กนกวรรณ แดงสวัสดิ์ 2551: การศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอและการตรวจสอบพันธุ์ลูกผสมบัวหลวง ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พันธุศาสตร์) สาขาพันธุศาสตร์ ภาควิชาพันธุศาสตร์ ประธานกรรมการที่ปรึกษา: ผู้ช่วยศาสตราจารย์วิภา หงษ์ตระกูล, Ph.D 139 หน้า

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของบัวหลวง 61 ตัวอย่าง ที่รวบรวมจากประเทศไทยและต่างประเทศ โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดีด้วยไพรเมอร์ 7 ชนิด พบว่าให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 61 แถบหรือ markers เป็น polymorphic markers 85.25 เปอร์เซ็นต์ มีค่า PICs (Polymorphic Information Contents) อยู่ในช่วง 0.000-0.4994 และค่า PIC เฉลี่ยเท่ากับ 0.2303 เมื่อวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอโดยใช้โปรแกรม NTSYSpc- 2.20k พบว่าสามารถแบ่งบัวหลวงทั้ง 61 ตัวอย่างได้เป็น 4 กลุ่มใหญ่ ๆ โดยบัวหลวงจากจีน ไต้หวัน และญี่ปุ่น กระจายอยู่ในกลุ่มเดียวกับบัวหลวงของไทย ยังไม่สามารถแยกบัวหลวงของไทยและต่างประเทศได้ การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของบัวหลวง 46 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิคเอเอฟแอลพีโดยใช้ไพรเมอร์ *Eco*RI-*Mse*I จำนวน 10 คู่ ให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 483 แถบหรือ markers เป็น polymorphic markers 117 markers มีค่า PICs อยู่ในช่วง 0.000-0.4915 และค่า PIC เฉลี่ยเท่ากับ 0.0459 เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและจัดกลุ่มบัวหลวงทั้ง 46 ตัวอย่าง พบว่าสามารถแบ่งตัวอย่างที่ศึกษาได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ โดยกลุ่มแรกเป็นบัวหลวงของประเทศไทย ประกอบด้วย 3 กลุ่มย่อย และกลุ่มที่ 2 แบ่งเป็น 3 กลุ่มย่อย เป็นบัวหลวงจากต่างประเทศ 2 กลุ่ม และเป็นกลุ่มลูกผสมอีก 1 กลุ่ม เครื่องหมายโมเลกุลประเภท Allele Specific - PCR (AS-PCR) และ Single Strand Conformational Polymorphisms (SSCPs) ที่ถูกพัฒนาขึ้นมาให้จำเพาะกับยีน 4 ยีน ได้แก่ *chalcone synthase*, *storage protein*, *fruitfull protein* และบริเวณไอทีเอสของ *rRNA* (ITS of *rRNA*) เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างบัวหลวง 40 ตัวอย่าง พบเฉพาะเครื่องหมายโมเลกุลจำเพาะกับ *fruitfull protein* เท่านั้น ที่ให้ความหลากหลายระหว่างตัวอย่างที่ศึกษา การตรวจสอบลูกผสมที่ได้จากพันธุ์บัวหลวงปทุม สามร้อยยอด (พ่อ) กับบัวหลวงปุณฑริก คลองโยง (แม่) โดยเทคนิคอาร์เอพีดี แสดงความเป็นไปได้ของความเป็นลูกผสม เมื่อวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างชิ้นดีเอ็นเอตรงตำแหน่งไอทีเอส พบว่าพ่อมีลักษณะเป็นเฮเทอโรไซกัสและแม่มีลักษณะเป็นฮอโมไซกัส ให้ข้อมูลสนับสนุนความเป็นลูกผสมที่เกิดจากพ่อแม่ดังกล่าว การศึกษาความมีชีวิตของเรณูซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการผสมพันธุ์บัว พบว่าเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของเรณูลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังเก็บไว้ประมาณ 3, 6 และ 9-12 วัน ที่อุณหภูมิ 25 , 4 และ -20 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

กนกวรรณ แดงสวัสดิ์ — ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่อประธานกรรมการ — 24 / 05 / 51

Kanokwan Dangsawat 2008: Study on DNA Fingerprint and Hybrid Detection of *Nelumbo nucifera* (Gaertn.). Master of Science (Genetics), Major Field: Genetics, Department of Genetics. Thesis Advisor: Assistant Professor Vipa Hongtrakul, Ph.D. 139 pages.

Genetic diversity among 61 lotus samples collected from Thailand and foreign countries was studied using 7 RAPD primers. A total of 61 bands or markers were generated. Polymorphic markers were 85.25%. Polymorphic Information Contents (PICs) ranged from 0.000-0.4994 with an average PIC score of 0.2303. Cluster analysis using computer program NTSYSpc-2.20k based on all RAPD data was determined and could classified all 61 lotus samples into 4 distinct groups. Samples from China, Taiwan, Japan Thailand were still clustered in the same group. Genetic diversity among 46 lotus samples was also estimated using 10 AFLP (*Eco*RI-*Mse*I) primer pairs. A total of 483 bands or markers were produced. Among these markers 117 markers were found to be polymorphic. PICs ranged from 0.000-0.4915 with average PIC score of 0.0459. Genetic relationship among 46 lotus samples was analysed and could classified all 46 lotus samples into 2 major groups. Group I was composed of 3 subgroups, containing all lotus samples from Thailand. Group II was also composed of 3 subgroups. Subgroups I and II consisted of samples from foreign countries and subgroup III was all hybrid progenies. Allele Specific-PCR (AS-PCR) and Single Strand Conformational Polymorphism (SSCP) were developed specific for 4 specific *chalcone synthase, storage protein, fruitfull protein* and ITS of *rRNA* and used to estimate genetic variation among 40 selected lotus samples. *Fruitfull protein* specific marker was found to be polymorphic. Detection of lotus hybrids derived from Bua Laung Patum Samroiyod and Bua Laung Buntharica Klongyong by RAPD technique showed the possibility of hybridity. From nuclear ribosomal internally transcribed spacer (nrITS) sequence information, male parent was shown to be heterozygous but female was homozygous and the sequences could be used to support the hybridity of their derived hybrid progenies. Study on one of important breeding factors, pollen viability, revealed that percent of viable pollen was 50% reduction after storing pollens for 3, 6 and 9-12 days at 25°C, 4°C and -20°C, respectively.

Kanokwan Dangsawat — Student's signature

Vipa Hongtrakul — Thesis Advisor's signature

24 / 05 / 08