



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

ปริญญา

โรคพืช

โรคพืช

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การผลิตแบคทีเรียปฏิปักษ์ในรูปสูตรสำเร็จชนิดผงเพื่อใช้ควบคุมโรคแอนแทรกโนส
ของพริกโดยชีววิธี

Production of Antagonistic Bacteria in Powder Formulation for Biological Control of
Anthracnose on Chili

นามผู้วิจัย นายธรรมศาสตร์ จันทรัตน์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์วรรณวิไล อินทนะ วท.ค.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์จิระเดช แจ่มสว่าง, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์รัชณี สงประยูร, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

สืบสังข์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การผลิตแบคทีเรียปฏิชีวนะในรูปสูตรสำเร็จชนิดผงเพื่อใช้ควบคุมโรคแอนแทรกโนส
ของพริก โดยชีววิธี

Production of antagonistic bacteria in powder formulation for biological control of
anthracnose on chili

โดย

นายธรรมศาสตร์ จันทรัตน์

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

พ.ศ. 2555

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ธรรมชาติ 2555: การผลิตแบคทีเรียปฏิชีวนะในรูปสูตรสำเร็จชนิดผงเพื่อใช้ควบคุมโรคแอนแทรกซ์ของพริกโดยชีววิธี ปรินญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาโรคพืช ภาควิชาโรคพืช อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์วราภรณ์ วิไล อินทนู, วท.ค. 94 หน้า

จากการตรวจปริมาณเชื้อในแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus amyloliquefaciens* ไอโซเลต DGg13 ในสูตรสำเร็จชนิดผง 2 รูปแบบ (ผงดินและผงทาลคัม) พบว่าปริมาณความมีชีวิตของแบคทีเรีย ในเดือนแรก มีปริมาณ 4×10^{11} - 6.3×10^{12} CFU/g และเมื่อเก็บไว้ในตู้เย็น 4-10 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือนพบว่าปริมาณแบคทีเรียปฏิชีวนะไอโซเลต DGg 13 ลดลงเหลือ 10^8 - 10^{11} CFU/g โดยแบคทีเรียปฏิชีวนะสูตรสำเร็จชนิดผงดิน มีแบคทีเรียปฏิชีวนะสูงสุดคือ 2.5×10^{11} CFU/g จึงคัดเลือกแบคทีเรียปฏิชีวนะ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลต DGg13 และ *Bacillus* sp. ไอโซเลต BB 165 ซึ่งมีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum* spp. นำมาผลิตเป็นสูตรสำเร็จชนิดผงดิน จากการทดสอบประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จในการควบคุมโรคแอนแทรกซ์ในสับปะรดพริก โดยวิธี detached fruit ผลปรากฏว่า แบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus* sp. ไอโซเลต BB 165 และ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลต DGg13 มีประสิทธิภาพในการลดโรคของผลพริก 86.97 และ 84.99 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จชนิดผงดินของเชื้อแบคทีเรียมีค่าใกล้เคียงกับการใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* CB-Pin-01 ชนิดเชื้อสด ซึ่งมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรค 88.67 เปอร์เซ็นต์ และเทียบเท่าสารเคมี carbendazim จากการแช่เมล็ดพริกมันพันธุ์บางช้าง ในเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus* sp. ไอโซเลต BB 165 ที่เตรียมจากสูตรสำเร็จชนิดผงดิน พบว่ามีผลช่วยให้เมล็ดพันธุ์พริกมีเปอร์เซ็นต์การงอกดีที่สุดคือ 78.00 เปอร์เซ็นต์ ใกล้เคียงกับการใช้สปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ในรูปแบบเชื้อสด (75.33 เปอร์เซ็นต์) ส่วนแบคทีเรียปฏิชีวนะ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลต DGg13 ช่วยให้เมล็ดพริกมีเปอร์เซ็นต์การงอก 72.66 เปอร์เซ็นต์ โดย กรรมวิธีควบคุม มีเปอร์เซ็นต์การงอกเพียง 49.33 เปอร์เซ็นต์ จากการใช้สูตรสำเร็จชนิดผงดินควบคุมโรคแอนแทรกซ์ของพริกในสภาพแปลงปลูกพบว่า สูตรสำเร็จชนิดผงดินของแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus* sp. ไอโซเลต BB 165 และ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลต DGg13 มีประสิทธิภาพในการลดความรุนแรงโรคที่ผลพริกโดยเฉลี่ย 77.31 และ 62.39 เปอร์เซ็นต์ และมีน้ำหนักผลผลิตรวมทั้งหมด 2,843 กรัม และ 2,797 กรัม ตามลำดับ

Thammasart Chantararat 2012: Production of Antagonistic Bacteria in Powder Formulation for Biological Control of Anthracnose on Chili. Master of science (Agriculture), Major Field: Plant Pathology, Department of Plant Pathology. Thesis Advisor: Assistant Professor Wanwilai Intanoo, Ph.D. 94 pages.

Populations of antagonistic bacterium of *Bacillus amyloliquefaciens* isolate DGg13 in two powder formulations (soil powder, talcum powder) were quantified. Populations at 1 month of storage were in the ranges of 4×10^{11} - 6.3×10^{12} CFU/g. After 6 months of storages at 4-10 °C, populations of *B. amyloliquefaciens* isolate DGg13 were in the range of 10^8 - 10^{11} CFU/g, which population in the soil powder formulation was at 2.5×10^{11} CFU/g. Therefore, two promising bacterial antagonists, *B. amyloliquefaciens* isolate DGg13 and *Bacillus* sp. isolate BB165 with its ability to control anthracnose pathogen (*Colletotrichum* spp.) were selected for preparing soil powder formulation. The efficacy of soil powder formulation to control chili anthracnose was evaluated by using detached fruit method. Results showed that soil powder formulation of *Bacillus* sp. isolate BB165 and *B. amyloliquefaciens* isolate DGg13 provided 86.97 and 84.99% of disease control, respectively, when compared to the control. These percentages of disease control were similar to the efficacy of *Trichoderma harzianum* CB-Pin-01 fresh culture (88.67%) which was comparable to the use of a carbendazim fungicide. When the seeds of chili cv. Bangchang were soaked in the suspension prepared from powder formulation of *Bacillus* sp. isolate BB165, the germination percentage was 78.00%, similar to the use of *T. harzianum* CB-Pin-01 fresh culture (75.33%). Percent germination of seeds soaked with *B. amyloliquefaciens* isolate DGg13 was 72.66%, while only 49.33% seed germination was observed in a control (seeds soaked in sterile water). Powder formulation of antagonistic *Bacillus* sp. isolate BB165 and *B. amyloliquefaciens* isolate DGg13 effectively reduced anthracnose diseases under field condition by 77.31% and 62.39 %, while the total weights of chili fruits were 2,843 and 2,797 g, respectively.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.วรรณวิไล อินทนู อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลักที่กรุณาให้คำแนะนำปรึกษาเกี่ยวกับการวิจัย และตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ รศ.ดร.จิระเดช แจ่มสว่าง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ดร.รัศมี ฐิติเกียรติพงศ์ ผู้ทรงคุณวุฒิจากภายนอก และ ผศ.ดร.คณินนิตย์ เหมียวรากร ประธานการสอบ ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ และตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสนทุกท่าน พี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ห้องปฏิบัติการควบคุมโรคพืชโดยชีวภาพทุกคนสำหรับคำแนะนำ ช่วยเหลือและเป็นกำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

ประโยชน์จากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอมอบแด่คุณพ่อ คุณแม่ คุณปู่ คุณย่า คุณตา คุณยาย และครูอาจารย์ผู้ประสาทวิชาความรู้ ตลอดจนผู้มีพระคุณทุกท่านที่ได้สนับสนุน เป็นกำลังใจให้ตลอดมาจนสำเร็จการศึกษา

ธรรมศาสตร์ จันทรัตน์

เมษายน 2555

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	(6)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	14
ผลและวิจารณ์	26
ผล	26
วิจารณ์	65
สรุปและข้อเสนอแนะ	70
สรุป	70
ข้อเสนอแนะ	71
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	72
ภาคผนวก	80
ภาคผนวก ก สายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์ที่ปลูกและสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ	81
ภาคผนวก ข ภาพระยะเวลาการปลูกต้นพริกมันพันธุ์บางช้าง	85
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	94

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ปริมาณของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> isolate DGg13 ในสูตรสำเร็จ 2 รูปแบบ ที่อุณหภูมิ 4-10°C เป็นเวลา 6 เดือน	27
2	ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จชนิดผง ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกที่เกิดจากเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ด้วยวิธี Detached fruit Technique หลังจากปลูกเชื้อ 7 วัน	30
3	ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จชนิดผง ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกที่เกิดจากเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ด้วยวิธี Detached fruit Technique หลังจากปลูกเชื้อ 10 วัน	31
4	ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จชนิดผง ที่เก็บไว้ 3 เดือน ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกที่เกิดจากเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ด้วยวิธี Detached fruit Technique หลังจากปลูกเชื้อ 7 วัน	34
5	ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จชนิดผง ที่เก็บไว้ 3 เดือน ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกที่เกิดจากเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ด้วยวิธี Detached fruit Technique หลังจากปลูกเชื้อ 10 วัน	36
6	ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จชนิดผง ที่เก็บไว้ 6 เดือน ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกที่เกิดจากเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ด้วยวิธี Detached fruit Technique หลังจากปลูกเชื้อ 7 วัน	39
7	ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จชนิดผง ที่เก็บไว้ 6 เดือน ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกที่เกิดจากเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ด้วยวิธี Detached fruit Technique หลังจากปลูกเชื้อ 10 วัน	41

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
8	เปอร์เซ็นต์การออกของเมล็ดพันธุ์บางช่วง ที่ระยะเวลา 7 วันหลังจากแช่ใน สูตร สำเร็จต่างๆวัน	43
9	การเจริญของลำต้นและรากของต้นกล้าพริกมันพันธุ์บางช่วง ระยะเวลาที่ 15 วันหลังจากแช่เมล็ดในสูตรสำเร็จ	46
10	ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสของพริกมัน พันธุ์บางช่วงในสภาพแปลงปลูกหลังจากย้ายปลูก 90 วัน	51
11	ปริมาณจุลินทรีย์ที่เจริญบนผิวพริกของพริกมันพันธุ์บางช่วงในสภาพแปลง ปลูกหลังจากย้ายปลูก 90 วัน	53
12	ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสของพริกมัน พันธุ์บางช่วงในสภาพแปลงปลูกหลังจากย้ายปลูก 105 วัน	54
13	ปริมาณจุลินทรีย์ที่เจริญบนผิวพริกของพริกมันพันธุ์บางช่วงในสภาพแปลง ปลูกหลังจากย้ายปลูก 105 วัน	55
14	ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสของพริกมัน พันธุ์บางช่วงในสภาพแปลงปลูกหลังจากย้ายปลูก 120 วัน	58
15	ปริมาณจุลินทรีย์ที่เจริญบนผิวพริกของพริกมันพันธุ์บางช่วงในสภาพแปลง ปลูกหลังจากย้ายปลูก 120 วัน	60
16	ปริมาณน้ำหนักรากผลผลิตพริกมันพันธุ์บางช่วงของแต่ละกรรมวิธีที่ใช้สูตรสำเร็จ ในรูปแบบต่างๆในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสของพริกในสภาพแปลง ปลูก	61
17	ค่าเฉลี่ยประสิทธิภาพการใช้สูตรสำเร็จในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสใน สภาพแปลงปลูก	63
18	ปริมาณจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> isolate DGg13 และ <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลต BB 165 ในสูตรสำเร็จชนิดผงที่อุณหภูมิ 4-10°C	64

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 สูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> isolate DGg13 ใน สูตรสำเร็จ 2 รูปแบบ; A ลักษณะสูตรสำเร็จผงดิน, B ลักษณะสูตรสำเร็จ ผงทาลคัม	27
2 สูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่บรรจุในภาชนะของอลูมิเนียมฟอยล์ น้ำหนัก 20 กรัมต่อซอง	28
3 ประสิทธิภาพสูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนส ของพริกที่เกิดจากเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ด้วยวิธี Detached fruit Technique หลังจากปลูกเชื้อ 7 วัน	32
4 ประสิทธิภาพสูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่เก็บไว้ 3 เดือน ในการควบคุม โรคแอนแทรคโนสของพริกที่เกิดจากเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ด้วยวิธี Detached fruit Technique หลังจากปลูกเชื้อ 7 วัน	37
5 ประสิทธิภาพสูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่เก็บไว้ 6 เดือน ในการควบคุม โรคแอนแทรคโนสของพริกที่เกิดจากเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ด้วยวิธี Detached fruit Technique หลังจากปลูกเชื้อ 7 วัน	42
6 ลักษณะเมล็ดพริกมันพันธุ์ บางช้างหลังจากแช่เมล็ดในสูตรสำเร็จชนิดต่างๆ; A ลักษณะของเมล็ดพริกที่แช่ในสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> <i>harzianum</i> CB-Pin-01 ในรูปแบบเชื้อสด; B ลักษณะเมล็ดพริกที่มีการเจริญของ รากขนอ่อนหลังจากแช่เมล็ดพริกในสิ่งทดสอบ 10 วัน	44
7 ประสิทธิภาพสูตรสำเร็จรูปแบบผงดินต่อการงอกของเมล็ดพริกพันธุ์บางช้าง หลังจากแช่ในสูตรสำเร็จรูปแบบต่างๆ 7 วัน	45
8 การครอบครองรากพริกอายุ 15 วัน หลังเพาะเมล็ดของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ของ กรรมวิธีต่างๆที่แช่เมล็ดพริกในสูตรสำเร็จ	47

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
9	ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จในการควบคุมโรคแอนแทรกซ์ของพริกมันพันธุ์บางช้างในสภาพแปลงปลูกหลังจากย้ายปลูก 60 วัน	49
10	ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จในการควบคุมโรคแอนแทรกซ์ของพริกมันพันธุ์บางช้างในสภาพแปลงปลูกหลังจากย้ายปลูก 75 วัน	50
11	ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จในการควบคุมโรคแอนแทรกซ์ของพริกมันพันธุ์บางช้างในสภาพแปลงปลูกหลังจากย้ายปลูก 90 วัน	52
12	ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จในการควบคุมโรคแอนแทรกซ์ของพริกมันพันธุ์บางช้างในสภาพแปลงปลูกหลังจากย้ายปลูก 105 วัน	56
13	ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จในการควบคุมโรคแอนแทรกซ์ของพริกมันพันธุ์บางช้างในสภาพแปลงปลูกหลังจากย้ายปลูก 120 วัน	59

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

cm	=	เซนติเมตร
cm ²	=	ตารางเซนติเมตร
CFU	=	colony forming unit (จำนวนจุลินทรีย์ที่ตรวจพบบนอาหารเลี้ยงเชื้อคิดเป็นหน่วยโคโลนี)
ml	=	มิลลิลิตร
NGA	=	nutrient glucose agar (อาหารแข็งเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย)
NGB	=	nutrient glucose broth (อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย)
PDA	=	potato dextrose agar (อาหารแข็งเลี้ยงเชื้อรา)
PDB	=	potato dextrose broth (อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อรา)
ppm	=	part per million (ส่วนในล้านส่วน)
WP	=	wettable powder (ผงเปียกน้ำ)
μm	=	micrometer (ไมโครเมตร)
%	=	เปอร์เซ็นต์

การผลิตแบคทีเรียปฏิปักษ์ในรูปสูตรสำเร็จชนิดผงเพื่อใช้ควบคุมโรคแอนแทรคโนส ของพริกโดยชีววิธี

Production of antagonistic bacteria in powder formulation for biological control of anthracnose on chili

คำนำ

โรคแอนแทรคโนสของพริกหรือโรคกุ้งแห้งเป็นโรคที่สำคัญที่ทำให้คุณภาพและผลผลิตลดลง สาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และ *C. capsici* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุโรคที่สามารถเข้าทำลายได้ตั้งแต่ผลสีเขียวจนกระทั่งผลสุกแดง แต่อาการของโรคจะรุนแรงในช่วงผลสุก โรคนี้ระบาดรุนแรงในช่วงฤดูฝน ลักษณะอาการของโรคบนผล เป็นแผลรูปวงรี ขอบตัว เริ่มแรกแผลมีขนาดเล็กแต่ต่อมาจึงขยายขึ้นเมื่ออุณหภูมิและความชื้นเหมาะสม

การควบคุมโรคนี้นิยมใช้สารเคมี แต่การควบคุมโดยใช้สารเคมีก่อให้เกิดผลเสียต่อสุขภาพของเกษตรกร และยังทำลายสภาพแวดล้อมอีกด้วย จึงจำเป็นต้องหาวิธีการอื่นมาควบคุมโรค การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีที่ใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ นับเป็นอีกวิธีการหนึ่งที่ได้ความนิยม และสามารถควบคุมโรคได้ดีเช่นกัน แต่การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ยังมีข้อจำกัดที่ไม่สามารถรักษาความมีชีวิตของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไว้ได้นานและมีความยุ่งยากจากการเลี้ยงเชื้อแต่ละครั้งแล้วนำไปใช้ควบคุม จากปัญหาดังกล่าวจึงต้องพัฒนาวิธีการ ที่จะผลิตสูตรสำเร็จ(Formulation) เพื่อรักษาความมีชีวิตของ จุลินทรีย์ไว้ให้ได้นาน และสะดวกต่อการนำไปใช้ควบคุม โดยการผสมกับสารพาหะชนิดต่างๆ

สูตรสำเร็จ (Formulation) มีหลายรูปแบบ เช่น ผง เม็ด เกล็ด น้ำ หรือรูปแบบอื่นๆที่สามารถทำให้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์มีชีวิตอยู่รอดได้นานขึ้น การผลิตสูตรสำเร็จชนิดผงเป็นรูปแบบหนึ่ง ที่ผลิตได้ง่าย สะดวกต่อการนำไปใช้ และสามารถรักษาความมีชีวิตอยู่รอดของจุลินทรีย์ได้นาน สูตรสำเร็จสามารถนำไปใช้ป้องกันหรือควบคุมโรคพืชได้ทุกช่วงของระยะการเจริญเติบโตของพืชทดแทนการใช้สารเคมี ในการศึกษาครั้งนี้จึงมุ่งเน้นการผลิตสูตรสำเร็จเพื่อรักษาความมีชีวิตของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไว้ได้นาน และยังคงความสามารถในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกเพื่อลดการใช้สารเคมีและป้องกันอันตรายที่มีผลต่อเกษตรกรและสภาพแวดล้อม

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 และ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 ที่ผลิตในรูปแบบผง ต่อการควบคุมโรคแอนแทรกซ์ของพริกในสภาพแปลงปลูก

2. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพและอายุการเก็บรักษาของสูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 และ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 ที่ผลิตในรูปแบบผง ต่อการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรกซ์ของพริกในระดับห้องปฏิบัติการ

3. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 และ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 ที่ผลิตในรูปแบบผง ต่อการเจริญของเมล็ดพริกมันพันธุ์บางช้าง

การตรวจเอกสาร

พริก Chili หรือ hot pepper เป็นพืชสกุล *Capsicum* อยู่ในวงศ์ Solanaceae มีแหล่งกำเนิดในแถบร้อนชื้นของทวีปอเมริกา เช่น เม็กซิโก อเมริกากลางและอเมริกาใต้ ซึ่งสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญของพริก คือช่วงอุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 95 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป เมล็ดงอกได้ดีที่อุณหภูมิ 20-30 องศาเซลเซียส ทำให้มีการกระจายตัวไปอย่างรวดเร็ว (ศุกลักษณ์, 2536) พริกมีคุณค่าทางอาหารสูง เป็นแหล่งของ วิตามิน เอ ซี และอี ซึ่งมีมากกว่าพืชชนิดอื่นหลายชนิด (Purseglove *et. al.*, 1981) เช่นเดียวกับที่ ศศิธร (2545) กล่าวว่า ในผลพริก นอกจากอุดมไปด้วยวิตามิน เบต้าแคโรทีน และมีไบโอเฟลโวนอยด์ ที่เป็นประโยชน์มากมายแล้ว ยังมีสารแคปไซซิน (capsaicin) ซึ่งมีมากในไส้กลางของพริก สารเหล่านี้ช่วยยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาภูมิแพ้และต่อต้านอนุมูลอิสระ

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

พริกเป็นพืชที่สามารถปลูกเป็นพืชฤดูเดียวหรือหลายฤดูแล้วแต่สายพันธุ์ เป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก ลำต้นตั้งตรง สูงประมาณ 1-1.5 ฟุต มีระบบรากลึกประมาณ 70 เซนติเมตร สามารถขยายออกทางด้านข้างได้ถึง 110 เซนติเมตร เมื่อดำเนินหลักมีใบ 9-11 ใบ จะเริ่มออกดอกและแตกกิ่งเจริญแบบ dichotomous เป็นใบเดี่ยวออกสลับกัน ขอบใบเรียบ ปลายใบแหลมหรือกลมมน เป็นรูปหอกหรือรูปไข่ มีสีเขียวอ่อนถึงสีเขียวเข้ม เป็นดอกสมบูรณ์เพศออกตามข้อมีตั้งแต่ 1 ดอกต่อข้อจนถึง 7 ดอกต่อข้อ กลีบดอกสีขาวหรือสีม่วงและบางชนิดมีจุดสีอยู่บริเวณอยู่บริเวณโคนกลีบดอก มีกลีบดอกจำนวน 5-7 กลีบ เกสรตัวผู้มีจำนวนเท่ากลีบดอก สีม่วงอมฟ้า สีม่วง สีคราม และสีน้ำตาลอมเหลือง เกสรตัวเมียมีก้านชูเกสร 1 อัน สีขาว สีขาวอมเหลือง และสีม่วง รังไข่แบบ superior ovary มี ovary 2-5 ห้อง แต่ละห้องมี ovule จำนวนมาก เมื่อดอกบานก้านชูเกสรตัวเมียอาจจะอยู่เท่ากันเหนือกว่า หรือต่ำกว่าเกสรตัวผู้ ถ้าก้านชูเกสรตัวเมียอยู่เหนือกว่าเกสรตัวผู้จะทำให้พริกมีโอกาสผสมข้ามได้สูง ดอกบานนาน 2-3 วัน และ receptive ในวันแรกที่ดอกบาน ผลเป็นแบบ berry ที่มีลักษณะเป็นกระเปาะ มีฐานที่ขั้วผล (peduncle) สั้น โดยปกติผลอ่อนมักชี้ขึ้น เมื่อผลแก่อาจชี้ขึ้นหรือห้อยลง ผลมีลักษณะตั้งแต่แบน กลมยาว จนถึงพองอ้วน สั้น ขนาดผลมีตั้งแต่ขนาดผลเล็กไปจนกระทั่งผลขนาดใหญ่ซึ่งมีลักษณะสีเขียวเข้ม สีเหลือง หรือสีน้ำตาล เมื่อผลสุกผลอาจเปลี่ยนเป็นสีแดงหรือเหลือง แดงอมส้ม หรือสีน้ำตาล พร้อมๆกัน กับการแก่ของเมล็ดในผลควบคู่กันไป ผลมีเนื้อบางไปจนเนื้อหนาซึ่งแต่ละพันธุ์มีความเผ็ดที่แตกต่างกันไป เนื่องจากสารที่ก่อให้เกิดรสเผ็ด

คือ capsaicin ที่มีมากบริเวณ placenta และเมล็ดมีรูปร่างค่อนข้างกลมแบนมีสีเหลือง (Purseglove, 1977; Gill and Vear, 1980; Andrews, 1984; Nonnecke, 1989)

กองบรรณาธิการฐานเกษตรกรรม (2529) แบ่งประเภทของพริกตามลักษณะลำต้นพริกไว้ 2 พวก คือ

1. พวกต้นล้มลุก เป็นพริกที่มีอายุสั้น ผลเกิดแบบเดี่ยวๆ มีทั้งปลายชี้ขึ้นและชี้ลง มีความแตกต่างกันในเรื่องขนาดรูปร่างและสีของผล มีหลายรสชาติ ทั้งเผ็ดมาก เผ็ดน้อย และไม่เผ็ดเลย ขณะผลอ่อนมักมีสีเขียวสด เนื้อสีม่วง ผลแก่จัดจะเป็นสีเหลืองอมส้ม ม่วง หรือขาวนวล เช่น พริกชี้ฟ้า พริกยักษ์ พริกขี้หนู เป็นต้น

2. พวกยืนต้น เป็นพริกที่มีอายุ 2-3 ปี เป็นไม้กิ่งพุ่ม ผลเกิดเป็นผลกลุ่ม ขนาดผลเล็ก ลักษณะโคนผลใหญ่ปลายเรียวเล็ก ปลายผลชี้ขึ้น ส่วนใหญ่ผลมีสีแดงหรือเหลือง รสชาติเผ็ดมาก เช่น พริกขี้หนูสวน พริกทาบาสโก เป็นต้น

พันธุ์พริกที่ปลูกในประเทศไทยที่ใช้เป็นพันธุ์การค้าได้แก่พันธุ์พื้นเมืองต่างๆ เช่น พันธุ์ห้วยสีทน บางช้าง หัวเรือ เป็นต้น สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโตของพริกเติบโตได้ดีอยู่ในช่วงอุณหภูมิ 21-29.5 องศาเซลเซียส ความชื้นค่อนข้างสูงแต่ดินไม่แฉะ มีการระบายน้ำดี และความเป็นกรดเป็นด่าง 6.5-7.5 (Nonnecke, 1989) สำหรับพริกที่ปลูกในเมืองไทยส่วนใหญ่มี 2 กลุ่ม คือ

1. *Capsicum annuum* L. ได้แก่ พริกมัน พริกสิงคโปร์ พริกหยวก พริกยักษ์ พริกชี้ฟ้า
2. *Capsicum frutescens* L. ได้แก่ พริกขี้หนูสวนพันธุ์ต่างๆ

ปัจจุบันโรคของพริกสร้างความเสียหายแก่พริกทั้งด้านปริมาณและคุณภาพเป็นอย่างมาก ในแต่ละฤดูปลูกพริกได้รับความเสียหาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าสภาพแวดล้อมเอื้ออำนวยต่อการเกิดโรค โรคที่ทำให้พริกได้รับความเสียหายที่สำคัญ คือ โรคแอนแทรคโนส

โรคแอนแทรคโนสของพริก

โรคแอนแทรคโนสของพริก ระบาดทั่วไปในประเทศสหรัฐอเมริกาตั้งแต่ปี ค.ศ. 1690 แต่ยังไม่ทราบสาเหตุ ต่อมา Higgin ที่มลรัฐ Georgia และ Smith ที่ Delaware ได้ศึกษาและพบว่าโรคนี้ทำให้พริกเกิดโรคได้ทุกระยะและทุกส่วนของต้น ซึ่งจะเกิดรุนแรงมากกับผลพริกที่แก่จัดและโรคนี้เป็นกับพริกทุกชนิดในประเทศไทย (ศุภลักษณ์, 2536)

สำหรับในประเทศไทยโรคนี้ทำความเสียหายร้ายแรงกับผลพริกพันธุ์ต่างๆเป็นอย่างมาก ในแหล่งที่มีการปลูกพริก เช่นจังหวัด ราชบุรี เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ เป็นต้น (Oanh *et al.*, 2004; Taylor, 2007) และในเขตร้อนแถบทวีปเอเชียอีกด้วย (Sariah, 1989; Shin *et al.*, 2000; Sharma *et al.*, 2005). โรคนี้ทำให้ผลพริกมีแผลขนาดใหญ่หรือเน่า ทำให้ผลผลิตลดลงและอาจเสียหายมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ถ้าสภาพแวดล้อมเหมาะสมแก่การเกิดโรค เช่นเดียวกับในประเทศอินเดียที่โรคแอนแทรคโนสของพริกสามารถเกิดขึ้นได้ง่ายมากทำให้ผลผลิตสูญเสียถึง 12-50 เปอร์เซ็นต์ (Thind and Jhooty, 1985; Bagri *et al.*, 2004; Sharma *et al.*, 2005) โรคแอนแทรคโนสของพริกมีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ใน 4 species คือ *C. capsici* (Syd) Butl & Bisby, *C. gloeosporioides* (Penz) Saec, *C. acutatum* Simmonds, และ *C. cocodes* (Wallr.) Hughes (Hadden และ Black, 1987)

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราสาเหตุและลักษณะอาการบนผลพริกในประเทศไทย

ในประเทศไทยพบเชื้อรา 2 ชนิด คือ *C. capsici* และ *C. gloeosporioides* ที่เป็นเชื้อสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสบนผลพริก ซึ่งโรคนี้ถ้ามีเชื้อติดมากับเมล็ดพันธุ์เชื้อจะเข้าทำลายต้นกล้าทำให้แห้งตาย ในระยะต้นโตอาจทำให้เกิดแผลที่ใบและกิ่งก้าน ทำให้ใบร่วงและเกิดอาการแห้งตายจากปลายยอดเข้ามา (die-back) อาการของโรคจะเห็นได้ชัดเจนมากถ้าโรคระบาดในระยะติดผล โดยเฉพาะระยะที่ผลพริกเริ่มสุก จะเกิดรอยช้ำเป็นแอ่ง ยุบลงไปแล้วกลายเป็นแผลสีน้ำตาลรูปร่างรีขนาดใหญ่ เนื้อเยื่อบริเวณแผลที่ถูกเชื้อเข้าทำลายจะหลุดเจริญในขณะที่ยังเจริญต่อไป ทำให้ผลพริกที่เป็นโรคมียลักษณะโค้งงอหรือหย่น จึงมักเรียกโรคนี้ว่า โรคกุ่มงำ (ศศิธร, 2545) ซึ่งลักษณะของเชื้อที่ก่อให้เกิดอาการบนผลพริกมีดังนี้

C. capsici สปอร์สีครีมอ่อนหรือไม่มีสี (hyaline) รูปร่างแบบเสี้ยวพระจันทร์ (falcate) ปลายข้างหนึ่งแหลมอีกข้างหนึ่งค่อนข้างมน ไม่มีผนังกั้น ขนาดประมาณ 2.42-11.13 ไมครอน

(ศุภลักษณ์, 2536) เมื่อเข้าทำลายผลพริกทำให้เกิดแผลที่มีลักษณะยุบตัวลง รูปร่างเป็นวงกลมหรือวงรี ขอบแผลสม่ำเสมอ มีจุดดำซึ่งเป็นกลุ่มของ acervuli กระจายตัวอยู่บนแผลมากมาย มี setae สีน้ำตาลดำ บริเวณโคนค่อนข้างใหญ่และปลายเรียวมีขนาด 4.1×47.5 ไมครอน เชื้อรา *C. capsici* เจริญเติบโตได้ดีและเข้าทำลายพืชได้มากในช่วงอุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 95 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป หากมีฝนตกติดต่อกันหลายวันอาการของโรคจะพัฒนาได้เร็ว ผลผลิตที่เป็นโรคหากเก็บไว้ในอุณหภูมิและความชื้นสูงจะเน่าอย่างรวดเร็ว (ศักดิ์, 2537)

C. gloeosporioides (Penz) Penz & Sacc เป็นระยะ asexual stage ของ *Glomerella* (Stonem) Spauld and von Schrenk สามารถพบได้ทั่วไปในเขตร้อนชื้นและกึ่งร้อนทั่วโลก เป็นสาเหตุให้เกิดโรคแอนแทรคโนสกับส่วนที่อยู่เหนือดินของพืชอาศัย ได้แก่ ใบ กิ่งอ่อน ดอก และผล มีกลุ่มพืชอาศัยรวมไม่ต่ำกว่า 197 ชนิด เช่น พริก มะละกอ ขางพารา และ มันเทศ เป็นต้น เชื้อราชนิดนี้สามารถเข้าทำลายได้ทุกระยะการเจริญเติบโตของพืช แต่พบความเสียหายมากในผลผลิต หลังการเก็บเกี่ยวที่เริ่มสุกที่อยู่ระหว่างการขนส่งและเก็บรักษา เมื่อเข้าทำลายผลพริกทำให้แผลมีลักษณะเป็นรูปยาวรี ยุบตัวลง บริเวณแผลมีสีเหลืองส้มซึ่งเป็นกลุ่มของ acervuli ของเชื้อที่ไม่มี setae ถ้าอายุมากจะคล้ำลงเล็กน้อย มีสปอร์รูปทรงกระบอกปลายมน ขนาดประมาณ 9.24×3.45 ไมครอน สปอร์เกิดบน conidiophore ใน fruiting body แบบ acervulus เส้นใยจะมีผนังกัน (สมศิริ, 2521)

ความสามารถในการเข้าทำลาย

เชื้อรา *Colletotrichum* spp. มักพบเสมอในเขตร้อนชื้นและกึ่งร้อนชื้นมีการกระจายตัวในเขตต่างๆ ทั่วไปในโลกและมีพืชอาศัยกว้าง สามารถก่อให้เกิดความเสียหายกับพืชอย่างมากหลายชนิดทั้งพืชไร่และพืชสวน เช่น พริก กล้วย มะม่วง ฝรั่ง มะละกอ (อุดม, 2538) การเข้าทำลายของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. เป็นการเข้าทำลายโดยตรง (direct penetration) โดยสปอร์ที่ตกลงบนผิวพืชจะงอก germ tube แผ่เป็นแผ่นบางๆ แนบกับผิวพืชจาก germ tube ก็จะสร้าง appressorium ซึ่งเป็นโครงสร้างพิเศษที่ใช้สร้าง penetration peg แทะทะลุผ่านชั้นคิวติเคิล ไปยังผนังเซลล์แล้วแทงเข้าไปทาง cell lumen ที่มีส่วนปลาย penetration peg ของเชื้อจะมีการปล่อยเอนไซม์ pectolytic enzyme และ cellolytic enzyme ออกมาย่อย pectic substance และ cellulose ซึ่งเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ ทำให้ผนังเซลล์แยกออกจากกัน ไม่รวมกันเป็นโครงสร้างของผนังเซลล์ (Meon, 1980) ทำให้เนื้อเยื่อยุบตัวและเกิดการเน่า (รัตตะ, 2542) อาการเริ่มจากเกิดจุดช้ำ บวม และขยายใหญ่ขึ้นจนเกิดกับแผลอื่น ต่อมาผลจะแห้งเหี่ยวหงิกงอ ถ้าเกิดความชื้นสูงจะเกิดอาการ

เน่าและสร้าง acervulus ซึ่งเป็นแหล่งให้กำเนิดสปอร์ (Higgin, 1926) และในประเทศเกาหลี Kim และคณะ (1990) รายงานว่า เชื้อรา *C. gloeosporioides* มี 2 strain คือ strain G และ strain R โดย strain G มีความรุนแรงมาก สามารถเข้าทำลายได้ทั้งผลสีเขียวและผลสุกสีแดง ไม่สร้าง perithecium และ setae ส่วน strain R มีความรุนแรงน้อยและก่อให้เกิดความเสียหายกับผลสุกสีแดง ซึ่งพบว่าการสร้าง perithecium และ setae (Kim, 1986) และในปัจจุบันพบว่าเชื้อ *C. gloeosporioides* strain G ทำความเสียหายอย่างมากกับผลพริกทั่วประเทศเกาหลี

ความสามารถในการเกิดโรคบนพริกพันธุ์ต่างๆ

เชื้อรา *C. capsici* และ *C. gloeosporioides* สามารถทำให้เกิดโรคบนผลสุกได้กับพริกทุกพันธุ์ แต่ความรุนแรงต่างกัน Higgin (1926) พบว่าเชื้อรา *C. gloeosporioides* มีความรุนแรงในการเกิดโรคกับพริกยักษ์ เช่นเดียวกับ สมศิริ (2521) ที่พบว่าเชื้อรา *C. gloeosporioides* ทำให้เกิดโรคอย่างรุนแรงกับพริกยักษ์ แสดงอาการปานกลางกับพริกชี้ฟ้าและพริกเหลือง แต่เป็นโรคน้อยที่สุดกับพริกชี้หนู ส่วนเชื้อรา *C. capsici* ทำให้เกิดอาการรุนแรงกับพริกหยวกและพริกเหลือง แสดงอาการปานกลางกับพริกชี้ฟ้า และเป็นโรคน้อยที่สุดกับพริกชี้หนู อุดม (2530) พบว่าพริกพันธุ์บางช้างอ่อนแอต่อโรคแอนแทรคโนสมากที่สุด รองลงมาคือพริกหนุ่มเชียงใหม่ ส่วนพริกช่อ มข. อ่อนแอน้อยที่สุด

การเข้าทำลายเมล็ด

Smith and Crossan (1958) รายงานว่าเชื้อรา *C. capsici* เป็น seed borne แสดงอาการเป็นโรค 48 เปอร์เซ็นต์ บนเมล็ดพริก และได้ศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการเป็น seed borne ของเชื้อนี้ พบว่าเมล็ดที่ไม่มีแผลบนเปลือกแต่ได้มาจากผลที่เป็นโรคจะมีการติดเชื้อบนเมล็ด 58 เปอร์เซ็นต์ และทำให้ต้นที่อ่อนแอตาย 42 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเมล็ดที่มาจากผลที่เป็นโรคจะมีการติดเชื้อบนเมล็ด 96 เปอร์เซ็นต์ และทำให้ต้นอ่อนแอตาย 87 เปอร์เซ็นต์ เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมจะสร้างกลุ่มของ acervuli จำนวนมากบนต้นอ่อนที่ตายซึ่งเป็นแหล่งกำเนิดของสปอร์แพร่ไปยังต้นปกติ ในประเทศไทย Juangbhanich and Chana (1975) รายงานว่าเมล็ดที่นำมาจากผลเป็นโรคมีเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อถึง 28 เปอร์เซ็นต์ และ สมศิริ (2521) ได้ศึกษาการถ่ายทอดของเชื้อรา *C. capsici* ผ่านทางเมล็ดจากบริเวณที่อยู่ได้ผลที่เป็นโรคซึ่งมีเมล็ดที่แสดงอาการและไม่แสดงอาการมีการติดเชื้อภายในเมล็ดได้ถึง 49.1 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำเมล็ดที่มีอาการของโรคมาตรวจหาเชื้อที่อยู่ภายในเมล็ดพบว่ามีปริมาณของเชื้อที่เกิดบนเมล็ดถึง 87 เปอร์เซ็นต์ ต้นกล้าตายถึง 42 เปอร์เซ็นต์

การควบคุมโรคแอนแทรกโนสโดยใช้สารเคมี

การป้องกันกำจัดโรคแอนแทรกโนสพบว่ามี การนำสารเคมีมาใช้ทั้งระยะก่อนและหลังเก็บเกี่ยว ซึ่งสารเคมีที่นำมาใช้ในการควบคุมโรคที่พบว่าให้ผลดีก็ คือ benomyl และ prochloraz (Quimio and Quimio, 1974; Nascimento *et al.*, 2000) แต่สารเคมีที่ใช้ในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสในปัจจุบัน ส่วนใหญ่จะเป็นสารเคมีประเภทไม่ดูดซึม เช่น maneb captan zineb และสารประกอบทองแดง (McMillan, 1972; Freaan 1985) เนื่องจากในอดีตการควบคุมโรคแอนแทรกโนสนิยมใช้สารเคมีในกลุ่ม benzimidazole ซึ่งเป็นสารกลุ่มดูดซึม ได้แก่ benomyl carbendazim benzimidazole ทั้งระยะก่อนและหลังเก็บเกี่ยว เป็นกลุ่มสารเคมีที่มีความเสี่ยงต่อการชักนำให้เกิดความต้านทานสารเคมีของเชื้อรา เนื่องจากสารเคมีในกลุ่มนี้มีกลไกการออกฤทธิ์ไปยับยั้งการสังเคราะห์สารพันธุกรรมของเชื้อรา จึงทำให้เชื้อราเกิดการเปลี่ยนแปลงของพันธุกรรม ในเวลาต่อมาได้มีการรายงานพบว่าเชื้อรา *C. gloeosporioides* มีพัฒนาการที่สามารถต้านทานสารเคมีในกลุ่มนี้ จึงได้มีการจำกัดการใช้สารเคมีในกลุ่มนี้ในหลายประเทศ สอดคล้องกัน เชื้อรา *Colletotrichum* spp. นี้มีความต้านทานต่อการใช้สารเคมี อย่างเช่น เชื้อรา *C. acutatum* ที่มีความต้านทานการใช้สารเคมีกลุ่ม benomyl และ benzimidazole (Adaskaveg and Hartin, 1997; Peres *et al.*, 2002, 2004; Talhinas *et al.*, 2002, 2005).

ในขณะที่ Kuo (2001) รายงานว่าสารเคมีได้ใช้ในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสของประเทศไต้หวัน ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้แก่ สารเคมีกลุ่ม benzimidazole, dithiocabamate, prochloraz, difenoconazole และ myclobutanil ต่อมา Santos *et al.*, (2002) รายงานว่าการใช้สารเคมี propiconazole, bitertanole, imazalil และ hexaconazole ที่ความเข้มข้น 0.5, 1, 1, และ 2 ตามลำดับ สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *C. acutatum* สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของสตรอเบอรี่ได้ 50 เปอร์เซ็นต์

Lewis *et al.* (2004) รายงานว่าการใช้สารฆ่าเชื้อรา pyraclostrobin (Cabrio) ร่วมกับ etylenebisdithiocarbamate (Manex) หรือ Chlorothalonil (Bravo Ultrex) อย่างเดียว หรือใช้ Manex ร่วมกับ copper hydroxide หรือการใช้ pyraclostrobin กับ boscolid ช่วยลดการแพร่ระบาดของโรคแอนแทรกโนสของ bell pepper ที่เกิดจากเชื้อรา *C. acutatum* ในผลพริกที่แก่เต็มที่ได้นอกจากนี้ การใช้สารเคมีฆ่าเชื้อราในกลุ่ม strobilurin ชนิดเดียวหรือใช้ร่วมกับ maneb หรือ acibenzolar-s-methyl สามารถควบคุมโรคแอนแทรกโนสของพริกที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้เช่นกัน

Gopinath *et al.* (2006) ได้ทดสอบการใช้สาร propiconazole และ difenoconazole และ carbendazim ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกที่เกิดจากเชื้อรา *C. capsici* โดย propiconazole สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใย และการงอกของสปอร์ในปริมาณระดับต่ำ $0.1 \mu\text{g ml}^{-1}$ และยังสามารถหยุดการสร้างเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยส่วนของเซลล์พืชได้เช่น PG, PGTE, PTE และ cellulase จากการทดสอบในโรงเรือนและสภาพแปลง propiconazole สามารถลดการเกิดโรคได้ถึง 70 เปอร์เซ็นต์ และยังสามารถช่วยเพิ่มผลผลิตได้ถึง 86 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกรรมกรรมวิธีควบคุม

Thomas *et al.* (2007) ได้ทดสอบการนำสารเคมีไปใช้ในการลดความสูญเสียผลผลิตของ lupin ที่เป็นโรคแอนแทรคโนส ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum lupini* โดยการจำแนกสารเคมีตามการนำไปใช้ที่มีประสิทธิภาพ เช่น สารเคมีประเภทสัมผัสพืช azoxystrobin, chlorothalonil, mancozeb และ copper oxychloride และ สารกลุ่มจำพวกดูดซึม เช่น tebuconazole, benomyl และ carbendazim ทดสอบโดยใช้สารเคมีก่อนการปลูกเชื้อก่อน 1 วัน หรือ 5 วัน

การควบคุมโรคแอนแทรคโนสโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

การนำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มาใช้ในการควบคุมโรคต้องอาศัยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการเจริญและอยู่รอดหรือสามารถใช้อาหารบนส่วนต่างๆของพืชได้ดี ซึ่งการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เหล่านี้จะเกี่ยวข้องกับสภาพแวดล้อม เช่น อาหาร อุณหภูมิ ความชื้น แสงแดด ในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสโดยใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ และได้มีการศึกษามีกลไกต่างๆในการเข้าทำลายเชื้อราสาเหตุโรค ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. พบว่าสามารถควบคุมการเจริญของเชื้อรา *C. musae* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคเน่าของกล้วยได้ โดยการเข้าไปเป็นปรสิตภายในเส้นใยของเชื้อราและมีการสร้างสารปฏิชีวนะ ซึ่งสังเกตได้จากการเกิด clear zone ตลอดจนมีผลยับยั้งการงอกของสปอร์และการสร้าง germ tube (Mortuza, 1997)

จากนั้น Rocha และคณะ(1998)ได้ทดสอบการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. 3 isolate คือ Ti 2, Ti 17, Ti 25 ที่แยกได้จาก rhizosphere ของ *Passiflora edulis* และ *T. harzianum* isolate 25 ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ต่อต้าน เชื้อรา *C. gloeosporioides* ในการควบคุมโรคของผลเสาวรส จากการทดสอบพบว่าทุก isolate ของ *Trichoderma* spp. สามารถควบคุมโรคในผลของเสาวรสและจำกัดบริเวณที่เกิด necrosis รอบๆ รอยแผลได้โดย Ti มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการควบคุมโรค

Koomen and Jeffries (1993) แยกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides*. ได้จากช่อดอก ใบ และผลของมะม่วงทั้งหมด 648 isolate ประกอบด้วยแบคทีเรีย ยีสต์ และ filamentous fungi เมื่อนำไปทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ความสามารถในการงอก conidia และความสามารถในการพัฒนาของแผลโรคแอนแทรคโนส พบว่ามีแบคทีเรีย 2 isolate คือ isolate 204 ซึ่งจำแนกได้เป็น *Bacillus cereus* และ isolate 558 ซึ่งจำแนกได้เป็น *Pseudomonas fluorescens* ที่สามารถยับยั้งการเจริญและการงอกของ conidia ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* และการพัฒนาของแผลแอนแทรคโนสบนผลมะม่วงได้ ต่อมา Sariah *et.al.* (1994) ได้ศึกษาการใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. เพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกที่เกิดจากเชื้อรา *C. capsici* และ *C. gloeosporioides* พบว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการงอกของสปอร์ได้ รวมทั้งทำให้เส้นใยมีรูปร่างที่ผิดปกติ โดยทำให้เส้นใยหนาขึ้น และมีช่องว่างเกิดขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากเชื้อสร้างสารปฏิชีวนะ

Stirling *et.al.* (1995) ได้มีการใช้เชื้อแบคทีเรียและยีสต์ที่แยกได้จากบริเวณผิวใบดอก และผลของอโวคาโด เพื่อป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยแบคทีเรียและยีสต์ที่ให้ผลในการยับยั้งได้ดีที่สุดคือ *Bacillus* sp. และ *Aureobasidium* spp. ตามลำดับ โดยสามารถลดขนาดของแผลได้ ต่อมา Chuang and Ann (1997) ซึ่งได้คัดเลือกเชื้อยีสต์และแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงในห้องปฏิบัติการและในแปลง ได้แก่ *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pichia ohmeri*. และ *Sporobolomyces* sp. นำมาทดสอบการควบคุม *Glomerella cingulata*. โดยการปลูกเชื้อร่วมกันระหว่างเชื้อปฏิปักษ์และเชื้อสาเหตุโรค พบว่าเชื้อปฏิปักษ์ทุกชนิดมีความสามารถยับยั้งการขยายขนาดของแผลแอนแทรคโนสได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยลดขนาดแผลเฉลี่ย 20 - 45 เปอร์เซ็นต์ เมื่อพ่นเชื้อปฏิปักษ์ลงบนช่อดอกมะม่วง เปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใช้สารเคมี bavistin และ bavistin oil พบว่า *B. subtilis*, *P. fluorescens*, *P. ohmeri*. สามารถลดการพัฒนาการเกิดแผลของโรคแอนแทรคโนสบนผลสุกภายหลังการเก็บเกี่ยวได้อย่างมีนัยสำคัญ เช่นเดียวกับ จิริสสา (2547) ได้ทดลองใช้เชื้อรา *T. harzianum*. (CB-Pin-01) ควบคุมเชื้อรา *C. capsici* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริกและพบว่าเชื้อ *Trichoderma* spp. สามารถยับยั้งการเกิดแผลแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *C. capsici* ได้ เท่ากับสารเคมีและยังพบว่าสารกรองของ *T. harzianum*. (CB-Pin-01) สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์และการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่การทดลองใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ที่เป็นสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริกโดยศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักเขตร้อน (AVRDC, 1989)

ประคอง (2547) ได้ศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ควบคุมโรคแอนแทรกโนสในมะม่วงพบว่าการใช้ *T. harzianum* (CB-Pin-01) เปรียบเทียบกับจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่แยกได้จาก ใบ ดอก และผิวของผลมะม่วง โดยการพ่นสปอร์แขวนลอยของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ก่อนและหลังการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* พบว่าการพ่นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ก่อนการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ให้ผลในการควบคุมโรคได้ดีกว่า การพ่นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์หลังการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ในทุกๆกรรมวิธี โดยเฉพาะอย่างยิ่งจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลต BB133, BB167 และ *T. harzianum*. (CB-Pin-01) ให้ผลในการควบคุมไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการใช้ benomyl ทั้งในวิธีการวางเชืบนใบมะม่วงหรือพ่นลงบนใบ นอกจากนี้ทั้ง 3 ไอโซเลตนี้ยังสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ และความยาว germ tube ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* และทำให้เกิดการบวมพอง

สำหรับการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสของพริก จากการทดลองของ Sariah *et al.*, (1994) ได้ใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. เพื่อควบคุมโรคแอนแทรกโนสของพริกที่เกิดจากเชื้อรา *C. capsici* และ *C. gloeosporioides* พบว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการงอกของสปอร์ได้ รวมทั้งทำให้เส้นใยมีรูปร่างผิดปกติไป โดยทำให้เส้นใยหนาขึ้น และมีช่องว่างเกิดขึ้น ซึ่งเป็นผลจากการที่เชื้อสร้างสารปฏิชีวนะ นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อพ่นด้วยเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียทำให้ลดการเข้าทำลายและลดจำนวนแผลที่เกิดขึ้น เช่นเดียวกับการทดลองของ จิรัสสา (2547) ที่ใช้เชื้อ *B. amyloliquefaciens* และสารกรองของแบคทีเรียดังกล่าวสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Colletotrichum* spp. ได้ดีและมีผลทำให้เส้นใยเชื้อรามีลักษณะผิดปกติไป ต่อมา วราภรณ์ (2550) ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ T-50 และ CB-Pin 01 ร่วมกับแบคทีเรีย *Bacillus* spp. สายพันธุ์ B-03, DGg 13, และ 165 ในรูปเชื้อสด เพื่อลดการเกิดโรคแอนแทรกโนสบนผลพริก ด้วยวิธี Detached Fruit Technique พบว่าทุกกรรมวิธีมีประสิทธิภาพในการลดขนาดแผลได้ไม่แตกต่างจากการใช้สารเคมี benomyl โดยส่วนใหญ่การใช้เชื้อปฏิปักษ์แบบเดี่ยวหรือใช้ร่วมกันมีประสิทธิภาพไม่แตกต่างกันมากนัก และในปี 2003 HE *et al.*, พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* BS-2 and BS-1 ที่แยกได้จากใบและต้นพริกสามารถควบคุมเชื้อ *C. gloeosporioides*. สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของต้นกล้าพริกได้ 81.5-93.3 เปอร์เซ็นต์ และ 66.1-79.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสามารถควบคุมเชื้อ *C. gloeosporioides*. สาเหตุโรคแอนแทรกโนสบนผลพริก ได้ 80.0-100 เปอร์เซ็นต์ และ 60.0-100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และยังพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ทั้ง 2 ไอโซเลต สามารถส่งเสริมการเจริญของกล้าพริกด้วย ต่อมา

Kim and Chung (2004) ได้สกัดสารจำพวก β -1, 3-Glucanase ซึ่งเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่แบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* MET0908 ปล่อยออกมาทำลายส่วนของเส้นใยเชื้อรา *C.*

lagenarium ที่เป็นโรคแอนแทรคโนสของแตงโม โดยการใช้สารเรืองแสง FITC-label ที่จับกับโปรตีนเพื่อดูว่าโปรตีนได้เข้าทำลายส่วนของเส้นใยเชื้อโรค ซึ่งสารโปรตีนดังกล่าวทำให้ผนังเส้นใยมีการเสื่อมสลายเกิดขึ้น และได้นำแบคทีเรียที่เป็น PGPR 2 สายพันธุ์ คือ *B. subtilis* สายพันธุ์ GB03 และ *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ IN93a ผสมกับวัสดุปลูกของต้นกล้าของ bell pepper ในกระถางปลูก ซึ่งวัสดุที่ผสมแบคทีเรียที่ช่วยในการเจริญของพืช ไม่มีผลช่วยให้พืชมีการเจริญเติบโตที่สูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการผสมกับแบคทีเรียที่ช่วยการเจริญเติบโตของพืช แต่กรรมวิธีที่ใช้วัสดุปลูกผสมกับ PGPR มีผลโดยการไปเพิ่มประชากรของเชื้อราที่ไม่ก่อให้เกิดโรคบริเวณรอบๆรากพืช และยังสามารถลดการเกิดโรคเมื่อทดสอบการเกิดโรคโดยใช้วิธี detached leaf ได้อีกด้วย

การผลิตชีวภัณฑ์จุลินทรีย์ประยุกต์ในการควบคุมโรค

สูตรสำเร็จ (formulation) เป็นรูปแบบหนึ่งที่จะช่วยให้สามารถรักษาความมีชีวิตจุลินทรีย์ประยุกต์ให้มีอายุที่ยาวนานมากขึ้น ซึ่งอาจมีผลต่อความสามารถของจุลินทรีย์ประยุกต์ในการดำรงชีวิตภายในชีวภัณฑ์และอาจมีผลกระทบต่อประสิทธิภาพในการควบคุมโรคพืช (จิระเดช, 2549) ซึ่งรูปแบบในการเก็บรักษาก็จะแตกต่างกันไป เช่น ในรูปแบบผงเปียกน้ำ (wetable powder) ผงฝุ่น (dust) เม็ด (granules) น้ำมัน (emulsions) โดยใช้ตามลักษณะการใช้ต่างๆ เช่น การคลุกเมล็ดพืช การพ่น การรด-ราด การแช่-จุ่ม หรือการผสมวัสดุที่ใช้ปลูกพืช ในการควบคุมโรคจะใช้รูปแบบที่แตกต่างกัน โดยชีวภัณฑ์ที่กำหนดวิธีการกำมีหลายลักษณะที่นำไปใช้ เช่น รูปแบบผงเปียกน้ำ เช่น Bio-Fungus[®], Binab T[®], Rootshield[®] และในรูปแบบเม็ดที่กำหนดวิธีการค้า เช่น Bio-Fungus[®], Rootshield[®], T-22 Planter Box, Trichoderma 2000 หรือในรูปแบบ pelleted เช่น Binab T[®] และในรูปแบบน้ำเช่น Promote ตามลำดับ (Fravel, 1977) และได้ทดสอบใช้ชีวภัณฑ์ในรูปแบบผงแห้งโดยการคลุกเมล็ดพืชหรือรูปแบบของเหลวซึ่งใช้เชื้อแบคทีเรีย *Burkholderia cepacia* และ *Pseudomonas fluorescens* คลุกเมล็ดถั่ว pea เพื่อควบคุมโรคเน่าระดับดินที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium* sp. และได้ทดสอบสูตรสำเร็จที่เป็นรูปแบบน้ำมัน โดยใช้เชื้อรา *Trichoderma* strain C1306 ซึ่งสามารถต้านทานเชื้อ *Bacillus cinerea* ที่เข้าทำลายสโตเบอร์ โดยการนำ conidia ของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ในรูปแบบ invert emulsion หรือสูตรสำเร็จที่เป็นรูปแบบน้ำในน้ำมัน (water-in-oil- formulation) ซึ่งภายในประกอบไปด้วยน้ำมันมะพร้าวและน้ำมันถั่วเหลือง ซึ่งช่วยให้ conidia ยังคงมีชีวิตรอดอยู่ได้ (shelf-life) ถึง 36 เดือน และมีการลดความสามารถลง 50 เปอร์เซ็นต์ (half-life) หลังจากรักษาสูตรสำเร็จเป็นเวลา 5.3 เดือน ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ซึ่งสูตรสำเร็จ

ดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิดโรค gray mold ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Botrytis cinerea* บนผลแอปเปิ้ลได้นานกว่า 2 เดือน



อุปกรณ์และวิธีการ

1. แยกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*

1.1 แยกเชื้อรา *C.gloeosporioides* จากพริกที่เป็นโรคแอนแทรคโนส โดยตัดบริเวณเป็นโรคที่ต่อกับเนื้อเยื่อปกติเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาด 0.5×0.5 เซนติเมตร นำไปแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี tissue transplanting technique โดยแช่ชิ้นส่วนพืชใน 5.25% Sodium hypochlorite เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปล้างด้วยน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษซับน้ำฆ่าเชื้อ จากนั้นนำชิ้นส่วนของพืชไปวางบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-3 วันเมื่อเส้นใยสีขาวของเชื้อราเจริญออกมาจากชิ้นส่วนของพืช จึงใช้เข็มเย็บคัดขอบของโคโลนีของเชื้อราออกมา แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหาร PDA อีกครั้งหนึ่งเป็นเวลา 1 สัปดาห์ แล้วย้ายเชื้อใส่ในหลอดอาหารเอียง และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส สำหรับใช้ในการทดสอบต่อไป

1.2 การปลูกเชื้อเพื่อพิสูจน์โรคตามวิธีของ Koch (Koch's postulation) โดยเลี้ยงเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหาร PDA เป็นเวลา 7-10 วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร โดยเจาะบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อ นำไปวางบนผลพริกที่ปกติไม่แสดงอาการของโรค และผ่านการฆ่าเชื้อที่ผิวแล้ว โดยเช็ดด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ วิธีการปลูกเชื้อมีทั้งการทำแผลด้วยเข็มเย็บเชื้อและไม่ทำแผลบนผลพริก จากนั้นนำไปบ่มเชื้อโดยวางในกล่องพลาสติกขึ้นเป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ตรวจสอบอาการโรคที่เกิดขึ้นและแยกเชื้ออีกครั้งเพื่อพิสูจน์ว่าเป็นเชื้อโรคชนิดเดียวกัน

2. เตรียมสูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิชีวนะรูปแบบผง

นำเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ คือ *Bacillus amyloliquefaciens* ไอโซเลต DGg13 เลี้ยงบนอาหาร Nutrient glucose agar (NGA) ให้ได้ single colony ก่อนนำมาเลี้ยงบนอาหาร NGA เพื่อเตรียมเป็น เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ (cell suspension) ตวงเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปฏิชีวนะ 15 มิลลิลิตรผสมลงในอาหาร Nutrient glucose broth (NGB) ที่ผ่านการนิ่งฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 150 มิลลิลิตร นำไปเขย่าบน rotary shaker ความเร็ว 200 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิห้องนาน 48 ชั่วโมง จากนั้นดูดเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปฏิชีวนะ 200 มิลลิลิตร ผสมกับผงดิน 1 กิโลกรัม แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อเป็นสูตรสำเร็จในรูปแบบผงดิน และตวงเซลล์แขวนลอยของ

แบคทีเรียปฏิปักษ์ (cell suspension) 700 มิลลิลิตร ผสมกับผงทาลคัม 1 กิโลกรัม คลุกเคล้าให้เข้ากัน ก่อนนำไปฝังให้แห้งและบดเป็นผง เพื่อผลิตเป็นสูตรสำเร็จในรูปผงทาลคัม โดยวัดความชื้นไม่ให้เกิน 10 เปอร์เซ็นต์ และวิธีการเก็บรักษาจะบรรจุในซองพอยล์ซองละ 20 กรัม จากนั้นเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียสเพื่อใช้ทดสอบต่อไป

3. ตรวจสอบปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ในสูตรสำเร็จ

นำสูตรสำเร็จไปตรวจสอบปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ ด้วยวิธี serial dilution plate บนอาหาร NGA โดยชั่งสูตรสำเร็จชนิดผงดินและผงทาลคัม น้ำหนัก 1 กรัม ใส่ในหลอดแก้วที่บรรจุน้ำนิ่งมา เชื้อปริมาตร 9 มิลลิลิตร ก่อนเจือจาง ครั้งละ 10 เท่า จากนั้นใช้ปิเปตดูดสารแขวนลอย 0.1 มิลลิลิตร ใส่ในจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร NGA แล้วใช้แท่งแก้วมาเชื้อเกลี่ยสารแขวนลอยจนทั่วผิวของอาหาร บ่มเชื้อไว้ 24-48 ชั่วโมง ก่อนตรวจนับโคโลนีของแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เกิดขึ้นบนผิวน้ำอาหารแล้ว คำนวณเป็นหน่วยโคโลนี (colony forming unit; CFU) ต่อผงเชื้อ 1 กรัม

4. ทดสอบประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จรูปแบบผงดิน ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริก โดยวิธีการ Detached Fruit Technique

4.1 เตรียมสูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์รูปแบบผงดิน

นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ คือ *Bacillus amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 (จิรัชสา, 2547) และ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 (ประคอง, 2547) เลี้ยงบนอาหาร Nutrient glucose agar (NGA) ให้ได้ single colony ก่อนนำมาเลี้ยงบนอาหาร NGA เพื่อเตรียมเป็นเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ (cell suspension) ตวงเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปฏิปักษ์ 15 มิลลิลิตรผสมลงในอาหาร Nutrient glucose broth (NGB) ที่ผ่านการนิ่งมาเชื้อแล้วปริมาตร 150 มิลลิลิตร นำไปเขย่าบน rotary shaker ความเร็ว 200 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิห้องนาน 48 ชั่วโมง จากนั้นดูดเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปฏิปักษ์ 200 มิลลิลิตร ผสมกับผงดิน 1 กิโลกรัม แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อเป็นสูตรสำเร็จรูปแบบผงดิน โดยวัดความชื้นไม่ให้เกิน 10 เปอร์เซ็นต์ และเก็บรักษา โดยบรรจุในซองพอยล์ซองละ 20 กรัม จากนั้นเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปทดสอบต่อไป

นำผงเชื้อทั้ง 2 ไอโซเลท อัตรา 20 กรัม ต่อน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ 20 ลิตร โดยเรียกวิธีนี้ว่า (soil powder; SP) และนำสูตรสำเร็จรูปผงดิน ผสมน้ำในอัตรา 20 กรัม ต่อน้ำ 1 ลิตร บ่มไว้ 2 วัน ก่อนเจือจางในอัตรา 1 ลิตรต่อน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ 100 ลิตร (soil powder incubation; SPI) แล้วนำไปทดสอบ โดยเปรียบเทียบกับ สารเคมีใช้อัตราเท่ากับ carbendazim 0.20 กรัม ต่อ น้ำนิ่งฆ่าเชื้อ 200 มิลลิลิตร หรือ สารเคมี mancozeb (80 %WP) สำหรับเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 ใช้วิธีการเลี้ยงเชื้อบนข้าวสุก ตามวิธีการของ จีระเดช และ วรณวิไล (2545) นำเชื้อสดที่ได้ไปเตรียมเป็นสปอร์แขวนลอย โดยใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดเชื้อสด 1 กรัมต่อน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ 200 มิลลิลิตร (อัตราแนะนำเชื้อสด 1 กิโลกรัม ต่อน้ำ 200 ลิตร) ใช้น้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อสำหรับกรรมวิธีควบคุม

4.2 ทดสอบการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกโดยวิธี Detached Fruit Technique

นำผลพริกมันพันธุ์บางช้างสีเขียว ที่แก่เต็มที่ และไม่มีอาการของโรค มาทำจัดเชื้อที่บริเวณผิวผลพริก โดยการเช็ดด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ผึ่งให้แห้ง จากนั้นทำแผลบนผลพริกด้วยเข็มหมุดที่ฆ่าเชื้อ ตรงกลางผล จำนวน 1 แผลต่อผล โดยให้เข็มทะลุผ่านผิวและเนื้อเยื่อของผลพริก มีความลึกประมาณ 1 มิลลิเมตร จุ่มผลพริกตามกรรมวิธีต่างๆ รวม 9 กรรมวิธี บ่มผลพริกไว้ในกล่องขึ้นที่อุณหภูมิห้องนาน 24 ชั่วโมง ก่อนวางบนแผ่นด้วยชิ้นวุ้นของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7-10 วัน และเจาะด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร และบ่มพริกไว้ในกล่องขึ้นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำชิ้นวุ้นออก ซึ่งมีกรรมวิธีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 กรรมวิธีควบคุม (Control)

กรรมวิธีที่ 2 สารเคมี carbendazim

กรรมวิธีที่ 3 สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 (soil powder: DGg13) SP: DGg13

กรรมวิธีที่ 4 สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 (soil powder: BB 165) SP: BB165

กรรมวิธีที่ 5 สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 ที่บ่มไว้ 2 วัน (soil powder incubation: DGg13) SPI: DGg13

กรรมวิธีที่ 6 สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 ที่บ่มไว้ 2 วัน (soil powder incubation BB 165) SPI: BB165

กรรมวิธีที่ 7 สปอร์แขวนลอยเชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* CB-Pin-01 (เชื้อสด)

กรรมวิธีที่ 8 สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg 13 ร่วมกับ สปอร์แขวนลอยเชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* CB-Pin-01 (เชื้อสด) ในอัตรา 1:1 โดยปริมาตร (SP: DGg 13+CB-Pin-01)

กรรมวิธีที่ 9 สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 ร่วมกับ สปอร์แขวนลอยเชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* CB-Pin-01 (เชื้อสด) ในอัตรา 1:1 โดยปริมาตร (SP: BB 165+CB-Pin-01)

วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) ประเมินประสิทธิภาพการยับยั้งโรคแอนแทรคโนสของแต่ละกรรมวิธี หลังปลูกเชื้อโรค 7 วัน โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของแผลที่เชื้อโรคทำลาย แล้วคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งโรคเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมตามสูตร

$$\% \text{ การยับยั้ง} = \frac{100 - (\text{เส้นผ่านศูนย์กลางแผลบนผลที่เกิดจากเชื้อราสาเหตุโรคที่มีเชื้อปฏิปักษ์})}{\text{เส้นผ่านศูนย์กลางแผลบนผลที่เกิดจากเชื้อราสาเหตุโรคในกรรมวิธีควบคุม}} \times 100$$

วิเคราะห์ผลการทดลองที่ได้ทั้งหมดและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธีทางสถิติโดย Duncan's Multiple Range Test (DMRT) (P=0.05)

ตรวจสอบความรุนแรงของโรคโดยวัดพื้นที่ผิวปกติและเป็นโรคหลังปลูกเชื้อโรค 10 วัน ด้วยการประเมินระดับการเกิดโรคแอนแทรกคโนส 6 ระดับ ดังนี้

ระดับการเกิดโรค	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (%)
0	ไม่พบอาการโรค
1	1-10
2	11-25
3	26-50
4	51-75
5	76-100

5. ทดสอบอิทธิพลสูตรสำเร็จรูปแบบผงดิน ต่อการงอกของเมล็ดพริกมันพันธุ์บางช้าง

นำเมล็ดพริกจากผลที่ปกติ ผ่านการฆ่าเชื้อด้วย clorox 10 เปอร์เซ็นต์ (0.525% sodium hypochloride) นาน 5-10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ เชื้อเมล็ดพริกในผงแขวนลอยแบคทีเรีย ปฏิบัติรูปแบบผงดิน (เช่นเดียวกับข้อ 4.1) เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 (เชื้อสด) อัตรา 1 กรัม ต่อน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ 200 มิลลิลิตร และ สารเคมี mancozeb 0.36 กรัม ต่อน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ 150 มิลลิลิตร (เท่ากับ 1,920 ppm โดยอัตราแนะนำคือ 48 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร) นาน 15 นาที แล้วนำเมล็ดพริกไปเพาะในกระดวยเพาะที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ บันทึกเปอร์เซ็นต์การงอกที่ 7 วัน หลังจากเพาะเมล็ด เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่แช่ในน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ

กรรมวิธีที่ 1 กรรมวิธีควบคุม (Control)

กรรมวิธีที่ 2 สารเคมี mancozeb

กรรมวิธีที่ 3 สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 (soil powder: DGg13) SP: DGg13

กรรมวิธีที่ 4 สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 (soil powder: BB 165) SP: BB165

กรรมวิธีที่ 5 สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 ที่บ่มไว้ 2 วัน (soil powder incubation: DGg13) SPI: DGg13

กรรมวิธีที่ 6 สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 ที่บ่มไว้ 2 วัน

Soil powder incubate BB 165 (soil powder incubation: BB 165) SPI: BB165

กรรมวิธีที่ 7 สปอร์แขวนลอยเชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* CB-Pin-01 (เชื้อสด) CB-Pin-01

กรรมวิธีที่ 8 สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg 13 ร่วมกับ สปอร์แขวนลอยเชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* CB-Pin-01 (เชื้อสด) ในอัตรา 1:1 โดยปริมาตร (SP: DGg13+CB-Pin-01)

กรรมวิธีที่ 9 สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 ร่วมกับ สปอร์แขวนลอยเชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* CB-Pin-01 (เชื้อสด) ในอัตรา 1:1 โดยปริมาตร (SP: BB 165+CB-Pin-01)

นำเมล็ดพริกที่ได้จากเพาะเป็นเวลา 7 วัน ไปปลูกในกระบะเพาะกล้าพลาสติกขนาด 72 หลุม ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย clorox 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที บรรจุวัสดุเพาะที่มีส่วนผสมของ ขุยมะพร้าว: แกลบเผา: ปุ๋ยหมัก: ซีโอไลต์: IBDU ในอัตราส่วน 50 : 30 : 10 : 10 : 0.1 โดยปริมาตร ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ ปลูกหลุมละ 1 เมล็ด ปิดด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ รดน้ำให้ชุ่มเป็นระยะ

เมื่อต้นกล้าอายุ 15 วัน บันทึกข้อมูลการเจริญของต้นกล้าในแต่ละกรรมวิธี โดยบันทึก ความสูง ของต้นกล้า ความยาวราก และตรวจการเข้าครอบครองรากของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ โดยสุ่ม รากมากรรมวิธีละ 10 ต้น ล้างรากให้สะอาดด้วยน้ำเปล่าโดยการผ่านน้ำไหล จากนั้นล้างด้วยน้ำนึ่ง ฆ่าเชื้อ 1 ครั้ง ตัดรากเป็นส่วนต่างๆ ล้างด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้ออีก 1 ครั้ง จากนั้นให้แห้งด้วยกระดาษนึ่ง ฆ่าเชื้อ นำไปวางบนอาหาร NGA สำหรับแบคทีเรียปฏิปักษ์ และ Martin's medium สำหรับเชื้อรา *T. harzianum* บ่มไว้ 2 วัน ตรวจการครอบครองรากของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

6. การใช้สูตรสำเร็จรูปแบบผงดิน ในการควบคุมโรคแอนแทรกซ์ในสภาพแปลงปลูก

6.1 เตรียมแปลงปลูก

ใช้ขนาดพื้นที่ ปลูกพริก กว้าง 10 เมตร ยาว 25 เมตร โดยไถพรวนดินแล้วตากแดดทิ้งไว้เป็นเวลา 7-10 วัน ใส่ปุ๋ยคอกและอินทรีย์วัตถุ จากนั้นพรวนชั้นผิวหน้าดินให้มีขนาดเล็กและคลุกเคล้าให้เข้ากัน

เตรียมแปลงปลูกขนาด กว้าง 1 เมตร ยาว 20 เมตร จำนวน 4 แปลงๆละ 9 กรรมวิธี กรรมวิธี 4 ซ้ำ และระยะปลูกระหว่างแปลง กว้าง 1.5 เมตร โดยให้ระยะห่างระหว่างต้นพริก 75 เซนติเมตร

6.2 เตรียมต้นพริก

ใช้ต้นกล้าพริกที่มีอายุ 30 วัน ย้ายลงในหลุมปลูกในแปลงที่มีขนาดหลุม กว้าง 20 เซนติเมตร ลึก 20 เซนติเมตร และรองก้นหลุมด้วย ปุ๋ยคอก หลุมละ 30 กรัม ปุ๋ยรองก้นหลุมสูตร 15-15-15 หลุมละ 20 กรัม คลุกเคล้ากับดินในหลุมให้เข้ากันจึงย้ายต้นกล้าพริกลงปลูก

การให้ปุ๋ย ใส่ปุ๋ยยูเรีย สูตร 46-0-0 หลังจากย้ายปลูกต้นพริก 10-15 วัน ซึ่งจะให้เป็นโรยรอบทรงพุ่ม ต้นละ 10 กรัม และจะให้ปุ๋ยสูตร 15-15-15 หลังจากย้ายปลูก ต้นละ 10 กรัม และหลังจากต้นพริกมีอายุประมาณ 30 วัน โดยโรยรอบทรงพุ่มแล้วพรวนกลบลงในดิน

การให้น้ำ จะให้น้ำอย่างเพียงพอและสม่ำเสมอ โดยเฉพาะในช่วงแรกของการย้ายปลูก และลดการให้น้ำในช่วงระยะเก็บผลผลิต อย่างไรก็ตามการให้น้ำได้ถือหลักไม่ให้น้ำมากเกินไป และเกินไปและไม่ปล่อยให้ดินแห้งมากเกินไป

การกำจัดแมลง พ่นสารเคมีป้องกันกำจัดแมลง อะบาเม็กติน (Abamectin) ในอัตราส่วน 10 ซีซี ต่อน้ำ 20 ลิตร เพื่อควบคุมเพลี้ยไฟ เพลี้ยแป้ง และสารเคมี อิมิดาคลอพริด (imidacloprid) ในอัตราส่วน 10 ซีซี ต่อน้ำ 20 ลิตร เพื่อควบคุมแมลงหวี่ขาว โดยพ่นตามความจำเป็น

ไม่มีการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคในสภาพ แปลงปล่อยให้ต้นพริกเป็นโรคแอนแทรคโนสตามธรรมชาติ

6.3 เตรียมสูตรสำเร็จในการทดสอบ

เตรียมเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ คือ *B.amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 และ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 ที่สามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริก ให้อยู่ในรูปสูตรสำเร็จรูปแบบผงดิน(เช่นเดียวกับข้อ 4.1) ก่อนนำผงเชื้อทั้ง 2 ไอโซเลท อัตรา 20 กรัม ต่อน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ 20 ลิตร (SP) หรือนำสูตรสำเร็จรูปแบบผงดิน ผสมน้ำในอัตรา 20 กรัม ต่อน้ำ 1 ลิตร บ่มไว้ 2 วัน ก่อนเจือจางในอัตรา 1 ลิตรต่อน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ 100 ลิตร (SPI) แล้วนำไปทดสอบ โดยเปรียบเทียบกับสารเคมี mancozeb 0.20 กรัม ต่อ น้ำนิ่งฆ่าเชื้อ 200 มิลลิลิตร สำหรับเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 ใช้วิธีการเลี้ยงเชื้อบนข้าวสุกตามวิธีการของ จิระเดช และ วรณวิไล (2545) นำเชื้อสดที่ได้ไปเตรียมเป็นสปอร์แขวนลอย โดยใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดเชื้อสด 1 กรัมต่อน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ 200 มิลลิลิตร (อัตราแนะนำเชื้อสด 1 กิโลกรัม ต่อน้ำ 200 ลิตร) ใช้น้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อสำหรับกรรมวิธีควบคุม ทุกกรรมวิธีหดยศสารจับใบ 1-2 หยด

โดยมีกรรมวิธีทดสอบมีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 กรรมวิธีควบคุม (Control) ใช้น้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ

กรรมวิธีที่ 2 สารเคมี mancozeb

กรรมวิธีที่ 3 สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 (soil powder: DGg13) SP: DGg13

กรรมวิธีที่ 4 สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 (soil powder: BB 165) SP: BB165

กรรมวิธีที่ 5 สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B.amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 ที่บ่มไว้ 2 วัน (soil powder incubation: DGg13) SPI: DGg13

กรรมวิธีที่ 6 สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 ที่บ่มไว้ 2 วัน Soil powder incubate BB 165 (soil powder incubation: BB 165) SPI: BB165

กรรมวิธีที่ 7 สปอร์แขวนลอยเชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* CB-Pin-01 (เชื้อสด) CB-Pin-01
กรรมวิธีที่ 8 สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg 13 ร่วมกับ
สปอร์แขวนลอยเชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* CB-Pin-01 (เชื้อสด) ในอัตรา 1:1 โดยปริมาตร (SP:
DGg13+CB-Pin-01)

กรรมวิธีที่ 9 สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 ร่วมกับ สปอร์
แขวนลอยเชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* CB-Pin-01 (เชื้อสด) ในอัตรา 1:1 โดยปริมาตร (SP: BB
165+CB-Pin-01)

6.4 ทดสอบประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

พ่นสิ่งทดสอบทั้งหมด 8 ครั้ง หลังจากย้ายต้นพริกลงในแปลงปลูก

ครั้งที่ 1 พ่นหลังจากย้ายต้นกล้าพริกได้ 30 วัน จึงเริ่มพ่นสิ่งทดสอบลงบนต้นพริก ด้วย
อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อต้น โดยพ่นทั่วทั้งต้น

ครั้งที่ 2 พ่นหลังจากพริกเริ่มออกดอก ด้วยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อต้น โดยพ่นทั่วทั้งต้น

ครั้งที่ 3 พ่นหลังจากพริกสร้างผลที่มีขนาดเล็ก ด้วยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อต้น โดยพ่นทั่ว
ทั้งต้น

ครั้งที่ 4 พ่นหลังจากต้นกล้าพริกมีอายุ 50 วันหลังจากย้ายปลูกด้วยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อ
ต้น โดยพ่นทั่วทั้งต้น

ครั้งที่ 5 พ่นหลังจากต้นกล้าพริกมีอายุ 65 วันหลังจากย้ายปลูกด้วยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อ
ต้น โดยพ่นทั่วทั้งต้น

ครั้งที่ 6 พ่นหลังจากต้นกล้าพริกมีอายุ 80 วันหลังจากย้ายปลูกด้วยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อ
ต้น โดยพ่นทั่วทั้งต้น

ครั้งที่ 7 ฟ่นหลังจากคั่นกล้าพริกมีอายุ 95 วันหลังจากย้ายปลูกด้วยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อต้น โดยฟ่นทั่วทั้งต้น

ครั้งที่ 8 ฟ่นหลังจากคั่นกล้าพริกมีอายุ 110 วันหลังจากย้ายปลูกด้วยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อต้น โดยฟ่นทั่วทั้งต้น

วางแผนการทดลองแบบ RCBD (Randomize Completely Block Design) ตรวจสอบปริมาณของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บนผลพริก โดยการสุ่มผลพริกมาแล้วตัดส่วนของผล 1 ตารางเซนติเมตร ใส่งลงในหลอดทดลองที่มีน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ 9 มิลลิลิตร ปั่นด้วย vortex ประมาณ 1 นาที ก่อนดูดส่วนใสมา 0.1 มิลลิลิตร หยดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NGA และ Martin's medium เกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหาร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง นับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น ตรวจสอบปริมาณของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. บนผลพริก โดย ดูดส่วนน้ำมา ตรวจสอบจำนวนสปอร์ของเชื้อด้วย haemocytometer

วิเคราะห์ผลการทดลองที่ได้ทั้งหมดและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธีทางสถิติโดย Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ($P=0.05$)

6.5 การเก็บผลผลิต

เก็บผลพริกของการทดลอง 5 ครั้ง มีดังต่อไปนี้

ครั้งที่ 1 เก็บหลังจากฟ่นสังเกตสอบครั้งที่ 4 หลังผ่านไปแล้ว 10 วัน (หลังจากย้ายปลูก 60 วัน)

ครั้งที่ 2 เก็บหลังจากฟ่นสังเกตสอบครั้งที่ 5 หลังผ่านไปแล้ว 10 วัน (หลังจากย้ายปลูก 75 วัน)

ครั้งที่ 3 เก็บหลังจากฟ่นสังเกตสอบครั้งที่ 6 หลังผ่านไปแล้ว 10 วัน (หลังจากย้ายปลูก 90 วัน)

ครั้งที่ 4 เก็บหลังจากฟ่นสังเกตสอบครั้งที่ 7 หลังผ่านไปแล้ว 10 วัน (หลังจากย้ายปลูก 105 วัน)

ครั้งที่ 5 เก็บหลังจากพ่นสิ่งทดสอบครั้งที่ 8 ผ่านไปแล้ว 10 วัน (หลังจากย้ายปลูก 120 วัน)

นำผลพริกมาชั่งน้ำหนักผลผลิต ประเมินความรุนแรงโรค แต่ละกรรมวิธีโดยเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

6.6 ประเมินระดับความรุนแรงของโรคบนผลพริก

วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของแผลบนผล แล้วคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งโรคเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมตามสูตร

$$\% \text{ การยับยั้ง} = \frac{100 - (\text{เส้นผ่านศูนย์กลางแผลบนผลพริกในกรรมวิธีที่มีเชื้อปฏิปักษ์})}{\text{เส้นผ่านศูนย์กลางแผลบนผลพริกในกรรมวิธีควบคุม}} \times 100$$

วิเคราะห์ผลการทดลองที่ได้ทั้งหมดและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธีทางสถิติโดย Duncan's Multiple Range Test (DMRT) (P=0.05)

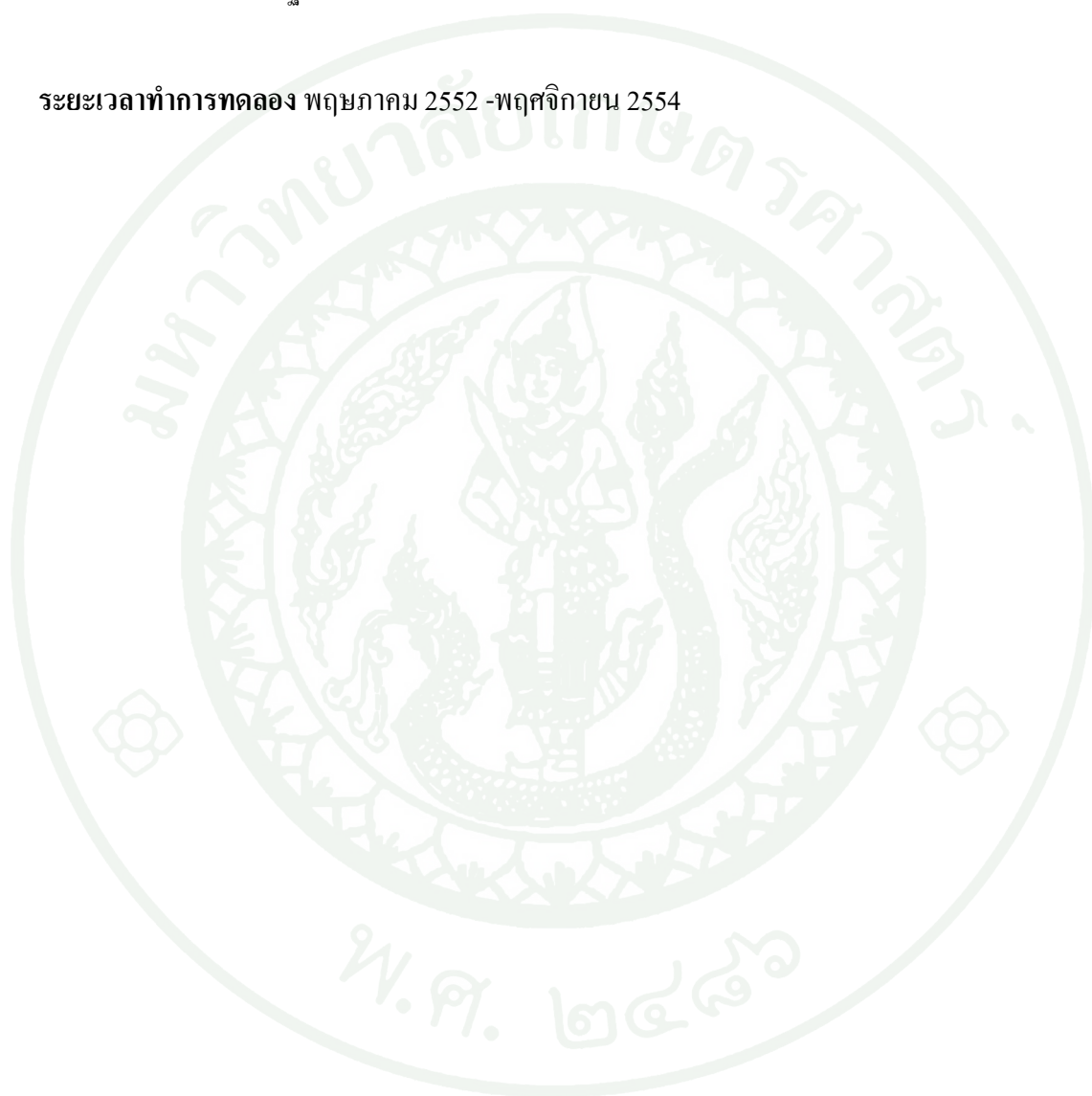
ตรวจสอบความรุนแรงของโรคโดยวัดพื้นที่ผิวปกติและเป็นโรคหลังปลูกเชื้อโรค 10 วัน ด้วยการประเมินระดับการเกิดโรคแอนแทรกโนส 6 ระดับ ซึ่งกำหนดระดับของโรคดังนี้

ระดับการเกิดโรค	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (%)
0	ไม่พบอาการโรค
1	1-10
2	11-25
3	26-50
4	51-75
5	76-100

สถานที่และระยะเวลาทำการทดลอง

สถานที่ ห้องปฏิบัติการควบคุมโรคพืชโดยชีวภาพ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร
กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อ.กำแพงแสน จ.
นครปฐม

ระยะเวลาทำการทดลอง พฤษภาคม 2552 - พฤศจิกายน 2554



ผลและวิจารณ์

ผล

1. การแยกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*

จากการนำผลพริกมันพันธุ์บางช้าง ที่ลักษณะแผลบนผลพริกเริ่มแรกเป็นแผลรูปร่างรีเล็กๆ สีน้ำตาลและค่อยๆ ขยายใหญ่ขึ้น ต่อมาลักษณะแผลเป็นวงกลมหรือวงรีขอบแผลสม่ำเสมอ ขอบตัวลง เมื่อนำผลพริกที่แสดงอาการดังกล่าวมาแยกเชื้อบนอาหาร PDA ได้เชื้อราที่สร้างเส้นใยสีขาวเทา โคนโคนของเชื้อราเจริญเต็มอาหารเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร เมื่ออายุประมาณ 10 วัน ที่อุณหภูมิห้อง จากการนำเชื้อราที่แยกได้จากพริกเป็นโรคไปปลูกเชื้อลงบนแผลพริกมันพันธุ์บางช้าง เพื่อพิสูจน์การเกิดโรคตามวิธีของ Koch's postulation พบว่าแผลพริกเริ่มแสดงอาการของโรคหลังจากปลูกเชื้อ 72 ชั่วโมง โดยเริ่มเห็นผิวของพริกยุบตัวเป็นจุดเล็กๆ ก่อน หลังจากนั้นบริเวณแผลเริ่มเปลี่ยนสีขอบแผลเป็นสีน้ำตาล แผลขยายขนาดอย่างรวดเร็ว และมีการสร้างเมือกสีส้มซึ่งภายในมีสปอร์จำนวนมากกระจายอยู่ทั่วแผลจำแนกได้ว่าเป็นเชื้อรา *C. gloeosporioides* และเมื่อนำผลพริกมาแยกเชื้อสาเหตุอีกครั้งบนอาหาร PDA พบว่าเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อมีลักษณะเหมือนเดิม

2. การผลิตสูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิบัติ

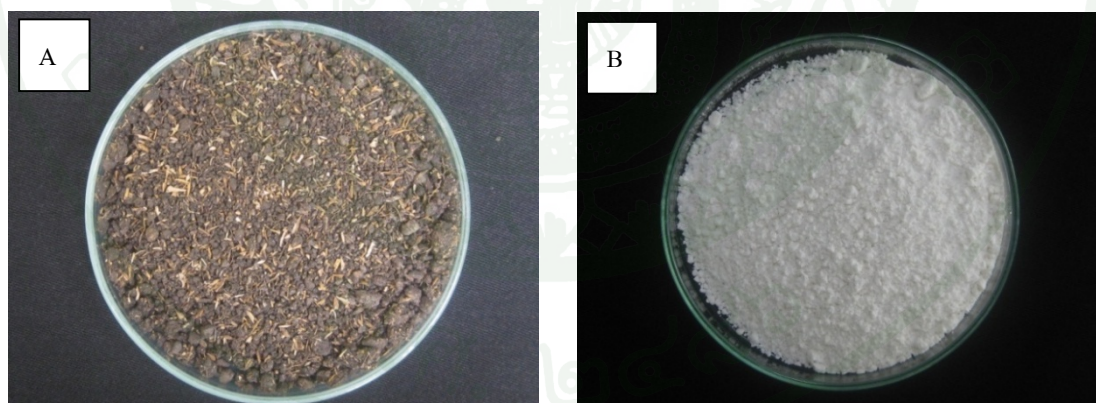
จากการผลิตสูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิบัติ พบว่า การเลี้ยงแบคทีเรียปฏิบัติในอาหารเหลว แล้วผลิตเป็นสูตรสำเร็จผงดินมีปริมาณของแบคทีเรียปฏิบัติไอโซเลต DGg13 ของเดือนแรก คือ 4×10^{11} CFU ต่อกรัม หลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่าปริมาณของแบคทีเรียปฏิบัติ เพิ่มขึ้นจากในเดือนแรก เป็น 3.7×10^{13} CFU ต่อกรัม และเมื่อระยะเวลาผ่านไปเป็นเวลา 6 เดือน ปริมาณของแบคทีเรียปฏิบัติ ไอโซเลต DGg13 ลดลงเหลือ 2.5×10^{11} CFU ต่อกรัม เท่านั้น ส่วนสูตรสำเร็จชนิดผงทาลคัม พบว่า ปริมาณของแบคทีเรียปฏิบัติ ไอโซเลต DGg13 ของเดือนแรก คือ 6.3×10^{12} CFU ต่อกรัม หลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 เดือน มีปริมาณของแบคทีเรียปฏิบัติ ลดลงเป็น 2×10^{10} CFU ต่อกรัม และเมื่อระยะเวลาผ่านไป 6 เดือน ปริมาณของแบคทีเรียปฏิบัติ ไอโซเลต DGg13 ลดลงเหลือเพียง 2×10^8 CFU ต่อกรัม (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ปริมาณของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus amyloliquefaciens* isolate DGg 13 ในสูตรสำเร็จ 2 รูปแบบ ที่อุณหภูมิ 4-10°C เป็นเวลา 6 เดือน

สูตรสำเร็จ ^{1/}	ปริมาณของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> isolate DGg13 ในสูตรสำเร็จ 2 รูปแบบ (CFU/กรัม) ^{2/}		
	1 เดือน	3 เดือน	6 เดือน
สูตรสำเร็จรูปแบบ (ผงดิน)	4×10^{11}	3.7×10^{13}	2.5×10^{11}
สูตรสำเร็จรูปแบบ (ผงทลัคม)	6.3×10^{12}	2×10^{10}	2×10^8

^{1/} สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ 2 รูปแบบ

^{2/} ปริมาณของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus amyloliquefaciens* isolate DGg13 ในสูตรสำเร็จ 2 รูปแบบ โดยวิธี Dilution plate count

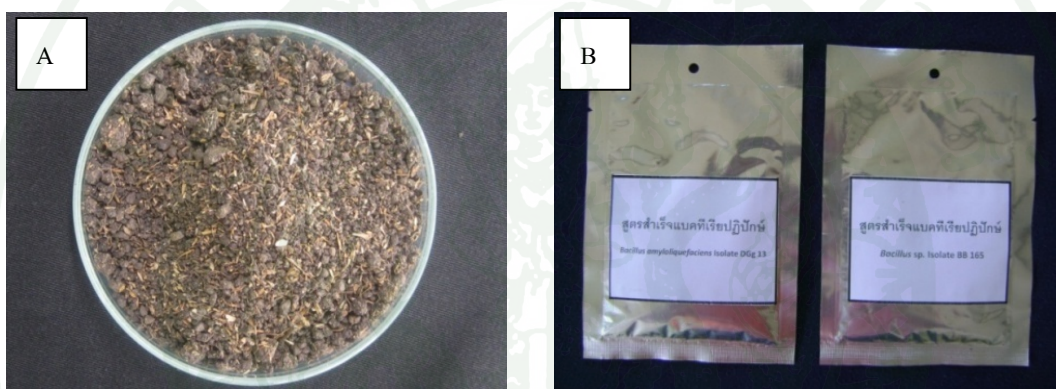


ภาพที่ 1 สูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus amyloliquefaciens* isolate DGg13 ในสูตรสำเร็จ 2 รูปแบบ; A ลักษณะสูตรสำเร็จชนิดผงดิน, B ลักษณะสูตรสำเร็จชนิดผงทลัคม

จากผลการตรวจปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ในสูตรสำเร็จทั้ง 2 รูปแบบ เมื่อระยะเวลาผ่านไป 6 เดือน หลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียส พบว่า สูตรสำเร็จในรูปแบบผงดินมีปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* isolate DGg13 2.5×10^{11} CFU ต่อกรัม ในขณะที่

สูตรสำเร็จรูปแบบผงทลคัม มีปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* isolate DGg13 เพียง 2×10^8 ดังนั้นจึงเลือกการผลิต สูตรสำเร็จรูปแบบเดียวคือผงดิน และได้เพิ่มชนิดของแบคทีเรียปฏิปักษ์คือ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 เพื่อทดสอบเปรียบเทียบโดยใช้เป็นสูตรสำเร็จชนิดผงดินเช่นเดียวกัน

จากการตรวจปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ก่อนบรรจุในภาชนะของอูมิ้นมฟอยล์ทั้ง 2 ชนิดพบว่าปริมาณของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus amyloliquefaciens* isolate DGg 13 และ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 ในสูตรสำเร็จชนิดผงดินที่อุณหภูมิ $4-10^{\circ}\text{C}$ เท่ากับ 3.6×10^{10} CFU/g และ 4.2×10^{10} CFU/g ตามลำดับ



ภาพที่ 2 แสดงสูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่บรรจุในภาชนะของอูมิ้นมฟอยล์ น้ำหนัก 20 กรัมต่อซอง

3. ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสของผลพริกด้วยวิธี Detached Fruit Technique

จากการทดสอบประสิทธิภาพสูตรสำเร็จชนิดผงดิน ด้วยวิธี Detached Fruit Technique สามารถควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรกโนสของผลพริกได้อย่างมีประสิทธิภาพ จากการจุ่มผลพริก ในสูตรสำเร็จชนิดแขวนลอยต่างๆ พบว่าทุกกรรมวิธีที่ใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่ใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ โดยสูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคได้ถึง 86.97 เปอร์เซ็นต์ และ สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคได้ถึง 84.99 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

สูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลท มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดโรคใกล้เคียงกับการใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 รูปแบบเชื้อสด ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งโรคดีที่สุดถึง 88.67 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเทียบเท่าการใช้สารเคมี carbendazim และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (ตารางที่ 2)

สำหรับการใช้สูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลท ที่นำไปบ่มไว้ 2 วัน พบว่าสูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 และ สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB165 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคได้ถึง 79.32 และ 69.97 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม และการใช้สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 หรือ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 ร่วมกับการใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 รูปแบบเชื้อสด พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคได้ดี โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งโรคถึง 67.99 และ 60.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดโรคน้อยกว่าการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในลักษณะแบบเดี่ยว

หลังจากปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่ผลพริกเป็นเวลา 10 วัน พบว่ากรรมวิธีควบคุมที่ใช้น้ำนิ่งมาเชื้อ ผลมีสีแดงสุกและมีอาการของโรคเร็วกว่าการใช้สิ่งทดสอบชนิดต่างๆ อาการของโรคเป็นเกือบทั่วทั้งผล การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการทดสอบมีประสิทธิภาพที่ดี มีพื้นที่การเกิดโรคน้อยกว่ากรรมวิธีควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 มีความรุนแรงของการเกิดโรคลดลง 92.29 เปอร์เซ็นต์ เป็นรอยชำที่แผลเพียงเล็กน้อย เช่นเดียวกับการใช้สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 มีความรุนแรงของการเกิดโรคลดลง 84.14 เปอร์เซ็นต์ ลักษณะผลเป็นรอยชำที่แผลเพียงเล็กน้อยเช่นกัน ส่วนการใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 รูปแบบเชื้อสด พบว่าผลพริกยังคงเป็นสีเขียว และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคน้อยที่สุด โดยความรุนแรงของโรคลดลงถึง 94.86 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จชนิดผง ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ด้วยวิธี Detached fruit Technique หลังจากปลูกเชื้อ 7 วัน

สูตรสำเร็จ ^{1/}	ความยาวแผล (cm) ^{2/}	การยับยั้งการเกิดโรค (%) ^{3/}
Control	3.53 a ^{4/}	-
Carbendazim	0.40 d	88.67
SP :DGg 13	0.53 cd	84.99
SP :BB165	0.46 d	86.97
SPI :DGg 13	0.73 cd	79.32
SPI :BB165	1.06 b-d	69.97
CB-Pin-01	0.40 d	88.67
SP :DGg 13+ CB-Pin-01	1.13 bc	67.99
SP :BB165+ CB-Pin-01	1.40 b	60.33

^{1/} สูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

^{2/} ค่าเฉลี่ยความยาวแผลบนผลพริกหลังจากปลูกเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* 7 วัน

^{3/} เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดโรค คำนวณจากความยาวแผลเฉลี่ยบนผลพริกในกรรมวิธีควบคุม

ตามสูตร $\frac{C-T}{C} \times 100$

C

C = ความยาวแผลเฉลี่ยบนผลพริกในกรรมวิธีควบคุม

T = ความยาวแผลเฉลี่ยบนผลพริกในกรรมวิธีทดสอบ

^{4/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P=0.05).

ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จชนิดผง ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ด้วยวิธี Detached fruit Technique หลังจากปลูกเชื้อ 10 วัน

สูตรสำเร็จ ^{1/}	พื้นที่เป็นโรค (cm ²)	การลดความรุนแรงโรค (%) ^{2/}
Control	7.00 a ^{3/}	-
carbendazim	0.77 b	89.00
SP :DGg 13	1.11 b	84.14
SP :BB165	0.54 b	92.29
SPI :DGg 13	0.92 b	86.86
SPI :BB165	3.75 ab	46.43
CB-Pin-01	0.36 b	94.86
SP :DGg 13+ CB-Pin-01	1.20 b	82.86
SP :BB165+ CB-Pin-01	2.67 b	61.86

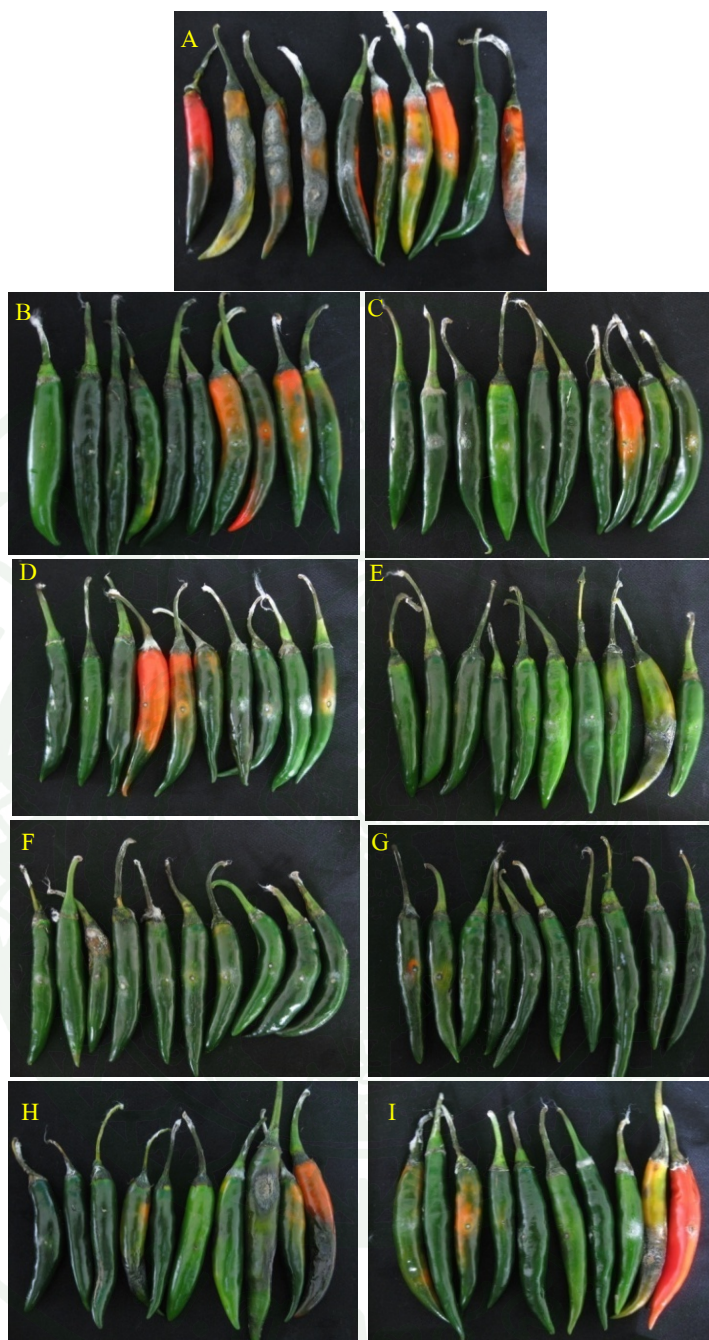
^{1/}สูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ชนิดผงคิน

^{2/}เปอร์เซ็นต์การลดความรุนแรงโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

^{3/}ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวดิ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P=0.05).

สำหรับการใช้สูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลท ที่นำไปบ่มไว้ 2 วัน พบว่าสูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 และ สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB165 มีความรุนแรงของการเกิดโรคลดลง 84.14 และ 46.43 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

สำหรับการใช้สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลท ร่วมกับการใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 รูปแบบเชื้อสด พบว่าสูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 และ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 ร่วมกับการใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 รูปแบบเชื้อสด มีความรุนแรงของการเกิดโรคลดลง 82.86 และ 61.86 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 3



ภาพที่ 3 ประสิทธิภาพสูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริก
ที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ด้วยวิธี Detached fruit Technique
หลังจากปลูกเชื้อ 7 วัน

A: Control

D: SP: BB165

G: CB-Pin-01

B: mancozeb

E: SPI: DGg 13

H: SP: DGg 13+ CB-Pin-01

C: SP: DGg 13

F: SPI: BB165

I: SP: BB165+ CB-Pin-01

จากการทดสอบประสิทธิภาพสูตรสำเร็จชนิดผงดิน ที่เก็บไว้อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 เดือน ด้วยวิธี detached fruit technique สามารถควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของผลพริกได้อย่างมีประสิทธิภาพ จากการจุ่มผลพริก ในสูตรสำเร็จชนิดแขวนลอยต่างๆ พบว่า ทุกกรรมวิธีที่ใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่ใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ โดยกรรมวิธีที่ใช้สารเคมี mancozeb ควบคุมมีประสิทธิภาพดีที่สุดที่สามารถยับยั้งโรคได้ถึง 94.48 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรรมวิธีใช้สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลต BB 165 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคได้ถึง 83.98 เปอร์เซ็นต์ และ สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลต DGg13 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคได้ถึง 75.32 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

สูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลต มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดโรคใกล้เคียงกับการใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 รูปแบบเชื้อสด ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งโรคได้ถึง 87.92 เปอร์เซ็นต์

สำหรับการใช้สูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลต ที่นำไปบ่มไว้ 2 วัน พบว่า สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลต DGg13 และ สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลต BB165 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคได้ถึง 77.69 และ 68.24 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

ส่วนการใช้สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลต DGg13 หรือ *Bacillus* sp. ไอโซเลต BB 165 ร่วมกับการใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 รูปแบบเชื้อสด พบว่า มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคได้ดี โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งโรคถึง 68.76 และ 62.99 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4) ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดโรคน้อยกว่าการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในลักษณะแบบเดี่ยว

ตารางที่ 4 ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จชนิดผง ที่เก็บไว้ 3 เดือน ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ด้วยวิธี Detached fruit Technique หลังจากปลูกเชื้อ 7 วัน

สูตรสำเร็จ ^{1/}	ขนาดแผล (cm) ^{2/}	การยับยั้งโรค(%) ^{3/}
Control	3.81 a ^{4/}	-
mancozeb	0.21 d	94.48
SP :DGg 13	0.94 bc	75.32
SP :BB165	0.61 cd	83.98
SPI :DGg 13	0.85 bc	77.69
SPI :BB165	1.21 b	68.24
CB-Pin-01	0.46 cd	87.92
SP :DGg 13+ CB-Pin-01	1.19 b	68.76
SP :BB165+ CB-Pin-01	1.41 b	62.99

^{1/} สูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

^{2/} ค่าเฉลี่ยความยาวแผลบนผลพริกหลังจากปลูกเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* 7 วัน

^{3/} เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดโรค คำนวณจากความยาวแผลเฉลี่ยบนผลพริกในกรรมวิธีควบคุม

ตามสูตร $C-T \times 100$

C

C = ความยาวแผลเฉลี่ยบนผลพริกในกรรมวิธีควบคุม

T = ความยาวแผลเฉลี่ยบนผลพริกในกรรมวิธีทดสอบ

^{4/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P=0.05).

หลังจากปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่ผลพริกเป็นเวลา 10 วัน พบว่ากรรมวิธีควบคุมที่ใช้ใช้น้ำนิ่งมาเชื้อ ผลมีอาการของโรคเร็วกว่าการใช้สิ่งทดสอบชนิดต่างๆ อาการของโรคเป็นเกือบทั่วทั้งผล การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการทดสอบมีประสิทธิภาพที่ดี มีพื้นที่การเกิดโรคน้อยกว่า

กรรมวิธีควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 มีความรุนแรงของการเกิดโรคลดลง 77.25 เปอร์เซ็นต์ เป็นรอยชำที่แผลเพียงเล็กน้อย เช่นเดียวกับการใช้สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 มีความรุนแรงของการเกิดโรคลดลง 61.68 เปอร์เซ็นต์ ลักษณะผลเป็นรอยชำที่แผลเพียงเล็กน้อยเช่นกัน ส่วนการใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 รูปแบบเชื้อสด พบว่าผลพริกยังคงเป็นสีเขียว และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคน้อยที่สุด โดยความรุนแรงของโรคลดลงถึง 80.24 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (ตารางที่ 5)

สำหรับการใช้สูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลท ที่นำไปบ่มไว้ 2 วัน พบว่าสูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 และ สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB165 มีความรุนแรงของการเกิดโรคลดลง 58.98 และ 59.88 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

สำหรับการใช้สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลท ร่วมกับการใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 รูปแบบเชื้อสด พบว่าสูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 และ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 ร่วมกับการใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 รูปแบบเชื้อสด มีความรุนแรงของการเกิดโรคลดลง 49.10 และ 50.60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

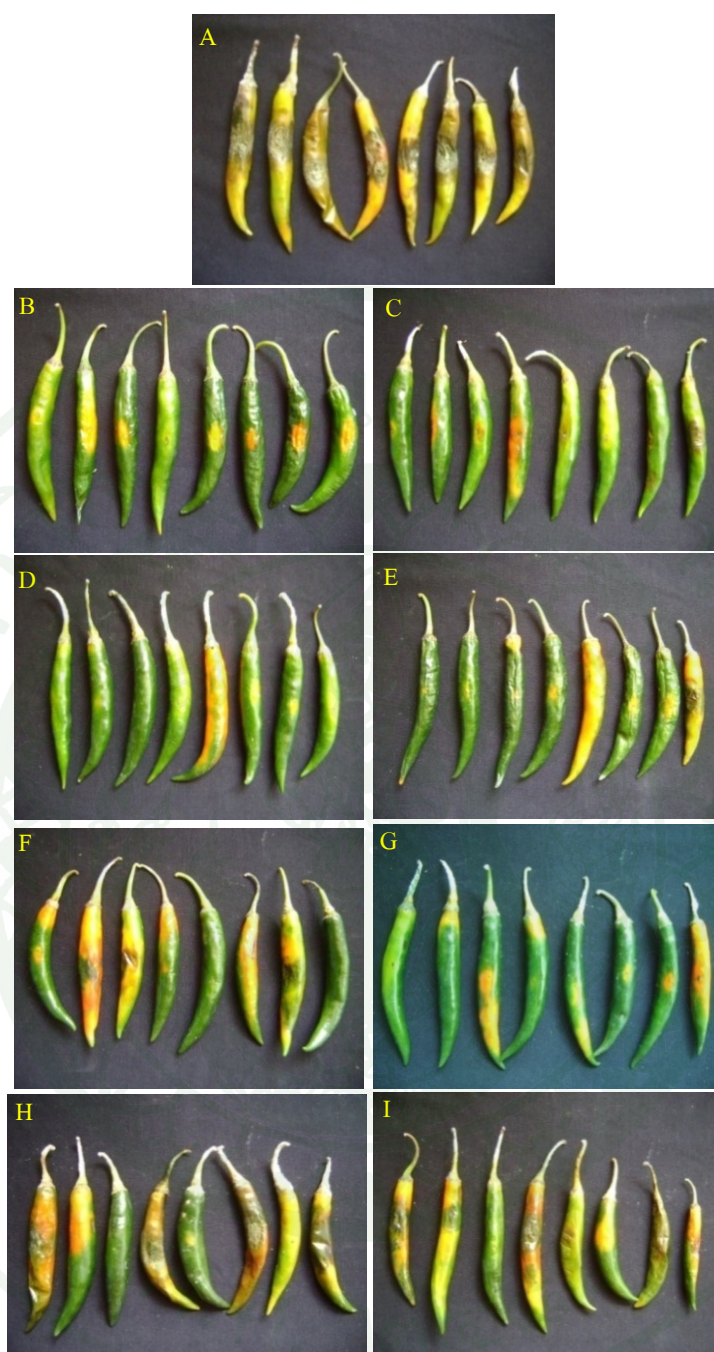
ตารางที่ 5 ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จชนิดผง ที่เก็บไว้ 3 เดือน ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ด้วยวิธี Detached fruit Technique หลังจากปลูกเชื้อ 10 วัน

สูตรสำเร็จ ^{1/}	พื้นที่การเกิดโรค(cm ²)	การลดความรุนแรงของโรค (%) ^{2/}
Control	16.70 a ^{3/}	-
Mancozeb	2.50 d	85.03
SP :DGg 13	6.40 bc	61.68
SP :BB165	3.80 cd	77.25
SPI :DGg 13	6.85 b	58.98
SPI :BB165	6.70 bc	59.88
CB-Pin-01	3.30 d	80.24
SP :DGg 13+ CB-Pin-01	8.50 b	49.10
SP :BB165+ CB-Pin-01	8.25 b	50.60

^{1/} สูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ชนิดผงดิน

^{2/} เปอร์เซ็นต์การลดความรุนแรงโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

^{3/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวดังไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P=0.05)



ภาพที่ 4 ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จชนิดผงดิน ที่เก็บไว้ 3 เดือน ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ด้วยวิธี Detached fruit Technique หลังจากปลูกเชื้อ 7 วัน

A: Control

D: SP: BB165

G: CB-Pin-01

B: mancozeb

E: SPI: DGg 13

H: SP: DGg 13+ CB-Pin-01

C: SP: DGg 13

F: SPI: BB165

I: SP: BB165+ CB-Pin-01

จากการทดสอบประสิทธิภาพสูตรสำเร็จชนิดผงดิน ที่เก็บไว้อุ่นหมัก 4-10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 เดือน ด้วยวิธี detached fruit technique สามารถควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของผลพริกได้อย่างมีประสิทธิภาพ จากการจุ่มผลพริก ในสูตรสำเร็จชนิดแขวนลอยต่างๆ พบว่า ทุกกรรมวิธีที่ใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ใช้น้ำนิ่งฆ่าเชื้อเป็นตัวเปรียบเทียบ โดยการกรรมวิธีที่ใช้สารเคมี mancozeb ควบคุมมีประสิทธิภาพดีที่สุดสามารถยับยั้งโรคได้ถึง 81.19 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรรมวิธีใช้สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคได้ถึง 77.48 เปอร์เซ็นต์ และ สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคได้ถึง 69.06 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

สูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลท มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดโรคใกล้เคียงกับการใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 รูปแบบเชื้อสด ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งโรคได้ถึง 75.74 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 6)

สำหรับการใช้สูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลท ที่นำไปบ่มไว้ 48 ชั่วโมง พบว่า สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 และ สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB165 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคได้ถึง 56.68 และ 57.92 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (ตารางที่ 6)

ส่วนการใช้สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 หรือ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 ร่วมกับการใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 รูปแบบเชื้อสด พบว่า มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคได้ดี โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งโรคถึง 54.46 และ 51.73 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 6) ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดโรคน้อยกว่าการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในลักษณะแบบเดี่ยว

ตารางที่ 6 ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จชนิดผง ที่เก็บไว้ 6 เดือน ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ด้วยวิธี Detached fruit Technique หลังจากปลูกเชื้อ 7 วัน

สูตรสำเร็จ ^{1/}	ขนาดแผล (cm) ^{2/}	การยับยั้งโรค(%) ^{3/}
Control	4.04 a ^{4/}	-
mancozeb	0.76 d	81.19
SP :DGg 13	1.25 c	69.06
SP :BB165	0.91 dc	77.48
SPI :DGg 13	1.75 b	56.68
SPI :BB165	1.70 b	57.92
CB-Pin-01	0.98 dc	75.74
SP :DGg 13+ CB-Pin-01	1.84 b	54.46
SP :BB165+ CB-Pin-01	1.95 b	51.73

^{1/} สูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

^{2/} ค่าเฉลี่ยความยาวแผลบนผลพริกหลังจากปลูกเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* 7 วัน

^{3/} เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดโรค คำนวณจากความยาวแผลเฉลี่ยบนผลพริกในกรรมวิธีควบคุม

ตามสูตร $\frac{C-T}{C} \times 100$

C

C = ความยาวแผลเฉลี่ยบนผลพริกในกรรมวิธีควบคุม

T = ความยาวแผลเฉลี่ยบนผลพริกในกรรมวิธีทดสอบ

^{4/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P=0.05).

หลังจากปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่ผลพริกเป็นเวลา 10 วัน พบว่ากรรมวิธีควบคุมที่ใช้ใช้น้ำนิ่งมาเชื้อ ผลมีอาการของโรคเร็วกว่าการใช้สิ่งทดสอบชนิดต่างๆ อาการของโรคเป็นเกือบทั่วทั้งผล การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการทดสอบมีประสิทธิภาพที่ดี มีพื้นที่การเกิดโรคน้อยกว่า

กรรมวิธีควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 มีความรุนแรงของการเกิดโรคลดลง 64.49เปอร์เซ็นต์ เป็นรอยชำที่แผลเพียงเล็กน้อย เช่นเดียวกับการใช้สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 มีความรุนแรงของการเกิดโรคลดลง 57.32เปอร์เซ็นต์ ลักษณะผลเป็นรอยชำที่แผลเพียงเล็กน้อยเช่นกัน ส่วนการใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 รูปแบบเชื้อสด พบว่าผลพริกยังคงเป็นสีเขียว และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคน้อยที่สุด โดยความรุนแรงของโรคลดลงถึง 67.60เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (ตารางที่ 7)

สำหรับการใช้สูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลท ที่นำไปบ่มไว้ 2 วัน พบว่าสูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 และ สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB165 มีความรุนแรงของการเกิดโรคลดลง 57.32และ 55.76 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

สำหรับการใช้สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลท ร่วมกับการใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 รูปแบบเชื้อสด พบว่าสูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 และ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 ร่วมกับการใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 รูปแบบเชื้อสด มีความรุนแรงของการเกิดโรคลดลง 41.43และ 40.19เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จชนิดผง ที่เก็บไว้ 6 เดือน ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ด้วยวิธี Detached fruit Technique หลังจากปลูกเชื้อ 10 วัน

สูตรสำเร็จ ^{1/}	พื้นที่การเกิดโรค (cm ²)	การลดความรุนแรงของโรค (%) ^{2/}
Control	16.05 a ^{3/}	
mancozeb	3.10 f	80.69
SP :DGg 13	6.85 cd	57.32
SP :BB165	5.70 de	64.49
SPI :DGg 13	7.90 c	50.78
SPI :BB165	7.10 c	55.76
CB-Pin-01	5.20 e	67.60
SP :DGg 13+ CB-Pin-01	9.40 b	41.43
SP :BB165+ CB-Pin-01	9.60 b	40.19

^{1/} สูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ชนิดผงดิน

^{2/} เปอร์เซ็นต์การลดความรุนแรงโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

^{3/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวดังไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P=0.05)



ภาพที่ 5 ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จชนิดผง ที่เก็บไว้ 6 เดือน ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ด้วยวิธี Detached fruit Technique หลังจากปลูกเชื้อ 7 วัน

A: Control	D: SP: BB165	G: CB-Pin-01
B: mancozeb	E: SPI: DGg 13	H: SP: DGg 13+ CB-Pin-01
C: SP: DGg 13	F: SPI: BB165	I: SP: BB165+ CB-Pin-01

4. ประสิทธิภาพสูตรสำเร็จจุลินทรีย์ปฏิปักษ์รูปผงดินต่อการงอกของเมล็ดพริกมันพันธุ์บางช้าง

จากการแช่เมล็ดพริกมันพันธุ์บางช้าง ในผงแขวนลอยที่เตรียมจากสูตรสำเร็จต่างๆ พบว่า ทุกกรรมวิธีที่ใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์มีผลช่วยให้เมล็ดพริกมีเปอร์เซ็นต์การงอกที่ดีกว่ากรรมวิธีที่ไม่ใช้ จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ จากการทดสอบพบว่า สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB165 ช่วยให้เมล็ดพริกมีเปอร์เซ็นต์การงอกดีที่สุดเท่ากับ 78.00 เปอร์เซ็นต์ ดีกว่าการใช้สปอร์แขวนลอย ของเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ในรูปแบบเชื้อสด และแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การงอกเท่ากับ 75.33 และ 72.66 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับซึ่ง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ที่ใช้น้ำนิ่งมาเชื้อ ที่มีเปอร์เซ็นต์การ งอกเท่ากับ 49.33 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดพันธุ์บางช้าง ที่ระยะเวลา 7 วันหลังจากแช่ในสูตรสำเร็จ ต่างๆ

สูตรสำเร็จ ^{1/}	การงอกของเมล็ดพริก (%) ^{2/}
Control	49.33 d ^{3/}
mancozeb	55.33 cd
SP :DGg 13	72.66 ab
SP :BB165	78.00 a
SPI :DGg 13	52.66 d
SPI :BB165	68.00 a-c
CB-Pin-01	75.33 a
SP :DGg 13+ CB-Pin-01	56.66 cd
SP :BB165+ CB-Pin-01	60.00 b-d

^{1/} สูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

^{2/} เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดพริกมันพันธุ์บางช้าง หลังจากแช่ในสูตรสำเร็จต่างๆ

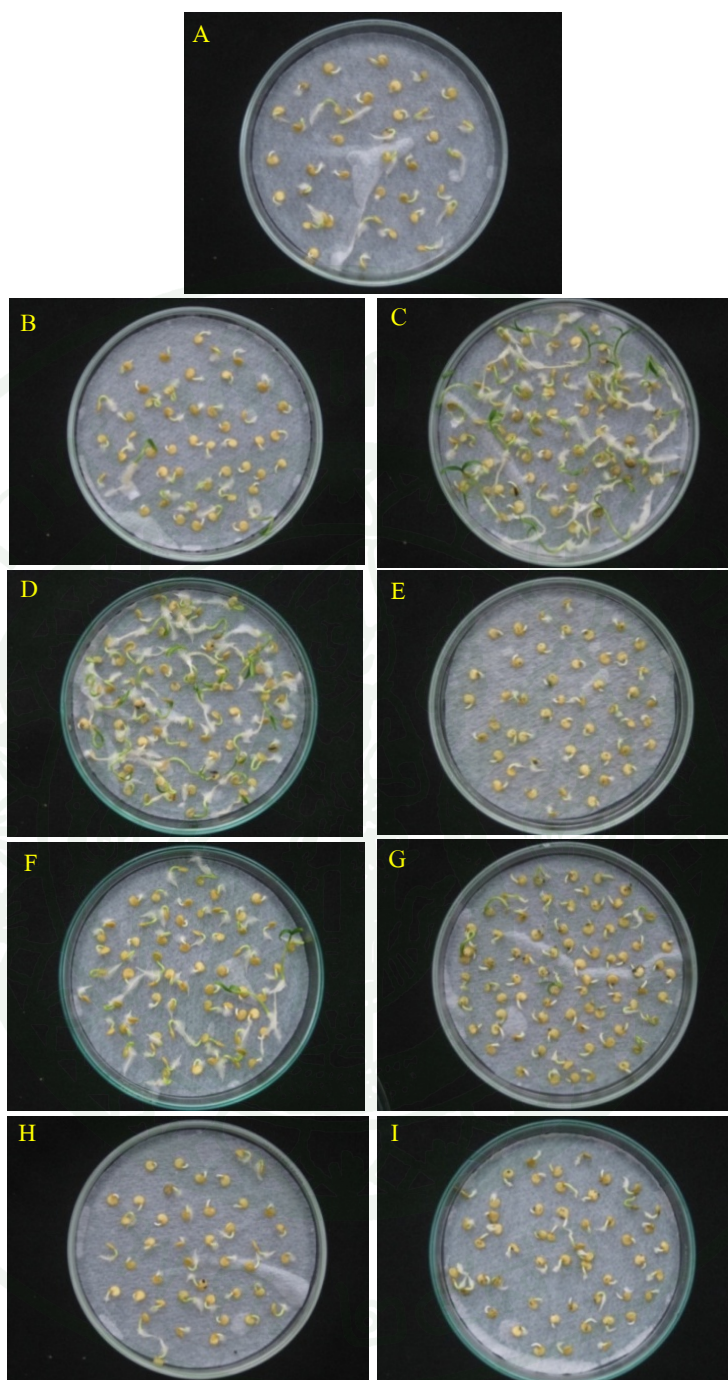
^{3/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P=0.05)

กรรมวิธีที่ใช้สูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลท ที่นำไปบ่มไว้ 2 วัน พบว่าสูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 และ สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB165 มีเปอร์เซ็นต์การงอกเท่ากับ 52.66 และ 68 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งมีประสิทธิภาพดีกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ใช้น้ำนิ่งมาเชื่อเปรียบเทียบ แต่กรรมวิธีที่นำสูตรสำเร็จไปบ่มเป็นเวลา 48 ชั่วโมง มีความแตกต่างทางสถิติกับการใช้จุลินทรีย์สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB165 และการใช้สปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ในรูปแบบเชื้อสด (ตารางที่ 8)

สำหรับการใช้สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลท ร่วมกับการใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 รูปแบบเชื้อสด พบว่าสูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 และ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 ร่วมกับการใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 รูปแบบเชื้อสด มีเปอร์เซ็นต์การงอกเท่ากับ 55.66 และ 60 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 8)



ภาพที่ 6 ลักษณะเมล็ดพริกมันพันธุ์ บางช้างหลังจากแช่เมล็ดในสูตรสำเร็จชนิดต่างๆ; A ลักษณะของเมล็ดพริกที่แช่ในสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* CB-Pin-01 ในรูปแบบเชื้อสด; B ลักษณะเมล็ดพริกที่มีการเจริญของรากขนอ่อนหลังจากแช่เมล็ดพริกในสิ่งทดสอบ 10 วัน



ภาพที่ 7 ประสิทธิภาพสูตรสำเร็จรูปแบบผงดินต่อการงอกของเมล็ดพริกพันธุ์บางช้างหลังจากแช่ในสูตรสำเร็จรูปแบบต่างๆ 7 วัน

A: Control	D: SP: BB165	G: CB-Pin-01
B: mancozeb	E: SPI: DGg 13	H: SP: DGg 13+ CB-Pin-01
C: SP: DGg 13	F: SPI: BB165	I: SP: BB165+ CB-Pin-01

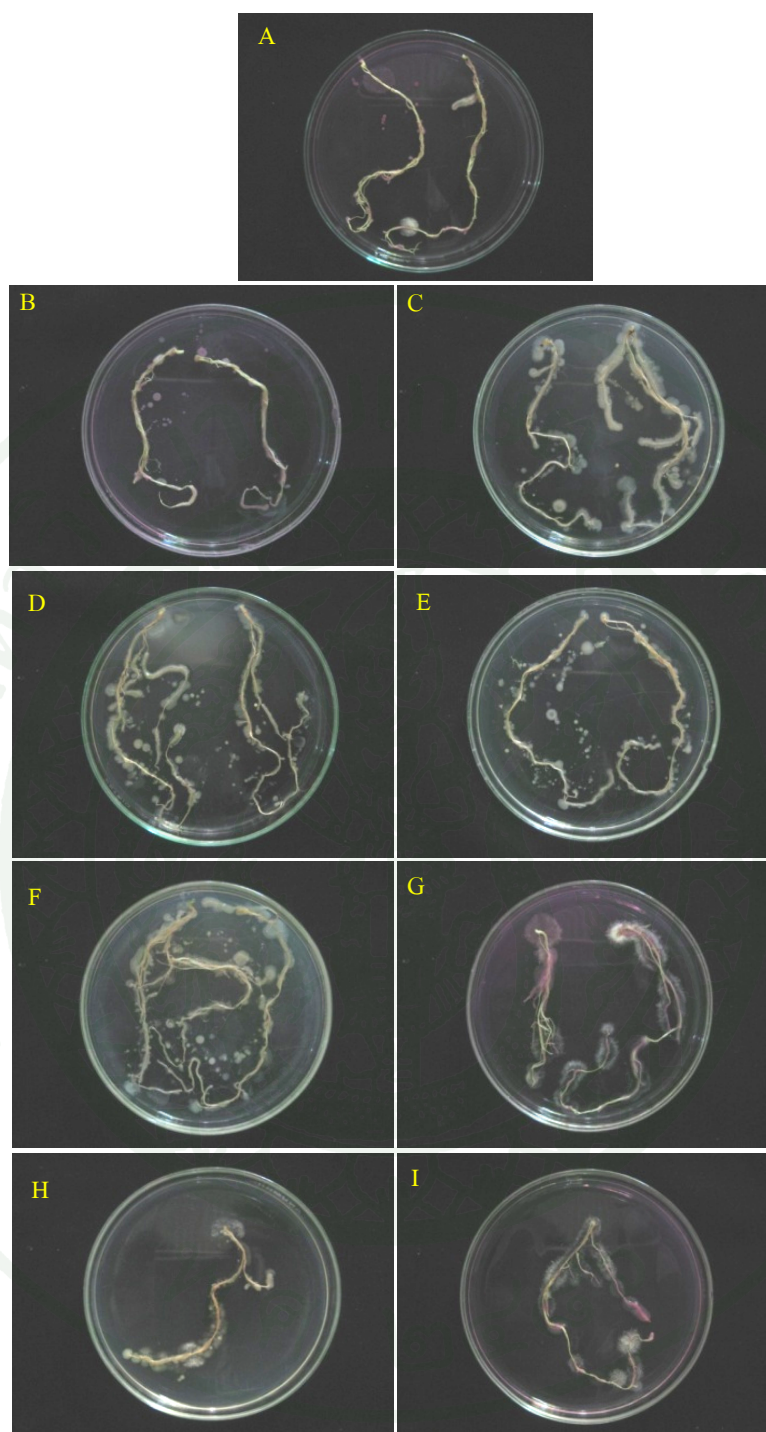
หลังจากเพาะเมล็ดพริกลงในกระบะเพาะเป็นเวลา 15 วัน พบว่า การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ช่วยเพิ่มการเจริญทั้งในด้านความสูงลำต้นและความยาวราก มากกว่ากรรมวิธีที่ไม่ได้ใช้จุลินทรีย์ ปฏิปักษ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากการบันทึกความยาวราก ความสูงลำต้นและการครอบครอง รากของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ พบว่าสูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB165 ช่วยให้ ต้นกล้าพริกมีความยาวราก และความสูงลำต้น ดีที่สุด คือ 16.20 และ 3.78 เซนติเมตร และมีการ เจริญครอบครองส่วนของราก แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม แต่ ไม่แตกต่างจากการใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 การเจริญของลำต้นและรากของต้นกล้าพริกมันพันธุ์บางช้าง อายุ 15 วันหลังจากแช่เมล็ด ในสูตรสำเร็จ

กรรมวิธีทดสอบ ^{1/}	ความยาวลำต้น (cm)	ความยาวราก (cm)
Control	3.29 c ^{2/}	12.36 d ^{2/}
mancozeb	3.44 bc	14.22 bc
SP :DGg 13	3.54 a-c	14.79 a-c
SP :BB165	3.78 a	16.20 a
SPI :DGg 13	3.38 bc	13.41 cd
SPI :BB165	3.43 bc	14.71 a-c
CB-Pin-01	3.62 ab	15.37 ab
SP :DGg 13+ CB-Pin-01	3.41 bc	13.16 cd
SP :BB165+ CB-Pin-01	3.50 bc	13.02 cd

^{1/} สูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวดิ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P=0.05)



ภาพที่ 8 การครอบครองรากพริกอายุ 15 วัน หลังเพาะเมล็ดของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และกรรมวิธี
ต่างๆที่แช่เมล็ดพริกในสูตรสำเร็จ

A: Control	D: SP: BB165	G: CB-Pin-01
B: mancozeb	E: SPI: DGg 13	H: SP: DGg 13 + CB-Pin-01
C: SP: DGg 13	F: SPI: BB165	I: SP: BB165 + CB-Pin-01

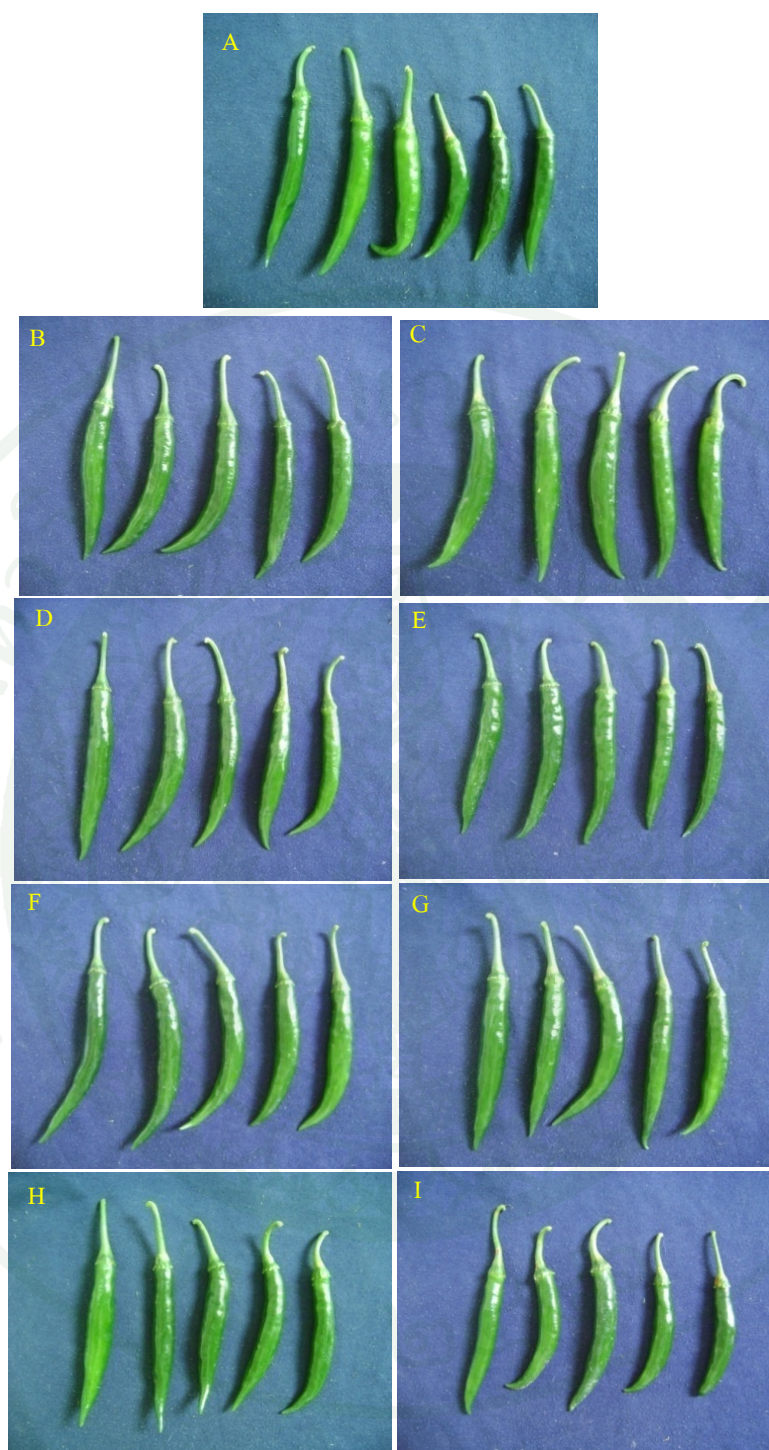
5. การใช้สูตรสำเร็จชนิดผงในการควบคุมโรคแอนแทรกโคโนสของพริกในสภาพแปลงปลูก

ต้นพริกมันพันธุ์บางช้างมีการเจริญเติบโตลักษณะเป็นพุ่มเตี้ย หลังจากย้ายลงแปลงปลูก 45 วัน โดยทุกกรรมวิธีมีการเจริญทางด้านความสูงเฉลี่ยใกล้เคียงกัน ต้นมีการพริกสร้างดอกที่อายุ 52 วัน และเริ่มมีผลขนาดเล็กซึ่งมีขนาดใหญ่กว่าหัวเข็มหมุด ผลพริกมีลักษณะผิวมันวาว สีเขียวเข้ม และให้ผลตก สามารถเริ่มเก็บผลผลิตได้ที่อายุ 60 วัน หลังจากย้ายลงแปลงปลูก โดยต้นพริกที่มีการใช้สูตรสำเร็จในรูปแบบต่างๆ หลังจากพ้นสิ่งทดสอบภายหลังจากนั้น 10 วัน จึงเริ่มเก็บผลผลิต ซึ่งลักษณะของต้นพริกที่มีการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ มีการเจริญของทรงพุ่มที่ใหญ่กว่ากรรมวิธีควบคุม

โดยผลผลิตที่เก็บครั้งที่ 1 ลักษณะผลพริกยังมีขนาดเล็กและแต่กรรมวิธียังให้ผลผลิตน้อย ส่วนการเก็บผลผลิตในครั้งที่ 2 ต้นพริกเริ่มมีการให้ผลผลิตปริมาณที่มากและกรรมวิธีที่ใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ลักษณะผลพริกดีกว่ากรรมวิธีควบคุม

จากการใช้กรรมวิธีต่างๆ ในการควบคุมโรคแอนแทรกโคโนสของพริกมันพันธุ์บางช้างในสภาพแปลงจากการเก็บผลผลิตในครั้งที่ 3 หลังจากย้ายปลูก 75 วัน พบว่าการใช้สารเคมี mancozeb สามารถควบคุมโรคในสภาพแปลงได้ดีที่สุด สามารถลดการเกิดโรคได้ถึง 89.63 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการใช้สูตรสำเร็จจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคพบว่าการใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ในรูปแบบเชื้อสด สามารถลดการเกิดโรคได้ถึง 77.60 เปอร์เซ็นต์และการใช้สูตรสำเร็จจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB165 และ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 สามารถลดการเกิดโรคได้ถึง 68.88 และ 67.22 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 10)

ส่วนการใช้สูตรสำเร็จที่นำไปบ่มไว้ 2 วัน พบว่าการใช้สูตรสำเร็จจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB165 และ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 สามารถลดการเกิดโรคได้ถึง 60.95 และ 53.53 เปอร์เซ็นต์และการใช้สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 ร่วมกับการใช้เชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* CB-Pin-01 รูปแบบเชื้อสด สามารถลดการเกิดโรคได้ถึง 56.44 เปอร์เซ็นต์ การใช้สูตรสำเร็จจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB165 ร่วมกับการใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ในรูปแบบเชื้อสด สามารถลดการเกิดโรคได้ถึง 29.01 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 10)



ภาพที่ 9 ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกมันพันธุ์บางช้าง
ในสภาพแปลงปลูกหลังจากย้ายปลูก 60 วัน

A: Control

D: SP: BB165

G: CB-Pin-01

B: mancozeb

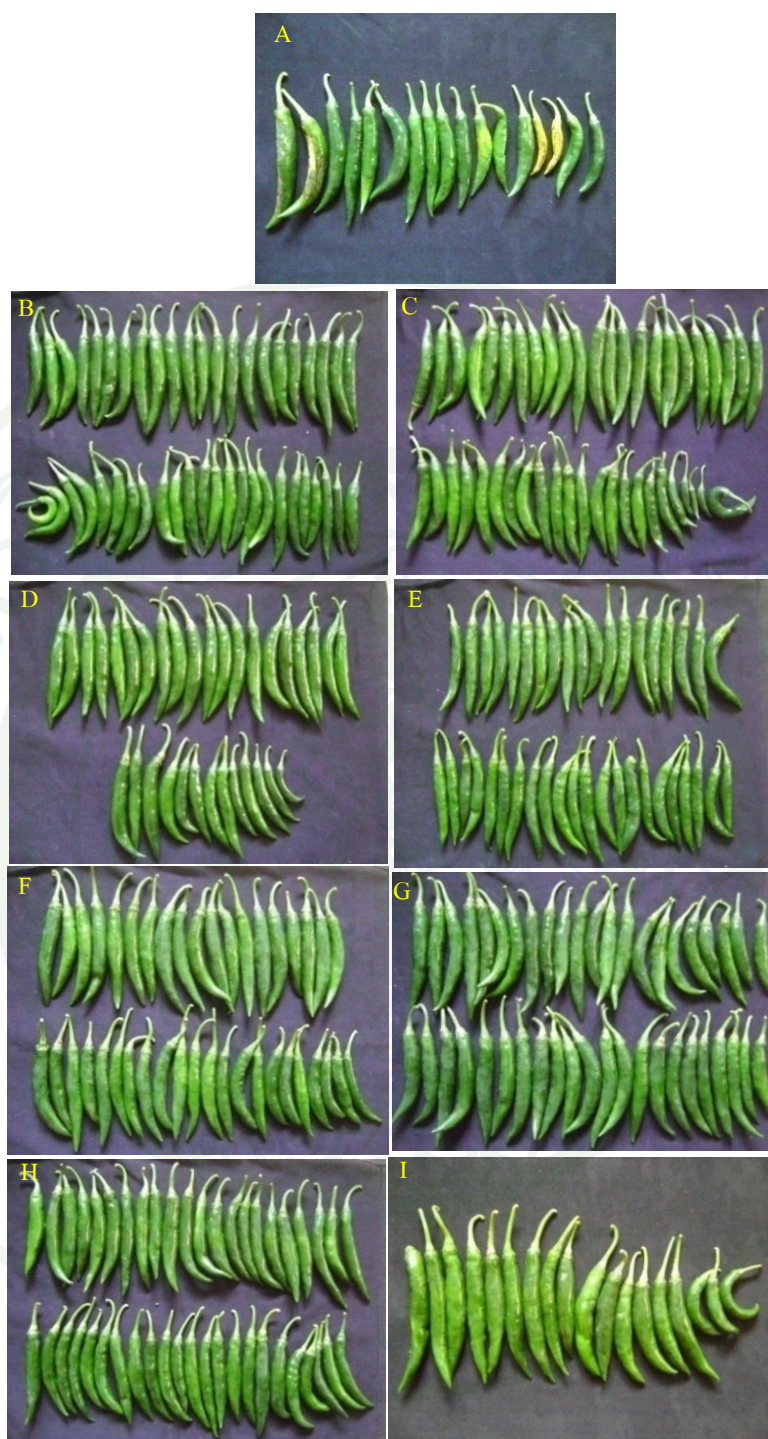
E: SPI: DGg 13

H: SP: DGg 13+ CB-Pin-01

C: SP: DGg 13

F: SPI: BB165

I: SP: BB165+ CB-Pin-01



ภาพที่ 10 ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกมันพันธุ์บางช้าง
ในสภาพแปลงปลูกหลังจากย้ายปลูก 75 วัน

A: Control	D: SP: BB165	G: CB-Pin-01
B: mancozeb	E: SPI: DGg 13	H: SP: DGg 13+ CB-Pin-01
C: SP: DGg 13	F: SPI: BB165	I: SP: BB165+ CB-Pin-01

ตารางที่ 10 ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสของพริกมันพันธุ์บางช้างในสภาพแปลงปลูกหลังจากย้ายปลูก 90 วัน

สูตรสำเร็จ ^{1/}	พื้นที่การเกิดโรค(cm ²)	เปอร์เซ็นต์การลดความรุนแรงของโรค ^{2/}
Control	12.05 a ^{3/}	-
mancozeb	1.25 c	89.63
SP :DGg 13	3.95 c	67.22
SP :BB165	3.75 bc	68.88
SPI :DGg 13	5.60 bc	53.53
SPI :BB165	4.70 bc	60.95
CB-Pin-01	2.70 c	77.60
SP :DGg 13+ CB-Pin-01	5.25 bc	56.44
SP :BB165+ CB-Pin-01	8.55 ab	29.01

^{1/} สูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ชนิดผงดิน

^{2/} เปอร์เซ็นต์การลดโรคแอนแทรกโนสบนผลพริกเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

^{3/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P=0.05).



ภาพที่ 11 ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกมันพันธุ์บางช้าง
ในสภาพแปลงปลูกหลังจากย้ายปลูก 90 วัน

- | | | |
|---------------|----------------|--------------------------|
| A: Control | D: SP: BB165 | G: CB-Pin-01 |
| B: mancozeb | E: SPI: DGg 13 | H: SP: DGg 13+ CB-Pin-01 |
| C: SP: DGg 13 | F: SPI: BB165 | I: SP: BB165+ CB-Pin-01 |

ตารางที่ 11 ปริมาณจุลินทรีย์บนผลพริกของพริกมันพันธุ์บางช้างในสภาพแปลงปลูกหลังจากย้ายปลูก 90 วัน

กรรมวิธีควบคุม ^{1/}	ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และเชื้อสาเหตุโรค ^{2/}		
	<i>Bacillus</i> sp.	<i>T.harzianum</i> CB-Pin-01	<i>Colletotrichum</i> sp.
Control	-	-	3.7×10^3
mancozeb	-	-	-
SP :DGg 13	1.9×10^3 a ^{3/}	-	-
SP :BB165	2.0×10^3 a	-	-
SPI :DGg 13	1.7×10^3 ab	-	-
SPI :BB165	1.4×10^3 b	-	-
CB-Pin-01	-	1.3×10^3 a	-
SP :DGg 13+ CB-Pin-01	8.3×10^2 c	5.6×10^2 b	-
SP :BB165+ CB-Pin-01	7.3×10^2 c	6.6×10^2 b	-

^{1/} สูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ชนิดผงดิน

^{2/} ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และเชื้อสาเหตุโรค

^{3/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P=0.05).

จากการใช้กรรมวิธีต่างๆในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกมันพันธุ์บางช้างในสภาพแปลงจากการเก็บผลผลิตในครั้งที่ 4 หลังย้ายปลูก 105 วัน พบว่าการใช้สารเคมี mancozeb สามารถควบคุมโรคในสภาพแปลงได้ดีที่สุด สามารถลดการเกิดโรคได้ถึง 87.45 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการใช้สูตรสำเร็จจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคพบว่าการใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ในรูปแบบเชื้อสด สามารถลดการเกิดโรคได้ถึง 81.62 เปอร์เซ็นต์และการใช้สูตรสำเร็จจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB165 และ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 สามารถลดการเกิดโรคได้ถึง 76.69 และ 63.23 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 12)

ส่วนการใช้สูตรสำเร็จที่นำไปป่นไว้ 2 วัน พบว่าการใช้สูตรสำเร็จจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลต BB165 และ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลต DGg13 สามารถลดการเกิดโรคได้ถึง 34.53 และ 41.71 เปอร์เซ็นต์ และการใช้สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลต DGg13 ร่วมกับการใช้เชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* CB-Pin-01 รูปแบบเชื้อสด สามารถลดการเกิดโรคได้ถึง 26.69 เปอร์เซ็นต์ การใช้สูตรสำเร็จจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลต BB165 ร่วมกับการใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ในรูปแบบเชื้อสด สามารถลดการเกิดโรคได้ถึง 20.63 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 12)

ตารางที่ 12 ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกมันพันธุ์ บางช้างในสภาพแปลงปลูกหลังจากย้ายปลูก 105 วัน

สูตรสำเร็จ ^{1/}	พื้นที่การเกิดโรค (cm ²)	เปอร์เซ็นต์การลดความรุนแรง ของโรค ^{2/}
Control	11.35 a ^{3/}	-
mancozeb	1.40 d	87.67
SP :DGg 13	4.10 b-d	63.88
SP :BB165	2.60 cd	77.09
SPI :DGg 13	6.50 a-d	42.73
SPI :BB165	7.30 a-c	35.68
CB-Pin-01	2.05 d	81.94
SP :DGg 13+ CB-Pin-01	8.25 ab	27.31
SP :BB165+ CB-Pin-01	8.85 ab	22.03

^{1/} สูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ชนิดผงคิน

^{2/} เปอร์เซ็นต์การลดความรุนแรงโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

^{3/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวดิ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P=0.05).

ตารางที่ 13 ปริมาณจุลินทรีย์ที่เจริญบนผิวพริกของพริกมันพันธุ์บางช้างในสภาพแปลงปลูก
หลังจากย้ายปลูก 105 วัน

กรรมวิธีควบคุม ^{1/}	ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และเชื้อสาเหตุโรค ^{2/}		
	<i>Bacillus</i> sp.	<i>T.harzianum</i>	<i>Colletotrichum</i> sp.
	CB-Pin-01		
Control	-	-	3.2×10^3
mancozeb	-	-	-
SP :DGg 13	1.3×10^3 a ^{3/}	-	-
SP :BB165	1.2×10^3 ab	-	-
SPI :DGg 13	6.3×10^2 bc	-	-
SPI :BB165	1.03×10^3 ab	-	-
CB-Pin-01	-	1.3×10^3 a	-
SP :DGg 13+ CB-Pin-01	3.6×10^2 c	5.0×10^2 b	-
SP :BB165+ CB-Pin-01	2.3×10^2 c	3.0×10^2 b	-

^{1/} สูตรตำราของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ชนิดผงดิน

^{2/} ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และเชื้อสาเหตุโรค

^{3/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P=0.05).



ภาพที่ 12 ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกมันพันธุ์บางช้าง
ในสภาพแปลงปลูกหลังจากย้ายปลูก 105 วัน

A: Control

D: SP: BB165

G: CB-Pin-01

B: mancozeb

E: SPI: DGg 13

H: SP: DGg 13 + CB-Pin-01

C: SP: DGg 13

F: SPI: BB165

I: SP: BB165 + CB-Pin-01

จากการใช้กรรมวิธีต่างๆในการควบคุมโรคแอนแทรกซ์ของพริกมันพันธุ์บางช้างในสภาพแปลงจากการเก็บผลผลิตในครั้งที่ 5 หลังจากย้ายปลูกที่ 120 วัน พบว่าการใช้สารเคมี mancozeb สามารถควบคุมโรคในสภาพแปลงได้ดีที่สุด สามารถลดการเกิดโรคได้ถึง 87.45 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการใช้สูตรสำเร็จจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคพบว่าการใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ในรูปแบบเชื้อสด สามารถลดการเกิดโรคได้ถึง 81.62 เปอร์เซ็นต์และการใช้สูตรสำเร็จจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB165 และ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 สามารถลดการเกิดโรคได้ถึง 76.69 และ 63.23 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่14)

ส่วนการใช้สูตรสำเร็จที่นำไปป่นไว้ 2 วัน พบว่าการใช้สูตรสำเร็จจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB165 และ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 สามารถลดการเกิดโรคได้ถึง 34.53 และ 41.71 เปอร์เซ็นต์ และการใช้สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 ร่วมกับ เชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* CB-Pin-01 รูปแบบเชื้อสด สามารถลดการเกิดโรคได้ถึง 26.69 เปอร์เซ็นต์ การใช้สูตรสำเร็จจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB165 ร่วมกับการใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ในรูปแบบเชื้อสด สามารถลดการเกิดโรคได้ถึง 20.63 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่14)

ตารางที่ 14 ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสของพริกมันพันธุ์บางช้างในสภาพแปลงปลูกหลังจากย้ายปลูก 120 วัน

สูตรสำเร็จ ^{1/}	พื้นที่การเกิดโรค(cm ²)	เปอร์เซ็นต์การลดความรุนแรงของโรค ^{2/}
Control	13.55 a ^{3/}	-
mancozeb	1.35 c	90.04
SP :DGg 13	5.95 b	56.09
SP :BB165	1.90 c	85.98
SPI :DGg 13	5.40 b	60.15
SPI :BB165	5.60 b	58.67
CB-Pin-01	1.60 c	88.19
SP :DGg 13+ CB-Pin-01	6.55 b	51.66
SP :BB165+ CB-Pin-01	8.25 b	38.82

^{1/} สูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ชนิดผงดิน

^{2/} เปอร์เซ็นต์การลดความรุนแรงโรคแอนแทรกโนสบนผลพริกเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

^{3/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวดังไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P=0.05).



ภาพที่ 13 ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกมันพันธุ์บางช้าง
ในสภาพแปลงปลูกหลังจากย้ายปลูก 120 วัน

A: Control

D: SP: BB165

G: CB-Pin-01

B: mancozeb

E: SPI: DGg 13

H: SP: DGg 13+ CB-Pin-01

C: SP: DGg 13

F: SPI: BB165

I: SP: BB165+ CB-Pin-01

ตารางที่ 15 ปริมาณจุลินทรีย์ที่เจริญบนผิวพริกของพริกมันพันธุ์บางช้างในสภาพแปลงปลูก
หลังจากย้ายปลูก 120 วัน

กรรมวิธีควบคุม ^{1/}	ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และเชื้อสาเหตุโรค ^{2/}		
	<i>Bacillus</i> sp.	<i>T.harzianum</i> CB-Pin-01	<i>Colletotrichum</i> sp.
Control	-	-	4.2×10^3
mancozeb	-	-	-
SP :DGg 13	1.26×10^3 a-c ^{3/}	-	-
SP :BB165	1.73×10^3 ab	-	-
SPI :DGg 13	1.3×10^3 ab	-	-
SPI :BB165	1.06×10^3 bc	-	-
CB-Pin-01	-	1.76×10^3 a	-
SP :DGg 13+ CB-Pin-01	8.0×10^2 cd	7.0×10^2 b	-
SP :BB165+ CB-Pin-01	5.3×10^2 d	6.3×10^2 b	-

^{1/} สูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ชนิดผงดิน

^{2/} ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และเชื้อสาเหตุโรค

^{3/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P=0.05).

จากการเก็บน้ำหนักผลผลิตของพริกมันพันธุ์บางช้าง 5 ครั้ง พบว่า กรรมวิธีที่ใช้สารเคมี mancozeb ในการควบคุมโรคน้ำหนักรวมเท่ากับ 3,332 กรัม และการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ควบคุมโรคแอนแทรคโนสของต้นพริกในสภาพแปลงพบว่า การใช้เชื้อรา ปฏิปักษ์ *T. harzianum* CB-Pin-01 รูปแบบเชื้อสดสามารถเก็บผลผลิตของผลพริกที่มีคุณภาพดีไม่แสดงอาการของโรคได้ถึง 3,182 กรัม รองลงมา การใช้สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลต BB165 และ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลต DGg13 สามารถเก็บผลผลิตของผลพริกที่มีคุณภาพดีไม่แสดงอาการของโรคได้ถึง 2,843 และ 2,797 ตามลำดับ (ตารางที่ 16)

ส่วนการใช้สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus* sp. ไอโซเลต BB165 และ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลต DGg13 ที่ได้นำไปบ่มเป็นเวลา 2 วัน พบว่า สามารถเก็บผลผลิตของผลพริกที่มีคุณภาพดีไม่แสดงอาการของโรคได้ถึง 2,689 กรัม และ 2,579 กรัม (ตารางที่ 16)

และการใช้สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิชีวนะ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลต DGg13 ร่วมกับเชื้อราปฏิชีวนะ *T. harzianum* CB-Pin-01 รูปแบบเชื้อสด สามารถเก็บผลผลิตของผลพริกที่มีคุณภาพดีไม่แสดงอาการของโรคได้ถึง 2,536 กรัม และการใช้สูตรสำเร็จจุลินทรีย์ปฏิชีวนะ *Bacillus* sp. ไอโซเลต BB165 ร่วมกับการใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ในรูปแบบเชื้อสด สามารถเก็บผลผลิตของผลพริกที่มีคุณภาพดีไม่แสดงอาการของโรคได้ถึง 1,904 กรัม โดยทุกกรรมวิธีมีน้ำหนักผลผลิตที่มากกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ใช้ น้ำนิ่งมาเชื้อ โดยกรรมวิธีควบคุมสามารถเก็บผลผลิตของผลพริกที่มีคุณภาพดีไม่แสดงอาการของโรคได้ถึง 1,365 กรัม (ตารางที่ 16)

ตารางที่ 16 ปริมาณน้ำหนักผลผลิตพริกมันพันธุ์บางช้างของแต่ละกรรมวิธีที่ใช้สูตรสำเร็จในรูปแบบต่างๆ ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกในสภาพแปลงปลูก

สูตรสำเร็จ ^{1/}	น้ำหนักรวมผลผลิตพริกมันพันธุ์บางช้าง (กรัม) ^{2/}
Control	1,365 c
mancozeb	3,332 a
SP :DGg 13	2,797 ab
SP :BB165	2,843 ab
SPI :DGg 13	2,579 ab
SPI :BB165	2,689 ab
CB-Pin-01	3,182 a
SP :DGg 13+ CB-Pin-01	2,536 ab
SP :BB165+ CB-Pin-01	1,904 bc

^{1/} สูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิชีวนะชนิดผงดิน

^{2/} น้ำหนักรวมผลผลิตพริกมันพันธุ์บางช้าง

^{3/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P=0.05).

จากการใช้สูตรสำเร็จกรรมวิธีต่างๆในการควบคุมโรคแอนแทรกซ์ของพริกมันพันธุ์บางช้างในสภาพแปลงพบว่า จากค่าเฉลี่ยการใช้สารเคมี mancozeb สามารถควบคุมโรคในสภาพแปลงได้ดีที่สุด สามารถลดการเกิดโรคได้ถึง 87.36 เปอร์เซ็นต์ ส่วนค่าเฉลี่ยการใช้สูตรสำเร็จจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคพบว่าการใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ในรูปแบบเชื้อสด สามารถลดการเกิดโรคได้ถึง 81.09 เปอร์เซ็นต์ และค่าเฉลี่ยการใช้สูตรสำเร็จจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB165 และ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 สามารถลดการเกิดโรคได้ถึง 76.28 และ 65.15 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 17)

จากค่าเฉลี่ยการใช้สูตรสำเร็จที่นำไปบ่มไว้ 2 วัน พบว่าการใช้สูตรสำเร็จจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB165 และ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 สามารถลดการเกิดโรคได้ถึง 54.83 และ 50.74 เปอร์เซ็นต์ และค่าเฉลี่ยการใช้สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 ร่วมกับ เชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* CB-Pin-01 รูปแบบเชื้อสด สามารถลดการเกิดโรคได้ถึง 43.65 เปอร์เซ็นต์ การใช้สูตรสำเร็จจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB165 ร่วมกับการใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ในรูปแบบเชื้อสด สามารถลดการเกิดโรคได้ถึง 29.43 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 17)

ตารางที่ 17 ค่าเฉลี่ยประสิทธิภาพการใช้สูตรสำเร็จในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสใน สภาพแปลงปลูก

สิ่งทดสอบ ^{1/}	ประสิทธิภาพการลดโรคแอนแทรกโนส(เปอร์เซ็นต์) ^{2/}					
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5	เฉลี่ย
Control	-	-	-	-	-	-
mancozeb	-	-	89.63	87.67	90.04	89.11 a ^{3/}
SP :DGg 13	-	-	67.22	63.88	56.09	62.39 ab
SP :BB165	-	-	68.88	77.09	85.98	77.31 ab
SPI :DGg 13	-	-	53.53	42.73	60.15	52.13 c
SPI :BB165	-	-	60.95	35.68	58.67	51.76 c
CB-Pin-01	-	-	77.60	81.94	88.19	82.57 a
SP :DGg13+CB-Pin-01	-	-	56.44	27.31	51.66	45.13 cd
SP :BB165+ CB-Pin-01	-	-	29.01	22.03	38.82	29.95 d

^{1/} สูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ชนิดผงดิน

^{2/} เปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพการลดความรุนแรงของโรคแอนแทรกโนส

^{3/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวดังไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P=0.05).

7. การตรวจปริมาณจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีชีวิตอยู่รอดในสูตรสำเร็จรูปแบบผงดิน

จากการนับปริมาณความมีชีวิตของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus amyloliquefaciens* isolate DGg13 และ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 ในสูตรสำเร็จชนิดผง หลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4-10°C ในเดือนแรก พบว่า ปริมาณความมีชีวิตของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* isolate DGg13 และ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 เท่ากับ 3.1×10^{11} และ 4.2×10^{11} ตามลำดับ

จากการนับปริมาณความมีชีวิตของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* isolate DGg13 และ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 ในสูตรสำเร็จชนิดผง หลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4-10°C เป็น

ระยะเวลา 3 เดือน พบว่า ปริมาณความมีชีวิตของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* isolate DGg13 และ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 เท่ากับ 3.2×10^{10} และ 3.6×10^{10} ตามลำดับ

จากการนับปริมาณความมีชีวิตของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* isolate DGg13 และ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 ในสูตรสำเร็จชนิดผง หลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4-10°C เป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่า ปริมาณความมีชีวิตของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* isolate DGg13 และ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 เท่ากับ 2.7×10^9 และ 2.9×10^9 ตามลำดับ

จากการนับปริมาณความมีชีวิตของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* isolate DGg13 และ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 ในสูตรสำเร็จชนิดผง หลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4-10°C เป็นระยะเวลา 9 เดือน พบว่า ปริมาณความมีชีวิตของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* isolate DGg13 และ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 เท่ากับ 1.8×10^8 และ 2.2×10^8 ตามลำดับ

ตารางที่ 18 ปริมาณจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus amyloliquefaciens* isolate DGg13 และ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 ในสูตรสำเร็จชนิดผงที่อุณหภูมิ 4-10°C

สูตรสำเร็จ ^{1/}	ปริมาณความมีชีวิตของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ในสูตรสำเร็จ (CFU/g) ^{2/}			
	1 เดือน	3 เดือน	6 เดือน	9 เดือน
<i>B.amyloliquefaciens</i>				
isolate DGg13	3.1×10^{11}	3.2×10^{10}	2.7×10^9	1.8×10^7
<i>Bacillus</i> sp. isolate				
BB 165	4.2×10^{11}	3.6×10^{10}	2.9×10^9	2.2×10^7

^{1/} สูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ชนิดผงคิน

^{2/} ปริมาณความมีชีวิตของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในสูตรสำเร็จ โดยวิธี Dilution plate count

วิจารณ์

อาการของโรคแอนแทรกโนสของพริก และเชื้อราสาเหตุคือ *Colletotrichum gloeosporioides* มีลักษณะโดยทั่วไปตรงกับที่ ศศิธร (2545) รายงานไว้ โดยอาการที่แสดงบนผลพริกจะเป็นรูปยาวรี ขอบตัว บริเวณแผลมีสีเหลืองเข้ม

แบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้งที่ใช้ในการทดลองคือ *B.amyloliquefaciens* และ *Bacillus* sp. ซึ่งอยู่ในกลุ่มแบคทีเรียที่ผลิตสารปฏิชีวนะเป็นส่วนใหญ่ มีลักษณะรูปร่างเป็นท่อน ข้อมติคี่แกรมบวก สามารถสร้างเอนไซม์ catalase ได้ และพบว่าสารปฏิชีวนะที่ผลิตโดยแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* ส่วนใหญ่เป็นสารพวกเปปไทด์หรือโพลีเปปไทด์ สารปฏิชีวนะเปปไทด์ส่วนมากเป็นสารต้านแบคทีเรีย โดยต่อต้านแบคทีเรียแกรมบวกเป็นส่วนใหญ่ มีบางชนิดที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อราและยีส ได้แก่ สาร Iturin A (Bessen *et al.*, 1987), Bacillomycin (Chevanet *et al.*, 1986), Mycosubtilin (Mukhopadhyay *et al.*, 1986), Fungistatin (Korzybski *et al.*, 1978) และ Subsporin (Ebata *et al.*, 1969) ซึ่งสารต้านเชื้อราส่วนใหญ่ผลิตได้จาก *B.subtilis* และ Hiradate *et al.*, (2002) รายงานว่าเชื้อแบคทีเรีย *B.amyloliquefaciens* RC-2 สร้างสารประกอบ antifungal ที่มีผลยับยั้งการเกิดโรคแอนแทรกโนสของหม่อน ที่มีเชื้อสาเหตุ *C. dematium* และเมื่อนำสารประกอบดังกล่าวไปแยกด้วยวิธี NMR และ FAB-MS พบว่าสารประกอบดังกล่าวเป็นสาร iturins นอกจากสารปฏิชีวนะชนิดต่างๆ แล้ว แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* ยังสามารถผลิตสารที่เป็นประโยชน์อีกหลายชนิด เช่น *B.amyloliquefaciens* สามารถผลิตเอนไซม์เช่น α -amylase และเอนไซม์ β -glucanase ได้ (Fergus and Richard, 1990)

จากการนำแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* sp. มาผลิตเป็นสูตรสำเร็จ โดยจิริสตา (2547) ที่ได้นำแบคทีเรีย ไอโซเลท DGg 13 จากผิวใบพริกซึ่งวิเคราะห์คุณสมบัติเบื้องต้น จากการย้อมแกรมพบว่า เป็นแกรมบวกโดยติดสีม่วงของ crystal violet สร้างเอนโดสปอร์บริเวณกลางเซลล์ และได้นำไปจำแนกด้วยเครื่อง Biolog Microlog System, Releas 4.2 พบว่าเป็น *B.amyloliquefaciens* นอกจากนี้ ประคอง (2547) ได้คัดแยกจุลินทรีย์ที่ผิวผลมะม่วงและได้ทดสอบเบื้องต้นเช่นเดียวกันพบว่า แบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท BB 165 ซึ่งเป็นแกรมบวกเช่นเดียวกันและเมื่อนำไปจำแนกด้วยเครื่อง Biolog Microlog System, Releas 4.2 พบว่าเป็น *B.subtilis* โดยแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ได้ จึงนำแบคทีเรียทั้ง 2 ไอโซเลทมาผลิตเป็นสูตรสำเร็จเพื่อใช้ควบคุมโรคแอนแทรกโนสของพริก

จากการเลี้ยงแบคทีเรียปฏิปักษ์ในอาหารเหลว แล้วผลิตเป็นสูตรสำเร็จในรูปแบบผงดิน มีปริมาณความมีชีวิตของแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท DGg13 หลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียส สูงกว่าการผลิตในรูปแบบผงทลคัมที่เก็บในสภาพที่เหมือนกัน เนื่องจากสูตรสำเร็จชนิดผงดินเมื่อจุลินทรีย์ได้รับความชื้นและสารที่เป็นประโยชน์อาจมีการเพิ่มปริมาณขึ้นได้ ต่างจากผลทลคัมเมื่อได้รับความชื้นผงทลคัมเกิดสภาพที่เป็นค้างจึงทำให้เกิดสภาพที่ไม่เหมาะสมต่อจุลินทรีย์ จึงทำปริมาณจุลินทรีย์น้อยลง โดยสูตรสำเร็จในรูปแบบผงทั้ง 2 ชนิดนั้นควรมีความชื้นไม่เกิน 10 เปอร์เซ็นต์ และควรบรรจุในภาชนะที่ปิดมิดชิด ห้ามมีรอยร้าว หรือชำรุด เพราะความชื้นจากภายนอกอาจเข้าไปในภาชนะบรรจุ อาจส่งผลให้สูตรสำเร็จเกิดการปนเปื้อนได้ การนับความมีชีวิตของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในสูตรสำเร็จ โดยการสุ่มแล้วเจือจางในความเข้มข้นที่เหมาะสม ไปเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียแต่ละเซลล์ก็จะเจริญเป็นโคโลนีขึ้นมา ซึ่งสามารถนับ แล้วไปคำนวณหาจำนวนของแบคทีเรียต่อหน่วยปริมาตรได้โดยใช้หน่วย Colony - Forming Unit/g (CFU/g)

ลักษณะรูปแบบของสูตรสำเร็จจะมีความแตกต่างกันออกไป เช่น ผง เมล็ด เกล็ด น้ำ ด้วยข้อจำกัดของการใช้สูตรสำเร็จชนิดผงดินคือการที่มีตะกอน ดังนั้นควรมีการกรองเอาตะกอนออกก่อนหรือมีการตั้งทิ้งไว้ให้มีการตกตะกอนและนำส่วนใสก่อนที่จะนำไปพ่น เพื่อป้องกันการอุดตันของเครื่องพ่นและควรหดยศสารจับใบเพื่อให้จุลินทรีย์ที่อาศัยบนสารพาสสามารถเกาะกับผิวของส่วนต้นพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ

การทดสอบประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จชนิดผงโดยวิธี Detached Fruit Technique โดยการหดยศสารแขวนลอยของสูตรสำเร็จจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ลงบนผลพริกก่อนล่วงหน้า 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ลงที่ผลพริก เป็นการทดสอบประสิทธิภาพการป้องกันและควบคุมการเกิดโรคแอนแทรคโนสของสูตรสำเร็จ จากผลการทดลองพบว่าสูตรสำเร็จจุลินทรีย์ในรูปแบบต่างๆสามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสได้อย่างมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับการใช้สารเคมี และดีกว่าการใช้น้ำนิ่งฆ่าเชื้อซึ่งเป็นกรรมวิธีควบคุม แต่จากผลการทดลอง เชื้อราพบว่า *T. harzianum* CB-Pin-01 รูปแบบเชื้อสด มีประสิทธิภาพควบคุมโรคแอนแทรคโนสได้ดีที่สุด รองลงมาคือการใช้สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB165 และ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 ซึ่งมีการควบคุมโรคที่ใกล้เคียงกัน

หลังจากเพาะเมล็ดพริกเป็นเวลา 7 วัน พบว่ารากของต้นกล้าพริกที่แช่ในผงแขวนลอยที่เตรียมจากสูตรสำเร็จชนิดผงดินของแบคทีเรียปฏิปักษ์แต่ละกรรมวิธีมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงกว่า

กรรมวิธีควบคุมที่ใช้น้ำนิ่งฆ่าเชื้อ และหลังจากเพาะเมล็ดพริกได้ 15 วัน ต้นกล้าที่ใช้สูตรสำเร็จของ จุลินทรีย์ปุ๋ยทดสอบนั้นมีการเจริญทางลำต้นและความยาวรากดีกว่าการใช้น้ำนิ่งฆ่าเชื้อเพียงอย่างเดียว ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าจุลินทรีย์ปุ๋ยมีการปลดปล่อยสารที่เป็นประโยชน์แก่เมล็ดพริก สอดคล้องกับ Chandra (1997) ที่แสดงให้เห็นว่า การคลุกเมล็ดด้วยแบคทีเรีย *P. fluorescens* สายพันธุ์ NBRI1303 สามารถเพิ่มอัตราการงอกของเมล็ดถั่วเขียวได้ 25 % และสามารถเพิ่มความยาว ยอดและความยาวรากของต้นกล้าถั่วเขียวได้

การทดสอบประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จชนิดผงดิน ต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของ พริกในสภาพแปลงได้ทดสอบในแปลงที่เกษตรกรใช้ปลูกพริกเพื่อจำหน่ายอยู่แล้วในแต่ละฤดูกาล จึงมีเชื้อรา *Colletotrichum* sp. สะสมอยู่มากพอที่จะทำให้เกิดโรคได้โดยไม่ต้องปลูกเชื้อ สภาพแวดล้อมก็เป็นปัจจัยในการเกิดโรคแอนแทรคโนสที่สำคัญ ในสภาพแวดล้อมที่มีความร้อน ขึ้นหรือสภาพช่วงเวลาหลังจากฝนตก โรคเกิดได้อย่างรุนแรงและรวดเร็ว ดังนั้นควรเว้นช่วงเวลา การปลูกโดยสลับกับการปลูกพืชชนิดอื่นหรือควรมีการพ่นสูตรสำเร็จจุลินทรีย์ปุ๋ยที่บ่อยขึ้น อย่างน้อย สัปดาห์ละครั้ง

โรคแอนแทรคโนสของพริก สามารถเข้าทำลายพริกได้ทุกระยะการเติบโต แต่เห็นอาการ ของโรคได้ชัดเจนมากในระยะติดผล โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระยะที่ผลพริกเริ่มสุก ทำให้เกิดรอยช้ำ เป็นแอ่งยุบลงไป แล้วจะกลายเป็นแผลสีน้ำตาลรูปวงรี จึงควรมีการป้องกันโดยเริ่มพ่นสิ่งควบคุม ตั้งแต่ระยะติดดอก การใช้สูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปุ๋ยเป็นสามารถลดการเกิดโรคได้ดีและยัง ช่วยเพิ่มผลผลิตได้เช่นเดียวกัน

สูตรสำเร็จแบคทีเรียปุ๋ยชนิดผงดินรวมทั้งการใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ใน รูปแบบเชื้อสด มีประสิทธิภาพดี ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกและยังสามารถช่วย เพิ่มการงอกของเมล็ดพริกได้ดีสอดคล้องกันทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการและแปลงปลูก โดยเฉพาะ ในสภาพแปลงปลูกนั้นการใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ในรูปแบบเชื้อสด มีประสิทธิภาพใน การควบคุมโรคดีที่สุด ในขณะที่สูตรสำเร็จแบคทีเรียปุ๋ย *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB165 และ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 มีการควบคุมโรคที่ใกล้เคียงกัน แต่การนำสูตรสำเร็จของ แบคทีเรียทั้ง 2 ไอโซเลท มาบ่มเป็นระยะเวลา 2 วัน มีประสิทธิภาพการควบคุมโรคจะน้อยกว่าการ ใช้สูตรสำเร็จในแบบผงดินที่นำไปใช้ทดสอบทันที

จากการเก็บผลผลิตครั้งที่ 1 น้ำหนักรวมของผลพริกของแต่ละกรรมวิธียังมีน้ำหนักรวมน้อย เนื่องจากต้นพริกมีอายุเพียง 60 วันหลังจากย้ายปลูกลงแปลง และขนาดผลหรือความยาวผลก็ยังมีขนาดเล็กและไม่ใหญ่และยังไม่มีอาการแสดงของโรคเนื่องจากสภาพแวดล้อมยังไม่เหมาะสมต่อการเกิดโรคจึงทำให้ผลพริกมีลักษณะปกติ แต่หลังจากนั้นเมื่อต้นพริกอายุประมาณ 75 วัน ผลพริกบางผลเริ่มแสดงอาการโรคแอนแทรคโนส เนื่องจากเริ่มเข้าสู่ช่วงมรสุม มีฝนตกทุกวัน ทำให้มีสภาพอากาศที่เหมาะสมต่อการเกิดโรค ประกอบกับแปลงที่ใช้ทำการทดลองเป็นแปลงที่เกษตรกรใช้ปลูกพริกเพื่อเป็นการค้ามีการสะสมของเชื้อสาเหตุโรคอยู่แล้ว จึงทำให้เริ่มมีการระบาดของโรค

จากการเก็บผลผลิตของพริกครั้งที่ 3 พริกเริ่มมีการระบาดของโรคแอนแทรคโนส เนื่องจากสภาพแวดล้อมมีความเหมาะสมต่อการแพร่กระจายของโรคเป็นอย่างมาก กรรมวิธีควบคุมที่ใช้น้ำนิ่งฆ่าเชื้อเพียงอย่างเดียวนั้น เกิดโรคแอนแทรคโนสและแสดงอาการที่ผลอย่างชัดเจน ให้ผลผลิตที่มีคุณภาพไม่ดี ซึ่งแตกต่างกับกรรมวิธีที่ใช้สูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ซึ่งสามารถลดความรุนแรงของโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่การใช้สารเคมีก็ยังมีประสิทธิภาพในการควบคุมได้ดีที่สุด

จากการเก็บผลผลิตในครั้งที่ 4 และ 5 พริกยังแสดงอาการของโรคอย่างชัดเจน ความรุนแรงของโรคและผลผลิตก็ยังสอดคล้องกับครั้งที่ 3 คือ กรรมวิธีที่ใช้น้ำนิ่งฆ่าเชื้อนั้นมีอาการของโรคที่ผลอย่างชัดเจนและให้ผลผลิตของพริกที่คุณภาพดีน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใช้สูตรสำเร็จ

จากผลการสุ่มตรวจปริมาณเชื้อโรคบนผิวของพริกแสดงให้เห็นว่าสูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ สามารถลดปริมาณสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ลงได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทั้งนี้เป็นเพราะจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในสูตรสำเร็จ มีการปลดปล่อยสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) ออกมา ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. บนผลพริกที่ตรวจนับได้ไม่แตกต่างกัน แต่กรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 พบว่าปริมาณสปอร์มีมากกว่าปริมาณเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งสอดคล้องกับประสิทธิภาพในการควบคุมโรค

อัตราการใช้สูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ก็มีความสำคัญเช่นเดียวกัน การใช้สูตรสำเร็จผงดินในรูปแบบเดี่ยวโดยใช้อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตรสามารถควบคุมโรคได้ดีกว่ากรรมวิธีที่ใช้สูตรสำเร็จชนิดผงดิน 20 กรัมผสมกับน้ำ 1 ลิตร แล้วบ่มไว้ 2 วัน ก่อนเจือจางในอัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ 1 ลิตร วิธีการนี้ควรพ่นในระยะเริ่มต้นของการปลูกพืชหรือช่วงระยะที่มีการระบาดของ

ของโรค ส่วนกรรมวิธีใช้สูตรสำเร็จชนิดผงดิน 20 กรัมผสมกับน้ำ 1 ลิตร แล้วบ่มไว้ 2 วัน ก่อนเจือจางในอัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำหนึ่งฆ่าเชื้อ 1 ลิตร สามารถควบคุมโรคได้ดีเช่นเดียวกันแต่ควรใช้ในการป้องกันโรคที่มีการพ่นบ่อยครั้งเพื่อเป็นป้องกันการเกิดโรค แต่การใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. ก็มีประโยชน์ เนื่องจากโรคของพริกยังมีปัญหาที่สำคัญอีกหลายโรค เช่น โรคใบจุด โรคเหี่ยว โรคเน่าระดับดิน โรคโคนเน่า โรคยอดเหี่ยวที่เกิดจากการขาดธาตุอาหาร ซึ่งสาเหตุเกิดมาจากระบบรากได้รับความเสียหายซึ่งมีผลกระทบต่อการดูดซึมธาตุอาหาร Lewis and Lumsden (2001) ได้รายงานว่าการใช้เชื้อรา *T.harzianum* (Tri-4 และ G1-3) สามารถลดการเกิดโรค damping-off ของต้นกล้าพริกที่อายุ 4 สัปดาห์และในขณะเดียวกัน เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ก็สามารถลดโรค *Phytophthora blight* ของพริกได้ดีเช่นกัน

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

การเลี้ยงจุลินทรีย์แบบที่เรียบง่ายในอาหารเหลวแล้วนำมาผลิตเป็นสูตรสำเร็จ โดยผสมกับผงดิน สามารถนำมาควบคุมโรคแอนแทรกโนสของพริกได้

สูตรสำเร็จแบบที่เรียบง่าย *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB165 และ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสบนผลพริก โดยวิธีการ detached fruit โดยวิธีที่ใช้สูตรสำเร็จชนิดเดียวมีประสิทธิภาพดีกว่าการใช้สูตรสำเร็จในลักษณะที่มีการนำไปบ่มไว้ 2 วัน หรือวิธีการที่ใช้สูตรสำเร็จผงดินร่วมกับการใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01

ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จแบบที่เรียบง่าย *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB165 และ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 สามารถช่วยเพิ่มให้เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดพริกมันพันธุ์บางช้างดีกว่าการแช่เมล็ดพริกด้วยน้ำนิ่งมาเชื้อเพียงอย่างเดียว

ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จแบบที่เรียบง่าย *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB165 และ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 ชนิดผงดิน มีประสิทธิภาพในการลดความรุนแรงของการเกิดโรคแอนแทรกโนสของพริกในสภาพแปลงปลูกได้ดีใกล้เคียงกับการใช้สารเคมีและยังสามารถช่วยเพิ่มผลผลิตของผลพริกที่มีคุณภาพดีได้มากขึ้นเช่นกัน

ข้อเสนอแนะ

การใช้สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB165 และ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg13 ชนิดผงดิน ควรมีการตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนสักประมาณ 10-15 นาที และรินเอาส่วนน้ำใสก่อนนำไปใช้ผสมกับน้ำและควรหยดสารจับใบ ลักษณะการนำไปใช้ควรใช้ตั้งแต่ต้นพริกเริ่มมีการสร้างดอกจนกระทั่งเก็บผลผลิตเพื่อลดการสะสมของเชื้อสาเหตุโรค



เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กองบรรณาธิการฐานเกษตรกรรม. 2529. ฐานเกษตรกรรมฉบับพิเศษรวมเรื่องผัก. สำนักพิมพ์
ฐานเกษตรกรรม, กรุงเทพฯ. น. 36-39

จิระเดช แจ่มสว่าง และ วรรณวิไล อินทนู. 2545. การผลิตเชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดสดด้วย
เทคนิคอย่างง่ายเพื่อใช้ควบคุมโรครากเน่าระดับดินของถั่วฝักยาวที่เกิดจากเชื้อรา
Sclerotium rolfsii. ใน การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 40
4-7 กุมภาพันธ์ 2545. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

จิระเดช แจ่มสว่าง 2549. การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม. 323 น.

จิรัสสา มีกลิ่นหอม. 2547. การคัดเลือกและการใช้จุลินทรีย์ที่แยกได้จากผิวพืชในการควบคุมเชื้อ
รา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

ประคอง เย็นจิตร. 2547. การคัดเลือกและการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคแอนแทรคโน
สของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ในระยะก่อนและหลังเก็บเกี่ยว วิทยานิพนธ์ปริญญาโท
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

รัตดา เอนกชน ไซติ. 2542. ปฏิกริยาที่มีต่อกันระหว่างเชื้อรา *Colletotrichum capsici* ซึ่งเป็น
สาเหตุโรคแอนแทรคโนสกับพริก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,
กรุงเทพฯ

วราภรณ์ บุญเกิด. 2550. การใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* ร่วมกับเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus*
spp. ควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก.
วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

ศศิธร วุฒินิย์. 2545. โรคของผักและการควบคุม. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ

ศุภลักษณ์ สอกะวัด. 2536. โรคผักตระกูลพริกและมะเขือเทศ. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร
มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น. 249 น.

ศักดิ์ สุนทรสิงห์. 2537. โรคของผักและการป้องกันกำจัด. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 198 น.

สมศิริ จิวสกุล. 2521. เชื้อราวิทยาการถ่ายทอดทางเมล็ดของโรคแอนแทรคโนสของพริกและ
ประสิทธิภาพของสารเคมีควบคุมโรคบนใบ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ

อุดม ฟำรุ่งสา. 2530. รายงานผลงานวิจัยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ การศึกษาโรคที่สำคัญของ
พืชผักเพื่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1. ภาควิชาโรคพืช. คณะเกษตร.
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อุดม ฟำรุ่งสา. 2538. โรคแอนแทรคโนส. บทที่ 22, 10 น. ใน อุดม ฟำรุ่งสา, ผู้เรียบเรียง โรคพืช
เบื้องต้น. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.

Adaskaveg, J.E., Hartin, R.J., 1997. Characterization of *Colletotrichum acutatum* isolates causing
anthracnose of almond and peach in California. *Phytopathology* 87, 979–987.

Andrews, J. 1984. **Peppers : The Domesticated capsicums**. University of Texas Press, Austin,
Texas, USA. 170 p.

AVRDC. 1989. AVRDC 1993 Progress Report. **Asian Vegetable Research and Development
Center**, Shanhua, Taian, 537 p.

Bagri, R.K., Choudhary, S.L., Rai, P.K., 2004. Management of fruit rot of chilli with different
plant products. **Indian Phytopathol.** 57: 107–109.

- Besson, F.C. Chevanet and G. Michel. 1987. Influence of the Culture Medium on the Production of Iturin A by *Bacillus subtilis*. *J.Gen.Microbiol.* 133: 767-772
- Chandra, S. 1997. Selection of Chickpea-Rhizosphere-Competent *Pseudomonas fluorescens* NBRI1303 Antagonistic to *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceri*, *Rhizoctonia bataticola* and *Pythium* sp.. **Current Microbiology** 35: 52-58.
- Chevanet, C., F. Besson and G. Michel. 1986. Effect of various growth conditions on spore formation and bacillomycin L production in *Bacillus subtilis*. **Can. J. Microbiol.** 32: 254-258.
- Chuang, T.Y. and P.I. Ann. 1997. Biological control of mango anthracnose. **Plant Prot. Bull. Toip.** 39: 227-240. CAB Abstracts. Accession no. 981000278.
- Ebata, M., K. Miyazaki and Y. takahashi. 1969. Studies on subsporin. I. Isolation and characterization of subsporin A, B and C. **J. of Antibiotics** 22: 467-472.
- Fergus, G.P. and J.S.Richard. 1990. Fermentation of *Bacillus* p.73. In **O.J. Neway. (ed). Fermentation process Development of Industrial Organisms.** Dekker, New York.
- Frean, R.T. 1985. Pre-harvest fungicides, pp. 350-358. Cited by P.Jeffries, J.C. Dodd, M.J.Jeger and R.A. Plumbley. The biology and control of *Colletotrichum* species on tropical fruit crop. **Plant Pathol.** 36: 343-366.
- Frevel, D.R. and H.W. Spurr. 1977. Biocontrol of tobacco brown spot disease by *Bacillus cereus* subsp. *mycoides* in a controlled environment. **Phytopathol.** 67 : 930-932.
- Gill, N.T. and K.C. Vear. 1980. Solonaceae, pp. 117-135. In K.C. Vear and D.J. bamard (eds.). **Agricultural Botany Dicotyledon Crops.** The Garden City Press Limited., London. 268p.

- Gopinath, K., Radhakrishnan, N.V., and J. Jayaraj. 2006. Effect of propiconazole and difenoconazole on the control of anthracnose of chilli fruits caused by *Colletotrichum capsici*. **Crop Protection** 25: 1024 – 1031
- Hadden, J.F. and L.L. Black. 1987. Comparison of virulence of tomato and pepper isolates of *Colletotrichum* spp.(Abstr.) **Phytopathol.** 70: 641.
- He H., X.Q.Cai, X. Guan and F.P. Hu. 2003. Biological control of capsicum anthracnose by endophytic *Bacillus subtilis* BS-2 and BS-1. **ACTA Phytopathologica Sinica** 33 : 170-173.
- Higgins, B.B. 1926. Anthracnose of pepper (*Capsicum annuum* L.). **Phytopathology**. 16 : 333-343.
- Hiradate, S., S. Yoshida, H. Sugie, H. Yade and Y. Fjii. 2002. Mulberry anthracnose antagonists (iturins) produced by *Bacillus amyloliquefaciens* RC-2. **Phytochemistry**. 61: 693-698.
- Juangbhanich, P. and C. Chana. 1975. Efficacy of some fungicide against seed borne infection of *Colletotrichum* spp. anthracnose and Ripe rot of pepper. (*Capsicum frutescens*). **Kasetsart Journal** 9 : 115-119.
- Kim, B.S. 1986. Resistance to Phytophthora root rot in introduced peppers (*Capsicum* spp.). **J. Kor. Soc. Hort. Sci.** 27(1) : 11-14. (in Korean with English abstract).
- Kim, B.S., H.K. Park. And W.S. Lee. 1990. Resistance to anthracnose (*Colletotrichum* spp.) in peper, pp.184-188. In : S.K. Green, T.D. Griggs and B.T. Mcleand, (eds.). Tomato and Pepper production in the Topic. **Proc. Intl. Symp. Integr. Mange.** Practices, 1st AVRDC, Shanhua, Taiwan

- Kim, P. and K.C. Chung. 2004. Production of an antifungal protein for control of *Colletotrichum lagenarium* by *Bacillus amyloliquefaciens* MET0908. **FEMS Microbiology Letters** 234: 177-183.
- Koomen, I. and P. Jeffries. 1993. Effects of antagonistic microorganism on the postharvest development of *Colletotrichum gloeosporioides* on mango. **Plant Pathol.** 42 : 230-237.
- Korzybski, T., Z.K. Gindifer and W. Kurylowiez. 1978. Fungistatin, pp. 1612-1613. In **Antibiotics Origin, Nature, and Properties. American Society for Microbiology, Washington. D.C.**
- Kuo, K.C. 2001. Sensitivity of mango anthracnose pathogen *Colletotrichum gloeosporioides*, to the fungicide Prochloraz in Taiwan. *Proc. Natl. Sci.* 25(3) : 174-179
- Lewis, J.A, and R.D. Lumsden. 2001. Biological of damping-of greenhouse-grown crops caused by *Rhizoctonia solani* with a formulation of *Trichoderma* spp. *Crop protection.* 20: 49-56
- Lewis, M.L., C.N. Diaz and S.A miller. 2004. Identification and management of *Colletotrichum acutatum* on immature bell peppers. **Plant Dis.** 88: 1198-1204
- McMillan, R.T. 1972. Enhancement of anthracnose control on mango by combining copper with Nui-film-17. *Pro. Fla. State Hort. Sci.* 85: 268-270
- Meon, S. 1980. Pectinolytic and cellulolytic enzyme production by *Colletotrichum capsici* Buttes & bisby. **Malays** 2 : 105-110.
- Mortuza, M.D. 1997. **Effects of antagonistic, alum and ultraviolet irradiation on majornfruit rots of Banana (*Musa sapientum*)** Kontze. College, Laguna (Phillippines). 138 p.

Mukhopadhyay, N.K., S. Majumder and S.K. Bose. 1986. Characteristic of three-fraction mycobacillin Synthetase, **Biochem.J.** 235:639.

Nascimento, S.R.C., S.E. Araujo-Neto and O.M. hafle. 2000. Use of prochloraz, azoxystrobin and sodium bicarbonate for the postharvest control of *Colletotrichum gloeosporioides* Tommy Alkins. **Summa Phytopathologica** 26(3); 379-382. CAB Abstracts. Accssion no. 20001006425

Nonnecke, I.L. 1989. **Vegetable Production**. Van. Nostrand Reinhold, New York. 657 p.

Oanh, L. T. K., Korpraditskul, V. and Rattanakreetakul, C. 2004. A pathogenicity of anthracnose fungus, *Colletotrichum capsici* on various Thai chilli varieties. **Kasetsart Journal** (Natural Science) 38 (6): 103-108.

Peres, N.A.R., Souza, N.L., Zitko, S.E., Timmer, L.W., 2002. Activity of benomyl for control of postbloom fruit drop of citrus caused by *Colletotrichum acutatum*. **Plant Dis.** 86, 620–624.

Peres, N.A.R., Souza, N.L., Peever, T.L., Timmer, L.W., 2004. Benomyl sensitivity of isolates of *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* from citrus. **Plant Dis.** 88, 125–130

Purseglove, J.W., E.G. Brown, C.L. Green and S.R.J. Robbins. 1981. **Spices**. Volume 1. Longman, Inc., New York. 439 p.

Purseglove, J.W. 1977. Tropical Crops. **Dicotyledon**. Longman Group Limited., London. 719p.

Quimio, A.J. and J.H. Quimio. 1974a. Postharvest control of Philippine mango anthracnose by benomyl. **Philippine Agriculturist** 58: 147-155.

Quimio, A.J. and J.H. Quimio. 1974b. Postharvest control of Philippine mango anthracnose by benomyl. **Philippine Agriculturist** 58: 138-146.

- Rocha, J. R., N. Oliveira. 1998. Biocontrol of *Colletotrichum gloeosporioides*, anthracnose agent on passion fruit (*Passiflora edulis*), with *Trichoderma koningii*. **Phytopathologia** 24 : 3-4, 272-275.
- Santos, B.L., G.D. Paredes and F.R. Munoz. 2002. Effect of different fungicide in the control of *Colletotrichum acutatum* causal agent of anthracnose crown rot in strawberry plant. **Crop Protect.** 21: 11-15
- Sariah, M. 1989. Detection of Benomyl resistance in the anthracnose pathogen, *Colletotrichum capsici*. **Journal of Islamic Academy of Science** 2 (3): 168-171
- Sariah, M. 1994. Potentil of *Bacillus* spp. As biocontrol agent for anthracnose fruit rot of chilli. **Malay. Appl. Biol.** 23 (1-2) : p. 53-60.
- Sharma, P. N., Kaur, M. Sharma, O. P., Sharma, P. and Pathania, A. 2005. Morphological, pathological and molecular variability in *Colletotrichum capsici*, the cause of fruit rot of chillies in the subtropical region of North-western India. **Journal of Phytopathology** 153: 232-237.
- Shin, H. J., Xu, T., Zhang, C. L. and Chen, Z. J. 2000. The comparative study of capsicum anthracnose pathogens from Korea with that of China. **Journal of Zhejiang University (Agric. & Life Sci.)** 26: 629-634.
- Smith, R.W. and D.F. Crossan. 1958. The taxonomy, etiology and control of *Colletotrichum piperatum* ZE.&E.) E.&H. and *Colletotrichum capsici* (Syd.) B.&B. **Plant Dis. Reprtr.** 42 : 1099-1103.

- Stirling, A.M. , L.M. Coates , K.G. Pegg and A.C. Hayward. 1995. Isolation and selection of bacteria and yeasts antagonistic to preharvest infection of avocado by *Colletotrichum gloeosporioides* . **Australian Journal of Agricultural Research** 46 (5): 985-995.
- Talhinhas, P., Sreenivasaprasad, S., Neves-Martins, J., Oliveira, H., 2002. Genetic and morphological characterization of *Colletotrichum acutatum* causing anthracnose of Lupins. **Phytopathology** 92, 986–996.
- Talhinhas, P., Sreenivasaprasad, S., Neves-Martins, J., Oliveira, H., 2005. Molecular and phenotypic analyses reveal association of diverse *Colletotrichum acutatum* groups and a low level of *C. gloeosporioides* with olive anthracnose. **Appl. Environ. Microbiol.** 71, 2987–2998.
- Taylor, P.W.J., Ford, R. 2007. Diagnostics, genetics diversity and pathogenic variation of ascochyta blight of cool season food and feed legumes. **European Journal of Plant Pathology**, 119(1):127-133 [doi:10.1007/s10658-007-9177-x]
- Thind, T.S., Jhoo, J.S., 1985. Relative prevalence of fungal disease of chilli fruits in Punjab. **Indian J. Mycol. Plant Pathol.** 15: 305–307.
- Thomas, G.J., Sweetingham, M.W. and K.G. Adcock. 2007. Application of fungicides to reduce yield loss in anthracnose-infected lupins. **Crop Protection** 27:1071-1077





ภาคผนวก ก

สายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิกิริยาและสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

สายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

1.สายพันธุ์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ใช้ทดสอบ

แบคทีเรียปฏิปักษ์	แยกได้จาก
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> DGg 13	ผิวใบพริก (จิรัสสา, 2547)
<i>Bacillus subtilis</i> BB 165	ผิวผลมะม่วง สามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงน้ำดอกไม้ ที่เกิดจากเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (ประคอง, 2547)

เชื้อราปฏิปักษ์ที่ใช้ทดสอบ

เชื้อราปฏิปักษ์	แยกได้จาก
<i>Trichoderma harzianum</i> CB-Pin-01	ดินปลูกสับปะรด จ.ชลบุรี (บรรเจิด และจิระเดช, 2529) และเป็นสายพันธุ์การค้าที่ได้รับการถ่ายทอดเทคโนโลยีจาก ผศ. ดร. จิระเดช แจ่มสว่าง ม.เกษตรศาสตร์ ศูนย์วิทยุชนิดส์ ในชื่อ ผลิตภัณฑ์ยูนิกรีน (Chamswarnng and Tanangsanakul, 1996)

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

สูตรอาหารเหล่านี้หลังจากเตรียมเสร็จให้นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ที่ความดันไอน้ำเท่ากับ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

1. Potato dextrose agar (PDA)

มันฝรั่ง (ปอกเปลือกแล้ว)	200.0	กรัม
Dextrose	20.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Distilled water	1.0	ลิตร

2. Nutrient glucose agar (NGA)

Beef extract	5.0	กรัม
Peptone	3.0	กรัม
Glucose	2.5	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Distilled water	1.0	ลิตร

3. Nutrient glucose agar (NGB)

Beef extract	5.0	กรัม
Peptone	3.0	กรัม
Glucose	2.5	กรัม
Distilled water	1.0	ลิตร

4. Martin's medium (Johnson and Curl, 1972)

KH_2PO_4	1.0	กรัม
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.5	กรัม
Bacto Peptone	5.0	กรัม
Dextrose	10.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Distilled water	1.0	ลิตร
Rose Bengal red (1%)	0.036	กรัม
Streptomycin	1.0	กรัม

ละลาย Rose Bengal ในน้ำก่อนผสมกับสารอื่น จากนั้นค่อยนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ส่วน Streptomycin เติวก่อนเทอาหาร ในขณะที่มีอุณหภูมิประมาณ 40-45 องศาเซลเซียส



ระยะเวลาการปลูกต้นพริกมันพันธุ์บางช้าง



ภาพผนวกที่ 1 แปลงปลูกต้นพริกมันพันธุ์บางช้างหลังจากย้ายปลูกที่อายุ 45 วัน



ภาพผนวกที่ 2 ลักษณะต้นพริกมันพันธุ์บางช้างหลังจากย้ายปลูกที่อายุ 45 วัน



ภาพผนวกที่ 3 ต้นพริกมันพันธุ์บางช้างมีการสร้างดอกหลังจากย้ายปลูก 52 วัน



ภาพผนวกที่ 4 แปลงพริกมันพันธุ์บางช้างหลังจากย้ายปลูก 60 วัน



ภาพผนวกที่ 5 ลักษณะต้นพริกมันพันธุ์บางช้างหลังจากย้ายปลูก 60 วัน ที่มีการออกผล



ภาพผนวกที่ 6 แปลงปลูกต้นพริกหลังจากย้ายปลูกลงแปลง 75 วัน



ภาพผนวกที่ 7 แปลงปลูกต้นพริกของกรรมวิธีควบคุมหลังจากย้ายปลูกลงแปลง 75 วัน



ภาพผนวกที่ 8 แปลงปลูกต้นพริกของกรรมวิธีที่ใช้สูตรสำเร็จหลังจากย้ายปลูกลงแปลง 75 วัน



ภาพผนวกที่ 9 ต้นพริกมันพันธุ์บางช้างที่แสดงอาการโรคแอนแทรคโนสของกรรมวิธีควบคุม
หลังจากย้ายปลูกลงแปลงที่อายุ 90 วัน



ภาพผนวกที่ 10 ต้นพริกมันพันธุ์บางช้างที่แสดงอาการโรคแอนแทรคโนสของกรรมวิธีควบคุม
หลังจากย้ายปลูกลงแปลงที่อายุ 90 วัน



ภาพผนวกที่ 11 ต้นพริกมันพันธุ์บางช้างที่ใช้สูตรสำเร็จดินทรีย์ปฏิบัติภัยควบคุมหลังจากย้ายปลูกลงแปลงที่อายุ 90 วัน



ภาพผนวกที่ 12 ต้นพริกมันพันธุ์บางช้างที่แสดงอาการโรคแอนแทรคโนสของกรรมวิธีควบคุมหลังจากย้ายปลูกลงแปลงที่อายุ 105 วัน



ภาพผนวกที่ 13 ต้นพริกมันพันธุ์บางช้างที่ใช้สูตรสำเร็จจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ควบคุมหลังจากย้ายปลูกลงแปลงที่อายุ 105 วัน



ภาพผนวกที่ 14 ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกมันพันธุ์บางช้างในสภาพแปลงปลูกหลังจากย้ายปลูก 120 วัน



ภาพผนวกที่ 15 ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกมันพันธุ์บางช้างในสภาพแปลงปลูกหลังจากย้ายปลูก 120 วัน

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ-นามสกุล	ธรรมศาสตร์ จันทรัตน์
วัน เดือน ปี ที่เกิด	2 สิงหาคม 2526
สถานที่เกิด	จังหวัดนครศรีธรรมราช
ประวัติการศึกษา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต มหาวิทยาลัยเทคโนโลยี ราชมงคลศรีวิชัย
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	ผู้ช่วยกรรมการผู้จัดการ บริษัท ไมโครไบโอ เทค จำกัด
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	บริษัท ไมโครไบโอเทค จำกัด
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-