

| | | | |
|----------------------------------|--|--|-------------|
| Thesis Title | Induction of Resistance to Anthracnose Disease of Postharvest Mango Fruit by Antagonistic Yeasts | | |
| Author | Mr. Parinya Chantrasri | | |
| Degree | Doctor of Philosophy (Biology) | | |
| Thesis Advisory Committee | | | |
| | Dr. Uraporn Sardsud | | Chairperson |
| | Asst. Prof. Dr. Vicha Sardsud | | Member |
| | Assoc. Prof. Dr. Jinda Sornsrivichai | | Member |
| | Assoc. Prof. Dr. Somboon Anuntalabhochai | | Member |
| | Assoc. Prof. Dr. Somsiri Sangchote | | Member |

ABSTRACT

Potential antagonistic yeasts from epiphytic yeasts on the surface of mango leaves and fruits, collected from organic orchards in Lampang, Lamphun and Chiang Mai provinces were screened. The sterile distilled water washings from leaf and fruit surfaces were used for the isolation of epiphytic yeasts on nutrient yeast dextrose agar pH 4.5. The different yeast isolates were then screened for the antagonist by inoculating both yeast and *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. on the wounded mango fruit. Potential antagonistic yeasts were isolated from the wound sites

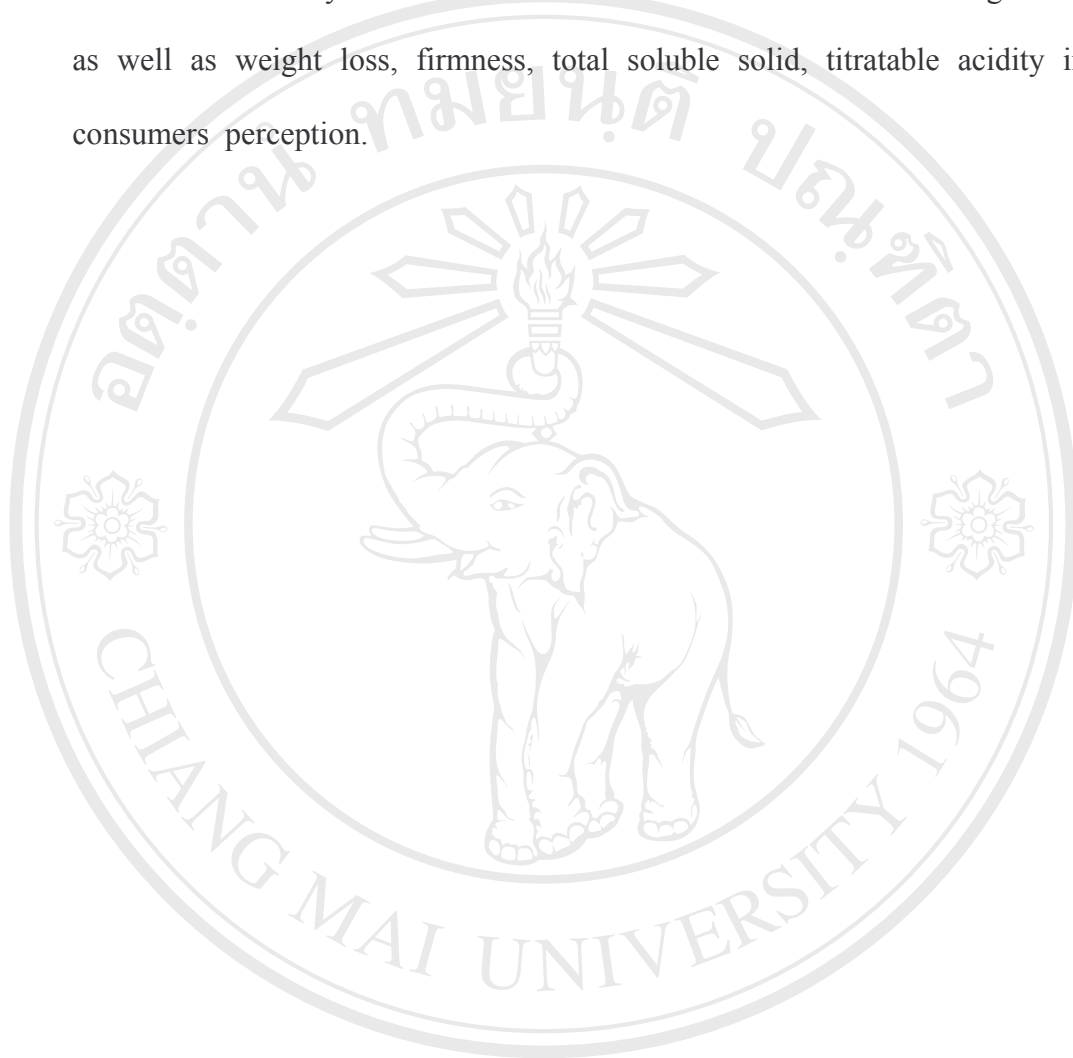
which did not develop anthracnose lesions. Thirty six yeast isolates were obtained and tested for antibiotic activity against *C. gloeosporioides* by dual culture method and culture filtrate testing. Non-antibiotic producing yeast isolates were selected.

The biocontrol assay of selected yeasts against anthracnose fruit rot revealed that isolate ns9 from the leaf surface of 'Choke Anan' mango was a promising isolate and it was identified as *Candida famata* (F.C. Harrison) by physiological and molecular characteristics. Scanning electron microscope observations revealed that this yeast was rapidly colonized at the wound sites of mango fruit after 12 h of inoculation and followed by pathogen. This yeast also stimulated defense responses in mango tissue by increasing β -1,3-glucanase, chitinase and peroxidase activities.

Combination of yeast ns9 and 0.5% chitosan offered better control of anthracnose fruit rot in mango than yeast ns9 or 0.5% chitosan alone. This combination showed almost the same level of disease control as that by imazalil. The fruits soaked with yeast ns9 suspension and coated with 0.5% chitosan showed a reduction of anthracnose disease on the naturally infected fruit.

Yeast ns9 was preserved in sterile distilled water and 0.5% chitosan supplemented with 10% skim milk or 10% glucose and in combination. The viability of yeast cells was determined each month for five months. It was found that all treatments, the yeast population slightly fluctuated from the initial stage. However, the population size of yeast with no supplement decreased rapidly.

The combined yeast and chitosan treatment had no effect on mango fruit quality as well as weight loss, firmness, total soluble solid, titratable acidity including consumers perception.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การชักนำให้เกิดความต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนส
ของผลมะม่วงหลังเก็บเกี่ยวด้วยยีสต์ปฏิปักษ์

ผู้เขียน นายปริญญา จันทศรี

ปริญญา วิทยาศาสตร์ดุสิตบัณฑิต (ชีววิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

| | |
|-----------------------------|---------------|
| อ.ดร. อูราภรณ์ สอาดสุด | ประธานกรรมการ |
| ผศ.ดร. วิชชา สอาดสุด | กรรมการ |
| รศ.ดร. จินดา ศรศรีวิชัย | กรรมการ |
| รศ.ดร. สมบูรณ์ อนันตลาโภชัย | กรรมการ |
| รศ.ดร.สมศิริ แสงโชติ | กรรมการ |

บทคัดย่อ

ยีสต์ที่มีศักยภาพในการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ถูกคัดเลือกจากกลุ่มยีสต์บนผิวใบและผลของมะม่วงที่เก็บมาจากสวนเกษตรอินทรีย์ในจังหวัดลำปาง ลำพูนและเชียงใหม่ โดยใช้น้ำกลั่นฆ่าเชื้อล้างผิวใบและผลแล้วนำมาแยกเชื้อบนอาหาร nutrient yeast dextrose agar pH 4.5 นำยีสต์สายพันธุ์ต่างๆที่แยกได้เหล่านี้มาคัดเลือกหาเชื้อปฏิปักษ์ โดยการปลูกยีสต์และเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. ลงบนบาดแผลที่ทำขึ้นบนผลมะม่วง พบว่า สามารถแยกได้ยีสต์ที่มีศักยภาพในการเป็นเชื้อปฏิปักษ์จากบาดแผลที่ไม่มีการพัฒนาเป็นรอยแผลแอนแทรกโนส มีจำนวน 36 สายพันธุ์ นำมาทดสอบการสร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยการนำเชื้อมาเลี้ยงร่วมกันบนอาหารเพาะเชื้อและทดสอบกับสารปฏิชีวนะกับน้ำกรองอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงยีสต์คัดเลือกยีสต์ที่ไม่สร้างสารปฏิชีวนะไว้ศึกษาในขั้นตอนต่อไป

จากการตรวจสอบความสามารถในการควบคุมโรคผลเน่าแอนแทรกโนสโดยชีววิธีของยีสต์ที่ได้คัดเลือกไว้ พบว่ายีสต์สายพันธุ์ ns9 ที่แยกได้จากบริเวณผิวใบของมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์ มีประสิทธิภาพในการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ เมื่อนำมาจำแนกชนิดโดยวิธีการทางสรีรวิทยาและอนุชีววิทยา

พบว่าเป็นยีสต์ *Candida famata* (F.C. Harrison) ผลจากการตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ได้แสดงให้เห็นว่ายีสต์นี้สามารถครอบครองพื้นที่บริเวณบาดแผลที่ทำขึ้นบนผลมะม่วง ได้รวดเร็วกว่าเชื้อราก่อโรค เมื่อมีการปลูกยีสต์นี้ลงบริเวณบาดแผลไว้ก่อนเป็นเวลา 12 ชั่วโมงแล้วปลูกเชื้อตามด้วยเชื้อราก่อโรค และยีสต์นี้ยังสามารถชักนำให้พืชเกิดปฏิกิริยาต่อต้านในระดับเนื้อเยื่อ โดยเพิ่มระดับกิจกรรมของเอนไซม์ β -1,3-glucanase, chitinase และ peroxidase

ยีสต์ ns9 สามารถนำมาใช้ร่วมกับไคโตซานความเข้มข้น 0.5% และให้ผลในการควบคุมโรคผลเน่าแอนแทรกโนสในมะม่วงได้ดีกว่าการใช้ยีสต์ ns9 หรือไคโตซานเพียงอย่างเดียวอย่างหนึ่ง และกรรมวิธีการใช้ร่วมกันนี้ให้ผลในการควบคุมโรคในระดับที่ใกล้เคียงกับสารเคมีอิมิมาซาลิล ผลมะม่วงที่แช่ในสารแขวนลอยของเซลล์ยีสต์ ns9 และเคลือบผิวด้วยไคโตซาน 0.5% สามารถลดการเกิดโรคแอนแทรกโนสที่มาจากการติดเชื้อจากสภาพธรรมชาติ

ได้ทำการเก็บรักษาเซลล์ยีสต์ ns9 ในน้ำกลั่นและสารละลายไคโตซาน 0.5% โดยการเติมหางนม 10% หรือน้ำตาลกลูโคส 10% หรือเติมสารทั้งสองชนิด พบว่าในทุกกรรมวิธี เซลล์ยีสต์ยังคงมีชีวิตและจำนวนประชากรเปลี่ยนแปลงขึ้นลงในระดับที่ใกล้เคียงกัน นับจากจุดเริ่มต้นจนถึงระยะเวลา 5 เดือน ในขณะที่กรรมวิธีที่ไม่มีการเติมสารทั้งสองชนิดนี้ จำนวนประชากรของยีสต์ลดลงอย่างรวดเร็ว

กรรมวิธีที่ใช้ยีสต์ร่วมกับไคโตซานกับผลมะม่วงหลังเก็บเกี่ยว พบว่าไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลมะม่วง ทั้งในเรื่องของเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) และปริมาณของกรดที่ไตเตรตได้ (TA) ตลอดจนการยอมรับของผู้บริโภค.