การระบุสายพันธุ์หน้าวัวโดยใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ด

Identification of *Anthurium andreanum* cultivars by using DNA barcodes

ณัฐพงษ์ ศรีสมุทร[1*], กิตติศักดิ์ เฉนียง[1] และ อลงกลด แทนออมทอง[2]

Nattapong Srisamoot[1*], Kittisak Chanaeng[1] and Alonklod Tanomtong[2]

บทคัดย่อ: การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน Maturase K (*mat*K) ซึ่งเป็นยีนที่ได้รับการเสนอให้เป็น “บาร์โค้ด” สำหรับพืชบก แล้วสร้างเป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบบาร์โค้ดที่จำเพาะต่อหน้าวัว (*Anthurium andreanum*) แต่ละสายพันธุ์ แล้วใช้จำแนกสายพันธุ์ของหน้าวัวที่ยังไม่ทราบชื่อ โดยใช้หน้าวัวที่ทราบชื่อสายพันธุ์ 10 ตัวอย่าง และที่ไม่ทราบชื่อสายพันธุ์ 2 ตัวอย่าง พบว่า ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *mat*K มีความยาวเฉลี่ยเท่ากับ 753.3 คู่เบส และอยู่ในช่วง 535 – 956 คู่เบส เมื่อเปรียบเทียบความคล้ายคลึงกับสิ่งมีชีวิตต่างๆ พบว่า มีหน้าวัวเพียง 3 สายพันธุ์เท่านั้นที่ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *mat*K มีความคล้ายคลึงกับพืชชนิดอื่น ได้แก่ ขาวปทุมวัน เรดฮอท และเชอรี่พิงค์ และเมื่อศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ พบว่า ค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.52 โดยมีค่าต่ำที่สุด (0.18) ระหว่างสายพันธุ์เชอรี่พิงค์ กับ เรดฮอท และมีค่าสูงที่สุด (0.62) ระหว่างสายพันธุ์ชมพูนพพร กับ เมอร์ริงเก้ การทดสอบระบุสายพันธุ์หน้าวัวที่ไม่ทราบชื่อ 2 ตัวอย่าง สามารถระบุได้ว่า ตัวอย่างที่ 1 คือ สายพันธุ์ซันเรด ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะและสีของจานรองดอกของสายพันธุ์ซันเรดมาตรฐาน แต่อย่างที่ 2 ยังไม่สามารถระบุสายพันธุ์ได้ ทั้งนี้เพราะเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบบาร์โค้ดที่สร้างขึ้นนั้นมาจากหน้าวัวเพียง 10 สายพันธุ์ ไม่ใช่สายพันธุ์ต่างๆ ทั้งหมดที่มีจำหน่ายในท้องตลาด จำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องมีการศึกษาเพิ่มเติม

คำสำคัญ: ดีเอ็นเอบาร์โค้ด, หน้าวัว, ระบุสายพันธุ์, *mat*K

ABSTRACT: The chloroplast maturase K (*mat*K) gene is one of the most variable coding genes of angiosperms and has been suggested to be a “barcode” for land plants. Therefore, the *mat*K sequences were used as the DNA barcode for identification of *Anthurium andreanum* by using 10 standard cultivars and 2 unknown samples. The length of *mat*K sequences from these cultivars ranged from 535 to 956 bp and the average length was 753.3 bp. The alignment results showed that the *mat*K sequence of only 3 cultivars, Koa Pathumwan, Red Hot and Cherry Pink, were similar to *mat*K sequence of other plants. The phylogenetic analysis indicated that the genetic distance had an average of 0.52. The lowest value (0.18) was between Cherry Pink and Red Hot and the highest value (0.62) was between Chompoo Nopon and Meringue. Identification of 2 unknown samples, clearly identify one sample as Sun Red and identification result was consistent with the morphology and color of spathe. Since the DNA barcode from this study was not cover for all cultivar available, further research should be conducted.

Keywords: DNA barcode, *Anthurium andreanum*, Identification, *mat*K

[1] สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยกาฬสินธุ์
Division of Biotechnology, Faculty of Agro-Industrial Technology, Kalasin University

[2] ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
Department of Biology, Faculty of Science, Khon Kaen University

* Corresponding author: nattapongsri@gmail.com

บทนำ

หน้าวัว (*Anthurium andreanum*) เป็นพืชดอกที่จัดอยู่ในสกุล *Anthurium* วงศ์ Araceae (Arum family) มีชื่อสามัญว่า Flamingo flower หรือ Tail flower เป็นไม้ตัดดอกที่มีสีสดใส และมีอายุการใช้งานที่ยาวนาน นิยมใช้ประโยชน์ทั้งในด้านการตัดดอก การจัดสวน และการใช้เป็นไม้กระถาง (Buldewo et al., 2012) จึงมีการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์มาอย่างยาวนาน จึงเกิดความหลากหลายของสายพันธุ์เป็นอย่างมาก มีการตั้งชื่อสายพันธุ์ลูกผสมที่ได้อย่างหลากหลาย ตามแต่ผู้พัฒนาสายพันธุ์ต้องการ ทำให้หากไม่ใช่เจ้าของหรือผู้พัฒนาสายพันธุ์จะไม่สามารถบอกได้ว่าหน้าวัวแต่ละต้นคือสายพันธุ์ใด ในกรณีที่เกษตรกรหรือผู้มีความสนใจในการพัฒนาสายพันธุ์หน้าวัวจะคัดเลือกหน้าวัวต้นพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ที่มีลักษณะตามที่ต้องการ และต้องการทราบชื่อของต้นพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ดังกล่าว ผู้จำหน่ายก็ไม่สามารถให้ชื่อที่ถูกต้องได้ เนื่องจากเป็นการซื้อขายแบบรับต่อมาอีกที ดังนั้นหากต้องการระบุสายพันธุ์หน้าวัวให้ถูกต้องจำเป็นต้องอาศัยผู้ที่มีความเชี่ยวชาญเกี่ยวกับหน้าวัวโดยเฉพาะ ซึ่งในปัจจุบันยังไม่มีบุคคลหรือองค์กรใดที่สามารถจัดการเรื่องดังกล่าวได้

การระบุชนิดของสิ่งมีชีวิตด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบบาร์โค้ด (DNA barcode) มีแนวคิดมาจากการทำบาร์โค้ดในสินค้าต่างๆ แล้วนำมาประยุกต์ใช้ในการระบุชนิดและจำแนกสิ่งมีชีวิตเพื่อลดความผิดพลาด มีความรวดเร็วในการจำแนกสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ โดยเลือกลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอที่แสดงความแตกต่างระหว่างชนิดสูงแต่มีความต่างระหว่างชนิดเดียวกันต่ำมาใช้เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบบาร์โค้ดในการจำแนกสิ่งมีชีวิต (พรรษา และคณะ, 2556) Chase et al. (2007) ได้เสนอให้มีการศึกษาเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีนและบริเวณที่ไม่ถอดรหัสของพืช 3 บริเวณต่อพืช 1 ชนิด โดยเสนอทางเลือกเป็น 2 แนวทาง คือ *rpo*C1, *mat*K และ *trn*H-*psb*A intergenic spacer หรือ *mat*K, *rpo*B และ *rpo*C1 ส่วน Hollingsworth et al. (2009) ได้เสนอบริเวณมาตรฐาน 2 บริเวณ คือ *rbc*L และ *mat*K เป็น core barcode regions ในการสร้างเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบบาร์โค้ดของพืช จากนั้นจึงมีการนำเทคนิคการสร้างเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบบาร์โค้ดไปใช้ประโยชน์ในการจำแนกชนิดของพืชระดับสปีชีส์เป็นส่วนใหญ่ อย่างไรก็ตาม มีงานวิจัยบางส่วนที่นำไปใช้จำแนกระดับสายพันธุ์ (cultivars) เช่น การจำแนกสายพันธุ์องุ่น (Galbács et al., 2009) ส้มโอ (Wu et al., 2014) ฝ้าย (Zhao et al., 2012) และละหุ่ง (Enan et al., 2012) เป็นต้น ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน Maturase K (*mat*K) ซึ่งองค์กร The Consortium for the Barcode of Life (CBOL) แนะนำให้ใช้เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบบาร์โค้ดของพืช เนื่องจากมีอัตราการเกิดวิวัฒนาการเพียงพอที่จะทำให้เกิดความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ช่วยให้จำแนกพืชคนละชนิดออกจากกันได้ (พรรษา และคณะ, 2556) ซึ่งดีเอ็นเอแบบบาร์โค้ดนี้จะใช้ระบุสายพันธุ์หน้าวัวให้ถูกต้องรวดเร็ว และรวบรวมไว้เป็นฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดของหน้าวัวต่อไป

วิธีการศึกษา

การรวบรวมสายพันธ์หน้าวัวและการสกัดดีเอ็นเอ

เก็บตัวอย่างหน้าวัวสายพันธุ์ต่างๆ 10 สายพันธุ์ (**Table 1**) และตัวอย่างหน้าวัวที่ไม่ทราบชื่อสายพันธุ์ 2 ตัวอย่าง ทำการสกัดดีเอ็นจากตัวอย่างใบอ่อนหน้าวัว (Dolye and Dolye, 1987) โดยนำใบพืชมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ บดใบพืชที่หั่นแล้วประมาณ 0.2 กรัม ในไนโตรเจนเหลวจนละเอียด จากนั้นเติม Extraction buffer (0.1 M Tris - HCl, 0.05 M EDTA, 0.1 M NaCl, 0.5% SDS) ปริมาตร 500 ul บ่มที่อุณหภูมิ 65 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วเติมสารละลาย Phenol : Chloroform : Isoamyl alcohol (25 : 24 : 1) ปริมาตร 500 ul นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นดูดสารละลายส่วนใสใส่ในหลอดใหม่ แล้วเติม Isopropanol ที่แช่เย็นจัด 500 ul ปล่อย

ให้ดีเอ็นเอตกตะกอนที่อุณหภูมิ -20 °C เป็นเวลา 20 นาที แล้วปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เทสารละลายทิ้ง จากนั้นล้างตะกอนด้วย 70% Ethanol 500 ul ปล่อยให้แห้งในโถดูดความชื้น 15 นาที ละลายดีเอ็นเอด้วย TE buffer 40 ul ตรวจสอบคุณภาพของดีเอ็นเอที่สกัดได้โดยวิธี 0.8% agarose gel electrophoresis

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีน *mat*K ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้ไปเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีน *mat*K ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (polymerase chain reaction; PCR) โดยมีปริมาตรรวมทั้งหมด 25 ul ประกอบด้วย 1xPCR buffer, 0.4 mM dNTP, 2.0 mM $MgCl_2$, 0.5 uM primer, 0.5 unit *Taq* polymerase (Vivantis) และดีเอ็นเอต้นแบบ 20 ng โดยคู่ไพรเมอร์ที่ใช้สำหรับเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ คือ 5′-CGTACAGTACTTTTGTGTTTACGAG-3′ และ 5′-ACCCAGTCCATCTGGAAATCTTGGTTC-3′ (Costion et al., 2011) แล้วทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในเครื่อง PCR ซึ่งโปรแกรมที่ใช้ในปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสประกอบด้วยขั้นตอนต่างๆ ดังนี้ pre-denaturation ที่ 94°C (1 นาที) 1 รอบ denaturation ที่ 94°C (30 วินาที) annealing 50°C (20 วินาที) และ extension ที่ 72°C (50 วินาที) เป็นจำนวน 35 รอบ และ final extension ที่ 72°C (5 นาที) 1 รอบ

การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

นำผลผลิต PCR ส่งวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *mat*K (Gibthai Co., Ltd.) นำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ไปเปรียบเทียบความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของสิ่งมีชีวิตต่างๆ ในฐานข้อมูล GenBank โดยใช้โปรแกรม BLASTn (NCBI; www.ncbi.nlm.nih.gov) (Altschul et al., 1990) ทำการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *mat*K ในหน้าวัวแต่ละสายพันธุ์โดยใช้โปรแกรม ClustalW และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการโดยการสร้างแผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) ด้วยวิธี Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA) โดยใช้โปรแกรม MEGA 6.0 (Tamura et al., 2013)

การทดสอบการระบุสายพันธุ์หน้าวัวด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบบาร์โค้ด

นำตัวอย่างหน้าวัวที่ไม่ทราบชื่อสายพันธุ์จากแหล่งจำหน่าย จำนวน 2 ตัวอย่าง นำมาสกัดดีเอ็นเอและเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีน *mat*K แล้วเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์กับหน้าวัวสายพันธุ์มาตรฐานที่สร้างไว้ เพื่อระบุว่าตัวอย่างหน้าวัวนั้น คือหน้าวัวสายพันธุ์ใด โดยพิจารณาลักษณะทางสัณฐานวิทยาประกอบด้วย

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การสกัดดีเอ็นเอตามวิธีของ Dolye and Dolye (1987) พบว่า ดีเอ็นเอที่สกัดได้มีแถบของจีโนมิคดีเอ็นเอ (genomic DNA) ขนาดใหญ่ที่ชัดเจน (**Figure 1A**) สามารถนำไปใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีน *mat*K ต่อไปได้ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส จากการนำผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (amplification product) 5 ul ไปตรวจสอบโดยเทคนิค electrophoresis ด้วย 1.5% agarose gel เปรียบเทียบขนาดของชิ้น DNA กับ 1kb DNA ladder marker (Vivantis) และย้อมด้วย ethidium bromide ถ่ายภาพแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏ พบว่า ผลผลิตที่ได้มีขนาดประมาณ 900 คู่เบส (**Figure 1B**) และเมื่อเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *mat*K ของหน้าวัวแต่ละสายพันธุ์ด้วยโปรแกรม ClustalW พบว่า แต่ละสายพันธุ์มีความยาวของลำดับนิวคลีโอไทด์ยีน *mat*K ไม่เท่ากัน โดยมีความยาวอยู่ในช่วง 539 – 956 คู่เบส และความยาวเฉลี่ยเท่ากับ 753.3 คู่เบส (**Table 1**) ใกล้เคียงกับความยาวของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *mat*K ของหน้าวัว Accession number FN668824 แต่ไม่ทราบชื่อสายพันธุ์ ซึ่งมีความยาวเท่ากับ 789 คู่เบส ซึ่งเป็นรายงานเดียวที่มี

ในฐานข้อมูล GenBank จากการเปรียบเทียบความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์ยีน *mat*K ของหน้าวัว 10 สายพันธุ์ดังกล่าวกับฐานข้อมูล GenBank พบว่ามีเพียง 3 สายพันธุ์เท่านั้นที่ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ PCR product มีความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *mat*K ของพืชชนิดอื่น ได้แก่ ขาวปทุมวัน เรดฮอท และเชอรี่พิงค์ ซึ่งมีความคล้ายคลึงกับ *Aletris spicata*, *Epipremnum pinnatum*, และ *Steudnera assamica* ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเนื่องมากจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *mat*K ของหน้าวัวสายพันธุ์ต่างๆ ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ยังไม่มีการรายไว้ในระบบฐานข้อมูลดังกล่าว

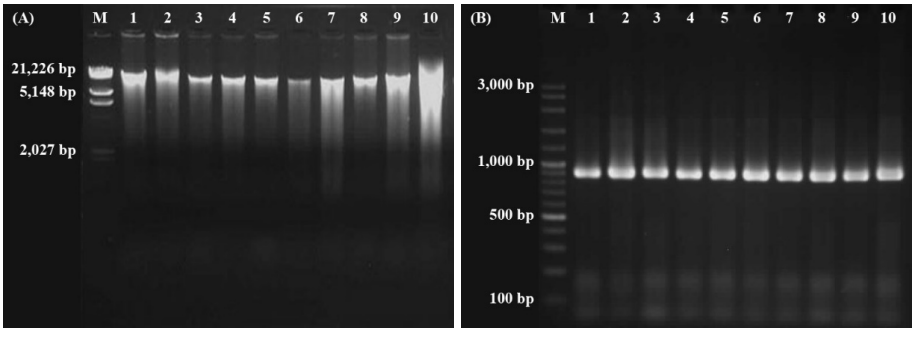

Figure 1 Agarose gel electrophoresis of genomic DNA from various cultivars of *Anthurium andreanum* (A) and PCR products (B). Lanes are numbered according to the taxon list shown in **Table 1**.

ค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างหน้าวัวทั้ง 10 สายพันธุ์จากวิธี p-distance method มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.52 โดยมีค่าต่ำที่สุดเท่ากับ 0.18 ระหว่างสายพันธุ์เชอรี่พิงค์ กับ เรดฮอท และมีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 0.62 ระหว่างสายพันธุ์ชมพูนพพร กับ เมอร์ริงเก้ จากการพิจารณาลักษณะของปลีและสีของจานรองดอกหรือ ใบประดับ พบว่า หน้าวัวสายพันธุ์เชอรี่พิงค์และเรดฮอทมีลักษณะปลีและสีของจานรองดอกเป็นสีชมพูอ่อนคล้ายคลึงกันในระยะแรก แต่อย่างไรก็ตาม จานรองดอกของสายพันธุ์เรดฮอทจะมีสีเข้มขึ้นในช่วงที่ดอกแก่จัด ส่วนสายพันธุ์ชมพูนพพรและเมอร์ริงเก้มีสีของจานรองดอกแตกต่างกันอย่างชัดเจนคือสีชมพูและสีขาว ตามลำดับ

Table 2 Summary of *mat*K sequences of 10 cultivars of *Anthurium andreanum*.

No.	Taxon	Thai name	Sequences	Genetic distance									
			Length (bp)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1.	Sang Tien	แสงเทียน	719	0.00									
2.	Plewtien Lampang	เปลวเทียนลำปาง	778	0.59	0.00								
3.	Chompoo Nopon	ชมพูนพพร	910	0.45	0.54	0.00							
4.	Koa Pathumwan	ขาวปทุมวัน	919	0.59	0.41	0.57	0.00						
5.	Red Bar	เรดบาร์	902	0.22	0.57	0.48	0.57	0.00					
6.	Red Strong	เรดสตรอง	956	0.59	0.33	0.56	0.38	0.57	0.00				
7.	Red Hot	เรดฮอท	641	0.51	0.58	0.55	0.57	0.51	0.57	0.00			
8.	Sun Red	ซันเรด	615	0.58	0.56	0.60	0.54	0.57	0.57	0.51	0.00		
9.	Cherry Pink	เชอรี่พิงค์	535	0.50	0.58	0.56	0.57	0.49	0.57	**0.18**	0.52	0.00	
10.	Meringue)	เมอร์ริงเก้	558	0.58	0.57	**0.62**	0.55	0.59	0.57	0.54	0.20	0.53	0.00
Average			753.3	0.52									

แผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (**Figure 2**) แสดงให้เห็นว่า หน้าวัวทั้ง 10 สายพันธุ์ แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยสายพันธุ์เปลวเทียนลำปาง เรดสตรอง ขาวปทุมวัน เมอร์ริงเก้ และซันเรด กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยสายพันธุ์แสงเทียน ชมพูนพพร เรดบาร์ เรดฮอท และเชอรี่พิงค์ โดยการจัดกลุ่มดังกล่าวเป็นการจัดกลุ่มตามความใกล้ชิดทางพันธุกรรม ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของหน้าวัวโดยการสร้างลายพิมพ์เอเอฟแอลพี (ณัฐพงษ์ และคณะ, 2558) โดยสมาชิกในแต่ละกลุ่มจะมีสีของจานรองดอกที่คล้ายคลึงกัน แต่จะแตกต่างกันในส่วนของสีปลี และลักษณะการเปลี่ยนสีของทั้งปลีและจานรองดอกเมื่ออายุมากขึ้น (ณัฐพงษ์ และคณะ, 2558)

การทดสอบการระบุสายพันธุ์หน้าวัวที่ไม่ทราบชื่อสายพันธุ์ 2 ตัวอย่างด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบบาร์โค้ดที่สร้างขึ้นนี้ พบว่า ตัวอย่างที่ 1 (Unknown01) ถูกจัดอยู่ใกล้ชิดกับหน้าวัวสายพันธุ์ซันเรดบนแผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ ด้วยค่า Bootstrap 100% (**Figure 2**) ซึ่งค่า Bootstrap มีความสัมพันธ์กับความเชื่อมั่นในผลการวิเคราะห์สายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ โดยค่า Bootstrap 85-100% แสดงถึงความเชื่อมั่นระดับสูง ค่า Bootstrap 71-84% แสดงถึงความเชื่อมั่นระดับปานกลาง ค่า Bootstrap 50-70% แสดงถึงความเชื่อมั่นระดับต่ำของสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการที่ได้ (ดวงกมล และคณะ, 2548) จากการพิจารณาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของตัวอย่างที่ 1 พบว่า มีลักษณะของใบเป็นรูปหัวใจยาวปลายเรียวแหลม จานรองดอกสีแดงสดแต่เมื่ออายุมากขึ้นจะเปลี่ยนเป็นสีเขียว และปลีสีเขียวเหมือนกับสายพันธุ์ซันเรดมาตรฐาน แสดงว่าตัวอย่างที่ 1 เป็นหน้าวัวสายพันธุ์ซันเรดจริง ส่วนตัวอย่างที่ 2 (Unknown02) ถูกแยกออกจากหน้าวัวสายพันธุ์ต่างอย่างชัดเจน (**Figure 2**) ด้วยค่า Bootstrap 100% แสดงว่า DNA barcode ในงานวิจัยนี้ ยังไม่ครอบคลุมกับหน้าวัวสายพันธุ์ต่างๆ ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด ซึ่งเคยมีการรวมรวมสายพันธุ์ต่างๆ ที่มีในประเทศไทยไว้ได้ถึง 33 สายพันธุ์ (ณัฐพงษ์ และคณะ, 2558) จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องมีการศึกษาเพิ่มเติม

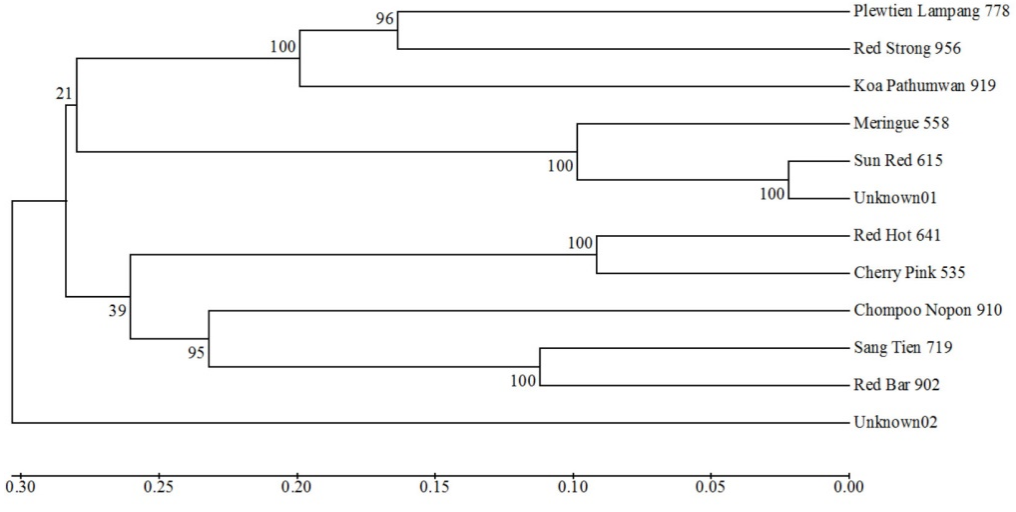

Figure 2 The phylogenetic tree of various cultivars of *Anthurium andreanum* was inferred using the UPGMA method. Evolutionary analyses were conducted in MEGA 6.0 (Tamura et al., 2013).

สรุป

ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *mat*K มีความยาวเฉลี่ยเท่ากับ 753.3 คู่เบส ค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.52 โดยมีค่าต่ำที่สุดเท่ากับ 0.18 ระหว่างสายพันธุ์เชอรี่พิงค์ กับ เรดฮอท และมีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 0.62 ระหว่างสายพันธุ์ชมพูนพพร กับ เมอร์ริงเก้ Phylogenetic tree แบ่งหน้าวัวออกเป็น 2 กลุ่ม คือ 1) เปลวเทียนลำปาง เรดสตรอง ขาวปทุมวัน เมอร์ริงเก้ และซันเรด และ 2) แสงเทียน ชมพูนพพร เรดบาร์ เรดฮอท และเชอรี่พิงค์ ตัวอย่างที่ไม่ทราบชื่อสายพันธุ์ตัวอย่างที่ 1 คือ หน้าวัวสายพันธุ์ซันเรด โดยมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาตรงกัน คือ ลักษณะใบ จานรองดอก และปลี เหมือนกัน ส่วนตัวอย่างที่ 2 ยังไม่สามารถระบุได้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยกาฬสินธุ์ ที่เอื้อเฟื้ออาคารสถานที่และเครื่องมือในการทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

ณัฐพงษ์ศรีสมุทร, ประพัฒน์ศรี พันธ์ศรี, และปุณิกา ฉายเสมแสง. 2558. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของหน้าวัวจากเทคนิคลายพิมพ์เอเอฟแอลพี. หน้า 150 - 157. ใน: การประชุมวิชาการพันธุศาสตร์แห่งชาติ ครั้งที่ 19 เรื่อง พันธุศาสตร์และจีโนมิกส์: จากการศึกษาระดับโมเลกุลสู่การประยุกต์. 15 – 17 กรกฎาคม 2558. โรงแรมเซ็นทาราแอนคอนเวนชันเซนเตอร์ขอนแก่น, จังหวัดขอนแก่น.

ดวงกลม ทองอร่าม, วุฒิพงศ์ มหาคำ, และคทาวุธ นามดี. 2548. การจำแนกพืชสกุล *Caulokaempferia* K. Larsen (วงศ์ขิง) โดยการวิเคราะห์สายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการจากข้อมูลทางชีววิทยาระดับโมเลกุล. วารสารวิจัย มข. 10: 5-12.

พรรษา มนต์แข็ง, อรุณรัตน์ ฉวีราช, ธวัดชัย ธานี, และรุ่งลาวัลย์ สุดมูล. 2556. ดีเอ็นเอบาร์โค้ดเพื่อการระบุชนิดสมุนไพรแปรรูปสกุล *Senna*. 13th Graduate Research Conference. 13: 532-543.

Altschul S.F., W. Gish, W. Miller, E.W. Myers, and D.J. Lipman. 1990. Basic local alignment search tool. J. Mol. Biol. 215: 403-10.

Buldewo S, M. Pillay, and Y. Jaufeerally-Fakim. 2012. Genetic diversity in *Anthurium andraeanum* cultivars in Mauritius. Afr. J. Biotechnol. 103: 16737-16744.

Chase, M.W., R.S. Cowan, P.M. Hollingsworth, C. van den Berg, S. Madriñán, G. Petersen et al. 2007. New trends in plant systematics: a proposal for a standardized protocol to barcode all land plants. Taxon. 56: 295-299.

Costion, C., A. Ford, H. Cross, D. Crayn, M. Harrington, and A. Lowe. 2011. Plant DNA barcodes can accurately estimate species richness in poorly known floras. PLoS One. 6: e26841.

Doyle, J.J., and J.L. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochemistry Bulletin. 19:11-15.

Enan, M., N. Fawzi, M. Al-Deeb, and K. Amiri. 2012. DNA barcoding of *Ricinus communis* from different geographical origin by using chloroplast *mat*K and internal transcribed spacers. Am. J. Plant. Sci. 3: 1304-1310.

Galbács, Z., G. Halász, P. Kozma, S. Hoffmann, L. Kovác, A. Veres et al. 2009. Identification of grapevine cultivars using microsatellite-based DNA barcodes. Vitis. 48: 17-24.

Hollingsworth, P.M., L.L. Forrest, J.L. Spouge, M. Hajibabaei, S. Ratnasingham, M. van der Bank et al. 2009. A DNA barcode for land plants. PNAS. 106: 12794-12797.

Tamura, K., G. Stecher, D. Peterson, A. Filipski, and S. Kumar. 2013. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. Mol. Biol. Evol. 30: 2725-2729.

Wu, B., G. Zhong, J. Yue, R. Yang, C. Li, Y. Li et al. 2014. Identification of pummelo cultivars by using a panel Of 25 selected SNPs and 12 DNA segments. PLoS ONE. 9(4): e94506.

Zhao, L., C. Cai, H.X. Mei, and W.Z. Guo. 2012. Screening of microsatellite loci for identifying genome barcoding of cotton cultivars. Acta. Agron. Sin. 38: 1810-1817.