การกระตุ้นความต้านทานโรครากเน่าในมันสำปะหลัง (*Manihot esculenta* Crantz) ที่เกิดจากเชื้อ *Fusarium solani*[1/]

Induced Systemic Resistance in Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) Against Root Rot Disease Caused by *Fusarium solani*[1/]

ผู้ทำสัมมนา นายณัฐวุฒิ คำแสงดี[2/]
อาจารย์ที่ปรึกษา

บทคัดย่อ

มันสำปะหลัง (*Manihot esculenta* Crantz) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย แต่การผลิตมันสำปะหลังมักประสบปัญหาโรครากเน่า หัวเน่า และลำต้นเน่า ซึ่งส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium solani* ส่งผลทำให้มันสำปะหลังแสดงอาการโรครากเน่ามีระดับความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 2.4-2.9 และค่าดัชนีการเกิดโรคระหว่าง 60.2-71.4% ส่งผลให้ผลผลิตลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการกระตุ้นความต้านทานโรครากเน่าในมันสำปะหลังที่เกิดจากเชื้อ *F. solani* โดยใช้กรดซาลิไซลิก (salicylic acid) และแบคทีเรีย Bacillus subtilis ผลการศึกษาพบว่าการใช้กรดซาลิไซลิกสามารถเหนี่ยวนำให้พืชเกิดการสะสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ลดลงและเพิ่มระดับกิจกรรมของเอนไซม์ป้องกัน เช่น เอนไซม์เปอร์ออกซิเดส (POD), โพลีฟีนอลออกซิเดส (PPO) และคาตาเลส (CAT) ซึ่งมีส่วนช่วยยับยั้งการเกิดอาการของโรครากเน่าและหัวเน่าที่เกิดจากเชื้อ *F. solani* นอกจากนี้ การใช้ AgNPs ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรขึ้นไป พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. solani* ได้อย่างสมบูรณ์ แสดงให้เห็นว่าการใช้กรดซาลิไซลิกและ AgNPs มีศักยภาพในการกระตุ้นความต้านทานโรครากเน่าในมันสำปะหลัง ซึ่งอาจนำไปประยุกต์ใช้เพื่อลดความสูญเสียจากโรคดังกล่าวในระดับแปลงปลูกได้ในอนาคต

คำสำคัญ: โรครากเน่า; มันสำปะหลัง; เชื้อรา *Fusarium solani*; การกระตุ้นความต้านทาน

[1/]เอกสารประกอบรายวิชา 1201 480 สัมมนา

[2/]นักศึกษาชั้นปีที่ 4 ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

บทนำ

โรครากเน่า หัวเน่าในมันสำปะหลัง ซึ่งเป็นโรคที่ส่งผลกระทบต่อการผลิตมันสำปะหลังในประเทศไทย พบการระบาดในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันตกเฉียงใต้ มากถึงร้อยละ 20–30 ของพื้นที่เพาะปลูก และเมื่อมีการระบาดรุนแรงทำให้สำปะหลังมีผลผลิตลดลงถึงร้อยละ 30–50 และกระทบต่อรายได้ของเกษตรกร โรครากเน่า หัวเน่ามันของสำปะหลัง พบมากในแหล่งพื้นที่ที่ดินมีการระบายน้ำได้ยาก และบริเวณที่มีฝนตกชุกเป็นประจำ โรครากเน่า หัวเน่าของสำปะหลังมีสาเหตุเกิดจากเชื้อราหลากหลายชนิด โดยเชื้อราที่สร้างความเสียหายเป็นอย่างมาก คือ เชื้อรา *Fusarium* spp. สามารถเข้าทำลายมันสำปะหลังได้ตั้งแต่ระยะต้นกล้าจนถึงระยะที่มันสำปะหลังลงหัว เมื่อก่อเกิดกับหัวหรือรากมันสำปะหลัง ระบบท่อลำเลียงเน่ากลายเป็นสีดำโดยจะลุกลามจากแผลรอยตัดของท่อนพันธุ์หรือลำต้นที่เป็นแผล ทำให้เปลือกบวมเน่าเป็นสีน้ำตาลดำ ของเชื้อราขึ้นบนเปลือกแล้วจะแห้งตาย มีอาการหัวเน่าเละมีกลิ่นเหม็นต้นเหี่ยว ใบร่วง อาจพบเส้นใยเชื้อราสีขาวคล้ายเส้นด้ายและเห็ดเจริญปกคลุมบริเวณโคนต้น

มันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย และเป็นแหล่งวัตถุดิบทางด้านอุตสาหกรรมที่สำคัญในการผลิตแป้งมันสำปะหลัง มันเส้น และมันอัดเม็ด จึงถูกนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการ ผลิตเอทานอล เพื่อใช้เป็นแหล่งเชื้อเพลิง และมีแนวโน้มในการนำมาใช้เป็นพืชพลังงาน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2566) ประเทศไทยมีมูลค่าการส่งออกมันสำปะหลังสูง ซึ่งมีปริมาณการส่งออกทั้งหมดประมาณ 8 ล้านตัน คิดเป็นมูลค่าประมาณ 9.8 หมื่นล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2565)

การกระตุ้นความต้านทานโรครากเน่าในมันสำปะหลังมี 2 รูปแบบ ได้แก่ การต้านทานที่ได้มาในระดับระบบ (Systemic Acquired Resistance: SAR) การต้านทานที่ถูกเหนี่ยวนำในระดับระบบ (Induced Systemic Resistance: ISR) โดย SAR จำเป็นต้องใช้กรดซาลิไซลิก (SA) เป็นโมเลกุลสัญญาณ และเกี่ยวข้องกับการผลิต เอนไซม์ป้องกันตนเอง และโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการก่อโรค (PR) (Buensanteai *et al.* 2010) ในขณะที่ ISR อาศัยเอทิลีน (Ethylene: ET) และกรดจัสโมนิก (Jasmonic Acid: JA) เป็นปัจจัยในการส่งสัญญาณ (Walters *et al.* 2007) สารกระตุ้นอาจเป็นทั้งสารประกอบสังเคราะห์หรือสารประกอบจากธรรมชาติและจุลินทรีย์ สารกระตุ้นแบบไม่มีสิ่งมีชีวิต (Eschen-Lippold et al. 2010) นอกจากนี้ สารกระตุ้นแบบมีสิ่งมีชีวิต เช่น Bacillus sp. ยังได้รับการประเมินว่ามีประสิทธิภาพในการกระตุ้นการเพิ่มความต้านทานและการเจริญเติบโตของพืชต่อโรคหลายชนิด (Buensanteai *et al.* 2009; Graham and Myers 2011) สัมมนานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อการศึกษาการกระตุ้นมันสำปะหลังให้มีความต้านทานต่อโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Fusarium solani*

เชื้อรา *Fusarium* spp.

เชื้อรา *Fusarium* spp. แบ่งตามลักษณะได้เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ 1) เชื้อรามีลักษณะเส้นใยฟูในระยะแรกโคโลนีมีสีขาวครีมแล้วเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เมื่ออายุมากขึ้นพบการสร้างรงควัตถุ เป็นสีน้ำตาล macroconidia มีลักษณะค่อนข้างเรียวยาว มี 3-5 septum ส่วน microconidia มีลักษณะรูปกระสวย มี 1 septum 2) เชื้อรามีลักษณะเส้นใยฟู สร้าง aerial mycelium ในระยะแรกโคโลนีมีสีขาวครีมแล้วเปลี่ยนเป็นสีขาวเหลืองเมื่ออายุมากขึ้น ไม่พบการสร้างรงควัตถุ macroconidia มีลักษณะค่อนข้างสั้นโค้งใสมี 3-4 septum ส่วน microconidia มีลักษณะรูปไข่มี 0-1 septum โดยทั่วไปจะประกอบด้วยโคโลนีที่มีสีขาวหรือสีครีมที่เติบโตอย่างรวดเร็วบนอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อมองจากด้านบน โคโลนีอาจมีสีขาว ครีม น้ำตาล หรือเหลือง และอาจมีสีม่วงหรือสีชมพูในบางกรณี เมื่อมองจากด้านล่าง โคโลนีอาจมีสีไม่มีสี น้ำตาล แดง ม่วงเข้ม หรือน้ำตาล เส้นใยของเชื้อราเป็นแบบมีผนังกั้นและแตกแขนง

การแพร่ระบาดและปัจจัยแวดล้อมที่เอื้อต่อการเกิดโรค

การแพร่กระจายทางดิน ของเชื้อรา *F. solani* เป็นเชื้อราที่อาศัยอยู่ในดินได้ยาวนานในรูป chlamydospore ซึ่งสามารถคงสภาพทนต่อความแห้งแล้งและสารเคมีหลายชนิดเมื่อพืชมีรากหรือเนื้อเยื่อที่บาดเจ็บ สปอร์ในดินสามารถเจริญเข้าสู่พืชและก่อโรคได้ การแพร่กระจายทางน้ำและฝน สปอร์สามารถแพร่ไปกับน้ำชลประทาน น้ำฝน หรือการไหลบ่าของน้ำที่มีเศษซากพืชติดเชื้อในพื้นที่ที่มีน้ำท่วมขังจะเพิ่มความเสี่ยงการติดเชื้อในรากพืช การแพร่ทางวัสดุเพาะปลูกการใช้ดินหรือปุ๋ยหมักที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้ออย่างเหมาะสมก็เป็นสาเหตุสำคัญ การแพร่โดยแมลงหรือเครื่องมือ เครื่องมือการเกษตรที่ไม่ทำความสะอาดหรือแมลงบางชนิดอาจเป็นพาหะนำสปอร์ของเชื้อราสู่ต้นพืช

ปัจจัยแวดล้อมที่เอื้อต่อการเกิดโรค ความชื้นในดินสูง เชื้อรา *F. solani* เจริญได้ดีในดินที่มีความชื้นสูงหรือมีน้ำขัง ทำให้รากพืชขาดอากาศและอ่อนแอการให้น้ำแบบขังหรือการระบายน้ำไม่ดีเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้โรครุนแรงขึ้น อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของ เชื้อรา *F. solani* อยู่ในช่วง 25–30°C ในฤดูฝนหรือช่วงอากาศอบอุ่น ความรุนแรงของโรคจะเพิ่มขึ้น ความเป็นกรด-ด่างของดิน (pH) ดินที่มีค่า pH 5.5–6.5 เป็นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสร้างสปอร์และการติดเชื้อ ดินที่เป็นกรดมากจะยิ่งกระตุ้นการเกิดโรครากเน่าในพืช สภาพดินที่มีการระบายอากาศไม่ดี ดินเหนียวหรือดินที่มีการระบายน้ำไม่ดีทำให้รากพืชขาดออกซิเจนและเกิดแผลเน่า ทำให้เชื้อราง่ายต่อการเข้าทำลาย ความอ่อนแอของพืช โดยพืชที่มีแผลบาดเจ็บ รากเสียหาย หรือได้รับความเครียดจากความแห้งแล้งและการใส่ปุ๋ยเกินความจำเป็นจะมีโอกาสติดเชื้อสูง

กลไกลการเข้าทำลายพืช

เชื้อ *F. solani* จะเริ่มจากการตรวจจับสารเคมี ที่รากพืชหลั่งออกมา เช่น น้ำตาล เชิงเดี่ยว กรดอะมิโน และสารฟีนอลิก ทำให้สปอร์กระตุ้นการงอก เชื้อสร้างเส้นใย (germ tube) และ

โครงสร้างคล้าย appressorium เพื่อยึดเกาะแน่นกับผิวราก โปรตีน hydrophobins และโปรตีนยึดเกาะ ถูกสร้างขึ้นเพื่อช่วยให้เชื้อราสามารถเกาะกับเซลล์พืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ การสร้างเอนไซม์ย่อยสลายผนังเซลล์พืช โดยเชื้อ *F. solani* ผลิตเอนไซม์หลายชนิดเพื่อสลายผนังเซลล์พืช ได้แก่ Pectinase เข้าทำลายเพกตินใน middle lamella ทำให้เซลล์พืชแยกออกจากกัน Cellulase จะเข้าย่อยเซลลูโลสในผนังเซลล์ ทำให้โครงสร้างของพืชอ่อนแอลง การย่อยสลายนี้ทำให้เชื้อราสามารถเจาะและลุกลามเข้าสู่เนื้อเยื่อได้ง่ายขึ้น และทำให้ก่อโรคง่ายขึ้น โดยมีการบุกรุกและการแพร่กระจายในท่อน้ำ เมื่อเชื้อ *F. solani* เข้าสู่ราก เชื้อจะเติบโตตามเนื้อเยื่อชั้นคอร์เทกซ์และเข้าสู่ท่าลำเลียงน้ำ จนทำให้เกิดการอุดตันจากเส้นใยของเชื้อและการสะสมของสารพอลิแซ็กคาไรด์ ทำให้พืชแสดงอาการเหี่ยว เชื้อยังสามารถแพร่กระจายขึ้นไปยังส่วนเหนือดิน เช่น ลำต้นและผล สารพิษเชื้อ *F. solani* สร้างสารพิษ เช่น fusaric acid และ naphthazarins ที่รบกวนกระบวนการหายใจและการสร้างพลังงานของเซลล์พืช สารพิษเหล่านี้ยังสามารถกระตุ้นการเกิดเนื้อเยื่อตาย และลดความสามารถในการป้องกันตัวของพืช เชื้อ *F. solani* ยังมีความสามารถหลบหลีกกลไกป้องกันของพืชด้วยการหลั่งเอนไซม์ย่อยสลาย phytoalexins หรือสารป้องกันอื่น ๆ ของพืช โดยมีการสร้างโปรตีนที่ยับยั้งปฏิกิริยาป้องกันแบบ hypersensitive response (HR) ของพืช นอกจากนี้ยังปรับตัวให้ทนต่อสารป้องกันตามธรรมชาติ

การผลิตเอนไซม์

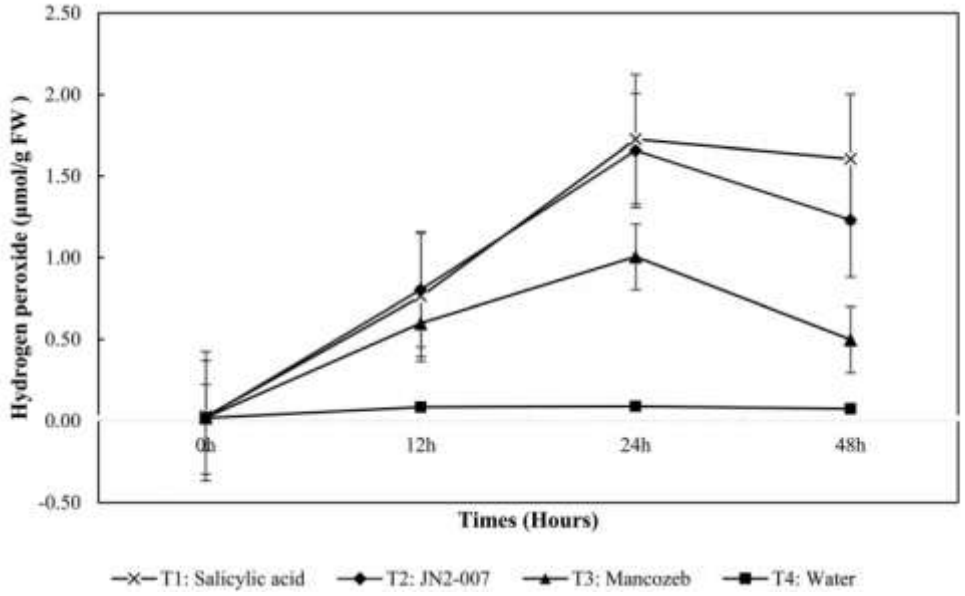
Fusarium solani เป็นการบุกรุกเนื้อเยื่อพืชและการอยู่รอดในสิ่งแวดล้อมของเชื้อนี้เกี่ยวข้องอย่างใกล้ชิดกับการหลั่งเอนไซม์ภายนอกเซลล์จำนวนมาก โดยเฉพาะกลุ่มเอนไซม์ย่อยผนังเซลล์พืช ได้แก่ เพกทิเนส เซลลูเลส-เฮมิเซลลูเลส และเอนไซม์ย่อยลิกนิน ซึ่งมีบทบาทในด้านความรุนแรงของโรครากเน่า และการปรับตัวต่อสภาพแวดล้อม

แนวทางการกระตุ้นความต้านทานโรครากเน่าในในสำปะหลัง

ความสำคัญของแนวทางกระตุ้นความต้านทาน โดยที่ใช้สารเคมีชีวภาพ หรือจุลินทรีย์คือ *Bacillus subtilis* และกรดซาลิไซลิก ที่ไม่ก่อโรค เพื่อเสริมระบบภูมิคุ้มกันของพืช เพิ่มประสิทธิภาพการป้องกัน ลดการใช้สารเคมี และรักษาความยั่งยืนของสิ่งแวดล้อม

เชื้อจุลินทรีย์ชีวภาพ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ JN2-007 เก็บรักษาไว้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient broth (NB) ที่ผสมกลีเซอรอล 10% เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80°C จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหาร nutrient agar (NA) และบ่มที่อุณหภูมิ 28 ± 2°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงนำไปขยายบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ปริมาตร 250 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 28 ± 1°C พร้อมกับเขย่าอย่างต่อเนื่องที่ความเร็ว 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำเซลล์เพาะเลี้ยงที่ได้มาล้างและแขวนลอยใหม่ในน้ำกลั่นปลอดเชื้อ และปรับความเข้มข้นให้ได้ 1×10^6 cfu/mL, 1×10^7 cfu/mL และ 1×10^8 cfu/mL (Buensanteai *et al.*, 2009; Nikaji *et al.,* 2015)

Chanon *et al.* (2022) ศึกษาการกระตุ้นความต้านทานโรครากเน่ามันสำปะหลัง (*Manihot esculenta* Crantz) ที่เกิดจาก *Fusarium solani* โดยกรดซาลิไซลิกและ *Bacillus subtilis* โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomised Design: CRD) จำนวน 4 ซ้ำ 4 กรรมวิธี ได้แก่ T1: กรดซาลิไซลิก ที่ความเข้มข้น 500 ไมโครลิตรต่อลิตร T2: *Bacillus subtilis* JN2-007 ที่ความเข้มข้น 1×10^6 cfu/mL T3: Mancozeb 2000 µg/mL T4: น้ำ บันทึกผลด้วยการเก็บตัวอย่างรากมันสำปะหลังที่ 0, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง เพื่อประเมินผลของกรดซาลิไซลิก (SA) และสารกระตุ้น JN2-007 ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Fusarium solani* โดยใช้เครื่องเจาะคอร์กบอเรอร์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เจาะแท่งอาหารวุ้นที่มีเชื้อสาเหตุโรค แล้วนำไปวางตรงกลางจานเพาะเชื้อที่ผสมสารกระตุ้น ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าการใช้กรดซาลิไซลิก 24 ชั่วโมงหลังการเพาะเชื้อ มีความสามารถในการเหนี่ยวนำให้เกิด ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ระดับของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส โพลีฟีนอลออกซิเดส และคาตาเลส สูงพอที่ชี้ให้เห็นว่าสารกระตุ้นมีบทบาทสำคัญในการเหนี่ยวนำการป้องกันพืช ซึ่งนำไปสู่การลดการเกิดโรครากเน่าจากเชื้อรา *Fusarium solani*

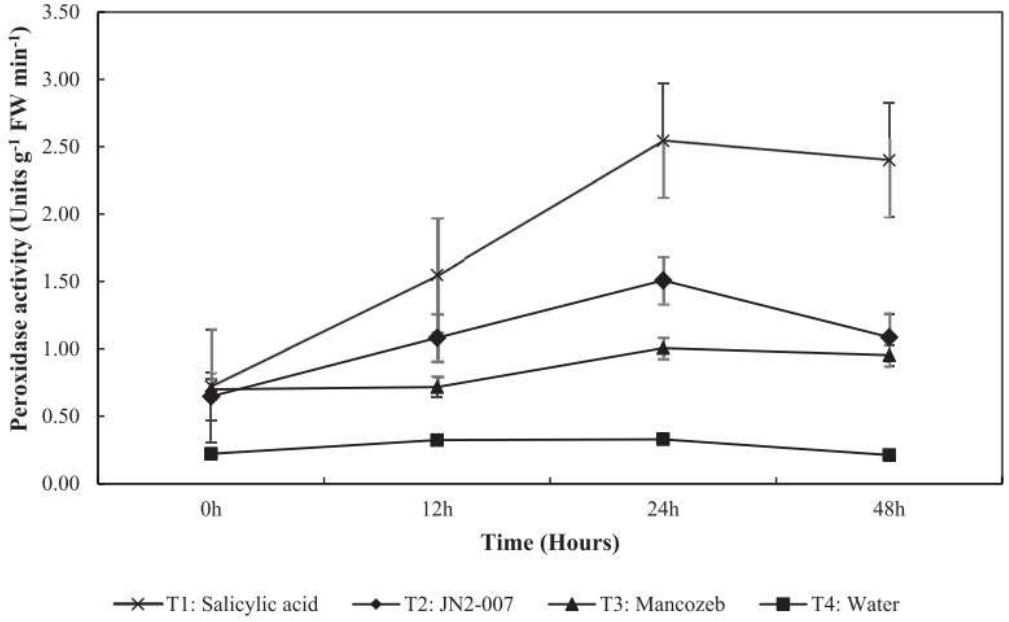


ที่มา: Chanon *et al.* (2022)

ภาพที่ 1 ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ในรากมันสำปะหลังที่ได้รับการกระตุ้นด้วยสารกระตุ้น

ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ในรากมันสำปะหลังที่ได้รับการกระตุ้นด้วยสารกระตุ้น ที่ช่วงเวลา 0, 12, 24 และ 48 ชั่วโมงหลังการใส่เชื้อ (HAI) และทดสอบกับเชื้อสาเหตุโรครากเน่า *Fusarium* โดยมีการจัดการดังนี้: T1: กรดซาลิไซลิก ที่ความเข้มข้น 500 (ไมโครลิตรต่อลิตร) T2: *Bacillus subtilis* JN2-007 ที่ความเข้มข้น 1×10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตร T3: Mancozeb (2000

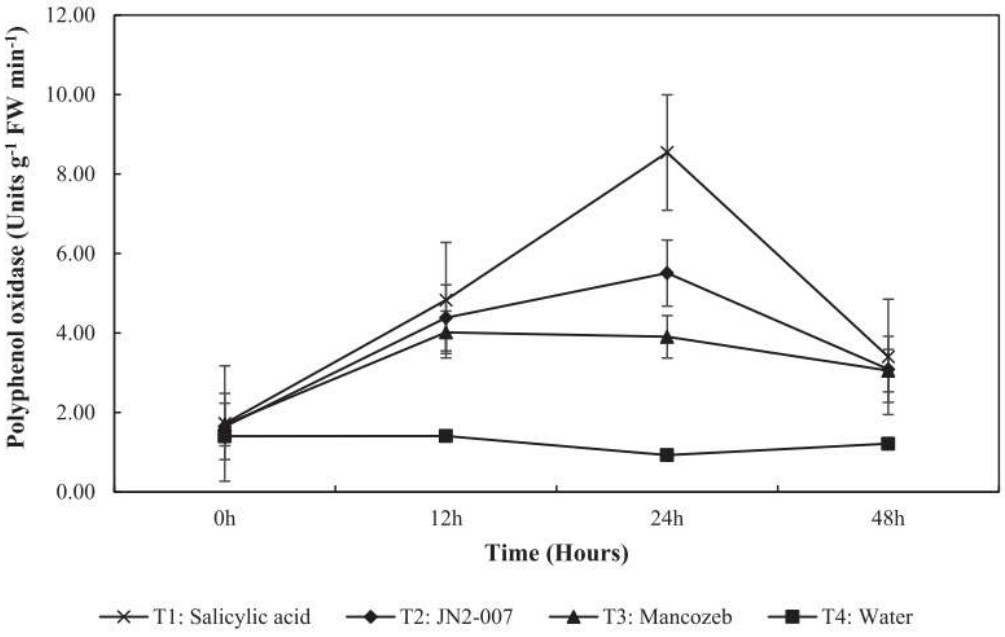
ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร T4 น้ำ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้ใส่เชื้อ (ภาพที่ 1)



ที่มา: Chanon *et al.* (2022)

ภาพที่ 2 กิจกรรมของเอนไซม์เพอร์ออกซิเดส (Peroxidase) ในรากมันสำปะหลังที่ได้รับการกระตุ้นด้วยสารกระตุ้น

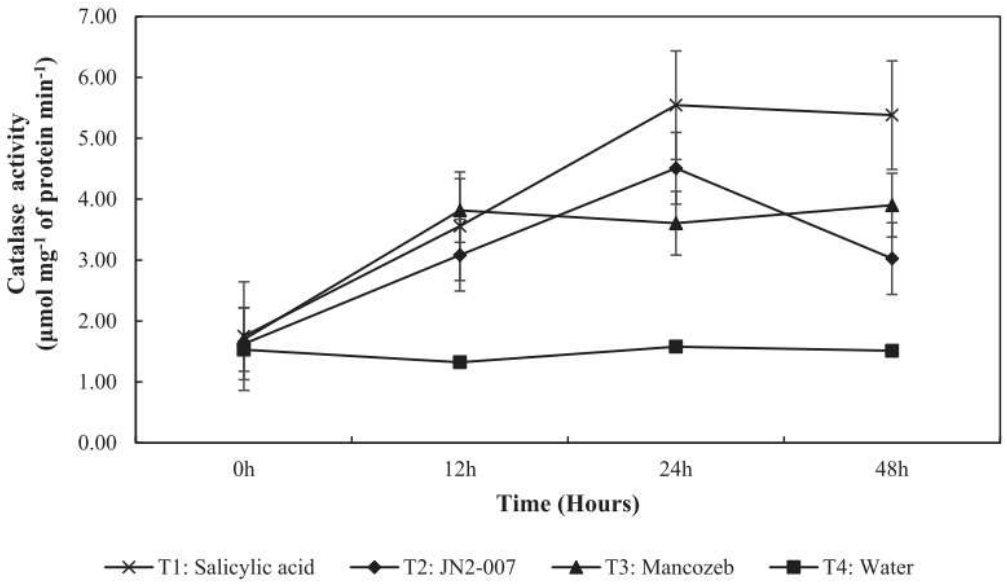
กิจกรรมของเอนไซม์เพอร์ออกซิเดส (Peroxidase) ในรากมันสำปะหลังที่ได้รับการกระตุ้นด้วยสารกระตุ้น (elicitors) ที่ช่วงเวลา 0, 12, 24 และ 48 ชั่วโมงหลังการใส่เชื้อ (HAI) และทดสอบกับเชื้อสาเหตุโรครากเน่า *Fusarium* โดยมีการจัดการดังนี้: T1: กรดซาลิไซลิก ที่ความเข้มข้น 500 (ไมโครลิตรต่อลิตร) T2: *Bacillus subtilis* JN2-007 ที่ความเข้มข้น 1×10^6 (โคโลนีต่อมิลลิลิตร) T3: Mancozeb (2000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร**)** T4 น้ำ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้ใส่เชื้อ (ภาพที่ 2)



ที่มา: Chanon *et al.* (2022)

ภาพที่ 3 กิจกรรมของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (Polyphenol oxidase) ในรากมันสำปะหลังที่ได้รับการกระตุ้นด้วยสารกระตุ้น

กิจกรรมของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (Polyphenol oxidase) ในรากมันสำปะหลังที่ได้รับการกระตุ้นด้วยสารกระตุ้น (elicitors) ที่ช่วงเวลา 0, 12, 24 และ 48 ชั่วโมงหลังการใส่เชื้อ (HAI) และทดสอบกับเชื้อสาเหตุโรครากเน่า *Fusarium* โดยมีการจัดการดังนี้: T1: กรดซาลิไซลิก ที่ความเข้มข้น 500 ไมโครลิตรต่อลิตร T2: *Bacillus subtilis* JN2-007 ที่ความเข้มข้น 1×10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตร T3: Mancozeb 2000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร T4 น้ำ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้ใส่เชื้อ (ภาพที่ 3)



ที่มา: Chanon *et al.* (2022)

ภาพที่ 4 กิจกรรมของเอนไซม์คาตาเลส (Catalase) ในรากมันสำปะหลังที่ได้รับการกระตุ้นด้วยสารกระตุ้น

กิจกรรมของเอนไซม์คาตาเลส (Catalase) ในรากมันสำปะหลังที่ได้รับการกระตุ้นด้วยสารกระตุ้น (elicitors) ที่ช่วงเวลา 0, 12, 24 และ 48 ชั่วโมงหลังการใส่เชื้อ (HAI) และทดสอบกับเชื้อสาเหตุโรครากเน่า *Fusarium* โดยมีการจัดการดังนี้: T1: กรดซาลิไซลิก ที่ความเข้มข้น 500 ไมโครลิตรต่อลิตร T2: *Bacillus subtilis* JN2-007 ที่ความเข้มข้น 1×10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตร T3: Mancozeb 2000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร T4 น้ำ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้ใส่เชื้อ (ภาพที่ 4)

Wannaporn *et al.* (2024) ศึกษาการสังเคราะห์ทางชีวภาพและการศึกษาลักษณะของ AgNPs จากพืชไตรโคเดอร์มาเพื่อป้องกันโรครากเน่ามันสำปะหลัง โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ประกอบด้วย AgNPs จำนวน 4 ความเข้มข้น ได้แก่ 20, 30, 40 และ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ร่วมกับกลุ่มควบคุมบวก 2 กลุ่ม ($AgNO_3$ ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ carbendazim ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และกลุ่มควบคุมลบ 1 กลุ่ม (น้ำ) ผลการศึกษาพบว่าขนาดของโคโลนีของเชื้อราลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ AgNPs จนกระทั่งยับยั้งการเจริญเติบโต F. solani ที่ความเข้มข้น ≥50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในขณะเดียวกัน AgNO3 ที่ปริมาณเท่ากันหรือมากกว่า 120 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ F. solani ได้อย่างสมบูรณ์ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ผลของ AgNPs ในแต่ละความเข้มข้น ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Fusarium solani* บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่อายุ 10 วัน

Pathogens	**Zone of inhibition (%)**						
	AgNPs (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)					**$AgNO_3$ 100 ไมโครกรัม /มิลลิลิตร**	**Carbendazim 4 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร**
	0	20	30	40	50		
F. solani	0	0.22±3.77^{e}	66.61±1.55^{d}	76.22±0.96^{c}	83.66±1.12^{b}	85.88±1.68^{ab}	89.58±0.53^{a}

ที่มา: Wannaporn *et al.* (2024)

อัตราการยับยั้งและความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้ง (MIC) ที่ความเข้มข้นต่างๆ ของAgNPs ต่อเชื้อ *Fusarium solan*i ซึ่งเป็นสาเหตุของโรครากเน่ามันสำปะหลัง ความหมายของตัวอักษรต่างๆ (a, b, c) แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญผ่าน DMRT ที่ P=0.05

การศึกษาผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นของ AgNPs ที่สังเคราะห์ทางชีวภาพต่อการลดความรุนแรงของโรคในหัวมันสำปะหลัง ความรุนแรงของโรคที่เกิดจาก *Fusarium solani* ในตัวอย่างที่ได้รับ AgNPs ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม/มล. (1.75 ± 0.50) ต่ำกว่าความรุนแรงที่สังเกตได้จากตัวอย่างที่ได้รับ $AgNO_3$ ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มล. (2.50 ± 0.57) และจากตัวอย่างควบคุม (5.00 ± 0.00) อย่างมีนัยสำคัญ การรักษาด้วย AgNPs ไม่มีผลแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับการรักษาด้วยคาร์เบนดาซิมความเข้มข้น 4 มก./มล. (1.50 ± 0.57) นอกจากนี้ การรักษาด้วย AgNP ยังแสดงให้เห็นความรุนแรงของโรคที่ต่ำที่สุดที่เกิดจาก *F. solani* ที่ 1.00 ± 0.00 รองลงมาคือ carbendazim (1.25 ± 0.50) และ $AgNO_3$ (1.50 ± 0.57) ซึ่งทั้งหมดมีประสิทธิผลอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 2และ ภาพที่ 5)

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพของ AgNPs ที่สังเคราะห์ทางชีวภาพต่อความรุนแรงของโรครากเน่าในมันสำปะหลังที่เกิดจาก *Fusarium solani*

Treatment	Disease severity	Disease reduction (%)
Control	4.75±0.50[a]	-
AgNPs	1.00±0.00[b]	78.94±0.00[a]
$AgNO_3$	1.50±0.57[b]	68.42±10.31[a]
Carbendazim	1.25±0.50[b]	73.69±9.46[a]

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (a, b, c) แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามการทดสอบ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.05

ที่มา: Wannaporn *et al.* (2024)

ที่มา: Wannaporn *et al.* (2024)

ภาพที่ 5 การเปรียบเทียบวิธีการจัดการที่แตกต่างกันในมันสำปะหลัง หลังจากการทดสอบติดเชื้อ *Fusarium solani*

การเปรียบเทียบวิธีการจัดการที่แตกต่างกันในมันสำปะหลัง หลังจากการทดสอบติดเชื้อ *Fusarium solani* (a) ชุดควบคุม (b) AgNPs 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (c) $AgNO_3$ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (d) Carbendazim 4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ณัฐติยา และคณะ (2022) ได้ศึกษาการก่อโรคของเชื้อราที่สัมพันธ์กับโรครากเน่ามันสำปะหลังและความผันแปรทางพันธุกรรมของเชื้อรา โดยวางแผนการทดลองแบบ RCBD มี 12 กรรมวิธี (เชื้อรา 12 ไอโซเลท) จำนวน 7 ซ้ำ/กรรมวิธี โดยใช้สปอร์แขวนลอยของเชื้อราที่ความเข้มข้น 106 สปอร์/มล.ปริมาตร 20 มล. เทราดลงในดิน ประเมินความรุนแรงของโรค (disease severity) และดัชนีการเกิดโรค (disease index) หลังจากการปลูกเชื้อเป็นเวลา 14, 21, 28 และ 45 วัน บันทึกลักษณะความผิดปกติบนใบและหลังจาก ปลูกเชื้อที่ 3, 4, 5 และ 6 เดือน บันทึกลักษณะอาการของโรคที่ลำต้น ผลการศึกษาพบว่ามีเชื้อรา *Fusarium* spp. ทั้ง 6 ไอโซเลต พบอาการลำาต้นที่ติดกับรากมี สีน้ำตาล เริ่มมีอาการเซลล์ตาย รากมีสีน้ำตาลดำ มีระดับความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 2.4-2.9 และค่าดัชนีการเกิดโรคระหว่าง 60.2-71.4% เมื่อเปรียบเทียบ กับกรรมวิธีควบคุมที่มีระดับความรุนแรงของโรค เพียง 0.1 และค่าดัชนีการเกิดโรค 3.6 % (ตารางที่ 2 และ ภาพที่ 7)

ตารางที่ 3 ระดับความรุนแรงของโรคและดัชนีโรคในต้นมันสำปะหลังหลังจากการทดสอบติดเชื้อด้วยเชื้อราสาเหตุ

Fungal isolates	Disease severity level	Disease index (%)
Neoscytalidium sp. (RYG23)	3.1 a	71.4
Neoscytalidium sp. (KNI33)	2.9ab	67.9
Neoscytalidium sp. (RBR49)	3.0a	75.0
Neoscytalidium sp. (NMR33)	2.9 ab	71.4
Fusarium sp. (RYG13.1)	2.9 ab	71.4
Fusarium sp. (KNI45.1)	2.9 ab	71.4
Fusarium sp. (RBR26.3)	2.9 ab	71.4
Fusarium sp. (RBR50.2)	2.4 ab	60.7
Fusarium sp. (KNI40)	2.6 ab	64.3
Fusarium sp. (NMR15.3)	2.7 ab	67.9
Pythium sp. (RYG6.1)	1.3 c	32.1
Pythium sp. (RYG10.2)	2.0 bc	50.0
Control (No inoculation)	0.1 d	3.6
CV (%)	32.4	

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่มีตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 1% ตามการทดสอบ DMRT

ที่มา: ณัฐติยา และคณะ (2022)

ที่มา: ณัฐติยา และคณะ (2022)

ภาพที่ 6 อาการของโรคที่พบในใบ ลำต้น และรากของมันสำปะหลัง รวมถึงหัวและลำต้น หลังจากการทดสอบเชื้อเป็นเวลา 6 เดือน

หมายเหตุ: A–B: *Neoscytalidium* sp. (RYG23, KNI33, RBR49, NMR33)

E–J: *Fusarium* spp. (KNI40, RYG13.1, KNI45.1, RBR26.3, RBR50.2, NMR15.3)

K–L: *Pythium* sp. (RYG6.1, RYG10.2)

M: ชุดควบคุม

สรุป

มันสำปะหลัง (*Manihot esculenta* Crantz.) เป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจประเทศไทยผลิตมันสำปะหลังเป็นอันดับ 2 ของโลก โดยปัญหาสำคัญที่ส่งผลให้ผลิตลดลง คือ มีการเข้าทำลายหัวมัน ทำให้เกิดโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Fusarium* sp. ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้ต้องการกระตุ้นความต้านทานโรครากเน่ามันสำปะหลัง (*Manihot esculenta* Crantz) ที่เกิดจาก *Fusarium solani* โดยกรดซาลิไซลิกและ *Bacillus subtilis* วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomised Design: CRD) โดยวิธีที่ใช้ในการศึกษาแบ่งออกเป็น 4 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ T1: กรดซาลิไซลิก ที่ความเข้มข้น 500 ไมโครลิตรต่อลิตร T2: *Bacillus subtilis* JN2-007 ที่ความเข้มข้น 1 × 10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตร T3: Mancozeb (2000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร**)** T4 น้ำ พบว่าใช้กรดซาลิไซ

ลิก 24 ชั่วโมงหลังการเพาะเชื้อ มีความสามารถในการเหนี่ยวนำให้เกิด ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ระดับของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส โพลีฟีนอลออกซิเดส และคาตาเลส สูงพอที่ชี้ให้เห็นว่าสารกระตุ้นมีบทบาทสำคัญในการเหนี่ยวนำการป้องกันพืช ซึ่งนำไปสู่การลดการเกิดโรครากเน่าจากเชื้อรา *Fusarium solani* ในการศึกษาครั้งนี้การสังเคราะห์ทางชีวภาพและการศึกษาลักษณะของ AgNPs จากพืชไตรโคเดอร์มาเพื่อป้องกันโรครากเน่ามันสำปะหลัง พบว่าฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของ AgNPs ในฐานะสารต้านเชื้อรา แสดงให้เห็นได้จากการลดลงของขนาดของโคโลนีเชื้อราเมื่อใช้ AgNPs ที่มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นจนกระทั่งการยับยั้งการเจริญเติบโตอย่างสมบูรณ์ของ *Fusarium solani* ที่ความเข้มข้น > 58 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และที่ความเข้มข้น ≥ 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ในการศึกษาการก่อโรคของเชื้อราที่สัมพันธ์กับโรครากเน่ามันสำปะหลังและความผันแปรทางพันธุกรรมของเชื้อรา พบว่าเชื้อ *Fusarium spp.* ส่งผลทำให้มันสำปะหลังแสดงอาการโรครากเน่ามีระดับความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 2.4-2.9 และค่าดัชนีการเกิดโรคระหว่าง 60.2-71.4% เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม จากผลการทดสอบทำให้เห็นว่าเชื้อรา *Fusarium spp.* นี้มีสัมพันธ์กับการเกิดโรครากเน่า หัวเน่าและลำต้นเน่ามันสำปะหลัง จึงชี้ให้เห็นว่ากรดซาลิไซลิกที่ความเข้มข้น 500 ไมโครลิตรต่อลิตร ที่มีสามารถในการเหนี่ยวนำให้เกิด ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ระดับของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส โพลีฟีนอลออกซิเดส และคาตาเลส 24 ชั่วโมงหลังการเพาะเชื้อสูงพอที่ชี้ให้เห็นว่าสารกระตุ้นมีบทบาทสำคัญในการเหนี่ยวนำการป้องกันพืช ซึ่งนำไปสู่การลดการเกิดโรครากเน่าจากเชื้อรา *Fusarium solani*

เอกสารอ้างอิง

ณัฐติยา พงษ์สุทัศน์, นภาพร พันธุ์กมลศิลป์, ภานุวัฒน์ มูลจันทะ, สุวลักษณ์ อะมะวัลย์, วรรณวิไล อินทนู, จินตนา อันอาตม์งาม. 2565. การก่อโรคของเชื้อราที่สัมพันธ์กับโรคเน่ามันสำาปะหลังและความผันแปร ทางพันธุกรรมของเชื้อรา. วารสารวิชาการเกษตร 40(3): 238-250.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2565. สถิติการค้าสินค้าเกษตรไทยกับต่างประเทศ ปี 2565. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์: กรุงเทพมหานคร.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2566. สถานการณ์สินค้าเกษตรที่สำคัญและแนวโน้มปี 2566. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์: กรุงเทพมหานคร.

Buensanteai N, Mukherjee PK, Horwitz BA, Cheng C, Dangott LJ, Kenerley CM. 2010. Expression and purification of bio logically active *Trichoderma virens* proteinaceous elicitor Sm1 in pichia pastoris. Protein Express Purif. 72:131–138. https1016/j.pep.://doi.org/10. 2010.03.006.

Buensanteai N, Yuen GY, Prathuangwong S. 2009. Priming, sig naling, and protein production associated with induced resistance by *Bacillus amyloliquefaciens* KPS46. World J Microbiol Biotechnol. 25(7):1275–1286. https://doi.org/10. 1007/s11274-009-0014-6.

Buensanteai N, Yuen GY, Prathuangwong S. 2009. Priming, sig naling, and protein production associated with induced resistance by *Bacillus amyloliquefaciens* KPS46. World J Microbiol Biotechnol. 25(7):1275–1286. https://doi.org/10. 1007/s11274-009-0014-6.

Eschen-Lippold L, Altmann S, Rosahl R. 2010. DL-β-aminobutyic acid induced resistance of potato against *Phythopthora* infestans requires salicylic acid but not oxylipins. Mol Plant Microbe Interact. 23(5):585–592. https://doi.org/10.1094/ MPMI-23-5-0585.

Graham JH, Myers ME. 2011. Soil application of SAR inducers imidacloprid, thiamethoxam, and acibenzolar-S-methyl for citrus canker control in young grape fruit trees. Plant Dis. 95:725–728.

Walters D, Newton A, Lyon G. 2007. Induced resistance for plant defence. UK: Blackwell Publishing. https://doi.org/10. 1002/9781118371848.

Nikaji J, Saengchan C, Wongkeaw S, Buensanteai S, Athinuwat D and Buensanteai N. 2015. Efficacy of bioformulation against erwinia carotovora pv. carotovora, causal agent of soft rot disease in Chinese cabbage. Proceedings of the 2015 international forum-agriculture, biology and life science (IFABL), June 23 25, 2015; Sapporo, Japan. pp. 127–134.

Chanon Saengchan, Rungthip Sangpueak, Toan Le Thanh, Piyaporn Phansak and Natthiya Buensanteai. 2022. Induced resistance against Fusarium solani root rot disease in cassava plant (*Manihot esculenta Crantz*) promoted by salicylic acid and Bacillus subtilis. Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science 72(1):516-526.

Wannaporn Thepbandit, Narendra Kumar Papathoti, Nguyen Huy Hoang, Supatcharee Siriwong, Rungthip Sangpueak, Chanon Saengchan, Kansinee Laemchiab, Dusadee Kiddeejing , Kodchaphon Tonpho and Kumrai Buensanteai. 2024.

Bio-synthesis and characterization of silver nanoparticles from Trichoderma species against cassava root rot disease. Scientific reports 3:238-250.