ผลของน้ำกรองเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีทที่ผลิตเอนไซม์ไคติเนสต่อเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสในพริก

พรนภา โทตรี*

บทคัดย่อ

งานวิจัยครั้งนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของน้ำกรองเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีทในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และ *C. capsici* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก พบว่าเมื่อนำเชื้อแอคติโนมัยซีทที่แยกได้จากดินบนดอยสุเทพ-ปุยจำนวน 6 ไอโซเลท ได้แก่ SEA120-4, SEA120-28, SEA120-38, OMA60-1, OMA60-7 และ OMA60-34 มาเลี้ยงในอาหาร enzyme production medium (EPM) ที่อุณหภูมิ 28°C เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นทดสอบยับยั้งการเจริญเส้นใยและการงอกสปอร์ของเชื้อราด้วยวิธี agar well method โดยแบ่งน้ำกรองเลี้ยงเชื้อ แอคติโนมัยซีทเป็น 2 ส่วน ได้แก่ น้ำกรองเลี้ยงเชื้อที่ไม่ได้กรองสปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยซีทออก (non-culture filtrate; NF) และน้ำกรองเลี้ยงเชื้อที่กรองสปอร์ออก (culture filtrate; F) เปรียบเทียบกับชุดควบคุม คืออาหาร EPM พบว่า น้ำกรองเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีทชนิด NF ของทุกไอโซเลทให้ผลการยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการงอกสปอร์ของเชื้อราทั้ง 2 ชนิดได้สูงกว่าน้ำกรองเลี้ยงเชื้อชนิด F โดยน้ำกรองเลี้ยงเชื้อชนิด NF และ F ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท OMA60-1 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเชื้อรา ซึ่งเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรามีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อเขย่าเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 3 วันเป็นต้นไป และพบว่า เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* เมื่อเขย่าเป็นเวลา 3 วัน มีค่าเท่ากับ 56.39 และ 51.78% ตามลำดับ ในขณะที่สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *C. capsici* ได้เท่ากับ 64.40 และ 54.07% ตามลำดับ

เมื่อทดสอบค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไคติเนสในน้ำกรองเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีท พบว่า แอคติโนมัยซีททุกไอโซเลทผลิตเอนไซม์ไคติเนสได้ในปริมาณที่แตกต่างกัน โดยไอโซเลท OMA60-1 มีปริมาณเอนไซม์ไคติเนสในวันที่ 3 ของการเลี้ยงเชื้อสูงสุดเท่ากับ 0.15 U/ml หลังจากนั้นเริ่มมีค่าลดลงเรื่อยๆ จนสิ้นสุดการทดลอง เมื่อนำน้ำกรองเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีทชนิด F ของไอโซเลท OMA60-1 ที่เขย่าเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 3, 5 และ 6 วันมากรองผ่านแผ่นกรองขนาด 10 kDa MW cut-off พบว่าส่วนของสารละลายที่ไม่ผ่านแผ่นกรอง (MW >10 kDa) มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไคติเนสสูง ในขณะที่สารละลายที่ผ่านแผ่นกรอง (MW <10 kDa) พบเพียงเล็กน้อย เมื่อนำมาทดสอบยับยั้งการเจริญเส้นใยและการงอกสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* พบว่าสารละลายที่ไม่ผ่านแผ่นกรองให้ผลการยับยั้งการเจริญเส้นใยและการงอกสปอร์ของเชื้อราได้สูงกว่าสารละลายที่ผ่านแผ่นกรอง

เมื่อนำน้ำกรองเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีทของไอโซเลท OMA60-1 มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp. บนผลพริกชี้ฟ้า พบว่าพริกที่แช่ในน้ำกรองเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีทก่อนปลูกเชื้อสาเหตุทั้ง 2 ชนิด มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำกว่าพริกที่แช่ในน้ำกรองเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีทภายหลังการปลูกเชื้อ ซึ่งพริกที่แช่ในน้ำกรองเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีทชนิด F เป็นเวลา 5 นาที ให้ผลการยับยั้งได้ดีเทียบเท่ากับการใช้แบคทีเรีย *Baciilus subtilis* ซึ่งเป็นสารชีวภัณฑ์ทางการค้า และการแช่ในน้ำกรองเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีทชนิด NF

---

* วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว) สถาบันวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

รองลงมาคือ การแช่ในน้ำกรองเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีทชนิด F เป็นเวลา 3 และ 1 นาที ตามลำดับ สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำกรองเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท OMA60-1 ต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนสในระยะต้นกล้าพบว่า การแช่เมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการปลูกเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ในน้ำกรองเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีทชนิด NF และ F ให้ผลการยับยั้งการเกิดโรคได้ดีและมีเปอร์เซ็นต์ความงอกไม่แตกต่างจากการใช้ captan และ *B. subtilis* ทั้งการเพาะบนจานอาหาร PDA และการเพาะลงดินที่ฆ่าเชื้อแล้ว

การทดสอบคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวของผลพริกที่แช่ในน้ำกรองเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีทชนิด F ในเวลาต่างๆ กันพบว่า การแช่ผลพริกเป็นเวลา 5 นาที มีอายุการเก็บรักษาสั้นกว่าการแช่ผลพริกเป็นเวลา 1 และ 3 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยเริ่มแสดงอาการผิดปกติอยู่ในเกณฑ์ที่ผู้บริโภคยอมรับไม่ได้คือ มีกลิ่นผิดปกติ และผลพริกเริ่มนิ่มเละเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 10 วันเป็นต้นไป

The Effect of Chitinase Producing Actinomycete Culture Filtrate on Colletotrichum spp. Causing Chilli Anthracnose

Pornnapa Thotree*

Abstract

This study was conducted to evaluate the efficiency of culture medium from soil actinomyces against *Colletotrichum gloeosporioides* and *C. capsici* causing chilli anthracnose disease. Six actinomycete isolated from Doi Suthep-Pui soil: SEA120-4, SEA120-28, SEA120-38, OMA60-1, OMA60-7 and OMA60-34, were cultivated on enzyme production medium (EMP) at 28 °C for 7 days. After that, culture medium of each isolate was separated in 2 parts: non-culture filtrate (NF) and culture filtrate (F), were tested against *Colletotrichum* spp. using agar well method and EMP as a control. The results showed a significant difference in the inhibitory activity between non-culture filtrate (NF) and culture filtrate (F) from all tested actinomycete. The inhibitory activity of both NF and F were increased after 3-day actinomycete culture. Non-culture filtrate and culture filtrate of isolate OMA60-1 had the highest inhibitory efficacy of both fungi. After 3-day actinomycete culture, they could inhibit mycelial growth of *C. gloeosporioides* at 56.39 and 51.78%, respectively, while *C. capsici* was inhibited at 64.40% and 54.07%, respectively.

Chitinase activity of culture filtrate was measured. The results showed chitinase was produced in all actinomycete isolates in varying degree and isolate OMA60-1 produced the highest level of chitinase activity (0.15 U/ml) at 3-day culture after that it was decreased until 7- day culture. After ultrafiltration (10 kDa MW cut-off) of culture filtrate (F) at 3, 5 and 6-day actinomycete culture, the fraction 1 (MW >10 kDa) showed the highest chitinase activity while the fraction 2 (MW <10 kDa) was detected a few amount. When fraction 1 and 2 were tested for the inhibitory effect on mycelial growth and spore germination of *C. gloeosporioides*. The results showed the fraction 1 was more effective inhibiting the mycelial growth and spore germination than the fraction 2.

Non-culture filtrate (NF) and culture filtrate (F) of isolate OMA60-1 were tested for controlling of anthracnose disease on chilli. The results showed the chilli fruits were dipped in non-culture filtrate (NF) and culture filtrate (F) before inoculation with spore suspension of both pathogenic fungi had the percentage of disease incidence less than the chilli dipped in non-culture filtrate (NF) and culture filtrate (F) after inoculation. The biocontrol efficacy of dipping in culture filtrate (F) for 5 mins was not different from using commercial *Bacillus subtilis* and non-culture filtrate (NF). While dipping in culture filtrate (F) for 3 and 1 min were less effective, respectively. The prevention of pathogenic fungi on seed was observed. After inoculation with *C. gloeosporioides* and *C. capsici*, seeds were treated with captan, *B. subtilis*, non-culture filtrate (NF) and culture filtrate (F). The biocontrol efficacy of all treatment were not different when cultivated on PDA and sterile soil.

* Master of Science (Postharvest Technology), Postharvest Technology Research Institute, Chiang Mai University.

When evaluated the postharvest quality of chilli fruits after dipping in culture filtrate (F) and kept at 25 °C. It was found that the chilli fruits dipped in culture filtrate (F) for 5 mins had a shelf-life less than dipping in culture filtrate (F) for 3 and 1 min, respectively. They showed the abnormal symptom such as off-flavour and soft texture after kept for 10 days.