การรวบรวมพันธุ์หอมแดงและศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม ด้วยโมเลกุลเครื่องหมาย SSR

ศิริยา มากมี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบรูณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพืชสวน
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2560

การรวบรวมพันธุ์หอมแดงและศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม
ด้วยโมเลกุลเครื่องหมาย SSR

ศิริยา มากมี

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพืชสวน

พิจารณาเห็นชอบโดย **อาจารย์ที่ปรึกษา**

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก .....
(อาจารย์ ดร.ปรีดา นาเทเวศน์)
วันที่ 9 เดือน พ.ค. พ.ศ. 2560

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สิริวัฒน์ สาครวาสี)
วันที่ 9 เดือน พ.ค. พ.ศ. 2560

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(อาจารย์ ดร.ประนอม ยังคำมั่น)
วันที่ 11 เดือน พ.ค. พ.ศ. 2560

ประธานอาจารย์ประจำหลักสูตร .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีรนุช เจริญกิจ)
วันที่ 11 เดือน พค พ.ศ. 2560

บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
วันที่ 11 เดือน พ.ค. พ.ศ. 2560

ชื่อเรื่อง การรวบรวมพันธุ์หอมแดงและศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมด้วยโมเลกุลเครื่องหมาย SSR

ชื่อผู้เขียน นางสาวศิริยา มากมี

ชื่อปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก อาจารย์ ดร.ปรีดา นาเทเวศน์

บทคัดย่อ

หอมแดง (Shallot) เป็นพืชผักเศรษฐกิจที่สำคัญเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยในประเทศไทยหอมแดงเป็นพืชที่ปลูกทั่วไปหลังฤดูกาลทำนา อย่างไรก็ตามข้อมูลด้านความหลากหลายของพันธุกรรมหอมแดงในประเทศไทยยังมีน้อย การศึกษาครั้งนี้จึงได้ทำการรวบรวมพันธุ์หอมแดงจากแหล่งปลูกหลักในเขตพื้นที่ภาคเหนือของประเทศไทยและปลูกเปรียบเทียบกับเมล็ดพันธุ์จากบริษัทเมล็ดพันธุ์ ซึ่งพื้นที่ๆ ทำการเก็บรวบรวมหัวพันธุ์มีทั้งหมด 6 จังหวัด คือ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน พะเยา อุตรดิตถ์ และแม่ฮ่องสอน ผลการศึกษาพบว่าหอมแดงทั้งหมดที่ทำการรวบรวมได้ทั้งหมด 59 รหัสพันธุ์ มีความแตกต่างกันทางลักษณะทางสัณฐานวิทยาด้านสีของหัว ลักษณะของหัวที่เป็นแบบแง่ง และแบบหัวเดี่ยว และเมื่อทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมด้วยเครื่องหมายโมเลกุล SSR จำนวน 21 เครื่องหมาย พบว่าเครื่องหมายโมเลกุลจำนวน 10 เครื่องหมาย คือ ACM018, ACM046, ACM068, ACM243, ACM300, ACM303, ACM316, ACM318, AMS23 และ Af5ss สามารถใช้ในการจำแนกได้โดยแสดงแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน(polymorphic DNA) โดยมีแถบดีเอ็นเอตั้งแต่ 1 ถึง 3 แถบ ค่าเฉลี่ยจำนวนอัลลีลอยู่ที่ 1.6 อัลลีล ค่า average gene diversity มีช่วงตั้งแต่ 0.18 ถึง 0.85 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.47±0.19 ค่า Polymorphism information content (PIC) มีช่วงตั้งแต่ -0.56 ถึง 0.91 เฉลี่ยเท่ากับ 0.50±0.44 นอกจากนี้การศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในหอมแดง พบว่าหอมแดงที่มาจากเมล็ดพันธุ์มีปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่าหอมแดงที่ปลูกจากหัวพันธุ์

Title	Shallot (Allium Ascalonicum) Germplasm Collections and Genetic Diversity Study by Using SSR Markers
Author	Miss Siriya Markme
Degree	Master of Science Program in Horticulture
Advisor Committee Chairperson	Dr.Preeda Nathewet

ABSTRACT

Shallot (*Allium ascalonicum*) is one of the most economically important vegetable in Southeast Asia. Various types of shallot are grown in Thailand but the genetic diversity among them is still obscure. Therefore, this study was aimed to study genetic diversity of commercial and local shallot variety. The fifty nine accessions of shallot bulb from six provinces and have commercially accessions of shallot seed were collected. Results showed that shallot accessions had diverse morphological characteristics such as bulb color, multiple clove in bulb and single bulb. Genetic diversity analysis using SSR markers found that ten out of twenty one primers showed polymorphic bands ranged from 1-3 bands. The average number of alleles was 1.6 allele per marker and average gene diversity ranged from 0.18 to 0.85 with a mean of 0.47 ± 0.19. Polymorphism information content (PIC) values ranged from -0.56 to 0.91 with an average of 0.50 ± 0.44. In addition, analyses of antioxidants found that shallots grown from bulb had lower amounts of antioxidants than those grown from seed.

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษางานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องด้วยความกรุณาของประธานกรรมการที่ปรึกษา อาจารย์ ดร.ปรีดา นาเทเวศน์ กรรมการที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สิริวัฒน์ สาครวาสี อาจารย์ ดร.ประนอม ยังคำมั่น และอาจารย์ ดร.เกษศีนี สิทธิวงศ์ ที่ให้ความช่วยเหลือและสนับสนุน พร้อมทั้งให้คำปรึกษา และคำแนะนำในการแก้ไขปัญหา ตลอดระยะเวลาในการดำเนินงานวิจัย อีกทั้งยังสละเวลาอันมีค่าในการตรวจแก้ไขปัญหาวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบรูณ์ รวมทั้งยังคอยให้กำลังใจแก่ข้าพเจ้ามาโดยตลอด ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

นอกจากนี้ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ คุณแม่สมจิตร มากมี และนางสาวศิริมาส มากมี ครอบครัวของข้าพเจ้าที่ได้มอบโอกาสที่ดีในการศึกษาครั้งนี้ รวมถึงพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ในห้องปฏิบัติการพืชผักที่คอยให้กำลังใจและให้ความช่วยเหลือมาโดยตลอด

ศิริยา มากมี

พฤษภาคม 2560

สารบัญ

สารบัญตาราง

สารบัญภาพ

บทที่ 1
บทนำ

ที่มาและความสำคัญของปัญหา

หอมแดง *(Allium ascalonicum)* เป็นพืชผักเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทยและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ในประเทศไทย หอมแดงเป็นพืชที่โดยทั่วไปจะปลูกหลังฤดูกาลทำนา ปลูกมากในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ ด้วยรสชาติและกลิ่นที่เป็นเอกลักษณ์ช่วยปรุงแต่งอาหารให้มีรสชาติดียิ่งขึ้น มีคุณค่าทางโภชนาการและยังมีสรรพคุณทางยาในการใช้รักษาโรคต่างๆ รวมไปถึงสามารถนำไปใช้เป็นสารยับยั้งการเจริญของเชื้อราและแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดและไม่เกิดโรคในคน จึงทำให้หอมแดงได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายและกระจายสู่ทวีปเอเชียจนถึงปัจจุบัน เป็นที่รู้จักแพร่หลายว่าหอมแดงเป็นสมุนไพรที่มีคุณสมบัติในการรักษาโรคและมีสรรพคุณที่เป็นประโยชน์อีกมากมาย หอมแดงช่วยในการยับยั้งโรคต่างๆ ที่เกิดในมนุษย์ อาทิเช่น ยับยั้งการขยายตัวของเซลล์มะเร็งในลำไส้ ลดการตีบตันของหลอดเลือดหัวใจ (Mnayer et al., 2014) หอมแดงยังเป็นตัวยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระที่ร่างกายผลิตขึ้นมาอีกด้วย ช่วยชะลอการเกิดริ้วรอยบนใบหน้าและร่างกาย ช่วยให้ผิวมีความชุ่มชื่น จึงมีการนำสารสกัดจากหอมแดง หอมหัวใหญ่ และกระเทียม มาใช้เป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอางกันมากขึ้นในปัจจุบัน นอกจากนี้ยังพบว่าพืชตระกูลหอม เช่น กระเทียม หอมแดง สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis, B. cereus, S. aureus* และ *E. coli* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (สุนิดา และคณะ, 2557) แต่อย่างไรก็ตามข้อมูลด้านความแตกต่างและความหลากหลายของพันธุกรรมหอมแดงในประเทศไทยเพื่อการอนุรักษ์และนำไปใช้ประโยชน์ยังมีน้อย อีกอย่างในสภาวะที่ภูมิอากาศของโลกมีการเปลี่ยนแปลง การเก็บรักษาและรวบรวมเชื้อพันธุกรรมมีความจำเป็นอย่างยิ่งเพื่อนำไปใช้ในการพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงมุ่งเน้นการเก็บรวมรวมเชื้อพันธุ์หอมแดงจากแหล่งผลิตหลักต่างๆ ของประเทศ รวมไปถึงในพื้นที่ๆ ไม่มีการผลิตเพื่อการค้า เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของหอมแดงในประเทศไทย รวมไปถึงองค์ประกอบทางเคมีของหอมแดงแต่ละตัวอย่างที่ปรากฏในพื้นที่เขตภาคเหนือของประเทศไทย

วัตถุประสงค์

เพื่อรวบรวมและศึกษาความหลากหลายพันธุกรรมของหอมแดงในเขตภาคเหนือของประเทศไทย ทั้งด้านลักษณะทางสัณฐานวิทยา และอณูวิทยา และองค์ประกอบของปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของหอมแดงในเขตภาคเหนือของประเทศไทย

ขอบเขตของการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้ทำการรวบรวมและศึกษาความหลากหลายของหอมแดงในเขตภาคเหนือของประเทศไทยเท่านั้น โดยทำการเก็บรวบรวมหัวพันธุ์ทั้งในแปลงปลูกเพื่อการค้าและการบริโภคภายในครัวเรือน และมีหอมแดงจากเมล็ดพันธุ์เป็นพันธุ์เปรียบเทียบ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

งานวิจัยนี้สามารถแสดงความแตกต่างของพันธุ์หอมแดงที่เก็บรวบรวมจากแหล่งต่างๆ ทั้งทางสัณฐานวิทยา และทราบเครื่องหมายโมเลกุลที่สามารถใช้สำหรับจำแนกหอมแดงเพื่อการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมของหอมแดงในเขตภาคเหนือ รวมถึงทราบความแตกต่างของปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในหอมแดงพันธุ์ต่างๆ

บทที่ 2

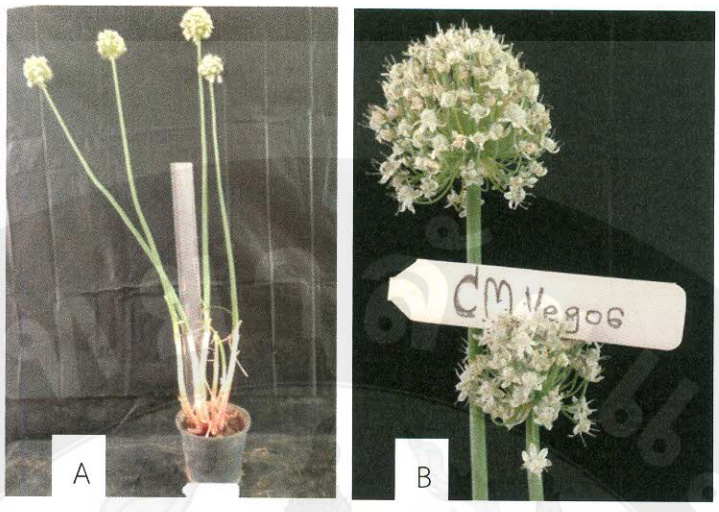
การตรวจเอกสาร

ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับหอมแดง

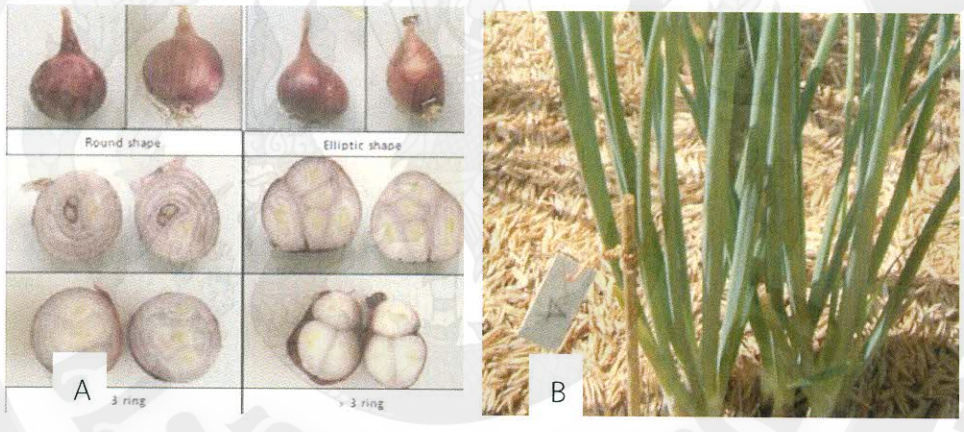
หอมแดง (Shallot) มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Allium ascalonicum* อยู่ในสกุล *Allium* พืชเศรษฐกิจที่สำคัญ ในสกุลนี้ประกอบไปด้วย หอมหัวใหญ่ ต้นหอมญี่ปุ่น กระเทียมต้น กระเทียม และหอมแดง พืชในสกุลนี้มีการกระจายตัวอยู่ตามธรรมชาติ ตั้งแต่เขตหนาวกึ่งร้อน เขตร้อน และเขตขั้วโลก มีอยู่ประมาณ 750 ชนิด และประมาณ 20 ชนิดถูกมนุษย์นำมาบริโภค ใช้ประโยชน์ทางยา และเป็นพืชสวยงาม (Brewster, 1994 ; Rabinowitch and Currah, 2002 ; Davis, 1992) พื้นที่ ๆ มีความหลากหลายทางพันธุกรรมมากที่สุดของพืชสกุลนี้ อยู่ในเขตเมอดิเตอร์เรเนียนไปจนถึงเอเชียกลางและประเทศปากีสถาน และรองลงมาคือ ทางด้านตะวันตกของอเมริกาเหนือ หอมแดงมีถิ่นกำเนิดอยู่ในตะวันออกกลาง แถบประเทศอิหร่าน อัฟกานิสถานและปากีสถาน (Fritsch and Friesen, 2002) และพื้นที่ๆ ทำการปลูกมากอยู่ในประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้รวมถึงประเทศไทย

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของหอมแดง

หอมแดงจัดเป็นพืชล้มลุกที่มีส่วนของลำต้นอยู่ใต้ดิน มีหัวใต้ดินแบบ Tunic bulb ลักษณะกลมแป้น เส้นผ่านศูนย์กลาง 2-4 เซนติเมตร มีลักษณะอวบน้ำ ทำหน้าที่เก็บสะสมอาหาร สามารถเพิ่มจำนวนได้โดยการเพิ่มจำนวนแง่ง หอมแดงมีใบเดี่ยว (Simple leaf) ที่หนา เรียงเวียนซ้อนกัน ใบมีลักษณะที่พองออก สูงประมาณ 30 เซนติเมตร มีสีเขียวเข้มหรือสีเขียวอ่อน ช่อดอกมีลักษณะเหมือนซี่ร่ม (Umbel) ประกอบไปด้วยดอกย่อยจำนวนมาก โดยดอกย่อย 1 ดอก มีกลีบเลี้ยง 6 กลีบ แต่ละช่อจะมีดอกย่อยประมาณ 50-55 ช่อดอกเป็นดอกสมบรูณ์เพศ มีสีขาวปนเขียว เมล็ดมีขนาดเล็กสีดำ (สุกัญญา และ สมภูมิ, 2551 ; Rabinowich and Currah, 2002)



ภาพที่ 1 แสดงลักษณะลำต้น(A) และช่อดอกของหอมแดง(B)



ภาพที่ 2 แสดงลักษณะหัว(A) และการเจริญเติบโตด้วยการเพิ่มจำนวนของใบ(B)

ที่มา: ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ

สรรพคุณของหอมแดง

หอมแดงถือว่ายังเป็นพืชผักอีกชนิดหนึ่งที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย ทั้งในทวีปเอเชีย อเมริกา และยุโรป โดยเฉพาะอย่างฝั่งประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ นำมาประกอบอาหารและบริโภคสด หอมแดงมีกลิ่นฉุน รสชาติเผ็ดร้อนเล็กน้อย ด้วยรสชาติที่เป็นเอกลักษณ์ ช่วยปรุงแต่งรสชาติอาหารให้ดียิ่งขึ้นแล้วยังมีคุณค่าทางโภชนาการและสรรพคุณทางยาในการใช้รักษาโรคต่างๆ เช่น ช่วยในการขับลม เจริญอาหาร และยังมีสรรพคุณทางยาในการใช้รักษาโรคต่างๆ ซึ่งในหอมแดง

สดยังมีส่วนประกอบของน้ำมันหอมระเหยจำพวก ไดอัลวินไดรซัลไฟด์ (Diallytrisulfide) ฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) ไกลโคไซด์ (Glycosides) เพคติน (Pectin) และกลูโคคินิน (Glucokinin) (มูลนิธิโตโยต้าประเทศไทย และสถาบันวิจัยโภชนาการมหาวิทยาลัยมหิดล, 2541 ; วีณา, 2543) นอกจากนี้ยังมีการนำหอมแดงไปสกัดเพื่อนำไปใช้เป็นสารยับยั้งการเจริญของเชื้อราและแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดและไม่เกิดโรคในคนได้ (Saravanan et al., 2010) องค์ประกอบทางเคมีในหอมแดงเป็นที่น่าสนใจเนื่องจากสารประกอบเหล่านี้มีความเกี่ยวข้องกับรสชาติและคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระในหอมแดง (Randle and Lancaster, 2002 ; Yang et al., 2004) นอกจากนี้ระดับของสารเหล่านี้อาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับกลไกการต้านเชื้อโรคอีกด้วย (Lanzotti, 2005 อ้างโดย Quynh hoa et al., 2013) สรรพคุณเหล่านี้ถูกค้นพบตั้งแต่ศตวรรษที่ 19 โดยพบว่าหอมแดงและกระเทียมมีคุณสมบัติต้านเชื้อแบคทีเรีย เห็นได้จากในปี 1932 มีการใช้กระเทียมในการรักษาโรคบิด นอกจากนี้ยังใช้รักษาโรคระบาดของโรคในคนอีกด้วย เมื่อไม่นานมานี้ประเทศจีนได้ค้นพบว่าพืชในกลุ่มของหอมและกระเทียมสามารถทำให้ผู้ป่วยมีความเสี่ยงเป็นมะเร็งกระเพาะอาหารลดลงเมื่อรับประทานหอมและกระเทียมเพิ่มขึ้น (Lanzotti, 2006)

โดยสารออกฤทธิ์ที่พบมากในหอมแดงและหอมหัวใหญ่ คือ Quercetin ซึ่งเป็นสารประกอบที่อยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (สุญาณี และคณะ, 2556) โดยมีการยืนยันว่าสารสกัดที่ได้จากหอมแดงมีการตรวจพบ Quercetin ในรูปแบบต่างๆ เช่น quercetin 4'-glucoside, quercetin 7, 4'-diglucoside, quercetin 3, 4'-diglucoside และ quercetin mono-D-glucose ที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ (Fattorosso et al., 2002 ; Terrance et al., 1992 ; Kiviranta et al., 1988 อ้างโดย Nuttakaan et al., 2006)

สายพันธุ์หอมแดง

ในประเทศไทยหอมแดงจัดเป็นพืชเศรษฐกิจสำคัญชนิดหนึ่งที่สร้างรายได้ให้กับประเทศและเกษตรกรเป็นอย่างมาก โดยมีพื้นที่ปลูกมากในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ จังหวัดที่เพาะปลูกหอมแดงมาก ได้แก่ ศรีสะเกษ บุรีรัมย์ นครราชสีมา พะเยา อุตรดิตถ์ สุโขทัย เพชรบูรณ์ ลำพูน ลำปาง เชียงราย และเชียงใหม่ โดยทั่วไปหอมแดงนิยมปลูกหลังการทำนาตั้งแต่เดือนพฤศจิกายนถึงมีนาคม เนื่องจากเป็นช่วงที่มีสภาพอากาศที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของหอมแดงและได้ผลผลิตดี (สุกัญญา และสมภูมิ, 2551) พันธุ์หอมแดงที่นิยมปลูกเพื่อการค้ามี 2 สายพันธุ์หลักได้แก่

พันธุ์ศรีสะเกษ ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ได้รับความนิยมและมีการปลูกทั่วประเทศมีลักษณะประจำพันธุ์ คือมีเปลือกที่หนา สีของเปลือกมีสีม่วงอมแดง หัวกลมป้อม มีรสชาติหวาน มีกลิ่นฉุน มีนวลจับเล็กน้อย นิยมปลูกในจังหวัดศรีสะเกษ เชียงใหม่ ลำพูน และอุตรดิตถ์

ภาพที่ 3 หอมแดงพันธุ์ศรีสะเกษ

ที่มา: http://www.ndoae.com/Data_plant/shallot2010.htm

พันธุ์เชียงใหม่ มีลักษณะประจำพันธุ์ที่มีเปลือกบาง สีของเปลือกที่มีส้มอมเหลือง หัวกลมรี กลิ่นไม่ฉุน รสชาติหวาน สามารถแยกหัวได้อย่างชัดเจน มีนวลจับเล็กน้อย นิยมปลูกในจังหวัดอุตรดิตถ์ และจังหวัดเชียงใหม่ (สุกัญญา และสมภูมิ, 2551)

ภาพที่ 4 หอมแดงพันธุ์เชียงใหม่

ที่มา: http://www.ndoae.com/Data_plant/shallot2010.htm

พันธุ์พื้นเมือง มีลักษณะเด่นที่เปลือกสีขาวหรือขาวอมเหลือง กลิ่นไม่ฉุน รสหวาน ซึ่งส่วนใหญ่เป็นพันธุ์ที่ชาวบ้านเก็บรักษาและปลูกบริโภคภายในครัวเรือน (สุกัญญา และสมภูมิ, 2551) นอกจากนี้ยังมีหอมแขกซึ่งมีลักษณะใกล้เคียงกับหอมแดงที่เกษตรกรบางพื้นที่นิยมปลูก แต่หอมแขกบริโภคไม่ใช่หอมแดง เพราะด้วยความแตกต่างทางด้านกายภาพ ลักษณะภายใน การเจริญเติบโตและที่สำคัญคุณค่าทางอาหารที่ได้รับนับว่าน้อยกว่าหอมแดงมาก การเพาะปลูกหอมแดงส่วนใหญ่เป็นการปลูกด้วยหัวพันธุ์ขยายจากแหล่งผลิตหลัก คือ จังหวัดศรีสะเกษ และจังหวัดอุตรดิตถ์

ภาพที่ 5 หอมพันธุ์พื้นเมือง

การปลูกและการเก็บเกี่ยวหอมแดง

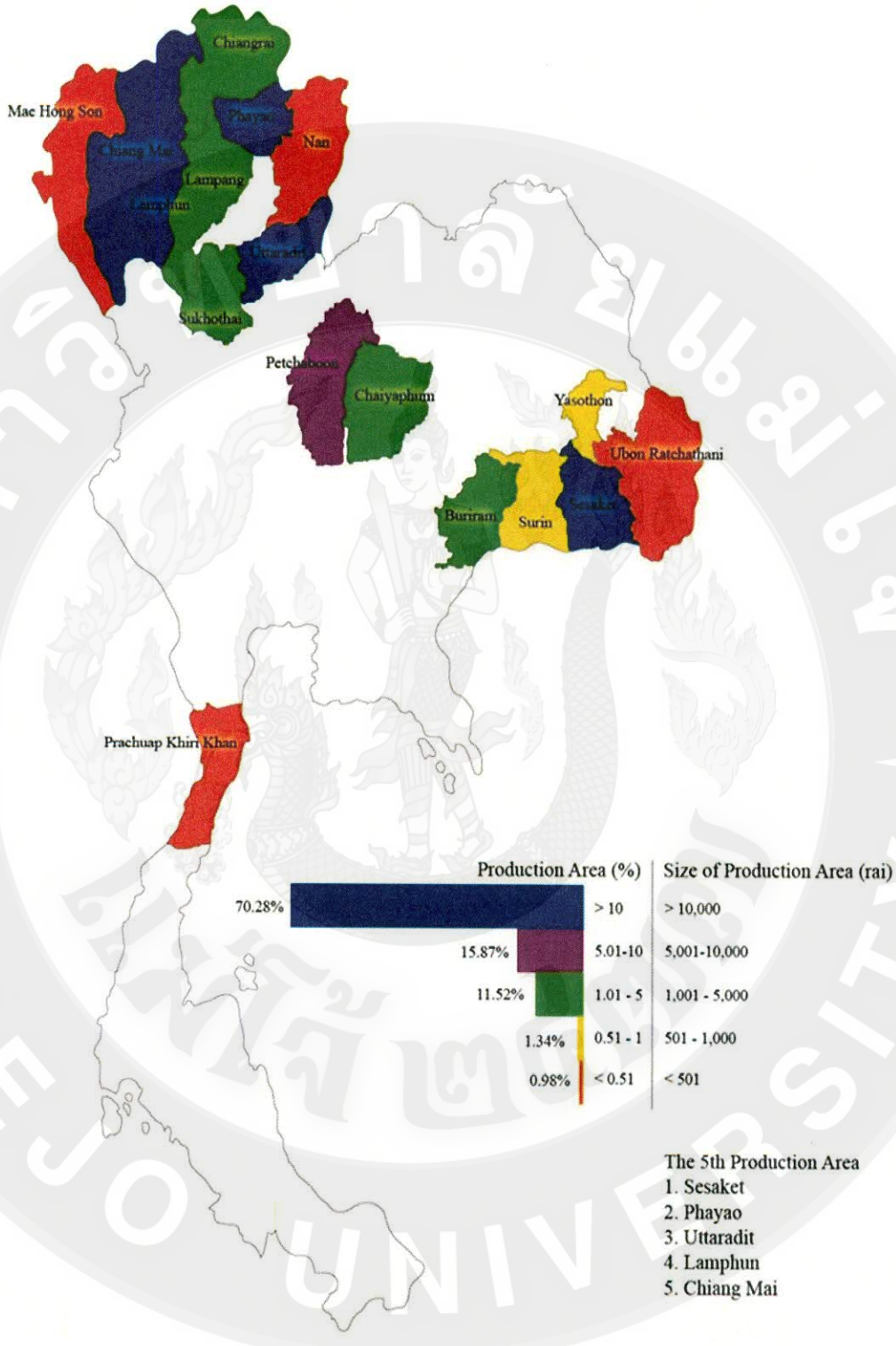
ในการปลูกหอมแดงนั้น ส่วนหัวพันธุ์ของหอมแดงที่จะนำมาทำเป็นพันธุ์เพื่อปลูกขยายจะต้องเป็นหัวที่แก่จัด แห้งสนิท และมีการพักตัวมาระยะหนึ่งแล้วแต่ไม่น้อยกว่า 3 เดือน โดยทำการตัดแต่งทำความสะอาดเอาส่วนที่แห้งออกจะทำให้การงอกของหอมแดงดีขึ้น นำหัวที่ต้องการปลูกจุ่มยากันเชื้อราและผึ่งหัวให้แห้งก่อนทำการปลูก หอมแดงจะงอกภายใน 7-10 วัน (พิชญา, 2556) สภาพอากาศเฉลี่ยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นหอมแดงอยู่ที่ประมาณ 20-35 องศาเซลเซียส ความยาวช่วงแสงประมาณ 11 ชั่วโมง สามารถเจริญเติบโตดีที่ดินร่วนปนทราย แต่ทั้งนี้ก็สามารถเจริญเติบโตได้ทุกสภาพดิน ระยะการปลูกควรอยู่ที่ 15x15 เซนติเมตร

การดูแลรักษา

ใส่ปุ๋ยเคมี สูตร 12-24-12 รองพื้นก่อนทำการปลูก อัตรา 85 กิโลกรัม/ไร่ หลังจากหอมแดงงอก 1-2 สัปดาห์ ทำการหว่านปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 50 กิโลกรัม/ไร่ อายุ 3-4 สัปดาห์ ให้เพิ่มอัตราเป็น 75 กิโลกรัม/ไร่ และอายุ 5-6 สัปดาห์ ให้อัตรา 100 กิโลกรัม/ไร่ ซึ่งหอมจะลงหัวจำเป็นต้องการธาตุอาหาร (สุกัญญา และคณะ, 2551)

ตลาดหอมแดงในประเทศ

จากข้อมูลของศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตรพบว่าในปีเพาะปลูก 2557-2559 ประเทศไทยมีเกษตรกรที่ปลูกมีเนื้อที่เพาะปลูกรวม 48,692 ไร่ เนื้อที่ทำการเก็บเกี่ยว 47,343 ไร่ ได้ผลผลิตรวม 102,519 ตัน ผลผลิตต่อเนื้อที่ปลูก 2,105 กิโลกรัม ราคาเฉลี่ยในปี 2557-2558 อยู่ที่ 16.87 บาท/กิโลกรัม (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร)



ภาพที่ 6 พื้นการปลูกหอมแดงในประเทศไทย

ที่มา: Office of Agricultural Economics

เครื่องหมายทางสัณฐานวิทยา

เครื่องหมายทางสัณฐานวิทยา (morphological marker) หรืออีกชื่อหนึ่งคือ เครื่องหมายทางพันธุกรรม (Genetic markers) เป็นเครื่องหมายที่บ่งชี้ความจำเพาะทางพันธุกรรมที่นำมาใช้ในการจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมและเป็นลักษณะที่สามารถถ่ายทอดไปสู่รุ่นลูกได้ ซึ่งเครื่องหมายเหล่านี้มีการใช้มาเป็นระยะเวลานานแล้วในการปรับปรุงและคัดเลือกพันธุ์พืช เช่น ความแตกต่างทางสรีรวิทยาและสัณฐานวิทยาของสิ่งมีชีวิตที่สามารถแยกความแตกต่างทางสายตาได้ เช่น ความสูงของต้น สีของดอก ลักษณะทรงพุ่ม ลักษณะต่างๆ ที่กล่าวมานี้โดยทั่วไปแล้วมักมีการเปลี่ยนแปลงตามปัจจัยสิ่งแวดล้อม (สุรีพร, 2546) อย่างไรก็ตามหากพืชที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกันมาก จะทำให้ลักษณะปรากฏมักจะไม่สามารถทำการจำแนกได้ จึงได้มีการพัฒนาเครื่องหมายอื่นขึ้นมาใช้ในการจำแนกความแตกต่างของพันธุ์พืชเพื่อให้เกิดความถูกต้องมากขึ้นกว่าเดิม เช่น เครื่องหมายโปรตีน (Protein markers) และเครื่องหมายไอโซไซม์ (Isozyme markers) อย่างไรก็ตามเครื่องหมายเหล่านี้ยังมีข้อจำกัดคือ จำนวนของยีนที่ใช้ในการตรวจสอบยังมีจำนวนน้อย และในขณะที่ทำการศึกษายีนเป้าหมายจะต้องมีการแสดงออกด้วย ฉะนั้นในขั้นตอนการตรวจสอบจะต้องเลือกเนื้อเยื่อของตัวอย่างในระยะที่เหมาะสมกับการทดสอบเพื่อให้เห็นการแสดงออกของยีนได้อย่างชัดเจน อีกทั้งการตรวจสอบด้วยเทคนิคเหล่านี้ยังขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมด้วย จึงมีโอกาสที่ตรวจพบความแตกต่างของโปรตีนในระดับที่ต่ำกว่าที่ควรจะเป็น จึงทำให้นักวิทยาศาสตร์ได้คิดค้นและพัฒนาหาเทคนิคใหม่ๆ ที่มีประสิทธิภาพสำหรับนำมาใช้เป็นเครื่องหมายบ่งบอกความแตกต่างทางพันธุกรรมของพืชได้ดีกว่าเครื่องหมายเหล่านี้ ซึ่งเครื่องหมายที่มีการพัฒนาขึ้นอย่างรวดเร็วและต่อเนื่องในช่วงมากกว่า 30 ปีที่ผ่านมาคือเครื่องหมายโมเลกุลที่บ่งบอกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตในระดับดีเอ็นเอ (DNA: Deoxyribo nucleic acid) ซึ่งเป็นสารพันธุกรรมที่เกิดจากการเรียงตัวกันของลำดับเบส ประกอบด้วย อะดีนีน (Adenine), ไซโตซีน (Cytocine), กัวนีน (Guanine) และไทมีน (Thymine) ในโมเลกุลของดีเอ็นเอแล้วทำให้มีความแตกต่างกันของสิ่งมีชีวิต ซึ่งการเรียงตัวที่แตกต่างกันของลำดับเบสในสิ่งมีชีวิตถือเป็นอัตลักษณ์ของสิ่งมีชีวิตนั้นๆ จึงทำให้สามารถจำแนกความแตกต่างระหว่างชนิดหรือพันธุ์ได้

เครื่องหมายโมเลกุล

ในปัจจุบันเทคนิคทางอณูพันธุศาสตร์ได้เข้ามามีบทบาทสำคัญในงานด้านการปรับปรุงพันธุ์และการศึกษาวิวัฒนาการของพืช เพื่อให้การคัดเลือกพันธุ์ได้ลักษณะที่ดีเด่นและมีความแม่นยำในการคัดเลือกตลอดจนสามารถใช้ในการบ่งบอกความแตกต่างกันของลักษณะทางพันธุกรรมของแต่ละสาย

พันธุ์ได้ เครื่องหมายดีเอ็นเอจึงมีความสำคัญเนื่องจากสามารถใช้ในการคัดเลือกพืชได้โดยตรงในระดับจีโนไทป์

เครื่องหมายที่ใช้เป็นตัวบ่งชี้ความแตกต่างหรือความหลากหลายทางพันธุกรรม (Genetic Diversity) ของสิ่งมีชีวิตในแต่ละสปีชีส์ ความแตกต่างของพืชแต่ละต้นทั้งด้านคุณภาพและปริมาณของผลผลิต (สุรินทร์, 2545) สามารถแบ่งได้ 2 ประเภท คือ เครื่องหมายทางสัณฐานวิทยา (Morphological Marker) และเครื่องหมายทางโมเลกุล (molecular marker)

เครื่องหมายทางโมเลกุล (molecular marker) สามารถจำแนกประเภทของเครื่องหมายโมเลกุลได้ 2 ประเภท ดังนี้

1. Protein Marker ใช้ตรวจสอบสิ่งมีชีวิตที่แตกต่างของโมเลกุลในระดับโปรตีน สามารถวิเคราะห์ได้โดยแยกโมเลกุลของโปรตีนด้วยเทคนิคอิเล็กโทรฟอรีซิส และย้อมดูแถบของโปรตีน ข้อดีของเครื่องหมายโปรตีน คือ สามารถตรวจสอบได้หลายตำแหน่ง เป็นเครื่องหมายชนิด co-dominant จึงสามารถแยกความแตกต่างระหว่างพืชที่เป็นโฮโมไซกัส และเฮเทอโรไซกัสได้ ค่าใช้จ่ายในการตรวจสอบน้อย ข้อด้อยของเครื่องหมายโปรตีน คือ จำนวนยีนที่ตรวจได้มีน้อย ไม่กระจายทั่วทั้งจีโนม ไม่สามารถเก็บตัวอย่างไว้ได้นาน (จันทร์เพ็ญ, 2557)

2. DNA marker เป็นเครื่องหมายที่บ่งชี้ความจำเพาะของสิ่งมีชีวิตในระดับต่างๆ ได้เนื่องจากเกิดความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอและลำดับเบสในดีเอ็นเอ ข้อดีของเครื่องหมายดีเอ็นเอ คือ ครอบคลุมทั่วทั้งจีโนม และโมเลกุลดีเอ็นเอมีความเสถียรจึงสามารถเก็บไว้ได้นาน สามารถเลือกวิธีในการตรวจสอบได้มากมาย (จันทร์เพ็ญ, 2557)

ชนิดของเครื่องหมายโมเลกุล

สามารถแบ่งได้ 2 ประเภท (สุรีพร, 2546)

1. Hybridization-based marker อาศัยหลักการโดยการเข้าคู่ของลำดับเบสดีเอ็นเอที่เป็นคู่สมกันระหว่างดีเอ็นเอตรวจสอบ (probe) กับดีเอ็นเอที่ต้องการตรวจสอบ โดยใช้เทคนิคไฮบริไดเซชัน (hybridization) ได้แก่ เครื่องหมายอาร์เอฟแอลพี (RFLP marker)

2. PCR-based marker อาศัยหลักการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยปฏิกิริยาลูกโซ่จำลองตัวดีเอ็นเอ Polymerase chain reaction (PCR) ได้แก่

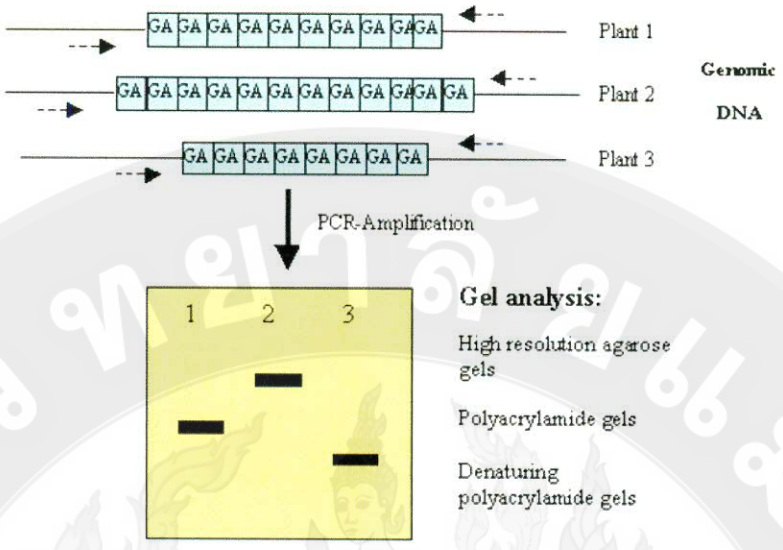
2.1 Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) เป็นวิธีวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิคพีซีอาร์ เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบสุ่ม ไพรเมอร์ที่ใช้ไม่จำเพาะเจาะจงกับดีเอ็นเอ สามารถแยกขนาดดีเอ็นเอด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส

2.2 Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) คือการตรวจสอบชิ้นส่วน ดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอมไซม์ตัดจำเพาะโดยการเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ ข้อดีของเทคนิคเอเอฟแอลพีคือ ไม่ต้องทราบข้อมูลลำดับเบส สามารถตรวจสอบดีเอ็นเอได้หลายตำแหน่ง (multi-locus)

2.3 Simple Sequence Repeats (SSR) เป็นเครื่องหมายโมเลกุลที่มีลำดับเบสซ้ำเป็นชุดๆ ประมาณ 1-6 เบส พบมากในจีโนมของสิ่งมีชีวิตชั้นสูง เป็นเครื่องหมายโมเลกุลที่แยกความแตกต่างสิ่งมีชีวิตด้วยการเกิดโพลีมอร์ฟิซึมจากจำนวนซ้ำของเบสในหนึ่งโลกัส (Powell et al., 1996) โดยซ้ำหนึ่งเบส เรียกว่า mono-nucleotide repeat (A)n, ซ้ำสองเบส เรียกว่า di-nucleotide repeat (CA)n, ซ้ำสามเบส เรียกว่า tri-nucleotide repeat (TAA)n และ ซ้ำสี่เบส เรียกว่า tetra-nucleotide repeat (GATA)n โดยที่ n เป็นจำนวนซ้ำ เบสซ้ำเหล่านี้พบกระจายอยู่ในบริเวณต่างๆ ของจีโนมประมาณ 10^4-10^5 โลกัส (สุรีพร, 2546)

ข้อดีของเครื่องหมายโมเลกุล SSR คือ สามารถใช้ศึกษาในระดับจีโนมของสิ่งมีชีวิต การสร้างแผนที่จีโนมและศึกษาความแตกต่างของสิ่งมีชีวิต เพราะ SSR กระจายทั่วทั้งจีโนม สามารถตรวจสอบด้วยเทคนิค PCR ใช้ปริมาณดีเอ็นเอที่น้อย และผลที่ได้ออกมาจะมีความเสถียร เมื่อทำซ้ำมักได้ผลเหมือนเดิม มีความจำเพาะเจาะจงสูง (สุรีพร, 2546)

มีงานวิจัยที่ใช้ SSR เพื่อศึกษาความแตกต่างของพืช โดย Fischer and Bachmann (2000) รายงานการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุล SSR ว่าในอดีตเครื่องหมายโมเลกุล SSR ที่ใช้ศึกษาความแตกต่างในหอมหัวใหญ่ มีความยุ่งยากในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ และยังมีประสิทธิภาพไม่เพียงพอในการใช้ทำแผนที่ดีเอ็นเอหรือใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม และล่าสุดเครื่องหมายโมเลกุล SSR และ Single-Nucleotide Polymorphism (SNP) ได้ถูกพัฒนาขึ้นจากแหล่งของ Expressed Sequence Tag (EST) ในหอมหัวใหญ่ (Kuhl et al., 2004 ; Martin et al., 2005) และถูกทดสอบแล้วว่าสามารถที่จะนำไปใช้ในการทำแผนที่ดีเอ็นเอได้ (McCallum et al., 2006a ; 2006b) และใช้ในการจำแนกพันธุ์ของหอมได้ (Jakse et al., 2005)



ภาพที่ 7 การตรวจสอบเครื่องหมายโมเลกุลแบบ SSR

ที่มา: สุรีพร (2546)

เทคนิค Polymerase chain reaction (PCR)

เป็นเทคนิคที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในหลอดทดลอง ซึ่งมีหลักการของปฏิกิริยา คือ มีดีเอ็นเอแม่แบบ (DNA template) ที่มีนิวคลีโอไทด์สายสั้นๆ ที่มีลำดับเบสเป็นคู่สมของดีเอ็นเอที่ใช้เป็นแม่พิมพ์(primer) เอนไซม์ดีเอ็นเอโพลีเมอร์เรส (DNA polymerase) เป็นเอนไซม์สำหรับเพื่อเร่งปฏิกิริยาเชื่อมต่อระหว่างนิวคลีโอไทด์ใหม่เข้ากับไพรเมอร์ ดีออกซีนิวคลีโอไทด์ไตรฟอสเฟต (deoxynucleotide triphosphate, dNTPs) เป็นนิวคลีโอไทด์สำหรับนำไปสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ และบัฟเฟอร์ที่มีแมกนีเซียมเป็นส่วนประกอบเพื่อช่วยการทำงานของเอนไซม์ (Tayler, 1991)

อรรัตน์ (2548) ได้อธิบายหลักการขั้นตอนการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR ดังนี้

DNA denaturing ช่วงอุณหภูมิระหว่าง 90-95 องศาเซลเซียส ทำให้ดีเอ็นเอสายเกลียวคู่แยกสายเป็นสายเดียวและแต่ละสายทำหน้าที่เป็นดีเอ็นเอต้นแบบในการเพิ่มปริมาณ

DNA annealing ช่วงอุณหภูมิระหว่าง 37-60 องศาเซลเซียส primer จะเข้าไปจับดีเอ็นเอต้นแบบที่ตำแหน่งที่เป็นคู่สม

DNA extention อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส ทำให้ DNA polymerase สังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่โดย ใช้ dNTPs ในปฏิกิริยาเป็น substrate

PCR เป็นเทคนิคที่มีประโยชน์มากในการเพิ่มปริมาณ DNA ชิ้นส่วนที่ต้องการ ทั้งนี้ต้องอาศัยความจำเพาะเจาะจงของ primer ซึ่งสามารถแบ่งได้ 3 ประเภทตามระดับความจำเพาะเจาะจง ได้แก่ (1) random primers (2) semispecific primers และ (3) specific primers การเข้าจับดีเอ็นเอเป้าหมายของ primer ต้องเกิดขึ้นบน DNA template ทั้ง 2 สาย ในระยะทางไม่เกิน 5 kb โดยเริ่มจาก ปลาย 3′ ของ primer เข้าจับที่ปลาย 5′ ของ DNA สายใหม่ PCR บางชนิดใช้ primer ชนิดเดียว (single primer) บางชนิดใช้ไพรเมอร์เป็นคู่ที่ออกแบบมาโดยเฉพาะให้จับกับ DNA เป้าหมายตรงตำแหน่งที่ต้องการ

ข้อดีของการใช้เครื่องหมายโมเลกุล ได้แก่ (จันเพ็ญ, 2557)

1. มีความแม่นยำสูง เป็นการคัดเลือกลักษณะของตัวอย่างโดยตรงจากจีโนไทป์ซึ่งจะมีความแม่นยำกว่าการคัดเลือกจากฟีโนไทป์ ที่อาจมีปัจจัยภายนอกส่งผลกระทบได้

2. ผลการวิเคราะห์คงที่ สามารถใช้ชิ้นส่วนใดของพืชในการทดสอบก็ได้ เช่น เนื้อเยื่อส่วนใบหรือเมล็ดพืช ผลที่ได้ออกมาก็จะเหมือนเดิม

3. สามารถคัดเลือกลักษณะที่ต้องการหลายลักษณะไปพร้อมกัน ตั้งแต่ระยะต้นกล้า ทำให้สามารถประหยัดเวลา แรงงาน และค่าใช้จ่ายต่างๆ ที่ต้องดูแลต้นพืช

4. ไม่ทำลายต้นพืชที่ทำการทดสอบ เนื่องจากใช้เพียงชิ้นส่วนเล็กน้อยในการตรวจสอบ โดยการนำยอดอ่อนของใบพืชมาสกัดดีเอ็นเอเพื่อเตรียมใช้ในขั้นตอนการตรวจสอบ

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชวงศ์หอมด้วยเครื่องหมายโมเลกุล

ในปัจจุบันบริษัทเมล็ดพันธุ์มีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์หอมแดงเข้ามาเพื่อส่งเสริมแก่เกษตรกรในประเทศ ในเขตร้อนชื้นและกึ่งร้อน หอมแดงถือได้ว่าเป็นแหล่งของพันธุกรรมที่มีความทนทานต่อสภาพอากาศที่ร้อนและชื้น ทนต่อโรคแมลง และมีอายุการเก็บรักษาที่ยาวนานกว่าหอมหัวใหญ่ (Rabinowitch and kamenetsky, 2002) และเนื่องจากพืชในกลุ่มหอมแดง หอมหัวใหญ่ และหอมแบ่ง สามารถผสมข้ามระหว่างพันธุ์และชนิดได้ และบางครั้งลูกผสมที่ได้มีความสมบูรณ์พันธุ์ จึงมีความเป็นไปได้ว่าในพื้นที่ๆ มีการปลูกหอมแดง หอมหัวใหญ่เพื่อการค้า และมีการปลูกหอมชนิดอื่นไว้เพื่อการบริโภคไว้ในพื้นที่เดียวกัน อาจมีลูกผสมที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ การศึกษาพันธุกรรมและความหลากหลายของพืชในสกุลหอมส่วนใหญ่มุ่งเน้นการศึกษาด้านความสัมพันธ์ระหว่างพืชสกุลหอมที่มีความเกี่ยวข้องกันทางพันธุกรรมและวิวัฒนาการระหว่างพันธุ์ป่าและพันธุ์ปลูกในระดับชนิด (species) โดยการใช้เครื่องหมายโมเลกุลชนิดต่าง ๆ (Sintayehu et al., 2011 ; Ebrahimi et al., 2009 ; McCallum et al., 2008 ; Gurushidze et al., 2007 ; Mario et al., 2007 ; Raamsdonk

van et al., 2003 ; Arifin et al., 2000 ; D'ennequin et al., 1997 ; Maass, 1997) และการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Degewieone et al., 2011 ; Panthee et al., 2006) นอกจากนี้ยังมีผลการทดลองต่าง ๆ ที่ชี้ให้เห็นว่าเครื่องหมายโมเลกุลสามารถแยกความหลากหลายของพืชตระกูลหอม อาทิเช่น Arifin et al., Ozaki and Okubo (2000) ทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของหอมแดงในประเทศอินโดนิเซีย (*Allium cepa* var. *ascalonicum*) และ *Allium* × *wakegi* โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล RAPD และจำแนกแหล่งกำเนิดของ *A.* × *wakegi* โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล RFLP ที่อยู่ในยีนในจีโนมของคลอโรพลาสต์รวม 100 เครื่องหมาย พบว่า สามารถจำแนกหอมทั้งสองชนิดออกจากกันเป็นสองกลุ่มได้อย่างชัดเจน และยังพบว่าแหล่งกำเนิดของ *A.* × *wakegi* กำเนิดมาจากการผสมระหว่างหอมแดงและหอมต้นญี่ปุ่น (Welsh onion) นอกจากการใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการจำแนกหรือหาความหลากหลายทางพันธุกรรมแล้ว Degewieone et al. (2011) ยังได้ทำการศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของหอมแดง (*A. cepe* var. *agrretatum*) ที่เชื่อมโยงกับผลผลิตของหัวและลักษณะอื่นที่เกี่ยวข้องในประเทศเอธิโอเปีย พบว่าหอมแดงที่มีในเอธิโอเปียค่อนข้างมีความแปรปรวนและความหลากหลายทางพันธุกรรม ในบางครั้งลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอกอาจมีลักษณะที่คล้ายกันแต่เมื่อมีการจำแนกด้วยเครื่องหมายโมเลกุลกลับพบความแตกต่างกันซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ D'ennequin et al. (1997) ที่ประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างหอมหัวใหญ่และหอมแดง ที่ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดและส่วนหัวขยายพันธุ์จำนวน 34 ตัวอย่าง โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล RAPD พบว่า เครื่องหมายโมเลกุลดังกล่าวสามารถจำแนกหอมหัวใหญ่และหอมแดงออกจากกันได้ เครื่องหมายโมเลกุล RAPD ยังถูกใช้ในการศึกษาความหลากหลายของกระเทียมที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำในประเทศชิลี การศึกษาพบว่ากระเทียมทุกโคลนที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล RAPD มีความคล้ายคลึงกันทางพันธุกรรม ถึงแม้จะมีลักษณะทางการเกษตรบางประการที่แตกต่างกันก็ตาม และ Phuong et al. (2006) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบหอมแดง (*Allium cepa* L. var *aggregatum*) ในประเทศเวียดนามและประเทศใกล้เคียง ได้แก่ ประเทศไทย ประเทศจีน ประเทศมาเลเซีย ประเทศไต้หวัน ประเทศฟิลิปปินส์ และประเทศอินโดนีเซีย โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล RAPD พบว่า สามารถจำแนกหอมแดงจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยา โดยหอมแดงที่มาจากประเทศไต้หวันมีความใกล้เคียงกับหอมแดงที่ปลูกทางตอนเหนือของประเทศเวียดนาม ในขณะที่หอมแดงจากไทย ฟิลิปปินส์ มาเลเซีย และอินโดนีเซีย มีความใกล้เคียงกับหอมแดงที่ปลูกทางตอนกลางและตอนใต้ของเวียดนาม

Gurushidze (2007) ได้ศึกษาสายวิวัฒนาการของพืชในสกุล *Allium* กลุ่มพันธุ์ป่าและพันธุ์ปลูก จำนวน 36 accessions จาก 12 สปีชีส์ ใน section Cepa ด้วยเทคนิค nuclear rDNA ITS sequence พบว่าพืชในกลุ่มเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางวิวัฒนาการใน section Cepa แต่สามารถจำแนกออกได้เป็น 3 กลุ่มภายใน section Cepa คือ กลุ่ม 1. *A. altaicum* และ *A.*

fistulosum กลุ่ม 2. *A. farctum, A. roylei, A. asarense, A. cepa* และ *A. vavilovii* กลุ่ม 3. *A. galanthum, A. oschaninii, A. praemixtum* และ *A. pskemense*

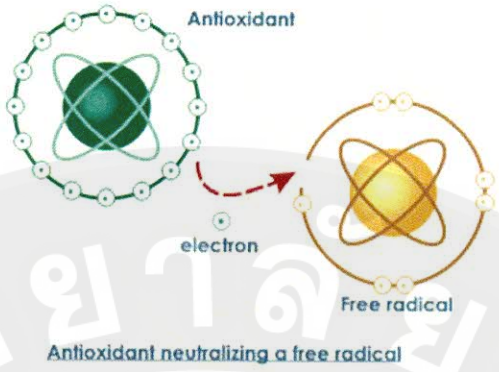
Maass (1997) ใช้ isozyme ทั้งหมด 6 ชนิดในการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของ หอมลูกผสม (*Allium* × *proliferum*) พบว่ารูปแบบแถบ isozyme ของหอมลูกผสม (*Allium* × *proliferum*)เทียบกับ *A.* × *wakegi*, *A. cepa, A. fistulosum, A. altaicu* และลูกผสมระหว่าง 3 สปีชีส์ มีเพียง Top onion และลูกผสมอย่างละหนึ่งชนิดที่สามารถจำแนกออกจากกันได้โดยใช้รูปแบบของแถบ isozyme และไม่สามารถใช้ในการจำแนกหอมหัวใหญ่ทั่วไป *A. fistulosum* หอมแดง และ *A. altaicum* ออกจากกันได้ทั้ง ๆ ที่ *A. altaicum* เป็นบรรพบุรุษของ *A. fistulosum*

Panthee et al. (2006) รวบรวมกระเทียม (*A. sativum* L.) จำนวน 179 accessions จากทั่วทุกพื้นที่ของประเทศเนปาล และทำการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของกระเทียมทั้งหมด พบว่ามี 4 ลักษณะหลักที่สามารถจำแนกได้ คือ น้ำหนัก เส้นผ่าศูนย์กลางหัว ผลผลิตและจำนวนกลีบต่อหัวมีความแปรปรวนสูงถึงประมาณ 86%

อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (Free Radical หรือ Oxidant) คือ ไอออนหรือโมเลกุลที่มีอิเล็คตรอนโดดเดี่ยว (unpaired electrons) อยู่รอบนอกเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรและมีความไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลต่างๆ ที่อยู่รอบข้างในทันทีที่ถูกสร้างขึ้น โดยการไปจับคู่กับอิเล็คตรอนเพื่อให้ตัวเองมีความเสถียร จึงมีผลทำให้เกิดความเสียหายกับองค์ประกอบต่างๆ ของเซลล์ ไม่ว่าจะเป็นไขมัน โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และดีเอ็นเอ เป็นผลทำให้สารชีวโมเลกุลต่างๆ เหล่านี้เปลี่ยนแปลงโครงสร้าง และทำหน้าที่ได้ไม่สมบรูณ์ เป็นสาเหตุให้เกิดโรคต่างๆ มากมาย ได้แก่โรคชรา โรคมะเร็ง โรคหัวใจขาดเลือด โรคความจำเสื่อม โรคข้ออักเสบ โรคภูมิแพ้ โรคความดันโลหิต เกิดความผิดปกติของปอด และระบบประสาท เป็นต้น

อนุมูลอิสระเหล่านี้สามารถถูกกำจัดหรือลดความรุนแรงด้วยสารที่เรียกว่า สารต้านอนุมูลอิสระ(Antioxidants) ที่สามารถจับกับอนุมูลอิสระ แล้วเกิดเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ที่เสถียรกว่า ส่งผลให้สามารถหยุดวงจรการสร้างอนุมูลอิสระตัวใหม่ได้ (เจนจิรา, 2554 ; บุหรัน, 2556)



ภาพที่ 8 กลไกการเกิดอนุมูลอิสระ (Free radical) โดยสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

ที่มา: http://sirinpharmacy.exteen.com/category/miscellaneous

อนุมูลอิสระอาจเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นเอง (Autooxidation) เช่น การเกิดออกซิเดชันของไขมัน ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 ระยะ คือ

1) ระยะเหนี่ยวนำเริ่มต้น (Initiation) เป็นระยะที่กรดไขมันแตกตัวเป็นอนุมูลอิสระโดยเริ่มต้นที่คาร์บอนที่ตำแหน่งพันธะคู่สูญเสียไฮโดรเจนอะตอม โดยมีแสงหรืออุณหภูมิเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ดังสมการ

$$RH + \text{initiator} \xrightarrow[T]{\text{light}} R^{\bullet} + H^{\bullet}$$

2) ระยะเพิ่มจำนวน (Propagation) เกิดจากออกซิเจนเข้าไปทำปฏิกิริยาที่ตำแหน่งพันธะคู่เกิดเป็น peroxy radical เป็นปฏิกิริยาที่เกิดกับกรดไขมันในวงจรลูกโซ่ ส่งผลให้เกิดอนุมูลอิสระ โดยมีแสงและความร้อนเป็นตัวเร่งให้เกิดปฏิกิริยา และมีผลทำให้เกิดอนุมูลอิสระมากขึ้น

$$R^{\bullet} + O_2 \longrightarrow ROO^{\bullet}$$

$$ROO^{\bullet} + RH \longrightarrow ROOH + R^{\bullet}$$

3) ระยะสิ้นสุด (Termination) เป็นระยะที่อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นและรวมตัวกันส่งผลให้เกิดความเสถียร โดยมีผลลัพธ์เป็นสาร เช่น แอลกอฮอล์ และกรดอินทรีย์ เป็นต้น ดังสมการ

$$R^{\bullet} + R^{\bullet} \longrightarrow RR$$

$$ROO^{\bullet} + ROO^{\bullet} \longrightarrow ROOR + O_2$$

สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ คือ สารที่ป้องกันหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระต่างๆ โดยสารต้านอนุมูลอิสระนี้ป้องกันได้หลายรูปแบบ เช่น ดักจับอนุมูลอิสระโดยตรง ยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระหรือเข้าจับกับโลหะ เพื่อป้องกันการสร้างอนุมูลอิสระ เป็นต้น สารต้านอนุมูลอิสระมีบทบาทสำคัญในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างการมนุษย์ ที่ทำให้เกิดโรคต่างๆ โดยปกติแล้วร่างกายมนุษย์มีการป้องกันการสะสมของอนุมูลอิสระสามารถแบ่งออกได้เป็นสองส่วน คือ ส่วนแรกร่างกายสร้างเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระขึ้นเพื่อที่จะรักษาสมดุลของอนุมูลอิสระ และส่วนที่สอง คือ สารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากผักและผลไม้ต่างๆ อาทิเช่น วิตามินเอ วิตามินซี วิตามินอี เบต้าแคโรทีน และสารในกลุ่มโพลีฟีนอล (เจนจิรา, 2554)

แหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถพบได้ คือ สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (Synthetic Antioxidants) และสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (Natural Antioxidants) สารต้านอนุมูลอิสระที่พบตามธรรมชาติสามารถพบได้หลายสาร เช่น สารประกอบฟีนอลิค (Phenolic Compounds) สารประกอบไนโตรเจน (Nitrogen Compounds) และแคโรทีนอยด์ (Catotinoid) (บุหรัน, 2556; Velioglu et al. 1998)

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant Activity Determination) สามารถแบ่งได้ 2 ประเภท คือ วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงคุณภาพ และวิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณ โดยทั้งสองประเภทมีหลายวิธีในการหาค่า แต่ละวิธีมีความแตกต่างกันออกไป ดังนี้

1. วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงคุณภาพ

เป็นการทดสอบเพื่อหาชนิดของสารต้านอนุมูลอิสระจากตัวอย่างที่ทดสอบ ทำได้โดยการทำให้ตกตะกอน การย้อมสี การถูกดูดซับ วิธีที่นิยมใช้ทดสอบได้แก่ โครมาโตกราฟีแบบผิวบาง (Thin Layer Chromatography, TLC) และการตรวจหาสารต้านอนุมูลอิสระชนิดต่างๆ โดยใช้เครื่อง High Performance Liquid chromatography (HPLC)

2. วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณ

เป็นการหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระประเภทต่างๆ เช่น การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีดีพีพีเอช (DPPH) วิธีการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (ABTS) และการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (FRAP assay) ซึ่งวิธีการเหล่านี้เป็นการสร้างอนุมูลอิสระที่สามารถทราบความเข้มข้นที่แน่นอนและนำสารดังกล่าวมาวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การรวบรวมพันธุ์หอมแดงและการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ในการศึกษาทำการรวบรวมพันธุ์หอมแดงจากแหล่งปลูกที่สำคัญต่างๆ ในพื้นที่ภาคเหนือของประเทศไทย ที่ปลูกเพื่อการค้าและปลูกเพื่อบริโภคในครัวเรือน รวม 6 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน พะเยา อุตรดิตถ์ แม่ฮ่องสอน และเมล็ดพันธุ์ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทเรียลซีดส์ อโกร จำกัด (ตารางที่ 1) ในการรวบรวมหัวพันธุ์หอมแดงนั้นดำเนินการในช่วงระหว่าง เดือนตุลาคม 2555 ถึง เดือนกุมภาพันธ์ 2556 หลังจากที่ได้หัวพันธุ์หอมแดงในแต่ละแหล่งมาแล้ว ทำการให้รหัสเพื่อจัดหมวดหมู่ของเชื้อพันธุกรรม โดยการใช้รหัสอักษรภาษาอังกฤษสองตัวแรก คือ อักษรย่อของจังหวัดที่ทำการเก็บตัวอย่าง (เชียงใหม่ = CM, เชียงราย = CR, ลำพูน = LP, พะเยา = PY, อุตรดิตถ์ = UT และแม่ฮ่องสอน = MH) ตามด้วยตัวเลขเรียงตามจำนวนสถานที่พันธุ์ที่เก็บรวบรวม ซึ่งถูกเก็บไว้ในรูปแบบของหัวพันธุ์ซึ่งทำได้โดยการแขวน จากนั้นการขยายพันธุ์และศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา นำหอมแดงแต่ละพันธุ์ที่รวบรวมได้มาทำการปลูกขยายพันธุ์ให้มีจำนวนมากพอควร ด้วยการปลูกหอมแดงทุกรหัสลงในกระถางขนาด 8x12 นิ้ว ที่บรรจุทราย แล้วปลูกเปรียบเทียบลักษณะทางสันฐานวิทยา ในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์จำนวน 4 ซ้ำ โดยในแต่ละรหัสพันธุ์ทำการปลูกจำนวนรหัสพันธุ์ละอย่างน้อย 4 ต้น ภายในโรงเรือนพลาสติก สาขาพืชผัก คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ในช่วงเดือนมกราคม ถึง เดือนมิถุนายน 2556 การดูแลรักษาทำการรดน้ำทุกวัน วันละครั้ง ทำการบันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยาดังนี้ ลักษณะของใบ การตั้งของใบ สีของใบ ช่วงการลงหัว จำนวนใบก่อนที่จะลงหัว วันสุกแก่ ความสูง น้ำหนักหัว เส้นผ่าศูนย์กลางของหัว จำนวนกลีบต่อหัว และผลผลิตรวมของหัว เมื่อหัวเชื้อพันธุ์เริ่มแทงใบอ่อนจึงทำการให้สารละลายปุ๋ยสูตร Modified Hoagland (Epstein and bloom, 2004) ในอัตราส่วนปุ๋ยเข้มข้น 1 ส่วน ต่อน้ำ 100 ส่วน สัปดาห์ละสองครั้ง จนสิ้นสุดการทดลอง ในกรณีของเชื้อพันธุกรรมหอมแดงที่เป็นเมล็ดพันธุ์ เมล็ดถูกนำไปเพาะในถาดเพาะกล้าที่บรรจุวัสดุเพาะ เมื่อต้นกล้ามีอายุประมาณ 30 วันจึงทำการย้ายปลูกลงในกระถางทรายเช่นเดียวกับหัวพันธุ์ เมื่อต้นหอมแดงเริ่มใบยุบทำการบันทึกลักษณะด้านจำนวนใบ จำนวนหัว น้ำหนักหัว ความกว้าง ความยาวหัว และจำนวนวันในการลงหัว เมื่อหอมแดงเริ่มใบแห้งยุบทำการถอนเก็บหัวพันธุ์แล้วตากไว้ในโรงเรือนพลาสติกและติดฉลากแยกตะกร้า

ตารางที่ 1 พื้นที่ในการเก็บรวบรวมพันธุ์หอมแดงและรหัสพันธุ์หอมแดงในเขตพื้นที่ภาคเหนือ

ลำดับ	รหัส	สถานที่เก็บรวบรวม	ส่วนขยายพันธุ์
1	CRt01	ต.งาว อ.เทิง จ.เชียงราย	B^y
2	CRt02	ต.งาว อ.เทิง จ.เชียงราย	B^y
3	CRt03	ต.งาว อ.เทิง จ.เชียงราย	B^y
4	Crt04	ต.งาว อ.เทิง จ.เชียงราย	B^y
5	CRt05	ต.งาว อ.เทิง จ.เชียงราย	B^y
6	CRt06	ต.งาว อ.เทิง จ.เชียงราย	B^y
7	CRt07	ต.งาว อ.เทิง จ.เชียงราย	B^y
8	CRt08	ต.งาว อ.เทิง จ.เชียงราย	B^y
9	CRt09	ต.งาว อ.เทิง จ.เชียงราย	B^y
10	CRt10	ต.งาว อ.เทิง จ.เชียงราย	B^y
11	CRt11	ต.งาว อ.เทิง จ.เชียงราย	B^y
12	CRt12	ต.งาว อ.เทิง จ.เชียงราย	B^y
13	CRt13	ต.งาว อ.เทิง จ.เชียงราย	B^y
14	CRt14	ต.งาว อ.เทิง จ.เชียงราย	B^y
15	CR01	ต.งาว อ.เทิง จ.เชียงราย	B^y
16	CR02	ต.งาว อ.เทิง จ.เชียงราย	B^y
17	CR03	ต.งาว อ.เทิง จ.เชียงราย	B^y
18	CR04	ต.งาว อ.เทิง จ.เชียงราย	B^y
19	CR05	ต.งาว อ.เทิง จ.เชียงราย	B^y
20	CR06	ต.งาว อ.เทิง จ.เชียงราย	B
21	CM01	บ.ทุ่งข้าวตอก อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	B
22	CM02	บ.แพม ต.ช่างเคิ่ง อ.แม่แจ่ม จ.เชียงใหม่	B^y

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ลำดับ	รหัส	สถานที่เก็บรวบรวม	ส่วนขยายพันธุ์
23	CM03	บ.แพม ต.ช่างเคิ่ง อ.แม่แจ่ม จ.เชียงใหม่	B[y]
24	CM04	บ.พร้าวหนุ่ม ต.ช่างเคิ่ง อ.แม่แจ่ม จ.เชียงใหม่	B[y]
25	CM05	บ.พร้าวหนุ่ม ต.ช่างเคิ่ง อ.แม่แจ่ม จ.เชียงใหม่	B[y]
26	CM06	บ.พร้าวหนุ่ม ต.ช่างเคิ่ง อ.แม่แจ่ม จ.เชียงใหม่	B[y]
27	CM07	บ.พร้าวหนุ่ม ต.ช่างเคิ่ง อ.แม่แจ่ม จ.เชียงใหม่	B[y]
28	CM08	บ.พร้าวหนุ่ม ต.ช่างเคิ่ง อ.แม่แจ่ม จ.เชียงใหม่	B[y]
29	CM09	บ.พร้าวหนุ่ม ต.ช่างเคิ่ง อ.แม่แจ่ม จ.เชียงใหม่	B[y]
30	CM10	บ.พร้าวหนุ่ม ต.ช่างเคิ่ง อ.แม่แจ่ม จ.เชียงใหม่	B[y]
31	CM11	บ.พร้าวหนุ่ม ต.ช่างเคิ่ง อ.แม่แจ่ม จ.เชียงใหม่	B[y]
32	CM12	บ.โห่ลงปง ต.กองแขก อ.แม่แจ่ม จ.เชียงใหม่	B[y]
33	CM13	บ.โห่ลงปง ต.กองแขก อ.แม่แจ่ม จ.เชียงใหม่	B[y]
34	CM14	อ.สันป่าตอง จ.เชียงใหม่	B[y]
35	CMVeg01*	สาขาพืชผัก มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ต.หนองหาร อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	B
36	CMVeg02*	สาขาพืชผัก มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ต.หนองหาร อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	B
37	CMVeg03*	สาขาพืชผัก มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ต.หนองหาร อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	B
38	CMVeg04*	สาขาพืชผัก มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ต.หนองหาร อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	B
39	CMVeg05*	สาขาพืชผัก มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ต.หนองหาร อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	B

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ลำดับ	รหัส	สถานที่เก็บรวบรวม	ส่วนขยายพันธุ์
40	CMVeg06*	สาขาพืชผัก มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ต.หนองหาร อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	B
41	CMVeg07*	สาขาพืชผัก มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ต.หนองหาร อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	B
42	CMVeg08*	สาขาพืชผัก มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ต.หนองหาร อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	B
43	CMVeg09*	สาขาพืชผัก มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ต.หนองหาร อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	B
44	CMVeg10*	สาขาพืชผัก มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ต.หนองหาร อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	B
45	LP1	ต.บ้านโฮง อ.บ้านโฮง จ.ลำพูน	B^y
46	LP2	ต.บ้านโฮง อ.บ้านโฮง จ.ลำพูน	B^y
47	LP3	ต.บ้านโฮง อ.บ้านโฮง จ.ลำพูน	By
48	MH01*	บ.ปางตอง ต.หมอกจำแป่ อ.เมือง จ.แม่ฮ่องสอน	B^y
49	MH02	ต.หมอกจำแป่ อ.เมือง จ.แม่ฮ่องสอน	B^y
50	MH03*	ต.แม่นาเติง อ.ปาย จ.แม่ฮ่องสอน	B
51	MH04	ต.หมอกจำแป่ อ.เมือง จ.แม่ฮ่องสอน	B
52	MH05*	ต.หมอกจำแป่ อ.เมือง จ.แม่ฮ่องสอน	B
53	MH06*	ตลาดเมืองแม่ฮ่องสอน อ.เมือง จ.แม่ฮ่องสอน	B^y
54	MH07	บ.หมอกจำแป่ ต.หมอกจำแป่ อ.เมือง จ.แม่ฮ่องสอน	B
55	MH08	บ.หมอกจำแป่ ต.หมอกจำแป่ อ.เมือง จ.แม่ฮ่องสอน	B^y
56	MH09	บ.สะงา ต.หมอกจำแป่ อ.เมือง จ.แม่ฮ่องสอน	B
57	MH10*	บ.สะงา ต.หมอกจำแป่ อ.เมือง จ.แม่ฮ่องสอน	B^y

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ลำดับ	รหัส	สถานที่เก็บรวบรวม	ส่วนขยายพันธุ์
58	UT1	ต.ชัยชุมพล อ.ลับแล จ.อุตรดิตถ์	B
59	UT2	ต.ชัยชุมพล อ.ลับแล จ.อุตรดิตถ์	B
60	UT3	ต.ชัยชุมพล อ.ลับแล จ.อุตรดิตถ์	B
61	UT4	ต.ชัยชุมพล อ.ลับแล จ.อุตรดิตถ์	B^y
62	UT5	ต.ชัยชุมพล อ.ลับแล จ.อุตรดิตถ์	B^y
63	UT6	อ.น้ำปาด จ.อุตรดิตถ์	B^y
64	PY1	บ.ก๊วน ต.เจดีย์คำ อ.เชียงคำ จ.พะเยา	B^y
65	PY2	บ.ก๊วน ต.เจดีย์คำ อ.เชียงคำ จ.พะเยา	B^y
66	PY3	บ.โก้โจ้ ต.เจดีย์คำ อ.เชียงคำ จ.พะเยา	B^y
67	PY4	อ.ภูซาง จ.พะเยา	B^y
68	E-16001	บ.เรียลซีดส์ อโกร จำกัด	S
69	E-16005	บ.เรียลซีดส์ อโกร จำกัด	S
70	E-16006	บ.เรียลซีดส์ อโกร จำกัด	S
71	K-01	บ.เรียลซีดส์ อโกร จำกัด	S
72	หอมOP*	บ.เรียลซีดส์ อโกร จำกัด	S^y
73	NO1	บ.เรียลซีดส์ อโกร จำกัด	S^y
74	NO2	บ.เรียลซีดส์ อโกร จำกัด	S^y
75	NO3	บ.เรียลซีดส์ อโกร จำกัด	S^y
76	NO4	บ.เรียลซีดส์ อโกร จำกัด	S^y
77	NO5	บ.เรียลซีดส์ อโกร จำกัด	S^y
78	NO6	บ.เรียลซีดส์ อโกร จำกัด	S^y

หมายเหตุ ส่วนขยายพันธุ์ B (Bulb=หัว) และ S (Seed=เมล็ด)

* หอมหัวใหญ่สีแดง

[y] รหัสพันธุ์ที่ถูกนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมาย SSR

การศึกษาลักษณะเซลล์พันธุศาสตร์

การศึกษาลักษณะเซลล์พันธุศาสตร์ทำโดยตัดปลายรากหอมแดง ให้ได้ความยาว 0.3-0.5 เซนติเมตร แช่ใน 1 mM 8-hydroxyquinoline นาน 2 ชั่วโมง จากนั้นนำรากย้ายไปแช่ที่ ไฮโดรคลอริก(HCl) เข้มข้น 1 นอร์มอล(N) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จึงนำไปต้มต่ออีก 10 นาที ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่น ย้อมสีเนื้อเยื่อด้วยสี 1.5% lacto-propionic orcein นาน 30 นาที วางเนื้อเยื่อปลายรากบนแผ่นสไลด์ ขยี้เซลล์ปลายรากด้วยปากคีบปลายแหลม ปิดด้วยแผ่นกระจกปิดสไลด์ ใช้กระดาษซับ และใช้นิ้วมือกดเพื่อให้เซลล์กระจายตัว จากนั้นใช้ปลายดินสอเคาะเบาๆ เพื่อให้เซลล์กระจายตัวอีกครั้ง นำแผ่นสไลด์ไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100X

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของหอมแดงด้วย
เครื่องหมายโมเลกุล SSRการเตรียมดีเอ็นเอ

ในขั้นตอนนี้ตัวอย่างของใบอ่อนหอมแดงในแต่ละรหัสพันธุ์ถูกตัดแล้วชั่งให้ได้น้ำหนักประมาณ 0.2 กรัม นำใส่ในหลอดไมโครเซนตริฟิวก์ (Microcentrifuge tube) เติมสารละลาย Cetyltrimethyl ammonium bromide (CTAB) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร แล้วทำการบดตัวอย่างเมื่อเนื้อเยื่อใบหอมแดงละเอียดเป็นเนื้อเดียวกันแล้วจึงนำไปต้มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) ที่มีอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 20-30 นาที จากนั้นนำไปผสมด้วยเครื่อง Vortex Mixer นาน 10 นาที (ถ้าเนื้อเยื่อไม่เปื่อยให้ต้มอีกครั้ง) นำหลอดตัวอย่างที่ได้มาทำการปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (ยี่ห้อ BIO-RAD รุ่น T100) ที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ทำการดูดเอาส่วนใสที่อยู่ด้านบนปริมาตรโดยประมาณ 300 ไมโครลิตร ใส่หลอดไมโครเซนตริฟิวก์ใหม่ เติมด้วยสารละลาย Chloroform ปริมาตร 240 ไมโครลิตร และ Iso-Amyl ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันดีโดยกลับหลอดกลับไปมาเบาๆ จากนั้นปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที ดูดย้ายเอาส่วนที่ใสไปใส่หลอดไมโครเซนตริฟิวก์ใหม่ เติมด้วยแอมโมเนียม อะซิเตรท (Ammonium acetate) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร (เพื่อให้ดีเอ็นเอตกตะกอน) และเติม 100 % Ethanol ปริมาตร 500 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปแช่ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที จากนั้นทำการกลับหลอดไปมา นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที นาน 3 นาที และเทสารละลาย Ethanol ทิ้ง

และแทนที่ด้วย 70 % Ethanol ปริมาตร 250 ไมโครลิตร กลับหลอดไปมา และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที นาน 2 นาที เท 70 % Ethanol ทิ้งและทำการระเหย Ethanol จากตะกอนดีเอ็นเอที่อุณหภูมิห้องที่ 25 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย TE buffer pH 8.0 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ทำการเก็บรักษาสารละลายดีเอ็นเอที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จากนั้นนำดีเอ็นเอของแต่ละตัวอย่างที่สกัดได้ไปทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) ตามวิธีการของ Martin et al. (2005) ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล SSR ที่ถูกพัฒนาขึ้นโดย McCallum et al. (2008) ดังตารางที่ 2 เพื่อใช้ในการศึกษาความแตกต่างของหอมแดงจากแหล่งต่างๆ โดยมีองค์ประกอบของส่วนผสมสำหรับปฏิกิริยา PCR ดังนี้

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของหอมแดง

ปฏิกิริยาของแต่ละไพรเมอร์มีองค์ประกอบ ดังนี้

- dNTP	4	ไมโครลิตร
- 10 x buffer	2	ไมโครลิตร
- $MgCl_2$	0.8	ไมโครลิตร
- Tag DNA Polymerasr	0.4	ไมโครลิตร
- Primer F	0.8	ไมโครลิตร
- Primer R	0.8	ไมโครลิตร
- H_2O	8.2	ไมโครลิตร
- DNA	3	ไมโครลิตร
รวม	20	ไมโครลิตรต่อ 1 ปฏิกิริยา

ในขั้นตอนของ PCR นั้นมี Temperature Profile ถูกแบ่งออกเป็น 2 แบบตามชนิดของไพร์เมอร์ คือ

1. สำหรับ Primer ACM004, ACM018, ACM046, ACM068, ACM243, ACM300, ACM303, ACM315, ACM316, ACM318, ACM326, AMS08, AMS23, AMS26, AF5ss

ขั้นที่ 1	95 องศาเซลเซียส	1	นาที
ขั้นที่ 2	95 องศาเซลเซียส	30	วินาที
ขั้นที่ 3	58 องศาเซลเซียส	30	วินาที
ขั้นที่ 4	72 องศาเซลเซียส	30	วินาที

โดยทำทั้งหมดจำนวน 35 รอบ

2. สำหรับ Primer ACAHNO7F_OUTSIDE, ACAHNO7F_INSIDE, ACABE16F_OUTSIDE, ACABE16F_INSIDE, ACAEJ67F_OUTSIDE, ACAEJ67F_INSIDE

ขั้นที่ 1	95 องศาเซลเซียส	1	นาที
ขั้นที่ 2	95 องศาเซลเซียส	30	วินาที
ขั้นที่ 3	62 องศาเซลเซียส	30	วินาที
ขั้นที่ 4	72 องศาเซลเซียส	30	วินาที

โดยทำทั้งหมดจำนวน 35 รอบ

เมื่อเสร็จสิ้นการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจึงนำผลผลิต PCR ที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วย 3% agarose gel โดยชั่ง agarose gel หนัก 3 กรัม ผสมกับ 0.5X TBE buffer ปริมาตร 97 มิลลิลิตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยการให้ความร้อน พักให้อุ่น (60 องศาเซลเซียส) ผสมสารละลายเอทิเดียมโบรไมด์ จำนวน 2 ไมโครลิตร ลงในเจล รอจนเจลแข็งตัวย้ายถาดเจลใส่ใน Chamber เท 0.5X TBE buffer ให้ท่วมเจล ใช้ 100 bp ladder จำนวน 2 ไมโครลิตร ผสมกับ 6× loading dye จำนวน 3 ไมโครลิตร เป็น DNA marker และดีเอ็นเอตัวอย่างที่ได้จากการปฏิกิริยาจำนวน 3 ไมโครลิตร ผสม 6X loading dye จำนวน 7 ไมโครลิตร ให้กระแสไฟฟ้าที่ 90 โวลต์ เป็นเวลา 45 นาที นำเจลที่ได้ไปวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอด้วยเครื่อง Gel Documentation (ยี่ห้อ Syngene รุ่น Genegenius)

การวิเคราะห์จำนวนอัลลีล

นำแถบดีเอ็นเอที่สังเคราะห์ได้มาวิเคราะห์ขนาดเปรียบเทียบกับแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน โดยใช้โปรแกรม PhotoCaptMw (Vilber Luormat, France) นับเฉพาะแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นตรงกันจากการทดลองทั้งสองครั้งโดยไม่นับแถบที่ไม่ชัดเจน แล้วนำไปคำนวณค่า (Polymorphic Information Contents: PIC) ที่สามารถคำนวณได้จากสมการของ Nagy et al. (2012) ดังนี้

$$P_{IC} = 1 = \sum_{i=1}^{l} Pi^2 - \sum_{i=1}^{l-1} Pi^2 \sum_{j=i+1}^{l} 2Pi^2 Pj^2$$

เมื่อ P เป็นค่าความถี่ของแถบดีเอ็นเอที่ j ของเครื่องหมายที่ i

ค่าความหลากหลายของยีน (gene diversity หรือ Expected heterozygosity; H_E)

$$\mathrm{He} = \sum_{j}^{L} h \,/L$$

H_j = heterozy gosity per locus , L = total number of loci

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของหอมแดง

วิเคราะห์ข้อมูลจากการปรากฏและไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอของหอมแดงแต่ละรหัสพันธุ์ บันทึกผลโดยใช้ระบบตัวเลขโดยให้สัญลักษณ์เป็น 1 เมื่อมีการปรากฏแถบดีเอ็นเอ และให้สัญลักษณ์เป็น 0 เมื่อไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอ บันทึกข้อมูลทุกตำแหน่งของแถบดีเอ็นเอจากการสังเคราะห์ด้วยไพรเมอร์แต่ละชนิด

วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของหอมแดงแต่ละรหัสพันธุ์ที่นำมาศึกษา

โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป NTSYSpc version 2.1 (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System) (Applied Biostatistics Inc., USA) หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยใช้ Jaccard's coefficients และสร้างเดนโดรแกรม (dendrogram) โดยใช้ unweighted pair group method arithmetic averages (UPGMA)

ตารางที่ 2 เครื่องหมายโมเลกุล SSR ที่ใช้ในการจำแนกและวิเคราะห์พันธุ์หอมแดง

Primer set	Size (bp)	Primer direction	Primer sequences	Reported
AMS08	205	F	GCCACGATGTTGAGATTTCG	Fischer and
		R	CCCGAATATCCCACCAGTTC	Bachmmann, 2000
AMS23	157	F	GCTGTTCACTGGTCTATCTGG	Fischer and
		R	ATTCGGTGCTGATTTTCG	Bachmmann, 2000
AMS26	213	F	ATCTAATCAAAGCATAGTTG	Fischer and
		R	TTGTCC AAGTAGTTGT	Bachmmann, 2000
AF5ss	300	F	GAGGGCAGTGTTAGCATTCC	Fischer and
		R	GCAACCTTTCCCCGAGAG	Bachmmann, 2000
ACAHN0	-	F	TTGATAACTCCAATGGGTGTAAATGTCC	Kuhl et al., 2004 and
7F-OUT		R	ATCTGCTTGGTATCAAGCGGCATGT	Yaguchi et al., 2009
SIDE				

ตารางที่ 2 (ต่อ)

Primer set	Size (bp)	Primer direction	Primer sequences	Reported
ACAHN0 7F-IN SIDE	-	F	GCAAAGAAAGGACTGCTTGTCAATGCT	Kuhl et al., 2004 and Yaguchi et al., 2009
		R	ATTGCTCGGATCTCTGAGTCCATGTAC	
ACABE16 F-OUT SIDE	-	F	AAGATTCCGTACGCCTGTTAGCTGTTG	Kuhl et al., 2004 and Yaguchi et al., 2009
		R	CTTGACACACGGAAGAATGTGCTGTAT	
ACABE16 F -IN SIDE	150	F	GTTGGAACCACAAGACTGTATTGCTCAT	Kuhl et al., 2004; Yaguchi et al., 2009
		R	CGAAGAAGACGAACATAAGCAGGCAC	
ACAEJ67 F -OUT SIDE	130	F	GCAGGTATCAGCGTCAACTAATAAGGAA	Kuhl et al., 2004; Yaguchi et al., 2009
		R	CATGACTGTCTGTGGACGACTTGCAC	
ACAEJ67 F -IN SIDE	-	F	TCAAATGACATTGCAACCATTGAGCC	Kuhl et al., 2004; Yaguchi et al., 2009
		R	AGTCTCTTAGCACTGACAAACACACTCC	
ACM004	213	F	TCGTTCTTTAGAACACGTTAGG	Jakše et al., 2005
		R	GTCGGCGGATATAGTGACA	
ACM018	275	F	GGGGAATGGTGGATAATAGA	Jakše et al., 2005
		R	AACAGAGGCAAGAGGAGCG	
ACM046	280	F	TCCTCGTCACCACCACAG	Jakše et al., 2005
		R	CTGAAAGGGAGTAGCGGAG	
ACM068	281	F	GAAGGTGAAGGTGTACGGT	Jakše et al., 2005
		R	CAAATGGCTGCAATAAGCAA	
ACM243	141	F	ATCAGGAGGTTCGAGGAAA	Jakše et al., 2005
		R	TCATTCGTATCATTTGCGGT	
ACM300	154	F	AGGTGCAGTTTCGTGGTAGG	Jakše et al., 2005
		R	TTAGCCCCTGGTAAGTGTGG	

ตารางที่ 2 (ต่อ)

Primer set	Size (bp)	Primer direction	Primer sequences	Reported
ACM303	115	F	CGATGATTATAGATATTTCGTTATGG	Jakše et al., 2005
		R	CATTCATAATCTCACAGTGGAAGG	
ACM315	269	F	TTTTCTCCACCTTCAGCCAG	Jakše et al., 2005
		R	AGAATTGGTGGTCGAGGATG	
ACM316	204	F	TGGATCATAAAAAGCGGCAT	Jakše et al., 2005
		R	GGAGAGGCTTTTTCCGGACT	
ACM318	243	F	TCCTCCTTCCAAACCACATC	Jakše et al., 2005
		R	GATCAGAAACAGCAGCGTC	
ACM326	200	F	AAACCAGCAACAACCAATG	Jakše et al., 2005
		R	AAAATTGGAGAGCAGGCAAA	

การวิเคราะห์ความสามารถต้านออกซิเดชันและปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิก

การเตรียมสารสกัดหอมแดง

ส่วนหัวของหอมแดงแต่ละรหัสพันธุ์ถูกนำมาบดร่วมกับไนโตรเจนเหลวในโกร่งให้ละเอียด แล้วทำการชั่งตัวอย่างที่บดละเอียดปริมาณ 20 กรัม เติมด้วย 100 % methanol ปริมาตร 20 มิลลิลิตร เขย่าสารละลายในที่มืดนาน 1 ชั่วโมง แล้วกรองสารละลายด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 และดูดสารละลายที่กรองได้ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 20 มิลลิลิตรด้วย methanol กรองสารละลายด้วย 0.45 ไมโครโมล syringe nylon filter เก็บสารสกัดไว้ในสภาพมืดที่ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์ความสามารถต้านออกซิเดชันและปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิค

การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH

การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสารสกัดจากหัวหอมแดงในแต่ละรหัสพันธุ์ถูกเจือจางความเข้มข้นลงโดยเติม methanol ลงในสารสกัด ดังนี้ 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครลิตร จนให้ปริมาตรครบ 100 ไมโครลิตร จากนั้นเติม 60 ไมโครโมล 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl ปริมาตร 300 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ในสภาพมืดที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที จึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง

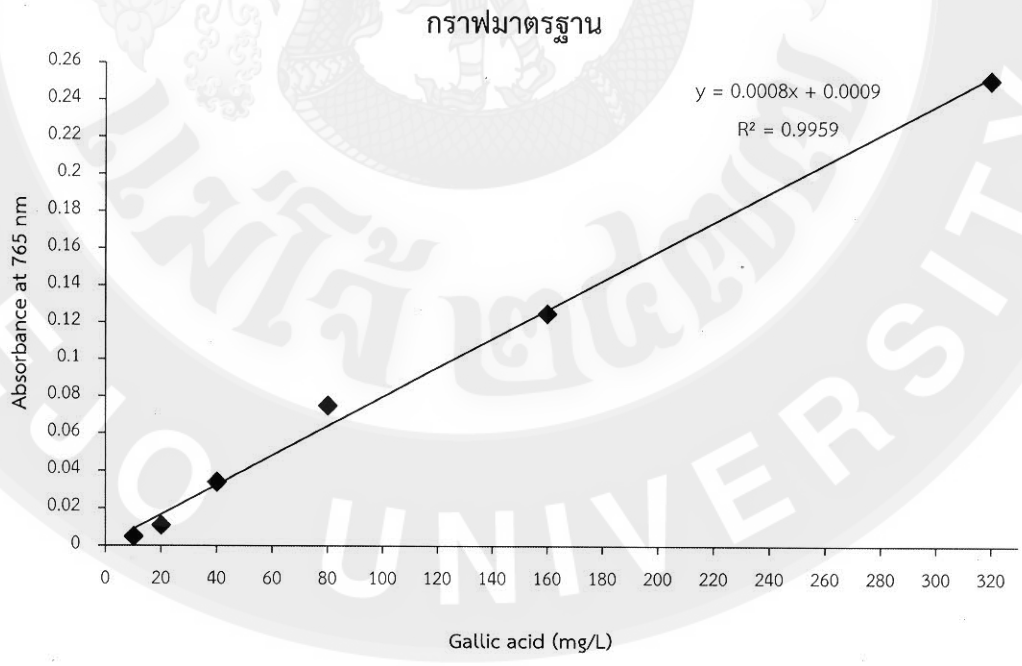
ที่ 517 นาโนเมตร โดยใช้ Vitamin C เป็น Control แล้วทำการคำนวณหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระดังสมการด้านล่าง

สูตรคำนวณ

Percentage (%) inhibition = [A_{517}control – A_{517}extracted/ A_{517}control] x100

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอล

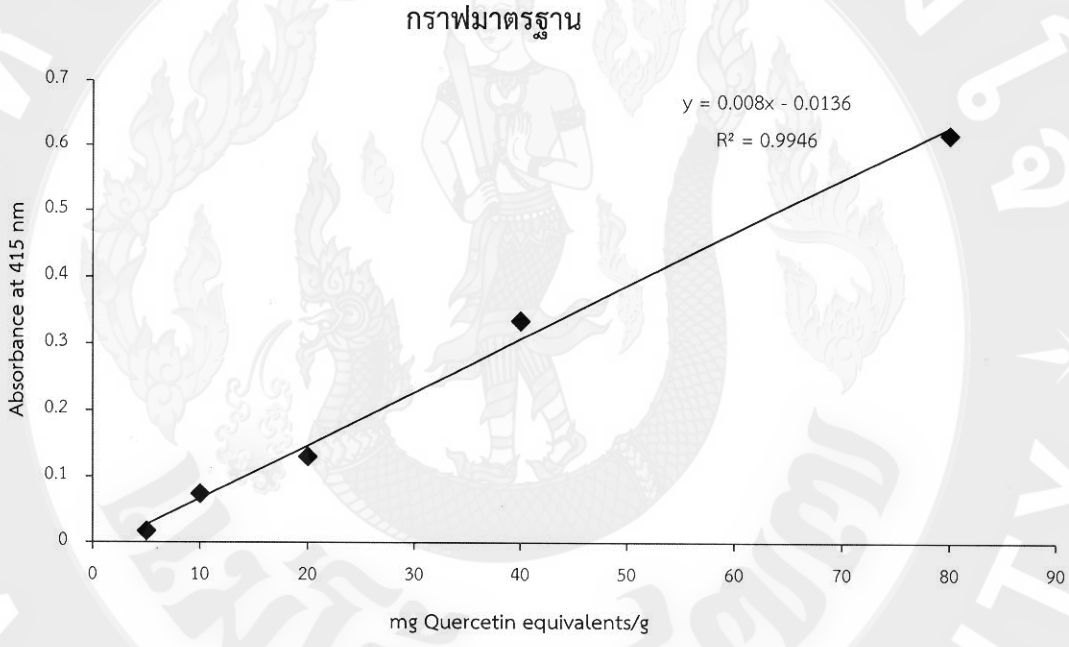
สำหรับการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลนั้นทำการวิเคราะห์โดยดัดแปลงวิธีการของ Burguieres et al., (2007) ด้วยการเตรียมสารสกัดของหอมแดงแต่ละรหัสพันธุ์ปริมาตร 50 ไมโครลิตร และ methanol ปริมาตร 50 ไมโครลิตร และเติมน้ำกลั่น 1,000 ไมโครลิตร แล้วเติมโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) 7.5% ปริมาตร 375 ไมโครลิตร ปล่อยทิ้งไว้ 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเติม Folin-Ciocaltau ปริมาตร 125 ไมโครลิตร และน้ำกลั่น 1,000 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร โดยนำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกแล้วคำนวณค่าเป็นมิลลิกรัมกรดแกลลิก ต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด (ภาพที่ 9)



ภาพที่ 9 กราฟมาตรฐานปริมาณฟีนอลิก

การหาปริมาณฟลาโวนอยด์

การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ โดยดัดแปลงวิธีการของ Basker et al., (2011) โดยการนำสารสกัดตัวอย่างหอมแดงแต่ละรหัสพันธุ์ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร แล้วเติมด้วย 10% แอมโมเนียคลอไรด์ (NH_4Cl) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร โพแทสเซียมอะซิเตท ($C_2H_3KO_2$) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร และเติมน้ำกลั่น ปริมาตรรวม 5,600 ไมโครลิตร แล้วตั้งทิ้งไว้สภาพอุณหภูมิห้องนาน 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 415 nm จากนั้นนำค่าที่ได้ไปทำการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Quercetin (SIGMA-ALDRICH) แล้วคำนวณค่าเป็นมิลลิกรัมเควอซิทินต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด (ภาพที่ 10)



ภาพที่ 10 กราฟมาตรฐานฟลาโวนอยด์

การหาปริมาณวิตามินซี

การหาปริมาณวิตามินซีด้วยวิธี indophenol method (A.O.A.C, 1984) โดยนำตัวอย่างหอมแดงแต่ละรหัสพันธุ์มาชั่งให้ได้นำหนักประมาณ 5 กรัม แล้วปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น เติม 0.4% กรดออกซาลิกแอซิค ปริมาตร 20 มิลลิลิตร กรองสารละลายด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 นำสารละลายที่ผ่านการกรองแล้วปริมาตร 10 มิลลิลิตร ไปทำการไตเตรทด้วยสารละลาย 2,6-dichlorophenol indophenol ความเข้มข้น 0.04% จนได้สารละลายที่มีสีชมพู

ค่ามาตรฐานที่ใช้ในการคำนวณปริมาณวิตามินซี ใช้ ascorbic acid (SIGMA-ALDRICH) ชั่ง ascorbic acid 0.05 กรัมละลายในกรดออกซาลิกแอซิคเข้มข้น 0.4% ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปไตเตรทด้วย 2,6-dichlorophenol indophenol 0.04% จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพู

สูตรคำนวณ

ปริมาณ indophenol dye a มิลลิลิตร มี ascorbic acid	= 1 มิลลิกรัม
ปริมาณ indophenol dye b มิลลิลิตร มี ascorbic acid	= (1 x b)/a มิลลิกรัม
	= c มิลลิกรัม
สารละลาย 10 มิลลิลิตร มี ascorbic acid	= c มิลลิกรัม
สารละลาย 100 มิลลิลิตร มี ascorbic acid	= (c x 100) /10 มิลลิกรัม
	= d มิลลิกรัม
เนื้อตัวอย่าง 5 กรัม มี ascorbic acid	= d มิลลิกรัม
เนื้อตัวอย่าง 100 กรัม มี ascorbic acid	= (d x 100) / 5 มิลลิกรัม
	= e มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักสด

วิธีการวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH, ปริมาณสารประกอบฟีนอล, ปริมาณฟลาโวนอยด์ และปริมาณวิตามินซี วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) โดยทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแต่ละสิ่งทดลองโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยสิ่งทดลองโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Sirichai Statistics version 6.07

สถานที่ทำการทดลอง

การศึกษาครั้งนี้จะเน้นการเก็บรวบรวมพันธุ์หอมแดงจากแหล่งปลูกหลักในเขตพื้นที่ภาคเหนือของประเทศไทย ด้วยการเก็บตัวอย่างหัวพันธุ์จากแปลงเกษตรกร และหัวพันธุ์พื้นบ้านที่ไม่ใช้เป็นการค้า ทำการปลูกทดสอบ ณ โรงเรือนพลาสติก สาขาพืชผัก คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

บทที่ 4

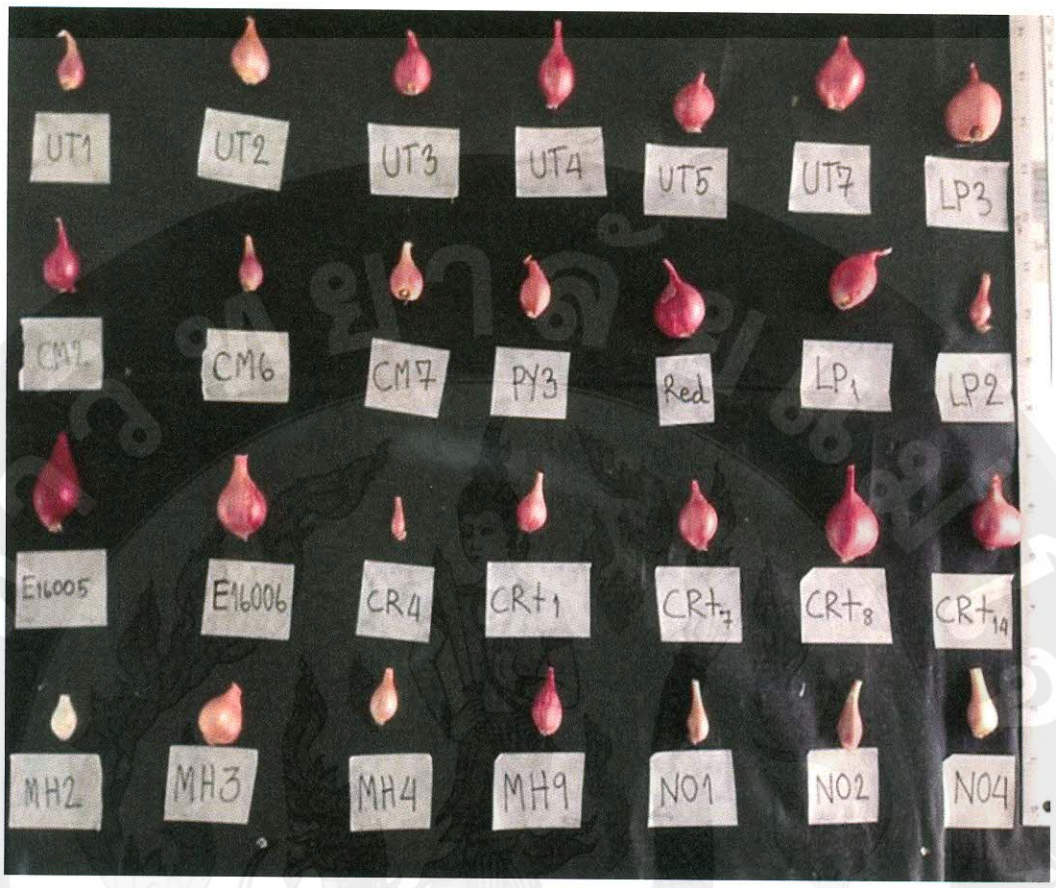
ผลการทดลอง

การรวบรวมพันธุ์หอมแดง

การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการรวบรวมหอมแดงจากแหล่งพื้นที่ปลูกต่างๆ ในเขตภาคเหนือทั้งหมด 6 จังหวัด รวบรวมได้ทั้งหมด 78 รหัสพันธุ์ ได้แก่ จังหวัดเชียงรายจำนวน 20 รหัสพันธุ์ จังหวัดเชียงใหม่จำนวน 24 รหัสพันธุ์ จังหวัดลำพูนจำนวน 3 รหัสพันธุ์ จังหวัดแม่ฮ่องสอนจำนวน 10 รหัสพันธุ์ จังหวัดอุตรดิตถ์จำนวน 6 รหัสพันธุ์ จังหวัดพะเยาจำนวน 4 รหัสพันธุ์ และจากเมล็ดจำนวน 11 รหัส โดยจากการสำรวจพบว่าเกษตรกรส่วนใหญ่นิยมปลูกหอมแดงด้วยการใช้หัวพันธุ์ โดยการเก็บรักษาหัวพันธุ์บางส่วนไว้สำหรับเพาะปลูกทำโดยการผึ่งในที่ร่มให้แห้งและแขวนเพื่อนำไปปลูกในฤดูกาลถัดไป

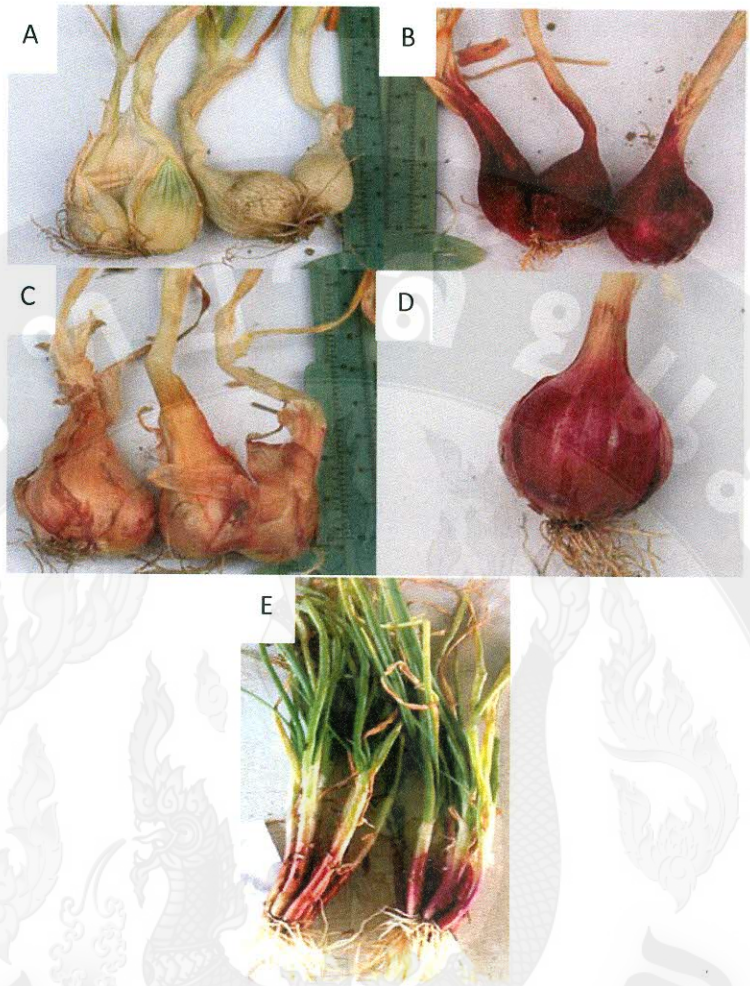
ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

หลังจากที่ทำการรวบรวมตัวอย่างหอมแดงจากแหล่งต่างๆ แล้วนำมาปลูกเพื่อศึกษาความแตกต่างกันทางพันธุกรรมด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 11) ซึ่งพบว่าตัวอย่างหอมแดงที่รวบรวมพันธุ์นั้นมีความแตกต่างกันทางสัณฐานวิทยาอย่างเห็นได้ชัดเจน 2 ลักษณะ คือ ลักษณะของสีเปลือก และจำนวนแง่งของหอมแดง



ภาพที่ 11 หอมแดงที่รวบรวมจากแหล่งผลิตต่าง ๆ

เมื่อพิจารณาจากสีของเปลือกสามารถแยกออกได้ 3 สี คือ สีม่วงแดง(CMveg, CR, NO, PY, LP, MH) สีส้มอมเหลือง(CM, UT) และสีขาว(MH2) หอมแดงจากจังหวัดเชียงราย พะเยา ลำพูน เชียงใหม่บางตัวอย่างและแม่ฮ่องสอนบางตัวอย่างมีเปลือกสีม่วงแดง จากการสอบถามพบว่าส่วนใหญ่ปลูกเพื่อเป็นการค้าและได้หัวพันธุ์มาจากจังหวัดศรีสะเกษ ส่วนหอมแดงจากจังหวัดอุตรดิตถ์และเชียงใหม่บางตัวอย่างมีเปลือกสีส้มอมเหลืองได้รับหัวพันธุ์มาจากจังหวัดเชียงใหม่ หอมแดงที่มีเปลือกสีขาวเป็นตัวอย่างที่มาจากจังหวัดแม่ฮ่องสอน และหอมแดงที่ทำการปลูกจากเมล็ดพันธุ์นั้นส่วนใหญ่มีสีของเปลือกเป็นสีม่วงแดง (ภาพที่ 12) นอกจากนี้พบว่าหอมแบ่งที่ส่วนใหญ่ปลูกไว้รับประทานในครัวเรือนหรือขายในตลาดท้องถิ่นเท่านั้นไม่เป็นที่นิยมส่งขายเข้าตลาดใหญ่ เพราะมีขนาดหัวเล็ก สีสันไม่สดใส และมีกลิ่นที่ไม่ฉุนโดยจะพบหอมแดงชนิดนี้ที่จังหวัดอุตรดิตถ์และแม่ฮ่องสอน



ภาพที่ 12 สีของเปลือกหุ้มและลักษณะของหัวพันธุ์หอมแดงที่เก็บรวมรวมจากแหล่งปลูกต่าง ๆ

หมายเหตุ รูปบนซ้าย (A) หอมแดงที่มีเปลือกหุ้มสีขาว MH02 รูปบนขวา (B) หอมแดงที่มีเปลือกหุ้มสีม่วงแดง CMveg01
รูปล่างซ้าย (C) หอมแดงที่มีเปลือกหุ้มสีส้มอมเหลือง CMveg10 และรูปล่างขวา (D) หอมแดงที่มีหัวเดี่ยว หอมแขก01 ภาพล่างสุด (E) หอมแบ่งที่มีเปลือกสีม่วงแดง UT1

จำนวนแง่งของหอมแดงที่ปลูกจากหัวพันธุ์และปลูกจากเมล็ดพบว่า มีจำนวนที่แตกต่างกัน เช่น ลักษณะหัวเดี่ยว ซึ่งพบในหอมแขก เป็นหอมแดงที่มีผิวสีแดงแต่หลังจากปลูกแล้วไม่มีจำนวนแง่งที่เพิ่มขึ้นหรือเป็นหัวเดียวมีลักษณะคล้ายกับหอมหัวใหญ่ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับหอมแดงอื่นๆ พบว่ามีจำนวนแง่งประกอบเพิ่มขึ้นตั้งแต่ 4 ถึง 8 แง่ง จากการสังเกตยังพบอีกว่าตัวอย่างหอมที่มาจากจังหวัดอุตรดิตถ์ (หอมแบ่ง) นั้นมีลักษณะคล้ายคลึงกับหอมแดงมากแต่แตกต่างกันที่ขนาดของแง่งที่มี

ขนาดเรียวยาวไม่แสดงหัวแง่งอย่างชัดเจน (ภาพที่ 12 ล่างสุด) แต่ด้วยรสชาติและคุณค่าทางโภชนาการยังนับว่าน้อยกว่าหอมแดงจึงไม่เป็นที่นิยมของตลาด เกษตรกรจึงนิยมปลูกเพื่อรับประทานในครัวเรือน ลักษณะอีกประการของหอมแบ่งคือไม่มีการออกดอกและมีขนาดหัวที่เล็กกว่าหอมแดง

การเจริญเติบโตของหอมแดง

จากการศึกษาการรวบรวมพันธุ์ถึงแม้สามารถทำการรวบรวมหอมแดงได้ทั้งหมด 78 รหัสพันธุ์ พบว่ามีหอมแดงเพียง 32 รหัสพันธุ์เท่านั้นที่สามารถนำมาศึกษาด้านการเจริญเติบโตได้ เนื่องจากตัวอย่างส่วนใหญ่ฝ่อไม่สามารถนำมาขยายพันธุ์และปลูกทดสอบได้ ผลการศึกษาพบว่าหอมแดงที่ทำการรวบรวมในการศึกษาครั้งนี้มีความแตกต่างกันทางด้านการเจริญเติบโต รายละเอียดดังนี้

1. จำนวนใบ

จำนวนใบพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ หอมแดงที่มาจากหัวพันธุ์มีจำนวนใบมากกว่าหอมแดงที่มาจากเมล็ดพันธุ์ โดยหอมแดงจากจังหวัดพะเยารหัส PY03 มีจำนวนใบมากที่สุด คือ 50.40 ใบ รองลงมา คือ PY04 (38.60 ใบ) และหอมแดงในกลุ่มของจังหวัดเชียงรายพบว่ามีจำนวนใบน้อยที่สุดในรหัส CR04 คือ 7.60 ใบ ในส่วนของหอมที่มาจากเมล็ดพันธุ์พบว่า หอมแดงรหัส E16001 คือ 7.80 ใบ มีจำนวนใบที่น้อยที่สุด (ตารางที่ 3)

2. จำนวนหัว

จำนวนหัวพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยหอมแดงที่หัวพันธุ์มีจำนวนหัวสูงกว่าหอมแดงที่มาจากเมล็ดพันธุ์ โดยหอมแดงจากจังหวัดพะเยารหัส PY03 มีจำนวนหัวมากที่สุด คือ 12.20 หัว รองลงมาคือ หอมแดงที่มาจากเมล็ดพันธุ์รหัส NO3 (11.20 หัว) และหอมแดงที่มาจากจังหัวเชียงรายพบว่ามีจำนวนหัวที่น้อยสุดรหัส CRt13 คือ 1.40 หัว (ตารางที่ 3)

3. ความกว้างหัว

ความกว้างหัวพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยหอมแดงที่มาจากหัวพันธุ์มีความกว้างหัวมากกว่าหอมแดงที่มาจากเมล็ดพันธุ์ โดยหอมแดงในกลุ่มจังหวัดเชียงรายมีความกว้างหัวมากที่สุดเมื่อเทียบกับหอมแดงที่มาจากจังหวัดพะเยาและแม่ฮ่องสอน หอมแดงรหัส CRt14 จากจังหวัดเชียงรายมีความกว้างหัวมาที่สุด คือ 2.78 เซนติเมตร รองลงมา คือ หอมแดงที่มาจากเมล็ดพันธุ์รหัส E16006

(2.68 เซนติเมตร) เมื่อพิจารณาหอมแดงจากจังหวัดพะเยาพบว่าหอมแดงรหัส PY01 มีความกว้างหัวมากที่สุด รองลงมา คือ PY02, PY03 และ PY04 ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

4. ความยาวหัว

ความยาวหัวพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยหอมแดงที่มาจากเมล็ดพันธุ์มีความยาวหัวมากกว่าหอมแดงที่มาจากหัวพันธุ์ โดยหอมแดงรหัส E16006 มีความยาวหัวมากที่สุด คือ 2.88 เซนติเมตร รองลงมาคือ K01 (2.62 เซนติเมตร) และหอมแดงที่มาจากจังหวัดเชียงรายมีความยาวหัวน้อยที่สุด คือ รหัส CRt13 0.54 เซนติเมตร (ตารางที่ 3)

5. จำนวนวันในการลงหัว

จำนวนวันในการลงหัวพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยหอมแดงที่มาจากเมล็ดมีจำนวนวันในการลงหัวมากกว่าหอมแดงที่มาจากหัวพันธุ์ โดยหอมแดงรหัส E16001, E16005, E16006, k01, NO03, NO05 และ NO06 ที่มาจากเมล็ดพันธุ์มีจำนวนวันในการลงหัวมากที่สุดคือ 120 วัน รองลงมาคือหอมแดงจากหัวพันธุ์ในกลุ่มของจังหวัดพะเยารหัส PY01, PY02, PY03 และ PY04 มีจำนวนวันลงหัวรองลงมา คือ 102 วัน และเมื่อพิจารณาหอมแดงในกลุ่มจังหวัดเชียงรายพบว่ามีจำนวนวันในการลงหัวน้อยที่สุดอยู่ที่ 40 วันในรหัส CR03, CRt03, CRt05, CRt12 และ CRt13 ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

6. น้ำหนักสดหัวรวม

น้ำหนักสดหัวรวมพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยหอมแดงที่มาจากเมล็ดพันธุ์มีน้ำหนักหัวสดรวมสูงกว่าหอมแดงที่มาจากหัวพันธุ์ โดยหอมแดงหมายเลข NO3 มีน้ำหนักสุดสุดคือ 65.22 กรัม รองลงมาคือ NO5 (57.45 กรัม) และเมื่อพิจารณาหอมแดงที่รวบรวมมาจากหัวพันธุ์จากจังหวัดพะเยามีแนวโน้มน้ำหนักหัวสดที่สูงกว่าหอมแดงที่มาจากจังหวัดเชียงรายและแม่ฮ่องสอน รหัสพันธุ์ที่มีน้ำหนักหัวสดมากที่สุด คือ PY03 รองลงมาคือ PY01, PY02 และ PY04 ตามลำดับ นอกจากนี้ผลการศึกษายังแสดงให้เห็นว่าน้ำหนักหัวสดรวมของหอมแดงที่มาจากจังหวัดเชียงรายมีความแปรปรวนสูง (ตารางที่ 3)

7. น้ำหนักหัวเฉลี่ย

น้ำหนักหัวเฉลี่ยพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยหอมแขกมีน้ำหนักหัวเฉลี่ยสูงกว่าหอมแดงที่มาจากหัวพันธุ์ โดยหอมแขก 01 มีน้ำหนักหัวเฉลี่ยที่สูงสุด คือ 14.29 กรัม และหอมแดง

จากจังหวัดพะเยามีแนวโน้มน้ำหนักหัวเฉลี่ยสูงกว่าหอมแดงที่มาจากจังหวัดเชียงรายและแม่ฮ่องสอน รหัสพันธุ์ที่มีน้ำหนักหัวเฉลี่ยมากที่สุด คือ PY02 หนัก 9.94 กรัม (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ลักษณะประจำพันธุ์หอมแดงที่เก็บรวบรวมจากแหล่งต่างๆ ของภาคเหนือ

รหัส	จำนวนใบ	จำนวนหัว	กว้างหัว (เซนติเมตร)	ยาวหัว (เซนติเมตร)	วันลงหัว (วัน)	น้ำหนักสด (กรัม)	นน.เฉลี่ย (กรัม)
CR01	16.00$_{bcd}$	3.80$_{cd}$	1.88$_{abcde}$	1.96$_{abcd}$	102.00 $_{ab}$	18.6$_{bcde}$	5.27$_{cde}$
CR02	24.40$_{abcd}$	5.80$_{abcd}$	2.02$_{abcde}$	2.12$_{abcd}$	102.00 $_{ab}$	38.8$_{abcde}$	7.07$_{bcde}$
CR03	13.00$_{bcd}$	2.60$_{d}$	0.60$_{de}$	0.76$_{cd}$	40.8$_{b}$	9.96$_{de}$	1.65$_{e}$
CR04	7.60$_{cd}$	2.20$_{d}$	1.32$_{abcde}$	1.42$_{abcd}$	61.2$_{ab}$	15.38 $_{cde}$	4.16$_{cde}$
CR05	26.20$_{abcd}$	4.40$_{bcd}$	2.20$_{abcde}$	2.10$_{abcd}$	102.00$_{ab}$	32.69$_{abcde}$	7.76$_{bcde}$
CR06	15.80$_{bcd}$	2.40$_{d}$	1.76$_{abcde}$	1.66$_{abcd}$	102.00$_{ab}$	13.65$_{cde}$	5.58$_{bcde}$
CRt01	12.60$_{cde}$	2.60$_{d}$	1.64$_{abcde}$	1.44$_{abcd}$	61.20$_{ab}$	29.92$_{abcde}$	6.99$_{bcde}$
CRt02	11.20$_{bcd}$	3.40$_{cd}$	1.48$_{abcde}$	1.44$_{abcd}$	61.20$_{ab}$	16.00$_{bcde}$	2.90$_{de}$
CRt03	12.80$_{bcd}$	3.20$_{cd}$	0.98$_{bcde}$	0.94$_{bcd}$	40.80$_{b}$	20.33$_{bcde}$	2.52$_{de}$
CRt04	7.60$_{cd}$	2.20$_{d}$	1.32$_{abcde}$	1.42$_{abcd}$	61.2$_{ab}$	15.38$_{cde}$	4.16$_{cde}$
CRt05	16.60$_{bcd}$	5.00$_{bcd}$	0.80$_{cde}$	0.86$_{bcd}$	40.80$_{b}$	18.31$_{bcde}$	1.48$_{e}$
CRt06	16.40$_{bcd}$	3.60$_{cd}$	1.34$_{abcde}$	1.30$_{abcd}$	61.20$_{ab}$	24.62$_{abcde}$	4.11$_{cde}$
CRt07	28.60$_{abcd}$	5.80$_{abcd}$	2.26$_{abcde}$	2.36$_{abc}$	102.00$_{ab}$	41.47$_{abcde}$	7.66$_{bcde}$
CRt08	20.00$_{bcd}$	4.00$_{bcd}$	1.32$_{abcde}$	1.52$_{abcd}$	61.20$_{ab}$	29.36$_{abcde}$	4.45$_{cde}$
CRt09	14.00$_{bcd}$	2.40$_{d}$	1.58$_{abcde}$	1.54$_{abcd}$	61.20$_{ab}$	23.86$_{bcde}$	5.92$_{bcde}$
CRt10	32.60$_{abc}$	6.20$_{abcd}$	2.14$_{abcde}$	2.14$_{abcd}$	102.00$_{ab}$	41.19$_{abcde}$	6.99$_{bcde}$
CRt12	15.60$_{bcd}$	3.40$_{cd}$	0.84$_{bcde}$	1.00$_{bcd}$	40.80$_{b}$	15.27$_{cde}$	1.76$_{e}$
CRt13	4.40$_{d}$	1.40$_{d}$	0.52$_{e}$	0.54$_{d}$	40.80$_{b}$	4.23$_{e}$	1.15$_{e}$
CRt14	21.80$_{bcd}$	4.40$_{bcd}$	2.78$_{a}$	2.54$_{abc}$	102.00$_{ab}$	53.29$_{abc}$	12.13$_{ab}$
E16001	7.80$_{cd}$	1.80$_{d}$	1.16$_{abcde}$	1.04$_{bcd}$	120.00$_{a}$	6.57$_{e}$	1.61$_{e}$
E16005	24.40$_{abcd}$	6.00$_{abcd}$	2.48$_{abc}$	2.08$_{abcd}$	120.00$_{a}$	20.04$_{bcde}$	3.41$_{cde}$
E16006	24.20$_{abcd}$	5.00$_{bcd}$	2.68$_{ab}$	2.88$_{a}$	120.00$_{a}$	18.74$_{bcde}$	3.78$_{cde}$
k01	20.40$_{bcd}$	3.40$_{cd}$	2.52$_{abc}$	2.62$_{ab}$	120.00$_{a}$	12.73$_{cde}$	3.71$_{cde}$
MH02	25.20$_{abcd}$	6.20$_{abcd}$	1.38$_{abcde}$	1.50$_{abcd}$	56.00$_{ab}$	21.77$_{bcde}$	3.26$_{cde}$

ตารางที่ 3 (ต่อ)

รหัส	จำนวนใบ	จำนวนหัว	กว้างหัว (เซนติเมตร)	ยาวหัว (เซนติเมตร)	วันลงหัว (วัน)	น้ำหนักสด (กรัม)	นน.เฉลี่ย (กรัม)
NO03	36.00ab	11.20ab	2.20abcde	2.46abc	120.00a	65.22a	5.52bcde
NO05	22.60bcd	5.60abcd	1.48abcde	1.28abcd	120.00a	57.49ab	4.16cde
NO06	37.80ab	10.40abc	1.48abcde	1.28abcd	120.00a	30.82abcde	4.13cde
PY01	28.40abcd	5.80abcd	2.38abcd	2.24abcd	102.00ab	48.97abcd	9.01abcd
PY02	26.00abcd	4.20bcd	2.34abcde	2.10abcd	102.00ab	38.65abcde	9.94abc
PY03	50.40a	12.20a	2.04abcde	2.14abcd	102.00ab	50.63abcd	4.31cde
PY04	38.60ab	6.40abcd	2.04abcde	1.96abcd	102.00ab	37.75abcde	6.06bcde
หอมแขก01	21.80d	2.80d	2.52abc	2.08abcd	120.00a	31.61abcde	14.29a
Mean	21.5	4.7	1.73	1.71	86.6	28.8	5.26
Std.	6.29	1.64	0.41	0.4	15.49	9.25	1.3
C.V. (%)	65.43	78.28	53.33	53.06	40.03	71.76	65.43

การศึกษาลักษณะเซลล์พันธุศาสตร์

จากการศึกษาลักษณะของโครโมโซมของหอมแดงที่มาจากหัวพันธุ์และหอมแดงที่มากจากเมล็ดพันธุ์พบว่า หอมแดงทั้งสองมีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน คือ 2n = 2x = 16 (ภาพที่ 13)

ภาพที่ 13 ลักษณะโครโมโซมของหอมแดงที่เก็บมาจากแหล่งปลูกต่างๆ

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมด้วยเครื่องหมายโมเลกุล SSR

ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมด้วยเครื่องหมายโมเลกุล SSR ของหอมแดงในครั้งนี้สามารถดำเนินการได้เพียง 59 ตัวอย่างจาก 78 ตัวอย่างเนื่องจากหอมแดงบางรหัสพันธุ์มีการตายในช่วงระหว่างการทดลอง ซึ่งการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้ไพรเมอร์ในการวิเคราะห์เครื่องหมายโมเลกุล SSR จำนวน 21 คู่ (อ้างอิงมาจาก Fisher and Bachmann, 2000 ; Jakše et al., 2005 ; Ku et al., 2004 ; Yaguchi et al., 2009) พบว่า มีเพียง 10 ไพรเมอร์ ที่สามารถให้คะแนนได้ (มีหนึ่งหรือสองแถบดีเอ็นเอที่ชัดเจน) จากไพรเมอร์ทั้งหมด คือ ACM018, ACM046, ACM068, ACM243, ACM300, ACM303, ACM316, ACM318, AMS23 และ Af5ss ที่เป็น polymorphic (ภาพที่ 14-23) และสามารถแสดงความแตกต่างระหว่างจีโนไทป์ของหอมแดงในเขตภาคเหนือที่นำมาทดสอบมากที่สุด ส่วนเครื่องหมาย SSR อีก 13 ตำแหน่งให้เครื่องหมาย SSR ที่เหมือนกันกับตัวอย่างทั้งหมด

ที่นำมาใช้ทดสอบ (monomorphic) จึงไม่สามารถให้ความแตกต่างระหว่างจีโนไทป์ของหอมแดงได้ โดยไพรเมอร์แต่ละตัวสามารถแยกความแตกต่างของหอมแดงในแต่ละกลุ่มจังหวัดได้ ดังนี้

ไพรเมอร์ ACM018 ขนาด 275 bp พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอและแสดงแถบดีเอ็นเอกับหอมแดงที่มาจากจังหวัดลำพูนได้เพียง 1 รหัส คือ รหัส LP3 ในกลุ่มจังหวัดพะเยาเกิดแถบดีเอ็นเอในรหัส PY2 และPY3 และจังหวัดเชียงรายเกิดแถบดีเอ็นเอในรหัส CR1, CR3, CR4 และCR6 ในกลุ่มที่มาจากเมล็ดพันธุ์พบว่าเกิดแถบดีเอ็นเอในตัวอย่าง NO1, NO2, NO3, NO4 และNO5 ในส่วนหอมแขก (k1) เกิดแถบสองแถบดีเอ็นเอ (ภาพที่ 14)

ไพรเมอร์ ACM046 ขนาด 280 bp พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอและแสดงแถบดีเอ็นเอกับหอมแดงของจังหวัดเชียงรายรหัส CRt6, CRt7, CRt9, CRt10, CRt11, CRt12, CR2, CR3 CR4 และในกลุ่มจังหวัดเชียงใหม่รหัส CM3, CM6, CM7, CM8, CM9, CM10, CM12 และCM13 ในกลุ่มหอมแดงที่มาจากเมล็ดรหัส NO1 (ภาพที่ 15)

ไพรเมอร์ ACM068 ขนาด 216 bp พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอและแสดงแถบดีเอ็นเอกับหอมแดงที่มาจากหัวพันธุ์ในจังหวัดลำพูน (LP) เชียงราย(CRt) และเชียงใหม่ (CM) ปรากฏแถบดีเอ็นเอ จังหวัดอุตรดิตถ์พบแถบดีเอ็นเอในตัวอย่างรหัส UT3, UT5, UT6 และUT7 ตามลำดับ พะเยาพบแถบดีเอ็นเอในตัวอย่างรหัส PY1 และPY4 แม่ฮ่องสอนในตัวอย่างรหัส MH6 และในส่วนของหอมแดงที่มาจากเมล็ดปรากฏแถบดีเอ็นเอในตัวอย่างรหัส NO3 (ภาพที่ 16)

ไพรเมอร์ ACM243 ขนาด 141 bp พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอและแสดงแถบดีเอ็นเอกับหอมแดงที่มาจากหัวพันธุ์ในจังหวัดลำพูนรหัส LP1, LP2 และLP3 หอมแดงจากจังหวัดพะเยารหัส PY1, PY2 และPY4 หอมแดงจากจังหวัดแม่ฮ่องสอนรหัส MH1, MH2 และMH6 หอมแดงจากจังหวัดอุตรดิตถ์ (UT) ทุกตัวอย่าง หอมแดงจากจังหวัดเชียงรายรหัส CRt1, CRt2, CRt3, CRt5, CRt6, CRt7, CRt8, CRt9, CRt10, CRt11, CRt12, CRt13,CRt14, CR1, CR2, CR3 CR5 และCR6 ตามลำดับ หอมแดงจากจังหวัดเชียงใหม่รหัส CM2, CM3, CM4, CM5, CM6, CM8, CM9, CM10, CM11, CM13 และCM14 ตามลำดับ ปรากฏแถบดีเอ็นเอ และในส่วนของหอมแดงที่มาจากเมล็ดพันธุ์ปรากฏแถบดีเอ็นเอในตัวอย่างรหัส NO1, NO3, NO4, NO5, NO6 และK1 (ภาพที่ 17)

ไพรเมอร์ ACM300 ขนาด 154 bp พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอและแสดงแถบดีเอ็นเอกับหอมแดงที่มาจากหัวพันธุ์ในจังหวัดลำพูนรหัส LP1, LP2 และLP3 หอมแดงจากจังหวัดพะเยารหัส PY1, PY2 และPY4 หอมแดงจากจังหวัดแม่ฮ่องสอนรหัส MH1, MH2 และMH6 หอมแดงจากจังหวัดอุตรดิตถ์ (UT) ทุกตัวอย่าง หอมแดงจากจังหวัดเชียงราย (CRt) ทุกตัวอย่าง หอมแดงจากจังหวัดเชียงใหม่รหัส CM2, CM4, CM5, CM8, CM9, CM10, CM11, CM13 และCM14 ตามลำดับ ปรากฏแถบดีเอ็นเอ และในส่วนของหอมแดงที่มาจากเมล็ดพันธุ์ปรากฏแถบดีเอ็นเอในตัวอย่างรหัส NO1, NO4, NO5, NO6 และK1 (ภาพที่ 18)

ไพรเมอร์ ACM303 ขนาด 115 bp พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอและแสดงแถบดีเอ็นเอกับหอมแดงที่มาจากส่วนหัวเท่านั้น โดยพบว่าในจังหวัดลำพูนรหัส LP2 และLP3 หอมแดงจากจังหวัดพะเยารหัส PY1, PY2 และPY4 หอมแดงจากจังหวัดแม่ฮ่องสอนรหัส MH1, MH2 และMH6 หอมแดงจากจังหวัดอุตรดิตถ์รหัส UT3, UT4, และUT5 หอมแดงจากจังหวัดเชียงรายรหัส CRt1, CRt2, CRt3, CRt7, CRt8, CRt11, CRt12 และCRt13 มีการปรากฏแถบดีเอ็นเอ ในส่วนของหอมแดงที่มาจากเมล็ดพันธุ์ไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอ (ภาพที่ 19)

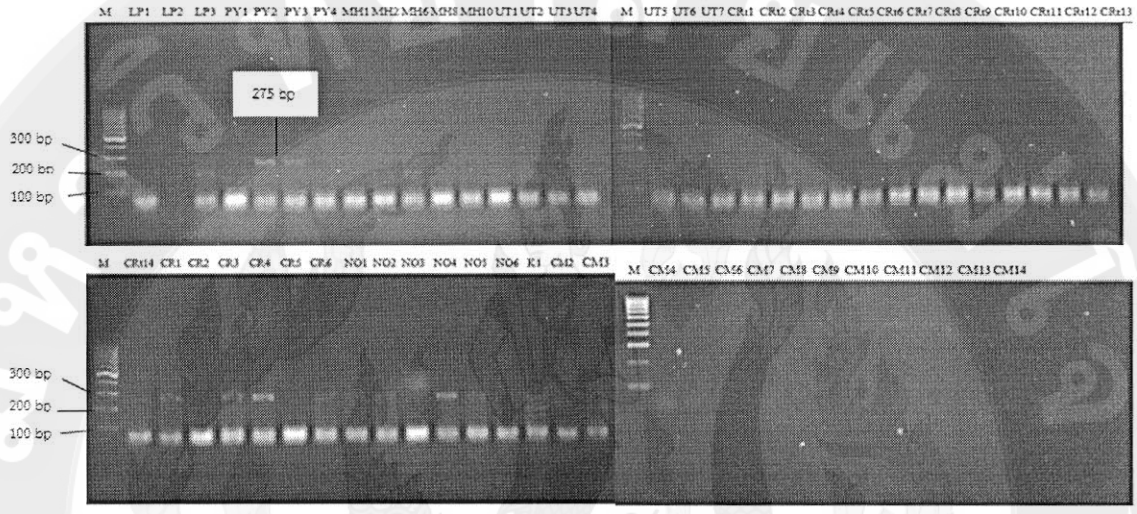
ไพรเมอร์ ACM316 ขนาด 204 bp พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอและแสดงแถบดีเอ็นเอกับหอมแดงที่มาจากหัวพันธุ์ในจังหวัดลำพูนรหัส LP1, LP2 และLP3 หอมแดงจากจังหวัดพะเยารหัส PY4 หอมแดงจากจังหวัดแม่ฮ่องสอนรหัส MH6 หอมแดงจากจังหวัดอุตรดิตถ์รหัส UT5 และUT6 หอมแดงจากจังหวัดเชียงรายรหัส CRt1, CRt2, CRt3, CRt5, CRt6, CRt7, CRt8, CRt9, CRt10, CRt11, CRt12, CRt13,CRt14, CR1, CR2, CR3 CR5 และCR6 ตามลำดับ หอมแดงจากจังหวัดเชียงใหม่รหัส CM2, CM3, CM4, CM5, CM6, CM8, CM9, CM10, CM11, CM13 และCM14 ตามลำดับ ปรากฏแถบดีเอ็นเอ และในส่วนของหอมแดงที่มาจากเมล็ดพันธุ์ปรากฏแถบดีเอ็นเอในทุกตัวอย่าง (ภาพที่ 20)

ไพรเมอร์ ACM318 ขนาด 243bp พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอและแสดงแถบดีเอ็นเอกับหอมแดงที่มาจากหัวพันธุ์ในจังหวัดลำพูนรหัส LP1, LP2 และLP3 หอมแดงจากจังหวัดพะเยารหัส PY1, PY2 และPY4 หอมแดงจากจังหวัดแม่ฮ่องสอนรหัส MH2 หอมแดงจากจังหวัดอุตรดิตถ์รหัส UT1, UT3, UT4, UT5, UT6 และUT7 หอมแดงจากจังหวัดเชียงรายทุกรหัส (CRt, CR) หอมแดงจากจังหวัดเชียงใหม่รหัส CM2, CM3, CM4, CM5, CM6, CM8, CM9, CM10, CM11, CM13 และCM14 ตามลำดับปรากฏแถบดีเอ็นเอ และในส่วนของหอมแดงที่มาจากเมล็ดพันธุ์ปรากฏแถบดีเอ็นเอในทุกตัวอย่าง (ภาพที่ 21)

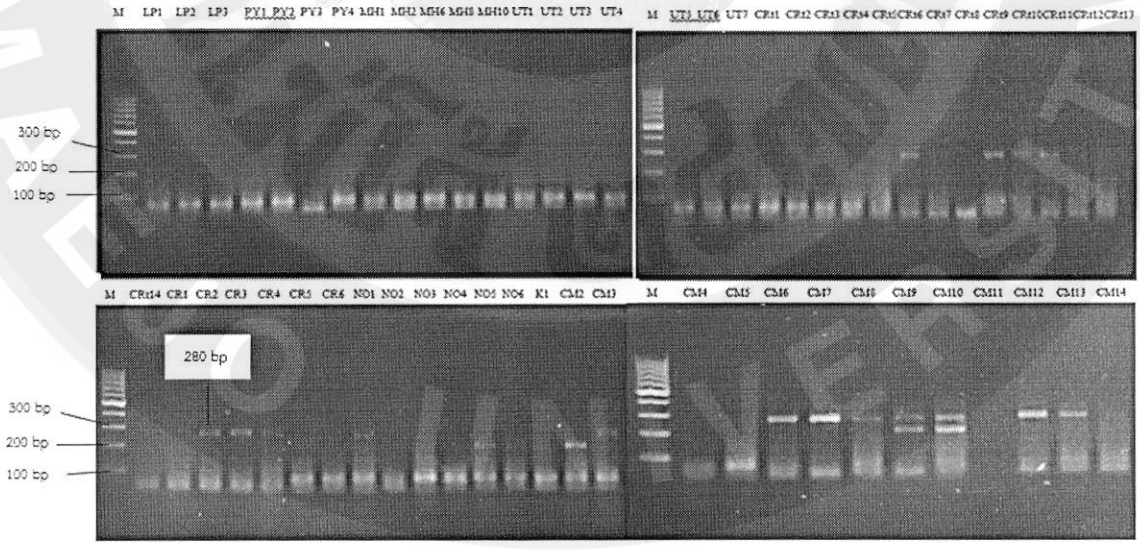
ไพรเมอร์ Af5ss พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอและแสดงแถบดีเอ็นเอกับหอมแดงที่มาจากหัวพันธุ์ในจังหวัดลำพูนรหัส LP1, LP2 และLP3 หอมแดงจากจังหวัดพะเยารหัส PY1, PY2 และ PY4 หอมแดงจากจังหวัดแม่ฮ่องสอนรหัส MH1 และMH6 หอมแดงจากจังหวัดอุตรดิตถ์รหัส UT1, UT6, และUT7 หอมแดงจากจังหวัดเชียงราย (CRt) ทุกตัวอย่างและตัวอย่างรหัส CR1, CR2, CR3 CR5 และCR6 ตามลำดับ หอมแดงจากจังหวัดเชียงใหม่รหัส CM2, CM3, CM4, CM5, CM6, CM8, CM9, CM10, CM11, CM13 และCM14 ตามลำดับปรากฏแถบดีเอ็นเอ และในส่วนของหอมแดงที่มาจากเมล็ดพันธุ์ปรากฏแถบดีเอ็นเอในทุกตัวอย่าง (ภาพที่ 22)

ไพรเมอร์ AMS23 ขนาด 157 bp พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอและแสดงแถบดีเอ็นเอกับหอมแดงที่มาจากหัวพันธุ์ในจังหวัดลำพูนรหัส LP1, LP2 และLP3 หอมแดงจากจังหวัดพะเยารหัส PY1, PY2 และPY4 หอมแดงจากจังหวัดแม่ฮ่องสอนรหัส MH2, MH8 และMH10 หอมแดงจาก

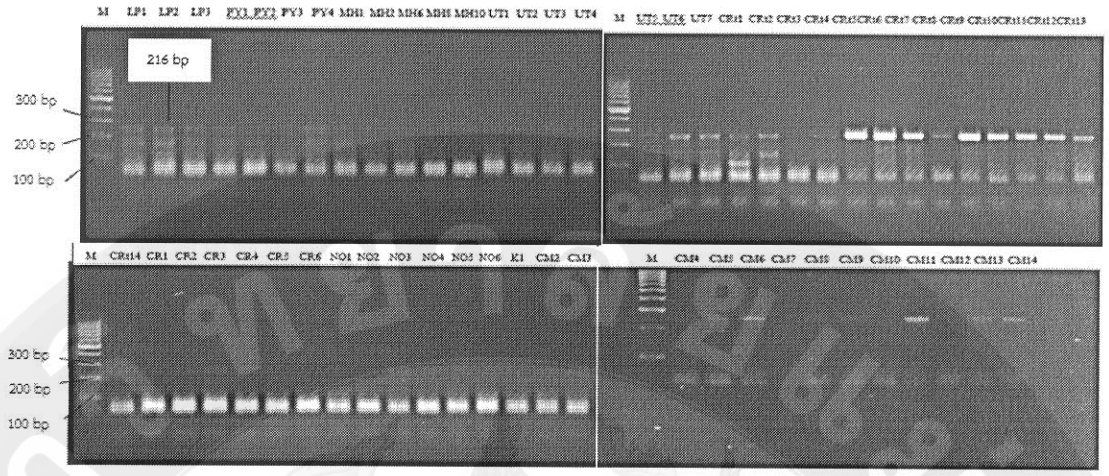
จังหวัดอุตรดิตถ์รหัส UT2, UT3, UT4, UT5, UT6 และUT7 หอมแดงจากจังหวัดเชียงรายรหัส CRt2, CRt3, CRt5, CRt6, CRt7, CRt8, CRt9, CRt11, CRt12, CRt13, CR1, CR5 และCR6 ตามลำดับ หอมแดงจากจังหวัดเชียงใหม่รหัส CM3, CM4, CM5, CM6, CM8, CM9, CM13 ตามลำดับ ปรากฏแถบดีเอ็นเอ และในส่วนของหอมแดงที่มาจากเมล็ดพันธุ์ปรากฏแถบดีเอ็นเอในรหัส NO2, NO3, NO5 และ K1 (ภาพที่ 23)



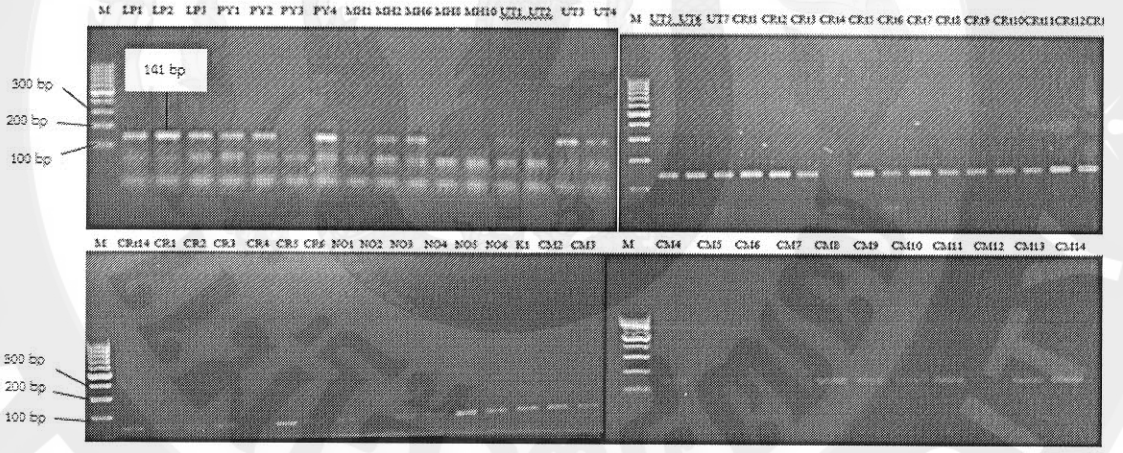
ภาพที่ 14 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอของหอมแดงจำนวน 59 รหัสพันธุ์จากปฏิกิริยาพีซีอาร์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล SSR โดยใช้ไพรเมอร์ ACM018



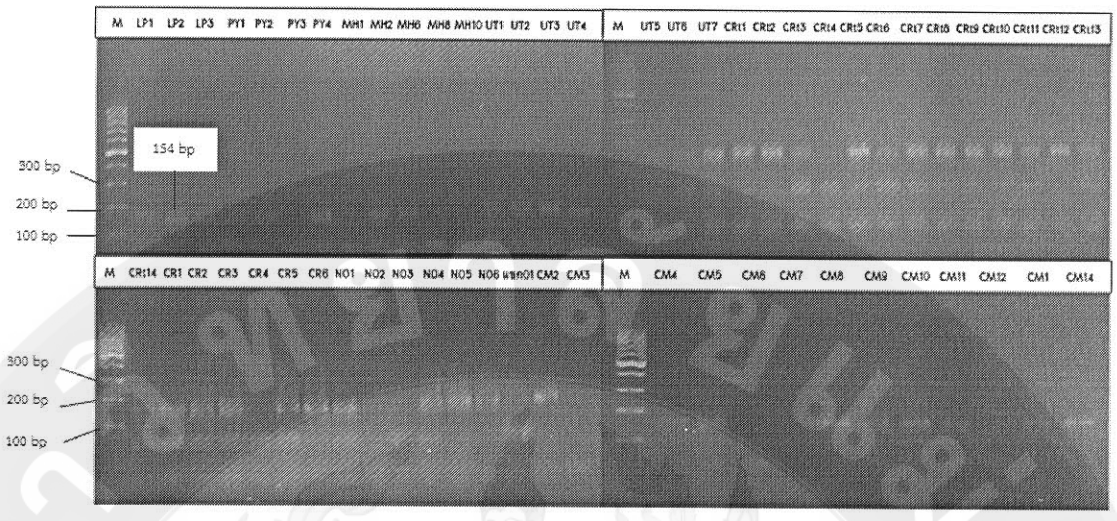
ภาพที่ 15 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอของหอมแดงจำนวน 59 รหัสพันธุ์จากปฏิกิริยาพีซีอาร์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล SSR โดยใช้ไพรเมอร์ ACM046



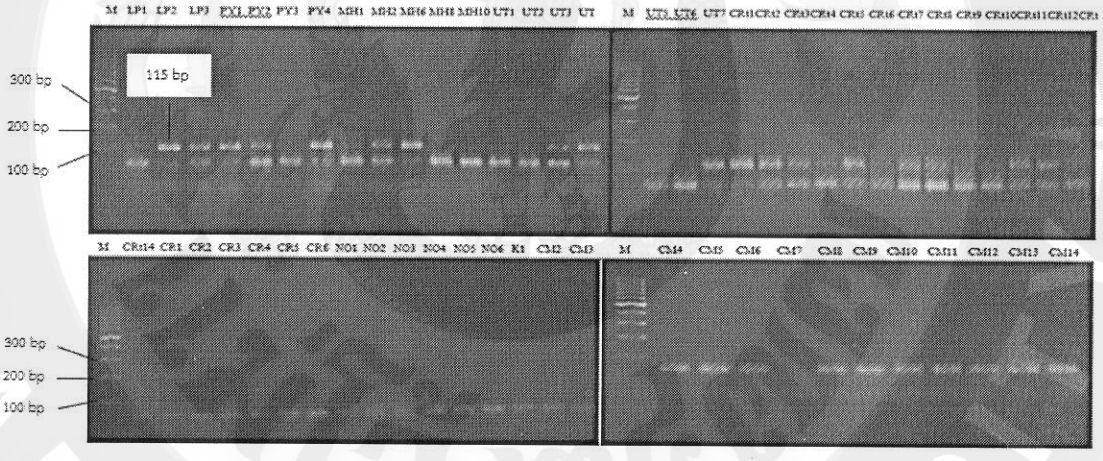
ภาพที่ 16 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอของหอมแดงจำนวน 59 รหัสพันธุ์จากปฏิกิริยาพีซีอาร์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล SSR โดยใช้ไพรเมอร์ ACM068



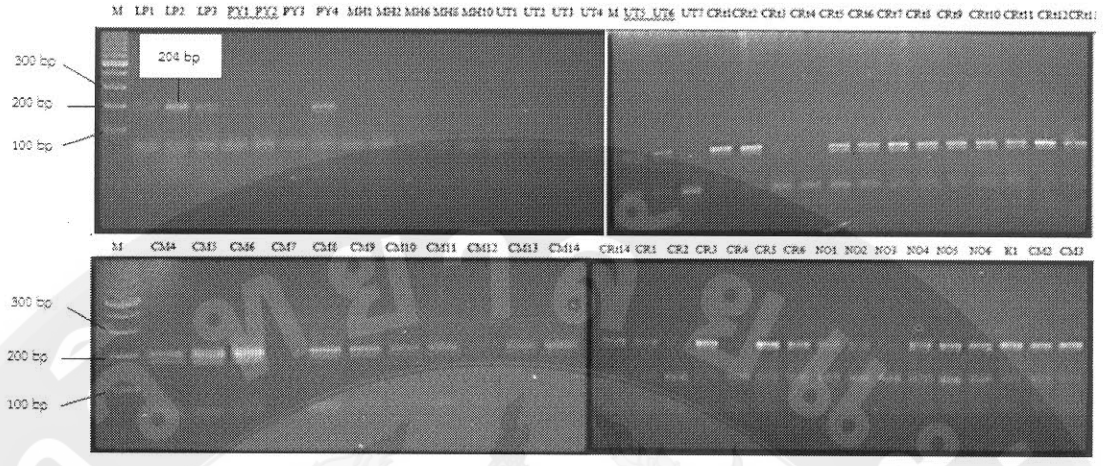
ภาพที่ 17 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอของหอมแดงจำนวน 59 รหัสพันธุ์จากปฏิกิริยาพีซีอาร์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล SSR โดยใช้ไพรเมอร์ ACM243



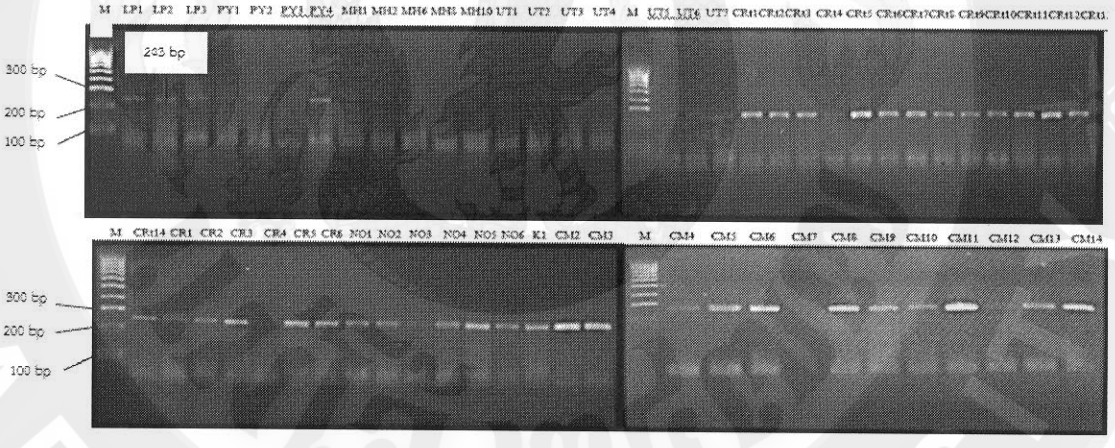
ภาพที่ 18 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอของหอมแดงจำนวน 59 รหัสพันธุ์จากปฏิกิริยาพีซีอาร์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล SSR โดยใช้ไพรเมอร์ ACM300



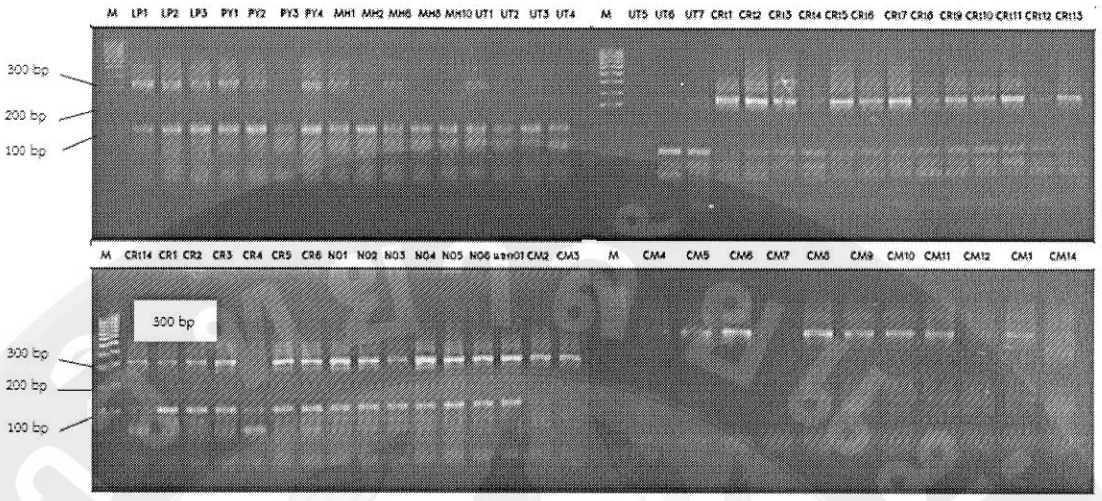
ภาพที่ 19 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอของหอมแดงจำนวน 59 รหัสพันธุ์จากปฏิกิริยาพีซีอาร์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล SSR โดยใช้ไพรเมอร์ ACM303



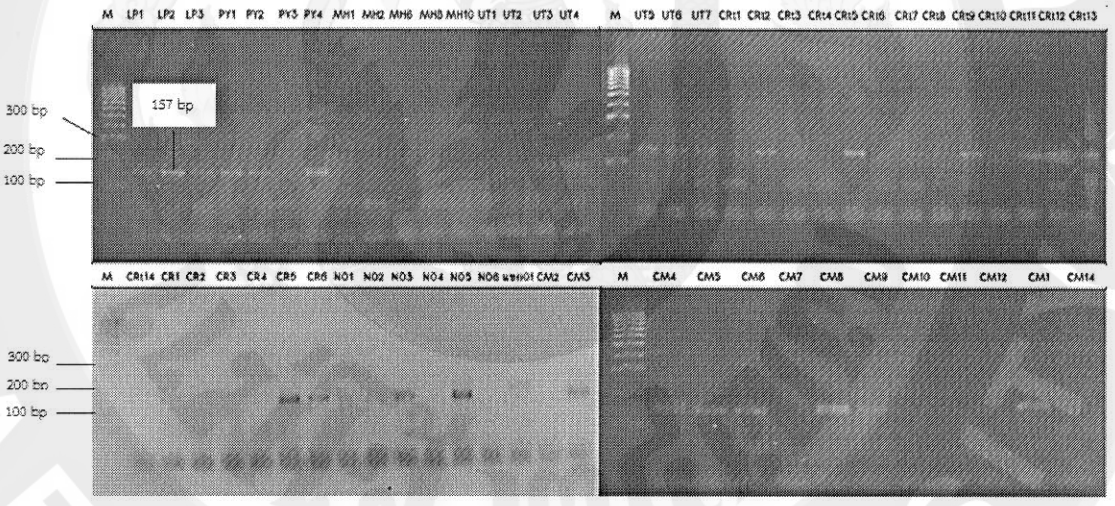
ภาพที่ 20 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอของหอมแดงจำนวน 59 รหัสพันธุ์จากปฏิกิริยาพีซีอาร์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล SSR โดยใช้ไพรเมอร์ ACM316



ภาพที่ 21 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอของหอมแดงจำนวน 59 รหัสพันธุ์จากปฏิกิริยาพีซีอาร์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล SSR โดยใช้ไพรเมอร์ ACM318



ภาพที่ 22 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอของหอมแดงจำนวน 59 รหัสพันธุ์จากปฏิกิริยาพีซีอาร์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล SSR โดยใช้ไพรเมอร์ Af5ss



ภาพที่ 23 ผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอของหอมแดงจำนวน 59 รหัสพันธุ์จากปฏิกิริยาพีซีอาร์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล SSR โดยใช้ไพรเมอร์ AMS23

การประเมินการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมาย SSR

จากจำนวนไพรเมอร์ทั้งหมด 21 ไพรเมอร์ที่นำมาทดสอบมีเพียง 10 ไพรเมอร์ที่สามารถให้ความแตกต่างของหอมแดง 14 ไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นกับตัวอย่างพืชในปฏิกิริยาพีซีอาร์ หรือคิดเป็น 66.6% ผลผลิตพีซีอาร์ที่สามารถให้คะแนนได้จำนวน 10 ไพรเมอร์ (47.6%) จากไพรเมอร์ทั้งหมด 23.8% ที่ให้ผลผลิตพีซีอาร์ที่มีหลายแถบดีเอ็นเอ และ 28.6% ที่สามารถให้ผลผลิตพีซีอาร์ได้กับดีเอ็นของหอมหัวใหญ่สีแดง (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ผลการประเมินการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมาย SSR จำนวน 10 เครื่องหมาย

PCR evaluation	Number (%)
PCR success rate	14 (66.6)
Not amplified	7 (33.4)
Multi-locus	5 (23.8)
Polymorphic	10 (47.6)
Amplified onion	6 (28.6)

การประเมินประสิทธิภาพของเครื่องหมาย SSR

จากการประเมินประสิทธิภาพของเครื่องหมาย SSR ทั้ง 10 เครื่องหมายในหอมแดง 59 รหัสพันธุ์ (ตารางที่ 5) พบว่ามีจำนวนอัลลีลทั้งหมด 16 อัลลีล มีค่าเฉลี่ยจำนวนอัลลีลต่อ 1 locus เท่ากับ 1.6±0.69 และจำนวนอัลลีลมีช่วงตั้งแต่ 1 ถึง 3 อัลลีล และจำนวนอัลลีลที่ปรากฏมากที่สุด คือ 2 อัลลีล ประกอบด้วย ACM018, ACM046, ACM068 และACM316 ปรากฏอัลลีลจำนวน 1 อัลลีล คือ ACM243, ACM300, ACM303, ACM318 และAMS23

อย่างไรก็ตามระดับของการเกิดโพลิเมอร์ฟิซึมของเครื่องหมายก็ขึ้นอยู่กับจำนวนและระดับความหลากหลายทางพันธุกรรมของหอมแดงที่นำมาใช้ในการประเมินประสิทธิภาพของเครื่องหมาย ผลการวิเคราะห์ค่า Average gene diversity (Hi) ในครั้งนี้พบว่ามีช่วงตั้งแต่ 0.18 ถึง 0.85 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.47±0.19 ค่า PIC มีช่วงตั้งแต่ -0.56 ถึง 0.91 เฉลี่ยเท่ากับ 0.50±0.44 โดยมีไพรเมอร์ที่ให้ค่า PIC ในระดับสูงจำนวน 5 ไพรเมอร์จากทั้งหมด 10 ไพรเมอร์ ประกอบด้วยไพรเมอร์ ACM068, ACM018, ACM300, ACM303, และ ACM046 มีค่า 0.73, 0.75, 0.80, 0.85 และ 0.91 ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ความแปรปรวนอัลลีลของเครื่องหมาย SSR จำนวน 10 เครื่องหมาย

Primers set	NA	He	PIC
ACM018	2	0.85	0.75
ACM046	2	0.65	0.91
ACM068	2	0.53	0.73
ACM243	1	0.21	0.32
ACM300	1	0.50	0.80
ACM303	1	0.49	0.85
ACM316	2	0.40	0.47
ACM318	1	0.18	0.19
AMS23	1	0.44	0.54
Af5ss	3	0.41	-0.56

หมายเหตุ NA = Number of allele
He= Average gene diversity
PIC= Polymorphic Information Contents

การวิเคราะห์หาดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรม

ผลจากการวิเคราะห์หาดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรม ของหอมแดงในเขตภาคเหนือที่ขยายพันธุ์ด้วยส่วนหัว ร่วมกับหอมแดงจากบริษัทเมล็ดพันธุ์รวมไปถึงหอมหัวใหญ่ ผลการวิเคราะห์เดนโดรแกรมที่สร้างจากเครื่องหมาย SSR พบว่าหอมแดงที่เก็บรวบรวมมาจากแหล่งปลูกต่างๆ ในเขตภาคเหนือของประเทศไทยสามารถจัดกลุ่มตามความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมตามแหล่งที่มาของหัวหรือเมล็ดได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่และแบ่งได้ 8 กลุ่มย่อยดังแสดงในภาพที่ 24 ดังนี้

กลุ่มที่ 1

ประกอบไปด้วยกลุ่มย่อย 7 กลุ่ม ได้แก่

กลุ่มย่อยที่ 1 ประกอบไปด้วยหัวพันธุ์ของหอมแดงที่มาจากจังหวัดเชียงราย (อำเภอเทิง) จังหวัดแม่ฮ่องสอน จังหวัดลำพูน จังหวัดพะเยา และจังหวัดอุตรดิตถ์ โดยสามารถแบ่งออกเป็นกลุ่ม

ย่อยได้สี่กลุ่ม ภายในกลุ่มมีสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงกันอยู่ระหว่าง 0.59-0.84 และหอมที่เก็บรวบรวมมาจากจังหวัดอุตรดิตถ์ รหัส UT5 ถูกแยกออกจากกลุ่ม

กลุ่มย่อยที่ 2 เป็นหอมแดงที่เก็บรวบรวมมาจากจังหวัดพะเยา (PY1 และ PY2) อุตรดิตถ์ (UT1, UT2, UT3 และ UT4) และแม่ฮ่องสอน (MH1 และ MH2) ภายในกลุ่มมีสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงกันอยู่ระหว่าง 0.59-0.81

กลุ่มย่อยที่ 3 มีเพียงหอมแดงจากจังหวัดแม่ฮ่องสอน รหัส MH1 แยกออกมาเพียงรหัสเดียว ซึ่งเป็นหอมหัวใหญ่ที่มีสีแดง

กลุ่มย่อยที่ 4 เป็นหอมแดงที่เก็บรวบรวมมาจากจังหวัดเชียงใหม่ จังหวัดเชียงราย (อำเภอเทิง) หอมแดงที่ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดและหอมแขก 1 ภายในกลุ่มสามารถแยกเป็นกลุ่มย่อยได้อีกสามกลุ่ม

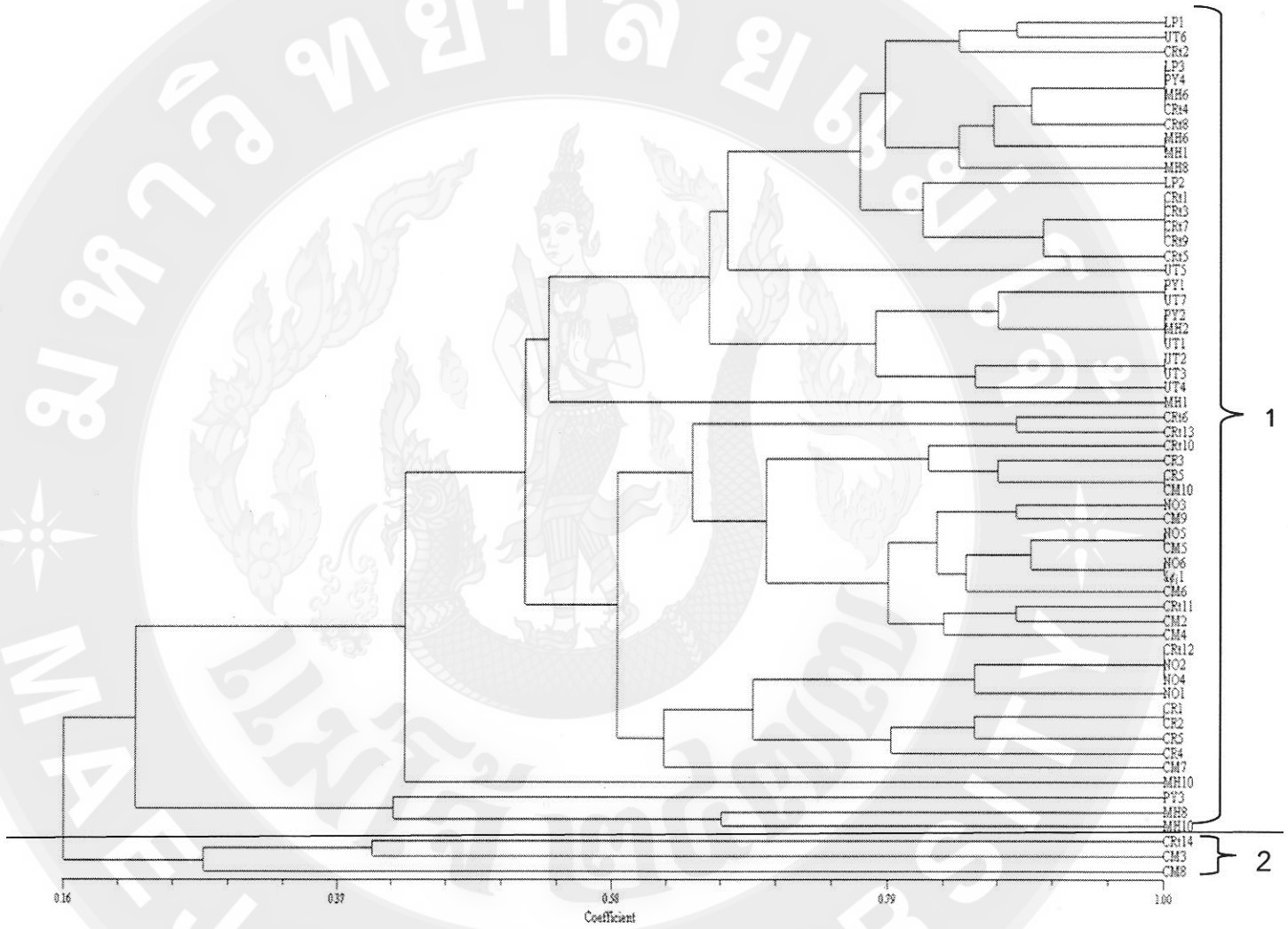
กลุ่มย่อยที่ 5 เป็นหอมแดงที่มาจากจังหวัดเชียงราย และหอมแดงที่ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด

กลุ่มย่อยที่ 6 เป็นหอมแดงจากจังหวัดแม่ฮ่องสอนรหัส MH10 ไม่ถูกจัดเข้ากลุ่ม

กลุ่มย่อยที่ 7 ประกอบไปด้วยหอมแดงจากจังหวัดพะเยา (PY3) และแม่ฮ่องสอน (MH8 และ MH10) มีสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงกันอยู่ระหว่าง 0.39-0.58

กลุ่มที่ 2

ประกอบไปด้วยหอมแดงที่มาจากอำเภอเทิง จังหวัดเชียงราย (CRt14) และจังหวัดเชียงใหม่ (CM3 และ CM8) มีสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงกันอยู่ระหว่าง 0.21-0.38 (ภาพที่ 24)



ภาพที่ 24 เดนโดแกรมแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของหอมแดงและหอมหัวใหญ่สีแดง (หอมแขก) ในเขตภาคเหนือของประเทศไทย

กิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระในหอมแดง

การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในครั้งนี้ทำการวิเคราะห์จากหอมแดงทั้งหมด 32 รหัสพันธุ์ โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิค ปริมาณวิตามินซี และ DPPH ผลการวิเคราะห์ ดังนี้

ปริมาณฟลาโวนอยด์

ผลการวิเคราะห์พบว่าปริมาณฟลาโวนอยด์ของหอมแดงทั้งหมดมีความแตกต่างกันทางสถิติ ปริมาณฟลาโวนอยด์ในหอมแดงมีค่าระหว่าง 4.900 – 45.367 มิลลิกรัมเควอซิทินต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด โดยค่าต่ำสุดพบในหอมแดงที่มาจากจังหวัดเชียงรายรหัส CRt14 และสูงสุดพบในหอมแดงที่มาจากเมล็ดพันธุ์รหัส E16005 ผลการวิเคราะห์ยังแสดงให้เห็นถึงความแปรปรวนของปริมาณฟลาโวนอยด์ที่เกิดในหอมแดงแต่ละรหัสพันธุ์ที่รวบรวมได้ภายในจังหวัดเดียวกัน เช่น หอมแดงที่เก็บรวบรวมจากจังหวัดแม่ฮ่องสอน มีความแปรปรวนของฟลาโวนอยด์อยู่ระหว่าง 5.967 – 27.267 มิลลิกรัมเควอซิทินต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ในจังหวัดเชียงรายอยู่ระหว่าง 4.900 – 34.367 มิลลิกรัมเควอซิทินต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด และยังพบอีกว่าหอมแดงที่มาจากจังหวัดอุตรดิตถ์มีปริมาณฟลาโวนอยด์ที่ไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 6)

ปริมาณฟีนอลิค

ผลการวิเคราะห์พบว่าปริมาณฟีนอลิคของหอมแดงทั้งหมดมีความแตกต่างกันทางสถิติ ปริมาณฟีนอลิคในหอมแดงอยู่ระหว่าง 18.033 – 134.400 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด โดยค่าต่ำสุดพบในหอมแดงที่มาจากจังหวัดแม่ฮ่องสอนรหัส MH4 และสูงสุดพบในหอมแดงที่มาจากเมล็ดพันธุ์รหัส E16006 ผลการวิเคราะห์ยังแสดงให้เห็นถึงความแปรปรวนของปริมาณฟีนอลที่เกิดในหอมแดงแต่ละรหัสพันธุ์ที่รวบรวมได้ภายในจังหวัดเดียวกัน เช่น หอมแดงที่เก็บรวบรวมจากจังหวัดเชียงราย มีความแปรปรวนของฟีนอลิคอยู่ระหว่าง 25.467 – 84.133 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ในจังหวัดแม่ฮ่องสอนมีความแปรปรวนของฟีนอลิคอยู่ระหว่าง 18.033 – 91.667 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ในจังหวัดอุตรดิตถ์มีความแปรปรวนของฟีนอลิคอยู่ระหว่าง 22.733 – 83.067 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด (ตารางที่ 6)

ปริมาณวิตามินซี

ผลการวิเคราะห์พบว่าปริมาณวิตามินซีของหอมแดงทั้งหมดมีความแตกต่างกันทางสถิติ ปริมาณวิตามินซีในหอมแดงอยู่ระหว่าง 0.167-0.347 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักสด โดยค่าต่ำสุดพบ

ในหอมแดงที่มาจากเมล็ดพันธุ์รหัส NO4 และสูงสุดพบในหอมแดงที่มาจากจังหวัดลำพูนรหัส LP1 ผลการวิเคราะห์ยังแสดงให้เห็นถึงความแปรปรวนของปริมาณวิตามินซีที่เกิดในหอมแดงแต่ละรหัสพันธุ์ที่รวบรวมได้ภายในจังหวัดเดียวกัน เช่น หอมแดงที่เก็บรวบรวมจากจังหวัดแม่ฮ่องสอน มีความแปรปรวนของปริมาณวิตามินซีอยู่ระหว่าง 0.167 – 0.300 มิลลิกรัม/100กรัมน้ำหนักสด ในจังหวัดเชียงรายมีความแปรปรวนของปริมาณวิตามินซีอยู่ระหว่าง 0.193 – 0.327 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักสด (ตารางที่ 6)

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

ผลการวิเคราะห์พบว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของหอมแดงทั้งหมดมีความแตกต่างกันทางสถิติ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระอยู่ระหว่าง 16.940% – 34.536% โดยค่าต่ำสุดพบในหอมแดงที่มาจากจังหวัดอุตรดิตถ์รหัส UT1 และสูงสุดพบในหอมแดงที่มาจากจังหวัดแม่ฮ่องสอนรหัส MH9 LP1 ผลการวิเคราะห์ยังแสดงให้เห็นถึงความแปรปรวนของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่เกิดในหอมแดงแต่ละรหัสพันธุ์ที่รวบรวมได้ภายในจังหวัดเดียวกัน เช่น หอมแดงที่รวบรวมจากจังหวัดอุตรดิตถ์ มีความแปรปรวนของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระอยู่ระหว่าง 16.940% – 19.672% และยังพบอีกว่าหอมแดงที่มาจากจังหวัดเชียงราย จังหวัดแม่ฮ่องสอน และจังหวัดลำพูนมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในหอมแดงทั้งหมด 28 ตัวอย่าง

Accession	Flavonol	Phenolic	Vit.C	DPPH
	mg Quercetin/g	Gallic acid(mg/L)	mg/100g FW	(%) inhibition
UT1	21.000fghi	83.067bc	0.273abc	16.940c
UT2	29.567cdef	55.933ghij	0.167d	19.454bc
UT3	24.267efghi	42.167ijklm	0.247bcd	19.672bc
UT4	20.800fghi	22.733opqr	0.273abc	19.071bc
UT5	21.133fghi	29.667mnopqr	0.273abc	17.322c
UT7	17.267ij	41.100ijklmn	0.193cd	17.869c
MH2	5.967k	91.667b	0.300ab	25.792abc
MH3	6.100k	44.033hijklm	0.273abc	28.415abc
MH4	9.500jk	18.033qr	0.273abc	-
MH5	17.600hij	18.600pqr	0.193cd	30.109abc
MH9	27.267defgh	64.600defg	0.167d	34.536a
CM2	30.500cdef	56.700fghi	0.193cd	26.667abc
CM6	23.033fghi	22.100opqr	0.193cd	25.683ab
CM7	37.133abc	42.900ijklm	0.273abc	31.366abc
LP1	40.167ab	79.767bcd	0.167d	29.344abc
LP2	29.700cdef	42.200ijklm	0.193cd	25.410abc
LP3	33.567bcde	48.467ghijkl	0.247bcd	27.049abc
CR4	23.200fghi	25.467nopqr	0.193cd	25.628abc
CRt1	18.933ghi	38.133klmno	0.193cd	-
CRt7	34.367bcd	83.400bc	0.193cd	25.902abc
CRt8	25.533defghi	84.133bc	0.273abc	28.743abc
CRt14	4.900k	59.667efgh	0.247bcd	31.038abc
NO1	17.900hij	53.500ghijk	0.327ab	23.115abc
NO2	23.733fghi	56.067ghij	0.193cd	24.481abc

ตารางที่ 6 (ต่อ)

Accession	Flavonol	Phenolic	Vit.C	DPPH
	mg Quercetin/g	Gallic acid(mg/L)	mg/100g FW	(%) inhibition
NO4	28.233cdefg	73.467cde	0.347a	20.929abc
E16005	45.367a	127.867a	0.193cd	29.235abc
E16006	28.733cdef	134.400a	0.193cd	30.109abc
Red	33.400bcde	60.567efgh	0.193cd	22.732abc

วิจารณ์ผลการทดลอง

การเจริญเติบโตของหอมแดง

จากผลการศึกษาพบว่า หอมแดงที่เก็บรวบรวมจากแปลงเกษตรกรมีความแตกต่างกัน ในส่วนของลักษณะสีหัว อาจเนื่องมาจากสายพันธุ์ที่ปลูกมีความแตกต่างกัน เกษตรกรส่วนใหญ่นิยมปลูกหอมแดงสายพันธุ์ศรีสะเกษที่มีลักษณะประจำพันธุ์คือ มีหัวสีม่วงอมแดง และสายพันธุ์เชียงใหม่ที่มีสีหัวเป็นสีส้มอมเหลือง ทำให้ตัวอย่างที่ศึกษาหอมแดงในเขตภาคเหนือมีความแตกต่างของสีของหัวหอมแดง ทั้งนี้ขนาดของหัวจากการทำการทดลองข้างต้น พบว่ามีขนาดที่แตกต่างกันอาจเนื่องมาจากหอมแดงที่ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดมีขนาดหัวที่ใหญ่กว่าหอมแดงที่ขยายพันธุ์ด้วยหัวพันธุ์ หอมที่ขยายพันธุ์จากเมล็ดมีลักษณะที่คล้ายคลึงกับหอมหัวใหญ่ โดยลักษณะที่สังเกตได้ คือ มีหัวใหญ่ ไม่มีแง่งประกอบ และมีลำต้นที่พองกลม เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหนักหัวของหอมจากจังหวัดอื่นแล้วหอมที่ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดจะมีลักษณะที่แตกต่างอย่างเห็นได้ชัดเจน และด้วยลักษณะหัวที่ใหญ่ทำให้เกษตรกรที่ปลูกหอมบางส่วนหันมาปลูกหอมแดงที่ขายพันธุ์จากเมล็ดเพราะได้ราคาและน้ำหนักที่ดีกว่าเมื่อเทียบกับหอมแดงที่ขยายพันธุ์จากหัวพันธุ์

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมด้วยเครื่องหมาย SSR

เครื่องหมายโมเลกุล SSR ถูกนำไปใช้ในการจำแนกความหลากหลายของพืชในวงศ์เดียวกัน และในการศึกษาครั้งนี้ ไพรเมอร์ที่ใช้ในการวิจัยในครั้งนี้ส่วนใหญ่เป็นไพรเมอร์ที่ใช้สำหรับการจำแนกหอมหัวใหญ่และพืชในวงศ์หอม โดยทำการคัดเลือกไพรเมอร์ที่สามารถให้ผลผลิตพีซีอาร์ได้มากกว่าหนึ่งแถบดีเอ็นเอและสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอกับหอมแดงได้ ผลการวิจัยครั้งนี้พบว่าอัตราความสำเร็จของการทำพีซีอาร์มีสัดส่วนสูง เมื่อเทียบกับงานวิจัยของ Fisher and Bachman (1999) และ Yaguchi et al. (2009) ที่ส่วนใหญ่เป็น genomic SSR ซึ่งมีอัตราความสำเร็จอยู่ที่ 13.3 และ

16.6 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับงานวิจัยของ Jakse et al. (2005 and 2009) ที่ใช้เครื่องหมาย EST-SSR พบว่ามีอัตราความสำเร็จ 70.0 และ 73.7 ตามลำดับ สอดคล้องกับการศึกษาครั้งนี้ที่ไพรเมอร์จากทั้งหมด 10 ไพรเมอร์ แสดงโพลิมอร์ฟิซึม มี 8 ไพรเมอร์เป็นเครื่องหมายแบบ EST-SSR ส่วนที่เหลืออีก 2 ไพรเมอร์เป็นเครื่องหมาย genomic SSR ซึ่งแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏจากไพรเมอร์แบบ EST-SSR มีขนาดลำดับเบสและจำนวนแถบดีเอ็นเอในการศึกษาครั้งนี้ตรงกับรายงานของ Jakse et al. (2009) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการออกแบบไพรเมอร์ที่ถูกรายงานมาก่อนหน้าแล้วนำมาใช้ในครั้งนี้เป็นการออกแบบไพรเมอร์จากลำดับเบสจีโนมทั้งหมด (whole genome) ของหอมหัวใหญ่ซึ่งมีโอกาสที่ไพรเมอร์จะถูกออกแบบในตำแหน่งที่เป็นยีน (coding region) ต่ำกว่าตำแหน่งที่ไม่ใช่ยีน (non-coding region) ซึ่งอาจส่งผลให้ประสิทธิภาพในการเพิ่มจำนวนของดีเอ็นเอค่อนข้างน้อยกว่าเครื่องหมาย EST-SSR เนื่องจากส่วนที่ไม่ใช่ลำดับของยีนมีความอนุรักษ์น้อยกว่า โดยทั่วไปจะพบว่าสิ่งมีชีวิตที่มีจีโนไทป์ต่างกันก็มีโอกาสที่ลำดับเบสในบริเวณที่ไม่ใช่ยีนแตกต่างกันด้วย ซึ่งอาจส่งผลต่อประสิทธิภาพการจับของไพรเมอร์ต่อดีเอ็นเอต้นแบบได้เช่นกัน Jakse et al. (2009) และ หัทยา (2546)

การประเมินประสิทธิภาพของเครื่องหมาย SSR

โดยทั่วไปวิธีการสำหรับการประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชในตระกูลหอมจะขึ้นอยู่กับความแตกต่างทางลักษณะทางสัณฐานวิทยา อย่างไรก็ตามข้อมูลที่ได้จากวิธีการนี้มีข้อจำกัด หลายประการเช่น ลักษณะอาจมีความแตกต่างกันเมื่ออยู่ภายใต้สภาพแวดล้อมที่แปรปรวนเนื่องจากลักษณะปรากฏสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้ และการเกิดการกลายพันธุ์ซึ่งนำไปสู่ความยุ่งยากในการวิเคราะห์ความหลากหลายในพืชวงศ์นี้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกระเทียมและหอมแดง เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานของ Baldwin et al. (2012) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรระหว่างและภายในหอมหัวใหญ่จำนวน 24 พันธุ์ โดยใช้ไพรเมอร์ทั้งหมด 166 ไพรเมอร์ แต่พบว่ามีเพียง 20 ไพรเมอร์ที่แสดงโพลิมอฟิซึมอย่างโดดเด่นโดยสามารถจำแนกประชากรของหอมหัวใหญ่ที่เป็นวันสั้นและวันยาวออกจากกันได้อย่างชัดเจน รวมทั้งแสดงค่า PIC อยู่ระหว่าง 0.18 ถึง 0.85 แสดงให้เห็นว่าเครื่องหมายโมเลกุล SSR ที่นำมาศึกษาในครั้งนี้ช่วยบ่งบอกความแตกต่างทางพันธุกรรมของหอมหัวใหญ่ได้เป็นอย่างดี แสดงให้เห็นว่าเครื่องหมายโมเลกุล SSR ที่ใช้ในการศึกษากับหอมแดงครั้งนี้เครื่องหมายทางพันธุกรรมที่อุดมไปด้วยแหล่งข้อมูลทางพันธุกรรม ซึ่งค่า PIC ที่สูงยังแสดงให้เห็นว่าความสามารถในการจำแนกพันธุกรรมด้วยเครื่องหมายโมเลกุลเหล่านั้นมีสูงด้วย

รายงานของ McCallum et al. (2008) ศึกษาพัฒนาเครื่องหมาย SSR พบว่าไพรเมอร์ ACM018, ACM046, ACM068, ACM243, ACM300, ACM303, ACM316, ACM318 ซึ่งถูกพัฒนามาจากหอมหัวใหญ่สามารถสังเคราะห์ดีเอ็นเอได้กับหอมแดงและยังแสดงแถบดีเอ็นได้ในระดับที่ต่ำกว่าในหอมหัวใหญ่ Fisher and Bachman (1998) พบว่าจาก SSR ไพรเมอร์ที่ทำการพัฒนาจำนวน 16 เครื่องหมายมีเพียง 6 เครื่องหมายที่สามารถสังเคราะห์ดีเอ็นเอของหอมหัวใหญ่จำนวน 19 จีโนไทป์ได้ และให้แถบดีเอ็นเออยู่ระหว่างหนึ่งถึงสองแถบดีเอ็นเอ และถือว่าเครื่องหมาย SSR ที่นำมาศึกษาในการทดลองนี้มีระดับโพลิมอร์ฟิซึมอยู่ในระดับที่ไม่สูงมากนัก ซึ่งอาจเกิดมาจากการพัฒนาเครื่องหมาย SSR ที่มีความจำเพาะต่อหอมหัวใหญ่สูง Masuzaki et al. (2006) พบว่าเครื่องหมาย SSR จำนวน 28 ไพรเมอร์จากทั้งหมด 30 ไพรเมอร์สามารถจำแนกสายพันธุ์ของหอมต้นญี่ปุ่นและสายพันธุ์โมโนโซมิกของหอมแดงที่มีโครโมโซมของหอมต้นญี่ปุ่นได้ และ 21 ไพรเมอร์พบว่าเป็นเครื่องหมาย SSR ที่ได้มาจากหอมหัวใหญ่

การวิเคราะห์หาดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรม

จากเดนโดรแกรมแสดงให้เห็นว่าในกลุ่มใหญ่ของตัวอย่างหอมแดงที่ทำการเก็บรวบรวมมาในเขตภาคเหนือและที่มาจากเมล็ดพันธุ์จากบริษัทนั้นมีการจัดกลุ่มย่อยที่มาจากแหล่งและการขยายพันธุ์ที่แตกต่างกันด้วย แต่บางกลุ่มพบว่ามีแนวโน้มที่จัดอยู่ในกลุ่มที่ใกล้เคียงกันตามแหล่งที่มาของหัวพันธุ์ เช่น กลุ่มตัวอย่างหอมแดงที่มาจากอำเภอเทิง จังหวัดเชียงรายใช้รหัส CRt โดยส่วนใหญ่จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันหอมแดงที่บางรหัสมาจากจังหวัดลำพูน และแม่ฮ่องสอนและหอมแดงที่ได้มาจากการขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันหอมแดงที่มาจากจังหวัดเชียงราย เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามการจำแนกกลุ่มของหอมแดงยังมีกระจัดกระจายอยู่ถึงแม้ว่าจะเก็บรวบรวมมาจากพื้นที่เดียวกันแต่หอมแดงบางรหัสก็แยกออกจากกลุ่มไป สาเหตุที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากการใช้หัวพันธุ์ในการผลิตเพื่อการค้าจากแหล่งผลิตหัวพันธุ์เดียวกัน ซึ่งมีแหล่งผลิตหลักอยู่สามแห่ง คือ ที่จังหวัดเชียงใหม่ จังหวัดอุตรดิตถ์ และจังหวัดศรีสะเกษ ที่เห็นได้ชัดเจนคือหอมแดงที่เก็บมาจากจังหวัดเชียงรายที่ใช้รหัส CR ซึ่งเป็นหอมแดงที่ปลูกในอำเภอเทิงแต่ได้รับหัวพันธุ์มาจากจังหวัดอุตรดิตถ์ ส่วนรหัส CRt เป็นหอมแดงที่เกษตรกรในพื้นที่เก็บรักษาพันธุ์ไว้ใช้เอง ซึ่งพบว่าหอมแดงทั้งสองรหัสมีการกระจายตัวออกจากกันในแต่ละกลุ่มในเดนโดรแกรมหรือบางครั้งทั้งสองรหัสจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน เป็นไปได้ว่าอาจมีการปนเปื้อนของหัวพันธุ์ที่นำมาปลูก อีกอย่างการทดลองนี้ยังแสดงให้เห็นว่าหอมแดงที่ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด (No1 ถึง No5) มีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับหอมแดงที่ขยายพันธุ์ด้วยส่วนหัวพันธุ์ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นหัวพันธุ์ที่มาจากจังหวัดอุตรดิตถ์ซึ่งมีพื้นที่สำหรับการขยายหัวพันธุ์อยู่ที่อำเภอลับแล ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Dennequin et al. (1997) ทำการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของหอมแดงที่ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดและส่วนหัวพันธุ์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล RAPD ที่พบว่าหอมแดง

ที่ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้เคียงกับหอมแดงที่ขยายพันธุ์ด้วยหัวพันธุ์ นอกจากนี้จากเดนโดแกรมยังยืนยันได้อีกว่าตัวอย่างพืชที่เก็บมาจากจังหวัดอุตรดิตถ์ที่เป็นหอมแบ่งนั้นแยกกลุ่มออกมาอย่างชัดเจนจากกลุ่มอื่น ๆ รวมไปถึงหอมแขกหรือหอมหัวใหญ่สีแดง (MH1 MH8 และ MH10) ที่แยกตัวออกมาอย่างชัดเจน Arifin et al. (2000) จำแนกความหลากหลายทางพันธุกรรมของหอมแดงอินโอนิเซีย (*Allium cepa* var. *ascalonicum* และ *Allium* x *wakegi*) ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล RAPD และ RFLP พบว่าหอมทั้งสองชนิดมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยมีหอมแดงอินโดนีเซียเป็นฝ่ายแม่ และพืชทั้งสองสปีชีส์ยังแยกออกจากกันได้อย่างชัดเจน ผลที่ได้นี้ชี้ให้เห็นว่าเครื่องหมายโมเลกุล SSR ที่ใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของหอมแดงซึ่งเป็นแบบ EST-SSR ในครั้งนี้มีความจำเพาะต่อสปีชีส์สูงมากกว่าเครื่องหมายโมเลกุลแบบจีโนมมิค SSR

กิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระในหอมแดง

จากผลการประเมินปริมาณของกิจกรรมสารต้านอนุมูลอิสระต่างๆ ในตัวอย่างหอมแดงทั้งหมด พบว่าหอมแดงที่ทำการขยายพันธุ์จากเมล็ดมีปริมาณของฟีนอลิค ปริมาณของฟลาโวนอยด์ และปริมาณวิตามินซี มากที่สุด เมื่อเทียบกับหอมแดงที่ขยายพันธุ์จากหัวพันธุ์ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเก็บรักษาหัวพันธุ์ที่เป็นระยะเวลานานเทียบกับหอมแดงที่ขยายพันธุ์จากเมล็ดที่มีความใหม่กว่าทำให้ปริมาณสารต่างๆ มีมากกว่าเมื่อเทียบกับหอมแดงที่ขยายพันธุ์จากหัวพันธุ์ อีกทั้งอาจเนื่องมาจากวิธีการสกัดที่ใช้ methanol ในการสกัด จึงทำให้ปริมาณของฟีนอลิก ปริมาณของฟลาโวนอยด์มีค่าที่สูง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ สุญาณี และคณะ (2013) กล่าวว่า Quercetin ที่เป็นสารที่มีความสำคัญในหอมหัวใหญ่มีความสามารถละลายได้ดีในเมทานอล ซึ่งสารนี้เป็นสารที่อยู่ในกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิค โดยมีหมู่ OH (hydroxyl) ในโครงสร้างจำนวนมาก จึงสามารถให้อิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระ ทำให้โมเลกุลของอนุมูลอิสระมีความเสถียรขึ้น

จากการจัดกลุ่มของหอมแดงที่ขยายพันธุ์ด้วยหัวพันธุ์และขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดไม่มีความสัมพันธ์กันกับปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระ แต่ในกลุ่มของหอมแดงที่มาจากจังหวัดอุตรดิตถ์และหอมแดงจากจังหวัดลำพูนรหัส PY2 มีแนวโน้มปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระเท่ากันและอยู่ในกลุ่มเดนโดรแกรมเดียวกัน อาจเป็นไปได้ว่าหอมแดงจากจังหวัดลำพูนรหัส PY2 เกษตรกรนำหัวพันธุ์มากจากอุตรดิตถ์ซึ่งเป็นหอมแบ่ง มาทำการปลูกในแปลงของเกษตรกร

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

จากการวิจัยพบว่าหอมแดงที่ทำการปลูกจากเมล็ดพันธุ์และหัวพันธุ์มีลักษณะที่แตกต่างกันในด้านสัณฐานวิทยา คือ ลักษณะของจำนวนแง่ง โดยหอมแดงที่ทำการปลูกจากหัวพันธุ์จะมีการเพิ่มจำนวนแง่งประกอบต่างจากหอมแดงที่ปลูกจากเมล็ดพันธุ์ที่ไม่มีการเพิ่มของแง่งประกอบ เป็นต้น อีกทั้งลักษณะของใบหอมแดงที่ปลูกจากเมล็ดพันธุ์มีความยาวและขนาดของใบที่ใหญ่กว่าเมื่อเปรียบเทียบกับหอมแดงที่ปลูกจากหัวพันธุ์

ในการศึกษาด้านอณูชีววิทยาสามารถจัดกลุ่มหอมแดงออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ และแบ่งย่อยได้ 8 กลุ่มย่อย การเก็บรวบรวมหัวพันธุ์ในเขตภาคเหนือและที่มาจากเมล็ดพันธุ์นั้นมีการจัดกลุ่มย่อยที่มาจากแหล่งและการขยายพันธุ์ที่แตกต่างกันด้วย แต่บางกลุ่มพบว่ามีแนวโน้มที่จัดอยู่ในกลุ่มที่ใกล้เคียงกันตามแหล่งที่มาของหัวพันธุ์ เช่น กลุ่มตัวอย่างหอมแดงที่มาจากจังหวัดเชียงรายรหัส CRt โดยส่วนใหญ่จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันหอมแดงที่บางรหัสมาจากจังหวัดลำพูน (LP) และแม่ฮ่องสอน (MH) และหอมแดงที่ได้มาจากการขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด(NO) จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันหอมแดงที่มาจากจังหวัดเชียงราย หอมแดงจากจังหวัดอุตรดิตถ์ (UT) ที่เป็นหอมแบ่งผลแสดงให้เห็นว่าแยกออกมาชัดเจนจากหอมแดงที่มาจากเมล็ดพันธุ์ ในการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบพบว่า หอมแดงที่ปลูกจากเมล็ดพันธุ์มีปริมาณของฟีนอลิค ปริมาณของฟลาโวนอยด์ และปริมาณวิตามินซี มากกว่าเมื่อเทียบกับหอมแดงที่ขยายพันธุ์จากหัวพันธุ์

ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาพบว่าปริมาณสารพฤกษเคมีที่พบในหอมแดงจากจังหวัดอุตรดิตถ์ (หองแบ่ง) มีปริมาณที่สูง จึงเป็นแนวทางในการอนุรักษ์หอมสายพันธุ์พื้นเมืองนี้ไว้เพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ให้มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ รวมถึงให้มีรสติชาติ และขนาดของหัวที่ใหญ่ขึ้น เพื่อตรงตามความต้องการของเกษตรกรและผู้บริโภค

บรรณานุกรม

เจนจิรา จิรัมย์ และ ประสงค์ สีหานาม. 2554. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ: แหล่งที่มาและกลไกการเกิดปฏิกิริยา. **วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์,** 1(1), 59-70.

จันทร์เพ็ญ สะระ. 2557. **การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลเพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ลำไย.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

ธวัช ดอนสกุล และ สมเกียรติ พรพิสุทธิมาศ. 2553. คาริโอไทป์ของพืชสกุลหอมกระเทียม 6 ชนิดในประเทศไทย. **Naresuan University Journal,** 18(1), 34-39.

บุหรัน พันธุ์สวรรค์. 2556. อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี,** 21(3), 275-286.

พิชญา ธิราช. 2556. **การศึกษาอิทธิพลของคอปเปอร์และกรดฮิวมิกต่อการแบ่งเซลล์ปลายรากของหอมแดง.** กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยศิลปากร.

มูลนิธิโตโยต้าประเทศไทย และสถาบันวิจัยโภชนาการมหาวิทยาลัยมหิดล. 2541. **มหัศจรรย์ผัก 108.** กรุงเทพฯ: บริษัทเคล็ดไทย จำกัด.

วีณา เชิดบุญชาติ. 2543. **ปลูกผักไทยได้ทั้งอาหารและยา.** กรุงเทพฯ: บริษัทอมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน).

สุกัญญา ตู้แก้ว และ สมภูมิ พรรณอภัยพงศ์. 2551. **คู่มือนักวิชาการส่งเสริมการเกษตร หอมแดง.** กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์สำนักพัฒนาและถ่ายทอดเทคโนโลยี.

สุญาณี มงคลตรีรัตน์, อรพิน เกิดชูชื่น และ ณัฏฐา เลาหกุลจิตต์. 2556. ประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกระเทียมและหอมหัวใหญ่. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร,** 44(2)(พิเศษ), 585-588.

สุนิดา เมืองโคตร, ทวีรัตน์ วิจิตรสุนทรกุล, วาริช ศรีละออง, เฉลิมชัย วงษ์อารี และ ทรงศิลป์ พจน์ชนะชัย. 2557. การยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในคนจากสารสกัดกระเทียม หอมแดง และพริกแห้งคั่ว. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร,** 45(2)(พิเศษ), 297-300.

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2545. **จีโนมและเครื่องหมายดีเอ็นเอปฏิบัติการอาร์เอพีดีและเอเอฟแอลพี.** กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุรีพร เกตุงาม. 2546. เครื่องหมายดีเอ็นเอในงานปรับปรุงพันธุ์พืช. **วารสารวิชาการ ม.อบ. มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี,** 5(2), 37-59.

หัทยา กาวีวงศ์. 2546. **อณูพันธุศาสตร์.** เชียงใหม่: คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

A.O.A.C. 1984. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists.** 14th ed. Arlington, Virginia, USA: A.O.A.C.

Arifin, N. S., Ozaki, Y. & Hiroshi, O. 2000. Genetic diversity in Indonesian shallot (*Allium cepa* var. *ascalonicum*) and *Allium* x *wakegi* revealed by RAPD markers and origin of *A.* x *wakegi*identified by RFLP analyses of amplified chloroplast genes. **Euphytica,** 111, 23–31.

Baskar, R., Shrisakthi, S., Sathyapriya, B., Sathyapriya, R., Nithya, R. & Poongodi, P. 2011. Antioxidants potential of peel extracts of banana varieties (Musa sapientum). **Food and Nutrition Sciences,** 2, 1128 -1133.

Brewster, J. L. 2008. **Onions and Other Alliums.** Wallingford: CABI Publishing.

Burguieres, E., McCue, P., Kwon, Y. I. & Shetty, K. 2007. Effect of vitamin C and folic acid on seed vigour response and phenolic-linked antioxidant activity. **Bioresource Technology,** 98, 1393-1404.

Davies, D. 1992. **Alliums: The Ornamental Onions.** Portland: Timber Press.

Degewione, A., Alamerew, S. & Tabor, G. 2011. Genetic variability and association of bulb yield and related traits in shallot (*Allium cepa* Var Aggretatum Don). **Int. J. of Agri. Res.,** 6, 517-536.

D'ennequin, M. L. T., Panaud, O., Robert, T. & Ricroch, A. 1997. Assessment of genetic relationships among sexual and asexual forms of *Allium cepa* using morphological traits and RAPD markers. **Heredity,** 78, 403-409.

Ebrahimi, R., Zamani, Z. & Kashi, A. 2009. Genetic diversity evaluation of wild Persian shallot (*Allium hirtifolium* Boiss.) using morphological and RAPD markers. **Scientia Horticulturae,** 119, 345–351.

Fischer, D. & Bachmann, K. 2000. Onion microsatellites for germplasm analysis and their use in assessing intra- and interspecific relatedness within the subgenus Rhizirideum. **Theor. Appl. Genet.,** 101, 153–164.

Fritsch, R. M. & Friesen, N. 2002. Evolution, domestication and taxonomy. pp. 25–30. In Rabinowitch, H. D. & Currah, L. (eds). **Allium Crop Science: Recent Advances.** Wallingford : CABI Publishing.

Gurushidze, M., Mashayekhi, S., Blattner, F. R., Friesen, N. & Fritsch, R. M. 2007. Phylogenetic relationships of wild and cultivated species of *Allium* section *Cepa* inferred by nuclear rDNA ITS sequence analysis. **Plant Systematics and Evolution,** 269, 259–269.

Jakse, M., Martin, W., McCallum, J. & Havey, M. J. 2005. Single nucleotide polymorphisms, indels, and simple sequence repeats for onion cultivar identification. **J. Amer. Soc. Hort. Sci.,** 130, 912–917.

Kuhl, J. C., Cheung, F., Yuan, Q., Martin, W., Zewdie, Y., McCallum, J., Catanach, A., Rutherford, P., Sink, K. C., Jenderek, M., Prince, J. P., Town, C. D. & Havey, M. J. 2004. A unique set of 11,008 onion expressed sequence tags reveals expressed sequence and genomic differences between the monocot orders asparagales and poales. **Plant Cell,** 16, 114–25.

Lanzotti, V. 2005. Bioactive saponins from Allium and Aster plants. **Phytochem. Rev.,** 4, 95–110.

_____. 2006. The analysis of onion and garlic. **Journal of Chromatography A,** 1112, 3-22.

Mario, P., Viviana, C., Becerra, V. & Mara, I. G. A. 2007. Low genetic diversity among garlic (*allium sativum* l.) Accessions detected using random amplified polymorphic dna (rapd). **Chi. J. of Agri. Re.,** 68(1), 3-12.

Maass, I. H. 1997. Genetic diversity in the top onion, *Allium (Alliaceae),* analysed by isozymes. P1. **Syst. Evol.,** 208, 35-44.

Martin, W., McCallum, J., Shigyo, M., Jakse, J., Kuhl, J., Yamane, N., Pither-Joyce, M., Gokce, A., Sink, K., Town, C. & Havey, M. J. 2005. Genetic mapping of expressed sequences in onion and in silicocomparisons with rice show scant colinearity. **Mol. Genet. Genomics,** 274, 197–204.

McCallum, J. 2007. Onions. pp. 331–347. In Kole, C. (eds.). **Genome mapping and molecular breeding in plants Vol. 1 Vegetables.** Berlin, Germany : Springer.

McCallum, J., Clarke, A., Pither-Joyce, M., Shaw, M., Butler, R., Brash, D., Scheffer, J., Sims, I., Heusden, S. van, Shigyo, M. & Havey, M. J. 2006a. Genetic mapping of a major gene affecting onion bulb fructan content. **Theor. Appl. Genet.,** 112, 958–967.

McCallum, J., Pither-Joyce, M., Shaw, M., Kenel, F., Davis, S., Butler, R., Scheffer, J., Jakse, J. & Havey, M. J. 2006b. Genetic mapping of sulfur assimilation genes reveals a QTL for onion bulb pungency. **Theor. Appl. Genet.,** 114, 815–822.

McCallum, J, Thomson, S., Pither-Joyce, M., Kenel, F., Clarke, A. & Havey, M. J. 2008. Genetic Diversity Analysis and Single-nucleotide Polymorphism Marker Development in Cultivated Bulb Onion Based on Expressed Sequence Tag–Simple Sequence Repeat Markers. **J. AMER. SOC. HORT. SCI.,** 133(6), 810–818.

Mnayer, D., Fabiano-Tixier, A. S., Petitcolas, E., Hamieh, T., Nehme, N., Ferrant, C., Fernandez, X., Chemat, F. 2014. Chemical Composition, Antibacterial and Antioxidant Activities of Six Essentials Oils from the Alliaceae Family. **Molecules,** 19(12), 20034-20053.

Murray, M. G. &Thompson, W. F. 1980. Rapid isolation of highmolecular weight plant DNA. **Nucleic Acid Res,** 8, 4321–4325.

Panthee, D. R., KC, R. B., Regmi, H. N., Subedi, P. P., Bhattarai, S. & Dhakal, J. 2006. Diversity analysis of garlic (*Allium sativum* L.) germplasms available in Nepal based on morphological characters. **Gen. Res. and Crop Evo.,** 53, 205–212.

Phuong P., Isshiki, S. & Tashiro, Y. 2006. Comparative Study on Shallot (*Allium* cepa L. *Aggregatum* Group) from Vietnam and the Surrounding Countries. **J. Japan. Soc. Hort. Sci.,** 75(4), 306–311.

Quynh, H. V., Minh, H. T., Yaguchi, S., Ono, Y., Phuong, P. T., Yamauchi, N. & Shigyo, M. 2013. Assessment of biochemical and antioxidant diversities in a shallot germplasm collection from Vietnam and its surrounding countries. **Genet Resour Crop Evol.,** 60, 1297–1312.

van Raamsdonk, L. W., Ensink, W., van Heusden, A. W., Vrielink-van, G. M. & Kik, C. 2003. Biodiversity assessment based on cpDNA and crossability analysis in selected species of *Allium subgenus Rhizirideum*. **Theor Appl Genet.,** 107, 1048–1058.

Rabinowitch, H. D. & Currah, L. 2002. **Allium Crop Science: Recent Advances.** Wallingford, U.K. : CABI International.

Rabinowitch, H. D. & Kamenetsky, R. 2002. Shallot (*Allium cepa,* Aggretatum Group). pp. 409-430. In Abinowitch, H. D. and Currah, L. **Allium Crop Science: Recent Advances.** Wallingford, U.K. : CABI International.

Saravanan, P., Ramya, V., Sridhar, H., Balamurugan, V. & Umamaheswari, S. 2010. Antibacterail activity of *Allium sativum* L. on pathogenic bacterial strains. **Glob. Vet.,** 4, 519-522.

Velioglu, V. S., Mazza, G., Gao, L. & Oomah, B. D. 1998. Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products. **Agricultural and Food Chemistry,** 46, 4113-4117.

Yang, J., Meyers, K. J., Heide, J. V. D. & Liu, R. H. 2004. Varietal Differences in Phenolic Content and Antioxidant and Antiproliferative Activities of Onions. **Agricultural and Food Chemistry,** 52, 6787-6793.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

กราฟมาตรฐาน

กราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

การสร้างกราฟมาตรฐานทำโดยการนำสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก ที่ถูกเตรียมด้วยการนำกรดแกลลิกไปละลายใน methanol แล้วนำมาเจือจางที่ความเข้มข้น ๆ ดังนี้ 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 และ 1 ไมโครลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยปิเปตน้ำกลั่น 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย gallic acid เขย่าผสมให้เข้ากัน แล้วเติมสารละลาย Folin Cioculteu ปริมาตร 125 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งที่อุณหภูมิห้องนาน 6 นาทีจากนั้นเติม 7% โซเดียมคาร์บอเนต ปริมาตร 375 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่น 1,000 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 90 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตรมิเตอร์ โดยใช้ methanol เป็น blank การแสดงปริมาณสารฟีนอลรวมเฉลี่ยในรูปมิลลิกรัมของกรดแกลลิก (GAE) ต่อส่วนสารสกัด 100 กรัม

กราฟมาตรฐาน Quercetin

การสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน Quercetin ทำโดยการเตรียม Quercetin ละลายใน methanol นำมาเจือจางที่ความเข้มข้น ๆ ดังนี้ 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตสารละลาย Quercetin 1,000 ไมโครลิตร เติม 10% แอมโมเนียคลอไรด์ ปริมาตร 200 ไมโครลิตร เติมโพแทสเซียมอะซิเตท ($C_2H_2KO_2$) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร และเติมน้ำกลั่น ปริมาตร 5,600 ไมโครลิตร ทิ้งไว้สภาพอุณหภูมิห้องนาน 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 415 นาโนเมตร โดยใช้ methanol เป็น blank แสดงปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเฉลี่ยในรูปมิลลิกรัมของเควอซิทินต่อส่วนสกัด 100 กรัม

ภาคผนวก ข

ประวัติผู้วิจัย

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวศิริยา มากมี
เกิดเมื่อ	11 กันยายน 2532
ประวัติการศึกษา	พ.ศ.2555 ปริญญาตรี คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่
	พ.ศ.2550 มัธยมศึกษา โรงเรียนอุตรดิตถ์ดรุณี จังหวัดอุตรดิตถ์