

# ประสิทธิภาพของน้ำสกัดชีวภาพจากเศษเหลือพริกต่อการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ในสภาพห้องปฏิบัติการ

## Efficacy of Bio-extracts from Chili Residues against *Colletotrichum gloeosporioides* *In Vitro*

ปิลันธนา ฐาปนพงษ์วรกุล<sup>1\*</sup> และ ชนากานต์ รัตนศักดิ์ชัยชาญ<sup>1/</sup>  
Pilunthana Thapanapongworakul<sup>1\*</sup> and Chanakarn Ratanasakchaichan<sup>1/</sup>

<sup>1/</sup>ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

<sup>1/</sup>Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

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

(Received: 1 October 2015; Accepted: 18 December 2015)

**Abstract:** Phytopathogenic fungus as *Colletotrichum gloeosporioides* is a cause of anthracnose disease on chili and wide species of agricultural crops resulting in its quality and yield loss. Two formulas of fermented bio-extract from chili residues of farmer fields, Formula 1 (stem and leaf) and Formula 2 (fruit), were used to investigate the efficacy of the bio-extracts against *C. gloeosporioides* *in vitro*. Firstly, both bio-extracts were tested for antagonistic activity toward the fungus by poisoned food technique on potato dextrose agar (PDA) at the concentrations of 25, 37.5 and 50% (v/v) for 3, 5, 7, 9 and 12 days, respectively. Among these, Formula 2 was shown the inhibition activity against *C. gloeosporioides* in which isolated from infected chili. Especially, at concentration of 37.5% (v/v) had a significantly highest against the fungus that was 48.67% while at the concentrations of 25 and 50% (v/v) were 37.12 and 8.14%, respectively. To examine the effect on sporulation and spore germination of *C. gloeosporioides* was done by spraying spore suspension onto WA agar disc containing the both formulas that required all concentrations, and then incubated for 48 hrs. The results showed that the density of spore and spore germination were affective effect with Formula 2. Therefore, the bio-extract Formula 2 was selected to evaluate its effect on the occurrence of anthracnose disease by spraying at the concentration of 37.5% (v/v) on chili seedlings under laboratory condition. It was found that Formula 2 slightly significantly reduced disease development or symptom comparing with a single spraying *C. gloeosporioides* treatment. In addition, the disease incidence and severity were not significantly decreased in the following treatments, spraying with Formula 2 + *C. gloeosporioides* and Formula 2 + Phor Dor 2 + *C. gloeosporioides*. The results concluded that the use of bio-extract from chili residues, particular chili fruits could show effectiveness in inhibiting mycelial growth of pathogen on PDA while the control of this pathogen on the host was unsatisfy.

**Keywords:** Anthracnose disease, *Colletotrichum gloeosporioides*, chili, bio-extract, biocontrol

**บทคัดย่อ:** เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* เป็นเชื้อสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสในพริกและพืชหลากหลายชนิด ทำให้คุณภาพและผลผลิตเสียหาย จากการนำเชื้อเห็ดของพริกจากแปลงปลูกของเกษตรกรมาทำน้ำสกัดชีวภาพ 2 สูตร คือ สูตร 1 (ลำต้นและใบ) และ สูตร 2 (ผลพริก) มาทดสอบประสิทธิภาพของน้ำสกัดชีวภาพต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ด้วยวิธี poisoned food technique บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่ความเข้มข้น 25, 37.5 และ 50 เปอร์เซ็นต์ (v/v) เป็นเวลา 3, 5, 7, 9 และ 12 วัน ตามลำดับ พบว่า น้ำสกัดชีวภาพสูตร 2 ทุกระดับความเข้มข้น มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุ โดยที่ความเข้มข้น 37 เปอร์เซ็นต์ (v/v) มีการยับยั้งได้ดีที่สุดเท่ากับ 48.67 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ในขณะที่ความเข้มข้น 25 และ 50 เปอร์เซ็นต์ (v/v) มีการยับยั้งเท่ากับ 37.12 และ 8.14 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อทดสอบผลของน้ำสกัดชีวภาพต่อการสร้างสปอร์และการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อสาเหตุ ด้วยการพ่นน้ำสกัดชีวภาพทั้ง 2 สูตรในทุกระดับความเข้มข้นลงบนสปอร์ของเชื้อสาเหตุบนชิ้นวุ้น (WA) บ่มเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า น้ำสกัดชีวภาพสูตร 2 ส่งผลทำให้จำนวนสปอร์ลดลงและการงอกของสปอร์ผิดปกติ จากนั้นจึงคัดเลือกน้ำสกัดชีวภาพสูตร 2 ที่ความเข้มข้น 37 เปอร์เซ็นต์ (v/v) มาทดสอบผลของน้ำสกัดชีวภาพต่อการเกิดโรคแอนแทรคโนส โดยพ่นน้ำสกัดชีวภาพบนใบพริกในระยะก่อนปลูกเชื้อสาเหตุเป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า น้ำสกัดชีวภาพสูตร 2 ยังสามารถก่อให้เกิดโรคได้บ้างเล็กน้อยซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่พ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อสาเหตุอย่างเดียว นอกจากนี้ ในกรรมวิธีพ่นน้ำสกัดชีวภาพสูตร 2 + พ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อสาเหตุ และกรรมวิธีพ่นน้ำสกัดชีวภาพ + พ่น พด. 2 + พ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อสาเหตุ มีผลให้ระดับความรุนแรงของโรคและการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุลดลงไม่แตกต่างจากกรรมวิธีที่พ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อสาเหตุอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากผลการทดลองสรุปได้ว่าการใช้น้ำสกัดชีวภาพจากเศษเห็ดของพริก โดยเฉพาะจากผลพริกมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA แต่ยังไม่สามารถควบคุมเชื้อสาเหตุบนพืชอาศัยได้อย่างเป็นที่น่าพอใจ

**คำสำคัญ:** โรคแอนแทรคโนส *Colletotrichum gloeosporioides* พริก น้ำสกัดชีวภาพ การควบคุมโดยชีววิธี

## คำนำ

พริกเป็นพืชชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย เนื่องจากมีความต้องการผลผลิตในปริมาณมากเพื่อใช้เป็นพืชผักในครัวเรือน ในอุตสาหกรรมอาหาร และเป็นส่วนประกอบของยารักษาโรค พริกปลูกได้ทั่วประเทศไทย ในภาคเหนือมีพื้นที่ปลูกประมาณ 16 เปอร์เซ็นต์ ของทั้งประเทศ ระยะเวลาการผลิตที่เหมาะสมและการเก็บผลผลิตออกสู่ตลาดแตกต่างกันขึ้นอยู่กับภูมิภาคหรือสภาพแวดล้อม (จิราภา, 2555; Rajamanickam *et al.*, 2012) โดยเฉพาะจังหวัดทางภาคเหนือตอนบน ได้แก่ เชียงใหม่ เชียงราย พะเยา และน่าน สามารถปลูกพริกได้ตลอดทั้งปี (สำนักงานเกษตรและสหกรณ์จังหวัดแพร่, 2551) ปัญหาสำคัญของการปลูกพริกคือการเกิดโรคต่าง ๆ ซึ่งทำให้ผลผลิตลดลง โดยโรคที่ก่อให้เกิดปัญหากับการผลิติดังกล่าวพบ

การระบาดทั่วประเทศคือ โรคแอนแทรคโนส (anthracnose) หรือโรคกุ้งแห้ง สาเหตุเกิดจากเชื้อราในสกุล *Colletotrichum* ได้แก่ *Colletotrichum gloeosporioides* และ *C. capsici* เชื้อสาเหตุสามารถถ่ายทอดจากผลพริกที่เป็นโรคสู่เมล็ดและต้นกล้าได้ ส่งผลให้ปริมาณและคุณภาพของผลผลิตลดลงอย่างมาก รวมทั้งสามารถเข้าทำลายพริกได้ทุกระยะการเจริญเติบโต เมื่อระบาดอย่างรุนแรงทำให้ผลผลิตลดลงถึง 50 เปอร์เซ็นต์ (Pakdeevaporn *et al.*, 2005; Than *et al.*, 2008) โดยเฉพาะในแปลงเพาะปลูกที่มีการจัดการไม่ดี และไม่มีการป้องกันกำจัดโรคที่เหมาะสม จะเป็นแหล่งสะสมของเชื้อสาเหตุโรคและก่อให้เกิดปัญหาในฤดูปลูกถัดไปได้ ซึ่งในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสส่วนใหญ่จะเลือกใช้สารเคมีกำจัดเชื้อราประเภทดูดซึมในกลุ่ม benzimidazole เช่น benomyl, carbendazim, thiabendazole และ thiophanate-methyl (Eckert, 1983)

หากใช้สารเคมีเหล่านี้ในปริมาณมากและติดต่อกันเป็นเวลานาน อาจส่งผลให้เชื้อสาเหตุเกิดการกลายพันธุ์ มีความต้านทานต่อสารเคมีได้ ก่อให้เกิดผลตกค้างในผลพริก รวมถึงส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ทั้งยังทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้นด้วย ปัจจุบันน้ำสกัดชีวภาพ (bio-extract) ซึ่งผู้วิจัยหรือเกษตรกรบางรายเรียกน้ำสกัดชีวภาพเป็นชื่ออื่น ๆ เช่น น้ำหมักชีวภาพ น้ำหมักพืช น้ำจุลินทรีย์ น้ำหมักโพรไบโอติก เป็นต้น (มงคล, 2549; มณฑา และคณะ, 2553; ไชยรัตน์ และคณะ, 2553; สมเกียรติ, 2555) มีคุณค่าทางการเกษตรและนิยมใช้กันอย่างกว้างขวาง น้ำสกัดชีวภาพเป็นการนำเศษของเหลือใช้ เช่น เศษพืชผักผลไม้ เศษเนื้อสัตว์ หรือวัสดุเหลือใช้ต่าง ๆ ที่พบในท้องถิ่นนั้นไปหมักรวมกับกากน้ำตาล (molasses) และนำไปใช้ในจุดประสงค์เฉพาะอย่างที่ใช้ต้องการ (ออมทรัพย์ และคณะ, 2547) น้ำสกัดชีวภาพนำมาใช้ในการเกษตรเพื่อลดปริมาณการใช้ปุ๋ยเคมี และสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่เป็นอันตรายต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม (ชุดิมนต์ และคณะ, 2554) และอาจนำมาใช้ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (อังคณา, 2556; Apai and Thongdeethae, 2001; Panichsukpatana *et al.*, 2002) น้ำสกัดชีวภาพที่นำมาใช้ในการป้องกันกำจัดโรคพืชต่าง ๆ เช่น น้ำหมักสูตรกล้วยน้ำหว่า สูตรถั่วแขก และสูตรสาบเสือ สามารถใช้ในการควบคุมโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora*, *P. botryosa* และ *P. parasitica* ของต้นยางพารา (สมเกียรติ, 2552) และ Mdee *et al.* (2009) ได้นำน้ำหมักจากส่วนต่าง ๆ ของพืช 7 ชนิด มาใช้กำจัดเชื้อราสาเหตุของโรคพืช เช่น *Penicillium janthinellum*, *P. expansum*, *Aspergillus niger*, *A. parasiticus*, *C. gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora nicotianae*, *Pythium ultimum* และ *Rhizoctonia solani* เป็นต้น นอกจากนี้จากการสำรวจแปลงปลูกพริกของเกษตรกรอำเภอนองม่วงไข่ จังหวัดแพร่ พบว่า ประสบปัญหาผลผลิตได้รับความเสียหายจากโรคแอนแทรคโนสติดต่อกันมาหลายปี อีกทั้งยังไม่สามารถลดหรือกำจัดปริมาณของเชื้อสาเหตุ และการแพร่ระบาดของโรคในแปลงได้ดีเท่าที่ควร โดยเกษตรกรยังขาดการจัดการที่ดีและเหมาะสมในการกำจัดเศษเหลือของพืชที่ปลูกหลังการเก็บเกี่ยวผลผลิต

เกษตรกรส่วนใหญ่เลือกวิธีเผาทิ้ง เนื่องจากทำได้ง่ายและรวดเร็วโดยไม่ได้ตระหนักถึงผลกระทบต่อมลภาวะทางอากาศ เพื่อเป็นอีกหนึ่งทางเลือกในการช่วยลดการเผาทิ้งเศษพืช ลดปริมาณการใช้สารเคมีทางการเกษตรเพื่อให้เกิดความปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม รวมทั้งช่วยลดอัตราเสี่ยงจากการปนเปื้อนของสารเคมีกำจัดเชื้อราที่ตกค้างในผลผลิต การวิจัยในครั้งนี้ผู้วิจัยจึงสนใจนำเศษพริกที่เหลือตกค้างในแปลงปลูกหลังการเก็บเกี่ยวผลผลิตมาทำน้ำสกัดชีวภาพ เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของน้ำสกัดชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* และการศึกษาผลของน้ำสกัดชีวภาพต่อการเกิดโรคแอนแทรคโนสของพริกในสภาพห้องปฏิบัติการ ซึ่งสามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นประกอบการตัดสินใจ ในการนำน้ำสกัดชีวภาพมาประยุกต์ใช้ให้เหมาะสมและก่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดกับเกษตรกรในอนาคตต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

### การแยกเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสและการทดสอบความสามารถในการเกิดโรค

เก็บตัวอย่างพริกที่แสดงอาการของโรคแอนแทรคโนส จากแปลงเกษตรกรในอำเภอนองม่วงไข่ จังหวัดแพร่ นำมาแยกเชื้อสาเหตุ *C. gloeosporioides* ด้วยวิธี tissue transplanting method บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง แยกเชื้อสาเหตุจนได้เชื้อสาเหตุที่บริสุทธิ์ นำเชื้อสาเหตุที่แยกได้ไปพิสูจน์ความสามารถในการเกิดโรคบนใบและผลพริกตามวิธีของ Koch's postulate (Agrios, 2005) จากนั้น ตรวจดูลักษณะเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อสาเหตุภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound เก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ศึกษาตลอดการทดลอง

### การเตรียมน้ำสกัดชีวภาพ

นำพริกที่เหลือตกค้างในแปลงของเกษตรกรในอำเภอนองม่วงไข่ จังหวัดแพร่ มาล้างให้สะอาดและหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ผึ่งให้แห้ง จากนั้นทำการหมัก น้ำสกัดชีวภาพแบ่งเป็น 2 สูตร ได้แก่ สูตร 1 จากส่วนเหนือดินของพริก (ต้นและใบพริก) และกากน้ำตาล อัตราส่วน 3:1

โดยน้ำหนัก และสูตร 2 จากผลพริกและกากน้ำตาล อัตราส่วน 3:1 โดยน้ำหนัก บรรจุในถังหรือภาชนะที่มีฝาปิดสนิท วางไว้ในที่ร่ม อย่าให้ถูกแสงแดด หมักเป็นเวลา 10 เดือน แล้วนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

### การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำสกัดชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกซ์ของพริก

ทำการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำสกัดชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรกซ์ของพริก ในสภาพห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี poisoned food technique นำอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว นำมาผสมกับน้ำสกัดชีวภาพ ทั้ง 2 สูตร ที่ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 25, 37.5 และ 50 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ตามลำดับ เทใส่จานอาหารเลี้ยงเชื้อ ปริมาตร 15 มิลลิลิตรต่อจานอาหาร จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ที่ลนไฟฆ่าเชื้อ แล้วเจาะปลายเส้นใยของเชื้อสาเหตุ *C. gloeosporioides* ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 5 วัน ย้ายชิ้นวุ้น (culture disc) วางบนจุดกึ่งกลางอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมน้ำสกัดชีวภาพความเข้มข้นต่าง ๆ ไว้แล้ว ส่วนชุดควบคุมใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อย่างเดียว โดยทดลองความเข้มข้นละ 4 ข้ำ บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง บันทึกการเจริญของเชื้อราโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (Ø) โคโลนีของเชื้อ หลังบ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 3, 5, 7, 9 และ 12 วัน นำข้อมูลที่ได้คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา (percentage inhibition of radial growth: PIRG) โดยวิธีการของ Jinantana and Sariah (1998) ซึ่งคำนวณได้จากสูตร ดังนี้

$$\text{การยับยั้ง (\%)} = \frac{\text{โคโลนีของเชื้อราชุดควบคุม} - \text{โคโลนีของเชื้อราชุดทดสอบ}}{\text{โคโลนีของเชื้อราชุดควบคุม}} \times 100$$

### ศึกษาผลของน้ำสกัดชีวภาพต่อการยับยั้งการสร้างและการงอกสปอร์ของเชื้อ *C. gloeosporioides*

หลังจากทดสอบประสิทธิภาพของน้ำสกัดชีวภาพ ทั้ง 2 สูตร ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อ

*C. gloeosporioides* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมน้ำสกัดชีวภาพที่ความเข้มข้น 25, 37.5 และ 50 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ตามลำดับ เป็นเวลา 14 วัน นำเชื้อสาเหตุดังกล่าว มาตรวจนับการสร้างจำนวนสปอร์ด้วย haemocytometer โดยใส่น้ำกลั่นฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 10 มิลลิลิตรต่อจานอาหาร และใช้แท่งแก้วชุดบริเวณเส้นใยเพื่อให้สปอร์หลุดออกมา ทำการทดลอง 3 ข้ำ จากนั้นทำการศึกษาผลของน้ำสกัดชีวภาพต่อการยับยั้งการงอกของน้ำสปอร์เชื้อสาเหตุ โดยพ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อสาเหตุบนชิ้นวุ้น (water agar, WA) ผสมน้ำสกัดชีวภาพในแต่ละความเข้มข้น ซึ่งดัดแปลงวิธีการของสุจริตพรรณ และเกวลิน (2556) สังเกตลักษณะการงอกของสปอร์หลังจากบ่มเชื้อเป็นเวลา 6, 12 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า

### ศึกษาผลของน้ำสกัดชีวภาพต่อการเกิดโรคแอนแทรกซ์ของพริกในสภาพห้องปฏิบัติการ

นำน้ำสกัดชีวภาพในความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหาร PDA มาศึกษาผลของน้ำสกัดชีวภาพต่อการเกิดโรคแอนแทรกซ์ของพริก เปรียบเทียบกับสารเร่งประเภทจุลินทรีย์ (พด. 2) ของกรมพัฒนาที่ดิน ในสภาพห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบกับต้นกล้าพริกอายุ 21 วัน ซึ่งปลูกในถาดเพาะกล้า จำนวน 20 ต้นต่อกรรมวิธี ทำการพ่นน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ พ่นน้ำสกัดชีวภาพที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุ พ่น พด. 2 หรือพ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ตามกรรมวิธีต่อไปนี้

กรรมวิธีที่ 1: พ่นน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)

กรรมวิธีที่ 2: พ่นน้ำสกัดชีวภาพ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 3: พ่น พด. 2 ตามอัตราแนะนำ 1:1,000 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 4: พ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่ความเข้มข้น  $10^6$  สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เพื่อปลูกเชื้อ

กรรมวิธีที่ 5: พ่นน้ำสกัดชีวภาพ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 1 วัน แล้วปลูกเชื้อโดยพ่นสปอร์

แขวนลอยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่ความเข้มข้น  $10^6$  สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 6: พ่น พด. 2 ตามอัตราแนะนำ 1:1,000 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 1 วัน แล้วปลูกเชื้อโดยพ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่ความเข้มข้น  $10^6$  สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 7: พ่นน้ำสกัดชีวภาพ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 1 วัน ตามด้วยพ่น พด. 2 ตามอัตราแนะนำ 1:1,000 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 1 วัน จากนั้นปลูกเชื้อโดยพ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่ความเข้มข้น  $10^6$  สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร

ทุกกรรมวิธีที่ทำการปลูกเชื้อสาเหตุ เมื่อครบ 7 วัน หลังจากปลูกเชื้อ บันทึกลักษณะอาการและประเมินความรุนแรงของการเกิดโรคบนพืชทดสอบตามวิธีการของ Campbell and Madden (1990) โดยวางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) แต่ละกรรมวิธีมี 4 ซ้ำ

## ผลการทดลองและวิจารณ์

### การแยกเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสและการทดสอบความสามารถในการเกิดโรค

จากการศึกษาลักษณะอาการของโรคแอนแทรคโนสบนผลและใบพริก ปรากฏแผลขนาดใหญ่เป็นวงรีหรือวงกลมสีน้ำตาลเข้มจนถึงดำ แผลยุบตัวลงไปบนเนื้อเยื่อพืช บริเวณกลางแผลพบกลุ่มสปอร์จำนวนมาก (ภาพที่ 1A) และพบตุ่มสีดำขนาดเล็ก (acervulli) กระจายอยู่ทั่วบริเวณกลางแผล (ภาพที่ 1B) เมื่อนำมาแยกเชื้อสาเหตุด้วยวิธี tissue transplanting method บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พบว่า โคลนินของเชื้อสาเหตุเริ่มแรกสร้างเส้นใยสีขาว ค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นสีเทา เจริญเป็นวงซ้อนกันและสร้าง sclerotia ฝังตัวอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (ภาพที่ 1C) เมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า พบสปอร์ไม่มีสี (hyaline) เซลล์เดี่ยว รูปทรงกระบอก หัว-ท้ายมน (cylindrical) (ภาพที่ 1D) จากลักษณะดังกล่าวสามารถจำแนกเชื้อสาเหตุตามหลักเกณฑ์ของ Sutton (1992) จัดเป็นเชื้อสาเหตุ *C. gloeosporioides* และจากการทดสอบความสามารถในการเกิดโรคด้วยวิธี detached-fruit and-leaf bioassays พบว่าเชื้อสาเหตุนี้ก่อให้เกิดโรคได้

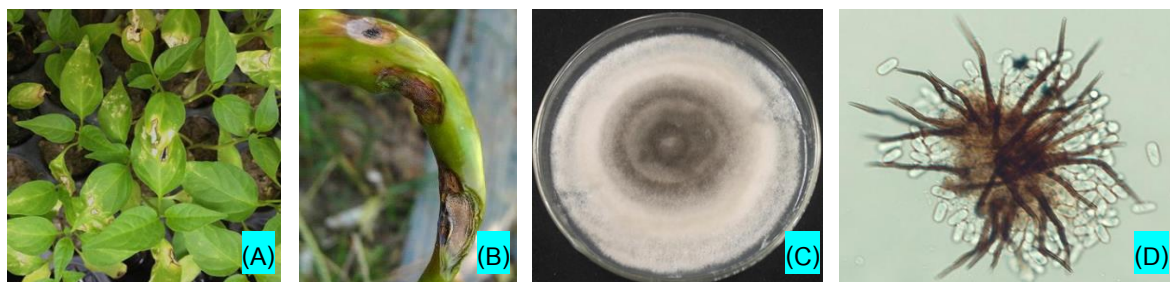


Figure 1 Anthracnose disease on chili leaves (A) and infected fruit (B), colony of *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from infected chili plant parts on PDA for 7 days (C) and dark coloured setae and spore at 40X (D)

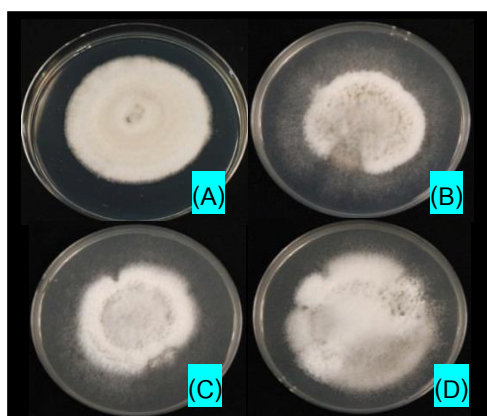
### การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำสกัดชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส

จากการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำสกัดชีวภาพทั้ง 2 สูตร ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ด้วยวิธี poisoned food technique พบว่าในน้ำสกัดชีวภาพสูตร 1 เส้นใยของเชื้อราเจริญเติบโตได้ดี แทบไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุได้เลย โดยมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีทั้ง 3 ระดับความเข้มข้นไม่แตกต่างกัน แต่แตกต่างจากชุดควบคุมและน้ำสกัดชีวภาพสูตร 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ในขณะที่น้ำสกัดชีวภาพสูตร 2 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุได้ในทุกระดับความเข้มข้นซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ( $P < 0.05$ ) ที่ความเข้มข้น 37.5 เปอร์เซ็นต์ (v/v) มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีอยู่ในช่วง 0.03-2.93 เซนติเมตร รองลงมาคือที่ความเข้มข้น 25 และ 50 เปอร์เซ็นต์ (v/v) มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีอยู่ในช่วง 0.33-3.56 และ 1.23-5.23 เซนติเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 2 และตารางที่ 1) และหลังจากบ่มเชื้อเป็นเวลา 12 วัน จะเห็นว่าน้ำสกัดชีวภาพสูตร 2 ที่ความเข้มข้น 37.5 เปอร์เซ็นต์ (v/v) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุได้ดีที่สุด ซึ่งมีการยับยั้งสูงสุดเท่ากับ 48.67 เปอร์เซ็นต์ และที่ความเข้มข้น 25 และ

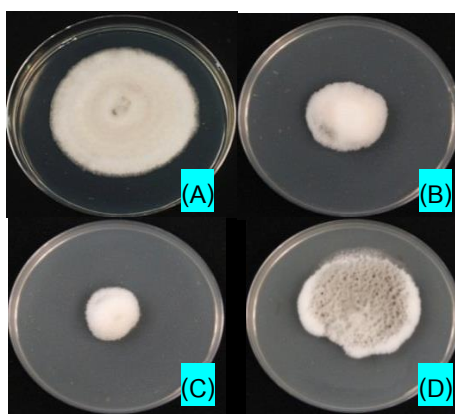
50 เปอร์เซ็นต์ (v/v) มีการยับยั้งเท่ากับ 37.12 และ 8.14 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าน้ำสกัดชีวภาพแต่ละสูตรมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุได้แตกต่างกัน สอดคล้องกับรายงานของกาญจนา และเอื้องฟ้า (2544) ที่พบว่าน้ำสกัดชีวภาพบางสูตรจะช่วยสนับสนุนการเจริญของเส้นใยและ ออมทรัพย์ และคณะ (2547) ที่รายงานว่าน้ำสกัดชีวภาพสามารถช่วยสนับสนุนการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. palmivola* และเชื้อรา *C. gloeosporioides* ทั้งนี้เนื่องจากน้ำสกัดชีวภาพมีกากน้ำตาลเป็นส่วนประกอบ หากกระบวนการหมักไม่สมบูรณ์จะทำให้กากน้ำตาลเหลืออยู่เป็นพลังงานต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้

### ศึกษาผลของน้ำสกัดชีวภาพต่อการยับยั้งการสร้างและการงอกสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides*

จากการนับจำนวนสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมน้ำสกัดชีวภาพสูตร 1 และสูตร 2 ที่ความเข้มข้น 3 ระดับ 25, 37.5 และ 50% (v/v) ตามลำดับ หลังจากบ่มเชื้อเป็นเวลา 14 วัน พบว่า น้ำสกัดชีวภาพสูตร 1 และสูตร 2 มีจำนวนสปอร์ของเชื้อสาเหตุแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยน้ำสกัดชีวภาพสูตร 2 ทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น มีจำนวน



Formula 1



Formula 2

Figure 2 Efficacy of 2 formulas of bio-extract at concentrations of 0 (A), 25 (B), 37.5 (C) and 50% (v/v) (D), In inhibit ing mycelial growth of anthracnose fungus, *Colletotrichum gloeosporioides* on PDA for 7 days.

**Table 1** Colony diameters of *Colletotrichum gloeosporioides* grown on PDA mixed with each bio-extracts as Formula 1 and 2 at concentrations of 25, 37.5 and 50% (v/v) for 3, 5, 7, 9 and 12 days compared with control

| Bio-extract      | Concentration<br>% (v/v) | Colony diameters of anthracnose fungus (cm)/ days |       |       |       |       |
|------------------|--------------------------|---------------------------------------------------|-------|-------|-------|-------|
|                  |                          | 3                                                 | 5     | 7     | 9     | 12    |
| Formula 1        | 25                       | 2.23a <sup>1/</sup>                               | 3.60a | 5.73b | 8.50a | 8.50a |
|                  | 37.5                     | 2.13a                                             | 3.76a | 6.30a | 8.50a | 8.50a |
|                  | 50                       | 2.33a                                             | 3.90a | 6.36a | 8.50a | 8.50a |
| Formula 2        | 25                       | 0.33c                                             | 1.06c | 2.16d | 2.86c | 3.56d |
|                  | 37.5                     | 0.03c                                             | 0.96c | 1.70e | 2.23d | 2.93e |
|                  | 50                       | 1.23b                                             | 2.30b | 3.66c | 4.76b | 5.23c |
| Control          | -                        | 1.56b                                             | 2.60b | 3.73c | 4.76b | 5.73b |
| LSD ( $P<0.05$ ) | -                        | 0.36                                              | 0.54  | 0.43  | 0.25  | 0.46  |
| % CV             | -                        | 14.77                                             | 11.90 | 5.83  | 2.58  | 4.28  |

<sup>1/</sup>Means within the same column followed by the same letter are not significantly different at 0.05 level by LSD test**Table 2** Inhibition percentage of bio-extract Formula 2 on growth of *Colletotrichum gloeosporioides* on PDA for 3, 5, 7, 9 and 12 days compared with control

| Bio-extract      | Concentration<br>% (v/v) | Inhibition percentage (%) / days |        |        |        |        |
|------------------|--------------------------|----------------------------------|--------|--------|--------|--------|
|                  |                          | 3                                | 5      | 7      | 9      | 12     |
| Formula 2        | 25                       | 76.10a <sup>1/</sup>             | 58.77a | 42.11a | 39.87b | 37.12a |
|                  | 37.5                     | 98.04a                           | 62.49a | 53.51a | 53.14a | 48.67a |
|                  | 50                       | 20.52b                           | 10.18b | 0.00b  | 3.84c  | 8.14b  |
| Control          | -                        | 0.00b                            | 0.00b  | 0.00b  | 0.00c  | 0.00b  |
| LSD ( $P<0.05$ ) | -                        | 13.91                            | 14.54  | 7.16   | 4.44   | 6.60   |
| % CV             | -                        | 26.26                            | 40.65  | 27.52  | 17.71  | 25.85  |

<sup>1/</sup>Means within the same column followed by the same letter are not significantly different at 0.05 level by LSD test.

สปอร์เฉลี่ยเท่ากับ  $2.20 \times 10^6$ ,  $2.27 \times 10^6$  และ  $2.47 \times 10^6$  สปอร์/ มิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุมและน้ำสกัดชีวภาพสูตร 1 (ตารางที่ 3)

เมื่อทำการทดสอบผลของน้ำสกัดชีวภาพทั้ง 2 สูตร ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อสาเหตุบนชิ้นอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA หลังจากพ่นน้ำสกัดชีวภาพเป็นเวลา 6, 12 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ โดยตรวจสอบลักษณะการงอกของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า พบว่าน้ำสกัดชีวภาพสูตร 2 ทุกความเข้มข้นมีผลต่อการยับยั้งการงอกสปอร์

ของเชื้อสาเหตุเพียงเล็กน้อยแต่มีผลต่อการเจริญของเส้นใย ที่ระยะเวลา 6 และ 12 ชั่วโมง พบสปอร์มีรูปร่างผิดปกติ และงอก germ tube ขนาดเล็ก ที่ระยะ 24 ชั่วโมง พบการเจริญของเส้นใยแต่มีขนาดเล็ก มีลักษณะบวมพองบิดเบี้ยว ในขณะที่น้ำสกัดชีวภาพสูตร 1 แต่ละความเข้มข้น ที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง พบ germ tube มีลักษณะผิดปกติ ที่ระยะเวลา 12 ชั่วโมง germ tube เจริญเป็นเส้นใยมีการแตกกิ่งก้าน และที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง เส้นใยเจริญยืดยาวออก ปลายเส้นใยแตกก้านสั้น ๆ จำนวนมาก และแผ่ออกเป็นกระจุก เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ภาพที่ 3) เนื่องจากน้ำสกัดชีวภาพประกอบด้วย

**Table 3** Comparison of density of *Colletotrichum gloeosporioides* spore grown on PDA mixed with bio-extracts Formula 1 and 2 at the concentrations of 25, 37.5 and 50% (v/v) at 14 days

| Bio-extract                | Concentration %(v/v) | Density of <i>C. gloeosporioides</i> spore |                                             |
|----------------------------|----------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------|
|                            |                      | No. of spore (spore)                       | Concentration x 10 <sup>6</sup> (spore/ ml) |
| Formula 1                  | 25                   | 15.66b <sup>1/</sup>                       | 3.13b                                       |
|                            | 37.5                 | 15.66b                                     | 3.13b                                       |
|                            | 50                   | 16.66b                                     | 3.33b                                       |
| Formula 2                  | 25                   | 11.00c                                     | 2.20c                                       |
|                            | 37.5                 | 11.33c                                     | 2.27c                                       |
|                            | 50                   | 12.33c                                     | 2.47c                                       |
| Control                    | -                    | 23.33a                                     | 4.67a                                       |
| LSD <sub>(P&lt;0.05)</sub> | -                    | 2.64                                       | 5.29                                        |
| % CV                       | -                    | 9.98                                       | 9.98                                        |

<sup>1/</sup> Means within the same column followed by the same letter are not significantly different at 0.05 level by LSD test

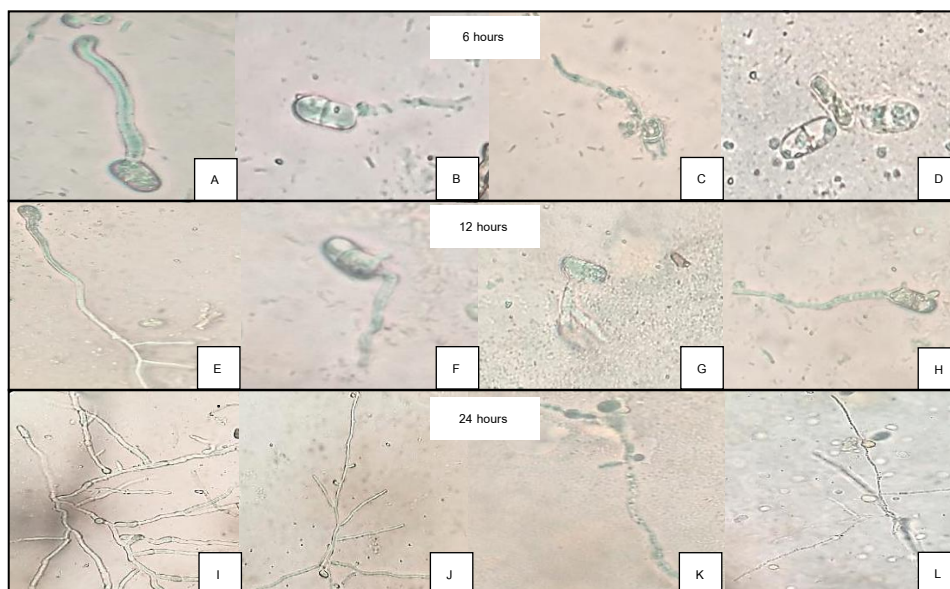


**Figure 3** Efficacy of bio-extract Formula 2 at concentrations of 0 (A, E and F), 25 (B, F and J), 37.5 (C, G and K) and 50% (v/v) (D, H and L), on spore germination of anthracnose fungus, *Colletotrichum gloeosporioides* after 6, 12 and 24 hours of spraying (40x)

สารอาหาร และกากน้ำตาล ซึ่งเป็นแหล่งของน้ำตาลทำให้ จุลินทรีย์ต่าง ๆ เจริญเติบโตดียิ่งขึ้น เช่น *Lactobacillus* sp., *Streptococcus* sp., *Bacillus subtilis* และ yeast ซึ่ง จุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถสร้างสาร probiotic ยับยั้งการ

เจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรคได้ (รังษี และคณะ, 2546) นอกจากนี้ จุลินทรีย์ *B. subtilis* และ *B. cereus* สามารถ สร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุ โรคพืชได้ (สุริยา และคณะ, 2545)

### ศึกษาผลของน้ำสกัดชีวภาพต่อการเกิดโรคแอนแทรกโนสของฟริกในสภาพห้องปฏิบัติการ

นำน้ำสกัดชีวภาพสูตร 2 ที่ความเข้มข้น 37.5 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* มาศึกษาผลของน้ำสกัดชีวภาพต่อการเกิดโรคแอนแทรกโนสของฟริกในระยะกล้า ในสภาพห้องปฏิบัติการ พบว่าการพ่นน้ำสกัดชีวภาพสูตร 2 อย่างเดียว ใบฟริกแสดงอาการของโรคโดยระดับความรุนแรงของโรคอยู่ในระดับต่ำเท่ากับ 0.37 มีการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุน้อยสุดเท่ากับ 2.29 เปอร์เซ็นต์ และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำสุดเท่ากับ 30 เปอร์เซ็นต์ โดยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่น ๆ ( $P < 0.05$ ) (ตารางที่ 4) ซึ่งปรากฏอาการของโรคบนใบฟริกอยู่บ้าง แสดงว่าในต้นฟริกอาจมีเชื้อสาเหตุโรคติดมากับต้นกล้าฟริก หรือน้ำสกัดชีวภาพสามารถกระตุ้นให้เชื้อสาเหตุโรคเจริญจนกระทั่งมีปริมาณมากพอที่จะเข้าทำลายพืชได้ (Than *et al.*, 2008) เมื่อพ่นน้ำสกัดชีวภาพสูตร 2 ร่วมกับพ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อสาเหตุ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงกว่าการพ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อสาเหตุอย่างเดียว แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ อาจเป็นเพราะว่าน้ำสกัดชีวภาพมีการย่อยสลายของกากน้ำตาลที่ยังไม่สมบูรณ์ เป็นสาเหตุหนึ่งที่สามารถสนับสนุนการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรคของพืชได้ (มณฑล, 2549) ในขณะที่การพ่นน้ำสกัด

ชีวภาพสูตร 2 พ่น พด. 2 แล้วตามด้วยพ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อสาเหตุ ทำให้มีการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุลดลง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับ การพ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อสาเหตุอย่างเดียว อีกทั้งมีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคลดลง แตกต่างกันอย่างสถิติ เมื่อเทียบกับการพ่น พด. 2 แล้วตามด้วยการพ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อสาเหตุ เนื่องจากในน้ำสกัดชีวภาพ นอกจากมีสารควบคุมการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคแล้ว ยังมีจุลินทรีย์ที่สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืช เช่น เชื้อรา *P. palmivora* และเชื้อรา *C. gloeosporioides* เป็นต้น (อคมทรัพย์ และคณะ, 2547) จากรายงานการวิจัยของชุตินา (2546) กล่าวว่า ฟริกที่ปลูกในแปลงที่พ่นด้วยน้ำสกัดชีวภาพมีความเสียหายจากโรคแอนแทรกโนสต่ำกว่าฟริกที่ปลูกโดยใช้ปุ๋ยเคมี และ Vallad *et al.* (2003) ได้ศึกษาการยับยั้งการเกิดโรคพืชทางใบจากการหมักเศษเหลือของโรงงานกระดาษ พบว่า ต้น *Arabidopsis thaliana* ที่ปลูกในดินจากแปลงที่ผ่านการปรับปรุงดินด้วยปุ๋ยหมักเศษเหลือของโรงงานกระดาษ แสดงอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อ *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ปลูกในดินจากแปลงที่ไม่ถูกปรับปรุงจากผลการศึกษครั้งนี้อาจกล่าวได้ว่า การนำน้ำสกัดชีวภาพสูตร 2 ไปใช้กับพืชปลูกสามารถลดความรุนแรงในการเกิดโรคได้ แต่ต้องไม่มีเชื้อสาเหตุเข้ามาเกี่ยวข้อง

**Table 4** Efficacy of bio-extract Formula 2 at concentration of 37.5% (v/v) on occurrence of anthracnose disease at 7 days after spraying *in vitro*

| Treatment                                          | Disease severity    | Disease incidence (%) | Percent of infection |
|----------------------------------------------------|---------------------|-----------------------|----------------------|
| Control                                            | 0.00d <sup>1/</sup> | 0.00c                 | 0.00d                |
| Formula 2                                          | 0.37c               | 2.29c                 | 30.00c               |
| Phor Dor 2                                         | 0.00d               | 0.00c                 | 0.00d                |
| <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>              | 1.10ab              | 16.56a                | 90.00ab              |
| Formula 2 + <i>C. gloeosporioides</i>              | 1.19ab              | 12.50ab               | 95.00ab              |
| Phor Dor 2 + <i>C. gloeosporioides</i>             | 1.25a               | 16.25ab               | 100.00a              |
| Formula 2 + Phor Dor 2 + <i>C. gloeosporioides</i> | 0.94b               | 11.67b                | 75.00b               |
| LSD ( $P < 0.05$ )                                 | 0.27                | 4.83                  | 21.76                |
| % CV                                               | 26.56               | 38.80                 | 26.56                |

<sup>1/</sup>Means within the same column followed by the same letter are not significantly different at 0.05 level by LSD test

เนื่องจากการส่งเสริมเชื้อสาเหตุในการเข้าทำลายพืช นอกจากนี้ ควรนำน้ำสกัดชีวภาพไปประยุกต์ใช้ให้เหมาะสมและถูกวิธี รวมถึงมีการควบคุมเกี่ยวกับปัจจัยต่าง ๆ เช่น ปริมาณของเชื้อสาเหตุ สภาพแวดล้อมเหมาะสม และการจัดการที่ดี เพื่อลดความเสียหายที่จะเกิดขึ้นกับพืชปลูกและผลผลิต นอกจากนี้ยังเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพให้กับน้ำสกัดชีวภาพได้

## สรุป

จากการศึกษาในสภาพห้องปฏิบัติการ โดยนำน้ำสกัดชีวภาพจากเชื้อเห็ดของฟริกในแปลง สูตร 1 (ลำต้นและใบ) และ สูตร 2 (ผลฟริก) มาทดสอบประสิทธิภาพของน้ำสกัดชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของฟริก ด้วยวิธี poisoned food technique พบว่าน้ำสกัดชีวภาพจากส่วนของพืชที่ต่างชนิดกันมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุ โดยเฉพาะน้ำสกัดชีวภาพสูตร 2 ที่ระดับความเข้มข้น 37.5 เปอร์เซ็นต์ (v/v) มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุ ส่งผลให้การสร้างสปอร์ลดลงและอาจชะลอการงอกของ germ tube เมื่อศึกษาผลของน้ำสกัดชีวภาพสูตร 2 ต่อการเกิดโรคแอนแทรคโนส พบว่า การพ่นน้ำสกัดชีวภาพลงบนใบฟริกระยะกล้ายังคงก่อให้เกิดโรคแอนแทรคโนสในสบ้างเล็กน้อย แต่ระดับความรุนแรงของโรค การเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุ และเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคอยู่ในระดับที่ต่ำ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่น ๆ

## เอกสารอ้างอิง

- กาญจนา วันเสาร์ และเอื้องฟ้า บรรเทาวงศ์. 2544. ปุ๋ยน้ำหมัก....ดีจริงหรือ? เกษตรเกษตร 25(4): 179-185.
- จิราภา จอมโธสง. 2555. รายงานข้อมูลสถานการณ์การผลิตการตลาดสินค้าเกษตร ชนิดสินค้าฟริก. สำนักส่งเสริมและจัดการสินค้าเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร, กรุงเทพฯ.

- ชุติมันต์ พานิชศักดิ์พัฒนา นางลักษ์ บันลาย ชีรนนท์ แซ่ลี พจมาลย์ แก้ววิมล และฤทัยรัตน์ น้อยจาด. 2554. ผลของน้ำหมัก Bacterio mineral water ต่อการเกิดโรคแอนแทรคโนสของถั่วเหลืองฝักสด. เกษตรเกษตร 39(ฉบับพิเศษ 3): 123-131.
- ชุติมา ประดิษฐ์เวทย์. 2546. ผลของน้ำสกัดชีวภาพต่อการเจริญเติบโต การดูดใช้ธาตุอาหารพืช และผลผลิตพริกในแปลงเกษตรกร. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 85 หน้า.
- ไชยรัตน์ ไชยสุต ศศิธร เทศน์อรรธภาคย์ อุไรพรรณ ปราง อุทุมทรัพย์ และจินตนา นาคสมบูรณ์. 2553. น้ำสกัดชีวภาพ. ศูนย์วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อสังคม สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ, กรุงเทพฯ. 85 หน้า.
- มงคล ต๊ะอุ่น. 2549. การประยุกต์ใช้น้ำสกัดชีวภาพเพื่อการเกษตร. วารสารศูนย์บริการวิชาการ 14(4): 20-25.
- มนทนา รุจิระศักดิ์ พรศิลป์ สี่เผือก และพิทยา เกิดนุ่ม. 2553. การใช้น้ำหมักกรมหมในการเพิ่มคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ข้าว. ใน: รายงานการประชุมทางวิชาการเมล็ดพันธุ์พืชแห่งชาติ ครั้งที่ 7. วันที่ 18-20 พฤษภาคม 2554. โรงแรมทีโอเพลนด์, พิษณุโลก.
- รังสี เจริญสถาพร อมรรักษ์ คิดใจเดียว นิตยา กันหลง เกรียงศักดิ์ ชาตรีปริดี และสมพร อิศรานุรักษ์. 2546. การทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้นของน้ำสกัดชีวภาพต่อเชื้อวิทยาของเชื้อรา *Phytophthora palmivora*. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : <http://www.agriqua.doae.go.th/Plant%20%20Protection%20%20Conference/disease-research/P-29.pdf> (17 ตุลาคม 2558).
- สมเกียรติ พรพิสุทธิมาศ. 2552. ผลการใช้น้ำสกัดชีวภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของรากโรค *Phytophthora* spp. บนต้นยางพารา. ใน: รายงานการประชุมทางวิชาการนครสวรรค์ ครั้งที่

- ที่ 5. วันที่ 28-29 กรกฎาคม 2552. มหาวิทยาลัยนเรศวร, พิษณุโลก.
- สมเกียรติ พรพิสุทธิมาศ. 2555. น้ำหมักชีวภาพกับงานทางด้านการเกษตร. วารสารหน่วยวิจัยวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และสิ่งแวดล้อมเพื่อการเรียนรู้ 3(1): 59-65.
- สุจิตพรรณ บุญมี และเกวณีน คุณาศักดากุล. 2556. ผลของน้ำออกซิไดส์ที่ผ่านการแยกด้วยไฟฟ้าต่อการลดโรคราแป้งในพืชวงศ์แตง. วารสารเกษตร 29(3): 257-266.
- สุริยา สาสนรักกิจ เปรมสุตา สมาน อัจฉราย ไชย องค์การกนกอร จารูรีต มานิตย์ นาคสำเภา เดชา ศิลป์สร อภิญา แสงสุวรรณ และ ศิริพร วรดิถี. 2545. น้ำสกัดชีวภาพ. เอกสารประกอบการประชุมวิชาการเรื่องโรคพืชและจุลินทรีย์กับการพัฒนาการเกษตรอย่างยั่งยืน. วันที่ 16-18 กันยายน 2545. อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา. 32 หน้า.
- สำนักงานเกษตรและสหกรณ์จังหวัดแพร่. 2551. การผลิตการตลาดพริกจังหวัดแพร่. กลุ่มสารสนเทศและข้อมูลการเกษตร. สำนักงานเกษตรและสหกรณ์จังหวัดแพร่,แพร่. 23 หน้า.
- อังคณา เทียนกล้า. 2556. ประสิทธิภาพของน้ำหมักใบครามต่อการเติบโต ผลผลิต และการควบคุมแมลงศัตรูในมะเขือเปราะ. วารสารเกษตร 29(3): 249-256.
- ออมทรัพย์ นพอมรบดี สมพร อิศรานุรักษ์ สุนันทา ชมพูนิช ภาวนา ลิกขนานนท์ นิตยา กันหลง รังสี เจริญสถาพร และ รัตนาภรณ์ พรหมศรธา. 2547. ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ น้ำสกัดชีวภาพ (ตอนที่ 1). ควิกปรีนท์ออฟเซ็ท, กรุงเทพฯ. 51 หน้า.
- Apai, W. and S. Thongdeethae. 2001. Wood vinegar: new organic for Thai agriculture. pp. 166-169. In: Proceedings of the Fourth Toxicity Division Conference, Department of Agriculture, Bangkok.
- Agrios, G. N. 2005. Plant Pathology. 5<sup>th</sup> ed. Academic Press, New York. 592 p.
- Campbell, C. L. and L. V. Madden. 1990. Introduction to Plant Disease Epidemiology. Wiley-Interscience, New York.
- Eckert, J. W. 1983. Control of post-harvest diseases with antimicrobial agents. pp. 265-258. In: M. Liebermans (ed.). Post-harvest Physiology and Crop Protection. Plenum Press, New York.
- Jinantana, J. and M. Sariah.1998. Potential for biological control of *Sclerotium* foot rot of chilli by *Trichoderma* spp. Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science 21(1): 1-10.
- Mdee, L. K., P. Masoko and J. N. Elof. 2009. The activity of extracts of seven common invasive plant species on fungal phytopathogens. South African Journal of Botany 75: 375-379.
- Pakdeevapom, P., S. Wasee, P. W. J. Taylor and O. Mongkolporn. 2005. Inheritance of resistance to anthracnose caused by *Colletotrichum capsici*. Plant Breeding 124(2): 206-208.
- Panichsukpatana, C., N. Sivakorn, N. Kanlong and T. Boon-Long. 2002. Utilization of BMW to promote plant growth. p. 159. In: Summary of the First International Conference on Tropical and Sub Tropical Plant Diseases. Nov. 5-8, 2002. The Imperial Mae Ping Hotel. Chiang Mai, Thailand.
- Rajamanickam, S., K. Sethuraman and A. Sadasakthi. 2012. Exploitation of phytochemicals from plants extracts and its effect on growth of *Colletotrichum capsici* (Syd.) Butler and Bisby causing anthracnose of chilli (*Capsicum annum* L.). Plant Pathology Journal 11: 87-92.

- Sutton, B. C. 1992. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. pp. 1-26. In: J. A. Bailey and M. J. Jeger (eds.). *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*. CAB International, Wallingford.
- Than, P. P., H. Prihastuti, S. Phoulivong, P. W. J. Taylor and K. D. Hyde. 2008. Chilli anthracnose disease caused by *Colletotrichum* species. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B* 9(10): 764-778.
- Vallad, G. E., L. Cooperband and R. M. Goodman. 2003. Plant foliar disease suppression mediated by composted forms of paper mill residuals exhibits molecular features of induced resistance. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 63: 65-77.
-