สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ ค

บทคัดย่อภาษาไทย ง

ABSTRACT จ

สารบัญตาราง ฌ

สารบัญภาพ ญ

สารบัญอักษรย่อ ณ

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2 วัตถุประสงค์การค้นคว้า 3

1.3 ขอบเขตการค้นคว้า 3

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการค้นคว้า 4

บทที่ 2 ทบทวนเอกสารและงานค้นคว้าวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 พะยูง 5

2.2 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์ 11

2.3 เทคนิคอะกาโรสเจลอิเล็กโทรฟอรีซิส 13

2.4 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยวิธี Dye terminator 15

2.5 การศึกษาความหลากหลายของพืชด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker) 17

2.6 งานวิจัยเกี่ยวกับการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอในทางนิติวิทยาศาสตร์ 20

บทที่ 3 วิธีดำเนินการค้นคว้า

3.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง 25

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 ตัวอย่างที่ใช้ในการค้นคว้า 26

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบัญ (ต่อ)

		หน้า
3.2.2	การสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างใบอ่อนของพะยูงด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป NucleoSpin® Plant II	29
3.2.3	การตรวจสอบคุณภาพและขนาดดีเอ็นเอที่สกัดได้จากตัวอย่างพะยูงด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโทรฟอรีซิส	31
3.2.4	การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ intergenic spacer ที่ตำแหน่ง *trn*L-*trn*L และ *trn*L-*trn*F ในคลอโรพลาสต์ดีเอ็นเอของพะยูงด้วยเทคนิคพีซีอาร์	32
3.2.5	การทำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ให้บริสุทธิ์ด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป NucleoSpin® Extract II	36
3.2.6	การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยโปรแกรม BioEdit version 7.2.5	39
3.2.7	การตรวจสอบระบุสายพันธุ์พืชกับฐานข้อมูลออนไลน์	44
3.2.8	การจำแนกวิวัฒนาการสายพันธุ์พะยูงด้วยโปรแกรม Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) version 6.0.6	46
บทที่ 4	ผลการค้นคว้าและอภิปรายผลการค้นคว้า	
4.1	การสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างใบของพะยูงด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป NucleoSpin® Plant II	53
4.2	การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ intergenic spacer ที่ตำแหน่ง *trn*L-*trn*L และ *trn*L-*trn*F ในคลอโรพลาสต์ดีเอ็นเอของพะยูงด้วยเทคนิคพีซีอาร์	55
4.3	การทำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ให้บริสุทธิ์ด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป NucleoSpin® Extract II	59
4.4	การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยโปรแกรม BioEdit version 7.2.5	60
4.5	การตรวจสอบระบุสายพันธุ์พืชกับฐานข้อมูลออนไลน์	64
4.6	การจำแนกวิวัฒนาการสายพันธุ์พะยูงด้วยโปรแกรม Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) version 6.0.6	74
บทที่ 6	สรุปผลการค้นคว้า	78

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

เอกสารอ้างอิง	79
ภาคผนวก ก	84
ภาคผนวก ข	85
ประวัติผู้เขียน	90

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 2.1	ความแตกต่าง และการจัดกลุ่มประชากร (haplotype) จากลำดับนิวคลีโอไทด์ในคลอโรพลาสต์ดีเอ็นเอที่บริเวณ *trn*S-*trn*G *trn*V-*trn*M และ *trn*C *pet*N1R ในสายพัธุ์พะยูง (*Dalbergia cochinchinensis*)	10
ตาราง 2.2	การเปรียบเทียบเทคนิคส่วนใหญ่ที่ใช้เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอ	18
ตาราง 2.3	ความแตกต่างของไพรเมอร์ที่ใช้ในบริเวณ microsatellite จำนวน 4 ตำแหน่ง	21
ตาราง 2.4	บริเวณความแตกของอัลลีลที่พบของตัวอย่างไม้กฤษณาในบริเวณ microsatellite (V = พบความแตกต่างในตัวอย่างจากประเทศเวียดนาม และ T = พบความแตกต่างในตัวอย่างจากประเทศไทย)	21
ตาราง 2.5	ความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่พบในบริเวณ *rbcL* ระหว่างสปีชีส์ *Salvia* ทั้ง 8 สปีชีส์	23
ตาราง 2.6	ความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่พบในบริเวณ *trn*L ระหว่างสปีชีส์ *Salvia* ทั้ง 13 สปีชีส์	23
ตาราง 2.7	ความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่พบในบริเวณ *trn*L ระหว่างสปีชีส์ *Salvia* ทั้ง 13 สปีชีส์	23
ตาราง 3.1	ข้อมูลกลุ่มตัวอย่าง และการลงรหัสของตัวอย่างกล้าพะยูงที่ใช้ในค้นคว้า	28
ตาราง 3.2	ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์ *trn*L (UAA) 5' exon Forward primer และ *trn*L (UAA) 3' exon Reverse primer ของบริเวณ *trn*L-*trn*L intergenic spacer และลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์ *trn*L (UAA) 3' exon Forward primer และ *trn*F (GAA) Reverse primer บริเวณ *trn*L-*trn*F intergenic spacer	33
ตาราง 3.3	องค์ประกอบของสารละลายที่ใช้ในปฏิกิริยาพีซีอาร์	34
ตาราง 3.4	สภาวะที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาพีซีอาร์	34
ตาราง 4.1	ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ *trn*L-*trn*L intergenic spacer ของตัวอย่างพะยูง จำนวน 39 ตัวอย่างเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *Dalbergia congestiflora* *D. melanoxylon* และ *D. miscolobium*	72
ตาราง 4.2	ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ *trn*L-*trn*F intergenic spacer ของตัวอย่างพะยูง จำนวน 39 ตัวอย่างเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *Dalbergia lanceolaria* YSM 2009-02	73

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบัญภาพ

หน้า

รูปที่ 2.1	ทรงพุ่ม และเปลือกของต้นพะยูง	5
รูปที่ 2.2	ดอก ใบ ฝัก และเมล็ดของต้นพะยูง	6
รูปที่ 2.3	การกระจายทางภูมิศาสตร์ของกลุ่มประชากรพะยูงที่แบ่งตามลำดับนิวคลีโอไทด์ในคลอโรพลาสต์ดีเอ็นเอ	10
รูปที่ 2.4	การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์	13
รูปที่ 2.5	หลักการของวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโทรฟอรีซิส (1) ปิเปตดีเอ็นเอลงในอะกาโรสเจล (2) ต่อเข้ากับแหล่งจ่ายไฟที่ให้กำลังไฟฟ้าประมาณ 80-120 โวลต์ (3) ดีเอ็นเอเคลื่อนที่และแยกภายในอะกาโรสเจล (4) ตรวจสอบแถบดีเอ็นเอที่เคลื่อนที่ไปภายใต้แสงอัลตร้าไวโอเลต	15
รูปที่ 2.6	วิธีการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอด้วยวิธี Dye terminator หรือ Sanger method	16
รูปที่ 2.7	โครมาโทแกรมของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากการวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเครื่องหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอแบบอัตโนมัติ (automated DNA sequencer)	17
รูปที่ 2.8	ส่วนประกอบของยีนบริเวณ *trn*L intron และ *trn*L-*trn*F intergenic spacer ในคลอโรพลาสต์ดีเอ็นเอและไพรเมอร์สากลที่ใช้เพื่อเพิ่มปริมาณในแต่ละบริเวณ	19
รูปที่ 2.9	แผนผังวิวัฒนาการแบบ Neighbor-Joining ในบริเวณ *rbc*L *trn*L-*trn*F intergenic spacer *trn*L intron และ *psb*A-*trn*H ของ *P. setigerum*	22
รูปที่ 3.1	ตัวอย่างกล้าพะยูงจากจังหวัดพิษณุโลก และสกลนคร	28
รูปที่ 3.2	ขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างใบอ่อนของกล้าพะยูงด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป NucleoSpin® Plant II	30
รูปที่ 3.3	ขั้นตอนการวิเคราะห์คุณภาพและขนาดดีเอ็นเอที่สกัดได้จากตัวอย่างพะยูงด้วยวิธี อะกาโรสเจลอิเล็กโทรฟอรีซิส	32
รูปที่ 3.4	ขั้นตอนการทำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ให้บริสุทธิ์ด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป NucleoSpin® Extract II	38

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบัญภาพ (ต่อ)

		หน้า
รูปที่ 3.5	การเปิดโปรแกรม BioEdit	39
รูปที่ 3.6	หน้าต่างเอบีไอโครมาโทแกรม (ABI Chromatogram) และหน้าต่างลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA Sequence) ของตัวอย่างพะยูงรหัส UD01	40
รูปที่ 3.7	การกลับลำดับนิวคลีโอไทด์ของสายสายที่เรียงจากปลาย 3' ไปยัง 5' (สาย Reverse) ให้เป็นสายที่เรียงจากปลาย 5' ไปยัง 3' (สาย Forward) ของพะยูงรหัส UD01	40
รูปที่ 3.8	การคัดลอกข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวอย่างพะยูงรหัส UD01	41
รูปที่ 3.9	การเปิดหน้าต่างสำหรับจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์	41
รูปที่ 3.10	การเปิดหน้าต่างแสดงข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ใหม่	42
รูปที่ 3.11	แสดงการเพิ่มข้อมูลของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ต้องการวิเคราะห์	42
รูปที่ 3.12	หน้าต่างแสดงการเปรียบเทียบข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวอย่างพะยูง 39 ตัวอย่างในบริเวณ intergenic spacer ที่ตำแหน่ง *trn*L-*trn*L ในคลอโรพลาสต์ดีเอ็นเอ	43
รูปที่ 3.13	หน้าต่างแสดงการเปรียบเทียบข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวอย่างพะยูง 39 ตัวอย่าง แบบจุดในบริเวณ intergenic spacer ที่ตำแหน่ง *trn*L-*trn*L ในคลอโรพลาสต์ดีเอ็นเอ	43
รูปที่ 3.14	เว็บไซต์ฐานข้อมูลออนไลน์ NCBI	44
รูปที่ 3.15	หน้าหลักของเว็บไซต์โปรแกรม BLAST	45
รูปที่ 3.16	การกรอกลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ *trn*L-*trn*F ของตัวอย่างพะยูงรหัส UD01 เพื่อตรวจสอบสายพันธุ์พืชด้วยโปรแกรม BLAST	45
รูปที่ 3.17	พืชชนิดต่างๆ ที่มีการจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ *trn*L-*trn*F ที่ใกล้เคียงกันกับตัวอย่างพะยูงรหัส UD01 จากร้อยละการระบุเอกลักษณ์มากไปหาน้อย	46
รูปที่ 3.18	การเปิดโปรแกรม MEGA	47
รูปที่ 3.19	การสร้างหน้าต่างในการจัดเรียงใหม่เพื่อจำแนกสายพันธุ์พะยูง	47
รูปที่ 3.20	หน้าต่างแสดงชนิดข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ต้องใช้ในการจัดเรียง	48
รูปที่ 3.21	แสดงหน้าต่าง Alignment Explorer เพื่อเปิดไฟล์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์	48

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบัญภาพ (ต่อ)

		หน้า
รูปที่ 3.22	การเลือกข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมด	49
รูปที่ 3.23	หน้าต่างแสดงการเลือกจัดเรียงข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์แบบ ClusterW	49
รูปที่ 3.24	การเปิดไฟล์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์เพื่อจำแนกสายพันธุ์พะยูงในบริเวณ intergenic spacer ที่ตำแหน่ง *trn*L- *trn*L ในคลอโรพลาสต์ดีเอ็นเอ	50
รูปที่ 3.25	หน้าต่าง Analysis Preferences เพื่อเข้าสู่ขั้นตอนการจำแนกสายพันธุ์พะยูงโดยการใช้แผนผังวิวัฒนาการชนิด Neighbor-Joining Tree (NJtree)	51
รูปที่ 3.25	แผนผังวิวัฒนาการการจำแนกสายพันธุ์พะยูงในบริเวณ intergenic spacer ที่ตำแหน่ง *trn*L- *trn*L ในคลอโรพลาสต์ดีเอ็นเอ	52
รูปที่ 4.1	การตรวจสอบคุณภาพและขนาดดีเอ็นเอที่สกัดได้จากตัวอย่างพะยูงจังหวัดสกลนคร และพิษณุโลก รหัส SN01 SN02 SN03 SN04 SN05 PL01 PL02 PL03 PL04 และ PL05 ด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโทรฟอรีซิสโดยใช้ VC Lamda/*Eco*RI + *Hin*dIII เป็นดีเอ็นเอมาตรฐาน (แถว M)	53
รูปที่ 4.2	การตรวจสอบคุณภาพและขนาดดีเอ็นเอที่สกัดได้จากตัวอย่างพะยูงจังหวัดอุดรธานี รหัส UD01 UD02 UD03 UD04 และ UD05 ด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโทรฟอรีซิสโดยใช้ VC Lamda/*Eco*RI + *Hin*dIII เป็นดีเอ็นเอมาตรฐาน (แถว M)	54
รูปที่ 4.3	การตรวจสอบคุณภาพและขนาดดีเอ็นเอที่สกัดได้จากตัวอย่างพะยูงจังหวัดอุบลราชธานี รหัส UB01 UB02 UB03 UB04 UB05 และ UB06 ด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโทรฟอรีซิสโดยใช้ VC Lamda/*Eco*RI + *Hin*dIII เป็นดีเอ็นเอมาตรฐาน (แถว M)	54
รูปที่ 4.4	การตรวจสอบคุณภาพและขนาดผลิตภัณฑ์พีซีอาร์บริเวณ intergenic spacer ที่ตำแหน่ง *trn*L-*trn*Lของตัวอย่างจากจังหวัดสกลนคร และพิษณุโลก รหัส SN01 SN02 SN03 SN04 SN05 PL01 PL02 PL03 PL04 และ PL05 ด้วย 1.5% (w/v) อะกาโรสเจลอิเล็กโทรฟอรีซิสโดยใช้ VC 100 bp plus DNA Ladder เป็นดีเอ็นเอมาตรฐาน (แถว M)	56

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 4.5 การตรวจสอบคุณภาพและขนาดผลิตภัณฑ์พีซีอาร์บริเวณ intergenic spacer ที่ตำแหน่ง *trn*L-*trn*L ของตัวอย่างจากจังหวัดอุบลราชธานี อุดรธานี ขอนแก่น และศรีษะเกษ รหัส UB01 UB02 UB03 UB04 UB05 UB06 UD01 UD02 UD03 UD04 UD05 KK01 KK02 KK03 KK04 KK05 SK01 SK03 SK05 และ SK06 ด้วย 1.5% (w/v) อะกาโรสเจลอิเล็กโทรฟอรีซิสโดยใช้ VC 100 bp plus DNA Ladder เป็นดีเอ็นเอมาตรฐาน (แถว M) 57

รูปที่ 4.6 การตรวจสอบคุณภาพและขนาดผลิตภัณฑ์พีซีอาร์บริเวณ intergenic spacer ที่ตำแหน่ง *trn*L-*trn*F ของตัวอย่างจากจังหวัดสกลนคร และพิษณุโลก รหัส SN01 SN02 SN03 SN04 SN05 PL01 PL02 PL03 PL04 และ PL05 ด้วย 1.5% (w/v) อะกาโรสเจลอิเล็กโทรฟอรีซิสโดยใช้ VC 100 bp plus DNA Ladder เป็นดีเอ็นเอมาตรฐาน (แถว M) 57

รูปที่ 4.7 การตรวจสอบคุณภาพและขนาดผลิตภัณฑ์พีซีอาร์บริเวณ intergenic spacer ที่ตำแหน่ง *trn*L-*trn*F ของตัวอย่างจากจังหวัดอุบลราชธานี และอุดรธานี รหัส UB01 UB02 UB03 UB04 UB05 UB06 UD01 UD02 UD03 UD04 และ UD05 ด้วย 1.5% (w/v) อะกาโรสเจลอิเล็กโทรฟอรีซิสโดยใช้ VC 100 bp plus DNA Ladder เป็นดีเอ็นเอมาตรฐาน (แถว M) 58

รูปที่ 4.8 การตรวจสอบคุณภาพและขนาดผลิตภัณฑ์พีซีอาร์บริสุทธิ์บริเวณ intergenic spacer ที่ตำแหน่ง *trn*L-*trn*L ของตัวอย่างจากจังหวัดอุดรธานี ขอนแก่น สกลนคร และพิษณุโลก รหัส UD01 UD02 UD03 UD04 UD05 KK01 KK02 KK03 KK04 KK05 SN01 SN02 SN03 SN04 SN05 PL01 PL02 PL03 PL04 และ PL05 ด้วย 1.5% (w/v) อะกาโรสเจลอิเล็กโทรฟอรีซิสโดยใช้ VC 100 bp plus DNA Ladder เป็นดีเอ็นเอมาตรฐาน (แถว M) 59

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบัญภาพ (ต่อ)

		หน้า
รูปที่ 4.9	การตรวจสอบคุณภาพและขนาดผลิตภัณฑ์พีซีอาร์บริสุทธิ์บริเวณ intergenic spacer ที่ตำแหน่ง *trn*L-*trn*F ของตัวอย่างจากจังหวัดอุดรธานี ขอนแก่น สกลนคร และพิษณุโลก รหัส UD01 UD02 UD03 UD04 UD05 KK01 KK02 KK03 KK04 KK05 SN01 SN02 SN03 SN04 SN05 PL01 PL02 PL03 PL04 และ PL05 ด้วย 1.5% (w/v) อะกาโรสเจลอิเล็กโทรฟอรีซิสโดยใช้ VC 100 bp plus DNA Ladder เป็นดีเอ็นเอมาตรฐาน (แถว M)	60
รูปที่ 4.10	โครมาโทแกรมของตัวอย่างพะยูงรหัส UD01 ในบริเวณ *trn*L-*trn*L intergenic spacer โดยใช้ไพรเมอร์ *trn*L 3' exon Reverse (Tab D) สำหรับการหาลำดับนิวคลีโอไทด์	61
รูปที่ 4.11	โครมาโทแกรมของตัวอย่างพะยูงรหัส UD01 ในบริเวณ *trn*L-*trn*F intergenic spacer โดยใช้ไพรเมอร์ *trn*F Reverse (Tab F) สำหรับการหาลำดับนิวคลีโอไทด์	62
รูปที่ 4.12	ลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวอย่างพะยูงบริเวณ *trn*L-*trn*L intergenic spacer ที่ตำแหน่ง 89-184 พบการเปลี่ยนแปลงแบบ transversion ของไนโตรจีนัสเบสจาก A→C ในตำแหน่งที่ 138 ของตัวอย่างพะยูงรหัส UD05 และ CC04	63
รูปที่ 4.13	ลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวอย่างพะยูงบริเวณ *trn*L-*trn*F intergenic spacer ที่ตำแหน่ง 1-100	63
รูปที่ 4.14	การตรวจสอบระบุสายพันธุ์พะยูงบริเวณ *trn*L-*trn*L intergenic spacer กับฐานข้อมูลออนไลน์NCBI	64
รูปที่ 4.15	ลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวอย่างพะยูง UD01 บริเวณ *trn*L-*trn*L (แถวบน) เปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *D. cochinchinensis* voucher VNMN:B0001132 (แถวล่าง) จากฐานข้อมูลออนไลน์	65
รูปที่ 4.16	ลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวอย่างพะยูง UD01 บริเวณ *trn*L-*trn*L (แถวบน) เปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *D. nigra* haplotype B tRNA-Leu (trnL) gene (แถวล่าง) จากฐานข้อมูลออนไลน์	66

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 4.17 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวอย่างพะยูง UD01 บริเวณ *trn*L-*trn*L (แถวบน) เปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *D. melanoxylon* tRNA-Leu (*trn*L) gene (แถวล่าง) จากฐานข้อมูลออนไลน์ 67

รูปที่ 4.18 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวอย่างพะยูง UD01 บริเวณ *trn*L-*trn*L (แถวบน) เปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *D. congestiflora* tRNA-Leu (*trn*L) gene (แถวล่าง) จากฐานข้อมูลออนไลน์ 68

รูปที่ 4.19 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวอย่างพะยูง UD01 บริเวณ *trn*L-*trn*L (แถวบน) เปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *D. miscolobium* haplotype C10 t RNA-Leu (*trn*L) gene (แถวล่าง) จากฐานข้อมูลออนไลน์ 69

รูปที่ 4.20 การตรวจสอบระบุสายพันธุ์พะยูงบริเวณ *trn*L-*trn*F intergenic spacer กับฐานข้อมูลออนไลน์ NCBI 70

รูปที่ 4.21 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวอย่างพะยูง UD01 บริเวณ *trn*L-*trn*F (แถวบน) เปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *D. lanceolaria* voucher Sirichamorn YSM 2009-02 (แถวล่าง) จากฐานข้อมูลออนไลน์ 70

รูปที่ 4.22 แผนผังวิวัฒนาการการจำแนกสายพันธุ์พะยูงจำนวน 39 ตัวอย่างในบริเวณ intergenic spacer ที่ตำแหน่ง *trn*L- *trn*L ในคลอโรพลาสต์ดีเอ็นเอ 75

รูปที่ 4.23 แผนผังวิวัฒนาการการจำแนกสายพันธุ์พะยูงจำนวน 39 ตัวอย่างในบริเวณ intergenic spacer ที่ตำแหน่ง *trn*L- *trn*F ในคลอโรพลาสต์ดีเอ็นเอ 76

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบัญอักษรย่อ

A	Adenine
bp	Base pair
ddNTP	Dideoxynucleotide triphosphate
DI	Deionized water
DNA	Deoxyribonucleic acid
DNTP	Deoxynucleotide triphosphate
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
G	Guanine
Mg^{2+}	Magnesium ion
NCBI	National Center for Biotechnology Information
PCR	Polymerase chain reaction
T	Thymine
T_a	Annealing temperature
TAE	Tris-Acetate-EDTA
T_m	Melting temperature
UV	Ultraviolet

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved