ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การยับยั้งการเจริญเติบโตของราก่อโรคต่อผลส้มโดยแบคทีเรียทนอุณหภูมิสูงที่ผลิต ไคติเนส และ บีตา-1,3-กลูคาเนส
ชื่อผู้เขียน	ว่าที่ ร.ต. ปฏิพันธ์ นันทขว้าง
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต	สาขาวิชาชีววิทยา
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ผศ. อภิญญา ผลิโกมล ประธานกรรมการ
	ผศ. ดร. วิชชา สอาดสุด กรรมการ
	อ. ดร. อุราภรณ์ สอาดสุด กรรมการ
	อ. ดร. ดารารัตน์ ทองขาว กรรมการ

บทคัดย่อ

นำผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งที่ติดเชื้อมาแยกเชื้อสาเหตุ *Penicillium digitatum* และ *Colletotrichum gloeosporioides* จากผลส้มที่เป็นโรคราเขียวและโรคแอนแทรคโนส ตามลำดับ ทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อราทั้งสองชนิดนี้บนผลส้ม พบว่า เชื้อราทั้งสองยังคงทำให้ผลส้มเกิดอาการของโรคได้ เมื่อนำแบคทีเรีย 200 ไอโซเลท จากหน่วยเก็บเชื้อจุลินทรีย์ สาขาวิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ มาทดสอบการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อ *P. digitatum* และ *C. gloeosporioides* โดยวิธี dual culture พบว่า 80 ไอโซเลท เป็นเชื้อปฏิปักษ์ ต่อ *P. digitatum* และมี 19 ไอโซเลท ที่เป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อเชื้อราก่อโรคทั้งสองชนิด แบคทีเรียทั้ง 19 ไอโซเลท เจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 20 ถึง 60 องศาเซลเซียส และมีเพียงไอโซเลท P184 เท่านั้นที่ใช้เปลือกกุ้งป่นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ chitin agar ได้ แบคทีเรียไอโซเลท P184 บ่งบอกชนิดได้ว่าเป็น *Bacillus coagulans*

B. coagulans P184 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งเปลือกกุ้งป่น ณ อุณหภูมิห้อง (28 ± 2 ^{o}C) เป็นเวลา 15 วัน สามารถผลิต chitinase activity และ β-1,3- glucanase activity เท่ากับ 0.39, 1.91 U/ml ส่วน specific activity เท่ากับ 3.83, 19.14 U/mg protein ตามลำดับ สกัดสารที่ผลิตในอาหาร

แข็งเปลือกกุ้งป่นด้วยฟอสเฟตบัพเฟอร์และกรอง นำน้ำกรองเลี้ยงเชื้อมาทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคทั้งสองชนิด ด้วยวิธี paper disc diffusion พบว่า น้ำกรองเลี้ยงเชื้อไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคทั้งสองชนิดได้ ชุบผลส้มด้วย cell suspension ของ *B. coagulans* P184 และบ่มเชื้อในสภาพชื้น เป็นเวลา 3 วัน พบว่า มีจำนวนโคโลนีเฉลี่ยบนผลส้มแต่ละลูก เท่ากับ 4.38 X 10^8 CFU/ml นำผลส้มปกติและผลส้มที่ผ่านการปลูกเชื้อ *P. digitatum* และ *C. gloeosporioides* ชุบใน cell suspension ของ *B. coagulans* P184 จากเชื้อที่เลี้ยงในอาหารแข็งเปลือกกุ้งป่น และ nutrient broth พบว่า *B. coagulans* P184 จากอาหารแข็งเปลือกกุ้งป่น สามารถป้องกันและกำจัด *C. gloeosporioides* โดยลดการเกิดโรคและควบคุมการลุกลามของเชื้อราบริเวณบาดแผลบนผิวส้ม

Thesis Title	Growth Inhibition of Orange Fruit Pathogenic Molds by Thermotolerant Chitinase and β-1,3- Glucanase - Producing Bacteria
Author	Acting Sub Lt. Patiphan Nanthakhwang
M.S.	Biology

Examining Committee		
	Asst. Prof. Abhinya Plikomol	Chairperson
	Asst. Prof. Dr. Vicha Sardsud	Member
	Lect. Dr. Uraporn Sardsud	Member
	Lect. Dr. Dararat Tongkao	Member

Abstract

Infected orange fruits cultivar Sweet Honey were taken for isolation of *P. digitatum* and *C. gloeosporioides*, the causal agents of green mold and anthracnose diseases, respectively. In pathogenicity test, both fungi produced their typical symptoms. Two hundred bacterial isolates from Microbiology Section, Chiang Mai University culture collection were tested for the antagonistic effect against *P. digitatum* and *C gloeosporioides* by dual culture method. The results revealed that eighty isolates had antagonistic effect to *P. digitatum* and nineteen isolates were antagonists to both pathogenic molds. These nineteen isolates grew on a wide rage of temperatures between 20 to 60 ^{o}C and the isolate P184, identified as *Bacillus coagulans* was the only one able to utilize crashed shrimp shells on chitin agar medium.

B. coagulans P184 cultured on the solid medium with crashed shrimp shells produced the chitinase and β-1,3- glucanase activities of 0.39, 1.91 U/ml and specific activity of 3.83, 19.14 U/mg protein, respectively after incubation at an ambient temperature (28±2 ^{o}C) for 15

days. Substances produced on the medium were extracted by phosphate buffer then filtered. The filtrate was tested against both fungi by paper disc diffusion method. It was found that this filtrate could not inhibit the molds. The orange fruits were dipped into cell suspension of *B. coagulans* P184 and incubated in moist condition for 3 days. The average of colonies on the orange peel were 4.38 X 10^8 CFU/fruit. The orange fruits inoculated with *P. digitatum* and *C. gloeosporioides* and the healthy ones were dipped into cell suspension of *B. coagulans* P184 prepared from the culture in crashed shrimp shells and nutrient broth. The results came out that only the cell suspension from crashed shrimp shells was able to control *C. gloeosporioides* by reducing disease incidence and controlling invasion of the mold on the orange peel's wound.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University