ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การจำแนกยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ทรานซ์ซีเอตินในลำไย

ผู้เขียน นางสาวพิชญ์ทิพา ศุทธิธนาวัฒน์

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) พืชสวน

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รองศาสตราจารย์ ดร. พิทยา สรวมศิริ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

อาจารย์ ดร. วีณัน บัณฑิตย์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

การศึกษายีนและความสัมพันธ์ระหว่างยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ไซโตไคนินชนิดทรานซ์ซีเอตินกับพฤติกรรมการออกดอกของลำไยภายหลังการชักนำให้ออกดอก โดยแบ่งเป็น 2 การทดลอง การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงปริมาณฮอร์โมนไซโตไคนินต่อการออกดอกของลำไย การทดลองที่ 2 การจำแนกยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ไซโตไคนินชนิดทรานซ์ซีเอตินในลำไยภายหลังการชักนำให้ออกดอก โดยทั้ง 2 การทดลองใช้พืชทดลอง คือ ต้นลำไยพันธุ์ดออายุ 4 ปี ที่มีความสมบูรณ์สม่ำเสมอ จำนวน 21 ต้น ปลูกด้วยทรายในกระถางพลาสติก วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) มี 3 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 7 ซ้ำ (ซ้ำละ 1 ต้น) ดังนี้ 1) กรรมวิธีควบคุม (control) 2) ให้โพแทสเซียมคลอเรต ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร 3) ปลูกเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิต่ำ (อุณหภูมิกลางวัน 17 องศาเซลเซียส และกลางคืน 12 องศาเซลเซียส) แล้วเก็บตัวอย่างยอด ใบ และราก ในช่วงก่อนการออกดอกเพื่อวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงปริมาณฮอร์โมนไซโตไคนิน จากผลการศึกษาการทดลองที่ 1 พบว่าทั้งการราดทางดินด้วยโพแทสเซียมคลอเรต และการปลูกเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิต่ำ สามารถชักนำการออกดอกได้เช่นเดียวกัน โดยการราดทางดินด้วยโพแทสเซียมคลอเรตสามารถชักนำการออกดอกได้เร็ว และมีเปอร์เซ็นต์การออกดอกมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนต้นควบคุมไม่ออกดอก ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงปริมาณฮอร์โมนไซโตไคนินทั้งในรูป iP/iPA และ *t*Z/ZR ในส่วนตายอดของกรรมวิธีให้โพแทสเซียมคลอเรตเพิ่มสูงขึ้นตั้งแต่วันที่ 15หลังเริ่มทำการทดลองจนกว่าทั้งแทงช่อดอก และ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ในส่วนของใบ และปลายรากจะมีแนวโน้มลดลงจนกระทั่งแทงช่อดอก สำหรับการทดลองที่ 2 การจำแนกยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ไซโตไคนินชนิดทรานซ์ซีเอตินในลำไยภายหลังการชักนำให้ออกดอก ทำการเก็บปลายยอด ใบ และปลายรากลำไยทุก 5 วันจนสังเกตเห็นตาดอก เพื่อนำมาสกัดอาร์เอ็นเอ จากนั้นทำให้เป็น cDNA โดยเทคนิค RT-PCR ด้วยไพรเมอร์จำเพาะที่ออกแบบจากบริเวณอนุรักษ์ (conserved region) ของยีน *CYP735A2* จากนั้นจึงโคลนชิ้นดีเอ็นเอขนาด 340 คู่เบส นำไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ และเปรียบเทียบความเหมือนกับข้อมูลในฐานข้อมูล NCBI ด้วยโปรแกรม BLAST พบว่าชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จากการโคลน มีค่าร้อยละความเหมือนของลำดับกรดอะมิโนบางส่วน ได้แก่ ลำดับกรดอะมิโนของ *Vitis vinifera Sorghum bicolor Zea may Oryza sativa Populus trichocarpa Ricinus communis* และ *Arabidopsis thaliana*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title Classification of Genes Involved in *trans*-Zeatin Synthesis in Longan

Author Miss Pittipa Suttitanawat

Degree Master of Science (Agriculture) Horticulture

Thesis Advisory Committee

Assoc. Prof. Dr.Pittaya Sruamsiri Advisor

Lect. Dr.Weenun Bundithya Co-advisor

Abstract

Study of classification and the relationship between genes involved in *trans*-Zeatin synthesis which related flower induction in longan. This research was divided two experiment; the first experiment, studied on effect of potassium chlorate and low temperature changed concentration of cytokinin in longan and second experiment, identified genes involved in *trans*-Zeatin synthesis after flower induction. The both experiments were performed with 4 years old longan cv. Daw. The completely randomized designed with 7 replications (of each 1 tree) and 3 treatments were performed; 1) control, 2) potassium chlorate concentration of 400 parts per million and 3) low temperature (day temperature is 17 degrees celsius and night temperature is 12 degrees celsius). The leaf, apical buds and roots were taken prior to flowering to analyze content change of cytokinin concentration. The results of the first experiment showed that both soil drenching with potassium chlorate concentration and grown with low temperature could induced floral buds which potassium chlorate treatment could induced faster low temperature (day temperature is 17 degrees celsius and night temperature is 12 degrees celsius), while control treatment did not show flowering and the cytokinin content changes in both form iP/iPA and tZ/ZR. Apical buds in potassium chlorate treatment were likely to enhance from day 15 after treatment until prior to flowering. Leaf and root tips were tend to fall until flowering. For the second experiment; apical buds, leaves and root tips were observed and collected until floral buds at 5 days interval for RNA extraction and then reversed into cDNA by using RT-PCR. Degenerate

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

primers for *CYP735A2* were designed by using highly conserved regions of expressed sequence tag (EST) sequences from 6 plants. One pair of degenerate primers successfully amplified cDNA fragments from longan. The band corresponded to the expected product size 340 bp which were subsequently cloned and nucleotide sequenced. Nucleotide sequences of selected bands were analyzed and compared to NCBI database. This sequence showed high similarity amino acid sequence of *Vitis vinifera*, *Sorghum bicolor*, *Zea may*, *Oryza sativa*, *Populus trichocarpa*, *Ricinus communis* and *Arabidopsis thaliana*.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved