สรุปประโยชน์ที่ได้จากการเข้าร่วมประชุมวิชาการประจำปี 2560

ข้าพเจ้า นางสาวยุพเยาว์ คบพิมาย ตำแหน่งอาจารย์ สังกัด สาขาพันธุศาสตร์ ขอนำเสนอรายงานสรุปเนื้อหาและการนำไปใช้ประโยชน์จากการเข้าร่วมประชุมวิชาการประจำปี 2560 เมื่อวันที่ 7-8 ธันวาคม 2560 ณ อาคารเฉลิมพระเกียรติสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ ตามหนังสือขออนุญาต เลขที่ ศธ 0523.4.9.1/181 ลงวันที่ 21 พฤศจิกายน 2560 ดังนั้นจึงขอนำเสนอสรุปเนื้อหาและการนำไปใช้ประโยชน์ของการประชุมวิชาการดังต่อไปนี้

ในการประชุมครั้งนี้ข้าพเจ้าได้นำเสนองานวิจัยภาคโปสเตอร์ เรื่อง ปริมาณอะไมโลสและความคงตัวของแป้งสุกในข้าวไทย และได้รับฟังการนำเสนองานที่เกี่ยวข้องกับเครื่องหมายดีเอ็นเอดังนี้

1. การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของฝรั่งในแปลงรวบรวมพันธุ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาฝรั่งทั้งหมด 15 พันธุ์ โดยใช้ไพรเมอร์ OPA01-OPA20, OPB01- OPB20 และ OPS01-OPS20 ทั้งหมด 60 ไพรเมอร์ พบว่า 44 ไพรเมอร์สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในฝรั่งได้ โดยให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 152 แถบ ซึ่งเป็นแถบที่แสดงความแตกต่างทางพันธุกรรมในกลุ่มของฝรั่งที่ศึกษาจำนวน 104 แถบ ไพรเมอร์ที่ทุกแถบแสดงความแตกต่าง (100% polymorphism) มี 10 ไพรเมอร์ ได้แก่ A05 A06 A08 A18 B04 B05 B10 B19 S13 และ S18 เมื่อวัดระดับความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของฝรั่งแต่ละพันธุ์พบว่ามีความใกล้เคียงกันมาก โดยมีดัชนีความเหมือนอยู่ระหว่าง 0.73-0.96 และเมื่อจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยใช้ชมพู่ 2 พันธุ์เป็นตัวบ่งชี้ (out group) พบว่าฝรั่งถูกแบ่งเป็น 3 กลุ่ม โดยมีความสัมพันธ์กับลักษณะทางสัณฐานวิทยาดังนี้ กลุ่มที่ 1 ได้แก่ ฝรั่งพันธุ์จิตรลดา มีความแตกต่างจากฝรั่งพันธุ์อื่น ๆ เนื่องจากมีลักษณะใบหยิก และมีผลขนาดเล็ก กลุ่มที่ 2 ได้แก่ ฝรั่งพันธุ์ขี้นกและพันธุ์ขี้นกไส้แดง กลุ่มที่ 3 ถูกแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มย่อย ได้แก่ กลุ่ม 3A พันธุ์เด่นขุนวัง พันธุ์ฮ่องเต้ และพันธุ์ไร้เมล็ด ซึ่งทั้งหมดเป็นฝรั่งไร้เมล็ด กลุ่ม 3B ได้แก่ พันธุ์สาลี่ทอง พันธุ์กิมจู พันธุ์แดงสยาม และพันธุ์สามสีกรอบ กลุ่มนี้เป็นฝรั่งพันธุ์การค้าที่ได้รับความนิยม กลุ่ม 3C ได้แก่ พันธุ์แป้นสีทอง และพันธุ์หวานพิรุณ ซึ่งพันธุ์หวานพิรุณเกิดจากการคัดพันธุ์มาจากพันธุ์แป้นยักษ์สีทอง ข้อมูลในงานวิจัยนี้สามารถนำไปใช้ในการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ โดยควรเลือกพ่อแม่พันธุ์ที่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมกันมาก ๆ เนื่องจากจะมีโอกาสได้ลูกผสมที่มีความดีเด่น (Heterosis) สูง

2. การพัฒนาเครื่องหมาย SCAR ด้วยเทคนิค Touchdown PCR เพื่อตรวจสอบลำไยลูกผสม ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาลำไย 29 พันธุ์ โดยเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค Intron Targeted Amplified Polymorphism (ITAP) จำนวน 5 ไพรเมอร์ (ITPR1-5) ที่ออกแบบมาจากบริเวณ intron-exon splice junction ซึ่งให้แถบดีเอ็นเอที่ชัดเจนและจำเพาะมากกว่าเทคนิค RAPD โดยมีการใช้สร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอลำไยมาแล้ว เมื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแล้วพบว่าไพรเมอร์ ITPR1 ITPR2 ITPR4 และ TPR5 ไม่สามารถทำซ้ำได้ จึงพิจารณาเฉพาะไพรเมอร์ ITPR3 ซึ่งให้แถบดีเอ็นเอในทุกตัวอย่าง แต่แถบดีเอ็นเอขนาด 1000 คู่เบส พบเฉพาะในลำไยพันธุ์ดอหลวง ใบดำ และ

พื้นเมือง จึงได้ตัดแถบดีเอ็นเอขนาด 1000 คู่เบส จากพันธุ์พื้นเมือง เนื่องจากมีปริมาณดีเอ็นเอจากการเพิ่มปริมาณมากที่สุด แล้วทำดีเอ็นเอให้บริสุทธิ์ โคลนเข้าแบคทีเรีย *E. coli* DH5 α คัดเลือกโคโลนีที่มีดีเอ็นเอสายผสม แล้วจึงส่งไปหาลำดับเบส พบว่าได้ลำดับเบสที่แตกต่างกัน 2 แบบ คือ L19-1 และ L19-6 จากนั้นจึงออกแบบไพรเมอร์สำหรับลำดับเบสแต่ละแบบ แล้วนำไปเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยวิธี Touch down PCR โดยมีการให้อุณหภูมิ Annealing สูงในรอบแรก ๆ ให้เพื่อให้มีความจำเพาะเจาะจง พบว่าไพรเมอร์สำหรับ L19-6 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในลำไยได้ทั้ง 29 พันธุ์ โดยให้ขนาดแถบดีเอ็นเอเท่ากัน ส่วนไพรเมอร์ L19-1 สามารถเพิ่มปริมาณได้เฉพาะลำไยพันธุ์ดอ หลวง ใบดำ และพื้นเมืองเท่านั้น โดยแถบดีเอ็นเอมีขนาดประมาณ 200 คู่เบส ดังนั้นจึงสามารถใช้ไพรเมอร์ L19-1 ในการตรวจสอบลูกผสมที่มีพันธุ์ดอหลวง ใบดำ และพื้นเมืองเป็นพ่อได้ ซึ่งจะพบแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 200 คู่เบสเฉพาะในพันธุ์พ่อและพันธุ์ลูกผสมเท่านั้น แต่ไม่พบในพันธุ์แม่

3. การตรวจสอบลูกผสมข้ามชนิดระหว่างปทุมมาและพลอยทักษิณ (*Curcuma alismatifolia* Gagnep. x *C. aurantiaca* Van Zip.) ด้วยเครื่องหมาย ISSR ในงานวิจัยนี้ศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอของปทุมมา 2 พันธุ์ คือ Snow white และ Big Red, พลอยทักษิณ และลูกผสมระหว่าง Snow white x พลอยทักษิณ โดยใช้ไพรเมอร์ชนิด ISSR (inter simple sequence repeats) จำนวน 12 ไพรเมอร์ คัดเลือกไพรเมอร์ในขั้นแรกโดยการผสมดีเอ็นเอของทุกตัวอย่างแล้วทำพีซีอาร์ พบว่า 2 ไพรเมอร์ ให้แถบดีเอ็นเอไม่คมชัด ดังนั้นจึงเหลือไพรเมอร์ที่เหมาะสมเพียง 10 ไพรเมอร์เท่านั้น ซึ่งมีอุณหภูมิ annealing ที่เหมาะสมคือ 52 และ 56 องศาเซลเซียส เมื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ 10 ไพรเมอร์ในแต่ละตัวอย่างพบจำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 72 แถบ โดยแต่ละไพรเมอร์มีจำนวน 4-12 แถบ และมีค่าเฉลี่ยแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกัน (polymorphic band) ร้อยละ 83.60 ซึ่งถือว่ามีแถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างสูง อย่างไรก็ตามไพรเมอร์ที่สามารถตรวจสอบลูกผสมได้มี 2 ไพรเมอร์ คือ 811 ซึ่งให้แถบดีเอ็นเอขนาด 1200 คู่เบส ใน Snow white และลูกผสม และให้แถบดีเอ็นเอขนาด 1000 คู่เบสในพลอยทักษิณและลูกผสม ไพรเมอร์ 818 ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 1100 คู่เบส ใน Snow white และลูกผสม และให้แถบดีเอ็นเอขนาด 2000 คู่เบส ในพลอยทักษิณและลูกผสม

ความรู้ที่ได้จากการประชุมในครั้งนี้จะเป็นประโยชน์ต่อการทำวิจัยเกี่ยวกับเครื่องหมายดีเอ็นเอในอนาคต รวมถึงการเรียนการสอนวิชาต่าง ๆ เช่น พันธุศาสตร์พืช และเครื่องหมายโมเลกุล เป็นต้น

ลงชื่อ .....ยุพเยาว์ คบพิมาย.....

(นางสาวยุพเยาว์ คบพิมาย)

ความคิดเห็นของผู้บังคับบัญชาชั้นต้น (ประธานหลักสูตร/เลขานุการคณะ/หัวหน้างาน)

ดร. คุณเกรียง ได้ตรวจสอบและแก้ไขเรียบร้อยแล้ว

.....

แสงทอง

(ผศ.ดร.แสงทอง พงษ์เจริญกิต)

...../...../.....

ความคิดเห็นของคณบดีคณะวิทยาศาสตร์หรือผู้แทน

.....

.....

.....

.....

(ผศ.ดร.ฐปน ชื่นบาล)

...../...../.....

หมายเหตุ : แบบฟอร์มเป็นรูปแบบเพื่อเสนอการรายงาน เนื้อที่อาจไม่เพียงพอสำหรับการกรอกข้อมูล สามารถขยายหรือเพิ่มเติมตามความเหมาะสม