การโคลนและการแสดงออกของยีน *BABY BOOM* (*BBM*) ในกระบวนการพัฒนาเอ็มบริโอของปาล์มน้ำมัน

Cloning and Gene Expression of *BABY BOOM* (*BBM*) in Oil Palm Embryogenesis

บุษรินทร์ วจนานวัช, ศุภชัย วุฒิพงศ์ชัยกิจ และชัชวาล จันทราสุริยารัตน์*

ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

Bussarin Wachananawat, Supachai Vuttipongchaikij and Chatchawan Jantasuriyarat*

Department of Genetics, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkhen Campus, Ladyao, Chatuchak, Bangkok, 10900

บทคัดย่อ

ปาล์มเป็นพืชที่ให้ผลผลิตน้ำมันในปริมาณที่สูงมาก และใช้พื้นที่ในการเพาะปลูกน้อย เมื่อเทียบกับพืชน้ำมันชนิดอื่น ๆ จึงเป็นพืชน้ำมันที่เกษตรกรนิยมปลูก ปัจจุบันความต้องการปาล์มน้ำมันในทางเศรษฐกิจมีเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ปาล์มน้ำมันเป็นพืชผสมข้ามต้น เมล็ดที่ได้จึงมีการกระจายตัวของพันธุกรรม ทำให้ต้นลูกที่ได้มีโอกาสไม่ใช่ต้นที่เป็นพันธุ์ดี จึงมีการใช้เทคนิคของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเข้ามาช่วย เพื่อให้ได้ต้นลูกที่มีลักษณะเหมือนต้นพันธุ์ดี ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมัน พบว่ากระบวนการพัฒนาเป็นเอ็มบริโอใช้ระยะเวลายาวนานถึง 7-8 เดือน ดังนั้นการศึกษายีนที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมกระบวนการพัฒนาเอ็มบริโอในปาล์มน้ำมันจึงมีความสำคัญ ยีน *BABY BOOM* (*BBM*) เกี่ยวข้องกับการพัฒนาเป็นเอ็มบริโอของพืชหลายชนิด การวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาระดับการแสดงออกของยีน *BBM* ในเนื้อเยื่อระยะต่าง ๆ ของการพัฒนาเอ็มบริโอเริ่มต้นจากระยะ callus, globular, torpedo, cotyledon และ plantlet โดยใช้เทคนิค semi-quantitative RT-PCR จากนั้นโคลนยีน *BBM* เพื่อศึกษาโครงสร้างยีน และศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของยีน *BBM* ในปาล์มน้ำมันกับพืชชนิดอื่น ๆ พบว่ายีน *BBM* มีการแสดงออกในช่วงการพัฒนาเอ็มบริโอ โครงสร้างยีนประกอบด้วย 1,437 คู่เบส สังเคราะห์สายพอลิเพปไทด์ได้ 479 กรดอะมิโน และยีน *BBM* ในปาล์มน้ำมันมีความใกล้ชิดกับ *Phoenix dactylifera* (date palm) ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มพืชใบเลี้ยงเดี่ยวเหมือนกัน จากผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่ายีน *BBM* ในปาล์มน้ำมันเกี่ยวข้องกับกระบวนการพัฒนาเอ็มบริโอในปาล์มน้ำมัน

คำสำคัญ : ปาล์มน้ำมัน; กระบวนการพัฒนาเอ็มบริโอ; *BABY BOOM*

Abstract

Oil palm is an oil crop that produced high oil yield and used the area for cultivation less than other oil crops. Current demand of oil palm in the economy has increased rapidly. Naturally oil palm

*Corresponding author: fscicwj@ku.ac.th DOI: 10.14456/tjst.2017.25

is a cross pollinated plant, seed propagation will lead to segregation in progeny. Therefore, tissue culture was used to produce the true-to-type seedling in the propagation of oil palm. We found that in the process of embryo development take up to 7-8 months, so we are interested in the gene that involved in the oil palm embryogenesis. From previous studied, *BABY BOOM* gene (*BBM*) was found that involved in the embryogenesis of several plant species. In this study, the expression level of *BBM* gene in different stages of oil palm embryogenesis (callus, globular, torpedo, cotyledon and plantlet) was examined using semi-quantitative RT-PCR. *BBM* gene of oil palm was cloned to study gene structure and study the evolutionary relationships of oil palm *BBM* gene with other plant species. *BBM* gene was expressed strongest in the globular stage of embryogenesis. The structure consists of 1,437 bp and encodes 479 amino acid residuals. For genetic relationship, *BBM* gene of oil palm was closely related to *Phoenix dactylifera* (date palm), which were monocotyledon plants. The results from our finding suggested that *BBM* gene involved in oil palm embryogenesis.

Keywords: oil palm; embryogenesis; *BABY BOOM*

1. คำนำ

ปาล์มน้ำมันเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย มีผู้นำปาล์มน้ำมันเข้ามาปลูกในประเทศไทยเป็นครั้งแรกเมื่อปี พ.ศ. 2472 ที่สถานีทดลองยางคอหงส์ จังหวัดสงขลา และสถานีกสิกรรมพลิ้ว จังหวัดจันทบุรี โดยปลูกเป็นปาล์มประดับ ส่วนการส่งเสริมการปลูกเป็นพื้นที่ใหญ่นั้นเริ่มเมื่อปี พ.ศ. 2511 ที่จังหวัดสตูล และกระบี่ หลังจากนั้นจึงขยายพื้นที่ปลูกมากขึ้นในหลายจังหวัดทางภาคใต้ และมีการกระจายไปยังภาคอื่น ๆ อีกด้วย (ธีระ, 2554) การใช้ประโยชน์น้ำมันปาล์มมีเพิ่มมากขึ้นอย่างรวดเร็ว ทำให้มีความต้องการต้นกล้าปาล์มน้ำมันจำนวนมากในการเพิ่มปริมาณต้นกล้าปาล์มน้ำมันให้เพียงพอต่อความต้องการทางเศรษฐกิจ โดยการเพาะเมล็ด เกษตรกรมักพบปัญหาว่าต้นปาล์มน้ำมันที่ได้ มักไม่ตรงตามพันธุ์ที่ต้องการ ซึ่งกว่าจะทราบก็ใช้เวลาเพาะปลูกเป็นเวลาหลายปี จึงมีการใช้เทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเข้ามาช่วยขยายพันธุ์ปาล์มน้ำมันให้มีลักษณะตรงตามพันธุ์ โดยเริ่มต้นจากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ แล้วกระตุ้นให้มีการสร้างแคลลัส (callus) โดยใช้ระยะเวลาประมาณ 2-4 เดือน จากนั้นเข้าสู่กระบวนการพัฒนาเอ็มบริโอใช้ระยะเวลาประมาณ 7-8 เดือน ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 ระยะ คือ ระยะโกลบูลา (globular) ระยะทอร์ปิโด (torpedo) และระยะใบเลี้ยง (cotyledon) จนกระทั่งพัฒนาเป็นต้นอ่อน (plantlet) ซึ่งพบว่าในขั้นตอนการพัฒนาเอ็มบริโอของปาล์มน้ำมันใช้ระยะเวลานาน (Thuzar *et al*., 2011) ดังนั้นจึงสนใจศึกษายีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการพัฒนาเอ็มบริโอในปาล์มน้ำมัน โดยการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่ายีน *BABY BOOM* (*BBM*) เป็นยีนที่แปลรหัสได้ AP2 domain transcription factor และมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาของเอ็มบริโอและเมล็ดในพืชหลายชนิด เช่น *Arabidopsis thaliana*, *Brassica napus* (Boutilier *et al*., 2002), *Capsicum annuum* (Irikova *et al*., 2012) และ *Theobroma cacao* (Florez *et al*., 2015) การศึกษาครั้งนี้จึงสนใจศึกษายีน *BBM* ในเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมันที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อศึกษาระดับการแสดงออกของยีนในระยะที่

แตกต่างกัน ศึกษาโครงสร้างของยีน และวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของยีน *BBM* ในปาล์มน้ำมันเปรียบเทียบกับพืชชนิด อื่น ๆ ซึ่งหวังว่าการศึกษาในครั้งนี้จะช่วยทำให้เข้าใจยีน *BBM* ที่มีผลต่อการควบคุมการพัฒนาเอ็มบริโอในปาล์มน้ำมัน และสามารถนำข้อมูลที่ได้ไปใช้พัฒนาการย่นระยะเวลาขั้นตอนการพัฒนาเอ็มบริโอในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมันได้ในอนาคต

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 ตัวอย่างเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมัน

ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมันในระยะต่าง ๆ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยแบ่งออกเป็น 5 ระยะ คือ callus, globular, torpedo, cotyledon และ plantlet โดยเนื้อเยื่อดังกล่าวได้รับความอนุเคราะห์จาก Dr. Mya Thuzar (Thuzar *et al*., 2011)

2.2 การสกัดอาร์เอ็นเอและสังเคราะห์สาย cDNA

นำตัวอย่างปาล์มน้ำมันปริมาณ 2-3 กรัม มาบดในโกร่งโดยใช้ไนโตรเจนเหลว เพื่อสกัดอาร์เอ็นเอโดยใช้ชุดสกัด Spin Plant RNA (STRATEC Molecular, Germany) นำอาร์เอ็นเอที่สกัดได้ไปวัดปริมาณความเข้มข้นของอาร์เอ็นเอและตรวจสอบด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสในเจลอะกาโรส 1 % และย้อมด้วย gel red หลังจากนั้นสังเคราะห์สาย cDNA จากอาร์เอ็นเอต้นแบบ โดยใช้ปริมาณอาร์เอ็นเอ 2 ไมโครกรัม ในการสังเคราะห์โดยใช้ชุด Verso cDNA kit (Thermo Scientific, USA)

2.3 การตรวจสอบระดับการแสดงออกของยีนด้วยเทคนิค semi-quantitative RT-PCR

นำ cDNA ที่ได้มาทำปฏิกิริยา semi-quantitative RT-PCR ด้วยไพรเมอร์ EgBBM_F (5′-GCTTTCTTTCTCCTCAACTCC-3′) และ EgBBM_R (5′-CATCACCTCCCATGGTCTCT-3′) โดยมีส่วนประกอบของสารเคมีดังนี้ cDNA 1 ไมโครลิตร ไพรเมอร์ EgBBM_F และ EgBBM_R ชนิดละ 0.2 μM, 0.2 mM dNTP mix, 10x ViBuffer A และ 2.5 mM $MgCl_2$ ปริมาตรรวม 10 ไมโครลิตร โดยใช้ *Taq* DNA polymerase 0.2 ยูนิต (Vivantis, USA) ทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ โดยเริ่มต้นที่อุณหภูมิ 95 °C นาน 5 นาที จำนวน 1 รอบ หลังจากนั้น 95 °C นาน 30 วินาที, 58 °C นาน 30 วินาที และ 72 °C นาน 1 นาที จำนวน 35 รอบ และสิ้นสุดที่อุณหภูมิ 72 °C นาน 5 นาที ตรวจสอบผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสในเจลอะกาโรส 1 % โดยเปรียบกับการแสดงออกของยีน *EFα1* ซึ่งเป็นยีนที่มีการแสดงออกในทุกเนื้อเยื่อพืชด้วยไพรเมอร์ EgEFα1_F (5′-TATCAAAGGATGGGCAGACC-3′) และ EgEFα1_R (5′-TCCAAGGCAAGGTATGATGA-3′) โดยทำปฏิกิริยาพีซีอาร์จำนวน 25 รอบ โดยทดลองซ้ำอย่างน้อย 2 ครั้ง

2.4 การโคลนยีน *EgBBM* จากเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมัน

การศึกษาระดับการแสดงออกของยีน *EgBBM* ในเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมันทั้ง 5 ระยะ พบว่าเนื้อเยื่อในระยะ globular มีการแสดงออกมากที่สุด จึงได้เลือก cDNA ของเนื้อเยื่อระยะ globular มาใช้ในการโคลนยีน โดยไพรเมอร์ที่ใช้ในการโคลนยีนเป็นไพรเมอร์คู่เดียวกับที่ใช้ในการศึกษาระดับการแสดงออก คือ EgBBM_F และ EgBBM_R โดยมีส่วนประกอบของสารเคมี ดังนี้ cDNA 2.5 ไมโครลิตร ไพรเมอร์ EgBBM_F และ EgBBM_R ชนิดละ 0.5 μM, 2 mM dNTP mix, 5x Buffer Q และ 5x Enhancer ปริมาตรรวม 50 ไมโครลิตร โดยใช้ Q5 DNA polymerase 0.2 ยูนิต (New England Biolabs®, UK) ทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ โดยเริ่มต้นที่อุณหภูมิ 98 °C นาน 5 นาที จำนวน 1 รอบ หลังจากนั้น 98 °C นาน 30 วินาที, 58 °C นาน 30

วินาที และ 72 °C นาน 15 วินาที จำนวน 35 รอบ และสิ้นสุดที่อุณหภูมิ 72 °C นาน 5 นาที ตรวจสอบผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสในเจลอะกาโรส 1 % จากนั้นตัดเจลบริเวณแถบดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ แล้วทำให้เจลบริสุทธิ์ด้วยชุด GF-1 AmbiClean Kit (Gel & PCR) (Vivantis, USA) ต่อจากนั้นโคลนชิ้นยีน *EgBBM* เข้าไปในเวคเตอร์ pGEM®-T Easy vector (Promega, Wisconsin, USA) และถ่ายเวคเตอร์เข้าไปในแบคทีเรีย *E. coli* สายพันธุ์ DH5α ด้วยวิธี heat shock คัดเลือกโคลนบนอาหารแข็งที่มียาปฏิชีวนะ 50 mg/ml carbenicillin, 0.1 M IPTG และ 20 mg/ml X-Gal ตรวจสอบโคลนที่ได้ด้วยการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์โดยใช้ไพรเมอร์ T7 (5′-AATACGACTCACTATAG-3′) และ SP6 (5′-ATTTAGGTGACACTATAG-3′) แล้วส่งโคลนไปตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์ (Macrogen, South Korea) หลังจากนั้นนำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ไปเปรียบเทียบกับข้อมูลในฐานข้อมูล NCBI (Altschul *et al*., 1997) เพื่อสร้างโครงสร้างยีน *EgBBM*

2.5 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ

นำ coding sequence ของยีน *EgBBM* ที่ได้จากการส่งวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ มาทำการเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *BBM* ในพืชชนิดอื่น ๆ โดยดาวน์โหลดลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูล NCBI (Table 1) และเปรียบเทียบลำดับเบสโดยใช้โปรแกรม ClustalW2 (http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalw2/) จากนั้นสร้าง phylogenetic tree ด้วยโปรแกรม MEGA 6.06 (http://www.megasoftware.net/) (Tamura *et al*., 2013) โดยวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการด้วยวิธี maximum likelihood และทดสอบด้วยค่า bootstrap 1,000 ครั้ง (Felsenstein, 1985)

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

การตรวจสอบระดับการแสดงออกของยีน *EgBBM* ในเนื้อเยื่อระยะต่าง ๆ จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมัน พบว่ามีการแสดงออกของยีน *EgBBM* ในเนื้อเยื่อระยะ callus, globular, torpedo และ cotyledon โดยเฉพาะในระยะ globular มีระดับการแสดงออกสูงที่สุด ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อที่อยู่ในระยะการพัฒนาเอ็มบริโอ ส่วนใน plantlet ไม่พบการแสดงออกของยีน *EgBBM* (Figure 1) จากผลที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่พบว่ายีน *BBM* ใน *Arabidopsis* และ *Brassica napus* มีการแสดงออกในระยะการพัฒนาเอ็มบริโอ และเมล็ด (Boutilier *et al*., 2002) และพบว่ายีน *EgAP2-1* ในปาล์มน้ำมัน ซึ่งเป็นยีนที่จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันกับยีน *BBM* มีการแสดงออกในเนื้อเยื่อระยะการพัฒนาเอ็มบริโอปาล์มน้ำมัน (Morcillo *et al*., 2007) ต่อมา Heidmann และคณะ (2011) ได้ศึกษาการแสดงออกของยีน *BBM* ของ rapeseed (*Brassica napus*) โดยการถ่ายยีนเข้าใน sweet pepper (*Capsicum annuum*) พบว่ามีการกระตุ้นให้เกิดการสร้างโครงสร้างที่คล้ายเอ็มบริโอบนใบอ่อน เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Florez และคณะ (2015) ที่ได้ถ่ายยีน *BBM* ของ *Arabidopsis* เข้าใน cacao (*Theobroma cacao*)

การโคลนยีน *EgBBM* จากเนื้อเยื่อระยะ globular และตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์กับฐานข้อมูลจีโนมปาล์มน้ำมัน พบว่ายีน *BBM* มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมที่ 2 บนจีโนมปาล์มน้ำมัน มีลำดับนิวคลีโอไทด์ 1,437 คู่เบส โดยประกอบด้วย 8 แอกซอน และ 7 อินทรอน (Figure 2A) และสังเคราะห์สายโพลีเปปไทด์ที่ประกอบด้วย 479 กรดอะมิโน ซึ่งมีองค์ประกอบของ AP2/ERF domain (Figure 2B) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้าที่พบว่ายีน *BBM* ในพืชชนิดอื่น ๆ มีองค์ประกอบ

Table 1 Information of the sequences used in the evolutionary relationship analysis of BBM gene from 18 plant species.

No.	Common name	Science Name	Accession No.
1	Arabidopsis	*Arabidopsis thaliana*	NM_121749.2
2	purple false brome	*Brachypodium distachyon*	XM_003563300.3
3	rapeseed	*Brassica napus*	AB519821.1
4	oil palm	*Elaeis guineensis*	LC107815
5	rose gum	*Eucalyptus grandis*	XM_010050343.1
6	strawberry	*Fragaria vesca*	XM_011464031.1
7	physic nut	*Jatropha curcas*	XM_012218656.1
8	tobacco	*Nicotiana sylvestris*	XM_009771981.1
9	rice	*Oryza sativa*	HQ858843.1
10	date palm	*Phoenix dactylifera*	XM_00880537.1
11	castor bean	*Ricinus communis*	XM_002530982.2
12	sesame	*Sesamum indicum*	XM_011071620.1
13	foxtail millet	*Setaria italic*	XM_004965625.2
14	tomato	*Solanum lycopersicum*	XM_010325107.1
15	sorghum	*Sorghum bicolor*	XM_002437349.1
16	cacao	*Theobroma cacao*	XM_007014189.1
17	grape	*Vitis vinifera*	XM_002268647.3
18	corn	*Zea mays*	NM_001112598.2

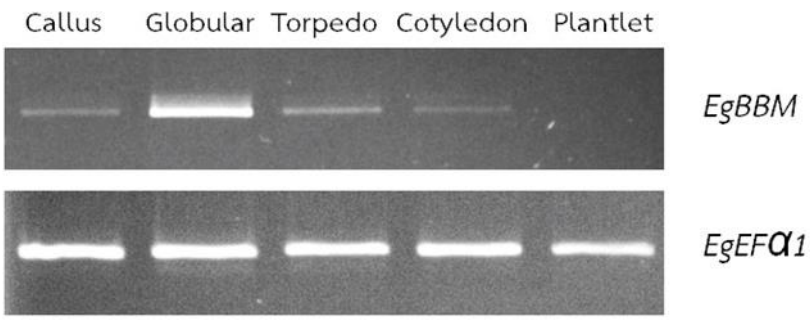

Figure 1 Semi-quantitative RT-PCR analysis of *EgBBM* transcription levels in oil palm tissue samples including; callus, globular, torpedo, cotyledon and plantlet. Oil palm elongation factor alpha gene, *EgEfα1*, was used as internal control.

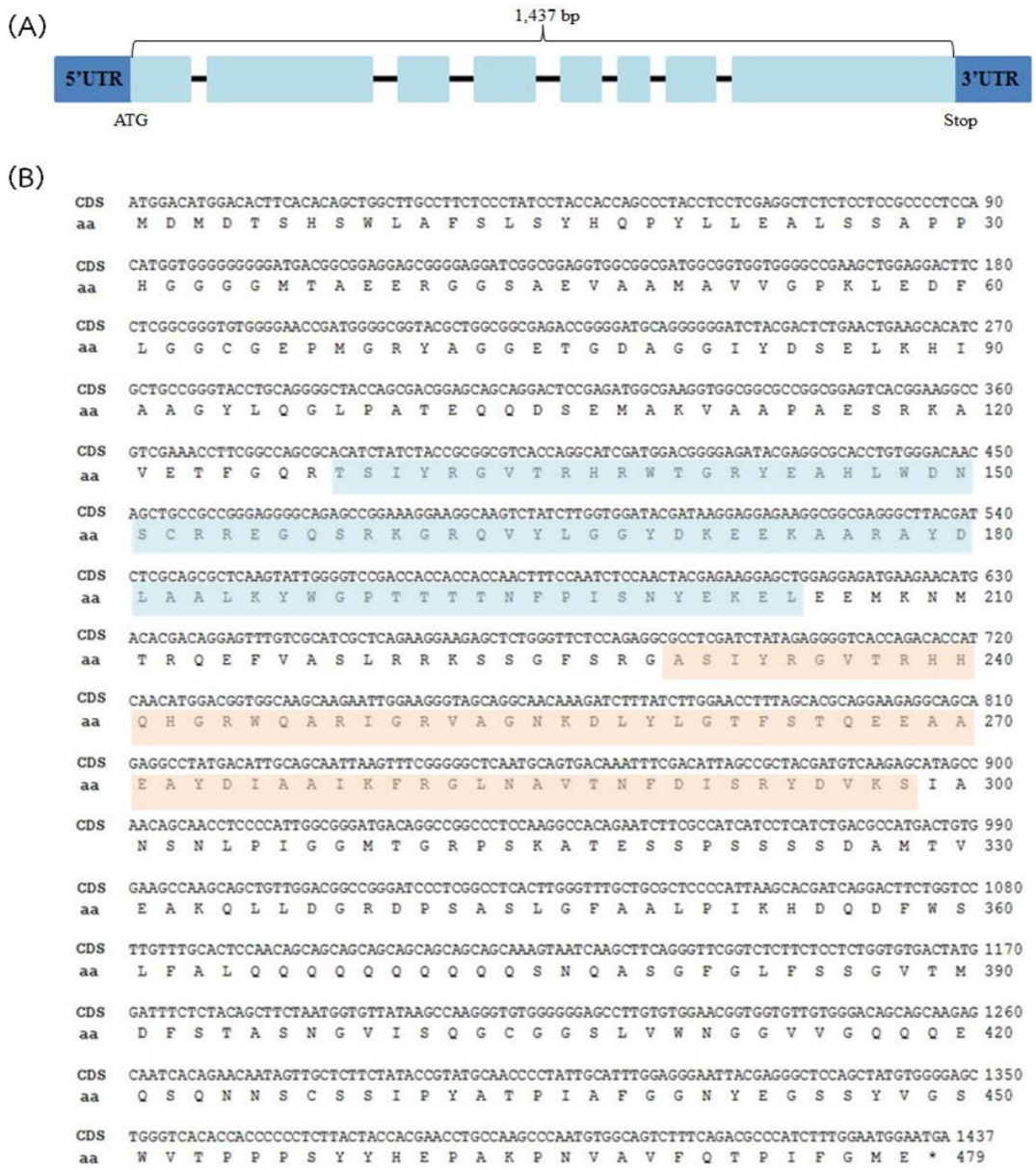

Figure 2 Characteristic of *EgBBM* gene. (A) Gene structure of *EgBBM* gene contains 8 open reading frames of 1,437 bp and (B) Coding sequence and amino acid sequence of *EgBBM* gene. Blue color highlight indicates the first AP2/ERF domain. Red color highlight indicates the second AP2/ERF domain. Asterisk (*) refers to stop codon.

ของ AP2/ERF domain เป็นส่วนสำคัญ เช่น ใน *Arabidopsis* (Jofuku *et al*., 1994) และ *Brassica napus* (Okamuro *et al*., 1997)

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *BBM* จากพืชทั้งหมด 18 ชนิด รวมทั้งปาล์มน้ำมันด้วย พบว่าสามารถแบ่ง

ความสัมพันธ์ได้ 2 กลุ่ม คือ Group A เป็นพืชใบเลี้ยงคู่ ซึ่งประกอบด้วย Arabidopsis (*Arabidopsis thaliana*), castor bean (*Ricinus communis*), physic nut (*Jatropha curcas*), cacao (*Theobroma cacao*), tobacco (*Nicotiana sylvestris*), tomato (*Solanum lycopersicum*), strawberry (*Fragaria vesca*), grape (*Vitis vinifera*), sesame (*Sesamum indicum*), rapeseed (*Brassica napus*) และ rose gum (*Eucalyptus grandis*) ส่วน Group B เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ซึ่งประกอบด้วย oil palm (*Elaeis guineensis*), date palm (*Phoenix dactylifera*), purple false brome (*Brachypodium distachyon*), rice (*Oryza sativa*), foxtail millet (*Setaria italic*), corn (*Zea mays*) และ sorghum (*Sorghum bicolor*) โดยจะพบว่าปาล์มน้ำมันถูกจัดกลุ่มอยู่ในกลุ่มพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและมีความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมกับ date palm (*Phoenix dactylifera*) ถึง 99 % (Figure 3) จากผลที่ได้แสดงว่าการเปลี่ยนแปลงของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *BBM* ในพืชทั้ง 18 ชนิด มีความแตกต่างกันอย่างเพียงพอที่จะจัดกลุ่มของพืชได้อย่างน่าเชื่อถือ และตรงตามระบบการจัดหมวดหมู่สิ่งมีชีวิตทางอนุกรมวิธาน

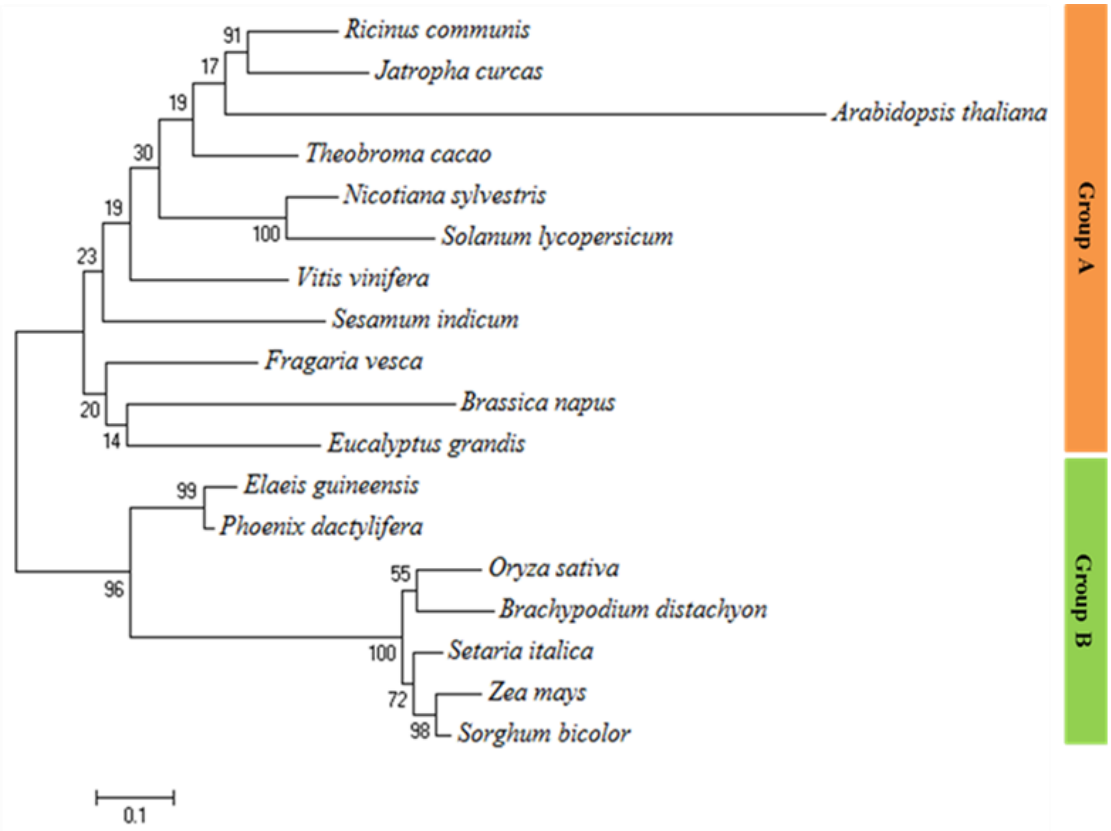

Figure 3 The phylogenetic relationship of 18 plant species based on nucleotide sequences of BBM gene using maximum likelihood methods with the MEGA version 6.06 software program. The number below each line represents the robustness of the nodes by bootstrapping of 1,000 replicates. The species names and the GenBank accession numbers are as follows (Table 1).

4. สรุป

ผลงานวิจัยครั้งนี้พบว่ายีน *EgBBM* ในปาล์มน้ำมันมีการระดับการแสดงออกในเนื้อเยื่อระยะ globular สูงที่สุด ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อที่อยู่ในระยะการพัฒนาเอ็มบริโอ การโคลนยีน *EgBBM* พบว่ามีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมที่ 2 บนจีโนมปาล์มน้ำมัน มีลำดับนิวคลีโอไทด์ 1,437 คู่เบส โดยประกอบด้วย 8 แอกซอน และ 7 อินทรอน และสังเคราะห์สายโพลีเปปไทด์ที่ประกอบด้วย 479 กรดอะมิโน ซึ่งมีองค์ประกอบของ AP2/ERF domain และจากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *BBM* จากพืชทั้งหมด 18 ชนิด พบว่าปาล์มน้ำมันถูกจัดกลุ่มอยู่ในกลุ่มพืชใบเลี้ยงเดี่ยว และมีความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมกับ date palm (*Phoenix dactylifera*) การศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่ายีน *EgBBM* มีความเกี่ยวข้องกับการควบคุมการพัฒนาเอ็มบริโอในปาล์มน้ำมัน และในอนาคตสามารถนำข้อมูลที่ได้ไปเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาการย่นระยะเวลาการพัฒนาเป็นเอ็มบริโอในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมันต่อไป

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ทุนบัณฑิตศึกษา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (ScKUPGS) สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (KURDI) ที่ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณ Dr. Mya Thuzar ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมันสำหรับงานวิจัยนี้

6. รายการอ้างอิง

ธีระ เอกสมทราเมษจุ์, 2554, การปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมัน, โอ เอส พริ้นติ้ง เฮาส์ จำกัด, กรุงเทพฯ.

Altschul, S.F., Madden, T.L., Schäffer, A.A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W. and Lipman, D.J., 1997, Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs, Nucl. Acids Res. 25: 3389-3402.

Boutilier, K., Offringa, R., Sharma, V.K., Kieft, H., Ouellet, T., Zhang, L., Hattori, J., Liu, C.M., van Lammeren, A.A., Miki, B.L. and Custers, J.B., 2002, Ectopic expression of *BABY BOOM* triggers a conversion from vegetative to embryonic growth, Plant Cell 14: 1737-1749.

Felsenstein, J., 1985, Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap, Evolution 39: 783-791.

Florez, S.L., Erwin, R.L., Maximova, S.N., Guiltinan, M.J. and Curtis, W.R., 2015, Enhanced somatic embryogenesis in *Theobroma cacao* using the homologous *BABY BOOM* transcription factor, BMC Plant Biol. 15(1): 1.

Heidmann, I., de Lange, B., Lambalk, J., Angenent, G.C. and Boutilier, K., 2011, Efficient sweet pepper transformation mediated by the *BABY BOOM* transcription factor, Plant Cell Rep. 30: 1107-1115.

Irikova, T., Grozeva, S. and Denev, I., 2012, Identification of *BABY BOOM* and *LEAFY COTYLEDON* genes in sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) genome by their partial gene sequences, Plant Growth Regul. 67: 191-198.

Jofuku, K.D., den Boer, B.G., van Montagu, M.

and Okamuro, J.K., 1994, Control of *Arabidopsis* flower and seed development by the homeotic gene *APETALA2*, Plant Cell 6: 1211-1225.

Morcillo, F., Gallard, A., Pillot, M., Jouannic, S., Aberlenc-Bertossi, F., Collin, M., Verdeil, J.L. and Tregear, J.W., 2007, *EgAP2-1*, an *AINTEGUMENTA-like* (*AIL*) gene expressed in meristematic and proliferating tissues of embryos in oil palm, Planta 226: 1353-1362.

Okamuro, J.K., Caster, B., Villarroel, R., van Montagu, M. and Jofuku, K.D., 1997, The AP2 domain of *APETALA2* defines a large new family of DNA binding proteins in *Arabidopsis*, Proc. Nat. Acad. Sci. 94: 7076-7081.

Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A. and Kumar, S., 2013, MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0, Mol. Biol. Evol. 30: 2725-2729.

Thuzar, M., Vanavichit, A., Tragoonrung, S. and Jantasuriyarat, C., 2011, Efficient and rapid plant regeneration of oil palm zygotic embryos cv.'Tenera' through somatic embryogenesis, Acta Physiol. Plant. 33: 123-128.