

ยุทธนา สิงห์ชะงา 2549: การสร้างเครื่องหมายดีเอ็นเอด้วยวิธี sequence-tagged site เพื่อตรวจสอบสายต้นยูคาลิปตัสที่ต้านทานหรืออ่อนแอต่อเชื้อรา

*Cryptosporiopsis eucalypti* ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร)

สาขาเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา

ประธานกรรมการที่ปรึกษา: รองศาสตราจารย์เสาวนีย์ สุพุทธิธาดา, วท.ม. 108 หน้า

ISBN 974-16-1564-7

เชื้อรา *Cryptosporiopsis eucalypti* สามารถแยกได้จากใบยูคาลิปตัสที่เป็นโรคใบจุดและใบไหม้ซึ่งเก็บมาจากสวนป่ายูคาลิปตัสในจังหวัดราชบุรี กาญจนบุรี และฉะเชิงเทรา ไอโซเลทของเชื้อราที่ได้ใช้ในการศึกษาพื้นฐานวิทยานอาหาร potato dextrose agar (PDA) และใช้ในการปลูกเชื้อเพื่อคัดเลือกลายต้นยูคาลิปตัสจำนวน 12 สายต้น ด้วยวิธีการปลูกเชื้อโดยตรงบนต้นกล้าและเทคนิค detached leaf โดยพบว่าเชื้อราทั้ง 9 ไอโซเลทที่แยกได้มีอัตราการเจริญเติบโตบนอาหาร PDA ที่แตกต่างกัน และจากการคัดเลือกลายต้นยูคาลิปตัสพบว่า สายต้น SF01, SF06, SF18, SF36, SF94 และ SF98 เป็นสายต้นต้านทาน และสายต้น SF03, SF07, SF14, SF16, SF70 และ SF86 เป็นสายต้นอ่อนแอ เครื่องหมายดีเอ็นเอชนิด sequence-tagged site (STS) ได้นำมาใช้เพื่อแยกกลุ่มระหว่างกลุ่มสายต้นต้านทานและอ่อนแอ กลุ่มไพรเมอร์ออกแบบได้จากส่วนอนุรักษ์ของยีน pathogenesis-related (PR) protein ยีนต้านทานโรคของพืช และยีนที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันอื่นๆ เพื่อใช้ทำปฏิกิริยา PCR ดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้นำไปแยกขนาดด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิสบนอะกาโรสเจลและโพลีอะครีลาไมด์เจล แลบบีดีเอ็นเอที่สามารถแยกกลุ่มระหว่างสายต้นต้านทานและอ่อนแอ นำไปทำการโคลน หาลำดับนิวคลีโอไทด์ และนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ไปเปรียบเทียบกับความเหมือนกับยีนในฐานข้อมูล GenBank ผลที่ได้พบว่า จากกลุ่มไพรเมอร์ทั้งหมด 41 กลุ่ม มีเครื่องหมายดีเอ็นเอ 6 ชนิด ที่สามารถแยกกลุ่มสายต้นต้านทานและอ่อนแอได้ โดยเครื่องหมายดีเอ็นเอที่พบเฉพาะสายต้นต้านทานคือ Ce1, Ce2 และ Ce3 และเครื่องหมายดีเอ็นเอที่พบเฉพาะสายต้นอ่อนแอคือ Ce4, Ce5 และ Ce6 เครื่องหมายดีเอ็นเอเหล่านี้จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อโครงการปรับปรุงพันธุ์ยูคาลิปตัส