ต่วน เล ธาน : ประสิทธิภาพและกลไกของสิ่งกระตุ้นความต้านทานในข้าวต่อเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคใบไหม้ (EFFICACY AND MECHANISM OF INDUCERS TRIGGERING INDUCED RESISTANCE IN RICE AGAINST *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* CAUSING BACTERIAL LEAF BLIGHT DISEASE) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฐธิญา เบือนสันเทียะ, 195 หน้า.

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ (1) ศึกษาประสิทธิภาพของสิ่งกระตุ้นในการควบคุมโรคใบไหม้ในข้าว และ (2) ศึกษากลไกการชักนำความต้านทานต่อโรคใบไหม้ในข้าว โดยนำสิ่งกระตุ้นประกอบด้วย ascorbic acid (AA), oxalic acid (OA), potassium dihydrogen phosphate (PDP), salicylic acid (SA), *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ CaSUT007 (CaSUT007) และ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ NT111 มาทดสอบศักยภาพในการควบคุมโรคใบไหม้ในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ ทำการประเมินอิทธิพลของสิ่งกระตุ้นต่อความงอกของเมล็ดข้าวด้วยวิธี blotting-paper จากนั้นนำสิ่งกระตุ้นที่ผ่านการทดสอบว่ามีประสิทธิภาพสูง ประกอบด้วย CaSUT007, 1.0 mM AA, 4.0 mM PDP, 0.5 mM OA และ 1.0 mM SA มาทดสอบความสามารถในการชักนำความต้านทานภายใต้สภาพเรือนทดลอง นำตัวอย่างไปศึกษาการแสดงออกของยีนด้วยวิธี real-time reverse transcription polymerase chain reaction รวมทั้งศึกษาปริมาณการสร้าง superoxide anion และ hypersensitive response ด้วยวิธี nitroblue tetrazolium staining และสังเกตการเรืองแสงสีเขียวของปฏิกิริยา HR ด้วยเทคนิค confocal microscopy ตามลำดับ นำตัวอย่างไปศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารชีวเคมีภายในใบข้าวโดยใช้เทคนิค Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy จากนั้นประเมินปริมาณเชื้อบนอาหาร NGA ผลการทดลองพบว่า สิ่งกระตุ้นแต่ละชนิดสามารถกระตุ้นการงอกของเมล็ดข้าวได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สิ่งกระตุ้นที่มีชีวิตคือ CaSUT007 และ NT111 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Xoo* ได้ และพบว่า SA สามารถลดการเกิดโรคได้ 55.35% ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม เมื่อนำตัวอย่างที่ถูกชักนำความต้านทานต่อเชื้อ *Xoo* ด้วย SA ไปศึกษากลไกความต้านทาน พบว่ายีนที่เกี่ยวข้องกับกลไกความต้านทาน คือ ascorbate peroxidase (*apx*) และ phenylalanine ammonia lyase (*pal*) มีการแสดงออกสูงขึ้น และเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วกว่ากรรมวิธีควบคุม นอกจากนี้พบว่า ข้าวที่ถูกชักนำความต้านทานมีการผลิต O_2- เพิ่มขึ้น 28% ใน 3-6 ชั่วโมง และสามารถชักนำปฏิกิริยา HR บนใบข้าว คิดเป็น 110% ก่อให้เกิดอาการเซลล์ตายภายใน 48 ชั่วโมง การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของสารชีวเคมีภายในใบข้าวหลังจากปลูกเชื้อ *Xoo* เป็นเวลา 14 วัน พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงของสารชีวเคมีภายในใบข้าวเพิ่มสูงขึ้นในช่วงคลื่นที่ 1233/1517 cm^{-1}, 1467/1517 cm^{-1} และ 1735/1517 cm^{-1} ซึ่งเป็นองค์ประกอบของลิกนินและเพคติน และยังพบ amide I β-sheet (1,629 cm^{-1}), lipid (2851 cm^{-1}และ 1735 cm^{-1}) เพิ่มสูงขึ้นกว่ากรรมวิธี

ควบคุม และยังพบว่าการใช้ สาร SA สามารถลดจำนวนประชากรเชื้อ *Xoo* ในใบข้าวอย่างมีนัยสำคัญ รวมทั้งยับยั้งกิจกรรมของยีนก่อโรคของเชื้อ *Xoo* ประกอบด้วย *hrcQ*, *rpfF* และ *rpfG* ลงอีกด้วย การแสดงออกของยีนปกป้องตนเองและสารชีวเคมีเหล่านี้ในข้าวที่ถูกชักนำด้วยสาร SA น่าจะมีความสัมพันธ์กับโครงสร้างผนังเซลล์ที่หนาขึ้นส่งผลให้ข้าวมีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อ *Xoo* สาเหตุโรคใบไหม้

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

TOAN LE THANH: EFFICACY AND MECHANISM OF INDUCERS TRIGGERING INDUCED RESISTANCE IN RICE AGAINST *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* CAUSING BACTERIAL LEAF BLIGHT DISEASE . THESIS ADVISOR : ASST. PROF. NATTHIYA BUENSANTEAI, Ph.D., 195 PP.

BACTERIAL LEAF BLIGHT/INDUCER/RESISTANCE/RICE/SALICYLIC ACID/ PLANT DEFENSE MECHANISM

The objectives of this study were (1) to evaluate the efficacy of resistance inducers against bacterial leaf blight (BLB) in rice, and (2) to characterize the mechanism of induced resistance against BLB in rice. Resistance inducers including ascorbic acid (AA), oxalic acid (OA), potassium dihydrogen phosphate (PDP), salicylic acid (SA), *Bacillus subtilis* strain CaSUT007 (CaSUT007) and *Bacillus* sp. strain NT111 were evaluated for their potential in controlling rice BLB disease in rice cv. KDML105. Effects of the inducers on rice seed germination were evaluated using the blotting-paper method. Evaluation of the induced resistance in rice against *Xoo* infection was conducted under a greenhouse condition, using the most effective inducers including CaSUT007, 1.0 mM AA, 4.0 mM PDP, 0.5 mM OA and 1.0 mM SA. Expression of rice defense related genes and *Xoo* pathogenicity genes were performed by quantitative real-time reverse transcription polymerase chain reaction. Superoxide anion in the induced leaves was detected by nitroblue tetrazolium staining method. Hypersensitive response in the induced leaves was detected by observing fluorescence expression under confocal microscopy. Biochemical changes of the

induced rice leaves were examined by fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. *Xoo* growth in the treated rice was assessed on nutrient glucose agar plates. The results demonstrated that all of the inducers significantly stimulated germination of rice seed. Among the inducers applied as seed soak and foliar spray, SA reduced disease severity significantly about 55.35%, compared to that of the non-treated control. The defense gene expression analysis revealed that the 1 mM SA treatment showed an increased regulation of two resistance genes, ascorbate peroxidase (*apx*) and phenylalanine ammonia lyase (*pal*), in rice leaves compared to that of the non-treated plants. O_2^- production was enhanced more than 28% at 3-6 hours after inoculation (HAI), and the hypersensitive response (HR) was increased by 110% at 48 HAI in the treated rice leaves. At 14 days after inoculation, higher ratios of 1233 / 1517 cm^{-1}, 1467 / 1517 cm^{-1} and 1735 / 1517 cm^{-1} wavelengths in the treated rices were observed, suggesting alteration of monomer composition of lignin and pectin in the rice cell wall. The treated plants had more amide I β-sheet structure at the peak 1629 cm^{-1}, and some peaks such as 2851 cm^{-1} and 1735 $cm,^{-1}$ corresponding to lipids, were more intense. In addition, the population of *Xoo* in the treated rice leaves was lower than that of the non-treated ones, and the three pathogenicity genes of *Xoo*, which are *hrc*Q, *rpf*F, and *rpf*G, were expressed at a lower rate. These defense gene expression and biochemical changes of rice treated with SA could relate to the observed thickening of the cell walls, resulting in primed resistance to the BLB disease.