ศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอของหอมแดงจากแหล่งปลูกต่างๆ

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

บทคัดย่อ

หอมแดงเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของไทย หอมแดงที่ปลูกในปัจจุบันนิยมปลูกด้วยหัวพันธุ์ แต่ยังไม่มีการจำแนกพันธุ์อย่างชัดเจน การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอของหอมแดงจากแหล่งปลูกต่างๆ โดยเก็บรวบรวมหัวพันธุ์หอมแดงจากแหล่งปลูกที่สำคัญของประเทศไทยในภาคเหนือ ได้แก่ เชียงใหม่ อุตรดิตถ์ ลำพูนและสุโขทัย ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ นครราชสีมา และศรีสะเกษ จำนวน ๑๒ ตัวอย่าง นำมาปลูกและสกัดดีเอ็นเอจากใบอ่อน หลังจากนั้นเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค Random amplified polymorphism DNA (RAPD) โดยใช้ไพรเมอร์แบบสุ่มจำนวน ๘๐ ไพรเมอร์ นำมาแยกแถบดีเอ็นเอบน ๑.๕ % agarose gel เปรียบเทียบขนาดของแถบดีเอ็นเอที่ได้กับดีเอ็นเอมาตรฐาน หลังจากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์หาค่า similarity coefficient วิเคราะห์การจัดกลุ่ม แล้วสร้างเดนโดรแกรมเพื่อศึกษาหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของหอมแดงที่นำมาศึกษา ผลการศึกษาพบว่า สามารถจัดกลุ่มหอมแดงได้ ๒ กลุ่ม กลุ่มที่ ๑ แบ่งเป็น ๒ กลุ่มย่อยคือ กลุ่มย่อยที่ ๑ ประกอบด้วยหอมแดงจากจังหวัดลำพูนและอุตรดิตถ์ และกลุ่มย่อยที่ ๒ ประกอบด้วยหอมแดงจากจังหวัดนครราชสีมาและศรีสะเกษ กลุ่มที่ ๒ ประกอบด้วย ๒ กลุ่มย่อย กลุ่มย่อยที่ ๑ ประกอบด้วยหอมแดงจาก ศรีสะเกษ ลำพูน อุตรดิตถ์ กลุ่มย่อยที่ ๒ ประกอบด้วย หอมแดงจากสุโขทัย เชียงใหม่ และหอมแดงจากอินโดนีเซีย

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

คำนำ

หอมแดง (shallot, *Allium ascalonicum* Linn.) จัดอยู่ในวงศ์ Alliaceae เป็นพืชล้มลุก มีลำต้นหรือหัวอยู่ใต้ดิน หัวมีลักษณะกลมสีม่วงอมแดง ประกอบด้วยหัวเล็ก ๆ อยู่รวมกันหลายหัว มีเปลือกบาง ๆ ห่อหุ้มอยู่ภายนอก ใบยาวกลวงออกดอกเป็นช่อ ช่อหนึ่งประกอบด้วยดอกเล็กๆ จำนวนมาก ดอกมีสีขาวหรือสีม่วงอ่อน เป็นพืชที่ใช้ปรุงแต่งรสและกลิ่น รวมทั้งเป็นสมุนไพรใช้รักษาโรคได้ และเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญนำรายได้สู่เกษตรกร หอมแดงที่ใช้ปลูกแบ่งเป็น ๒ ชนิด โดยอาศัยลักษณะของหัว สีของหัว ขนาดของหัวและกลิ่น คือ หอมแดงพันธุ์พื้นเมืองภาคเหนือ หรือชื่อพื้นเมืองเรียก หอมแดงบั่ว เป็นหอมแดงที่มีเปลือกนอกสีเหลืองปนส้ม ขนาดหัวปานกลางและกลมรี มีส่วนสูงมากกว่าส่วนกว้าง หนึ่งหัวแยกได้ ๒-๓ กลีบ กลิ่นไม่ฉุนจัด มีรสหวาน และหอมแดงศรีสะเกษหรือพันธุ์บางช้าง มีหัวลักษณะกลม เปลือกนอกสีม่วงปนแดง เปลือกหนาและเหนียวกว่า ขนาดหัวใหญ่ หนึ่งหัวแยกได้ ๑-๒ กลีบ กลิ่นฉุนจัด รสหวาน (อุดม, ๒๕๓๑) จากข้อมูลที่มีอยู่จะเห็นได้ว่า มีข้อมูลน้อยมากเกี่ยวกับการจำแนกสายพันธุ์หอมแดง และยังไม่มีการจำแนกสายพันธุ์หอมแดงโดยใช้ข้อมูลความแตกต่างทางพันธุกรรมและความสัมพันธ์ของลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหอมแดงจากแหล่งปลูกต่างๆ ดังนั้นการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาร่วมกับลายพิมพ์ดีเอ็นเอ จะทำให้สามารถทราบข้อมูลทางพันธุกรรมเพื่อใช้ในเป็นมาตรฐานในการเปรียบเทียบสายพันธุ์ และเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ของหอมแดงได้

Ebrahini et al. (๒๐๐๙) ได้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของหอมเปอร์เซียน (Persian shallot, *Allium hirtifolium*) โดยเก็บรวบรวมหอมจากแหล่งต่างๆในอิหร่าน จำนวน ๑๗ สายพันธุ์ เก็บข้อมูลด้านสัณฐานวิทยา และศึกษาเครื่องหมายโมเลกุลเพื่อจำแนกสายพันธุ์ด้วยเทคนิค Random amplified polymorphism DNA (RAPD) เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ random decamer primer จำนวน ๑๐๐ ไพรเมอร์ ผลการศึกษาพบว่า มีจำนวน ๑๕ ไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอและสามารถแยกความแตกต่างของสายพันธุ์ได้ การจัดกลุ่มโดยใช้ข้อมูลด้านสัณฐานวิทยา สามารถจัดกลุ่มหอมได้ ๓ กลุ่ม ส่วนการใช้ข้อมูล RAPD จัดกลุ่มโดยใช้ cluster analysis สามารถจัดกลุ่มหอมได้ ๘ sub-cluster และข้อมูล RAPD ไม่ได้มีความสัมพันธ์กับข้อมูลด้านสัณฐานวิทยา

วิธีการดำเนินการ

อุปกรณ์

๑. หอมแดงจากแหล่งปลูกต่างๆที่สำคัญของประเทศไทย 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

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

ตารางที่ ๑ สายพันธุ์หอมแดงที่ใช้ในการศึกษา

ลำดับที่	พันธุ์	แหล่งที่มา
๑	sh๕๔๐๐๖	ลำพูน
๒	sh๕๕๐๐๙	อุตรดิตถ์
๓	sh๕๕๐๑๐	ศรีสะเกษ
๔	sh๕๕๐๑๑	นครราชสีมา
๕	sh๕๕๐๑๓	ศรีสะเกษ
๖	sh๕๕๐๑๔	ศรีสะเกษ
๗	sh๕๕๐๑๕	ศรีสะเกษ
๘	sh๕๕๐๑๘	ลำพูน
๙	sh๕๕๐๒๐	อุตรดิตถ์
๑๐	sh๕๕๐๒๓	สุโขทัย
๑๑	sh๕๕๐๒๔	เชียงใหม่
๑๒	sh๕๕๐๒๕	หอมแดงอินโดนีเซีย

๒. วิธีการสกัดดีเอ็นเอ (DNA extraction)

การสกัดดีเอ็นเออ้างอิงตามวิธีการของ Doyle & Doyle (๑๙๘๗) โดยชั่งตัวอย่างใบหอมแดงหนัก 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

การวิเคราะห์ลักษณะทางพันธุกรรมของหอมแดงด้วยเทคนิค RAPD ใช้ไพรเมอร์ที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์แบบสุ่มจำนวน ๘๐ ไพรเมอร์ โดยแต่ละเส้นของไพรเมอร์ประกอบด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน ๑๐ เบส ในการเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์ มีส่วนประกอบและความเข้มข้นของสารละลายที่เหมาะสมต่อการทำปฏิกิริยาจำนวน ๑๕ ไมโครลิตร โดนดัดแปลงจาก Shinichi et al. (๒๐๐๖), Lee et al. (๒๐๑๑) ดังนี้ ดีเอ็นเอ ๒๐ นาโนกรัม, ๑X PCR buffer, ๒ mM $MgCl_2$, ๐.๒ mM dNTP, ๐.๓ µM primer, ๑ unit *Taq* DNA polymerase นำส่วนประกอบต่างๆ ผสมให้เข้ากันแล้วใส่ในหลอดพีซีอาร์ขนาด ๐.๒ มิลลิลิตร จากนั้นนำเข้าเครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (Biometra รุ่น T Gradient จากประเทศเยอรมัน) มีโปรแกรมควบคุมอุณหภูมิสำหรับปฏิกิริยาดังนี้ ขั้นที่ ๑ Predenaturation อุณหภูมิ ๙๔°C เป็นเวลา ๓ นาที จำนวน ๑ รอบ ขั้นที่ ๒ Denaturation อุณหภูมิ ๙๔°C เป็นเวลา ๑ นาที ขั้นที่ ๓ Annealing อุณหภูมิ ๓๕ °C เป็นเวลา ๑ นาที ๓๐ วินาที ขั้นที่ ๔ Extension อุณหภูมิ ๗๒°C เป็นเวลา ๒ นาที ทำซ้ำในขั้นตอนที่ ๒-๔ จำนวน ๔๕ รอบ ขั้นที่ ๕ Final Extension อุณหภูมิ ๗๒°C เป็นเวลา ๑๐ นาที จำนวน ๑ รอบ เมื่อปฏิกริยาสิ้นสุด นำผลผลิตพีซีอาร์ไปตรวจสอบผลด้วยเทคนิคเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส โดยใช้วุ้นอะกาโรส ความเข้มข้น ๑.๕% ใช้ Novel juice เพื่อย้อมแถบดีเอ็นเอ ใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้า ๗๕ โวลต์ เป็นเวลา ๒ ชั่วโมง ๓๐ นาที จากนั้นนำไปส่องภายใต้แสงอัลตราไวโอเลตในเครื่อง gel documentation เปรียบเทียบขนาดของแถบดีเอ็นเอที่ได้กับดีเอ็นเอมาตรฐาน หลังจากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์หาค่า similarity coefficient โดยใช้โปรแกรม NTSYS pc ๒.๑ วิเคราะห์การจัดกลุ่ม แล้วสร้างเดนโดรแกรมเพื่อศึกษาหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของหอมแดงที่นำมาศึกษา

เวลาและสถานที่

สถานที่ดำเนินงาน ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม ๒๕๕๔ สิ้นสุด กันยายน ๒๕๕๖

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองครั้งนี้ได้นำเครื่องหมายโมเลกุลชนิด RAPD มาใช้ทั้งหมด ๘๐ ไพรเมอร์ มาศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของหอมจำนวน ๑๒ สายพันธุ์ และทำการจัดกลุ่มตามลักษณะทางพันธุกรรม พบว่า มี ๗๒ ไพรเมอร์ ที่สามารถสังเคราะห์และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในปฏิกิริยา PCR ได้ครบทั้ง ๑๒ สายพันธุ์ ส่วนใน ๘ ไพรเมอร์ ได้แก่ OPC๑๙, OPF๑๓, OPF๑๙, OPC๑๒, OPQ๗, OPF๑, OPS๒ และ OPS๔ ไม่สามารถสังเคราะห์และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในปฏิกิริยา PCR ได้ในสายพันธุ์ sh๕๔๐๐๖ เพียงสายพันธุ์เดียว โดยที่มี ๗๑ ไพรเมอร์ ที่ให้ลักษณะของแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างทางพันธุกรรม (polymorphic) ระหว่างสายพันธุ์หอมแดงที่นำมา

ศึกษาในครั้งนี้ และมี ๑ ไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอที่ไม่มีความแตกต่างทางพันธุกรรม (monomorphic) ของสายพันธุ์หอมแดง

ในการเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์ ซึ่งไพรเมอร์แต่ละชนิดมีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน หลังจากตรวจสอบผลด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟริซิส โดยใช้วุ้นอะกาโรสความเข้มข้น ๑.๕ เปอร์เซ็นต์ พบว่าแต่ละไพรเมอร์มีความสามารถในการเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอได้จำนวนแถบแตกต่างกันดังตารางที่ ๒ โดยแถบดีเอ็นเอส่วนใหญ่มีขนาดอยู่ระหว่าง ๓๐๐ – ๒๐๐๐ คู่เบส ซึ่งไพรเมอร์ที่ทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอมากที่สุดคือ ไพรเมอร์ OPN๕ และ OPY๑๗ ให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด ๘ แถบ ส่วนไพรเมอร์ที่ทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอน้อยที่สุดคือ ไพรเมอร์ OPQ๑๐, OPF๓, OPP๑๐, OPS๙ และ OPX๗ ให้แถบดีเอ็นเอจำนวน ๒ แถบ และพบว่ามีไพรเมอร์ OPS๙ เพียงไพรเมอร์เดียวที่ให้แถบดีเอ็นเอที่ไม่แตกต่างกัน การศึกษาหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของหอมแดงทั้ง ๑๒ ตัวอย่าง โดยใช้เทคนิค RAPD พบว่า แถบดีเอ็นเอที่มีขนาดใหญ่ที่สุดประมาณ ๒๐๐๐ คู่เบส และแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดเล็กที่สุดประมาณ ๓๐๐ คู่เบส โดยเกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมด ๓๓๒ แถบ คิดเป็น ๔.๖ แถบต่อไพรเมอร์ ซึ่งเป็น polymorphic band จำนวน ๒๕๔ แถบ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ polymorphic band ได้เท่ากับ ๗๖.๕ เปอร์เซ็นต์ และมี monomorphic band จำนวน ๗๘ แถบ แสดงให้เห็นว่าสายพันธุ์หอมแดงที่นำมาศึกษาในครั้งนี้มีระดับความหลากหลายทางพันธุกรรม

ตารางที่ ๒ ไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของหอมและจำนวนแถบดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยาพีซีอาร์

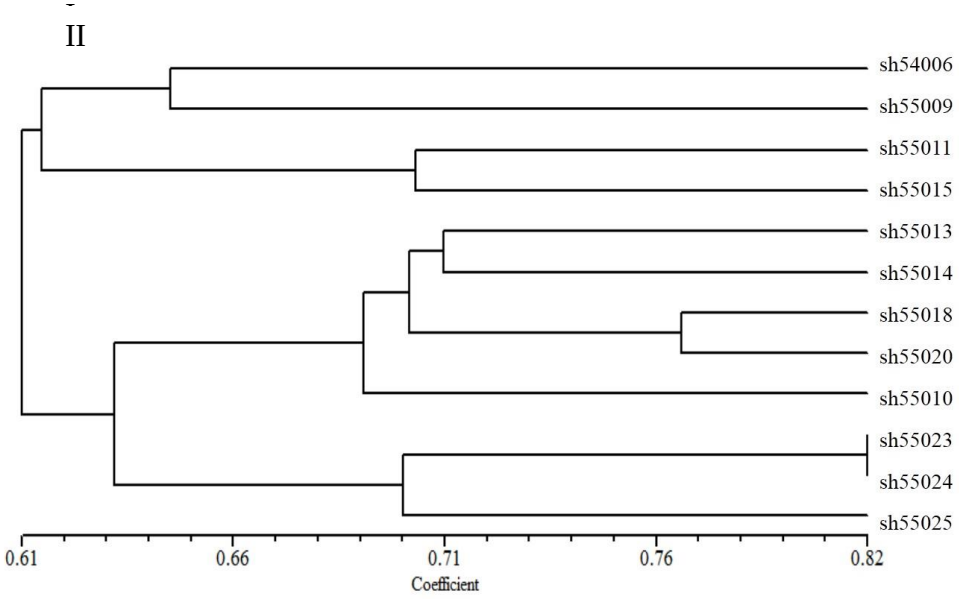
ลำดับที่	ไพรเมอร์	จำนวนแถบดีเอ็นเอ	ลำดับที่	ไพรเมอร์	จำนวนแถบดีเอ็นเอ
๑	OPS๑	๓	๓๘	OPF๓	๒
๒	OPS๓	๕	๓๙	OPF๔	๕
๓	OPS๕	๖	๔๐	OPF๕	๕
๔	OPS๖	๔	๔๑	OPF๖	๗
๕	OPS๗	๖	๔๒	OPF๗	๕
๖	OPS๘	๖	๔๓	OPF๙	๔
๗	OPS๙	๒	๔๔	OPF๑๐	๔
๘	OPS๑๐	๖	๔๕	OPF๑๒	๖
๙	OPP๑	๕	๔๖	OPF๑๖	๔
๑๐	OPP๒	๓	๔๗	OPC๕	๔
๑๑	OPP๓	๔	๔๘	OPC๗	๔
๑๒	OPP๔	๕	๔๙	OPC๘	๔
๑๓	OPP๕	๓	๕๐	OPC๙	๔
๑๔	OPP๖	๔	๕๑	OPC๑๑	๔
๑๕	OPP๗	๕	๕๒	OPC๑๕	๖
๑๖	OPP๘	๔	๕๓	OPC๒๐	๕
๑๗	OPP๙	๓	๕๔	OPX๑	๓
๑๘	OPP๑๐	๒	๕๕	OPX๔	๗
๑๙	OPQ๑	๖	๕๖	OPX๖	๓
๒๐	OPQ๒	๓	๕๗	OPX๗	๒
๒๑	OPQ๓	๕	๕๘	OPX๑๑	๗

๒๒	OPQ๔	๓	๕๙	OPX๑๒	๖
๒๓	OPQ๕	๓	๖๐	OPX๑๓	๕
๒๔	OPQ๖	๕	๖๑	OPX๑๗	๖
๒๕	OPQ๘	๓	๖๒	OPX๑๘	๗
๒๖	OPQ๙	๗	๖๓	OPX๑๙	๔
๒๗	OPQ๑๐	๒	๖๔	OPY๑	๔
๒๘	OPN๑	๔	๖๕	OPY๒	๕
๒๙	OPN๒	๔	๖๖	OPY๔	๓
๓๐	OPN๓	๖	๖๗	OPY๑๔	๓
๓๑	OPN๔	๕	๖๘	OPY๑๕	๕
๓๒	OPN๕	๘	๖๙	OPY๑๖	๖
๓๓	OPN๖	๕	๗๐	OPY๑๗	๘
๓๔	OPN๗	๕	๗๑	OPY๑๘	๖
๓๕	OPN๘	๕	๗๒	OPY๒๐	๖
๓๖	OPN๙	๕			
๓๗	OPN๑๐	๔			

จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของหอมแดง โดยอาศัยข้อมูลการปรากฏแถบดีเอ็นเอ เมื่อนำมาหาค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน (similarity coefficient) โดยใช้โปรแกรม NTSYS pc ๒.๑ เพื่อจัดกลุ่มและการสร้างเดนโดรแกรม พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน อยู่ระหว่าง ๐.๖๑-๐.๘๒ และสามารถจัดกลุ่มของหอมแดงได้เป็น ๒ กลุ่ม ที่ค่า similarity coefficient ๐.๖๑ (ภาพที่ ๑) ดังนี้

กลุ่มที่ ๑ ประกอบด้วยหอมแดงจำนวน ๔ สายพันธุ์ แบ่งแป็น ๒ กลุ่มย่อย กลุ่มย่อยที่ ๑ ได้แก่ สายพันธุ์ sh๕๔๐๐๖ และ sh๕๕๐๐๙ มีแหล่งที่มาจากจังหวัดลำพูนและอุตรดิตถ์ ซึ่งเป็นสายพันธุ์หอมแดงที่มาจากบริเวณแหล่งเพาะปลูกที่ใกล้กัน กลุ่มย่อยที่ ๒ ได้แก่ sh๕๕๐๑๑ และ sh๕๕๐๑๕ ซึ่งมีแหล่งที่มาจากจังหวัดนครราชสีมาและศรีสะเกษตามลำดับ โดยเป็นสายพันธุ์หอมแดงในภาคตะวันออกเฉียงเหนือเหมือนกัน

กลุ่มที่ ๒ ประกอบด้วยหอมแดงจำนวน ๘ สายพันธุ์ แบ่งเป็น ๒ กลุ่มย่อย กลุ่มย่อยที่ ๑ ได้แก่ สายพันธุ์ sh๕๕๐๑๐, sh๕๕๐๑๓, sh๕๕๐๑๔, sh๕๕๐๑๘ และ sh๕๕๐๒๐ โดยสายพันธุ์ sh๕๕๐๑๐, sh๕๕๐๑๓ และ sh๕๕๐๑๔ มีแหล่งที่มาจากจังหวัดศรีสะเกษ สายพันธุ์ sh๕๕๐๑๘ และ sh๕๕๐๒๐ มีแหล่งที่มาจากจังหวัดลำพูนและจังหวัดอุตรดิตถ์ ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าเป็นหอมแดงที่มาจากแหล่งปลูกในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนืออยู่รวมกันในกลุ่มนี้ กลุ่มย่อยที่ ๒ ได้แก่ สายพันธุ์ sh๕๕๐๒๓, sh๕๕๐๒๔ และ sh๕๕๐๒๕ โดยที่หอมแดงสายพันธุ์ sh๕๕๐๒๓ และ สายพันธุ์ sh๕๕๐๒๔ มีแหล่งที่มาจากจังหวัดสุโขทัยและเชียงใหม่ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าเป็นหอมแดงที่มาจากแหล่งที่ปลูกทางภาคเหนือเหมือนกัน ส่วนหอมแดงสายพันธุ์ sh๕๕๐๒๕ มีแหล่งที่มาจากประเทศอินโดนีเซีย



ภาพที่ ๑ เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างหอมแดง ๑๒ สายพันธุ์

ตารางที่ ๓ ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนของลักษณะทางพันธุกรรมหอมแดง ๑๒ สายพันธุ์

	sh๕๔๐๐๖	Sh๕๕๐๑๑	sh๕๕๐๑๓	sh๕๕๐๑๔	sh๕๕๐๑๕	sh๕๕๐๐๙	sh๕๕๐๑๐	sh๕๕๐๑๘	sh๕๕๐๒๐	sh๕๕๐๒๓	sh๕๕๐๒๔	s
sh๕๔๐๐๖	๑.๐๐											
sh๕๕๐๑๑	๐.๕๙	๑.๐๐										
sh๕๕๐๑๓	๐.๖๐	๐.๖๔	๑.๐๐									
sh๕๕๐๑๔	๐.๖๒	๐.๕๙	๐.๗๑	๑.๐๐								
sh๕๕๐๑๕	๐.๖๓	๐.๗๐	๐.๕๙	๐.๕๘	๑.๐๐							
sh๕๕๐๐๙	๐.๖๔	๐.๖๒	๐.๖๑	๐.๖๑	๐.๖๑	๑.๐๐						
sh๕๕๐๑๐	๐.๖๓	๐.๖๓	๐.๖๙	๐.๖๙	๐.๖๗	๐.๖๖	๑.๐๐					
sh๕๕๐๑๘	๐.๖๕	๐.๖๒	๐.๗๑	๐.๗๕	๐.๕๙	๐.๖๑	๐.๖๘	๑.๐๐				
sh๕๕๐๒๐	๐.๖๕	๐.๖๑	๐.๖๙	๐.๖๖	๐.๖๑	๐.๖๑	๐.๗๐	๐.๗๗	๑.๐๐			
sh๕๕๐๒๓	๐.๕๗	๐.๖๔	๐.๖๒	๐.๖๒	๐.๕๘	๐.๕๘	๐.๕๘	๐.๖๗	๐.๗๐	๑.๐๐		
sh๕๕๐๒๔	๐.๕๘	๐.๖๓	๐.๖๗	๐.๖๕	๐.๕๖	๐.๕๕	๐.๖๒	๐.๖๘	๐.๗๑	๐.๘๒	๑.๐๐	
sh๕๕๐๒๕	๐.๕๙	๐.๖๒	๐.๕๖	๐.๕๘	๐.๕๘	๐.๕๕	๐.๕๘	๐.๖๑	๐.๖๐	๐.๗๐	๐.๗๐	๑

จากการศึกษาพบว่า หอมแดงสายพันธุ์ sh๕๕๐๒๓ กับ sh๕๕๐๒๔ มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนที่ใกล้กันมากที่สุดเท่ากับ ๐.๘๒ โดยเป็นหอมแดงจากสุโขทัยและเชียงใหม่ ส่วนหอมแดงสายพันธุ์ sh๕๕๐๐๙, sh๕๕๐๒๔ และsh๕๕๐๒๕ มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนที่ใกล้กันน้อยที่สุด เท่ากับ ๐.๕๕ โดย sh๕๕๐๐๙ เป็นหอมแดงจากอุตรดิตถ์ sh๕๕๐๒๔ เป็นหอมแดงจากเชียงใหม่ และ sh๕๕๐๒๕ เป็นหอมแดงจากอินโดนีเซีย (ตารางที่ ๓)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอของหอมแดงจากแหล่งปลูกต่างๆ สามารถจัดกลุ่มหอมแดงได้ ๒ กลุ่มใหญ่ๆ คือ กลุ่มที่ ๑ ประกอบด้วยหอมแดง ๔ สายพันธุ์ ประกอบด้วยหอมแดงที่มาจากภาคเหนือ คือ ลำพูนและอุตรดิตถ์ และหอมแดงที่มาจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คือ นครราชสีมาและศรีสะเกษ กลุ่มที่ ๒ ประกอบด้วยหอมแดงที่มาจากภาคเหนือคือ เชียงใหม่ ลำพูน อุตรดิตถ์ และสุโขทัย และหอมแดงที่มาจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือคือ ศรีสะเกษ นอกจากนี้หอมแดงจากอินโดนีเซียก็จัดอยู่ในกลุ่มนี้ด้วย

ผลจากการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอหอมแดงจากแหล่งปลูกต่างๆ พบว่ายังไม่สามารถจำแนกสายพันธุ์หอมแดงในแต่ละแหล่งปลูกได้อย่างชัดเจน เนื่องจากเกษตรกรมีการซื้อหัวพันธุ์หอมแดงจากแหล่งปลูกอื่นเข้ามาปลูกในพื้นที่ เช่น เกษตรกรซื้อหัวพันธุ์จากอุตรดิตถ์มาปลูกที่จังหวัดศรีสะเกษ ทำให้มีการเคลื่อนย้ายของหัวพันธุ์หอมแดงระหว่างหัวพันธุ์หอมแดงที่ปลูกในภาคเหนือกับภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จึงไม่สามารถจำแนกสายพันธุ์หอมแดงได้ชัดเจน ดังนั้นควรมีการสำรวจและเก็บข้อมูลหอมแดงในแหล่งปลูกที่มีการเก็บหัวพันธุ์ไว้ปลูกเอง ซึ่งอาจจะได้ข้อมูลความแตกต่างของสายพันธุ์หอมแดงได้

คำขอบคุณ

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

เอกสารอ้างอิง

อุดม คำชา. ๒๕๓๑. อิทธิพลของระยะปลูก วันปลูก และชนิดของหน่วยขยายพันธุ์ที่มีต่อผลผลิตของหัวและเมล็ด พันธุ์หอมแดง และการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์หอมแดง. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ๑๔๑ น.

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

Ebrahini, R., Z. Zamani and A. Kashi. ๒๐๐๙. Genetic diversity evaluation of wild Persian shallot (*Allium hirtifolium* Boiss.) using morphological and RAPD markers. Scientia Horticulturae. ๑๑๙: ๓๔๕-๓๕๑.

Lee, G.A., S. J. Kwon, Y.J. Park, M.C. Lee, H.H. Kima, J.S. Lee, S.Y. Lee, J.G. Gwag, C.K. Kima K.H. Ma. ๒๐๑๑. Cross-amplification of SSR markers developed from *Allium sativum* to other *Allium* species. Scientia Horticulturae. ๑๒๘ (๒๐๑๑): ๔๐๑–๔๐๗.

Shinichi, M., N. Araki, N. Yamauchi, N. Yamane, T. Wako and A. Kojima and M. Shigyo. ๒๐๐๖. Chromosome locations of microsatellite in Onion. Hortscience. ๔๑(๒): ๓๑๕-๓๑๘.