

Project Code (รหัสโครงการ): MRG5080329

ชื่อโครงการ: การศึกษาสารประกอบฟีนอลเพื่อเป็นเครื่องหมายทางชีวโมเลกุลในการจำแนก คัดเลือกและปรับปรุงสายพันธุ์กล้วย

Project Title: The Study of Phenolic Compounds as a Biomolecular Marker for Identification, Selection and Improvement of Bananas

ชื่อนักวิจัย จามร สมณะ¹, พงศกร โพธิ์ถาวร¹, กาสินัย กิจดำรงสันต์¹, วิลาวัณย์ ชาวหงสา², กนกพร อะทะวงษา², สิรภพ วงษ์เนียม² และ ศศิวิมล แสงวงษ์²

¹ ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล scjsm@mahidol.ac.th

² ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล scssg@mahidol.ac.th

ระยะเวลาโครงการ ๑ กรกฎาคม พ.ศ. ๒๕๕๐ ถึงวันที่ ๓๑ มิถุนายน พ.ศ. ๒๕๕๒

Abstract (บทคัดย่อ)

กล้วยเป็นพืชปลูกที่สำคัญอย่างหนึ่งของโลกซึ่งมีแหล่งกำเนิดในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ซึ่งมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง ความหลากหลายของพันธุ์กล้วยเหล่านี้สามารถแยกแยะได้ไม่เพียงแต่ลักษณะที่มองเห็น ยังมีกลิ่น รส และเนื้อสัมผัสด้วย แต่ลักษณะเหล่านี้บางครั้งไม่แน่นอนเพราะขึ้นอยู่กับสิ่งแวดล้อม เพื่อแก้ปัญหาเหล่านี้ จึงได้มีการพัฒนาค้นหา Biochemical และ Molecular Markers ที่เกี่ยวข้องกับลักษณะทั้ง genotype และ phenotype ที่สำคัญบางประการเช่นปริมาณและการกระจายของความฝาด (tannin) รูปแบบการสะสมสีแดง (anthocyanin) โดยเริ่มจากการเก็บตัวอย่างและระบุลักษณะกล้วยได้เก็บตัวอย่างกล้วยป่าและกล้วยปลูกจากทั่วประเทศตั้งแต่ก่อนจะได้รับทุนจนถึงปัจจุบันได้ประมาณ 400 ตัวอย่าง เป็นข้อมูลรูปถ่าย รูปวาด ข้อมูลลักษณะปรากฏกว่า 70 ลักษณะของแต่ละตัวอย่าง ได้เก็บตัวอย่างแห้งสำหรับกล้วยป่าเฉพาะส่วนของใบและตัวอย่างดองในส่วนของปลี ผล ดอก ที่หอพรรณไม้สวนหลวง ร.๙ ส่วนตัวอย่างที่มีชีวิต กล้วยป่าส่วนใหญ่ได้นำหน่อหรือเมล็ดไปปลูกที่สวนของเจ้าของโครงการที่ อ. นครชัยศรี จ. นครปฐม ส่วนกล้วยปลูกนั้นส่วนใหญ่ดูแลโดยสวนของเรือนไทยพิพิธภัณฑสถานแห่งชาติกำแพงเพชร และแปลงรวบรวมพันธุ์กล้วย คลองสิบ อ. หนองเสือ ปทุมธานี และได้มีการนำกล้วยบางตัวที่หายาก ลักษณะโดดเด่น หรือเติบโตที่แปลกปลูกได้ไม่เต็มเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ณ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

การปรับวิธีวิเคราะห์ปริมาณและตรวจสอบชนิดสารให้ความฝาด ได้ทำการวัด ปริมาณ total phenolic compound ด้วยวิธี modified Prussian blue กับสารสกัดจากส่วนต่างๆของกล้วยบางตัวอย่าง โดยใช้ catechin เป็นสารประกอบฟีนอลมาตรฐานเปรียบเทียบ และทดสอบรูปแบบการกระจายของสารประกอบฟีนอลในเนื้อเยื่อกล้วยส่วนต่างๆ รวมทั้งเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลกับความฝาด ทั้งจากเนื้อเยื่อแบบเดียวกันในกล้วยชนิดต่างๆ ที่นิยมหรือไม่นิยมรับประทานเช่นหอยกหรือปลี เนื้อเยื่อต่างๆ จากกล้วยพันธุ์เดียวกัน หรือผลเครือเดียวกันในระยะการสุกที่ต่างกันซึ่งเห็นความสอดคล้องกันของปริมาณ tannin กับการทดสอบรสฝาดทั้งในเนื้อเยื่อเดียวกันของกล้วยต่างชนิดหรือผลกล้วยเดียวกันในระยะการสุกต่างกันและสามารถแบ่งระดับความฝาดที่แปรผันตรงกับปริมาณสารประกอบฟีนอลโดยคร่าวได้

การตรวจสอบชนิดสารให้ความฝาด ได้เก็บตัวอย่างน้ำยางกล้วย ซึ่งถือเป็นของเหลวที่บ่งถึงสภาพของกล้วยทั้งต้นและเป็นของเหลวที่มีสารประกอบฟีนอลอยู่มาก โดยได้พัฒนาน้ำยาเก็บรักษายางกล้วยให้คงสภาพและไม่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลมากกว่าเดิม เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่อง HPLC และ MS ซึ่งพบสารประกอบฟีนอลหลายชนิดที่แตกต่างกันในแต่ละกลุ่มของกล้วยเช่น dopamine, myricetin-3-*O*-rutinoside ส่วนสารประกอบ anthocyanin ซึ่งเป็นสารในกลุ่มเดียวกันแต่เป็นรงควัตถุที่ไม่มีรสฝาดได้วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่อง HPLC และ MS เช่นกัน พบสาร anthocyanin หลายชนิดที่แตกต่างกันในแต่ละกลุ่มของกล้วย แต่ไม่สอดคล้องกันเสมอไปว่ากล้วยที่มีสีแดงมากจะฝาดกว่ากล้วยที่มีสีแดงน้อยกว่า

การสกัด DNA เพื่อทำการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมเบื้องต้นด้วย AFLP สามารถจัดกลุ่มกล้วยได้ตามกลุ่มชนิดและ genome และได้ค้นพบชิ้น DNA ที่มีความจำเพาะกับชนิดและกลุ่ม genome ของกล้วยซึ่งสามารถนำไปออกแบบ primer สำหรับเป็นตัวจำแนกกลุ่มเฉพาะของกล้วยและได้ผ่านการทดสอบแล้วว่าได้ผลดี นอกจากนี้ยังมีการคัดเลือกตัวอย่างกล้วยที่แสดงลักษณะการสร้างสารประกอบฟีนอลในปริมาณมากและความหลากหลายที่สุดเพื่อสกัด RNA มาทำ cDNA library ได้สำเร็จแล้วรอการค้นหายีนที่สนใจในโอกาสต่อไป

Keywords (คำหลัก): Banana, phenolic composition, anthocyanin, astringency, genetic diversity

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อให้ทราบแหล่งที่มาจนจะสามารถรวบรวมพันธุกรรมของกล้วยทั้งพันธุ์กล้วยป่าและกล้วยปลูกจากแหล่งต่างๆที่น่าสนใจทั่วประเทศ
2. เพื่อให้มีข้อมูลเชิงลึกในรายละเอียดของลักษณะปรากฏต่างๆในแต่ละสายพันธุ์ทั้งกล้วยป่าและกล้วยปลูก เช่นระดับและการกระจายของสีแดงและความฝาด
3. เพื่อศึกษาข้อมูลทางพันธุกรรมในส่วนที่น่าสนใจซึ่งยังไม่เป็นที่รู้มาก่อน และนำข้อมูลมาเปรียบเทียบกับลักษณะปรากฏ
4. เพื่อพัฒนาเครื่องหมายทางชีวโมเลกุลที่นำไปใช้ได้และวิธีการวิเคราะห์ที่เหมาะสม
5. เพื่อเพิ่มผลงานวิจัยเกี่ยวกับเครื่องหมายทางชีวโมเลกุลของพืชในวงศ์กล้วย (Musaceae) ในประเทศไทย

วิธีการทดลอง

1. การรวบรวมพันธุกรรมของกล้วยทั้งพันธุ์กล้วยป่าและกล้วยปลูกจากแหล่งต่างๆที่น่าสนใจทั่วประเทศ
ได้มีการออกสำรวจรวบรวมพันธุ์กล้วยป่าจากแหล่งกำเนิดในธรรมชาติจากที่ต่างๆ ทั่วประเทศไทยและประเทศเพื่อนบ้านทั้งสิ้น 262 ตัวอย่าง และกล้วยปลูกจากแหล่งรวบรวมพันธุ์และจากสวนของชาวบ้านจากท้องถิ่นต่างๆ อีก 141 ตัวอย่าง กล้วยทุกตัวอย่างจะเก็บข้อมูลมากที่สุดเท่าที่จะทำได้โดยเก็บเป็น รูปถ่าย รูปวาด ข้อมูลลักษณะปรากฏกว่า 70 ลักษณะและตำแหน่งพิกัดภูมิศาสตร์(รูปที่ 2) ในแต่ละตัวอย่างโดยดัดแปลงจากแบบการเก็บข้อมูลของ IPGRI-INIBAP/CIRAD (1996) ตัวอย่างหนึ่งสำหรับกล้วยป่าเฉพาะส่วนของใบ และตัวอย่างดองในส่วนของปลี ผล ดอก (ชุดรูปที่ 1) และได้บันทึกคำอธิบายแต่ละตัวอย่างและลักษณะประจำแต่ละชนิดตามหลักอนุกรมวิธาน (Atawongsa 2008) นอกจากนี้ยังมีการเก็บหน่อหรือเมล็ดเพื่อนำไปปลูกในแปลงรวบรวมพันธุ์เพื่อสามารถนำมาอ้างอิงใหม่ต่อไปในสภาพสิ่งแวดล้อมการปลูกลักษณะเดียวและเพื่อศึกษาการเติบโต ความต้านทานโรคและข้อมูลทางสรีรวิทยาอื่นๆ ต่อไป กล้วยป่าส่วนใหญ่ได้นำหน่อหรือเมล็ดไปปลูกที่สวนของเจ้าของโครงการที่ อ. นครชัยศรี จ. นครปฐม ส่วนกล้วยปลูกนั้นส่วนใหญ่ดูแลโดยเจ้าหน้าที่ประจำสวนของเรือนไทยพิพิธภัณฑสถานแห่งชาติกำแพงเพชร และแปลงรวบรวมพันธุ์กล้วย