การตรวจสอบเครื่องหมายโมเลกุลในลักษณะองค์ประกอบผลผลิตในอ้อย โดยใช้เทคนิค AFLP

Evaluation of Molecular Markers in Yield Component Characters in Sugarcane Using Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP)

เกศินี ปลาทอง,[1] วารีย์ ทองมี,[3] สมหวัง อนุสนธิ์พรเพิ่ม[3]และ เรวัต เลิศฤทัยโยธิน[1,2*]

Kesinee Plathong,[1] Waree Thongmee,[3] Somwung Anusonpornperm[3]and Rewat Lersrutaityotin[1,2*]

Received 14 June 2019, Accepted 30 August 2019

ABSTRACT

Molecular marker analysis was conducted for yield component characteristics: stem number per stool, weight per stem, stem length, and stem diameter, using AFLP technique with 10 pairs of selection primer in 170 hybrid clones obtained from cross between Kamphaeng Saen 94-13 and K 84-200 at Cane and Sugar Research and Development Center, Kasetsart University, Nakhon Pathom. It was carried out using RCBD with 2 replications and 1 row of 3 stools per plot having 1.5 m. of row spacing and 0.5 m. of spacing between stools. All of yield component characters showed a significance among clones with normal distribution. Based on molecular marker evaluation, 228 polymorphic molecular markers were observed, in which the highest number of 31 markers were from AAG/CAT and ATT/CAG primers. The lowest number of 13 markers was observed from AAC/CGG primers. The highest percentage of markers was observed in multiplex distribution (41.23 percentage) and the lowest percentage of markers was observed in simplex distribution (14.47 percentage), while duplex and triplex distribution were presented at the same percentage (22.81 and 21.49 percentage). When the simplex distribution was observed in every pair of primers used in the study, the highest number of 6 markers was observed from AAC/CTC primers. When the effect of simplex distribution markers to yield component characters was evaluated, the acgg7 marker had effect in 3 characters: positive effect on

[1*] ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

Department of Agronomy, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand.

[2] ศูนย์วิจัยและพัฒนาอ้อยและน้ำตาล ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

Cane Sugar Research and Development Center, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand.

[3] สถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

Field Crop Research Institute, Department of Agriculture, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand.

[4] ศูนย์นวัตกรรมและการวิจัยมิตรผล อ.ภูเขียว จ.ชัยภูมิ 36110

Mitr Phol Innovation and Research Center, Phu Khiao, Chaiyaphum 36110, Thailand.

[*]Corresponding author: Tel.08-9413-6977, E-mail address: may_ple62@hotmail.co.th

weight per stem and stem diameter; negative effect on stem number per stool, while markers of acta6 and cgaa11 had positive effect only on stem number per stool. Moreover, the marker of ttaa9 was observed to have positive effect on 2 characters: stem number per stool and weight per stem, while markers of ctgg4 and acta10 had effect only on stem length. Other effects on yield component characteristics were not found.

Keywords: Sugarcane, Yield components, AFLP, Molecular markers, QTLs

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการตรวจสอบเครื่องหมายโมเลกุลในลักษณะองค์ประกอบผลผลิต ได้แก่ จำนวนลำต่อกอ น้ำหนักต่อลำ ความยาวลำ และเส้นผ่านศูนย์กลางลำ โดยวิธี AFLP ในพันธุ์อ้อยลูกผสมจำนวน 170 พันธุ์ ระหว่างคู่ผสมกำแพงแสน 94-13 กับ K 84-200 ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาอ้อยและน้ำตาล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จ.นครปฐม โดยวางแผนการทดลองแบบ RCBD ที่มีจำนวนการทำซ้ำ 2 ครั้ง ให้แต่ละแปลงย่อยมี 1 แถว จำนวน 3 กอ ระยะระหว่างแถว 1.5 เมตร ระยะระหว่างกอ 0.5 เมตร เมื่อใช้คู่ primer จำนวน 10 คู่ พบว่าทุกลักษณะที่ศึกษา มีความแตกต่างทางพันธุกรรมและมีการกระจายตัวแบบ normal จากการตรวจสอบเครื่องหมายโมเลกุล ได้เครื่องหมายโมเลกุลที่เป็น polymorphic จำนวน 228 เครื่องหมาย โดยคู่ primer AAG/CAT และ ATT/CAG พบจำนวนมากที่สุดเท่ากับ 31 เครื่องหมาย และคู่ไพรเมอร์ AAC/CGG พบจำนวนน้อยที่สุดเท่ากับ 13 เครื่องหมาย ทั้งนี้เครื่องหมายโมเลกุลที่มีการกระจายตัวมากที่สุดเป็นแบบ multiplex (41.23%) และน้อยที่สุดเป็นแบบ simplex (14.47%) ขณะที่เครื่องหมายโมเลกุลที่มีการกระจายตัวแบบ duplex และ triplex มีเปอร์เซ็นต์ที่ใกล้เคียงกัน (22.81 และ 21.49%) พบเครื่องหมายโมเลกุลที่มีการกระจายตัวแบบ simplex ในทุกคู่ primer โดยเครื่องหมายโมเลกุล AAC/CTC มีเครื่องหมายโมเลกุลที่เป็น simplex มากที่สุดจำนวน 6 เครื่องหมาย เมื่อตรวจสอบเครื่องหมายโมเลกุลที่มีการกระจายแบบ simplex และมีอิทธิพลต่อลักษณะองค์ประกอบผลผลิต พบเครื่องหมายโมเลกุล acgg7 มีอิทธิพลต่อลักษณะถึง 3 ลักษณะ ได้แก่อิทธิพลเชิงบวกต่อน้ำหนักต่อลำและเส้นผ่านศูนย์กลางลำ และมีอิทธิพลเชิงลบต่อจำนวนลำต่อกอ ในขณะที่เครื่องหมายโมเลกุล acta6 และ cgaa11 มีอิทธิพลต่อลักษณะจำนวนลำต่อกอในเชิงบวกเพียงอย่างเดียว นอกจากนี้ยังพบเครื่องหมายโมเลกุล ttaa9 ที่มีอิทธิพลทางบวกต่อ 2 ลักษณะ ได้แก่ จำนวนลำต่อกอและน้ำหนักต่อลำ และเครื่องหมายโมเลกุล ctgg4 และ acta10 มีผลต่อความยาวลำ โดยไม่พบอิทธิพลต่อลักษณะองค์ประกอบผลผลิตลักษณะอื่น

คำสำคัญ: อ้อย องค์ประกอบผลผลิต เอเอฟแอลพี เครื่องหมายโมเลกุล คิวทีแอล

บทนำ

อ้อย (*Saccharum* species hybrids) เป็นพืชที่มีความซับซ้อนของพันธุกรรมมากที่สุดชนิดหนึ่ง โดยพันธุ์ที่ปลูกเป็นการค้ามีทั้งเป็น polyploid และ aneuploid และมักได้จากการผสมข้ามระหว่าง species ที่มีแหล่งกำเนิดต่างกัน ทำให้การปรับปรุงพันธุ์อ้อยทำได้ยาก (Hogarth, 1987) อ้อยมี 80-140 โครโมโซม บางชนิดมีโครโมโซม 8 หรือ 10 ชุด (x = 8 หรือ x = 10) (D'Hont *et al.*, 1998; Ha *et al.*, 1999; Irvine, 1999) การตรวจสอบความแปรปรวนทางพันธุกรรม บนพื้นฐานของดีเอ็นเอ โดยเฉพาะลักษณะปรากฏที่ถูกควบคุมโดยยีนหลายตำแหน่ง (quantitative trait loci : QTLs) เช่น ผลผลิต และลักษณะที่ควบคุมองค์ประกอบผลผลิต (Hoarau *et al.*, 2002) จะช่วยให้ได้ข้อมูลเบื้องต้นที่เอื้อให้การปรับปรุงพันธุ์อ้อยสามารถดำเนินการได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น

เพื่อให้ได้ข้อมูลทางด้านพันธุกรรมมีเทคนิคทางดีเอ็นเอที่หลากหลาย มาใช้ในการตรวจสอบเครื่องหมายดีเอ็นเอ เช่น เทคนิค AFLP (amplified fragment length polymorphism) ซึ่งเป็นวิธีการที่เริ่มจากการตัดดีเอ็นเอทั้งหมดโดยใช้เอนไซม์จำเพาะ ให้เป็นชิ้นส่วนต่างๆ ก่อนเชื่อมด้วย primer adaptor จากนั้นจึงคัดเลือกชิ้นส่วนผ่านการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนโดยเทคนิค PCR (polymerase chain reaction) โดยใช้คู่ primer เฉพาะ วิธีการนี้จะให้เครื่องหมายโมเลกุลจำนวนมากต่อการทดลอง ทำให้สามารถตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Ana *et al.*, 2005) จึงนำมาศึกษาเครื่องหมายโมเลกุลที่เกี่ยวข้องกับลักษณะองค์ประกอบผลผลิตในครั้งนี้

อุปกรณ์และวิธีการ

การเก็บข้อมูลทางการเกษตร

ได้ปลูกพันธุ์อ้อยลูกผสมจากคู่ผสมระหว่างพันธุ์ K 84-200 กับกำแพงแสน (Kps) 94-13 จำนวน 171 พันธุ์ พร้อมทั้งพันธุ์แม่และพันธุ์พ่อ วางแผนการทดลองแบบ RCBD 2 ซ้ำ การทำซ้ำแต่ละครั้งมี 1 แถวจำนวน 3 กอ ระยะระหว่างแถว 1.5 เมตร ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาอ้อยและน้ำตาล คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จ.นครปฐม ตรวจวัดลักษณะองค์ประกอบผลผลิตดังนี้

ผลผลิตอ้อย = $\frac{\text{น้ำหนักต่อลำ x จำนวนลำต่อกอ x 1,600}}{\text{1.5 x 0.5}}$

จำนวนลำต่อกอ = $\frac{\text{จำนวนลำต่อแถว}}{\text{จำนวนกอ}}$

น้ำหนักต่อลำ = $\frac{\text{สุ่มตัวอย่างอ้อยจำนวน 3 ลำต่อแถว}}{3}$

ความสูงของลำ = ความสูงเฉลี่ยของอ้อย 3 ลำที่สุ่มต่อแถว

เส้นผ่านศูนย์กลางลำ = เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของอ้อย 3 ลำที่สุ่มต่อแถว

การวิเคราะห์ AFLP (amplified fragment length polymorphism)

สกัดดีเอ็นเอของอ้อยตัวอย่างจากใบม้วนที่สด โดยใช้ genomic DNA Purificaition Kit # 5012 (Fermentas; Vilnius, Lithuania) นำดีเอ็นเอที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค AFLP โดยใช้วิธีดัดแปลงของ Vos *et al.* (1995) ย้อมเจล AFLP fingerprint ด้วยเทคนิค silver nitrate staining คัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุล AFLP (AFLP markers) จากการใช้ primer combination จำนวน 10 คู่ โดยกำหนดชื่อเครื่องหมายโมเลกุล AFLP เป็น 4 ตัวอักษรพร้อมตัวเลขลำดับของเครื่องหมาย ทั้งนี้ตัวอักษร 2 ตัวแรกได้จาก selective nucleotide ของ *Eco*RI และตัวอักษร 2 ตัวหลังได้จาก selective nucleotide ของ *Mse*I

การตรวจสอบ QTLs (quantitative trait loci)

ตรวจสอบเครื่องหมายโมเลกุล ที่มีความชัดเจน โดยให้คะแนน 1 เมื่อไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอ และให้คะแนน 2 เมื่อปรากฏแถบดีเอ็นเอสำหรับตัวอย่างพันธุ์อ้อยแต่ละพันธุ์ วิเคราะห์เครื่องหมายโมเลกุลเฉพาะที่มีการกระจายตัวแบบ simplex ที่มีสัดส่วนการปรากฏและไม่ปรากฏในตัวอย่างพันธุ์อ้อย เท่ากับ 1:1 ตรวจสอบความน่าเชื่อถือโดย chi square test ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 95% จากนั้นวิเคราะห์อิทธิพลของเครื่องหมายโมเลกุลแต่ละเครื่องหมาย ต่อความแปรปรวนของลักษณะต่างๆ และหาค่าสัมประสิทธิ์ของเครื่องหมายโมเลกุลนั้น (R^2: coefficient of determination)

ผลการทดลอง

พบลักษณะที่ทำการศึกษามีความแปรปรวนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01 ทุกลักษณะขององค์ประกอบของผลผลิตที่ได้ศึกษา (Table 1) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าระดับความแปรปรวน สามารถนำไปใช้ในการศึกษาเครื่องหมายโมเลกุลโดยองค์ประกอบผลผลิตแรก ได้แก่ ผลผลิตอ้อย มีค่าสูงสุดและต่ำสุดเท่ากับ 21.52 และ 4.55 ตันต่อไร่ จำนวนลำต่อกอมีค่าสูงสุดและต่ำสุดเท่ากับ 8.50 และ 2.50 ลำต่อกอ น้ำหนักต่อลำมีค่าสูงสุดและต่ำสุดเท่ากับ 10.60 และ 2.62 กก.ต่อลำ ความสูงลำมีค่าสูงสุดและต่ำสุดเท่ากับ 312.3 และ 124.5 ซม.และเส้นผ่านศูนย์กลางลำมีค่าสูงสุดและต่ำสุดเท่ากับ 3.70 และ 1.77 ซม. ส่วนค่าเฉลี่ยของพันธุ์แม่และพันธุ์พ่อ พบว่าพันธุ์ K 84-200 มีผลผลิตอ้อย น้ำหนักต่อลำ ความยาวลำ และเส้นผ่านศูนย์กลางลำ สูงกว่าพันธุ์กำแพงแสน 94-13 (Table 2) ทั้งนี้เมื่อพิจารณาการกระจายตัวของลักษณะในพันธุ์อ้อยต่างๆ พบว่าเกือบทุกลักษณะมีการกระจายตัวแบบ normal (Figure 1)

Table 1 Mean squares and significant levels of cane yield and yield component characters of 169 hybrid sugarcane clones and their parental varieties

Source of variation	Mean square				
	Cane yield	Stem number per rai	Weight per stem	Stem length	Stem diameter
Clones	22.08*	2.59**	3.617**	1670.1**	0.139**
Blocks	732.37	14.12	84.990	8097.0	1.110
Error	17.04	1.70	1.875	918.1	0.087
C.V.(%)	35.85	27.05	49.61	12.90	5.01

Note: ^{ns} = not significant, *= significant at $P< 0.05$ **= significant at $P< 0.01$

Table 2 Cane yield and yield component characters of 169 hybrid sugarcane clones and their parental varieties

Sugarcane groups	Cane yield	Yield component characters			
	(tons/rai)	Stem per stool	Weight per stem (kg.)	Stem length (cm.)	Stem diameter (cm.)
Parental varieties					
K 84-200	12.44	4.50	6.50	274.0	2.70
Kps 94-13	8.34	4.75	5.50	238.0	2.58
Hybrid clones					
Maximum	21.52	8.50	10.60	312.3	3.70
Minimum	4.55	2.50	2.62	124.5	1.77
Average	11.54	4.83	5.93	235.2	2.76

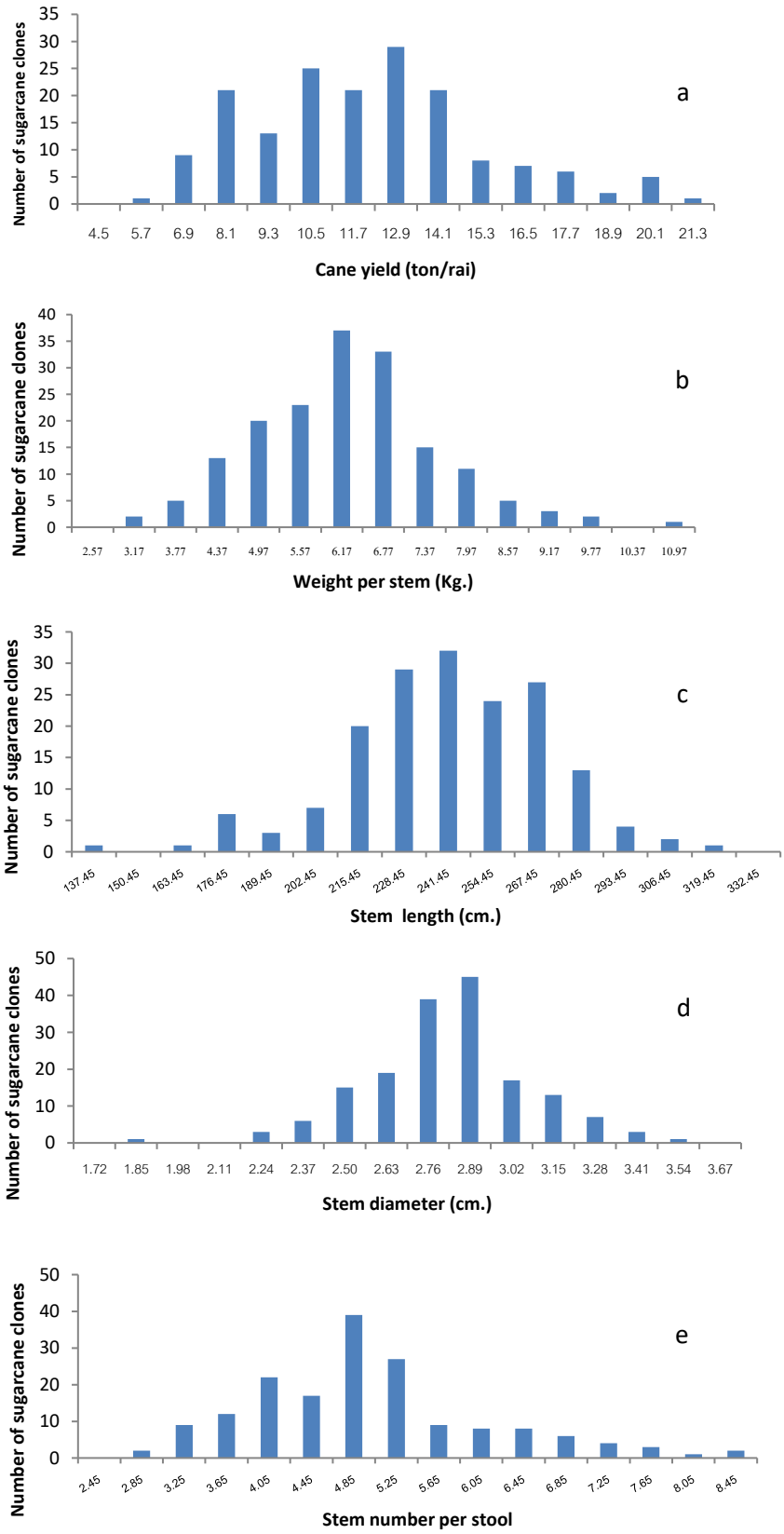

Figure 1 Distribution of cane yield (a) and yield component characteristics (weight per stem (b), stem length (c), stem diameter (d), and stem number per stool (e)

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของผลผลิตและลักษณะองค์ประกอบผลผลิต (Table 3) พบว่าในประชากรพันธุ์อ้อยลูกผสม ซึ่งยังไม่ผ่านการคัดเลือกลักษณะองค์ประกอบผลผลิตที่มีความสัมพันธ์สูงกับผลผลิต โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ทางบวกที่มีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ จำนวนลำต่อกอ (0.3980 ที่ระดับนัยสำคัญ 0.01) รองลงมาได้แก่ น้ำหนักต่อลำ (0.1914 ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05) โดยที่ความยาวของลำและเส้นผ่านศูนย์กลางลำซึ่งเป็นลักษณะที่มีความสัมพันธ์ทางบวกกับน้ำหนักต่อลำ (0.5539 และ 0.6409 ตามลำดับที่ระดับนัยสำคัญ 0.01) กลับไม่พบความสัมพันธ์กับผลผลิต นอกจากนี้พบว่าจำนวนลำต่อกอมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ทางลบที่มีนัยสำคัญทางสถิติกับเส้นผ่านศูนย์กลางลำ แต่ไม่พบความสัมพันธ์กับน้ำหนักต่อลำและความยาวของลำ ส่วนความยาวของลำและเส้นผ่านศูนย์กลางลำก็ไม่พบความสัมพันธ์กันเช่นกัน

Table 3 Correlation coefficient among cane yield and yield component characters in 169 hybrid sugarcane clones and their parental varieties.

Traits	Stem per stool	Weight per stem	Stem length	Stem diameter
Cane yield	0.3980**	0.1914*	0.1230^{ns}	0.0549^{ns}
Stem per stool		-0.0757^{ns}	0.0613^{ns}	-0.2084**
Weight per stem			0.5539**	0.6409**
Stem height				0.1521^{ns}

Note: ^{ns} = not significant, *= significant at $P< 0.05$ **= significant at $P< 0.01$

จากการตรวจสอบเครื่องหมายโมเลกุลของพันธุ์อ้อยลูกผสมจำนวน 170 พันธุ์ที่ได้จากคู่ผสมพันธุ์กำแพงแสน 94-13 กับ K 84-200 พร้อมทั้งพันธุ์พ่อแม่ โดยวิธี AFLP ด้วยคู่ไพรเมอร์ 10 คู่ (Table 4) ได้เครื่องหมายโมเลกุลที่เป็น polymorphic จำนวน 228 เครื่องหมาย มีค่าเฉลี่ยต่อคู่ primer เท่ากับ 22.8 เครื่องหมาย ซึ่งมากกว่าที่ Anusonpornpurm *et al.* (2008) และ Wenworn *et al.* (2013) ได้ศึกษาที่มีค่าเฉลี่ยเท่ากันคือ 15.8 เครื่องหมาย ทั้งนี้คู่ primer ที่มีจำนวน polymorphic สูงสุด ได้แก่ ATT/CAG และ AAG/CAT เท่ากับ 31 เครื่องหมาย รองลงมาได้แก่ ACG/CAA และ ACT/CGG จำนวน 29 เครื่องหมาย ส่วนคู่ primer ที่มีจำนวนเครื่องหมายที่เป็น polymorphic ที่ต่ำได้แก่ AAC/CGG AAC/CTA AAC/CTTT และ ATT/CAA มีจำนวนเท่ากับ 13, 16, 16 และ 17 เครื่องหมาย ตามลำดับ และเมื่อตรวจสอบลักษณะการกระจายตัวของแต่ละเครื่องหมายโมเลกุล โดยวิธี Chi square ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 95% พบว่า เครื่องหมายโมเลกุลมีการกระจายตัวแบบ multiplex มากที่สุดเท่ากับ 41.23% และเครื่องหมายโมเลกุลที่มีการกระจายตัวแบบ simplex น้อยที่สุดเท่ากับ 14.47% ส่วนเครื่องหมายโมเลกุลที่มีการกระจายตัวแบบ duplex และ triplex มีค่าใกล้เคียงกันเท่ากับ 22.81 และ 21.49% ตามลำดับ โดยทุกคู่ primer พบการกระจายตัวของเครื่องหมายโมเลกุลทุกแบบ

Table 4 Polymorphic band and segregation of 10 amphified fragment length polymorphism primer combination at $P \leq 0.05$

Primer combination	Number of Polymorphic bands	Segregation			
		Simplex 1:1	Duplex 11:3	Triplex 13:1	Multiplex > 13:1
AAC/CGG	13	3	4	2	4
AAC/CTA	16	3	3	4	6
AAC/CTC	24	6	3	9	6
AAC/CTT	16	2	9	1	4
AAG/CAT	31	1	5	7	18
ACC/CAC	22	4	6	5	7
ACG/CAA	29	3	10	7	9
ACT/CGG	29	4	2	5	18
ATT/CAA	17	3	4	3	7
ATT/CAG	31	4	6	6	15
Total	228	33	52	49	94
Average	22.8	3.3	5.2	4.9	9.4
Percentage	100	14.47	22.81	21.49	41.23

Note: A = Adenine, C=Cytosine, G=Guanine and T=Thymine

ผลการวิเคราะห์ QTLs เฉพาะเครื่องหมายโมเลกุลที่เป็น simplex ที่มีจำนวน 33 เครื่องหมาย (Table 5) พบว่ามีเพียง 6 เครื่องหมายโมเลกุลที่มีอิทธิพลต่อลักษณะองค์ประกอบผลผลิต โดยพบเครื่องหมายโมเลกุลที่สัมพันธ์กับลักษณะจำนวนลำต่อกอ จำนวน 4 เครื่องหมาย แต่ละเครื่องหมายสามารถอธิบายการกระจายตัวของลักษณะได้ใกล้เคียงกัน คือ 3.3-3.4% โดยทั้งนี้มีเครื่องหมายโมเลกุลที่มีอิทธิพลทางบวก 3 เครื่องหมายและมีอิทธิพลทางลบ 1 เครื่องหมาย ลักษณะน้ำหนักต่อลำมี 2 เครื่องหมาย อธิบายการกระจายตัวได้ 2.5 และ 3.7% โดยเป็นอิทธิพลทางบวกทั้ง 2 เครื่องหมาย ลักษณะความยาวของลำมี 2 เครื่องหมาย อธิบายการกระจายตัวได้ 1.8 และ 2.4% โดยเป็นอิทธิพลทางบวกทั้ง 2 เครื่องหมาย ส่วนลักษณะเส้นผ่านศูนย์กลางลำ มีเพียง 1 เครื่องหมาย อธิบายการกระจายตัวได้ 2.9% และเป็นอิทธิพลทางบวก

เมื่อพิจารณาแต่ละเครื่องหมายโมเลกุล พบว่า เครื่องหมายโมเลกุล acgg7 มีอิทธิพลถึง 3 ลักษณะ ได้แก่ จำนวนลำต่อกอ น้ำหนักต่อลำ และเส้นผ่านศูนย์กลางลำ โดยที่อิทธิพลต่อจำนวนลำต่อกอเป็นทางลบ ส่วนอิทธิพลต่อน้ำหนักต่อลำและเส้นผ่านศูนย์กลางลำเป็นทางบวก นอกจากนี้ยังพบเครื่องหมายโมเลกุล ttaa9 ที่มีอิทธิพลต่อลักษณะ 2 ลักษณะ ได้แก่ จำนวนลำต่อกอและน้ำหนักต่อลำ ส่วนเครื่องหมายโมเลกุล ctgg4 และ acta10 มีอิทธิพลต่อลักษณะ 1 ลักษณะ ได้แก่ ความยาวของลำ และเครื่องหมายโมเลกุล acta6 และ cgaa11 มีอิทธิพลต่อลักษณะ 1 ลักษณะ ได้แก่ จำนวนลำต่อกอ

Table 5 Marker effect and significant associations between simplex markers and traits at $P \leq 0.05$

Markers	Parental variety	Stem no. per rai		Weight per stem		Stem length		Stem diameter	
		R^2	Effect	R^2	Effect	R^2	Effect	R^2	Effect
acgg7	-	3.3	-0.412	2.5	0.407	-	-	2.9	0.090
acta 10	Kps 94-13	-	-	-	-	1.8	9.996	-	-
acta 6	*	3.4	0.423	-	-	-	-	-	-
cgaa11	*	3.3	0.416	-	-	-	-	-	-
ctgg 4	-	-	-	-	-	2.4	8.906	-	-
ttaa9	*	3.4	0.097	3.7	0.495	-	-	-	-

Note: * = present in both Kps 94-13 and K 84-200

- = not present in either Kps 94-13 nor K 84-200

A = Adenine, C=Cytosine, G=Guanine and T=Thymine

สรุป

ผลการตรวจสอบเครื่องหมายโมเลกุลโดยวิธี AFLP โดยใช้คู่ primer 10 คู่กับตัวอย่างดีเอ็นเอที่ได้จากคู่ผสมกำแพงแสน 94-13 กับ K 84-200 จำนวน 170 พันธุ์ ได้เครื่องหมายโมเลกุลที่เป็น polymorphic จำนวน 228 เครื่องหมาย โดยเป็นเครื่องหมายโมเลกุลที่มีการกระจายตัวแบบ multiplex มากที่สุด (41.23%) และแบบ simplex น้อยที่สุด (14.47%) ส่วนเครื่องหมายโมเลกุลที่มีการกระจายตัวแบบ duplex และ triplex มีเปอร์เซ็นต์ที่ใกล้เคียงกัน เมื่อตรวจสอบเครื่องหมายโมเลกุลที่มีการกระจายตัวแบบ simplex ที่มีอิทธิพลต่อลักษณะองค์ประกอบผลผลิต พบเครื่องหมายโมเลกุล acgg7 มีอิทธิพลสัมพันธ์กับลักษณะถึง 3 ลักษณะ ได้แก่ อิทธิพลทางบวกต่อน้ำหนักต่อลำและเส้นผ่านศูนย์กลางลำ และมีอิทธิพลทางลบต่อจำนวนลำต่อกอ ในขณะที่เครื่องหมายโมเลกุล acta6 และ cgaa11 มีอิทธิพลทางบวกต่อจำนวนลำต่อกอเพียงลักษณะเดียว นอกจากนี้ยังพบเครื่องหมายโมเลกุล ttaa9 ที่มีอิทธิพลใน 2 ลักษณะ ได้แก่ จำนวนลำต่อกอและน้ำหนักต่อลำ ส่วนความยาวลำมีอิทธิพลจากเครื่องหมายโมเลกุล ctgg4 และ acta10 ซึ่งไม่พบอิทธิพลต่อลักษณะองค์ประกอบผลผลิตลักษณะอื่น

เอกสารอ้างอิง

Ana, M.R., Macro, A.C.C., & Ericka, P.F.B. (2005). Genetic diversity of the most important sugar cane cultivars in Mexico. *e-Gnosis*, *3*(1),1-10.

Anusonpornpurm, S., Lersrutaiyotin, R., Rattanakreetakul, C., Thamchaipenet, A., & Weerathaworn, P. (2008). Identifying QTLs for fiber content and agronomic characters in sugarcane using AFLP markers. *Agriculture and Natural Resources*, *42*(4), 668-675.

D'Hont, A., Ison, D., Alix, K., Roux, C., & Glaszmann, J. C. (1998). Determination of basic chromosome numbers in the genus Saccharum by physical mapping of ribosomal RNA genes. *Genome*, *41*(2), 221-225.

Ha, S., Moore, P. H., Heinz, D., Kato, S., Ohmido, N., & Fukui, K. (1999). Quantitative chromosome map of the polyploid Saccharum spontaneum by multicolor fluorescence in situ hybridization and imaging methods. *Plant molecular biology*, *39*(6), 1165-1173

. Hoarau, J. Y., Grivet, L., Offmann, B., Raboin, L. M., Diorflar, J. P., Payet, J., ... & Glaszmann, J. C. (2002). Genetic dissection of a modern sugarcane cultivar (Saccharum spp.). II. Detection of QTLs for yield components. *Theoretical and Applied Genetics*, *105*(6), 1027-1037.

Hogarth, D.M. (1987). Genetics of Sugarcane, In D.J. Heinz, (Ed.). *Developments in Crop Science: Sugarcane Improvement Through Breedings.* (pp. 255-271). Amsterdam, The Netherlands: Elsevier

Irvine, J. E. (1999). Saccharum species as horticultural classes. *Theoretical and Applied Genetics*, *98*(2), 186-194.

Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Lee, T. V. D., Hornes, M., ... & Zabeau, M. (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic acids research*, *23*(21), 4407-4414.

Wenworn, W., Lersrutaiyotin, R., Rattanakreetakul, C., & Sreewongchai, T. (2013). Identifying quantitative trait loci for fiber content and fiber components in sugarcane using amplified fragment length polymorphism markers. *Agriculture and Natural Resources*, *47*(3), 416-423.