บทคัดย่อ

กล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน (*Paphiopedilum concolor* (Lindl.) Pfitzer) เป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญ อีกทั้งยังเป็นพืชที่ถูกคุกคามจนทำให้เสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ไปจากธรรมชาติ ในขณะที่การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของกล้วยไม้ชนิดนี้ด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุลยังมีน้อยมาก ทั้งนี้ส่วนหนึ่งเนื่องมาจากการเตรียมดีเอ็นเอให้มีความบริสุทธิ์เหมาะสำหรับการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิคพีซีอาร์ (polymerase chain reaction, PCR) ค่อนข้างยาก การศึกษานี้เปรียบเทียบวิธีสกัดดีเอ็นเอจากใบสดของรองเท้านารีเหลืองปราจีน 3 วิธี ได้แก่ การใช้ชุดสกัด GF-1 Plant DNA Extraction Kit (Vivantis Technologies) วิธี sodium dodecyl sulfate (SDS)-potassium acetate และวิธี cetyltrimethyl ammonium bromide (CTAB) พบว่า วิธี SDS-potassium acetate ให้ปริมาณดีเอ็นเอมากที่สุดและดีเอ็นเอที่ได้มีความบริสุทธิ์สูงสุด รองลงมาคือวิธี CTAB ให้ปริมาณดีเอ็นเอรองลงมาแต่มีการปนเปื้อนของสารที่มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 230 นาโนเมตร (A230) ค่อนข้างสูง และชุดสกัด GF-1 Plant DNA Extraction ให้ปริมาณดีเอ็นเอต่ำที่สุดและดีเอ็นเอที่ได้มีการปนเปื้อนของสารที่มี A230 ค่อนข้างสูง การทดสอบการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์ พบว่า ดีเอ็นเอที่เตรียมโดยวิธี SDS-potassium acetate และวิธี CTAB สามารถเพิ่มปริมาณด้วยพีซีอาร์ได้ดีใกล้เคียงกัน และดีกว่าดีเอ็นเอที่เตรียมโดยชุดสกัด GF-1 Plant DNA Extraction ดังนั้นวิธีสกัดดีเอ็นเอที่เหมาะสมสำหรับการสกัดดีเอ็นเอจากใบสดของกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน คือวิธี SDS-potassium acetate ไพรเมอร์ฟอร์เวิร์ดที่ออกแบบเพื่อให้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ Internal Transcribe Spacer (ITS) ถูกให้ชื่อว่า ITSP-F การทดสอบไพรเมอร์นี้ร่วมกับไพรเมอร์รีเวิร์ด ITS4 โดยใช้อุณหภูมิ annealing ที่ 55 องศาเซลเซียส พบว่า ได้ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์เพียงชนิดเดียวในปริมาณมาก จึงเหมาะสมสำหรับการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ วิธีสกัดดีเอ็นเอที่มีประสิทธิภาพและไพรเมอร์ที่เฉพาะเจาะจงต่อบริเวณ ITS จะเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาเทคโนโลยีโมเลกุลเครื่องหมายเพื่อใช้ศึกษาข้อมูลทางด้านพันธุกรรม อันจะเป็นประโยชน์ต่อการอนุรักษ์และการปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนและกล้วยไม้ในกลุ่มที่ใกล้เคียงกันต่อไป