

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ MRG5480027

ชื่อโครงการ การศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอเพื่อการพิสูจน์เอกลักษณ์ของกวาวเครือขาว

ชื่อหลักวิจัย ดร.ศิรินทรา กอแสงเรือง

ภาควิชาเภสัชเวชและตัวยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต

อีเมล sirintra.k@rsu.ac.th

ระยะเวลาโครงการ มิถุนายน 2554 – พฤศจิกายน 2558

บทคัดย่อ:

กวาวเครือขาวเป็นพืชเฉพาะถิ่น มีองค์ประกอบทางเคมีคือสารในกลุ่มไอโซฟลาโวนอยด์ซึ่งแสดงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในการเป็นไฟโตเอสโตรเจนที่ถูกใช้ในการทดแทนฮอร์โมนสำหรับสตรีวัยหมดประจำเดือน กวาวเครือขาวในประเทศไทยมาจากพืช 2 สายพันธุ์ คือ *Pueraria candollei* Graham ex Benth. var. *candollei* (PC) และ *Pueraria candollei* Graham ex Benth. var. *mirifica* (Airy Shaw et Suvat.) Niyomdham (PM) ทั้งสองสายพันธุ์มีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ที่ใกล้เคียงกันมาก นอกจากนั้นยังพบว่าทั้งสองสายพันธุ์มีความแตกต่างกันในปริมาณขององค์ประกอบเคมีหลัก ที่ทำให้อาจเกิดผลที่ไม่พึงประสงค์หากมีการใช้ผิดต้น การใช้เทคนิคลายพิมพ์ดีเอ็นเอจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการตรวจสอบสายพันธุ์ของพืช การศึกษานี้ได้เปรียบเทียบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของ *P. candollei* ที่ทราบสายพันธุ์แน่นอนกับ *Pueraria* sp. จากจังหวัดต่าง ๆ ด้วยเทคนิค Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) และ Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) พบว่าในเทคนิค AFLP มี 4 คู่ไพรเมอร์ของ *EcoRI* และ *MseI* ที่สามารถตรวจสอบแถบดีเอ็นเอได้ชัดเจน พบว่ามีค่าดัชนีความเหมือนทางพันธุกรรมของแต่ละสายพันธุ์คือ PC และ PM ระหว่าง 0.8800 – 0.9684 และ 0.2240 – 0.9559 ตามลำดับ ส่วนการศึกษาโดยใช้เทคนิค ISSR พบว่ามี 14 ไพรเมอร์จาก 45 ไพรเมอร์ที่ศึกษาให้ผลของแถบดีเอ็นเอที่ชัดเจนในทุกตัวอย่าง โดยมีค่าดัชนีความเหมือนทางพันธุกรรมของแต่ละสายพันธุ์คือ PC และ PM ระหว่าง 0.3028 – 0.7500 และ 0.2979 – 0.6415 ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของพืชด้วยวิธี Unweighted Pair Group Method Arithmetic Average (UPGMA) เพื่อสร้างเดนโดแกรม พบว่าสามารถแยกพืชตัวอย่างออกเป็น 2 กลุ่ม คือสายพันธุ์ *candollei* (PC) ประกอบด้วยพืช *Pueraria* sp. จากจังหวัดกาญจนบุรี อุทัยธานีและนครนายก และสายพันธุ์ *mirifica* (PM) ประกอบด้วยพืช *Pueraria* sp. จากจังหวัดสระบุรี ปราจีนบุรี และลพบุรี ในขณะที่ตัวอย่างพืชที่เป็น outgroup ทั้งสองต้นแยกจากกลุ่มตัวอย่างอย่างชัดเจน จากการศึกษาพบว่า AFLP และ ISSR สามารถนำมาใช้ในการจำแนกพืช *Pueraria candollei* ทั้งสองสายพันธุ์

คำหลัก : กวาวเครือขาว, เทคนิคเอเอฟแอลพี, เทคนิคไอเอสเอสอาร์

Abstract

Project Code MRG5480027
Project Title Identification of *Pueraria candollei* using DNA fingerprint analysis
Investigator Miss Sirintra Korsangruang, Ph.D.
Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy,
Rangsit University
E-mail Address sirintra.k@rsu.ac.th
Project Period June 2011 – November 2015

Abstract:

Pueraria candollei Graham ex Benth. is Thai native plants containing isoflavonoids which possess health benefit for hormone replacement therapy in the elderly women. The plant was classified into 2 varieties as *P. candollei* Graham ex Benth. var. *candollei* (PM) and *P. candollei* Graham ex Benth. var. *mirifica* (Airy Shaw et Suvat.) Niyomdham (PC). The both varieties are closely in botanical characteristics. Furthermore, isoflavonoids, the major group of compounds in *Pueraria* plants show dissimilar profiles between the two varieties. Therefore, the utilization of *P. candollei* in Thai traditional medicine and cosmetics products may cause unexpected results from misuse of the plant varieties. DNA fingerprint technique is an appropriate tool for examining plant genotypic characters. This study verified *P. candollei* from various provinces in Thailand and analyzed DNA fingerprinting using two techniques which are Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) and Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR). AFLP analysis was performed using *EcoRI* and *MseI* primer combinations. The four primer combinations were selected as the suitable primer pairs for successful DNA amplification. The genetic similarity levels between two groups of varieties were 0.8800 – 0.9684 and 0.2240 – 0.9559, respectively. Fourteen of the 45 ISSR primers showed polymorphic bands which have similarity indices among varieties were 0.3028 – 0.7500 and 0.2979 – 0.6415, respectively. Cluster analysis of all samples was created by Unweighted Pair Group Method Arithmetic Average (UPGMA). The dendrograms from AFLP and ISSR techniques showed similar grouping of classification which are PC and PM varieties. *Pueraria* sp. plant from Kanchanaburi, Uthai Thani and Nakhon Nayok provinces were group into PC varieties. Whereas, the PM varieties was group with *Pueraria* sp. plant from Saraburi, Prachinburi and Lopburi provinces. These results showed that using of AFLP and ISSR techniques could be used to identify the two varieties of *Pueraria candollei*.

Keywords : *Pueraria candollei*, AFLP, ISSR