จิรภา ดาทอง 2555: การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลเพื่อตรวจสอบพันธุ์ลูกผสมบัวประดับและบัวหลวง ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พันธุศาสตร์) สาขาพันธุศาสตร์ ภาควิชาพันธุศาสตร์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์วิภา หงษ์ตระกูล, Ph.D. 113 หน้า

การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลจำเพาะกับยีน 12 ตำแหน่งโดยอาศัยข้อมูลลำดับเบสของยีนจากพืชที่มีในฐานข้อมูล และใช้สร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของบัวหลวง (*Nelumbo* spp.) 69 ตัวอย่างที่รวบรวมจากในประเทศ และต่างประเทศ พบว่าเมื่อตรวจสอบโดยเทคนิค DFLP (DNA Fragment Length Polymorphism) ในเจลอะกาโรสเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ พบว่าในทุกตำแหน่งให้รูปแบบแถบดีเอ็นเอเพียงรูปแบบเดียว (monomorphism) แต่เมื่อนำผลผลิตพีซีอาร์มาตรวจสอบโดยเทคนิค SSCP (Single Strand Conformational Polymorphism) ในเจล non-denaturing polyacrylamide พบว่ามี 2 ตำแหน่งที่ให้รูปแบบแถบดีเอ็นเอหลายรูปแบบ (polymorphism) คือตำแหน่งของยีน *fruitfull* (*ful*) และ *AGAMOUS-like* (*AG*) โดยมีค่า PICs (Polymorphic Information Contents) เท่ากับ 0.611 และ 0.458 ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์การจัดกลุ่มโดยอาศัยความหลากหลายของรูปแบบแถบดีเอ็นเอของทั้ง 2 ตำแหน่งโดยใช้โปรแกรม NTSYSpc-2.20k สามารถแบ่งตัวอย่างบัวหลวง 69 ตัวอย่างเป็น 3 กลุ่มใหญ่ โดย 2 กลุ่มแรกเป็นตัวอย่างบัวหลวงในประเทศไทย และต่างประเทศ ส่วนกลุ่มที่ 3 เป็นตัวอย่างบัวหลวงจากประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน ค่าความเหมือนทางพันธุกรรมระหว่างบัวหลวงทั้งหมด มีค่า 0.328-0.748ในการตรวจสอบความเป็นลูกผสมภายในชนิด (intraspecific hybridization) ทั้งหมด 31 ตัวอย่างพบว่าสามารถยืนยันความเป็นลูกผสมได้ทั้งหมด 2ตัวอย่าง โดยใช้ SSCP marker ที่จำเพาะกับยีน *ful* สำหรับในบัวประดับ (*Nymphaea* spp.) ได้ศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอเพื่อตรวจสอบความเป็นลูกผสมข้ามสกุลย่อย (intersubgeneric hybridization) จำนวน 7 ตัวอย่างโดยใช้เครื่องหมายจำเพาะกับบริเวณ ITS ของยีน *rRNA* ด้วยเทคนิค PCR-RFLP (PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism) เมื่อนำผลผลิตพีซีอาร์มาตัดด้วยเอนไซม์ *Alu*I, *Mse*I และ *Rsa*I และศึกษารูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค SSCP พบว่ารูปแบบดีเอ็นเอที่ได้สามารถยืนยันความเป็นลูกผสมได้ทุกตัวอย่าง นอกจากนี้ได้พัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลจำเพาะกับยีนอีก 5 ตำแหน่งคือ คือ *Apetala* 3 (*AP*3), *AGAMOUS-like* protein (*AGL*), *Leafy* (*LFY*), *pistillata* (*PI*) และ *Sepallata1* (*SEP1*) โดยอาศัยข้อมูลจีโนมบัวประดับและใช้ตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของตัวอย่างบัวประดับ 12 ตัวอย่างโดยเทคนิค DFLP พบว่ามีสองตำแหน่งมีรูปแบบแถบดีเอ็นเอหลายรูปแบบได้แก่ตำแหน่งยีน *LFY* และ *PI* โดยมีค่า PICs เท่ากับ 0.444 และ 0.152 ตามลำดับ การตรวจสอบ เครื่องหมายโมเลกุลทั้ง 5 ตำแหน่งรวมทั้งตำแหน่ง ITS ของ *rRNA* โดยเทคนิค SSCP พบว่าตำแหน่งยีน *AP*3, *LFY*, *PI*, *SEP1* และ ITS ของยีน *rRNA* ให้รูปแบบแถบดีเอ็นเอหลายรูปแบบ และมีค่า PICs เท่ากับ 0.219, 0.607, 0.607, 0.468 และ 0.290 ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอทั้ง 5 ตำแหน่งโดยใช้โปรแกรม NTSYSpc-2.20k พบว่าสามารถแบ่งตัวอย่างบัวประดับเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มบัวประดับสกุลย่อย *Nymphaea* และกลุ่มบัวประดับสกุลย่อย *Brachyceras* ค่าความเหมือนทางพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.333-0.933 ในการตรวจสอบความเป็นลูกผสมในบัวประดับทั้ง 7 ตัวอย่าง โดยเครื่องหมายโมเลกุลที่จำเพาะกับพันธุ์ที่พัฒนาโดยอาศัยลำดับเบสของแถบดีเอ็นเอจำเพาะกับสกุลย่อยจากเทคนิค AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) และเครื่องหมายโมเลกุลที่จำเพาะกับยีน พบว่าสามารถยืนยันความเป็นลูกผสมได้ทุกตัวอย่างในบัวประดับที่ศึกษา เครื่องหมายโมเลกุลจำเพาะนี้สามารถใช้ประโยชน์ในโครงการปรับปรุงพันธุ์บัวในอนาคต

________________ ________________ ____ / ____ / ____

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์