บทที่ 4

ผลการทดลอง

ในการวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาผลของสาร 5-azacytidine สารโพแทสเซียมคลอเรท และอุณหภูมิต่ำ ในพืช 4 ชนิด ได้แก่ ข้าว พิทูเนีย ปวยเล้ง และลำไย การที่นำข้าวและพิทูเนียมาใช้ในการทดลองครั้งนี้ด้วย เนื่องจากมีรายงานมาก่อนแล้วว่าสาร 5-azacytidine มีผลไปลดกระบวนการเติมหมู่ methyl ในพืชทั้ง 2 ชนิดดังกล่าว ดังนั้นถ้าผลจากการตรวจสอบกระบวนการ DNA methylation โดยเทคนิค HAT-RAPD สามารถบ่งบอกความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มที่ไม่ได้รับสาร 5-azacytidine ในข้าวและพิทูเนียได้ ก็จะสามารถนำเทคนิคนี้ไปใช้ในการตรวจสอบกระบวนการ DNA methylation ในลำไยและปวยเล้งต่อไป

1. ข้าว

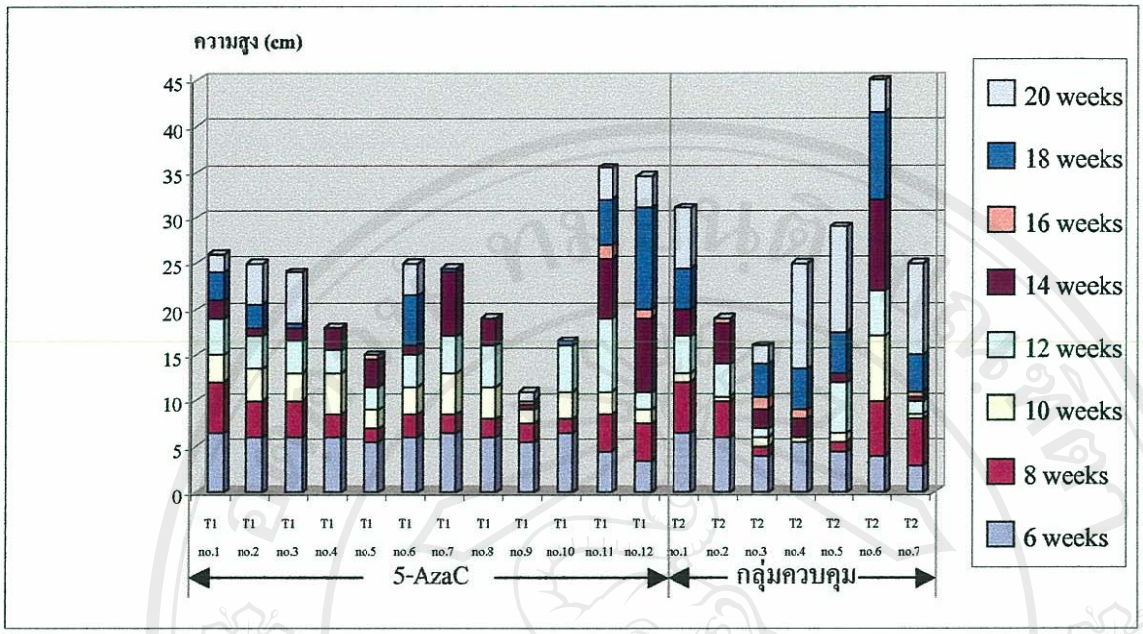
1.1 ผลของสาร 5-azacytidine ต่อการเจริญเติบโตของข้าว

การทดลองนี้ได้แบ่งการทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ (1) กลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine ความเข้มข้น 25 μM และ (2) กลุ่มควบคุม ซึ่งไม่ได้รับสารดังกล่าว โดยได้ทำการบันทึกผลของสารต่อการแสดงลักษณะของพืชระหว่างการเจริญเติบโต 2 ลักษณะ ได้แก่ ความสูง และจำนวนกอของต้นข้าว ซึ่งจากการทดลองพบว่า กลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine มีค่าเฉลี่ยของความสูง และจำนวนกอต่อต้น ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตาราง 3) แต่เมื่อพิจารณาความสูงของแต่ละต้นในกลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine พบว่ามีแนวโน้มที่จะเกิดต้นเตี้ย โดยมีอัตราส่วนต้นเตี้ย : ต้นปกติ เท่ากับ 5 : 7 หรือเกิดต้นเตี้ยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เท่ากับ 41.67% (ภาพ 4)

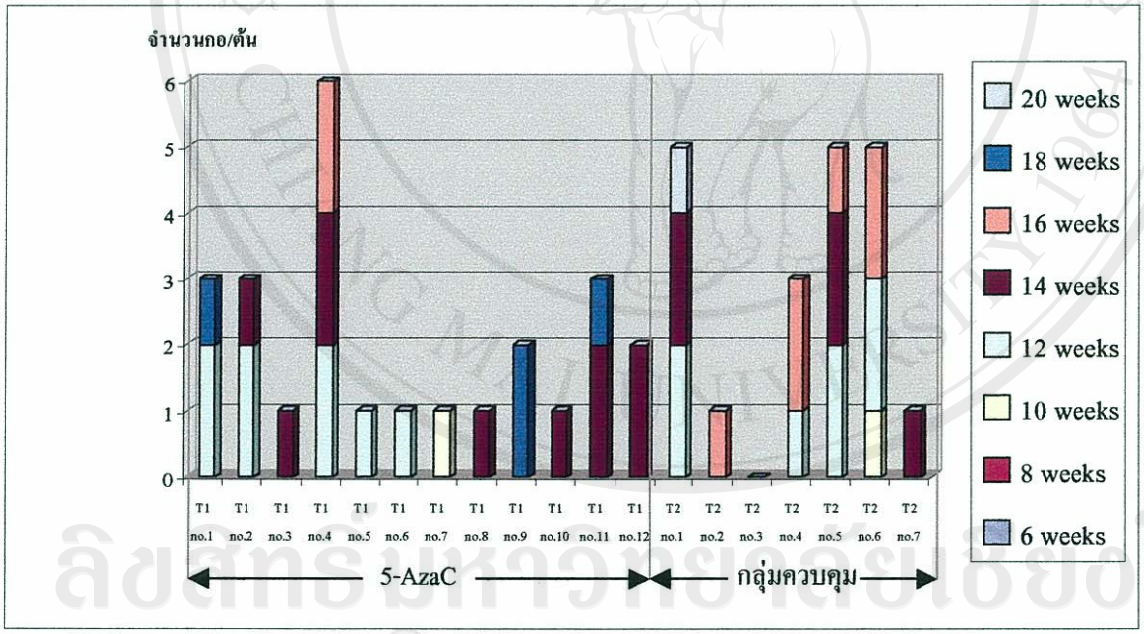
ตาราง 3 แสดงผลของสาร 5-azacytidine ต่อความสูงและจำนวนกอของต้นข้าวอายุ 20 สัปดาห์

Phenotypes		Treatments	
		5-azacytidine (25μM)	กลุ่มควบคุม
ความสูง (cm)	Max.	35.5	45
	Min.	11	16
	Mean ± SD	22.83 ± 7.3834[(a)]	27.14 ± 9.4592[(a)]
จำนวนกอ (กอ/ต้น)	Max.	6	5
	Min.	1	0
	Mean ± SD	2.86 ± 2.1931[(a)]	2.08 ± 1.5050[(a)]
จำนวนหน่วยทดลอง (ต้น)		12	7

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



(a)



(b)

ภาพ 4 แสดงผลของสาร 5-azacytidine ความเข้มข้น 25 μM ต่อความสูง (a) และจำนวนกอ (b) ของต้นข้าวที่ระยะต่างๆ ของการเจริญ

เมื่อ แกน x แสดง number of plant (ต้นที่)

แกน y แสดง ความสูง (a) และจำนวนกอ (b)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.2 การตรวจสอบกระบวนการ DNA methylation ในข้าวโดยเทคนิค HAT-RAPD

จากการทดลองข้างต้น แม้ว่าต้นข้าวกลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine และกลุ่มควบคุม จะไม่แสดงลักษณะที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ก็พบว่าในกลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine มีต้นที่มีลักษณะค่อนข้างเตี้ยเกิดขึ้น ดังนั้นในการตรวจสอบ DNA methylation จึงได้คัดเลือกต้นข้าว จากกลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine ทั้งที่แสดงลักษณะต้นเตี้ยและต้นปกติ มาใช้ในการทดลองเพื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ภาพ 5)

(a) (b)

ภาพ 5 แสดงต้นข้าวในกลุ่มควบคุม (a) และกลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine ความเข้มข้น 25 μM(b)

การใช้เทคนิค HAT-RAPD ในการตรวจสอบ DNA methylation ได้อาศัยเอนไซม์ตัดจำเพาะ 2 ชนิด ได้แก่ *Hpa*II และ *Msp*I มาใช้ในการตัด genomic DNA ก่อนนำไปเพิ่มปริมาณ DNA โดยปฏิกิริยา PCR เพื่อให้ได้ DNA ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่างกัน เกิดเป็นลายพิมพ์ DNA (DNA fingerprint) ขึ้น ในการทดลองนี้ได้ตรวจสอบกระบวนการ DNA ในตัวอย่างข้าว 2 กลุ่ม ได้แก่ (1) กลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine และ (2) กลุ่มควบคุม หลังจากที่ตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Hpa*II และ *Msp*I แล้วสุ่มใช้ 3 ไพรเมอร์ ได้แก่ OPW-09, OPL-04 และ OPL-14 พบว่า การใช้ไพรเมอร์ดังกล่าว สามารถทำให้เกิดการสังเคราะห์และเพิ่มปริมาณ DNA ได้ โดยให้แถบ DNA ที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน ซึ่งเมื่อทำการวิเคราะห์โดย agarose gel electrophoresis พบว่ามีผลการทดลองดังต่อไปนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- **การใช้ไพรเมอร์ OPW-09**

ตัวอย่างที่ไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ : ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II : เกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารและกลุ่มควบคุม จำนวน 3 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 200 –600 คู่เบส

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I : เกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารและกลุ่มควบคุม จำนวน 1 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลที่ 800 คู่เบส (ภาพ 6, a)

- **การใช้ไพรเมอร์ OPL-04**

ตัวอย่างที่ไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ : ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II : ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I : เกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม จำนวน 1 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ที่ 1000 คู่เบส (ภาพ 6, b)

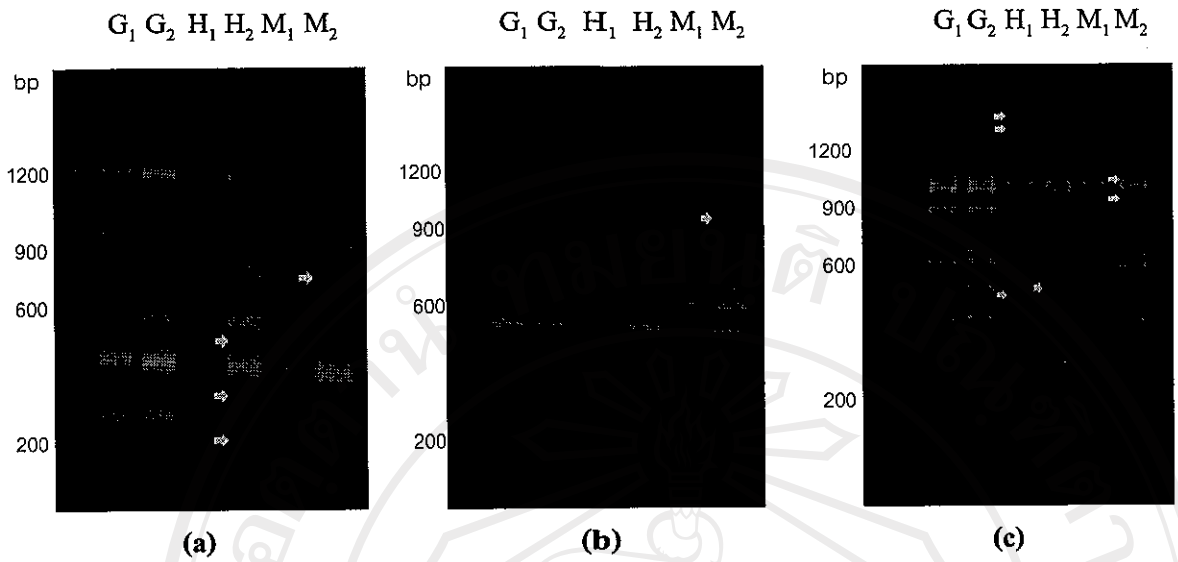
- **การใช้ไพรเมอร์ OPL-14**

ตัวอย่างที่ไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ : ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II : เกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารและกลุ่มควบคุม จำนวน 4 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 400 –1400 คู่เบส

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I : เกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารและกลุ่มควบคุม จำนวน 2 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 900 –1100 คู่เบส (ภาพ 6, c)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 6 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากตัวอย่างข้าวอายุ 20 สัปดาห์ ที่ได้รับสาร 5-azacytidine และตัวอย่างข้าวในกลุ่มควบคุม โดยเทคนิค HAT-RAPD ด้วยการใช้ไพรเมอร์ OPW-09 (a) OPL-04 (b) และ OPL-14 (c) ตามลำดับ วิเคราะห์โดย agarose gel electrophoresis

G_1 หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวที่ได้รับสาร 5-azacytidine และไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ใดๆ

G_2 หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวในกลุ่มควบคุม และไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ใดๆ

H_1 หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวที่ได้รับสาร 5-azacytidine และตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

H_2 หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวในกลุ่มควบคุม และตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

M_1 หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวที่ได้รับสาร 5-azacytidine และตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

M_2 หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวในกลุ่มควบคุม และตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

หมายเหตุ : ลูกศร แสดงการเกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน เปรียบเทียบภายในกลุ่มตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ชนิดเดียวกัน

เมื่อทำการวิเคราะห์โดย polyacrylamide gel electrophoresis พบว่ามีผลการทดลองดังต่อไปนี้

- **การใช้ไพรเมอร์ OPW-09**

ตัวอย่างที่ไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ : ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II : เกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม จำนวน 8 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 400 –1400 คู่เบส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I : เกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารและกลุ่มควบคุม จำนวน 5 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 400 –1400 คู่เบส (ภาพ 7)

- **การใช้ไพรเมอร์ OPL-04**

ตัวอย่างที่ไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ : ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II : เกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารและกลุ่มควบคุม จำนวน 6 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 200 –1400 คู่เบส

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I : เกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารและกลุ่มควบคุม จำนวน 8 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 200 –1400 คู่เบส (ภาพ 8)

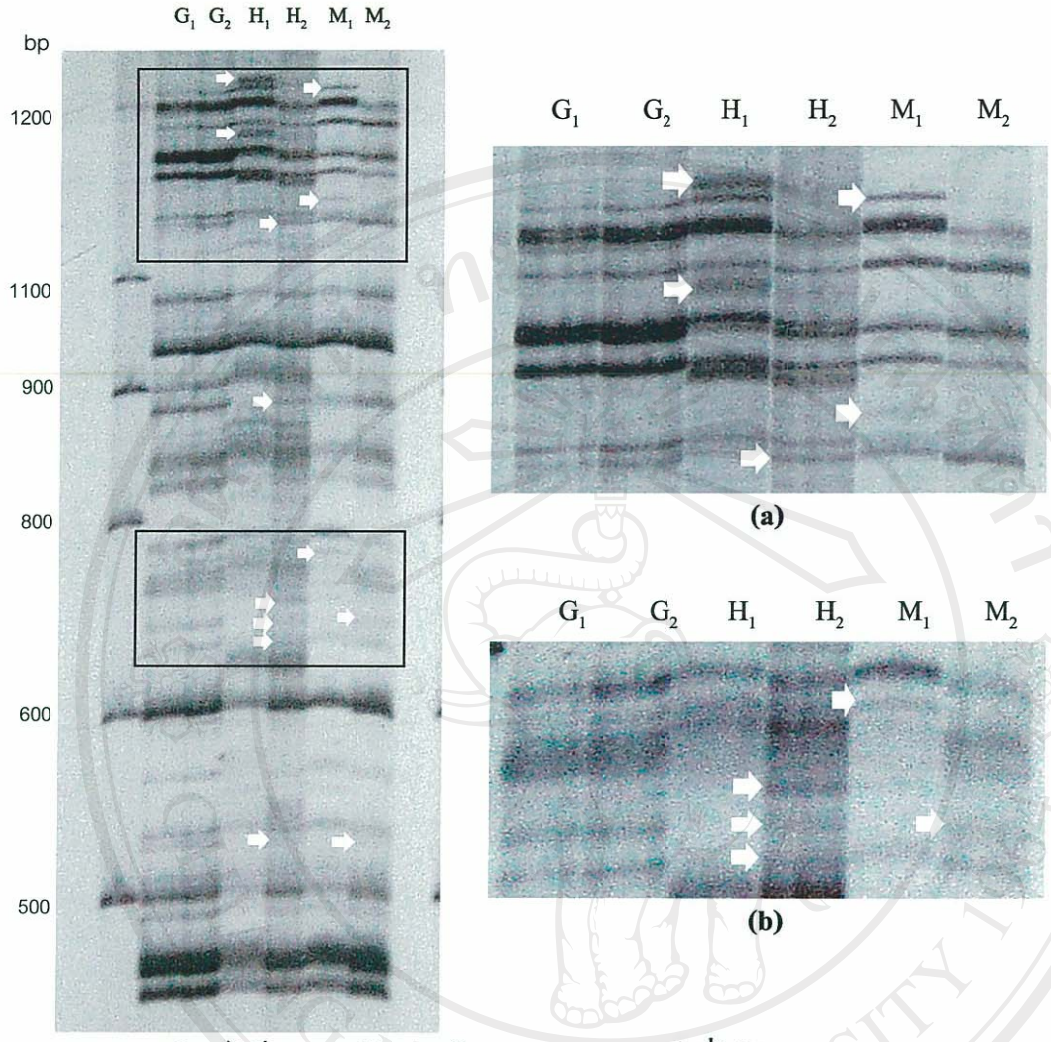
- **การใช้ไพรเมอร์ OPL-14**

ตัวอย่างที่ไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ : ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II : เกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารและกลุ่มควบคุม จำนวน 5 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 600 –1400 คู่เบส

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I : เกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารและกลุ่มควบคุม จำนวน 9 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 400 –1400 คู่เบส (ภาพ 9)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 7 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากตัวอย่างข้าวอายุ 20 สัปดาห์ ที่ได้รับสาร 5-azacytidine และตัวอย่างข้าวในกลุ่มควบคุม โดยเทคนิค HAT-RAPD ด้วยการใช้ไพรเมอร์ OPW-09 วิเคราะห์โดย polyacrylamide gel electrophoresis

(a) และ (b) แสดง ภาพขยายของลายพิมพ์ดีเอ็นเอภายในกรอบสี่เหลี่ยมบน และล่าง ตามลำดับ

G_1 หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวที่ได้รับสาร 5-azacytidine และไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ใดๆ

G_2 หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวในกลุ่มควบคุม และไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ใดๆ

H_1 หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวที่ได้รับสาร 5-azacytidine และตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

H_2 หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวในกลุ่มควบคุม และตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

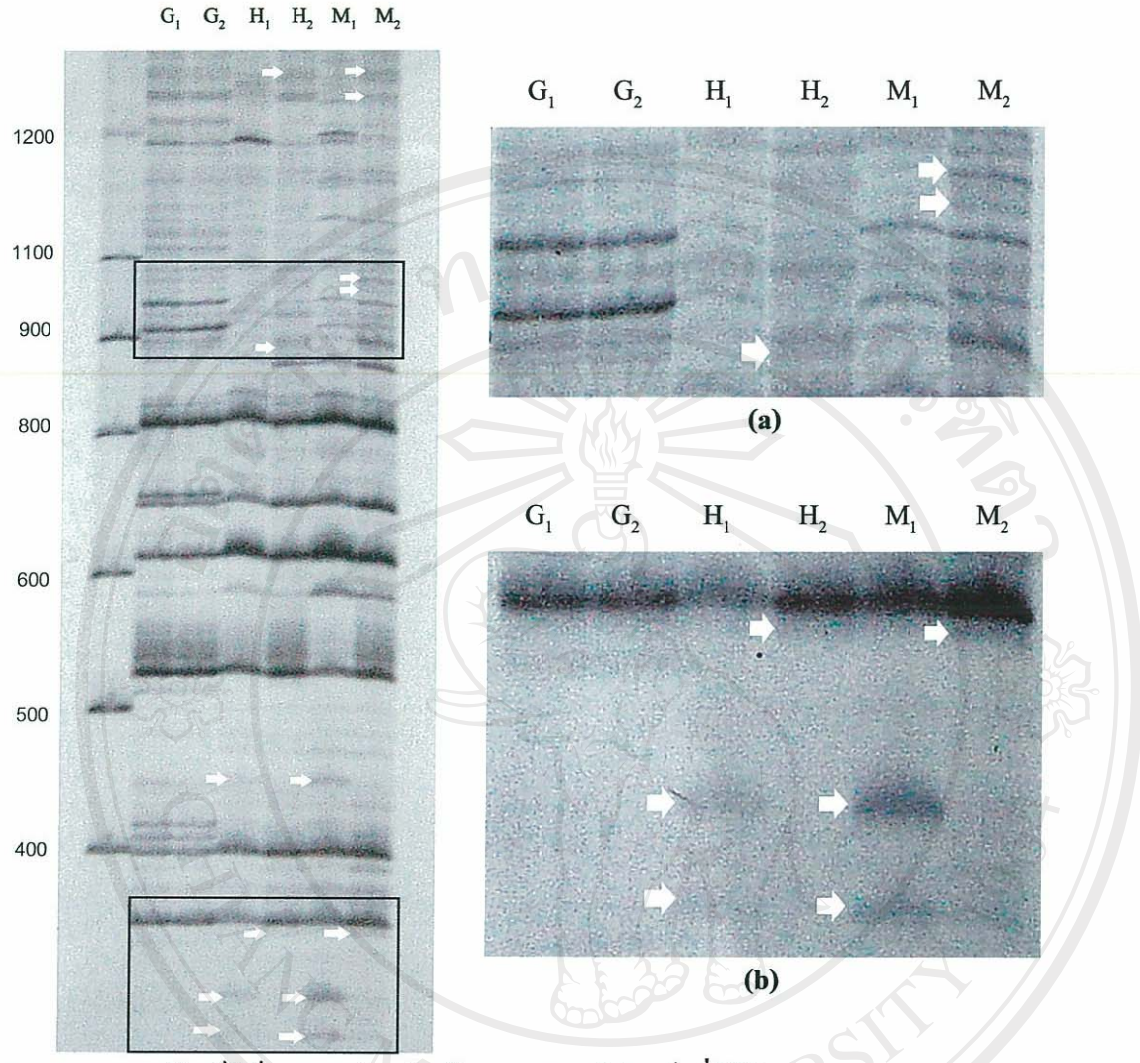
M_1 หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวที่ได้รับสาร 5-azacytidine และตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

M_2 หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวในกลุ่มควบคุม และตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

หมายเหตุ : ลูกศร แสดงการเกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน เปรียบเทียบภายในกลุ่มตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ชนิดเดียวกัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ล
572.86
ม113 ว
เลขหมู่.....
สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยเชียงใหม่



ภาพ 8 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากตัวอย่างข้าวอายุ 20 สัปดาห์ ที่ได้รับสาร 5-azacytidine และตัวอย่างข้าวในกลุ่มควบคุม โดยเทคนิค HAT-RAPD ด้วยการใช้ไพรเมอร์ OPL-04 วิเคราะห์โดย polyacrylamide gel electrophoresis

(a) และ (b) แสดง ภาพขยายของลายพิมพ์ดีเอ็นเอภายในกรอบสี่เหลี่ยมบน และล่าง ตามลำดับ

G_1 หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวที่ได้รับสาร 5-azacytidine และไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ใดๆ

G_2 หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวในกลุ่มควบคุม และไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ใดๆ

H_1 หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวที่ได้รับสาร 5-azacytidine และตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

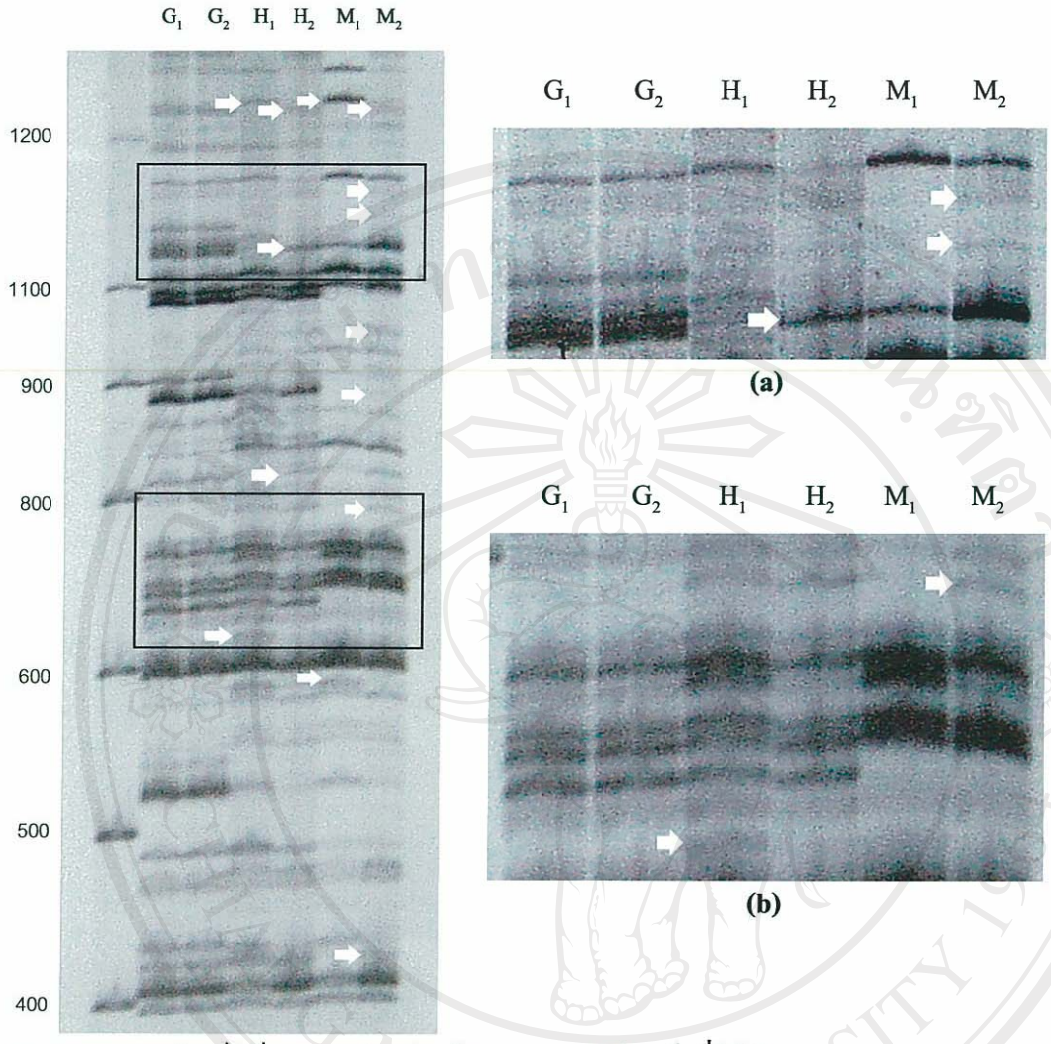
H_2 หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวในกลุ่มควบคุม และตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

M_1 หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวที่ได้รับสาร 5-azacytidine และตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

M_2 หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวในกลุ่มควบคุม และตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

หมายเหตุ : ลูกศร แสดงการเกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน เปรียบเทียบภายในกลุ่มตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ชนิดเดียวกัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 9 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากตัวอย่างข้าวอายุ 20 สัปดาห์ ที่ได้รับสาร 5-azacytidine และตัวอย่างข้าวในกลุ่มควบคุม โดยเทคนิค HAT-RAPD ด้วยการใช้ไพรเมอร์ OPL-14 วิเคราะห์โดย polyacrylamide gel electrophoresis

(a) และ (b) แสดง ภาพขยายของลายพิมพ์ดีเอ็นเอภายในกรอบสี่เหลี่ยมบน และล่าง ตามลำดับ

G_1 หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวที่ได้รับสาร 5-azacytidine และไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ใดๆ

G_2 หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวในกลุ่มควบคุม และไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ใดๆ

H_1 หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวที่ได้รับสาร 5-azacytidine และตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

H_2 หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวในกลุ่มควบคุม และตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

M_1 หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวที่ได้รับสาร 5-azacytidine และตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

M_2 หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวในกลุ่มควบคุม และตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

หมายเหตุ : ลูกศร แสดงการเกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน เปรียบเทียบภายในกลุ่มตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ชนิดเดียวกัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากการทดลอง หลังจากนำตัวอย่างข้าวมาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Hpa*II และ *Msp*I แล้วตรวจสอบกระบวนการ DNA methylation ด้วยเทคนิค HAT-RAPD พบว่า เกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน ระหว่างข้าวกลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine และกลุ่มควบคุม แสดงให้เห็นว่าสาร 5-azacytidine มีผลทำให้เกิด demethylation ในตัวอย่างข้าวที่นำมาตรวจสอบ และการที่เทคนิค HAT-RAPD สามารถตรวจสอบกระบวนการ DNA methylation ในข้าวที่ถูกชักนำด้วยสาร 5-azacytidine ได้ จึงนำเทคนิคดังกล่าวไปใช้ในการตรวจสอบ DNA methylation ในปวยเล้งและลำไยต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. พิทูเนีย

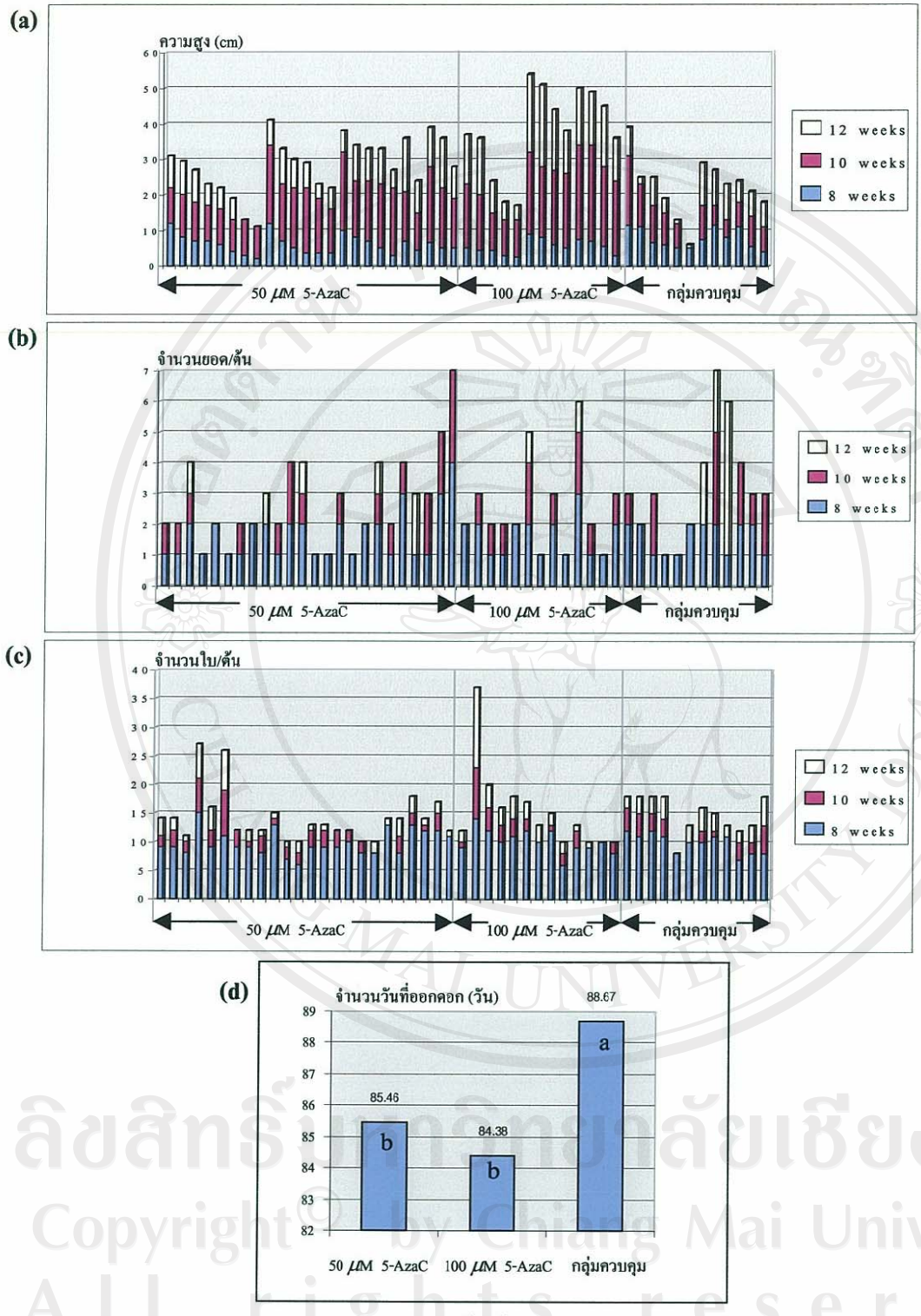
2.1 ผลของสาร 5-azacytidine ต่อการเจริญเติบโตของพิทูเนีย

การทดลองนี้ได้แบ่งการทดลองออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ (1) กลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine ความเข้มข้น 50 μM (2) กลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine ความเข้มข้น 100 μM และ (3) กลุ่มควบคุม ซึ่งไม่ได้รับสารดังกล่าว โดยได้ทำการบันทึกผลของสารต่อการแสดงลักษณะของพืชระหว่างการเจริญเติบโต 4 ลักษณะ ได้แก่ ความสูง จำนวนยอดต่อต้น จำนวนใบต่อต้น และจำนวนวันที่ใช้ในการออกดอก จากการทดลองพบว่า กลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine ทั้ง 2 ความเข้มข้น มีการออกดอกเร็วกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่ากลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine ความเข้มข้นสูง (100 μM) มีความสูงมากกว่ากลุ่มที่ได้รับสารความเข้มข้นต่ำ (50 μM) และกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามไม่พบว่าการให้สาร 5-azacytidine มีผลต่อจำนวนยอดต่อต้น และจำนวนใบต่อต้น ของต้นพิทูเนีย (ตาราง 4, ภาพ 10,11)

ตาราง 4 แสดงผลของสาร 5-azacytidine ต่อความสูง จำนวนยอดต่อต้น จำนวนใบต่อต้น และจำนวนวันที่ใช้ในการออกดอก ของต้นพิทูเนีย อายุ 12 สัปดาห์

Phenotypes		Treatments		
		5-azacytidine (50 μM)	5-azacytidine (100 μM)	กลุ่มควบคุม
ความสูง (cm)	Max.	41	54	39
	Min.	11	17	6
	Mean±SD	28.3958±7.7361$^{(b)}$	38.3846±12.3122$^{(a)}$	22.4167±8.2402$^{(b)}$
จำนวนยอดต่อต้น (ยอด/ต้น)	Max.	7	6	7
	Min.	1	1	1
	Mean±SD	2.7083±1.4885$^{(a)}$	2.5385±1.5064$^{(a)}$	3.2500±1.8153$^{(a)}$
จำนวนใบต่อต้น (ใบ/ต้น)	Max.	27	37	18
	Min.	10	10	8
	Mean±SD	14.0833±4.3829$^{(a)}$	15.4615±7.2872$^{(a)}$	14.3333±3.3934$^{(a)}$
จำนวนวันที่ใช้ในการออกดอก (วัน)	Max.	90	90	92
	Min.	83	83	84
	Mean±SD	85.4583±1.8645$^{(b)}$	84.3846±1.7097$^{(b)}$	88.6667±3.3121$^{(a)}$
จำนวนหน่วยทดลอง (ต้น)		24	13	12

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 10 แสดงผลของสาร 5-azacytidine ความเข้มข้น 50 และ 100 μM ต่อความสูง (a) จำนวนยอดต่อต้น (b) จำนวนใบต่อต้น (c) และจำนวนวันที่ใช้ในการออกดอก (d) ที่ระยะต่างๆ ของการเจริญของต้นพิทูเนีย เมื่อ แกน x แสดง number of plant (ต้นที่)

แกน y แสดง ความสูง (a) จำนวนยอด (b) และจำนวนใบ (c)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

(a) **(b)** **(c)**

ภาพ 11 แสดงต้นพิทูเนียอายุ 12 สัปดาห์ ในกลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine ความเข้มข้น 50 μM (a) กลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine ความเข้มข้น 100 μM (b) และกลุ่มควบคุม (c)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.2 การตรวจสอบกระบวนการ DNA methylation ในพิทูเนียโดยเทคนิค HAT-RAPD

ในการทดลองนี้ได้ตรวจสอบกระบวนการ DNA methylation ในพิทูเนียที่ถูกชักนำด้วยสาร 5-azacytidine โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ (1) กลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine ความเข้มข้น 50 μM (2) กลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine ความเข้มข้น 100 μM และ(3) กลุ่มควบคุม หลังจากที่ตัดตัวอย่างดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Hpa*II และ *Msp*I แล้วสุ่มใช้ 2 ไพรเมอร์ ได้แก่ OPW-09 และ OPL-04 และทำการวิเคราะห์ โดย agarose gel electrophoresis พบว่ามีผลการทดลองดังต่อไปนี้

- **การใช้ไพรเมอร์ OPW-09**

ตัวอย่างที่ไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ : ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารแต่ละความเข้มข้น และกลุ่มควบคุม

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II : เกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารแต่ละความเข้มข้น และกลุ่มควบคุม จำนวน 2 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 500 –800 คู่เบส

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I : เกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารแต่ละความเข้มข้น และกลุ่มควบคุม จำนวน 3 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 500 –1100 คู่เบส (ภาพ 12, a)

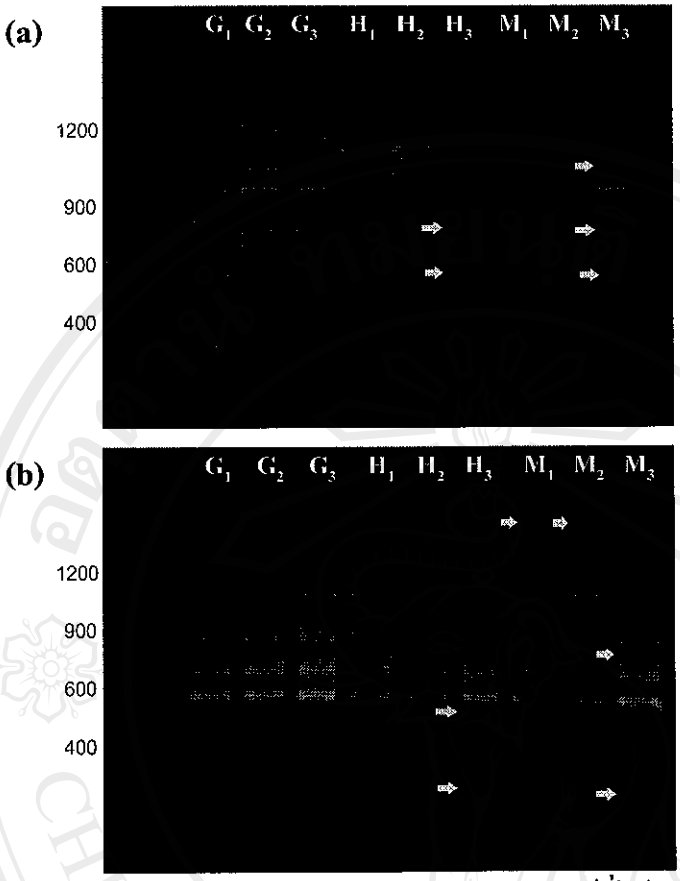
- **การใช้ไพรเมอร์ OPL-04**

ตัวอย่างที่ไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ : ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารแต่ละความเข้มข้น และกลุ่มควบคุม

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II : เกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารแต่ละความเข้มข้น และกลุ่มควบคุม จำนวน 2 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 200 –600 คู่เบส

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I : เกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารแต่ละความเข้มข้น และกลุ่มควบคุม จำนวน 3 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 200 –1400 คู่เบส (ภาพ 12, b)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 12 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากตัวอย่างพิทูเนียอายุ 12 สัปดาห์ที่ได้รับสาร 5-azacytidine ความเข้มข้น 50 μM และ 100 μM และตัวอย่างพิทูเนียในกลุ่มควบคุม โดยเทคนิค HAT-RAPD ด้วยการใช้ไพรเมอร์ OPW-09 (a) และ OPL-04 (b) ตามลำดับ วิเคราะห์โดย agarose gel electrophoresis

G_1 หมายถึง ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine (50 μM) และไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ใดๆ

G_2 หมายถึง ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine (100 μM) และไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ใดๆ

G_3 หมายถึง ตัวอย่างในกลุ่มควบคุมและไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ใดๆ

H_1 หมายถึง ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine (50 μM) และตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

H_2 หมายถึง ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine (100 μM) และตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

H_3 หมายถึง ตัวอย่างในกลุ่มควบคุม และตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

M_1 หมายถึง ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine (50 μM) และตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

M_2 หมายถึง ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine (100 μM) และตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

M_3 หมายถึง ตัวอย่างในกลุ่มควบคุม และตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

หมายเหตุ : ลูกศร แสดงการเกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน เปรียบเทียบภายในกลุ่มตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ชนิดเดียวกัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ในการวิเคราะห์โดย polyacrylamide gel electrophoresis พบว่ามีผลการทดลองดังต่อไปนี้

- **การใช้ไพรเมอร์ OPW-09**

ตัวอย่างที่ไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ : ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารแต่ละความเข้มข้น และกลุ่มควบคุม

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II : เกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารแต่ละความเข้มข้น และกลุ่มควบคุม จำนวน 3 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 400 –1100 คู่เบส

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I : เกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารแต่ละความเข้มข้น และกลุ่มควบคุม จำนวน 4 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 400 –1100 คู่เบส (ภาพ 13)

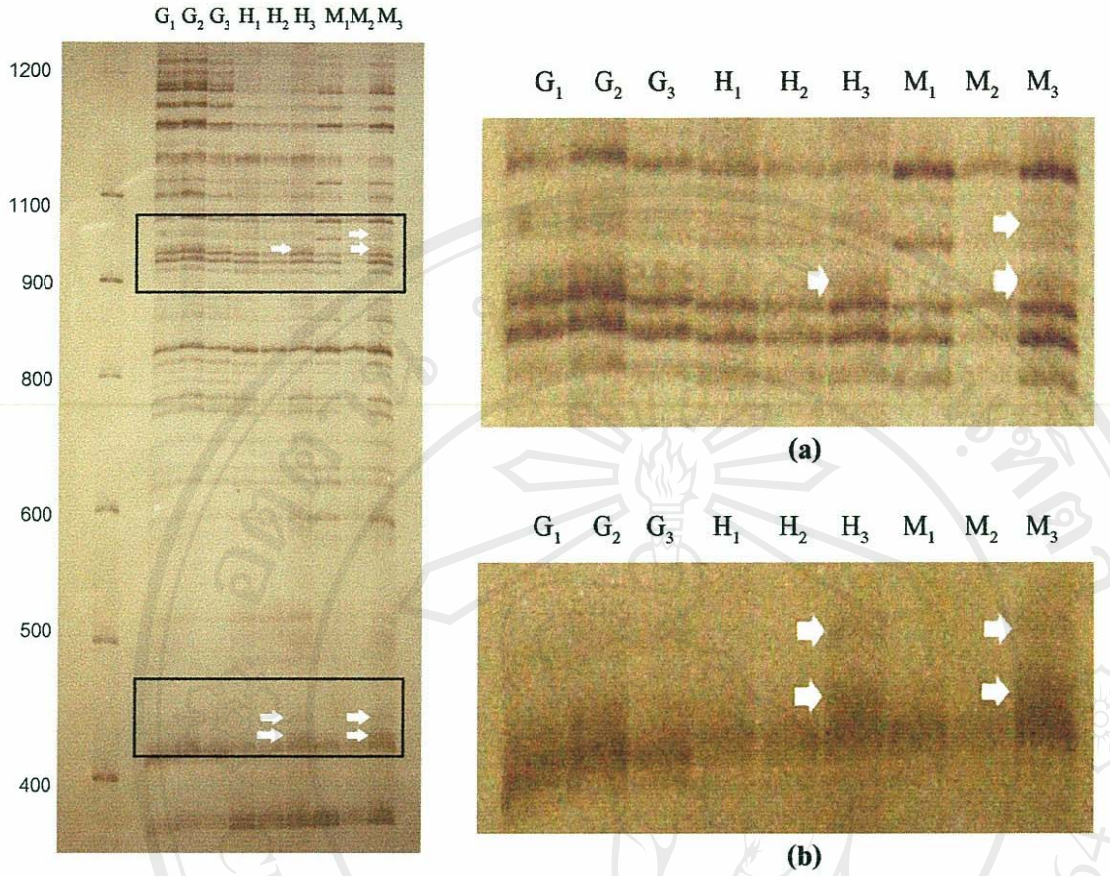
- **การใช้ไพรเมอร์ OPL-04**

ตัวอย่างที่ไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ : ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารแต่ละความเข้มข้น และกลุ่มควบคุม

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II : เกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารความเข้มข้น 50 μM และกลุ่มควบคุม จำนวน 8 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 200 –1400 คู่เบส และเกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารความเข้มข้น 100 μM และกลุ่มควบคุม จำนวน 9 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 200 –1400 คู่เบส

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I : เกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารความเข้มข้น 50 μM และกลุ่มควบคุม จำนวน 9 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 200 –1200 คู่เบส และเกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารความเข้มข้น 100 μM และกลุ่มควบคุม จำนวน 10 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 200 –1200 คู่เบส (ภาพ 14)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 13 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากตัวอย่างพิทูเนียอายุ 12 สัปดาห์ ที่ได้รับสาร 5-azacytidine ความเข้มข้น 50 μM และ 100 μM และตัวอย่างพิทูเนียในกลุ่มควบคุม โดยเทคนิค HAT-RAPD ด้วยการใช้ไพรเมอร์ OPW-09 วิเคราะห์โดย polyacrylamide gel electrophoresis

(a) และ (b) แสดง ภาพขยายของลายพิมพ์ดีเอ็นเอภายในกรอบสี่เหลี่ยมบน และล่าง ตามลำดับ

G_1 หมายถึง ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine (50 μM) และไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ใดๆ

G_2 หมายถึง ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine (100 μM) และไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ใดๆ

G_3 หมายถึง ตัวอย่างในกลุ่มควบคุมและไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ใดๆ

H_1 หมายถึง ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine (50 μM) และตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

H_2 หมายถึง ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine (100 μM) และตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

H_3 หมายถึง ตัวอย่างในกลุ่มควบคุม และตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

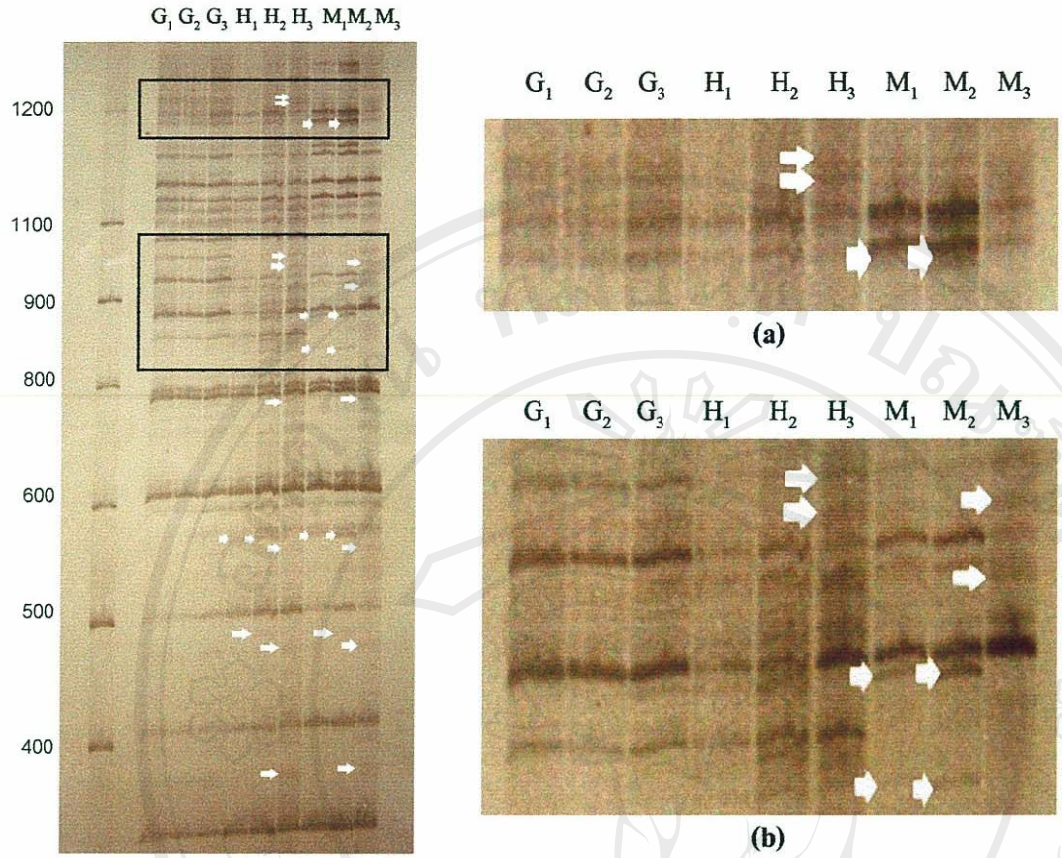
M_1 หมายถึง ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine (50 μM) และตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

M_2 หมายถึง ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine (100 μM) และตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

M_3 หมายถึง ตัวอย่างในกลุ่มควบคุม และตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

หมายเหตุ : ลูกศร แสดงการเกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน เปรียบเทียบภายในกลุ่มตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ชนิดเดียวกัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 14 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากตัวอย่างพิทูเนียอายุ 12 สัปดาห์ ที่ได้รับสาร 5-azacytidine ความเข้มข้น 50 μM และ 100 μM และตัวอย่างพิทูเนียในกลุ่มควบคุม โดยเทคนิค HAT-RAPD ด้วยการใช้ไพรเมอร์ OPL-04 วิเคราะห์โดย polyacrylamide gel electrophoresis

(a) และ (b) แสดง ภาพขยายของลายพิมพ์ดีเอ็นเอภายในกรอบสี่เหลี่ยมบน และล่าง ตามลำดับ

G_1 หมายถึง ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine (50 μM) และไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ใดๆ

G_2 หมายถึง ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine (100 μM) และไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ใดๆ

G_3 หมายถึง ตัวอย่างในกลุ่มควบคุมและไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ใดๆ

H_1 หมายถึง ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine (50 μM) และตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

H_2 หมายถึง ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine (100 μM) และตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

H_3 หมายถึง ตัวอย่างในกลุ่มควบคุม และตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

M_1 หมายถึง ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine (50 μM) และตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

M_2 หมายถึง ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine (100 μM) และตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

M_3 หมายถึง ตัวอย่างในกลุ่มควบคุม และตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

หมายเหตุ : ลูกศร แสดงการเกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน เปรียบเทียบภายในกลุ่มตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ชนิดเดียวกัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

จากการทดลอง หลังจากนำตัวอย่างพิทูเนียมาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Hpa*II และ *Msp*I แล้วตรวจสอบกระบวนการ DNA methylation ด้วยเทคนิค HAT-RAPD พบว่า เกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน ระหว่างพิทูเนียกลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine และกลุ่มควบคุม แสดงให้เห็นว่าสาร 5-azacytidine มีผลทำให้เกิด demethylation ในตัวอย่างพิทูเนียที่นำมาตรวจสอบ และการที่เทคนิค HAT-RAPD สามารถตรวจสอบกระบวนการ DNA methylation ในพิทูเนียที่ถูกชักนำด้วยสาร 5-azacytidine ได้ จึงนำเทคนิคดังกล่าวไปใช้ในการตรวจสอบ DNA methylation ในปวยเล้งและลำไยต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. ป่วยเล้ง

3.1 ผลของสาร 5-azacytidine สารโพแทสเซียมคลอเรท และอุณหภูมิต่ำต่อการเจริญเติบโตของป่วยเล้ง

การทดลองนี้ได้แบ่งการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ (1) กลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine ความเข้มข้น 125 μM เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (2) กลุ่มที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท ความเข้มข้น 250 μM เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (3) กลุ่มที่ไม่ได้รับสารใดๆ แต่ทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิต่ำ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วัน และ (4) กลุ่มควบคุม ซึ่งไม่ได้รับสารใดๆ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยได้ทำการบันทึกผลของสารต่อการแสดงลักษณะของพืชระหว่างการเจริญเติบโต 5 ลักษณะ ได้แก่ ความสูงก่อนและหลังออกดอก จำนวน vegetative leaves น้ำหนักสด จำนวนวันที่ใช้ในการออกดอก และเปอร์เซ็นต์การออกดอก จากการทดลองพบว่า กลุ่มที่ได้รับสาร 5-aacytidine กลุ่มที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท และกลุ่มที่ได้รับอุณหภูมิต่ำ มีการออกดอกเร็วกว่ากลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งยังมีเปอร์เซ็นต์การออกดอกมากกว่ากลุ่มควบคุมประมาณ 13 - 34% อย่างไรก็ตาม ไม่พบว่าการใช้สาร 5-azacytidine สารโพแทสเซียมคลอเรท และการใช้อุณหภูมิต่ำ มีผลต่อความสูงก่อนและหลังการออกดอก จำนวน vegetetive leaves และน้ำหนักสดของต้น (ตาราง 5, ภาพ 15)

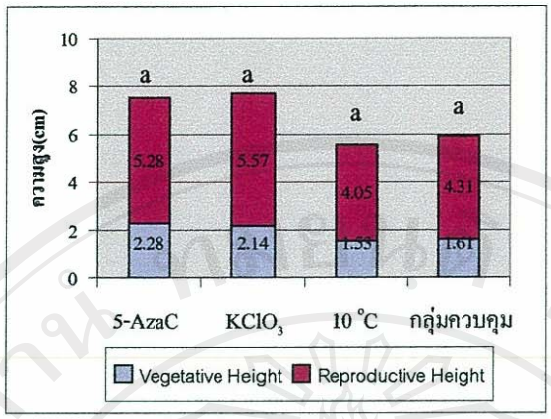
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 5 แสดงผลของสาร 5-azacytidine สารโพแทสเซียมคลอเรท และอุณหภูมิต่ำต่อการเจริญเติบโตและการออกดอกของต้นป่วยเล้ง

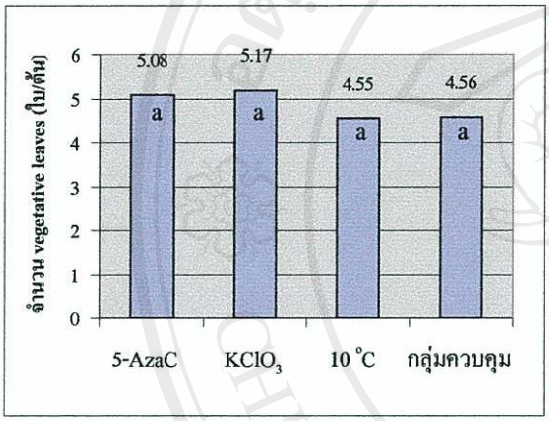
		Treatments			
		5-azacytidine (125 μM)	$KClO_3$ (250 μM)	10 °C, 20 วัน	กลุ่มควบคุม
ความสูงก่อนออกดอก (cm)	Max.	5.0	5.8	4.8	3.1
	Min.	0.3	0.6	0.2	0.3
	Mean±SD	$2.28 \pm 1.5473^{(a)}$	$2.14 \pm 1.3866^{(a)}$	$1.53 \pm 1.2075^{(a)}$	$1.61 \pm 0.9103^{(a)}$
ความสูงหลังออกดอก (cm)	Max.	9.6	13.8	11.8	8.4
	Min.	1.8	1.7	0.9	1.8
	Mean±SD	$5.28 \pm 2.6724^{(a)}$	$5.57 \pm 3.6821^{(a)}$	$4.05 \pm 3.0765^{(a)}$	$4.31 \pm 2.1415^{(a)}$
จำนวน vegetative leaves (ใบ/ต้น)	Max.	8	8	7	6
	Min.	3	3	2	4
	Mean±SD	$5.08 \pm 1.6765^{(a)}$	$5.17 \pm 1.5049^{(a)}$	$4.55 \pm 1.1459^{(a)}$	$4.56 \pm 0.7265^{(a)}$
น้ำหนักสด (g)	Max.	1.760	1.430	1.052	0.655
	Min.	0.106	0.114	0.126	0.198
	Mean±SD	$0.5147 \pm 0.4378^{(a)}$	$0.4886 \pm 0.3173^{(a)}$	$0.3395 \pm 0.2042^{(a)}$	$0.3620 \pm 0.1540^{(a)}$
จำนวนวันที่ใช้ในการออกดอก (วัน)	Max.	44	46	44	56
	Min.	25	24	28	38
	Mean±SD	$36.50 \pm 6.6127^{(b)}$	$36.11 \pm 6.8589^{(b)}$	$37.00 \pm 5.6569^{(b)}$	$45.67 \pm 6.0208^{(a)}$
จำนวนต้นที่ออกดอก (ต้น)		12	18	20	9
เปอร์เซ็นต์การออกดอก		66.67	78.26	86.96	52.94
จำนวนหน่วยทดลอง (ต้น)		18	23	23	17

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่เหมือนกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละกลุ่มที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

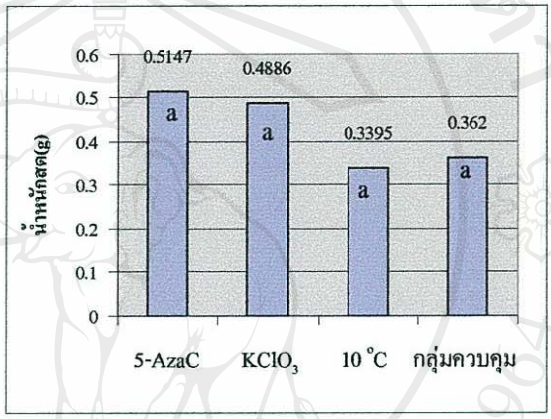
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



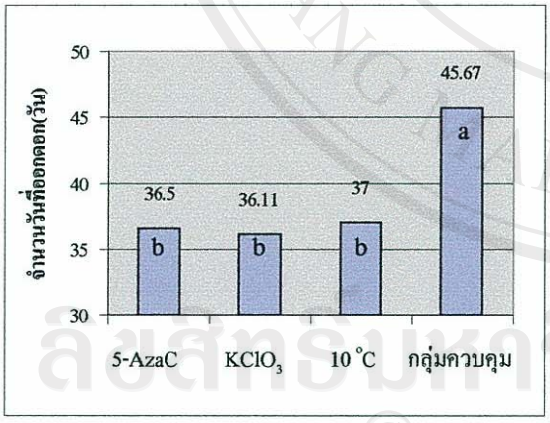
(a)



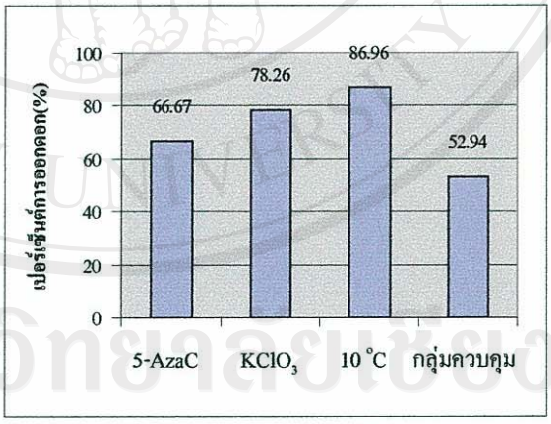
(b)



(c)



(d)



(e)

ภาพ 15 แสดงผลของสาร 5-azacytidine สารโพแทสเซียมคลอเรท และอุณหภูมิต่ำ ต่อความสูงก่อนและหลังการออกดอก (a) จำนวน vegetative leaves (b) น้ำหนักสด (c) จำนวนวันที่ใช้ในการออกดอก (d) และเปอร์เซ็นต์การออกดอก (e) ของต้นปวยเล้ง

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่เหมือนกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละกลุ่มที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

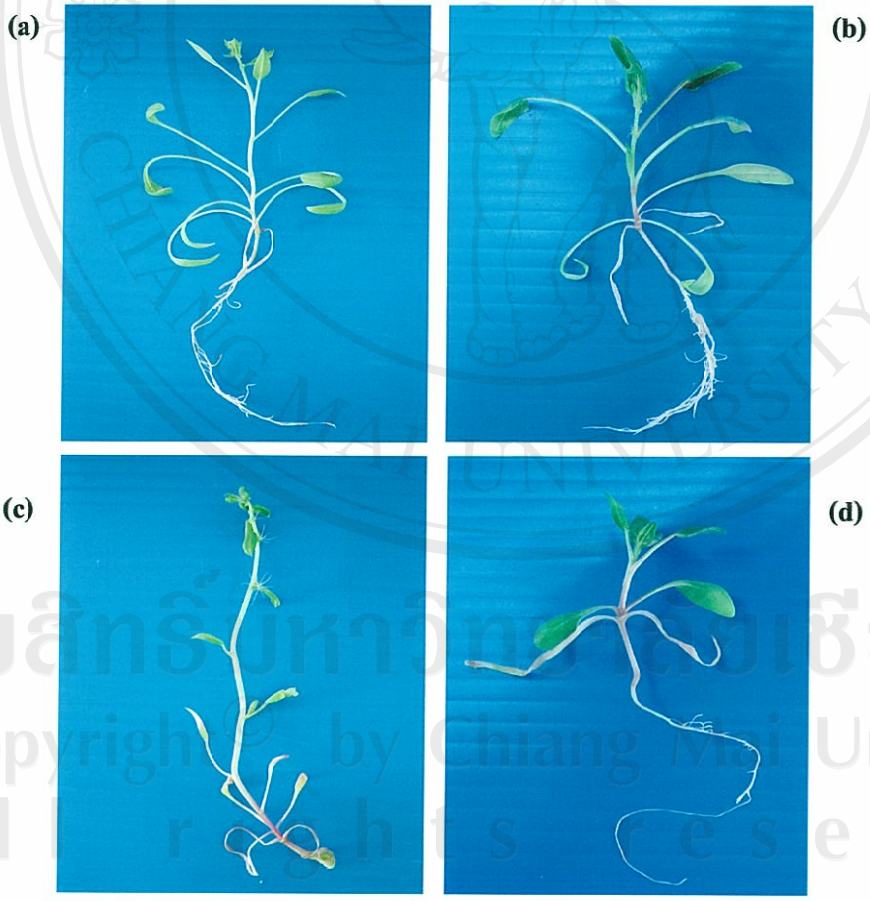
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

นอกจากนี้ยังพบว่า การตอบสนองของต้นปวยเล้งหลังการได้รับ treatments ต่างๆ มีความแตกต่างกัน สังเกตได้จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นปวยเล้งในแต่ละ treatments ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็น 3 ลักษณะ ดังนี้

1. ต้นที่มีการยืดยาวของลำต้นจนเห็นข้อปล้องชัดเจน (bolting) และมีการเจริญของดอกในเวลาต่อมา ส่วนใหญ่พบต้นที่มีลักษณะเช่นนี้ในกลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine และสารโพแทสเซียมคลอเรท (ภาพ 16a, b)

2. ต้นที่มีใบขนาดเล็กกว่าต้นในลักษณะอื่น ลำต้นมีการยืดยาว จนเห็นข้อปล้องชัดเจน (bolting) และมีการพัฒนาของดอกไปพร้อมๆ กัน ส่วนใหญ่พบต้นที่มีลักษณะเช่นนี้ในกลุ่มที่ได้รับอุณหภูมิต่ำ 10 °C เป็นเวลา 20 วัน (ภาพ 16c)

3. ต้นที่มีลักษณะเป็นพุ่มเตี้ย (resette) ไม่มีการยืดยาวของลำต้น ส่วนใหญ่พบต้นที่มีลักษณะเช่นนี้ในกลุ่มควบคุม (ภาพ 16d)



ภาพ 16 แสดงต้นปวยเล้งอายุ 28 วัน ในกลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine ความเข้มข้น 125 μM (a) กลุ่มที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท ความเข้มข้น 250 μM (b) กลุ่มที่ได้รับอุณหภูมิต่ำ 10 °C เป็นเวลา 20 วัน (c) และกลุ่มควบคุม (d)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.2 การตรวจสอบกระบวนการ DNA methylation ในปวยเล้ง โดยเทคนิค HAT-RAPD

ในการทดลองนี้ได้ตรวจสอบกระบวนการ DNA methylation ในปวยเล้งที่ถูกชักนำด้วยการให้สารเคมีและอุณหภูมิต่ำ โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ (1) กลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine (2) กลุ่มที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท (3) กลุ่มที่ได้รับอุณหภูมิ 10 °C เป็นเวลา 20 วัน และ(4) กลุ่มควบคุม โดยได้ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างต้นปวยเล้งในแต่ละกลุ่มๆ ละ 5 ต้น มาวิเคราะห์ทุกสัปดาห์ จนกว่าจะออกดอก นั่นคือ ทำการเก็บตัวอย่าง ณ วันที่ 14, 21 และ 28 วันหลังเมล็ดงอก ตามลำดับ หลังจากที่ตัดตัวอย่างดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *MspI* และสุ่มใช้ 2 ไพรเมอร์ ได้แก่ OPW-09 และ OPL-04 แล้ววิเคราะห์โดย agarose gel electrophoresis มีผลการทดลองดังต่อไปนี้

<u>ต้นปวยเล้งอายุ 14 วัน</u>

- **การใช้ไพรเมอร์ OPW-09**

พบว่าเกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่างในกลุ่มที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 7) และกลุ่มควบคุม จำนวน 1 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลที่ 950 คู่เบส (ภาพ 17, a)

- **การใช้ไพรเมอร์ OPL-04**

พบว่าเกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่างในกลุ่มที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 7) และกลุ่มควบคุม จำนวน 2 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 800 –1200 คู่เบส (ภาพ 18, a)

<u>ต้นปวยเล้งอายุ 21 วัน</u>

- **การใช้ไพรเมอร์ OPW-09**

พบว่า เกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่างในกลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine (หมายเลข 1) และกลุ่มควบคุม จำนวน 1 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ที่ 950 คู่เบส และเกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่างในกลุ่มที่ได้รับอุณหภูมิ 10 °C (หมายเลข 14) และกลุ่มควบคุม จำนวน 1 แถบ ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ที่ 950 คู่เบส (ภาพ 17, b)

- **การใช้ไพรเมอร์ OPL-04**

พบว่า เกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่างในกลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine (หมายเลข 1) และกลุ่มควบคุม จำนวน 2 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 800 –1200 คู่เบส และเกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่างในกลุ่มที่ได้รับอุณหภูมิ 10 °C (หมายเลข 14) และกลุ่มควบคุม จำนวน 1 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 1200 คู่เบส (ภาพ 18, b)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

<u>ต้นปวยเล้งอายุ 28 วัน</u>

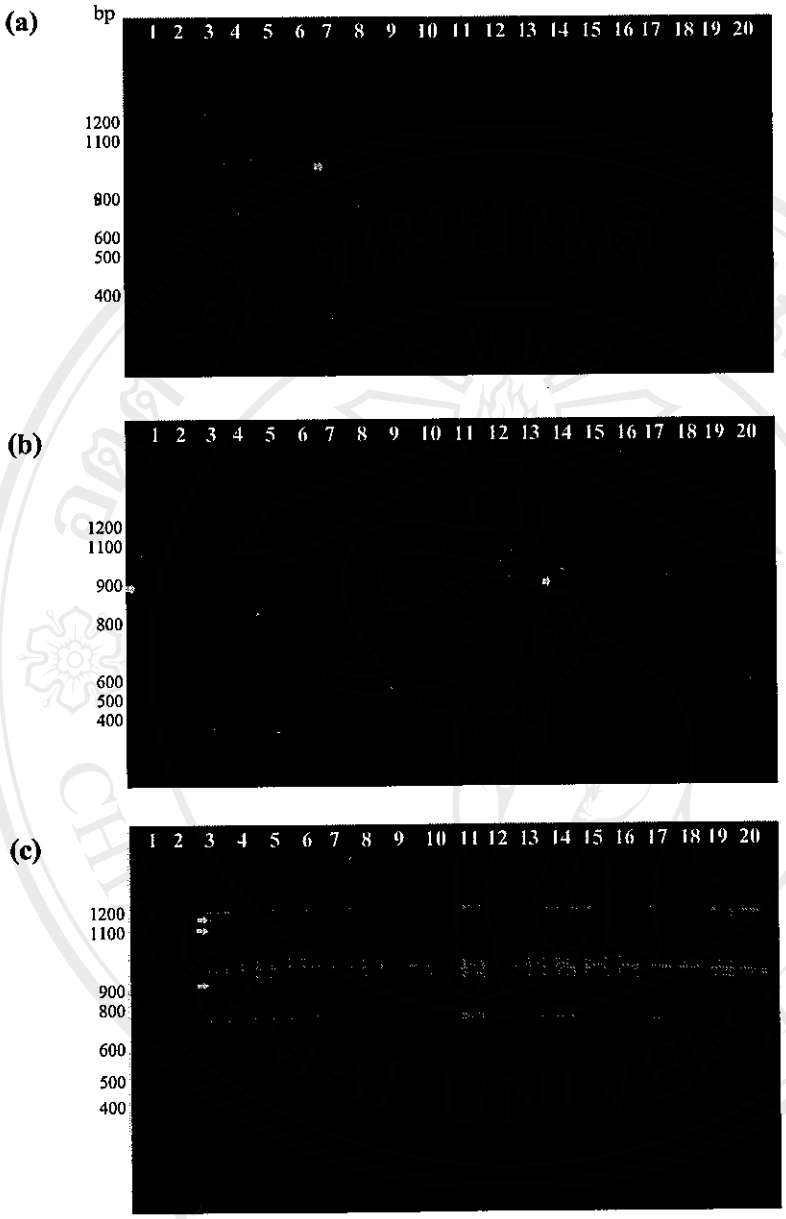
- **การใช้ไพรเมอร์ OPW-09**

พบว่า เกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่างในกลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine (หมายเลข 3) และกลุ่มควบคุม จำนวน 3 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 900 –1200 คู่เบส (ภาพ 17, c)

- **การใช้ไพรเมอร์ OPL-04**

พบว่า เกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่างในกลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine (หมายเลข 3) และกลุ่มควบคุม จำนวน 4 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 800 –1400 คู่เบส (ภาพ 18, c)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 17 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของตัวอย่างปวยเล้งอายุ 14 วัน (a) 21วัน (b) และอายุ 28 วัน (c) หลังจากการตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I เพื่อตรวจสอบกระบวนการ DNA methylation โดยเทคนิค HAT-RAPD ที่ใช้ไพรเมอร์ OPW-09 และวิเคราะห์โดย agarose gel electrophoresis

1 – 5 ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine ความเข้มข้น 125 μM

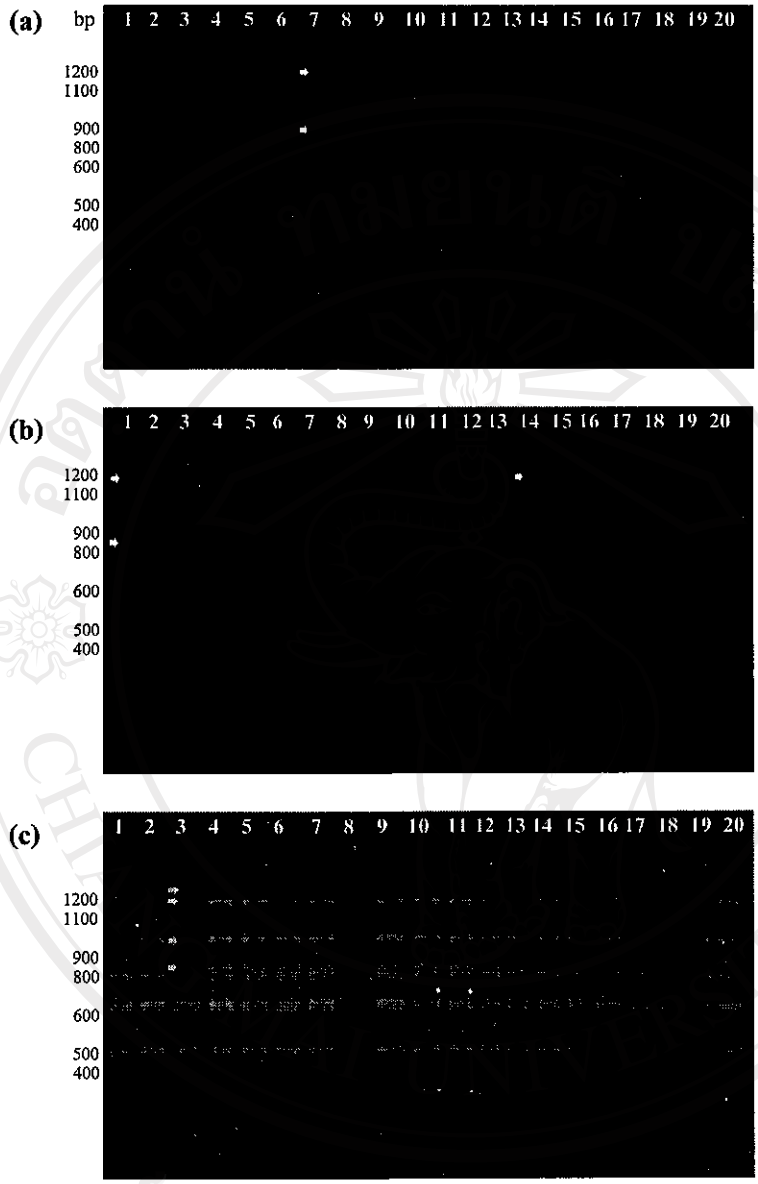
6 – 10 ตัวอย่างที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท ความเข้มข้น 250 μM

11 – 15 ตัวอย่างที่ได้รับอุณหภูมิ 10 °C เป็นเวลา 20 วัน

16 – 20 ตัวอย่างในกลุ่มควบคุม

หมายเหตุ : ลูกศร แสดงการเกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 18 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของตัวอย่างปวยเล้งอายุ 14 วัน (a) 21วัน (b) และอายุ 28 วัน (c) หลังจากการตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I เพื่อตรวจสอบกระบวนการ DNA methylation โดยเทคนิค HAT-RAPD ที่ใช้ไพรเมอร์ OPL-04 และวิเคราะห์โดย agarose gel electrophoresis

1 – 5 ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine ความเข้มข้น 125 μM

6 – 10 ตัวอย่างที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท ความเข้มข้น 250 μM

11 – 15 ตัวอย่างที่ได้รับอุณหภูมิ 10 °C เป็นเวลา 20 วัน

16 – 20 ตัวอย่างในกลุ่มควบคุม

หมายเหตุ : ลูกศร แสดงการเกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ในการวิเคราะห์โดย polyacrylamide gel electrophoresis มีผลการทดลองดังต่อไปนี้

ต้นปวยเล้งอายุ 14 วัน

- **การใช้ไพรเมอร์ OPW-09**

พบว่าเกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่างในกลุ่มที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 7) และกลุ่มควบคุม จำนวน 6 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 600 –1200 คู่เบส (ภาพ 19, a)

ต้นปวยเล้งอายุ 21 วัน

- **การใช้ไพรเมอร์ OPW-09**

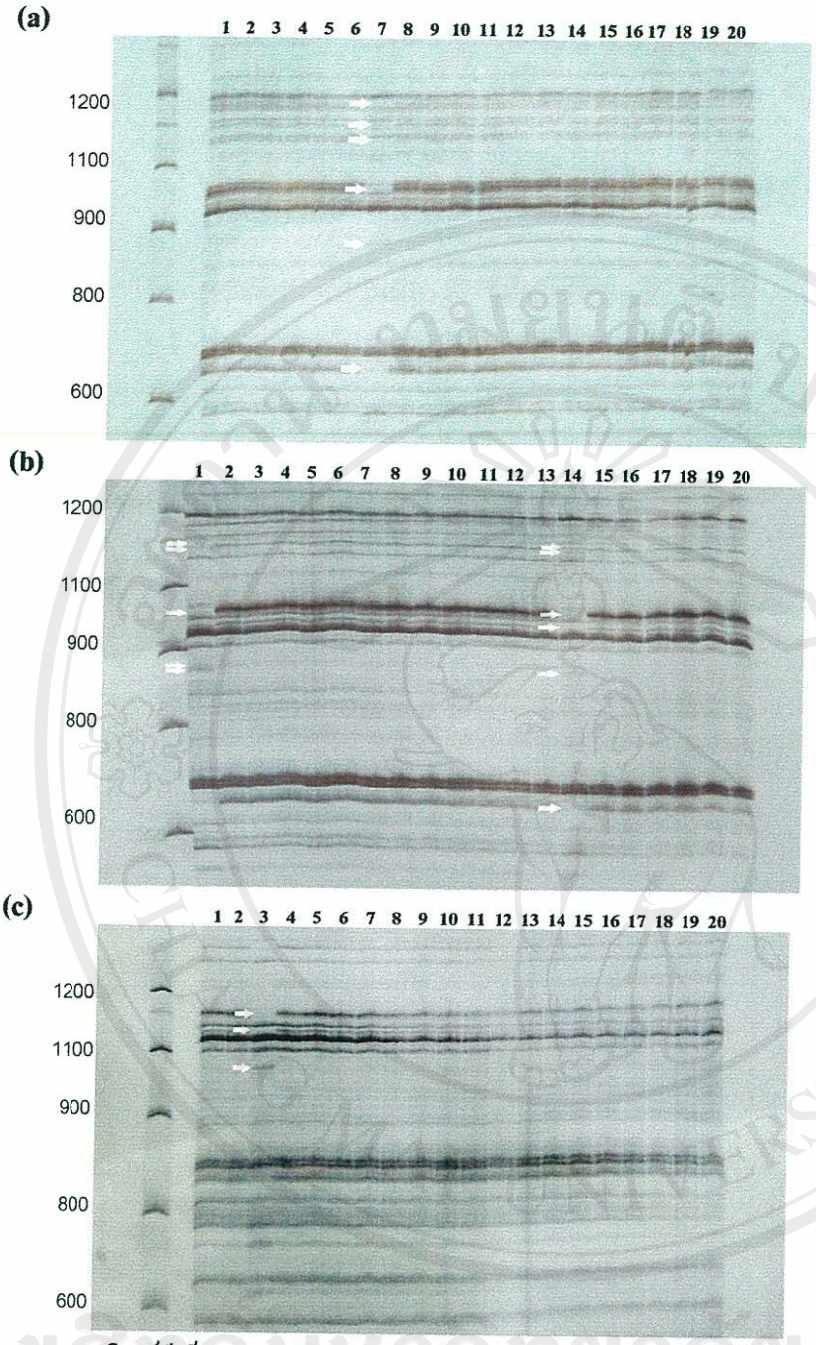
พบว่า เกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่างในกลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine (หมายเลข 1) และกลุ่มควบคุม จำนวน 5 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 800 –1200 คู่เบส และเกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่างในกลุ่มที่ได้รับอุณหภูมิ 10 °C (หมายเลข 14) และกลุ่มควบคุม จำนวน 6 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 600 –1200 คู่เบส (ภาพ 19, b)

ต้นปวยเล้งอายุ 28 วัน

- **การใช้ไพรเมอร์ OPW-09**

พบว่า เกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่างในกลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine (หมายเลข 3) และกลุ่มควบคุม จำนวน 3 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 900 –1200 คู่เบส (ภาพ 19, c)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 19 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของตัวอย่างปวยเล้งอายุ 14 วัน (a) 21วัน (b) และอายุ 28 วัน (c) หลังจากการตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I เพื่อตรวจสอบกระบวนการ DNA methylation โดยเทคนิค HAT-RAPD ที่ใช้ไพรเมอร์ OPW-09 และวิเคราะห์โดย polyacrylamide gel electrophoresis

1 – 5 ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine ความเข้มข้น 125 μM

6 – 10 ตัวอย่างที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท ความเข้มข้น 250 μM

11 – 15 ตัวอย่างที่ได้รับอุณหภูมิ 10 °C เป็นเวลา 20 วัน

16 – 20 ตัวอย่างในกลุ่มควบคุม

หมายเหตุ : ลูกศร แสดงการเกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากการตรวจสอบ DNA methylation โดยเทคนิค HAT-RAPD ในปวยเล้ง ซึ่งได้พิจารณาจากการปรากฏแถบ และไม่ปรากฏแถบของลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากการใช้ไพรเมอร์ OPW-09 และ OPL-04 โดยทำการเปรียบเทียบกันภายในกลุ่มตัวอย่างที่ตัดด้วยเอนไซม์ชนิดเดียวกัน สามารถสรุปผลการทดลองได้ดังนี้

(1) ตัวอย่างในกลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine พบว่ามีตัวอย่างที่เกิดแถบดีเอ็นเอแตกต่างจากกลุ่มควบคุม นั่นคือเกิด demethylation ขึ้น โดยเกิดในต้นปวยเล้งอายุ 21 วัน (หมายเลข 1 แสดงในภาพ 17b, 18b, 19b) และต้นปวยเล้งอายุ 28 วัน (หมายเลข 3 แสดงในภาพ 17c, 18c, 19c)

(2) ตัวอย่างในกลุ่มที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท พบว่ามีตัวอย่างที่เกิดแถบดีเอ็นเอแตกต่างจากกลุ่มควบคุม นั่นคือเกิด demethylation ขึ้น โดยเกิดในต้นปวยเล้งอายุ 14 วัน (หมายเลข 7 แสดงในภาพ 17a, 18a, 19a)

(3) ตัวอย่างในกลุ่มที่ได้รับอุณหภูมิ 10 °C พบว่ามีตัวอย่างที่เกิดแถบดีเอ็นเอแตกต่างจากกลุ่มควบคุม นั่นคือเกิด demethylation ขึ้น โดยเกิดในต้นปวยเล้งอายุ 21 วัน (หมายเลข 14 แสดงในภาพ 17b, 18b, 19b)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4. ลำไย

4.1 ผลของสารโพแทสเซียมคลอเรทต่อการออกดอกของลำไย

การทดลองนี้ได้รับความอนุเคราะห์จากสวนลำไยของคุณทองดี ใจมูล ซึ่งอยู่ในเขตอำเภอหางดง จังหวัดเชียงใหม่ โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ (1) กลุ่มที่มีการให้สารโพแทสเซียมคลอเรท เพื่อเร่งการออกดอกของลำไย ในอัตรา 1 กิโลกรัมต่อต้น (1kg/ต้น) และ (2) กลุ่มควบคุม ซึ่งไม่มีการใส่สาร จากการทดลองพบว่า ต้นที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท มีการออกดอกภายใน 38 วันหลังใส่สาร ในขณะที่ต้นที่ไม่ได้รับสารจะไม่มีการออกดอกเลย (ตาราง 6)

ตาราง 6 แสดงผลสารโพแทสเซียมคลอเรทต่อการออกดอกของต้นลำไยพันธ์ดอ อายุ 10 ปี

	Treatments	
	$KClO_3$ (1 kg/ต้น)	กลุ่มควบคุม
จำนวนวันที่ใช้ในการออกดอก	38	-
จำนวนหน่วยทดลอง (ต้น)	3	1

4.2 การใช้เทคนิค HAT-RAPD ในการตรวจสอบกระบวนการ DNA methylation ในลำไย

ในการทดลองนี้ได้ตรวจสอบกระบวนการ DNA methylation ในลำไยที่ถูกชักนำด้วยการให้สารโพแทสเซียมคลอเรท โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ (1) กลุ่มที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท จำนวน 3 ต้น และ(2) กลุ่มควบคุม จำนวน 1 ต้น รวมเป็น 4 ต้น โดยได้ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างใบจากต้นลำไยในแต่ละต้นๆ ละ 4 กิ่ง มาวิเคราะห์ทุก 10 วัน จนกว่าจะออกดอก นั่นคือ ทำการเก็บตัวอย่าง ณ วันที่ 20, 30 และ 40 วันหลังใส่สาร ตามลำดับ หลังจากที่ตัดตัวอย่างดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Hpa*II และ *Msp*I แล้วสุ่มใช้ 5 ไพรเมอร์ ได้แก่ OPW-09, OPL-04, OPC-09, OPH-06 และ OPL-15 และวิเคราะห์โดย agarose gel electrophoresis ซึ่งมีผลการทดลองดังต่อไปนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

<u>ต้นลำไยที่ระยะ 30 วัน หลังใส่สารโพแทสเซียมคลอเรท</u>

- **การใช้ไพรเมอร์ OPW-09**

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอ็นไซม์ *Hpa*I (ภาพ 20, a) : เกิดแถบดีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 11 แถบ เท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอ็นไซม์ *Msp*I (ภาพ 20, b) : เกิดแถบดีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 15 แถบ เท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

- **การใช้ไพรเมอร์ OPL-04**

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอ็นไซม์ *Hpa*II (ภาพ 21, a) : เกิดแถบดีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 10 แถบ เท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วย เอ็นไซม์ *Msp*I (ภาพ 21, b) : เกิดแถบดีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 11 แถบ เท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

- **การใช้ไพรเมอร์ OPC-09**

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอ็นไซม์ *Hpa*II (ภาพ 22, a) : เกิดแถบดีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 8 แถบ เท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอ็นไซม์ *Msp*I (ภาพ 22, b) : เกิดแถบดีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 10 แถบ เท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

- **การใช้ไพรเมอร์ OPH-06**

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอ็นไซม์ *Hpa*II (ภาพ 23, a) : เกิดแถบดีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 11 แถบ เท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

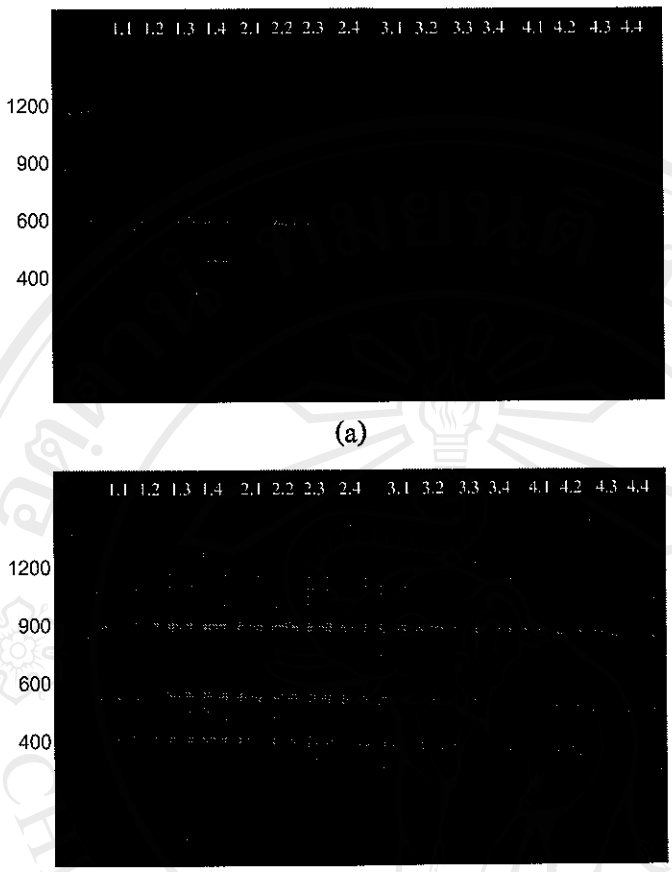
ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอ็นไซม์ *Msp*I (ภาพ 23, b) : เกิดแถบดีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 8 แถบ เท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

- **การใช้ไพรเมอร์ OPL-15**

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอ็นไซม์ *Hpa*II (ภาพ 24, a) : เกิดแถบดีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 8 แถบ เท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอ็นไซม์ *Msp*I (ภาพ 24, b) : เกิดแถบดีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 15 แถบ เท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 20 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของตัวอย่างลำไย ที่ระยะ 30 วันหลังใส่สารโพแทสเซียมคลอเรท (ต้นที่ 1 2 และ 3) เปรียบเทียบกับต้นควบคุม (ต้นที่ 4) โดยเทคนิค HAT-RAPD ที่ใช้ไพรเมอร์ OPW-09 และวิเคราะห์โดย agarose gel electrophoresis

(a) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

(b) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

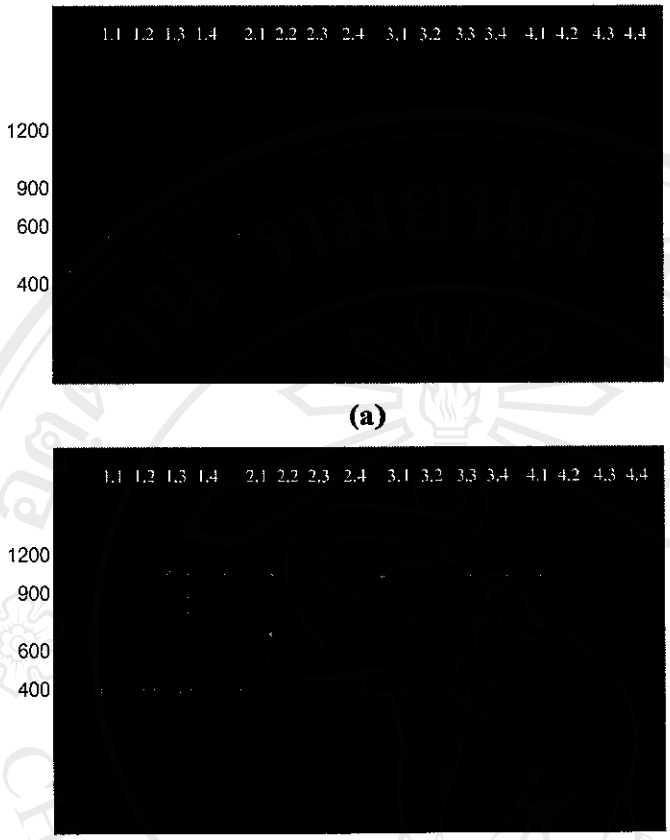
1.1 – 1.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 1 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

2.1 – 2.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 2 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

3.1 – 3.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 3 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

4.1 – 4.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 4 ซึ่งเป็นต้นควบคุม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 21 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของตัวอย่างลำไย ที่ระยะ 30 วันหลังใส่สารโพแทสเซียมคลอเรท (ต้นที่ 1 2 และ 3) เปรียบเทียบกับต้นควบคุม (ต้นที่ 4) โดยเทคนิค HAT-RAPD ที่ใช้ไพรเมอร์ OPL-04 และวิเคราะห์โดย agarose gel electrophoresis

(a) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

(b) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

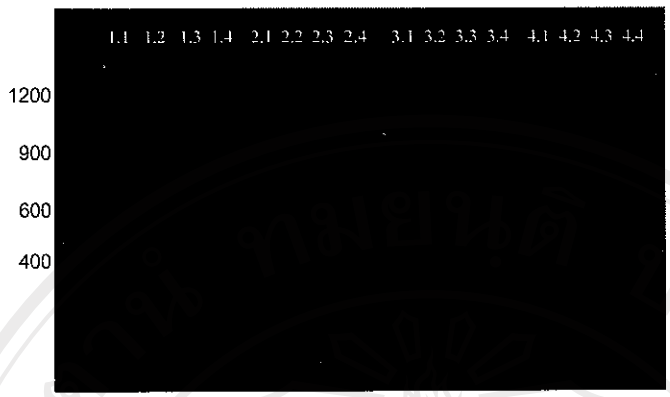
1.1 – 1.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 1 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

2.1 – 2.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 2 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

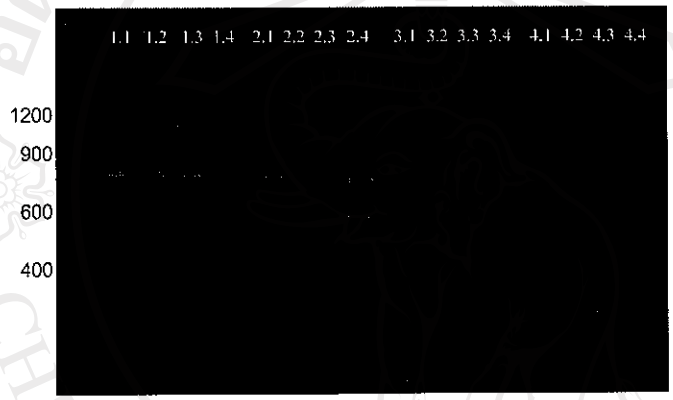
3.1 – 3.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 3 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

4.1 – 4.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 4 ซึ่งเป็นต้นควบคุม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



(a)



(b)

ภาพ 22 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของตัวอย่างลำไย ที่ระยะ 30 วันหลังใส่สารโพแทสเซียมคลอเรท (ต้นที่ 1 2 และ 3) เปรียบเทียบกับต้นควบคุม (ต้นที่ 4) โดยเทคนิค HAT-RAPD ที่ใช้ไพรเมอร์ OPC-09 และวิเคราะห์โดย agarose gel electrophoresis

(a) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

(b) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

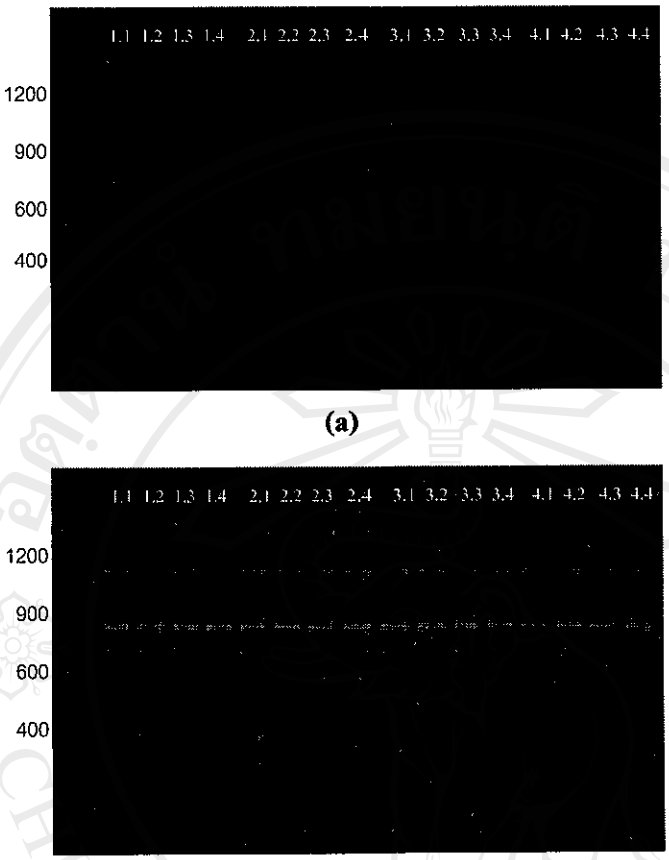
1.1 – 1.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 1 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

2.1 – 2.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 2 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

3.1 – 3.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 3 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

4.1 – 4.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 4 ซึ่งเป็นต้นควบคุม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 23 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของตัวอย่างลำไย ที่ระยะ 30 วันหลังใส่สารโพแทสเซียมคลอเรท (ต้นที่ 1 2 และ 3) เปรียบเทียบกับต้นควบคุม (ต้นที่ 4) โดยเทคนิค HAT-RAPD ที่ใช้ไพรเมอร์ OPH-06 และวิเคราะห์โดย agarose gel electrophoresis

(a) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

(b) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

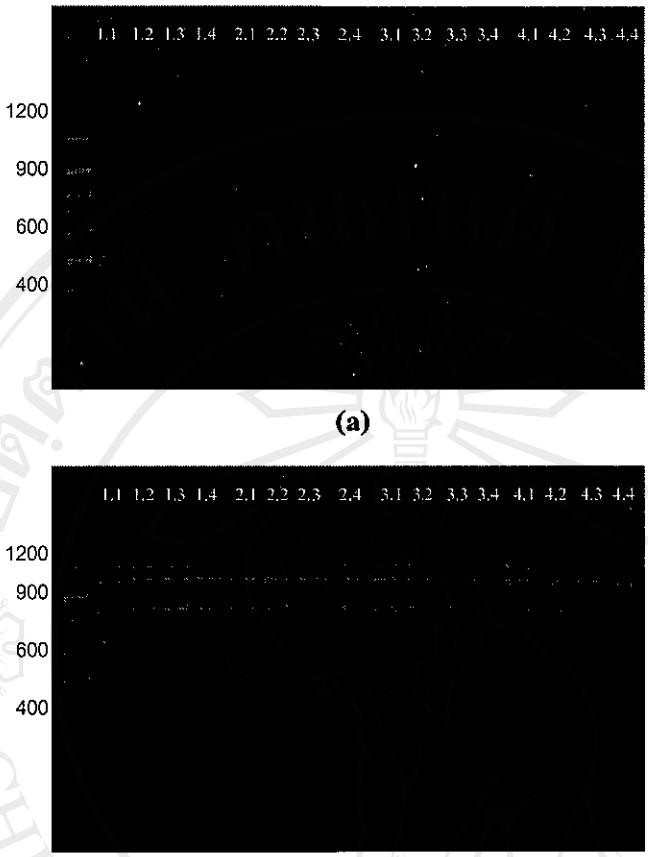
1.1 – 1.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 1 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

2.1 – 2.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 2 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

3.1 – 3.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 3 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

4.1 – 4.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 4 ซึ่งเป็นต้นควบคุม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 24 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของตัวอย่างลำไย ที่ระยะ 30 วันหลังใส่สารโพแทสเซียมคลอเรท (ต้นที่ 1 2 และ 3) เปรียบเทียบกับต้นควบคุม (ต้นที่ 4) โดยเทคนิค HAT-RAPD ที่ใช้ไพรเมอร์ OPL-15 และวิเคราะห์โดย agarose gel electrophoresis

(a) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

(b) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

1.1 – 1.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 1 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

2.1 – 2.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 2 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

3.1 – 3.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 3 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

4.1 – 4.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 4 ซึ่งเป็นต้นควบคุม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ในการวิเคราะห์โดย polyacrylamide gel electrophoresis มีผลการทดลองดังต่อไปนี้

- **การใช้ไพรเมอร์ OPW-09**

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอ็นไซม์ *Hpa*II (ภาพ 25, a) : เกิดแถบดีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 40 แถบ เท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอ็นไซม์ *Msp*I (ภาพ 25, b) : เกิดแถบดีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 32 แถบ เท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

- **การใช้ไพรเมอร์ OPL-04**

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอ็นไซม์ *Hpa*II (ภาพ 26, a) : เกิดแถบดีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 53 แถบ เท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอ็นไซม์ *Msp*I (ภาพ 26, b) : เกิดแถบดีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 38 แถบ เท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

- **การใช้ไพรเมอร์ OPC-09**

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอ็นไซม์ *Hpa*II (ภาพ 27, a) : เกิดแถบดีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 30 แถบ เท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอ็นไซม์ *Msp*I (ภาพ 27, b) : เกิดแถบดีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 25 แถบ เท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

- **การใช้ไพรเมอร์ OPH-06**

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอ็นไซม์ *Hpa*II (ภาพ 28, a) : เกิดแถบดีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 20 แถบ เท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

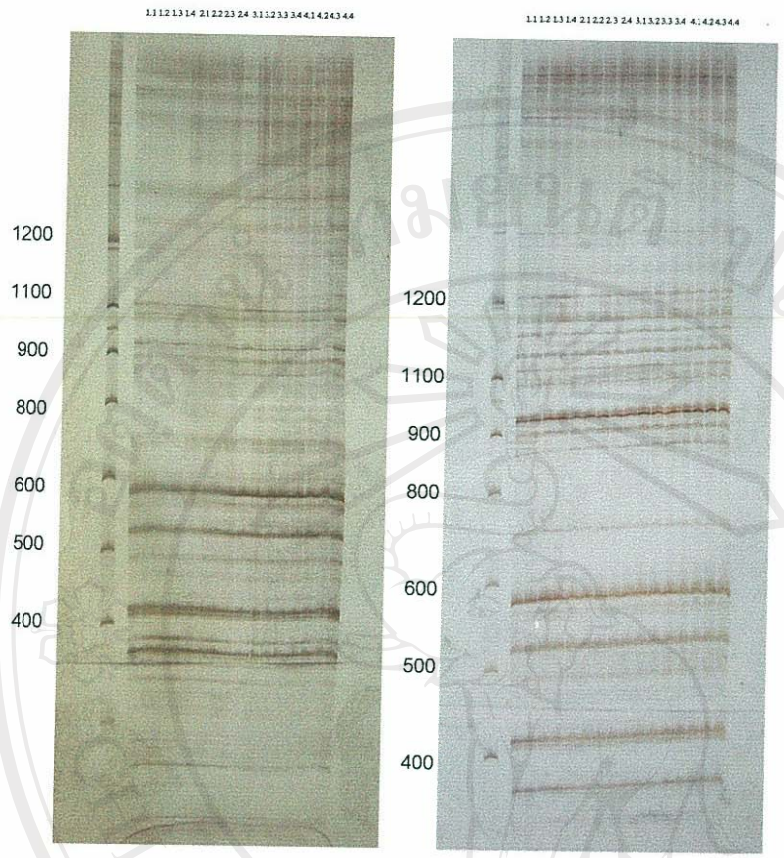
ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอ็นไซม์ *Msp*I (ภาพ 28, b) : เกิดแถบดีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 15 แถบ เท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

- **การใช้ไพรเมอร์ OPL-15**

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอ็นไซม์ *Hpa*II (ภาพ 29, a) : เกิดแถบดีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 27 แถบ เท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอ็นไซม์ *Msp*I (ภาพ 29, b) : เกิดแถบดีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 29 แถบ เท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



(a) **(b)**

ภาพ 25 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของตัวอย่างลำไย ที่ระยะ 30 วันหลังใส่สารโพแทสเซียมคลอเรท (ต้นที่ 1 2 และ 3) เปรียบเทียบกับต้นควบคุม (ต้นที่ 4) โดยเทคนิค HAT-RAPD ที่ใช้ไพรเมอร์ OPW-09 และวิเคราะห์โดย polyacrylamide gel electrophoresis

(a) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

(b) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

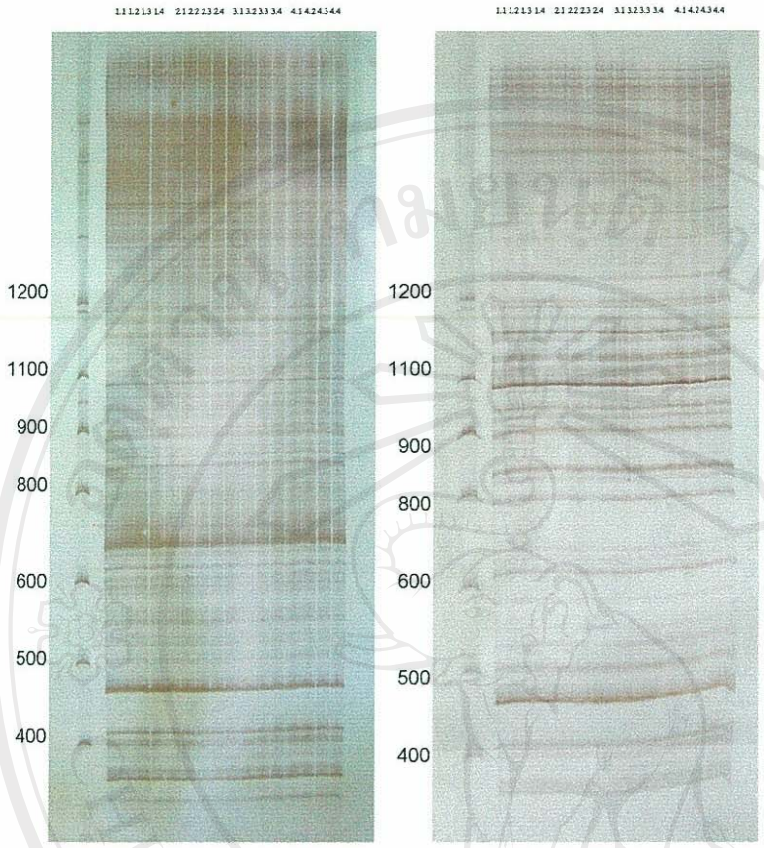
1.1 – 1.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 1 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

2.1 – 2.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 2 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

3.1 – 3.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 3 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

4.1 – 4.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 4 ซึ่งเป็นต้นควบคุม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 26 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของตัวอย่างลำไย ที่ระยะ 30 วันหลังใส่สารโพแทสเซียมคลอเรท (ต้นที่ 1 2 และ 3) เปรียบเทียบกับต้นควบคุม (ต้นที่ 4) โดยเทคนิค HAT-RAPD ที่ใช้ไพรเมอร์ OPL-04 และวิเคราะห์โดย polyacrylamide gel electrophoresis

(a) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

(b) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

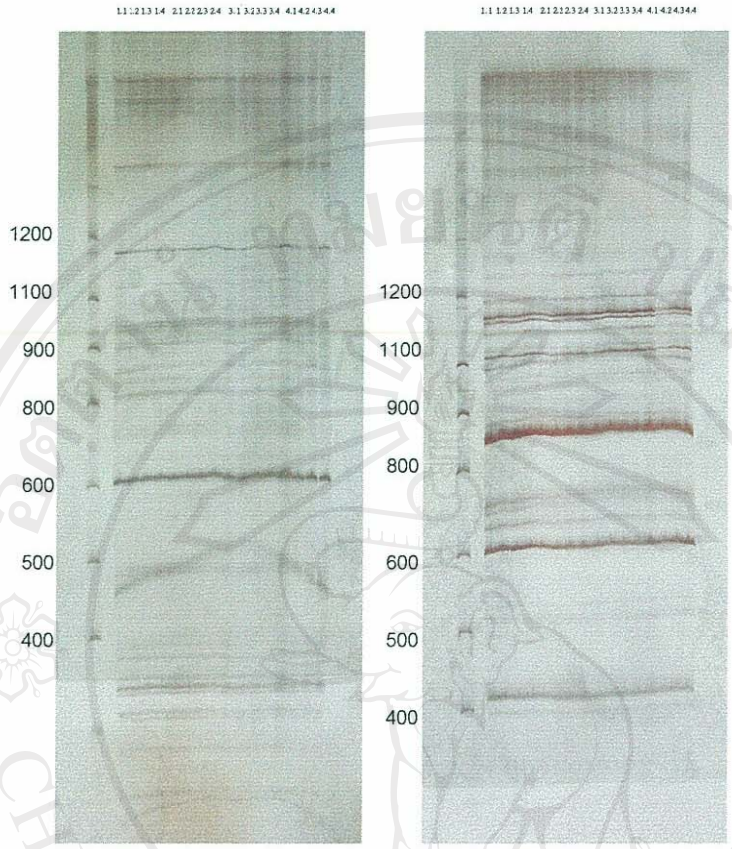
1.1 – 1.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 1 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

2.1 – 2.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 2 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

3.1 – 3.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 3 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

4.1 – 4.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 4 ซึ่งเป็นต้นควบคุม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



(a) **(b)**

ภาพ 27 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของตัวอย่างลำไย ที่ระยะ 30 วันหลังใส่สารโพแทสเซียมคลอเรท (ต้นที่ 1 2 และ 3) เปรียบเทียบกับต้นควบคุม (ต้นที่ 4) โดยเทคนิค HAT-RAPD ที่ใช้ไพรเมอร์ OPC-09 และวิเคราะห์โดย polyacrylamide gel electrophoresis

(a) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

(b) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

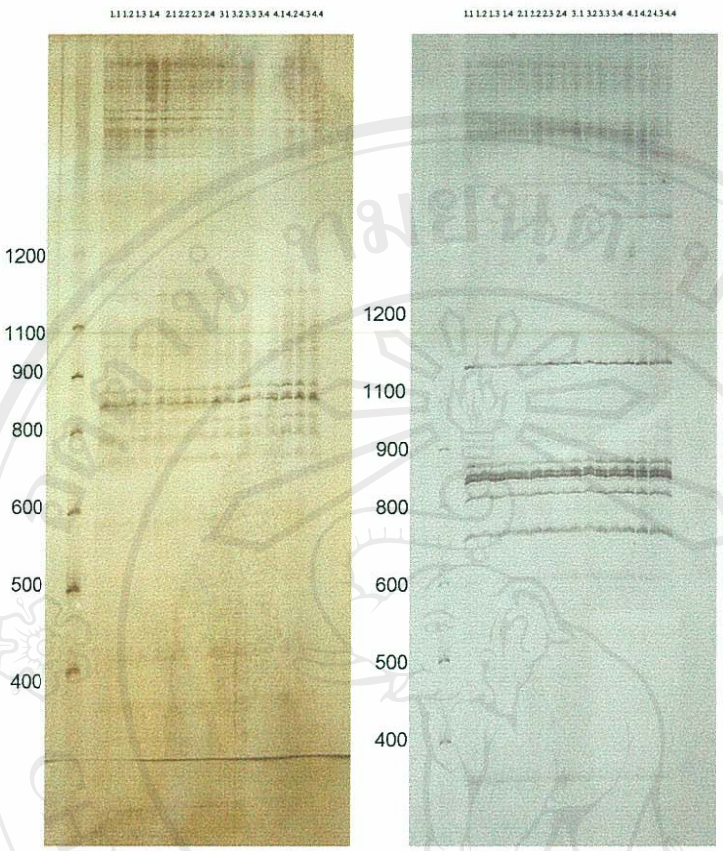
1.1 – 1.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 1 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

2.1 – 2.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 2 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

3.1 – 3.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 3 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

4.1 – 4.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 4 ซึ่งเป็นต้นควบคุม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



(a) **(b)**

ภาพ 28 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของตัวอย่างลำไย ที่ระยะ 30 วันหลังใส่สารโพแทสเซียมคลอเรท (ต้นที่ 1 2 และ 3) เปรียบเทียบกับต้นควบคุม (ต้นที่ 4) โดยเทคนิค HAT-RAPD ที่ใช้ไพรเมอร์ OPH-06 และวิเคราะห์โดย polyacrylamide gel electrophoresis

(a) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

(b) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

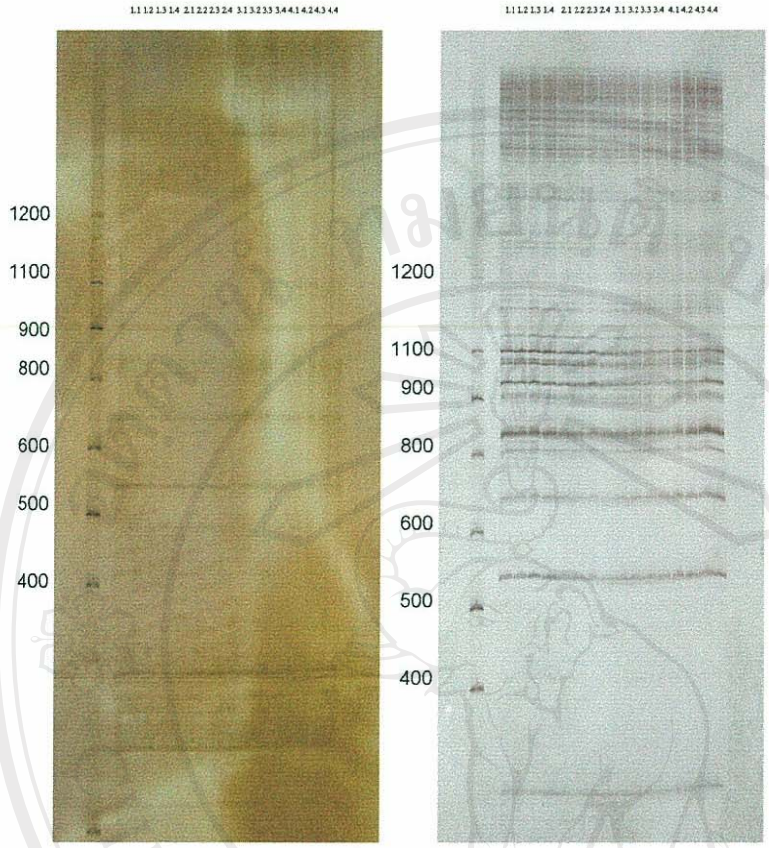
1.1 – 1.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 1 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

2.1 – 2.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 2 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

3.1 – 3.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 3 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

4.1 – 4.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 4 ซึ่งเป็นต้นควบคุม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



(a) **(b)**

ภาพ 29 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของตัวอย่างลำไย ที่ระยะ 30 วันหลังใส่สารโพแทสเซียมคลอเรท (ต้นที่ 1 2 และ 3) เปรียบเทียบกับต้นควบคุม (ต้นที่ 4) โดยเทคนิค HAT-RAPD ที่ใช้ไพรเมอร์ OPL-15 และวิเคราะห์โดย polyacrylamide gel electrophoresis

(a) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

(b) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

1.1 – 1.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 1 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

2.1 – 2.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 2 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

3.1 – 3.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 3 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

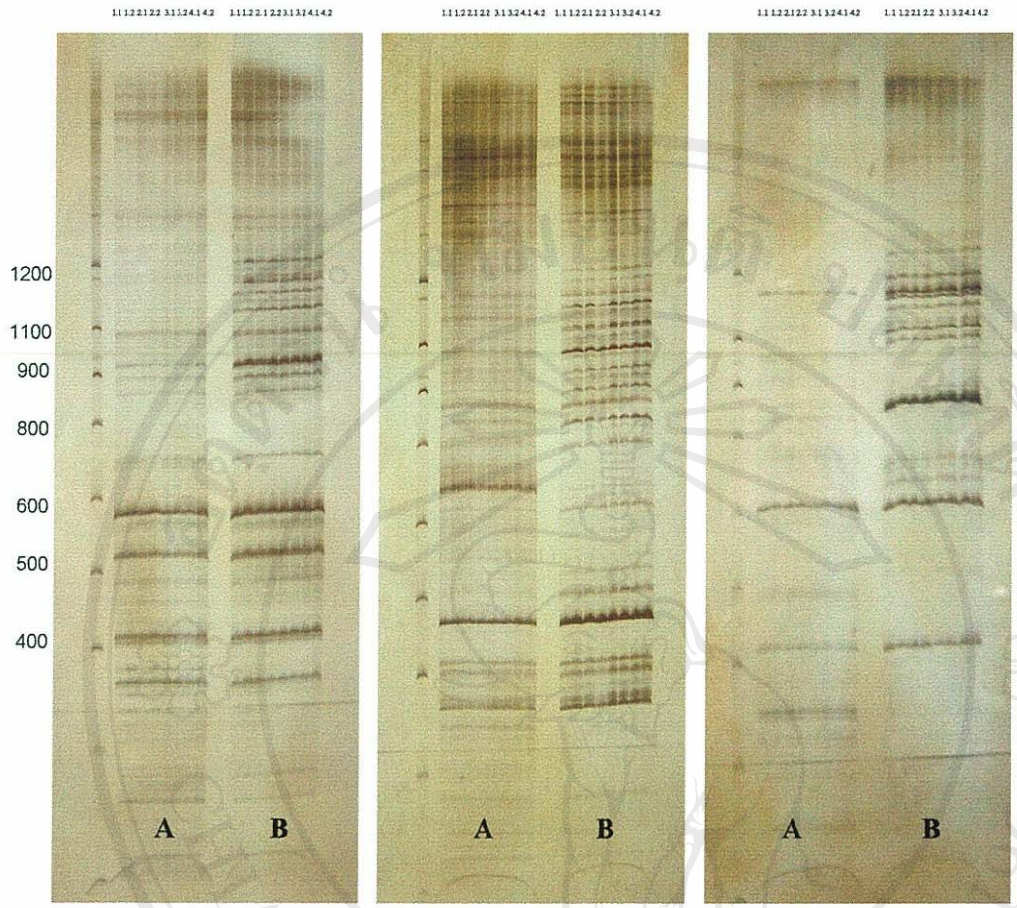
4.1 – 4.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 4 ซึ่งเป็นต้นควบคุม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ต้นลำไยที่ระยะ 20 วัน หลังใส่สารโพแทสเซียมคลอเรท

ในการทดลองนี้ได้สุ่มเก็บตัวอย่างใบจากต้นลำไยในแต่ละต้นๆ ละ 2 กิ่งมาทำการตรวจสอบ DNA methylation ซึ่งหลังจากที่ตัดตัวอย่างดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะแต่ละชนิด และสุ่มใช้ 5 ไพรเมอร์ ได้แก่ OPW-09, OPL-04, OPC-09, OPH-06 และ OPL-15 แล้ววิเคราะห์โดย polyacrylamide gel electrophoresis พบว่า มีผลการทดลองเช่นเดียวกับการตรวจสอบ DNA methylation ของต้นลำไยที่ระยะ 30 วันหลังใส่สาร นั่นคือ ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม (ภาพ 30, 31)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 30 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของตัวอย่างลำไย ที่ระยะ 20 วันหลังใส่สารโพแทสเซียมคลอเรท (ต้นที่ 1 2 และ 3) เปรียบเทียบกับต้นควบคุม (ต้นที่ 4) โดยเทคนิค HAT-RAPD ที่ใช้ไพรเมอร์ OPW-09 (a) OPL-04 (b) และ OPC-09 (c) วิเคราะห์โดย polyacrylamide gel electrophoresis

A แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

B แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

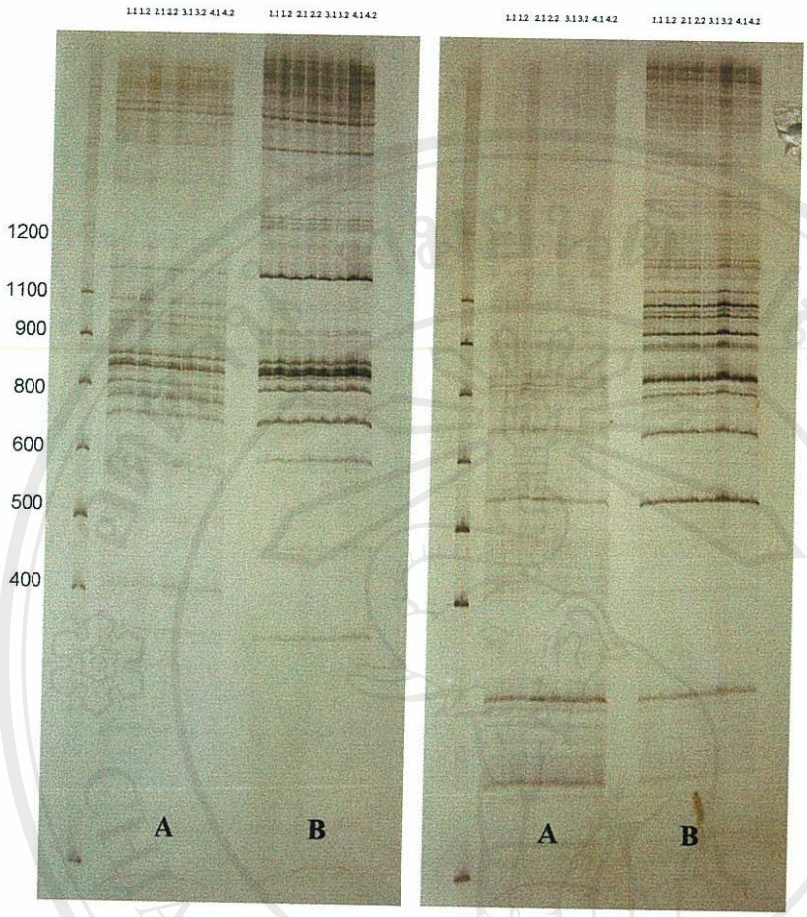
1.1 – 1.2 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 1 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

2.1 – 2.2 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 2 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

3.1 – 3.2 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 3 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

4.1 – 4.2 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 4 ซึ่งเป็นต้นควบคุม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 31 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของตัวอย่างลำไย ที่ระยะ 20 วันหลังใส่สารโพแทสเซียมคลอเรท (ต้นที่ 1 2 และ 3) เปรียบเทียบกับต้นควบคุม (ต้นที่ 4) โดยเทคนิค HAT-RAPD ที่ใช้ไพรเมอร์ OPH-06 (a) และ OPL-15 (b) วิเคราะห์โดย polyacrylamide gel electrophoresis

A แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

B แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

1.1 – 1.2 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 1 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

2.1 – 2.2 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 2 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

3.1 – 3.2 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 3 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

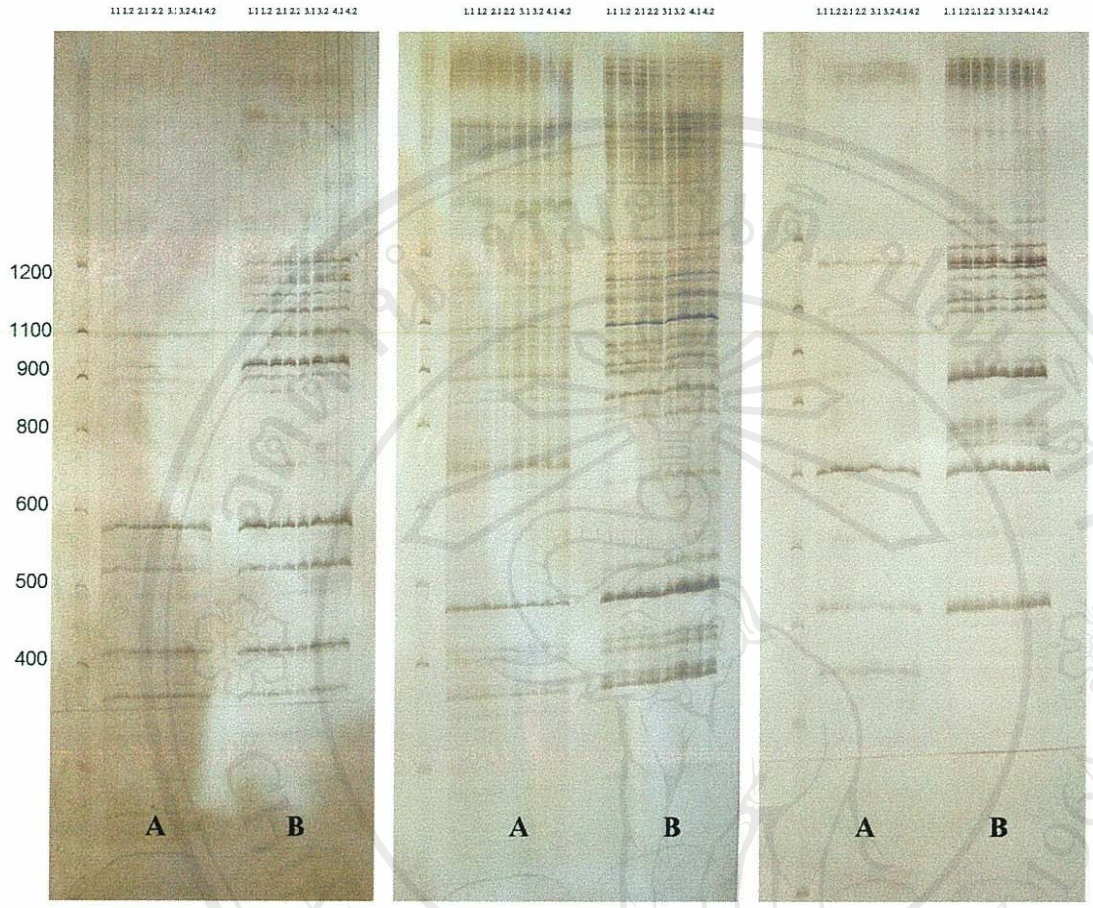
4.1 – 4.2 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 4 ซึ่งเป็นต้นควบคุม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ต้นลำไยที่ระยะ 40 วัน หลังใส่สารโพแทสเซียมคลอเรท

ในการทดลองนี้ได้สุ่มเก็บตัวอย่างใบจากต้นลำไยในแต่ละต้นๆ ละ 2 กิ่งมาทำการตรวจสอบ DNA methylation ซึ่งหลังจากที่ตัดตัวอย่างดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะแต่ละชนิด และสุ่มใช้ 5 ไพรเมอร์ ได้แก่ OPW-09, OPL-04, OPC-09, OPH-06 และ OPL-15 แล้ววิเคราะห์โดย polyacrylamide gel electrophoresis พบว่า มีผลการทดลองเช่นเดียวกับการตรวจสอบ DNA methylation ของต้นลำไยที่ระยะ 30 วันหลังใส่สาร นั่นคือ ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม (ภาพ 32, 33)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



(a) (b) (c)

ภาพ 32 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของตัวอย่างลำไย ที่ระยะ 40 วันหลังใส่สารโพแทสเซียมคลอเรท (ต้นที่ 1 2 และ 3) เปรียบเทียบกับต้นควบคุม (ต้นที่ 4) โดยเทคนิค HAT-RAPD ที่ใช้ไพรเมอร์ OPW-09 (a) OPL-04 (b) และ OPC-09 (c) วิเคราะห์โดย polyacrylamide gel electrophoresis

A แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

B แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

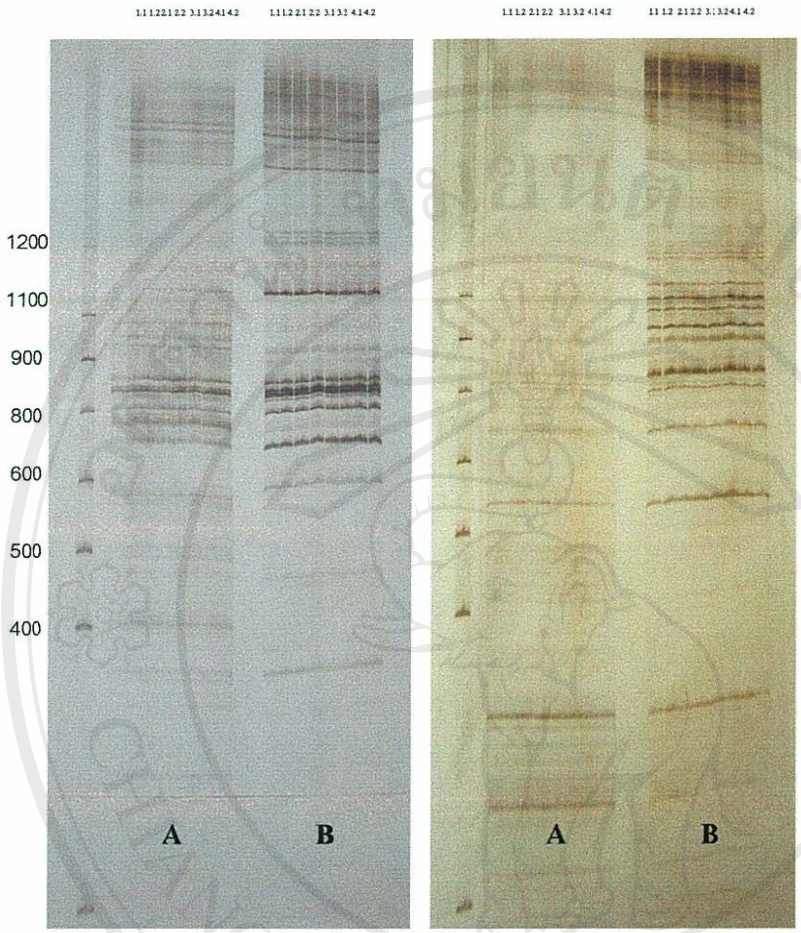
1.1 – 1.2 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 1 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

2.1 – 2.2 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 2 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

3.1 – 3.2 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 3 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

4.1 – 4.2 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 4 ซึ่งเป็นต้นควบคุม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



(a) **(b)**

ภาพ 33 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของตัวอย่างลำไย ที่ระยะ 40 วันหลังใส่สารโพแทสเซียมคลอเรท (ต้นที่ 1 2 และ 3) เปรียบเทียบกับต้นควบคุม (ต้นที่ 4) โดยเทคนิค HAT-RAPD ที่ใช้ไพรเมอร์ OPH-06 (a) และ OPL-15 (b) วิเคราะห์โดย polyacrylamide gel electrophoresis

A แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

B แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

1.1 – 1.2 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 1 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

2.1 – 2.2 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 2 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

3.1 – 3.2 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 3 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

4.1 – 4.2 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 4 ซึ่งเป็นต้นควบคุม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากการตรวจสอบกระบวนการ DNA methylation โดยเทคนิค HAT-RAPD ในลำไย ซึ่งได้พิจารณาจากการปรากฏแถบ และไม่ปรากฏแถบของลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากการใช้ไพรเมอร์ OPW-09, OPL-04, OPC-09, OPH-06 และ OPL-15 โดยทำการเปรียบเทียบกันภายในกลุ่มตัวอย่างที่ตัดด้วยเอนไซม์ชนิดเดียวกัน ซึ่งในการทดลองนี้ได้ทำการตรวจสอบในลำไยอายุ 10 ปี ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท ที่ระยะ 20 30 และ 40 วันหลังใส่สาร จากผลการทดลอง ไม่พบว่าเกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างตัวอย่างในกลุ่มที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรทที่ระยะต่างๆ และตัวอย่างในกลุ่มควบคุม นั่นคือ ตรวจไม่พบ demethylation ในตัวอย่างลำไยในระยะต่างๆ ที่นำมาตรวจสอบ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved