ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การแยกกลุ่มเอื้องแซะโดยการวิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์และลายพิมพ์ดีเอ็นเอ
ชื่อผู้เขียน	นางสาวรัติกาล ธัญหล้า
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต	สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

รศ.ดร. ประสาทพร สมิตะมาน	ประธานกรรมการ
อ. ดร. ชัยวัฒน์ โตอนันต์	กรรมการ
รศ. เกศิณี ระมิงค์วงศ์	กรรมการ

บทคัดย่อ

กล้วยไม้สกุลหวายชนิดเอื้องแซะที่รวบรวมมาจาก 4 แหล่ง ได้แก่ อ. แม่สะเรียง และ อ. ปางมะผ้า จ. แม่ฮ่องสอน อ. เชียงดาว จ. เชียงใหม่ และดอยขุนตาล ในเขต จ. ลำปาง มีลักษณะทางสัณฐานส่วนใหญ่เหมือนกัน ยกเว้น สีของแผ่นปาก ส่วนลักษณะทางปริมาณมีทั้งเหมือนและแตกต่างกันไม่สามารถนำมาแยกกลุ่มของเอื้องแซะที่รวบรวมได้จากแหล่งต่างกันได้อย่างเด่นชัด จึงใช้การวิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์ของเอื้องแซะ 4 แหล่ง รวม 32 ตัวอย่าง ร่วมกับ เอื้องเงินแดงและเอื้องแซะดอยปุย ด้วยระบบเอนไซม์ 6 ชนิด คือ Esterase (EST) Glutamate oxaloacetate transminase (GOT) Malate dehydrogenase (MDH) Shikimic dehydrogenase (SKD) Glucose phosphate isomerase (GPI) และ Leucine aminopeptidase (LAP) พบว่า EST GOT MDH และ SKD แสดงแถบสีหลายรูปแบบ สามารถนำมาแยกความแตกต่างของประชากรเอื้องแซะออกจากเอื้องเงินแดง และเอื้องแซะดอยปุยได้อย่างเด่นชัด และสามารถแยกกลุ่มตัวอย่างของเอื้องแซะออกเป็น 4 กลุ่มตามแหล่งที่มา แต่ไม่สามารถแยกบางตัวอย่างของเอื้องแซะภายในกลุ่มตัวอย่างเดียวกันออกจากกันได้ สำหรับ GPI และ LAP ไม่แสดงแถบสีในบางตัวอย่างของเอื้องแซะจาก อ. เชียงดาว และดอยขุนตาล จากการศึกษาหาวิธีการสกัดดีเอ็นเอของเอื้องแซะ พบว่า วิธี CTAB เป็นวิธีที่เหมาะสมที่สุด เมื่อทำการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยทำการสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธี CTAB แล้วนำมาทำ RAPD ด้วย primers 8 ชนิด ขนาด 10 เบส คือ C07 C08 C21 C22 C43 C44 C48 และ C51 พบว่า primer C07 C08 C22

C43 และ C44 แสดงแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 15 22 20 22 และ 27 แถบตามลำดับ สามารถนำมาวิเคราะห์เพื่อแยกความแตกต่างระหว่างตัวอย่างของเอื้องแซะได้ แต่ไม่สามารถแยกกลุ่มตัวอย่างของเอื้องแซะออกจากกันตามแหล่งที่มาได้ และไม่สามารถแยกประชากรของเอื้องแซะออกจากเอื้องเงินแดง และ เอื้องแซะดอยปุย สำหรับ primer C51 ไม่แสดงแถบดีเอ็นเอ primer C48 แสดงแถบดีเอ็นเอแต่ไม่คมชัด และ primer C22 แสดงแถบดีเอ็นเอแต่มีจำนวนน้อย จากการพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบไอโซไซม์ และ RAPD สามารถพิสูจน์ได้ว่า กลุ่มตัวอย่างของเอื้องแซะจาก อ.แม่สะเรียง น่าจะมีแหล่งกำเนิดเดียวกับกลุ่มตัวอย่างของเอื้องแซะจาก อ. ปางมะผ้า และกลุ่มตัวอย่างของเอื้องแซะจาก อ. เชียงดาว น่าจะมีแหล่งกำเนิดเดียวกับกลุ่มตัวอย่างของเอื้องแซะจากดอยขุนตาล

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

Thesis Title Classification of *Dendrobium scabrilingue* Lindl. Using Isozyme Pattern Analysis and DNA Fingerprinting

Author Miss Rattikan Thunla

M.S. Biotechnology

Examining Committee :

Assoc. Prof. Dr. Prasartporn Smitamana	Chairman
Lect. Dr. Chaiwat Toanun	Member
Assoc. Prof. Kesinee Ramingwong	Member

Abstract

Dendrobium scabrilingue Lindl. collected from four locations i.e. two locations in Mae Hong Son province (Mae Sa Riang and Pang Ma Pa), the other two from Chiang Mai (Chiang Dao) and Lam Pang provinces (Doi Khun Tan) . Most of the morphological characters were similar, except middle lip colour. Some quantitative characters were similar. It was thus therefore very difficult to distinguish the *Den. scabrilingue* obtained from different origins. Isozyme pattern analysis of thirty-two *Den. scabrilingue* samples was compared with *Den. cariniferum* Reichb.f. and *Den. bellatulum* Rolfe using six enzyme systems i.e. Esterase (EST), Glutamate oxaloacetate transaminase (GOT), Malate dehydrogenase (MDH), Shikimic dehydrogenase (SKD), Glucose phosphate isomerase (GPI) and Leucine aminopeptidase (LAP). It revealed that the polymorphism of four enzymes EST GOT MDH and SKD could separated *Den. scabrilingue* populations from *Den. cariniferum* and *Den. bellatulum*. Moreover, they could separate thirty-two *Den. scabrilingue* samples into four distinct groups with their putative location, anyhow they could not group *Den. scabrilingue* samples according to the same origins. No reaction could be observed from the GPI and LAP in certain samples (Doi Khun Tan and Chiang Dao). In this study found that the CTAB method was suitable for the DNA extraction of *Den. scabrilingue* . DNA fingerprints of *Den.*

scabrilingue, Den. cariniferum and *Den. bellatulum* samples using CTAB method for the DNA extraction for the random amplified polymorphism DNA (RAPD) technique using eight arbitrary primers consisted of ten nucleotide length, i.e. C07- primer, C08- primer, C21- primer, C22- primer, C43- primer, C44- primer, C48- primer, and C51- primer were studied. It found that the C07- primer, C08- primer, C22- primer C43- primer and C44- primer produced 15 22 20 22 and 27 RAPD bands respectively. Five primers (C07- primer, C08- primer, C22- primer C43- primer and C44- primer) could be distinguish *Den. scabrilingue* samples, but could not identify the locations as well as could not separate *Den. scabrilingue* from *Den. cariniferum* and *Den. bellatulum.* The C51 - primer could not produce RAPD band. The C48- primer could produce fainted and un-sharp RAPD bands and C22 - primer could produce few RAPD bands. From the relationship between isozyme pattern and RAPD markers could prove that the Mae Sa Riang and Pang Ma Pa groups came from the similar natural habitats where as the Doi Khun Tan and Chiang Dao belonged to the same natural habitats.