

บทคัดย่อ

เชื้อรา *Penicillium digitatum* เป็นเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าราเขียวของผลส้ม พบหลังการเก็บเกี่ยวของผลส้มตั้งแต่ในสวนจนถึงโรงบรรจุ การวิจัยเพื่อใช้การควบคุมแบบชีววิธีร่วมกันระหว่างเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ยีสต์ และแบคทีเรีย และสารเคมีที่ใช้ในชีวิตประจำวันโซเดียมไบคาร์บอเนต หลังการคัดเลือกพบว่า *Bacillus subtilis* ABS-S14 และโซเดียมไบคาร์บอเนตที่ความเข้มข้น 1-2% (w/v) สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยและการออกสปอร์ของเชื้อรา *P. digitatum* ได้ 100% ขณะที่ *Pichia guilliermondii* BCC5389 ที่ 10^6 ถึง 10^8 เซลล์/มิลลิลิตร ยับยั้งได้ 93.89% และ 100% ตามลำดับสำหรับการทดลองบนผลส้ม เมื่อใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้งสองชนิดร่วมกันพบว่าสามารถยับยั้งโรคได้อย่างสมบูรณ์ จากการตรวจสอบการเจริญครอบครองพื้นที่ของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บนบาดแผลระหว่างวันแรกจนกระทั่งวันที่ 6 พบว่า ปริมาณเชื้อยีสต์ *P. guilliermondii* เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ในขณะที่เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* มีการเพิ่มขึ้นเล็กน้อยใน 3 วันหลังการทำบาดแผลและปริมาณเชื้อจะยังคงที่ในช่วงการบ่มเชื้อ การใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ร่วมกันไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพของผลส้มเมื่อบ่มส้มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ผสมสามารถชักนำเอนไซม์ไคติเนสและเบต้า-1,3-กลูคาเนสบนผลส้มได้ที่ 24 ชั่วโมงแรก และ ระดับเอนไซม์เบต้า-1,3-กลูคาเนสในส่วนเนื้อเยื่อผิวส้มที่ปลูกเชื้อร่วมกันระหว่าง *P. guilliermondii* BCC 5389 และ *B. subtilis* ABS-S14, และ *P. digitatum* ให้ผลเช่นเดียวกันกับที่มี *P. digitatum* เพียงอย่างเดียว ซึ่งมีการสร้างเอนไซม์ไคติเนสสูงที่สุดที่ 12 ถึง 48 ชั่วโมง การแสดงออกของยีนด้วยการวัดปริมาณการสังเคราะห์อาร์เอ็นเอของยีนไคติเนส (*CHI*) และเบต้า-1,3-กลูคาเนส (*GLU*) จากเปลือกผลส้ม การแสดงออกของยีน *GLU* ชักนำโดย *P. digitatum* หรือเชื้อยีสต์และแบคทีเรีย เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วที่ 3 ชั่วโมงหลังปลูกเชื้อราเช่นเดียวกับที่พบในระดับการสังเคราะห์ยีน *CHI* ในผิวส้ม

คำสำคัญ: *Penicillium digitatum*, *Bacillus subtilis*, จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ โซเดียมไบคาร์บอเนต ผลส้ม เอนไซม์ไคติเนส เบต้า-1,3-กลูคาเนส

Abstract

Penicillium digitatum, a postharvest pathogen of green mold rot of citrus fruit generally contaminates in orchard through packing house. This study aims to use mixtures of antagonistic yeast and bacteria in combination with baking soda (sodium bicarbonate) as a biological control product to control fruit rot pathogen in citrus during postharvest storage. After screening for the antifungal activity *P. guilliermondii* BCC5389 and *Bacillus subtilis* ABS-S14 showed strong antagonistic activity toward the fungus pathogen *in vitro* and *in vivo*. *B. subtilis* ABS-S14 and 1-2% NaHCO₃ (w/v) completely inhibited mycelial growth and spore germination of *P. digitatum*. At 10⁶ to 10⁸ cell/ml of *P. guilliermondii* BCC5389 inhibited fungal mycelium growth and spore germination of 93.89% and 100%, respectively. A sodium bicarbonate solution has no effect on growth of both antagonistic microorganisms. The potential of using *P. guilliermondii* BCC 5389 or *B. subtilis* ABS-S14 by themselves or in combination for the control *P. digitatum* in citrus, and their effects on postharvest quality of fruit were investigated. . Fruit efficacy test revealed that the percentage of disease incidence on fruits treated with the combined antagonists was remarkably reduced. Rapid colonization of *P. guilliermondii* was observed in the wounds during the first day to 6 days at 25°C, whereas *B. subtilis* increased marginally over 3 days. The populations then stabilized for the remaining incubation period. The combination did not impair any of the quality parameters of fruit after storage at 25°C for 7 days. The mixtures of antagonist were clearly induced activity of chitinase and β -1,3-glucanase enzymes in the citrus rind within 24 h. Interestingly, inoculation with *P. digitatum* alone also induced the elicitation of both enzyme activities in the citrus flavedo tissues during 12-48 h. In parallel, the expression of genes that coded for glucanases as well as chitinase, were enhanced by the antagonists in the citrus rind during the first 3 h following pathogen inoculation.

Keywords: *Penicillium digitatum*, *Bacillus subtilis*, Antagonistic microorganism, Sodium bicarbonate, chitinase, β -1,3-glucanase