บทคัดย่อ

แบคทีเรีย *Bacillus* spp. จำนวน 24 จาก 1,015 สายพันธุ์ที่แยกได้จากตัวอย่างดิน แสดงปฏิกิริยาปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Penicillium digitatum* ก่อโรคผลเน่าของส้ม น้ำเลี้ยงเชื้อของ *B. subtilis* จำนวน 33 สายพันธุ์เมื่อเจือจางอย่างมีลำดับ (1:32) ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. digitatum* (80-100 %) และสารระเหยที่แบคทีเรียผลิตขึ้นยับยั้งได้ 30-70% การทดสอบเมื่อใช้สารออกฤทธิ์ที่สกัดด้วยเอธานอลจากน้ำเลี้ยงเชื้อของ *Bacillus* spp. 7 สายพันธุ์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. digitatum* ได้ดีมีค่า EC_{50} อยู่ในช่วง 77-172 µg/ml จากการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่าสารปฏิชีวนะมีผลทำให้เกิดความผิดปกติของผนังเซลล์ของสปอร์ที่งอก สารปฏิชีวนะที่แยกออกจากสารสกัดหยาบด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแผ่นบางแบบเตรียมโดยใช้ $CHCl_3$/MeOH/H_2O (65:25:4, ปริมาตร/ปริมาตร) สารในแถบที่มี R_f เท่ากับ 0.14, 0.19, 0.28, 0.49 และ 0.58 ยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ชัดเจน โดยมี EC_{50} คือ 95.73, 14.07, 15.19, 108.59 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ความรุนแรงของโรคที่เกิดจากปลูกเชื้อรา *P. digitatum* (10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร) บนแผลผิวส้มพบได้จากอาการของโรคแสดงในวันที่ 3 และเน่าทั้งผลในวันที่ 5 การทดสอบการควบคุมโรคของเอนโดสปอร์ *B. subtilis* และสารสกัดหยาบบนผลส้มด้วยกรรมวิธีต่างๆบ่งชี้ชัดเจนว่า เอนโดสปอร์แบคทีเรียที่ใส่ก่อนปลูกเชื้อรา 24 ชั่วโมงสามารถยับยั้งการแสดงอาการของโรคได้ดี (99.70%) ในวันที่ 8 ส่วนสารสกัดหยาบ (10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สามารถยับยั้งได้ดีสูงสุดเมื่อใส่พร้อมเชื้อราโดยยับยั้งอาการแสดงของโรคใน 5 วัน เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของแผลที่พบบนผลส้มที่ปลูกเชื้อราร่วมกับเอนโดสปอร์แบคทีเรีย สารสกัดหยาบ หรือสารกำจัดเชื้อราอิมาซาลิล แตกต่างจากขนาดแผลที่พบในชุดควบคุมที่เกิดโรคอย่างมีนัยสำคัญ

คำสำคัญของเรื่องที่ทำวิจัย: *B. subtilis*; *Penicillium digitatum*; ปฏิกิริยาปฏิปักษ์; ส้ม; โรคผลเน่า

Abstract

Twenty fourstrains of *Bacillus* spp. screened from 1,015 isolates of soil bacteria showed antagonistic activities towards *Penicillium digitatum* pathogen, a cause fruit rot disease of citrus. Culture supernatants obtained from 33 strains of *Bacillus* spp. caused 80-100 % inhibition of *P. digitatum* growth when they were serially diluted to 1:32. Volatile compounds produced by these strains also caused 30-70% inhibition of fungal growth. An ethanol extract from culture supernatant of *Bacillus* spp. 7 strains produced strong inhibitory effect on mycelial growth of the fungus with EC_{50} at 77-172 μg/ml. Its effect on the abnormality of cell wall of the germinated spores was observed under microscope. Inhibitory compounds obtained from preparative thin layer chromatography ($CHCl_3$/MeOH/H_2O: 65/25/4, v/v) of the ethanol extract had R_f values of 0.14,0.19, 0.28, 0.49, and 0.58 with EC_{50} value 95.73, 14.07, 15.19, 108.59 and 100 μg/ml, respectively. Inoculation of a *P. digitatum* spore suspension (10^4 spores/ml) onto wounded citrus fruit induced disease symptoms at day 3 and decayed at day 5. To study the efficacy of *B. subtilis* in controlling citrus fruit rot, various treatments, including inoculation with endospores and treatment with ethanol extracts were carried out. Inoculation with *B. subtilis* endospores 24 h prior to fungal spore inoculation decreased disease incidences by 99.70% at day 8, while addition of 10 mg/ml of the ethanol extract, together with the fungus, produced complete disease suppression within 5 days after inoculation. Average lesion diameters observed from those treatments with bacterial endospores, crude extract and imazalil were significant different from the size of wounds in the control set treated only with fungal spores.

Keywords: *B. subtilis*; *Penicillium digitatum*; antagonistic activities; citrus; fruit rot disease