บทที่ 1
บทนำ

ภูมิหลัง

ยางพารา (*Hevea brasiliensis)* เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย สามารถทำรายได้เข้าประเทศปีละไม่ต่ำกว่า 4 แสนล้านบาท มีเกษตรกรประกอบอาชีพทำสวนยางพาราไม่น้อยกว่า 6 ล้านคน มีพื้นที่ปลูกทั้งหมดประมาณ 18 ล้านไร่ (สำนักงานกองทุนสงเคราะห์ การทำสวนยาง. สืบค้นเมื่อ 20 กรกฎาคม 2552, จาก http://www.rubber.co.th/knowledge_1m.html.) ซึ่งส่วนใหญ่อยู่ทางภาคใต้ แต่ปัจจุบันได้ขยายพื้นที่ปลูกไปทุกภาคของประเทศ จากภาวะราคาน้ำมันดิบในตลาดโลกสูงขึ้นรวมทั้งอุตสาหกรรมยานยนต์มีการขยายตัวอย่างรวดเร็ว ทำให้ความต้องการยางธรรมชาติสูงขึ้น ส่งผลให้ราคายางสูงตามไปด้วย เกษตรกรจึงมีการขยายพื้นที่ปลูกยางพาราออกไปอย่างกว้างขวาง ทั้งในเขตพื้นที่ปลูกยางเดิม (ภาคใต้ และบางจังหวัดของภาคตะวันออก) และพื้นที่ปลูกยางใหม่ (ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ) โดยไม่ได้คำนึงถึงปัจจัยแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของยางพารา เช่น ภาคใต้ได้ขยายพื้นที่ปลูกยางพาราไปในพื้นที่ปลูกข้าวนาปี ซึ่งมีน้ำท่วมขัง ในฤดูฝนและแล้งจัดในช่วงฤดูแล้ง ส่วนภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือได้ขยายพื้นที่ปลูกยางพาราไปในเขตพื้นที่แห้งแล้งซึ่งไม่ เคยมีการปลูกยางพารามาก่อน รวมทั้งปัจจุบันสภาวะอากาศของโลกมีความแปรปรวนสูงมาก แม้แต่ในเขตพื้นที่ปลูกยางเดิมก็ต้องประสบกับปัญหาความแห้งแล้งรุนแรง ซึ่งไม่เคยปรากฏมาก่อน ทำให้ต้นยางพาราที่ปลูกใหม่ตายไปจำนวนมาก สำหรับยางพาราที่ให้ผลผลิตแล้วก็มีอาการเปลือกแห้งเพิ่มขึ้น ทำให้เกษตรกรต้องสูญเสียรายได้ไปเป็นจำนวนมาก การปรับปรุงสายพันธุ์ยางพาราเพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่ทนทานต่อภาวะความแห้งแล้งจึงมีความสำคัญยิ่งต่อเกษตรกร

จากการวิเคราะห์การแสดงออกของยีนในน้ำยางของยางพาราสายพันธุ์ ที่ให้ผลผลิตสูงและต่ำ ด้วยเทคนิค cDNA-AFLP สามารถคัดเลือก Transcription-Derived Fragments (TDFs) ที่มีการแสดงออกมากในยางพารา สายพันธุ์ ที่ให้ผลผลิตสูงได้หลาย TDFs ในจำนวนนี้พบว่า TDFREP241 มีขนาด 242 คู่เบสและ มีลำดับนิวคลีโอไทด์ Homology กับยีน *Ankyrin-Repeat Domain Zinc Finger Protein* (*KR1*) (Suwanmanee, Chocnukul, Sirinupong, Phatmanont, Chantrapradist, Jewtragoon and Nunthanuwat. 2007 : 255) สำหรับ Ankyrin-Repeat Domain C_3H_1 Zinc Finger Protein (KR1) เป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็น Transcription Factor (TF) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการตอบสนองต่อภาวะความเครียด (Stress) ของพืชในสภาวะแวดล้อมไม่เหมาะสม ทั้งที่

เกิดจากสิ่งมีชีวิต (Biotic Stress) และจากสิ่งไม่มีชีวิต (Abiotic Stress) จากรายงานการศึกษาใน พริก (Seong, Choi, Cho, Lim, Joung, Hur and Wang. 2007a : 952) พบว่ายีน *Capsicum annuum* Ankyrin-Repeat Domain C_3H_1 Zinc Finger Protein (*CaKR1*) มีการแสดงออกสูงขึ้นเมื่อ ถูกกระตุ้นจากภาวะเครียดต่างๆ ได้แก่ การคุกคามจากเชื้อโรค ความเค็มและการขาดน้ำ เป็นต้น การศึกษา การถ่ายโอนยีน *CaKR1* ให้กับมะเขือเทศพบว่า มะเขือเทศที่ได้รับยีน *CaKR1* สามารถทน เค็มและต้านทานโรคเพิ่มขึ้น (Seong, Cho, Choi, Joung, Lim, Hur and Wang. 2007b : 983) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงต้องการโคลน วิเคราะห์ ลำดับ นิวคลีโอไทด์ และศึกษาคุณลักษณะของยีน Ankyrin-Repeat Domain C_3H_1 Zinc Finger Protein ในยางพารา (*HbKR1*) เพื่อพัฒนายีนดังกล่าวไปใช้ในการปรับปรุงและคัดเลือกพันธุ์ยางพาราที่ทนแล้งต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อโคลนและวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *HbKR1* ของยางพารา
2. เพื่อเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของโปรตีน HbKR1 ในยางพารากับสิ่งมีชีวิตอื่นๆ
3. เพื่อวิเคราะห์ผลของความเครียดจากการขาดน้ำและความเค็มต่อการแสดงออกของ ยีน *HbKR1* ในกล้ายางพารา
4. เพื่อวิเคราะห์ผลของการกรีดต่อการแสดงออกของยีน *HbKR1* ในยางพารา

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

ได้โคลนของยีน *HbKR1* ในยางพาราที่มีบทบาทสำคัญในการควบคุมการทนแล้ง ทนเค็ม และทนทานต่อการกรีด สำหรับนำไปใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงและคัดเลือกพันธุ์ยางพาราทนแล้ง ทนทานต่ออาการเปลือกแห้ง หรือสร้างยางพาราดัดแปลงพันธุกรรมที่ทนแล้ง ทนทานต่อการกรีด และไม่มีอาการเปลือกแห้ง

ขอบเขตของการวิจัย

ทำการโคลนและวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ ของยีน *HbKR1* จาก Total RNA ในน้ำยางพาราสายพันธุ์ RRIM600 โดยเทคนิค Rapid Amplification of cDNA Ends (RACE) ทำการเปรียบเทียบลำดับ กรดอะมิโน HbKR1 ของยางพารา กับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นๆ โดยใช้โปรแกรม

ClustalX 2.1 วิเคราะห์ผลของความเครียดจากการขาดน้ำแล ะความเค็มต่อการแสดงออกของ ยีน *HbKR1* ในกล้ายางพาราติดตา สายพันธุ์ RRIM600 ที่มีอายุ 3 เดือน วางเลี้ยงในโรงเรือนเพาะเลี้ยงกล้าไม้ และวิเคราะห์ผลของการกรีดต่อการแสดงออกของ ยีน *HbKR1* ในยางพาราสายพันธุ์ RRIC110 ที่มีอายุประมาณ 3 ปี

สถานที่และระยะเวลาการทำวิจัย

สถานที่ทำวิจัย : ห้องปฏิบัติการทางชีววิทยา (SC327) และโรงเรือนเพาะเลี้ยงกล้ายางพารา สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตสงขลา และแปลงทดลองปลูกยางพาราของ อ.ดร. เปลื้อง สุวรรณมณี ที่ตำบลพะวง อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา

ระยะเวลาการทำวิจัย : ตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน 2553 - เดือนกันยายน 2554