ฐนิตา บุญสร้างสม 2550: การพัฒนาเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์สำหรับกล้วยไม้สกุลหวาย ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พันธุศาสตร์) สาขาพันธุศาสตร์ ภาควิชาพันธุศาสตร์ ประธานกรรมการที่ปรึกษา: รองศาสตราจารย์สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, Dr.Agr. 89 หน้า

การพัฒนาเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์สำหรับกล้วยไม้สกุลหวายใช้วิธี SSR enrichment โดยสร้างห้องสมุดจีโนม (genomic libraries) ที่ตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ 2 ชนิด คือ เอนไซม์ *Mse*I หรือ *Taq*I และคัดเลือกชิ้นดีเอ็นเอที่มีลำดับเบสเป็นไมโครแซทเทลไลท์ด้วยโอลิโกนิวคลีโอไทด์โพรบที่ติดฉลากด้วยไบโอติน สำหรับกลุ่มที่ตัดด้วย *Mse*I ใช้โพรบจำนวน 6 ชนิด คือ $(CA)_{15}$, $(GA)_{15}$, $(ACC)_{10}$, $(CCT)_{10}$, $(GAT)_{10}$ และ $(ATCT)_7$ ส่วนกลุ่มที่ตัดด้วย *Taq*I ใช้โพรบ 4 ชนิด คือ $(CA)_{15}$, $(GA)_{15}$, $(ACC)_{10}$ และ $(CCT)_{10}$ และตรวจสอบซ้ำด้วยวิธี dot blot hybridization จากการศึกษาพบว่าได้โคลนที่ให้ผลบวกคิดเป็น 26% และ 90% เมื่อนำมาหาลำดับเบสพบโคลนที่มีลำดับเบสซ้ำ 62.8% และ 88.8% ในกลุ่มแรกและกลุ่มสองตามลำดับ ซึ่งจำแนกได้เป็น GA/TC มากที่สุดถึง 50% รองลงมาคือ CCT/AGG 22.8% ลำดับเบสซ้ำแบบผสม (compound repeat) 15 แบบรวม 20.4% CA/TG และ GAT/ATC น้อยที่สุดพบเพียง 0.6% นอกจากนี้ยังพบลำดับเบสซ้ำชนิดอื่นคือ $(GGGTTTA)_n/(TAAACCC)_n$ 5.6% จากการออกแบบไพรเมอร์ 73 คู่ พบว่าไพรเมอร์จำนวน 8 คู่ให้ผลผลิตพีซีอาร์ที่มีขนาดตามที่คาดหมาย ทำให้สามารถตรวจพบโพลีมอร์ฟิซึมในประชากร โดยมีจำนวนแอลลีลอยู่ระหว่าง 4-7 แอลลีล มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 5.25 แอลลีลต่อตำแหน่ง มีค่า observed heterozygosity (H_o) อยู่ระหว่าง 0.0612-1.0000 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.7398 ส่วนค่า expected heterozygosity (H_e) มีค่าอยู่ระหว่าง 0.0788-0.7323 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.5871 สำหรับค่า effective number of allele (n_e) นั้นพบว่าอยู่ระหว่าง 1.0855-3.7355 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.7850 เมื่อนำผลมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์การค้าจำนวน 49 ตัวอย่างโดยใช้ไพรเมอร์ที่พัฒนาขึ้นจากโปรแกรม NTSYS-pc version 2.1m พบว่าสามารถแยกพันธุ์ของกล้วยไม้ได้ แต่ไม่สามารถจัดกลุ่มได้อย่างชัดเจน

ฐนิตา บุญสร้างสม

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่อประธานกรรมการ

17 / พ.ย. / 50