

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	ประสิทธิภาพการใช้เชื้อรา <i>Trichoderma virens</i> และแบคทีเรีย <i>Bacillus subtilis</i> ในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรกคโนสบนผลพริกชี้ฟ้า
ผู้วิจัย	ปวีณา อุตะมะติง
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีการเกษตร)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รองศาสตราจารย์ ดร. จินันทนา จอมดวง

ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการใช้เชื้อรา *Trichoderma virens* และแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรกคโนสในผลพริกชี้ฟ้าพันธุ์พื้นเมือง โดยทดสอบทั้งในห้องปฏิบัติการ กระถางทดลอง และแปลงเกษตรกร ผลการวิจัยในห้องปฏิบัติการโดยวิธีเลี้ยงเชื้อร่วมกัน (dual culture) บนอาหารพีดีเอ พบว่า เชื้อรา *T. virens* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* ได้ร้อยละ 86.03 และ 94.18 ตามลำดับ และแบคทีเรีย *B. subtilis* ยับยั้งการเจริญได้ร้อยละ 91.55 และ 85.76 ตามลำดับ จุลินทรีย์ทั้งสองชนิดสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกคโนสดังกล่าวได้ร้อยละ 100 และจากการทดสอบโดยวิธี poisoned food technique พบว่า แบคทีเรีย *B. subtilis* มีการสร้างสารปฏิชีวนะขณะเจริญในอาหารเหลวพีดีเอซึ่งเมื่อกรองเซลล์แบคทีเรียออกและนำสารที่กรองได้ไปผสมกับอาหารพีดีเอที่ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 มล./อาหาร 20 มล. พบว่าเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกคโนสไม่สามารถเจริญเส้นใยบนอาหารทุกระดับความเข้มข้นของสารกรองดังกล่าวได้เลย การศึกษากลไกการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อรา *T. virens*. ต่อเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกคโนส พบว่า มีลักษณะการเป็นปรสิตโดยการเจริญเส้นใยเข้าพันรัดและแทงเข้าไปในเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกคโนส เมื่อนำจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้งสองชนิดไปทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเกิดโรคแอนแทรกคโนสบนผลพริกชี้ฟ้า ผลการทดสอบในห้องปฏิบัติการโดยวิธีพ่นสปอร์หรือเซลล์แขวนลอยในน้ำกลั่นของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บนผลพริกก่อนและหลังการพ่นเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกคโนส พบว่า การพ่นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ก่อนการพ่นเชื้อราสาเหตุโรค

แอนแทรกโนสให้ผลดีกว่าและผลพริกแสดงอาการโรคช้ากว่า กล่าวคือผลพริกทั้ง 10 ผลที่นำมาทดสอบแสดงอาการโรคเมื่อ 5 วันหลังบ่ม ในขณะที่การพ่นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์หลังการพ่นเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนสนั้นผลพริกทั้ง 10 ผลแสดงอาการโรคเมื่อ 1 วันหลังบ่ม การใช้สารกรองที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อรา *T. virens* และแบคทีเรีย *B. subtilis* ในอาหารเหลวพีดีบีพ่นบนผลพริกให้ผลในทำนองเดียวกัน แต่ประสิทธิภาพของสารกรองที่ได้จากแบคทีเรียมีแนวโน้มว่ามีประสิทธิภาพดีกว่า โดยเมื่อ 5 วันหลังบ่ม พบว่า ผลพริกทั้ง 10 ผลที่พ่นด้วยสารกรองที่ได้จากเชื้อรา *T. virens* แสดงอาการโรคแต่เป็นเพียงจุดเล็ก ๆ ส่วนที่พ่นด้วยสารกรองที่ได้จากแบคทีเรีย *B. subtilis* นั้นมีผลพริกเพียง 3 ผลที่แสดงอาการโรคและเป็นแผลขนาดเล็กเช่นกัน การทดสอบในกระถางทดลองโดยการพ่นสปอร์แขวนลอยในน้ำกลั่นของเชื้อรา *T. virens* และเซลล์แขวนลอยในน้ำกลั่นของแบคทีเรีย *B. subtilis* ความเข้มข้นเท่ากันคือ 10^4 สปอร์ (เซลล์) /มล. หัวต้นพริกที่ติดผลอ่อนขนาดยาวประมาณ 2 ซม. และหลังจากนั้น 2 วันจึงพ่นสปอร์แขวนลอยในน้ำกลั่นของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ความเข้มข้น 10^4 สปอร์/มล. เพื่อสร้างสภาพการระบาดของโรค พบว่า การพ่นเชื้อรา *T. virens* โดยเว้นระยะห่างทุก 7 10 และ 13 วัน สามารถลดการเกิดโรคบนผลพริกได้ร้อยละ 97.60 98.00 และ 95.70 ตามลำดับ ส่วนการพ่นแบคทีเรีย *B. subtilis* ลดได้ร้อยละ 95.70 97.30 และ 97.50 ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมซึ่งไม่มีการพ่นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มีผลพริกที่ไม่เป็นโรคเพียงร้อยละ 18.40 เมื่อพิจารณาที่ผลผลิตของพริกที่พร้อมจำหน่ายในแต่ละกรรมวิธี พบว่า การพ่นเชื้อรา *T. virens* ให้ผลผลิตเท่ากับ 247.28 210.57 และ 240.89 กรัม/กรรมวิธี ตามลำดับ และการพ่นแบคทีเรีย *B. subtilis* ให้ผลผลิต 295.48 341.48 และ 278.10 กรัม/กรรมวิธี ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีควบคุมนั้นให้ผลผลิต 112.52 กรัม/กรรมวิธี ผลการทดสอบในแปลงเกษตรกรโดยวิธีพ่นเชื้อรา *T. virens* แบคทีเรีย *B. subtilis* และสารเคมี (mancozeb) โดยเว้นระยะห่างทุก 7 วัน เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (ไม่พ่นใด ๆ) พบว่า การพ่น *T. virens* *B. subtilis* และสารเคมี mancozeb สามารถลดการเกิดโรคได้ร้อยละ 90.70 39.65 และ 97.75 ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมลดการเกิดโรคได้ร้อยละ 56.35 เมื่อพิจารณาที่ผลผลิตในแต่ละกรรมวิธี พบว่า การพ่น *T. virens* *B. subtilis* และสารเคมี mancozeb ให้ผลผลิตเท่ากับ 31.78 14.16 และ 47.29 กก./กรรมวิธี ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมให้ผลผลิต 18.26 กก./กรรมวิธี ผลการทดสอบในสภาพแปลงเกษตรกรชี้ให้เห็นว่าการใช้เชื้อรา *T. virens* มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคดีกว่าการใช้แบคทีเรีย *B. subtilis* และดีเทียบเท่าสารเคมี mancozeb

Thesis Title Effectiveness of *Trichoderma virens* and *Bacillus subtilis* in Controlling of Chilli Anthracnose

Author Paveena Utamating

Degree Master of Science (Agricultural Technology)

Thesis Advisory Committee

Associate Professor Dr. Jinantana Jomduang Thesis Advisory Chairperson

ABSTRACT

This research was aimed to evaluate effectiveness of *Trichoderma virens* and *Bacillus subtilis* in controlling chilli anthracnose in laboratory, pot experiment and in small scale farmer field. Results from dual culture test in Laboratory showed that both antagonists could effectively inhibit growth of *Colletotrichum gloeosporioides* and *C. capsici*, the fungal pathogens of anthracnose. Percentages of inhibition by *T. virens* for both species were 86.03 and 94.18%, respectively, where those by *B. subtilis* were 91.55 and 85.76%, respectively. Spore germination of the two pathogenic species was inhibited by 100% in the presence of both antagonists. Furthermore, it was found that culture filtrate of *B. subtilis* had adverse affect on growth of the pathogens as shown by zero mycelial growth on filtrate mixed PDA plates at the concentrations of 1, 3 and 5 ml.per 20 ml of PDA. This revealed that *B. subtilis* produced certain antibiotics during its growth in PDB. Meanwhile, *T. virens*. showed mycoparasitism by coiling around and penetrating into *C. gloeosporioides* and *C. capsici* hyphae. Effectiveness of both antagonists in controlling of anthracnose on chilli fruit was determined. In laboratory trial, it was found that spraying the antagonists, either *T. virens* or *B. subtilis*, on chili fruits

prior to spraying of the pathogen provided better control result as disease symptom was noticed on the fifth day after incubation. While, spraying the antagonists after pathogen disease symptom was noticed at day 1 after incubation. In pot experiments, when chilli plants bearing 2 – cm - long fruits were sprayed with either spore suspension of *T. virens* (10^4 spores per ml) or cell suspension of *B. subtilis* (10^4 cell per ml). Spraying was applied at 7, 10 and 13 days intervals. In order to promote disease epidemic, spore suspension of *C. gloeosporioides* was sprayed on chili plants two days after spraying with the antagonists. The result showed that *T. virens* could decrease anthracnose development on chili fruits by 97.60, 98.00 and 95.70%, respectively. Meanwhile, *B. subtilis* spraying in the same manual could reduce disease development by 95.70, 97.30 and 97.50%, respectively. This control result was distinctively different as compared with the control treatment which could decrease anthracnose by only 18.40%. When considering the yield per treatment (marketable fresh fruits), *T. virens* spraying, gave 247.28, 210.57 and 240.89 g per treatment, respectively, While *B. subtilis* spraying produced 295.48, 341.48 and 278.10 g per treatment, respectively, and the control treatment gave only 112.52 g per treatment. In farmer field trial, 4 – time - spraying of *T. virens*, *B. subtilis* and mancozeb were compared with the control (non - spraying) treatment. It was found that *T. virens* and mancozeb spraying provided better control result than *B. subtilis* spraying. Anthracnose development on chili fruits was decreased by *T. virens*, *B. subtilis* and mancozeb spraying at 90.70, 39.65 and 97.75%, respectively. While, the control treatment was found to be decreased by 56.35%. Yield per treatment (marketable fresh fruits) from each treatments above were 31.78, 14.16 and 47.29 kg, respectively and that from the control treatment was 18.26 kg.