# สารบัญ


| | หน้า |
|---|---|
| กิตติกรรมประกาศ | ค |
| บทคัดย่อภาษาไทย | ง |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ | ฉ |
| สารบัญ | ซ |
| สารบัญตาราง | ฌ |
| สารบัญภาพ | ญ |
| บทที่ 1 บทนำ | 1 |
| บทที่ 2 ตรวจเอกสาร | 3 |
| บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ | 19 |
| บทที่ 4 ผลการทดลอง | |
| 4.1 ผลของโพแทสเซียมคลอเรต และอุณหภูมิต่ำต่อการออกดอกของลำไยพันธุ์ดอ | 42 |
| 4.2 ผลของโพแทสเซียมคลอเรต และอุณหภูมิต่ำต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณไซโตไคนินในส่วนของยอด ใบ และรากลำไยพันธุ์ดอ | 43 |
| 4.3 การจำแนกยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ไซโตไคนินชนิด *t*Z/ZR ในลำไยภายหลังการชักนำให้ออกดอก | 49 |
| 4.3.1 การสกัดอาร์เอ็นเอ การกำจัดจีโนมิกดีเอ็นเอที่ปนเปื้อน และการศึกษาการแสดงออกของยีนโดยวิธี RT-PCR | 49 |
| 4.3.2 การออกแบบไพรเมอร์สำหรับยีน *CYP735A2* การทดสอบดีเจเนอเรทไพรเมอร์ การนำดีเอ็นเอสายผสมเข้าสู่เซลล์เจ้าบ้าน *E. coli* สายพันธุ์ DH5α และการตรวจสอบชิ้นดีเอ็นเอที่โคลน | 51 |
| 4.4 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนโดยเทคนิคชีวสารสนเทศศาสตร์ | 53 |
| 4.5 เนื้อเยื่อลำไยในกรรมวิธีต่างๆ และลำดับกรดอะมิโนของยีน | 62 |
| บทที่ 5 วิจารณ์ผลการทดลอง | 63 |
| บทที่ 6 สรุปผลการทดลอง | 67 |
| เอกสารอ้างอิง | 68 |
| ภาคผนวก | 74 |
| ประวัติผู้เขียน | 84 |


ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

# สารบัญตาราง


| ตาราง | | หน้า |
|---|---|---|
| 1 | ส่วนประกอบของสารผสมสำหรับกำจัดดีเอ็นเอ | 32 |
| 2 | ส่วนประกอบของสารผสมสำหรับการสังเคราะห์ cDNA | 32 |
| 3 | ส่วนประกอบของสารผสมในการสังเคราะห์ cDNA | 33 |
| 4 | ส่วนประกอบของสารผสมสำหรับการตรวจสอบผลของ cDNA | 33 |
| 5 | ส่วนประกอบของสารผสมการทดสอบดีเจอเนอเรทไพรเมอร์รอบที่ 1 | 35 |
| 6 | ส่วนประกอบของสารผสมการทดสอบดีเจอเนอเรทไพรเมอร์รอบที่ 2 | 36 |
| 7 | ส่วนประกอบของสารผสมของการเชื่อมต่อดีเอ็นเอที่สนใจเข้ากับดีเอ็นเอพาหะ | 37 |
| 8 | ส่วนประกอบของสารผสมของการตรวจสอบชิ้นดีเอ็นเอที่โคลน | 39 |
| 9 | ข้อมูลทางกายภาพการออกดอกของลำไยพันธุ์ดอ | 41 |
| 10 | การเปลี่ยนแปลงตายอดของลำไยในช่วงระยะเวลาที่ทำการทดลอง | 44 |
| 11 | ผลการสืบค้นความเหมือนของลำดับกรดอะมิโนที่ได้จากเนื้อเยื่อลำไยในกรรมวิธีต่างๆ กับลำดับกรดอะมิโนในฐานข้อมูลโดยโปรแกรม BLASTP 2.2.25 | 60 |
| 12 | เนื้อเยื่อลำไยในกรรมวิธีต่างๆ และลำดับกรดอะมิโนที่หาได้ | 62 |
| 13 | การเปลี่ยนแปลงปริมาณไซโตไคนินชนิด iP/iPAในใบลำไยหลังกรรมวิธี | 76 |
| 14 | การเปลี่ยนแปลงปริมาณไซโตไคนินชนิด iP/iPA ในยอดลำไยหลังกรรมวิธี | 76 |
| 15 | การเปลี่ยนแปลงปริมาณไซโตไคนินชนิด iP/iPAในรากลำไยหลังกรรมวิธี | 77 |
| 16 | การเปลี่ยนแปลงปริมาณไซโตไคนินชนิด *t*Z/ZR ในใบลำไยหลังกรรมวิธี | 77 |
| 17 | การเปลี่ยนแปลงปริมาณไซโตไคนินชนิด *t*Z/ZR ในยอดลำไยหลังกรรมวิธี | 78 |
| 18 | การเปลี่ยนแปลงปริมาณไซโตไคนินชนิด *t*Z/ZRในรากลำไยหลังกรรมวิธี | 78 |


ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

# สารบัญภาพ


| ภาพ | | หน้า |
|---|---|---|
| 1 | โครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่มไซโตไคนิน | 7 |
| 2 | รูปแบบจำลองวิถีของการสังเคราะห์ไซโตไคนิน ในต้น Arabidopsis โดยผ่านวิถี methylerythritol phosphate (MEP) และ mevalonate (MVA) | 9 |
| 3 | การศึกษาการเจริญเติบโตของ Arabidopsis ในเนื้อเยื่อจำเพาะและการตอบสนองไซโตไคนินของยีน CYP735A1 และ CYP735A2 | 11 |
| 4 | ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (Polymerase Chain Reaction) | 13 |
| 5 | แผนภาพ Nested PCR | 16 |
| 6 | แผนที่ของ pGEM®-T Easy Vector ขนาด 3015 bp | 23 |
| 7 | ลักษณะต้นลำไยที่ปลูกเลี้ยง | 26 |
| 8 | การบด และการสกัดตัวอย่างพืชเพื่อวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมน | 27 |
| 9 | การกรองสาร การระเหยแห้ง และการปั่นเหวี่ยงตัวอย่าง | 28 |
| 10 | ส่วนประกอบของคอลัมน์ที่ใช้ในการทำสารให้บริสุทธิ์ (Purification) | 29 |
| 11 | ขั้นตอนการวัดปริมาณฮอร์โมนไซโตไคนินชนิด iP/iPA โดยวิธี Competitive ELISA | 30 |
| 12 | ขั้นตอนการวัดปริมาณฮอร์โมนไซโตไคนินชนิด *t*Z/ZR โดยวิธี Competitive ELISA | 31 |
| 13 | การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *CYP735A2* | 35 |
| 14 | ขั้นตอนการนำดีเอ็นเอสายผสมเข้าสู่เซลล์เจ้าบ้าน *E. coli* | 39 |
| 15 | การเปลี่ยนแปลงตายอดลำไย | 43 |
| 16 | เส้นกราฟมาตรฐานของฮอร์โมน iP/iPA | 43 |
| 17 | เส้นกราฟมาตรฐานของฮอร์โมน *t*Z/ZR | 45 |
| 18 | การเปลี่ยนแปลงปริมาณไซโตไคนินชนิด iP/iPA และ *t*Z/ZR ในเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ | 48 |
| 19 | การสกัด RNA การกำจัดจีโนมิก DNA ที่ปนเปื้อน และการศึกษาการแสดงออกของยีนโดยวิธี RT-PCR | 50 |
| 20 | การออกแบบไพรเมอร์สำหรับยีน *CYP735A2* การทดสอบดีเจเนอเรทไพรเมอร์ การนำ DNA สายผสมที่ได้เข้าสู่เซลล์แบคทีเรีย *E. coli* สายพันธุ์ DH5α และการตรวจสอบชิ้น DNA ที่โคลน | 52 |
| 21 | ขนาดผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำ PCR ประมาณ 588 คู่เบส | 53 |


ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

**สารบัญภาพ (ต่อ)**


| ภาพ | | หน้า |
|---|---|---|
| 22 | (ก) การ alignment ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากยอดลำไยกรรมวิธีราด $KClO_3$ อัตรา 400 ppm ด้วยโปรแกรม DNAMAN (ข) ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนที่ได้จากยอดลำไยกรรมวิธีราด $KClO_3$ อัตรา 400 ppm และ (ค) ลำดับกรดอะมิโนของยีนที่ได้จากยอดลำไยกรรมวิธีราด $KClO_3$ อัตรา 400 ppm | 54 |
| 23 | (ก) การ alignment ของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากใบลำไยกรรมวิธีปลูกเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิต่ำ (17/12°C) ด้วยโปรแกรมDNAMAN (ข) ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนที่ได้จากใบลำไยกรรมวิธีปลูกเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิต่ำ (17/12°C) และ(ค) ลำดับกรดอะมิโนของยีนที่ได้จากใบลำไยกรรมวิธีปลูกเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิต่ำ (17/12°C) | 56 |
| 24 | (ก) การ alignment ของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากรากลำไยชุดควบคุมด้วยโปรแกรม DNAMAN (ข) ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนที่ได้จากรากลำไยชุดควบคุม และ(ค) ลำดับกรดอะมิโนของยีนที่ได้จากรากลำไยชุดควบคุม | 57 |
| 25 | (ก) การ alignment ของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ด้วยโปรแกรม DNAMAN (ข) ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนที่ได้ และ(ค) ลำดับกรดอะมิโนของยีนที่ได้จากรากลำไยกรรมวิธีราด $KClO_3$ อัตรา 400 ppm | 58 |
| 26 | (ก) การ alignment ของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ด้วยโปรแกรมDNAMAN (ข) ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนที่ได้จากรากลำไย และ(ค) ลำดับกรดอะมิโนของยีนที่ได้จากรากลำไยกรรมวิธีปลูกเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิต่ำ (17/12°C) | 59 |
| 27 | ผลการทำ multiple alignment ของลำดับกรดอะมิโนจำนวน 9 ตัวอย่างที่สืบค้นจากฐานข้อมูล กับลำดับกรดอะมิโนที่หาได้ | 59 |
| 28 | ข้อมูลการเปลี่ยนแปลงความชื้นสัมพัทธ์ โดยแสดงค่าความชื้นสัมพัทธ์ของกรรมวิธีควบคุม กรรมวิธีราด $KClO_3$ อัตรา 400 ppm (RH of HT) และกรรมวิธีปลูกเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิต่ำ | 75 |
| 29 | ข้อมูลการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ โดยแสดงอุณหภูมิกลางวัน-กลางคืน (Day temp. of HT-Night temp. of HT) ในกรรมวิธีควบคุม กรรมวิธีราด $KClO_3$ อัตรา 400 ppm และอุณหภูมิกลางวัน-กลางคืน (Day temp. of LT- Night temp. of LT) ของกรรมวิธีปลูกเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิต่ำ (17/12°C) | 75 |


ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved