กชพร ต้นโพธิ์ : ประสิทธิภาพของการพอกเมล็ดพันธุ์และการฉีดพ่นทางใบด้วย *Bacillus subtilis* 168-2 เพื่อควบคุมโรคใบจุดของผักกาดหอม (EFFICIENCY OF SEED BIO-PELLETING AND FOLIAR SPRAY BY USING *Bacillus subtilis* 168-2 TO CONTROL LEAF SPOT DISEASE ON LETTUCE) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัฐธิญา เบือนสันเทียะ, 91 หน้า.

ผักกาดหอม/การพอกเมล็ดพันธุ์/การฉีดพ่นทางใบ/โรคใบจุด/*Bacillus subtilis* 168-2

เมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมมีรูปร่างขนาดเล็ก อาหารสะสมในเมล็ดน้อย การพอกเมล็ดพันธุ์เป็นวิธีการเพิ่มคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ที่สามารถทำให้เพาะกล้าได้ง่ายขึ้น วัสดุพอกเป็นองค์ประกอบที่สำคัญที่จะทำให้การพอกเมล็ดพันธุ์ประสบความสำเร็จได้ และโรคใบจุดเป็นหนึ่งในสาเหตุที่ทำความเสียหายให้แก่ผักกาดหอม การพอกเมล็ดพันธุ์และการฉีดพ่นทางใบด้วย *Bacillus subtilis* 168-2 สามารถควบคุมโรคใบจุดและส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักกาดหอมได้ ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบการพอกเมล็ดพันธุ์ด้วย *B. subtilis* 168-2 ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและตรวจสอบกลไกการชักนำความต้านทานโรคใบจุด *Alternaria alternata* โดยการพอกเมล็ดพันธุ์และการฉีดพ่นทางใบด้วย *B. subtilis* 168-2 จากผลการตรวจสอบในสภาพห้องปฏิบัติการพบว่า การพอกเมล็ดพันธุ์พอกด้วย calcium sulfate ร่วมกับ *B. subtilis* 168-2 ความเข้มข้น 10^8 cfu/ml (SeedBio 3) เมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมสามารถขึ้นรูปเมล็ดพอกได้ง่าย มีความกร่อนต่ำ และสามารถละลายน้ำได้ดี เมื่อตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์หลังการพอก พบว่า SeedBio 3 ทำให้เมล็ดพันธุ์มีความงอกและความเร็วในการงอกสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่นๆ นอกจากนี้ยังพบว่า การพอกเมล็ดพันธุ์ทำให้ราก และลำต้นของต้นกล้าผักกาดหอมมีความยาวมากกว่าเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ผ่านการ ส่วนการทดสอบในสภาพโรงเรือนได้คัดเลือก SeedBio 3 และฉีดพ่นด้วยสิ่งกระตุ้น 4 ครั้ง พบว่า การพอกเมล็ดพันธุ์(SeedBio 3) และการฉีดพ่นด้วย *B. subtilis* 168-2 ความเข้มข้น 10^8 cfu/ml (กรรมวิธีที่ 5) สามารถลดการเกิดโรคใบจุดผักกาดหอมได้ 47.3% เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม และมีน้ำหนักสดสูงที่สุด 86.56 กรัม/ต้น และมีน้ำหนักแห้งสูงที่สุด 8.93 กรัม/ต้น ซึ่งมากกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากนั้นคัดเลือกตัวอย่างใบผักกาดหอม มาทำการตรวจสอบกลไกการปกป้องตัวเองได้แก่ ปริมาณกรดซาลิไซลิก (SA) และปริมาณการสะสม superoxide dismutase (SOD) ตรวจสอบปริมาณการสะสม indole-3-acetic acid (IAA) ผักกาดหอมที่พอกเมล็ดและฉีดพ่นด้วยกรรมวิธีที่ 3 (SeedBio 3 และฉีดพ่นด้วย *B. subtilis* 10^8 cfu/ml) สูงสุดที่ 10.68 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักสด รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 4 (SeedBio 3 และฉีดพ่นด้วย Mancozeb) ที่ 9.67 ไมโครกรัม

ต่อน้ำหนักสด ตามลำดับ และกรรมวิธีที่ 3 สามารถชักนำภูมิต้านทานโรคโดยกระตุ้นให้สะสม SOD สูงสุดที่ 17.76 ไมโครกรัมแคททีคอล/มิลลิกรัมโปรตีน ซึ่งมากกว่าและแตกต่างกันในทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกรรมวิธีที่ 4 (15.60 ไมโครกรัมแคททีคอล/มิลลิกรัมโปรตีน) และมีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักกาดหอมโดยกระตุ้นให้สะสม indole-3-acetic acid ในกรรมวิธีที่ 3 เท่ากับ 12.67 ไมโครกรัม/มิลลิกรัมน้ำหนักสด ที่ 0 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อ (HAI) ซึ่งสูงมากกว่ากรรมวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีแนวโน้มการสะสม IAA เพิ่มขึ้นในช่วงเวลา 24 HAI เท่ากับ 16.98 ไมโครกรัม/มิลลิกรัมน้ำหนักสด ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้เมื่อนำใบผักกาดหอมที่ฉีดพ่นด้วยสิ่งกระตุ้นและภายหลังการปลูกเชื้อ 24 ชั่วโมง มาตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงสารชีวเคมีด้วยเทคนิค Synchrotron FT-IR microspectroscopy พบว่า การพอกเมล็ด (SeedBio 3) และฉีดพ่นด้วย *B. subtilis* 168-2 ความเข้มข้น 10^8 cfu/ml (กรรมวิธีที่ 3) ส่งเสริมให้ผักกาดหอมมีการสังเคราะห์สารในกลุ่มเพคติน C=O ester และกรดอะมิโน เอไมด์ I และ เอไมด์ II ในเนื้อเยื่อชั้นมีโซฟิลล์เพิ่มขึ้นที่ 0.166± 0.023, 0.112± 0.012 และ 0.077± 0.015 ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการพอกเมล็ดและการฉีดพ่นด้วยกรรมวิธีที่ 3 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบจุดผักกาดหอมโดยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคโดยชักนำให้ผักกาดหอมเกิดกระบวนการปกป้องต้นเองให้ต้านทานต่อเชื้อราสาเหตุโรคเสริมสร้างความแข็งแกร่งของผนังเซลล์ผักกาดหอมให้มีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อก่อโรค การพอกเมล็ดพันธุ์ (SeedBio 3) และฉีดพ่นด้วย *B. subtilis* 168-2 ความเข้มข้น 10^8 cfu/ml (กรรมวิธีที่ 3) จึงเป็นแนวทางที่เหมาะสมในการนำไปใช้ในระบบการผลิตผักกาดหอมอินทรีย์ ลดการใช้สารเคมีในการควบคุมโรค และยกระดับคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ ดังนั้นในธุรกิจเมล็ดพันธุ์จึงอาศัยเทคโนโลยีการพอกเมล็ดพันธุ์ (Seed pelleting) เพื่อเพิ่มคุณภาพเมล็ดพันธุ์ส่งเสริมการงอก ต้นกล้าแข็งแรง ลดโรคในระยะต้นกล้า รวมไปถึงเป็นการสร้างเอกลักษณ์บนผิวของเมล็ดพันธุ์เพื่อป้องกันการปะปนของเมล็ดพันธุ์ ซึ่งสามารถประยุกต์ใช้ในเชิงพาณิชย์และทำให้เกษตรกรมีเมล็ดพันธุ์ที่ดีมีคุณภาพในระบบการเพาะปลูก

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช ลายมือชื่อนักศึกษา .....

ปีการศึกษา 2565 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

KODCHAPHON TONPHO : EFFICIENCY OF SEED BIO-PELLETING AND FOLIAR SPRAY BY USING *Bacillus subtilis* 168-2 TO CONTROL LEAF SPOT DISEASE ON LETTUCE. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. NATTHIYA BUENSANTEAI, Ph.D., 91 PP.

LETTUCE/SEED PELLETING/FOLIAR SPRAY/LEAF SPOT DISEASE/*Bacillus subtilis* 168-2

Lettuce seeds are small and have less food accumulated in the seed. Seed pelleting is a way to raise the quality of the seeds that can make them suitable for planting. Filter materials are key elements to making seed pelleting successful. Leaf spot disease is one of the most serious problems in lettuce production. Seed pelleting and foliar spraying with *Bacillus subtilis* 168-2 are able to control leaf spot disease and promote lettuce growth. Therefore, this research aims (1) to examine the potential of lettuce seed pelleting with *B. subtilis* 168-2 to enhance plant growth and control lettuce leaf spot disease, and (2) to investigate the induced resistance mechanism against *Alternaria alternata* in lettuce plants after seed pelleting and foliar spraying with *B. subtilis* 168-2. From the results of the examination in laboratory conditions, it was found that seed pelleting with calcium sulfate and *B. subtilis* 168-2 at a concentration of 10^8 cfu/ml (SeedBio 3) can be easily shaped. These pelleted seeds had low friability and dissolved in water very well. The quality test of the pelleted seeds found that these pelleted seeds (SeedBio 3) also had the highest germination rate and the highest speed of germination when compared with the other treatments. Also, the result pointed at that the seedling of pelleted seeds had longer root length and shoot length than most of the seeds unpelleted. Under greenhouse conditions, the pelleted seeds (SeedBio 3) were selected for plating and sprayed with elicitors 4 times before inoculating with *A. alternata*. The results showed that the treatment of seed pelleted (SeedBio 3) combined with spraying *B. subtilis* 168-2 at a concentration of 10^8 cfu/ml (Treatment 5) significantly reduced the severity of lettuce leaf spot disease by 47.3% compared with the control treatment. Moreover, Treatment 5 maximized fresh weight 86.56 g/plant and dry weight 8.93 g/plant, which was significantly higher than those of the control treatment. Then, samples of lettuce leaves were selected to examine the defense mechanisms including salicylic acid (SA), superoxide dismutase (SOD) and plant growth regulator indole-3-acetic acid (IAA). Treatment 3 (SeedBio 3 and sprayed with *B. subtilis* 168-2 10^8) increased the

SA accumulation to the maximum at 24 hours after inoculating (HAI) with 10.68 µg g^{-1} fresh weight, followed by Treatment 4 (SeedBio 3 and sprayed with Mancozeb) which had 9.67 µg g^{-1} fresh weight. The SOD activity was maximum in Treatment 3 with 17.76 µg catechol /mg^{-1} protein, which was significantly higher than Treatment 4 (15.60 µg catechol /mg^{-1} protein). The accumulation of IAA in treatment 3 was 12.67 µg/mg^{-1} fresh weight at 0 HAI, which was significantly higher than those in the other treatments. After that, the IAA accumulation of Treatment 3 increased to 16.98 µg/mg^{-1} fresh weight at 24 HAI. In addition, the lettuce leaf samples at 24 HAI were investigated for their biochemical changes by the Synchrotron Fourier-transform infrared (FT-IR) microspectroscopy technique. The results showed that the integral area of pectin C=O ester group and amino acid, amide I and amide II increased at the levels of 0.166 ± 0.023, 0.112 ± 0.012, and 0.077± 0.015, respectively. The amount of pectin, amide I, and amide II in the mesophyll tissue of Treatment 3 was significantly higher than those in the control. Our results indicated that the seed pelleting (SeedBio 3) and spraying with *B. subtilis* 168-2 at a concentration of 10^8 cfu/ml (Treatment 3) were effective in controlling lettuce leaf spot disease by inducing plant resistance, and can play a role in plant cell wall reinforcement against plant pathogen. This Treatment 3 is therefore an appropriate approach to be used in the organic lettuce production system as it reduces chemical fungicide use and improves the quality of seeds. Therefore, in the seed business, seed pelleting technology should be used to increase seed quality, to promote germination and strong seedlings, to reduce disease in the seedling stage, as well as to create a unique identity on the seed to prevent seed contamination. Also, it can be applied for commercial use and enable farmers to have quality seeds in the cultivation system.

School of Crop Production Technology
Academic Year 2022

Student's Signature Kodchaphon Tongho
Advisor's Signature .....