

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

การยับยั้งการเติบโตของเชื้อก่อโรคเหี่ยวในปทุมมาโดย
แบคทีเรียปฏิปักษ์

ผู้เขียน

นางสาวจิราภา คุโณปการ

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

อ. ดร. นฤมล ทองไว

บทคัดย่อ

จากการแยกแบคทีเรียก่อโรคเหี่ยวในปทุมมาจากหัวพันธุ์ที่เป็นโรคและดินบริเวณรอบหัวพันธุ์ในสวนปลูกปทุมมา อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ โดยอาหาร TZC พบว่าสามารถแยกได้ทั้งสิ้น 94 ไอโซเลท เมื่อนำแบคทีเรียไอโซเลท RRD, RT1S, PT1B และ PT1J มาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคเหี่ยวในปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่พิงค์ พบว่าทุกไอโซเลทสามารถก่อให้เกิดโรคเหี่ยวได้ โดยไอโซเลท RRD และ PT1J ก่อให้เกิดโรคได้ดีที่สุด จากการตรวจสอบพบว่าแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 4 ไอโซเลทนี้ คือ *Ralstonia solanacearum* ในขณะเดียวกันได้ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียจากดินบริเวณแปลงปลูกปทุมมาและดินรอบรากพืชตระกูลขิง ด้วยอาหาร TSA พบว่าสามารถแยกเชื้อได้ 76 ไอโซเลท ในจำนวนนี้มี 5 ไอโซเลท คือ N9C8, N9A, N11IV, Ba3 และ Ba4 ที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคเหี่ยวในปทุมมาได้ดีที่สุด ซึ่งจากการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยา และคุณสมบัติทางชีวเคมีบางประการบ่งบอกว่าไอโซเลท N9C8, N11IV, และ Ba4 จัดอยู่ในจีนัส *Bacillus* โดย Ba4 คือ *B. megaterium* ส่วนไอโซเลท N9A และ Ba3 จัดอยู่ในกลุ่ม Enterobacteria จากการศึกษพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสร้างสารยับยั้งของแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 5 ไอโซเลทคือ ที่อุณหภูมิ 30°C ในอาหารเลี้ยงเชื้อ pH 7 ที่มีส่วนประกอบ glucose 0.25 % (w/v) และ peptone 2.0 % (w/v) เมื่อนำแบคทีเรียปฏิปักษ์ไปทดสอบในกระถางปลูก โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 กลุ่ม พบว่ากลุ่มที่ 1 ที่ทำการเพาะเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์พร้อมกับเชื้อก่อโรคเหี่ยวตอนเริ่มปลูกปทุมมา และกลุ่มที่ 2 ที่ทำการเพาะเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์พร้อมกับเชื้อก่อโรคเหี่ยวตอนต้นปทุมมางอก มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 7 % ส่วนกลุ่มที่ 3 ที่ทำการเพาะเชื้อก่อโรค

เหี่ยวเมื่อเริ่มปลูก และตามด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์ภายหลังจากต้นปทุมมาออกมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 33 % เมื่อตรวจสอบหาปริมาณของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์และ เชื้อแบคทีเรียก่อโรคเหี่ยวในดินปลูก พบว่าในกลุ่มที่ 1 และ 2 มีปริมาณของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในดินสูงใกล้เคียงกัน โดยไอโซเลท N9A และ Ba3 มีจำนวน $1 \times 10^7 - 1 \times 10^8$ cfu/g ส่วนไอโซเลท N9C8, N11IV และ Ba4 มีจำนวน $1 \times 10^6 - 1 \times 10^7$ cfu/g และพบการลดลงของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเหี่ยวไอโซเลท PT1J โดยในเดือนที่ 4 และ 5 มีจำนวนเหลือ $1 \times 10^3 - 1 \times 10^4$ cfu/g สำหรับการทดลองในกลุ่มที่ 3 พบเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทุกไอโซเลท มีจำนวน $1 \times 10^6 - 1 \times 10^7$ cfu/g ส่วนเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเหี่ยวไอโซเลท PT1J มีจำนวน $1 \times 10^4 - 1 \times 10^5$ cfu/g ในเดือนที่ 4 และ 5 อย่างไรก็ตามทั้ง 3 กลุ่มการทดลองสามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคได้เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ให้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ร่วมกับการปลูก

Thesis Title Growth Inhibition of Microbes Causing Wilt in
Curcuma alismatifolia Gagnep. by Antagonistic
Bacteria

Author Miss. Jirapa Kunopagan

Degree Master of Science (Biology)

Thesis Advisor Lecturer Dr. Narumol Thongwai

Abstract

Ninety – four isolates of wilt causing bacteria were isolated from infected rhizomes of Pathummas and soils around infected Pathummas' rhizomes from amphur Sansai, Chiang Mai province by using TZC medium. Four isolates, RRD, RT1S, PT1B and PT1J, were selected to further study their ability to cause wilt in Pathumma, Chiang Mai Pink. It was found that all tested isolates were able to cause disease with the highest activity of isolates RRD and PT1J. All four isolates were identified as *Ralstonia solanacearum*. At the same time, seventy – six isolates of bacteria were isolated from soils in Pathummas' beds and soils from surrounding roots of *Zingiberaceae* plants by using TSA medium. Among these, five isolates namely N9C8, N9A, N11IV, Ba3 and Ba4 had the highest ability to inhibit growth of wilt causing bacteria. From the morphological and biochemical evaluation, it was indicated that isolates N9C8 and N11IV were *Bacillus* sp. while isolate Ba4 was *B. megaterium*, and isolates N9A and ba3 were in Enterobacteria group. The optimal conditions for production of inhibiting substance from these antagonistic bacteria were at 30° C in pH 7 medium containing 0.25 % (w/v) glucose and 2.0 % (w/v) peptone. The three experimental designs were used to evaluate the ability of the antagonistic bacteria to inhibit growth of *R. solanacearum* in pots of Pathummas. Experiment 1, the antagonistic bacteria as well as *R. solanacearum* were inoculated to the pot at the beginning of the cultivation. Experiment 2, the antagonistic bacteria and *R. solanacearum* were inoculated

when the plant shooted. Experiment 3, the antagonistic bacteria were inoculated to the shooting plants while *R. solanacearum* was inoculated at the beginning of the cultivation. It was found that the experiment 1 and 2 could cause wilt disease by 7 % while the experiment 3 could cause the disease by 33 %. The bacterial cell counts in the experiment 1 and 2 were close, there were $1 \times 10^7 - 1 \times 10^8$ cfu/g for each of N9A and Ba3 and $1 \times 10^6 - 1 \times 10^7$ cfu/g for each of N9C8, N11IV and Ba4. Both experiments 1 and 2 were found reduced amount of *R. solanacearum* PT1J which was $1 \times 10^3 - 1 \times 10^4$ cfu/g on month 4 and 5. It was found that the cell counts of each antagonistic bacterial isolate were $1 \times 10^6 - 1 \times 10^7$ cfu/g while the *R. solanacearum* was $1 \times 10^4 - 1 \times 10^5$ cfu/g on month 4 and 5. Nevertheless, all three experimental designs could decrease the disease comparing to the controlled plants which were not treated with the antagonistic bacteria.