ธัญมน ผิวทอง : การใช้สารทุติยภูมิจากเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ CaSUT007 และไคโตซาน ชักนำความต้านทานต่อโรคเชื้อราในองุ่น (APPLICATION OF SECONDARY METABOLITES OF *Bacillus subtilis* STRAIN CaSUT007 AND CHITOSAN TO INDUCE RESISTANCE AGAINST FUNGAL DISEASES IN GRAPE VINE) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัฐธิญา เบือนสันเทียะ, 120 หน้า.

การควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อราในองุ่นรับประทานผลสดพันธุ์มารูซีดเลส (*Vitis vinifera* cv. Marroo seedless) โดยใช้ความต้านทานจากสิ่งกระตุ้น (elicitor) 2 ชนิด โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพและกลไกของสารทุติยภูมิจากเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ *Bacillus subtillus* สายพันธุ์ CaSUT007 และไคโตซานในการชักนำความต้านทานโรคที่เกิดจากเชื้อราที่สำคัญในองุ่น ทำการทดลองโดยพ่นต้นองุ่นด้วยสิ่งกระตุ้นทั้ง 2 ชนิด คือ สารทุติยภูมิ SecCaSUT007 ที่สกัดจากเชื้อ *B. subtillus* สายพันธุ์ CaSUT007 และไคโตซาน ที่ความเข้มข้น 1000 ppm จำนวน 7 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 7 วัน ในสภาพเรือนทดลอง จากนั้นจึงทำการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคต้นแบบในการทดลอง 2 ชนิด คือ *Plasmopara viticola* สาเหตุโรคราน้ำค้าง และ *Sphaceloma ampelinum* สาเหตุโรคสแคบ พบว่าเมื่อประเมินการเกิดโรค 10 วันหลังปลูกเชื้อ กรรมวิธีที่ใช้ SecCaSUT007 และไคโตซาน สามารถลดการเกิดโรคราน้ำค้างได้ 40 และ 20% และสามารถลดการเกิดโรคสแคบได้ 20 และ 30% ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม เมื่อนำใบองุ่นจากตัวอย่างดังกล่าว ไปวัดปริมาณ salicylic acid (SA), phenolic compound (PC) และ lignin พบว่า หลังจากปลูกเชื้อ *P. viticola* เป็นเวลา 24 ชั่วโมง กรรมวิธีที่ใช้ SecCaSUT007 และไคโตซานทำให้ปริมาณ SA เพิ่มขึ้นเป็น 113.28±0.94 และ 115.83±0.55 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ ปริมาณ PC ลดลงเป็น 9.28±0.02 และ 9.29±0.04 ไมโครกรัมแกลลิคแอซิดต่อกรัมน้ำหนักสด และมีปริมาณ lignin เพิ่มขึ้นเป็น 79.31±0.56 และ 78.32±1.46 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ในขณะที่การปลูกเชื้อ *S. ampelinum* เป็นเวลา 24 ชั่วโมง กรรมวิธีที่ใช้ควบคุมทั้งสองทำให้ปริมาณ SA ลดลงเป็น 107.69±1.41 และ 108.09±0.57 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ปริมาณ SA เท่ากับ 126.23±1.26 และ 108.43±0.50 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ทั้งนี้มีปริมาณ PC เพิ่มขึ้นเป็น 9.25±0.01 และ 9.26±0.00 ไมโครกรัมแกลลิคแอซิดต่อกรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ที่มีปริมาณ PC 9.33±0.02 และ 9.24±0.01 ไมโครกรัมแกลลิคแอซิดต่อกรัมน้ำหนักสด ส่วนปริมาณ lignin เพิ่มขึ้นเป็น 82.12±0.98 และ 82.81±0.44 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ที่มีปริมาณ lignin 78.03±0.79 และ

81.64±0.99 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ กรรมวิธีที่ใช้ SecCaSUT007 และไคโตซาน ทำให้ได้ปริมาณไขมัน ชนิด C-H stretching เท่ากับ 8.91±1.03 และ 8.13±0.13% ตามลำดับ ขณะเดียวกันมีเปอร์เซ็นต์ไขมันชนิด C=O ester เท่ากับ 1.18±0.05 และ 0.97±0.42% ตามลำดับ มีสารในกลุ่ม amide protein เท่ากับ 25.35±1.56 และ 27.65±0.71% ตามลำดับ สารในกลุ่ม CH bending เท่ากับ 8.22±0.40 และ 7.31±0.54% ตามลำดับ สารในกลุ่ม cellulose เท่ากับ 5.85±0.60 และ 5.63±1.53% และสารในกลุ่ม carbohydrate เท่ากับ 50.49±1.58 และ 50.30±1.90% ตามลำดับ ทั้งนี้เมื่อนำสิ่งกระตุ้นทั้ง 2 ชนิดมาทดสอบประสิทธิภาพในแปลงทดลองช่วงฤดูฝน พบว่า SecCaSUT007 และไคโตซาน สามารถลดความรุนแรงของโรค สแคบได้ 5 และ 27% ในระยะแตกใบอ่อนถึงติดผลอ่อน และ 24 และ 27% ในระยะสุกแก่ตามลำดับ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไม่ต่างกันทางสถิติจากชุดควบคุม ทั้งนี้ไม่พบการเข้าทำลายของโรคราน้ำค้างได้ในทั้งสองระยะการเจริญเติบโต ส่วนการทดลองในช่วงฤดูหนาว พบว่า SecCaSUT007 และไคโตซาน สามารถลดความรุนแรงของโรคสแคบได้ 31 และ 46% ในระยะแตกใบอ่อนถึงติดผลอ่อน และลดการเกิดโรคสแคบในระยะสุกแก่ได้ 4 และ 22% ตามลำดับ ทั้งนี้สามารถลดโรคราน้ำค้างในระยะแตกใบอ่อนถึงติดผลอ่อนได้เพียง 6 และ 0% และลดโรคในระยะสุกแก่ได้ 8 และ 7% ตามลำดับ จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า สิ่งกระตุ้นทั้งสองชนิดสามารถชักนำให้องุ่นพันธุ์ต้านทานโรคสแคบได้อย่างมีประสิทธิภาพและควบคุมโรคราน้ำค้างได้บางระยะการเจริญเติบโต ซึ่งสามารถนำข้อมูลนี้ไปประยุกต์ใช้เพื่อลดหรือร่วมกับการใช้สารเคมีในการผลิตองุ่นได้ในอนาคต

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช
ปีการศึกษา 2557

ลายมือชื่อนักศึกษา_____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา_____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม_____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม_____

TUNYAMON PHIWTHONG : APPLICATION OF SECONDARY METABOLITES OF *Bacillus subtilis* STRAIN CaSUT007 AND CHITOSAN TO INDUCE RESISTANCE AGAINST FUNGAL DISEASE IN GRAPE VINE. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. NATTHIYA BUENSANTEAI, Ph.D., 120 PP.

GRAPEVINE/*Bacillus subtilis*/CHITOSAN/FUNGAL DISEASE/INDUCED RESISTANCE/FTIR SPECTROSCOPY

Control of fungal disease in grapevine cv. Marroo seedless (*Vitis vinifera* cv. Marroo seedless) caused by fungi using resistance elicitors was studied. Resistance induction was conducted using two elicitors, the secondary metabolites extracted from *Bacillus subtilis* CaSUT007 and chitosan 1000 ppm using RCBD under greenhouse conditions. The plants were sprayed with resistance elicitors 7 times, 7 days for a week and then they were inoculated with suspension of *Plasmopara viticola* and *Sphaceloma ampelinum* fungal pathogens. It was found that 10 days after pathogen inoculation, foliar treated with SecCaSUT007 and chitosan gave the highest downy mildew disease reduction by 40 and 20 percent, and reduced scab disease by 20 and 30 percent, respectively. Analysis of SA in induced plants found that SecCaSUT007 and chitosan after 24 h for downy mildew gave SA content of 113.28±0.94 and 115.83±0.55 µg g^{-1} fresh weight, respectively. The PC decreased gave 9.28±0.02 and 9.29±0.04 µg GAE g^{-1} fresh weight, while the lignin increased gave 79.31±0.56 and 78.32±1.46 µg g^{-1}dry weight, respectively. In addition, of SA in induced grapevine against scab disease found that SecCaSUT007 and chitosan after 24 h after pathogen inoculation gave SA content of 107.69±1.41 and 108.09±0.57 µg g^{-1} fresh weight,

respectively. The PC decreased gave 9.25±0.01 and 9.26±0.00 µg GAE g^{-1} fresh weight, while the lignin increased gave 82.12±0.98 and 82.81±0.44 µg g^{-1}dry weight, respectively. The SecCaSUT007 and chitosan treatment increased significantly with C-H stretching by 8.91±1.03 and 8.13±0.13 percent, C=O ester by 1.18±0.05 and 0.97±0.42 percent, amide protein by 25.35±1.56 and 27.65±0.71 percent, CH bending by 8.22±0.40 and 7.31±0.54 percent, cellulose by 5.85±0.60 and 5.63±1.53 percent, and carbohydrate by 50.49±1.58 and 50.30±1.90 percent, respectively. These experiments were conducted under vineyard conditions. In the rainy season, the results indicate that SecCaSUT007 and chitosan can reduce scab severity up to 5 and 27 percent at the fruiting stage and 24 and 27 percent at the veraison stage and are asymptomatic of downy mildew disease in both stages of plant growth. In the winter, both elicitors can reduce scab severity up to 31 and 46 percent at the fruiting stage and 4 and 22 percent at the veraison stage. While both elicitors reduced downy mildew at 6 and 0 percent at the fruiting stage and 8 and 7 percent at the veraison stage, respectively. Our findings demonstrate therefore that the SecCaSUT007 and chitosan can be used to reduce the severity of fungal disease in grapevine production under vineyard conditions.

School of Crop Production Technology

Academic Year 2014

Student's Signature_____

Advisor's Signature_____

Co-advisor's Signature_____

Co-advisor's Signature_____