200036

ปรารถนา เผือกวิไล 2550: การพัฒนาเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์สำหรับกล้วยไม้สกุลแวนด้า ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พันธุศาสตร์) สาขาพันธุศาสตร์ ภาควิชาพันธุศาสตร์ ประธานกรรมการที่ปรึกษา: รองศาสตราจารย์สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, Dr. Agr. 67 หน้า

วัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้ คือ การพัฒนาเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ที่จำเพาะในกล้วยไม้สกุลแวนด้า โดยการสร้างห้องสมุดจีโนมแบบ microsatellite enrichment โดยใช้โพรบแบบ dinucleotide repeat คือ $(CA)_{15}$ และ $(GA)_{15}$ และโพรบแบบ trinucleotide repeat $(ACC)_{10}$ และ $(CCT)_{10}$ ร่วมกับการคัดเลือกโคลนที่ให้ผลบวกด้วยเทคนิค dot blot hybridization จากการตรวจสอบพบว่า ห้องสมุดจีโนมที่ใช้โพรบแบบ dinucleotide และ trinucleotide repeat ได้โคลนที่ให้ผลบวก 82.45 และ 9.91 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำโคลนไปหาลำดับเบส พบว่ามีลำดับไมโครแซทเทลไลท์ 83.12 เปอร์เซ็นต์ โดยส่วนใหญ่เป็นลำดับไมโครแซทเทลไลท์แบบ compound repeat ชนิด $(GA)_n(GT)_n$ คิดเป็น 45.19 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาเป็นลำดับไมโครแซทเทลไลท์แบบ $(GA)_n$, $(CA)_n$ และ $(CCT)_n$ คิดเป็น 22.59, 15.93 และ 9.29 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สามารถออกแบบไพรเมอร์ได้ทั้งหมด 56 คู่ พบว่ามีไพรเมอร์ 9 คู่ ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ตามที่คาดหวัง และให้ความแตกต่างของขนาดดีเอ็นเอในตัวอย่างต่างๆ โดยมีจำนวนแอลลีล 3-9 แอลลีลต่อตำแหน่ง และมีค่า expected heterozygosity (H_e) ระหว่าง 0.315-0.7438 และเมื่อพิจารณาจากการตรวจสอบดีเอ็นเอของกล้วยไม้ โดยใช้ไพรเมอร์ทั้ง 9 คู่ พบว่าโอกาสที่ 2 ตัวอย่างจะมีจีโนไทป์เหมือนกันทั้ง 9 ตำแหน่ง (probability of identity, PI) อยู่ที่ประมาณ 1 ใน 1,000,000 ดังนั้นเครื่องหมายดีเอ็นเอนี้ น่าจะมีประสิทธิภาพในการใช้จำแนกพันธุ์กล้วยไม้ได้ เมื่อนำผลมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้ทั้ง 33 ตัวอย่าง พบว่าสามารถจำแนกกล้วยไม้แวนด้าใบกลม ออกจากกล้วยไม้แวนด้าใบแบนได้อย่างชัดเจน

200036

Prattana Phuekvilai 2007: Development of Microsatellite Markers for *Vanda* Orchid. Master of Science (Genetics), Major Field: Genetics, Department of Genetics. Thesis Advisor: Associate Professor Surin Peyachoknagul, Dr.Agr. 67 pages.

The aim of this research was to develop microsatellite markers for *Vanda* orchid from the enriched library using dinucleotide repeat [$(CA)_{15}$ and $(GA)_{15}$] and trinucleotide repeat [$(ACC)_{10}$ and $(CCT)_{10}$] as probes. Positive clones were selected by dot blot hybridization. The results showed that 82.45% and 9.91% of dinucleotide and trinucleotide enriched libraries were positive signals. After sequencing 83.12% of the positive clones contained microsatellite sequences. The four most abundant sequences were the compound repeat of $(GA)_n(GT)_n$ (45.19%), $(GA)_n$ (22.59%), $(CA)_n$ (15.93%) and $(CCT)_n$ (9.26%). Fifty six pairs of primers were designed and nine primers pairs could amplify the DNA giving the expected PCR product with polymorphism among samples. The alleles number ranged from 3 to 9 alleles per locus and expected heterozygosity (H_e) were between 0.3150 and 0.7438. Considering 9 loci of these microsatellite markers, the probability of identity (PI) of any 2 samples having the same genotype was approximately 1 in 1,000,000. Therefore, these markers could be used for identification of the orchid varieties. Genetic relationship of 33 *Vanda* orchids was analyzed and the result showed that *Vanda teres* and *Vanda* Miss Joaquim were clustered out from other *Vanda* orchids.