บทที่ 2

การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาเรื่องการประเมินลักษณะประจำสายพันธุ์และการใช้เครื่องหมายไอเอสเอสอาร์ในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมกระเจี๊ยบเขียว ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาค้นคว้าวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องเพื่อเป็นพื้นฐานและแนวทางในการศึกษาดังนี้

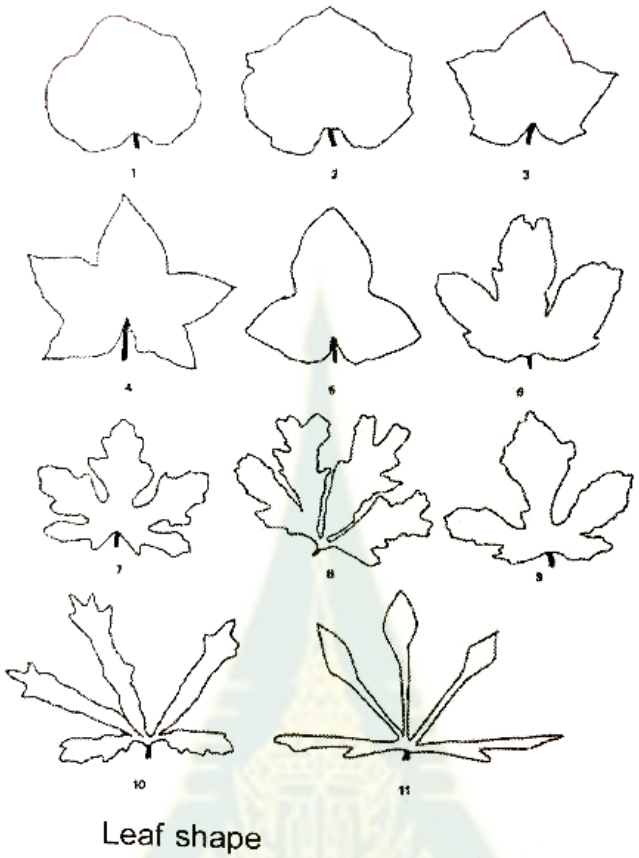
1. ลักษณะทางพฤษศาสตร์ของกระเจี๊ยบเขียว
2. สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกระเจี๊ยบเขียว
3. การประเมินลักษณะประจำสายพันธุ์
4. คุณค่าทางโภชนาการและสารสำคัญ
5. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลหลายชนิดในกระเจี๊ยบเขียว
6. การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยเทคนิคเครื่องหมายโมเลกุลชนิดไอเอสเอสอาร์

2.1 ลักษณะทางพฤษศาสตร์ของกระเจี๊ยบเขียว

กระเจี๊ยบเขียว (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) เป็นพืชในวงศ์ Malvaceae มีชื่อท้องถิ่น เช่น กระเจี๊ยบมอญ มะเขือมอญ กระเจี๊ยบ มะเขือทะวาย มะเขือพม่า มะเขือมื่น และมะเขือละโว้ เป็นต้น

2.1.1 ลำต้น ลักษณะต้นกระเจี๊ยบเขียว เป็นไม้ล้มลุก สูง 0.5 – 2 เมตร และมีขนทั่วไป สีลำต้นเป็นสีเขียวหรือแดง

2.1.2 ใบ กระเจี๊ยบเขียวมีใบเป็นใบเดี่ยว เรียงสลับรูปไข่หรือค่อนข้างกลม กว้าง 10 – 30 เซนติเมตร ปลายหยักแหลม โคนเว้ารูปหัวใจ เส้นใบออกจากโคนใบ 3 – 7 เส้น และรูปทรงหลากหลาย ดังภาพที่ 2.1



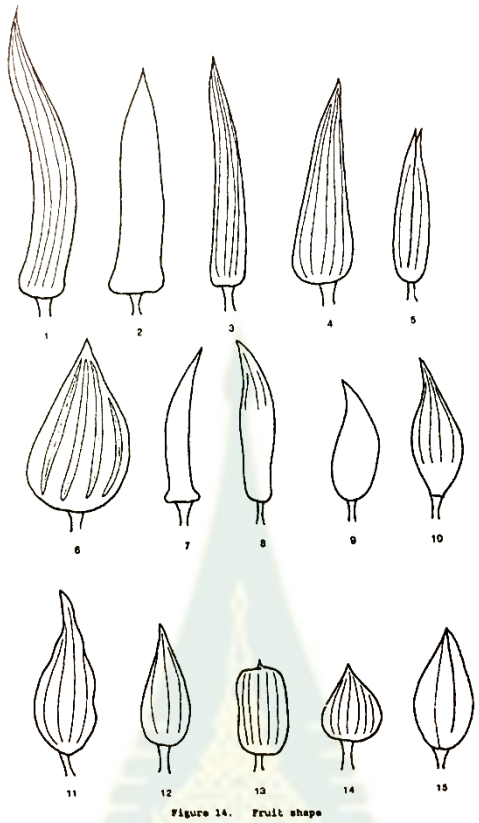
ภาพที่ 2.1 ลักษณะของใบกระเจี๊ยบเขียว

ที่มา : Mohamed (2018)

2.1.3 ดอก มีลักษณะเป็นดอกเดี่ยว ออกตามซอกใบ มีริ้วประดับ (epicalyx) เป็นเส้นสีเขียว 8 – 10 เส้น เรียงเป็นวงรอบโคนกลีบเลี้ยง กลีบเลี้ยง 5 กลีบ กลีบดอก 5 กลีบ สีเหลือง โคนกลีบสีม่วงแดง รูปไข่กลับหรือค่อนข้างกลม เกสรเพศผู้มีจำนวนมาก ก้านชูอับเรณูติดกันเป็นหลอดยาว 2 – 3 เซนติเมตร หุ้มเกสรเพศเมียไว้ อับเรณูเล็กจำนวนมากติดรอบหลอด ก้านเกสรเพศเมียเรียวยาว ปลายแยกเป็น 5 แฉก ยอดเกสรเพศเมียเป็นแผ่นกลมขนาดเล็ก สีม่วงแดง ยื่นพ้นปากหลอดดอก

2.1.4 ผล มีลักษณะผลยาวเรียว ปลายเรียวแหลม ผลบางสายพันธุ์ไม่มีเหลี่ยม แต่บางสายพันธุ์มีเหลี่ยม ซึ่งจะมีจำนวนเหลี่ยมแตกต่างกัน ขนที่ผลก็เช่นกันบางสายพันธุ์ไม่มีขน แต่บางสายพันธุ์มีขน ดังภาพที่ 2.2

2.1.5 เมล็ด กระเจี๊ยบเขียวมีเมล็ดมาก เมล็ดมีรูปร่างเป็นไตกลม ขนาด 3 – 6 มิลลิเมตร



ภาพที่ 2.2 ลักษณะของผลกระเจี๊ยบเขียว

ที่มา : Mohamed (2018)

2.2 สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกระเจี๊ยบเขียว

กระเจี๊ยบเขียว เป็นผักที่ปลูกได้ตลอดปีในประเทศไทย อุณหภูมิที่เหมาะสมในการปลูกและเติบโตคือ 20 – 30 องศาเซลเซียส กระเจี๊ยบเขียวเจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิต่ำสุด 18 องศาเซลเซียส แต่จะเจริญเติบโตช้าลง และไม่เจริญเติบโตเมื่ออุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส กระเจี๊ยบเขียวเติบโตได้ดีในดินทุกชนิด แต่ไม่ชอบดินที่มีน้ำขังแฉะหรือระบายน้ำยากและดินที่เป็นกรดจัด ค่า pH ของดินที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกระเจี๊ยบเขียวอยู่ระหว่าง 6.0 – 6.8 (สุขสันต์ สุทธิผลไพบูลย์, 2538)

2.3 การประเมินลักษณะประจำสายพันธุ์

2.3.1 ลักษณะทางสัณฐานของกระเจี๊ยบเขียว

ลักษณะสัญฐานของกระเจี๊ยบเขียวทั้งต้น ใบ ดอก ผล และเมล็ด สามารถนำมาระบุถึงความแตกต่างกันของแต่ละสายพันธุ์ได้ เช่น ต้นสูง ต้นเตี้ย สีของลำต้น ใบหยัก ดอกสีเหลือง ดอกสีชมพู ผลสีแดง ผลสีเขียวอ่อน ผลสีเขียวเข้ม จำหนวนเหลี่ยมของผล และอื่น ๆ

การถ่ายทอดลักษณะสีและจำนวนเหลี่ยมของฝักกระเจี๊ยบเขียวเป็นแบบต่อเนื่องคือ ไม่สามารถจัดกลุ่มได้อย่างชัดเจน โดยมีการการะจายตัวของลักษณะปรากฏ (Phenotype) ดังนั้นลักษณะสีและจำนวน

เหลี่ยมของฝักกระเจี๊ยบเขียวถูกควบคุมด้วยยีนมากกว่า 3 คู่ จึงแสดงพฤติกรรมการถ่ายทอดยีนแบบ Polygenic inheritance

2.3.2 ลักษณะทางการเกษตรของกระเจี๊ยบเขียว

ลักษณะคุณภาพของกระเจี๊ยบเขียวที่ตลาดต่างประเทศต้องการ (สุขสันต์ สุทธิผลไพบูลย์. 2538) จำแนกได้ดังนี้

2.3.2.1 กระเจี๊ยบเขียวสดแช่เย็น ต้องมีลักษณะฝักอ่อนสด มีเส้นใยน้อย ปราศจากโรคแมลงหรือรอยตำหนิ รูปร่างฝัก 5 เหลี่ยม ตรงไม่คดงอ ฝักตอ้งมีสีเขียวสม่ำเสมอทั้งฝัก ความยาวฝัก 5 – 12 เซนติเมตร

2.3.2.2 กระเจี๊ยบเขียวสุกแช่แข็ง ต้องมีลักษณะฝักอ่อนสด มีเส้นใยน้อย ปราศจากโรคแมลงหรือรอยตำหนิ รูปร่างฝัก 5 เหลี่ยม ตรงไม่คดงอ ฝักต้องมีสีเขียวสม่ำเสมอทั้งฝัก ความยาวฝัก 5 – 9 เซนติเมตร

2.3.2.3 กระเจี๊ยบเขียวกระป๋อง ต้องมีลักษณะฝักอ่อนสดอายุ 2 – 3 วันหลังจากผสมเกสร ปราศจากโรคแมลงหรือรอยตำหนิ สีเขียว รูปร่างฝัก 8 เหลี่ยม ความยาวฝัก 2.5 – 5 เซนติเมตร

สกุลกานต์ สิมลา และ สรพงค์ เบญจศรี. (2558) รายงานว่า การประเมินลักษณะทางการเกษตรและผลผลิตของกระเจี๊ยบเขียว 15 สายพันธุ์ ในจังหวัดมหาสารคาม มีกระจี๊ยบเขียวสายพันธุ์ LG-304 เป็นสายพันธุ์ที่อายุการออกดอกสั้น (27 วันหลังย้ายปลูก) ต้นเตี้ย (39 เซนติเมตร) จำนวนกิ่งแขนงมาก (2-3 กิ่ง) และเป็นสายพันธุ์ที่มีจำนวนฝักดีและจำนวนฝักทั้งหมดมากที่สุด (174,293 และ 182,187 ฝักต่อไร่ ตามลำดับ) และน้ำหนักของฝักดีและฝักทั้งหมด เท่ากับ 1,710.3 และ 1,790.1 กิโลกรัมต่อไร่

กระเจี๊ยบเขียวทุกสายพันธุ์ที่ทดสอบมีดอกสีเหลืองอ่อน ลักษณะวันออกดอกแรกบาน ความสูง จำนวนแขนงต่นต้น จำนวนผลต่อต้น ผลผลิตต่อต้น และน้ำหนักเมล็ดต่อต้น มีความแตกต่างทางสถิติมีนัยสำคัญยิ่ง ($p<0.01$) ซึ่งกระเจี๊ยบเขียวสายพันธุ์ NO 71 ใช้เวลาในการออกดอกเร็วที่สุดคือ 40.30 วัน (สรพงค์ เบญจศรี, 2553)

2.4 คุณค่าทางโภชนาการและสารสำคัญ

ส่วนที่นำมาใช้ประโยชน์ของกระเจี๊ยบเขียวคือ ผลและเมล็ด โดยผลอ่อนใช้แก้โรคกระเพาะอาหารและขับพยาธิตัวจี๊ด สารเมือกหรือเส้นใยที่ละลายน้ำได้ของกระเจี๊ยบเขียวจะช่วยในการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ (พรีไบโอติกแบคทีเรีย) ในลำไส้ใหญ่ ซึ่งจะช่วยลดปริมาณพิษที่ผลิตจากแบคทีเรียที่อาศัยอยู่บริเวณลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย และเมล็ดแก่มีน้ำมันมาก กากเมล็ดมีโปรตีนเหมาะสำหรับใช้เลี้ยงสัตว์ นอกจากนี้เส้นใยจากต้นสามารถนำมาทำเชือกและกระดาษ และโรงงานผลิตน้ำตาลบางแห่งในอินเดียยังนำเมือกจากต้นมาใช้ในกระบวนการทำให้น้ำอ้อยให้สะอาด

2.4.1 คุณค่าทางโภชนาการของกระเจี๊ยบเขียว เช่น คาร์โบไฮเดรต เส้นใย โปรตีน แคลเซียม ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แมกนีเซียม เหล็ก วิตามินเอ วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 และวิตามินซี ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ปริมาณคุณค่าทางโภชนาการของกระเจี๊ยบเขียวต่อ 100 กรัม

คุณค่าทางโภชนาการ	ปริมาณต่อ 100 กรัม	
พลังงาน	140	กิโลแคลอรี่
คาร์โบไฮเดรต	7.48	กรัม
น้ำตาล	1.48	กรัม
เส้นใย	3.2	กรัม
ไขมัน	0.19	กรัม
โปรตีน	2.00	กรัม
น้ำ	90.17	กรัม
วิตามินเอ	36	ไมโครกรัม
วิตามินบี1	0.2	มิลลิกรัม
วิตามินบี2	0.06	มิลลิกรัม
วิตามินบี3	1	มิลลิกรัม
วิตามินซี	23	มิลลิกรัม
วิตามินอี	0.27	มิลลิกรัม
วิตามินเค	41.3	มิลลิกรัม
ธาตุแคลเซียม	82	มิลลิกรัม
ธาตุเหล็ก	0.62	มิลลิกรัม
ธาตุแมกนีเซียม	57	มิลลิกรัม
ธาตุโพแทสเซียม	299	มิลลิกรัม
ธาตุสังกะสี	0.58	มิลลิกรัม

ที่มา : United States Department of Agriculture (USDA), (2018)

อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์ธาตุอาหารพืช (Cu Fe K Mg Mn Na P และ Zn) และปริมาณฟีนอลิคทั้งหมดในเมล็ดของกระเจี๊ยบแต่ละสายพันธุ์ จำนวน 46 สายพันธุ์ มีความแตกต่างกัน (Gerrano, 2018)

2.4.2 สารสำคัญของกระเจี๊ยบเขียว

2.4.2.1 สารเมือกของกระเจี๊ยบเขียว เป็นสารที่พืชสร้างขึ้นตามธรรมชาติและบรรจุอยู่ในเซลล์พิเศษที่พืชสร้างขึ้น และไม่ละลายน้ำ แต่สามารถพองตัวได้ในน้ำ มีลักษณะเป็นคอลลอยด์ (Colloid) เหนียวข้น แต่ไม่มีสมบัติเป็นกาว (Non-adhesive) เป็นกากใยอาหารประเภทละลายน้ำ (Soluble dietary fiber) มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นเฮเทอโรพอลิแซคคาไรด์ ซึ่งเกิดจากการเชื่อมต่อกันของดี-กาแลคโตส (D-galactose) ร้อยละ 40 แอล-แรมโนส (L-rhamnose) ร้อยละ 27 ดี-กรดกาแลคตูโรนิก (D-galacturonic acid) ร้อยละ 24 และโปรตีน (น้อยกว่าร้อยละ 4) เมื่อถูกย่อยสลายแล้วจะได้เฮกโซส เพนโตส และกรดยูโรนิก โดยมีการนำสารเมือกกระเจี๊ยบเขียวมาใช้เป็นสารให้ความคงตัวแก่ผลิตภัณฑ์บะหมี่และไอศกรีม (ปิยนุสร์ น้อยด้วง และ พัชรี โพธิ์ชัย, 2554)

2.4.2.2 สารพอลิแซคคาไรด์ในผลกระเจี๊ยบเขียว พอลิแซคคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวมีโครงสร้างหลักเป็นแรมโนกาแลคตูโรแนน (Rhamnogalacturonan) คล้ายเพคติน มีสมบัติเป็นสารให้ความหนืด และมีความหนืดสูงสุดในภาวะที่มีค่าความเป็นกรดด่างที่เป็นกลาง การใช้สารสกัดสารพอลิแซคคาไรด์จากผลกระเจี๊ยบเขียวในรูปแบบน้ำและผงพอลิแซคคาไรด์เพื่อใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพการให้ความชุ่มชื้น พบว่า สามารถรักษาความชุ่มชื้นได้นาน 240 นาที โดยเจลที่มีสารสกัดสารพอลิแซคคาไรด์จากผลกระเจี๊ยบเขียวในรูปแบบน้ำมีประสิทธิภาพให้ความชุ่มชื้นดีที่สุด และมีความคงตัวใต้สภาวะร้อนเย็น และไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองกับผิว (ปิยวรรณ จิตเจริญรุ่งเรือง และ นิสากร แซ่วัน, 2560)

2.4.2.3 น้ำมันเมล็ดกระเจี๊ยบเขียว น้ำมันกระเจี๊ยบเขียวของสายสายพันธุ์ AB, M1 และ R1 มีปริมาณน้ำมันสูงที่สุด (23.62 – 24.70 เปอร์เซ็นต์) จากการศึกษาสายสายพันธุ์กระเจี๊ยบเขียว 8 สารสายพันธุ์ คือ A030411, A030412, A030418, A030422, A03497, AB, M1 และ R1 และน้ำมันกระเจี๊ยบเขียวทั้ง 3 สายพันธุ์ มีค่าไอโอดี เท่ากับ 110.26, 76.98, และ 91.63 ตามลำดับ ค่าสปอนนิฟิเคชัน เท่ากับ 207.20, 199.50 และ 196.00 ตามลำดับ และค่าเปอร์ออกไซด์ เท่ากับ 0.863, 1.028 และ 0.879 ตามลำดับ ส่วนกรดไขมันที่พบคือ กรดไลโนเลอิคและกรดปาล์มิติก และองค์ประกอบอื่น ๆ ใกล้เคียงกับน้ำมันพืชที่ใช้บริโภค โดยเฉพาะสายสายพันธุ์ M1 มีสมบัติต่าง ๆ อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของน้ำมันและไขมันบริโภค

2.4.2.4 กลูตาไทโอน มีบทบาทสำคัญในการควบคุมสารอนุมูลอิสระในร่างกาย การสร้างสาร ซ่อมแซมเซลล์ และทำปฏิกิริยาขจัดสารพิษที่เกิดในร่างกาย ช่วยต้านมะเร็งได้เป็นอย่างดี ปัจจุบันนิยมใช้สารนี้เพื่อให้ผิวขาวขึ้น เนื่องจากกลูตาไทโอนสามารถกดการทำงานของเอนไซม์ที่ผลิตเม็ดสีได้ชั่วคราว

2.5 การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลหลายชนิดในกระเจี๊ยบเขียว

ศึกษาจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาหรือลักษณะภายนอกที่ปรากฏ (Phenotype) ซึ่งเป็นการแสดงออกร่วมกันระหว่างจีโนไทป์และอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมซึ่งอาจมีความผันแปรได้ง่าย โดยเฉพาะพืชปลูกซึ่งมักมีฐานพันธุกรรมแคบ (Yıldız, Ekbiç, Düzyaman, Serçe, and Abak, 2016) ดังนั้นการใช้ลักษณะภายนอกเพียงอย่างเดียวอาจไม่เพียงพอต่อการระบุความหลากหลายทางพันธุกรรม ซึ่งในปัจจุบันเครื่องหมายโมเลกุลมีบทบาทในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและการปรับปรุงสายพันธุ์พืชเป็นอย่างมาก เนื่องจากสามารถจำแนกและจัดกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมได้อย่างถูกต้องแม่นยำ และสามารถใช้ช่วยในการคัดเลือกสายพันธุ์ปลูก (Marker assisted selection) ที่มีลักษณะดีตามที่ต้องการได้มีประสิทธิภาพมากกว่าการใช้ลักษณะภายนอกเพียงอย่างเดียว นอกจากนั้นยังสามารถตรวจสอบได้ในทุกระยะของพืช จึงช่วยลดระยะเวลาในการปรับปรุงสายพันธุ์พืชให้สั้นลง ช่วยลดต้นทุนและแรงงานในการเพาะปลูก (จุฑาพร แสงประจักษ์, 2555) ในปัจจุบันมีการนำเครื่องหมายโมเลกุลหลายชนิด มาใช้ในการศึกษาความหลากหลายของพันธุกรรม และจัดจำแนกกลุ่มพืช เช่น เครื่องหมาย AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) , RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) , RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), SSR (Simple Sequence Repeat) และ ISSR เป็นต้น

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลหลายชนิดในกระเจี๊ยบเขียว Haq, Khan and Azmat (2013) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของกระเจี๊ยบเขียวในประเทศปากีสถานจำนวน 39 หมายเลข โดยใช้เครื่องหมาย RAPD ซึ่งสามารถแบ่งกลุ่มได้ 7 กลุ่มและพบความผันแปรของแถบดีเอ็นเอ 96 เปอร์เซ็นต์ Kumar, Sharma, Kumar, Sirohi, Naresh and Chaudhary (2017) พบว่าเครื่องหมาย SSR สามารถแบ่งกลุ่มกระเจี๊ยบเขียวสายพันธุ์ปลูกจากประเทศอินเดียได้ 3 กลุ่ม แต่มีความผันแปรของกลุ่มประชากรค่อนข้างต่ำ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสายพันธุ์ปลูกกระเจี๊ยบเขียวในประเทศอินเดียมีฐานพันธุกรรมค่อนข้างแคบ Yuan et al. (2014) จำแนกกลุ่มกระเจี๊ยบเขียวโดยใช้เครื่องหมาย ISSR ได้ 24 จีโนไทป์และสามารถจัดกลุ่มได้ 4 กลุ่มตามเขตการกระจายสายพันธุ์ในประเทศจีนอย่างชัดเจน Yuan et al. (2015) ใช้เครื่องหมาย ISSR จำนวน 22 ไพรเมอร์ ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของกระเจี๊ยบเขียวในประเทศจีนและพบความผันแปรสูงถึง 54.55 เปอร์เซ็นต์ แม้ว่าตัวอย่างที่ใช้การศึกษาจะมาจากพื้นที่ที่ใกล้เคียงกัน

การนำกระเจี๊ยบเขียว 28 สายพันธุ์ มาจำแนกสายพันธุ์โดยเทคนิคอาร์เอพีดี โดยสุ่มไพรเมอร์ 27 ชนิด พบว่ามีไพรเมอร์ 11 ชนิด คิดเป็นร้อยละ 41 ที่เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ และมี 5 ชนิด ประกอบด้วย OPA–07, OPB–01, OPB–03, OPO–09 และ OPO–11 ที่สามารถทำให้เกิดความแตกต่างกันทางพันธุกรรมของแถบดีเอ็นเอระหว่างสายพันธุ์ได้ โดยปรากฏแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 419 แถบ และเป็นแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน 217 แถบ คิดเป็นร้อยละ 51.78 เมื่อนำข้อมูลวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NTsys พบว่ามีค่าดัชนีความเหมือนเท่ากับ 0.32 และสามารถแบ่งกลุ่มกระเจี๊ยบเขียวเป็น 8 กลุ่ม ตามความใกล้ชิดทางพันธุกรรม (ดำเกิง ป้องพาล, ฉันทนา วิชรัตน์, ปรีชา รัตนัง, เรือนแก้ว ประพฤติ, และวิไลพร ศักดิ์พานิช, 2549)

2.6 การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยเทคนิคเครื่องหมายโมเลกุลชนิดไอเอสเอสอาร์

เครื่องหมายโมเลกุลชนิด ISSR หรือ Inter-Simple Sequence Repeat เป็นเครื่องหมายที่พัฒนาขึ้นมาโดยอาศัยหลักการที่คล้ายคลึงกับเครื่องหมาย RAPD เพื่อใช้ตรวจสอบพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตโดยไม่จำเป็นต้องทราบลำดับนิวคลีโอไทด์ของสิ่งมีชีวิตที่ต้องการศึกษาจึงมีข้อจำกัดในการใช้งานต่ำต่างจากเครื่องหมายชนิด SSR และมีค่าใช้จ่ายต่ำกว่าเครื่องหมายโมเลกุลชนิดอื่น (สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, 2552; Reddy, Sarla, and Siddiq, 2002; Wang et al.,2012) สามารถใช้ไพรเมอร์ชนิดเดียวในการตรวจสอบครั้งละหลายตำแหน่งพร้อมกัน มีความสามารถในการทำซ้ำ (Reproducibility) และเกิดความผันแปร (Polymorphism) ระดับชนิดสูงกว่าเครื่องหมาย RAPD เนื่องจากลำดับเบสแบบซ้ำ หรือไมโครแซทเทลไลท์ (Microsatellite) สามารถพบได้บ่อยในจีโนมพืช ใช้เวลาน้อยและไม่ยุ่งยากซับซ้อน (Yuan et al., 2014) หลักการทำงานของเครื่องหมาย ISSR คือ การเพิ่มนิวคลีโอไทด์คัดเลือกเข้าไปที่ไพรเมอร์ซึ่งมีความยาวประมาณ 16 – 25 นิวคลีโอไทด์ ซึ่งไพรเมอร์จะเข้าจับตำแหน่งไมโครแซทเทลไลท์ (SSR) 2 บริเวณที่อยู่ใกล้กันแล้วเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณนั้น (สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, 2552; เกียรติชัย แซ่ไต่, ธีรชัย ธนานันต์ และ นฤมล ธนานันต์, 2557) ซึ่งไพรเมอร์ของเครื่องหมาย ISSR มีจำนวนเบสสูงกว่าเครื่องหมาย RAPD จึงเพิ่มความจำเพาะในการจับกับดีเอ็นเอต้นแบบ ทำให้ได้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันจำนวนมากใน

ตัวอย่างที่ศึกษา (ปรียา พวงสำลี หวังสมนึก, สุดารัตน์ คำผา, สนั่น จอกลอย, พินิจ หวังสมนึก และยศินทร์ กิติจันทโรภาส, 2549) จึงส่งผลให้มีการใช้เครื่องหมาย ISSR ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในกลุ่มประชากรพืช และบ่งชี้ลักษณะทางพันธุกรรมระดับชนิดและสายพันธุ์ปลูกของพืชหลายชนิด เช่น มะละกอ (สุทวัฒน์ สินธีรโรจน์, ปิยะวดี เจริญวัฒนะ, คำรพ รัตนสุต และอรุโณทัย ซาววา, 2557) ถั่วลิสง (Raina, Rani, Kojima, Singh and Devarumath, 2001) เห็ดหลินจือ (เรือนแก้ว ประพฤติ และ ดนุวัต เพ็งอ้น, 2553) กล้วยไม้สกุลสิงโตกลอกตา (เกียรติชัย แซ่ไต่, ธีรชัย ธนานันต์ และ นฤมล ธนานันต์, 2557), แก่นตะวัน (ปรียา พวงสำลี หวังสมนึก, สุดารัตน์ คำผา, สนั่น จอกลอย, พินิจ หวังสมนึก และยศินทร์ กิติจันทโรภาส, 2549) เป็นต้น