การวิจัยนี้มีเป้าหมายเพื่อ (1) ศึกษาการแสดงออกของยีนกลุ่มไกลโคซิลไฮโดรเลสในอะเรย์ข้าวขนาด 45 K เพื่อเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล ในอะเรย์ 45 K ของข้าวมีโอลิโกนิวคลีโอไทด์ที่มีความจำเพาะต่อไกลโคซิลไฮโดรเลสกลุ่มที่ 1 ทั้งสิ้น 26 กลุ่ม แต่มีเพียง 11 กลุ่มที่ตรงกับฐานข้อมูล เมื่อทำให้ข้าวอยู่ในสภาวะเครียด เทียบกับสภาวะปกติ มียีนที่มีการแสดงออกที่มีความแตกต่างกันลดลงตั้งแต่ 2 เท่าขึ้นไปเพียง 5 กลุ่ม (*Os5bglu*19 *Os9bglu*31 *Os9bglu*30, *Os*11*bglu*36 และ *Os*1*bglu*5) และมีเพียง 3 กลุ่ม (*Os*4*bglu*18 *Os*3*bglu*6 และ *Os7bglu*26) ที่มีการแสดงออกแบบเพิ่มขึ้นตั้งแต่ 2 เท่าขึ้นไป (2) ศึกษาหน้าที่ของยีนเบต้ากลูโคซิเดสจำนวน 5 ยีน คือ *Os*1*bglu*1 *Os*3*bglu*7 *Os*3*bglu*8 *Os7bglu*26 และ *Os*12*bglu*38 ด้วยเทคนิคอาร์เอ็นเอไอ ได้ทำการยับยั้งการแสดงออกของเบต้ากลูโคซิเดสทั้ง 5 ยีนพร้อมกัน โดยใช้ส่วนของ coding region ที่มีความเหมือนกันทั้ง 5 ยีน และยับยั้งการแสดงออกของแต่ละยีนโดยใช้ส่วนของ 3'UTR ซึ่งมีความเฉพาะเจาะจงกับยีนเบต้ากลูโคซิเดสแต่ละตัว ยีนเป้าหมายถูกใส่เข้าไปในเวคเตอร์ pHELLSGATE8 และส่งเข้าไปในแคลลัสของข้าวโดยใช้แบคทีเรีย *Agrobacterium* เพื่อสร้างอาร์เอ็นเอสายคู่ในข้าว การชักนำการเกิดแคลลัสบนอาหารเพาะเลี้ยง N6D เป็นระยะเวลา 4 ถึง 6 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวขาวดอกมะลิ KDML105 และข้าวโคชิฮิคาริ ที่ 94.5 และ 93.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการถ่ายยีนเข้าสู่แคลลัสของข้าว คือ การบ่มแคลลัสร่วมกับแบคทีเรีย *Agrobacterium* ในอาหารเพาะเลี้ยง infection medium การคัดเลือกแคลลัสที่ได้รับการถ่ายยีนบนอาหารคัดเลือก N6D พบว่าสามารถถ่ายโอนยีนเข้าสู่แคลลัสของข้าวได้โดยพบแถบของดีเอ็นเอเป้าหมายของ *nptII* ในแคลลัสจากการทำการเพิ่มสายดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์ แคลลัสที่ได้รับการถ่ายโอนพลาสมิด

239804

ของชุดทดสอบควบคุม มีประสิทธิภาพในการถ่ายโอนมากที่สุด ที่ 19.7 เปอร์เซ็นต์ ส่วนแคลลัสที่ได้รับการถ่ายโอนพลาสมิดจากชุดทดสอบอื่นมีค่าอยู่ระหว่าง 15.3 ถึง 15.9 เปอร์เซ็นต์ การแสดงออกของเอ็มอาร์เอ็นเอในแคลลัสที่ผ่านการยับยั้งการแสดงออกของแต่ละยีน พบว่าไม่มีการแสดงออกของเอ็ม-อาร์เอ็นเอของยีนนั้นๆ ในการยับยั้งการแสดงออกของยีน *Os1bglu1* *Os3bglu8* และ *Os7bglu26* แต่ในการยับยั้งการแสดงออกของยีน *Os3bglu7* ยังพบการแสดงออกของเอ็มอาร์เอ็นเอในระดับที่ต่างกันในแคลลัส ส่วนยีน *Os12bglu38* นั้นปกติจะไม่พบการแสดงออกของเอ็มอาร์เอ็นเอในแคลลัส การตรวจสอบกระบวนการอาร์เอ็นเอไอที่เกิดขึ้นในแคลลัสโดยใช้ Northern blot เพื่อตรวจหาเอสไอ-อาร์เอ็นเอพบว่าแคลลัสของแต่ละชุดทดสอบที่ยับยั้งการแสดงออกของยีน *Os1bglu1* *Os3bglu8* *Os7bglu26* และ *Os3bglu7* สามารถตรวจพบเอสไออาร์เอ็นเอได้ในระดับที่แตกต่างกัน แต่ไม่พบในแคลลัสที่ผ่านการถ่ายโอนพลาสมิดของชุดทดสอบควบคุม การชักนำให้เกิดการพัฒนาไปเป็นต้นข้าวของแคลลัสบนอาหารเพาะเลี้ยง พบว่าเฉพาะแคลลัสที่ได้รับการถ่ายโอนพลาสมิดของชุดทดสอบควบคุมและแคลลัสของชุดทดสอบที่ยับยั้งการแสดงออกของยีน *Os12bglu38* สามารถชักนำให้แคลลัสพัฒนาไปเป็นต้นข้าวได้ 5.5 และ 3.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และพบแถบของดีเอ็นเอเป้าหมายของ *nptII* ในตัวอย่างต้นข้าวทุกตัวอย่างจากทั้ง 2 ชุดทดสอบ แต่ไม่พบความแตกต่างของลักษณะต้นข้าวที่ปรากฏของต้นข้าวที่ได้รับถ่ายโอนพลาสมิดของชุดทดสอบควบคุม และชุดทดสอบที่ยับยั้งการแสดงออกของยีน *Os12bglu38* เลย

This research attempted to study (1) the expression of Glycosyl Hydrolase in 45 K array to compare with databases. The study found 26 groups of Glycosyl Hydrolase family I in the 45 K array with only 11 groups similar to the NCBI databases. The expression of these genes under stress conditions indicated that only 5 groups (*Os5bglu19*, *Os9bglu31*, *Os9bglu30*, *Os11bglu36* and *Os1bglu5*) decreased 2 folds or more and 3 groups (*Os4bglu18*, *Os3bglu6* and *Os7bglu26*) increased 2 folds or more when compare to the normal condition. (2) The function of 5 β-glucosidase genes (*Os1bglu1*, *Os3bglu7*, *Os3bglu8*, *Os7bglu26* and *Os12bglu38*) was studied by RNAi technique. The suppression of 5 β-glucosidase genes were knocked down with one construct containing a highly conserved coding region that matched all 5 genes. And individual β-glucosidase genes were knocked down with 3'UTR sequences of each gene. The target genes fragment were cloned into the pHELLSGATE8 vector and then transferred into rice calli via *Agrobacterium* to produce dsRNA in rice. High percentages of effective callus induction of 94.5% and 93.4% were obtained when seeds of rice cv. KDML105 and Koshihikari were cultured on N6D medium for 4-6 weeks at 28°C, respectively. The suitable conditions for rice transformation with *Agrobacterium* were to grow the calli on N6D selection medium and then checked for the presence of the *npt*II gene to confirm the integration of T-DNA fragment in the calli. High transformation efficiency of 19.7% was obtained from the calli transformed with control plasmid while the individual gene knock down constructs had transformation efficiencies of about 15.3-15.9%. Expression of *Os1bglu1*, *Os3bglu8* and *Os7bglu26*

mRNA was not found in calli transformed with their respective knock down constructs. However, *Os3bglu7* still shows mRNA expression at different levels after transformation with its knock down construct. The mRNA expression of *Os12bglu38* was not found in normal nontransformed callus. Northern blot analysis was performed to check the presence of siRNA to confirm the RNAi mechanism in calli. The results indicated that different siRNA levels were found in the calli with the *Os1bglu1*, *Os3bglu8*, *Os7bglu26* and *Os3bglu7* constructs but no siRNA could be detected in the control transformed calli. The plantlet regeneration efficiencies at 5.5% and 3.1% were obtained from the calli transformed with the control and *Os12bglu38* contructs, respectively. All transformed plantlets contained the *npt*II gene from the T-DNA integration. Plantlets transformed with the control and *Os12bglu38* contructs did not show any differences in the phenotype.