

ภาสกร พบพิมาย: การพัฒนาชุดตรวจเพศอินทผลัมด้วยปฏิกิริยาแลมป์
(DEVELOPMENT OF DATE PALM SEX DETERMINATION LAMP KIT)

อาจารย์ที่ปรึกษา: รองศาสตราจารย์ ดร.มารินา เกตุทัต-คาร์นส์, 78 หน้า

คำสำคัญ: แลมป์/อินทผลัม/ฟินอลเรด/การทดสอบภาคสนาม/การทำแห้งแบบเยือกแข็ง/เสถียรภาพ
ในระยะยาว

การระบุเพศในระยะต้นกล้าของพืชที่มีเพศผู้และเมียอยู่ต่างต้น เช่น กัญชา (*Cannabis sativa* L.) และอินทผลัม (*Phoenix dactylifera* L.) มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อประสิทธิภาพทางการเกษตร เนื่องจากต้นเพศเมียมักมีมูลค่าทางเศรษฐกิจสูงกว่าต้นเพศผู้ วิธีการระบุเพศแบบดั้งเดิมมักใช้เวลานาน ส่งผลให้เกิดความสับสนผิดพลาด งานวิจัยนี้จึงมุ่งพัฒนาเครื่องมือระดับโมเลกุลที่มีความแม่นยำ คุ่มค่า และสามารถใช้งานภาคสนามได้ สำหรับกัญชา ได้มีการพัฒนาเทคนิคการสกัดดีเอ็นเอที่ง่ายและรวดเร็ว เหมาะสำหรับการใช้งานในภาคสนาม และตรวจสอบความถูกต้องของเครื่องหมายดีเอ็นเอ MADC2 โดยใช้เทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) ซึ่งสามารถจำแนกต้นเพศผู้ (แถบดีเอ็นเอขนาด 390 bp) และต้นเพศเมีย (แถบดีเอ็นเอขนาด 560 bp และ 870 bp) ได้อย่างแม่นยำ สำหรับอินทผลัม ได้มีการพัฒนาเทคนิค Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP) โดยมุ่งเป้าไปที่ลำดับเบสของยีน GPAT3 ที่จำเพาะต่อเพศผู้ เทคนิคนี้สามารถแสดงผลได้ด้วยตาเปล่า โดยใช้ฟินอลเรด (phenol red) ที่เปลี่ยนสีจากสีแดงเป็นเหลืองเมื่อมีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมาย ที่อุณหภูมิคงที่ 65°C ภายในเวลา 60–70 นาที โดยไม่ต้องใช้อุปกรณ์ที่ซับซ้อน นอกจากนี้ยังได้พัฒนาชุดตรวจ LAMP แบบแห้ง (lyophilized) ที่มีความเสถียรด้วยการใช้น้ำตาลทรีฮาโลส (trehalose) เป็นสารรักษาความคงตัว ทำให้สามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20°C ได้อย่างน้อย 6 เดือน งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จในการพัฒนาเครื่องมือระดับโมเลกุลที่มีประสิทธิภาพและเข้าถึงได้ สำหรับการระบุเพศในระยะต้นกล้าของกัญชาและอินทผลัม ซึ่งจะช่วยให้เกษตรกรและนักปรับปรุงพันธุ์สามารถจัดการทรัพยากรได้อย่างมีประสิทธิภาพ ลดความเสี่ยงทางเศรษฐกิจ และส่งเสริมการเกษตรแม่นยำด้วยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ที่จะให้ผลอย่างยั่งยืน

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

ปีการศึกษา 2567

ลายมือชื่อนักศึกษา

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

PASSAKORN PHOBPHIMAI: DEVELOPMENT OF DATE PALM SEX

DETERMINATION LAMP KIT, THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. DR. MARIENA

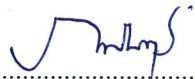
KETUDAT-CAIRNS, Ph.D., 78 PP.

Keyword: LAMP/Date palm/Phenol-red/Field-Test/Freeze-Dried/Long-term stability

Early sex determination in dioecious crops like *Cannabis sativa* L. (cannabis) and *Phoenix dactylifera* L. (date palm) is vital for efficient agriculture, as females are often more valuable. Traditional methods delay identification and wasting resources. This research developed reliable, cost-effective, field-use molecular tools for early sex determination in Thai cannabis. A simplified, rapid DNA extraction method suitable for field use was developed. The MADC2 Polymerase Chain Reaction (PCR) marker was validated for reliably differentiating male (390 bp amplicon) from female (560 bp and 870 bp amplicons) plants. For date palm, a novel Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP) assay targeting the male-specific GPAT3 sequence was developed. Visual detection using phenol red provides a clear orange-to-yellow color change upon positive amplification at a constant temperature of 65°C within 60-70 minutes. This LAMP assay eliminates complex equipment. A stable, lyophilized LAMP kit using trehalose as a cryoprotectant was also developed. This user-friendly kit demonstrated excellent stability for at least six months, facilitating easy transport and field deployment. This research successfully provides accessible and robust molecular tools for early sex determination of cannabis and date palm. The validated PCR markers for cannabis and the novel, field-ready LAMP kit for date palm empower farmers and breeders with timely information, significantly enhancing resource management, reducing economic risks, and promoting sustainable and profitable cultivation practices.

School of Biotechnology

Academic Year 2024

Student's Signature 

Advisor's Signature 