รุ่งทิพย์ สังข์เผือก : บทบาทของสูตรซาลิไซลิกแอซิดต่อการชักนำความด้านทานต่อ โรคแอนแทรคโนสของมันสำปะหลัง (ROLE OF SALICYLIC ACID FORMULATION FOR INDUCED RESISTANCE AGAINST CASSAVA ANTHRACNOSE DISEASE) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัฐธิญา เบือนสันเทียะ, 127 หน้า.

งานวิจัยนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินประสิทธิภาพของสูตรซาลิไซลิกแอซิค (RSA protectors) ต่อการชักน้ำความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนสและศึกษากลไกการชักน้ำความ ต้านทานของมันสำปะหลังต่อเชื้อ Colletotri<mark>chu</mark>m gloeosporioides หลังจากถูกกระตุ้นโดยใช้ RSA จำนวน 5 สูตรที่ได้รับจากบริษัท ซีเอส ทาปิโ<mark>อก้า</mark> วิจัยและนวัตกรรม จำกัด มาใช้ในการทดสอบกับ มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 เปรียบเทียบ<mark>กรรมวิธี</mark>ควบคุม คือ ซาลิไซลิกแอซิค 6% สารคาร์เบนคา-ซิม<sup>®</sup> และน้ำ โดยทำการทคสอบความเป็<mark>น</mark>พิษของสูตร RSA ที่ความเข้มข้น 50,100, 150 200, 500, 1000, 2,000 และ 60,000 mg/l พบว่า ท<mark>ี่คว</mark>ามเข้มข้<mark>น 60</mark>,000 mg/l มันสำปะหลังแสดงอาการใบไหม้ ซึ่งที่ความเข้มข้น  $60{,}000~\mathrm{mg/l}$  พบว่<mark>าขน</mark>าดแผลใหญ่ที่สุด  $0.1\mathrm{x}0.1$  ถึง  $0.8\mathrm{x}1.03~\mathrm{cm}$  จากนั้นทำการ ทดสอบความเข้มข้นที่เหมาะสม<mark>ใน</mark>การยับยั้งการเจริญ<mark>เติบ</mark>โตของเชื้อรา C. gloeosporioides พบว่า สารเคมีคาร์เบนคาซิม<sup>®</sup>สามา<mark>ร</mark>ถยับยั้งการเจริญเติบ โตของ<mark>เ</mark>ชื้อ ได้สูงที่สุด 89.61% รองลงมาคือ RSA 3 ที่ความเข้มข้น 200 และ  $500 \, \mathrm{mg/l}$  สามารถยับยังการเจริญเติบ โต ได้ดีที่  $47.40 \pm 0.03\%$  และ 59.41±0.01% ตามลำคับ <mark>จึง</mark>ได้ท<mark>ำการคัดเลือกความเข้มข้น 200 mg/l เพื่อใช้ศึกษากลไกการชักนำ</mark> ความต้านทานและการคว<mark>บคุมโรคในสภาพเรือนทคลอง ทำการแช่</mark>ท่อนพันธุ์มันสำปะหลังเป็นเวลา 3 นาทีและฉีดพ่นสูตร RSA ท<mark>ี่อายุ 1 ถึง 3 เดือนก่อนทำการป</mark>ลูกเชื้อสาเหตุ โรค จากนั้นทำการศึกษา กิจกรรมของเอนไซม์ คือ เบตา 1,3 กลูคาเนส, ไคติเนส, ฟีนิลอะลานีนแอมโมเนียไลเอส, ซาลิไซ-ลิกแอซิดภายในพืช และปริมาณคลอโรฟิลล์ พบว่า มันสำปะหลังที่กระตุ้นด้วยสูตร RSA มีการ กระตุ้นการทำงานของเอนไซม์เพิ่มขึ้นที่ 16.65  $\mu g$  glucose released min protein, 0.275  $\mu$ mol glcnac formed min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> protein, 7.957 µmol trans-cinnamic acid min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> protein, 22.51 µg g<sup>-1</sup> of fresh weight และ  $0.215\pm0.017~\mu g/mm^2$  ตามลำคับ และยังได้ทำการตรวจสอบการสะสมของ สารใชโครเจนเปอร์ออกไซค์, ซูเปอร์ออกไซค์ แอนไอออนค้วยเทคนิคการย้อมสีพบว่า มัน-สำปะหลังที่กระตุ้นด้วยสูตร RSA มีการสะสมของของกิจกรรมไฮโครเจนเปอร์ออกไซด์ และ ซูเปอร์ออกไซค์แอนไอออนเพิ่มขึ้นที่ 12 ชั่วโมงหลังทำการปลูกเชื้อ นอกจากนี้ ได้ทำการวิเคราะห์ การเปลี่ยนแปลงของสารชีวเคมีภายในใบมันสำปะหลังที่ระดับมีอิพิเคอร์มิส และมีโซฟิลล์เซลล์ ด้วยเทคนิค Synchrotron Radiation-based Fourier Transform Infrared Microspectroscopy (SR-FTIR) พบว่า มันสำปะหลังที่กระตุ้นด้วยสูตร RSA 3 แสดงให้เห็นการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้าง ใบมันสำปะหลังจากการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีขององค์ประกอบของกลุ่มไขมัน เพคติน โปรตีน เอไมด์ I และ โพลีแซ็กกาไรด์เพิ่มสูงขึ้น เปรียบเทียบกับมันสำปะหลังที่ถูกกระตุ้นด้วยสารเคมีคาร์ เบนดาซิม®และน้ำ (กรรมวิธีควบคุม) จากนั้นทำการประเมินความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสที่ ถูกกระตุ้นด้วยสูตร RSA ที่ 14 วันหลังปลูกเชื้อในสภาพเรือนทดลอง พบว่า มันสำปะหลังที่กระตุ้น ด้วยสูตร RSA 3 มีระดับความรุนแรงของโรคต่ำที่สุดที่ 33.33% ซึ่งแตกต่างอย่างมีนียสำคัญยิ่งทาง สถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่มีระดับความรุนแรงสูงถึง 77.7% สุดท้ายทำการทดสอบ ประสิทธิภาพของสูตร RSA ในสภาพไร่ พบว่า สูตร RSA 3 สามารถลดการเกิดโรคแอนแทรคโนส ของมันสำปะหลังได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงที่สุดที่ 21.6 และ 45.83% ตามลำดับ จากผลการวิจัยนี้ ชี้ให้เห็นว่า RSA 3 เป็นสารกระตุ้นมันสำปะหลังสำหรับควบคุมโรคแอนแทรคโนส ในมันสำปะหลังโดยใช้กลไกการชักนำความต้านทานเพื่อลดความรุนแรงของโรค



สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช ปีการศึกษา 2563 ลายมือชื่อนักศึกษา 🏂 🔊 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

RUNGTHIP SANGPUEAK: ROLE OF SALICYLIC ACID

FORMULATION FOR INDUCED RESISTANCE AGAINST CASSAVA

ANTHRACNOSE DISEASE. THESIS ADVISOR: ASST. PROF.

NATTHIYA BUENSANTEAI, Ph.D., 127 PP.

## FORMULATION OF SALICYLIC ACID/SR-FTIR/ANTHRACNOSE/CASSAVA

The objectives of this study were to evaluate the efficacy of SA formulations (RSA protectors) in inducing resistance against anthracnose disease and to study the mechanisms of induced resistance in cassava plants to Colletotrichum gloeosporioides after treated with effective SA formulation. Five formulas of RSA protectors obtained from CS Tapioca Research and Innovation Co., Ltd were tested in cassava varieties Rayong 72 and compared with control treatments which are 6% salicylic acid, carbendazim® and water. These were tested for toxicity of RSA formulations at concentrations of 50,100, 150, 200, 500, 1000, 2,000 and 60,000 mg/l. The result showed that at concentrations of 60,000 mg/l, cassava showed leaf toxic symptoms. In addition, at the concentration of 60,000 mg/l, the wound size was the largest at 0.1 x 0.1 to 0.8x1.03 cm. After that, the evaluation of appropriate concentration to inhibit the growth of C. gloeosporioides showed that carbendazim® was able to inhibit the growth most effectively at 89.61%, followed by RSA 3 formula at concentrations of 200 and 500 mg/l. They were able to inhibit fungal growth at 47.40±0.03% and 59.41±0.01%, respectively. Therefore, at the concentration of 200 mg/l, it was selected to study the mechanism of induced resistance and disease control under greenhouse conditions. Then, the enzyme activity was studied as follows:  $\beta$ -1,3glucanases, chitinase, phenylalanine ammonia lyses, endogenous salicylic acid and

total chlorophyll content. It was found that cassava induced with RSA protectors was associated with increased stimulation of enzyme activity at 16.65 µg glucose released min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> protein, at 0.275 µmol glenac formed min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> protein, 7.957 µmol transcinnamic acid min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> protein, 22.51µg g<sup>-1</sup> of fresh weight and 0.215±0.017 μg/mm<sup>2</sup>, respectively. The accumulation of hydrogen peroxide and superoxide anion was also investigated by histochemical detection. The results showed that cassava stimulated with RSA protectors had an increased accumulation and superoxide anion Furthermore, the analysis of biochemical changes in cassava leaf at 12 HAI. epidermis and mesophyll by using Synchrotron Based - Fourier Transform Infrared Microspectroscopy (SR-FTIR) technique showed that the RSA 3 formula can activate the biochemical compositional changes associated with lipid, pectin, protein amide I, and polysaccharide when compared with carbendazim<sup>®</sup> and water (control treatments). The disease severity of anthracnose was then assessed after being induced with RSA protectors at 14 days after inoculation under greenhouse condition. The results revealed that the RSA 3 had the lowest disease severity at 33.33%, which is a statistically significant difference when compared with control treatment which had a high level of 77.7%. Finally, the evaluation of the efficiency of RSA 3 protectors under field conditions demonstrated that RSA 3 showed the highest efficiency to enhance cassava growth-promotion and reduce anthracnose incidence of cassava at 21.6 and 45.83%, respectively. These findings suggest that RSA 3 is a cassava protector for controlling cassava anthracnose disease by mediating resistance mechanisms in order to reduce disease severity.

School of Crop Production Technology

Academic Year 2020

Student's Signature Rughip Sangrook

Advisor's Signature

Other New.