

ชุมพวงนิ นาคศิริ 2549: การประเมินลักษณะทางจีโนไทป์ของยูคาลิปตัส ความทนเค็มของพืช ภายใต้  
สภาวะเครียดจากโซเดียมคลอไรด์ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร)  
สาขาเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา ประชานกรรมการที่ปรึกษา:  
อาจารย์สุดเขตต์ นาคะเสถียร, Ph.D. 73 หน้า  
ISBN 974-16-2635-5

โซเดียมคลอไรด์เป็นเกลือที่มีอิทธิพลมากในพื้นที่ดินเค็มซึ่งจะจำกัดผลผลิตของพืช ยูคาลิปตัส  
สามารถเจริญเติบโตได้ดีบนพื้นที่ดินเค็มปานกลางแต่อัตราการเจริญเติบโตและอัตราการอยู่รอดลดลงเมื่อความ  
เข้มข้นของเกลือในดินเพิ่มสูงขึ้น พืชชนิดต่าง ๆ มีการพัฒนากลไกในการทนเค็มแตกต่างกันไป ดังนั้นการ  
เข้าใจการตอบสนองและการปรับตัวของพืชต่อสภาวะเครียดจากโซเดียมคลอไรด์จะนำไปสู่ความสำเร็จในการ  
ปรับปรุงยูคาลิปตัสทนเค็ม วิธีการที่ใช้ในการศึกษาสามารถจะพัฒนาไปเป็นวิธีการสำหรับคัดเลือกยูคาลิปตัส  
และพืชชนิดอื่น ๆ ต่อไปในอนาคต วัตถุประสงค์ของงานวิจัยครั้งนี้ เพื่อพัฒนาวิธีการคัดเลือกที่ครอบคลุมถึง  
การตอบสนองทางสรีรวิทยาของยูคาลิปตัสภายใต้สภาวะเครียดจากโซเดียมคลอไรด์ระหว่างโคลนทนเค็มและ  
โคลนอ่อนแอ และประเมินลักษณะทางจีโนไทป์ต่าง ๆ โดยศึกษาการแสดงออกของยีน Cu/Zn SOD และ APX  
รวมทั้งวิเคราะห์ชนิดของโปรตีนในใบยูคาลิปตัสที่ตอบสนองต่อสภาวะเครียดจากโซเดียมคลอไรด์ ยูคาลิปตัส  
ความทนเค็ม จำนวน 6 โคลน (C1, C2, C3, C4, C5 และ C6) ปลูกในสารละลายธาตุอาหาร Hoagland และ  
ให้เกลือที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ (0 mM (Control), 100 mM และ 200 mM) ผลจากการศึกษาพบว่าโซเดียม  
คลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 200 mM มีผลกระทบต่ออัตราการเจริญเติบโตของยูคาลิปตัสทุกโคลน ดังนั้นจึงใช้เกลือ  
ที่ระดับความเข้มข้นนี้เป็นเกณฑ์มาตรฐานในการคัดเลือก ยูคาลิปตัสที่ได้รับการคัดเลือก ได้แก่ โคลน C1 และ  
C5 (เป็นตัวแทนโคลนทนเค็ม) และ C4 (เป็นตัวแทนโคลนอ่อนแอ) เมื่อศึกษาการเจริญเติบโตของยูคาลิปตัสทั้ง  
3 โคลน ภายใต้สภาวะเครียดจากโซเดียมคลอไรด์ ในวันที่ 21 หลังจากย้ายปลูก พบว่าโคลน C5 สามารถทนต่อ  
โซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 200 mM ได้ดีกว่าโคลน C1 และ C4 เนื่องจากโคลน C5 มีอัตราการ  
เจริญเติบโตและอัตราการอยู่รอดมากกว่าทั้ง 2 โคลน ขณะที่การแสดงออกของยีน Cu/Zn SOD และ APX ใน  
โคลน C4 และ C5 เพิ่มขึ้นกว่าโคลน C1 เมื่อความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เพิ่มสูงขึ้นจาก 0 mM เป็น 100  
และ 200 mM ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบรูปแบบของโปรตีนในใบยูคาลิปตัสที่ได้รับเกลือกับไม่ได้รับเกลือ  
(control) โดยใช้ 10 % SDS polyacrylamide gel electrophoresis พบว่ามีแถบของโพลีเปปไทด์จำนวน 2 แถบ  
เข้มข้นอย่างเห็นได้ชัดเจนนี้น้ำหนักประมาณ 28 และ 70 kDa ในยูคาลิปตัสโคลน C5 เมื่อวิเคราะห์ลำดับ  
กรดอะมิโนของโพลีเปปไทด์ทั้งสองตำแหน่ง โดยใช้วิธี Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-  
MS/MS) และเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนกับฐานข้อมูลโปรตีน nrFASTA พบว่าเหมือนกับ ATP synthase  
CF1 beta subunit และ heat shock protein 70 ตามลำดับ จากการศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบว่า Cu/Zn SOD, APX,  
ATP synthase CF1 beta subunit และ heat shock protein 70 เกี่ยวข้องกับกระบวนการปรับตัวในยูคาลิปตัสทน  
เค็ม

Chumpunnee Naksiri 2006: Genotypic Evaluation in Eucalyptus (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.) under NaCl Stress. Master of Science (Agricultural Biotechnology), Major Field: Agricultural Biotechnology, Interdisciplinary Graduate Program. Thesis Advisor: Mr. Suthket Nakasathien, Ph. D. 73 pages.  
ISBN 974-16-2635-5

NaCl is the predominant salt in most saline environments which is a major limitation to production of plant. Eucalyptus can grow well in moderately salt-affected areas but the yield and survival rate will be reduced when salt concentration in soil gradually increased. The different plant species have developed different mechanisms of salt tolerance. Understanding how the plant responds and adapts to NaCl stress will be one of the key success factors for improving salt-tolerant species. The methods can be further developed to use for NaCl tolerant screening in eucalyptus and with other plant species. Therefore, the objective of this research were to develop screening methods covering the physiological response of eucalyptus under NaCl stress between salt tolerant and salt sensitive clones, an evaluation the genotypic differences by studying expression of Cu/Zn SOD and APX genes, and identification and characterization of unique proteins expressed in eucalyptus leaves corresponding to stress conditions. Six clones of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. (C1, C2, C3, C4, C5 and C6) were grown in Hoagland solution under saline conditions (0 (Control), 100 mM NaCl and 200 mM NaCl). The result showed that growth and development of all clones were affected by 200 mM NaCl treatment, so we will use this level as a criterion for screening. Three clones of eucalyptus were selected, composed of C1 and C5 (as salt-tolerant clones) and C4 (as a salt-sensitive clone). When studies of plant growth under NaCl stress. At 21 days after NaCl treatment, it was found that C5 was more tolerant than those of C1 and C4 when cultured in 200 mM NaCl. Clone 5 showed significantly higher biomass and survival rate when compared with the other two clones. While the Cu/Zn SOD and APX gene expression in leaves of C4 and C5 were increased and greater than that of C1 when increasing NaCl concentration from 0 to 100 and 200 mM, respectively. When comparing the leaf protein profiles of treated plants with control by using 10% SDS-Polyacrylamide Gel Electrophoresis, it revealed that some leaf proteins could express in higher levels when compared to those of control. It was found that the intensity of the 28 and 70 kDa protein bands in treated-clone, C5 were greater than those of control. These two proteins which were increased by salt stress were identified by using Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS/MS) method. The partial amino acid sequences of 28 and 70 kDa showed similarity to those of ATP Synthase CF1 Beta subunit and Heat Shock Protein 70 (HSP70). This suggested that Cu/Zn SOD gene, APX gene, ATP Synthase CF1 Beta subunit and Heat Shock Protein 70 involved with mechanism of salt tolerance in eucalyptus.

---

Student's signature

---

Thesis Advisor's signature

