บทที่ 3
วัสดุอุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

วัสดุอุปกรณ์

1. ตัวอย่างพืช

ใบอ่อนของพืชสกุลขมิ้นหรือสกุลกระเจียว (*Curcuma*) จากยอดที่งอกขึ้นมาประมาณ 2 – 3 สัปดาห์ โดยมียอดสูงจากพื้นประมาณ 20 – 30 เซนติเมตร (ภาพที่ 1) จำนวน 27 ชนิด (species) ดังแสดงในตารางที่ 1 (ภาพ 2 – 8)

ภาพ 1 ใบอ่อนของพืชกลุ่มกระเจียวที่นำมาใช้ในการทดลอง

ตาราง 1 ชนิดของพืชกลุ่มกระเจียวที่นำมาศึกษา (ภาพ 2 – ภาพ 8)

ลำดับ	รหัส	ชื่อสามัญ	สกุล	ชนิด
1	C1	ขมิ้นอ้อย	*Curcuma*	*Zedoaria* Rosc.
2	C2	กระเจียว C2	*Curcuma*	*Sp.*
3	C3	ว่านชักมดลูก	*Curcuma*	*Xanthorrhiza* Roxb.
4	C4	กระเจียวกาบแดง	*Curcuma*	*Rubescens* Roxb.
5	C5	พลอยชมพู	*Curcuma*	*Elata* Roxb.
6	C6	ว่านมหาเมฆ	*Curcuma*	*Aeruginosa* Roxb.
7	Cm	กระเจียว Cm	*Curcuma*	*Sp.*
8	KJ	กระเจียวดอกอาว	*Curcuma*	*Attenuata* Wall.
9	KK	กระเจียวไก่ขัน	*Curcuma*	*Sp.*
10	CMUP	เพชรเชียงใหม่	*Curcuma*	*Petiolata* Wall.
11	TG	พลอยทักษิณ	*Curcuma*	*Aurantiaca* van Zijp
12	BS	บัวสีส้ม	*Curcuma*	*Sp.*
13	BC	บัวชั้น	*Curcuma*	*Sp.*
14	S	กระเจียวส้ม	*Curcuma*	*Roscoeana* Wall.
15	TTS	ทับทิมสยาม	*Curcuma*	*Sp.*
16	PTR	ปทุมรัตน์	*Curcuma*	*Sp.*
17	PT	ปทุมมา	*Curcuma*	*Alismatifolia* Gagnep.
18	BK	บัวโกเมน	*Curcuma*	*Rhabdota* Sirirug. and Newman
19	BL	บัวลายกาญจน์	*Curcuma*	*Sp.*
20	H	หิ่งห้อย (2n) (2n = 28)	*Curcuma*	*Parviflora* Wall.
21	TH	บัวสีขาวลาว	*Curcuma*	*Thorelii* Gagnep.
22	KB	กระปุกสีน้ำหมาก	*Curcuma*	*Sp.*
23	NK	นพเก้า	*Curcuma*	*Sp.*
24	MK	ช่อมรกต	*Curcuma*	*Sp.*
25	KL	กระเจียวกุหลาบ	*Curcuma*	*Sp.*
26	C8	ขมิ้นขาวชนิดหัวเล็ก	*Curcuma*	*Sp.*
27	C9	ขมิ้นชัน	*Curcuma*	*Longa* Linn.

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

1

2

3

4

ภาพ 2 พืชกลุ่มกระเจียวที่นำมาศึกษา ชนิดที่ 1 - 4

1) ขมิ้นอ้อย 2) กระเจียว C2 3) ว่านชักมดลูก และ 4) กระเจียวกาบแดง

5

6

7

8

ภาพ 3 พืชกลุ่มกระเจียวที่นำมาศึกษา ชนิดที่ 5 - 8

5) พลอยชมพู 6) ว่านมหาเมฆ 7) กระเจียว Cm และ 8) กระเจียวดอกอาว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

9

10

11

12

ภาพ 4 พืชกลุ่มกระเจียวที่นำมาศึกษา ชนิดที่ 9 - 12

9) กระเจียวไก่ขัน 10) เพชรเชียงใหม่ 11) พลอยทักษิณ และ 12) บัวสีส้ม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University

13

14

15

16

ภาพ 5 พืชกลุ่มกระเจียวที่นำมาศึกษา ชนิดที่ 13 - 16
13) บัวชั้น 14) กระเจียวส้ม 15) ทับทิมสยาม และ 16) ปทุมรัตน์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

17

18

19

20

ภาพ 6 พืชกลุ่มกระเจียวที่นำมาศึกษา ชนิดที่ 17 - 20

17) ปทุมมา 18) บัวโกเมน 19) บัวลายกาญจน์ และ 20) หิ่งห้อย (2n)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

21

22

23

24

ภาพ 7 พืชกลุ่มกระเจียวที่นำมาศึกษา ชนิดที่ 21 - 24
21) บัวสีขาวลาว 22) กระปุกสีน้ำหมาก 23) นพเก้า และ 24) ช่อมรกต

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

25

26

ภาพ 8 พืชกลุ่มกระเจียวที่นำมาศึกษา ชนิดที่ 25 และ 26

25) กระเจียวกุหลาบ 26) ขมิ้นขาวชนิดหัวเล็ก

2. สารเคมี

2.1 Agarose (บริษัท Promega, USA)

2.2 Chloroform

2.3 Ethidium bromide

2.4 Ethyl alcohol, 70% (EtOH)

2.5 Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)

2.6 Magnesium chloride ($MgCl_2$)

2.7 Sodium chloride (NaCl)

2.8 Sodium dodecyl sulfate (SDS)

2.9 Tris [hydroxymethyl] aminomethane

2.10 Bromophenol blue

2.11 Xylene cyanol FF

2.12 Phenol

2.13 Isopropanol

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

2.14 Proteinase K

2.15 RNase ONE™ Ribonuclease (บริษัท Promega, USA)

2.16 Taq DNA Polymerase (บริษัท Gibthai)

2.17 PCR Reaction buffer (บริษัท Gibthai)

2.18 Deoxyribonucleoside triphosphates (dNTPs)

2.19 Primer (บริษัท Operon Technology, USA) คือ OPA07 OPA08 OPA11 OPA20 POB15 OPB20 OPG13 OPG14 OPG15 OPG18 OPG20 OPV08 OPAQ06 OPAQ12 OPAB04 และ OPAX17 (ภาคผนวก ตาราง 1)

2.20 Liquid Nitrogen

2.21 *Pst* I enzyme (บริษัท Gibthai)

2.22 Lambda DNA (บริษัท Gibthai)

2.23 Sucrose

3. อุปกรณ์

3.1 เครื่อง PCR (Gene Amp PCR System 2400 ; Perkin Elmer)

3.2 ชุดอุปกรณ์อิเลคโตรโฟรีซีส (electrophoresis) ชนิดแนวนอน (บริษัท BIO-RAD)

3.3 เครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า (power supply : บริษัท BIO-RAD)

3.4 เครื่องชั่งแบบละเอียด

3.5 เครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูง

3.6 เครื่องเขย่า

3.7 แผ่นให้ความร้อน

3.8 เครื่องทำน้ำแข็ง

3.9 หม้อนึ่งความดันไอ

3.10 ตู้บ่ม

3.11 UV transilluminator หรือ BIO-RAD Mini-Transilluminator

3.12 กล้องโพลารอยด์ (Polaroid GelCam, U.K.)

3.13 ฟิล์ม (Instant black & white film FP-3000B super speedy, FUJIFILM, Japan)

3.14 โกร่งบดตัวอย่าง

3.15 ถังบรรจุไนโตรเจนเหลว

3.16 เครื่องทำความเย็น คือตู้แช่ –20 องศาเซลเซียส และตู้แช่ –70 องศาเซลเซียส

3.17 Water bath

3.18 Adjustable automatic pipettes

3.19 microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร และ multi ultra PCR tube ขนาด 0.5 และ 0.2 มิลลิลิตร

3.20 เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง

3.21 เครื่องปั่นผสม (magnetic stirrer)

3.22 pipette tip

3.23 เครื่องดูดอากาศ (suction pump)

3.24 Comb ขนาด 15 ช่อง (well)

3.25 ถาดพลาสติกสำหรับเตรียมเจลขนาด 15x15 เซนติเมตร

3.26 เตาไมโครเวฟ

3.27 ตู้ดูดไอพิษ

3.28 Vortex mixer

3.29 เครื่องแก้วต่าง ๆ ได้แก่ บีกเกอร์ขนาดต่าง ๆ ปิเปต กระบอกตวง และแท่งแก้วคน

3.30 อุปกรณ์อื่น ๆ เช่น ช้อนตักสาร ถุงมือ กระดาษชั่งสาร ปากคีบ กล่องโฟม แผ่นอลูมินัม ถาดพลาสติก ถุงพลาสติก กระดาษทิชชู่ กรรไกร ไม้บรรทัด และมีดคัตเตอร์

วิธีการทดลอง

การทำวิจัยครั้งนี้ได้วางแนวทางการศึกษา 2 ขั้นตอน โดยขั้นแรกทำการเปรียบเทียบเทคนิค RAPD และ HAT – RAPD ในการให้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของพืชกลุ่มกระเจียว เมื่อได้เทคนิคในการให้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ดี จึงนำเทคนิคนั้นไปใช้ในขั้นตอนการวิเคราะห์พันธุกรรมเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างกระเจียวแต่ละชนิดจึงมีวิธีการทดลองดังนี้

การทดลองที่ 1 เปรียบเทียบเทคนิค RAPD และ HAT – RAPD เพื่อศึกษาความแตกต่างลายพิมพ์ดีเอ็นเอพืชกลุ่มกระเจียว 27 ชนิด

<u>วิธีการทดลอง</u>

1. เตรียมดีเอ็นเอพืชกลุ่มกระเจียวจำนวน 27 ชนิด

1.1 การเตรียมตัวอย่างพืช

นำใบอ่อนกระเจียวมาบดให้ละเอียดในไนโตรเจนเหลวด้วยโกร่ง จากนั้นห่อด้วยแผ่นอลูมินัมแล้วนำไปเก็บในตู้แช่ –70 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในขั้นตอนสกัดดีเอ็นเอ

1.2 การสกัดดีเอ็นเอ

การวิจัยครั้งนี้ใช้วิธีการสกัดดีเอ็นเอโดยดัดแปลงจากวิธีของ Doyle and Doyle (1990) (อ้างโดย อุไรวรรณ, 2540) มีวิธีการดังต่อไปนี้

1.2.1 นำตัวอย่างพืชที่บดแล้วประมาณ 0.1 กรัม ใส่ใน microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติม extraction buffer (200mM Tris-HCl pH8.0, 250mM NaCl, 25mM EDTA, 0.5% SDS) จำนวน 400 ไมโครลิตร เขย่าอย่างแรงด้วย vortex mixer แล้วทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 1 ชั่วโมง

1.2.2 เติม Proteinase K (1 มิลลิกรัม/ไมโครลิตร) จำนวน 4 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 30 นาที จากนั้นนำไป incubate ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

1.2.3 นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วดูดเอาเฉพาะส่วน supernatant ใส่ microcentrifuge tube ใหม่

1.2.4 ตกตะกอนดีเอ็นเอด้วย isopropanol 1 เท่า (ปริมาตร/ปริมาตร) ที่อุณหภูมิ –70 องศาเซลเซียส ประมาณ 2 ชั่วโมง

1.2.5 นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที เทส่วนสารละลายทิ้งให้เหลือเฉพาะตะกอนดีเอ็นเอ ล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วย 70% ethyl alcohol แล้วนำไปคว่ำให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง

1.2.6 ละลายตะกอนด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 150 ไมโครลิตร เขย่าเบา ๆ ให้ตะกอนละลายจนหมดแล้วเติม RNase ONE™ ribonuclease จำนวน 10 ยูนิตต่อหลอด นำไป incubate ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 ชั่วโมงหรือทิ้งไว้ค้างคืนเพื่อให้เกิดการย่อย RNA จนหมด

1.2.7 ทำ phenol extraction เพื่อให้ดีเอ็นเอบริสุทธิ์ โดยเติม phenol 1 เท่า (ปริมาตร/ปริมาตร) ลงในหลอดสารละลาย ผสมให้เข้ากันโดยการคว่ำหลอดไปมา แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ดูดเอา supernatant ใส่หลอดใหม่ ขั้นตอนนี้ให้สกัดด้วย phenol จนได้สารละลายใส

1.2.8 สกัด phenol ออกด้วย chloroform โดยเติม chloroform 1 เท่า (ปริมาตร/ปริมาตร) ผสมให้เข้ากันโดยคว่ำหลอดไปมา แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ดูดเอา supernatant ใส่หลอดใหม่

1.2.9 ตกตะกอนดีเอ็นเอด้วย isopropanol 1 เท่า (ปริมาตร/ปริมาตร) ที่อุณหภูมิ –70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง

1.2.10 นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วย 70% ethyl alcohol จากนั้นทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง แล้วจึงละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย TE buffer (ดูการเตรียมสารละลายในภาคผนวก) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร นำไปเก็บที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในงานทดลองต่อไป

1.3 การตรวจสอบคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอ

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้จำนวน 5 ไมโครลิตร มาตรวจสอบคุณภาพและปริมาณด้วยวิธี agarose gel electrophoresis จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร คำนวณหาค่าความเข้มข้นของดีเอ็นเอที่เตรียมได้ เพื่อนำมาเจือจางให้ได้ปริมาณที่พอเหมาะกับการทำปฏิกิริยา PCR ต่อไป

2. เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยา PCR (Polymerase Chain Reaction)

2.1 <u>การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค HAT-RAPD</u> โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Anuntalabhochai *et al.* (2000)

2.1.1 องค์ประกอบในปฏิกิริยา PCR

ใส่สารละลายปริมาตร 25 ไมโครลิตร ลงใน multi ultra PCR tube ขนาด 0.2 มิลลิลิตร ซึ่งสารละลายนั้นประกอบด้วย 1x reaction buffer (20mM Tris-HCl pH 8.0, 0.1mM EDTA, 1mM DTT, 50% Glycerol), 2.5mM $MgCl_2$, dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) อย่างละ 200 µM, 100 ng Primer , 5 – 10 ng DNA Template และ 0.5 unit Taq Polymerase ปิดด้านบนของสารละลายด้วย mineral oil จากนั้นนำหลอดใส่ลงในเครื่อง PCR (ภาพ 8)

2.1.2 เงื่อนไขของปฏิกิริยา PCR

ตาราง 2 เงื่อนไขปฏิกิริยา PCR (HAT-RAPD)

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	94	:	94	46	72	:	72	:	4
เวลา (นาที)	2	:	0.30	0.30	0.45	:	7	:	α
จำนวนรอบ (รอบ)	1	:		30		:	1	:	

2.1.3 การเลือกใช้ไพรเมอร์

การทดลองครั้งนี้ได้สุ่มใช้ไพรเมอร์ซึ่งมีความยาว 10 นิวคลีโอไทด์ จากบริษัท Operon Technology Alamada USA จำนวน 3 ไพรเมอร์ ได้แก่ OPV08 OPG13 และ OPA20

2.2 <u>การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค RAPD</u> ใช้วิธีของอุไรวรรณ (2540)

2.2.1 องค์ประกอบในปฏิกิริยา PCR

เหมือนกับ 2.1.1

2.2.2 เงื่อนไขในปฏิกิริยา PCR

ตาราง 3 เงื่อนไขปฏิกิริยา PCR (RAPD)

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	93	34	72	:	93	36	72	:	93	37	72	:	72	:	4
เวลา (นาที)	1	1	2	:	1	1	2	:	1	1	2	:	7	:	α
จำนวนรอบ (รอบ)		2		:		2		:		36		:		:	

2.2.3 การเลือกใช้ไพรเมอร์

ใช้ไพรเมอร์ชุดเดียวกับเทคนิค HAT-RAPD

ภาพ 9 เครื่องอัตโนมัติควบคุมปฏิกิริยา PCR (Polymerase Chain Reaction)

3. ตรวจสอบผลผลิตที่ได้จากปฏิกิริยา PCR ด้วยวิธี agarose gel electrophoresis ตามขั้นตอนดังนี้

3.1 การเตรียมแผ่น agarose gel

3.1.1 เตรียมแผ่น agarose gel เข้มข้น 1.8% โดยชั่ง agarose 1.8 กรัม ผสมลงใน 1xTBE buffer 100 มิลลิลิตร ต้มจน agarose ละลายจนหมด จากนั้นเติม 1% ethidium bromide จำนวน 10 ไมโครลิตร

3.1.2 ทำความสะอาดถาด gel และหวีเสียบ (comb) ซึ่งมี 15 ช่อง (well) ด้วย 70% ethyl alcohol แล้วใช้เทปพลาสติกใสปิดขอบถาดทั้ง 2 ด้าน

3.1.3 วางหวีเสียบลงที่ปลายด้านหนึ่งของถาด gel

3.1.4 เท agarose ที่หลอมแล้วลงในถาด โดยให้มีความหนาของแผ่น agarose gel ประมาณ 3-5 มิลลิเมตร ตั้งทิ้งไว้ให้แข็งตัว

3.1.5 เมื่อ agarose gel แข็งตัวนำ 1xTBE buffer (ดูการเตรียมสารละลายในภาคผนวก) เททับบน agarose gel (soak gel) เพื่อป้องกันไม่ให้เจลแห้งและสะดวกต่อการดึงหวีเสียบออก จะทำให้เกิดช่องเล็ก ๆ บน agarose gel สำหรับหยอดตัวอย่างสารละลายดีเอ็นเอที่ต้องการตรวจสอบลงไป แผ่น agarose gel ที่เตรียมหากยังไม่ต้องการใช้ให้หุ้มด้วยถุงพลาสติกแล้วนำไปเก็บไว้ในตู้เย็น

3.2 การวิเคราะห์ด้วย agarose gel electrophoresis

3.2.1 นำแผ่น agarose gel ที่เตรียมไว้แกะพลาสติกที่ติดขอบถาดทั้ง 2 ด้านออก วางลงในอ่าง โดยให้ด้านที่มีช่องสำหรับหยอดตัวอย่างอยู่ด้านขั้วลบ

3.2.2 เท 1xTBE buffer ลงในอ่างให้ท่วมแผ่น agarose gel โดยให้แผ่น gel อยู่ใต้ TBE buffer ประมาณ 1-3 มิลลิเมตร

3.2.3 ผสม DNA loading buffer (ดูวิธีการเตรียมในภาคผนวก) กับสารละลายดีเอ็นเอที่ต้องการตรวจสอบให้เข้ากัน ใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายแล้วค่อย ๆ หยอดลงในช่องของ agarose gel ที่เตรียมไว้

3.2.4 ปิดฝาอ่างและต่อขั้วไฟฟ้าเข้ากับเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า (ภาพ 9) โดยให้กระแสไฟฟ้าวิ่งจากขั้วลบไปหาขั้วบวก ใช้ความต่างศักย์ 60 V กระแสไฟฟ้า 150 mA ใช้เวลา 3-4 ชั่วโมง หรือสังเกตสีของ loading buffer เคลื่อนที่ไปอยู่ด้านปลายแผ่น agarose gel จึงปิดเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า

3.2.5 นำแผ่น agarose gel ไปตรวจดูแถบดีเอ็นเอด้วย UV transilluminator

3.2.6 บันทึกภาพแถบดีเอ็นเอด้วยกล้อง Polaroid

ภาพ 10 ชุดอุปกรณ์เครื่องอิเล็กโตรโฟรีซีส

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 ตรวจดูความคมชัดของแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏในแบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกระเจียวแต่ละชนิด

4.2 นับจำนวนแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏในแบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกระเจียวแต่ละชนิด บันทึกผล

4.3 เปรียบเทียบผลจากทั้งสองวิธีการ

การทดลองที่ 2 การวิเคราะห์พันธุกรรมพืชกลุ่มกระเจียว 27 ชนิด ด้วยเทคนิค HAT – RAPD

<u>วิธีการทดลอง</u>

1. เตรียมดีเอ็นเอพืชกลุ่มกระเจียวจำนวน 27 ชนิด
2. เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยา PCR โดยเทคนิค HAT – RAPD การทดลองครั้งนี้สุ่มใช้ไพรเมอร์จำนวน 16 ไพรเมอร์ ได้แก่ OPV08 OPG13 OPG14 OPG15 OPG18 OPG20 OPAB04 OPB15 OPB20 OPA07 OPA08 OPA11 OPA20 OPAQ06 OPAQ12 และ OPAX17
3. ตรวจสอบผลผลิตที่ได้จากปฏิกิริยา PCR ด้วยวิธี agarose gel electrophoresis (ข้อ 1 – 3 วิธีการเหมือนการทดลองที่ 1)
4. การวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 คำนวณขนาดโมเลกุลของแต่ละแถบดีเอ็นเอ (หน่วยเป็นจำนวนคู่นิวคลีโอไทด์) โดยเปรียบเทียบกับแถบดีเอ็นเอ marker คือ ดีเอ็นเอ Lambda ตัดด้วยเอนไซม์ *Pst* I (ดูวิธีการเตรียมในภาคผนวก)

4.2 ตรวจดูตำแหน่งของการปรากฏแถบดีเอ็นเอ และไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอ ในแบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นของกระเจียวแต่ละชนิด ซึ่งการบันทึกผลใช้ระบบตัวเลข คือการปรากฏแถบดีเอ็นเอให้สัญลักษณ์เป็น 1 และถ้าไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอให้สัญลักษณ์เป็น 0 โดยทำการบันทึกทุกตำแหน่งของแถบดีเอ็นเอในแต่ละไพรเมอร์ที่ใช้ จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างกระเจียวแต่ละชนิด โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติคือ SPSS โดยวิธี cluster analysis และแสดงความสัมพันธ์ของกระเจียวด้วย UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Average) เพื่อเสนอเป็น dendrogram และวิเคราะห์ความใกล้ชิดทางพันธุกรรม

สถานที่ทำงานวิจัย

ห้องวิเคราะห์เคมี หน่วยวิจัยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่

ห้องปฏิบัติการอณูชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ระยะเวลาทำการวิจัย

พฤษภาคม 2543 - กันยายน 2544

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University