

BÀI TỔNG QUAN

PROTEIN VÀ TÍNH KHÁNG BỆNH Ở THỰC VẬT

Trần Thị Phương Liên

Viện Công nghệ sinh học

TÓM TẮT

Tính kháng bệnh tiềm ẩn trong nhiều loại cây trồng khác nhau, nhất là ở các giống địa phương, những cây hoang dã. Nghiên cứu về cơ chế phân tử của hiện tượng kháng bệnh đang được xúc tiến mạnh. Hiện tượng kháng bệnh theo thuyết “gene for gene” được phát hiện từ những năm 1940 khi tồn tại gen kháng (Resistance gene – R gene) mang tính trội ở thực vật và gen không nhiễm bệnh (Avirulence gene – Avir gene) cũng mang tính trội ở mầm bệnh (pathogen). Sản phẩm của R gen – R protein nhận biết Avir protein – sản phẩm của Avir gen được xâm nhập vào tế bào thực vật khi cây bị nhiễm bệnh. Và sau đó, chúng kích hoạt phản ứng kháng bệnh của cây trồng ở các mức độ khác nhau. Hiện tượng thường xuất hiện nhiều nhất là sự kháng bệnh có hệ thống- SAR (Systemic Acquired Resistance) hoạt hóa các protein liên quan đến mầm gây bệnh PR (Pathogenesis-related) protein ở các vùng lân cận, cũng như tổng hợp các R protein. Ngày nay, người ta đã phát hiện được 17 loại PR protein. Chúng xuất hiện ở các thời điểm khác nhau, có bản chất phân tử khác nhau và có chức năng kháng nấm, kháng khuẩn. Có ít nhất 6 nhóm R protein và một số nhóm Avir protein đã được phân lập, nghiên cứu về tính chất chức năng. Sự phát triển mạnh mẽ theo hướng này mở ra nhiều cơ hội tạo các giống cây trồng có khả năng kháng bệnh.

Từ khóa: Kháng bệnh, protein kháng bệnh, protein không nhiễm bệnh, protein liên quan đến mầm gây bệnh, sự kháng bệnh có hệ thống

MỞ ĐẦU

Các cây trồng vùng nhiệt đới nóng ẩm luôn phải đương đầu với nhiều loại mầm bệnh cũng như sâu bệnh gây hại. Khác với hệ thống bảo vệ của tế bào động vật, khi có sự xâm nhập của mầm bệnh, chúng hoạt hóa hệ miễn dịch tại chỗ diệt mầm bệnh hoặc ngăn ngừa khả năng lây lan của chúng, thực vật không có hệ tuần hoàn, chiến lược phòng thủ của chúng không thể hạn chế sự nhiễm bệnh bằng cách như vậy. Tiềm ẩn trong từng loại cây trồng khác nhau đều có khả năng tự bảo vệ khi bị các sinh vật khác tấn công. Phản ứng đó rất đa dạng và được tiến hành nghiên cứu từ lâu ở các mức độ khác nhau (Hammond-Kosack *et al.*, 2000; Dickinson, 2000; Chisholm *et al.*, 2006; Pandey, Somsich, 2009). Đối với các cây mọc dại thường rất khỏe, nếu bị nhiễm bệnh chỉ hạn chế trong một số vùng mô tế bào nhỏ nhất định và ở một số ít cây. Cây có thể gọi là bị bệnh chỉ xảy ra khi chúng nhiễm bệnh nặng đến mức làm chết cây. Nhiều cây trồng địa phương đã được phát hiện có khả năng kháng sâu bệnh, kháng nấm... bằng các phương pháp kinh điển, sau đó, được lai tạo nhằm mục đích chọn tạo giống kháng bệnh có năng suất cao, chất lượng tốt (Meyer *et al.*, 2009).

Gần đây, với sự phát triển vượt bậc của sinh học phân tử và nhất là công nghệ gen, nhiều quá trình biến đổi trong cơ thể cũng như các gen liên quan đến hiện tượng phản ứng này của thực vật được phát hiện và nghiên cứu, bản chất tác động giữa cây trồng và mầm bệnh được làm sáng tỏ dần. Trong đó, protein – sản phẩm biểu hiện của gen và sự tương tác giữa chúng tạo ra sự khởi đầu cho phản ứng kháng bệnh của thực vật được đặc biệt quan tâm đến. Trong bài này, chúng tôi tổng quan một số nét chính về cơ sở sinh học phân tử làm nền tảng cho hiện tượng phản ứng của thực vật và sau đó, là khả năng kháng bệnh của cây trồng nói chung.

MẦM BỆNH VÀ CÁC DẠNG TƯƠNG TÁC VỚI THỰC VẬT

Mầm bệnh thực vật (plant pathogen)

Mầm bệnh thực vật là các cơ thể sinh học có thể sống trong cây ở một giai đoạn nhất định hoặc suốt quá trình sống của cây và ảnh hưởng có hại cho cây. Mầm bệnh có thể là vi khuẩn, virus, nấm, tuyến trùng, động vật không xương sống... và thậm chí có thể là cây khác.

Ví dụ: Mầm bệnh ở đậu tương cũng rất đa dạng: nhiều loại nấm, virus, vi khuẩn và các loại sâu bọ gây hại trên các cơ quan khác nhau của cây (Ngô Thế Dân *et al.*, 1999). Một số bệnh thường gặp ở đậu tương có thể liệt kê sau đây.

ii/ Bệnh nấm hại: ở lá: bệnh gỉ sắt (rust) do *Phakopsora pachyrhizi*; bệnh đốm nâu (brown spot) do *Septoria glycine*, bệnh sương mai hay phần trắng do *Peronospora manshurica*; ở rễ và thân: bệnh thối thân màu nâu (stem rot) do *Cephalosporium gregatum*, bệnh thối rễ do *Phytophthora megasperma*; ở hạt: bệnh đốm tím hạt do khoảng 10 loài nấm *Cercospora*; bệnh hại thân và quả do *Diaporthe sojae*: nhiễm từ quả, phát triển tiếp khi hạt nảy mầm, làm kim hãm sự nảy mầm của hạt và gây thối hạt.

iii/ Bệnh virus: bệnh khảm lá do *Potyvirus* và *Alfalfa virus*, bệnh lùn do *Cucumovirus* và *Luteovirus* lan truyền do rệp; bệnh virus đốm quả do *Comovirus* lan truyền do bọ cánh cứng; ruồi trắng, tuyến trùng.

iiii/ Bệnh vi khuẩn: bệnh hoại tử vi khuẩn (leaf rot) do *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* gây ra diện rộng trên nhiều nước, bệnh đốm vi khuẩn do *Xanthomonas campestris* gây hại lá.

v/ Sâu hại: gây tổn thương cho các cơ quan sinh trưởng, sinh thực: do sâu xanh (*Plathypena scabra* F), sâu đo (*Pseudoplusia includens* Walker), sâu đục mero (*Anticarsia gemmatilis* Hubner), nhện (*Tetranychus* sp.); bọ nhảy hại lá (*Empoasca fabae* Harris); sâu đục thân (*Elasmopalpus lignosellus* Zeller), sâu đục quả (*Heliothis zea* Boddie), ruồi hại nốt sần (*Rivellia quadrifasciata* Macquart).

Năm dạng mầm bệnh chủ yếu là virus, vi khuẩn, nấm, tuyến trùng và sâu- động vật có hại cho cây (Hammond-Kosack *et al.*, 2000, Dickinson, 2000) được trình bày sau đây.

Nấm (fungi)

Khoảng gần 2% trong số 100000 loài nấm đã được công bố trên thế giới là có khả năng gây bệnh cho cây. Có loài nấm thuộc dạng gây hoại tử, sản sinh ra enzyme phá hủy màng tế bào của nhiều loại cây trồng. Ví dụ: nấm *Pythium* và *Botrytis* gây bệnh cho hơn 1000 loài thực vật; *Botrytis cinerea*, nấm mốc ghi, gây bệnh trên quả nho. Có loài nấm gây hoại tử bằng cách chiết ra độc tố, mỗi loại độc tố có khả năng ức chế đặc hiệu enzyme nhất định trong quá trình phát triển của cây. Ví dụ: Nấm *Cochliobolus carbonum* sản sinh ra độc tố HC (HC-

toxin) ức chế histone deacetylase, enzyme hoạt hóa các gen bảo vệ cây. Nấm *Fusicoccum amygdali* sản sinh ra độc tố fusicossin làm mờ bơm H^+ -ATPase vận chuyển ion trên màng tế bào. Tác động chính là làm mờ khí khổng tự do, do đó, cây bị héo và dần gây ra chết cây.

Các loại nấm có dạng sống cộng sinh đặc hiệu cao đến từng loại cây trồng. Để sử dụng tế bào thực vật như nguồn cung cấp dinh dưỡng, nấm xâm nhập vào tế bào qua vị trí đặc biệt gọi là chốt xâm nhiễm (penetration peg), từ đó hình thành lên giác mút (haustorium) trong nguyên sinh chất của tế bào thực vật. Giác mút làm tăng khả năng tiếp xúc giữa hai cơ thể. Nấm có thể thay đổi sự cân bằng về hormone cho phép tế bào cùng tồn tại trong điều kiện này. Ví dụ như nấm gây bệnh gỉ sắt. Có loài nấm không tạo giác mút mà ăn sâu vào vùng giữa các tế bào (apoplast) như nấm gây bệnh mốc lá cà chua *Cladosporium fulvum*.

Các loại nấm có dạng sống bán cộng sinh dần dần phá hủy dạng cộng sinh ban đầu và chuyển sang gây hoại tử cho tế bào thực vật. Sự chuyển hướng này thường xảy ra khi lượng nấm phát triển quá nhiều. Ví dụ: *Phytophthora infestans* gây bệnh chết lụi ở lá khoai tây khi bắt đầu hình thành nhiều bào tử. Sau 2 tuần cánh đồng khoai tây có thể bị chết lụi.

Nấm gỉ sắt ở thực vật được phát hiện từ nhiều năm nay: nấm *Melampsora lini* gây bệnh ở cây lanh; *Puccinia recon dita* gây bệnh ở cây lúa mì; *Uromyces faba* gây bệnh ở đậu trắng và đậu tằm; *Puccinia polysora* gây bệnh ở ngô; *Phakopsora pachyrhizi* Syd gây bệnh ở đậu tương... Cơ chế kháng bệnh và gen kháng bệnh lần đầu tiên được phát hiện trên cơ sở nghiên cứu bệnh gỉ sắt ở cây lanh vào những năm 40 của thế kỷ trước. Bệnh gỉ sắt đậu tương chủ yếu ở châu Á, vì vậy, còn gọi là bệnh gỉ sắt châu Á (asian soybean rust), đến năm 2001 bắt đầu lan sang Mỹ và Nam Mỹ gây dịch bệnh nguy hiểm làm thiệt rất lớn cho sản xuất đậu tương tại các nước Mỹ, Brazil, Argentina trong những năm gần đây.

Virus

Hiện nay đang tồn tại hơn 40 họ virus thực vật. Chúng có thể là virus DNA hoặc virus RNA, nhưng chủ yếu là virus RNA chứa RNA sợi đơn dương (single-strand positive-sense RNA virus). Virus tương tác với cây thường theo dạng sống cộng sinh (biotrophy). Vì vậy, virus cần phải có cơ chế thích hợp để sao chép được trong tế bào thực vật, chuyển được vào tế bào liên kế hoặc hệ mạch của thực vật,

đồng thời ngăn chặn được hệ thống bảo vệ của tế bào thực vật để có thể tồn tại phát triển trong mô tế bào thực vật. Triệu chứng của virus có thể là úa vàng (chlorosis), chết hoại (necrosis), khảm (mosaic) hoặc cây chậm phát triển (stunting). Genome của virus được nghiên cứu tỉ mỉ ở virus khảm súp- lơ CAMV (cauliflower mosaic virus). Đó là virus có DNA sợi đôi. DNA genome có độ dài 8 kb, trong đó, có 3 đoạn sợi đơn ngắn ngắt quãng với 7 khung đọc mở ORFs (open reading frames). Chúng mã hóa cho 7 protein có khối lượng phân tử (KLPT) từ 11 kDa đến 79 kDa thực hiện các chức năng khác nhau: Protein vỏ virus, protein vận chuyển vào tế bào (plasmodesmata), enzyme sao chép ngược (reverse transcriptase), protein gắn với DNA... Phức hệ nucleoprotein của virus xâm nhập được vào tế bào thực vật nhờ có protein vận chuyển đặc hiệu của virus tương tác với phức hệ lỗ nhân bao gồm các thành phần trên kênh chuyển protein qua màng tế bào và màng nhân của tế bào thực vật.

Vi khuẩn (bacteria)

Vi khuẩn gây bệnh ở thực vật là một nhóm lớn, thường ký sinh chuyên hóa ở vùng giữa các tế bào gây ra bệnh hoại tử ở lá, thân, bệnh đốm, héo, thối mục và tàn lụi. Những vi khuẩn này thường thuộc các chi *Pseudomonas*, *Xanthomonas* và *Erwinia*. Có hai đặc điểm đặc trưng cho mối tương quan giữa vi khuẩn và thực vật là: i/. Khi nhiễm vào thực vật, vi khuẩn thường cư trú trong vùng giữa các tế bào của các cơ quan thực vật hoặc trong mô gỗ (xylem); ii/. vi khuẩn tiết ra các chất độc, polysaccharide hoặc các enzyme phân hủy thành tế bào, gây độc hoặc phân hủy tế bào thực vật. Sự tương tác giữa vi khuẩn và thực vật tồn tại cả ba dạng: gây hoại tử, sống cộng sinh và bán cộng sinh. Vi khuẩn có diện lây nhiễm rất rộng, cho nhiều loài thực vật khác nhau. Các vi khuẩn thuộc chi *Erwinia* sản sinh ra enzyme (pectic enzyme) phân hủy thành tế bào, gây chết tế bào và làm thối nhũn mô tế bào.

Tuyến trùng (nematode)

Tuyến trùng còn gọi là giun tròn là động vật không xương sống đa dạng và rất phong phú trên trái đất, có đến hàng triệu loài khác nhau. Tuyến trùng sống tự do trong đất, nước ngọt, biển và ký sinh ở người, động và thực vật. Tuyến trùng thực vật gồm các loại ký sinh gây hại cho thực vật. Tuyến trùng dinh dưỡng bằng công cụ chuyên hóa gọi là stylet, thường là một cái ống rỗng. Qua stylet, các chất tiết (secretor) từ tuyến thực quản tiêm vào trong các tế bào thực vật và khối tế bào sẽ được tiêu hóa thành

dạng lỏng để tuyến trùng dễ dàng hút dịch vào cơ thể chúng. Các chất tiết từ tuyến trùng là các enzyme có thể phân giải một phần tế bào trước khi được hút vào và tiêu hóa trong tuyến trùng, dẫn đến sự hình thành các điểm dinh dưỡng chuyên hóa tại vùng có các tuyến trùng ký sinh. Trong trường hợp sản rệp do tuyến trùng, khoảng 200 tế bào bị tuyến trùng biến thành cấu trúc "điểm dinh dưỡng". Ở vùng này DNA của tế bào tăng lên tạo thành các tế bào không lồ có hình dạng như nốt sần rệp.

Các nhóm tuyến trùng ký sinh gây hại quan trọng cho thực vật có thể liệt kê như sau: tuyến trùng sản rệp *Melodogyne* spp., tuyến trùng bảo nang *Globodera* spp và *Heterodera* spp., tuyến trùng nội ký sinh di chuyển *Pratylenchidae*, tuyến trùng bán nội sinh *Rotylenchulus* spp. và *Tylenchulus* spp., tuyến trùng thân *Ditylenchus* spp., tuyến trùng ngoại ký sinh rệp và tuyến trùng ký sinh thực vật bộ *Aphelenchida*. Trong đó, tuyến trùng sản rệp được coi là nhóm tuyến trùng ký sinh quan trọng nhất cho nông nghiệp toàn thế giới. Hiện nay, người ta tìm thấy trên 80 loài ký sinh thuộc nhóm này, nhưng chỉ có 4 loài nguy hiểm nhất là *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica* và *M. hapla*. Các loài này phân bố rộng rãi trên hầu hết các vùng nông nghiệp trên thế giới (Nguyễn Ngọc Châu, 2003).

Sâu hại cây (insect)

Hàng nghìn loại sâu bọ côn trùng ăn thực vật, sinh sản và sống trong thực vật hoặc nhờ thực vật. Chúng thường hoặc ăn lá và mầm non, hoặc hút nhựa cây. Những sâu ăn lá thường gây tổn thương cho cây. Loại khác ăn rễ, hoặc hạt non. Ví dụ như bộ cánh cứng Colorado của khoai tây, các loại châu chấu ăn lá lúa; sâu đục thân ngô, lúa; sâu xanh, sâu đo, sâu đậu mèo hại lá, sâu đục thân, sâu đục quả, nhện, bọ trĩ hại lá, ruồi hại nốt sần ở đậu tương. Các cây chanh, cam thường bị rệp. Những loài côn trùng hút nhựa cây thường dùng stylet để xâm nhập qua cây và hút nhựa từ mô libe (phloem). Cây trong tình trạng này thường bị thiếu hụt các chất dinh dưỡng, giảm mức độ sinh trưởng và phát triển. Sâu hại thường gây ra tổn thất lớn như rụng lá hoặc héo lá hàng loạt trên diện rộng. Ngoài ra, chúng còn là vật trung gian đưa các virus, vi khuẩn và nấm hại từ bên ngoài vào cây, gây lan truyền dịch bệnh.

Theo tổng kết của Viện Bảo vệ thực vật, trong những năm gần đây ở Việt Nam, luôn xuất hiện của rầy nâu, rầy lưng trắng, bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá, bệnh đạo ôn, bệnh khô vằn ở lúa; bệnh vàng lá cà phê, bệnh greening hại cam quýt, bệnh chết rũ vải

thieu, bệnh chết nhanh chết chậm ở hồ tiêu, bệnh héo vi khuẩn hại các loại cây rau màu, sâu róm hại thông, châu chấu hại luồng, ruồi đục quả hại các loại cây ăn quả như đào, táo, mận, xoài, nhãn, vải và thanh long,... đã phá hủy trên diện tích rộng đến hàng ngàn ha các cây nông lâm nghiệp khác nhau, gây thiệt hại hàng chục tỷ đồng (Ngô Vĩnh Viễn, 2009).

Các dạng tương tác giữa thực vật và mầm bệnh

Để tìm hiểu quá trình hình thành bệnh và khả năng ngăn chặn chúng, bước đầu tiên cần làm sáng tỏ chính là các dạng tương tác giữa thực vật và mầm bệnh. Đây chính là phương thức mà từ mầm bệnh gây ra bệnh ở cây trồng. Rễ, chồi, lá, thân, quả non... đều có thể tương tác với mầm bệnh. Mỗi loại sâu hại, vi khuẩn, nấm... ký sinh trên cây có cách xâm nhập khác nhau vào cây: có thể xâm nhập qua lớp biểu bì bằng tác động cơ học hoặc nhờ các enzyme đặc hiệu, có thể đi qua khí khổng hoặc nơi mô tế bào bị tổn thương.

Khi đã xâm nhập được vào cây, có 3 dạng tương tác khác nhau (Hammond-Kosack *et al.*, 2000) thường quan sát thấy gây hậu quả nhất định ở thực vật.

- **Gây hoại tử** (necrotrophy) - mô tế bào thực vật sau khi tương tác bị hoại tử. Mầm bệnh lan truyền mạnh gây bệnh dịch lớn.

- **Sống cộng sinh** (biotrophy) - tế bào thực vật cùng tồn tại, mầm bệnh sống nhờ vào chất dinh dưỡng lấy từ tế bào cây. Mầm bệnh khu trú trong một cây, một cá thể, không lan truyền.

- **Bán cộng sinh** (hemibiotrophy): lúc đầu tế bào thực vật sống cùng với mầm bệnh, nhưng giai đoạn cuối, mầm bệnh phát triển mạnh, diệt chết cây. Mầm bệnh lan truyền nhưng không rộng.

Tuy trong môi trường có rất nhiều dạng sinh vật khác nhau có thể xâm nhập vào cây, nhưng chỉ có một phần nhỏ sau đó có thể gây bệnh cho cây. Những nguyên nhân gây ra hiện tượng hạn chế này có thể nói đến sau đây:

(1) Cơ thể thực vật không phải luôn là môi trường thích hợp cho mầm bệnh phát triển.

(2) Thực vật có thể hình thành các rào cản hoặc tạo ra các chất có độc tố khi bị mầm bệnh xâm nhập, làm mầm bệnh khó phát triển được.

(3) Khi nhận biết được sự xâm nhập, thực vật hoạt hóa cơ chế bảo vệ sao cho cô lập việc lây nhiễm mầm bệnh.

(4) Điều kiện môi trường thay đổi làm cho mầm

bệnh khó đạt đến vị trí nhiễm bệnh mà có thể gây tổn thương sâu sắc cho cây.

Các trường hợp trên đều là không tương thích về di truyền. Riêng trường hợp thứ 3 gọi là cơ chế kháng bệnh. Để hoạt hóa các phản ứng bảo vệ nhanh chóng tại vị trí xâm nhập của mầm bệnh, mỗi tế bào cần có hệ thống giám sát tinh vi. Hệ thống này hoạt động trong cây ngay ở trạng thái bình thường và có khả năng phân biệt các tín hiệu xâm nhập từ bên ngoài và phân biệt các cơ thể sinh học có lợi hay có hại. Trong trường hợp có lợi sẽ có sự tương thích về di truyền giữa cây trồng và vi khuẩn. Còn trong trường hợp có hại, tế bào thực vật sẽ phải chuyển đổi quá trình trao đổi chất bình thường sang trạng thái phòng thủ nhằm ngăn chặn hoạt động các enzyme có hại của mầm bệnh và các độc tố khác. Nhiều khi hiện tượng này gây độc và làm chết tế bào tại chỗ vì quá nhiều các chất kháng khuẩn.

Bệnh ở cây thường lan nhanh, gây hại trên diện rộng có thể giải thích bằng 4 yếu tố chủ yếu (Hammond-Kosack *et al.*, 2000) sau đây.

i/. Dạng tồn tại của mầm bệnh hiệu quả đến mức cho phép tái tạo chúng nhanh và tần số cao trong mùa sinh trưởng đối với thực vật.

ii/. Cơ chế lan tỏa rất nhanh nhờ gió, nước hoặc bằng cơ thể sinh học ví dụ như sâu bọ, rầy, tuyến trùng...

iii/. Dạng tái tạo khác bằng cách hình thành cấu trúc có khả năng duy trì sự sống khác (như bào tử, chồi...) vào thời điểm cuối của mùa sinh trưởng đối với thực vật.

iv/. Có tính đa dạng di truyền cao, có khả năng biến dị cao và phổ thích ứng rộng.

v/. Tính thuần chủng cao của cây trồng và khả năng thích ứng tốt của mầm bệnh.

Phản ứng bảo vệ của thực vật

Khi có sự xâm nhập của mầm bệnh vào tế bào thực vật, mỗi tế bào đều có hệ thống tinh vi phản ứng lại, chúng bao gồm cả hệ thống của tế bào có chức năng bảo vệ luôn thường trực sẵn sàng và hệ thống tín hiệu được cảm ứng bởi sự tấn công của mầm bệnh. Thực vật luôn phân biệt được mầm bệnh và các sinh vật có lợi.

Phản ứng bẩm sinh của thực vật thường theo hai hướng chính:

Thứ nhất: xuất hiện phân tử kết hợp với mầm bệnh kích hoạt sự miễn dịch-PTI [pathogen-

associated molecular pattern (PAMP)-triggered immunity] trong thực vật, chúng bắt đầu nhận biết các tín hiệu từ mầm bệnh và hoạt hóa đường dẫn truyền tín hiệu nhờ MAP (mitogen activated protein) kinase và các gen phòng thủ khác.

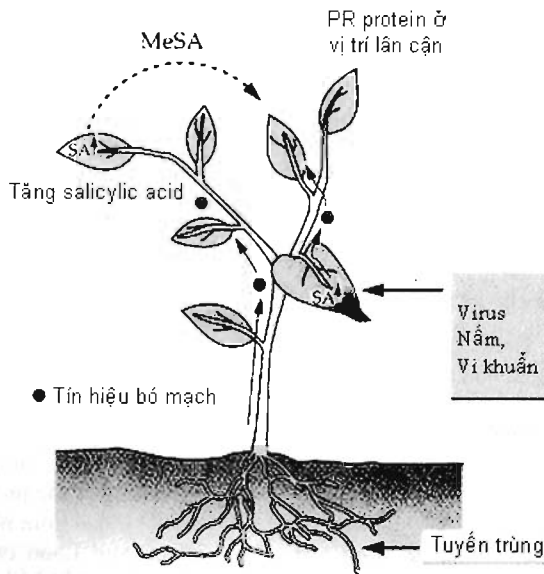
Thứ hai: chất ngoại bào kích hoạt sự miễn dịch - **ETI** (effector-triggered immunity) từ mầm bệnh xâm nhập vào tế bào thực vật được biết như các protein không gây bệnh (Avirulence protein). Các protein kháng bệnh (Resistance protein) ở thực vật nhận biết các protein mới xâm nhập này và hoạt hóa đường dẫn truyền tín hiệu. Cả hai trường hợp PTI và ETI đều phản ứng tại chỗ và kích hoạt sự kháng bệnh có hệ thống- SAR (Systemic acquired resistance) (Chisholm *et al.*, 2006; Pandey, Somsich, 2009). Quá trình phản ứng có sự tham gia của nhiều yếu tố có bản chất phân tử khác nhau.

Các dạng oxy hoạt hóa và các tín hiệu thứ cấp

Khi bị nhiễm bệnh, thực vật có những phản ứng tự vệ sớm nhất từ việc sản sinh ra một số dạng oxy hoạt hóa - ROS (reactive oxygene species) như H_2O_2 và nitric oxide (NO). Tiếp theo đó là xuất hiện hệ thống tín hiệu thứ cấp như ion Ca^{2+} và salisilic acid

(SA). H_2O_2 cũng như một số ROS khác được sản sinh ra khoảng 5 phút sau đó. Đây là kết quả của hoạt động NADPH oxidase trên màng tế bào. H_2O_2 có thể gây độc ngay cho mầm bệnh và tiêu diệt mầm bệnh ngay từ những phút đầu tiên. Với sự có mặt của Fe, H_2O_2 có thể chuyển hóa thành gốc tự do OH^* , chất này có tác dụng hoạt hóa quá trình tạo lignin cho màng tế bào, làm cho màng tế bào kháng cự lại được với sự xâm nhiễm của vi khuẩn và tác động của enzyme vi khuẩn. Ngoài ra, H_2O_2 còn thúc đẩy việc tạo ra SA, như tín hiệu đặc thù của hiện tượng SAR, ở những vùng lân cận khác của cây (hình 1), sẵn sàng kháng cự lại với sự lan nhiễm của mầm bệnh nếu có xảy ra. H_2O_2 còn cảm ứng các gen bảo vệ tế bào như các gen tổng hợp glutathione (Neil *et al.*, 2002).

NO là phân tử tín hiệu nhận biết sự xâm nhập của mầm bệnh. NO gắn với nhân heme và ức chế catalase và ascorbate peroxidase, các enzyme chuyển hóa nhằm loại bỏ H_2O_2 trong tế bào. Ngoài ra, NO kích hoạt phản ứng bảo vệ của thực vật: hoạt hóa sự tạo thành các mRNA của các gen bảo vệ tế bào. Ước chế tổng hợp NO trong điều kiện này cho thấy các triệu chứng mắc bệnh của cây khốc liệt hơn (Neil *et al.*, 2002).



Hình 1. Mô hình sự kháng bệnh có hệ thống- SAR (Systemic Acquired Resistance); khi xuất hiện mầm bệnh: hiện tượng nhiễm bệnh tại chỗ kích thích tích lũy salicylic acid (SA) và hình thành tín hiệu bó mạch (phloem-mobile signal) ở các vùng lân cận, hoạt hóa các gen mã hoá cho protein liên quan đến mầm gây bệnh (pathogenesis-related protein - PR protein) đặc hiệu (theo Hammond-Kosack *et al.*, 2000).

Salicylic acid là tín hiệu xuất hiện khi có sự xâm nhập mầm bệnh, lan truyền đến các vùng, các cơ quan lân cận của cây, hoạt hóa gây SAR ở các vùng đó. SA ức chế hoạt tính của catalase, thúc đẩy sản sinh ra ROS. SA cảm ứng tổng hợp các protein kinase 48 kDa (SA-induced protein kinase – SIPK) dạng MAP kinase và hoạt hóa hệ thống bảo vệ ở thực vật. SA đồng thời cảm ứng tổng hợp PR-1 (Pathogenesis-related protein 1). SA và NO hiệp lực cùng thúc đẩy hệ thống bảo vệ tế bào.

Các hợp chất kháng khuẩn, kháng nấm với KLPT nhỏ được tổng hợp tại chỗ. Một trong những hợp chất đầu tiên được tìm thấy là phytoalexin. Enzyme tổng hợp phytoalexin từ phenylalanine chính là phenylalanine ammonia lyase.

Ion Ca^{2+} là hệ thống tín hiệu hứ cấp, được hoạt hóa bởi ABA hoặc các hormone khác như jasmonic acid (JA) hoặc ethylene. Ion Ca^{2+} kích hoạt các yếu tố phiên mã – TF (transcription factor), điều khiển sự biểu hiện các gen liên quan đến tính kháng bệnh. Tiếp theo, hệ thống tín hiệu hoạt hóa sự tổng hợp các PR protein và các enzyme protease ức chế mầm bệnh (Klessig *et al.*, 2000).

Phản ứng miễn cảm đặc hiệu

Phản ứng miễn cảm đặc hiệu HR (hypersensitive response) thường được biểu hiện đầu tiên trong vòng 24 giờ sau khi xuất hiện sự tấn công của mầm bệnh. Đồng thời HR cũng gây ra hiện tượng chết tế bào được chương trình hóa (Programmed cell death – PCD) tại vị trí xâm nhiễm. Hiện tượng này còn gọi là hiện tượng hoại tử tại chỗ (apoptosis), nhằm ngăn chặn sự sống và lây lan của mầm bệnh. SAR xảy ra từ 24 - 48 giờ sau khi xâm nhiễm và có thể kéo dài đến một tháng. Đây là quá trình phản ứng tổng hợp rất phức tạp cùng đồng thời có sự tham gia của nhiều gen và được hoạt hóa bằng những cơ chế khác nhau.

Như vậy, nấm, vi khuẩn, virus... khi xâm nhiễm tạo ra một loại các tín hiệu, hoạt hóa một cách có hệ thống các gen mã hóa cho protein đặc hiệu liên quan đến mầm gây bệnh như PR protein theo cơ chế gọi là sự kháng bệnh có hệ thống SAR: hiện tượng chết hoại tại chỗ kích thích tích lũy SA và hình thành tín hiệu bó mạch ở các vùng lân cận và cuối cùng là hình thành hiện tượng kháng bệnh ở thực vật (Hammond-Kosack *et al.*, 2000, Dickinson, 2000).

Hiện tượng kháng bệnh và bản chất phân tử của chúng

Trong trường hợp sống cộng sinh (biotrophy) có

thể xảy ra hiện tượng kháng bệnh. Cơ sở di truyền của hiện tượng này, hay còn gọi là tính kháng bệnh là sự tương tác đặc hiệu tinh vi giữa cây trồng và mầm bệnh. Hiện tượng kháng bệnh xảy ra khi tế bào thực vật và mầm bệnh không tương thích (incompatible) hay còn gọi là kháng cự.

Vào thế kỷ 19, sau khi có định luật di truyền của Mendel, các nhà khoa học nhận thấy tính kháng bệnh ở cây thường là gen trội hoặc bán trội. Tiếp đó, sau những năm 1940, Nhà bác học Harold H Flor nghiên cứu nấm gỉ sắt trên cây lanh (flax) và đã phát hiện ra sự tương tác di truyền trên cả mầm bệnh tương ứng, mô hình tương tác “gene for gene” ra đời từ đó. Để có được hiện tượng kháng bệnh ở cây, cần tồn tại không chỉ có gen kháng trội hoặc bán trội ở cây (dominant resistance gene - R gene) mà còn cần cả gen không gây hại cũng mang tính trội (dominant avirulence gene – Avr gene) ở mầm bệnh. R protein - sản phẩm biểu hiện của R gen, nhận biết Avir protein từ mầm bệnh được xâm nhập vào tế bào thực vật và kích hoạt phản ứng kháng của thực vật. Thuyết “gene for gene” được chấp nhận từ nhiều năm nay. Như vậy, hiện tượng kháng bệnh có thể được quan sát thấy khi mầm bệnh tương tác với thực vật mà có kết quả vô tính, không gây bệnh cho thực vật. Sự tương tác này thường có tương thích về di truyền, như vậy, thực vật bằng cách nào đó vẫn hạn chế các chuyển hóa thúc đẩy cho quá trình phát triển các biểu hiện về triệu chứng bệnh. Và kết quả là cản trở được sự hủy hoại mô tế bào thậm chí cả khi thực vật bị nhiễm bệnh nặng.

CÁC PROTEIN LIÊN QUAN ĐẾN MẦM GÂY BỆNH VÀ CÁC PROTEIN KHÁNG BỆNH

Protein liên quan đến mầm gây bệnh (Pathogenesis-related protein - PR protein)

Sau khi bị nhiễm bệnh, ở thực vật có các phản ứng tự vệ - hiện tượng kháng bệnh có hệ thống (SAR) và đã phát hiện được nhiều nhóm protein liên quan đến mầm gây bệnh – PR protein. Cho đến nay, người ta đã thống kê được 17 nhóm PR protein, đại diện của chúng là các protein được phát hiện lần đầu tiên (bảng 1), bao gồm nhiều loại với các chức năng khác nhau (van Loon *et al.*, 2006). Chúng thường xuất hiện trong mô tế bào sau khi lây nhiễm bệnh từ vài phút đến vài giờ. Chúng đều là các chất kháng khuẩn, kháng nấm, kháng oomycete... và tham gia vào bảo vệ tế bào thực vật khỏi các tác động của mầm bệnh.

Bảng 1. Các nhóm PR protein (van Loon *et al.*, 2006).

Họ protein	Tên protein	Đặc tính	Ký hiệu gen
PR-1	PR-1a (thuốc lá)	Kháng nấm và oomycete	<i>Ypr1</i>
PR-2	PR-2 (thuốc lá)	β -1,3-glucanase	<i>Ypr2</i>
PR-3	P,Q (thuốc lá)	Chitinase dạng I,II,IV,V,VI,VII	<i>Ypr3</i>
PR-4	R (thuốc lá)	Chitinase dạng I,II	<i>Ypr4</i>
PR-5	S ((thuốc lá)	Thaumatococcus-like	<i>Ypr5</i>
PR-6	Inhibitor1 (thuốc lá)	Proteinase-inhibitor	<i>Ypr6</i>
PR-7	P69 (thuốc lá)	Endoproteinase	<i>Ypr7</i>
PR-8	Chitinase (dưa chuột)	Chitinase dạng III	<i>Ypr8</i>
PR-9	lignin-forming peroxidase (thuốc lá)	Peroxidase	<i>Ypr9</i>
PR-10	Parsley PR-1	Ribonuclease like	<i>Ypr10</i>
PR-11	class V chitinase (thuốc lá)	Chitinase dạng I	<i>Ypr11</i>
PR-12	Radish Rs-AFP3	Defensin	<i>Ypr12</i>
PR-13	<i>Arabidopsis</i> THI2.1	Thionin	<i>Ypr13</i>
PR-14	LTP4 (đại mạch)	Lipid-transfer protein	<i>Ypr14</i>
PR-15	OxOa (đại mạch)	Oxalate oxidase like	<i>Ypr15</i>
PR-16	OxOLP (đại mạch)	Oxalate oxidase like	<i>Ypr16</i>
PR-17	PRp27 (thuốc lá)	Không rõ	<i>Ypr17</i>

Nhóm **PR-1** được coi là chỉ thị cho SAR ở thực vật, tuy vậy chức năng của chúng cho đến nay vẫn đang còn được bàn luận. PR-1 có trong hầu hết các cây trồng và có đến 35% tương đồng giữa các loại PR1 ở trong cùng một loại cây trồng cũng như trong các loại cây trồng khác nhau. Trong thuốc lá có đến 16 loại PR-1, chúng có thể chia thành các loại: loại có tính acid, có tính kiềm, còn cà chua có 4 loại. Ở *Arabidopsis* có 26 gen, còn lúa nước có 39 gen mã hóa cho các PR-1 protein. Ví dụ: PR-1a ở lúa nước có KLPT 15,7 kDa và phản ứng với nấm gây bệnh (Kim *et al.*, 2000). Tất cả các PR-1 đều có cấu trúc chung như trong phân tử có 4 xoắn α , 4 chuỗi β và chứa 6 gốc Cys. Cấu trúc này cho thấy chúng có một hoặc vài chức năng quan trọng trong việc nhận biết và tương tác với các protein khác. Biểu hiện PR-1 làm tăng cường kháng khuẩn, kháng virus, kháng nấm và sâu bệnh ở mức độ khác nhau ở các cây trồng.

Nhóm **PR2** là β -1,3-endoglucanases và **PR-3**, **PR-4**, **PR-8**, **PR-11** là endochitinases, chúng đều là các enzyme phân hủy polysaccharide của thành tế bào nấm, vì vậy, chúng có khả năng kháng nấm. Các chitinase cũng như proteinase inhibitor (**PR-6**) còn có thể tác động lên tuyến trùng và sâu bọ. Nhóm **PR-8** có hoạt tính lysozyme và có thể trực tiếp kháng khuẩn.

Các nhóm **PR-12**, **PR-13** là defensin và thionin cũng như nhóm **PR-14** đều là các chất kháng khuẩn và kháng nấm. Defensin thực vật là họ peptide có tính kiềm, giàu Cys với KLPT nhỏ hơn 7 kDa. Sự tích lũy defensin trong mô tế bào thực vật thường được cảm ứng bởi ethylene và JA mà không cảm ứng bởi SA. Cấu trúc của defensin thực vật giống như cấu trúc của peptide dạng này ở côn trùng, chim và động vật khi phản ứng với sự xâm nhiễm của vi khuẩn.

Nhóm **PR-5**, osmotin (thaumatococcus-like) có khả năng kháng nấm. Nhóm **PR-9** là peroxidase hoạt động trên màng tế bào, hoạt hóa quá trình lignin hóa thành tế bào kháng khuẩn cũng như nhiều loại mầm bệnh khác. **PR-10** có hoạt tính ribonuclease yếu có khả năng kháng virus. Ba nhóm **PR-15**, **PR-16** và **PR-17** đều là dạng oxalate oxidase có hoạt tính SOD tạo thành dạng ROS - gây độc cho mầm bệnh cũng như hoạt hóa các đường dẫn truyền tạo ra sự kháng bệnh.

Các nhóm protein kháng bệnh

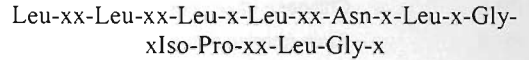
Nhiều nhà khoa học đã tìm cách phân lập các gen kháng bệnh để nghiên cứu tính chất sinh hóa và chức năng của những protein tương ứng. Trên thực tế, quá trình nhận biết tín hiệu của mầm bệnh, hoạt hóa các hệ thống bảo vệ và các gen kháng bệnh rất

phức tạp, ở đây có sự tham gia của rất nhiều gen khác nhau ở các loại thực vật. Các protein được tổng hợp và liên quan đến quá trình kháng bệnh được phân lập từ nhiều loại cây trồng một lá mầm và hai lá mầm. Trong cấu trúc phân tử của chúng có những vùng bảo thủ đặc trưng để tương tác với các protein khác. Dựa vào các vùng này, các R-protein được phân loại có thể chia thành 6 nhóm chính: eLRR (extracellular LRR); NB-LRR, kinase... (Hammond-Kosack *et al.*, 2000). Tuy nhiên cho đến nay, việc phát hiện thêm các vùng mới đã không giới hạn ở 6 nhóm R-protein. Một số vùng chức năng chính được mô tả sau đây.

Nhóm LRR-TM

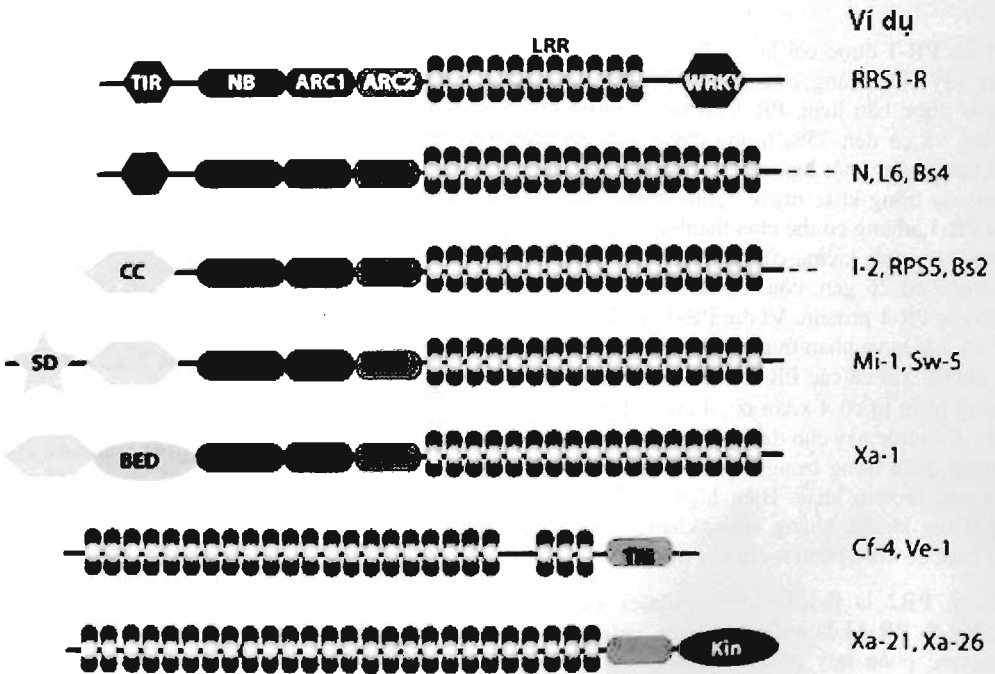
Nghiên cứu sự tiến hóa của các chất thụ thể (receptor) của vi khuẩn, các nhà khoa học đã phát hiện thấy các chất thụ thể hướng ra phía bên ngoài có vùng gồm các đoạn lặp lại giàu leucine ở đầu C ngoài tế bào – eLRR (extracellular carboxyl-terminal leucine-rich repeat domain) và đoạn chuyển màng –

TM (transmembrane) được xuất hiện đầu tiên và thuộc vào nhóm chất cổ xưa nhất. Đại diện của nhóm này tìm thấy ở cà chua – Protein Cf (*Cladosporium fulvum*) kháng nấm gây bệnh mốc lá (leaf mold) (hình 2). Chúng còn được gọi là protein dạng thụ thể – RLP (receptor-like protein). Vùng eLRR nằm phía ngoài của màng tế bào có chức năng như chất thụ thể nhận biết motif phân tử của mầm bệnh như vi khuẩn, virus hoặc nấm. LRR thuộc dạng protein này có đoạn lặp lại 24 amino acid (aa)



(trong đó x là aa bất kỳ)

Vùng LRR chia thành 3 vùng nhỏ hơn: vùng gần đầu N chứa từ 21-28 đoạn lặp lại; vùng ở giữa chứa đoạn aa không bảo thủ và không lặp lại, còn vùng cuối chứa 3-4 đoạn lặp lại. Cf4 có 25 đoạn lặp lại, còn Cf9 có 27 đoạn lặp lại này ở gần đầu N (de Wit *et al.*, 2002).



Hình 2. Sơ đồ các nhóm protein kháng bệnh – R protein với các vùng chức năng chính: NB (nucleotide binding site) vùng gắn với nucleotide ; LRR (leucine – rich repeat) – vùng các đoạn lặp lại giàu leucine; CC (coiled-coil) - trình tự cuộn; TM (transmembrane) - đoạn chuyển màng; Kin- Kinase; TIR- (Toll/interleukin-1/ receptor) – thụ thể Toll/ IR 1; ARC- [Apaf-1 (Apoptotic protease-activating factor-1), R protein và CED-4 (*Caenorhabditis elegans* death-4 protein)] - phức hệ protein ; WRKY motif – đặc trưng cho một dạng TF (Tameling, Takken, 2007).

Nhóm LRR-TM-kinase

Dạng chất thụ thể thứ hai có 3 vùng: eLRR, TM và thêm vùng kinase (cytoplasmic kinase domain), còn gọi là kinase dạng thụ thể – RLK (receptor-like kinase). Đại diện của nhóm này là Xa21, Xa26 protein ở lúa gạo kháng bệnh bạc lá lúa do vi khuẩn *X. oryzae* pv. *oryzae* gây ra (hình 2). Vùng LRR của RLK protein giống như LRR của RLP protein đều có các đoạn lặp lại bảo thủ 24 aa, sự khác nhau ở điểm không chia thành ba vùng nhỏ hơn (Tameling, Takken, 2007).

Ngoài hai nhóm kể trên, trong cà chua còn có Ve1 và Ve2 đều chứa eLRR và vùng PEST (theo trình tự tên aa) tín hiệu để phân hủy protein và motif RME (receptor-mediated endocytosis) (McDowell *et al.*, 2003).

Nhóm NB-LRR

Tuy nhiên, trong hệ thực vật phát hiện thấy nhiều nhất là các chất thụ thể dạng NBS (nucleotide binding site) hoặc có tài liệu được biết là vùng NB (nucleotide binding domain). Đây là nhóm R protein với đặc điểm cấu trúc có các đoạn lặp lại giàu leucine – LRR [carboxyl-terminal (C-terminal) leucine – rich repeat domain] trong trình tự aa ở đầu cuối C và có điểm gắn với nucleotide (NB) ở vùng trung tâm (Hammond-Kosack *et al.*, 2000, Meyers *et al.*, 1999, Tameling, Takken, 2007). Có hai loại NB-LRR chính:

- **Toll/interleukin-1/ receptor (TIR)** ở đầu cuối N, giống với Toll protein của ruồi dấm *Drosophila* và thụ thể interleukin (interleukin receptor - IL-1R) của động vật có vú, mà chúng có phản ứng miễn dịch. Vì vậy, sự có mặt của vùng TIR dự đoán có chức năng bảo hiệu nhận biết tín hiệu. Nhóm này ký hiệu là TIR-NB-LRR.

- **Non TIR**: đây là dạng Leucine zipper – LZ (LZ-NB-LRR) theo Hammond-Kosack *et al.* (2000), còn gọi nhóm này là coiled-coil –CC (CC-NB-LRR) là trình tự cuộn nằm giữa đầu cuối N và vùng NBS theo McHale (2006). Dạng trình tự cuộn này có chức năng hỗ trợ cho sự tương tác giữa protein với nhau.

Protein dạng NB-LRR ở thực vật là loại protein tương đối lớn với KLPT từ 860 đến 1900 aa. Đây là nhóm protein lớn ở thực vật. Từ năm 1994, protein đầu tiên dạng này được phân lập, cho đến nay, hàng trăm protein NB-LRR được công bố: ở *Arabidopsis* (khoảng 150), lúa gạo (~400), cây rau diếp (~400) (Tameling, Takken, 2007). Trong cấu trúc của protein, ngoài 2 vùng chính là NB, LRR và cấu trúc

TIR, protein dạng này còn hai vùng cấu trúc khác nữa: ở đầu N và đầu C tạo nên sự đa dạng của nhóm protein. Đã phát hiện thấy khoảng 5 dạng NB-LRR có các vùng đầu N và đầu C chứa các vùng bảo thủ khác nhau. Đặc điểm của các vùng chính thuộc các dạng này được mô tả sau đây.

Vùng NB: NB protein là nhóm protein lớn trong thực vật. Năm 1999, nghiên cứu trên Ngân hàng gen và các gen được phân lập từ *Arabidopsis* sử dụng các trình tự bảo thủ trong vùng NB đã phát hiện thấy 248 gen có chứa vùng NB, chiếm khoảng 1% tổng số gen của cây này. Còn ở lúa nước – 104 gen thuộc dạng này. Trong khi đó ở các cây khác như đậu tương chỉ có 14 gen, cà chua – 14 gen, khoai tây – 15 gen, lúa mì – 12 gen, ngô – 12 gen. Trong 26 loài thực vật nghiên cứu đều có ít nhất 1 gen, loài nhiều nhất là *Arabidopsis* – 248 gen (Meyers *et al.*, 1999). Đến năm 2006 đã có trên 1600 trình tự gen mã hóa cho NB được công bố (McHale *et al.*, 2006).

NB-ARC: Vùng bảo thủ đặc trưng nhất của NB protein là vùng gắn với phosphate-P loop (phosphate-binding loop). Vì vậy, NB-LRR protein còn xếp vào nhóm protein lớn gọi là STAND (signal transduction ATPase with numerous domains) protein - protein tín hiệu truyền ATPase với các vùng cấu trúc. Phần lớn các NS-LRR protein đều có vùng ARC [Apaf-1 (Apoptotic protease-activating factor-1), R protein và CED-4 (*Caenorhabditis elegans* death-4 protein)] gắn với vùng NS ở đầu N. Cấu trúc tinh thể của Apaf-1 cũng chỉ ra rằng NB-ARC được tạo thành từ 4 domain khác nhau. P-loop hình thành cấu trúc gồm 5 đoạn gấp nếp β cuộn lại giới hạn bằng đoạn xoắn α (five-stranded β -sheet flanked by α -helices). ARC có 3 loại, trong thực vật thường thấy 2 loại là ARC1 và ARC2. ARC1 hình thành từ 4 xoắn cuộn thành bó (four-helix bundle), còn ARC2 hình thành vùng xoắn dạng cánh (wingged-helix domain).

Trong vùng NB có đến 7 đoạn trình tự bảo thủ chính. Ngoài hai đoạn Kin1 và Kin2 có gắn với P, 4 đoạn còn lại được ký hiệu là từ RNBS-A, RNBS-B, RNBS-C, RNBS-D và cuối cùng là motif GLPL (theo trình tự tên aa). Trong 7 đoạn đó, có 5 đoạn bảo thủ chung cho tất cả các protein dạng NB; còn hai đoạn RNBS-A và RNBS-D có trình tự đặc trưng riêng cho hai loại: các protein dạng TIR-NB và các protein NB không chứa TIR.

Năm motif bảo thủ đặc trưng cho NB protein bao gồm những trình tự sau đây: i/. P-loop Kin-1a: là

trình tự GVGKTT. Trong một số trường hợp, vị trí V có thể thay bằng Q hoặc S hoặc I; còn T thay bằng E hoặc R, ii/. Kin-2: là trình tự LLVLDVVW; iii/. RNBS-B; iv/. RNBS-C; và cuối cùng v/. Trình tự bảo thủ GLPL (Meyers *et al.*, 1999). Hai motif nữa giống với protein dạng này ở người là motif MHDV (tên theo trình tự aa) và vùng neo (anchor region). Nghiên cứu các motif này cho thấy hai gốc aspartic acid trong vùng Kin-2 có chức năng tương tác với gốc P thứ 3 của ATP và giữ thế cân bằng giữa ion Mg^{2+} với ATP trong phản ứng chuyển phosphorus (phosphotransfer) (McHale *et al.*, 2006).

Vùng LRR: Cấu trúc LRR tìm thấy trong hơn 2000 protein từ vi khuẩn đến tế bào nhân thực, tham gia vào quá trình tương tác giữa các protein hoặc protein với các phối tử. Trung bình, số đoạn LRR trong một protein khoảng 14, dao động từ 8 đến 25 đoạn phụ thuộc vào từng loại protein ở *Arabidopsis*. Tuy nhiên, trong các loài khác có thể con số này còn cao hơn. Ví dụ như Dm3 ở cây rau diếp thuộc CC-NBS-LRR, LRR có đến 47 đoạn lặp lại. Mỗi LRR chứa khoảng 14 aa có cấu trúc Leu-xx-Leu-xx-Leu-xx-Leu-xxCys/Asn-xx (x là aa bất kỳ) và hình thành dạng gấp nếp β . Đây là đặc điểm khác với vùng LRR của các protein LRR-TM, LRR-TM-kinase có đoạn lặp lại bảo thủ dài hơn: 24 aa. Giữa các LRR là đoạn aa dài từ 0 đến 30 aa.

LRR có thể tương tác với protein khác hoặc các chất khác và dự đoán là có chức năng nhận biết Avr protein từ vật gây bệnh. Cấu trúc LRR có gấp nếp β (β -strand/ β -turn) giống như cấu trúc của ribonuclease inhibitor của lợn, bên trong lõi là phần kỵ nước, còn phía bên ngoài là phần ưa nước có thể tương tác với các protein khác giống như móng ngựa. Giả thiết rằng sự tương tác này giống như môi giới phân tử (chaperone) và nó đòi hỏi sự có mặt của một số Hsp90, Hsp17 và protein co-chaperone như phosphatase 5, SGT1 và RARI.

WRKY motif: WRKY là một họ protein TF lớn, ở *Arabidopsis* có khoảng 74 thành viên, còn ở lúa nước - 109, đu đủ - 66, cây dương (*Populus spp*) - 104, cây lúa miến (*Sorghum bicolor*) - 68 thành viên... thuộc họ này. Trong cấu trúc phân tử của chúng có vùng bảo thủ được gọi là vùng WRKY có chứa đoạn trình tự peptide WRKYGQK và motif đầu Zn (zinc finger motif). Vùng này có khả năng gắn với vị trí trên DNA gọi là hộp W (W box) có trình tự C/TTGACT/C. Bằng cách khác, WRKY TF có thể liên đới với MAP kinase trong nhân tế bào, sau đó, MAP kinase hoạt hóa đường dẫn truyền tín hiệu đến gen đích. Biểu hiện TF này có thể làm tăng khả năng

kháng khuẩn, nấm ở nhiều loại cây trồng (Pandey, Somsich, 2009).

Các R-protein dạng TIR-NB-LRR chưa phát hiện thấy trong cây một lá mầm, còn dạng CC-NB-LRR có trong cả hai loại: ở cây một lá mầm và hai lá mầm. Tổ tiên của các gen dạng này từ xa xưa không chứa intron, nhưng các gen ngày nay chỉ một số không chứa intron như RPM1 và RPS2; còn Prf, Mi, 12-C1 chứa intron ở gần vùng 5'UTR; Xal có 2 intron và RPP8 có 3 intron.

Các R protein dạng này đều có vị trí gắn trung tâm với nucleotide (NB). Đột biến điểm làm thay đổi một số aa trong vùng này ảnh hưởng đến hoạt tính của R protein thậm chí loại bỏ hẳn tính chất của protein. Vùng này giúp cho R protein gắn với ATP, GTP và hoạt hóa khả năng bảo vệ. Có giả thiết rằng NB như vùng tiếp hợp để nối giữa đầu C của LRR với đầu N của các chất thụ thể khác.

Nhóm này có đại diện của R protein ở *Arabidopsis* như R protein kháng vi khuẩn RPS2, RPS4, RPS5, RPM1; R protein kháng nấm RPP1, RPP8. R protein kháng nấm ở cây lanh là L5, L6, L7. R protein kháng virus ở khoai tây như Rx; R protein kháng tuyến trùng ở khoai tây như Gpa2.

Serin /threonin protein kinase

Đại diện là Pto do vi khuẩn *Pseudomonas syringae* gây bệnh hoại tử vi khuẩn ở cà chua. Pto - là R gen, đơn gen trên 01 locus, tương tác thẳng với AvrPto - vai trò quyết định trong việc kháng bệnh đặc trưng cho loài. Pto cần Prf có cấu trúc NBS-LRR để hoạt hoá đường dẫn truyền tín hiệu

Toxin reductase: Hml do nấm gây đốm lá *Cochliobolus carbonum* (leaf spot) ở ngô

Thụ thể liên kết G-protein (G-protein coupled receptor)

G-protein là một nhóm nhỏ thuộc họ GTPase, chúng gắn và thủy phân GTP để sử dụng năng lượng GTP cho quá trình tương tác như thụ thể với phối tử. G-protein có 3 tiểu phần nhỏ α , β và γ . Đại diện của nhóm này là Mlo protein kháng nấm gây bệnh phấn trắng (powdery mildew) *Erysiphe graminis* ở đại mạch.

Ngoài các nhóm R protein kể trên còn có các dạng R protein có cấu trúc khác nữa như: Rpg1 của ngô có đến hai vùng kinase; RPW8 của *Arabidopsis* chứa vùng neo trên màng (membrane anchor) được kết hợp với vùng CC.

Avir protein

Avr gen ở mầm bệnh là yếu tố quan trọng trong quá trình kháng bệnh. Tín hiệu nhận biết mầm bệnh thường là protein vô virus, replicase, protein màng... của mầm bệnh. Chức năng của Avr gen đối với cơ thể mầm bệnh hiện vẫn còn đang nghiên cứu vì trên thực tế quá trình kháng bệnh lại nằm ngoài sự phát triển bình thường của các sinh vật gây bệnh này. Năm 1984, lần đầu tiên Avr gen được phân lập bằng kỹ thuật "Shortgun cloning" từ vi khuẩn, cho đến nay, nhiều Avr gen của vi khuẩn đã được phân lập. Cấu trúc phân tử của các Avr gen khác nhau. Tuy nhiên, Avr thường có vùng có tính tương đồng cao với một vài Avr khác tạo thành họ gen. *

Gen *avrBs3* là họ gen, phân lập từ vi khuẩn *Xanthomonas campestris* gây đốm, héo lụi ở cây ớt, cà chua. Các protein thuộc họ này khác nhau bởi đoạn lặp lại, 13,5 đến 25,5 đoạn lặp lại gồm 34 aa. Cấu trúc của *avrBs3* protein có 3 vùng: vùng giữa có 17,5 lần lặp lại đoạn 34 aa; đầu C có chứa đoạn trình tự định vị nhân-NLS (nuclear localization sequences) lặp lại 3 lần và đầu N. Avr protein tương đối lớn, có độ dài trên 1000 aa. Đột biến mất đoạn khác nhau ở vùng giữa sẽ làm thay đổi hoạt tính của Avr protein. Protein này được chuyển vào tế bào thực vật thông qua hệ tiết dịch III của vi khuẩn. Vùng NLS được nghiên cứu và cho thấy chúng có thể hướng Avr protein đi vào nhân của tế bào thực vật để hoạt hóa gen kháng bệnh.

Các Avr protein khác có độ dài khoảng 95 aa đến 300 aa và thường có chức năng tín hiệu. Trong số đó có các Avr protein từ giác mút của nấm gây bệnh. Các Avr protein từ nấm gây bệnh gỉ sắt ở cây lanh: AvrL567, AvrM, AvrP123, AvrP4 đều là các protein nhỏ được tiết ra từ tế bào nấm (small secreted proteins). AvrP4, AvrP123 còn là protein giàu cysteine (từ 4-6 gốc Cys trong phân tử protein) giống như Avr9 từ *Cladosporium fulvum* nấm nhiễm bệnh cho cà chua (Catanzariti *et al.*, 2006). Còn AvrP123 và Avr2 (từ *C. fulvum*) là các protease inhibitor. Trong trường hợp của *avrD* locus của *P. syringae* pv. *glycinea* ở cây đậu tương, enzyme mã hóa bằng gen này đã sản sinh ra syringolides. Chất này khởi động sự kháng bệnh do Rpg4 chịu trách nhiệm.

CÁC THUYẾT VỀ HOẠT ĐỘNG CỦA PROTEIN KHÁNG BỆNH

Thuyết "gene for gene" được công nhận từ nhiều năm nay. R protein nhận biết Avr protein từ mầm

bệnh trong nguyên sinh chất và hoạt hóa hệ thống kháng bệnh của thực vật. Như vậy, R protein có hai chức năng chính: nhận biết tín hiệu của Avr protein và kích hoạt đường dẫn truyền tín hiệu để có được phản ứng kháng bệnh một cách có hệ thống trong toàn bộ thực vật.

Tuy nhiên, trong một số trường hợp có hiện tượng kháng bệnh nhưng không phát hiện thấy R protein cũng như sự tương tác nhận biết R/Avr protein. Năm 1998, một số lượng lớn các protein có cấu trúc NB-LRR giống như R protein được phân lập, ngoài ra, trong tế bào các dạng protein có các vùng bảo thủ tương tự cũng không phải là số lượng nhỏ. Tính đa dạng của Avr protein làm cho sự đặc hiệu R/Avr protein khó tìm thấy. Ngay trong L6 locus của cây lanh cũng có đến 13 allele khác nhau. Vì vậy, thuyết bảo vệ (guard hypothesis) được hình thành: R protein nhận biết và tương tác với protein khác trong tế bào thực vật mà đã bị cải biến có chủ đích do mầm bệnh, là có thể hoạt hóa hệ thống kháng bệnh của thực vật (Mc Dowell *et al.*, 2003; Dangl *et al.*, 2006).

Hoạt động của gen kháng bệnh ở vi khuẩn

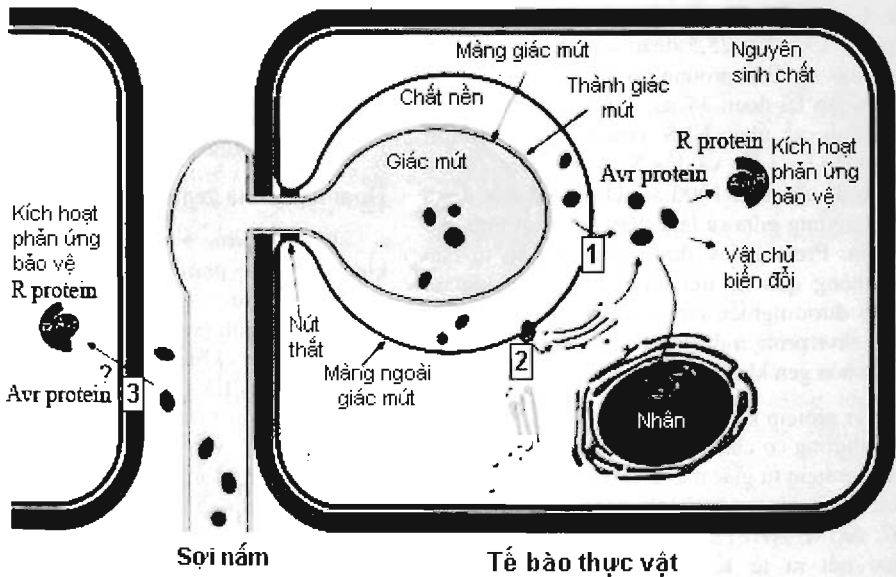
Trong trường hợp đối với vi khuẩn, hiện tượng kháng này rất phức tạp, phản ứng kháng vi khuẩn của tế bào thực vật có thể xảy ra như sau: Protein gây nhiễm bệnh (virulence protein) được sản sinh ra trong tế bào vi khuẩn và tiết ra ngoài tế bào theo hệ thống tiết typ III – TTS (type III secretion system) đối với các chi vi khuẩn như *Pseudomonas*, *Erwinia*, *Xanthomonas* và *Ralstonia* (Thanassi, Hultgren, 2000, Buttner, Bonas, 2002). Một trong những thành phần của hệ thống tiết TTS là protein phản ứng miễn cảm đặc hiệu Hrp (hypersensitive response and pathogenicity) của vi khuẩn. Hrp gen là cơ sở cho tính gây bệnh và cũng là cơ sở cho tính kháng bệnh. Hrp gen mã hóa cho nhiều protein chịu trách nhiệm tiết ra ngoài tế bào, khoảng 20 loại protein khác nhau. Trong trường hợp Avr protein cũng được tiết ra ngoài tế bào vi khuẩn theo TTS và xâm nhập vào tế bào thực vật. Avr protein ở *Pseudomonas syringae* cũng đều đi theo đường này. Sau đó, R protein nhận biết Avr protein trong nguyên sinh chất (cũng như trong nhân tế bào thực vật) và kích hoạt hệ thống tự bảo vệ chịu trách nhiệm kháng vi khuẩn của thực vật. Các R protein như Pto, RPS2 và RPM1 và các Avr protein tương ứng đều hoạt động theo hướng này (Bogdanove, Martin, 2000).

Hoạt động của các protein kháng bệnh ở nấm

Trong các dạng mầm bệnh, nấm ký sinh trên tế

bào vật chủ trong trạng thái đang sống và phát triển bình thường. Bào tử nấm bám vào thành tế bào lá thực vật, nảy mầm phát triển thành sợi nấm (hyphae), hình thành chốt xâm nhiễm xuyên qua thành tế bào và phát triển thành giác mút. Khi có sự tương tác giữa nấm và tế bào thực vật, các Avr protein được hình thành từ sợi nấm và từ giác mút sẽ được chuyển vào nguyên sinh chất của tế bào thực vật bằng các con đường khác nhau. Avr protein là các protein nhỏ trong giác mút được tiết dịch vào tế bào thực vật cùng với các protein khác qua các màng giác mút. R protein trong nguyên sinh chất nhận biết Avr protein và hoạt hóa hệ thống tín hiệu bảo vệ của tế bào thực vật. ví dụ như trong sự kháng bệnh nấm gây bệnh gỉ sắt ở cây lanh, AvrL567 được nhận biết bằng L4, L6, L7

protein, cũng như các AvrM, AvrP4 được nhận biết bằng M và P4 protein, nhưng AvrP123 là dạng protein giàu Cys có hoạt tính protease inhibitor, có chức năng ngăn chặn các protease phân hủy các protein của nấm chuyển vào tế bào thực vật. Trường hợp thứ 2: từ giác mút hình thành dạng túi nhỏ chứa các protein, trong đó có Avr protein, hệ thống này nối với ER hoặc hệ thống Golgi của tế bào thực vật và chuyển protein vào nguyên sinh chất. Ví dụ như RPP1 protein kháng bệnh phấn trắng ở *Arabidopsis* và nhận biết Avr protein trong lưới nội bào (ER). Ngoài ra, từ sợi nấm, Avr protein cũng có thể xâm nhập thẳng vào nguyên sinh chất và tương tác với R protein vì trong giác mút không phát hiện thấy Avr protein – trường hợp thứ 3 (Hình 3) (Catanzariti *et al.*, 2007).



Hình 3. Mô hình hoạt động của protein kháng bệnh ở nấm: 1. Avr protein trong giác mút được tiết dịch vào tế bào thực vật. R protein trong nguyên sinh chất nhận biết Avr protein và hoạt hóa hệ thống tín hiệu bảo vệ của tế bào thực vật. 2. Avr protein từ giác mút hình thành dạng túi nhỏ và nối với ER hoặc hệ thống Golgi của tế bào thực vật để chuyển Avr protein vào nguyên sinh chất. 3. Avr protein cũng có thể xâm nhập thẳng vào nguyên sinh chất (theo Catanzariti *et al.*, 2007).

Ngày nay, ba phương pháp chính để phân lập R gen và Avir gen là kỹ thuật “shortgun cloning”, phân lập sử dụng lập bản đồ liên kết chỉ thị phân tử (CTPT) (map-based cloning) và sử dụng yếu tố nhảy (transposon) (Hammond-Kosack *et al.*, 2000, Jander *et al.*, 2002; Gupta, Rustgi, 2004).

Bằng phương pháp lập bản đồ liên kết CTPT đã phân lập được Avr567, AvrM, AvrP4, AvrP123 từ nấm *Melampsora lini* gây bệnh gỉ sắt cây lanh; Avr-a10, Avr-k1 từ ascomycete *Blumeria graminis* pv

hordei gây bệnh phấn trắng (powdery mildew) ở đại mạch. Phần lớn các R gen ở *Arabidopsis* được phân lập theo cách này.

Ngày nay, nghiên cứu lập bản đồ gen để tìm kiếm các CTPT liên kết với các gen kháng bệnh được đặc biệt quan tâm. Ở các mức độ lập bản đồ khác nhau có thể sử dụng các CTPT trong chọn giống cố định hướng như chọn giống nhờ sự trợ giúp của CTPT – MAS (marker-assisted selection). Bệnh gỉ sắt do *Phakopsora pachyrhizi* Syd gây ra ở đậu

trung. Những nghiên cứu gần đây về CTPT liên kết gen kháng bệnh gỉ sắt ở đậu tương ở Mỹ, Brazil, Argentina được xúc tiến mạnh: đã xác định được 5 locus Rpp1 đến Rpp5 trên các nhiễm sắc thể khác nhau và liên kết với các CTPT ở khoảng 2,3 đến 10 cM (Meyer *et al.*, 2009).

Ngoài hai phương pháp trên, một số gen kháng được phân lập nhờ sử dụng transposone. Transposone làm bất hoạt R gen nếu được chèn vào giữa gen. Trên cơ sở đó, có thể tìm được vị trí của R gen và xác định chúng. Nhiều R gen đã được phân lập bằng phương pháp này: *L6*, *M*, *P2* là các R gen kháng bệnh gỉ sắt ở cây lanh, được phân lập sử dụng transposone Ac của ngô. Các gen *N* từ thuốc lá và *C9* từ cà chua cũng được phân lập nhờ phương pháp này.

ỨNG DỤNG SỰ TƯƠNG TÁC GIỮA VI KHUẨN VÀ THỰC VẬT LÀM VECTOR CHUYỂN GEN VÀO THỰC VẬT

Agrobacterium - vi khuẩn gây khối u ở thực vật

Sự tương tác giữa vi khuẩn và thực vật có nhiều dạng, có dạng gây bệnh nguy hiểm, có dạng sống cộng sinh. Bản chất của từng sự tương tác rất khác nhau. Trong trường hợp vi khuẩn đất *Agrobacterium* nhiễm vào thực vật gây ra khối u, sự tương tác này rất đặc biệt và được nghiên cứu kỹ từ những năm 70 của thế kỷ trước. Bản chất của hiện tượng gây khối u chính là việc chuyển được một đoạn gen từ plasmid của vi khuẩn (Ti-plasmid – Tumor inducing plasmid) và gắn vào genome thực vật và sử dụng chúng để chuyển gen ngoại lai vào thực vật.

Ti-plasmid trong *Agrobacterium tumefaciens* – vi khuẩn đất gây khối u ở nhiều cây trồng, chứa các gen sản sinh hormone sinh trưởng auxin và cytokinin; các chất amino như opine, nopaline là nguồn carbon và nitrogen. Ti-plasmid có hai vùng quan trọng nhất: vùng Vir chịu trách nhiệm sản sinh ra các protein gây nhiễm bệnh (VirA, VirB, VirG, VirD, VirE VirF) và đoạn T-DNA có thể chuyển qua màng tế bào gắn vào genome thực vật ở các vị trí ngẫu nhiên nhờ các đoạn biên phải- RB (right border) và đoạn biên trái- LB (left border). Các gen hormone sinh trưởng nằm trong chính đoạn T-DNA này và có các promoter và terminator có thể nhận biết và hoạt động được trong thực vật.

Ngày nay, T-plasmid được cải biến, thiết kế lại, loại bỏ các gen sản sinh hormone sinh trưởng auxin và cytokinin; các chất opine, nopaline, đưa vào các

gen chọn lọc và các gen có ích và sử dụng như vector chuyển gen vào thực vật. Quá trình chuyển gen từ T-DNA của *Agrobacterium tumefaciens* vào tế bào thực vật ngày càng được nghiên cứu kỹ.

Sự tương tác *Agrobacterium* với tế bào thực vật khởi đầu cho quá trình chuyển T-DNA vào thực vật. Theo Tzfira và Citovsky, 2006, quá trình chuyển T-DNA từ *Agrobacterium* vào tế bào thực vật xảy ra khi cây tổn thương, tạo ra các hợp chất dạng phenol như acetosyringone dẫn dụ vi khuẩn bám vào thành tế bào thực vật, hoạt hóa hệ thống các chất cảm thụ trên thành tế bào.

Trong quá trình này, các protein Vir B, C, D1, D2, E2 và F tham gia vào chuyển phức T-DNA sợi đơn (ssT-DNA) nhờ hệ thống tiết được gọi là kênh VirB/D4T4 (VirB/D4T4 channel). Hệ thống này còn được gọi là hệ thống tiết typ IV (T4) ở vi khuẩn. Phức hệ T-DNA sợi đơn ssT-DNA chuyển qua phức hệ lỗ nhân NPC (nuclear pore complex) Bộ máy sửa chữa DNA ở thực vật đã chuyển ssT-DNA thành sợi đôi dsT-DNA và nhận biết đoạn này như một đoạn DNA bị tách ra và cần nối lại vào DNA của thực vật. Trong tất cả quá trình này, phức hệ ssT-DNA không bị coi như là ngoại lai trong tế bào thực vật, vì vậy, không bị phân giải và loại khỏi tế bào.

Công nghệ chuyển gen vào thực vật trên cơ sở T-plasmid ngày càng được nâng lên tầm cao mới với nhiều mục đích khác nhau: chuyển gen để nghiên cứu các chức năng của gen, để tìm ra các cơ chế chuyển hóa trong cơ thể, chuyển các đoạn DNA mới phân lập từ genome để tìm các gen đích trong vùng đó, tạo các giống cây trồng kháng bệnh và chống chịu với các điều kiện bất lợi...

Để tạo khả năng kháng bệnh còn một số kỹ thuật khác trên cơ sở chuyển gen thực vật mà hiện tượng kháng bệnh đó không phụ thuộc vào R/Avr protein. Một trong những hướng rất có hiệu quả, đó là chuyển gen độc tố Cry từ *Bacillus thuringiensis* vào thực vật làm tăng khả năng kháng sâu bệnh. Ngày nay, với sự phát hiện cơ chế làm bất hoạt mRNA gen virus, kỹ thuật RNAi (interference RNA) hình thành, nhiều vector đặc chủng được thiết kế để biểu hiện trong thực vật nhằm tăng cường khả năng chống virus (Qu *et al.*, 2007; Gatehouse, 2008). Ở Việt Nam, hướng nghiên cứu thiết kế vector chuyển gen Cry làm tăng khả năng kháng sâu ở lúa, bông...; phát triển kỹ thuật RNAi chống virus đang được xúc tiến (Lê Trần Bình, 2008; Huỳnh Thị Thu Huệ *et al.*, 2008).

TÓM LẠI

Thực vật luôn phải đối đầu với các dạng mầm bệnh khác nhau để sống và tồn tại. Ngày nay với sự phát triển mạnh mẽ của sinh học phân tử bản chất của hiện tượng kháng bệnh cũng như bản chất của những phản ứng đối với mầm bệnh đang dần được làm sáng tỏ. Đây là quá trình phức tạp, có sự tham gia của nhiều chất khác nhau để nhận biết tín hiệu từ mầm bệnh hoạt hóa đường dẫn truyền tín hiệu bằng con đường phosphoryl hóa hoặc bằng sự nhận biết R/Avr protein. Mầm bệnh luôn có khả năng thay đổi để ứng biến một cách đa dạng với các phản ứng kháng bệnh của thực vật. Ở Việt Nam, nhiều loại mầm bệnh gây hậu quả nghiêm trọng, tuy vậy, nghiên cứu cơ bản về hiện tượng kháng bệnh cũng còn nhiều hạn chế. Vì vậy, đây sẽ còn là vấn đề nóng bỏng trong giai đoạn hiện nay, khi sự biến đổi khí hậu toàn cầu còn tác động lên nhiều đến các sinh vật sống trên trái đất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bogdanove AJ, Martin GB (2000) AvrPto-dependent Pto-interacting proteins and AvrPto-interacting proteins in tomato. *Proc Natl Acad Sci USA* 97(16): 8836-8840.
- Büttner D, Bonas U (2002) Getting across-bacterial type III effector proteins on their way to the plant cell. *EMBO J* 21(20): 5313-5322.
- Catanzariti AM, Dodds PN, Ellis JG (2007) Avirulence proteins from haustoria-forming pathogens. *FEMS Microbiol Lett* 269: 181-188.
- Catanzariti AM, Dodds PN, Lawrence GJ, Ayliffe MA, Ellis JG (2006) Haustorially expressed secreted proteins from flax rust are highly enriched for avirulence elicitors. *Plant Cell* 18: 243-256.
- Chisholm ST, Coaker G, Day B, Staskawicz BJ (2006) Host-microbe interactions: shaping the evolution of the plant immune response. *Cell* 124: 803-814.
- Dangl JL, Mc Dowell JM (2006) Two modes of pathogen recognition by plants. *Proc Natl Acad Sci USA* 103(23): 8575 - 8576.
- De Wit PJGM, Brandwagt BF, van de Burg HA, Cai X, van der Hoorn, de Jong CF, van't Klooster J, de Kock MJD, Kruijt M, Lindhout WH, Luderer R, Takken FLW, Westerink N, Vervoort JJM, Joosten MHAJ (2002) The molecular basis of co-evolution between *Cladosporium fulvum* and tomato. *Antonie van Leeuwenhoek* 81: 409-412.
- Dickinson M, Beynon J (2000) *Molecular plant pathology*, CRC Press, USA.
- Gatehouse JA (2008) Biotechnological prospects for engineering insect-resistant plants. *Plant Physiol* 146: 881-887.
- Gupta PK, Rustgi S (2004) Molecular markers from the transcribed/expressed region of the genome in higher plants. *Funct Integr Genomics* 4: 139-162.
- Hammond-Kosack K, Jones JDG (2000) Responses to Plant Pathogens. In book "Biochemistry & Molecular Biology of Plants" (ed.) Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL, ASPP, USA, pp: 1103-1156.
- Huỳnh Thị Thu Huệ, Trần Thị Ngọc Diệp, Lê Thị Thu Hiền, Nông Văn Hải (2008) Thiết kế vector và kiểm tra biểu hiện gen CryIA(c) trên lá cây thuốc lá *Nicotiana benthamiana*, *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 6(4): 453-458.
- Jander G, Norris SR, Rounsley SD, Bush DF, Levin IM, Last RL (2002) *Arabidopsis* map-based cloning in the post genome era. *Plant Physiol* 129: 440-450.
- Kim S, Ahn IP, Park CH, Park SG, Park SY, Jwa NS, Lee YH (2000) Molecular characterization of the cDNA encoding an acidic isoform of PR-1 protein in rice. *Mol Cells* 11(1): 115-121.
- Klessig DF, Durner J, Noad R, Navarre DA, Wendehenne D, Kumar D, Zhou JM, Shah J, Zhang S, Kachroo P, Trifa Y, Pontier D, Lam E, Silva H (2000) Nitric oxide and salicylic acid signaling in plant defense. *Proc Natl Acad Sci USA* 97(16): 8849-8855.
- Lê Trần Bình (2008) Phát triển cây trồng chuyển gen ở Việt Nam. NXB Khoa học Tự nhiên và Công nghệ, Hà Nội.
- McDowell JM, Woffenden BJ (2003) Plant disease resistance genes: recent insights and potential applications. *Trends Biotech* 21(4): 178-183.
- McHale L, Tan X, Koehl P, Michelmore RW (2006) Plant NBS-LRR proteins: adaptable guards. *Genome Biol* 7: 212 (doi10.1186/gb-2006-7-4-212).
- Meyer JD, Silva DC, Yang C, Pedley KF, Zhang C, van de Mortel M, Hill JH, Shoemaker RC, Abdelnoor RV, Whitham SA, Graham MA (2009) Identification and analyses of candidate genes for rpp4-mediated resistance to Asian soybean rust in soybean. *Plant Physiol* 150(1): 295-307.
- Meyers BC, Dickerman AW, Michelmore RW, Sivaramakrishnan S, Sobral BW, Young ND (1999) Plant disease resistance genes encode members of an ancient and diverse protein family within the nucleotide-binding superfamily. *Plant J* 20(3): 317-332.
- Neil SJ, Desikan R, Clarke A, Hurst RD, Hancock JT (2002) Hydrogen peroxide and nitric oxide as signalling molecular in plants. *J Exp Bot* 53(372): 1237-1247.
- Ngô Thế Dân, Trần Đình Long, Trần Văn Lai, Đỗ Thị Dung, Phạm Thị Đào (1999) *Cây đậu tương*. Nhà xuất bản

Nông nghiệp. Hà Nội.

Ngô Vĩnh Viễn (2009) *Đánh giá thực trạng và chiến lược nghiên cứu phát triển bảo vệ thực vật 2007-2015*. Tài liệu do Viện Bảo vệ thực vật cung cấp.

Nguyễn Ngọc Châu (2003) *Tuyển trùng thực vật và cơ sở phòng trừ tổng hợp*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.

Pandey SP, Somsich IE (2009) The role of WRKY transcription factor in plant immunity. *Plant Physiol* 150: 1648-1655.

Qu J, Ye J, Fang R (2007) Artificial microRNA-mediated virus resistance in plant. *J Virology* 81(12): 6690-6699.

Tameling WIL, Takken FLW (2008) Resistance proteins: scouts of the plant innate immune system. *Eur J Plant Pathol* 121: 243-255.

Thanassi DG, Hultgren SJ (2000) Multiple pathways allow protein secretion across the bacterial outer membrane. *Curr Opin Cell Biol* 12: 420-430.

Tzfira T, Citovsky V (2006) *Agrobacterium* – mediated genetic transformation of plants: biology and biotechnology. *Curr Opin Biotech* 17: 147-154.

van Loon LC, Rep M, Pieterse CMJ (2006) Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. *Annu Rev Phytopathol* 44: 135-162.

PROTEINS AND DISEASE RESISTANCE ABILITY IN PLANTS

Tran Thi Phuong Lien*

Institute of Biotechnology, VAST

SUMMARY

Plants, especially, local or wild plants defend themselves continuously against pathogens. Study on molecular mechanism of disease resistance involves intensively. "Gene-for-gene" hypothesis predicts that plant resistance will occur only when plant possesses a dominant resistance gene (R) and the pathogen expresses the complementary avirulence gene (Avir). The R protein recognizes the Avir protein from invading pathogen in plant. Their interaction triggers plant defense response. Systemic Acquired Resistance often occurs to generate a specific subset of PR-type proteins (Pathogenesis-related protein). There are 17 families of PR proteins, which have different molecular structure and function and accumulate differently after pathogen attack. There are at least 6 classes of predicted R proteins, each of which mediates dominant or semi dominant race-specific resistance in plants. Avirulence genes were isolated from various pathogenic gram-negative *Pseudomonas*, *Xanthomonas* species as well as from several fungal species and their functions are investigated. The development of this line of research will provide an opportunity to develop (breed) new disease resistant cultivars.

Keywords: Disease resistance, Resistant protein(R protein), Avirulence protein (Avir protein), Pathogen-related protein (PR protein), Systemic Acquired Resistance (SAR).

* Author for correspondence: Tel: 84-4-37562934; E-mail: tplien@ibt.ac.vn