

ผลของภาวะเค็มต่อการเจริญเติบโตและรงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์ด้วยแสงในข้าวทรานสเจนิกพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่มีการแสดงออกของยีน *OsCaM1-1* เกินปกติ*

Effect of salinity stress on growth and photosynthetic pigments in transgenic 'KDML 105' rice overexpressing *OsCaM1-1* gene

ทวิพร แก้วเนรมิตร**

นุชนาถ วุฒิประดิษฐ์กุล***

บทคัดย่อ

ภาวะเค็มเป็นหนึ่งในภาวะที่เกิดจากสิ่งที่ไม่มีชีวิตหรือสภาพแวดล้อมที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต ลักษณะทางกายภาพและกระบวนการทางชีวเคมีและโมเลกุลของพืช เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างยีนคลมอดูลิน (*OsCaM1-1*) ที่แสดงออกในข้าวขาวดอกมะลิ 105 (*Oryza sativa* L. cv. 'KDML 105') ต่ออัตราการเจริญเติบโต และปริมาณรงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชภายใต้ภาวะเครียดจากความเค็ม ในตัวอย่างข้าวทรานสเจนิกที่มีการแสดงออกเกินปกติของยีน *OsCaM1-1* ภายใต้การควบคุมของโปรโมเตอร์ 35SCaMV เปรียบเทียบกับข้าวขาวดอกมะลิ 105 สายพันธุ์ปกติ จากการศึกษากล้าข้าวอายุ 21 วัน ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0 และ 150 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 3 วัน พบว่าที่ภาวะเกลือสูง (โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 150 มิลลิโมลาร์) ข้าวขาวมะลิ 105 สายพันธุ์ปกติ และสายพันธุ์ควบคุม (ทรานส์ฟอร์มด้วยเวกเตอร์ pCAMBIA1301 เท่านั้น) มีน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง อัตราการเจริญเติบโตสัมพัทธ์ (Relative Growth Rate) และปริมาณรงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์แสง ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ข้าวทรานสเจนิกที่มีการแสดงออกเกินปกติของยีน *OsCaM1-1* มีอัตราการเจริญเติบโต และปริมาณรงควัตถุลดลงเพียงเล็กน้อย ผลการวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า ยีนคลมอดูลินนำไปสู่การปรับปรุงการเจริญเติบโตและปริมาณรงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์แสงของพืชภายใต้ภาวะเกลือสูง

คำสำคัญ : คลมอดูลิน, ข้าวขาวดอกมะลิ 105, ภาวะเครียดจากความเค็ม, การเจริญเติบโต, ปริมาณรงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์แสง

Abstract

Salinity is one of the important abiotic stresses that affect growth, physiology, biochemistry and molecules of plants. Involvement of the rice calmodulin gene, *OsCaM1-1*, on physiological parameters and photosynthetic pigment contents under salinity stress condition was studied in the KDML 105 rice compared with transgenic rice overexpressing *OsCaM1-1* gene under the control of 35SCaMV promoter. 21 day old of rice seedlings which subjected to

*บทความวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของวิทยานิพนธ์ระดับมหาบัณฑิตของนางสาวทวิพร แก้วเนรมิตร

**นิสิตปริญญาโท สาขาวิชาชีวเคมี ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย e-mail :

k.tavipohn@hotmail.com

***ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย e-mail : nuchanat.W@chula.ac.th

0 and 150 mM salinity levels for 3 days were studied. High salinity (150 mM NaCl) treatment caused significant decrease in shoot fresh weight and dry weight, relative growth rate, and photosynthetic pigments in wild type and control (transformed by only pCambia1301 vector). On the other hand, the transgenic rice overexpressing the *OsCaM1-1* gene showed slight decrease in growth and pigments under salt stress condition. These results suggest that calmodulin gene led to improve the growth and photosynthetic pigments under high salinity.

Keywords : calmodulin, rice KDML 105, salinity stress, growth, photosynthetic pigments

บทนำ

ภาวะเค็ม (salinity) เป็นปัจจัยหลักอย่างหนึ่งที่จำกัดอัตราการเจริญเติบโตและผลผลิตของพืชเศรษฐกิจทั่วโลก (Allakhverdiev *et al.*, 2000) ความเค็มส่งผลต่อกระบวนการสำคัญต่างๆ ภายในเซลล์พืช อาทิ เช่น การเจริญเติบโต การสังเคราะห์แสง (photosynthesis), การสังเคราะห์โปรตีน รวมไปถึงเมแทบอลิซึมของชีวโมเลกุลต่างๆ เป็นต้น นอกจากนี้ความเค็มยังก่อให้เกิดอนุมูลอิสระในรูปแบบของออกซิเจนที่ไวต่อปฏิกิริยา (reactive oxygen species; ROS) เพิ่มขึ้น ในภาวะปกติ ROS ก็สามารถเกิดขึ้นได้ในระหว่างที่เกิดกระบวนการเมแทบอลิซึมต่างๆ (Fridovich, 1995 และ Alscher *et al.*, 1997) ทำให้อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชลดลง ส่งผลให้การเจริญเติบโตของพืชถูกจำกัด พืชเกิดการขาดน้ำ พืชต้องใช้พลังงานมากกว่าปกติเพื่อดูดน้ำและธาตุอาหารมาใช้ในการเจริญเติบโต ในขณะที่เกลือในดินนั้นทำให้น้ำในดินมีแรงดันออสโมติก (osmotic pressure) เพิ่มขึ้น และความต่างศักย์ของน้ำ (water potential) ลดลง และเมื่อค่าความต่างศักย์ของน้ำในดินลดต่ำกว่าในราก จะส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโตของพืชต่ำลง เกิดความไม่สมดุลของน้ำและไอออนภายในเซลล์ เกิดความเป็นพิษเนื่องจากไอออนบางชนิดที่พืชดูดเข้าไปสะสมมากเกินไปจนเกินความต้องการ ทำให้เกิดการขัดขวางการดูดซึมธาตุอาหารที่จำเป็นต่อพืช เช่น ในสภาพดินเค็มพืชจะมีการสะสมโซเดียมปริมาณมาก ทำให้พืชไม่สามารถลำเลียงแคลเซียม โพแทสเซียม และแมกนีเซียม จึงทำให้เกิดอาการขาดธาตุอาหารดังกล่าวได้ (Hanson *et al.*, 1994) ด้วยเหตุนี้เมื่อพืชเผชิญกับความเครียด พืชจะมีกลไกการตอบสนองโดยการเพิ่มปริมาณ Ca^{2+} ภายในไซโตซอลของเซลล์อย่างรวดเร็ว ซึ่ง Ca^{2+} นั้นจะทำหน้าที่เป็นสัญญาณเริ่มต้นในการตอบสนองต่อความเครียดจากสิ่งแวดล้อมของพืช โดยสัญญาณ Ca^{2+} นี้จำเป็นต้องอาศัยโปรตีนจับแคลเซียมสำคัญกลุ่มหนึ่งเรียกว่า คัลมอดูลิน (calmodulin, CaM) โปรตีนเหล่านี้ทำงานโดยจับและควบคุมการทำงานของโปรตีนเป้าหมายหลายชนิดภายในเซลล์เพื่อการส่งสัญญาณต่อไปเป็นลำดับ ซึ่งทำให้พืชตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงของภาวะแวดล้อมต่างๆ ในระดับเซลล์อย่างเหมาะสม (Kiegle *et al.*, 2000 และ Knight *et al.*, 1997) นอกจากนี้พืชที่ทนต่อภาวะเค็มและภาวะร้อนแห้งแล้งได้ ต้องสามารถรักษากลไกในการป้องกันตัวเองให้สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ภายใต้ภาวะเครียดและสามารถซ่อมแซมระบบที่ถูกทำลายจากภาวะเครียดให้กลับมาทำงานได้เป็นปกติในระยะเวลาอันสั้น เช่น การรักษาระดับปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ ซึ่งเป็นรงควัตถุที่สำคัญในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง หรือการรักษาสมดุลของระบบเอนไซม์ต้านออกซิเดชัน ซึ่งข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 นับเป็นพืชเศรษฐกิจและอาหารหลักที่สำคัญของไทย มีคุณสมบัติที่ค่อนข้างทนต่อความร้อนและดินเค็ม อีกทั้งยังมีคุณภาพหลังการหุงต้มดีเด่น มีกลิ่นหอมคล้ายใบเตย มีสีขาวเหมือนดอกมะลิ เมล็ดข้าววงรูป มักมีการปลูกทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2543)

ในงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาความสัมพันธ์ของภาวะเครียดจากการเกิดออกซิเดชัน (oxidative stress) ที่เกิดจากภาวะเกลือสูงต่อปริมาณรงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์แสง และอัตราการเจริญเติบโต ในข้าวสายพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 สายพันธุ์ที่มีการตัดต่อยีน *OsCaM1-1* เทียบกับสายพันธุ์ปกติ เพื่อตรวจสอบสมมติฐานว่าโปรตีนคัลมอดูลินมีผลต่อกลไกการตอบสนองของพืชต่อภาวะเครียดดังกล่าวว่าเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมหรือไม่ เพื่อใช้เป็นข้อมูลที่จะนำไปเชื่อมโยงกับข้อมูลทางพันธุกรรมและใช้ในการพัฒนาพันธุ์ข้าวต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

ศึกษาผลการแสดงออกของยีนคัลมอดูลิน1-1 ต่อการเจริญเติบโตและปริมาณรงควัตถุที่จำเป็นต่อการสังเคราะห์แสง ในข้าวตัดต่อพันธุกรรมสายพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 ภายใต้ภาวะเครียดจากความเค็ม

วิธีการวิจัย

ขั้นตอนการปลูกข้าวและการควบคุมการเจริญเติบโต

เพาะเมล็ดข้าวข้าวดอกมะลิ 105 สายพันธุ์ปกติ และที่ผ่านการตัดต่อพันธุกรรม 4 สายพันธุ์ โดย 1 สายพันธุ์เป็นพืชทรานเจนิกส์ควบคุม (ที่เกิดจากการทรานส์ฟอร์มข้าวสายพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 ด้วยเวกเตอร์ pCaM1301) และอีก 3 สายพันธุ์เป็นพืชทรานเจนิกส์ที่มีการแสดงออกเกินปกติของ *OsCaM1-1* (ที่เกิดจากการทรานส์ฟอร์มสายพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 ด้วยเวกเตอร์ pCaM1301 ที่มี *OsCaM1-1* ที่อยู่ภายใต้การควบคุมของโปรโมเตอร์ CaMV 35S) (Saeng-ngam *et al.*, 2012) ลงในอาหารเหลว (nutrient broth medium) เมื่อได้กล้าข้าวอายุประมาณ 7 วัน ย้ายลงปลูกในสารละลายธาตุอาหาร (Limpinuntana, 1978) ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน ในกรณีปลูกพืชภายใต้ภาวะเกลือสูง ย้ายพืชไปปลูกต่อในสารละลายธาตุอาหารดังกล่าว ที่มีโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0 และ 150 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 3 วัน (ทำการทดลอง 5 ซ้ำ และทำการปลูกในสายพันธุ์ละ 50 ต้น)

การวัดการเจริญเติบโตของกล้าข้าว

นำกล้าข้าวอายุ 21 วัน ที่ผ่านการปลูกภายใต้ภาวะที่ปราศจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ และภายใต้ภาวะเกลือโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 150 มิลลิโมลาร์ ทำการตัดแยกส่วนลำต้นและราก นำมาชั่งน้ำหนักในแต่ละส่วนและบันทึกค่า

การชั่งน้ำหนักแห้ง (dry weight) เริ่มจากการนำตัวอย่างแต่ละส่วนของกล้าข้าว ทั้งในส่วนของลำต้นและราก ไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง แล้วนำมาชั่งน้ำหนักและบันทึกค่า

การวัดอัตราการเจริญเติบโตสัมพัทธ์ (relative growth rate) เป็นการวัดอัตราการเพิ่มของน้ำหนักแห้ง โดยการนำตัวอย่างกล้าข้าวทั้งก่อนและหลังการปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่มีโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0 และ 150 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 3 วัน ไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จนน้ำหนักพืชคงที่ ชั่งน้ำหนักและบันทึกค่า สามารถคำนวณหาอัตราการเจริญเติบโตสัมพัทธ์ ด้วยสมการดังนี้

$$\text{relative growth rate (RGR)} = (\ln W_2 - \ln W_1) / (t_2 - t_1)$$

เมื่อ W_1 = น้ำหนักแห้งตัวอย่างก่อนย้ายปลูกลงในสารละลายธาตุอาหารที่มีโซเดียมคลอไรด์

W_2 = น้ำหนักแห้งตัวอย่างหลังย้ายปลูกลงในสารละลายธาตุอาหารที่มีโซเดียมคลอไรด์

t_1 = ระยะเวลาก่อนย้ายปลูกลงในสารละลายธาตุอาหารที่มีโซเดียมคลอไรด์

t_2 = ระยะเวลาย้ายปลูกลงในสารละลายธาตุอาหารที่มีโซเดียมคลอไรด์

การสกัดและวัดปริมาณรงควัตถุ คลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์

นำใบข้าว 0.05 กรัม บดในไนโตรเจนเหลว สกัดด้วยสารละลาย *N,N*-dimethylformamide ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำไปปั่นแยกที่ความเร็ว 5,000 g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แยกสารละลายส่วนใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 461, 647 และ 664 นาโนเมตร นำไปคำนวณหาปริมาณรงควัตถุดังสมการต่อไปนี้ (Arnon, 1949)

$$\text{ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด (mg/l)} = 17.90(A_{647}) + 8.08(A_{664})$$

$$\text{ปริมาณคลอโรฟิลล์ a (mg/l)} = 12.70(A_{664}) - 2.79(A_{647})$$

$$\text{ปริมาณคลอโรฟิลล์ b (mg/l)} = 20.70(A_{647}) - 4.62(A_{664})$$

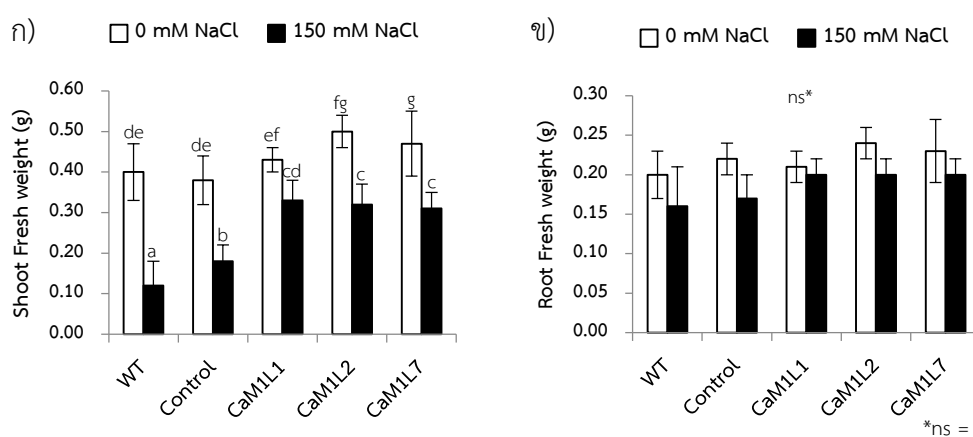
$$\text{ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/l)} = 200 \times A_{461}$$

การวิเคราะห์ทางสถิติ

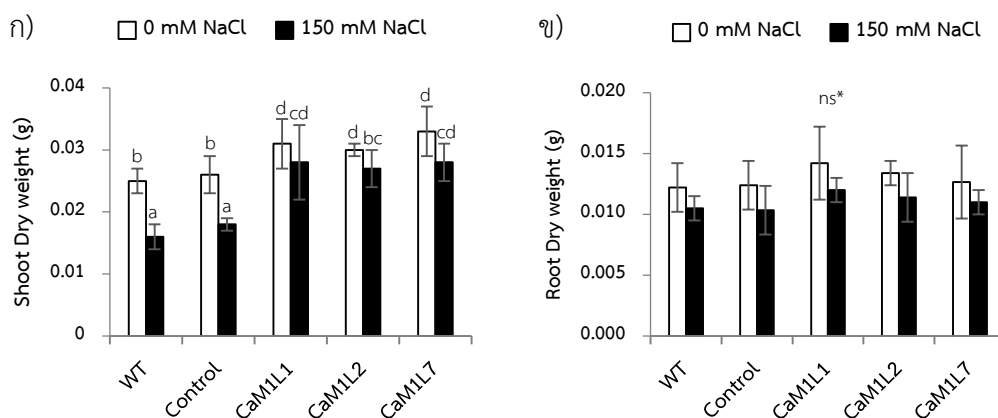
ทำการทดลอง 5 ซ้ำ แล้วเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม SPSS

ผลการวิจัย

ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่ผ่านการตัดต่อพันธุกรรมให้มีการแสดงออกเกินปกติของยีน *OsCaM1-1* มีความสามารถในการต้านภาวะเครียดจากความเค็มได้ดีกว่าข้าวขาวดอกมะลิ 105 สายพันธุ์ปกติ จากการชั่งน้ำหนักกล้าข้าวที่ปลูกในภาวะเกลือความเข้มข้น 150 มิลลิโมลาร์ เป็นระยะเวลา 3 วัน พบว่า กล้าข้าวขาวดอกมะลิ 105 สายพันธุ์ปกติมีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งในส่วนของลำต้น (รูปที่ 1ก และ 2ก ตามลำดับ) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับภาวะที่ปราศจากเกลือ ในขณะที่กล้าข้าวที่ผ่านการตัดต่อทางพันธุกรรมให้มีการแสดงออกของยีน *OsCaM1-1* เกินปกติทั้งสามสายพันธุ์ มีน้ำหนักสดลดลงในภาวะที่มีเกลือสูงน้อยกว่า ส่วนน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของรากมีน้ำหนักลดลงในภาวะที่มีเกลือสูง แต่รูปแบบออกมาในภาวะที่มีเกลือสูง กับภาวะที่ปราศจากเกลืออื่นไม่ค่อยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับสายพันธุ์ปกติและสายพันธุ์ควบคุม ดังรูปที่ 1 และ 2

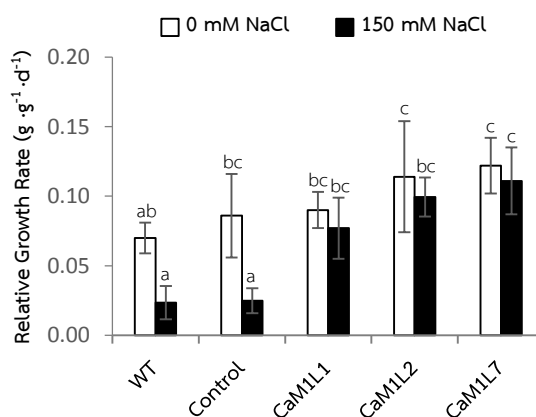


รูปที่ 1 อิทธิพลของเกลือสูง 150 มิลลิโมลาร์ ต่อน้ำหนักสด (fresh weight) ของ ก) ลำต้น และ ข) น้ำหนักรากของกล้าข้าวขาวดอกมะลิ 105 สายพันธุ์ปกติ (WT) สายพันธุ์ควบคุม (Control) และทรานสเจนิกที่ผ่านการตัดต่อพันธุกรรม 3 สายพันธุ์ (CaM1L1, CaM1L2 และ CaM1L7) ที่ปลูกในภาวะเกลือสูงเป็นระยะเวลา 3 วัน โดยมีระดับความเชื่อมั่นของข้อมูล 95% ($p \leq 0.05$)



รูปที่ 2 อิทธิพลของเกลือสูง 150 มิลลิโมลาร์ ต่อน้ำหนักแห้ง (dry weight) ของ ก) ลำต้น และ ข) น้ำหนักราก ของกล้าข้าวขาวดอกมะลิ 105 สายพันธุ์ปกติ (WT) สายพันธุ์ควบคุม (Control) และทรานสเจนิกที่ผ่านการตัดต่อพันธุกรรม 3 สายพันธุ์ (CaM1L1, CaM1L2 และ CaM1L7) ที่ปลูกในภาวะเกลือสูงเป็นระยะเวลา 3 วัน โดยมีระดับความเชื่อมั่นของข้อมูล 95% ($P < 0.05$)

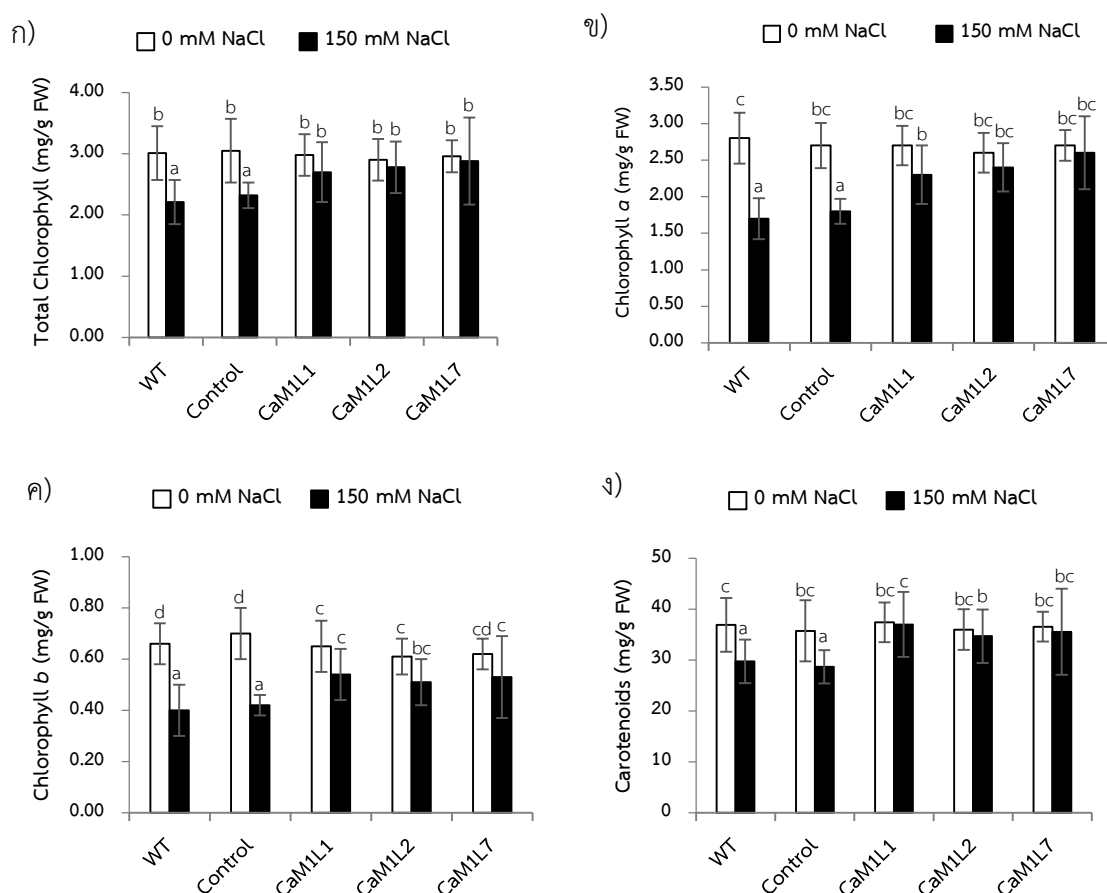
ในการวัดอัตราการเจริญเติบโตสัมพัทธ์ (RGR) พบว่า ในกล้าข้าวขาวดอกมะลิ 105 สายพันธุ์ปกติและสายพันธุ์ควบคุมมีค่า RGR ลดลงอย่างมีนัยสำคัญในภาวะเกลือเข้มข้น 150 มิลลิโมลาร์ เมื่อเทียบกับภาวะที่ไม่เติมเกลือในสายพันธุ์เดียวกัน ในขณะที่กล้าข้าวที่ผ่านการตัดต่อทางพันธุกรรมให้มีการแสดงออกของยีน *OsCaM1-1* เกินปกติทั้งสามสายพันธุ์ มีค่า RGR ลดลงเพียงเล็กน้อยภายใต้ภาวะเกลือสูง เมื่อเทียบกับภาวะที่ปราศจากเกลือในสายพันธุ์เดียวกัน ดังรูปที่ 3



รูปที่ 3 อิทธิพลของเกลือสูง 150 มิลลิโมลาร์ ต่ออัตราการเจริญเติบโตสัมพัทธ์ (RGR) ของกล้าข้าวขาวดอกมะลิ 105 สายพันธุ์ปกติ (WT) สายพันธุ์ควบคุม (Control) และทรานสเจนิกที่ผ่านการตัดต่อพันธุกรรม 3 สายพันธุ์ (CaM1L1, CaM1L2 และ CaM1L7) ที่ปลูกในภาวะเกลือสูงเป็นระยะเวลา 3 วัน โดยมีระดับความเชื่อมั่นของข้อมูล 95% ($p \leq 0.05$)

เมื่อวัดปริมาณรงควัตถุที่เกี่ยวข้องในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ได้แก่ คลอโรฟิลล์เอ ซึ่งเป็นรงควัตถุหลักในการสังเคราะห์แสง คลอโรฟิลล์บี และแคโรทีนอยด์ ที่เป็นรงควัตถุเสริม (accessory pigment) ในใบข้าวขาวดอกมะลิ 105 สายพันธุ์ปกติ เทียบกับสายพันธุ์ที่ผ่านการตัดต่อพันธุกรรมทั้ง 3 สายพันธุ์ ที่ผ่านการปลูก

ภายใต้ภาวะเครียดจากเกลือสูงเป็นเวลา 3 วัน พบว่า ใบข้าวชาวดอกมะลิ 105 สายพันธุ์ปกติและสายพันธุ์ควบคุม มีปริมาณคลอโรฟิลล์เอและบี และแคโรทีนอยด์ ภายใต้ภาวะที่มีเกลือสูงลดลงอย่างชัดเจน และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับภาวะที่ปราศจากเกลือ ในขณะที่ใบข้าวชาวดอกมะลิ 105 ที่ผ่านการตัดต่อทางพันธุกรรมทั้ง 3 สายพันธุ์ มีปริมาณคลอโรฟิลล์เอลดลงเพียงเล็กน้อยในพืชที่เติบโตในภาวะที่มีเกลือสูง เช่นเดียวกับปริมาณคลอโรฟิลล์บี และแคโรทีนอยด์ และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด พบว่าใบข้าวชาวดอกมะลิ 105 สายพันธุ์ปกติและสายพันธุ์ควบคุมที่เติบโตในภาวะที่มีเกลือสูงนั้น มีปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดลดลงอย่างเห็นได้ชัด เมื่อเทียบกับภาวะที่ปราศจากเกลือ ในขณะที่อีก 3 สายพันธุ์ที่ผ่านการตัดต่อทางพันธุกรรม กลับมีปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งในภาวะที่ปราศจากเกลือหรือภาวะที่มีเกลือ ดังรูปที่ 4



รูปที่ 4 อิทธิพลของเกลือสูง 150 มิลลิโมลาร์ ต่อปริมาณ ก) คลอโรฟิลล์ทั้งหมด ข) คลอโรฟิลล์เอ ค) คลอโรฟิลล์บี และ ง) แคโรทีนอยด์ ในใบข้าวชาวดอกมะลิ 105 สายพันธุ์ปกติ (WT) สายพันธุ์ควบคุม (Control) และทรานสเจนิกที่ผ่านการตัดต่อพันธุกรรม 3 สายพันธุ์ (CaM1L1, CaM1L2 และ CaM1L7) ที่ปลูกในภาวะเกลือสูงเป็นระยะเวลา 3 วัน โดยมีระดับความเชื่อมั่นของข้อมูล 95% ($p < 0.05$)

อภิปรายผล

การแสดงออกเกินปกติของยีน *OsCaM1-1* นั้น อาจเกี่ยวข้องกับความสามารถในการต้านความเค็ม ซึ่งส่งผลกระทบต่อระบบต่างๆ ภายในเซลล์ของข้าวชาวดอกมะลิ 105 จากผลการวิจัยข้างต้น แสดงให้เห็นว่า

ข้าวขาวดอกมะลิ 105 สายพันธุ์ที่ผ่านการตัดต่อทางพันธุกรรมให้มีการแสดงออกเกินปกติของยีน *OsCaM1-1* ทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ CaM1L1, CaM1L2 และ CaM1L7 เมื่อนำมาปลูกภายใต้ภาวะความเค็มสูง มีการปรับตัวในการเจริญเติบโตที่ดีกว่าเมื่อเทียบกับข้าวขาวดอกมะลิ 105 สายพันธุ์ปกติ และสายพันธุ์ควบคุม โดยสามารถรักษาน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง รวมถึงค่า RGR ให้อยู่ในระดับใกล้เคียงกับพืชเมื่ออยู่ในภาวะที่ปราศจากเกลือ นอกจากนี้ข้าวทรานสเจนิกที่มีการแสดงออกเกินปกติของยีน *OsCaM1-1* ทั้ง 3 สายพันธุ์ที่เติบโตในภาวะเกลือสูง ยังสามารถรักษาระดับปริมาณคลอโรฟิลล์เอ, บี และแคโรทีนอยด์ ซึ่งเป็นรงควัตถุที่สำคัญในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงได้ดีกว่าข้าวขาวดอกมะลิ 105 สายพันธุ์ปกติที่ไม่ได้ผ่านการตัดต่อพันธุกรรมใดๆ และสายพันธุ์ควบคุม จึงอาจเป็นไปได้ว่าในข้าวที่ผ่านการตัดต่อทางพันธุกรรมให้มีการแสดงออกที่เกินปกติของยีน *OsCaM1-1* นั้นส่งผลให้มีการสังเคราะห์โปรตีนคลอโรลลิน (*OsCaM1-1*) ซึ่งทำหน้าที่เป็นโปรตีนรับสัญญาณแคลเซียมเพิ่มสูงขึ้น จึงสามารถจับกับแคลเซียมไอออนภายในเซลล์ที่เพิ่มขึ้นจากการกระตุ้นของสิ่งเร้าภายนอก เช่น ความเค็มได้มากขึ้น ดังเช่นเดียวกับรายงานที่ได้ศึกษาใน *Arabidopsis thaliana* (Knight *et al.*, 1997; Kiegle *et al.*, 2000) เมื่อโปรตีนคลอโรลลินจับกับแคลเซียมไอออน จะเกิดการแปลงสัญญาณแคลเซียมไปกระตุ้นกลไกการตอบสนองต่างๆ เพื่อตอบสนองต่อสิ่งเร้าที่พืชได้รับ เช่น การสะสมกรดแอบไซซิก (abscisic acid; ABA) และฮอร์โมนต่างๆ เพิ่มขึ้น (Hu *et al.*, 2008) การกระตุ้นระบบต้านออกซิเดชัน (White *et al.*, 2003) รวมไปถึงการรักษาสมดุลไอออนต่างๆ ภายในเซลล์ (Zhang *et al.*, 2001) ด้วยเหตุนี้ผลิตภัณฑ์จากยีน *OsCaM1-1* น่าจะทำหน้าที่เป็นตัวรับสัญญาณแคลเซียมของความเครียดจากความเค็ม โดยอาจไปควบคุมการสังเคราะห์ ABA ตลอดจนการทำงานของเอนไซม์ต้านออกซิเดชัน ทำให้ข้าวตอบสนองต่อความเครียดจากความเค็มได้ดีขึ้น จึงส่งผลให้ข้าวที่ผ่านการตัดต่อทางพันธุกรรมทั้ง 3 สายพันธุ์นี้สามารถซ่อมแซมหรือทนต่อระบบที่ถูกทำลายจากภาวะเค็มให้สามารถทำงานได้เป็นปกติในระยะเวลาอันสั้น ดังเช่นการรักษาระดับปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ รวมถึงการเจริญเติบโต ให้ใกล้เคียงกับภาวะที่ปราศจากเกลือสูง

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์สำหรับนิสิต จากบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ครั้งที่ 3 ปีงบประมาณ 2556

เอกสารอ้างอิง

ภาษาไทย

กรมส่งเสริมการเกษตร, การปลูกข้าวขาวดอกมะลิ 105 [ออนไลน์], สิงหาคม 2552 แหล่งที่มา <http://www.doae.go.th/Library/html/detail/rice105/rindex2.htm>

ภาษาต่างประเทศ

Allakhverdiev, S. I., Sakamoto, A., Nishiyama, Y., Inaba, M., and Murata, N. (2000) Ionic and osmotic effects of NaCl-induced inactivation of photosystem I and II in *Synechococcus* sp. *Plant Physiol.* 123, 1047-1056.

- Alscher, R. G., Donahue, J. L., and Cramer, C. L. (1997). Reactive oxygen species and antioxidants: Relationships in green cells. Physiol. Plant. 100: 224-233.
- Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol. 24: 1-15.
- AsadaTakahashi, M. A., Tanaka, K., and Nakano, Y. (1977). Formation of active oxygen and its fate in chloroplasts. In Biochemical and Medical Aspects of Active Oxygen (O.Hayashi and K.Asada, eds). 45-62.
- Fridovich, I. (1995). Superoxide radical and superoxide dismutases. Annu. Rev. Biochem. 64: 97-112.
- Hanson A. D., Rathinasabapathi B., Rivoal J., Burnet M., Dillon M. O., and Gage D. A. (1994). Osmoprotective compounds in the Plumbaginaceae: A natural experiment in metabolic engineering of stress tolerance. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 91: 306-310.
- Hu X., Wang W., Li C, Zhang J., Lin F., Zhang A., Jiang M. (2008). Cross-talks between Ca^{2+} /CaM and H_2O_2 in abscisic acidinduced antioxidant defense in leaves of maize plants exposed to water stress. Plant Growth Regul. 55: 183-198.
- Kiegle, E., Moore, C. A., Haseloff, J., Tester, M. A., and Knight, M. R (2000). Cell-type-specific calcium responses to drought, salt and cold in the Arabidopsis root., Plant J. 23: 267-278.
- Knight, H., Trewavas, A. J., and Knight, M.R. (1997). Calcium signalling in Arabidopsis thaliana responding to drought and salinity. Plant J. 12: 1067-1078.
- Limpinuntana, V. (1978). Physiological aspects of adaptation of rice (*Oryza sativa* L.) and barley (*Hordeum vulgare* L.) to low oxygen concentrations in the root environment. Ph.D. thesis, U. of Australia, Australia.
- Saeng-ngam S., Takpirom W., Buaboocha T., and Chadchawan S. (2012). The role of the *OsCam1-1* salt stress sensor in ABA accumulation and salt tolerance in rice. J. Plant Biol. 55: 198-208.
- White P.J., Broadley M.R. (2003). Calcium in plants. Ann. Bot. 92: 487-511.
- Zhang W.J., Zhang J., Liu F., and Guan J.F. (2001). The relationship between Ca^{2+} and drought resistance in plants. Chin Bull Bo. 18: 473-478.