รายงานการวิจัย

การแสดงออกของยีนต้านเชื้อรา (เบต้า-1,3-กลูคาเนสและไคติเนส) ในยางพารา

Expression of antifungal genes (beta-1,3-glucanase and chitinase) in *Hevea brasiliensis*

ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
ผศ. ดร. นันทา เชิงเชาว์

งบประมาณประจำปี พ.ศ.2541 และ 2542

เลขหมู่
Bib Key 212237
20 ก.ค. 2544

บทคัดย่อ

การบ่มใบยางด้วยสปอร์ของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* ความเข้มข้น $1x10^7$ สปอร์/มล. สามารถกระตุ้นการแสดงออกของยีนต้านเชื้อรา (เบต้า-1,3-กลูคาเนสและไคติเนส) โดยตรวจพบแอคติวิตีของเอนไซม์ทั้งสอง (72 ชม. หลังการติดเชื้อ) เพิ่มขึ้นประมาณ 2-3 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองชุดควบคุม หลังจากบ่มด้วยเชื้อรา ใบยางพันธุ์ BPM-24 (พันธุ์ต้านทาน) ถูกกระตุ้นให้มีการแสดงออกของยีนทั้งสองได้เร็วกว่า และสามารถรักษาระดับของเอนไซม์ดังกล่าวไว้ได้นานกว่าพันธุ์ RRIM600 (พันธุ์อ่อนแอ) นอกจากนี้ในยางพาราทั้งสองพันธุ์ ค่าโปรตีนรวม (โปรตีนอื่นๆซึ่งรวมถึงเอนไซม์ทั้งสองด้วย) ก็ถูกกระตุ้นโดยเชื้อราให้เพิ่มขึ้นในปริมาณและอัตราเร็วที่คล้ายคลึงกับการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ทั้งสอง ในการทดลองชุดควบคุมตรวจพบเบต้า-1,3-กลูคาเนส จำนวน 1 ไอโซไซม์ (c) และ 3 ไอโซไซม์ (a, b, c) ในใบยางพันธุ์ RRIM600 และ BPM-24 ตามลำดับ หลังจากบ่มด้วยเชื้อรา ไอโซไซม์ a, b และ c ไม่ตอบสนองต่อเชื้อรา แต่ปรากฏแถบใหม่เพิ่มขึ้นพันธุ์ละ 1 ไอโซไซม์ (d) ซึ่งมีขนาดเท่ากัน และตรวจพบไคติเนสจำนวน 2 ไอโซไซม์ (x, y) และ 3 ไอโซไซม์ (x, y, z) ในยางชุดควบคุมพันธุ์ RRIM600 และ BPM-24 ตามลำดับ หลังจากบ่มด้วยเชื้อราพบว่าไอโซไซม์ y และ z มีการแสดงออกมากขึ้น ในขณะที่ไอโซไซม์ x มีปริมาณลดลงหลังติดเชื้อรา 72 ชม. ไอโซไซม์ z ซึ่งพบเฉพาะในยางพันธุ์ BPM-24 และพันธุ์อื่นๆที่มีความต้านทานต่อเชื้อรา อาจมีบทบาทสำคัญต่อการต้านทานโรคในยางพารา สำหรับการแสดงออกของยีนในระดับอาร์เอ็นเอ ผู้วิจัยไม่สามารถติดตามผลการเพิ่มขึ้นของอาร์เอ็นเอของเอนไซม์เบต้า-1,3-กลูคาเนสและไคติเนส แม้ว่าอาร์เอ็นเอที่เตรียมได้อยู่ในสภาพดีคือไม่ถูก degrade และดีเอ็นเอติดตามก็ไม่มีปัญหาเรื่อง homology และการติดฉลาก อย่างไรก็ตามผู้วิจัยได้แสดงให้เห็นการเพิ่มขึ้นของอาร์เอ็นเอรวมหลังการติดเชื้อรา ซึ่งจะรวมถึงอาร์เอ็นเอของเอนไซม์ทั้งสองด้วย เพราะในพืชชนิดอื่นได้มีการรายงานไว้ว่า ยีนของเอนไซม์ดังกล่าวถูกกระตุ้นที่ระดับ transcription

Abstract

Hevea brasiliensis leaves inoculated with $1x10^7$ spores/ml of *Phytophthora palmivora* induced expressions of antifungal genes (beta-1,3-glucanase and chitinase). Seventy-two hour after inoculation, activities of these enzymes were about 2-3 folds higher than those determined in the control leaves. A resistant clone (BPM-24) produced the two enzymes more rapidly and lasted longer than a susceptible clone (RRIM600). In addition, both *Hevea* clones released total proteins (other proteins including beta-1,3-glucanase and chitinase) at the level and rate similar to the two enzymes. One isozyme (a) and 3 isozymes (a, b, c) of beta-1,3-glucanase were detected in the control leaves of RRIM600 and BPM-24 clones, respectively. While the levels of isozymes a, b, c did not respond to fungal infection, an extra isozyme (d) with the same size in both clones was induced after inoculation. Two isozymes (x, y) and three isozymes (x, y, z) of chitinase were observed in the control leaves of RRIM600 and BPM-24 clones, respectively. The isozymes y and z were increased by fungal infection whereas the isozyme x was decreased after 72 h. of inoculation. The isozyme z which appeared only in the BPM-24 and in the other *Hevea* resistant clones may be responsible for the resistance of *Hevea* leaves. Even though the purified RNAs were intact and the cDNA probe did not have problems with homology and labelling, expressions of beta-1,3-glucanase and chitinase genes at the level of RNA were not able to pursue. However, the level of total RNA was shown to express much higher after fungal infection. The increase of total RNA will include the RNAs of the two enzymes because, as reported in other plants, they were induced at the level of transcription.