

การประยุกต์ใช้ Antimicrobial peptides ในการควบคุมโรคพืช Application of Antimicrobial peptides in Plant-Disease Control

ฐิติพร ดิศวนนท์^{1*} สิริรักษ์ รอยตระกูล² และนงลักษณ์ เกรินทวงศ์³

Thitiporn Ditsawanon ^{1*}, Sittiruk Roytrakul ² and Nonglak Parinthawong ³

Received date: 28 ม.ค. 66 Revised date: 25 พ.ค. 66 Accepted date: 30 พ.ค. 66

DOI: <https://doi.org/10.55003/kmaj.2024.04.29.002>

บทคัดย่อ

เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคพืชเป็นปัญหาสำคัญและเร่งด่วนโดยเฉพาะในประเทศเกษตรกรรม การควบคุมโรคด้วยวิธีทางเคมีและยาปฏิชีวนะอาจทำให้เกิดผลเสียตามมาในวงกว้างโดยเฉพาะการดื้อยาและสารตกค้างในพืชผักสดและวัตถุดิบทางการเกษตร ส่งผลถึงความไม่มั่นคงทางอาหารในระดับชาติ AMPs หรือ Antimicrobial peptides เป็นทางเลือกที่มีประสิทธิภาพทางเลือกหนึ่งในการแก้ปัญหาดังกล่าว เนื่องจากมีคุณสมบัติโดดเด่นในการยับยั้งการเจริญหรือกำจัดเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิดโดยเฉพาะแบคทีเรียและราที่เป็นสาเหตุหลักในการก่อโรค AMPs พบได้ในสิ่งมีชีวิตทั่วไปทั้งโปรคาริโอตและยูคาริโอต นับเป็นเกราะป้องกันทางธรรมชาติของสิ่งมีชีวิต AMPs แต่ละชนิดมีความสามารถในการยับยั้งหรือกำจัดจุลินทรีย์ได้ต่างชนิดกัน ด้วยกลไกที่แตกต่างกัน AMPs หลายชนิดสามารถกำจัดจุลินทรีย์ได้ภายในระยะเวลาเพียงไม่กี่วินาทีหลังจากเริ่มสัมผัสเชื้อ บางชนิดมีฤทธิ์กระตุ้นการทำงานของยาปฏิชีวนะ และมีหลายชนิดมีประสิทธิภาพมากกว่ายาปฏิชีวนะ โดยการทำงานของ AMPs มี 2 กลไกหลัก คือการเข้าทำลายบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ และการแทรกเข้าเยื่อหุ้มเซลล์โดยไม่ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เสียหาย แต่เข้าไปยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์สารสำคัญในการดำรงชีวิตของเซลล์จุลินทรีย์ เช่น ดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ โปรตีน ทั้งนี้ผลการศึกษา AMPs ในปัจจุบันส่วนใหญ่ให้ผลดีในระดับห้องปฏิบัติการ ดังนั้นแนวทางการนำไปใช้ขั้นต่อไป คือการนำไปศึกษาต่อในสภาพแวดล้อมจริงนอกห้องปฏิบัติการและสภาพแวดล้อมที่มีการระบาดตามลำดับ

คำสำคัญ: เปปไทด์ที่มีฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ การควบคุมโรคพืช จุลินทรีย์ก่อโรคพืช ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์

Abstract

Plant pathogens are a significant and urgent issue mainly in agricultural countries. Disease control using chemicals and antibiotics can cause widespread negative impacts, particularly on fresh vegetables and agricultural raw materials. These could affect national food insecurity. Antimicrobial peptides (AMPs) are one of the effective solutions because of their remarkable antimicrobial action mostly on bacteria and fungi, the primary causes of plant-infected diseases. AMPs are present in common living things, both in prokaryotes and eukaryotes, these are the natural defenses in organisms. Each type of AMPs exhibits distinct microbial targets

¹ สาขาวิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏราชชนครินทร์ จังหวัดฉะเชิงเทรา 24000

² ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีโปรตีนโมเลกุลเชิงหน้าที่ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ จังหวัดปทุมธานี 12120

³ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520

¹ Applied Biology Program, Faculty of Science and Technology, Rajabhat Rajanagarindra University, Chachoengsao 24000

² Functional Proteomics Technology Laboratory, National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, National Science and Technology Development Agency, Pathumthani 12120

³ Department of Plant Production Technology, School of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520

*Corresponding author: thitiporn.boo@gmail.com

through various mechanisms. Some AMPs kill microbes in a few seconds after contact with target cells, some AMPs stimulate the antibiotic effects, while some AMPs exhibit superior results than antibiotics. AMPs work by two different mechanisms: the direct bactericidal mechanism that involves interaction with the bacterial membrane and results in cell lysis, and the indirect bactericidal mechanism that involves penetration without causing cell lysis but inhibiting the synthesis of DNA, RNA, and proteins. Current AMPs research reveals promising outcomes at the laboratory level. Further studies will focus on the actual environment and the outbreak area respectively.

Keywords: antimicrobial peptides, plant disease control, plant pathogens, antimicrobial activity

คำนำ

ปัญหาโรคพืชที่มีสาเหตุจากเชื้อจุลินทรีย์ เป็นปัญหาที่ควรตระหนักถึงอย่างมากในประเทศไทยเนื่องจากเป็นประเทศเกษตรกรรมที่มีประชากรจำนวนมากครั้งในประเทศประกอบอาชีพเกษตรกร และตั้งแต่ปี พ.ศ. 2562 ประเทศไทยเริ่มมีความตื่นตัวในเรื่องความไม่มั่นคงทางอาหาร (food insecurity) เนื่องจากอาหารมีผลให้เกิดการเจ็บป่วย เสียชีวิต และใช้งบประมาณทางสาธารณสุขจำนวนมาก (Sreenonchai & Arunrat, 2023) หากโรคพืชไม่ได้ถูกควบคุมอย่างถูกวิธี อาจเกิดปัญหาต่อเนื่องตามมาหลายประการ เช่น ปัญหามลพิษทั้งในดิน น้ำ และอากาศ ส่งผลถึงปัญหาสุขภาพของผู้บริโภคที่ได้รับจากสารตกค้างในอาหารทั้งทางตรงจากการบริโภคพืชผักสด และทางอ้อมจากการบริโภคอาหารที่มีวัตถุดิบทางเกษตร

แนวทางในการควบคุมโรคที่ปลอดภัยต่อทั้งเกษตรกรและผู้บริโภคแนวทางหนึ่ง คือการใช้เปปไทด์ต้านจุลินทรีย์ (Antimicrobial peptides หรือ AMPs) มีงานวิจัยจำนวนมากสนับสนุนแนวคิดนี้ในช่วงทศวรรษที่ผ่านมา ผลการศึกษาและทดสอบระบุว่า AMPs หลายชนิดมีประสิทธิภาพเทียบเท่าหรือสูงกว่าสารเคมีหรือยาปฏิชีวนะและไม่มีสารพิษตกค้างในธรรมชาติ ทำให้ไม่ก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมตามมาภายหลัง (Li et al., 2021) ซึ่ง AMPs ส่วนใหญ่มีกลไกแบบไม่เฉพาะเจาะจง จึงยากที่เชื้อก่อโรคจะพัฒนาความสามารถในการดื้อยา (Goyal & Mattoo, 2014) ดังนั้น ข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับ AMPs และการประยุกต์ใช้ในงานด้านโรคพืช จึงเป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์และควรเผยแพร่ให้นักวิชาการที่เกี่ยวข้อง เกษตรกร และประชาชนทั่วไปได้ศึกษา

ทำความรู้จักกับ AMPs

AMPs หรือ antimicrobial peptides เป็น oligopeptides หรือเปปไทด์สายสั้นมีขนาดตั้งแต่ 5 ถึงมากกว่า 100 กรดอะมิโน มีคุณสมบัติเด่นในการยับยั้งการเจริญหรือกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ในวงกว้าง ได้แก่ แบคทีเรีย รา ไวรัส และปรสิตในกลุ่มโปรโตซัวและหนอนตัวกลม โมเลกุล AMPs บางชนิดเข้ากำจัดเชื้อจุลินทรีย์เพียงชนิดเดียวโดยอาจเป็นแบคทีเรียหรือรา (Hancock & Scott, 2000) บางชนิดเข้าทำลายจุลินทรีย์ได้มากกว่าหนึ่งชนิดด้วยกลไกที่ต่างกัน (Subbalakshmi & Sitaram, 1998) AMPs พบได้ทั้งในสิ่งมีชีวิตประเภทโปรคาริโอตและยูคาริโอต (Leippe, 1999; Peters et al., 2010; Radek & Gallo, 2007) ในปี ค.ศ. 2013 มีรายงานการค้นพบและสังเคราะห์ AMPs แล้วกว่า 5,000 ชนิด (Zhao et al., 2013) เปปไทด์ที่มีคุณสมบัติพิเศษเหล่านี้ นับเป็นเกราะป้องกันตามธรรมชาติของสิ่งมีชีวิต เนื่องจากมีบทบาทในการยับยั้งหรือยุติกระบวนการติดเชื้อก่อนที่จะก่อให้เกิดอาการของโรค (Zasloff, 2002)

AMPs หลายชนิดมีความสามารถในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้อย่างรวดเร็วโดยใช้เวลาเพียงไม่กี่วินาทีหลังจากเริ่มสัมผัสกับเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อเป้าหมาย (Loeffler et al., 2001) บางชนิดมีฤทธิ์กระตุ้นหรือเสริมการทำงานของยาปฏิชีวนะ (synergistic effect) เช่น เปปไทด์ nisin Z มีคุณสมบัติเสริมการทำงานของยาปฏิชีวนะ penicillin ในการกำจัดเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescens* โดยใช้ความเข้มข้นน้อยกว่าการใช้ยาปฏิชีวนะ penicillin เพียงชนิดเดียวถึง 155 เท่า (Naghmouchi et al., 2012) และเนื่องจาก AMPs เป็นเปปไทด์สายสั้น จึงสังเคราะห์ขึ้นโดยวิธีทางเคมีได้ง่ายและสามารถปรับแต่งโครงสร้างเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการทำงานและจับกับพื้นผิวของสิ่งมีชีวิตเป้าหมาย (Costa et al., 2011; Wade et al., 2012) นอกจากนี้ยังพบว่า

การปรับโครงสร้างเพียงเล็กน้อยของ AMPs สามารถเปลี่ยนเชื้อจุลินทรีย์เป้าหมายและมีผลต่อความคงตัวเมื่อพบเจอเอนไซม์ protease ที่ทำหน้าที่กำจัดโปรตีน (Papo et al., 2002)

โครงสร้างและหลักการทำงานของ AMPs

โปรตีนโดยทั่วไปมักพบในโครงสร้างทุติยภูมิแบบแผ่นเบต้า (β -sheet) และเกลียวแอลฟา (α -helix) (Figure 1) โดย AMPs ที่มีการนำมาศึกษาส่วนใหญ่มีโครงสร้างแบบเกลียวแอลฟา ตัวอย่างเปปไทด์แบบเกลียวแอลฟาที่เป็นที่รู้จัก ได้แก่ protegrin, magainin และ indolicin (Huang et al., 2010) นอกจากนี้ยังพบ AMPs หลายชนิดที่มีโครงสร้างทั้งสองรูปแบบ (Uteng et al., 2003) และมีหลายชนิดที่ฟอร์มโครงสร้างเฉพาะขณะที่มีการทำปฏิกิริยากับเยื่อหุ้มเซลล์หรือสารพันธุกรรมของเซลล์เป้าหมายเท่านั้น (Hsu et al., 2005; Rozek et al., 2000) นอกจากโครงสร้างทุติยภูมิแล้ว เปปไทด์ยังมีโครงสร้างที่เหมาะสมบางประการที่จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานหรือกำจัดเชื้อแบคทีเรียได้ดีขึ้น นั่นก็คือ คุณสมบัติของขนาด ประจุ และความสามารถในการละลายน้ำ

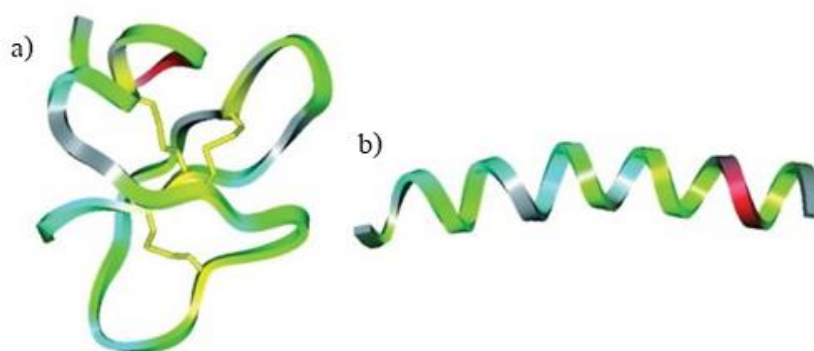


Figure 1 Structure of AMPs. A) β -sheet AMPs and b) α -helical AMPs

ขนาดของ AMPs ที่เหมาะสมต่อการทำงานควรมีขนาดไม่ต่ำกว่า 7-8 กรดอะมิโนเพื่อให้สามารถสร้างโครงสร้างแบบ amphipathic หรือส่วนที่มีประจุและส่วนที่ไม่มีประจุอยู่ในโครงสร้างเดียวกันได้ (Bahar & Ren, 2013) นอกจากขนาดแล้ว ประจุสุทธิเป็นอีกคุณสมบัติที่สำคัญในการเข้าทำลายเซลล์จุลินทรีย์ โดยมีการทดลองเพิ่มประจุสุทธิ (net charge) ของเปปไทด์ชนิด V13K จาก +8 เป็น +9 พบว่ามีผลทำให้เซลล์เป้าหมายแตกได้มากขึ้น ในขณะที่หากมีการลดประจุสุทธิจะทำให้ประสิทธิภาพในการฆ่าเซลล์แบคทีเรีย *P. aeruginosa* ลดต่ำลง (Jiang et al., 2008) และหากพิจารณาเฉพาะส่วนที่ไม่มีประจุ (hydrophobicity) และส่วนที่มีประจุภายในโครงสร้างของเปปไทด์แต่ละเส้น พบว่ามีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพในการทำงานเช่นกัน ในปี 2010 นักวิจัยได้ทำการทดลองเพิ่มส่วนที่ไม่มีประจุไปยังด้านที่เป็นประจุบวกของเปปไทด์ พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ดีขึ้น (Huang et al., 2010) ในขณะที่การทดลองเพื่อปรับลดส่วนที่ไม่มีประจุ ส่งผลให้ความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ลดลง (Lee et al., 2002) ทั้งนี้โครงสร้างโดยรวมยังคงต้องการทั้งส่วนที่ไม่มีประจุและส่วนที่มีประจุ (amphipathicity) เพื่อให้ทำงานได้ตั้งแต่ต้นจนจบ (Fernandez-Vidal et al., 2007) และอีกคุณสมบัติที่ต้องคำนึงถึง คือ ความสามารถในการละลายน้ำ (solubility) เนื่องจากหากเปปไทด์ผ่านเข้าไปในเซลล์แล้วเกิดการตกตะกอน จะมีผลทำให้เปปไทด์ไม่สามารถทำงานได้ (Chen et al., 2005)

ประเภทของ AMPs จำแนกตามจุลินทรีย์เป้าหมาย

AMPs มีฤทธิ์กับจุลินทรีย์ในวงกว้าง ซึ่งทำให้สามารถแบ่งประเภทของ AMPs ได้ตามจุลินทรีย์เป้าหมาย ได้แก่ เปปไทด์ที่มีฤทธิ์ต้านไวรัส เปปไทด์ที่มีฤทธิ์ต้านรา เปปไทด์ที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย และเปปไทด์ที่มีฤทธิ์ต้านปรสิต

เปปไทด์ที่มีฤทธิ์ต้านไวรัส (Antiviral peptides)

เปปไทด์ชนิดนี้สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับเปลือกหุ้มไวรัส (viral envelope) ทำให้เปลือกหุ้มดังกล่าวไม่เสถียร ลดโอกาสในการเกาะติดกับเซลล์เจ้าบ้าน ส่งผลให้เซลล์เจ้าบ้านไม่ติดเชื้อไวรัสดังกล่าว ยกตัวอย่างเช่น เปปไทด์ defensin สามารถเข้าจับกับไกลโคโปรตีนบริเวณเปลือกหุ้มไวรัสของ herpes simplex viruses (HSV) ทำให้ไวรัสไม่สามารถเข้าจับกับผิวของเซลล์เจ้า

บ้านได้ (Belaid et al., 2002; Yasin et al., 2004) เปปไทด์บางชนิดเข้ายึดครองตำแหน่งรับ (receptor) ของเซลล์เจ้าบ้านก่อนที่ไวรัสจะเข้าจับ (Andersen et al., 2004) เปปไทด์บางชนิดสามารถแทรกผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เจ้าบ้านเข้าไปสะสมอยู่ในไซโตพลาสมาหรือออร์แกเนลล์ต่าง ๆ ภายในเซลล์ มีผลยับยั้งการแสดงออกของยีนในไวรัส (Sinha et al., 2003) หลังจากมีการระบาดของไวรัสโคโรนาสายพันธุ์ใหม่หรือ COVID-19 การศึกษาเปปไทด์ที่มีฤทธิ์ต้านไวรัสเป็นที่สนใจอย่างมาก โดยในปี ค.ศ. 2021 ได้มีการรวบรวมงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเปปไทด์ที่มีฤทธิ์ต้านไวรัสที่เข้าทำลายระบบทางเดินหายใจ พบว่ามีเปปไทด์หลายชนิดที่มีประสิทธิภาพยับยั้งและฆ่าเชื้อไวรัสดังกล่าวโดยมีระดับความเข้มข้นและกลไกการเข้าทำลายไวรัสแตกต่างกัน เช่น เข้าจับกับตำแหน่งรับ (receptor) ของไวรัส เข้าจับกับเอนไซม์บางชนิดที่มีความสำคัญต่อการดำรงอยู่ของไวรัส ยับยั้งการจำลองตัวเอง หรือเข้าทำปฏิกิริยาโดยตรงกับบางชิ้นส่วนของไวรัส (Heydari et al., 2021; Madadlou, 2020; Zhao et al., 2020)

งานวิจัยเปปไทด์ที่มีฤทธิ์ต้านไวรัสในงานด้านโรคพืชได้แก่ การศึกษาเปปไทด์ Btdef ซึ่งเป็นเปปไทด์ประเภท defensin-like ที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียไวรัสสาเหตุของอาการใบหงิกเหลืองที่มีแมลงหิวขาว (whitefly) เป็นพาหะ โดย AMPs ดังกล่าวเข้าทำปฏิกิริยาโดยตรงกับโปรตีนของไวรัสที่สร้างในระยะต่าง ๆ ในเซลล์เจ้าบ้าน (Wang et al., 2016)

เปปไทด์ที่มีฤทธิ์ต้านรา (Antifungal peptides)

เปปไทด์กลุ่มนี้สามารถฆ่าเชื้อราได้ทั้งวิธีการทำให้เซลล์แตกและทำลายองค์ประกอบภายในเซลล์ โดยองค์ประกอบหลักของผนังเซลล์รา ได้แก่ ไคติน (chitin) ดังนั้น เปปไทด์กลุ่มนี้จึงมีคุณสมบัติจับกับไคตินได้ (Pushpanathan et al., 2012) ตัวอย่างเปปไทด์ที่โดดเด่นในด้านการต้านเชื้อราได้แก่ defensin (Def) โดย defensin เป็นกลุ่ม AMPs ที่มี cysteine สูง มีขนาดประมาณ 45 – 54 กรดอะมิโน มีความหลากหลายและมีโครงสร้างที่เป็นบริเวณอนุรักษ์คือ กลีเยวแอลฟา 1 กลีเยว และแผ่นเบต้า 3 แผ่น ซึ่งทำให้เกิดพันธะ disulfide ได้ 4 พันธะส่งผลให้มีความเสถียรสูง (De Coninck et al., 2013; Francisco and Georgina, 2017)

เปปไทด์ที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (Antibacterial peptides)

เปปไทด์กลุ่มนี้เป็นกลุ่มที่ได้รับการพูดถึงมากที่สุดในปัจจุบัน ส่วนใหญ่มีประจุบวก (cationic AMPs) จึงสามารถจับกับประจุลบบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียและทำให้โครงสร้างไขมันบริเวณดังกล่าวเสียหายได้ง่าย (Shai, 2002) และยังพบว่าส่วนใหญ่เปปไทด์ประเภทนี้มีคุณสมบัติ amphipathic หมายถึงมีทั้งส่วนที่ละลายน้ำและไม่ละลายน้ำ ทำให้สามารถจับได้กับไขมันและหมู่ฟอสเฟตบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียเป้าหมาย (Jenssen et al., 2006) นอกจากนี้เปปไทด์ที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียบางชนิดยังสามารถแทรกผ่านเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรียโดยไม่ทำให้เซลล์แตก และเข้าไปยับยั้งกระบวนการจำลองดีเอ็นเอและการสังเคราะห์โปรตีนภายในเซลล์เป้าหมายได้ (Brogden, 2005) ตัวอย่างของ AMPs ที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้แก่ defensin แม้ว่าโดยส่วนใหญ่แล้ว defensin จะมีฤทธิ์กำจัดเชื้อรา แต่มีบางรายงานระบุว่า defensin บางชนิดมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ได้แก่ Cp-thionin II จากถั่วพู (Franco et al., 2006) และ ZmESR-6 จากข้าวโพด (Balandin et al., 2005)

เปปไทด์ที่มีฤทธิ์ต้านปรสิต (Antiparasite peptides)

เปปไทด์ในกลุ่มนี้มีจำนวนน้อยเมื่อเทียบกับสามกลุ่มข้างต้น ตัวอย่างเช่น magainin เป็นเปปไทด์ชนิดแรกที่พบว่า มีฤทธิ์ฆ่าพารามีเซียม *Paramecium caudatum* (Zaslhoff, 1987) เปปไทด์ cathelicidin มีฤทธิ์ฆ่า *Caernohabditis elegans* โดยการทำให้เกิดรูบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ (Park et al., 2004) เป็นต้น

กลไกการทำงานของ AMPs

จากที่กล่าวแล้ว AMPs บางชนิดสามารถทำลายเซลล์จุลินทรีย์ได้โดยทำให้เกิดรูบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ หรือแทรกเข้าเยื่อหุ้มเซลล์โดยไม่ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เสียหาย เพื่อเข้ายับยั้งกระบวนการสังเคราะห์สารต่าง ๆ ในเซลล์ เช่น ดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ โปรตีน ในปี ค.ศ. 2009 มีรายงานว่า หนึ่งในสามของโปรตีนทั้งหมดของเซลล์แบคทีเรียเกี่ยวข้องกับการสร้างเยื่อหุ้มเซลล์ และโปรตีนเหล่านี้มีหน้าที่สำคัญในการขนส่งสารอาหาร การหายใจ การสร้างพลังงาน และการสื่อสารภายในเซลล์ (Zhang & Rock, 2009) เมื่อโปรตีนเหล่านี้ทำปฏิกิริยากับ AMPs จะมีผลให้ไม่สามารถทำงานได้ตามปกติ ดังนั้น AMPs จึงมีประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์เป้าหมายได้อย่างรวดเร็วแม้ในกรณีที่ไม่มีการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์หรือทำให้เซลล์แตก ดังนั้น หากแบ่ง AMPs ตามกลไกการทำงาน

จึงแบ่งได้เป็นกลุ่มที่ทำงานบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ (membrane-active AMPs) และกลุ่มที่ทำงานภายในเซลล์ (Intracellular active AMPs) (Bahar & Ren, 2013) (Figure 2)

เปปไทด์ในกลุ่มที่ทำงานบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์มักมีคุณสมบัติเป็น amphipathic หมายถึง มีทั้งส่วนที่เป็นประจุบวกและส่วนที่ไม่มีประจุ ส่วนที่เป็นประจุบวกจะสามารถจับกับประจุลบบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ และส่วนที่ไม่มีประจุจะช่วยให้ AMPs แทรกซึมเข้าไปยังเยื่อหุ้มเซลล์ด้านใน (Madani et al., 2011) รายละเอียดของกลไกการทำงานของเปปไทด์กลุ่มนี้มีความแตกต่างกันแล้วแต่กรณี ยกตัวอย่างเช่น กลไก carpet like (deter-like) model เปปไทด์จะเข้าสัมผัสกับเยื่อหุ้มเซลล์เป้าหมายและแทรกเข้าไปในชั้นไขมันเพื่อสร้างรูบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ (Bechinger, 2005) สำหรับกลไก membrane thing model เปปไทด์จะแทรกตัวเข้าไปอยู่ในชั้นหนึ่งของเยื่อหุ้มเซลล์ที่ประกอบด้วยไขมันสองชั้นเพื่อสร้างรูเล็ก ๆ ระหว่างโมเลกุลของไขมัน รูดังกล่าวจะสร้างแรงดึงไขมันโมเลกุลถัดไปมาปิดรูที่เกิดขึ้น ทำให้ไม่เกิดรูหลังจากแทรกตัว (Mecke et al., 2005) ส่วนกลไก aggregate model เปปไทด์จะติดขนานไปกับเยื่อหุ้มเซลล์ด้านนอก จากนั้นเปปไทด์จะสร้างโครงสร้างใหม่และแทรกตัวเองเข้าไปในเยื่อหุ้มเซลล์ในแนวตั้งและสร้างโครงสร้างใหม่ภายในเซลล์เป้าหมายเป็นรูปทรงกลม (Wu et al., 1999) เป็นต้น

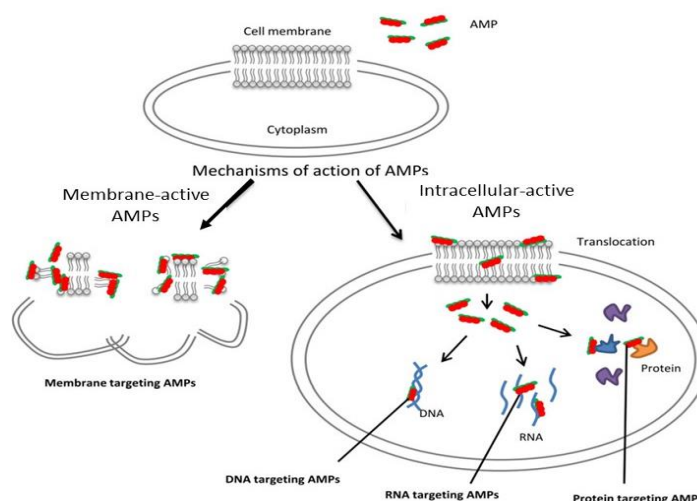


Figure 2 Overview of mechanism of action of AMPs, AMPs target on cell membrane and AMPs target on different macromolecules specially DNA, RNA and proteins

ในขณะที่เปปไทด์กลุ่มที่ทำงานบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ต้องใช้เปปไทด์จำนวนมากในการเข้ายึดเกาะกับเยื่อหุ้มเซลล์เพื่อทำให้เกิดรูหรือช่องโหว่บริเวณผิวเซลล์จำนวนมากเพียงพอที่จะทำให้เซลล์ตาย เปปไทด์กลุ่มที่ทำงานภายในเซลล์สามารถเข้าทำลายเซลล์เป้าหมายได้โดยใช้ความเข้มข้นต่ำกว่าค่า MICs (ความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์) ของเปปไทด์กลุ่มแรก โดยเป้าหมายหลักคือเข้าทำปฏิกิริยากับสิ่งต่าง ๆ ภายในเซลล์ (Otvos, 2005) ยกตัวอย่างเช่น indolicin จะไม่ทำให้เซลล์แตกโดยตรง แต่จะแทรกตัวเข้าไปยังไซโทพลาสซึมและฆ่าแบคทีเรียด้วยการยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ (Nicolas, 2009) apidaecin เป็น เปปไทด์ที่เข้ายับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนโดยไม่ทำให้เกิดรูบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์เช่นกัน โดย apidaecin จะเข้าทำลายเฉพาะแบคทีเรียแกรมลบ (Castle et al., 1999) นอกจากนี้ยังพบว่าเปปไทด์บางชนิดสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ protease ที่ผลิตโดยจุลินทรีย์เป้าหมายได้ด้วย เช่น เปปไทด์ histatin 5 ยับยั้งเอนไซม์ protease จากเชื้อแบคทีเรีย *Bacterioides gingivalis* ได้ (Couto et al., 1993)

ตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการประยุกต์ใช้ AMPs ในงานด้านโรคพืช

แนวทางการวิจัยการประยุกต์ใช้ AMPs ในงานด้านโรคพืชมักเริ่มจากการศึกษาโปรตีนและเปปไทด์ในสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ และนำมาทดสอบคุณสมบัติการฆ่าหรือยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคพืช มีการรวบรวมโครงสร้างและการทำงานของ AMPs ที่พบในพืช เรียกว่าฐานข้อมูล PhytAMP ในฐานข้อมูลดังกล่าวระบุว่ามี AMPs ถึงร้อยละ 51 ที่มีฤทธิ์ยับยั้งรา ร้อยละ 33 มี

ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย และร้อยละ 10 มีฤทธิ์ยับยั้งไวรัส (Hammami et al., 2009) ในจำนวนนี้มีหลายชนิดที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคพืช

ในปี ค.ศ. 2001 มีรายงานการศึกษาโครงสร้างและกลไกด้านการติดเชื้อของเปปไทด์ magainin ที่พบในผิวหนังกบ โดยพบว่า magainin สามารถยับยั้งการเจริญของสปอร์ของสิ่งมีชีวิตคล้ายรา (oomycete) เชื้อราสีน้ำตาล *Peronospora tabacina* (Adam) ในระดับห้องปฏิบัติการ และยังสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (Jones) ซึ่งก่อให้เกิดโรคเน่าและได้อีกด้วย สำหรับ cecropin เป็น AMPs ที่มีโครงสร้างเกลียวแอลฟาและสกัดได้จากหนอนผีเสื้อ *Hyalophora cecropia* สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคพืชสกุล *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Pectobacterium*, *Agrobacterium* และ *Dickeya* ได้ ด้วยความเข้มข้นในระดับไมโครโมลาร์ (Alan & Earle, 2002; Li & Gray, 2003)

ในปี ค.ศ. 2016 คณะนักวิจัยจากประเทศจีนได้ทำการศึกษากลไกยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคขอบใบแห้งในข้าว *X. oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) ของเปปไทด์ melittin ที่แยกได้จากพิษของผึ้ง *Apis mellifera* พบว่า melittin สามารถฆ่าแบคทีเรีย Xoo ด้วยความเข้มข้นเพียง 10 ไมโครโมลาร์ เมื่อตรวจสอบปริมาณสารพันธุกรรมภายในเซลล์แบคทีเรียโดยใช้สารเรืองแสงฟลูออเรสเซนส์ พบว่า แบคทีเรียที่ได้รับเปปไทด์ melittin ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์มีผลทำให้ปริมาณสารพันธุกรรมลดน้อยลงกว่าเซลล์ที่ไม่ได้รับเปปไทด์ นอกจากนี้เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบว่าผนังเซลล์ของแบคทีเรีย Xoo ที่ได้รับเปปไทด์ melittin มีลักษณะยุบและมีการไหลออกของไซโทพลาสซึม ซึ่งแสดงว่าเปปไทด์ดังกล่าวมีผลทำให้เกิดรูบริเวณผนังเซลล์ทำให้สารภายในเซลล์รั่วไหลและตายในที่สุด (Shi et al., 2016)

Defensin เป็น AMPs กลุ่มใหญ่ที่มีการศึกษาในงานด้านโรคพืชกันอย่างกว้างขวางตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน โดยการศึกษาที่ได้รับการอ้างอิงถึงในหลายงานวิจัย ได้แก่ เปปไทด์ Psd1 จาก *Pisum sativum* เปปไทด์ NaD1 จาก *Nicotiana glauca* เปปไทด์ TPP3 จาก *Solanum lycopersicum* เปปไทด์ NsD7 จาก *N. suaveolens* และเปปไทด์ MtDef5 จาก *Medicago truncatula* โดยมีการรายงานว่าเปปไทด์กลุ่มดังกล่าวทำปฏิกิริยากับพลาสมาเมมเบรนและทำให้เซลล์ร่ายในที่สุด (Aerts et al., 2008) ในปี ค.ศ. 2016 คณะนักวิจัยชาวไทยได้ศึกษาการแสดงออกของยีนที่เป็นรหัสของเปปไทด์ defensin และ defensin-like โดยพบว่า ยีน *OsDEF7* และ *OsDEF8* มีการแสดงออกร่วมกัน (coexpression) ในการยับยั้งการเจริญของ Xoo, *X. oryzae* pv. *oryzicola* สาเหตุโรคใบขีดโปร่งแสงในข้าว และ *E. carotovora* subsp. *atroseptica* สาเหตุโรคเน่าและในมันฝรั่ง ด้วยค่า MIC 0.6 – 63 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Tantong et al., 2016) หลังจากนั้น 3 ปี คณะนักวิจัยจากประเทศสหรัฐอเมริกาพบว่า core motif ของ defensin ที่แยกได้จาก *Medicago truncatula* หรือที่เรียกว่า MtDef สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคทั้งในมนุษย์และในพืช (*E. coli*, *P. syringae* pv. *syringae*, *X. alfalfa* subsp. *alfalfa*, *Sinorhizobium meliloti*) ในระดับห้องปฏิบัติการ นอกจากนี้ยังรายงานว่ามี defensin ในขนาดความยาวปกติ (full length defensin) ให้ผลการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีกว่าเปปไทด์ที่มีเพียง core motif (Sathoff et al., 2019) และในปี ค.ศ. 2020 มีรายงานพบว่าเปปไทด์ epsilon-poly-L-lysine หรือ EPL มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคพืช *Agrobacterium tumefaciens*, *Ralstonia solanacearum*, *X. citri* subsp. *citri* (*X. citri*), และ *X. euvesicatoria* โดยพบว่าค่า MIC ของเปปไทด์ EPL เท่ากับ 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรในเชื้อ *X. citri* และเท่ากับ 600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรสำหรับเชื้อ *R. solanacearum* และ *X. euvesicatoria* โดยหลังจากให้เชื้อสัมผัสกับเปปไทด์ที่ค่า MIC ดังกล่าวเป็นเวลา 2 ชั่วโมง มีผลให้แบคทีเรียก่อโรคพืชตายเนื่องจากเซลล์แตก นอกจากนี้ยังรายงานว่ามีสารละลายเปปไทด์ EPL กับต้นมะเขือเทศที่มีการติดเชื้อ *X. euvesicatoria* สาเหตุโรคใบจุดมะเขือเทศ พบว่าสามารถลดความรุนแรงของโรคได้ (Rodrigues et al., 2020) ในปี ค.ศ. 2022 มีการศึกษาเปปไทด์ที่สกัดจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคพืช พบว่า AMPs ที่ได้จากขานอ้อยมีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคพืชบางชนิด และเมื่อศึกษาต่อด้วยการทำให้บริสุทธิ์และศึกษาการทำงานของเปปไทด์ด้วยเทคนิคโปรตีโอมิกส์ พบว่า เปปไทด์ PQLAVF (Pro-Gln-Leu-Ala-Val-Phe) และเปปไทด์ MDRFL (Met-Asp-Arg-Phe-Leu) เป็นเปปไทด์ที่ทำงานบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ (membrane-active AMPs) มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ Xoo ในขณะที่เปปไทด์ VQLMNSL (Val-Gln-Leu-Met-Asn-Ser-Leu) เป็นเปปไทด์ที่ทำงานภายในเซลล์ (intracellular-active AMPs) มีผลต่อกระบวนการต่าง ๆ ภายในเซลล์แบคทีเรียก่อโรคชนิด *Pectobacterium*

carotovorum สาเหตุโรคน้ำ และ *Agrobacterium rhizogenes* สาเหตุโรครากจำนวนมากผิดปกติ โดยส่งผลกระทบต่อโปรตีนในแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สารจำเป็นต่าง ๆ ภายในเซลล์ ทั้งดีเอ็นเอ คาร์โบไฮเดรต ไขมัน รวมทั้งมีผลต่อโปรตีนในกระบวนการถอดรหัสและแปลรหัส การซ่อมแซมดีเอ็นเอ และการส่งสัญญาณภายในเซลล์ นอกจากนี้ยังพบว่ากลไกการทำงานดังกล่าวยังมีลักษณะเฉพาะตัว แตกต่างจากกลไกของยาปฏิชีวนะ ampicillin และ kanamycin ในการยับยั้งเซลล์เป้าหมายอีกด้วย (Ditsawanon et al., 2022)

ทั้งนี้ การศึกษากลไกการทำงานระหว่าง AMPs และเชื้อก่อโรคในพืชยังมีไม่มากนัก และจากรายงานบางส่วน พบว่ากลไกของ AMPs ส่งผลกระทบต่อโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับโปรตีนของเชื้อก่อโรคในหลายระบบ จึงไม่สามารถระบุได้ว่า AMPs จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับโปรตีนประเภท PR-protein, phytoalexin หรือ phyto-anticipin กลุ่มใดกลุ่มหนึ่งได้

แนวทางการนำ AMPs ไปใช้ในการควบคุมโรคและข้อจำกัด

จากรายงานวิจัยที่รวบรวมมาในหัวข้อข้างต้น พบว่าการทดสอบการยับยั้งเชื้อก่อโรคในพืชโดยใช้ AMPs ให้ผลดีในระดับห้องปฏิบัติการ โดยส่งผลกระทบต่อระบบต่าง ๆ ในเชื้อก่อโรคหลายชนิด อย่างไรก็ตาม สภาพแวดล้อมจริงในพื้นที่ปลูกยังคงเป็นปัจจัยสำคัญในการระบาดและการควบคุมโรค ดังนั้น การนำ AMPs ที่ให้ผลดีในห้องปฏิบัติการไปศึกษาต่อในสภาพแวดล้อมจริง และดัดแปลงโครงสร้างบางส่วนของ AMPs เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการใช้งานและเพิ่มความปลอดภัยจึงเป็นอีกทางเลือกที่น่าสนใจ นอกจากนี้ การใช้เทคโนโลยีระดับนาโน เช่น พอลิเมอร์ (polymers) อนุภาคนาโน (nanoparticles) ไมเซลล์ (micelles) เข้ามามีส่วนช่วยในการนำพา AMPs เข้าไปทำหน้าที่ในเซลล์พืชเป้าหมาย ยังมีส่วนช่วยลดข้อจำกัดในเรื่องความปลอดภัยในประสิทธิภาพการทำงาน และลดความเสี่ยงในการถูกทำลายจากเอนไซม์โปรติเอส (protease) ได้ (Martin-Serrano et al., 2019)

สรุป

AMPs เป็นสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์หลายชนิด ทั้งไวรัส รา แบคทีเรีย และปรสิต จึงมีประโยชน์อย่างมากในการควบคุมโรคพืช เปปไทด์เหล่านี้ได้มาจากการสกัดจากธรรมชาติและสังเคราะห์ขึ้นในห้องปฏิบัติการ ซึ่งให้ผลประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ก่อโรคพืชที่น่าพอใจดังรายงานต่าง ๆ ที่กล่าวไว้ข้างต้น อย่างไรก็ตาม งานวิจัยที่ศึกษา AMPs ในโรคพืชส่วนใหญ่ในปัจจุบัน เป็นการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการ คาดว่าแนวโน้มการศึกษาในอนาคตอันใกล้จะมีการนำ AMPs ไปประยุกต์ใช้ในโรงเรือนหรือทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคพืชในพื้นที่จริงทางการเกษตร แม้ว่าในปัจจุบันมีการศึกษาถึงกลไกการทำงานของ AMPs ที่เกี่ยวกับการควบคุมโรคพืชไม่มากนัก และยังใช้ต้นทุนการผลิตค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับยาปฏิชีวนะที่มีในปัจจุบัน และมีข้อจำกัดในการใช้งานบางประการ แต่หากมีการศึกษาที่ใช้เทคโนโลยีแก้ปัญหาดังกล่าวได้ และสามารถผลิตใช้ได้ในวงกว้างได้สำเร็จ จะเป็นประโยชน์อย่างมากกับเกษตรกรทั้งในและต่างประเทศในแง่ของความมั่นคงทางอาหาร ความยั่งยืนของเกษตรกรรม รวมทั้งความปลอดภัยของผู้บริโภคผลิตภัณฑ์ทางเกษตรด้วย

เอกสารอ้างอิง

- Aerts, A. M., Francois, I. E. J. A., Cammue, B. P. A., & Thevissen, K. (2008). The mode of antifungal action of plant, insect and human defensins. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 65, 2069-2079.
- Alan, A. R., & Earle, E. D. (2002). Sensitivity of bacterial and fungal plant pathogens to the lytic peptides, MSI-99, magainin II, and cecropin B. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 15, 701-708.
- Andersen, J. H., Jenssen, H., Sandvik, K., & Gutteberg, T. J. (2004). Anti-hsv activity of lactoferrin and lactoferricin is dependent on the presence of heparan sulphate at the cell surface. *Journal of Medical Virology*, 74, 262-271.
- Bahar, A. A., & Ren, D. (2013). Antimicrobial peptides. *Pharmaceuticals*, 6, 1543-1575.
- Balandin, M., Royo, J., Gomez, E., Muniz, L. M., Molina, A., & Hueros, G. (2005). A protective role for the embryo surrounding region of the maize endosperm, as evidenced by the characterization of ZmESR-6, a defensin gene specifically expressed in this region. *Plant Molecular Biology*, 58, 269-282.
- Bechinger, B. (2005). Detergent-like properties of magainin antibiotic peptides: A 31p solid-state nmr spectroscopy study. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1712, 101-108.
- Belaid, A., Aouni, M., Khelifa, R., Trabelsi, A., Jemmali, M., & Hani, K. (2002). In vitro antiviral activity of dermaseptins against herpes simplex virus type 1. *Journal of Medical Virology*, 66, 229-234.
- Brogden, K. A. (2005). Antimicrobial peptides: Pore formers or metabolic inhibitors in bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 3, 238-250.

- Castle, M., Nazarian, A., Yi, S. S., & Tempst, P. (1999). Lethal effects of apidaecin on *Escherichia coli* involve sequential molecular interactions with diverse targets. **Journal of Biological Chemistry**, 274, 32555–32564.
- Chen, Y., Mant, C. T., Farmer, S. W., Hancock, R. E. W., Vasil, M. L., & Hodges, R. S. (2005). Rational design of alpha-helical antimicrobial peptides with enhanced activities and specificity/therapeutic index. **Journal of Biological Chemistry**, 280, 12316–12329.
- Costa, F., Carvalho, I. F., Montelaro, R. C., Gomes, P., & Martins, M. C. (2011). Covalent immobilization of antimicrobial peptides (AMPs) onto biomaterial surfaces. **Acta Biomaterialia**, 7, 1431–1440.
- Couto, M. A., Harwig, S. S., & Lehrer, R. I. (1993). Selective inhibition of microbial serine protease by anap-2, an antimicrobial peptide from equine neutrophils. **Infection and Immunity**, 61, 2991–2994.
- De Coninck, B., Cammue, B. P. A., & Thevissen, K. (2013). Modes of antifungal action and in planta functions of plant defensins and defensin-like peptides. **Fungal Biology Reviews**, 26, 109–120.
- Ditsawanon, T., Roytrakul, S., Phaonakrob, N., Charoenlappanit, S., Thaisakun, S., & Parinthawong, N. (2022). Antibacterial efficiency and mechanisms of small synthetic peptides derived from agricultural wastes that act against plant pathogens but not plant growth-promoting rhizobacteria. **Agronomy**, 12, 1841.
- Dösler, S. (2017). Antimicrobial peptides: Coming to the end of antibiotic era, the most promising agents. **Istanbul Journal of Pharmacy**, 47(2), 72–76.
- Fernandez-Vidal, M., Jayasinghe, S., Ladokhin, A. S., & White, S. H. (2007). Folding amphipathic helices into membranes: Amphiphilicity trumps hydrophobicity. **Journal of Molecular Biology**, 370, 459–470.
- Francisco, G. C., & Georgina, E. (2017). Structural motifs in class I and class II plant defensins for phospholipid interactions: Intriguing role of ligand binding and modes of action. **Journal of Plant Physiology**, 5, 1.
- Franco, O. L. Murad, A. M. Leite, J. R., Mendes, P. A. M. Prates, M. V., & Bloch, C. (2006). Identification of a cowpea gamma-thionin with bactericidal activity. **The FEBS Journal**, 273, 3489–3497.
- Goyal, R. K., & Mattoo, A. K. (2014). Multitasking antimicrobial peptides in plant development and host defense against biotic/abiotic stress. **Plant Science**, 228, 135–149.
- Hammami, R., Ben H. J., Vergoten, G., & Flis, I. (2009). PhytAMP: a database dedicated to antimicrobial plant peptides. **Nucleic Acids Research**, 37, D963–D968.
- Hancock, R. E., & Scott, M. G. (2000). The role of antimicrobial peptides in animal defenses. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 97, 8856–8861.
- Heydari, H., Golmohammadi, R., Mirnejad, R., Tebyanian, H., Fasihi-Ramandi, M., & Moghaddam, M. M. (2021). Antiviral peptides against Coronaviridae family: A review. **Peptides**, 139, 170526.
- Hsu, C. H., Chen, C., Jou, M. L., Lee, A. Y., Lin, Y. C., Yu, Y. P., Huang, W. T., & Wu, S. H. (2005). Structural and DNA-binding studies on the bovine antimicrobial peptide, indolicidin: Evidence for multiple conformations involved in binding to membranes and DNA. **Nucleic Acids Research**, 33, 4053–4064.
- Huang, Y. B., Huang, J. F., & Chen, Y. X. (2010). Alpha-helical cationic antimicrobial peptides: Relationships of structure and function. **Protein & Cell**, 1, 143–152.
- Jenssen, H., Hamill, P., & Hancock, R. E. W. (2006). Peptide antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, 19, 491–511.
- Jiang, Z., Vasil, A. I., Hale, J. D., Hancock, R. E., Vasil, M. L., & Hodges, R. S. (2008). Effects of net charge and the number of positively charged residues on the biological activity of amphipathic alpha-helical cationic antimicrobial peptides. **Biopolymers**, 90, 369–383.
- Lee, D. G., Kim, H. N., Park, Y. K., Kim, H. K., Choi, B. H., Choi, C. H., & Hahm, K. S. (2002). Design of novel analogue peptides with potent antibiotic activity based on the antimicrobial peptide, hp (2–20), derived from n-terminus of *Helicobacter pylori* ribosomal protein L1. **Biochimica et Biophysica Acta**, 1598, 185–194.
- Leippe, M. (1999). Antimicrobial and cytolytic polypeptides of amoeboid protozoa—Effector molecules of primitive phagocytes. **Developmental & Comparative Immunology**, 23, 267–279.
- Li, J., Hu, S., Jian, W., Xie, C., & Yang, X. (2021) Plant antimicrobial peptides: structures, functions, and applications. **Botanical Studies**, 62, 5.
- LI, Z. T., & Gray D. J. (2003). Effect of five antimicrobial peptides on the growth of *Agrobacterium tumefaciens*, *Escherichia coli* and *Xylella fastidiosa*. **Vitis**, 42 (2), 95–97.
- Loeffler, J. M., Nelson, D., & Fischetti, V. A. (2001). Rapid killing of *Streptococcus pneumoniae* with a bacteriophage cell wall hydrolase. **Science**, 294, 2170–2172.
- Madani, F., Lindberg, S., Langel, U., Futaki, S., & Graslund, A. (2011). Mechanisms of cellular uptake of cell-penetrating peptides. **Journal of Biophysics**. <http://doi.org/10.1155/2011/414729>
- Madadlou, A. (2020). Food proteins are a potential resource for mining cathepsin L inhibitory drugs to combat SARS-CoV-2. **European Journal of Pharmacology**. <http://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173499>
- Martin -Serrano, A., Gómez, R., Ortega, P., & de la Mata, J. (2019). Nanosystems as Vehicles for the Delivery of Antimicrobial Peptides (AMPs). **Pharmaceutics**, 11, 448.
- Mecke, A., Lee, D. K., Ramamoorthy, A., Orr, B. G., & Holl, M. M. B. (2005). Membrane thinning due to antimicrobial peptide binding: An atomic force microscopy study of msi-78 in lipid bilayers. **Biophysical Journal**, 89, 4043–4050.
- Naghmouchi, K., le Lay, C., Baah, J., & Drider, D. (2012). Antibiotic and antimicrobial peptide combinations: Synergistic inhibition of *Pseudomonas fluorescens* and antibiotic-resistant variants. **Research in Microbiology**, 163, 101–108.

- Nicolas, P. (2009). Multifunctional host defense peptides: Intracellular-targeting antimicrobial peptides. **The FEBS Journal**, 276, 6483–6496.
- Otvos, L. (2005). Antibacterial peptides and proteins with multiple cellular targets. **Journal of Peptide Science**, 11, 697–706.
- Papo, N., Oren, Z., Pag, U., Sahl, H. G., & Shai, Y. (2002). The consequence of sequence alteration of an amphipathic alpha-helical antimicrobial peptide and its diastereomers. **Journal of Biological Chemistry**, 277, 33913–33921.
- Park, Y., Jang, S. H., Lee, D. G., & Hahm, K. S. (2004). Antinematodal effect of antimicrobial peptide, pmap-23, isolated from porcine myeloid against *Caenorhabditis elegans*. **Journal of Peptide Science**, 10, 304–311.
- Peters, B. M., Shirliff, M. E., & Jabra-Rizk, M. A. (2010). Antimicrobial peptides: Primeval molecules or future drugs. **PLoS Pathogens**, 6, e1001067.
- Pushpanathan, M., Rajendhran, J., Jayashree, S., Sundarakrishnan, B., Jayachandran, S., & Gunasekaran, P. (2012). Identification of a novel antifungal peptide with chitin-binding property from marine metagenome. **Protein & Peptide Letters**, 19, 1289–1296.
- Radek, K., & Gallo, R. (2007). Antimicrobial peptides: Natural effectors of the innate immune system. **Semin. Immunopathology**, 29, 27–43.
- Rodrigues, B., Morais, T. P., Zaini, P. A., Campos, C. S., Almeida-Souza, H. O., Dandekar, A. M., Nascimento, R., & Goulart, L. R. (2020). Antimicrobial activity of Epsilon-Poly-L-lysine against phytopathogenic bacteria. **Scientific Reports**, 10, 11324.
- Rozek, A., Friedrich, C. L., & Hancock, R. E. (2000). Structure of the bovine antimicrobial peptide indolicidin bound to dodecylphosphocholine and sodium dodecyl sulfate micelles. **Biochemistry**, 39, 15765–15774.
- Sathoff, A. E., Velivelli, S., Shah, D. M., & Samac, D. A. (2019). Plant defensin peptides have antifungal and antibacterial activity against human and plant pathogens. **Phytopathology**, 109, 402–408.
- Sereenonchai S., & Arunrat, N. (2022). Urban Agriculture in Thailand: Adoption Factors and Communication Guidelines to Promote Long-Term Practice. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, 20(1), 1.
- Shai, Y. (2002). Mode of action of membrane active antimicrobial peptides. **Biopolymers**, 66, 236–248.
- Shah, P., Hsiao, F. S. H., Ho, Y. H., & Chen, C. S. (2016). The proteome targets of intracellular targeting antimicrobial peptides. **Proteomics**, 16, 1225–1237.
- Shi, W., Li, C., Li, M., Zong, X., Han, D., & Chen, Y. (2016). Antimicrobial peptide melittin against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, the bacterial leaf blight pathogen in rice. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 100, 5059–5067.
- Sinha, S., Cheshenko, N., Lehrer, R. I., & Herold, B. C. (2003). Np-1, a rabbit alpha-defensin, prevents the entry and intercellular spread of herpes simplex virus type 2. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 47, 494–500.
- Subbalakshmi, C., & Sitaram, N. (1998). Mechanism of antimicrobial action of indolicidin. **FEMS Microbiology Letters**, 160, 91–96.
- Tantong, S., Pringsulaka, O., Weerawanich, K., Meeprasert, A., Rungrotmongkol, T., Sarnthima, R., Roytrakul, S., & Sirikantaramas, S. (2016). Two novel antimicrobial defensins from rice identified by genecoexpression network analyses. **Peptides**, 84, 7–16.
- Uteng, M., Hauge, H. H., Markwick, P. R., Fimland, G., Mantzilas, D., Nissen-Meyer, J., & Muhle-Goll, C. (2003). Three-dimensional structure in lipid micelles of the pediocin-like antimicrobial peptide sakacin p and a sakacin p variant that is structurally stabilized by an inserted c-terminal disulfide bridge. **Biochemistry**, 42, 11417–11426.
- Wang, Z., Bing, X., Liu, S., & Chen, X. (2016). RNA interference of an antimicrobial peptide, Btdef, reduces Tomato yellow leaf curl China virus accumulation in the whitefly *Bemisia tabaci*. **Pest Management Science**, 73(7), 1421–1427.
- Wade, J. D., Lin, F., Hossain, M. A., & Dawson, R. M. (2012). Chemical synthesis and biological evaluation of an antimicrobial peptide gonococcal growth inhibitor. **Amino Acids**, 43, 2279–2283.
- Wu, M., Maier, E., Benz, R., & Hancock, R. E. (1999). Mechanism of interaction of different classes of cationic antimicrobial peptides with planar bilayers and with the cytoplasmic membrane of *Escherichia coli*. **Biochemistry**, 38, 7235–7242.
- Yasin, B., Wang, W., Pang, M., Cheshenko, N., Hong, T., Waring, A. J., Herold, B. C., Wagar, E. A., & Lehrer, R. I. (2004). Defensins protect cells from infection by herpes simplex virus by inhibiting viral adhesion and entry. **Journal of Virology**, 78, 5147–5156.
- Zasloff, M. (2002). Antimicrobial peptides of multicellular organisms. **Nature**, 415, 389–395.
- Zasloff, M. (1987). Magainins, a class of antimicrobial peptides from *Xenopus* skin: Isolation, characterization of two active forms, and partial cDNA sequence of a precursor. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 84, 5449–5453.
- Zhang, Y. M., & Rock, C. O. (2009). Transcriptional regulation in bacterial membrane lipid synthesis. **Journal of Lipid Research**, 50, S115–S119.
- Zhao, H., To, K. K. W., Sze, K. H., Yung, T. T., Bian, Lam, M. H., Yeung, Li, M. L. C. Chu, H., & Yuen, K. Y. (2020). A broad-spectrum virus- and host-targeting peptide against respiratory viruses including influenza virus and SARS-CoV-2. **Nature Communications**, 11, 4252.
- Zhao, X., Wu, H., Lu, H., Li, G., & Huang, Q. (2013). Lamp: A database linking antimicrobial peptides. **PLoS One**, 8(6), e66557.