239730

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อโคลนยีน และศึกษาการแสดงออกของยีน *BAD2* และ *P5CS* ในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ภายใต้สภาวะเครียดประกอบด้วย ความแห้งแล้ง ความร้อน และความเค็ม จากการโคลนยีน *BAD2* ด้วยเทคนิค Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) และศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สมบูรณ์ของยีน *BAD2* ในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มีความยาวทั้งสิ้น 1,504 นิวคลีโอไทด์ จากการเปรียบเทียบความเหมือนของลำดับนิว คลีโอไทด์พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *BAD2* จากข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มีความเหมือนกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *BAD2* ในข้าวหอมพันธุ์ SuYuNuo 99 เปอร์เซ็นต์ และข้าวไม่หอมพันธุ์ Nipponbare, Nangjing 11 และ Jiu Caijing 99 เปอร์เซ็นต์ ในขณะเดียวกันลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *BAD2* จากข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ยังมีความเหมือนกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *BAD* ใน *Zea mays* 87 เปอร์เซ็นต์ *Zoyzia tenuifolia* 85 เปอร์เซ็นต์ และ *Triticum aestivum* และ *Hordeum vulgare* 84 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามจากผลการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *BAD2* ในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 กับยีน *BAD2* ในข้าวไม่หอม พบการขาดหายไปของลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน 8 นิวคลีโอไทด์ในยีน *BAD2* ในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 รวมทั้งพบตำแหน่งของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เป็น single nucleotide polymorphism (SNPs) อีก 3 ตำแหน่ง ซึ่งการขาดหายไปของลำดับนิวคลีโอไทด์ 8 นิวคลีโอไทด์นี้ทำให้เกิดรหัสยุติของยีน *BAD2* ทำให้ไม่สามารถแปลรหัสเป็นโปรตีน BADH ที่สมบูรณ์ได้ ส่งผลให้เกิดการสะสมสาร 2AP ซึ่งเป็นสารที่ให้ความหอมในข้าวหอม จากการศึกษาเปรียบเทียบการแสดงออกของยีน *BAD2* ภายใต้สภาวะเครียดเนื่องจากความแห้งแล้ง ความร้อน และความเค็ม ระหว่างข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และข้าวไม่หอมพันธุ์ชัยนาท 1 พบว่ายีน *BAD2* จากข้าวทั้งสองสายพันธุ์สามารถแสดงออกได้ในทุกสภาวะความเครียดที่ทำการทดสอบ แต่การแสดงออกของยีน *BAD2* ในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 น้อยกว่าการแสดงออกของยีน *BAD2* ในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1

สำหรับผลการโคลนยีนและศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *P5CS* ในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 นั้นพบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สมบูรณ์ของยีน *P5CS* มีความยาวทั้งสิ้น 2,151 นิวคลีโอไทด์ สามารถแปลรหัส (translated) เป็นกรดอะมิโนได้ทั้งสิ้น 716 ตัว ค่าคาดคะเนน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนที่ได้มีค่า 176.04 กิโลดาลตัน และมีค่า pI ประมาณ 4.06 จากการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโน กับข้าวพันธุ์ต่างๆ ในฐานข้อมูล พบว่าลำดับกรดอะมิโนของโปรตีน P5CS ในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มีความเหมือนสูงถึง 99 เปอร์เซ็นต์ กับลำดับกรดอะมิโนของโปรตีน P5CS ในข้าวพันธุ์ Akibara, Nipponbare และ Tainung 71 นอกจากนี้ยังมีความเหมือนกับลำดับกรดอะมิโนของโปรตีน P5CS จาก *Triticum aestivum*, *Saccharum officinarum* และ *Sorghum bicolor* 88 เปอร์เซ็นต์ และโปรตีน P5CS จาก *Zea mays* และ *Phaseolus vulgaris* 78 และ 75 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบการแสดงออกของยีน *P5CS* ภายใต้สภาวะเครียดเนื่องจากความแห้งแล้ง ความร้อน และความเค็ม ระหว่างข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 พบว่ายีน *P5CS* ในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 มีการแสดงออกไม่แตกต่างกันในแต่ละสภาวะความเครียดที่ทำการทดสอบ

The aims of this study were to clone and analyze the expression of *BAD2* and *P5CS* genes in rice (*Oryza sativa* L.) cultivar Khao Dawk Mali 105 under drought, high temperature and salt stresses. Cloning of *BAD2* was performed by Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) and nucleotide sequence analysis revealed that the full length open reading frame of *BAD2* was 1,504 nucleotides long. Homology analysis of nucleotide sequences found that the *BAD2* nucleotide sequences from KDML105 rice had 99% identity to that from aromatic rice cultivar SuYuNuo and non-aromatic rice cultivars Nipponbare, Nangjing 11 and Jiu Caijing. In addition, it also had high homology to that from *Zea mays* (87%), *Zoysia tenuifolia* (85%) and *Triticum aestivum* and *Hordeum vulgare* (84%). However, the results from nucleotide sequence alignment between BAD2 from aromatic rice KDML105 and non-aromatic rice showed a deletion of 8 nucleotides long and 3 distinctive single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the *BAD2* of KDML105 rice. The deletion of 8 nucleotides in *BAD2* of KDML105 rice resulted in the termination of transcription process, which in turn caused the accumulation of 2AP, an aroma compound presents in the aromatic rice. The expression of *BAD2* under drought, high temperature and salt stresses in aromatic rice KDML105 and non-aromatic rice Chai Nat 1 was compared using RT-PCR. The results revealed that *BAD2* was expressed in both rice cultivars under all stress conditions tested, but the expression of *BAD2* in KDML105 rice was lower than that observed in Chai Nat 1 rice.

With respect to the *P5CS* gene, cloning and sequencing analysis revealed that the full length open reading frame of this gene in KDML105 rice was 2,151 nucleotides long, encoded for 716 amino acid residues with relative molecular mass of 176.04 kDa. The pI value of the putative protein was 4.06. Homology analysis of the amino acid sequences revealed that the P5CS protein of KDML105 rice had 99% amino acid identity to that of rice cultivar Akibare, Nipponbare and Tainung 71. The amino acid sequence of P5CS protein of KDML105 rice also showed 88% identity to that of *Triticum aestivum*, *Saccharum officinarum* and *Sorghum bicolor*, 78% and 75% identity to that of *Zea mays* and *Phaseolus vulgaris*, respectively. The expression of *P5CS* under drought, high temperature and salt stresses in aromatic rice KDML105 and non-aromatic rice Chai Nat 1 was compared using RT-PCR, and the results showed that the expression of this gene in both rice cultivars was not different under all stress conditions tested.