ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การยับยั้งการเจริญของราก่อโรคต่อผลลำไยโดยจุลินทรีย์ที่ผลิตไคติเนสและทนอุณหภูมิสูง
ชื่อผู้เขียน	น.ส. ศิริลาภา สมานมิตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต	สาขาวิชาชีววิทยา
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ อภิญญา ผลิโกมล ประธานกรรมการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิชชา สอาดสุด กรรมการ อาจารย์ ดร. ดารารัตน์ ทองขาว กรรมการ

บทคัดย่อ

เชื้อรา 3 ชนิดคือ *Fusarium* sp. *Cladosporium* sp. และ *Lasiodiplodia* sp. เป็นเชื้อราหลัก ๆ ที่ก่อให้เกิดปัญหากับผลผลิตลำไยทางภาคเหนือของไทย จากจุลินทรีย์จำนวน 242 ไอโซเลท ที่ผลิตไคติเนสซึ่งแยกจากตัวอย่างดิน ตัวอย่างอาหารและจากหน่วยเก็บเชื้อจุลินทรีย์ Microbiology Section, Chiang Mai University พบว่ามี 40 ไอโซเลทเป็นเชื้อราและแบคทีเรียทนอุณหภูมิสูง เมื่อนำมาทดสอบการเป็นเชื้อปฏิปักษ์โดยวิธี dual culture method กับเชื้อราทั้ง 3 ชนิด พบว่าเชื้อรา 11 ไอโซเลทและแบคทีเรีย 5 ไอโซเลทเป็นเชื้อปฏิปักษ์กับ *Cladosporium* sp. เชื้อรา 4 ไอโซเลท และแบคทีเรีย 2 ไอโซเลทเป็นเชื้อปฏิปักษ์กับ *Fusarium* sp. และ 11 ไอโซเลทของเชื้อราและ 7 ไอโซเลทของแบคทีเรียเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อ *Lasiodiplodia* sp. เลือกเชื้อราไอโซเลท CT12 และแบคทีเรียไอโซเลท H11 ซึ่งแสดงการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อราก่อโรคทั้ง 3 ชนิด จากนั้นนำมาทดสอบด้วยวิธี cylinder plate method โดยเลี้ยงใน enzyme production medium ซึ่งมี colloidal chitin เป็นแหล่งคาร์บอน นำไปเขย่าที่อุณหภูมิห้อง ($28\pm2^{\circ}C$) เป็นเวลา 7 วัน และนำไปทดสอบการยับยั้งกับราก่อโรค พบว่าน้ำกรองเลี้ยงเชื้อของเชื้อราไอโซเลท CT12 สามารถยับยั้ง *Fusarium* sp. โดยให้วงใสขนาด 12.0 มิลลิเมตร แบคทีเรียไอโซเลท H11 สามารถยับยั้ง *Cladosporium* sp. และ *Fusarium* sp. โดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของวงใสที่เกิดขึ้นได้ 19.3 และ 15.7 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อนำลำไยไปจุ่มในน้ำกรองเลี้ยงเชื้อแล้วนับจำนวนจุลินทรีย์โดยวิธี

spread plate พบว่าน้ำกรองเลี้ยงเชื้อสามารถลดจำนวนของจุลินทรีย์ลงได้เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมคือน้ำกลั่น โดย chitinase activity ของไอโซเลท CT12 เท่ากับ 138, 133 และ 135 mU/ml ค่า specific activity เท่ากับ 345, 443 และ 401 mU/mg protein และ chitinase activity ของไอโซเลท H11 เท่ากับ 50, 51 และ 48 mU/ml ค่า specific activity เท่ากับ 187, 235 และ 167 mU/mg protein จากการทดลองกับลำไยในแต่ละครั้ง ทำการตกตะกอนโปรตีนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต แล้วนำทั้งส่วนของ supernatant และตะกอนไปทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งราก่อโรค พบว่า น้ำกรองเชื้อราไอโซเลท CT12 ที่ความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต 70% และน้ำกรองของแบคทีเรียไอโซเลท H11 ที่ความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต 80% เมื่อให้ความร้อนที่ 100°C เป็นเวลาต่าง ๆ กัน จะไม่ให้ผลการยับยั้งต่อราก่อโรคเลย จากการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราไอโซเลท CT12 พบว่าเป็น *Aspergillus fumigatus* และแบคทีเรียไอโซเลท H11 เป็น *Bacillus cereus*

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

Thesis Title	Growth Inhibition of Longan Fruit Pathogenic Molds by Thermotolerant Chitinase Producing Microorganisms
Author	Miss Sirilapa Samarnmit
M.S.	Biology
Examining Committee	Assistant Professor Abhinya Plikomol **Chairperson** Assistant Professor Dr. Vicha Sardsud **Member** Lecturer Dr. Dararat Tongkao **Member**

Abstract

There was evidence that *Fusarium* sp., *Cladosporium* sp. and *Lasiodiplodia* sp. are pathogenic molds problems on longan fruits production especially in the northern part of Thailand. From 242 isolates of chitinase production microorganisms isolated from soil samples, food samples and stock culture from Microbiology Section, Chiang Mai University culture collection, 40 isolates of thermotolerant microorganisms were investigated. An antagonistic test by dual culture method on *Fusarium* sp., *Cladosporium* sp. and *Lasiodiplodia* sp. indicated that 11 isolates of molds and 5 isolates of bacteria were antagonistic to *Cladosporium* sp. Four isolates of molds and 2 isolates of bacteria antagonized *Fusarium* sp. Eleven isolates of molds and 7 isolates of bacteria antagonized *Lasiodiplodia* sp. Selected mold isolate CT12 and bacterium isolate H11 was showed antagonistic properties to three pathogenic molds. By using cylinder plate method, isolate H11 was cultivated in enzyme producing medium containing colloidal chitin as carbon source with shaking at room temperature ($28\pm2^{\circ}C$) for 7 days. The culture filtrate was then tested against the three pathogenic molds. The filtrate of isolate CT12 was found to inhibit only *Fusarium* sp. giving a clear zone of 12.0 mm And the filtrate of isolates H11 was found to inhibit *Cladosporium* sp. and *Fusarium* sp. giving clear zone of 19.3 and 15.7 mm, respectively.

The filtrate was also tested on the number of microorganisms contaminating longan peel by dipping the longan fruit into the filtrate. The total count of microorganisms was made by using spread plate technique. It was found that the culture filtrate was able to decrease the number of microorganism on the longan peel when compared with the control using sterile distilled water. The chitinase activity of CT12 was 138, 133 and 135 mU/ml with specific activity 345, 443 and 401 mU/mg protein. Also the chitinase activity of H11 was 50, 51 and 48 mU/ml with specific activity 187, 235 and 167 mU/mg protein. When the culture filtrate of CT was precipitated with 70% ammonium sulfate, H11 with 80% ammonium sulfate and boiled at 100°C and varying the time. It was found that all treatments couldn't inhibit pathogenic molds. From morphological characteristics, the isolate CT12 was identified as *Aspergillus fumigatus* and H11 was *Bacillus cereus*.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University