

การพิสูจน์เอกลักษณ์ของกระเทียมจากแหล่งปลูกต่าง ๆ

Verification the Identity of Garlic from Different Growing Area

จิรภา ออสติน ^{1/} พรรณพกา รัตนโกศล ^{2/} จันทนา โชคพาชื่น ^{1/} รัชนี ศิริยาน ^{1/}
ศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล ^{3/} เสาวณี เขตสกุล ^{1/} อรรถพล รุกขพันธ์ ^{1/} ธวัชชัย นิ่มกิ่งรัตน์ ^{1/}
Jirapa Austin ^{1/} Phanphaka Rattanakosol ^{2/} Jantana Chokpachuen ^{1/} Ratchanee Siriyan ^{1/}
Suchirat Sakuanrungrsirikul ^{3/} Saowanee Ketsakul ^{1/} Auttapon Rukkaphan ^{1/} Tawatchai Nimkingrat ^{1/}

ABSTRACT

The aim of this study was to identify variety of garlic from different plantations area. The studies were conducted at Si Sa Ket Horticultural Research Center and Nan Agricultural Research and Development Center during 2012-2013. Garlics samples were collected from various planting area to observe the morphological characteristics which emphasize on the vegetative morphology and storability. Forty-one garlic samples were collected from commercially cultivated areas. From the results, the storability of garlic bulbs was over 180 days for all samples. Garlic could be identified by visual based on pseudo stem, leaves wide, bulb size and bulb color traits. The samples can be divided into two main plantations, from the Northern and the North-eastern area. The chemical analyses were carried out in eighteen garlic samples. Garlic oils were extracted using two methods that hot and cold solvent extraction with Ethanol and Hexane as solvents determined by GC-MS. The results shown that, different extraction method can be found different chemical compositions. GA55018 garlic sample oil was found five compounds, Trisulfide, di-2-propenyl was the highest using hot solvent extraction. But garlic oil extracted using cold solvent extraction was found more than ten different chemical compounds and Phthalic acid, di-iso-octylester was the highest.

^{1/} ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ อ.เมือง จ.ศรีสะเกษ 33000

^{1/} Si Sa Ket Horticultural Research Center, Muang, Si Sa Ket 33000

^{2/} ศูนย์วิจัยพืชสวนสุโขทัย ต.ท่าชัย อ. ศรีสำตาลย์ จ.สุโขทัย 64000

^{2/} Sukhothai Horticultural Research Center, Si Satchanalai, Sukhothai 64000

^{3/} ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ต.ศิลา อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40000

^{3/} Khon Kaen Field Crops, Muang, Khon Kaen 40000

It could be suggested that the garlic oil should be extracted using two methods with Hexane as a solvent. From chemical analyses of garlic sample oils were extracted using hot solvent extraction with Hexane as a solvent. It can be separated chemical compounds and its derivatives into eleven groups based on their chemical structure. Nutrients and minerals of garlic were not different. Si Sa Ket garlics had higher calcium and sodium than garlics from the Northern. DNA fingerprint of garlic using randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) and Microsatellite were studied. As the results, the garlic samples were clustered into two clusters that garlic planted at Si Sa Ket and garlic planted at the Northern. In conclusion, DNA fingerprint is a highly accurate technique for identification of garlic samples.

Key words: morphological characteristics, chemical compounds, DNA fingerprint

บทคัดย่อ

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อจำแนกพันธุ์กระเทียมจากแหล่งปลูกต่าง ๆ และใช้ประโยชน์เป็นข้อมูลบ่งชี้ทางภูมิศาสตร์เพื่อป้องกันการแอบอ้างหวังผลทางการค้า ทำการ

ทดลองที่ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ และศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรน่าน ระหว่างปี พ.ศ. 2555-2556 ได้รวบรวมกระเทียมจากแหล่งปลูกต่าง ๆ จำนวน 18 ตัวอย่าง นำมาจำแนกโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ด้วยการสังเกตความแตกต่างของลักษณะต้น ความกว้างใบ สีเปลือกของหัว รูปทรงหัว และขนาด สามารถแยกความแตกต่างได้เป็นพื้นที่ปลูก 2 แหล่งใหญ่ คือ ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี โดยการสกัดน้ำมันหอมระเหย 2 วิธีการ คือ การสกัดด้วยตัวทำละลายร้อน และเย็น ใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ Ethanol และ Hexane และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธี GC-MS พบชนิดของสารและปริมาณที่แตกต่างกัน ตัวอย่าง GA55018 สกัดด้วยตัวทำละลายร้อน พบองค์ประกอบทางเคมี 5 ชนิด และพบสาร Trisulfide, di-2-propenyl มากที่สุด ขณะที่สกัดด้วยตัวทำละลายเย็น พบองค์ประกอบทางเคมีมากกว่า 10 ชนิดและพบ Phthalic acid, di-iso-octylester มากที่สุด ดังนั้น จำเป็นต้องใช้วิธีการสกัดทั้ง 2 วิธีการ และใช้ Hexane เป็นตัวทำละลาย ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในน้ำมันกระเทียมที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายร้อนโดยใช้ Hexane สามารถแบ่งกลุ่มของสารประกอบและอนุพันธ์ของสารประกอบได้ 11 กลุ่ม ตามโครงสร้างทางเคมี กระเทียมแต่ละพื้นที่มีปริมาณสารอาหารและแร่ธาตุไม่แตกต่างกัน การจำแนกกระเทียมโดยใช้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค Randomly amplified polymorphic

DNA (RAPD) และ Microsatellite สามารถจัดกลุ่มของกระเทียมได้ 2 กลุ่ม คือ กลุ่มกระเทียมจากแหล่งปลูก จ.ศรีสะเกษ และกลุ่มกระเทียมจากแหล่งปลูกในภาคเหนือ ซึ่งข้อมูลที่ได้สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลบ่งชี้ทางภูมิศาสตร์ได้

คำหลัก: ลักษณะทางสัณฐานวิทยา องค์ประกอบทางเคมี ลายพิมพ์ DNA กระเทียม

คำนำ

กระเทียม (*Allium sativum* L.) จัดอยู่ในวงศ์ Alliaceae มีชื่อเรียกแตกต่างกันไปตามพื้นที่ปลูก เช่น กระเทียม (ภาคกลาง) หอมเทียม (ภาคเหนือ) หอมขาว (ภาคอีสาน) และเทียมหรือหอมเทียม (ภาคใต้) เป็นต้น กระเทียมของไทยมีลักษณะเด่นกว่ากระเทียมของประเทศอื่น ๆ คือ เปลือกนอกมีสีขาวหรือปนม่วงแดง เปลือกบางและเหนียว ขนาดหัวเล็ก กลีบย่อยมาก มีกลิ่นฉุน คุณภาพในการเก็บรักษาได้นาน โดยเฉพาะกระเทียมศรีสะเกษ ที่มีชื่อเสียงด้านคุณภาพและเป็นพันธุ์ดั้งเดิม กระเทียมเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย แหล่งปลูกที่สำคัญอยู่ที่ จ.เชียงใหม่ ลำพูน ลำปาง พะเยา แม่ฮ่องสอน แพร่ น่าน เพชรบูรณ์ ตาก ศรีสะเกษ ชัยภูมิ และนครราชสีมา (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2553) ปัญหาที่สำคัญของการผลิตกระเทียมเพื่อการค้าและการส่งออกที่สำคัญของไทย คือ ต้นทุนการผลิตที่สูงกว่าประเทศคู่แข่งโดยเฉพาะสาธารณรัฐประชาชนจีน

ทำให้มีกระเทียมราคาถูกเข้ามาจำหน่ายในประเทศเป็นจำนวนมาก ก่อให้เกิดผลกระทบกับเกษตรกรผู้ปลูกกระเทียม พันธุ์กระเทียมที่เกษตรกรปลูกกันมานาน ได้แก่ พันธุ์บางช้าง พันธุ์เชียงใหม่ และพันธุ์ศรีสะเกษ ทั้งสามพันธุ์นี้เมื่อนำไปปลูกในแหล่งต่าง ๆ มีการเรียกชื่อตามแหล่งปลูก เช่น พันธุ์อุดรดิตถ์ พันธุ์น้ำปาด พันธุ์อ.ปาย ของ จ.แม่ฮ่องสอน เป็นต้น โดยลักษณะทางกายภาพ เช่น ขนาดของหัว อาจมีขนาดเล็กใหญ่ต่างกันตามสภาพแวดล้อม และการดูแลรักษา (กรมวิชาการเกษตร, 2542)

การจัดทำสิ่งบ่งชี้ทางภูมิศาสตร์ (Geographical Indication: GI) เป็นการเพิ่มมูลค่าของสินค้าให้แก่เกษตรกรผู้ผลิต ซึ่งจะเป็นเครื่องมือทางการตลาดช่วยในการประชาสัมพันธ์ ทำให้มีราคาสูงขึ้นหรือจำหน่ายได้มากขึ้น เนื่องจากผู้บริโภคเกิดความเชื่อมั่นว่าจะได้รับสินค้าดี มีคุณภาพตามที่ต้องการจากแหล่งผลิต สิ่งบ่งชี้ทางภูมิศาสตร์ มีลักษณะเหมือนเป็นเครื่องหมายรับรองคุณภาพ และแหล่งที่มาของสินค้า ผู้ซื้อจะต้องแสดงให้เห็นถึงความเชื่อมโยงระหว่างพื้นที่และตัวสินค้า ทั้งด้านคุณภาพ ชื่อเสียง หรือคุณลักษณะใด ๆ เช่น วิธีการผลิต วัตถุดิบที่ใช้ และอื่น ๆ ซึ่งส่งผลถึงคุณภาพเฉพาะของสินค้าจากแหล่งนั้น แต่เนื่องจากพืชเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีคุณสมบัติและความสามารถในการปรับตัวเข้ากับสภาวะแวดล้อมต่าง ๆ แตกต่างกันขึ้นอยู่กับฤดูกาล และสภาพแวดล้อมที่ปลูก ทำให้ปริมาณสารต่าง ๆ ที่อยู่ในพืชแตกต่างกันไปด้วย ดังนั้น วิธีการจำแนกกระเทียม

เพื่อพิสูจน์เอกลักษณ์ในการจัดทำสิ่งบ่งชี้ทาง
ภูมิศาสตร์จึงเป็นสิ่งจำเป็น

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกระเทียม
คือเป็นหัวใต้ดิน ลักษณะกลมแบน มีเยื่อหุ้มสี
ขาวหนา แต่ละหัวประกอบด้วยหลายกลีบรวม
กัน มีประมาณ 6-10 กลีบ แต่ละกลีบรูปรี ยาว
ประมาณ 1-4 ซม. มีใบแบบ scale leaf หุ้ม
เป็นลักษณะเยื่อบางสีขาวหรือสีขาวอมม่วง หุ้ม
อยู่ 2-3 ชั้น ซึ่งแยกออกจากส่วนของเนื้อได้ง่าย
เนื้อในหัวมีสีขาวหรือเหลืองอ่อน ๆ กลิ่นแรง ฉุน
รสเผ็ดร้อน มีน้ำเหนียวเป็นยางอยู่ในหัว กลีบ
กระเทียมที่ปอกเปลือกหุ้มออก และคั่วแล้วสี
เหลืองอมน้ำตาล มีกลิ่นฉุน หอม รสเผ็ดร้อน
ลักษณะทางกายภาพและเคมีที่ดี คือ มีปริมาณ
น้ำไม่เกิน 68% w/w ปริมาณเถ้ารวมไม่เกิน
2.5% w/w ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรดไม่เกิน
1% และปริมาณสารสกัดด้วยเฮกเซน แอลกอฮอล์
และน้ำ ประมาณ 0.52, 0.50 และ 15% w/w
ตามลำดับ เกสรตัวรับอังกฤษระบุปริมาณสาร
alliin ไม่น้อยกว่า 0.45 % w/w สาร alliin เมื่อ
ถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ alliinase จะเกิดการ
รวมตัวกันใหม่ได้สาร allicin ซึ่งเป็นสารที่ไม่
เสถียร สลายตัวได้สารกลุ่ม sulfides อื่น ๆ
ดังนั้นกระเทียมที่ผ่านกระบวนการสกัด การกลั่น
น้ำมัน หรือความร้อน สารประกอบส่วนใหญ่ที่
พบเป็นสารกลุ่ม diallyl sulfide, diallyl
disulfide, diallyl trisulfide และ diallyl
tetrasulfide (สุตารัตน์, 2553) นอกจากนี้ยัง
ประกอบด้วยสารอาหาร น้ำ ไขมัน โปรตีน
คาร์โบไฮเดรต น้ำตาล กรดอะมิโน เหล็ก

ซิลิเนียม แคลเซียม วิตามินบี 1 วิตามินบี 2
และ วิตามินซี ด้วย (นิรนาม, 2556)

ในการจำแนกพันธุ์กระเทียมโดยทั่วไปจะ
ใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาอย่างเดียว แต่
คุณลักษณะที่ใช้ในการจำแนกอาจมีความแตก
ต่างกันภายใต้สภาพแวดล้อมที่ต่างกัน ส่งผล
ให้การจำแนกความหลากหลายของกระเทียมมี
ความยากและผิดพลาดได้ เพื่อให้มีความถูกต้อง
ได้มาตรฐาน ในปัจจุบันจึงได้มีการทำลายพิมพ์
ดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมายโมเลกุล RAPD ในการ
จำแนกความหลากหลายทางพันธุกรรมของ
กระเทียม (Meryem *et al.*, 2003) RAPD เป็น
วิธีการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิค PCR
(polymerase chain reaction) แบบหนึ่งโดย
ไม่จำเป็นต้องทราบข้อมูลเกี่ยวกับลำดับเบสของ
ดีเอ็นเอเป้าหมาย เนื่องจากดีเอ็นเอที่ใช้ไม่
จำเพาะเจาะจงกับดีเอ็นเอ (arbitrary primer)
บริเวณใด วิธีการนี้สามารถนำมาใช้ในการพิสูจน์
เอกลักษณ์ของสิ่งมีชีวิตได้ (William *et al.*,
1990) ในประเทศอิหร่านได้มีการศึกษาความ
หลากหลายของพืชในวงศ์ Alliaceae จำนวน 17
สายพันธุ์ โดยใช้ข้อมูลสัณฐานวิทยาร่วมกับลาย
พิมพ์ดีเอ็นเอโดยเทคนิค RAPD พบว่าถ้าใช้
ข้อมูลทางสัณฐานวิทยา สามารถจัดกลุ่มได้เพียง
3 กลุ่ม ถ้าใช้ข้อมูล RAPD จัดกลุ่มได้ 8 กลุ่ม
(Ebrahimi *et al.*, 2009)

ประเทศไทยมีแหล่งปลูกกระเทียมที่
สำคัญอยู่ในหลายจังหวัด ทั้งในภาคเหนือ และ
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือโดยกระเทียมจาก
จ.ศรีสะเกษ จะเป็นที่นิยมของผู้บริโภค คณะผู้วิจัย

จึงได้ทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ของกระเทียมจากแหล่งปลูกต่าง ๆ ด้วยข้อมูลทางสัณฐานวิทยา องค์ประกอบทางเคมี และการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม โดยการทำการฉายพิมพ์ดีเอ็นเอ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการจำแนก และเปรียบเทียบสายพันธุ์กระเทียมของประเทศไทย เพื่อนำไปเป็นข้อมูลในการจัดทำสิ่งบ่งชี้ทางภูมิศาสตร์ของกระเทียมต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกระเทียมจากแหล่งต่าง ๆ

ดำเนินการทดลองที่ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ โดยรวบรวมกระเทียมจากแหล่งปลูกต่าง ๆ ในภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ระหว่างเดือนธันวาคม-เดือนพฤษภาคม ปี พ.ศ. 2555-56 จำนวน 18 ตัวอย่าง (แหล่งปลูก) (Table 1) เก็บตัวอย่างละ 5 กก./แหล่งปลูก จากนั้นแบ่งกระเทียมแต่ละตัวอย่างออกเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 นำมาบันทึกข้อมูลทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ ชื่อพันธุ์ แหล่งเก็บ สีเปลือก สีเนื้อ ลักษณะหัวสมบูรณ์ หลังจากนั้นนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของกระเทียม ส่วนที่ 2 นำมาปลูกลงแปลงประมาณเดือนกันยายน ปี พ.ศ. 2555 ถึงเดือนมกราคม ปี พ.ศ. 2556 ปฏิบัติดูแลรักษาตามคำแนะนำเกษตรกรที่เหมาะสมของกรมวิชาการเกษตร ทำการบันทึกข้อมูลลักษณะของต้นกระเทียมตามแบบบันทึกลักษณะของกระเทียม (Description for Allium

(*Allium* spp.) (IPGRI, 2001) เพื่อจำแนกพันธุ์กระเทียมด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

2. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยกระเทียม

นำกระเทียมที่รวบรวมได้ ในปี พ.ศ. 2555 จำนวน 18 ตัวอย่าง จาก จ.ศรีสะเกษ ลำพูน พะเยา เชียงใหม่ และแม่ฮ่องสอน (Table 1) มาทำการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากตัวอย่างกระเทียม 2 วิธีการ คือ การสกัดด้วยตัวทำละลายร้อน (Hot solvent extraction) ใช้ชุดเครื่องมือ Soxhlet apparatus (AOAC, 1980) และการสกัดด้วยตัวทำละลายเย็น (Cold solvent extraction) ทั้ง 2 วิธีการ ใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ Ethanol และ Hexane ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี และวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของตัวอย่างกระเทียมที่เลือกเป็นตัวแทนจากการแบ่งกลุ่มโดยใช้ข้อมูลทางสัณฐานวิทยาจากข้อ 1

3. ศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกระเทียมด้วยเครื่องหมายโมเลกุล RAPD และ Microsatellite

3.1 การเตรียมต้นกล้าและการสกัดดีเอ็นเอ

นำกระเทียมจากแหล่งปลูกต่าง ๆ (Table 1) จำนวน 10 สายพันธุ์ เป็นกระเทียมจาก จ.ศรีสะเกษ จำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ GA55002 GA55005 GA55007 GA55008 และ GA55009 กระเทียมจากภาคเหนือ 5 สาย

Table 1 Collected garlic samples from different growing area from the north and north eastern part of Thailand in 2012

No.	Garlic sample	Garlic mother bulb source	Growing area
1	GA55001	Si Sa Ket (their own bulbs)	Yang Chum Noi, Yang Chum Noi, Si Sa Ket
2	GA55002	Si Sa Ket (their own bulbs)	Yang Chum Yai, Yang Chum Noi, Si Sa Ket
3	GA55004	Si Sa Ket (their own bulbs)	Mungjan, Muangjan, Si Sa Ket
4	GA55005	Si Sa Ket (their own bulbs)	Muangkong, Rasisalai, Si Sa Ket
5	GA55006	Si Sa Ket (their own bulbs)	Konkam, Yang Chum Noi, Si Sa Ket
6	GA55007	Si Sa Ket (their own bulbs)	Nongkaew, Karntrarom, Si Sa Ket
7	GA55008	Si Sa Ket (their own bulbs)	Nonphek, Phayu, Si Sa Ket
8	GA55009	Si Sa Ket (their own bulbs)	Wang Hin, Wang Hin, Si Sa Ket
9	GA55010	Lumphun	Ban Hong, Lumphun
10	GA55011	Chiangrai	Maetang, Chiangmai
11	GA55012	Lumpang	Maetang, Chiangmai
12	GA55013	Mae Hong Son	Pai, Mae Hong Son
13	GA55014	Mae Hong Son	Pai, Mae Hong Son
14	GA55015	-	Chaiprakarn, Chiangmai
15	GA55016	Phayao (their own bulbs)	Chun, Phayao
16	GA55017	Phayao	Chun, Phayao
17	GA55018	Phayao	Chun, Phayao
18	GA55019	Si Sa Ket (their own bulbs)	Tham, Karntrarom, Si Sa Ket

พันธุ์ได้แก่ GA550010 GA550011 GA550012 GA550016 และ GA550016/3 โดยมีกระเทียมจีน (GACHI) เป็นสายพันธุ์เปรียบเทียบ นำหัวกระเทียมที่คัดเลือกปลูกลงในกระถางพลาสติกจนกระทั่งต้นกล้ามีอายุประมาณ 20 วัน ตัดใบอ่อนของกระเทียมแต่ละสายพันธุ์ไปสกัดดีเอ็นเอตามวิธีการของ Doyle and Doyle (1987) โดยนำใบกระเทียมหนักประมาณ 0.2 ก. ใส่ในโถงเติมไนโตรเจนเหลว บดจนละเอียด เติม extraction buffer และ 2-Mercaptoethanol อย่างละ 1 มล. ใส่ตัวอย่างลงในหลอด microcentrifuge tube

นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 °ซ. จากนั้นเติม Chloroform: Isoamyl alcohol (24:1) นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 13,000 รอบ/นาที ดูดน้ำใสใส่หลอดใหม่ เติม Isopropanol นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 13,000 รอบ/นาที เทส่วนบนทิ้ง เติม 70% Ethanol ที่มี 10 mM Ammonium acetate ปริมาตร 400 ไมโครลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 13,000 รอบ/นาที เก็บส่วนตะกอนไว้และตากให้แห้ง ละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย TE buffer ที่มี RNaseA (10 มก./มล.)

3.2 การวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วย เครื่องหมายโมเลกุลชนิด RAPD

นำดีเอ็นเอที่สกัดจากข้อ 3.1 มาเพิ่มปริมาณโดยใช้ไพรเมอร์แบบสุ่มจำนวน 80 ไพรเมอร์ ดัดแปลงจาก Ipek *et al.* (2003) มีส่วนประกอบการทำปฏิกิริยาจำนวน 25 ไมโครลิตร ดังนี้ ดีเอ็นเอ 25 นาโนกรัม, 1X PCR buffer, 1.5 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTP, 1 M primer, 1.25 unit Taq DNA polymerase จากนั้นนำเข้าเครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (Biometra รุ่น T Gradient จากประเทศเยอรมัน) มีโปรแกรมควบคุมอุณหภูมิดังนี้ ขั้นที่ 1 Denaturation อุณหภูมิ 95°C เวลา 1 นาที ขั้นที่ 2 Annealing อุณหภูมิ 35°C เวลา 1 นาที 30 วินาที ขั้นที่ 3 Extension อุณหภูมิ 72 °C เป็นเวลา 1 นาที 45 วินาที ทำซ้ำ 40 รอบ เมื่อปฏิกิริยาลิ้นสุด ตรวจสอบผลด้วยเทคนิคเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส โดยใช้เจลอะกาโรส ความเข้มข้น 1.5% ย้อมเจลด้วย Novel juice เปรียบเทียบขนาดของแถบดีเอ็นเอที่ได้กับดีเอ็นเอมาตรฐาน โดยใช้ 100 bp DNA ladder เป็นดีเอ็นเอมาตรฐาน หลังจากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์หาค่า similarity coefficient โดยใช้โปรแกรม NTSYS pc 2.1 แล้วสร้างเดนโดรแกรมเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกระเทียม

3.3 การวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วย เครื่องหมายโมเลกุลชนิด Microsatellite

เพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอกระเทียมด้วยเครื่องหมายโมเลกุลชนิด Simple sequence repeat (SSR) หรือ Microsatellite จำนวน

16 ไพรเมอร์ ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ โดยดัดแปลงจาก Cunha *et al.* (2012) มีส่วนประกอบของปฏิกิริยาจำนวน 20 ไมโครลิตร ดังนี้ ดีเอ็นเอ 20 นาโนกรัม, 1X PCR buffer, 1.5 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTP, 0.2 mM forward primer, 0.2 mM reverse primer, 1U Taq DNA polymerase นำส่วนประกอบต่าง ๆ ผสมให้เข้ากันแล้วใส่ในหลอดพีซีอาร์ขนาด 0.2 มล. จากนั้นนำเข้าเครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ขั้นที่ 1 Denaturation อุณหภูมิ 95 °C เป็นเวลา 30 วินาที ขั้นที่ 2 Annealing อุณหภูมิตามความเหมาะสมของไพรเมอร์เวลา 30 วินาที ขั้นที่ 3 Extension อุณหภูมิ 72 °C เป็นเวลา 1 นาที ทำซ้ำ 35 รอบ เมื่อปฏิกิริยาลิ้นสุด ตรวจสอบผลด้วยเทคนิคโพลีอะครีลาไมด์เจลอิเล็กโตรโฟรีซิสที่ความเข้มข้น 4.5% ย้อมเจลด้วยสีย้อมซิลเวอร์ไนเตรท (AgNO₃) แล้ววิเคราะห์แถบดีเอ็นเอ หลังจากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์หาค่า similarity coefficient โดยใช้โปรแกรม NTSYSpc 2.1 แล้วสร้างเดนโดรแกรมเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกระเทียม

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ศึกษาลักษณะพื้นฐานวิทยา

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกระเทียมแต่ละแหล่งนั้น มีลักษณะใกล้เคียงกัน คือ กระเทียมจาก จ.ศรีสะเกษ และ จ.ชัยภูมิ มีลักษณะหัวทรงรีกว้าง (Broad elliptic) และทรงกลม (circular) เปลือกมีสีขาว สีขาวปนม่วง และในแหล่งอื่น ๆ โดยเฉพาะในพื้นที่ภาคเหนือ จะมี

ทรงรีกว้าง (Broad elliptic) ฐานกว้าง และปลายยอดเรียวเล็ก เปลือกมีสีขาว สีขาวปนม่วง สำหรับสีเยื่อหุ้มกลีบกระเทียมทุกแหล่งปลูกมีสีเหลืองถึงสีน้ำตาลอ่อน หรือมีสีม่วงจาง ๆ และสีเนื้อกระเทียมจะมีสีขาวครีม ถึงสีเหลืองอ่อน คล้ายกันในทุกแหล่ง จากข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกระเทียมทั้ง 18 สายพันธุ์ สามารถจำแนกลักษณะของต้นและใบได้ 3 ลักษณะ (Figure 1) ดังนี้

1. ลักษณะทางลำต้นสูง ลำต้นเทียมใหญ่ คอใบซ้อนกันเป็นกาบแน่น ใบกว้างมาก ตัวอย่างที่เด่นชัด คือ GA55011 หัวกระเทียมขนาดใหญ่ ซึ่งเป็นกระเทียมที่ปลูกใน จ.เชียงใหม่ แต่มีแหล่งกำเนิดจาก จ.เชียงราย

2. ลักษณะทางลำต้นสูง ลำต้นเทียมใหญ่ คอใบตั้งไม่ซ้อนกันเป็นกาบ ใบกว้าง ตัวอย่างที่เด่นชัด คือ GA55015 เป็นกระเทียมจาก จ.เชียงใหม่ ลักษณะหัวมีทั้งทรงรีแคบ และทรงรีกว้างจนถึงทรงกลม

3. ลักษณะทางลำต้นสูง ลำต้นเทียมเล็ก คอใบมีทั้งซ้อนกันเป็นกาบและยืดยาว ใบกว้าง ตัวอย่างที่เด่นชัด คือ GA55002 เป็นกระเทียมจาก จ.ศรีสะเกษ ขนาดหัวเล็ก กลีบเล็ก จำนวนกลีบมาก หัวกระเทียมมีลักษณะทั้งทรงรีแคบและรีกว้าง ซึ่งเป็นลักษณะของกระเทียมพันธุ์พื้นบ้านเปลือกขาว เรียกว่ากระเทียมแก้ว

กระเทียมในพื้นที่ปลูกภาคเหนือและตะวันออกเฉียงเหนือ มีลักษณะของรูปร่างหัว สีเปลือก และขนาดแตกต่างกัน เนื่องจากในพื้นที่



Figure 1 Vegetative growth and bulbs of garlic from different planting area after 90-120 days planting

ปลูกภาคเหนือมีสภาพอากาศเย็น อุณหภูมิต่ำติดต่อกัน มีอายุการเก็บเกี่ยวนาน คือ ตั้งแต่ 3-5 เดือน จึงทำให้การพัฒนาของต้นและหัวกระเทียมมีมากขึ้น ขนาด รูปร่างหัว และสีเปลือกจึงมีความแตกต่างกับกระเทียมจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งสามารถจำแนกลักษณะเบื้องต้นได้ระดับหนึ่ง แต่ในปัจจุบันมีการใช้เทคโนโลยีในการผลิตมากขึ้น เช่น การใช้ปุ๋ยหรือฮอร์โมนเพื่อเร่งการเจริญเติบโต ทำให้หัวมีขนาดใหญ่ และสีเปลือกกระเทียมจะสดขึ้น อาจมีผลต่อลักษณะทางกายภาพของกระเทียม ทำให้การจำแนกสายพันธุ์โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาทำได้ยาก ซึ่ง Al-Zahim *et al.* (1997) ได้

กล่าวว่าการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา มาจำแนกสายพันธุ์ของกระเทียม อาจทำให้เกิดการสับสน จึงควรมีการตรวจสอบสายพันธุ์โดยวิธีตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอเพื่อความแม่นยำมากขึ้น

2. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของกระเทียม

ผลของการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากตัวอย่างกระเทียมด้วยวิธีการที่ต่างกัน จะให้สารสกัดออกมาไม่เหมือนกัน จากการทดสอบ 2 วิธีการ คือการสกัดร้อน และการสกัดเย็น และการใช้ตัวทำละลายที่ต่างกันคือ Ethanol และ Hexane ในตัวอย่างกระเทียม GA55012 พบว่าให้สารสกัดออกมาแตกต่างกัน (Figure 2) แต่ในการใช้ Ethanol เป็นตัวทำละลายมีขั้นตอนยุ่งยากมากกว่า และจำเป็นต้องทำการสกัดซ้ำด้วย Ethyl acetate เพื่อปรับสภาพอีกครั้งก่อนนำเข้าเครื่องวิเคราะห์ GC-MS นอกจากนี้ การสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดเดียวกันทั้งแบบร้อนและเย็น พบว่า สารที่สกัดได้ก็แตกต่างกันด้วย เช่น ในตัวอย่าง GA55018 (Figure 3) ที่สกัดด้วย Hexane พบองค์ประกอบทางเคมีทั้งหมด 5 ชนิด และพบสาร Trisulfide, di-2-propenyl มากที่สุดในการสกัดด้วยตัวทำละลายร้อน ขณะที่การสกัดด้วยตัวทำละลายเย็น พบจำนวนองค์ประกอบทางเคมีน้อยกว่า (Table 2) เช่นเดียวกันกับตัวอย่างกระเทียม GA55012 ที่การสกัดร้อนและเย็นให้ผลต่างกัน ดังนั้นจำเป็นต้องใช้วิธีการสกัดทั้ง 2 วิธีการในการสกัด และใช้ Hexane เป็นตัวทำละลาย

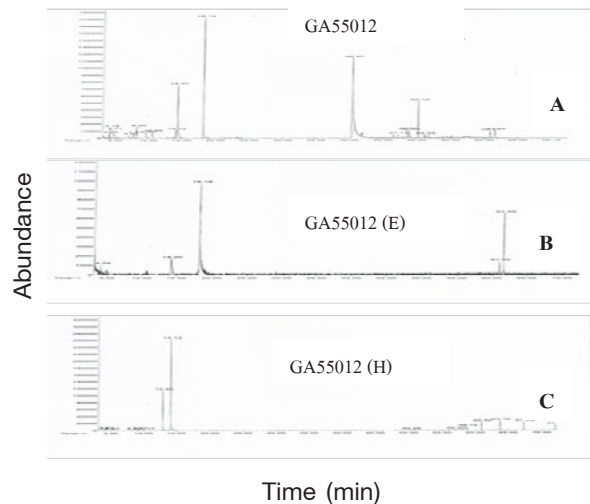


Figure 2 Chromatogram of GA55012 garlic sample using different methods and solvents

- A = Cold solvent extraction with Ethanol as the solvent.
- B = Hot solvent extraction with Ethanol as the solvent.
- C = Hot solvent extraction with Hexane as the solvent.

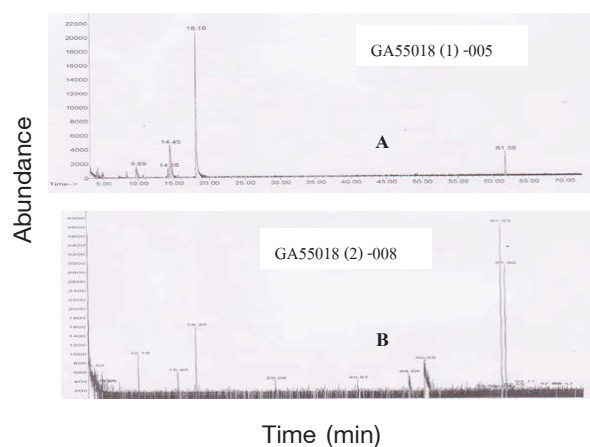


Figure 3 Chromatogram of GA55018 garlic sample using different methods with Hexane as the solvent A = Cold solvent extraction B = Hot solvent extraction

Table 2 Chemical compound with a retention time of garlic sample oils were extracted using different methods and solvents determined by GC-MS

Samples	Hot solvent extraction			Cold solvent extraction		
	Retention Time (min.)	Ethanol	Retention Time (min.)	Hexane	Retention Time (min.)	Ethanol
GA55012	4.04	Neopentyl para-aminobenzoate	3.18	1-Propene,3,3'-thiobis-3-Vinyl-2,2-dithio cyclohex-5-ene	7.07	Phenyl acetaldehyde
	14.20	3-Vinyl-2,2-dithio cyclohex-5-ene1,2,4,5-Tetrazine	12.90	3,4-dihydro-3-Vinyl-1,2-dithiin	9.63	Phosphoric acid, triethyl ester
	18.18	Trisulde, di-2-propenyl	14.12	2-Vinyl-4H-1,3-dithiin	14.12	3-Vinyl-1,2-dithio cyclohex-5-ene
	61.02	4-Pyridinecarboxaldehyde	58.72	Hexadecane	18.14	Trisulde, di-2-propenyl
	61.59	1,2-Benzenedicarboxylic acid,bis(2-ethylhexyl) phthalate	60.92	Heneicosane	40.37	Propenylparaben
	-	-	63.70	Heneicosane	48.51	Xycaine
	-	-	67.29	Heneicosane	50.19	Dibutyl Phthalate
	-	-	71.99	Nonadecane	51.11	Docosanoic acid, ethyl ester
	-	-	-	-	61.58	Bis(2-ethylhexyl) phthalate
	61.62	Di-(2-ethylhexyl) phthalate	-	-	-	-
GA55013	9.69	Diphosphoric acid, tetraethyl ester	-	-	-	-
	18.16	Trisulde, di-2-propenyl	-	-	61.60	Phthalic acid, diisooctyl ester
GA55018					61.03	4-Pyridinecarboxaldehyde,3-hydroxyl-5-hydroxymethyl-2-methyl-

เมื่อพิจารณาผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในกระเทียมจำนวน 18 ตัวอย่าง สามารถ แบ่งกลุ่มสารประกอบและอนุพันธ์ของสารประกอบกระเทียมได้ 11 กลุ่ม (peak) โดยกระเทียมจาก จ.ศรีสะเกษ พบสารประกอบและอนุพันธ์ของสารประกอบได้รวม 10 กลุ่ม สารประกอบในกลุ่มที่ 2 3 4 9 และ 10 พบเฉพาะตัวอย่างกระเทียมจาก จ.ศรีสะเกษ และกลุ่มกระเทียมจากภาคเหนือซึ่งพบสารประกอบและอนุพันธ์จำนวน 5 กลุ่ม และสารประกอบกลุ่มที่ 6 จะพบเฉพาะกระเทียมจากภาคเหนือเท่านั้น (Table 3) ดังนั้นจากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของกระเทียมสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มคือกลุ่มกระเทียมศรีสะเกษ และกลุ่มกระเทียมจากภาคเหนือ (Table 4)

ส่วนการวิเคราะห์ปริมาณสารอาหารและแร่ธาตุในตัวอย่างกระเทียมที่เป็นตัวแทน 3 ตัวอย่าง คือ GA 55005 (จาก อ.ราชันี้อย่าง จ.ศรีสะเกษ) GA55009 (จาก อ.กันทรลักษ์ จ.ศรีสะเกษ) และ GA55015 (จาก อ.ไชยปราการ จ.เชียงใหม่) มีปริมาณสารอาหารและแร่ธาตุไม่แตกต่างกัน โดยกระเทียมจาก จ.ศรีสะเกษ มีปริมาณแคลเซียมและโซเดียมสูงกว่ากระเทียมจากทางภาคเหนือ (Table 5)

3. ศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกระเทียมด้วยเครื่องหมายโมเลกุล RAPD และ Microsatellite

3.1 การวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมายโมเลกุลชนิด RAPD

ผลการวิเคราะห์ความหลากหลายของสายพันธุ์กระเทียม และหาความสัมพันธ์ของกระเทียม สามารถจัดกลุ่มของกระเทียมได้เป็นกลุ่มใหญ่ ๆ 2 กลุ่ม (Figure 5) ดังนี้

กลุ่มที่ 1 มีความหลากหลายของสายพันธุ์กระเทียมมากกว่า ประกอบด้วยกระเทียม 6 สายพันธุ์ ได้แก่ GA55002 GA55007 GA55008 GA55009 GA55005 และ GACHI (พันธุ์เปรียบเทียบ) ซึ่งใน 5 ตัวอย่างแรกมีแหล่งที่มาจาก จ.ศรีสะเกษ โดยกระเทียม GA55007 และ GA55008 มีค่าความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมากที่สุด เท่ากับ 0.91 ส่วน GACHI ซึ่งเป็นกระเทียมจีน มีแหล่งที่มาจากประเทศจีน มีค่าความใกล้ชิดทางพันธุกรรมน้อยที่สุด เมื่อเทียบกับตัวอย่างอื่น ๆ ภายในกลุ่มนี้ คือมีค่าเท่ากับ 0.62-0.72

กลุ่มที่ 2 มีความหลากหลายของสายพันธุ์กระเทียมน้อยกว่า ประกอบด้วยกระเทียม 5 ตัวอย่าง ได้แก่ GA55010 GA55016 GA55011 GA55012 และ GA55016/3 ซึ่งมีแหล่งที่มาจาก จ.ลำพูน พะเยา เชียงราย ลำปาง และพะเยา ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าเป็นกระเทียมที่มีแหล่งเพาะปลูกอยู่ในภาคเหนือทั้งหมด และมีลักษณะทางพันธุกรรมที่แยกออกมาจากกระเทียมจากแหล่งเพาะปลูกอื่น ๆ อย่างชัดเจน

3.2 การวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมายโมเลกุลชนิด Microsatellite

ผลการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของกระเทียม โดยใช้โปรแกรม NTSYSpc 2.1 และสร้างเดนโดรแกรม (Figure 6) สามารถจัดกลุ่ม

Table 3 Peaks of chemical compounds with a retention time of garlic sample oils were extracted using different methods with hexane as the solvent determined by GC-MS

peak	Retention Time (min.)	GA55012		GA55018	
		Hot solvent extraction	Cold solvent extraction	Hot solvent extraction	Cold solvent extraction
1	3.18	1-Propene,3,3'-thiobis-*	ND	1-Propene,3,3'-thiobis-*	1-Propene,3,3'-thiobis-
2	5.98	3,4-Dihydro-3-vinyl-1,2-dithiin	3,4-Dihydro-3-vinyl-1,2-dithiin	ND	ND
3	5.99	ND	ND	2-Thiabicyclo[4.1.0] hept-4-ene	ND
4	8.23	Disulde, di-2-propenyl***	ND	Diallyl disulde***	ND
5				Disulde, di-2-propenyl***	
6	8.24	ND	Disulde, di-2-propenyl***	ND	ND
7	8.25	ND		ND	Disulde, di-2-propenyl***
8	12.89	ND	2-Vinyl-1,2-dithio cyclohex-4-ene**	2-Vinyl-1,2-dithiocyclohex-4-ene	2-Vinyl-1,2-dithiocyclohex-4-ene**
9	14.12	ND	3-Vinyl-1,2-dithio cyclohex-5-ene	2-Vinyl-4H-1,3-dithiin	2-Vinyl-4H-1,3-dithiin
10	14.15	3-Vinyl-1,2-dithio cyclohex-5-ene	ND	ND	ND
11	18.14	Trisulde,di-2-propenyl*	ND	Trisulde,di-2-propenyl*	ND

Note

- * = The chemical was found in both samples using Hot solvent extraction
- ** = The chemical was found in both samples using Cold solvent extraction
- *** = The chemical was found in both samples using Hot and Cold solvent extraction
- ND = Not detected

Table 4 Peaks of chemical compounds with a retention time of garlic sample oils were extracted using hot solvent extraction with hexane as a solvent determined by GC-MS

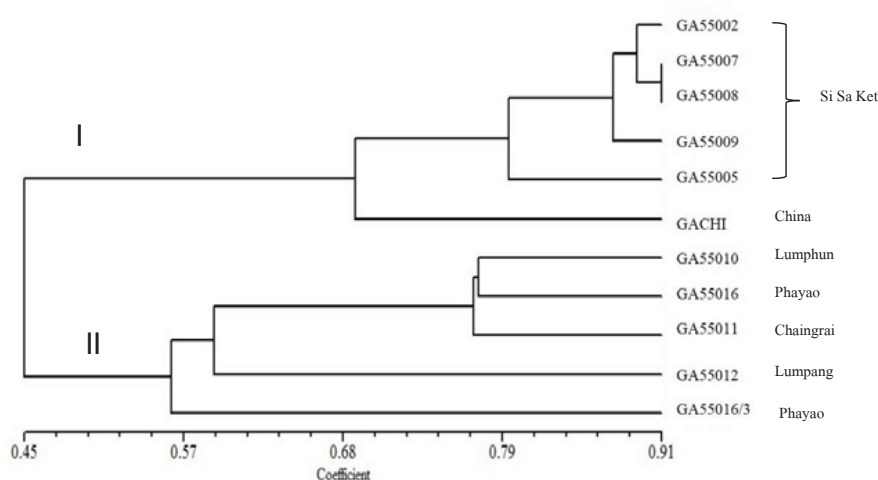
Samples	Retention Time (min.)										
	peak 1	peak2	peak3	peak4	peak5	peak6	peak7	peak8	peak9	peak 10	peak11
GA55001	3.18	ND	4.41	ND	5.11	ND	12.89	14.12	18.55	ND	ND
GA55002	ND	ND	ND	ND	ND	ND	12.91	14.12	ND	ND	ND
GA55004	ND	4.26	4.41	ND	5.11	ND	12.9	14.14	18.16	45.21	ND
GA55005	3.18	ND	4.25	4.41	5.12	ND	12.9	14.13	18.15	ND	ND
GA55006	ND	ND	ND	ND	5.11	ND	12.89	14.12	ND	ND	ND
GA55007	3.18	4.26	ND	ND	5.11	ND	12.9	14.14	18.14	ND	50.18
GA55008	3.18	4.26	ND	4.41	5.12	ND	12.89	14.13	18.16	ND	ND
GA55009	ND	ND	ND	4.41	5.12	ND	12.89	14.12	ND	ND	ND
GA55010	ND	ND	ND	ND	5.11	ND	12.9	ND	ND	ND	ND
GA55011	3.18	ND	ND	ND	ND	ND	12.91	14.16	ND	ND	50.18
GA55012	3.18	ND	ND	ND	ND	5.98	ND	14.15	18.14	ND	ND
GA55013	3.18	ND	ND	ND	ND	5.98	ND	14.16	18.14	ND	50.18
GA55014	3.18	ND	ND	ND	ND	ND	12.9	14.14	18.16	ND	50.17
GA55015	ND	ND	ND	ND	ND	ND	12.89	14.12	ND	ND	ND
GA55016	3.18	ND	ND	ND	ND	5.98	12.89	14.12	ND	ND	ND
GA55017	3.18	ND	ND	ND	ND	5.97	12.9	14.16	18.15	ND	ND
GA55018	3.18	ND	ND	ND	ND	5.99	12.89	14.13	18.14	ND	ND
GA55019	ND	ND	ND	ND	ND	ND	12.9	14.12	18.19	ND	ND

Note: ND = Not detected

Table 5 Nutrition analyses of garlic samples from the north and north eastern of Thailand

Contents	Garlic samples		
	GA55005	GA55009	GA55015
	(Rasisalai, Si Sa Ket)	(Kantharalak, Si Sa Ket)	(Chaiprakarn, Chiangmai)
Ash (g/100 g)	1.37	1.57	1.38
Calories (Kcal/100g)	136.32	139.34	130.41
Calories from Fat (Kcal/100g)	2.88	2.34	1.89
Carbohydrate (g/100 g)	24.64	26.06	24.74
Cholesterol (mg/100 g)	Not detected	Not detected	Not detected
Fat (g/100 g)	0.32	0.26	0.21
Moisture (g/100 g)	64.95	63.92	66.28
Protein(%N x 6.25) (g/100 g)	8.72	8.19	7.39
Saturated Fat (g/100 g)	0.10	0.09	0.08
Sugar (g/100 g)	2.08	2.39	1.87
Dietary Fiber (g/100 g)	13.28	13.84	10.95
Vitamin A(micro g/100 g)	Not detected	Not detected	Not detected
Vitamin B1 (mg/100 g)	0.26	0.25	0.17
Vitamin B2(mg/100 g)	0.03	0.03	Not detected
Calcium (Ca) (mg/100 g)	22.54	30.85	15.28
Iron (Fe) (mg/100 g)	1.26	1.03	1.04
Sodium(mg/100 g)	9.89	5.41	2.41

Note: Nutrition analyses from Central Laboratory (Thailand) Co., Ltd.

**Figure 5** Dendrogram from RAPD patterns in garlic samples from various sources

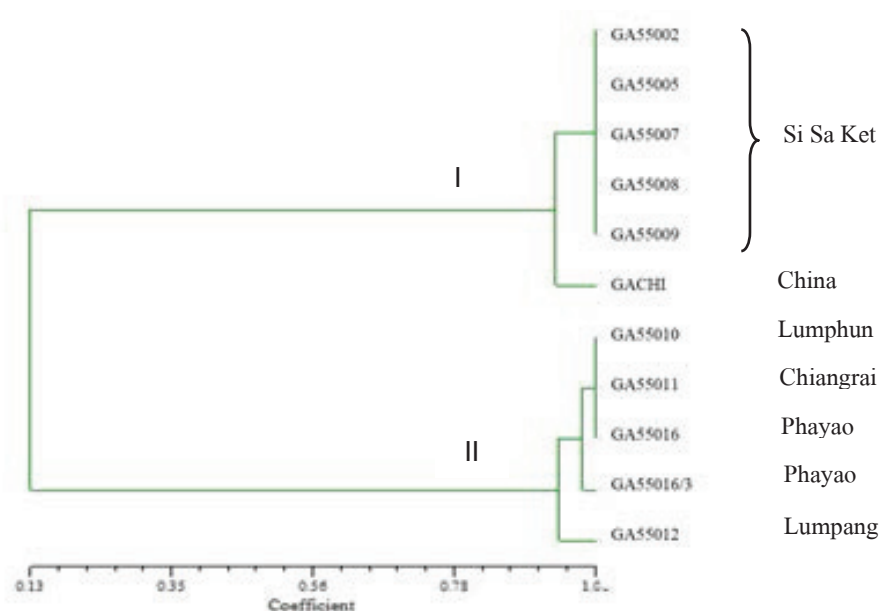


Figure 6 Dendrogram from microsatellite markers in garlic samples from various sources

ของกระเทียมได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ เช่นเดียวกับการวิเคราะห์ด้วยลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมายโมเลกุลชนิด RAPD ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยกระเทียม 6 ตัวอย่าง ได้แก่ GA55002 GA55005 GA55007 GA55008 GA55009 และ GACHI ซึ่งกระเทียม 5 ตัวอย่างแรกไม่มีความแตกต่างพันธุกรรม โดยมีแหล่งที่มาจาก จ.ศรีสะเกษ ทั้งหมด ส่วน GACHI เป็นกระเทียมจีน จึงมีความใกล้เคียงทางพันธุกรรมที่น้อยกว่าสายพันธุ์อื่น ๆ ภายในกลุ่ม

กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยกระเทียมจากภาคเหนือ 5 ตัวอย่าง พบว่ามีความแตกต่างกันภายในกลุ่ม โดยกระเทียม 4 ตัวอย่าง ได้แก่ GA55010 GA55011 GA55016 และ GA55016/3 มีแหล่งที่มาจาก จ.ลำพูน เชียงราย พะเยา และพะเยา และไม่มีความแตกต่างทาง

พันธุกรรม แต่มีความแตกต่างจาก GA55012 ซึ่งมีแหล่งที่มาจาก จ.ลำปาง จะเห็นได้ว่ากระเทียมในกลุ่มนี้เป็นกระเทียมที่มีแหล่งเพาะปลูกอยู่ในภาคเหนือทั้งหมด และมีลักษณะทางพันธุกรรมที่แยกออกมาจากกระเทียมจากแหล่งปลูก จ.ศรีสะเกษ อย่างชัดเจน

สรุปผลการทดลอง

การจำแนกลักษณะกระเทียมด้วยข้อมูลทางสัณฐานวิทยา โดยการสังเกตความแตกต่างของสี รูปร่างหัว ขนาด สามารถใช้แยกความแตกต่างของสายพันธุ์กระเทียมได้เบื้องต้น เป็น 3 กลุ่ม จาก 18 สายพันธุ์ แต่เนื่องจากในปัจจุบันมีการใช้เทคโนโลยีในการผลิตมากขึ้นอาจมีผลต่อลักษณะทางกายภาพของกระเทียม ทำให้การจำแนกอาจผิดพลาดได้ ขณะที่การจำแนกโดยใช้องค์ประกอบทางเคมี สามารถแยกกลุ่ม

กระเทียมศรีสะเกษออกจากกลุ่มกระเทียมจากภาคเหนือได้ แต่พบว่าสารประกอบที่พบเฉพาะกลุ่มกระเทียมศรีสะเกษ ไม่ได้พบในตัวอย่างกระเทียมศรีสะเกษทุกตัวอย่าง ดังนั้น การใช้องค์ประกอบทางเคมียังไม่มีความแม่นยำ ส่วนการจำแนกโดยใช้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอทั้งเทคนิค RAPD และ Microsatellite สามารถจำแนกสายพันธุ์กระเทียมได้อย่างแม่นยำ โดยเทคนิค Microsatellite มีลักษณะดีเด่นกว่า RAPD คือสามารถทำซ้ำและให้ผลเหมือนเดิม ดังนั้นในการจำแนกสายพันธุ์กระเทียมจากแหล่งปลูกต่าง ๆ จำนวน 18 ตัวอย่าง ด้วยวิธีการทางสัณฐานวิทยา การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและวิธีลายพิมพ์ดีเอ็นเอ สามารถจำแนกและบ่งชี้แหล่งที่ของกระเทียมได้เป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มกระเทียมศรีสะเกษ (ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ) และกลุ่มกระเทียมจากภาคเหนือ

คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณ ดร.จิรวัดณ์ สนิทชน สาขาวิชาพืชไร่ ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ความอนุเคราะห์ห้องปฏิบัติการดีเอ็นเอ และคำปรึกษาด้านวิชาการ ขอขอบคุณเกษตรกรทุกท่านที่ให้ความร่วมมือในการเก็บตัวอย่าง ขอขอบคุณผู้บังคับบัญชา และผู้ร่วมงานทุกท่านที่สนับสนุนและช่วยดำเนินการทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- กรมวิชาการเกษตร. 2542. *การจำแนกลักษณะความแตกต่างของกระเทียมที่ลักลอบนำเข้าและที่ผลิตในประเทศไทย*. กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ, 16 น.
- นิรนาม. 2547. ความรู้เบื้องต้น เรื่องสิ่งบ่งชี้ทางภูมิศาสตร์. แหล่งข้อมูล: http://www.ipthailand.go.th/ipthailand/index.php?option=com_content&task=view&id=291&Itemid=248 สืบค้นเมื่อวันที่ 6 กรกฎาคม 2553.
- นิรนาม 2556. กระเทียม (Garlic) โภชนาการ รักษาโรค. แหล่งข้อมูล: <http://bewty-drink.blogspot.com/2012/05/garlic.html> สืบค้นเมื่อวันที่ 21 สิงหาคม 2558.
- สุดารันต์ หอมหวล. 2553. กระเทียม แหล่งข้อมูล: www.thaicrudedrug.com สืบค้นเมื่อวันที่ 21 สิงหาคม 2558
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2553. *เอกสารสถิติการเกษตรเลขที่ 416 ข้อมูลพื้นฐานเศรษฐกิจการเกษตร ปี 2553*. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ. 202 น.
- Al-Zahim, M., H.J. Newbury. And B.V. Ford-Lo-Lloyd. 1997. Classification of genetic variation in garlic (*Allium sativum* L.) revealed by RAPD. *Hort Science*. 32: 1102-1104

- AOAC. 1980. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists* (13rd ed.). Arlington, USA. 1040 p.
- Cunha, C.P., E.S.S. Hoogerheide, M.I. Zucchi, M. Monteiro and J.B. Pinheiro. 2012. New microsatellite markers for garlic *Allium sativum* (Alliaceae). *Am J Bot.* 17-19.
- Doyle, J.J. and J.L. Doyle. 1987. A rapid isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem Bull* 19: 11-15.
- Ipek, M., A. Ipek and P.W. Simon. 2003. Comparison of AFLPs, RAPD marker, and isozymes for diversity assessment of garlic and detection of putative duplicates in germplasm collections. *Amer. Soc. Hort. Sci.* 128 (2): 246-252.
- IPGRI. 2001. *Descriptors for Allium* (*Allium* spp.). International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy; European Cooperative Programme for Crop Genetic Resources Networks (ECP/GR), AVRDC, Taiwan. 51 p.
- Meryem, I and A. Ipek. 2003. Comparison of AFLPs, RAPD marker, and isozymes for diversity assessment of garlic and detection of putative duplicates in germplasm collections. *Amer. Soc. Hort. Sci.* 128 (2): 246-252.
- Williams, J.G., A.K. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rafalski and S.V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* 18 (22): 6531-6335