



610096021

**STUDIES ON DIFFERENTIAL EXPRESSION OF GENE
POTENTIALLY INVOLVED IN THE ONSET OF THE
TAPPING PANEL DRYNESS (TPD) IN
*HEVEA BRASILIENSIS***

PANIDA KONGSAWADWORAKUL

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

1997

ISBN 974-589-149-5

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

**With compliments
of**

Faculty of Graduate Studies, Mahidol Univer

๖๖
๖๖๖๖๖
๖๖๖

3736734 SCBT/M : MAJOR : BIOTECHNOLOGY ; M.Sc. (BIOTECHNOLOGY)

KEY WORD : CATALASE / ETHYLENE / *HEVEA BRASILIENSIS* / LATEX
OXIDATIVE STRESS / SUPEROXIDE DISMUTASE

PANIDA KONGSAWADWORAKUL : STUDIES ON DIFFERENTIAL
EXPRESSION OF GENE POTENTIALLY INVOLVED IN THE ONSET OF THE
TAPPING PANEL DRYNESS (TPD) IN *HEVEA BRASILIENSIS*. THESIS
ADVISOR : JARUNYA NARANGAJAVANA, D.Agr.Sc., HERVÉ CHRESTIN,
Ph.D., VALÉRIE PUJADE-RENAUD, Ph.D. 213 p. ISBN 974-589-149-5

Tapping panel dryness (TPD) is a disease of rubber trees characterized by the reduction or total cessation of latex flow upon tapping, due to senescence of the laticifers leading to abnormal coagulation processes. It is a worrying symptom from the economic point of view since the plants affected are no longer tapped. The purpose of the present work was to investigate whether modifications in the expression of some genes involved in the protection against oxidative stress and/or in coagulation could account for the unbalancing of the peroxidative metabolism towards deleterious effects and *in situ* coagulation, in different cases of bark dryness.

Northern blot analysis showed that moderate ethylene treatment stimulated catalase, Mn-superoxide dismutase and glutathione reductase gene expression. However, overstimulation-induced TPD trees did not respond to ethylene, both in views of catalase and Mn-superoxide dismutase mRNA level and catalase activity. The overall results led to the conclusion that the modification of catalase and Mn-superoxide dismutase gene expression in sick and healthy trees may be involved in the onset of TPD. A 1.7 kb catalase cDNA from rubber tree latex was cloned and sequenced. It was found that the catalase cDNA consisted of 1,476 nucleotides which encoded a protein of 492 amino acids with a molecular weight of 56.7 kDa. Sequence comparison showed that this rubber tree catalase cDNA was highly homologous to several other plant catalases, of which the highest score of homology was shared by the *R. communis* catalase gene CAT1, with 89 and 91 % homology in nucleotides and amino acids, respectively.

3736734 SCBT/M : สาขาวิชา : เทคโนโลยีชีวภาพ ; วท.ม. (เทคโนโลยีชีวภาพ)

พนิดา กงสวัสดิ์วรกุล : การศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคเปลือกแห้งในยางพารา (Studies on differential expression of gene potentially involved in the onset of the tapping panel dryness (TPD) in *Hevea brasiliensis*) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : จริญญา วรรณกะชานะ D.Agr.Sc., แอร์เวย์ เครสแดง Ph.D., วาเลรี ปูลาด เรอโน Ph.D. 213 หน้า. 974-589-149-5

การปลูกยางพารามักประสบปัญหาเรื่องโรคของยาง โดยมีรายงานว่าโรคที่เป็นปัญหามากคือ โรคเปลือกแห้ง ซึ่งส่งผลกระทบต่อให้ผลผลิตลดลง หรือหยุดให้ผลผลิต และหากปล่อยให้ต้นยางเป็นโรคเปลือกแห้งจนกระทั่งถึงขั้นเกิดอาการเปลือกแห้งแบบถาวร จะทำให้ต้องตัดต้นยางทิ้งโดยไม่สามารถทำการกรีดยางได้อีก ซึ่งก่อให้เกิดความเสียหายแก่ชาวสวนอย่างมาก โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับสภาวะ oxidative stress ซึ่งอาจมีความเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคเปลือกแห้งในยางพารา

จากการศึกษาพบว่า เฮอร์ดีนสามารถกระตุ้นการแสดงออกของยีน catalase, Mn-superoxide dismutase และ glutathione reductase ในต้นยางพาราได้ แต่การแสดงออกของยีน catalase และ Mn-superoxide dismutase ในต้นยางที่เป็นโรคเปลือกแห้งจากการถูกกระตุ้นมากเกินไปจะไม่ตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วยเฮอร์ดีน นอกจากนี้ยังพบว่าระดับของเอนไซม์ catalase จะไม่ตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วยเฮอร์ดีนเช่นกัน จากผลการทดลองทั้งหมดนี้แสดงให้เห็นว่า การเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีน catalase และ Mn-superoxide dismutase มีแนวโน้มที่จะเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคเปลือกแห้ง นอกจากนี้ได้ทำการ clone cDNA ของ catalase และหาลำดับ nucleotide พบว่า catalase cDNA ที่ clone ได้ ประกอบด้วย 1,476 nucleotides ที่แปลรหัสสร้างโปรตีนที่มี 492 amino acids และมีน้ำหนักโมเลกุลรวมเท่ากับ 56.7 kDa เมื่อทำการเปรียบเทียบลำดับ nucleotide และ amino acid ของ catalase cDNA จากยางพารา ที่ได้ในงานวิจัยนี้กับพืชอื่นๆ พบว่ามีความคล้ายคลึงสูงที่สุดกับลำดับ nucleotide และ amino acid ของ *R. communis* catalase gene CAT1 ที่ระดับ 89 และ 91 % ตามลำดับ