

Abstract

Project Code : RMU4880046
Project Title : Alteration and Expression of the GS and ALS Gene in
Herbicide-Resistant Crops
Investigator : Associate Prof. Dr. Tosapon Pornprom
Department of Agronomy, Faculty of Agriculture,
Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus,
Nakhon Pathom 73140
E-mail Address : agrtpp@ku.ac.th
Project Period : 3 years (July 29, 2005 – July 28, 2008)

This study reports investigated the alteration and expression of the acetolactate synthase (ALS) and glutamine synthetase (GS) gene in herbicide-resistant crops such as maize, mungbean, soybean, and sugarcane. Field tolerance to glufosinate and imazapyr evaluation of plant varieties were conducted in split-plots in RCBD to compare the response of genotypic differences (sub-plots) from four dosages of herbicide application (main-plots). The degree of tolerance was evaluated by inspection of crop injury, plant height, fresh weight, and dry weight. Tissue culture selection was conducted using cell suspension of culture prepared from callus of tolerant plant varieties. The cell suspension was cultured on MS-modified medium and selected using a stepwise selection with increasing concentration of herbicide from 10^{-9} to 10^{-6} M. The activity of ALS and GS enzyme of the resistant cells was higher than the normal cells. The biochemical mechanism of herbicide resistance in the plant cell appears to be an alteration at the target-site, based on the ALS and GS activity, leading to less sensitivity to the herbicides. The molecular basis of resistance showed that the ALS and GS sequence comparison was attempted, and showed nucleotides substitution leading to amino acids alteration in the resistant cell from the normal cell and ALS and GS sequence of plants from NCBI (GenBank). The ALS and GS gene sequence derived from herbicide-resistant plant cells were further submitted to the GenBank. From the results, the successful selection of herbicide resistant plant cells was an encouraging result as it may serve as useful materials in crops improvement for herbicide resistance. Our efforts to regenerate plants from the cells remain to be continuously performed.

Keywords : acetolactate synthase (ALS), ALS gene, glufosinate, glutamine synthetase (GS), GS gene, herbicide-resistant crops, imazapyr, maize, mungbean, soybean, sugarcane

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : RMU4880046
ชื่อโครงการ : การเปลี่ยนแปลงและการแสดงออกของยีน GS และ ALS
ในพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืช

ื่อนักวิจัย : รองศาสตราจารย์ ดร.ทศพล พรพรหม
คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140

E-mail Address : agrtpp@ku.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : 3 ปี (29 กรกฎาคม 2548 ถึง 28 กรกฎาคม 2551)

การศึกษาในครั้งนี้ ได้รายงานเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงและการแสดงออกของยีน acetolactate synthase (ALS) และ glutamine synthetase (GS) ในพืชที่ต้านทานสารกำจัดวัชพืช ได้แก่ ข้าวโพด ถั่วเขียว ถั่วเหลือง และถั่วลิสง โดยทำการคัดเลือกพันธุ์พืชทนทานสารกลูโฟซิเนทและอิมาซาเพอร์ ในระดับที่เป็นพืชทั้งต้นในสภาพแปลงทดลอง วางแผนการทดลองแบบ split-plot in RCBD ปัจจัยหลัก คือ อัตราของการใช้สารกำจัดวัชพืช 4 อัตรา และปัจจัยรอง คือ พันธุ์พืชชนิดต่าง ๆ ประเมินลักษณะของความทนทานต่อสารกำจัดวัชพืช โดยพิจารณาจากข้อมูลความเป็นพิษ ความสูงต้น น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง ส่วนการคัดเลือกในระดับเซลล์ของพืชชนิดต่าง ๆ โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ซึ่งได้ชักนำแคลลัสและคัดเลือกให้เกิดเป็นเซลล์ที่ต้านทานสารกำจัดวัชพืช ในอาหารเหลวสังเคราะห์สูตร MS ดัดแปลง ด้วยวิธีเพิ่มระดับความเข้มข้นของสารกำจัดวัชพืชเป็นลำดับตั้งแต่ 10^{-9} - 10^{-6} โมลาร์ ในการศึกษากลไกทางชีวเคมีของความต้านทานสารกำจัดวัชพืชภายในเซลล์พืช ซึ่งพิจารณาการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ ALS และ GS พบว่า ในเซลล์ที่ต้านทานสารมีกิจกรรมของเอนไซม์ ALS และ GS มากกว่าเซลล์ปกติ แสดงให้เห็นได้ว่า เซลล์พืชที่ต้านทานสารกำจัดวัชพืชจะมีการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ ALS และ GS ซึ่งเป็นตำแหน่งเป้าหมายที่สารกำจัดวัชพืชแสดงปฏิกิริยาในการยับยั้งภายในเซลล์พืช โดยมีการปรับตัวเป็นแบบตอบสนองน้อย (less sensitivity) ต่อสารกำจัดวัชพืช เมื่อพิจารณาจากกลไกทางชีวโมเลกุลของความต้านทานสารกำจัดวัชพืช โดยการตรวจสอบลำดับเบสของยีน ALS และ GS ในเซลล์พืชที่ต้านทานสารกำจัดวัชพืช พบว่า มีการเรียงลำดับของเบสเปลี่ยนแปลงไป เมื่อแปลรหัสเป็นกรดอะมิโนมีการเปลี่ยนแปลง เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์พืชปกติ ยีน ALS และ GS ของพืชชนิดต่าง ๆ ในฐานข้อมูล NCBI ซึ่งลำดับของนิวคลีโอไทด์นี้ได้ขึ้นทะเบียนใน GenBank ต่อไป สำหรับงานวิจัยที่ได้ดำเนินการทำวิจัยอย่างต่อเนื่องนั้น จะเป็นการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ เพื่อที่จะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในโครงการปรับปรุงพันธุ์พืชให้มีความต้านทานสารกำจัดวัชพืชต่อไป

คำหลัก : อะซิโตนแลคเตทซินเทส (ALS) ยีน ALS กลูโฟซิเนท กลูตามีนซินเทส (GS) ยีน GS ความต้านทานสารกำจัดวัชพืชในพืชปลูก อิมาซาเพอร์ ข้าวโพด ถั่วเขียว ถั่วเหลือง ถั่วลิสง