Agricultural Sci. J. 42 : 1 (Suppl.) : 163-166 (2011) ว. วิทย. กษ. 42 : 1 (พิเศษ) : 163-166 (2554)

ประสิทธิภาพของน้ำเลี้ยงเชื้อแอกติโนมัยซีสในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum* sp. สาเหตุของโรคแอนแทรกโนสของพริก

Efficiency of Actinomyces Culture Medium for Controlling *Colletotrichum* sp. Causing Chilli Anthracnose Disease

พรนภา โทตรี,[1] ชาติชาย โขนงนุช[2] และสรัญยา ณ ลำปาง[3]
Pornnapa Thotree,[1] Chatchai Knongnuch[2] and Sarunya Nalumpang[3]

Abstract

This study was conducted to evaluate the efficiency of culture medium from soil actinomyces against *Colletotrichum gloeosporioides* causing chilli anthracnose disease. Six actinomyces isolated from Doi Suthep-Pui soil: SEA120-04, SEA120-28, SEA120-38, SEA60-34, OMA60-01 and OMA60-07, 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). They were tested against *C. gloeosporioides* using agar well method and EMP as a control. The results showed a significant difference in the inhibitory activity between the NF and F of all actinomyces. Both the NF and F of isolate OMA60-01 were found to inhibit mycelial growth at 56.39 and 51.87%, respectively. Moreover, they could suppress spore germination of the fungi. The NF and F of isolate OMA60-01 were tested for prevention of anthracnose disease on chilli. The chillis were treated with the NF and F for 1 and 3 min before inoculation with spore suspension of *C. gloeosporioides*. The efficacy of up to 80% was obtained. This was not different from using commercial *Bacillus subtilis*. The chitinase activity of culture filtrate was observed. The isolate OMA60-01 showed the highest chitinase activity (0.15 U/ml) and then the chitinase was concentrated using ultrafiltration membrane. It was found that the inhibitory activity of concentrated chitinase was not different from the culture filtrate (F).

Keywords: culture medium, anthracnose, chilli

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้เพื่อหาประสิทธิภาพของน้ำเลี้ยงเชื้อแอกติโนมัยซีสในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการงอกของสปอร์เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคแอนแทรกโนสของพริก พบว่า เมื่อนำเชื้อแอกติโนมัยซีสที่แยกได้จากดินบนดอยสุเทพ-ปุยจำนวน 6 ไอโซเลต ได้แก่ SEA120-04, SEA120-28, SEA120-38, SEA60-34, OMA60-01 และ OMA60-07 มาเลี้ยงในอาหาร enzyme production medium (EPM) ที่ 28°C เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นทดสอบการยับยั้งการเจริญเส้นใยและการงอกของสปอร์เชื้อราด้วยวิธี agar well method โดยแบ่งน้ำเลี้ยงเชื้อแอกติโนมัยซีสเป็น 2 ส่วน ได้แก่ ส่วนที่ไม่ได้กรองเอาสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีสออก (non-culture filtrate, NF) และส่วนที่ผ่านการกรองเอาสปอร์ออก (culture filtrate, F) เปรียบเทียบกับชุดควบคุม คืออาหาร EPM พบว่า NF ของทุกไอโซเลตให้ผลการยับยั้งสูงกว่า F อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยน้ำเลี้ยงเชื้อแอกติโนมัยซีสไอโซเลต OMA60-01 ทั้ง NF และ F มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อราเท่ากับ 56.39 และ 51.87% ตามลำดับ อีกทั้งสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราได้อีกด้วย เมื่อนำ NF และ F ของ OMA60-01 มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งโรคบนผลพริกพบว่า การแช่ผลพริกใน NF และ F เป็นเวลา 1และ 3 นาที ก่อนปลูกเชื้อสาเหตุสามารถยับยั้งการเกิดโรคได้สูงถึง 80% ซึ่งไม่แตกต่างจากการใช้เชื้อ *B. subtilis* ที่ใช้ในเชิงการค้า จากการศึกษาคุณสมบัติบางประการของน้ำกรองเลี้ยงเชื้อแอกติโนมัยซีส (F) พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ไคทิเนสในน้ำกรองเลี้ยงเชื้อ OMA60-01 มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์สูงที่สุดเท่ากับ 0.15 U/ml และเมื่อนำมาทำให้เข้มข้นขึ้นด้วยการกรองผ่าน ultrafiltration membrane พบว่าส่วนที่ไม่ผ่านการกรองซึ่งส่วนใหญ่เป็นเอนไซม์ไคทิเนสยังให้ผลการยับยั้งการเจริญและการงอกของสปอร์เชื้อราเช่นเดียวกับน้ำกรองเลี้ยงเชื้อ (F) ปกติ

คำสำคัญ: น้ำเลี้ยงเชื้อแอกติโนมัยซีส, แอนแทรกโนส, พริก

[1] สถาบันวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว/ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 50200
[1] Postharvest technology research institute/Postharvest Technology Innovation Center, Chiangmai University 50200
[2] ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพทางอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 50200
[2] Department of Agro-Biotechnology, Faculty of Agro-Industry, Chiangmai University, Chiangmai 50200
[3] ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 50200
[3] Department of Plant pathology. Faculty of Agriculture. Chiangmai University. Chiangmai 50200

คำนำ

ปัจจุบันความต้องการพริกทั้งในรูปผลสดและผลแห้งมีค่อนข้างสูง จึงทำให้พริกกลายเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญอีกชนิดหนึ่ง พริกเมื่อทำการเก็บเกี่ยวแล้วจะมีความเสี่ยงต่อการเข้าทำลายของเชื้อก่อโรคได้ง่าย โดยเฉพาะโรคแอนแทรกโนส ซึ่งสามารถทำให้เกิดการสูญเสียได้สูงถึง 80% ในประเทศไทยสาเหตุของโรคนี้เกิดจากเชื้อรา *C. capsici* และ *C. gloeosporioides* การควบคุมโรคนิยมใช้สารเคมีซึ่งอาจเกิดสารตกค้างที่เป็นอันตรายเมื่อใช้ไม่ถูกต้อง การควบคุมโดยชีววิธีจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่ได้มีการนำมาศึกษา เชื้อแอกติโนมัยซีส (actinomycetes) ถือเป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญในการสร้างสารตัวกลางเช่น hydrolytic enzyme ที่มีคุณสมบัติในการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อจุลินทรีย์สาเหตุของโรคพืช จากงานวิจัยของ Macagnan *et al*. (2008) พบว่าเอนไซม์ไคทิเนสที่ *Streptromyces* spp. สร้างขึ้นสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์และยับยั้งการสร้างเส้นใยของเชื้อรา *Moniliopthora pernisiosa* โดยไคทิเนสจะย่อยสลายไคทินที่เป็นองค์ประกอบหลักของผนังเซลล์เชื้อได้จากตัวอย่างงานวิจัยนี้ หากนำน้ำเลี้ยงเชื้อแอกติโนมัยซีสที่มีเอนไซม์ไคทิเนสมาใช้ในการควบคุมเชื้อรา *C. gloeosporioides* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคแอนแทรกโนสในพริก อาจจะช่วยลดความเสียหายหลังการเก็บเกี่ยวได้อีกวิธีหนึ่ง ซึ่งช่วยทดแทนการใช้สารเคมีได้

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำเลี้ยงเชื้อแอกติโนมัยซีสและคุณสมบัติบางประการ

1.1 การเตรียมน้ำเลี้ยงเชื้อแอกติโนมัยซีส

ปิเปตสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีส 6 ไอโซเลตคือ OMA60-1, OMA60-7, OMA60-34, SEA120-4, SEA120-28 และ SEA120-38 (10^5 spores/ml) 0.5 ml (1% v/v) ลงใน Enzyme production medium ที่มีไคทินเป็นแหล่งคาร์บอนปริมาตร 50 ml บ่มบนเครื่องเขย่าความเร็ว 150 rpm ที่อุณหภูมิห้องนาน 7 วัน เก็บตัวอย่างทุกวัน โดยนำมาเหวี่ยงด้วยความเร็วสูงที่ 6,000 rpm 4 °C นาน 20 นาที แบ่งส่วนใสที่ได้ออกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกคือน้ำเลี้ยงเชื้อที่ไม่กรองเอาสปอร์ออก (non-culture filtrate, NF) และส่วนที่ 2 นำมากรองด้วยเครื่องกรองแบคทีเรีย Minisart® pore size 0.2 ไมครอน เรียกน้ำเลี้ยงเชื้อที่กรองเอาสปอร์ออก (culture filtrate, F)

1.2 การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา C. gloeosporioides โดยวิธี agar well method

เทอาหาร PDA แบบ double layer ใช้ cork borer ขนาด 0.5 cm เจาะลงบนอาหาร 4 ตำแหน่ง วางชิ้นเชื้อราทดสอบอายุ 5 วัน ตรงกลางอาหาร PDA ที่เตรียมไว้ หยดน้ำเลี้ยงเชื้อ NF และ F 30 µl ลงในหลุมเปรียบเทียบกับชุดควบคุมคืออาหาร EPM และ *B. subtilis* ($1x10^9$ CFU/g) 30 µl บ่มที่อุณหภูมิห้อง วัดรัศมีโคโลนีเพื่อคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (percent inhibition of radial growth, PIRG) โดยใช้สูตรดังนี้

เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง $= [(R_1 - R_2) / R_1] \times 100$

เมื่อ R_1 และ R_2 คือ ความยาวรัศมีของโคโลนีเชื้อราสาเหตุในชุดควบคุมและในชุดทดสอบ

1.3. การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา C. gloeosporioides โดยวิธี agar well method

ปิเปตสารแขวนลอยสปอร์เชื้อราทดสอบ (10^5 spore/ml) 0.1 ml ลงในอาหาร PDA เกลี่ยให้ทั่วผิวหน้ารอจนแห้ง ใช้ cork borer เจาะลงบนอาหาร 4 ตำแหน่ง ทำการทดสอบเช่นเดียวกับข้อ 1.2 บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง วัดขนาดวงใส (clear zone)

1.4. การวัดการทำงานของเอนไซม์ไคทิเนสโดยการหาค่า chitinase activity

เตรียม reaction mixture ตามวิธีของอภิญญาและคณะ (2545) วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ตามวิธีของ Miller (1959) โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 575 nm ด้วยเครื่อง spectrophotometer ซึ่งเป็นการวัดปริมาณ N-acetlyglucosamine ที่ถูกปล่อยออกมาจากปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์กับซับสเตรต (25% colloidal chitin ใน 0.2 M phosphate buffer pH 7.5) นำค่าที่วัดได้ไปเทียบหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากกราฟมาตรฐานเพื่อนำไปคำนวณหาค่า enzyme activity หน่วยการทำงานของเอนไซม์ กำหนดให้ 1 unit ของเอนไซม์ หมายถึง ปริมาณของเอนไซม์ที่ทำให้เกิดการปลดปล่อย N-acetlyglucosmine 1 ไมโครโมล ในเวลา 1 นาที

1.5. การทำเอนไซม์ไคทิเนสให้เข้มข้นโดยวิธี ultrafiltration

เทน้ำเลี้ยงเชื้อ F ไอโซเลต OMA60-1 วันที่ 3, 5 และ 6 ลงในหลอด concentrator (membrane pore size 10 kDa) หมุนเหวี่ยงที่ 2,500 rpm 4 °C นาน 10 นาที นำส่วนที่ไม่ผ่านแผ่นและส่วนที่ผ่านแผ่นกรอง มาทำการทดสอบดังข้อ 1.2-1.4 โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุมคือ อาหาร EPM และน้ำกรองเลี้ยงเชื้อ (F)

2. ประสิทธิภาพของน้ำเลี้ยงเชื้อแอกติโนมัยซีสในการควบคุมเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนผลพริกชี้ฟ้าแดง

การเตรียมน้ำเลี้ยงเชื้อแอกติโนมัยซีส ปิเปตสารแขวนลอยสปอร์ OMA60-1 (10^5 spores/ml) 4 ml ใส่ลงในอาหาร EPM 400 มิลลิลิตร บ่มบนเครื่องเขย่านาน 3 วัน จากนั้นทำเก็บน้ำเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกับข้อ 1.1 โดยแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ NF และ F

การเตรียมผลพริก ฆ่าเชื้อที่ผิวผลด้วย 0.5% NaOCl ล้างออกด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อผึ่งให้แห้ง ทำให้เกิดบาดแผลผลละ 3 แผล คือ หัว กลางและท้ายโดยใช้ cork borer ขนาด 1 cm แบ่งการทดสอบออกเป็น 2 ชุด คือมีการปลูกเชื้อก่อโรคก่อนการป้องกันกำจัดและทำการป้องกันกำจัดก่อนการปลูกเชื้อ การปลูกเชื้อทำโดยหยดสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราทดสอบความเข้มข้น 10^6 spores/ml ลงบนแผล แผลละ 30 µl รอจนกระทั่งซึมเข้าแผลประมาณ 1 ชั่วโมง ทำการป้องกันกำจัดโดยแช่ใน *B. subtilis* ,น้ำเลี้ยงเชื้อ NF และF บรรจุผลพริกในแต่ละกรรมวิธีในถาดพลาสติกคลุมด้วยถุง PE เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง บันทึกการเกิดโรค เปรียบเทียบกับชุดควบคุมคือผลพริกปกติและผลพริกที่ปลูกเชื้อเพียงอย่างเดียว

ผลการทดลอง

1. ผลการยับยั้งการเจริญเส้นใยและการงอกของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* จากน้ำเลี้ยงเชื้อแอกติโนมัยซีส 6 ไอโซเลต

น้ำเลี้ยงเชื้อแอกติโนมัยซีส 6 ไอโซเลตที่ทำการเก็บตัวอย่างตั้งแต่วันที่ 1ถึงวันที่ 7 เมื่อนำมาทำการทดสอบการยับยั้งการเจริญเส้นใยและการงอกของสปอร์เชื้อราพบว่า NF และ F ของไอโซเลต OMA60-1 ให้ผลการยับยั้งที่สูงกว่าไอโซเลตอื่นๆ โดย NF ให้ผลการยับยั้งที่ดีกว่า F และยับยั้งได้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับ *B. subtilis* ที่ใช้ในทางการค้า เมื่อทดสอบค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไคทิเนส พบว่า แอกติโนมัยซีสทุกไอโซเลตมีแนวโน้มในการสร้างเอนไซม์ไคทิเนสที่คล้ายคลึงกันคือ ช่วงแรกมีการสร้างเพียงเล็กน้อยและเพิ่มมากขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงต่อมา หลังจากนั้นก็จะเริ่มลดลง โดยไอโซเลต OMA 60-01 มีค่า chitinase activity สูงกว่าไอโซเลตอื่นๆ ซึ่งมีค่าสูงสุดในวันที่ 3 ของการเลี้ยงเชื้อ คือ 0.15 U/ml (Table 1) และเมื่อนำตัวอย่างน้ำเลี้ยงเชื้อ F ของไอโซเลต OMA 60-01 มาทำให้เข้มข้นขึ้นโดยวิธี ultrafiltration พบว่า ส่วนที่ไม่ผ่านแผ่นกรอง (>10 kDa) ให้ผลการยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการงอกของสปอร์เชื้อราได้ไม่แตกต่างจากน้ำเลี้ยงเชื้อ F ในขณะที่ส่วนที่ผ่านแผ่นกรอง (<10 kDa) ให้ผลการยับยั้งเพียงเล็กน้อย เมื่อนำมาวัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์พบว่า ส่วนที่ไม่ผ่านแผ่นกรองมีค่า chitinase activity สูงกว่าส่วนที่ผ่านแผ่นกรอง (Table 2)

Table 1 Inhibitory effect of culture medium for actinomycete OMA60-1 on *C. gloeosporioides* and chitinase activity

Date of incubation	*C. gloeosporioides*						Chitinase activity (U/ml)
	Inhibition of radial growth (%)[a]			Inhibition of spore germination (cm)[a]			
	B. subtilis	NF	F	*B. subtilis*	NF	F	
1	58.60±0.79x	43.76±1.72yc	23.44±2.34zc	1.60±0.17x	1.17±0.15ya	0.60±0.17zc	0.038
2	58.33±1.44x	48.33±1.44ybc	30.15±2.50zb	1.66±0.15x	1.50±0.20xya	1.13±0.23yb	0.08
3	59.52±2.38x	56.39±2.47xybc	51.78±1.37ya	1.96±0.15	1.70±0.2a	1.63±0.12ab	0.15
4	57.09±1.81x	56.31±1.62xa	48.44±1.77ya	1.70±10.73	1.83±0.15a	1.73±0.25a	0.053
5	57.57±2.62x	53.03±1.31xya	49.24±1.32ya	1.60±0.17	1.70±0.20a	1.67±0.17a	0.33
6	58.54±1.80x	56.29±0.66xa	51.13±1.14ya	1.57±0.11	1.76±0.25a	1.67±0.05a	0.026
7	59.41±1.81x	56.39±2.38xa	51.15±1.95ya	1.77±0.25	1.87±0.15a	1.57±0.11a	0.019

[a] The results are presented as means of three replicated plates ± standard error. Values of each column (a,b,c) and row (x,y,z) followed by different letter indicate significant difference ($p<0.05$) according to LSD test

Table 2 Inhibitory effect of culture medium for actinomycete OMA60-1 (3, 5 and 6 day culture) after concentration by ultrafiltration and chitinase activity

Treatment	Inhibition of radial growth (%)			Inhibition of spore germination			Chitinase activity (U/ml)		
	3	5	6	3	5	6	3	5	6
F	51.78±1.37	49.24±1.32	51.13±1.14	1.60±0.1	1.57 ±0.11	1.63±0.15	0.15	0.033	0.026
>10kDa	45.69 ±1.92	42.02±2.6	34.10±1.34	1.70±0.2	1.50 ±0.20	1.33±0.05	0.27	0.047	0.035
<10kDa	10.01±1.30	7.05±1.08	13.17±1.34	0	0.5	0.5	0.007	0.001	0

2. ผลการยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนผลพริกโดยน้ำเลี้ยงเชื้อแอกติโนมัยซีสไอโซเลต OMA60-01

ผลพริกในชุดควบคุมที่มีการปลูกเชื้อเพียงอย่างเดียวมีการเกิดโรค 100% และพบว่าผลพริกที่มีการป้องกันกำจัดโดยแช่ใน *B. subtilis*, NF และ F ก่อนการปลูกเชื้อเกิดโรคได้ต่ำกว่าพริกที่ปลูกเชื้อก่อนป้องกันกำจัด ซึ่งพริกที่ผ่านการแช่ในน้ำเลี้ยงเชื้อ F นาน 5 นาทีก่อนปลูกเชื้อสามารถยับยั้งการเกิดโรคได้ดีเทียบเท่ากับการแช่ใน NF และ *B. subtilis* ที่ใช้ในการค้าอีกด้วย (Figure 1)

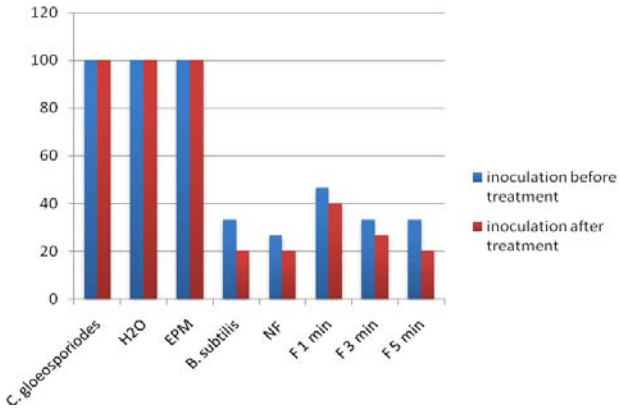

Figure 1 Percentage of disease incidence on chilli after 7 days of inoculation

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

น้ำเลี้ยงเชื้อทุกไอโซเลตแสดงความเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อ *C. gloeosporioides* ได้ โดย NF และ F ของไอโซเลต OMA60-01 ให้ผลการยับยั้งที่ดีกว่า น้ำเลี้ยงเชื้อ F ให้ผลการยับยั้งที่ต่ำกว่า NF เนื่องจากน้ำเลี้ยงเชื้อ NF มีสปอร์ของแอกติโนมัยซีสปะปนอยู่ ดังนั้นสปอร์ของเชื้อสามารถเจริญและสร้างสารตัวกลางที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราทดสอบได้ต่อไป เมื่อทำการทดสอบบนผลพริกพบว่า การแช่พริกลงในสารป้องกันกำจัดก่อนทำการปลูกเชื้อทำให้เชื้อปฏิปักษ์มีโอกาสอยู่รอดสูงกว่าเชื้อราทดสอบ อีกทั้งเชื้อปฏิปักษ์สามารถเป็นปรสิตในเชื้อก่อโรคได้ (El-Tarabily *et al*., 2006) จึงส่งผลให้เกิดโรคต่ำกว่าชุดที่มีการปลูกเชื้อก่อนป้องกันกำจัด การศึกษาครั้งนี้ ได้กระตุ้นให้เชื้อสร้างเอนไซม์ไคทิเนสโดยนำมาเลี้ยงในอาหารที่มีไคทินเป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ในตัวอย่าง พบว่าน้ำเลี้ยงเชื้อ F ของไอโซเลต OMA60-01 มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์สูงกว่าไอโซเลตอื่นๆ และเมื่อนำมากรองผ่านเมมเบรน (pore size 10 kDa) เพื่อแยกเอาเอนไซม์ไคทิเนสซึ่งส่วนใหญ่มีขนาดโมเลกุลใหญ่กว่า 10 kDa ออกมา (Tanabe *et al*., 2000) เมื่อทดสอบการยับยั้ง พบว่าส่วนที่เป็นเอนไซม์ไคทิเนสให้ผลการยับยั้งที่สูงกว่าส่วนที่ผ่านแผ่นกรองและให้ผลใกล้เคียงกับน้ำเลี้ยงเชื้อ F ดังนั้นการทดลองนี้ แสดงให้เห็นว่าการยับยั้งที่เกิดจาก F ส่วนใหญ่เป็นผลมาจากเอนไซม์ไคทิเนสที่เชื้อสร้างขึ้น นอกจากนี้ผลการยับยั้งอาจเกิดได้จากสารตัวกลางอื่นๆ ที่เชื้อสามารถสร้างขึ้นได้เช่นกัน เช่น glucanase หรือสารปฏิชีวนะ (Macagnan *et al*., 2008) เป็นต้น

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว ศูนย์นวัตกรรมหลังการเก็บเกี่ยว และคณะอุตสาหกรรมเกษตร สาขาเทคโนโลยีชีวภาพทางอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้การสนับสนุนเครื่องมือและทุนในการทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

อภิญญา ผลิโกมล, ศิริลาภา สมานมิตร และเครือวัลย์ ทองเล่ม. 2545. ผลการยับยั้งของจุลินทรีย์ที่ผลิตไคทิเนสต่อเชื้อราสาเหตุของโรคในมะม่วงและลำไย. สถานวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 75 หน้า.

El-Tarabily, K. A. and K. Sivasithamparam. 2006. Non-streptomycete actinomycetes as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. *Soil Biology and Biochemistry* 38: 1505-1520.

Macagnan, D., R. da S. Romerio, A. W. V. Pomella and J. T. deSouza. 2008. Production of lytic enzymes and siderophores and inhibition of germination of basidiospores of *Moniliophthora* (ex *Crinipellis*) *perniciosa* by phylloplane actinomycetes. *Biological Control* 47 (3): 309-314.

Miller, G. L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent of determination of reducing sugars. *Analytical Chemistry* 31: 426-428.

Tanabe, T., T. Kawase, T. Watanabe, Y. Uchida and M. Mitsutomi. 2000. Purification and characterization of a 49-kDa chitinase from *Streptomyces griseus* HUT 6037. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 89(1): 27-32.