

การวิเคราะห์พันธุกรรมระดับโมเลกุลของกระเจียวที่พบในพื้นที่โคกภูตากา อำเภอกุเวียง จังหวัดขอนแก่น

ปรียา พวงสำลี¹ หวังสมนึก¹ พินิจ หวังสมนึก¹ ธมลวรรณ สีป้อ¹ วิชัย ณิรัตน์พันธุ์¹ และ ประสิทธิ์ ใจคิด²

¹ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002 ²ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002

Molecular genetic analysis of *Curcuma* species found in Koak Phu Ta Kha, Khon Kaen Province.

Preeya Puangsomlee Wangsomnuk¹, Pinich Wangsomnuk¹, Thamolwan Seepor¹,
Wichai Neerattanaphan¹ and Prasit Jaisil²

¹Department of Biology Faculty of Science, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand; ²Department of Agronomy
Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand.

บทคัดย่อ

ความสำคัญในการนำมาใช้เป็นอาหาร สมุนไพร และไม้ดอกไม้ประดับของพืชในสกุล *Curcuma* เพิ่มขึ้นมาก จากการสำรวจกระเจียวในพื้นที่โคกภูตากา อ. กุเวียง จ. ขอนแก่น ตั้งแต่เดือนเมษายน 2547 จนถึงเดือนมิถุนายน 2548 ได้พบความหลากหลายของลักษณะทางสัณฐานวิทยาทั้งในระดับชนิดและสายพันธุ์ การวิเคราะห์ความแปรผันทางพันธุกรรมของประชากรภายในและระหว่างกลุ่มจึงมีความจำเป็นต่อการจัดการการอนุรักษ์พืชในสกุลนี้ ผู้วิจัยได้วิเคราะห์พันธุกรรมกระเจียวที่พบในพื้นที่ดังกล่าวโดยใช้เทคนิคอาร์เอฟดี แอปพลิเคชันที่ได้จากการสังเคราะห์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอาร์เอฟดีขนาด 600 และ 800 คู่เบส ที่จำเพาะต่อ *Curcuma thorei* Gagnep และสกุล *Curcuma* ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์แอปพลิเคชันทั้งสิ้น 206 แอป ด้วยโปรแกรม SPSS for window 10.0 โดยใช้ Cluster analysis และ UPGMA สามารถสร้างเดนโดรแกรมซึ่งบอกความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชที่ศึกษาได้ นอกจากนี้ได้สร้าง phylogenetic tree จากลำดับนิวคลีโอไทด์จากบางส่วนของยีน *trnL* และ *trnF* ของกระเจียวบางตัวอย่างมาวิเคราะห์ร่วมกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนดังกล่าวของพืชที่พบในฐานข้อมูล NCBI ด้วย

Abstract

Members of the genus *Curcuma* are increasingly important as food, medicinal plants and ornamentals. *Curcuma* species found in Koak Phu Ta Kha, Khon Kaen Province during our survey from April, 2004 to June, 2005 showed broad morphological characters both inter-specific and variety levels. Assessment of genetic variation and their partitioning within and

between populations of these wild species is necessary for formulating conservation management strategies. We investigated the molecular and genetic analysis of *Curcuma* species found in Koak Phu Ta Kha using both polymerase chain reaction – RAPD technique and amplified partial chloroplast gene - *trnL* and *trnF* including the intergenic region of both genes. The RAPD markers within a genus, across species and among populations of species were also studied. 600 and 800-bp RAPD markers which were discovered could be used as species-specific band for *Curcuma thorei* Gagnep and genus-specific band respectively. A total of 206 RAPD fragments were scored and the dendrogram of these *Curcuma* populations was constructed using cluster analysis and UPGMA from SPSS for Windows version 10.0. We further investigated the nucleotide sequences of the amplified partial chloroplast gene - *trnL* and *trnF* including the intergenic region of both genes. Phylogenetic tree was then created from four *Curcuma* accessions and other plant species available in the NCBI database.

บทนำ

พืชสกุล *Curcuma* เป็นไม้เศรษฐกิจที่ถูกบรรจุอยู่ในแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ฉบับที่ 8 ปริมาณการส่งออกกระเจียวและปทุมมาไปยังต่างประเทศเพิ่มขึ้นจากประมาณสองแสนเหง้า ในปี 2536 เป็นประมาณสองแสนเหง้าในปี 2537 (ด้านตรวจพืช กรมวิชาการเกษตร) หัวพันธุ์ที่ส่งออกผ่านท่าอากาศยานเชียงใหม่ ปี พ.ศ. 2540, 2541 และ 2542 มีจำนวน 1,267,001, 1,782,825 และ 2,029,187 หัว คิดเป็นมูลค่าการส่งออก 10,879,520, 30,883,879 และ 28,730,264 บาท ตามลำดับ กระเจียวจึงเป็นพืชที่ควรได้รับการส่งเสริมให้มีการพัฒนาเทคโนโลยีเพื่อการผลิตและการปรับปรุงพันธุ์อย่างจริงจังเพื่อสามารถแข่งขันกับประเทศอื่นที่กำลังพัฒนาการผลิตพืชนี้ได้

อุปกรณ์และวิธีการศึกษา

1. สืบหาพืชในสกุล *Curcuma* ในพื้นที่โคกภูตา กา อ. ภูเวียง จ. ขอนแก่น ซึ่งเป็นพื้นที่ใน

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ มีพื้นที่ทั้งหมด 694 ไร่ 58 ตารางวา ในระหว่างเดือนเมษายนถึง สิงหาคม 2547

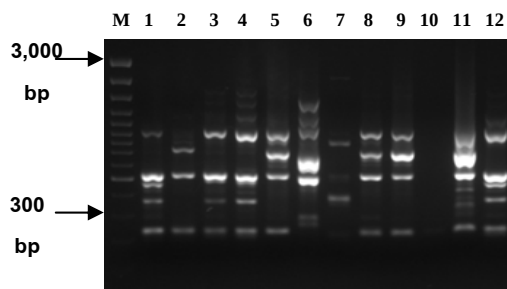
2. วิเคราะห์พันธุกรรมโดยใช้เทคนิคอาร์เอฟดี ร่วมกับโปรแกรม SPSS for window 10.0
3. คัดแยกลำดับนิวคลีโอไทด์จากบางส่วนของ ยีน *trnL* และ *trnF* ของกระเจียวบางตัวอย่าง และวิเคราะห์ร่วมกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของ ยีนดังกล่าวของพืชที่พบในฐานข้อมูล NCBI

ผลและวิจารณ์ผลการศึกษา

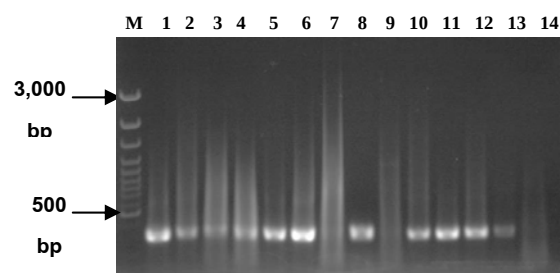
จากการวิจัยพบพืชในสกุล *Curcuma* หลายชนิด ได้เก็บตัวอย่างกลุ่มประชากรพืชโดยแยกออกเป็น 4 กลุ่มด้วยกัน ได้แก่ *Curcuma thorei*, *C. sessilis*, *C. sp.1* และ *C. sp.2* เมื่อวิเคราะห์พันธุกรรมโดยใช้เทคนิคอาร์เอฟดีโดยคัดเลือกไพรเมอร์ 4 ชนิด จาก 31 ชนิด ได้ผลดังภาพที่ 1 และพบว่าแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ

ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดีขนาด 600 และ 800 คู่เบส มีความจำเพาะต่อ *Curcuma thorei* Gagnep และต่อสกุล *Curcuma* ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอทั้งสิ้น 206 แถบ ด้วยโปรแกรม SPSS for

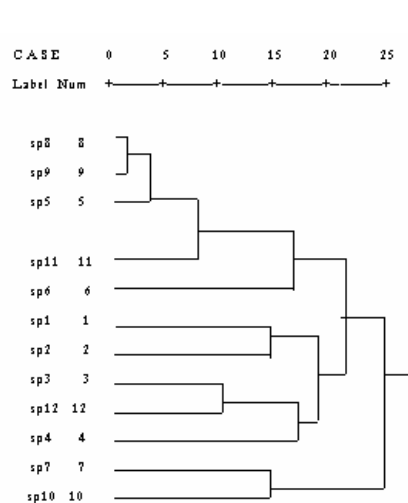
window 10.0 โดยใช้ Cluster analysis และ UPGMA สามารถสร้างเดนโดรแกรมซึ่งบอกความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชที่ศึกษาได้



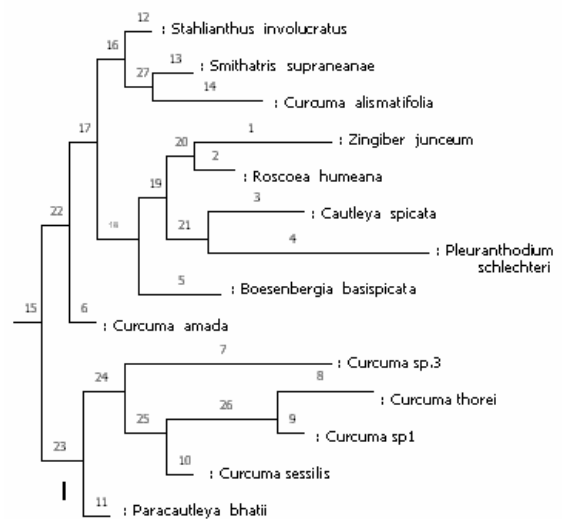
(A)



(B)



(C)



(D)

ภาพที่ 1: (A) แสดงแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการสังเคราะห์ดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดีเมื่อใช้ไพรเมอร์ PPE04 โดย M: ดีเอ็นเอมาตรฐาน (100 bp DNA Ladder), ช่องที่ 1 – 12: พืชในสกุล *Curcuma* หมายเลข 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 12, 15, 17 และ 21; (B) แถบดีเอ็นเอที่ได้จากการโคลนลำดับเบสที่อยู่ระหว่างยีน *tmL* – *tmF* พืชในสกุล *Curcuma* โดยใช้ไพรเมอร์ PPZ1 และ PPZ2 ในปฏิกิริยาพีซีอาร์; (C) เดนโดรแกรมของพืชในสกุล *Curcuma* 12 หมายเลข และ (D) Phylogenetic tree จากลำดับเบสบริเวณ intergenic region ของยีน *tRNA-Leu (tmL)* และ *tRNA-Phe (tmF)*

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

จากการวิจัยได้พบความหลากหลายของลักษณะทางสัณฐานวิทยาทั้งในระดับชนิดและสายพันธุ์ของพืชในสกุล *Curcuma* ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ความแปรผันทางพันธุกรรมของประชากรภายในและระหว่างกลุ่มซึ่งมีความสำคัญต่อการจัดการการอนุรักษ์พืชในสกุลนี้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติและมหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ได้ให้ทุนอุดหนุนการวิจัยแก่โครงการนี้ ประเภทเงินอุดหนุนทั่วไป ประจำปีงบประมาณ 2547

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

นายยสินทร์ กิตติจันทโรภาส ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการเตรียมต้นฉบับนี้

เอกสารอ้างอิง

- Koch M.A. *et al.* 2005. Evolution of the trnF(GAA) gene in Arabidopsis relatives and the brassicaceae family: monophyletic origin and subsequent diversification of a plastidic pseudogene. *Molecular Biology and Evolution*. 1032 – 1043.
- Rouhana G. *et al.* 2004. Molecular phylogeny of the fern genus *Elaphoglossum* (Elaphoglossaceae) based on chloroplast non-coding DNA sequences: contributions of species from the Indian Ocean area. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 745-763.
- Wangsomnuk, P.P., Wangsomnuk, P. and Maza, B. 2002a. Biodiversity and Molecular aspect of *Curcuma* species from the north-east of Thailand. 3rd Symposium on the Family Zingiberaceae, Khon Kaen, Thailand. 109 – 119.