รายงานการวิจัย

ประเมินการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราของพริก

Evaluation of Antagonistic Microorganisms for Controlling Fungal Diseases of Chilli

โดย

เสมอใจ ชื่นจิตต์

วสันณ์ เพชรรัตน์

วิจิตรา ลีละศุภกุล

คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

วิทยาเขตหาดใหญ่

2552

ประเมินการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราของพริก

Evaluation of Antagonistic Microorganisms for Controlling Fungal Diseases of Chilli

เสมอใจ ชื่นจิตต์ วสันณ์ เพชรรัตน์ และวิจิตรา ลีละศุภกุล

คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

บทคัดย่อ

แยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. จำนวน 534 ไอโซเลท จากตัวอย่างใบพริก ผลพริก และดินจากแปลงปลูกพริก ด้วยวิธี dilution spread plate ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum capsici* Col13, *Cercospora capsici* Cer9 และ *Sclerotium rolfsii* Scl7 โดยวิธี dual culture plate พบว่าเชื้อ *Bacillus* spp. จำนวน 50 ไอโซเลท มีคุณสมบัติในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคของพริกทั้ง 3 ชนิด ซึ่งเชื้อ *B. megaterium* SBL5.7 และเชื้อ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราทั้ง 3 ชนิดได้ดีที่สุด ทดสอบประสิทธิภาพของน้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. ในการยับยั้งการงอกของโคนิเดียเชื้อรา *Coll. capsici* Col13 และ *Cer. capsici* Cer9 พบว่าน้ำเลี้ยงเชื้อ *B. megaterium* SBL5.7 และเชื้อ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 สามารถยับยั้งการงอกของโคนิเดียเชื้อราได้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม และยังพบว่าเชื้อ *B. megaterium* SBL5.7 และเชื้อ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 ซึ่งต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin มีประสิทธิภาพในการลดการเกิดโรคแอนแทรคโนส โรคใบจุดเซอร์คอสปอรา และโรครากและโคนเน่าของพริกในสภาพแปลงทดลอง หลังเสร็จสิ้นการทดลอง พบว่าเชื้อ *Bacillus* spp. สามารถมีชีวิตรอดอยู่บนผิวพืช และดินรอบๆรากต้นพริก นอกจากนี้ยังพบว่า ประสิทธิภาพของสูตรตำรับเชื้อ *B. megaterium* SBL5.7 สามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสและโรคใบจุดเซอร์คอสปอราในแปลงปลูกพริกของเกษตรกรได้

คำสำคัญ : พริก, โรคแอนแทรคโนส, โรคใบจุดเซอร์คอสปอรา, โรครากและโคนเน่า,
Colletotrichum capsici , *Cercospora capsici*, *Sclerotium rolfsii* ,*Bacillus megaterium*

ABSTRACT

A total of 534 strains of *Bacillus* spp. were isolated from chili leaves, fruits and rhizospheres by dilution spread plate. All isolates were tested *in vitro* for their inhibitory effect on the mycelial growth of *Colletotrichum capsici* Col13, *Cercospora capsici* Cer9 and *Sclerotium rolfsii* Scl7 by dual culture plates. Fifty strains of *Bacillus* spp. were antagonistic to all of the tested fungi. The *B. megaterium* SBL5.7 and *Bacillus* sp. SPT41.1.3, the most two effective isolates. The culture filtrate of *Bacillus* spp. wewe studied for ability to inhibited conidial germination of *Colletotrichum capsici* Col13, *Cercospora capsici* Cer9. The results showed that a cultured filtrate of *B. megaterium* SBL5.7 and *Bacillus* sp. SPT41.1.3 significantly inhibited conidial germination of the tested fungi compare with the control. *B. megaterium* SBL5.7 and *Bacillus* sp. SPT41.1.3 which are resistant to rifampicin, reduced anthracnose, Cercospora leaf spot and foot and root rot disease of chili under field conditions. *Bacillus* spp. could survival on phylloplane and rhizosphere of chili at the end of experiment. The efficacy of formulation of *B. megaterium* SBL5.7 suppress anthracnose and Cercospora leaf spot on field work.

Keywords : chili, anthracnose, Cercospora leaf spot, root and root rot ,
Colletotrichum capsici , *Cercospora capsici*, *Sclerotium rolfsii*, *Bacillus megaterium*

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อง ประเมินการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา ของพริก ได้รับการสนับสนุนการวิจัยประเภททั่วไป จากคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ผ่านคณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ประจำปีงบประมาณ 2550-2552 จำนวนเงินทั้งสิ้น 1,170,400 บาท คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมา ณ ที่นี้

คณะผู้วิจัย

มิถุนายน 2553

สารบาญ

หน้า

บทคัดย่อ	(2)
Abstract	(3)
กิตติกรรมประกาศ	(4)
สารบาญ	(5)
รายการตาราง	(6)
รายการภาพ	(8)
1. บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
การตรวจเอกสาร	3
วัตถุประสงค์	5
2. วิธีการทดลอง	5
3. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	24
4. สรุปผลการทดลอง	73
เอกสารอ้างอิง	75

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงรายละเอียดแผนการทดลองการทดลองของแต่ละกรรมวิธี	20
2	การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum capsici*, *Sclerotium rolfsii* และ *Cercospora capsici* โดยวิธี dual culture plate บนอาหาร PDA	26
3	ประสิทธิภาพของน้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. ในการยับยั้งการงอกของโคนิเดียเชื้อรา *Colletotrichum capsici* Col13	30
4	ประสิทธิภาพของน้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. ในการยับยั้งการงอกของโคนิเดียเชื้อรา *Cercospora capsici* Cer9	33
5	ประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus megaterium* SBL5.7 และ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 เปรียบเทียบกับสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม ในการควบคุมการเกิดโรคแอนแทรคโนส และโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของพริกในสภาพแปลงทดลอง	37
6	ประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus megaterium* SBL5.7 และ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 เปรียบเทียบกับสารกำจัดเชื้อราคาร์บอกซินในการควบคุมโรครากและโคนเน่าของพริกในสภาพแปลงทดลอง	39
7	ประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus megaterium* SBL5.7 และ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 เปรียบเทียบกับสารกำจัดเชื้อราคาร์บอกซินในการยับยั้งการสร้างและการงอกของเม็ดสเคลอโรเทียม	41
8	จำนวนประชากรเชื้อ *Bacillus megaterium* SBL5.7 และ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 ที่มีชีวิตอยู่รอดบนใบพริก หลังฉีดพ่นเชื้อ *Bacillus* spp. ทุก 7 วัน เป็นระยะเวลา 2 เดือน	42
9	จำนวนประชากรเชื้อ *Bacillus megaterium* SBL5.7 และ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 ที่มีชีวิตอยู่รอดบนผลพริก หลังฉีดพ่นเชื้อ *Bacillus* spp. ทุก 7 วัน เป็นระยะเวลา 2 เดือน	44
10	จำนวนประชากรเชื้อ *Bacillus megaterium* SBL5.7 และ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 ที่มี ชีวิตอยู่รอดในดินบริเวณรอบ ๆ โคนต้นพริก หลังราดดินด้วยเชื้อ *Bacillus* spp. ทุก 7 วัน เป็นระยะเวลา 2 เดือน	45

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
11	ระดับการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของพันธุ์พริกของเกษตรกร ที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลทุ่งหมอ อำเภอสะเดา จังหวัดสงขลา	47
12	ระดับเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของพันธุ์พริกของโครงการวิจัย ที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลทุ่งหมอ อำเภอสะเดา จังหวัดสงขลา	48
13	ดัชนีการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของพันธุ์พริกของเกษตรกร ที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลทุ่งหมอ อำเภอสะเดา จังหวัดสงขลา	49
14	ดัชนีการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของพันธุ์พริกของโครงการวิจัย ที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลทุ่งหมอ อำเภอสะเดา จังหวัดสงขลา	50
15	ระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสของพันธุ์พริกของเกษตรกร ที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลทุ่งหมอ อำเภอสะเดา จังหวัดสงขลา	51
16	ระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสของพันธุ์พริกของโครงการวิจัย ที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลทุ่งหมอ อำเภอสะเดา จังหวัดสงขลา	52
17	ดัชนีการเกิดโรคแอนแทรคโนสของพันธุ์พริกของเกษตรกร ที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลทุ่งหมอ อำเภอสะเดา จังหวัดสงขลา	53
18	ดัชนีการเกิดโรคแอนแทรคโนสของพันธุ์พริกของโครงการวิจัย ที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลทุ่งหมอ อำเภอสะเดา จังหวัดสงขลา	54
19	ระดับการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของพันธุ์พริกของเกษตรกร ที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลบ้านใหม่ อำเภอระโนด จังหวัดสงขลา	56
20	ระดับเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของพันธุ์พริกของโครงการวิจัย ที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลบ้านใหม่ อำเภอระโนด จังหวัดสงขลา	57
21	ดัชนีการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของพันธุ์พริกของเกษตรกร ที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลบ้านใหม่ อำเภอระโนด จังหวัดสงขลา	58
22	ดัชนีการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของพันธุ์พริกของโครงการวิจัย ที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลบ้านใหม่ อำเภอระโนด จังหวัดสงขลา	59
23	ระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสของพันธุ์พริกของเกษตรกร ที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลบ้านใหม่ อำเภอระโนด จังหวัดสงขลา	60

ตารางที่ **หน้า**

24 ระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสของพันธุ์พริกของโครงการวิจัย 61
ที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลบ้านใหม่ อำเภอระโนด จังหวัดสงขลา
25 ดัชนีการเกิดโรคแอนแทรคโนสของพันธุ์พริกของเกษตรกร 62
ที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลบ้านใหม่ อำเภอระโนด จังหวัดสงขลา
26 ดัชนีการเกิดโรคแอนแทรคโนสของพันธุ์พริกของโครงการวิจัย 63
ที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลบ้านใหม่ อำเภอระโนด จังหวัดสงขลา
27 ระดับการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของพันธุ์พริกของเกษตรกร 65
ที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลบางเหรียง อำเภอควนเนียง จังหวัดสงขลา
28 ระดับเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของพันธุ์พริกของโครงการวิจัย 66
ที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลบางเหรียง อำเภอควนเนียง จังหวัดสงขลา
29 ดัชนีการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของพันธุ์พริกของเกษตรกร 67
ที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลบางเหรียง อำเภอควนเนียง จังหวัดสงขลา
30 ดัชนีการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของพันธุ์พริกของโครงการวิจัย 68
ที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลบางเหรียง อำเภอควนเนียง จังหวัดสงขลา
31 ระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสของพันธุ์พริกของเกษตรกร 69
ที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลบางเหรียง อำเภอควนเนียง จังหวัดสงขลา
32 ระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสของพันธุ์พริกของโครงการวิจัย 70
ที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลบางเหรียง อำเภอควนเนียง จังหวัดสงขลา
33 ดัชนีการเกิดโรคแอนแทรคโนสของพันธุ์พริกของเกษตรกร 71
ที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลบางเหรียง อำเภอควนเนียง จังหวัดสงขลา
34 ดัชนีการเกิดโรคแอนแทรคโนสของพันธุ์พริกของโครงการวิจัย 72
ที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลบางเหรียง อำเภอควนเนียง จังหวัดสงขลา

รายการภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะอาการโรคของพริกที่เกิดจากเชื้อรา	2
2	ประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* spp. ในการลดการเกิดโรครากและโคนเน่าของพริก อายุ 4 เดือน	40
3	จำนวนเชื้อ *Bacillus* spp. ที่มีชีวิตรอดบนใบพริก ตรวจนับด้วยวิธี dilution spread plate บนอาหาร NGA ที่ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin 100 ppm	43

บทนำ

โรคเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ก่อให้เกิดความเสียหายในการผลิตพริก โรคที่สำคัญที่พบในภาคใต้ ได้แก่ โรคโคนเน่า โรคใบจุด และโรคกุ้งแห้งหรือโรคแอนแทรคโนส ซึ่งเกิดจากเชื้อ *Sclerotium rolfsii, Cercospora capsici* และ *Colletotrichum capsici* ตามลำดับ โดยโรคกุ้งแห้งนั้นอาจพบว่าเกิดจากเชื้ออีก 1 ชนิด คือ *Coll. gloeosporioides* เชื้อ *S. rolfsii* เป็นเชื้อราที่อาศัยอยู่ในดิน สร้างส่วนขยายพันธุ์เม็ดสเคลอโรเทียมที่ทนต่อสภาพแวดล้อม และอยู่ในดินได้นานถึง 7 ปี ในสภาพอากาศแห้ง นอกจากเข้าทำลายพริกแล้ว ยังเข้าทำลายพืชอื่น ๆ ได้มากกว่า 200 ชนิด (ศักดิ์ สุนทรสิงห์, 2537) จึงมีผลให้มีการสะสมและกระจายตัวของเชื้อในแปลงปลูกของเกษตรกรตลอดปี สารเคมีที่ใช้ในการควบคุมโรคนี้คือ คาร์บอกซิน (carboxin) แต่มีผลทำให้จุลินทรีย์ดินลดลง การลดปริมาณเชื้อสาเหตุโดยใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ เช่น *Trichoderma* sp., *Chaetomium* sp. และ *Bacillus subtilis* ซึ่งมีการศึกษาแล้วว่าทำลายเส้นใยและเม็ดสเคลอโรเทียม จึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการลดการระบาดของโรคนี้ และจากการศึกษาเบื้องต้น ผู้วิจัยพบว่า *Bacillus* spp. สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. rolfsii* ได้

สำหรับโรคใบจุดจากเชื้อ *Cer. capsici* นั้นเป็นโรคที่พบทั่วไป ส่วนใหญ่ไม่ก่อให้เกิดความเสียหายรุนแรง อาจเกิดจุดแผลเฉพาะใบล่าง ๆ แต่หากสภาพแวดล้อมเหมาะสมอากาศร้อนและชื้น อาจระบาดและทำให้ใบร่วงได้ ส่วนโรคกุ้งแห้งเป็นโรคที่ก่อให้เกิดความเสียหายกับผลผลิตค่อนข้างมาก พืชมักแสดงอาการเมื่อผลสุกหรือใกล้สุก เชื้อสาเหตุของทั้ง 2 โรคสามารถติดไปกับเมล็ดได้ (seed borne) จึงสามารถแพร่จากแหล่งหนึ่งไปยังแหล่งที่ไม่เคยมีการระบาดของโรคได้ สารเคมีที่ใช้ในการควบคุมโรคนี้ได้แก่ เบนโนมิล คาร์เบนดาซิม และ ไซแนป เป็นต้น (เสมอใจ ชื่นจิตต์, 2548) แต่อาจไม่คุ้มค่าทางเศรษฐกิจ การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ซึ่งแยกจากพริกจึงอาจเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการควบคุม

ภาพที่ 1 ลักษณะอาการโรคของพริกที่เกิดจากเชื้อรา

(ก) โรคกุ้งแห้งหรือโรคแอนแทรคโนส

(ข) โรคโคนเน่า

(ค) โรคใบจุด

การป้องกันกำจัดโรคที่เกิดจากเชื้อราในพริก

1.การป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนส

ในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสของพริกสามารถทำได้โดยการปลูกพืชหมุนเวียน การกำจัดวัชพืช การแช่เมล็ดในน้ำร้อน การคลุกเมล็ดด้วยสารเคมีก่อนปลูก การฉีดพ่นด้วยสารเคมี และการควบคุมโดยชีววิธี

ศักดิ์ สุนทรสิงห์ (2537) แนะนำให้ปลูกพืชอื่นสลับกันอย่างน้อย 3 ปี เพื่อลดปริมาณเชื้อราสาเหตุโรคที่สะสมอยู่ในแปลงปลูก และควรเลือกเมล็ดพันธุ์ที่ปราศจากโรค และหากไม่แน่ใจให้แช่เมล็ดพันธุ์พริกในน้ำอุ่น 49 ^{0}C เป็นเวลา 20 นาที เพื่อลดปริมาณเชื้อที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ หรือคลุกเมล็ดพันธุ์ก่อนปลูกด้วยสารเคมี เช่น คาร์เบนดาซิม แคปแทน เบนโนมิล แอนทราโคล และหากมีการระบาดของโรคแอนแทรคโนสในแปลงปลูกให้ฉีดพ่นด้วยสารกำจัดเชื้อรากลุ่มเดียวกับที่ใช้คลุกเมล็ด รวมทั้งการกำจัดวัชพืชเพื่อลดปริมาณเชื้อในแปลงปลูกและลดความชื้นบริเวณโคนต้น

2.การป้องกันกำจัดโรคใบจุดเซอร์คอสปอรา (Cercospora leaf spot)

เลือกใช้เมล็ดพันธุ์จากแหล่งที่ปราศจากโรค และหากไม่แน่ใจให้แช่ในน้ำอุ่น 49 ^{0}C เป็นเวลา 20 นาที หรือคลุกเมล็ดด้วยสารเคมีก่อนปลูก เพื่อลดปริมาณเชื้อที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ ในแหล่งที่มีการระบาดของโรคอยู่เป็นประจำ สามารถป้องกันกำจัดด้วยสารเคมี เช่น คาร์เบนดาซิม แคปแทน ไซเนบ ไซแรม ไดโฟลาเทน มาเนบ วามีเอส และแอนทราโคล (ศักดิ์ สุนทรสิงห์, 2537) รวมทั้งปลูกพืชหมุนวียนเป็นเวลา 2 ปี เพื่อลดปริมาณเชื้อที่สะสมอยู่ในแปลงปลูก

3.การป้องกันกำจัดโรครากและโคนเน่า (root and foot rot)

อนงค์ จันทร์ศรีกุล (2544) แนะนำให้ขุดทำลายต้นที่เป็นโรคแล้วใช้เทอราคลอ หรือคาร์บอกซิน ราดลงไปในดิน รวมทั้งปรับปรุงดินด้วยปูนขาว 200-300 กิโลกรัมต่อไร่ และปุ๋ยอินทรีย์ 2-4 ตันต่อไร่ เพื่อลดปริมาณเชื้อ *S. rolfsii* ในดินและเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดิน

บทบาทของ *Bacillus* spp. ต่อการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อราในพริก

1.บทบาทของ *Bacillus* spp. ต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนส

จิรัสสา มีกลิ่นหอม และคณะ (2546) ได้แยกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จากใบและผลพริก ด้วยวิธีการล้างและบดตัวอย่างพืช สามารถแยกแบคทีเรียปฏิปักษ์ได้จำนวน 210 ไอโซเลท นำเชื้อแบคทีเรียไปทดสอบการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Coll. capsici* และ *Coll. gloeosporioides* บนอาหาร potato dextrose agar (PDA) สามารถคัดเลือกแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการสร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราทั้งสองชนิดได้ 24 ไอโซเลท และเมื่อนำทุกไอโซเลทไปทดสอบยับยั้งการเกิดแผลบนผลพริกด้วยวิธี detached fruit พบว่าแบคทีเรียไอโซเลท Lg1 และ

HGw13 สามารถลดขนาดแผลลงได้ 73.48 และ 81.31 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งต่อมา วรรณวิไล อินทนู และคณะ (2548) ได้ใช้แบคทีเรียแขวนลอย *B. amyloliquefaciens* (Fukumoto) Priest *et al.* HGw13, Lg1, Dg13 และ HGw25 ควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกในสภาพแปลงปลูก พบว่าเชื้อ *B. amyloliquefaciens* ทั้ง 4 ไอโซเลท สามารถลดการเกิดโรคแอนแทรคโนสของพริก โดยยับยั้งการงอกโคนิเดียเชื้อรา *Colletotrichum* sp.ได้ และทำให้เส้นใยโป่งออก บิดเป็นเกลียวและเกิดการเปลี่ยนแปลง cytoplasm ภายในเส้นใย

จากการศึกษาของวราภรณ์ บุญเกิด และคณะ (2548) พบว่าเชื้อรา *Trichoderma harzianum* Rifai T50 และ CB-Pin-01 เมื่อใช้ร่วมกับเชื้อ *Bacillus* spp. Bo3, DGg13 และ DGg16 ในรูปเชื้อสดมีประสิทธิภาพในการลดการเกิดโรคแอนแทรคโนสของพริก ซึ่งมีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Coll. gloeosporioides* เทียบเท่ากับการใช้สารกำจัดเชื้อรา เบนโนมิล และยังมีประสิทธิภาพในการลดการเกิดโรคแอนแทรคโนสสูงกว่าการใช้สารกรองเชื้อ และนอกจากนี้ ในปี 2550 วราภรณ์ บุญเกิด และคณะ (2550) พบว่าการใช้เชื้อ *Bacillus* sp. 165 หรือ D13 ร่วมกัน หรือสลับกับเชื้อรา *T. harzianum* มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคแอนแทรคโนสของพริก ได้เท่ากับ 50-94 เปอร์เซ็นต์ และไม่แตกต่างจากกรรมวิธีที่ใช้เชื้อ *Bacillus* sp. 165 หรือ D13 อย่างเดียว แต่จะมีประสิทธิภาพดีกว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* อย่างเดียว

2.บทบาทของ *Bacillus* spp. ต่อการควบคุมโรคใบจุดเซอร์คอสปอรา (Cercospora leaf spot)

สำหรับการควบคุมโรค ใบจุดเซอร์คอสปอราของพริกโดยเชื้อ *Bacillus* spp. ยังไม่มีรายงาน แต่มีรายงานการควบคุมโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของซูการ์บีท โดย Collins และJacobsen (2003) ซึ่งใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* BacB ควบคุมโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของซูการ์บีทที่เกิดจากเชื้อรา *Cer. beticola* Sacc. โดยพบว่าการฉีดพ่นแบคทีเรียแขวนลอย *B. subtilis* BacB ที่ระดับความเข้มข้น $1x10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร หรือสูงกว่า และไม่เติม β-glucan สามารถลดความรุนแรงของโรคได้มากที่สุด และพบว่าการฉีดพ่น *B. subtilis* BacB 1-5 วัน ก่อนปลูกเชื้อสาเหตุโรคสามารถลดการเกิดโรคได้มากที่สุด ส่วนการใช้ตัวเซลล์กับเอนโดสปอร์ ไม่มีความแตกต่างกันในการลดการเกิดโรคในสภาพแปลงปลูก

3.บทบาทของ *Bacillus* spp. ต่อการควบคุมโรครากและโคนเน่า (root and foot rot)

สำหรับการควบคุมโรครากและโคนเน่าของพริกโดยชีววิธียังไม่มีรายงาน แต่มีรายงานการควบคุมโรคเน่าคอดินของถั่วแดงหลวง ซึ่ง Pleban และคณะ (1995) ได้ทำการศึกษาถึงการใช้เชื้อเอนโดไฟท์ (endophyte) ในการควบคุมเชื้อรา *S. rolfsii* โดยทำการแยกเชื้อเอนโดไฟท์จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหัวหอมและเมล็ดพันธุ์พืช ทำการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราโดยวิธี dual culture plate พบว่าเชื้อ *B. cereus*, *B. pumilus* และ *B. subtilis* ซึ่งแยกจากมัสตาร์ด เมล็ดทานตะวัน และหัวหอม ตามลำดับ สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *S. rolfsii* บนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ จากนั้นทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อเอนโดไฟท์ ในการลดการเกิดโรคเน่าคอดินของถั่วแดงหลวง พบว่าสามารถลดความรุนแรงในการเกิดโรค ได้ 79 เปอร์เซ็นต์ (*B. cereus*) 72 เปอร์เซ็นต์ (*B. subtilis*) และ 26 เปอร์เซ็นต์ (*B. pumilus*) และตรวจพบเชื้อ *B. cereus* ในพืชหลังการปลูกเชื้อ 72 วัน แสดงให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรียเอนโดไฟท์สามารถมีชีวิตรอดในต้นพืชและยังมีประสิทธิภาพในการป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืชในสภาพเรือนกระจก

การศึกษานี้จึงเน้นการคัดเลือกและใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อราของพริก ซึ่งนอกจากจะทำให้สามารถลดการใช้สารเคมีแล้ว ยังไม่ทำลายจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในดิน ก่อให้เกิดการเกษตรที่ดีและเหมาะสม

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

เพื่อคัดเลือกและประเมินประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคโคนเน่า โรคใบจุด และโรคแอนแทรคโนสของพริกในแปลงทดลอง และนำผลการทดลองนี้ไปใช้ร่วมกับโครงการย่อยอื่นๆ เพื่อผลิตพริกเกษตรอินทรีย์เพื่อส่งออก

วิธีการดำเนินการวิจัยและสถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

1. เก็บตัวอย่างโรค แยกเชื้อสาเหตุ และทดสอบการเกิดโรคกับพริก

1.1 สำรวจเก็บตัวอย่างโรคทั้ง 3 ชนิดและตัวอย่างใบ ผลพริก และดิน

ทำการเก็บตัวอย่างพริกที่แสดงอาการโรคแอนแทรคโนส โรครากและโคนเน่า โรคใบจุด และตัวอย่างใบ ผลพริก และดินจากแปลงปลูกพริก

1.2 แยกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส โรคใบจุด และ โรครากและโคนเน่า

1.2.1 แยกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส และโรคใบจุด

โดยนำผลพริกที่เป็นโรคแอนแทรคโนส และใบพริกที่เป็นโรคใบจุด ล้างด้วยน้ำกลั่น ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรองนึ่งฆ่าเชื้อ นำไปบ่มในกล่องพลาสติกชื้นที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน เขี่ยโคนิเดียเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ นำโคนิเดียที่ได้วางบนอาหาร PDA บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง เก็บเชื้อบริสุทธิ์ไว้ในหลอดอาหารเอียง

1.2.2 แยกเชื้อราสาเหตุโรครากและโคนเน่า

นำเม็ดสเคลอโรเทียมแช่ใน 10% chlorox นาน 2 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรอง วางเม็ดสเคลอโรเทียมบนอาหาร PDA บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน เก็บเชื้อบริสุทธิ์ไว้ในหลอดอาหารเอียง

1.3 การปลูกเชื้อเพื่อพิสูจน์โรคตามวิธีของ Koch (Koch's postulation)

1.3.1 การพิสูจน์โรคแอนแทรคโนส เลี้ยงเชื้อราบนอาหาร PDA เป็นเวลา 3 วัน ใช้ cork borrer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เจาะบริเวณขอบโคโลนีเชื้อรา วางบนผลพริกที่ปกติไม่แสดงอาการโรค และผ่านการฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ และทำแผลด้วยเข็มเขี่ย ทำการทดสอบไอโซเลทละ 4 ผล จากนั้นนำไปบ่มในกล่องพลาสติกชื้นเป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง

1.3.2 การพิสูจน์โรคใบจุด เลี้ยงเชื้อราบนอาหาร V8 juice agar (VA) เป็นเวลา 12 วัน ใช้ cork borrer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เจาะบริเวณขอบโคโลนีเชื้อรา นำไปวางบนใบพริกที่ปกติ และผ่านการฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ และทำแผลด้วยเข็มเขี่ย ทำการปลูกเชื้อโดยใช้เข็มเขี่ยทำแผล จากนั้นคลุมด้วยถุงพลาสติกที่มีละอองน้ำพรมอยู่ บ่มไว้เป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ตรวจดูอาการโรคหลังทำการปลูกเชื้อ

1.3.3 การพิสูจน์โรครากและโคนเน่า เตรียมเชื้อราสาเหตุโรคโคนเน่าตามข้อ 1.2.2 นำชิ้นวุ้นไปวางบริเวณโคนต้นพริก อายุ 2 สัปดาห์ ใช้ถุงพลาสติกคลุมไว้ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจดูอาการโรคหลังทำการปลูกเชื้อ

1.4 การทดสอบโรคบนต้นพริก เพื่อคัดเลือกเชื้อสาเหตุโรคที่ก่อโรครุนแรงที่สุด

1.4.1 การคัดเลือกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสและเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดที่ก่อโรครุนแรง

การเตรียมเชื้อทดสอบ

เตรียมโคนิเดียแขวนลอยของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสที่แยกได้จากข้อ 1.2.1 ด้วยการเลี้ยงเชื้อบนอาหาร PDA เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ และปรับความเข้มข้น 10^5 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร

เตรียมโคนิเดียแขวนลอยของเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดจากใบพริกที่แสดงอาการโรคใบจุด โดยใช้พู่กันจุ่มแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ซับให้แห้ง ปัดโคนิเดียเชื้อราบริเวณบนใบลงในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับความเข้มข้น 10^5 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร

การทดสอบ

ทำการทดสอบบนต้นพริกอายุ 3 เดือน ซึ่งปลูกในกระถางขนาด 12 นิ้ว ฉีดพ่นด้วยโคนิเดียแขวนลอยของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสและเชื้อราสาเหตุโรคใบจุด ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ซึ่งเติม Tween 20 จำนวน 2 หยด คลุมด้วยถุงพลาสติกเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ประเมินระดับความรุนแรงการเกิดโรค หลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 7 วัน โดยให้ระดับความรุนแรงดังนี้

ระดับ 0	ไม่แสดงอาการโรค
ระดับ 1	แสดงอาการโรค 1-20 เปอร์เซ็นต์
ระดับ 2	แสดงอาการโรค 21-40 เปอร์เซ็นต์
ระดับ 3	แสดงอาการโรค 41-60 เปอร์เซ็นต์
ระดับ 4	แสดงอาการโรค 61-80 เปอร์เซ็นต์
ระดับ 5	แสดงอาการโรค 81-100 เปอร์เซ็นต์

นำค่าประเมินที่ได้ไปคำนวณค่าดัชนีการเกิดโรคจากสูตร

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค} = \frac{\text{ผลรวมการเป็นโรคแต่ละระดับ x 100}}{\text{จำนวนใบหรือผลพริก x ระดับการเกิดโรคสูงสุด}}$$

คัดเลือกเชื้อราที่มีความรุนแรงในการก่อโรคแอนแทรคโนส และโรคใบจุด ชนิดละ 1 ไอโซเลท

1.4.2 การคัดเลือกเชื้อราสาเหตุโรครากและโคนเน่าที่ก่อโรครุนแรง

การเตรียมเชื้อทดสอบ

เตรียมเชื้อราสาเหตุโรครากและโคนเน่า โดยเลี้ยงเชื้อบนอาหาร PDA เป็นเวลา 1 เดือน ทำการเก็บเม็ดสเคลอโรเทียม และนำมาคลุกดินในอัตรา 0.5 กรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม

การทดสอบ

ปลูกพริกอายุ 1 เดือน ในดินซึ่งคลุกดินด้วยเม็ดสเครอโรเทียม คลุมถุงพลาสติกเป็นเวลา 24 ชั่วโมง คัดเลือกเชื้อ *S. rolfsii* ที่ก่อโรคเร็วและรุนแรงภายใน 5 วันหลังทำการปลูกเชื้อ

2. คัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

สุ่มเก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกพริก ใบพริก ผลพริก จากแหล่งปลูกทั่วภาคใต้ ทำการแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์โดยตรงด้วยวิธี dilution spread plate ให้ได้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไม่ต่ำกว่า 400 สายพันธุ์ จากนั้นทดสอบยืนยันประสิทธิภาพของเชื้อปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อสาเหตุโรคทั้ง 3 ด้วยวิธี co-culture วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Design หาร้อยละการยับยั้งตามวิธีการของ Gamliel และคณะ (1989)

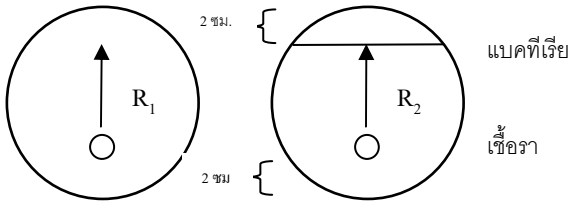
2.1 การแยกเชื้อ *Bacillus* spp. จากตัวอย่างใบ ผลพริก และดิน

นำส่วนของใบ ผล และดิน จากแปลงปลูกพริกเกษตรกรในจังหวัดภาคใต้มาแยกเชื้อ *Bacillus* spp. ด้วยวิธี dilution spread plate โดยนำใบ ผลพริกมาหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ และดินที่ผึ่งให้แห้ง จำนวนตัวอย่างละ 1 กรัม ใส่ในหลอดเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 9 มิลลิลิตร เขย่าด้วย vortex mixture นำไปแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เพื่อคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ทนความร้อนและกำจัดจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ไม่ใช่ *Bacillus* spp. นำตัวอย่างไปเจือจางเป็นลำดับสิบ (serial dilution 1:10) ได้สารแขวนลอยตัวอย่างที่เจือจาง 10^{-2}-10^{-6} เท่า ดูดสารแขวนลอยปริมาตร 20 ไมโครลิตร หยดและเกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหาร PDA จากนั้นใช้ cork borrer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เจาะบริเวณขอบโคโลนีเชื้อรา *Coll. capsici* ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 3 วัน นำไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อข้างต้นจำนวน 5 จุด บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน เลือกเก็บแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เกิดบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Coll. capsici* ในอาหาร PDA เพื่อใช้ในการทดสอบหาร้อยละการยับยั้ง

2.2 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคของพริก

ทำการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย บนอาหารเลี้ยงเชื้อโดยวิธี dual culture plate โดยเลี้ยงเชื้อรา *Coll. capsici*, *S. rolfsii* และ *Cer. capsici* บนอาหาร PDA เป็นเวลา 3, 2 และ 7 วัน ตามลำดับ ซึ่งเป็น ใช้ cork borrer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เจาะบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อรา นำไปวางห่างจากขอบจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 เซนติเมตร นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่คัดเลือกไว้จำนวน 534 ไอโซเลทเลี้ยงในอาหาร nutrient glucose agar (NGA) อายุ 48 ชั่วโมง มาขีดบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อในแนวตรงข้ามชิ้นวุ้นเชื้อราโดยห่างจากขอบจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 เซนติเมตร บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20, 7 และ 30 วัน ตามลำดับ ซึ่งเป็นวันเวลาที่เชื้อราในชุดควบคุมเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อ ในกรรมวิธีควบคุมใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ทำการทดลอง 4 ซ้ำ วัดบริเวณยับยั้งและคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราจากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง} = \frac{(R_1 - R_2)}{R_1} \times 100$$



ชุดควบคุม ชุดทดสอบ

R_1 คือ รัศมีเฉลี่ยของโคโลนีเชื้อราที่เจริญบนอาหารชุดควบคุม

R_2 คือ รัศมีเฉลี่ยของโคโลนีเชื้อราที่เจริญบนอาหารชุดทดสอบ

ทำการคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. จำนวน 2 สายพันธุ์ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Coll. capsici*, *S. rolfsii* และ *Cer. capsici* โดยทำให้เกิดบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อราโดยการสร้างสารปฏิชีวนะ เอนไซม์ และการแข่งขันในด้านการครอบครองพื้นที่และอาหาร

3. จำแนกชนิดของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

ทำการจำแนกชนิดของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. จำนวน 2 สายพันธุ์ ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส โรคใบจุดเซอร์คอสปอรา และโรครากและโคนเน่าของพริกตามวิธีการของ Schaad และคณะ (2001) และส่งเชื้อ *Bacillus* spp. ไปจำแนกชนิดที่ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน โดยการศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อด้วยเครื่อง Biolog Microlog System, Release 4.2

4. ศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่คัดเลือกได้ต่อการงอกของโคนิเดีย

จากจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่คัดเลือกได้ นำมาทดสอบประสิทธิภาพต่อการยับยั้งการงอกของโคนิเดีย *Coll. capsici* และ *Cer. capsici* โดยการทดสอบในอาหารที่ผสมน้ำเลี้ยงเชื้อ (culture filtrate) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ นับจำนวนโคนิเดียที่งอก วัดความยาวของ germ tube และดูลักษณะที่อาจผิดปกติ

4.1 การเตรียมโคนิเดียแขวนลอย

ทำการเตรียมโคนิเดียแขวนลอยเชื้อรา *Coll. capsici* โดยเลี้ยงเชื้อราในจานอาหาร PDA เป็นเวลา 2 สัปดาห์ เติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับความเข้มข้นของโคนิเดียแขวนลอยให้ได้ $1x10^6$ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร

เนื่องจากเชื้อรา *Cer. capsici* ไม่สามารถสร้างโคนิเดียในอาหารเลี้ยงเชื้อ จึงเตรียมโคนิเดียแขวนลอยจากใบพริกที่แสดงอาการโรคใบจุดเซอร์คอสปอรา ซึ่งบ่มไว้ในกล่องชื้น เป็นเวลา 1 วัน โดยใช้พู่กันจุ่มแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ซับให้แห้ง ปัดโคนิเดียของเชื้อราบริเวณบนใบลงในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับความเข้มข้นของโคนิเดียแขวนลอยให้ได้ $1x10^6$ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร

4.2 การเตรียมน้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp.

ทำการเตรียมน้ำเลี้ยงเชื้อของจุลินทรีย์ทดสอบโดยเลี้ยง *Bacillus* spp. สายพันธุ์ที่ 1 สายพันธุ์ที่ 2 และ สายพันธุ์ที่ 1+2 (สายพันธุ์ที่ 1 ผสม สายพันธุ์ที่ 2) ซึ่งคัดเลือกได้จากข้อ 2.2 บนอาหาร NGA อายุ 24 ชั่วโมง เขี่ยโคโลนีเดี่ยวๆ มาเลี้ยงใน potato dextrose broth (PDB) 1 มิลลิลิตร ในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปเขย่าที่ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงแยกเซลล์ที่ 10,000 กรัม นาน 20 นาที เก็บส่วนใส นำมาเจือจางแบบลำดับสอง (1:2) ได้น้ำเลี้ยงเชื้อที่ความเข้มข้น 1:0, 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 และ 1:32

4.3 การทดสอบการยับยั้งการงอกของโคนิเดีย

หยดน้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ที่ 1 สายพันธุ์ที่ 2 หรือ สายพันธุ์ที่ 1+2 (สายพันธุ์ที่ 1 ผสม สายพันธุ์ที่ 2) ที่ระดับความเข้มข้น1:0, 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 และ 1:32 ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในสไลด์หลุม จากนั้นหยดโคนิเดียแขวนลอยเชื้อรา *Coll. capsici* หรือ *Cer. capsici* ปริมาตรเท่ากันลงไป เกลี่ยให้ทั่ว ในกรรมวิธีควบคุมใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแทนน้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. บ่มในจานเลี้ยงเชื้อที่มีกระดาษกรองที่ทำให้ชื้นด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำสไลด์มาย้อมด้วย lactophenol cotton blue นับจำนวนโคนิเดียราที่งอก โดยกำหนดว่าการงอกคือ เมื่อโคนิเดียมีความยาวเกินครึ่งหนึ่งของความกว้างของโคนิเดีย (วรรณวิไล และคณะ, 2548; Fravel and Spurr, 1977) วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ประกอบด้วย 23 กรรมวิธี 3 ซ้ำๆ ละ 10 โคนิเดีย

กรรมวิธีที่ 1: น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ
กรรมวิธีที่ 2: น้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ที่ 1 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ อัตราส่วน 1:0
กรรมวิธีที่ 3: น้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ที่ 1 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ อัตราส่วน 1:1
กรรมวิธีที่ 4: น้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ที่ 1 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ อัตราส่วน 1:2
กรรมวิธีที่ 5: น้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ที่ 1 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ อัตราส่วน 1:4
กรรมวิธีที่ 6: น้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ที่ 1 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ อัตราส่วน 1:8
กรรมวิธีที่ 7: น้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ที่ 1 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ อัตราส่วน 1:16
กรรมวิธีที่ 8: น้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ที่ 1 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ อัตราส่วน 1:32
กรรมวิธีที่ 9: น้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ที่ 2 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ อัตราส่วน 1:0
กรรมวิธีที่ 10: น้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ที่ 2 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ อัตราส่วน 1:1
กรรมวิธีที่ 11: น้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ที่ 2 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ อัตราส่วน 1:2
กรรมวิธีที่ 12: น้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ที่ 2 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ อัตราส่วน 1:4
กรรมวิธีที่ 13: น้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ที่ 2 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ อัตราส่วน 1:8
กรรมวิธีที่ 14: น้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ที่ 2 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ อัตราส่วน 1:16
กรรมวิธีที่ 15: น้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ที่ 2 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ อัตราส่วน 1:32
กรรมวิธีที่ 16: น้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. สายพันธุ์ที่ 1+2 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ อัตราส่วน 1:0
กรรมวิธีที่ 17: น้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. สายพันธุ์ที่ 1+2 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ อัตราส่วน 1:1
กรรมวิธีที่ 18: น้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. สายพันธุ์ที่ 1+2 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ อัตราส่วน 1:2
กรรมวิธีที่ 19: น้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. สายพันธุ์ที่ 1+2 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ อัตราส่วน 1:4

กรรมวิธีที่ 20: น้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. สายพันธุ์ที่ 1+2 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ อัตราส่วน 1:8
กรรมวิธีที่ 21: น้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. สายพันธุ์ที่ 1+2 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ อัตราส่วน 1:16
กรรมวิธีที่ 22: น้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. สายพันธุ์ที่ 1+2 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ อัตราส่วน 1:32
กรรมวิธีที่ 23: คาร์เบนดาซิม ที่ระดับความเข้มข้น 1,600 ppm

5. ศึกษาการถ่ายโอนยีน *gfp* ลงใน *Bacillus* spp.

ทำการแยกและถ่ายโอนยีน *gfp* ลงในจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ที่มีประสิทธิภาพที่ถูกได้คัดเลือกไว้ โดยวิธีของอติพล พัฒิยะ (2542) เพื่อติดตามประชากรของ *Bacillus* sp. ที่ได้ฉีดพ่นหรือคลุกไว้ในดิน

5.1 การเตรียมโครโมโซมอลดีเอ็นเอ

เลี้ยงแบคทีเรีย *Bacillus* sp. CW335 และ CW347 ที่มียีน *gfp* จากวิธีการทดลองของอติพล พัฒิยะ (2542) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB 3 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 37 ^{0}C นาน 16 ชั่วโมงเขย่าด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที ปั่นเก็บเซลล์ในหลอด microcentrifuge ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที นาน 2 นาที ละลายเซลล์ในสารละลาย GTE (50 mM glucose 25 mM Tris-HCl และ 10 mM EDTA pH 8.0 ซึ่งมีไลโซไซม์ (2 mg/ml) ผสมอยู่และเตรียมใหม่ก่อนใช้ ปริมาตร 330 ไมโครลิตร เติมสารละลาย 10% SDS ปริมาตร 17 ไมโครลิตร นำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 50 ^{0}C นาน 10 นาที เติมสารละลาย RNase A (10 mg/ml) ปริมาตร 13 ไมโครลิตร นำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 37 ^{0}C นาน 1 ชั่วโมง เติมสารละลาย 0.5 M EDTA ปริมาตร 17 ไมโครลิตร นำไปอุ่นที่ heat block ที่อุณหภูมิ 50 ^{0}C นาน 10 นาที จากนั้นย่อยสลายโปรตีนโดยใช้เอนไซม์ proteinase K (10mg/ml) ปริมาตร 5 ไมโครลิตร นำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 37 ^{0}C นาน 3 ชั่วโมง นำสารละลายที่ได้ไปสกัดโปรตีนออกจาก DNA โดยการเติมสารละลาย phenol ที่อิ่มตัวด้วย 0.1 M Tris-HCl pH 8.0 ในอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ดูดสารละลายชั้นบนใส่หลอดใหม่ เขย่าผสมด้วยสารละลาย phenol:chloroform:isoamyl alcohol ในอัตราส่วน 25:24:1 และสกัดอีกครั้งด้วยสารละลาย chloroform:isoamyl alcohol ในอัตราส่วน 24:1 นำสารละลายชั้นบนที่ได้มาเติมสารละลาย 3 M ammonium acetate pH 4.5 ปริมาตร 1/10 เท่าของสารละลายชั้นบนและตกตะกอนดีเอ็นเอด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ที่เย็นจัดด้วยปริมาตร 2 เท่า เก็บที่อุณหภูมิ -20 ^{0}C นาน 1 ชั่วโมง ปั่นตกตะกอนดีเอ็นเอด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ล้างตะกอนด้วย 70% เอทานอล ทำให้แห้งด้วยเครื่องทำสุญญากาศ ละลายตะกอนใน

สารละลาย TE buffer (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA; pH 8.0) ปริมาตร 50-100 ไมโครลิตร เก็บสารละลายดีเอ็นเอไว้ที่อุณหภูมิ 4 ^{0}C

5.2 ถ่ายนำ DNA เข้าสู่ *Bacillus* spp. โดยการใช้ competent cells (อ้างอิงใน อติพล พัฒิยะ, 2542)

ถ่ายเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp.ที่คัดเลือกมาแล้ว ว่ามีศักยภาพในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรค เลี้ยงบนอาหาร LA นาน 1 คืน ที่อุณหภูมิ 37 ^{0}C จำนวน 1 โคโลนี ลงในอาหาร Competent l Luria-Bertani Broth (ClLB) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าที่อุณหภูมิ 37 ^{0}C ด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที เมื่อสังเกตพบว่าเชื้อขุ่นวัด OD_{600} ทุกๆ 1 ชั่วโมงเป็นระยะเวลาประมาณ 6-7 ชั่วโมง นำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟการเจริญเติบโตของ *Bacillus* spp.ความสัมพันธ์ระหว่าง OD_{600} กับเวลาที่เพาะเลี้ยงบนกระดาษ semi-log เมื่อถึงช่วง late log หรือ early stationary phase แบ่งอาหารเลี้ยงเชื้อ 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอด microcentrifuge ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติม DNA ที่มียีน *gfp* ที่ต้องการนำเข้าเซลล์ *Bacilllus* spp. ลงไป 3 ไมโครลิตร เขย่าที่อุณหภูมิ 37 ^{0}C นาน 1 ชั่วโมง ปั่นเหวี่ยงเซลล์และละลายกลับในอาหาร ClLB 0.2 มิลลิลิตร ดูดเชื้อปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ไปเกลี่ยบนอาหาร LA ที่ผสม kanamycin 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 37 ^{0}C นาน 1 วันตรวจการเรืองแสงของโคโลนี *Bacillus* spp. ที่ผ่านการถ่ายโอน *gfp* บน UV transilluminator

5.3 การคัดเลือกเชื้อ *Bacillus* spp. ที่ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin

นำเชื้อ *Bacillus* spp. ที่คัดเลือกไว้มาศึกษาความสามารถในการต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin (ประจวบ บุตรศาสตร์และคณะ, 2548) เพื่อใช้ในการติดตามประชากรเชื้อ *Bacillus* spp. ที่มีชีวิตรอดบนใบพริก ผลพริก และดินปลูกพริก โดยเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* sp. ที่คัดเลือกได้จำนวน 2 สายพันธุ์ บนอาหาร NGA บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ย้ายเชื้อ *Bacillus* spp. ลงบนอาหาร NGA ซึ่งผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ระดับความเข้มข้น 5, 10, 15, 20, 25, 30, …, 100 ppm บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำโคโลนีที่เจริญได้ย้ายลงบนอาหาร NGA ซึ่งผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้น จนถึงระดับความเข้มข้น 100 ppm เปรียบเทียบลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อ *Bacillus* spp. ที่ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm กับเชื้อ *Bacillus* spp. สายพันธุ์เดิม และทำการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *S. rolfsii* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยวิธี dual culture

6. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนส โรคใบจุดเซอร์คอสปอรา และโรครากและโคนเน่าของพริก ในสภาพเรือนกระจก

6.1 การเตรียมพืช

เตรียมต้นพริก อายุ 2 เดือน โดยนำเมล็ดพันธุ์พริกที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย sodium hypochlorite 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 2 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง แช่เมล็ดพริกในแบคทีเรียแขวนลอย *Bacillus* spp. สายพันธุ์ที่ 1 สายพันธุ์ที่ 2 สายพันธุ์ที่ 1+2 คาร์เบนดาซิม (1,600 ppm) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เป็นเวลา 10 นาที เพาะเมล็ดพันธุ์พริกในกะบะเพาะ ย้ายปลูกเมื่อต้นกล้าอายุ 30 วัน ลงในกระถางพลาสติกขนาด 12 นิ้ว โดยปลูกเป็นแถวเดี่ยว ระยะห่างระหว่างต้น 0.7 เมตร ระยะห่างระหว่างแถว 1 เมตร จำนวนทั้งสิ้น 336 ต้น หลังจากย้ายปลูก 15 วัน ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 15–15–15 ในระบบน้ำหยด ทุก 7 วัน ในอัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่

7. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* spp. ที่คัดเลือกได้ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนส โรคใบจุดเซอร์คอสปอรา และโรครากและโคนเน่าของพริกในสภาพแปลงทดลอง

7.1 การเตรียมพืช

เตรียมต้นพริก อายุ 2 เดือน โดยนำเมล็ดพันธุ์พริกที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย sodium hypochlorite 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 2 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง แช่เมล็ดพริกในแบคทีเรียแขวนลอย *Bacillus* spp. สายพันธุ์ที่ 1 สายพันธุ์ที่ 2 สายพันธุ์ที่ 1+2 คาร์เบนดาซิม (1,600 ppm) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เป็นเวลา 10 นาที เพาะเมล็ดพันธุ์พริกในกะบะเพาะ ย้ายปลูกเมื่อต้นกล้าอายุ 30 วัน ลงในกระถางพลาสติกขนาด 12 นิ้ว โดยปลูกเป็นแถวเดี่ยว ระยะห่างระหว่างต้น 0.7 เมตร ระยะห่างระหว่างแถว 1 เมตร จำนวนทั้งสิ้น 336 ต้น หลังจากย้ายปลูก 15 วัน ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 15–15–15 ในระบบน้ำหยด ทุก 7 วัน ในอัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่ และเมื่อเริ่มเก็บเกี่ยวใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 15–15–15 ผสมกับ 13-13-21 (อัตรา 1:1) ทุก 5 วัน (นิรนาม, 2550)

7.2 การเตรียมเชื้อ *Bacillus* spp.

เตรียมแบคทีเรียแขวนลอยของเชื้อ *Bacillus* spp. ที่ผ่านการพัฒนาให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm (ข้อ 5.3) จำนวน 2 สายพันธุ์ (สายพันธุ์ที่ 1 สายพันธุ์ที่ 2 และสายพันธุ์ที่ 1+2) โดยเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. บนอาหาร NGA เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ก่อนนำมาเตรียมเป็นแบคทีเรียแขวนลอยด้วยการเติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับระดับความเข้มข้นของแบคทีเรียแขวนลอยให้เท่ากับ 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ด้วย McFarland Standard เบอร์ 0.5 และเติมสารเพิ่มประสิทธิภาพ (Absa 80) จำนวน 0.4 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1,000 มิลลิลิตร

7.3 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสและโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของพริก

ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนส และโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของพริก ซึ่งเกิดการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคตามธรรมชาติ (natural infection) เปรียบเทียบกับสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม โดยทำการฉีดพ่นต้นพริก อายุ 2 เดือน ด้วยแบคทีเรียแขวนลอย *Bacillus* spp. สายพันธุ์ที่ 1 สายพันธุ์ที่ 2 สายพันธุ์ที่ 1+2 คาร์เบนดาซิม และน้ำกลั่น ปริมาตร 200 มิลลิลิตรต่อต้น ฉีดพ่นทุก 7 วัน เป็นเวลา 2 เดือน วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ๆ ละ 5 ต้น

กรรมวิธีที่ 1 : ฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่น
กรรมวิธีที่ 2 : ฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียแขวนลอย *Bacillus* sp. สายพันธุ์ที่ 1
กรรมวิธีที่ 3 : ฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียแขวนลอย *Bacillus* sp. สายพันธุ์ที่ 2
กรรมวิธีที่ 4 : ฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียแขวนลอย *Bacillus* spp. สายพันธุ์ที่ 1+2
กรรมวิธีที่ 5 : ฉีดพ่นด้วยคาร์เบนดาซิม ที่ระดับความเข้มข้น 1,600 ppm

ทำการประเมินระดับความรุนแรงในการเกิดโรคแอนแทรคโนส เมื่อเสร็จสิ้นการฉีดพ่นต้นพริกตามกรรมวิธีข้างต้น ด้วยวิธี descriptive area กับผลพริกทั้งต้น โดยให้ระดับความรุนแรงดังนี้ (ดัดแปลงจาก จิรัสสา มีกลิ่นหอม, 2547)

ระดับ 0 : ไม่แสดงอาการโรคแอนแทรคโนส
ระดับ 1 : แสดงอาการโรค 1-25 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น (1 แผลต่อผล)
ระดับ 2 : แสดงอาการโรค 26-50 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น (2 แผลต่อผล)
ระดับ 3 : แสดงอาการโรค 50-75 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น (3 แผลต่อผล)
ระดับ 4 : แสดงอาการโรค 76-100 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น (4 แผลต่อผล)

ทำการประเมินระดับความรุนแรงในการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของพริก เมื่อเสร็จสิ้นการฉีดพ่นต้นพริกตามกรรมวิธีข้างต้น ด้วยวิธี descriptive area กับใบพริกทั้งต้น โดยให้ระดับความรุนแรงดังนี้

ระดับ 0 : ไม่แสดงอาการโรค
ระดับ 1 : แสดงอาการโรค 1-25 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น (1-2 แผลต่อใบ)
ระดับ 2 : แสดงอาการโรค 26-50 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น (3-4 แผลต่อใบ)

ระดับ 3 : แสดงอาการโรค 50-75 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น (4-5 แผลต่อใบ)

ระดับ 4 : แสดงอาการโรค 76-100 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น (มากกว่า 5 แผลต่อใบ)

นำค่าจากการประเมินระดับความรุนแรงในการเกิดโรค มาคำนวณค่าดัชนีการเกิดโรคและเปอร์เซ็นต์ลดการเกิดโรค (พราวมาส เจริญรักษ์ และคณะ, 2548) จากสูตร

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค} = \left(\frac{\text{ผลรวมการเป็นโรคแต่ละระดับ} \times 100}{\text{จำนวนต้น} \times \text{ระดับการเกิดโรคสูงสุด}} \right)$$

$$\text{เปอร์เซ็นต์ลดการเกิดโรค} = 100 - \left(\frac{\text{ความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีทดสอบ} \times 100}{\text{ความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีควบคุม}} \right)$$

7.4 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรครากและโคนเน่าของพริก

7.4.1 การเตรียมเชื้อสาเหตุโรค

เตรียมเส้นใยเชื้อรา *S. rolfsii* สาเหตุโรครากและโคนเน่าของพริก โดยเลี้ยงเชื้อราที่แยกได้จากข้อ 1.2.3 บนอาหาร PDA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน ตัดชิ้นวุ้นอาหาร PDA ที่มีเส้นใยเชื้อรา *S. rolfsii* เจริญอยู่บนผิวหน้าให้มีขนาด 2 x 2 เซนติเมตร และทำการปลูกเชื้อด้วยเส้นใยเชื้อรา *S. rolfsii* อัตราส่วน 15 กรัมต่อต้น โดยคลุกเส้นใยสดกับดินบริเวณรอบ ๆ โคนต้นพริก

7.4.2 การทดสอบ

ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรครากและโคนเน่าของพริกเปรียบเทียบกับสารกำจัดเชื้อราคาร์บอกซิน โดยทำการราดดินบริเวณโคนต้นพริกอายุ 2 เดือน ด้วยแบคทีเรียแขวนลอย *Bacillus* spp. สายพันธุ์ที่ 1 สายพันธุ์ที่ 2 สายพันธุ์ที่ 1+2 คาร์บอกซิน และน้ำกลั่น ปริมาตร 200 มิลลิลิตรต่อต้น ทุก 7 วัน ติดต่อกันเป็นเวลา 2 เดือน และปลูกเชื้อสาเหตุโรคโดยนำเส้นใยเชื้อรา *S. rolfsii* คลุกดินบริเวณรอบ ๆ โคนต้นพริก อัตราส่วน 15 กรัมต่อต้น ใช้พลาสติกใสคลุมโคนต้นพริกเป็นเวลา 24 ชั่วโมง วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ๆ ละ 5 ต้น

กรรมวิธีที่ 1 : ราดดินด้วยน้ำกลั่น

กรรมวิธีที่ 2 : ราดดินด้วยแบคทีเรียแขวนลอย *Bacillus* sp. สายพันธุ์ที่ 1

กรรมวิธีที่ 3 : ราดดินด้วยแบคทีเรียแขวนลอย *Bacillus* sp. สายพันธุ์ที่ 2

กรรมวิธีที่ 4 : ราดดินด้วยแบคทีเรียแขวนลอย *Bacillus* spp. สายพันธุ์ที่ 1+2

กรรมวิธีที่ 5 : ราดดินด้วยคาร์บอกซิน ที่ระดับความเข้มข้น 375 ppm

ทำการประเมินระดับความรุนแรงในการเกิดโรครากและโคนเน่าของพริก เมื่อกรรมวิธีที่ราดดินด้วยน้ำกลั่นมีต้นพริกตาย 50 เปอร์เซ็นต์ โดยให้ระดับคะแนนความรุนแรงในการเกิดโรคดังนี้

ระดับ 0 : ไม่แสดงอาการเหี่ยว

ระดับ 1 : แสดงอาการเหี่ยว 1-25 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น

ระดับ 2 : แสดงอาการเหี่ยว 26-50 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น

ระดับ 3 : แสดงอาการเหี่ยว 50-75 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น

ระดับ 4 : แสดงอาการเหี่ยว 76-100 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น

นำค่าจากการประเมินระดับความรุนแรงในการเกิดโรค มาคำนวณค่าดัชนีการเกิดโรคและเปอร์เซ็นต์ลดการเกิดโรค จากสูตร

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค} = \left(\frac{\text{ผลรวมการเป็นโรคแต่ละระดับ} \times 100}{\text{จำนวนต้น} \times \text{ระดับการเกิดโรคสูงสุด}} \right)$$

$$\text{เปอร์เซ็นต์ลดการเกิดโรค} = 100 - \left(\frac{\text{ความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีทดสอบ} \times 100}{\text{ความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีควบคุม}} \right)$$

ทำการนับจำนวนเม็ดสเคลอโรเทียมที่เชื้อรา *S. rolfsii* สร้างขึ้นบริเวณโคนต้นพริกหลังราดดินด้วยแบคทีเรียแขวนลอย *Bacillus* spp. สายพันธุ์ที่ 1 สายพันธุ์ที่ 2 สายพันธุ์ที่ 1+2 คาร์บอกซินและน้ำกลั่น โดยการเก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบ ๆ โคนต้นพริก กระถางละ 20 กรัม เติม hydrogen peroxide ปริมาตร 100 มิลลิลิตร (Naiki and Akimoto, 1976; อ้างโดย Miller and Webster, 2001) และนับจำนวนเม็ดสเคลอโรเทียมที่ลอย และทดสอบการเจริญเป็นเส้นใยเชื้อรา *S. rolfsii* ของเม็ดสเคลอโรเทียม โดยนำเม็ดสเคลอโรเทียมดังกล่าว แช่ใน sodium hypochlorite 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรองนึ่งฆ่าเชื้อ วางเลี้ยงบนอาหาร PDA จำนวน 5 เม็ดต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 วัน นับจำนวนเม็ดสเคลอโรเทียมที่งอกเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ราดดินด้วยน้ำกลั่น นำค่าที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การงอกของเม็ดสเคลอโรเทียม วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำ

7.5 การติดตามประชากร *Bacillus* spp. ที่มีชีวิตรอดบนใบพริก ผลพริก และดินปลูกพริก

ทำการติดตามประชากรเชื้อ *Bacillus* spp. ที่สามารถมีชีวิตรอดอยู่บนต้นพริกและในดินบริเวณรอบ ๆ โคนต้นพริก หลังการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนส โรคใบจุดเซอร์คอสปอรา และโรครากและโคนเน่า โดยนำตัวอย่างใบพริก ผลพริก และดินบริเวณรอบ ๆ โคนต้นพริก ที่ผ่านการฉีดพ่น หรือราดดินด้วยแบคทีเรียแขวนลอย *Bacillus* spp. จำนวน 2 สายพันธุ์ ที่ระดับความเข้มข้น 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร มาตรวจนับจำนวนเชื้อ *Bacillus* spp. ด้วยวิธี dilution spread plate โดยนำตัวอย่างใบพริก และผลพริก หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ และดินที่ผึ่งแห้ง ตัวอย่างละ 1 กรัม ใส่ในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 9 มิลลิลิตร (อัตราส่วนตัวอย่างพืช 1 กรัมต่อน้ำ 9 มิลลิลิตร) เขย่าด้วยเครื่องเขย่าผสม นำไปแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 80 ^{0}C เป็นเวลา 30 นาที ทำการเจือจางตัวอย่างเป็นลำดับสิบ ได้สารแขวนลอยตัวอย่าง 10^{-1}-10^{-4} เท่า ดูดสารแขวนลอยปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนผิวหน้าอาหาร NGA ที่ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm ใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมที่ฆ่าเชื้อแล้วเกลี่ยสารแขวนลอยให้กระจายทั่วผิวหน้าอาหารอย่างสม่ำเสมอ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน นับจำนวนโคโลนีเชื้อ *Bacillus* spp. ในระดับการเจือจางที่มีเชื้ออยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี (Gary, 2007) เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมแล้วคำนวณหาจำนวนเชื้อ *Bacillus* spp. ต่อสารแขวนลอย 1 มิลลิลิตร จากสูตร

$$\text{จำนวนแบคทีเรียต่อมิลลิลิตร (cfu/ml)} = \left[\frac{\text{จำนวนโคโลนี} \times \text{ส่วนกลับของระดับการเจือจาง}}{\text{ปริมาตรสารแขวนลอย}} \right]$$

ทำการติดตามประชากรเชื้อ *Bacillus* spp. ที่สามารถมีชีวิตรอดอยู่บนต้นพริกและในดินบริเวณรอบ ๆ โคนต้นพริก ทุก ๆ 7 วัน เป็นเวลา 2 เดือน วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 3 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ๆ ละ 4 จานอาหารเลี้ยงเชื้อ

8. การประเมินประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ร่วมในกิจกรรมของเกษตรอินทรีย์

ดำเนินกิจกรรมบูรณาการร่วมกับโครงการย่อยอื่นๆ ในโครงการชุดนี้ ในแปลงเกษตรกร

การทดสอบการปลูกพริกแบบบูรณาการในแปลงเกษตรกร

ในปีที่ 3 ได้ดำเนินการทดลองพ่นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนสและใบจุดเซอร์คอสปอรา ที่คัดเลือกได้จากการทดลองในปีที่ 1 และ 2 ในแปลงเกษตรกร โดยดำเนินงานร่วมกับโครงการย่อยการสำรวจศัตรูธรรมชาติของแมลง ไรศัตรูพริก และการควบคุมโดยชีววิธี โครงการย่อยการใช้น้ำมันปิโตรเลียมออยล์ น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง และเหยื่อล่อโปรตีนควบคุมแมลงวันพริก และโครงการย่อยการใช้มูลแพะเป็นปุ๋ยอินทรีย์ โดยนำผลการคัดเลือกพันธุ์พริกที่

เหมาะสม (โครงการย่อยที่ 1) และผลการทดลองแต่ละโครงการย่อยมาปฏิบัติร่วมกันเปรียบเทียบพันธุ์ที่เกษตรกรนิยมปลูก และกรรมวิธีที่เกษตรกรนั้น ๆ ปฏิบัติ เช่น การใช้สารเคมี การใส่ปุ๋ย เป็นต้น

สถานที่ทำการทดลอง

ทดลองในแปลงเกษตรกรในจังหวัดสงขลาจำนวน 3 แปลง คือ ที่ตำบลทุ่งหมอ อำเภอสะเดา (เริ่มปลูกวันที่ 9 เมษายน พ.ศ.2552) ตำบลบ้านใหม่ อำเภอระโนด (เริ่มปลูกวันที่ 24 มีนาคม พ.ศ.2552) และตำบลบางเหรียง อำเภอควนเนียง จังหวัดสงขลา (เริ่มปลูกวันที่ 3 เมษายน พ.ศ.2552)

วิธีการทดลอง

เปรียบเทียบวิธีการปฏิบัติระหว่างวิธีการของโครงการวิจัยซึ่งเป็นวิธีที่ได้จากผลการทดลองในห้องปฏิบัติการและในแปลงทดลองของแต่ละโครงการทั้งในเรื่องพันธุ์ การใช้ปุ๋ย การควบคุมโรคและแมลงศัตรูพืช กับวิธีการของเกษตรกรซึ่งในแต่ละพื้นที่ที่ทำการศึกษามีการปฏิบัติที่แตกต่างกันออกไป ในแต่ละสถานที่ทดลอง แบ่งแปลงทดลองออกเป็น 4 แปลงย่อย แต่ละแปลงย่อยมีขนาดประมาณ 400 ตารางเมตร ใช้ระยะปลูก 1.0 เมตร x 1.0 เมตร แต่ละแปลงย่อยใช้พันธุ์พริกและวิธีการปฏิบัติดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พันธุ์พริกเกษตรกร + วิธีการเกษตรกร
กรรมวิธีที่ 2 พันธุ์พริกเกษตรกร + วิธีการโครงการวิจัย
กรรมวิธีที่ 3 พันธุ์พริกโครงการวิจัย + วิธีการเกษตรกร
กรรมวิธีที่ 4 พันธุ์พริกโครงการวิจัย + วิธีการโครงการวิจัย

วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design 5 ซ้ำ ๆ ละ 10 ต้น

ตารางที่1 แสดงรายละเอียดแผนการทดลองการทดลองของแต่ละกรรมวิธี

กิจกรรม	กรรมวิธีโครงการวิจัย	กรรมวิธีเกษตรกร อ.สะเดา	กรรมวิธีเกษตรกร อ.ระโนด	กรรมวิธีเกษตรกร อ.ควนเนียง
1. พันธุ์พริก	- พันธุ์ Super Hot ตราศรแดง ของบริษัท อีสท์ เวสท์ ซีด	- พันธุ์ Red Eagle ตราศรแดง ของบริษัท อีสท์ เวสท์ ซีด	เกษตรกรเก็บพันธุ์ด้วยตนเอง ไม่ได้ซื้อเมล็ดพันธุ์จากท้องตลาด	เกษตรกรเก็บพันธุ์ด้วยตนเอง ไม่ได้ซื้อเมล็ดพันธุ์จากท้องตลาด
2. การใช้ปุ๋ย	- ใช้ปุ๋ยหมักขี้แพะรองก้นหลุมก่อนปลูกพริกอัตรา 1 กิโลกรัม/หลุม - โรยรอบโคนต้นด้วยขี้แพะตากแห้งอัตรา 500 กรัม/ต้น หลังปลูก - หลังจากนั้นโรยรอบโคนต้นด้วยปุ๋ยหมักขี้แพะ 1 กิโลกรัม/ต้น และขี้แพะตากแห้งอัตรา 500 กรัม/ต้น ทุกๆ 30 วัน	- รองก้นหลุมด้วยขี้ไก่หมักด้วย พด.1 อัตรา 200 กรัม/ต้น หลังจากนั้นพ่นปุ๋ยทางใบสูตร 25-5-5 ตรางอบทอง อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร - เริ่มฉีดครั้งแรกเมื่อพริกอายุได้ 3 วัน และฉีดพ่นซ้ำทุกๆ 2 สัปดาห์ - เมื่อพริกอายุ 1 เดือน จึงใส่ปุ๋ยเม็ดสูตร 15-15-15 ตราเรือใบ อัตรา 10 กรัม/ต้น	- ฉีดปุ๋ยทางใบสูตร 25-5-5 ตราแนนซี่ อัตรา 17 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร โดยเริ่มฉีดครั้งแรกเมื่อพริกอายุได้ 19 วัน และฉีดพ่นซ้ำทุกๆ 1 สัปดาห์ - เมื่อพริกอายุ 1 เดือน จึงใส่ปุ๋ยเม็ดสูตร 30-0-0 ตราขาวทอง อัตรา 10 กรัม/ต้น	- รองก้นหลุมด้วยขี้วัว อัตรา 100 กรัม/ต้น - เมื่อพริกอายุ 1 เดือน จึงใส่ปุ๋ยเม็ดสูตร 15-15-15 ตราเรือใบ อัตรา 10 กรัม/ต้น

ตารางที่1 (ต่อ) แสดงรายละเอียดแผนการทดลองการทดลองของแต่ละกรรมวิธี

กิจกรรม	กรรมวิธีโครงการวิจัย	กรรมวิธีเกษตรกร อ.สะเดา	กรรมวิธีเกษตรกร อ.ระโนด	กรรมวิธีเกษตรกร อ.ควนเนียง
2. การใช้ปุ๋ย (ต่อ)	- ฉีดพ่นฮอร์โมน(เจริญอินทรีย์ พันธุ์ CP-301)+ไคโตซาน (HUGE 1) ของบริษัท เจริญโอสถอินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด อัตราอย่างละ10 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตรทุก 2 สัปดาห์ โดยฉีดพ่นพร้อมกับสัปดาห์ที่ฉีดพ่นน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง	- ฉีดพ่นสารไคโตซาน (ของศูนย์บริหารศัตรูพืช จังหวัดสงขลา) อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร โดยฉีดพ่นซ้ำทุกๆ 2 สัปดาห์	- ฉีดพ่นสารไคโตซานตราปูแดง อัตรา 17 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร โดยฉีดพ่นซ้ำทุกๆ2 สัปดาห์	- ฉีดพ่นสารไคโตซานตรากรีนพลัส 1 อัตรา 20-30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร โดยฉีดพ่นซ้ำทุกๆ 2 สัปดาห์
3. การควบคุมศัตรูพืช	- ใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus megaterium* ในการควบคุมโรคของพริก โดยใช้อัตรา 8 ช้อนโต๊ะ/ น้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่นทุก 14 วัน **ควบคุมแมลงศัตรูพืชโดย** - ฉีดพ่นน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง อัตรา 100 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร สลับกับน้ำมันปิโตรเลียมอัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ทุกๆ 7 วัน	- ฉีดน้ำหมักชีวภาพ (ได้จากการหมัก สะเดา ข่าแก่ บอระเพ็ด และตะไคร้หอม) อัตรา 150 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร โดยเริ่มฉีดครั้งแรกเมื่อพริกอายุได้ 3 วัน หลังจากนั้นจึงฉีดพ่นซ้ำทุกๆ 2 สัปดาห์	- ฉีดพ่นสารอะบาเม็กติน อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร โดยเริ่มฉีดครั้งแรกเมื่อพริกอายุได้ 19 วัน และฉีดพ่นซ้ำทุกๆ 1 สัปดาห์	ฉีดพ่นสารสกัดจากสะเดา โดยแช่สะเดาบด (ของศูนย์บริหารศัตรูพืช สงขลา) อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร โดยเริ่มฉีดครั้งแรกเมื่อพริกอายุได้ 20 วัน และฉีดพ่นซ้ำทุกๆ 1 สัปดาห์

2.3.9 รายละเอียดของผลการดำเนินงานในส่วนของโครงการ ‘‘การประเมินการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราของพริก’’

เป็นการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *B. megaterium* SBL5.7 ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนส โรคใบจุดเซอร์คอสปอรา ของพริกในสภาพแปลงเกษตรกรร่วมกับโครงการย่อยอื่นๆ

1. การเตรียมสูตรตำรับเชื้อ *Bacillus megaterium*

เตรียมเชื้อ *B. megaterium* SBL5.7 โดยเลี้ยงเชื้อ ในอาหาร Yeast Glucose Broth (YGB) บ่มเชื้อบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิ 28 ^{0}C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นดูดเซลล์แขวนลอยปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ซึ่งมีอาหาร YGB อยู่ 100 มิลลิลิตร บ่มเชื้อบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิ 28 ^{0}C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ดูดเซลล์แขวนลอยปริมาตร 20 มิลลิลิตร ผสมกับ lactose monohydrate (Pharmatose®) 85 กรัม polyvinyl pyrrolidone K-30 5 กรัม และ sodium alginate 10 กรัม ผสมให้เข้ากัน และอบที่อุณหภูมิ 60 ^{0}C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ด้วย hot air oven

2. การทดสอบในแปลงเกษตรกร

ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสูตรตำรับเชื้อ *B. megaterium* SBL5.7 ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนส โรคใบจุดเซอร์คอสปอรา ของพริก ซึ่งเข้าทำลายพืชตามธรรมชาติ (natural infection) เปรียบเทียบกับวิธีการควบคุมโรคของเกษตรกร โดยทำการฉีดพ่นพริก อายุ 45 วันหลังปลูกด้วยสูตรตำรับเชื้อ *B. megaterium* SBL5.7 อัตรา 8 ช้อนโต๊ะ/น้ำ 20 ลิตร ปริมาตร 200 มิลลิลิตรต่อต้น ฉีดพ่นทุก 14 วัน เป็นเวลา 6 เดือน

ทำการประเมินระดับความรุนแรงในการเกิดโรคแอนแทรคโนส เมื่อเสร็จสิ้นการฉีดพ่นต้นพริกตามกรรมวิธีข้างต้น ด้วยวิธี descriptive area กับผลพริกจำนวน 10 ผล/ต้น และ 10 ต้น/ซ้ำ โดยเก็บผลพริกและนำมาบ่มไว้ในห้องปฏิบัติการเป็นเวลา 10 วัน เพื่อดูอาการโรคที่อาจปรากฏภายหลัง เนื่องจากการเข้าทำลายผลพริกของเชื้อ *Coll. capsici* มักแสดงอาการแบบแฝง (latent infection) พืชมักแสดงอาการเมื่อผลสุก จากนั้นจึงให้ระดับความรุนแรงดังนี้ (ดัดแปลงจาก จิรัสสา มีกลิ่นหอม, 2547)

ระดับ 0 : ไม่แสดงอาการโรคแอนแทรคโนส
ระดับ 1 : แสดงอาการโรค 1-25 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น (1 แผลต่อผล)
ระดับ 2 : แสดงอาการโรค 26-50 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น (2 แผลต่อผล)
ระดับ 3 : แสดงอาการโรค 50-75 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น (3 แผลต่อผล)
ระดับ 4 : แสดงอาการโรค 76-100 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น (4 แผลต่อผล)

ทำการประเมินระดับความรุนแรงในการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของพริก เมื่อเสร็จสิ้นการฉีดพ่นต้นพริกตามกรรมวิธีข้างต้น ด้วยวิธี descriptive area กับใบพริกทั้งต้น โดยให้ระดับความรุนแรงดังนี้

ระดับ 0 : ไม่แสดงอาการโรค

ระดับ 1 : แสดงอาการโรค 1-25 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น (1-2 แผลต่อใบ)

ระดับ 2 : แสดงอาการโรค 26-50 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น (3-4 แผลต่อใบ)

ระดับ 3 : แสดงอาการโรค 50-75 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น (5-6 แผลต่อใบ)

ระดับ 4 : แสดงอาการโรค 76-100 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น (มากกว่า 5 แผลต่อใบ)

นำค่าจากการประเมินระดับความรุนแรงในการเกิดโรคมาคำนวณค่าดัชนีการเกิดโรคและเปอร์เซ็นต์ลดการเกิดโรค (พราวมาส เจริญรักษ์ และคณะ, 2548) จากสูตร

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค} = \left(\frac{\text{ผลรวมการเป็นโรคแต่ละระดับ} \times 100}{\text{จำนวนต้น} \times \text{ระดับการเป็นโรคสูงสุด}} \right)$$

ผลการทดลอง

1. เก็บตัวอย่างโรค แยกเชื้อสาเหตุ และทดสอบการเกิดโรคกับพริก

1.1 สำรวจเก็บตัวอย่างโรคทั้ง 3 ชนิดและตัวอย่างใบ ผลพริก และดิน

ทำการเก็บตัวอย่างพริกที่แสดงอาการโรคแอนแทรคโนส โรครากและโคนเน่า และโรคใบจุด และตัวอย่างใบ ผลพริก และดินจากแปลงปลูกพริกในพื้นที่จังหวัด นราธิวาส ตรัง สงขลา พัทลุง นครศรีธรรมราช ชุมพร กระบี่ และสุราษฎร์ธานี

1.2 แยกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส โรคใบจุด และ โรครากและโคนเน่า

1.2.1 แยกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส และโรคใบจุด

เมื่อนำผลพริกที่เป็นโรคแอนแทรคโนส ที่บ่มในกล่องพลาสติกชื้นที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน เขี่ยโคนิเดียเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ นำโคนิเดียที่ได้วางบนอาหาร PDA บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องได้เชื้อราบริสุทธิ์ที่มีเส้นใยสีเทา มีผนังกั้น มีการสร้าง acervulus กระจายทั่วบนผิวหน้าอาหาร โคนีเดียสีครีมอ่อน รูปพระจันทร์เสี้ยว

เมื่อนำใบพริกที่เป็นโรคใบจุดที่บ่มในกล่องพลาสติกชื้นที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน เขี่ยโคนิเดียเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ นำโคนิเดียที่ได้วางบนอาหาร PDA บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องได้เชื้อราบริสุทธิ์ที่มีเส้นใยสีขาวเทา มีผนังกั้น ไม่พบการสร้างโคนิเดียบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.2.2 แยกเชื้อราสาเหตุโรครากและโคนเน่า

เมื่อนำเม็ดสเคลอโรเทียมแช่ใน 10% sodium hypochlorite นาน 2 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรอง วางเม็ดสเคลอโรเทียมบนอาหาร PDA บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน ได้เชื้อราบริสุทธิ์ที่มีเส้นใยสีขาวหยาบ มีผนังกั้น สร้างเม็ดสเคลอโรเทียม ภายใน 3-5 วัน

1.3 การปลูกเชื้อเพื่อพิสูจน์โรคตามวิธีของ Koch (Koch's postulation)

1.3.1 การพิสูจน์โรคแอนแทรคโนส

เมื่อทำการพิสูจน์โรคตามวิธีของ Koch (Koch's postulation) พบว่า ผลพริกที่ทำการปลูกเชื้อแสดงอาการจุดแผลสีน้ำตาลดำ ตรงกลางแผลมีการสร้าง acervulus สีดำเรียงเป็นวงเป็นชั้น ๆ และมีกลุ่มโคนิเดียสีส้มกระจายอยู่บริเวณกลางแผล และทำการแยกเชื้อซ้ำอีกครั้ง ได้เชื้อ *Coll. capsici* จำนวน 15 ไอโซเลท

1.3.2 การพิสูจน์โรคใบจุด

เมื่อทำการพิสูจน์โรคตามวิธีของ Koch (Koch's postulation) พบว่า แผลมีลักษณะกลมสีน้ำตาลดำ เนื้อเยื่อกลางแผลแห้งบางมีสีขาวหรือสีเทา กลางแผลมีราสีเทาดำขึ้นเป็นกระจุก เนื้อเยื่อรอบแผลมีสีเหลือง และแยกเชื้อซ้ำอีกครั้ง ได้เชื้อ *Cer. capsici* จำนวน 10 ไอโซเลท

1.3.3 การพิสูจน์โรครากและโคนเน่า

เมื่อทำการพิสูจน์โรคตามวิธีของ Koch (Koch's postulation) เชื้อพบว่าโคนต้นเน่าเปื่อยเป็นสีน้ำตาลดำ มีเส้นใยสีขาวปกคลุม และพบเม็ดสเคลอโรเทียมเกาะอยู่ตามโคนต้น พริกแสดงอาการใบเหลืองและร่วง ต้นพริกเหี่ยวยืนต้นตาย และแยกเชื้อซ้ำอีกครั้ง ได้เชื้อ *S. rolfsii* จำนวน 20 ไอโซเลท

1.4 การทดสอบโรคบนต้นพริก เพื่อคัดเลือกเชื้อสาเหตุโรคที่ก่อโรครุนแรงที่สุด

1.4.1 การคัดเลือกเชื้อรา *Coll. capsici* และ *C. capsici* ที่ก่อโรครุนแรง

ทำการทดสอบบนต้นพริกอายุ 3 เดือน ซึ่งปลูกในกระถางขนาด 12 นิ้ว ฉีดพ่นด้วยโคนิเดียแขวนลอยของเชื้อรา *Coll. capsici* และ *Cer. capsici* ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ซึ่งเติม Tween 20 จำนวน 2 หยด คลุมด้วยถุงพลาสติกเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า หลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 7 วัน เชื้อรา *Coll. capsici* และ *Cer. capsici* ที่มีความรุนแรงในการก่อโรคแอนแทรคโนส และโรคใบจุดเซอร์คอสปอรา ชนิดละ 1 ไอโซเลท คือ Col13 และ Cer9

1.4.2 การคัดเลือกเชื้อรา *S. rolfsii* ที่ก่อโรครุนแรง

ทำการทดสอบปลูกพริกอายุ 1 เดือน ในดินซึ่งคลุกดินด้วยเม็ดสเคลอโรเทียม คลุมถุงพลาสติกเป็นเวลา 24 ชั่วโมง คัดเลือกเชื้อ *S. rolfsii* ที่ก่อโรคเร็วและรุนแรงภายใน 5 วันหลังทำการปลูกเชื้อ ได้เชื้อ 1 ไอโซเลท คือ Scl7

2. คัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

2.1 การแยกเชื้อ *Bacillus* spp. จากตัวอย่างใบ ผลพริก และดิน

จากการนำส่วนของใบ ผล และดิน จากแปลงปลูกพริกเกษตรกรในจังหวัดภาคใต้ รวมจำนวน 176 ตัวอย่าง มาแยกเชื้อ *Bacillus* spp. ด้วยวิธี dilution spread plate สามารถคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เกิดบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Coll. capsici* ได้ทั้งหมด 534 ไอโซเลท โดยแยกได้จากดินบริเวณโคนพริกมากที่สุดเนื่องจากดินเป็นแหล่งที่เหมาะสมในการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ได้ดี ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้มักมีโคโลนีสีขาว ขอบไม่เรียบ ผิวโคโลนีด้าน

2.2 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคของพริก

จากการทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. จำนวน 534 ไอโซเลท ที่แยกได้จากใบ ผล และดินบริเวณโคนพริกในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย *Coll. capsici*, *S. rolfsii* และ *Cer. capsici* โดยวิธี dual culture plate ในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ที่มีเปอร์เซ็นต์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Coll. capsici* เท่ากับ 70-80 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวน 400 ไอโซเลท เมื่อนำเชื้อ *Bacillus* spp. ดังกล่าวไปทดสอบยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *S. rolfsii* พบว่ามีเชื้อ *Bacillus* spp. เพียง 50 ไอโซเลทที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราเท่ากับ 33.93 -57.14 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2) และเมื่อนำไปทดสอบกับเชื้อรา *Cer. capsici* พบว่าเชื้อ *Bacillus* spp. ทั้ง 50 ไอโซเลท มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 78.57 -92.86 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum capsici*, *Slcerotium rolfsii* และ *Cercospora capsici* โดยวิธี dual culture plate บนอาหาร PDA

กรรมวิธีทดสอบ	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา		
	Coll. capsici	***S. rolfsii***	***Cer. capsici***
SPT32.1.2	70.72 abcdefgh	39.64 def	78.57 c
SPT32.2.3	70.36 abcdefgh	42.86 bcd	92.86 a
SPT32.2.4.1	69.29 defghijk	57.14 a	92.86 a
SPT32.2.4.2	71.43 abcdef	42.82 bcd	92.86 a
SPT33.1.2	66.79 klm	42.82 bcd	92.86 a
SPT34.3.2	72.15 abcd	42.82 bcd	92.86 a
SPT35.1.1	66.79 klm	42.82 bcd	92.86 a
SPT36.1.2	71.43 abcde	42.82 bcd	92.86 a
SPT36.1.4.1	71.43 abcde	42.82 bcd	92.86 a
SPT36.1.4.2	69.29 defghijk	32.14 j	78.57 c
SPT36.1.6	68.93 efghijkl	46.43 b	92.86 a
SPT41.1.3	**68.93 efghijkl**	**43.93 bc**	**92.86 a**
SPT41.1.4	69.29 defghijk	40.00 cdef	92.86 a

ตารางที่ 2 (ต่อ)

การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum capsici*, *Slcerotium rolfsii* และ *Cercospora capsici* โดยวิธี dual culture plate บนอาหาร PDA

กรรมวิธีทดสอบ	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา		
	Coll. capsici	***S. rolfsii***	***Cer. capsici***
SPT42.3.2	71.43 abcde	42.86 bcd	92.86 a
SPT42.3.3	68.58 fghijkl	41.07 cde	92.86 a
SPT44.3.4	68.58 fghijkl	42.86 bcd	92.86 a
SPT44.3.5	67.86 hijkl	36.43 fghi	85.71 b
SPT44.3.8	67.86 hijkl	37.86 efg	85.71 b
SPT46.2.1	40.00 o	37.50 efgh	85.71 b
DF3.2.1	68.21 ghijkl	35.71 ghij	78.57 c
DF5.1.2	70.00 bcdefghi	42.86 bcd	92.86 a
DF5.2.1	72.86 a	38.21 efg	85.71 b
DF6.2.1	70.36 abcdefgh	42.86 bcd	92.86 a
DF6.2.2	70.73 abcdefg	42.86 bcd	92.86 a
DF7.2.1.1	71.43 abcde	42.86 bcd	92.86 a
DF7.2.1.2	57.14 n	35.71 ghij	78.57 c
DF8.11	72.87 a	42.86 bcd	92.86 a
DF9.11	67.86 hijkl	42.86 bcd	92.86 a
DF10.1.2	37.86 p	33.57 ij	78.57 c
DF14.1.1	71.07 abcdefg	46.43 b	92.86 a
DFYT1.2	66.43 lm	35.71 ghij	78.57 c
DFYT1.4	69.64 cdefghij	42.86 bcd	92.86 a
S12	69.29 defghijk	35.71 ghij	78.57 c
S39	71.43 abcde	39.29 defg	85.71 b
SK5	67.50 ijkl	35.71 ghij	78.57 c

ตารางที่ 2 (ต่อ)

การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum capsici*, *Slcerotium rolfsii* และ *Cercospora capsici* โดยวิธี dual culture plate บนอาหาร PDA

กรรมวิธีทดสอบ	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา		
	Coll. capsici	***S. rolfsii***	***Cer. capsici***
SK13	65.00 m	33.93 hij	78.57 c
SK18	35.36 q	35.71 ghij	78.57 c
SKK1	71.79 abcd	41.07 cde	92.86 a
SBL5.1	36.07 pq	38.57 efg	85.71 b
SBL5.3	71.43 abcde	41.07 cde	92.86 a
SBL5.7	**72.50 ab**	**46.41 b**	**92.86 a**
PDA1	71.43 abcde	38.93 defg	85.71 b
LBL2.6	68.21 ghijkl	42.86 bcd	92.86 a
LBL2.8	69.64 cdefghij	42.86 bcd	92.86 a
LBL2.9	71.43 abcde	42.86 bcd	92.86 a
LBL4.5	67.50 ijkl	42.86 bcd	92.86 a
LBK1.1	70.36 abcdefgh	39.29 defg	85.71 b
LNY2.8	67.14 jklm	42.86 bcd	92.86 a
LNY2.9	66.43 lm	40.72 cde	92.86 a
Control	0.00 r	0.00 k	0.00 d

ลักษณะการยับยั้งระหว่างโคโลนีของเชื้อรากับ *Bacillus* spp. เป็นไปในลักษณะของการเกิดบริเวณยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา ยับยั้งการสร้างโคนิเดียและเม็ดเสคลอโรเทียม การแข่งขันในด้านการครอบครองพื้นที่และอาหาร ดังนั้นจึงคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย *Coll. capsici*, *S. rolfsii* และ *Cer. capsici* จำนวน 2 ไอโซเลท คือ SPT41.1.3 และ SBL5.7 เนื่องจากเชื้อทั้ง 2 ไอโซเลท มีกลไกการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคโดยการทำลายชีวิตและการเป็นปรสิต สามารถสร้างเอนไซม์เพื่อย่อยผนัง

เซลล์และปลายเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค อีกทั้งยังยับยั้งการสร้างโคนิเดียและเม็ดเสคลอโรเทียมของเชื้อ *Coll. capsici* และ *S. rolfsii* ตามลำดับ ดังนั้นจึงนำเชื้อ *Bacillus* spp. สายพันธุ์ SPT41.1.3 และ SBL5.7 ไปทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของเม็ดสเคลอโรเทียมและโคนิเดียเชื้อราโดยน้ำเลี้ยงเชื้อบนสไลด์หลุม

3. จำแนกชนิดของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

เมื่อจำแนกชนิดของเชื้อ *Bacillus* spp. SBL5.7 และ SPT41.1.3 ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส โรคใบจุดเซอร์คอสปอรา และโรครากและโคนเน่าของพริกตามวิธีการของ Schaad และคณะ (2001) และใช้เครื่อง Biolog Microlog System, Release 4.2 พบว่าเชื้อ *Bacillus* spp. ทั้งสองสายพันธุ์เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีการสร้างเอนโดโคนิเดีย ซึ่งเชื้อ *Bacillus* sp. SBL5.7 จัดอยู่ใน *B. megaterium* De Bary ในขณะที่เชื้อ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 ไม่สามารถจำแนกชนิดได้

4. ศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่คัดเลือกได้ต่อการงอกของโคนิเดีย

จากจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่คัดเลือกได้ คือ SBL5.7 และ SPT41.1.3 นำมาทดสอบประสิทธิภาพต่อการยับยั้งการงอกของโคนิเดีย *Coll. capsici* และ *Cerl. capsici* โดยการทดสอบในอาหารที่ผสมน้ำเลี้ยงเชื้อ (culture filtrate) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ นับจำนวนโคนิเดียที่งอก วัดความยาวของ germ tube และดูลักษณะที่อาจผิดปกติ

4.1 การทดสอบการยับยั้งการงอกของโคนิเดียเชื้อรา *Coll. capsici* Col13

เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของน้ำเลี้ยงเชื้อ *B. megaterium* SBL5.7 และเชื้อ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 ที่อัตราส่วนของน้ำเลี้ยงเชื้อต่อน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเท่ากับ 1:0, 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 และ 1:32 ในการยับยั้งการงอกของโคนิเดียเชื้อรา *Coll. capsici* Col13 บนสไลด์หลุม พบว่าในทุกกรรมวิธีที่ใช้น้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* sp. สามารถยับยั้งการงอกของโคนิเดียและลดความยาวของ germ tube ของเชื้อรา *Coll. capsici* Col13 ได้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับควบคุม (ตารางที่ 3) โดยในกรรมวิธีที่ใช้น้ำเลี้ยงเชื้อ *B. megaterium* SBL5.7 ที่ไม่เจือจาง มีเปอร์เซ็นต์การงอกของโคนิเดียเท่ากับ 6.11 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมที่ระดับความเข้มข้น 1,600 ppm

เมื่อตรวจดูลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของโคนิเดียเชื้อรา *Coll. capsici* COL13 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100 เท่า พบว่าน้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. ทั้ง 2 สายพันธุ์ ที่อัตราส่วนของน้ำเลี้ยงเชื้อเท่ากัน จะส่งผลต่อความผิดปกติของโคนิเดียเชื้อราในลักษณะที่คล้ายคลึงกัน เช่น โคนิเดียมีลักษณะบวมโต appressorium มีขนาดใหญ่ขึ้น เกิดการยืดยาว และมีลักษณะโค้งงอ ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าประสิทธิภาพของน้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. ในการยับยั้งการงอกของโคนิเดียและลดความยาวของ germ tube ของเชื้อราขึ้นอยู่กับปริมาณความเข้มข้นของสารเมตาบอไลท์ทุติยภูมิที่มีอยู่ในน้ำเลี้ยงเชื้อ

ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพของน้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. ในการยับยั้งการงอกของโคนิเดียเชื้อรา *Colletotrichum capsici* Col13

กรรมวิธี[1/] (อัตราส่วนของน้ำเลี้ยงเชื้อ:น้ำกลั่น)	***Colletotrichum capsici* Col13**		
	เปอร์เซ็นต์การงอก[2/]	**เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการงอก**[3/]	**ความยาว germ tube** (μm)[4/]
กรรมวิธีควบคุม	86.11 m[5/]	0.00	193.33 k
B. megaterium SBL5.7 (1:0)	6.11 a	92.91	10.00 a
B. megaterium SBL5.7 (1:1)	17.77 d	79.36	20.00 c
B. megaterium SBL5.7 (1:2)	21.66 e	74.85	26.67 cd
B. megaterium SBL5.7 (1:4)	23.33 f	72.91	33.33 de
B. megaterium SBL5.7 (1:8)	25.00 g	70.97	63.33 g
B. megaterium SBL5.7 (1:16)	28.33 i	67.10	80.00 h
B. megaterium SBL5.7 (1:32)	30.00 j	65.16	93.33 i
Bacillus sp. SPT41.1.3 (1:0)	7.77 b	90.97	10.00 a
Bacillus sp. SPT41.1.3 (1:1)	22.77 f	73.55	30.00 d
Bacillus sp. SPT41.1.3 (1:2)	25.00 g	70.97	50.00 f
Bacillus sp. SPT41.1.3 (1:4)	27.77 i	67.75	51.67 f
Bacillus sp. SPT41.1.3 (1:8)	28.33 i	67.10	66.67 g
Bacillus sp. SPT41.1.3 (1:16)	30.55 j	64.52	83.33 h
Bacillus sp. SPT41.1.3 (1:32)	32.77 k	61.94	96.67 i

ตารางที่ 3 (ต่อ)

ประสิทธิภาพของน้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. ในการยับยั้งการงอกของโคนิเดียเชื้อรา *Colletotrichum capsici* Col13

กรรมวิธี[1/] (อัตราส่วนของน้ำเลี้ยงเชื้อ:น้ำกลั่น)	***Colletotrichum capsici* Col13**		
	เปอร์เซ็นต์การงอก[2/]	**เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการงอก**[3/]	**ความยาว germ tube** (μm)[4/]
Bacillus spp. SBL5.7+ SPT41.1.3 (1:0)	10.00 c	88.39	10.00 a
Bacillus spp. SBL5.7+ SPT41.1.3 (1:1)	23.33 f	72.91	33.33 de
Bacillus spp. SBL5.7+ SPT41.1.3 (1:2)	26.66 h	69.04	40.00 e
Bacillus spp. SBL5.7+ SPT41.1.3 (1:4)	28.33 i	67.10	53.33 f
Bacillus spp. SBL5.7+ SPT41.1.3 (1:8)	32.77 k	61.94	80.00 h
Bacillus spp. SBL5.7+ SPT41.1.3 (1:16)	33.33 k	61.29	96.67 i
Bacillus spp. SBL5.7+ SPT41.1.3 (1:32)	35.00 l	59.35	116.67 j
คาร์เบนดาซิม (ความเข้มข้น 1,600 ppm)	5.55 a	93.55	15.00 ab

[1/]หยดน้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. ที่อัตราส่วน 1:0, 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 และ 1:32 คาร์เบนดาซิม และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ บนสไลด์หลุม และหยดโคนิเดียแขวนลอยเชื้อรา *Coll. capsici* COL13

[2/]เปอร์เซ็นต์การงอกของโคนิเดียเชื้อรา *Coll. capsici* COL13 หลังทดสอบ 24 ชั่วโมง

[3/]เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการงอกของโคนิเดียเชื้อรา *Coll. capsici* COL13 หลังทดสอบ 24 ชั่วโมง คำนวณจาก

$$\text{เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการงอกของโคนิเดีย} = 100 - \left(\frac{\text{เปอร์เซ็นต์การงอกในกรรมวิธีทดสอบ} \times 100}{\text{เปอร์เซ็นต์การงอกในกรรมวิธีควบคุม}} \right)$$

[4/]ความยาว germ tube ของโคนิเดียเชื้อรา *C. capsici* COL13

[5/]ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี Duncan’s Mutiple Range Test

4.2 การทดสอบการยับยั้งการงอกของโคนิเดียเชื้อรา *Cercospora capsici* Cer9

เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของน้ำเลี้ยงเชื้อ *B. megaterium* SBL5.7 และเชื้อ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 ที่อัตราส่วนของน้ำเลี้ยงเชื้อต่อน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเท่ากับ 1:0, 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 และ 1:32 ในการยับยั้งการงอกของโคนิเดียเชื้อรา *Cer. capsici* Cer9 บนสไลด์หลุม พบว่าในกรรมวิธีที่ใช้น้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. สามารถยับยั้งการงอกของโคนิเดียและลดความยาวของ germ tube ของเชื้อรา *Cer. capsici* Cer9 ได้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (ตารางที่ 4) โดยในกรรมวิธีที่ใช้น้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. ที่ไม่เจือจาง มีเปอร์เซ็นต์การงอกของโคนิเดียไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมที่ระดับความเข้มข้น 1,600 ppm แต่สามารถลดความยาวของ germ tube ได้มากกว่าสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม น้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. เมื่อเจือจางมากขึ้นถึงอัตราส่วน 1:32 ก็ยังสามารถยับยั้งการงอกของโคนิเดีย และลดความยาวของ germ tube โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

เมื่อทำการตรวจดูลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของโคนิเดียเชื้อรา *Cer. capsici* Cer9 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100 เท่า พบว่าน้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. ทั้ง 2 สายพันธุ์ ที่อัตราส่วนของน้ำเลี้ยงเชื้อเท่ากัน จะส่งผลต่อความผิดปกติของโคนิเดียเชื้อราในลักษณะที่คล้ายคลึงกัน เช่น โคนิเดียมีลักษณะบวมโต และความยาว germ tube ลดลง (ภาพที่ 18) ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าประสิทธิภาพของน้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. ในการยับยั้งการงอกของโคนิเดียและลดความยาวของ germ tube ของเชื้อรา *Cer. capsici* Cer9 ขึ้นอยู่กับปริมาณความเข้มข้นของสารเมตาบอไลท์ทุติยภูมิที่มีอยู่ในน้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp.

ตารางที่ 4 ประสิทธิภาพของน้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. ในการยับยั้งการงอกของโคนิเดียเชื้อรา *Cercospora capsici* Cer9

กรรมวิธี[1/] (อัตราส่วนของน้ำเลี้ยงเชื้อ:น้ำกลั่น)	***Cercospora capsici* Cer9**		
	เปอร์เซ็นต์การงอก[2/]	**เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการงอก**[3/]	**ความยาว germ tube** (μm)[4/]
กรรมวิธีควบคุม	98.33 r[5/]	0.00	570.00 o[4/]
B. megaterium SBL5.7 (1:0)	5.00 a	94.92	16.67 a
B. megaterium SBL5.7 (1:1)	7.77 b	92.09	50.00 b
B. megaterium SBL5.7 (1:2)	16.66 e	83.06	88.33 d
B. megaterium SBL5.7 (1:4)	27.77 h	71.75	136.67 e
B. megaterium SBL5.7 (1:8)	41.66 k	57.63	196.67 g
B. megaterium SBL5.7 (1:16)	70.55 n	28.25	263.33 i
B. megaterium SBL5.7 (1:32)	95.55 p	2.82	353.33 j
Bacillus sp. SPT41.1.3 (1:0)	5.55 a	94.35	16.67 a
Bacillus sp. SPT41.1.3 (1:1)	8.89 c	90.96	56.67 bc
Bacillus sp. SPT41.1.3 (1:2)	18.00 f	81.69	90.00 d
Bacillus sp. SPT41.1.3 (1:4)	31.66 i	67.80	146.67 ef
Bacillus sp. SPT41.1.3 (1:8)	48.66 l	50.51	206.67 g
Bacillus sp. SPT41.1.3 (1:16)	73.33 o	25.42	400.00 k
Bacillus sp. SPT41.1.3 (1:32)	96.66 q	1.70	500.00 m
Bacillus spp. SBL5.7+ SPT41.1.3 (1:0)	5.55 a	94.35	18.33 a
Bacillus spp. SBL5.7+ SPT41.1.3 (1:1)	10.00 d	89.83	63.33 c
Bacillus spp. SBL5.7+ SPT41.1.3 (1:2)	20.55 g	79.10	93.33 d
Bacillus spp. SBL5.7+ SPT41.1.3 (1:4)	38.33 j	61.02	156.67 f
Bacillus spp. SBL5.7+ SPT41.1.3 (1:8)	50.00 m	49.15	220.00 h
Bacillus spp. SBL5.7+ SPT41.1.3 (1:16)	73.89 o	24.86	416.67 l
Bacillus spp. SBL5.7+ SPT41.1.3 (1:32)	98.33 r	0.00	513.33 n
คาร์เบนดาซิม (ความเข้มข้น 1,600 ppm)	6.11 a	93.79	53.33 bc

ตารางที่ 4 (ต่อ)

[1/]หยดน้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. ที่อัตราส่วน 1:0, 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 และ 1:32 คาร์เบนดาซิม และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ บนสไลด์หลุม และหยดโคนิเดียแขวนลอยเชื้อรา *Cer. capsici* Cer9

[2/]เปอร์เซ็นต์การงอกของโคนิเดียเชื้อรา *Cer. capsici* Cer9 หลังทดสอบ 24 ชั่วโมง

[3/]เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการงอกของโคนิเดียเชื้อรา *Cer. capsici* Cer9 หลังทดสอบ 24 ชั่วโมง คำนวณจาก

$$\text{เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการงอกของโคนิเดีย} = 100 - \left(\frac{\text{เปอร์เซ็นต์การงอกในกรรมวิธีทดสอบ} \times 100}{\text{เปอร์เซ็นต์การงอกในกรรมวิธีควบคุม}} \right)$$

[4/]ความยาว germ tube ของโคนิเดียเชื้อรา *Cer. capsici* Cer9

[5/]ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี Duncan's Mutiple Range Test

5. ศึกษาการถ่ายโอนยีน *gfp* ลงใน *Bacillus sp.*

การทดลองครั้งนี้ใช้วิธีการติดตามประชากรของแบคทีปฏิปักษ์ที่พ่นลงบนต้นพริกที่ปลูกในกระถางและแปลงทดลอง ด้วยการทำให้แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ใช้ เกิดต้านทานสาร rifampicin แทนการใช้การติดตามด้วยยีนโปรตีนเรืองแสงสีเขียว (green fluorescent protein, *gfp*) เนื่องจากวิธีการทำให้แบคทีเรียเกิดการต้านทานสารปฏิชีวนะนั้นทำได้ง่ายและเสถียร เมื่อเพาะเลี้ยงต่อไปอีกหลายๆรุ่น และการติดตามก็ทำได้ง่ายโดยผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ก็สามารถคัดแยกโคโลนีของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ใช้ได้อย่างแม่นยำและถูกต้อง ขณะที่การใช้ยีน *gfp* จำเป็นต้องใช้เทคนิคทางอณูวิทยาซึ่งยุ่งยากกว่า และมีขั้นตอนที่ซับซ้อน รวมทั้งต้องใช้เวลาและเครื่องมือมากกว่า ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงได้เปลี่ยนแปลงวิธีการทดลองเฉพาะในเรื่องดังกล่าวนี้

5.1 การคัดเลือกเชื้อ *Bacillus* spp. ที่ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin

จากเชื้อ *B. megaterium* SBL5.7 และเชื้อ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 ที่คัดเลือกไว้ นำมาศึกษาความสามารถในการต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin (ประจวบ บุตรศาสตร์และคณะ, 2548) เพื่อใช้ในการติดตามประชากรเชื้อ *Bacillus* spp. ที่มีชีวิตรอดบนใบพริก ผลพริก และดินปลูกพริก โดยเลี้ยงเชื้อ *B. megaterium* SBL5.7 และเชื้อ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 บนอาหาร NGA บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ย้ายเชื้อ *Bacillus* spp. ลงบนอาหาร NGA ซึ่งผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ระดับความเข้มข้น 5, 10, 15, 20, 25, 30, …, 100 ppm บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำโคโลนีที่เจริญได้ย้ายลงบนอาหาร NGA ซึ่งผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้น จนถึงระดับความเข้มข้น 100 ppm เปรียบเทียบลักษณะ

สัณฐานวิทยาของเชื้อ *Bacillus* spp. ที่ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm กับเชื้อ *Bacillus* spp. สายพันธุ์เดิม และทำการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *S. rolfsii* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยวิธี dual culture plate พบว่าเชื้อ *Bacillus* spp. ทั้งสองสายพันธุ์ซึ่งต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin 100 ppm มีลักษณะสัณฐานวิทยาเหมือนกับเชื้อ *Bacillus* spp. สายพันธุ์เดิม และเมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพในการ ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *S. rolfsii* S7 บนอาหาร PDA โดยวิธี dual culture plate พบว่า เชื้อ *Bacillus* spp. ทั้งสองสายพันธุ์ที่ผ่านการพัฒนาให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin 100 ppm มีเปอร์เซ็นต์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *S. rolfsii* S7 เท่ากับเชื้อ *Bacillus* spp. สายพันธุ์ที่ไม่ได้ผ่านการพัฒนาให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin

6. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนส โรคใบจุดเซอร์คอสปอรา และโรครากและโคนเน่าของพริก ในสภาพเรือนกระจก

6.1 การเตรียมพืช

จากการเตรียมต้นพริกเพื่อใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนส โรคใบจุดเซอร์คอสปอรา และโรครากและโคนเน่าของพริก ในสภาพเรือนกระจก พบว่า 1 เดือนหลังจากย้ายปลูก ต้นพริกแสดงอาการผิดปกติ เช่น ต้นแคระแกร็น ใบสีเขียวเข้ม หนากว่าปกติ ดังนั้นจึงไม่ทำการทดลองในสภาพเรือนกระจก และดำเนินการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนส โรคใบจุดเซอร์คอสปอรา และโรครากและโคนเน่าของพริกในสภาพแปลงทดลองต่อไป

7. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนส โรคใบจุดเซอร์คอสปอรา และโรครากและโคนเน่าของพริกในสภาพแปลงทดลอง และติดตามประชากร *Bacillus* spp. ที่มีชีวิตรอดบนใบ ผล และในดินปลูกพริก

7.1 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริก

ในการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกเปรียบเทียบกับสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม โดยทำการฉีดพ่นต้นพริก อายุ 2 เดือน ด้วยแบคทีเรียแขวนลอย *B. megaterium* SBL5.7 *Bacillus* sp. SPT41.1.3 ที่ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin คาร์เบนดาซิม และน้ำกลั่น ทุก 7 วัน ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 2 เดือน เมื่อทำการประเมินระดับความรุนแรงการเกิดโรคด้วยวิธี descriptive area กับผลพริกทั้งต้น พบว่าการฉีด

พ่นต้นพริกด้วยแบคทีเรียแขวนลอย และคาร์เบนดาซิม สามารถลดการเกิดโรคแอนแทรคโนสในสภาพแปลงทดลองได้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่น โดยในกรรมวิธีที่ฉีดพ่นด้วยเชื้อ *B. megaterium* SBL5.7 มีดัชนีการเกิดโรคแอนแทรคโนสไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมที่ระดับความเข้มข้น 1,600 ppm (ตารางที่ 4) ดังนั้นเชื้อ *B. megaterium* SBL5.7 จึงมีประสิทธิภาพในการลดการเกิดโรคใกล้เคียงกับกรรมวิธีที่ฉีดพ่นด้วยสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม ในกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียแขวนลอย *B. megaterium* SBL5.7 ผสมกับ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 มีประสิทธิภาพในการลดการเกิดโรคแอนแทรคโนสในสภาพแปลงทดลองน้อยกว่าการใช้เชื้อ *B. megaterium* SBL5.7 หรือ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 เพียงอย่างเดียว

7.2 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของพริก

ในการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของพริกเปรียบเทียบกับการใช้สารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม โดยทำการทดลองเช่นเดียวกับการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริก จากผลการทดลองพบว่าการฉีดพ่นต้นพริกด้วยแบคทีเรียแขวนลอย และคาร์เบนดาซิม สามารถลดการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอราในสภาพแปลงทดลองได้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับควบคุมที่ฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่น (ตารางที่ 5) โดยในกรรมวิธีที่ฉีดพ่นด้วยเชื้อ *B. megaterium* SBL5.7 และ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 มีดัชนีการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอราไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมที่ระดับความเข้มข้น 1,600 ppm

ตารางที่ 5 ประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus megaterium* SBL5.7 และ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 เปรียบเทียบกับสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมในการควบคุมการเกิดโรคแอนแทรคโนส และโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของพริกในสภาพแปลงทดลอง

กรรมวิธี[1/]	ดัชนีการเกิดโรค[2/]		เปอร์เซ็นต์ลดการเกิดโรค[3/]		ผลผลิต (กิโลกรัมต่อไร่)
	แอนแทรคโนส	ใบจุดเซอร์คอสปอรา	แอนแทรคโนส	ใบจุดเซอร์คอสปอรา	
น้ำกลั่น	87.50 c[4/]	65.00 c	0.00	0.00	304.91 d
B. megaterium SBL5.7	56.25 ab	40.00 ab	35.71	38.46	415.97 a
Bacillus sp. SPT41.1.3	58.75 b	38.75 ab	32.86	40.38	390.71 b
Bacillus spp. SBL5.7 ผสม SPT41.1.3	61.25 b	42.50 b	30.00	34.62	380.26 c
คาร์เบนดาซิม	50.00 a	36.25 a	42.86	44.23	418.90 a

[1/] ฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่น เชื้อ *Bacillus* spp. และคาร์เบนดาซิม ทุก 7 วัน เป็นเวลา 2 เดือน

[2/] ดัชนีการเกิดโรค $= \left(\frac{\text{ผลรวมการเป็นโรคแต่ละระดับ} \times 100}{\text{จำนวนต้น} \times \text{ระดับการเกิดโรคสูงสุด}} \right)$

[3/] เปอร์เซ็นต์ลดการเกิดโรค $= 100 - \left(\frac{\text{ความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีทดสอบ} \times 100}{\text{ความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีควบคุม}} \right)$

[4/]ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ต้น ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี Duncan's Mutiple Range Test

7.3 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรครากและโคนเน่าของพริก

ในการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรครากและโคนเน่าของพริกเปรียบเทียบกับสารกำจัดเชื้อราคาร์บอกซิน เมื่อราดดินบริเวณโคนต้นพริก อายุ 2 เดือน ด้วยแบคทีเรียแขวนลอย คาร์บอกซิน ทุก 7 วัน ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 2 เดือน และปลูกเชื้อสาเหตุโรคด้วยเส้นใยเชื้อรา *S. rolfsii* S7 อัตราส่วน 15 กรัมต่อต้น เมื่อทำการประเมินระดับความรุนแรงของโรครากและโคนเน่าของพริกโดยนับจำนวนต้นที่รอดตายและเม็ดสเคลอโรเทียม และทดสอบการมีชีวิตของเม็ดสเคลอโรเทียมบนอาหาร PDA พบว่าในกรรมวิธีที่ราดดินด้วยแบคทีเรียแขวนลอย *B. megaterium* SBL5.7, *Bacillus* sp. SPT41.1.3, *B. megaterium* SBL5.7 ผสมกับ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 และคาร์บอกซิน สามารถลดการเกิดโรครากและโคนเน่าของพริกได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 6) และทุกกรรมวิธีลดการเกิดโรคได้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับควบคุมที่ราดดินด้วยน้ำกลั่น (ภาพที่ 2)

ปริมาณผลผลิตพริกในกรรมวิธีที่ราดดินบริเวณโคนต้นพริกด้วยแบคทีเรียแขวนลอย แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ราดดินด้วยน้ำกลั่น และกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดเชื้อราคาร์บอกซิน (ตารางที่ 6) เนื่องจากในกรรมวิธีที่ราดดินด้วยคาร์บอกซิน ทุก 7 วัน ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 2 เดือน ต้นพริกแสดงอาการ phytotoxic เช่น ขอบใบมีสีเหลือง ปลายใบไหม้ และต้นแคระแกร็น

ตารางที่ 6 ประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus megaterium* SBL5.7 และ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 เปรียบเทียบกับสารกำจัดเชื้อราคาร์บอกซินในการควบคุมโรครากและโคนเน่าของพริกในสภาพแปลงทดลอง

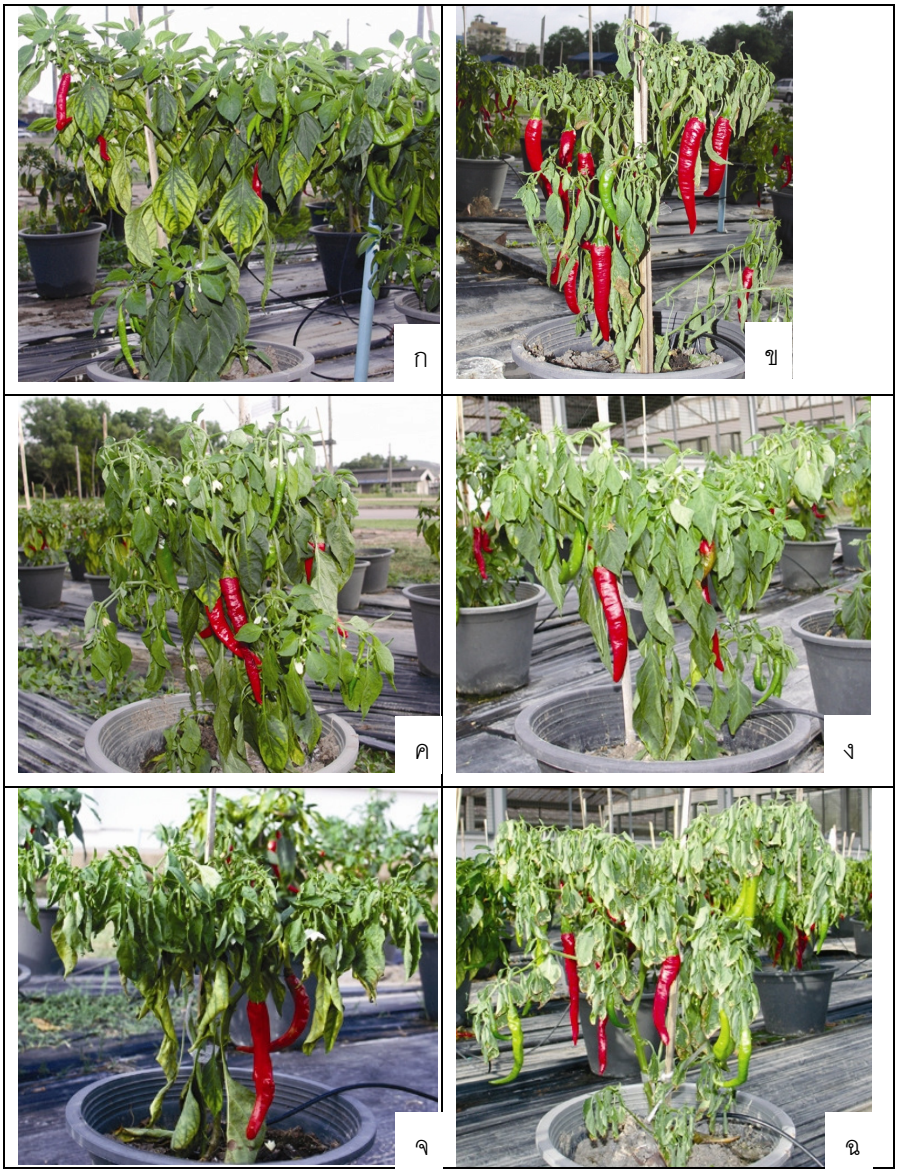
กรรมวิธี[1/]	**ดัชนีการเกิดโรค**[2/]	**เปอร์เซ็นต์ลดการเกิดโรค**[3/]	**ผลผลิต (กิโลกรัมต่อไร่)**
น้ำกลั่น	61.25 b[4/]	0.00	303.89 c
B. megaterium SBL5.7	43.75 a	28.57	374.78 a
Bacillus sp. SPT41.1.3	42.50 a	30.61	384.55 a
Bacillus spp. SBL5.7+SPT41.1.3	45.00 a	26.53	343.73 b
คาร์บอกซิน	40.00 a	34.69	260.29 d

[1/] ราดดินด้วยน้ำกลั่น เชื้อ *Bacillus* spp. และคาร์บอกซิน ทุก 7 วัน เป็นเวลา 2 เดือน และปลูกเชื้อ *S. rolfsii* Scl 7

[2/]ดัชนีการเกิดโรครากและโคนเน่าของพริก

[3/]เปอร์เซ็นต์ลดการเกิดโรครากและโคนเน่าของพริก

[4/]ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ต้น ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี Duncan's Mutiple Range Test



ภาพที่ 2 ประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* spp. ในการลดการเกิดโรครากและโคนเน่าของพริก อายุ 4 เดือน

(ก) ต้นพริกปกติ

(ข) กรรมวิธีควบคุม (ราดดินด้วยน้ำกลั่น)

(ค) ราดดินด้วยเชื้อ *B. megaterium* SBL5.7

(ง) ราดดินด้วยเชื้อ *Bacillus* sp. SPT41.1.3

(จ) ราดดินด้วยเชื้อ *B. megaterium* SBL5.7 ผสม *Bacillus* sp. SPT41.1.3

(ฉ) ราดดินด้วยคาร์บอกซิน ที่ระดับความเข้มข้น 375 ppm

เมื่อนับจำนวนเม็ดสเคลอโรเทียมที่เชื้อรา *S. rolfsii* Scl 7 สร้างขึ้นบริเวณโคนต้นพริก พบว่า ในกรรมวิธีที่ราดดินบริเวณโคนต้นพริกด้วยแบคทีเรียแขวนลอย *Bacillus* spp. มีจำนวนเม็ดสเคลอโรเทียมบริเวณโคนต้นพริกแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ราดดินด้วยน้ำกลั่น (ตารางที่ 7) โดยในกรรมวิธีที่ราดดินด้วยเชื้อ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ราดดินด้วยสารกำจัดเชื้อราคาร์บอกซิน และเมื่อทำการทดสอบการมีชีวิตของเม็ดสเคลอโรเทียมดังกล่าวบนอาหาร PDA พบว่าทุกกรรมวิธีมีเปอร์เซ็นต์การงอกของเม็ดสเคลอโรเทียมเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์

การควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อราของพริกโดยใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. เพื่อให้มีประสิทธิภาพจำเป็นต้องมีองค์ประกอบหลายประการ เช่น เชื้อ *Bacillus* spp. ต้องมีความสามารถในการสร้างสารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิและเอนไซม์ เพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพริก สามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว และมีความสามารถในการครอบครองพื้นที่และอาหาร บริเวณรอบ ๆ รากพืชได้ดี รวมทั้งการจัดการสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus* sp. และการปรับให้เป็นสภาพให้ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคของพริก (Weller and Cook, 1983)

ดังนั้นในงานวิจัยนี้สามารถนำเชื้อ *B. megaterium* SBL5.7 และ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 ที่แยกได้จากดินบริเวณรอบ ๆ โคนต้นพริกมาใช้ร่วมกับวิธีอื่น ๆ ในการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อราของพริก เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมโรค และลดการใช้สารเคมีกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคพืช

ตารางที่ 7 ประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus megaterium* SBL5.7 และ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 เปรียบเทียบกับสารกำจัดเชื้อราคาร์บอกซินในการยับยั้งการสร้างและการงอกของเม็ดสเคลอโรเทียม

กรรมวิธี[1/]	**จำนวนเม็ดสเคลอโรเทียม**[2/] **(เม็ดต่อต้น)**	**เปอร์เซ็นต์การงอก**[3/]
น้ำกลั่น	269.25 d[4/]	100.00
B. megaterium SBL5.7	85.25 b	100.00
Bacillus sp. SPT41.1.3	72.00 a	100.00
Bacillus spp. SBL5.7+SPT41.1.3	108.25 c	100.00
คาร์บอกซิน	66.50 a	100.00

ตารางที่ 7 (ต่อ)

[1/] ราดดินด้วยน้ำกลั่น เชื้อ *Bacillus* spp. และคาร์บอกซิน ทุก 7 วัน เป็นเวลา 2 เดือน และปลูกเชื้อ *S. rolfsii* Scl 7

[2/] จำนวนเม็ดสเคลอโรเทียมบริเวณโคนต้นพริกหลังราดดินด้วยน้ำกลั่น เชื้อ *Bacillus* spp. และคาร์บอกซิน

[3/] เปอร์เซ็นต์การงอกของเม็ดสเคลอโรเทียมบนอาหาร PDA

[4/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี Duncan's Mutiple Range Test

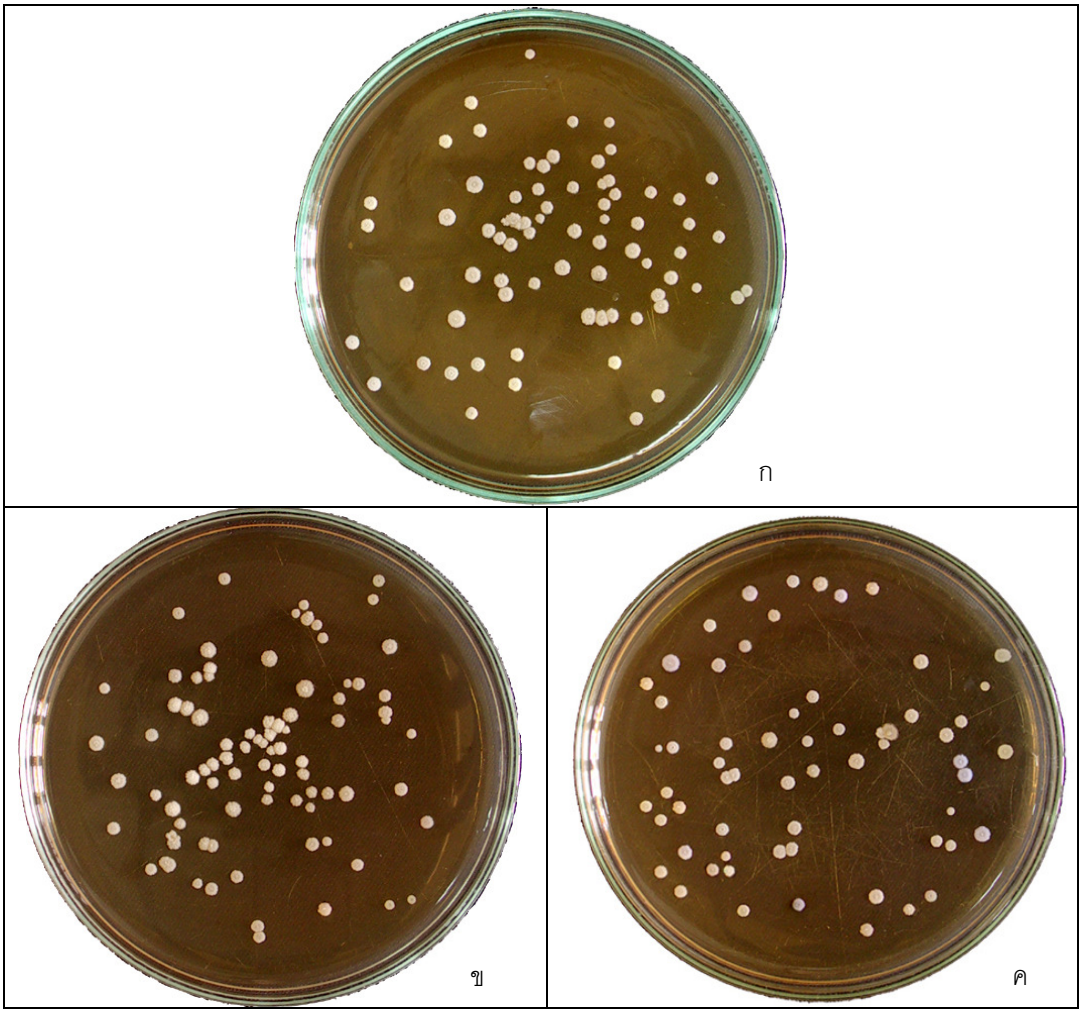
7.4 การติดตามประชากรเชื้อ *Bacillus* spp. ที่มีชีวิตรอดบนใบพริก ผลพริก และดิน

7.4.1 จำนวนประชากรเชื้อ *Bacillus* spp. ที่มีชีวิตรอดบนใบพริกพริก

เมื่อทำการติดตามประชากรเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. megaterium* SBL5.7 และ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 ที่มีชีวิตรอดหลังการฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียแขวนลอย *Bacillus* spp. ที่ระดับความเข้มข้น 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ทุก 7 วัน เป็นเวลา 2 เดือน โดยนำตัวอย่างใบพริกจากการทดลองมาตรวจนับจำนวนประชากรเชื้อ *Bacillus* spp. ด้วยวิธี dilution spread plate บนอาหาร NGA ที่ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm พบว่าจำนวนประชากรเชื้อ *Bacillus* spp. ในทุกกรรมวิธีมีจำนวนประชากรเชื้อ *Bacillus* spp. ใกล้เคียงกันหลังฉีดพ่นแบคทีเรียแขวนลอยจำนวน 8 ครั้ง ดังตารางที่ 7 และ ภาพที่ 2 เมื่อนับจำนวนประชากรเชื้อ *Bacillus* spp. ที่มีชีวิตรอดบนใบพริก พบว่าการฉีดพ่นเชื้อ *Bacillus* spp. ในครั้งที่ 8 ประชากรเชื้อ *B. megaterium* SBL5.7 สามารถมีชีวิตอยู่บนใบพริกสูงสุด เท่ากับ 8.50×10^4 cfu/ml (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 จำนวนประชากรเชื้อ *Bacillus megaterium* SBL5.7 และ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 ที่มีชีวิตอยู่รอดบนใบพริก หลังฉีดพ่นเชื้อ *Bacillus* spp. ทุก 7 วัน เป็นระยะเวลา 2 เดือน

สายพันธุ์เชื้อ *Bacillus* spp.	**จำนวนประชากรเชื้อ *Bacillus* spp.** ($x10^4$ cfu/ml)							
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**
SBL5.7	0.05	0.32	0.82	2.80	3.60	5.40	6.90	8.40
SPT41.1.3	0.04	0.34	0.69	2.50	3.30	4.50	6.80	7.10
SBL5.7+SPT41.1.3	0.03	0.30	0.55	1.90	3.10	4.30	6.10	6.20



ภาพที่ 3 จำนวนเชื้อ *Bacillus* spp. ที่มีชีวิตรอดบนใบพริก ตรวจนับด้วยวิธี dilution spread plate บนอาหาร NGA ที่ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin 100 ppm

(ก) เชื้อ *B. megaterium* SBL5.7 (8.40×10^4 cfu/ml)

(ข) เชื้อ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 (7.10×10^4 cfu/ml)

(ค) เชื้อ *B. megaterium* SBL5.7 ผสม *Bacillus* sp. SPT41.1.3 (6.20×10^4 cfu/ml)

7.4.2 จำนวนประชากรเชื้อ *Bacillus* spp. ที่มีชีวิตรอดบนผลพริก

ทำการติดตามจำนวนประชากรเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. megaterium* SBL5.7 และ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 ที่มีชีวิตรอดบนผลพริก เริ่มทำการติดตามในสัปดาห์ที่ 4 หลังฉีดพ่น เนื่องจากเป็นช่วงเวลาที่ต้นพริกเริ่มให้ผลผลิต โดยนำตัวอย่างผลพริกจากการทดลองมาทำการตรวจนับจำนวนประชากรเชื้อ *Bacillus* spp. ด้วยวิธี dilution spread plate บนอาหาร NGA ที่ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm ตรวจนับทุก 7 วัน เป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่าประชากรเชื้อ *Bacillus* spp. ในทุกกรรมวิธีสามารถมีชีวิตรอดบนผลพริกเพิ่มขึ้นในทุกสัปดาห์ และมีจำนวนใกล้เคียงกันหลังฉีดพ่นแบคทีเรียแขวนลอยจำนวน 8 ครั้ง ดังตารางที่ 8 สอดคล้องกับการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอราที่มีจำนวนประชากรเชื้อ *Bacillus* spp. ใกล้เคียงกันหลังฉีดพ่นเชื้อจำนวน 8 ครั้ง โดยเฉพาะเชื้อ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 สามารถมีชีวิตรอดอยู่บนผลพริกสูงสุดในสัปดาห์ที่ 8 หลังฉีดพ่น เท่ากับ $0.036x10^4$ cfu/ml (ตารางที่ 9) ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าเชื้อ *Bacillus* spp. สามารถเจริญอยู่บนผิวผลได้น้อยกว่าบนผิวใบพริก

ตารางที่ 9 จำนวนประชากรเชื้อ *Bacillus megaterium* SBL5.7 และ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 ที่มีชีวิตอยู่รอดบนผลพริก หลังฉีดพ่นเชื้อ *Bacillus* spp. ทุก 7 วัน เป็นระยะเวลา 2 เดือน

สายพันธุ์เชื้อ *Bacillus* spp.	**จำนวนประชากรเชื้อ *Bacillus* spp.** ($x10^4$ cfu/ml)							
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**
SBL5.7	-	-	-	0.030	0.034	0.033	0.036	0.035
SPT41.1.3	-	-	-	0.032	0.037	0.035	0.038	0.036
SBL5.7+SPT41.1.3	-	-	-	0.030	0.033	0.032	0.035	0.033

7.4.3 จำนวนประชากรเชื้อ *Bacillus* spp. ที่มีชีวิตรอดในดินรอบ ๆ โคนต้นพริก

เมื่อทำการติดตามประชากรเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. megaterium* SBL5.7 และ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 ที่มีชีวิตรอดหลังการราดดินบริเวณโคนต้นพริกด้วยแบคทีเรียแขวนลอย *Bacillus* spp. ทุก 7 วัน เป็นเวลา 2 เดือน โดยนำตัวอย่างดินจากการทดลองมาตรวจนับจำนวนประชากรเชื้อ *Bacillus* spp. ด้วยวิธี dilution spread plate บนอาหาร NGA ที่ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm พบว่าจำนวนประชากรเชื้อ *Bacillus* spp. ในทุกกรรมวิธีมี

จำนวนใกล้เคียงกันหลังฉีดพ่นแบคทีเรียแขวนลอยจำนวน 8 ครั้ง และเชื้อ *B. megaterium* SBL5.7 สามารถมีชีวิตอยู่ในดินรอบ ๆ โคนต้นพริกสูงสุด เท่ากับ $3.20x10^5$ cfu/ml ดังตารางที่ 10 สอดคล้องกับการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของพริก เมื่อเปรียบเทียบความสามารถของเชื้อ *B. megaterium* SBL5.7 และเชื้อ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 ในการปรับตัวให้มีชีวิตรอดในสภาพแปลงปลูก พบว่าเชื้อ *Bacillus* spp. ทั้งสองสายพันธุ์ สามารถปรับตัวให้มีชีวิตอยู่รอดในดินบริเวณรอบ ๆ โคนต้นพริกได้ดีกว่าการอาศัยอยู่บนใบพริก หรือผลพริก เนื่องจากในดินมีแหล่งอาหาร และเป็นสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต

ตารางที่ 10 จำนวนประชากรเชื้อ *Bacillus megaterium* SBL5.7 และ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 ที่มีชีวิตอยู่รอดในดินบริเวณรอบ ๆ โคนต้นพริก หลังราดดินด้วยเชื้อ *Bacillus* spp. ทุก 7 วัน เป็นระยะเวลา 2 เดือน

สายพันธุ์เชื้อ *Bacillus* spp.	**จำนวนประชากรเชื้อ *Bacillus* spp.** ($x10^4$ cfu/ml)							
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**
SBL5.7	8.10	9.60	16.10	24.70	25.10	26.10	27.30	32.00
SPT41.1.3	7.40	8.90	17.30	22.40	23.00	24.20	25.10	29.10
SBL5.7+SPT41.1.3	7.10	8.70	16.00	19.90	21.20	23.10	23.50	23.70

8. การประเมินประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ร่วมในกิจกรรมของเกษตรอินทรีย์

เมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพของสูตรตำรับเชื้อ *B. megaterium* SBL5.7 ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนส โรคใบจุดเซอร์คอสปอราของพริก ซึ่งเข้าทำลายพืชตามธรรมชาติ เปรียบเทียบกับวิธีการควบคุมโรคของเกษตรกร โดยทำการฉีดพ่นพริก อายุ 45 วันหลังปลูกด้วยสูตรตำรับเชื้อ *B. megaterium* SBL5.7 อัตรา 8 ช้อนโต๊ะ/น้ำ 20 ลิตร ปริมาตร 200 มิลลิลิตรต่อต้น ฉีดพ่นทุก 14 วัน เป็นเวลา 6 เดือน ทำการประเมินระดับความรุนแรงในการเกิดโรค พบว่าในแต่ละพื้นที่จะมีผลการประเมินที่แตกต่างกัน ดังนี้

ก. ตำบลทุ่งหมอ อำเภอสะเดา จังหวัดสงขลา

จากการประเมินระดับความรุนแรงการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของ พันธุ์พริกของเกษตรกร (พันธุ์ Red Eagle) และพันธุ์พริกที่ได้รับการคัดเลือกจากโครงการวิจัย (พันธุ์ Super Hot) พบว่า กรรมวิธีที่ใช้วิธีการของวิธีการของเกษตรกร มีระดับการเกิดโรคโดยเฉลี่ยสูงกว่ากรรมวิธีที่ใช้วิธีการของโครงการวิจัยแต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยพันธุ์พริกของเกษตรกร มีระดับการเกิดโรคเฉลี่ยของทั้ง 2 กรรมวิธีเท่ากับ 0.55±0.12 และ 0.32±0.06 ตามลำดับ (ตารางที่ 11) และพันธุ์พริกที่ได้รับการคัดเลือกจากโครงการวิจัย มีระดับการเกิดโรคโดยเฉลี่ยของทั้ง 2 กรรมวิธีเท่ากับ 0.32±0.04 และ 0.22±0.09 ตามลำดับ (ตารางที่ 12) และเมื่อวิเคราะห์ถึงดัชนีการเกิดโรคโดยเฉลี่ยของพริกทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่าไม่แตกต่างกันในทุกกรรมวิธีเช่นกัน (ตารางที่ 13 และ ตารางที่ 14)

ส่วนการประเมินระดับความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสของพันธุ์พริกของเกษตรกร (พันธุ์ Red Eagle) และพันธุ์พริกที่ได้รับการคัดเลือกจากโครงการวิจัย (พันธุ์ Super Hot) พบว่า ทั้งกรรมวิธีที่ใช้วิธีการของวิธีการของและกรรมวิธีที่ใช้วิธีการของโครงการวิจัยมีระดับการเกิดโรคโดยเฉลี่ยที่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยพันธุ์พริกของเกษตรกรมีระดับการเกิดโรคโดยเฉลี่ยของทั้ง 2 กรรมวิธี เท่ากับ 0.015±0.015 และ 0.00±0.00 ตามลำดับ (ตารางที่ 15) และพันธุ์พริกที่ได้รับการคัดเลือกจากโครงการวิจัย มีระดับการเกิดโรคโดยเฉลี่ยของทั้ง 2 กรรมวิธีเท่ากับ 0.005±0.005 และ 0.015±0.009 ตามลำดับ (ตารางที่ 16) และเมื่อวิเคราะห์ถึงดัชนีการเกิดโรคโดยเฉลี่ยของพริกทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่าไม่แตกต่างกันในทุกกรรมวิธีเช่นกัน (ตารางที่ 17 และ ตารางที่ 18) แสดงว่า ทั้งกรรมวิธีของโครงการวิจัยที่ใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรค และกรรมวิธีของเกษตรกรที่ใช้น้ำหมักในการควบคุมโรค สามารถควบคุมโรคใบจุดเซอร์คอสปอราและโรคแอนแทรคโนสได้ไม่แตกต่างกัน

ตารางที่ 11 ระดับการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของพันธุ์พริกของเกษตรกรที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลทุ่งหมอ อำเภอสะเดา จังหวัดสงขลา (ระดับความรุนแรงการเกิดโรค ± SEM)

กรรมวิธี	ระดับการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอรา				เฉลี่ย
	1	2	3	4	
FF	0.31±0.10	0.53±0.08	0.47±0.07	0.89±0.10	0.55±0.12
FP	0.43±0.05	0.16±0.05	0.35±0.05	0.34±0.05	0.32±0.06
T-Test	ns	*	ns	*	ns

หมายเหตุ FF = พันธุ์พริกของเกษตรกร (พันธุ์ Red Eagle) + วิธีการของเกษตรกร

FP = พันธุ์พริกของเกษตรกร (พันธุ์ Red Eagle) + วิธีการของโครงการวิจัย

ระดับความรุนแรงการเกิดโรค = (0: ไม่แสดงอาการโรค, 1: แสดงอาการโรค 1-25 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น , 2: แสดงอาการโรค 26-50 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น, 3: แสดงอาการโรค 50-75 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น ,
4: แสดงอาการโรค 76-100 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น)

* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

SEM = Standard Error of Mean

ตารางที่ 12 ระดับเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของพันธุ์พริกของโครงการวิจัยที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลทุ่งหมอ อำเภอสะเดา จังหวัดสงขลา (ระดับความรุนแรงการเกิดโรค ± SEM)

กรรมวิธี	ระดับการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอรา				เฉลี่ย
	1	2	3	4	
PF	0.36±0.03	0.29±0.05	0.38±0.06	0.22±0.03	0.32±0.04
PP	0.63±0.18	0.04±0.01	0.15±0.04	0.19±0.07	0.22±0.09
T-Test	ns	*	*	ns	ns

หมายเหตุ PF = พันธุ์พริกที่ได้รับการคัดเลือกจากโครงการวิจัย (พันธุ์ Super Hot) + วิธีการของเกษตรกร

PP = พันธุ์พริกที่ได้รับการคัดเลือกจากโครงการวิจัย (พันธุ์ Super Hot) + วิธีการของโครงการวิจัย

ระดับความรุนแรงการเกิดโรค = (0: ไม่แสดงอาการโรค, 1: แสดงอาการโรค 1-25 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น , 2: แสดงอาการโรค 26-50 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น, 3: แสดงอาการโรค 50-75 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น , 4: แสดงอาการโรค 76-100 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น)

* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p< 0.05$)

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

SEM = Standard Error of Mean

ตารางที่ 13 **ดัชนีการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของพันธุ์พริกของเกษตรกรที่ใช้วิธีการต่างกัน** ตำบลทุ่งหมอ อำเภอสะเดา จังหวัดสงขลา (ดัชนีการเกิดโรค ± SEM)

กรรมวิธี	ดัชนีการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอรา[1/]				เฉลี่ย
	1	2	3	4	
FF	8.10±2.61	13.30±2.12	11.80±1.92	22.30±2.54	13.85±3.02
FP	10.90±1.40		8.80±1.38		8.10±1.43
		4.10±1.25		8.60±1.29	
T-Test	ns	*	ns	*	ns

หมายเหตุ FF = พันธุ์พริกของเกษตรกร (**พันธุ์** Red Eagle) + วิธีการของเกษตรกร

FP = พันธุ์พริกที่เกษตรกรเก็บด้วยตนเอง + วิธีการของโครงการวิจัย

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค} = \left(\frac{\text{ผลรวมการเป็นโรคแต่ละระดับ} \times 100}{\text{จำนวนต้น} \times \text{ระดับการเป็นโรคสูงสุด}} \right)$$

* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

SEM = Standard Error of Mean

ตารางที่ 14 ดัชนีการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของพันธุ์พริกของโครงการวิจัยที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลทุ่งหมอ อำเภอสะเดา จังหวัดสงขลา (ดัชนีการเกิดโรค ± SEM)

กรรมวิธี	ดัชนีการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอรา				เฉลี่ย
	1	2	3	4	
PF	9.10±0.84	7.40±1.40	9.20±1.56	5.50±0.83	7.80±0.87
PP	10.90±1.40	1.20±0.05	3.90±1.17	4.90±0.18	5.55±2.35
T-Test	ns	*	*	ns	ns

หมายเหตุ PF = พันธุ์พริกที่ได้รับการคัดเลือกจากโครงการวิจัย (พันธุ์ Super Hot) + วิธีการของเกษตรกร

PP = พันธุ์พริกที่ได้รับการคัดเลือกจากโครงการวิจัย (พันธุ์ Super Hot) + วิธีการของโครงการวิจัย

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค} = \left(\frac{\text{ผลรวมการเป็นโรคแต่ละระดับ} \times 100}{\text{จำนวนต้น} \times \text{ระดับการเป็นโรคสูงสุด}} \right)$$

* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

SEM = Standard Error of Mean

ตารางที่ 15 ระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสของพันธุ์พริกของเกษตรกรที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลทุ่งหมอ อำเภอสะเดา จังหวัดสงขลา (ระดับความรุนแรงการเกิดโรค ± SEM)

กรรมวิธี	ระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนส				เฉลี่ย
	1	2	3	4	
FF	0.06±0.04	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.015±0.015
FP	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
T-Test	ns	ns	ns	ns	ns

หมายเหตุ FF = พันธุ์พริกของเกษตรกร (พันธุ์ Red Eagle) + วิธีการของเกษตรกร

FP = พันธุ์พริกที่เกษตรกรเก็บด้วยตนเอง + วิธีการของโครงการวิจัย

ระดับความรุนแรงการเกิดโรค = (0: ไม่แสดงอาการโรค, 1: แสดงอาการโรค 1-25 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น , 2: แสดงอาการโรค 26-50 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น, 3: แสดงอาการโรค 50-75 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น ,
4: แสดงอาการโรค 76-100 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น)

* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p< 0.05$)

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

SEM = Standard Error of Mean

ตารางที่ 16 ระดับเกิดโรคแอนแทรคโนสของพันธุ์พริกของโครงการวิจัยที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลทุ่งหมอ อำเภอสะเดา จังหวัดสงขลา (ระดับความรุนแรงการเกิดโรค ± SEM)

กรรมวิธี	ระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนส				เฉลี่ย
	1	2	3	4	
PF	0.02±0.02	0.04±0.02	0.00±0.00	0.00±0.00	0.005±0.005
PP	0.02±0.02	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.015±0.009
T-Test	ns	ns	ns	ns	ns

หมายเหตุ PF = พันธุ์พริกที่ได้รับการคัดเลือกจากโครงการวิจัย (พันธุ์ Super Hot) + วิธีการของเกษตรกร

PP = พันธุ์พริกที่ได้รับการคัดเลือกจากโครงการวิจัย (พันธุ์ Super Hot) +วิธีการของโครงการวิจัย

ระดับความรุนแรงการเกิดโรค = (0: ไม่แสดงอาการโรค, 1: แสดงอาการโรค 1-25 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น , 2: แสดงอาการโรค 26-50 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น, 3: แสดงอาการโรค 50-75 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น ,
4: แสดงอาการโรค 76-100 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น)

* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p< 0.05$)

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

SEM = Standard Error of Mean

ตารางที่ 17 ดัชนีการเกิดโรคแอนแทรคโนสของพันธุ์พริกของเกษตรกรที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลทุ่งหมอ อำเภอสะเดา จังหวัดสงขลา (ดัชนีการเกิดโรค ± SEM)

กรรมวิธี	ดัชนีการเกิดโรคแอนแทรคโนส				เฉลี่ย
	1	2	3	4	
FF	1.50±0.50	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.37±0.37
FP	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
T-Test	ns	ns	ns	ns	ns

หมายเหตุ FF = พันธุ์พริกของเกษตรกร (พันธุ์ Red Eagle) + วิธีการของเกษตรกร

FP = พันธุ์พริกที่เกษตรกรเก็บด้วยตนเอง + วิธีการของโครงการวิจัย

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค} = \left(\frac{\text{ผลรวมการเป็นโรคแต่ละระดับ} \times 100}{\text{จำนวนต้น} \times \text{ระดับการเป็นโรคสูงสุด}} \right)$$

* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

SEM = Standard Error of Mean

ตารางที่ 18 ดัชนีการเกิดโรคแอนแทรคโนส ของพันธุ์พริกของโครงการวิจัยที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลทุ่งหมอ อำเภอสะเดา จังหวัดสงขลา (ดัชนีการเกิดโรค ± SEM)

กรรมวิธี	ดัชนีการเกิดโรคแอนแทรคโนส				เฉลี่ย
	1	2	3	4	
PF	0.50±0.50	1.00±0.61	0.00±0.00	0.00±0.00	0.37±0.23
PP	0.50±0.50	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.12±0.12
T-Test	ns	ns	ns	ns	ns

หมายเหตุ PF = พันธุ์พริกที่ได้รับการคัดเลือกจากโครงการวิจัย (พันธุ์ Super Hot) + วิธีการของเกษตรกร

PP = พันธุ์พริกที่ได้รับการคัดเลือกจากโครงการวิจัย (พันธุ์ Super Hot) + วิธีการของโครงการวิจัย

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค} = \left(\frac{\text{ผลรวมการเป็นโรคแต่ละระดับ} \times 100}{\text{จำนวนต้น} \times \text{ระดับการเป็นโรคสูงสุด}} \right)$$

* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

SEM = Standard Error of Mean

ข. ตำบลบ้านใหม่ อำเภอระโนด จังหวัดสงขลา

จากการประเมินระดับความรุนแรงการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของ พันธุ์พริกของเกษตรกร (เกษตรกรเก็บด้วยตนเอง) และพันธุ์พริกที่ได้รับการคัดเลือกจากโครงการวิจัย (พันธุ์ Super Hot) พบว่า กรรมวิธีที่ใช้วิธีการของวิธีการของเกษตรกร และ กรรมวิธีที่ใช้วิธีการของโครงการวิจัยมีระดับการเกิดโรคโดยเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยพันธุ์พริกของเกษตรกร มีระดับการเกิดโรคเฉลี่ยของทั้ง 2 กรรมวิธีเท่ากับ 0.76±0.18 และ 0.78±0.19 ตามลำดับ (ตารางที่ 19) และพันธุ์พริกที่ได้รับการคัดเลือกจากโครงการวิจัย มีระดับการเกิดโรคโดยเฉลี่ยของทั้ง 2 กรรมวิธี เท่ากับ 0.67±0.14 และ 15.24±2.99 ตามลำดับ (ตารางที่ 20) และเมื่อวิเคราะห์ถึงดัชนีการเกิดโรคโดยเฉลี่ยของพริกทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่า ไม่แตกต่างกันในทุกกรรมวิธีเช่นกัน (ตารางที่ 21 และ ตารางที่ 22)

ส่วนการประเมินระดับความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสของพันธุ์พริกของเกษตรกร (เกษตรกรเก็บด้วยตนเอง) และพันธุ์พริกที่ได้รับการคัดเลือกจากโครงการวิจัย (พันธุ์ Super Hot) พบว่า ทั้งกรรมวิธีที่ใช้วิธีการของวิธีการของและกรรมวิธีที่ใช้วิธีการของโครงการวิจัยมีระดับการเกิดโรคโดยเฉลี่ยที่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยพันธุ์พริกของเกษตรกรมีระดับการเกิดโรคโดยเฉลี่ยของทั้ง 2 กรรมวิธี เท่ากับ 0.15±0.12 และ 0.09±0.06 ตามลำดับ (ตารางที่ 23) และพันธุ์พริกที่ได้รับการคัดเลือกจากโครงการวิจัย มีระดับการเกิดโรคโดยเฉลี่ยของทั้ง 2 กรรมวิธี เท่ากับ 0.14±0.05 และ 0.17±0.06 ตามลำดับ (ตารางที่ 24) และเมื่อวิเคราะห์ถึงดัชนีการเกิดโรคโดยเฉลี่ยของพริกทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่าไม่แตกต่างกันในทุกกรรมวิธีเช่นกัน (ตารางที่ 25 และ ตารางที่ 26) แสดงว่า กรรมวิธีของโครงการวิจัยที่ใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคมีประสิทธิภาพในการควบคุม โรคใบจุดเซอร์คอสปอราและโรคแอนแทรคโนสได้ดีเทียบเท่ากับกรรมวิธีของเกษตรกรที่ใช้สารเคมีสารอะบาเม็กตินในการควบคุมโรค

ตารางที่ 19 ระดับการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของพันธุ์พริกของเกษตรกรที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลบ้านใหม่ อำเภอระโนด จังหวัดสงขลา (ระดับความรุนแรงการเกิดโรค ± SEM)

กรรมวิธี	ระดับการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอรา							เฉลี่ย
	1	2	3	4	5	6	7	
FP	1.34±0.06	1.5±0.16	0.68±0.07	0.48±0.06	0.31±0.03	0.34±0.06	0.70±0.06	0.76±0.18
FF	1.43±0.15	1.2±0.13	1.25±0.10	0.52±0.07	0.27±0.07	0.27±0.06	0.49±0.08	0.78±0.19
T-Test	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns

หมายเหตุ FF = พันธุ์พริกที่เกษตรกรเก็บด้วยตนเอง + วิธีการของเกษตรกร

FP = พันธุ์พริกที่เกษตรกรเก็บด้วยตนเอง + วิธีการของโครงการวิจัย

ระดับความรุนแรงการเกิดโรค = (0: ไม่แสดงอาการโรค, 1: แสดงอาการโรค 1-25 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น , 2: แสดงอาการโรค 26-50 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น, 3: แสดงอาการโรค 50-75 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น , 4: แสดงอาการโรค 76-100 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น)

* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

SEM = Standard Error of Mean

ตารางที่ 20 ระดับเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของพันธุ์พริกของโครงการวิจัยที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลบ้านใหม่ อำเภอระโนด จังหวัดสงขลา (ระดับความรุนแรงการเกิดโรค ± SEM)

กรรมวิธี	ระดับการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอรา							เฉลี่ย
	1	2	3	4	5	6	7	
PF	0.08±0.02	0.70±0.10	0.46±0.08	1.18±0.08	0.51±0.13	0.79±0.3	0.98±0.4	0.67±0.14
PP	0.14±0.03	0.48±0.11	0.46±0.06	0.69±0.13	0.52±0.14	0.52±0.11	1.25±0.16	0.58±0.13
T-Test	ns	ns	ns	*	ns	*	ns	ns

หมายเหตุ PF = พันธุ์พริกที่ได้รับการคัดเลือกจากโครงการวิจัย (พันธุ์ Super Hot) + วิธีการของเกษตรกร

PP = พันธุ์พริกที่ได้รับการคัดเลือกจากโครงการวิจัย (พันธุ์ Super Hot) +วิธีการของโครงการวิจัย

ระดับความรุนแรงการเกิดโรค = (0: ไม่แสดงอาการโรค, 1: แสดงอาการโรค 1-25 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น , 2: แสดงอาการโรค 26-50 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น, 3: แสดงอาการโรค 50-75 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น , 4: แสดงอาการโรค 76-100 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น)

* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

SEM = Standard Error of Mean

ตารางที่ 21 ดัชนีการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของพันธุ์พริกของเกษตรกรที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลบ้านใหม่ อำเภอระโนด จังหวัดสงขลา

(ดัชนีการเกิดโรค ± SEM)

กรรมวิธี	ดัชนีการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอรา							เฉลี่ย
	1	2	3	4	5	6	7	
FP	33.40±1.54	37.8±4.22	17.00±1.85	11.90±1.69	7.90±0.84	8.60±1.64	17.5±1.68	19.14±4.48
FF	35.70±3.64	30.3±3.37	31.40±2.74	13.00±1.85	6.80±1.89	6.90±1.63	12.30±2.08	19.48±4.71
T-Test	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns

หมายเหตุ FF = พันธุ์พริกที่เกษตรกรเก็บด้วยตนเอง + วิธีการของเกษตรกร

FP = พันธุ์พริกที่เกษตรกรเก็บด้วยตนเอง + วิธีการของโครงการวิจัย

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค} = \left(\frac{\text{ผลรวมการเป็นโรคแต่ละระดับ} \times 100}{\text{จำนวนต้น} \times \text{ระดับการเป็นโรคสูงสุด}} \right)$$

* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

SEM = Standard Error of Mean

ตารางที่ 22 ดัชนีการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของพันธุ์พริกของโครงการวิจัยที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลบ้านใหม่ อำเภอระโนด จังหวัดสงขลา

(ดัชนีการเกิดโรค ± SEM)

กรรมวิธี	ดัชนีการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอรา							เฉลี่ย
	1	2	3	4	5	6	7	
PF	2.00±0.74	17.60±2.60	11.60±1.60	29.70±1.98	14.00±2.74	19.70±0.80	19.60±6.46	17.02±3.41
PP	7.90±4.37	12.00±2.96	11.70±2.05	17.30±3.37	13.00±3.09	13.00±2.69	31.51±3.91	15.24±2.99
T-Test	ns	ns	ns	*	ns	*	ns	ns

หมายเหตุ PF = พันธุ์พริกที่ได้รับการคัดเลือกจากโครงการวิจัย (พันธุ์ Super Hot) + วิธีการของเกษตรกร

PP = พันธุ์พริกที่ได้รับการคัดเลือกจากโครงการวิจัย (พันธุ์ Super Hot) +วิธีการของโครงการวิจัย

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค} = \left(\frac{\text{ผลรวมการเป็นโรคแต่ละระดับ} \times 100}{\text{จำนวนต้น} \times \text{ระดับการเป็นโรคสูงสุด}} \right)$$

* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

SEM = Standard Error of Mean

ตารางที่ 23 ระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสของพันธุ์พริกของเกษตรกรที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลบ้านใหม่ อำเภอระโนด จังหวัดสงขลา

(ระดับความรุนแรงการเกิดโรค ± SEM)

กรรมวิธี	ระดับการเกิดโรคโรคแอนแทรคโนส							เฉลี่ย
	1	2	3	4	5	6	7	
FP	0.06±0.02	0.86±0.13	0.00±0.00	0.00±0.00	0.04±0.02	0.00±0.00	0.08±0.03	0.15±0.12
FF	0.14±0.05	0.44±0.14	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.06±0.02	0.09±0.06
T-Test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

หมายเหตุ FF = พันธุ์พริกที่เกษตรกรเก็บด้วยตนเอง + วิธีการของเกษตรกร

FP = พันธุ์พริกที่เกษตรกรเก็บด้วยตนเอง + วิธีการของโครงการวิจัย

ระดับความรุนแรงการเกิดโรค = (0: ไม่แสดงอาการโรค, 1: แสดงอาการโรค 1-25 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น ,

2: แสดงอาการโรค 26-50 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น, 3: แสดงอาการโรค 50-75 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น ,

4: แสดงอาการโรค 76-100 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น)

* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p< 0.05$)

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

SEM = Standard Error of Mean

ตารางที่ 24 ระดับเกิดโรคแอนแทรคโนสของพันธุ์พริกของโครงการวิจัยที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลบ้านใหม่ อำเภอระโนด จังหวัดสงขลา (ระดับความรุนแรงการเกิดโรค ± SEM)

กรรมวิธี	ระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนส						เฉลี่ย
	1	2	3	4	5	6	
PF	0.00±0.00	0.00±0.00	0.20±0.44	0.16±0.05	0.12±0.06	0.36±0.05	0.14±0.05
PP	0.00±0.00	0.00±0.00	0.38±0.66	0.22±0.09	0.18±0.05	0.22±0.09	0.17±0.06
T-Test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

หมายเหตุ PF = พันธุ์พริกที่ได้รับการคัดเลือกจากโครงการวิจัย (พันธุ์ Super Hot) + วิธีการของเกษตรกร

PP = พันธุ์พริกที่ได้รับการคัดเลือกจากโครงการวิจัย (พันธุ์ Super Hot) +วิธีการของโครงการวิจัย

ระดับความรุนแรงการเกิดโรค = (0: ไม่แสดงอาการโรค, 1: แสดงอาการโรค 1-25 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น , 2: แสดงอาการโรค 26-50 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น, 3: แสดงอาการโรค 50-75 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น , 4: แสดงอาการโรค 76-100 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น)

* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p< 0.05$)

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

SEM = Standard Error of Mean

ตารางที่ 25 ดัชนีการเกิดโรคแอนแทรคโนสของพันธุ์พริกของเกษตรกรที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลบ้านใหม่ อำเภอระโนด จังหวัดสงขลา

(ดัชนีการเกิดโรค ± SEM)

กรรมวิธี	ดัชนีการเกิดโรคโรคแอนแทรคโนส							เฉลี่ย
	1	2	3	4	5	6	7	
FP	1.50±0.61	21.50±3.40	0.00±0.00	0.00±0.00	1.00±0.61	0.00±0.00	2.50±1.11	3.78±2.97
FF	3.50±1.27	11.00±3.58	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	1.50±0.61	2.28±1.53
T-Test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

หมายเหตุ FF = พันธุ์พริกที่เกษตรกรเก็บด้วยตนเอง + วิธีการของเกษตรกร

FP = พันธุ์พริกที่เกษตรกรเก็บด้วยตนเอง + วิธีการของโครงการวิจัย

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค} = \left(\frac{\text{ผลรวมการเป็นโรคแต่ละระดับ} \times 100}{\text{จำนวนต้น} \times \text{ระดับการเป็นโรคสูงสุด}} \right)$$

* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

SEM = Standard Error of Mean

ตารางที่ 26 ดัชนีการเกิดโรคแอนแทรคโนส ของพันธุ์พริกของโครงการวิจัยที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลบ้านใหม่ อำเภอระโนด จังหวัดสงขลา

(ดัชนีการเกิดโรค ± SEM)

กรรมวิธี	ดัชนีการเกิดโรคแอนแทรคโนส						เฉลี่ย
	1	2	3	4	5	6	
PF	0.00±0.00	0.00±0.00	5.00±1.11	4.00±1.27	3.00±1.45	9.00±1.27	3.50±1.38
PP	0.00±0.00	0.00±0.00	9.50±1.65	5.50±2.29	4.50±1.22	5.60±1.80	4.16±1.49
T-Test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

หมายเหตุ PF = พันธุ์พริกที่ได้รับการคัดเลือกจากโครงการวิจัย (พันธุ์ Super Hot) + วิธีการของเกษตรกร

PP = พันธุ์พริกที่ได้รับการคัดเลือกจากโครงการวิจัย (พันธุ์ Super Hot) +วิธีการของโครงการวิจัย

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค} = \left(\frac{\text{ผลรวมการเป็นโรคแต่ละระดับ} \times 100}{\text{จำนวนต้น} \times \text{ระดับการเป็นโรคสูงสุด}} \right)$$

* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

SEM = Standard Error of Mean

ค. ตำบลบางเหรียง อำเภอควนเนียง จังหวัดสงขลา

จากการประเมินระดับความรุนแรงการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของ พันธุ์พริกของเกษตรกร (เกษตรกรเก็บด้วยตนเอง) และพันธุ์พริกที่ได้รับการคัดเลือกจากโครงการวิจัย (พันธุ์ Super Hot) พบว่า กรรมวิธีที่ใช้วิธีการของวิธีการของเกษตรกร และ กรรมวิธีที่ใช้วิธีการของโครงการวิจัยมีระดับการเกิดโรคโดยเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยพันธุ์พริกของเกษตรกร มีระดับการเกิดโรคเฉลี่ยของทั้ง 2 กรรมวิธีเท่ากับ 0.05±0.02 และ 0.04±0.01 ตามลำดับ (ตารางที่ 27) และพันธุ์พริกที่ได้รับการคัดเลือกจากโครงการวิจัย มีระดับการเกิดโรคโดยเฉลี่ยของทั้ง 2 กรรมวิธี เท่ากับ 0.16±0.08 และ 0.04±0.01 ตามลำดับ (ตารางที่ 28) และเมื่อวิเคราะห์ถึงดัชนีการเกิดโรคโดยเฉลี่ยของพริกทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่า ไม่แตกต่างกันในทุกกรรมวิธีเช่นกัน (ตารางที่ 29 และ ตารางที่ 30)

ส่วนการประเมินระดับความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสของพันธุ์พริกของเกษตรกร (เกษตรกรเก็บด้วยตนเอง) และพันธุ์พริกที่ได้รับการคัดเลือกจากโครงการวิจัย (พันธุ์ Super Hot) พบว่า ทั้งกรรมวิธีที่ใช้วิธีการของวิธีการของและกรรมวิธีที่ใช้วิธีการของโครงการวิจัยมีระดับการเกิดโรคโดยเฉลี่ยที่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยพันธุ์พริกของเกษตรกรมีระดับการเกิดโรคโดยเฉลี่ยของทั้ง 2 กรรมวิธี เท่ากับ 0.002±0.00 และ 0.00±0.00 ตามลำดับ (ตารางที่ 31) และพันธุ์พริกที่ได้รับการคัดเลือกจากโครงการวิจัย มีระดับการเกิดโรคโดยเฉลี่ยของทั้ง 2 กรรมวิธี เท่ากับ 0.00±0.00 และ 0.018±0.018 ตามลำดับ (ตารางที่ 32) และเมื่อวิเคราะห์ถึงดัชนีการเกิดโรคโดยเฉลี่ยของพริกทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่าไม่แตกต่างกันในทุกกรรมวิธีเช่นกัน (ตารางที่ 33 และ ตารางที่ 34) แสดงว่า ทั้งกรรมวิธีของโครงการวิจัยที่ใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคและกรรมวิธีของเกษตรกรที่ใช้สารสกัดจากสะเดาในการควบคุมโรค สามารถควบคุมโรคใบจุดเซอร์คอสปอราและโรคแอนแทรคโนสไม่แตกต่างกัน

ตารางที่ 27 ระดับการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของพันธุ์พริกของเกษตรกรที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลบางเหรียง อำเภอควนเนียง จังหวัดสงขลา (ระดับความรุนแรงการเกิดโรค ± SEM)

กรรมวิธี	ระดับการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอรา					เฉลี่ย
	1	2	3	4	5	
FF	0.11±0.03	0.00±0.00	0.004±0.004	0.09±0.02	0.04±0.01	0.05±0.02
FP	0.06±0.03	0.02±0.01	0.02±0.004	0.10±0.03	0.03±0.008	0.04±0.01
T-Test	ns	ns	*	ns	ns	ns

หมายเหตุ FF = พันธุ์พริกที่เกษตรกรเก็บด้วยตนเอง + วิธีการของเกษตรกร

FP = พันธุ์พริกที่เกษตรกรเก็บด้วยตนเอง + วิธีการของโครงการวิจัย

ระดับความรุนแรงการเกิดโรค = (0: ไม่แสดงอาการโรค, 1: แสดงอาการโรค 1-25 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น , 2: แสดงอาการโรค 26-50 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น, 3: แสดงอาการโรค 50-75 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น , 4: แสดงอาการโรค 76-100 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น)

* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p< 0.05$)

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

SEM = Standard Error of Mean

ตารางที่ 28 ระดับเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของพันธุ์พริกของโครงการวิจัยที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลบางเหรียง อำเภอควนเนียง จังหวัดสงขลา (ระดับความรุนแรงการเกิดโรค ± SEM)

กรรมวิธี	ดัชนีการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอรา					เฉลี่ย
	1	2	3	4	5	
PF	0.15±0.04	0.46±0.09	0.02±0.01	0.04±0.01	0.08±0.01	0.16±0.08
PP	0.04±0.02	0.06±0.03	0.13±0.03	0.14±0.04	0.23±0.09	0.12±0.03
T-Test	ns	**	*	ns	ns	ns

หมายเหตุ PF = พันธุ์พริกที่ได้รับการคัดเลือกจากโครงการวิจัย (พันธุ์ Super Hot) + วิธีการของเกษตรกร

PP = พันธุ์พริกที่ได้รับการคัดเลือกจากโครงการวิจัย (พันธุ์ Super Hot) +วิธีการของโครงการวิจัย

ระดับความรุนแรงการเกิดโรค = (0: ไม่แสดงอาการโรค, 1: แสดงอาการโรค 1-25 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น , 2: แสดงอาการโรค 26-50 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น, 3: แสดงอาการโรค 50-75 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น , 4: แสดงอาการโรค 76-100 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น)

* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p< 0.05$)

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

SEM = Standard Error of Mean

ตารางที่ 29 ดัชนีการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของพันธุ์พริกของเกษตรกรที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลบางเหรียง อำเภอควนเนียง จังหวัดสงขลา (ดัชนีการเกิดโรค ± SEM)

กรรมวิธี	ดัชนีการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอรา					เฉลี่ย
	1	2	3	4	5	
FF	2.90±0.81	0.00±0.00	0.10±0.10	2.30±0.73	1.10±0.33	1.28±0.58
FP	0.60±0.36	0.60±0.40	0.70±0.12	1.80±0.70	0.80±0.20	0.09±0.23
T-Test	**	ns	*	ns	ns	ns

หมายเหตุ FF = พันธุ์พริกที่เกษตรกรเก็บด้วยตนเอง + วิธีการของเกษตรกร

FP = พันธุ์พริกที่เกษตรกรเก็บด้วยตนเอง + วิธีการของโครงการวิจัย

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค} = \left(\frac{\text{ผลรวมการเป็นโรคแต่ละระดับ} \times 100}{\text{จำนวนต้น} \times \text{ระดับการเป็นโรคสูงสุด}} \right)$$

* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

SEM = Standard Error of Mean

ตารางที่ 30 **ดัชนีการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของพันธุ์พริกของโครงการวิจัยที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลบางเหรียง อำเภอควนเนียง จังหวัดสงขลา**
(ดัชนีการเกิดโรค ± SEM)

กรรมวิธี	ดัชนีการเกิดโรคใบจุดเซอร์คอสปอรา					เฉลี่ย
	1	2	3	4	5	
PF	3.90±1.20	11.90±2.30	0.60±0.40	1.20±0.25	2.20±0.33	3.96±2.06
PP	1.00±0.68	1.60±0.99	3.30±0.84	3.70±1.14	3.16±1.03	2.55±0.53
T-Test	ns	**	*	ns	ns	ns

หมายเหตุ PF = พันธุ์พริกที่ได้รับการคัดเลือกจากโครงการวิจัย (พันธุ์ Super Hot) + วิธีการของเกษตรกร

PP = พันธุ์พริกที่ได้รับการคัดเลือกจากโครงการวิจัย (พันธุ์ Super Hot) +วิธีการของโครงการวิจัย

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค} = \left(\frac{\text{ผลรวมการเป็นโรคแต่ละระดับ} \times 100}{\text{จำนวนต้น} \times \text{ระดับการเป็นโรคสูงสุด}} \right)$$

* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

SEM = Standard Error of Mean

ตารางที่ 31 ระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสของพันธุ์พริกของเกษตรกรที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลบางเหรียง อำเภอควนเนียง จังหวัดสงขลา (ระดับความรุนแรงการเกิดโรค ± SEM)

กรรมวิธี	ระดับการเกิดโรคโรคแอนแทรคโนส								เฉลี่ย
	1	2	3	4	5	6	7	8	
FF	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.02±0.02	0.002±0.00
FP	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.000±0.00
T-Test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

หมายเหตุ FF = พันธุ์พริกที่เกษตรกรเก็บด้วยตนเอง + วิธีการของเกษตรกร

FP = พันธุ์พริกที่เกษตรกรเก็บด้วยตนเอง + วิธีการของโครงการวิจัย

ระดับความรุนแรงการเกิดโรค = (0: ไม่แสดงอาการโรค, 1: แสดงอาการโรค 1-25 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น , 2: แสดงอาการโรค 26-50 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น, 3: แสดงอาการโรค 50-75 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น , 4: แสดงอาการโรค 76-100 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น)

* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p< 0.05$)

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

SEM = Standard Error of Mean

ตารางที่ 32 ระดับเกิดโรคแอนแทรคโนสของพันธุ์พริกของโครงการวิจัยที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลบางเหรียง อำเภอควนเนียง จังหวัดสงขลา (ระดับความรุนแรงการเกิดโรค ± SEM)

กรรมวิธี	ดัชนีการเกิดโรคโรคแอนแทรคโนส								เฉลี่ย
	1	2	3	4	5	6	7	8	
PF	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
PP	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.14±0.06	0.018±0.018
T-Test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns

หมายเหตุ PF = พันธุ์พริกที่ได้รับการคัดเลือกจากโครงการวิจัย (พันธุ์ Super Hot) + วิธีการของเกษตรกร

PP = พันธุ์พริกที่ได้รับการคัดเลือกจากโครงการวิจัย (พันธุ์ Super Hot) +วิธีการของโครงการวิจัย

ระดับความรุนแรงการเกิดโรค = (0: ไม่แสดงอาการโรค, 1: แสดงอาการโรค 1-25 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น , 2: แสดงอาการโรค 26-50 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น, 3: แสดงอาการโรค 50-75 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น , 4: แสดงอาการโรค 76-100 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น)

* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p< 0.05$)

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

SEM = Standard Error of Mean

ตารางที่ 33 ดัชนีการเกิดโรคแอนแทรคโนสของพันธุ์พริกของเกษตรกรที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลบางเหรียง อำเภอควนเนียง จังหวัดสงขลา

(ดัชนีการเกิดโรค ± SEM)

กรรมวิธี	ดัชนีการเกิดโรคโรคแอนแทรคโนส								เฉลี่ย
	1	2	3	4	5	6	7	8	
FF	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.50±0.50	0.06±0.06
FP	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.000.00
T-Test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

หมายเหตุ FF = พันธุ์พริกที่เกษตรกรเก็บด้วยตนเอง + วิธีการของเกษตรกร

FP = พันธุ์พริกที่เกษตรกรเก็บด้วยตนเอง + วิธีการของโครงการวิจัย

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค} = \left(\frac{\text{ผลรวมการเป็นโรคแต่ละระดับ} \times 100}{\text{จำนวนต้น} \times \text{ระดับการเป็นโรคสูงสุด}} \right)$$

* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

SEM = Standard Error of Mean

ตารางที่ 34 **ดัชนีการเกิดโรคแอนแทรคโนส** ของพันธุ์พริกของโครงการวิจัยที่ใช้วิธีการต่างกัน ตำบลบางเหรียง อำเภอควนเนียง จังหวัดสงขลา

(ดัชนีการเกิดโรค ± SEM)

กรรมวิธี	ดัชนีการเกิดโรคโรคแอนแทรคโนส								เฉลี่ย
	1	2	3	4	5	6	7	8	
PF	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
PP	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	3.50±1.50	0.43±0.43
T-Test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns

หมายเหตุ PF = พันธุ์พริกที่ได้รับการคัดเลือกจากโครงการวิจัย (พันธุ์ Super Hot) + วิธีการของเกษตรกร

PP = พันธุ์พริกที่ได้รับการคัดเลือกจากโครงการวิจัย (พันธุ์ Super Hot) +วิธีการของโครงการวิจัย

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค} = \left(\frac{\text{ผลรวมการเป็นโรคแต่ละระดับ} \times 100}{\text{จำนวนต้น} \times \text{ระดับการเป็นโรคสูงสุด}} \right)$$

* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

SEM = Standard Error of Mean

สรุปผลการทดลอง

จากการเก็บตัวอย่าง ใบพริก ผลพริก และดินในแปลงปลูกพริก ในพื้นที่จังหวัด นราธิวาส สงขลา พัทลุง ตรัง นครศรีธรรมราช กระบี่ สุราษฎร์ธานี ชุมพร เพื่อแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์และเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส โรคใบจุดเซอร์คอสปอรา และโรครากและโคนเน่าของพริก โดยทำการแยกเชื้อรา *Colletotrichum capsici, Cercospora capsici* และ *Sclerotium rolfsii* และเชื้อ *Bacillus* spp. เมื่อนำเชื้อราสาเหตุของโรคมาทดสอบการเกิดโรคบนต้นพริก พบว่า เชื้อรา *Coll. capsici* Col13, *Cer. capsici* Cer9 และ *S. rolfsii* Scl7 สามารถก่อให้เกิดโรคกับต้นพริกรุนแรงที่สุด

ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ที่แยกได้จำนวน 534 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุของโรค โดยวิธี dual culture plate บนอาหาร PDA พบว่า มีเชื้อ *Bacillus* spp. เพียง 50 ไอโซเลท เท่านั้น ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุของโรคได้ทั้ง 3 ชนิด

คัดเลือกเชื้อ *Bacillus* spp. ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคของพริก 2 สายพันธุ์ คือ *B. megaterium* SBL5.7 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Coll. capsici* Col13, *Cer. capsici* Cer9 และ *S. rolfsii* Scl7 เท่ากับ 72.50, 92.86 และ 46.41 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่เชื้อ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราทั้ง 3 ชนิดได้เท่ากับ 68.93, 92.86 และ 43.93 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* sp. ต่อการงอกของโคนิเดียของเชื้อรา *Coll. capsici* Col13 และ *Cer. capsici* Cer9 พบว่ากรรมวิธีที่ใช้น้ำเลี้ยงเชื้อ *B. megaterium* SBL5.7 และ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 ที่ไม่เจือจางสามารถยับยั้งการงอกและลดความยาวของ germ tube ของโคนีเดียเชื้อราได้ ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมที่ระดับความเข้มข้น 1,600 ppm.

ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *B. megaterium* SBL5.7 และ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 ที่ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนส โรคใบจุดเซอร์โคสปอรา และโรครากและโคนเน่าของของพริกชี้ฟ้าในสภาพแปลงทดลอง พบว่าเชื้อ *B. megaterium* SBL5.7 สามารถลดการเกิดโรคแอนแทรคโนส และโรคใบจุดเซอร์คอสปอราของพริกชี้ฟ้าได้เทียบเท่ากับการใช้คาร์เบนดาซิม ในขณะเดียวกันเชื้อ *Bacillus* spp. ทั้ง 2 สายพันธุ์ ยังมีประสิทธิภาพในลดการเกิดโรครากและโคนเน่าได้เทียบเท่ากับการใช้สารกำจัดเชื้อราคาร์บอกซิน

จำนวนประชากรเชื้อ *Bacillus* spp. ในทุกกรรมวิธีทดลองสามารถมีชีวิตรอดในสภาพแปลงปลูกเพิ่มขึ้นในทุกสัปดาห์ และมีจำนวนประชากรเชื้อ *Bacillus* spp. ใกล้เคียงกันหลังฉีดพ่นหรือราดดินด้วยแบคทีเรียแขวนลอย จำนวน 8 ครั้ง โดยเฉพาะเชื้อ *Bacillus* sp. SPT41.1.3 สามารถมีชีวิตรอดอยู่บนผลพริกชี้ฟ้าได้สูงสุด ในขณะที่เชื้อ *B. megaterium* SBL5.7 สามารถมีชีวิตรอดอยู่บนใบพริก และในดินบริเวณโคนต้นพริกได้สูงสุด

ทดสอบประสิทธิภาพของสูตรตำรับเชื้อ *B. megaterium* SBL5.7 ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนส โรคใบจุดเซอร์คอสปอรา ของพริก เปรียบเทียบกับวิธีการควบคุมโรคของเกษตรกร ในกิจกรรมของเกษตรอินทรีย์ พบว่า กรรมวิธีที่ใช้สูตรตำรับของโครงการวิจัยสามารถควบคุมการเกิดโรคได้ดี

เอกสารอ้างอิง

จิรัสสา มีกลิ่นหอม วรรณวิไล อินทนู จิระเดช แจ่มสว่าง พัชรา โพธิ์งาม และวาริน อินทนา. 2546. การคัดเลือกและการใช้จุลินทรีย์ที่แยกได้จากผิวพืชในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก *ใน* รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติครั้งที่ 6. หนึ่งทศวรรษแห่งการอารักขาพืชในประเทศไทย, 24-27 พฤศจิกายน 2546. โรงแรมโซฟีเทล ราชาออคิด จังหวัดขอนแก่น : 391-401.

จิรัสสา มีกลิ่นหอม. 2547. การคัดเลือกและการใช้จุลินทรีย์ที่แยกได้จากผิวพืชในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก. วิทยานิพนธ์. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นิรนาม. 2550. พริกขี้หนูลูกผสมซุปเปอร์ฮอท. ข่าวสารศรแดง 13 : 4-5.

ประจวบ บุตรศาสตร์ นิพนธ์ ทวีชัย ชวลิต ฮงประยูร และ วิชัย โฆสิตรัตน. 2548. กลไกและการใช้เชื้อแบคทีเรียแอนทาโกนิสต์ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum. ใน* การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 43 : สาขาพืช, 1-4 กุมภาพันธุ์ 2548. กรุงเทพฯ : 240-247

พราวมาส เจริญรักษ์ จิระเดช แจ่มสว่าง วรรณวิไล อินทนู และปราโมทย์ สฤษดิ์นิรันดร์. 2548. การใช้แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ฉีดพ่นใบมะเขือเทศเพื่อลดการเกิดโรคราดำภายใต้สภาพเรือนพลาสติก. *ใน* รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติครั้งที่ 7. อารักขาพืช : เพื่อคุณภาพชีวิต และสิ่งแวดล้อม, 7-9 พฤศจิกายน 2548. โรงแรมโลตัส กาดสวนแก้ว จังหวัดเชียงใหม่ : 359-369.

วรรณวิไล อินทนู จิระเดช แจ่มสว่าง และจิรัสสา มีกลิ่นหอม. 2548. การควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกด้วยการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในสภาพแปลง. *ใน* รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติครั้งที่ 7. อารักขาพืช : เพื่อคุณภาพชีวิต และสิ่งแวดล้อม, 7-9 พฤศจิกายน 2548. โรงแรมโลตัส กาดสวนแก้ว จังหวัดเชียงใหม่ : 305-317.

วราภรณ์ บุญเกิด จิระเดช แจ่มสว่าง และวรรณวิไล อินทนู. 2548. การใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* ร่วมกับเชื้อ *Bacillus* spp. ในรูปเชื้อสดและสารกรองเพื่อลดการเกิดโรคแอนแทรคโนสของผลพริก. *ใน* รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติครั้งที่ 7. อารักขาพืช : เพื่อคุณภาพชีวิต และสิ่งแวดล้อม, 7-9 พฤศจิกายน 2548. โรงแรมโลตัส กาดสวนแก้ว จังหวัดเชียงใหม่ : 262-273.

ศักดิ์ สุนทรสิงห์. 2537. โรคของผักและการป้องกันกำจัด. คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เสมอใจ ชื่นจิตต์. 2548. โรคพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ คู่มือการสอน. คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

อติพล พัฒิยะ. 2542. การแสดงออกของยีนของโปรตีนเรืองแสงใน *Bacillus* sp.. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีวเคมี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

Collins, D.P. and Jacobsen, B.J. 2003. Optimize a *Bacillus* isolate for biological control of sugar beet Cercospora leaf spot. Biol. Control 26 : 153-161.

Fravel, D.R. and Spurr, H.W. 1977. Biocontrol of tobacco brown spot disease by *Bacillus cereus* subsp. *mycoides* in a controlled environment. Phytopathol. 67 : 930-932.

Gamliel, A.J., Kantan J. and Cohon, E. 1989. Toxicity of chloronitrobenzenes to *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani* as related to their structure. Phytoparasitica 17:101-106.

Gary, E.K. 2007. Enumeration of microorganisms. [Online] Available from : http://student. ccbcmd.edu/courses/bio141/labmanua/lab4/lab4.html. (accessed on 8th June, 2007)

Miller, T.C. and Webster, R.K. 2001. Soil sampling techniques for determining the effect of cultural practices on *Rhizoctonia oryzae-sativae* inoculum in rice field soils. Plant Dis. 85 : 967-972.

Pleban, S., Ingel, F. and Chet, I. 1995. Control of *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* in the greenhouse using endophytic *Bacillus* spp. Euro. J. Plant Pathol. 101 : 665-672.

Schaad, N. W., Jones, J. B. and Chun, W. 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. 3rded.St. Paul,Minnesota: APS Press.

Tarr, S.A.J. 1972. The Principles of Plant Pathology. Manila:National Book Store.Inc.

Weller, D.M. and Cook, R.J. 1983. Suppression of take-all of wheat by seed treatments with fluorescent pseudomonad. Phytopathol. 73 : 463-469.