1. ชุดโครงการ: แผนงานวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

2. ชื่อโครงการวิจัย: วิจัยและพัฒนาการควบคุมศัตรูพืชทางการเกษตรโดยชีววิธี

ชื่อกิจกรรม: การผลิตและการใช้เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมโรคพืช

3. ชื่อการทดลอง: การทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนส พริก สาเหตุจากเชื้อรา *Colletrotrichum gloeosporioides*

Efficacy of *Bacillus* spp. antagonists for controlling chilli anthracnose disease cause by *Colletrotrichum gloeosporioides*

4. คณะผู้ดำเนินงาน: **หัวหน้าการทดลอง:** บุษราคัม อุดมศักดิ์

ผู้ร่วมงาน : สุรีย์พร บัวอาจ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และบูรณี พั่ววงษ์แพทย์

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

5. บทคัดย่อ: การทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนส พริก สาเหตุจากเชื้อรา *Colletrotrichum gloeosporioides* (Cg) ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2556 ถึง เดือนกันยายน พ.ศ. 2558 โดยนำ *Bacillus* spp. 5 ไอโซเลทที่ผ่านการทดสอบจากห้องปฏิบัติการแล้ว ได้แก่ 20W16 20W8 1G8 20W33 และ 20W5 มาทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคแอนแทรคโนสในแปลงปลูกพริกของเกษตรกรที่ อ. ท่าม่วง จ. กาญจนบุรี โดยวิธีการพ่น ทดสอบการแช่ผลพริกหลังการเก็บเกี่ยว และทดสอบการคลุกเมล็ดติดเชื้อด้วยสารชีวภัณฑ์ *B. subtilis* ในการทดสอบการพ่นด้วย cell suspension ของ *Bacillus* spp. 5 ไอโซเลท ผลการทดสอบ ในพริกรุ่นที่ 1 พบว่า ไอโซเลท 20W16 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการลดการเกิดโรคแอนแทรคโนส โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 47.76 ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นด้วยไอโซเลท 20W33 และกรรมวิธีที่พ่นด้วยสารแมนโคเซป 80% WP ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 53.95 และ 54.61 ตามลำดับ ในพริกรุ่นที่ 2 พบว่า ไอโซเลท 20W33 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการลดการเกิดโรคและไม่แตกต่างทางสถิติกับไอโซเลท 20W16 และกรรมวิธีที่พ่นด้วยสารแมนโคเซบ ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ43.89 46.36 และ 45.33 ตามลำดับ การทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* spp. ในรูปสารชีวภัณฑ์สูตรผง 6 ไอโซเลท พบว่า กรรมวิธีที่พ่นด้วยไอโซเลท B23 อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำสุดเท่ากับ 22.47 แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นด้วยไอโซเลท 20W33 อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 28.59 โดยทั้ง 2 กรรมวิธีมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่มีการพ่น Bs ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 69.23 การทดสอบการแช่ผลพริกด้วยสารละลายสารชีวภัณฑ์ *B. subtilis* 20W16 พบว่าที่อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร เป็นเวลา 30 นาที สามารถลดการเกิดโรคที่ติดมากับผลพริกสดได้ 30% โดยดูจากขนาดแผลโรคแอนแทรคโนสบนพริกเท่ากับ 0.86 ซม. เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่แช่ด้วยน้ำเปล่า ซึ่งมีขนาดแผลโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกเท่ากับ 1.22 ซม. โดยทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่แช่ด้วยน้ำเปล่า การทดสอบการคลุกเมล็ดที่ติดเชื้อรา

C. gloeosporioides ด้วยสารชีวภัณฑ์ *B. subtilis* 20W16 พบว่าที่อัตรา 50 กรัมต่อเมล็ด 1 กิโลกรัม พบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเท่ากับ 31.5 ซึ่งต่ำกว่าการคลุกด้วยสารคาร์บ็อกซิน 75% WP ซึ่งพบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเท่ากับ 35.0 โดยที่กรรมวิธีที่ไม่มีการคลุกเมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเท่ากับ 64.5 จากผลการทดลอง สรุปได้ว่า *B. subtilis* ไอโซเลท 20W33 และ 20W16 จึงเป็นไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพ ที่จะนำไปพัฒนาเพื่อเป็นสารชีวภัณฑ์ควบคุมโรคแอนแทรคโนสพริกต่อไป
คำค้น: พริก, anthracnose disease, *Bacillus* spp., chilli, *Colletrotrichum gloeosporioides*

รหัสการทดลอง 03-04-54-01-03-01-12-57

ABSTRACT: Efficacy of *Bacillus* spp. antagonists for controlling chilli anthracnose disease cause by *Colletrotrichum gloeosporioides* was evaluated during October 2013 – September 2015. 5 isolates of *Bacillus* spp., 20W16 20W8 1G8 20W33 and 20W5 those found to highly inhibit mycelia growth of *C. gloeosporioides* in laboratory be selected for testing by foliar spraying under field trial. Testing of chilli fruit by soaking in *B. subtilis* powder formulation suspension and chilli seed treatment with *B. subtilis* wettable powder were evaluated under laboratory condition . The 5 isolates found to highly inhibit mycelia growth of *C. gloeosporioides* were then tested for the disease control under field trial at Tha Muang District, Kanchanaburi province by spraying of theirs cell suspension prior to the inoculation of the pathogen. The result showed that *B. subtilis* 20W16 isolate was the most effective which which showed disease incidence to 47.76%., then, 6 isolates of *Bacillus* spp. were formulated into powder formulation and brought back to test at the same field. The results showed that *Bacillus* spp. B23 isolate was the most effective and the same level of 20W33 isolate at 50 grams/20 liters of water and carbendazim 50% WP at 30 grams/20 liters of water which showed disease incidence to 22.47% , 28.59% and 37.96%, respectively and significantly control the disease better than water spraying treatment which showed disease incidence to 69.23 %. Testing of chilli fruit soaking in *B. subtilis* powder formulation suspension, the results showed that at 40 grams/20 liters of water on 30 minuites soaking could reduce the disease to 30% compared to water soaking. Testing of chilli seed treatment showed that *B. subtilis* powder formulation at 50 grams/1000 grams of seeds more effective than carboxin 75% WP treatment and non treatment which showed the disease incidence to 31.5, 35.0 and 64.5%, respectively. In conclusion, the bacteria B. subtilis 20W33 and 20W16 are high potential to develop to be bioproduct to use in farmer's field and upgrade to a commercial scale.
Key word: anthracnose disease, *Bacillus* spp., chilli, *Colletrotrichum gloeosporioides*

6.คำนำ

พริกจัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย เพราะนอกจากจะใช้บริโภคภายในประเทศแล้ว พริกยังเป็นพืชส่งออกที่สำคัญพืชหนึ่ง แต่ที่ผ่านมาเกษตรกรยังคงประสบปัญหาในด้านศัตรูพืช เช่น แมลง และ โรค โดยโรคที่เป็นปัญหาหลักของเกษตกรในการผลิตพริกให้ได้ผลผลิตที่ดีมีคุณภาพคือโรคแอนแทรคโนส ซึ่งสาเหตุจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* อาการของโรคมักพบบนผลพริกที่เริ่มสุก หรือระยะก่อนที่ผลพริกจะเปลี่ยนสี อาการเริ่มแรกจะประกฏเป็นวงกลมช้ำสีน้ำตาล เนื่อเยื่อบุ๋มลึกลงไปจากระดับเดิมเล็กน้อย และจะค่อย ๆ ขยายกว้างออกไปเป็นวงกลมหรือวงรีรูปไข่ ซึ่งมองเห็นลักษณะของเชื้อราที่เจริญภายใต้เนื้อเยื่อของพืชขยายออกไปในลักษณะที่เป็นวงกลมสีดำซ้อนกันเป็นชั้น เมื่อมีความชื้นจะเห็นเป็นเมือกเยิ้มสีส้มอ่อน ๆ บริเวณแผลบนผลพริก ทำให้แผลขยายตัวและผลพริกจะเน่าและร่วงก่อนเก็บเกี่ยว ผลพริกนี้เมื่อนำไปตากแห้งจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองซีด โดยโรคนี้มักระบาดมากในสภาพความชื้นสูง โดยเฉพาะในช่วงที่พริกกำลังให้ผลผลิต และเชื้อราสามารถติดไปกับเมล็ด (ศิริพงษ์และพรพิมล, 2554) เกษตรกรส่วนใหญ่มักเลือกใช้วิธีการควบคุมโรคพืชโดยใช้สารเคมี เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย สะดวก และได้ผลรวดเร็ว ซึ่งผลจากการใช้สารเคมีที่ไม่ถูกวิธี หรือใช้มากจนเกินไป ส่งผลเสียตามมาหลายประการ เช่น เกิดการดื้อยาของเชื้อโรค มีสารตกค้างในผลิตผล ตลอดจนเกิดการปนเปื้อนของสารเคมีในสภาพธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม เกิดผลเสียโดยตรงต่อผู้ใช้ได้แก่ตัวเกษตรกรเองและผู้บริโภคนอกจากนี้โดยทางอ้อม ส่งผลถึงการกีดกันทางการค้า เนื่องมาจากภายใต้เงื่อนไขข้อตกลงขององค์การการค้าโลก (WTO) สินค้าทางการเกษตรที่จะส่งไปขายยังประเทศคู่ค้าจะต้องมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ดังนั้น การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี จึงเป็นทางเลือกใหม่ที่มีบทบาทสำคัญต่อการควบคุมโรคพืชทั้งในปัจจุบันและอนาคต เพื่อลดปัญหาจากการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชดังกล่าวที่นับวันจะเพิ่มปริมาณมากขึ้นเรื่อย ๆ ที่ผ่านมาได้มีการศึกษาวิจัยทั้งในประเทศและต่างประเทศ ที่จะนำจุลินทรีย์ ซึ่งเรียกว่า “ จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonist) “ ในธรรมชาติมาควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืช และในปัจจุบันก็เป็นที่ยอมรับว่าเป็นวิธีที่มีโอกาสสูงในการนำไปเป็นกลยุทธ์ป้องกันกำจัดโรคพืช เนื่องจากมีการนำไปใช้อย่างได้ผลดีและสามารถพัฒนาเป็นการค้าได้หลายชนิด เช่น ในประเทศออสเตรเลียได้พัฒนาใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในทางการค้าสำเร็จเป็นครั้งแรก โดยใช้เชื้อ *Agrobacterium radiobecter* K84 ที่เป็นพวกซาโปรไฟท์ไปควบคุมโรคปุ่มปมของพืชที่เกิดจากเชื้อ *A. tumefaciens* แบคทีเรียกลุ่ม pseudomonads ชนิดสร้างสารเรืองแสง มีความสามารถในการควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราและแบคทีเรียที่ติดไปกับดินซึ่งเป็นเชื้อโรคพืชที่ก่อให้เกิดความเสียหายกับพืชอย่างมาก หรือแบคทีเรีย Bacillus หลายชนิดมีรายงานว่า มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อโรคได้เช่นเดียวกับ pseudomonads ชนิดสร้างสารเรืองแสงในพืชหลายชนิด ทั้งสภาพเรือนปลูกพืชทดลองและแปลงทดลอง (นิพนธ์, 2538)

โรคแอนแทรคโนสของพริก นับว่าเป็นโรคที่สำคัญของเกษตรกรผู้ปลูกพริกเป็นอย่างมาก โรคนี้เกิดจากเชื้อรา *Collectotrichum* sp. ที่พบเข้าทำลายพริกก็มีอยู่ 3 ชนิดด้วยกัน *C. gloespoloides* C. capcisi และ *C. piperatum* ผลพริกที่ถูกเชื้อราสาเหตุโรคเข้าทำลายจะมีอาการตามชนิดของเชื้อรา โดยปกติในพริกผลใหญ่เชื้อราสาเหตุที่เข้าทำลายคือ *C. gloespoloides* ลักษณะการเข้าทำลายก็คือ จะ

เกิดจุดฉ่ำน้ำขึ้นโดยที่ผิวของผลพริกจะมีรอยบุ๋มเล็กน้อย และมีอาการฉ่ำน้ำเป็นรูปวงกลมหรือวงรี ต่อมาแผลจะค่อย ๆ ขยายออกเชื้อราจะสร้างสปอร์ซึ่งเห็นเป็นวงกลมสีดำชัดเจน

Bacillus เป็นแบคทีเรียที่มีความสำคัญต่อเทคโนโลยีชีวภาพค่อนข้างมาก แบคทีเรียชนิดนี้สามารถพบได้ทั่ว ๆ ไป ในดินปลูก ปุ๋ยคอก วัสดุปลูก รากพืช และผิวใบ ฯลฯ แบคทีเรียนี้สามารถหลั่งสารประกอบต่างๆ ที่สร้างขึ้นออกสู่ภายนอกเซลล์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ แบคทีเรียนี้เพียงไม่กี่ Species ที่เป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคกับคน ส่วนใหญ่มีความปลอดภัย แบคทีเรียนี้เป็น aerobic bacteria ที่สร้างสปอร์ที่เรียกว่า endospore ที่มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมเพื่อการอยู่รอด 1 spore ใน 1 เซลล์เท่านั้น พบมีตามดินในสภาพในสภาพแวดล้อมต่างๆ แบคทีเรียจำพวกนี้พบได้ทั่วไปในดิน เจริญเติบโตได้โดยใช้สารอาหารจากการย่อยสลาย ของซากพืชและซากอื่นๆ แบคทีเรียจำพวกนี้สร้างและหลั่งเอนไซม์จำพวก carbohydrase และ protease ออกนอกเซลล์ได้หลายชนิด

ปฏิมาพรและคณะ (2551) ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อ *Bacillus megaterium* SBK5.7 และ Bacillus sp. SPT41.1.3 ในการลดการเกิดโรคแอนแทรคโนสของเมล็ดพันธุ์พริกชี้ฟ้าโดยวิธี standard blotter plate พบว่าการแช่เมล็ดพริกชี้ฟ้าด้วยเชื้อ *B. megaterium* SBK5.7ผสมกับ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 มีประสิทธิภาพในการลดระดับความรุนแรงในการเกิดโรคเท่ากับ 41.90% และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใช้เชื้อ *B. megaterium* SBK5.7 หรือ Bacillus sp. SPT41.1.3 เพียงอย่างเดียว นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อ *Bacillus* spp. ทั้งสองสายพันธุ์ ซึ่งต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin มีประสิทธิภาพในการลดการเกิดโรคแอนแทรคโนส โรคใบจุดเซอร์คอสปอรา และโรครากและโคนเน่าของพริกชี้ฟ้าในสภาพแปลงทดลอง โดยหลังเสร็จสิ้นการทดลอง พบว่าเชื้อ *Bacillus* spp. สามารถมีชีวิตอยู่รอดอยู่บนผิวพืช และในดินรอบรากต้นพริกชี้ฟ้าได้

ณัฏฐิมาและคณะ (2548) ได้ทำการแยกเชื้อ *Bacillus* sp. จากดิน, รากพืชและปุ๋ยคอก ได้จำนวน 525 ไอโซเลทมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* พบว่ามี 4 ไอโซเลท ที่สามารถควบคุมและลดการเกิดโรคเหี่ยวของขิงได้ประมาณ 70-100%

บุษราคัม และ ณัฏฐิมา (2550) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* ซึ่งแยกจากดินปลูก ปุ๋ยคอก และวัสดุปลูกจากแหล่งต่างๆ จำนวน 80 ไอโซเลท เพื่อทดสอบความสามารถในการควบคุมเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริกบนผลพริก พบว่ามี 13 ไอโซเลท ได้แก่ 17G18 20W33 2G7 20W16 20W1 20W8 20W5 1G8 2G23 22W8 19W36 22W10 และ 20W3 ที่สามารถควบคุมการเกิดโรคบนผลพริกได้ โดยไอโซเลท 20W16 22W8 และ 1G8 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคสูงสุด

พากเพียร และคณะ (2544) ได้ทดสอบ เชื้อ *Bacillus Subtilis* ซึ่งได้รับการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สูตรเหลว (TRF สูตร A และ TRF สูตร B) ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าว (*Rhizoctonia solani* Khun.) ในสภาพแปลงนาทดลอง ใช้ข้าวพันธุ์ กข 23 พบว่า การใช้ TRF สูตร A, TRF สูตร B, Larminar WP, Agroguard Liq. มีเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค 50.48, 52.53, 54.59 และ 55.18

ตามลำดับ ซึ่งทุกกรรมวิธี จะมีระดับความรุนแรงของโรคต่ำกว่ากรรมวิธี เปรียบเทียบอย่างนัยสำคัญทางสถิติซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคสูงถึง 65.46 เปอร์เซ็นต์

ได้มีการศึกษาความปลอดภัยของ *B. subtilis* ต่อคน โดย อมรรัตน์ และ มณจันทร์ (2539) ได้ทำการศึกษาความเป็นพิษของชีวภัณฑ์ประเภทแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ AP-01 และ *B. subtilis* AP-04 สำหรับป้องกันกำจัดโรคพืช ในหนูถีบจักรเพื่อยืนยันความปลอดภัยนี้ โดยได้ทดสอบความเป็นพิษของแบคทีเรียนี้ชนิดผง 2 ชนิด โดยผสมกับอาหารในอัตรา 1:10 โดยน้ำหนักซึ่งเป็นอัตราที่แนะนำใช้ทาแผลบนต้นพืช ทำการทดสอบกับหนูถีบจักร ให้อาหารทางปากในอัตรา 10 กรัมต่อวันต่อตัวโดยเฉลี่ย เป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่าหนูในกลุ่มทดลองที่ได้รับชีวภัณฑ์แบคทีเรียผสมอาหารทั้ง 2 ชนิด มีอัตราการเจริญเติบโตไม่แตกต่างจากหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารปกติ และจากการตรวจทางพยาธิวิทยาไม่พบลักษณะรอยโรคที่อวัยวะภายใน และไม่มีการเปลี่ยนแปลงที่ผิดปกติใดๆ ทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อตับ กระเพาะอาหาร และลำไส้เกิดขึ้น

7.วิธีการดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อาหารเลี้ยงเชื้อราและแบคทีเรีย ได้แก่ PDA (Potato dectrose agar) , PSA (Potato sucrose agar)
2. แบคทีเรีย *Bacillus* spp. 6 ไอโซเลท ได้แก่ 20W16 20W8 1G8 20W33 20W5 และ B23
3. สารทัลคัม
4. ต้นกล้าพริก (พริกมัน)
5. แปลงทดสอบ
6. ปุ๋ยเคมี
7. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดทดสอบ ตู้เขี่ยเชื้อ ฯลฯ

วิธีการ

<u>การดำเนินการ</u>

1. การทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสพริก โดยวิธีพ่นด้วย Cell suspension

1.1 การเตรียม Cell suspensionของ *Bacillus* spp. :

- เลี้ยง *Bacillus* spp. 5 ไอโซเลท ได้แก่ 20W16 20W8 1G8 20W33 และ 20W5 ซึ่งผ่านการคัดเลือกในระดับห้องปฏิบัติการ (บุษราคัมและคณะ, 2549) บนอาหาร PSA เป็นเวลา 2 วัน
- นำมาทำเป็น cell suspensionโดยใส่น้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 20 มล.ต่อ 1 จานเลี้ยงเชื้อ ขูดเอาเซลแบคทีเรียบนผิวหน้าอาหารออก ซึ่งจะได้ cell suspension ที่มีความเข้มข้นประมาณ 10^8 โคโลนี/มล.

1.2 การเตรียมเชื้อรา C. *gloeosporioides*

- เลี้ยงเชื้อรา C. *gloeosporioides* บนอาหาร PDA เป็นเวลา 5-7 วัน หรือจนกระทั่งเชื้อราขึ้นเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

- นำมาทำเป็น cell suspension โดยใช้น้ำนึ่งฆ่าเชื้อเช่นเดียวกับ *Bacillus* spp. ปรับความเข้มข้นให้ได้ประมาณ 10^4 โคโลนี/มล.

1.3 การเตรียมพืชและแปลงทดลอง

- เตรียมแปลงขนาดกว้าง 1.5 เมตร ยาว 5 เมตร ระยะห่างระหว่างแปลงประมาณ 80 เซนติเมตร

- ปลูกพริกที่จะทดสอบโดยวิธีการย้ายปลูกต้นกล้าที่มีอายุ 1 เดือน โดยปลูกให้มีระยะระหว่างแถวประมาณ 50 ซ.ม. ระหว่างต้น 50 ซ.ม. ปลูก 2 แถวคู่ จนกระทั่งพริกมีอายุประมาณ 2 เดือน หรือระยะเริ่มติดผล จึงเริ่มดำเนินการทดลอง

1.4 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ 8 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นด้วย cell suspension *Bacillus* spp. ไอโซเลท 20W16

กรรมวิธีที่ 2 พ่นด้วย cell suspension *Bacillus* spp. ไอโซเลท 20W8

กรรมวิธีที่ 3 พ่นด้วย cell suspension *Bacillus* spp. ไอโซเลท 1G8

กรรมวิธีที่ 4 พ่นด้วย cell suspension *Bacillus* spp. ไอโซเลท 20W33

กรรมวิธีที่ 5 พ่นด้วย cell suspension *Bacillus* spp. ไอโซเลท 20W5

กรรมวิธีที่ 6 พ่นด้วยสาร แมนโคเซบ 80% WP

กรรมวิธีที่ 7 พ่นด้วยน้ำเปล่า (Control -)

กรรมวิธีที่ 8 พ่นด้วย C. *gloeosporioides* (Control +)

1.5 การดำเนินการทดลอง : โดยวิธีพ่นด้วยเครื่องพ่นชนิดอัดลม โดยพ่น *Bacillus* spp. ก่อนพ่น *C. gloeosporioides* 2 วัน และพ่นอีกครั้งหลังจากพ่น *C. gloeosporioides* เป็นเวลา 2 วัน

1.6 การบันทึกข้อมูล: ตรวจผลโดยนับจำนวนผลพริกที่เป็นโรค เปรียบเทียบกับจำนวนผลพริกทั้งหมด นำมาคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของการเกิดโรคหลังการทดสอบ 7 วัน โดยแบ่งเก็บผลพริกเป็น 2 รุ่น หลังจากเก็บผลพริกรุ่นที่ 1 แล้ว กรรมวิธีที่ 1-5 ทำการพ่น cell suspension *Bacillus* ทั้ง 5 ไอโซเลท เพื่อป้องกัน อีกครั้ง หลังจากนั้น เมื่อผลพริก รุ่นที่ 2 แก่ จึงทำการเก็บรวบรวมผลพริกทั้งหมด นำมาตรวจผลการเกิดโรคอีกครั้ง

2. การทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสพริก โดยวิธีพ่นด้วยสารชีวภัณฑ์สูตรผง

การทดลองนี้ได้ทำการเพิ่ม *Bacillus* spp. ไอโซเลท B23 ซึ่งผ่านการทดสอบในห้องปฏิบัติการในการยับยั้งเชื้อรา *C. capsici* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก (ธารทิพยและคณะ, 2557)

2.1 วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ 12 กรรมวิธี ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1 พ่นด้วยสารชีวภัณฑ์ Bs ไอโซเลท 20W16 อัตรา 30 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 พ่นด้วยสารชีวภัณฑ์ Bs ไอโซเลท 20W16 อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 พ่นด้วยสารชีวภัณฑ์ Bs ไอโซเลท 20W16 อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 พ่นด้วยสารชีวภัณฑ์ Bs ไอโซเลท 20W33 อัตรา 30 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 พ่นด้วยสารชีวภัณฑ์ Bs ไอโซเลท 20W33 อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 พ่นด้วยสารชีวภัณฑ์ Bs ไอโซเลท 20W33 อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 7 พ่นด้วยสารชีวภัณฑ์ Bs ไอโซเลท B23 อัตรา 30 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 8 พ่นด้วยสารชีวภัณฑ์ Bs ไอโซเลท B23 อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 9 พ่นด้วยสารชีวภัณฑ์ Bs ไอโซเลท B23 อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 10 พ่นด้วยสาร คาร์เบนดาซิม 50% WP อัตรา 30 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 11 พ่นด้วย *C. gloeosporioides* (Control +)

กรรมวิธีที่ 12 พ่นด้วยน้ำเปล่า (Control -)

2.2 การดำเนินการทดลอง : โดยวิธีพ่นด้วยเครื่องพ่นชนิดอัดลม โดยพ่น *Bacillus* spp. ก่อนพ่น *C. gloeosporioides* 2 วัน และพ่นอีกครั้งหลังจากพ่น *C. gloeosporioides* เป็นเวลา 2 วัน

2.3 การบันทึกข้อมูล: ตรวจผลโดยนับจำนวนผลพริกที่เป็นโรค เปรียบเทียบกับจำนวนผลพริกทั้งหมด นำมาคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของการเกิดโรคหลังการทดสอบ 7 วัน โดยแบ่งเก็บผลพริกเป็น 2 รุ่น หลังจากเก็บผลพริกรุ่นที่ 1 แล้ว กรรมวิธีที่ 1-5 ทำการพ่น cell suspension *Bacillus* ทั้ง 5 ไอโซเลท เพื่อป้องกัน อีกครั้ง หลังจากนั้น เมื่อผลพริก รุ่นที่ 2 แก่ จึงทำการเก็บรวบรวมผลพริกทั้งหมด นำมาตรวจผลการเกิดโรคอีกครั้ง

3. การทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ *B. subtilis* ไอโซเลท 20W16 ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสพริก โดยวิธีการแช่ผลพริก

3.1 วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 แช่ผลพริกด้วยสารชีวภัณฑ์ Bs อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ต่อผลพริก 1 กก.

กรรมวิธีที่ 2 แช่ผลพริกด้วยสารชีวภัณฑ์ Bs อัตรา 30 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ต่อผลพริก 1 กก.

กรรมวิธีที่ 3 แช่ผลพริกด้วยสารชีวภัณฑ์ Bs อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ต่อผลพริก 1 กก.

กรรมวิธีที่ 4 แช่ผลพริกด้วยสารชีวภัณฑ์ Bs อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ต่อผลพริก 1 กก.

กรรมวิธีที่ 5 แช่ผลพริกด้วยน้ำเปล่า และปลูกเชื้อ Cg (C+)

กรรมวิธีที่ 6 ผลพริกสด ไม่มีการปลูกเชื้อ Cg (C-)

3.2 การดำเนินการทดลอง:

3.2.1 เลือกผลพริกที่มีความแก่สม่ำเสมอ และยังมีสภาพเขียวมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำเปล่า

3.2.2 ฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยการพ่นด้วยแอลกอฮอล์ 70 % ผึ่งไว้ให้แห้ง

3.2.3 นำผลพริกที่ได้มาแช่ด้วยสารละลายชีวภัณฑ์ Bs เป็นเวลา 30 นาที

3.2.4 นำผลพริกจากข้อ 3. มาผึ่งให้แห้ง บ่มไว้ 24 ชั่วโมง

3.2.5 จากนั้นนำผลพริกที่ได้จากข้อ 4 มาล้างผงแป้งออกอีกครั้งด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ ผึ่งให้แห้ง

3.2.6 นำผลพริก(กรรมวิธีที่ 1-5) มาปลูกเชื้อโดยการวางด้วยเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่เลี้ยงไว้บนอาหาร PDA ซึ่งเจาะด้วย cock borrer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 ซม. นำมาวางลงบนผลพริกซึ่งทำแผลไว้ โดยให้ส่วนของเส้นใยเชื้อราสัมผัสกับผิวผลพริก ทิ้งไว้ 24 ชม.จึงนำชิ้นส่วนของอาหารวุ้นออก

มีกรรมวิธีเปรียบเทียบเป็น positive control (C^+) และ negative control (C^-) ปฏิบัติดังนี้

-การเตรียมC^+ ปฏิบัติเช่นเดียวกับ1-5 แต่แช่ผลพริกด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแทน cell suspension ของ *Bacillus* sp. แล้วจึงวางด้วยเชื้อ *C. gloeosporioides*

-การเตรียม C^- ปฏิบัติเช่นเดียวกับ 1-5 แต่วางด้วยชิ้นวุ้น PDA ที่ไม่มีเชื้อรา

3.3 การบันทึกข้อมูล: ตรวจผลโดยวัดขนาดของแผลบนผลพริกเปรียบเทียบกับชุด control ที่เวลา 5 วันหลังทดสอบ

4. การทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ *B. subtilis* ในการยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* **ที่ติดมากับเมล็ดพริก โดยวิธีคลุกเมล็ด**

4.1 การเตรียมเมล็ดพริกติดเชื้อ:

-นำผลพริกที่แก่เต็มที่มาทำการปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* โดยใช้เข็มเขี่ยเขี่ยเชื้อราวางลงบนผลพริก 4 จุด จากนั้นนำไปบ่มเชื้อในกล่องพลาสติกที่บุด้วยกระดาษฟางเพื่อให้ความชื้น

-ปล่อยให้ผลพริกเป็นโรคทั้งผล แล้วทิ้งจนผลแห้งจึงทำการเก็บเมล็ดพริกมาผึ่งลมจนแห้ง

- สุ่มเมล็ดพริกมาวางบนอาหาร PDA เพื่อตรวจเช็คเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อ ก่อนนำมาใช้ทดสอบ

4.2 นำเมล็ดพริกติดเชื้อที่ได้ มาทดสอบโดยวิธีการคลุกเมล็ดด้วยผลิตภัณฑ์ผง *Bacillus* spp. อัตราต่างๆ เปรียบเทียบกับสารป้องกันกำจัดโรคพืชคาร์บอกซิน 75 % WP

วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ 7 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 คลุกเมล็ดพริกด้วยสารชีวภัณฑ์ Bs อัตรา 50 กรัมต่อเมล็ดพริก 1 กก.

กรรมวิธีที่ 2 คลุกเมล็ดพริกด้วยสารชีวภัณฑ์ Bs อัตรา 40 กรัมต่อเมล็ดพริก 1 กก.

กรรมวิธีที่ 3 คลุกเมล็ดพริกด้วยสารชีวภัณฑ์ Bs อัตรา 30 กรัมต่อเมล็ดพริก 1 กก.

กรรมวิธีที่ 4 คลุกเมล็ดพริกด้วยสารชีวภัณฑ์ Bs อัตรา 20 กรัมต่อเมล็ดพริก 1 กก.

กรรมวิธีที่ 5 คลุกเมล็ดพริกด้วยสารชีวภัณฑ์ Bs อัตรา 10 กรัมต่อเมล็ดพริก 1 กก.

กรรมวิธีที่ 6 คลุกด้วยสารคาร์บอกซิน 75 % WP อัตรา 3 กรัมต่อเมล็ดพริก 1 กก.

กรรมวิธีที่ 7 ไม่มีการคลุกเมล็ด (Control -)

4.3 การบันทึกผล: ตรวจผลโดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เมล็ดพริกที่พบเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหาร PDA ที่ 3 วัน เปรียบเทียบกับกรรมวิธีคลุกด้วยสารคาร์บอกซิน 75% WP และ กรรมวิธีไม่คลุกผลิตภัณฑ์ผง Bacillus spp. หลังการทดสอบ5 วัน

เวลาและสถานที่

<u>เริ่มต้น</u>: 1 ตุลาคม พ.ศ. 2556 <u>สิ้นสุด</u> 30 กันยายน พ.ศ. 2558

<u>สถานที่ดำเนินการทดลอง</u>: ที่ อ.ท่าม่วง จ. กาญจนบุรี และกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสพริก โดยวิธีพ่นด้วย Cell suspension

ผลการทดลองการทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* spp. โดยวิธีพ่นด้วยCell suspension ในพริกรุ่นที่ 1 พบว่า กรรมวิธีพ่นด้วย *Bacillus* spp. ไอโซเลท 20W16 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกต่ำสุด เท่ากับ 47.76 รองลงมา ได้แก่ กรรมวิธีที่พ่นด้วยไอโซเลท 20W33 1G8 20W5 และ22W8 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 53.95 57.75 59.60 และ 64.50 ตามลำดับ โดยที่ทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกับกรรมวิธีที่พ่นด้วยสารป้องกันกำจัดโรคพืชแมนโคเซบ 80% WP ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 54.61 ทั้งนี้กรรมวิธีที่พ่นด้วยไอโซเลท 20W16 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำกว่ากรรมวิธีที่ 7 ซึ่งเป็นกรรมวิธีที่ไม่มีการพ่นด้วย *Bacillus* spp. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 71.68 (ตารางที่ 1)

ผลการทดลอง พริกรุ่นที่ 2 พบว่า กรรมวิธีที่พ่นด้วย *Bacillus* spp.ทุกไอโซเลท และกรรมวิธีที่พ่นด้วยสารป้องกันกำจัดโรคพืชแมนโคเซบ 80% WP ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยไอโซเลท 20W33 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกต่ำสุด เท่ากับ 43.89 รองลงมาได้แก่ กรรมวิธีที่พ่นด้วยไอโซเลท 20W16 22W8 1G8 และ 20W5 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 46.36 46.85 49.45 และ 55.25 ตามลำดับ โดยที่กรรมวิธีที่พ่นด้วยสารฯแมนโคเซบ 80% WP มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 45.33 ทั้งนี้ กรรมวิธีที่พ่นด้วยไอโซเลท20W33 20W16 22W8 และ 1G8 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำกว่ากรรมวิธีที่ไม่มีการพ่นด้วย *Bacillus* spp. อย่างมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 69.08 (ตารางที่2)

2. การทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสพริก โดยวิธีพ่นด้วยสารชีวภัณฑ์สูตรผง

ผลการทดลอง พริก รุ่นที่ 1 พบว่า กรรมวิธีที่พ่นด้วย *Bacillus* spp.ไอโซเลท B23 อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ20ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกต่ำสุด เท่ากับ 22.47 และต่ำกว่ากรรมวิธีที่พ่นด้วยสารคาร์เบนดาซิม 50% WP ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 37.96 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่กรรมวิธีที่พ่นด้วย ***B. subtilis*** ไอโซเลท 20W33 อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ20ลิตร และพ่นด้วย *Bacillus* spp. ไอโซเลท B23 อัตรา 40 และ 30 กรัมต่อน้ำ20ลิตร ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 28.59 29.99 และ31.02 ตามลำดับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นด้วยสารคาร์เบนดาซิม 50% WP ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 37.96 (ตารางที่ 3)

ในพริกรุ่นที่ 2 ไม่สามารถเก็บผลผลิตมาตรวจผลได้ เนื่องจากพริกโดนการเข้าทำลายของโรคไวรัส จนติดผลผลิตไม่เพียงพอต่อการตรวจเช็ค จึงไม่สามารถนำข้อมูลมาสรุปผลการทดลองได้ ดังนั้นไอโซเลท B23 ซึ่งได้ผลการทดลองเพียง 1 การทดลอง จึงมีความจำเป็นที่ต้องมีการทดลองซ้ำเพื่อยืนยันยันผลการทดลองอีกครั้ง

3. การทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ *B. subtilis* ไอโซเลท 20W16 ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสพริก โดยวิธีการแช่ผลพริก

ผลการทดลอง พบว่า ผลพริกที่แช่ด้วยสารชีวภัณฑ์ *B. subtilis* ก่อนปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่อัตรา 10 20 30 และ 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลโรคแอนแทรคโนสบนผลพริก เท่ากับ 0.86 0.87 0.96 และ 1.07 เซนติเมตร ตามลำดับ โดยที่ทุกกรรมวิธีมีขนาดแผลโรคแอนแทรคโนสเล็กกว่ากรรมวิธีที่ไม่มีการแช่ผลพริกด้วยผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* ซึ่งมีขนาดแผลเท่ากับ 1.22 เซนติเมตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และกรรมวิธีที่แช่ผลพริกด้วยสารชีวภัณฑ์ *B. subtilis* อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีขนาดแผลโรคแอนแทรคโนสเล็กที่สุด คือมีขนาดแผลโรคแอนแทรคโนสเท่ากับ 0.86 เซนติเมตร (ตารางที่ 4)

4. การทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ *B. subtilis* ในการยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่ติดมากับเมล็ดพริก โดยวิธีคลุกเมล็ด

ผลการทดลอง พบว่า กรรมวิธีที่คลุกเมล็ดพริกติดเชื้อรา *C. gloeosporioides* ด้วยสารชีวภัณฑ์ *B. subtilis* อัตรา 10 20 30 40 และ 50 กรัม มีเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่เมล็ดลดลงทุกอัตรา คือมีเปอร์เซ็นต์เท่ากับ 48.5 42.0 46.0 40.5 และ 31.5 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่คลุกสารชีวภัณฑ์ Bs ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อรา *C. gloeosporioides* เท่ากับ 64.5 และกรรมวิธีที่คลุกสารชีวภัณฑ์ Bs อัตรา 20-40 กรัม มีเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่คลุกด้วยสารคาร์บอกซิน 75% WP ซึ่งมีเปอร์เซนต์การติดเชื้อราเท่ากับ 35.0 (ตารางที่ 5)

ผลการทดลองมีความสอดคล้องกับการทดลองของปฏิมาพรและคณะ (2551) ซึ่งทำการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อ *Bacillus megaterium* SBK5.7 และ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 ในการลดการเกิดโรคแอนแทรคโนสของเมล็ดพันธุ์พริกชี้ฟ้าโดยวิธี standard blotter plate พบว่าการแช่เมล็ดพริกชี้ฟ้าด้วยเชื้อ *B. megaterium* SBK5.7 ผสมกับ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 มีประสิทธิภาพในการลดระดับความ

รุนแรงในการเกิดโรคเท่ากับ 41.90% และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใช้เชื้อ *B. megaterium* SBK5.7 หรือ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 เพียงอย่างเดียว

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรคโนสสาเหตุจากเชื้อรา *Colletrotrichum gloeosporioides* บนผลพริก เมื่อพ่นด้วย cell suspension ของ *Bacillus* spp. 5 ไอโซเลท ทดสอบที่แปลงเกษตรกร อ. ท่าม่วง จ. กาญจนบุรี (พริกรุ่นที่ 1)

กรรมวิธี/Bacillus spp.	**การเกิดโรคแอนแทรคโนส (%) (7 DAI) ***
T1 (20W16)	47.76 ba
T2 (22W8)	64.50 cb
T3 (1G8)	57.75 cba
T4 (20W33)	53.95 cba
T5 (20W5)	59.60 cb
T6 (mancozeb)	54.61 cba
T7 (C+)	71.68 c
T8 (C-)	39.15 a
CV (%)	**19.79**

* DAI = Day after inoculation

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรคโนสสาเหตุจากเชื้อรา *Colletrotrichum gloeosporioides* บนผลพริก เมื่อพ่นด้วย cell suspension ของ *Bacillus* spp. 5 ไอโซเลท ทดสอบที่แปลงเกษตรกร อ. ท่าม่วง จ. กาญจนบุรี (พริกรุ่นที่ 2)

กรรมวิธี/Bacillus spp.	**การเกิดโรคแอนแทรคโนส (%) (7 DAI) ***
T1 (20W16)	46.36 ba
T2 (22W8)	46.85 ba
T3 (1G8)	49.45 ba
T4 (20W33)	43.89 ba
T5 (20W5)	55.25 cba
T6 (mancozeb)	45.33 ba
T7 (C+)	69.08 c
T8 (C-)	42.82 a
CV (%)	**19.58**

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรคโนสสาเหตุจากเชื้อรา *Colletrotrichum gloeosporioides* บนผลพริก เมื่อพ่นด้วยสารชีวภัณฑ์ สูตรผง *Bacillus subtilis* ไอโซเลท 2016 20W33 และ *Bacillus* spp. ไอโซเลท B23 ที่อัตรา 30 40 และ 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ทดสอบที่แปลงเกษตรกร อ. ท่าม่วง จ. กาญจนบุรี

กรรมวิธี/*Bacillus* spp.	**การเกิดโรคแอนแทรคโนส (%) (7 DAI) ***
T1	48.55 d
T2	46.55 d
T3	45.70 d
T4	50.44 d
T5	46.42 d
T6	28.59cb
T7	31.02 cb
T8	29.99 cb
T9	22.47ba
T10	37.96dc
T11 (C+)	69.23 e
T12 (C-)	12.92 a
CV (%)	**23.96**

ตารางที่ 4 ขนาดแผลโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกที่เกิดจากเชื้อรา *Colletrotrichum gloeosporioides* จากการทดสอบการแช่ผลพริกด้วยสารชีวภัณฑ์สูตรผง *Bacillus subtilis* ไอโซเลท 20W16 ที่อัตรา 10 20 30 และ 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ต่อพริก 1 กิโลกรัม ที่ 5 วัน หลังการทดสอบ

กรรมวิธี	**เส้นผ่าศูนย์กลางของแผลโรคแอนแทรคโนสบนผลพริก (ซ.ม.)**
T1 (40 กรัม)	0.86b
T2 (30 กรัม)	0.87b
T3 (20 กรัม)	0.96cb
T4 (10 กรัม)	1.07c
T5 (น้ำเปล่า; C+)	1.22d
T6 (ผลพริก; C-)	0.00a
CV (%)	**10.67**

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์เมล็ดพริกที่ติดเชื้อรา *Colletrotrichum gloeosporioides* หลังจากการคลุกด้วยสารชีวภัณฑ์ สูตรผง *Bacillus subtilis* ไอโซเลท 20W16 เปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่มีการคลุกเมล็ด

กรรมวิธี	**เปอร์เซ็นต์เมล็ดพริกที่ติดเชื้อรา** *C. gloeosporioides*
T1 (50 กรัม)	48.5 c
T2 (40 กรัม)	42.0 cba
T3 (30 กรัม)	46.0 cb
T4 (20 กรัม)	40.5 cba
T5 (10 กรัม)	31.5 a
T6 (คาร์บอกซิน)	35.0 ba
T7 (C-)	64.5 d
CV (%)	**16.48**

9. สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากผลการทดลอง สรุปได้ว่า การทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* spp. ทั้ง 5 ไอโซเลท โดยการพ่นด้วย cell suspension ของ *Bacillus* spp. ในแปลงปลูกพริก ที่ อ. ท่าม่วง จ. กาญจนบุรี พบว่า *B. subtilis* ไอโซเลท 20W16 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการลดการเกิดโรคแอนแทรคโนส สาเหตุจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* ในการทดสอบประสิทธิภาพในรูปสารชีวภัณฑ์ สูตรผง พบว่า ไอโซเลท 20 W33 ที่อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ20ลิตร สามารถลดการเกิดโรคได้สูงสุดเท่ากับ 59% และ *Bacillus* spp. ไอโซเลท B 23 ที่อัตรา 30-50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร สามารถลดการเกิดโรคได้ 55-68 % เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่มีการพ่นด้วยสารชีวภัณฑ์ *Bacillus* spp. และการแช่ผลพริกหลังเก็บเกี่ยวด้วยสารละลายชีวภัณฑ์ *B. subtilis* ไอโซเลท 20W16 ที่อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร เป็นเวลา 30 นาที สามารถลดการเกิดโรคที่ติดมากับผลพริกได้ 30 % เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่แช่ด้วยน้ำเปล่า นอกจากนี้การคลุกเมล็ดที่ติดเชื้อรา *C. gloeosporioides* ด้วยสารชีวภัณฑ์ *B. subtilis* ไอโซเลท 20W16 อัตรา 50 กรัมต่อเมล็ด 1 กิโลกรัม สามารถลดปริมาณเชื้อราที่ติดเมล็ดได้ถึง 51% ซึ่งสูงกว่าการคลุกด้วยสารคาร์บ็อกซิน 75% WP ซึ่งสามารถลดปริมาณเชื้อราได้ 45.7%

เนื่องจาก *Bacillus* spp. ไอโซเลท B23 จำเป็นต้องมีการทดลองซ้ำอีก 1 ฤดู เพื่อยืนยันผลการทดลองและตรวจวินิจฉัยสปีชี่สก่อนที่จะนำไปพัฒนาต่อ ดังนั้น *B. subtilis* ไอโซเลท 20W33 และ 20W16 จึงเป็นไอโซเลทที่จะนำไปพัฒนาเพื่อเป็นสารชีวภัณฑ์ควบคุมโรคแอนแทรคโนสพริกในขณะนี้

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ได้จัดส่งผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* ให้กับศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครพนม นำไปใช้ในการป้องกันกำจัดโรคในพืชผักตามโครงการวิจัยทดสอบเทคโนโลยีการผลิตพืชผักปลอดภัย เขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน และแจกจ่ายให้เกษตรกรไปทดลองใช้ในแปลงปลูก

2. นักวิชาการที่เกี่ยวข้องสามารถนำข้อมูลไปพัฒนาการผลิตสารชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สูตรผง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ในเรื่องการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสพริกทั้งในสภาพแปลงและลดการติดเชื้อในผลและเมล็ดพันธุ์

11. คำขอบคุณ -

12. เอกสารอ้างอิง

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล, รัศมี ฐิติเกียรติพงษ์ , อรพรรณ วิเศษสังข์ และ วงศ์ บุญสืบสกุล. 2548. การใช้เชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิง. หน้า 90-105. *ใน* รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม 2548. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ธารทิพย ภาสบุตร, ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี, อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และทิพวรรณ กันหาญาติ.2557. การทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* (Syd. & P. Syd.) Butl. & Bisby สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก. หน้า 540-546. *ใน* รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม 2557. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

นิพนธ์ ทวีชัย. 2538. งานวิจัยในปัจจุบันด้านการใช้แบคทีเรียบางชนิดควบคุมโรคพืชโดยวิธีชีวภาพ. หน้า 118-129. *ใน* เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมศัตรูพืช สำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัยและกรมวิชาการเกษตร

บุษราคัม อุดมศักดิ์ และ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล. 2550. สำรวจรวบรวมและศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรียกลุ่ม Bacillus ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืช : ศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชเศรษฐกิจ. หน้า 896-913. *ใน* รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2550 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ปฏิมาพร ปลอดภัย,เสมอใจ ชื่นจิตต์ และ วสันณ์ เพชรรัตน์.2551. การใช้เชื้อ *Bacillus* spp. *ใน* การควบคุมโรคของพริกที่เกิดจากเชื้อราบางชนิดโดยชีววิธี. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 39(3) (พิเศษ) : 185-188 (2551) (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล:http://www.agi.nu.ac.th/proceeding/Oral/3.CO%E0%B8%AA%E0%B8%B2%E0%B8%82%E0%B8%B2%E0%B8%9E%E0%B8%B7%E0%B8%8A%E0%B8%9C%E0%B8%B1%E0%B8%81/CO_185_188.pdf วันที่ 14 พ.ค.2555)

พากเพียร อรัญนารถ, นงรัตน์ นิลพานิชย์, วิชิต ศิริสันธนะ และ สมคิด ดิสถาพร. 2544. ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าว. วารสารวิชาการเกษตร.ม.ค.- เม.ย. 2544, 19(1) หน้า 4-12

ศิริพงษ์ คุ้มภัย และพรพิมล อธิปัญญาคม.2554. โรคแอนแทรคโนสพริก. หน้า 3-4. *ใน* คู่มือโรคผักและการป้องกันกำจัด กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

อมรรัตน์ ทัศนกิจและมณจันทร์ เมฆธน. 2539. การศึกษาความเป็นพิษของชีวภัณฑ์ประเภทแบคทีเรีย*Bacillus subtilis* สายพันธุ์ AP-01 และ B. subtilis AP-04 สำหรับป้องกันกำจัดโรคพืชในหนูถีบจักร. หน้า 99-104 *ใน* การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 34, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 30 มกราคม - 1 กุมภาพันธ์ 2539, กรุงเทพฯ