ว. วิชาการ กษ. 7 : 84–91 (2532)

การชักนำให้พืชสร้างภูมิคุ้มกันโรค

พรทิพย์ วงศ์แก้ว[1]

บทคัดย่อ

การชักนำให้พืชสร้างภูมิคุ้มกันเพื่อต่อต้านการเข้าทำลายของเชื้อโรค สามารถทำได้ในทำนองเดียวกับมนุษย์และสัตว์เมื่อได้รับการกระตุ้นโดยการฉีดวัคซีน ซึ่งจะทำให้ร่างกายสร้างภูมิคุ้มกันเกิดขึ้นโดยการสร้างสารแอนติบอดี้ สำหรับพืชก็มีกลไกในการต่อต้านการเข้าทำลายของเชื้อโรคได้เช่นกันเมื่อได้รับการกระตุ้นที่เหมาะสม ซึ่งได้พบว่าหากทำการปลูกเชื้อที่มีความรุนแรงน้อย หรือเชื้อต่างสายพันธุ์หรือเชื้อที่ไม่ใช่สาเหตุโรคของพืชชนิดนั้น จะทำให้พืชมีความต้านทานต่อโรคได้ดีกว่าพืชที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อกระตุ้น นอกจากนี้ ยังอาจใช้สารเคมีบางประเภทที่เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์เชื้อ หรือสารอนินทรีย์บางชนิดกระตุ้นให้พืชต้านทานโรคเพิ่มขึ้น และพืชที่ได้รับการกระตุ้นนี้มักจะมีความต้านทานต่อโรคหลายโรคไม่เฉพาะเจาะจงต่อโรคใดโรคหนึ่ง กลไกที่พืชสามารถต้านทานโรคได้ อาจเนื่องมาจากการกระตุ้นการสร้างและสะสมอาหาร phytoalexin ซึ่งเป็นพิษต่อเชื้อโรคต่าง ๆ ขึ้นในตำแหน่งที่เชื้อเข้าทำลาย หรือการสร้างสารชนิดอื่นที่มีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อและส่งผ่านไปตลอดลำต้นพืช ทำให้สามารถป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อได้อย่างทั่วถึง ในการชักนำให้พืชสร้างภูมิคุ้มกันนี้ แม้จะยังไม่ทราบถึงกระบวนการและหลักการในรายละเอียดอย่างแน่ชัดกับพืชทุกชนิด แต่ถ้าหากทำการศึกษาและปรับปรุงหาเทคโนโลยีที่จะนำเอาความสามารถในตัวพืชนี้มาใช้ได้โดยวิธีการที่ไม่ยากนัก ก็น่าจะเป็นแนวทางเลือกที่ดีอีกประการหนึ่งในการป้องกันกำจัดโรคพืชที่ค่อนข้างปลอดภัยต่อสภาพแวดล้อมเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช

โดยธรรมชาติแล้ว พืชทุกชนิดต่างก็มีความสามารถในการที่จะปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมในท้องถิ่นต่าง ๆ อยู่ในตัว และนอกจากการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อม พืชยังมีกลไกอีกหลายอย่างสำหรับป้องกันตัวเองให้ปลอดภัยจากศัตรูหรือเชื้อโรคได้ อย่างน้อยก็ในระดับหนึ่ง เพื่อจะทำให้พืชสามารถเจริญเติบโตต่อไปจนกระทั่งให้ผลผลิตได้ เช่น การสร้างสารเคลือบจำพวกลิกนินและขี้ผึ้งเป็นเกราะปิดคลุมผนังเซลล์หรือส่วนผิวของลำต้นตลอดจนอวัยวะอื่น ๆ หรือการสร้างสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งและกำจัดเชื้อโรคขึ้นโดยการเปลี่ยนแปลงเมทาบอลิซึมบางอย่าง ทำให้เชื้อโรคไม่สามารถลุกลามไปยังส่วนอื่นของต้นพืชได้อีก กลไกในการป้องกันตัวของพืชนี้สามารถทำการกระตุ้นให้เกิดขึ้นได้อย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น ทั้งโดยการใช้สารเคมีบางประเภท และโดยการใช้เชื้อสาเหตุโรคพืชในรูปต่าง ๆ ทำให้พืชมีความต้านทานโรคขึ้นมา ซึ่งความต้านทานโรคที่เกิดขึ้นนี้อาจเป็นความต้านทานที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อโรคใดโรคหนึ่ง หรืออาจต้านทานต่อหลาย ๆ โรคในขณะเดียวกัน และอาจมีระดับความต้านทานต่างกันไปในแต่ละกรณี ขึ้นอยู่กับลักษณะการกระตุ้นและชนิดของพืช

การชักนำให้พืชสร้างความต้านทานโรค

การชักนำให้พืชมีความต้านทานโรคนั้น เป็นไปในทำนองเดียวกันกับกระบวนการสร้างภูมิคุ้มกันโรคในมนุษย์และสัตว์เศรษฐกิจ แม้ว่าพืชจะไม่มีแอนติบอดี้ แต่ก็มีปฏิกิริยาทางชีวเคมีอื่น ๆ ในกระบวนการเมทาบอลิซึมของพืชเกิดขึ้นเพื่อหยุดยั้งการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืช สำหรับปฏิกิริยาต่อต้านเชื้อของพืช เมื่อกล่าวโดยทั่วไปแล้ว อันดับแรกก็คือปฏิกิริยาการรับรู้และปฏิเสธว่าไม่ใช่พวกเดียวกันโดยระบบเซลล์ความจำของพืชเมื่อแรกสัมผัสกับเซลล์ของเชื้อสาเหตุโรค เข้าใจกันว่าเป็นปฏิกิริยาระหว่างสารที่เป็นองค์ประกอบสำคัญ

[1]ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002

ที่ผนังเซลล์ของพืช ซึ่งมักจะเป็นสารจำพวก glycocalyx กับสารที่เป็นองค์ประกอบสำคัญของผนังเซลล์เชื้อหรือสารที่เชื้อผลิตและจ่ายออกมาจากเซลล์ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นสารประเภท polysaccharide หรือ glycoprotein (Bell, 1981; Bennett, 1983) สารที่เป็นองค์ประกอบสำคัญของผนังเซลล์หรือสารที่เชื้อปล่อยออกมาจากเซลล์นี้ ถ้าเกิดผลทำให้พืชต้านทานโรคขึ้นได้ ก็เรียกว่าเป็นสารกระตุ้นความต้านทานหรือสารกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกัน (inducer) และในกรณีที่ความต้านทานโรคนั้นเกิดเพราะการสะสมสาร phytoalexin ในเซลล์พืช ก็เรียกว่าสารนั้นเป็น elicitor ส่วนสารตัวรับที่เป็นองค์ประกอบสำคัญของผนังเซลล์หรือเยื่อหุ้มเซลล์พืชเรียกว่าเป็น receptor และการเกิดปฏิกิริยารับรู้ในการกระตุ้นความต้านทาน อาจต้องมีสารที่เป็นตัวเชื่อมหรือตัวเร่งปฏิกิริยา โดยเฉพาะอย่างยิ่งในปฏิกิริยาสัมพันธ์ต่อเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งพบว่าสารนี้คือ lectin ที่พืชสร้างขึ้นและปล่อยออกมายัง receptor (Barondes, 1981; Callow, 1977) ส่วนปฏิกิริยาสุดท้ายที่เป็นผลจากการกระตุ้นให้พืชต่อต้านเชื้อ ได้แก่ การเกิดการสะสมของสารลิกนิน และการฟอร์มของ papilla หรือ callose ขึ้นมาปิดกั้นเซลล์ของเชื้อไม่ให้ไปยังเซลล์ของพืช โดยมีตัวช่วยที่สำคัญในการสังเคราะห์สะสมสารนี้ คือ ระบบเอนไซม์ เช่น Phenylalanine ammonia lyase (PAL) และ Peroxidase (PO) (Aist, 1976; Asada et al., 1982) นอกจากนี้ก็ได้แก่ การเกิดการสะสมสาร phytoalexin ซึ่งอาจเรียกได้ว่าเป็นสารปฏิชีวนะอย่างหนึ่งที่พืชสร้างขึ้น phytoalexin เป็นสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อย มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์หรือเชื้อสาเหตุโรคที่เล็ดลอดเข้ามาในเซลล์พืช (Keen, 1981; Tani and Mayama, 1982) และการเกิดการสะสมต่อต้านเชื้อไวรัสที่เป็นสารจำพวก phosphoglycoprotein ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์ protein ซึ่งเป็น subunit ที่สำคัญต่อการเพิ่มจำนวนเชื้อไวรัสในเซลล์พืช (Shalla, 1978; Zaitlin, 1979)

ฉะนั้น ความต้านทานโรคของพืช นอกจากจะเป็นเพราะมียีนส์กำหนดลักษณะความต้านทานโดยทางพันธุกรรมอยู่แล้ว ก็อาจกระตุ้นโดยปัจจัยภายนอกอื่น ๆ ให้พืชมีความต้านทานโรคเกิดขึ้นโดยไม่จำเป็นว่าพืชนั้นจะมียีนส์เฉพาะเจาะจงในการต้านทานโรคนั้น ๆ อยู่หรือไม่ และทำได้ในลักษณะเดียวกันกับโปรแกรมการสร้างภูมิคุ้มกันของมนุษย์ แต่สำหรับความต้านทานโรคหรือภูมิคุ้มกันโรคของพืชนั้น มักจะเป็นความต้านทานต่อโรคทั่ว ๆ ไปหลายชนิดในขณะเดียวกัน จากการกระตุ้นเพียงวิธีใดวิธีหนึ่ง ทั้งนี้ได้มีการศึกษาถึงวิธีการที่จะสร้างภูมิคุ้มกันโรคในพืชให้ได้ผลดีที่สุดอย่างต่อเนื่องกันมานับตั้งแต่ปี ค.ศ. 1901 ซึ่งมีการค้นพบเป็นครั้งแรกว่า พืชที่ได้รับการปลูกเชื้อราสนิมที่ทำให้อ่อนฤทธิ์แล้วจะมีความต้านทานโรคเกิดขึ้นภายหลังการปลูกเชื้อกระตุ้นชั่วระยะเวลาหนึ่ง (Chester, 1933) แนวความคิดในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันโรคในพืชได้รับการสนับสนุนจากการวิจัยค้นคว้าต่อมา โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระบบโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส เนื่องจากพบว่าการปลูกเชื้อไวรัสที่ทำให้เกิดอาการแผลจุดเล็ก ๆ ในปริมาณแต่น้อยจะทำให้พืชที่ได้รับการปลูกเชื้อกระตุ้นนั้นมีความต้านทานต่อโรคไวรัสทั้งชนิดเดิมและชนิดอื่น ๆ ตลอดไปจนถึงโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราต่าง ๆ บางชนิดด้วย ในลักษณะที่ทำให้มีอาการของโรคนั้น ๆ ลดน้อยลงเมื่อได้รับเชื้อภายหลัง โดยอาจมีการลดทั้งจำนวนแผล ขนาดของแผล และปริมาณเชื้อรุกราน ทำให้พืชสามารถให้ผลผลิตต่อไปได้โดยไม่มีความเสียหายถึงระดับเศรษฐกิจ (Fullton, 1982; Loebenstein et al., 1982) และในระบบโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียก็พบว่าถ้าพืชได้รับการปลูกเชื้อกระตุ้นโดยใช้เชื้อแบคทีเรียในรูปต่าง ๆ เช่น แบคทีเรียที่ไม่ใช่สาเหตุโรคของพืชนั้น แบคทีเรียสาเหตุโรคสายพันธุ์ไม่รุนแรง หรือแบคทีเรียสาเหตุโรครุนแรงแต่ถูกฆ่าด้วยความร้อน พืชนั้นก็จะมีความต้านทานต่อโรคแบคทีเรียสายพันธุ์รุนแรงที่เข้ามารุกรานภายหลังได้ นอกจากตัวกระตุ้นที่เป็นเซลล์เชื้อแบคทีเรียแล้ว ยังอาจใช้ตัวกระตุ้น (inducer) ที่เป็นสารประกอบของเซลล์แบคทีเรีย เช่น สารที่เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ หรือสารที่เซลล์ขับออกมาจากร่างกาย ซึ่งมักจะเป็นพวก protein-lipopolysaccharide หรือ lipopolysaccharide (LPS) หรือกรดนิวเคลียอิกของแบคทีเรียก็ได้ผลดีในการกระตุ้นพืชให้มีปฏิกิริยาต่อต้านเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคสายพันธุ์รุนแรงเช่นกัน (Kuc et al., 1976; Mazzuchi, et al., 1979; Sequeira, 1979; Tanaka, 1983) ส่วนระบบโรคที่เกิดจากเชื้อรามักพบว่าพืชที่ได้รับการปลูกเชื้อกระตุ้นในรูปของเชื้อที่ไม่ใช่สาเหตุโรคพืชหรือเชื้อสาเหตุโรคสายพันธุ์ที่ไม่ทำให้เกิดโรคกับพืชนั้น (incompatible pathogens) หรือเชื้อสาเหตุโรคที่ทำให้อ่อนฤทธิ์ลง จะมีความต้านทานโรคมากกว่าต้นพืชที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อกระตุ้น และในทำนองเดียวกันกับแบคทีเรีย สารที่เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์หรือสารที่เซลล์เชื้อราขับออกมา ซึ่งอาจจะเป็นพวก polysaccharide หรือ glycoprotein ก็สามารถกระตุ้นความต้านทานโรคให้เกิดขึ้นได้ (Albersheim and Valent, 1978; Anderson, 1978; Ishiba et al., 1981)

การทดลองที่นำไปสู่ความสำเร็จในการพิสูจน์ตามแนวความคิดสร้างภูมิคุ้มกันโรคในพืชครั้งแรกก็คือ การทดสอบปลูกเชื้อแอนเทรคโนสสายพันธุ์ที่ไม่ทำให้เกิดอาการโรคกับถั่วเขียว (incompatible race) ลงไปยังไฮโปคอทิล (hypocotyle) ของถั่วเพื่อดูลักษณะความต้านทานที่เกิดขึ้นหลังจากการปลูกเชื้อกระตุ้น พบว่าต้นถั่วที่ได้รับการปลูกเชื้อกระตุ้นแสดงความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคพืชสายพันธุ์รุนแรงทั้งในเนื้อเยื่อบริเวณที่ทำการปลูกเชื้อกระตุ้นและในเนื้อเยื่อส่วนอื่น ๆ ของลำต้น และจากการตรวจสอบทางชีวเคมีไม่พบว่ามีการสะสมของสาร phytoalexin ของถั่วไม่ว่าจะเป็น phaseollin, kievitone, phaseollin isoflavan; phaseolidin และ coumesterol ในปริมาณพอเพียงสำหรับการฆ่าเชื้อในเนื้อเยื่อที่ต้านทานโรคส่วนอื่นนอกจากส่วนที่ได้รับการปลูกเชื้อกระตุ้น ในกรณีนี้แม้สาเหตุของการแสดงออกถึงความต้านทานโรคจะไม่ใช่เพราะฤทธิ์ของสาร phytoalexin ทั้งหมด หรืออาจไม่เกี่ยวกับสาร phytoalexin แต่ก็อาจเกิดขึ้นเนื่องจากสารอื่นบางชนิดที่ทำหน้าที่ป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อ (Kuc et al., 1976) สารนี้เรียกชื่อโดยรวม ๆ ว่าเป็นสาร signal สำหรับความต้านทานโรค เนื่องจากยังไม่สามารถทราบถึงรายละเอียดโครงสร้างและคุณสมบัติทางเคมีของสารนี้เท่าใดนัก อย่างไรก็ตามคาดว่าจะสามารถพิสูจน์ลักษณะและคุณสมบัติทางเคมีของสารที่เป็น signal ของความต้านทานโรคได้ในเวลาที่ไม่ช้าเกินไปนัก (Salt et al., 1988) นอกนั้นจึงได้มีการทดลองกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันโรคกับพืชตระกูลแตง ดังเช่นแตงกวา แตงโม และแตงเมลอน ก็พบว่าเมื่อทำการปลูกเชื้อสาเหตุโรคที่ทำให้เกิดอาการแผลจุดทั้งเชื้อรา แบคทีเรีย หรือไวรัส เช่น เชื้อ *Colletotrichum lagenarium, Cladosporium fulvum, Pseudomonas lachryman* และ Tobacco necrosis virus (TNV) (ตารางที่ 1) ในลักษณะที่เป็นการปลูกเชื้อกระตุ้นที่ใบจริงคู่แรกของต้นแตงเหล่านั้น การเกิดแผลจุดที่ใบจริงคู่แรกประมาณ 5–10 จุด จะกระตุ้นให้ใบที่อยู่ส่วนเหนือขึ้นไปของลำต้นแสดงความต้านทานโรคโดยมีประสิทธิภาพในการป้องกันโรคของแตงได้ทุกชนิดที่ทดสอบ ทั้งโรคที่เกิดจากเชื้อรา แบคทีเรีย และไวรัส (Kuc, 1982) ความสามารถในการต้านทานโรคนี้เกิดขึ้นหลังการปลูกเชื้อกระตุ้นประมาณ 48–72 ชั่วโมง สามารถคุ้มกันโรคได้นาน 2 สัปดาห์ และเมื่อได้รับการกระตุ้นซ้ำ (Booster inoculation) โดยเชื้อเดิมในระยะเวลาที่เหมาะสม ก็จะสามารถป้องกันการเข้าทำลายของโรคต่าง ๆ ได้ ตลอดจนถึงระยะเวลาเก็บเกี่ยวผลผลิต (พรทิพย์, 2530; Dean and Kuc, 1986) นอกจากนี้ยังพบว่าสามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวบาร์เลย์มีความต้านทานโรคเพิ่มขึ้นในลักษณะเช่นเดียวกันเมื่อทำการทดสอบกับเชื้อ สาเหตุโรคราแป้งซึ่งเกิดจากเชื้อ *Erisiphe graminis* f. sp. *tritici* (Hwang and Heitefuss, 1982) และการปลูกเชื้อกระตุ้นกับแตงกวาและมะเขือเทศโดยใช้สารสะกัดจากองค์ประกอบผนังเซลล์เชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* หรือเชื้อสายพันธุ์ไม่รุนแรง ก็ทำให้พืชมีความต้านทานโรคเกิดขึ้น (Ishiba et al., 1981) ปัจจุบันยังพบว่าสารเคมีบางชนิด เช่น โพแทส-

ตารางที่ 1. โรคที่สามารถป้องกันได้โดยการชักนำให้เกิดความต้านทานโรคในแตงกวา แตงโม และเมลอนที่ใช้เชื้อ *Colletotrichum lagenarium* และ Tobacco necrosis virus เป็นตัวกระตุ้น

ชื่อโรค	เชื้อสาเหตุ
โรคแอนแทรคโนส (Anthracnose)	*Colletotrichum lagenarium*
โรคขี้กลาก (Scab)	*Cladosporium cucumerinum*
โรคเถาแตก (Gummy stem blight)	*Mycosphaerella melonis*
โรคเหี่ยว (Fusarium wilt)	*Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum*
โรคราน้ำค้าง (Downy mildew)	*Pseudoperonospora cubensis*
โรคใบจุด (Local necrosis)	*Phytophthora infestans*
โรคใบจุดเหลี่ยม (Angular leaf spot)	*Pseudomonas lactrymans*
โรคเหี่ยวเขียว (Bacterial wilt)	*Erwinia tracheiphilla*
โรคใบด่าง (Cucumber mosaic)	*Cucumber mosaic virus*
โรคใบจุดไวรัส (Local necrosis)	Tobacco necrosis virus

ที่มา : Kuć, 1982

เซียมฟอสเฟต ก็สามารถนำมาใช้กระตุ้นความต้านทานโรคได้ แต่ยังมีประสิทธิภาพต่ำกว่าการใช้เชื้อหรือสารประกอบของเชื้อมาทำการกระตุ้น (พรทิพย์, 2530)

การสร้างภูมิคุ้มกันโรคในสภาพไร่

แนวความคิดสร้างภูมิคุ้มกันโรคให้กับพืชได้รับการทดสอบถึงความเป็นไปได้จริงในสภาพไร่กับยาสูบพันธุ์ต่าง ๆ ที่ปลูกเป็นการค้าในมลรัฐเคนตั๊กกี้ สหรัฐอเมริกา และเขตกุราโบะ ประเทศปอโตริโก เปรียบเทียบกับประสิทธิภาพการป้องกันกำจัดโรคโดยใช้สารเคมีซึ่งเป็นที่นิยมใช้กันมาก คือ สารป้องกันกำจัดเชื้อโรคประเภทดูดซึมในกลุ่มเมตาแลกซิล (metalaxyl) ชื่อเรียกทางการค้า ริโดมิล 2 อี ของบริษัทซิบาไกกี้ เนื่องจากมีการระบาดของโรคราน้ำค้างที่เกิดจากเชื้อ *Peronospora tabacina* เกิดขึ้นเป็นประจำ และสร้างความเสียหายอย่างรุนแรงต่อการผลิตยาสูบในเขตดังกล่าว แม้เมตาแลกซิลจะเป็นสารเคมีที่ได้ผลดีที่สุดเท่าที่มีอยู่ แต่ก็พบว่าเชื้อราเริ่มมีความต้านทานต่อสารชนิดนี้มากขึ้น และยังเป็นสาเหตุกระตุ้นการกลายพันธุ์ของเชื้อให้มีความรุนแรงไปกว่าเดิม จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องหาวิธีการต่าง ๆ เข้ามาเสริมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการป้องกันกำจัดให้ดียิ่งขึ้น และจากการสังเกตลักษณะการเกิดโรคราน้ำค้างชนิดนี้ในธรรมชาติ พบว่าต้นยาสูบที่ได้รับเชื้อในปริมาณเล็กน้อย ก่อนที่จะมีการระบาดของโรคชั่วระยะเวลาหนึ่งจะมีอัตราการเป็นโรคต่ำกว่าต้นยาสูบที่ไม่พบเชื้อในระยะแรกนั้นมาก (Pont, 1959) ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้อยู่สูงที่จะนำเอาโปรแกรมการสร้างภูมิคุ้มกันโรคโดยเชื้อสาเหตุโรคหรือผลิตผลของเชื้อมาใช้กับยาสูบในสภาพไร่จริง ซึ่งผลการทดสอบเบื้องต้นในเรือนทดลองได้แสดงให้เห็นว่าสามารถชักนำให้ยาสูบมีความต้านทานโรคราน้ำค้างนี้ และป้องกันโรคได้ถึง 95% เมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อกระตุ้น สำหรับวิธีการปลูกเชื้อกระตุ้นที่ให้ผลป้องกันโรคได้ดีที่สุด คือ การฉีดสปอร์ของเชื้อ *P. tabacina* ความเข้มข้น 5×10^5 sporangia/ml ประมาณ 0.5 ml เข้าที่โคนต้น โดยจำกัดให้เชื้ออยู่เฉพาะบริเวณเปลือกและด้วยความระมัดระวังไม่ให้เข็มฉีดเชื้อเข้าไปถึงบริเวณท่อน้ำท่ออาหารของต้น เริ่มทำการทดสอบการสร้างภูมิคุ้มกันนี้ในไร่เพาะปลูกจริงในปี ค.ศ. 1983 และประเมินผลการทดลองที่ต่อเนื่องมาจนถึงปี ค.ศ. 1985 ดังที่สรุปในตารางที่ 2 ซึ่งโดยเฉลี่ยแล้วพืชที่ได้รับการฉีดเชื้อกระตุ้นภูมิคุ้มกันจะมีอัตราเป็นโรคน้อยกว่าพืชที่ไม่ได้รับการฉีดเชื้อกระตุ้นเป็นอย่างมาก นอกจากนี้ยังมีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าให้ผลผลิตสูงกว่ามาก ทั้งน้ำหนักใบสดและน้ำหนักใบหลังการบ่ม และประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคราน้ำค้างได้ผลดีเช่นเดียวกันกับการใช้เมตาแลกซิล อย่างไรก็ตาม ในระหว่างการทดลองที่ 2 และ 3 ของปี 1984 ที่ปอโตริโก ได้เกิดโรคแข้งดำยาสูบระบาด และพบว่าแม้ในต้นที่ได้รับการฉีดเชื้อกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันก็เป็นโรคแข้งดำอย่างหนักจนไม่สามารถติดตามบันทึกผลการเจริญเติบโตในระยะต่อมาได้ ฉะนั้น การฉีดเชื้อ *P. tabacina* กระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกัน อาจป้องกันโรคราน้ำค้างได้ แต่ไม่สามารถป้องกันโรคแข้งดำได้ ดังที่คาดไว้ว่าพืชหลังการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันจะสามารถป้องกันโรคอื่น ๆ ได้เช่นกัน สำหรับในการทดลองที่เสนอปี 1984 ที่รัฐเคนตั๊กกี้ ได้ทำการฉีดเชื้อกระตุ้นขณะที่ต้นยาสูบความสูงเฉลี่ยต่ำกว่า 8 ซม. ซึ่งยังมีขนาดเล็กเกินไป เชื้อที่ฉีดเข้าไปเจริญในท่อน้ำท่ออาหารของพืชทำให้ต้นแคระแกร็นและเป็นโรคราน้ำค้างเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ต่ำกว่าต้นที่ไม่ได้รับการฉีดเชื้อกระตุ้น (Tuzun et al., 1986) (ตารางที่ 2) ดังนั้น ระบบการสร้างภูมิคุ้มกันให้กับยาสูบในสภาพไร่ยังอาจมีข้อจำกัดอยู่บ้างในด้านขอบเขต ความสามารถในการป้องกันกำจัดโรคอื่น ๆ ซึ่งต้องทำการทดสอบเบื้องต้นว่า เมื่อใช้เชื้อ *P. tabacina* ฉีดกระตุ้นแล้วจะสามารถป้องกันโรคชนิดใดได้ และยังมีความจำเป็นในการพัฒนาเทคนิคการฉีดเชื้อกระตุ้นให้เหมาะสมสำหรับการใช้งานในสภาพไร่ เพราะเทคนิคการฉีดเชื้อที่ใช้อยู่คือ การฉีดเชื้อโดยใช้เข็มฉีดยาขนาดเล็กจำเป็นต้องกระทำด้วยความระมัดระวัง และต้องการทักษะในการใช้สูง เสียเวลาและต้องการแรงงานในการฉีดเชื้อมาก นอกจากนี้ เชื้อที่ใช้ยังเป็นเชื้อมีชีวิต เนื่องจากพบว่าเชื้อที่ตายแล้วหรือเชื้อที่ถูกฆ่าด้วยความร้อนไม่สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันในลักษณะเดียวกันนี้ได้ จึงยังมีอัตราเสี่ยงต่อการใช้อยู่มาก

จากผลที่สรุปได้ในการทดลองสร้างภูมิคุ้มกันให้กับยาสูบในสภาพไร่ดังกล่าวข้างต้น คือ สามารถกระตุ้นให้พืชมีความต้านทานต่อโรคราน้ำค้างได้ และช่วยให้พืชมีผลผลิตสูงขึ้นเช่นเดียวกับการใช้สารฆ่าราเมตาแลกซิล แม้ว่าจะยังมีข้อจำกัดในด้านเทคนิคการใช้งานอยู่มากก็ตาม ผลจากการทดลองนี้ยังชี้ให้เห็นถึงความเป็นไปได้อย่างแท้จริงที่จะใช้วิธีการสร้างภูมิคุ้มกันโรคให้กับพืชเพื่อป้องกันกำจัดโรคที่สำคัญต่าง ๆ เมื่อการใช้เชื้อเป็นสำหรับการฉีดกระตุ้นหรือปลูกเชื้อกระตุ้นเป็นวิธีการที่ไม่สะดวกต่อผู้ใช้ ก็อาจต้องทำการศึกษา

ตารางที่ 2. ผลการทดลองเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการป้องกันกำจัดโรค blue mold ของยาสูบระหว่างการใช้ metalaxyl และการการชักนำให้เกิดภูมิคุ้มกันโดยการฉีดเชื้อ *Peronospora tabacina* ที่เปลือกของลำต้น

ปีการทดลอง[1]	พันธุ์ยาสูบ	การทดลอง	ความสูงลำต้น (ซม.) ช่วงเจริญ[3]	ความสูงลำต้น (ซม.) ช่วงออกดอก	น้ำหนักใบสด (กก./ต้น)	น้ำหนักบ่มแล้ว (กก./เฮกแตร์)	อัตราการเป็นโรค blue mold[5]
1983	PR5-65	ใช้เชื้อฉีด[2]	172	x[4]	x	x	1.4[a]
		metalaxyl	165	x	x	x	3.6
		Control	160	x	x	x	43.1
1984	PR5-65	ใช้เชื้อฉีด	82	x	x	x	0[b]
		metalaxyl	89	x	x	x	0
		Control	81	x	x	x	2.0
1984	Ky-14	ใช้เชื้อฉีด	81	x	x	x	0[c]
		metalaxyl	87	x	x	x	0
		Control	79	x	x	x	1.5
1984	Ky-14	ใช้เชื้อฉีด	x	108	2.42	4,041	1.2[d]
		Control	x	91	1.89	3,212	10.7
1985	Ky-14	ใช้เชื้อฉีด	130	x	x	x	8.6
		Control	107	x	x	x	78.2
1985	Ky-14	ใช้เชื้อฉีด	x	x	x	x	0.8[e]
		Control	x	x	x	x	6.3
1983	Ky-14	ใช้เชื้อฉีด	108	133	1.98	3,228	x
		metalaxyl	100	116	1.58	2,905	x
		Control	101	117	1.71	3,013	x
1983	MSL 8 × 14	ใช้เชื้อฉีด	x	115	1.262	2,385	x
		Control	x	87	0.824	1,865	x
1983	Ky-14	ใช้เชื้อฉีด	98	149	2.68	3,553	x
		Control	79	124	2.05	2,998	x
1984	Ky-14	ใช้เชื้อฉีด	87	x	x	1,565	x
		Control	98	x	x	2,424	x
1984	Ky-14	ใช้เชื้อฉีด	72	128	x	x	x
		Control	53	104	x	x	x

[1]สถานที่ของไร่ทดลองอยู่ในเขตต่าง ๆ 5 เขตของมลรัฐเคนตั๊กกี้ สหรัฐอเมริกา และที่เขตกุราโบของปอโตริโก

[2]ทำการฉีดเชื้อกระตุ้นเมื่อพืชอายุ 3-6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกลงไร่

[3]วัดความแตกต่างทางสถิติที่ P = 0.05 ของ Duncan-Waller K-ratio t-test

[4]x = ไม่ได้บันทึกไว้

[5]อัตราการเป็นโรควัดจาก; a = % ใบเป็นโรค, b = จำนวนแผลจุด/ใบ, c = จำนวนแผลจุด/ต้น, d = % พื้นที่ใบที่ถูกทำลาย, e = จำนวนใบเป็นโรค/ต้น

ที่มา : Tuzen et al., 1986

ค้นคว้าสิ่งที่ใช้กระตุ้นประเภทอื่นขึ้นมาทดแทนเชื้อเป็น ซึ่งใช้ทดลองอยู่ขณะนี้เพื่อให้ปลอดภัยต่อการใช้มากขึ้น สำหรับในยาสูบ ก็ได้มีการทดลองต่อไปหลังจากที่ได้พบการสะสมสาร β-ionone (3-isobutyroxyl-β-ionone) ซึ่งเป็นสารที่เกี่ยวข้องกับระบบการควบคุมการเจริญเติบโตของพืชและเชื้อราทั่ว ๆ ไป อยู่ในเนื้อเยื่อต้นพืชที่มีความต้านทานโรคราน้ำค้าง รวมทั้งพืชที่ได้รับการฉีดเชื้อกระตุ้นและแสดงออกถึงลักษณะต้านทานโรคราน้ำค้างมากกว่าถึง 50–600 เท่าของต้นไม่ต้านทานโรค จึงทดลองฉีดสาร β-ionone ในลักษณะเดียวกันกับการฉีดเชื้อที่โคนต้น ก็ได้ผลในการป้องกันโรคราน้ำค้าง โดยทำการฉีด 20 gm/10ul ตัวนำละลาย (น้ำมัน) ทุกสัปดาห์ แต่ประสิทธิภาพในการป้องกันโรคยังน้อยกว่าการใช้เชื้อฉีด ส่วนการกระตุ้นโดยวิธีฉีด β-ionone พ่นเป็นละอองเคลือบคลุมผิวใบต้นพืชไม่สามารถป้องกันโรคได้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการที่ยังไม่สามารถค้นพบสารที่ใช้เป็นตัวทำละลายสาร β-ionone สำหรับการฉีดเข้าต้นพืชได้อย่างเหมาะสม (Salt et al., 1986) ถึงกระนั้น ผลการทดลองก็ชี้แนะถึงความสามารถในการใช้สารอื่นที่อาจนำมาใช้ทดแทนเชื้อเป็นเพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกันโรค และนอกเหนือไปจากสารที่ใช้ในกรณีนี้ก็อาจต้องทดสอบสารอื่น ๆ ที่อาจเกี่ยวข้องในขบวนการต้านทานโรค เช่น สารที่เป็นองค์ประกอบผนังเซลล์เชื้อ หรือสารที่พืชและเชื้อผลิตขึ้นในปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดความต้านทานโรค หรือสารชักนำอื่น ๆ ที่ไม่เป็นอันตรายต่อผู้ใช้ รวมทั้งพืชผลต่าง ๆ และสภาพแวดล้อม ก็จะมีประโยชน์อย่างมหาศาลต่อการเพิ่มผลผลิตอาหารของมนุษยโลก

สรุป

พืชและเชื้อสาเหตุโรคพืชในธรรมชาติต่างก็มีวิวัฒนาการร่วมเพื่อการอยู่รอดของตนเอง โดยปฏิกิริยาสัมพันธ์ทั้งในลักษณะที่เป็นการรุกรานและการต่อต้านเพื่อป้องกันตัวให้พ้นจากการถูกรุกราน ในกรณีที่พืชเป็นฝ่ายถูกเชื้อเข้ามารุกราน พืชก็จะมีสัญชาติญาณในการป้องกันตัว ซึ่งกลไกแห่งการป้องกันตัวเองนี้จะทำหน้าที่ต่อต้านเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้นในเวลาที่จำเป็น หากได้รับการกระตุ้นอย่างเหมาะสม เช่นเดียวกับการสร้างภูมิคุ้มกันโรคในร่างกายมนุษย์เมื่อได้รับการฉีดวัคซีนกระตุ้น แม้ว่ากลไกของการสร้างภูมิคุ้มกันโรคจะแตกต่างกันออกไป สำหรับพืชเมื่อได้รับการกระตุ้นโดยเชื้อในรูปต่าง ๆ เช่น เชื้อสาเหตุโรคซึ่งมีชีวิตในปริมาณน้อย เชื้อสาเหตุโรคพืชที่ถูกทำให้อ่อนฤทธิ์ลง เชื้อสาเหตุโรคที่ฆ่าด้วยความร้อนแล้ว หรือเชื้อที่ไม่ใช่เชื้อสาเหตุโรคของพืชนั้น ก็จะทำให้พืชสร้างภูมิคุ้มกันโรคขึ้นมาได้ และยังพบว่าอาจใช้สารที่เป็นองค์ประกอบผนังเซลล์เชื้อหรือสารที่เชื้อผลิตและปล่อยออกมานอกเซลล์ขณะสัมผัสกับเซลล์พืช หรือสารที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ตลอดจนสารอนินทรีย์บางประเภท ก็เป็นตัวกระตุ้นให้พืชมีความต้านทานโรคเกิดขึ้นได้เช่นกัน ส่วนการนำไปใช้จริงในไร่เพาะปลูกของเกษตรกรนั้น การใช้เชื้อมีชีวิตอยู่ในการฉีดกระตุ้นภูมิคุ้มกัน นับว่ายังมีอัตราเสี่ยงในการใช้อยู่ค่อนข้างสูง หากขาดความระมัดระวังอย่างพอเพียง จึงควรที่จะต้องทำการค้นคว้าหาสิ่งที่มีคุณสมบัติในการกระตุ้นทัดเทียมกันมาทดแทน รวมทั้งให้มีความสะดวกต่อการปฏิบัติยิ่งขึ้นด้วย ซึ่งหากสามารถที่จะทำเช่นนี้ได้ วิธีการสร้างภูมิคุ้มกันโรคในพืชก็น่าจะเป็นแนวทางใหม่ที่ดีกว่าการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช ซึ่งเป็นผลทำให้มลพิษและก่อสภาพมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อมที่เป็นปัญหาอยู่ในปัจจุบัน

เอกสารอ้างอิง

พรทิพย์ ธนูทอง. 2530. การชักนำให้เกิดภูมิคุ้มกันโรคในแตงกวาโดยเชื้อ *Celletotrichum lagenarium* และสารเคมี. แก่นเกษตร 15 : 217–224.

Aist, J.R. 1976. Papillae and related wound plugs of plant cells. Ann. Rev. Phytopathol. 14 : 145–163.

Albersheim, P. and B.S. Valent. 1978. Host-pathogen interactions in plants. Plants, when exposed to oligosaccharides of fungal origin, defend themselves by accumulating antibiotics. J. Cell Biol. 78 : 627–643.

Anderson, A.J. 1978. Isolation from three species of Colletotrichum of glucan containing poeysaccharides that elicit browning and Phytoalexin production in bean. Phytopathology 60 : 189–194.

Asada, Y., W.R., Bushnell, S. Ouchi, and C.P. Vence, 1982. *Plant Infection :* The Physiological and Biochemical Basis. Tokyo. Jpn. Sci. Soc. Press. 362 pp.

Barondes, S.H. 1981. Lectins : their multiple endogeneous cellular functions. Ann. Rev. Biochem. 50 : 207–231.

Bell, A.A. 1981. Biochemical mechanisms of disease resistance. Ann. Rev. Plant Physiol. 32 : 21–81.

Bennett, H.S. 1963. Morphological aspects of extracellular polysaccharides. J. Histochem. Cytochem. 11 ; 14–23.

Callow, J.A. 1977. Recognition, resistance, and the role of plant lectins in host-parasite interactions. Adv. Bot. Res. 4 : 1–49.

Chester, K.S. 1933. The problem of acquired physiological immunity in plant. Q. Rev. Biol. 8 : 129–154, 275–324.

Dean, R.A., and J. Kuc' 1986. Induced systemic protection in cucumber : Time of production and movement of the signal. Phytopathology 76 : 966–970.

Fullton, R.W. 1982. The protective effects of systemic virus infection. Page 231 – 245 in : Active Defense Mechanisma in Plants. R.K.S. Wood, ed. New York : Plenum 381 pp.

Hwang, B.K. and R. Heitefuss, 1982. Induced resistance of spring barley to *Erisiphe graminis* f. sp. *tritici*. Phytopathol. Z. 103 : 41 – 47.

Ishiba, C., T. Tani, and J. Murata, 1981. Protection of cucumber against anthracnose by a hypovirulent strain of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 49 : 352 – 359.

Keen, N.T. 1981. Evaluation of the role of phytoalexins. Pages 155 – 177 in : Plant Disease Control. Resistance and Susceptibility. R.C. Staples, G. Tvenniessen, eds. New York : John Wiley, 339 pp.

Kuc', J. 1982. The immunization of cucurbit against fungal, bacterial and viral diseases. Pages 137 – 155 in : Plant Infection. The Physiological and Biochemical Basis. Y. Asada, W.R. Bushnell, S. Ouchi, C.P., Vance, eds. Tokyo, Jpn. Sci, Soc, Press. 362 pp.

Kuc', J. W. Currier, J. Elliston, and J. McINtypre, 1976. Determination of plant disease resistance and susceptibility: a perspective base on three plant-parasite interactions. Pages 168 – 180 in : Biochemistry and Cytology of Plant-Parasite Interaction, K. Tomiyama, J.M. Daly, I. Uritani, H. Oku, S. Ouchi, eds. Tokyo Kodansha Amsterdam : Elsevier. 156 pp.

Loebenstein, G., S. Spiegel, and A. Gera, 1982. Localized resistance and barrier substances. Pages 211 – 130 in : Active Defense Mechanisms in Plants. R.K.S. Wood, ed. New York : Plemum. 381 pp.

Mazzuchi, U., C. Bazzi, and P. Pupillo, 1979. The inhibition of susceptible and hypersensitive reactions by protein-lipopolysaccharide complex from phytopathogenic Pseudomonads : relationship to polysccharide antigenic determinants. Physiol. Plant Pathol. 14 : 19 – 30.

Pont, W. 1959. Blue mond (*Peronospora tabacina* Adam) of Tobacco in North queensland. Some aspects of chemical control. Queensl. J. Agric. Sci. 16 : 299 – 327.

Salt, S.D., S.W. Pan, and J. Kuc', 1988. Carbohydrate changes in tobacco systemically protected against blue mold by stem infection with *Peronospora tabacina*. Phytopathology 78 · 733 – 738.

Salt, S.D. S, Tuzun, and J. Kuc', 1986. Effects of β-ionone and abscisic acid on the growth of tobacco and resistance to blue mold. Mimicry of effects of stem infection by *Peronospora tabacina* Adam. Physiol. Mol. Plant Pathol. 28 : 287 – 297.

Sequira, L. 1979. Recognition between plant hosts and parasites. In : Host-parasite Interfaces, ed. B.B. Nickol, pp. 71 – 84. New York : Academic. 114 pp.

Shalla, T.A. and L.J. Peterson, 1978. Studies on the mechanism of viral cross protection. Phytopathology 68 : 1181 – 1183.

Tanaka, H. 1983. Protection of tobacco and tomato against root infection of *Pseudomonas solanacearum* by heat-killed bacterial cells. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 51 : 66 – 68.

Tani, T. and S. Mayama, 1982. Evaluation of phytoalexins and performed antifungal substances in relation to fungal infection. Pages 310 – 314 in : Plant Infection. The Physioligical and Biochemical Basis. Y. Asada, W.R. Bushnell, S. Ouchi, C.P. Vance, eds. Tokyo, Jpn. Sci. Soc. Press. 362 pp.

Tuzun, S., W. Nesmith, R.S. Ferriss, and Kuc', J. 1986. Effects of stem injections with *Peronospora tabacina* on growth of tobacco and protection against blue mold in the field. Phytopathology 76 : 938 – 941.

Zaitlin, M. 1979. How viruses and viroid induce disease. Pages 251 – 271 in : Plant Disease: An Advanced Treatise IV. How Pathogens Induce Disease. J.G. Horsfall, E.B. Cowling, eds. New York : Academic. 466 pp.

Induction of Systemic Immunization: Another Approach for Plant Disease Control

By

Porntip Wongkaew

Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002

ABSTRACT

Vaccination of plants has been suggested as an alternative to conventional pesticides for disease control. Although plants have no antibody-generating system, it is generally believed that plants exposed to attenuated pathogens, hypovirulent pathogens or (non-pathogens,) become more resistant to compatible pathogens than plants that have not been exposed to such biotic stimuli. Disease resistance can also be induced by treatment with compounds of cell wall components and some chemicals. The immunization of plants might involve the activation of multiple resistance mechanisms against pathogens. The mechanism of this induced resistance has at least two components; the chemical agents, including phytoalexins, that accumulate around the site of infection to inhibit development of pathogens, and the signal that commits cells removed from the site of an inducing inoculation to respond rapidly when challenged. Following the acceptance of the concept of this immunization system, the technology for immunization of plants using it needs to be developed for the control of some diseases under field conditions.