

บทคัดย่อ

ดินเค็มนับเป็นปัญหาที่สำคัญและส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของพืช โดยเฉพาะข้าว วัตถุประสงค์ของการวิจัยในครั้งนี้เพื่อศึกษาถึงผลกระทบของความเครียดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อการสังเคราะห์โปรตีนตอบสนองความเค็มในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 โดยทำการปลูกข้าวในระบบสารละลายธาตุอาหารและให้เกลือโซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 0, 25, 50, 75, 100, 150 และ 200 mM จากการศึกษาพบว่า ระดับความเค็มที่เพิ่มสูงขึ้นจะส่งผลกระทบทั้งต่ออัตราการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตในระยะต้นกล้าข้าว โดยพบว่าที่ระดับความเค็มของเกลือโซเดียมคลอไรด์ตั้งแต่ 150 mM ขึ้นไปจะส่งผลให้อัตราการงอกของเมล็ดลดลงถึง 8 เท่าเมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ อีกทั้งยังทำให้ต้นกล้าข้าวเกิดอาการใบเหลือง ปลายใบม้วนงอ และตายในที่สุด จากการศึกษาการสังเคราะห์โปรตีนของข้าวหลังจากได้รับความเครียดเนื่องจากความเค็ม โดยเทคนิค SDS-PAGE พบว่าข้าวมีการสังเคราะห์โปรตีนขนาดน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 45 กิโลดาลตัน เพิ่มสูงขึ้นเมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้รับความเครียด ดังนั้นจึงได้ศึกษาถึงลำดับกรดอะมิโนที่ปลาย N โดยใช้เครื่องวิเคราะห์ลำดับกรดอะมิโน จากลำดับกรดอะมิโนที่วิเคราะห์ได้ เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับความเหมือนกับลำดับกรดอะมิโนจากสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ในฐานข้อมูล พบว่ามีความเหมือนกับลำดับกรดอะมิโนของ WRKY transcription factor protein ในกลุ่มข้าวจาโปนิกาและอินดิกา ซึ่งโปรตีนนี้มีการแสดงออกเพื่อตอบสนองต่อความเครียดจากสภาวะแวดล้อมต่างๆ เมื่อศึกษาถึงคุณลักษณะบางประการ รวมถึงการแสดงออกของยีน WRKY ในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์พบส่วนของ open reading frame ยาวประมาณ 1,552 นิวคลีโอไทด์ แปลรหัสเป็นกรดอะมิโนได้ 380 ตัว มีค่าคาดคะเนน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 39,870.57 ดาลตัน ค่าคาดคะเน pI ประมาณ 9.74 จากการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนที่วิเคราะห์ได้พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ความเหมือนประมาณ 67-98 เปอร์เซ็นต์ กับลำดับกรดอะมิโนของ WRKY protein ในกลุ่มของพืชชนิดต่างๆ และจากการศึกษาการแสดงออกของโปรตีนตอบสนองความเค็มในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ภายใต้สภาวะเครียดที่แตกต่างกันด้วยเทคนิค RT-PCR พบว่ายีน WRKY สามารถแสดงออกได้ในทุกๆ สภาวะที่ทดสอบ ทั้งสภาวะความเครียดเนื่องจากความเย็น ความร้อน ความเครียดน้ำ รวมถึงความเครียดเนื่องจากความเค็ม ข้อมูลจากงานวิจัยนี้นอกจากจะทำให้ทราบถึงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์กับการแสดงออกของโปรตีนตอบสนองความเค็มในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 แล้ว ยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้เพื่อการปรับปรุงพันธุ์ข้าวทนเค็มได้ในอนาคต

ABSTRACT

Soil salinity is a major problem and constraint to plant growth especially rice. The aim of this research was to determine the effect of salt stress on physiological changes in rice cultivar KDML105 particularly the synthesis of salt-stress responsive protein. Rice seedlings were grown in hydroponic nutrient solution containing different concentrations of NaCl at 0, 25, 50, 75, 100, 150 and 200 mM. The results showed that salt stress had an affect on seed germination and growth of rice seedlings. Germination of rice seeds was remarkably decreased when NaCl concentration was increased. At 150 mM NaCl concentration the germination frequency was decreased up to 8-fold as compared to the non-stressed (0 mM NaCl) rice seeds. In addition, high level of NaCl also inhibited rice growth and caused injury on rice plants such as rolling of rice leaves, necrosis and death of rice seedlings. Beside germination and growth of rice seedlings, salt stress also had an effect on protein synthesis. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis analysis of the protein extracted from salt-stressed plants revealed pronounced increase in the synthesis of the polypeptide with an apparent molecular weight of approximately 45 kDa. Amino acid sequencing indicated that the N-terminal sequences of this polypeptide were identical to a part of the WRKY transcription factor protein, which is highly expressed under several biotic and abiotic stresses, in rice japonica and indica cultivar-groups. Nucleotide sequence analysis revealed the presence of an open reading frame of 1,552 nucleotides specifying a protein of 380 amino acid residues, with a calculated relative molecular mass and pI value of 39,870.57 Da and 9.74, respectively. The amino acid sequence of the WRKY protein in rice cultivar KDML105 showed 67-98% homologous to the sequences of different *WRKY transcription factor* gene product from other plant species. The expression analyses of this gene using RT-PCR technique revealed that the *WRKY* gene in rice cultivar KDML105 was highly expressed in all stress conditions including cold-, heat-, drought- and salt-stress. The present study clearly demonstrated that the expression of salt-stress responsive protein was related to level of NaCl and it is possible to use this data for future improvement of salt-tolerance rice cultivars.