

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การแยกและประเมินประสิทธิภาพของแบคทีเรีย ปฏิชีวนะเพื่อควบคุมโรคไฟทอปธอราไบลท์ ในพริกหวาน	
ผู้เขียน	นางสาว เกศริน สุญกาย	
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช)	
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร. อังสนา อัครพิศาล	ประธานกรรมการ
	อ.ดร. เขียวลักษณ์ จันทร์บาง	กรรมการ

บทคัดย่อ

พริกหวานเป็นพืชสำคัญทางเศรษฐกิจที่มีการเพาะปลูกในสภาพโรงเรือนในพื้นที่อำเภอแมริม จังหวัดเชียงใหม่ ปัญหาสำคัญที่พบคือ โรคไฟทอปธอราไบลท์ที่เกิดจากเชื้อ *Phytophthora capsici* เป็นโรคที่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อการผลิตพริกหวาน จากการแยกและศึกษา พบเชื้อ *Phytophthora* sp. ทั้งหมด 5 ไอโซเลท ได้แก่ SP01, SP02, SP03, SP04 และ SP05 ที่มีลักษณะการเจริญของโคโลนีบนอาหาร PDA 3 แบบ ได้แก่ slightly stellate pattern, rosette pattern และ slightly petallate pattern ส่วนลักษณะของ sporangium มีหลายแบบเช่น lemon shape, obpyriform, ellipsoid และ ovoid - pyriform มองเห็น papilla ชัดเจน ทำการพิสูจน์ยืนยันว่าเป็นเชื้อ *Phytophthora capsici* โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล ด้วย specific primers CAPFW (forward primer) (5'TTTAGTTGGGGTCTTGACC3') และ CAPRV2 (reverse primer) (5'TACGGTTCACCAGCCCATCA 3') พบแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 595 bp ในไอโซเลท SP01, SP02, SP03 และ SP04 ที่แยกได้จากโคนต้นและวัสดุปลูกจากต้นที่เป็นโรค ส่วนไอโซเลท SP05 ที่แยกได้จากผลที่เกิดโรคไม่พบแถบดีเอ็นเอ

ทำการแยกและเก็บรวบรวมเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะจากส่วนต่างๆ ของพริกหวาน จำนวน 177 ไอโซเลท มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Phytophthora* sp. ทั้ง 5 ไอโซเลทด้วยวิธี dual culture technique พบเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะจำนวน 2 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยสูงสุดได้แก่ SPSB 27 และ SPRB 20 โดยแบคทีเรีย

ปฏิปักย์ไอโซเลท SPSB 27 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งระหว่าง 62.63 – 66.67 ส่วนแบคทีเรียปฏิปักย์ไอโซเลท SPRB 20 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งระหว่าง 56.07 - 61.33 เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักย์ทั้ง 2 ไอโซเลท มาจำแนกชนิดโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมี พบว่าแบคทีเรียไอโซเลท SPSB 27 จัดอยู่ในกลุ่มของ *Pseudomonas* sp. ส่วนเชื้อแบคทีเรียปฏิปักย์ไอโซเลท SPRB 20 จัดอยู่ในกลุ่มของ *Bacillus* sp. ซึ่งจากการจำแนกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักย์ทั้งสองไอโซเลทโดยใช้เครื่อง Biolog TM Microlog System, Release 4.2 พบว่าแบคทีเรียปฏิปักย์ไอโซเลท SPSB 27 คือเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* และแบคทีเรียปฏิปักย์ไอโซเลท SPRB 20 คือเชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens*

ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักย์ต่อการงอกของเมล็ดพริกหวานบนกระดาษซับพบว่า แบคทีเรียปฏิปักย์ไอโซเลท *Bacillus amyloliquefaciens* SPRB 20 ให้เปอร์เซ็นต์ความงอกสูงกว่าชุดควบคุม เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักย์ทั้ง 2 ไอโซเลทไปทดสอบประสิทธิภาพในสภาพเรือนทดลอง พบว่าการใช้แบคทีเรียปฏิปักย์ไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญของต้นพริกหวาน โดยให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งที่ไม่แตกต่างกันในทางสถิติกับชุดควบคุม เมื่อนำแบคทีเรียปฏิปักย์ไปทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคไฟทอปธอราไบลท์ของพริกหวานในสภาพเรือนทดลองโดยการใส่สารแขวนลอยของแบคทีเรียปฏิปักย์แต่ละไอโซเลท *B. amyloliquefaciens* SPRB 20, *Ps. aeruginosa* SPSB 27 และผสมระหว่างไอโซเลททั้งสองร่วมกับเชื้อรา *Trichoderma* sp. T 75 ก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุ พบว่าหลังการปลูกเชื้อ 21 วันกรรมวิธีที่ใช้ *B. amyloliquefaciens* SPRB 20 ให้ผลในการควบคุมโรคได้ดีกว่าการใช้ *Ps. aeruginosa* SPSB 27 ในทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อมีการใช้ร่วมกับเชื้อรา *Trichoderma* sp. T 75 พบว่าให้ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้ดีกว่าการใช้แบคทีเรียปฏิปักย์เพียงอย่างเดียว นอกจากนี้พบว่าในกรรมวิธีที่ใช้ *B. amyloliquefaciens* SPRB 20 ร่วมกับเชื้อรา *Trichoderma* sp. T 75 สามารถลดการเกิดโรคได้ดีโดยมีระดับการเกิดโรคเป็น 1.65 ไม่มีความแตกต่างกับชุดควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อซึ่งมีระดับการเกิดโรคเป็น 1.00

Thesis Title	Isolation and Evaluation of Antagonistic Bacterial Efficiency to Control Phytophthora Blight in Sweet Pepper	
Author	Miss Kaesarin Soonkai	
Degree	Master of Science (Plant Pathology)	
Thesis Advisory Committee	Asst. Prof. Dr. Angsana Akarapisan	Chairperson
	Lect. Dr. Yaowaluk Chanbang	Member

Abstract

Sweet pepper, *Capsicum annuum* L., has become an economic important greenhouse crop in Mae-Rim District, Chiang Mai Province. Phytophthora blight of sweet pepper caused by *Phytophthora capsici* is one of the most destructive soilborne disease results in devastating yield loss in sweet pepper growing field. Five isolates of pathogen: SP01, SP02, SP03, SP04 and SP05 were found. Isolates tested had three different growth patterns on PDA: slightly stellate, rosette and slightly petallate. All isolates produced lemon shape, obpyriform, ellipsoid, ovoid-obpyriform sporangia and prominently papillate. Molecular based diagnostic of *Phytophthora capsici* by PCR amplification with the specific primers CAPFW (forward primer) (5'TTTAGTTGGGGTCTTGTACC3') and CAPRV2 (reverse primer) (5'TACGGTTCACCAGCCCATCA 3') to confirm the identity of this organism, the expected 595 bp fragment was detected in isolates SP01, SP02, SP03 and SP04 which isolated from substrate culture and disease stem. PCR did not amplify DNA in isolate SP05 which isolated from disease fruit.

One hundred and seventy-seven bacterial isolates were obtained from aerial parts and rhizosphere of sweet pepper. The isolates were purified and assay *in vitro* against five isolates of *Phytophthora* sp. by dual culture technique. Among the 177 isolates tested, 2 isolates; SPSB 27

and SPRB 20, exhibited a maximum inhibition of mycelia growth with percentages ranged from 62.63 to 65.28 and ranged from 56.07 to 60.84, respectively. Both isolates were identified by using morphological and biochemical characteristics. The results revealed that the isolate SPSB 27 was *Pseudomonas* sp. while isolate SPRB 20 was *Bacillus* sp.. The identification of the isolates SPSB 27 and SPRB 20 using Biolog TM Microlog System, Release 4.2 revealed that the isolate SPSB 27 was *Pseudomonas aeruginosa* and the isolate SPRB 20 was *Bacillus amyloliquefaciens*.

Result of the blotter and seed germination test indicated that *Bacillus amyloliquefaciens* SPRB 20 had the effect on increasing seed germination compared with control. Greenhouse trials were evaluated for their ability of these two antagonistic isolates. The results showed that using of antagonistic bacterias were no effective in suppressing the growth of sweet pepper. Accordingly, there were no different statistically in fresh and dry weight compared with control treatment. The control efficacy of *B. amyloliquefaciens* SPRB 20, *Ps. aeruginosa* SPSB 27 and *Trichoderma* sp. T 75 alone or/in combination were investigated in controlling phytophthora blight of pepper. Test were performed in greenhouse by root drenched prior to inoculation of the pathogens. After 21 days, treatment with *B. amyloliquefaciens* SPRB 20 showed better results than *Ps. aeruginosa* SPSB 27 ($p>0.01$) and when combined with *Trichoderma* sp. T 75, their controlling capabilities were more effective than *B. amyloliquefaciens* SPRB 20 and *Ps. aeruginosa* SPSB 27 alone. In addition, using the combined *B. amyloliquefaciens* SPRB 20 and *Trichoderma* T 75 had the level of disease of 1.65, which was not significantly different from the uninoculated control had the level of disease of 1.00.