วารสารแก่นเกษตร
THAIJO

Content List Available at ThaiJo

Khon Kaen Agriculture Journal

Journal Home Page : https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agkasetkaj



# ศักยภาพการเป็นปฏิปักษ์ของ *Streptomyces* spp. และ *Bacillus subtilis* ต่อเชื้อรา สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก

# Antagonistic potential of *Streptomyces* spp. and *Bacillus subtilis* against phytopathogenic fungus causing anthracnose disease of chilli

**ปิลันธนา ฐาปนพงษ์วรกุล[1]*, วชิรญาณ์ ดวงต๊ะ[1] , มณิการ์ ตรึกตราครบุรี[1] และ สมบัติ ศรีชูวงศ์[1]**

**Pilunthana Thapanapongworakul[1]*, Wachiraya Duongta[1], Manika Truektrakronburi[1] and Sombat Srichuwong[1]**

*[1] ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200*
*[1] Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200*

**บทคัดย่อ:** งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินศักยภาพการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟต์ *Streptomyces* sp. จำนวน 3 ไอโซเลท (PE06, CT18 และ CT20) และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporiodes* Coll-1 สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก จากการทดสอบด้วยวิธี dual culture พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 4 ไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporiodes* Coll-1 ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เท่ากับ 45.14, 39.58, 26.39 และ 53.82% ตามลำดับ เมื่อทดสอบด้วยวิธี sealed plate ที่เวลา 120 ชม. พบไอโซเลท CT20 ยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้สูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) สูงถึง 64.17% รองลงมาคือ ไอโซเลท CT18, PE04 และเชื้อ *B. subtilis* เท่ากับ 31.67, 30 และ 28.75% ตามลำดับ โดยไม่มีการสัมผัสกันโดยตรงระหว่างเส้นใยของเชื้อราสาเหตุและเชื้อ *Streptomyces* sp. ทั้ง 3 ไอโซเลทในคู่จานอาหารทดสอบ จากนั้นตรวจสอบปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุ พบไอโซเลท CT20 ยับยั้งการสร้างสปอร์ได้สูงสุด (94.93%) รองลงมาคือ ไอโซเลท CT18 และ PE06 การศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าสารประกอบอินทรีย์ระเหยของเชื้อ *Streptomyces* sp. CT20 มีผลต่อการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporiodes* Coll-1 โดยอาศัยฤทธิ์ต้านจุลชีพการเจริญของเส้นใยและการลดปริมาณสปอร์ในสภาพห้องปฏิบัติการ ผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟต์ *Streptomyces* sp. CT20 สามารถใช้เป็นสารควบคุมทางชีวภาพ (biocontrol agent) สำหรับโรคแอนแทรคโนสของพริกภายใต้สภาพห้องปฏิบัติการ อย่างไรก็ตาม ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในการผลิตพริกเชิงพาณิชย์ภายใต้สภาพโรงเรือนและแปลงปลูกเพื่อยืนยันประสิทธิผลในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี
**คำสำคัญ:** *Streptomyces* spp.; *Bacillus subtilis*; สารระเหย; *Colletotrichum gloeosporiodes*; แอนแทรคโนสพริก

**ABSTRACT:** This research aimed to evaluate the antagonistic potential of 3 isolates of endophytic actinomycetes *Streptomyces* sp. (PE06, CT18 and CT20) and *Bacillus subtilis* on mycelial growth inhibition of anthracnose pathogen (*Colletotrichum gloeosporiodes* Coll-1) of chilli. In dual culture assay, the result showed that the 4 antagonistic bacteria isolates were significantly inhibited ($P < 0.05$) mycelial growth of *C. gloeosporiodes* Coll-1 with, 45.14, 39.58, 26.39 and 53.82%, respectively. Using sealed plate assay for 120 hours, it was found that CT20 showed the significantly highest inhibition ($P < 0.05$) of the mycelial growth up to 64.17%, followed by CT18, PE04 and *B. subtilis* had 31.67, 30 and 28.75, respectively. There were no direct contact between the fungal mycelium and *Streptomyces* sp. 3 isolates in a double-dish chamber. Then, the numbers of spore formation in pathogenic fungus were inspected; CT20 had the highest spore formation inhibition (94.93%), followed by CT18 and PE06. This study suggested that volatile organic compounds (VOCs) from the *Streptomyces* sp. CT20 was effective

* Corresponding author: pilunthana.t@cmu.ac.th

Received: date; June 11, 2020 Accepted: date; October 16, 2020 Published: date; June 5, 2021

against the growth of *C. gloeosporiodes* Coll-1 based on *in vitro* antimicrobial activity of mycelial growth and spore reduction. The obtained results suggested that the endophytic actinomycetes *Streptomyces* sp. CT20 could be used as biocontrol agent for anthracnose disease in chilli under laboratory conditions. However, further studies should be carried out in commercial chilli production under greenhouses and fields to confirm their effectiveness for biological control of plant diseases.
**Keywords:** *Streptomyces* spp.; *Bacillus subtilis*; volatile substance; *Colletotrichum gloeosporiodes*; chilli anthracnose

**บทนำ**

พริก (*Capsicum* spp.) เป็นพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจที่นิยมปลูกกันอย่างแพร่หลายในประเทศไทยและทั่วทุกมุมโลก ปัญหาที่สำคัญอย่างหนึ่งในการเพาะปลูกพริกซึ่งสร้างความเสียหายให้แก่ผลผลิตพริกคือโรคพืช เกษตรกรรู้จักเป็นอย่างดีคือ โรคแอนแทรคโนส (anthracnose) หรือที่ชาวบ้านเรียกว่า โรคกุ้งแห้ง จัดเป็นหนึ่งในข้อจำกัดทางเศรษฐกิจที่สำคัญของการผลิตพริกทั่วโลกโดยเฉพาะในเขตร้อนและภูมิภาคกึ่งเขตร้อน เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp. พบรายงานการแพร่ระบาดในประเทศไทยมี 3 ชนิด คือ เชื้อรา *Colletotrichum gloeoporiodes, C. capsici* และ *C. acutatum* ส่งผลทำให้ผลผลิตพริกลดลงถึง 80% มีคุณภาพไม่เป็นที่ต้องการของตลาด (Than et al., 2008; Suwannarat et al., 2017) สามารถเข้าทำลายใบ ก้าน และผลพริก ซึ่งอาการของโรครุนแรงและชัดเจนมากที่สุดบนผลพริก ก่อให้เกิดความเสียหายกับพริกได้ทุกระยะการเจริญเติบโตจนกระทั่งเก็บเกี่ยว เชื้อดังกล่าวสามารถถ่ายทอดจากผลที่เป็นโรคสู่เมล็ด หากนำเมล็ดพันธุ์พริกที่มีเชื้อสาเหตุโรคปนเปื้อนไปปลูกจะทำให้เกิดการระบาดของโรคในแปลงและทำให้สามารถระบาดไปได้ในระยะไกล อีกทั้งยังเป็นโรคหลังการเก็บเกี่ยวที่สำคัญของพริกอีกด้วย (อนันต์ และคณะ, 2561; Saxena et al., 2014; Saxena et al., 2016) การป้องกันกำจัดเชื้อรา *Colletotrichum* spp. เพื่อยับยั้งการแพร่ระบาดของโรคและการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุนั้นมีหลายวิธี เช่น การเขตกรรม การใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช การใช้พันธุ์พืชต้านทาน และการควบคุมโรคโดยชีววิธี อย่างไรก็ตาม เกษตรกรส่วนใหญ่ยังคงมีพฤติกรรมนิยมใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชอย่างต่อเนื่อง หากสามารถลดและเลิกการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชพร้อมกับการดูแลรักษาความสะอาดในแปลงควบคู่กับการควบคุมโรคโดยชีววิธีจะส่งผลดีต่อสิ่งแวดล้อม ไม่มีสารพิษตกค้างในผลผลิต และเมื่อใช้การควบคุมโรคโดยชีววิธีอย่างต่อเนื่องโอกาสในการระบาดของโรคก็น่าจะลดลงและหมดไปในที่สุด

ปัจจุบันมีการศึกษาจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จากหลายแหล่ง เพื่อนำมาพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์ในการป้องกันกำจัดเชื้อสาเหตุโรคโดยชีววิธี (biological control) ซึ่งกลไกการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคนั้นอาจเกิดจากการเป็น mycoparasitim การสร้างสาร antibiosis การแข่งขันแย่งสารอาหาร การครอบครองพื้นที่ และความสามารถในการชักนำให้พืชเกิดความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรค (นิพนธ์, 2553; สุพจน์, 2557) กล่าวได้ว่า ความหลากหลายของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ย่อมส่งผลดีต่อการนำมาใช้ป้องกันกำจัดเชื้อราสาเหตุโรค เช่น *Bacillus* spp. *Psuedomonas fluorescens*, *Trichoderma* spp., และ *Streptomyces* spp. เป็นต้น มีศักยภาพเป็นตัวควบคุมทางชีวภาพต่อเชื้อราสาเหตุโรคทั้ง air-borne และ soil-borne หลายชนิด อาทิเช่น *Alternaria*, *Colletotrichum*, *Phytophthora*, *Pythium, Fusarium, Rhizoctonia, Sclerotinia, Sclerotium* และ *Verticillium* เป็นต้น (ปราณี และชนิดา 2555; วิไลลักษณ์ และสมเกียรติ, 2559; ประวิทย์ และปิลันธนา, 2562; Begum et al., 2008; Imtiaj and Lee, 2008; Khucharoenphaisan et al., 2013) การใช้เชื้อแอคติโนมัยซีสในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีได้เข้ามามีบทบาทสำคัญในระบบการผลิตพืชปลอดภัยหรือเกษตรอินทรีย์ เพื่อลดหรือทดแทนการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช จึงได้รับความสนใจและมีการศึกษาวิจัยอย่างแพร่หลายจนถึงปัจจุบัน จากรายงานของ Ashokvardhan et al. (2014) พบเชื้อ *Streptomyces* sp. แยกจากดินบริเวณรอบรากพริก จำนวน 4 ไอโซเลท คือ OUA3, OUA5, OUA18 และ OUA40 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. capsici* อยู่ในช่วง 77-86% และยังสร้างเอนไซม์หลายชนิด ได้แก่ amylase, chitinase, cellulase, pectinase, protease, catalase, lipase และ gelatin hydrolysis เป็นต้น และ Suwan et al. (2012) พบเชื้อ *Streptomyces* sp. NSP2 สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ดีที่สุด สามารถควบคุมโรคได้ โดยส่งผลให้ขนาดแผลบนผลพริกลดลงและชะลอการเกิดโรคอยู่ในช่วง 66.66-81.66% เช่นเดียวกับ Khucharoenphaisan et al. (2013) รายงานว่า เชื้อ *Streptomyces malaysiensis* (R58) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริกได้ นอกจากนี้ ประวิทย์ และปิลันธนา (2562) รายงานว่าเชื้อ *Streptomyces* sp. PE04, PE06,

CT18 และ CT20 มีประสิทธิภาพในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* สาเหตุโรคใบไหม้และผลเน่าของเสาวรส ได้สูงสุดอยู่ในช่วง 82.22-91.11% และสามารถสร้าง cellulase, chitinase, amylase และ siderophore ได้อีกด้วย

อย่างไรก็ตาม การศึกษาประสิทธิภาพของสารระเหยที่ผลิตจากจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่าง ๆ ต่อการยับยั้งเชื้อราการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรค โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารระเหยที่ผลิตจากเชื้อแอคติโนมัยซีสยังมีจำกัดอยู่มาก รายงานวิจัยของ El-Tarabily et al. (2006) พบว่า เชื้อ *Actinoplanes philippinensis*, *Microbispora rosea*, *Micromonospora chalcea* และ *Streptomyces griseoloalbus* ไม่สามารถผลิตสารระเหยยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ได้ ในขณะที่ Wang et al. (2013) รายงานว่า สารระเหยที่ผลิตจากเชื้อ *Streptomyces alboflavus* TD-1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliforme*, *Aspergillus flavus*, *A. ochraceus*, *A. niger* และ *Penicillium citrinum* ในสภาพห้องปฏิบัติการ

ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาศักยภาพการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟต์ *Streptomyces* sp. PE06, CT18 และ CT20 และเชื้อ *Bacillus subtilis* ต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก เพื่อเป็นอีกหนึ่งทางเลือกในการควบคุมโรคและพัฒนาชีวภัณฑ์ป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสของพริก อีกทั้ง นำมาใช้ควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวของผลผลิตพืชในอนาคตต่อไป

## วิธีการศึกษา

### เก็บตัวอย่างและแยกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก

สุ่มเก็บตัวอย่างผลพริกหนุ่มที่แสดงอาการโรคแอนแทรคโนสจากแปลงเกษตรกรในพื้นที่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ จำนวน 10 ตัวอย่าง นำมาแยกเชื้อราสาเหตุด้วยวิธี single spore isolation บนอาหาร potato dextrose agar (PDA) (ชนากานต์ และปิลันธนา, 2559) แล้วศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราสาเหตุโรค จากนั้นเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้บนอาหาร 1/2PDA (half strength PDA) เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

### ทดสอบความสามารถในการก่อโรค (Pathogenicity test) ของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก

นำตัวอย่างผลพริกหนุ่มที่ไม่แสดงอาการของโรค มาล้างทำความสะอาด ฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย 70% EtOH ทำแผลโดยใช้เข็มเขี่ยที่ฆ่าเชื้อแล้ว ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสที่แยกได้จากการทดลองที่ 1 ด้วยวิธี detached fruit นำชิ้นเชื้อราสาเหตุ (culture disc) ที่เจริญบนอาหาร PDA ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 ซม. วางลงบนแผลของผลพริกที่เตรียมไว้ สำหรับชุดควบคุมจะใช้ PDA วางแทนเชื้อราสาเหตุ จากนั้นบ่มตัวอย่างไว้ในกล่องชื้น ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน บันทึกลักษณะอาการและความรุนแรงของโรค

### เตรียมเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟต์และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

นำเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟต์ *Streptomyces* sp. จำนวน 3 ไอโซเลท คือ PE06 แยกได้จากเสาวรส (*Passiflora edulis* f. *edulis* Sims.) CT18 และ CT20 แยกได้จากอัญชัน (*Clitoria ternatea*) จาก stock culture ห้องปฏิบัติการควบคุมโรคทางชีวภาพ ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (ประวิทย์ และปิลันธนา, 2562) มาเพิ่มปริมาณบนอาหาร inhibitory mold agar-2 (IMA-2) บ่มไว้ที่มืด อุณหภูมิ 30 °ซ เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* จากมูลนิธิโครงการหลวง มาเพิ่มปริมาณบนอาหาร nutrient agar (NA) เป็นเวลา 3 วัน ก่อนนำมาทดสอบด้วยวิธี dual culture และ sealed plate ต่อไป

### ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก

#### ทดสอบด้วยวิธี dual culture

ใช้เข็มเขี่ยแตะบนโคโลนีของเชื้อ *Streptomyces* sp. ทั้ง 3 ไอโซเลท คือ PE06, CT18 และCT20 แล้วขีดเชื้อแต่ละชนิดเป็นแนวยาว 4 เซนติเมตร บนอาหาร IMA-2 บ่มไว้ที่มืด อุณหภูมิ 30 °ซ เป็นเวลา 5 วัน สำหรับเชื้อ *B. subtilis* ขีดเชื้อเช่นเดียวกันบนอาหาร NA บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 28 °ซ เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นวาง culture disc ของเชื้อราสาเหตุห่างจากจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ 5 ซม. วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) ทำการทดสอบจำนวน 4 ซ้ำ และในชุดควบคุมวางเฉพาะเชื้อราสาเหตุโรค จากนั้นวัดรัศมีโคโลนีของเชื้อราสาเหตุในชุดทดสอบเปรียบเทียบกับชุดควบคุม นำข้อมูลมาคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการ

เจริญตามวิธีของ Singh et al. (2008) จากสูตร [C-(T/C)] x 100 โดยที่ C คือ รัศมีโคโลนีของเชื้อราสาเหตุอย่างเดียว (ชุดควบคุม) และ T คือ รัศมีโคโลนีของเชื้อราสาเหตุที่ถูกยับยั้งด้วยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (ชุดทดสอบ) เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส

**ทดสอบด้วยวิธี sealed plate**

เลี้ยงเชื้อ *Streptomyces* sp. PE06, CT18 และCT20 ในอาหาร IMB-2 และเชื้อ *B. subtilis* ในอาหาร nutrient Broth (NB) เชื้อละปริมาตร 100 มล. แล้วเขย่าที่ความเร็วรอบ 180 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24-72 ชม. จากนั้นนำสารแขวนลอยของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ปริมาตร 10 ไมโครลิตร มา spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 28 °ซ เป็นเวลา 48 ชม. นำจานอาหาร PDA ที่เลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส มาประกบกับจานอาหารที่มีจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 72 และ 120 ชม. วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) ทำการทดสอบจำนวน 4 ซ้ำ สำหรับชุดควบคุมวางเชื้อราสาเหตุโรคอย่างเดียว จากนั้นวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีสของเชื้อราสาเหตุ นำข้อมูลมาคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญตามวิธีของ Chaurasia et al. (2005) จากสูตร [R1-(R2/R1)] x 100 โดยที่ R1 คือ เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราสาเหตุอย่างเดียว (ชุดควบคุม) และ R2 คือ เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราสาเหตุที่ถูกยับยั้งด้วยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (ชุดทดสอบ) เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา

**ผลของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อการสร้างสปอร์และเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก**

**การสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรค**

ตรวจนับปริมาณสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคหลังจากทดสอบด้วยวิธี dual culture และ sealed plate โดยเทน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 10 มล./จานอาหาร แล้วขูดเส้นใยบนผิวหน้าอาหาร ทำการนับปริมาณสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคด้วย haemacytometer และคำนวณหาความหนาแน่นของสปอร์จากสูตร [((nColony/nGrid) x 1/4) x $10^6$] โดยที่ nColony คือ จำนวนโคโลนีที่นับได้ทั้งหมด และ nGrid คือ จำนวนกริดที่นับ (เดชาวุฒิ และคณะ, 2558)

**ความผิดปกติของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค**

ตรวจสอบความผิดปกติของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคหลังจากทดสอบด้วยวิธี dual culture และ sealed plate โดยตัดปลายเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคที่ถูกยับยั้ง นำมาตรวจสอบความผิดปกติของเส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound microscope บันทึกลักษณะความผิดปกติของเส้นใยเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

**ผลการศึกษาและวิจารณ์**

**เก็บตัวอย่างและแยกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก**

เมื่อศึกษาลักษณะอาการของโรคแอนแทรคโนสจากตัวอย่างผลพริกหนุ่มจากแปลงเกษตรกรในพื้นที่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ พบแผลสีน้ำตาลอ่อนจนถึงเข้ม เนื้อเยื่อยุบตัว แผลแห้งและมีตุ่มสีดำ (acervulli) จำนวนมากกระจายอยู่ทั่วบริเวณกลางแผล (**Figure 1A**) โดยระยะเริ่มเข้าทำลายจนแสดงอาการชัดเจนพบเนื้อเยื่อของผลพริกยุบตัว ฉ่ำน้ำและขยายบริเวณกว้างอย่างรวดเร็ว ขนาดแผลไม่แน่นอน พบกลุ่มสปอร์ (spore mass) สีส้มเกิดบนแผลเห็นได้ชัดเจน (**Figure 1B และ 1C**) สอดคล้องกับรายงานของ Than et al. (2008) กล่าวว่าในระยะติดผลอาการโรคแอนแทรคโนสแสดงให้เห็นชัดเจนเมื่อผลพริกเริ่มสุก ทำให้เกิดรอยช้ำ ยุบเป็นแอ่งลึก เนื้อเยื่อบริเวณที่ถูกทำลายจะหยุดการเจริญ ทำให้ผลพริกมีลักษณะโค้งงอ ผิดรูป และ Harp et al. (2008) รายงานว่าเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* จะเข้าทำลายเมื่อผลพริกเริ่มแก่จนถึงระยะเก็บเกี่ยวเท่านั้น

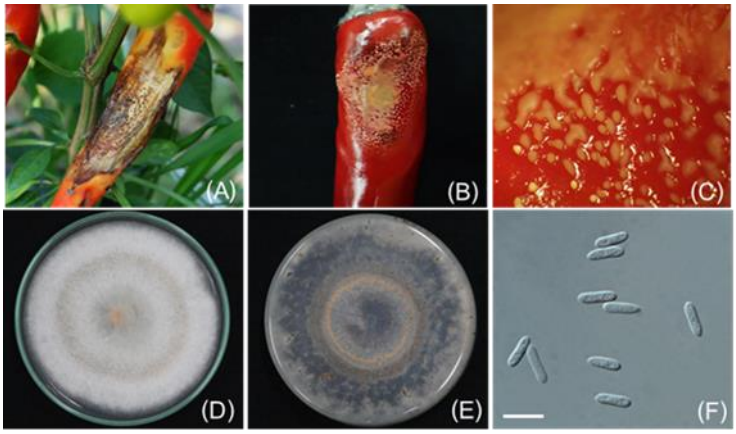



**Figure 1** Anthracnose symptoms of chilli in cultivated area (A), symptoms on the infected chilli (B), numerous of spore masses on the infected chilli under stereo microscope(C), and culture and morphological characteristics of *Colletotrichum gloeoporioides* Coll-1 causal agent of chilli anthracnose disease; colony on PDA at 7 days after incubation at 25°C from above (D), from below (E) and conidia. (Scale bar = 10 µm).

เมื่อนำตัวอย่างผลพริกหนุ่มทั้ง 10 ตัวอย่าง มาแยกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสด้วยวิธี single spore isolation บนอาหาร PDA สามารถแยกเชื้อราสาเหตุโรคได้ทั้งหมด จำนวน 4 ไอโซเลท คือ Coll-1, Coll-2, Coll-3 และ Coll-4 โดยลักษณะโคโลนีเจริญบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน พบเส้นใยมีสีขาวอมเทา เส้นใยฟู มีการสร้าง spore masses สีส้มลักษณะเป็นวงซ้อนกันตรงกลางโคโลนี (**Figure 1D**) พลิกดูด้านหลังจานอาหารเลี้ยงเชื้อพบสร้างเม็ด sclerotia สีน้ำตาลเข้มถึงดำ เป็นกลุ่มอยู่บนอาหารเลี้ยงเชื้อ (**Figure 1E**) จากนั้นศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสปอร์ภายใต้กล้อง compound microscope พบสปอร์เซลล์เดียว ไม่มีสี รูปทรงกระบอกหัวท้ายมน (**Figure 1F**) จากลักษณะดังกล่าวสามารถจำแนกเชื้อราสาเหตุตามหลักเกณฑ์ของ Sutton (1992) และสอดคล้องกับรายงานของ Photita et al. (2005) จัดเป็นเชื้อสาเหตุ *C. gloeosporioides*

**ความสามารถในการก่อโรคของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก**

เมื่อนำเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคที่แยกได้ทั้ง 4 ไอโซเลท คือ Coll-1, Coll-2, Coll-3 และ Coll-4 มาปลูกเชื้อด้วยวิธี detached fruit เป็นเวลา 7 วัน พบว่าไอโซเลท Coll-1 สามารถก่อให้เกิดโรคได้รุนแรงที่สุด (**Figure 2A**) เริ่มแรกเป็นจุดฉ่ำน้ำ เนื้อเยื่อยุบตัวลง แผลรูปร่างค่อนข้างกลมและเนื้อเยื่อเริ่มแตกออก **(Figure 2B)** ต่อมาแผลขยายใหญ่ขึ้น พบ spore mass ของเชื้อราสีส้มจำนวนมากบนแผล (**Figure 2C**) สอดคล้องกับรายงานของ นิพนธ์ (2552) กล่าวว่า เมื่อเชื้อรา *C. gloeosporioides* เข้าทำลายบนผลพริก ทำให้เกิดแผลรูปร่างค่อนข้างกลม กลางแผลสีน้ำตาลอ่อนถึงน้ำตาลไหม้ แผลมักแห้งและมีจุดสีดำเล็ก ๆ (acervulus) จำนวนมากกระจายอยู่ทั่วไป ขอบแผลไม่เรียบ จึงคัดเลือกเชื้อราสาเหตุไอโซเลท Coll-1 ใช้ทดสอบในขั้นตอนต่อไป

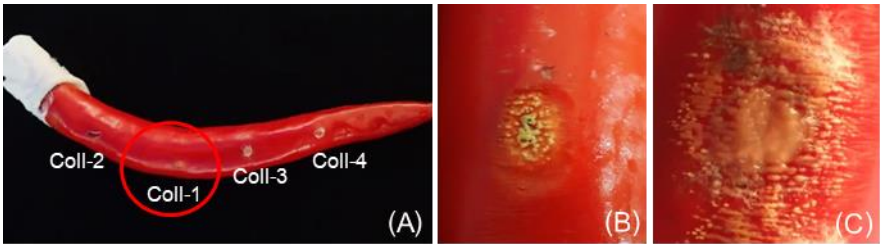



**Figure 2** Pathogenicity test of the chilli anthracnose inoculated with *Colletotrichum gloeoporioides* Coll-1-Coll-4 by detached fruit assay at 7 days after inoculation (wounding method) (A), lesion generated by *C. gloeosporioides* Coll-1 (B) and spore masses of *C. gloeosporioides* Coll-1 in detached chilli fruit

**ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporiodes* Coll-1 สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก ทดสอบด้วยวิธี dual culture**

เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Streptomyces* sp. PE06, CT18, CT20 และ *B. subtilis* สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* Coll-1 ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (**Figure 3 และ Table 1**) พบเชื้อ *B. subtilis* มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงสุด 53.82 และมีบริเวณที่ถูกยับยั้ง (inhibition zone) 26 มม. รองลงมาคือ เชื้อ *Streptomyces* sp. PE06, CT18 และ CT20 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง 45.14, 39.58 และ 26.39 และมีบริเวณที่ถูกยับยั้ง 22, 19 และ 13 มม. ตามลำดับ ซึ่งมีแนวโน้มสอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Heng et al. (2015) พบว่าเชื้อ *Streptomycetes ambofaciens* S2 มีศักยภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gleosporioides* ได้สูงสุด 15 มม. บนอาหาร PDA อีกทั้งวิไลลักษณ์ และสมเกียรติ (2559) พบเชื้อแอคติโนมัยซีสไอโซเลท CS2 และ CS5 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. capsici* ได้ 64.54 และ 63.63% บนอาหาร McBeth Scale Agar (MBS) นอกจากนี้ ศิรินภา และเกวลิน (2552) กล่าวว่า เชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟต์ไอโซเลท COF2 และ COF1 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท 1 บนอาหาร IMA-2 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง 68.82 และ 68.23 ตามลำดับ แม้ว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Streptomyces* sp. ทั้ง 3 ไอโซเลท มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* Coll-1 ได้ในระดับต่ำ แต่ส่งผลต่อการเจริญเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคทำให้เส้นใยบางลงและเกิดการเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับชุดควบคุม เช่น มีการสร้าง tertiary mycelium และเริ่มมีการอัดตัวของเส้นใยบริเวณขอบ ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการสร้างเอนไซม์หรือสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) ของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรค เช่น β-glucanase และ kitinase เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายกลูแคนและไคติน (ปราณี และชนิดาภา, 2555) อีกทั้ง ยังพบเซลลูเลส ไคติเนส อะไมเลส และสารไซเดอโรฟอร์อีกด้วย (ประวิทย์ และปิลันธนา, 2562) แสดงให้เห็นว่าสารทุติยภูมิที่ถูกสร้างขึ้นโดยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้ง 4 ชนิด สามารถแพร่กระจายในอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลต่อการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* Coll-1 โดยตรงทำให้เกิดบริเวณที่ถูกยับยั้งอย่างชัดเจน

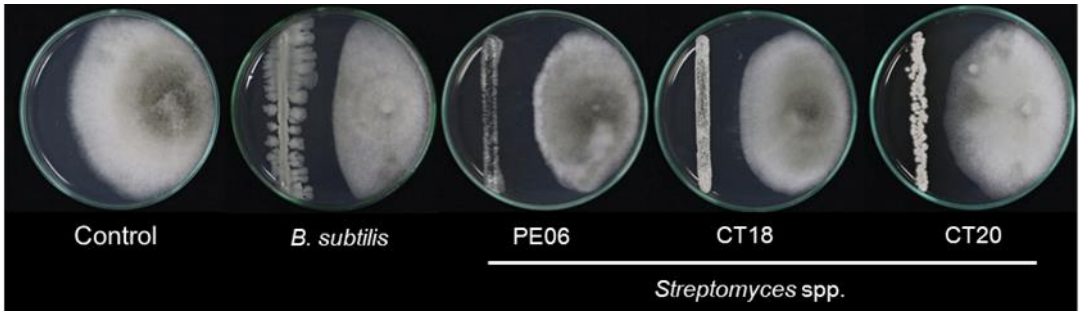



**Figure 3** Inhibition efficiency of the 4 antagonistic bacteria isolates on mycelial growth of *Colletotrichum gloeosporioides* Coll-1 caused by chilli anthracnose disease by using dual culture assay

**Table 1** The efficacy of 4 antagonistic bacteria isolates against *Colletotrichum gloeosporioides* Coll-1 by dual culture assay

| Antagonistic bacteria | Radial growth (mm.) | Inhibition zone (mm.) | [1]PIRG (%) |
|---|---|---|---|
| *Bacillus subtilis* | 22 [2]D | 26 A | 53.82 A |
| *Streptomyces* sp. PE06 | 26 C | 22 B | 45.14 B |
| *Streptomyces* sp. CT18 | 29 B | 19 C | 39.58 C |
| *Streptomyces* sp. CT20 | 35 A | 13 D | 26.39 D |
| CV (%) | 1.54 | 2.19 | 2.18 |
| $LSD_{0.05}$ | 0.08 | 0.08 | 1.69 |

[1] PIRG = Percent inhibition of radial growth

[2] Means within the same column followed by the same letter are not significantly different at the 0.05 level by LSD test

**ทดสอบด้วยวิธี sealed plate**

จากการทดสอบประสิทธิภาพสารระเหยของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Streptomyces* sp. PE06, CT18, CT20 และ *B. subtilis* ต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* Coll-1 ที่เวลา 72 และ 120 ชม. (**Figure 4 และ Table 2**) พบเชื้อราที่เลี้ยงร่วมกับจุลินทรีย์ปฏิปักษ์แต่ละไอโซเลทมีการเจริญของเส้นใยลดลง และเส้นใยมีลักษณะแบนราบติดกับผิวหน้าอาหาร โดยที่เวลา 72 และ 120 ชม. พบไอโซเลท CT20 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสุดสูง 46.38 และ 64.17 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับไอโซเลทอื่น ๆ มีรายงานว่าสารระเหยของเชื้อ *Streptomyces platensis* F-1 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* และ *Botrytis cinerea* ได้ 63.24, 51.39 และ 45.33% (Wang et al., 2008) อีกทั้ง เชื้อ *Streptomyces alboflavus* TD-1 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Fusarium moniliforme*, *Aspergillus flavus*, *A. ochraceus*, *A. niger* และ *Penicillium citrinum* อยู่ในช่วง 24.80-65% (Wan et al., 2013) นอกจากนี้ ชนากานต์ และปิลันธนา (2562) รายงานว่า เชื้อ *Bacillus* sp. ที่แยกจากบริเวณรอบรากผักกระเฉด มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Sclerotium rolfsii*, *R. solani*, *Pythium* sp. และ *Fusaium oxysporum* อยู่ในช่วง 75-100% อย่างไรก็ตาม มีรายงานยืนยันว่าสารระเหยที่จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ผลิตขึ้นนั้นเป็นสารประกอบอินทรีย์ระเหยได้ มีโมเลกุลขนาดเล็ก สามารถแพร่กระจายตัวได้ไกลขึ้นอยู่กับปริมาณและความสม่ำเสมอของเชื้อ โดยพบสารระเหยหลายกลุ่ม เช่น alcohols, esters, acids, alkanes, ketones และ alkenes เป็นต้น ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ (Wan et al., 2008; Wang et al., 2013) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้ง 4 ชนิดนี้สามารถผลิตสารระเหยยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* Coll-1 ได้แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของสารระเหยที่ผลิตได้ ดังนั้นเพื่อพิสูจน์ข้อสันนิษฐานนี้ควรวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารระเหยด้วยเครื่องมือ GC-MS ในอนาคตต่อไป

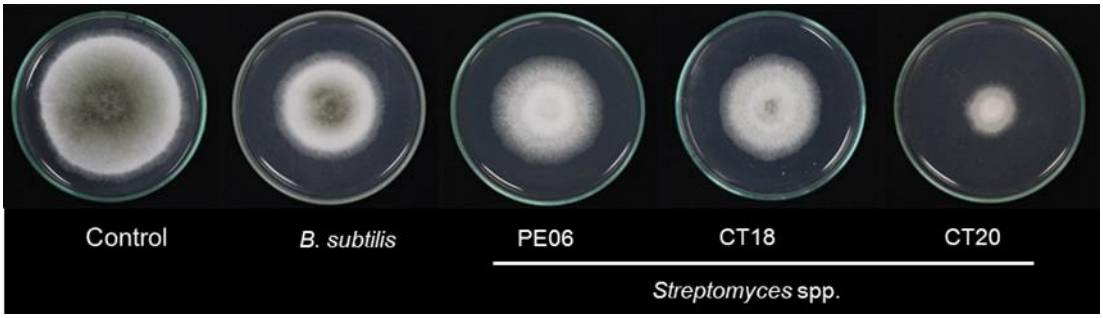



**Figure 4** Inhibition efficiency of the 4 antagonistic bacteria isolates on mycelial growth of *Colletotrichum gloeosporioides* Coll-1 caused by chilli anthracnose disease by using sealed plate assay at 120 hours

**Table 2** The efficacy of 4 antagonistic bacteria isolates against *Colletotrichum gloeosporioides* Coll-1 by using sealed plate assay at 72 and 120 hours

| Antagonistic bacteria | [1]PIRG (%) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | At 72 hours | | At 120 hours | |
| | Radial growth (mm.) | PIRG (%) | Radial growth (mm.) | PIRG (%) |
| *Bacillus subtilis* | 43 [2]A | 12.32 B | 57 A | 28.75 B |
| *Streptomyces* sp. PE06 | 38 B | 16.67 B | 56 AB | 30.00 B |
| *Streptomyces* sp. CT18 | 39 B | 15.94 B | 54 B | 31.67 B |
| *Streptomyces* sp. CT20 | 24 C | 46.38 A | 30 C | 64.17 A |
| CV (%) | 3.89 | 12.89 | 1.55 | 4.48 |
| $LSD_{0.05}$ | 0.26 | 5.58 | 0.14 | 3.26 |

[1]PIRG = Percent inhibition of radial growth

[2] Means within the same column followed by the same letter are not significantly different at the 0.05 level by LSD test

**ผลของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อการสร้างสปอร์และเส้นใยของเชื้อรา *C. gloeosporiodes* Coll-1**

**การสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรค**

จากการตรวจนับปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* Coll-1 ที่ถูกยับยั้งการเจริญของเส้นใยด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. PE06, CT18, CT20 และ *B. subtilis* หลังทดสอบด้วยวิธี dual culture และ sealed plate (**Figure 5**) พบมีเพียงไอโซเลท CT20 ทำให้ปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคลดลง (**Figure 5A และ 5C**) และมีเปอร์เซ็นต์ยังยั้งการสร้างสปอร์ได้สูง 76 และ 94.93 ตามลำดับ (**Figure 5B และ 5D**) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับไอโซเลทอื่น ๆ และชุดควบคุม แสดงให้เห็นว่าศักยภาพการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อ *Streptomyces sp.* CT20 ต่อเชื้อราสาเหตุโรค นอกจากมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยแล้วยังทำให้ปริมาณการสร้างสปอร์มีแนวโน้มลดลงและยับยั้งการสร้างสปอร์เพิ่มขึ้นซึ่งอาจส่งผลต่อการงอกของสปอร์ แม้ว่างานวิจัยนี้ไม่ได้ทดสอบการงอกของสปอร์ แต่จากรายงานของ Danaei et al. (2014) พบสารระเหยของเชื้อ *Streptomyces griseus* มีผลต่อการงอกของสปอร์และสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *Botrytis cinerea* และ *Penicillium chrysogenum* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตาม กลไกการยับยั้งของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไม่ได้มีแค่กลไกเพียงอย่างเดียว อาจขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์แต่ละสายพันธุ์ด้วยเช่นกัน

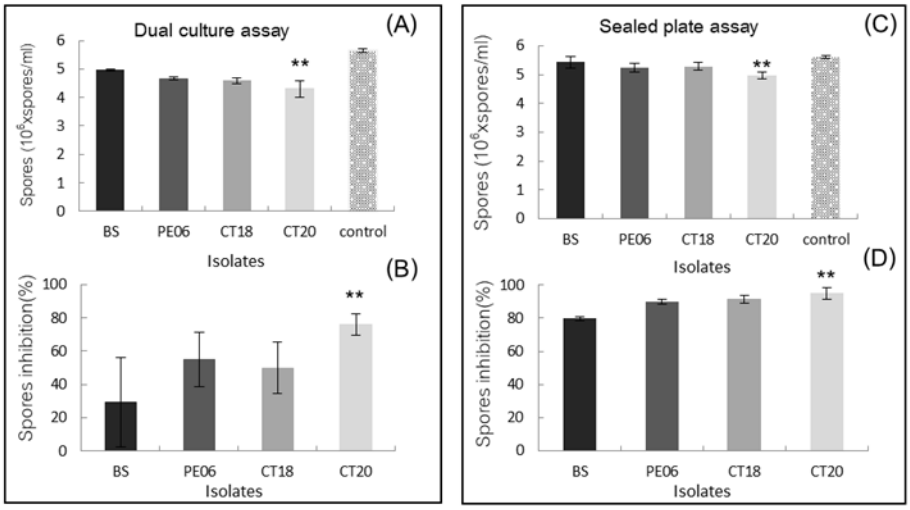



**Figure 5** Suppression of conidia production of *Colletotrichum gloeosporioides* Coll-1 by the 4 antagonistic bacteria isolates by using dual culture assay (A, B) and sealed plate assay at 120 hours (C, D)

**ความผิดปกติของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค**

จากการตรวจดูลักษณะผิดปกติของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum* sp. Coll-1 หลังจากทดสอบด้วยวิธี dual culture และ sealed plate ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound microscope พบเส้นใยของเชื้อราสาเหตุมีลักษณะผิดปกติ (**Figure 6 และ 7**) เมื่อทดสอบด้วยวิธี dual culture พบว่า ชุดควบคุมเส้นใยมีลักษณะปกติ (**Figure 6A**) เชื้อ *B. subtilis* เส้นใยไม่เรียบและปลายเส้นใยบวมพอง ภายในเส้นใยเกิดการสลายตัวบางช่วง **(Figure 6B และ 6C)** ไอโซเลท PE06 ปลายเส้นใยบวมพอง เป็นคลื่นไม่เรียบ (**Figure 6D และ 6E)** และไอโซเลท CT18 ปลายเส้นใยสลายตัว (**Figure 6F)** ไม่เรียบ มีการแตกแขนงผิดปกติ (**Figure 6G**) และไอโซเลท CT20 เกิดการรวมตัวกันของไซโตพลาสซึมที่บริเวณปลายเส้นใยและเป็นคลื่นไม่เรียบ (**Figure 6H และ 6I**) สอดคล้องกับรายงานของอภาพร และเกวลิน (2557) พบเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟต์ ไอโซเลท DUC2, CINv1, FRA19, CINc1 และ POL2 ทำให้เส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora cactorum* มีลักษณะบิดเบี้ยว และแตกแขนงสั้น ๆ ส่วนปลายเส้นใยบวมพอง อาจมีการสร้างเอนไซม์ **β**-glucanase ที่สามารถย่อยสลายกลูแคนซึ่งเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ นอกจากนี้ ประวิทย์ และปิลันธนา (2562) รายงานว่าเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟต์ ไอโซเลท PE04, PE06, CT18 และ CT20 สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลส ไคติเนส อะไมเลส และสารไซเดอโรฟอร์ที่มีผลต่อเส้นใยของเชื้อรา *P. nicotianae* ทำให้เส้นใยของเชื้อรามีลักษณะผิดปกติ

เมื่อทดสอบด้วยวิธี sealed plate พบว่าชุดทดสอบด้วยเชื้อ *B. subtilis* พบปลายเส้นใยของเชื้อราบวมพองและคดงอ (**Figure 7B และ 7C**) ในขณะที่เชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท PE06 ทำให้ปลายเส้นใยเชื้อราบวมพองและไซโตพลาสซึมเป็นก้อนกลม **(Figure 8D และ E)** ไอโซเลท CT18 ทำให้เส้นใยบวมพอง ไม่เรียบและรูปร่างไม่แน่นอน (**Figure 7F และ 7G**) และไอโซเลท CT20 ปลายเส้นใยบวมพอง รูปร่างไม่แน่นอนและเกิดการสลายตัว (**Figure 7H และ 7I**) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมเส้นใยมีลักษณะปกติ (**Figure 7A**) สอดคล้องกับรายงานของชนากานต์ และปิลันธนา (2562) พบผลของสารระเหยที่ผลิตจากเชื้อ *Bacillus* sp. ทำให้เส้นใยของเชื้อรา *S. rolfsii*, *R. solani*, *Pythium* sp. และ *F. oxysporum* มีรูปร่างไม่แน่นอน เส้นใยสลายตัว ปลายเส้นใยบวมพองและผนังของเส้นใยไม่เรียบ อีกทั้ง El-Tarabily et al. (2006) พบเชื้อแอคติโนมัยซีส *Actinoplanes philippinensis*, *Microbispora rosea*, *Micromonospora chalcea* และ *Streptomyces griseoloalbus* สามารถผลิตสาร **β**-1,3-, **β**-1,4- และ **β**-1,6-glucanases มีคุณสมบัติในการย่อยสลายผนังเซลล์ (lysis) ของเส้นใยเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* แต่เมื่อศึกษาการสร้างสารระเหยต่อการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อราสาเหตุ พบว่าเชื้อแอคติโนมัยซีสทั้ง 4 สายพันธุ์ ไม่สามารถผลิตสารระเหยในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย และไม่มีผลต่อลักษณะผิดปกติของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคแต่อย่างใด จากข้อมูลข้างต้นกล่าวได้ว่า ความผิดปกติของเส้นใยเชื้อรา

สาเหตุโรคที่ถูกยับยั้งด้วยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่สามารถสร้างสารทุติยภูมิ เช่น เอนไซม์ต่าง ๆ ส่งผลต่อความเสียหายของเส้นใย จัดเป็นกลไกการแก่งแย่งแข่งขันและยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุทางชีววิธีซึ่งถือเป็นคุณสมบัติที่ดีของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

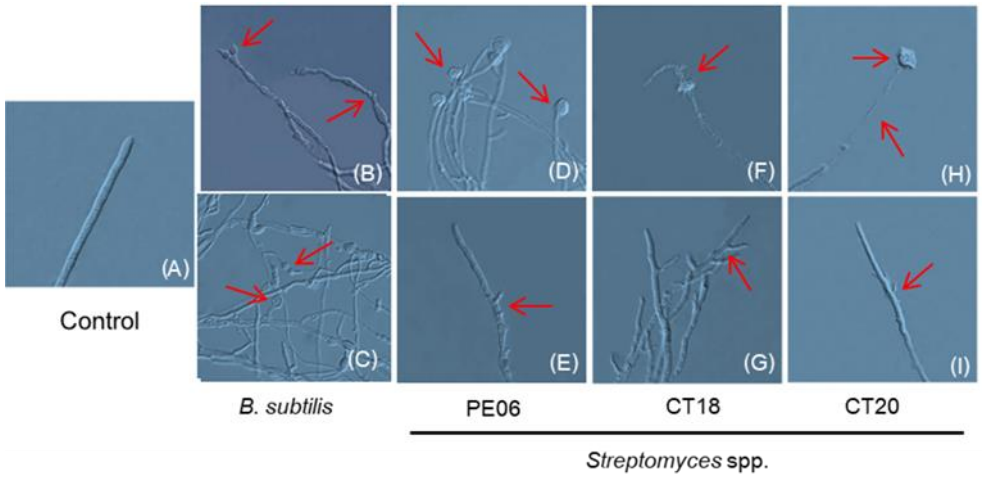



**Figure 6** Mycelial abnormalities of *Colletotrichum gloeosporioides* Coll-1 caused by diffusible antimicrobial compounds secreted by the 4 antagonistic bacteria isolates. The red arrows indicated the point of abnormality in the hyphae. Malformed hyphae of *C. gloeosporioides* Coll-1 exposed to the 4 antagonistic bacteria isolates (B-I). Healthy hyphae (A)

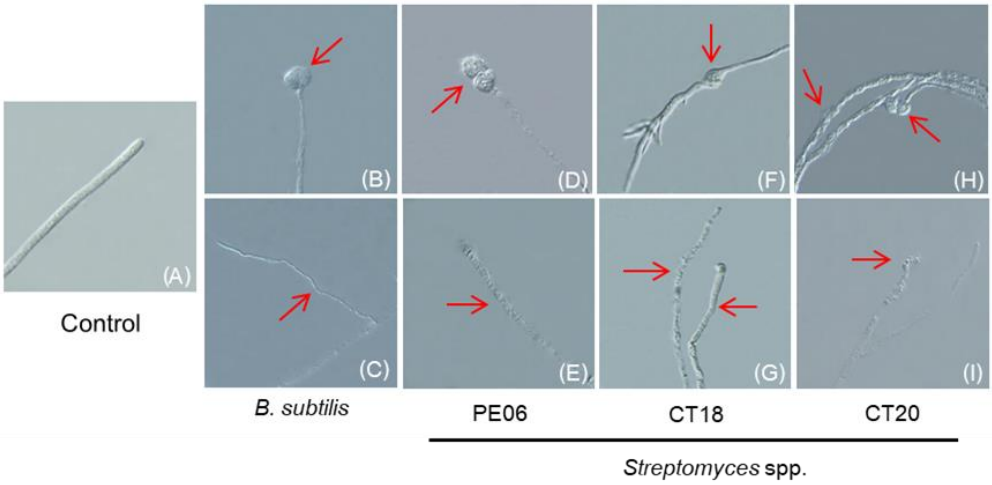



**Figure 7** Mycelial abnormalities of *Colletotrichum gloeosporioides* Coll-1 caused by volatile antimicrobial compounds secreted by the 4 antagonistic bacteria isolates. The red arrows indicated the point of abnormality in the hyphae. Malformed hyphae of *C. gloeosporioides* Coll-1 exposed to the 4 antagonistic bacteria isolates (B-I). Healthy hyphae (A)

**สรุป**

เชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟต์ *Streptomyces* sp. PE06, CT18 และ CT20 และเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นเชื้อรา *C. gloeosporiodes* Coll-1 สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริกได้แตกต่างกันเมื่อทดสอบด้วยวิธี dual culture และ sealed plate จากการทดสอบด้วยวิธี sealed plate ที่เวลา 120 ชม. พบเชื้อ *Streptomyces* sp. CT20 สามารถสร้างสารระเหยที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporiodes* Coll-1 ได้ดีที่สุด มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งได้

สูงถึง 64.17 และสามารถลดปริมาณการสร้างสปอร์ได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์สูงถึง 94.93 อีกทั้งส่งผลทำให้เส้นใยของเชื้อราสาเหตุมีลักษณะผิดปกติ อย่างไรก็ตาม จำเป็นต้องมีการศึกษาการประยุกต์ใช้เชื้อปฏิปักษ์นี้ในรูปแบบที่เหมาะสมต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกทั้งในสภาพแปลงปลูกและภายหลังการเก็บเกี่ยวในอนาคตต่อไป

**เอกสารอ้างอิง**

ชนากานต์ รัตนศักดิ์ชัยชาญ, และปิลันธนา ฐาปนพงษ์วรกุล. 2562. ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์บริเวณรอบรากผักกระเฉดที่ผลิตสารทุติยภูมิเพื่อยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชทางดิน. วารสารเกษตร. 35: 87-99.

เดชาวุฒิ วานิชสรรพ์, นิทัศน์ นิลฉวี, ทวีศักดิ์ รัตนคม, และพรรณนิการ์ กงจักร. 2558. ขั้นตอนวิธีนับจำนวนเชื้อบนแผ่นฮีโมซิโตมิเตอร์ด้วยเทคนิคประมวลผลภาพและดีบีสแกน. วารสารเทคโนโลยีสารสนเทศ. 11: 56-61.

นิพนธ์ ทวีชัย, อุดมศักดิ์ เลิศสุชาวนิช, ไก่แก้ว สุธรรมมา, และจิตรยา จารุจิตร์. 2552. การจัดการโรคพืชโดยเทคโนโลยีชีวภาพ: การใช้จุลินทรีย์ชีวภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริก. แหล่งข้อมูล: www.rdi.ku.ac.th/kufair50/technology/02_techno/2_ tech.htm. ค้นเมื่อ 29 สิงหาคม 2563.

นิพนธ์ ทวีชัย. 2553. โรคพืชและการจัดการด้วยวิธีชีวภาพ. แหล่งข้อมูล: https://www.nstda.or.th/th/nstda-knowledge/3385-biocontrol. ค้นเมื่อ 2 กันยายน 2563.

ประวิทย์ ยอดปะนัน, และปิลันธนา ฐาปนพงษ์วรกุล. 2562. การคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟต์ที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* สาเหตุโรคใบไหม้และผลเน่าของเสาวรส. วารสารแก่นเกษตร. 47: 1633-1638.

ปราณี พัฒนพิพิธไพศาล, และ ชนิดาภา นวะพัฒ. 2555. การควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของพริกที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ด้วยแอคติโนมัยสีท *Streptomyces hygroscopicus* PACCH24 ที่สร้างเอนไซม์ไคติเนส. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 14: 10-22.

วิไลลักษณ์ โคมพันธุ์, และสมเกียรติ ทับทิม. 2559. ผลของแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกจากดินรอบรากพริกต่อการยับยั้งการเจริญของ *Colletotrichum capsici*, *Curvularia lunata* และ *Fusarium solani*. วารสารแก่นเกษตร.14: 942-947.

ศิรินภา ไชยพล, และเกวลิน คุณาศักดากุล. 2552. การคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์ในการควบคุมโรคของชา. แหล่งข้อมูล: http://web.agri.cmu.ac.th/qa/intra/SAR/2553-54/sms/part2/6/2552/2552_17.pdf. ค้นเมื่อ 9 เมษายน 2563.

สุพจน์ กาเซ็ม. 2557. ชีววิธีการควบคุมโรคพืชกับการผลิตพืชอาหารปลอดภัย. แหล่งข้อมูล: https://kukr.lib.ku.ac.th/journal/ETO/search_detail/dowload_digital_file/353817/89085. ค้นเมื่อ 2 กันยายน 2563.

อังสุมา ชยสมบัติ. 2533. โรคหลังการเก็บเกี่ยวของผลมะม่วงที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. และการควบคุม. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อนันต์ วงเจริญ, พชรมน เล็บสิงห์, และกานต์ จิตสุวรรณรักษ์. 2561. ผลของสารระเหยที่ผลิตจากเชื้อ *Daldinia* spp. ต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกหลังการเก็บเกี่ยวและการงอกของเมล็ดพริก. วารสารแก่นเกษตร. 46: 1137-1142.

อภาพร โพธิยอด, และเกวลิน คุณาศักดากุล. 2557. การชักนำให้เกิดความต้านทานโรคเน่าไฟทอปธอราในสตรอว์เบอร์รีที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์. วารสารเกษตร. 30: 213-222.

Ashokvardhan T., A. B. Rajithasri, P. Prathyusha, and K. Satyaprasad. 2014. Actinomycetes from *Capsicum annuum* L. rhizosphere soil have the biocontrol potential against pathogenic fungi. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 3: 894-903.

Begum, M. M., M. Sariah, Z. M. A. Abidin, B. A. Puteh, and A. M. Rahman. 2008. Antagonistic potential of selected fungal and bacterial biocontrol agents against *Colletotrichum truncatum* of soybean seeds. Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science. 31: 45-53.

Chaurasia, B., A. Pandey, L. M. S. Palni, P. Trivedi, B. Kumar, and N. Colvin. 2005. Diffusible and volatile compounds produced by an antagonistic *Bacillus subtilis* strain cause structural deformations in pathogenic fungi *in vitro*. Microbiological Research. 160: 75-81.

Danaei, M., A. Baghizadeh, S. Pourseyedi, J. Amini, and M. M. Yaghoobi. 2014. Biological control of plant fungal diseases using volatile substances of *Streptomyces griseus*. European Journal of Experimental Biology. 4: 334-339.

El-Tarabily, K. A. 2006. Rhizosphere-competent isolates of streptomycete and non-streptomycete actinomycetes capable of producing cell-wall-degrading enzymes to control *Pythium aphanidermatum* damping-off disease of cucumber. Canadian Journal of Botany. 84: 211-222.

Harp T. L., K. Pernezny, M. L. Lewis Ivey, S. A. Miller, P. J. Kuhn, and L. Datnoff. 2008. The etiology of recent pepper anthracnose outbreaks in Florida. Journal of crop protection. 27: 1380-1384.

Heng, J. L. S., U. K. Shah, N. A. A. Rahman, K. Shaari, and H. Hamzah. 2015. *Streptomyces ambofaciens* S2-A potential biological control agent for *Colletotrichum gleosporioides* the causal agent for anthracnose in red chilli fruits. Journal of Plant Pathology and Microbiology. S1:006, DOI:10.4172/2157-7471.1000S1-006.

Imtiaj, A., and S. T. Lee. 2008. Antagonistic effect of three *Trichoderma* species on the *Alternaria porri* pathogen of onion blotch. World Journal of Agricultural Sciences. 4: 13-17.

Khucharoenphaisan K., K. Sinma, and C. Lorrungruang. 2013. Efficiency of actinomycetes against phytopathogenic fungus of chilli anthracnose. Journal of Applied Sciences. 13: 472-478.

Photita, W., P. W. J. Taylor, R. Ford, K. D. Hyde, and S. Lumyong. 2005. Morphological and molecular characterization of *Colletotrichum* species from herbaceous plants in Thailand. Fungal Diversity. 10: 117-133.

Saxena, A., R. Raghuvanshi, and H. B. Singh. 2014. Molecular, phenotypic, and pathogenic variability in *Colletotrichum* isolates of subtropical region in North Eastern India, causing fruit rot of chillies. Journal of applied microbiology. 117: 14221-1434.

Saxena, A., R. Raghuwanshi, V. K. Gupta, and H. B. Singh. 2016. Chilli anthracnose: the epidemiology and management. Frontiers in Microbiology. 7: 1-18.

Singh, N., P. Pandey, R. C. Dubey, and D. K. Maheshwari. 2008. Biological control of root rot fungus *Macrophomina phaseolina* and growth enhancement of *Pinus roxburghii* (Sarg.) by rhizosphere competent *Bacillus subtilis* BN1. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 24: 1669-1679.

Suwan N., W. Boonying, and S. Nalumpang. 2012. Antifungal activity of soil actinomycetes to control chilli anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. Journal of Agricultural Technology. 8: 725-737.

Suwannarat, S., S.Steinkellner., P. Songkumarn, and S. Sangchote.2017. Diversity of *Colletotrichum* spp. isolated from chili pepper fruit exhibiting symptoms of anthracnose in Thailand. Mycological Progress. 16: 677–686

Than, P. P., H. Prihastuti, S. Phoulivong, Taylor, P. W. J., and K. D. Hyde. 2008. Chilli anthracnose disease caused by *Colletotrichum* species. Journal of Zheijang University Science B. 9: 764-778.

Wan, M., G. Li, J. Zhang, D. Jiang, and H. C. Huang. 2008. Effect of volatile substances of *Streptomyces platensis* F-1 on control of plant fungal diseases. Biological Control. 46: 552-559.

Wang. C., Z. Wang, X. Qiao, Z. Li, Li F, M. Chen, Y. Wang, Y. Huang, and H. Cui. 2013. Antifungal activity of volatile organic compounds from *Streptomyces alboflavus* TD-1. FEMS Microbiology Letters. 341: 45-51.