เครื่องหมายโมเลกุลในการจำแนกสายพันธุ์กระเทียมจากแหล่งปลูกต่างๆ

นางสาวรัชนี ศิริยาน[๑/] นางสาวศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล[๒/] นางจิรภา ออสติน[๑/]
นางสาวจันทนา โชคพาชื่น[๑/] นางสาวเสาวนี เขตสกุล[๑/] ว่าที่ร้อยตรีอรรถพล รุกขพันธ์[๑/]

บทคัดย่อ

กระเทียมมีการปลูกและใช้ประโยชน์เป็นส่วนประกอบของอาหารมาเป็นเวลานาน นอกจากใช้เป็นอาหาร กระเทียมยังมีสรรพคุณทางยา หัวกระเทียมมีรสเผ็ดร้อน รับประทานได้ทั้งสดและตากแห้ง หรือนำไปดอง สำหรับกระเทียมที่ขึ้นชื่อและมีคุณภาพดี กลิ่นฉุน มีแหล่งปลูกอยู่ในจังหวัดศรีสะเกษเรียกว่า พันธุ์ศรีสะเกษ การศึกษาในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการศึกษาลักษณะทางพันธุกรรม และจำแนกพันธุ์กระเทียมศรีสะเกษจากกระเทียมในแหล่งปลูกต่างๆ โดยเก็บตัวอย่างกระเทียมจากภาคเหนือ ได้แก่ เชียงราย พะเยา ลำพูนและลำปาง และตัวอย่างกระเทียมในภาคตะวันออกเฉียงเหนือจากจังหวัดศรีสะเกษ รวมทั้งสิ้น ๑๑ ตัวอย่าง นำมาสกัดดีเอ็นเอและเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล Microsatellite จำนวน ๑๖ ไพรเมอร์ ผลการศึกษาพบว่า สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของกระเทียมได้จำนวน ๑๓ ไพรเมอร์ และไม่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ ๓ ไพรเมอร์ จากการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของกระเทียมที่นำมาศึกษา เมื่อนำมาวิเคราะห์หาค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน จัดกลุ่มและสร้างเดนโดรแกรม สามารถจัดกลุ่มของกระเทียมได้เป็น ๒ กลุ่มใหญ่ๆ ดังนี้ กลุ่มที่ ๑ ประกอบด้วยกระเทียม ๖ สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ GA๕๕๐๐๒, GA๕๕๐๐๕, GA๕๕๐๐๗, GA๕๕๐๐๘ และ GA๕๕๐๐๙ โดยกระเทียมทั้ง ๕ สายพันธุ์ไม่มีความแตกต่างของสายพันธุ์ และมีแหล่งปลูกจากจังหวัดศรีสะเกษทั้งหมด ส่วนอีก ๑ สายพันธุ์คือ GACHI เป็นกระเทียมจีน มีแหล่งที่มาจากประเทศจีน จึงมีค่าความใกล้ชิดทางพันธุกรรมที่น้อยกว่าสายพันธุ์อื่นๆ กลุ่มที่ ๒ ประกอบด้วยกระเทียมจากภาคเหนือทั้งหมด ได้แก่ สายพันธุ์ GA๕๕๐๑๐, GA๕๕๐๑๑,GA๕๕๐๑๖ และ GA๕๕๐๑๖/๓ มีแหล่งที่มาจากลำพูน เชียงราย และพะเยาตามลำดับ โดยกระเทียมทั้ง ๔ สายพันธุ์ไม่มีความแตกต่างของสายพันธุ์ แต่มีความแตกต่างจากสายพันธุ์ GA๕๕๐๑๒ ซึ่งมีแหล่งที่มาจากลำปาง ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงสามารถแยกสายพันธุ์กระเทียมศรีสะเกษออกจากสายพันธุ์กระเทียมจากแหล่งปลูกในภาคเหนือได้

[๑/]ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ ต.หนองไผ่ อ.เมือง จ.ศรีสะเกษ
[๒/]ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ต.ศิลา อ.เมือง จ.ขอนแก่น

คำนำ

การศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอในกระเทียมโดยวิธี Random amplified polymorphism DNA (RAPD) เป็นวิธีที่ง่ายและสะดวก ไม่จำเป็นต้องทราบข้อมูลทางพันธุกรรมมาก่อน แต่มีปัญหาในการทำซ้ำ อาจให้ผลไม่เหมือนเดิม ดังนั้นจึงมีการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลชนิด Microsatellites หรือ Simple sequence repeat (SSR) หรือ Short tandem repeat (STR) คือ ลำดับเบสซ้ำสั้นๆ กระจายทั่ว eukaryotic genome เป็นเครื่องหมายที่เป็นที่นิยมมาก เนื่องจากตำแหน่งของ SSR มีความแปรปรวนมากในจำนวนซ้ำระหว่างสิ่งมีชีวิตแต่ละตัวในชนิดเดียวกัน microsatellite เป็น codominant marker พบปริมาณมากและมีความหลากหลายของ allele การประเมินความแปรปรวนใช้ขนาดที่ได้จากการทำ PCR โดยใช้คู่ของไพรเมอร์ที่มีลำดับเบสขนาบข้าง (flanking primer) ของตำแหน่ง SSR เนื่องจากสามารถทำซ้ำและให้ผลเหมือนกันในหลายๆห้องปฏิบัติการ ทำให้ข้อมูลที่ได้มีความแม่นยำ (Agarwal et al., ๒๐๐๘)

นอกจากเครื่องหมายโมเลกุล Microsatellite แล้วยังมีการศึกษาเครื่องหมายโมเลกุลชนิดอื่นๆ Mazuzaki et al. (๒๐๐๘) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ของสกุล Allium โดยใช้เทคนิค RAPD ในหอมชนิดต่างๆ ๖ ชนิด ได้แก่ Japanese bunching onion (*Allium fistulosum*) จำนวน ๒ สายพันธุ์ หอมแดง (shallot, *A. cepa* L. Common group Aggregatum) และหอมสายพันธุ์ป่าที่มีความใกล้ชิดกัน ๔ สายพันธุ์ และได้คัดเลือก RAPD marker จำนวน ๘ คู่ เปลี่ยนเป็น SCAR marker โดยการโคลนชิ้นส่วนดีเอ็นเอและหาลำดับนิวคลีโอไทด์ หลังจากนั้นออกแบบไพรเมอร์ขนาด ๒๔ นิวคลีโอไทด์ จำนวน ๘ คู่ ผลการศึกษาพบว่า SCAR markers จำนวน ๕ เครื่องหมาย สามารถให้แถบดีเอ็นเอที่จำเพาะกับหอมแดง และไม่พบใน Japanese bunching onion

วิธีการดำเนินการ

อุปกรณ์

๑. กระเทียมจากแหล่งปลูกต่างๆที่สำคัญของประเทศไทย ในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

๒. สารเคมีในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ dNTP, Taq DNA polymerase, agarose gel, primers, boric acid ฯลฯ

๓. เครื่องมือต่างๆ ได้แก่ เครื่อง PCR, gel electrophoresis, water baht, เครื่องปั่นเหวี่ยง

วิธีการ

๑. การเตรียมต้นกล้า

เพาะกระเทียมจากแหล่งปลูกต่างๆ (ตารางที่ ๑) ในกระถางพลาสติกขนาด ๑๒ นิ้วโดยปลูกพันธุ์ละ ๗ หัวต่อกระถาง รดน้ำ ๒ วัน ต่อ ๑ ครั้ง จนกระทั่งต้นกล้ามีอายุประมาณ ๒๐ วัน ตัดใบอ่อนของแต่ละสายพันธุ์ไปสกัดดีเอ็นเอ

ตารางที่ ๑ สายพันธุ์กระเทียมจากแหล่งปลูกต่างๆที่ใช้ในการศึกษา

ลำดับที่	พันธุ์	แหล่งที่มา
๑	GA๕๕๐๐๒	ศรีสะเกษ
๒	GA๕๕๐๐๕	ศรีสะเกษ

๓	GA๕๕๐๐๗	ศรีสะเกษ
๔	GA๕๕๐๐๘	ศรีสะเกษ
๕	GA๕๕๐๐๙	ศรีสะเกษ
๖	GA๕๕๐๑๐	ลำพูน
๗	GA๕๕๐๑๑	เชียงราย
๘	GA๕๕๐๑๒	ลำปาง
๙	GA๕๕๐๑๖	พะเยา
๑๐	GA๕๕๐๑๖/๓	พะเยา
๑๑	GACHI	จีน

๒. วิธีการสกัดดีเอ็นเอ (DNA extraction)

การสกัดดีเอ็นเออ้างอิงตามวิธีการของ Doyle & Doyle (๑๙๘๗) โดยชั่งตัวอย่างใบกระเทียมหนัก ๐.๒ กรัม บดในโกร่งปลอดเชื้อ โดยเติมไนโตรเจนเหลว บดจนละเอียด เติม extraction buffer ๑,๐๐๐ มิลลิลิตร และเติม ๒-mercaptoethanal ปริมาตร ๑ ไมโครลิตร แล้วเทลงใน Microcentrifuge tube ขนาด ๑.๕ มิลลิลิตร นำไปอุ่นที่อุณหภูมิ ๖๐ องศาเซลเซียส เป็นเวลา ๓๐-๖๐ นาที โดยพลิกหลอดไปมา จากนั้นเติม chloroform : isoamyl alcohol (๒๔:๑) จนเต็มหลอด นำไปปั่นเหวี่ยงที่ ๑๓,๐๐๐ รอบต่อนาที เป็นเวลา ๑๐ นาที จากนั้นดูดของเหลวด้านบนใส่หลอดใหม่ เติม isopropanol ที่เย็นจัด ๐.๗ เท่าของปริมาตรเดิม ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ -๒๐ องศาเซลเซียส ประมาณ ๓๐ นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ ๑๓,๐๐๐ รอบต่อนาที เป็นเวลา ๑๐ นาที เทส่วนบนทิ้งไป แล้วเติมเอทานอล ๗๕% ที่มี ammonium acetate ๑๐ มิลลิโมลาร์ ปริมาตร ๔๐๐ ไมโครลิตร กลับหลอดไปมาให้ตะกอนละลาย ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา ๓๐ นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ ๑๓,๐๐๐ รอบต่อนาที เป็นเวลา ๑๐ นาที เทสารละลายทิ้งคว่ำหลอดทิ้งไว้ ๒-๓ ชั่วโมง หรือจนกว่าตะกอนดีเอ็นเอจะแห้ง เติม TE buffer ปริมาตร ๔๐ไมโครลิตร และ RNase A (๑๐ mg/ml) ปริมาตร ๔ ไมโครลิตร นำไปอุ่นที่ ๓๗ องศาเซลเซียส นาน ๓๐ นาที จากนั้นเก็บดีเอ็นเอไว้ในตู้เย็น -๒๐ องศาเซลเซียส

๓. การตรวจวิเคราะห์ปริมาณและคุณภาพของของดีเอ็นเอ

ตรวจวิเคราะห์ปริมาณและคุณภาพของสารละลายดีเอ็นเอ โดยวิธีการเปรียบเทียบกับแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน (lambda DNA) ด้วยเทคนิคเจลอิเล็กโตรโฟริซิส โดยใช้กระแสไฟฟ้า ๕๐ โวลต์ เป็นเวลา ๑ ชั่วโมง นำไปย้อมในสารละลาย ethidium bromide ความเข้มข้น ๐.๑ µg/ml เป็นเวลา ๓๐ นาที แล้วนำมาตรวจสอบความเข้มข้นของสารละลายดีเอ็นเอโดยใช้แสงอัลตราไวโอเลต (UV transilluminator) แล้วเปรียบเทียบกับความเข้มข้นของแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน

๔. การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอและตรวจสอบแถบดีเอ็นเอ

การเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอกระเทียมด้วยเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR จำนวน ๑๖ ไพรเมอร์ (ตารางที่ ๒) มีส่วนประกอบและความเข้มข้นของสารละลายที่เหมาะสมต่อการทำปฏิกิริยาด้วยเทคนิคพีซีอาร์ จำนวน ๒๐ ไมโครลิตร โดยดัดแปลงจาก Camila et al. (๒๐๑๒) ดังนี้ ดีเอ็นเอ ๒๐ นาโนกรัม, ๑X PCR buffer, ๑.๕ mM $MgCl_2$, ๐.๒ mM dNTP, ๐.๒ µM forward primer, ๐.๒ µM reverse primer, ๑U *Taq* DNA

polymerase นำส่วนประกอบต่างๆ ผสมให้เข้ากันแล้วใส่ในหลอดพีซีอาร์ขนาด ๐.๒ มิลลิลิตร จากนั้นนำเข้าเครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (Biometra รุ่น T Gradient จากประเทศเยอรมัน) มีโปรแกรมควบคุมอุณหภูมิสำหรับปฏิกิริยาดังนี้ ขั้นที่ ๑ Predenaturation อุณหภูมิ ๙๕°C เป็นเวลา ๕ นาที จำนวน ๑ รอบ ขั้นที่ ๒ Denaturation อุณหภูมิ ๙๕°C เป็นเวลา ๓๐ วินาที ขั้นที่ ๓ Annealing อุณหภูมิตามความเหมาะสมของไพรเมอร์ในตารางที่ ๒ เป็นเวลา ๓๐ วินาที ขั้นที่ ๔ Extension อุณหภูมิ ๗๒°C เป็นเวลา ๑ นาที ทำซ้ำในขั้นตอนที่ ๒-๔ จำนวน ๓๕ รอบ ขั้นที่ ๕ Final Extension อุณหภูมิ ๗๒°C เป็นเวลา ๗ นาที จำนวน ๑ รอบ เมื่อปฏิกิริยาสิ้นสุด นำผลผลิตที่ได้จากการเพิ่มชิ้นส่วนดีเอ็นเป้าหมาย มาตรวจสอบผลการปรากฏของแถบดีเอ็นเอด้วยเทคนิคโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโตรโฟเรซีส ที่ความเข้มข้น ๔.๕% ย้อมเจลด้วยสีย้อมซิลเวอร์ไนเตรท ($AgNO_3$) แล้วนำไปวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่ปรากฏบนแผ่นเจล เปรียบเทียบขนาดของแถบดีเอ็นเอที่ได้กับดีเอ็นเอมาตรฐาน พิจารณาแถบดีเอ็นเอในแต่ละ well หากปรากฏแถบดีเอ็นเอหมายเลขใด ให้คะแนนเป็น ๑ หากไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอของหมายเลขใด ให้คะแนนเป็น ๐ ทำการบันทึกตำแหน่งแถบดีเอ็นเอให้ครบทุกตำแหน่งในแต่ละไพรเมอร์ที่ใช้ หลังจากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์หาค่า similarity coefficient โดยใช้โปรแกรม NTSYSpc ๒.๑ วิเคราะห์การจัดกลุ่ม แล้วสร้างเดนโดรแกรมเพื่อศึกษาหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสายพันธุ์กระเทียมที่นำมาศึกษา

ตารางที่ ๒ ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์ชนิด SSR จำนวน ๑๖ ไพรเมอร์ที่ใช้กับตัวอย่างกระเทียม

Loci	Primer sequence (๕'-๓')	T_a (°C)
Asa๐๔	F: AGACTTTTGGAGGCTAGGGC	๕๔
	R: CCCTGGTCTCTTTCAACCAA	
Asa๐๖	F: GGGGTGTTACATTCTCCCCT	๕๗
	R: ACCGCCTGATTTTGCATTAG	
Asa๐๗	F: CTCGGAACCAACCAGCATA	๕๘
	R: CCCAAACAAGGTAGGTCAGC	
Asa๐๘	F: TGATTGAAACGAATCCCACA	๕๖
	R: GGGGGTTACCTGAACCTGTTA	
Asa๑๐	F: TTGTTGTTCTGCCATTTT	๔๘
	R: GATCTAAGCCGAGAGAAA	
Asa๑๔	F: TCTATCTCGCTTCTCAGGGG	๔๘
	R: GCTGACAGAAGTAGTCTTTCC	
Asa๑๖	F: CACGACTTTTCCTCCCATTT	๔๘
	R: GCTAATGTTCATGTCCCCAGT	
Asa๑๗	F: TCCACGACACACACACACAC	๕๖
	R: ATGCAGAGAATTTGGCATCC	
Asa๑๘	F: TCAAGCTCCTCCAAGTGTCC	๔๕
	R: TCGGGATATGACAGCATTTG	
Asa๒๐	F: GAAGCAGCAAAGATCCAAGC	๔๘
	R: CGTGCAGAACTTAACCTT	
Asa๒๓	F: TGGAGGGGGAAAAAGGATAG	๕๕

	R: TGTGAAGCAAGTGGGATCAA	
Asa๒๔	F: TTGTTGTGCCGAGTTCCATA	๔๘
	R: CAGCAATTTACCAAAGCCAAG	
Asa๒๕	F: GCACTTCACTTTCCCCATTC	๕๑
	R: GGCGACGGTGAAGAGAGAG	
Asa๒๗	F: GGGAGAGAATGGCTTGATTG	๕๕
	R: GGACAGCATCATCACCAC	
Asa๓๑	F: CAGAGACTAGGGCGAATGG	๕๘
	R: ATGATGATGACGACGACGAG	
Asa๕๙	F: CGCTTACTATGGGTGTGTGTC	๕๙
	R: CAAGTGGGAGACTGTTGGAG	

เวลาและสถานที่

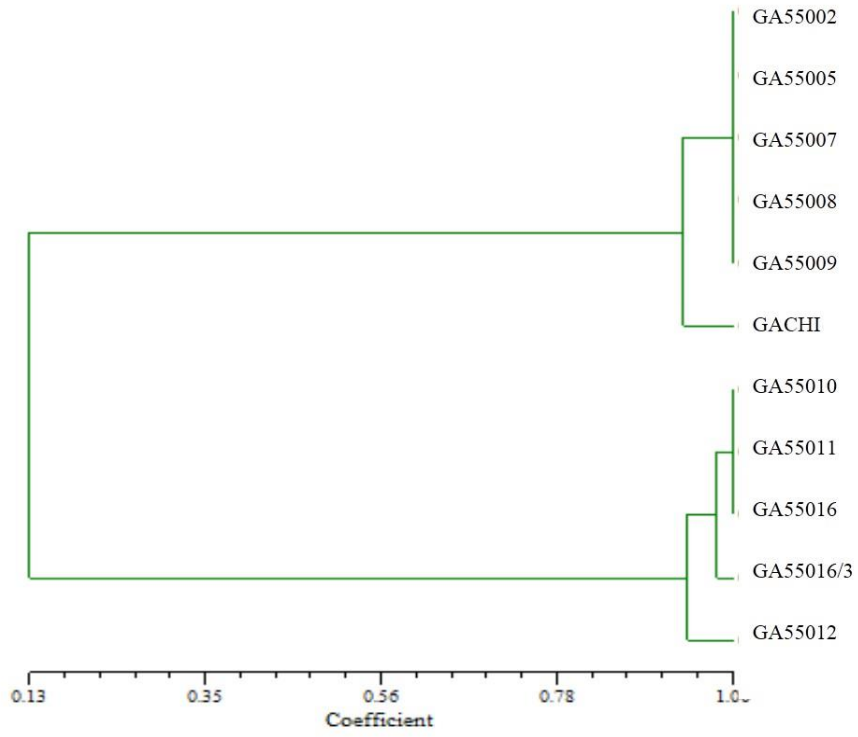
สถานที่ดำเนินงาน ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม ๒๕๕๔ สิ้นสุด กันยายน ๒๕๕๖

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองครั้งนี้ได้นำเครื่องหมายโมเลกุลชนิด Microsatellite มาใช้ทั้งหมด ๑๖ ไพรเมอร์แต่สามารถใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของกระเทียมได้เพียง ๑๓ ไพรเมอร์ ส่วนอีก ๓ ไพรเมอร์ไม่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ ในการเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์ ซึ่งไพรเมอร์แต่ละชนิดมีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน หลังจากตรวจสอบผลด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟริซิส โดยใช้โพลีอะคริลาไมด์เจลความเข้มข้น ๔.๕ เปอร์เซ็นต์ พบว่าแต่ละไพรเมอร์สามารถเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอได้จำนวนแถบแตกต่างกัน จากการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของกระเทียมโดยข้อมูลการปรากฏหรือไม่ปรากฏแถบของแถบดีเอ็นเอแต่ละขนาด พบว่าเมื่อนำมาวิเคราะห์หาค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน โดยใช้โปรแกรม NTSYS pc ๒.๑ เพื่อจัดกลุ่มและการสร้างเดนโดรแกรมพบว่า สามารถจัดกลุ่มของกระเทียมได้เป็น ๒ กลุ่มใหญ่ๆ (ภาพที่ ๑) ดังนี้

กลุ่มที่ ๑ ประกอบด้วยกระเทียม ๖ สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ GA๕๕๐๐๒, GA๕๕๐๐๕, GA๕๕๐๐๗, GA๕๕๐๐๘ และ GA๕๕๐๐๙ โดยกระเทียมทั้ง ๕ สายพันธุ์ไม่มีความแตกต่างของสายพันธุ์ โดยมีแหล่งที่มาจากจังหวัดศรีสะเกษทั้งหมด ส่วนสายพันธุ์ GACHI เป็นกระเทียมจีน มีแหล่งที่มาจากประเทศจีน จึงมีค่าความใกล้ชิดทางพันธุกรรมที่น้อยกว่าสายพันธุ์อื่นๆ ภายในกลุ่ม

กลุ่มที่ ๒ ประกอบด้วยกระเทียมจากภาคเหนือทั้งหมด และพบว่ามีความแตกต่างกันภายในกลุ่ม โดยพบว่ากระเทียม ๔ สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ GA๕๕๐๑๐, GA๕๕๐๑๑, GA๕๕๐๑๖ และ GA๕๕๐๑๖/๓ ซึ่งมีแหล่งที่มาจากลำพูน เชียงราย พะเยาและพะเยา ไม่มีความแตกต่างของสายพันธุ์ แต่มีความแตกต่างจากสายพันธุ์ GA๕๕๐๑๒ ซึ่งมีแหล่งที่มาจากลำปาง จะเห็นได้ว่าเป็นสายพันธุ์ที่มีแหล่งเพาะปลูกอยู่ในภาคเหนือทั้งหมดและมีลักษณะทางพันธุกรรมที่แยกออกมาจากกระเทียมจากแหล่งปลูกจากจังหวัดศรีสะเกษอย่างชัดเจน



ภาพที่ ๑ เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างกระเทียม ๑๑ สายพันธุ์

ตารางที่ ๓ ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนของลักษณะทางพันธุกรรมของกระเทียม ๑๑ สายพันธุ์

Error! Not a valid link.

เมื่อพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนของกระเทียมที่นำมาศึกษาในตารางที่ ๓ พบว่า กระเทียมในกลุ่มที่ ๑ ได้แก่ สายพันธุ์ GA๕๕๐๐๒, GA๕๕๐๐๕, GA๕๕๐๐๗ และ GA๕๕๐๐๘ มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนเท่ากับ ๑.๐๐ ซึ่งแสดงว่าเป็นพันธุ์เดียวกัน โดยเป็นพันธุ์จากจังหวัดศรีสะเกษทั้งหมด ส่วนกระเทียมในกลุ่มที่ ๒ ได้แก่ สายพันธุ์ GA๕๕๐๑๐, GA๕๕๐๑๑ และ GA๕๕๐๑๖ มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนเท่ากับ ๑.๐๐ แสดงว่าเป็นพันธุ์เดียวกันและมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนใกล้เคียงกับสายพันธุ์ GA๕๕๐๑๒ และ GA๕๕๐๑๖/๓ โดยมีค่าระหว่าง ๐.๙๔-๐.๙๘ โดยกลุ่มนี้เป็นกระเทียมจากเชียงราย ลำพูน พะเยาและลำปาง ซึ่งเป็นกระเทียมจากภาคเหนือทั้งหมด นอกจากนี้ยังพบอีกว่า กระเทียมทั้งสองกลุ่มมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนใกล้เคียงกันน้อยมาก โดยมีค่าระหว่าง ๐.๑๐-๐.๑๒

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาเครื่องหมายโมเลกุลในการจำแนกสายพันธุ์กระเทียมจากแหล่งปลูกต่างๆ จำนวน ๑๑ ตัวอย่าง โดยการใช้เครื่องหมายโมเลกุล Microsatellite สามารถจัดกลุ่มกระเทียมได้ ๒ กลุ่มใหญ่ๆ คือ กลุ่มที่ ๑ ประกอบด้วยกระเทียม ๖ สายพันธุ์ โดยในกลุ่มนี้ตัวอย่างกระเทียม ๕ สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ GA๕๕๐๐๒, GA๕๕๐๐๕, GA๕๕๐๐๗, GA๕๕๐๐๘ และ GA๕๕๐๐๙ มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนเท่ากับ ๑.๐๐ แสดงว่าเป็นพันธุ์เดียวกัน โดยมาจากแหล่งปลูกในจังหวัดศรีสะเกษ ส่วนอีก ๑ สายพันธุ์คือ GACHI เป็นกระเทียมจีน ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มนี้แต่มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนน้อยกว่าสายพันธุ์อื่นๆ กลุ่มที่ ๒ ประกอบด้วยกระเทียม ๕ สายพันธุ์ ได้แก่ GA๕๕๐๑๐, GA๕๕๐๑๑ และ GA๕๕๐๑๖ มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนเท่ากับ ๑.๐๐ แสดงว่าเป็นพันธุ์เดียวกัน แต่มาจากแหล่งปลูกที่เชียงราย ลำพูน และพะเยา ส่วนอีกสองสายพันธุ์ได้แก่ GA๕๕๐๑๒ และ

GA๕๕๐๑๖/๓ มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนน้อยกว่าสายพันธุ์อื่นๆ โดยมาจากแหล่งปลูกในจังหวัดพะเยาและลำปาง

ผลจากการศึกษาเครื่องหมายโมเลกุลชนิด Microsatellite สามารถจำแนกสายพันธุ์กระเทียมในแต่ละแหล่งปลูกได้ โดยสามารถจำแนกสายพันธุ์กระเทียมจากจังหวัดศรีสะเกษ ซึ่งเป็นแหล่งผลิตกระเทียมที่มีชื่อเสียงออกจากกระเทียมจากแหล่งปลูกในภาคเหนือได้ เนื่องจากเกษตรกรมีเก็บหัวพันธุ์เอง และการปลูกโดยใช้หัวพันธุ์ทำให้สายพันธุ์กระเทียมแต่ละแหล่งปลูกมีความแตกต่างกัน และสามารถใช้เป็นเอกลักษณ์ของแต่ละแหล่งปลูกได้

คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณ อ.ดร.จิรวัฒน์ สนิทชน สาขาวิชาพืชไร่ ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ความอนุเคราะห์ห้องปฏิบัติการดีเอ็นเอและคำปรึกษาด้านวิชาการ

เอกสารอ้างอิง

Agarwal, M., N. Shrivastava and H. Padh. ๒๐๐๘. Advances in molecular marker techniques and their application in plant science. Plant Cell Rep. ๒๗:๖๑๗-๖๓๑.

Camila, P.C, E.S.S. Hoogerheide, M.I. Zucchi, M. Monteiro and J.B. Pinheiro. ๒๐๑๒. New microsatellite markers for garlic *Allium sativum* (Alliaceae). American Journal of Botany: ๑๗-๑๙.

Doyle, J.J. and Doyle, J.L. ๑๙๘๗. A rapid isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochemistry Bulletin ๑๙: ๑๑ – ๑๕.

Mazuzaki, S., T. Miyazaki, J.A. McCallum, S. van Heusden, C. Kik, K. Yamachita, Y. Tashiro, N. Yamauchi and M. Shigyo. ๒๐๐๘. Conversion of chromosome-specific RAPD into SCAR-based anchor markers for onion linkage maps and its application to genetic analyses in other species. Scientia Hiticulturae ๑๑๕:๓๒๓-๓๒๘.