

บทที่ 2

ผลงานวิจัยและงานเขียนอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง

(Review of Literature)

ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับข้าว

ข้าวเป็นพืชที่มีความจำเป็นต่อชีวิตของคนทั่วโลก นอกจากนี้ ยังเป็นพืชเศรษฐกิจอันดับหนึ่งของประเทศไทย ข้าวสามารถปลูกได้อย่างกว้างขวางตั้งแต่เส้นรุ้งที่ 53° เหนือถึง 40° ใต้ จากระดับน้ำทะเลจนถึงความสูง 2,500 เมตร หรืออาจมากกว่านี้ แม้ว่าส่วนมากข้าวจะปลูกแบบนาที่น้ำท่วมหรือในเขตชลประทาน แต่ข้าวก็เป็นพืชเดียวเท่านั้นที่สามารถเติบโตได้ในระดับน้ำสูงกว่า 4 เมตร หรือไม่ต้องมีน้ำขังเลย นอกจากนี้ข้าวยังสามารถปลูกได้ในดินเป็นกรดระดับ pH 3-10 หรือในดินเค็ม 0-1% อุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง $20-34^{\circ}\text{C}$ แต่ข้าวก็สามารถงอกที่อุณหภูมิ $10-40^{\circ}\text{C}$ ได้ (สงกรานต์, 2545)

ลักษณะทางพันธุศาสตร์ของข้าว

ข้าว เป็นพืชล้มลุกตระกูลหญ้าที่สามารถกินเมล็ดได้ ถือเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว เช่นเดียวกับหญ้า ต้นข้าวมีลักษณะภายนอกบางอย่าง เช่น ใบ กาบใบ ลำต้น และรากคล้ายต้นหญ้า จากอนุกรมวิธานข้าวจัดอยู่ในจีนัส (Genus) *Oryza* และอยู่ในตระกูล (Family) *Graminae* (สงกรานต์, ออนไลน์, 2545) นอกจากนี้ข้าวยังเป็นพืชต้นแบบสำหรับการศึกษากีโนมในธัญพืชทั่วไป เนื่องจากมีจีโนมขนาดเล็ก เป็นพืชดิพลอย (diploid) และมีความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับธัญพืชอื่น ๆ ที่สำคัญ (Rabbani et al., 2003).

■ ชนิดพันธุ์ข้าว แบ่งออกเป็น 2 สปีชีส์ใหญ่ ๆ คือ

- *Oryza glaberrima* ปลูกเฉพาะในเขตร้อนของแอฟริกา สันนิษฐานว่าข้าวแอฟริกาอาจเกิดขึ้นครั้งแรกเมื่อประมาณ 1,500 ปีก่อนคริสตกาล

- *Oryza sativa* ปลูกทั่วไปทุกประเทศ ข้าวชนิด *Oryza sativa* แบ่งออกเป็น

1. *Indica* เป็นข้าวเมล็ดยาวปลูกในเขตร้อนแพร่สู่ตอนใต้ของอินเดีย ศรีลังกา แหลมมาลายู หมู่เกาะต่าง ๆ และลุ่มแม่น้ำแยงซีของจีนประมาณคริสต์ศักราช 200

2. *Japonica* ปลูกมากในเขตอบอุ่น บริเวณแม่น้ำเหลืองของจีน แพร่ไปยังเกาหลีและญี่ปุ่น เมื่อประมาณ 300 ปีก่อนคริสต์ศตวรรษ เป็นข้าวเมล็ดป้อม

3. *Javanica* ปลูกในอินโดนีเซีย ประมาณ 1,084 ปีก่อนคริสต์ศักราช จากนั้นแพร่ไปยังฟิลิปปินส์และญี่ปุ่น

ข้าวที่ปลูกในประเทศไทยเป็นพวก *Indica* ซึ่งแบ่งออกเป็น [ข้าวเจ้า](#) และ [ข้าวเหนียว](#) ข้าวได้ถูกมนุษย์คัดสรรและปรับปรุงพันธุ์มาโดยตลอดตั้งแต่มีประวัติศาสตร์การเพาะปลูก ข้าวในปัจจุบัน จึงมีหลากหลายพันธุ์ทั่วโลกที่ให้รสชาติและประโยชน์ใช้สอยต่างกันไป (คลังปัญญาไทย, ออนไลน์)

■ ลักษณะที่สำคัญของข้าวแบ่งออกได้เป็นลักษณะที่เกี่ยวกับการเจริญเติบโต และลักษณะที่เกี่ยวกับการขยายพันธุ์ ดังนี้

- ลักษณะที่เกี่ยวกับการเจริญเติบโต

ราก รากเป็นส่วนที่อยู่ใต้ผิวดิน ใช้ยึดลำต้นกับดินเพื่อไม่ให้ต้นล้ม แต่บางครั้งก็มีรากพิเศษเกิดขึ้นที่ข้อซึ่งอยู่เหนือพื้นดินด้วย ต้นข้าวไม่มีรากแก้ว แต่มีรากฝอยแตกแขนงกระจายอยู่ใต้ผิวดิน

ลำต้น มีลักษณะเป็นโพรงตรงกลางและแบ่งออกเป็นปล้องๆ โดยมีข้อกั้นระหว่างปล้อง ความยาวของปล้องนั้นแตกต่างกัน จำนวนปล้องจะเท่ากับจำนวนใบของต้นข้าว ปกติมีประมาณ 20-25 ปล้อง

ใบ ต้นข้าวมีใบไว้สำหรับสังเคราะห์แสง เพื่อเปลี่ยนแร่ธาตุ อาหาร น้ำ และคาร์บอนไดออกไซด์ให้เป็นแป้ง เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตและ สร้างเมล็ดของต้นข้าว ใบประกอบด้วย กาบใบและแผ่นใบ

- ลักษณะที่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์

ระยะของการสืบพันธุ์ (Reproductive stage) หมายถึง ระยะที่ลำต้นข้าวจะยาวขึ้น, การแตกหน่อจะลดลง, เกิดการโผล่ของใบธง, เกิดการเจริญของข้อข้าว, การพัฒนาของเกสรตัวผู้ และการพัฒนามลายเป็นเมล็ด (Tang et al., 2005) ในระยะนี้มีส่วนประกอบที่สำคัญคือ

รวงข้าว (Panicle) หมายถึง ช่อดอกของข้าว (inflorescence) ซึ่งเกิดขึ้นที่ข้อของปล้องอันสุดท้ายของต้นข้าว ระยะระหว่างข้ออันบนของปล้องอันสุดท้ายกับข้อต่อของใบธงเรียกว่า คอรวง

ดอกข้าว หมายถึง ส่วนที่สำหรับผสมพันธุ์ของเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมีย ดอกข้าวประกอบด้วยเปลือกนอกใหญ่สองแผ่นประสานกัน เพื่อห่อหุ้มส่วนที่อยู่ภายในไว้ เปลือกนอกใหญ่แผ่นนอก เรียกว่า เลมมา(Lemma) ส่วนเปลือกนอกใหญ่แผ่นใน เรียกว่า พาเลีย (palea) ทั้งสองเปลือกนี้ ภายนอกของมันอาจมีขนหรือไม่มีขนก็ได้

เมล็ดข้าว หมายถึง ส่วนที่เป็นแบ่งที่เรียกว่า เอ็นโดสเปิร์ม (Endosperm) และส่วนที่เป็นคัพภะ ซึ่งห่อหุ้มไว้โดยเปลือกนอกใหญ่สองแผ่น เอ็นโดสเปิร์มเป็นแบ่งที่เรอบริโภค คัพภะเป็นส่วนที่มีชีวิตและงอกออกมาเป็นต้นข้าวเมื่อเอาไปเพาะ (วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี, ออนไลน์)

ในระยะเวลาของการขยายพันธุ์จะประกอบด้วย 2 กระบวนการหลัก ๆ คือ การแทงของช่อดอกและการปฏิสนธิของดอก ซึ่งจะมีความอ่อนแอต่อความแห้งแล้งสูง (Ji et al., 2005) การแทงของช่อดอกเกิดจากการขยายยาวของก้านช่อดอก และจะมีเวลาร่วมกับการพัฒนาของดอกคือจะเกิดในช่วงที่ดอกโผล่พ้นใบธงเพียงวันเดียวหลังจากนั้นจะมีการเปลี่ยนแปลงการพัฒนาของเกสรตัวผู้ต่อไป ซึ่งสภาวะความเครียดที่เกิดจากความแห้งแล้งจะหยุดหรือยับยั้งกระบวนการเหล่านี้ให้ช้าลง (O'Toole and Namuco., 1983) แต่เมื่อมีการให้น้ำกลับก็จะกลับทำงานเหมือนเดิม แต่ก็พบบ่อยครั้งที่การขยายยาวขึ้นของก้านช่อดอกผิดปกติหลังจากเกิดสภาวะความเครียด มีผลทำให้ช่อดอกอยู่ภายในใบธงและไม่เกิดการพัฒนาดอกก่อนให้เกิดการเป็นหมัน (Ji et al., 2005)

ลักษณะทั่วไปของพืชในการตอบสนองต่อสภาวะความเครียดที่เกิดจากความแห้งแล้ง

การเกิดสภาพแล้ง (drought) ในระหว่างการปลูกพืช หมายถึง ช่วงเวลาที่ปริมาณน้ำไม่เพียงพอจนทำให้พืชขาดน้ำ และพืชจะอยู่ใน สภาวะขาดน้ำ (water deficit) ก็ต่อเมื่ออัตราการคายน้ำของพืชมากกว่าอัตราการดูดน้ำของพืช จนทำให้ปริมาณน้ำในต้นพืชลดลง ซึ่งจะมีผล ทำให้กระบวนการทางสรีรวิทยาของพืชเปลี่ยนแปลงไป และในที่สุดจะส่งผลให้ผลผลิตของพืชลดลง (สายัณห์, 2534) สภาวะความแห้งแล้งนี้จะเป็นปัจจัยสำคัญในการจำกัดการให้ผลผลิตของข้าว ข้าวมักจะอ่อนแอต่อการขาดน้ำในระยะการตั้งท้อง ก่อให้เกิดการลดลงของผลผลิต (Yue et al., 2006) จึงมีความสนใจในการศึกษาสรีรวิทยา, ลักษณะทางพันธุศาสตร์และชีวโมเลกุล เพื่อให้

เข้าใจถึงการตอบสนองต่อความแห้งแล้งในระหว่างการตั้งท้อง ซึ่งอาจนำไปใช้ในการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์พืชต่อไป

พืชมีความสามารถในการปรับตัวให้ทนทานต่อสภาพแล้งได้ในระดับหนึ่งเนื่องจากพืชมีกลไกในการปรับตัวหลายรูปแบบ ซึ่งอาจจำแนกออกได้เป็น 4 แบบใหญ่ ๆ ดังนี้

1. การหนีแล้ง (drought escape) เป็นความสามารถของพืชที่จะมีชีวิตอยู่จนครบวงจรชีวิต (life cycle) ก่อนที่จะกระทบกับสภาพแล้ง เช่น การมีอายุสั้น การออกดอกได้เร็วขึ้น การยืดระยะเวลาในการออกดอก เป็นต้น

2. การหลีกเลี่ยงแล้ง (drought avoidance) เป็นความสามารถของพืชที่จะมีชีวิตอยู่รอดได้โดยการลดการสูญเสียน้ำภายในต้นพืช เมื่อประสบ กับสภาพแล้ง เช่น การม้วนของใบ ใบมีไขเคลือบหนา ปากใบเปิดปิดได้รวดเร็วขึ้น มีระบบรากหนาแน่นและหยั่งลึก เป็นต้น

3. การทนแล้ง (drought tolerance) เป็นความสามารถของพืชที่จะมีชีวิตอยู่รอดได้เมื่อประสบกับสภาพแล้ง โดยการลดศักย์ของน้ำ (water potential) เช่น การปรับระดับของ solute ในเซลล์โดยวิธีการปรับแรงดันออสโมซิส (osmotic adjustment) เพื่อทำให้เซลล์เต่ง การยืดหยุ่นของผนังเซลล์ (cell wall elasticity) การลดขนาดของเซลล์ หรือลดสภาวะระดับน้ำวิกฤตที่จะทำให้พืชตาย

4. การฟื้นตัวจากแล้ง (drought recovery) เป็นความสามารถของพืชที่จะฟื้นตัวได้ใหม่หลังจากประสบกับสภาวะแล้ง ซึ่งอาจทำให้ส่วนใด ส่วนหนึ่งของต้นพืชเหี่ยวแห้งไป และเมื่อได้รับน้ำใหม่ก็สามารถฟื้นตัว แตกกิ่งแตกหน่อใหม่เจริญเติบโตต่อไปได้

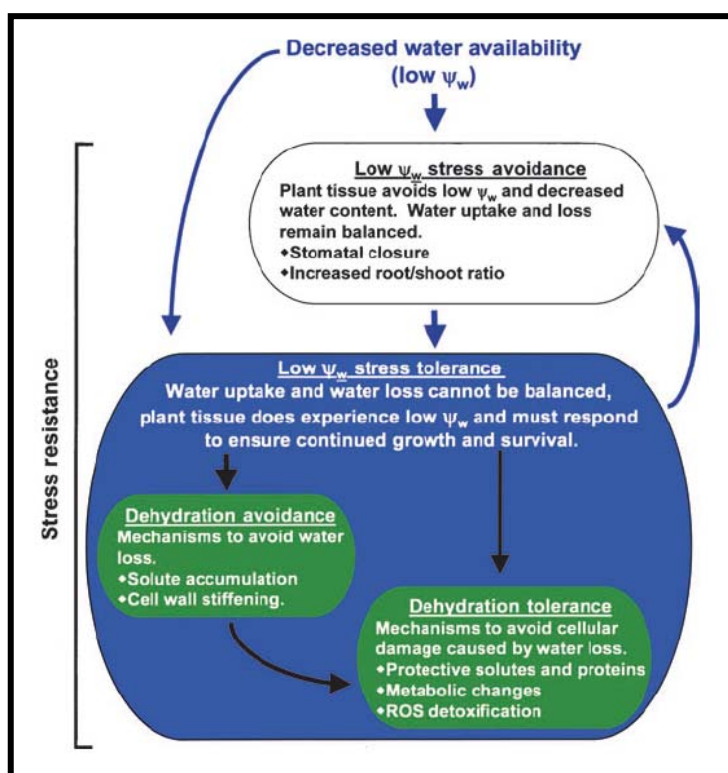
เมื่อพืชขาดน้ำการเจริญของเซลล์จะได้รับผลกระทบก่อน และเมื่อการขาดน้ำรุนแรงมากขึ้นอีกจะนำไปสู่การสังเคราะห์โปรตีน ปฏิกริยาของเอนไซม์ การสร้างคลอโรฟิลล์ การแบ่งเซลล์ และการขยายขนาดของเซลล์ลดลง เป็นต้น ดังนั้นเมื่อพืชเกิดการขาดน้ำจึงมีการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาต่าง ๆ เกิดขึ้น(สายัณห์, ออนไลน์, 2534)

จากการศึกษาเกี่ยวกับสภาวะความเครียดที่เกิดจากความแห้งแล้ง ความเค็ม และความเย็น ที่มีผลต่อพืช พบว่าน้ำที่ลดลงมีผลต่อน้ำที่อยู่ในเซลล์พืช กล่าวคือ เมื่อมีแหล่งน้ำน้อยลง พืชจะมีศักย์ของน้ำลดน้อยลงด้วย โดยพืชจะมีการปรับตัวในหลาย ๆ กระบวนการได้ดังนี้ คือ พืชบางกลุ่มเมื่ออยู่ในสภาวะขาดน้ำจะปรับตัวโดยเข้าสู่กระบวนการหลีกเลี่ยงต่อความแห้งแล้ง (Drought avoidance) ซึ่งเป็นความสามารถของพืชที่จะมีชีวิตอยู่รอดได้โดยการลดการสูญเสียน้ำภายในต้นพืช เมื่อประสบ กับสภาพแล้ง เช่น การม้วนของใบ ใบมีไขเคลือบหนา ปากใบเปิดปิด

ได้รวดเร็วขึ้น มีระบบรากหนาแน่นและหยั่งลึก เป็นต้น หลังจากนั้นเมื่อมีการขาดน้ำมากขึ้นพืชจะเข้าสู่กระบวนการทนต่อความแห้งแล้ง (Drought tolerance) ซึ่งเป็นความสามารถของพืชที่จะมีชีวิตอยู่รอดได้เมื่อประสบกับสภาพแล้ง โดยการลดศักย์ของน้ำ (water potential) เช่น การปรับระดับของตัวถูกละลายในเซลล์โดยวิธีการปรับแรงดันออสโมซิส (osmotic adjustment) เพื่อให้เซลล์เต่ง การยืดหยุ่นของผนังเซลล์ (cell wall elasticity) การลดขนาดของเซลล์ หรือลดสภาวะระดับน้ำวิกฤตที่จะทำให้พืชตาย เป็นต้น แต่ก็มีพืชบางกลุ่มที่เมื่อเกิดสภาพน้ำในดินลดน้อยลงจะตอบสนองต่อการขาดน้ำโดยการเข้าสู่กระบวนการการทนต่อความแห้งแล้ง (Drought tolerance) เลยโดยไม่มีกระบวนการหลีกเลี่ยงต่อความแห้งแล้ง (Drought avoidance) (ภาพที่ 2.1) (Verslues et al., 2006)

ภาพที่ 2.1

กระบวนการปรับตัวของพืชในสภาวะแล้ง



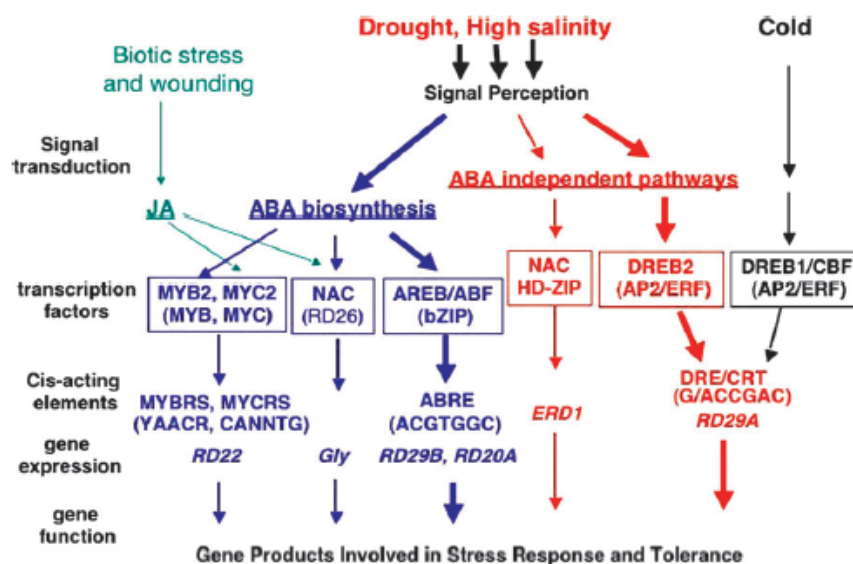
ที่มา : Verslues et al., 2006

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับพื้นฐานทางด้านโมเลกุลของข้าวในระยะที่ต้งท้อง หรือในระยะที่กำลังจะติดเมล็ด ได้มีการศึกษาแยกการต้านทานต่อความแห้งแล้ง (Drought tolerances) ออกจากการหลีกเลี่ยงต่อความแห้งแล้ง (Drought Avoidance) (Yue et al., 2006) โดยในงานวิจัยนี้ได้มีการทดลองปลูกข้าวสายพันธุ์ต่าง ๆ ในท่อ PVC และได้งดการให้น้ำข้าว 2 รอบ ทำการวัดค่าต่าง ๆ เช่นน้ำหนักเมล็ด ผลผลิตสัมพัทธ์ต่อต้น การติดเมล็ดสัมพัทธ์ ชีวมวลสัมพัทธ์ การให้คะแนนใบ และ จำนวนวันที่ข้าวงดการให้น้ำจนกระทั่งใบม้วน ฯลฯ เป็นต้น หลังจากนั้นนำไปวิเคราะห์ QTL เพื่อที่จะคัดแยกสายพันธุ์ข้าวที่ทนต่อความแห้งแล้ง ออกจากสายพันธุ์ข้าวที่หลีกเลี่ยงต่อความแห้งแล้ง จากการศึกษาพบว่าพื้นฐานทางด้านโมเลกุลของสายพันธุ์ข้าวที่ทนต่อความแห้งแล้ง สามารถแยกออกจากสายพันธุ์ข้าวที่หลีกเลี่ยงต่อความแห้งแล้งได้อย่างชัดเจน และนอกจากนี้ยังพบว่าการที่ข้าวขาดน้ำในช่วงที่ต้งท้องจะมีผลอย่างยิ่งในการติดเมล็ดของข้าว และทำให้ผลผลิตของข้าวลดลง

ในกระบวนการตอบสนองต่อสภาวะความเครียดแบ่งออกเป็นหลาย ๆ กระบวนการด้วยกันซึ่งในการตอบสนองต่อความเครียดนี้จะถูกควบคุมด้วย transcription factors , *Cis-acting elements* และอื่น ๆ เป็นต้น (ภาพที่ 2.2) DRE (Dehydration responsive elements) และ ABRE (ABA-responsive element) เป็น *Cis-acting elements* ที่สำคัญในการควบคุมยีนที่ตอบสนองต่อสภาวะแล้ง คือจะทำหน้าที่ในการจับอย่างจำเพาะกับ transcription factors (Shinozaki et al., 2007) โดย ABRE เป็น *Cis-acting elements* ที่จับกับ AREB/ABF ซึ่งเป็น transcription factors อยู่ในกระบวนการ ABA biosynthesis (Fujita et al., 2005) ซึ่งเป็นกระบวนการในการสังเคราะห์ ABA (Absciscic acid) เพื่อช่วยในการตอบสนองและปรับตัวต่อสภาวะความเครียดที่เกิดจากความแห้งแล้ง เช่น การปิดของปากใบ การสร้างผนังเซลล์ให้แข็งแรงขึ้นเพื่อป้องกันการสูญเสียน้ำ เป็นต้น (Ko et al., 2006; Gomez-Porras et al., 2007) ส่วน DRE เป็น *Cis-acting elements* ที่จับกับ DREB2 ซึ่งเป็น transcription factors อยู่ในกระบวนการ ABA independent pathways ในกระบวนการนี้เมื่อเกิดสภาวะแล้งจะไม่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ฮอร์โมน ABA (Absciscic acid) (Sakuma et al., 2005)

ภาพที่ 2.2

กระบวนการตอบสนองต่อความเครียดที่เกิดจากความแห้งแล้ง



ที่มา : Shinozaki et al., 2007

ยีนที่มีความสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อสภาวะความเครียดที่เกิดจากความแห้งแล้ง

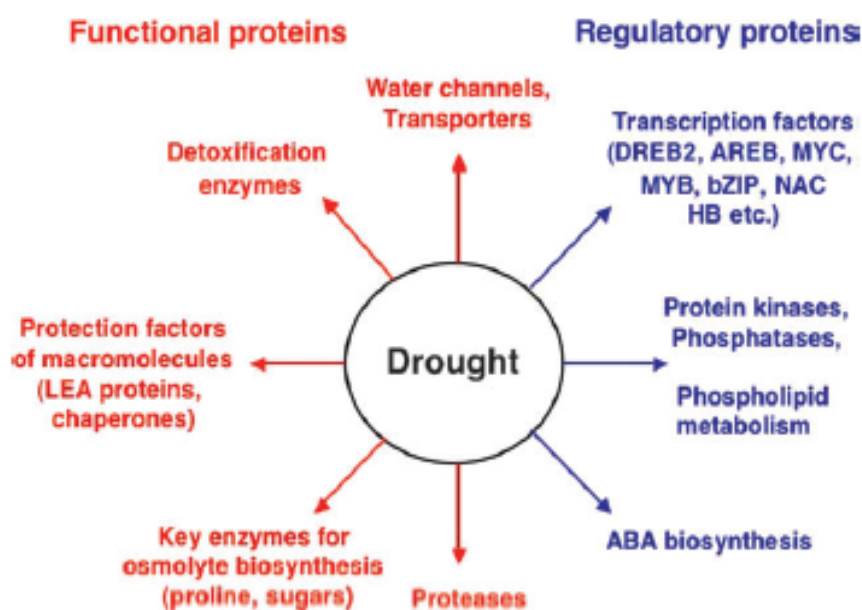
การศึกษา ยีนที่มีการตอบสนองต่อสภาวะความเครียดที่เกิดจากความแห้งแล้งด้วยเทคนิค Microarray สามารถแบ่งกลุ่มออกเป็น 2 กลุ่ม ใหญ่ ๆ ด้วยกัน (แสดงได้ดังภาพที่ 2.3) คือ

กลุ่มที่ 1 คือ Functional proteins เป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่ในการต้านทานต่อสภาวะความเครียดที่เกิดจากสิ่งไม่มีชีวิต เช่น chaperones, late embryogenesis abundant (LEA) proteins, osmotin, antifreeze proteins, mRNA-binding proteins, เอนไซม์สำหรับกระบวนการ osmolyte biosynthesis, water channel proteins, sugar และ praline transporters, เอนไซม์ detoxification และ proteases เป็นต้น

กลุ่มที่ 2 คือ regulatory proteins เป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นปัจจัยในการควบคุมการแสดงออกของโปรตีนตัวอื่น ๆ และเป็นตัวส่งสัญญาณในการตอบสนองต่อความเครียดต่าง ๆ เช่น protein kinases, protein phosphatases, enzymes ในกระบวนการ phospholipid metabolism และ calmodulin-binding protein เป็นต้น ซึ่ง regulatory proteins ต่าง ๆ เหล่านี้จะทำหน้าที่แตกต่างกันในแต่ละสภาวะความเครียด(Shinozaki et al., 2007)

ภาพที่ 2.3

กลุ่มของโปรตีนที่ตอบสนองต่อสภาวะความเครียดที่เกิดจากความแห้งแล้ง



ที่มา : Shinozaki et al., 2007

ยีนที่มีการแสดงออกเกี่ยวกับการพัฒนาช่อดอกและตอบสนองต่อสภาวะความเครียด

ในปัจจุบันนี้ฐานข้อมูลของข้าวหรือ *Arabidopsis* มียีนอยู่ประมาณ 20,000 – 40,000 ยีน และได้มีการนำยีนเหล่านี้มาใช้ในการศึกษาเพื่อให้เข้าใจในกระบวนการควบคุมการตอบสนองต่อสภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนไปเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากการเข้าใจกลไกการตอบสนองต่อสภาวะแวดล้อมของพืชจะเป็นเครื่องมือสำคัญในการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์พืช เป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่าความเครียดที่เกิดจากความแห้งแล้งทำให้ผลผลิตของข้าวลดลง ดังนั้นการศึกษายีนที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับการให้ผลผลิตที่มีเสถียรภาพของข้าวในสภาวะแล้งจึงถือได้ว่าเป็นมีความสำคัญ จากรายงานวิจัยที่ผ่านมา มีหลาย ๆ งานวิจัยที่มีการศึกษาการแสดงออกยีนในการพัฒนาของดอกและยีนที่ตอบสนองต่อสภาวะความเครียดที่เกิดจากความแห้งแล้ง Lan และคณะ (2004) ได้สร้าง ESTs 73,424 ESTs จาก ยอด และเกสรตัวเมีย ของข้าว บรรจุลงใน 10K cDNA microarray และใช้ใน

การศึกษาการแสดงออกยีนในเกสรตัวเมีย(pistil) เกสรตัวผู้ (stamen) ลำต้น (stem) ราก (root) เอ็มบริโอ (embryo) และเ็นโดสเปิร์ม (endosperm) จากการศึกษาพวกเขาพบว่ารูปแบบการแสดงออกยีนในเกสรตัวผู้มีความคล้ายกับการแสดงออกยีนในรากมากกว่าในเกสรตัวเมียและโดยส่วนมากแล้วยีนที่มีการแสดงออกในเกสรตัวเมียจะมีการตอบสนองต่อกระบวนการถ่ายละอองเกสร และ/หรือการปฏิสนธิ (pollination /fertilization) ต่อมา Lan และคณะ (2005) ได้ศึกษานำ 253 cDNA ที่มีการแสดงออกที่เพิ่มมากขึ้นในกระบวนการถ่ายละอองเกสร และ/หรือการปฏิสนธิ ไปศึกษาการแสดงออกยีนภายหลังการให้น้ำออกและการเกิดแผล จากการศึกษาพบว่ามี 53.8% และ 21% ของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการถ่ายละอองเกสร และ/หรือการปฏิสนธิที่ตอบสนองต่อการให้น้ำออกและการเกิดแผล ตามลำดับ และนอกจากนี้ยังพบว่า ยีนเกือบครึ่งที่มีการแสดงออกในเกสรตัวเมีย มีการตอบสนองต่อสภาวะการขาดน้ำ, Bao และคณะ (2005) ได้ศึกษารูปการแสดงออกยีนในช่อดอก, ใบ และราก ของข้าวลูกผสม (LYP9) และสายพันธุ์พ่อแม่ พวกเขาพบว่ามี 595 ยีน มีการแสดงออกเพิ่มขึ้น และ 25 ยีนมีการแสดงออกน้อยลงใน LYP9, Tang และคณะ (2005) ได้มีการศึกษาเปรียบเทียบการแสดงออกยีนในช่อดอกอ่อน (young panicle organs; YPO) กับอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต (aerial vegetative organs; AVO) พวกเขาได้วิเคราะห์จาก ESTs ทั้งหมด 92,582 ESTs ประกอบด้วย YPO 44,247 ESTs และ AVO 48,335 ESTs จากการศึกษาพบว่า มี YPO 12,884 (29.12%) ESTs และ AVO 16,304 (33.73%) ESTs ที่ทราบหน้าที่ของยีน หลังจากนั้นได้ศึกษาการแสดงออกยีนในบางเนื้อเยื่อและระยะการพัฒนาของช่อดอก จากการศึกษาพบว่ามีประมาณ 10,000 mRNA ที่มีการแสดงออกที่จำเพาะใน YPO, Lu และคณะ (2006) ได้ใช้เทคนิค microarray ในการศึกษาการพัฒนาของเกสรตัวผู้ในระยะแรก ๆ และวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงการแสดงออกยีนที่มีความสัมพันธ์กับกระบวนการพัฒนาเกสรตัวผู้ในข้าว โดยใช้ cDNA chips ที่มี ESTs บรรจุอยู่ 10,367 ESTs จากการศึกษาพบว่า มีมากกว่า 26 ยีนที่มีการแสดงออกเพิ่มมากขึ้นในช่วงระยะแรกๆของการพัฒนาเกสรตัวผู้

เทคนิค RT-PCR (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction)

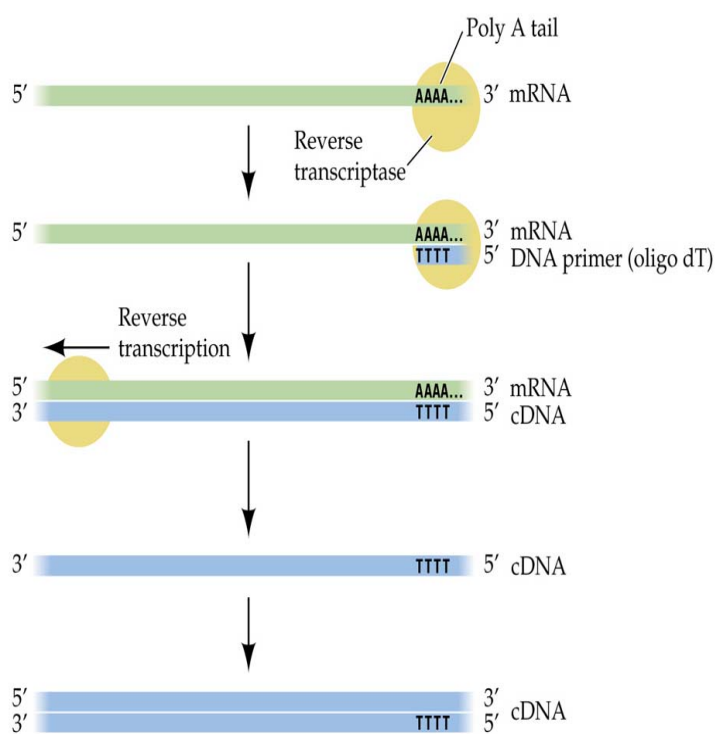
RT-PCR เป็นเทคนิคที่ใช้ในการศึกษาการแสดงออกยีน โดยอาศัยหลักการในการเพิ่มขยายยีนที่สนใจจากการใช้อาร์เอ็นเอเป็นแม่แบบ หลักการที่สำคัญประกอบด้วยสองขั้นตอนหลัก คือ กระบวนการ RT reaction และกระบวนการ PCR amplification (ภาพที่ 2.4)

- กระบวนการ reverse transcription reactions มีขั้นตอนดังนี้คือ สกัดอาร์เอ็นเอ จากตัวอย่างที่เราสนใจ จากนั้นทำการเปลี่ยนอาร์เอ็นเอไปเป็น cDNA โดยอาศัยเอนไซม์ reverse transcriptase (RT) เอนไซม์ชนิดนี้ทำงานโดยสามารถสร้างสายดีเอ็นเอได้จากทั้งแม่พิมพ์ที่เป็นดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอโดยทั่วไปเอนไซม์ RT ที่ใช้ในงาน cDNA เป็นเอนไซม์ที่ได้มาจาก retroviruses

- กระบวนการ PCR amplification เป็นกระบวนการที่ใช้ในการเพิ่มจำนวน cDNA จาก primers ที่เราออกแบบมาจากยีนที่สนใจเพื่อศึกษารูปแบบการแสดงออกยีนนั้น ๆ

ภาพที่ 2.4

หลักการของเทคนิค RT-PCR (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction)



LIFE: THE SCIENCE OF BIOLOGY, Seventh Edition, Figure 16.8 Synthesizing Complementary DNA
© 2004 Sinauer Associates, Inc. and W. H. Freeman & Co.

ที่มา : <http://biology200.gsu.edu/houghton/4564%20'04/lecture4.html>