



## วิทยานิพนธ์

เครื่องหมาย AFLP ที่เชื่อมโยงกับลักษณะความสามารถในการ  
รักษาค่าพลังงานศักย์รวมของน้ำและค่าพลังงานความเข้มข้นน้ำ  
ในอ้อย

AFLP MARKERS LINKED TO THE ABILITY TO MAINTAIN  
TOTAL LEAF WATER POTENTIAL AND OSMOTIC  
POTENTIAL IN SUGARCANE

นางสาวนงลักษณ์ เทียนเสรี

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2550



# ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร)

## ปริญญา

เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร

สาขา

โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา

ภาควิชา

เรื่อง เครื่องหมาย AFLP ที่เชื่อมโยงกับลักษณะความสามารถในการรักษาค่าพลังงานศักย์รวม  
ของน้ำและค่าพลังงานความเข้มข้นน้ำในอ้อย

AFLP Marker Linked to the Ability to Maintain Total Leaf Water Potential  
and Osmotic Potential in Sugarcane

นามผู้วิจัย นางสาวนงลักษณ์ เทียนเสรี

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ

( รองศาสตราจารย์สนธิชัย จันทน์เปรม, Ph.D. )

กรรมการ

( ผู้ช่วยศาสตราจารย์เรวัต เลิศฤทัยโยธิน, D.Agr. )

กรรมการ

( อาจารย์ธีรยุทธ ตูจันดา, Ph.D. )

ประธานสาขาวิชา

( รองศาสตราจารย์พงศ์เทพ อัครธนกุล, Ph.D. )

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

( รองศาสตราจารย์วินัย อาจคงหาญ, M.A. )

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... เดือน ..... พ.ศ. ....

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

เครื่องหมาย AFLP ที่เชื่อมโยงกับลักษณะความสามารถในการรักษาค่าพลังงานศักย์รวมของน้ำ  
และค่าพลังงานความเข้มข้นน้ำในอ้อย

AFLP Marker Linked to the Ability to Maintain Total Leaf Water Potential and Osmotic  
Potential in Sugarcane

โดย

นางสาวนงลักษณ์ เทียนเสรี

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร)  
พ.ศ. 2550

ISBN 974-16-2757-2

นางลักษณีย์ เทียนเสรี 2550: เครื่องหมาย AFLP ที่เชื่อมโยงกับลักษณะความสามารถในการรักษาค่าพลังงานศักย์รวมของน้ำและค่าพลังงานความเข้มข้นน้ำในอ้อย ปริญาปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร) สาขาเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา ปรธานกรรณการที่ปรึกษา: รองศาสตราจารย์สนธิชัย จันท์เปรม, Ph.D. 94 หน้า  
ISBN 974-16-2757-2

ศึกษาการตอบสนองต่อภาวะขาดน้ำในอ้อยในระยะต้นกล้า เพื่อทดสอบวิธีการและพารามิเตอร์ที่ใช้แสดงความแตกต่างระหว่างพันธุ์ทนทาน (พันธุ์กำแพง แสน 94-13) และอ่อนแอต่อสภาพขาดน้ำ (โคลนพันธุ์ 93-1-25) โดยการให้ต้นกล้าได้รับภาวะขาดน้ำจากการงดน้ำและประเมินค่าพลังงานกำกับก้อนดินด้วยเครื่องวัดความเครียดในดิน เปรียบเทียบกับการได้รับภาวะขาดน้ำจากสารละลายธาตุอาหารที่มีสาร PEG ความเข้มข้น 0, 10, 20, 30 และ 40 เปอร์เซ็นต์ ระดับละ 5 วัน วัดค่าพลังงานศักย์รวมของน้ำในใบ ค่าพลังงานความเข้มข้นน้ำ และค่าพลังงานความดันน้ำ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าค่าพลังงานทั้งสามนี้ ลดลงเมื่ออ้อยทั้งสองพันธุ์ได้รับภาวะขาดน้ำรุนแรงขึ้น แต่พันธุ์กำแพง แสน 94-13 สามารถรักษาระดับพลังงานศักย์รวมของน้ำในใบ และพลังงานความเข้มข้นน้ำไว้ได้สูงกว่าในโคลนพันธุ์ 93-1-25 โดยตรวจพบความแตกต่างนี้ได้ภายใต้ภาวะขาดน้ำจากสารละลายธาตุอาหารสูตร Hoagland ที่ใส่ PEG ความเข้มข้นถึงระดับ 30 เปอร์เซ็นต์

ตรวจสอบเครื่องหมายโมเลกุลที่เชื่อมโยงกับความสามารถในการรักษาพลังงานศักย์รวมของน้ำในใบ และพลังงานความเข้มข้นน้ำในระดับสูง ในประชากรชั่วที่ 2 โดยปลูกในสารละลายธาตุอาหารสูตร Hoagland และเพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย PEG จนถึงระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ วัดค่าพลังงานศักย์รวมของน้ำในใบ และพลังงานความเข้มข้นน้ำ พบว่า ประชากรชั่วที่ 2 มีการกระจายตัวของค่าทั้งสองนี้อยู่ในช่วง -517 ถึง -4,123 กิโลพาสคาล และ -882 ถึง -4,044 กิโลพาสคาล ตามลำดับ จากนั้นจัดกลุ่มดีเอ็นเอออกเป็น 4 กลุ่มคือกลุ่มที่รักษาพลังงานศักย์รวมของน้ำในใบไว้ได้สูง และกลุ่มที่ให้ค่าพลังงานศักย์รวมของน้ำในใบต่ำ กลุ่มที่รักษาพลังงานความเข้มข้นน้ำได้สูง และกลุ่มที่ให้ค่าพลังงานความเข้มข้นน้ำต่ำ ตรวจสอบแถบดีเอ็นเอตามวิธี bulked segregant analysis และ selective genotyping ด้วยการวิเคราะห์แบบ AFLP พบว่า มี 2 เครื่องหมาย AFLP ที่เชื่อมโยงกับความสามารถในการรักษาพลังงานศักย์รวมของน้ำในใบไว้ได้สูง ได้แก่ เครื่องหมาย AGG/CTC และ AGG/ACG โดยมีอิทธิพลร่วมที่อธิบายลักษณะนี้ได้ 13 เปอร์เซ็นต์ และพบ 3 เครื่องหมาย AFLP ที่เชื่อมโยงกับ ความสามารถในการรักษาพลังงานความเข้มข้นของน้ำได้สูง คือ เครื่องหมาย CAG/CTC, AAG/ACA และ GCA/CAG โดยสามารถอธิบายลักษณะนี้ร่วมกันได้ 15.1 เปอร์เซ็นต์

Nongluk Teinseree 2007: AFLP Marker Linked to the Ability to Maintain Total Leaf Water Potential and Osmotic Potential in Sugarcane. Doctor of Philosophy (Agricultural Biotechnology), Major Field: Agricultural Biotechnology, Interdisciplinary Graduate Program. Thesis Advisor: Associate Professor Sontichai Chanprame, Ph.D. 94 pages. ISBN 974-16-2757-2

The sugarcane water stress responses were investigated to evaluate methodologies and parameters suitable for water stress tolerant screening. The experiments were conducted on seedlings of two clones, 'KPS 94-13', a water stress tolerant clone and '93-1-25', a sensitive clone. Two methods generating the water stress were compared between the reduction in watering with soil water stress measurement and the PEG gradient solutions of 0, 10, 20, 30 and 40% at each five days. Changes in the total leaf water potential ( $\Psi_t$ ), the osmotic potential ( $\Psi_p$ ) and the pressure potential ( $\Psi_p$ ) were monitored during the experiment. The 'KPS 94-13' showed significantly less declines in the total leaf water potential, the osmotic potential and the pressure potential than '93-1-25' and remained its total leaf water potential and the osmotic potential levels. These sugarcane water stress responses were also observed in Hoagland solution culture at 30% PEG.

The analysis of molecular markers linked to traits of the ability to maintain high total leaf water potential and osmotic potential was investigated in the 90 segregating population (F2) seedlings grown in Hoagland solution culture with PEG up to 30%. By parameters as total leaf water potential and osmotic potential, the distributions of the F2 population showed very high variation from -517 to -4,123 and -882 to -4,044 kPa, respectively. Four DNA groups were pooled as a group that could maintain high level of total leaf water potential, low level of total leaf water potential, high level of osmotic potential and low level of osmotic potential. DNA bulked segregant analysis and selective genotyping were subjected to AFLP analysis. Two AFLP markers, AGG/CTC and AGG/ACG, were apparently linked to ability to maintain high total leaf water potential and can be explained 13% of the variation of this trait. Three AFLP markers, CAG/CTC, AAG/ACA and GCA/CAG, were found to link to maintain high osmotic potential and explained total of 15.1% of the variation.

---

Student's signature

---

Thesis Advisor's signature

/ /

## กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.สนธิชัย จันทน์เปรม ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เววัต เลิศฤทัยโยธิน และ ดร.ธีรยุทธ ตู้อินดา กรรมการที่ปรึกษา ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาและแนะนำ ความรู้และข้อคิดต่าง ๆ ทั้งในเรื่องการเรียนและการค้นคว้าวิจัย ตลอดจนตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร.สุนทรียิ่งชัชวาลย์ ที่ได้ให้ความเมตตา คำแนะนำ และความรู้ ตลอดจนอนุเคราะห์อุปการะในงานวิจัยทางสรีรวิทยา และกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ธงชัย มาลา ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่กรุณาตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการสนับสนุนจากศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร โดยงบประมาณของโครงการย่อยบัณฑิตศึกษาและวิจัย สาขาเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร ภายใต้โครงการบัณฑิตศึกษาและวิจัย สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี กระทรวงศึกษาธิการ และสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์

ขอขอบคุณภาคีวิชาชีพไร่ นา คณะเกษตร กำแพงแสน ศูนย์วิจัยและพัฒนาอ้อยและน้ำตาล ศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักเขตร้อน และห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและถ่ายยีน ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ที่อนุเคราะห์สถานที่ อุปกรณ์ สารเคมี และพันธุ์พืชที่ใช้ในการทดลอง ขอขอบคุณสมาชิกห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและถ่ายยีน และห้องปฏิบัติการนิเวศ-สรีรวิทยาทุกคน สำหรับมิตรภาพ และความช่วยเหลือตลอดมา

สุดท้าย ขอกราบขอบพระคุณ พ่อ แม่ ขอขอบคุณ น้องสาว ญาติพี่น้อง และเพื่อน ๆ ทุกคน สำหรับความรัก ความเข้าใจ ความอดทน กำลังใจ การยอมรับและสนับสนุนในสิ่งที่ข้าพเจ้าตัดสินใจกระทำเสมอมา

นงลักษณ์ เทียนเสรี  
กุมภาพันธ์ 2550