Journal of Science, Technology and Agriculture Research (JSTAR)
Year: 2026 Volume: 7 Issue: 3 Page: 178-188

JSTAR

Research Article

Efficacy of *Bacillus subtilis* isolate AGBM for Inhibition of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. Causing Chilli Anthracnose

Kanchalika Ratanacherdchai* and Taweesab Chaiyarak

Department of Agriculture, Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Maha Sarakham University, Maha Sarakham, Thailand

(*Corresponding author's e-mail: kanchalika.ra@rmu.ac.th)

Received: 9 October, 2026; Revised: 2 November, 2026; Accepted: 6 November, 2026

Abstract

The study aimed to examine the antagonistic potential of *Bacillus subtilis* isolate AGBM for growth and sporulation inhibition of *Colletotrichum gloeosporioides* causing chilli anthracnose. *B. subtilis* isolate AGBM (from Agrobiomate Co., Ltd.) compared with *B. subtilis* isolate from Department of Agriculture and 2 commercial isolates of *B. subtilis* were tested for against mycelial growth and sporulation of chilli anthracnose pathogen; *C. gloeosporioides* isolate C14; by bi-culture antagonistic test. Experimental design by Completely Randomized Design (CRD) with 4 replications was used in this study. Results showed that *B. subtilis* AGBM could inhibit mycelial growth and sporulation of chilli anthracnose pathogen at 85.00 and 76.84%, respectively. It has been proved that *B. subtilis* has become the promising antagonistic bacteria as a biological agent plant pathogenic fungus.

Keywords: *Bacillus subtilis*; Anthracnose; Chilli

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ของเชื้อ *Bacillus subtilis* ไอโซเลท AGBM (จากบริษัท อะโกรไบโอเมท จำกัด) ในการยับยั้งการเจริญและการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก โดยทำการทดสอบเชื้อ *B. subtilis* ไอโซเลท AGBM (จากบริษัท อะโกรไบโอเมท จำกัด) เปรียบเทียบกับ เชื้อ *B. subtilis* ไอโซเลทกรมวิชาการเกษตร และเชื้อ *B. subtilis* ไอโซเลทการค้า จำนวน 2 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก *C. gloeosporioides* ไอโซเลท C14 ด้วยวิธีเลี้ยงเชื้อในอาหารร่วม (Bi-culture antagonistic test) วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) มี 4 ซ้ำ ผลการทดลอง พบว่า เชื้อ *B. subtilis* ไอโซเลท AGBM สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคได้ เท่ากับ 85.00 และ 76.84% ตามลำดับ นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคได้อีกด้วย ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเชื้อ *B. subtilis* ไอโซเลท AGBM มีแนวโน้มเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อใช้เป็นชีวผลิตภัณฑ์ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชต่อไปได้

คำสำคัญ: *Bacillus subtilis*; แอนแทรคโนส; พริก

บทนำ

พริก (*Capsicum* spp.) เป็นพืชผักและเครื่องเทศที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจระดับโลกและเป็นส่วนประกอบที่ขาดไม่ได้ในอุตสาหกรรมอาหาร การแพทย์ และเวชสำอาง เนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการสูง อุดมไปด้วยวิตามินเอและซี รวมถึงมีสารแคปไซซิน (Capsaicin) ที่มีสรรพคุณต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบ (Saxena et al., 2016) ในปี พ.ศ. 2562 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกพริกทั้งหมด 169,911 ไร่ โดยพื้นที่ปลูกที่สำคัญในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน ได้แก่ จังหวัดสกลนคร นครพนม และกาฬสินธุ์ มีเกษตรกรผู้ปลูกพริกจำนวน 2,161 ราย ในพื้นที่รวม 3,262 ไร่ แยกเป็น จังหวัดสกลนคร 1,551 ไร่ นครพนม 2,061 ไร่ และกาฬสินธุ์ 310 ไร่ (Sukhawatthanakun, 2022) ความคาดหวังในการผลิตพริกเชิงพาณิชย์ของเกษตรกร คือ การเพาะปลูกที่สามารถให้ผลผลิตสูง มีคุณภาพดีเยี่ยม เพียงพอต่อความต้องการของตลาดทั้งภายในประเทศและการส่งออก ภายใต้ระบบการจัดการฟาร์มที่มีความยั่งยืน (Oo & Oh, 2016) แต่สถานการณ์การเพาะปลูกพริกในปัจจุบันกลับพบว่าเกษตรกรต้องเผชิญกับอุปสรรคสำคัญจากการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืช โดยเฉพาะโรคแอนแทรคโนส (Anthracnose) หรือโรคกุ้งแห้ง ซึ่งมีสาเหตุหลักมาจากเชื้อราในสกุล *Colletotrichum* spp. โดยเฉพาะ *Colletotrichum gloeosporioides* (Choi et al., 2024; Surawut et al., 2023; Rattana, 2016; Thapanapongworakul & Ratanasakchaichan, 2016; Yutthasin et al., 2018) โดยโรคนี้สามารถเข้าทำลายเนื้อเยื่อพืชได้ทั้งใบ ลำต้น โดยเฉพาะบนผลพริกจะมีอาการเด่นชัดที่สุดและทำความเสียหายต่อผลผลิตมากที่สุดเมื่อถึงเวลาเก็บเกี่ยว อาการทั่วไปของโรคแอนแทรคโนสบนผลพริก คือ เริ่มต้น แผลจะเป็นจุดเล็ก ๆ ฉ่ำน้ำ บริเวณภายในแผลมีสีเหลืองอ่อน เนื้อเยื่อผิวของผลจะยุบบุ๋มลง จากนั้น เมื่อมีความชื้นสูงแผลจะขยายใหญ่ขึ้นเป็นวงรีหรือวงกลมซ้อน ๆ กันเป็นชั้น ๆ ตรงกลางแผลจะเห็นเม็ดสปอร์สีดำซึ่งเป็นส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อรา แผลเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและมักมีหลายแผลบนผลที่เชื้อเข้าทำลายเมื่อเชื้อราเจริญเต็มที่ ซึ่งสร้างความเสียหายต่อผลผลิตพริกในระยะก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวสูงถึง 80% (Oo & Oh, 2016; Saxena et al., 2016; Yutthasin et al., 2018) บริบทของการแก้ปัญหาในปัจจุบันเกษตรกรส่วนใหญ่ยังคงพึ่งพาสารเคมีกำจัดเชื้อราเป็นหลัก เนื่องจากเป็นวิธีที่ตอบสนองต่อการควบคุมโรคได้อย่างรวดเร็ว (Saxena et al., 2016; Surawut et al., 2023)

การพึ่งพาสารเคมีกำจัดเชื้อราอย่างต่อเนื่องและในปริมาณที่มากเกินไปได้ก่อให้เกิดปัญหาตามมา ทั้งในด้านสารพิษตกค้างในผลผลิตและสภาพแวดล้อม ซึ่งส่งผลกระทบโดยตรงต่อสุขภาพของเกษตรกร ผู้บริโภค และทำลายระบบนิเวศ (Abdelmoteleb et al., 2017; Saxena et al., 2016; Surawut et al., 2023) นอกจากนี้ การใช้สารเคมีชนิดเดิมติดต่อกันเป็นเวลานานยังกระตุ้นให้เชื้อราก่อโรคเกิดการปรับตัวและสร้างความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดเชื้อรา ทำให้ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคด้วยวิธีเดิมลดลงอย่างต่อเนื่อง (Oo & Oh, 2016) ปัญหาเหล่านี้เป็นข้อจำกัดที่ขัดขวางการยกระดับคุณภาพผลผลิตพริกให้ได้มาตรฐานความปลอดภัย และทำให้ต้นทุนการผลิตของเกษตรกรสูงขึ้นอย่างไม่ยั่งยืน (Saxena et al., 2016; Yutthasin et al., 2018) แนวทางในการแก้ปัญหาดังกล่าวที่ยั่งยืนและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม คือ การควบคุมโรคโดยชีววิธี (Biological control) ผ่านการนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ โดยเฉพาะ *Bacillus subtilis* มาประยุกต์ใช้ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช (Abdelmoteleb et al., 2017; Kumar et al. 2021; Le Thanh et al., 2023; Yutthasin et al., 2018) แบคทีเรีย *B. subtilis* มีกลไกการเข้าทำลายเชื้อราสาเหตุโรคที่หลากหลาย ทั้งการสร้างเอนไซม์ย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อรา เช่น Chitinase, Protease และ ß-1,3-glucanase (Abdelmoteleb et al., 2017; Gharieb et al., 2024) นอกจากนี้ยังสามารถสร้างสารประกอบทุติยภูมิกลุ่ม Lipopeptides เช่น Surfactin, Iturin Fengycin และ Plipastatin ซึ่งทำงานร่วมกันในการเข้าทำลายโครงสร้างของเส้นใย ยับยั้งการงอกของสปอร์ และทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อราเกิดการสลายตัวจนเชื้อราตายในที่สุด (Jiang et al., 2020; Kiesewalter et al., 2020; Pandey et al., 2023; Xiao et al., 2021; Yu et al., 2021)

แต่อย่างไรก็ตาม เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เหล่านี้มักถูกแยกมาจากสภาพธรรมชาติและผ่านการคัดเลือกประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชก่อนนำมาพัฒนาเป็นชีวผลิตภัณฑ์ที่เกษตรกรสามารถนำไปใช้ในสภาพแปลงปลูกก่อนเสมอ ด้วยเหตุนี้ งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ไอโซเลท AGBM (จากบริษัทอะโกรไบโอเมท จำกัด) ในการเป็นสารชีวภัณฑ์เพื่อยับยั้งการเจริญและการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก คาดหวังเป็นอย่างยิ่งว่าผลลัพธ์จากการศึกษาในครั้งนี้จะช่วยยืนยันศักยภาพของจุลินทรีย์สายพันธุ์ดังกล่าวในการควบคุมโรคพืชอย่างมีประสิทธิผล ซึ่งจะเป็นการเปิดทางเลือกใหม่ในการจัดการโรคแอนแทรคโนสที่ปลอดภัย ช่วยลดการพึ่งพาสารเคมี และสนับสนุนการยกระดับอุตสาหกรรมการผลิตพริกให้ก้าวสู่ความยั่งยืนทางเศรษฐกิจและสิ่งแวดล้อมอย่างแท้จริง

วิธีดำเนินการวิจัย

การแยกเชื้อและศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก

การศึกษาลักษณะอาการและแยกเชื้อสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนสของพริก โดยเก็บตัวอย่างผลพริกที่จำหน่ายในตลาดสดในเขตเทศบาลเมืองมหาสารคาม 2 แห่ง โดยแต่ละแห่งเก็บตัวอย่างจากร้านจำหน่ายผักสดจำนวน 10 ร้าน เก็บตัวอย่างผลพริกที่แสดงอาการโรคใส่ในถุงพลาสติกและนำมาแยกเชื้อสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการโดยวิธี Tissue transplant บนอาหาร Water Agar (WA) และย้ายลงบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) จนได้เชื้อบริสุทธิ์เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา (Morphology) ของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก โดยนำเชื้อบริสุทธิ์ของเชื้อราทุกไอโซเลทที่แยกได้มาเลี้ยงบน PDA สังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อรา ลักษณะโคโลนี เส้นใย และโคนิเดีย (Conidia) ตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พร้อมจดบันทึกรายละเอียดของเชื้อราแต่ละไอโซเลท และถ่ายภาพลักษณะสำคัญต่าง ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

การทดสอบความสามารถของการทำให้เกิดโรค (Pathogenicity tests) ของเชื้อราสาเหตุโรคบนผลพริกโดยวิธีการ Plug inoculation

ทำการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อราสาเหตุโรคบนผลพริกขี้หนูที่เก็บจากแปลงปลูกพริกในพื้นที่จังหวัดมหาสารคาม โดยวิธีการ Plug inoculation (Ratanacherdchai et al., 2019) ทำการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) มีจำนวน Treatment เท่ากับจำนวนไอโซเลทของเชื้อราสาเหตุโรคที่แยกได้จากการทดลองก่อนหน้านี้ มี 4 ซ้ำ โดยนำเชื้อราสาเหตุโรคทุกไอโซเลทที่แยกได้จากผลพริกที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อายุ 10 วัน มาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนผลพริกที่ไม่แสดงอาการโรค ใช้ Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ที่ผ่านการลนไฟฆ่าเชื้อตัดบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อสาเหตุโรค แล้วใช้เข็มเขี่ยย้ายชิ้นส่วนที่มีเชื้อราสาเหตุโรคลงบนผลพริกที่ผ่านการทำแผลด้วยปลายเข็มหมุดที่ผ่านลนไฟฆ่าเชื้อ ผลละ 2 แผล เปรียบเทียบกับ Control ที่ใช้อาหาร PDA เปล่าวางบนแผลเพียงอย่างเดียว จากนั้นนำผลพริกที่ทำการปลูกเชื้อแล้ว (Inoculated fruit) ไปบ่มไว้ในสภาพให้ความชื้น (Moist chamber) ตรวจผลการทดลองหลังปลูกเชื้อ โดยสังเกตการเกิดอาการโรคบนแผล วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแผลที่ทำการปลูกเชื้อเปรียบเทียบกับ Control ทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และเปรียบเทียบ Treatment means แบบ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) จากนั้นคัดเลือกเชื้อราสาเหตุโรคไอโซเลทที่ทำให้เกิดโรครุนแรงที่สุดเพียงไอโซเลทเดียวเพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus subtilis* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริกโดยวิธีการเลี้ยงเชื้อในอาหารร่วม (Bi-culture Antagonistic test)

ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ไอโซเลท AGBM ที่ได้จากบริษัท อะโกรไบโอเมท จำกัด เปรียบเทียบกับ *B. subtilis* ไอโซเลทกรมวิชาการเกษตร และไอโซเลทการค้า จำนวน 2 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริกโดยวิธี Bi-culture Antagonistic Test ดังนี้

เลี้ยงเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลทที่ทำให้เกิดโรครุนแรงที่สุดจากการทดลองก่อนหน้า จำนวน 1 ไอโซเลท บนอาหาร PDA จนโคโลนีเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* บนอาหาร PSA (Potato Sucrose Agar) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นใช้ Cork borer เจาะเส้นใยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* วางลงตรงกึ่งกลางของจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA แล้วใช้ Loop แตะที่โคโลนีของ *B. subtilis* นำมาขีดบนผิวหน้าอาหารให้เป็นเส้นตรงทั้ง 4 ด้านล้อมรอบโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรค โดยให้มีระยะห่างประมาณ 2.5 เซนติเมตร โดยใช้ *B. subtilis* 1 ไอโซเลท/1 จานอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำการทดลอง 10 จานเลี้ยงเชื้อ/ไอโซเลท มีน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ (Control) หลังจากนั้นนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ (25 ± 3°C) ทำการตรวจผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคเมื่อเชื้อรา *C. gloeosporioides* ของกรรมวิธีเปรียบเทียบเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นเก็บผลการทดลองโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีและนับจำนวนสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคในจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม และจานอาหารเปรียบเทียบด้วย Haemacytometer แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (Growth Inhibition, GI) จากสูตรดังนี้ (Ratanacherdchai et al., 2019)

Growth Inhibition (%) = (RC-RT)/RC × 100

โดย RC = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคในจานอาหารเปรียบเทียบ (Control)
RT = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคในจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม (Bi-culture)

การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus subtilis* ในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก

ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ไอโซเลท AGBM ที่ได้จากบริษัท อะโกรไบโอเมท จำกัด เปรียบเทียบกับ *B. subtilis* ไอโซเลทกรมวิชาการเกษตร และไอโซเลทการค้า จำนวน 2 ไอโซเลท ในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยวิธี Slide Culture Technique ดังนี้

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ในอาหารเหลวที่เติมน้ำตาลกลูโคส 2% (NBG) ใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 ml เขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ 150 rpm บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง หลังจากบ่มเชื้อเป็นเวลา 6 วันให้เก็บ Culture filtrated เพื่อใช้ทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคต่อไป

เลี้ยงเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหาร PDA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เมื่อเชื้อมีอายุ 10 วัน จึงเตรียม Spore suspension ด้วย Haemacytometer และปรับด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อให้มีจำนวน 100 – 150 สปอร์ต่อมิลลิลิตร หยด Spore suspension ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ปริมาตร 40 µl และ Culture filtrated ของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ลงบนแผ่นสไลด์ที่มีอาหาร WA บ่มเชื้อในสภาพ Moist chamber ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ทำการบันทึกข้อมูลการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ใต้กล้องจุลทรรศน์

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) ของข้อมูลแต่ละลักษณะตามแผนการทดลองที่กำหนด และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของแต่ละกรรมวิธี โดยใช้วิธี Duncan’s Multiple Range Test (DMRT)

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

การแยกเชื้อและศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก

จากการแยกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริกจากลักษณะอาการของโรคที่ปรากฏบนผลพริกจาก ท้องตลาด อำเภอเมืองมหาสารคาม จังหวัดมหาสารคาม ด้วยวิธี Tissue transplant พบว่า มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* แยกได้จากผลพริกทั้งหมด จำนวน 17 ไอโซเลท ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Rattana (2016); Thapanapongworakul & Ratanasakchaichan (2016) ซึ่งรายงานว่า โรคแอนแทรคโนสของพริกมีสาเหตุมาจากเชื้อรา *C. gloeosporioides*

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 17 ไอโซเลท ที่แยกได้ดังกล่าว พบว่า ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA มีลักษณะของเส้นใยที่ฟูจากผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อช่วงแรกเส้นใยมีสีขาวและเปลี่ยนเป็นสีเข้มขึ้นส่วนใหญ่มีสีน้ำตาลอ่อน (Fig. 1) ในขณะที่ไอโซเลท C01, C04 และ C14 มีสีเทาและพบความแตกต่างในการสร้างกลุ่มสปอร์ (Spore mass) โดยไอโซเลทที่พบการสร้างกลุ่มสปอร์ มีสีดำ สำหรับไอโซเลท C10, C13 และ C17 ไม่พบการสร้างกลุ่มสปอร์ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Wannawong et al. (2024) ที่พบว่าหลังจากทำการแยกเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริกด้วยวิธี Tissue transplanting พบว่า เชื้อราสามารถเจริญบนอาหาร PDA ได้ดี มีลักษณะการเจริญของ เส้นใยในช่วงแรกเป็นสีขาว เมื่อเวลาผ่านไปจะเปลี่ยนเป็นสีขาวอมเทา ลักษณะของเส้นใยค่อนข้างหยาบ และพบการสร้างกลุ่มสปอร์สีส้มบนโคโลนี จากการสังเกตใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า ลักษณะของโคนิเดียมีรูปร่างแท่งหัวท้ายมน เซลล์เดียว เหมือนกันทั้ง 17 ไอโซเลท (Figure 1) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Pathumporn et al. (2024) ที่พบว่า เชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อสร้างโคนิเดียลักษณะเซลล์เดียว ผนังบาง เรียบ ลักษณะรูปร่างยาวรี นอกจากนี้จากรายงานของ Rattana (2016) ยังพบว่า เชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่แยกได้จากพริกที่มีอาการโรค พบว่าเส้นใยเจริญฟูหนาแน่นบนผิวหน้าอาหาร และสร้างสปอร์มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น หัวท้ายมน ไม่มีผนังกั้นภายในใสไม่มีสี

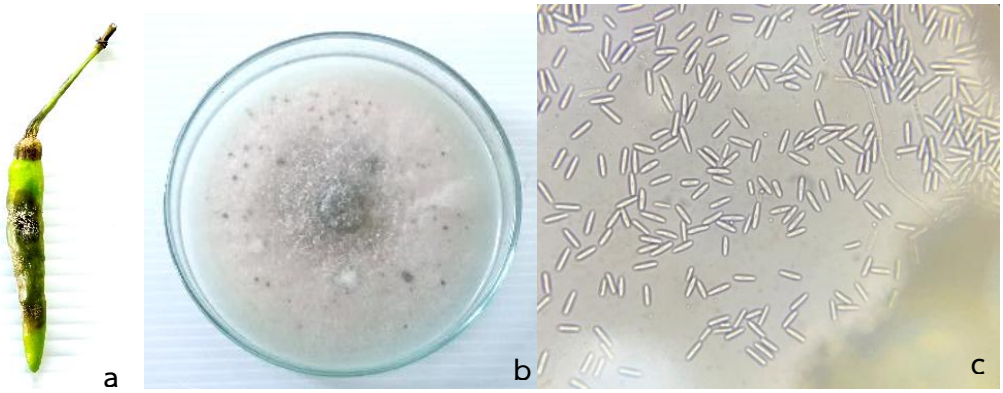


Figure 1 Chilli anthracnose; a. Symptom on chilli fruit; b. colonies of *Colletotrichum gloeosporioides* on PDA medium; c. Spores of *Colletotrichum gloeosporioides*

โดยเชื้อรา *C. gloeosporioides* เป็นเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสที่สำคัญของพืชหลายชนิด ซึ่งพริกเป็นหนึ่งในพืชอาศัยที่สำคัญ โดยพบการเข้าทำลายพริกหลายสายพันธุ์ ในการเข้าทำลายพริกนั้น เชื้อรา *Colletotrichum* spp. สามารถทำให้พริกเกิดอาการโรคได้ทุกระยะของการเจริญเติบโต โดยหลักแล้วเชื้อรา *C. gloeosporioides* ทำให้เกิดโรคผลเน่าทั้งในระยะที่ผลมีสีเขียวไปจนถึงระยะที่ผลสุกมีสีแดง โดยอาจพบอาการโรคในผลสุกเป็นหลัก (Oo & Oh, 2016) เชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริกสามารถแพร่กระจายผ่านเมล็ด ดิน น้ำ และอากาศ จึงอาจก่อให้เกิดความเสียหายกับต้นพริกได้ตั้งแต่ระยะต้นกล้าจนถึงระยะเก็บเกี่ยวผลผลิต (Saxena et al., 2016)

การทดสอบความสามารถของการทำให้เกิดโรค (Pathogenicity tests) ของเชื้อราสาเหตุโรคบนผลพริกโดยวิธีการ Plug inoculation

จากการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนส ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่แยกได้จากผลพริกที่แสดงอาการจำนวน 17 ไอโซเลท ทดสอบกับผลพริกสดที่ไม่แสดงอาการโรค โดยหลังจากปลูกเชื้อบนผลพริกที่ทำแผลด้วยปลายเข็มหมุดลนไฟฆ่าเชื้อ และ นำผลพริกที่ปลูกเชื้อ (Inoculated fruit) แล้วไปบ่มในสภาพให้ความชื้น ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน เมื่อตรวจผลหลังการปลูกเชื้อ พบว่า เชื้อราทั้ง 17 ไอโซเลท ที่แยกได้มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคแตกต่างกันทางสถิติ โดยพบว่า เชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท C14 สามารถทำให้เกิดโรคบนผลพริกรุนแรงที่สุด โดยแผลมีอาการฉ่ำน้ำ สีน้ำตาล และขยายวงกว้างออกไป ซึ่งตรงกับลักษณะอาการของโรคแอนแทรคโนสพริกที่เก็บมาแยกเชื้อสาเหตุโรค เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเปรียบเทียบ (Control) ซึ่งไม่พบอาการโรค โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของแผลเฉลี่ยเท่ากับ 1.69 เซนติเมตร ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติกับวิธีการเปรียบเทียบที่ไม่พบอาการของโรค และไอโซเลทอื่น ๆ (Table 1) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Wannawong et al. (2024) ที่พบว่า หลังจากทำการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนผลพริกด้วยสารแขวนลอยสปอร์ (Drop inoculation) บนผลพริก พบลักษณะอาการของผลพริกที่ปลูกด้วยเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ในระยะเริ่มแรกจะแสดงอาการเกิดจุดฉ่ำน้ำขึ้นในบริเวณที่ทำการปลูกเชื้อรา โดยที่ผิวของผลพริกจะเกิดลักษณะเป็นรอยบุ๋มเล็กน้อย และบริเวณอาการฉ่ำน้ำเกิดการขยายตัวเป็นรูปวงกลมหรือวงรี นอกจากนี้ยังเกิดลักษณะเป็นแผลกลมรีที่มีขนาดค่อนข้างใหญ่ประมาณ 1-2 เซนติเมตร เนื้อเยื่อของผลพริกในบริเวณแผลเกิดการยุบตัวลงเป็นแอ่ง เมื่อเริ่มเกิดใหม่ ๆ แผลจะมีลักษณะเป็นสีเหลือง ส้ม และมี acervuli ที่มีลักษณะเป็นสีเหลืองส้มเรียงซ้อนกันเป็นวง ๆ อยู่ในบริเวณแผลที่เกิดขึ้นบนผลพริก และแผลมีลักษณะ ค่อนข้างแฉะ หลังจากนั้นแผลจะกลายเป็นสีน้ำตาลดำ

Table 1 Pathogenicity test of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates on chilli fruits using plug inoculation method for 10 days

Isolates	Disease diameter (cm)	Isolates	Disease diameter (cm)
Control	0.00[b]	*C. gloeosporioides* C09	1.61[a]
C. gloeosporioides C01	1.53[a]	*C. gloeosporioides* C10	1.54[a]
C. gloeosporioides C02	1.62[a]	*C. gloeosporioides* C11	1.43[a]
C. gloeosporioides C03	1.54[a]	*C. gloeosporioides* C12	1.54[a]
C. gloeosporioides C04	1.57[a]	*C. gloeosporioides* C13	1.44[a]
C. gloeosporioides C05	1.37[a]	*C. gloeosporioides* C14	1.69[a]
C. gloeosporioides C06	1.38[a]	*C. gloeosporioides* C15	1.49[a]
C. gloeosporioides C07	1.65[a]	*C. gloeosporioides* C16	1.33[a]
C. gloeosporioides C08	1.45[a]	*C. gloeosporioides* C17	1.40[a]
C.V. (%)	18.35		

Note: [a,b] Average of four replications. Means followed by the same letter in a column were not significantly different by DMRT at P=0.05.

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus subtilis* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริกโดยวิธีการเลี้ยงเชื้อในอาหารร่วม (Bi-culture Antagonistic test)

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก *C. gloeosporioides* ไอโซเลท C14 ที่มีความสามารถในการทำให้เกิดโรครุนแรงที่สุด โดยทำการเลี้ยงเชื้อในอาหารร่วม (Bi-culture Antagonistic Test) ระหว่างเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ไอโซเลท AGBM (จากบริษัท อะโกรไบโอเมท จำกัด) *B. subtilis* ไอโซเลทกรมวิชาการเกษตร ไอโซเลทการค้า 1 และไอโซเลทการค้า 2 พบว่า เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ทั้ง 4 ไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมได้ โดยมีความแตกต่างกันทางสถิติกับเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหาร PDA (Control)

ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก *C. gloeosporioides* ไอโซเลท C14 พบว่า *B. subtilis* ไอโซเลท AGBM มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริกไม่แตกต่างทางสถิติกับไอโซเลทกรมวิชาการเกษตรและไอโซเลทการค้าทั้ง 2 ไอโซเลท ผลการทดลองพบว่า *B. subtilis* ไอโซเลท AGBM สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริกได้ 85.00% ในขณะที่ไอโซเลทกรมวิชาการเกษตร ไอโซเลทการค้า 1 และ 2 มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก เท่ากับ 85.83, 85.14 และ 85.00% ตามลำดับ (Table 2 and Fig. 2)

เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ทั้ง 4 ไอโซเลท ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท C14 โดยพบว่า *B. subtilis* ไอโซเลท AGBM สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริกบนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมได้ 76.84% ในขณะที่ไอโซเลทกรมวิชาการเกษตร ไอโซเลทการค้า 1 และ 2 มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริกบนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม เท่ากับ 77.76, 77.58 และ 77.21% ตามลำดับ (Table 2)

Table 2 Efficacy of *Bacillus subtilis* isolates for growth inhibition of *Colletotrichum gloeosporioides* C14 causing anthracnose disease of chilli using bi-culture antagonistic test

Treatment	Colony diameter (cm)	Mycelium growth inhibition[1/] (%)	Spore (x10^3 spores/ml)	Sporulation inhibition[2/] (%)
Control	9.00[a]	-	29.75[a]	-
B. subtilis AGBM	1.35[b]	85.00	3.63[b]	76.84
B. subtilis DOA	1.28[b]	85.83	3.31[b]	77.76
B. subtilis Commercial 1	1.34[b]	85.14	3.38[b]	77.58
B. subtilis Commercial 2	1.35[b]	85.00	3.50[b]	77.21
C.V. (%)	1.26	0.53	8.71	4.37

Note: [1/, 2/] Percentage of growth inhibition followed as

(RC – RT) / RC x 100

RC = the colony diameter of *C. gloeosporioides* in petri dish without *Trichoderma* isolate (Control)

RT = the colony diameter of *C. gloeosporioides* in petri dish with *Trichoderma* isolate (Bi-culture)

[a,b,c] Average of four replications. Means followed by the same letter in a column were not significantly different by DMRT at P=0.05.



Figure 2 Efficacy of *Bacillus subtilis* isolates for growth inhibition of *Colletotrichum gloeosporioides* C14 causing anthracnose disease of chilli using bi-culture antagonistic test

จากผลการวิจัยพบว่า เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ไอโซเลท AGBM จากบริษัท อะโกรไบโอเมท จำกัด ซึ่งเป็นไอโซเลทที่แยกได้จากธรรมชาติ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริกโดยวิธีการเลี้ยงเชื้อในอาหารร่วมไม่แตกต่างจาก เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ไอโซเลท กรมวิชาการเกษตร และไอโซเลทที่มีการจำหน่ายทางการค้าทั้ง 2 ไอโซเลท ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Somjinda et al. (2020) ที่ทำการคัดแยกแบคทีเรียที่มีประโยชน์จากผลพริก ได้ทั้งหมด 121 ไอโซเลทจากตัวอย่างพริก 20 ตัวอย่าง และเมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส ด้วยวิธี Dual culture บนอาหาร potato dextrose agar (PDA) พบว่า แบคทีเรียที่มีประโยชน์มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคได้ 78.33-88.33% และให้ผลการยับยั้งดีกว่าการใช้สารเคมีคาร์เบนดาซิม ที่ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคได้เพียง 36.66% โดยเมื่อจำแนกชนิด ตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และชีวเคมีมีความคล้ายคลึงกับ *B. subtilis* นอกจากนี้ จากรายงานของ Kumar et al. (2021) ที่ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ AKP ที่แยกได้จากดินในป่าของประเทศอินเดีย สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. capsici* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริกได้ 61.5% เมื่อทดสอบด้วยวิธี Dual culture และ Yutthasin et al. (2018) ยังได้รายงานว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริกได้มากกว่า 60% เมื่อทดสอบด้วยวิธี Dual culture ซึ่งจะเห็นได้ว่าวิธีการเลี้ยงเชื้อร่วมเป็นวิธีที่มักจะนำมาใช้ทดสอบความสามารถของแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้จากธรรมชาติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก รวมทั้งรายงานของ Surawut et al. (2023) ที่ทำการคัดแยกแบคทีเรียจากปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนเพื่อทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. siamense* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริกเช่นกัน และพบว่าเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคได้ 26.67-47.78%

การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus subtilis* ในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ไอโซเลท AGBM ที่ได้จากบริษัท อะโกรไบโอเมท จำกัด เปรียบเทียบกับ *B. subtilis* ไอโซเลทกรมวิชาการเกษตร และไอโซเลทการค้า 2 ไอโซเลท ในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยวิธี Slide Culture Technique หลังจากหยด Spore suspension ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* (100-150 สปอร์ต่อมิลลิลิตร) และ Culture filtrated ของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ปริมาตร 40 µl ลงบนแผ่นสไลด์ที่มีอาหาร WA และบ่มเชื้อในสภาพ Moist chamber ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 ชั่วโมง เมื่อตรวจสอบการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ทั้ง 4 ไอโซเลท สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคได้ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเปรียบเทียบ (Control) ที่หยดเฉพาะ Spore suspension ของเชื้อราสาเหตุโรคลงบน แผ่นสไลด์ที่มีอาหาร WA ซึ่งพบการงอกของสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรค ในขณะที่เมื่อหยด Spore suspension ของเชื้อราสาเหตุโรคร่วมกับ Culture filtrated ของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ทั้ง 4 สายพันธุ์ เป็นเวลา 12 ชั่วโมงหลังบ่มเชื้อ ไม่พบการงอกของสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรค (Fig. 3)

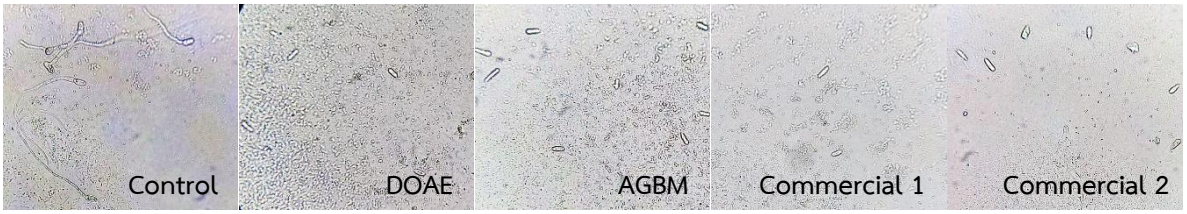


Figure 3 Efficacy of *Bacillus subtilis* in inhibiting spore germination of *Colletotrichum gloeosporioides* isolate C14 causing anthracnose disease of chilli after incubation in moist chamber conditions at room temperature for 12 hours

การที่แบคทีเรีย *B. subtilis* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคได้เนื่องจากความสามารถในการสร้างสารทุติยภูมิ เอนไซม์ย่อยสลายผนังเซลล์ และสารระเหยต้านเชื้อรา กลไกเหล่านี้ส่งผลให้เส้นใยของเชื้อราผิดรูป เยื่อหุ้มเซลล์รั่ว และลดการเกิดโรคในพืชและผลผลิตทางการเกษตรได้ (Abdelmoteleb et al., 2017, Gharieb et al., 2024) ซึ่งสารทุติย

ภูมิที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคที่ *B. subtilis* สร้างขึ้น คือ สารกลุ่ม cyclic lipopeptides ได้แก่ surfactin, iturin และ fengycin ซึ่งออกฤทธิ์ทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อรา (Kiesewalter et al., 2021; Xiao et al., 2021) จากผลการทดลองจะพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคได้ เนื่องจากสาร iturin A และ mycosubtilin ที่ *B. subtilis* สร้างขึ้นทำให้เกิดการเสียสมดุลแรงดันออสโมติก ยับยั้งการงอกของสปอร์ และทำลายเยื่อหุ้มเซลล์จนเส้นใยแตกสลาย (Jiang et al., 2020; Xiao et al., 2021; Yu et al., 2021) นอกจากนี้ สารกลุ่มพอลิคีไทด์ เช่น macrolactin A สามารถทำให้เกิดรูพรุนและย่อยสลายไซโทพลาซึมของเชื้อราก่อโรคได้เช่นกัน (Pandey et al., 2023)

สรุปผลการวิจัย

จากการทดลองในสภาพห้องปฏิบัติการ เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ไอโซเลท AGBM ไอโซเลทจาก บริษัท อะโกรไบโอเมท จำกัด มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก โดยสามารถยับยั้งการเจริญทางด้านเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคได้ นอกจากนี้ Culture filtrate ของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ยังสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคได้อีกด้วย ซึ่งถือว่าเป็นแนวทางการพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์สำหรับใช้ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสในสภาพแปลงปลูกของเกษตรกรเพื่อลดการใช้สารเคมี และเป็นแนวทางในการป้องกันกำจัดโรคพืชโดยชีววิธีที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอนาคตได้ต่อไป

จริยธรรมการวิจัย

งานวิจัยนี้ไม่เกี่ยวข้องกับจริยธรรมในมนุษย์ หรือ จรรยาบรรณการใช้สัตว์ทดลอง

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณบริษัท อะโกรไบโอเมท จำกัด สำหรับการสนับสนุนทุนวิจัยในครั้งนี้ รวมถึงผู้มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือจนงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

Abdelmoteleb, A., Troncoso-Rojas, R., González-Soto, T., & González-Mendoza, D. (2017). Antifungical activity of autochthonous *Bacillus subtilis* Isolated from *Prosopis juliflora* against phytopathogenic fungi. *Mycobiology, 45*(4), 385-391. https://doi.org/10.5941/myco.2017.45.4.385

Choi, H.W., Hassan, O., Ryu, H., Ju, H.Y., & Hong, S.K. (2024). First report of *Colletotrichum gigasporum* causing anthracnose of chili pepper in South Korea. *Plant disease, 108*(9), 2932. https://doi.org/10.1094/pdis-05-24-0945-pdn

Gharieb, M.M., Rizk, A., & Elfeky, N. (2024). Anticandidal activity of a wild *Bacillus subtilis* NAM against clinical isolates of pathogenic *Candida albicans*. *Annals of Microbiology, 74*, Article 23. https://doi.org/10.1186/s13213-024-01764-9

Jiang, C.-M., Li, Z.-Z., Shi, Y., Guo, D., Pang, B., Chen, X., Shao, D., Liu, Y.-L., & Shi, J.-L. (2020). *Bacillus subtilis* inhibits *Aspergillus carbonarius* by producing iturin A, which disturbs the transport, energy metabolism, and osmotic pressure of fungal cells as revealed by transcriptomics analysis. *International journal of food microbiology, 330*, Article 108783. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108783

Kiesewalter, H. T., Lozano-Andrade, C. N., Wibowo, M., Strube, M. L., Maróti, G., Snyder, D., Jørgensen, T. S., Larsen, T. O., Cooper, V., Weber, T., & Kovács, Á. (2021). Genomic and chemical diversity of *Bacillus subtilis* secondary metabolites against plant pathogenic fungi. *mSystems, 6*(1), Article e00770-20. https://doi.org/10.1128/msystems.00770-20

Kumar, A., Rabha, J., & Jha, D.K. (2021). Antagonistic activity of lipopeptide-biosurfactant producing *Bacillus subtilis* AKP, against *Colletotrichum capsici*, the causal organism of anthracnose disease of chilli. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *36*, Article 102133. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102133

Le Thanh, T., Cong, V. K., Sangpueak, R., Numparditsub, P., Papathoti, N. K., Machikowa, T., & Buensanteai, K. (2023). Efficacy of *Bacillus subtilis* for controlling anthracnose in chilli. *Agriculture and Natural Resources*, *57*(2), 223-232. https://li01.tci-thaijo.org/index.php/anres/article/view/259080

Oo, M. M., & Oh, S. K. (2016). Chilli anthracnose (*Colletotrichum* spp.) disease and its management approach. *Korean Journal of Agricultural Science*, *43*(2), 153-162. http://dx.doi.org/10.7744/kjoas.20160018

Pandey, C., Prabha, D., Negi, Y., Maheshwari, D., Dheeman, S., & Gupta, M. (2023). Macrolactin A mediated biocontrol of *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani* infestation on *Amaranthus hypochondriacus* by *Bacillus subtilis* BS-58. *Frontiers in Microbiology, 14*. https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1105849

Pathumporn, C., Pimratch, S., & Ratanacherdchai, K. (2024) Efficacy of *Trichoderma asperellumfor* controlling *Colletotrichum gloeosporioides* causing anthracnose disease of *Mangifera indica* L.cv Nam Dok Mai. *Prawarun Agricultural Journal*, *21*(1), 202-209. https://doi.org/10.14456/paj.2024.23

Ratanacherdchai, K., Chaiyarak, T., & Juntachum, N. (2019). Preliminary investigation of *Trichoderma asperellum*'s culture and extracts against black rot of orchid. *Prawarun Agricultural Journal, 16*(1), 204 – 211. https://li01.tci-thaijo.org/index.php/pajrmu/article/view/249067/170315

Rattana, T. (2016). Efficiency of pineapple and papaya crude extracts against chilli anthracnosedDisease. *Thai Science and Technology Journal*, *24*(3), 456-468. https://li01.tci-thaijo.org/index.php/tstj/article/view/52971

Saxena, A., Raghuwanshi, R., Gupta, V. K., & Singh, H. B. (2016). Chilli anthracnose: the epidemiology and management. *Frontiers in microbiology*, *7*, Article 1527. https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01527

Somjinda, S., Athinuwat, D., & Chuaboon, W. (2020). Efficacy and identification of beneficial bacteria to control *Colletotrichum capsici* caused anthracnose of chili. *Agriculture and Technology Journal, 1*(1), 78-83. https://li01.tci-thaijo.org/index.php/atj/article/view/228942

Sukhawatthanakun, K. (2022). Marketing channels of chili in the Upper Northeastern Region of Thailand. *Kasetsart Journal of Social Sciences, 43*(3), 637–644. https://doi.org/10.34044/j.kjss.2022.43.3.14

Surawut, S., Kunsook, C., Chaikul, S., & Jaikong, R. (2023). Isolation of bacteria contained in vermicompost with antifungal activity of chili anthracnose. *Journal of Science & Science Education, 6*(2), 181-191. http://doi.org/10.14456/jsse.2023.16

Thapanapongworakul, P., & Ratanasakchaichan, C. (2016). Efficacy of bio-extracts from chili residues against *Colletotrichum gloeosporioides* in vitro. *Journal of Agricultural Research and Communications, 32*(1), 61-72. https://li01.tci-thaijo.org/index.php/joacmu/article/view/245589

Wannawong, S.I., Chompoo, W. & Panngom, K. (2024). Effect of hydrogen peroxide on the control of chili anthracnose caused by *Colletotrichum* sp. *Agriculture and Technology Journal, 5*(1), 15-25. https://li01.tci-thaijo.org/index.php/atj/article/view/259393

Xiao, J., Guo, X.-J., Qiao, X., Zhang, X., Chen, X.-M., & Zhang, D.-D. (2021). Activity of fengycin and iturin A isolated from *Bacillus subtilis* Z-14 on *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* and soil microbial diversity. *Frontiers in Microbiology, 12*, Article 682437. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.682437

Yu, C., Liu, X., Zhang, X., Zhang, M., Gu, Y., Ali, Q., Mohamed, M., Xu, J., Shi, J., Gao, X.-W., Wu, H.-J., & Gu, Q. (2021). Mycosubtilin produced by *Bacillus subtilis* ATCC6633 Inhibits growth and mycotoxin biosynthesis of *Fusarium graminearum* and *Fusarium verticillioides*. *Toxins, 13*(11), Article 791. https://doi.org/10.3390/toxins13110791

Yutthasin, R., Worasatit, N., Thomma, K, Dumkhum, W., & Seelarak, P. (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. https://agkaj.kku.ac.th/papers/1765/pdf