

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



209119

การตรวจผลการผสมลูกที่วางถิ่นของนกกินในกตัญญู
และกตัญญูออกไข่ในถิ่นโดยเทคนิคดีทีอาร์-พีอาร์

อศุภร อรุณชัย

จิตวิทยาการพยาบาลบัณฑิต
(เภสัชศาสตร์)
สาขาวิชาพิษสงวน

บัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
กันยายน 2554

600959395

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



209119

การตรวจหาการแสดงออกที่ต่างกันของยีนในกลีบเลี้ยง และกลีบดอกเอื้องดินใบหมากโดยเทคนิคดีดีอาร์ที-พีซีอาร์



จตุพร อนุชัย

วิทยานิพนธ์นี้เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัยเพื่อเป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
(เกษตรศาสตร์)
สาขาวิชาพืชสวน

บัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
กันยายน 2554

การตรวจหาการแสดงออกที่ต่างกันของยีนในกลีบเลี้ยง
และกลีบดอกเอื้องดินใบหมากโดยเทคนิคดีอาร์ที-พีซีอาร์

จตุพร อนุชัย

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)
สาขาวิชาพืชสวน

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


.....ประธานกรรมการ

อาจารย์ ดร. ชิต อินปรา


.....กรรมการ

อาจารย์ ดร. วิวัฒน์ บัณฑิตย์

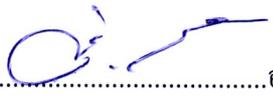

.....กรรมการ

รองศาสตราจารย์ ดร. ณิชฐา โพธาภรณ์

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์


.....อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

อาจารย์ ดร. วิวัฒน์ บัณฑิตย์


.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

รองศาสตราจารย์ ดร. ณิชฐา โพธาภรณ์

29 กันยายน 2554

© ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเชียงใหม่

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณ ดร. วิวัฒน์ บัณฑิตย์ อาจารย์ที่ปรึกษาหลักวิทยานิพนธ์เป็นอย่างสูงที่ได้กรุณาเสียสละเวลาในการให้คำแนะนำ และคำปรึกษาวิธีการและแนวทางแก้ไขปัญหาที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัยในครั้งนี้ รวมทั้งตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ จนทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้สมบูรณ์และสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. ชิต อินปราง ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้คำปรึกษา และตรวจทานแก้ไขข้อบกพร่องของวิทยานิพนธ์เล่มนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ัญญา โพธารณย์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้คำปรึกษา แนะนำ และตรวจทานแก้ไขข้อบกพร่องของวิทยานิพนธ์เล่มนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณ โครงการพัฒนาไม้ดอกเศรษฐกิจ (กล้วยไม้) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่สนับสนุนการวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ที่ให้ทุนสนับสนุนทุนการทำวิจัยบางส่วนในการทำวิจัยจนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการสนับสนุนส่วนหนึ่งจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ได้ให้ความช่วยเหลือเอื้อเฟื้ออุปกรณ์และเครื่องมือต่างๆ และอำนวยความสะดวกในระหว่างทำการทดลองครั้งนี้ด้วยดีเสมอมา

ท้ายที่สุดนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่คอยสนับสนุนและให้กำลังใจในการเรียนตลอดมา หากมีข้อผิดพลาดในส่วนใดส่วนหนึ่งจากงานวิจัยครั้งนี้ผู้เขียนขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย และหวังว่า วิทยานิพนธ์ฉบับนี้จะ เป็นประโยชน์บ้างไม่มากก็น้อยสำหรับผู้สนใจทุกท่าน

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การตรวจหาการแสดงออกที่ต่างกันของยีนในกลีบเลี้ยงและกลีบดอก
เอื้องดินใบหมากโดยเทคนิคดีดีอาร์ที-พีซีอาร์

ผู้เขียน นางสาว จตุพร อนุชัย

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) พืชสวน

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

อาจารย์ ดร. วิวัฒน์ บัณฑิตย์

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

รองศาสตราจารย์ ดร. ญัฐา โพธารมณ์

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

209119

การศึกษาการแสดงออกของยีนในดอกเอื้องดินใบหมาก 3 ชนิด 5 กลุ่มสี ได้แก่ *Spathoglottis affinis* สีเหลือง *S. plicata* สีม่วง สีชมพู สีขาว และ *S. petri* สีบานเย็น ด้วยเทคนิคดีดีอาร์ที-พีซีอาร์ ในกลีบเลี้ยงและกลีบดอกที่ระยะการเจริญที่แตกต่างกัน 3 ระยะคือ ระยะดอกตูม ระยะดอกแรกแย้ม และระยะดอกบาน คัดกรองไพรเมอร์ 58 ชนิด ร่วมกับ ไพรเมอร์ dT₁₂VG พบว่า ไพรเมอร์ที่แสดงเครื่องหมายดีเอ็นเอที่สัมพันธ์กับเอื้องดินใบหมากทั้ง 5 ชนิดคือ OPD16 OPF14 และ OPAB19 พบแถบดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะทั้งหมด 9 แถบ เมื่อนำแถบคัดเลือกไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์พบว่ามีความคล้ายคลึงกับยีน *Sorghum bicolor* hypothetical protein, *Zea mays* tousled-like kinase 2, *Oryza sativa* Japonica Group Os03g0113500 (Os03g0113500) mRNA และ *Plasmodium yoelii* yoelii str. 17XNL chloroquine resistance marker protein (PY02945) partial mRNA

Thesis Title Detection of Differential Gene Expression in Sepal and Petal of *Spathoglottis*
Species by DDRT-PCR Technique

Author Miss Jatuporn Anuchai

Degree Master of Science (Agriculture) Horticulture

Thesis Advisory Committee

Dr. Weenun Bundithya

Advisor

Associate Professor Dr. Nuttha Potapohn

Co-advisor

Abstract

209119

Differential gene expression was studied in five different flower color groups of three *Spathoglottis* species, *S. affinis* yellow flower, *S. plicata* purple, pink and white flower and *S. petri* magenta flower. Differential display reverse transcription-polymerase chain reaction (DDRT-PCR) technique was used to study gene expression in sepal and petal at 3 different stages. The flower development period was divided as follows: flower bud, half opened flower and full bloom flower. In combination with dT₁₂VG primer, fifty-eight primers were screened and only 3 primers, OPD16, OPF14 and OPAB19, were able to amplify DNA marker associated with flower characteristics. Nine specific bands were identified. Nucleotide sequences of selected bands were similar to *Sorghum bicolor* hypothetical protein, *Zea mays* tousled-like kinase 2, *Oryza sativa* Japonica Group Os03g0113500 (Os03g0113500) mRNA and *Plasmodium yoelii* yoelii str. 17XNL chloroquine resistance marker protein (PY02945) partial mRNA.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ค
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ซ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ตรวจสอบเอกสาร	3
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	15
บทที่ 4 ผลการทดลอง	25
บทที่ 5 วิเคราะห์ผลการทดลอง	37
บทที่ 6 สรุปผลการทดลอง	42
เอกสารอ้างอิง	44
ภาคผนวก	48
ประวัติผู้เขียน	76

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์ชนิดสุ่มสำหรับการทำดีอาร์ที-พีซีอาร์	22
2 จำนวนแถบดีเอ็นเอจากการคัดกรองยีนของกล้วยไม้เอื้องดินใบหมาก โดยเทคนิค ดีอาร์ที-พีซีอาร์	32
3 ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีความคล้ายคลึงกับลำดับพันธุกรรมของแถบดีเอ็นเอแถบที่ 5 บนฐานข้อมูลของ GenBank	36

สารบัญภาพ

รูป	หน้า
1 ดอกกล้วยไม้เอื้องดินใบหมาก	4
2 ไลอะแกรม เทคนิคดีดีอาร์ที-พีซีอาร์	11
3 ระยะเวลาเก็บตัวอย่างพืช 3 ระยะ	17
4 แสดงผลการสกัดอาร์เอ็นเอของ <i>Spathoglottis</i> sp. ระยะดอกบาน	25
5 อาร์เอ็นเอหลังการทำ DNase digestion ของ <i>Spathoglottis</i> sp. ระยะดอกบาน	26
6 ผลผลิตพีซีอาร์โดยใช้ไพรเมอร์ ndhB ของ <i>Spathoglottis</i> sp. ระยะดอกบาน	27
7 ผลผลิตพีซีอาร์ 2 ครั้ง โดยใช้ไพรเมอร์ชนิดคู่ (OPD, OPF และ OPAB) ร่วมกับ Oligo dT ₁₂ VG ของกล้วยไม้เอื้องดินใบหมากทั้ง 5 กลุ่มสี ใน 3 ระยะ	28
8 ผลการเพิ่มปริมาณผลผลิตพีซีอาร์โดยใช้ไพรเมอร์ชนิดคู่ของ <i>S. plicata</i> สีม่วง	29
9 ผลการเพิ่มปริมาณผลผลิตพีซีอาร์โดยใช้ไพรเมอร์ชนิดคู่ของ <i>S. plicata</i> สีชมพู	29
10 ผลการเพิ่มปริมาณผลผลิตพีซีอาร์โดยใช้ไพรเมอร์ชนิดคู่ของ <i>S. plicata</i> สีขาว	30
11 ผลการเพิ่มปริมาณผลผลิตพีซีอาร์โดยใช้ไพรเมอร์ชนิดคู่ของ <i>S. affinis</i> สีเหลือง	30
12 ผลการเพิ่มปริมาณผลผลิตพีซีอาร์โดยใช้ไพรเมอร์ชนิดคู่ของ <i>S. petri</i> สีบานเย็น	31
13 ผลผลิตพีซีอาร์ของกล้วยไม้เอื้องดินใบหมาก ที่ใช้ไพรเมอร์ชนิดคู่ 3 ชนิดร่วมกับ anchored primer dT ₁₂ VG	33
14 ตัวอย่างผลการตรวจสอบตำแหน่งผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณแถบดีเอ็นเอ	34