รายงานฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การเพิ่มประสิทธิภาพมูลไส้เดือนดินด้วยสารชีวภัณฑ์ต่อการยับยั้งการเกิดโรคในพริก

Efficiency of Vermicompost plus Bioproduct for Inhibition of Chilli Pathenogenesis

ชุตาภา คุณสุข
เสาวภา สุราวุธ
สุทิศา ชัยกุล

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก
กองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม
สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.)
ประจำปีงบประมาณ 2565

รายงานฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การเพิ่มประสิทธิภาพมูลไส้เดือนดินด้วยสารชีวภัณฑ์ต่อการยับยั้งการเกิดโรคในพริก

Efficiency of Vermicompost plus Bioproduct for Inhibition of Chilli Pathenogenesis

ชุตาภา คุณสุข
เสาวภา สุราวุธ
สุทิศา ชัยกุล

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก
กองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม
สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.)
ประจำปีงบประมาณ 2565

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญ

มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี เป็นมหาวิทยาลัยที่มียุทธศาสตร์เพื่อการพัฒนาท้องถิ่น ด้วยวิทยาศาสตร์ นวัตกรรม และเทคโนโลยีตามบริบทการจัดกลุ่มของกระทรวงอุดมศึกษาฯ โดยมหาวิทยาลัยตั้งอยู่ในจังหวัดจันทบุรี ซึ่งมีโครงสร้างของชุมชนเป็นสังคมการทำเกษตร เกษตรกรในจังหวัดจันทบุรีปลูกพืชได้หลากหลายชนิดรวมถึงพริกด้วย โดยในปัจจุบันที่เกษตรกรนิยมปลูกพืชหลักอันได้แก่ ทุเรียน ในช่วงที่ทุเรียนยังมีขนาดทรงพุ่มเล็กนั้น เกษตรกรมักจะปลูกพริกเพื่อเป็นพืชแซมในระหว่างที่ทุเรียนยังไม่ให้ผลผลิตได้ พริกเป็นพืชที่เชื้อสาเหตุโรคหลายชนิดมักจะเข้าทำลายโดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ไม่เหมาะสมซึ่งเอื้ออำนวยให้โรคพืชเข้าทำลายได้ง่ายยิ่งขึ้น เกษตรกรจึงมักจะใช้สารเคมีเพื่อยับยั้งการเกิดโรค ซึ่งอาจมีสารตกค้างในพริกและส่งผลกระทบต่อผู้บริโภค หากเกษตรกรผู้ปลูกพริกไม่ได้ปฏิบัติตามข้อแนะนำในการใช้สารเคมีอย่างเคร่งครัด

ในปัจจุบันผู้บริโภคให้ความสำคัญกับสุขภาพมากยิ่งขึ้น จึงเลือกซื้อพืช ผักที่ได้รับการรับรองว่าได้รับมาตรฐานการผลิตแบบเกษตรอินทรีย์ หรืออย่างน้อยจะต้องได้รับมาตรฐานการผลิตแบบเกษตรปลอดภัย นอกจากนี้ การคำนึงถึงต้นทุนการผลิตพืชเป็นสิ่งที่สำคัญเป็นอันดับแรก การลดต้นทุนเรื่องปุ๋ยจึงสำคัญมาก การผลิตปุ๋ยหมักขึ้นมาใช้เองภายในสวนจากวัสดุต่าง ๆ จึงเป็นทางออกที่หน่วยงานต่าง ๆ ส่งเสริมให้เกษตรกรผลิตปุ๋ยหมักเอง โดยในปัจจุบันปุ๋ยหมักจากมูลไส้เดือนดินนั้น สามารถทำได้ไม่ยาก เนื่องจากใช้พื้นที่ดำเนินการไม่มาก และมูลไส้เดือนยังมีปริมาณธาตุอาหารที่ค่อนข้างสูงอีกด้วย

นอกจากปุ๋ยอินทรีย์คุณภาพสูงที่เกษตรกรสามารถผลิตได้เองจากไส้เดือนดินจะจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพริกแล้ว การป้องกันโรคที่สามารถเกิดกับพริกก็เป็นสิ่งที่เกษตรกรควรพิจารณาเป็นปัจจัยถัดมา โดยปัจจุบันได้มีการคิดค้นพัฒนาน้ำหมักชีวภาพ หรือสารชีวภัณฑ์สูตรต่าง ๆ ขึ้น ซึ่งก็มีรายงานการใช้พืชที่มีรสฝาดหรือรสขมในการผลิตน้ำหมักชีวภาพเพื่อป้องกันโรคพืช เช่น การใช้เปลือกเคี่ยม บอระเพ็ด ผลหมาก เปลือกมังคุด เปลือกเงาะ ใบมะรุม เป็นต้น (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2563) หากการผลิตพริกโดยใช้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดินร่วมกับสารชีวภัณฑ์ที่เกษตรกรสามารถผลิตขึ้นมาเองสามารถช่วยลดการเกิดโรคในพริกได้ จึงจะเป็นการช่วยเกษตรกรได้อย่างแท้จริง

โดยที่มาของงานวิจัยนี้เกิดจากตัวแทนของกลุ่มเกษตรกรผู้ผลิตมูลไส้เดือนดินใน อำเภอป่งน้ำร้อน จังหวัดจันทบุรี สามารถผลิตปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนที่ผ่านมาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของกรมวิชาการเกษตรและ

มีคุณภาพของปุ๋ยหมักค่อนข้างคงที่ นอกจากนี้ ยังได้ทดลองผลิตน้ำหมักจากพืชที่หาได้จากท้องถิ่นและได้สังเกตต้นพืชที่ปลูกภายในแปลงเบื้องต้นแล้วว่าน้ำหมักจากพืชดังกล่าวสามารถยับยั้งการเกิดโรคในผักหลายชนิด คณะผู้วิจัยจึงตั้งคำถามสำหรับโครงการวิจัย ดังนี้

1) กระบวนการผลิตปุ๋ยมูลไส้เดือน และน้ำหมักชีวภาพจากทรัพยากรในท้องถิ่น ด้วยภูมิปัญญาของชุมชน สามารถให้ผลผลิต (ปุ๋ยไส้เดือน) ที่มีประสิทธิภาพได้มาตรฐาน สามารถใช้ทดแทนปุ๋ยเคมี ที่มีต้นทุนสูง และลดการรบกวนสภาพแวดล้อมได้

2) สารออกฤทธิ์ที่มีในน้ำหมักที่ผลิตขึ้นอาจมีจุลินทรีย์ท้องถิ่นที่เป็นปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุโรคพืช หากตรวจสอบว่าในสารชีวภัณฑ์นั้นประกอบด้วยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ชนิดใดและมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคได้มากน้อยเพียงใด ซึ่งจะส่งผลโดยตรงต่อประสิทธิภาพของน้ำหมัก

3) การเพิ่มประสิทธิภาพของปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดินด้วยจุลินทรีย์ท้องถิ่นที่เป็นปฏิปักษ์ที่ได้จากน้ำหมักสามารถยับยั้งการเกิดโรคในพริกได้หรือไม่

ทั้งนี้ เพื่อให้ได้ข้อมูลทางวิชาการยืนยันและทำให้สามารถผลิตภัณฑ์ที่มีสมบัติคงที่ และวิธีการใช้ที่เหมาะสมเพื่อให้สมาชิกเกษตรกรทั้งกลุ่มดำเนินการในแนวทางเดียวกันเพื่อให้ได้ปริมาณผลิตภัณฑ์ที่มากขึ้น ซึ่งอาจทำให้กลุ่มเกษตรกรดังกล่าวนอกจากจะใช้สำหรับสวนของตนเองแล้วยังสามารถนำไปจำหน่ายในรูปแบบของกลุ่มเกษตรกร ทำให้เกิดรายได้เพิ่มมากขึ้นและเกิดความยั่งยืนในอาชีพต่อไป

ดังนั้น กลุ่มผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพมูลไส้เดือนดินด้วยสารชีวภัณฑ์ต่อการยับยั้งการเกิดโรคในพริก ตั้งแต่ขั้นตอนการผลิตสารชีวภัณฑ์หรือมูลไส้เดือนดิน จนนำมาสู่การทดสอบทางห้องปฏิบัติการเพื่อให้ทราบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์หรือมูลไส้เดือนดินที่มีต่อเชื้อสาเหตุโรคในพริกและศึกษาชนิดของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่เป็นองค์ประกอบในสารชีวภัณฑ์หรือมูลไส้เดือนดิน รวมทั้งศึกษาผลของปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนร่วมกับสารชีวภัณฑ์ต่อการยับยั้งการเกิดโรคพริกในแปลงปลูกทดลองอีกด้วย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษากระบวนการผลิตปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน และน้ำหมักชีวภาพจากภูมิปัญญาและทรัพยากรของชุมชน

2. เพื่อศึกษาผลของปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนร่วมกับสารชีวภัณฑ์ต่อการยับยั้งเชื้อราสาเหตุของโรคในพริกทางห้องปฏิบัติการ

3. เพื่อศึกษาผลของปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนร่วมกับสารชีวภัณฑ์ต่อการยับยั้งการเกิดโรคในพริก

ประโยชน์ของการวิจัย

1. ด้านเศรษฐกิจ เกษตรกรชุมชนโป่งน้ำร้อนมีการพัฒนาและปรับปรุงผลิตภัณฑ์ กระบวนการผลิตด้วยงานวิจัยและนวัตกรรม ในการหนุนเสริมประสิทธิภาพของปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน และน้ำหมักชีวภาพที่มีการพัฒนาในชุมชนซึ่งมีคุณภาพดีอยู่แล้ว ให้มีคุณภาพและประสิทธิภาพที่สูงขึ้นในการกำจัดเชื้อราก่อโรคที่พบในพริก ซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการผลิตเชิงพาณิชย์ สร้างมูลค่าเพิ่มให้ผลิตภัณฑ์ของชุมชนสร้างรายได้จากเดิมสูงขึ้น 10% (คิดจากรายได้ข้อมูลพื้นฐานของชุมชนโป่งน้ำร้อน)

2. ด้านสังคม เกิดการสร้างเครือข่าย หรือการรวมกลุ่มกันเพื่อนำองค์ความรู้ที่ได้จากการวิจัยและนวัตกรรม ไปสร้างให้เกิดการเปลี่ยนแปลง ในการพัฒนาชุมชน ท้องถิ่นของเกษตรกรผู้ปลูกพริก หรือผลักดันไปสู่นโยบายที่ก่อให้เกิดผลกระทบในวงกว้าง เช่น การลดการใช้สารเคมีหรือปุ๋ยเคมี ที่ก่อให้เกิดผลกระทบต่อสุขภาวะที่ไม่ดีสำหรับเกษตรกรและชุมชน เป็นต้น

3. ด้านสิ่งแวดล้อม ก่อให้เกิดการใช้ประโยชน์จากงานวิจัยและนวัตกรรมในการทดแทนปุ๋ยเคมี ที่มีการตกค้างอยู่ในสภาพแวดล้อม เนื่องจากมูลไส้เดือน และน้ำหมักชีวภาพ เป็นสารอินทรีย์ 100 %

ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษามูลไส้เดือนและสารชีวภัณฑ์จากภูมิปัญญาของชุมชน โดยใช้กระบวนการวิจัยทางวิทยาศาสตร์ในการศึกษาประสิทธิภาพที่มีต่อต้นพริก บริเวณอำเภอโป่งน้ำร้อน จังหวัดจันทบุรี ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2564 ถึงเดือนกรกฎาคม 2565

นิยามศัพท์เฉพาะ

1. ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน หมายถึง เศษซากพืชอินทรียวัตถุต่าง ๆ รวมทั้งดินและจุลินทรีย์ที่ไส้เดือนดินกินเข้าไปแล้วผ่านกระบวนการย่อยสลายอินทรียวัตถุ ขับถ่ายออกมาเป็นมูล มีลักษณะเป็นเม็ดสีดำ มีธาตุอาหารที่พืชนำไปใช้ได้

2. น้ำหมักมูลไส้เดือน หมายถึง น้ำที่ได้จากกระบวนการผลิตปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดิน ซึ่งได้จากการเน่าสลายของเศษขยะอินทรีย์ที่ใช้เป็นอาหารของไส้เดือนดิน น้ำหมักที่ได้มีลักษณะเป็นของเหลวสีน้ำตาลดำไม่มีกลิ่นเหม็น

กรอบแนวความคิดในการวิจัย

งานวิจัยนี้ประกอบไปด้วยโครงการย่อยที่ 1 กระบวนการผลิตปุ๋ยมูลไส้เดือน และน้ำหมักชีวภาพจากฐานภูมิปัญญาและทรัพยากรชุมชน มุ่งเน้นการจัดการความรู้อย่างเป็นระบบ เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ให้ก่อเกิดกับเกษตรกรในด้านการเพิ่มมูลค่าของปุ๋ยไส้เดือนจากภูมิปัญญาของชุมชนในเชิงพาณิชย์ให้มากขึ้น ซึ่งตอบตัวชี้วัดเป้าหมาย (KR) ของยุทธศาสตร์หน่วยงานยุทธศาสตร์ที่ 1 การพัฒนาท้องถิ่น

1. ชุมชนท้องถิ่นได้รับการพัฒนาสู่ความเข้มแข็ง ยั่งยืน จากการวิจัย การสร้างสรรค์นวัตกรรม การบริการวิชาการ และการทำนุบำรุงศิลปวัฒนธรรม

สำหรับโครงการย่อยที่ 2 การยับยั้งเชื้อราสาเหตุของโรคพริกโดยใช้สารชีวภัณฑ์ร่วมกับการใช้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนทางห้องปฏิบัติการ เพื่อสร้างองค์ความรู้ในการเพิ่มประสิทธิภาพและมูลค่าเพิ่มให้กับผลิตภัณฑ์ของชุมชน และโครงการย่อยที่ 3 ผลของสารชีวภัณฑ์ร่วมกับการใช้มูลไส้เดือนต่อการยับยั้งการเกิดโรคในพริก เพื่อสร้างองค์ความรู้ในการเพิ่มประสิทธิภาพและมูลค่าเพิ่มให้กับผลิตภัณฑ์ของชุมชน ซึ่งตอบแพลตฟอรมที่ 2 การวิจัยและสร้างนวัตกรรมเพื่อตอบโจทย์ท้าทายของสังคม KR2.7.1 จำนวนนวัตกรรม องค์ความรู้ และเทคโนโลยี ใหม่ที่ถูกสร้างเพื่อแก้ไขปัญหาและ/หรือเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม หรือยกระดับการพัฒนาอย่างยั่งยืนเพื่อตอบโจทย์ท้าทายด้านทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

สมมุติฐานในการวิจัย

โครงการวิจัยนี้มีสมมุติฐานในการวิจัย ดังนี้

1. กระบวนการผลิตปุ๋ยมูลไส้เดือน และน้ำหมักชีวภาพจากทรัพยากรในท้องถิ่น ด้วยภูมิปัญญาของชุมชน สามารถให้ผลผลิต (ปุ๋ยไส้เดือน) ที่มีประสิทธิภาพได้มาตรฐาน สามารถใช้ทดแทนปุ๋ยเคมี ที่มีต้นทุนสูง และลดการรบกวนสภาพแวดล้อมได้

2. สารออกฤทธิ์ที่มีในน้ำหมักที่ผลิตขึ้นอาจมีจุลินทรีย์ท้องถิ่นที่เป็นปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุโรคพืช หากตรวจสอบว่าในสารชีวภัณฑ์นั้นประกอบด้วยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ชนิดใดและมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคได้มากน้อยเพียงใด ซึ่งจะส่งผลโดยตรงต่อประสิทธิภาพของน้ำหมัก

3. การเพิ่มประสิทธิภาพของปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดินด้วยจุลินทรีย์ท้องถิ่นที่เป็นปฏิปักษ์ที่ได้จากน้ำหมักสามารถยับยั้งการเกิดโรคในพริกได้หรือไม่

บทที่ 2
แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

โครงการวิจัยที่ 1 กระบวนการผลิตปุ๋ยมูลไส้เดือน และน้ำหมักชีวภาพ จากฐานภูมิปัญญาและทรัพยากรชุมชน

1. ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน

ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน หมายถึง เศษซากพืชอินทรียวัตถุต่าง ๆ รวมทั้งดินและจุลินทรีย์ที่ไส้เดือนดินกินเข้าไปแล้วผ่านกระบวนการย่อยสลายอินทรียวัตถุ ขับถ่ายออกมาเป็นมูล มีลักษณะเป็นเม็ดสีดำ มีธาตุอาหารที่พืชนำไปใช้ได้ ส่วน น้ำหมักมูลไส้เดือน หมายถึง น้ำที่ได้จากกระบวนการผลิตปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดิน ซึ่งได้จากการเน่าสลายของเศษขยะอินทรีย์ที่ใช้เป็นอาหารของไส้เดือนดิน น้ำหมักที่ได้มีลักษณะเป็นของเหลวสีน้ำตาลดำ ไม่มีกลิ่นเหม็น (พิชญ์ ตั้งสมบัติวิจิตร และอุทาน บูรณศักดิ์ศรี, 2562 : 170-181) โดยในปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนหรือน้ำหมักมูลไส้เดือนก็ตามจะมีจุลินทรีย์ต่าง ๆ เป็นองค์ประกอบที่สำคัญ ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้น่าจะมีคุณสมบัติทั้งการเป็นผู้ย่อยสลาย และการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์กับเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคกับพืช จึงทำให้มีรายการการใช้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนหรือน้ำหมักมูลไส้เดือนเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและยับยั้งการเกิดโรคในพืช ข้อดีของการใช้ปุ๋ยมูลไส้เดือน คือ เป็นสารอินทรีย์ 100% ปลอดสารพิษ มีปริมาณธาตุโลหะหนักต่ำ และพบฮอร์โมนที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืชหลายชนิด ได้แก่ ฮิวเมท ออกซิน จิบเบอเรลลิน ไซโทไคนิน ไคเนติน อย่างไรก็ตามหากพิจารณาธาตุอาหารที่สำคัญในการเจริญเติบโตของพืช คือ ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ปุ๋ยมูลไส้เดือนอาจจะปริมาณน้อยกว่าปุ๋ยเคมี แต่มูลไส้เดือนดินจะมีความโดดเด่น คือ มีความหลากหลายของจุลินทรีย์หลายชนิด ที่จะค่อย ๆ จะย่อยสลายและค่อย ๆ ให้ธาตุอาหารแก่พืชอย่างช้า ๆ ตามความต้องการของพืช ดีกว่าให้แบบดูดซึมครั้งละมาก ๆ ของปุ๋ยเคมีนั่นเอง (สมชัย จันทร์สว่าง, 2552 : 15-20)

ในงานวิจัยนี้ จะศึกษาต่อยอดการผลิตมูลไส้เดือน จากวิธีการเดิมที่เลี้ยงสายพันธุ์ไส้เดือนแบบแยกมา เป็นการเลี้ยงแบบสายพันธุ์รวม ซึ่งจะมีการปรับสัดส่วนความหนาแน่น อาหารที่ใช้เลี้ยง ด้วยฐานภูมิปัญญาและทรัพยากรของชุมชน โดยสายพันธุ์ไส้เดือนที่นำมาเลี้ยง มีทั้งหมด 3 สายพันธุ์ ได้แก่ ไส้เดือนสีน้ำเงิน (Blue worm) *Perionix cavatus* โดยข้อดีของสายพันธุ์นี้ คือ ระยะเวลาจากตัวอ่อนเป็นตัวเต็มวัย จะใช้เวลาสั้น ดังนั้นจะขยายพันธุ์ได้เร็ว มูลมีความละเอียด พืชจึงดูดซึมไปใช้ได้เร็ว และลักษณะเด่นเฉพาะอีกอย่างหนึ่งของสายพันธุ์นี้ได้แก่ สามารถขับสารที่มีสีเหลืองกลิ่นหอมอ่อน ๆ ออกมา

จากลำตัว ซึ่งมีฤทธิ์ในการกำจัดเชื้อราที่ผลิตสารอะฟลาทอกซิน สายพันธุ์ที่ 2 ได้แก่ ไส้เดือนยูโร *Eisenia hortensis* หรือ *Dendrobaena veneta* มีถิ่นกำเนิดยุโรป แต่พบได้ทั่วไปในโลก ยกเว้นทวีปอาร์กติก ข้อดีของสายพันธุ์นี้ คือ มีความทนทานต่อสภาพอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงไป ทนต่อความชื้นในช่วงกว้าง ทนต่ออากาศร้อนหนาวได้ตั้งแต่ 0-40 องศาเซลเซียส สายพันธุ์ที่สาม ได้แก่ สายพันธุ์ AF (*Eucrilus euginiae*) มีถิ่นกำเนิดในแอฟริกาตอนกลาง เป็นสายพันธุ์ที่นิยมเลี้ยงมากที่สุดในประเทศไทย เนื่องจากตัวโต ขยายพันธุ์ไว กินเก่ง กำจัดขยะได้ดี แต่ข้อเสีย คือ ไม่ทนต่ออุณหภูมิในช่วงกว้าง อยู่ได้ที่ 12-35 องศาเซลเซียส จากข้อมูลงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่า การเลี้ยงไส้เดือนมักจะเลี้ยงแยกตามสายพันธุ์ แต่สามารถเลี้ยงรวมกันได้ ในพื้นที่กว้าง ๆ บ่อเลี้ยงที่มีผิวหน้า 3-4 ตารางเมตร หากเลี้ยงในที่แคบ จะพบว่าการขยายพันธุ์จะน้อยกว่าที่ควร และจากนั้นจะตายโดยไม่ทราบสาเหตุ โดยงานวิจัยนี้จะศึกษากระบวนการผลิตปุ๋ยมูลไส้เดือนจากการเลี้ยงแบบรวม โดยการควบคุมปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของไส้เดือน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่เลี้ยงแยก ผลการประเมินจะวิเคราะห์ผลผลิต คือ ปุ๋ยมูลไส้เดือนจากการเลี้ยงทั้ง 4 รูปแบบ

2. น้ำหมักชีวภาพหรือสารชีวภัณฑ์

น้ำหมักชีวภาพ คือ ของเหลวที่เกิดจากการหมักพืช ผัก ผลไม้ รวมทั้งสมุนไพร กับสารให้ความหวาน เช่น น้ำตาล น้ำผึ้ง ในสภาวะที่มีแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก (lactic acid bacteria) น้ำหมักชีวภาพอาจมีชื่อเรียกหลากหลาย เช่น น้ำหมักพืช น้ำสกัดชีวภาพ น้ำหมักสมุนไพร น้ำเอนไซม์ น้ำจุลินทรีย์ น้ำหมักโปรไบโอติก น้ำไอออนิกพลาสมา (ไชยวัฒน์ ไชยสุต, 2553 : 22) มีรายงานการใช้พืชที่มีรสฝาดหรือรสขมในการผลิตน้ำหมักชีวภาพเพื่อป้องกันโรคพืช เช่น การใช้เปลือกเคี่ยม บอระเพ็ด ผลหมาก เปลือกมังคุด เปลือกเงาะ ใบมะรุม เป็นต้น แต่ก็ยังไม่ทราบประสิทธิภาพที่แน่ชัด (กรมวิชาการเกษตร, 2548 : 17-30) งานวิจัยนี้จะศึกษากระบวนการผลิตน้ำหมักชีวภาพจากพืชที่พบในท้องถิ่นจากภูมิปัญญาของชุมชน ในการนำไปศึกษาเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของโรคที่พบในพริกต่อไป

สำหรับน้ำหมักมูลไส้เดือน หมายถึง การนำมูลไส้เดือนไปขยายเชื้อจุลินทรีย์ให้ออกมาในรูปแบบของน้ำซึ่งจะทำให้ได้เชื้อจุลินทรีย์ที่มากขึ้น ซึ่งมีธาตุอาหารที่พืชต้องการเป็นจำนวนมาก เป็นปุ๋ยชนิดน้ำเรานำไปฉีดพ่น หรือ ผสมน้ำรดต้นไม้

โครงการวิจัยที่ 2 การยับยั้งเชื้อราสาเหตุของโรคพริกโดยใช้สารชีวภัณฑ์ร่วมกับการใช้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนทางห้องปฏิบัติการ

1. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของพริกขี้หนู

พริกขี้หนูอยู่ในวงศ์ *Solanaceae* มีลักษณะเป็นไม้ต้น ความสูง 30-120 เซนติเมตร ใบมีลักษณะแบนและเรียบมัน ผลมีขนาดเล็กเรียวยาวประมาณ 2-3 เซนติเมตร เมื่อดิบผลมีสีเขียวเข้ม เมื่อสุกจะค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นสีแดง มีรสเผ็ดจัด นิยมใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารไทยหลากหลายชนิด ชื่อในภาษาอังกฤษมีหลายชื่อ ได้แก่ Chilli Padi, Bird's Eye Chilli, Bird Chilli, Thai pepper และพริกขี้หนู โดยมีการจัดลำดับทางอนุกรมวิธาน ดังนี้

Kingdom : Plantae
Division : Magnoliophyta
Class : Magnoliopsida
Order : Solanales
Family : Solanaceae
Genus : *Capsicum*

พืชวงศ์พริกมีทั้งพืชล้มลุก ไม้พุ่ม และไม้ยืนต้นขนาดเล็ก อยู่ในวงศ์เดียวกันกับมะเขือเทศ มะเขือพวง มันฝรั่ง และยาสูบ เป็นพืชผสมตัวเอง แต่การปลูกพริกหลายสายพันธุ์ในพื้นที่เดียวกันหรือใกล้เคียงกันนั้น อาจเกิดการผสมข้ามพันธุ์ตามธรรมชาติได้ด้วยแมลง 1–46 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งทำให้เกิดความแปรปรวนของต้น ดอก ผล รูปร่าง สี และรสชาติ (อภิชาติ ศรีสะอาด และ พัชรี สำโรงเย็น, 2561) โดยลักษณะทางพฤกษศาสตร์โดยรวมของพริก มีดังนี้ ดังภาพที่ 2.1

1) ราก พริกมีรากแก้วหยั่งลึกลงในดินตั้งแต่ 50 ถึง 150 เซนติเมตร มีรากแขนงและรากฝอยแผ่กระจายประมาณ 100 ถึง 150 เซนติเมตร

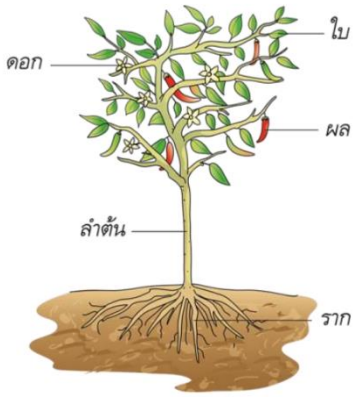
2) ลำต้นและกิ่ง เป็นไม้พุ่มล้มลุก ซึ่งขนาดของทรงพุ่มจะแตกต่างกันตามชนิดของสายพันธุ์ ลำต้นตั้งตรง มีความสูงตั้งแต่ 30 ถึง 75 เซนติเมตร ลำต้นและกิ่งเป็นไม้เนื้ออ่อน เปราะ หักง่าย มีสีเขียวปนสีน้ำตาล หรือสีเขียวปนสีม่วง

3) ใบ เป็นใบเลี้ยงคู่และใบเดี่ยว อยู่ตามข้อของกิ่ง ใบแบนเรียบเป็นมัน ไม่มีขนหรือมีขนบ้างเล็กน้อย ใบเป็นรูปไข่ หรือรูปสามเหลี่ยมคล้ายหอกแตกต่างกันตามสายพันธุ์ ขอบใบเรียบ และมีขนาดต่างกันตามสายพันธุ์เช่นกัน ตั้งแต่ 2 ถึง 10 เซนติเมตร

4) ดอก โดยส่วนใหญ่มักมีสีขาว มักเป็นดอกเดี่ยวมีรูปทรงวงล้อ และรูประฆัง แตกต่างกันตามสายพันธุ์ เกสรมีทั้งตัวผู้และตัวเมียในดอกเดียวกัน ซึ่งสามารถผสมตัวเองหรือผสมข้ามดอกได้ ถ้ามีอุณหภูมิสูงและความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ จะทำให้ดอกร่วงและไม่ติดผล

5) ผล เกิดตามข้อ มีแบบผลเดี่ยวและผลกลุ่ม เช่น พริกชี้ฟ้า พริกแต่ละสายพันธุ์จะมีลักษณะรูปร่างผลแตกต่างกัน เช่น เรียวยาว ค่อนข้างกลม รูประฆัง และรูปสี่เหลี่ยม ส่วนความหนาของผนังผลและขนาดผลก็แตกต่างกันตามสายพันธุ์ด้วยเช่นกัน สีของพริก ผลอ่อนจะมีหลายสี เช่น สีเหลืองอ่อน สีเขียวอ่อน สีเขียวเข้ม สีเหลือง สีส้ม และสีม่วง ผลสุกจะมีสีแดง สีส้มเหลือง สีน้ำตาล และสีม่วง ผลมีชนิดชี้ขึ้น และชี้ลง มีระดับความเผ็ดที่ต่างกัน

6) เมล็ด มีเมล็ดเกาะเรียงตัวอยู่แกนกลางของผล หรือรก มีรูปร่างกลมแบน ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 3 ถึง 5 มิลลิเมตร จำนวน 50 ถึง 250 เมล็ด ต่อผล อายุของเมล็ดพริกนั้น มีอยู่ได้นานถึง 24 ปี ขึ้นอยู่กับการเก็บรักษาและสายพันธุ์



ภาพที่ 2.1 ลักษณะของต้นพริก
ที่มา : (กรมส่งเสริมเกษตร, 2549)

2. โรคแอนแทรคโนส (Anthracnose)

โรคแอนแทรคโนส เป็นโรคพืชที่ทำให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตทั้งปริมาณและคุณภาพ มีเชื้อราจีนัส *Colletotrichum* เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนส ซึ่งทำให้เกิดความสูญเสียกับพืชเศรษฐกิจ เชื้อรา *Colletotrichum* มีพืชอาศัยมากถึง 470 สกุล ทั้งพืชตระกูลถั่ว หญ้า ผัก ไม้ผลและไม้ประดับ ทำให้ผลผลิตเน่าเสียอายุการเก็บเกี่ยวสั้น ไม่สามารถขนส่งระยะไกลได้ การระบาดของโรคเกิดขึ้น

รวดเร็วและรุนแรงในเขตที่มีอุณหภูมิและความชื้นสูง เชื้อราสามารถเข้าทำลายได้ทุกส่วนของพืชตั้งแต่ลำต้น ใบ ก้าน ดอก ผล และเมล็ดทำให้เปอร์เซ็นต์การงอกลดลง ถ้าเกิดกับต้นกล้าจะทำให้ต้นกล้าแห้งตายได้ โดยการเข้าทำลายของเชื้ออาจเป็นได้ทั้งแบบมีเชื้อหลายสปีชีส์เข้าทำลายพืชชนิดเดียว หรือเชื้อสปีชีส์เดียวเข้าทำลายพืชหลายชนิดก็ได้ เชื้อรา *Colletotrichum* spp. สามารถเข้าทำลายเซลล์พืชโดยตรงไม่ต้องผ่านช่องเปิดธรรมชาติหรือบาดแผล สามารถเข้าทำลายผลผลิต ตั้งแต่ระยะดอก ผลอ่อน โดยยังไม่แสดงอาการของโรค จัดเป็นการเข้าทำลายแบบแฝง (Quiescent infection) จะแสดงอาการชัดเจนเมื่อผลผลิตแก่หรือเริ่มสุก ดังนั้นการเข้าทำลายจะเริ่มตั้งแต่อยู่ในแปลงปลูก โรคนี้พบกระจายอยู่ทั่วโลก โดยเฉพาะในเขตร้อนชื้นจะพบการระบาดอย่างรุนแรง การระบาดของเชื้ออาศัยลม ฝน หรือแมลงที่บินมาเกาะบริเวณแผล ทำให้สปอร์แพร่กระจายไปยังที่ต่าง ๆ เมื่อถูกความชื้นก็สามารถงอกเจริญได้ (Saxena et al., 2016 : 1-18; Than et al., 2008 : 764–778).

ลักษณะอาการของโรคแอนแทรคโนส

อาการของโรคแอนแทรคโนส เริ่มจากจุดแผลแห้งเล็ก ๆ สีน้ำตาลแล้วค่อย ๆ เข้มขึ้นขยายออกเป็นวงกลมหรือวงรีซ้อนกันเป็นชั้น ๆ อาการของโรคจะเห็นชัดเจนในระยะที่ผลเริ่มสุกเมื่อมีความชื้นสูงจะพบการสร้างกลุ่มของสปอร์หรือ conidia สีส้มหรือสีชมพูเป็นหยดเหลวข้นบริเวณแผลโรคแอนแทรคโนสที่เกิดบนใบอ่อนทำให้ใบหงิกงอ อาการเริ่มจากจุดสีเทาและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มอยู่กระจัดกระจาย เนื้อเยื่อกลางแผลบางและฉีกขาดเป็นรู นอกจากนี้โรคแอนแทรคโนสยังสามารถเข้าทำลายกิ่งทำให้เกิดอาการไหม้ได้อีกด้วย

การป้องกันและกำจัด

1) ถ้าเก็บเมล็ดพันธุ์เอง ต้องเก็บเมล็ดพันธุ์จากผลที่ไม่แสดงอาการของโรค

2) ก่อนเพาะเมล็ดควรแช่ในน้ำอุณหภูมิ 50-55 องศาเซลเซียส นาน 15-20 นาที หรือสารป้องกันกำจัดโรคพืช เช่น ไทแรมหรือแมนโคเซบ เพื่อทำลายเชื้อที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์

3) การใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการป้องกันกำจัด เช่น *Bacillus subtilis* และ*Trichoderma* spp. สำหรับการใช้เชื้อราไตรโคเดอร์ม่า คลุกเมล็ดพันธุ์ก่อนปลูกและฉีดพ่นจนถึงระยะเก็บเกี่ยว

4) หากมีการระบาดรุนแรงให้พ่นด้วยสารป้องกันกำจัดโรคพืชที่มีประสิทธิภาพ เช่น แมนโคเซบ ไทแรม เบโนมิล ฟลูซิลาโซล เป็นต้น โดยฉีดพ่นทุก 7-15 วัน

5) ในการเก็บเกี่ยวผลผลิต ถ้ามีผลพริกที่แสดงอาการโรคต้องเก็บออกจากแปลงให้หมดเพราะหากทิ้งไว้จะเป็นแหล่งสะสมของโรค ทำให้บางครั้งการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชไม่ได้ผลเท่าที่ควร

3. โรคแอนแทรคโนสในพริก

โรคแอนแทรคโนส หรือโรคกุ้งแห้งพริก (*Collectotrichum* spp.) นับว่าเป็นโรคที่สำคัญของเกษตรกรผู้ปลูกพริกเป็นอย่างมาก เพราะเป็นโรคประจำตัวของพริกเลยก็ว่าได้ โรคนี้เกิดจากเชื้อรา *Collectotrichum* spp. ที่พบเข้าทำลายพริก ในประเทศไทยพบเชื้อราสาเหตุโรคนี้ 4 ชนิด คือ *Collectotrichum gloeosporioides, Collectotrichum acutatum, Collectotrichum siamense* และ *Collectotrichum capcisi* (Saxena *et al.,* 2016 : 1-18)

ลักษณะอาการผลพริกที่เป็นโรคแอนแทรคโนส

ผลพริกจะมีอาการเริ่มเป็นแผลหรือจุดช้ำเป็นแอ่งยุบลง ลักษณะอาจกลมหรือไม่แน่นอน ขนาดตั้งแต่จุดเล็ก ๆ ไปจนเต็มความกว้างของผลพริก อาจมีเพียงแผลเดียวหรือหลายแผลก็ได้ แผลเหล่านี้ต่อมาจะแห้งเป็นสีน้ำตาลหรือดำพร้อมกับการสร้าง fruiting body ซึ่งเป็นที่เกิดของสปอร์หรือโคนิเดีย เป็นจุดสีเหลืองส้มหรือน้ำตาลดำเป็นวง ๆ เรียงซ้อนกันอยู่ที่แผลดังกล่าว เชื้อจะเข้าทำลายผลพริกได้ทุกระยะการเจริญตั้งแต่เริ่มเป็นผลเล็ก ๆ จนโตเต็มที่และสุกแดงแล้ว อย่างไรก็ดีหากเป็นระยะที่ยังอ่อนเซลล์บริเวณแผลซึ่งถูกทำลาย จะหยุดการเจริญเติบโตขณะเดียวกันส่วนรอบ ๆ จะเจริญไปเรื่อย ๆ ทำให้เกิดอาการคดโค้งงอหรือบิดเบี้ยวขึ้นโดยมีแผลหรือเซลล์ที่ตายอยู่ด้านใน ลักษณะคล้ายกุ้งแห้งจึงเป็นที่มาของชื่อโรคกุ้งแห้งพริก ดังภาพที่ 2.2

ภาพที่ 2.2 ผลพริกที่เป็นโรคแอนแทรคโนส
ที่มา : (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2549)

การป้องกันและการกำจัดโรคแอนแทรคโนสในพริก

1) ทำลายส่วนที่เป็นโรค โดยการนำไปเผาทิ้ง

2) ไม่ใช้เมล็ดพันธุ์จากต้นที่เป็นโรคมาปลูก

3) ในแหล่งที่มีการระบาด ควรปลูกพืชหมุนเวียนเพื่อตัดวงจรการระบาด

4) หลีกเลี่ยงการปลูกในแหล่งที่เคยเป็นโรคมาก่อน

5) ก่อนปลูกแช่เมล็ดในน้ำอุ่น 49 องศาเซลเซียส นาน 20 นาทีเพื่อฆ่าเชื้อที่ติดมากับเมล็ด

6) พ่นด้วยเชื้อรา *Trichoderma* spp. อัตราส่วน 1 กก./น้ำ 200 ลิตร พ่นซ้ำ 2-3 ครั้ง ห่างกัน 3-5 วัน หรืออัตราส่วนที่ระบุตามฉลาก

7) เมื่อสำรวจพบอาการของโรค ควรพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืชเป็นระยะ ๆ เช่น คาร์เบนดาซิม, โพรคลาราซ, ไตรฟลอกซีสโตรบิน, โพรพิเนบ

4. ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน

ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดิน (Vermicompost) หมายถึง เศษซากอินทรียวัตถุต่าง ๆ รวมทั้งดินและจุลินทรีย์ที่ไส้เดือนดินกินเข้าไปแล้วผ่านกระบวนการย่อยสลายอินทรียวัตถุเหล่านั้นภายในลำไส้ของไส้เดือนดิน แล้วจึงขับถ่ายเป็นมูลออกมาทางรูทวาร ซึ่งมูลที่ได้จะมีลักษณะเป็นเม็ดสีดำ มีธาตุ อาหารพืชอยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ในปริมาณที่สูงและมีจุลินทรีย์จำนวนมาก ซึ่งในกระบวนการผลิตปุ๋ยหมักโดยใช้ไส้เดือนดินขยะอินทรีย์ที่ไส้เดือนดินกินเข้าไป และผ่านการย่อยสลายในลำไส้แล้วขับถ่ายออกมามูลไส้เดือนดินที่ได้เรียกว่า ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดิน

ตารางที่ 2.1 จุลินทรีย์ในปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน

ชนิดของไส้เดือนดิน	ชนิดของจุลินทรีย์ที่ได้จากมูลไส้เดือนดิน	การใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์
Lumbricus rubellus	*Rhizobium japonicum* *Pseudomonas putida*	กระตุ้นการสร้างฮอร์โมนพืชเพื่อการเจริญเติบโต
L. terrestris	*Bradyrhizobium japonicum*	ส่งเสริมการสร้างปุ่มปมที่ราก ของถั่วเหลือง
Eisenia foetida	*Bacillus* sp. *B. megaterium* *B. pumilus* *B. subtilis*	ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของ จุลินทรีย์ก่อโรค เช่น *Enterococcus faecalis Staphylococcus aureus*
E. foetida	*Proteobacteria* *Bacteroidetes* *Verrucomicrobia* *Actinobacteria* *Firmicutes*	ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโต ของเชื้อราก่อโรค เช่น *Colletotrichum coccodes R. solani P. ultimum, P. capsici F. moliniforme*
Eudrilus sp., *Eudrilus eugeniae*	Free-living N2 fixers *Azospirillum* *Azotobacter* *Autotrophic* *Nitrosomonas* *Nitrobacter*	กระตุ้นการสร้างฮอร์โมนพืช เพื่อการเจริญเติบโต ช่วยตรึงไนโตรเจน ช่วยในการละลายของฟอสเฟส ต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อก่อโรคพืช

ที่มา : (พิชญ์ ตั้งสมบัติวิจิตร และอุทาน บูรณศักดิ์ศรี, 2562 : 170-181)

ในปัจจุบันยังไม่มีมาตรฐานปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดิน แต่จะเห็นได้ว่าปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดินมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับมาตรฐานปุ๋ยหมักของกรมพัฒนาที่ดิน ซึ่งคุณสมบัติของปุ๋ยหมักทั่วไปควรมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C : N ratio) น้อยกว่าหรือเท่ากับ 20 : 1 อินทรียวัตถุมากกว่าหรือ

เท่ากับร้อยละ 35 โดยน้ำหนักความเป็นกรดและด่างอยู่ระหว่าง 5.5-8.5 ไนโตรเจน (N) มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก ฟอสฟอรัส (P,0) มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนักและโพแทสเซียม (K20) มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนัก (กรมพัฒนาที่ดิน, 2550)

การใช้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดิน และน้ำหมักมูลไส้เดือนดินในการปลูกพืช จะส่งผลให้ดินมีโครงสร้างดีขึ้นคือ ทำให้ดินกักเก็บความชื้นได้มากขึ้น มีความโปร่งร่วนซุย รากพืชสามารถชอนไชและแพร่กระจายได้กว้าง ดินมีการระบายน้ำและอากาศได้ดี ทำให้จุลินทรีย์ดินที่เป็นประโยชน์บริเวณรากพืชสามารถสร้างเอนไซม์ที่เป็นประโยชน์ต่อพืชได้เพิ่มขึ้น นอกจากนี้จุลินทรีย์ดินที่ปนออกมากับมูลของไส้เดือนดินยังสามารถสร้างเอ็นไซม์ฟอสฟาเตสได้อีกด้วย ซึ่งมีส่วนช่วยเพิ่มประมาณฟอสฟอรัสในดินให้สูงขึ้นได้ และไส้เดือนดินยังช่วยสนับสนุนวัฏจักรคาร์บอน และวัฏจักรไนโตรเจนในระบบการเกษตร

5. สารชีวภัณฑ์

สารชีวภัณฑ์ เป็นผลิตภัณฑ์ป้องกันศัตรูพืชที่ผลิต หรือพัฒนามาจากสิ่งมีชีวิตไม่ว่าจะเป็นพืช สัตว์ หรือจุลินทรีย์ แต่ไม่นับรวมกับสารสกัดที่แยกได้จากสิ่งมีชีวิตที่เป็นสารเคมีเชิงเดี่ยว เช่น ไพรีทรอยด์ นิโคติน อะบาเม็กติน โดยสารชีวภัณฑ์ที่ผลิตในปัจจุบันมักผลิตจากจุลินทรีย์ มีคุณสมบัติดังนี้

1) มีความปลอดภัยต่อมนุษย์ สัตว์ และสิ่งแวดล้อมสูง ไม่มีสารพิษตกค้าง

2) มีความเฉพาะเจาะจงต่อศัตรูพืชเป้าหมาย

3) ผลิตและขยายเป็นอุตสาหกรรมได้

4) ใช้กับพืชสวนไร่นาวิธีการเดียวกับสารเคมี

5) บางชนิดอยู่ได้คงทนในสภาพแวดล้อม

โครงการวิจัยที่ 3 ผลของสารชีวภัณฑ์ร่วมกับการใช้มูลไส้เดือนต่อการยับยั้งการเกิดโรคในพริกโรคพริก

1. โรคพริก

พริกเป็นพืชผักในกลุ่ม Solanacious เช่นเดียวกับมะเขือเทศแต่อยู่ใน Genus *Capsicum* โรคที่มักจะเกิดกับพริกมีดังนี้ (อุดม ฟ้ารุ่งสาง. ม.ป.ป.)

1.1 โรคแอนแทรคโนส (Anthracnose) ที่เกิดจากเชื้อราสาเหตุ

1) *Colletotrichum dematium* (Syd.) Bulter & Bisby

2) *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc.

การป้องกันกำจัดด้วยสารเคมี ได้แก่

1) ก่อนปลูกควรทำ seed treatment เช่น hot water treatment ใช้อุณหภูมิ 50-52° ซ. นาน 30 นาที หรือใช้สารเคมี Delsene MX คลุกเมล็ดในอัตรา 0.8% ของน้ำหนักเมล็ดก็ได้ผลดีเช่นกัน

2) เมื่อต้นพริกโตแล้ว ฉีดสารเคมีป้องกันไม่ให้เกิดโรค เช่น imazalil, prochloraz, benomyl, carbendazim, mancozeb, maneb และ Delsene MX เป็นต้น

1.2 โรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อรา *Cercospora* (Cercospora leaf spot) ที่เกิดจากเชื้อรา *Cercospora capsici* Heald & Wolf.

การป้องกันกำจัด เมื่อเกิดโรคระบาดรุนแรงสารเคมีที่แนะนำ ได้แก่ คลอโรธาไลนิล, สารผสมระหว่างเบนโนมิล หรือคาร์เบนดาซิม และแมนโคเซ็บ, มาเน็บ หรือซีเน็บ

1.3 โรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา Fusarium (Fusarium wilt) ที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* var. vasinfectum (Atkinson) Snyder & Hansen การป้องกันกำจัดโดยเลือกปลูกพริกโดยใช้พันธุ์ที่มีความต้านทานต่อโรค

1.4 โรครากและโคนเน่า (root rot) โดยเชื้อ *Sclerotium rolfsii* Sacc.

การป้องกันกำจัด หลังเก็บเกี่ยวผลแล้วให้เติมปูนขาวลงในดินในปริมาณ 100-300 กก. ต่อไร่ แล้วปล่อยทิ้งไว้ระยะหนึ่งเมื่อใกล้จะปลูกพืชใหม่จึงค่อยใส่ปุ๋ยอินทรีย์หรือปุ๋ยคอกลงไปอีก 2-4 ตัน วิธีนี้จะช่วยหยุดการเจริญเติบโตและลดปริมาณเชื้อที่มีอยู่ขณะเดียวกันก็จะช่วยเพิ่มความสมบูรณ์ของดินเพื่อให้เหมาะต่อการเจริญเติบโตของพืชต่อไป

1.5. โรคยอดและกิ่งแห้ง จากเชื้อ**รา** *Choanephora cucurbitarum* Thaxt.

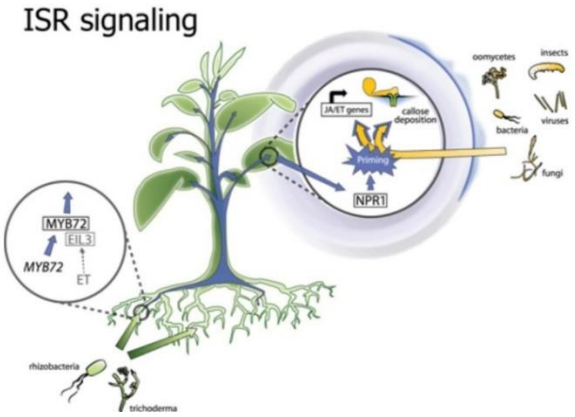
การป้องกันกำจัด ในระยะที่มีฝนตกชุกควรจะพ่นสารเคมีป้องกันยอดอ่อนไว้ เช่น triforine, metalaxyl + mancozeb

2. ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดินและจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

ปัจจุบันปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน เป็นที่นิยมผลิตทั้งในระดับการผลิตแบบครัวเรือน และการผลิตเพื่อการค้า เนื่องจากจะช่วยลดปัญหามลพิษขยะต่อสิ่งแวดล้อม แล้วยังมีงานวิจัย ที่พบว่าสามารถนำมาใช้เป็นปุ๋ยอินทรีย์ที่ช่วยปรับปรุงสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีของดินได้ดี ซึ่ง Joshi et al. (2015) ได้รวบรวมผลการทดลองที่เกี่ยวข้องกับการใช้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดิน โดยสรุปว่าผลการทดลองส่วนใหญ่พบว่าการใช้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดินเมื่อใช้ร่วมกับปุ๋ยเคมีหรือปุ๋ยชนิดอื่น ๆ สามารถทดแทนการใช้ปุ๋ยเคมีได้ Rungreung (2008) รายงานว่า การใช้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดิน สามารถช่วยลดการใช้ปุ๋ยเคมีได้บางส่วน

แต่ไม่สามารถทดแทนได้ทั้งหมด เนื่องจากปุ๋ยมูลไส้เดือนดินจะค่อย ๆ ปลดปล่อยธาตุอาหารต่าง ๆ ลงสู่ดิน การที่จะนำปุ๋ยมูลไส้เดือนดินไปใช้ในการปลูกพืชเกษตรกรควรที่จะใช้ร่วมกับปุ๋ยเคมี ในช่วงแรกของการเพาะปลูกจะทำให้การเจริญเติบโตและผลผลิตดียิ่งขึ้น ทั้งนี้การที่พืชปลูกด้วยมูลไส้เดือนดินให้ลักษณะที่ดีกว่าการปลูกด้วยวัสดุชนิดอื่น อาจมีผลมาจากมูลไส้เดือนดินมีจุลินทรีย์อยู่หลากหลายชนิดมากกว่าที่พบในปุ๋ยหมักธรรมดา ได้แก่ แบคทีเรีย แอคติโนมัยซีท เชื้อรา โดยเฉพาะแบคทีเรียกลุ่ม cellulose-degraing รวมถึงมีสารฮอร์โมนสำคัญเพื่อการเจริญเติบโตของพืช เช่น indole acetic acid (IAA) ซึ่งฮอร์โมนพืชเหล่านี้ ช่วยเสริมสร้างและช่วยเร่งการเจริญเติบโตของพืช และนอกจากนี้ยังมีจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่อพืชเป็นจำนวนมาก (PGRs) ที่ช่วยส่งผลให้พืชได้รับธาตุอาหารและส่งเสริมให้พืชมีการเจริญเติบโต กรดฮิวมิคซึ่งเป็นตัวกักเก็บธาตุ อาหารที่จำเป็นต่อพืชหลายชนิด เช่น ฟอสฟอรัส (P) โพแทสเซียม (K) แคลเซียม (Ca) เหล็ก (Fe) และทองแดง (Cu) ซึ่งธาตุอาหารเหล่านี้จะถูกเก็บอยู่ในโมเลกุลของกรดฮิวมิค อยู่ในรูปพร้อมใช้และจะถูกปลดปล่อยออกมาเมื่อพืชต้องการ รวมถึงสารออกซิน (auxins) ในมูลของไส้เดือนดิน ซึ่งมีคุณสมบัติในการกระตุ้นการเกิดราก ทำให้พืชเจริญเติบโตเร็วขึ้น พืชที่เจริญเติบโตในสภาพที่มีไส้เดือนดินจะให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น 30% อีกทั้งในมูลไส้เดือนดินจะพบไคเนติน (kinetins) จิเบอเรลลิน (giberellin) และไซโตไคนิน (cytokinin) ซึ่งสารดังกล่าว เหล่านี้ล้วนมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชทั้งสิ้น

จุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถชักนำความต้านทานพืช (induced resistance) แบ่งได้ตามสิ่งกระตุ้นและวิธีการชักนำ Induced systemic resistance : ISR เป็นกลไกที่พืชสร้างความต้านทานเมื่อถูกกระตุ้นโดยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์หรือเชื้อไม่ก่อโรค (non-pathogenic bacteria/fungi) การใช้เชื้อจุลินทรีย์จะเกิดกระบวนการที่สร้างสิ่งกระตุ้นสามารถชักนำให้เกิดความต้านทานพืชใน arabidopsis ที่มีผลต่อการผลิตสารต่าง ๆ เช่น jasmonate, ethylene และไปกระตุ้นการแสดงออกของ PR gene ที่เกี่ยวข้องกับการต้านทานโรคในพืชดังแสดงในภาพด้านล่างโดยที่สารและยีนที่กล่าวมาข้างต้นจัดเป็น biochemical marker ในกระบวนการเตรียมความพร้อมของเซลล์พืช ที่ทำหน้าที่ในการกระจายสัญญาณความต้านทานไปทั่วทั้งต้น เพื่อให้ต้นพืชเกิดกระบวนการการต้านทานต่อโรคพืชไม่ว่าจะเป็น เชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัส และแมลงศัตรูพืช โดยการเกิด ISR ในครั้งแรกจะทำให้เกินแผลตายทำให้การเข้าทำลายของเชื้อก่อโรคหลายชนิดลดความรุนแรงลงในครั้งต่อไป กระบวนการ ISR จะเกิดขึ้นเมื่อพ่นตัวกระตุ้น เช่น เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp ลงบนส่วนต่างๆของพืช เพื่อเตรียมพร้อมสำหรับการต่อต้านการเข้าทำลายของเชื้อก่อโรค อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงนี้จะเกิดขึ้นเพียงช่วงระยะเวลาหนึ่งเท่านั้น



ภาพที่ 2.3 กลไกการป้องกันตนเองของพืช Induced systemic resistance (ISR)
ที่มา : (Pieterse et al., 2014)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ปิลันธนา ฐาปนพงษ์วรกุล และศราวิชญ์ สายมงคล (2558 : 301 – 310) การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus megaterium* สายพันธุ์ No.16 เพื่อควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าวพันธุ์ กข6 สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* เมื่อแยกและรวบรวบเชื้อราสาเหตุจากแปลงทดลองปลูกข้าวของสถานีพัฒนาที่ดินลำพูน ตำบลศรีบัวบาน อำเภอเมือง จังหวดลำพูน ได้จำนวน 4 ไอโซเลท คือ RSLPN-1, RSLPN-2, RSLPN-3 และ RLSPN-4 นำมาทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. megaterium* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) โดยวิธี dual culture เป็นเวลา 4 วัน พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. solani* แต่ละไอโซเลตได้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีร้อยละการยับยั้งเท่ากับ 41.65, 26.78, 26.08 และ 42.35 ตามลำดับ สำหรับการทดสอบด้วยวิธี pour plate พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. solani* ไอโซเลต RSLPN-2 และ RSLPN-4 มีร้อยละการยับยั้งสูงมากกว่า 95 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ปลายเส้นใยของเชื้อรา *R. solani* จากวิธีการทดสอบทั้ง 2 วิธี มีลักษณะผิดปกติเหมือนกัน จากนั้นทดสอบการควบคุมโรคกาบใบแห้งที่เกิดจากเชื้อรา *R. solani* ไอโซเลท RSLPN-4 โดยวิธีการพ่นชีวภัณฑ์เชื้อ *B. megaterium* ในสภาพเรือนทดลอง พบว่าชีวภัณฑ์ดังกล่าวสามารถลดความรุนแรงของโรคกาบใบแห้งได้แตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

B. megaterium สามารถควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าวพันธุ์ กข 6 ในสภาพห้องปฏิบัติการและเรือนทดลองได้

ยลธิดา ชนะชัย และเพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล (2563 : 333-344) คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ควบคุมเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริกในแนวกว้างและช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชด้วย ดำเนินการวิจัยโดยนำเชื้อแบคทีเรีย 11 ไอโซเลต ได้แก่ *Bacillus* spp. *Bacillus*-Ba029, *Bacillus*-Ba033, *Bacillus*-Ba037N, *Bacillus*-NTS3, *Bacillus*-MS4, *Bacillus*-S32, *Bacillus*-PSK, *Bacillus*-BS, *Bacillus*-BK, *Streptomyces*-PR15 และ *Streptomyces*-PR87 มาทดสอบความสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides, C. capsici* และ *C. acutatum* โดยวิธี dual culture technique พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 9 ไอโซเลต ได้แก่ *Streptomyces*-PR15, *Streptomyces*-PR87, *Bacillus*-Ba029, *Bacillus*-Ba033, *Bacillus*-NTS3, *Bacillus*-MS4, *Bacillus*-S32, *Bacillus*-BS และ *Bacillus*-BK สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *Colletotrichum* spp.ทั้ง 3 สปีชีส์ได้อย่างชัดเจน เส้นใยของเชื้อราบริเวณที่เกิดแนวยับยั้งมีลักษณะบวมพอง เส้นใยเสียสภาพแตกหัก ส่วน *Bacillus*-Ba037N และ *Bacillus*-PSK ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Colletotrichum* spp. บางไอโซเลตได้เพียงเล็กน้อย เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 11 ไอโซเลตสามารถสังเคราะห์ Indole-3-acetic acid (IAA) ได้ มีค่าตั้งแต่ 6.23-19.42 µg/ml โดยไอโซเลต *Bacillus*-PSK มีค่า IAA สูงที่สุด เท่ากับ 19.42 µg/ml และมี 9 ไอโซเลตที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตได้ ได้แก่ *Streptomyces*-PR15, *Streptomyces*-PR87, *Bacillus*-Ba029, *Bacillus*-Ba033, *Bacillus*-NTS3, *Bacillus*-MS4, *Bacillus*-S32, *Bacillus*-BS และ *Bacillus*-BK โดยเชื้อ *Streptomyces*-PR87 มีประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตที่ผสมอยู่ในอาหารทดสอบได้มากที่สุดมีค่า solubilization index (S.I) เท่ากับ 3.5 รองลงมาคือ *Bacillus*-NTS3 เท่ากับ 3.368 จากผลการวิจัยได้คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ได้หลายสปีชีส์และมีกลไกการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ดีมากไว้ 4 ไอโซเลต ได้แก่ *Streptomyces*-PR15, *Bacillus*-Ba033, *Bacillus*-Ba029 และ *Bacillus*-NTS3 สำหรับประเมินประสิทธิภาพการควบคุมโรคแอนแทรกโนสที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์พริกและส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าพริกและการควบคุมโรคแอนแทรกโนสในแปลงปลูกต่อไป

วนิดา ชื่นชัน และคนอื่น ๆ (2562: 52-64) การยับยั้งเชื้อรา *Phytophthora parasitica* ด้วยเชื้อราปฏิปักษ์ที่แยกได้จากดินในเขตพื้นที่ ตำบลกุยบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ โดยสุ่มเก็บตัวอย่างจำนวน 5 จุด ของพื้นที่ปลูกสับปะรด และนำมาคัดแยกด้วยวิธี Serial dilution spread plate สามารถคัดแยกเชื้อราปฏิปักษ์ได้ทั้งหมด 13 ไอโซเลท จัดจำแนกเชื้อราโดยอาศัยสัณฐานวิทยาด้วยเทคนิค Slide culture ได้ 11 ชนิด ใน 5 สกุล คือ *Acremonium* sp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp.,

Trichoderma sp., และ *Syncephalastrum* sp. เมื่อนำเชื้อราทั้งหมดที่คัดแยกได้มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica* สาเหตุโรครากเน่าของสับปะรด ด้วยวิธี Dual culture technique พบว่า *Trichoderma harzianum* MKB 11 (86.28%) และ MKB 01 (81.51%) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. parasitica* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ *Aspergillus niger* MKB 12 (59.30%) และ *Aspergillus oryzae* MKB 06 (55.81%) จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าเชื้อรา *Trichoderma harzianum* MKB 01 และ MKB 11 มีศักยภาพที่ดีที่สุดในการนำมาควบคุมเชื้อรา *P. parasitica* สาเหตุโรครากเน่าของสับปะรด

ปิลันธนา ฐาปนพงษ์วรกุล และคนอื่น ๆ (2563: 656-667) ทำการประเมินศักยภาพการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟต์ *Streptomyces* sp. จำนวน 3 ไอโซเลท (PE06, CT18 และ CT20) และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* Coll-1 สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก จากการทดสอบด้วยวิธี dual culture technique พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 4 ไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* Coll-1 ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เท่ากับ 45.14, 39.58, 26.39 และ 53.82% ตามลำดับ เมื่อทดสอบด้วยวิธี sealed plate ที่เวลา 120 ชม. พบไอโซเลท CT20 ยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้สูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) สูงถึง 64.17% รองลงมาคือ ไอโซเลท CT18, PE04 และเชื้อ *B. subtilis* เท่ากับ 31.67, 30 และ 28.75% ตามลำดับ โดยไม่มีการสัมผัสกันโดยตรงระหว่างเส้นใยของเชื้อราสาเหตุและเชื้อ *Streptomyces* sp. ทั้ง 3 ไอโซเลท ในคู่จานอาหารทดสอบ จากนั้นตรวจสอบปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุ พบไอโซเลท CT20 ยับยั้งการสร้างสปอร์ได้สูงสุด (94.93%) รองลงมาคือ ไอโซเลท CT18 และ PE06 การศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าสารประกอบอินทรีย์ระเหยของเชื้อ *Streptomyces* sp. CT20 มีผลต่อการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* Coll-1 โดยอาศัยฤทธิ์ต้านจุลชีพการเจริญของเส้นใยและการลดปริมาณสปอร์ในระดับห้องปฏิบัติการ ผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟต์ *Streptomyces* sp. CT20 สามารถใช้เป็นสารควบคุมทางชีวภาพ (biocontrol agent) สำหรับโรคแอนแทรคโนสของพริกภายใต้สภาพห้องปฏิบัติการ อย่างไรก็ตาม ควรมีการศึกษาเพิ่มเติม ในการผลิตพริกเชิงพาณิชย์ภายใต้สภาพโรงเรือนและแปลงปลูกเพื่อยืนยันประสิทธิผลในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี

สมาพร เรืองสังข์ และจุฬารักษ์ ศรีศักดา (2563) ได้ทำการคัดแยกเชื้อราจากใบพืชผักสมุนไพรชนิดต่าง ๆ และเพื่อทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราจากใบพืชที่แยกได้ในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อราก่อโรคในพริก โดยทำการแยกเชื้อรา 16 ไอโซเลตได้จากพืช 6 ชนิด ได้แก่ กระเพรา สะระแหน่ มะละกอ ตะไคร้ มิ้นท์ และแมงลัก เมื่อนำมาทดสอบการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อ *Fusarium* sp. ที่ก่อโรคเหี่ยวในพริก

พบว่าเชื้อรารหัส SB5 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อโรคได้มากที่สุด คือ 83.00% รองลงมา คือ เชื้อรารหัส B1 ยับยั้งเชื้อโรคได้ 75.60% ซึ่งเชื้อราทั้ง 2 ไอโซเลตนี้มีประสิทธิภาพสูงกว่าเชื้อราอื่นที่เหลืออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ระดับชีวโมเลกุลพบว่า เชื้อรารหัส SB5 คือ เชื้อ *Aspergillus flavus* และเชื้อรารหัส B1 คือ เชื้อ *Penicillium oxalicum*

นริสรา พานพ่วง และ สาวิตรี จันทรานุรักษ์ (2555 : 442-447) ศึกษาปริมาณธาตุอาหารหลักของพืชในปุ๋ย 3 ชนิดได้แก่ ปุ๋ยหมักธรรมชาติ ปุ๋ยมูลไส้เดือน โดยไส้เดือนดิน *Eudrilus eugeniae* และปุ๋ยหมัก พด.1 ผลการศึกษาพบว่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสเฟตทั้งหมด ปริมาณอินทรียวัตถุ และปริมาณอินทรีย์คาร์บอน ในปุ๋ยมูลไส้เดือน แตกต่างจากปุ๋ยหมักธรรมชาติ และปุ๋ยหมัก พด.1 อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) โดยปุ๋ยมูลไส้เดือนมีคุณสมบัติดังกล่าวมากที่สุด รองลงมา คือ ปุ๋ยหมักธรรมชาติและปุ๋ยหมัก พด. 1 ตามลำดับ

เกศกนก วงศ์ชยานันท์ และ คมกฤษณ์ แสงเงิน (2563 : 115-123) ศึกษาผลของปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนต่อการเจริญเติบโตของมะเขือเทศเชอรี่ โดยการใส่ปุ๋ยเคมีการใส่ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนในอัตราส่วนต่าง ๆ ได้แก่ 50, 100, 150, 200 และ 250 กรัมต่อต้น ผลการศึกษาพบการเจริญเติบโตของมะเขือเทศเชอรี่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 โดยการใส่ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนในอัตรา 50 กรัมต่อต้นมีความสูงของต้นมะเขือเทศเชอรี่มากที่สุดที่ระดับความสูง 103.40 เซนติเมตร

ชูชาติ ตรุษเพชร และคนอื่น ๆ (2566 : 1-55) ศึกษาผลการใช้ปุ๋ยหมักและมูลไส้เดือนดินในการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทเรียในมะเขือเทศ โดยศึกษาทดลองในแปลงของเกษตรกร และใช้แผนการทดลองแบบบล็อก และกำหนดตำรับการทดลองจำนวน 5 วิธีการ ผลการวิจัยพบว่า การใช้ปุ๋ยคอกและปุ๋ยหมักในวิธีการที่ 1-5 ตรวจสอบการเจริญเติบโตของต้นมะเขือเทศในช่วง 30 วัน และ 60 วัน ได้แก่ ความสูง การแตกใบ การออกดอกติดผล พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

ภิรมย อินทะนะ และณฐพงศ์ เมธินธรังสรรค์ (2564 : 82-91) เปรียบเทียบธาตุอาหารจากมูลไส่เดือนดิน (*Eudrilus eugeniae*) AF ตอการเจริญเติบโตของผักชี โดยใชสูตรอาหาร เช่น แตงโม + วัสดุรองพื้น, ฝรั่ง + วัสดุรองพื้น และวัสดุรองพื้น จากนั้นนำปุยมูลไส่เดือนดิน AF ที่ไดแตละการทดลอง มาวิเคราะห ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด ปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมด ปริมาณอินทรียคารบอน ปริมาณอินทรียวัตถุ อัตราส่วนคารบอนตอไนโตรเจน คาความเปนกรดและดางและคาการนำไฟฟา ผลการทดลองพบวาสูตรอาหารแตงโม + ฝรั่ง + วัสดุรองพื้นมีความแตกตางกันอยางมีนัยสำคัญ ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพรแทสเซียมและสารอินทรียในดินมีค่าเทากับ 78.1, 62.1 และ 96.1 39.06 เปอรเซ็นต ตามลำดับ

สมาพร เรืองสังข์ และจุฬารักษ์ ศรีศักดา (2563 : 190-199) ศึกษาการคัดแยกเชื้อราจากใบพืชผักสมุนไพรชนิดต่าง ๆ และนำมาทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราจากใบพืชที่แยกได้ในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อราก่อโรคในพริก โดยทำการแยกเชื้อรา 16 ไอโซเลตได้จากพืช 6 ชนิด เช่น กระเพรา สะระแหน่ มะละกอ เมื่อนำมาทดสอบการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อ *Fusarium* sp. ที่ก่อโรคเหี่ยวในพริก พบว่าเชื้อรารหัส SB5 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อโรคได้มากที่สุด คือ 83.00%

ภารดี แซ่อึ้ง และนารีภรณ์ สามิภักดิ์ (2564 : 127-138) ศึกษาผลของปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดินต่อการเจริญเติบโตของถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 84-1 และพันธุ์ชัยนาท 6 โดยวางแผนการทดลองแบบ 4x2 factorial in RCB (Randomized Complete Block) ผลการศึกษาพบว่า การเจริญเติบโตและผลผลิตของถั่วเขียวไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในแต่ละอัตราการใส่ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดิน และความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการใส่ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดินและพันธุ์ของถั่วเขียว ให้ค่าการเจริญเติบโตและผลผลิตไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

เพียงใจ เจียรวิชญกุล และพัฒนา สมนิยาม (2564 : 949-955) ทดสอบประสิทธิภาพปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนจากผักตบชวาต่อการเจริญเติบโต ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตของข้าวพันธุ์กข 41 โดยนำไส้เดือนพันธุ์ท้องถิ่น *Polypheretima elongata* (PE) กับไส้เดือนพันธุ์การค้า *Eudrilus eugeniae* (EE) มาเลี้ยงในอาหารที่มีอัตราส่วนของผักตบชวาและมูลวัวต่างกัน 4 อัตรา ได้แก่ ผักตบชวา (ควบคุม), ผักตบชวา (WH): มูลวัว (CM) 3:1, 4 :1 และ 5:1 ผลการศึกษาพบว่า EE จะให้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนปริมาณ total N และอินทรียวัตถุสูงกว่า PE แต่มีปริมาณ total P, total K และ pH ไม่แตกต่างกัน และเมื่อนำปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนที่ได้ไปทดสอบกับข้าวพันธุ์ กข 41 พบว่าการใช้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนทั้งสองชนิดไม่มีผลต่อความสูง และจำนวนต้นต่อกอ

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

โครงการย่อยที่ 1 กระบวนการผลิตปุ๋ยมูลไส้เดือน และน้ำหมักชีวภาพ จากฐานภูมิปัญญาและทรัพยากรชุมชน

1. วัสดุอุปกรณ์ในการดำเนินงานวิจัย

ศึกษาวัสดุเหลือทิ้งจากธรรมชาติ องค์ประกอบ วัสดุอุปกรณ์ต่าง ๆ รวมทั้งสายพันธุ์ของไส้เดือนที่ชุมชนนำมาใช้ในการผลิตปุ๋ยมูลไส้เดือนดิน ดังรายละเอียดด้านล่างนี้

วัสดุอุปกรณ์

1. มูลวัวนม(ปราศจากสับปะรด)
2. ขุยมะพร้าว
3. ผักตบชวา,เศษผัก
4. เครื่องร่อนมูลไส้เดือน
5. เครื่องผสมปุ๋ย
6. กระบะไม้สำหรับเลี้ยง
7. กะละมัง
8. กระบวยรดน้ำ

สายพันธุ์ของไส้เดือน (ใส่ภาพไส้เดือนทุกชนิด)

1. African Night Crawler:AF
2. European nightcrawler, *Eisenia hortensis*
3. Blue worm

2. ศึกษากระบวนการผลิตปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน น้ำหมักมูลไส้เดือน และน้ำหมักชีวภาพจากพืชท้องถิ่น

ประกอบไปด้วย การศึกษาชีววิทยาของไส้เดือน ปัจจัยการเลี้ยง การผสมพันธุ์และการขยายพันธุ์ ขั้นตอนการเลี้ยงไส้เดือน และผลผลิตจากการเลี้ยงไส้เดือนของชุมชนเป้าหมาย พร้อมทั้งทำการสัมภาษณ์เกษตรกรผู้เลี้ยงไส้เดือนดิน โดยมีหัวข้อต่าง ๆ ดังนี้

2.1 ศึกษาชีววิทยาของไส้เดือนทั้งสามสายพันธุ์ ได้แก่ ลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอก ปัจจัยการเลี้ยง การผสมพันธุ์และการขยายพันธุ์ เป็นต้น

2.2 ศึกษาขั้นตอนการเลี้ยงไส้เดือน ได้แก่ การเลี้ยงรูปแบบรวมสามสายพันธุ์ตามภูมิปัญญาของชุมชน

2.3 ศึกษาผลผลิตของการเลี้ยงไส้เดือน ได้แก่ ไส้เดือน และปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน (vermicompost) ในแต่ละรูปแบบ

2.4 ศึกษากระบวนการผลิตน้ำหมักมูลไส้เดือน (worm tea) จากภูมิปัญญาของชุมชน ตั้งแต่ขั้นตอนการเตรียมวัสดุอุปกรณ์ และอาหารสำหรับจุลินทรีย์

2.5 ศึกษากระบวนการผลิตน้ำหมักชีวภาพจากพืชท้องถิ่น จากภูมิปัญญาของชุมชน ตั้งแต่ขั้นตอนการเตรียมวัสดุอุปกรณ์ อัตราส่วน และอาหารสำหรับจุลินทรีย์ เพื่อเป็นข้อมูลการวิจัยในโครงการย่อยที่ 2 และ 3 ตามลำดับ

2.6 วิเคราะห์ และสรุปผลการศึกษา เพื่อนำไปสู่การจัดการความรู้ในการเลี้ยงไส้เดือน เพื่อผลิตเป็นปุ๋ยมูลไส้เดือน น้ำหมักมูลไส้เดือน และน้ำหมักชีวภาพจากพืช ให้กับชุมชนเป้าหมาย

โครงการวิจัยย่อยที่ 2 การยับยั้งเชื้อราสาเหตุของโรคพริกโดยใช้สารชีวภัณฑ์ร่วมกับการใช้มูลไส้เดือนทางห้องปฏิบัติการ

งานวิจัยมีการใช้สารเคมี วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือ ดังนี้

1. อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

1.1 แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ (95% Alcohol)

1.2 แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ (70% Alcohol)

1.3 อะกาโรสเจล (Agarose Gel)

1.4 เดทตอล (Dettol)

1.5 PCR 2x Master mix (Apsalagen,Thailand)

1.6 น้ำกลั่น เกรด PCR (Apsalagen,Thailand)

1.7 TAE Buffer (50x) (Serva, Germany)

1.8 RedSafe (iNtRON, Korea)

1.9 100 bp DNA Ladder (GenedireX, USA)

1.10 สีย้อม lactophenol cotton blue (HIMEDIA, India)

1.11 ชุดสกัด DNA (FavoPrep^{TM}, Taiwan)

1.12 ชุดทำบริสุทธิ์ผลิตภัณฑ์ PCR (PureDireX^{TM}, Taiwan)

1.13 อาหาร Potato Dextrose Broth (PDB) (Himedia, India)

1.14 วุ้น (Agar)

2. วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

2.1 จานเพาะเลี้ยงเชื้อ (Petri dish)

2.2 หลอดเซนติฟิวจ์ (Microcentrifuge tube) ขนาด 15 มิลลิลิตร

2.3 ไมโครปิเปตทิป (Micropipette tip) ขนาด 2-10, 20-200 และ 100-1000 ไมโครลิตร

2.4 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol burner)

2.5 ถุงพลาสติก

2.6 บีกเกอร์ (Beaker)

2.7 แท่งแก้วคนสาร (Stirring rod)

2.8 ขวดแก้ว ขนาด 250 มิลลิลิตร

2.9 ถุงมือยาง (Dura, Thailand)

2.10 ปากคีบ (Forcep)

2.11 ไม้บรรทัด (Ruler)

2.12 เข็มเขี่ยปลายงอ

2.13 ใบมีดผ่าตัด

2.14 ช้อนตักสาร (Spatula)

2.15 กระบอกตวง (Cylinder) ขนาด 100 และ 1,000 มิลลิลิตร

2.16 กระดาษอลูมิเนียมฟอยด์ (Aluminum foil)

2.17 พาราฟิล์ม (Parafilm)

2.18 ที่วางหลอดทดลอง (Rack)

2.19 กรรไกร

2.20 ขวดดูแรน (Laboratory bottle) ขนาด 250, 500 และ 1,000 มิลลิลิตร

2.21 หลอด microcentrifuge tube ขนาด 0.2 และ 1.5 ml

2.22 กระจกสไลด์ (Glass slide)

2.23 กระจกปิดสไลด์ (Cover slip)

2.24 แท่งบด (Micropestle)

2.25 ห่วงถ่ายเชื้อ (loop)

3. เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

3.1 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow)

3.2 หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave)

3.3 ตู้อบความร้อนแห้ง (Hot air oven)

3.4 เครื่องชั่งดิจิตอล (Analytical Balance)

3.5 ไมโครเวฟ (Microwave)

3.6 กล่องพลาสติกเก็บตัวอย่าง

3.7 ไมโครปิเปต (Micropipette)

3.8 ตู้บ่มเชื้อ (Incubater)

3.9 เครื่องปั่นผสม (Vortex) (scientific industries, USA)

3.10 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) (FOUR E'S scientific, China)

3.11 เครื่อง Electrophoresis (Mupid, Japan)

3.12 ตู้เย็น -70 องศาเซลเซียส (Deep freezer) และ -20 องศาเซลเซียส

3.13 เครื่องฉายแสงยูวี (UV-transluminator) (BioGenomed, France)

3.14 เครื่อง Thermal Cycler T100 (BIO-RAD, USA)

3.15 เครื่อง Thermal box (FOUR E'S scientific, China)

3.16 กล้องจุลทรรศน์

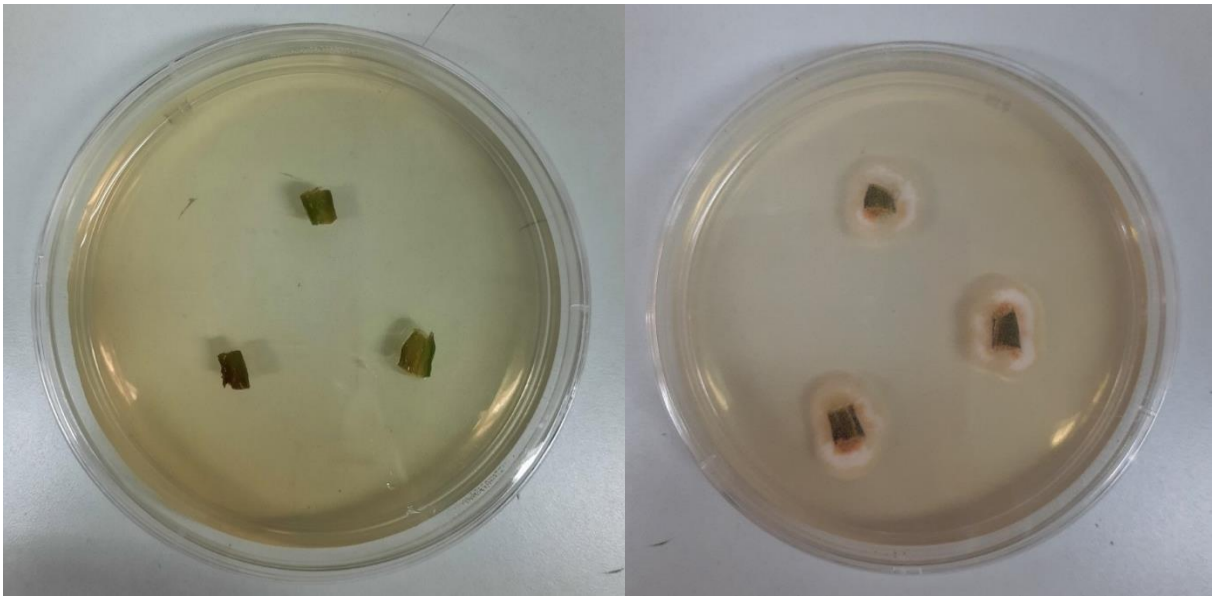
4. วิธีดำเนินการวิจัย

1. การคัดแยกเชื้อราสาเหตุของโรคในผลพริก

เก็บผลพริกที่มีอาการของโรคจากแปลงของเกษตรกร อำเภอโป่งน้ำร้อน จังหวัดจันทบุรี (ภาพที่ 3.1 และ 3.2) ตัดชิ้นส่วนของพริกที่มีรอยโรคและบริเวณที่มีเนื้อเยื่อปกติ นำมาฆ่าเชื้อภายนอกโดยการแช่ใน 1% Sodium hypochlorite เป็นเวลา 3 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 3 ครั้ง จากนั้นนำชิ้นส่วนพริกมาวางบนอาหารวุ้น PDA (Potato Dextrose Agar) (ภาพที่ 3.3) บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3-5 วัน สังเกตลักษณะโคโลนีที่เจริญออกมาจากชิ้นส่วนของพริก แล้วทำการคัดเลือกโคโลนีที่มีลักษณะแตกต่างกัน นำมาแยกเชื้อบริสุทธิ์บนอาหาร PDA อีกครั้ง

ภาพที่ 3.1 พริกที่ปกติและพริกที่แสดงอาการของโรคจากแปลงของเกษตรกร อำเภอโป่งน้ำร้อน จังหวัดจันทบุรี

ภาพที่ 3.2 รอยโรคของพริกที่ถูกทำลายโดยเชื้อรา

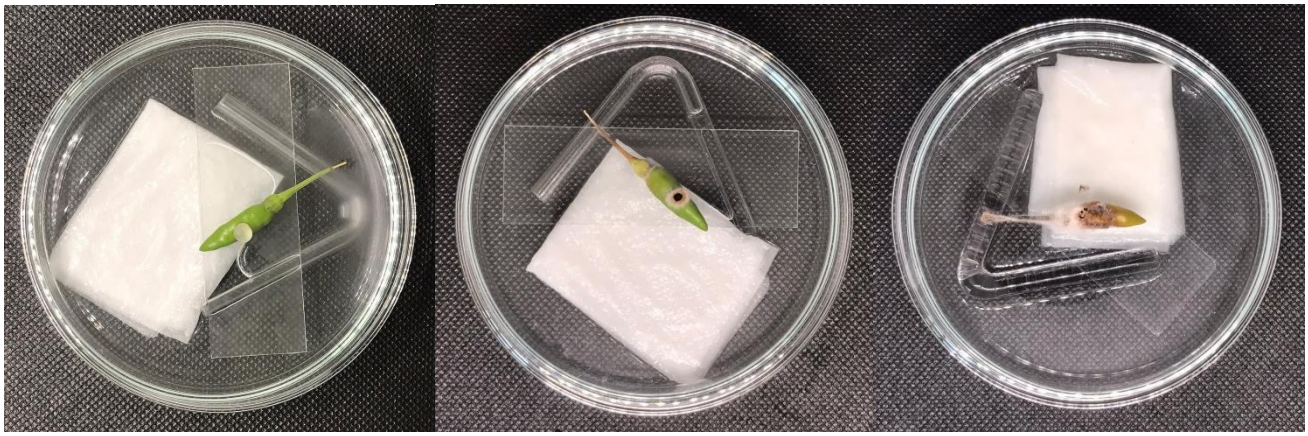


ภาพที่ 3.3 การแยกเชื้อราจากเนื้อเยื่อของพริกที่เป็นโรค

2. การพิสูจน์การเกิดโรค

นำเชื้อราที่แยกได้มาทำการติดเชื้อบนผลพริกปกติ เพื่อพิสูจน์การเกิดโรคตามทฤษฎีของ Koch (Koch's postulation) โดยใช้ cock borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลิเมตร ทำการเจาะวุ้นส่วนขอบโคโลนีของเชื้อรามาวางบนผลพริกที่ไม่เป็นโรค บ่มที่อุณหภูมิห้อง แล้วทำการสังเกตรอยโรคที่เกิดขึ้นบนผลพริก เมื่อสังเกตเห็นผลพริกมีรอยโรคเกิดขึ้น จึงทำการตัดชิ้นส่วนเนื้อเยื่อพริกมาวางบนอาหารวุ้น PDA แล้วสังเกตลักษณะโคโลนีและทำการแยกเชื้อซ้ำลงบนอาหาร PDA อีกครั้งหนึ่ง

สังเกตลักษณะโคโลนีและศึกษาลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วยการเตรียม slide culture เพื่อเป็นข้อมูลทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 3.4)

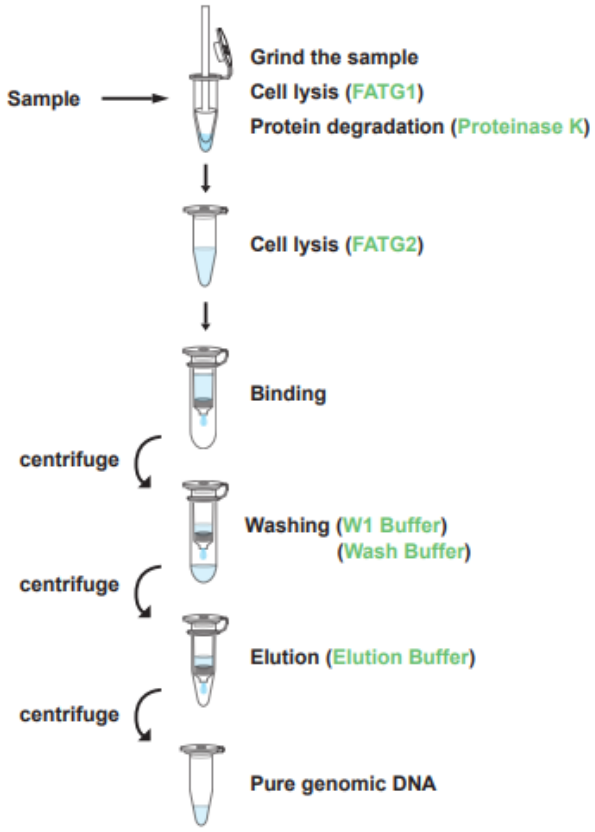


ภาพที่ 3.4 การพิสูจน์การเกิดโรคตามทฤษฎีของ Koch (Koch's postulation)

3. การตรวจสอบเชื้อราสาเหตุโรคทางอณูชีววิทยา

3.1 การสกัด DNA

นำเชื้อราที่ผ่านการพิสูจน์แล้วว่าเป็นเชื้อราก่อโรคพริกจริง นำมาทำการสกัด DNA ด้วยชุดสกัด FavoPrep^{TM} Tissue Genomic DNA Extraction Mini Sample Kit (ภาพที่ 3.5) โดยวิธีการตามคู่มือ (Flavogen, Taiwan)



ภาพที่ 3.5 การสกัด DNA ด้วยชุดสกัด FavoPrep™

ที่มา : (Favorgen, 2022)

3.2 การเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยเทคนิค PCR (Polymerase Chain Reaction)

ทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยเทคนิค PCR เพื่อเพิ่มชิ้นส่วน DNA จำนวน 3 ตำแหน่ง คือ ITS (Internal Transcribed Spacer), GAPDH (Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase) และ TUB2 (Beta-tubulin2) ด้วย primer ดังตารางที่ 3.1 โดยมีส่วนประกอบปฏิกิริยา PCR ดังตารางที่ 3.2 และสภาวะการทำปฏิกิริยา PCR ดังตารางที่ 3.3-3.5

ตารางที่ 3.1 Primer ที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของเชื้อราก่อโรคในพริก

DNA target	Primer	Sequence (5’ to 3’)	PCR product	Reference
ITS	ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	600 bp	Raja, H.A., et al. (2017)
	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC		
GAPDH	GDF-F	GCCGTCAACGACCCCTTCATTGA	300-400 bp	Khodadadi, F., et al. (2020)
	GDF-R	GGGTGGAGTCGTACTTGAGCATGT		
TUB2	T1-F	AACATGCGTGAGATTGTAAGT	600-800 bp	Khodadadi, F., et al. (2020)
	T2-R	TAGTGACCCTTGGCCCAGTTG		

ตารางที่ 3.2 ส่วนประกอบปฏิกิริยา PCR ในปริมาตร 20 ไมโครลิตร

ส่วนประกอบ	ปริมาตร (µl)	Final concentration
น้ำกลั่น	6	-
2x mastermix	10	1x
Forward Primer	1	0.5 µM
Reverse Primer	1	0.5 µM
DNA template	2	-

ตารางที่ 3.3 สภาวะการทำปฏิกิริยา PCR สำหรับตำแหน่ง ITS

PCR profile	Cycle number	Temperature	Time
Initial denaturation	1	95 ºC	3 min
Denaturation	35	95 ºC	30 sec
Annealing		52 ºC	30 sec
Extension		72 ºC	1 min
Final extension	1	72 ºC	10 min

ตารางที่ 3.4 สภาวะการทำปฏิกิริยา PCR สำหรับตำแหน่ง GAPDH

PCR profile	Cycle number	Temperature	Time
Initial denaturation	1	95 ºC	3 min
Denaturation	35	95 ºC	30 sec
Annealing		61 ºC	30 sec
Extension		72 ºC	45 sec
Final extension	1	72 ºC	10 min

ตารางที่ 3.5 สภาวะการทำปฏิกิริยา PCR สำหรับตำแหน่ง TUB2

PCR profile	Cycle number	Temperature	Time
Initial denaturation	1	95 ºC	3 min
Denaturation	35	95 ºC	30 sec
Annealing		60 ºC	30 sec
Extension		72 ºC	45 sec
Final extension	1	72 ºC	10 min

3.3 การตรวจสอบผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยา PCR ด้วยเทคนิค gel electrophoresis

ทำการตรวจสอบผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยา PCR (PCR product) ด้วยเทคนิค gel electrophoresis โดยใช้ แผ่นเจล 2% agarose gel ที่ผสม RedSafe (iNtRONbiotechnology, Korea) แล้วใช้ไมโครปิเปตดูดสี (loading dye) หยดสีลงบนแผ่นพาราฟิล์ม (parafilm) เป็นหยดเล็ก ๆ (ประมาณ 2 µl) แล้วปิเปต PCR product (5 µl) ผสมกับหยดสีที่เตรียมไว้ แล้วทำการปิเปตลงในหลุมบนแผ่นเจลที่เตรียมไว้แล้วในเครื่องอิเล็กโตรโฟริซิส โดยมี 100 bp DNA Ladder (GenedireX, USA) เพื่อบอกขนาดของ PCR product ในการรันเจลจะใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ (V) เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำเจลมาส่องด้วยเครื่อง UV-Transilluminator เพื่อสังเกตแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้น

3.4 การทำผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยา PCR ให้บริสุทธิ์ (Purified PCR product)

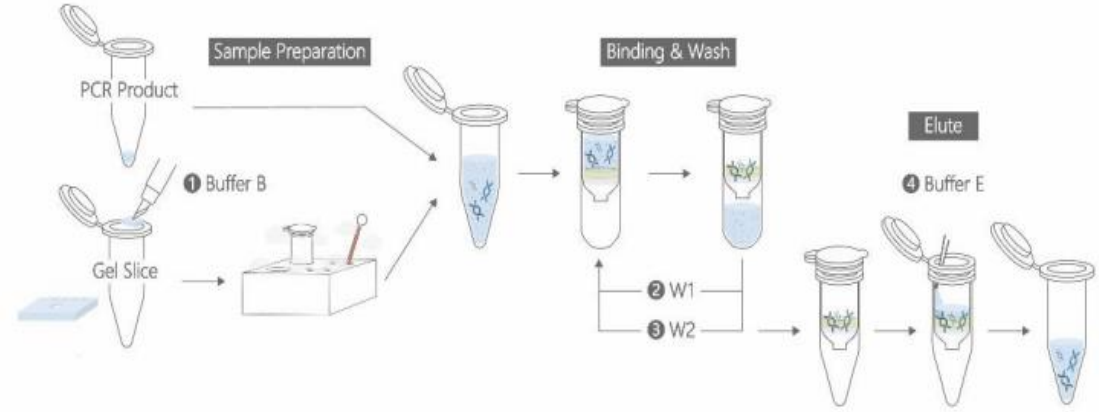
นำ DNA ของเชื้อรามาทำการเพิ่มปริมาณ DNA ตำแหน่ง ITS (Internal Transcribed Spacer), GAPDH (Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase) และ TUB2 (Beta-tubulin2)

ด้วยปฏิกิริยา PCR 50 µl (ตารางที่ 3.6) ทั้งหมด 4 หลอดต่อเชื้อรา 1 ชนิด เพื่อให้ได้ปริมาตรรวมเท่ากับ 200 µl โดยใช้สภาวะการทำปฏิกิริยา PCR ดังตารางที่ 3.3-3.5

ตารางที่ 3.6 ส่วนประกอบปฏิกิริยา PCR ในปริมาตร 50 ไมโครลิตร

Composition	50 µl reaction	Final concentration
DW	18 µl	-
2x Master mix	25 µl	1x
Primer ITS1	2.5 µl	0.5 µM
Primer ITS4	2.5 µl	0.5 µM
DNA template	2 µl	-

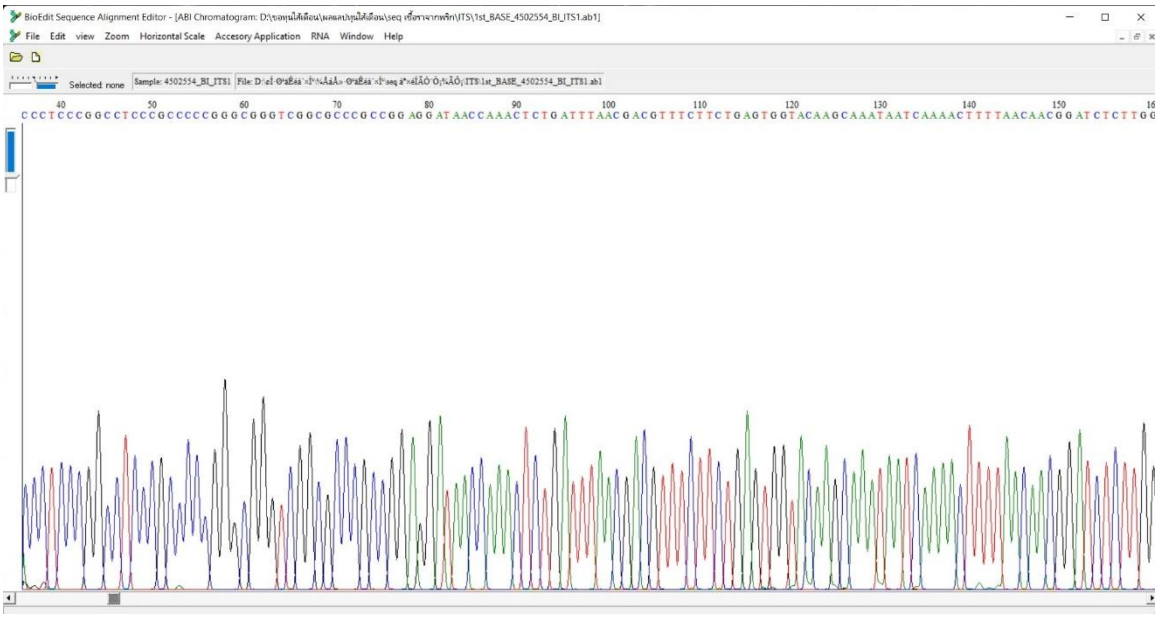
โดย PCR product ที่ได้จะถูกทำให้บริสุทธิ์ด้วยชุดทำบริสุทธิ์ผลิตภัณฑ์ PCR (PureDireX™, Taiwan) (ภาพที่ 3.6) แล้วนำส่งตรวจสอบหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA sequencing)



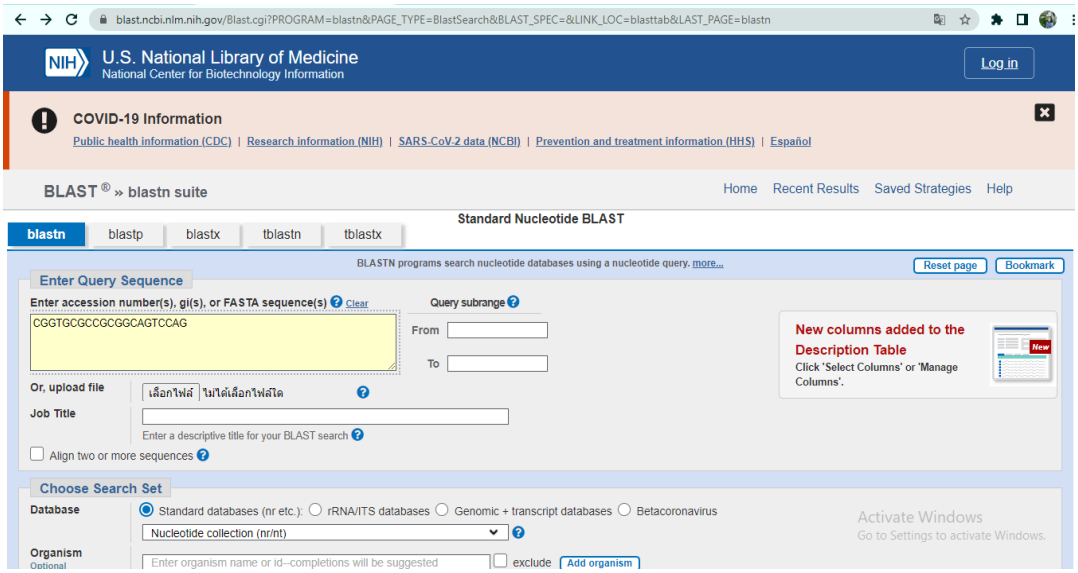
ภาพที่ 3.6 การทำผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยา PCR ให้บริสุทธิ์ด้วยชุดสำเร็จรูป PureDireX™
ที่มา : (Bio-helix, 2021)

3.5 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล

นำ PCR product ที่ได้ส่งไปยังบริษัท ATGC (ปทุมธานี ประเทศไทย) เพื่อทำการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ โดยทางบริษัทจะส่งผลการวิเคราะห์เป็นไฟล์ข้อมูลผ่านช่องทางอีเมลล์ จากนั้นจะทำการตรวจสอบคุณภาพของลำดับนิวคลีไอไทด์ที่ได้ โดยใช้โปรแกรม BioEdit Sequence Alignment Editor โดยนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ถูกต้องแล้วใส่ในโปรแกรม BLAST N (Basic Local Alignment Search Tool) ในฐานข้อมูล GenBank ของ National Center for Biotechnology Information: NCBI) (https: / / blast. ncbi. nlm. nih. gov/ Blast. cgi) และฐานข้อมูล MycoBank **(**https://www.mycobank.org/page/Pairwise_alignment**)** เพื่อตรวจสอบร้อยละความคล้ายคลึง (percent similarity) และทำการระบุชนิดของเชื้อรา (ภาพที่ 3.7-3.9)

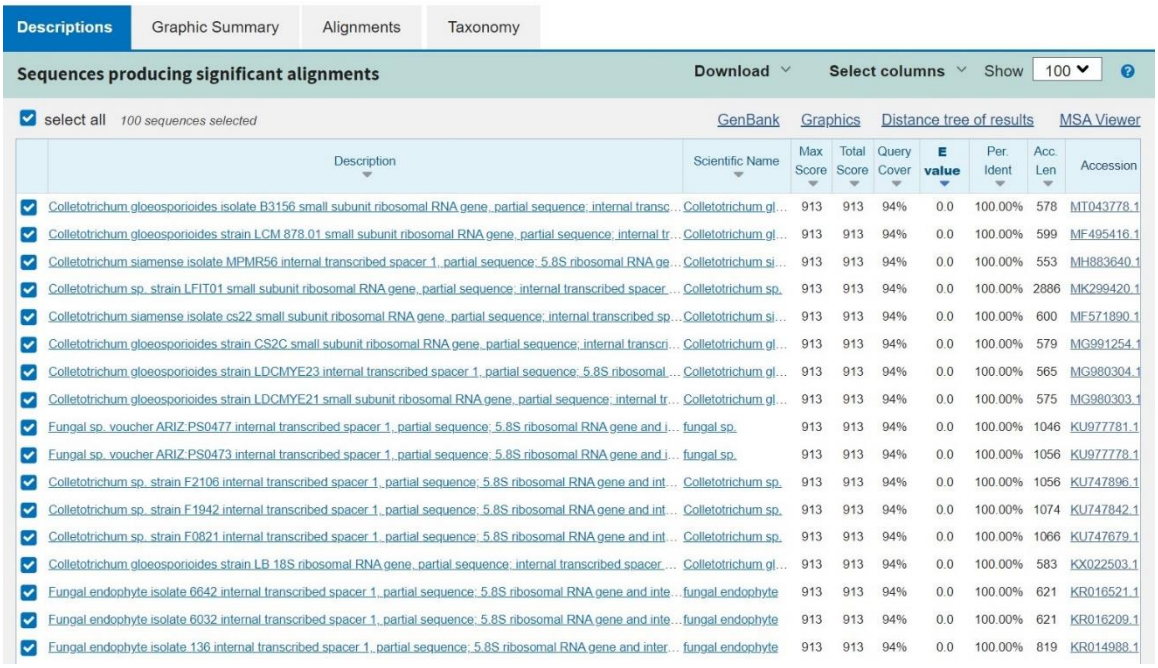


ภาพที่ 3.7 ตัวอย่างผล DNA sequencing โดยโปรแกรม BioEdit



ภาพที่ 3.8 หน้าต่างโปรแกรม BLAST N

ที่มา : (NCBI, 2022)



ภาพที่ 3.9 ตัวอย่างผลการ BLAST

ที่มา : (NCBI, 2022)

3.6 การศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (Phylogenetic analysis)

ลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง ITS (Internal Transcribed Spacer), GAPDH (Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase) และ TUB2 (Beta-tubulin2) จากเชื้อรา ได้ถูกนำมาวิเคราะห์โดยวิธี Neighbor-Joining method เพื่อสร้างแผนภูมิ Phylogenetic tree (Saiton & Nei, 1987: 406-425; Felsenstein, J., 1985 : 783-791; Tamura, Nei, & Kumar, S., 2004 : 11030-5) โดยใช้โปรแกรม MEGA X (Kumar et al. 2018 : 1547-1549)

4. การเตรียมเชื้อราก่อโรคสำหรับการทดลอง

นำเชื้อราก่อโรคที่แยกได้มาทำการต่อเชื้อ (sub culture) บนอาหารวุ้น PDA slant จำนวนหลาย ๆ หลอดแล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง โดยจะนำเชื้อแต่ละหลอดมาใช้ เพื่อหลีกเลี่ยงการต่อเชื้อบ่อยอันจะทำให้เชื้อราสาเหตุโรคพืชสูญเสียความสามารถในการก่อโรคได้ และทำการเก็บรักษาเชื้อราโดยเก็บภายใต้น้ำมันแร่ (liquid paraffin)

5. การทดสอบสารชีวภัณฑ์ ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน และสารเคมีในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคพริกในห้องปฏิบัติการ

ทำการทดสอบเชื้อราสาเหตุโรคพริกกับสารชีวภัณฑ์ (น้ำหมักชีวภาพ) ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน และสารเคมี ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 การทดลองย่อย ดังนี้

5.1 การทดสอบกับน้ำหมักชีวภาพ

ทำการกรองน้ำหมักชีวภาพด้วยผ้าขาวบางและกระดาษกรอง Whatman No.1 เพื่อกรองเอาตะกอนขนาดใหญ่ออก แล้วจึงทำการกรองอีกครั้งด้วยกระดาษกรองขนาดรู 0.22 µm เพื่อกรองจุลินทรีย์ออก จากนั้นทำการเตรียมอาหาร PDA ในน้ำกลั่น ทำการนึ่งฆ่าเชื้ออาหาร PDA แล้วจึงผสมน้ำหมักชีวภาพ ดังตารางที่ 3.7 ทำการทดสอบเชื้อราก่อโรคกับอาหาร PDA ที่ผสมน้ำหมักชีวภาพ โดยเพาะเลี้ยงเชื้อราก่อโรคบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน ใช้ cork borer เส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เจาะขอบโคโลนีของเชื้อราก่อโรควางบนอาหาร PDA ที่ผสมน้ำหมักชีวภาพ บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน ทำการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี ในการทดสอบนี้จะทำการเพาะเชื้อบนอาหาร PDA เพื่อเป็นจานควบคุม และทำการทดสอบอย่างน้อย 3 ซ้ำ

ตารางที่ 3.7 การเตรียมอาหาร PDA ที่ผสมน้ำหมักชีวภาพ

อาหาร PDA+น้ำหมักชีวภาพ	น้ำหมักชีวภาพ (ml)	น้ำกลั่น (ml)	PDB (g)	Agar (g)
PDA+น้ำหมัก 60%	60	40	2.4	1.5
PDA+น้ำหมัก 40%	40	60	2.4	1.5
PDA+น้ำหมัก 20%	20	80	2.4	1.5
PDA+น้ำหมัก 10%	10	90	2.4	1.5
PDA	0	100	2.4	1.5

5.2 การทดสอบกับสารละลายปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน

ชั่งปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน 10, 20 และ 40 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 ml ปั่นด้วย magnetic stirrer เป็นเวลา 1 ชั่วโมง กรองน้ำสารละลายปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนด้วยผ้าขาวบางและกระดาษกรอง Whatman No.1 ทำการปรับปริมาตรให้ครบ 50 ml แล้วจึงทำการกรองอีกครั้งด้วยกระดาษกรองขนาดรู 0.22 µm จากนั้นทำการเตรียมอาหาร PDA ในน้ำกลั่น 50 ml นึ่งฆ่าเชื้อแล้วจึงเติมสารละลายปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนที่ผ่านการกรองเรียบร้อยแล้ว ดังตารางที่ 3.8 ทำการทดสอบเชื้อราก่อโรคกับอาหาร PDA ที่ผสมสารละลายปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน โดยเลี้ยงเชื้อราก่อโรคบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน ใช้ cork borer เส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เจาะขอบโคโลนีของเชื้อราก่อโรควางบนอาหาร PDA ที่ผสมสารละลายปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน ทำการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี ในการทดสอบนี้จะทำการเพาะเชื้อบนอาหาร PDA เพื่อเป็นจานควบคุม และทำการทดสอบอย่างน้อย 3 ซ้ำ

ตารางที่ 3.8 การเตรียมอาหาร PDA ที่ผสมน้ำสารละลายปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน

อาหาร PDA+สารละลายปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน (g)	น้ำกลั่น (ml)	PDB (g)	Agar (g)
PDA+มูลไส้เดือน 40%	40	100	2.4	1.5
PDA+มูลไส้เดือน 20%	20	100	2.4	1.5
PDA+มูลไส้เดือน 10%	10	100	2.4	1.5
PDA	0	100	2.4	1.5

5.3 การทดสอบกับสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา

ชั่งสารเคมียับยั้งเชื้อราแมนโคเซบ (mancozeb) 0.9, 0.6, 0.3, 0.15 และ 0.075 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 ml ปั่นด้วย magnetic stirrer เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำการปรับปริมาตรให้ครบ 50 ml แล้วจึงทำการกรองด้วยกระดาษกรองขนาดรู 0.22 µm จากนั้นทำการเตรียมอาหาร PDA ในน้ำกลั่น 50 ml นึ่งฆ่าเชื้อแล้วจึงเติมสารละลายสารเคมียับยั้งเชื้อราที่ผ่านการกรองเรียบร้อยแล้ว ดังตารางที่ 3.9 ทำการทดสอบเชื้อราก่อโรคกับอาหาร PDA ที่ผสมสารเคมียับยั้งเชื้อรา โดยเลี้ยงเชื้อราก่อโรคบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน ใช้ cork borer เส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เจาะขอบโคโลนีของเชื้อราก่อโรควางบนอาหาร PDA ที่ผสมสารเคมียับยั้งเชื้อรา บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน ทำการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี ในการทดสอบนี้จะทำการเพาะเชื้อบนอาหาร PDA เพื่อเป็นจานควบคุม และทำการทดสอบอย่างน้อย 3 ซ้ำ

ตารางที่ 3.9 การเตรียมอาหาร PDA ที่ผสมสารเคมียับยั้งเชื้อรา

อาหาร PDA+สารเคมียับยั้งเชื้อรา	**สารเคมี (g)**	**น้ำกลั่น (ml)**	**PDB (g)**	**Agar (g)**
PDA+สารเคมี 0.9%	0.9	100	2.4	1.5
PDA+สารเคมี 0.6%	0.6	100	2.4	1.5
PDA+สารเคมี 0.3%	0.3	100	2.4	1.5
PDA+สารเคมี 0.15%	0.15	100	2.4	1.5
PDA+สารเคมี 0.075%	0.075	100	2.4	1.5
PDA	0	100	2.4	1.5

6. การศึกษาจุลินทรีย์ในสารชีวภัณฑ์และปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนที่สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพริก

6.1 การตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ในสารชีวภัณฑ์และปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน

เก็บตัวอย่างมูลไส้เดือนและสารชีวภัณฑ์จากผลิตภัณฑ์ของวิสาหกิจชุมชน อำเภอโป่งน้ำร้อน จังหวัดจันทบุรี ดังภาพที่ 3.10 จำนวน 3 รอบการผลิต นำตัวอย่างในแต่ละรอบการผลิตมาทำการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ในมูลไส้เดือนและสารชีวภัณฑ์โดยการทำ total plate count ด้วยการนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดบนอาหาร Plate count agar (PCA) และจำนวนเชื้อราทั้งหมดบนอาหาร Dichloran

rose bengal chloramphenicol agar (DRBC) ตามวิธีการมาตรฐานของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข, 2557: 1-207)

ภาพที่ 3.10 ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนและสารชีวภัณฑ์จากผลิตภัณฑ์ของวิสาหกิจชุมชน อำเภอโป่งน้ำร้อน จังหวัดจันทบุรี

6.2 การคัดแยกเชื้อราและแบคทีเรียจากสารชีวภัณฑ์และปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน

ทำการคัดแยกตัวอย่างเชื้อราและแบคทีเรียที่มีลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกันเพื่อนำมาทดสอบกับเชื้อราสาเหตุโรคพริก โดยทำการแยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค point inoculation ใช้เข็มเขี่ยปลายงอแตะส่วนของเชื้อราลงบนกลางจานอาหาร PDA ในลักษณะคว่ำจาน บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3-7 วัน และทำการแยกเชื้อแบคทีเรียให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค cross streak ใช้ห่วงถ่ายเชื้อ (loop) ขีดลากเป็น 4 ระนาบบนอาหาร NA บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

6.3 การทดสอบคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพริกกับเชื้อราที่แยกได้

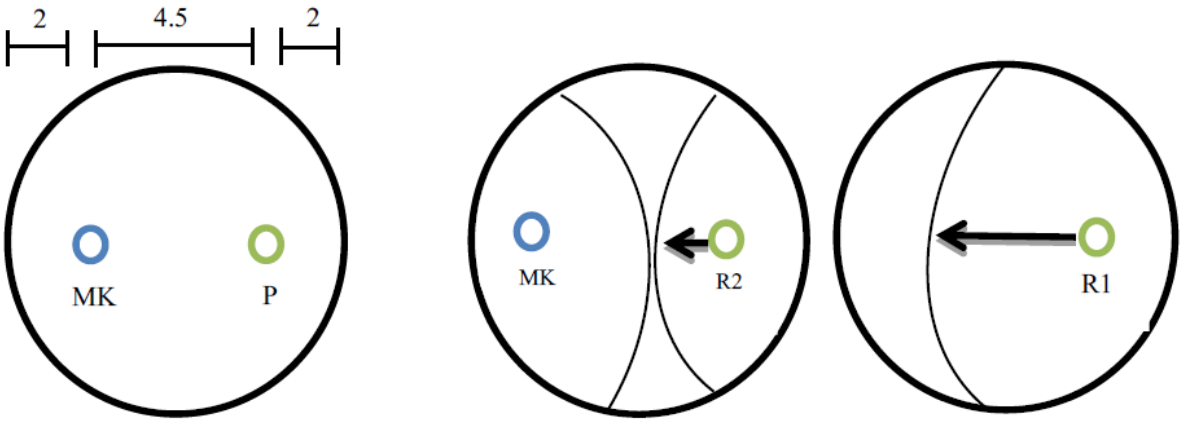
ทำการเพาะเชื้อราที่แยกได้ร่วมกับเชื้อราสาเหตุโรคบนจานเพาะเชื้อเดียวกัน (dual culture) โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เจาะขอบโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคพริกและเชื้อราที่แยกได้จากสารชีวภัณฑ์และมูลไส้เดือน อายุ 7 วัน นำมาวางบนอาหาร PDA โดยวางห่างจากขอบจาน 2 เซนติเมตร ในทิศทางตรงข้ามกัน ดังภาพที่ 3.11-3.12 โดยมีจานเพาะเชื้อราสาเหตุโรคพริกเพียงอย่างเดียวเป็นจานควบคุมและทำการทดลอง 3 ซ้ำ ทำการคำนวนร้อยละการยับยั้งจากรัศมีการเจริญของ

โคโลนีเชื้อสาเหตุโรคในจานควบคุม (R1) และในจานที่เพาะเชื้อร่วมกันกับเชื้อราที่แยกได้จากสารชีวภัณฑ์และมูลไส้เดือน (R2) โดยมีสูตรการคำนวน คือ

ร้อยละการยับยั้ง = [(R1-R2)/R1x100]

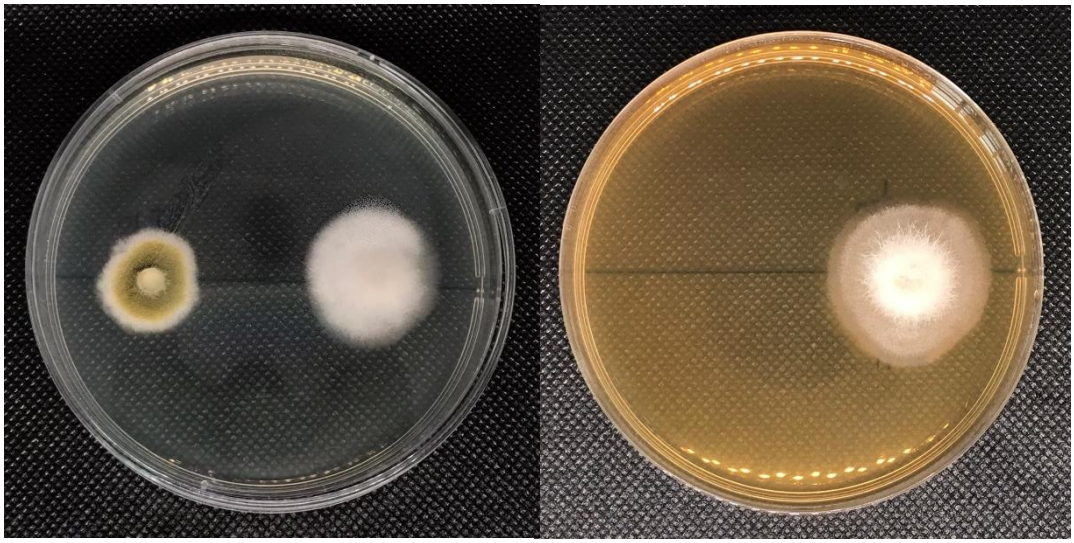
R1 = ความยาวรัศมีโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคพริกในจานควบคุม

R2 = ความยาวรัศมีโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคพริกในจานทดสอบ



ภาพที่ 3.11 การวางตำแหน่งชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยของเชื้อราเพื่อทดสอบการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพริกกับเชื้อราที่แยกได้ MK=เชื้อราที่แยกได้จากสารชีวภัณฑ์และมูลไส้เดือน; P=เชื้อราก่อโรคพริก; R1=ความยาวรัศมีโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคพริกในจานควบคุม; R2=ความยาวรัศมีโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคพริกในจานทดสอบ

ที่มา : (วนิดา ชื่นชัน และคนอื่น ๆ, 2562 : 56)



ภาพที่ 3.12 การทดสอบการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพริกกับเชื้อราที่แยกได้ ซ้าย: จานทดสอบ ขวา : จานควบคุม

6.4 การระบุชนิดเชื้อราที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพริก

6.4.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ทำการเพาะเชื้อราที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพริกบนอาหาร PDA ศึกษาลักษณะโคโลนี สีเส้นใย สีสปอร์ ลักษณะด้านหลังอาหาร อัตราการเจริญ และศึกษาลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยการเตรียมสไลด์ด้วยเทคนิค slide culture ทำการสังเกตการมีผนังกั้นของเส้นใย สีของเส้นใย ลักษณะของสปอร์ สีของสปอร์ และโครงสร้างพิเศษต่าง ๆ

6.4.2 การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเทคนิคทางอณูชีววิทยา

นำเชื้อราที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราก่อโรคพริก นำมาทำการสกัด DNA ด้วยชุดสกัดสำเร็จรูปโดยวิธีการตามคู่มือ (Flavogen, Taiwan) แล้วทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยเทคนิค PCR (Polymerase Chain Reaction) เพื่อเพิ่มชิ้นส่วน DNA จำนวน 3 บริเวณ คือ ITS (Internal Transcribed Spacer), RPB2 (DNA-directed RNA polymerase II subunit 2) และ TEF1 (Translation elongation factor 1) ด้วย primer ดังตารางที่ 3.10 โดยมีส่วนประกอบปฏิกิริยา PCR ดังตารางที่ 3.2 และสภาวะการทำปฏิกิริยา PCR ดังตารางที่ 3.3 และ 3.11-3.12 แล้วทำการตรวจสอบ PCR product ด้วยเทคนิค gel electrophoresis ที่กำลังไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที โดยใช้ 2% agarose gel ที่ผสม RedSafe (iNtRONbiotechnology, Korea) โดย PCR product ที่ได้จะถูกทำให้

บริสุทธิ์ด้วยชุดทำบริสุทธิ์ผลิตภัณฑ์ PCR (PureDireX™, Taiwan) ดังวิธีการตามคู่มือ แล้วนำส่งตรวจสอบหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA sequencing) ที่บริษัท ATGC (ปทุมธานี ประเทศไทย) จากนั้นนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ไปทำการ BLAST ในฐานข้อมูล GenBank และสร้างแผนภูมิ Phylogenetic tree เพื่อตรวจสอบและยืนยันชนิดของเชื้อราที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราก่อโรคในพริก ดังอธิบายในหัวข้อ 3

ตารางที่ 3.10 Primer ที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของเชื้อราที่มีฤทธิ์ยับยั้ง

DNA target	Primer	Sequence (5' to 3')	PCR product	Reference
ITS	ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	600 bp	Raja et al.
	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC		(2017)
RPB2	fRPB2-5f	GAYGAYMGWGATCAYTTYGG	1,200 bp	Xing, (2018)
	fRPB2-7cR	CCCATRGCTTGYTTRCCCAT		
TEF-1	EF1-983F	GCYCCYGGHCAYCGTGAYTTYAT	500 bp	Xing, (2018)
	EF1-1567R	ACHGTRCCRATACCACCRATCTT		

ตารางที่ 3.11 สภาวะการทำปฏิกิริยา PCR สำหรับ RPB2

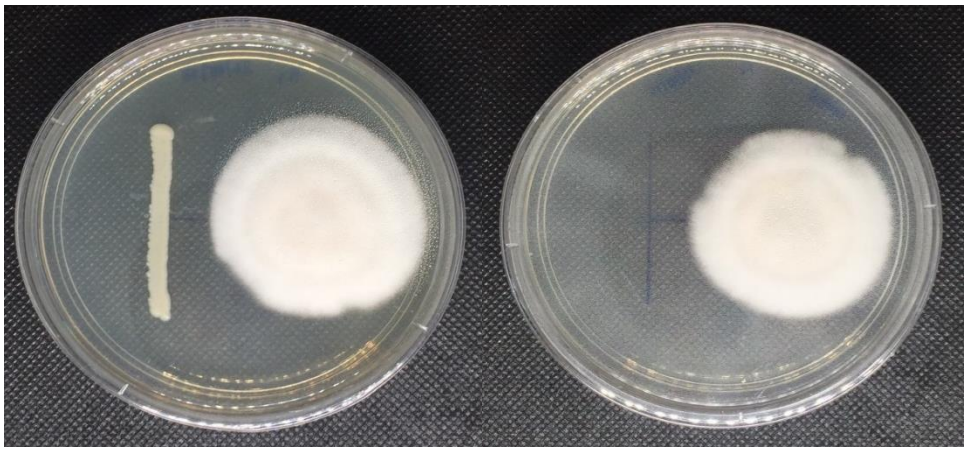
PCR profile	Cycle number	Temperature	Time
Initial denaturation	1	95 °C	3 min
Denaturation	35	95 °C	30 sec
Annealing		62 °C	30 sec
Extension		72 °C	45 sec
Final extension	1	72 °C	10 min

ตารางที่ 3.12 สภาวะการทำปฏิกิริยา PCR สำหรับ TEF-1

PCR profile	Cycle number	Temperature	Time
Initial denaturation	1	95 ºC	3 min
Denaturation	35	95 ºC	30 sec
Annealing		64 ºC	30 sec
Extension		72 ºC	45 sec
Final extension	1	72 ºC	10 min

6.5 การทดสอบคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพริกกับแบคทีเรียที่แยกได้

ทำการเพาะเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ร่วมกับเชื้อราสาเหตุโรคบนจานเพาะเชื้อเดียวกัน (dual culture) โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เจาะขอบโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคพริก อายุ 7 วัน นำมาวางบนอาหาร PDA โดยวางห่างจากขอบจาน 2 เซนติเมตร และใช้ห่วงถ่ายเชื้อ (loop) ทำการขีดลากเชื้อแบคทีเรียเป็นเส้นตรงในทิศทางตรงข้ามกันและวางห่างจากขอบจาน 2 เซนติเมตร ดังภาพที่ 3.13 โดยมีจานเพาะเชื้อราสาเหตุโรคพริกเพียงอย่างเดียวเป็นจานควบคุมและทำการทดลอง 3 ซ้ำ ทำการคำนวนร้อยละการยับยั้ง ดังอธิบายในหัวข้อที่ 6.3



ภาพที่ 3.13 การทดสอบการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพริกกับเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ ซ้าย: จานทดสอบ ขวา: จานควบคุม

6.6 การระบุชนิดแบคทีเรียที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพริก

ทำการเพาะเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร Nutrient Agar (NA) บันทึกลักษณะโคโลนี ย้อมสีแกรม ย้อมเอนโดสปอร์ และทำการทดสอบปฏิกิริยาชีวเคมีเบื้องต้น

7. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลมาคำนวนค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของ 2 กลุ่มตัวอย่างจะใช้สถิติ t-test การเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยมากกว่า 2 กลุ่มตัวอย่างขึ้นไปจะใช้สถิติ one-way analysis of variance (ANOVA) ด้วย Tukey's multiple comparison test กำหนดให้การมีนัยสำคัญทางสถิติจะมีค่า p-values < 0.05 ซึ่งการวิเคราะห์ทางสถิตินี้ใช้โปรแกรม SPSS 11.5 software และ GraphPad Prism

โครงการวิจัยย่อยที่ 3 ผลของสารชีวภัณฑ์ร่วมกับการใช้มูลไส้เดือนต่อการยับยั้งการเกิดโรคในพริก

โครงการวิจัยย่อยที่ 3 นี้ มีวัตถุประสงค์ 2 ข้อ ดังนี้

1. การทดลองย่อยที่ 1 เพื่อทดสอบความเข้มข้นของน้ำหมักชีวภาพในอัตราที่ต้นพริกสามารถทนได้เพื่อนำไปใช้ในการทดลองที่ 2 ในกรรมวิธีที่ 4, 5 และ 6

2. การทดลองย่อยที่ 2 เพื่อศึกษาผลของการใช้น้ำหมักชีวภาพร่วมกับปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนต่อการเจริญเติบโตของพริก

งานวิจัยในโครงการวิจัยย่อยที่ 3 มีรายละเอียด ดังนี้

1. การทดลองที่ 1 การทดสอบความเข้มข้นของน้ำหมักชีวภาพบนต้นพริก

1.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ CRD : Completely Randomized Design ประกอบด้วย 8 กรรมวิธี กรรมวิธีวิธีละ 3 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ฉีดพ่นน้ำเปล่า

กรรมวิธีที่ 2 ฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพในอัตรา 0.1 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 3 ฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพในอัตรา 2.5 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 4 ฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพในอัตรา 5 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 5 ฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพในอัตรา 15 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 6 ฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพในอัตรา 25 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 7 ฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพในอัตรา 35 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 8 ฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพในอัตรา 40 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 9 ฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพในอัตรา 45 เปอร์เซ็นต์

1.2 ขั้นตอนการทดลอง

ทำการฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพทุกๆ 7 วัน บนต้นกล้าพริกอายุ 1 เดือน จำนวน 3 ครั้ง

1.3 การเก็บข้อมูล

บันทึกความรุนแรงของอาการลักษณะความสามารถในการทนต่ออัตราความเข้มข้นของน้ำหมักชีวภาพทุกครั้งที่ฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพ

2. การทดลองที่ 2 ผลของการใช้น้ำหมักชีวภาพร่วมกับปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนต่อการเจริญเติบโตของพริก

2.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ CRD ประกอบด้วย 7 กรรมวิธี จำนวน 3 ซ้ำ ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่มูลไส้เดือนดินไม่ใส่น้ำหมักชีวภาพ (Control)

กรรมวิธีที่ 2 ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค

กรรมวิธีที่ 3 ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน (อัตรา 3 ตัน/ไร่)

กรรมวิธีที่ 4 ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน

กรรมวิธีที่ 5 ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + น้ำหมักชีวภาพอัตรา 15%

กรรมวิธีที่ 6 ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน + น้ำหมักชีวภาพอัตรา 15%

กรรมวิธีที่ 7 ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + สารเคมีป้องกัน กำจัดเชื้อรา

2.2 ขั้นตอนการทดลอง

1) ใส่ปุ๋ยมูลไส้เดือนตามอัตราที่กำหนดด้วยการใส่ลงดิน ครั้งที่ 1 เมื่อต้นกล้าพริกอายุ 2 สัปดาห์

2) ใส่ปุ๋ยมูลไส้เดือนตามอัตราที่กำหนดด้วยการใส่ลงดิน ครั้งที่ 2 หลังจากครั้งแรกเป็นเวลา 15 วัน

3) ใส่ปุ๋ยมูลไส้เดือนตามอัตราที่กำหนดด้วยการใส่ลงดิน ครั้งที่ 3 หลังจากครั้งที่ 2 เป็นเวลา 15 วัน

4) ทำการฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุโรคและทำการฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพหลังจากนั้นทุก ๆ 7 วัน จนกระทั่งวันที่ 104 วัน นับจากการย้ายปลูก

5) ปลูกเชื้อสาเหตุโรค ใช้ cell suspension ที่ความเข้มข้น 1x10 ฉีดพ่นบนต้นพริกอายุ 1 เดือน ในทิศทางขึ้นลง และคลุมด้วยถุงพลาสติกนาน 3 ชม.

2.3 การเตรียมเชื้อราสาเหตุโรค

การเตรียมเชื้อสาเหตุโรคโดยการทำ Single spore isolation โดยนำเชื้อสาเหตุโรคที่ได้มาเตรียม Spore suspension ทำให้เจือจางที่ความเข้มข้น 10 นำสารแขวนลอยสปอร์ที่เจือจางมาเกลี่ยบนอาหาร WA บ่มให้สปอร์งอกประมาณ 7-8 ชม หรือจนเชื้อเจริญเป็นโคโลนี ใช้ capillary needle ตักสปอร์เดี่ยวที่กำลังงอกมาเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน

2.4 การเตรียมต้นกล้าพริก

1) แช่เมล็ดพันธุ์ในน้ำอุ่นเป็นเวลา 15 - 20 นาที

2) เพาะเมล็ดหลุมละ 1-2 เมล็ด

3) ปล่อยให้เจริญเติบโตจนอายุครบ 15 วัน จึงนำไปปลูกในกระถาง

2.5 การเก็บข้อมูล

1) วิเคราะห์สมบัติทางเคมีของน้ำหมักชีวภาพและปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน ได้แก่ pH อินทรียวัตถุ P_2O_5 และ K_2O

2) วิเคราะห์สมบัติทางเคมีของดิน ได้แก่ pH อินทรียวัตถุ available P และ exchangeable K

3) บันทึกลักษณะอาการและประเมินความรุนแรงของการยับยั้งโรคบนต้นพริก ก่อนการฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพทุกครั้ง

4) ความสูงของต้นพริก โดยวัดความสูงจากโคนต้นระดับดินจนถึงปลายยอด เมื่ออายุ 14 21 28 35 42 49 56 62 69 76 83 90 97 และ 104 วัน หลังย้ายปลูก

5) ขนาดทรงพุ่มต้นพริก เมื่ออายุ 14, 21 35 42 49 56 62 69 76 83 90 97 และ 104 วัน หลังย้ายปลูก

6) น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นพริกในแต่ละกรรมวิธี

2.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูล ทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี ANOVA และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan’s multiple range test (DMRT) ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

บทที่ 4
ผลการวิจัย

โครงการย่อยที่ 1 กระบวนการผลิตปุ๋ยมูลไส้เดือน และน้ำหมักชีวภาพ จากฐานภูมิปัญญาและทรัพยากรชุมชน

กลุ่มผู้วิจัยได้มีการทบทวนเอกสาร และสัมภาษณ์ผู้ประกอบการกลุ่มมูลจันท์ มีการวิเคราะห์และจัดการความรู้ ได้ดังนี้

1. ชีววิทยาของไส้เดือน

ลักษณะทั่วไปของไส้เดือน

ไส้เดือนถูกจัดอยู่ใน ไฟลัม แอนนีลิดา (Phylum Annelida) เป็นสัตว์ประเภทที่มีลำตัวเป็นวง ๆ หรือปล้อง ๆ มาต่อกันเห็นปล้องชัดเจน (true segmented animal) อาจเรียกโดยใช้คำว่าหนอน (Worm) แต่เป็นหนอนชนิดที่มีปล้อง ส่วนหนอนที่ไม่มีปล้อง อยู่ในไฟลัม นีมาโทดา (Phylum Nematoda) ประเภทของไส้เดือน แบ่งตามลักษณะการอยู่อาศัยได้เป็น 3 ประเภท (กลุ่ม) ได้แก่

1) ประเภทอาศัยอยู่หน้าดิน(ไส้เดือนที่นำมาเลี้ยงส่วนใหญ่เป็นไส้เดือนประเภทนี้) ซึ่งชนิดที่นิยมเลี้ยงกันมากได้แก่ ไส้เดือนอาฟริกา (AF หรือ African night crawler) ไส้เดือนสีน้ำเงิน (Blue worm) และกลุ่มอายซีเนียร์ (*Elsenia* sp.) เช่น ไทเกอร์ ยูโร

2) ประเภทอาศัยอยู่ในดินชั้นบน พบในดินลึก 20-30 เซ็นติเมตร (พวกนี้ มีประโยชน์ในการเกษตรเป็นอย่างมากมักตายและฝักไข่ตามฤดูกาล) เช่น ไส้เดือนท้องถิ่น

3) ประเภทอาศัยอยู่ในดินชั้นล่าง อาจพบในดินลึก ถึง 3 เมตร พวกนี้ จะทำให้เกิดเนินดินขึ้น ในแปลงหญ้า ตัวอย่างเช่น *Lumbricus terestris* (ไส้เดือนแถบยุโรปและอเมริกา) ซึ่งเป็นกลุ่มไส้เดือนที่มีกล้ามเนื้อลำตัวแข็งแรงมาก เมื่อเทียบกับสองกลุ่มแรก

ไส้เดือน ไม่มีฟัน การกินอาหารของไส้เดือน ใช้วิธีที่เรียกว่า ฮุบดิน ด้วยพูนเนื้อที่ผิวด้านบนของช่องปาก ซึ่งเป็นตำแหน่งหน้าสุดคล้าย ๆ ริมฝีปาก เรียกว่า พรอสโตเมียม (Prostomium) ทำหน้าที่กวาดอาหารเข้าปาก และปล้องแรกของไส้เดือนจะมีเนื้อบาง ๆ ที่เรียกว่า เพอริสโตเมียม (Peristomium) อยู่รอบช่องปาก กล้ามเนื้อคอหอยทำการสูบอาหารเข้าไป อาหารจะถูกกึ๋นบดจนละเอียดแล้วผ่านไปยังหลอดอาหารเข้าสู่ลำไส้

ไส้เดือน จัดอยู่ในจำพวกกินทั้งพืชและสัตว์ (Omnivorous) นอกจากกินเศษใบไม้ เศษพืชต่าง ๆ แล้ว ยังกินแมลงเล็ก ๆ และตัวอ่อนของแมลงได้ด้วย แต่ไส้เดือนกินรากพืชสดไม่ได้เพราะไม่มีฟันจะกินเฉพาะซากสัตว์หรือซากพืชที่เน่าเปื่อยผุพังเท่านั้น ดังนั้นความเข้าใจที่ว่าไส้เดือนกินรากพืชจึงเป็นความเข้าใจผิดอย่างมาก หากพืชตายและเน่าเปื่อยแล้วเท่านั้น ไส้เดือนจึงจะเข้าไปกิน แต่มีไส้เดือนประเภทที่เรียกว่า “ไส้เดือนฝอย” ซึ่งบางสายพันธุ์จะทำให้เกิดโรคในพืช

ไส้เดือนสืบพันธุ์ได้ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ ส่วนใหญ่จะเป็นแบบอาศัยเพศ ไส้เดือนเป็นสัตว์กะเทย(hermaphrodite อ่านว่า เฮอแมฟะไดท์) ที่ถือว่าเป็นกะเทยแท้คือมีสองเพศ ในตัวเดียวกันแต่การสืบพันธุ์ชนิดอาศัยเพศ จะต้องจับคู่กันสองตัวเพื่อแลกเปลี่ยนเซลล์สืบพันธุ์ และการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศของไส้เดือนบางชนิด ก็ไม่ ได้สามารถสืบพันธุ์หรือขยายพันธุ์ แบบตอน, ปักชำ หรือแตกหน่อได้เหมือนในพืชแต่อย่างใด เลือดของไส้เดือนดิน มีสีแดง ซึ่งเป็นสีของเฮโมโกลบิน (Haemoglobin) ในเม็ดเลือดแดง เช่นเดียวกับในสัตว์ส่วนใหญ่ ในธรรมชาติไส้เดือนมักอาศัยอยู่ในดินที่มีความชื้น กลางคืนจะขึ้นมาหากินบนผิวดิน ในฤดูแล้งมันจะขุดรูลึกกว่าฤดูฝน ไส้เดือนเป็นตัวสร้างและพัฒนาให้เกิดสารอินทรีย์ในดิน กลายเป็นดินชั้นบนหรือชั้นของฮิวมัส การทำงานร่วมกับจุลินทรีย์ในร่างกายของมัน ทำให้ไส้เดือนมีการผลิตสารอินทรีย์ ที่มีความสมบูรณ์ และเป็นประโยชน์ต่อพืชอย่างมาก

2. การจัดจำแนกสายพันธุ์ของไส้เดือน

สายพันธุ์ของไส้เดือนนั้นมีนับหมื่นชนิด แต่ที่รู้จักโดยประมาณ สี่พันสี่ร้อยชนิด ชนิดที่นิยมนำมาเลี้ยง มักเป็นไส้เดือนที่อยู่อาศัยบริเวณหน้าดินหรือผิวดิน (Soil surface dwelling species) ลึกประมาณ 20 เซนติเมตร ซึ่งจะกินอาหารที่เป็นอินทรีย์วัตถุทุกชนิด เช่น มูลสัตว์ เศษอาหาร เศษผัก หญ้า ใบไม้ ไส้เดือนที่ถูกย้ายถิ่นหลายสายพันธุ์ มักไม่สามารถเจริญเติบโต และขยายพันธุ์ได้ในสภาพธรรมชาติของอีกถิ่นหนึ่ง ในทางกลับกันไส้เดือนท้องถิ่น หลายสายพันธุ์ก็ไม่เหมาะ ที่จะนำมาเลี้ยงในสภาพแวดล้อมที่ไม่ใช่ธรรมชาติของมันได้อย่างต่อเนื่อง ยั่งยืน เช่นกัน ชนิดของไส้เดือนที่พบมากมีดังนี้

1) แอฟริกันไนท์ ครอเลอร์ (African Night Crawler: AF)

2) ไทเกอร์ (Tiger worm, red wiggler worm, brandling worm, panfish worm)

3) ไทเกอร์แดง (Red Tiger worm) หรือ *Eisenia Andrei*

4) ไส้เดือนแดง (Red worm), *Lumdricus rubellus*, หรือ “The red earthworm”

5) ยูโร (Europeon nightcrawler), *Eisenia hortensis* หรือ เดนโดรแบนา เวนาดา (*Dendrobaena veneta*)

6) ไส้เดือนสีน้ำเงิน (Blue worm) หรือ เอ็กคาวาตัส (*Perionyx excavatus*)

7) ขี้ตาแร่ (*Pheretima peguana*)

8) ขี้คู้ (*Pheretima posthuma*)

สายพันธุ์ไส้เดือนที่นำมาเลี้ยงรวม 3 สายพันธุ์ ได้แก่

1) แอฟริกันไนท์ ครอเลอร์ (African Night Crawler: AF)

มีถิ่นกำเนิดในทวีปแอฟริกาตอนกลาง ปัจจุบันยังเป็นไส้เดือนที่พบว่านิยมเลี้ยงกันต่อเนื่องมากที่สุดในประเทศไทย เนื่องจากตัวโตขยายพันธุ์ไว กินเก่ง ปี พ.ศ. 2543 รศ.ดร.สมชัย จันทร์สว่าง นำไส้เดือนสายพันธุ์นี้ เข้ามาในประเทศไทย เริ่มจากเพียง 7-8 ตัว ทดลองเลี้ยง ในฟาร์มเลี้ยงสัตว์ทดลองของภาควิชาสัตวบาล มหาลัยเกษตรศาสตร์บางเขน

ภาพที่ 4.1 ไส้เดือนแอฟริกันไนท์ ครอเลอร์ (African Night Crawler) (*Eudrilus eugeniqe*)
ที่มา : (สมชัย จันทร์สว่าง, 2552 : 17-30)

ลักษณะทั่วไป ลำตัวมีสีเทาอมม่วง ด้านท้องแบนเล็กน้อย และมีสีซีดกว่าด้านหลัง ไคลเทลลัม (Clitellum) สีขาวขุ่น มีจำนวนปล้องโดยทั่วไป 188 - 297 ปล้อง ลำตัวมีขนาดใหญ่ที่สุด คือมีความยาวเฉลี่ย ประมาณ 13 - 25 เซนติเมตร ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำตัว 5-8 มิลลิเมตร แต่สามารถเลี้ยงให้โต

เต็มที่ ได้ถึง 30 เซ็นติเมตร น้ำหนักเฉลี่ย 2.5-2.9 กรัม ต่อตัว หากอยู่ในสภาพที่กำลังสมบูรณ์ และได้รับธาตุอาหารครบเมื่อส่องไฟ จะสะท้อนแสงสีม่วงเห็นได้ชัดเจน

ไส้เดือน AF ผลิตไข่ที่เป็นโคคูน 3.6 ใบต่อสัปดาห์เปอร์เซ็นต์ฟัก 80% ให้ลูกเฉลี่ย 2.3 ตัว ต่อโคคูนโดยใช้เวลาฟักไข่ 12 วัน ที่อุณหภูมิ 25˚C เจริญเติบโตจากตัวอ่อนเป็นตัวเต็มวัย คือมีไคลเทลลัม (Clitellum)หรือปลอกเนื้อ ในระยะเวลา 1-3 เดือน มีอายุประมาณ 4-5 ปี **ข้อดี** คือ ตัวใหญ่ กินเก่ง ขยายพันธุ์เร็ว สามารถนำมากำจัดขยะได้ดี เหมาะที่จะนำไปเลี้ยงสัตว์ เช่นนก ไก่ กบ ปลา หรือนำไปเป็นส่วนผสมอาหารสัตว์ที่ต้องหารโปรตีน **ข้อเสีย** คือ ทนทานต่อช่วงอุณหภูมิไม่กว้างนัก คือช่วง 12-35 องศาเซลเซียส หากต้องการเลี้ยงให้ได้ดีต้องควบคุมอุณหภูมิอยู่ในช่วงที่เหมาะสม พบว่าในประเทศไทย หากอุณหภูมิสู.ถึง 35-37˚C ติดต่อกันเกิน 3-5 วัน AF จะค่อยๆ คายน้ำและตายอย่างรวดเร็ว

2) ไส้เดือนยูโร (European Nightcrawler), *Eisenia hortensis*

ภาพที่ 4.2 ไส้เดือน European nightcrawler, super redworm OR Belgian Nightcrawler
ชื่อทางวิชาการ อายซีเนีย ฮอร์เทนซิส (*Eisenia hortensis*)

ที่มา: (สมชัย จันทร์สว่าง, 2552 : 17-30)

ลักษณะทั่วไป มีสีชมพูและแถบสีเหลือง ตลอดลำตัว ปลายหางมีสีเหลือง มีถิ่นกำเนิดในยุโรปแต่พบทั่วไปในโลก ยกเว้น ทวีปแอนตาร์กติกา ลักษณะคล้ายไทเกอร์ ขนาด ประมาณ 6-15 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 4-6 มิลลิเมตร เมื่อโตเต็มที่จะมี น้ำหนักเฉลี่ยราว 1.5 กรัม **ข้อดี**มีความทนทาน ต่อสภาพอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลง และความชื่นในช่วงกว้าง ทนอากาศร้อน หนาวได้ดีตั้งแต่ 0-40˚C สำหรับ**ข้อเสีย** คือ ราคาจะสูงกว่า AF จากข้อมูลงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่าไส้เดือนยูโรสามารถเติบโต และขยายพันธุ์ ในสภาพอากาศที่เปลี่ยนแปลงได้ดีมาก ไส้เดือนยูโรจะมีปล้องประมาณ 130 ปล้อง

3) ไส้เดือนสีน้ำเงิน (Blue worm) หรือ เอ็กซ์คาวาตัส (*Perionyx excavatus*)

ภาพที่ 4.3 ไส้เดือน Blue worm, Indian Blue, Malasian Blue
ชื่อทางวิชาการ *Perionyx excavatus*

ลักษณะทั่วไป ตัวเล็ก ลำตัวผอมยาว สีม่วงเข็มออกประกาย สีน้ำเงิน พบตามธรรมชาติ ในแถบเอเชีย และอินเดีย มาเลย์ ฟิลิปปินส์ เมียนมาร์ ลาว เขมร และไทย ขนาด ยาว 3-7 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 2-3 มิลลิเมตร ข้อดี คือ มูลละเอียดละลายเร็ว ทำให้พืชดูดซึมได้เร็วกว่า ระยะเวลาการเจริญเติมโต จากตัวอ่อนเป็นตัวเต็มวัย ใช้เวลา 21-35 วัน ขยายพันธุ์เร็ว ข้อเสีย คือ ตัวเล็กร่อนแยกตัวออกจากมูลยากกว่าสายพันธุ์อื่น ๆ

ไส้เดือนสีน้ำเงิน มีขนาดเล็ก และลำตัวผอม สามารถผลิตมูลไส้เดือนที่มีความละเอียด และมีลักษณะนุ่มมากกว่าสายพันธุ์อื่น ไส้เดือนสีน้ำเงินสามารถขยายพันธุ์ได้หลายแบบ ทั้งการจับคู่ผสมพันธุ์และการพัฒนาของไข่เป็นตัวไส้เดือน ได้โดยไม่มีการปฏิสนธิ เช่นเดียวกับผึ้ง รึ แมลงบางชนิด ทั้งมีงานการศึกษาพบว่า ไส้เดือนสีน้ำเงินเป็นชนิดของไส้เดือนที่สามารถ เพิ่มจำนวนชุดของโครโมโซมได้มากกว่า 2 ชุด

ไส้เดือนสีน้ำเงิน มีลักษณะเด่นคือ เมื่อจับเอาไว้ในมือ จะขับน้ำมีสีเหลืองกลิ่นหอมอ่อนๆ คล้ายกลิ่นดอกโมกออกมาจากกลางลำตัว ด้วยสัญชาตญาณ และมีฤทธิ์ในการกำจัดเชื้อราที่ผลิตสารพิษอะฟลาทอกซิน; Aflatoxins ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง (สมชัย จันทร์สว่าง, 2560)

3. คุณสมบัติของปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดิน

ลักษณะ โครงสร้างทางกายภาพของปุ๋ยหมักไส้เดือนดินมีลักษณะเป็นเม็ดร่วนละเอียด มีสีดำออกน้ำตาล โปร่งเบา มีความพรุนระบายน้ำและอากาศได้ดีมาก มีความจุความชื้นสูงและมีประมาณ

อินทรียวัตถุสูงมาก ซึ่งผลจากการย่อยสลายขยะอินทรีย์ที่ไส้เดือนดินดูดกินเข้าไปภายในลำไส้ และด้วยกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่ อยู่ในลำไส้และน้ำย่อยของไส้เดือนดินจะช่วย ให้ธาตุอาหารหลาย ๆ ชนิดที่อยู่ในเศษอินทรียวัตถุเหล่านั้น ถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถ นำไปใช้ได้ เช่น เปลี่ยนไนโตรเจน ให้อยู่ในรูป ไนเตรท หรือ แอมโมเนีย ฟอสฟอรัสในรูปที่เป็นประโยชน์ โพแทสเซียมในรูปที่แลกเปลี่ยนได้ และนอกจากนี้ยังมีส่วนประกอบของ ธาตุอาหารพืชชนิดอื่นและจุลินทรีย์หลายชนิด ที่เป็นประโยชน์ต่อดิน รวมทั้งสารควบคุมการเจริญเติบโต ของพืชหลายชนิดที่เกิดจากกิจกรรมของ จุลินทรีย์ในลำไส้ของไส้เดือนดินอีกด้วย

การใช้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนและน้ำหมักมูลไส้เดือน ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนและน้ำหมักมูลไส้เดือน ในการปลูกพืชจะส่งผลให้ดินมีโครงสร้างดีขึ้น คือทำให้ดินกักเก็บความชื้นได้มากขึ้น มีความโปร่งร่วนซุย รากพืชสามารถชอนไชและแพร่กระจายได้กว้าง ดินมีการระบายน้ำและอากาศได้ดี ทำให้จุลินทรีย์ดินที่เป็นประโยชน์บริเวณรากพืชสามารถสร้าง เอนโซม์ที่เป็น ประโยชน์ต่อพืชได้เพิ่มขึ้น นอกจากนี้จุลินทรีย์ดินที่ปนออกมากับมูลของไส้เดือนดินยังสามารถสร้างเอ็น ไซม์ฟอสฟาเตสได้อีกด้วย ซึ่งจะมีส่วนช่วยเพิ่มประมาณฟอสฟอรัสในดินให้สูงขึ้นได้

4. ประโยชน์และความสำคัญของปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดิน

ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดินมีประโยชน์ดังนี้

1) ส่งเสริมการเกิดเม็ดดิน

2) เพิ่มปริมาณอินทรียวัตถุแก่ดิน

3) เพิ่มช่องว่างในดินให้การระบายน้ำและอากาศดียิ่งขึ้น

4) ส่งเสริมความพรุนของผิวหน้าดิน ลดการจับตัวเป็นแผ่นแข็งของหน้าดิน

5) ช่วยให้ระบบรากพืชสามารถแดร่กระจายตัวในดินได้กว้าง

6) เพิ่มขีดความสามารถในการดูดซับน้ำในดิน ทำให้ดินชุ่มขึ้น

7) เพิ่มธาตุอาหารพืชให้แก่ดินโดยตรงและเป็นแหล่งอาหารของสัตว์และจุลินทรีย์ดิน

8) เพิ่มศักยภาพการแลกเปลี่ยนประจุบวกของดิน

9) ช่วยลดความเป็นพิษของธาตุอาหารพืชบางชนิดที่มีปริมาณมาเกินไป เช่น อลูมินัม และแมงกานีส

10) ช่วย เพิ่มความต้านทานในการเปลี่ยนแปลงระดับความเป็นกรด-เบส (Buffer capacity) ทำให้การเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นไม่เร็วเกินไปจนเป็นอันตรายต่อพืช

11) ช่วย ควบคุมปริมาณไส้เดือนฝอยในดิน เนื่องจากการใส่ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดินจะทำให้มีปริมาณจุลินทรีย์ที่สามารถ ขับสารพวกอับคาลอยด์และกรดไขมันที่เป็นพิษต่อไส้เดือนฝอยได้เพิ่มขึ้น

และมีข้อดีกว่าปุ๋ยคอก ดังนี้

1) แบคทีเรียในระบบย่อยอาหารของไส้เดือนจะผลิตตัวควบคุมการเติบโตของพืชและฮอร์โมนเพิ่มเติมที่รับผิดชอบสำหรับการเร่งเซลล์พืชให้ขยายและแบ่งตัว ซึ่งมีถึง 10,000 เท่าในมูลไส้เดือนมากกว่าในดิน

2) มูลไส้เดือนจะมีความสมบูรณ์ที่ลงตัวระหว่างสารชีวภาพและช่องว่างอากาศ ซึ่งเป็นความสมดุลที่เหมาะที่จะให้รากพืชเปราะบางชอนไชลงไปได้อย่างง่ายดายเพื่อหาสารอาหารและน้ำ ยิ่งรากมีมากเท่าไหร่ พืชก็จะสามารถรวบรวมอาหารและน้ำได้มากขึ้นเท่านั้นและก็จะสุขภาพดีขึ้นด้วย

3) ต้นไม้ที่ปลูกในกระถางนานๆ ปุ๋ยมูลไส้เดือนจะไม่ทำให้ดินแข็ง จึงสามารถยืดระยะเวลาการปลูกออกไปได้โดย ไม่ต้องเปลี่ยนกระถาง

4) ปลอดสารเคมี 100% ไม่เป็นพิษต่อคนสัตว์เลี้ยงและสภาพแวดล้อม

5) กรณีใช้ผสมดิน ที่เป็นดินเหนียว จะช่วยเพิ่มอากาศในดิน ทำให้ดินร่วนซุย และช่วยในการถ่ายเทน้ำและอากาศได้สะดวก

6) กรณีผสมดินที่เป็นดินทรายจะช่วยเพิ่มเนื้อดิน ช่วยให้ดินเก็บรักษาความชื้น และธาตุอาหารในดิน ลดการชะล้างธาตุอาหารของน้ำ

7) มูลไส้เดือนดินสามารถช่วยเก็บความชื้นและปลดปล่อยออกมาให้พืชอย่าง ช้าๆ เมื่อพืชต้องการยืด
ระยะเวลาการให้น้ำแก่พืชได้นานขึ้น

8) ช่วยลดปัญหาการสลายตัวของธาตุอาหารเป็นตัวปลดปล่อยธาตุอาหารอย่างช้า ๆ ทำให้ประหยัดปุ๋ย

9) ปกป้องดินไม่ให้มีสภาพโครงร้างแน่นเข็งและช่วยเติมอินทรียวัตถุในเนื้อดิน ช่วยให้ดินร่วนซุย รากพืชสามารถแพร่ขยายได้กว้าง

10) มูลไส้เดือนดินจะมีสารประกอบของกรดฮิวมิคซึ่งเป็นตัวกักเก็บธาตุ อาหารที่จำเป็นต่อพืชหลายชนิด เช่น ฟอสฟอรัส (P) โพแทสเซียม (K) แคลเซียม (Ca) เหล็ก (Fe) และทองแดง (Cu) ซึ่งธาตุอาหารเหล่านี้จะถูกเก็บอยู่ในโมเลกุลของกรดฮิวมิค อยู่ในรูปพร้อมใช้ และจะถูกปลดปล่อยออกมาเมื่อพืชต้องการ

11) มูลไส้เดือนไม่มีของแถม ที่ไม่พึงประสงค์ เช่นด้วง เชื้อราร้ายที่เขาไปทำลายพืช ไม่มีผลิตหญ้า ที่จะกลายมาเป็นมาเป็นวัชพืชที่หลัง

12) มูลไส้เดือนมีโมเลกุลที่เล็กกว่า ปุ๋ยคอกทั่วไป ต้นไม้จึงดูดซับได้ง่ายและเร็วกว่า

13) มูลไส้เดือนเป็นปุ๋ยเย็นกว่าใช้กับต้นไม้ได้เลย ไม่ทำอันตรายกับต้นไม้ ต่างกับปุ๋ยคอกอื่น ที่ต้องผ่านการหมักก่อนถึงจะนำมาใช้ได้

5. วิธีการทำปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน

วิธีการทำปุ๋ยมูลไส้เดือน มีขั้นตอนดังนี้

การเตรียมเบดดิ้งแบบปุ๋ยหมัก (Pre-Composting)

วิธีทำเบดดิ้งแบบปุ๋ยหมัก

วัตถุดิบ

ขี้วัวนม 2 ส่วน

(กรณีผสม ขี้หมูหรือขี้ไก่ ต้องอย่าเกิน 20%)

ขุยมะพร้าว หรือ ก้อนเห็ดเก่า หรือวัสดุอื่นที่ย่อยขนาดลงจนเล็กลง : 1 ส่วน

ขั้นตอนที่ 1 คลุกเคล้าน้ำ-มูลวัวให้ทั่วถึงกัน

ขั้นตอนนี้อาจไม่ต้องทำทันที แต่ให้พรมน้ำที่ความชื้น ~ 70% แล้วทิ้งไว้ 1 คืนก็ได้ เพื่อให้ขี้วัวอ่อนนุ่มก่อนทำการคลุกเคล้า

ภาพที่ 4.4 ขั้นตอนที่ 1 คลุกเคล้าน้ำ-มูลวัวให้ทั่วถึงกัน

ขั้นตอนที่ 2

นำมูลวัวใส่ลงในถาดผสม แล้ว พรมน้ำลงบนขี้วัวให้ได้ความชื้น 50 เปอร์เซ็นต์ (ประมาณ) กรณีมูลวัวที่ร่อนแล้วละเอียด ส่วนที่ไม่ได้ร่อนหรือ ก้อนใหญ่ที่ไม่ผ่านรูร่อน ทำตามขั้นตอนที่ 1 แล้วเช็ดความชื้นให้ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (ประมาณ) วิธีเช็คความชื้น 50% ทำ 2 ครั้ง

ครั้งที่ 1 กำและบีบ

1) น้ำหนักประมาณจับมือสวัสดีกัน

2) จะต้องไม่มีน้ำออกทางซอกนิ้ว หรืออาจมีแต่ก็เพียงเล็กน้อย

3) วางเบดดิงลง และยังจับตัวเป็นก้อน ไม่แตกจากกัน

4) บีบที่น้ำหนักประมาณ การนวดเฟ้นคลายกล้ามเนื้อ พอประมาณ (ไม่แรงแบบคั้นกระทิ) จะต้องมีน้ำจะไหลออกมาจากซอกนิ้ว เมื่อวาง BD. ลงแล้ว จะต้องยังจับตัวเป็นก้อน ไม่แตกจากกัน แสดงว่าใช้ได้

ขั้นตอนที่ 3

1) ใส่ขุยมะพร้าว หรือก้อนเห็ดเก่า พรมน้ำที่ความชื้น 50%

2) แล้วนำลงในภาชนะผสมกับขี้วัวนม

3) คลุกเคล้าให้เข้ากัน แล้วจึงนำ bd เข้ากระบวนการหมัก

ภาพที่ 4.5 ขั้นตอนที่ 2 และ 3

ขั้นตอนที่ 4

การเก็บเบ็ดดิ้งระหว่างหมัก

1) นำผ้าใบหรือถุงปุ๋ย (ชนิดที่ไม่กันน้ำ) มาคลุมภาชนะหรือ

2) นำส่วนผสมบรรจุลงถุงปุ๋ยหรือถุงอื่นที่ระบายอากาศได้ นำไปเก็บไว้ในที่ร่ม โดยนำถุงปุ๋ยมาคลุมด้านบน เพื่อหมักส่วนผสมหมั่นกลับ bd ที่หมักในภาชนะ หรือถุง ทุก 3-4 วัน

3) หมักไว้ ไม่น้อยกว่า 14 วัน (ขึ้นอยู่กับขี้วัว) แต่หมักนานกว่า 14 วันก็ได้ กรณีผสมขี้ไก่/ขี้หมู หรือใช้ก้อนเห็ดเก่าต้องหมักนานขึ้นประมาณไม่น้อยกว่า 25 วัน

ภาพที่ 4.6 ขั้นตอนที่ 4 การเก็บเบดดิ้งระหว่างหมัก

วิธีเช็ค Bedding นำไส้เดือน 5-6 ตัว ปล่อยลงบนเบดดิ้ง เพื่อทดสอบคุณภาพ

ถ้าไส้เดือนมุดลงใน bd. คือ ใช้ได้ หรืออาจขุด เบดดิ้ง ตื้น ๆ แล้วนำไส้เดือนใส่ในหลุมแล้วกลบด้วยเบดดิ้ง ถ้าไส้เดือนไม่มุดกลับขึ้นมา คือ ใช้ได้ ถ้าไม่ยอมลง หรือกลับขึ้นมา แสดงว่าเบดดิ้ง ยังใช้ไม่ได้ต้องนำไปหมักต่อ กรณีที่จำเป็นต้องนำเบดดิ้งมาใช้แม้จะยังร้อนอยู่ ให้ผสมขุยมะพร้าวประมาณ 50% ลงใน bd.

วิธีนำเบดดิ้งมาเลี้ยงไส้เดือน

1) นำ bd. ที่หมักไว้ ใส่ในภาชนะเลี้ยง ปริมาณโดยเบดดิ้งประมาณ 4 กก. ต่อ ไส้เดือนประมาณ 3 ขีด สำหรับการเลี้ยงราว 30วัน แต่กรณี เป็นสายพันธ์ euro หรือ tiger ควรเลี้ยง 60 วัน เพราะวงจรชีวิตยาวกว่าสายพันธุ์อื่น

2) พรมน้ำลงบนเบดดิ้ง กะประมาณความชื้นที่ 80%

วิธีเช็คความชื้น 80%

ใช้มือกำเบดดิ้งพอประมาณ บีบเบา ๆ ถ้าน้ำไหลผ่านซอกนิ้วได้ คือ ใช้ได้

1) มูลไส้เดือนแบบพรีคอมโพส ดีกว่า

2) ส่วนค่าย่อยสลาย แบบพรีคอมโพส ดีกว่าอย่างเห็นได้ชัด #ผ่านมาตรฐาน

หมายเหตุ. มูลไส้เดือนจากฟาร์มที่เลี้ยงแบบแช่ขี้วัว เมื่อเอาตรวจไม่ผ่านค่าย่อยสลาย ตามปกตินั้น มูลไส้เดือน ค่า NPK จะค่อนข้างต่ำอยู่แล้ว การเลี้ยงแบบแช่ขี้วัว NPK จึงหายไปกับน้ำทิ้ง

ความสำคัญของมูลไส้เดือน คือ จุลินทรีย์ในลำไส้ของไส้เดือน และ ฮอร์โมนพืช อีกอย่างคือ ความร้อนจากการหมักจะไปฆ่าเมล็ดวัชพืช ฆ่าพยาธิ และเชื้อโรค อาจารย์เน้นย้ำในเรื่อง ของการดูแลสิ่งแวดล้อม การรักษ์โลก การเทน้ำแช่ขี้วัวทิ้ง ถ้าหลุดลงไปในท่อ หรือแหล่งน้ำธรรมชาติ จะสร้างปัญหาในระบบนิเวศน์ตามมามากมาย

ภาพที่ 4.7 วิธีเช็ค Bedding วิธีนำ bd. มาเลี้ยงไส้เดือน และวิธีเช็คความชื้น 80%

ขี้วัวแช่น้ำ ก็คือ การเอาไปเป็นวัสดุเพาะเมล็ดทำให้ต้นพริกเกิดโรคตั้งแต่เล็ก และการเพาะแก้วมังกร หน่อไม้ฝรั่ง มักติดเชื้อรางายมาก ๆ ยิ่งอากาศแปรปรวนแบบนี้พืชติดโรคง่ายและอมโรคอยู่แล้วด้วย ยิ่งควบคุมโรคยากมาก สำหรับมูลไส้เดือนแช่น้ำ นอกจากนี้เวลาเอาไปทำมูลไส้เดือนผสมไตโครเดอม่า

ประสิทธิภาพของ ไตโครเดอม่าลดลงไปมาก เห็นได้ตั้งแต่การเดินเชื้อในมูลไส้เดือนเลยครับ ใครใช้มูลไส้เดือนจากขี้วัวแช่น้ำก็ให้ระมัดระวัง ถ้าพืชที่ติดเชื้อราง่ายก็ไม่ควรใช้ เคยเอามูลไส้เดือนที่ทำเบดดิ้งโดยการแช่น้ำ ไปผสมในวัสดุเพาะต้นเมล็ดพันธุ์พืช ปรากฏว่ามีต้นหญ้างอกเต็มไปหมดพอเปลี่ยนมาทำเบดดิ้งแบบหมัก ไม่มีหญ้างอกอีกเลย การใส่ตัวไส้เดือน การเก็บเกี่ยว (Harvest), การคัดแยกตัวไส้เดือนหลังจากใส่ตัวไส้เดือน ในการเช็ค Bedding แล้วตามมาตราฐาน จะใส่ลงไปไม่เกิน 200-300 กรัมต่อกะละมังเลี้ยง เป็นเวลา ไม่น้อยกว่า 30 วันโดยประมาณรึเร็วกว่า ก็ขึ้นอยู่กับปริมาณของตัวไส้เดือนที่ใส่ลงไปในกะละมังเลี้ยง

1) การคัดแยกตัวไส้เดือนออกจากมูล สามารถทำได้โดยการแยกด้วยมือ หรือการใช้อุปกรณ์ช่วยร่อนแยกอย่าง่ายเป็นตาข่ายที่มีขนาดรู 2-3 มิลลิเมตร ถ้าแยกด้วยมือโดยแยกคัดตัวออกเหมาะกับการเลี้ยงจำนวนน้อย ๆ เช่นในการเลี้ยงในช่วงแรก ๆ ของการฝึกเลี้ยง โดยใช้วิธีการเทมูลที่ไส้เดือนกินหมดแล้ว ลงกองบนพื้นที่ปูรองด้วยพลาสติก แล้วค่อยคัดแยกตัวไส้เดือน วิธีการนี้ใช้เวลานานแต่ได้ความชำนาญ

2) การใช้เครื่องร่อนที่มีตะแกรงร่อน ขนาดรู 2-3 มิลลิเมตรโดยใช้เครื่องรีมอเตอร์ช่วยในการแยกตัวไส้เดือนออกจาก มูลไส้เดือน

การเก็บรักษามูลไส้เดือน

หลังจากการร่อนแล้ว ให้ผึ่งมูลไส้เดือนให้มีความชื้น ไม่เกิน 30% เก็บไว้ในถุงดำหรือภาชนะทึบแสงเพื่อป้องกันรักษาคุณภาพมูลไส้เดือนให้นาน

ภาพที่ 4.8 (ก,ข) การคัดแยกไส้เดือนออกจากมูลไส้เดือน โดยการแยกด้วยมือ หรือการใช้อุปกรณ์ช่วยร่อนแยกอย่างง่าย (ค และ ง) ปุ๋ยมูลไส้เดือน

ผลผลิตที่ปุ๋ยได้ในการเลี้ยงไส้เดือนแบบรวม

กรรมวิธีการผลิตค่อนข้างยาก ควรใช้ในทันทีภายใน 1-3 เดือน ไม่เช่นนั้นต้องเก็บไว้ ในที่ไม่มีแดด และไม่ร้อนเกินไป ซึ่งยากต่อการบรรจุ/รักษาความชื้น อันจะคงคุณภาพของจุลินทรีย์ เอาไว้ให้นาน เหมือนปุ๋ยเคมี ผู้ผลิตที่ไม่เข้าใจหลักการ หรือ ไม่เก็บรายละเอียดพิถีพิถันในการผลิต ผลผลิตก็จะมีคุณภาพต่ำหากใช้ในแปลงผักผลไม้ หรือไร่นาขนาดใหญ่ ที่ผลิตเพื่อจำหน่ายเป็นประจำ ยังต้องใช้ควบคู่ไปกับ ปุ๋ยเคมี ในช่วงแรกๆ (ค่อยๆ ลดปริมาณปุ๋ยเคมี) จึงต้องมีการทำความเข้าใจ/ดูหรือสอบถามจากผู้ที่เคยใช้

มูลไส้เดือนดิน คือผลผลิตที่ได้จากการกินอาหารของไส้เดือนดิน ไส้เดือนดินย่อยสารอินทรีย์โดยทำให้แหลกและบดให้ละเอียด เกิดเป็นวัสดุคล้ายเลนมีความร่วนพรุน อากาศแทรกได้และอุ้มน้ำ กระบวนการนี้ช่วยให้การทำงานของจุลินทรีเพิ่มขึ้นและเร่งให้เกิดอัตราการย่อยสลายเร็ว จึงได้ผลที่เรียกว่าฮิวมิฟิเกชั่น(humification) คือการทำให้สารอินทรีย์ไม่อยู่ตัวทั้งหลายเช่นพืชหรือสัตว์ที่เน่าเปื่อยถูกกระบวนการใช้ อ็อกซิเจนทางชีวะภาพทำให้กลายเป็นสารทรงสภาพที่รู้จักกันในชื่อฮิวมัส

ฮิวมัสมีรูปลักษณะเป็นสีน้ำตาลแก่หรือดำอยู่ในชั้นบนสุดของดิน มีความสำคัญในการกักเก็บและปลดปล่อยธาตุอาหารพืชออกมา กระบวนการผลิต มูลไส้เดือนดินคล้ายกับกระบวนการทำปุ๋ยหมักต่างกันตรงที่ว่าไม่ใช้ความร้อนเข้ามาเกี่ยวข้อง ตรงกันข้ามเป็นกระบวนการย่อยสลายใน อุณหภูมิปกติด้วยระบบ

ย่อยของไส้เดือนดินและจุลินทรีที่มีอยู่ตามธรรมชาติในดิน มูลไส้เดือนดินมีพื้นที่ผิวมากและมีความสามารถในการแลกเปลี่ยนไอออนประจุบวกสูงจึงทำให้มีความสามารถในการดูดซึมดีและสะสมธาตุอาหารได้มาก โดยคุณสมบัติของการเป็นปุ๋ย มูลไส้เดือนดิน (vermicast) มีธาตุอาหารในรูปแบบที่พร้อมดูดซึมได้สำหรับพืชเช่น ไนเตรต (nitrate) ฟอสฟอรัส (phosphorus) ชนิดแลกที่ได้ โปแตสเซี่ยม (potassium)ชนิดละลายน้ำได้ แคลเซี่ยม (calcium) แมกเนเซี่ยม (magnesium) ในระดับชีวะจุลภาค มูลไส้เดือนดินมีจำนวนจุลินทรีย์หลากหลายชนิดมากกว่า ที่พบในปุ๋ยหมัก จุลินทรีย์เหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการให้ความสมบูรณ์แก่ดิน กล่าวคือ ไม่เพียงแต่จะใช้แร่ธาตุแปลงสารเชิงซ้อน ไปเป็นอาหารพร้อมใช้สำหรับพืชเท่านั้น แต่จุลินทรีย์ ในระบบย่อยของไส้เดือนดินยังสังเคราะห์สารชีวะภาพออกฤทธิ์เช่นตัวควบคุมการเจริญเติบโตของพืชด้วย ไส้เดือนดินช่วยให้เกิดฮอร์โมนพืชหลายชนิด เช่น อ็อกซิน (auxins) ควบคุมการเจริญของเซลล์พืชตามยาว ไซโตไคนิน (cytokinins) ช่วยเร่งการแบ่งตัวของเซลล์พืชกิบเบอร์เรลิน (gibberellins) ช่วยให้มีการขยายตัวตามยาวของลำต้นชีวภาพที่ได้จากตัวอย่างมูลไส้เดือนดิน(ที่ได้ผ่านการผลิตอย่างถูกขั้นตอน)

ใน 1 กรัม มีดังนี้

1) มวลโดยรวมของแบคทีเรีย (Bacterial mass) 249 มิลิกรัม/กรัม

2) มวลโดยรวมของเชื้อรา (Fungi mass) 238 มิลิกรัม/กรัม

3) โปรโตซัวชนิดเคลื่อนที่โดยใช้แฟลกเจลลา (Flagellates) 11772 จำนวนตัว/กรัม

4) โปรโตซัวชนิดอะมีบา (Amoeba) 94235 จำนวนตัว/กรัม

5) โปรโตซัวชนิดเคลื่อนที่โดยใช้ซีเลีย (Ciliates) 2836 จำนวนตัว/กรัม

6) นีมาโทด (Nematodes) 185 จำนวนตัว/กรัม

ฮอร์โมนเหล่านี้มีความสำคัญโดยขนาดและมีบทบาทสำคัญขั้นพื้นฐานของการเมตาโบลิซึม (metabolism) ของพืช(คือการเสริมสร้างและขจัดขับถ่ายของพืช นอกจากนั้น ยังมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของพืชและพัฒนาการรวมทั้งคุณภาพของผลิตผลทางการเกษตรอย่างมีนัยสำคัญแม้มีปรากฏอยู่ในปริมาณเล็กน้อยก็ตาม

6. วัสดุอุปกรณ์สำหรับการทำนำหมักชีวภาพ (สารชีวภัณฑ์)

วัสดุอุปกรณ์สำหรับการทำสารชีวภัณฑ์มีดังนี้

อุปกรณ์	**ชนิดของพืชท้องถิ่นที่นำมาทำเป็นส่วนผสม**
1. กะละมัง	1. หมากอ่อน
2. ถังพลาสติกมีฝาปิด	2. บอระเพ็ด
3. ตาข่ายมุ้งสีฟ้า	3. น้ำตาลอ้อย
4. มีด,เขียง	

7. วิธีการทำสารชีวภัณฑ์

มีขั้นตอนในการทำ ดังนี้

1) การเก็บพืชสมุนไพรควรเก็บจากต้นก่อนมีแสงอาทิตย์

2) นำลูกหมากอ่อน มาชั่งน้ำหนักตามที่ต้องการ และทำการผ่าแบ่งออกเป็น 4 ส่วน

3) นำหมากอ่อนที่ผ่าแล้ว ใส่ในกะละมังหนึ่งใน ห้าส่วนของปริมาตรกะละมัง

4) นำน้ำตาลอ้อยที่จะใช้เป็นส่วนผสมชั่งน้ำหนักให้ได้เท่ากับน้ำหนักของหมากอ่อนที่ผ่าแล้ว

5) แบ่งน้ำตาลอ้อย ออกเป็น 4 ส่วน คือ 30 30 30 และ 10 เพื่อใส่น้ำตาลอ้อยในกะละมังที่ละส่วน

6) ใส่น้ำตาลอ้อยในกะละมัง ทำการคลุกเคล้าน้ำตาลให้ละลายจนหมดเคลือบหมาก แล้วจึงค่อยเท น้ำตาลอ้อย ส่วนที่เหลือที่ละส่วนในกะละมัง จึงทำการคลุกเคล้าน้ำตาลอ้อยให้ละลายตามลำดับ

7) เมื่อคลุกเคล้าน้ำตาลละลายหมด ให้นำสมุนไพรบรรจุใส่ถังพลาสติกให้หมด จึงนำน้ำตาลอ้อยส่วนที่เหลือโรยด้านบนหมากอ่อนให้ปิดด้านบนให้หมด

8) เมื่อบรรจุใส่ถังหมักครบ 15 วันแล้วให้เทของเหลวที่ได้ออกแยกจากกากสมุนไพร เก็บบรรจุใส่ภาชนะไว้ใช้งานต่อไป

ภาพที่ 4.9 ขั้นตอนและวิธีการทำสารชีวภัณฑ์

8. ผลผลิตของน้ำหมักชีวภาพ

การผลิตน้ำสกัดจากสมุนไพร ผลผลิตจากการดำเนินการต่อครั้ง จะได้ตามน้ำหนักน้ำตาลอ้อยที่ใช้ในการสกัดสมุนไพรตามที่เกษตรกรต้องการ

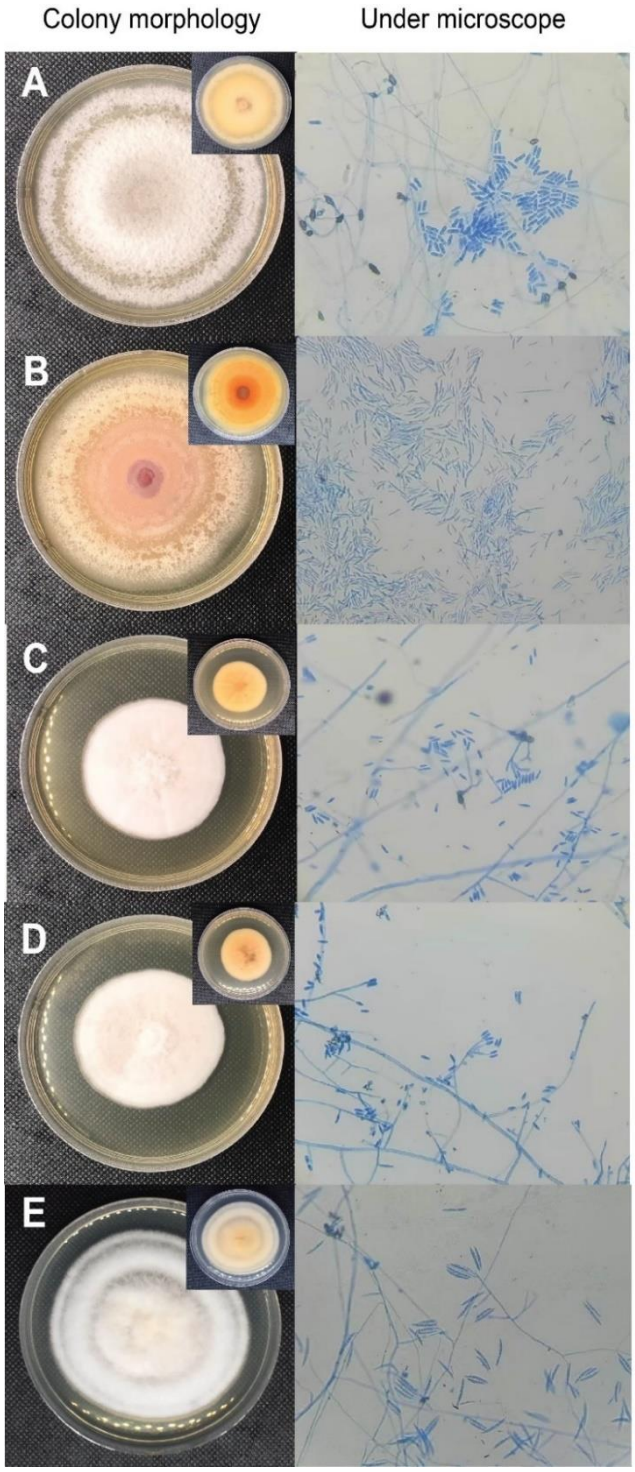
ภาพที่ 4.10 ผลผลิตปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน และสารชีวภัณฑ์

โครงการย่อยที่ 2 การยับยั้งเชื้อราสาเหตุของโรคพริกโดยใช้สารชีวภัณฑ์ร่วมกับการใช้มูลไส้เดือนทางห้องปฏิบัติการ

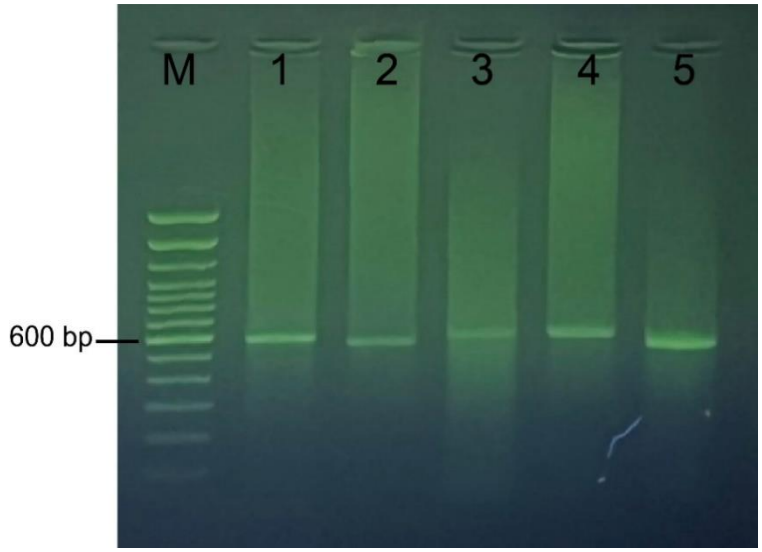
1. ผลการคัดแยกเชื้อราสาเหตุของโรคในผลพริก

เพื่อคัดแยกเชื้อราสาเหตุโรคในผลพริก ที่พบระบาดในแปลงของเกษตรกร อำเภอโป่งน้ำร้อน จังหวัดจันทบุรี จึงทำการคัดแยกเชื้อราที่เจริญจากเนื้อเยื่อของผลพริกและมีลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกัน จากนั้นนำเชื้อราที่ได้ไปทำการพิสูจน์การก่อโรคและทำการระบุชนิด สามารถแยกเชื้อราก่อโรคพริกได้จำนวน 5 ไอโซเลต คือ B1, C1, D1, E1 และ F1 ดังภาพที่ 4.11 เมื่อทำการระบุชนิดด้วยการเพิ่มชิ้นส่วน DNA ด้วยเทคนิค PCR จำนวน 3 ตำแหน่ง คือ ITS (Internal Transcribed Spacer) พบ PCR product ขนาด 600 bp ดังภาพที่ 4.12, GAPDH (Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase) พบ PCR product ขนาด 300-400 bp ดังภาพที่ 4.13 และ TUB2 (Beta-tubulin2) พบ PCR product ขนาด 600-800 bp (ภาพที่ 4.14) ตามลำดับ โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้รับจากวิธีการ DNA sequencing นำไปทำการ BLAST ในฐานข้อมูล GenBank ได้ผลดังตารางที่ 4.1

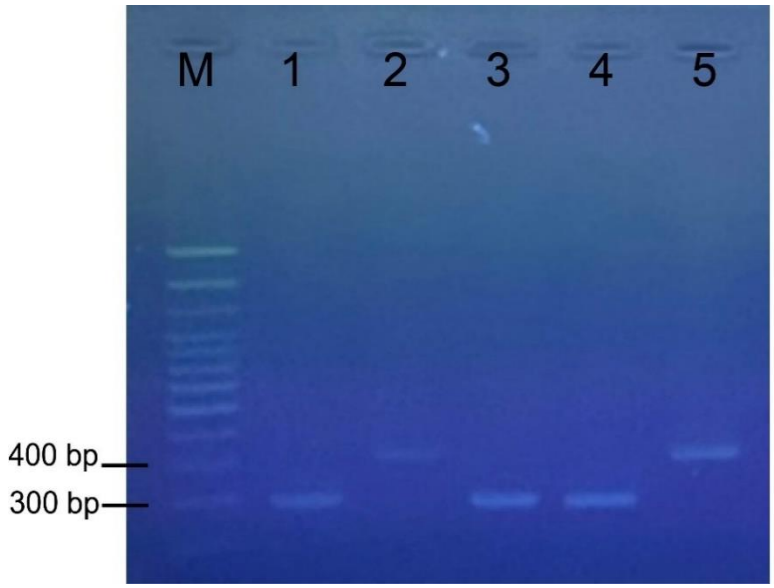
ผลการ BLAST พบว่า เชื้อราก่อโรคพริก B1, C1, D1, E1 และ F1 มีลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง ITS, GAPDH และ TUB2 คล้ายคลึงกับ *Colletotrichum siamense, Fusarium verticillioides, C. scovillei, C. scovillei,* และ *F. equiseti* ตามลำดับ ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการคัดเลือกเชื้อ *Colletotrichum siamense* (B1) เป็นตัวแทนของเชื้อก่อโรคพริกในการทดสอบต่าง ๆ และได้ทำการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้ง 3 ตำแหน่งดังกล่าวข้างต้นโดยการสร้างแผนภูมิ Phylogenetic tree เพื่อยืนยันชนิด ดังภาพที่ 4.15



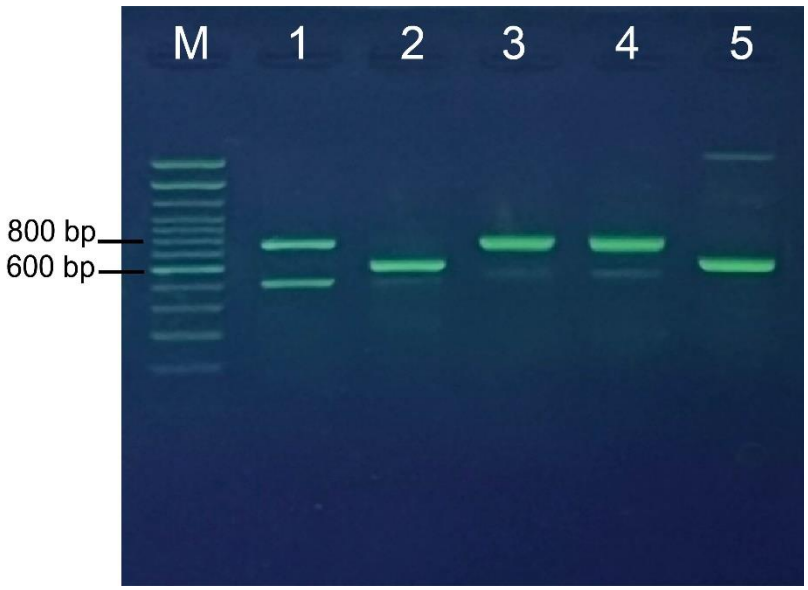
ภาพที่ 4.11 ลักษณะโคโลนีและลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของเชื้อราก่อโรคพริก A: เชื้อรา B1, B: เชื้อรา C1, C: เชื้อรา D1, D: เชื้อรา E1, E: เชื้อรา F1



ภาพที่ 4.12 ผล gel electrophoresis เพื่อตรวจสอบ PCR product จากการเพิ่มจำนวน DNA ตำแหน่ง ITS ด้วยเทคนิค PCR. M: 100 pb DNA Ladder, Lane 1: เชื้อรา B1, Lane 2: เชื้อรา C1, Lane 3: เชื้อรา D1, Lane 4: เชื้อรา E1, Lane 5: เชื้อรา F1



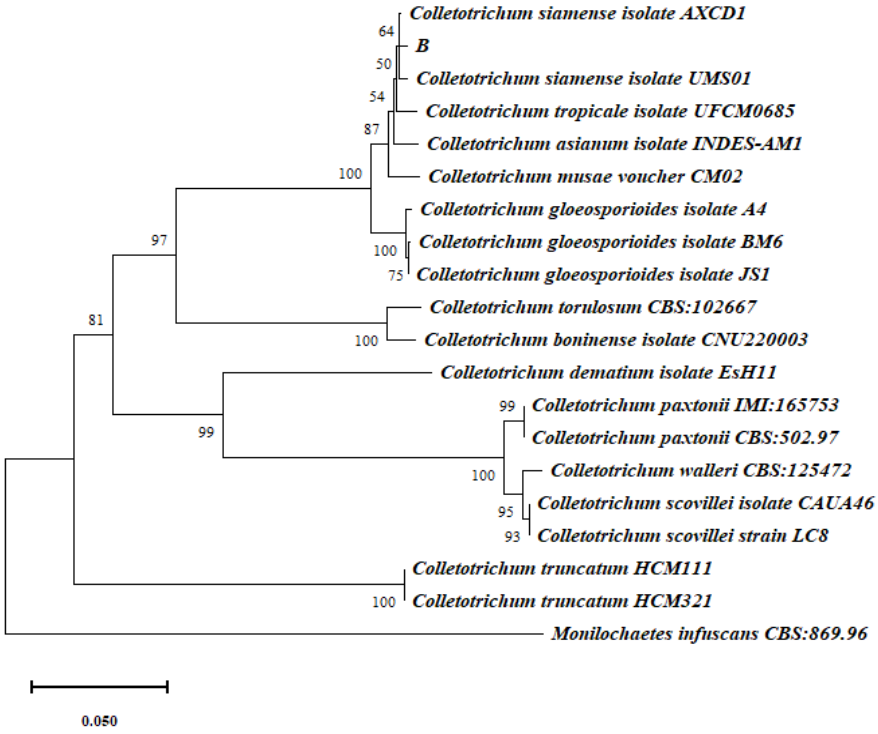
ภาพที่ 4.13 ผล gel electrophoresis เพื่อตรวจสอบ PCR product จากการเพิ่มจำนวน DNA ตำแหน่ง GAPDH ด้วยเทคนิค PCR. M: 100 pb DNA Ladder, Lane 1: เชื้อรา B1, Lane 2: เชื้อรา C1, Lane 3: เชื้อรา D1, Lane 4: เชื้อรา E1, Lane 5: เชื้อรา F1



ภาพที่ 4.14 ผล gel electrophoresis เพื่อตรวจสอบ PCR product จากการเพิ่มจำนวน DNA ตำแหน่ง TUB ด้วยเทคนิค PCR. M: 100 pb DNA Ladder, Lane 1: เชื้อรา B1, Lane 2: เชื้อรา C1, Lane 3: เชื้อรา D1, Lane 4: เชื้อรา E1, Lane 5: เชื้อรา F1

ตารางที่ 4.1 ผลการ BLAST ลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราก่อโรคพริกที่แยกได้

Species	Isolates	Best match (Accession No.)		Best match (Accession No.)		Best match (Accession No.)	
		ITS	Similarity (%)	GAPDH	Similarity (%)	TUB2	Similarity (%)
Colletotrichum siamense	B1	*Colletotrichum siamense* (MH883640.1)	100	*Colletotrichum siamense* (MK141756.1)	99.59	*Colletotrichum siamense* (JF811021.1)	99.57
Fusarium verticillioides	C1	*Fusarium verticillioides* (MT505436.1)	99.57	*Fusarium verticillioides* (XM_018892878.1)	92.39	*Fusarium verticillioides* (MT011054.1)	96.49
Colletotrichum scovillei	D1	*Colletotrichum scovillei* (ON138939.1)	100	*Colletotrichum scovillei* (MZ968983.1)	99.59	*Colletotrichum scovillei* (MK462971.1)	99.72
Colletotrichum scovillei	E1	*Colletotrichum scovillei* (MT645272.1)	99.61	*Colletotrichum scovillei* (MZ968983.1)	99.18	*Colletotrichum scovillei* (MK462971.1)	99.71
Fusarium equiseti	F1	*Fusarium equiseti* (MN644625.1)	100	*Fusarium equiseti* (JAHKOT010000004.1)	94.12	*Fusarium equiseti* (JX241676.1)	98.92



ภาพที่ 4.15 แผนภูมิ Phylogenetic tree จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง ITS, GAPDH และ TUB2 ของเชื้อ *Colletotrichum siamense* (B1)

ภาพที่ 4.16 ลักษณะโคโลนีและลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของเชื้อรา *Colletotrichum siamense* (B1) หัวลูกศรสีดำ : Appressorium, หัวลูกศรสีขาว : Conidia

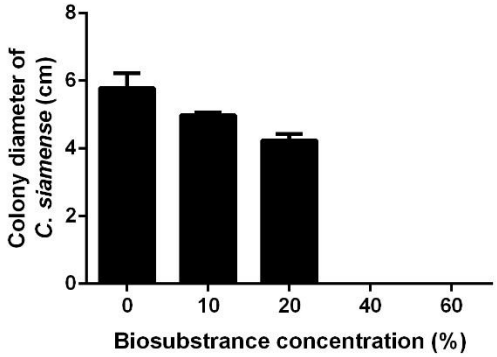
2. ผลการทดสอบน้ำหมักชีวภาพกับเชื้อราก่อโรคพริก

เพื่อศึกษาผลของสารชีวภัณฑ์หรือน้ำหมักชีวภาพที่มีต่อการเจริญของเชื้อราก่อโรคพริก จึงได้คัดเลือกเชื้อ *Colletotrichum siamense* (B1) ดังภาพที่ 4.16 เป็นตัวแทนของเชื้อราก่อโรคพริกมาทำการทดลองในการศึกษาครั้งนี้ จึงทำการเพาะเชื้อราบนอาหาร PDA ที่ผสมน้ำหมักชีวภาพที่ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์เป็นองค์ประกอบ โดยเตรียมที่ความเข้มข้น 0, 10, 20, 40 และ 60% เมื่อทำการเพาะเชื้อครบ 7 วัน ทำการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี ดังตารางที่ 4.2 พบว่าเมื่อความเข้มข้นของน้ำหมักชีวภาพเพิ่มขึ้น ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *C. siamense* (B1) ลดลง และที่ความเข้มข้น 40 และ 60% สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคได้ ดังภาพที่ 4.16-4.18

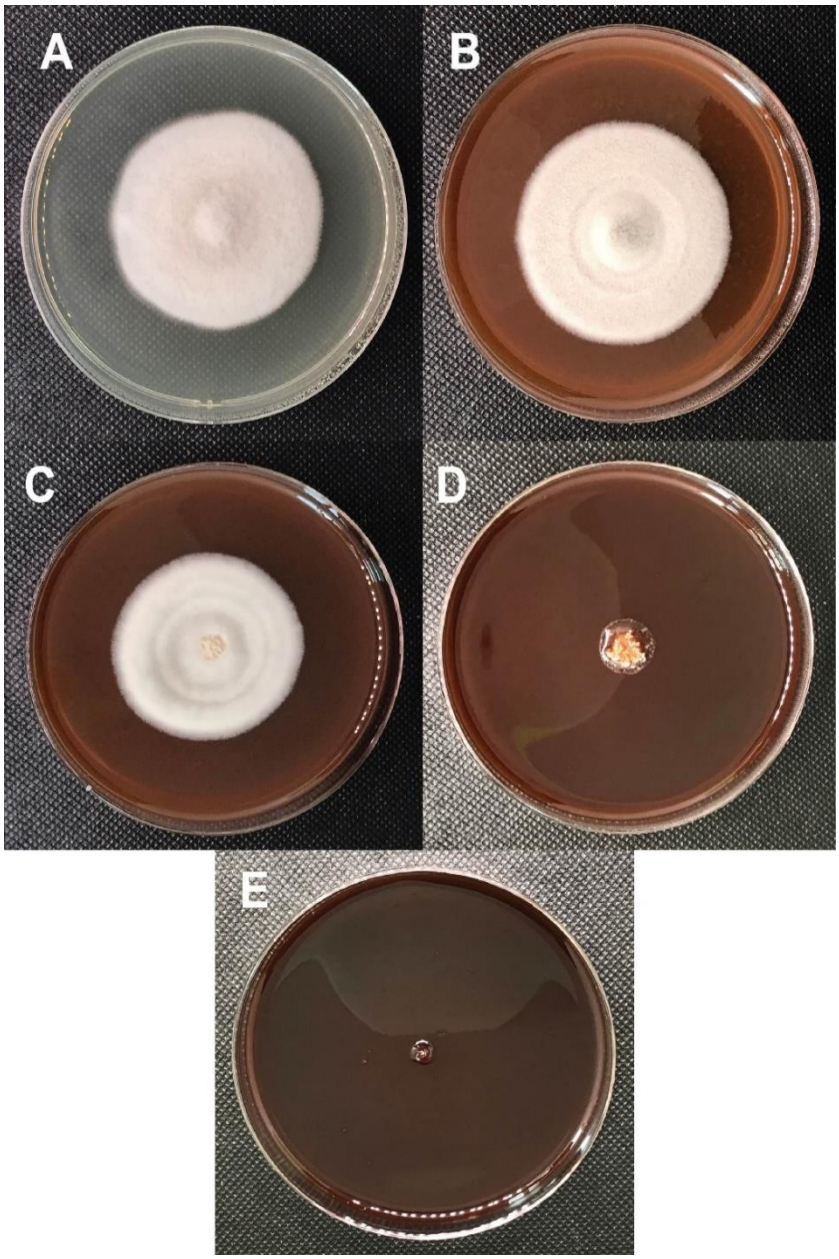
ตารางที่ 4.2 เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *Colletotrichum siamense* (B1) เมื่อเจริญบนอาหาร PDA ที่ผสมน้ำหมักชีวภาพที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นของน้ำหมักชีวภาพ	**เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *C. siamense* (B1) (ซม.)**				
ที่ผสมในอาหาร PDA (%)	**0%**	**10%**	**20%**	**40%**	**60%**
ค่าเฉลี่ย	5.78	4.98*	4.24*	0*	0*
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.45	0.08	0.18	0	0

*พบความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value<0.05) (ทำการทดลอง 5 ซ้ำ)



ภาพที่ 4.17 แผนภูมิเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *Colletotrichum siamense* (B1) เมื่อเจริญบนอาหาร PDA ที่ผสมน้ำหมักชีวภาพที่ความเข้มข้นต่าง ๆ



ภาพที่ 4.18 ผลการทดสอบน้ำหมักชีวภาพกับเชื้อราก่อโรคพริก *Colletotrichum siamense* (B1).
A: เชื้อราบนอาหาร PDA (Control), B: เชื้อราบนอาหาร PDA+น้ำหมักชีวภาพ 10%,
C: เชื้อราบนอาหาร PDA+น้ำหมักชีวภาพ 20%, D: เชื้อราบนอาหาร PDA+น้ำหมักชีวภาพ 40%,
E: เชื้อราบนอาหาร PDA+น้ำหมักชีวภาพ 60%

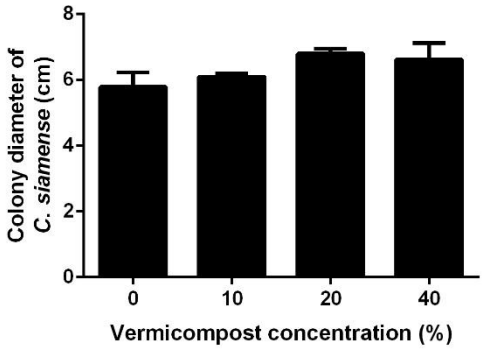
3. ผลการทดสอบปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนกับเชื้อราก่อโรคพริก

เพื่อศึกษาผลของสารละลายปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนที่มีต่อการเจริญของเชื้อ *Colletotrichum siamense* (B1) จึงทำการเพาะเชื้อราบนอาหาร PDA ที่ผสมสารละลายปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนที่ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์เป็นองค์ประกอบ โดยเตรียมที่ความเข้มข้น 0, 10, 20 และ 40% เมื่อเพาะเชื้อราครบ 7 วัน ทำการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี ดังตารางที่ 4.3 พบว่าความเข้มข้นของสารละลายปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนที่เพิ่มขึ้น ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *C. siamense* (B1) เพิ่มขึ้น จะเห็นได้ว่าสารละลายปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคได้ ในทางตรงกันข้ามกลับช่วยส่งเสริมการเจริญของเชื้อ *C. siamense* (B1) ให้เจริญได้ดีขึ้น ดังภาพที่ 4.19-4.20

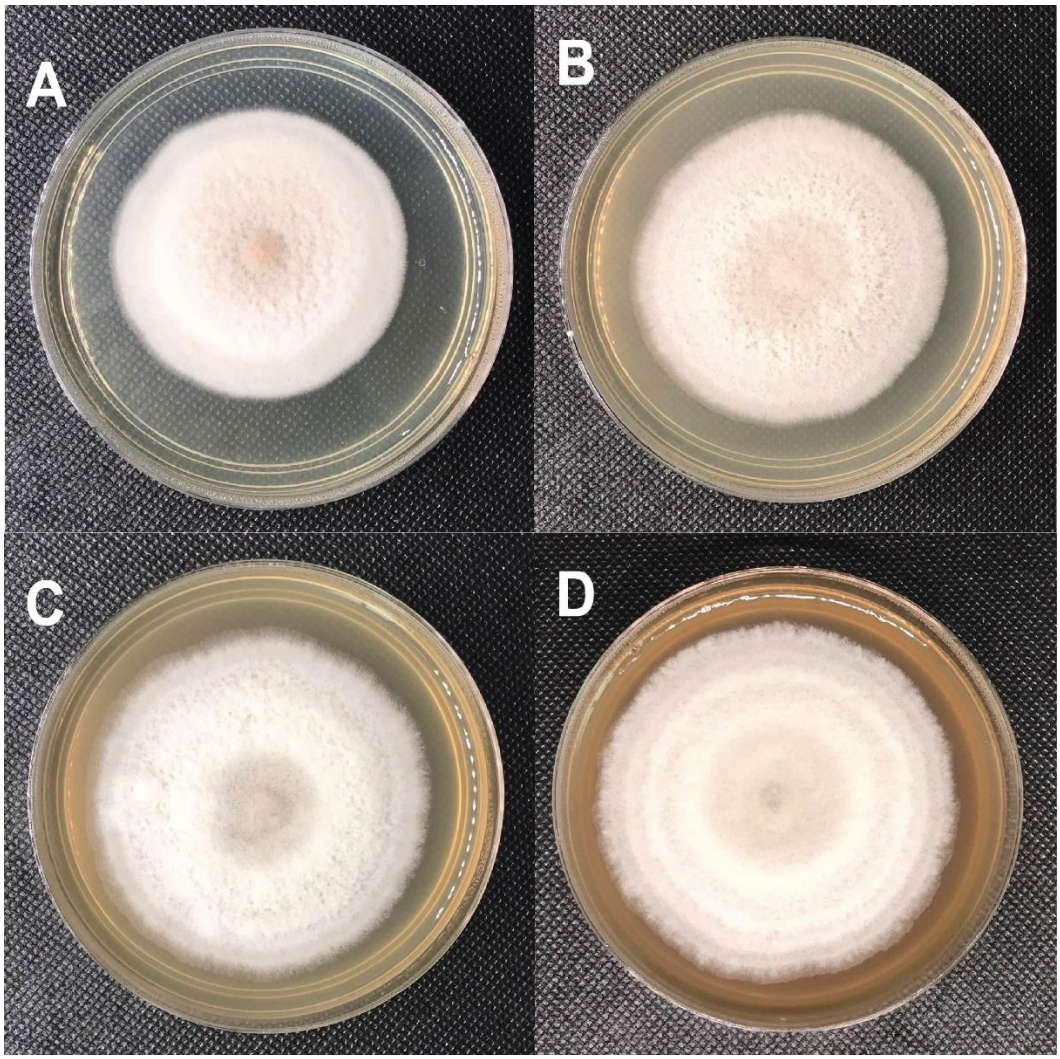
ตารางที่ 4.3 เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *Colletotrichum siamense* (B1) เมื่อเจริญบนอาหาร PDA ที่ผสมสารละลายปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นของสารละลายปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนที่ผสมในอาหาร PDA (%)	**เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *C. siamense* (B1) (ซม.)**			
	0%	**10%**	**20%**	**40%**
ค่าเฉลี่ย	5.78	6.1	6.8*	6.62*
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.45	0.1	0.14	0.50

*พบความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value<0.05) (ทำการทดลอง 5 ซ้ำ)



ภาพที่ 4.19 แผนภูมิเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *Colletotrichum siamense* (B1) เมื่อเจริญบนอาหาร PDA ที่ผสมสารละลายปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ



ภาพที่ 4.20 ผลการทดสอบสารละลายปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนกับเชื้อราก่อโรคพริก *Colletotrichum siamense* (B1). A: เชื้อราบนอาหาร PDA (Control), B: เชื้อราบนอาหาร PDA+สารละลายปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน 10%, C: เชื้อราบนอาหาร PDA+สารละลายปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน 20%, D: เชื้อราบนอาหาร PDA+สารละลายปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน 40%

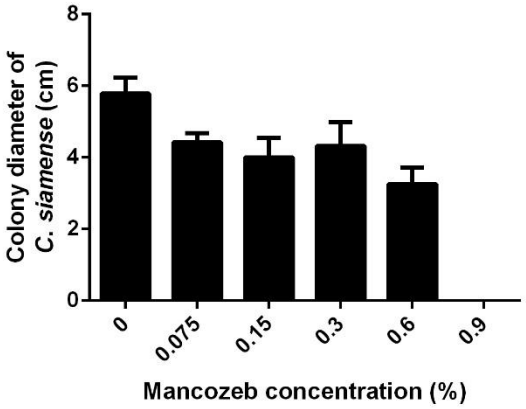
4. ผลการทดสอบสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรากับเชื้อราก่อโรคพริก

เพื่อศึกษาผลของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา (Mancozeb) ที่มีต่อการเจริญของเชื้อ *Colletotrichum siamense* (B1) จึงทำการเพาะเชื้อราบนอาหาร PDA ที่ผสมสารเคมี โดยเตรียมที่ความเข้มข้น 0, 0.075, 0.15, 0.3, 0.6 และ 0.9% เมื่อเพาะเชื้อราครบ 7 วัน ทำการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี ดังตารางที่ 4.4 พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารเคมีเพิ่มขึ้น ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *C. siamense* (B1) ลดลง และที่ความเข้มข้น 0.9% สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคได้ ดังภาพที่ 4.21-4.22

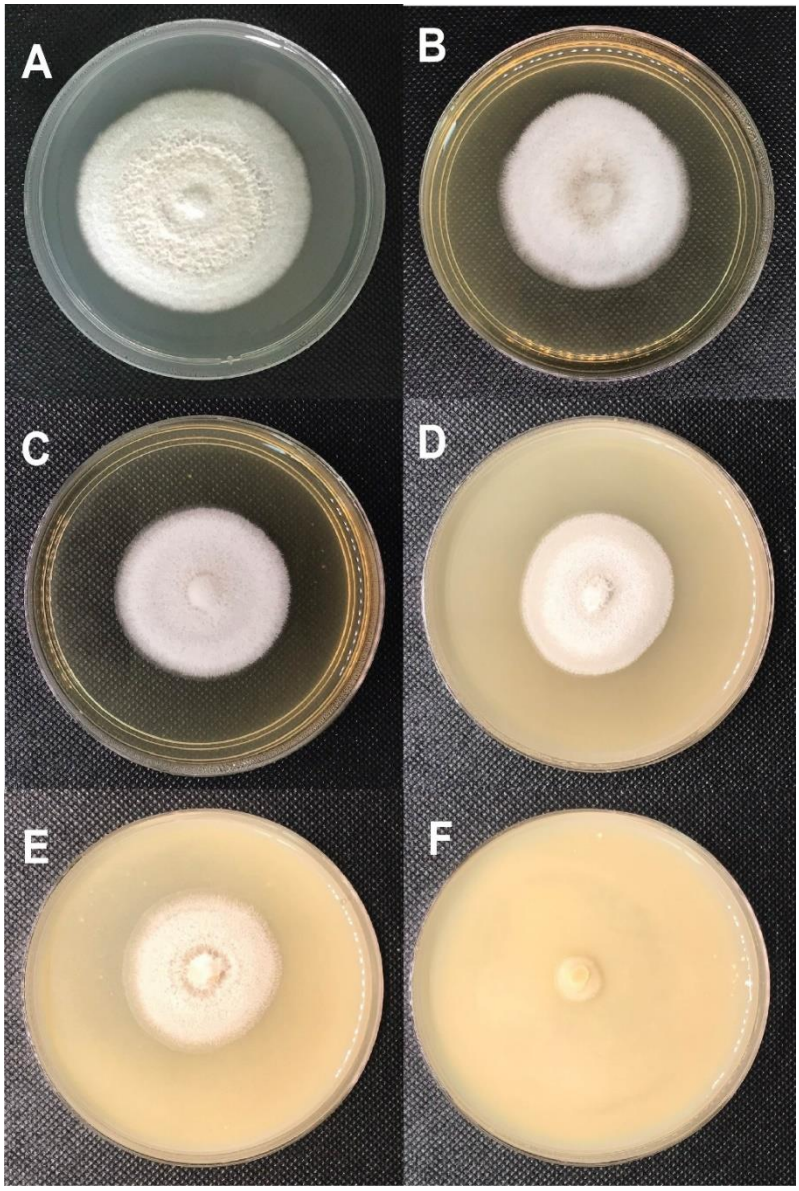
ตารางที่ 4.4 เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *Colletotrichum siamense* (B1) เมื่อเจริญบนอาหาร PDA ที่ผสมสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา (Mancozeb) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นของสารเคมี	**เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *C. siamense* (B1) (ซม.)**					
ที่ผสมในอาหาร PDA (%)	**0%**	**0.075%**	**0.15%**	**0.3%**	**0.6%**	**0.9%**
ค่าเฉลี่ย	5.78	4.42*	4.00*	4.32*	3.26*	0*
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.45	0.26	0.54	0.67	0.46	0

*พบความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value<0.05) (ทำการทดลอง 5 ซ้ำ)



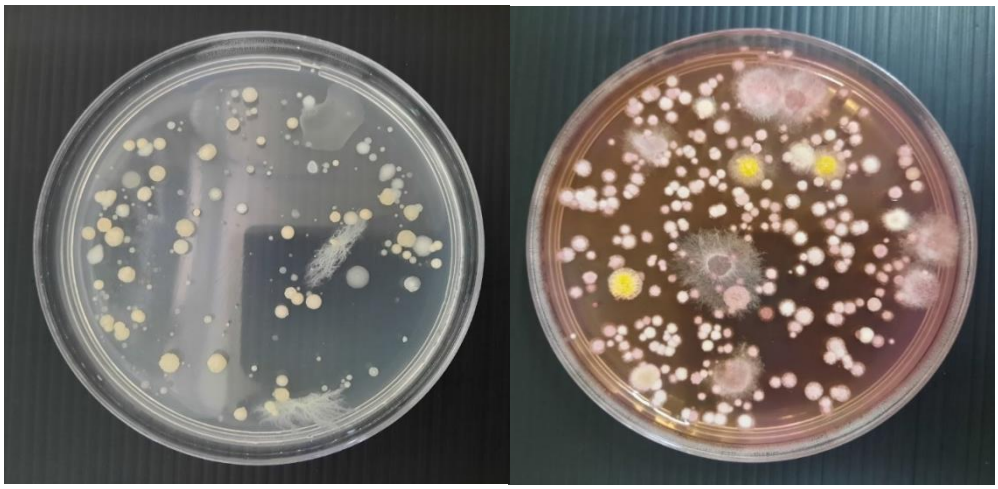
ภาพที่ 4.21 แผนภูมิเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *Colletotrichum siamense* (B1) เมื่อเจริญบนอาหาร PDA ที่ผสมสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา (Mancozeb) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ



ภาพที่ 4.22 ผลการทดสอบสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา (Mancozeb) กับเชื้อราก่อโรคพริก *Colletotrichum siamense* (B1). A: เชื้อราบนอาหาร PDA (control), B: เชื้อราบนอาหาร PDA+สารเคมี 0.075%, C: เชื้อราบนอาหาร PDA+สารเคมี 0.15%, D: เชื้อราบนอาหาร PDA+สารเคมี 0.3%, E: เชื้อราบนอาหาร PDA+สารเคมี 0.6%, F: เชื้อราบนอาหาร PDA+สารเคมี 0.9%.

5. ผลการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ในปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนและน้ำหมักชีวภาพ

จากการนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนและน้ำหมักชีวภาพด้วยวิธี Total plate count ดังภาพที่ 4.23 พบจำนวนเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดในปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนและน้ำหมักชีวภาพเท่ากับ 3.40×10^7 CFU/g และ 8.37×10^3 CFU/ml ตามลำดับ พบจำนวนเชื้อราทั้งหมดในปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนและน้ำหมักชีวภาพเท่ากับ 2.64×10^5 CFU/g และตรวจไม่พบ ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.5



ภาพที่ 4.23 ลักษณะโคโลนีที่ปรากฏบนอาหาร Plate count agar (PCA) และอาหาร Dichloran rose bengal chloramphenicol agar (DRBC) จากการทำ Total plate count เพื่อนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดและนับจำนวนเชื้อราทั้งหมด ตามลำดับ

ตารางที่ 4.5 จำนวนแบคทีเรียและจำนวนเชื้อราทั้งหมดที่พบในตัวอย่างปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนและน้ำหมักชีวภาพ

ตัวอย่างที่ตรวจนับจุลินทรีย์	จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด*	จำนวนเชื้อราทั้งหมด*
ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	3.40×10^7 CFU/g	2.64×10^5 CFU/g
น้ำหมักชีวภาพ	8.37×10^3 CFU/ml	0 CFU/ml

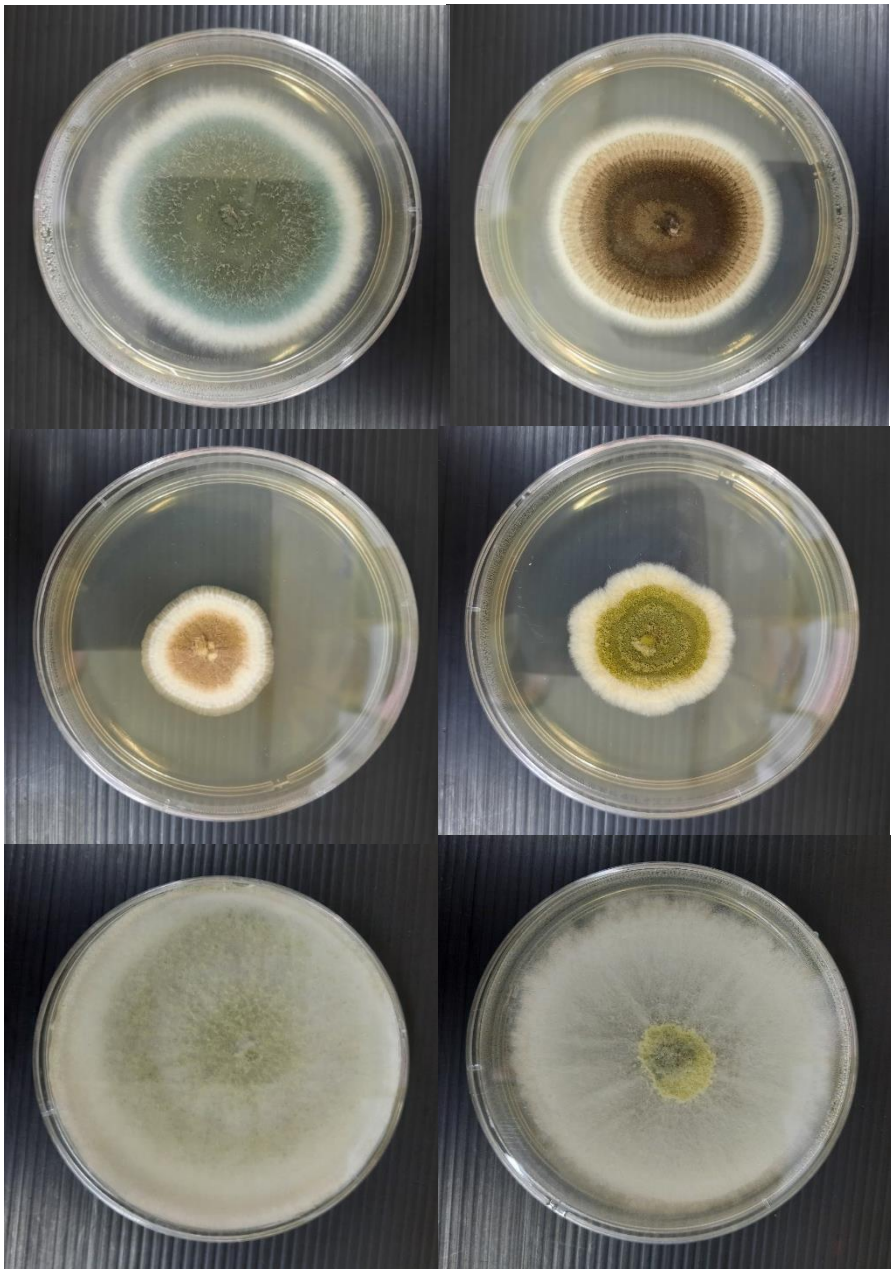
*ค่าเฉลี่ยจากการตรวจนับจุลินทรีย์จากตัวอย่างปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนและน้ำหมักชีวภาพ จำนวน 3 รอบการผลิต

6. ผลการคัดแยกเชื้อราและแบคทีเรียจากน้ำหมักชีวภาพและปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน

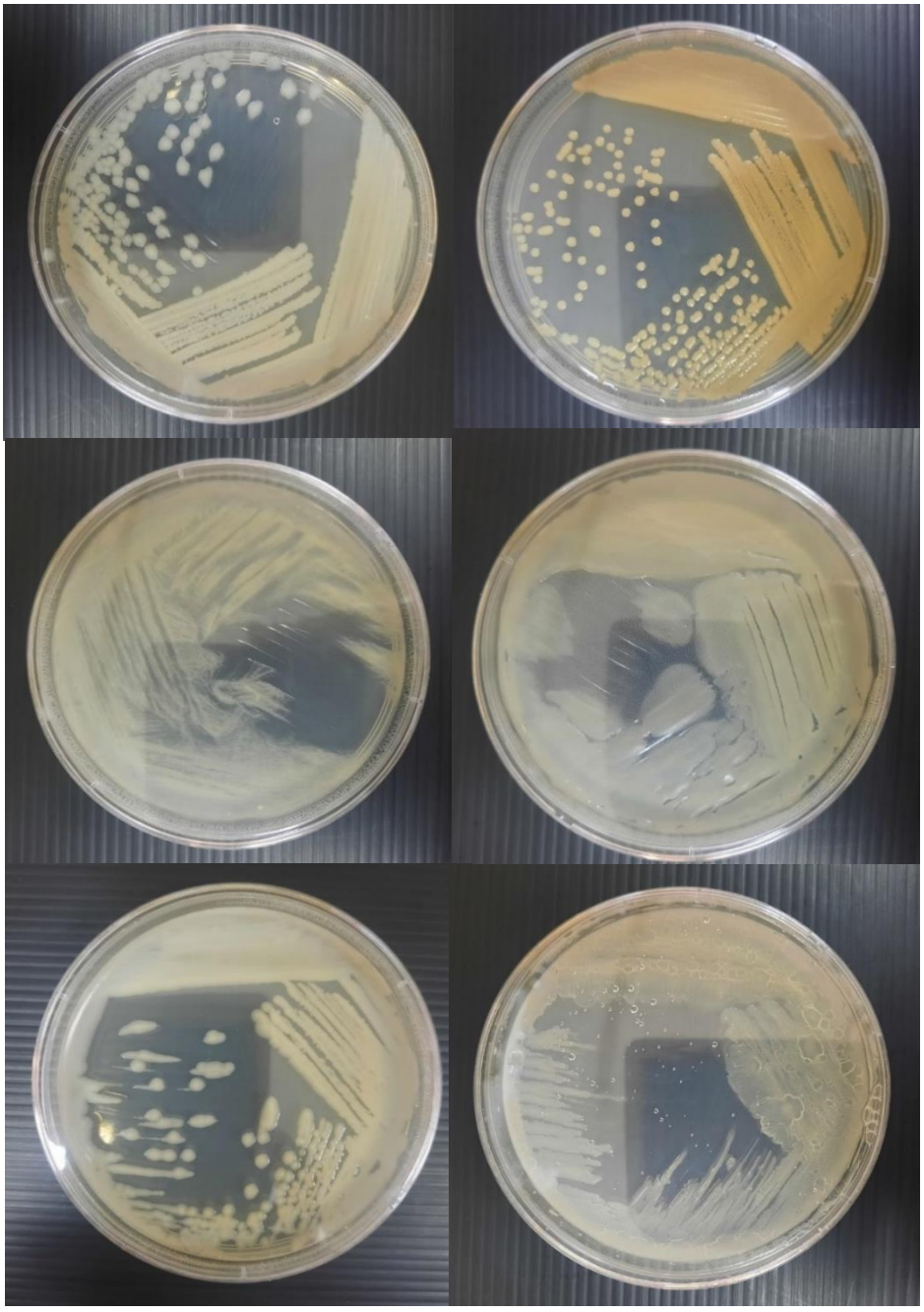
ทำการแยกเชื้อราที่พบในปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนและน้ำหมักชีวภาพให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค Point inoculation พบลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่แตกต่างกัน โดยพบเชื้อราในปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน จำนวน 32 ไอโซเลต แต่ไม่พบเชื้อราในน้ำหมักชีวภาพ ดังตารางที่ 4.6 และภาพที่ 4.24 แล้วทำการเก็บรักษาเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นทำการแยกเชื้อแบคทีเรียที่พบในปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนและน้ำหมักชีวภาพให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค Cross streak พบลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียที่แตกต่างกัน โดยพบแบคทีเรียในปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน จำนวน 20 ไอโซเลต และพบแบคทีเรียในน้ำหมักชีวภาพ จำนวน 11 ไอโซเลต ดังตารางที่ 4.6 และภาพที่ 4.25 แล้วทำการเก็บรักษาเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 4°C เพื่อรอการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อราสาเหตุโรคพริกต่อไป

ตารางที่ 4.6 จำนวนแบคทีเรียและจำนวนเชื้อราที่แยกได้จากตัวอย่างปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนและน้ำหมักชีวภาพ

	จำนวนเชื้อที่แยกได้ (ไอโซเลต)	
	เชื้อรา	**แบคทีเรีย**
ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	32	20
น้ำหมักชีวภาพ	0	11
รวม	32	31



ภาพที่ 4.24 ตัวอย่างลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่พบในปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนและน้ำหมักชีวภาพ



ภาพที่ 4.25 ตัวอย่างลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียที่พบในปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนและน้ำหมักชีวภาพ

7. ผลการทดสอบคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคพริกกับเชื้อราที่แยกได้

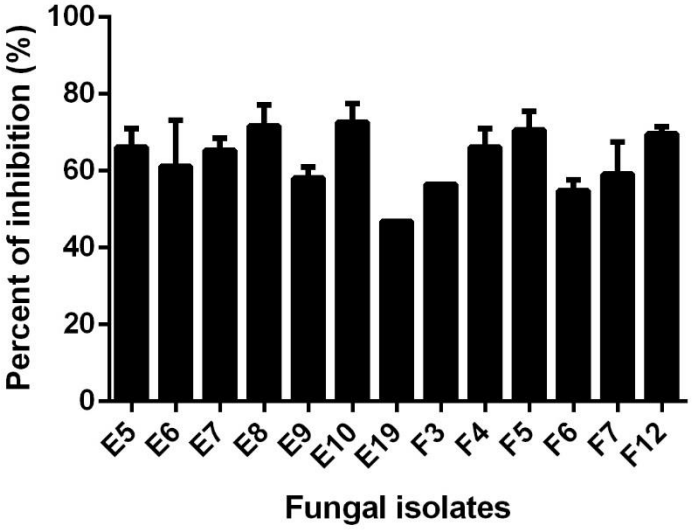
การทดสอบคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคพริก *Colletotrichum siamense* (B1) กับเชื้อราที่แยกได้จากปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน พบเชื้อราที่แสดงผลการยับยั้งราก่อโรค จำนวน 13 ไอโซเลต คิดเป็นร้อยละ 40.63 ของจำนวนเชื้อราทั้งหมดที่แยกได้ ซึ่งให้ผลร้อยละการยับยั้งในช่วง 46.85 - 72.64 ดังตารางที่ 4.7 และภาพที่ 4.26-4.27 โดยเชื้อราที่ให้ผลร้อยละการยับยั้งสูงสุด คือ รหัส E10, E8 และ F5 เท่ากับ 72.75±4.81, 71.70±5.45 และ 70.65±4.80 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.7 ร้อยละการยับยั้งเชื้อราก่อโรคพริก *Colletotrichum siamense* (B1) กับเชื้อราที่แยกได้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน

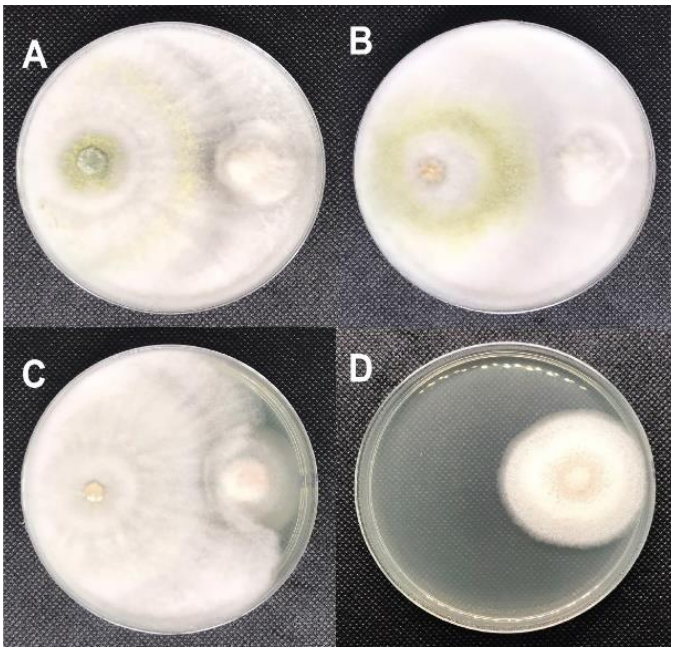
ลำดับ	แหล่งที่มา	รหัสเชื้อรา	ร้อยละการยับยั้ง
1	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	E5	66.18±4.83
2	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	E6	61.21±11.91
3	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	E7	65.41±3.15
4	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	E8	71.70±5.45
5	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	E9	58.13±2.79
6	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	**E10**	**72.75±4.81**
7	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	E19	46.85±0
8	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	F3	56.52±0
9	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	F4	66.18±4.83
10	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	F5	70.65±4.80
11	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	F6	54.91±2.79
12	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	F7	59.12±8.32
13	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	F12	69.6±1.82
14	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	E1	0
15	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	E2	0

ตารางที่ 4.7 ร้อยละการยับยั้งเชื้อราก่อโรคพริก *Colletotrichum siamense* (B1) กับเชื้อราที่แยกได้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน (ต่อ)

ลำดับ	แหล่งที่มา	รหัสเชื้อรา	ร้อยละการยับยั้ง
16	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	E3	0
17	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	E4	0
18	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	E11	0
19	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	E12	0
20	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	E13	0
21	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	E14	0
22	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	E15	0
23	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	E16	0
24	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	E17	0
25	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	E18	0
26	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	E20	0
27	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	F1	0
28	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	F2	0
29	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	F8	0
30	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	F9	0
31	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	F10	0
32	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	F11	0



ภาพที่ 4.26 แผนภูมิร้อยละการยับยั้งเชื้อราก่อโรคพริก *Colletotrichum siamense* (B1) กับเชื้อราที่แยกได้จากปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนไอโซเลตต่าง ๆ

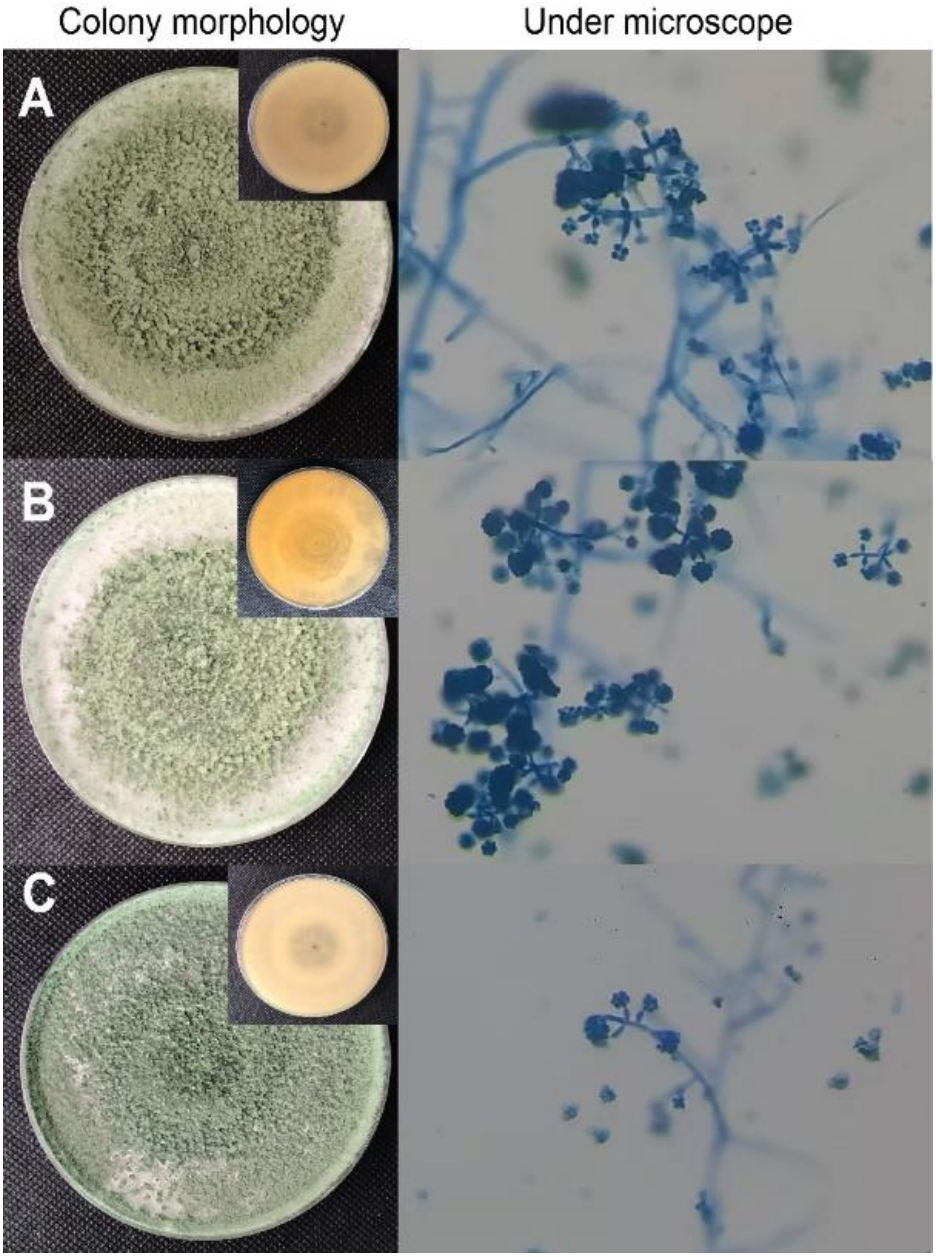


ภาพที่ 4.27 ตัวอย่างผลการยับยั้งเชื้อราก่อโรคพริก *Colletotrichum siamense* (B1) กับเชื้อราที่แยกได้จากปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน. A: เชื้อรา E10, B: เชื้อรา E8, C: เชื้อรา F5, D: เชื้อรา *C. siamense* (B1) Control

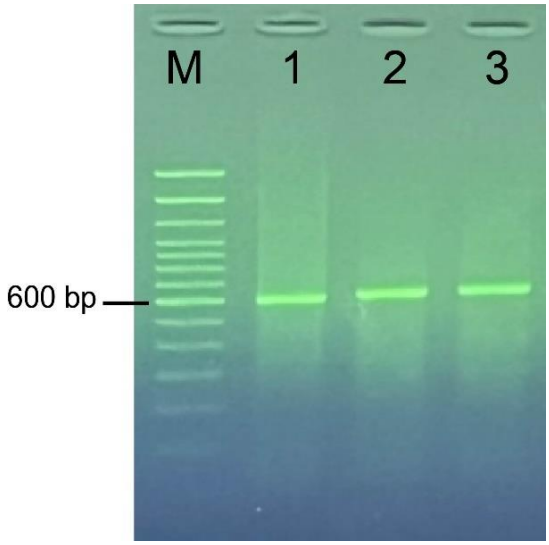
8. ผลการระบุชนิดเชื้อราที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราก่อโรคพริก

นำเชื้อราที่แสดงผลการยับยั้งเชื้อราก่อโรคพริก *Colletotrichum siamense* (B1) สูงสุด 3 อันดับแรก คือ E10, E8, และ F5 มาทำการระบุชนิดโดยการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่ามีลักษณะโคโลนี เส้นใยสีขาว สร้างสปอร์สีเขียวจำนวนมาก ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เส้นใยมีผนังกั้น สร้างสปอร์เรียกว่า โคนิเดีย (Conidia) รูปร่างกลม อยู่กันเป็นกลุ่ม ดังภาพที่ 4.28

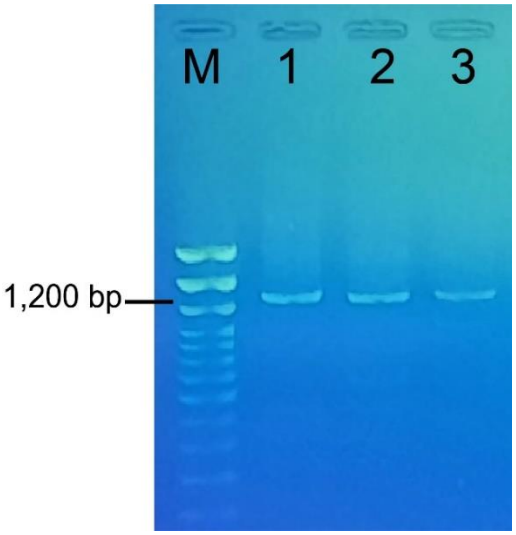
เมื่อทำการระบุชนิดเชื้อราโดยวิธีทางอณูชีววิทยา ด้วยการเพิ่มชิ้นส่วน DNA จำนวน 3 ตำแหน่ง คือ ITS (Internal Transcribed Spacer) พบ PCR product ขนาด 600 bp ดังภาพที่ 4.29, RPB2 (DNA-directed RNA polymerase II subunit 2) พบ PCR product ขนาด 1,200 bp ดังภาพที่ 4.30, และ TEF1 (Translation elongation factor 1) พบ PCR product ขนาด 500 bp ดังภาพที่ 4.31 ตามลำดับ โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้รับจากวิธีการ DNA sequencing นำไปทำการ BLAST ในฐานข้อมูล GenBank ดังตารางที่ 4.8 และทำการสร้างแผนภูมิ Phylogenetic tree จากลำดับนิวคลีโอไทด์ 3 ตำแหน่ง คือ ITS, RPB2 และ TEF1 (ภาพที่ 4.32) พบว่าสามารถระบุชนิดเชื้อราที่มีฤทธิ์ยับยั้ง E10, E8, และ F5 คือเชื้อ *Trichoderma breve* (E10) และ *T. zerobreve* (E8 และ F5) ตามลำดับ



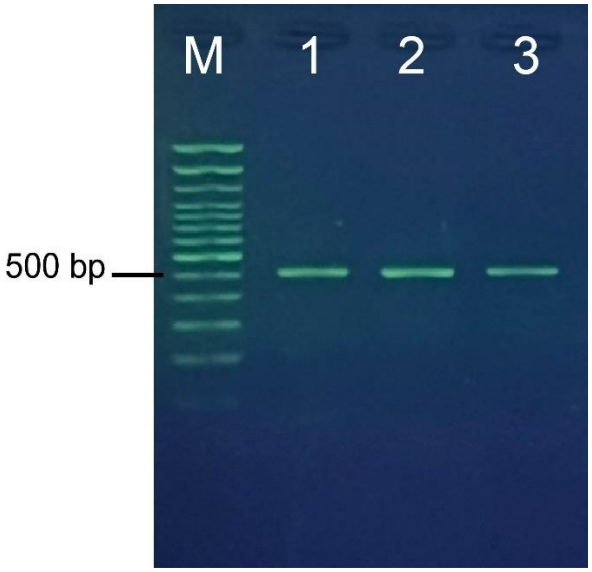
ภาพที่ 4.28 ตัวอย่างลักษณะโคโลนีและลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของเชื้อราที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราก่อโรคพริก. A: เชื้อรา E10, B: เชื้อรา E8, C: เชื้อรา F5



ภาพที่ 4.29 ผล gel electrophoresis เพื่อตรวจสอบ PCR product จากการเพิ่มจำนวน DNA ตำแหน่ง ITS ด้วยเทคนิค PCR. M: 100 pb DNA Ladder, Lane 1: เชื้อรา E10, Lane 2: เชื้อรา E8, Lane 3: เชื้อรา F5



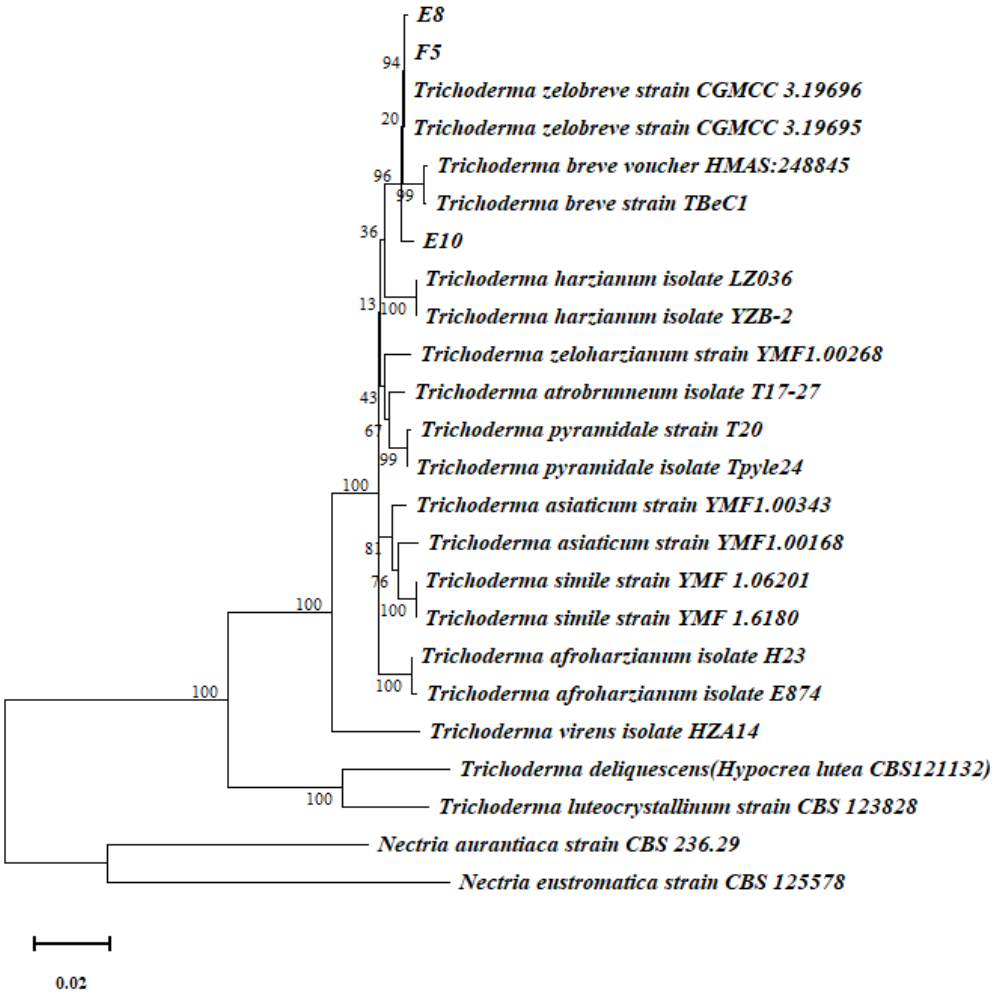
ภาพที่ 4.30 ผล gel electrophoresis เพื่อตรวจสอบ PCR product จากการเพิ่มจำนวน DNA ตำแหน่ง RPB2 ด้วยเทคนิค PCR. M: 100 pb DNA Ladder, Lane 1: เชื้อรา E10, Lane 2: เชื้อรา E8, Lane 3: เชื้อรา F5



ภาพที่ 4.31 ผล gel electrophoresis เพื่อตรวจสอบ PCR product จากการเพิ่มจำนวน DNA ตำแหน่ง TEF1 ด้วยเทคนิค PCR. M: 100 pb DNA Ladder, Lane 1: เชื้อรา E10, Lane 2: เชื้อรา E8, Lane 3: เชื้อรา F5

ตารางที่ 4.8 ผลการ BLAST ลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราที่มีฤทธิ์ยับยั้ง

Species	Isolates	Best match (Accession No.)		Best match (Accession No.)		Best match (Accession No.)	
		ITS	Similarity (%)	RPB2	Similarity (%)	TEF1	Similarity (%)
Trichoderma virens	E10	*Trichoderma harzianum* (MIRRI0134006)	100	*Trichoderma virens* (MIRRI0134909)	92.12	*Trichoderma virens* (MIRRI0119678)	98.47
Trichoderma virens	E8	*Trichoderma harzianum* (MH634986)	100	*Trichoderma virens* (MIRRI0134909)	92.47	*Trichoderma virens* (MIRRI0119678)	98.47
Trichoderma virens	F5	*Trichoderma harzianum* (MIRRI0134006)	100	*Trichoderma virens* (MIRRI0134909)	92.47	*Trichoderma virens* (MIRRI0119678)	98.47



ภาพที่ 4.32 แผนภูมิ Phylogenetic tree จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง ITS, RPB2 และ TEF1 ของเชื้อรา E10, เชื้อรา E8, และเชื้อรา F5 ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราก่อโรคพริก

9. ผลการทดสอบคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคพริกกับแบคทีเรียที่แยกได้

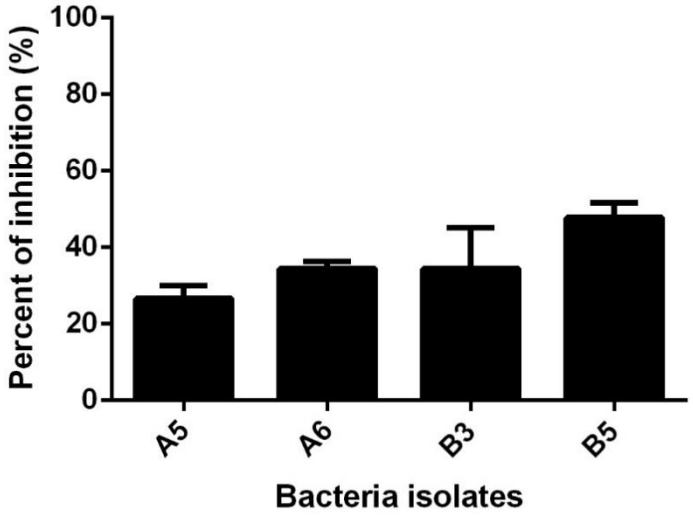
การทดสอบคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคพริก *Colletotrichum siamense* (B1) กับเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนและน้ำหมักชีวภาพ พบแบคทีเรียที่แสดงผลการยับยั้งราก่อโรคจำนวน 4 ไอโซเลต คิดเป็นร้อยละ 12.90 ของจำนวนเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดที่แยกได้ ซึ่งให้ผลร้อยละการยับยั้งในช่วง 26.67 – 47.78 ดังตารางที่ 4.9 และภาพที่ 4.33-4.34 โดยเชื้อแบคทีเรียที่ให้ผลร้อยละการยับยั้งสูงสุด คือ B5, B3, A6 และ A5 เท่ากับ 47.78±3.85, 34.45±10.72, 34.44±1.93 และ 26.67±3.34 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.9 ร้อยละการยับยั้งเชื้อราก่อโรคพริก *Colletotrichum siamense* (B1) กับเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนและน้ำหมักชีวภาพ

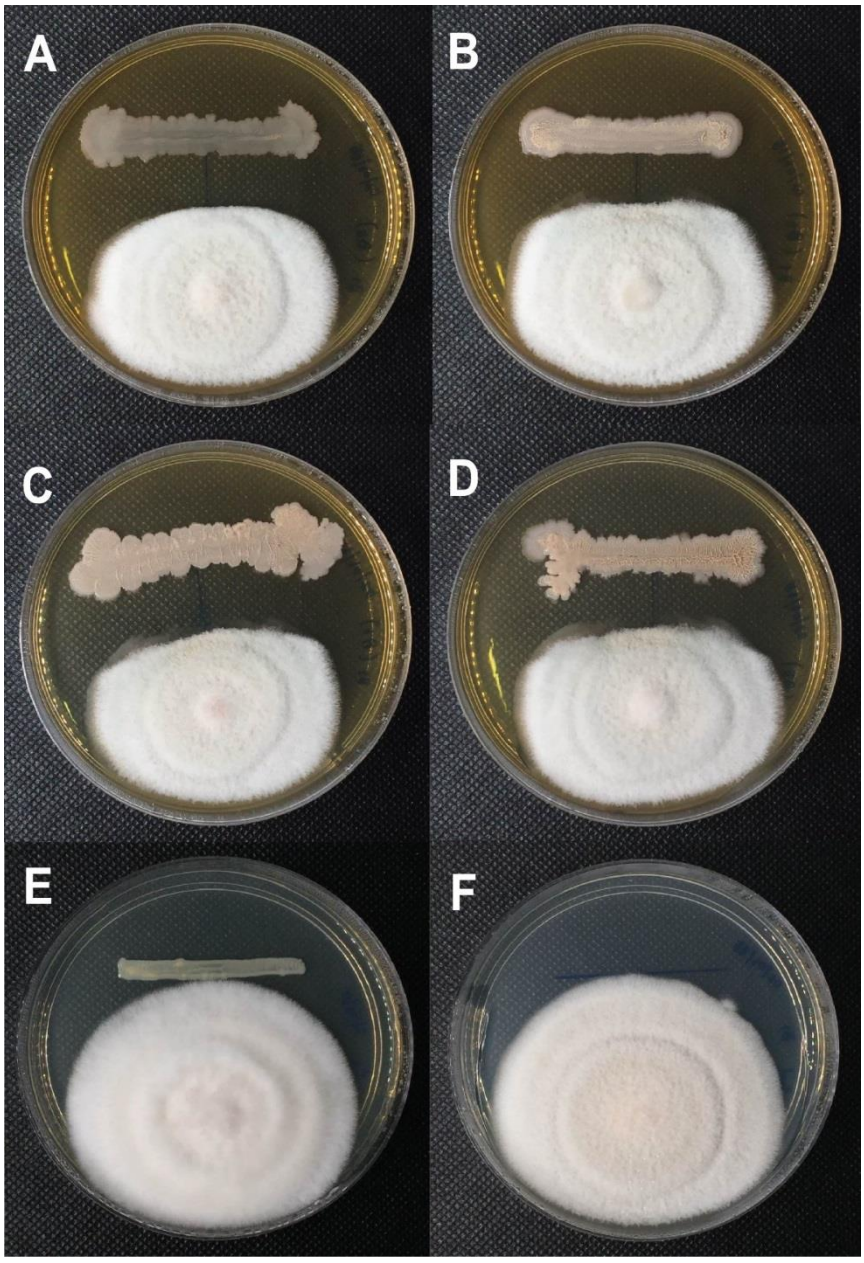
ลำดับ	แหล่งที่มา	รหัสเชื้อแบคทีเรีย	ร้อยละการยับยั้ง
1	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	A5	26.67±3.34
2	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	A6	34.44±1.93
3	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	B3	34.45±10.72
4	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	**B5**	**47.78±3.85**
5	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	A1	0
6	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	A2	0
7	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	A3	0
8	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	A4	0
9	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	A7	0
10	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	A8	0
11	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	A9	0
12	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	A10	0
13	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	A11	0
14	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	A12	0
15	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	B1	0

ตารางที่ 4.9 ร้อยละการยับยั้งเชื้อราก่อโรคพริก *Colletotrichum siamense* (B1) กับเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนและน้ำหมักชีวภาพ (ต่อ)

ลำดับ	แหล่งที่มา	รหัสเชื้อแบคทีเรีย	ร้อยละการยับยั้ง
16	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	B2	0
17	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	B4	0
18	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	B6	0
19	น้ำหมักชีวภาพ	C1	0
20	น้ำหมักชีวภาพ	C2	0
21	น้ำหมักชีวภาพ	C3	0
22	น้ำหมักชีวภาพ	C4	0
23	น้ำหมักชีวภาพ	C5	0
24	น้ำหมักชีวภาพ	C6	0
25	น้ำหมักชีวภาพ	C7	0
26	น้ำหมักชีวภาพ	D1	0
27	น้ำหมักชีวภาพ	D2	0
28	น้ำหมักชีวภาพ	D3	0
29	น้ำหมักชีวภาพ	D4	0
30	น้ำหมักชีวภาพ	D5	0
31	น้ำหมักชีวภาพ	D6	0



ภาพที่ 4.33 แผนภูมิร้อยละการยับยั้งเชื้อราก่อโรคพริก *Colletotrichum siamense* (B1) กับเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน



ภาพที่ 4.34 ตัวอย่างผลการยับยั้งเชื้อราก่อโรคพริกกับเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนและน้ำหมักชีวภาพ. A: แบคทีเรีย B5, B: แบคทีเรีย B3, C: แบคทีเรีย A6, D: แบคทีเรีย A5, E: แบคทีเรีย C6 (ไม่ยับยั้ง) F: เชื้อรา *Colletotrichum siamense* (B1) Control

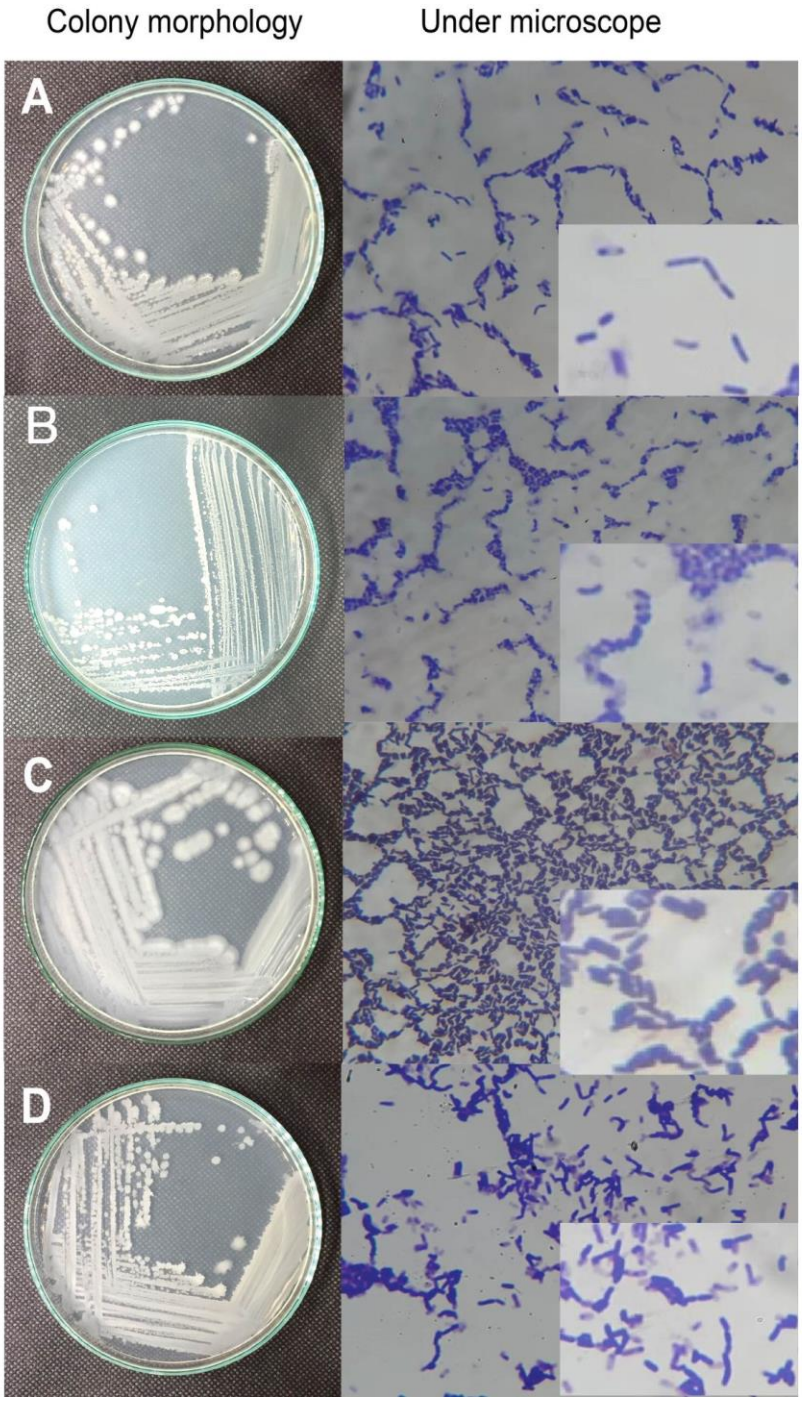
10. ผลการระบุชนิดแบคทีเรียที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราก่อโรคพริก

ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นพบว่า แบคทีเรียทุกไอโซเลตโคโลนีมีลักษณะกลมขอบเป็นหยัก ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ มีลักษณะรูปร่างท่อน ต่อกันเป็นเส้นสาย ติดสีแกรมบวก ดังภาพที่ 4.35 เมื่อทำการย้อมเอนโดสปอร์ (Endospore) พบว่าทั้งหมดสามารถสร้างเอนโดสปอร์ได้ จึงจัดเป็นแบคทีเรียกลุ่ม endospore-forming gram-positive rod ดังภาพที่ 4.36

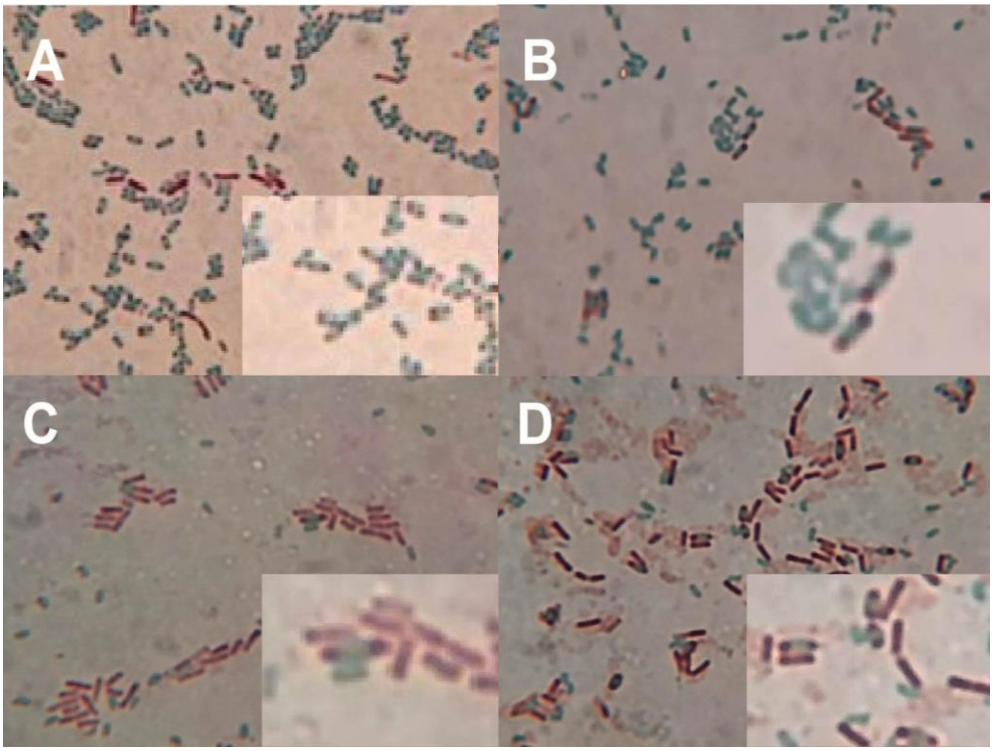
จากการทดสอบปฏิกิริยาชีวเคมีพบว่า แบคทีเรีย A4, A6, B3 และ B5 ให้ผลการทดสอบ Starch Hydrolysis เป็นบวก, VP test เป็นลบ และ 6.5% NaCl เป็นบวก ดังตารางที่ 4.10 โดยในการทดสอบ Starch Hydrolysis พบว่า เกิด Clear zone บริเวณรอบ ๆ ของโคโลนี ซึ่งแบคทีเรียทั้ง 4 ไอโซเลต มีความสามารถในการย่อยสลายแป้งเนื่องจากมีการสร้างเอนไซม์อะไมเลสจึงให้ผลเป็นบวก ในการทดสอบ VP test พบว่าไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีอาหารหลังจากที่ทำการหยดน้ำยาทดสอบ เนื่องจากแบคทีเรียทั้ง 4 ไอโซเลต ไม่สามารถหมักย่อยน้ำตาลกลูโคสได้จึงให้ผลเป็นลบ และในการทดสอบ 6.5% NaCl พบว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงของอาหารจากใสเป็นขุ่น เนื่องจากแบคทีเรียทั้ง 4 ไอโซเลต มีความสามารถในการทนต่อความเข้มข้นของเกลือที่ 6.5% จึงให้ทำให้สามารถเจริญในอาหารนี้ได้และให้ผลการทดสอบเป็นบวก

ตารางที่ 4.10 ผลการทดสอบปฏิกิริยาชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรียที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราก่อโรคพริก

รหัส	Biochemical Test		
	Starch Hydrolysis	VP Test	6.5% NaCl
A5	+	-	+
A6	+	-	+
B3	+	-	+
B5	+	-	+



ภาพที่ 4.35 ลักษณะโคโลนีและลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของเชื้อแบคทีเรียที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราก่อโรคพริก. A: แบคทีเรีย B5, B: แบคทีเรีย B3, C: แบคทีเรีย A6, D: แบคทีเรีย A5



ภาพที่ 4.36 การสร้างเอนโดสปอร์ (endospore) ของเชื้อแบคทีเรียที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราก่อโรคพริก. A: แบคทีเรีย B5, B: แบคทีเรีย B3, C: แบคทีเรีย A6, D: แบคทีเรีย A5

โครงการย่อยที่ 3 ผลของน้ำหมักชีวภาพร่วมกับการใช้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนต่อการยับยั้งการเกิดโรคในพริก

น้ำหมักชีวภาพที่ใช้ในการทดลองนี้มีค่า pH เท่ากับ 4.4 ปริมาณอินทรียวัตถุ เท่ากับ 23.3 % ค่าการนำไฟฟ้าเท่ากับ 2.49 dS/m ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดเท่ากับ 0.007% ปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมดเท่ากับ 0.34% ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 12.34 mg RE/ml และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 8.25 mg GAE/ml ดังตารางที่ 4.11 ในขณะที่ ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนมีค่า pH เท่ากับ 7.8 ปริมาณอินทรียวัตถุเท่ากับ 13.3% ค่าการนำไฟฟ้าเท่ากับ 4.10 dS/m ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดเท่ากับ 1.59% ปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมดเท่ากับ 1.65%

ตารางที่ 4.11 สมบัติทางเคมีของน้ำหมักชีวภาพและปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนที่ใช้ในการทดลอง

รายการ	น้ำหมักชีวภาพ	ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน
pH [1/]	4.4	7.8
อินทรียวัตถุ [2/] (%)	23.3	13.3
ค่าการนำไฟฟ้า [3/] (dS/m)	2.49	4.10
ปริมาณ P_2O_5 [4/] (%)	0.007	1.59
ปริมาณ K_2O [5/] (%)	0.34	1.65
Total Flavonoid (mg RE/ml)	12.34	-
Total Phenolic (mg GAE/ml)	8.25	-

[1/] 1:1, ดิน : น้ำ (ทัศนีย์ อัตตะนันท์และจงรักษ์ จันทร์เจริญสุข, 2542)

[2/] Walkley & Black (ทัศนีย์ อัตตะนันท์และจงรักษ์ จันทร์เจริญสุข, 2542)

[3/] วัดค่าการนำไฟฟ้าจากน้ำหมักชีวภาพโดยตรง และ 1:10, ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน:น้ำ (กรมพัฒนาที่ดิน, 2553ก)

[4/] Wet digestion and ascorbic method (5:2, HNO_3:$HClO_4$; AOAC, 1990)

[5/] Wet digestion (5:2, HNO_3:$HClO_4$; AOAC, 1990) and Inductive Couple Plasma analysis (AOAC, 1990)

[6/] In house method base on Aluminium chloride coloride colorimetric assay

[7/] In house method base on Folin-Ciocalteu assay

สมบัติของดินที่ใช้ปลูกพริกในการทดลองนี้มีค่า pH เท่ากับ 4.89 ปริมาณอินทรียวัตถุเท่ากับ 1.72% ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์เท่ากับ 24 มก./กก. ปริมาณโพแทสเซียมเท่ากับ 146 มก./กก. (ตารางที่ 4.12)

ตารางที่ 4.12 สมบัติทางเคมีของดินที่ใช้ในการทดลอง

รายการ	ค่าวิเคราะห์
pH [1/]	4.89
อินทรียวัตถุ [2/] (%)	1.72
ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ [3/] (มก./กก.)	24.0
ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ [4/] (มก./กก.)	146

[1/] 1:1, ดิน : น้ำ (ทัศนีย์ อัตตะนันท์และจงรักษ์ จันทร์เจริญสุข, 2542)

[2/] Walkley & Black (ทัศนีย์ อัตตะนันท์และจงรักษ์ จันทร์เจริญสุข, 2542)

[3/] Bray II (ทัศนีย์ อัตตะนันท์และจงรักษ์ จันทร์เจริญสุข, 2542)

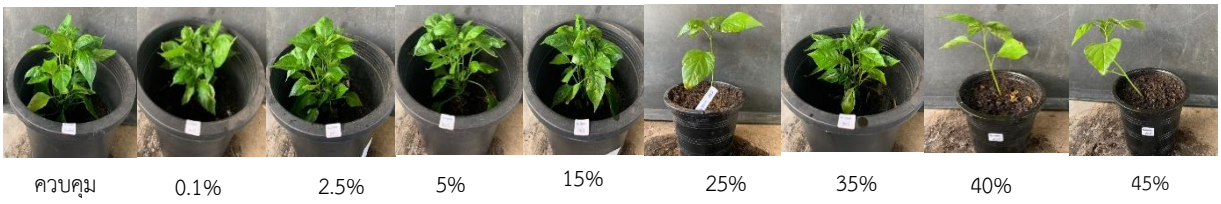
[4/] สกัดด้วย1 *N* NH_4OAc และวิเคราะห์หาปริมาณโดยใช้ ICP-OES (Reeuwijk, 2002)

1. ผลการทดสอบความเข้มข้นของน้ำหมักชีวภาพบนต้นพริกที่ต้นพริกสามารถทนได้

การทดลองนี้ได้ทดสอบฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพในอัตราต่าง ๆ จำนวน 9 กรรมวิธี ได้แก่ ควบคุม 0.1%, 2.5%, 5%, 15%, 25%, 35%, 40% และ 45% เพื่อศึกษาว่าต้นพริกสามารถทนต่ออัตราที่เข้มข้นต่างๆ ได้มากที่สุดอัตราใด โดยทดสอบเป็นระยะเวลา 14 วัน พบว่า หลังจากที่ฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพไปครั้งแรก พริกในกระถางต้นที่ได้รับน้ำหมักกรรมวิธีควบคุม น้ำหมักชีวภาพที่เข้มข้น 0.1% 2.5% 5% 15% 25% 40% และ 45% พืชแสดงอาการปกติ ไม่แสดงอาการเหี่ยว ซึ่งแตกต่างจากกระถางที่ได้รับน้ำหมักชีวภาพในกรรมวิธี 35% ที่แสดงอาการเหี่ยวทั้งต้นหลังจากการฉีดพ่นน้ำหมักครั้งแรก ดังภาพที่ 4.37)

หลังจากที่ฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพอีกครั้งหลังจากฉีดพ่นน้ำหมักครั้งแรก 7 วัน พบว่าต้นพริกที่ได้รับน้ำหมักในกรรมวิธีควบคุมหมักชีวภาพที่เข้มข้น 0.1% - 25% พืชยังคงแสดงอาการปกติ แม้ว่าจะพบว่าต้นพริกจะมีสีเหลืองที่ใบบ้างก็ตามโดยเฉพาะที่เข้มข้น 25% ดังภาพที่ 4.38 อย่างไรก็ตาม ต้นพริกที่ได้รับน้ำหมักชีวภาพในกรรมวิธี 35% หลังจากที่ได้รับน้ำหมักในครั้งแรกและได้แสดงอาการเหี่ยวนั้น หลังจากที่เว้นระยะห่าง 7 วัน และได้ฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพครั้งที่ 2 กลับพบว่าต้นพริกในกระถางดังกล่าวแสดงอาการดีขึ้น กล่าวคือ ใบไม่เหี่ยวและลักษณะใบชี้ขึ้นเหมือนพืชปกติ ในขณะที่ ใบของต้นพริกที่ได้รับน้ำหมักชีวภาพเข้มข้น 40% และ 45% นั้นพบว่าต้นพริกแสดงอาการใบเหลืองและลำต้นของพริกไม่สามารถตั้งตรงได้เหมือนพริกต้นอื่น ๆ

ภาพที่ 4.37 ต้นพริกที่ได้รับน้ำหมักชีวภาพในอัตราต่าง ๆ (ควบคุม 0.1%, 2.5%, 5%, 15%, 25%, 35%, 40% และ 45% เป็นครั้งแรก



ภาพที่ 4.38 ต้นพริกที่ได้รับน้ำหมักชีวภาพในอัตราต่าง ๆ (ควบคุม 0.1%, 2.5%, 5%, 15%, 25%, 35%, 40% และ 45% เป็นครั้งที่ 2 หลังจากที่ฉีดพ่นลงต้นพริกครั้งแรกเป็นเวลา 7 วัน

หลังจากที่ฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพอีกครั้งหลังจากฉีดพ่นน้ำหมักครั้งแรก 14 วัน พบว่าต้นพริกที่ได้รับน้ำหมักในกรรมวิธีควบคุมหมักชีวภาพที่เข้มข้น 0.1% - 15% พืชยังคงแสดงอาการปกติ แม้ว่าจะพบว่าต้นพริกจะมีสีเหลืองที่ใบบ้างก็ตาม ดังภาพที่ 4.40 อย่างไรก็ตาม ต้นพริกที่ได้รับน้ำหมักชีวภาพในกรรมวิธี 25% ที่แสดงอาการใบเหลืองเมื่อได้รับการฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพครั้งที่ 2 นั้น หลังจากที่ฉีดพ่นน้ำหมักครั้งที่ 3 ไปแล้วนั้น พบว่า ขอบใบของต้นพริกที่ได้รับน้ำหมักชีวภาพที่ 25% นี้ ขอบใบแสดงอาการแห้งตายมากขึ้น ในขณะที่ต้นพริกที่ได้รับน้ำหมักชีวภาพในกรรมวิธี 35% ขอบใบของต้นพริกก็แสดงอาการแห้งตายเช่นเดียวกับที่พบในต้นพริกที่ได้รับน้ำหมักที่ความเข้มข้น 25% ในขณะที่ ต้นพริกที่ได้รับน้ำหมักชีวภาพเข้มข้น 40% และ 45% นั้นต้นพริกตายและใบร่วงหล่นก่อนการฉีดพ่นน้ำหมักครั้งที่ 3 แล้ว (ภาพที่ 4.39)

ดังนั้น ในการเลือกความเข้มข้นของน้ำหมักชีวภาพที่จะนำไปใช้ต่อในการทดลองถัดไปจึงเลือกจึงใช้น้ำหมักชีวภาพที่มีความเข้มข้น 15% เนื่องจากที่ความเข้มข้นดังกล่าวนั้น ต้นพริกสามารถทนต่อการฉีดพ่นน้ำหมักเป็นจำนวน 3 ครั้งและมีระยะห่าง ทุกๆ 7 วันได้และสามารถเจริญเติบโตได้ ในการทดลองที่ 3.2 จึงนำความเข้มข้นของน้ำหมักที่ 15% ไปทำการทดสอบร่วมกับกรรมวิธีอื่นๆ ต่อไป

ภาพที่ 4.39 ต้นพริกที่ได้รับน้ำหมักชีวภาพในอัตราต่าง ๆ (ควบคุม 0.1%, 2.5%, 5%, 15%, 25%, 35%, 40% และ 45% เป็นครั้งที่ 3 หลังจากที่ฉีดพ่นลงต้นพริกครั้งแรกเป็นเวลา 14 วัน

2. ผลของการใช้น้ำหมักชีวภาพร่วมกับปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนต่อการเจริญเติบโตของพริก

ผลการทดลองที่ 2 ที่ศึกษาการเจริญเติบโตด้านความสูงและความกว้างทรงพุ่มของต้นพริก ความรุนแรงอาการของโรค 2 แบบ อย่างไรก็ตาม พริกที่ทำการวิจัยนี้ไม่สามารถออกดอกได้อาจเนื่องมาจากต้นพริกอาจได้รับสารส่งเสริมการเจริญเติบโตบางชนิดที่มากเกินไปในช่วงใกล้วันออกแต่ไม่มีต้นใดที่ตายจึงยังเก็บข้อมูลได้ โดยข้อมูลที่เก็บในครั้งสุดท้ายคือข้อมูลน้ำหนักสดและแห้งของต้นพริกซึ่งแสดงออกมา ดังนี้

2.1 ความสูงและความกว้างทรงพุ่มของต้นพริก

กรรมวิธีควบคุม (กรรมวิธีที่ 1) การฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค (กรรมวิธีที่ 2) การใช้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน (กรรมวิธีที่ 3) การฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรคร่วมกับการใช้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน (กรรมวิธีที่ 4) การฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรคร่วมกับการฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพ 15% (กรรมวิธีที่ 5) การฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรคร่วมกับการใช้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน และการฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพ 15% (กรรมวิธีที่ 6) และการฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรคร่วมกับการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อรา (กรรมวิธีที่ 7) ไม่ทำให้ความสูงของต้นพริกที่อายุ 14 21 28 35 42 49 56 62 69 76 83 90 และ 104 วันแตกต่างกัน ($p>0.05$) ดังตารางที่ 4.13 และ 4.14 แต่พบว่าการฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรคร่วมกับการฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพ 15% (กรรมวิธีที่ 5) ทำให้ต้นพริกที่อายุ 97 วันมากกว่ากรรมวิธีควบคุม (กรรมวิธีที่ 1) ($p<0.05$) นอกจากนี้ กรรมวิธีที่ 5 นี้ ก็ทำให้ความสูงของต้นพริกมากกว่ากรรมวิธีที่ 7 ด้วย ($p<0.05$) ดังตารางที่ 4.14

ตารางที่ 4.13 ความสูงของต้นพริกที่อายุ 14 21 28 35 42 49 และ 56 วัน นับจากปลูก

กรรมวิธี	ความสูงของต้นพริก (ซม.) เมื่อพริกอายุต่าง ๆ (วัน)						
	14	21	28	35	42	49	56
1. ควบคุม	5.00	5.50	7.17	11.3	19.5	23.0	25.2
2. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค	4.67	4.83	7.00	10.8	19.3	28.2	32.7
3. ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	3.83	4.17	6.33	10.0	18.8	27.7	32.5
4. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	4.17	4.67	5.83	8.2	15.7	23.8	27.5
5. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + น้ำหมักชีวภาพอัตรา 15%	4.83	5.17	7.83	11.7	19.8	26.3	32.2
6. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน + น้ำหมักชีวภาพอัตรา 15%	3.17	3.33	4.83	8.0	15.2	24.7	25.2
7. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา	4.50	4.83	7.00	11.0	20.7	25.0	25.3
เฉลี่ย	4.31	4.64	6.57	10.1	18.4	25.5	28.6
F test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV%	23.1	21.1	22.0	24.2	25.3	32.5	34.8

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างกรรมวิธีที่ทดลอง

ตารางที่ 4.14 ความสูงของต้นพริกที่อายุ 62 69 76 83 90 97 และ 104 วัน นับจากปลูก

กรรมวิธี	ความสูงของต้นพริก (ซม.) เมื่อพริกอายุต่าง ๆ (วัน)						
	62	69	76	83	90	97	104
1. ควบคุม	26.9	27.5	27.8	29.3	30.5	31.7 bc	32.0
2. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค	37.3	39.5	41.0	43.3	46.2	47.8 abc	49.2
3. ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	36.0	38.7	40.0	41.8	47.2	51.0 ab	54.0
4. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	33.3	38.8	42.3	46.8	50.5	54.7 ab	55.1
5. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + น้ำหมักชีวภาพอัตรา 15%	39.3	46.3	49.7	53.0	57.0	61.3 a	63.0
6. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน + น้ำหมักชีวภาพอัตรา 15%	30.3	37.5	41.5	45.3	51.0	38.7 abc	55.8
7. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา	25.3	25.0	25.0	24.5	24.3	24.5 c	24.3
เฉลี่ย	32.6	36.2	38.2	40.6	43.8	44.2	47.6
F test	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns
CV%	35.6	37.4	39.4	38.9	36.4	29.0	33.8

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างกรรมวิธีที่ทดลอง

* หมายถึง กรรมวิธีที่ทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 95% โดยตัวพยัญชนะภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในคอลัมน์แสดงความแตกต่างกันระหว่างกรรมวิธีที่ทดลองทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ความกว้างทรงพุ่มของต้นพริกของกรรมวิธีที่ได้รับการฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรคร่วมกับการใช้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน และการฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพ 15% (กรรมวิธีที่ 6) น้อยกว่ากรรมวิธีควบคุมเมื่อพริกอายุ 14, 21 และ 28 วัน ($p<0.05$) (ตารางที่ 3) ในขณะที่ ต้นพริกไม่มีความกว้างทรงพุ่มที่แตกต่างกันทางสถิติหลังจากที่ต้นพริกอายุมากกว่า 28 วัน ไปแล้ว ($p>0.05$) ดังตารางที่ 4.15 และ 4.16

ตารางที่ 4.15 ความกว้างทรงพุ่มของต้นพริกที่อายุ 14 21 28 35 42 49 และ 56 วัน นับจากปลูก

กรรมวิธี	ความกว้างทรงพุ่มของต้นพริก (ซม.) เมื่อพริกอายุต่าง ๆ (วัน)						
	14	21	28	35	42	49	56
1. ควบคุม	14.17 a	16.17 a	19.2 ab	23.2	27.8	29.5	32.7
2. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค	11.0 ab	12.5 ab	19.5 ab	27.0	32.5	36.3	36.7
3. ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	11.0 ab	12.83 ab	16.8 abc	23.3	34.0	39.7	41.8
4. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	11.0 ab	12.67 ab	16.0 bc	20.3	27.0	32.3	35.2
5. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + น้ำหมักชีวภาพอัตรา 15%	14.5 a	16.17 a	21.5 a	28.3	31.7	32.8	34.7
6. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน + น้ำหมักชีวภาพอัตรา 15%	9.83 b	10.33 b	13.5 c	19.5	24.3	27.0	30.5
7. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา	14.67a	16.00 a	19.5 ab	24.5	28.0	30.2	31.8
เฉลี่ย	12.31	13.81	18.00	23.7	29.3	32.5	34.8
F test	*	*	*	ns	ns	ns	ns
CV%	16.4	16.9	14.2	17.9	18.3	21.5	22.1

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างกรรมวิธีที่ทดลอง

* หมายถึง กรรมวิธีที่ทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 95% โดยตัวพยัญชนะภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในคอลัมน์แสดงความแตกต่างกันระหว่างกรรมวิธีที่ทดลองทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ตารางที่ 4.16 ความกว้างทรงพุ่มของต้นพริกที่อายุ 62 69 76 83 90 97 และ 104 วัน นับจากปลูก

กรรมวิธี	ความกว้างทรงพุ่มของต้นพริก (ซม.) เมื่อพริกอายุต่าง ๆ (วัน)						
	62	69	76	83	90	97	104
1. ควบคุม	31.5	30.3	30.5	28.3	27.3	26.0	27.5
2. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค	38.3	37.2	37.7	37.7	35.3	34.7	37.5
3. ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	41.0	40.8	41.2	39.5	37.2	35.7	35.7
4. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	35.8	34.8	34.8	28.7	30.3	33.3	32.7
5. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + น้ำหมักชีวภาพอัตรา 15%	34.2	36.2	35.3	36.7	38.8	40.8	41.3
6. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน + น้ำหมักชีวภาพอัตรา 15%	28.7	30.3	30.0	29.7	32.3	34.8	39.7
7. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา	32.8	32.0	30.0	29.2	28.0	26.7	24.5
เฉลี่ย	34.6	34.5	34.2	32.8	32.8	33.1	34.1
F test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV%	21.2	22.1	21.3	21.5	20.2	21.9	21.7

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างกรรมวิธีที่ทดลอง

* หมายถึง กรรมวิธีที่ทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 95% โดยตัวพยัญชนะภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในคอลัมน์แสดงความแตกต่างกันระหว่างกรรมวิธีที่ทดลองทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

2.2 การประเมินความรุนแรงของโรคแบบที่ 1 และ 2

กรรมวิธีควบคุม (กรรมวิธีที่ 1) และการใช้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน (กรรมวิธีที่ 3) มีอาการแสดงอาการของโรคน้อยกว่าการฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค (กรรมวิธีที่ 2) การฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรคร่วมกับการใช้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน (กรรมวิธีที่ 4) การฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรคร่วมกับการฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพ 15% (กรรมวิธีที่ 5) การฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรคร่วมกับการใช้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน และการฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพ 15% (กรรมวิธีที่ 6) และการฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรคร่วมกับการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อรา (กรรมวิธีที่ 7) ($p<0.05$) ในการประเมินความรุนแรงแบบที่ 1 และแบบที่ 2 ในครั้งที่ 1 2 และ 3 ดังตารางที่ 4.17 และ 4.19 ซึ่งเป็นไปได้ว่ากรรมวิธีที่ 1 และ 3 นั้น ไม่ได้รับการฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรคจึงมีอาการที่ปรากฏน้อยกว่ากรรมวิธีที่ได้รับการปลูกเชื้อ

การประเมินความรุนแรงแบบที่ 1 ครั้งที่ 5 6 และ 7 พบว่า การฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรคร่วมกับการฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพ 15% (กรรมวิธีที่ 5) การฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรคร่วมกับการใช้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนและการฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพ 15% (กรรมวิธีที่ 6) และการฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรคร่วมกับการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อรา (กรรมวิธีที่ 7) แสดงแนวโน้มที่มีความรุนแรงของโรคน้อยกว่าการฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค (กรรมวิธีที่ 2) ดังตารางที่ 4.17 และ 4.18 อย่างไรก็ตาม พบว่า การฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรคร่วมกับการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อรา (กรรมวิธีที่ 7) แสดงอาการความรุนแรงของโรคมากกว่ากรรมวิธีอื่นๆ ($p<0.05$) ในการประเมินความรุนแรงในครั้งที่ 10

การประเมินความรุนแรงแบบที่ 2 พบว่า การฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรคร่วมกับการใช้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน (กรรมวิธีที่ 4) แสดงอาการความรุนแรงของโรคที่ประเมินมากกว่ากรรมวิธีควบคุม (กรรมวิธีที่ 1) การใช้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน (กรรมวิธีที่ 3) การฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรคร่วมกับการฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพ 15% (กรรมวิธีที่ 5) การฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรคร่วมกับการใช้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน และการฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพ 15% (กรรมวิธีที่ 6) ($p<0.05$) ในการประเมินความรุนแรงในครั้งที่ 9 ดังตารางที่ 4.20

ตารางที่ 4.17 การประเมินความรุนแรงของโรคแบบที่ 1 ครั้งที่ 1 2 3 4 5 และ 6

กรรมวิธี	ครั้งที่					
	1	2	3	4	5	6
1. ควบคุม	0.0 b	0.0 c	0.0 c	1.7 ab	2.0 a	2.3
2. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค	1.0 a	1.3 ab	2.3 a	2.7 a	2.7 a	2.7
3. ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	0.0 b	0.0 c	0.0 c	1.0 b	1.0 b	1.3
4. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	1.0 a	1.0 b	1.3 b	2.7 a	2.7 a	2.3
5. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + น้ำหมักชีวภาพอัตรา 15%	1.3 a	2.0 a	2.7 a	2.3 a	2.3 a	2.0
6. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน + น้ำหมักชีวภาพอัตรา 15%	1.0 a	1.3 ab	2.7 a	2.7 a	2.0 a	2.0
7. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา	1.7 a	2.0 a	2.3 a	2.7 a	2.0 a	2.3
เฉลี่ย	1.70	1.10	1.62	2.24	2.10	2.14
F test	*	*	*	*	*	ns
CV%	56.9	44.5	30.1	23.9	18.0	22.8

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างกรรมวิธีที่ทดลอง

* หมายถึง กรรมวิธีที่ทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 95% โดยตัวพยัญชนะภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในคอลัมน์แสดงความแตกต่างกันระหว่างกรรมวิธีที่ทดลองทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ตารางที่ 4.18 การประเมินความรุนแรงของโรคแบบที่ 1 ครั้งที่ 7 8 9 10 และ 11

กรรมวิธี	ครั้งที่				
	7	**8**	**9**	**10**	**11**
1. ควบคุม	2.3	1.7	1.3	1.0 c	1.0
2. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค	3.0	2.3	1.7	1.3 c	2.7
3. ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	3.0	2.0	1.7	2.0 b	3.0
4. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	2.3	2.0	2.0	2.3 b	3.0
5. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + น้ำหมักชีวภาพอัตรา 15%	2.3	2.0	2.0	2.0 b	1.7
6. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน + น้ำหมักชีวภาพอัตรา 15%	2.3	2.0	2.0	2.0 b	3.3
7. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา	2.3	2.3	3.0	3.0 a	2.3
เฉลี่ย	2.52	2.05	1.95	1.95	2.43
F test	ns	ns	ns	*	ns
CV%	19.3	18.5	33.5	16.4	38.3

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างกรรมวิธีที่ทดลอง

* หมายถึง กรรมวิธีที่ทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 95% โดยตัวพยัญชนะภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในคอลัมน์แสดงความแตกต่างกันระหว่างกรรมวิธีที่ทดลองทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ตารางที่ 4.19 การประเมินความรุนแรงของโรคแบบที่ 2 ครั้งที่ 1 2 3 4 5 และ 6

กรรมวิธี	ครั้งที่					
	1	2	3	4	5	6
1. ควบคุม	1.0 b	1.0 b	1.0 d	2.0	2.0	2.3
2. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค	2.3 a	2.3 a	2.0 c	2.7	2.7	3.0
3. ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	1.0 b	1.0 b	1.0 d	2.0	2.0	2.7
4. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	2.0 a	2.0 a	2.3 bc	2.7	2.7	3.0
5. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + น้ำหมักชีวภาพอัตรา 15%	2.0 a	2.7 a	3.0 a	2.3	2.3	3.0
6. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน + น้ำหมักชีวภาพอัตรา 15%	2.0 a	2.3 a	2.7 ab	2.3	2.3	3.0
7. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา	2.0 a	2.0 a	2.0 c	2.0	2.0	2.7
เฉลี่ย	1.76	1.90	2.00	2.29	2.29	2.81
F test	*	*	*	ns	ns	ns
CV%	12.4	19.9	15.4	19.1	19.1	13.5

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างกรรมวิธีที่ทดลอง

* หมายถึง กรรมวิธีที่ทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 95% โดยตัวพยัญชนะภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในคอลัมน์แสดงความแตกต่างกันระหว่างกรรมวิธีที่ทดลองทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ตารางที่ 4.20 การประเมินความรุนแรงของโรคแบบที่ 2 ครั้งที่ 7 8 9 10 และ 11

กรรมวิธี	ครั้งที่				
	7	8	9	10	11
1. ควบคุม	2.3	2.0	2.0 b	2.67	3.0
2. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค	3.0	3.0	3.0 ab	4.67	5.0
3. ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	2.7	2.3	2.3 b	5.0	5.0
4. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	3.0	2.7	4.3 a	4.0	5.0
5. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + น้ำหมักชีวภาพอัตรา 15%	3.0	2.0	2.0 b	3.33	3.33
6. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน + น้ำหมักชีวภาพอัตรา 15%	3.0	2.7	2.0 b	3.7	5.0
7. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา	2.7	3.0	3.0 ab	4.0	3.0
เฉลี่ย	2.81	2.52	2.67	3.90	4.19
F test	ns	ns	*	ns	ns
CV%	13.5	29.9	30.6	24.4	25.8

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างกรรมวิธีที่ทดลอง

* หมายถึง กรรมวิธีที่ทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 95% โดยตัวพยัญชนะภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในคอลัมน์แสดงความแตกต่างกันระหว่างกรรมวิธีที่ทดลองทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

2.3 น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นพริก

การฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรคร่วมกับการฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพ 15% (กรรมวิธีที่ 5) และการฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรคร่วมกับการใช้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน และการฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพ 15% (กรรมวิธีที่ 6) ทำให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นพริกที่อายุ 120 วัน มากกว่ากรรมวิธีควบคุม (กรรมวิธีที่ 1) การฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค (กรรมวิธีที่ 2) การใช้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน (กรรมวิธีที่ 3) การฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรคร่วมกับการใช้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน (กรรมวิธีที่ 4) และการฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรคร่วมกับการใช้สารป้องกันกำจัด เชื้อรา (กรรมวิธีที่ 7) อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ดังตารางที่ 4.21

ตารางที่ 4.21 น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นพริก (กรัม/กระถาง)

กรรมวิธี	น้ำหนักสดต้นพริก	น้ำหนักแห้งต้นพริก
	(กรัม/กระถาง)	
1. ควบคุม	11.1 b	1.37 b
2. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค	15.9 b	1.72 b
3. ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	28.3 b	3.48 b
4. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน	24.6 b	3.40 b
5. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + น้ำหมักชีวภาพอัตรา 15%	62.3 a	9.04 a
6. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน + น้ำหมักชีวภาพอัตรา 15%	52.3 a	7.94 a
7. ฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรค + สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา	17.8 b	2.46 b
เฉลี่ย	30.3	4.20
F test	*	*
CV%	43.4	47.4

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างกรรมวิธีที่ทดลอง

* หมายถึง กรรมวิธีที่ทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 95% โดยตัวพยัญชนะภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในคอลัมน์แสดงความแตกต่างกันระหว่างกรรมวิธีที่ทดลองทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

บทที่ 5
สรุปผล อภิปราย และข้อเสนอแนะ

สรุปผล

การศึกษากระบวนการผลิตปุ๋ยมูลไส้เดือน และน้ำหมักชีวภาพ จากฐานภูมิปัญญาและทรัพยากรชุมชนกลุ่มมูลจันท์ อำเภอโป่งน้ำร้อน จังหวัดจันทบุรี มีการจัดการความรู้เรื่อง ชีววิทยาของไส้เดือน การจัดจำแนกสายพันธุ์ของไส้เดือน คุณสมบัติของปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดิน ประโยชน์และความสำคัญของปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดิน วิธีการทำปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน วัสดุและวิธีการทำน้ำหมักชีวภาพหรือสารชีวภัณฑ์ และผลผลิตของน้ำหมักชีวภาพ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษากระบวนการผลิตปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน และน้ำหมักชีวภาพ และเพื่อนำไปสู่การพัฒนาผลิตภัณฑ์ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน โดยใช้วิจัย เทคโนโลยี และนวัตกรรมในโครงการวิจัยย่อยที่ 2 และ 3 ตามลำดับ

โดยขั้นตอนการทำปุ๋ยมูลไส้เดือน และน้ำหมักชีวภาพ สรุปเป็นตาราง ดังนี้

ตารางที่ 5.1 ขั้นตอนการทำปุ๋ยมูลไส้เดือน และน้ำหมักชีวภาพ

ขั้นตอนที่	วิธีการทำปุ๋ยหมักมูลไส้ดือน	วิธีการทำน้ำหมักชีวภาพ
1	การเตรียมเบดดิ้งสำหรับเลี้ยงไส้เดือน 1. ขั้นตอนที่ 1 คลุกเคล้าน้ำ-มูลวัวให้ทั่วถึงกัน 2. นำมูลวัวใส่ลงในถาดผสม แล้ว พรมน้ำลงบนขี้วัวให้ได้ความชื้น 50 เปอร์เซ็นต์ คลุกเคล้าด้วยมือให้เข้ากัน 3. ใส่ขุยมะพร้าว หรือก้อนเห็ดเก่า พรมน้ำที่ความชื้น 50% แล้วนำลงในภาชนะผสมกับขี้วัวนม คลุกเคล้าให้เข้ากัน แล้วจึงนำ bd เข้ากระบวนการหมัก 4. การเก็บเบ็ดดิ้งระหว่างหมัก 1) นำผ้าใบหรือถุงปุ๋ย (ชนิดที่ไม่กันน้ำ) มาคลุมภาชนะหรือ	1. การเก็บพืชสมุนไพรควรเก็บจากต้นก่อนมีแสงอาทิตย์

	2) นำส่วนผสมบรรจุลงถุงปุ๋ยหรือถุงอื่นที่ระบายอากาศได้ นำไปเก็บไว้ในที่ร่ม โดยนำถุงปุ๋ยมาคลุมด้านบน เพื่อหมักส่วนผสมหมั่นกลับ bd ที่หมักในภาชนะหรือถุง ทุก 3-4 วัน 3) หมักไว้ ไม่น้อยกว่า 14 วัน (ขึ้นอยู่กับขี้วัว) แต่หมักนานกว่า 14 วันก็ได้ กรณีผสมขี้ไก่/ขี้หมู หรือใช้ก้อนเห็ดเก่าต้องหมักนานขึ้นประมาณไม่น้อยกว่า 25 วัน	
2	การตรวจสอบเบดดิ้ง นำไส้เดือน 5-6 ตัว ปล่อยลงบนเบดดิ้ง เพื่อทดสอบคุณภาพ	2. นำลูกหมากอ่อน มาชั่งน้ำหนักตามที่ต้องการ และทำการผ่าแบ่งออกเป็น 4 ส่วน
3	การนำเบดดิ้งมาเลี้ยงไส้เดือน ปริมาณโดยเบดดิ้งประมาณ 4 กก. ต่อ ไส้เดือนประมาณ 3 ขีด	3. นำหมากอ่อนที่ผ่าแล้ว ใส่ในกะละมังหนึ่งใน ห้าส่วนของปริมาตรกะละมัง
		4. นำน้ำตาลอ้อยที่จะใช้เป็นส่วนผสมชั่งน้ำหนักให้ได้เท่ากับน้ำหนักของหมากอ่อนที่ผ่าแล้ว
		5. แบ่งน้ำตาลอ้อย ออกเป็นสี่ส่วน คือ 30 30 30 10 เพื่อใส่น้ำตาลอ้อยในกะละมังที่ละส่วน
		6. ใส่น้ำตาลอ้อยในกะละมัง ทำการคลุกเคล้าน้ำตาลให้ละลายจนหมดเคลือบหมาก แล้วจึงค่อยเท น้ำตาลอ้อยส่วนที่เหลือที่ละส่วนในกะละมัง จึงทำการคลุกเคล้าน้ำตาลอ้อยให้ละลายตามลำดับ 7. เมื่อคลุกเคล้าน้ำตาลละลายหมด ให้นำสมุนไพรบรรจุใส่ถังพลาสติกให้หมด จึงนำน้ำตาลอ้อยส่วนที่เหลือโรยด้านบนหมากอ่อนให้ปิดด้านบนให้หมด

		8. เมื่อบรรจุใส่ถังหมักครบ 15 วันแล้ว ให้เทของเหลวที่ได้ออกแยกจากกากสมุนไพร เก็บบรรจุใส่ภาชนะไว้ใช้งานต่อไป

โครงการวิจัยย่อยที่ 2 มีวัตถุประสงค์เพื่อทำการศึกษาว่าในปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนและน้ำหมักชีวภาพที่ผลิตโดยเกษตรกร มีจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ทางการเกษตรหรือไม่ อีกทั้งพบการระบาดของโรคในแปลงปลูกพริกของเกษตรกร จึงนำจุลินทรีย์ทั้งเชื้อราและแบคทีเรียที่แยกได้จากปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนและน้ำหมักชีวภาพมาทำการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อราก่อโรคพริก โดยทำการเก็บตัวอย่างพริกที่แสดงอาการของโรคมาทำการแยกเชื้อ พิสูจน์การก่อโรค และระบุชนิด พบว่าสามารถแยกเชื้อราก่อโรคพริกได้จำนวน 5 ไอโซเลต คือ B1, C1, D1, E1 และ F1 เมื่อทำการระบุชนิดด้วยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ จำนวน 3 ตำแหน่ง คือ ITS (Internal Transcribed Spacer), GAPDH (Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase) และ TUB2 (Beta-tubulin2) ผลการระบุชนิดเชื้อรา พบว่า เชื้อราก่อโรคพริก B1, C1, D1, E1 และ F1 สามารถระบุชนิดได้เป็น *Colletotrichum siamense, Fusarium verticillioides, Colletotrichum scovillei, Colletotrichum scovillei,* และ *Fusarium equiseti* ตามลำดับ ซึ่งการทดลองในการศึกษาครั้งนี้ได้เลือกเชื้อ *Colletotrichum siamense* (B1) เป็นตัวแทนของเชื้อก่อโรคพริกในการทดสอบลำดับต่อไป

จากการศึกษาจุลินทรีย์ที่เป็นส่วนประกอบในปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนและน้ำหมักชีวภาพ พบจำนวนเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดในปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนและน้ำหมักชีวภาพเท่ากับ 3.40×10^7 CFU/g และ 8.37×10^3 CFU/ml ตามลำดับ พบจำนวนเชื้อราทั้งหมดในปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนและน้ำหมักชีวภาพเท่ากับ 2.64×10^5 CFU/g และตรวจไม่พบ ตามลำดับ ในปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน พบเชื้อราที่มีลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกันจำนวน 32 ไอโซเลต (Isolates) และพบแบคทีเรีย 20 ไอโซเลต ขณะที่น้ำหมักชีวภาพ ไม่พบเชื้อราแต่พบแบคทีเรียจำนวน 11 ไอโซเลต

ในการทดสอบคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคพริก *Colletotrichum siamense* (B1) กับเชื้อราที่แยกได้จากปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน พบเชื้อราที่แสดงผลการยับยั้งราก่อโรค จำนวน 13 ไอโซเลต คิดเป็นร้อยละ 40.63 ของจำนวนเชื้อราทั้งหมดที่แยกได้ ซึ่งให้ผลร้อยละการยับยั้งในช่วง 46.85 - 72.64 โดยเชื้อราที่ให้ผลร้อยละการยับยั้งสูงสุด คือ เชื้อรา E10, E8 และ F5 เท่ากับ 72.75±4.81, 71.70±5.45 และ 70.65±4.80 ตามลำดับ เมื่อทำการระบุชนิดเชื้อรา E10, E8 และ F5 พบว่ามีลักษณะโคโลนีและลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์คล้ายคลึงกันและเมื่อทำการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ จำนวน 3 ตำแหน่ง คือ ITS (Internal Transcribed Spacer), RPB2 (DNA-

directed RNA polymerase II subunit 2) และ TEF1 (Translation elongation factor 1) พบว่าคือเชื้อ *Trichoderma breve* (E10) และ *T. zerobreve* (E8 และ F5) ตามลำดับ

ในการทดสอบคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคพริก *Colletotrichum siamense* (B1) กับเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนและน้ำหมักชีวภาพ พบแบคทีเรียที่แสดงผลการยับยั้งราก่อโรค จำนวน 4 ไอโซเลต คิดเป็นร้อยละ 12.90 ของจำนวนเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดที่แยกได้และในจำนวนนี้เป็นแบคทีเรียที่แยกได้จากปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน ซึ่งให้ผลร้อยละการยับยั้งในช่วง 26.67 – 47.78 โดยเชื้อแบคทีเรียที่ให้ผลร้อยละการยับยั้งสูงสุด คือ B5, B3, A6 และ A5 เท่ากับ 47.78±3.85, 34.45±10.72, 34.44±1.93 และ 26.67±3.34 ตามลำดับ เมื่อทำการระบุชนิดแบคทีเรียด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและปฏิกิริยาชีวเคมีเบื้องต้นพบว่า แบคทีเรียทุกไอโซเลตจัดเป็นแบคทีเรียกลุ่ม endospore-forming gram-positive rod โดยทั้งเชื้อราและแบคทีเรียที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *C. siamense* (B1) แยกได้จากปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนเท่านั้น

นอกจากการศึกษาจุลินทรีย์ซึ่งเป็นองค์ประกอบหนึ่งในปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนและน้ำหมักชีวภาพแล้ว ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการศึกษาผลของสารชีวภัณฑ์หรือน้ำหมักชีวภาพที่มีต่อการเจริญของเชื้อราก่อโรคพริก จึงทำการเพาะเชื้อราก่อโรคพริก *Colletotrichum siamense* (B1) บนอาหาร PDA ที่ผสมน้ำหมักชีวภาพที่ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์เป็นองค์ประกอบ โดยเตรียมที่ความเข้มข้น 0, 10, 20, 40 และ 60% เมื่อทำการเพาะเชื้อครบ 7 วัน ทำการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี พบว่าเมื่อความเข้มข้นของน้ำหมักชีวภาพเพิ่มขึ้น ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *C. siamense* (B1) ลดลง และที่ความเข้มข้น 40 และ 60% สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคได้

เพื่อศึกษาผลของสารละลายปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนที่มีต่อการเจริญของเชื้อ *Colletotrichum siamense* (B1) จึงทำการเพาะเชื้อราบนอาหาร PDA ที่ผสมสารละลายปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนที่ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์เป็นองค์ประกอบ โดยเตรียมที่ความเข้มข้น 0, 10, 20 และ 40% เมื่อเพาะเชื้อราครบ 7 วัน ทำการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี พบว่าความเข้มข้นของสารละลายปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนที่เพิ่มขึ้น ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *C. siamense* (B1) เพิ่มขึ้น จะเห็นได้ว่าสารละลายปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคได้ ในทางตรงกันข้ามกลับช่วยส่งเสริมการเจริญของเชื้อ *C. siamense* (B1) ให้เจริญได้ดีขึ้น

นอกจากนี้ในการทดสอบเชื้อ *C. siamense* (B1) กับสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา (Mancozeb) โดยการเพาะเชื้อราบนอาหาร PDA ที่ผสมสารเคมีที่ความเข้มข้น 0, 0.075, 0.15, 0.3, 0.6 และ 0.9% พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารเคมีเพิ่มขึ้น ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *C. siamense* (B1) ลดลง และที่ความเข้มข้น 0.9% สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคได้

จากผลการศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบว่าในปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนมีเชื้อราและแบคทีเรียที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *C. siamense* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสในพริก ในขณะที่น้ำหมักชีวภาพไม่มีจุลินทรีย์ที่มีความสามารถดังกล่าว แต่ความสามารถในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคของน้ำหมักชีวภาพจะขึ้นกับความเข้มข้นของน้ำหมักที่ใช้ ดังนั้นนอกจากการใช้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนเพื่อส่งเสริมการเจริญของพืชผลทางการเกษตรแล้ว ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนยังมีเชื้อราและแบคทีเรียที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคพืชได้อีกด้วย และหากต้องการใช้น้ำหมักชีวภาพร่วมด้วยจะต้องใช้ในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมจึงจะช่วยส่งเสริมการควบคุมเชื้อราก่อโรคได้

โครงการวิจัยย่อยที่ 3 มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาผลของปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนร่วมกับสารชีวภัณฑ์ต่อการยับยั้งการเกิดโรคในพริก ซึ่งผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่า การใช้น้ำหมักชีวภาพอัตรา 15% สามารถลดอาการเป็นโรคของต้นพริกได้แม้ว่าจะไม่แตกต่างจากการใช้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนร่วมด้วยก็ตาม พบว่า หากใช้น้ำหมักชีวภาพแต่เพียงอย่างเดียวทำให้ต้นพริกแสดงอาการรุนแรงของโรคได้น้อยกว่าการใช้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนร่วมด้วย ควรทำการทดลองโดยการฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพในอัตรา 15% ในช่วงที่ต้นพริกมีอายุตั้งแต่ 14 – 56 และควรหลีกเลี่ยงการฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพในช่วงใกล้วันออกดอกของพริก

อภิปรายผล

การทำปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนตามภูมิปัญญาของชุมชน เป็นการใช้เทคโนโลยีตามวิถีของชุมชนเพื่อการอนุรักษ์ดิน และการจัดการกับขยะอินทรีย์ที่มีเป็นจำนวนมากในพื้นที่ของตนเอง ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนเป็นผลิตภัณฑ์ปลอดสารพิษที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม มีต้นทุนต่ำ ใช้เครื่องจักรน้อย ใช้งานง่าย และใช้พลังงานต่ำในระหว่างกระบวนการ กระบวนการนี้ถูกนำมาใช้เพื่อปรับปรุงโครงสร้างดินที่เสียให้ดีขึ้น ดังนั้นเทคนิคนี้จึงเป็นเทคโนโลยีทางเลือกที่ดีและง่าย ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรถูกนำมาศึกษา เพื่อเลือกวัสดุทางการเกษตรที่ดีที่สุด สำหรับผลิตปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนที่มีสารอาหารที่เป็นสำหรับพืชปริมาณสูง และมีจุลินทรีย์ที่ดีที่ช่วยในการเจริญเติบโตของพืช เช่น *Azospirillum* sp. โดยการกระตุ้นการสร้างฮอร์โมนพืชเพื่อการเจริญเติบโต (Madsen & Alexander, 1982 : 557-560) หรือ *Azotobacter* sp. ช่วยตรึงไนโตรเจน เป็นต้น (Gopal et al., 2009 : 15-20) สุดท้ายกระบวนการทำปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนช่วยเกษตรกร ในการจัดการของเสียอินทรีย์ และของเหลือทิ้งจากภาคการเกษตร อีกทั้งเพิ่มความปลอดภัยของผลผลิตทางการเกษตรและสุขภาพของผู้บริโภคอีกด้วย การศึกษานี้พบว่ามีความสอดคล้องกับการศึกษาของพิชญ์ ตั้งสมบัติวิจิตร และอุทาน บูรณศักดิ์ศรี (2562 : 170-181) ที่ทำการศึกษาปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน โดยใช้ไส้เดือนสายพันธุ์ *Eudrilus eugeniae* และใช้ขี้วัว เป็นองค์ประกอบเช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตามมีการรายงานวิจัยของ

รัตน์มณี ชนะบุญ (2561 : 15-20) ที่ทำการศึกษาการผลิตปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนจากวัสดุเพาะเลี้ยงที่ต่างกันเพื่อพัฒนาปุ๋ยหมักที่มี ประสิทธิภาพต่อระบบการเกษตรอินทรีย์อย่างยั่งยืน โดยใช้วัสดุเพาะเลี้ยงต่างกัน 4 ชนิดคือ มูลโค มูลไก่ มูลสุกร และมูลโคผสมขุยมะพร้าวและใบไม้แห้ง โดยศึกษาวัสดุเพาะเลี้ยงไส้เดือนที่มีผลต่อประสิทธิภาพของการเพาะเลี้ยงไส้เดือนและ ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนซึ่งวัดจากจำนวนและน้ำหนักไส้เดือน

จากการศึกษาพบว่ามูลไก่เป็น วัสดุที่ดีที่สุดสาหรับใช้เป็นวัสดุเพาะเลี้ยงไส้เดือนเนื่องจากมีปริมาณและน้าหนักรวมของไส้เดือนมากที่สุด สำหรับในพื้นที่อำเภอโป่งน้ำร้อนนั้น ชุมชนนิยมใช้ขี้วัวเนื่องจากสามารถหา และซื้อได้ในชุมชนของตนเอง ซึ่งเป็นการประหยัดต้นทุน ไม่ต้องใช้ค่าใช้จ่ายจำนวนมากและประหยัดเวลาในการขนส่ง

รายงานวิจัยนี้ ได้มีการเปรียบเทียบรายงานผลปุ๋ยมูลไส้เดือนดิน กับค่ามาตรฐานของปุ๋ยอินทรีย์ ซึ่งจะมีปัจจัยต่าง ๆ ดังนี้ มีความชื้น น้อยกว่าหรือเท่ากับ 30% ความเป็นกรดเบส อยู่ในช่วง 5.5 - 8.5 ค่าการนำไฟฟ้า (EC) น้อยกว่าหรือเท่ากับ 10 dS/m การละลายสมบูรณ์ของปุ๋ย (GI) มากกว่า 80% อินทรียวัตถุ (OM) มากกว่าหรือเท่ากับ 20% รวมทั้งธาตุอาหารหลักของพืช คือ ไนโตรเจน ทั้งหมด มากกว่า 1.0% ฟอสฟอรัสทั้งหมด มากกว่า 0.5% และ โพแทสเซียมทั้งหมด มากกว่า 0.5% (Prasitket et al., 2005 : 1-87) โดยจากผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่ามีปัจจัยบางประการที่ต้องมีการควบคุม เพื่อให้เป็นไปตามมตรฐานของปุ๋ยอินทรีย์ เช่น ปริมาณอินทรียวัตถุของปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนยังค่อนข้างน้อย โดยจากผลการศึกษานี้ พบอินทรียวัตถุเพียง 13.3% ในขณะที่มาตรฐานควรมีอินทรียวัตถุ (OM) มากกว่าหรือเท่ากับ 20% สำหรับค่าอื่น ๆ พบว่าเป็นไปตามมาตรฐานที่กำหนด สำหรับน้ำหมักชีวภาพควรมีการปรับปรุงในค่าความเป็นกรดเบส เพราะตามค่ามาตรฐานควรมีค่าอยู่ในช่วง 5.5 - 8.5 แต่ในการศึกษานี้พบว่าน้ำหมักชีวภาพ มีค่าเท่ากับ 4.4

ในการศึกษาครั้งนี้ยังได้ทำการคัดแยกเชื้อราก่อโรคพริกในแปลงเพาะปลูกของเกษตรกรอำเภอโป่งน้ำร้อน จังหวัดจันทบุรี สามารถระบุชนิดเชื้อราก่อโรคพริกได้ว่าเป็น *Colletotrichum siamense, Fusarium verticillioides, Colletotrichum scovillei* และ *Fusarium equiseti* ตามลำดับ โดยคัดเลือกเลือกเชื้อรา *Colletotrichum siamense* (B1) มาใช้ในการศึกษาครั้งนี้ซึ่งมีรายงานว่าเป็นเชื้อราสาเหตุของโรคแอนแทรคโนส (Anthracnose) ในพริกและพบก่อโรคได้ในประเทศไทย โดยในรายงานของ Suwannarat, S. et al. (2016 : 677-86) ได้ทำการคัดแยกเชื้อราจากพริกที่มีอาการของโรคแอนแทรคโนสในประเทศไทย พบว่าสามารถแยกเชื้อได้จำนวน 48 ไอโซเลต แล้วทำการระบุชนิดด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและอณูชีววิทยาโดยวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง Internal transcribed spacer (ITS) และ Actin gene (ACT) พบว่าระบุชนิดเชื้อได้ 4 ชนิด คือ *Colletotrichum gloeosporioides, C. siamense, C. acutatum* และ *C.*

capsici นอกจากนี้ในรายงานการศึกษาของ De Silva, et al. (2019 : 1-32) ได้ทำการศึกษาโรคแอนแทรคโนสในพริกที่เก็บตัวอย่างในทวีปเอเชียรวมทั้งจากประเทศไทย พบว่า สามารถแยกเชื้อราได้จำนวน 260 ไอโซเลต เมื่อทำการระบุชนิดด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและอณูชีววิทยาโดยศึกษาตำแหน่ง ITS, GAPDH, TUB2 พบว่าสามารถระบุชนิดได้เป็น *Colletotrichum endophyticum*, *C. frucicola*, *C. karsti*, *C. plurivorum*, *C. scoveillei*, *C. siamense*, *C. tropicale*, *C. javanense*, *C. makassarense* และ *C. tainanense*

จากการศึกษาจุลินทรีย์ที่เป็นส่วนประกอบในปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนและน้ำหมักชีวภาพ พบจำนวนเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดในปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนและน้ำหมักชีวภาพเท่ากับ 3.40×10^7 CFU/g และ 8.37×10^3 CFU/ml ตามลำดับ โดยพบจำนวนเชื้อราทั้งหมดในปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนและน้ำหมักชีวภาพเท่ากับ 2.64×10^5 CFU/g และตรวจไม่พบ ตามลำดับ ในปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน พบเชื้อราที่มีลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกันจำนวน 32 ไอโซเลต (isolates) และพบแบคทีเรีย 20 ไอโซเลต ขณะที่ในน้ำหมักชีวภาพ ไม่พบเชื้อราแต่พบแบคทีเรียจำนวน 11 ไอโซเลต ซึ่งจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่พบมีจำนวนใกล้เคียงกับที่เคยมีรายงานมาก่อนโดย Anastasi, Varese & Marchisio (2005: 33-44) ซึ่งได้ทำการศึกษาจำนวนเชื้อราในปุ๋ยหมักทั่วไปและปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน พบว่ามีจำนวนเชื้อรา 8.2×10^5 CFU/g และ 4.0×10^5 CFU/g ตามลำดับ

ในการคัดแยกเชื้อราจากปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนและน้ำหมักชีวภาพ พบเชื้อรา จำนวน 32 ไอโซเลต แล้วทำการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อราก่อโรค *Colletotrichum siamense* (B1) กับเชื้อราที่แยกได้ ด้วยวิธี Dual culture technique พบเชื้อราที่แสดงผลการยับยั้งราก่อโรค จำนวน 13 ไอโซเลต คิดเป็นร้อยละ 40.63 ของจำนวนเชื้อราทั้งหมดที่แยกได้ โดยเชื้อราที่ให้ผลร้อยละการยับยั้งสูงสุด คือ เชื้อรา E10, E8 และ F5 มีร้อยละการยับยั้งเท่ากับ 72.75±4.81, 71.70±5.45 และ 70.65±4.80 ตามลำดับ เมื่อทำการระบุชนิดเชื้อรา เชื้อรา E10, E8 และ F5 พบว่ามีลักษณะโคโลนีและลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์คล้ายคลึงกันและเมื่อทำการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ จำนวน 3 ตำแหน่ง คือ ITS (Internal Transcribed Spacer), RPB2 (DNA-directed RNA polymerase II subunit 2) และ TEF1 (Translation elongation factor 1) พบว่าคือเชื้อ *Trichoderma breve* (E10) และ *T. zerobreve* (E8 และ F5) ซึ่งจากรายงานการศึกษาของ Zee Kar & Vu Thanh Tu (2018 : 90-102) ได้ทำการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคแอนแทรคโนส *Colletotrichum capsici* กับเชื้อรา *Trichoderma* spp. พบร้อยละการยับยั้งเท่ากับ 30.87 โดยในการศึกษาครั้งนี้เชื้อราที่แยกได้จากปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนพบว่าอยู่ในสกุล *Trichoderma* เช่นเดียวกันและให้ผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งที่ดีกว่าโดยให้ผลร้อยละการยับยั้งสูงกว่าในรายงานการศึกษาอื่น อีกทั้งในรายงานของ Anastasi, Varese & Marchisio (2005 : 33-44) ได้เคยมีรายงานว่าชนิดของเชื้อราที่พบในปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนประกอบด้วยเชื้อรากลุ่ม Zygomycetes,

Ascomycetes, Basidiomycetes, Mitosporic fungi และ Sterile mycelia ซึ่งพบปริมาณ 6, 4, 2, 76, และ 12%, ตามลำดับ โดยในรายงานนี้ พบเชื้อรากลุ่ม Mitosporic fungi (76%) มากที่สุด ในจำนวนนี้ชนิดเชื้อราที่พบได้บ่อยคือ *Scedosporium* หรือ *Pseudallescheria boydii* ซึ่งสกุลที่พบได้บ่อยและมีจำนวนมากคือ *Penicillium* และ *Aspergillus* โดยสกุล *Trichoderma* ก็พบในรายงานนี้ด้วยเช่นกัน คือ *Trichoderma hamatum* และ *Trichoderma harzianum* โดยเชื้อรา *Trichoderma* spp. ได้เคยถูกนำมาศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคพืชหลายชนิด รวมทั้งโรคแอนแทรคโนสด้วย (Saxena et al., 2016 : 1-18; Mukhopadhyay & Kumar, 2020 : 1-8; Tyskiewicz et al., 2022 : 1-28)

ในการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนและน้ำหมักชีวภาพ พบแบคทีเรีย จำนวน 20 ไอโซเลต แล้วทำการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อราก่อโรค *Colletotrichum siamense* (B1) กับเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ ด้วยวิธี Dual culture technique จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่า เชื้อแบคทีเรีย B5 ที่แยกได้จากปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคพริก *C. siamense* ได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงที่สุดคือ ร้อยละ 47.78±3.85 ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งน้อยกว่าการศึกษาของ Yutthasin et al. (2018: 1130-1136) ที่ได้นำเชื้อ *Bacillus* spp. จำนวน 13 ไอโซเลต มาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum acutatum, C. capsici* และ *C. gloeosporioides* โดยวิธี dual culture technique เช่นเดียวกัน พบว่าเชื้อ *Bacillus* ไอโซเลต DL7, DL9, B23/2, 19w6, 20w16 และ 20w33 สามารถยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* ทั้ง 3 ชนิด ได้มากกว่า 60% นอกจากนี้ในการศึกษาของ Thapanapongworaku, P. et al. (2020 : 656-667) ซึ่งมีการใช้วิธี sealed plate ร่วมด้วยพบว่าเชื้อ *Streptomyces* sp. CT20 สามารถสร้างสารระเหยที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporiodes* Coll-1 ได้ดีที่สุดในเวลา 120 ชั่วโมง โดยมีร้อยละการยับยั้งสูงถึง 64.17

เมื่อทำการระบุชนิดแบคทีเรียที่คัดแยกได้ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น พบว่าเชื้อแบคทีเรียจากปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา *C. siamense* จากการศึกษาครั้งนี้ เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างท่อน สร้างเอนโดสปอร์ จัดอยู่ในกลุ่ม Endospore forming gram positive rod เช่นเดียวกับในรายงานการศึกษาของ Vaz-Moreira, I. et al. (2008 : 714-722) ได้ทำการศึกษาชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่เป็นองค์ประกอบในปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน พบแบคทีเรียกลุ่ม Endospore forming gram positive rod ซึ่งประกอบด้วย *Bacillus* sp., *B. megaterium, B. pumilus* และ *B. subtilis*

ทั้งนี้เชื้อจุลินทรีย์ที่นิยมใช้เพื่อการควบคุมทางชีวภาพ (Biological control) และมีการจำหน่ายทางการค้าคือ เชื้อราในสกุล *Trichoderma* โดยมีรายงานวิจัยหลายการศึกษาที่สนับสนุนการใช้เชื้อราชนิดนี้ ดังเช่นในการศึกษาของ Chuenchan et al. (2019 : 52-64) พบว่า

Trichoderma harzianum MKB11 และ MKB01 มีร้อยละการยับยั้งเชื้อราก่อโรคพืชเท่ากับ 86.28 และ 81.51 ตามลำดับ และในการศึกษาของ Thienchai & Nuangmek, W. (2020 : 1155-1158) พบว่า เชื้อรา *Trichoderma* sp. (L1I3) และ *T. harzianum* (R24I2) มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเจริญของเชื้อรา *Fusarium equiseti* สาเหตุโรคเหี่ยวของเมล่อน ได้ถึงร้อยละการยับยั้ง 80.88 และ 84.16 ตามลำดับ ซึ่งเชื้อราสกุล *Trichoderma* สามารถผลิตสารปฏิชีวนะ สารพิษ และเอนไซม์สำหรับช่วยในการสลายผนังเส้นใยของเชื้อก่อโรคพืชได้และยังสามารถนำมาพัฒนาให้อยู่ในรูปของสารชีวภัณฑ์ได้อีกด้วย อย่างไรก็ตาม เชื้อแบคทีเรียได้มีรายงานการใช้เพื่อเป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมทางชีวภาพ เช่น เชื้อแบคทีเรียในสกุล *Bacillus, Pseudomonas, Paenibacillus* และ *Agrobacterium* ซึ่งมีการจำหน่ายทางการค้าแต่ประสิทธิภาพจะขึ้นอยู่กับกลไกของเชื้อโรคเป้าหมาย ปริมาณเชื้อตั้งต้นที่ใช้ และสภาพแวดล้อมที่ใช้งาน โดยมีรายงานว่าสกุล *Bacillus* สามารถผลิตสาร เช่น bacillomycin, mycosubtilin เป็นต้น ซึ่งมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อราได้หลายชนิด รวมทั้ง *Colletotrichum* spp. ด้วย (Pal & Gardener, B.M., 2006 : 1117-1142)

นอกจากการศึกษาจุลินทรีย์ซึ่งเป็นองค์ประกอบหนึ่งในปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนและน้ำหมักชีวภาพแล้ว ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการศึกษาผลของสารชีวภัณฑ์หรือน้ำหมักชีวภาพที่มีต่อการเจริญของเชื้อราก่อโรคพริก *C. siamense* (B1) พบว่าเมื่อความเข้มข้นของน้ำหมักชีวภาพเพิ่มขึ้น ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *C. siamense* (B1) ลดลง และที่ความเข้มข้น 40 และ 60% สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคได้ ในขณะที่การศึกษาผลของสารละลายปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนที่มีต่อการเจริญของเชื้อ *C. siamense* (B1) พบว่าความเข้มข้นของสารละลายปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนที่เพิ่มขึ้น ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *C. siamense* (B1) เพิ่มขึ้น จะเห็นได้ว่าสารละลายปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคได้ ในทางตรงกันข้ามกลับช่วยส่งเสริมการเจริญของเชื้อ *C. siamense* (B1) ให้เจริญได้ดีขึ้น นอกจากนี้ในการทดสอบเชื้อ *C. siamense* (B1) กับสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา (Mancozeb) พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารเคมีเพิ่มขึ้น ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *C. siamense* (B1) ลดลง และที่ความเข้มข้น 0.9% (w/v) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคได้

จากการทดลองดังกล่าวข้างต้นชี้ให้เห็นว่าในปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนมีเชื้อจุลินทรีย์ทั้งเชื้อราและแบคทีเรียที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราก่อโรคพริก *Colletotrichum siamense* แต่ในน้ำหมักชีวภาพไม่พบจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติดังกล่าว เมื่อทำการศึกษาคุณสมบัติของสารละลายปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนพบว่าสารละลายปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคได้ ขณะที่น้ำหมักชีวภาพสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคได้เมื่อความเข้มข้นเพิ่มมากขึ้น ดังนั้น คุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคพริกของปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนจึงขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ที่เป็นองค์ประกอบ แต่สำหรับน้ำหมักชีวภาพคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นที่ใช้

จากผลการศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบว่าในปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ของวิสาหกิจชุมชน อำเภอโป่งน้ำร้อน จังหวัดจันทบุรี มีเชื้อราและแบคทีเรียที่มีประโยชน์ต่อพืชผลทางการเกษตร เช่น พริก เป็นต้น โดยมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสในพริกคือ *Colletotrichum siamense* ดังแสดงในผลการศึกษาครั้งนี้ ดังนั้นนอกจากการใช้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนเพื่อส่งเสริมการเจริญของพืชผลทางการเกษตรแล้ว ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนยังมีเชื้อราและแบคทีเรียที่มีประโยชน์เป็นองค์ประกอบโดยมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคพืชได้อีกด้วย และหากต้องการใช้น้ำหมักชีวภาพร่วมกับปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนจะต้องใช้ในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมจึงจะช่วยส่งเสริมการควบคุมเชื้อราก่อโรคได้

สำหรับผลของน้ำหมักชีวภาพร่วมกับการใช้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนต่อการยับยั้งการเกิดโรคในพริกนั้นมีการทดลอง 2 การทดลองย่อย ดังนี้ คือ 1) การทดสอบความเข้มข้นของน้ำหมักชีวภาพในอัตราที่ต้นพริกสามารถทนได้เพื่อนำไปใช้ในการทดลองที่ 2 ในกรรมวิธีที่ 4, 5 และ 6 และ 2) การทดลองย่อยที่ 3.2 เพื่อศึกษาผลของการใช้น้ำหมักชีวภาพร่วมกับปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนต่อการเจริญเติบโตของพริก

การทดลองย่อยที่ 1 ได้เลือกความเข้มข้นของน้ำหมักชีวภาพที่จะนำไปใช้ต่อในการทดลองที่ 3.2 ได้แก่การเลือกใช้น้ำหมักชีวภาพที่มีความเข้มข้น 15% เนื่องจากที่ความเข้มข้นดังกล่าวนั้น ต้นพริกสามารถทนต่อการฉีดพ่นน้ำหมักเป็นจำนวน 3 ครั้งและมีระยะห่าง ทุกๆ 7 วันได้และสามารถเจริญเติบโตได้ ในการทดลองที่ 2 จึงนำความเข้มข้นของน้ำหมักที่ 15% ไปทำการทดสอบร่วมกับกรรมวิธีอื่นๆ ต่อไป ทั้งนี้ สาเหตุที่ต้นพริกไม่สามารถทนได้เมื่อได้รับน้ำหมักชีวภาพเข้มข้นตั้งแต่ 25% ขึ้นไป น่าจะมาจากความเป็นกรดสูงของน้ำหมักชีวภาพที่ใช้ในการทดลอง (pH เท่ากับ 4.4) ซึ่งค่า pH ของน้ำหมักชีวภาพที่ใช้ในการทดลองนี้มีค่าใกล้เคียงกับน้ำหมักชีวภาพที่ผลิตจากพืชในการทดลองของ Kamla et al. (2008 : 353 - 368) ที่พบว่าน้ำหมักชีวภาพที่ผลิตจากพืชในการทดลองดังกล่าวมีค่า pH 4.3 โดยพบว่า หากเป็นน้ำหมักชีวภาพที่ใช้สัตว์เป็นวัตถุดิบนั้น จะมีค่า pH ที่สูงกว่าการใช้พืชเป็นวัตถุดิบ ดังนั้น วิธีการใช้งานจึงต้องเจือจางน้ำหมักชีวภาพ 500 – 1,000 เท่า ซึ่งพิสมัย โพธิ์ศรี วิชัย สุทธิธรรม และ นฤมล วชิรปทมา. (2548 : 392-395) พบว่าการเจือจางน้ำหมักชีวภาพผักบุ้งที่อัตราส่วน 1:500 มีน้ำหนักสดและแห้งในต้นและเมล็ดถั่วเหลืองฝักสดสูงสุด ซึ่งได้ผลดีมากกว่าการเจือจางในอัตรา 250 และ 1,000 เท่า อย่างไรก็ตาม วัตถุประสงค์ของงานวิจัยดังกล่าวกับงานวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์หลักที่แตกต่างกัน ดังนั้น การกำหนดอัตราการเจือจางจึงมีโอกาสที่แตกต่างกันได้

สำหรับการทดลองย่อยที่ 2 เพื่อศึกษาผลของการใช้น้ำหมักชีวภาพร่วมกับปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนต่อการเจริญเติบโตของพริก จากผลการทดลองที่พบว่า ความกว้างทรงพุ่มของต้นพริกของกรรมวิธีที่ได้รับการฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรคร่วมกับการใช้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน และการฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพ 15% (กรรมวิธีที่ 6) น้อยกว่ากรรมวิธีควบคุมเมื่อพริกอายุ 14 21 และ 28 วัน (p<0.05) (ตารางที่ 4.6)

ในขณะที่ ต้นพริกไม่มีความกว้างทรงพุ่มที่แตกต่างกันทางสถิติหลังจากที่ต้นพริกอายุมากกว่า 28 วัน ไปแล้ว เป็นไปได้ว่าลักษณะของต้นพริกที่นำมาทดลองนี้ อาจแตกต่างกันตั้งแต่แรก อย่างไรก็ตาม เมื่อต้นพริกอายุมากยิ่งขึ้น พริกก็ไม่ได้แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเหมือนในช่วงแรก ลักษณะที่ปรากฏของต้นพริกที่ไม่แสดงออกมาทางความสูงและความกว้างของลำต้นน่าจะมาจากดินที่ใช้ในการทดลองนี้จัดอยู่ในระดับที่ค่อนข้างอุดมสมบูรณ์ ดังนั้น การที่พริกทุกต้นได้รับปุ๋ยเคมีเท่ากันตามค่าวิเคราะห์ดินแต่แตกต่างกันที่ได้รับปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน (อัตรา 3 ตัน/ไร่) ดังนั้น กรรมวิธีที่ 3 4 และ 6 จึงไม่ทำให้การเจริญเติบโตแตกต่างจากกรรมวิธีที่ 1 และไม่แสดงความแตกต่างทางสถิติได้ ผลการทดลองในประเด็นนี้สอดคล้องกับการงานวิจัยของ Van Groenigen et al. (2014) ที่พบว่าผลของปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชจะลดลงหากในการปลูกพืชนั้นมีการใส่ปุ๋ยเคมีไนโตรเจนลงไปด้วย ด้วยเหตุผลการใส่ปุ๋ยเคมีจะไปลดบทบาทและหน้าที่ของปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนซึ่งได้แก่การเพิ่มการปลดปล่อยธาตุอาหารพืชจากรูปอินทรีย์ให้เป็นอนินทรีย์สารนั่นเอง

การฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรคร่วมกับการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อรา (กรรมวิธีที่ 7) แสดงอาการความรุนแรงของโรคมากกว่ากรรมวิธีอื่นๆ ในการประเมินความรุนแรงในครั้งที่ 10 ผลการทดลองในประเด็นนี้น่าจะมาจากกรรมวิธีที่ใช้สารเคมีป้องกันเชื้อรา ซึ่งในการทดลองนี้ใช้สารเคมีในกลุ่ม Triazole ในอัตราที่บ่อยครั้งมากเกินไปทำให้ต้นแสดงอาการผิดปกติได้ โดย Jakl et al. (2021 : 277) ได้พบว่าการใช้สารเคมีกำจัดเชื้อราประเภท Triazolic fungicide ตามอัตราที่แนะนำในฉลากนั้นช่วยทำให้ผลผลิตของมะเขือเทศและสารสำคัญในมะเขือเทศมีมากขึ้น แต่ในขณะเดียวกันก็ส่งผลกระทบทางด้านลบต่อพืชในตำแหน่งที่ไม่ใช่ตำแหน่งเป้าหมาย ซึ่งได้แก่ การทำให้พืชสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ได้น้อยลงรวมไปถึงทำให้น้ำหนักใบลดลงด้วย ดังนั้น จึงเป็นไปได้ว่าการใช้สารเคมีในกลุ่มดังกล่าวในอัตราที่บ่อยครั้งกว่าอัตราที่แนะนำดังเช่นในการทดลองในครั้งนี้ น่าจะส่งผลด้านลบต่อพืชด้วยเช่นกัน และการแสดงผลออกมาว่าการใช้สารเคมีในกลุ่มนี้มากเกินไปทำให้พืชแสดงอาการเป็นโรคมากกว่ากรรมวิธีอื่นๆ และอาจกล่าวได้ว่า การฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพอัตรา 15% น่าจะได้ผลดีในการควบคุมอาการของโรคในการประเมินความรุนแรงของโรคในช่วงการประเมินความรุนแรงในครั้งที่ 5 6 7 และ 8 หรือเมื่อต้นพริกมีอายุตั้งแต่ 35 – 56 วัน นับจากการย้ายปลูก เนื่องจากการใช้น้ำหมักชีวภาพแสดงแนวโน้มความสามารถในการควบคุมอาการรุนแรงของโรคได้โดยการประเมินแบบที่ 1 ซึ่งในช่วงการประเมินความรุนแรงครั้งที่ 9 ได้ดำเนินการในช่วงที่พริกมีอายุประมาณ 63 วันนับจากย้ายปลูก ซึ่งในช่วงดังกล่าวก็เป็นช่วงที่พริกจะต้องออกดอกตามลักษณะตามพันธุกรรมของพืช นอกจากการฉีดพ่นน้ำหมักหลังจากพริกมีอายุประมาณ 63 วันที่ไม่ได้แสดงแนวโน้มความสามารถในการควบคุมโรคได้แล้ว ยังอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้พริกไม่สามารถออกดอกได้ อันเนื่องมาจากต้นพริก

ได้รับสารส่งเสริมการเจริญเติบโตบางชนิด หรือสารประกอบประเภทฟีนอลิกที่มากกว่าปกติหลายเท่า ซึ่ง Kalra and Lal (2010) พบว่าการที่พืชได้รับสารประกอบฟีนอลมากเกินไปอาจทำให้พืชออกดอกช้าลง และอาจส่งผลต่อทำให้ลดการออกดอกของพืชได้เลยทีเดียว ซึ่งในงานวิจัยดังกล่าวได้อธิบายว่าการที่พืชได้รับสารประกอบประเภทฟีนอลในไซโตพลาสซึมในใบของพืชจะไปยับยั้งการสังเคราะห์หรือขนส่งฮอร์โมนพืชที่ใช้ในการออกดอกของพืช (Marchiosi et al., 2020 : 865–906)

การฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรคร่วมกับการฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพ 15% (กรรมวิธีที่ 5) และการฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรคร่วมกับการใช้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน และการฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพ 15% (กรรมวิธีที่ 6) ทำให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นพริกที่อายุ 120 วัน มากกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ น่าจะมาจากการใช้น้ำหมักชีวภาพที่ 15% ช่วยทำให้ต้นพริกทนต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคได้โดยไม่ทำให้ต้นพริกตาย แต่อย่างไรก็ตาม การใช้น้ำหมักในอัตราที่เข้มข้นถึง 15% อาจทำให้พืชได้รับทั้งสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ รวมถึงฮอร์โมนพืชบางชนิดที่มากเกินไป ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชได้ (จันทนิภา มะณีมา สุทิศา ชัยกุล และหยาดรุ้ง สุวรรณรัตน์, 2566 : 129-140) เช่นงานวิจัยของสาลินี ผลมาตย์ ลิขิต น้อยจ่ายสิน และรุจิรัตน์ กิจเลิศพรไพโรจน์ (2566 : 1-14) ที่ศึกษาผลของน้ำหมักชีวภาพผักตบชวาต่อความงอกของเมล็ดพันธุ์พริกจินดาแดงในห้องปฏิบัติการและในแปลงทดลอง ซึ่งแม้ว่าในการทดลองดังกล่าวมีวัตถุประสงค์เพื่อนำน้ำหมักชีวภาพช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตจะเป็นคนละวัตถุประสงค์ในการทดลองนี้ แต่สิ่งที่พบใกล้เคียงกันในประเด็นหากใช้น้ำหมักในอัตราที่เข้มข้นมากเกินไปอาจทำให้พืชยับยั้งการเจริญเติบโตได้ โดยการทดลองของสาลินี ผลมาตย์ ลิขิต น้อยจ่ายสิน และรุจิรัตน์ กิจเลิศพรไพโรจน์ (2566) พบว่า การเจือจางน้ำหมักชีวภาพในอัตรา 1:750 หรือใช้น้ำหมักในความเข้มข้นเท่ากับ 0.133% ทำให้ต้นพริกมีอัตราการงอกทั้งในห้องปฏิบัติการและในแปลงทดลองที่ดีกว่าการเจือจางในอัตรา 1:250, 1:500 และ 1:1,000 ซึ่งเท่ากับ 0.4, 0.2 และ 0.1% ตามลำดับ การฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพในอัตราที่ค่อนข้างเข้มข้นเช่นในกรณีนี้คือ 15% ต้นพริกนอกจากจะมีความสูงโดยเฉลี่ยทุกกรรมวิธีที่ต่ำกว่าความสูงของพริกที่ปฏิบัติตามวิธีการของเกษตรกรทั่วไปแล้ว พริกยังไม่สามารถออกดอกได้อีกด้วย ซึ่งในประเด็นของการที่พริกไม่สามารถออกดอกได้ก็น่าจะมาจากปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่พบในน้ำหมักชีวภาพที่ต้นพริกได้รับอย่างต่อเนื่องทุก ๆ 7 วัน จึงส่งผลต่อกระบวนการทางชีวเคมีของการออกดอกของพืชที่ได้อภิปรายผลการทดลองในประเด็นนี้ในหัวข้อการประเมินความรุนแรงของโรคก่อนหน้านี้

ผลจากโครงการวิจัยนี้ ได้นำไปใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน และน้ำหมักชีวภาพของกลุ่มมูลจันทร์ ชุมชนอำเภอโป่งน้ำร้อน จังหวัดจันทบุรี

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมภายใต้สภาพโรงเรือนและแปลงปลูกเพื่อยืนยันประสิทธิผลในการควบคุมโรคพืชด้วยปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน

2. ควรมีการศึกษาในด้านการนำปุ๋ยหมักมูลมูลไส้เดือนไปใช้ในการยับยั้งโรคในพืชเศรษฐกิจชนิดอื่น ๆ ของชุมชน

บรรณานุกรม

กรมพัฒนาที่ดิน. (2550). **ระเบียบกรมพัฒนาที่ดินว่าด้วยการใช้เครื่องหมายรับรองมาตรฐานปัจจัยการผลิตทางการเกษตร พ.ศ. 2550**. กรุงเทพฯ: กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

กรมพัฒนาที่ดิน. (2553). **คู่มือการปฏิบัติงานกระบวนการวิเคราะห์พืช ปุ๋ยและสิ่งปรับปรุงดิน**. กรมพัฒนาที่ดิน. กรุงเทพฯ.

กรมพัฒนาที่ดิน. (2553). **คู่มือการปฏิบัติงานกระบวนการวิเคราะห์ตรวจสอบดินทางเคมี**. กรมพัฒนาที่ดิน. กรุงเทพฯ.

กรมวิชาการเกษตร. (2548). **คำแนะนำการใช้ปุ๋ยกับพืชเศรษฐกิจ**. เอกสารวิชาการลำดับที่ 8/2548. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ISBN 974-436-434-3. กรุงเทพฯ.

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. (2557). **วิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์อาหาร เล่มที่ 2.** นนทบุรี: โรงพิมพ์สำนักพระพุทธศาสนาแห่งชาติ.

กรมส่งเสริมการเกษตร. (2549). **ผลพริกที่เป็นโรคแอนแทรคโนส.** (ออนไลน์). แหล่งที่มา : www.doae.go.th/todaynewnews65_2545.html. 27 มกราคม 2565.

กรมส่งเสริมการเกษตร. (2549). **ลักษณะของต้นพริก** (ออนไลน์). แหล่งที่มา : www.doae.go.th/todaynewnews65_2545.html. 27 มกราคม 2565.

เกศกนก วงศ์ชยานันท์ และ คมกฤษณ์ แสงเงิน. (2563). ผลของปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของมะเขือเทศเชอรี่. **วารสารวิจัยและพัฒนา วไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์**. 15(1), 115-123.

จันทนิภา มะณีมา สุทิศา ชัยกุล และหยาดรุ้ง สุวรรณรัตน์. (2566). ผลของสารสกัดสาหร่ายทะเลสีน้ำตาลร่วมกับปุ๋ยทางใบต่อการเติบโตของผักคะน้า. **วารสารเกษตร**, 39(2), 129-140.

ชูชาติ ตรุษเพชร และคนอื่น ๆ (2566). **รายงานวิจัยเรื่องศึกษาผลการใช้ปุ๋ยหมักและมูลไส้เดือนดินในการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทเรียในมะเขือเทศ.** ราชบุรี: สถานีพัฒนาที่ดินราชบุรี สำนักงานพัฒนาที่ดินเขต 10.

ไชยวัฒน์ ไชยสุต (2553). **น้ำหมักชีวภาพ.** ปทุมธานี: ศูนย์วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อสังคม สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ.

ทัศนีย์ อัตตะนันท์และจงรักษ์ จันทร์เจริญสุข. (2542). **แบบฝึกหัดและคู่มือปฏิบัติการ การวิเคราะห์ ดินและพืช**. ภาควิชาปฐพีวิทยา, คณะเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 108 หน้า.

นริสรา พานพ่วง และ สาวิตรี จันทรานุรักษ์. (2555). การศึกษาเปรียบเทียบปริมาณธาตุอาหารหลักของพืชในปุ๋ยธรรมชาติ ปุ๋ยมูลไส้เดือนดิน โดยไส้เดือนดิน *Eudrilus eugeniae* และปุ๋ยหมัก พด.1 เรื่องเต็มการ **ในการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 50: สาขาวิทยาศาสตร์, สาขาทรัพยากรธรรมชาติ และสิ่งแวดล้อม. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 50** (หน้า 442-447). สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

ปิลันธนา ฐาปนพงษ์วรกุล และศราวิชญ์ สายมงคล. (2558). ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus megaterium* สายพันธุ์ No.16 ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าวพันธุ์ กข6. **วารสารเกษตร,** 31(3), 301 – 310.

ปิลันธนา ฐาปนพงษ์วรกุล, และคนอื่น ๆ. (2563). ศักยภาพการเป็นปฏิปักษ์ของ *Streptomyces* spp. และ *Bacillus subtilis* ต่อเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก. **แก่นเกษตร,** 49(3), 656-667.

พิชญ์ ตั้งสมบัติวิจิตร และอุทาน บูรณศักดิ์ศรี. (2562). ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดิน: เทคโนโลยีชีววิถีเพื่อการอนุรักษ์ดินและการจัดการขยะอินทรีย์ในประเทศไทย. **วารสารวิจัยราชภัฏพระนคร สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี,** 14(2), 170-181.

พิสมัย โพธิ์ศรี, วิชัย สุทธิธรรม และนฤมล วชิรปัทมา. 2548. **ผลของน้ำสกัดชีวภาพที่มีตอการเจริญเติบโตและผลผลิตของถั่วเหลืองฝกสด**. รายงานการวิจัยประจำปงบประมาณ 2548. คณะวิทยาศาสตรและเทคโนโลยี. มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร. ปทุมธานี.

พิสมัย โพธิ์ศรี, วิชัย สุทธิธรรม และ นฤมล วชิรปทมา. 2551. ผลของน้ำสกัดชีวภาพที่มีต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของถั่วเหลืองฝกสด. **ว. วิทย. กษ.** 39(3) (พิเศษ): 392-395.

เพียงใจ เจียรวิชญกุล และพัฒนา สมนิยาม. (2564). ประสิทธิภาพของปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนจากผักตบชวาต่อการเจริญเติบโต ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตของข้าวพันธุ์กข 41**. แก่นเกษตร**, 1, 949-955.

ภารดี แซ่อึ้ง และนารีภรณ์ สามิภักดิ์. (2564). ผลของปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดินต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 84-1 และพันธุ์ชัยนาท 6. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี**, 9(2), 127-138.

ภิรมย อินทะนะ และณฐพงศ์ เมธินธรังสรรค์ (2564). การเปรียบเทียบธาตุอาหารจากมูลไสเดือนดิน AF ตอการเจริญเติบโตของผักชี. **วารสารวิจัยและนวัตกรรมทางวิทยาศาสตรและเทคโนโลยี**, 2(3): 82-91.

ยลธิดา ชนะชัย และเพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล. (2563). การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ควบคุมเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริกในแนวกว้างและช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช. **แก่นเกษตร,** 48(2), 333-344.

รัตน์มณี ชนะบุญ . (2561). **การผลิตปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนจากวัสดุเพาะเลี้ยงที่ต่างกันเพื่อพัฒนาปุ๋ยหมักที่มี ประสิทธิภาพต่อระบบการเกษตรอินทรีย์อย่างยั่งยืน.** สกลนคร : มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร.

วนิดา ชื่นชัน, และคนอื่น ๆ. (2562). การยับยั้งเชื้อรา *Phytophthora parasitica* ด้วยเชื้อราปฏิปักษ์ที่แยกได้จากดินในเขตพื้นที่ตำบลกุยบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์. **วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง,** 28(1), 52-64.

สมชัย จันทร์สว่าง. (2552). **การเพาะไส้เดือนดิน.** กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมาพร เรืองสังข์ และจุฬารักษ์ ศรีศักดา. (2563). การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จากใบพืชที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อก่อโรคเหี่ยวของพริก. **วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเชีย ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี,** 14(2), 190-199.

สาลินี ผลมาตย์ ลิขิต น้อยจ่ายสิน และรุจิรัตน์ กิจเลิศพรไพโรจน์. (2566). ผลของน้ำหมักชีวภาพผักตบชวาต่อความงอกของเมล็ดพันธุ์พริกจินดาแดง. **วารสารวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์**. 15(21): 1-14.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. (2563). **น้ำหมักชีวภาพ.** (ออนไลน์). แหล่งที่มา : https://www.oae.go.th/view/1/search_result/สารชีวภัณฑ์. วันที่ 28 มกราคม 2565.

อภิชาติ ศรีสะอาด และพัชรี สำโรงเย็น. (2561). **พริก**. (ออนไลน์). แหล่งที่มา : www.m-group.in.th. เข้าถึงเมื่อ 28 มกราคม 2565.

Anastasi, A., Varese, G.C., & Marchisio, V.F. (2005). Isolation and identification of fungal communities in compost and vermicompost. **Mycologia,** 97(1), 33-44.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (1990). **Official Methods of Analysis of the Association of Official Chemists**. Benjamin Franklin Station. Washington DC, USA.

Bio-helix. (2022). **การทำผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยา PCR ให้บริสุทธิ์ด้วยชุดสำเร็จรูป PureDireX™** (online). Available: http://www.bio-helix.com/products/175. 7 March 2021.

Chuenchan, W., et al. (2019). Inhibition of *Phytophthora parasitica* by antagonistic molds from Soil's Kuiburi Subdistrict, Prachuap Khiri Khan Province. **Journal of Science Ladkrabang,** 28 (1), 52-64.

Gopal M. et al. (2009). Amplifacation of plant beneficial microbial communities during conversion of coconut leaf substrate to vermicompost by Eudrilus sp. **Current Microbiology**, 59, 15-20.

De Silva D.D., et al. (2019). Identification, prevalence and pathogenicity of *Colletotrichum* species causing anthracnose of *Capsicum annuum* in Asia. **IMA Fungus,** 10(1), 1-32.

Favorgen. (2022). **การสกัด DNA ด้วยชุดสกัด FavoPrep**$^{TM.}$ (online). Available: http://www.favorgen.com/favorgen/serv_1/mem_t1/h_1/pdf/genomic/FATGK. 27 March 2022.

Felsenstein, J. (1985). Confidence Limits on Phylogenies: An Approach Using the Bootstrap. **Evolution,** 39(4), 783-91.

Jakl, M. et al. (2021). Side effects of triazoles on treated crops. **Chemosphere**. 277. (https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653521007116.

Joshi, T.N. et al. (2015). Survivabily and multiplication of earthworm species (*Eisenia fetida*: Oligochaeta, Savigny) during poultry waste disposal. **International Invention Journal of Agricultural and Soil Science**, 3(3), 43-46.

Kamla, N., et al. (2008). Role of Fermented Bio-extracts Produced by Farmers on Growth, Yield and Nutrient Contents in Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) in Northeast Thailand. ***Biological Agriculture & Horticulture.*** 25(4): 353 - 368.

Kapoor, L.D., (2001). **Handbook of Ayurvedic Medicinal Plants: Herbal Reference Library**. CRC Press, Inc., Lincoln. 416 pages**.**

Kalra, G., and M.A. Lal. (2018). Physiology of Flowering, pp. 797–819. *In* S.C. Bhatla and M.A. Lal. (Eds). **Plant Physiology, Development and Metabolism**; Springer. Singapore.

Khodadadi, F., et al. (2020). Identification and characterization of *Colletotrichum* species causing apple bitter rot in New York and description of *C. noveboracense* sp. nov. **Scientific Reports,** 10(1), 1-19.

Kumar, S., et al. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. **Molecular Biology and Evolution,** 35(6), 1547-9.

Madsen E.L. & Alexander M. (1982). Transport of Rhizobium and Pseudomonas through soil. **Soil Science Society of America**, 46, 557-560.

Marchiosi, R. et al. (2020). Biosynthesis and metabolic actions of simple phenolic acids in plants. **Phytochem. Rev.** 19, 865–906.

Mehmood, A., S. Javid and M.F. Khan. (2022). In vitro total phenolics, total flavonoids, antioxidant and antibacterial activities of selected medicinal plants using different solvent systems. **BMC Chemistry 16**: 64. https://doi.org/10.1186/s13065-022-00858-2.

Mukhopadhyay, R., & Kumar, D. (2020). *Trichoderma*: a beneficial antifungal agent and insights into its mechanism of biocontrol potential. **Egyptian Journal of Biological Pest Control.**, 1-8.

NCBI. (2022). **หน้าต่างโปรแกรม BLAST N.** (online). Available: www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank. 27 March 2022.

NCBI. (2022). **ตัวอย่างผลการ BLAST.** (online). Available: www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank. 27 March 2022.

Pal, K. K. & Gardener, B. M. (2006). Biological control of plant pathogens. **The Plant Health Instructor,** 2, 1117-1142.

Prasitket, J. et al. (2005). **Organic fertilizer: Production, utilization and quality**. Department of Agriculture. pp.87.

Raja, H.A., et al. (2017). Fungal Identification Using Molecular Tools: A Primer for the Natural Products Research Community. **Journal of Natural Products,** 80(3), 756-770.

Reeuwijk, LP van. (2002). **Procedure for soil analysis**. 6th edition. Technical paper/International Soil Reference and Information Centre, Wageningen, The Netherlands.

Saitou, N. & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. **Molecular Biology and Evolution,** 4(4), 406-25.

Saxena, A., et al. (2016). Chilli Anthracnose: The epidemiology and management. **Frontiers in Microbiology,** 7, 1-18.

Staples, G.W. and R.F. Bevacqua. (2006). *Areca catechu* (betel nut palm). Available at https://www.researchgate.net/publication/228662997_Areca_catechu_betel_nut_palm. 28th June 2023.

Suwannarat, S., et al. (2017). Diversity of *Colletotrichum* spp. isolated from chili pepper fruit exhibiting symptoms of anthracnose in Thailand. **Mycological Progress,** 16(7), 677-86.

Tamura, K., Nei, M. & Kumar, S. (2004). Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,** 101(30), 11030-5.

Than, P.P., et al. (2008). Chilli anthracnose disease caused by *Colletotrichum* species. **Journal of Zhejiang University,** 9(10), 764–778.

Thapanapongworakul, P., et al. (2020). Antagonistic potential of *Streptomyces* spp. and *Bacillus subtilis* against phytopathogenic fungus causing anthracnose disease of chilli. **Khon Kaen Agriculture Journal,** 49 (3), 656-667.

Thienchai, P. & Nuangmek, W. (2020). Effect of endophytic fungi *Trichoderma* sp. (L1I3) and *Trichoderma harzianum* (R24 I2) against *Fusarium equiseti* causal agent of melon wilt disease in vitro. **Khon Kaen Agriculture Journal,** 48 Suppl. 1, 1155-1158.

Ty**ś**kiewicz, R., et al. (2022). *Trichoderma*: The Current Status of Its Application in Agriculture for the Biocontrol of Fungal Phytopathogens and Stimulation of Plant Growth. **International Journal of Molecular Sciences,** 23(4), 1-28.

Van Groenigen J.W, Lubbers I.M. & Vos H.M.J. (2014). Earthworms increase plant production: a meta-analysis. **Sci Report**. 4:6365. https://doi. org/10.1038/srep06365.

Vaz- Moreira, I. , et al. (2008) . Diversity of Bacterial Isolates from Commercial and Homemade Composts. **Microbial Ecology,** 55(4), 714-722.

Xing, J. H., et al. (2018). Morphological and molecular identification of two new *Ganoderma* species on *Casuarina equisetifolia* from China. **MycoKeys,** (34), 93–108.

Yutthasin, R., et al. (2018). Selection of potential antagonistic *Bacillus* species to broad spectrum for control *Colletotrichum* spp., causal agent of chilli anthracnose disease. **Khon Kaen Agriculture Journal,** 46, Suppl. 1, 1130-1136.

Yuvaraj, A., R. Thangaraj and R. Maheswaran. (2019). Decomposition of poultry litter through vermicomposting using earthworm *Drawida sulcata* and its effect on plant growth. **Int. J. Environ. Sci. Technol. 16**: 7241–7254. https://doi.org/10.1007/s13762-018-2083-2

Zee Kar, Y., & Vu Thanh Tu, A. (2018). Effect of *Trichoderma* sp. on Anthracnose Disease of Stored Chilli. **Borneo Journal of Resource Science and Technology**, 8(2), 90-102.