

การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างรากของข้าวตัดแปลงพันธุกรรมที่มีการแสดงออกของยีน *OsHsp* ขนาดเล็กเพิ่มขึ้น

Alteration of the root architecture of transgenic rice overexpressing small *OsHsp* gene

แสงทอง พงษ์เจริญกิต^{1*}, กนกวรรณ จันทร์เพ็ญ¹, วริศรา สุวรรณ¹, ช่อทิพา สกุลสิงหาโรจน์¹,
วารภรณ์ แสงทอง¹, อนรุักษ์ โพธิ์เอี่ยม²

Saengtong Ponjaroenkit^{1*}, Kanokwan Janphen¹, Warissara Suwan¹, Chotipa Sakulsingharoj¹,
Varaporn Sangtong¹, Anurug Poeaim²

¹สาขาวิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

²สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

¹Program of Genetics, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai 50290, Thailand

²Department of Biology, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand

*Corresponding: saengtong@mju.ac.th

บทคัดย่อ

โปรตีนตอบสนองต่ออุณหภูมิสูงขนาดเล็ก (small heat shock proteins; sHSPs) ในพืชจะผลิตมากขึ้นเพื่อตอบสนองต่อสภาวะเครียด และพบที่ระยะเจริญต่างๆ ของพืช โดยยีน small *Hsps*-class I ในข้าวมีการแสดงออกมากขึ้นในสภาวะอุณหภูมิที่สูงขึ้น งานวิจัยนี้จึงได้โคลนและถ่ายยีนโปรตีน sHSP class I (*OsHsp18*) จากข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 เข้าสู่ข้าวพันธุ์ไทซุง 65 ด้วยเชื้ออะโกรแบคทีเรียเพื่อศึกษาหน้าที่ของยีน ผล GUS assay พบอัตราส่วนต้น T₁ ที่มียีน *gus* ต่อต้น T₁ ที่ไม่มียีน *gus* เท่ากับ 3 ต่อ 1 แสดงว่าต้นข้าวตัดแปลงพันธุกรรมรุ่น T₁ มีการแทรกของชุดยีนในจีโนมของข้าว 1 ตำแหน่ง จากการสืบค้นฐานข้อมูล RiceXPro แสดงให้เห็นว่ายีน *OsHsp18* มีหน้าที่สำคัญในการพัฒนาและการเจริญของรากข้าว และจากการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของรากจากข้าว T₁ ที่มีการแสดงออกของยีน *OsHsp18* เปรียบเทียบกับข้าวไทซุง 65 พบว่าในระยะต้นกล้าข้าวตัดแปลงพันธุกรรมมีรากแขนงและขนรากน้อยกว่า ในระยะแตกกอรากมีความยาวของรากมากกว่า และมีระบบรากยาวเหมือนข้าวไร่ ดังนั้นข้าวตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้นี้จะมีความสามารถในการทนต่อความร้อนและความแล้ง

ABSTRACT

Small heat shock proteins (sHSPs) in plants are produced more in response to abiotic stress and are found at certain developmental stages. Expression of rice small *Hsps* class I is increased by temperature elevation. In this study, small *Hsp* class I gene (*OsHsp18*) from Pathum Thani 1 rice was cloned and transferred into *japonica* rice cv. Taichung 65 by *Agrobacterium* to study gene function. GUS assay showed that the ratio of GUS positive T₁ plants: GUS negative T₁ plants was 3:1 indicating a single integration site in T₁ transgenic plants. Analysis using RiceXPro database also indicated that the *OsHsp18* gene may have an important role in root growth and development in rice. Root morphology of T₁ plants exhibited fewer lateral roots and less root hair at seedling stage, and longer roots at tillering stage compared with Taichung 65. Moreover, root architecture of transgenic rice was similar to upland rice root. Therefore, this transgenic rice may have heat- and drought- tolerant properties.

คำสำคัญ: โปรตีนตอบสนองต่ออุณหภูมิสูงขนาดเล็ก; ข้าว; การถ่ายยีน; อะโกรแบคทีเรีย; ราก

Keywords: small heat shock proteins; rice; transformation; *Agrobacterium*; root

บทนำ

โปรตีนตอบสนองต่ออุณหภูมิสูงขนาดเล็ก (small heat shock proteins; sHSPs) ในพืชมีขนาด 15 ถึง 42 กิโลดาลตัน แบ่งออกได้เป็น 6 กลุ่ม (class I-class VI) ตามความเหมือนของลำดับเบสและชนิดของเนื้อเยื่อที่พบ โปรตีน โดยพืชจะมีโปรตีน sHSPs มากขึ้นเพื่อตอบสนองต่อสภาวะเครียดต่าง ๆ (abiotic stress) และพบในระยะเจริญต่าง ๆ ของพืช ในการป้องกันเซลล์จากความร้อน โปรตีน sHSPs จับกับโปรตีนที่เสียสภาพจากความร้อนเพื่อป้องกันการตกตะกอนของโปรตีนนั้น และให้โปรตีน chaperone ชนิดอื่นมาทำให้โปรตีนนั้นคืนสภาพธรรมชาติแล้วทำหน้าที่ได้ตามปกติต่อไป (Sun *et al.*, 2002)

จากการศึกษาการแสดงออกของยีนในข้าวพบการแสดงออกของยีน small Hsps เพิ่มขึ้นเพื่อตอบสนองต่อสภาวะเครียดต่าง ๆ เช่น การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ การขาดน้ำ และความเค็ม (Hu *et al.*, 2009; Sarkar *et al.*, 2009; Chen *et al.*, 2014) โดยพบว่ายีน small Hsps-class I ในข้าวมีการแสดงออกมากขึ้นในสภาวะอุณหภูมิที่สูงขึ้น (Guan *et al.*, 2004; Chen *et al.*, 2014) และการถ่ายฝากยีนของโปรตีน sHSP17.7 ซึ่งจัดอยู่ใน class I เข้าสู่ข้าวทำให้ได้ข้าวดัดแปลงพันธุกรรมที่มีการแสดงออกของยีนเพิ่มขึ้น และพบว่าทำให้ข้าวทนความร้อน และรังสี UV (Murakami *et al.*, 2004) และยังทำให้สามารถทนความแล้งได้ (Sato and Yokoya, 2008) ในงานวิจัยนี้จึงโคลนและถ่ายยีน small HSP class I (*OsHsp18*) จากข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 เข้าสู่ข้าวพันธุ์ไทซุง 65 ด้วยเชื้ออะโกรแบคทีเรียเพื่อใช้ในการศึกษาหน้าที่ของโปรตีน sHSP ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการดำเนินการวิจัย

การสร้างชุดของยีนเพื่อการถ่ายฝากยีน

บริเวณรหัสของยีนโปรตีนตอบสนองต่ออุณหภูมิสูงขนาดเล็ก ใน class I (*OsHsp18*) จากข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 เตรียมได้โดยใช้ไพรเมอร์ Hsp1F (5'-TACCATATGTCG CTGATCCGCCGC-3') และ Hsp1R (5'-CCTCATATGCT

AGCCGGTAACCTGGATG-3') ที่ออกแบบจากยีน *Hsp1* (FJ383169) โดยใช้เอ็นเอที่สกัดได้จากใบในการทำ PCR ด้วย 1X GeNei™ Red Dye PCR Master Mix (Merck, USA) สภาวะอุณหภูมิที่ใช้ คือ 94°C นาน 5 นาที ตามด้วย 35 รอบ ของ 94°C นาน 30 วินาที 55°C นาน 30 วินาที และ 72°C นาน 45 วินาที จากนั้น 72°C นาน 5 นาที แล้วโคลนขึ้นยีน *OsHsp18* ขนาดประมาณ 500 คู่เบสเข้า pGEM-T easy (Promega, USA) และส่งไปหาลำดับเบสที่บริษัท First Base Laboratories ประเทศมาเลเซีย วิเคราะห์ลำดับเบสด้วยโปรแกรม ClustalX และ GenDoc จากนั้นสร้างชุดยีนที่ประกอบด้วยบริเวณโปรโมเตอร์และเทอร์มิเนเตอร์ได้เป็นชุดของยีนคือ 35sduelPro::*OsHsp18*::Tnos ย้ายชุดของยีนเข้าพลาสมิด pCAMBIA 1305.1 ได้พลาสมิดสายผสม pCAMBIA_*OsHsp18* (Figure 1a) แล้วถ่ายฝากเข้าเชื้ออะโกรแบคทีเรียเพื่อใช้ในการถ่ายยีนเข้าสู่ข้าวต่อไป

การถ่ายยีน *OsHsp18* เข้าสู่เซลล์ข้าวพันธุ์ไทซุง 65 ด้วยเชื้ออะโกรแบคทีเรีย

การถ่ายยีน *OsHsp18* เข้าสู่ข้าวจากปณิกพันธุ์ไทซุง 65 โดยการบรูกรูแคลลัสด้วยเชื้ออะโกรแบคทีเรีย (Toki, 1997; Sakulsingharoj *et al.*, 2014) ที่มี pCAMBIA_*OsHsp18* คัดเลือกแคลลัสที่ได้รับการถ่ายยีนด้วยการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร N6D ที่มี hygromycin B และ timentin ชักนำแคลลัสที่รอดชีวิตให้เกิดเป็นต้นด้วยการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี NAA, Kinetin, hygromycin B และ timentin เมื่อแคลลัสเกิดเป็นจุดเขียวและยอด ย้ายยอดไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี hygromycin B และ timentin เพื่อชักนำให้เกิดราก จนได้เป็นต้นข้าวที่แข็งแรง จึงย้ายปลูกลงดินต่อไป

การตรวจสอบการถ่ายยีนด้วยวิธี GUS assay

ชุดของยีน pCAMBIA_*OsHsp18* มียีน *gus* เป็นยีนรายงานผล จึงตรวจสอบการถ่ายยีนของแคลลัสได้ด้วยการแช่แคลลัสในสารละลาย X-Gluc ที่อุณหภูมิ 37°C นาน 1 ชั่วโมงถึงข้ามคืน หรือตัดใบอ่อนมาแช่สารละลาย X-Gluc ที่อุณหภูมิ 37°C นาน 1 ชั่วโมงถึงข้ามคืน จากนั้นฟอกใบด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เพื่อกำจัดคลอโรฟิลล์ สังเกตการเกิดสีฟ้าที่ได้จากการทำงานของเอนไซม์ β -glucuronidase

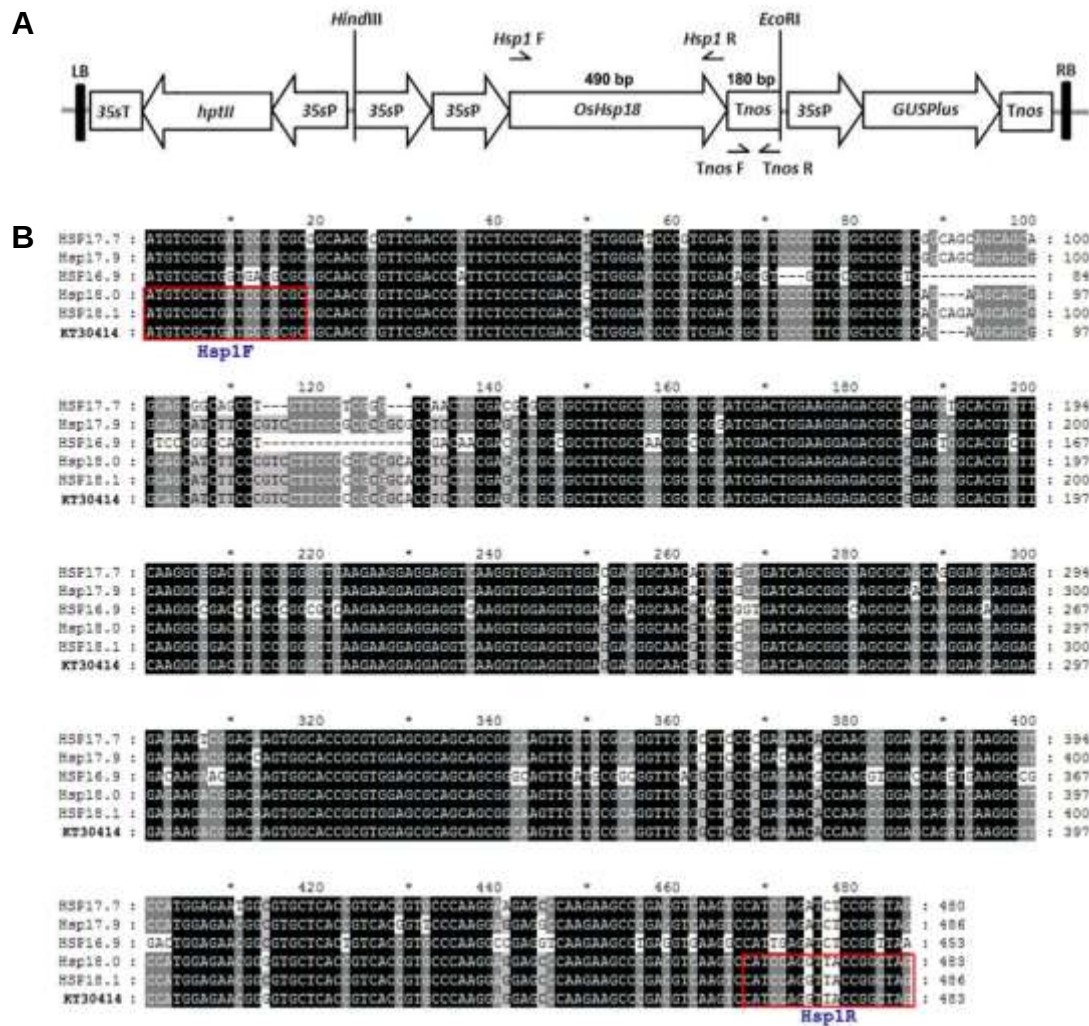


Figure 1 Gene cassette and nucleotide sequence comparison. (A) Schematic map of T-DNA region of pCAMBIA_*OsHsp18* plasmid. *Hind*III and *Eco*RI restriction sites were marked. *Hsp1F* and *Hsp1R* indicate a primer pair for *Hsp1* amplification, whereas *TnosF* and *TnosR* represent a primer pair for *nos* terminator amplification. LB: Left border, RB: Right border, 35sP: CaMV 35s promoter, *Tnos*: *nos* terminator, 35sT: CaMV 35s terminator, *hptII*: hygromycin phosphotransferase gene, *GUSPlus*: β-glucuronidase gene. (B) Nucleotide sequence comparison between small *Hsp* class I genes.

การตรวจสอบต้นข้าวตัดแปลงพันธุกรรมรุ่น T₁

การตรวจสอบต้นข้าวตัดแปลงพันธุกรรมด้วยเทคนิค PCR และเทคนิค RT-PCR เนื่องจากข้าวพันธุ์ไทซุง 65 มียีน *OsHsp18* (endogenous gene) ดังนั้นในการตรวจหายีน *OsHsp18* ที่ได้จากการถ่ายยีนในต้นข้าว T₁ ด้วยเทคนิค PCR จึงใช้ไพรเมอร์ *Hsp1F* และ *TnosR* (5'-ATTTATCCTAGTTTGCGCCG-3') โดยใช้สภาวะเดียวกันกับที่ใช้ในการสร้างชุดของยีน ซึ่งจะเพิ่มจำนวนเฉพาะยีน *OsHsp18* ที่มีอยู่ภายในชุดของยีนเท่านั้น โดย

ได้ชั้นดีเอ็นเอขนาดประมาณ 670 คู่เบส ส่วนการวิเคราะห์การแสดงออกของยีนเริ่มจากการสกัด total RNA จากใบอ่อนด้วยน้ำยา TRIzol (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) แล้วเปลี่ยนเป็น cDNA ด้วยชุดสำเร็จรูป RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Scientific, USA) แล้วนำ cDNA มาเพิ่มจำนวนด้วยเทคนิค PCR โดยสภาวะที่ใช้คือ 94°C นาน 30 วินาที 50°C นาน 30 วินาที 72°C นาน 30 วินาที จำนวน 28 รอบ จากนั้นวิเคราะห์การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ

ด้วยการทำ 1% agarose gel electrophoresis ซึ่งขึ้นดีเอ็นเอที่ได้มีขนาดประมาณ 490 คู่เบส แล้วนำปริมาณของยีน *OsHsp18* ที่แสดงออกมาเปรียบเทียบกับผลการแสดงออกของยีน *actin*

ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย

การสร้างชุดของยีนเพื่อการถ่ายฝากยีน

เนื่องจากยีน *OsHsp18* เป็นยีนที่ไม่มีบริเวณอินทอน (intronless) จึงสามารถเพิ่มจำนวนบริเวณรหัสของยีนด้วยเทคนิค PCR จากดีเอ็นเอในจีโนม (genomic DNA) ผลการเพิ่มจำนวนยีน *OsHsp18* จากข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 เมื่อตรวจสอบลำดับเบสพบว่ามีความยาว 483 คู่เบส เมื่อแปลรหัสได้สายของลำดับกรดอะมิโนยาว 160 กรดอะมิโน มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 18.0 กิโลดาลตัน รายงานลำดับเบสของยีน *OsHsp18* จากงานวิจัยนี้ในฐานะข้อมูล GenBank ได้ accession number เป็น KT30414 เมื่อเปรียบเทียบกับลำดับเบสที่ได้กับลำดับเบสบริเวณรหัสของยีน small heat shock protein class I ที่มีรายงานมาก่อน คือ Hsp17.7 (Os03g0267200) Hsp17.9 (Os03g0266300) Hsp16.9 (Os01g0136100) Hsp18.0 (FJ383169) และ Hsp18.1 (Os03g0267000) (Guan *et al.*, 2004; Chen *et al.*, 2014) พบว่ามีลำดับเบสเหมือนกับกลุ่มยีน small *Hsp* class I ที่มีขนาด 18 กิโลดาลตัน และขนาด 16.9–17.9 กิโลดาลตัน คิดเป็น 98–100 และ 77–94 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Figure 1b) และมีความเหมือนกับลำดับเบสของยีน small *Hsp* class II ที่แปลรหัสเป็นโปรตีนขนาด 24.1 กิโลดาลตัน คิดเป็น 38 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นยีน *OsHsp18* ที่แยกได้จากข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 จึงจัดเป็น small *Hsp* class I นอกจากนี้ไพรเมอร์ที่ใช้ในการสร้างชุดของยีนสามารถเพิ่มจำนวนได้เฉพาะยีน small *Hsp* class I ที่มีขนาด 18 กิโลดาลตัน เท่านั้น

การถ่ายยีน *OsHsp18* เข้าสู่เซลล์ข้าวพันธุ์ไทฮุง 65 ด้วยเชื้ออะโกรแบคทีเรีย

การถ่ายยีน *OsHsp18* จากข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 เข้าสู่เซลล์ข้าวพันธุ์ไทฮุง 65 ซึ่งจากการเลี้ยงบนอาหารคัดเลือก และอาหารชักนำให้เกิดต้น พบว่าเริ่มเห็นจุดเขียว จากนั้นเพาะเลี้ยงบนอาหารต่อจนเริ่มเห็นยอด (Figure 2a) แล้วชักนำเป็นต้นสมบูรณ์ รวมระยะเวลาทั้งสิ้น 11 สัปดาห์

โดยได้เป็นต้นข้าวดัดแปลงพันธุกรรมรุ่น T_0 จำนวน 3 ต้น ซึ่งเมื่อนำใบของต้นที่ได้ไปทดสอบด้วยวิธี GUS assay พบว่าใบของทั้ง 3 ต้นเป็นสีฟ้า (Figure 2b) แสดงว่าข้าวรุ่น T_0 ทั้ง 3 ต้นเป็นข้าวดัดแปลงพันธุกรรม จึงปลูกในโรงเรือนเพื่อเก็บเมล็ดรุ่น T_1

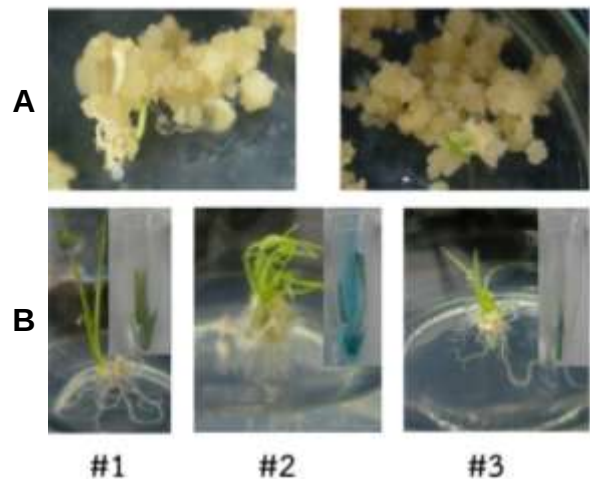


Figure 2 Transformation of *OsHsp18* into rice callus.

(A) Shoot regeneration. (B) GUS assay in transformed rice plants; line (T_0 generation) 1–3.

การตรวจสอบต้นข้าวดัดแปลงพันธุกรรมรุ่น T_1

นำใบข้าวต้น T_1 ที่ได้จากข้าว T_0 ต้นที่ 2 มาตรวจสอบการทำงานของยีน *gus* เพื่อทดสอบจำนวนตำแหน่งที่ชุดของยีนเข้าแทรกในจีโนม ได้ใบข้าวให้รอยตัดสีฟ้า จำนวน 15 ต้น และใบข้าวที่ไม่มีสีฟ้า จำนวน 5 ต้น (ไม่แสดงข้อมูล) ซึ่งอัตราส่วนต้น T_1 ที่มียีน *gus* ต่อต้น T_1 ที่ไม่มียีน *gus* คิดเป็น 3 ต่อ 1 แสดงให้เห็นว่าชุดของยีนน่าจะแทรกไปในจีโนมของข้าว T_0 ต้นที่ 2 จำนวน 1 ตำแหน่ง

จากนั้นปลูกต้นข้าว T_1 จำนวน 5 ต้น นำใบมาสกัดดีเอ็นเอแล้วทำ PCR ด้วยไพรเมอร์ Hsp1F และ TnosR พบว่าสามารถเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอขนาดประมาณ 670 คู่เบส (Figure 3a) แสดงว่าต้นข้าวดัดแปลงพันธุกรรมทั้ง 5 ต้น มียีน *OsHsp18* ในจีโนม เมื่อวิเคราะห์การแสดงออกด้วยเทคนิค RT-PCR พบว่าต้นข้าวทั้ง 5 ต้น มีการแสดงออกของยีน *OsHsp18* เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวไทฮุง 65 (Figure 3b)

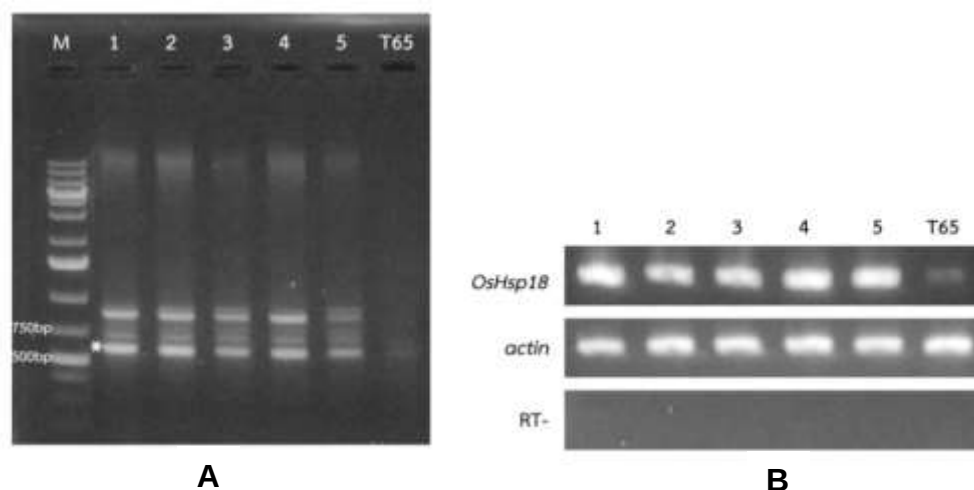


Figure 3 *OsHsp18* gene analysis of T₁ plant No.1–5 (lane 1–5) and Taichung 65 (T65). (A) Amplification of *OsHsp18* gene using Hsp1F and TnosR primers. (B) Semi-quantitative RT-PCR analysis. RT- indicated total RNA subjected to RT-PCR using primers specific to the *actin* gene. *actin*: rice actin gene (control).

จากการสืบค้นฐานข้อมูล RiceXPro ซึ่งเป็นฐานข้อมูลของระดับการแสดงออกของยีนต่าง ๆ ของข้าวในใบข้าวและรากด้วยเทคนิค microarray (Sato *et al.*, 2013) โดยใช้ Os03g0267000 ในการสืบค้นเนื่องจากมีลำดับเบสเหมือนกับ *OsHsp18* ของข้าวพันธุ์ทุหมธานี 1 มากที่สุด (98%) พบว่า Os03g0267000 มีระดับการแสดงออกมากที่สุดในการ และพบว่าต้นข้าว T₁ ที่มีการแสดงออกของยีน *OsHsp18* เพิ่มขึ้น (OE) มีลักษณะสัณฐานวิทยาของรากแตกต่างจากรากของข้าวไทซุง 65 (T65) คือ ในระยะกล้าต้นข้าวตัดแปลงพันธุ์กรรมมีรากแขนงและขนรากน้อยกว่าข้าวไทซุง 65 (Figure 4a, 4b) และการศึกษารากของต้นข้าวไทซุง 65 และข้าว T₁ จำนวนชนิดละ 3 ต้น พบว่าในระยะแตกกอ รากของข้าวตัดแปลงพันธุ์กรรมมีความยาวมากกว่าข้าวไทซุง 65 (Figure 4c, 4d) ซึ่งลักษณะสัณฐานวิทยาของรากที่พบนี้เหมือนกับข้าวตัดแปลงพันธุ์กรรมที่มีการแสดงออกของยีน heat shock transcription factor (*OsHsfA7*) (Liu *et al.*, 2013) จากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่ายีน *OsHsp18* น่าจะทำหน้าที่ในการพัฒนาและการเจริญของราก เช่นเดียวกับยีน *OsHsfA7*

นอกจากนี้โครงสร้างรากของข้าวไทซุง 65 มีลักษณะระบบรากสั้นและมีรากแขนงจำนวนมากเหมือนระบบรากของข้าวนาสวน เพื่อรับธาตุอาหารและน้ำจากบริเวณใกล้หน้าผิวดิน ในขณะที่รากของข้าวตัดแปลง

พันธุ์กรรมมีลักษณะระบบรากยาวและรากแขนงน้อย (Figure 4c, 4d) เหมือนระบบรากของข้าวไร่ (Jung and McCouch, 2013) แสดงให้เห็นว่ารากของข้าวตัดแปลงพันธุ์กรรมน่าจะหาน้ำได้ดี และทนแล้งได้เหมือนข้าวไร่ จากข้อมูลเหล่านี้จึงคาดว่าต้นข้าวที่มีการแสดงออกของยีน *OsHsp18* เพิ่มขึ้นในงานวิจัยนี้น่าจะมีความสามารถในการทนทานต่อความร้อน และความแล้งเหมือนต้นข้าวตัดแปลงพันธุ์กรรมที่มีการแสดงออกของยีน sHSP17.7 ที่มีรายงานมาก่อน (Murakami *et al.*, 2004; Sato and Yokoya, 2008) ซึ่งต้นข้าวตัดแปลงพันธุ์กรรมที่ได้นี้จะนำไปใช้ในการศึกษาการตอบสนองต่อสภาวะเครียดต่าง ๆ เช่น การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ การขาดน้ำ และความเค็มต่อไป

สรุปผลการวิจัย

การถ่ายยีน *OsHsp18* จากข้าวพันธุ์ทุหมธานี 1 เข้าสู่เซลล์ของข้าวพันธุ์ไทซุง 65 ทำให้ได้ข้าวตัดแปลงพันธุ์กรรมที่มีการแสดงออกของยีน *OsHsp18* เพิ่มขึ้น จาก GUS assay พบว่าต้น T₁ ที่ได้จากข้าวตัดแปลงพันธุ์กรรมรุ่น T₀ ต้นที่ 2 น่าจะมีชุดยีนแทรกในจีโนมของข้าว จำนวน 1 ตำแหน่ง การสืบค้นฐานข้อมูล RiceXPro แสดงให้เห็นว่ายีน *OsHsp18* อาจทำหน้าที่เกี่ยวข้องในการพัฒนาและการเจริญของราก การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของรากจากข้าวตัดแปลงพันธุ์กรรมที่มีการแสดงออกของยีน *OsHsp18* เพิ่มขึ้น พบว่าในระยะกล้า

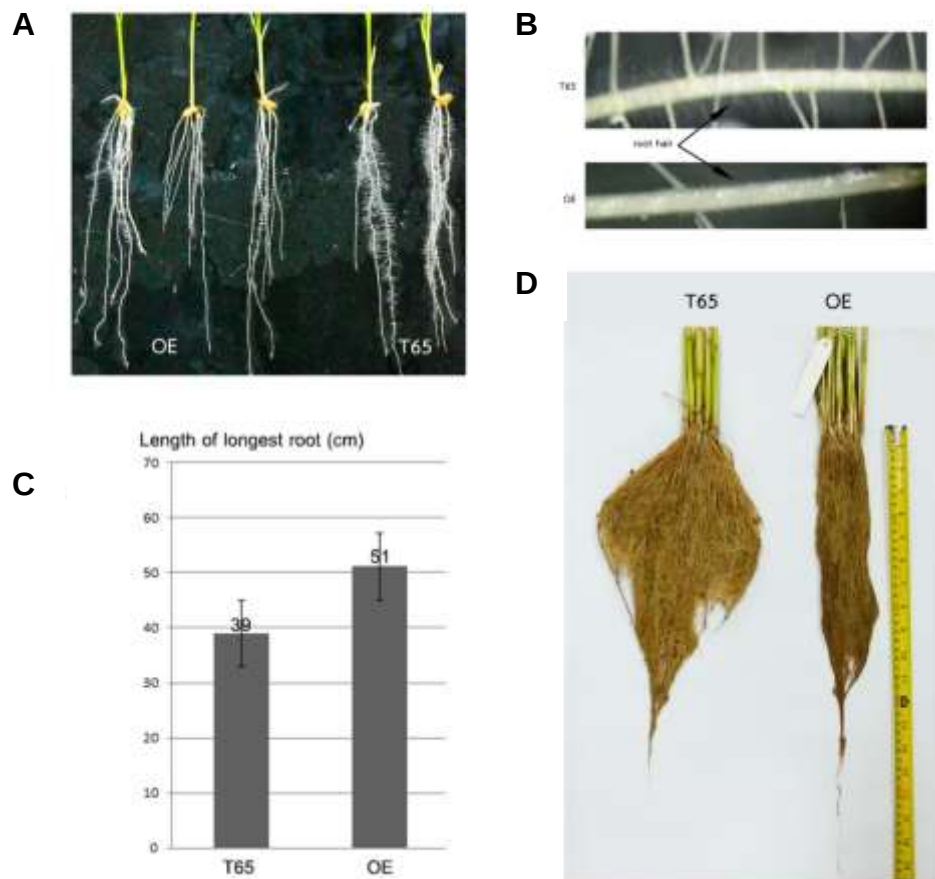


Figure 4 Root morphology of over-expressed T_1 (OE) and Taichung 65 (T65) plants. (A) Primary root, adventitious root and lateral root. (B) Root hair was observed by stereoscope. (C) Length of the longest roots at tillering stage. (D) Roots at tillering stage.

ต้นข้าวตัดแปลงพันธุกรรมมีรากแขนงและขนรากน้อยกว่าข้าวไทซุง 65 และในระยะแตกกอพบว่ารากของข้าวตัดแปลงพันธุกรรมมีความยาวมากกว่าข้าวไทซุง 65 และมีระบบรากยาวเหมือนรากของข้าวไร่ ดังนั้นข้าวตัดแปลงพันธุกรรมที่มีการแสดงออกของยีน *OsHsp18* เพิ่มขึ้นน่าจะมีความสามารถในการทนต่อความร้อน และความแล้ง

กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgements)

การวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณการวิจัยจากทุนอุดหนุนวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติผ่านมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ประจำปีงบประมาณ 2557

เอกสารอ้างอิง

Chen, X., Lin S, Liu Q, Huang J, Zhang W, Lin J, Wang Y, Ke Y, He H (2014) Expression and interaction of small heat shock proteins (sHsps)

in rice in response to heat stress. *Biochim Biophys Acta* 1844: 818–828.

Guan JC, Jinn TL, Yeh CH, Feng SP, Chen YM, Lin CY (2004) Characterization of the genomic structures and selective expression profiles of nine class I small heat shock protein genes clustered on two chromosomes in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Mol Biol* 56: 795–809.

Hu W, Hu G, Han B (2009) Genome-wide survey and expression profiling of heat shock proteins and heat shock factors revealed overlapped and stress specific response under abiotic stresses in rice. *Plant Science* 176: 583–590.

Jung JKH, McCouch SR (2013) Getting to the roots of it: Genetic and hormonal control of root architecture. *Front Plant Sci* 4:1–36.

- Liu AL, Zou J, Liu CF, Zhou XY, Zhang XW, Luo GY, Chen XB (2013) BMB Reports: Overexpression of *OsHsfA7* enhanced salt and drought tolerance in transgenic rice. BMB Rep 46: 31–36.
- Murakami T, Matsuba S, Funatsuki H, Kawaguchi K, Saruyama H, Tanida M, Sato Y (2004) Overexpression of a small heat shock protein, sHSP17.7, confers both heat tolerance and UV-B resistance to rice plants. Mol Breed 13: 165–175.
- Sakulsingharoj C, Sukkasem R, Pongjaroenkit S, Chowpongpan S, Sangtong V (2014) Overexpression of *OSB2* gene in transgenic rice up-regulated expression of structural genes in anthocyanin biosynthesis pathway. Thai J Genet 7:172–183.
- Sarkar N, Kim Y-K, Grover A (2009) Rice *sHsp* genes: genomic organization and expression profiling under stress and development. BMC Genomics 10: 393.
- Sato Y, Yokoya S (2008) Enhanced tolerance to drought stress in transgenic rice plants overexpressing a small heat-shock protein, sHSP17.7. Plant Cell Rep 27: 329–334.
- Sato Y, Takehisa H, Kamatsuki K, Minami H, Namiki N, Ikawa H, Ohyanagi H, Sugimoto K, Antonio BA, Nagamura Y (2013) RiceXPro Version 3.0: expanding the informatics resource for rice transcriptome. Nucleic Acids Res 41: D1206–D1213.
- Sun W, Van Montagu M, Verbruggen N (2002) Small heat shock proteins and stress tolerance in plants. Biochim Biophys Acta 1577: 1–9.
- Toki S (1997) Rapid and efficient Agrobacterium-mediated transformation in rice. Plant Mol Biol Report 15: 16–21.