บทคัดย่อ

T160244

การทดสอบผลโดยตรงของสารชีวภาพไคโตซานที่มีต่อเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris pv. vesicatoria* สาเหตุโรคใบจุดของมะเขือเทศเพื่อตรวจสอบศักยภาพขั้นต้นโดยใช้ไคโตซานชนิด 85% degree of deacetylation (DD) ด้วยวิธี agar disc diffusion assay พบการตอบสนองที่แสดงความอ่อนแอของเชื้อแบคทีเรียจากการปรากฏวงใสรอบแผ่นกระดาษกรองชุบสารละลายไคโตซานปริมาณ10 µl ที่วางบนจานเพาะเชื้อ ซึ่งปรากฏขึ้นเมื่อใช้ไคโตซานตั้งแต่อัตรา 0.25 กรัม/ลิตรขึ้นไป และมีขนาดวงใสกว้างที่สุดในแผ่นที่มีไคโตซานอัตรา 3.0 กรัม/ลิตรคือมีขนาดวงใสเส้นผ่าศูนย์กลางตั้งแต่ 1.2 ซม. ไปจนถึง 2.08 ซม.ส่วนการตอบสนองต่อสารเคมีคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์เกิดขึ้นที่ระดับความเข้มข้น 20 กรัม/ลิตรที่สามารถทำให้เกิดวงใสในขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.9 ซม และต่อสารปฏิชีวนะเตตร้าซัยคลินตั้งแต่ความเข้มข้น 0.25 กรัม/ลิตรขึ้นไป โดยมีขนาดความกว้างเส้นผ่าศูนย์กลางของวงใสตั้งแต่ 1.8 ซม.จนถึง 2.8 ซม.ที่ความเข้มข้น 3.0 กรัม/ลิตร และจากการตรวจวัดความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโต (minimal inhibition concentration, MIC)ของเชื้อแบคทีเรีย *X. campestris pv. vesicatoria* ด้วยวิธี pour plate technique ในอาหารเพาะเชื้อผสมสารไคโตซาน พบว่าไคโตซานที่อัตรา 1.0 - 3.0 กรัม/ลิตร สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งหมดจากการเพาะเชื้อเริ่มต้นจำนวน 10^8 เซลล์/มล. ดังนั้นในการทดสอบศักยภาพของไคโตซานกับต้นมะเขือเทศจึงใช้สารละลายไคโตซานที่อัตรา 3.0 กรัม/ลิตร เป็นหลัก โดยให้สารละลายไคโตซานกับต้นมะเขือเทศในรูปแบบต่างๆแล้วทำการปลูกเชื้อทดสอบ ซึ่งผลการทดสอบแบบ detached leaf technique พบว่าใบจากต้นที่ไม่มีการให้สารละลายไคโตซานเกิดอาการแผลจุดคำจำนวนเฉลี่ย 650 จุด/ใบภายใน 10 วัน ขณะที่ใบจากต้นที่ได้รับไคโตซานโดยเฉพาะใบจากต้นที่ให้ไคโตซานแบบหยดทุกสองวันเกิดอาการแผลจุดเพียง 12 จุด ส่วนการปลูกเชื้อทดสอบกับต้นมะเขือเทศ พบว่ามะเขือเทศที่มีการให้สารละลายไคโตซานสามารถทนต่อการเข้าทำลายของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับการให้สารละลายไคโตซาน โดยการให้ไคโตซานแบบหยดที่โคนต้นทุกสองวันสามารถช่วยลดอัตราการเกิดโรคได้94.96% การให้ไคโตซานแบบฉีดพ่นที่ใบทุกสามวันสามารถช่วยลดอัตราการเกิดโรคได้ 85.64% และการให้ไคโตซานแบบจุ่มรากในสารละลายไคโตซานก่อนย้ายปลูกช่วยลดอัตราการเกิดโรคได้ 60.75% ตามลำดับ นอกจากนี้ผลการวัดปริมาณโปรตีนและเอนไซม์ peroxidase ซึ่งใช้บ่งชี้ปฏิกิริยาป้องกันตัวหรือภูมิคุ้มกันโรคของพืช พบว่าใบจากต้นที่ให้ไคโตซานแบบหยดโคนต้นทุกสองวันมีปริมาณโปรตีนและเอนไซม์ peroxidase สูงกว่าทุกชุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญคือมีค่า O.D. โปรตีน = 0.601 / กรัมน้ำหนักสดใบ(gram fresh weight) และค่า O.D.เอนไซม์ = 2.242 / กรัมน้ำหนักสดใบ ขณะที่ค่า O.D.ของการทดลองชุดอื่นๆมีค่าใกล้เคียงกันและไม่มีความแตกต่างทางสถิติคือมี O.D. โปรตีนระหว่าง 0.373 – 0.452 / กรัมน้ำหนักสดใบ และ O.D.เอนไซม์ ระหว่าง 1.132 – 1.655 / กรัมน้ำหนักสดใบ

Abstract

TE160244

The effect of chitosan at 85% degree of deacetylation (DD) was tested against *Xanthomonas campestris pv. vesicatoria* a causal bacterium of tomato leaf spot disease. Susceptibility of the bacterium was exhibited by a clear zone of growth inhibition that ranged from 1.20 cm to 2.08 cm in diameter following each chitosan treatment from solution of 0.25 g/l up to 3.0 g/l concentration, as a 10 µl drop on 6 mm diameter filter paper disc diffusion assay. This sensitivity was quite comparable to an antibiotic tetracycline which yielded the clear zones ranged from 1.80 cm to 2.80 cm diameters after tetracycline treatment at 0.25 g/l to 3.0 g/l. Much less antibacterial sensitivity was obtained from a chemical copperoxychloride that required at least 20.0 g/l to produce bacterial inhibition zone as small as 0.9 cm in diameter. None of the inhibition zone was appeared by another set of filter paper discs containing 1% acetic acid at pH 5.6 and sterile distilled water. Bactericidal effect of chitosan on *X. campestris* cv. *vesicatoria* was performed by bacterial pour plate technique in nutient agar medium incorporated with various concentration of chitosan. Complete inhibition of bacterial growth was done with chitosan at 1-3 g/l, which could be pronounced as a minimal inhibition concentration of chitosan for *X. campestris* cv. *vesicatoria.* Investigation on tomato plants treated with 3.0 g/l chitosan solution showed different responses against a challenge inoculation test by both a detached leaf method and a whole plant inoculation method with the leaf

spot causal bacterium *X. campestris* cv. *vesicatoria*. Best protection from disease with 94.96% diseased symptom reduction was achieved on tomato plants treated with a 1.0 ml drop chitosan on pot every two days after transplanting in both tested cases. The leaf spot disease was also reduced in the application of chitosan on tomato plants by dipping root with chitosan solution once before transplanting and by spraying onto the plant every 3 days, that provided a reduction percentage at 60.75% and 85.64% respectively. Similar tendency was shown on the initial determination of plant defensive reaction by spectrophotometric measuring a change of total protein and peroxidase enzyme quantity at 7 days after challenge inoculation. As total protein and peroxidase enzyme were as high as 0.601 optical density value / gram fresh weight (O.D. / gfw) and 2.242 O.D. / gfw , respectively, in the plant treated with chitosan by a 1 ml drop every two days. While another treatments produced lower optical density value at 0.373 – 0.452 O.D./ gfw for protein and 1.132 – 1.655 O.D. / gfw for peroxidase enzyme.