หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาการแสดงออกยีนที่มีผลต่อเสถียรภาพการให้ผลผลิตของข้าวในสภาวะแล้ง Expression analysis of rice genes putatively involved in yield stability in drought stress
ชื่อผู้เขียน	เกตสุวรรณ์ จันทร์ทอง Ketsuwan Chanthong
แผนกวิชา/คณะ	สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	อ. กิตติพัฒน์ อุโฆษกิจ
ปีการศึกษา	2551

บทคัดย่อ

ความแห้งแล้งเป็นปัจจัยสำคัญที่ลดผลผลิตและการเจริญเติบโตของข้าวซึ่งเป็นอาหารหลักของประชากรมากกว่าครึ่งโลก และเป็นธัญพืชที่มีความสำคัญมาก การเพิ่มขึ้นของข้อมูลลำดับเบส การแสดงออกของยีนและเครื่องมือวิเคราะห์ข้อมูล ทำให้เพิ่มโอกาสที่จะศึกษาหน้าที่ของยีนเกี่ยวกับการตอบสนองต่อสภาวะความเครียดที่เกิดจากความแห้งแล้ง งานวิจัยนี้ได้ศึกษาการแสดงออกยีนและการให้ผลผลิตของข้าวในสภาวะแห้งแล้งเปรียบเทียบกับสภาวะปกติ ซึ่งจะศึกษาในช่วงระยะการให้ผลผลิตของข้าวหรือช่วงที่ข้าวกำลังตั้งท้อง โดยเบื้องต้นได้นำข้าวมาใช้ศึกษา 14 สายพันธุ์ งดการให้น้ำข้าวสองรอบในช่วงระยะเวลาก่อนที่ข้าวจะออกดอก 7-11 วัน โดยจะงดการให้น้ำจนกระทั่งใบห่อ หลังจากนั้นให้น้ำกลับ 1 วัน แล้วงดการให้น้ำข้าวรอบที่สองจนกระทั่งใบห่อเช่นกัน เก็บข้อมูลระยะเวลาในการอดน้ำของข้าวจนถึงใบห่อ หลังจากนั้นได้คัดเลือกข้าว 5 สายพันธุ์เป็นกลุ่มข้าวที่ทนแล้ง คือ IR 2035-117-3, IR 5178-1-1-4, AZUCENA, IR 68586-F2CA-143 และ pokkali ซึ่งมีระยะเวลาในการอดน้ำ 13-19 วัน และเลือกข้าวกลุ่มที่ไม่ทนแล้ง 3 สายพันธุ์ คือ ข้าวสายพันธุ์ SRN1, IR64 และ PTT 1 ซึ่งมีระยะเวลาในการอดน้ำ 8-10 วัน นำข้าวที่คัดเลือกไปศึกษาการให้ผลผลิตในสภาวะแล้งโดยทำการทดลองที่แตกต่างกัน 3 แบบ คือ ให้ข้าว อดน้ำจนกระทั่งใบห่อ, อดน้ำเป็นเวลา 14 วันและอดน้ำเป็นเวลา 7 วัน เก็บข้อมูลความสูง, จำนวนช่อ, น้ำหนักแห้ง, น้ำหนักเมล็ด และจำนวเมล็ด จากการทดลองพบว่า ข้าว IR 2035-

117-3 และ IR 5178-1-1-4 เป็นสายพันธุ์ข้าวที่มีผลผลิตลดลงไม่มากในสภาวะแล้งเมื่อเทียบกับข้าวพันธุ์อื่น ๆ สภาวะแล้งยังมีผลกระทบต่อความสูง จำนวนช่อและน้ำหนักแห้ง ในข้าวทุกสายพันธุ์ หลังจากนั้นศึกษาการแสดงออกของยีนโดยคัดเลือกยีน 50 ยีนที่มีผลเกี่ยวกับการพัฒนาของดอกและ/หรือตอบสนองต่อสภาวะความเครียดจากงานวิจัยอื่น ๆ โดยศึกษาการแสดงออกของยีนด้วยเทคนิค RT-PCR จากการศึกษาพบว่า 4 ยีน คือ Os02g51350, Os03g30740, Os03g02290 และ Os01g73910 มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นในสภาวะแล้งในข้าว IR 2035-117-3 และ IR 5178-1-1-4 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีการให้ผลผลิตที่ลดลงไม่มากในสภาวะแล้ง และมีการแสดงออกของยีนเหล่านี้ลดลงหรือไม่มีการเปลี่ยนแปลงในข้าวสายพันธุ์อื่น ๆ ที่มีผลผลิตที่ลดลงมากในสภาวะแล้ง จากผลการทดลองทำให้คาดว่ายีนทั้ง 4 ยีนนี้อาจมีผลเกี่ยวกับการให้ผลผลิตที่ลดลงไม่มากของข้าวในสภาวะแล้ง นอกจากนี้ยังได้นำยีน Os02g51350 ไปศึกษาหา *cis*-acting elements ที่สำคัญในข้าวพันธุ์ที่สนใจ จากการศึกษาพบว่ายีน Os02g51350 ในข้าวกลุ่มที่ให้ผลผลิตที่ลดลงไม่มากมีจำนวนของ *cis*-acting elements มากกว่าในข้าวกลุ่มที่มีผลผลิตที่ลดลงมากอย่างเห็นได้ชัดซึ่งอาจกล่าวได้ว่าจำนวนของ *cis*-acting elements อาจเป็นมีความสำคัญในการควบคุมการแสดงออกของยีน Os02g51350 ในช่อข้าว

Abstract

Drought is one of the most important abiotic stress limiting rice growth and productivity. The increasing availability of genomic sequences, gene expression data, and data mining tools provides opportunities for further elucidating the role of individual genes involved in drought stress. We studied gene expression and yield production in rice at reproductive stage in drought compared to well-watered conditions. Fourteen rice lines were tested by applying two cycles of drought stress at 7 -11 days before heading by removing water until all leaves rolled, then adding water to saturate for 1 day, and subsequently removing water again. After removing water, leaf rolling was observed in 13-19 days and 8-10 days in drought tolerant and sensitive lines, respectively. Five drought tolerant lines; IR2035-117-3, IR 5178-1-1-4, AZUCENA, IR 68586-F2CA-143 and Pokkali, and three drought sensitive lines; SRN1, IR64 and PTT1,

were selected to study yield production and gene expression. Three different experiments of drought stress were conducted by growing the selected lines, and applied two cycles of drought stress at reproductive phrase by: removed water until all leaves rolled, removed water for 7 days and removed water for 14 days. Traits such as biomass, height, number of panicle, grain weight, yield per plant, and number of days to leaf rolling were recorded. Compared to well-watered condition, yield reduction due to drought stress in IR2035-117-3 and IR5178-1-1-4 was significantly less than that of the other lines indicating that IR2035-117-3 and IR5178-1-1-4 have better yield stability in drought condition. Other agronomic traits such as height, number of panicle and dry weight were also affected by drought for all rice lines. For expression analysis, 50 genes reported to be involved in pollination/fertilization, panicle development, and/or abiotic stress were selected from several transcriptome studies to test for their expression in panicles of these selected lines using RT-PCR. Interestingly, Os02g51350, Os03g30740, Os03g02290 and Os01g73910 genes were found to be up-regulated in IR2035-117-3 and IR5178-1-1-4, while its showed down-regulated or did not change levels of expression in the other lines suggesting that these genes may involve in yield stability in drought stress. Furthermore, Analysis of *cis*-acting elements in the promoter of Os02g51350 gene among rice lines showed that IR2035-117-3 and IR5178-1-1-4 had copy number of *cis*-acting elements significantly higher than other rice lines indicating that copy numbers of *cis*-acting element may be critical for expression of Os02g51350 gene in rice panicle.