บทคัดย่อ

222041

การทดสอบผลโดยตรงของสารชีวภาพไคโตซานที่มีต่อเชื้อแบคทีเรีย *E. carotovora* pv. *carotovora* สาเหตุโรคเน่าเละ โดยใช้ไคโตซาน 80, 85, 90 และ 95 %DD พบการตอบสนองที่แสดงความอ่อนแอของเชื้อแบคทีเรียต่อไคโตซาน ซึ่งปรากฏวงใสขึ้นเมื่อใช้ไคโตซานตั้งแต่ความเข้มข้น 2.5 mg/ml ขึ้นไป และมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางกว้างสุดในแผ่นที่มีไคโตซานความเข้มข้น 30 mg/ml ไคโตซาน 90 และ 95 %DD มีประสิทธิภาพมากกว่า ไคโตซาน 80 และ 85 %DD และพบว่าไคโตซานมีประสิทธิภาพเทียบเท่ายาปฏิชีวนะ เตตร้าซัยคลิน และคลอแรมเฟนิคอล และมีประสิทธิภาพสูงกว่าสารเคมี คอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ คอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์ แมนโคเซบ และ เมทาแลกซิล ในขณะที่สารเคมีเบนโนมิล กรดอะซิติก 1% และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อไม่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย สำหรับการทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดของไคโตซาน 4 ระดับ ได้แก่ 80, 85, 90 และ 95 %DD ที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย พบว่าไคโตซานตั้งแต่ความเข้มข้น 2.5 mg/ml ขึ้นไป ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้เกินครึ่งหนึ่ง โดยมีจำนวนแบคทีเรีย เท่ากับ 2.06×10^7, 1.71×10^7, 1.55×10^7 และ 1.30×10^7 cfu/ml ตามลำดับ ในขณะที่ไม่ใช้ไคโตซานมีจำนวนแบคทีเรีย เท่ากับ 5.71×10^7 cfu/ml

ผลของไคโตซานที่มีต่อเชื้อรา *C. gloeosporioides* พบว่าไคโตซาน 80, 85, 90 และ 95 %DD ความเข้มข้น 3.71, 2.72, 4.34 และ 4.57 mg/ml ตามลำดับ ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ครึ่งหนึ่ง (EC_{50}) และที่ความเข้มข้น 6 mg/ml ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้สูงสุดเท่ากับ 71.85, 81.48, 57.78 และ 56.67 % ตามลำดับ ส่วนการยับยั้งการงอกของสปอร์ พบว่า ที่ความเข้มข้น 10 mg/l ของไคโตซานทั้ง 4 ชนิด ที่ช่วงเวลา 6 และ 9 ชั่วโมง ยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ 100 % และมีค่า EC_{50} เท่ากับ 2.28, 1.09, 1.12 และ 2.31 mg/l ตามลำดับ ไคโตซานยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้เทียบเท่าสารเคมีเบนโนมิล คอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ คอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์ แมนโคเซบ และเมทาแล็กซิล และมีประสิทธิภาพดีกว่ายาปฏิชีวนะคลอแรมเฟนิคอล เตตร้าซัยคลิน และ สเตรปโตมัยซิน

การศึกษาผลของไคโตซานในการควบคุมโรคเน่าที่เกิดหลังการเก็บเกี่ยว ในการควบคุมโรคเน่าเละ พบว่า ในมันฝรั่ง ไคโตซาน 1%, 1.5% และ 2% ยืดอายุได้นานเกิน 14 วัน มันฝรั่งที่ไม่เคลือบไคโตซานเน่าภายใน 5 วัน ในแครอท ไคโตซาน 1.5% และ 2% ยืดอายุได้นานเกิน 8 วัน แครอทที่ไม่เคลือบไคโตซานเน่าภายใน 6 วัน ในผักกาดหัว ไคโตซาน 1.5% และ 2% ยืดอายุได้นานเกิน 6 วัน ผักกาดหัวที่ไม่เคลือบไคโตซานเน่าภายใน 4 วัน สำหรับการควบคุมโรคแอนแทรคโนสในผลฝรั่ง ไคโตซาน 1%, 1.5% และ 2% ยืดอายุได้นานเกิน 10 วัน ผลฝรั่งที่ไม่เคลือบ

ด้วยไคโตซานเน่าภายใน 7 วัน ส่วนในพริกหยวก และ พริกหวาน ไคโตซาน 1% ,1.5% และ 2% ยืดอายุได้นาน เกิน 12 และ 14 วัน ตามลำดับ ในขณะที่พริกหยวกและพริกหวานที่ไม่เคลือบด้วยไคโตซานเน่าภายใน 8 และ 10 วัน

ในการศึกษาปริมาณเชื้อแบคทีเรียในชิ้นพืชทดสอบ พบว่าในแครอทที่เคลือบด้วยไคโตซานไม่ปลูกเชื้อและปลูกเชื้อมีปริมาณเชื้อเท่ากับ 5.33×10^{3} และ 1.10×10^{4} cfu/ml ตามลำดับ ในขณะที่แครอทที่ไม่เคลือบด้วยไคโตซานมีปริมาณเชื้อเท่ากับ 2.547×10^{5} และ 5.417×10^{5} cfu/ml ตามลำดับ ส่วนในผักกาดหัวที่เคลือบด้วยไคโตซานที่ไม่ปลูกเชื้อและปลูกเชื้อมีปริมาณเชื้อเท่ากับ 2.33×10^{4} และ 4.67×10^{4} cfu/ml ตามลำดับ ในขณะที่ผักกาดหัวที่ไม่เคลือบด้วยไคโตซานมีปริมาณเชื้อเท่ากับ 3.793×10^{5} และ 1.076×10^{6} cfu/ml ตามลำดับ สำหรับในมันฝรั่งที่เคลือบด้วยไคโตซานที่ไม่ปลูกเชื้อและปลูกเชื้อมีปริมาณเชื้อเท่ากับ 1.783×10^{5} และ 5.15×10^{5} cfu/ml ตามลำดับ ในขณะที่มันฝรั่งที่ไม่เคลือบด้วยไคโตซานมีปริมาณเชื้อเท่ากับ 5.257×10^{5} และ 1.439×10^{6} cfu/ml ตามลำดับ

การศึกษาผลของไคโตซานต่อการเปลี่ยนแปลงของสารที่พืชใช้ในการป้องกันตัว พบว่า ในแครอทที่เคลือบด้วยไคโตซาน 1% มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุดที่เวลา 48 ชั่วโมง เท่ากับ 121.38 µg/gfw มีปริมาณสารฟีนอลสูงที่สุดที่เวลา 12 ชั่วโมง เท่ากับ 2.819 µgGAE/gfw ในผักกาดหัวที่เคลือบด้วยไคโตซาน 1% มีปริมาณเอนไซม์ POD สูงที่สุดที่เวลา 48 ชั่วโมง เท่ากับ 9.436 U/mg protein และ มีปริมาณเอนไซม์ PAL สูงที่สุดที่เวลา 0 ชั่วโมง เท่ากับ 6.904 nmol of trans CA/min/gfw ในผลฝรั่งที่เคลือบด้วยไคโตซาน 1% มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุดที่เวลา 5 วัน เท่ากับ 49.71 µg/gfw มีปริมาณสารฟีนอลสูงที่สุดที่เวลา 3 วัน เท่ากับ 3.021 µgGAE/gfw และ มีปริมาณเอนไซม์ PAL สูงที่สุดที่เวลา 3 วัน เท่ากับ 12.781 nmol of trans CA/min/gfw ในพริกหยวกที่เคลือบด้วยไคโตซาน 1% มีปริมาณสารฟีนอลสูงที่สุดที่เวลา 0 วัน เท่ากับ 2.844 µgGAE/gfw ในผักกาดหัวที่เคลือบด้วยไคโตซาน 2% มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุดที่เวลา 24 ชั่วโมง เท่ากับ 76.41 µg/gfw ในมันฝรั่งที่เคลือบด้วยไคโตซาน 2% มีปริมาณเอนไซม์ POD สูงที่สุดที่เวลา 48 ชั่วโมง เท่ากับ 7.706 U/mg protein ในแครอทที่เคลือบด้วยไคโตซาน 2% มีปริมาณเอนไซม์ POD สูงที่สุดที่เวลา 48 ชั่วโมง เท่ากับ 7.642 U/mg protein และมีปริมาณเอนไซม์ PAL สูงที่สุดที่เวลา 12 ชั่วโมง เท่ากับ 17.756 nmol of trans CA/min/gfw ส่วนในผลฝรั่งที่เคลือบด้วยไคโตซาน 2% มีปริมาณเอนไซม์ POD สูงที่สุดที่เวลา 1 วัน เท่ากับ 8.425 U/mg protein สำหรับในพริกหยวกที่เคลือบด้วยไคโตซาน 2% มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุดที่เวลา 5 วัน เท่ากับ 97.17 µg/gfw และ มีปริมาณเอนไซม์ POD สูงที่สุดที่เวลา 3 วัน เท่ากับ 9.599 U/mg protein

ในการศึกษาประสิทธิภาพของไคโตซานต่อวิตามินซีในผลฝรั่ง พบว่า ผลฝรั่งที่เคลือบด้วยไคโตซาน 1.5% มีระดับของวิตามินซีสูง 7.08 mg/gfw เมื่อเก็บฝรั่งไว้นาน 14 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในขณะที่ผลฝรั่งที่ไม่เคลือบด้วยไคโตซานและเคลือบด้วยกรดอะซิติก 1% มีปริมาณวิตามินซีเท่ากับ 1.99 และ 1.77. mg/gfw ตามลำดับ

ABSTRACT

222041

The effect of chitosan at 80, 85, 90 and 95 degree of deacetylation (%DD), each was tested against *Erwinia carotovora* pv. *carotovora*, a bacteria soft rot pathogen that causes serious damage to all agronomic crops from field production though fresh marketing. Susceptibility of the bacterium was exhibited by zone of growth inhibition following each chitosan treatment from solution of 2.5 up to 30 mg/ml concentration, as a 10 µl drop on 6 mm diameter filter paper disc diffusion assay. Chitosan at 90 and 95 % DD were more effective than 80 and 85 % DD according to inhibition zone diameter. Antibacterial sensitivity of chitosans was comparable to the conventional-broad spectrum antimicrobial chemicals, although a streptomycin antibiotic yielded the largest zone size among all the treatments. Treatment by chitosans and by the other two antibiotics, tetracycline and chloramphenical produced quite similar antibacterial effects that were more effective than copper hydroxide, copper oxychloride, metalaxyl and mancozeb, respectively. While a benomyl as well as 1% acetic acid and pure water control treatment did not induce an inhibition zone at all. Minimal inhibition concentration of chitosan at 80, 85, 90 and 95% DD for growth inhibition of the bacterium on cultured was 2.5 mg/ml. The highest observed bacterial growth was 2.06×10^7, 1.71×10^7, 1.55×10^7 and 1.30×10^7cfu/ml at a concentration of 30.0 mg/ml. wherease in control were 5.71×10^7 cfu/ml.

The antifungal effect of chitosan at different degree of deacetylation (%DD) was investigated against an anthracnose fungus, *Colletotrichum gloeosporioides,* that causes serious loss of vegetables and fruits in all stages of growth. A median effective concentration (EC_{50}) of chitosan at 80, 85, 90 and 95% DD for mycelia growth inhibition of the fungus on cultured agar was 3.71, 2.72, 4.32 and 4.57 mg/ml, respectively. The highest observed growth inhibition effect was 71.85, 81.48, 57.78 and 56.67% at a concentration of 6.0 mg/ml of the corresponding chitosans. Fungal spore germination was completely inhibited by all chitosans at 10 mg/l within 6 and 9 hours in germination fluid, with an EC_{50} at 2.28, 1.09, 1.12 and 2.31 mg/l for each chitosan respectively. Thus, the best antifungal effect was apparently performed by chitosan 85 %DD. Although the effective dosage of chitosans was 6 mg/ml higher than that required for mycelia growth inhibition by benomyl, copper oxychloride mancozeb and metalaxyl, Five out of eight tested conventional fungicide.

The effect of chitosan in controlling post havest decays. The growth of bacterial in potato coated by chitosan 1%, 1.5%, 2% could prolong the serious symptom more than 14 days whereas the uncoated of chitosan showed the soft rot symptom in 5 days. For carrot and chinese radish, the 1.5%, 2% chitosan could prolong the symptom over 8, 6 days while uncoated of chitosan caused the symptom within 6 and 4 days respectively. The anthracnose fungus controlling in guava, green pepper and sweet pepper, the concentration of chitosan at 1%, 1.5%, 2% were used. The results showed that coated of chitosan prolong the anthracnose disease over 10, 12, and 14 days but the anthracnose symptom found in uncoated of chitosan within 7, 8 and 10 days, respectively.

Growth of *E. carotovora* pv. *carotovora* was estimated in plant tissue, The bacterial growth in carrot coated by chitosan, non inoculation and inoculation was 5.33×10^{3} and 1.10×10^{4} cfu/ml, respectively whereas uncoated carrot were 2.55×10^{5} and 5.42×10^{5} cfu/ml, respectively. While the bacterial growth in chinese radish coated by chitosan, non inoculation and inoculation was 2.33×10^{4} and 4.67×10^{5} cfu/ml, respectively. whereas in uncoated chinese radish were 3.793×10^{5} and 1.076×10^{6} cfu/ml, respectively. The bacterial growth in potato coated by chitosan, non inoculation and inoculation was 1.783×10^{5} and 5.15×10^{5} cfu/ml, respectively whereas in uncoated potato were 5.257×10^{5} and 1.439×10^{6} cfu/ml, respectively.

The effect of chitosan on stimulation of plant defense responses, The highest protein content at 48 hours were 121.38 µg/gfw and highest phenol content at 12 hour were 2.819 µgGAE/gfw in carrot coated by 1%chitosan. The highest peroxidase (POD) activity at 48 hour, 9.436 U/mg protein and highest phenylalanine ammonia lyase (PAL) activity at 0 hour were 6.904 nmol of transCA/min/gfw in chinese radish coated by 1%chitosan. The highest protein content at5 days were 49.71 µg/gfw, highest phenol content at 3 days were 3.021 µgGAE/gfw and highest PAL activity at 3 days were 12.781 nmol of transCA/min/gfw in guava coated by 1%chitosan. The highest phenol content at 0 days were 2.844 µgGAE/gfw in green pepper coated by 1%chitosan. The highest protein content at 24 hours were 76.41 µg/gfw in chinese radish coated by 2%chitosan. The highest POD activity at 48 hours were 7.706 U/mg protein in potato coated by 2%chitosan. The highest POD activity at 48 hours were 7.642 U/mg protein and highest PAL activity at 12 hours were 17.756 nmol of transCA/min/gfw in carrot coated by 2%chitosan. The highest POD activity 1 days were 8.425 U/mg protein in guava coated by 2%chitosan. The highest protein content at 5 days were 97.17 µg/gfw and highest POD activity at 3 days, 9.599 U/mg protein in green pepper coated by 2%chitosan.

The efficiency of chitosan on vitamin C in guava, The high vitamin C content were 7.08 mg/gfw in guava coated by 1.5%chitosan wherease vitamin C content were 1.99 and 1.77 mg/gfw, respectively.in guava uncoated and 1%acetic acid was stored for 14 days at 30 ^{0}C.