บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การตรวจหาเชื้อราและศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราที่ติดมากับผลพริกกะเหรี่ยงหลังเก็บเกี่ยว

จากการตรวจสอบเชื้อราที่ติดมากับผลพริกกะเหรี่ยงโดยวิธีเพาะบนกระดาษชื้น พบเชื้อราทั้งหมด 6 ชนิด คือ *Aspergillus flavus, Aspergillus niger, Rhizopus* sp., *Curvularia* sp., *Penicillium* sp. และ *Collectotrichum capsici* ซึ่งเป็นเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนสของพริกกะเหรี่ยง จากการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราที่ติดมากับผลพริกกะเหรี่ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ของเชื้อราทั้ง 6 ชนิด มีลักษณะดังนี้

1. *Aspergillus flavus* ลักษณะโคโลนีจะมีสีเขียวปนเหลือง กลางโคโลนีจะมีสีเข้มสุดและมี sclerotium สีน้ำตาลเข้มเกือบดำ มีลักษณะสีของ conidial head เป็นสีเหลืองปนเขียวเมื่ออายุน้อย แต่เมื่ออายุมากขึ้นอาจกลายเป็นสีน้ำตาล ผนังของ conidiophores หนาและขรุขระยาวประมาณ 1 มิลลิเมตร และมี vesicle รูปร่างกลมรี และมี sterigma แบบชั้นเดียวและสองชั้น และมี conidia รูปร่างกลมรีผนังขรุขระ (ภาพ 3)

2. *Aspergillus niger* ลักษณะโคโลนีจะมีสีดำ conidial head เป็นสีดำหรือสีน้ำตาลดำ vesicle ค่อนข้างกลม ผนังของ conidiophores หนาและขรุขระมี sterigma แบบชั้นเดียว และมี conidia รูปร่างกลมรีผนังขรุขระ (ภาพ 4)

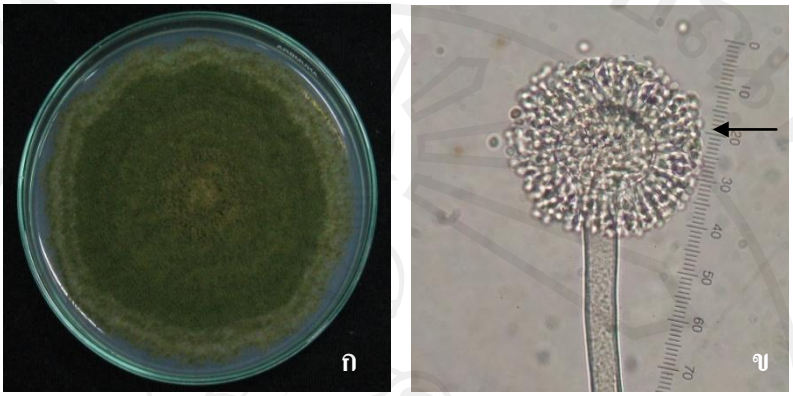
3. *Rhizopus* sp. ลักษณะโคโลนีมีขอบเขตที่ไม่แน่นอน เส้นใยอยู่กันอย่างหนาแน่น ฟู มีสีน้ำตาล เส้นใยไม่มีผนังกั้นตามขวาง sporangiophore รูปร่างตรง มี sporangium รูปร่างรี ภายในมี sporangiospores จำนวนมาก (ภาพ 5)

4. *Curvularia* sp. ลักษณะโคโลนีจะมีสีเทา conidia สีเข้ม มี 3-5 เซลล์ รูปร่างคล้ายครัวซองค์ เซลล์ตรงกลางจะใหญ่กว่าเซลล์หัวและเซลล์ท้าย conidia จะเกิดขึ้นบนส่วนบน ส่วนปลายหรือด้านข้างของ conidiophore (ภาพ 6)

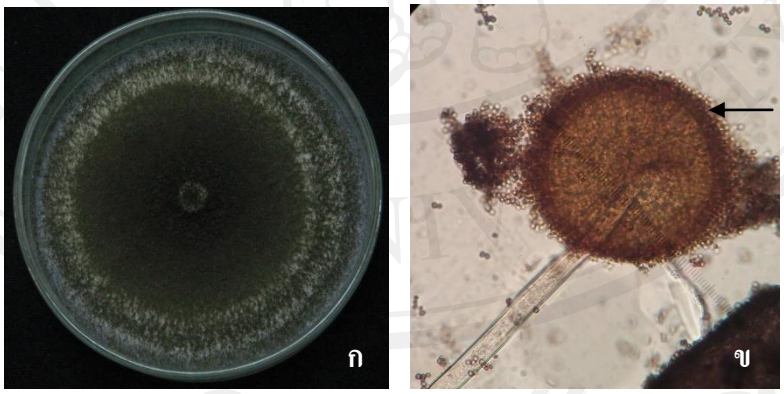
5. *Penicillium* sp. ลักษณะโคโลนีมีขอบเขตที่แน่นอน เส้นใยอยู่กันอย่างหนาแน่น ไม่ฟู มีสีเขียวอยู่ตรงกลาง เส้นใยมีผนังกั้นตามขวาง สร้าง conidia ต่อกันเป็นลูกโซ่บนก้านที่แตกแขนง branched (ภาพ7)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

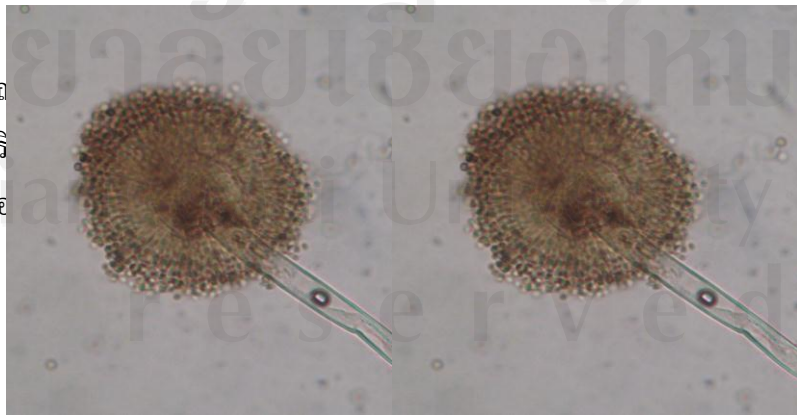
6. *Colletotrichum capsici* ลักษณะโคโลนีมีสีเทา มีการสร้างเม็ดกลมสีดำ เมื่ออายุได้ 7 วัน conidia รูปพระจันทร์เสี้ยว (ภาพ 8)



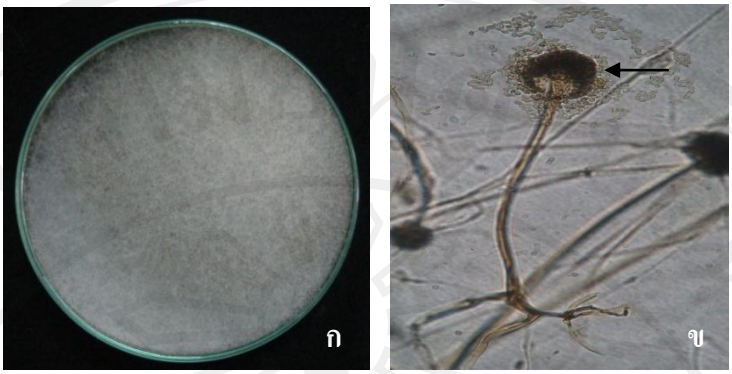
ภาพ 3 ลักษณะของเชื้อรา *Aspergillus flavus*
ก. ลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน
ข. ลักษณะ conidial head ของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า



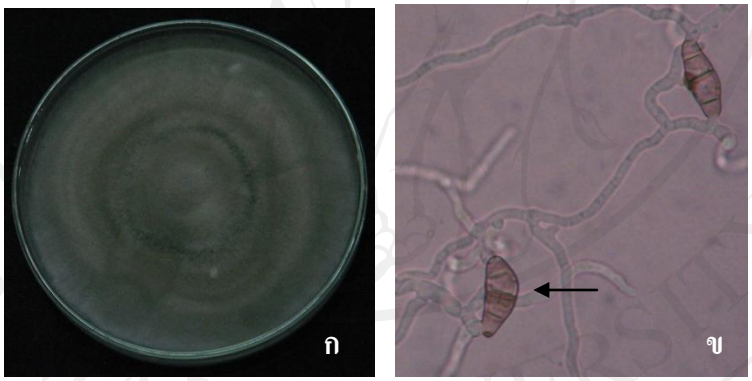
ภาพ 4 ลักษณ
ก. ลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่เจริ
ข. ลักษณะ conidial head ของเชื้อ
ที่กำลังขยาย 400 เท่า



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

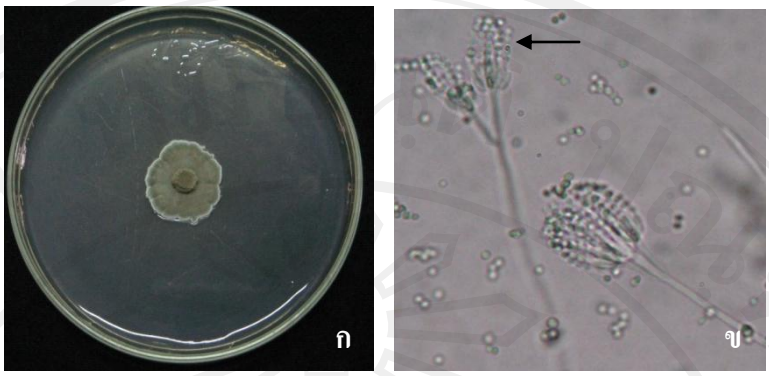


ภาพ 5 ลักษณะของเชื้อรา *Rhizopus* sp.
ก. ลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 3 วัน
ข. ลักษณะ sporangiospore ของเชื้อรา *Rhizopus* sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า

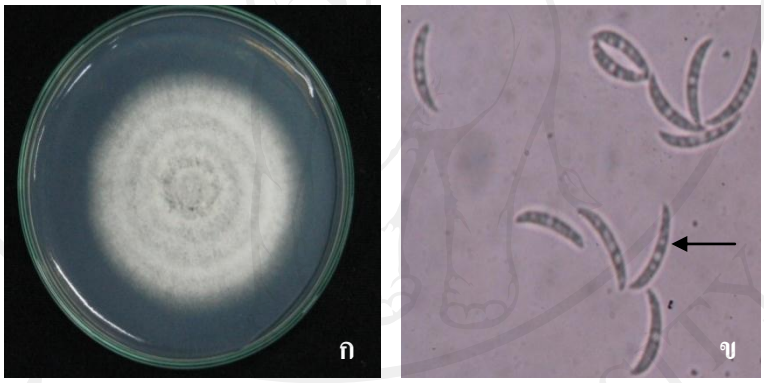


ภาพ 6 ลักษณะของเชื้อรา *Curvularia* sp.
ก. ลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน
ข. ลักษณะ conidia ของเชื้อรา *Curvularia* sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 7 ลักษณะของเชื้อรา *Penicillium* sp.
ก. ลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน
ข. ลักษณะของกลุ่ม conidia บนก้าน phialides เชื้อรา *Penicillium* sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า



ภาพ 8 ลักษณะของเชื้อรา *Colletotrichum capsici*
ก. ลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน
ข. ลักษณะ conidia ของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากการทดลองนี้ พบว่า เชื้อราที่พบเป็นเชื้อราในโรงเก็บ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Barug (2006) ได้ตรวจเชื้อราที่ปนเปื้อนในพริก (*Capsicum* spp.) โดยสุ่มตรวจจังหวัดในประเทศตุรกี จำนวน 4 จังหวัด ได้แก่ Adana, Gaziantep, Kahramanmaras และ Urfa พบว่า เชื้อราที่ปนเปื้อนในพริก ส่วนใหญ่เป็นเชื้อราในโรงเก็บ ได้แก่ *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. sclerotia*, *Eurotium amstelodami* และ *Pennicillium viridicatum*

3. การแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากผิวใบและผิวผลของพริกกะเหรี่ยง

จากการแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากผิวใบและผิวผลของพริกกะเหรี่ยง สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งสิ้น 75 ไอโซเลท โดยแยกได้จากต้นพริกกะเหรี่ยงแปลงปลูกในพื้นที่ขยายผลโครงการสบเมย อำเภอสบเมย จังหวัดแม่ฮ่องสอน จำนวน 47 ไอโซเลท และจากต้นพริกกะเหรี่ยงในโรงเรือน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จำนวน 28 ไอโซเลท ดังตาราง 1

ตาราง 1 สถานที่เก็บตัวอย่างและจำนวนแบคทีเรียที่แยกได้จากผิวใบและผิวผลของพริกกะเหรี่ยง

พืชปลูก	สถานที่เก็บตัวอย่าง	จำนวนแบคทีเรียที่แยกได้ (ไอโซเลท)	จากส่วนของพริกกะเหรี่ยง	
			ผิวใบ	ผิวผล
พริกกะเหรี่ยง	แปลงปลูกในพื้นที่ขยายผลโครงการหลวง สบเมย อำเภอสบเมย จังหวัดแม่ฮ่องสอน	47	35	12
	ต้นพริกกะเหรี่ยงในโรงเรือน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	28	19	11

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราบนผลพริกกะเหรี่ยง

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้จากผิวใบและผิวผลของพริกกะเหรี่ยงจำนวน 75 ไอโซเลท มาทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราหลังการเก็บเกี่ยวของพริกกะเหรี่ยง ได้แก่ *A. flavus*, *A. niger*, *C. capsici*, *Curvularia* sp., *Penicillium* sp. และ *Rhizopus* sp. โดยวิธี Dual culture พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SL ซึ่งแยกได้จากผิวใบ และไอโซเลท SF แยกได้จากผิวผลของพริกกะเหรี่ยงจากต้นพริกกะเหรี่ยงในโรงเรือน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราดังกล่าวได้ พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SF และ SL มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *A. flavus* โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง คือ 60.66 และ 61.03 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 2 และภาพ9) เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SF ให้ประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. niger* และ *Penicillium* sp. โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง คือ 54.92 และ 22.93 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ รองลงมา คือ เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SL มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง คือ 52.05 เปอร์เซ็นต์ และ 14.87 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตาราง 2, ภาพ 9 และภาพ 10) เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SF และ SL มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Rhizopus* sp. โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง คือ 43.80 และ 41.31 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 2 และภาพ10) การควบคุมเชื้อรา *Curvularia* sp. พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SF และ SL มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราดังกล่าวโดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง คือ 60.08 และ 60.07 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 2 และภาพ 10) และการควบคุมเชื้อรา *C. capsici* พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SF และ ไอโซเลท SL มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราดังกล่าวโดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง คือ 62.68 และ 62.69 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 2 และภาพ 9)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 2 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราหลังการเก็บเกี่ยวบนผลพริกกะเหรี่ยง

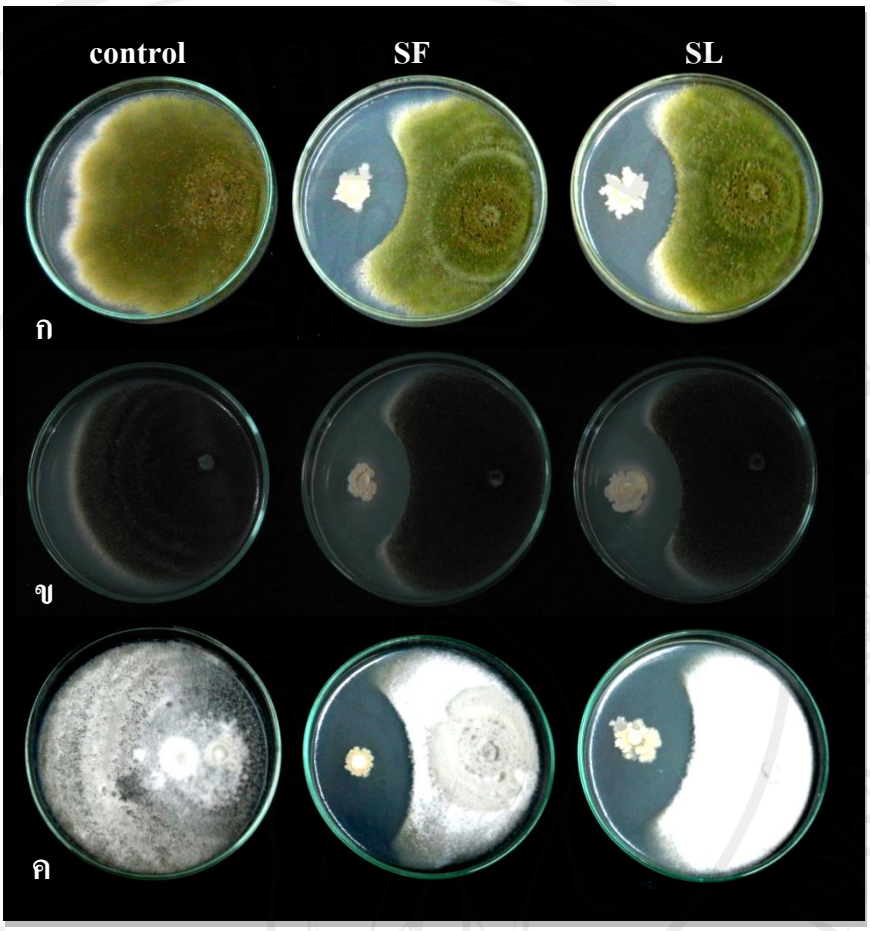
แบคทีเรียปฏิปักษ์	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราหลังการเก็บเกี่ยวของพริกกะเหรี่ยง[1]					
	Aspergillus flavus	*Aspergillus niger*	*Colletotrichum capsici*	*Curvularia* sp.	*Penicillium sp.*	*Rhizopus* sp.
SF	60.66 a [2]	54.92 a	62.68 a	60.08 a	22.93 a	43.80 a
SL	61.03 a	52.05 b	62.69 a	60.07 a	14.87 b	41.31 a
$LSD_{0.05}$	3.88	2.73	3.04	2.98	2.77	3.19
CV (%)	4.03	3.25	3.06	3.09	8.49	4.77

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบโดยวิธี Least-significant difference ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

จากผลการทดลองพบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SF และ ไอโซเลท SL มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อราหลังการเก็บเกี่ยวของพริกกะเหรี่ยงได้ ทำให้เกิด inhibition zone สอดคล้องกับที่ Baker and Cook (1974) รายงานว่า เชื้อปฏิปักษ์จะมีกลไกควบคุมเชื้อสาเหตุของโรค คือ การแข่งขันการใช้ธาตุอาหาร อากาศ และการครอบครองพื้นที่ได้ดีกว่า ทำให้เชื้อโรคพืชนั้นไม่สามารถเจริญเติบโตได้ และสร้างสารปฏิชีวนะออกมา โดยเชื้อปฏิปักษ์มีความสามารถผลิตสารที่มีคุณสมบัติยับยั้งหรือทำลายเชื้อสาเหตุโรคได้ เช่น สารพิษ (toxin) หรือ สารปฏิชีวนะ (antibiotic) ทั้ง 2 กลไกเป็นกลไกหลักในการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ที่ดีและมีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืช นอกจากนี้พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลท มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อราหลังการเก็บเกี่ยวของพริกกะเหรี่ยงได้แตกต่างกัน เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์แต่ละชนิดมีความสามารถในการผลิตสารที่มีคุณสมบัติยับยั้งหรือทำลายเชื้อสาเหตุโรคและกลไกในการควบคุมโรคแตกต่างกัน ทำให้มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแตกต่างกัน (Cook and Baker, 1983)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



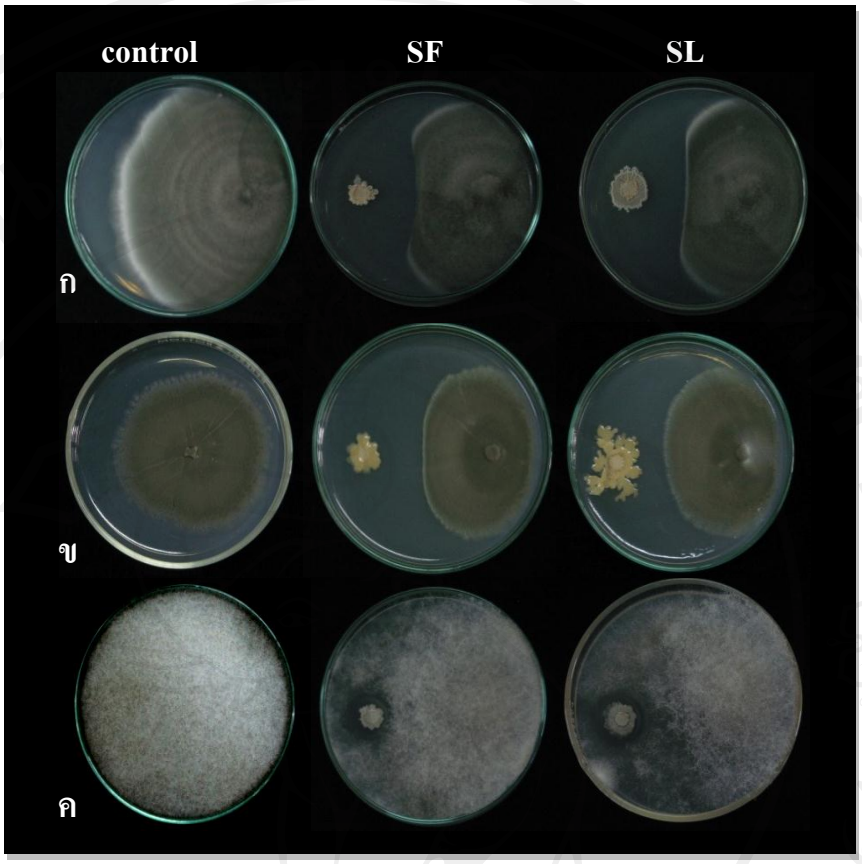
ภาพ 9 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SF และไอโซเลท SL ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่ติดมาบนผลพริกกะเหรี่ยง โดยวิธี Dual culture

ก. เชื้อรา *Aspergillus flavus*

ข. เชื้อรา *Aspergillus niger*

ค. เชื้อรา *Colletotrichum capsici*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 10 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SF และไอโซเลท SL ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่ติดมาบนผลพริกกะเหรี่ยง โดยวิธี Dual culture

ก. เชื้อรา *Curvularia* sp.

ข. เชื้อรา *Penicillium* sp.

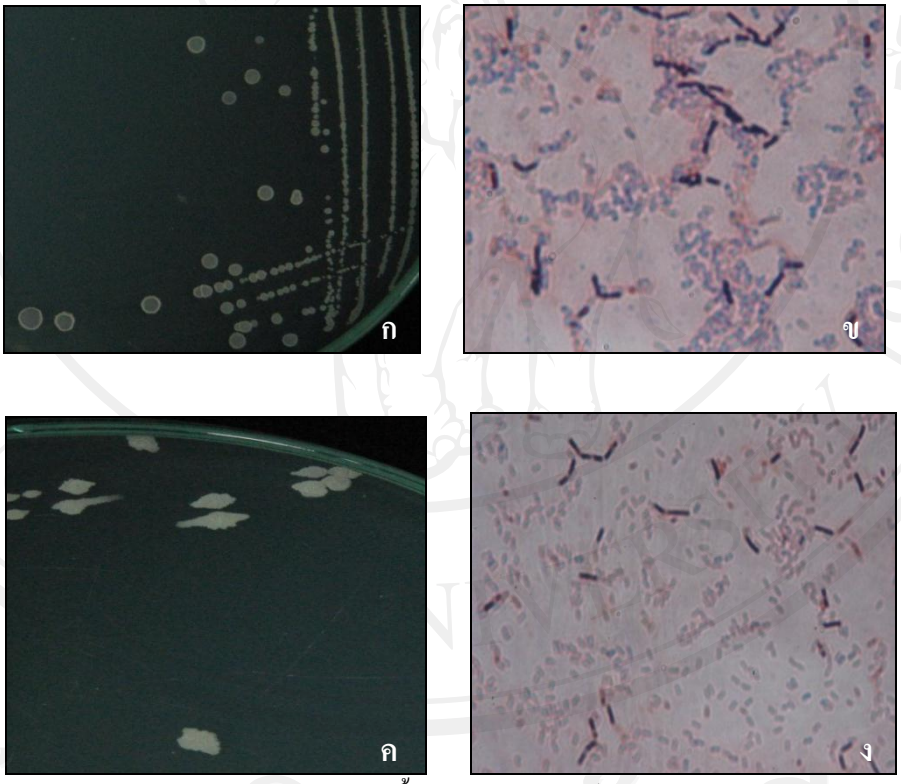
ค. เชื้อรา *Rhizopus* sp.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5. การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

5.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 2 ไอโซเลท ได้แก่ SF และ SL ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA พบว่า ไอโซเลท SF ลักษณะการเจริญบนอาหาร NA มีสีขาวขุ่น รูปร่างค่อนข้างกลม ขอบเรียบ ผิวหน้าโคโลนีขรุขระเป็นรอยย่น ผิวนูนเล็กน้อยจากผิวหน้าอาหาร ส่วนไอโซเลท SL ลักษณะการเจริญบนอาหาร NA มีสีขาวขุ่น รูปร่างไม่แน่นอน ขอบโคโลนีมีลักษณะเป็นคลื่น ผิวหน้าโคโลนีย่น ผิวนูนเล็กน้อยจากผิวหน้าอาหาร เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลทมาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SF และ ไอโซเลท SL เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ติดสีม่วงของ crytal violet และมีรูปร่างเป็นแท่ง (ภาพ 11)



ภาพ 11 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ บนอาหาร NA
ก. ลักษณะการเจริญบนอาหาร NA ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SF
ข. การติดสีแกรมบวกของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SF ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 1,000 เท่า
ค. ลักษณะการเจริญบนอาหาร NA ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SL
ง. การติดสีแกรมบวกของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SL ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 1,000 เท่า

5.2 การศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากการศึกษาเพื่อจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SF และ SL โดยอาศัยคุณสมบัติทางด้านสัณฐานวิทยาและชีวเคมีโดยการเปรียบเทียบกับคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรียมาตรฐาน คือ *B. subtilis* ไอโซเลท T01 และ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท T03 พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SF และ SL เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ติดสีม่วงของ crystal violet รูปร่างเป็นแท่ง มีรูปร่างสปอร์แบบ ellipsoid และพบสปอร์อยู่ตรงกลางเซลล์ เช่นเดียวกับเชื้อแบคทีเรียมาตรฐานทั้ง 2 ไอโซเลท (ตาราง 3) จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลทมาทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี เปรียบเทียบกับเชื้อแบคทีเรียมาตรฐานดังกล่าว จากการทดสอบ catalase พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลทให้ผลบวก คือ เกิดฟองก๊าซ เช่นเดียวกับ *B. subtilis* ไอโซเลท T01 และ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท T03 การทดสอบ oxidase เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลทให้ผลบวก โดยทำให้กระดาษที่อิ่มด้วย 0.5% tetramethyl-p-phenylenediamine HCl ที่ใช้ทดสอบ เป็นสีม่วง การทดสอบการย่อยแป้ง พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลทให้ผลบวก โดยทำให้อาหารเป็นสีน้ำเงินทั้งหมด ส่วนบริเวณรอบๆ โคโลนีใส ไม่มีสี (ตาราง3 และภาพ12ก) แสดงถึง เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้ การทดสอบการใช้ซิเตรท พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลทให้ผลบวก โดยทำให้อาหาร simmons citrate agar เปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำเงิน (ตาราง3 และภาพ12ข) การทดสอบการผลิตเอนไซม์ยูรีเอส พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลทให้ผลบวก โดยทำให้อาหารทดสอบเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีชมพู (ตาราง3 และภาพ12ค) การทดสอบการรีดิวซ์ไนเตรท พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลทให้ผลบวก โดยทำให้อาหาร nitrate broth เปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีแดง (ตาราง3 และภาพ12ง) ส่วนการทดสอบความสามารถในการเคลื่อนที่ พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลทให้ผลบวก โดยเชื้อมีการเจริญกระจายไปยังแนว stab และเจริญบนผิวหน้าอาหาร motility agar การทดสอบ methyl red และ voges-proskaur พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลทให้ผลบวก โดยทำให้อาหาร MR-VP เป็นสีแดง การทดสอบการเจริญของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ใน NaCl ที่ความเข้มข้น 6.5% พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลทให้ผลบวก โดยทำให้อาหารทดสอบขุ่น เนื่องจากมีการเจริญของเชื้อ ส่วนการทดสอบการสร้างแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ พบว่า แบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง2 ไอโซเลท ให้ผลลบ โดยอาหารที่ใช้ทดสอบไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง และการทดสอบ indole พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลทให้ผลลบ โดยอาหารที่ใช้ทดสอบไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง

ตาราง 3 ผลการทดสอบคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

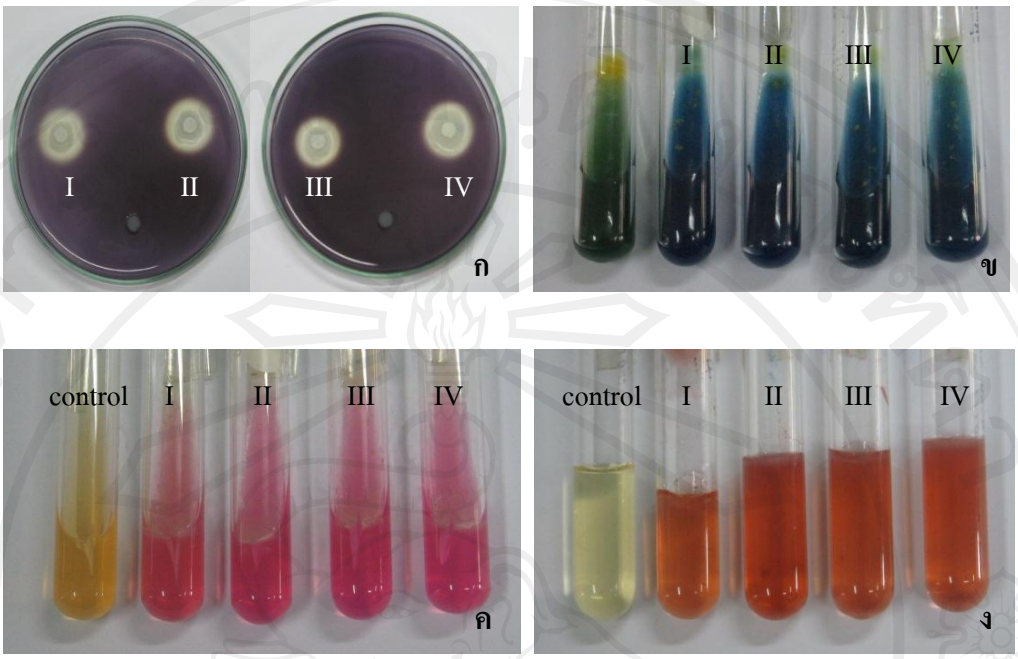
2 ไอโซเลท, เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ไอโซเลท T01 และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* ไอโซเลท T03

คุณสมบัติ	ไอโซเลท			
	SF	SL	T01	T03
สัณฐานวิทยา				
รูปร่าง	rod	rod	rod	rod
การติดสีแกรม	+	+	+	+
การสร้างสปอร์	+	+	+	+
รูปร่างสปอร์	Ellipsoid	Ellipsoid	Ellipsoid	Ellipsoid
ตำแหน่งสปอร์	centre	centre	centre	centre
ชีวเคมี				
catalase	+	+	+	+
oxidase	+	+	+	+
starch hydrolysis	+	+	+	+
citrate utilization	+	+	+	+
nitrate reduction	+	+	+	+
motility test	+	+	+	+
VP test	+	+	+	+
MR test	+	+	+	+
indole production	-	-	-	-
formation of H_2S	-	-	-	-
growth at 6.5% NaCl	+	+	+	+
cellulase	+	+	+	+
phosphatase	-	-	-	-
chitinase	-	-	-	-
urease	+	+	+	+
OF test	+	+	+	+
PR test	+	+	+	+

หมายเหตุ T01: *Bacillus subtilis*, T03: *Bacillus amyloliquefaciens* ,

- = negative, + = positive

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 12 การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

ก. การทดสอบการย่อยแป้ง (starch hydrolysis)

ข. การทดสอบการใช้ซิเตรท (citrate utilization)

ค. การทดสอบการสร้างเอนไซม์ urease

ง. การทดสอบการรีดิวซ์ไนเตรท (nitrate reduction)

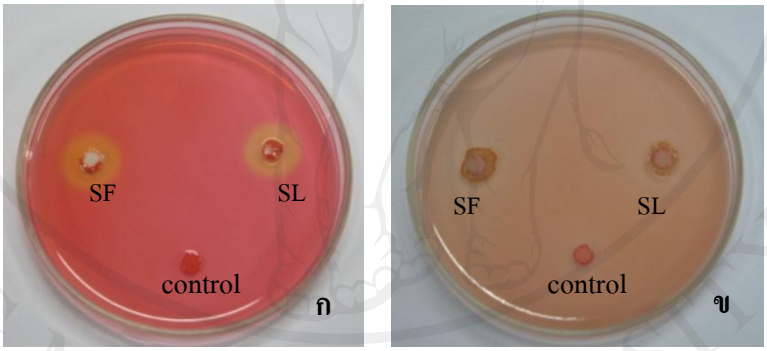
I. ไอโซเลท SF II. ไอโซเลท SL

III. *Bacillus subtilis* IV. *Bacillus amyloliquefaciens*

การทดสอบ oxidation-fermentation (O-F test) และ Phenol red (PR test) พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลท ให้ผลบวก จากการทดสอบการผลิตเอนไซม์ เซลลูเลส, ฟอสฟาเตส, ไคติเนส และยูรีเอส พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลท คือ SF และ SL สามารถผลิตเอนไซม์ เซลลูเลสได้ โดยเกิดวงใสรอบๆ โคโลนีของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ (ตาราง3 และภาพ 13) กล่าวคือ เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์มีความสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคได้ โดยผลิตเอนไซม์เซลลูเลส ย่อยสลายเซลลูโลส ซึ่งเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ของเชื้อราสาเหตุโรค และในการทดลองครั้งนี้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลทไม่สามารถผลิตเอนไซม์ ฟอสฟาเตส และ ไคติเนส (ตาราง 3 และภาพ 13)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากการทดสอบการผลิตเอนไซม์ยูรีเอส พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลทให้ผลบวก ดังนั้นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลท สามารถสร้างเอนไซม์ยูรีเอสที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของพืช โดยเอนไซม์ดังกล่าวเกี่ยวกับการใช้ธาตุไนโตรเจนของพืช ซึ่งไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตต่อพืชมาก โดยรากพืชสามารถดูดไปใช้ในรูปไนเตรทและแอมโมเนียมไอออน สารประกอบไนโตรเจนที่พบในเนื้อเยื่อพืช มีทั้งที่เพิ่งดูดเข้าไปและยังไม่เปลี่ยนแปลง และอินทรียสารซึ่งมีการสังเคราะห์ขึ้นมาใหม่จากไนเตรท แอมโมเนีย และยูเรียที่พืชดูดได้ อินทรียสารที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบที่สำคัญและมีการศึกษาที่แพร่หลาย คือ ฮอร์โมนพืช โดยฮอร์โมนพืชที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ คือ ออกซิน (auxin) และไซโตไคนิน (cytokinins) ซึ่งส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืช โดยออกซินกระตุ้นการแบ่งเซลล์ เร่งการขยายขนาดของเซลล์ ควบคุมการแตกราก ส่วนไซโตไคนินเป็นฮอร์โมนพืชที่ช่วยส่งเสริมการแบ่งเซลล์ การขยายขนาด ช่วยในการงอกของเมล็ด ส่งเสริมการสร้างโปรตีน และช่วยในการเคลื่อนย้ายธาตุอาหารของพืช (ยงยุทธ, 2543)



ภาพ 13 การทดสอบการสร้างเอนไซม์ cellulase และ phosphatase ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SF และไอโซเลท SL
ก. การสร้างเอนไซม์เอนไซม์ cellulase ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SF และไอโซเลท SL (เกิดวงใสบนอาหารทดสอบ)
ข. ไม่มีการสร้างเอนไซม์ phosphatase ในเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SF และไอโซเลท SL

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากการศึกษาเพื่อจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลท โดยอาศัยคุณสมบัติทางด้านสัณฐานวิทยาและชีวเคมี โดยการเปรียบเทียบกับคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรียมาตรฐาน คือ *B. subtilis* ไอโซเลท T01 และ *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท T03 เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลทไปทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีโดยใช้แผนผังการจำแนกแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* (ภาคผนวก ค) พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลทมีคุณสมบัติทางชีวเคมีที่คล้ายคลึงกับเชื้อแบคทีเรียมาตรฐานทั้ง 2 ไอโซเลท จึงสรุปได้เบื้องต้นว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SF และไอโซเลท SL น่าจะเป็นเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* หรือเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สอดคล้องกับการศึกษาของ Yu *et al.* (2007) ศึกษาเปรียบเทียบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท ZJB-063 กับ *Bacillus subtilis* ตาม Bergey' s Manual of Systematic Bacteriology เพื่อจัดจำแนกกลุ่มของแบคทีเรีย พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท ZJB-063 มีคุณสมบัติทางชีวเคมีที่คล้ายคลึงกับเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis*

6. การทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อการงอกของเมล็ดพริกกะเหรี่ยง

6.1 การทดสอบการงอกของเมล็ดพริกบนกระดาษชื้น

จากการนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราหลังการเก็บเกี่ยวของผลพริกกะเหรี่ยงและคุณสมบัติทางชีวเคมีที่ดี จำนวน 2 ไอโซเลท คือ SF และ SL มาทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อการงอกของเมล็ดพริกกะเหรี่ยง พบว่า เมล็ดพริกกะเหรี่ยงเริ่มงอกหลังจากเพาะเมล็ดได้ 7 วัน บันทึกเปอร์เซ็นต์ความงอกหลังจากการเพาะ 14 วัน พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SF และSL มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเป็น 53.5 และ51.0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเป็น 59.0 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SF พบเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของเชื้อราบนเมล็ดพริกกะเหรี่ยงน้อยที่สุด คือ 5.77 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งพบการปนเปื้อนของเชื้อราเป็น 15.09 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง4 และภาพ14)

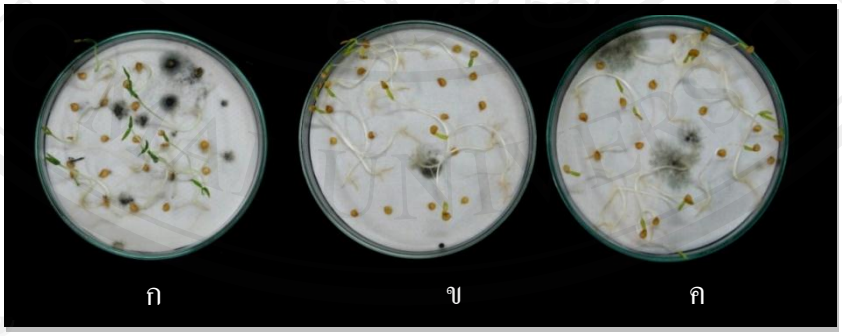
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพริกกะเหรี่ยงหลังจากแช่ในสารแขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ทั้ง 2 ไอโซเลท โดยเพาะบนกระดาษชื้นเป็นเวลา 14 วัน และเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของเชื้อราบนเมล็ดพริกกะเหรี่ยง

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพริกกะเหรี่ยงหลังจากเพาะบนกระดาษชื้น[1]	เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของเชื้อราบนเมล็ดพริกกะเหรี่ยง[1]
ชุดควบคุม	59.0 a[2]	15.09 a
เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SF	53.5 a	5.77 c
เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SL	51.0 a	8.05 b
LSD (P=0.05)	14.33	0.94
CV (%)	16.45	6.13

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ (ซ้ำละ 100 เมล็ด)

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติเปรียบเทียบโดยวิธี Least-significant difference ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



ภาพ 14 ผลของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อการงอกของเมล็ดพริกกะเหรี่ยงภายหลังจากเพาะเมล็ดบนกระดาษชื้นเป็นเวลา 14 วัน

ก. ชุดควบคุม

ข. เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SF

ค. เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SL

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

6.2 การทดสอบการงอกของเมล็ดพริกในสภาพโรงเรือน

จากการทดสอบผลของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลทต่อการงอกของเมล็ดพริกในสภาพโรงเรือน พบว่า เมล็ดพริกเริ่มงอกภายหลังจากการปลูก 14 วัน ตรวจสอบการงอกของเมล็ดพริกในโรงเรือน เมื่อปลูกพริกได้ 30 วัน พบว่า กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ SF และ SL ไม่ส่งผลต่อการงอกของเมล็ดพริก เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 5)

ตาราง 5 เปรียบเทียบผลของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อการงอกของเมล็ดพริกกะเหรี่ยงในโรงเรือน หลังจากเพาะเมล็ดเป็นเวลา 30 วัน

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพริกกะเหรี่ยงในโรงเรือน[1]
ชุดควบคุม	68.30 a[2]
เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SF	68.75 a
เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SL	65.20 a
LSD (P=0.05)	4.92
cv (%)	4.30

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ (ซ้ำละ 100 เมล็ด)

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติเปรียบเทียบโดยวิธี Least-significant difference ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากการวัดความสูงของลำต้นและความยาวรากโดยเฉลี่ยของต้นพริกภายหลังจากเพาะเมล็ดเป็นเวลา 30 วัน พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยกรรมวิธีที่แช่เมล็ดพริกด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SF ช่วยส่งเสริมการเจริญของต้นพริกได้ดีที่สุด ซึ่งให้ความสูงลำต้น และความยาวรากสูงสุด โดยมีความสูงของลำต้นเป็น 8.25 เซนติเมตร และมีความยาวรากเป็น 10.97 เซนติเมตร กรรมวิธีที่แช่เมล็ดพริกด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SL ให้ประสิทธิภาพรองลงมา โดยมีความสูงของลำต้นเป็น 7.62 เซนติเมตร และมีความยาวรากเป็น 9.42 เซนติเมตร ส่วนชุดควบคุมมีความสูงของลำต้นเป็น 6.74 เซนติเมตร และมีความยาวรากเป็น 8.40 เซนติเมตร (ตาราง 6) จากผลการทดลอง พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญความยาวของรากและความสูงของลำต้น สอดคล้องกับรายงานของ Bharachi *et al*. (2004) รายงานว่า เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* และ *Pseudomonas fluorescence* ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช โดยเกี่ยวข้องกับการงอกของเมล็ด สามารถผลิตสาร phytohormones ได้แก่ auxin, cytokinin, gibberelin ให้แก่พืชได้ และช่วยควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ โดยการผลิตสารปฏิชีวนะและผลิตเอนไซม์ที่สามารถย่อยผนังเซลล์ของเชื้อราได้ ทั้งนี้ Siddique *et al*. (2007) รายงานว่า แบคทีเรียกลุ่ม PGPR ช่วยส่งเสริมการเจริญของพืชได้ เช่น ตรึงไนโตรเจนในบรรยากาศมาใช้เพื่อการเจริญเติบโตของพืช การสังเคราะห์ฮอร์โมนหลายชนิด การละลายสารอาหารในดินให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ที่พืชสามารถนำไปใช้ได้มากขึ้น

ตาราง 6 ผลของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อความสูงของลำต้นและความยาวของรากพริกในสภาพโรงเรือนภายหลังจากเพาะเมล็ดเป็นเวลา 30 วัน

กรรมวิธี	ความสูงของต้น (ซม.) [1]	ความยาวราก (ซม.)[1]
ชุดควบคุม	6.74 c [2]	8.40 c
เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SF	8.25 a	10.97 a
เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SL	7.62 b	9.42 b
LSD (P=0.05)	0.36	0.69
CV (%)	2.00	4.20

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำๆ ละ 25 ต้น

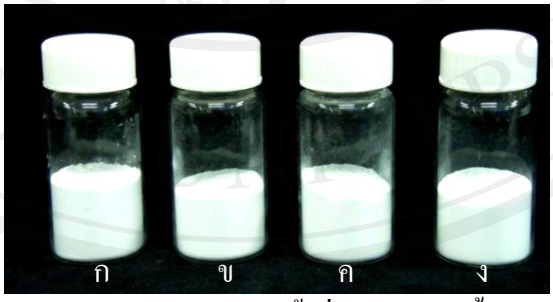
[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบโดยวิธี Least-significant difference ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

7. การพัฒนาเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เป็นผลิตภัณฑ์ในรูปแบบสารชีวภัณฑ์และประเมินความสามารถของสารชีวภัณฑ์ในการควบคุมเชื้อราหลังการเก็บเกี่ยวของพริกกะเหรี่ยง

7.1 การพัฒนาผลิตภัณฑ์ในรูปแบบสารชีวภัณฑ์

นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคหลังการเก็บเกี่ยวของพริกกะเหรี่ยงและมีคุณสมบัติทางชีวเคมีที่ดีจำนวน 2 ไอโซเลท คือ ไอโซเลท SF และไอโซเลท SL มาผลิตเป็นสารชีวภัณฑ์ในรูปแบบผงละลายน้ำ เริ่มจากนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในแต่ละไอโซเลทเลี้ยงในอาหารเหลว NB เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 6000 rpm เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นจึงทำการปรับปริมาตรด้วย NB ให้ได้ปริมาตรสุดท้าย 80 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำมาผลิตเป็นสารชีวภัณฑ์โดยผสมส่วนประกอบตามสูตร ดังนี้ สูตรที่ 1 ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีปริมาตร 40 มิลลิลิตร นำไปผสมเข้ากับสารประกอบต่างๆ ได้แก่ sodium carboxymethyl cellulose (SCMC) 1 g, talcum 98.5g และ calcium carbonate 0.5 g จากนั้นผสมให้เข้ากันดี นำไปอบในตู้อบอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปปั่นด้วยเครื่อง blender จะได้ชีวภัณฑ์ในรูปแบบผง เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิห้อง (ภาพ 15) สูตรที่ 2 ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีปริมาตร 40 มิลลิลิตร นำไปผสมเข้ากับสารประกอบต่างๆ ได้แก่ talcum 99.0g และ Polyvinylpyrrolidone (PVP) 1 g จากนั้นผสมให้เข้ากันดี นำไปอบในตู้อบอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปปั่นด้วยเครื่อง blender จะได้ ชีวภัณฑ์ในรูปแบบผง เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิห้อง (ภาพ 15)



ภาพ 15 สารชีวภัณฑ์รูปแบบผงละลายน้ำที่ผลิตมาจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์
ก. สารชีวภัณฑ์รูปแบบผงละลายน้ำ SFF1
ข. สารชีวภัณฑ์รูปแบบผงละลายน้ำ SLF1
ค. สารชีวภัณฑ์รูปแบบผงละลายน้ำ SFF2
ง. สารชีวภัณฑ์รูปแบบผงละลายน้ำ SLF2

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

7.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์จากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมเชื้อราหลังการเก็บเกี่ยวของพริกกะเหรี่ยงในสภาพห้องปฏิบัติการ

จากการนำสารชีวภัณฑ์ในรูปแบบผงละลายน้ำที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 2 ไอโซเลท คือ SF และ SL มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราหลังการเก็บเกี่ยวของพริกกะเหรี่ยง ได้แก่ *A. flavus*, *A. niger*, *C. capsici*, *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp. และ *Rhizopus* sp. โดยวิธี Dual culture พบว่า สารชีวภัณฑ์สูตร SLF2 มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *A. flavus* ได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง คือ 63.99 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ สารชีวภัณฑ์สูตร SFF2 และ SLF1 โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง คือ 57.03, 54.90 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตาราง 7 และ ภาพ16) ส่วนการควบคุมเชื้อรา *A. niger* พบว่า สารชีวภัณฑ์สูตร SFF2 และ สารชีวภัณฑ์สูตรSLF2 มีประสิทธิภาพในการควบคุมได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง คือ 66.64 และ 65.05 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ สารชีวภัณฑ์สูตร SLF2 มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *C. capsici* ได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง คือ 64.55 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ สารชีวภัณฑ์สูตร SFF1 และ SFF2 โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง คือ 62.04 และ 61.62 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตาราง 7, ภาพ16 และภาคผนวก ง) สารชีวภัณฑ์สูตร SLF2 มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Curvularia* sp. ได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง คือ 68.58 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ สารชีวภัณฑ์สูตร SFF2 และ SLF1 โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง คือ 66.47 และ 65.31 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตาราง 7, ภาพ16 และภาคผนวก ง) สารชีวภัณฑ์สูตร SFF1 มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium* sp. ได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง คือ 67.18 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ สารชีวภัณฑ์สูตร SLF1 มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง คือ 63.01 เปอร์เซ็นต์ การควบคุมเชื้อรา *Penicillium* sp. พบว่า สารชีวภัณฑ์สูตร SFF1 มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง คือ 46.46 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ สารชีวภัณฑ์สูตร SFF2 โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง คือ 43.37 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตาราง 7, ภาพ16 และภาคผนวก ง) ส่วนการควบคุมเชื้อรา *Rhizopus* sp. พบว่า สารชีวภัณฑ์สูตร SFF2 และ สารชีวภัณฑ์สูตรSLF2 มีประสิทธิภาพในการควบคุมได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง คือ 59.09 และ 56.77 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 7 และภาพ16)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 7 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ในรูปแบบผงละลายน้ำที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราหลังการเก็บเกี่ยวของพริกกะเหรี่ยง

สูตรสารชีวภัณฑ์	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราหลังการเก็บเกี่ยวพริกกะเหรี่ยง[1]						
	Af	*An*	*Co*	*Cu*	*Fu*	*Pe*	*Rh.*
SFF1	51.31 d[2]	55.77 b	62.04 b	63.35 c	67.18 a	46.46 a	46.43 b
SLF1	54.90 c	53.52 b	61.01 b	65.31 b	63.01 b	30.08 c	58.36 a
SFF2	57.03 b	66.64 a	61.62 b	66.47 b	57.92 c	43.37 b	59.09 a
SLF2	63.99 a	65.05 a	64.55 a	68.58 a	56.55 c	29.17 c	56.77 a
ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)	0.00 e	0.00 c	0.00 c	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 c
LSD (P=0.05)	1.35	2.56	1.76	2.01	3.25	2.51	2.82
CV (%)	1.98	3.53	2.35	2.49	3.09	5.61	4.24

[1] ค่าเฉลี่ย 4 ซ้ำ

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Least Significant Difference ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

หมายเหตุ

Af = เชื้อรา *Aspergillus flavus*

An = เชื้อรา *Aspergillus niger*

Co = เชื้อรา *Colletotrichum capsici*

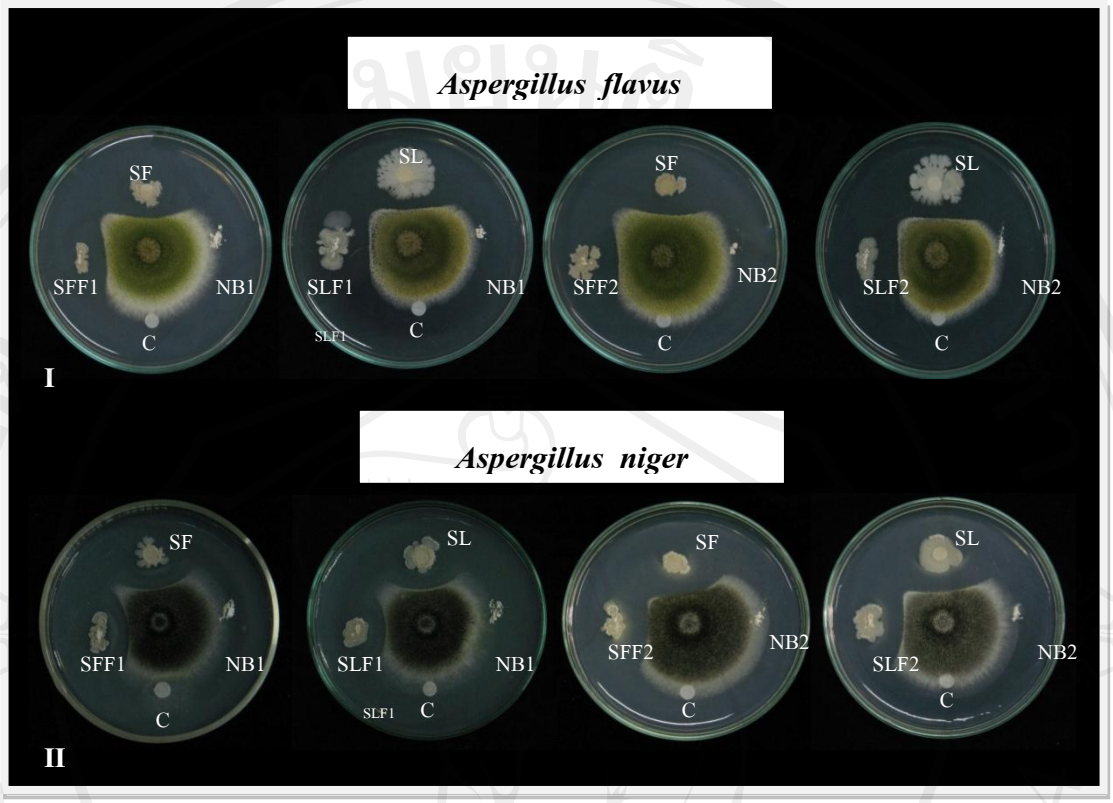
Cu = เชื้อรา *Curvularia* sp.

Fu = เชื้อรา *Fusarium* sp.

Pe = เชื้อรา *Penicillium* sp.

Rh = เชื้อรา *Rhizopus* sp.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 16 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ในรูปแบบผงละลายน้ำที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SF และ ไอโซเลท SL ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* และ *Aspergillus niger* โดยวิธี Dual Culture

I. การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus*

II. การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus niger*

หมายเหตุ SF = เชื้อแบคทีเรียไอโซเลท SF ในอาหาร NA

SL = เชื้อแบคทีเรียไอโซเลท SF ในอาหาร NA

SFF1 = สารชีวภัณฑ์สูตร 1 ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท SF

SLF1 = สารชีวภัณฑ์สูตร 1 ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท SL

SFF2 = สารชีวภัณฑ์สูตร 2 ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท SF

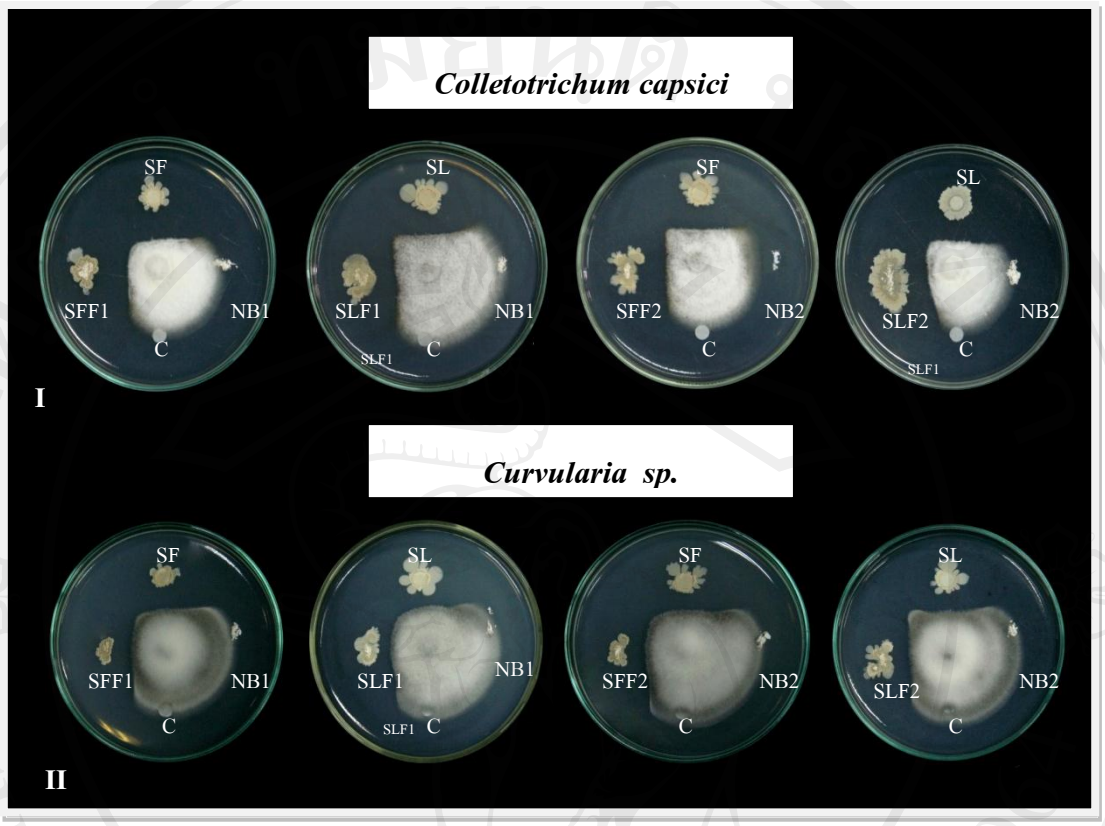
SLF2 = สารชีวภัณฑ์สูตร 2 ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท SL

NB1 = ส่วนประกอบของสูตรสารชีวภัณฑ์สูตร 1 ที่ไม่มีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

NB2 = ส่วนประกอบของสูตรสารชีวภัณฑ์สูตร 2 ที่ไม่มีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

C = ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 17 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ในรูปแบบผงละลายน้ำที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SF และ ไอโซเลท SL ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* และ *Curvularia* sp. โดยวิธี Dual Culture

I. การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum capsici*

II. การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Curvularia* sp.

หมายเหตุ SF = เชื้อแบคทีเรียไอโซเลท SF ในอาหาร NA

SL = เชื้อแบคทีเรียไอโซเลท SF ในอาหาร NA

SFF1 = สารชีวภัณฑ์สูตร 1 ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท SF

SLF1 = สารชีวภัณฑ์สูตร 1 ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท SL

SFF2 = สารชีวภัณฑ์สูตร 2 ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท SF

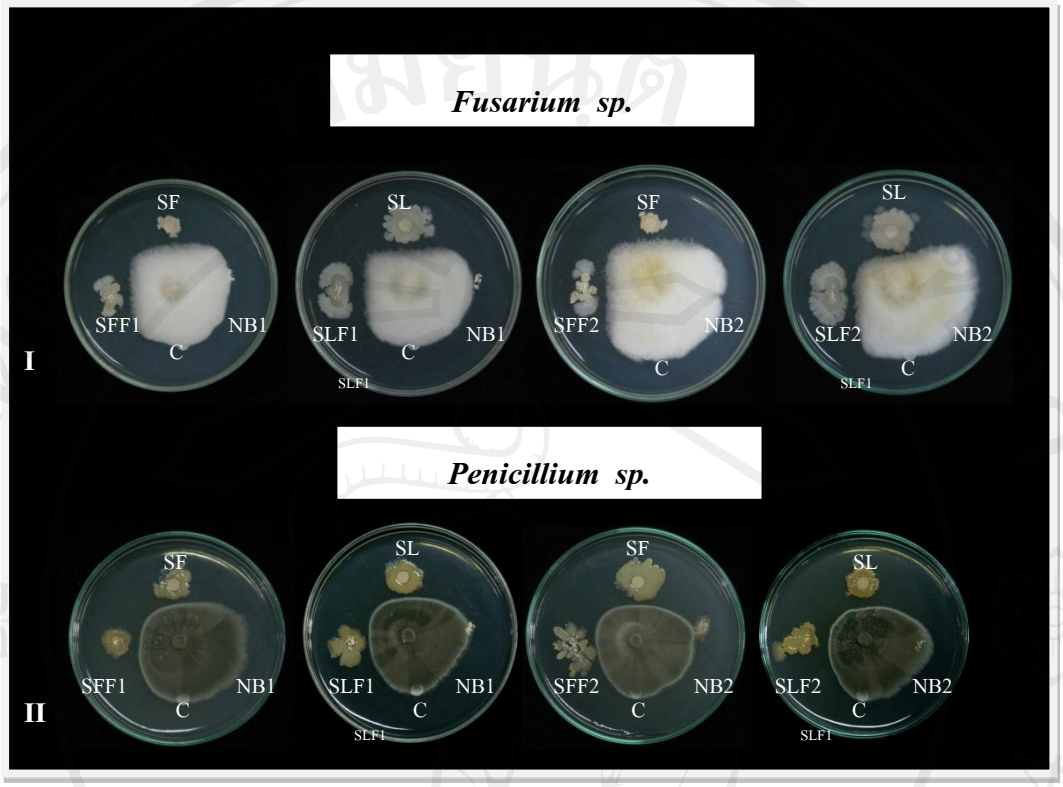
SLF2 = สารชีวภัณฑ์สูตร 2 ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท SL

NB1 = ส่วนประกอบของสูตรสารชีวภัณฑ์สูตร 1 ที่ไม่มีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

NB2 = ส่วนประกอบของสูตรสารชีวภัณฑ์สูตร 2 ที่ไม่มีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

C = ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 18 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ในรูปแบบผงละลายน้ำที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SF และ ไอโซเลท SL ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* sp. และ *Penicillium* sp. โดยวิธี Dual Culture

I. การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* sp.

II. การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* sp.

หมายเหตุ SF = เชื้อแบคทีเรียไอโซเลท SF ในอาหาร NA

SL = เชื้อแบคทีเรียไอโซเลท SF ในอาหาร NA

SFF1 = สารชีวภัณฑ์สูตร 1 ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท SF

SLF1 = สารชีวภัณฑ์สูตร 1 ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท SL

SFF2 = สารชีวภัณฑ์สูตร 2 ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท SF

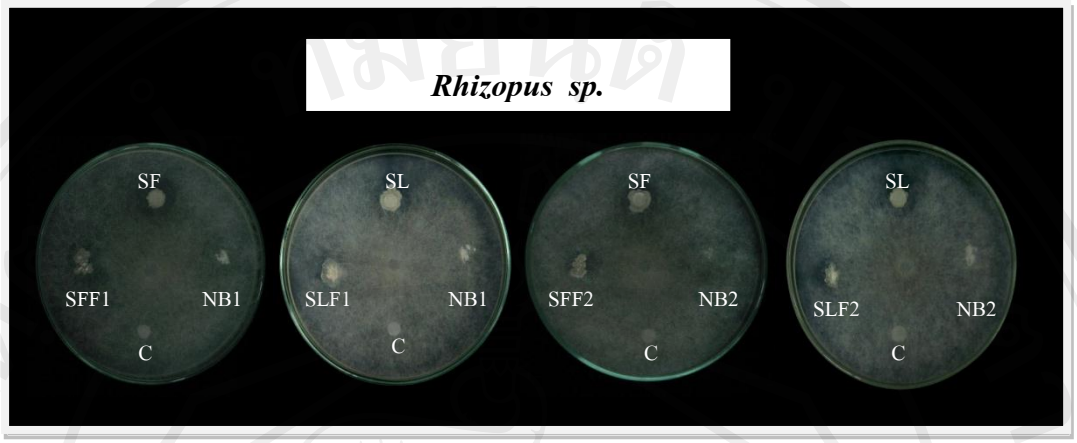
SLF2 = สารชีวภัณฑ์สูตร 2 ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท SL

NB1 = ส่วนประกอบของสูตรสารชีวภัณฑ์สูตร 1 ที่ไม่มีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

NB2 = ส่วนประกอบของสูตรสารชีวภัณฑ์สูตร 2 ที่ไม่มีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

C = ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 19 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ในรูปแบบผงละลายน้ำที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SF และ ไอโซเลท SL ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rhizopus* sp. โดยวิธี Dual Culture

หมายเหตุ SF = เชื้อแบคทีเรียไอโซเลท SF ในอาหาร NA

SL = เชื้อแบคทีเรียไอโซเลท SF ในอาหาร NA

SFF1 = สารชีวภัณฑ์สูตร 1 ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท SF

SLF1 = สารชีวภัณฑ์สูตร 1 ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท SL

SFF2 = สารชีวภัณฑ์สูตร 2 ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท SF

SLF2 = สารชีวภัณฑ์สูตร 2 ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท SL

NB1 = ส่วนประกอบของสูตรสารชีวภัณฑ์สูตร 1 ที่ไม่มีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

NB2 = ส่วนประกอบของสูตรสารชีวภัณฑ์สูตร 2 ที่ไม่มีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

C = ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

7.3 การตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์รูปแบบผงละลายน้ำ ภายใต้การเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

สารชีวภัณฑ์ที่ผลิตได้ในรูปแบบผงละลายน้ำที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 2 ไอโซเลท คือ SF และ SL ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง มาทำการตรวจนับปริมาณของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์หลังการผลิต 9 เดือน พบว่า สารชีวภัณฑ์สูตร SLF2 มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์อยู่รอดได้สูงสุด โดยพบว่า เดือนที่ 9 สารชีวภัณฑ์สูตร SLF2 มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 7.11×10^7 cfu/g รองลงมา คือ สารชีวภัณฑ์สูตร SFF1 และ SFF2 มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 2.18×10^7 cfu/g และ 1.82×10^7 cfu/g ตามลำดับซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 8 และภาคผนวก ง)

ตาราง 8 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในสารชีวภัณฑ์ในรูปแบบผงละลายน้ำ หลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 9 เดือน

	ปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ (cfu/g) [1]	
สารชีวภัณฑ์	หลังผลิตทันที	หลังผลิต 9 เดือน
SFF1	2.90×10^8	2.18×10^7 b [2]
SLF1	2.92×10^8	1.22×10^7 c
SFF2	2.90×10^8	1.82×10^7 b
SLF2	2.92×10^8	7.11×10^7 a
LSD (P=0.05)		0.43
CV(%)		9.15

[1] ค่าเฉลี่ย 4 ซ้ำ

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมี นัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบโดยวิธี Least Significant Difference ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

7.4 การทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์จากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมเชื้อราหลังการเก็บเกี่ยวของพริกกะเหรี่ยงในสภาพเรือนทดลอง

คัดเลือกสารชีวภัณฑ์สูตร SFF2 และ SLF2 มาทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์จากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมเชื้อราหลังการเก็บเกี่ยวของพริกกะเหรี่ยงในสภาพเรือนทดลอง นำมาทดสอบกับต้นพริกกะเหรี่ยงที่มีอายุ 60 วัน และเก็บผลผลิตพริกกะเหรี่ยงเมื่อต้นพริกมีอายุประมาณ 150 วัน มาประเมินน้ำหนักของผลผลิตและประเมินการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยว โดยตรวจสอบปริมาณของเชื้อราที่พบบนผลพริกและชนิดของเชื้อราหลังการเก็บเกี่ยวที่พบบนผลพริก เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติ หลังจากเก็บผลผลิตพริกกะเหรี่ยงพบว่า กรรมวิธีที่ใช้สารชีวภัณฑ์สูตร SLF2 ให้ปริมาณผลผลิตได้มากที่สุด คือ 50 ผลต่อ 2 ต้น รองลงมา คือกรรมวิธีที่ใช้สารชีวภัณฑ์สูตร SFF2 ให้ปริมาณผลผลิตพริก 31 ผล ต่อ 2 ต้น(ตาราง 9) นอกจากนี้ยังพบว่า กรรมวิธีที่ใช้สารชีวภัณฑ์ SLF2 ผลผลิตพริกมีปริมาณน้ำหนักสดรวมมากที่สุด คือ 26.59 กรัม รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ใช้สารชีวภัณฑ์ SFF2 และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ SL โดยมีปริมาณน้ำหนักสด คือ 22.00 และ 19.03 กรัม ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 10) จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า สารชีวภัณฑ์ที่ผลิตขึ้นจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพริกกะเหรี่ยงได้ ทำให้พริกกะเหรี่ยงมีปริมาณผลผลิตและน้ำหนักสดของผลผลิตมากกว่ากรรมวิธีที่ไม่ใช้สารชีวภัณฑ์ ซึ่งการทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ อังสนา (2552) ได้รายงานเกี่ยวกับ การผลิตสารชีวภัณฑ์ที่ผลิตขึ้นจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ใช้ชื่อว่า สารชีวภัณฑ์ B6 โดยนำไปทดสอบในพื้นที่บ้านแม่ลามาหลวง โครงการขยายผลโครงการหลวงสบเมย อำเภอสบเมย จังหวัดแม่ฮ่องสอน พบว่า เมื่อนำสารชีวภัณฑ์ B6 ไปใช้ในแปลงปลูกพริกกะเหรี่ยง ทำให้ลำต้นและใบของพริกกะเหรี่ยงมีสีเขียวเข้ม ผลผลิตพริกมีน้ำหนักสดและผลแห้งมีน้ำหนักมากกว่าแปลงที่ไม่มีการใช้สารชีวภัณฑ์ B6 นอกจากนี้ Bharathi *et al*. (2004) รายงานการพัฒนาสารชีวภัณฑ์จากเชื้อแบคทีเรีย *P. fluorescence* (Pf1)ร่วมกับ *B. subtilis* และ สารสกัดจากสะเดาและไคติน ในการควบคุมเชื้อรา *C. capsici* สาเหตุโรคผลเน่าของพริกโดยพัฒนาเป็นรูปแบบต่างๆ โดยสารชีวภัณฑ์ในรูปแบบผงที่มีทัลคัมเป็นส่วนประกอบ โดยพัฒนาในรูปแบบคลุกเมล็ดจุ่มรากและฉีดพ่นบนใบของต้นพริก พบว่า กรรมวิธีที่ใช้สารชีวภัณฑ์ที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ดังกล่าว ช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของพริกและเพิ่มผลผลิตของพริกในสภาพเรือนทดลอง โดยพริกให้ผลผลิตได้สูงสุด คือ 6.87 ตันต่อเฮกตาร์เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ได้ผลผลิต 3.47 ตันต่อเฮกตาร์ ทั้งนี้สามารถช่วยลดความรุนแรงของโรคผลเน่าได้อีกด้วย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 9 จำนวนของผลผลิตพริกกะเหรี่ยงทั้งหมดที่ได้ในแต่ละกรรมวิธีโดยเก็บผลผลิตจากต้นพริกกะเหรี่ยงที่มีอายุ 150 วัน ในโรงเรือน

กรรมวิธี	จำนวนของผลผลิตพริกกะเหรี่ยง (ผล) [1]
ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)	26.00 b [2]
ส่วนประกอบของสารชีวภัณฑ์ที่ไม่มีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์	31.00 b
เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ SF	20.00 b
เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ SL	30.00 b
สารชีวภัณฑ์ SFF2	31.00 b
สารชีวภัณฑ์ SLF2	50.00 a
captan	24.00 b
LSD (P= 0.05)	12.34
CV (%)	27.57

[1] ค่าเฉลี่ย 4 ซ้ำ (ซ้ำละ 2 ต้น)

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Least Significant Difference ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตาราง 10 น้ำหนักสดของผลผลิตพริกกะเหรี่ยงทั้งหมดที่ได้ในแต่ละกรรมวิธีโดยเก็บผลผลิตจากต้นพริกกะเหรี่ยงที่มีอายุ 150 วัน ในโรงเรือน

กรรมวิธี	น้ำหนักของผลผลิตพริกกะเหรี่ยง (g) [1]
	น้ำหนักสด
ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)	15.55 b [2]
ส่วนประกอบของสารชีวภัณฑ์ที่ไม่มีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์	17.14 b
เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ SF	13.04 b
เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ SL	19.03 ab
สารชีวภัณฑ์ SFF2	22.00 ab
สารชีวภัณฑ์ SLF2	26.59 a
captan	13.94 b
LSD (P= 0.05)	9.27
CV (%)	34.34

[1] ค่าเฉลี่ย 4 ซ้ำ (ซ้ำละ 2 ต้น)

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Least Significant Difference ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากการตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อราที่พบหลังการเก็บเกี่ยวของพริกกะเหรี่ยง พบว่า กรรมวิธีชุดควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของเชื้อราบนผลพริกสูงสุด โดยให้เปอร์เซ็นต์ 97.50 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ ส่วนประกอบของสารชีวภัณฑ์ที่ไม่มีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์, การใช้สารเคมี captan, และ การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ SF โดยให้เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน 92.50, 80.00 และ 70.00, เปอร์เซ็นต์ตามลำดับซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ SL, สารชีวภัณฑ์ SFF2 และ สารชีวภัณฑ์ SLF2 พบเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเป็น 57.50, 57.50 และ42.50 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 3 กรรมวิธีนี้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีที่ใช้สารชีวภัณฑ์ SLF2 สามารถลดปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อราที่พบหลังการเก็บเกี่ยวของพริกกะเหรี่ยงได้ดี (ตาราง 11 และภาพ 20)

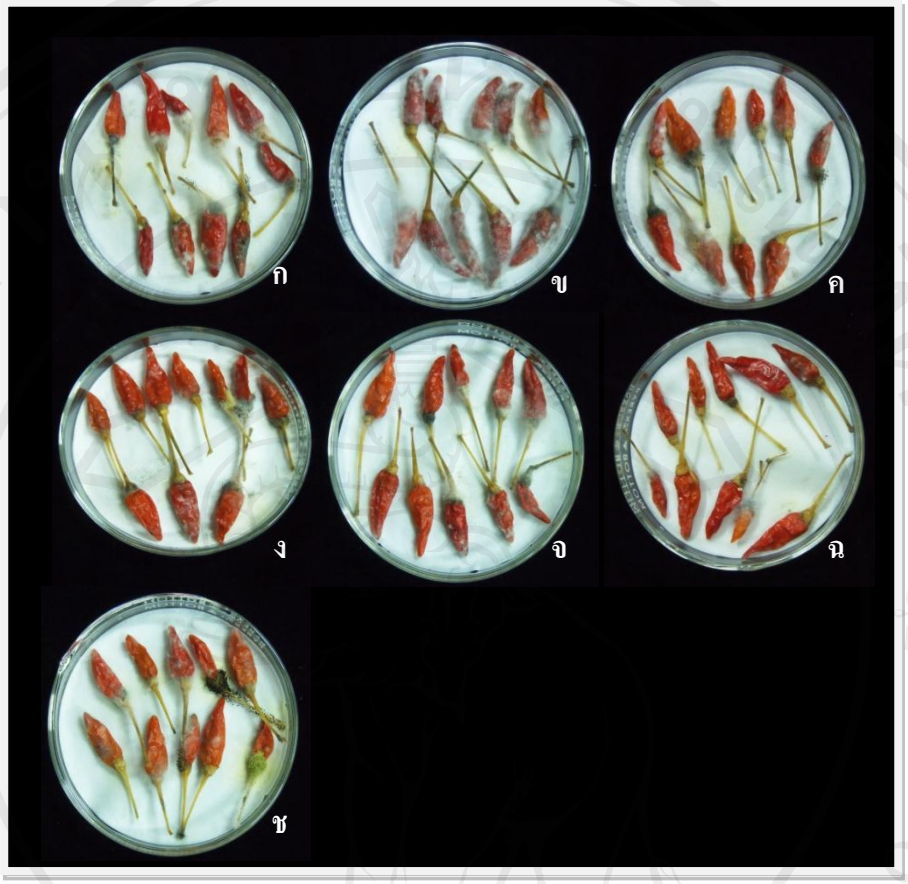
ตาราง 11 เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของเชื้อราที่พบบนผลพริกในแต่ละกรรมวิธี หลังจากเก็บผลพริกที่มีอายุ 150 วัน มาเพาะบนกระดาษชื้นในห้องปฏิบัติการ

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของเชื้อราบนผลพริก[1]
ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)	97.50 a[2]
ส่วนประกอบของสารชีวภัณฑ์ที่ไม่มีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์	92.50 ab
เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ SF	70.00 bc
เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ SL	57.50 cd
สารชีวภัณฑ์ SFF2	57.50 cd
สารชีวภัณฑ์ SLF2	42.50 d
captan	80.00 abc
LSD (*P*= 0.05)	26.02
CV (%)	24.90

[1] ค่าเฉลี่ย 4 ซ้ำ

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Least Significant Difference ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 20 เชื้อราต่างๆ ที่ปนเปื้อนบนผลพริกแต่ละกรรมวิธี หลังจากเก็บเกี่ยวผลพริกจากต้นพริกที่มีอายุ 150 วัน มาเพาะบนกระดาษชื้นในห้องปฏิบัติการ

ก. ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)

ข. ส่วนประกอบของสารชีวภัณฑ์ที่ไม่มีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

ค. เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ SF

ง. เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ SL

จ. สารชีวภัณฑ์ SFF2

ฉ. สารชีวภัณฑ์ SLF2

ช. captan

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากการตรวจสอบชนิดของเชื้อราที่พบบนผลพริกหลังการเก็บเกี่ยว พบว่า เชื้อราที่พบ ได้แก่ เชื้อรา *A. flavus*, *A. niger* และ *Fusarium* sp. โดยพบว่า เชื้อรา *A. flavus* พบมากที่สุดในชุดควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นโดยให้เปอร์เซ็นต์ 25.00 รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ใช้ ส่วนประกอบของสารชีวภัณฑ์ที่ไม่มีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์, การใช้สารเคมี captan โดยให้เปอร์เซ็นต์ 20.00 และ 15.00 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ SF, เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ SL และ สารชีวภัณฑ์สูตร SFF2 นั้น พบเชื้อรา *A. flavus* บนผลพริกโดยให้เปอร์เซ็นต์ 17.00, 17.00 และ 15.00 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 12 และภาพ 20) และกรรมวิธีที่ใช้สารชีวภัณฑ์สูตร SLF2 พบเชื้อรา *A. flavus* ในปริมาณที่ให้เปอร์เซ็นต์ต่ำสุด คือ 5.00 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเชื้อรา *A. niger* พบว่า กรรมวิธีที่ใช้น้ำกลั่นพบเชื้อรา *A. niger* สูงสุด โดยให้เปอร์เซ็นต์ 32.50 เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีที่ใช้ส่วนประกอบของสารชีวภัณฑ์ที่ไม่มีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์, เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ SF, สารชีวภัณฑ์สูตร SFF2 และการใช้สารเคมี captan พบเชื้อรา *A. niger* 17.50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ SL พบเชื้อรา *A. niger* 15.0 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีที่ใช้ สารชีวภัณฑ์สูตร SLF2 พบเชื้อรา *A. niger* น้อยที่สุด คือ 10 เปอร์เซ็นต์(ตาราง 11 และภาพ 20) ส่วนเชื้อรา *Fusarium* sp. พบมากที่สุดในกรรมวิธีที่ใช้ น้ำกลั่น และ ส่วนประกอบของสารชีวภัณฑ์ที่ไม่มีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ โดยพบ 60.00 และ 55.00 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรรมวิธีที่ใช้ เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ SF, สารชีวภัณฑ์ SFF2 และ สารเคมี captan พบเชื้อรา *Fusarium* sp. 37.00, 35.00 และ 45.00 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ SL และสารชีวภัณฑ์ SLF2 พบเชื้อรานี้ในปริมาณที่น้อยที่สุด คือ 25.00 และ 20.00 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 12 และภาพ 20) จากการทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Mandeel (2005) ศึกษาเชื้อราที่ปนเปื้อนในเครื่องเทศที่ได้นำเข้ามาจากประเทศอินเดีย ปากีสถาน อิหร่าน และ สหรัฐอเมริกา พบว่า พริกซึ่งเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในเครื่องเทศมีการปนเปื้อนของเชื้อรามากที่สุด ซึ่งเชื้อราที่พบว่าปนเปื้อนในพริกปริมาณมาก คือ เชื้อรา *Aspergillus flavus* , *Aspergillus niger* และยีสต์ โดยพบว่ามี 96, 62 และ 20 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยพบว่าเชื้อรามีการเจริญเติบโตได้ดีที่ ความชื้นสัมพัทธ์ 13.78 %

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 12 เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของเชื้อรา *A. flavus, A.niger และ Fusarium* sp.ที่พบบนผลพริกในแต่ละกรรมวิธี หลังจากเก็บผลพริกที่มีอายุ 150 วัน มาทำเพาะบนกระดาษชื้นในห้องปฏิบัติการ

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์เชื้อราที่พบบนผลพริก[1]		
	A. flavus	*A.niger*	*Fusarium* sp.
ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)	25.00 a[2]	32.50 a	60.00 a
ส่วนประกอบของสารชีวภัณฑ์ที่ไม่มีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์	20.00 ab	17.50 ab	55.00 a
เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ SF	17.00 ab	17.50 ab	37.00 ab
เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ SL	17.00 ab	15.00 ab	25.00 b
สารชีวภัณฑ์ SFF2	15.00 ab	17.50 ab	35.00 ab
สารชีวภัณฑ์ SLF2	5.00 b	10.00 b	20.00 b
captan	15.00 ab	17.50 ab	45.00 ab
LSD (*P*= 0.05)	19.11	18.91	25.82
CV (%)	79.14	76.64	44.29

[1] ค่าเฉลี่ย 4 ซ้ำ

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Least Significant Difference ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

จากการนำสารชีวภัณฑ์สูตร SFF1 และ SFF2 มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสของพริกกะเหรี่ยงที่มีอายุ 30 วัน และประเมินความเสียหายของโรคโดยวัดระดับความรุนแรงในการเกิดโรค เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ผลทางสถิติและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละกรรมวิธีโดยวิธี LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่า กรรมวิธีที่ปลูกเชื้อสาเหตุอย่างเดียวให้ระดับการเกิดโรคสูงสุด คือ 3.50 รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ SF และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ SL ที่มีระดับการเกิดโรคเป็น 1.62 และ 1.65 ตามลำดับซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรรมวิธีที่ใช้สารชีวภัณฑ์ SFF2 และสารชีวภัณฑ์ SLF2 ให้ระดับการเกิดโรคเป็น 1.25 และ 1.02 ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ส่วนชุดควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อสาเหตุ และกรรมวิธีที่ใช้ส่วนประกอบของสารชีวภัณฑ์ที่ไม่มีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ต้นพริกแสดงอาการปกติ (ตาราง 12 และ ภาพ 21)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 12 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์สูตร SFF2 และ SLF2 ในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum capsici* สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของพริกกะเหรี่ยง

กรรมวิธี	ระดับการเกิดโรค[1]
ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)	1.00 c [2]
ส่วนประกอบของสารชีวภัณฑ์ที่ไม่มีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์	1.00 c
ชุดควบคุม (เชื้อสาเหตุ *Colletotrichum capsici*)	3.50 a
เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ SF + *Colletotrichum capsici*	1.62 b
เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ SL + *Colletotrichum capsici*	1.65 b
สารชีวภัณฑ์ SFF2 + *Colletotrichum capsici*	1.25 bc
สารชีวภัณฑ์ SLF2 + *Colletotrichum capsici*	1.02 c
LSD (P= 0.05)	0.55
CV (%)	23.81

[1] ค่าเฉลี่ย 4 ซ้ำ (1 ต้นต่อ 2 ซ้ำ)

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Least Significant Difference ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

การประเมินระดับการเกิดโรค โดยแบ่งความรุนแรงเป็น 5 ระดับ (ดัดแปลงจาก รัตติรส และสมศิริ, 2549) ดังนี้

ระดับ 1 ไม่เกิดแผลบนใบ หรือไม่พบใบที่แสดงอาการของโรค

ระดับ 2 แผลเป็นจุดสีน้ำตาลขนาดเล็กบนใบ พบแผล 1-20%

ระดับ 3 แผลเป็นจุดสีน้ำตาลขนาดเล็กบนใบ พบแผล 21-30%

ระดับ 4 แผลเป็นจุดสีน้ำตาลขนาดเล็ก และขนาดใหญ่บนใบ พบแผล 31-50%

ระดับ 5 แผลเป็นจุดสีน้ำตาลถึงดำขนาดใหญ่บนใบ แผลกระจายทั่วทั้งใบมากกว่า 50%

จากผลการทดลอง พบว่า เมื่อเปรียบเทียบกรรมวิธีที่ใช้สารชีวภัณฑ์ที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ SLF2 และเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ SL โดยวิธีการฉีดพ่นก่อนปลูกเชื้อรา 1 วัน พบว่า กรรมวิธีที่ใช้สารชีวภัณฑ์สูตร SLF2 สามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสที่เกิดขึ้นบนใบพริกกะเหรี่ยงได้ดีกว่าการใช้เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ SL ซึ่งสันนิษฐานได้ว่า สารชีวภัณฑ์ SLF2 มีสารยึดเกาะเป็นส่วนประกอบ เมื่อพ่นลงไปบนใบพริกกะเหรี่ยงทำให้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สามารถติดอยู่บนใบได้มากและนานกว่าเซลล์แขวนลอย ซึ่งแบคทีเรียอยู่ในรูปเซลล์สดซึ่งมีความคงตัวต่ำ ไม่สะดวกในการนำไปใช้ จากผลการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นว่า สารชีวภัณฑ์สูตร SLF2 สามารถควบคุมโรคแอนแทรกโนสที่เกิดขึ้นบนใบพริกกะเหรี่ยงได้ดี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ 21 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์สูตร SFF2 และ SLF2 ในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum capsici* สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของต้นพริกกะเหรี่ยงอายุ 30 วัน

ก. ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)

ข. ส่วนประกอบของสารชีวภัณฑ์ที่ไม่มีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

ค. ชุดควบคุม (เชื้อสาเหตุ *Colletotrichum capsici*)

ง. เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ SF + *Colletotrichum capsici*

จ. เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ SL + *Colletotrichum capsici*

ฉ. สารชีวภัณฑ์ SFF2 + *Colletotrichum capsici*

ช. สารชีวภัณฑ์ SLF2 + *Colletotrichum capsici*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved