

## ผลของการใช้ *Bacillus megaterium* isolate 3103 ในสภาพแปลงต่อการปรากฏของโรคแอนแทรกคโนสบนผลพริกหลังการเก็บเกี่ยว

### Impact of Preharvest Application of *Bacillus megaterium* Isolate 3103 on Postharvest Incidence of Chilli Fruit Anthracnose

อุดม ฟาร์รุงsang<sup>1,3</sup>, นวนวรรณ ฟาร์รุงsang<sup>2,3</sup> ศศิธร วุฒิมิขชัย<sup>1</sup> และ ญาณี มั่นอัน<sup>2</sup>  
Udom Farungsang<sup>1,4</sup>, Nuanwan Farungsang<sup>2,4</sup> Sasitorn Vudthivanich<sup>1</sup> and Yanee Munon<sup>2</sup>

#### Abstract

Anthracoise is a major postharvest disease causing substantial loss of chilli commodity. Infection of developing fruit was established significantly under field condition by *Colletotrichum capsici* and *C. gloeosporioides*. This research determined antagonistic activity of *Bacillus megaterium* isolate 3103 (BM-3103) upon those field infections affecting disease incidence after harvest. Cell culture of BM-3103 multiplied in the culture broth formulated mainly with glucose, peptone, and yeast extract was applied to “Mun-Suphanburi native chilli” plants. A once weekly spray was applied for 6 weeks starting from the stage of fully fruit set until harvesting of mature green fruit. Postharvest disease development allowed among laboratory ambient indicated the significant BM-3103 activity with markedly reduction in anthracnose disease incidence recorded at 9 and 12 days after harvest. The disease figures were reduced from 32.0% on chilli fruits harvested from untreated plots to 18.7% on those of harvested from antagonist applied plots (13.3% reduction), and from 41.3 to 26.0% (15.3% reduction) after 9 and 12 days harvesting, respectively.

**Keywords:** Anthracnose, *Bacillus megaterium*, chilli, biological control

#### บทคัดย่อ

แอนแทรกคโนสเป็นโรคหลังเก็บเกี่ยวสำคัญที่ทำให้ผลผลิตพริกได้รับความเสียหายมาก สาเหตุสำคัญของโรคคือรา *Colletotrichum capsici* และ *C. gloeosporioides* เข้าทำลายผลพริกขณะเจริญเติบโตในสภาพแปลง งานวิจัยนี้ทำการศึกษาศักยภาพการเป็นศัตรูธรรมชาติของ *Bacillus megaterium* isolate 3103 (BM-3103) ต่อการเข้าทำลายของราที่เกิดขึ้นขณะผลพริกกำลังพัฒนาซึ่งเป็นที่มาของอาการของโรคบนผลพริกหลังเก็บเกี่ยว โดยการฉีดพ่นทรงพุ่ม “พริกมันพื้นเมืองสุพรรณบุรี” ด้วย cell culture ของ BM-3103 ซึ่งเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวที่มีกลูโคส เปปโตเน และสารสกัดจากยีสต์เป็นองค์ประกอบ สัปดาห์ละครั้ง เป็นเวลา 6 สัปดาห์ เริ่มตั้งแต่ระยะติดผลเต็มที่จนกระทั่งเก็บเกี่ยวผลแก่ การพัฒนาของโรคแอนแทรกคโนสบนผลพริกหลังเก็บเกี่ยวในสภาพห้องปฏิบัติการแสดงให้เห็นศักยภาพของ BM-3103 ด้วยการปรากฏอาการของโรคแอนแทรกคโนสที่ลดลงจาก 32.0% บนผลพริกที่เก็บเกี่ยวจากแปลงที่ไม่มีการฉีดพ่นเหลือ 18.7% บนผลพริกที่เก็บเกี่ยวจากแปลงที่ฉีดพ่นด้วย BM-3103 (ลดลง 13.3%) และลดลงจาก 41.3 เหลือ 26.0% (ลดลง 15.3%) หลังเก็บเกี่ยวเป็นเวลา 9 และ 12 วัน ตามลำดับ

**คำสำคัญ:** โรคแอนแทรกคโนส *Bacillus megaterium* พริก การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี

#### คำนำ

แอนแทรกคโนสเป็นโรคภายหลังการเก็บเกี่ยวที่เป็นผลของการเข้าทำลายในสภาพแปลงโดยราสกุล *Colletotrichum* ซึ่งเชื้อโรคสามารถมีชีวิตอยู่ภายในผล (fruit) โดยไม่ทำให้เกิดอาการของโรคจนกว่าผลเริ่มสุก ขั้นตอนการควบคุมโรคที่มีการปฏิบัติกับผลผลิตที่เก็บเกี่ยวมาแล้ว (postharvest treatments) ไม่สามารถควบคุมการพัฒนาของราซึ่งตั้งรกรากอยู่ภายในผล การควบคุมโรคที่น่าจะให้ผลดีจึงควรเป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นในสภาพแปลงเพื่อป้องกันการเข้าทำลายโดยเชื้อโรค

<sup>1</sup> ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

<sup>1</sup> Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture at Kamphaengsaen, Kasetsart University, Nakhon Pathom, 73140

<sup>2</sup> ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง สถาบันวิจัยและพัฒนา กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

<sup>2</sup> Central Laboratory and Greenhouse Complex, Research and Development Institute at Kamphaengsaen, Kasetsart University, Nakhon Pathom, 73140

<sup>3</sup> ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

<sup>3</sup> Postharvest Technology Innovation Center, Kasetsart University, Nakhon Pathom, 73140

(Bailey *et al.*, 1992; Smilanick *et al.*, 1993; Ippolito and Nigro, 2000) การตื่นตัวด้านสุขอนามัยและสิ่งแวดล้อมยังผลในการปฏิเสธการควบคุมโรคพืชด้วยสารเคมี การควบคุมโรคโดยชีววิธีเป็นแนวทางที่ได้รับการยอมรับเพื่อทดแทนการใช้สารเคมี *Bacillus megaterium* เป็นจุลินทรีย์ที่พบทั่วไปในดิน และได้รับการพิจารณาว่าไม่เป็นจุลินทรีย์สาเหตุของโรค (Biohazard level 1) (Office of Health and Safety, 1998) สำหรับ isolate 3103 (BM-3103) เป็น *B. megaterium* ที่คณะผู้วิจัยคัดเลือกได้จากทรงพุ่มต้นมะม่วง มีความเด่นในด้านคุณลักษณะเป็นศัตรูของรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงหลังการเก็บเกี่ยว ทั้งทางด้านประสิทธิภาพการต่อต้านกระบวนการเข้าทำลายและศักยภาพในการต่อต้านราได้หลาย isolate (ศิริรัตน์ และคณะ, 2549; Farungsang *et al.*, 2013) งานวิจัยนี้เป็นการทดสอบศักยภาพของ BM-3103 ในการต่อต้านราที่เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสหลังเก็บเกี่ยวของพืชชนิดอื่นซึ่งแตกต่างไปจากราและพืชที่ใช้ในการคัดเลือก BM-3103 โดยการนำไปฉีดพ่นในสภาพแปลงก่อนเก็บเกี่ยว (preharvest treatment)

### อุปกรณ์และวิธีการ

การเพิ่มปริมาณ *Bacillus megaterium* isolate 3103 (BM-3103): BM-3103 ที่ใช้ทดลองได้จาก BM-3103 ที่เก็บรักษาโดยวิธี under water preservation ที่อุณหภูมิ 15°C เพิ่มปริมาณโดยการเลี้ยง BM-3103 ในอาหาร GYPB (glucose 10, yeast extract 0.5, peptone 2, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5 และ KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.5 กรัม/ลิตร, ตามลำดับ) และเขย่าตามแนวระนาบด้วย shaker เป็นเวลา 15-20 ชั่วโมง

การนำ BM-3103 ไปใส่ให้แก่ทรงพุ่มของต้นพริก: ผสม cell culture กับน้ำประปา อัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร ทำการพ่นด้วยเครื่องพ่นแบบอัดอากาศ (air-pressured sprayer) ให้ทั่วทั้งต้นโดยเน้นที่ผลพริก ทำการฉีดพ่นสัปดาห์ละครั้ง เริ่มตั้งแต่ต้นพริกระยะติดผลเต็มที่จนกระทั่งเก็บเกี่ยวผลแก่ (mature green) ทำการทดลองเปรียบเทียบกับอีก 2 การทดลอง คือ การฉีดพ่นน้ำ และไม่มีการฉีดพ่น ทำการทดลอง 3 ซ้ำ (1 การทดลอง = 1 แปลง = 1 ซ้ำ) วางแผนการทดลองแบบ CRD

สถานที่และต้นพริกที่ใช้ในการทดลอง: ทำการทดลองที่แปลงทดลองภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน กับต้นพริกมันพื้นเมืองสุพรรณบุรี ปลูกในแปลงขนาด 1x5 เมตร<sup>2</sup> ยกทรงสูงประมาณ 20 เซนติเมตร แต่ละแปลงปลูกพริก 20 ต้น โดยใช้ระยะปลูก 50 x50 เซนติเมตร<sup>2</sup>

การประเมินประสิทธิภาพของ BM-3103: เก็บเกี่ยวผลพริกแก่ โดยแยกตาม treatment และไม่ให้ผลสัมผัสพื้นดิน คัดเลือกผลพริกที่สมบูรณ์และไม่มีตำหนิ การทดลองละ 50 ผล บรรจุผลพริกในภาชนะปิด ภาชนะละ 10 ผล ห่อด้วยฟิล์มถนอมอาหาร (PVC wrapping film) วางในสภาพอุณหภูมิห้องปฏิบัติการ (ประมาณ 30°C) ประเมินประสิทธิภาพของ BM-3103 โดยใช้จำนวนผลที่เป็นโรคแอนแทรคโนสเป็นดัชนี ตรวจสอบการเกิดโรคด้วยตาเปล่าร่วมกับ stereo microscope บันทึกผล การทดลองหลังเก็บเกี่ยว 9 และ 12 วัน

### ผล

การฉีดพ่นแปลงพริกสัปดาห์ละครั้งเริ่มตั้งแต่ต้นพริกระยะติดผลเต็มที่จนกระทั่งเก็บเกี่ยวผลแก่ ทำได้ทั้งหมด 6 ครั้ง การปรากฏของโรคแอนแทรคโนสหลังจากเก็บเกี่ยวเป็นเวลา 9 วัน คือ 18.7, 30.0, และ 32.0% และหลังจากเก็บเกี่ยวเป็นเวลา 12 วัน คือ 26.0, 39.3, และ 41.3 บนพริกที่เก็บเกี่ยวจากแปลงที่ฉีดพ่นด้วย BM-3103, น้ำ, และไม่มีการฉีดพ่น ตามลำดับ (Table 1, Figure 1)

### วิจารณ์ผล

การพ่น BM-3103 ทั่วต้นพริกสัปดาห์ละ 1 ครั้ง ตั้งแต่ต้นพริกติดผลสูงสุดจนถึงเก็บเกี่ยวผลแก่ สามารถลดจำนวนผลพริกที่เป็นโรคแอนแทรคโนสได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับผลผลิตที่เก็บจากแปลงที่ไม่มีการฉีดพ่น คือลดลงประมาณ 13.3 และ 15.3% หลังเก็บเกี่ยวเป็นเวลา 9 และ 12 วันตามลำดับ ในการทดลองครั้งนี้การฉีดพ่นน้ำในช่วงที่พริกติดผลไม่มีผลต่อความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสบนผลผลิตหลังเก็บเกี่ยว เนื่องจากการเข้าทำลายโดยราที่เป็นสาเหตุของโรคเกิดขึ้นตลอดเวลา การพัฒนาของโรคส่วนใหญ่จะเกิดจากการเข้าทำลายโดยเชื้อสาเหตุของโรคตั้งแต่พริกเริ่มติดผล ดังนั้นการฉีดพ่นต้นพริกด้วย BM-3103 ตั้งแต่ระยะเริ่มติดผลน่าจะลดความรุนแรงของโรคได้มากขึ้น

ประสิทธิภาพของ BM-3103 ในการทดลองครั้งนี้เป็นไปในทางเดียวกับการทดลองการฉีดพ่นทรงพุ่มต้นมะม่วง BM-3103 ทุก 14 วัน ตั้งแต่มะม่วงออกดอกจนถึงเก็บเกี่ยวผลแก่ที่สามารถลดความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้และน้ำดอกไม้สีทองหลังเก็บเกี่ยวได้อย่างมีนัยสำคัญ (คันสนีย์, 2556; Farungsang *et al.*, 2013) แสดงว่า

คุณลักษณะการเป็นศัตรูธรรมชาติของ BM-3103 มีศักยภาพครอบคลุมรา *C. capsici* และ *C. gloeosporioides* โดยสามารถยับยั้งกระบวนการเข้าทำลายโดยราทั้งสองชนิดดังกล่าวที่เกิดขึ้นในสภาพแปลงและลดความเสียหายของผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยวที่เกิดจากโรคแอนแทรกคโนสได้อย่างมีนัยสำคัญ

งานวิจัยนั้นนอกจากจะเป็นหนึ่งในงานวิจัยด้านการควบคุมโรคหลังเก็บเกี่ยวโดยการนำ preharvest applications ที่นำ antagonist ไปทดสอบในสภาพแปลงซึ่งมีรายงานน้อยมากในระยะเวลา 20 ปีที่ผ่านมาของการวิจัยด้านการควบคุมโรคหลังเก็บเกี่ยวของผลไม้โดยชีววิธีของโลก (Ippolito and Nigro, 2000) แล้ว ผลการทดลองยังแสดงให้เห็นถึงศักยภาพของ BM-3103 ในการต่อต้านราที่เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรกคโนสหลังเก็บเกี่ยวของพืชชนิดอื่นซึ่งแตกต่างไปจากราและพืชที่ใช้ในการคัดเลือก BM-3103 (Farungsang et al., 2013)

**Table 1** Impact of preharvest application of *Bacillus megaterium* isolate 3103 (BM-3103) on the postharvest incidence of anthracnose on “Mun-Suphanburi native chilli” fruit assessed in term of diseased fruit

Applied medium	Total diseased fruit (%)	
	9 days	12 days
BM-3103	18.7b <sup>1</sup>	26.0b
Tap water	30.0a	39.3a
None	32.0a	41.3a

<sup>1</sup> Means in the same column with different letters are significantly different (p<0.05) by DMRT



**Figure 1** Anthracnose disease development on “Mun-Suphanburi native chilli” fruits after 5, 9, and 12 days harvesting : fruits harvested from *Bacillus megaterium* isolate 3103 (BM-3103) (A) and tap water (B) sprayed plots, and nontreated plots (C)

### สรุป

*Bacillus megaterium* isolate 3103 (BM-3103) มีคุณลักษณะต่อต้านกระบวนการเข้าทำลายในสภาพแปลงโดยรา *Colletotrichum capsici* และ *C. gloeosporioides* การพ่น BM-3103 ให้แก่ทรงพุ่มต้นพริกตั้งแต่ติดผลเต็มที่จนกระทั่งถึงเวลาเก็บเกี่ยวผลแก่ มีผลในการลดความเสียหายของผลพริกหลังเก็บเกี่ยวที่เกิดจากโรคแอนแทรกคโนสได้อย่างมีนัยสำคัญ พริกที่เก็บเกี่ยวจากแปลงที่ได้รับการพ่น BM-3103 มีจำนวนผลที่เป็นโรคลดลง 13.3 และ 15.3% หลังการเก็บเกี่ยวเป็นเวลา 9 และ 12 วัน ตามลำดับ

### เอกสารอ้างอิง

- คันสนีย์ ศิลปสุนทร. 2556. การควบคุมโรคแอนแทรกคโนสโดยชีววิธีบนมะม่วงหลังการเก็บเกี่ยวโดยการใช้ *Bacillus megaterium* ไอโซเลท 3103 ในสภาพแปลง. วิทยานิพนธ์, วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 70 น.
- ศิริรัตน์ ศรีกาญจนวัฒนา, นवलวรรณ ฟุ้งสง, ชลิดา เล็กสมบูรณ์ และ อุดม ฟุ้งสง. 2549. การลดความเสียหายที่เกิดจากโรคแอนแทรกคโนสของมะม่วงโดยจุลินทรีย์ที่แยกได้จากทรงพุ่ม. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 37(2พิเศษ): 90-93.
- Bailey, J.A., R.J. O'Connell and C. Nash. 1992. Infection strategies of *Colletotrichum* species, p. 88-120. In J.A. Bailey and M.J. Jeger. (eds.). *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*. Chapter 5. CAB International. Wallingford, UK.
- Farungsang, U., S. Sinlapasunthorn, C. Rattanakreetakul, L. Phavaphutanon and N. Farungsang. 2013. *Bacillus megaterium* isolate 3103: antagonistic spectrum on *Colletotrichum gloeosporioides* diversity and impact of field application on postharvest incidence of mango fruit anthracnose. *Actahorticulturae* 973:81-88.
- Ippolito, A. and F. Nigro. 2000. Impact of preharvest application of biological control agents on postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. *Crop Protection* 19(8-10):715-723.
- Office of Health and Safety (OHS). 1998. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL). 4<sup>th</sup> edition. U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health, Atlanta, Georgia, USA.
- Smilanick, J.L., R. Denis-Arrue, J.R. Bosch, A.R. Gonzales, D. Henson and W.J. Janisiewicz. 1993. Control of postharvest brown rot of nectarines and peaches by *Pseudomonas* species. *Crop Protection* 12:513-520.