การเปลี่ยนแปลงตำแหน่งเข้าทำปฏิกิริยาที่เป็นกลไกของความต้านทานสารกำจัดวัชพืช

Altered Target Sites as a Mechanism of Herbicide Resistance

ทศพล พรพรหม[1/]

Tosapon Pornprom[1/]

ABSTRACT

Development of herbicide-resistant crops has been generated, utilized either conventional and, mutation breeding or genetic engineering approaches, to be resistant to herbicides. Herbicide resistance can be due to target site-based or non-target site-based mechanisms. To date, most of the reported herbicide resistance in plants has been linked to target site modification. Mechanisms of target site-based herbicide resistance of the amino acid synthesis inhibitors are reviewed in this paper, with emphasis on the biochemical and molecular basis as acetolactate synthase (ALS) and glutamine synthetase (GS) gene mutation. It is possible that the herbicide-resistant crops show a point mutation as base-pair substitution in the partial of ALS and GS gene. The substitution results in a modified amino acid sequence in the ALS and GS protein as target site-based resistance, and making it less sensitive to inhibitory effect of herbicide. This suggests that the mechanisms of target site-based herbicide resistance may be occurred after the translation or post translation in the ALS and GS gene. Altered target-site mutation in the ALS and GS gene may confer mechanism resistance to amino acid synthesis inhibitors, so that it is technically possible to develop the herbicide resistance trait in many crops.

Key words: acetolactate synthase (ALS), amino acid synthesis inhibitors, glutamine synthetase (GS), herbicide-resistant crops, point mutation

[1/] ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

[1/] Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Kamphaeng Saen campus, Kamphaeng Saen district, Nakhon Pathom 73140

บทคัดย่อ

การพัฒนาพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืชนั้น สามารถทำการคัดเลือกได้ทั้งจากวิธีการผสมพันธุ์พืช การคัดเลือกจากการกลายพันธุ์ หรือโดยการใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมด้านพืช เพื่อให้มีความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช กลไกของความต้านทานสารกำจัดวัชพืชนั้น สามารถเกิดขึ้นได้ที่เป็นแบบตำแหน่งเป้าหมาย หรือไม่ใช่ตำแหน่งเป้าหมาย ที่สารกำจัดวัชพืชแสดงปฏิกิริยาการยับยั้งภายในพืช ปัจจุบันนี้ส่วนใหญ่ความต้านทานสารกำจัดวัชพืชในพืชปลูกมีความเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงตำแหน่งเป้าหมายที่สารกำจัดวัชพืชแสดงปฏิกิริยาการยับยั้งภายในพืช จึงได้รายงานเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงตำแหน่งเป้าหมาย ที่สารกำจัดวัชพืชเข้าทำปฏิกิริยา ซึ่งเกิดขึ้นในพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืชในกลุ่มที่ยับยั้งการสร้างกรดอะมิโน โดยที่มุ่งเน้นเกี่ยวกับกลไกพื้นฐานทางชีวเคมีและชีวโมเลกุล ในการเปลี่ยนแปลงตำแหน่งที่สารกำจัดวัชพืชเข้าทำปฏิกิริยา ที่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ของยีนอะซิโตแลคเตทซินเธท (acetolactate synthase, ALS) และกลูตามีนซินเธเทส (glutamine synthase, GS) ซึ่งเป็นไปได้ว่าในพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืช จะมีการกลายพันธุ์เฉพาะจุดที่เป็นแบบการแทนที่ลำดับเบสในบางส่วนของยีน ALS และ GS ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนและโครงสร้างโปรตีนของยีน ALS และ GS ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงตำแหน่งเป้าหมาย ที่เข้าทำปฏิกิริยาเป็นแบบการตอบสนองน้อยต่อสารกำจัดวัชพืช ซึ่งแสดงการเปลี่ยนแปลงตำแหน่งเป้าหมายที่สารกำจัดวัชพืชเข้าทำปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืช อาจเกิดขึ้นในช่วง translation หรือ posttranslation ของยีน ALS และ GS โดยที่การเปลี่ยนแปลงตำแหน่งที่สารกำจัดวัชพืชเข้าทำปฏิกิริยาภายในพืชซึ่งเป็นกลไกของความต้านทานสารกำจัดวัชพืช ในกลุ่มที่ยับยั้งการสร้างกรดอะมิโน ที่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ของยีน ALS และ GS นั้น สามารถนำไปใช้ในการพัฒนาพืชปลูกหลายชนิด ให้มีความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืชได้ต่อไป

คำหลัก: อะซิโตแลคเตทซินเธท สารที่ยับยั้งการสร้างกรดอะมิโน กลูตามีนซินเธเทส ความต้านทานสารกำจัดวัชพืชในพืชปลูก การกลายพันธุ์เฉพาะจุด

คำนำ

สารกำจัดวัชพืชหลายชนิดที่มีการเลือกทำลาย โดยมีการตอบสนองกับพืชชนิดหนึ่ง แต่อาจจะมีการตอบสนองน้อย หรือไม่มีเลยกับพืชอีกชนิดหนึ่ง ในพืชชนิดเดียวกันแต่มีพันธุกรรมที่แตกต่างกัน จะมีความต้านทานสารกำจัดวัชพืชชนิดใดชนิดหนึ่งที่แตกต่างกัน พันธุ์พืชปลูกในประเทศไทยมีน้อยชนิด จึงมักไม่ค่อยมีความแตกต่างของความต้านทานเกิดขึ้นระหว่างพันธุ์ อย่างไรก็ตามในพันธุ์ข้าว ข้าวโพดและอ้อย ซึ่งมีพันธุ์ต่าง ๆ ปลูกอยู่มากมาย ย่อมมีความแตกต่างทางด้านความต้านทานสารกำจัดวัชพืช แสดงว่าการตอบสนองของพืชที่มีต่อสารกำจัด

วัชพืชนั้น มีความเกี่ยวข้องกับกลไกพื้นฐานทางด้านสรีรวิทยา ชีวเคมีและชีวโมเลกุลที่เกิดขึ้นภายในพืช ซึ่งเป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องและมีความซับซ้อนมาก โดยที่ Devine และ Shukla (2000) รายงานว่ามีหลายกลไกที่ทำให้พืชเกิดความต้านทานสารกำจัดวัชพืช ได้แก่ พืชไม่สามารถรับสารกำจัดวัชพืชเข้าสู่ภายในต้นได้ เมื่อสารเข้าสู่พืชแล้วการเคลื่อนย้ายภายในพืชจะลดลง พืชจะทำลายพิษของสารก่อนที่จะทำให้เกิดความเสียหายแก่พืช หรือสารอาจไม่ออกฤทธิ์ในตำแหน่งที่เข้าทำปฏิกิริยาที่อยู่ภายในต้นพืช เป็นต้น ส่วนใหญ่ในปัจจุบันนี้ได้มีการค้นพบกลไกของความต้านทานสารกำจัดวัชพืชว่าสามารถเกิดขึ้นได้ทั้งที่เป็นแบบตำแหน่งเป้าหมาย หรือไม่ใช่ตำแหน่งเป้าหมาย ที่สารกำจัดวัชพืชแสดงปฏิกิริยาการยับยั้งภายในพืช (Corbett and Tardif, 2006) บทความนี้ได้มุ่งเน้นที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงตำแหน่งเป้าหมายที่เข้าทำปฏิกิริยา ที่เกิดขึ้นในพืชต้านทานสารในกลุ่มที่ยับยั้งการสร้างกรดอะมิโน (amino acid synthesis inhibitors) เท่านั้น

โดยทั่วไปการสังเคราะห์กรดอะมิโนภายในพืชชั้นสูงนั้น จะมีเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการสังเคราะห์กรดอะมิโนอยู่เพียง 3 ชนิด ซึ่งเป็นตำแหน่งเป้าหมายที่สารเข้าทำปฏิกิริยาการยับยั้งภายในพืช (Tan *et al.*, 2006) ได้แก่ EPSPs (5-enolpyruvyl-shikimate-3-phosphate synthase), อะซิโตแลคเตทซินเธท (acetolactate synthase, ALS) หรืออาจเรียกว่าอะซิโตไฮดรอกซีแอซิดซินเธท (acetohydroxyacid synthase, AHAS) และ กลูตามินซินเธเนล (glutamine synthetase, GS) (Figure 1) ซึ่งเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดนี้ มักจะอยู่ในสารสีพวกคลอโรพลาสท์ (chloroplast) อะมิโลพลาสท์ (amyloplasts) ลิวโคพลาสท์ (leucoplast) หรือโพรพลาสทิด (proplastid) แต่เอนไซม์เหล่านี้ถูกควบคุมโดยยีนที่อยู่ในนิวเคลียส ในแต่ละกรณีจะไม่มีวิถีการเมแทบอลิซึมการสังเคราะห์กรดอะมิโนชนิดอื่น ๆ ที่จะสามารถทดแทนวิถีเหล่านี้ได้ จึงมีโอกาสสูงที่พืชชั้นสูงจะต้านทานสารกำจัดวัชพืชที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดนี้ จะต้องพิจารณาแยกกันเป็นกรณีไป จึงได้เรียบเรียงจากผลงานวิจัยที่ผ่านมา ซึ่งได้ทำการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืชในพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดต่าง ๆ ได้แก่ อ้อย ถั่วเหลือง ข้าวโพดและถั่วเขียว เป็นต้น โดยที่มุ่งเน้นอธิบายเกี่ยวกับกลไกพื้นฐานในระดับชีวเคมีและชีวโมเลกุล ในการเปลี่ยนแปลงตำแหน่งที่เข้าทำปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ของยีน ALS และ GS ของพืชที่มีความต้านทานสารกำจัดวัชพืชในกลุ่มที่ยับยั้งการสร้างกรดอะมิโน ซึ่งสามารถช่วยให้เข้าใจถึงสาเหตุที่ทำให้พืชเกิดความต้านทานสารกำจัดวัชพืช รวมทั้งมีบทบาทสำคัญที่จะนำไปใช้ในขั้นตอนการผลิต และการปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อให้มีลักษณะที่ต้านทานสารกำจัดวัชพืชต่อไป

พืชต้านทานสารกำจัดวัชพืช

การตอบสนองของพืชต่อสารกำจัดวัชพืช (plant response to herbicides)

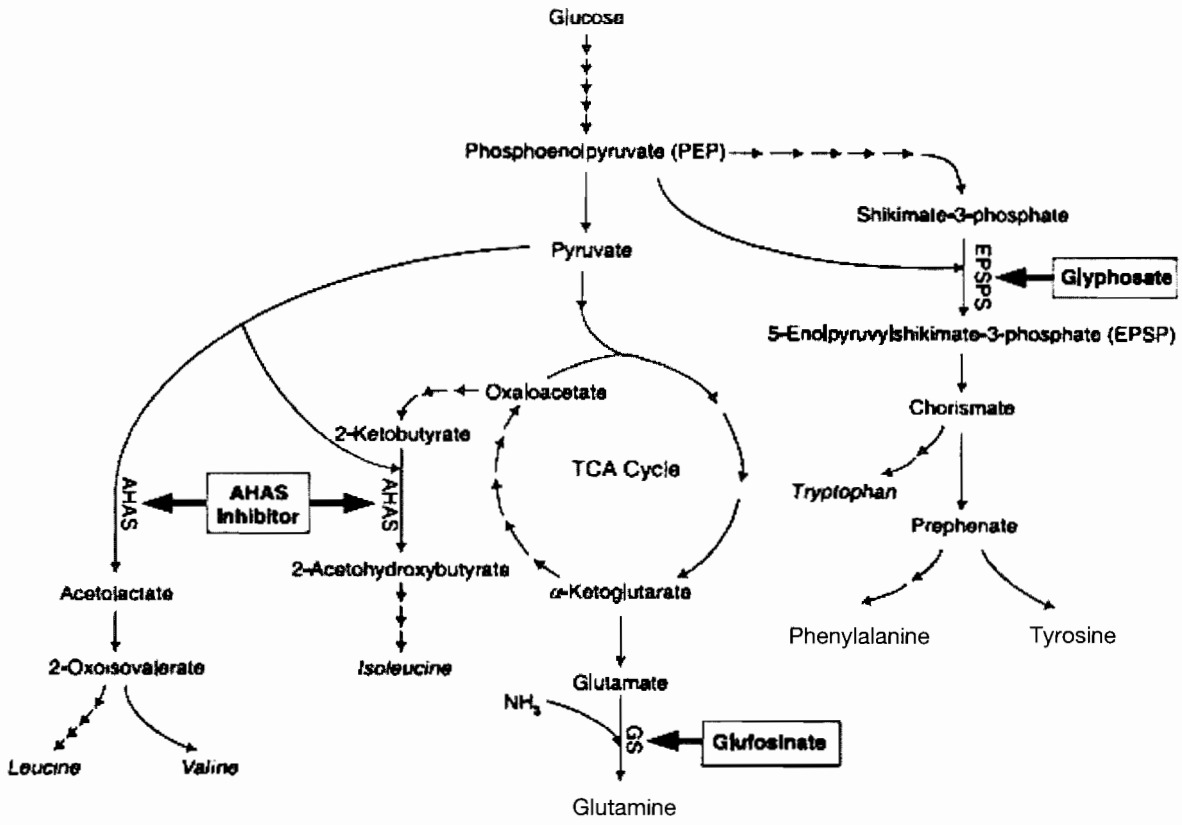

Figure 1. Sites of herbicide action in amino acid biosynthesis (ที่มา: Tan et al., 2006)

สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ลักษณะคือ ความทนทาน ความต้านทานและความอ่อนแอต่อสารกำจัดวัชพืช ซึ่งทางสมาคมวัชพืชแห่งประเทศสหรัฐอเมริกา (Anon, 1998) ได้ให้คำจำกัดความของลักษณะดังกล่าวในข้างต้นดังนี้

ความทนทานสารกำจัดวัชพืชในพืชปลูก (herbicide-tolerant crops) เป็นความสามารถของชนิดพืช (species) ในสภาพธรรมชาติที่มีชีวิตอยู่รอดและขยายพันธุ์ต่อไปได้ ภายหลังที่ได้รับสารกำจัดวัชพืช ซึ่งแสดงว่าพืชทนทานไม่ได้เกิดจากการคัดเลือกหรือวิธีการทางพันธุกรรมที่ทำให้พืชเกิดความทนทาน แต่เกิดจากความทนทานที่มีอยู่แล้วตามธรรมชาติ

ความต้านทานสารกำจัดวัชพืชในพืชปลูก (herbicide-resistant crops) เป็นความสามารถในการถ่ายทอดความมีชีวิตอยู่และขยายพันธุ์พืชได้อย่างปกติ ภายหลังจากที่ได้รับสารกำจัดวัชพืชในอัตราที่ทำให้พันธุ์ป่า (wild type) ตาย พืชต้านทานสารกำจัดวัชพืชอาจจะเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ หรือสร้างขึ้นโดยใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรม (genetic engineering) หรือการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ (mutagenesis) โดยการใช้เทคนิคของวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

ความอ่อนแอ (susceptibility) เป็นลักษณะของพืชที่มีการตอบสนองต่อสารกำจัดวัชพืชอย่างรวดเร็ว ซึ่งอาจวัดได้จากการเจริญเติบโตหรือผลผลิต แม้ในอัตราต่ำกว่าที่ใช้ตามปกติ (Holt and LeBaron, 1990)

ในการพัฒนาและสร้างสายพันธุ์พืชทนทาน หรือต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืชนั้น สามารถทำการศึกษาได้ทั้งในระดับที่เป็นต้นพืชทั้งต้น ในระดับที่เป็นเซลล์และในระดับชีวโมเลกุล (Dyer, 1996) ซึ่งแนวทางในการศึกษาดังกล่าวมีดังนี้

1. การศึกษาในระดับที่เป็นต้นพืช (whole plant selection)

โดยการคัดเลือกต้นพืชที่ไม่ถูกทำลายหรือถูกทำลายบางส่วนหลังจากที่ได้รับสารกำจัดวัชพืช ซึ่งต้นพืชดังกล่าวจะเป็นต้นที่ทนทานหรือต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืชนั้น ๆ และการผสมพันธุ์พืช (classical breeding) เป็นการนำพืชที่มีลักษณะทนทาน หรือต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืชผสมกับพืชปลูกที่ต้องการ เพื่อให้ได้สายพันธุ์ใหม่ที่มีความทนทาน หรือต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืชชนิดนั้น ๆ สำหรับการคัดเลือกพันธุ์พืชที่ทนทานต่อสารกำจัดวัชพืช โดยอาศัยการคัดเลือกในสภาพแปลงทดลองและเรือนทดลอง (field and greenhouse selection) สามารถทำการคัดเลือกพืชได้ในระดับที่เป็นพืชทั้งต้น โดยทำการฉีดพ่นสารกำจัดวัชพืชลงไปบนพืชปลูก ในช่วงระยะที่พืชมีการตอบสนองต่อสารกำจัดวัชพืชสูงสุด มีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเข้าทำลายพืชของสารกำจัดวัชพืช เป็นการศึกษาลักษณะกระบวนการทางสรีรวิทยาของพืช แต่การคัดเลือกในระดับที่เป็นพืชทั้งต้นนี้มีข้อจำกัดคือ ควบคุมสภาพแวดล้อมที่มีผลเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของพืชได้ค่อนข้างยาก ไม่ว่าจะเป็นแร่ธาตุอาหาร ความชื้น อุณหภูมิแสงและปัจจัยอื่น ๆ ซึ่งเกิดปัญหาเรื่องความเสียหายในเรื่องโรคและแมลงที่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของพืชได้ ตลอดจนมีประสิทธิภาพในการควบคุมอัตราความเข้มข้นของสารที่ใช้ได้ไม่ทั่วถึง เป็นต้น

การตอบสนองของพืชเมื่อได้รับสารกำจัดวัชพืชแตกต่างกัน อาจเนื่องมาจากปัจจัยทางสัณฐานวิทยา และสรีรวิทยาที่แตกต่างกันระหว่างพืชต่างชนิดกัน หรือระหว่างไบโอไทป์ของพืชชนิดเดียวกัน ซึ่งปกติเมื่อมีการใช้สารกำจัดวัชพืช จะมีการสะสมของสารภายในต้นพืชและเข้าสู่ตำแหน่งที่เกิดปฏิกิริยาในปริมาณที่ทำให้พืชนั้นตาย หากการใช้สารไม่สามารถทำให้พืชตายได้ อาจตั้งข้อสังเกตว่ามีการใช้สารผิดวิธีหรือปัญหาสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม เมื่อปัจจัยที่กล่าวมาได้รับการแก้ไขแล้ว แต่ไม่สามารถทำลายพืชได้ ก็อาจเนื่องมาจากลักษณะทางจีโนไทป์ที่ต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช

2. การศึกษาในระดับที่เป็นเซลล์ (cell culture selection)

โดยการคัดเลือก somatic cell ในสภาพปลอดเชื้อ (*in vitro* somatic cell selection) การชักนำให้เซลล์เกิดการกลายพันธุ์ (mutation breeding) และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (plant tissue culture) เป็นต้น สำหรับการคัดเลือกพันธุ์พืชที่ต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้นสามารถทำการคัดเลือกพืชได้ในระดับที่เป็นเซลล์พืช เป็นการคัดเลือกในอาหารที่ถูกสร้างให้มีสภาพเครียดจำลองขึ้น ซึ่งเป็นวิถีทางหนึ่งในการ

คัดเลือกในระดับเซลล์ เพื่อที่จะแยกลักษณะที่แตกต่างระหว่างเซลล์ปกติและเซลล์ที่เกิดการกลายพันธุ์ โดยใส่สารกำจัดวัชพืชทีละน้อยในอาหารสำหรับเลี้ยงเซลล์ ซึ่งอาศัยหลักการเพิ่มความเข้มข้นของสารกำจัดวัชพืชลงไปในอาหารเพาะเลี้ยง ที่มีประชากรเติบโตอยู่ทำให้เซลล์มีการปรับตัวได้ในที่สุด คัดเลือกเซลล์ที่สามารถรอดชีวิต เซลล์ของพืชอ่อนแอต่อสารสามารถกลายพันธุ์ได้ เมื่อเลี้ยงเซลล์นั้นในอาหารที่มีสารกำจัดวัชพืชดังกล่าว ทั้งนี้เนื่องจากเซลล์ที่เกิดขึ้นมาใหม่มีความแตกต่างกันทางลักษณะพันธุกรรม จึงทำให้มีความแตกต่างในด้านความต้านทานต่อสาร และสามารถที่จะถ่ายทอดลักษณะดังกล่าวไปสู่รุ่นลูกรุ่นหลานต่อไป (ทศพล, 2541) สำหรับการคัดเลือกพันธุ์พืชที่ต้านทานสารกำจัดวัชพืชโดยอาศัยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้น สามารถควบคุมสภาพแวดล้อมได้อย่างสม่ำเสมอ ลดปัญหาเรื่องของความเสียหายจากโรคและแมลง เนื่องจากอยู่ในสภาพปลอดเชื้อ สามารถควบคุมความแน่นอนของอัตราสารได้ และช่วยขจัดปัญหาเรื่องการเคลื่อนย้ายสาร ซึ่งอาจจะมีผลไปรบกวนต่อการดูดซึม และเคลื่อนย้ายของสารไปยังเป้าหมายที่สารเข้าทำปฏิกิริยาภายในพืช แต่การนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้มีข้อจำกัดในการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ จะมีการเปลี่ยนแปลงจำนวนชุดโครโมโซมเกิดขึ้นเรื่อย ๆ และไม่สามารถนำมาใช้ได้กับพืชทุกชนิด

3. การศึกษาที่เกี่ยวข้องในระดับชีวโมเลกุล (related studies at molecular level)

สิ่งมีชีวิตทุกชนิดประกอบด้วยสารพันธุกรรม ที่ทำหน้าที่เก็บรหัสเพื่อใช้ในการสร้างโปรตีนต่าง ๆ ที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของเซลล์ เรียกว่ายีนซึ่งเป็นหน่วยพันธุกรรม หรือหน่วยควบคุมลักษณะ การแสดงออกของยีนจะแสดงออกในรูปของลักษณะทางฟีโนไทป์ ข้อมูลทางพันธุกรรมเหล่านี้มีการแสดงออกผ่านทาง RNA ซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างโปรตีนที่มีความจำเพาะต่อลำดับนิวคลีโอไทด์นั้น ๆ ลักษณะทางฟีโนไทป์ที่ปรากฏในสิ่งมีชีวิต เกิดจากผลรวมของการทำงานร่วมกันของโปรตีนต่าง ๆ นั่นเอง การปรับปรุงพันธุ์ (พืช) เป็นกระบวนการที่ทำการศึกษา และนำเอาลักษณะทางพันธุกรรมที่ต้องการในสิ่งมีชีวิต (พืช) มาใช้ จึงจำเป็นต้องใช้เครื่องมือ (tools) ที่มีความแม่นยำในการแยกความแตกต่างของลักษณะที่แสดงออกเครื่องหมายโมเลกุลหรือเครื่องหมายดีเอ็นเอ เป็นลำดับเบสช่วงหนึ่งบนโครโมโซม ซึ่งสามารถบ่งบอกตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่งบนโครโมโซมที่ตรวจสอบได้ และมีการถ่ายทอดไปสู่รุ่นลูกได้

การพัฒนาสายพันธุ์พืชที่ต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืชนั้น สามารถทำการคัดเลือกได้ทั้งในระดับพืชทั้งต้น (whole plant selection) และในระดับเซลล์ (cell culture selection) ซึ่งเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่มีโอกาสประสบความสำเร็จสูง และก่อให้เกิดประโยชน์ในการคัดเลือกพันธุ์พืชที่ต้านทานสารกำจัดวัชพืช ซึ่งการคัดเลือกในระดับที่เป็นพืชทั้งต้นนั้น สามารถทำการคัดเลือกได้ทั้งในสภาพแปลงทดลองและเรือนทดลอง โดยทำการคัดเลือกต้นพืชที่ไม่ถูกทำลาย หรือถูกทำลายบางส่วนภายหลังจากที่ได้

รับสารกำจัดวัชพืช ส่วนการคัดเลือกในระดับเซลล์พืชโดยใช้วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้น สายพันธุ์พืชที่ต้านทานสารจะมีลักษณะภายนอกเปลี่ยนแปลงไป (phenotype change) อาจเนื่องจากเกิดการกลายพันธุ์ของสารพันธุกรรมในด้านความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช ซึ่งสามารถที่จะถ่ายทอดลักษณะดังกล่าวไปสู่รุ่นลูกรุ่นหลานต่อไปได้ หรืออาจจะเกิดจากการเปลี่ยนแปลงส่วนอื่น ๆ ที่ไม่ใช่สารพันธุกรรมและไม่สามารถถ่ายทอดไปยังรุ่นลูกได้

กลไกของความต้านทานสารกำจัดวัชพืช

ลักษณะกลไกของความต้านทานสารกำจัดวัชพืช (mechanism of herbicide resistance) สามารถเกิดขึ้นได้หลายระดับด้วยกัน ในปัจจุบันนี้การศึกษาเกี่ยวกับกลไกของความต้านทานสารกำจัดวัชพืชในกลุ่มที่ยับยั้งการทำงานของ ALS (Corbett and Tardif, 2006) ส่วนใหญ่จะเกี่ยวข้องกับตำแหน่งเป้าหมาย ที่สารกำจัดวัชพืชแสดงปฏิกิริยาการยับยั้งภายในพืช (target site-based) ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงของตำแหน่งเป้าหมายในการเข้าทำลายของสารกำจัดวัชพืช พบว่ามี 2 รูปแบบคือ การตอบสนองน้อย (less sensitivity) ต่อสารกำจัดวัชพืช และมีการสร้างเอนไซม์ที่มากกว่าปกติ (overproduction) ซึ่งส่วนใหญ่กลไกของความต้านทานสารจะเป็นแบบการตอบสนองน้อยต่อสารกำจัดวัชพืช ส่วนกรณีที่เป็นแบบไม่ใช่ตำแหน่งเป้าหมายนั้น จะเกี่ยวข้องกับการดูดซึมสารเข้าสู่ต้นพืช (uptake หรือ absorption) การเคลื่อนย้ายของสารไปยังตำแหน่งเป้าหมายที่ทำให้เกิดปฏิกิริยา (translocation) และกระบวนการเมตาบอลิซึมภายในเซลล์พืช (หรือการทำลายความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชภายในพืช) เพื่อที่จะทำให้สารกำจัดวัชพืชเข้าสู่ตำแหน่งเป้าหมายที่เข้าปฏิกิริยาการยับยั้งภายในพืชได้น้อยลงหรือช้าลง เป็นต้น ส่งผลทำให้การเลือกทำลายของสารกำจัดวัชพืช มีความจำเพาะต่อพืชในแต่ละชนิดแตกต่างกันไป นอกจากนี้ลักษณะกลไกต่าง ๆ ภายในต้นพืช เช่น กลไกทางชีวเคมี รวมทั้งลักษณะทางพันธุกรรมและชีวโมเลกุลของพืช ก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการตอบสนองของพืช ที่ทำให้เกิดความต้านทานสารกำจัดวัชพืชได้ ซึ่งพืชอาจมีกลไกในการทำลายสารพิษ หรือลดความรุนแรงของสารพิษที่ได้รับหลายกลไกด้วยกัน

ในปัจจุบันนี้ได้มีการนำเทคนิคทางด้านดีเอ็นเอมาใช้ในการศึกษา เกี่ยวกับกลไกของความต้านทานสารกำจัดวัชพืชกันมากขึ้น โดยที่การเปลี่ยนแปลงของตำแหน่งเป้าหมายในการเข้าทำลายของสารกำจัดวัชพืช จะเกี่ยวข้องกับการกลายพันธุ์ (mutation) ของยีน จากรายงานการศึกษาเกี่ยวกับพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืช ในกลุ่มที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ALS นั้น ส่วนใหญ่พบว่ามีการเกิดการกลายพันธุ์เป็นแบบ single amino acid ในตำแหน่งเป้าหมายที่สารกำจัดวัชพืชแสดงปฏิกิริยายับยั้งภายในพืช จะเกิดที่บริเวณอนุรักษ์ (conserved domain) ที่อยู่ภายในยีน ALS มีด้วยกัน 5 บริเวณ ได้แก่ บริเวณ A, B, C, D และ E (Figure 2) โดยที่

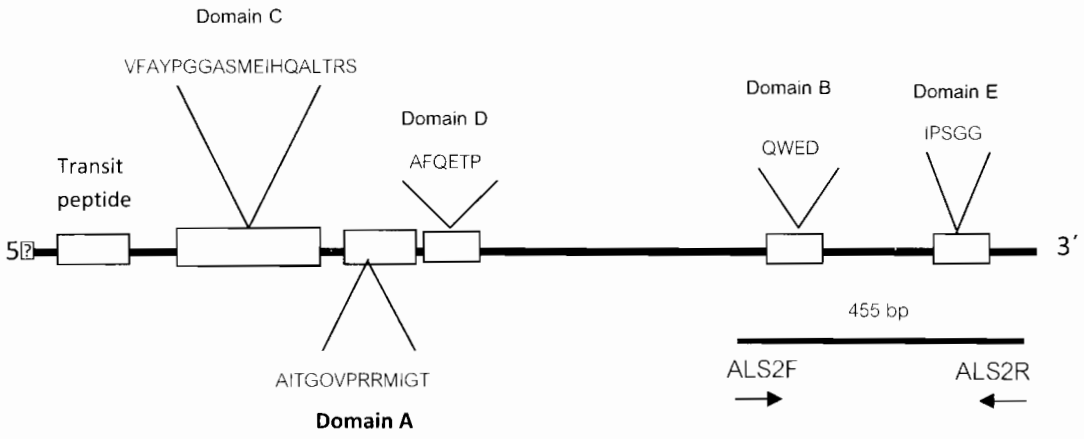

Figure 2. Diagram of the five domains involved in conferring resistance to various ALS inhibiting herbicides. (Devine and Shukla, 2000)

Devine และ Shukla (2000) ได้รายงานว่า ส่วนใหญ่ความต้านทานสารในกลุ่ม Imidazolinone นั้น มีระดับความต้านทานที่สูงเมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงที่บริเวณตำแหน่ง B, C และ E ยีนที่ควบคุมลักษณะทนทานหรือต้านทานสารกำจัดวัชพืช อาจเป็นผลมาจากการปรับตัวของพืชในธรรมชาติ โดยปกติประชากรที่ต้านทานสารกำจัดวัชพืชจะมีความแปรปรวนทางพันธุกรรมสูงกว่าในพืชทั้งต้นปกติ เนื่องจากมีการกลายพันธุ์เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ (spontaneous mutation หรือ somaclonal variation) ขณะเดียวกันอาจเกิด somatic crossover มีการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซม โดยที่ Hughes (1983) อธิบายไว้ว่าการพัฒนาพันธุ์พืชโดยใช้วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในพืชพวก haploid จะสามารถทำการศึกษาการกลายพันธุ์ได้ง่ายกว่า diploid ผลที่ได้อาจมีการเปลี่ยนแปลงของพวกปกติเกิดการกลายพันธุ์ และสามารถเกิดขึ้นในระดับ DNA หรือโครโมโซมส่วนที่ extra-nuclear DNA ก็พบที่ส่วนของคลอโรพลาสต์และไมโตรคอนเดรีย อาจเกิดการเปลี่ยนแปลงหนึ่งหรือมากกว่าหนึ่งนิวคลีโอไทด์ของโครงสร้าง DNA ในชุดโครโมโซม ซึ่งการเพาะเลี้ยงเซลล์ภายใต้สภาวะเครียด เป็นวิธีที่นิยมนำมาใช้ในการคัดเลือกลักษณะของการกลายพันธุ์ จากการสังเกตนี้จึงนำมาใช้เป็นแนวทางในการคัดเลือกพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืชต่อไป

ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับตำแหน่งเป้าหมายที่สารกำจัดวัชพืชแสดงปฏิกิริยาการยับยั้งภายในพืช ที่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ของ ALS และ GS โดยที่กลไกพื้นฐานของความต้านทานสารกำจัดวัชพืชที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ของพืชชนิดต่างๆ ได้แก่ ถั่วเหลือง (Pornprom *et al.*, 1994; Pornprom *et al.*, 2000; Pornprom *et al.*, 2005; Pornprom *et al.*, 2009) ข้าวโพด (Pornprom *et al.*, 2003; Chompoo and Pornprom, 2008) อ้อย (Punyadee *et al.*, 2007) และถั่วเขียว (Pornprom *et al.*, 2008)

อาจมีสาเหตุหนึ่งที่เกิดขึ้นได้จากการเปลี่ยนแปลงในกระบวนการทางชีวเคมี บริเวณตำแหน่งที่แสดงปฏิกิริยาการยั้บยั้งหรือทำลายภายในพืช ในการพิจารณาการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ ALS และ GS (Figure 3) พบว่าที่ 3-14 วันหลังจากได้รับสาร เซลล์ที่ต้านทานสารมีกิจกรรมของเอนไซม์ ALS และ GS มากกว่าเซลล์ปกติ (พืชที่อ่อนแอ) มีการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ ALS และ GS เกิดขึ้นที่แตกต่างกันไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช สารกำจัดวัชพืชและอัตราของสาร ซึ่งเซลล์ที่ต้านทานสารกำจัดวัชพืช มีการปรับตัวของกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ ALS และ GS เป็นแบบไม่ตอบสนอง (less sensitivity) ต่อสารกำจัดวัชพืชในกลุ่มที่ยับยั้งการสร้างกรดอะมิโน (amino acid synthesis inhibitors) เมื่อมีการใช้สารกำจัดวัชพืช ในพืชที่ต้านทานสารจะไม่ถูกยั้บยั้งโดยสารกำจัดวัชพืช จึงทำให้สามารถมีชีวิตรอดต่อไปได้ และมีการเจริญเติบโตได้ดีกว่าพืชที่อ่อนแอ ในขณะที่พืชที่อ่อนแอจะถูกยั้บยั้งโดยสารกำจัดวัชพืชและต่อมาจะตายไปในที่สุด

ลักษณะของความต้านทานสารที่เกิดขึ้นนี้ อาจเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของตำแหน่งที่สารเข้าไปทำปฏิกิริยาภายในเซลล์ จึงทำให้เกิดความต้านทานต่อสารขึ้นมาได้ และทำการตรวจสอบยีน GS ซึ่งเป็นยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ GS เพื่อนำไปสู่ความเข้าใจกลไกในระดับโมเลกุลของเซลล์ข้าวโพดต้านทานต่อสารกลูโฟซิเนทเมื่อนำผลผลิตการโคลนยีน GS (Figure 4) มาวิเคราะห์หาการเรียงลำดับเบส

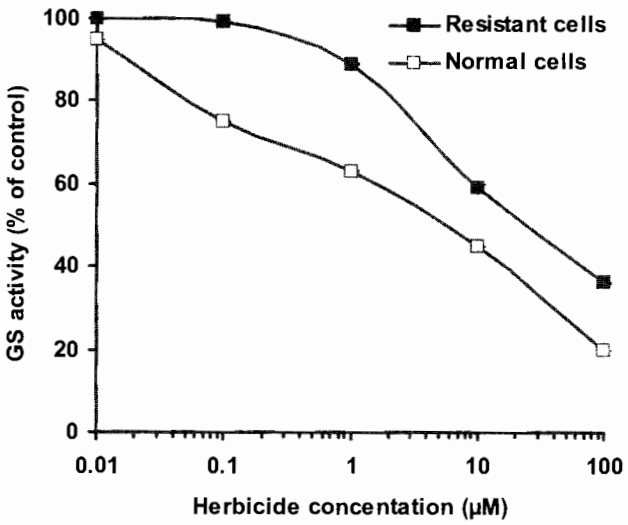

Figure 3. Inhibition of glutamine synthetase activity in the herbicide-treated normal cells (□), and herbicide-treated resistant cells (■) by glufosinate (Pornprom *et al.*, 2009)

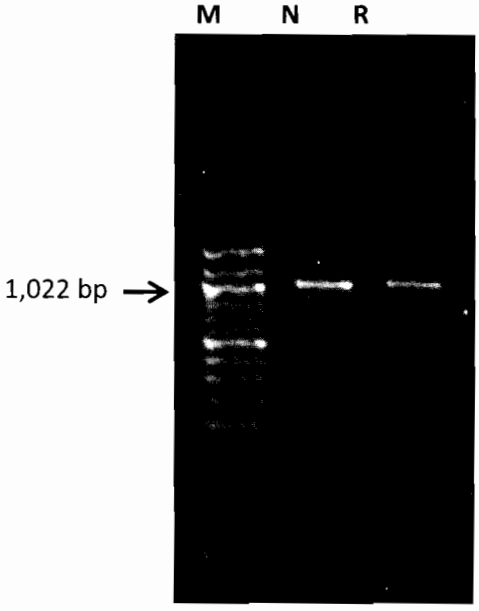

Figure 4. RT-PCR product of normal maize cells (N) and glufosinate-resistant maize cell lines (R) compare with 100 bp DNA ladder marker (M) (Chompoo and Pornprom, 2008)

นำข้อมูลลำดับเบสของ DNA ที่ได้มาวางเรียงในแนวเส้นตรง โดยเปรียบเทียบการเรียงลำดับเบสของยีน GS ในเซลล์ข้าวโพดปกติกับเซลล์ที่ต้านทานสาร ใช้ข้อมูลลำดับเบสของยีน GS ในข้าวโพดที่มีอยู่ใน GenBank พบว่าการเรียงลำดับเบสบางส่วนของยีน GS ในฐานข้อมูลของ NCBI ที่เปรียบเทียบกันระหว่างเซลล์ข้าวโพดปกติกับเซลล์ที่ต้านทานสาร มีความเหมือนกัน 95.6% มีความแตกต่างกัน 4.4% และเกิด Gap 0.01% ผลจากความแตกต่างของการเรียงลำดับเบส 1,022 bp ของเซลล์ข้าวโพดที่ต้านทานสาร พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของไนโตรจีนัสเบส เมื่อทำการเปรียบเทียบกับเซลล์ข้าวโพดปกติรวม 12 ตำแหน่ง (Figure 5) เมื่อนำมาแปลรหัสเป็นกรดอะมิโนของยีน GS เปรียบเทียบระหว่างเซลล์ที่ต้านทานสารกับฐานข้อมูล NCBI (ซึ่งใช้ในการออกแบบ specific primer) มีการเรียงตัวของกรดอะมิโนครอบคลุมจุดเริ่มต้นและจุดสิ้นสุด โดยมีขนาด 340 กรดอะมิโน ซึ่งเซลล์ข้าวโพดที่ต้านทานสาร มีการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนที่แตกต่างไปจากเซลล์ข้าวโพดปกติ และยีน GS ของข้าวโพดจากฐานข้อมูล NCBI อยู่ 10 ตำแหน่ง ได้แก่ (1) ตำแหน่งที่ 9 valine กลายเป็น isoleucine (2) ตำแหน่งที่ 70 asparagine กลายเป็น histidine (3) ตำแหน่งที่ 86 serine กลายเป็น threonine (4) ตำแหน่งที่ 92 lysine กลายเป็น serine (5) ตำแหน่งที่ 95 threonine กลายเป็น lysine (6) ตำแหน่งที่ 251 glutamate กลายเป็น alanine (7) ตำแหน่งที่ 254 glutamate กลายเป็น aspartate (8) ตำแหน่งที่ 261 arginine กลายเป็น lysine (9) ตำแหน่งที่ 226 lysine กลายเป็น arginine และ (10) ตำแหน่งที่ 332 aspartate กลายเป็น glutamate ซึ่งลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน GS ในเซลล์ข้าวโพดที่ต้านทานสารดังกล่าวนี้ ได้ทำการขึ้นทะเบียนใน GenBank รหัส AY 339214 จากข้อมูลดังกล่าวจะเห็นได้ว่า ลักษณะความต้านทานของเซลล์ข้าวโพดต้านทานสารนี้ เกิดจากการเปลี่ยนแปลงแทนที่ของเบส (base-pair substitution) ภายในยีน GS รวม 12 ตำแหน่ง และมีผลให้กรดอะมิโนของยีน GS แตกต่างจากที่พบในเซลล์ที่ไม่ต้านทานสาร 10 ตำแหน่ง (Table 1) ซึ่งอาจจะทำให้โครงสร้างโปรตีนของยีน GS เปลี่ยนแปลงไป จึงควรที่จะมีการศึกษาในขั้นตอนต่อไป

เมื่อพิจารณาจากกลไกทางชีวโมเลกุลของความต้านทานสารกำจัดวัชพืช ในเซลล์พืชที่ต้าน ทานสารและเซลล์ปกติ (หรืออ่อนแอต่อสาร) โดยการตรวจสอบลำดับเบสของยีน ALS และ GS พบว่าในเซลล์พืชที่ต้านทานสารกำจัดวัชพืช มีการเรียงลำดับของเบสเปลี่ยนแปลงและแตกต่างไปจากเซลล์ปกติ เมื่อแปลรหัสเป็นกรดอะมิโน จะมีการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโน (amino acid substitution) เกิดขึ้นในหลายตำแหน่ง เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์พืชปกติ ยีน ALS และ GS ของพืชชนิดต่าง ๆ ในฐานข้อมูล NCBI ซึ่งลำดับของนิวคลีโอไทด์นี้ ได้ขึ้นทะเบียนใน GenBank ต่อไป แสดงว่าลักษณะความต้านทานของเซลล์พืชที่ต้านทานสารดังกล่าวเกิดจากการแทนที่ลำดับเบส (base-pair substitution)

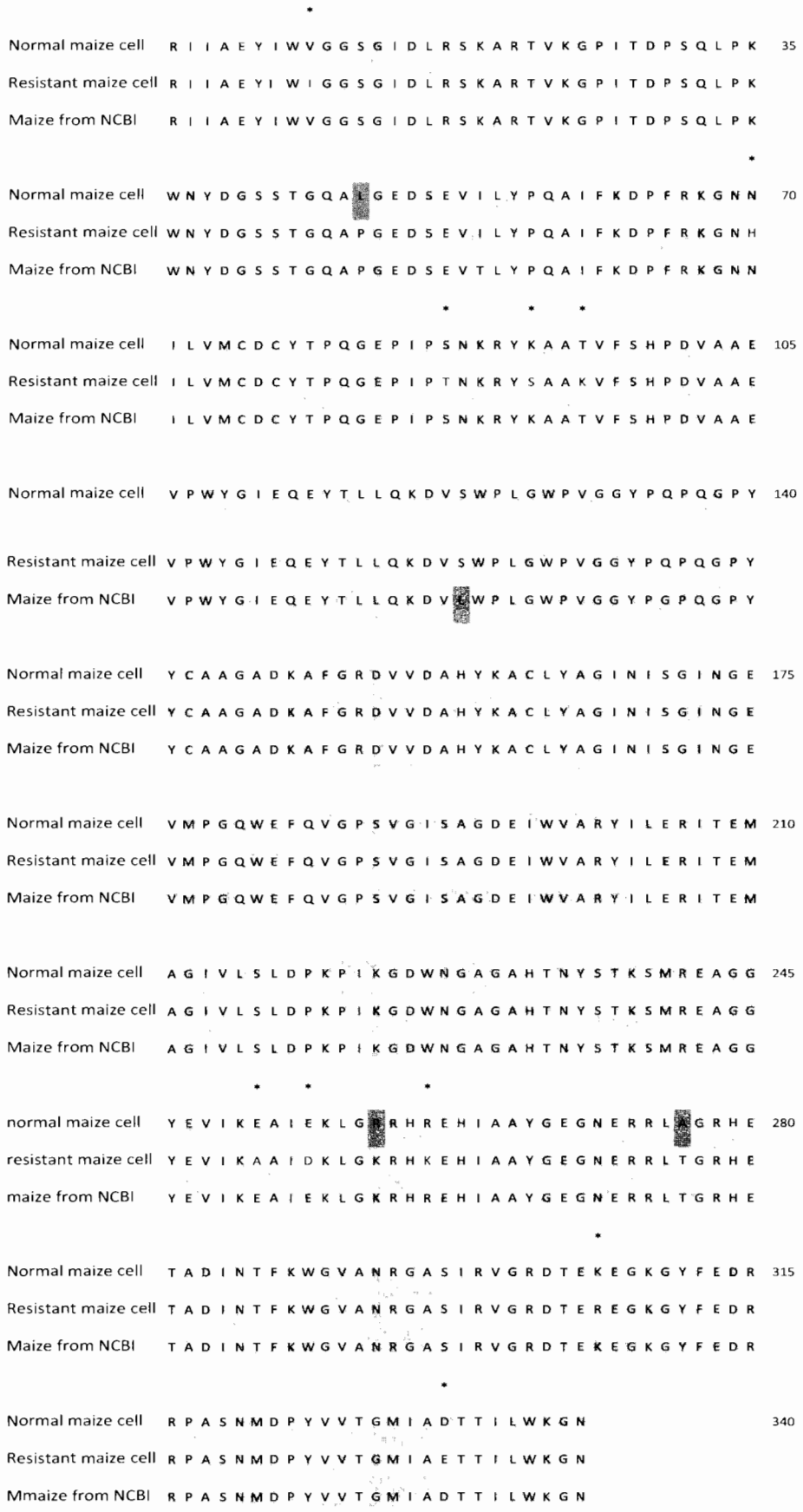

Figure 5. Near-perfect match of amino acid sequences in glutamine synthetase gene of normal cells and maize from NCBI (Acc No D14578) as compared to the changed amino acids (marked with asterisk) in glufosinate resistant cells. (Chompoo and Pornprom, 2008)

ภายในยีน GS และ ALS ส่งผลทำให้กรดอะมิโนแตกต่างไปจากในเซลล์ที่ไม่ต้านทานสาร ซึ่งอาจจะส่งผลทำให้โครงสร้างโปรตีนของยีน GS และ ALS มีการเปลี่ยนแปลงไป จึงควรที่จะมีการศึกษาในระดับโปรตีนต่อไป

ลักษณะของความต้านทานดังกล่าวนี้เกิดจากการกลายพันธุ์ในระดับยีนที่เป็นแบบการกลายพันธุ์เฉพาะจุด (point mutation) การเปลี่ยนแปลงรูปแบบของยีนจากอัลลีลหนึ่งไปเป็นอีกอัลลีลหนึ่ง ซึ่งเป็นผลมาจากเกิดการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์ในดีเอ็นเอที่เกิดจากการแทนที่ลำดับเบส (base-pair substitution) เช่นเดียวกับการทดลองของ Brown และคณะ (2002) ที่ศึกษาความต้านทานสารในกลุ่ม cyclohexanedione และ aryloxyphenoxy propionates ในวัชพืชวงศ์หญ้า 3 ชนิดคือ *หญ้าหางหมา (Setaria viridis* (L.) *P. Beauv.*), หญ้าไรย์ (*Lolium rigidis* Gaudin) และ ข้าวโอ๊ตป่า (*Avena fatua* L.) พบว่ากลไกของความต้านทานสารจะเกี่ยวข้องกับการเกิดการกลายพันธุ์ของยีน ACCase ทำให้เกิดการเปลี่ยนกรดอะมิโนจาก isoleucine เป็น leucine เมื่อเปรียบเทียบกับลำดับของกรดอะมิโนในตำแหน่งเดียวกัน ในพืชที่อ่อนแอต่อสาร พบว่าเกิดการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่งแรกของการแปลรหัส จากเดิม ATA (isoleucine) เป็น CTA หรือ TTA ซึ่งทั้ง 2

Table 1. Summary of nucleotide substitutions and amino acid substitutions in normal maize cells resulting to glufosinate resistant cells (Chompoo and Pornprom, 2008)

Nucleotide position[1/]	Nucleotide substitution		Amino acid substitution	
	Normal cells	Resistant cells	Normal cells	Resistant cells
25	GTT	ATT	Val	Ile
208	AAC	CAC	Asn	His
260, 261	AGT	ACC	Ser	Thr
275, 276	AAA	AGC	Lys	Ser
284	ACG	AAG	Thr	Lys
752	GAG	GCG	Glu	Ala
762	GAG	GAC	Glu	Asp
782	AGG	AAG	Arg	Lys
917	AAG	AGG	Lys	Arg
996	GAC	GAG	Asp	Glu

[1/]The numbers refer to partial GS coding sequence of *Zea mays* L. mRNA for glutamine synthetase (Genbank accession number D 14578)

codon จะแปลรหัสเป็น leucine เช่นเดียวกับรายงานของ Moss และคณะ (2003) ได้ทำการเปรียบเทียบพื้นฐานทางด้านชีวโมเลกุลของเอนไซม์ ACCase ใน black-grass พันธุ์ Nott A1 ที่ต้านทานสาร sethoxydim และพันธุ์ Oxford S1 ที่อ่อนแอต่อสาร พบว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโน isoleucine ที่มีอยู่ในพันธุ์อ่อนแอกลายเป็น leucine ในพันธุ์ที่ต้านทานสารที่ตำแหน่งเดียวกัน นอกจากนี้ได้มีการรายงานเกี่ยวกับกลไกพื้นฐานในระดับชีวโมเลกุลของพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืชในกลุ่ม Imidazolinone พบว่าลักษณะของความต้านทานสารกำจัดวัชพืชเกิดจากการกลายพันธุ์ในระดับยีน ALS เป็นแบบการกลายพันธุ์เฉพาะจุด (point mutation) ที่เป็นแบบการแทนที่ลำดับเบส (base-pair substitution) ในสาย DNA ทำให้กรดอะมิโนในโปรตีนเปลี่ยนแปลงไป โดยที่ Milliman และคณะ (2003) ได้ศึกษาความต้านทานของสารกำจัดวัชพืชในกลุ่ม Imidazolinone (ได้แก่ สาร imazethapyr และ imazamox) ในหญ้า eastern black-grass (*Alopercurus myosurides* Hud.) จำนวน 2 ไบโอไทป์ เมื่อเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโน พบว่าในพืชที่ต้านทานสารเกิดการกลายพันธุ์เฉพาะจุดเป็นแบบการแทนที่ลำดับเบส ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของลำดับกรดอะมิโนจาก alanine เป็น theronine ที่ตำแหน่ง 121 เช่นเดียวกับ sugarbeet ที่ต้านทานสารกำจัดวัชพืชในกลุ่ม Imidazolinone ที่เกิดการแทนที่ลำดับเบส ทำให้กรดอะมิโน threoinine เป็น alanine ที่ตำแหน่ง 13 (White *et al.*, 2003) ทำให้มีการเปลี่ยนแปลง

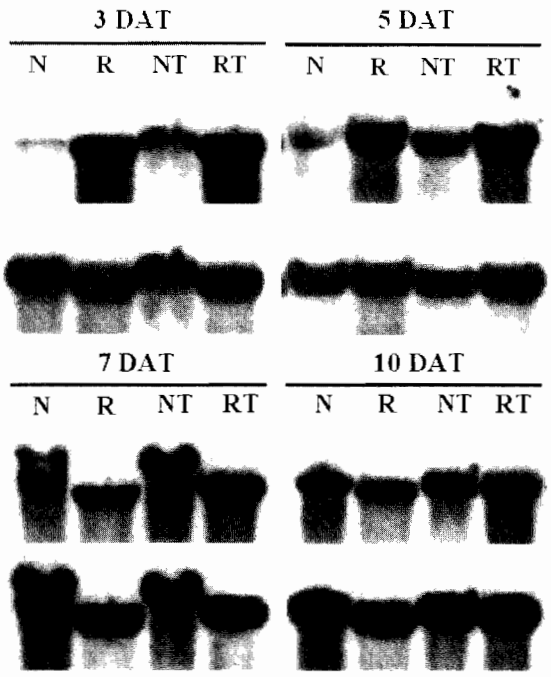

Figure 6. Northern hybridization of GS mRNA in untreated and resistant soybean cell determined at 3, 5, 7 and 10 days after treatment with 10^{-6} M glufosinate.

N = untreated normal cells

R = resistant cells

NT = normal cells with the herbicide treatment

RT = resistant cells with the herbicide treatment (Pornprom *et al.*, 2009)

ในระดับชีวโมเลกุลของยีน ALS เกิดขึ้น ซึ่งเป็นตำแหน่งเป้าหมายที่สารกำจัดวัชพืชแสดงปฏิกิริยาการยับยั้งที่เป็นแบบการตอบสนองน้อย จึงนำไปสู่สาเหตุของความต้านทานสารกำจัดวัชพืชได้

เมื่อทำการศึกษาปริมาณการสะสมของ mRNA พบว่าในสภาวะที่ไม่มีการใช้สารกำจัดวัชพืชนั้น ในเซลล์ปกติ (พืชที่อ่อนแอ) มีปริมาณ

การสะสมของ mRNA เป็นปริมาณสูงมาก ซึ่งจะใกล้เคียงกับในเซลล์พืชที่ต้านทานสาร แต่เมื่อได้รับสารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนท พบว่าเซลล์พืชที่ต้านทานสารและเซลล์ปกติ (พืชที่อ่อนแอ) มีปริมาณการสะสมของ mRNA ลดลงอย่างเห็นได้ชัด แต่ไม่แตกต่างกัน (Figure 6) แสดงว่าการใช้สารกำจัดวัชพืชมีผลต่อปริมาณการสะสมของ mRNA จากการพิจารณากลไกทางชีวเคมีของความต้านทานสารนั้น ในเซลล์ที่ต้านทานสารมีกิจกรรมของเอนไซม์ GS มากกว่าในเซลล์ปกติ ซึ่งเป็นไปได้ว่าการเปลี่ยนแปลงตำแหน่งเป้าหมายที่สารกำจัดวัชพืชเข้าทำปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืช อาจเกิดขึ้นในช่วง translation หรือ posttranslation ของยีน GS ในช่วงของการสังเคราะห์เอนไซม์ GS จะเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงตำแหน่งที่แสดงปฏิกิริยาในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ GS ที่เป็นแบบการตอบสนองน้อยต่อสารกำจัดวัชพืช จึงทำให้พืชที่ต้านทานสารไม่ถูกยับยั้งโดยสารกำจัดวัชพืช (หรือสามารถต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช) ได้มากกว่าในเซลล์ปกติ (พืชที่อ่อนแอ) ซึ่งนำไปสู่สาเหตุของการเกิดความต้านทานสารต่อสารกำจัดวัชพืชได้ ดังนั้นสารกำจัดวัชพืชจึงไม่สามารถเข้าไปทำลายกิจกรรมของเอนไซม์ GS ได้หมด อย่างไรก็ตามในพืชที่ต้านทานสารต่อสารกำจัดวัชพืช ยังคงพบว่ามีการแสดงออกของเอนไซม์ดังกล่าวนี้ ถึงแม้ว่าพืชจะได้รับสารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนท

สรุปผลการทดลอง

การตอบสนองของพืชที่มีต่อสารกำจัดวัชพืชนั้น มีความเกี่ยวข้องกับกลไกพื้นฐานในระดับชีวเคมีและชีวโมเลกุล ซึ่งเป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นภายในพืชอย่างต่อเนื่องและมีความซับซ้อนมาก โดยที่การเปลี่ยนแปลงตำแหน่งที่เข้าทำปฏิกิริยา ที่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ของยีน ALS และ GS ที่เป็นกลไกของความต้านทานสารกำจัดวัชพืชในกลุ่มที่ยับยั้งการสร้างกรดอะมิโนนั้น ในพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืชจะมีการกลายพันธุ์เฉพาะจุด ที่เป็นแบบการแทนที่ลำดับเบสเกิดขึ้นในบางส่วนของยีน ALS และ GS ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงพวกกรดอะมิโนและโครงสร้างโปรตีนของยีน จึงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงตำแหน่งเป้าหมาย ที่เข้าทำปฏิกิริยาเป็นแบบการตอบสนองน้อยต่อสารกำจัดวัชพืช ส่งผลทำให้สารกำจัดวัชพืชเข้าสู่ตำแหน่งเป้าหมายที่เข้าปฏิกิริยาการยับยั้งภายในพืชได้น้อยลงหรือช้าลง โดยที่การเปลี่ยนแปลงตำแหน่งเป้าหมาย ที่เข้าทำปฏิกิริยาของสารที่เกิดขึ้นในพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืชนั้น อาจเกิดขึ้นในช่วง translation หรือ posttranslation ของยีน ALS และ GS จึงนำไปสู่สาเหตุของความต้านทานสารกำจัดวัชพืชได้ ซึ่งในการอธิบายกลไกพื้นฐานทางชีวเคมี และชีวโมเลกุลที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานสารกำจัดวัชพืช สามารถช่วยให้เข้าใจถึงสาเหตุที่ทำให้พืชเกิดความต้านทานสารกำจัดวัชพืช ซึ่งมีบทบาทสำคัญที่จะนำไปประยุกต์ใช้

ในการพัฒนาพืชปลูกหลายชนิด ให้มีความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืชได้ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ทศพล พรพรหม. 2541. การนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาประยุกต์ใช้กับการศึกษาวิจัยทางด้านสารกำจัดวัชพืช. *วิทยาสารวัชพืช* 1: 209-214.

Brown, A.C., S.R. Moss, Z.A. Wilson and L.M. Field. 2002. An isoleucine to leucine substitution in the ACCase of *Alopecurus myosuroides* (black-grass) is associate with resistance to the herbicide sethoxydim. *Pestic. Biochem.* Physiol. 72: 160-168.

Chompoo, J. and T. Pornprom. 2008. RT-PCR based detection of resistance conferred by an insensitive GS in glufosinate-resistant maize cell lines. *Pestic. Biochem. Physiol.* 90: 189-195.

Corbett, C.L. and F.J. Tardif. 2006. Detection of resistance to acetolactate synthase inhibitors in weeds with emphasis on DNA-based techniques: a review. *Pest Manage. Sci.* 65: 584-597.

Devine, D.M. and A. Shukla. 2000. Altered target sites as a mechanism of herbicide resistance. *Crop Protect.* 19: 881-889.

Dyer, W.F. 1996. Techniques for producing herbicide-resistant crops. Pages 38-51. *In : Herbicide-Resistant Crops.* Duke *(ed.)*, S.O. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida.

Holt, J.S. and H.M. LeBaron. 1990. Significance and distribution of herbicide resistance. *Weed Tech.* 4: 141-149.

Hughes, K. 1983. Selection for herbicide resistance. Pages 442-460. *In : Hand Book of Plant Cell Culture.* Vol. 1, Evans D.A., W.R. Sharp, P.V. Ammirato and Y. Yamada (eds.). Macmillan Publishing Co. A Div. Macmillan Inc., New York.

Milliman, L.D., D.E Riechers, L.M. Wax and F.W. Simmons. 2003. Characterization of two biotypes of imidazolinone-resistant eastern black nightshade (*Solanum ptycanthum*). *Weed Sci.* 51: 139-144.

Moss, S.R., K.M. Cocker, A.C. Brown, L. Hall and L.M. Field. 2003. Characterisation of target-site resistance to ACCase-inhibiting herbicides in the weed *Alopecurus myosuroides* (black-grass). *Pest Manage. Sci.* 59: 190-201.

Punyadee, P., M. Thongros and T. Pornprom. 2007. Biochemical mechanism of resistance to imazapyr in sugarcane cell selections. *Thai J. Agri. Sci.* 40(3-4): 133-141.

Pornprom, T., A. Pengnual, N. Udomprasert and O. Chatchawan kanphanich. 2008. The role of altered glutamine synthetase in conferring resistance to glufosinate in mungbean cell selections. *Thai J. Agri. Sci.* 41 (3-4): 81-90.

Pornprom, T., H. Matsumoto, K. Usui and K. Ishizuka. 1994. Characterization of oxyfluorfen tolerance in selected soybean using cell line. *Pestic. Biochem. Physiol.* 50: 107-112.

Pornprom, T., N. Prodmatee and O. Chatchawankanphanich. 2009. Glutamine synthetase mutation conferring target site-based resistance to glufosinate in soybean cell selections. *Pest Manage. Sci.* 65(2): 216-222.

Pornprom, T., S. Surawattananon and P. Srinives. 2000. Ammonia accumulation as an index of glufosinate-tolerant soybean cell lines. *Pestic. Biochem. Physiol.* 68: 102-106.

Pornprom, T., J. Chompoo and B. Grace. 2003. Glufosinate tolerance in hybrid corn varieties base on decreasing ammonia accumulation. *Weed Biol. Manage.* 3(1): 52-56.

Pornprom, T., K. Usui and K. Ishizuka. 2005. Growth inhibition and acetolactate synthase activity of soybean seedlings and suspension-cultured cell treated with bensulfuron-methyl. *Weed Biol. Manage.* 5(3): 150-153.

Tan, S., R. Evans and B. Singh. 2006. Herbicidal inhibitors of amino acid biosynthesis and herbicide-tolerant crops. *Amino acids.* 30: 195-204.

Anon. 1998. Technology notes: herbicide resistance and herbicide tolerance defined. Weed Science Society of America; *Weed Tech.* 12(4): 789-792.

White, D.A., M.A. Graham and M.D.K. Owen. 2003. Isolation of acetolactate synthase homologs in common sunflower. *Weed Sci.* 51: 845-853.