ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

ผลยับยั้งของสารต้าน Penicillium digitatum จากแบกทีเรีย ที่ใช้ใคติน

ชื่อผู้เขียน

นางสาว พันธ์ทิพย์ โอฬารรัตน์มณี

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ. อภิญญา ผลิโกมล ประธานกรรมการ รศ. วันชัย สนธิไชย กรรมการ

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการเพิ่มมูลค่าของเปลือกกุ้งวัสดุเหลือทิ้งและยังเป็นการแก้ปัญหา สิ่งแวคล้อมโดยใช้เปลือกกุ้งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียเพื่อนำไปผลิตสารยับยั้ง Penicillium digitatum ซึ่งเป็นปัญหาการติดเชื้อราของส้มหลังเก็บเกี่ยว จากการคัดเลือกจุลินทรีย์จากแหล่งต่างๆ จำนวน 70 ใอโซเลท โดยวิธี spot test และ cylinder plate พบว่าใอโซเลท PP-10 ที่แยกจากถั่วเน่า แผ่นสามารถยับยั้ง P. digitatum ได้ดีที่สุด เมื่อเจริญใน chitin broth และจากการศึกษาลักษณะทาง สัณฐานวิทยา การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี และการทดสอบ โดยการใช้วิธี 16S rRNA พบว่า ใอโซเลท PP-10 เป็น Bacillus subtilis ที่ทนอุณหภูมิสูง และจากการศึกษาสภาวะการเพาะเลี้ยงที่ เหมาะสมต่อการผลิตสารยับยั้งพบว่า B. subtilis PP-10 สามารถผลิตสารยับยั้งได้ดีที่สุดเมื่อใช้ความ ขุ่นเริ่มต้นของเซลล์เท่ากับสารละลายมาตรฐาน McFarland หมายเลข 3 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เพาะ ลงในอาหาร chitin broth, pH 7 ที่ทำการเติม 10% glucose (น้ำหนัก/ปริมาตร) บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 2 วัน โดยมีค่าการยับยั้งเท่ากับ 83% จากการทดสอบคุณสมบัติบางประการของ น้ำกรองเลี้ยงเชื้อพบว่า น้ำกรองเลี้ยงเชื้อมีค่า exochitinase activity เท่ากับ 0.0031 U/ml, specific activity เท่ากับ 0.016 U/mg protein มีค่า endochitinase activity เท่ากับ 0.0107 U/ml, specific activity เท่ากับ 0.055 U/mg protein และมีค่า β-1,3-glucanase activity เท่ากับ 0.079 U/ml, และ specific activity เท่ากับ 0.41 U/mg protein และเมื่อนำน้ำกรองเลี้ยงเชื้อมาทคสอบการยับยั้ง การงอกของสปอร์พบว่า น้ำกรองที่ได้จาก B. subtilis PP-10 สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ P. digitatum ได้ 63% เมื่อนำไปบ่มที่ 25 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และน้ำกรองเลี้ยงเชื้อจะหมด ประสิทธิภาพในการยับยั้ง P. digitatum อย่างสมบูรณ์หลังจากบ่มที่อุณหภูมิน้ำเคือดเป็นเวลา



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Copyright © by Chiang Mai University All rights reserved

Thesis Title Inhibitory Effect of Anti-Penicillium digitatum Substances

from Chitin Assimilating Bacteria

Author Miss Phanthip Olanratmanee

Degree Master of Science (Biology)

Thesis Advisory Committee Assoc. Prof. Abhinya Plikomol Chairperson

Assoc. Prof. Wanchai Sonthichai Member

Abstract

This research was conducted to increase the value of shrimp shell waste and cope with the environmental problem through production of anti-*Penicillium digitatum* substance. Infection by *P. digitatum* is the main problem of orange postharvest. A total seventy microbial isolates were isolated from Japanese natto, Thai fermented soybeans and stock cultures from Microbiology Section, Chiang Mai University culture collection. The seventy isolates were maintained on an agar medium containing shrimp shell waste and examined by the spot test method and cylinder plate method for the inhibitory effect on *P. digitatum*. Bacterial isolate PP-10, the dried Thai fermented soybean, showed the highest inhibitory effect in chitin broth. Its morphological, biochemical and 16S rRNA analysis indicated that this organism is *Bacillus subtilis* and thermotolerant. The most suitable condition was cultivated in chitin broth, pH 7 in 125 ml Erlenmeyer flask supplemented with 10% glucose (w/v). The medium was inoculated with 0.5 ml of the starter inoculum, which had a concentration equal to McFarland No. 3, and was incubated at 37 °C for 2 days. It was found that the filtrate from this condition could inhibit *P. digitatum* 83%. The exochitinase activity was 0.0031 U/ml; specific activity was 0.016 U/mg protein. The endochitinase activity was 0.0107 U/ml; specific activity was 0.055 U/mg

protein and the β -1,3-glucanase activity was 0.079 U/ml; specific activity was 0.41 U/mg protein. The inhibitory activity of the crude enzyme was completely disappeared after incubation in boiling water for 10 minutes. The inhibitory effect for the germination of *P. digitatum* spores was 63% inhibition after incubation at 25°C for 24 hours.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Copyright © by Chiang Mai University All rights reserved