

เสี่ยวลู๋ โจว : กลไกการตอบสนองของใบชาต่อโรคใบพุพองและประสิทธิภาพของกรดซาลิไซลิกและซาโปนินต่อการยับยั้งเชื้อรา *Exobasidium vexans* (RESPONSE MECHANISM OF TEA LEAVES TO BLISTER BLIGHT AND PROTECTIVE EFFECT OF EXOGENOUS SALICYLIC ACID AND SAPONIN AGAINST *Exobasidium vexans*) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กำไร เบือนสันเทียะ, 217 หน้า

โรคใบพุพอง/*Camellia sinensis*/*Exobasidium vexans*/เอนไซม์ป้องกัน/ปฏิกริยาระหว่างพืชกับเชื้อโรค/ซาโปนิน

โรคใบพุพองเกิดจากเชื้อรา *Exobasidium vexans* สาเหตุของโรคทางใบที่เข้าทำลายซึ่งส่งผลเสียต่อผลผลิตและคุณภาพของชาอย่างมาก การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบกลไกการตอบสนองของชาต่อการติดเชื้อ *E. vexans* และควบคุมโรคนี้เพิ่มเติมโดยใช้กรดซาลิไซลิกและสารซาโปนินจากชา การใช้โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงแบบผสมผสาน (UPLC-MS/MS) และการวิเคราะห์ทางชีวเคมีเพื่อตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของสารเมตาบอไลต์ องค์ประกอบทางเคมี และฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระในใบชาที่มีสุขภาพดี และใบชาที่ติดเชื้อรา *E. vexans* ที่มีลักษณะอาการของโรคใบพุพอง ผลการวิจัยพบว่ามีสารประกอบทั้งหมด 1,166 ชนิด โดยถูกตรวจพบภายหลังการติดเชื้อสาเหตุโรค โดยมีสารประกอบทั่วไปที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญสะสมอยู่จำนวน 73 ชนิด ได้แก่ ฟลาโวนอยด์, กรดฟีนอลิก รวมถึง kaempferol (3,5,7,4'-tetrahydroxyflavone), kaempferol-3-O-sophoroside-7-O-glucoside, โพลเรติน, กรด 2,4,6-trihydroxybenzoic, galloylprocyanidin B4 และ procyanidin C1 3'-O-gallate ซึ่งบ่งชี้ว่าสารเมตาบอไลต์เหล่านี้อาจมีอิทธิพลในทางบวกที่สามารถต้านทานต่อเชื้อรา *E. vexans* ยิ่งไปกว่านั้นพบว่าสารสังเคราะห์ ฟลาโวนและฟลาโวนอลมีความสัมพันธ์กับการต้านทานต่อเชื้อรา *E. vexans* อีกด้วย และยังพบว่าปริมาณฟลาโวนอยด์รวม, ฟีนอลิก, อัลคาลอยด์ และเทอร์พีนอยด์ มีการสะสมอย่างมีนัยสำคัญในระยะที่ 2 ของการติดเชื้อ และปริมาณของ DPPH อาจสัมพันธ์กับฟลาโวนอยด์มากที่สุด ในขณะที่ FRAP และ ABTS อาจมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับเทอร์พีนอยด์, อัลคาลอยด์ และฟีนอลิก จากนั้นทำการตรวจสอบทรานสคริปโตมิกส์และเมแทบอลิซึมของฮอริโมนที่มีเป้าหมายอย่างกว้างขวาง เพื่อตรวจสอบความแตกต่างในการแสดงออกของยีนและเครือข่ายการส่งสัญญาณฮอริโมนพืชของใบชาที่มีสุขภาพดี และใบชาที่ติดเชื้อรา ผลการวิจัยพบว่ายีนต้านทานโรคส่วนใหญ่ถูกกระตุ้นเพื่อตอบสนองต่อการติดเชื้อของเชื้อสาเหตุโรค โดยเฉพาะอย่างยิ่งยีนที่เกี่ยวข้องกับการส่งสัญญาณฮอริโมนพืชและปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อโรคกับพืช ส่วนใหญ่ของยีนที่เกี่ยวข้องกับกลไกการป้องกันตัวเองของพืช (เช่น CDPK, RBOH, CaM/CMLs, FRK1 และ PR1), ทรานสคริปชันแฟคเตอร์ (WRKY, MYB, bHLH และ AP2/ERF) และโมเลกุลส่งสัญญาณของพืชที่เกี่ยวข้องกับ SA, กรดแจสโม


นิก (JA), เอทิลีน (ETH) และบราสเซียสเตียรอยด์ (BR) ที่แสดงออกในใบชาหลังการติดเชื้อรา *E. vexans* นอกจากนี้ฮอร์โมนพืช โดยเฉพาะ SA, กรดแจสโมนิก และสตรีกโกลแลกโทน มีการสะสมอยู่ในใบชาที่ติดเชื้อรา *E. vexans* โดยเส้นทางการส่งสัญญาณของ JA อาจทำงานร่วมกันกับเส้นทางการส่งสัญญาณของ BR, ETH, auxin (AUX) และจิบเบอเรลลิน (GA) เพื่อปรับปรุงการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันตัวเองในต้นชาหลังจากการติดเชื้อรา *E. vexans* ที่ทำงานเป็นปฏิปักษ์กับวิถีการส่งสัญญาณของไซโตไคนิน (CK) การฉีดพ่นทางใบด้วย SA, ซาโปนิน (TS) และการผสมรวมกันของสารทั้งสองที่ความเข้มข้นที่เหมาะสม เพื่อควบคุมโรคใบพุ่มอง การใช้ร่วมกันของ SA และ TS ได้เพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบพุ่มองได้ถึง 49.89% ภายใต้การทดลองภาคสนาม ซึ่งสูงกว่าการใช้ SA และ TS เพียงอย่างเดียวที่ 19.06% และ 30.25% ตามลำดับ การเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในการทำงานของเอนไซม์ป้องกันตัวเอง เช่น โพลีฟีนอลออกซิเดส, คาตาเลส, ฟีนิลอะลานีนอะมิโนเลส, เปอร้ออกซิเดส, ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส, β -1,3-กลูคาเนส และโคติเนส ถูกพบในต้นชาที่ได้รับการรักษาด้วยการใช้ร่วมกันของ SA และ TS เมื่อเทียบกับพืชที่ไม่ได้รับการรักษา ดังนั้นการศึกษานี้จึงให้ข้อมูลเชิงลึกที่ครอบคลุมเกี่ยวกับกลไกการตอบสนองของชาต่อโรคใบพุ่มองในระดับกระบวนการลอรหัสและเมแทบอลิซึมซึ่งอาจส่งเสริมการเพาะพันธุ์ชาพันธุ์ต้านทาน นอกจากนี้ การใช้ SA และ TS ภายนอกยังเป็นกลยุทธ์สำคัญในการควบคุมโรคใบพุ่มอง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

ปี การศึกษา 2566

ลายมือชื่อนักศึกษา Xiaohu Zhou

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา 

XIAOLU ZHOU : RESPONSE MECHANISM OF TEA LEAVES TO BLISTER BLIGHT AND PROTECTIVE EFFECT OF EXOGENOUS SALICYLIC ACID AND SAPONIN AGAINST *Exobasidium vexans*. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. DR. KUMRAI BUENSANTEAI, 217 PP.

BLISTER BLIGHT DISEASE/*Camellia sinensis*/*Exobasidium vexans*/DEFENSE ENZYME/
PLANT-PATHOGEN INTERACTION/TEA SAPONIN

Blister blight caused by obligate biotrophic pathogen *Exobasidium vexans* is a destructive foliar disease affecting quality and yield of tea. The aim of this study was to investigate the response mechanism of tea plants against *E. vexans* infection and further control this disease using exogenous salicylic acid (SA) and tea saponin (TS). Firstly, ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS)-based metabolomics and biochemical analysis were employed to investigate the changes in metabolites, chemical components, and antioxidant activities in healthy and *E. vexans*-infected leaves as blister symptoms developed. Results showed that 1,166 compounds were identified following *E. vexans* infection, among which 73 common compounds were significantly accumulated including flavonoids and phenolic acids, e.g., kaempferol (3,5,7,4'-tetrahydroxyflavone), kaempferol-3-*O*-sophoroside-7-*O*-glucoside, phloretin, 2,4,6-trihydroxybenzoic acid, galloylprocyanidin B4, and procyanidin C1 3'-*O*-gallate, indicating that these metabolites might positively dominate resistance to *E. vexans*. Furthermore, flavone and flavonol biosynthesis was found to be closely related to resistance to *E. vexans*. Additionally, total flavonoids, phenolics, alkaloids, and terpenoids were significantly accumulated in the second stage of infection. The value of DPPH might be most correlated with flavonoids; whereas FRAP and ABTS might correlate positively with terpenoids, alkaloids, and phenolics. Subsequently, transcriptomics and widely-targeted hormone metabolomics were performed to investigate the differences in gene expression and phytohormone signaling networks of healthy and infected leaves. The results showed that most disease-resistant genes were activated in response to pathogen infection, particularly those involved in plant hormone signal transduction and plant-pathogen

interaction. The majority of defense-related genes (e.g., CDPK, RBOH, CaM/CMLs, FRK1, and PR1), transcription factors (WRKY, MYB, bHLH, and AP2/ERF), and phytohormone signaling molecules involved in SA, jasmonic acid (JA), ethylene (ETH), and brassinosteroid (BR) were highly expressed in tea leaves following *E. vexans* infection. Additionally, phytohormones, especially SAs, jasmonates (JAs), and strigolactones (SLs), were accumulated in *E. vexans*-infected leaves. Furthermore, the JA signaling pathway might work synergistically with BR, ETH, auxin (AUX), and gibberellin (GA) signaling pathways to enhance the expression of defense-related genes in tea plants following *E. vexans* infection, whereas it functions antagonistically with the cytokinin (CK)-mediated pathway. Finally, foliar spraying of SA, TS, and their combination were employed to control blister blight. The combined use of SA and TS improved the control effect by 49.89% under field trials, which were 19.06% and 30.25%, respectively, higher than using SA and TS alone. A significant increase in defense enzymes activity like polyphenol oxidase, catalase, phenylalanine aminolase, peroxidase, superoxide dismutase, β -1,3-glucanase, and chitinase was observed in tea plants treated with the combination of SA and TS compared to those untreated. Accordingly, this study provides comprehensive insights into the response mechanisms of tea against blister blight at the transcriptional and metabolic levels, which may advance the breeding of resistant tea cultivars. In addition, application of exogenous SA and TS provides an important strategy for controlling blister blight.

School of Crop Production Technology
Academic Year 2023

Student's Signature *Xiaohu Zhou*
Advisor's Signature *[Signature]*