บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: BGJ/12/2543

ชื่อโครงการ: การโคลนและการศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคเปลือกแห้งในต้นยางพารา

ชื่อนักวิจัย: ผศ.ดร. จรัญญา ณรงคะชวนะ และ น.ส. อัญชีรา สุขมาก
ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

E-mail Address: scjnr@mahidol.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : 2 ปี (1 กันยายน 2543 – 31 สิงหาคม 2545)

การปลูกยางพาราซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย มักประสบปัญหาเรื่องโรคของต้นยาง โดยเฉพาะโรคเปลือกแห้ง (Tapping Panel Dryness -TPD) ทำให้ผลผลิตลดลงหรือหยุดให้ผลผลิต สาเหตุของอาการเปลือกแห้งยังไม่ปรากฏหลักฐานแน่ชัด เพียงแต่สรุปว่าเป็นความผิดปกติทางสรีรวิทยาซึ่งเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ ความถี่ในการกรีดเอาน้ำยางและการใช้น้ำยากระตุ้นให้น้ำยางไหลมากเกินไป มีความสัมพันธ์กับการเกิดอาการเปลือกแห้ง หากปล่อยให้ต้นยางเป็นโรคเปลือกแห้งจนกระทั่งเกิดอาการเปลือกแห้งแบบถาวร จะทำให้ไม่สามารถทำการกรีดยางได้อีก นอกจากนั้นเนื้อไม้ก็เสียหายด้วย ดังนั้น ข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับโรคเปลือกแห้งจะทำให้เข้าใจองค์ความรู้เกี่ยวกับโรคนี้มากขึ้น ซึ่งจะนำไปสู่การพัฒนาปรับปรุงพันธุ์ยางพาราและระบบกรีดยางที่มีประสิทธิภาพและหลีกเลี่ยงการเกิดอาการเปลือกแห้งแบบถาวรได้ในอนาคต ในโครงการนี้ผู้วิจัยได้ทำการโคลนและศึกษาลักษณะของ cDNA ของยีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อความเครียดของต้นยางพารา คือ Cu/Zn-superoxide dismutase (Cu/Zn-SOD), ascorbate peroxidase (APX), และ glutathione peroxidase (GPX) ของยางพารา พบว่า sequence ของ cDNA ที่แยกได้มีความเหมือนกับที่พบในพืชชนิดอื่นที่เคยมีรายงาน และเนื่องจากไม่พบ signal peptide จึงคาดว่า เมื่อถอดรหัสแล้วโปรตีนจะอยู่ใน cytosolic compartment การแสดงออกของ GPX ในต้นยางที่ให้น้ำยางปริมาณมาก จะสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับต้นยางที่ให้ผลผลิตปริมาณน้อย การกรีดยางมากขึ้นจะทำให้ GPX มีการแสดงออกน้อยลงแม้ดูภายนอกต้นจะเป็นปกติ ในขณะที่ต้นที่แสดงอาการเปลือกแห้ง (TPD) ก็มีการแสดงออกของ GPX น้อยอย่างชัดเจนชี้ให้เห็นว่า เกิดการ uncompensate ของ oxidative stress ในเนื้อเยื่อที่ผลิตน้ำยาง ที่น่าสนใจคือ ต้นที่แสดงอาการเปลือกแห้งร่วมกับ Trunk Phloem Necrosis (TPN) กลับมีการแสดงออกของ GPX สูงเป็นปกติ ข้อมูลนี้ทำให้ทราบว่า ต้นที่แสดงอาการเปลือกแห้งแบบ TPD และ TDN ที่เห็นความแตกต่างทางสรีระน่าจะมีความแตกต่างในเรื่องสาเหตุการเกิดอาการด้วย จากการศึกษาพบว่า เมื่อทำการกรีดหรือกระตุ้นต้นยางให้ผลิตน้ำยางบ่อยเกินไป การแสดงออกของ GPX และ APX จะมากสอดคล้องกัน ซึ่งอธิบายได้ว่า ในสภาวะเครียดเช่นนี้ เซลล์ต้องการทั้งสองเอนไซม์ซึ่งทำหน้าที่คล้ายกันในการกำจัด H_2O_2 และ reactive oxygen นอกจากนั้นเป็นไปได้ว่า GPX ซึ่งมีแอคติวิตี้ของ phospholip hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPX) จะทำงานกับ hydroperoxides และ large thiol compounds ซึ่งไม่สามารถกำจัดได้ด้วยเอนไซม์ในกลุ่ม APX และ catalase เราทราบว่า phospholipid hydroperoxide เป็น substrate ที่เหมาะสมของ PHGPX ใน *in vitro* จากการศึกษานี้ ทำให้เกิดจุดน่าสนใจใหม่ว่า phospholipid ใน biomembrane จะสามารถเป็น substrate ที่เหมาะสมของ PHGPX ใน *in vivo* หรือไม่ จึงควรมีการศึกษาบทบาทของ PHGPX ที่เกี่ยวข้องกับ การเปลี่ยนแปลงทางสรีระของต้นยางพาราเพื่อตอบสนองต่อความเครียดต่อไป

คำหลัก : ยางพารา, สภาวะเครียด, โรคเปลือกแห้ง, Cu/Zn-superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, glutathione peroxidase

ABSTRACT

Project Code: BGJ/12/2543

Project Title: Cloning and Expression of Genes Potentially Involved in the Onset of theTapping Panel Dryness (TPD) in the Rubber Tree (*Hevea brasiliensis*)

Investigator: Jarunya Narangavana and Unchera Sookmark

Deoartment of Biotechnology, Faculty of Science, Mahidol University

E-mail Address: scjnr@mahidol.ac.th

Project Period : 2 years (1 September 2000 – 31 August 2002)

Among many problems related to the development of rubber production, the relative low rubber yield per area is the most serious problem. One of the main limiting of the rubber yield is a physiological disorder called Tapping Panel Dryness (TPD), a common disease characterized by the reduction or total cessation of latex flow. The objectives of this research are find out some biochemical and/or molecular markers related to yield and stress response of rubber tree, as well as to investigate the role of oxidative stress in the onset of TPD of rubber tree. Three full-length cDNAs encoding Cu/Zn-superoxide dismutase (Cu/Zn-SOD), ascorbate peroxidase (APX), and glutathione peroxidase (GPX) have been cloned and characterized. They showed high homology with the same enzymes in the other plant species. Absence of signal peptide indicates that the corresponding proteins are addressed in the cytosolic compartment. Only the GPX activity and GPX gene expression were showed to be significantly higher in the latex from healthy tree from the high yielding clone compared to the low yielding clone. Overtapping treatment induced a decrease in both GPX activity and gene expression even in the still healthy tree. Moreover, compared to healthy tree, the tree exhibiting TPD symptom showed decreased in GPX activity and gene expression. These evidences confirm the occurrence of uncompensated oxidative stress in the latex producing tissues. Contrary, TPD trees exhibiting Trunk Phloem Necrosis (TPN) were characterized by both higher in latex GPX activity and gene expression. This result suggested that the 2 symptoms (TPD and TPN) differ in their physiological effects and probably in their origin. In some cases, such as in overexploitation experiment, the APX gene was expressed in the same way as GPX gene. Since these two enzymes (APX and GPX) can detoxify H_2O_2, they may be much more required in condition that cell contains high concentration of H_2O_2 or other ROS. Alternatively, *Hevea* GPX contained phospholip hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPX) activity, which might be restricted to more complex acceptor or donor substrates such different organic hydroperoxides or large thiol compounds that are not metabolized by other antioxidant enzymes such as APX and catalase. Although the best substrates for PHGPX *in vitro* are phospholipid hydroperoxides, it is not clear whether such phospholipid that comprises biomembranes are the natural substrate of the enzyme. The physiological role of *Hevea* PHGPX is a subject of future study.

Keywords : Rubber tree, Oxidative stress, Tapping Panel Dryness, Cu/Zn-superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, glutathione peroxidase