Agricultural Sci. J. 33 : 6 (Suppl.) : 75-78 (2002) **ว. วิทย. กษ. 33 : 6 (พิเศษ) : 75-78 (2545)**

ผลการยับยั้งของแบคทีเรียทนอุณหภูมิสูงที่ผลิตไคติเนส *Bacillus cereus* H11 ต่อเชื้อราก่อโรคในมะม่วง *Colletotrichum gloeosporiodes*

ศิริลาภา สมานมิตร[1] เครือวัลย์ ทองเล่ม[1] และ อภิญญา ผลิโกมล[1]

บทคัดย่อ

Bacillus cereus H11 เป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญบนอาหารที่มีไคตินจากเปลือกกุ้งและทนอุณหภูมิสูง เมื่อนำมาทดสอบการเป็นปฏิปักษ์ต่อ *Colletotrichum gloeosporiodes* โดยวิธี spot test และ paper disc method พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของ *C. gloeosporiodes* ได้

เมื่อทดสอบความสามารถในการยับยั้งโรคบนผลมะม่วงพบว่าน้ำกรอง *B. cereus* H11 ที่จุ่มผลก่อนทำการปลูกเชื้อก่อโรคมีความสามารถในการยับยั้งโรคได้ไม่แตกต่างจากการใช้สารฆ่าเชื้อรา Octave® ก่อนปลูกเชื้อ แต่ถ้าใช้น้ำกรองเลี้ยงเชื้อ *B. cereus* H11 หลังจากปลูกเชื้อไปแล้วจะมีความสามารถในการยับยั้งโรคน้อยกว่าการใช้สารฆ่าเชื้อรา คะแนนทางด้านการเปลี่ยนแปลงสีผิวนั้น ชุดที่จุ่มมะม่วงในน้ำกรองเลี้ยงเชื้อของ *B. cereus* H11 ก่อนปลูกเชื้อจะมีคะแนนแตกต่างจากชุดควบคุม 1 ซึ่งเป็นชุดที่ไม่มีการทำให้เกิดแผลและจุ่มในสารยับยั้งใดๆ แต่จะเท่ากับชุดควบคุม 2 ซึ่งเป็นชุดที่ทำให้เกิดแผลแต่ไม่มีการจุ่มในสารยับยั้ง ด้านสีเนื้อนั้น ชุดที่จุ่มมะม่วงในน้ำกรองเลี้ยงเชื้อ *B. cereus* H11 ทั้งก่อนและหลังปลูกเชื้อจะมีสีเนื้อต่างจากชุดควบคุม 1 แต่ไม่แตกต่างจากชุดควบคุม 2 และชุดที่จุ่มผลในสารต่างๆ ทั้งก่อนและหลังปลูกเชื้อ ส่วนกลิ่นนั้นทุกชุดการทดลองจะไม่มีความแตกต่างกัน ด้านรสชาติชุดที่จุ่มผลในน้ำกรองเลี้ยงเชื้อ *B. cereus* H11 ทั้งก่อนและหลังปลูกเชื้อจะมีรสชาติไม่ต่างจากชุดควบคุม 2 แต่มีรสชาติแตกต่างจากชุดควบคุม 1 ส่วนเนื้อสัมผัสของชุดที่จุ่มผลในน้ำกรองเลี้ยงเชื้อ *B. cereus* H11 ทั้งก่อนและหลังปลูกเชื้อจะไม่แตกต่างกับชุดควบคุมทั้ง 1 และ 2 ในแง่ของการยอมรับของชุดที่จุ่มมะม่วงในน้ำกรองเลี้ยงเชื้อ *B. cereus* H11 ทั้งก่อนและหลังปลูกเชื้อ มีการยอมรับไม่แตกต่างจากชุดควบคุม 2 แต่ต่างจากชุดควบคุม 1 ซึ่งมีคะแนนสูงสุด ทางด้านปริมาณ total soluble solid ของทุกชุดการทดลองจะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเหมือนกับชุดควบคุมทั้ง 2 และปริมาณกรดก็มีแนวโน้มลดลงเหมือนกับชุดควบคุมเช่นกัน

ผลของน้ำกรองเลี้ยงเชื้อ *B. cereus* H11 ต่อการงอกของสปอร์ *C. gloeosporioides* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าน้ำกรองเลี้ยงเชื้อ *B. cereus* H11 สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ *C. gloeosporioides* ได้

จากการทดลอง *B. cereus* H11 มีค่าเฉลี่ยของ chitinase activity 51.97 mU/ml มี specific activity 227.5 mU/mg protein เมื่อทำให้โปรตีนเข้มข้นขึ้นโดยการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต ส่วนของตะกอนที่เกิดจากแอมโมเนียมซัลเฟต 80 เปอร์เซ็นต์ ยังคงมีคุณสมบัติในการยับยั้งราก่อโรคภายหลังการให้ความร้อน 100 °ซ. เป็นเวลา 3 และ 5 นาที

คำนำ

โรคภายหลังการเก็บเกี่ยวของมะม่วง (*Mangifera indica* Linn.) เกิดจากเชื้อราหลายชนิด โรคที่สำคัญคือโรคแอนแทรคโนสซึ่งเกิดจากเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. (วัลลภา และดารา, 2532) ในการควบคุมเชื้อราก่อโรคมักใช้สารเคมีกำจัด ซึ่งเป็นพิษและมีอันตรายต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม จึงจำเป็นที่จะต้องมีทางเลือกอื่นในการควบคุมโรค โดยหันมาใช้วิธีการอื่นๆ แบบผสมผสาน เช่น การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (biocontrol) หรือการใช้ biocontrol agent (BCA) เช่น การใช้เอนไซม์ไคติเนส (chitinase) เอนไซม์ที่ย่อยสลายไคติน (chitinolytic enzymes) (Patil *et al.*, 2000) และ β-1,3-glucanase รวมทั้งสารปฏิชีวนะอื่นๆ ที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้นในการสลายผนังเซลล์ของเชื้อราก่อโรค (El-Katatny *et al.*, 2001)

อุปกรณ์และวิธีการ

ก. การเตรียมเชื้อราทดสอบ

เตรียมเชื้อทดสอบของ *C. gloeosporioides* ($2x10^5$ spore/ml) ในรูปสปอร์ผสมน้ำ (spore suspension) เติมสารละลาย Tween 20 (100 : 0.04 v/v) เพื่อให้สปอร์กระจายตัวได้ดีขึ้น ใช้ไม้พันสำลี เกลี่ย spore suspension บนจานอาหาร PDA ให้ทั่วผิวหน้าก่อนที่จะนำไปทดสอบในขั้นต่อไป

1. การทดสอบความสามารถของ *B. cereus* H11 ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคในมะม่วง

เชื้อที่ใช้ทดสอบคือ *Bacillus cereus* H11 จากหน่วยเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์ Microbiology Section, Chiang Mai University (MSCMU) สาขาวิชาจุลชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ซึ่งเจริญได้ในอาหารที่มี

[1] สาขาวิชาจุลชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ไคตินจากเปลือกกุ้งและเป็นแบคทีเรียทนอุณหภูมิสูง นำมาทดสอบการเป็นเชื้อปฏิปักษ์โดย dual culture method และ paper disc method กับราก่อโรค (ดูวิธีเตรียม crude extract จากข้อ 1.1)

1.1 การเตรียม crude extract

เลี้ยง *B. cereus* H11 ใน enzyme production medium (EPM) ที่มีเปลือกกุ้งเป็นแหล่งคาร์บอน บ่มบนเครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 °ซ. เป็นเวลา 7 วัน เก็บน้ำกรองเลี้ยงเชื้อ โดยใช้เครื่องเหวี่ยงความเร็วสูง 6,000 X g อุณหภูมิ 4 °ซ. เป็นเวลา 20 นาที

2. การทดสอบการยับยั้งการเจริญของราก่อโรคพืชบนผลมะม่วง (วิเชียร, 2541)

ในการทดลองใช้มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ที่ผลมีสภาพสมบูรณ์ แบ่งการทดลองออกเป็น 2 แบบคือ การปลูกเชื้อก่อโรคก่อนการป้องกันกำจัดและการปลูกเชื้อก่อโรคหลังการป้องกันกำจัดใช้ผง carborundum ทำแผลบนผลมะม่วง บริเวณขั้ว กลาง และปลายผล ปิเปต spore suspension ($1x10^5$ spores/ml) ลงบนแผล

แบ่งวิธีการทดลองออกเป็น 4 วิธี คือ จุ่มน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 55 °ซ. จุ่ม cell suspension *B. cereus* H11 ($1.5x10^8$ CFU/ml) จุ่มน้ำกรองเลี้ยงเชื้อ *B. cereus* H11 และจุ่มสารฆ่าเชื้อรา Octave® 50 W.P. 0.05% (w/v) วิธีละ 10 นาที ชุดควบคุม 1ไม่มีการทำให้เกิดแผลและวิธีการกำจัดใดๆ ชุดควบคุม 2 ทำให้เกิดแผลแผลแต่ไม่ต้องใช้วิธีการกำจัดใดๆ เรียงผลมะม่วงในกะบะพลาสติก วางสำลีชุบน้ำกลั่นฆ่าเชื้อที่มุมกะบะ สวมถุงพลาสติกใสเจาะรูหุ้มไว้อีกชั้นหนึ่ง ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง แต่ละวิธีการทำ 15 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ผล วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) (ศิริชัย, 2544) ประเมินผลการเกิดโรคหลังเก็บรักษา โดยวัดขนาดของแผล การเปลี่ยนแปลงสีผิว คุณภาพทางประสาทสัมผัส ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดในน้ำคั้น (total soluble solids, TSS) วัดปริมาณกรด (titratable acidity, TA) ในน้ำคั้น คำนวณหาเปอร์เซ็นต์กรดได้จากสูตร

$$\% \text{ กรด} = \frac{\text{ความเข้มข้นของ NaOH มาตรฐาน (M) x ปริมาณ NaOH (ml) x 100}}{\text{ปริมาณน้ำคั้น (ml)}}$$

3. การทดสอบผลของน้ำกรองเลี้ยงเชื้อ *B. cereus* H11 ต่อการงอกของสปอร์เชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ผสม spore suspension ของ *C. gloeosporioides* ($2x10^5$spore/ml) กับน้ำกลั่น น้ำกรองเลี้ยงเชื้อ *B. cereus H11* และสารฆ่าเชื้อรา Octave® 50 W.P. 0.05% (w/v) ในอัตราส่วน 1:3 ดูผลการงอกบนสไลด์ทุกๆ 2 ชั่วโมง จนครบ 50 ชั่วโมง ถือว่าสปอร์มีการงอกก็ต่อเมื่อความยาวของ germ tube มีค่าเป็น 2 เท่าของเส้นผ่าศูนย์กลางของสปอร์ (Kou *et al*., 1999)

4. การหาค่า chitinase activity และ specific activity ของ *B. cereus* H11

chitinase activity วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ตามวิธีของ Miller (Miller, 1959)

specific activity วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนตามวิธีของ Lowry (Lowry, 1951)

5. การทำให้โปรตีนบริสุทธิ์บางส่วนโดยการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต

ตามวิธีของ Colowick and Kaplan (1955) แล้วนำส่วนของ supernatant และส่วนที่ละลายตะกอนด้วย phosphate buffer pH 7.5 ทดสอบการยับยั้ง หลังต้มที่อุณหภูมิ 100 °ซ. เป็นเวลา 0, 3, 5 และ 10 นาที วัดเส้นผ่าศูนย์กลางวงใส

ผลการทดลอง

1. การทดสอบความสามารถของจุลินทรีย์บางชนิดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคในมะม่วง

dual culture method วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางวงใสของ *B. cereus* H11 ได้ 23.6 มม. ส่วน paper disc method ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของวงใสที่เกิดจากน้ำกรองเลี้ยงเชื้อ *B. cereus* H11 คือ 23.2 มม.

2. การทดสอบการยับยั้งการเจริญของราก่อโรคพืชบนผลมะม่วง

การวัดคะแนนการเปลี่ยนแปลงสีผิวของมะม่วง พบว่าในวันที่ 1 และ 3 ชุดที่มีคะแนนเฉลี่ยของการเปลี่ยนแปลงสีผิวมากกว่าชุดอื่นๆ คือ ชุดที่จุ่มมะม่วงใน cell suspension *B. cereus* H11 ก่อนปลูกเชื้อ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับทุกชุดการทดลอง แต่ในวันที่ 3 สีผิวไม่แตกต่างกับชุดที่จุ่มในน้ำกรองเลี้ยงเชื้อ *B. cereus* H11 หลังปลูกเชื้อ ในวันที่ 6 ชุดการทดลองที่มีคะแนนเฉลี่ยการเปลี่ยนแปลงสีผิวมากกว่าชุดอื่นๆ คือ ชุดที่จุ่มยาฆ่าเชื้อราก่อนปลูกเชื้อ แต่มีคะแนนไม่แตกต่างกับชุดควบคุม 1 ชุดที่จุ่มใน cell suspension *B. cereus* H11 ก่อนและหลังปลูกเชื้อ ชุดที่จุ่มน้ำร้อนอุณหภูมิ 55 °ซ. หลังปลูกเชื้อ และชุดที่จุ่มยาฆ่าเชื้อราหลังปลูกเชื้อ ส่วนในวันที่ 10 ชุดที่มีคะแนนเฉลี่ยของการเปลี่ยนแปลงสีผิวมากกว่าชุดอื่น ๆ คือชุดที่จุ่มใน cell suspension *B. cereus* H11 หลังปลูกเชื้อ แต่คะแนนไม่แตกต่างกับชุดควบคุม 1 ชุดที่จุ่มน้ำร้อนอุณหภูมิ 55 °ซ. ก่อนปลูกเชื้อ และชุดที่จุ่มน้ำกรองเลี้ยงเชื้อ *B. cereus* H11 หลังปลูกเชื้อ การวัดขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของรอยแผลที่เกิดขึ้นแสดงดังตาราง 1

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางรอยแผลของมะม่วงที่ทำการปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* ทั้งก่อนและหลังทดสอบด้วยการป้องกันกำจัดด้วยวิธีต่างๆ

วันที่	ค่าเฉลี่ยของรอยแผลที่เกิดโรค (มม.)									
			จุ่มในสารต่าง ๆ ก่อนปลูกเชื้อ				จุ่มในสารต่าง ๆ หลังปลูกเชื้อ			
	ชุดควบคุม 1	ชุดควบคุม 2	น้ำร้อนอุณหภูมิ 55 °C	ยาฆ่าเชื้อรา	Cell suspension *B.cereus* H11	น้ำกรองเลี้ยงเชื้อ *B. cereus* H11	น้ำร้อนอุณหภูมิ 55 °C	ยาฆ่าเชื้อรา	Cell suspension *B.cereus* H11	น้ำกรองเลี้ยงเชื้อ *B. cereus* H11
1	-	10.8 ns	11.2 ns	10.4 ns	10.7 ns	10.6 ns	10.7 ns	11.1 ns	10.9 ns	10.8 ns
3	-	12.3 a	12.7 a	12.9 a	11.4 b	11.2 b	12.9 a	12.2 a	13.2 a	12.7 a
6	-	15.6 a	17.5 b	16.2 a	17.2 b	16.5 a	16.1 a	15.7 a	18.5 c	17.7 b
10	-	23.1 a	19.9 b	18.3 b	19.1 b	18.8 b	22.6 a	19.4 b	20.7 c	20.1 bc

หมายเหตุ : ns (nonsignificant differences) และตัวอักษรที่เหมือนกันภายในแถวเดียวกัน คือ คะแนนเฉลี่ยการเกิดโรคไม่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

การทดสอบในด้านประสาทสัมผัส ทดสอบด้านสีเนื้อ กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และการยอมรับ พบว่าคะแนนเฉลี่ยสีเนื้อไม่แตกต่างกันทุกชุดการทดลอง ยกเว้นชุดควบคุม 1 ซึ่งมีคะแนนสูงกว่าทุกชุดการทดลอง ด้านของกลิ่นพบว่าทุกชุดการทดลองมีคะแนนเฉลี่ยของกลิ่นไม่แตกต่างกัน ด้านรสชาติพบว่าชุดควบคุม 1 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับทุกชุดการทดลองอื่นๆ การทดสอบทางด้านเนื้อสัมผัสนั้นพบว่าทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันเมื่อเทียบกับชุดควบคุม 1 และ 2 และสุดท้ายในด้านการยอมรับพบว่า ทุกชุดการทดลองแตกต่างจากชุดควบคุม 1 แต่เมื่อเทียบกับชุดควบคุม 2 พบว่าไม่แตกต่างกันยกเว้นชุดที่จุ่มในยาฆ่าเชื้อราก่อนปลูก ชุดที่จุ่ม cell suspension *B. cereus* H11 ก่อนปลูกเชื้อ และชุดที่จุ่มในน้ำร้อนอุณหภูมิ 55 °ซ. หลังปลูกเชื้อ

ส่วนปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดจะมีค่าเพิ่มขึ้นทุกชุดการทดลองตั้งแต่วันที่ 1 จนถึงวันที่ 10 และปริมาณกรดที่สามารถไตเตรทได้ในน้ำคั้น ในแต่ละวันของทุกชุดการทดลองปริมาณกรดเฉลี่ยที่วัดได้ไม่มีความแตกต่างกันและปริมาณกรดมีแนวโน้มที่จะลดลง

3. การทดสอบผลของน้ำกรองเลี้ยงเชื้อ *B. cereus* H11 ต่อการงอกของสปอร์เชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์

การงอกของสปอร์ *C. gloeosporioides* เมื่อใช้สารฆ่าเชื้อราจะทำให้การงอกของสปอร์น้อยกว่าการใช้น้ำกรองเลี้ยงเชื้อ *B. cereus* H11 และน้ำกลั่นตามลำดับ

4. การหาค่า chitinase activity และ specific activity ของ *B. cereus* H11

chitinase activity เท่ากับ 51.97 mU/ml และ specific activity เท่ากับ 227.5 mU/mg protein

5. การทำให้โปรตีนบริสุทธิ์บางส่วนโดยการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต

น้ำกรองเลี้ยงเชื้อของ *B. cereus* H11 ตะกอนได้ในช่วงความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต 40-80% และส่วนตะกอนของน้ำกรองเลี้ยงเชื้อ *B. cereus* H11 ที่ความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต 80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อผ่านการต้มที่ 100 °ซ. ที่เวลา 3 และ 5 นาที ยังสามารถยับยั้งการเจริญของราก่อโรคทั้ง *C. gloeosporioides* ได้

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

B. cereus H11 สามารถยับยั้งการเกิดโรคบนผลมะม่วง พบว่าน้ำกรองเลี้ยงเชื้อของ *B. cereus* H11 มีความสามารถในการยับยั้งโรคได้ไม่ต่างจากการใช้สารฆ่าเชื้อรา Octave®50 W.P. 0.05%(w/v) ถ้าจุ่มผลก่อนปลูกเชื้อก่อโรค เมื่อเปรียบเทียบกับงานของนวลวรรณ และคณะ (2536) ซึ่งแยกจุลินทรีย์ที่ผิวพืชจากส่วนต่างๆ ของต้นเงาะ นำมาทดสอบหาเชื้อปฏิปักษ์กับรา *C. gloeosporioides* เมื่อทดสอบจุ่มผลเงาะใน cell suspension ของแบคทีเรีย สามารถลดอาการผลเน่าของเงาะที่เกิดจากรา *C. gloeosporioides* Type II ลงจาก 85 เปอร์เซ็นต์ เหลือเพียง 42.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งการใช้น้ำกรองเลี้ยงเชื้อหรือการใช้ cell suspension จุ่มผลไม้สามารถทำให้ประชากรของราก่อโรคลดลงได้แทนการใช้สารเคมี

จากการศึกษาคุณสมบัติของน้ำกรองเลี้ยงเชื้อโดยการหาค่า chitinase activity และ specific activity ก็ตรวจพบค่า chitinase activity แสดงว่าผลการยับยั้งราก่อโรคส่วนหนึ่งก็เป็นผลมาจากการทำงานของเอนไซม์ไคติเนส ซึ่งความสามารถในการยับยั้งราก่อโรคอาจเกิดจากเอนไซม์ไคติเนสเพียงอย่างเดียวหรือเอนไซม์ไคติเนสร่วมกับสารอื่นๆ ก็ได้ หรืออาจเกิดจากกลไกอื่นๆ อีกหลายอย่าง เช่น การสร้างสารปฏิชีวนะ การเป็นปรสิต หรือ hydrolytic enzyme อื่นนอกเหนือจากไคติเนส เช่น กลูแคนเนส (glucanase) หรือโปรติเอส (protease) ซึ่งสามารถสร้างสารทำลายผนังเซลล์ของเชื้อราได้เช่นกัน (Gomes *et al.*, 2000)

เบื้องต้นพบว่าน้ำกรองของ *B. cereus* H11 สามารถลดปริมาณเชื้อราก่อโรคบนผลมะม่วงได้ส่วนหนึ่ง แต่การพัฒนาเพื่อให้นำไปใช้ได้จริงนั้นควรมีการเพิ่มประสิทธิภาพของน้ำกรอง เช่น การเพิ่มความเข้มข้นของน้ำกรอง การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสร้างเอนไซม์ไคติเนสหรือสารยับยั้งอื่นๆ ในแง่ของ pH และอุณหภูมิของการเพาะเลี้ยง หรือการเปลี่ยนรูปให้นำไปใช้ได้ง่ายขึ้นเพื่อประโยชน์และความสะดวกของเกษตรกรในการรักษาสภาพผลผลิตแทนการใช้สารเคมี

เอกสารอ้างอิง

นวลวรรณ ฟ้ารุ่งสาง, อุดม ฟ้ารุ่งสาง, สมศิริ แสงโชติ,จริงแท้ ศิริพานิช และ กณิษฐา สังคะหะ. 2536. การทดสอบแบคทีเรียแอนทาโกนิสต์ขั้นต้น ในการควบคุมโรคผลเน่าของเงาะหลังการเก็บเกี่ยวที่เกิดจากรา *Colletotrichum gloeosporioides* โดยชีววิธี. รายงานผลการวิจัยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

วิเชียร เลี่ยมนาค. 2541. ผลของการเคลือบผิวด้วยไคโตซานต่อการควบคุมโรคและคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้และเขียวเสวย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่.

วัลลภา ธีระภาวะ และ ดารา พวงสุวรรณ. 2532. โรคผลเน่าและวิธีปฏิบัติภายหลังการเก็บเกี่ยวมะม่วง. มะม่วง. สถาบันวิจัยพืชสวน. กรมวิชาการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

ศิริชัย พงษ์วิชัย. 2544. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยคอมพิวเตอร์ เน้นสำหรับงานวิจัย. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.

Colowic, S.P. and N.O. Kaplan. 1955. Methods in enzymology. Academic Press. New York.

El-Katatny, M.H., M. Gudelj, K.H. Robra, M.A. Elnaghy and G.M. Gübitz. 2001. Characterization of a chitinase and an endo-β-1,3-glucanase from *Trichoderma harzianum* Rifai T24 involved in control of the phytopathogen *Sclerotium rolfsii*. Appl. Microbiol and Biotechnol. 56: 137-143.

Gomes, R.C., L.T.A. S. Semêdo, R.M.A. Soares, C.S. Alviano, L.F. Linhares and R. R. R. Coelho. 2000. Chitinolytic activity of actinomycetes froma cerrado soil and their potential in biocontrol. Lett. Appl. Microbiol. 30: 146-150.

Kou Y., P.F. Molitor and S.J. Schmidt. 1999. Mobility and stability characterization of model food systems using NMR, DSC and conidia germination techniques. J. Food Sci. 64(4): 950-959.

Lowry, O.H., N.J. Rosenbrough, A.L. Farr and R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin-phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 265-275.

Miller, G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Anal. Chem. 31: 426-428.

Patil R.S., V. Ghormade and M.V. Deshpande. 2000. Chitionolytic enzymes: an exploration. Enzyme Microb. Technol. 26: 473-483.