

*Phytophthora palmivora* เป็น oomycete ที่ก่อให้เกิดโรคใบร่วงและเส้นดำในยางพารา ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญของเกษตรกรสวนยาง เพราะทำให้ใบร่วงก่อนเวลาอันควร และหน้ายางเสียน้ำไม่ได้ นั่นคือ ได้ผลผลิตลดลง ซึ่งมีผลกระทบต่ออุตสาหกรรมยางพาราในระดับประเทศ การใช้สารเคมีสามารถควบคุมเชื้อโรคได้เช่นเดียวกัน แต่มีผลในระยะสั้นเท่านั้น อย่างไรก็ตามอิลิซิเตอร์ต่างๆที่ผลิตออกมาจากเชื้อโรค สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการเหนี่ยวนำให้พืชเกิดระบบป้องกันตนเอง ผู้วิจัยตรวจพบอิลิซิเตอร์ชนิดโพลีเปปไทด์ในน้ำเลี้ยงเชื้อ *P. palmivora* สองชนิด คืออิลิซิเตอร์ขนาด 10 kDa (ซึ่งมีชื่อเฉพาะว่าอิลิซิติน) สามารถทำให้บริสุทธิ์ได้โดยใช้คอลัมน์ DEAE cellulose และอิลิซิเตอร์ชนิดใหม่ขนาด 75 kDa ซึ่งทำให้บริสุทธิ์ได้ด้วยคอลัมน์ DEAE cellulose และ hydrophobic ตามลำดับ อิลิซิเตอร์ทั้งสองชนิดเสถียรต่อความร้อนและความเป็นกรด-ด่าง แต่ไม่เสถียรต่อเอนไซม์ ProteaseK อิลิซิตินมีผลต่อ defense responses ของคัลลัสยางพารา เช่น ทำให้มีการสังเคราะห์ scopoletin (Scp) ซึ่งเป็นไฟโตแอลคาลอยด์จากยางพารา และเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสเพิ่มขึ้น โดยคัลลัสพันธุ์ BPM-24 (ด้านทาน) ถูกเหนี่ยวนำให้ผลิตได้สูงกว่าคัลลัสพันธุ์ RRIM600 (อ่อนแอ) ประมาณ 2-3 เท่า และพบว่าคัลลัสทั้งสองสายพันธุ์หลังจากผลิต Scp ภายในเซลล์ของคัลลัสแล้วจะปล่อยออกมานอกเซลล์ทันทีประมาณ 50% ในขณะที่เอนไซม์เปอร์ออกซิเดส ถูกปล่อยออกมานอกเซลล์อย่างช้าๆ และในปริมาณต่ำๆ (น้อยกว่า 5%)

ต่อมาผู้วิจัยได้พัฒนาเซลล์แขวนลอยยางพาราขึ้นมาเพื่อศึกษาประสิทธิภาพของอิลิซิเตอร์ทั้งสอง โดยเลือกใช้เซลล์แขวนลอยยางพาราพันธุ์ BPM-24 เพราะตอบสนองได้ดีชัดเจนกว่าพันธุ์ RRIM600 ทุกการทดสอบใช้อิลิซิตินความเข้มข้น 150 nM และ อิลิซิเตอร์ชนิดใหม่ความเข้มข้น 5 nM ดังนั้นใช้อิลิซิตินในปริมาณที่สูงกว่า 30 เท่า แต่พบการตอบสนองที่ใกล้เคียงกัน ได้แก่การเพิ่มขึ้นของสารประกอบฟีนอลิก, Scp และ เปอร์ออกซิเดสไฮโดรไซม์ (ทั้งสับสเตรท o-dianisidine และ Scp) นั่นคือ อิลิซิเตอร์ชนิดใหม่ที่เตรียมได้ มีประสิทธิภาพสูงกว่าอิลิซิตินประมาณ 30 เท่า

นอกจากนี้อิลิซิเตอร์ทั้งสองชนิดยังสามารถกระตุ้นการสะสมของสารประกอบฟีนอลิกและเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส รวมทั้งเหนี่ยวนำให้เกิดความต้านทานต่อเชื้อ *P. palmivora* ในใบของต้นกล้ายางพาราด้วย และช่วงเวลาที่เกิดความต้านทาน คือประมาณ 2 วัน หลังจากฉีดพ่นด้วยอิลิซิเตอร์ มีความสอดคล้องกับการสร้างสารประกอบฟีนอลิกและเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส คือมีการสะสมสารดังกล่าวสูงสุดที่ 40 ชม. และ 48 ชม. ตามลำดับ ทุกการตอบสนองฉีดพ่นด้วย 1 nM ของอิลิซิติน หรือ 0.5 nM ของอิลิซิเตอร์ชนิดใหม่ ซึ่งต่ำกว่าปริมาณที่ใช้ในการทดสอบเซลล์แขวนลอยยางพารา แสดงว่าใบของยางพาราต้นกล้าตอบสนองต่ออิลิซิเตอร์ดีกว่าเซลล์แขวนลอยยางพารา และประสิทธิภาพของอิลิซิเตอร์ทั้งสองเมื่อทดสอบกับใบของต้นกล้ายางพาราแตกต่างกันประมาณ 2 เท่า

*Phytophthora palmivora* is the causative agent of “leaf fall” and “black stripe” in rubber plant, *Hevea brasiliensis*. It infects petioles, causing leaves to fall prematurely and attacks the tapping surface resulting in poor latex production. Chemicals can be used to control the pathogen; however, they work in only a short period. Nonetheless, several elicitors produced from pathogens can be used for triggering resistance in variety of plants. *P. palmivora* secreted two polypeptide elicitors into its culture filtrate, 10 kDa (named elicitin) and a new 75 kDa elicitor. The elicitin was purified in single step by DEAE cellulose chromatography while the 75 kDa elicitor was obtained by two steps of chromatography: the DEAE cellulose column followed by a hydrophobic column. Both elicitors were stable to heat and a wide range of pH values; however, sensitive to ProteaseK. Elicitin was able to trigger the production of scopoletin (Scp), a phytoalexin of rubber plant, and peroxidase enzyme in calluses of *Hevea brasiliensis*. The callus of BPM-24 cultivar (resistant) could produce higher levels of Scp content and peroxidase activity than those synthesized by the RRIM600 cultivar (susceptible) about 2-3 times. After syntheses inside the callus cells, about 50 % of Scp was released from the callus but less than 5% was detected for the peroxidase enzyme.

*Hevea brasiliensis* cell suspension was prepared from the calluses of both cultivars to study the effectiveness of these two purified elicitors. Since the cell suspension of the BPM-24 responded to the elicitors much stronger, it was selected for observing the defense responses. Both elicitors induced syntheses of total phenolic compounds, Scp and peroxidase isozymes (with substrate *o*-dianisidine and scopoletin) in cell suspension of *H. brasiliensis* with similar

kinetics. The new elicitor (75 kDa) was active at 30 fold lower concentration than those required for elicitor, therefore *H. brasiliensis* cell suspension is more responsive to the new elicitor than elicitor in triggering defense responses.

In addition, both elicitors caused the accumulations of total phenolic compounds, peroxidase enzyme and enhanced local resistance against *P. palmivora* on young rubber tree seedlings. The phenolic compounds and peroxidase activity reached the highest levels after treatment for 40 and 48 h, respectively, which was correlated with the occurrence of local resistance at 2 days after triggering with either elicitor. For induction of phenolic compounds, peroxidase and local resistance of rubber tree seedlings against *P. palmivora*, the 75 kDa protein was active at about 2 fold lower concentration comparing to elicitor.