

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาประสิทธิภาพและกลไกของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ <i>Streptomyces</i> spp. ในการควบคุมโรคในพืชตระกูลกะหล่ำ
หน่วยกิต	12
ผู้เขียน	นางสาวสุภา พ่วงน่ม
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ. ดร.ผ่องเพ็ญ จิตอารีรัตน์ ผศ. ดร.อภิรดี อุทัยรัตนกิจ
หลักสูตร	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว
สายวิชา	เทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว
คณะ	ทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี
ปีการศึกษา	2557

บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* spp. ในการควบคุมโรคพืชตระกูลกะหล่ำ ทำโดยนำเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* spp. ไอโซเลต F2, F3, I14, J2 และ K1 มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อรา *Rhizoctonia* sp., *Alternaria* sp., *Pythium* sp. และ *Fusarium* sp. ด้วยวิธี Dual culture bioassay บนอาหาร IMA-2 ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-7 วัน พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* spp. ทุกไอโซเลตมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อรา *Rhizoctonia* sp., *Alternaria* sp. และ *Pythium* sp. โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 12.76-99.04 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ไอโซเลต I14 และ J2 ไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อรา *Fusarium* sp. เมื่อทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์ Chitinase บนอาหาร Chitin selective agar ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* spp. ทุกไอโซเลต มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ Chitinase โดยย่อยโคตินและให้ clear zone ขนาด 0.92-3.58 มิลลิเมตร และเมื่อทำการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ Chitinase ทำโดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* spp. ในอาหารเหลว IMA-2 นาน 36 ชั่วโมง พบว่าทุกไอโซเลต สามารถผลิต Chitinase ได้สูงสุดในชั่วโมงที่ 16-24 โดยไอโซเลต J2 มีกิจกรรมเอนไซม์ Chitinase สูงสุดคือ 0.0079-0.0080 unit/ml รองลงมาคือ ไอโซเลต K1, F3, F2 และ I14 ตามลำดับ การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* sp. ไอโซเลต F3 ต่อการควบคุมโรคเน่าคอดินสาเหตุจากเชื้อรา *Rhizoctonia* sp. ในสภาพโรงเรือน ที่ปลูกโดยใช้ดินและการปลูกในระบบไฮโดรโปนิคส์ ทำโดยแบ่งต้นกวางตุ้งออกเป็น 6 กลุ่ม และทำการปลูกเชื้อแบคทีเรียหรือเชื้อราสาเหตุโรคลงในดินหรือภาชนะที่ปลูกต้นกวางตุ้ง ดังนี้ 1) เชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลต F3 2) *Rhizoctonia* sp. 3)

Streptomyces sp. ไอโซเลท F3 ตามด้วยเชื้อ *Rhizoctonia* sp. 4) *Rhizoctonia* sp. ตามด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท F3 5) *Rhizoctonia* sp. ตามด้วยสารกำจัดเชื้อรา (เบนโนมิล) และ 6) น้ำกลั่น/น้ำประปา (ชุดควบคุม) หลังการปลูกเชื้อ *Streptomyces* sp. นาน 5 วัน ผลการทดสอบผักกวางตุ้งที่ปลูกโดยใช้ดิน พบว่าการใส่เชื้อ *Streptomyces* sp. ก่อนหรือหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคสามารถควบคุมการเกิดโรคเน่าคอดินได้ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยพบว่าการใส่เชื้อ *Streptomyces* sp. มีผลกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคให้สูงขึ้น ได้แก่ เอนไซม์ Chitinase, β -1,3-Glucanase และ phenylalanine ammonia-lyase ในขณะที่ผักกวางตุ้งที่ใส่เชื้อรา *Rhizoctonia* sp. เพียงอย่างเดียวพบการเกิดโรคเท่ากับ 57.14 เปอร์เซ็นต์ สำหรับผักกวางตุ้งที่ปลูกด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์ พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* sp. สามารถช่วยลดความรุนแรงในการเกิดโรคเน่าคอดินได้ แต่การลดลงของความรุนแรงโรคนี้อาจไม่ได้มีสาเหตุมาจากผักกวางตุ้งมีการผลิตเอนไซม์ Chitinase, β -1,3-Glucanase และ Phenylalanine ammonia lyase เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ พบว่าการปลูกเชื้อรา *Rhizoctonia* sp. มีผลกระตุ้นกิจกรรมเอนไซม์เหล่านี้ให้เพิ่มสูงขึ้นได้ด้วย จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท F3 มีศักยภาพในการควบคุมโรคเน่าคอดินในผักกวางตุ้งได้

คำสำคัญ: กวางตุ้ง/ แบคทีเรียปฏิปักษ์/ *Rhizoctonia* sp./ *Streptomyces* spp.

Thesis Title	Study on the Efficacy and Mechanism of Antagonistic <i>Streptomyces</i> spp. on the Disease Control of Cruciferae
Credits	12 Credits
Candidate	Miss Supa Puangnim
Thesis Advisors	Asst. Prof. Dr. Pongphen Jitareerat Asst. Prof. Dr. Apiradee Uthairatanakit
Program	Master of Science
Field of Study	Postharvest Technology
Department	Postharvest Technology
Faculty	School of Bioresources and Technology
Academic Year	2014

Abstract

The efficacy of antagonistic *Streptomyces* spp. on the control of Cruciferae diseases was investigated. *Streptomyces* spp. isolate F2, F3, I14, J2 and K1 were used to test its efficiency on the inhibition of mycelia growth of *Rhizoctonia* sp., *Alternaria* sp., *Pythium* sp. and *Fusarium* sp. by Dual culture bioassay on IMA-2 medium incubated at 28 ± 2 °C for 5-7 days. The result showed that all *Streptomyces* isolates had an efficiency to inhibit the mycelial growth of *Rhizoctonia* sp., *Alternaria* sp. and *Pythium* sp. within the range of 12.76-99.04% whereas isolate I14 and J2 could not inhibit the mycelial growth of *Fusarium* sp.. All isolate of *Streptomyces* spp. could produce chitinase on chitin selective agar incubated at 28 ± 2 °C for 10 days with the clear zone was in the range of 0.93-3.58 mm. Chitinase activity was then analyzed by culturing *Streptomyces* spp. in IMA-2 broth for 36 hr. It was found that the activity of chitinase peaked at 16-24 hr. in all isolates. The highest activity was found in *Streptomyces* sp. isolate J2 with the range of 0.108-0.110 unit/ml, followed by isolates K1, F3, F2 and I14, respectively. The effect of *Streptomyces* isolate F3 to control the damping off disease caused by *Rhizoctonia* sp. was investigated in the green house by culturing in soil and in hydroponic system. Seedlings of Chinese mustard cabbage were divided into 6 groups and then inoculated with antagonistic bacteria or pathogen into the pot or chambers as the following; 1) *Streptomyces* sp. isolate F3, 2) *Rhizoctonia* sp., 3) *Streptomyces* sp. isolate F3 followed by *Rhizoctonia* sp., 4) *Rhizoctonia* sp. followed by *Streptomyces* sp. isolate F3, 5) *Rhizoctonia* sp. followed by fungicide (Benomyl) and 6) distilled or tap water (control) respectively.

After inoculating for 5 days, the application of *Streptomyces* sp. before or after inoculating with pathogen gave the great effect to control disease for 100%. *Streptomyces* sp. was able to induce the activities of the enzymes associated with plant defense; chitinase, β -1,3-glucanase and phenylalanine ammonia-lyase, Meanwhile, Chinese mustard cabbages inoculated with *Rhizoctonia* sp. alone showed the highest disease incidence with 57.14%. In hydroponic system, the results showed that the application of *Streptomyces* sp. could delay damping off disease severity but the delaying of severity was not resulted by the increase of chitinase, β -1,3-glucanase and Phenylalanine ammonia lyase activity in Chinese mustard cabbage. However, it was found that these enzyme production were increase with *Rhizoctonia* sp. infection. Thus, this results indicate that *Streptomyces* sp. isolate F3 may have the potential to control damping off disease in Chinese mustard cabbage.

Keywords: Antagonistic bacteria/ Chinese mustard cabbages/ *Rhizoctonia* sp./ *Streptomyces* spp.