

*Phytophthora palmivora* เป็นเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคใบร่วงและเส้นดำในยางพารา ซึ่งทำให้ผลผลิตลดลง จากการทดสอบใบยางพาราด้วยซูโฮสปอร์ และทีออกซิน (อิลิซิติน) จากเชื้อราดังกล่าว สามารถคัดเลือกพันธุ์ยางที่มีความต้านทานต่อโรคได้ 6 พันธุ์จาก 30 เชื้อพันธุ์ (germplasm) ใบยางที่บ่มด้วยซูโฮสปอร์ทำให้เห็นความแตกต่างของสิ่งกีดขวางทางกายภาพ (physical barrier) และสิ่งกีดขวางทางเคมี (chemical barrier) โดย physical barrier คุ้ได้จากจำนวนแผลที่ถูกเจาะด้วยซูโฮสปอร์ผ่านผนังเซลล์ของใบยางซึ่งมีผลต่อลักษณะของสายรา ต่อการเกิดสปอร์แรงเจียม และรูปแบบการสร้างสคอพอลิติน (ไฟโตเล็กซินของใบยางพารา) ที่แตกต่างกันในใบยางแต่ละพันธุ์ ส่วน chemical barrier คุ้ได้จากปริมาณสคอพอลิตินและลิคินินที่ต่างกัน โดยพบว่าในหนึ่งตำแหน่งที่ถูกเจาะ ใบยางสร้างสคอพอลิตินแปรตามระดับความต้านทาน และสคอพอลิตินมีผลในการยับยั้งการสร้างสายราและสปอร์แรงเจียมด้วย จากลักษณะทั้งหมดที่เกิดขึ้นจะส่งผลให้มีขนาดของรอยไหม้ (นิโครซิส) ที่ไม่เท่ากัน โดยใบยางพันธุ์ต้านทานเกิดเป็นจุดสีดำขนาดเล็ก เรียกว่า " hypersensitive cell death " พันธุ์ปานกลางเกิดเป็นรอยไหม้สีน้ำตาลแผ่กว้างแต่มีขอบเขตที่ชัดเจนกว่าพันธุ์อ่อนแอที่รอยไหม้มีลักษณะแผ่กว้างออกไปเรื่อยๆอย่างไม่มีขอบเขต ซึ่งเป็นลักษณะของการเกิดโรค (disease lesion) นอกจากนี้เชื้อรายังสามารถกระตุ้นให้ใบยางสร้างลิคินินได้ โดยพบว่าปริมาณลิคินินมีแนวโน้มแปรผันตามระดับความต้านทานของใบยางด้วย

อิลิซิตินจากน้ำเลี้ยงเชื้อราถูกเตรียมให้บริสุทธิ์เพียงบางส่วนโดยการตกตะกอนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต แล้วผ่านคอลัมน์ PD-10 เมื่อตรวจความบริสุทธิ์ด้วยวิธี Tricine-SDS-PAGE และย้อมด้วยซิลเวอร์ไนเตรต พบว่าอิลิซิตินเป็นแถบโปรตีนหลัก มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 10 กิโลดาลตัน เมื่อนำอิลิซิตินมากระตุ้นใบยางพาราทำให้เห็นความแตกต่างของ chemical barrier ในใบยางแต่ละพันธุ์ โดยการสร้างสคอพอลิตินที่สามารถอธิบายได้โดยอาศัยสมมุติฐานเกี่ยวกับ resistant (R) และ susceptible (S) receptor ที่ว่าระดับความต้านทานแปรผันตามปริมาณของ R receptor โดยที่ R receptor มีสัมพรรคภาพ (affinity) สูงกว่า S receptor การจับกับ R receptor ส่งผลให้เกิดการตอบสนองแบบ hypersensitive ในขณะที่ระดับความอ่อนแอแปรผันตามปริมาณ S receptor และการจับกับอิลิซิตินทำให้เกิดอาการของโรค นอกจากนี้อิลิซิตินยังกระตุ้นให้มีการสร้างลิคินินที่มีแนวโน้มแปรผันตามปริมาณสคอพอลิตินที่ถูกสร้างขึ้นภายในเซลล์ของใบยางแต่ละพันธุ์ด้วย

การจัดลำดับความต้านทานที่ได้จากการบ่มใบยางด้วยซูโฮสปอร์ และการกระตุ้นด้วยอิลิซิตินสามารถจัดเป็นระดับคะแนน จนสามารถคัดเลือกพันธุ์ยางที่มีความต้านทานสูงได้ เนื่องจากการควบคุมปริมาณอิลิซิตินทำได้ง่ายกว่าการนับซูโฮสปอร์ และอิลิซิตินสามารถกระตุ้นปฏิกิริยาตอบสนองทางเคมีของใบยางได้โดยตรง (ไม่มีผลกระทบทางกายภาพ) จึงเหมาะสมที่จะนำมาใช้เป็นเครื่องมือในการคัดเลือกพันธุ์ยางที่มีความต้านทานต่อเชื้อรา *P. palmivora*

**TE 154483**

*Phytophthora palmivora* is a pathogen of rubber tree (*Hevea brasiliensis*) which causes secondary leaf fall and black stripe leading to the decrease of latex production. Six resistant rubber clones were selected from thirty germplasms by treating their leaves with zoospores and elicitor of the fungus. Inoculation with zoospores showed the differences of physical and chemical barriers of rubber leaves. The physical barrier was observed from the numbers of lesion penetrated by zoospores through *Hevea* cell wall which affected the character of mycelium, sporangial production and pattern of scopoletin (Scp) biosynthesis (phytoalexin of rubber tree). Whereas chemical barrier was detected from the different levels of Scp and lignin produced in each rubber clone. The capability of Scp biosynthesis in one penetration site was associated to the degree of resistance. In addition, the synthesized Scp had an inhibiting effect on mycelial and sporangial productions. Different size of necrosis was the sum of all of the mentioned actions. The lesions in the resistant clones were small-black-spot called " hypersensitive cell death ". The necroses of semi-resistant clones were brown and expanded out but less than that of the susceptible ones of which the necroses expanded out as disease lesions. Furthermore, the fungus could induce the biosynthesis of lignin in rubber leaves which varied according to the degree of resistance.

Elicitor from the fungal culture filtrate was partially purified by ammonium sulfate precipitation, followed by the chromatography on PD-10. It was a protein of MW ca. 10 Kd as determined by SDS-PAGE and stained with silver nitrate. The difference in chemical barrier, which was expressed as the level of Scp induced by elicitor in leaf cells, was explained by the hypothesis involving resistant (R) and susceptible (S) receptors. Degree of resistance may vary according to the quantity of R receptor in which the R receptor had higher affinity than the S receptor. The binding with R receptor precedes the hypersensitive responses. Whereas susceptibility may link with the quantity of S receptor and this binding will lead to

the symptom of disease. In addition, the biosynthesis of lignin induced by elicitor in each rubber clone varied in parallel to the quantity of Scp produced by leaf cells.

The order of resistant clones were presented by scoring according to the necrotic sizes caused by zoospores and Scp levels induced by elicitor. The quantity of applied elicitor was not only more precise than that of spore concentration but it also directly induced chemical response without the effect of physical barrier. Therefore, this method was appropriate for use in classification of resistant rubber clones.