นิชดา จิมขุนทด : กลไกการชักนำความต้านทานต่อโรคสแคบในองุ่นของสูตรสำเร็จไคโตซาน (MECHANISMS OF INDUCED RESISTANCE AGAINST SCAB IN GRAPEVINE OF CHITOSAN FORMULATION) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัฐธิญา เบือนสันเทียะ, 97 หน้า.

โรคสแคบ หรือแอนแทรคโนสขององุ่น เกิดจากเชื้อรา *Sphaceloma ampelinum* เป็นโรคที่มีความสำคัญโดยทำความเสียหายให้กับผลผลิตองุ่นสูงถึง 50% เกษตรกรใช้สารเคมีในการควบคุมโรคองุ่นในปริมาณมาก ปัจจุบันมีการคำนึงถึงเรื่องความปลอดภัยด้านพืชอาหาร จึงเริ่มมีการใช้ไคโตซาน (β-1,4-linked glucosamine oligomer) ซึ่งเป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคและชักนำให้พืชมีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อโรคทดแทนการใช้สารเคมีกำจัดเชื้อรา ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการศึกษากลไกการชักนำความต้านทานในองุ่นรับประทานผลสดพันธุ์มารูซีดเลส (*Vitis vinifera* cv. Marroo seedless) ของสูตรสำเร็จไคโตซาน CHIZA4® โดยทำการทดสอบประสิทธิภาพของ CHIZA4® ในการยับยั้งการเจริญของโคโลนีเชื้อราพบว่า สูตรสำเร็จไคโตซาน CHIZA4® ที่ความเข้มข้น 600 และ 1,200 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของโคโลนีเชื้อราได้ 84.73 และ 88.55% ตามลำดับ จากนั้นจึงนำสูตรสำเร็จไคโตซานทั้ง 2 ความเข้มข้นดังกล่าว ไปฉีดพ่นให้กับกิ่งชำองุ่นอายุ 2 เดือน เปรียบเทียบกับสารเคมีคาร์เบนดาซิมและไคโตซานการค้า BIG® จำนวน 7 ครั้ง ทุก ๆ 7 วัน ในสภาพโรงเรือนทดลอง ภายหลังการฉีดพ่นครั้งสุดท้าย 7 วัน ทำการปลูกเชื้อรา *S. ampelinum* สาเหตุโรคสแคบ พบว่าเมื่อประเมินการเกิดโรค 14 วันหลังปลูกเชื้อ กรรมวิธีที่ใช้สูตรสำเร็จไคโตซาน CHIZA4® ที่ความเข้มข้น 600 ppm สามารถลดการเกิดโรคสแคบได้ 87.64% ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสารเคมีคาร์เบนดาซิมที่ลดการเกิดโรคได้ 74.9% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม จากนั้นเก็บตัวอย่างใบองุ่นที่ 3 ช่วงเวลาได้แก่ ใบองุ่นที่ถูกฉีดพ่นสิ่งกระตุ้นและปลูกเชื้อสาเหตุโรคทันที ภายหลังการปลูกเชื้อ 24 ชั่วโมง และภายหลังการปลูกเชื้อ 48 ชั่วโมง มาทำการตรวจสอบกลไกการปกป้องตนเองได้แก่ ปริมาณกรดซาลิไซลิก (SA) ปริมาณกิจกรรมเอนไซม์ phenylalanine ammonia lyase (PAL) และ chitinase (Chi) พบว่าภายหลังการปลูกเชื้อ 24 ชั่วโมง องุ่นที่ฉีดพ่นด้วยสารเคมีคาร์เบนดาซิม สูตรสำเร็จไคโตซาน CHIZA4® ที่ความเข้มข้น 600 ppm และไคโตซานการค้า BIG® มีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นของปริมาณ SA สูงสุดที่ 32.44, 17.28 และ 11.87 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับปริมาณกิจกรรมของเอนไซม์ PAL ที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นสูงสุดที่ 8.76, 7.96 และ 7.37 ไมโครโมลต่อมิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ ขณะเดียวกัน ที่เวลา 48 ชั่วโมงภายหลังการปลูกเชื้อ องุ่นที่ฉีดพ่นด้วยสูตรสำเร็จไคโตซาน CHIZA4® 600 ppm และสารเคมีคาร์เบนดาซิมมีแนวโน้มปริมาณกิจกรรมของเอนไซม์ Chi เพิ่มขึ้นสูงสุดที่ 6.66 และ 6.44 ไมโครโมลต่อมิลลิกรัม

โปรตีนตามลำดับ รองลงมาคือ สูตรสำเร็จไคโตซาน CHIZA4® ที่ความเข้มข้น 1,200 ppm ที่ 4.97 ไมโครโมลต่อมิลลิกรัมโปรตีน ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

นอกจากนี้ เมื่อนำใบองุ่นที่ฉีดพ่นด้วยสิ่งกระตุ้นและปลูกเชื้อสาเหตุโรคที่เวลา 24 ชั่วโมงภายหลังการปลูกเชื้อมาศึกษาการเปลี่ยนแปลงสารชีวเคมีด้วยเทคนิค synchrotron FT-IR microspectroscopy พบว่า สูตรสำเร็จไคโตซาน CHIZA4® 600 ppm ส่งเสริมให้องุ่นมีการสังเคราะห์สารในกลุ่มไขมัน C=O ester และ polysaccharide เพิ่มขึ้นที่ 0.019±0.01% และ 0.064±0.01% ตามลำดับ จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าสูตรสำเร็จไคโตซาน CHIZA4® มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคสแคบขององุ่นทั้งทางตรงและทางอ้อม โดยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคโดยตรงและสามารถชักนำให้องุ่นเกิดกระบวนการปกป้องตนเองให้ต้านทานต่อเชื้อราสาเหตุโรคผ่านกระบวนการ phenylpropanoid pathway ที่สังเคราะห์สารประกอบฟีนอลและลิกนินในการช่วยเสริมสร้างความแข็งแกร่งของผนังเซลล์องุ่น ให้มีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อก่อโรค การชักนำความต้านทานพืชโดยใช้สูตรสำเร็จไคโตซาน CHIZA4® จึงเป็นแนวทางที่ดีในการนำไปใช้ในระบบการผลิตองุ่นปลอดภัย ลดการใช้สารเคมีในการควบคุมโรค และลดสารเคมีตกค้างซึ่งเป็นอันตรายต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช ลายมือชื่อนักศึกษา นิชดา ศิมาจนาถ

ปีการศึกษา 2561 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

NITCHADA JIMKUNTOD : MECHANISMS OF INDUCED RESISTANCE AGAINST SCAB IN GRAPEVINE OF CHITOSAN FORMULATION. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. NATTHIYA BUENSANTEAI, Ph.D., 97 PP.

GRAPEVINE/SCAB/ANTHRACNOSE/*Sphaceloma ampelinum*/CHITOSAN/ FORMULATION/INDUCED RESISTANCE/FT-IR MICROSPECTROSCOPY

Grape scab (anthracnose) disease, caused by *Sphaceloma ampelinum*, is an important disease of the grapevine industry in Thailand. It can reduce grapevine products, causing up to 50% yield losses in many grapevine growing areas. In the past year, chitosan has been considered as a favorable alternative method to control phyto-fungal pathogens under a food security/safety system. Chitosan (β-1, 4-linked glucosamine oligomer) is an effective elicitor to induce plant defense mechanisms and reduce plant diseases. The objective of this study was to investigate the defense mechanisms in grapevine (*Vitis vinifera*) cv. 'Marroo Seedless' against scab disease after resistance induction by the chitosan formulation (CHIZA4®). The efficacy of CHIZA4® on fungal growth colony inhibition was investigated. The results showed that CHIZA4® at the concentrations of 600 and 1,200 ppm can significantly inhibit *S. ampelinum* colony growth at 84.73 and 88.55%, respectively. Then, CHIZA4® at the concentrations of 600 and 1,200 ppm, Carbendazim fungicide (Carb), and commercial chitooligosaccharide BIG® were used to investigate scab disease controlling and resistance mechanisms inducing on 2 months cutting grapevine under greenhouse condition. When applied as foliar treatment every week for 7 weeks and after inoculated with the fungal for 14 days, the results showed that CHIZA4® at the concentration of 600 ppm could significantly reduce anthracnose disease severity with Carb up to 87.64 and 74.9%, respectively.

Moreover, for the defense mechanism investigation in grapevine leaves, the signaling molecule in plant defense: salicylic acid (SA), the defense enzymes: phenylalanine ammonia lyase (PAL), and PR-protein: Chitinase (Chi) were investigated at 0, 24 and 48 hours after the fungal challenged inoculation. The accumulation of SA significantly increased at 24 hours after inoculation to SA levels of 32.44, 17.28 and 11.87 $\mu g\ g^{-1}$ fresh weight from foliar treated with Carb, CHIZA4® at the concentration of 600 ppm and BIG®, respectively. Similar to SA, PAL activity also significantly increased at 24 hours after inoculation with PAL levels of 8.76, 7.96 and 7.37 $\mu mol\ mg^{-1}$ protein, respectively. On the other hand, Chi activity significantly increased at 48 hours after inoculation with Chi levels of 6.44, 6.66 and 4.97 $\mu mol\ mg^{-1}$ protein, respectively. In addition, the samples foliar treated at 24 hours after inoculation were investigated for their biochemical change by the synchrotron FT-IR microspectroscopy technique. The results showed that the lipid C=O ester group and polysaccharide in grapevine cells increased at the levels of 0.019±0.01 and 0.064±0.01%, respectively. Our results indicated that the CHIZA4® has a double effect that could act as an antimicrobial agent and activate several plant defense mechanisms during host-pathogen interactions. The CHIZA4® induced grapevine resistance mechanisms through phenylpropanoid pathway, the phenols and lignin accumulation pathway. Lignin and other phenolic compounds can play the role of plant cell wall reinforcement against plant pathogens. Induced plant resistance using CHIZA4® can be an alternative method to control grapevine diseases. This is an agricultural safety strategy to reduce chemical fungicide use and chemical residues for human health and the environment.

School of Crop Production Technology — Student's Signature Nitchada Jimkuntod

Academic Year 2018 — Advisor's Signature _____