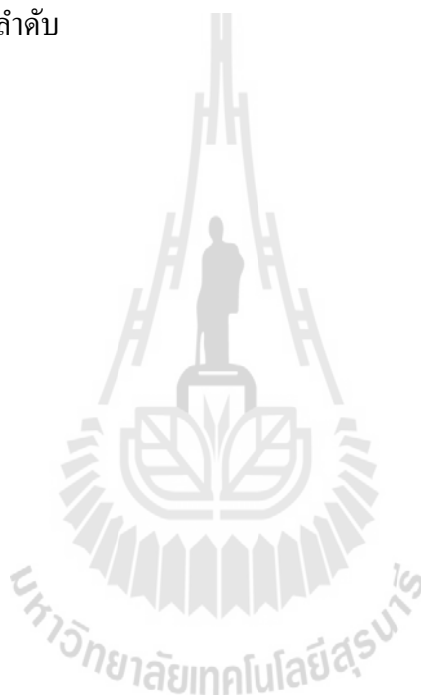


คาราวดี วงษ์ชาติ : ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* สูตร ENCAPSULATE ในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสของพริก (EFFICACY OF AN ENCAPSULATED ANTAGONISTIC *Bacillus* IN CONTROLLING CHILI ANTHRACNOSE)

อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัฐธินา เบือนสันเทียะ, 130 หน้า.

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* สูตร encapsulate ในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสของพริก โดยนำเชื้อรา *Colletotrichum* สาเหตุโรคแอนแทรกโนสพริก จำนวน 3 สปีชีส์ ได้แก่ เชื้อรา *C. acutatum*, *C. capsici* และ *C. gloeosporioides* มาทดสอบความสามารถในการก่อโรค (pathogenicity test) บนผลพริกพันธุ์ชุปเปอร์ฮ็อต ระยะผลแดงและเขียว พบว่า เชื้อรา *C. acutatum* มีดัชนีในการเกิดโรคสูงที่สุดเท่ากับ 100 และ 86.67 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* จำนวน 5 สายพันธุ์ มาทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* ทั้ง 3 สปีชีส์ โดยวิธี dual culture พบว่า *Bacillus* sp. D604, D502 และ CaSUT007 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญสูงที่สุดเท่ากับ 43.87, 37.37 และ 19.69 เซนติเมตรตามลำดับ และเมื่อนำเชื้อ *Bacillus* sp. 3 สายพันธุ์ดังกล่าว มาทดสอบความทนต่อรังสีอัลตราไวโอเล็ต (UV) พบว่า D604 เป็นสายพันธุ์เดียวที่หลือรอดจากการให้รังสี UV 6 ชั่วโมงโดยมีอัตราการรอดชีวิตเท่ากับ 4.00 ± 1.00 cfu.ml⁻¹ จึงคัดเลือกเชื้อ *Bacillus* สายพันธุ์ D604 ผลิตสูตร encapsulate ด้วยวิธีการ extrusion จำนวน 3 สูตรโดยใช้โซเดียมอัลจินตความเข้มข้นต่าง ๆ กันเป็นวัสดุหุ้มเซลล์ พบว่า สูตร encapsulate ที่ใช้ความเข้มข้นของโซเดียมอัลจินต 3 เปอร์เซ็นต์ (w/v) มีการฟอร์มตัวเป็นเม็ดกลมชัดเจน และขนาดเม็ดมีความสม่ำเสมอที่สุด แต่เมื่อนำมาทดสอบการปลดปล่อยเชื้อ *Bacillus* ในน้ำ ทั้ง 3 สูตร พบว่า สูตรที่มีความเข้มข้นของโซเดียมอัลจินต 1 เปอร์เซ็นต์ มีการปลดปล่อยเชื้อออกมาสูงที่สุดเท่ากับ $9.60 \pm 7.76 \times 10^6$ cfu.g⁻¹ ดังนั้น จึงเลือกเชื้อสูตรดังกล่าวไปใช้ในการทดสอบอัตราการรอดชีวิต พบว่า หลังจากเก็บไว้ในถุงพลาสติกที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 เดือน มีปริมาณเชื้อลดลงเล็กน้อยและคงที่ในเดือนที่ 3 และ 4 หลังจากนั้นปริมาณเชื้อมีแนวโน้มลดลง และเมื่อผ่านไปเป็นเวลา 6 เดือน ปริมาณการอยู่รอดของเชื้อเหลือเพียง $8.4 \pm 0.30 \times 10^5$ cfu.g⁻¹ และเมื่อนำไปทดสอบอัตราการปนเปื้อนของเชื้ออื่นหลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 6 เดือน พบว่า มีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียและราชนิดอื่นเฉลี่ย 5.24 และ 0.01 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อทดสอบประสิทธิภาพสูตร encapsulate ของเชื้อ *Bacillus* สายพันธุ์ D604 ที่ใช้ความเข้มข้นของโซเดียมอัลจินต 1 เปอร์เซ็นต์ ในการควบคุมเชื้อรา *C. acutatum* สาเหตุโรคแอนแทรกโนสบนผลพริกโดยวิธี detached fruit พบว่า การใช้สูตร encapsulate และการใช้หัวเชื้อสดของ *Bacillus* สายพันธุ์ D604 ในระยะผลพริกแดงมีอัตราการลดโรคไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อเท่ากับ 26.52 และ 22.44 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนในระยะผลพริกเขียว พบว่า การใช้หัวเชื้อสด มี

อัตราการลดโรคสูงที่สุดเท่ากับ 32.00 เปอร์เซ็นต์ และจากการทดสอบในสภาพเรือนทดลอง พบว่า การใช้หัวเชื้อสด และสูตร encapsulate ของ *Bacillus* สายพันธุ์ D604 สามารถควบคุมโรคได้ใกล้เคียงกันคือมีอัตราการลดโรคเท่ากับ 38.96 และ 34.28 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ซึ่งใกล้เคียงกับการใช้สารเคมีคาร์เบนดาซิม เมื่อนำตัวอย่างที่ได้จากการทดลองในสภาพเรือนทดลองไปวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของสารชีวเคมีภายในใบพริกโดยใช้เทคนิค synchrotron FT-IR microspectroscopy พบว่า ใบพริกที่พ่นด้วยเชื้อ *Bacillus* สายพันธุ์ D604 มีปริมาณของไขมัน C-H bending, hemicellulose และ polysaccharide ในเนื้อเยื่อสูงกว่าใบพริกที่พ่นด้วยน้ำกลั่นหนึ่งหม่าเชื้อ (กรรมวิธีควบคุม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.01$) คือ 2.36 10.76 4.49 และ 34.99 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ



สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช
ปีการศึกษา 2558

ลายมือชื่อนักศึกษา _____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา _____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม _____

DARAWADEE WONGCHALEE : EFFICACY OF AN ENCAPSULATED
ANTAGONISTIC *Bacillus* IN CONTROLLING CHILI ANTHRACNOSE.

THESIS ADVISOR : ASST. PROF. NATTHIYA BUENSANTEAI, Ph.D.,
130 PP.

Bacillus/CHILI/ANTHRACNOSE /*Colletotrichum*/ ENCAPSULATED/ FT-IR
MICROSPECTROSCOPY

The objective of this study was to evaluate the efficacy of an encapsulated antagonistic *Bacillus* in controlling chili anthracnose. After the pathogenicity test of 3 *Colletotrichum* species, including *C. acutatum*, *C. capsici* and *C. gloeosporioides* on ripe and green superhot chili fruits, the results showed that *C. acutatum* had the highest disease index 100 and 86.67 %, respectively. Subsequently, 5 *Bacillus* strains were tested for their antagonistic activities against the three *Colletotrichum* species using the dual culture technique. Only strains D604, D502 and CaSUT007 showed high activity against all 3 species with the average clear inhibition zone of 43.87, 37.37 and 19.69 cm., respectively. After being tested for UV tolerance, only the strain D604 survived after the exposure of 6 hrs., with a survival rate of 4.00 ± 1.00 cfu.ml⁻¹. Because of its best performance, D604 was selected as a representative strain for further study. Three encapsulated formulations of D604 were made by extrusion method with the varying percentage of sodium alginate. Among them, the formulation with 3% (w/v) sodium alginate gave the most uniform spherical beads with consistent size. However, when the three formulations were tested for their ability in releasing the encapsulated bacteria, only the formulation with 1% sodium alginate could release the

highest number of bacterial cells of $9.60 \pm 7.76 \times 10^6$ cfu.g⁻¹. When this formulation was further tested for *Bacillus* viability after storage, the bacterial number slightly decreased after 2 months but stayed stable during the 3rd and 4th months. After that, the number steadily declined and only $8.4 \pm 0.30 \times 10^5$ cfu.g⁻¹ was left after 6 months of storage. With a storage period of 6 months, the formulation had 5.24 and 0.01% contamination rates from other bacteria and fungi, respectively. When this formulation of D604 was tested with *C.acutatum* using the detached fruit technique, the encapsulated *Bacillus* gave 26.52% disease reduction rate which was not statistically different from that of the fresh culture which gave 22.44% compared to that of the negative control when red-ripening fruits were used as test material. However, when the green fruits were used, only the fresh culture performed the best, giving 32% disease reduction rate. Under a greenhouse condition in which the whole chili plants were used as test material, the fresh culture gave 38.96% disease reduction while the encapsulated formulation gave 34.28% compared to that of the negative control. The efficacy of both formulations was comparable to that of carbendazim treatment. When the leaf samples in the greenhouse test were analysed for biochemical changes from the treatment using synchrotron FT-IR microspectroscopy, it was found that the leaf tissues sprayed with D604 strain had significantly ($p < 0.01$) higher amount of lipid, CH bending, hemicellulose and polysaccharide than those of the negative control which were 10.76, 2.36, 4.49 and 34.99%, respectively.

School of Crop Production Technology Student's Signature _____

Academic Year 2015 Advisor's Signature _____

Co advisor's Signature _____