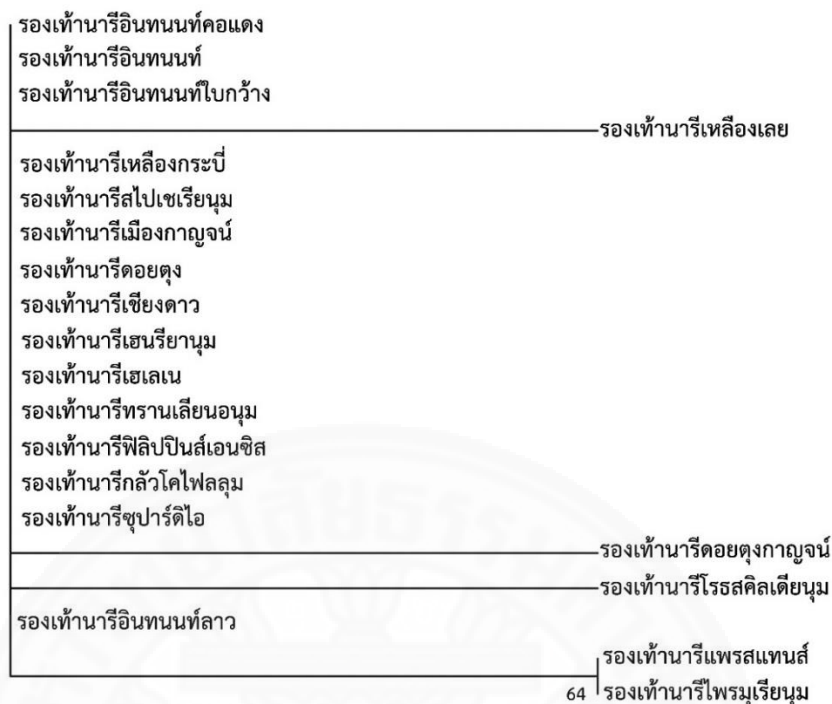
ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์	ชนิดกลายไ้ม*	รูปแบบการเปลี่ยนแปลงของนิวคลีโอไทด์	การเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโน
235	7	G เป็น T	Val เป็น Leu

\*1-20 คือ (1) รองแท่นารีนินทนนท์ (2) รองแท่นารีนินทนนท์คอดแดง (3) รองแท่นารีนินทนนท์ใบกว้าง (4) รองแท่นารีนินทนนท์ลาว (5) รองแท่นารีเหลืองเลย (6) รองแท่นารีเหลืองกระบี่ (7) รองแท่นารีโรสคิลเดียนุม (8) รองแท่นารีไพรมูเรียนุม (9) รองแท่นารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองแท่นารีสไปเซเรียนุม (11) รองแท่นารี เมืองกาญจน์ (12) รองแท่นารีดอยตุง (13) รองแท่นารีเชียงดาว (14) รองแท่นารีเฮนรียานุม (15) รองแท่นารีเฮเลน (16) รองแท่นารีทรานเลียนอนุม (17) รองแท่นารีแพรสแทนส์ (18) รองแท่นารีฟิลิปปินส์เอนซิส (19) รองแท่นารีซูปาร์ดีไอ และ (20) รองแท่นารีกัวโคไฟลลุม

รองเท้านารีอินทนนท์	0.000																			
รองเท้านารีอินทนนท์คอแดง	0.000	0.000																		
รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง	0.000	0.000	0.000																	
รองเท้านารีอินทนนท์ลาว	0.000	0.000	0.000	0.000																
รองเท้านารีเหลืองเลย	0.002	0.002	0.002	0.002	0.000															
รองเท้านารีเหลืองกระบี่	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	0.000														
รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม	0.002	0.002	0.002	0.002	0.004	0.002	0.000													
รองเท้านารีโพรมุเรียนุม	0.002	0.002	0.002	0.002	0.004	0.002	0.004	0.000												
รองเท้านารีตอยตุ๊กกาญจน์	0.002	0.002	0.002	0.002	0.004	0.002	0.004	0.004	0.000											
รองเท้านารีสไปเซเรียนุม	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	0.000	0.002	0.002	0.002	0.000										
รองเท้านารีเมืองกาญจน์	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	0.000	0.002	0.002	0.002	0.000	0.000									
รองเท้านารีตอยตุ๊ก	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	0.000	0.002	0.002	0.002	0.000	0.000	0.000								
รองเท้านารีเชียงดาว	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	0.000	0.002	0.002	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000							
รองเท้านารีเฮนเรียนุม	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	0.000	0.002	0.002	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000						
รองเท้านารีเฮเลน	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	0.000	0.002	0.002	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000					
รองเท้านารีทรานเลียนอนุม	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	0.000	0.002	0.002	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000				
รองเท้านารีพรสแทนส์	0.002	0.002	0.002	0.002	0.004	0.002	0.004	0.000	0.004	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.000			
รองเท้านารีฟิลิปปินส์แอนซิส	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	0.000	0.002	0.002	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	0.000		
รองเท้านารีซูปาร์ดีโอ	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	0.000	0.002	0.002	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	0.000	0.000	
รองเท้านารีกล้วยโคไฟลลุม	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	0.000	0.002	0.002	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	0.000	0.000	0.000

ภาพที่ 4.51 ค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีเมื่อวิเคราะห์ด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ยีน *rpoC1*



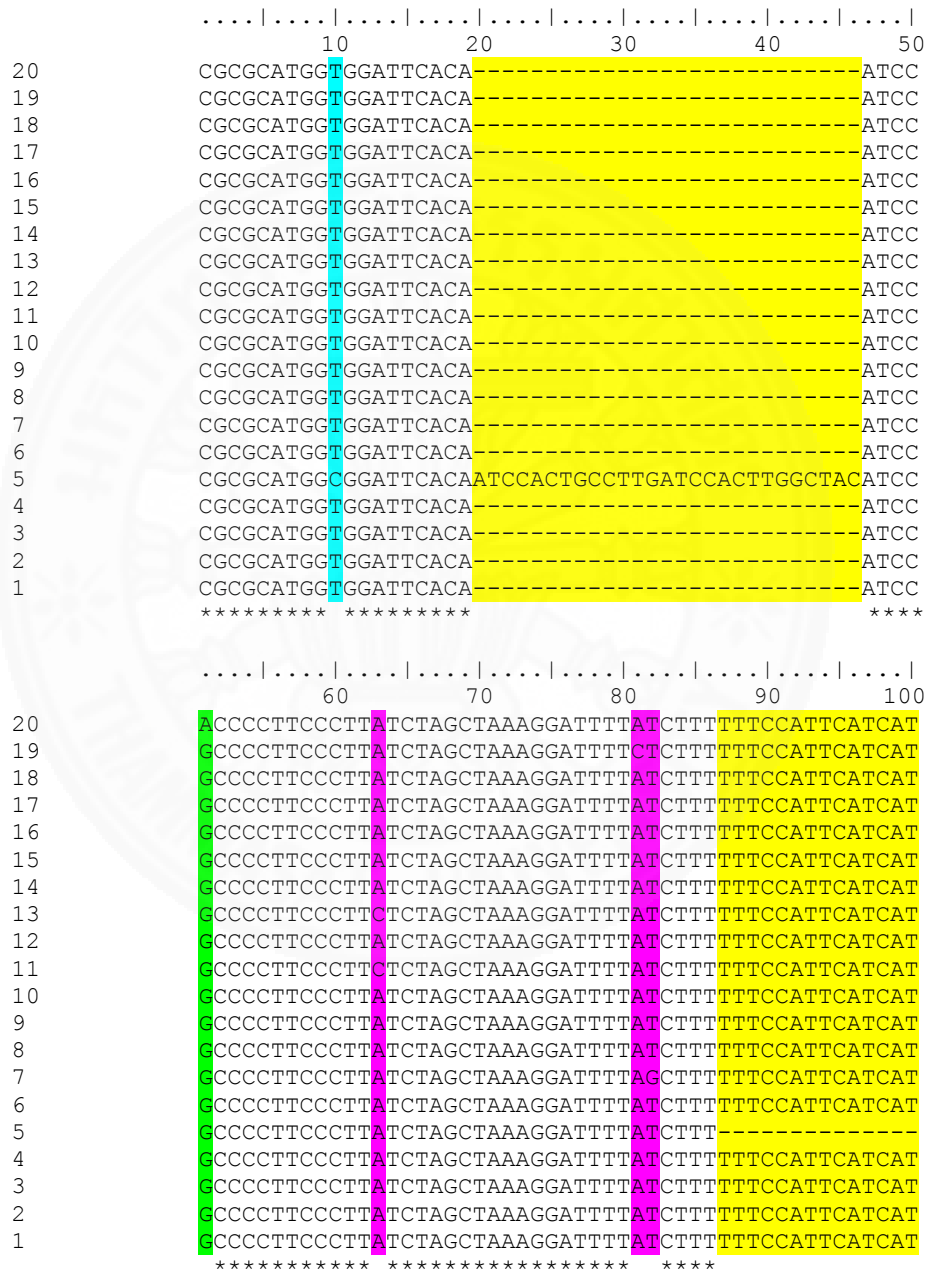


ภาพที่ 4.52 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท่านั้นวิเคราะห์จากยีน *rpoC1* สร้างโดยวิธี maximum likelihood

จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ยีน *rpoC1* ด้วยโปรแกรม MEGA รุ่น 7 พบค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท่านั้น จำนวน 20 ชนิด เท่ากับ 0.000-0.004 (ภาพที่ 4.51) พบตำแหน่งการเปลี่ยนแปลงลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมด 4 ตำแหน่ง มี 1 รูปแบบ คือ ทรานสเวอร์ชัน (ตารางที่ 4.6) และพบการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนทั้งหมด 1 ตำแหน่ง (ตารางที่ 4.7) เมื่อสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท่านั้นทั้ง 20 ชนิด โดยใช้วิธี maximum likelihood (ภาพที่ 4.52) พบว่าสามารถจำแนกกล้วยไม้สกุลรองเท่านั้นได้ 3 ชนิด ได้แก่ รองเท่านั้นเหลืองเลย รองเท่านั้นดอยตุงกาญจน์ และ รองเท่านั้นโรสคิลเตียนุม

#### 4.4.2.4 บริเวณขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA*

บริเวณขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA* มีลำดับนิวคลีโอไทด์ 242-1102 คู่เบส เปรียบเทียบด้วยวิธี multiple alignment โดยโปรแกรม ClustalW แสดงดังนี้



```
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          110      120      130      140      150
20 TATTGTATTGATTCTTACCTTCATACTTCAGATTAAGATCGAGATATTGG
19 TATTGTATTGATTCTTACCTTCATACTTCAGATTAAGATCGAGATATTGG
18 TATTGTATTGATTCTTACCTTCATACTTCAGATTAAGATCGAGATATTGG
17 TATTGTATTGATTCTTACCTTCATACTTCAGATTAAGATCGAGATATTGG
16 TATTGTATTGATTCTTACCTTCATACTTCAGATTAAGATCGAGATATTGG
15 TATTGTATTGATTCTTACCTTCATACTTCAGATTAAGATCGAGATATTGG
14 TATTGTATTGATTCTTACCTTCATACTTCAGATTAAGATCGAGATATTGG
13 TATTGTATTGATTCTTACCTTCATACTTCAGATTAAGATCGAGATATTGG
12 TATTGTATTGATTCTTACCTTCATACTTCAGATTAAGATCGAGATATTGG
11 TATTGTATTGATTCTTACCTTCATACTTCAGATTAAGATCGAGATATTGG
10 TATTGTATTGATTCTTACCTTCATACTTCAGATTAAGATCGAGATATTGG
9 TATTGTATTGATTCTTACCTTCATACTTCAGATTAAGATCGAGATATTGG
8 TATTGTATTGATTCTTACCTTCATACTTCAGATTAAGATCGAGATATTGG
7 TATTGTATTGATTCTTACCTTCATACTTCAGATTAAGATCGAGATATTGG
6 TATTGTATTGATTCTTACCTTCATACTTCAGATTAAGATCGAGATATTGG
5 -----
4 TATTGTATTGATTCTTACCTTCATACTTCAGATTAAGATCGAGATATTGG
3 TATTGTATTGATTCTTACCTTCATACTTCAGATTAAGATCGAGATATTGG
2 TATTGTATTGATTCTTACCTTCATACTTCAGATTAAGATCGAGATATTGG
1 TATTGTATTGATTCTTACCTTCATACTTCAGATTAAGATCGAGATATTGG

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          160      170      180      190      200
20 ACATAGAATGCCAATTTTAAAAATGTAAAAAAAAGGAGTAATCAGCCGTG
19 ACATAGAATGCCAATTTTAAAAATGTAAAAAAAAGGAGTAATCAGCCGTG
18 ACATAGAATGCCAATTTTAAAAATGTAAAAAAAAGGAGTAATCAGCCGTG
17 ACATAGAATGCCAATTTTAAAAATGTAAAAAGAAGGAGTAATCAGCCGTG
16 ACATAGAATGCCAATTTTAAAAATGTAAAAAAAAGGAGTAATCAGCCGTG
15 ACATAGAATGCCAATTTTAAAAATGTAAAAAAAAGGAGTAATCAGCCGTG
14 ACATAGAATGCCAATTTTAAAAATGTAAAAAAAAGGAGTAATCAGCCGTG
13 ACATAGAATGCCAATTTTAAAAATGTAAAAAAAAGGAGTAATCAGCCGTG
12 ACATAGAATGCCAATTTTAAAAATGTAAAAAAAAGGAGTAATCAGCCGTG
11 ACATAGAATGCCAATTTTAAAAATGTAAAAAAAAGGAGTAATCAGCCGTG
10 ACATAGAATGCCAATTTTAAAAATGTAAAAAAAAGGAGTAATCAGCCGTG
9 ACATAGAATGCCAATTTTAAAAATGTAAAAAAAAGGAGTAATCAGCCGTG
8 ACATAGAATGCCAATTTTAAAAATGTAAAAAAAAGGAGTAATCAGCCGTG
7 ACATAGAATGCCAATTTTAAAAATGTAAAAAAAAGGAGTAATCAGCCGTG
6 ACATAGAATGCCAATTTTAAAAATGTAAAAAAAAGGAGTAATCAGCCGTG
5 -----
4 ACATAGAATGCCAATTTTAAAAATGTAAAAAAAAGGAGTAATCAGCCGTG
3 ACATAGAATGCCAATTTTAAAAATGTAAAAAAAAGGAGTAATCAGCCGTG
2 ACATAGAATGCCAATTTTAAAAATGTAAAAAAAAGGAGTAATCAGCCGTG
1 ACATAGAATGCCAATTTTAAAAATGTAAAAAAAAGGAGTAATCAGCCGTG
```

```

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
                210      220      230      240      250
20 ACACGTTCACTAAAAAAAAATCCTTTTGTAGCTAATCATTATCGGGAAA
19 ACACGTTCACTAAAAAAAAATCCTTTTGTAGCTAATCATTATCGGGAAA
18 ACACGTTCACTAAAAAAAAATCCTTTTGTAGCTAATCATTATCGGGAAA
17 ACACGTTCACTAAAAAAAAATCCTTTTGTAGCTAATCATTATCGGGAAA
16 ACACGTTCACTAAAAAAAAATCCTTTTGTAGCTAATCATTATCGGGAAA
15 ACACGTTCACTAAAAAAAAATCCTTTTGTAGCTAATCATTATCGGGAAA
14 ACACGTTCACTAAAAAAAAATCCTTTTGTAGCTAATCATTATCGGGAAA
13 ACACGTTCACTAAAAAAAAATCCTTTTGTAGCTAATCATTATCGGGAAA
12 ACACGTTCACTAAAAAAAAATCCTTTTGTAGCTAATCATTATCGGGAAA
11 ACACGTTCACTAAAAAAAAATCCTTTTGTAGCTAATCATTATCGGGAAA
10 ACACGTTCACTAAAAAAAAATCCTTTTGTAGCTAATCATTATCGGGAAA
9 ACACGTTCACTAAAAAAAAATCCTTTTGTAGCTAATCATTATCGGGAAA
8 ACACGTTCACTAAAAAAAAATCCTTTTGTAGCTAATCATTATCGGGAAA
7 ACACGTTCACTAAAAAAAAATCCTTTTGTAGCTAATCATTATCGGGAAA
6 ACACGTTCACTAAAAAAAAATCCTTTTGTAGCTAATCATTATCGGGAAA
5 -----
4 ACACGTTCACTAAAAAAAAATCCTTTTGTAGCTAATCATTATCGGGAAA
3 ACACGTTCACTAAAAAAAAATCCTTTTGTAGCTAATCATTATCGGGAAA
2 ACACGTTCACTAAAAAAAAATCCTTTTGTAGCTAATCATTATCGGGAAA
1 ACACGTTCACTAAAAAAAAATCCTTTTGTAGCTAATCATTATCGGGAAA

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
                260      270      280      290      300
20 AATTGAAAACTCAACATGAGGGAGGAGAAAAGAAATAATAGTGACTTGGT
19 AATTGAAAACTCAACATGAGGGAGGAGAAAAGAAATAATAGTGACTTGGT
18 AATTGAAAACTCAACATGAGGGAGGAGAAAAGAAATAATAGTGACTTGGT
17 AATTGAAAACTCAACATGAGGGAGGAGAAAAGAAATAATAGTGACTTGGT
16 AATTGAAAACTCAACATGAGGGAGGAGAAAAGAAATAATAGTGACTTGGT
15 AATTGAAAACTCAACATGAGGGAGGAGAAAAGAAATAATAGTGACTTGGT
14 AATTGAAAACTCAACATGAGGGAGGAGAAAAGAAATAATAGTGACTTGGT
13 AATTGAAAACTCAACATGAGGGAGGAGAAAAGAAATAATAGTGACTTGGT
12 AATTGAAAACTCAACATGAGGGAGGAGAAAAGAAATAATAGTGACTTGGT
11 AATTGAAAACTCAACATGAGGGAGGAGAAAAGAAATAATAGTGACTTGGT
10 AATTGAAAACTCAACATGAGGGAGGAGAAAAGAAATAATAGTGACTTGGT
9 AATTGAAAACTCAACATGAGGGAGGAGAAAAGAAATAATAGTGACTTGGT
8 AATTGAAAACTCAACATGAGGGAGGAGAAAAGAAATAATAGTGACTTGGT
7 AATTGAAAACTCAACATGAGGGAGGAGAAAAGAAATAATAGTGACTTGGT
6 AATTGAAAACTCAACATGAGGGAGGAGAAAAGAAATAATAGTGACTTGGT
5 -----
4 AATTGAAAACTCAACATGAGGGAGGAGAAAAGAAATAATAGTGACTTGGT
3 AATTGAAAACTCAACATGAGGGAGGAGAAAAGAAATAATAGTGACTTGGT
2 AATTGAAAACTCAACATGAGGGAGGAGAAAAGAAATAATAGTGACTTGGT
1 AATTGAAAACTCAACATGAGGGAGGAGAAAAGAAATAATAGTGACTTGGT

```

```

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          310      320      330      340      350
20 CTGGGCATCTACCATTATACCCACAATGATTGGCCATACAATCGCTATT
19 CTGGGCATCTACCATTATACCCACAATGATTGGCCATACAATCGCTATT
18 CTGGGCATCTACCATTATACCCACAATGATTGGCCATACAATCGCTATT
17 CTGGGCATCTACCATTATACCCACAATGATTGGCCATACAATCGCTATT
16 CTGGGCATCTACCATTATACCCACAATGATTGGCCATACAATCGCTATT
15 CTGGGCATCTACCATTATACCCACAATGATTGGCCATACAATCGCTATT
14 CTGGGCATCTACCATTATACCCACAATGATTGGCCATACAATCGCTATT
13 CTGGGCATCTACCATTATACCCACAATGATTGGCCATACAATCGCTATT
12 CTGGGCATCTACCATTATACCCACAATGATTGGCCATACAATCGCTATT
11 CTGGGCATCTACCATTATACCCACAATGATTGGCCATACAATCGCTATT
10 CTGGGCATCTACCATTATACCCACAATGATTGGCCATACAATCGCTATT
9 CTGGGCATCTACCATTATACCCACAATGATTGGCCATACAATCGCTATT
8 CTGGGCATCTACCATTATACCCACAATGATTGGCCATACAATCGCTATT
7 CTGGGCATCTACCATTATACCCACAATGATTGGCCATACAATCGCTATT
6 CTGGGCATCTACCATTATACCCACAATGATTGGCCATACAATCGCTATT
5 -----
4 CTGGGCATCTACCATTATACCCACAATGATTGGCCATACAATCGCTATT
3 CTGGGCATCTACCATTATACCCACAATGATTGGCCATACAATCGCTATT
2 CTGGGCATCTACCATTATACCCACAATGATTGGCCATACAATCGCTATT
1 CTGGGCATCTACCATTATACCCACAATGATTGGCCATACAATCGCTATT

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          360      370      380      390      400
20 CATAATGGAAAGGAACATTTACCTATTTATATAACAGATCGTATGGTCGG
19 CATAATGGAAAGGAACATTTACCTATTTATATAACAGATCGTATGGTCGG
18 CATAATGGAAAGGAACATTTACCTATTTATATAACAGATCGTATGGTCGG
17 CATAATGGAAAGGAACATTTACCTATTTATATAACAGATCGTATGGTCGG
16 CATAATGGAAAGGAACATTTACCTATTTATATAACAGATCGTATGGTCGG
15 CATAATGGAAAGGAACATTTACCTATTTATATAACAGATCGTATGGTCGG
14 CATAATGGAAAGGAACATTTACCTATTTATATAACAGATCGTATGGTCGG
13 CATAATGGAAAGGAACATTTACCTATTTATATAACAGATCGTATGGTCGG
12 CATAATGGAAAGGAACATTTACCTATTTATATAACAGATCGTATGGTCGG
11 CATAATGGAAAGGAACATTTACCTATTTATATAACAGATCGTATGGTCGG
10 CATAATGGAAAGGAACATTTACCTATTTATATAACAGATCGTATGGTCGG
9 CATAATGGAAAGGAACATTTACCTATTTATATAACAGATCGTATGGTCGG
8 CATAATGGAAAGGAACATTTACCTATTTATATAACAGATCGTATGGTCGG
7 CATAATGGAAAGGAACATTTACCTATTTATATAACAGATCGTATGGTCGG
6 CATAATGGAAAGGAACATTTACCTATTTATATAACAGATCGTATGGTCGG
5 -----
4 CATAATGGAAAGGAACATTTACCTATTTATATAACAGATCGTATGGTCGG
3 CATAATGGAAAGGAACATTTACCTATTTATATAACAGATCGTATGGTCGG
2 CATAATGGAAAGGAACATTTACCTATTTATATAACAGATCGTATGGTCGG
1 CATAATGGAAAGGAACATTTACCTATTTATATAACAGATCGTATGGTCGG

```

```

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
                                410      420      430      440      450
20  TCACAAATTGGGAGAATTCGCACCTACTCTAACTTTCGTGAGACATGCAA
19  TCACAAATTGGGAGAATTCGCACCTACTCTAACTTTCGTGAGACATGCAA
18  TCACAAATTGGGAGAATTCGCACCTACTCTAACTTTCGTGAGACATGCAA
17  TCACAAATTGGGAGAATTCGCACCTACTCTAACTTTCGTGAGACATGCAA
16  TCACAAATTGGGAGAATTCGCACCTACTCTAACTTTCGTGAGACATGCAA
15  TCACAAATTGGGAGAATTCGCACCTACTCTAACTTTCGTGAGACATGCAA
14  TCACAAATTGGGAGAATTCGCACCTACTCTAACTTTCGTGAGACATGCAA
13  TCACAAATTGGGAGAATTCGCACCTACTCTAACTTTCGTGAGACATGCAA
12  TCACAAATTGGGAGAATTCGCACCTACTCTAACTTTCGTGAGACATGCAA
11  TCACAAATTGGGAGAATTCGCACCTACTCTAACTTTCGTGAGACATGCAA
10  TCACAAATTGGGAGAATTCGCACCTACTCTAACTTTCGTGAGACATGCAA
9   TCACAAATTGGGAGAATTCGCACCTACTCTAACTTTCGTGAGACATGCAA
8   TCACAAATTGGGAGAATTCGCACCTACTCTAACTTTCGTGAGACATGCAA
7   TCACAAATTGGGAGAATTCGCACCTACTCTAACTTTCGTGAGACATGCAA
6   TCACAAATTGGGAGAATTCGCACCTACTCTAACTTTCGTGAGACATGCAA
5   -----
4   TCACAAATTGGGAGAATTCGCACCTACTCTAACTTTCGTGAGACATGCAA
3   TCACAAATTGGGAGAATTCGCACCTACTCTAACTTTCGTGAGACATGCAA
2   TCACAAATTGGGAGAATTCGCACCTACTCTAACTTTCGTGAGACATGCAA
1   TCACAAATTGGGAGAATTCGCACCTACTCTAACTTTCGTGAGACATGCAA

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
                                460      470      480      490      500
20  GAAACGATAATAAATCTCGTCGTTAGTCGTTCTACTAAGTA-----TTCA
19  GAAACGATAATAAATCTCGTCGTTAGTCGTTCTACTAAGTA-----TTCA
18  GAAACGATAATAAATCTCGTCGTTAGTCGTTCTACTAAGTA-----TTCA
17  GAAACGATAATAAATCTCGTCGTTAGTCGTTCTACTAAGTATTCATTTCA
16  GAAACGATAATAAATCTCGTCGTTAGTCGTTCTACTAAGTA-----TTCA
15  GAAACGATAATAAATCTCGTCGTTAGTCGTTCTACTAAGTA-----TTCA
14  GAAACGATAATAAATCTCGTCGTTAGTCGTTCTACTAAGTA-----TTCA
13  GAAACGATAATAAATCTCGTCGTTAGTCGTTCTACTAAGTA-----TTCA
12  GAAACGATAATAAATCTCGTCGTTAGTCGTTCTACTAAGTA-----TTCA
11  GAAACGATAATAAATCTCGTCGTTAGTCGTTCTACTAAGTA-----TTCA
10  GAAACGATAATAAATCTCGTCGTTAGTCGTTCTACTAAGTA-----TTCA
9   GAAACGATAATAAATCTCGTCGTTAGTCGTTCTACTAAGTA-----TTCA
8   GAAACGATAATAAATCTCGTCGTTAGTCGTTCTACTAAGTA-----TTCA
7   GAAACGATAATAAATCTCGTCGTTAGTCGTTCTACTAAGTA-----TTCA
6   GAAACGATAATAAATCTCGTCGTTAGTCGTTCTACTAAGTA-----TTCA
5   -----
4   GAAACGATAATAAATCTCGTCGTTAGTCGTTCTACTAAGTA-----TTCA
3   GAAACGATAATAAATCTCGTCGTTAGTCGTTCTACTAAGTA-----TTCA
2   GAAACGATAATAAATCTCGTCGTTAGTCGTTCTACTAAGTA-----TTCA
1   GAAACGATAATAAATCTCGTCGTTAGTCGTTCTACTAAGTA-----TTCA

```

```

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
                    510      520      530      540      550
20  TGTTAAAAGT-----CTTAT
19  TGTTAAAAGT-----CTTAT
18  TGTTAAAAGT-----CTTAT
17  TGTTAAAAGT-----CTTAT
16  TGTTAAAAGTCTTATCTTAATAGTATTTATAAATAGTATTTATAACTTAT
15  TGTTAAAAGTCTTATCTTAATAGTATTTATAAATAGTATTTATAACTTAT
14  TGTTAAAAGTCTTATCTTAATAGTATTTATAAATAGTATTTATAACTTAT
13  TGTTAAAAGT-----CTTAT
12  TGTTAAAAGTCTTATCTTAATAGTATTTATAAATAGTATTTATAACTTAT
11  TGTTAAAAGT-----CTTAT
10  TGTTAAAAGTCTTATCTTAATAGTATTTATAAATAGTATTTATAACTTAT
9   TGTTAAAAGTCTTATCTTAATAGTATTTATAAATAGTATTTATAACTTAT
8   TGTTAAAAGT-----CTTAT
7   TGTTAAAAGT-----CTTAT
6   TGTTAAAAGTCTTATCTTAATAGTATTTATAAATAGTATTTATAACTTAT
5   -----
4   TGTTAAAAGTCTTATCTTAATAGTATTTATAAATAGTATTTATAACTTAT
3   TGTTAAAAGTCTTATCTTAATAGTATTTATAAATAGTATTTATAACTTAT
2   TGTTAAAAGTCTTATCTTAATAGTATTTATAAATAGTATTTATAACTTAT
1   TGTTAAAAGTCTTATCTTAATAGTATTTATAAATAGTATTTATAACTTAT

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
                    560      570      580      590      600
20  CTTAATAGTATTTATAAATTAGTATTTAGACTTAAGAGTCTTTATCTTATA
19  CTTAATAGTATTTATAAATTAGTATTTAGACTTAAGAGTCTTTATCTTATA
18  CTTAATAGTATTTATAAATTAGTATTTAGACTTAAGAGTCTTTATCTTATA
17  CTTAATAGTATTTATAAATTAGTATTTAGACTTAAGAGTCTTTATCTTATA
16  CTTAATAGTATTTATAAATTAGTATTTAGACTTAAGAGTCTTTATCTTATA
15  CTTAATAGTATTTATAAATTAGTATTTAGACTTAAGAGTCTTTATCTTATA
14  CTTAATAGTATTTATAAATTAGTATTTAGACTTAAGAGTCTTTATCTTATA
13  CTTAATAGTATTTCTAATTAGTATTTAGACTTAAGAGTCTTTATCTTATA
12  CTTAATAGTATTTATAAATTAGTATTTAGACTTAAGAGTCTTTATCTTATA
11  CTTAATAGTATTTCTAATTAGTATTTAGACTTAAGAGTCTTTATCTTATA
10  CTTAATAGTATTTATAAATTAGTATTTAGACTTAAGAGTCTTTATCTTATA
9   CTTAATAGTATTTATAAATTAGTATTTAGACTTAAGAGTCTTTATCTTATA
8   CTTAATAGTATTTATAAATTAGTATTTAGACTTAAGAGTCTTTATCTTATA
7   CTTAATAGTATTTATAAATTAGTATTTAGACTTAAGAGTCTTTATCTTATA
6   CTTAATAGTATTTATAAATTAGTATTTAGACTTAAGAGTCTTTATCTTATA
5   -----
4   CTTAATAGTATTTATAAATTAGTATTTAGACTTAAGAGTCTTTATCTTATA
3   CTTAATAGTATTTATAAATTAGTATTTAGACTTAAGAGTCTTTATCTTATA
2   CTTAATAGTATTTATAAATTAGTATTTAGACTTAAGAGTCTTTATCTTATA
1   CTTAATAGTATTTATAAATTAGTATTTAGACTTAAGAGTCTTTATCTTATA

```



```

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          610      620      630      640      650
20 G-----TAAGAGTATAGTATTTTCTTTT
19 G-----TAAGAGTATAGTATTTTCTTTT
18 GTAAGAGTATAGTATTTTCTTTTAAAGAGTATAGTATTTTCTTTT
17 G-----TAAGAGTATAGTATTTTCTTTT
16 G-----TAAGAGTATAGTATTTTCTTTT
15 G-----TAAGAGTATAGTATTTTCTTTT
14 G-----TAAGAGTATAGTATTTTCTTTT
13 G-----TAAGAGTATAGTATTTTCTTTT
12 G-----TAAGAGTATAGTATTTTCTTTT
11 G-----TAAGAGTATAGTATTTTCTTTT
10 G-----TAAGAGTATAGTATTTTCTTTT
9  G-----TAAGAGTATAGTATTTTCTTTT
8  G-----TAAGAGTATAGTATTTTCTTTT
7  G-----TAAGAGTATAGTATTTTCTTTT
6  G-----TAAGAGTATAGTATTTTCTTTT
5  -----
4  G-----TAAGAGTATAGTATTTTCTTTT
3  G-----TAAGAGTATAGTATTTTCTTTT
2  G-----TAAGAGTATAGTATTTTCTTTT
1  G-----TAAGAGTATAGTATTTTCTTTT

```

```

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          660      670      680      690      700
20 TATAGTATACTAAGACTTAGACTTTTATTACTTATTCTTACTTTTCTGAC
19 TATAGTATACTAAGACTTAGACTTTTATTACTTATTCTTACTTTTCTGAC
18 TATAGTATACTAAGACTTAGACTTTTATTACTTATTCTTACTTTTCTGAC
17 TATAGTATACTAAGACTTAGACTTTTATTACTTATTCTTACTTTTATGAC
16 TATAGTATACTAAGACTTAGACTTTTATTACTTATTCTTACTTTTCTGAC
15 TATAGTATACTAAGACTTAGACTTTTATTACTTATTCTTACTTTTCTGAC
14 TATAGTATACTAAGACTTAGACTTTTATTACTTATTCTTACTTTTCTGAC
13 TCTAGTATACTAAGACTTAGACTTTTATTACTTATTCTTACTTTTCTGAC
12 TATAGTATACTAAGACTTAGACTTTTATTACTTATTCTTACTTTTCTGAC
11 TCTAGTATACTAAGACTTAGACTTTTATTACTTATTCTTACTTTTCTGAC
10 TATAGTATACTAAGACTTAGACTTTTATTACTTATTCTTACTTTTCTGAC
9  TATAGTATACTAAGACTTAGACTTTTATTACTTATTCTTACTTTTCTGAC
8  TATAGTATACTAAGACTTAGACTTTTATTACTTATTCTTACTTTTCTGAC
7  TATAGTATACTAAGACTTAGACTTTTATTACTTATTCTTACTTTTCTGAC
6  TATAGTATACTAAGACTTAGACTTTTATTACTTATTCTTACTTTTCTGAC
5  -----
4  TATAGTATACTAAGACTTAGACTTTTATTACTTATTCTTACTTTTCTGAC
3  TATAGTATACTAAGACTTAGACTTTTATTACTTATTCTTACTTTTCTGAC
2  TATAGTATACTAAGACTTAGACTTTTATTACTTATTCTTACTTTTCTGAC
1  TATAGTATACTAAGACTTAGACTTTTATTACTTATTCTTACTTTTCTGAC

```

```

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
      710      720      730      740      750
20 TTATCTTATACTATACTTCACCTAGGCACTTATCATTTCATTGGCGGGGGGA
19 TTATCTTATACTATACTTCACCTAGGCACTTATCATTTCATTGGCGGGGGGA
18 TTATCTTATACTATACTTCACCTAGGCACTTATCATTTCATTGGCGGGGGGA
17 TTATCTTATACTATACTTCACCTAGGCACTTATCATTTCATTGGCGGGGGGA
16 TTATCTTATACTATACTTCACCTAGGCACTTATCATTTCATTGGCGGGGGGA
15 TTATCTTATACTATACTTCACCTAGGCACTTATCATTTCATTGGCGGGGGGA
14 TTATCTTATACTATACTTCACCTAGGCACTTATCATTTCATTGGCGGGGGGA
13 TTATCTTATACTATACTTCACCTAGGCACTTATCATTTCATTGGCGGGGGGA
12 TTATCTTATACTATACTTCACCTAGGCACTTATCATTTCATTGGCGGGGGGA
11 TTATCTTATACTATACTTCACCTAGGCACTTATCATTTCATTGGCGGGGGGA
10 TTATCTTATACTATACTTCACCTAGGCACTTATCATTTCATTGGCGGGGGGA
9 TTATCTTATACTATACTTCACCTAGGCACTTATCATTTCATTGGCGGGGGGA
8 TTATCTTATACTATACTTCACCTAGGCACTTATCATTTCATTGGCGGGGGGA
7 TTATCTTATACTATACTTCACCTAGGCACTTATCATTTCATTGGCGGGGGGA
6 TTATCTTATACTATACTTCACCTAGGCACTTATCATTTCATTGGCGGGGGGA
5 -----
4 TTATCTTATACTATACTTCACCTAGGCACTTATCATTTCATTGGCGGGGGGA
3 TTATCTTATACTATACTTCACCTAGGCACTTATCATTTCATTGGCGGGGGGA
2 TTATCTTATACTATACTTCACCTAGGCACTTATCATTTCATTGGCGGGGGGA
1 TTATCTTATACTATACTTCACCTAGGCACTTATCATTTCATTGGCGGGGGGA

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
      760      770      780      790      800
20 TAACTTTCTTTTATGATAAAGAACGAAAAATCTGATAGAGAAGCAAAAAG-
19 TAACTTTCTTTTATGATAAAGAACGAAAAATCTGATAGAGAAGCAAAAAG-
18 TAACTTTCTTTTATGATAAAGAACGAAAAATCTGATAGAGAAGCAAAAAG-
17 TAACTTTCTTTTATGATAAAGAACGAAAAATCTGATAGAGAAGCAAAAAG-
16 TAACTTTCTTTTATGATAAAGAACGAAAAATCTGATAGAGAAGCAAAAAG-
15 TAACTTTCTTTTATGATAAAGAACGAAAAATCTGATAGAGAAGCAAAAAG-
14 TAACTTTCTTTTATGATAAAGAACGAAAAATCTGATAGAGAAGCAAAAAG-
13 TAACTTTCTTTTATGATAAAGAACGAAAAATCTGATAGAGAAGCAAAAAG-
12 TAACTTTCTTTTATGATAAAGAACGAAAAATCTGATAGAGAAGCAAAAAG-
11 TAACTTTCTTTTATGATAAAGAACGAAAAATCTGATAGAGAAGCAAAAAG-
10 TAACTTTCTTTTATGATAAAGAACGAAAAATCTGATAGAGAAGCAAAAAG-
9 TAACTTTCTTTTATGATAAAGAACGAAAAATCTGATAGAGAAGCAAAAAG-
8 TAACTTTCTTTTATGATAAAGAACGAAAAATCTGATAGAGAAGCAAAAAG-
7 TAACCTTCTTTTATGATAAAGAACGAAAAATCTGATAGAGAAGCAAAAAG-
6 TAACTTTCTTTTATGATAAAGAACGAAAAATCTGATAGAGAAGCAAAAAGT
5 -----
4 TAACTTTCTTTTATGATAAAGAACGAAAAATCTGATAGAGAAGCAAAAAG-
3 TAACTTTCTTTTATGATAAAGAACGAAAAATCTGATAGAGAAGCAAAAAG-
2 TAACTTTCTTTTATGATAAAGAACGAAAAATCTGATAGAGAAGCAAAAAG-
1 TAACTTTCTTTTATGATAAAGAACGAAAAATCTGATAGAGAAGCAAAAAG-

```

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|  
 810 820 830 840 850

20  
19  
18  
17  
16  
15  
14  
13  
12  
11  
10  
9  
8  
7  
6 GTTAGCTCAACATATATATGTATGTATGTCTGTTTTCAAAGCACGAAAAG  
5  
4  
3  
2  
1

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|  
 860 870 880 890 900

20  
19  
18  
17  
16  
15  
14  
13  
12  
11  
10  
9  
8  
7  
6 TAATTGATCAGATTCGCGGGCGTTCTTATGAGGAAACACTCATGATATTA  
5  
4  
3  
2  
1

```

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          910      920      930      940      950
20 -----A
19 -----A
18 -----
17 -----A
16 -----A
15 -----A
14 -----A
13 -----A
12 -----A
11 -----A
10 -----A
9 -----A
8 -----A
7 -----
6 GAACTAATGCCTTATAGAGCATCTTATCCAATTTTACAATTTAGTTTATT
5 -----
4 -----A
3 -----A
2 -----A
1 -----A

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          960      970      980      990      1000
20 CCCCTGAAT-----CCTGAAT-CCTGAATTGAATCCTACAAGGTAAAA
19 CC-----CCTGAAT-CCTGAATTGAATCCTACAAGGTAAAA
18 -----CCTGAAT-CCTGAATTGAATCCTACAAGGTAAAA
17 GCTCAACATATATATGTATGTATGTCTGTTTCAA---ACAAGGTAAAA
16 CCCCTGAATCTGGACACCTGAAT-CCTGAATTGAATCCTACAAGGTAAAA
15 CCCCTGAATCTGGACACCTGAAT-CCTGAATTGAATCCTACAAGGTAAAA
14 CCCCTGAATCTGGACACCTGAAT-CCTGAATTGAATCCTACAAGGTAAAA
13 CC-----CCTGAAT-CCTGAATTGAATCCTACAAGGTAAAA
12 CCCCTGAATCTGGACACCTGAAT-CCTGAATTGAATCCTACAAGGTAAAA
11 CC-----CCTGAAT-CCTGAATTGAATCCTACAAGGTAAAA
10 CCCCTGAATCTGGACACCTGAAT-CCTGAATTGAATCCTACAAGGTAAAA
9 CCCCTGAATCTGGACACCTGAAT-CCTGAATTGAATCCTACAAGGTAAAA
8 CC-----CCTGAAT-CCTGAATTGAATCCTACAAGGTAAAA
7 -----CCTGAAT-CCTGAATTGAATCCTACGAGGTAAAA
6 CTGCTGAATCTGGACCCCTGAAT-CCTGAATTGAATCCTACAAGGTAAAA
5 -----GTAAAA
4 CCCCTGAATCTGGACACCTGAAT-CCTGAATTGAATCCTACAAGGTAAAA
3 CCCCTGAATCTGGACACCTGAAT-CCTGAATTGAATCCTACAAGGTAAAA
2 CCCCTGAATCTGGACACCTGAAT-CCTGAATTGAATCCTACAAGGTAAAA
1 CCCCTGAATCTGGACACCTGAAT-CCTGAATTGAATCCTACAAGGTAAAA
*****

```

```

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
      1010      1020      1030      1040      1050
20 AATCCCCATATCTTGTAAAGATATGGGGATTTTTTACCTTCAAAAATT----
19 AATCCCCATATCTTGTAAAGATATGGGGATTTTTTACCTTCAAAAATT----
18 AATCCCCATATCTTGTAAAGATATGGGGATTTTTTACCTTCAAAAATT----
17 AATCCCCATATCTTGTAAAGATATGGGGATTTTTTACCTTCAAAAATTCA-
16 AATCCCCATATCTTACAAGATATGGGGATTTTTTACCTTCAAAAATT----
15 AATCCCCATATCTTACAAGATATGGGGATTTTTTACCTTCAAAAATT----
14 AATCCCCATATCTTACAAGATATGGGGATTTTTTACCTTCAAAAATT----
13 AATCCCCATATCTTACAAGATATGGGGATTTTTTACCTTCAAAAATT----
12 AATCCCCATATCTTGTAAAGATATGGGGATTTTTTACCTTCAAAAATT----
11 AATCCCCATATCTTACAAGATATGGGGATTTTTTACCTTCAAAAATT----
10 AATCCCCATATCTTACAAGATATGGGGATTTTTTACCTTCAAAAATTCATA
 9 AATCCCCATATCTTACAAGATATGGGGATTTTTTACCTTCAAAAATT----
 8 AATCCCCATATCTTGTAAAGATATGGGGATTTTTTACCTTCAAAAATT----
 7 AATCCCCATATCTTACAAGATATGGGGATTTTTTACCTTCAAAAATT----
 6 AATCCCCATATCTTGTAAAGATATGGGGATTTTTTACCTTCAAAAATT----
 5 AATCCCCATATCTTACAAGATATGGGGATTTTTTACCTTCAAAAATT----
 4 AATCCCCATATCTTACAAGATATGGGGATTTTTTACCTTCAAAAATTCATA
 3 AATCCCCATATCTTGTAAAGATATGGGGATTTTTTACCTTCAAAAATT----
 2 AATCCCCATATCTTACAAGATATGGGGATTTTTTACCTTCAAAAATTCATA
 1 AATCCCCATATCTTACAAGATATGGGGATTTTTTACCTTCAAAAATTCATA
***** ** * *****

```

```

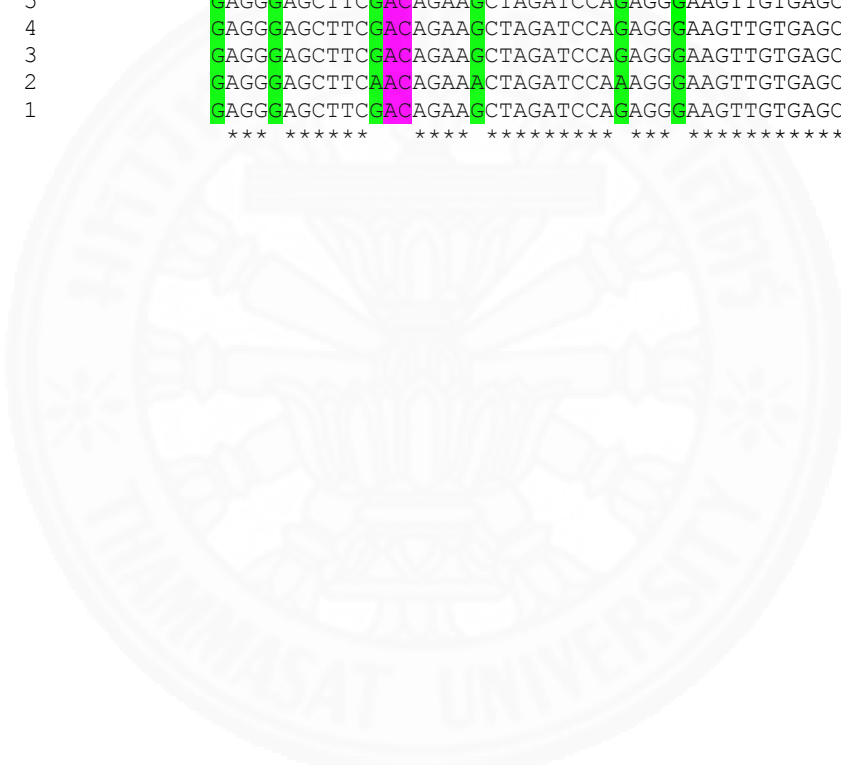
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
      1060      1070      1080      1090      2000
20 --CATATACATATAAATGTAT---ACAAAAGTATTATC---CATTTGTA
19 --CATATACATATAAATGTAT---ACAAAAGTATTATC---CATTTGTA
18 --CATATACATATAAATGTAT---ACAAAAGTATTATC---CATTTGTA
17 --TATATATATATATATGTAT---ACAAAAGTATTATC---CATTTGTA
16 --CATATACATATAAATGTAT---ACAAAAGTATTATA---CATTTGTA
15 --CATATACATATAAATGTAT---ACAAAAGTATTATA---CATTTGTA
14 --CATATACATATAAATGTAT---ACAAAAGTATTATA---CATTTGTA
13 --CATATACATATAAATGTAT---ACAAAAGTATTATC---CATTTGTA
12 --CATATACATATAAATGTAT---ACAAAAGTATTATA---CATTTGTA
11 --CATATACATATAAATGTAT---ACAAAAGTATTATC---CATTTGTA
10 TACATATACATATAAATGTAT---ACAAAAGTATTATA---CATTTGTA
 9 --CATATACATATAAATGTAT---ACAAAAGTATTATA---CATTTGTA
 8 --CATATACATATAAATGTAT---ACAAAAGTATTATC---CATTTGTA
 7 --CATATACATATAAATGTAT---ACAAAAGTATTATC---CATTTGTA
 6 --CATATACATATAAATGTATAGCAAAAAGTATTATCCATACATTTGTA
 5 --CATATACATATAAATGTAT---ACAAAAGTATTATC---CATTTGTA
 4 TACATATACATATAAATGTAT---ACAAAAGTATTATA---CATTTGTA
 3 --CATATACATATAAATGTAT---ACAAAAGTATTATA---CATTTGTA
 2 TACATATACATATAAATGTAT---ACAAAAGTATTATA---CATTTGTA
 1 TACATATACATATAAATGTAT---ACAAAAGTATTATA---CATTTGTA
***** ***** * *****

```

```

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
                2010      2020      2030      2040      2050
20 GAGGAGCTTCGACAGAACTAGATCCAGAGGAAAGTTGTGAGCATTACG
19 GAGGAGCTTCGACAGAACTAGATCCAGAGGAAAGTTGTGAGCATTACG
18 GAGGAGCTTCGACAGAACTAGATCCAGAGGAAAGTTGTGAGCATTACG
17 GAGGAGCTTCGACAGAACTAGATCCAGAGGAAAGTTGTGAGCATTACG
16 GAGGAGCTTCGACAGAACTAGATCCAGAGGAAAGTTGTGAGCATTACG
15 GAGGAGCTTCGACAGAACTAGATCCAGAGGAAAGTTGTGAGCATTACG
14 GAGGAGCTTCGACAGAACTAGATCCAGAGGAAAGTTGTGAGCATTACG
13 GAGGAGCTTCGACAGAACTAGATCCAGAGGAAAGTTGTGAGCATTACG
12 GAGGAGCTTCGACAGAACTAGATCCAGAGGAAAGTTGTGAGCATTACG
11 GAGGAGCTTCGACAGAACTAGATCCAGAGGAAAGTTGTGAGCATTACG
10 GAGGAGCTTCGACAGAACTAGATCCAGAGGAAAGTTGTGAGCATTACG
9  GAGGAGCTTCGACAGAACTAGATCCAGAGGAAAGTTGTGAGCATTACG
8  GAGGAGCTTCGACAGAACTAGATCCAGAGGAAAGTTGTGAGCATTACG
7  GAGGAGCTTCGACAGAACTAGATCCAGAGGAAAGTTGTGAGCATTACG
6  AAGGAAGCTTCGAGAGAACTAGATCCAGAGGAAAGTTGTGAGCATTACG
5  GAGGAGCTTCGACAGAACTAGATCCAGAGGAAAGTTGTGAGCATTACG
4  GAGGAGCTTCGACAGAACTAGATCCAGAGGAAAGTTGTGAGCATTACG
3  GAGGAGCTTCGACAGAACTAGATCCAGAGGAAAGTTGTGAGCATTACG
2  GAGGAGCTTCACAGAACTAGATCCAGAGGAAAGTTGTGAGCATTACG
1  GAGGAGCTTCGACAGAACTAGATCCAGAGGAAAGTTGTGAGCATTACG
    ***  *****  ****  *****  ***  *****

```



```

      ....|. ....|.
      2062
20    TTCATGCATAAC
19    TTCATGCATAAC
18    TTCATGCATAAC
17    TTCATGCATAAC
16    TTCATGCATAAC
15    TTCATGCATAAC
14    TTCATGCATAAC
13    TTCATGCATAAC
12    TTCATGCATAAC
11    TTCATGCATAAC
10    TTCATGCATAAC
9     TTCATGCATAAC
8     TTCATGCATAAC
7     TTCATGCATAAC
6     TTCATGCATAAC
5     TTCATGCATAAC
4     TTCATGCATAAC
3     TTCATGCATAAC
2     TTCATGCATAAC
1     TTCATGCATAAC
*****

```

ภาพที่ 4.53 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีนระหว่างยีน *trnH* กับยีน *psbA K* [1-20 คือ กลัวยไม้รองเท่านั้น ได้แก่ (1) รองเท่านั้นอินทนนท์ (2) รองเท่านั้นอินทนนท์คอแดง (3) รองเท่านั้นอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท่านั้นอินทนนท์ลาว (5) รองเท่านั้นเหลืองเลย (6) รองเท่านั้นเหลืองกระบี่ (7) รองเท่านั้นโรสคิลเดียนุม (8) รองเท่านั้นไพรมูเรียนุม (9) รองเท่านั้นดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท่านั้นสไปเซเรียนุม (11) รองเท่านั้นเมืองกาญจน์ (12) รองเท่านั้นดอยตุง (13) รองเท่านั้นเชียงดาว (14) รองเท่านั้นเฮนรียานุม (15) รองเท่านั้นเฮเลน (16) รองเท่านั้นทรานเลียนอนุม (17) รองเท่านั้นแพรสแทนส์ (18) รองเท่านั้นฟิลิปปินส์เอนซิส (19) รองเท่านั้นซูปาร์ดีโอ และ (20) รองเท่านั้นกล้วยโคไฟลุม (รูปแบบการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์ คือ อินเดล (Indel) คือ ทรานสเวอร์ชัน คือ ไพริมิดีนทรานสิชัน คือ พิวรีนทรานสิชัน 4 คือ แบบผสม)]



ตารางที่ 4.8 ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์บริเวณขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *tmH* และ *psbA* ที่เกิดความหลากหลาย

ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์	ชนิดกลายไม้ *	รูปแบบการเปลี่ยนแปลง	รูปแบบการกลาย
10	5	T เป็น C	ไพริมิดีนทรานสิชัน
20-46	5	Gap (insertion)	อินเดล
51	20	G เป็น A	พิวรีนทรานสิชัน
63	11,13	A เป็น C	ทรานสเวอร์ชัน
81	19	A เป็น C	ทรานสเวอร์ชัน
82	7	T เป็น G	ทรานสเวอร์ชัน
87-491	5	Gap (deletion)	อินเดล
492-496	17	Gap (insertion)	อินเดล
497-510	5	Gap (deletion)	อินเดล
511-545	5, 7, 8, 11, 13, 17, 18, 19, 20	Gap (deletion)	อินเดล
546-601	5	Gap (deletion)	อินเดล
602-623	18	Gap (insertion)	อินเดล
624-799	5	Gap (deletion)	อินเดล
800-887	6	Gap (insertion)	อินเดล
888	5	Gap (deletion)	อินเดล
	20	A เป็น G	พิวรีนทรานสิชัน
889	5	Gap (deletion)	อินเดล
	18	C เป็น G	ทรานสเวอร์ชัน
890	5	Gap (deletion)	อินเดล
	6,17	C เป็น T	ไพริมิดีนทรานสิชัน

ตารางที่ 4.8 (ต่อ)

ตำแหน่ง นิวคลีโอไทด์	ชนิดกลายไ้ *	รูปแบบการ เปลี่ยนแปลง	รูปแบบการกลาย
891	5, 17, 18	Gap (deletion)	อินเดล
	17	C เป็น T	ไพริมิดีนทรานสิชัน
892	5, 7, 17, 18	Gap (deletion)	อินเดล
	6	C เป็น A	ทรานสเวอร์ชัน
893-894	5, 7, 17, 18	Gap (deletion)	อินเดล
895	5, 7, 17, 19	Gap (deletion)	อินเดล
	6	G เป็น A	พิวรีนทรานสิชัน
896-949	6	Gap (insertion)	อินเดล
950	5, 7, 18	Gap (deletion)	อินเดล
	6	A เป็น T	ทรานสเวอร์ชัน
951	5, 7, 18	Gap (deletion)	อินเดล
	17	C เป็น G	ทรานสเวอร์ชัน
952	5, 7, 18	Gap (deletion)	อินเดล
	6	C เป็น T	ไพริมิดีนทรานสิชัน
953	5, 7, 8, 11, 13, 18, 19	Gap (deletion)	อินเดล
	6	C เป็น G	ทรานสเวอร์ชัน
	17	C เป็น T	ไพริมิดีนทรานสิชัน
954	5, 7, 8, 11, 13, 18, 19	Gap (deletion)	อินเดล
955	5, 7, 8, 11, 13, 18, 19	Gap (deletion)	อินเดล

ตารางที่ 4.8 (ต่อ)

ตำแหน่ง นิวคลีโอไทด์	ชนิดกลายไ้ *	รูปแบบการ เปลี่ยนแปลง	รูปแบบการกลาย
956	5, 7, 8, 11, 13, 18, 19	Gap (deletion)	อินเดล
	17	G เป็น A	พิวรีนทรานสิชัน
957	5, 7, 8, 11, 13, 18, 19	Gap (deletion)	อินเดล
	17	A เป็น C	ทรานสเวอร์ชัน
958	5, 7, 8, 11, 13, 18, 19	Gap (deletion)	อินเดล
959	5, 7, 8, 11, 13, 18, 19	Gap (deletion)	อินเดล
960	5, 7, 8, 11, 13, 18, 19, 20	Gap (deletion)	อินเดล
	17	C เป็น A	ทรานสเวอร์ชัน
961	5, 7, 8, 11, 13, 18, 19, 20	Gap (deletion)	อินเดล
962	5, 7, 8, 11, 13, 18, 19, 20	Gap (deletion)	อินเดล
	17	G เป็น A	พิวรีนทรานสิชัน
963	5, 7, 8, 11, 13, 18, 19, 20	Gap (deletion)	อินเดล
	17	G เป็น T	ทรานสเวอร์ชัน
964	5, 7, 8, 11, 13, 18, 19, 20	Gap (deletion)	อินเดล
965	5, 7, 8, 11, 13, 18, 19, 20	Gap (deletion)	อินเดล
	17	C เป็น T	ไพริมิดีนทรานสิชัน
966	5, 7, 8, 11, 13, 18, 19, 20	Gap (deletion)	อินเดล
	17	A เป็น G	พิวรีนทรานสิชัน
967	5	Gap (deletion)	อินเดล
	17	C เป็น T	ไพริมิดีนทรานสิชัน

ตารางที่ 4.8 (ต่อ)

ตำแหน่ง นิวคลีโอไทด์	ชนิดกลายไ้ *	รูปแบบการ เปลี่ยนแปลง	รูปแบบการกลาย
968	5	Gap (deletion)	อินเดล
	17	C เป็น A	ทรานสเวอร์ชัน
969-970	5	Gap (deletion)	อินเดล
971	5	Gap (deletion)	อินเดล
	17	A เป็น T	ทรานสเวอร์ชัน
972-973	5	Gap (deletion)	อินเดล
974	17	Gap (insertion)	อินเดล
975	5	Gap (deletion)	อินเดล
	17	C เป็น T	ไพรมิตินทรานสิชัน
976-978	5	Gap (deletion)	อินเดล
979-980	5	Gap (deletion)	อินเดล
	17	A เป็น T	ทรานสเวอร์ชัน
981-982	5	Gap (deletion)	อินเดล
983	5	Gap (deletion)	อินเดล
	17	G เป็น C	ทรานสเวอร์ชัน
984-985	5	Gap (deletion)	อินเดล
986	5, 17	Gap (deletion)	อินเดล
987	5, 17	Gap (deletion)	อินเดล
	19	C เป็น T	ไพรมิตินทรานสิชัน

ตารางที่ 4.8 (ต่อ)

ตำแหน่ง นิวคลีโอไทด์	ชนิดกลายไ้ *	รูปแบบการ เปลี่ยนแปลง	รูปแบบการกลาย
988-989	5, 17	Gap (deletion)	อินเดล
990-991	5	Gap (deletion)	อินเดล
992	5	Gap (deletion)	อินเดล
	7	A เป็น G	พิวรีนทรานสิชัน
993-994	5	Gap (deletion)	อินเดล
1015	3, 6, 8, 12, 17, 18, 19, 20	A เป็น G	พิวรีนทรานสิชัน
1016	3, 6, 8, 12, 17, 18, 19, 20	C เป็น T	ไพริมิดีนทรานสิชัน
1019	20	G เป็น A	พิวรีนทรานสิชัน
1021	6	T เป็น A	ทรานสเวอร์ชัน
1045	3, 5, 6, 7, 14, 16, 17,18	T เป็น A	ทรานสเวอร์ชัน
1047	8, 9, 11, 12, 13, 15, 19, 20	Gap (deletion)	อินเดล
	1, 2, 4, 10	T เป็น C	ไพริมิดีนทรานสิชัน
1048-1049	1, 2, 4, 10, 17	Gap (insertion)	อินเดล
1050-1052	1, 2, 4, 10	Gap (insertion)	อินเดล
1059	17	C เป็น T	ไพริมิดีนทรานสิชัน
1065	17	A เป็น T	ทรานสเวอร์ชัน
1066	20	A เป็น T	ทรานสเวอร์ชัน
1072-1074	6	Gap (insertion)	อินเดล
1076	6	C เป็น A	ทรานสเวอร์ชัน

ตารางที่ 4.8 (ต่อ)

ตำแหน่ง นิวคลีโอไทด์	ชนิดกล้วยไม้ *	รูปแบบการ เปลี่ยนแปลง	รูปแบบการกลาย
1088	1, 2, 3, 4, 9, 10, 12, 14, 15, 16	C เป็น A	ทรานสเวอร์ชัน
1089-1092	6	Gap (insertion)	อินเดล
2001	6	G เป็น A	พิวรีนทรานสิชัน
2005	6	G เป็น A	พิวรีนทรานสิชัน
2012	2	G เป็น A	พิวรีนทรานสิชัน
2013	6	A เป็น C	ทรานสเวอร์ชัน
2014	6	C เป็น G	ทรานสเวอร์ชัน
2019	2	G เป็น A	พิวรีนทรานสิชัน
2029	3	G เป็น A	พิวรีนทรานสิชัน
2033	7, 11, 13, 17, 18, 20	G เป็น A	พิวรีนทรานสิชัน

\*1-20 คือ (1) รองเท้านารีอินทนนท์ (2) รองเท้านารีอินทนนท์คอแดง (3) รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง (4) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (5) รองเท้านารีเหลืองเลย (6) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (7) รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม (8) รองเท้านารีไพรมุเรียนุม (9) รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (10) รองเท้านารีสไปเซเรียนุม (11) รองเท้านารี เมืองกาญจน์ (12) รองเท้านารีดอยตุง (13) รองเท้านารีเชียงดาว (14) รองเท้านารีเฮนรียานุม (15) รองเท้านารีเฮเลน (16) รองเท้านารีทรานเลียนอนุม (17) รองเท้านารีแพรสแทนส์ (18) รองเท้านารีฟิลิปปินส์เอนซิส (19) รองเท้านารีซูปาร์ดีไอ และ (20) รองเท้านารีกล้วยโคไฟลุม

รองแท่นารีนอินทนท์	0.000																																							
รองแท่นารีนอินทนท์คองแดง	0.014	0.000																																						
รองแท่นารีนอินทนท์ใบก๊วง	0.014	0.028	0.000																																					
รองแท่นารีนอินทนท์ลาว	0.000	0.014	0.014	0.000																																				
รองแท่นารีนเหล็กเลย	0.014	0.029	0.019	0.014	0.000																																			
รองแท่นารีนเหล็กกระบี่	0.044	0.058	0.029	0.044	0.049	0.000																																		
รองแท่นารีนโรตศคิตเตียนุม	0.019	0.033	0.024	0.019	0.014	0.054	0.000																																	
รองแท่นารีนไพรรมูเรียนุม	0.014	0.028	0.009	0.014	0.019	0.039	0.024	0.000																																
รองแท่นารีนคองคองกาญจน์	0.000	0.014	0.014	0.000	0.014	0.044	0.019	0.014	0.000																															
รองแท่นารีนสไปเซเรียนุม	0.000	0.014	0.014	0.000	0.014	0.044	0.019	0.014	0.000	0.000																														
รองแท่นารีนเมืองกาญจน์	0.014	0.029	0.029	0.014	0.019	0.059	0.014	0.019	0.014	0.014	0.000																													
รองแท่นารีนคองคอง	0.009	0.024	0.005	0.009	0.024	0.034	0.029	0.005	0.009	0.009	0.024	0.000																												
รองแท่นารีนเชียงดาว	0.014	0.029	0.029	0.014	0.019	0.059	0.014	0.019	0.014	0.014	0.000	0.024	0.000																											
รองแท่นารีนเฮนเรียนุม	0.005	0.019	0.009	0.005	0.009	0.039	0.014	0.019	0.005	0.005	0.019	0.014	0.019	0.000																										
รองแท่นารีนเฮเลน	0.000	0.014	0.014	0.000	0.014	0.044	0.019	0.014	0.000	0.000	0.014	0.009	0.014	0.005	0.000																									
รองแท่นารีนทรานเลียนอนุม	0.005	0.019	0.009	0.005	0.009	0.039	0.014	0.019	0.005	0.005	0.019	0.014	0.019	0.000	0.005	0.000																								
รองแท่นารีนพรสแทนส์	0.039	0.053	0.024	0.039	0.034	0.054	0.029	0.024	0.039	0.039	0.034	0.029	0.034	0.034	0.039	0.034	0.000																							
รองแท่นารีนฟิลิปปิ่นสอินซิส	0.024	0.038	0.009	0.024	0.019	0.039	0.014	0.009	0.024	0.024	0.019	0.014	0.019	0.019	0.024	0.019	0.014	0.000																						
รองแท่นารีนซูปาร์ดีโอ	0.019	0.033	0.014	0.019	0.024	0.044	0.029	0.005	0.019	0.019	0.024	0.009	0.024	0.024	0.019	0.024	0.029	0.014	0.000																					
รองแท่นารีนกัวโคไฟลคึม	0.033	0.048	0.029	0.033	0.038	0.059	0.034	0.019	0.033	0.033	0.029	0.024	0.029	0.038	0.033	0.038	0.034	0.019	0.024	0.029	0.024	0.000																		
	หันทอินรีนแห่งอ	แดง	ง	ว	เลย	กระบี่	อินท	น	น	น	น	น	น	น	น	น	น	น	น	น	น	น	น	น	น	น	น	น	น	น	น	น	น	น	น	น	น	น		

ภาพที่ 4.54 ค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองแท่นารีนเมื่อวิเคราะห์ด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณขั้วอินเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA*



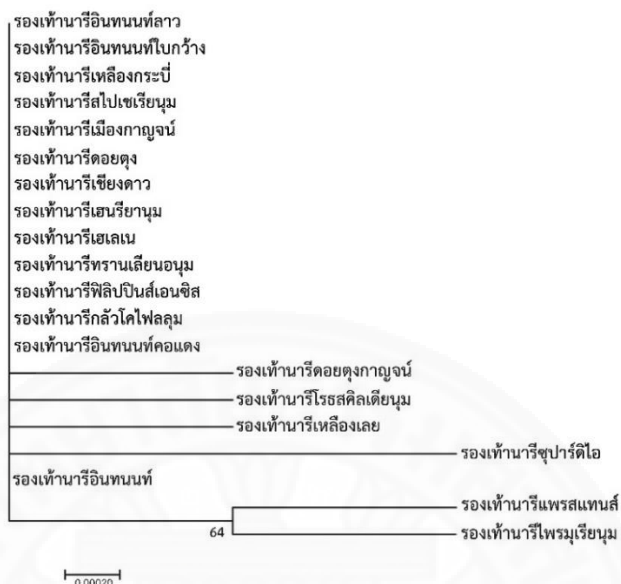
ภาพที่ 4.55 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลร่องเท้าณารีวิเคราะห์จากบริเวณขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA* สร้างโดยวิธี maximum likelihood

จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA* ด้วยโปรแกรม MEGA รุ่น 7 พบค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลร่องเท้าณารี จำนวน 20 ชนิด เท่ากับ 0.000-0.059 (ภาพที่ 4.54) พบตำแหน่งการเปลี่ยนแปลงลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมด 970 ตำแหน่ง มี 4 รูปแบบ คือ ไพริมิตินทรานสลิชัน ทรานสเวอร์ชัน อินเดล และพิวรีนทรานสลิชัน (ตารางที่ 4.8) เมื่อสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลร่องเท้าณารีทั้ง 20 ชนิด โดยใช้วิธี maximum likelihood (ภาพที่ 4.55) พบว่า สามารถจำแนกกล้วยไม้สกุลร่องเท้าณารีได้ 11 ชนิด ได้แก่ ร่องเท้าณารีโรตสคิลเตียนุม ร่องเท้าณารีเหลืองเลย ร่องเท้าณารีอินทนนท์คอแดง ร่องเท้าณารีคอตุง ร่องเท้าณารีอินทนนท์ใบกว้าง ร่องเท้าณารีเหลืองกระบี่ ร่องเท้าณารีฟิลิปปินส์เอนซิส ร่องเท้าณารีแพรสแทนส์ ร่องเท้าณารีกลัวโคไฟลลุม ร่องเท้าณารีซุปรัดไอ และ ร่องเท้าณารีไพรมูเรียนุม



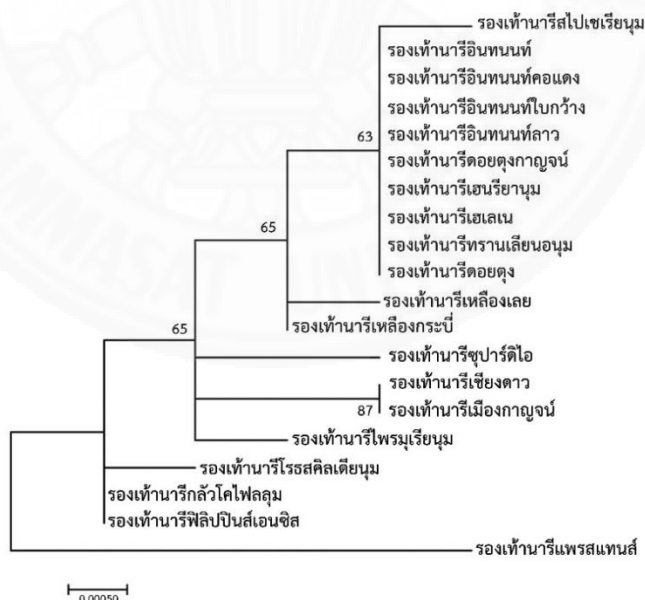
#### 4.5 การศึกษาเครื่องหมายลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณจำเพาะร่วมกัน 2 ยีน

##### 4.5.1 การวิเคราะห์นิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL* ร่วมกับยีน *rpoC1*



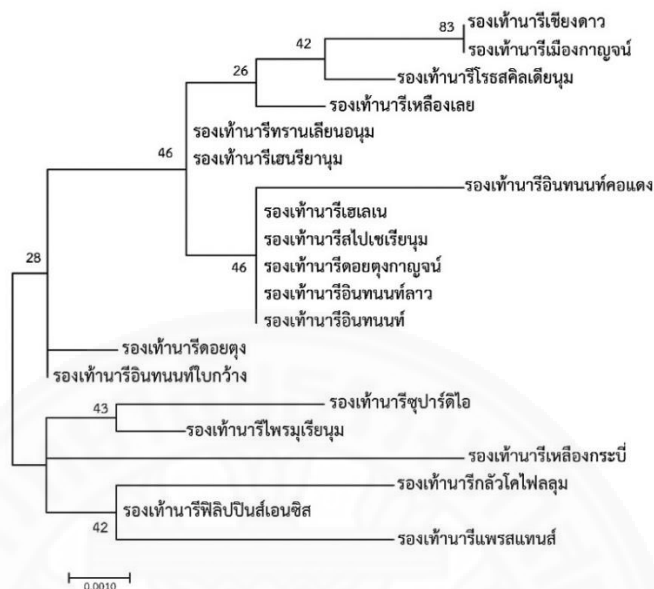
ภาพที่ 4.56 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีวิเคราะห์จากยีน *rbcL* ร่วมกับยีน *rpoC1* และจัดกลุ่มด้วยวิธี maximum likelihood

##### 4.5.2 การวิเคราะห์นิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL* ร่วมกับยีน *matK*



ภาพที่ 4.57 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีวิเคราะห์จากยีน *rbcL* ร่วมกับยีน *matK* และจัดกลุ่มด้วยวิธี maximum likelihood

#### 4.5.3 การวิเคราะห์นิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL* ร่วมกับบริเวณขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA*



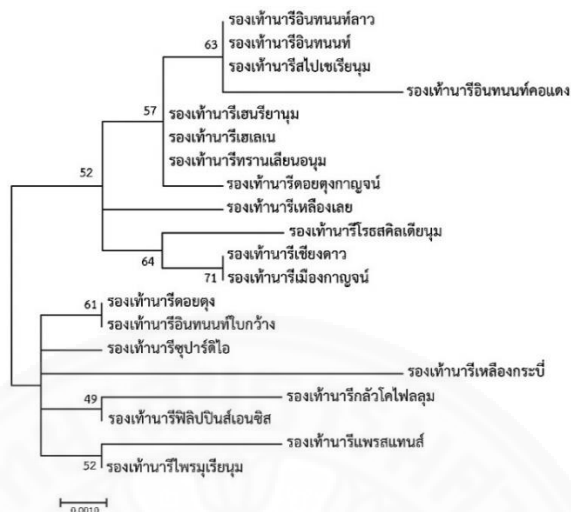
ภาพที่ 4.58 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรongเท้านารีวิเคราะห์จากยีน *rbcL* ร่วมกับบริเวณขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA* และจัดกลุ่มด้วยวิธี maximum likelihood

#### 4.5.4 การวิเคราะห์นิวคลีโอไทด์ของยีน *rpoC1* ร่วมกับยีน *matK*



ภาพที่ 4.59 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรongเท้านารีวิเคราะห์จากยีน *rpoC1* ร่วมกับยีน *matK* และจัดกลุ่มด้วยวิธี maximum likelihood

#### 4.5.5 การวิเคราะห์นิวคลีโอไทด์ของยีน *rpoC1* ร่วมกับบริเวณขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA*



ภาพที่ 4.60 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีวิเคราะห์จากยีน *rpoC1* ร่วมกับบริเวณขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA* และจัดกลุ่มด้วยวิธี maximum likelihood

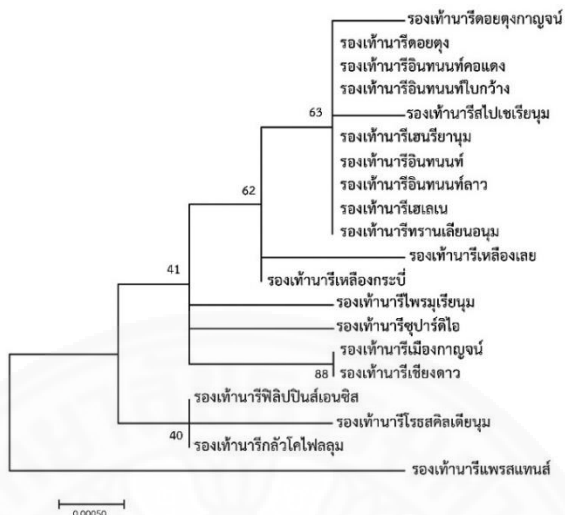
#### 4.5.6 การวิเคราะห์นิวคลีโอไทด์ของยีน *matK* ร่วมกับบริเวณขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA*



ภาพที่ 4.61 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีวิเคราะห์จากยีน *matK* ร่วมกับบริเวณขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA* และจัดกลุ่มด้วยวิธี maximum likelihood

#### 4.6 การศึกษาเครื่องหมายลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณจำเพาะร่วมกัน 3 ยีน

##### 4.6.1 การวิเคราะห์นิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL*, *rpoC1* ร่วมกับยีน *matK*



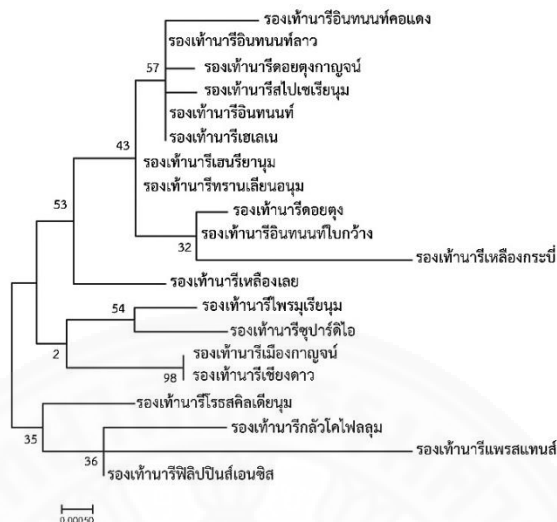
ภาพที่ 4.62 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีวิเคราะห์จากยีน *rbcL*, *rpoC1* ร่วมกับยีน *matK* และจัดกลุ่มด้วยวิธี maximum likelihood

##### 4.6.2 การวิเคราะห์นิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL*, *rpoC1* ร่วมกับบริเวณขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA*



ภาพที่ 4.63 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีวิเคราะห์จากยีน *rbcL*, *rpoC1* ร่วมกับบริเวณขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA* และจัดกลุ่มด้วยวิธี maximum likelihood

#### 4.6.3 การวิเคราะห์นิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL*, *matK* ร่วมกับบริเวณขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA*



ภาพที่ 4.64 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีวิเคราะห์จากยีน *rbcL*, *matK* ร่วมกับบริเวณขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA* และจัดกลุ่มด้วยวิธี maximum likelihood

#### 4.6.4 การวิเคราะห์นิวคลีโอไทด์ของยีน *rpoC1*, *matK* ร่วมกับบริเวณขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA*



ภาพที่ 4.65 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีวิเคราะห์จากยีน *rpoC1*, *matK* ร่วมกับบริเวณขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA* และจัดกลุ่มด้วยวิธี maximum likelihood

#### 4.7 การศึกษาเครื่องหมายลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณจำเพาะร่วมกัน 4 ยีน

##### 4.7.1 การวิเคราะห์นิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL*, *rpoC1*, *matK* บริเวณขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA*



ภาพที่ 4.66 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีวิเคราะห์จาก ยีน *rbcL*, *rpoC1*, *matK* ร่วมกับบริเวณขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA* และจัดกลุ่มด้วยวิธี maximum likelihood

จากการสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมเพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี 20 ชนิด จากลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณจำเพาะจำนวน 4 ยีน จัดกลุ่มด้วยวิธี maximum likelihood และ neighbor joining โดยทำการเปรียบเทียบกันทั้ง 2 วิธี ผลปรากฏว่าทั้ง 2 วิธี ให้การจัดกลุ่มที่คล้ายคลึงกันแต่วิธีที่เหมาะสมที่สุดคือวิธี maximum likelihood เนื่องจากสามารถแยกกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีออกจากกันได้ชัดเจน ดังนั้นจึงเลือกวิธี maximum likelihood สำหรับการวิเคราะห์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ 1 ยีน และร่วมกันมากกว่า 1 ยีน (ภาพที่ 4.46, 4.49, 4.51, 4.54, 4.55-4.66)

จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณจำเพาะร่วมกัน 2, 3 และ 4 ยีน พบว่าแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีที่ได้สามารถจัดจำแนกกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี 20 ชนิดออกจากกันได้ โดยการวิเคราะห์ยีน *matK* ร่วมกับบริเวณขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA* สามารถจัดกลุ่มกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีได้ชัดเจน ซึ่งแบ่งออกเป็น 2

กลุ่มใหญ่ ได้แก่ กลุ่มที่ 1 คือ รองเท้านารีสไปเซเรียนุม รองเท้านารีเฮเลน รองเท้านารีตอยตุงกาญจน์ รองเท้านารีอินทนนท์ลาว รองเท้านารีอินทนนท์ รองเท้านารีอินทนนท์คอแดง รองเท้านารีเฮนรียานุม รองเท้านารีทรานเลียนอนุม รองเท้านารีตอยตุง รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง รองเท้านารีเหลืองกระบี่ และ รองเท้านารีเหลืองเลย ซึ่งทั้ง 12 ชนิดนี้เป็นกล้วยไม้สกุลย่อย *Paphiopedilum* กลุ่มที่ 2 คือ รองเท้านารีแพรสแทนส์ รองเท้านารีฟิลิปปินส์เอนซิส รองเท้านารีกล้วยไม้ไฟลุม รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม รองเท้านารีไพรมูเรียนุม รองเท้านารีซูปาร์ดีโอ รองเท้านารีเมืองกาญจน์ และ รองเท้านารีเชียงดาว ซึ่งทั้ง 8 ชนิดนี้เป็นกล้วยไม้สกุลย่อย *Polyantha* และ *Cochlopetalum* ซึ่งจัดกลุ่มได้ตามสกุลย่อย นอกจากนี้การใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน 3 ยีน และ 4 ยีน สามารถจัดจำแนกกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีได้เพิ่มมากขึ้น การใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน 4 ยีน คือ *rbCL*, *rpoC1*, *matK* ร่วมกับบริเวณขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA* สามารถจัดจำแนกกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีได้มากที่สุด คือ 13 ชนิด ได้แก่ รองเท้านารีอินทนนท์คอแดง รองเท้านารีตอยตุงกาญจน์ รองเท้านารีสไปเซเรียนุม รองเท้านารีตอยตุง รองเท้านารีอินทนนท์ใบกว้าง รองเท้านารีเหลืองกระบี่ รองเท้านารีเหลืองเลย รองเท้านารีไพรมูเรียนุม รองเท้านารีซูปาร์ดีโอ รองเท้านารีโรสคิลเดียนุม รองเท้านารีกล้วยไม้ไฟลุม รองเท้านารีแพรสแทนส์ และรองเท้านารีฟิลิปปินส์เอนซิส แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ได้สอดคล้องกับการใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน 3 ยีน คือ *rpoC1*, *matK* ร่วมกับบริเวณขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA* ซึ่งสามารถจัดจำแนกรองเท้านารีได้ 13 ชนิดเช่นกัน ถึงอย่างไรก็ตามการใช้ยีนวิเคราะห์ร่วมกันมากขึ้นสามารถแยกชนิดกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีได้มากขึ้น

#### 4.8 อภิปรายผล

จากการวิเคราะห์หลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีและเครื่องหมายสก็อต ซึ่งทั้ง 2 เครื่องหมายที่ใช้เป็นไพรเมอร์ที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่ม หลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้มีความหลากหลายมากและทำซ้ำให้ผลเหมือนเดิม (Sripalwit *et al.*, 2007; Wongsawad *et al.*, 2009; Wongsawad and Wongsawad, 2010) เมื่อพิจารณาแผนภูมิความสัมพันธ์ของทั้ง 2 เครื่องหมายพบว่าสามารถจัดจำแนกกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี 15 ชนิด ซึ่งสอดคล้องกัน แต่พบว่ากล้วยไม้สกุลรองเท้านารีบางตัวอย่างที่จัดกลุ่มแตกต่างออกไป โดยเครื่องหมายสก็อตจัดจำแนกกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีออกเป็น 3 กลุ่ม สอดคล้องกับการแบ่งกลุ่มของ (Braem *et al.*, 1988) ซึ่งจำแนกตามลักษณะดอก ช่อดอก และใบของรองเท้านารี กลุ่มที่ 1 คือ กล้วยไม้สกุลรองเท้านารี สกุลย่อย



*Paphiopedilum* สอดคล้องกับเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดี กลุ่มที่ 2 คือ กล้วยไม้สกุลรองท้านารี สกุลย่อย *Polyantha* กลุ่มที่ 3 คือกล้วยไม้สกุลรองท้านารี สกุลย่อย *Cochlopetalum* ซึ่งเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีจัดจำแนกกลุ่มที่ 2 และกลุ่มที่ 3 ไม่สอดคล้องกับการแบ่งกลุ่มของ (Braem *et al.*, 1988) โดยรองท้านารีไพรมุเรียนุมซึ่งเป็นสกุลย่อย *Cochlopetalum* จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับกล้วยไม้สกุลรองท้านารี สกุลย่อย *Polyantha* ซึ่งมีการวิจัยก่อนหน้าที่ระบุว่า เครื่องหมายอาร์เอพีดี ไม่สามารถจัดจำแนกตามลักษณะสีดอกได้ แต่เครื่องหมายอาร์เอพีดีสามารถจัดจำแนกตามลักษณะใบได้ (Chung *et al.*, 2006) ซึ่งกล้วยไม้สกุลรองท้านารี 15 ชนิด เป็นรองท้านารีกลุ่มใบเขียวทั้งหมด เมื่อพิจารณาแผนภูมิความสัมพันธ์ของการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอทั้ง 2 เครื่องหมาย ร่วมกัน พบว่าแผนภูมิความสัมพันธ์คล้ายกับแผนภูมิความสัมพันธ์ของเครื่องหมายสก็อตและเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดี ทั้งนี้เครื่องหมายทั้ง 2 ชนิดมีประสิทธิภาพที่ดีในการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในพืช เนื่องจากทั้ง 2 เครื่องหมายให้แถบดีเอ็นเอที่มีความหลากหลายเป็นจำนวนมาก ซึ่งสามารถใช้ในการวิเคราะห์ได้ดี สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้าที่ศึกษาประสิทธิภาพของเครื่องหมายสก็อต อาร์เอพีดีและไอเอสเอสอาร์ในมันฝรั่ง (Gorji *et al.*, 2011) นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยอื่นที่แสดงถึงประสิทธิภาพของเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีในกล้วยไม้ ได้แก่ สกุลหวายกลุ่มเอื้องสาย (ฐิติพร และคณะ, 2557) กล้วยไม้สิงโตกลอกตา (เกียรติชัย และคณะ, 2557) กล้วยไม้สกุลกุหลาบ (วิศิธา และคณะ, 2557) กล้วยไม้สกุลแวนด้าหมู่เข็ม (จินต์ และคณะ, 2558) และกล้วยไม้สกุลหวายหมู่ไนโครเซอร์ซูเรและลูกผสม (จุฑาทิพย์ และคณะ, 2559) ยังพบว่าเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีสามารถนำมาศึกษาและวิเคราะห์ในกลุ่มของพยาลี ได้แก่ พยาลีใบไม้ในกลุ่ม paramphistome (Sripalwit *et al.*, 2007) พยาลีใบไม้ พยาลีตัวกลม พยาลีหัวหนาม (Wongsawad *et al.*, 2009) และพยาลีใบไม้ดับพยาลีใบไม้ในลำไส้ (Wongsawad *et al.*, 2012) ส่วนเครื่องหมายสก็อตได้มีงานวิจัยที่แสดงถึงประสิทธิภาพของเครื่องหมายคือ รักแกนมอ (กรองทอง และคณะ, 2557) ลิลลี่ (Gao *et al.*, 2014) หยางเหมย (Yong and Hong, 2014) อินทผลัม (Qurainy *et al.*, 2015) และกล้วยไม้ (Feng, 2015) นอกจากนี้สามารถนำสายพิมพ์ดีเอ็นเอมาศึกษาต่อเพื่อระบุชนิดของสิ่งมีชีวิตได้ เป็นเครื่องหมายสการ์ (sequence-characterized amplified regions marker) ซึ่งได้มีรายงานการศึกษาพัฒนาเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดี สำหรับตรวจ *Stellantchasmus falcatus* (Wongsawad, 2011) และการออกแบบไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะกับสายพันธุ์ จากเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีโดยนำมาตรวจสอบและระบุ *Haplorchis taichuis* (Wongsawad *et al.*, 2011)



การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี 20 ชนิด โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณจำเพาะของยีนในคลอโรพลาสต์จำนวน 4 บริเวณ คือ ยีน *rbcl*, *rpoC1*, *matK* และบริเวณขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA* จากแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมพบว่าขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA* สามารถแยกกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับยีน *rbcl*, *rpoC1* และ *matK* สอดคล้องกับงานวิจัยการจำแนกชนิดมะม่วงในประเทศไทยจากลำดับดีเอ็นเอของยีน *rpoC1* และ *rbcl* (ปิยะดา และคณะ, 2558) เนื่องจากลำดับนิวคลีโอไทด์มีความผันแปรทางพันธุกรรมต่ำ ดังนั้นการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์เพียงบริเวณเดียวอาจไม่เพียงพอ จึงควรใช้ยีนมากกว่า 1 ยีน ขึ้นไป (นฤมล และคณะ, 2560) งานวิจัยนี้จึงได้วิเคราะห์ร่วมกัน 2, 3 และ 4 ยีน พบว่าสามารถจัดจำแนกกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี 20 ชนิดได้มากขึ้นและจัดจำแนกเป็นกลุ่มได้ โดยการวิเคราะห์ร่วมกัน 2 ยีน คือ *matK* ร่วมกับบริเวณขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA* สามารถจำแนกกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีออกเป็น 2 กลุ่ม ได้ชัดเจน เมื่อวิเคราะห์ร่วมกัน 3 และ 4 ยีน พบว่าการวิเคราะห์ยีนร่วมกันสามารถแยกชนิดกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีได้เพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของรองเท้านารีเหลืองเลยที่ได้จากบริเวณขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA* มีขนาด 242 คู่เบส ซึ่งขนาดที่ได้มีขนาดเล็กกว่าปกติ มีการขาดหายของลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ intergenic spacer แต่พบยีน *trnH* และ *psbA* เมื่อค้นหาลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล NCBI พบว่านิวคลีโอไทด์บริเวณขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA* ของกล้วยไม้ชนิด *Paphiopedilum argus* มีขนาด 481 คู่เบส (หมายเลขจำเพาะ JQ660920) ซึ่งมีขนาดนิวคลีโอไทด์น้อยกว่า 900 คู่เบส นอกจากนี้ยังพบว่ารองเท้านารีเหลืองกระบี่มีขนาด 1,102 คู่เบส ซึ่งมีขนาดมากกว่ารองเท้านารีชนิดอื่น โดยมีการเพิ่มลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง 800–887 และ 896–949 บริเวณ intergenic spacer ซึ่งสามารถใช้ระบุพันธุ์รองเท้านารีเหลืองเลยและรองเท้านารีเหลืองกระบี่ได้ โดยไม่จำเป็นต้องหาลำดับนิวคลีโอไทด์ เนื่องจากยีนเพราะว่าขนาดที่ได้มีความแตกต่างจากรองเท้านารีชนิดอื่น และยังพบว่ารองเท้านารีฟิลิปปินส์เอนซิสมีลำดับเบสซ้ำ (repeat) บริเวณ intergenic spacer พบที่ตำแหน่ง 602–623 โดยปกติรองเท้านารีจะมีขนาดประมาณ 900 คู่เบส เนื่องจากบริเวณขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA* มีความผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทด์ภายในชนิดหรือสปีชีส์สูงเมื่อเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ชนิดอื่น (นฤมล และคณะ, 2560) จึงเห็นว่าขนาดมีความหลากหลายในแต่ละชนิด ทำให้แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ได้ของบริเวณขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA* ถึงแม้ว่าจะจำแนกรองเท้านารีได้ไม่ครบทั้ง 20 ชนิด แต่พบว่าเมื่อดูความแตกต่างจากลำดับนิวคลีโอไทด์ พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ที่

ได้มีความแตกต่างกัน นอกจากนี้ยังพบว่าจากแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ได้จัดรองแก่นารี เหลืองเลยแยกออกจากสกุลย่อย *Paphiopedilum* ซึ่งถ้าสังเกตจากลักษณะดอกจะพบว่า ขอบกลีบ ดอกของรองแก่นารีเหลืองเลยมีลักษณะบิดเป็นคลื่นมาก ซึ่งต่างจากกล้วยไม้สกุลย่อย *Paphiopedilum* นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยอื่นที่แสดงถึงประสิทธิภาพของลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ จำเพาะในพืช ได้แก่ พืชใน family Araliaceae (Liu *et al.*, 2012) กล้วยไม้สกุลฟาแลนนอปซิส (Lin *et al.*, 2015) และ *Andrographis* (Arolla *et al.*, 2015)

ในการเลือกใช้เครื่องหมายทั้ง 3 ชนิด ถ้ามองในด้านค่าใช้จ่าย การใช้เครื่องหมาย แอสตอร์เอพิตีและสก็อตจะมีค่าใช้จ่ายที่ต่ำกว่า เนื่องด้วยไม่จำเป็นต้องส่งหาลำดับนิวคลีโอไทด์ ซึ่งจะ ประหยัดค่าใช้จ่ายได้มาก ถ้ามองในด้านความรวดเร็วและระบุพันธุ์ การใช้เครื่องหมายลำดับ นิวคลีโอไทด์ของตำแหน่งจำเพาะจะทำได้เร็ว เนื่องด้วยโปรแกรมที่ใช้มีความจำเพาะเพียงบริเวณเดียว ทำให้ได้ขึ้นดีเอ็นเอและหาลำดับนิวคลีโอไทด์เทียบกับฐานข้อมูลได้ ซึ่งมีประโยชน์ใช้ระบุพันธุ์พืชที่ ลักลอบนำเข้าได้

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีจำนวน 15 ชนิด ด้วยเครื่องหมาย แอสตอร์เอพีดีและเครื่องหมายสก็อต โดยทั้ง 2 เครื่องหมายสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีและให้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ชัดเจนและแถบดีเอ็นเอมีความหลากหลายสูงทั้ง 2 เครื่องหมาย คือ 248 และ 219 ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์เครื่องหมายแอสตอร์เอพีดีร่วมกับ เครื่องหมายสก็อต พบว่าแผนภูมิความสัมพันธ์ที่ได้คล้ายกับแผนภูมิความสัมพันธ์ของเครื่องหมาย แอสตอร์เอพีดีและเครื่องหมายสก็อต ทั้งนี้เครื่องหมายทั้ง 2 ชนิดมีประสิทธิภาพที่ดีในการศึกษา ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในพืช เนื่องจากทั้ง 2 เครื่องหมายให้แถบดีเอ็นเอที่มีความหลากหลายเป็น จำนวนมากและสามารถจำแนกกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีได้

เมื่อนำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีทั้ง 20 ชนิด มาวิเคราะห์ด้วย โปรแกรม ClustalW เพื่อดูความเหมือนและความต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้ง 4 ยีน คือ ยีน *rbcl*, *rpoC1*, *matK* และบริเวณขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA* พบว่ายีน *matK* มีตำแหน่ง ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เกิดการเปลี่ยนแปลง 13 ตำแหน่ง ยีน *rbcl* มีตำแหน่งลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เกิด การเปลี่ยนแปลง 4 ตำแหน่ง ยีน *rpoC1* มีตำแหน่งลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เกิดการเปลี่ยนแปลง 4 ตำแหน่ง และบริเวณขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA* มีตำแหน่งลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เกิด การเปลี่ยนแปลง 970 ตำแหน่ง เมื่อนำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณจำเพาะของยีนใน คลอโรพลาสต์ที่ได้ทั้ง 4 ยีนมาสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม พบว่าขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่าง ยีน *trnH* และ *psbA* สามารถแยกกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับยีน *rbcl*, *rpoC1* และ *matK* เมื่อวิเคราะห์ร่วมกัน 2, 3 และ 4 ยีน สามารถจัดจำแนกกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี ได้จำนวนมากขึ้นและจัดจำแนกเป็นกลุ่มได้ การใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน 4 ยีน คือ *rbcl*, *rpoC1*, *matK* ร่วมกับบริเวณขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA* สามารถจัดจำแนกกล้วยไม้สกุล รองเท้านารีได้มากที่สุด คือ 13 ชนิด นอกจากนี้ยังพบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของรองเท้านารีเหลืองเลย ที่ได้จากบริเวณขึ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* และ *psbA* มีขนาด 242 คู่เบส ซึ่งขนาดที่ได้มีขนาดเล็กกว่าปกติ มีการขาดหายของลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ intergenic spacer แต่พบยีน *trnH* และ *psbA* และรองเท้านารีเหลืองกระบี่มีขนาด 1,102 คู่เบส ซึ่งมีขนาดมากกว่ารองเท้านารีชนิดอื่น โดยมีการเพิ่มลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง 800–887 และ 896–949 บริเวณ intergenic spacer ซึ่ง

สามารถใช้ระบุพันธุ์รองเท่านั้นหรือเลยและรองเท่านั้นหรือกระบี่ได้ โดยไม่จำเป็นต้องหาลำดับนิวคลีโอไทด์ เนื่องด้วยเพราะว่าขนาดที่ได้มีความแตกต่างจากรองเท่านั้นชนิดอื่น และยังพบว่ารองเท่านั้นฟิลิปปินส์เอนไซม์ลำดับเบสซ้ำ (repeat) บริเวณ intergenic spacer พบที่ตำแหน่ง 602–623 อีกด้วย

เครื่องหมายดีเอ็นเอทั้ง 3 เครื่องหมาย มีประสิทธิภาพในการจัดจำแนกและศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท่านั้น 20 ชนิดได้ พบว่าการจัดกลุ่มและจำนวนชนิดรองเท่านั้นในกลุ่มของทั้ง 3 เครื่องหมายมีจำนวนชนิดในกลุ่มที่ไม่ได้เหมือนกันทั้งหมด เนื่องจากการใช้เครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีและเครื่องหมายสก็อต เป็นการศึกษาดีเอ็นเอทั้งจีโนม ไพโรมอร์ที่ใช้เป็นไพโรมอร์ที่จะเข้าจับกับดีเอ็นเอแบบสุ่มกระจายทั่วจีโนม ต่างจากเครื่องหมายลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณจำเพาะใช้ศึกษาดีเอ็นเอบริเวณคลอโรพลาสต์เท่านั้น แต่พบว่าทั้ง 3 เครื่องหมายแยกกล้วยไม้สกุลย่อย *Paphiopedilum* ออกจากกลุ่มอื่นเหมือนกัน

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

จากงานวิจัยพบว่า เครื่องหมายทั้ง 3 ชนิด เหมาะกับการใช้ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการระบุชนิดได้ดี นอกจากนี้ขั้นตอนการวิจัยไม่ยุ่งยากมาก รวดเร็ว และที่สำคัญค่าใช้จ่ายค่อนข้างต่ำแต่มีประสิทธิภาพสูง สามารถใช้กับดีเอ็นเอที่มีปริมาณน้อยได้ ซึ่งงานวิจัยชิ้นนี้สามารถประยุกต์เพื่อวางแผนปรับปรุงชนิดและระบุชนิดได้

ข้อจำกัดของเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดีและเครื่องหมายสก็อตคือ สามารถจำแนกตัวอย่างได้ดีระหว่างชนิด (among species) และภายในชนิดเดียวกัน (within species) ส่วนเครื่องหมายลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณจำเพาะ สามารถจำแนกตัวอย่างได้ดีระหว่างสกุล (genus) และระหว่างชนิด แต่การจำแนกภายในชนิดเดียวกันจำแนกได้ไม่ดี ดังนั้นควรเลือกใช้ให้เหมาะสมกับตัวอย่างที่จะนำมาศึกษา นอกจากนี้คุณภาพของดีเอ็นเอก็เป็นสิ่งสำคัญ โดยดีเอ็นเอที่ใช้ควรมีคุณภาพดี

## รายการอ้างอิง

1. กมลวรรณ เตชะวณิช. (2552). *กล้วยไม้ คู่มือการปลูกและสายพันธุ์ยอดนิยม*. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์ไทยควอลิตี้บุ๊กส์.
2. กรองทอง ใจแก้วแดง, วิชาญ เอียดทอง และสุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. (2557). การวิเคราะห์ความผันแปรทางพันธุกรรมของต้นรักแกนมอในประเทศไทย โดยใช้เครื่องหมาย Start Codon Targeted (SCoT). *วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์*. 33: 19-27.
3. เกียรติชัย แซ่ไต่, ชีระชัย ธนานันต์ และนฤมล ธนานันต์. (2557). การจำแนกและวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลสิงโตกลอกตาหมู่สิงโตสยามด้วยเครื่องหมายแอสตาร์ทเอพีดีและไอเอสเอสอาร์. *Thai Journal of Science and Technology*. 2: 92-101.
4. จินต์ ทองสม, ชีระชัย ธนานันต์ และนฤมล ธนานันต์. (2558). ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลแวนด้าหมู่เข็มด้วยแอสตาร์ทเอพีดีและไอเอสเอสอาร์. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*. 23: 475-484.
5. จุฑาทิพย์ พันธุ์รูปท้าว, ชีระชัย ธนานันต์ และนฤมล ธนานันต์. (2559). การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลหวายหมู่ไนโกรเฮอร์ซุเชและลูกผสมด้วยแอสตาร์ทเอพีดี. *Thai Journal of Science and Technology*. 5: 77-87.
6. ขวลิต ดาบแก้ว. (2542). *การปลูกเลี้ยงกล้วยไม้สำหรับผู้แรกเริ่ม*. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์โอ.เอส.พรินติ้งเฮ้าส์.
7. ฐิตาพร มณีเนตร. (2557). การจำแนกพันธุ์และการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลหวายหมู่แคลิสตาด้วยเครื่องหมายแอสตาร์ทเอพีดี. ปัญหาพิเศษวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.
8. ฐิติพร โท้มโสภา, ชีระชัย ธนานันต์ และนฤมล ธนานันต์. (2557). การจำแนกพันธุ์และการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลหวายกลุ่มเอื้องสายด้วยเทคนิคแอสตาร์ทเอพีดี และไอเอสเอสอาร์. *Thai Journal of Science and Technology*. 3: 82-91.

9. ญัฐกร เพชรชา, ดวงกมล แม้นศิริ และสุรพล แสนสุข. (2554). การประเมินดีเอ็นเอในพลาสติดบริเวณ *rpoC1* และ *rpoB* ในการใช้เป็น DNABarcode และกรณีศึกษาในพืชสกุล *Alpinia* Roxb. (Zingiberaceae). *รายงานการประชุมเสนอผลงานวิจัย ระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*. 554-563.
10. นฤมล ธนानันต์, จาตุรงค์ สัมฤทธิ์ และธีระชัย ธนานันต์. (2557). การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของข้าวมีสีโดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcl* และ *rpoC1*. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์*. 22: 674-682.
11. นฤมล ธนานันต์, วิฑิตพร โท้มโสภา และธีระชัย ธนานันต์. (2558). การจำแนกพันธุ์และการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลหวายกลุ่มเอื้องสายโดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *matK* และ *rpoC1*. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์*. 23: 1-10.
12. นฤมล ธนานันต์, ภัทรา หงษ์ทองดี, วรุณธร เชื้อบุญมี และธีระชัย ธนานันต์. (2560). การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการระบุชนิดของ กล้วยไม้สกุลเอื้องเทียนด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ของ ยีน *rpoC1* และชิ้นดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* กับ *psbA*. *Thai Journal of Science and Technology*. 1: 22-32.
13. ปิยดา บุสดี, และธีระชัย ธนานันต์ และนฤมล ธนานันต์. (2558). การจำแนกพันธุ์มะม่วงในประเทศไทยจากลำดับดีเอ็นเอของยีน *rpoC1* และ *rbcl*. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*. 6: 983-993.
14. พรณรงค์ สิริปิยะสิงห์ และอรุณรัตน์ ฉวีราช. (2554). ดีเอ็นเอบาร์โค้ดเพื่อการระบุชนิดของสิ่งมีชีวิตกรณีศึกษา : ยีน Cytochrome c Oxidase I (COI) ในสัตว์. *วารสารมหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม*. 5: 205-210
15. วริศรา แทนสง่า, ธีระชัย ธนานันต์ และนฤมล ธนานันต์. (2557). การประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลกุหลาบด้วยเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดี. *Thai Journal of Science and Technology*. 3: 317-326.
16. วุฒิพงศ มหาคำ. (2554). DNA barcodes ของพืช: หลักการพื้นฐาน การประยุกต์ใช้และข้อจำกัด. *วารสารพฤกษศาสตร์ไทย*. 3: 1-30.
17. สลิล สิทธิสังจธรรม และนฤมล กฤษณชาญดี. (2545). *คู่มือกล้วยไม้*. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์สารคดี.

18. สุรินทร์ ปิยะโชคนากุล. (2552). *เครื่องหมายดีเอ็นเอ: จากพื้นฐานสู่การประยุกต์*. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
19. สุรีพร เกตุงาม. (2546). เครื่องหมายดีเอ็นเอในงานปรับปรุงพันธุ์พืช. *วารสารวิชาการ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี*. 5: 37-59.
20. อบฉันท ไทยทอง. (2543). *กล้วยไม้เมืองไทย*. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์บ้านและสวน.
21. อุไร จิรมงคลการ. (2549). *กล้วยไม้รองเท้านารี ฉบับปรับปรุงข้อมูลใหม่*. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์บ้านและสวน.
22. Anuntalabhochai, S., Phromthep, W., Sitthiphrom, S., Chundet, R. and Cutler, R. W. (2008). Phylogenetic Diversity of *Ficus* Species Using HAT-RAPD Markers as a Measure of Genomic Polymorphism. *The Open Agriculture Journal*. 2: 62-67.
23. Arif, I. A., Bakir, M. A., Khan, H. A., Al Farhan, A. H., Al Homaidan, A. A., Bahkali, A. H., Al Sadoon, M. and Shobrak, M. (2010). A Brief Review of Molecular Techniques to Assess Plant Diversity. *International Journal of Molecular Sciences*. 11: 2079-96.
24. Arolla, R. G., Cherukupalli, N., Khareedu, V. R. and Vudem, D. R. (2015). DNA barcoding and haplotyping in different species of *Andrographis*. *Biochemical Systematics and Ecology*. 62: 91-97.
25. Braem, G.J., Chiron, G. and Öhlund, S. (1988). *Paphiopedilum*, Moorland eBooks Publisher.
26. CBOL Plant Working Group. (2009). A DNA barcode for land plants, *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 106: 12794–12797.
27. Chung, S. Y., Choi, S. H., Kim, M. J., Yoon, K. E., Lee, G. P., Lee, J. S. and Ryu, K. H. (2006). Genetic relationship and differentiation of *Paphiopedilum* and *Phragmepedium* based on RAPD analysis. *Scientia horticulturae*. 109: 153-159.
28. Collard, B. C. Y. and Mackill, D. J. (2009). Start Codon Targeted (SCoT) polymorphism: a simple, novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants. *Plant molecular biology reporter*. 27: 86–93.



29. da Costa, M. L. M., Amorim, L. L. B., Onofre, A. V. C., de Melo, L. J. O. T., de Oliveira, M. B. M., de Carvalho, R. and Benko-Iseppon, A. M. (2011). Assessment of genetic diversity in contrasting sugarcane varieties Using inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. *Journal of Plant Sciences*. 2: 425-432.
30. Datta, S., Gangwar, S., Kumar, S., Gupta, S., Rai, R., Kaashyap, M., Singh, P., Chaturvedi, S. K., Singh, B. B. and Nadarajan, N. (2012). Genetic diversity in selected Indian mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] cultivars using RAPD markers. *American Journal of Plant Sciences*. 3: 1085-1091.
31. Feng, S., He, R., Yang, S., Chen, Z., Jiang, M., Lu, J. and Wang, H. (2015). Start codon targeted (SCoT) and target region amplification polymorphism (TRAP) for evaluating the genetic relationship of *Dendrobium* species. *Gene*. 567: 182-188.
32. Gao, Y. H., Zhu, Y. Q., Tong, Z. K., Xu, Z. Y., Jiang, X. F., Jiang, X. F. and Huang, C. H. (2014). Analysis of genetic diversity and relationships among genus *Lycoris* based on start codon targeted (SCoT) marker. *Biochemical Systematics and Ecology*. 57: 221-226.
33. Gorji, M. A., Poczai, P., Polgar, Z. and Taller, J. (2011). Efficiency of arbitrarily amplified dominant markers (SCoT, ISSR and RAPD) for diagnostic fingerprinting in tetraploid potato. *American Journal of Potato Research*. 88: 226-237.
34. Hong, L. J. and Yong, C. F. (2014). Germplasm genetic diversity of *Myrica rubra* in Zhejiang Province studied using inter-primer binding site and start codon-targeted polymorphism markers. *Scientia Horticulturae*. 170: 169-175.
35. Lin, J. Y., Lin, B. Y., Chang, C. D., Liao, S. C., Liu, Y. C., Wu, W. L. and Chang, C. C. (2015). Evaluation of chloroplast DNA markers for distinguishing *Phalaenopsis* species. *Scientia Horticulturae*. 192: 302-310.



36. Liu, Z., Zeng, X., Yang, D., Chu, G., Yuan, Z. and Chen, S. (2012). Applying DNA barcodes for identification of plant species in the family Araliaceae. *Gene*. 499: 76-80.
37. Popluechai, S., Onto, S. and Eungwanichayapant, P. D. (2007). Relationships between some Thai cultivars of pineapple (*Ananas comosus*) revealed by RAPD analysis. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 29: 1491-1497.
38. Qurainy, F., Khan, S., Nadeem, M. and Tarroum, M. (2015). SCoT marker for the assessment of genetic diversity in Saudi Arabian date palm cultivars. *Pakistan Journal of Botany*. 47: 637-643.
39. Rajesh, M. K., Sabana, A. A., Rachana, K. E., Rahman, S., Jerard, B. A. and Karun, A. (2015). Genetic relationship and diversity among coconut (*Cocos nucifera* L.) accessions revealed through SCoT analysis. *Biotechnology*. 5: 999–1006.
40. Sripalwit, P., Wongsawad, C., Wongsawad, P. and Anuntalabhochai, S. (2007). High annealing temperature-random amplified polymorphic DNA (HAT-RAPD) analysis of three paramphistome flukes from Thailand. *Experimental Parasitology*. 115: 98-102.
41. Wangspa, R., Cutler, R. W., Sitthiprom, S., Chundet, R., Dumampaic, N. and Anuntalabhochai, S. (2005). DNA Fingerprint Database of Some Economically Important Thai Plants: Litchi chinensis Sonn, Dimocarpus longan Lour, and *Peuraria* spp. *ScienceAsia*. 31:145-149.
42. Wongsawad, C. (2011). Development of HAT-RAPD marker for detection of *Stellantchasmus falcatus* infection. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine & Public Health*. 42: 46-52.

43. Wongsawad, C., Phalee, A., Noikong, W., Chuboon, S. and Nithikathkul, C. (2012). Co-infection with *Opisthorchis viverrini* and *Haplorchis taichui* detected by human fecal examination in Chomtong district, Chiang Mai Province, Thailand. *Parasitology International*. 61: 56-59.
44. Wongsawad, C. and Wongsawad, P. (2010). Molecular markers for identification of *Stellantchasmus falcatus* and a phylogenetic study using the HAT-RAPD method. *Korean Journal of Parasitology*. 48: 303–307.
45. Wongsawad, C., Wongsawad, P., Chai, J. Y. and Anuntalabhochai, S. (2009). Development of a HAT-RAPD marker for the detection of minute intestinal fluke infection. *Experimental Parasitology*. 123: 158–161.
46. Wongsawad, C., Wongsawad, P., Chai, J. Y. and Anuntalabhochai, S. (2009). *Haplorchis taichui*, Witenberg, 1930: Development of a HAT-RAPD marker for the detection of minute intestinal fluke infection. *Experimental Parasitology*. 123: 158-161.
47. Jay Pfahl. Orchid Species. <http://www.orchidspecies.com/>. สืบค้นเมื่อวันที่ 25 กรกฎาคม 2559
48. NCBI. *Paphiopedilum argus*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/402502997>. สืบค้นเมื่อวันที่ 7 เมษายน 2560
49. Stephen Manza. *Paphiopedilum* Information. <http://slipperorchids.info/paphdatasheets/>. สืบค้นเมื่อวันที่ 25 กรกฎาคม 2559



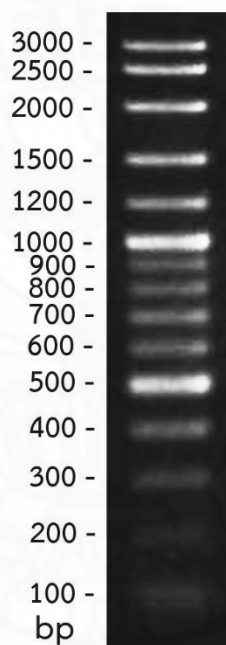
## ภาคผนวก ก

## ดีเอ็นเอมาตรฐาน

ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1kb plus DNA Ladder (Vivantis Technologies Sdn. Bhd.,  
Malaysia)

แสดงขนาดดีเอ็นเอตั้งแต่ 100 - 3,000 คู่เบส

100 bp plus DNA Ladder



ภาคผนวกที่ 1 ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp plus DNA Ladder ที่มา : Vivantis technologies Sdn.  
Bhd.

## ภาคผนวก ข

## ผลการให้ค่าคะแนนของลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

ตารางภาคที่ 1 แสดงค่าคะแนนแต่ละไพรเมอร์ของเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดี

ขนาด (คู่เบส)	ชนิดกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1900	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1800	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
1600	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
1350	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
1300	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0
1200	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1050	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1000	0	0	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	1	1	0
980	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0
950	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
900	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
850	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
820	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
650	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1
600	1	0	0	0	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0

## ตารางภาคที่ 1 (ต่อ)

ขนาด (คู่เบส)	ชนิดกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1600	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	1	0
1500	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1350	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1300	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1150	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1
1050	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0
980	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1
900	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0
850	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
800	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0
750	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	1
650	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0
600	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
580	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
470	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
370	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0
270	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15

ตารางภาคที่ 1 (ต่อ)

ขนาด (คู่เบส)	ชนิดกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1700	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
1600	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0
1500	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
1350	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1300	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0
1200	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
1100	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	1
1050	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
1000	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
950	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
900	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1
800	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
750	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0
700	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
650	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
600	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1
550	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
520	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
480	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0
450	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
270	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

A30

## ตารางภาคที่ 1 (ต่อ)

	ขนาด (คู่เบส)	ชนิดกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
A32	1700	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	1300	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1
	1200	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	0
	1150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
	1100	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0
	1000	1	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1
	800	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	1
	700	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
	500	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
B22	1500	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1300	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	1200	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	1000	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0
	990	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	900	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1
	700	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	0	1
	550	0	1	1	0	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0
	500	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	450	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	1	1



ตารางภาคที่ 1 (ต่อ)

ขนาด (คู่เบส)	ชนิดกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
2300	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1600	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
1450	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1300	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
B23 1200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0
1150	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
1100	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1	0	1	0
980	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
780	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1
700	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
400	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1	0

## ตารางภาคที่ 1 (ต่อ)

ขนาด (คู่เบส)	ชนิดกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1800	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1600	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
1500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
1400	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0
1300	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1
1150	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0
1000	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1
950	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0
850	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
800	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	0
750	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
700	0	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0
650	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
600	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
500	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
480	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
450	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
400	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1

## ตารางภาคที่ 1 (ต่อ)

ขนาด (คู่เบส)	ชนิดกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1500	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1300	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0
1200	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
1100	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0
1000	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
950	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0
900	1	1	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	1	0
800	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
700	1	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1
650	0	1	0	0	1	0	1	1	0	1	1	1	1	0	0
600	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0
500	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
450	0	0	1	0	1	0	1	1	0	1	1	1	1	0	0
300	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0

## ตารางภาคที่ 1 (ต่อ)

ขนาด (คู่เบส)	ชนิดกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1900	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
1800	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
1600	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
1500	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
1450	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	0	1
1400	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1300	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0
1200	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C22 1150	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0
1100	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1
1050	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0
950	1	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	1	1
900	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0
850	0	0	1	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0
750	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
700	1	0	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0
600	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
560	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
400	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0

## ตารางภาคที่ 1 (ต่อ)

ขนาด (คู่เบส)	ชนิดกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1600	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1500	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
1450	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1300	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	1
1250	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
1200	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
1100	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1000	1	1	1	1	0	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1
950	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0
900	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
850	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
800	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1
780	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0
700	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1
650	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
600	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
550	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0
500	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
360	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0

## ตารางภาคที่ 1 (ต่อ)

ขนาด (คู่เบส)	ชนิดกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1500	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
1400	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
1300	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
1100	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
1000	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
D23 900	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	1
800	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
750	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	0
700	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
650	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
600	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0
550	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0
400	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0

## ตารางภาคที่ 1 (ต่อ)

ขนาด (คู่เบส)	ชนิดกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1950	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
1900	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1600	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0
1450	0	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	0	1	0
1300	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1
1200	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
1150	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0
1100	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	1
1000	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1
950	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
900	0	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1
750	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0
700	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
650	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
600	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0
520	1	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
480	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0	1	0	0
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15

## ตารางภาคที่ 1 (ต่อ)

ขนาด (คู่เบส)	ชนิดกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
2300	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
1900	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1600	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
1500	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
1400	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
1300	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0
1200	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1100	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
E23 1050	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	1	0	1
950	0	0	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	0	0	0
900	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0
850	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1
800	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
700	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	1
650	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
600	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
550	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
500	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0



ตารางภาคที่ 1 (ต่อ)

ขนาด (คู่เบส)	ชนิดกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1700	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
1500	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0
1300	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
1200	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	1	1	1
1000	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
900	1	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1
800	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1
750	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0
700	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0
600	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
500	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1
460	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
440	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
400	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1

## ตารางภาคที่ 1 (ต่อ)

ขนาด (คู่เบส)	ชนิดกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
2000	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
1700	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
1400	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	1
1300	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
1200	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
1100	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0
1000	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	0	1
950	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	0
900	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
800	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0	1	1
700	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0
650	0	1	0	0	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1	0
600	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1
550	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0
400	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
350	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

F23

## ตารางภาคที่ 1 (ต่อ)

ขนาด (คู่เบส)	ชนิดกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
2000	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	1	0
1700	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0
1500	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
1400	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1
1250	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0
1180	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0
1000	1	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	0	1
950	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
800	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1	0	1
750	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1
650	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
600	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1
500	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
400	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1

ตารางภาคที่ 2 แสดงค่าคะแนนแต่ละไฟรเมอร์ของเครื่องหมายสก๊อต

	ขนาด (คู่เบส)	ชนิดกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
SCoT 13	1300	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	
	1100	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	1050	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
	1000	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	1	
	900	0	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0	
	800	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	700	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	
	650	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
	600	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	
	450	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	
	400	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
	SCoT 32	1500	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
1100		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
1050		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
950		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
850		0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
700		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
500		1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	

## ตารางภาคที่ 2 (ต่อ)

	ขนาด (คู่เบส)	ชนิดกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
SCoT 33	2700	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	1800	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1
	1600	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	1500	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0
	1400	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0
	1200	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0
	1150	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	1100	0	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	1
	950	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	900	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	750	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	1	1	0	0
	650	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	600	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0
	500	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0
	400	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0

## ตารางภาคที่ 2 (ต่อ)

	ขนาด (คูเบต)	ชนิดกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
SCoT 40	2000	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	1700	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0
	1500	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0
	1400	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	1300	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
	1200	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0
	1100	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1000	1	0	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0
	900	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	1
	800	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	700	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0
	650	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	0	1	0
	550	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	500	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0
	400	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	1
	350	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

## ตารางภาคที่ 2 (ต่อ)

ขนาด (คู่เบส)	ชนิดกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
2300	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
2000	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
1700	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
1600	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0
1400	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
1300	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	1
1200	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0
1100	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1
800	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0
700	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
550	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
400	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0

ตารางภาคที่ 2 (ต่อ)

	ขนาด (คู่เบส)	ชนิดกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
SCoT 50	2100	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0
	1500	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0
	1400	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	1200	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1100	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
	900	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1
	800	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	750	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
	700	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
	650	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	SCoT 51		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
2300		0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2000		0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0
1700		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1300		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1200		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0
1100		0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
1000		0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1
750		1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
550		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0



## ตารางภาคที่ 2 (ต่อ)

	ขนาด (คู่เบส)	ชนิดกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
SCoT 52	1600	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1400	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	1300	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	1200	0	1	0	1	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1
	1100	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	950	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0
	900	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	800	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	700	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	0	1	1
	550	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0

## ตารางภาคที่ 2 (ต่อ)

ขนาด (คู่เบส)	ชนิดกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1700	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
1500	1	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
1400	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0
1350	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
1300	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1200	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0
1100	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	0	0	1
1000	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
950	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
900	0	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0
800	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	1
700	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0	1	0	1
650	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
500	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1

## ตารางภาคที่ 2 (ต่อ)

	ขนาด (คู่เบส)	ชนิดกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
SCoT 54	1500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1
	1200	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1300	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
	1050	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0
	1000	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1
	900	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	1	1	1
	850	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	800	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1
	650	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
SCoT 55	1700	1	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0
	1600	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
	1350	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1200	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1
	1000	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1
	900	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	800	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0
	700	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0
	650	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0

## ตารางภาคที่ 2 (ต่อ)

	ขนาด (คู่เบส)	ชนิดกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
SCoT 57	2200	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1
	2000	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1700	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1
	1600	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0	1
	1500	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1
	1300	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	1200	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	1	0	0	1
	950	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1
	800	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1
	700	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1
	600	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1

## ตารางภาคที่ 2 (ต่อ)

	ขนาด (คู่เบส)	ชนิดกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
SCoT 65	1700	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	1600	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
	1450	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0
	1300	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
	1250	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1150	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0
	1050	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1
	1000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	950	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	850	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0
	800	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
	750	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0
	730	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	700	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
	650	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
	610	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
	600	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0
	550	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	450	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
350	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	
300	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

## ตารางภาคที่ 2 (ต่อ)

ขนาด (คูเบต)	ชนิดกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
2100	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0
1900	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
1600	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
1300	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1200	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
1150	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0
1100	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
1050	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
1000	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0
900	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
880	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	0	0
830	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
800	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0
750	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
630	1	0	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0
600	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
520	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
480	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
450	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
400	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
390	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0

SCoT  
66

## ตารางภาคที่ 2 (ต่อ)

ขนาด (คู่เบส)	ชนิดกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
2600	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2300	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
2000	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
1900	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
1700	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
1600	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
1500	1	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0
1350	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0
1200	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
1150	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
1100	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
1000	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
950	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
900	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
850	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
750	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
700	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0
600	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
400	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0

SCoT  
68

## ตารางภาคที่ 2 (ต่อ)

ขนาด (คู่เบส)	ชนิดกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1900	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
1700	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0
1550	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
1450	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
1300	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0
1250	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0
1200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1
1190	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
1150	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0
1100	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
1000	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	1
950	1	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0	1	0	1	0
900	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
850	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0
700	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
580	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	0
550	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
350	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1

SCoT  
73



## ตารางภาคที่ 2 (ต่อ)

ขนาด (คู่เบส)	ชนิดกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1900	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1600	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0
1500	0	1	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1
1300	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
1200	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	0	1	0
1180	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1
1100	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
1000	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0
900	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
850	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1
800	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
750	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	0	0
700	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0
500	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาวพรประภา ศิริเทพทวี
วันเดือนปีเกิด	13 สิงหาคม พ.ศ. 2535
ทุนการศึกษา	พ.ศ. 2558: ทุนบัณฑิตเรียนดีเพื่อศึกษาต่อระดับ บัณฑิตศึกษา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี พ.ศ. 2559: ทุนอุดหนุนการทำวิทยานิพนธ์เพื่อนำไปสู่ การตีพิมพ์เผยแพร่ พ.ศ. 2560: ทุนสนับสนุนงานวิจัย ประเภททุนวิจัย ทั่วไป สำหรับนักศึกษาบัณฑิตศึกษา พ.ศ. 2560: ทุนนำเสนอผลงานวิทยานิพนธ์/สารนิพนธ์ ภายในประเทศ

## ผลงานทางวิชาการ

พรประภา ศิริเทพทวี, อีระชัย ธนानันต์ และนฤมล ธนानันต์. (2560). การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการจำแนกกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีกลุ่มใบสีเขียวด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rpoC1* และ *ซันดีเอ็นเอ* ที่อยู่ระหว่างยีน *trnH* กับ *psbA*. *Thai Journal of Science and Technology*. 6(4): 338-346.

พรประภา ศิริเทพทวี, ฐิตาพร มณีเนตร, เปรมณัช ชุนปักซี่, อีระชัย ธนานันต์ และนฤมล ธนานันต์. (2560). การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการจำแนกกล้วยไม้ด้วยเครื่องหมายสก็อต. *Thai Journal of Science and Technology*. 6(3): 271-278.

อีระชัย ธนานันต์, พรประภา ศิริเทพทวี, ภัทรพร คุ่มภัย และนฤมล ธนานันต์. (2560). การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการระบุชนิดของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีกลุ่มใบเขียวด้วยเครื่องหมายสก็อต. *Thai Journal of Science and Technology*. 6(2): 171-178.