

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ความสามารถในการต้านเชื้อราของน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย
Bacillus subtilis PP-10 เพื่อควบคุม *Penicillium digitatum*
MSCMU 2114

ผู้เขียน นางสาวกุลญาสลิล บุญทิวา

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ อภิญญา ผลิโกมล

บทคัดย่อ

ได้ทดสอบการก่อโรคของ *Penicillium digitatum* MSCMU 2114 ซึ่งแยกได้จากผลส้มที่เป็นโรคน้ำราสีเขียวในผลส้มที่สมบูรณ์ พบว่าสามารถทำให้เกิดโรคน้ำราสีเขียวบนผิวส้มได้เมื่อนำ *Bacillus subtilis* PP-10 มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวไคตินที่มีเปลือกกุ้งเป็นส่วนประกอบเป็นเวลา 48 ชั่วโมง และทดสอบความเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อ *P. digitatum* MSCMU 2114 ด้วยวิธี poisonous food พบว่า cell suspension ของ *B. subtilis* PP-10 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *P. digitatum* MSCMU 2114 ได้ 100% จากการทดสอบคุณสมบัติบางประการของ cell suspension พบว่า มีค่า exochitinase activity เท่ากับ 0.067 U/ml, specific activity เท่ากับ 0.018 U/mg protein มีค่า endochitinase เท่ากับ 0.193 U/ml, specific activity เท่ากับ 0.051 U/mg protein และมีค่า β -1,3-glucanase activity เท่ากับ 0.011 U/ml, specific activity เท่ากับ 0.003 U/mg protein เมื่อนำ cell suspension ไปต้มในน้ำเดือด พบว่าประสิทธิภาพของการยับยั้งลดลงเมื่อต้มตั้งแต่ 10 นาทีขึ้นไป ปริมาณน้ำตาล glucose ที่เติมลงในอาหารเหลวไคติน ตั้งแต่ 10% ขึ้นไป ไม่มีผลต่อการยับยั้ง *P. digitatum* MSCMU 2114 เมื่อทดสอบด้วยวิธี disc diffusion

จากการนำผลส้มสายพันธุ์สายน้ำผึ้งที่ทำให้เกิดแผลชุปใน cell suspension ของ *B. subtilis* PP-10 ก่อนการปลูกเชื้อรา *P. digitatum* MSCMU 2114 ที่แผลบนผิวส้ม พบว่าสามารถป้องกันการลุกลามของเชื้อราบริเวณแผลบนผิวส้มได้ 60% เป็นเวลานาน 12 วัน และสามารถยับยั้งไม่ให้เกิดอาการของโรคน้ำราสีเขียวได้เป็นเวลานาน 5 วัน แต่เมื่อนำผลส้มไป

ปลูกเชื้อร่าก่อนแล้วนำไปซุบ cell suspension ของ *B. subtilis* PP-10 พบว่าไม่สามารถกำจัดเชื้อร่าก่อโรคได้ จากการศึกษาคือความเป็นพิษของ culture filtrate จาก *B. subtilis* PP-10 ต่อเซลล์ African green monkey kidney พบว่ามีค่า IC_{50} เท่ากับ 5% และทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งต่อเซลล์ KB- oral cavity cancer พบว่าไม่มีผล



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title Antifungal Activity of *Bacillus subtilis* PP-10 Suspension to Control *Penicillium digitatum* MSCMU 2114

Author Miss Kulyasalin Boontiwa

Degree Master of Science (Biology)

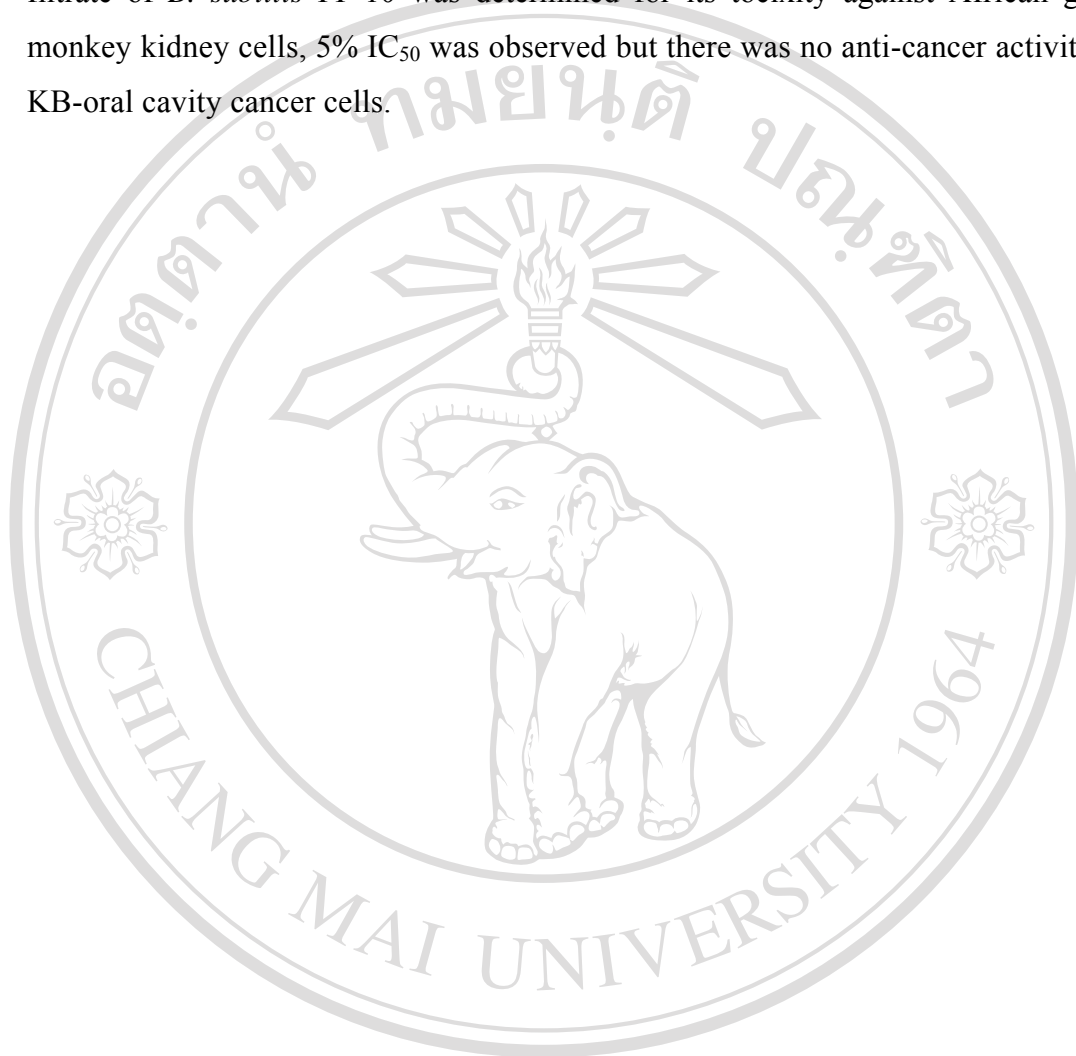
Thesis Advisor Associate Professor Abhinya Plikomol

Abstract

Penicillium digitatum MSCMU 2114 isolated from oranges infected with green mold rot was tested for its pathogenicity on the healthy orange fruits. It was found that the fungus was able to cause green mold rot on the orange peel. When the suspension of *Bacillus subtilis* PP-10 grown in the medium containing shrimp shell waste chitin for 48 hours was tested for its antagonistic activity against *P. digitatum* MSCMU 2114 by poisonous food method, it was found that the suspension gave 100% inhibition towards *P. digitatum* MSCMU 2114. The exochitinase activity was 0.067 U/ml; specific activity was 0.018 U/mg protein. The endochitinase activity was 0.193 U/ml; specific activity was 0.051 U/mg protein and the β -1,3-glucanase activity was 0.011 U/ml; specific activity was 0.003 U/mg protein. The inhibitory activity gradually decreased with the increase in heating time in boiling water over 10 minutes. Addition of over 10% glucose in the chitin broth had no effect on the inhibitory activity against *P. digitatum* MSCMU 2114 when tested with disc diffusion method

Dipping Sweet Honey oranges in the *B. subtilis* PP-10 suspension 48 hours prior to inoculation with *P. digitatum* MSCMU 2114, was able to protect the mold spreading on the orange skin by 60% for 12 days and inhibit the green mold rot

symptom for 5 days. However, inoculation of the fungi before dipping in the bacterial suspension could not eliminate *P. digitatum* MSCMU 2114. The culture filtrate of *B. subtilis* PP-10 was determined for its toxicity against African green monkey kidney cells, 5% IC₅₀ was observed but there was no anti-cancer activity on KB-oral cavity cancer cells.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved