บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

ผลกระทบจากภาวะเค็มที่มีต่อพืช

ผลของระดับความเค็มที่มีต่อพืชเมื่อเทียบเป็นค่าการนำไฟฟ้า ที่มีหน่วยเป็น dS/m หรือ mmhos/cm ที่ 25 องศาเซลเซียส จะสามารถแบ่งได้ออกเป็น 5 ระดับได้แก่

ระดับที่ 1 ระดับความเค็มที่ไม่มีมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชทุกชนิด ซึ่งมีค่าการนำไฟฟ้าอยู่ที่ 0 - 2 dS/m

ระดับที่ 2 ระดับความเค็มที่มีผลต่อการเจริญเติบโต และผลผลิตของพืชที่อ่อนแอต่อความเค็มบางชนิด เช่น ถั่วต่างๆ ได้แก่ ถั่วเขียว ถั่วเหลือง ซึ่งมีค่าการนำไฟฟ้าอยู่ที่ 2 - 4 dS/m

ระดับที่ 3 ระดับความเค็มที่มีผลต่อการเจริญเติบโต และผลผลิตของพืชหลายชนิด เช่น ข้าว ข้าวโพด ข้าวฟ่าง และหม่อน เป็นต้น ซึ่งมีค่าการนำไฟฟ้า 4 - 8 dS/m

ระดับที่ 4 ระดับความเค็มที่พืชทนเค็มเท่านั้นจึงจะเจริญเติบโต และให้ผลผลิตได้ เช่น ดอกคำฝอย มะม่วงหิมพานต์ พุทรา และหน่อไม้ฝรั่ง เป็นต้น ซึ่งมีค่าการนำไฟฟ้าอยู่ที่ 8 - 16 dS/m

ระดับที่ 5 ระดับความเค็มที่พืชทนเค็มจัดหรือชอบเกลือเท่านั้นจึงจะสามารถเจริญเติบโต และให้ผลผลิตได้ ส่วนมากจะเป็นวัชพืช ได้แก่ หนามแดง โกงกาง จาก และชะคราม เป็นต้น ซึ่งมีค่าการนำไฟฟ้ามากกว่า 16 dS/m (พรศักดิ์ ภักดีวราภรณ์, 2543; กรมพัฒนาที่ดิน, 2527)

ข้าวจัดเป็นพืชที่สามารถทนต่อภาวะเค็มได้ในระดับปานกลาง ซึ่งต้นข้าวในระยะที่เป็นต้นกล้า และระยะผสมเกสรจัดเป็นต้นข้าวในระยะที่อ่อนแอ เมื่อต้นข้าวได้รับภาวะเค็มจึงแสดงอาการจากการได้รับภาวะเค็มมากกว่าต้นข้าวในระยะอื่นๆ (Akbar และ Ponmanperuma, 1982) โดยภาวะเค็มจะส่งผลกระทบต่อพืชในแง่ของการขาดน้ำ เนื่องจากพืชที่ได้รับภาวะเค็มจะได้รับความเครียดจากเกลือ ซึ่งเมื่อมีปริมาณเกลือละลายอยู่ในน้ำ จะทำให้ water potential ของน้ำภายนอกลดลง จึงส่งผลให้พืชไม่สามารถนำน้ำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างเต็มที่ (Bernstein, 1964) นอกจากนี้ภาวะเค็มยังส่งผลให้มีการเพิ่มขึ้นของไอออนบางชนิดภายในเซลล์ ทำให้เกิดพิษต่อเซลล์

พืช (Nemato, Kawakami และ Sasakuma, 1999) และไอออนที่สะสมในปริมาณที่ไม่เหมาะสมนี้ มีผลไปยับยั้งกระบวนการเมตาบอลิซึมต่างๆ ในเซลล์พืช (Greenway และ Munns, 1980) ซึ่งจะส่งผลต่อสมดุลของธาตุอาหาร (Kleinkopf และคณะ,1975) โดย Robinson และ Downton (1985) พบว่าในพืชทนเค็ม *Suaeda australis* เมื่อได้รับภาวะเค็ม จะมีปริมาณโพแทสเซียมลดลง ทำให้ได้รับผลกระทบเนื่องจากการขาดธาตุอาหาร ซึ่งผลกระทบจากภาวะเค็มทั้งในเรื่องของภาวะขาดน้ำ ปริมาณไอออนที่สะสมมากจนก่อให้เป็นพิษ และผลกระทบเนื่องจากการขาดธาตุอาหาร ส่งผลให้พืชที่ได้รับภาวะเค็มอาจมีอาการแห้งเหี่ยว แสดงอาการขาดธาตุ ขอบใบและปลายใบไหม้ หรืออาจจะลุกลามจนทำให้ใบแห้งตาย (Kaddah และ Fakhry, 1961)

การปรับตัวเมื่อได้รับภาวะเค็มของพืช

เนื่องจากภาวะเค็มส่งผลกระทบต่อกระบวนการเมตาบอลิซึม (Longstreth และคณะ, 1984) ลักษณะทางกายวิภาค และลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืช เมื่อพืชได้รับภาวะเค็ม พืชจะมีการปรับตัวเพื่อให้สามารถดำรงชีพอยู่ในภาวะเค็ม ซึ่งพืชต่างชนิดจะมีการปรับตัวเมื่ออยู่ในภาวะเค็มแตกต่างกันไป ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ระยะการเจริญเติบโตของพืช (Castro และ Sobado, 1977) และความรุนแรงจากภาวะเค็มที่ได้รับ (Koddah และ Fakhry, 1961) โดยเมื่อพืชได้รับภาวะเค็ม พืชจะมีการปรับตัวเพื่อให้สามารถทนต่อภาวะเค็มได้ เช่น อาจมีการปรับตัวโดยมีการลดพื้นที่ใบ และการปิดปากใบ (Taiz และ Zeiger, 1998) มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพ เช่น การมีขนที่ผิวใบ หรือมีสารเคลือบผิวใบ (Weimberg และ Shannon, 1988) ซึ่งเป็นวิธีการหนึ่งที่ช่วยป้องกันการสูญเสียน้ำ นอกจากนี้พืชยังอาจจะมีการลำเลียงไอออนไปเก็บสะสมไว้ในแวคคิวโอล เพื่อลดปริมาณไอออนในไซโทพลาสซึม (Blumward และคณะ, 2000, Niu และคณะ, 1995) และมีการสร้างสาร osmoprotectants เช่น ascorbate glutathione carotenoid catalase และ superoxide dismutase เป็นต้น เพื่อกำจัด reactive oxygen species ที่มักเกิดขึ้นขณะที่พืชได้รับภาวะเค็ม (Larson, 1988; Bowler และคณะ, 1992) การสะสมสาร osmolytes ก็เป็นวิธีการหนึ่งที่ช่วยปรับค่า water potential ภายในเซลล์ (Cushman และ Bohnert, 2002) ซึ่งสารในกลุ่มของ osmolytes ได้แก่ สารจำพวกน้ำตาล glucose fructose (Bohnert และ Jensen, 1996) sorbitol (Ahmad และคณะ, 1979) และสารจำพวกกรดอะมิโนต่างๆ เช่น proline glycine และ betaine เป็นต้น (Nuccio และคณะ, 1999)

อย่างไรก็ตามการที่พืชสามารถดำรงชีวิตอยู่ภายใต้ภาวะเค็มได้ อาจเป็นเพราะพืชมีกลไกในการปรับตัว เช่น มีกลไกการหลีกเลี่ยงความเสียหายที่จะเกิดขึ้นเนื่องจากไอออนของเกลือ (avoidance mechanism) โดยหลีกเลี่ยงการสะสมเกลือในไซโตพลาสซึม เช่น มีการลำเลียงไอออนเกลือจากไซโตพลาสซึมไปสะสมยังแวคิวโอล หรือมีต่อมเกลือ (salt gland) เพื่อเป็นแหล่งสะสมเกลือ (Thomson, 1975) นอกจากนี้พืชยังมีกลไกในการป้องกันไม่ให้เกลือไปสะสมที่ใบหรือยอด โดยที่เซลล์รากพืชจะมีกระบวนการควบคุมการลำเลียงไอออนของเกลือในไซเลม เพื่อป้องกันไม่ให้ปริมาณของเกลือในยอดสูงเกินไป โดยอาจมีการเก็บสะสมไอออนไว้ที่รากหรือลำต้นแทน (Nassery และ Baker, 1974) และพืชยังมีการลำเลียงเกลือออกจากไซเลม และเคลื่อนย้ายออกจากพืชสู่สภาพภายนอกที่เพาะปลูก (Munns, 2002) นอกจากกลไกการหลีกเลี่ยงความเสียหายที่จะเกิดขึ้นเนื่องจากไอออนของเกลือ พืชยังอาจจะมีกลไกการทนทาน (tolerance mechanism) ซึ่งเป็นการปรับตัวที่ยังคงรักษาระดับการทำงาน ในเซลล์พืช โดยยังคงมีกิจกรรมต่างๆ ภายในต้นพืชตามปกติ (Greenway และ Osmond, 1972) ซึ่งอาจเกิดได้โดยการปรับค่า water potential ภายในเซลล์ให้ต่ำลงโดยมีการสะสม metabolite บางชนิด (Taiz และ Zeiger, 1998) สำหรับการปรับตัวโดยการทำให้ความเข้มข้นของสารละลายภายในเซลล์ลดลงด้วยวิธีการเพิ่มปริมาณน้ำภายในเซลล์ ก็จัดเป็นอีกกลไกหนึ่งที่ช่วยให้พืชสามารถดำรงชีวิตอยู่ภายใต้ภาวะเค็มได้ (Jennings, 1968)

การปรับตัวในลักษณะต่างๆ ของพืชที่เจริญอยู่ในภาวะเค็มเหล่านี้เป็นผลมาจากการควบคุมในระดับการแสดงออกของยีน โดยโปรตีนที่มาจากการแสดงออกของยีนอาจมีส่วนเกี่ยวข้องในการป้องกันโครงสร้างเซลล์ ควบคุมกระบวนการทำงานในไซโตพลาสซึม รักษาความสมดุลของ metabolism (Bohnert และคณะ, 1995) ควบคุมการเปลี่ยนแปลงค่า water potential (Ericson และคณะ, 1984) และ/หรือ รักษาสมดุลของไอออน (Hasegawa และ คณะ,2000; Sander, 2000) โดย Seki และคณะ (2002) ได้ทำการศึกษาการแสดงออกของยีนใน *Arabidopsis* ที่เกี่ยวข้องกับภาวะเค็ม ภาวะแล้ง และภาวะเย็น โดยพบว่ายีนจำนวน 194 ยีนที่ถูกชักนำให้มีการแสดงออกเมื่อได้รับภาวะเค็ม เป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของโปรตีนในกลุ่ม metabolism เช่น secondary metabolism carbohydrate metabolism หรือ cellular metabolism โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการรักษาสมดุลของไอออน (ion homeostasis) โปรตีนในกลุ่มของ transporter protein ต่างๆ โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับ signal transduction และโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ osmoprotectant ต่างๆ เป็นต้น ซึ่งในทำนองเดียวกัน Ureda และคณะ (2002) ก็ได้ศึกษาการแสดงออกของยีนใน barley ที่ได้รับภาวะเค็ม พบว่าภาวะเค็มสามารถกระตุ้นให้มีการแสดงออกของยีนต่างๆ เป็นจำนวนมาก ซึ่ง Ureda และคณะ พบยีนที่ตอบสนองต่อภาวะเค็มจำนวน 133 ยีน ซึ่งประกอบด้วยยีนในกลุ่ม signal transduction membrane protein cytrochome P450 family stress tolerance

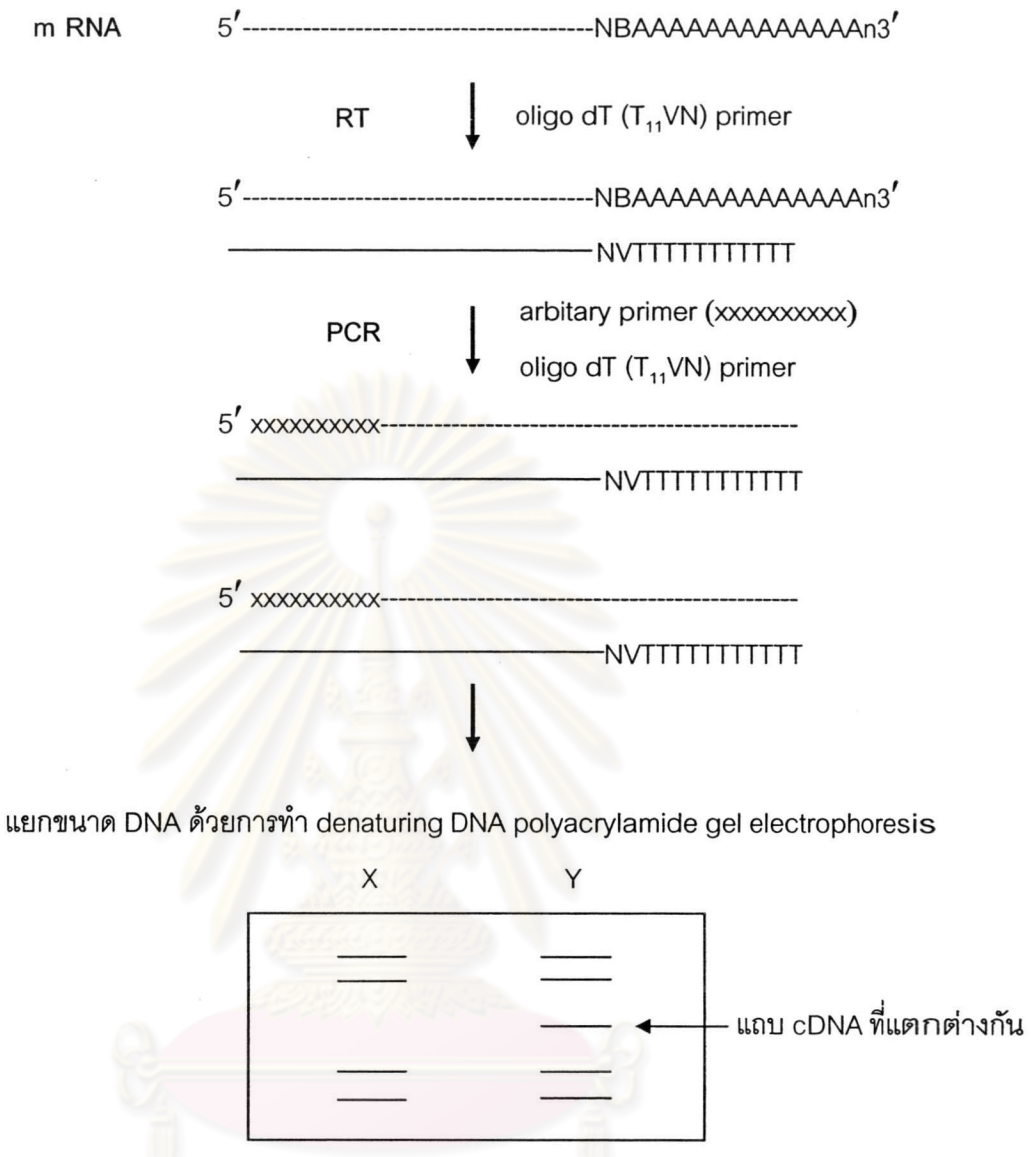
RNA function protease และโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์น้ำตาล และกรดอะมิโน เป็นต้น และจากการศึกษาการแสดงออกของยีนระหว่างข้าว *Oryza sativa* L. สายพันธุ์ M-20 ซึ่งเป็น mutant line ที่มีความสามารถในการทนต่อภาวะเค็ม และสายพันธุ์ปกติ (77-170) ของ Zhang และคณะ (1999) พบว่าข้าวสายพันธุ์ทนเค็มจะมีการแสดงออกของ plasma membrane H^+-ATPase gene มากกว่าในข้าวพันธุ์ปกติ ซึ่ง plasma membrane H^+-ATPase gene มีความเกี่ยวข้องกับการรักษาสมดุลของไอออน ดังนั้นการแสดงออกของยีนดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าพืชมีการปรับตัวในเรื่องของการรักษาสมดุลไอออนทำให้สามารถทนต่อภาวะเค็มได้ นอกจากนี้ยังมีรายงานเกี่ยวกับยีนที่เกี่ยวข้องกับความสามารถในการทนเค็มอีกมากมาย เช่น ยีนที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมปริมาณไอออน ซึ่งพบได้ใน SOS signal pathway ซึ่งเป็นกลุ่มยีนที่ควบคุมปริมาณ Na^+ ที่จะเข้าสู่เซลล์ (Horie และ Schroeder, 2004) และยังมีรายงานของกลุ่มยีน Na^+/ H^+ antiporter ซึ่งทำหน้าที่เกี่ยวกับการควบคุมการเข้าออกของโซเดียมไอออนในแวคิวโอล จากการศึกษายีนในกลุ่มนี้โดย Apes และคณะ (2003) พบว่าใน *Arabidopsis* ที่มีการแสดงออกของยีน *AtNHX*1 จะมีความสามารถในการทนต่อภาวะเค็ม และพบว่าในข้าวที่ได้รับยีน *OsNHX*1 จะสามารถทนต่อภาวะเค็มได้ดีขึ้น (Fukuda และคณะ, 2004) แต่อย่างไรก็ตามความรู้เกี่ยวกับการแสดงออกของยีนต่างๆ ยังมีไม่มากพอที่จะอธิบายการตอบสนองของพืชต่อภาวะเค็มได้ชัดเจน ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษาต่อไปเพื่อให้ได้ข้อมูลมากขึ้น พอที่จะเข้าใจบทบาท และหน้าที่ของยีนแต่ละชนิด ต่อความสามารถในการทนต่อภาวะเค็ม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Differential display

differential display เป็นเทคนิคที่ถูกพัฒนาขึ้นโดย Liang และ Pardee ในปี 1992 เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบการแสดงออกของยีนในสิ่งมีชีวิตในระดับ mRNA (Liang และ Pardee, 1992) โดยประกอบด้วยเทคนิคย่อย คือ การทำ reverse transcription (RT) เพื่อสร้างสาย cDNA โดยอาศัยเอนไซม์ reverse transcriptase และการทำปฏิกิริยา polymerase chain reaction (PCR) หลักการของการใช้เทคนิค differential display ในการศึกษาการแสดงออกของยีน คือ mRNA จะถูก reverse transcribe ให้เป็นสาย cDNA ด้วยการทำปฏิกิริยา RT โดยไพรเมอร์ที่เป็น oligo dT primer จะไปจับกับปลาย 3′ ที่เป็น poly A ของ mRNA เกิดการสร้างสาย cDNA ขึ้น จากนั้น cDNA ดังกล่าวจะถูกใช้เป็น template ตั้งต้นในการทำปฏิกิริยา PCR เพื่อเพิ่มปริมาณ DNA ที่ได้จากการทำ RT โดยใช้ไพรเมอร์ที่เป็น arbitary primer และ oligo dT primer หลังจากผ่านการทำ PCR แล้วนำ PCR products ที่ได้มาแยกขนาดด้วยการทำ denaturing DNA polyacrylamide gel electrophoresis ก็จะสามารถตรวจสอบการแสดงออกของยีนที่แตกต่างกันจากแถบของ cDNA ที่ได้ (รูปที่ 1) ซึ่งแถบของ cDNA ที่แตกต่างกันดังกล่าวอาจใช้เป็นตัวแทนในการศึกษายีนที่มีการแสดงออกต่างกัน โดยทำการแยกชิ้นส่วน cDNA นั้นให้บริสุทธิ์เพื่อนำไปทำปฏิกิริยา PCR อีกครั้งเพื่อเพิ่มปริมาณขึ้นมาก่อนจะทำการโคลนเข้าสู่แบคทีเรีย แล้วทำการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ และเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลสากล ซึ่งข้อมูลที่ได้อาจทำให้ทราบว่ายีนที่แสดงออกแตกต่างกันนั้น ทำหน้าที่สร้างโปรตีนอะไร และน่าจะมีบทบาทอะไร ในการตอบสนองปัจจัยที่ทำการศึกษาอยู่นั้นๆ (Reuber และ Ausubel,1995)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 1 ขั้นตอนการศึกษาการแสดงออกของยีนด้วยเทคนิค Differential display

N = นิวคลีโอไทด์ A, G, C, T และ U

B = นิวคลีโอไทด์ G, C และ U

V = นิวคลีโอไทด์ A, G และ C

X และ Y = แถบ cDNA ของตัวอย่างที่เปรียบเทียบกัน

ในการศึกษาการแสดงออกของยีนด้วยเทคนิค differential display การเลือกใช้ไพรเมอร์เป็นขั้นตอนที่สำคัญ ซึ่งการใช้ไพรเมอร์ที่เหมาะสมก็จะทำให้ได้แถบ cDNA จำนวนมาก (Bauer และคณะ, 1993) โดย Liang และคณะ (1993) รายงานว่าขนาดของ oligo dT primer ที่เหมาะสมควร

เป็นสายสั้นๆ ที่ประกอบด้วย poly T ประมาณ 11-12 นิวคลีโอไทด์ และควรมีนิวคลีโอไทด์ต่อที่ปลาย 3′ ประมาณ 2 ตัว เพื่อให้เกิดความจำเพาะในการทำปฏิกิริยามากขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม Matz และ Lukyanov (1998) พบว่าวิธีการทำ differential display อาจมีการปรับเปลี่ยนในรายละเอียดได้บ้าง เพื่อให้เหมาะสมกับลักษณะงานแต่ละงาน

ถึงแม้เทคนิค differential display จะเป็นเทคนิคที่ได้รับความนิยมและใช้กันอย่างแพร่หลาย แต่ก็มักจะประสบกับปัญหาในเรื่องของ false positive ซึ่งสามารถพบผลที่เป็น false positive ได้มากกว่า 50% (Debouck, 1995; Wan และคณะ, 1996) สำหรับการเกิด false positive อาจมีสาเหตุมาจากความจำเพาะของ arbitary primer ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา PCR (Bauer และคณะ,1993) หรืออุณหภูมิที่ใช้ในขั้น annealing ต่ำเกินไป (Zhao และคณะ, 1995) นอกจากนี้ Liang และ Pardee (1995) ยังพบว่าปัญหา false positive อาจเกิดจากความแปรผันในปฏิกิริยา PCR ที่เกิดขึ้นในแต่ละครั้ง แต่อย่างไรก็ตามมีรายงานถึงวิธีการที่คาดว่าน่าจะช่วยแก้ไขปัญหาเกี่ยวกับ false positive โดยอาจจะใช้ arbitary primer ที่มีจำนวนเบสมากขึ้น หรือเป็นไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะมากขึ้น (Graf และคณะ, 1997) หรือนำ mRNA ตัวอย่างเดียวกันมาทำ differential display ซ้ำอย่างน้อย 2 ครั้ง (Liang และ Stein, 2002) นอกจากนี้ยังสามารถตรวจสอบผลหลังจากการทำ differential display ไปแล้วด้วยการทำ northern blot analysis (Li และคณะ, 1994, Lievens และคณะ, 2001) แต่ในกรณีที่ได้ชิ้นส่วน DNA ที่แตกต่างกันเป็นจำนวนมากอาจทำ reverse northern blot analysis (Vögeli-Lange และคณะ, 1996) เพื่อคัดเลือกเฉพาะชิ้นส่วน DNA ที่สนใจไปโคลน และยืนยันผลอีกครั้งด้วยการทำ northern blot analysis (Zegzouti และคณะ, 1997) จะเห็นได้ว่าเทคนิค differential display เป็นเทคนิคที่ให้ข้อมูลมาก และยังสามารถนำมาประยุกต์ใช้กับงานวิจัยต่างๆ ได้หลากหลาย ดังจะเห็นได้จากรายงานที่มีการใช้เทคนิค differential display ศึกษาการแสดงออกของยีนทั้งในสัตว์ (Fu และคณะ,1999) และในพืช (Yamazaki และ Saito, 2002) โดยในพืชได้มีการใช้เทคนิคนี้ เพื่อศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการทางสรีรวิทยา เช่น ยีนที่ตอบสนองต่อฮอร์โมนพืช (Dargeviciute และคณะ, 1998) ยีนที่เกี่ยวข้องกับพัฒนาการทางสัณฐานวิทยา (Yung และคณะ, 1999) ยีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อภาวะเครียดต่างๆ เช่น ภาวะเค็ม (Muramoto และคณะ, 1999) ภาวะแล้ง (Jain และคณะ, 2001) ภาวะร้อน (Shi และคณะ, 2001) และภาวะเย็น (Horvath และ Olson, 1998) เป็นต้น

เทคนิค differential display กับการศึกษาการแสดงออกของยีนในภาวะเค็ม

Ureda และคณะ (2002) ทำการศึกษาการแสดงออกของยีนในรากของ barley ที่ได้รับภาวะเค็ม (100 mM และ 200 mM NaCl) เป็นเวลาละ 3 วัน แล้วทำการโคลนชิ้นส่วน DNA จำนวน 218 โคลน โดยในจำนวนนี้มี 133 โคลนที่มี derived amino acid sequence คล้ายคลึงกับโปรตีนในฐานข้อมูลสากล โดยสามารถจัดกลุ่มโปรตีนเหล่านี้ได้ 8 กลุ่ม ได้แก่โปรตีนในกลุ่ม sugar amino acid C/N relations จำนวน 16 ชนิด signal transduction จำนวน 26 ชนิด membrane protein จำนวน 17 ชนิด cytrochome P450 จำนวน 16 ชนิด stress tolerance จำนวน 13 ชนิด RNA function จำนวน 11 ชนิด protease จำนวน 4 ชนิด และที่เหลือเป็นโปรตีนชนิดอื่นๆ ซึ่งคาดว่าโปรตีนเหล่านี้อาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับการปรับตัวของพืชที่ช่วยให้พืชมีความสามารถในการทนต่อภาวะเค็มได้ดีขึ้น

จากการศึกษาการแสดงออกของยีนที่ตอบสนองต่อภาวะเค็มโดยใช้เทคนิค differential display ทำให้สามารถตรวจพบยีนที่ทำหน้าที่ในการปกป้องเซลล์หลายยีน เช่น ใน *Arabidopsis* พบยีน *AtIM* (Carol และคณะ, 1999, Wu และคณะ, 1999) ในมะเขือเทศพบยีน *PTOX* (Josse และคณะ, 2000) และในข้าวพบยีน *OsIM1* (Kong และคณะ, 2003) ซึ่งทั้งสามยีนนี้เป็นยีนที่ช่วยกำจัด reactive oxygen species (ROS) ซึ่งเกิดจากภาวะ oxidative stress โดยเป็นผลมาจากภาวะเค็ม (Dahan และคณะ, 1997) ซึ่งสอดคล้องกับที่มีรายงานว่าพืชกลายพันธุ์ที่ถูกทำให้มีการแสดงออกของ ROS scavenging เพิ่มมากขึ้นจะมีความสามารถในการทนต่อภาวะเครียดได้ดีขึ้น (Xiong และคณะ, 2002) นอกจากนี้การศึกษาการแสดงออกของยีนด้วยเทคนิค differential display ใน barley (*Hordeum vulgare* L. cv. *Haruna-nijyo*) ที่ได้รับภาวะเค็มพบว่ามีการแสดงออกของยีน nuclease เพิ่มขึ้น (Muramoto และคณะ, 1999) ส่วนในข้าวพันธุ์ Zhaiyeqing8 ที่ได้รับภาวะเค็ม (171 mM NaCl) เป็นเวลา 3 วัน พบว่ามีการแสดงออกของยีน *SAMDC*1 ที่คล้ายคลึงกับ S-adenosylmethionine decarboxylase (Li และ Chen, 2000) ซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์ polyamine ที่จัดเป็นพวกสารกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช (Bahni และคณะ, 1981)

นอกจากนี้การศึกษาการแสดงออกของยีนด้วยเทคนิค differential display ยังช่วยให้ทราบข้อมูลเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของการแสดงออกของยีนในภาวะเครียดต่างๆ เพิ่มมากขึ้น เช่น จากการศึกษาใน *Triticum durum* ที่ได้รับภาวะเค็มพบว่ามีการแสดงของยีนที่ถอดรหัสให้ late embryogenesis-abundant-like (LEA-like) protein โดยใน *T. durum* สายพันธุ์ทนเค็มจะถูกชักนำให้มีการแสดงออกของยีนได้เร็วกว่าสายพันธุ์ปกติ (Masmoudi และคณะ, 2001) ซึ่งยีนสร้าง LEA-

like protein ยังสามารถพบได้ในพืชที่ได้รับภาวะแล้ง เช่น ยีน *Ca-LEAL1* ใน hot pepper *(Capicum annuum* L. cv. *Pukang*) (Park และคณะ, 2003) นอกจากนี้ยังพบ LEA-like protein ในการตอบสนองต่อฮอร์โมน ethylene ในมะเขือเทศอีกด้วย (Zegaouti และคณะ, 1997) ทั้งนี้จะเห็นได้ว่าการแสดงออกของยีนในภาวะเครียดที่ต่างกัน อาจมีความสัมพันธ์กัน ซึ่งโคลนที่ได้จากการศึกษาการแสดงออกของยีนด้วยเทคนิค differential display อาจสามารถนำมาใช้เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการตอบสนองของพืชที่มีต่อภาวะเครียดที่แตกต่างกันได้ (Brosché และ Strid, 1999)

การศึกษาในระดับการแสดงออกของยีน นอกจากจะช่วยให้เข้าใจกระบวนการตอบสนองของพืชต่อภาวะเค็มได้มากขึ้นแล้ว ยังสามารถนำความรู้ที่ได้ไปประยุกต์ในการสร้าง transgenic plants ที่มีความสามารถในการทนภาวะเค็มได้ดีอีกด้วย เช่น Zhang และคณะ (2001) ได้สร้าง transgenic *Brassica* ที่มีการแสดงออกของยีน *AtNHX*1 เพิ่มขึ้น ซึ่ง ยีน *AtNHX*1 เป็นยีนที่เกี่ยวข้องการควบคุมการเข้าออกของโซเดียมไอออน จึงทำให้ transgenic *Brassica* ที่ได้มีความสามารถในการทนต่อภาวะเค็มได้ดีขึ้น และ Mukhopadhyay (2004) ได้ทำการสร้างพืช transgenic เพื่อศึกษาความสามารถทนต่อภาวะเย็น แล้ง และเค็ม โดยถ่ายยีนที่ถอดรหัสได้โปรตีนในกลุ่มของ zing-finger protein เข้าไปในยาสูบ และพบว่ายาสูบ transgenic ที่ได้มีความสามารถในการทนต่อภาวะเย็น แล้ง และเค็ม ได้ดีขึ้น

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย