กลไกการต้านทานโรคของพืช

Mechanism of Disease Resistance in Plants

นงลักษณ์ เภรินทวงค์[1]

คำนำ

การผลิตพืชให้มีลักษณะดีตามต้องการของตลาดมักเน้นการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่อาจให้ผลในการควบคุมโรคดีแต่ส่งผลเสียในระยะยาวต่อเกษตรกร ผู้บริโภค และสภาพแวดล้อม การเกษตรในปัจจุบันจึงให้ความสำคัญต่อสุขภาพของเกษตรกรและผู้บริโภคไม่น้อยไปกว่าคุณภาพของผลิตผลเกษตร แนวทางที่ปลอดภัยที่สุดก็คือการพัฒนาหรือสร้างพืชให้มีความต้านทานต่อโรค พืชสายพันธุ์ต้านทานโรคมักมีลักษณะทางสรีระที่ไม่เอื้อ หรือทนต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรค ซึ่งเรียกลักษณะนี้ว่าความต้านทานที่มีอยู่แล้วในพืช (pre-formed resistance) และถึงแม้พืชจะไม่สามารถเคลื่อนที่หนีจากการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืชได้อย่างสัตว์หรือมนุษย์ แต่พืชยังมีคุณลักษณะหนึ่งที่คล้ายกับสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม คือ สามารถป้องกันตัวเองจากการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคได้เมื่อได้รับการกระตุ้น (induced resistance) ทั้งโดยเชื้อสาเหตุโรค จุลินทรีย์อื่นๆ สารเคมีบางชนิด หรือแม้กระทั่งโดยสภาพเครียด ความต้านทานบางลักษณะป้องกันพืชจากศัตรูได้อย่างมีประสิทธิภาพทันทีที่เชื้อสัมผัสพืช (hypersensitive response) โดยการฆ่าตัวตายของเซลล์ (program cell death) เพื่อยับยั้งเชื้อที่บุกรุกเซลล์พืช บางลักษณะต้องอาศัยผลผลิตจากกระบวนการเมแทบอลิซึมหลายกระบวนการ รวมทั้งการสังเคราะห์โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับลักษณะความต้านทานทั้งทางตรงและทางอ้อม ซึ่งศักยภาพดังกล่าวของพืชได้มีการศึกษาค้นคว้ากันมาอย่างต่อเนื่องถึงยีนและกลไกที่ควบคุมลักษณะความต้านทานในพืชโดยมีเป้าหมายในการสร้างหรือพัฒนาพืชให้มีความต้านทานโรคเพื่อหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรค

ความต้านทานโรคของพืช

ความต้านทานโรคที่เกิดขึ้นในพืช สามารถจำแนกตามการเหนี่ยวนำ และกลไกของความต้านทานได้ 2 ประเภท คือ ความต้านทานที่มีอยู่แล้วในพืช และความต้านทานที่พืชถูกเหนี่ยวนำให้สร้างขึ้น

1. **ความต้านทานที่มีอยู่แล้วในพืช** (pre-formed resistance **หรือ** constitutive resistance) หรือที่เรียกว่าลักษณะประจำพันธุ์ ประกอบด้วยโครงสร้างของพืช เช่น ความหนาและความแข็งแรงของผนังเซลล์ ชั้นของแวกซ์ (wax) และคิวติเคิล (cuticle) ที่ปกคลุมบริเวณลำต้นและผิวใบช่วยขัดขวางเชื้อราบางชนิดในการแทงเข้าสู่เซลล์พืช พืชที่มีจำนวนขนใบหนาแน่นช่วยขัดขวางการทำลายโดยแมลงซึ่งอาจเป็นพาหะนำโรคพืชมาสู่พืช ตำแหน่งและจำนวนของปากใบที่มีผลต่อการเข้าสู่พืชของเชื้อราและแบคทีเรีย พืชบางชนิดสังเคราะห์สารไฟโตแอนทิซิปิน (phytoanticipin) ที่มีผลในทางยับยั้งการเจริญของเชื้อราหรือแบคทีเรียสาเหตุโรค ซึ่งโครงสร้างเหล่านี้เป็นเสมือนเกราะป้องกันชั้นแรกของพืช (Buchanan *et al*., 2000) อย่างไรก็ตาม ความต้านทานลักษณะนี้ของพืชจะถูกควบคุมโดยยีนจำนวนหลายยีน นอกจากนี้พืชยังต้องใช้เวลาและพลังงานในการสร้างลักษณะหรือสารให้สมบูรณ์เพื่อเตรียมตัวให้พร้อมก่อนที่เชื้อจะเข้าทำลาย พืชจึงจะสามารถป้องกันตัวเองจากเชื้อโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Table 1)

Table 1 Summary of resistance in plant against pathogens.

	Constitutive resistance	Innate immunity	Specific resistance
	Preformed	Induced	Induced
Spectrum of protection	Very broad	Broad	Narrow
Number of genes determining specificity	Many genes	Many genes	One or very few genes
Specific recognition of invader	None	Moderate	High degree

Source: Summarized from lecture of Métraux (2011)

[1] คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

[1] Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, 10520

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. **ความต้านทานที่พืชถูกเหนี่ยวนำให้สร้างขึ้น (induced resistance)** เป็นลักษณะความต้านทานที่พืชถูกกระตุ้นให้สร้างขึ้นมาเพื่อป้องกันตัวเองภายหลังเชื้อสาเหตุโรคเข้าทำลาย ความต้านทานที่พืชถูกเหนี่ยวนำให้สร้างขึ้นนี้มีกลไกที่คล้ายกับกลไกที่เกิดขึ้นในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมหรือ basal resistance ที่ทำงานโดยโมเลกุลของพืชที่ทำหน้าที่เป็นตัวตอบสนองการกระตุ้น (pattern recognition receptor; PRR) สามารถตรวจจับโมเลกุลจากเชื้อสาเหตุโรค (pathogen-associated molecular pattern; PAMP) เช่น โปรตีนแฟลกเจลลิน (flagellin) องค์ประกอบของผนังเซลล์ของแบคทีเรีย (lipopolysaccharide) หรือองค์ประกอบของผนังเซลล์เชื้อรา (chitin) ความต้านทานลักษณะนี้มีชื่อเรียกเฉพาะว่า PAMP-triggered immunity หรือ PTI (Thomma *et al*., 2011)การรับรู้ของพืชส่งผลให้เกิดการตอบสนองในแบบต่างๆ ทั้งในลักษณะเพื่อป้องกันพืชและเพื่อกำจัดเชื้อสาเหตุที่เข้าทำลายพืช โดยพืชสังเคราะห์สารบางชนิดให้มีปริมาณเพิ่มขึ้นและเพียงพอที่จะกำจัดเชื้อสาเหตุโรคได้ทันเวลาภายหลังจากถูกเชื้อสาเหตุโรคเข้าทำลาย เช่น การสังเคราะห์และสะสม b-glucan เชื่อมต่อกันเป็นโพลิเมอร์ด้วยพันธะ b-1,3-glucan ซึ่งเรียกว่าแคลโลส (callose) พอกที่ผนังเซลล์ของเชื้อราที่แทงผ่านเข้าสู่เซลล์ (papillae) เพื่อยับยั้งการบุกรุกของเชื้อราภายในเซลล์พืช (Lucas 1998) การสังเคราะห์สารไฟโตอเล็กซิน (phytoalexin) ที่เป็นสารประกอบในกลุ่มฟีนอลิก เทอร์ปีนอยด์ และอาลิพาติกส์ ที่มีคุณสมบัติเป็นพิษต่อจุลินทรีย์โดยทั่วไปจึงมีผลในทางยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคที่เข้าทำลายพืชได้ (Buchanan *et al*., 2000) การสังเคราะห์โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรค หรือโปรตีนพีอาร์ (pathogenesis-related protein; PR protein) ที่มีคุณสมบัติในการต้านทานโรคหรือเชื้อสาเหตุโรคอย่างไม่จำเพาะ ได้มีการศึกษาโปรตีนพีอาร์อย่างกว้างขวางในพืชหลายชนิดโดยมีเป้าหมายในการพัฒนาสายพันธุ์พืชให้มีการสังเคราะห์โปรตีนพีอาร์เพื่อสร้างลักษณะความต้านทานแบบกว้าง (broad spectrum disease resistance) ให้กับพืช โดยปัจจุบันได้มีการจัดจำแนกโปรตีนพีอาร์โดยอาศัยคุณสมบัติของโปรตีนไว้ทั้งหมด 17 กลุ่ม (Sels *et al*., 2008) ในจำนวนนี้ มีบางกลุ่มพบว่ามีคุณสมบัติเป็นเอนไซม์ที่สามารถย่อยผนังเซลล์ของแบคทีเรีย (b-1,3-glucanase; PR-2) หรือผนังเซลล์เชื้อรา (chitinase; PR-3) ได้โดยตรง (Table 2)

Table 2 Recognized families of pathogenesis-related proteins (Modified from Sels *et al*., 2008)

Family	Type member	Properties
PR-1	Tobacco PR-1a	Unknown
PR-2	Tobacco PR-2	β-1,3-glucanase
PR-3	Tobacco P, Q	Chitinase type I, II, IV, V, VI, VII
PR-4	Tobacco 'R'	Chitinase type I, II
PR-5	Tobacco S	Thaumatin-like
PR-6	Tomato Inhibitor I	Proteinase-inhibitor
PR-7	Tomato P69	Endoproteinase
PR-8	Cucumber chitinase	Chitinase type III
PR-9	Tobacco "lignin-forming peroxidase"	Peroxidase
PR-10	Parsley "PR1"	Ribonuclease-like
PR-11	Tobacco "class V" chitinase	Chitinase, type I
PR-12	Radish Rs-AFP3	Defensin
PR-13	Arabidopsis THI2.1	Thionin
PR-14	Barley LTP4	Lipid-transfer protein
PR-15	Barley OxOa (germin)	Oxalate oxidase
PR-16	Barley OxOLP	Oxalate-oxidase-like
PR-17	Tobacco PRp27	Unknown

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตอบสนองของพืชอีกลักษณะหนึ่งที่ถูกเหนี่ยวนำให้สร้างขึ้นภายหลังพืชถูกเชื้อสาเหตุโรคเข้าทำลาย คือ การตายอย่างเฉียบพลันของเซลล์ที่ถูกบุกรุกและเซลล์ข้างเคียง (hypersensitive reaction; HR) การตอบสนองลักษณะนี้เป็นกลไกที่จัดว่ามีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อสาเหตุโรคได้ดีที่สุด นั่นคือเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วภายหลังที่พืชถูกเชื้อสาเหตุโรคเข้าทำลาย ผลจากการเกิด HR จะทำให้การไหลเวียนของสารและปฏิกิริยาต่างๆ ภายในเซลล์ที่ถูกเชื้อโรคบุกรุกหยุดชะงัก สารภายในเซลล์รั่วไหลออกนอกเซลล์ ไมโตรคอนเดรียเกิดการบวม เยื่อหุ้มเซลล์แยกออกจากผนังเซลล์และทำให้เซลล์เสียสภาพและตายในที่สุด ทำให้เชื้อสาเหตุโรคที่บุกรุกถูกทำลายไปด้วย กระบวนการตายอย่างเฉียบพลันของเซลล์พืชมีความคล้ายคลึงกับกระบวนการอะพอพโทซิส (apoptosis) ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Mur *et al*., 2008) จากผลการศึกษากลไกการเกิด HR ในพืช พบว่าเซลล์ที่ถูกบุกรุกจะถูกกระตุ้นให้มีการสะสมอนุมูลอิสระของออกซิเจน (reactive oxygen species; ROS) ทั้งในรูปของซุปเปอร์ออกไซด์ (super oxide; O_2^-) หรือไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogenperoxcide; H_2O_2) ซึ่งโมเลกุลทั้งสองชนิดนี้มีคุณสมบัติเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ จึงยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคได้ (antibiotic) และยังสามารถกระตุ้นการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคอื่นๆ ได้อีกด้วย (Nanda *et al*., 2010) นอกจากนี้ยังตรวจพบโมเลกุลอื่น ๆ ในบริเวณเซลล์ที่เกิด HR เช่น ไนตริกออกไซด์ (nitric oxide; NO) ที่มีคุณสมบัติคล้ายคลึงกับ O_2^- และ H_2O_2 (Van Breusegem and Dat, 2006) ซึ่งงานวิจัยต่อมาพบว่าไม่เพียงเชื้อสาเหตุโรคเท่านั้นที่กระตุ้นความต้านทานแบบนี้ได้ แต่จุลินทรีย์ที่ไม่ใช่สาเหตุโรคพืช สภาวะเครียดของพืช หรือแม้แต่บาดแผลจากการที่พืชถูกแมลงกัดกินก็สามารถกระตุ้นให้พืชสร้างความต้านทานลักษณะนี้ได้เช่นกัน และเมื่อพืชสร้างความต้านทานนี้ขึ้นแล้วไม่ได้มีผลยับยั้งเพียงเชื้อสาเหตุโรคที่เข้าทำลายครั้งแรกเท่านั้น แต่ยังสามารถส่งผลยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคอื่นที่เข้าทำลายพืชภายหลังได้อย่างกว้างขวางอีกด้วย (broad spectrum resistance) ซึ่งเรียกลักษณะความต้านทานนี้ได้ว่า innate immunity (Nurnberger *et al*., 2004) หรือหมายถึงระบบภูมิคุ้มกันที่ถูกกระตุ้นให้สร้างขึ้นเพื่อต้านทานเชื้อโรคพืชได้หลายชนิด และมียีนควบคุมลักษณะต้านทานจำนวนหลายยีน (Table 1)

ความต้านทานที่พืชได้รับการเหนี่ยวนำให้สร้างขึ้นนี้ ในบางครั้งอาจไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอที่จะทำให้พืชรอดพ้นจากการก่อโรคของเชื้อได้ เนื่องจากเชื้อสาเหตุโรคมีการสร้างโปรตีนที่เรียกว่า effector ซึ่ง effector ส่งเข้าไปภายในเซลล์พืชเพื่อยับยั้งหรือชะลอกระบวนการต้านทานโรคของพืช ทำให้พืชยังคงแสดงอาการของโรค ผลผลิตลดลง หรือตายในที่สุด ในกรณีของพืชสายพันธุ์ดีที่ต้านทานโรคอย่างสมบูรณ์ (immune) พืชจะกระตุ้นความต้านทานอีกรูปแบบหนึ่งเพื่อยับยั้งการทำงานของ effector ความต้านทานลักษณะนี้จึงมีชื่อเรียกว่า effector-triggered immunity หรือ ETI กลไกของความต้านทานในรูปแบบ ETI จะมีความแตกต่างไปตามชนิดและความสัมพันธ์ของพืชและเชื้อสาเหตุโรค ในคู่ความสัมพันธ์ของมะเขือเทศกับเชื้อราสาเหตุโรคใบจุด คือ *Cladosporium fulvum* นั้น มะเขือเทศสายพันธุ์ต้านทานโรคจะสังเคราะห์โปรตีนต้านทาน (resistance protein) Cf4 สะสมไว้ที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์เพื่อไปยับยั้งปฏิกิริยาของโปรตีน Avr4 ที่ทำหน้าที่เป็น effector ของเชื้อรา (Van den Burg *et al*., 2006; Van Esse *et al*., 2007) หรือในคู่ความสัมพันธ์ของอราบิดอปสิส (*Arabidopsis thaliana*) กับเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* สายพันธุ์ที่มียีนก่อโรค *AvrPphB* โดยโปรตีน AvrPphB จะทำหน้าที่เป็น effector ไปยับยั้งความต้านทานโรคของพืช ในขณะที่พืช *A. thaliana* สายพันธุ์ต้านทานจะสังเคราะห์โปรตีน RPS5 เพื่อยับยั้งปฏิกิริยาของ AvrPphB โดยที่การยับยั้งจะสำเร็จก็ต่อเมื่อ AvrPphB เข้าทำปฏิกิริยากับโปรตีนเป้าหมาย (target protein) อีกชนิดหนึ่งของพืชคือ PBS เท่านั้น (Shao *et al*., 2003) ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าโปรตีน PBS ของ *A. thaliana* ทำหน้าที่เฝ้าระวัง (guard) การบุกรุกของเชื้อแบคทีเรีย *P. syringae* ที่มียีนก่อโรค *AvrPphB* และเป็นที่มาของทฤษฎีเฝ้าระวังหรือ Guard hypothesis (Bent and Mackey, 2007)

Jones and Dangl (2006) ได้เสนอรูปแบบ (model) เพื่ออธิบายลำดับเหตุการณ์และความสัมพันธ์ระหว่าง PTI และ ETI ในพืชว่ามีรูปแบบซิกแซก (Zigzag model) เริ่มจากโมเลกุล PRR ของเซลล์พืชรับรู้หรือถูกกระตุ้นโดยโมเลกุล PAMP ของเชื้อสาเหตุโรค เกิดความต้านทานแบบ PTI ซึ่งความต้านทานแบบ PTI นี้ เมื่อเกิดขึ้นจะทำให้พืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีระดับความต้านทานในลักษณะที่คล้ายคลึงกับ innate immunity ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ความต้านทานลักษณะนี้อาจมีศักยภาพไม่เพียงพอหากเชื้อสาเหตุโรคสามารถสังเคราะห์ effector และยับยั้งความต้านทานแบบ PTI ได้ ความต้านทานของพืชจะเป็นไปอย่างสมบูรณ์เมื่อพืชมีคุณสมบัติในการสังเคราะห์โปรตีนต้านทานโรค (resistance protein; R) เพื่อยับยั้งการก่อโรคของ effector (Avr) ได้ และเกิดความต้านทานแบบ ETI โดยรูปแบบของความต้านทานแบบ ETI อาจเป็นลักษณะทำให้เซลล์พืชที่ถูกเชื้อสาเหตุโรคบุกรุกเกิดการตายอย่างเฉียบพลันหรือ HR (Hypersensitive response) ที่มีศักยภาพสูงในการยับยั้งการก่อโรคและการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคภายในพืช (Figure 1)

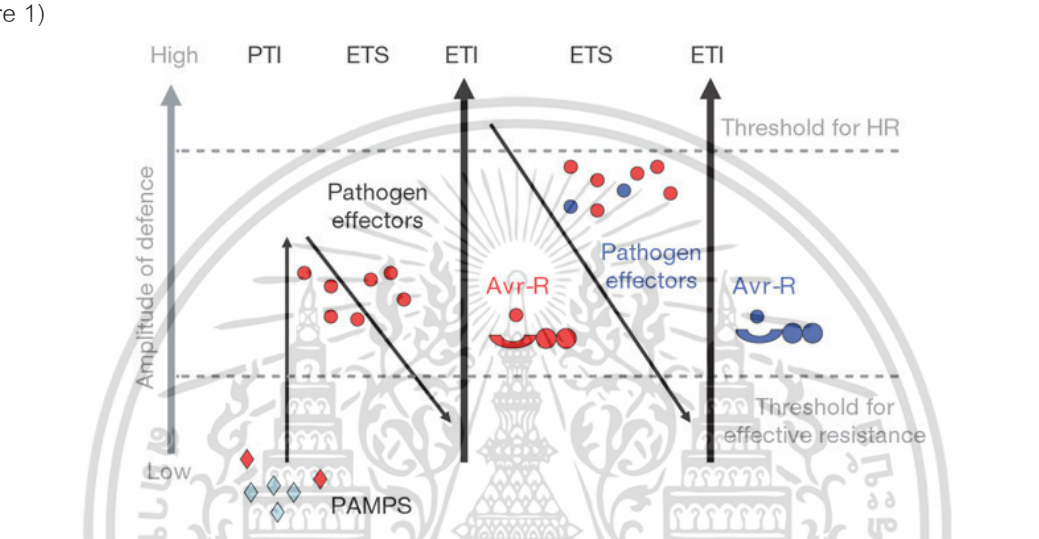

Figure 1 A zigzag model illustrates the quantitative output of the plant immune system: PAMPS; pathogen-associated molecular pattern, PTI; PAMP-triggered immunity, ETS; effector-triggered susceptibility, ETI; effector-triggered immunity, Avr; avirurence protein, R; resistance protein, HR; hypersensitive reaction. (Jones and Dangl, 2006).

ความต้านทานที่พืชถูกเหนี่ยวนำให้สร้างแพร่กระจายทั้งต้น (Systemic acquired resistance)

ในปี 1933 ได้เริ่มมีการค้นพบว่าเมื่อพืชถูกเชื้อสาเหตุโรคเข้าทำลาย จะมีลักษณะตอบสนองต่อการเข้าทำลายคล้ายกับระบบภูมิคุ้มกัน (immune system) ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม จากนั้น Dean and Kuc (1985) ได้ทดลองปลูกเชื้อสาเหตุโรคพืชชนิดที่ก่อให้เกิดอาการแผลจุด (necrosis) บนใบพืชที่ได้รับการปลูกเชื้อ เมื่อนำมาปลูกเชื้อสาเหตุโรคชนิดเดียวกันที่ใบที่อยู่ตำแหน่งอื่นๆ ในเวลาต่อมา พบว่าใบพืชที่ถูกปลูกเชื้อครั้งหลังไม่แสดงอาการของโรค ซึ่งลักษณะการตอบสนองรูปแบบนี้ได้รู้จักกันในชื่อ systemic acquired resistance หรือ SAR (Figure 2) จากการทดลองนี้ทำให้เกิดคำถามว่าความต้านทานถูกส่งจากใบที่ได้รับการปลูกเชื้อครั้งแรกไปสู่ใบที่อยู่ห่างออกไปได้อย่างไร คณะของ Malamy (Malamy *et al*., 1990) และ Métraux (Métraux *et al*., 1990) ได้นำเสนอผลการตรวจวิเคราะห์สารที่หลั่งมาจากท่อลำเลียงอาหาร (phloem) ที่อยู่ระหว่างใบที่ได้รับเชื้อครั้งแรกและใบที่ได้รับเชื้อครั้งที่สอง พบว่ามีกรดซาลิไซลิค (salicylic acid) หรือ SA จำนวนมากกว่าพืชปกติ ดังนั้น SA จึงเป็นโมเลกุลที่คาดว่ามีบทบาทสำคัญในความต้านทานแบบ SAR สมมติฐานนี้ได้รับการพิสูจน์โดยคณะของ Gaffney (Gaffney *et al*., 1993) ด้วยการถ่ายยีน *nahG* ซึ่งทำหน้าที่สังเคราะห์เอนไซม์ salicylate hydroxylase จากเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas putida* เข้าสู่ต้นยาสูบสายพันธุ์ *NN* ผลจากการถ่ายยีนดังกล่าวทำให้ SA ที่ต้นยาสูบผลิตได้สูญเสียคุณสมบัติ และต้นยาสูบที่ถ่ายยีนจะไม่มีการสังเคราะห์โปรตีน PR-1 ที่เป็นลักษณะสำคัญ (phenotype) ของการเกิด SAR ส่งผลให้ต้นยาสูบอ่อนแอต่อไวรัส TMV (*Tobacco mosaic virus*) ในขณะที่ต้นที่ไม่ได้รับการถ่ายยีนจะแสดงอาการแผลจุด (necrosis) เพื่อจำกัดการแพร่ของไวรัส ซึ่งเป็นลักษณะของพันธุ์ยาสูบที่ต้านทานต่อ TMV

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

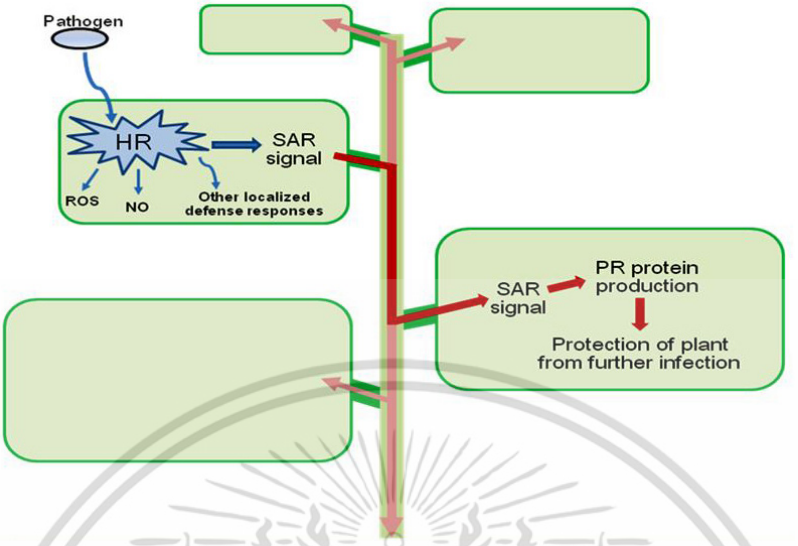

Figure 2 Schematic representation of systemic acquired resistance (SAR) in plants upon pathogen attacks: ROS; reactive oxygen species, NO; nitric oxide, PR protein; pathogenesis-related protein.

ทั้งนี้ ยังไม่มีรายงานที่ชัดเจนถึงบทบาทของ SA ในการสร้างหรือส่งสัญญาณความต้านทานจากใบที่ได้รับการกระตุ้นไปยังส่วนของพืชที่อยู่ห่างออกไป นอกจากการพบว่าภายหลังจากที่ SA ถูกสังเคราะห์ขึ้นในคลอโรพลาสต์ จะมีการเติมกลูโคสเข้าไปที่โมเลกุลของ SA (SA glucoside หรือ SAG) และส่งไปเก็บไว้ที่แวคิวโอล เมื่อพืชถูกเชื้อสาเหตุโรคเข้าทำลายหรือถูกกระตุ้น โมเลกุล SAG จะเกิดการไฮโดรไลซ์เพื่อให้ได้โมเลกุล SA อิสระอีกครั้ง การทดลองทำให้ยีนต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์ SA เกิดการกลายพันธุ์มีผลทำให้พืชไม่สังเคราะห์โปรตีน PR-1 ที่เป็นโปรตีนเครื่องหมายของกระบวนการ SAR รวมทั้งสูญเสียความต้านทานโรค พบว่ายีน *ICS1* ซึ่งสังเคราะห์เอนไซม์ isochorismate synthase ของกระบวนการสังเคราะห์ SA ในคลอโรพลาสต์ (Wildermuth *et al*., 2001) หรือยีนสังเคราะห์โปรตีน EDS5 ที่สันนิษฐานว่ามีหน้าที่ในการขนย้าย SA หรือสารตั้งต้น (precursor) ของ SA ผ่านเข้า/ออกคลอโรพลาสต์ (Nawrath *et al*., 2002) หรือยีน *SARD1* และยีน *CBP60g* ที่เข้าจับกับโปรโมเตอร์ในการควบคุมกระบวนการลอกรหัส (transcription) ของยีน *ICS1* (Zhang *et al*., 2010) นอกจากนี้ ผลการศึกษาหน้าที่ของโปรตีน NPR1 โปรตีน NPR3 และโปรตีน NPR4 ในต้น *A. thaliana* พบว่าโมเลกุล SA กระตุ้น SAR โดยเข้าจับกับโปรตีน NPR3 และ NPR4 ที่ทำหน้าที่เป็นตัวปรับสภาพ (adaptor) ของโปรตีน NPR1 โดยตรงเพื่อกระตุ้นการทำงานของโปรตีน NPR1 อย่างสมบูรณ์ (Fu and Dong, 2013) ผลของการทำให้ยีน *NPR3* และ *NPR4* กลายพันธุ์ในต้นเดียวกัน (*npr3 npr4*) ทำให้ต้น *A. thaliana* มีความต้านทานโรคเพิ่มขึ้น แต่การกลายพันธุ์ทั้ง 3 ยีนในต้นเดียวกัน (*npr1 npr3 npr4*) กลับพบว่าพืชแสดงความอ่อนแอต่อโรค จึงสันนิษฐานได้ว่ายีน *NPR1* มีความสำคัญในกระบวนการสร้างความต้านทานแบบ SAR (Zhang *et al*., 2006; Wu *et al*., 2012)

การเหนี่ยวนำความต้านทานอาจเกิดได้จากการครอบครองรากพืชของจุลินทรีย์บางชนิด Pieterse *et al*., (1996) พบว่ากลไกที่ควบคุมลักษณะความต้านทานเชื้อรา *Fusarium oxysporum* และแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* ของต้น *A. thaliana* เกิดขึ้นเมื่อมีการเติมแบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescens* ลงในดินปลูก โดยผลการครอบครองรากของแบคทีเรีย *P. fluorescens* จะกระตุ้นความต้านทานผ่านกลไกที่ไม่เกี่ยวข้องกับวิถี SA (SA-independent systemic reaction) และไม่มีการสะสมโปรตีน PR-1 แต่ตรวจพบการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ฮอร์โมนอื่น เช่น กรดจัสโมนิก (jasmonic acid) หรือ เอธิลีน (ethylene) ที่ใบของต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

A. thaliana หลังการเติม *P. fluorescens* ลงในดินปลูก ซึ่งเรียกลักษณะความต้านทานนี้ว่า induced systemic resistance หรือ ISR (Van Loon *et al*., 1998) อย่างไรก็ตาม Tjamos *et al.* (2005) พบว่ากลไกที่เกิดขึ้นในต้น *A. thaliana* ที่แสดงลักษณะต้านทานเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวคือ *Verticillium dahlia* หลังการเติมแบคทีเรีย *Paenibacillus alvei* สายพันธุ์ K165 ที่มีคุณสมบัติเป็นจุลินทรีย์ชีวภาพ (biocontrol agent) ลงในวัสดุปลูกเป็นกลไกที่ต้องอาศัย SA

แนวทางการนำไปใช้ในการพัฒนาพืชต้านทานโรคและข้อจำกัด

ผลการศึกษากลไกที่พืชใช้ต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคหรือจุลินทรีย์อื่น ๆ มีประโยชน์โดยตรงสำหรับนักปรับปรุงพันธุ์พืชในการสร้างพืชให้มียีนควบคุมลักษณะต้านทานหรือทนต่อโรคไปพร้อม ๆ กับการปรับปรุงลักษณะดีอื่นๆ ของพืช แต่พืชอาจสูญเสียลักษณะต้านทานนี้หากเชื้อสาเหตุโรคสามารถปรับตัวเข้าทำลายพืชได้ นักปรับปรุงพันธุ์จึงต้องพัฒนาพืชต้านทานโรคสายพันธุ์ใหม่ตลอดเวลา แนวทางหนึ่งในการพัฒนาพืชให้คงคุณสมบัติต้านทานโรคเป็นระยะเวลานานขึ้น คือการปรับปรุงพันธุ์พืชโดยรวมยีนลักษณะดีและต้านทานโรคหลายยีนไว้ในต้นเดียวกัน (gene pyramiding) ทำให้พืชมีลักษณะต้านทานโรคแบบกว้างหรือ broad spectrum resistance

การเหนี่ยวนำให้พืชต้านทานโรคเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่ได้ผลดีกับพืชหลายชนิดในระดับห้องปฏิบัติการ ผลการเหนี่ยวนำทำให้พืชทนต่อการเข้าทำลายโดยเชื้อสาเหตุโรคและให้ผลผลิตมากกว่าพืชต้นที่ไม่ได้รับการเหนี่ยวนำ ลักษณะต้านทานที่เกิดขึ้นโดยวิธีการนี้อาจคงอยู่ในพืชระยะเวลานานหลายวัน เป็นสัปดาห์ หรือหลายสัปดาห์ภายหลังจากที่พืชได้รับการเหนี่ยวนำขึ้นอยู่กับชนิดพืช อายุของพืช และสิ่งที่ใช้เหนี่ยวนำ อย่างไรก็ตาม ปัจจัยสภาพแวดล้อมของพืชเป็นข้อจำกัดที่สำคัญของการเหนี่ยวนำให้พืชต้านทานโรคในระดับแปลงปลูก ทำให้วิธีการนี้ยังไม่ประสบความสำเร็จมากนัก ดังนั้น การนำผลการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการที่มีประสิทธิภาพดีไปศึกษาขยายผลและปรับใช้กับพืชในแปลงปลูกจะเป็นแนวทางให้เกษตรกรสามารถนำวิธีการเหนี่ยวนำให้พืชต้านทานโรคไปใช้ประโยชน์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพื่อเป็นทางเลือกในการป้องกันกำจัดโรคพืชอีกวิธีหนึ่งในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

Bent, A. F. and D. Mackey. 2007. Elicitors, effectors, and R genes: The new paradigm and a lifetime supply of questions. Annu. Rev. Phytopathol. 45: 399-436.

Buchanan, B. B., W. Gruissem and R. L. Jones. 2000. Biochemistry and molecular biology of plants. ASPP press, Rockville.

Dean, R. A. and J. Kuc. 1985. Induced systemic protection in plants. Trends Biotechnol. 3: 125-129.

Fu, Z. Q. and X. Dong. 2013. Systemic acquired resistance: Turning local infection into global defense. Annu. Rev. Plant Biol. 64: 7.1-7.25.

Gaffney, T., L. Friedrich, B. Vernooij, D. Negrotto, G. Nye, S. Uknes, E. Ward, H. Kessmann and J. Ryals. 1993. Requirement of salicylic acid for the induction of systemic acquired resistance. Science 261: 754-756.

Jones, J. D. and J. L. Dangl. 2006. The plant immune system. Nature 444: 323-9.

Lucas, J. B. 1998. Plant Pathology and Plant Pathogens, Blackwell Science. Oxford, UK.

Malamy, J., J. P. Carr, D. F. Klessig and I. Raskin. 1990. Salicylic acid: a likely endogenous signal in the resistance response of tobacco to viral infection. Science 250: 1002-1004.

Métraux, J. P. 2011. Special course: Plant-Pathogen Interactions. Center for Agricultural Biotechnology, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom, Thailand.

Métraux, J. P., H. Signer, J. Ryals, E. Ward, M. Wyss-Benz, J. Gaudin, K. Raschdorf, E. Schmid, W. Blum and B. Inverardi. 1990. Increase in salicylic acid at the onset of systemic acquired resistance in cucumber. Science 250: 1004-1006.

Mur, L. A. J., P. Kenton, A. J. Lloyd, H. Ougham and E. Prats. 2008. The hypersensitive response; the centenary is upon us but how much do we know? J. Exp. Bot. 59: 501-520.

Nanda, A. K., E. Andrio, D. Marino, N. Pauly and C. Dunand. 2010. Reactive oxygen species during plant-microorganism early interactions. J. Integr. Plant Biol. 52: 195-204.

Nawrath, C., S. Heck, N. Parinthawong and J. P. Métraux. 2002. EDS5, an essential component of salicylic acid-dependent signaling for disease resistance in Arabidopsis, is a member of the MATE transporter family. Plant Cell 14: 275-286.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Nurnberger, T., F. Brunner, B. Kemmerling and L. Piater. 2004. Innate immunity in plants and animals: striking similarities and obvious differences. Immunol. Rev. 198: 249-266.

Pieterse, C. M. J., S. C. M. Van Wees, E. Hoffland, J. A. Van Pelt and L. C. Van Loon. 1996. Systemic resistance in Arabidopsis induced by biocontrol bacteria is independent of salicylic acid accumulation and pathogenesis-related gene expression. Plant Cell 8: 1225-1237.

Sels, J., J. Mathys, B. M. De Coninck, B. P. Cammue and M. F. De Bolle. 2008. Plant pathogenesis-related (PR) proteins: a focus on PR peptides. Plant Physiol. Biochem. 46: 941-50.

Shao, F., C. Golstein, J. Ade, M. Stoutemyer, J. E. Dixon and R. W. Innes. 2003. Cleavage of Arabidopsis PBS1 by a bacterial type III effector. Science 301: 1230-1233.

Thomma, B. P. H. J., T. Nurnberger and M. H. A. J. Joosten. 2011. Of PAMPs and effectors: The blurred PTI-ETI dichotomy. Plant Cell 23: 4-15.

Tjamos, S. E., E. Flemetakis, E. J. Paplomatas and P. Katinakis. 2005. Induction of resistance to *Verticillium dahliae* in *Arabidopsis thaliana* by the biocontrol agent K-165 and pathogenesis-related proteins gene expression. Mol. Plant Microbe Interact. 18: 555-61.

Van Breusegem, F. and J. F. Dat. 2006. Reactive oxygen species in plant cell death. Plant Physiol. 141: 384-390.

Van den Burg, H. A., S. J. Harrison, M. Joosten, J. Vervoort and P. de Wit. 2006. *Cladosporium fulvum* Avr4 protects fungal cell walls against hydrolysis by plant chitinases accumulating during infection. Mol. Plant Microbe Interact. 19: 1420-1430.

Van Esse, H. P., M. D. Bolton, L. Stergiopoulos, P. de Wit and B. Thomma. 2007. The chitin-binding *Cladosporium fulvum* effector protein Avr4 is a virulence factor. Mol. Plant Microbe Interact. 20: 1092-1101.

Van Loon, L. C., P. A. H. M. Bakker and C. M. J. Pieterse. 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. Annu. Rev. Phytopathol. 36: 453-483.

Wildermuth, M. C., J. Dewdney, G. Wu and F. M. Ausubel. 2001. Isochorismate synthase is required to synthesize salicylic acid for plant defence. Nature 417: 562-565.

Wu, Y., D. Zhang, Jee Y. Chu, P. Boyle, Y. Wang, Ian D. Brindle, V. De Luca and C. Després. 2012. The Arabidopsis NPR1 protein is a receptor for the plant defense hormone salicylic acid. Cell Rep. 1: 639-647.

Zhang, Y., Y. T. Cheng, N. Qu, Q. Zhao, D. Bi and X. Li. 2006. Negative regulation of defense responses in Arabidopsis by two NPR1 paralogs. Plant J. 48: 647-656.

Zhang, Y., S. Xu, P. Ding, D. Wang, Y. T. Cheng, J. He, M. Gao, F. Xu, Y. Li, Z. Zhu and X. Li. 2010. Control of salicylic acid synthesis and systemic acquired resistance by two members of a plant-specific family of transcription factors. Proc Natl Acad Sci USA. doi:10.1073/pnas.1005225107.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้