

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การแยกและการหาลักษณะเฉพาะของเชื้อแบคทีเรีย ปฏิชีวนะเพื่อควบคุม โรคหลังการเก็บเกี่ยวของ พริกกะเหรียง
ผู้เขียน	นางสาวนริศรา สุวรรณ
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช)
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร. อังสนา อัครพิศาล อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก อ.ดร. เขียวลักษณ์ จันทร์บาง อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

จากการตรวจสอบเชื้อราที่ติดมากับผลพริกกะเหรียงจากจังหวัดแม่ฮ่องสอน โดยวิธีเพาะบนกระดาษชั่ง (Blotter method) พบเชื้อราทั้งหมด 6 ชนิด คือ *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Collectotrichum capsici*, *Curvularia* sp., *Penicillium* sp. และ *Rhizopus* sp. จากนั้นทำการแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะจากผิวใบและผิวผลของพริกกะเหรียง สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งสิ้น 75 ไอโซเลท นำเชื้อแบคทีเรียทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราหลังการเก็บเกี่ยวของพริกกะเหรียง ได้แก่ *A. flavus*, *A. niger*, *C. capsici*, *Curvularia* sp., *Penicillium* sp. และ *Rhizopus* sp. โดยวิธี Dual culture พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะไอโซเลท SL ซึ่งแยกได้จากผิวใบของพริกกะเหรียง และเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะไอโซเลท SF แยกได้จากผิวผลของพริกกะเหรียง สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราดังกล่าวได้ โดยเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ SF สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus*, *A. niger*, *C. capsici*, *Curvularia* sp., *Penicillium* sp. และ *Rhizopus* sp. ได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง คือ 60.66, 54.92, 62.68, 60.08, 22.93 และ 43.80 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ SL สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus*, *A. niger*, *C. capsici*, *Curvularia* sp., *Penicillium* sp. และ *Rhizopus* sp. ได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง คือ 61.03, 52.05, 62.69, 60.07, 14.87 และ 41.31 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อนำแบคทีเรียปฏิชีวนะไอโซเลท SF และไอโซเลท SL มาจำแนกชนิดโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมีเปรียบเทียบกับ *Bacillus subtilis* ไอโซเลท T01 และ *Bacillus amyloliquefaciens* ไอโซเลท T03 พบว่า แบคทีเรียปฏิชีวนะทั้ง 2 ไอโซเลท มีคุณสมบัติทางชีวเคมีที่คล้ายคลึงกับ *B. subtilis* และ *B. amyloliquefaciens*

จากนั้นทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะต่อการงอกของเมล็ดพริกและตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อราที่พบบนเมล็ดพริกกะเหรียงบนกระดาดขึ้น พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะไอโซเลท SF และเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะไอโซเลท SL ไม่ส่งผลต่อการงอกของเมล็ดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และพบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะไอโซเลท SF สามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อราบนเมล็ดพริกกะเหรียงได้ โดยพบเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของเชื้อราบนเมล็ดพริกกะเหรียงเพียง 5.77 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ซึ่งพบ 15.09 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำแบคทีเรียปฏิชีวนะทั้ง 2 ไอโซเลทไปทดสอบประสิทธิภาพในสภาพเรือนทดลอง พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ SF ช่วยส่งเสริมการเจริญของพริกโดยทำให้พริก มีความสูงของลำต้นและความยาวของราก คือ 8.25 และ 10.97 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งมีความสูงของลำต้นและความยาวรากเป็น 6.74 และ 8.40 เซนติเมตร จากนั้นได้นำเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะทั้ง 2 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคหลังการเก็บเกี่ยวในห้องปฏิบัติการ และมีคุณสมบัติทางชีวเคมีที่ดี มาพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์ในรูปแบบผงละลายน้ำ 2 สูตร คือ F1 และ F2 เมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราหลังการเก็บเกี่ยวของพริกกะเหรียงในห้องปฏิบัติการ โดยวิธีการ Dual culture พบว่า สารชีวภัณฑ์สูตร SLF2 มีประสิทธิภาพที่ดีในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา โดยให้เปอร์เซ็นต์ยับยั้งเชื้อรา *A. flavus*, *C. capsici* และ *Curvularia* sp. คือ 63.99, 64.55 และ 68.58 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ จากนั้นนำสารชีวภัณฑ์ที่ผลิตได้ในรูปแบบผงละลายน้ำทั้ง 2 สูตรที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ 2 ไอโซเลท คือ SF และ SL มาตรวจนับปริมาณของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ หลังการผลิต 9 เดือน พบว่า สารชีวภัณฑ์สูตร SLF2 มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะอยู่รอดได้สูงสุด คือ 7.11×10^7 cfu/g และได้คัดเลือกสารชีวภัณฑ์ทั้ง 2 สูตรมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราหลังการเก็บเกี่ยวในสภาพเรือนทดลอง จากการทดลองพบว่า กรรมวิธีที่ใช้สารชีวภัณฑ์ SLF2 มีผลผลิตพริกทั้งหมด คือ 50 ผลต่อต้น และมีปริมาณน้ำหนักสด 26.59 กรัม และพบปริมาณเชื้อราที่ปนเปื้อนบนผลพริกน้อยที่สุด คือ 42.50 เปอร์เซ็นต์ สารชีวภัณฑ์สูตร SLF2 สามารถลดปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อราที่พบหลังการเก็บเกี่ยวของพริกกะเหรียงได้ดี โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม

Thesis Title	Isolation and Characterization of Antagonistic Bacteria to Control Postharvest Disease of Karen Chili
Author	Miss Narisra Suwan
Degree	Master of Science (Plant Pathology)
Thesis Advisory Committee	Asst. Prof. Dr. Angsana Akarapisan Advisor Lect. Dr. Yaowaluk Chanbang Co-advisor

Abstract

Isolation of postharvest fungi on Karen chilli (*Capsicum* sp.) were found six pathogens: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Colletotrichum capsici*, *Curvularia* sp., *Penicillium* sp. and *Rhizopus* sp. Antagonistic bacteria were isolated from phyllosphere and fructosphere of Karen chili. A total of seventy-five isolates were screened for their abilities to inhibit the growth of *A. flavus*, *A. niger*, *C. capsici*, *Curvularia* sp., *Penicillium* sp. and *Rhizopus* sp. *in vitro*. Two isolates were selected for further investigations. The isolate SF showed inhibition of radial mycelial growth of *A. flavus*; *A. niger*, *C. capsici*, *Curvularia* sp., *Penicillium* sp and *Rhizopus* sp. as 60.66%, 54.92%, 62.68%, 60.08%, 22.93% and 43.80%, respectively. The isolate SL showed inhibition of radial mycelial growth of *A. flavus*; *A. niger*, *C. capsici*, *Curvularia* sp., *Penicillium* sp. and *Rhizopus* sp. as 61.03%, 52.05%, 62.69%, 60.07%, 14.87% and 41.31% respectively. These two isolates were tested for their biochemical and phenotypic characterization compared with *Bacillus subtilis* (T01) and *Bacillus amyloliquefaciens* (T03). These data indicated that isolates SF and SL resembled as *B. subtilis* or *B. amyloliquefaciens*. The isolate SF and SL had no statistically significant effect on seed germination when compared with the control. The isolate SF was found to reduce fungal contamination percentage on seed thus, after treatment were found the fungal contamination percentage on seed 5.77% when compared with the control 15.09%. Greenhouse trails were evaluated for their abilities of these two antagonistic bacteria.

Using of isolate SF showed the highest efficiency which the average shoot length and root length were 8.25 cm and 10.97 cm when compared with the control which shoot length and root length were 6.74 cm and 8.40 cm. Selection of effective antagonistic bacteria two isolates for suppressing of all postharvest pathogen and the ability to produce enzymes *in vitro* to develop bioproduct as powder formulation. Two bioproduct formulations are F1 and F2 formulation. The SLF2 formulation showed the highest percentage of growth inhibition of radial mycelial growth of *A. flavus*, *C. capsici*, and *Curvularia* sp. as 63.99, 64.55 and 68.58, respectively. After storage the bioproduct for 9 months at room temperature, SLF2 formulation had the highest the isolate SL number as 7.11×10^7 cfu/g. SFF2 and SLF2 formulation were selected to apply determine the efficacy of the formulation under greenhouse condition. The result showed that SLF2 formulation had growth promotion activity, which showed the increased product of Karen Chilli as 50 fruits/plants and fresh weight increasing with 26.59 g and decreasing of fungal contamination percentage on chilli fruit was 42.50% and statistically significant difference compared with the control.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved