

ผลของแบคทีเรีย *Bacillus licheniformis* BFP011 ในการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum capsici* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก

Effect of *Bacillus licheniformis* BFP011 to inhibit *Colletotrichum capsici*, cause of Pepper Anthracnose

ปัทมวรรณ มณีสุวรรณ^{2,3} และ พิศาล ศิริธร^{2,3*}

Pattamawan Maneesuwana^{1,2,3} and Pisan Sirithorn^{2,3*}

บทคัดย่อ: เมื่อนำแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคพืชจำนวน 11 ไอโซเลตมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum capsici* จำนวน 4 ไอโซเลตที่แยกได้จากก้าน ใบ ผล และไอโซเลต 158 ci/KU โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 11 ทรีตเมนต์ (treatment) 4 ซ้ำ (replication) พบว่าแบคทีเรีย *Bacillus licheniformis* ไอโซเลต BFP011 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. capsici* ได้ดีที่สุด ในทำนองเดียวกันสารสกัดหยาบของแบคทีเรีย *B. licheniformis* BFP011 ที่ทำให้เข้มข้นด้วยเครื่อง evaporator สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. capsici* จำนวน 12 ไอโซเลตได้ดี เมื่อนำเส้นใยและสปอร์ของเชื้อรา *C. capsici* ใส่ลงในเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *B. licheniformis* ไอโซเลต BFP011 ความเข้มข้น 1×10^8 cfu/ml และสารสกัดหยาบของแบคทีเรีย *B. licheniformis* BFP011 ความเข้มข้น 1,000 มก./มล. เป็นเวลา 24 ชม. ทำให้เส้นใยของเชื้อรา *C. capsici* มีลักษณะบวมพอง และลดเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เชื้อรา *C. capsici* ลงได้ 57.8 และ 71.4 % ตามลำดับ

คำสำคัญ: Pepper anthracnose *Bacillus licheniformis* *Colletotrichum capsici*

ABSTRACT: Capability of 11 isolates of *Bacillus* spp. previously reported as antagonistic against some plant pathogens was tested. This is to inhibit the growth of four isolates of *Colletotrichum capsici* isolated from stalk, leaf, fruit and 158 ci/KU, by employing Completely Randomized Design (CRD) consisting of 11 treatments with 4 replications. The results showed that *B. licheniformis* BFP011 exhibited the most promising inhibition. Similarly, the evaporated crude extract produced by *B. licheniformis* BFP011 was able to inhibit greatly growth of *C. capsici*. When mycelium and spores of *C. capsici* were immersed in cell suspension at 1×10^8 cfu/ml and the evaporated crude extract at 1,000 mg/ml of *B. licheniformis* BFP011 for 24 hours. It is obvious that abnormal hypha and hypha tip with thickened cell wall and swollen cell could be notified meanwhile the percentage of spore germination were reduced by the cell suspension and the evaporated crude extract by 57.8 and 71.4 %, respectively.

Keywords: Pepper anthracnose, *Bacillus licheniformis*, *Colletotrichum capsici*

¹ สาขาวิชาโรคพืชวิทยา ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002 Plant Pathology Division, Department of Plant Science and Agricultural Resources, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand

² ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กรุงเทพฯ 10900 Center of Excellence on Agricultural Biotechnology : (AG-BIO/PERDO-CHE), Bangkok 10900, Thailand

³ ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรเพื่อเศรษฐกิจที่ยั่งยืน มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002 Agricultural Biotechnology Research Center for Sustainable Economy: ABRCSSE, Khon Kaen university 40002, Thailand

* Corresponding author: pissir@kku.ac.th

บทนำ

โรคแอนแทรกโนสหรือโรคกุ้งแห้งเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp. เป็นโรคสำคัญที่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อการผลิตพริกในประเทศไทยเป็นอย่างมาก เพราะในบางครั้งทำให้ผลผลิตเสียหายมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ (Poonpolgul and Kumphai, 2007) ในประเทศไทยมีรายงานว่าเป็นสาเหตุที่สำคัญคือ *C. capsici* และ *C. gloeosporioides* (Pakdeevaporn et al., 2005) ในปี 2010 Rattanacherdchai และคณะ รายงานว่าเชื้อรา *C. capsici* สามารถทำให้เกิดโรคได้รุนแรงกว่าเชื้อรา *C. gloeosporioides* ในพริกหลายสายพันธุ์ นอกจากนี้เชื้อรา *C. capsici* ยังทำความเสียหายกับผลผลิตพริกหลังการเก็บเกี่ยวมากที่สุดและสามารถถ่ายทอดผ่านทางเมล็ดพันธุ์ได้ ซึ่งทำให้เมล็ดพันธุ์มีความงอกต่ำและทำให้ต้นกล้าเป็นโรค (สมศิริ, 2554) ปัจจุบันการควบคุมความเสียหายจากโรคดังกล่าวมักใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา โดยเฉพาะการใช้สารเคมีดังกล่าวไม่ถูกต้องและเหมาะสมส่งผลให้เพิ่มต้นทุนในการผลิต เกิดการตกค้างและปนเปื้อนสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราในผลผลิตพริกและสิ่งแวดล้อมซึ่งส่งผลกระทบต่อสุขภาพของเกษตรกรและผู้บริโภค ตลอดจนเกิดปัญหาการต้านทานต่อสารเคมีของเชื้อราสาเหตุโรคพืช

การควบคุมโรคพืชด้วยชีววิธีโดยใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ผลิตโดยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จึงเป็นทางเลือกหนึ่งในการลดปัญหาดังกล่าวและลดการนำเข้าสารเคมีจากต่างประเทศ ปัจจุบันได้มีการนำแบคทีเรีย *Bacillus* spp. มาใช้ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิด เพราะสามารถพบได้ทั่วไปในสภาพแวดล้อมต่างๆและสร้าง endospore ที่ทนต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมในการเจริญเติบโตและยังสามารถผลิตสารต้านจุลชีพได้หลายชนิด เช่น *B. subtilis* ผลิต iturinA, fengycin และ surfactin (Kim et al., 2010) นอกจากนี้ยังสร้างสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

ด้วย (Klopper et al., 2004) ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการคัดเลือกแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีรายงานว่าเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคพืชและเป็นไอโซเลตของประเทศไทยมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. capsici*

วิธีการศึกษา

แหล่งที่มาของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของพริก

ทำการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างจากใบ ก้าน ลำต้นและผลพริก ที่เป็นโรคแอนแทรกโนสในเขต อ.เกษตรสมบูรณ์, อ.ภักดีชุมพล และ อ.จัตุรัส จังหวัดชัยภูมิ ระหว่างปี 2552-2553 จำนวนสี่สี่โดยใช้รูปร่างและขนาดสปอร์ จากนั้นนำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ (isolation) ด้วยเทคนิค tissue transplanting เมื่อได้เชื้อบริสุทธิ์นำมาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนผลพริกโดยวิธี detached fruit และนำไปศึกษาต่อไป

การทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา *C. capsici* ของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ปฏิปักษ์

นำเชื้อรา *C. capsici* จำนวน 4 ไอโซเลต ที่แยกได้จาก ก้าน ใบ ผล และไอโซเลต 158 ci/KU มาเลี้ยงบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) เป็นเวลา 5 วัน ตัดปลายเส้นใยของเชื้อรา *C. capsici* ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 ซม. วางตรงกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA นำโคโลนีเดี่ยวของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ดี จำนวน 11 ไอโซเลต (นิตยา, 2549; กฤตিকা, 2549) มาเลี้ยงในอาหาร nutrient broth (NB) 20 ml บนเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิ 28°C ความเร็ว 200 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 วัน ปรับความเข้มข้นเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียทุกไอโซเลตให้มีค่า $O.D._{600nm} = 0.1$ เพื่อให้ได้ความเข้มข้น 1×10^8 cfu/ml หยดเซลล์แขวนลอยปริมาณ 15 ไมโครลิตรลงบนกระดาษกรอง Whatman no. 1 หนึ่งฆ่าเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 6 มม. ที่วางห่างจากเชื้อรา

2 ชม. ใช้อาหาร NB เป็นตัวควบคุม (control) วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ใช้เชื้อไอโซเลตต่างๆ เป็นกรรมวิธี (treatment) กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ (replication) บ่มที่อุณหภูมิ 28 °C เป็นเวลา 10 วัน วัดบริเวณยับยั้ง (clear zone) แล้วนำไปวิเคราะห์ทางสถิติ

การทดสอบผลของสารสกัดหยาบ (crude extraction) ของแบคทีเรีย *B. licheniformis* BFP011 ในการยับยั้งเชื้อรา *C. capsici*

ใส่เซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *B. licheniformis* BFP011 ที่ความเข้มข้น $O.D._{600nm} = 0.1$ ปริมาตร 200 μ l ลงในอาหาร NB ปริมาตร 200 ml นำไปเขย่าบนเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิ 32°C ความเร็ว 200 รอบ/นาทีเป็นเวลา 2 วัน นำไปแยกเซลล์แบคทีเรียออกโดยปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000 รอบ/นาที อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 15 นาที และนำส่วนใสไปกรองด้วย membrane filter ขนาด 0.2 ไมครอน จากนั้นนำไปทำให้เข้มข้นด้วยเครื่อง evaporator ที่อุณหภูมิ 40°C จนเหลือสารปริมาตร 5 ml นำสารที่ได้ไปทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *C. capsici* จำนวน 12 ไอโซเลต และใช้อาหาร NB เป็นตัวควบคุม บ่มที่อุณหภูมิ 28 °C เป็นเวลา 4 วัน ทำการวัดบริเวณยับยั้ง (clear zone) วางแผนการทดลองแบบ CRD ใช้เชื้อไอโซเลตต่างๆ เป็นกรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ

การทดสอบผลของสารสกัดหยาบและเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *B. licheniformis* BFP011 ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา *C. capsici*

นำเส้นใยและสปอร์ของเชื้อรา *C. capsici* ไอโซเลต Nong Bua Yai/Chaiyaphum/fruit แขนในเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *B. licheniformis* BFP011 ความเข้มข้น 1×10^6 cfu/ml และสารสกัดหยาบความเข้มข้น 1,000 mg/ml บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชม. ใช้ น้ำกลั่นหนึ่งฝาเชื้อเป็นกรรมวิธีควบคุม บันทึกลักษณะเส้นใยและการงอกของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ผลการศึกษา

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคกุ้งแห้งจากสวนใบ กิ่ง ผล และเมล็ดสามารถแยกเชื้อรา *C. capsici* ได้ 12 ไอโซเลต จาก 14 ตัวอย่าง นอกนั้นเป็น *C. gloeosporioides* และ *C. coccodes* เมื่อนำเชื้อรา *C. capsici* ทั้ง 12 ไอโซเลตมาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคโดยวิธี detached fruit พบว่าทุกไอโซเลตทำให้เกิดโรคได้และมีความรุนแรงของโรคไม่แตกต่างกัน คือ มีขนาดของแผลเฉลี่ย 2.3-2.5 ซม. จึงคัดเลือกเชื้อรา *C. capsici* จำนวน 4 ไอโซเลตที่แยกได้จากใบ กิ่ง ผล และไอโซเลต 158ci/KU มาทดสอบหาความสามารถในการยับยั้งของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ปฏิบัติต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืชจำนวน 11 ไอโซเลต จากผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า *B. licheniformis* BFP011 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *C. capsici* ทั้ง 4 ไอโซเลตได้ดีที่สุด (Table 1)

เมื่อนำสารสกัดหยาบของแบคทีเรีย *B. licheniformis* BFP011 ปริมาตร 20 μ l มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *C. capsici* พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราทั้ง 12 ไอโซเลตได้ดีมาก (Table 2) และจากการบันทึกภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าสารสกัดหยาบและเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย *B. licheniformis* BFP011 ทำให้เส้นใยของ *C. capsici* มีลักษณะบวมพอง และสปอร์ที่งอกเป็นเส้นใย พบว่าเส้นใยนั้นจะมีลักษณะบวมพอง (Figure 1) ความมอกของสปอร์ลดลง เซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *B. licheniformis* BFP011 ทำให้การงอกของสปอร์เชื้อราลดลง 57.8 % และสารสกัดหยาบทำการงอกของสปอร์ลดลงถึง 71.4 % เมื่อเทียบกับการงอกของสปอร์ในน้ำกลั่นหนึ่งฝาเชื้อ (Table 3)

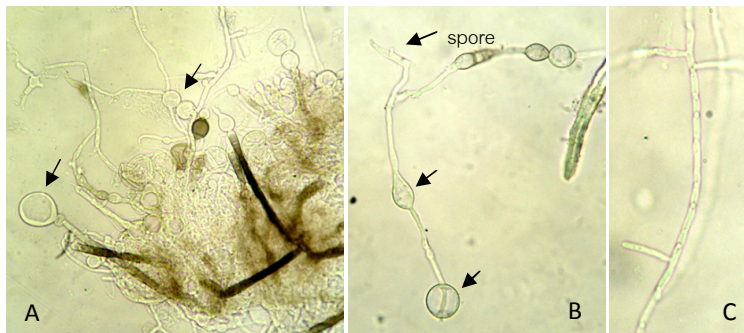


Figure 1 Hyphal and spore morphology of *C. capsici* as effected by crude extract and cell suspension of *B. licheniformis* BFP011. Occurrence of bubble vacuoles and hyphal swelling (A); germinated spore to thickened and swollen hyphae (B) and normal hyphae(C).

Table 1 Inhibition capability of *Bacillus* spp. to mycelium growth of *C. capsici*.

<i>Bacillus</i> spp.	Average of Inhibition zone (cm.)			
	158 ci/KU	Nong Bua Yai/ Chaiyaphum/leaf	Nong Bua Yai/ Chaiyaphum/stalk	Nong Bua Yai/ Chaiyaphum/fruit
<i>B. firmus</i> BSR 032	0.45 ^{BC}	0.70 ^{AB}	0.70 ^A	0.65 ^{AB}
<i>B. licheniformis</i> BFP 011	0.33 ^{CDE}	0.70 ^{AB}	0.80 ^A	0.73 ^A
<i>B. licheniformis</i> BRR 026	0.60 ^A	0.48 ^D	0.28 ^B	0.08 ^{EF}
<i>B. licheniformis</i> BRR 031	0.60 ^A	0.55 ^{BCD}	0.28 ^B	0.23 ^D
<i>B. licheniformis</i> BRR 035	0.53 ^{AB}	0.65 ^{BC}	0.70 ^A	0.63 ^{ABC}
<i>B. licheniformis</i> BSR 003	0.00 ^F	0.03 ^E	0.08 ^C	0.15 ^{DE}
<i>B. pumilus</i> BRS 038	0.23 ^E	0.70 ^{AB}	0.65 ^A	0.48 ^C
<i>B. pumilus</i> BSR 025	0.00 ^F	0.00 ^E	0.00 ^C	0.00 ^F
<i>B. subtilis</i> B2	0.00 ^F	0.00 ^E	0.00 ^C	0.00 ^F
<i>B. subtilis</i> B7	0.25 ^{DE}	0.55 ^{BCD}	0.63 ^A	0.53 ^{BC}
<i>B. subtilis</i> B9	0.35 ^{CD}	0.53 ^{CD}	0.63 ^A	0.55 ^{BC}
F-test	**	**	**	**
C.V. (%)	4.09	4.25	6.54	4.46

^{ABCDEF} Average of 4 replications. Means followed by the same later in column were not significantly different at P<0.01 by

DMRT

Table 2 Efficiency of crude extract of *B. licheniformis* BFP011 to inhibit *C. capsici*

No.	<i>C. capsici</i>	Clear zone(mm.)	No.	<i>C. capsici</i>	Clear zone(mm.)
1	Nong Bua Yai 2/fruit	3.75 ^{CD}	7	Hin Hoep 4/seed	3.00 ^E
2	Nong Bua Yai 3/fruit	3.25 ^{DE}	8	Hin Hoep 5/fruit	4.75 ^{AB}
3	Nong Bua Yai /stalk	3.75 ^{CD}	9	Hin Hoep 6/fruit	4.50 ^{BC}
4	Nong Bua Yai 15/fruit	5.00 ^{AB}	10	Hin Hoep 6 seed	3.25 ^{DE}
5	Hin Hoep 3/fruit	4.50 ^{BC}	11	Hin Hoep 2/fruit	4.75 ^{AB}
6	Hin Hoep 3/seed	5.50 ^A	12	Hin Hoep 2/seed	5.00 ^{AB}

C.V.= 6.62%

^{ABCDE} Average of 4 replications. Means followed by the same later in column were not significantly different at P<0.01 by DMRT

Table 3 Effect of cell suspension and crude extract of *B. licheniformis* BFP011 on spores germination and hyphal morphology of *C. capsici*

Treatment	Spore germination (%)	Abnormal germination (%)	Not germination (%)	Reduction of spore germination ^{1/} (%)
Cell suspension	29.5 ^A	41.7 ^A	28.8 ^A	57.8
Crude extract	20 ^B	46.8 ^A	33.2 ^A	71.4
dH ₂ O (control)	70 ^C	0 ^B	30.0 ^A	-
C.V. (%)	8.33	12.14	18.37 ^A	-

^{1/} = Percent reduction of spore germination = $\frac{(\text{control}-\text{treatment})}{\text{control}} \times 100$

วิจารณ์

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคแอนแทรกคโนสของพริกจำนวน 14 ตัวอย่าง จัดจำแนกโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบโรคแอนแทรกคโนสเกิดจากเชื้อรา *C. capsici* มากที่สุด 12 ไอโซเลต, เชื้อรา *C. cocodes* และเชื้อรา *C. gloeosporioides* อย่างละ 1 ไอโซเลต ส่วนการทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* spp.ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. capsici* 4 ไอโซเลตพบว่าแบคทีเรีย *B. licheniformis* BFP011 สามารถยับยั้งการเจริญของ

เส้นใยของเชื้อราทั้ง 4 ไอโซเลตได้ดีที่สุด และสารสกัดหยาบที่แบคทีเรีย *B. licheniformis* BFP011 สร้างขึ้นก็สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ดีเช่นกัน โดยสารแขวนลอยและสารสกัดหยาบของแบคทีเรีย *B. licheniformis* BFP011 ทำให้เส้นใยของเชื้อรา *C. capsici* มีลักษณะบวมพอง ซึ่งน่าจะเป็นผลของสารปฏิชีวนะที่แบคทีเรียสร้างขึ้นมีผลต่อผนังเซลล์ของเชื้อราและการนำสารเข้า-ออกจากเซลล์ผิดปกติ ซึ่งมีผลให้เซลล์ตายได้ในที่สุด (สมาใจ, 2531)

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนส่วนหนึ่งจากศูนย์ความเป็นเลิศทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา กระทรวง ศึกษาธิการ และศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรเพื่อเศรษฐกิจที่ยั่งยืน มหาวิทยาลัยขอนแก่น

เอกสารอ้างอิง

- กฤติกา จันทร์ทรวงศ์. 2549. การจำแนกความแตกต่างทาง pheno-type และ genotype ของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคพืช. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาโรคพืชวิทยา มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.
- นิตยา สุขทวี. 2549. การโคลนยีนโคดิเนสจากเชื้อ *Bacillus* spp. ที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคพืช. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาโรคพืชวิทยา มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.
- สมศิริ แสงโชติ. 2540. การเกิดโรคและความรุนแรงของโคแอนแทรคโนสบนผลพริกจากตลาดขายส่ง และการถ่ายทอดเชื้อ *Colletotrichum capsici* ของผลพริกเป็นโรคสู่เมล็ดและต้นกล้า. น. 117-122. ใน: การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 35. 3-5 กุมภาพันธ์ 2540. สาขาพืช ส่งเสริมและนิเทศศาสตร์ เกษตร อุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- สมใจ เอี่ยมพรรัตน์. 2531. ศึกษาการผลิตสารปฏิชีวนะจากจุลินทรีย์ที่แยกได้และผลของสารปฏิชีวนะต่อการยับยั้งการเจริญของבקเตรีที่ทำให้เกิดโรคในสัตว์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- Kim, P.I., J. Ryu, Y.H.Kim and Y.T. Chi. 2010. Production of biosurfactant lipopeptides iturin A, fengycin and surfactin A from *Bacillus subtilis* CMB32 for control of *Colletotrichum gloeosporioides*. J. Microbiol. Biotechnol. 20:138-145.
- Kloepper, J.W., C.-M. Ryu and S. Zhang. 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. Phytopathology. 94: 1259-1266.
- Pakdeevaporn, P., S. Wasee, P.W.J. Taylor and O. Mongkolporn. 2005. Inheritance of resistant to anthracnose caused by *Colletotrichum capsici* in capsicum. Plant Breeding 124: 206-208.
- Poonpolgul, S. and S. Kumchai. 2007. Chilli pepper anthracnose in Thailand. p.23. Country report.b Abstracts of the First International Symposium on Chilli Anthracnose. National Horticultural Research Institute, Rural Development of Administration, Republic of Korea.
- Rattanacherdchai, K., H. K. Wang, F.C. Lin and K. Soy-tong. 2007. RAPD analysis of *Colletotrichum* spp. causing chilli anthracnose disease in Thailand. J. Agric. Technol. 3: 211-219.