

การทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในการป้องกันกำจัดโรค
แอนแทรกโนสพริกที่มีสาเหตุจากเชื้อรา

Colletotrichum capsici (Syd. & P. Syd.) Butl. & Bisby

Efficacy of *Bacillus subtilis* to Control Anthracnose Disease of Chili Caused
by *Colletotrichum capsici* (Syd. & P. Syd.) Butl. & Bisby

ธารทิพย์ ภาสบุตร อภิรัชต์ สมฤทธิ์ อมรรักษ์ภู คัดใจเดียว

ทิพวรรณ กันหาญาติ

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

Efficacy of *Bacillus subtilis*, B23 20W15 20W19 and 19W6 to controlling *Colletotrichum capsici* which causes anthracnose disease of chili. Field trial at Tha Muang and Tha Maka District, Kanchanaburi province during October 2016 - September 2017. We found that cell suspension of B23 and 20W16 could effectively reduce anthracnose disease, the percentages of disease were lower than a non-antagonist spraying treatment. Then B23 and 2W16 were formulated into powder formulation and brought back to test at the same field. The results showed significantly control the disease better than a non-antagonist spraying treatment. Efficacy trial of the B23 isolate at 40-50 grams/20 liters of water showed the disease control at the same level as using 20W16 isolate at 40-50 grams/20 liters of water and the percentage of disease were lower than a non-antagonist spraying treatment.

Keywords : Chili anthracnose disease, *Colletotrichum capsici*, *Bacillus*

รหัสการทดลอง 03-05-59-02-02-00-02-59

บทคัดย่อ

การทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ B23 20W15 20W19 19W6 และ 20W16 ในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรกคโนสพริกที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum capsici* ทำการทดลองที่ อำเภอน้ำขุ่น จังหวัดกาญจนบุรี ระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2559 ถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2560 วางแผนการทดลองแบบ RCB (Randomized Complete Block) ผลการทดลองพบว่า กรรมวิธีพ่นเซลล์แขวนลอย (cell suspension) ของ *B. Subtilis* สายพันธุ์ B23 และ 20W16 สามารถป้องกันกำจัดโรคแอนแทรกคโนสพริกได้ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำกว่ากรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (control) เมื่อนำแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B23 และ 20W16 มาทำเป็นผงเชื้อ แล้วนำกลับมาทดสอบพบว่า การพ่นสารละลายผงเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ B23 อัตรา 40-50 กรัม ต่อ น้ำ 20 ลิตร สามารถป้องกันกำจัดโรคแอนแทรกคโนสได้ระดับเดียวกับการพ่นสารละลายผงเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ 20W16 และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำกว่ากรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า

คำหลัก : โรคแอนแทรกคโนส พริก *Colletotrichum capsici*

คำนำ

พริก (Chili) เป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจที่ใช้บริโภคทั้งภายในประเทศและภายนอกประเทศ แต่ในการผลิตพริกเกษตรกรมักพบปัญหาหลายประการ เช่น ปัญหาของวัชพืช ปัญหาแมลงศัตรูพืชและปัญหาโรคพืช โดยเฉพาะด้านโรคพืช พบว่าโรคแอนแทรกคโนสหรือโรคกุ้งแห้งเป็นโรคที่สำคัญโรคหนึ่งของพริก ก่อให้เกิดความเสียหายต่อการผลิตพริกเป็นอย่างมาก สามารถทำให้ผลผลิตเกิดความเสียหายได้มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ (Poonpolgul and Kumphai, 2007) มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp. มีรายงานว่าชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคที่สำคัญ ได้แก่ *Colletotrichum gloeosporioides* *Colletotrichum capsici* และ *Colletotrichum acutatum* (รัตติยา และคณะ, 2553) เชื้อรา *C. capsici* ซึ่งเป็นหนึ่งในสาเหตุโรคสามารถทำให้เกิดโรคกับพริกหลายสายพันธุ์ได้รุนแรงกว่าเชื้อรา *C. gloeosporioides* และทำความเสียหายกับผลผลิตพริกหลังการเก็บเกี่ยวมากที่สุด (Rattanacherdchai และคณะ, 2010) สามารถถ่ายทอดผ่านทางเมล็ดพันธุ์ได้ ทำให้เมล็ดพันธุ์มีความงอกต่ำและทำให้ต้นกล้าเป็นโรคได้ (สมศิริ, 2554) การป้องกันกำจัดโรคแอนแทรกคโนสพริกดังกล่าวมักใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชในการป้องกันกำจัดเชื้อรา แต่มักพบการใช้อย่างไม่ถูกต้องเหมาะสม ส่งผลให้เพิ่มต้นทุนในการผลิต เกิดการปนเปื้อนตกค้างในผลผลิตพริกและสิ่งแวดล้อม ถ้ามีในปริมาณมากเกิดไปอาจส่งผลต่อสุขภาพอนามัยของเกษตรกรและผู้บริโภค ตลอดจนการเกิดปัญหาการต้านทานต่อสารเคมีของเชื้อราสาเหตุโรค ปัจจุบันการควบคุมโรคพืชแบบชีววิธีโดยใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ผลิตโดยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จึงเป็นทางเลือกหนึ่งในการลดปัญหาดังกล่าว มีการนำแบคทีเรีย *Bacillus* spp. มาใช้ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิด

เนื่องจากเป็นแบคทีเรียที่สามารถพบได้ทั่วไปในสภาพแวดล้อมต่างๆ สามารถสร้าง endospore ที่ทนต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม สามารถผลิตสารต้านจุลชีพได้หลายชนิด เช่น iturin A, fengycin และ surfactin (Kim *et al.*, 2010) รวมทั้งยังสร้างสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชด้วย (Kloepper *et al.*, 2004) ดังนั้นจึงได้นำแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสพริกที่เกิดจากเชื้อรา *C. capsici* ในสภาพแปลงทดลอง โดยเฉพาะสายพันธุ์ B23 20W15 20W19 19W6 และ 20W16 ที่ผ่านการทดสอบในห้องปฏิบัติการแล้วว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. capsici* เพื่อให้ได้สายพันธุ์แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* อย่างน้อย 1 สายพันธุ์ สำหรับการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ เพื่อนำไปใช้ป้องกันกำจัดโรคแอนแทรกโนสพริกในสภาพแปลงปลูกของเกษตรกรต่อไป

วิธีการดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* สายพันธุ์ B23 20W15 20W19 19W6 และ 20W16
2. รา *Colletotrichum capsici* (Cc) สาเหตุโรคแอนแทรกโนสพริก
3. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง ตู้อบเชื้อ
4. อาหารเลี้ยงเชื้อ เช่น PDA PSA PDA สำเร็จรูป วัณ มันทฝรั่ง ฯ
5. ต้นกล้าพริก
6. ปุ๋ยเคมี ปุ๋ยคอก ปุ๋ยหมัก สารเคมีกำจัดแมลง
7. เครื่องพ่นสารทดสอบ เครื่องพ่นเชื้อสาเหตุโรคพืช
8. เครื่องชั่งน้ำหนัก และอุปกรณ์การตรวจวัดสารทดลอง
9. ป้ายปักแปลง
10. อุปกรณ์สำหรับการบันทึกข้อมูล
11. ที่พ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช

วิธีการ

การทดลองที่ 1 ทดสอบประสิทธิภาพเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย

วางแผนการทดลองแบบ RCB 3 ซ้ำ 8 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 เซลล์แขวนลอย Bs 20W19	อัตราส่วน 1 : 1
กรรมวิธีที่ 2 เซลล์แขวนลอย Bs B23	อัตราส่วน 1 : 1
กรรมวิธีที่ 3 เซลล์แขวนลอย Bs 20W15	อัตราส่วน 1 : 1
กรรมวิธีที่ 4 เซลล์แขวนลอย Bs 20W16	อัตราส่วน 1 : 1
กรรมวิธีที่ 5 เซลล์แขวนลอย Bs 19W6	อัตราส่วน 1 : 1
กรรมวิธีที่ 6 mancozeb 80% WP	อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 7 น้ำเปล่า (control+)	

กรรมวิธีที่ 8 น้ำเปล่า (control-)

การทดลองที่ 2 ทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรียที่อยู่ในรูปผงเชื้อ

วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 7 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 <i>B. subtilis</i> B23	อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 2 <i>B. subtilis</i> B23	อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 3 <i>B. subtilis</i> 20W16	อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 4 <i>B. subtilis</i> 20W16	อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 5 mancozeb 80% WP	อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 6 น้ำเปล่า (control+)	
กรรมวิธีที่ 7 น้ำเปล่า (control-)	

การทดสอบประสิทธิภาพเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรกโนสพริกที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum capsici*

1. การเตรียมแปลงทดลอง

เตรียมแปลงทดลองขนาดแปลงย่อย 4 x 6 เมตร แต่ละแปลงย่อยห่างกัน 1 เมตร ย้ายต้นกล้าพริกลงปลูกในแปลง ปลูกพริกให้มีระยะห่างระหว่างต้น 50 เซนติเมตร ระยะห่างระหว่างแถว 80 เซนติเมตร เมื่อพริกมีอายุ 45 วัน หลังย้ายปลูก จึงเริ่มดำเนินการทดลอง

2. การเตรียมแบคทีเรียและเชื้อรา

การเตรียมสปอร์แขวนลอย (spore suspension) ของเชื้อรา *C. capsici* และการปลูกเชื้อ

เลี้ยงเชื้อรา *C. capsici* บนอาหาร PDA เป็นเวลา 14 วัน ล้างสปอร์ด้วยน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ ปรับให้มีความเข้มข้น 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร นำสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราที่ได้ไปปลูกเชื้อโดยการพ่น (spray inoculation) ลงบนผลพริกที่เริ่มเปลี่ยนสีจนทั่วตามกรรมวิธีที่กำหนดไว้ (กรรมวิธีที่ 1-7)

การเตรียมเซลล์แขวนลอย (cell suspension) ของแบคทีเรีย *B. subtilis* และการทดสอบ

นำแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B23/2 20W15 20W19 19W6 และ 20W16 มาเลี้ยงในอาหารเหลว TSA เป็นเวลา 36 ชั่วโมง นำเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย ปรับความเข้มข้นโดยเติมน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อลงไป เพื่อให้ได้เซลล์แขวนลอยที่มีความเข้มข้นประมาณ 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร นำมาพ่นบนผลพริกทุก 7 วัน จำนวน 4 ครั้ง ประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรกโนสก่อนพ่นทุกครั้งและหลังพ่นครั้งสุดท้ายที่ 7 และ 14 วัน โดยสุ่มเก็บผลพริกที่สุกแดงจากต้นพริก 10 ต้นต่อแปลงย่อย นับจำนวนผลพริกทั้งหมดและผลพริกที่แสดงอาการโรคแอนแทรกโนสนำมาคิดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค ตามสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย} = \frac{\text{จำนวนผลผลิตพริกที่เกิดโรค} \times 100}{\text{จำนวนผลผลิตพริกทั้งหมด}}$$

3. การบันทึกข้อมูล

บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรกโคโนสพริก นำค่าเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคที่ประเมินได้มาหาค่าเฉลี่ยและวิเคราะห์ผลโดยวิธี Analysis of Variance และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

บันทึกสภาพแวดล้อมและการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ขณะทำการทดลองเท่าที่จะทำได้รวมทั้งการเกิดพืชต่อพืช

การทดสอบประสิทธิภาพผงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรกโคโนสพริกที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum capsici*

1. การเตรียมแปลงทดลอง

เตรียมแปลงทดลองขนาดแปลงย่อย 4 x 6 เมตร แต่ละแปลงย่อยห่างกัน 1 เมตร ย้ายต้นกล้าพริกลงปลูกในแปลง ปลูกพริกให้มีระยะห่างระหว่างต้น 50 เซนติเมตร ระยะห่างระหว่างแถว 80 เซนติเมตร เมื่อพริกมีอายุ 45 วัน หลังย้ายปลูก จึงเริ่มดำเนินการทดลอง

2. การเตรียมแบคทีเรียและเชื้อราเพื่อทดสอบในแปลงทดลอง

การเตรียมสปอร์แขวนลอย (spore suspension) ของเชื้อรา *C. capsici* และการปลูกเชื้อ

เลี้ยงเชื้อรา *C. capsici* บนอาหาร PDA เป็นเวลา 14 วัน ล้างสปอร์ด้วยน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ ปรับให้มีความเข้มข้น 10^8 สปอร์ ต่อมิลลิลิตร นำสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราที่ได้ไปปลูกเชื้อโดยการพ่น (spray inoculation) ลงบนผลพริกที่เริ่มเปลี่ยนสีจนทั่วตามกรรมวิธีที่กำหนดไว้ (กรรมวิธีที่ 1-6)

การเตรียมผงเชื้อแบคทีเรียและการทดสอบ

คัดเลือกแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ทำให้พริกมีการเกิดโรคแอนแทรกโคโนสต่ำที่สุด 1 สายพันธุ์ จาก 4 สายพันธุ์ที่นำมาทดลองในปี 2559 (B23 20W15 20W19 19W6) และ *B. subtilis* สายพันธุ์ 20W16 มาทำให้อยู่ในรูปผงเชื้อสำเร็จอย่างง่ายตามวิธีการของ ญัฐธิดาและคณะ, 2551 โดยนำแบคทีเรีย *B. subtilis* มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณบนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) จนเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ใส่อัตรา 5 มิลลิลิตรต่อ 1 จาน ชูตเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ใส่ในบีกเกอร์ ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที เติมน้ำละลาย carboxymethyl cellulose (CMC) ความเข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์ 100 มิลลิลิตร เติมน้ำผงแป้งทัลคัม (Talcum) ในอัตรา 1:4 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก ผสมคลุกเคล้าให้เข้ากัน ปิดด้วยกระดาษพอยล์ เจาะช่องระบายอากาศ ตั้งทิ้งไว้จนแห้ง (ประมาณ 7-10 วัน) นำมาบดให้ผงแห้งกระจายตัวเป็นผง นำไปตรวจนับปริมาณเซลล์แบคทีเรีย *B. subtilis* ที่มีชีวิตรอดในผงสำเร็จแบคทีเรียที่ผลิตได้ด้วยวิธี dilution plating โดยนำส่วนผสมผงสำเร็จแบคทีเรีย 1 กรัม มาตรวจนับปริมาณแบคทีเรียบนอาหาร NA พบว่า ปริมาณแบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผงสำเร็จแบคทีเรียที่เตรียมจากอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) คือ 1.0×10^9 หน่วยโคโลนี/กรัม นำผงเชื้อ *B. subtilis* อัตรา 40 และ 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มาพ่นบนผลพริกที่ปลูกเชื้อรา *C. capsici* พ่นทุก 7 วัน จำนวน 4 ครั้ง ประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรกโคโนสก่อนพ่นทุกครั้งและหลังพ่นครั้งสุดท้ายที่ 7 และ 14 วัน โดยสุ่มเก็บผลพริกที่

สุกแดง จากต้นพริก 20 ต้นต่อแปลงย่อย นับจำนวนผลพริกทั้งหมดและผลพริกที่แสดงอาการโรคแอนแทรกคโนสนำมาคิดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคตามสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย} = \frac{\text{จำนวนผลผลิตพริกที่เกิดโรค} \times 100}{\text{จำนวนผลผลิตพริกทั้งหมด}}$$

3. การบันทึกข้อมูล

บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรกคโนสพริก นำค่าเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคที่ประเมินได้มาหาค่าเฉลี่ยและวิเคราะห์ผลโดยวิธี Analysis of Variance และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

บันทึกสภาพแวดล้อมและการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ขณะทำการทดลองเท่าที่จะทำได้รวมทั้งการเกิดพืชต่อพืช

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2558 - กันยายน 2560

ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ

แปลงทดลอง อ.ท่าม่วง และ อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรกคโนสพริกที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum capsici*

แปลงทดลองที่ 1 ระหว่างเดือนสิงหาคม ถึงเดือน ตุลาคม พ.ศ. 2559 ที่อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี (Table 1)

ก่อนพ่นสารทดสอบครั้งที่ 1 ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดของโรคแอนแทรกคโนส พบว่ามีการเกิดโรคเฉลี่ยระหว่าง 11.19-12.56 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ก่อนพ่นสารทดสอบครั้งที่ 2 ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรกคโนส พบว่ากรรมวิธีพ่นเซลล์แขวนลอย *B. subtilis* สายพันธุ์ B23 20W16 และกรรมวิธีพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีการเกิดโรคเฉลี่ย 21.70 20.22 และ 23.96 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นเซลล์แขวนลอย *B. subtilis* สายพันธุ์ 20W19 19W6 และ 20W15 และกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า มีการเกิดโรคเฉลี่ย 31.93 32.25 35.70 และ 36.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ก่อนพ่นสารทดสอบครั้งที่ 3 ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรกคโนส พบว่ากรรมวิธีพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่นเซลล์แขวนลอย *B. subtilis* สายพันธุ์ 20W16 และ B23 มีการเกิดโรคเฉลี่ย 17.81 19.72

และ 22.12 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นเซลล์แขวนลอย *B. subtilis* สายพันธุ์ 19W6 20W19 20W15 และกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่าที่มีการเกิดโรคเฉลี่ย 29.21 32.76 35.04 และ 39.54 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ก่อนพ่นสารทดสอบครั้งที่ 4 ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรกโคโนส พบว่า กรรมวิธีพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และ กรรมวิธีพ่นเซลล์แขวนลอย *B. subtilis* สายพันธุ์ 20W16 B23 20W15 19W6 และ 20W19 มีการเกิดโรคเฉลี่ย 12.04 12.73 13.28 19.58 21.79 และ 25.41 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่าที่มีการเกิดโรคเฉลี่ย 43.21 เปอร์เซ็นต์

หลังพ่นสารครั้งที่ 4 ที่ 7 วัน ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรกโคโนสในพริก พบว่า กรรมวิธีพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีการเกิดโรคเฉลี่ย 18.03 เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีพ่นเซลล์แขวนลอย *B. subtilis* สายพันธุ์ B23 20W16 20W15 20W19 และ 19W6 มีการเกิดโรคเฉลี่ย 19.37 21.02 29.09 30.09 และ 32.05 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่าที่มีการเกิดโรคเฉลี่ย 47.10 เปอร์เซ็นต์

แปลงทดลองที่ 2 ระหว่างเดือนมิถุนายน ถึงเดือน สิงหาคม พ.ศ. 2560 ที่อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี (Table 2)

ก่อนพ่นสารครั้งที่ 1 ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดของโรคแอนแทรกโคโนส พบว่า มีการเกิดโรคเฉลี่ยระหว่าง 13.96-19.97 เปอร์เซ็นต์ ทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ก่อนพ่นสารทดสอบครั้งที่ 2 ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรกโคโนส พบว่า กรรมวิธีพ่นเซลล์แขวนลอย *B. subtilis* สายพันธุ์ B23 20W16 20W15 และ 20W19 มีการเกิดโรคเฉลี่ยระหว่าง 14.29 16.34 16.77 และ 17.11 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติกับสารป้องกันกำจัดโรคพืช mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีการเกิดโรคเฉลี่ย 11.85 เปอร์เซ็นต์ แต่ต่ำกว่าและแตกต่างกับกรรมวิธีพ่นเซลล์แขวนลอย *B. subtilis* สายพันธุ์ 19W6 และกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่าที่มีการเกิดโรคเฉลี่ย 23.82 และ 25.58 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ก่อนพ่นสารทดสอบครั้งที่ 3 ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรกโคโนส พบว่า กรรมวิธีพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีการเกิดโรคเฉลี่ย 11.39 เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีพ่นเซลล์แขวนลอย *B. subtilis* สายพันธุ์ B23 20W16 20W19 20W15 และ 19W6 มีการเกิดโรคเฉลี่ย 15.77 16.15 19.82 21.29 และ 25.97 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่าที่มีการเกิดโรคเฉลี่ย 34.60 เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีพ่นเซลล์แขวนลอย *B. subtilis* สายพันธุ์ B23 และ 20W16 มีการเกิดโรคเฉลี่ยต่ำกว่าแต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช mancozeb 80% WP กรรมวิธีพ่นเซลล์แขวนลอย *B. subtilis* สายพันธุ์ 20W19 20W15 19W6 มีการเกิดโรคเฉลี่ยสูงกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นเซลล์แขวนลอย *B. subtilis* สายพันธุ์ B23 และ 20W16

ก่อนพ่นสารทดสอบครั้งที่ 4 ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรกโนส พบว่า กรรมวิธีพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีการเกิดโรคเฉลี่ย 12.09 เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีพ่นเซลล์แขวนลอย *B. subtilis* สายพันธุ์ B23 20W16 20W15 20W19 และ 19W6 มีการเกิดโรคเฉลี่ย 15.15 18.26 22.77 24.18 และ 23.99 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่าที่มีการเกิดโรคเฉลี่ย 36.03 เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีพ่นเซลล์แขวนลอย *B. subtilis* สายพันธุ์ B23 และ 20W16 มีการเกิดโรคเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ต่ำกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นเซลล์แขวนลอย *B. subtilis* สายพันธุ์ 20W19 และ 19W6

หลังพ่นสารครั้งที่ 4 ที่ 7 วัน ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรกโนสในพริก พบว่า กรรมวิธีพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีการเกิดโรคเฉลี่ย 18.26 เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีพ่นเซลล์แขวนลอย *B. subtilis* สายพันธุ์ B23 20W16 20W15 20W19 และ 19W6 มีการเกิดโรคเฉลี่ย 16.56 16.26 25.55 27.46 และ 27.59 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่าที่มีการเกิดโรคเฉลี่ย 41.29 เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีพ่นเซลล์แขวนลอย *B. subtilis* สายพันธุ์ B23 และ 20W16 มีการเกิดโรคเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ต่ำกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นเซลล์แขวนลอย *B. subtilis* สายพันธุ์ 20W15 20W19 และ 19W6

จากผลการทดลอง ไม่สามารถประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคครั้งหลังพ่นเซลล์แขวนลอยที่ 14 วัน ตามแผนการทดลองที่วางไว้ เนื่องจาก ประสบปัญหาผลพริกถูกแมลงวันทองเข้าทำลาย ผลผลิตเน่าเสียจำนวนมาก อีกทั้งในช่วงท้ายของการทดลองต้นพริกไม่ให้ผลผลิต แต่อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองทั้งสองการทดลองพบว่า *B. subtilis* สายพันธุ์ B23 และ 20W16 มีแนวโน้มในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรกโนสพริกที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum capsici* ในสภาพแปลงทดลองได้ แต่การเตรียมเซลล์แขวนลอยเพื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในแปลงทดลองยังมีข้อจำกัดเนื่องจากไม่สามารถเตรียมเซลล์แขวนลอยในปริมาณมากๆให้พอกับการพ่นต้นพริกที่สุ่ม 20 ต้นได้ ดังนั้นจึงเตรียม *B. subtilis* สายพันธุ์ B23 และ 20W16 ให้อยู่ในรูปผงเชื้อสำเร็จอย่างง่ายเพื่อใช้ในการทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพผงเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ B23 และ 20W16 ในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรกโนสพริกที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *C. capsici*

ทำการทดลองระหว่างเดือนสิงหาคม 2560 ถึงเดือนกันยายน 2560 ที่ อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี (Table 3)

ก่อนพ่นสารครั้งที่ 1 ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดของโรคแอนแทรกโนส พบว่า มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยระหว่าง 15.72-19.42 เปอร์เซ็นต์ ทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

น้ำ 20 ลิตร มีการเกิดโรคเฉลี่ยสูงกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ส่วนกรรมวิธีพ่นผงเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ 20W16 อัตรา 40 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีการเกิดโรคเฉลี่ยสูงกว่าแต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

หลังพ่นสารครั้งสุดท้าย 7 วัน ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรคโนสในพริก พบว่า กรรมวิธีพ่นผงเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ B23 อัตรา 40 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีพ่นผงเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ 20W16 อัตรา 40 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีการเกิดโรคเฉลี่ย 36.79 31.37 41.04 40.48 และ 23.11 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่าที่มีการเกิดโรคเฉลี่ย 59.75 เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีพ่นผงเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ B23 อัตรา 40 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีพ่นผงเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ 20W16 อัตรา 40 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีการเกิดโรคเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติ กรรมวิธีพ่นผงเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ B23 อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีพ่นผงเชื้อสายพันธุ์ 20W16 อัตรา 40 และ 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยสูงกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร

หลังพ่นสารครั้งสุดท้าย 14 วัน ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรคโนสในพริก พบว่า กรรมวิธีพ่นผงเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ B23 อัตรา 40 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีพ่นผงเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ 20W16 อัตรา 40 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีการเกิดโรคเฉลี่ย 38.90 34.99 39.69 31.61 และ 21.62 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่าที่มีการเกิดโรคเฉลี่ย 59.14 เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีพ่นผงเชื้อสายพันธุ์ 20W16 อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยสูงกว่าแต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ส่วนกรรมวิธีพ่นผงเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ B23 อัตรา 40 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่นผงเชื้อสายพันธุ์ 20W16 อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยสูงกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช mancozeb 80% อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ B23 20W15 20W19 19W6 และ 20W16 ในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสพริกที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum capsici* ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสพริก พบว่า กรรมวิธีพ่นเซลล์แขวนลอย *B. subtilis* สายพันธุ์ B23 และ 20W16 มีแนวโน้มในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสพริกได้โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำกว่ากรรมวิธีพ่น

น้ำเปล่า เมื่อนำ *B. subtilis* สายพันธุ์ B23 และ 20W16 มาทำเป็นผงเชื้อและนำกลับมาทดสอบ ผลการทดลองพบว่า สารละลายผงเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ B23 และ 20W16 อัตรา 40-50 กรัม ต่อ น้ำ 20 ลิตร สามารถป้องกันกำจัดโรคแอนแทรกคโนสได้มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไม่แตกต่างทางสถิติกับการพ่น mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัม ต่อ น้ำ 20 ลิตร และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำกว่ากรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า ดังนั้น *B. subtilis* สายพันธุ์ B23 และ 20W16 จึงมีแนวโน้มที่จะสามารถนำไปพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์ที่ใช้ป้องกันกำจัดโรคแอนแทรกคโนสพริกในระดับแปลงปลูกของเกษตรกรที่พบการระบาดของโรคแอนแทรกคโนสพริกที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ได้ แต่อย่างไรก็ตามการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการป้องกันกำจัดโรคพืช จะได้ผลมากหรือน้อยนั้น มีปัจจัยที่เกี่ยวข้อง เช่น สายพันธุ์ของเชื้อสาเหตุในแหล่งนั้น ช่วงเวลาและความถี่ในการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ วิธีการให้น้ำ สภาพแวดล้อมในขณะที่ปลูกพืช และการดูแลรักษาความสะอาดในแปลงปลูก (อรพรรณ และณัฐธิดา, 2552) ซึ่งแต่ละพื้นที่อาจจะมีสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ดังกล่าว ดังนั้นความสามารถในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรกคโนสพริกของ *B. subtilis* สายพันธุ์ B23 และ 20W16 อาจจะมี ความแปรปรวนเมื่อสภาวะแวดล้อมต่างๆ เกิดการเปลี่ยนแปลง จึงต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในการนำ *B. subtilis* สายพันธุ์ B23 และ 20W16 ไปผสมปรุงแต่งให้เป็นผลิตภัณฑ์ในรูปแบบที่สามารถใช้ได้ง่าย สะดวก ไม่ยุ่งยาก สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ และเพิ่มปริมาณในสภาพธรรมชาติได้ดี ทดสอบประสิทธิภาพจนสามารถพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์ได้ แต่อย่างไรก็ตามวิธีการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรกคโนสพริกในระยะเก็บเกี่ยวให้ได้ผลดีควรมีการผสมผสานหลายๆ วิธี ร่วมกันและเป็นสิ่งจำเป็นที่จะต้องศึกษาต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ดร.ณัฐธิดา ไชยิตเจริญกุล คุณบุษราคัม อุดมศักดิ์ คุณทิพวรรณ กัญหาญาติและคุณรุ่งนภา ทองครึ่ง ที่ช่วยเหลือ แนะนำและให้คำปรึกษา รวมทั้งให้ความอนุเคราะห์เชื้อแบคทีเรียเพื่อนำมาใช้ในการทดลอง และขอขอบคุณทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือทำให้การทดลองนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- ณัฐธิดา ไชยิตเจริญกุล, วงศ์ บุญสืบสกุล, อรพรรณ วิเศษสังข์ และ ทศนาพร ทศคร. 2547. การศึกษาการใช้ประโยชน์จากเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงและมะเขือเทศ. หน้า 115-126. ใน : รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2547. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.
- ณัฐธิดา ไชยิตเจริญกุล, รัศมี ฐิติเกียรติพงศ์ และ บุษราคัม อุดมศักดิ์. 2551. พัฒนาสูตรสำเร็จแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ควบคุมโรคเหี่ยวในขิง. หน้า 132. ใน : รายงานผลการวิจัยประจำปี 2551. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช.

- บุษราคัม อุดมศักดิ์ และ ณีฎฐิมา โฆษิตเจริญกุล. 2550. สำรวจรวบรวมและศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืช; ศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชเศรษฐกิจ. หน้า 896-913. ใน : รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2550. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.
- บุษราคัม อุดมศักดิ์ และ ณีฎฐิมา โฆษิตเจริญกุล. 2553. ศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรียสกุล *Bacillus* ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชเศรษฐกิจ. หน้า 1885-1906. ใน : รายงานผลงานวิจัยปี 2553. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.
- รติยา พงศพิศุทธา, วรานันท์ วิญญูรัตน์, โชติรส รอดเกตุ และ เทพพนม แสงเพลิง. 2553. ความผันแปรทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก. หน้า 318 -321 ใน : วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร ปีที่ 41 ฉบับที่ 1 (พิเศษ) มกราคม-เมษายน.
- สมศิริ แสงโชติ. 2540. การเกิดโรคและความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกจากตลาดชายฝั่ง และการถ่ายทอดเชื้อ *Colletotrichum capsici* ของผลพริกที่เป็นโรคสู่เมล็ดและต้นกล้า. หน้า 117-122. ใน : การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 35. 3-5 กุมภาพันธ์ 2540. สาขาพืช ส่งเสริมและนิเทศศาสตร์เกษตร อุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- อรพรรณ วิเศษสังข์ และ ณีฎฐิมา โฆษิตเจริญกุล. 2552. การใช้สารธรรมชาติและชีวอินทรีย์ป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสของพริก. หน้า 139-145 ใน : รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2552 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.
- Baker, C.J., Stavelly, J.R. and Mock, N. 1985. Biocontrol of bean rust by *Bacillus subtilis* under field conditions. Plant Dis. 69 : 770-772.
- Poonpolgul, S. and S. Kumphai. 2007. Chilli pepper anthracnose in Thailand. Country report. In: Oh, D.G., Kim, K.T. (Eds.), Abstracts of the First International Symposium on Chilli Anthracnose. National Horticultural Research Institute, Rural Development of Administration, Republic of Korea, p.23.
- Rattanacherdchai, K., H. K. Wang, F.C. Lin and K. Soyong. 2007. RAPD analysis of *Colletotrichum* species causing chilli anthracnose disease in Thailand. Journal of Agricultural Technology. 3 : 211-219.

Table 1 Percentage of anthracnose disease after applied with cell suspension of *Bacillus* spp., compared to mancozeb fungicide, *Colletotrichum capsici* inoculation (C+) and water (C-), at farmer's farm location 1 in Kanchanaburi province, Thailand.

Treatment	Rate	anthracnose disease incidence (%) ^{1/}				
		before spray 1	before spray 2	before spray 3	before spray 4	after spray 7 day
1. B23	1 : 1	12.20	23.96 a ^{2/}	22.12 cd	13.28 b	19.37 bc
2. 20w19	1 : 1	11.90	31.93 a	32.76 ab	25.41 b	30.09 bc
3. 20w15	1 : 1	11.87	35.7 b	35.04 ab	21.79 b	29.09 bc
4. 20w16	1 : 1	12.56	20.22 b	19.72 cd	12.73 b	21.02 bc
5. 19w6	1 : 1	11.87	32.25 a	29.21 bc	19.58 b	32.05 b
6. mancozeb	40 g/H ₂ O 20 L.	11.63	21.70 b	17.81 d	12.04 b	18.03 c
7. water+		11.19	36.25 a	39.54 a	43.21 a	47.10 a
8. water-		12.05	20.46 b	26.21 bcd	24.20 b	27.54 bc
C.V. (%)		11.98	10.21	13.51	23.22	17.31

^{1/} Average of 3 replications.

^{2/} Means followed by the same later in column were not significantly different at P<0.01 by DMRT

Table 2 Percentage of anthracnose disease after applied with cell suspension of *Bacillus spp.*, compared to mancozeb fungicide, *Colletotrichum capsici* inoculation (C+) and water (C-), at farmer's farm location 2 in Kanchanaburi province, Thailand.

Treatment	Rate	anthracnose disease incidence (%) ^{1/}				
		before spray 1	before spray 2	before spray 3	before spray 4	after spray 7 day
1. B23	1 : 1	15.47 ab ^{2/}	14.29 ab	15.77 cd	15.15 de	16.56 a
2. 20w19	1 : 1	14.35 a	16.77 ab	21.29 bc	24.18 bc	27.46 c
3. 20w15	1 : 1	16.55 abc	17.11 ab	19.82 bc	22.27 cd	25.55 bc
4. 20w16	1 : 1	15.58 ab	16.34 ab	16.15 cd	18.26 cde	16.26 a
5. 19w6	1 : 1	13.96 a	23.82 c	25.97 b	23.99 bc	27.59 c
6. mancozeb	40 g./H ₂ O 20 L.	16.16 abc	11.85 a	11.39 d	12.09 e	18.26 ab
7. water+		19.40 bc	25.58 c	34.60 a	36.03 a	41.29 d
8. water-		19.97 c	18.99 bc	26.34 b	30.50 ab	30.13 c
C.V. (%)		13.48	15.78	13.33	12.98	13.54

^{1/} Average of 3 replications.

^{2/} Means followed by the same later in column were not significantly different at P<0.01 by DMRT

Table 3 Percentage of anthracnose disease after applied with wettable powder suspension of *Bacillus* spp., compared to mancozeb fungicide, *Colletotrichum capsici* inoculation (C+) and water (C-), at farmer's farm location 2 in Kanchanaburi province, Thailand.

Treatment	Rate (g./H ₂ O 20 L.)	anthracnose disease incidence (%) ^{1/}						
		before spray 1	before spray 2	before spray 3	before spray 4	before spray 5	after spray 7 day	after spray 14 day
1. B23	40	16.69	17.85 bc ^{2/}	22.21 bc	19.18 a	24.84 bc	36.79 cd	38.90 b
2. B23	50	16.35	16.31 ab	18.36 ab	18.85 a	24.55 bc	31.37 bc	34.99 b
3. 20w16	40	18.46	14.35 ab	17.49 ab	20.36 a	22.20 abc	41.04 cd	39.69 b
4. 20w16	50	15.96	13.44 a	13.74 a	18.41 a	19.23 ab	40.48 cd	31.61 ab
5. mancozeb	40	19.41	12.24 a	16.91 ab	17.78 a	14.32 a	23.11 ab	21.62 a
6. water+		16.25	23.18 d	30.14 d	38.46 b	39.73 d	59.75 d	59.14 c
7. water-		15.72	20.57 cd	29.07 cd	26.62 ab	29.23 bc	18.65 a	23.85 a
C.V. (%)		23.96	15.4	22.9	33.4	26.29	18.5	19.7

^{1/} Average of 4 replications.

^{2/} Means followed by the same later in column were not significantly different at P<0.01 by DMRT