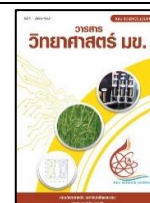




KKU SCIENCE JOURNAL

Journal Home Page : <https://ph01.tci-thaijo.org/index.php/KKUSciJ>

Published by the Faculty of Science, Khon Kaen University, Thailand



การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของไผ่ 12 ชนิดในจังหวัดเพชรบูรณ์

โดยเครื่องหมายโมเลกุล ISSR

Genetic Relationship Analysis of 12 Bamboo Species in

Phetchabun Province Using ISSR Markers

สุรเชษฐ เอี่ยมสำอาง¹ นัฐนภา บุกิจ² อินทิรา คำพันธ์² และ สุมาลี พิมพันธ์^{1*}

Surachest Aiumsumang¹, Natnapha Buking², Intira Komphan² and Sumalee Phimphan^{1*}

¹สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ จังหวัดเพชรบูรณ์ 67000

²สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ศึกษา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ จังหวัดเพชรบูรณ์ 67000

¹Biology Program, Faculty of Science and Technology, Phetchabun Rajabhat University, Phetchabun, 67000, Thailand

²Education Science Program, Faculty of Science and Technology, Phetchabun Rajabhat University, Phetchabun, 67000, Thailand

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของไผ่ 12 ชนิด โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล ISSR (Inter-Simple Sequence Repeats) เพื่อสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอและวิเคราะห์ความใกล้ชิดเชิงวิวัฒนาการของชนิดจากการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างไผ่จำนวน 36 ตัวอย่าง ด้วยชุดสกัดสำเร็จรูป RBC Genomic DNA Kit Genomic DNA Extraction Mini Kit บริษัท RBC Bioscience ดีเอ็นเอที่ได้มีปริมาณเฉลี่ย 6.5 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร มีค่าความบริสุทธิ์เฉลี่ยที่ 1.8 ทำปฏิกิริยา PCR ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล ISSR จำนวน 5 เครื่องหมาย โดยเครื่องหมาย UBC807 ให้ผลแถบดีเอ็นเอชัดเจนที่สุด วิเคราะห์ค่าดัชนีความคล้ายคลึง และใช้วิธี UPGMA เพื่อสร้าง dendrogram ผลการวิเคราะห์พบว่าค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงอยู่ระหว่าง 0.63 - 1.00 และสามารถจำแนกไผ่ทั้ง 12 ชนิดออกเป็น 5 กลุ่มหลัก ได้แก่ กลุ่มที่ 1 ไผ่ซาง ไผ่กะมะ และไผ่บงดำ กลุ่มที่ 2 ไผ่บง ไผ่จีน และไผ่หลอด กลุ่มที่ 3 ไผ่เปี๊ยะ ไผ่ไร่ และไผ่น้ำเต้า กลุ่มที่ 4 ไผ่สีสุกและไผ่เหลียง และกลุ่มที่ 5 ไผ่คายน้ำ ผลการจำแนกกลุ่มดังกล่าวสะท้อนความหลากหลายทางพันธุกรรมและความใกล้ชิดระหว่างชนิด โดยบางกลุ่มมีค่าสัมประสิทธิ์สูงกว่า 0.80 ซึ่งแสดงถึงความใกล้เคียงกันมาก ในขณะที่บางกลุ่ม เช่น ไผ่คายน้ำ แสดงการแยกตัวชัดเจน ผลการศึกษานี้จึงชี้ให้เห็นถึงศักยภาพของการใช้เครื่องหมายโมเลกุล ISSR ในการศึกษาความสัมพันธ์เชิงพันธุกรรมของไผ่ ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการปรับปรุงพันธุ์ การอนุรักษ์ความหลากหลายทางชีวภาพ และการใช้ประโยชน์ทางเศรษฐกิจของไผ่ต่อไป

ABSTRACT

This study aimed to analyze the genetic relationships among 12 bamboo species using Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) markers to generate DNA fingerprinting and assess their evolutionary relatedness.

*Corresponding Author, E-mail: Sumalee.phi@pcru.ac.th

Received date: 9 November 2025 | Revised date: 1 April 2026 | Accepted date: 27 April 2026

doi: 10.14456/kkuscij.2026.34

Genomic DNA was extracted from 36 bamboo leaf samples using the RBC Genomic DNA Extraction Mini Kit (RBC Bioscience). The extracted DNA showed an average concentration of 6.5 ng/ μ L and an average purity value of 1.8. Polymerase Chain Reaction (PCR) amplification was performed using five ISSR primers, of which primer UBC807 produced the most distinct and clear DNA banding patterns. Genetic similarity indices were calculated based on the method and a dendrogram was constructed using the Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA). The results revealed that the similarity coefficients ranged from 0.63 to 1.00, allowing the classification of the 12 bamboo species into five major groups: Group 1 included *Dendrocalamus strictus*, *D. asper* and *Bambusa tulda*. Cupulata; Group 2 consisted of *Bambusa nutans*, *Arundinaria suberecta* and *Neohouzeaua mekongensis*; Group 3 included *Dendrocalamus giganteus*, *Gigantochloa albociliata* and *Bambusa ventricosa*; Group 4 comprised *Bambusa blumeana* and *Bambusa vulgaris*; and Group 5 contained *Gigantochloa compressa*. The clustering revealed both close genetic affinities (similarity > 0.80) among certain species and clear differentiation in others, such as *G. compressa*, which formed a distinct group. These findings demonstrate the effectiveness of ISSR markers in distinguishing bamboo species and elucidating their genetic relationships. The results provide valuable insights for bamboo breeding, conservation of genetic diversity, and sustainable utilization of bamboo resources.

คำสำคัญ: ไม้ ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ISSR ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ เดนโดแกรม

Keywords: Bamboo, Genetic Relationship, ISSR, DNA Fingerprinting, Dendrogram

บทนำ

ไม้ (Bamboo) เป็นพืชในวงศ์ Poaceae ที่มีความสำคัญทั้งด้านเศรษฐกิจ สังคม และระบบนิเวศ โดยเฉพาะในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ซึ่งมีความหลากหลายของไม้สูง โดยพบประมาณ 120 สกุล และมากกว่า 1,600 ชนิดทั่วโลก (Vorontsova *et al.*, 2016; Clark *et al.*, 2015) เอเชียตะวันออกเฉียงใต้เป็นศูนย์กลางความหลากหลายของไม้ (Canavan *et al.*, 2017) ในประเทศไทยเอง มีการรายงานว่า พบไม้ประมาณ 15 - 20 สกุล และมากกว่า 60 ชนิด การสำรวจในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยพบไม้อย่างน้อย 5 สกุล 13 ชนิด ซึ่งสะท้อนความหลากหลายระดับท้องถิ่น (Sudchaleaw *et al.*, 2023) ความหลากหลายของไม้มีความสำคัญต่อระบบนิเวศและการใช้ประโยชน์ทางเศรษฐกิจ (Lobovikov *et al.*, 2007) และมีการใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางตั้งแต่อาหาร ที่อยู่อาศัย วัสดุก่อสร้าง งานหัตถกรรม ไปจนถึงอุตสาหกรรมชีวภาพ (Liese and Kohl, 2015; Banik, 2015) ประเทศไทยพบความหลากหลายของไม้มากกว่า 50 ชนิดใน 13 สกุล (กรมป่าไม้, 2545) โดยจังหวัดเพชรบูรณ์ซึ่งตั้งอยู่ในภาคเหนือตอนล่าง เป็นพื้นที่ที่มีความอุดมสมบูรณ์เหมาะต่อการกระจายของไม้หลายชนิด เช่น ไม้บงหวาน (*Bambusa burmanica*) ไม้รวก (*Thyrsostachys siamensis*) ไม้ซาง (*Dendrocalamus strictus*) และไม้ตง (*D. asper*) ในเชิง morphological character การจำแนกชนิดของไม้ในงานวิจัยปัจจุบัน ตั้งแต่ปี ค.ศ. 2000 เป็นต้นมา ยังคงอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphological characters) เป็นพื้นฐานสำคัญ โดยใช้ทั้งลักษณะทางพืชพรรณ (vegetative) และลักษณะสืบพันธุ์ (reproductive) ร่วมกัน เช่น ลักษณะของลำ (culm) ได้แก่ ความสูง เส้นผ่านศูนย์กลาง ความยาวปล้อง และพื้นผิว ลักษณะการแตกกิ่ง (branching pattern) ซึ่งมีความสำคัญในระดับสกุล ลักษณะเหง้า (rhizome) แบบ sympodial หรือ monopodial ลักษณะกาบหุ้มลำ (culm sheath) เช่น รูปทรง ขนาด ปลายกาบ หูใบ และขน ซึ่งถือเป็นลักษณะสำคัญในการจำแนกชนิด ลักษณะใบ เช่น รูปทรง ขนาด และเส้นใบ รวมถึงลักษณะช่อดอก และ spikelet เช่น รูปแบบช่อ จำนวนดอกย่อย และเกสร ซึ่งใช้จำแนกในระดับที่ละเอียดมากขึ้น (Triplett and Clark, 2003; Bhattacharya *et al.*, 2006; Das *et al.*, 2007) โดยงานวิจัยพบว่า มีการใช้ตัวแปรทาง

สัณฐานวิทยาจำนวนมาก เช่น 10 - 32 ลักษณะ ทั้งเชิงปริมาณและคุณภาพเพื่อแยกชนิดไม้ และมีการใช้ลักษณะ culm และ culm sheath มากถึง 15 - 17 ลักษณะในการจำแนก (Bhattacharya *et al.*, 2006; Das *et al.*, 2007) ขณะเดียวกัน นักอนุกรมวิธานร่วมสมัย เช่น Clark *et al.* (2015) ได้ใช้ข้อมูลสัณฐานวิทยาควบคู่กับการวิเคราะห์เชิงสถิติและสายวิวัฒนาการในการอธิบายชนิดใหม่ของไม้ ขณะที่ Walter Liese และ Michael Widjaja มีบทบาทสำคัญในการศึกษาลักษณะโครงสร้างและอนุกรมวิธานของไม้ในเขตร้อน อย่างไรก็ตาม งานวิจัยจำนวนมากชี้ว่าการใช้ morphological characters เพียงอย่างเดียวอาจไม่เพียงพอในการแยกชนิดที่มีความใกล้เคียงกัน เนื่องจากลักษณะเหล่านี้ได้รับอิทธิพลจากสิ่งแวดล้อม จึงมักต้องใช้ข้อมูลโมเลกุลร่วมด้วยในการจำแนกที่แม่นยำยิ่งขึ้น ไม้ นอกจากมีบทบาทด้านนิเวศแล้ว ยังเป็นแหล่งรายได้สำคัญของครัวเรือนชนบทที่พึ่งพาการเก็บหน่อไม้และการแปรรูปผลิตภัณฑ์ไม้เพื่อจำหน่าย (Nirmala *et al.*, 2018; Lobovikov *et al.*, 2007) การขยายตัวของการใช้ประโยชน์ไม้ การบุกรุกพื้นที่ป่า และการปลูกชนิดจากภายนอกโดยขาดการจัดการเชิงพันธุกรรมได้ก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อการปะปนและการสูญเสียความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรไม้พื้นเมือง (Banik, 2015) อีกทั้งการจำแนกชนิดไม้โดยใช้เพียงลักษณะสัณฐานวิทยายังมีความคลาดเคลื่อนสูงเนื่องจากหลายชนิดมีลักษณะใกล้เคียงกัน การวิจัยระดับโมเลกุลจึงมีความสำคัญยิ่งในการระบุชนิดและประเมินความสัมพันธ์ของไม้อย่างแม่นยำ เครื่องหมายโมเลกุล เช่น Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Inter-Simple Sequence Repeats (ISSR) และ Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) ได้รับการพัฒนาเพื่อใช้ตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชหลายชนิด (Williams *et al.*, 1990) ในจำนวนนี้เครื่องหมายโมเลกุล ISSR เป็นเทคนิคที่มีความสามารถในการตรวจจับความแปรผันของดีเอ็นเอได้สูง ให้ผลทำซ้ำได้ดี (Zietkiewicz *et al.*, 1994; Bornet and Branchard, 2001) เป็นเทคนิคที่ไม่จำเป็นต้องมีข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ล่วงหน้า จึงเหมาะสำหรับพืชที่ยังมีข้อมูลพันธุกรรมจำกัด เช่น ไม้ (Ng and Tan, 2015) นอกจากนี้ยังสามารถตรวจจับความหลากหลายทางพันธุกรรมได้ดีในระดับประชากร เนื่องจากให้จำนวนแถบดีเอ็นเอหลายตำแหน่งต่อหนึ่งไพรเมอร์ ทำให้สามารถประเมิน polymorphism ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Zietkiewicz *et al.*, 1994) อีกทั้ง เครื่องหมายโมเลกุล ISSR มีความไวสูงและให้ความสามารถในการแยกความแตกต่างระหว่างตัวอย่างได้ดี โดยเฉพาะเมื่อเลือกไพรเมอร์ที่เหมาะสม (Reddy *et al.*, 2002) นอกจากนี้ วิธีการยังมีต้นทุนต่ำ ใช้อุปกรณ์พื้นฐานในห้องปฏิบัติการทั่วไป และสามารถดำเนินการได้รวดเร็วเมื่อเทียบกับเทคนิคขั้นสูง เช่น SNP หรือ Next-Generation Sequencing (NGS) จึงเหมาะสำหรับการศึกษาความหลากหลายเบื้องต้นหรือการคัดกรองชนิดจำนวนมาก จึงได้รับความนิยมอย่างกว้างขวางในการจำแนกประชากรพืชที่มีข้อมูลพันธุกรรมจำกัด รวมถึงงานวิจัยไม้ในหลายประเทศ (Ramanayake *et al.*, 2007) โดยภาพรวม เครื่องหมายโมเลกุล ISSR จึงเป็นเครื่องมือที่มีความสมดุลระหว่างประสิทธิภาพ ความคุ้มค่า และความสะดวกในการใช้งาน ทำให้ยังคงเป็นทางเลือกที่เหมาะสมสำหรับการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของไม้ในงานวิจัยนี้ เพื่อจัดทำฐานข้อมูลพันธุกรรมสนับสนุนการอนุรักษ์และการพัฒนาศักยภาพในด้านการค้า การปรับปรุงพันธุ์ของไม้พื้นเมืองต่อไป

วิธีการดำเนินการวิจัย

เก็บตัวอย่างใบอ่อนของไม้ทั้งหมด 12 ชนิด ได้แก่ ไม้ซาง (*D. strictus* (Roxb.) Nees.) ไม้บง (*B. nutans* Wall. Ex Munro) ไม้เปาะ (*D. giganteus* Munro) ไม้กะมะ (*D. asper* (Schult.) Backer) ไม้ไร่ (*G. albociliata* (Munro) Kurz) ไม้เหลือง (*B. vulgaris* Schrad) ไม้บงดำ (*B. tulda* Roxb.) ไม้สีสุก (*B. blumeana* Schult. & Schult.f.) ไม้หลอด (*N. mekongensis* (A.Camus) K.M.Wong & Sungkaew) ไม้คายนดำ (*G. compressa* R. Parker) ไม้หน้าเต้า (*B. ventricosa* McClure) และไม้จัน (*D. suberectum* (Munro) R.B.Majumdar จากสวนไม้เฉลิมพระเกียรติ อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ ตัวอย่างถูกเก็บรักษาที่ -20 องศาเซลเซียส ก่อนดำเนินการสกัด ดีเอ็นเอ การสกัดดีเอ็นเอทำโดยใช้ชุดสกัดสำเร็จรูป RBC Bioscience (Taiwan) ตามคู่มือบริษัทผู้ผลิต โดยใช้ใบสดใช้ส่วนของใบอ่อนจากปลายยอด ใบที่ 1 - 3 จำนวน 5 ซ้ำ แต่ละตัวอย่างชั่งน้ำหนัก 100 mg นำไปบดด้วยไนโตรเจนเหลวจนละเอียด ทำขั้นตอนสกัดและทำให้บริสุทธิ์ผ่านคอลัมน์กรอง

และทำการชะล้างจนได้สารละลายดีเอ็นเอที่มีความบริสุทธิ์ ตรวจสอบปริมาณและความบริสุทธิ์ของดีเอ็นเอด้วย 1% agarose gel electrophoresis เปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp DNA Ladder Marker ส่วนคุณภาพและความบริสุทธิ์วัดด้วยเครื่อง spectrophotometer โดยอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ 260/280 nm และคำนวณความบริสุทธิ์ของดีเอ็นเอจากค่า A260/A280 โดยค่าอยู่ที่ 1.8 เพื่อเหมาะสมสำหรับการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยา PCR และไพรเมอร์ การวิเคราะห์หลายพิมพ์ดีเอ็นเอใช้เทคนิค ISSR-PCR โดยเลือกใช้ไพรเมอร์ทั้งหมด 5 ชนิด ได้แก่ UBC807 ((AG)8T) (Viehmánová *et al.*, 2014) UBC808 ((AG)8C) (Ravanfar *et al.*, 2013) UBC823 ((TC)8C) (Viehmánová *et al.*, 2014) UBC827 ((AC)8G) (Luz *et al.*, 2020) และ UBC847 ((CA)8RC) (Viehmánová *et al.*, 2014) ดังตารางที่ 1 ปฏิกิริยา PCR มีปริมาตร 50 μ L ประกอบด้วย DNA template 50 ng $MgCl_2$ 2.5 mM dNTPs 200 μ M primer 2.0 μ M Taq Master Mix 2x และ ddH₂O ตามปริมาตรรวม การตั้งโปรแกรม PCR คือ pre-denaturation ที่ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที จำนวน 1 รอบ ตามด้วยขั้นตอน denaturation 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที annealing 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที และ extension 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที เป็นจำนวน 35 รอบ และขั้นตอน final extension 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ตรวจสอบผลผลิตจากปฏิกิริยา PCR ด้วย agarose gel electrophoresis 1.5% ที่แรงดันไฟฟ้า 75 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที เปรียบเทียบขนาดชิ้นดีเอ็นเอกับ 100 bp DNA Ladder Marker จากนั้นบันทึกผลด้วยเครื่อง UV Transilluminator เพื่อใช้สำหรับวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอของแต่ละชนิด

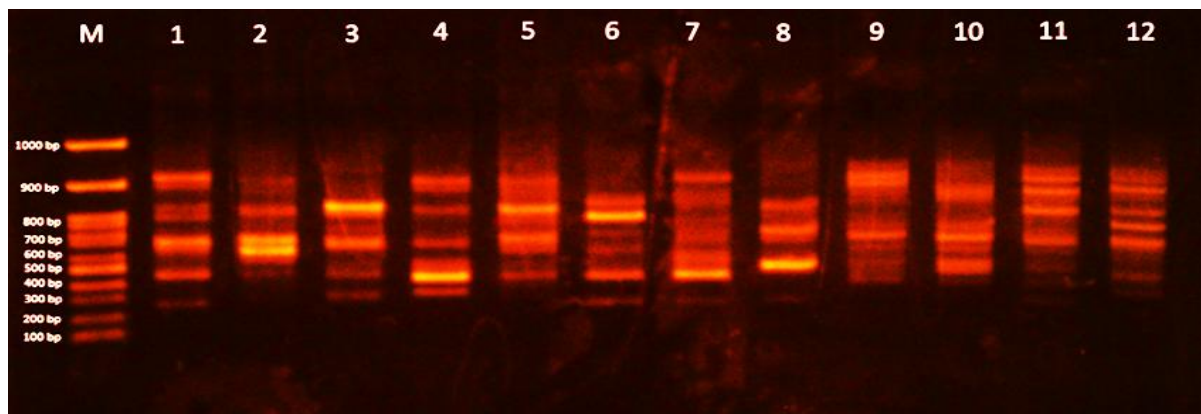
ตารางที่ 1 ไพรเมอร์เครื่องหมายโมเลกุล 5 ชนิดในการทดสอบการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ

	ID	Sequence repeat motif (5' - 3')	Reference
1	UBC807	[(AG)8T]	Viehmánová <i>et al.</i> , 2014
2	UBC808	[(AG)8C]	Ravanfar <i>et al.</i> , 2013
3	UBC823	[(TC)8C]	Viehmánová <i>et al.</i> , 2014
4	UBC827	[(AC)8G]	Luz <i>et al.</i> , 2020
5	UBC847	[(CA)8RC]	Viehmánová <i>et al.</i> , 2014

การวิเคราะห์ข้อมูลทางพันธุกรรม ข้อมูลแถบดีเอ็นเอจะถูกแปลงเป็น binary matrix และวิเคราะห์ค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมตามวิธีของ Yeh *et al.* (1999) และ Nei (1978) สร้าง dendrogram โดยวิเคราะห์ระยะสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของ Nei (1978) และสร้าง dendrogram ด้วยวิธี UPGMA และ Neighbor-Joining (NJ) โดยใช้โปรแกรม MEGA เพื่อแสดงความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการระหว่างชนิด

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

สกัดดีเอ็นเอจากใบไม้จำนวน 12 ชนิด รวม 36 ตัวอย่าง ผลดีเอ็นเอที่ได้มีความเข้มข้นและปริมาณเพียงพอต่อการนำไปทำปฏิกิริยา PCR ตรวจสอบด้วย agarose gel electrophoresis 1% แถบดีเอ็นเอมีความคมชัด มีค่าความบริสุทธิ์ A260/A280 อยู่ในช่วง 1.6 - 1.8 จากนั้นเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคเครื่องหมายโมเลกุล ISSR โดยใช้ไพรเมอร์ 5 ชนิด และพบว่าไพรเมอร์ UBC807 ให้ผลหลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ดี มีความคมชัดแปรทางพันธุกรรมที่ชัดเจน จำแนกตัวอย่างได้อย่างมีประสิทธิภาพ ขนาดผลิตภัณฑ์ที่ได้อยู่ในช่วง 300 - 800 bp สามารถตรวจสอบความแตกต่างของชนิดได้อย่างชัดเจน ดังรูปที่ 1

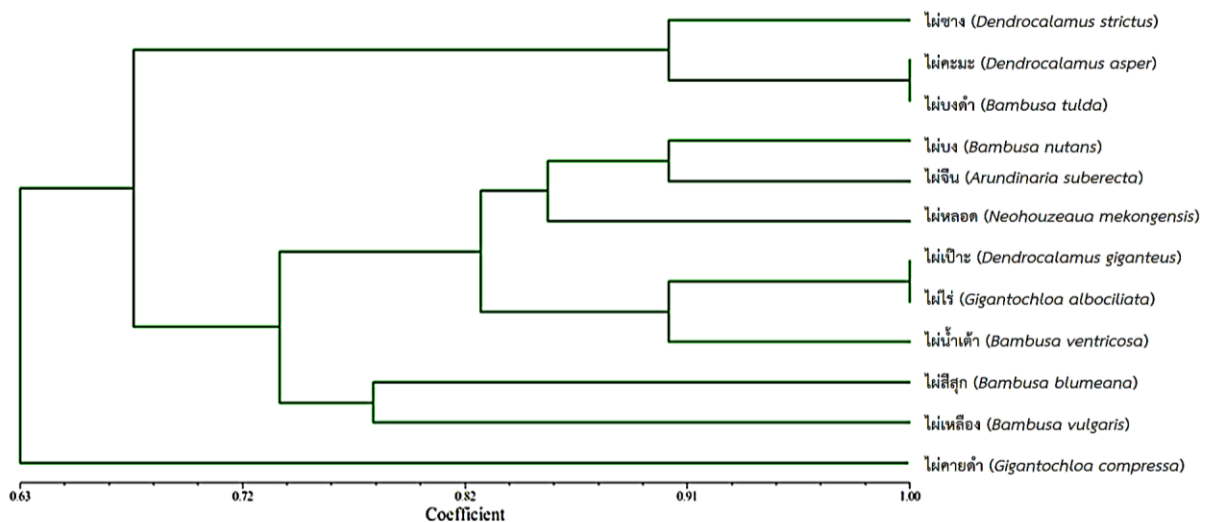


รูปที่ 1 แลบดีเอ็นเอที่สังเคราะห์ได้จากดีเอ็นเอของไม้โดยใช้ไพรเมอร์ UBC807 โดย M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder ลำดับที่ 1 ไม้ยาง 2 ไม้บง 3 ไม้เปี๊ยะ 4 ไม้กะมะ 5 ไม้ไร่ 6 ไม้เหลื่อง 7 ไม้บงดำ 8 ไม้สีสุก 9 ไม้หลอด 10 ไม้คายดำ 11 ไม้หน้าเต้า และ 12 ไม้จัน

จากการศึกษาความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของไม้ทั้งหมด 12 ชนิด โดยใช้ไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้สำหรับเทคนิคเครื่องหมายโมเลกุลเอสเอสอาร์จำนวน 3 คู่ไพรเมอร์ คือ UBC807 UBC823 และ UBC827 แต่จากการวิเคราะห์แลบดีเอ็นเอจากไพรเมอร์ทั้ง 3 ชนิด พบว่า UBC807 ให้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่มีลักษณะแลบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกันระหว่างไม้แต่ละชนิดมากที่สุด โดยให้แลบดีเอ็นเอทั้งหมด 65 แถบ มีแถบที่แสดงความแตกต่างกัน จำนวน 27 แถบ (41.53 %) จึงใช้แลบดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยา PCR ด้วยไพรเมอร์ UBC807 มาวิเคราะห์โครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากร ด้วยวิธี unweighted pair-group method with arithmetic averaging (UPGMA) จากการวิเคราะห์จากความต่างกันของลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ได้ค่าดัชนีความเหมือน มีค่าอยู่ที่ช่วง 0.63 - 1.00 จัดกลุ่มได้ 5 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ได้แก่ ไม้ยาง ไม้กะมะ และไม้บงดำ มีค่าดัชนีความเหมือน 0.89 กลุ่มที่ 2 ได้แก่ ไม้บง ไม้จัน และไม้ มีค่าดัชนีความเหมือน 0.85 กลุ่มที่ 3 ได้แก่ ไม้เปี๊ยะ ไม้ไร่ และไม้หน้าเต้า มีค่าดัชนีความเหมือน 0.89 กลุ่มที่ 4 ได้แก่ ไม้สีสุกและไม้เหลื่อง มีค่าดัชนีความเหมือน 0.78 กลุ่มที่ 5 ได้แก่ ไม้คายดำ มีค่าดัชนีความเหมือน 0.63 ตามลำดับ ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ค่าดัชนีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (Genetic similarity index) ของไม้ 12 ชนิด ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล SSR ชนิด UBC807

	ไม้ยาง	ไม้บง	ไม้เปี๊ยะ	ไม้กะมะ	ไม้ไร่	ไม้เหลื่อง	ไม้บงดำ	ไม้สีสุก	ไม้หลอด	ไม้คายดำ	ไม้หน้าเต้า	ไม้จัน
ไม้ยาง	1.00											
ไม้บง	0.67	1.00										
ไม้เปี๊ยะ	0.67	0.82	1.00									
ไม้กะมะ	0.89	0.67	0.67	1.00								
ไม้ไร่	0.67	0.82	1.00	0.67	1.00							
ไม้เหลื่อง	0.67	0.74	0.74	0.67	0.74	1.00						
ไม้บงดำ	0.89	0.67	0.67	1.00	0.67	0.67	1.00					
ไม้สีสุก	0.67	0.74	0.74	0.67	0.74	0.78	0.67	1.00				
ไม้หลอด	0.67	0.85	0.82	0.67	0.82	0.74	0.67	0.74	1.00			
ไม้คายดำ	0.63	0.63	0.63	0.63	0.63	0.63	0.63	0.63	0.63	1.00		
ไม้หน้าเต้า	0.67	0.82	0.89	0.67	0.89	0.74	0.67	0.74	0.82	0.63	1.00	
ไม้จัน	0.67	0.89	0.82	0.67	0.82	0.74	0.67	0.74	0.85	0.63	0.82	1.00



รูปที่ 2 แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ของไผ่ทั้ง 12 ชนิด จากการวิเคราะห์การจัดกลุ่ม ด้วยวิธี unweighted pair-group method with arithmetic averaging (UPGMA)

ผลการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของไผ่ทั้ง 12 ชนิด โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล ISSR สะท้อนถึงความแตกต่างทางพันธุกรรมที่สัมพันธ์กับลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการกระจายตัวทางภูมิศาสตร์อย่างมีนัยสำคัญ ผลการวิเคราะห์ในครั้งนี้สอดคล้องกับรายงานของ Yeasmin *et al.* (2015) ซึ่งพบว่าเครื่องหมายทางพันธุกรรมร่วมกับการสร้าง dendrogram สามารถใช้จำแนกและอธิบายความสัมพันธ์ของชนิดไผ่ได้อย่างมีประสิทธิภาพ อีกทั้งยังสนับสนุนผลการศึกษาโดย Amom *et al.* (2018) ที่รายงานว่าความแปรผันทางพันธุกรรมในระดับปานกลางถึงสูงเป็นลักษณะปกติของไผ่ในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ จากการศึกษานี้ จำแนกกลุ่มของไผ่ออกได้เป็น 5 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยไผ่ซาง ไผ่คมะ และไผ่บงดำ ซึ่งมีค่าดัชนีความเหมือนทางพันธุกรรมสูงที่สุดในบรรดากลุ่มทั้งหมด แสดงถึงความใกล้ชิดเชิงพันธุกรรมอย่างชัดเจน ลักษณะเด่นของกลุ่มนี้คือการมีเหง้าแบบ sympodial ลำต้นใหญ่แข็งแรง และการแตกกิ่งแบบกระจุก ซึ่งเป็นลักษณะร่วมที่ใช้จำแนกกลุ่ม *Bambusa* และ *Dendrocalamus* มาเป็นเวลานาน ผลการจัดกลุ่มนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Amom *et al.* (2018) ซึ่งใช้เครื่องหมายโมเลกุล ISSR ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของไผ่ในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ พบว่าการจำแนกกลุ่มทางพันธุกรรมสอดคล้องกับลักษณะทางสัณฐาน เช่น รูปแบบของเหง้า การแตกกิ่ง และลักษณะของลำต้น โดยเฉพาะไผ่ที่มีลักษณะการเจริญแบบ sympodial มักมีพื้นฐานทางพันธุกรรมคล้ายกัน นอกจากนี้ Guo *et al.* (2022) ที่ใช้เครื่องหมาย AFLP ศึกษาไผ่ในประเทศจีน ยังรายงานว่ากลุ่ม *Bambusa* และ *Dendrocalamus* มีพื้นฐานทางพันธุกรรม (genetic background) ที่ใกล้ชิดกัน ซึ่งอธิบายได้ว่าไผ่ซางและไผ่คมะ (ในสกุล *Dendrocalamus*) มักจัดกลุ่มใกล้กับไผ่บงดำ เนื่องจากมีบรรพบุรุษร่วมทางวิวัฒนาการในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ทั้งนี้ งานศึกษาด้วย cpDNA (chloroplast DNA) ของ Zhang *et al.* (2011) ยังพบว่า haplotype ของ *Bambusa* และ *Dendrocalamus* หลายชนิดมีความใกล้ชิดกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสนับสนุนแนวคิดเรื่องบรรพบุรุษร่วมในกลุ่ม *Bambuseae* การจัดกลุ่มของไผ่ทั้งสามชนิดในครั้งนี้จึงมีความสอดคล้องกับข้อมูลทางโมเลกุลและสัณฐานวิทยาอย่างชัดเจน และสามารถใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนการจำแนกอนุกรมวิธานในระดับสกุลได้อย่างถูกต้อง สำหรับกลุ่มที่ 2 ซึ่งประกอบด้วยไผ่บง ไผ่จีน และไผ่หลอด ผลการวิเคราะห์ พบว่า มีค่าดัชนีความเหมือนทางพันธุกรรมสูงถึง 0.83 บ่งบอกถึงความใกล้ชิดทางพันธุกรรมในระดับสูงเมื่อเทียบกับกลุ่มอื่น ๆ ในแง่สัณฐานวิทยา ไผ่ทั้งสามชนิดนี้มีลักษณะเด่นที่ใกล้เคียงกัน ได้แก่ ลำต้นขนาดปานกลางถึงเล็ก เหง้าแบบ sympodial ปล้องสั้นและมีการแตกกิ่งย่อยจำนวนมาก ซึ่งเป็นลักษณะร่วมที่พบได้ทั่วไปในไผ่สกุล *Bambusa* และ *Dendrocalamus* ผลการวิเคราะห์นี้สอดคล้องกับ Yeasmin *et al.* (2015) ที่รายงานว่าความคล้ายคลึงทางสัณฐานมัก

สัมพันธ์กับความใกล้ชิดทางพันธุกรรมในกลุ่มไม้ที่มีโครงสร้างเหง้าแบบ sympodial นอกจากนี้ ข้อมูลจาก Guo *et al.* (2022) ที่ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของไผ่จีนโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล ISSR และ AFLP ยังระบุว่าไผ่บางชนิดจากประเทศจีนมีรูปแบบทางพันธุกรรมที่ใกล้เคียงกับชนิดพื้นเมืองในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ซึ่งอธิบายได้ว่าไผ่จีน ถูกจัดให้อยู่ใกล้กับไผ่บงและไผ่หลอด เนื่องจากการสืบทอดยีนบางส่วนจากบรรพบุรุษร่วมในภูมิภาคเดียวกัน การศึกษาของ Nayak *et al.* (2003) ที่ใช้เครื่องหมายโมเลกุล RAPD และ เครื่องหมายโมเลกุล ISSR ศึกษาไผ่หลายชนิด พบว่าไผ่ในสกุล *Bambusa* ที่มีเหง้าแบบ sympodial เช่น ไผ่บงและไผ่หลอด มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกันมากในระดับโมเลกุล และสามารถจำแนกออกจากสกุลอื่นได้อย่างชัดเจน ซึ่งยืนยันทางวิวัฒนาการจากบรรพบุรุษร่วม และจากข้อมูลการศึกษา cpDNA ของ Zhang *et al.* (2011) ยังชี้ว่า haplotype ของ *Bambusa* และ *Phyllostachys* บางกลุ่มมีความใกล้ชิดกันในระดับภูมิภาค ซึ่งสะท้อนถึงการเกิด gene flow ระหว่างภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้กับเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ การมีลักษณะทางสัณฐานและทางโมเลกุลที่สอดคล้องกันจึงเป็นหลักฐานสนับสนุนว่ากลุ่มไผ่บง ไผ่จีน และไผ่หลอด มีพื้นฐานทางพันธุกรรมร่วมกัน และอาจมีต้นกำเนิดร่วมในสายวิวัฒนาการเดียวกัน ในส่วนของกลุ่มที่ 3 ซึ่งประกอบด้วย ไผ่เปาะ ไผ่ไร่ และไผ่น้ำเต้า พบว่า มีระดับความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงที่สุดในบรรดากลุ่มทั้งหมด โดยเฉพาะไผ่เปาะและไผ่ไร่ที่เป็นชนิดเศรษฐกิจสำคัญ ซึ่งผลการศึกษาโดย Das *et al.* (2007) พบว่ากลุ่มไผ่เศรษฐกิจมี polymorphism สูงและสามารถแบ่งออกเป็น sub-clusters ได้อย่างชัดเจน สะท้อนถึงการคัดเลือกตามธรรมชาติและการคัดเลือกโดยมนุษย์ที่ต่อเนื่องเป็นเวลายาวนาน นอกจากนี้งานของ Nayak *et al.* (2003) ที่ใช้เครื่องหมายโมเลกุล AFLP และ RAPD ยังรายงานว่ามีไผ่ในสกุล *Dendrocalamus* มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงกว่า *Bambusa* บางชนิด ซึ่งอาจเป็นผลจากการปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมที่หลากหลาย ในกรณีของไผ่น้ำเต้า แม้จะจัดอยู่ในกลุ่มที่ใช้ปลูกเพื่อประดับ แต่จากข้อมูลการศึกษา cpDNA haplotype analysis ของ Zhang *et al.* (2011) พบว่า ไผ่น้ำเต้ามีความใกล้ชิดกับไผ่บงและไผ่หนาม มากกว่ากับในสกุล *Dendrocalamus* ซึ่งสอดคล้องกับ dendrogram ที่แสดงให้เห็นว่าไผ่น้ำเต้าถูกจัดอยู่ใกล้กับไผ่เปาะและไผ่ไร่มากที่สุด ความสัมพันธ์ดังกล่าวสะท้อนถึงบรรพบุรุษร่วมในเผ่า Bambuseae ที่อาจมีการแลกเปลี่ยนยีนระหว่างสกุลในอดีต โดยในเชิงสัณฐานวิทยา ไผ่กลุ่มนี้มีลำต้นขนาดกลางถึงใหญ่ เหง้าแบบ sympodial ซึ่งเป็นลักษณะร่วมที่สอดคล้องกับการจำแนกกลุ่มทางพันธุกรรม สำหรับกลุ่มที่ 4 ประกอบด้วย ไผ่เหลียงและไผ่สีสุก ทั้งสองชนิดอยู่ในสกุลเดียวกัน จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล RAPD และ SSR markers โดย Das *et al.* (2007) พบว่าทั้งสองมีลักษณะทางโมเลกุลที่ใกล้เคียงกันในบาง primer combinations จึงถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มเดียวกัน ความคล้ายคลึงนี้บ่งชี้ถึงการมีบรรพบุรุษร่วม หรือการคงอยู่ของยีนบางชุดที่เหมือนกันระหว่างสกุล ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษา nrDNA ITS sequences ของ Triplett and Clark (2003) ที่ระบุว่าความแตกต่างระหว่างสกุล *Dendrocalamus* และ *Bambusa* ในระดับ ribosomal DNA มีเพียงเล็กน้อย และไม่เพียงพอที่จะแยกทั้งสองสกุลออกจากกันได้อย่างชัดเจน ลักษณะสัณฐานของไผ่เหลียงและไผ่สีสุกก็สนับสนุนผลนี้ โดยไผ่เหลียงมีลำปล้องสีเหลืองสลับเขียว ส่วนไผ่สีสุกมีลำต้นขนาดใหญ่แข็งแรง ความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของสองชนิดนี้มีนัยสำคัญต่อการคัดเลือกพันธุ์ลูกผสม เพื่อพัฒนาไผ่เศรษฐกิจที่มีทั้งคุณค่าเชิงใช้งานและความสวยงาม กลุ่มที่ 5 คือไผ่คายนดำ ซึ่งถูกจัดให้อยู่เดี่ยวจากชนิดอื่น ผลการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล AFLP และ เครื่องหมายโมเลกุล ISSR ตามรายงานของ Loh *et al.* (2000) รายงานว่า การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมด้วยเครื่องหมาย AFLP สามารถแยกไผ่ในสกุล *Gigantochloa* ออกจากกลุ่มของ *Bambusa* ได้ โดย *Gigantochloa* จำนวน 6 ชนิด รวมทั้ง *G. atrovioleacea* (ไผ่คายนดำ) มีแนวโน้มรวมกลุ่มเป็นกลุ่มเฉพาะ ขณะที่ความสัมพันธ์ระหว่าง *G. atrovioleacea* กับ *Bambusa lako* มีความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมสูงที่สุดในชุดตัวอย่าง แต่ยังคงอยู่ในเผ่า (tribe) เดียวกันคือ Bambusinae ซึ่งบ่งชี้ถึงการมีบรรพบุรุษร่วมกัน และข้อมูลจาก chloroplast DNA ของ Goh *et al.* (2013) รายงานว่า *Gigantochloa*, *Dendrocalamus* และ *Bambusa* จัดอยู่ในกลุ่ม Bambusa-Dendrocalamus-Gigantochloa (BDG) complex และมีความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการที่ซับซ้อน โดยผลการวิเคราะห์จาก chloroplast DNA และ nuclear DNA มีความไม่สอดคล้องกัน ซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับการเกิด introgressive hybridization และ incomplete

lineage sorting จากข้อมูลการแยกตัวของไฟคายดำในการวิเคราะห์จาก dendrogram จึงเป็นไปตามหลักวิวัฒนาการและข้อมูลทางโมเลกุลอย่างสมเหตุสมผล ในด้านสัณฐานวิทยา ไฟคายดำ มีลำต้นสีม่วงเข้มถึงดำ แตกกอสวยงาม นิยมปลูกประดับ และใช้ในงานสร้างสรรค์ผลิตภัณฑ์จากไม้ไฟ การแยกกลุ่มของไฟคายดำอย่างชัดเจนนี้ชี้ให้เห็นถึงความเฉพาะตัวของชนิดและมีคุณค่าทางพันธุกรรมสูง ซึ่งควรได้รับการอนุรักษ์เพื่อป้องกันการกลายพันธุ์และการสูญพันธุ์ของพันธุ์แท้ในธรรมชาติ การใช้เครื่องหมายโมเลกุล ISSR นอกจากการจัดกลุ่มของไฟทั้ง 12 ชนิดแล้ว ลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากเครื่องหมายโมเลกุล ISSR ยังแสดงศักยภาพในการจำแนกชนิดของไฟได้ โดยพบว่าเครื่องหมายโมเลกุล ISSR แต่ละชนิดมีรูปแบบแถบดีเอ็นเอ (banding pattern) ที่แตกต่างกันในบางตำแหน่ง ซึ่งสามารถใช้เป็นลักษณะเฉพาะ (species-specific bands) ในการแยกชนิดได้ โดยเฉพาะไฟบางชนิด เช่น ไฟเหลือง และไฟคายดำ แสดงรูปแบบแถบที่แตกต่างจากชนิดอื่นอย่างชัดเจน สอดคล้องกับการแยกกลุ่มใน dendrogram ในขณะที่ยังมีบางชนิด เช่น ไฟหาง และไฟค่อม มีความใกล้เคียงกันสูง (similarity > 0.80) ส่งผลให้รูปแบบแถบดีเอ็นเอมีความคล้ายคลึงกัน จึงอาจจำแนกได้ยากในระดับชนิด ผลการศึกษานี้จึงแสดงให้เห็นว่า เครื่องหมายโมเลกุล ISSR ไม่เพียงแต่สามารถใช้ในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมเท่านั้น แต่ยังมีศักยภาพในการจำแนกชนิดของไฟได้ในระดับหนึ่ง โดยพิจารณาจากความแตกต่างของรูปแบบแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏในแต่ละชนิด

อย่างไรก็ตาม ความสามารถในการจำแนกชนิดขึ้นอยู่กับระดับความแตกต่างทางพันธุกรรมของแต่ละชนิด โดยชนิดที่มีความใกล้ชิดกันสูงจะแสดงรูปแบบแถบที่คล้ายคลึงกัน ทำให้การจำแนกชนิดด้วยเครื่องหมายโมเลกุล ISSR เพียงอย่างเดียวอาจมีข้อจำกัด ผลการจัดกลุ่มในงานวิจัยนี้มีความสอดคล้องกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาในบางชนิด แต่ในบางกรณีพบความแตกต่าง ซึ่งอาจสะท้อนถึงความแปรผันทางพันธุกรรมภายในชนิด หรือข้อจำกัดของการใช้ marker ชนิดเดียว ดังนั้น การใช้ ISSR ควรใช้ร่วมกับข้อมูลทางสัณฐานวิทยา หรือเครื่องหมายโมเลกุลชนิดอื่น เช่น RAPD หรือ SSR เพื่อเพิ่มความแม่นยำในการจำแนกชนิดของไฟต่อไป

สรุปผลการวิจัย

การศึกษานี้ใช้หลักการพันธุศาสตร์โมเลกุลร่วมกับเทคนิคการวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ เพื่อประเมินระดับความใกล้ชิดและความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างชนิดไฟ 12 ชนิด จากการศึกษาดังกล่าว สามารถวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและประเมินศักยภาพในการจำแนกชนิดของไฟในจังหวัดเพชรบูรณ์ โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล ISSR ผลการศึกษพบว่าไฟทั้ง 12 ชนิดมีความแปรผันทางพันธุกรรมในระดับปานกลางถึงสูง ซึ่งสะท้อนให้เห็นถึงความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างชนิด และสามารถนำข้อมูลดังกล่าวมาใช้ในการจัดกลุ่มตามความใกล้ชิดทางพันธุกรรมได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยสามารถจำแนกออกเป็นหลายกลุ่มหลักตามค่าความคล้ายคลึงทางพันธุกรรม นอกจากการจัดกลุ่มดังกล่าวแล้ว รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากเครื่องหมายโมเลกุล ISSR ยังแสดงให้เห็นถึงศักยภาพในการใช้เป็นเครื่องมือในการจำแนกชนิดของไฟในระดับหนึ่ง โดยพบว่าบางชนิดมีรูปแบบแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างอย่างชัดเจน สามารถใช้เป็นลักษณะเฉพาะในการแยกชนิดได้ ในขณะที่บางชนิดที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมสูงยังคงแสดงรูปแบบแถบที่คล้ายคลึงกัน ซึ่งสะท้อนถึงข้อจำกัดในการจำแนกชนิดด้วยเครื่องหมายโมเลกุล ISSR เพียงอย่างเดียวในกรณีของชนิดที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันมาก เครื่องหมายโมเลกุล ISSR จึงมีความเหมาะสมในการใช้ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและสามารถใช้เป็นข้อมูลประกอบในการจำแนกชนิดของไฟได้ในระดับหนึ่ง ผลการศึกษานี้จึงมีความสำคัญในการเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการอนุรักษ์ทรัพยากรพันธุกรรมของไฟ การคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ รวมถึงการสนับสนุนการศึกษาทางอนุกรมวิธานในอนาคต นอกจากนี้ยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการจัดการทรัพยากรไฟในระดับพื้นที่ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

วิจัยฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความช่วยเหลือ ความกรุณา และคำปรึกษาจากบุคคลหลายฝ่ายดังต่อไปนี้คือ ขอขอบพระคุณ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ที่เอื้อเฟื้อวัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือ วิทยาศาสตร์ ตลอดจนอำนวยความสะดวกในการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ขอขอบพระคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ และงบประมาณจากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม ปีงบประมาณ 2567 สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติที่ได้ให้การสนับสนุนทุนวิจัยในครั้งนี้ให้สำเร็จลงได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กรมป่าไม้. (2545). รายงานความหลากหลายของพันธุ์ไม้ในประเทศไทย. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์กรมป่าไม้.

Amom, T., Sharma, G.J., Nongdam, P. and Singh, R.K. (2018). Genetic diversity and relationship among bamboo species in Northeast India using ISSR markers. *Journal of Genetic Resources* 9(2): 101 - 112.

Banik, R.L. (2015). Bamboo diversity and conservation: A review. *Bamboo Science and Culture* 28(2): 101 - 112.

Bhattacharya, S., Das, M., Bar, R. and Pal, A. (2006). Morphological and Molecular Characterization of *Bambusa tulda* with a Note on Flowering. *Annals of Botany* 98(3): 529 - 535.

Bornet, B. and Branchard, M. (2001). Nonanchored inter simple sequence repeat (ISSR) markers: Reproducible and specific tools for genome fingerprinting. *Plant Molecular Biology Reporter* 19(3): 209 - 215. doi: 10.1007/BF02772892.

Canavan, S., Richardson, D.M., Visser, V., Le Roux, J.J., Vorontsova, M.S. and Wilson, J.R.U. (2017). The global distribution of bamboos: Assessing correlates of introduction and invasion. *AoB PLANTS* 9(1): plw078. doi: 10.1093/aobpla/plw078.

Clark, L.G., Londoño, X. and Ruiz-Sanchez, E. (2015). Bamboo taxonomy and habitat. In W. Liese & M. Köhl (Eds.), *Bamboo: The plant and its uses*. pp. 1 - 30. Springer. doi: 10.1007/978-3-319-14133-6_1.

Das, M., Bhattacharya, S., Basak, J. and Pal, A. (2007). Phylogenetic relationships among the bamboo species as revealed by morphological characters and polymorphism analyses. *Biologia Plantarum* 51: 667 - 672. doi: 10.1007/s10535-007-0140-7.

Goh, W.L., Chandran, S., Franklin, D.C., Isagi, Y., Koshy, K.C., Sungkaew, S., Yang, H.Q., Xia, N.H. and Wong, K. M. (2013). Multi-gene region phylogenetic analyses suggest reticulate evolution and a clade of Australian origin among paleotropical woody bamboos (Poaceae: Bambusoideae: Bambuseae). *Plant Systematics and Evolution* 299(1): 239 - 257. doi: 10.1007/s00606-012-0718-1.

Guo, W., Zhang, J., Sui, X., Hu, X., Lei, G., Zhou, Y., Li, M.H. and Qi, L. (2022). Compartment niche and bamboo variety influence the diversity, composition, network and potential keystone taxa functions of rhizobacterial communities. *Rhizosphere* 24: 100593. doi: 10.1016/j.rhisph.2022.100593.

Liese, W. and Köhl, M. (2015). *Bamboo: The plant and its uses*. Berlin: Springer. doi: 10.1007/978-3-319-14133-6.

- Lobovikov, M., Paudel, S., Piazza, M., Ren, H. and Wu, J. (2007). World bamboo resources: A thematic study prepared in the framework of the Global Forest Resources Assessment 2005 (Non-Wood Forest Products No. 18). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Source: <https://www.fao.org/4/a1243e/a1243e00.htm>. Retrieved date 22 November 2025.
- Loh, J.P., Kiew, R., Set, O., Gan, L.H. and Gan, Y.Y. (2000). A study of genetic variation and relationships within the bamboo subtribe Bambusinae using amplified fragment length polymorphism. *Annals of Botany* 85(5): 607 - 612. doi: 10.1006/anbo.2000.1109.
- Luz, G.C., Strioto, D.K., Mangolin, C.A. and Machado, M.F.P.S. (2020). ISSR markers to assess genetic diversity of cultivated populations from artificial selection of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Berton. *Breeding Science* 70(4): 508 - 514. doi: 10.1270/jsbbs.20014.
- Nayak, S., Rout, G.R. and Das, P. (2003). Evaluation of the genetic variability in bamboo using RAPD markers. *Plant, Soil and Environment* 49(1): 24 - 28. doi: 10.17221/4085-PSE.
- Nei, M. (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89(3): 583 - 590. doi: 10.1093/genetics/89.3.583.
- Ng, W.L. and Tan, S.G. (2015). Inter-simple sequence repeat (ISSR) markers: Are we doing it right? *ASM Science Journal* 9(1): 30 - 39.
- Nirmala, C., Bisht, M.S., Bajwa, H.K. and Santosh, O. (2018). Bamboo: A rich source of natural antioxidants and its applications in the food and pharmaceutical industry. *Trends in Food Science & Technology* 77: 91 - 99. doi: 10.1016/j.tifs.2018.05.003.
- Ramanayake, S.M.S.D., Meemaduma, V.N. and Weerawardene, T.E. (2007). Genetic diversity and relationships between nine species of bamboo in Sri Lanka, using random amplified polymorphic DNA. *Plant Systematics and Evolution* 269(1 - 2): 55 - 61. doi: 10.1007/s00606-007-0587-1.
- Ravanfar, S.A., Abdul Aziz, M., Shabanimofrad, M. and Samarfard, S. (2013). Greenhouse evaluation on the performance of heat tolerant transgenic broccoli and genetic diversity analysis using inter simple sequence repeat (ISSR) markers. *Electronic Journal of Biotechnology* 16(5): 10 page. doi: 10.2225/vol16-issue5-fulltext-10.
- Reddy, M.P., Sarla, N. and Siddiq, E.A. (2002). Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica* 128: 9 - 17. doi: 10.1023/A:1020691618797.
- Sudchaleaw, S., Saensouk, S., Saensouk, P. and Sungkaew, S. (2023). Species diversity and traditional utilization of bamboos (Poaceae) on the Phu Thai Ethnic Group in northeastern Thailand. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity* 24(4): 2261 - 2271.
- Triplett, J.K. and Clark, L.G. (2003). Ambiguity and an American bamboo: The *Chusquea culeou* species complex. *Bamboo Science and Culture: The Journal of the American Bamboo Society* 17(1): 21- 27.

- Viehmánová, I., Bortlová, Z., Vitamvas, J., Hlásná Čepková, P., Eliášová, K., Svobodová, E. and Trávníčková, M. (2014). Assessment of somaclonal variation in somatic embryo-derived plants of yacon (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson) using inter simple sequence repeat analysis and flow cytometry. *Electronic Journal of Biotechnology* 17(2): 102 - 106. doi: 10.1016/j.ejbt.2013.12.011.
- Vorontsova, M.S., Clark, L.G., Dransfield, J., Govaerts, R. and Baker, W.J. (2016). World checklist of bamboos and rattans. International Bamboo and Rattan Organisation (INBAR) & Royal Botanic Gardens, Kew.
- Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A. and Tingey, S. V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research* 18(22): 6531 - 6535.
- Yeasmin, L., Ali, M.N., Gantait, S. and Chakraborty, S. (2015). Bamboo: An overview on its genetic diversity and characterization. *3 Biotech* 5: 1 - 11. doi: 10.1007/s13205-014-0201-5.
- Yeh, F.C., Yang, R.C. and Boyle, T. (1999). POPGENE version 1.31: Microsoft Windows-based freeware for population genetic analysis. University of Alberta.
- Zhang, Y.J., Ma, P.F. and Li, D.Z. (2011). High-throughput sequencing of six bamboo chloroplast genomes: Phylogenetic implications for temperate woody bamboos (Poaceae: Bambusoideae). *PLoS ONE* 6(5): e20596. doi: 10.1371/journal.pone.0020596.
- Zietkiewicz, E., Rafalski, A. and Labuda, D. (1994). Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*. 20(2): 176 - 183. doi: 10.1006/geno.1994.1151.

