ฌาตยา ทองพรม : การควบคุมโรคแอนแทรคโนสของหอมแบ่งด้วยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* (BIOLOGICAL CONTROL OF ANTHRACNOSE ON GREEN SHALLOT USING ANTAGONISTIC *Bacillus subtilis*) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัฐธิญา เบือนสันเทียะ, 122 หน้า.

โรคแอนแทรคโนส เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* เป็นโรคที่มีความสำคัญของหอมแบ่งในประเทศไทย โดยทำความเสียหายให้กับผลผลิตของหอมแบ่งสูงถึง 80% ในพื้นที่ปลูกหอมแบ่ง การศึกษาครั้งนี้มี วัตถุประสงค์เพื่อประเมินประสิทธิภาพสาร biosurfactants จากเชื้อ *Bacillus subtilis* ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตและกระตุ้นความต้านทานของหอมแบ่ง โดยทำการทดสอบสาร biosurfactants ที่ผลิตได้จากเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ D604 ในการยับยั้งการเจริญของโคโลนีเชื้อราพบว่า สาร biosurfactants จากเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ D604 ที่ปริมาณ 150 และ 200 ไมโครลิตร สามารถยับยั้งการเจริญโคโลนีเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ 70.81 และ 73.48% ตามลำดับ จากนั้นนำสาร biosurfactants จากเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ D604 เปรียบเทียบกับสารเคมีโพรคลอราซ และ *B. subtilis* ทางการค้า ต่อการควบคุมและชักนำความต้านทานโรคแอนแทรคโนสในหอมแบ่งที่อายุ 28 วัน ในสภาพโรงเรือนทดลอง และฉีดพ่นทุก 7 วัน จำนวน 4 ครั้ง เมื่อฉีดพ่นครั้งสุดท้าย 7 วัน ทำการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* พบว่า กรรมวิธีที่ใช้สารเคมีโพรคลอราซ และ biosurfactants สามารถลดการเกิดโรคได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ 64.70 และ 58.80% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม นอกจากนี้ เมื่อฉีดพ่น biosurfactants จากเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ D604 พบว่า สารดังกล่าวยังสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของหอมแบ่งทั้งเพิ่มน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง รวมทั้งความสูงต้นสูงที่สุดที่ 30.34 เซนติเมตร 119.96 และ 32.69 กรัม ตามลำดับ และเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ปริมาณการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ และออกซินสูงที่สุดที่ 25.86 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร และ 14.76 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด จากนั้นทำการทดสอบกลไกการปกป้องตนเอง ได้แก่ ปริมาณรวมของสารฟีนอลิก (PCs) และปริมาณกรดซาลิไซลิก (SA) ปริมาณกิจกรรมเอนไซม์ phenylalanine ammonia-lyase (PAL) และ chitinase (Chi) ที่ 0 24 และ 48 ชั่วโมง ภายหลังการปลูกเชื้อ ผลการทดลองพบว่า ปริมาณรวมของสารฟีนอลิกเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญภายหลังการปลูกเชื้อ 24 ชั่วโมง ที่ 352.71 316.87 296.87 และ 281.50 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด จากการฉีดพ่นด้วย biosurfactants จากเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ D604, สารแขวนลอย *B. subtilis* สายพันธุ์ D604, *B. subtilis* ทางการค้า และสารเคมีโพรคลอราซ ตามลำดับ เช่นเดียวกันกับปริมาณ SA ที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นที่ 24 ชั่วโมง สูงที่สุดที่ 103.58 116.83 90.67 และ 87.04 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสดตามลำดับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกับปริมาณกิจกรรมเอนไซม์ PAL มีแนวโน้มสูงที่สุดที่ 15.39 9.93 7.36 และ 5.55 ไมโครโมลต่อมิลลิกรัมโปรตีนตามลำดับ ในขณะเดียวกัน

กิจกรรมเอนไซม์ไคติเนสเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ สูงที่สุดที่ 4.11 3.19 2.52 และ 2.46 ไมโครโมลต่อมิลลิกรัมโปรตีน เมื่อฉีดพ่นด้วย biosurfactants จากเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ D604, สารเคมีโพรคลอราซ, สารแขวนลอย *B. subtilis* สายพันธุ์ D604 และ *B. subtilis* ทางการค้า จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าสาร biosurfactants จากเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ D604 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสในหอมแบ่งทั้งกลไกทางตรงและทางอ้อม โดยมีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโต มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคโดยตรง และสามารถชักนำให้เกิดกระบวนการปกป้องตนเองต่อการเข้าทำลายเชื้อสาเหตุโรค ดังนั้นการชักนำความต้านทานพืชโดยใช้สาร biosurfactants จึงเป็นทางเลือกในการนำไปใช้ในระบบการผลิตหอมแบ่งปลอดภัย ลดการใช้สารมีในการควบคุมโรค และลดสารเคมีตกค้างซึ่งเป็นอันตรายต่อเกษตรกร ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช ลายมือชื่อนักศึกษา _____

ปีการศึกษา 2562 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา _____

NATTAYA THONGPROM : BIOLOGICAL CONTROL OF ANTHRACNOSE ON GREEN SHALLOT USING ANTAGONISTIC *Bacillus subtilis.* THESIS ADVISOR : ASST. PROF. NATTHIYA BUENSANTEAI, Ph.D., 122 PP.

BIOSURFACTANTS/SECONDARY METABOLITE/LIPOPEPTIDES/INDUCE RESISTANT/*Colletotrichum gloeosporioides*

Anthracnose disease, caused by *Colletotrichum gloeosporioides*, is an important disease of the green shallot in Thailand. It can reduce green shallot products, causing up to 80% yield losses in green shallot growing areas. The objective of this study was to evaluate the efficiency of biosurfactants produced by *Bacillus subtilis* on growth promotion and induced resistance in green shallot. The efficacy of biosurfactant from *B. subtilis* strain D604 on fungal growth colony inhibition was investigated. The results showed that the biosurfactant *B. subtilis* strain D604 at the volumes of 150 and 200 µl can significantly inhibit *C. gloeosporioides* colony growth at 70.81 and 73.48%, respectively. Then biosurfactant from the *B. subtilis* strain D604 was compared with the *B. subtilis* strain D604, Prochloraz, and commercial *B. subtilis* was used to investigate anthracnose disease control and resistant mechanisms induced after 28 days green shallot under greenhouse conditions. When applied biosurfactant at every 7 days for 4 times and then inoculated with *C. gloeosporioides* at 7 days after foliar treatment, the results showed that Prochloraz and biosurfactants could significantly reduce anthracnose disease severity up to 64.70 and 58.80% respectively, when compared with the control. Besides, when applied biosurfactant as a foliar treatment, it was found that biosurfactant from *B. subtilis* strain D604 affects plant growth including fresh weight, dry weight, plant height at 30.34 cm, 119.96 and 32.69 g, respectively, and significantly

increased chlorophyll and auxin content at 25.86 µl mL^{-1} and 14.76 µg g^{-1} fresh weight. Moreover, for the defense mechanism investigation in green shallot leaves such as phenolic compound (PCs) and salicylic acid (SA), the defense enzymes: phenylalanine ammonia-lyase (PAL), and PR-protein: chitinase (Chi) were investigated at 0 24 and 48 hours after inoculation (HAI). The results found that the total of PCs significantly increased at 24 HAI to levels of 352.71 316.87, 296.87, and 281.50 µg g^{-1} fresh weight from foliar treated with biosurfactant *B. subtilis* strain D604, *B. subtilis* strain D604, commercial *B. subtilis*, and Prochloraz, respectively. Likewise, the accumulation of SA significantly increased at 24 HAI to levels of 103.58, 116.83, 90.67, and 87.04 µg g^{-1} fresh weight, respectively. Similarly, PAL activity also significantly increased at 24 HAI with levels of 15.39, 9.93, 7.36, and 5.55 µmol mg^{-1}protein, respectively. On the other hand, Chi activity significantly increased at 24 HAI with levels of 4.11, 3.19, 2.52, and 2.46 µmol mg^{-1}protein from foliar treated with biosurfactant strain D604, Prochloraz, *B. subtilis* strain D604, and commercial *B. subtilis*, respectively. These results indicated that the biosurfactant *B. subtilis* strain D604 has direct and indirect effects that could act as plant growth promotion and as an antimicrobial agent and activate several plant defense mechanisms during host-pathogen interaction. Induced plant resistance using biosurfactants can be an alternative method to control green shallot disease. This is an agricultural safety biosurfactant to reduce chemical fungicide for the farmer, consumer, and the environment.

School of Crop Production Technology Student's Signature Nattaya Thongprom

Academic Year 2019 Advisor's Signature