# บทที่ 1

# บทนำ

ภาวะเค็มเป็นปัจจัยจำกัดต่อการเจริญเติบโตของพืชปัจจัยหนึ่ง โดยภาวะเค็มจะส่งผลกระทบต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของพืช เมื่อพืชอยู่ในภาวะเค็มการเจริญเติบโตจะลดลง เนื่องจากความเครียดจากเกลือ เมื่อมีเกลือละลายอยู่ จะทำให้ water potential ของน้ำในดินลดลง ซึ่งส่งผลให้พืชดูดน้ำไปใช้ประโยชน์ได้น้อยลง การเจริญเติบโตที่ลดลงจึงเนื่องมาจากการขาดน้ำ (Bernstein, 1964) นอกจากนี้ความเครียดจากเกลือยังอาจเกิดจากการเพิ่มขึ้นของไอออนบางชนิดภายในเซลล์ที่เป็นพิษต่อเซลล์พืช (Nemato, Kawakami และ Sasakuma, 1999) และไอออนที่สะสมในปริมาณที่ไม่เหมาะสมนี้ ยังส่งผลต่อสมดุลของธาตุอาหาร ทำให้พืชที่เจริญอยู่ในภาวะเค็มได้รับผลกระทบเนื่องจากการขาดธาตุอาหาร ซึ่งส่งผลให้ปริมาณผลผลิตลดลงอีกด้วย (Kleinkopf และคณะ,1975)

พืชที่อยู่ในภาวะเค็มจะมีการปรับตัวเพื่อให้สามารถทนต่อภาวะเค็มได้ การปรับตัวของพืชมีหลายแบบขึ้นอยู่กับชนิดของพืช และความรุนแรงที่ได้รับจากภาวะเค็ม เช่น อาจมีการปรับตัวโดยมีการลดพื้นที่ใบ และการปิดปากใบ (Taiz และ Zeiger, 1998) เก็บสะสมไอออนไว้ในแวคคิวโอล (Blumward และคณะ, 2000; Niu และคณะ, 1995) มีการสร้างสาร osmoprotectants เช่น ascorbate glutathione carotenoid catalase และ superoxide dismutase เป็นต้น (Larson, 1988; Bowler และคณะ, 1992) มีการสะสมสาร osmolytes ต่างๆ เช่น glucose fructose (Bohnert และ Jensen, 1996) proline glycine betaine และ sorbitol เป็นต้น เพื่อควบคุม water potential ของน้ำในต้นพืช (Nuccio และคณะ, 1999) ซึ่งการตอบสนองต่อภาวะเค็มหลายลักษณะเหล่านี้ เป็นผลมาจากการควบคุมในระดับการแสดงออกของยีน โปรตีนที่มาจากการแสดงออกของยีนอาจมีส่วนเกี่ยวข้องในการป้องกันโครงสร้างเซลล์ ควบคุมกระบวนการทำงานในไซโตพลาสซึม และ/หรือ ควบคุมการเปลี่ยนแปลงค่า water potential (Ericson และคณะ, 1984)

ข้าว (*Oryza sativa* L.) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ แต่เนื่องจากภาวะเค็มเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อผลผลิต จึงมีความพยายามที่จะปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้ข้าวที่มีความสามารถในการทนเค็ม ซึ่งข้าวพันธุ์เหลืองประทิว123 สายพันธุ์ทนเค็ม (LPT123-TC171) เป็นสายพันธุ์ที่ได้จากการคัดเลือกต้นที่มีความสามารถในการทนเค็มที่เกิดจาก somaclonal variation ระหว่างการเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดทดลอง ของข้าวพันธุ์เหลืองประทิว123 (LPT123) ซึ่งเป็นสายพันธุ์เดิม และได้ทำ

การคัดเลือกมาอย่างน้อย 6 ชั่วรุ่น (Vajrabhaya และ Vajrabhaya, 1991) ซึ่งนอกจากการปรับปรุงพันธุ์พืชด้วยวิธีการคัดเลือกต้นจาก somaclonal variation แล้ว การศึกษาในระดับของยีนก็เป็นวิธีหนึ่งที่ช่วยให้มีความเข้าใจเกี่ยวกับการตอบสนองของพืชต่อภาวะเค็มได้ดีขึ้น (Shinozaki และ Yamaguchi-Shinozaki, 1997) โดยข้อมูลของยีนที่ได้สามารถนำมาพัฒนาสายพันธุ์พืชให้มีความสามารถในการต้านทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม (Hasegawa, 2000; Zhu, 2001) ซึ่งข้าว LPT123-TC171 ก็เป็นข้าวสายพันธุ์หนึ่งที่สามารถนำมาใช้เป็นต้นแบบในการศึกษายีนที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานต่อภาวะเค็มได้

จากการศึกษาที่พบว่าเมื่อข้าวได้รับภาวะเค็มความสามารถในการสังเคราะห์ด้วยแสงในข้าวสายพันธุ์ทนเค็มจะมีมากกว่าข้าวสายพันธุ์ปกติ โดยมีปริมาณการสลายของ chlorophyll น้อยกว่าข้าวสายพันธุ์ปกติ (Yeo และคณะ, 1985) และยังพบว่าในข้าวสายพันธุ์ทนเค็มการเจริญเติบโต และปริมาณผลผลิตจะมีมากกว่าในข้าวสายพันธุ์ปกติ (Mushtaq และ Zaibunnisa, 2003) จึงคาดว่าในข้าวสายพันธุ์ทนเค็มและข้าวสายพันธุ์ปกตินำจะมีการแสดงออกของยีนที่ต่างกัน จึงทำให้ข้าวมีความทนต่อภาวะเค็มได้ต่างกัน นอกจากนี้ Sachs และ Ho (1986) ยังพบว่าพืชที่อยู่ในภาวะเค็มจะมีการแสดงออกของยีนบางชนิดเปลี่ยนแปลงไปเพื่อช่วยให้พืชสามารถทนอยู่ในภาวะที่ไม่เหมาะสมได้

differential display เป็นเทคนิคที่คิดค้นโดย Liang และ Pardee (1992) เพื่อใช้ในการตรวจสอบการแสดงออกของยีนในระดับ mRNA เทคนิค differential display นี้มีการใช้อย่างแพร่หลายเพื่อศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อสิ่งแวดล้อม และการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาในพืชหลายชนิด เช่น ข้าว (Yamazaki และ Saito, 2002) พริก (Park และคณะ, 2003) และ ข้าวสาลี (Nemato และคณะ, 1999) เป็นต้น

การศึกษาวิจัยในครั้งนี้จะเป็นการศึกษาการแสดงออกของยีนระหว่างข้าวพันธุ์เหลืองประทิว 123 สายพันธุ์ทนเค็ม (LPT123-TC171) และสายพันธุ์เดิม (LPT123) ในภาวะเค็ม โดยใช้เทคนิค differential display ซึ่งจะนำไปสู่การศึกษายีนที่ควบคุมหรือมีส่วนเกี่ยวข้องกับลักษณะทนเค็มของข้าวได้ โดยข้อมูลที่ได้จะช่วยให้มีความเข้าใจเกี่ยวกับสรีรวิทยาของข้าวในการตอบสนองต่อภาวะเค็มมากขึ้น และสามารถนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีความสามารถในการทนต่อภาวะเครียดต่อไปในอนาคต รวมทั้งเทคนิคและวิธีการที่ได้สามารถนำไปใช้ในการศึกษาการแสดงออกของยีนในข้าวเมื่ออยู่ในภาวะเครียดอื่น ๆ

**วัตถุประสงค์ของการศึกษาทดลอง**

เปรียบเทียบการแสดงออกของยีนระหว่างข้าวพันธุ์เหลืองประทิว123 สายพันธุ์ทนเค็ม (LPT123-TC171) และข้าวพันธุ์เหลืองประทิว123 (LPT123) ในภาวะเค็ม โดยใช้เทคนิค differential display

**ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ**

1. ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองของยีนเมื่อข้าวอยู่ในภาวะเค็ม จะช่วยให้มีความเข้าใจเกี่ยวกับสรีรวิทยาของข้าวในการตอบสนองต่อภาวะเค็มได้ดีขึ้น
2. ส่วนของยีนที่ได้สามารถนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีความสามารถในการทนต่อภาวะเครียดต่อไปในอนาคต

**แผนการดำเนินการวิจัย**

1. ศึกษาการแสดงออกของยีนด้วยเทคนิค differential display
2. โคลนชิ้นส่วน DNA ที่แตกต่างกัน
3. วิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วน DNA
4. ตรวจสอบการแสดงออกของยีนที่ได้ด้วย northern blot analysis

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย