

บทที่ 4

ผลการทดลอง

ในการวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาผลของสาร 5-azacytidine สารโพแทสเซียมคลอเรต และอุณหภูมิค่า ในพืช 4 ชนิด ได้แก่ ข้าว พิทูเนีย ปวยเล้ง และลำไย การที่นำข้าวและพิทูเนียมาระดับใน การทดลองครั้งนี้ด้วย เนื่องจากมีรายงานมาก่อนแล้วว่าสาร 5-azacytidine มีผลไปลดกระบวนการ เทิมหมู่ methyl ในพืชทั้ง 2 ชนิดดังกล่าว ดังนั้นถ้าผลจากการตรวจสอบกระบวนการ DNA methylation โดยเทคนิค HAT-RAPD สามารถบ่งบอกความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มที่ไม่ได้รับสาร 5-azacytidine ในข้าวและพิทูเนียได้ ก็จะสามารถนำเทคนิคนี้ไปใช้ในการตรวจสอบกระบวนการ DNA methylation ในลำไยและปวยเล้งต่อไป

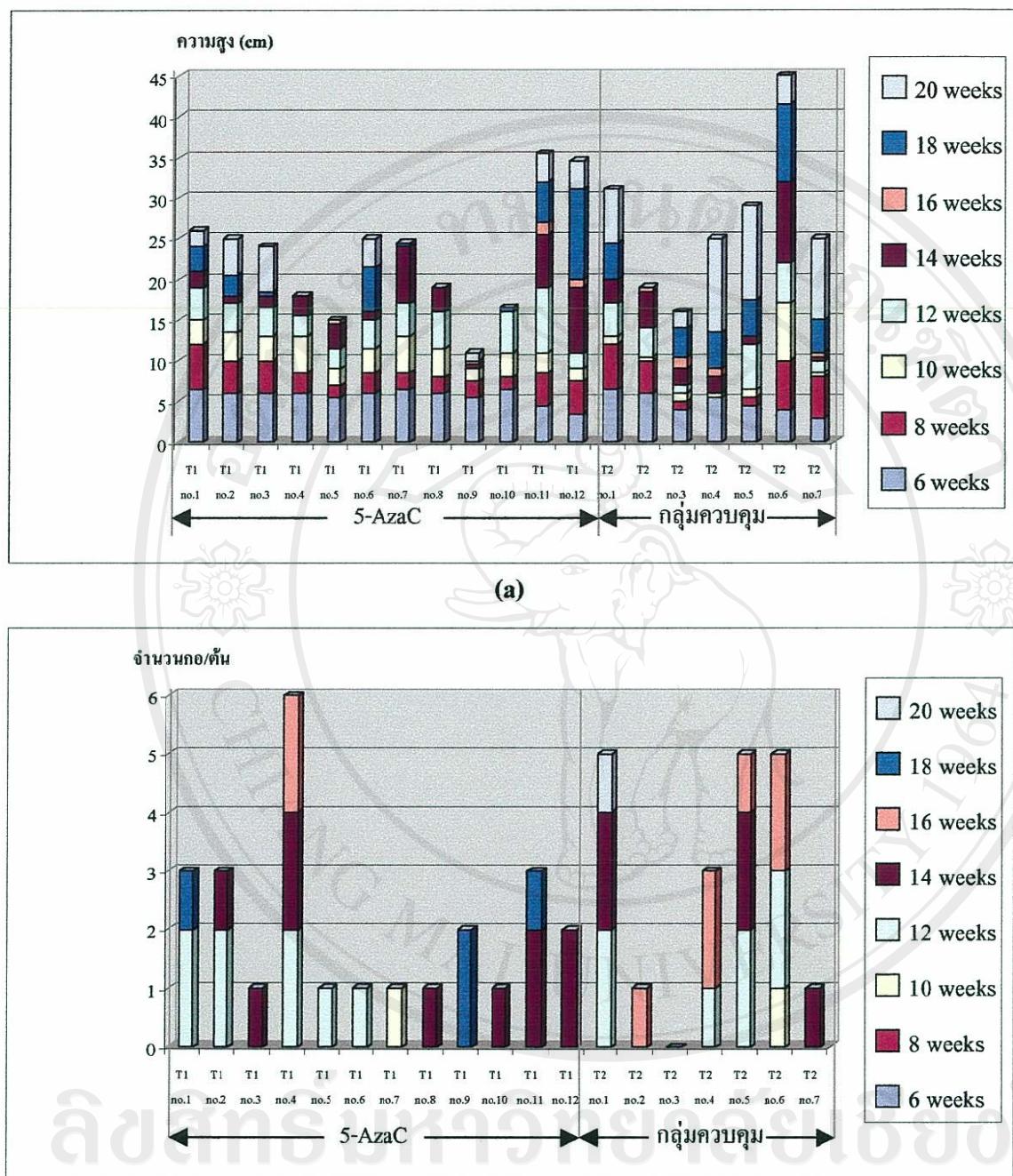
1. ข้าว

1.1 ผลของสาร 5-azacytidine ต่อการเจริญเติบโตของข้าว

การทดลองนี้ได้แบ่งการทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ (1) กลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine ความเข้มข้น $25 \mu\text{M}$ และ (2) กลุ่มควบคุม ซึ่งไม่ได้รับสารดังกล่าว โดยได้ทำการบันทึกผลของสารต่อการแสดงลักษณะของพืชระหว่างการเจริญเติบโต 2 ลักษณะ ได้แก่ ความสูง และจำนวนกอของต้นข้าว ซึ่งจากการทดลองพบว่า กลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine มีค่าเฉลี่ยของความสูง และจำนวนกอต่อต้น ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตาราง 3) แต่มีอิทธิพลต่อ ความสูงของแต่ละต้นในกลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine พนวณมีแนวโน้มที่จะเกิดต้นเตี้ย โดยมีอัตราส่วนต้นเตี้ย : ต้นปกติ เท่ากับ 5 : 7 หรือเกิดต้นเตี้ยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เท่ากับ 41.67% (ภาพ 4)

ตาราง 3 แสดงผลของสาร 5-azacytidine ต่อความสูงและจำนวนกอของต้นข้าวอายุ 20 สัปดาห์

Phenotypes		Treatments	
		5-azacytidine ($25\mu\text{M}$)	กลุ่มควบคุม
ความสูง (cm)	Max.	35.5	45
	Min.	11	16
	Mean \pm SD	$22.83 \pm 7.3834^{(a)}$	$27.14 \pm 9.4592^{(a)}$
จำนวนกอ (กอ/ต้น)	Max.	6	5
	Min.	1	0
	Mean \pm SD	$2.86 \pm 2.1931^{(a)}$	$2.08 \pm 1.5050^{(a)}$
จำนวนหน่วยทดลอง (ต้น)		12	7



ภาพ 4 แสดงผลของสาร 5-azacytidine ความเข้มข้น $25 \mu\text{M}$ ต่อความสูง (a) และจำนวนกอ (b)
ของต้นข้าวที่ระยะต่างๆ ของการเจริญ
เมื่อ แกน x แสดง number of plant (ต้นที่)
แกน y แสดง ความสูง (a) และจำนวนกอ (b)

1.2 การตรวจสอบกระบวนการ DNA methylation ในข้าวโดยเทคนิค HAT-RAPD

จากการทดลองข้างต้น แม้ว่าต้นข้าวกลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine และกลุ่มควบคุม จะไม่แสดงลักษณะที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ก็พบว่าในกลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine มีต้นที่มีลักษณะค่อนข้างเดี้ยงเกิดขึ้น ดังนั้นในการตรวจสอบ DNA methylation จึงได้คัดเลือกต้นข้าว จากกลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine ทั้งที่แสดงลักษณะต้นเตี้ยและต้นปกติ มาใช้ในการทดลอง เพื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ภาพ 5)



ภาพ 5 แสดงต้นข้าวในกลุ่มควบคุม (a) และกลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine ความเข้มข้น $25 \mu\text{M}$ (b)

การใช้เทคนิค HAT-RAPD ในการตรวจสอบ DNA methylation ได้อาศัยเอนไซม์ตัด RNAse 2 ชนิด ได้แก่ *Hpa*II และ *Msp*I มาใช้ในการตัด genomic DNA ก่อนนำไปเพิ่มปริมาณ DNA โดยปฏิกริยา PCR เพื่อให้ได้ DNA ที่มีน้ำหนักไม่ลงกลุ่มต่างกัน เกิดเป็นลายพิมพ์ DNA (DNA fingerprint) ขึ้น ในการทดลองนี้ได้ตรวจสอบกระบวนการ DNA ในตัวอย่างข้าว 2 กลุ่ม ได้แก่ (1) กลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine และ (2) กลุ่มควบคุม หลังจากที่ตัดด้วยเอนไซม์ตัด RNAse *Hpa*II และ *Msp*I และสุ่มใช้ 3 ไพรเมอร์ ได้แก่ OPW-09, OPL-04 และ OPL-14 พบว่า การใช้ไพรเมอร์ดังกล่าว สามารถทำให้เกิดการสังเคราะห์และเพิ่มปริมาณ DNA ได้ โดยให้แบบ DNA ที่มีน้ำหนักไม่ลงกลุ่มแตกต่างกัน ซึ่งเมื่อทำการวิเคราะห์โดย agarose gel electrophoresis พบร่วมกับผลการทดลองทั้งต่อไปนี้

- การใช้ไฟรเมอร์ OPW-09

ตัวอย่างที่ไม่ได้ตัดด้วย.enon ไซม์ตัดจำเพาะ : ไม่พบແບດເີເອນເທີມ້າຫັກໂມເລກຸລແຕກຕ່າງກັນ
ຮະຫວ່າງກຸ່ມທີ່ໄດ້ຮັບສານ ແລະກຸ່ມຄວບຄຸມ

ตัวอย่างດີເີເອນເທີມ້າຫັກໂມເລກຸລ HpaII : ເກີດແບດເີເອນເທີມ້າຫັກໂມເລກຸລແຕກຕ່າງກັນຮະຫວ່າງກຸ່ມທີ່ໄດ້ຮັບສານ
ແລະກຸ່ມຄວບຄຸມ ຈຳນວນ 3 ແລນ ມື້າຫັກໂມເລກຸລອູ່
ໃນຊ່ວງ 200 – 600 ຄູ່ເບສ (ກາພ 6, a)

ตัวอย่างດີເີເອນເທີມ້າຫັກໂມເລກຸລ MspI : ເກີດແບດເີເອນເທີມ້າຫັກໂມເລກຸລທີ່ໄດ້ຮັບສານ
ແລະກຸ່ມຄວບຄຸມ ຈຳນວນ 1 ແລນ ມື້າຫັກໂມເລກຸລທີ່
800 ຄູ່ເບສ (ກາພ 6, a)

- การใช้ไฟรเมอร์ OPL-04

ตัวอย่างที่ไม่ได้ตัดด้วย.enon ไซม์ตัดจำเพาะ : ไม่พบແບດເີເອນເທີມ້າຫັກໂມເລກຸລແຕກຕ່າງກັນ
ຮະຫວ່າງກຸ່ມທີ່ໄດ້ຮັບສານ ແລະກຸ່ມຄວບຄຸມ

ตัวอย่างດີເີເອນເທີມ້າຫັກໂມເລກຸລ HpaII : ไม่พบແບດເີເອນເທີມ້າຫັກໂມເລກຸລແຕກຕ່າງກັນ
ຮະຫວ່າງກຸ່ມທີ່ໄດ້ຮັບສານ ແລະກຸ່ມຄວບຄຸມ

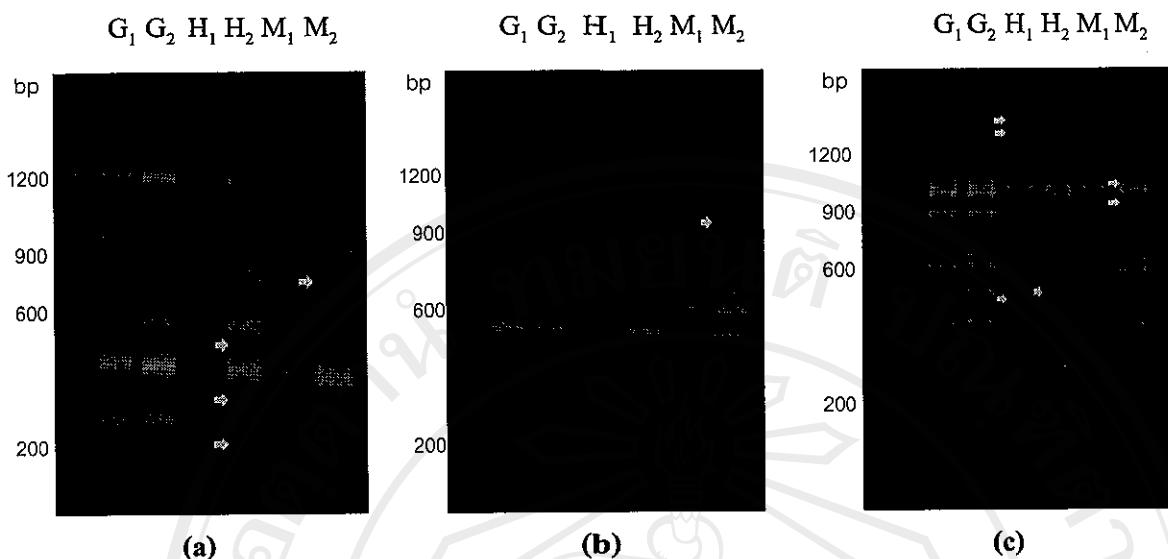
ตัวอย่างດີເີເອນເທີມ້າຫັກໂມເລກຸລ MspI : ເກີດແບດເີເອນເທີມ້າຫັກໂມເລກຸລທີ່ໄດ້ຮັບ
ສານ ແລະກຸ່ມຄວບຄຸມ ຈຳນວນ 1 ແລນ ມື້າຫັກໂມເລກຸລ
ອູ່ທີ່ 1000 ຄູ່ເບສ (ກາພ 6, b)

- การใช้ไฟรเมอร์ OPL-14

ตัวอย่างที่ไม่ได้ตัดด้วย.enon ไซม์ตัดจำเพาะ : ไม่พบແບດເີເອນເທີມ້າຫັກໂມເລກຸລແຕກຕ່າງກັນ
ຮະຫວ່າງກຸ່ມທີ່ໄດ້ຮັບສານ ແລະກຸ່ມຄວບຄຸມ

ตัวอย่างດີເີເອນເທີມ້າຫັກໂມເລກຸລ HpaII : ເກີດແບດເີເອນເທີມ້າຫັກໂມເລກຸລທີ່ໄດ້ຮັບສານ
ແລະກຸ່ມຄວບຄຸມ ຈຳນວນ 4 ແລນ ມື້າຫັກໂມເລກຸລອູ່
ໃນຊ່ວງ 400 – 1400 ຄູ່ເບສ

ตัวอย่างດີເີເອນເທີມ້າຫັກໂມເລກຸລ MspI : ເກີດແບດເີເອນເທີມ້າຫັກໂມເລກຸລທີ່ໄດ້ຮັບສານ
ແລະກຸ່ມຄວບຄຸມ ຈຳນວນ 2 ແລນ ມື້າຫັກໂມເລກຸລອູ່
ໃນຊ່ວງ 900 – 1100 ຄູ່ເບສ (ກາພ 6, c)



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, หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวที่ได้รับสาร 5-azacytidine และไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ไฮโดรเจน

G, หมายถึง ตัวอย่างคือเงินเข้าว่างในกลุ่มควบคุม และไม่ได้ตัดด้วยเงินใช้มีได้

H₁ หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวที่ได้รับสาร 5-azacytidine และตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

H₂ หมายถึง ตัวอย่างคือเงินเข้าวันก่อนลุ้นความคุม และตัดด้วยเงินไซม์ *HpaII*

M. หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอกว่าที่ได้รับสาร 5-azacytidine และตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

M หมายถึง ตัวอย่างเดียวกันในกลุ่มควบคุม และตัวด้วยเงิน ไซน์ $MspI$

หมายเหตุ : ลูกศร แสดงการเกิดແຕบດីເឱំនៅទីមិនាំងក្នុង ធម្មតាក្នុងពេលវេលាដែលបានរាយការណ៍

เมื่อทำการวิเคราะห์โดย polyacrylamide gel electrophoresis พบว่ามีผลการทดลองดังต่อไปนี้

- การใช้ไฟรเมอร์ OPW-09

ตัวอย่างที่ไม่ได้ตัดคำเย่อร์ไซม์ตัดคำจำเพาะ : ไม่พับແນບດីເើងເວທិម្នីនាំអក្សរក្រឡុតពេញតែងកាន់
រាល់វាក្នុងក្រឡុតទាំងអស់

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II : เกิดແນບดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม จำนวน 8 แบบ มีน้ำหนักโมเลกอลย์ในช่วง 400 – 1400 กูเบต

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *MspI* : เกิดແນບດีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารและกลุ่มควบคุม จำนวน 5 แบบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 400 – 1400 คู่เบส (ภาพ 7)

- การใช้ไฟรเมอร์ OPL-04

ตัวอย่างที่ไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ : ไม่พบແນບดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *HpaII* : เกิดແນບດีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารและกลุ่มควบคุม จำนวน 6 แบบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 200 – 1400 คู่เบส

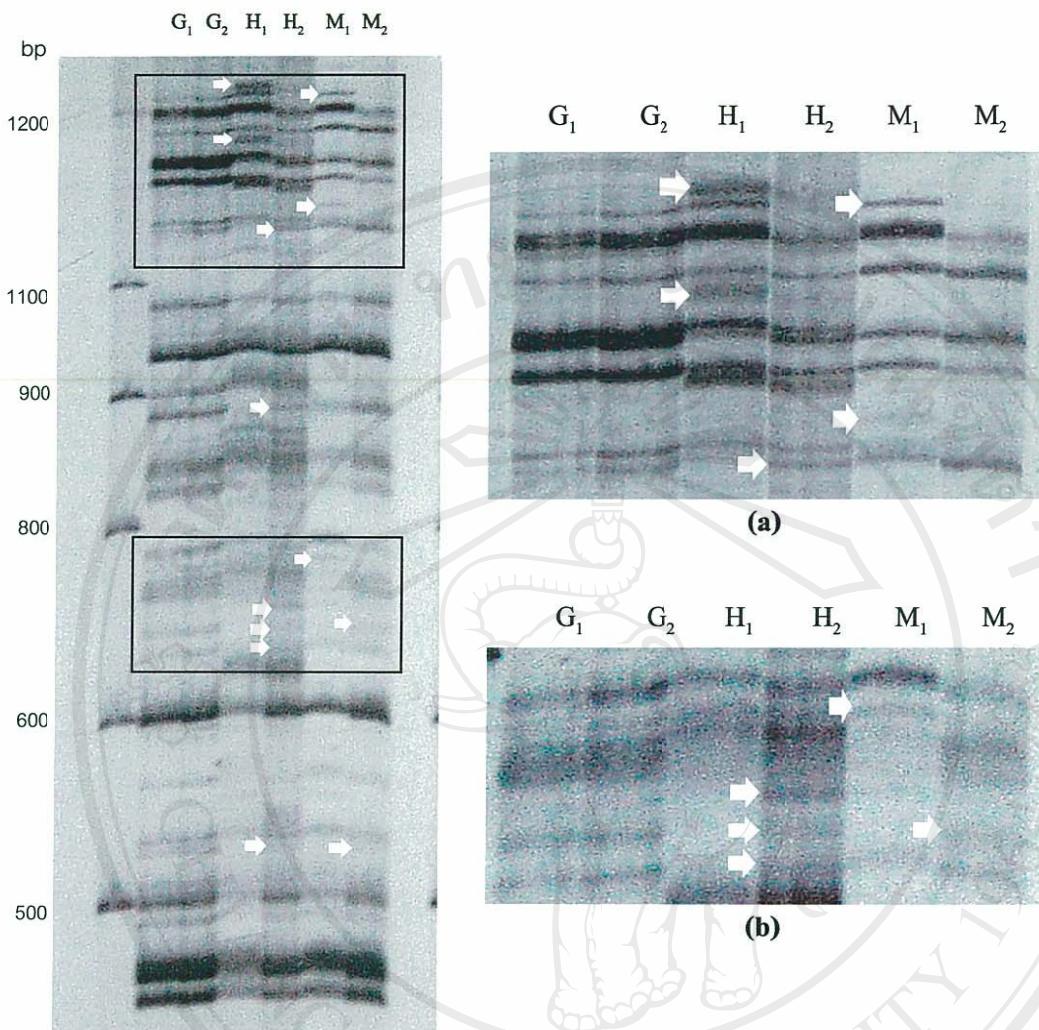
ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *MspI* : เกิดແນບດีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารและกลุ่มควบคุม จำนวน 8 แบบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 200 – 1400 คู่เบส (ภาพ 8)

- การใช้ไฟรเมอร์ OPL-14

ตัวอย่างที่ไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ : ไม่พบແນບดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *HpaII* : เกิดແນບດีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารและกลุ่มควบคุม จำนวน 5 แบบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 600 – 1400 คู่เบส

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *MspI* : เกิดແນບດีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารและกลุ่มควบคุม จำนวน 9 แบบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 400 – 1400 คู่เบส (ภาพ 9)

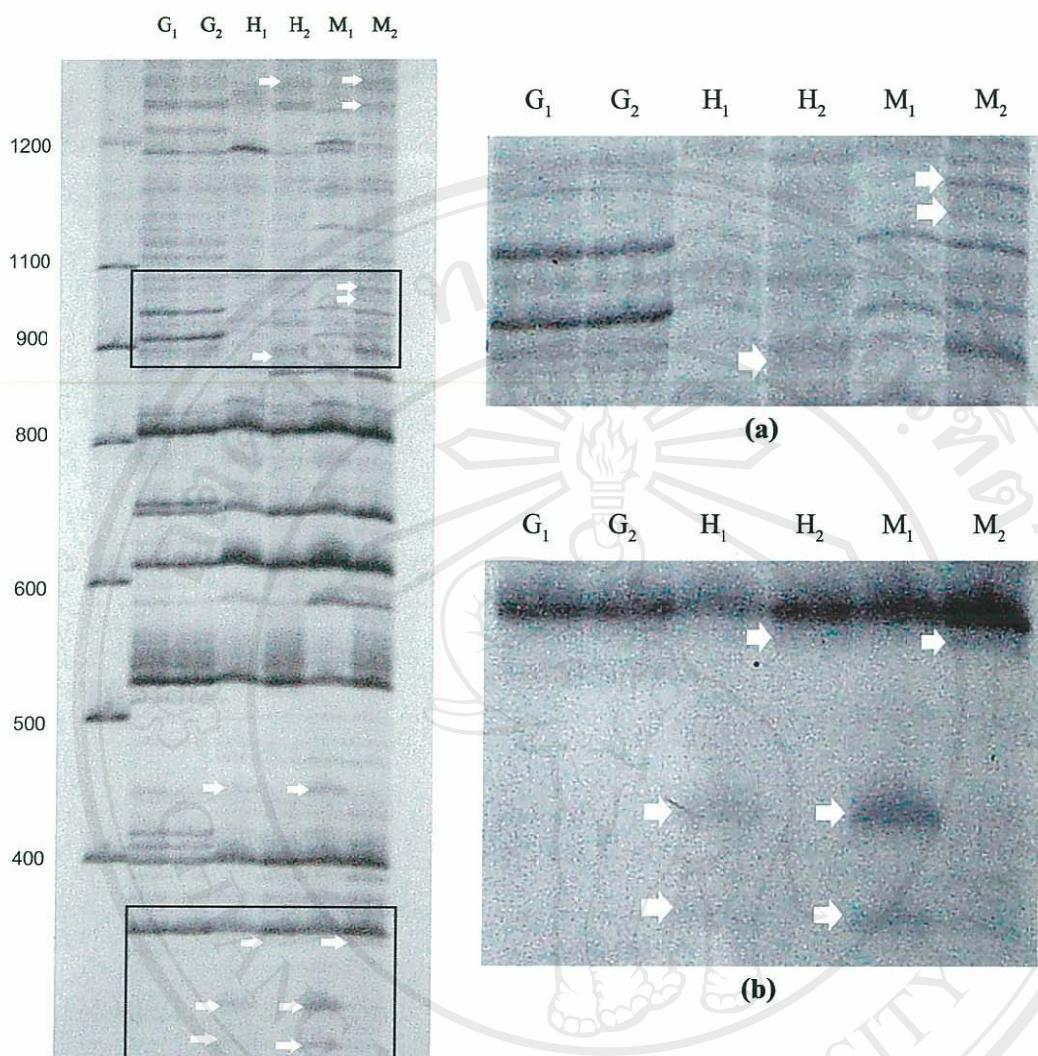


ภาพ 7 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากตัวอย่างข้าวอายุ 20 สัปดาห์ ที่ได้รับสาร 5-azacytidine และตัวอย่างข้าวในกลุ่มควบคุม โดยเทคนิค HAT-RAPD ด้วยการใช้ไพรเมอร์ OPW-09 วิเคราะห์โดย polyacrylamide gel electrophoresis

(a) และ (b) แสดง ภาพขยายของลายพิมพ์ดีเอ็นเอภายในกรอบสีเหลืองบน และถ่าง ตามลำดับ
 G₁ หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวที่ได้รับสาร 5-azacytidine และไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ใดๆ
 G₂ หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวในกลุ่มควบคุม และไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ใดๆ
 H₁ หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวที่ได้รับสาร 5-azacytidine และตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II
 H₂ หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวในกลุ่มควบคุม และตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II
 M₁ หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวที่ได้รับสาร 5-azacytidine และตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I
 M₂ หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวในกลุ่มควบคุม และตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

หมายเหตุ : ลูกศร แสดงการเกิดแอบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักไม่เท่ากัน เปรียบเทียบภายในกลุ่มตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ชนิดเดียวกัน

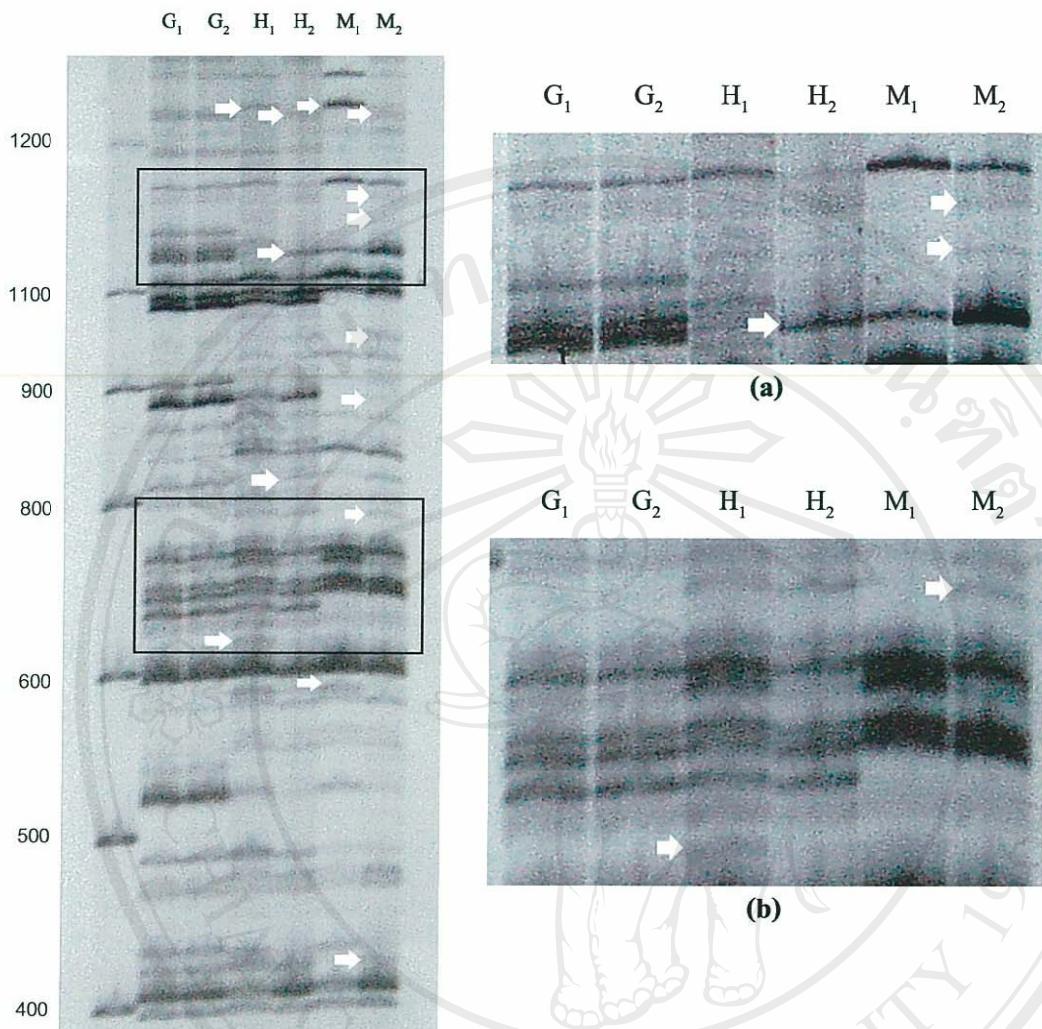
๕๗๒.๘๖
เลขที่..... m/13.0.....
สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยเชียงใหม่



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

- (a) และ (b) แสดง ภาพขยายของลายพิมพ์ดีเอ็นเอภายในกรอบสี่เหลี่ยมบน และล่าง ตามลำดับ
- G₁ หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวที่ได้รับสาร 5-azacytidine และไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ใดๆ
- G₂ หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวในกลุ่มควบคุม และไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ใดๆ
- H₁ หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวที่ได้รับสาร 5-azacytidine และตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II
- H₂ หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวในกลุ่มควบคุม และตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II
- M₁ หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวที่ได้รับสาร 5-azacytidine และตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I
- M₂ หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวในกลุ่มควบคุม และตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

หมายเหตุ : ลูกศร แสดงการเกิดแบบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักไม่เดียวกันแตกต่างกัน เปรียบเทียบภายในกลุ่มตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ชนิดเดียวกัน

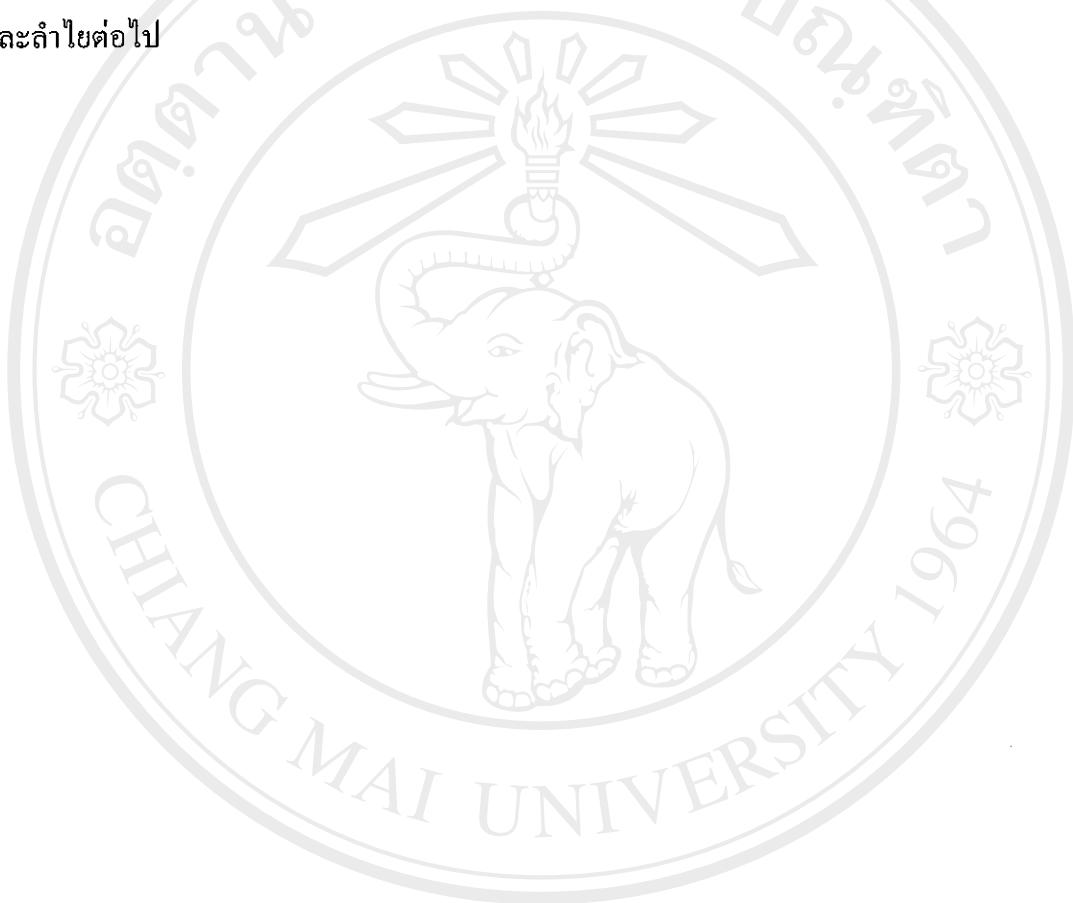


ภาพ 9 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากตัวอย่างข้าวอายุ 20 สัปดาห์ ที่ได้รับสาร 5-azacytidine และตัวอย่างข้าวในกลุ่มควบคุม โดยเทคนิค HAT-RAPD ด้วยการใช้ไฟเรเมอร์ OPL-14 วิเคราะห์โดย polyacrylamide gel electrophoresis

(a) และ (b) แสดง ภาพขยายของลายพิมพ์ดีเอ็นเอภายในกรอบสี่เหลี่ยมนั้น และล่าง ตามลำดับ
 G_1 หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวที่ได้รับสาร 5-azacytidine และไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ใดๆ
 G_2 หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวในกลุ่มควบคุม และไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ใดๆ
 H_1 หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวที่ได้รับสาร 5-azacytidine และตัดด้วยเอนไซม์ $HpaII$
 H_2 หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวในกลุ่มควบคุม และตัดด้วยเอนไซม์ $HpaII$
 M_1 หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวที่ได้รับสาร 5-azacytidine และตัดด้วยเอนไซม์ $MspI$
 M_2 หมายถึง ตัวอย่างดีเอ็นเอข้าวในกลุ่มควบคุม และตัดด้วยเอนไซม์ $MspI$

หมายเหตุ : ลูกศร แสดงการเกิดแบบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน เปรียบเทียบภายในกลุ่มตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ชนิดเดียวกัน

จากการทดลอง หลังจากนำตัวอย่างข้าวมาตัดด้วย.enz ไซม์ตัดจำเพาะ *HpaII* และ *MspI* แล้วตรวจสอบกระบวนการ DNA methylation ด้วยเทคนิค HAT-RAPD พบว่า เกิดແบเดี่ยงเอที่ มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน ระหว่างข้าวกลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine และกลุ่มควบคุม แสดงให้เห็นว่าสาร 5-azacytidine มีผลทำให้เกิด demethylation ในตัวอย่างข้าวที่นำมาตรวจสอบ และการที่เทคนิค HAT-RAPD สามารถตรวจสอบกระบวนการ DNA methylation ในข้าวที่ฉูกหักนำด้วยสาร 5-azacytidine ได้ จึงนำเทคนิคดังกล่าวไปใช้ในการตรวจสอบ DNA methylation ในปวยเส้งและลำไยต่อไป



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright[©] by Chiang Mai University
All rights reserved

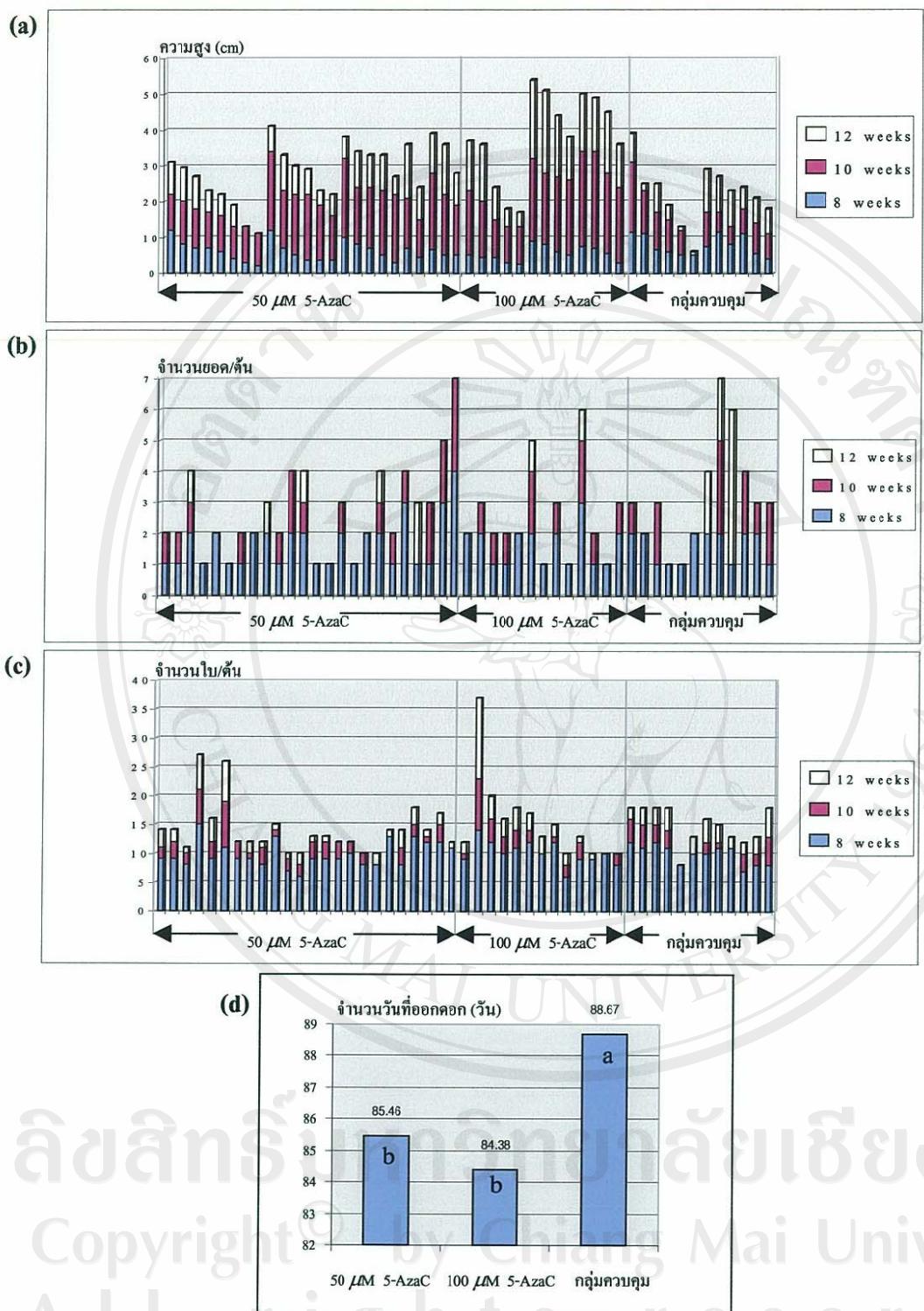
2. พิทูเนีย

2.1 ผลของสาร 5-azacytidine ต่อการเจริญเติบโตของพิทูเนีย

การทดลองนี้ได้แบ่งการทดลองออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ (1) กลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine ความเข้มข้น $50 \mu\text{M}$ (2) กลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine ความเข้มข้น $100 \mu\text{M}$ และ (3) กลุ่มควบคุม ซึ่งไม่ได้รับสารดังกล่าว โดยได้ทำการบันทึกผลของสารต่อการแสดงลักษณะของพืชระหว่างการเจริญเติบโต 4 ลักษณะ ได้แก่ ความสูง จำนวนยอดต่อต้น จำนวนใบต่อต้น และจำนวนวันที่ใช้ในการอุดคงอก จากการทดลองพบว่า กลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine ทั้ง 2 ความเข้มข้น มีการอุดคงอกเร็วกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่ากลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine ความเข้มข้นสูง ($100 \mu\text{M}$) มีความสูงมากกว่ากลุ่มที่ได้รับสารความเข้มข้นต่ำ ($50 \mu\text{M}$) และกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม ไม่พบว่าการให้สาร 5-azacytidine มีผลต่อจำนวนยอดต่อต้น และจำนวนใบต่อต้น ของต้นพิทูเนีย (ตาราง 4, ภาพ 10,11)

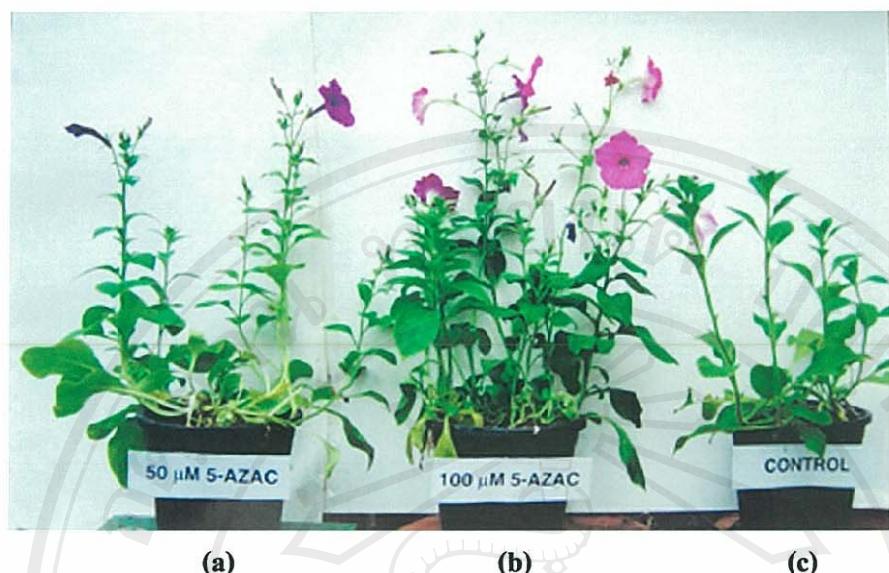
ตาราง 4 แสดงผลของสาร 5-azacytidine ต่อความสูง จำนวนยอดต่อต้น จำนวนใบต่อต้น และจำนวนวันที่ใช้ในการอุดคงอก ของต้นพิทูเนีย อายุ 12 สัปดาห์

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



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

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



ภาพ 11 แสดงต้นพิทูเนียอายุ 12 สัปดาห์ ในกลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine ความเข้มข้น $50 \mu\text{M}$
(a) กลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine ความเข้มข้น $100 \mu\text{M}$ (b) และกลุ่มควบคุม (c)

จิรศิลป์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
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 $50 \mu\text{M}$ (2) กลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine ความเข้มข้น $100 \mu\text{M}$ และ(3) กลุ่มควบคุม หลังจากที่ตัดตัวอย่างดีเย็นເອົ້າວຍເອນໃໝ່ม์ตัดจำเพาะ *HpaII* และ *MspI* แล้วสูญเสีย 2 ไฟรเมอร์ ได้แก่ OPW-09 และ OPL-04 และทำการวิเคราะห์ โดย agarose gel electrophoresis พบร่วมกับการทดลองดังต่อไปนี้

- การใช้ไฟรเมอร์ OPW-09

ตัวอย่างที่ไม่ได้ตัดด้วยເອນໃໝ່ม์ตัดจำเพาะ : ไม่พบແບບດีເອັນເອົ້າທີ່ມີໜ້າຫັນກໂມເລກຸລແຕກຕ່າງກັນ
ระหว่างກຸລຸມທີ່ໄດ້ຮັບສາրແຕ່ລະຄວາມເຂັ້ມື້ນ ແລະກຸລຸມ
ควบคุม

ตัวอย่างດີເອັນເອົ້າທີ່ຕັດດ້ວຍເອນໃໝ່ม์ *HpaII* : เกิดແບບດີເອັນເອົ້າທີ່ແຕກຕ່າງກັນระหว่างກຸລຸມທີ່ໄດ້ຮັບສາຮ
ແຕ່ລະຄວາມເຂັ້ມື້ນ ແລະກຸລຸມควบคุม ຈຳນວນ 2 ແຕນ
ມີໜ້າຫັນກໂມເລກຸລອູ້ໃນຊ່ວງ $500 - 800$ ຄູ່ບັສ

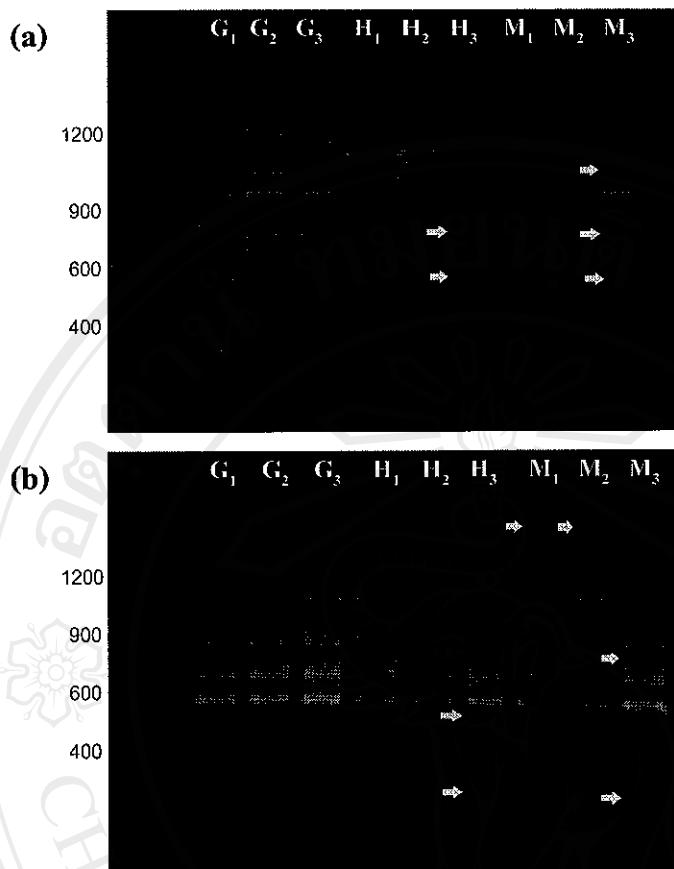
ตัวอย่างດີເອັນເອົ້າທີ່ຕັດດ້ວຍເອນໃໝ່ม์ *MspI* : เกิดແບບດີເອັນເອົ້າທີ່ແຕກຕ່າງກັນระหว่างກຸລຸມທີ່ໄດ້ຮັບສາຮ
ແຕ່ລະຄວາມເຂັ້ມື້ນ ແລະກຸລຸມควบคุม ຈຳນວນ 3 ແຕນ ມີ
ໜ້າຫັນກໂມເລກຸລອູ້ໃນຊ່ວງ $500 - 1100$ ຄູ່ບັສ (ກາພ 12, a)

- การใช้ไฟรเมอร์ OPL-04

ตัวอย่างที่ไม่ได้ตัดด້ວຍເອນໃໝ່ມ์ตัดจำเพาะ : ไม่ພົບແບບດີເອັນເອົ້າທີ່ມີໜ້າຫັນກໂມເລກຸລແຕກຕ່າງກັນ
ระหว่างກຸລຸມທີ່ໄດ້ຮັບສາຮແຕ່ລະຄວາມເຂັ້ມື້ນ ແລະກຸລຸມ
ควบคุม

ตัวอย่างດີເອັນເອົ້າທີ່ຕັດດ້ວຍເອນໃໝ່ม์ *HpaII* : เกิดແບບດີເອັນເອົ້າທີ່ແຕກຕ່າງກັນระหว่างກຸລຸມທີ່ໄດ້ຮັບສາຮ
ແຕ່ລະຄວາມເຂັ້ມື້ນ ແລະກຸລຸມควบคุม ຈຳນວນ 2 ແຕນ
ມີໜ້າຫັນກໂມເລກຸລອູ້ໃນຊ່ວງ $200 - 600$ ຄູ່ບັສ

ตัวอย่างດີເອັນເອົ້າທີ່ຕັດດ້ວຍເອນໃໝ່ມ์ *MspI* : เกิดແບບດີເອັນເອົ້າທີ່ແຕກຕ່າງກັນระหว่างກຸລຸມທີ່ໄດ້ຮັບສາຮ
ແຕ່ລະຄວາມເຂັ້ມື້ນ ແລະກຸລຸມควบคุม ຈຳນວນ 3 ແຕນ ມີ
ໜ້າຫັນກໂມເລກຸລອູ້ໃນຊ່ວງ $200 - 1400$ ຄູ່ບັສ (ກາພ 12, b)



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

G₁ หมายถึง ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine (50 μM) และไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ใดๆ

G₂ หมายถึง ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine (100 μM) และไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ใดๆ

G₃ หมายถึง ตัวอย่างในกลุ่มควบคุมและไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ใดๆ

H₁ หมายถึง ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine (50 μM) และตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

H₂ หมายถึง ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine (100 μM) และตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

H₃ หมายถึง ตัวอย่างในกลุ่มควบคุม และตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

M₁ หมายถึง ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine (50 μM) และตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

M₂ หมายถึง ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine (100 μM) และตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

M₃ หมายถึง ตัวอย่างในกลุ่มควบคุม และตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

หมายเหตุ : ลูกศร แสดงการเกิดแผลดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักไม่เท่ากัน เปรียบเทียบภายในกลุ่มตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ชนิดเดียวกัน

ในการวิเคราะห์โดย polyacrylamide gel electrophoresis พบร่วมผลการทดลองดังต่อไปนี้

- การใช้ไพรเมอร์ OPW-09

ตัวอย่างที่ไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ : ไม่พบแอบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารแต่ละความเข้มข้น และกลุ่มควบคุม

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *HpaII* : เกิดแอบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารแต่ละความเข้มข้น และกลุ่มควบคุม จำนวน 3 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 400 – 1100 คูเบส

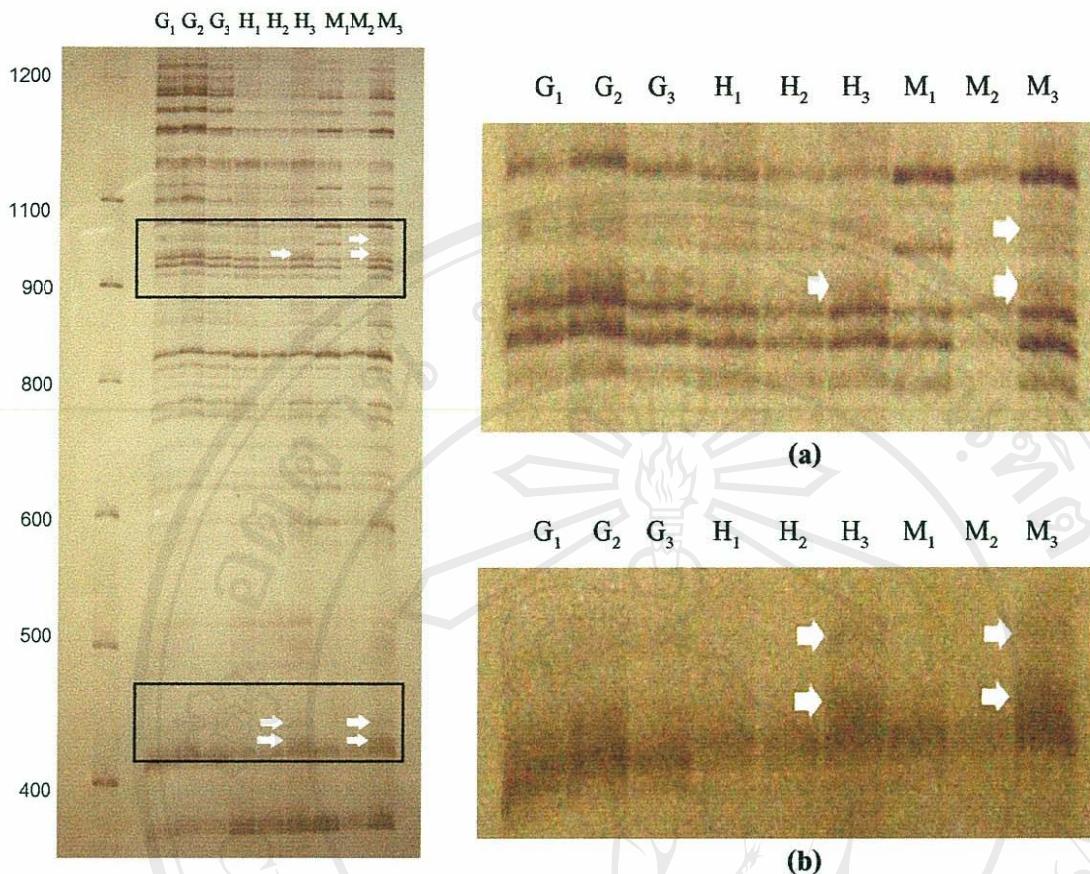
ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *MspI* : เกิดแอบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารแต่ละความเข้มข้น และกลุ่มควบคุม จำนวน 4 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 400 – 1100 คูเบส (ภาพ 13)

- การใช้ไพรเมอร์ OPL-04

ตัวอย่างที่ไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ : ไม่พบแอบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารแต่ละความเข้มข้น และกลุ่มควบคุม

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *HpaII* : เกิดแอบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารความเข้มข้น 50 μM และกลุ่มควบคุม จำนวน 8 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 200 – 1400 คูเบส และเกิดแอบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารความเข้มข้น 100 μM และกลุ่มควบคุม จำนวน 9 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 200 – 1400 คูเบส

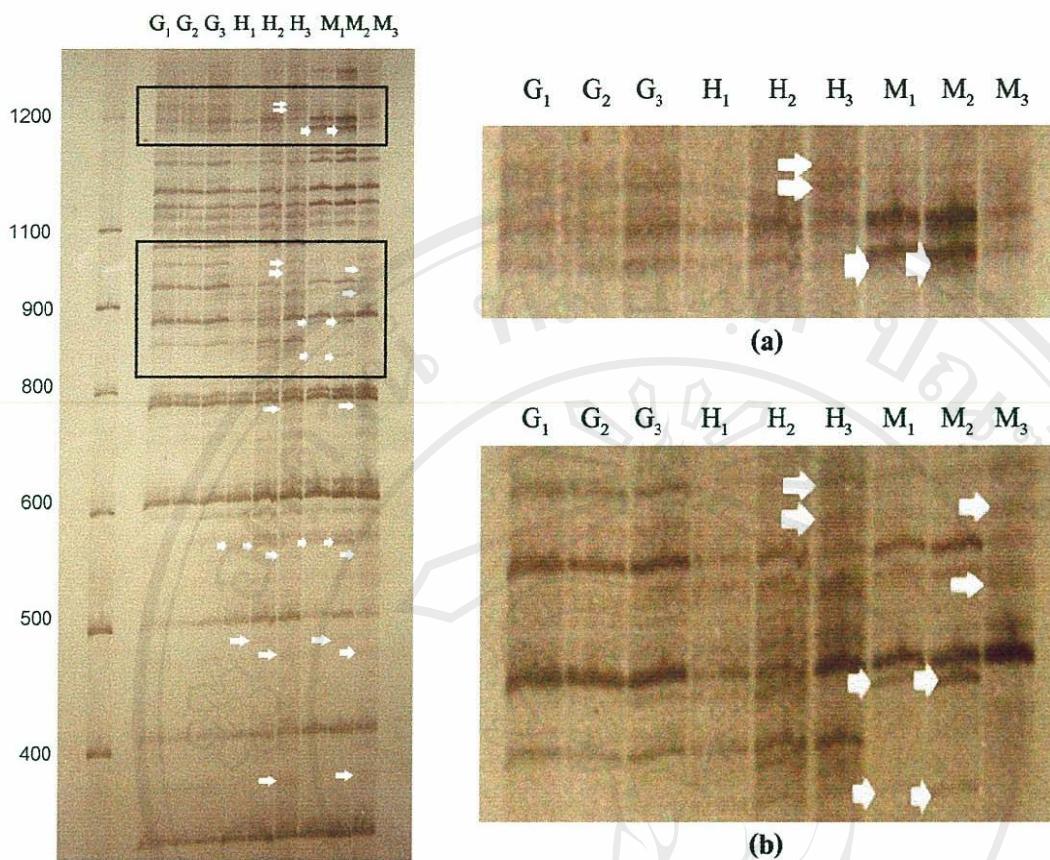
ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *MspI* : เกิดแอบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารความเข้มข้น 50 μM และกลุ่มควบคุม จำนวน 9 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 200 – 1200 คูเบส และเกิดแอบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารความเข้มข้น 100 μM และกลุ่มควบคุม จำนวน 10 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 200 – 1200 คูเบส (ภาพ 14)



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

- (a) และ (b) แสดง ภาพขยายของลายพิมพ์ดีเอ็นเอภายในกรอบสีเหลืองบน และล่าง ตามลำดับ
- G₁ หมายถึง ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine (50 μM) และไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ใดๆ
 - G₂ หมายถึง ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine (100 μM) และไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ใดๆ
 - G₃ หมายถึง ตัวอย่างในกลุ่มควบคุมและไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ใดๆ
 - H₁ หมายถึง ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine (50 μM) และตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II
 - H₂ หมายถึง ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine (100 μM) และตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II
 - H₃ หมายถึง ตัวอย่างในกลุ่มควบคุม และตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II
 - M₁ หมายถึง ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine (50 μM) และตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I
 - M₂ หมายถึง ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine (100 μM) และตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I
 - M₃ หมายถึง ตัวอย่างในกลุ่มควบคุม และตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

หมายเหตุ : ลูกศร แสดงการเกิดແບดีเอ็นเอที่มีนำหนักโนเลกุลແຕກต่างกัน เปรียบเทียบภายในกลุ่มตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ชนิดเดียวกัน



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

- (a) และ (b) แสดง ภาพขยายของลายพิมพ์ดีเอ็นเอภายในกรอบสีเหลืองบน และล่าง ตามลำดับ
- G₁ หมายถึง ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine (50 μM) และไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ใดๆ
- G₂ หมายถึง ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine (100 μM) และไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ใดๆ
- G₃ หมายถึง ตัวอย่างในกลุ่มควบคุมและไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ใดๆ
- H₁ หมายถึง ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine (50 μM) และตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II
- H₂ หมายถึง ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine (100 μM) และตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II
- H₃ หมายถึง ตัวอย่างในกลุ่มควบคุม และตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II
- M₁ หมายถึง ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine (50 μM) และตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I
- M₂ หมายถึง ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine (100 μM) และตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I
- M₃ หมายถึง ตัวอย่างในกลุ่มควบคุม และตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

หมายเหตุ : ลูกศร แสดงการเกิดແບเดดดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักไม่เดียวกันแตกต่างกัน เปรียบเทียบภายในกลุ่มตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ชนิดเดียวกัน

จากการทดลอง หลังจากนำตัวอย่างพิทูเนียมาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *HpaII* และ *MspI* แล้วตรวจสอบกระบวนการ DNA methylation ด้วยเทคนิค HAT-RAPD พบว่า เกิดແบดีอีนเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน ระหว่างพิทูเนียกลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine และกลุ่มควบคุมแสดงให้เห็นว่าสาร 5-azacytidine มีผลทำให้เกิด demethylation ในตัวอย่างพิทูเนียที่นำมาตรวจสอบ และการที่เทคนิค HAT-RAPD สามารถตรวจสอบกระบวนการ DNA methylation ในพิทูเนียที่ถูกฉีกนำด้วยสาร 5-azacytidine ได้ จึงนำเทคนิคดังกล่าวไปใช้ในการตรวจสอบ DNA methylation ในปวยเลี้งและลำไยต่อไป



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3. ป่วยเลี้ง

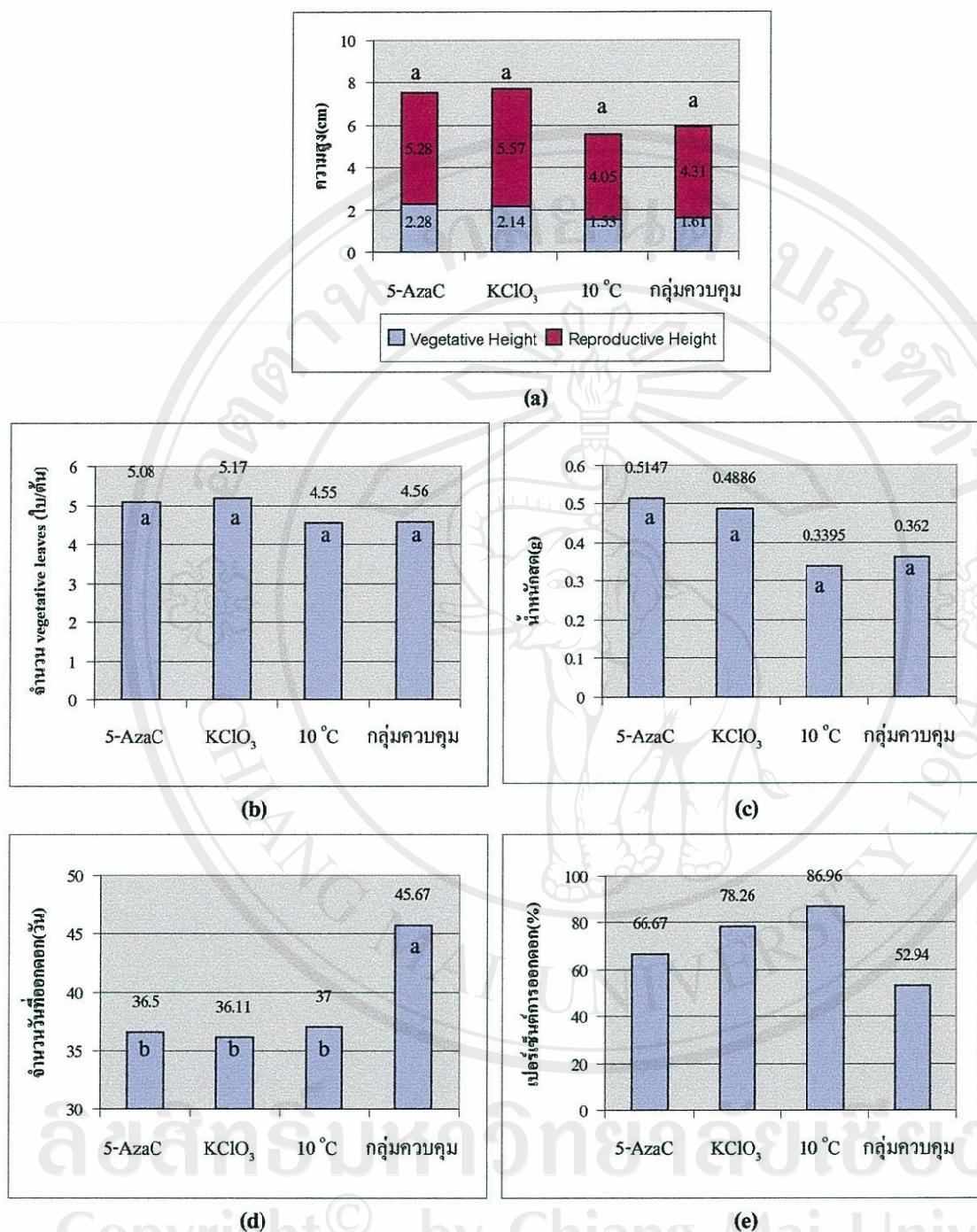
3.1 ผลของสาร 5-azacytidine สารโพแทสเซียมคลอเรท และอุณหภูมิต่อการเจริญเติบโตของป่วยเลี้ง

การทดลองนี้ได้แบ่งการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ (1) กลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine ความเข้มข้น $125 \mu\text{M}$ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (2) กลุ่มที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท ความเข้มข้น $250 \mu\text{M}$ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (3) กลุ่มที่ไม่ได้รับสารใดๆ แต่ทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิต่ำ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วัน และ (4) กลุ่มควบคุม ซึ่งไม่ได้รับสารใดๆ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยได้ทำการบันทึกผลของสารต่อการแสดงลักษณะของพืชระหว่างการเจริญเติบโต 5 ถักรยะ ได้แก่ ความสูงก่อนและหลังออกดอก จำนวน vegetative leaves น้ำหนักสด จำนวนวันที่ใช้ในการออกดอก และเปอร์เซ็นต์การออกดอก จากการทดลองพบว่า กลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine กลุ่มที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท และกลุ่มที่ได้รับอุณหภูมิต่ำ มีการออกดอกเร็วกว่ากลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งยังมีเปอร์เซ็นต์การออกดอกมากกว่ากลุ่มควบคุมประมาณ 13 - 34% อย่างไรก็ตาม ไม่พบว่าการใช้สาร 5-azacytidine สาร โพแทสเซียมคลอเรท และการใช้อุณหภูมิต่ำ มีผลต่อความสูงก่อนและหลังการออกดอก จำนวน vegetative leaves และน้ำหนักสดของต้น (ตาราง 5, ภาพ 15)

ตาราง 5 แสดงผลของสาร 5-azacytidine สารโพแทสเซียมคลอเรต และอุณหภูมิคำต่อการเจริญเติบโตและการออกดอกของต้นปวยเปียง

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

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่เหมือนกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละกลุ่มที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

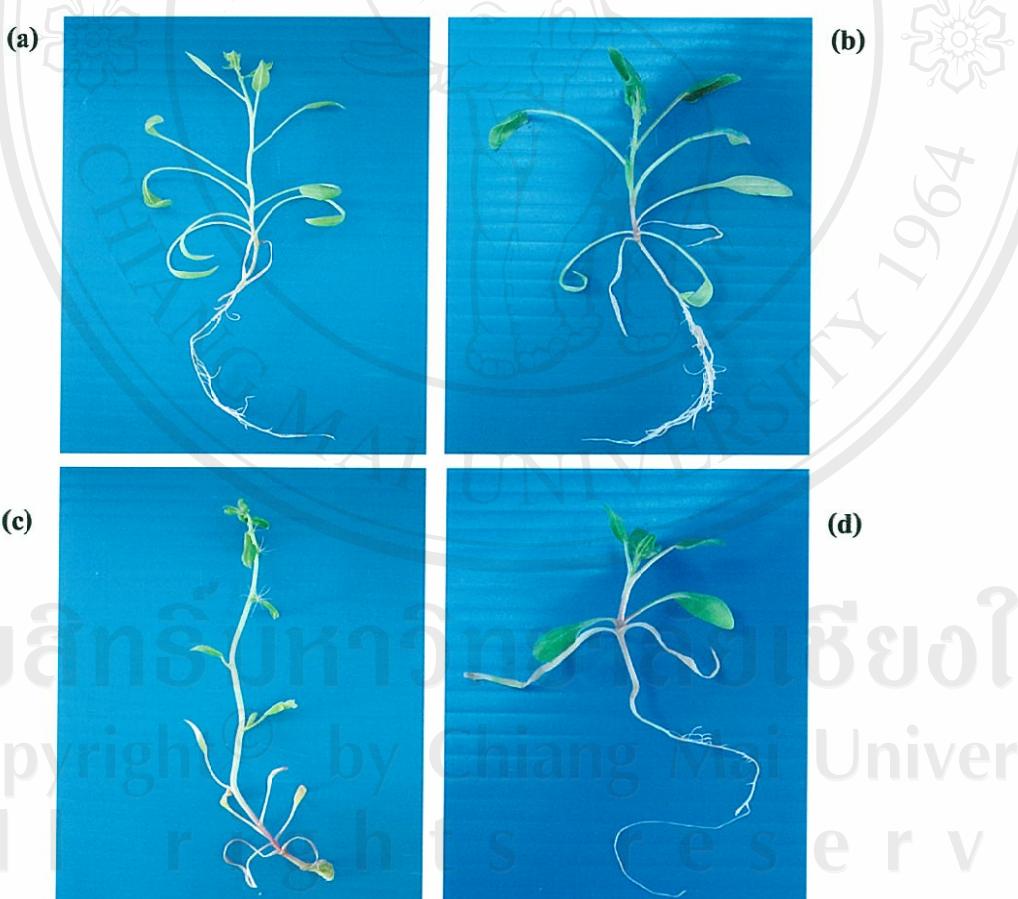


ภาพ 15 แสดงผลของสาร 5-azacytidine สารโพแทสเซียมคลอเรท และอุณหภูมิต่ำ ต่อกำลังสูง ก่อนและหลังการออกดอก (a) จำนวน vegetative leaves (b) น้ำหนักสด (c) จำนวนวันที่ใช้ในการออกดอก (d) และเปอร์เซ็นต์การออกดอก (e) ของต้นปวยเด้ง

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่เหมือนกัน หมายถึง คำเฉลี่ยของแต่ละกลุ่มที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ทั้งคับความเชื่อมั่น 99%

นอกจากนี้ยังพบว่า การตอบสนองของต้นปวยเล้งหลังการได้รับ treatments ต่างๆ มีความแตกต่างกัน สังเกตได้จากลักษณะทางสัมฐานวิทยาของต้นปวยเล้งในแต่ละ treatments ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็น 3 ลักษณะ ดังนี้

1. ต้นที่มีการยึดยาวของลำต้นจนเห็นข้อปล้องชัดเจน (bolting) และมีการเจริญของดอกในเวลาต่อมา ส่วนใหญ่พับต้นที่มีลักษณะเช่นนี้ในกลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine และสารโพแทสเซียมคลอเรท (ภาพ 16a, b)
2. ต้นที่มีใบขนาดเล็กกว่าต้นในลักษณะอื่น ลำต้นมีการยึดยาว จนเห็นข้อปล้องชัดเจน (bolting) และมีการพัฒนาของดอกไปพร้อมๆ กัน ส่วนใหญ่พับต้นที่มีลักษณะเช่นนี้ในกลุ่มที่ได้รับอุณหภูมิต่ำ 10 °C เป็นเวลา 20 วัน (ภาพ 16c)
3. ต้นที่มีลักษณะเป็นพุ่มเตี้ย (resette) ไม่มีการยึดยาวของลำต้น ส่วนใหญ่พับต้นที่มีลักษณะเช่นนี้ในกลุ่มควบคุม (ภาพ 16d)



ภาพ 16 แสดงต้นปวยเล้งอายุ 28 วัน ในกลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine ความเข้มข้น $125 \mu\text{M}$ (a) กลุ่มที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท ความเข้มข้น $250 \mu\text{M}$ (b) กลุ่มที่ได้รับอุณหภูมิต่ำ 10°C เป็นเวลา 20 วัน (c) และกลุ่มควบคุม (d)

3.2 การตรวจสอบกระบวนการ DNA methylation ในปวยเลี้ง โดยเทคนิค HAT-RAPD

ในการทดลองนี้ได้ตรวจสอบกระบวนการ DNA methylation ในปวยเลี้งที่ถูกหักน้ำด้วยการให้สารเคมีและอุณหภูมิต่างๆ โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ (1) กลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine (2) กลุ่มที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรต (3) กลุ่มที่ได้รับอุณหภูมิ 10 °C เป็นเวลา 20 วัน และ(4) กลุ่มควบคุม โดยได้ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างต้นปวยเลี้งในแต่ละกลุ่มๆ ละ 5 ต้น มาวิเคราะห์ทุกตัวปีค่า จนกว่าจะออกดอก นั้นคือ ทำการเก็บตัวอย่าง ณ วันที่ 14, 21 และ 28 วันหลังเม็ดดอกออก ตามลำดับ หลังจากที่ตัดตัวอย่างดีเย็นแล้วด้วยเย็น ใช้มีดตัดชำเพาะ *MspI* และสุ่มใช้ 2 ไฟรเมอร์ ได้แก่ OPW-09 และ OPL-04 แล้ววิเคราะห์โดย agarose gel electrophoresis มีผลการทดลองดังต่อไปนี้

ต้นปวยเลี้งอายุ 14 วัน

- การใช้ไฟรเมอร์ OPW-09

พบว่าเกิดແບບดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่างในกลุ่มที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรต (หมายเลข 7) และกลุ่มควบคุม จำนวน 1 แคน มีน้ำหนักโมเลกุลที่ 950 คู่เบส (ภาพ 17, a)

- การใช้ไฟรเมอร์ OPL-04

พบว่าเกิดແບບดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่างในกลุ่มที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรต (หมายเลข 7) และกลุ่มควบคุม จำนวน 2 แคน มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 800 – 1200 คู่เบส (ภาพ 18, a)

ต้นปวยเลี้งอายุ 21 วัน

- การใช้ไฟรเมอร์ OPW-09

พบว่า เกิดແບບดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่างในกลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine (หมายเลข 1) และกลุ่มควบคุม จำนวน 1 แคน มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ที่ 950 คู่เบส และเกิดແບບดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่างในกลุ่มที่ได้รับอุณหภูมิ 10 °C (หมายเลข 14) และกลุ่มควบคุม จำนวน 1 แคน ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ที่ 950 คู่เบส (ภาพ 17, b)

- การใช้ไฟรเมอร์ OPL-04

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

ต้นปวยเล้งอายุ 28 วัน

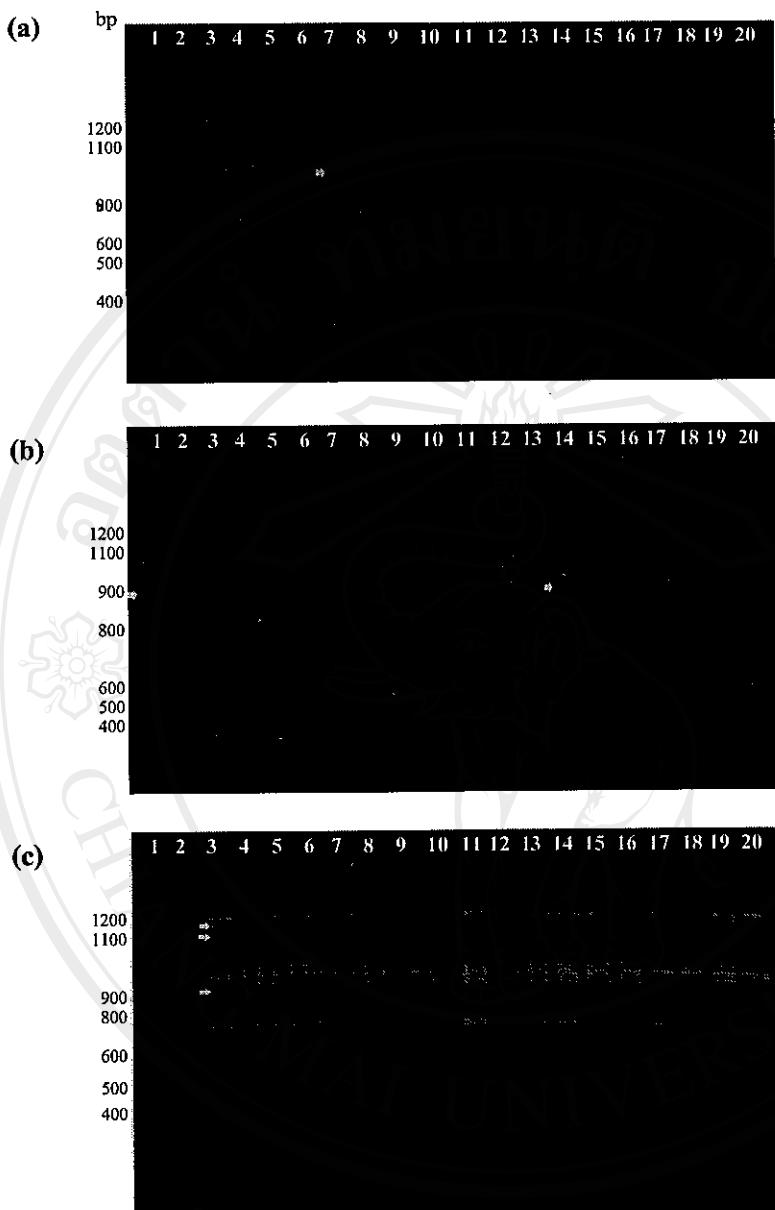
- การใช้ไฟรเมอร์ OPW-09

พบว่า เกิดແນບດีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่างในกลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine (หมายเลข 3) และกลุ่มควบคุม จำนวน 3 แบบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 900 –1200 คูลิบส (ภาพ 17, c)

- การใช้ไฟรเมอร์ OPL-04

พบว่า เกิดແນບดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่างในกลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine (หมายเลข 3) และกลุ่มควบคุม จำนวน 4 แบบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 800 –1400 คูลิบส (ภาพ 18, c)

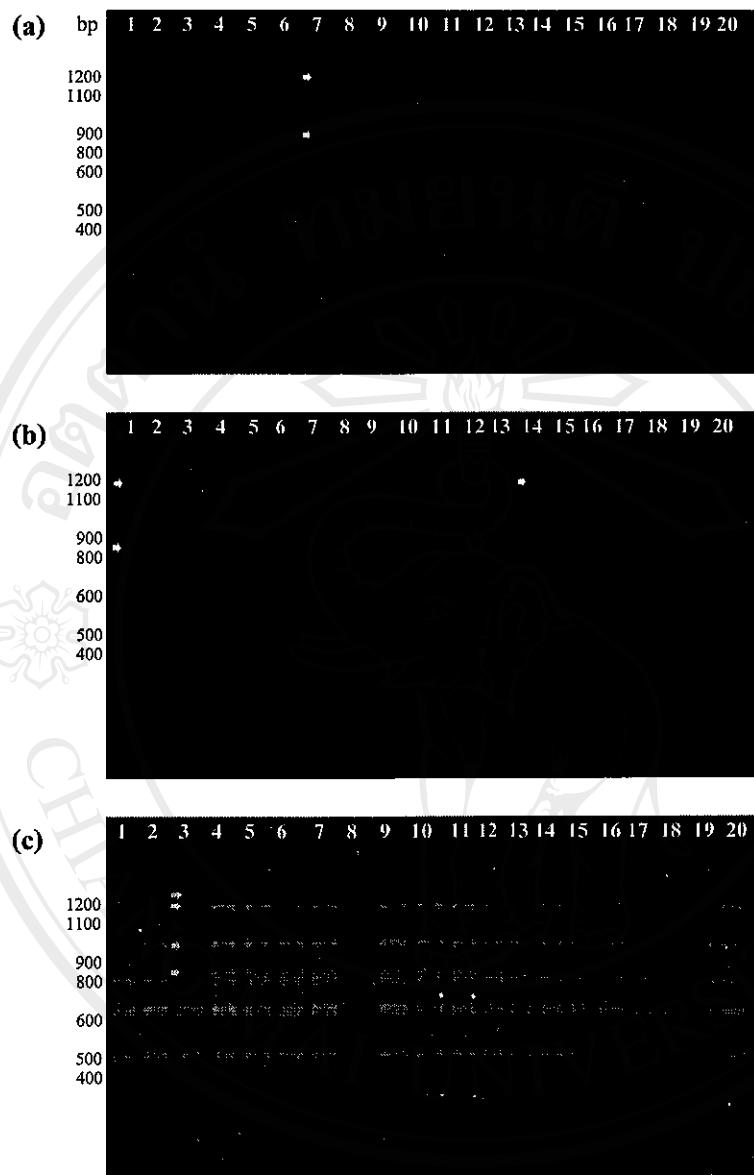
อิชสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright[©] by Chiang Mai University
 All rights reserved



ภาพ 17 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของตัวอย่างป่วยเส้งอายุ 14 วัน (a) 21 วัน (b) และอายุ 28 วัน (c) หลังจากการตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I เพื่อตรวจสอบกระบวนการ DNA methylation โดยเทคนิค HAT-RAPD ที่ใช้ไฟรเมอร์ 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 : สูตร แสดงการเกิดແບບดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักไม่ถูกแตกต่างกัน



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

- 1 – 5 ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine ความเข้มข้น $125 \mu\text{M}$
- 6 – 10 ตัวอย่างที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท ความเข้มข้น $250 \mu\text{M}$
- 11 – 15 ตัวอย่างที่ได้รับอุณหภูมิ 10°C เป็นเวลา 20 วัน
- 16 – 20 ตัวอย่างในกลุ่มควบคุม

หมายเหตุ : สูตร แสดงการเกิดແຕบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักไม่เกลูลแตกต่างกัน

ในการวิเคราะห์โดย polyacrylamide gel electrophoresis มีผลการทดลองดังต่อไปนี้

ต้นป่ายเล็งอายุ 14 วัน

- การใช้ไฟรเมอร์ OPW-09

พบว่าเกิดແບນດີເອື່ອທີ່ແຕກຕ່າງກັນຮະຫວ່າງຕ້ວອຍ່າງໃນກລຸ່ມທີ່ໄດ້ຮັບສາր ໂພແທສເຊີຍນຄລອເຣທ (ໜາຍເລຂ 7) ແລະກລຸ່ມຄວບຄຸມ ຈຳນວນ 6 ແດນ ມືນໍ້າໜັກໂມເລກຸລອຢູ່ໃນຊ່ວງ 600 – 1200 ຄູ່ເບສ (ກາພ 19, a)

ต้นป่ายเล็งอายุ 21 วัน

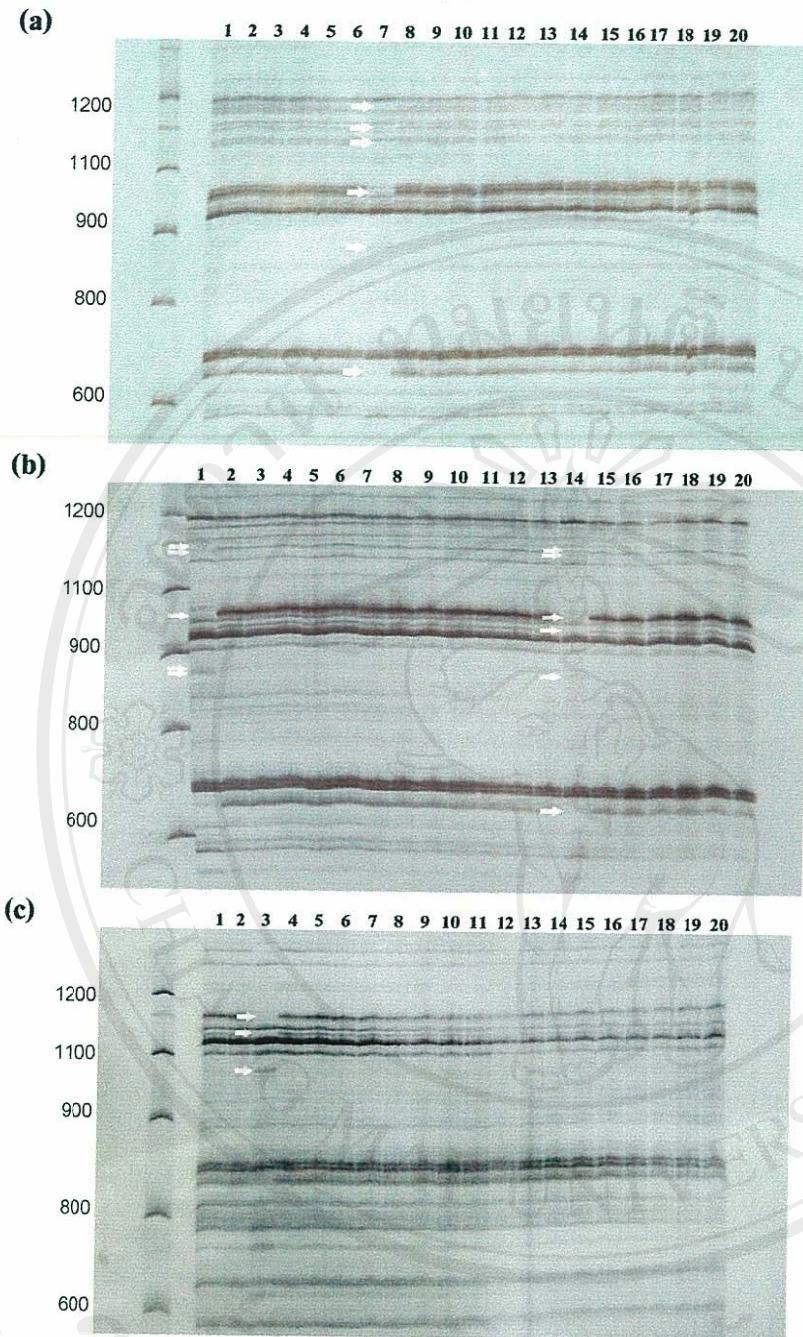
- การใช้ไฟรเมอร์ OPW-09

ພບວ່າ ເກີດແບນດີເອື່ອທີ່ແຕກຕ່າງກັນຮະຫວ່າງຕ້ວອຍ່າງໃນກລຸ່ມທີ່ໄດ້ຮັບສາර 5-azacytidine (ໜາຍເລຂ 1) ແລະກລຸ່ມຄວບຄຸມ ຈຳນວນ 5 ແດນ ມືນໍ້າໜັກໂມເລກຸລອຢູ່ໃນຊ່ວງ 800 – 1200 ຄູ່ເບສ ແລະເກີດແບນດີເອື່ອທີ່ແຕກຕ່າງກັນຮະຫວ່າງຕ້ວອຍ່າງໃນກລຸ່ມທີ່ໄດ້ຮັບອຸ່ນຫກູນີ 10 °C (ໜາຍເລຂ 14) ແລະກລຸ່ມຄວບຄຸມ ຈຳນວນ 6 ແດນ ມືນໍ້າໜັກໂມເລກຸລອຢູ່ໃນຊ່ວງ 600 – 1200 ຄູ່ເບສ (ກາພ 19, b)

ต้นป่ายเล็งอายุ 28 วัน

- การใช้ไฟรเมอร์ OPW-09

ພບວ່າ ເກີດແບນດີເອື່ອທີ່ແຕກຕ່າງກັນຮະຫວ່າງຕ້ວອຍ່າງໃນກລຸ່ມທີ່ໄດ້ຮັບສາර 5-azacytidine (ໜາຍເລຂ 3) ແລະກລຸ່ມຄວບຄຸມ ຈຳນວນ 3 ແດນ ມືນໍ້າໜັກໂມເລກຸລອຢູ່ໃນຊ່ວງ 900 – 1200 ຄູ່ເບສ (ກາພ 19, c)



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

- 1 – 5 ตัวอย่างที่ได้รับสาร 5-azacytidine ความเข้มข้น $125 \mu\text{M}$
- 6 – 10 ตัวอย่างที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท ความเข้มข้น $250 \mu\text{M}$
- 11 – 15 ตัวอย่างที่ได้รับอุณหภูมิ 10°C เป็นเวลา 20 วัน
- 16 – 20 ตัวอย่างในกลุ่มควบคุม

หมายเหตุ : ลูกศร แสดงการเกิดແບดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักไม่เดียวกันแต่ต่างกัน

จากการตรวจสอบ DNA methylation โดยเทคนิค HAT-RAPD ในป่วยเล้ง ซึ่งได้พิจารณาจากการปรากฏແນບ ແລະ ไม่ปรากฏແນບของลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากการใช้ไฟรเมอร์ OPW-09 และ OPL-04 โดยทำการเปรียบเทียบกันภายในกลุ่มตัวอย่างที่ตัดด้วยเยื่อไชเมชันนิกเดียวกัน สามารถสรุปผลการทดลองได้ดังนี้

- (1) ตัวอย่างในกลุ่มที่ได้รับสาร 5-azacytidine พบร่วมกับตัวอย่างที่เกิดແນບดีเอ็นเอแตกต่างจากกลุ่มควบคุม นั่นคือเกิด demethylation ขึ้น โดยเกิดในต้นป่วยเล้งอายุ 21 วัน (หมายเลข 1 แสดงในภาพ 17b, 18b, 19b) และต้นป่วยเล้งอายุ 28 วัน (หมายเลข 3 แสดงในภาพ 17c, 18c, 19c)
- (2) ตัวอย่างในกลุ่มที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท พบร่วมกับตัวอย่างที่เกิดແນບดีเอ็นเอแตกต่างจากกลุ่มควบคุม นั่นคือเกิด demethylation ขึ้น โดยเกิดในต้นป่วยเล้งอายุ 14 วัน (หมายเลข 7 แสดงในภาพ 17a, 18a, 19a)
- (3) ตัวอย่างในกลุ่มที่ได้รับอุณหภูมิ 10 °C พบร่วมกับตัวอย่างที่เกิดແນບดีเอ็นเอแตกต่างจากกลุ่มควบคุม นั่นคือเกิด demethylation ขึ้น โดยเกิดในต้นป่วยเล้งอายุ 21 วัน (หมายเลข 14 แสดงในภาพ 17b, 18b, 19b)

4. ลำไย

4.1 ผลของสารโพแทสเซียมคลอเรทต่อการออกดอกของลำไย

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

ตาราง 6 แสดงผลสารโพแทสเซียมคลอเรทต่อการออกดอกของต้นลำไยพันธุ์คอ อายุ 10 ปี

	Treatments	
	KClO ₃ (1 kg/ตัน)	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 ตัน และ(2) กลุ่มควบคุม จำนวน 1 ตัน รวมเป็น 4 ตัน โดยได้ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างจากต้นลำไยในแต่ละต้นๆ ละ 4 กิ่ง มาวิเคราะห์ทุก 10 วัน จนกว่าจะออกดอกนั้นคือ ทำการเก็บตัวอย่าง ณ วันที่ 20, 30 และ 40 วันหลังใส่สาร ตามลำดับ หลังจากที่ตัดตัวอย่างดีเย็นเอื้อง เอ็นไซม์ตัดจำเพาะ *Hpa*II และ *Msp*I และสูญใช้ 5 ไฟรเมอร์ ได้แก่ OPW-09, OPL-04, OPC-09, OPH-06 และ OPL-15 และวิเคราะห์โดย agarose gel electrophoresis ซึ่งมีผลการทดลองดังต่อไปนี้

ต้นลำไยที่ระยะ 30 วัน หลังใส่สารโพแทสเซียมคลอเรท

- การใช้ไฟรเมอร์ OPW-09

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *HpaI* (ภาพ 20, a) : เกิดແບດดีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 11 แบบ เท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และ ไม่พบແບດดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน ระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *MspI* (ภาพ 20, b) : เกิดແບດดีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 15 แบบ เท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และ ไม่พบແບດดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน ระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

- การใช้ไฟรเมอร์ OPL-04

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *HpaII* (ภาพ 21, a) : เกิดແບດดีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 10 แบบ เท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และ ไม่พบແບດดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน ระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วย เอ็นไซม์ *MspI* (ภาพ 21, b) : เกิดແບດดีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 11 แบบ เท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และ ไม่พบແບດดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน ระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

- การใช้ไฟรเมอร์ OPC-09

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *HpaII* (ภาพ 22, a) : เกิดແບດดีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 8 แบบ เท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และ ไม่พบແບດดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน ระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *MspI* (ภาพ 22, b) : เกิดແນບດีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 10 แบบเท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และไม่พบແນບดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

- การใช้ไฟรเมอร์ OPH-06

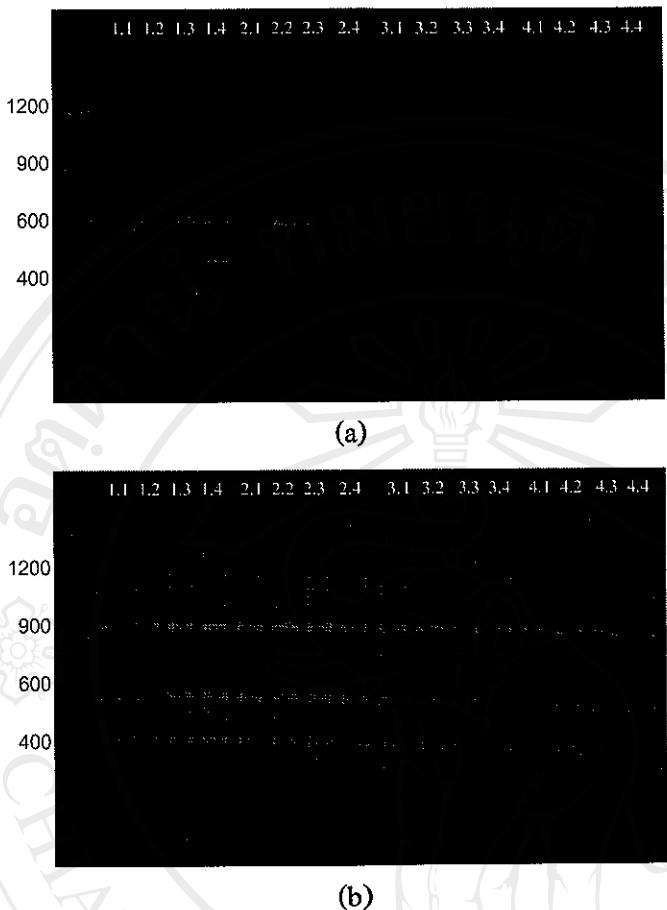
ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *HpaII* (ภาพ 23, a) : เกิดແນບດีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 11 แบบเท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และไม่พบແນບดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *MspI* (ภาพ 23, b) : เกิดແນບດีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 8 แบบเท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และไม่พบແນບดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

- การใช้ไฟรเมอร์ OPL-15

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *HpaII* (ภาพ 24, a) : เกิดແນບດีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 8 แบบเท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และไม่พบແນບดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *MspI* (ภาพ 24, b) : เกิดແນບດีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 15 แบบเท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และไม่พบແນບดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม



ภาพ 20 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของตัวอย่างลำไย ที่รับ 30 วันหลังใส่สาร โพแทสเซียมคลอเรท (ต้นที่ 1 2 และ 3) เปรียบเทียบกับต้นควบคุม (ต้นที่ 4) โดยเทคนิค HAT-RAPD ที่ใช้เพรเมอร์ OPW-09 และวิเคราะห์โดย agarose gel electrophoresis

(a) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

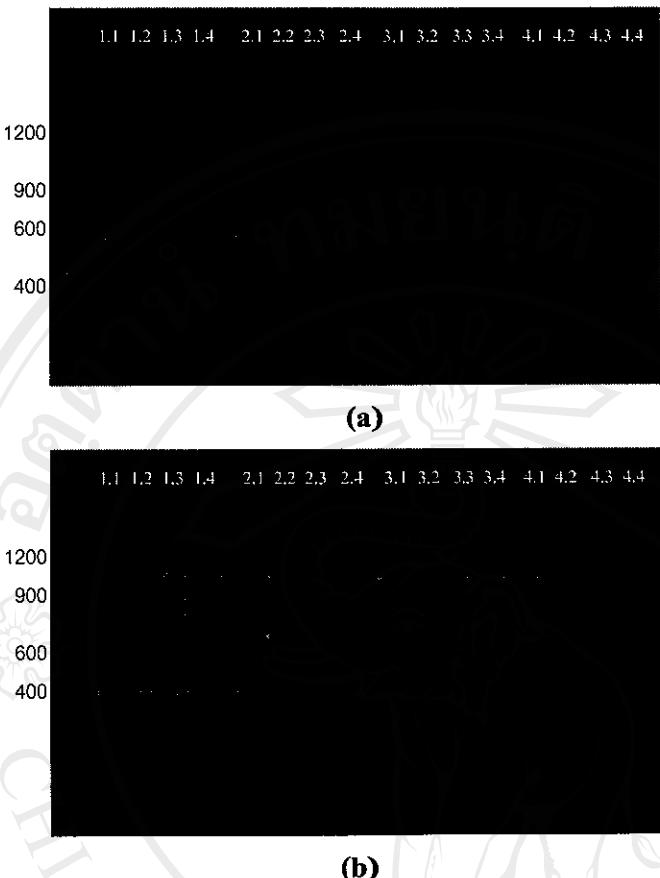
(b) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

1.1 – 1.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 1 ที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท

2.1 – 2.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 2 ที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท

3.1 – 3.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 3 ที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท

4.1 – 4.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 4 ซึ่งเป็นต้นควบคุม



ภาพ 21 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของตัวอย่างลำไย ที่รักษา 30 วันหลังใส่สาร โพแทสเซียมคลอเรท (ต้นที่ 1 2 และ 3) เปรียบเทียบกับต้นควบคุม (ต้นที่ 4) โดยเทคนิค HAT-RAPD ที่ใช้ไฟรเมอร์ OPL-04 และวิเคราะห์โดย agarose gel electrophoresis

(a) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วย.enz ไซม์ *Hpa*II

(b) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วย.enz ไซม์ *Msp*I

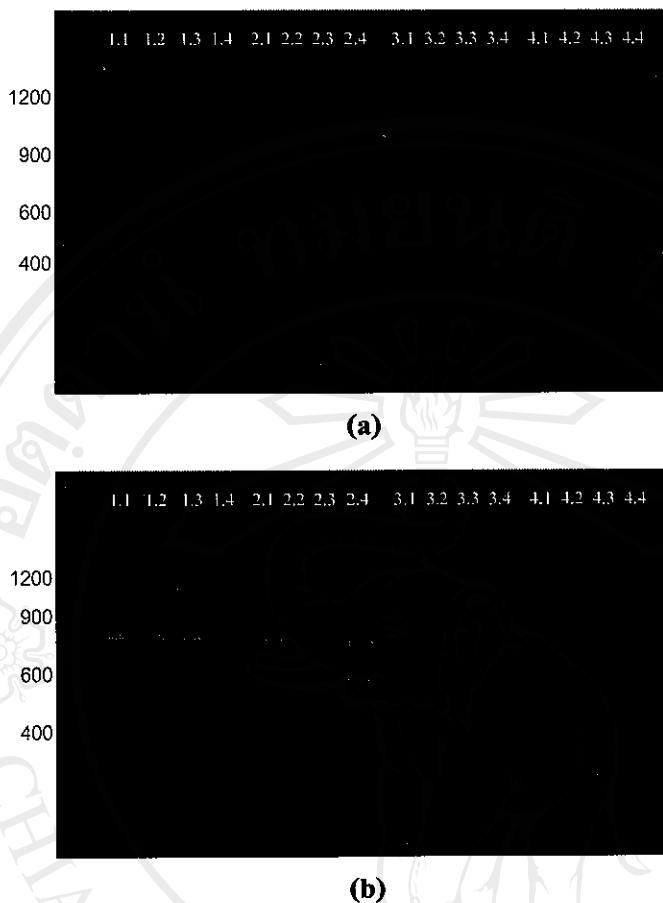
1.1 – 1.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 1 ที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท

2.1 – 2.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 2 ที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท

3.1 – 3.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 3 ที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท

4.1 – 4.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 4 ซึ่งเป็นต้นควบคุม

Copyright © Chiang Mai University
All rights reserved



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

(a) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

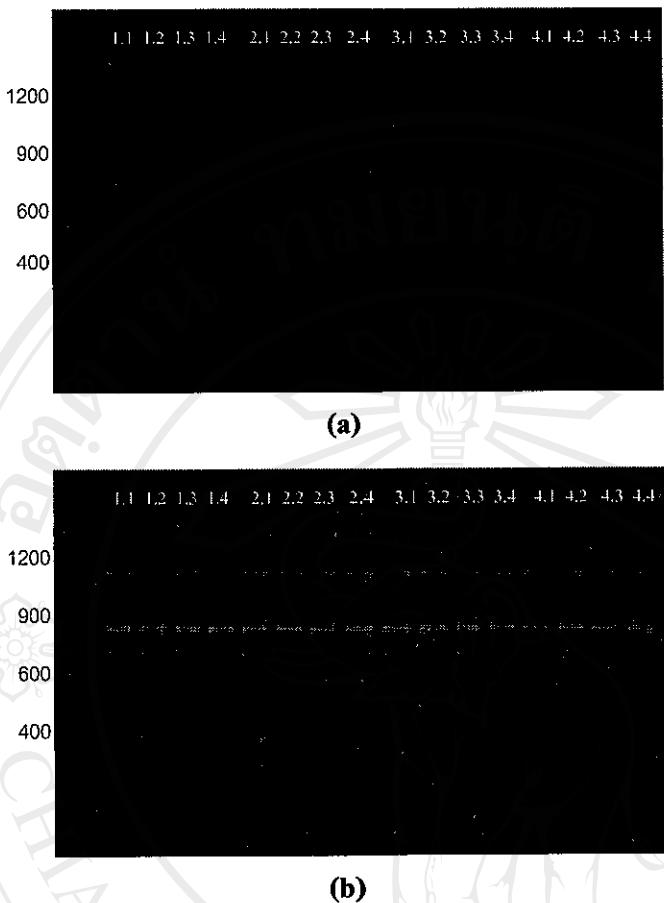
(b) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

1.1 – 1.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 1 ที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท

2.1 – 2.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 2 ที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท

3.1 – 3.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 3 ที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท

4.1 – 4.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 4 ซึ่งเป็นต้นควบคุม



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

(a) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

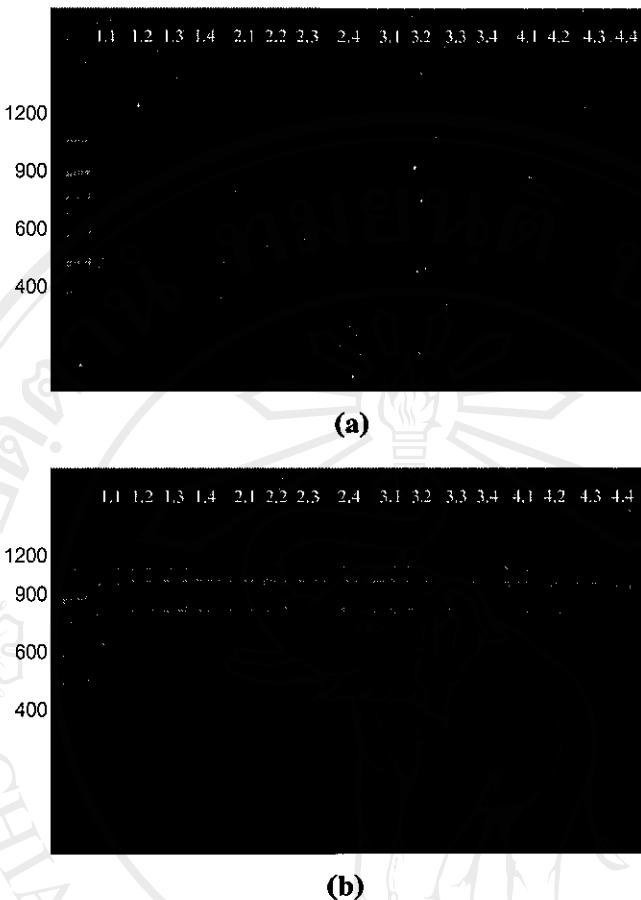
(b) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

1.1 – 1.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 1 ที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท

2.1 – 2.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 2 ที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท

3.1 – 3.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 3 ที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท

4.1 – 4.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 4 ซึ่งเป็นต้นควบคุม



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

(a) แสดงลายพิมพ์ดีอีนของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

(b) แสดงลายพิมพ์ดีอีนของลำไย 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

ในการวิเคราะห์โดย polyacrylamide gel electrophoresis มีผลการทดลองดังต่อไปนี้

- การใช้ไฟรเมอร์ OPW-09

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยอินไซม์ *HpaII* (ภาพ 25, a) : เกิดແບດดีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 40 ແບນเท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และไม่พบແບດดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยอินไซม์ *MspI* (ภาพ 25, b) : เกิดແບດดีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 32 ແບນเท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และไม่พบແບດดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

- การใช้ไฟรเมอร์ OPL-04

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยอินไซม์ *HpaII* (ภาพ 26, a) : เกิดແບດดีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 53 ແບນเท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และไม่พบແບດดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยอินไซม์ *MspI* (ภาพ 26, b) : เกิดແບດดีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 38 ແບນเท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และไม่พบແບດดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

- การใช้ไฟรเมอร์ OPC-09

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยอินไซม์ *HpaII* (ภาพ 27, a) : เกิดແບດดีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 30 ແບນเท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และไม่พบແບດดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *MspI* (ภาพ 27, b) : เกิดແນບດีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 25 ແນບ เท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และ ไม่พบແນບດีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน ระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

- การใช้ไฟรเมอร์ OPH-06

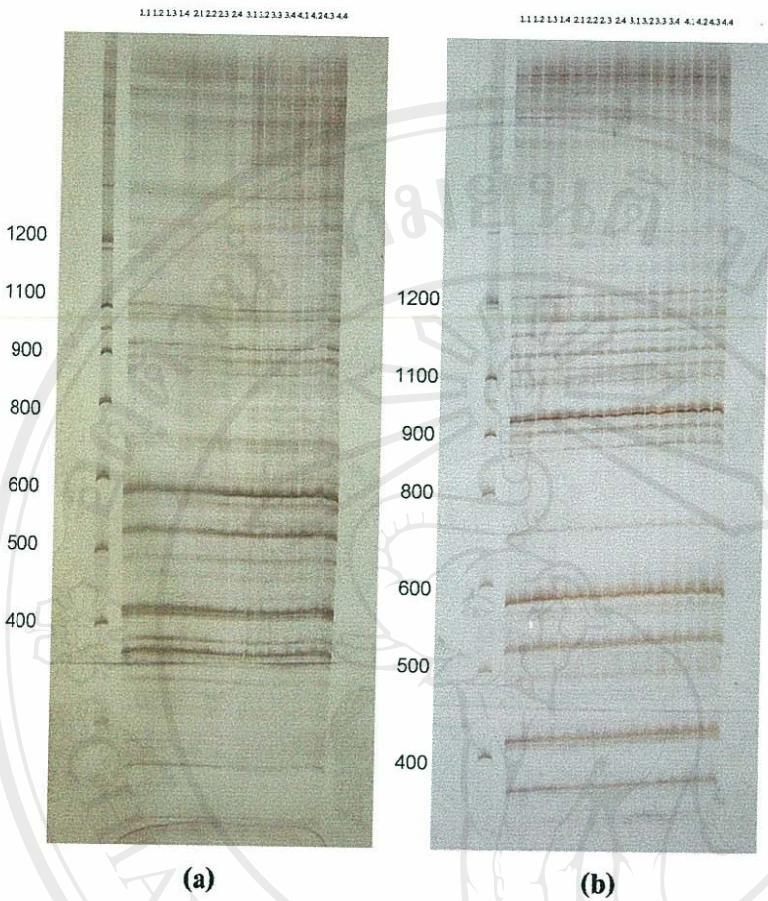
ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *HpaII* (ภาพ 28, a) : เกิดແນບດีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 20 ແນບ เท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และ ไม่พบແນບດีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน ระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *MspI* (ภาพ 28, b) : เกิดແນບດีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 15 ແນບ เท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และ ไม่พบແນບດีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน ระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

- การใช้ไฟรเมอร์ OPL-15

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *HpaII* (ภาพ 29, a) : เกิดແນບດีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 27 ແນບ เท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และ ไม่พบແນບດีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน ระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม

ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ *MspI* (ภาพ 29, b) : เกิดແນບດีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท (หมายเลข 1-12) จำนวน 29 ແນບ เท่ากับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม (หมายเลข 13-16) และ ไม่พบແນບດีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน ระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม



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

(a) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของคำไถ เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

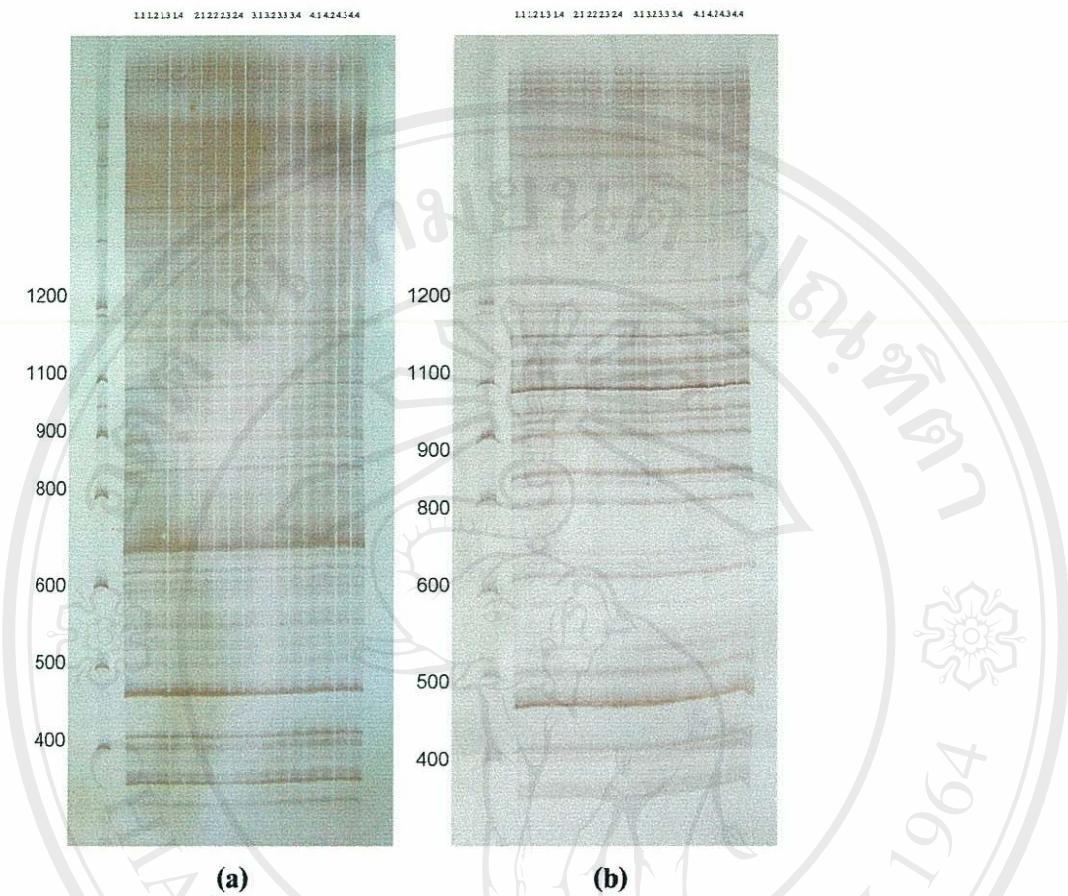
(b) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของคำไถ เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

1.1 – 1.4 ตัวอย่างคำไถต้นที่ 1 ที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท

2.1 – 2.4 ตัวอย่างคำไถต้นที่ 2 ที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท

3.1 – 3.4 ตัวอย่างคำไถต้นที่ 3 ที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท

4.1 – 4.4 ตัวอย่างคำไถต้นที่ 4 ซึ่งเป็นต้นควบคุม



ภาพ 26 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของตัวอย่างคำําไย ที่รับประยุกต์สารโพแทสเซียมคลอเรท (ต้นที่ 1, 2 และ 3) เปรียบเทียบกับต้นควบคุม (ต้นที่ 4) โดยเทคนิค HAT-RAPD ที่ใช้พรเมอร์ OPL-04 และวิเคราะห์โดย polyacrylamide gel electrophoresis

(a) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของคำําไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

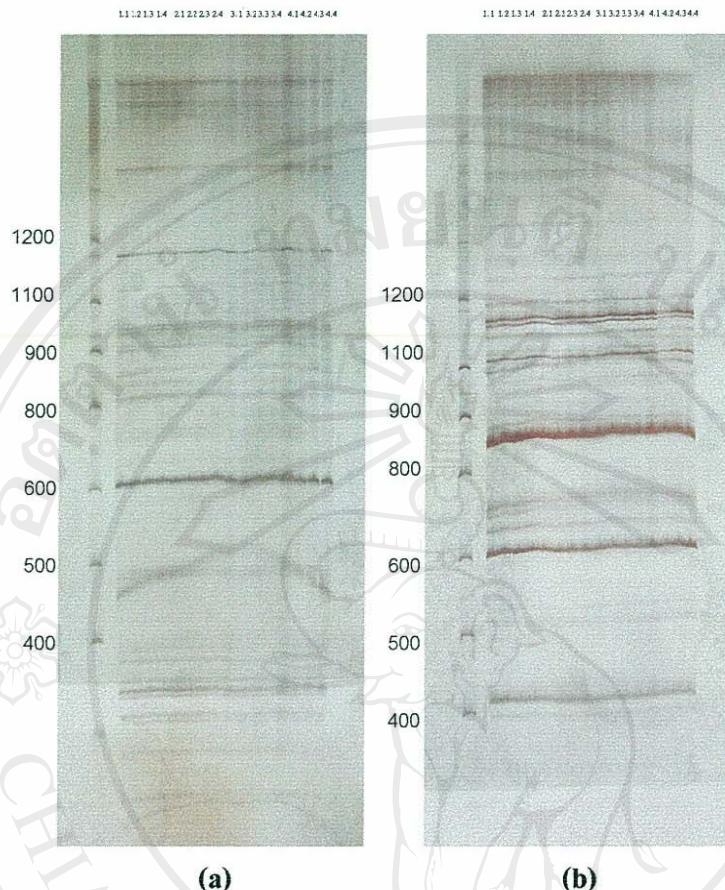
(b) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของคำําไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

1.1 – 1.4 ตัวอย่างคำําไยต้นที่ 1 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

2.1 – 2.4 ตัวอย่างคำําไยต้นที่ 2 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

3.1 – 3.4 ตัวอย่างคำําไยต้นที่ 3 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

4.1 – 4.4 ตัวอย่างคำําไยต้นที่ 4 ซึ่งเป็นต้นควบคุม



(a)

(b)

ภาพ 27 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของตัวอย่างลำไย ที่รักษา 30 วันหลังได้สาร โพแทสเซียมคลอเรท (ต้นที่ 1, 2 และ 3) เปรียบเทียบกับต้นควบคุม (ต้นที่ 4) โดยเทคนิค HAT-RAPD ที่ใช้ไฟรเมอร์ OPC-09 และวิเคราะห์โดย polyacrylamide gel electrophoresis

(a) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

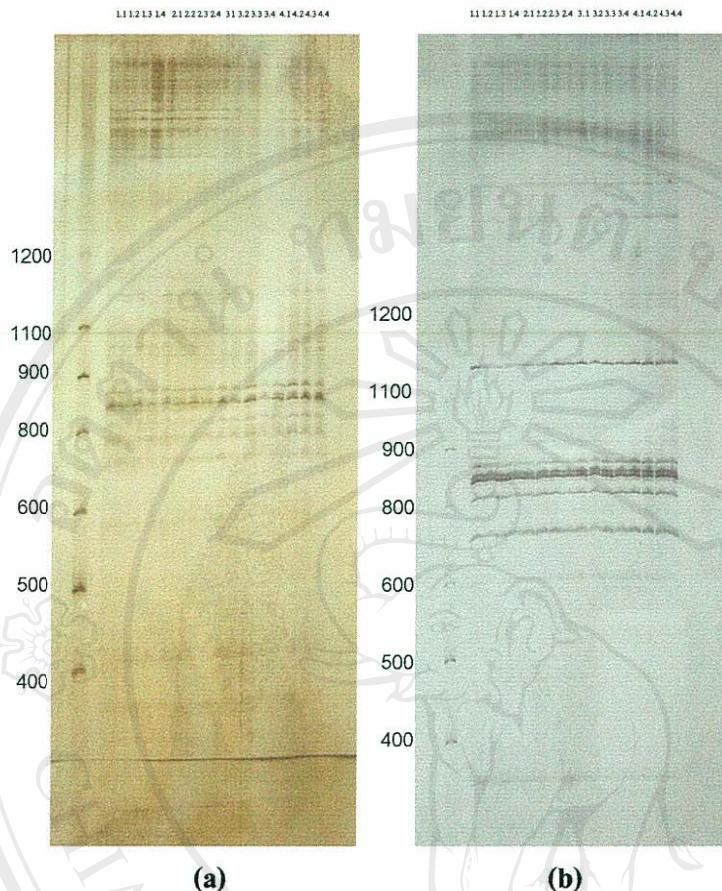
(b) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

1.1 – 1.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 1 ที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท

2.1 – 2.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 2 ที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท

3.1 – 3.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 3 ที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท

4.1 – 4.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 4 ซึ่งเป็นต้นควบคุม



ภาพ 28 แสดงลายพิมพ์เดื่อเอ็นโซของตัวอย่างคำไทย ที่ระยะ 30 วันหลังใส่สารโพแทสเซียมคลอเรต (ต้นที่ 1 2 และ 3) เปรียบเทียบกับต้นควบคุม (ต้นที่ 4) โดยเทคนิค HAT-RAPD ที่ใช้ไฟรเมอร์ OPH-06 และวิเคราะห์โดย polyacrylamide gel electrophoresis

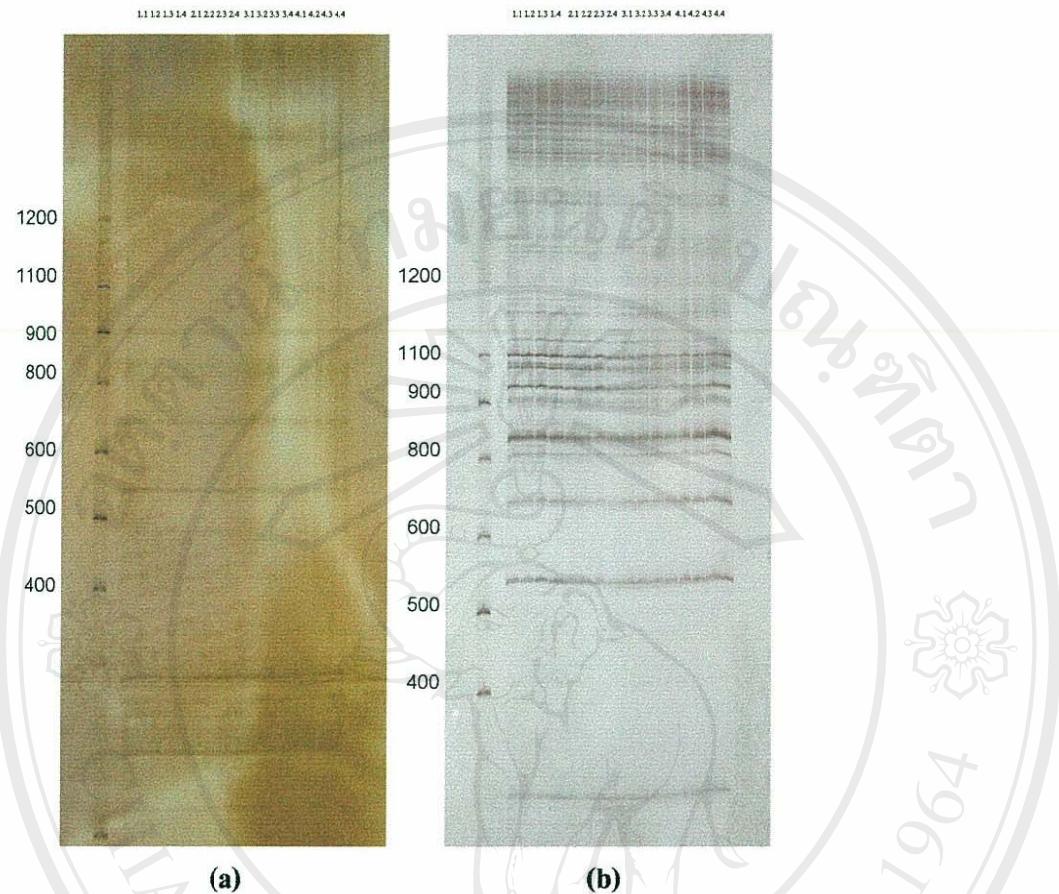
- (a) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II
 (b) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

1.1 – 1.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 1 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

๒๑-๒๔ ตัวคุณย่างลำไกเต็มที่ ? ที่ได้รับสารโพแทสเซียมเคลือบท

3.1 – 3.4 ตัวอย่างลำไยต้นที่ 3 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท

41 - 44 ตัวอย่างคำใบ้ที่ 4 ซึ่งเป็นต้นความคุณ



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

- (a) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดคัวย่อน ใช้มน *HpaII*
 (b) แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลำไย เมื่อตัดคัวย่อน ใช้มน *MspI*

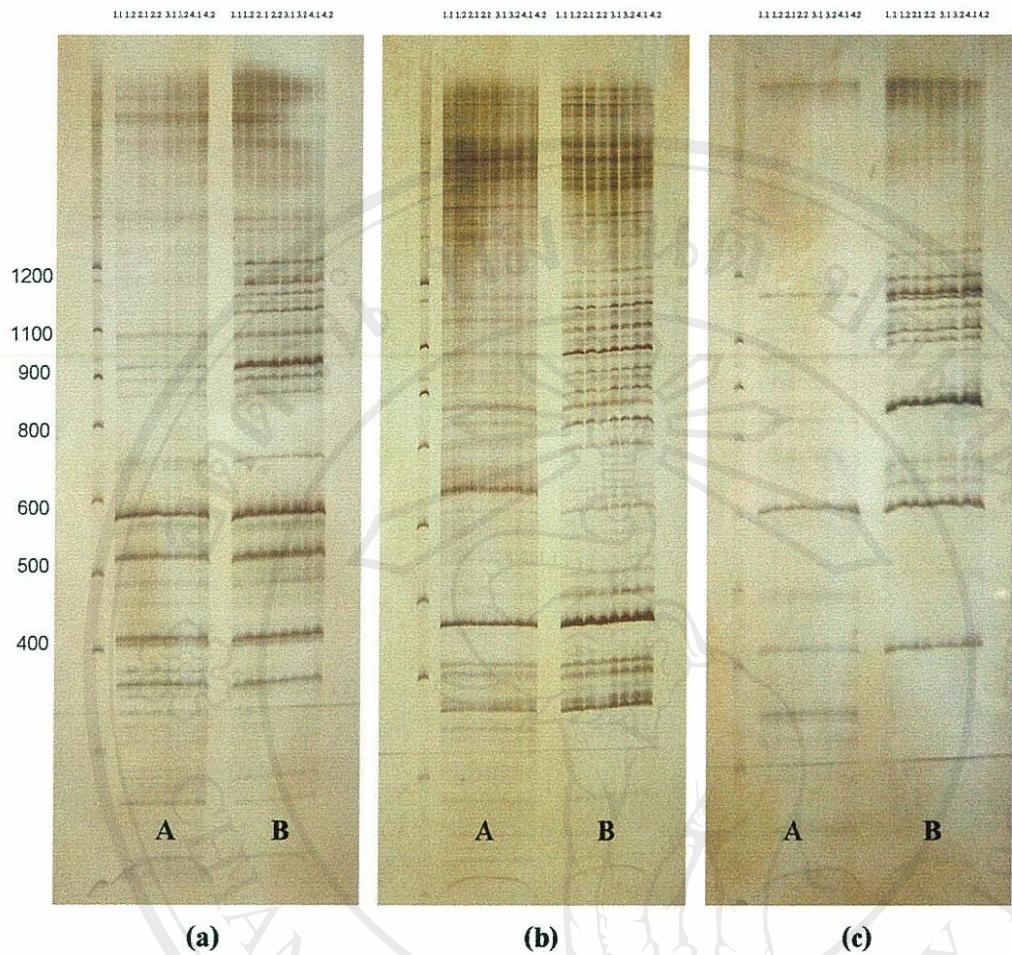
- 1.1 – 1.4 ตัวอย่างลำไยคันที่ 1 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท
2.1 – 2.4 ตัวอย่างลำไยคันที่ 2 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท
3.1 – 3.4 ตัวอย่างลำไยคันที่ 3 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท
4.1 – 4.4 ตัวอย่างลำไยคันที่ 4 ซึ่งเป็นต้นควบคุม

ต้นลำไยที่ระยะ 20 วัน หลังใส่สารโพแทสเซียมคลอเรท

ในการทดลองนี้ได้สุ่มเก็บตัวอย่างใบจากต้นลำไยในแต่ละต้นๆ ละ 2 กิ่งมาทำการตรวจสอน DNA methylation ซึ่งหลังจากที่ตัดตัวอย่างคีเอ็นเอคัลิเยนไซน์ตัดจำเพาะแต่ละชนิด และสุ่มใช้ 5 ไฟรเมอร์ ได้แก่ OPW-09, OPL-04, OPC-09, OPH-06 และ OPL-15 แล้ววิเคราะห์โดย polyacrylamide gel electrophoresis พบร่วมกับการตรวจสอน DNA methylation ของต้นลำไยที่ระยะ 30 วันหลังใส่สาร นั้นคือ ไม่พบແบบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักไม่ลงกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม (ภาพ 30, 31)



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright[©] by Chiang Mai University
 All rights reserved



ภาพ 30 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของตัวอย่างถ่าน ที่ระย 20 วันหลังใส่สาร โพแทสเซียมคลอเรต (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 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Hpa*II

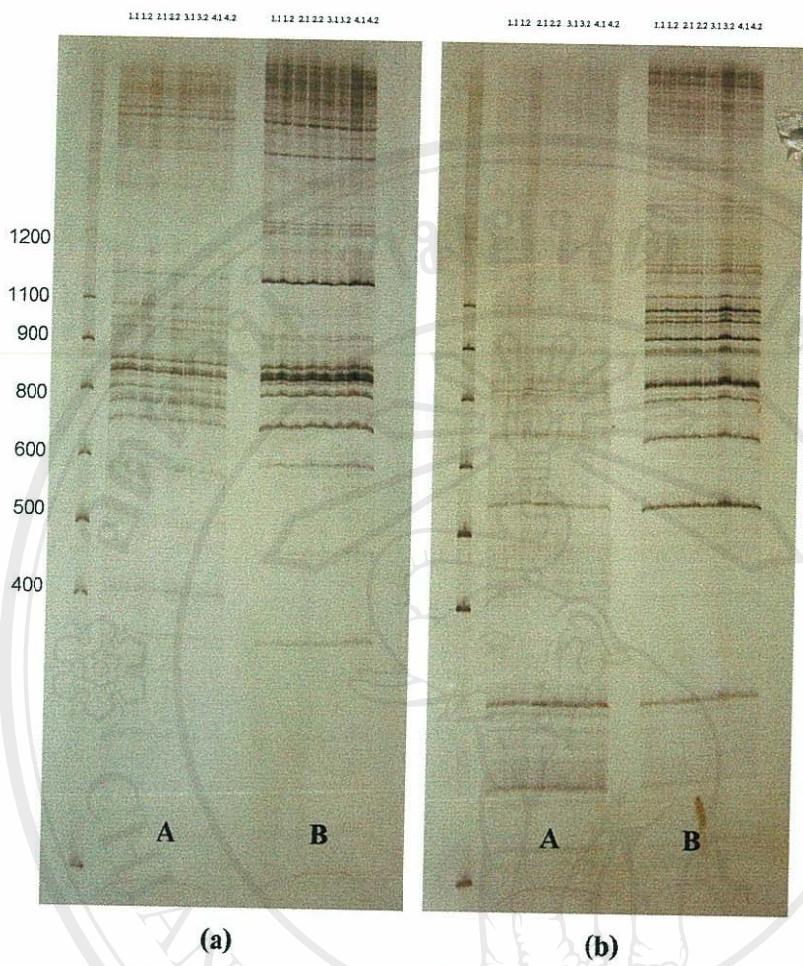
B แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นอของลำไย เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

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



ภาพ 31 แสดงลายพิมพ์ดีเจนของตัวอย่างถ้วยที่รับประทาน 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 แสดงลายพิมพ์ดีอีนของคำ “ไย” เมื่อตัดด้วยเยนไซม์ *HpaII*

B แสดงลายพิมพ์ดีอีนของคำ “ไย” เมื่อตัดด้วยเยนไซม์ *MspI*

1.1 – 1.2 ตัวอย่างคำ “ไย” ต้นที่ 1 ที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท

2.1 – 2.2 ตัวอย่างคำ “ไย” ต้นที่ 2 ที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท

3.1 – 3.2 ตัวอย่างคำ “ไย” ต้นที่ 3 ที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท

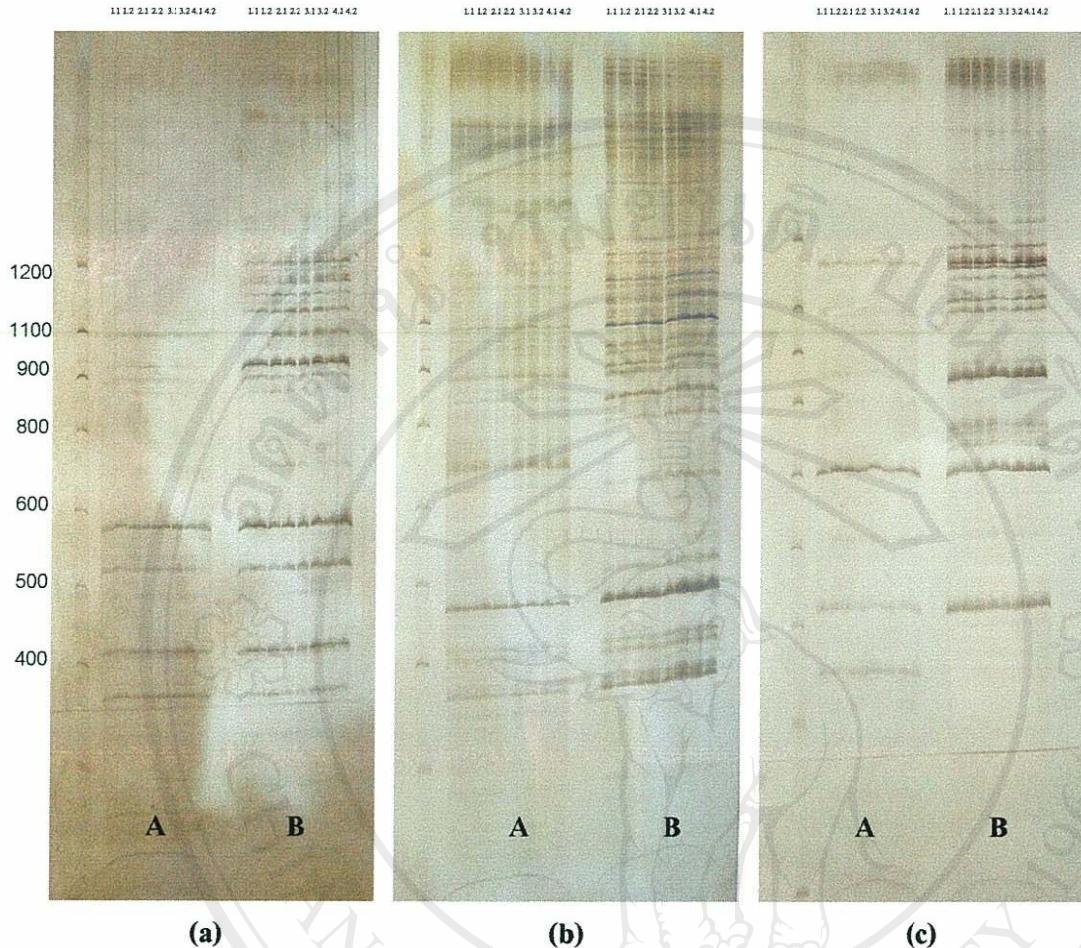
4.1 – 4.2 ตัวอย่างคำ “ไย” ต้นที่ 4 ซึ่งเป็นต้นควบคุม

ต้นลำไยที่ระยะ 40 วัน หลังใส่สารโพแทสเซียมคลอเรท

ในการทดลองนี้ได้สุ่มเก็บตัวอย่างในจากต้นลำไยในแต่ละต้นๆ ละ 2 กิ่งมาทำการตรวจส่อง DNA methylation ซึ่งหลังจากที่ตัดตัวอย่างดีเย็นแล้วย่อน ใช้มีตัดจำเพาะแต่ละชนิด และสุ่มใช้ 5 ไฟรเมอร์ ได้แก่ OPW-09, OPL-04, OPC-09, OPH-06 และ OPL-15 แล้ววิเคราะห์โดย polyacrylamide gel electrophoresis พบร้า มีผลการทดลองเช่นเดียวกับการตรวจส่อง DNA methylation ของต้นลำไยที่ระยะ 30 วันหลังใส่สาร นั่นคือ ไม่พบແบบดีเย็นที่มีน้ำหนักโน้มเลกุลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสาร และกลุ่มควบคุม (ภาพ 32, 33)



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright[©] by Chiang Mai University
 All rights reserved



ภาพ 32 แสดงลายพิมพ์ดีอีนของตัวอย่างถ่าน ที่ระย 40 วันหลังใส่สารโพแทสเซียมคลอเรต (ต้นที่ 1 2 และ 3) เปรียบเทียบกับต้นควบคุม (ต้นที่ 4) โดยเทคนิค HAT-RAPD ที่ใช้ไฟรเมอร์ OPW-09 (a) OPL-04 (b) และ OPC-09 (c) วิเคราะห์โดย polyacrylamide gel electrophoresis

A แสดงลายพิมพ์ดีอีนของงำใหญ เมื่อตัดด้วย.en ไซด์ *HpaII*

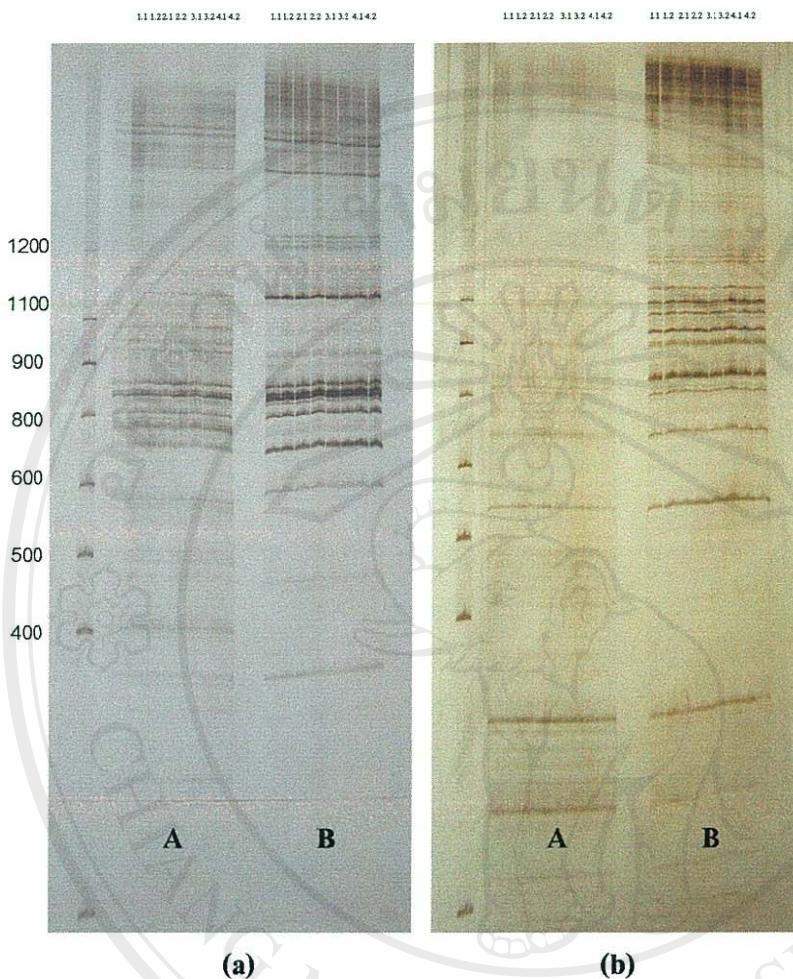
B แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของค้างคาว เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Msp*I

1.1 – 1.2 ตัวอย่างคำใบ้seenที่ 1 ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอร์ท

๒๑-๒๒ ตัวอย่างคำว่า 'ต้นที่ ๒' ที่ได้รับสารโพแทสเซียมเคลือบเท

3.1 – 3.2 ព័ត៌មានស្ថាបន្ទូរ 3 និងការបញ្ជាក់ស្ថាបន្ទូរ នៅលើវគ្គភាពទីផ្សារ

41-42 ตัวอย่างลำไังที่ 4 นี้เป็นตัวเรื่องจบ



ภาพ 33 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของตัวอย่างถ่านที่รับประทาน 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 แสดงลายพิมพ์คืออีนเอของงำใหญ่ เมื่อตัดด้วยendonuclease *Hpa*II

B แสดงถ่ายพิมพ์อิเล็กทรอนิกส์ของคำไทย เมื่อตัดตัว喻ออนไลน์ *MspI*

- | | |
|-----------|---|
| 1.1 – 1.2 | ตัวอย่างคำใบ้ต้นที่ 1 ที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท |
| 2.1 – 2.2 | ตัวอย่างคำใบ้ต้นที่ 2 ที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท |
| 3.1 – 3.2 | ตัวอย่างคำใบ้ต้นที่ 3 ที่ได้รับสาร โพแทสเซียมคลอเรท |
| 4.1 – 4.2 | ตัวอย่างคำใบ้ต้นที่ 4 ซึ่งเป็นต้นควบคุม |

จากการตรวจสอบกระบวนการ DNA methylation โดยเทคนิค HAT-RAPD ในคำไทย ซึ่งได้พิจารณาจากการปรากฏแทน และไม่ปรากฏແບບของลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากการใช้ไพรเมอร์ OPW-09, OPL-04, OPC-09, OPH-06 และ OPL-15 โดยทำการเปรียบเทียบกันภายในกลุ่มตัวอย่าง ที่ตัดตัวอย่างในช่วงเดียวกัน ซึ่งในการทดลองนี้ได้ทำการตรวจสอบในคำไทยอายุ 10 ปี ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรท ที่ระยะ 20 30 และ 40 วันหลังใส่สาร จากผลการทดลอง ไม่พบว่าเกิดແບບดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักไม่เกิน แต่ก็ต่างกันระหว่างตัวอย่างในกลุ่มที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรทที่ระยะต่างๆ และตัวอย่างในกลุ่มควบคุม นั้นคือ ตรวจไม่พบ demethylation ในตัวอย่างคำไทยในระยะต่างๆ ที่นำมาตรวจสอบ



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved