ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมในบัวชั้นโดยเครื่องหมายเอเอฟแอลพี

ชื่อผู้เขียน นางสาว อจลี งอกเสมอ

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาพืชสวน

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

อาจารย์ ดร. วีณัน บัณฑิตย์	ประธานกรรมการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พิมพ์ใจ อาภาวัชรุตม์	กรรมการ
อาจารย์ ดร. ณัฐา ควรประเสริฐ	กรรมการ

บทคัดย่อ

AFLP เป็นวิธีการหนึ่งที่มีประสิทธิภาพในการตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืช การศึกษาสภาพที่เหมาะสมเพื่อทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอ และ ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในบัวชั้น โดยเครื่องหมาย AFLP ทดสอบ 4 ปัจจัย คือ การเปรียบเทียบ 1) ปริมาณดีเอ็นเอ 250, 500 หรือ 750 นาโนกรัม 2) ระยะเวลาในการตัดดีเอ็นเอด้วยเอ็นไซม์ *Eco*RI และ *Mse*I 2 ชม. หรือ ข้ามคืน 3) ระยะเวลาในการทำ ligation เพื่อต่อ adapter เข้าที่ปลายดีเอ็นเอบัวชั้น 2, 4, 6 หรือ 12 ชม. และ 4) การเจือจางดีเอ็นเอต่อปฏิกิริยา PCR ที่อัตรา 1:5, 1:10 หรือ 1:50 พบว่าผล PCR ที่ได้ไม่แตกต่างกัน ในการทดลองจึงใช้ปริมาณดีเอ็นเอเริ่มต้น 250 นาโนกรัม, บ่มที่ 2 ชม. จึงทำ ligation เป็นเวลา 2 ชม. และ เจือจางดีเอ็นเอที่อัตรา 1:50 ในการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมบัวชั้นได้ทดสอบคู่ไพรเมอร์ที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเออย่างจำเพาะ 64 คู่ พบว่ามีไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของบัวชั้นได้ 46 คู่ เมื่อใช้ไพรเมอร์ที่เหมาะสม 5 คู่ โดยเลือกไพรเมอร์แถบดีเอ็นเอจำนวนมาก และ คมชัด เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของบัวชั้นจำนวน 34 ตัวอย่าง พบว่า dendrogram แสดงความสัมพันธ์ยังไม่สามารถจำแนกบัวชั้นออกได้ตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกลุ่มบัวชั้นที่จัดตามลักษณะสีกลีบใบประดับ สีก้านช่อดอก และลักษณะกลีบใบประดับส่วนบน เมื่อนำลักษณะกลีบใบประดับ สีกลีบดอก ความยาวช่อดอก และ ระยะห่างกลีบใบประดับมาวิเคราะห์เพิ่มเติม พบว่ากลุ่มที่จำแนกได้จาก dendrogram มีลักษณะร่วมภายในกลุ่ม หรือลักษณะเฉพาะที่ต่างไปจากกลุ่มอื่น

Thesis Title Analysis of Genetic Diversity in *Curcuma petiolata* Roxb. by AFLP Markers

Author Miss Ajalee Gnoksamoe

M.S. (Agriculture) Horticulture

Examining Committee

Lecturer Dr. Weenun Bundithya	Chairman
Assistant Professor Dr. Pimchai Apavatjrut	Member
Lecturer Dr. Nuttha Kuanprasert	Member

Abstract

AFLP is one of the most efficient methods for testing genetic diversity in plants. Four factors were examined for the most suitable conditions for analyzing DNA fingerprint and genetic relationship of *Curcuma petiolata* Roxb. by AFLP marker. Comparisons of 1) DNA amounts of 250, 500 and 750 ng. and 2) incubation period for two hours or overnight had no effect on the *Eco*RI and *Mse*I digestion. There was no difference in PCR products when 3) conducting ligation for 2, 4, 6 or 12 hours, and 4) diluting DNA template at the ratios of 1:5, 1:10 or 1:50. Therefore, the experiments were carried out using 250 ng DNA for 2-hr enzyme digestion, 2-hr ligation and 1:50 dilution ratio. Screening of 64 primer pairs suitable for studying genetic diversity in *Curcuma petiolata* Roxb. resulted in 46 pairs that were capable of selective DNA amplification. Five primer pairs yielding high numbers of sharp DNA bands were selected for genetic relationship study of 34 *Curcuma petiolata* Roxb. plants that were classified according to 3 morphological characteristics; i. e., bract color, peduncle color and coma bract shape.The results, however, showed that the dendrograms were not related to the classified groups. Further analysis was carried out using additional morphological characteristics of bract shape, corolla (dorsal lobe) color, spike length and bract distance. It was found that *Curcuma petiolata* Roxb. plants that were grouped by dendrograms had common characteristics within the groups or specific chacteristics different from others.