ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การตรวจสอบดีเอ็นเอเมทิลเลชันในลำไย และปวยเล้ง ในระยะการชักนำการออกดอก โดยเทคนิค เอชเอที-อาร์เอพีดี

ผู้เขียน นางสาวณัฏฐิณี บัวพงษ์

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ.ดร. สมบูรณ์ อนันตลาโภชัย

บทคัดย่อ

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้เทคนิค HAT-RAPD ในการตรวจสอบกระบวนการ DNA methylation ในพืช 4 ชนิด ได้แก่ ข้าว (*Oryza sativa*) พิทูเนีย (*Petunia hybrida*) ปวยเล้ง (*Spinacea oleracea* L.) และลำไย (*Dimocarpus longan* Lour.) ที่ถูกชักนำด้วยสาร 5-azacytidine สารโพแทสเซียมคลอเรท และอุณหภูมิต่ำ โดยใช้ข้าวและพิทูเนียเป็นกลุ่มควบคุมในการตรวจสอบ เนื่องจากมีรายงานแล้วว่าการใช้สาร 5-azacytidine มีผลไปลดการเติมหมู่เมทิลในจีโนมของพืช 2 ชนิดนี้ ซึ่งจากการศึกษามีผลการทดลองดังต่อไปนี้ (1) การให้สาร 5-azacytidine ความเข้มข้น 25 μM แก่ข้าว พบว่ากลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine มีแนวโน้มที่จะเกิดต้นเตี้ย โดยมีอัตราส่วนต้นเตี้ย : ต้นปกติ เท่ากับ 5 : 7 และเมื่อเลือกตัวอย่างข้าวมาตรวจสอบกระบวนการ DNA methylation โดยการใช้เอนไซม์ *Hpa*II และ *Msp*I ร่วมกับเทคนิค HAT-RAPD ด้วยการใช้ 3 ไพรเมอร์ (OPW-09, OPL-04, OPL-14) พบว่าเกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างตัวอย่างที่ได้รับสาร และตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (2) การให้สาร 5-azacytidine ความเข้มข้น 50 และ 100 μM แก่พิทูเนีย พบว่ามีผลทำให้ต้นพิทูเนียมีการออกดอกเร็วขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับสาร และพบว่าการให้สารที่ความเข้มข้นสูงคือ 100 μM มีผลทำให้ต้นพิทูเนียมีความสูงเฉลี่ยมากกว่าในกลุ่มที่ไม่ได้รับสารอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่พบว่ามีผลต่อจำนวนยอด และจำนวนใบของต้นพิทูเนีย และเมื่อเลือกตัวอย่างพิทูเนียมาตรวจสอบกระบวนการ DNA methylation ด้วยการใช้ 2 ไพรเมอร์ (OPW-09, OPL-04) พบว่าเกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างตัวอย่างที่ได้รับสารแต่ละความเข้มข้น และตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (3) การทดลองในปวยเล้ง พบว่าการให้สาร 5-azacytidine ความเข้มข้น 125 μM สารโพแทสเซียมคลอเรทความเข้มข้น 250 μM และอุณหภูมิต่ำที่ 10 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 วัน มีผลทำให้ต้นปวยเล้งมีการออกดอกเร็วกว่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

กลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งยังมีเปอร์เซ็นต์การออกดอกมากกว่ากลุ่มควบคุมประมาณ 13 - 34% แต่ไม่มีผลต่อความสูง จำนวน vegetetive leaves และน้ำหนักสดของต้นปวยเล้ง หลังจากการตรวจสอบ กระบวนการ DNA methylation ในปวยเล้ง ด้วย 2 ไพรเมอร์ (OPW-09, OPL-04) พบว่าเกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน ระหว่างตัวอย่างที่ได้รับสารแต่ละชนิด และตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (4) การให้สารโพแทสเซียมคลอเรทแก่ต้นลำไย ในอัตรา 1 กิโลกรัมต่อต้น มีผลทำให้ต้นลำไยออกดอกภายใน 38 วันหลังใส่สาร ในขณะที่ต้นที่ไม่ได้รับสารจะไม่พบการออกดอก หลังจากการตรวจสอบกระบวนการ DNA methylation ในลำไย ด้วย 5 ไพรเมอร์ (OPW-09, OPL-04, OPC-09, OPH-06 และ OPL-15) ไม่พบว่าเกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน ระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท และกลุ่มควบคุม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title Detection of DNA Methylation in Longan and Spinach During Floral Induction Using HAT-RAPD Technique

Author Miss Nattinee Buapong

Degree Master of Science (Biology)

Thesis Advisor Assoc. Prof. Dr. Somboon Anuntalabhochai

Abstract

In this study, HAT-RAPD technique was chosen to detect DNA methylation in four plant species including rice (*Oryza sativa*), petunia (*Petunia hybrida*), spinach (*Spinacea oleracea* L.) and longan (*Dimocarpus longan* Lour.), which were induced by 5-azacytidine, potassium chlorate ($KClO_3$) and low temperature. Rice and petunia were induced, because there was evidence indicating that 5-azacytidine was able to reduce methylation level in their genomes. The results showed as follows : (1) To treat rice seeds with 25 μM 5-azacytidine resulted in dwarf seedlings with the ratio of dwarf : normal at 5 : 7. Rice leaf samples at age of 20 weeks were then collected to detect DNA methylation using restriction enzymes ; *Hpa*II and *Msp*I following with the HAT-RAPD technique by 3 primers (OPW-09, OPL-04, OPL-14). DNA bands with different molecular weight were detected between control and treated-group. (2) To treat petunia seeds with 50 μM and 100 μM 5-azacytidine led to induce early flowering. Plants treated with high concentration (100 μM) were higher than the control. However, shoots and leaves in the treated-groups were not different. Detection of DNA methylation in petunia, 2 primers (OPW-09, OPL-04) revealed DNA bands with different molecular weight between control and treated-groups. (3) To treat spinach seeds with 125 μM 5- azacytidine, 250 μM $KClO_3$ and low temperature at 10 ^{o}C for 20 days led to induce early flowering and higher percentage of flowering than the control by 13-34%. However, the effects on the height, number of vegetative leaves and fresh weight were not observed. Detection of DNA methylation in spinach, 2 primers (OPW-09, OPL-04) revealed DNA bands with different molecular weight between control and treated-groups. (4) Treatment of

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

longan with 1 kg of $KClO_3$ resulted in flowering induction within 38 days while the control did not. Detection of DNA methylation in longan, DNA bands with different molecular weight was undetectable among control and treated-group with 5 random primers (OPW-09, OPL-04, OPC-09, OPH-06, OPL-15).

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved