ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช)

ปริญญา

โรคพืช	โรคพืช
สาขา	**ภาควิชา**

เรื่อง ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 ในการเพิ่มผลผลิตและลดโรคเมล็ดด่างของข้าว

Efficiency of *Bacillus amyloliquefaciens* Mutant Strain BB165-M3 Bioproduct for Increasing Yield and Reducing Dirty Panicle of Rice

นามผู้วิจัย นางสาวจิตรา น้อยพันธ์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

(รองศาสตราจารย์จิระเดช แจ่มสว่าง, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์วรรณวิไล อินทนู, วท.ด.)

หัวหน้าภาควิชา .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์รัชนี ฮงประยูร, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... **เดือน** ..... **พ.ศ.** .....

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 ในการเพิ่มผลผลิตและลดโรคเมล็ดด่างของข้าว

Efficiency of *Bacillus amyloliquefaciens* Mutant Strain BB165-M3 Bioproduct for Increasing Yield and Reducing Dirty Panicle of Rice

โดย

นางสาวจิตรา น้อยพันธ์

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช)
พ.ศ. 2557

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จิตรา น้อยพันธ์ 2557: ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 ในการเพิ่มผลผลิตและลดโรคเมล็ดด่างของข้าว ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช) สาขาโรคพืช ภาควิชาโรคพืช อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์จิระเดช แจ่มสว่าง, Ph.D. 109 หน้า

โรคเมล็ดด่างเป็นโรคสำคัญของข้าว ที่ทำให้ผลผลิตและคุณภาพของข้าวลดลง การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 ในการลดโรคเมล็ดด่างและเพิ่มผลผลิตของข้าวในสภาพเรือนปลูกและสภาพแปลงนา การลดโรคเมล็ดด่างของข้าวในสภาพแปลงปลูกขนาดเล็ก โดยแช่เมล็ดพันธุ์ข้าวในเซลล์แขวนลอยที่ได้จากการใช้ผงแบคทีเรียปฏิปักษ์ผสมน้ำ (20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร) เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ก่อนนำไปปลูก พ่นเซลล์แขวนลอยของเชื้อ (20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร) ลงบนต้นข้าวจำนวน 3 ครั้ง คือ ระยะแตกกอ (45 วันหลังปลูก) ระยะตั้งท้อง (75 วันหลังปลูก) และระยะออกรวง (90 วันหลังปลูก) จากผลการทดลองพบเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 สามารถเจริญครอบครองเมล็ดข้าวได้อย่างสมบูรณ์ (100 เปอร์เซ็นต์) พบเชื้อแบคทีเรียมีชีวิตรอดอยู่บนใบข้าว 40-60 เปอร์เซ็นต์ หลังพ่นชีวภัณฑ์บนต้นข้าวเป็นเวลา 8 ชั่วโมง กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ให้ผลผลิตข้าวเพิ่มขึ้น 21.6 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าเทียบเท่ากับน้ำหนักผลผลิตที่ได้จากกรรมวิธีที่ใช้สารเคมี propiconazole+difenoconazole 30% EC นอกจากนี้กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง เพิ่มน้ำหนัก 1,000 เมล็ดดี 8.13 เปอร์เซ็นต์ ลดการเกิดโรคใบขีด-สีน้ำตาล 7.48 เปอร์เซ็นต์ ลดโรคเมล็ดด่างบนรวง 36.84 เปอร์เซ็นต์ ช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์เมล็ดดี 14.56 เปอร์เซ็นต์ และลดเปอร์เซ็นต์เมล็ดด่าง 27.87 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม การทดลองในสภาพแปลงนา พบว่า กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 มีน้ำหนักผลผลิตเพิ่มขึ้น 13.93-26.95 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าสูงกว่าน้ำหนักผลผลิตเพิ่มขึ้นที่ได้จากกรรมวิธีที่ใช้สารเคมี propiconazole +difenoconazole 30% EC คือ 2.61-6.38 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง ลดการเกิดโรคเมล็ดด่างบนรวง 6.55-82.49 เปอร์เซ็นต์ ช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์เมล็ดดี 6.14-21.59 เปอร์เซ็นต์ และลดเปอร์เซ็นต์เมล็ดด่าง 1.77-46.66 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม การใช้ชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 ชนิดผง มีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับการใช้ชีวภัณฑ์เชื้อรา *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด ทั้งด้านการเพิ่มน้ำหนักผลผลิต (15.60-19.45 เปอร์เซ็นต์) และการลดโรคเมล็ดด่างบนรวง (7.23-85.74 เปอร์เซ็นต์) จากการจำแนกเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธีการ double stranded 16S rDNA sequencing พบว่า ไอโซเลต BB165-M3 มีลำดับนิวคลีโอไทด์ใกล้เคียงกับแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* supsp. *plantarum* มากที่สุด (99.93 เปอร์เซ็นต์)

_____ _____ ___ / ___ / ___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Jittra Noipun 2014: Efficiency of *Bacillus amyloliquefaciens* Mutant Stain BB165-M3 Bioproduct for Increasing Yield and Reducing Dirty Panicle of Rice. Master of Science (Plant Pathology), Major Field: Plant Pathology, Department of Plant Pathology. Thesis Advisor: Associate Professor Chiradej Chamswarng, Ph.D. 109 pages.

Dirty panicle is the important disease of rice which causes the reduction of rice yield and quality. This study was aimed to determine the efficacy of bioproduct of *Bacillus amyloliquefaciens* mutant BB165-M3 in reducing dirty panicle of rice in nethouse and field condition. The test for reducing dirty panicle of rice in small plot conditions, rice seeds were soaked in bacterial cell suspension (20 g/20 l) for 18 hrs. Cell suspension (20 g/20 l) was sprayed on the whole rice plants for three times, at the tillering stage (45 days after planting), booting stage (75 days after planting) and panicle formation stage (90 days after planting). The results revealed that *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 completely colonized rice seeds (100%) and could survive on the leaves by 40-60% at 8 hrs after spraying cell suspension on the rice plant. The bioproduct of *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 bioproduct increased rice yield by 21.59%. The efficacies of this mutant strain was comparable to the use of propiconazole+difenoconazole 30% EC. Moreover, the treatment using this bioproduct increased 1,000-seed weight by 8.13%, reduced narrow brown spot by 7.48%, reduced disease on panicle by 36.84%, significantly increased the percentages of fertile seeds by 14.56%, while reduced the dirty panicle infected seeds (27.87%), when compared with the control. For rice yield under in field condition, *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 bioproduct provided 13.93-26.95% of increased yield which was higher than the yield increment derived from the use of propiconazole+difenoconazole 30% EC (2.61-6.38%). Moreover, the use of bioproduct reduced disease on panicle by 6.55-82.49%, significantly increased the percentages of fertile seeds by 6.14-21.59%, while reduced the dirty panicle infected seeds by 1.77-46.66%, when compared with the control. The efficacy of this powder bioproduct of *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 was comparable to the use of pellet bioproduct of *T. harzianum* 01-52, both the increment percentage of rice yield (15.60-19.45%) and the reduction of dirty panicle infected seeds (7.23-85.74%), respectively. Identification of bacteria by double stranded 16S rDNA sequencing indicated that isolate BB165-M3 had nucleotide sequences closely related to *Bacillus amyloliquefaciens* supsp. *plantarum* with 99.93% of similarities.

_____ _____ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ รศ. ดร. จิระเดช แจ่มสว่าง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่กรุณาให้คำปรึกษาเกี่ยวกับงานวิจัย การดำเนินชีวิต และตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์

กราบขอบพระคุณ ผศ. ดร. วรรณวิไล อินทนู อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษา กำลังใจและแนะแนวทางในการทดลองมาโดยตลอด

กราบขอบพระคุณ รศ.ดร. คนึงนิตย์ เหรียญวรากร ประธานการสอบ และ ดร. รัศมี ฐิติเกียรติพงศ์ ผู้ทรงคุณวุฒิเป็นอย่างสูงที่กรุณาให้คำแนะนำ ตรวจทาน ตลอดจนแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณ คุณพ่อบุญเหลือ คุณแม่จริยา น้อยพันธ์ ตลอดจนทุกคนในครอบครัวที่คอยเป็นกำลังใจให้เสมอมา ขอบคุณพี่นิชากร แซ่ตั้ง พี่ๆ เพื่อน และน้องๆ แห่งห้องปฏิบัติการควบคุมโรคพืชโดยชีวภาพ และเจ้าหน้าที่ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสนทุกท่าน ที่ได้ให้คำแนะนำ ความช่วยเหลือเอื้อเฟื้อ และเป็นกำลังใจให้ตลอดเวลาในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอมอบแด่ครอบครัว อาจารย์ผู้ประสาทวิชาความรู้ ตลอดจนผู้มีพระคุณทุกท่านที่ได้ให้การสนับสนุน และเป็นกำลังใจตลอดมาจนสำเร็จการศึกษา

จิตรา น้อยพันธ์

กรกฎาคม 2557

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(5)
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	(6)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	31
ผลและวิจารณ์	44
ผล	44
วิจารณ์	81
สรุปและข้อเสนอแนะ	87
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	88
ภาคผนวก	102
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	109

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ปริมาณความต้องการธาตุอาหารหลักของข้าวต่อการสร้างผลผลิตของข้าว	14
2	การใช้สารตั้งต้นเพื่อการเพิ่มปริมาณ DNA โดยใช้เครื่อง Engine Dyad® Thermal Cycler (Bio-Rad Laboratiries)	42
3	น้ำหนักผลผลิตต่อ 1 ตารางเมตร น้ำหนักผลผลิตต่อไร่ และน้ำหนัก 1,000 เมล็ดดีของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 3 ที่ผ่านการแช่เมล็ด และพ่นด้วยเชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อ *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด	49
4	เปอร์เซ็นต์ของโรคใบขีดสีน้ำตาลและโรคเมล็ดด่าง จากการสุ่มตัวอย่างใบธงและรวงหลังการเก็บเกี่ยว ของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 3 ที่ผ่านการแช่เมล็ด และพ่นด้วยเชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อ *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด	51
5	การเจริญเติบโตของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 3 ที่ผ่านการแช่เมล็ด และพ่นด้วยเชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อ *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด	53
6	เปอร์เซ็นต์เมล็ดดี เมล็ดด่างและเมล็ดลีบ จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดข้าวหลังการเก็บเกี่ยวของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 3 ที่ผ่านการแช่เมล็ด และพ่นด้วยเชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อ *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด	56
7	ประสิทธิภาพการขัดสีเป็นข้าวกล้องของข้าวเปลือกพันธุ์สุพรรณบุรี 3 น้ำหนัก 1 กิโลกรัมที่ได้จากข้าวซึ่งปลูกโดยการการแช่เมล็ด และพ่นด้วยเชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อ *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด	58

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
8	การเจริญครอบครองรากข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 อายุ 25, 60 และ 130 วัน (หลังการเก็บเกี่ยว) ของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อ *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด	59
9	น้ำหนักผลผลิตต่อ 1 ตารางเมตร, น้ำหนักผลผลิตต่อไร่ และน้ำหนัก 1,000 เมล็ดดีของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ผ่านการแช่เมล็ด และพ่นด้วยเชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อ *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด	61
10	จำนวนรวง และเปอร์เซ็นต์ของโรคเมล็ดด่าง จากการสุ่มตัวอย่างรวงหลังการเก็บของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ผ่านการแช่เมล็ดและพ่นด้วยเชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อ *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด	63
11	เปอร์เซ็นต์เมล็ดดี เมล็ดด่างและเมล็ดลีบ จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดข้าวหลังการเก็บเกี่ยวของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ผ่านการแช่เมล็ด และพ่นด้วยเชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อ *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด	65
12	ประสิทธิภาพการขัดสีเป็นข้าวกล้องของข้าวเปลือกพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 น้ำหนัก 1 กิโลกรัม ที่ได้จากข้าวซึ่งปลูกโดยการการแช่เมล็ด และพ่นด้วยเชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อ *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด	67
13	ประสิทธิภาพการขัดสีเป็นข้าวสารของข้าวเปลือกพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 น้ำหนัก 1 กิโลกรัม ที่ได้จากข้าวซึ่งปลูกโดยการการแช่เมล็ด และพ่นด้วยเชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อ *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด	69

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
14	การเจริญครอบครองรากข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 อายุ 25, 60 และ 130 วัน (หลังการเก็บเกี่ยว) ของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อ *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด	70
15	น้ำหนักผลผลิตต่อ 1 ตารางเมตร น้ำหนักผลผลิตต่อไร่ และน้ำหนัก 1,000 เมล็ดดีของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ผ่านการแช่เมล็ด และพ่นด้วยเชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อ *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด	72
16	จำนวนรวง และเปอร์เซ็นต์ของโรคเมล็ดด่าง จากการสุ่มตัวอย่างรวงหลังการเก็บเกี่ยวของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ผ่านการแช่เมล็ดและพ่นด้วยเชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อ *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด	74
17	เปอร์เซ็นต์เมล็ดดี เมล็ดด่างและเมล็ดลีบ จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดข้าวหลังการเก็บเกี่ยวของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ผ่านการแช่เมล็ด และพ่นด้วยเชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อ *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด	76
18	ประสิทธิภาพการขัดสีเป็นข้าวกล้องของข้าวเปลือกพันธุ์ชัยนาท 1 น้ำหนัก 1 กิโลกรัม ที่ได้จากข้าวซึ่งปลูกโดยการการแช่เมล็ด และพ่นด้วยเชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อ *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด	78

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	เกณฑ์การประเมินความรุนแรงของโรคใบจุดสีน้ำตาลและโรคเมล็ดด่างทั้งรวงโดยกรมการข้าว	33
2	การเจริญครอบครองเมล็ดข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 3 ของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะ หลังการแช่เมล็ดพันธุ์ข้าวในเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 และสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* 01-52 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง	45
3	การเจริญครอบครองรากข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี3 ของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะ	46
4	การเจริญครอบครองผิวใบข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 3 ของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ บนอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะ หลังพ่นเชื้อ 8 ชั่วโมง แล้วนำใบมาพิมพ์ลงบนผิวหน้าอาหาร	47
5	ลักษณะการเจริญเติบโตของต้นข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 3 ระยะแตกกอ อายุ 64 วัน หลังปลูกด้วยเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการแช่เซลล์หรือสปอร์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อรา *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด	54
6	ลักษณะเมล็ดข้าวเปลือกปกติ และข้าวเปลือกที่แสดงอาการเมล็ดด่าง เมล็ดลีบ	55
7	ผลการขัดสีข้าวเปลือกด้วยเครื่องสีข้าวขาว-ข้าวกล้องขนาดเล็กได้แกลบ (A.) ข้าวกล้องเต็มเมล็ด (B.) และเมล็ดข้าวหัก (C.)	57
8	การขัดสีข้าวด้วยเครื่องสีข้าวขาว-ข้าวกล้องขนาดเล็ก	68
9	ลักษณะบริเวณใส (clear zone) ที่เกิดจากการละลายฟอสเฟตของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus amyloliquefaciens* BB165 สายพันธุ์ดั้งเดิม (wild type strain) และ BB165-M3 สายพันธุ์กลาย (mutant strain)บนอาหาร Pikovskaya's agar	79
10	การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรีย ไอโซเลต BB165-M3 บน 16S rDNA ที่แสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเปรียบเทียบแบคทีเรียใกล้เคียงในสกุล *Bacillus*	80

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

CFU	=	จำนวนโคโลนีต่อหนึ่งหน่วย (colony forming unit)
DNA	=	ชื่อย่อของสารพันธุกรรม (Deoxyribonucleic acid)
EC	=	รูปแบบของสารเคมีแบบน้ำมัน
g	=	กรัม (gram)
ml	=	มิลลิลิตร (milliliter)
mM	=	มิลลิโมลาร์ (millimolar)
NGA	=	อาหารแข็งเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย (nutrient glucose agar)
NGB	=	อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย (nutrient glucose broth)
ND	=	Non-determined (ไม่ได้ตรวจสอบ)
ng	=	นาโนกรัม (nanogram)
nmol	=	นาโนโมล (nanomole)
PDA	=	อาหารแข็งเลี้ยงเชื้อรา (potato dextrose agar)
PCR	=	Polymerase Chain Reaction
ppm	=	ส่วนในล้านส่วน (part per million)
pf	=	powder formulation
pl	=	pellet formulation
rRNA	=	ไรโบโซมอล อาร์เอ็นเอ (ribosomal RNA)
rDNA	=	ไรโบโซมอล ดีเอ็นเอ (ribosomal DNA)
SC	=	รูปแบบของสารเคมีแบบน้ำเข้มข้นหรือน้ำ
WP	=	รูปแบบของสารเคมีแบบผงผสมน้ำ
µg	=	ไมโครกรัม (microgram)
µl	=	ไมโครลิตร (microliter)
µmol	=	ไมโครโมล (micromole)
%	=	เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 ในการเพิ่มผลผลิตและลดโรคเมล็ดด่างของข้าว

Efficiency of *Bacillus amyloliquefaciens* Mutant Strain BB165-M3 Bioproduct for Increasing Yield and Reducing Dirty Panicle of Rice

คำนำ

ข้าว (*Oryza sativa*) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของไทย มีคุณค่าทางอาหารสูง เป็นที่ต้องการของผู้บริโภคทั้งภายในและต่างประเทศ มีเนื้อที่เพาะปลูกมากถึง 69.98 ล้านไร่ (ที่มา: www.oae.go.th/download/use_soilNew/soiNew/landused2554html) ในปัจจุบันประสบปัญหาด้านโรคพืช มีเชื้อสาเหตุเข้าทำลายหลายชนิด โรคที่พบเป็นปัญหาสำคัญเกือบทุกแหล่งโดยเฉพาะพื้นที่ในจังหวัดภาคกลางโรคหนึ่ง ได้แก่โรคเมล็ดด่างที่เกิดจากเชื้อราสาเหตุจำนวน 6 ชนิดคือเชื้อรา *Helminthosporium oryzae*, *Fusarium semitecum*, *Sarocladium oryzae*, *Cercospora oryzae*, *Trichoconis padwickii* และ *Curvularia lunata* เมื่อมีการระบาดแล้วทำให้ผลผลิตของข้าวลดลงมาก โดยพบว่าเมื่อเมล็ดข้าวที่มีระดับความรุนแรงของโรคเมล็ดด่างมากกว่า 25% ของพื้นที่ผิวเมล็ด มีผลทำให้ความงอก และอายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ข้าวลดลงอย่างรวดเร็ว รวมทั้งการที่มีเมล็ดพันธุ์ข้าวที่เป็นโรคนี้รุนแรงกว่า 25% ปนอยู่ในสัดส่วน 30-50% (ขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าว) ก็มีผลทำให้อายุการเก็บรักษาลดลงเช่นกัน (อัญชลี และคณะ, 2546) และเมื่อนำไปขัดสี จะได้เมล็ดข้าวที่มีคุณภาพต่ำ และแตกหักง่าย จึงขายข้าวเปลือกได้ในราคาต่ำ นอกจากนี้เชื้อราสาเหตุโรคยังแพร่ระบาดโดยสปอร์ของเชื้อราปลิวไปกับลม หรือติดไปกับเมล็ดพันธุ์ข้าว (seed borne) ได้ ซึ่งก่อให้เกิดโรคในการปลูกฤดูต่อไป (ฤกษ์, 2522)

การแก้ปัญหาด้านโรคของเกษตรกรส่วนใหญ่คือการพ่นด้วยสารเคมีควบคุมเชื้อรา เนื่องจากการผลิตข้าวในปัจจุบันมีการนำสารเคมีหลากหลายชนิดมาใช้ควบคุมทั้งโรคและแมลงศัตรูพืช แต่การใช้สารเคมีในการควบคุมโรคพืชอย่างต่อเนื่องได้สร้างปัญหาต่าง ๆ เช่น ปัญหาทางเศรษฐกิจ ทำให้ต้นทุนการผลิตสูงโรคและแมลงศัตรูพืชต้านทานต่อสารเคมี ปัญหาต่อสุขภาพอนามัยของเกษตรกรผู้ใช้ และปัญหาสารพิษตกค้างซึ่งเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค ปัจจุบันจึงมีความพยายามผลักดันให้มีการใช้สารเคมีสังเคราะห์น้อยลง การใช้จุลินทรีย์จึงเป็นแนวทางที่จะสามารถ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นำไปใช้ป้องกันกำจัดโรคพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ และยังมีกระแสการผลิตข้าวอินทรีย์เพื่อการส่งออกและเพื่อบริโภคภายในประเทศ รวมถึงวิกฤตเศรษฐกิจที่ชาวนาต้องลดต้นทุนการผลิต และงดเว้นการใช้สารเคมีที่มีราคาแพง ปัจจุบันเกษตรกรมีความต้องการใช้ชีวภัณฑ์ที่หลากหลายเพื่อทดแทนสารเคมี จึงมีงานวิจัยและพัฒนา ชีวภัณฑ์หลายชนิดเพื่อใช้ควบคุมโรคข้าว ในประเทศไทยมีงานวิจัยการใช้เชื้อรา *Trichoderma* sp. และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ควบคุมโรคของข้าว ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าสามารถเพิ่มผลผลิตและลดโรคเมล็ดด่าง เมล็ดลีบได้ (จิระเดช และคณะ, 2548) มีการพัฒนาประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* โดยการฉายรังสีแกมมา เพื่อให้ต้านทานต่อสารเคมี แล้วนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเมล็ดด่างในแปลงนา พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* สายพันธุ์กลายดังกล่าว สามารถเพิ่มผลผลิตของข้าว และลดโรคเมล็ดด่างได้ (จิระเดช และ วรรณวิไล, 2550) นอกจากนี้ มานะ และคณะ (2536) ได้แยกแบคทีเรีย *Bacillus* spp. จากธรรมชาติ และพบว่าเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวสร้างสารปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคข้าวได้หลายชนิด เช่นเชื้อรา *Rhizoctonia solani* สาเหตุโรคกาบใบแห้ง รวมถึงเชื้อรา *C. lunata* นิชากร (2553) ได้คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากรากข้าวและพืชอื่นๆ จากห้องปฏิบัติการควบคุมโรคพืชโดยชีวภาพ และได้พัฒนาเป็นชีวภัณฑ์จากนั้นนำไปทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *H. oryzae*, *T. padwickii* และ *C. lunata* ในสภาพโรงเรือนปลูกพืชทดลอง พบว่า เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเมล็ดด่างได้

จากผลการทดสอบในสภาพโรงเรือนปลูกพืชทดลอง (นิชากร, 2553) ที่ได้ผลดี ช่วยให้เห็นศักยภาพของการนำเชื้อ *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 ไปใช้ในสภาพแปลง ซึ่งอาจเป็นแนวทางหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการควบคุมโรคเมล็ดด่างแทนการใช้สารเคมีได้ ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 ในการลดโรคเมล็ดด่างและเพิ่มผลผลิตของข้าวในสภาพแปลงนา โดยจะส่งผลในการช่วยลดปัญหาการสะสมของมลพิษในสภาพแวดล้อมจากการใช้สารเคมี ลดปัญหาการดื้อต่อสารเคมีควบคุมโรคของเชื้อ และลดต้นทุนการผลิตข้าว

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วัตถุประสงค์

1. เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 ในการลดโรคเมล็ดด่างและเพิ่มผลผลิตของข้าวในสภาพเรือนปลูก

2. เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 ในการลดโรคเมล็ดด่างและเพิ่มผลผลิตของข้าวในสภาพแปลงนา

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การตรวจเอกสาร

ข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย เนื่องจากมนุษย์รู้จักบริโภคข้าวและปลูกข้าวเป็นอาหารหลัก และยังเป็นสินค้าส่งออกที่สำคัญ ซึ่งเชื่อว่าถิ่นกำเนิดของข้าวอยู่ทางตะวันตกเฉียงใต้ของภูเขาหิมาลัยในประเทศอินเดีย ประเทศในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และแอฟริกา เพราะมีรายงานพบข้าวหลายชนิดในบริเวณเหล่านี้

ข้าวที่ปลูกเป็นอาหารของมนุษย์มีอยู่ 2 ชนิด คือ *Oryza glaberrima* ที่ปลูกมากในแอฟริกาตะวันตก และ *O. sativa* ซึ่งปลูกมากในเอเชีย ข้าวทั้งสองต่างกันที่ข้าวแอฟริกาไม่มีการแตกระแง้ที่สองจากระแง้แรกของรวงข้าว ในปัจจุบันข้าวเอเชียได้รับความนิยม และมีผู้นำไปปลูกแทนข้าวแอฟริกามากขึ้น ข้าวเอเชียที่ปลูกกันในปัจจุบันแบ่งเป็น 3 พวกคือ

1. อินดิคา (Indica) มีเมล็ดยาวเรียว ผลผลิตค่อนข้างต่ำ ตอบสนองต่อปุ๋ยน้อย แต่ปรับตัวเข้ากับสิ่งแวดล้อมได้ดี ปลูกมากในเขตร้อนของทวีปเอเชีย เช่น ไทย ฟิลิปปินส์ กัมพูชา และอินเดีย

2. จาปอนิกา (Japonica) เป็นข้าวที่ปลูกมากในเขตกึ่งร้อน หรืออบอุ่น เช่น ญี่ปุ่น เกาหลี และจีนตอนเหนือมีเมล็ดป้อมสั้น กลมรี ผลผลิตสูง ตอบสนองต่อปุ๋ยสูง

3. จาวานิคา (Javanica) ปลูกมากในอินโดนีเซีย และพม่า ไม่ได้รับความนิยมเพราะมีเมล็ดค่อนข้างป้อมอ้วน ผลผลิตต่ำ (นพพร และคณะ, 2542)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของข้าว

เป็นพืชปีเดียว ความสูง 80-130 เซนติเมตร อาจมีความสูงได้ถึง 5 เมตร ในพันธุ์ข้าวขึ้นน้ำซึ่งสามารถเจริญเติบโตในสภาพน้ำท่วม ระบบรากเป็นแบบรากฝอย มีรากพิเศษเจริญออกมาจากส่วนโคนของลำต้นแล้วหยั่งลงไปในดิน มีการเจริญของลำต้นแบบแตกเป็นกอ ลำต้นแต่ละลำมีข้อและปล้องชัดเจน จำนวนข้อของลำต้นขึ้นกับพันธุ์และฤดูกาลในการเติบโต แต่ละข้อมีใบหนึ่งใบ อาจมีกิ่งสั้นๆ หรือรากพิเศษเจริญออกมาจากข้อของลำต้น ปล้องที่บริเวณโคนลำต้นมักเป็นปล้องสั้นๆ และค่อยๆ ยืดยาวมากขึ้นเมื่อเจริญไปทางส่วนปลายลำต้น การเรียงใบแบบสลับ โดยเรียงเป็นสองแถวทางด้านข้างของลำต้น มีกาบใบหุ้มลำต้นซ้อนขึ้นไปเรื่อยๆ จนปกคลุมส่วนปล้องของลำ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ต้นไม้มิดชิด ลิ้นใบมีลักษณะเป็นแผ่นรูปสามเหลี่ยม ยาว 1-1.5 เซนติเมตร มักแยกออกจากกัน พบเขี้ยวใบมีลักษณะเป็นเส้นหรือฟันเลื่อยยาวๆ เกิดขึ้นที่โคนของแผ่นใบ แผ่นใบยาว 24-60 เซนติเมตร กว้าง 0.6-2.2 เซนติเมตร แผ่นใบเรียบจนถึงมีขนกระจายทั่วแผ่นใบ มักมีขนเล็กๆ คล้ายหนามที่ขอบของแผ่นใบ

ราก: รากของข้าวมีหน้าที่ยึดลำต้นให้ตั้งตรง และหาอาหารไปเลี้ยงลำต้น รากของข้าวเป็นแบบระบบรากฝอย (fibrous root system) เมื่อนำเมล็ดข้าวที่พ้นระยะพักตัวแล้ว แช่น้ำไว้ 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาหุ้ม (incubation) อีก 48 ชั่วโมง สิ่งแรกที่งอกออกมาจากเมล็ดข้าวด้านติดกับก้านดอกตรงจมูกข้าว (คัพภะ) คือ รากอ่อน หรือรากแรกกำเนิด (radicle) จากนั้นอีก 12-24 ชั่วโมง จะเห็นยอดอ่อน (plumule) งอกออกมาจากด้านตรงข้ามของจมูกข้าว เมื่อข้าวเจริญเติบโตขึ้นเรื่อยๆ นั้น รากฝอยจะเริ่มเกิดขึ้น โดยงอกมาจากข้อถี่ล่างๆ เรียกว่า adventitious root ส่วนการเจริญเติบโตและการกระจายตัวของรากข้าวนั้น ขึ้นอยู่กับการเตรียมดิน และวิธีการปลูก

ลำต้น: ลำต้นของข้าวมีลักษณะทรงกลม แกนกลางกลวง ไม่มีแก่น ลำต้นตั้งตรง ประกอบด้วยข้อและปล้อง ซึ่งข้อเป็นที่เกิดของใบ ที่ข้อมีตา ตาจะเจริญขึ้นเป็นหน่อใหม่ จึงทำให้ข้าวหนึ่งต้นแตกกอขึ้นเป็นหลายต้นได้ ปล้องของข้าวจะมีแถบปุ่มเล็กอยู่เหนือตำแหน่งตา ก่อนข้าวสร้างช่อดอก จะยังไม่ยืดปล้องขึ้นมา ลักษณะที่เราเรียกว่า “ต้นข้าว” ในระยะก่อนที่ข้าวจะสร้างช่อดอกนั้นก็คือ ใบและกาบใบ ต้นข้าวจริงๆ จะมีลักษณะสั้นถี่ อยู่เหนือจุดกำเนิดราก

ใบ: ใบข้าว มีลักษณะแบนบาง ยาว แคบ อาจงอโค้ง หรือตั้งตรง มีกำเนิดจากข้อในทิศทางสลับกัน ตรงข้ามกัน ประกอบด้วย กาบใบ (leaf sheath) ซึ่งก็คือก้านใบ (peduncle) ที่เปลี่ยนรูปมาเป็นส่วนที่ห่อหุ้มข้อ และปล้อง ไม่มีเส้นกลางใบ ส่วนที่ติดกับปลายกาบใบคือแผ่นใบ (leaf blade) มีส่วนปลายคล้ายหอก มีเส้นกลางใบชัดเจน ตรงรอยต่อระหว่างกาบใบและตัวใบมีลักษณะคล้ายรอยพับเรียกว่า ข้อใบ (collar) ทำมุมทแยงยื่นออกไปจากลำต้น ที่ข้อต่อมีเยื่อกันน้ำฝนหรือลิ้นใบ (ligule) มีลักษณะเป็นเยื่อบางใส อาจมีสีชมพูอ่อนหรือสีม่วง ใกล้ๆกับเยื่อกันน้ำฝนตรงรอยต่อส่วนที่ติดกับกาบใบจะเห็นเขี้ยวใบ (auricle) มีลักษณะคล้ายทางมะพร้าวสีขาวอมชมพูอ่อน ซึ่งจะใช้ลักษณะของเขี้ยวใบและเยื่อกันน้ำฝนในการแยกข้าวออกจากต้นหญ้า โดยหญ้าจะไม่มีเขี้ยวใบ

ใบสุดท้ายของข้าว เรียกว่า ใบธง (flag leaf) ใบธงจะทำมุมกับต้นข้าวต่างกันไปแล้วแต่พันธุ์ข้าว ใบธงมีหน้าที่สำคัญที่สุดคือ สังเคราะห์แสงสร้างอาหารไปสะสมที่เมล็ด ใบธงที่ทำมุม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

แคบกับต้น จะมีประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสงมากกว่าใบธงที่ทำมุมกว้างกับต้น เนื่องจากการที่ใบธงทำมุมกว้างกับต้น จะเกิดการบังแสงซึ่งกันและกัน

รวง: รวงข้าว คือ ช่อดอก (inflorescence) ของข้าวเกิดที่ปล้องสุดท้าย ระยะตั้งแต่ข้อของปล้องสุดท้ายลงมาจนถึงกาบของใบธง เรียกว่า คอรวง ข้าวพันธุ์ต่างๆ มีคอรวงสั้นยาวต่างกัน ออกไป แกนรวง (panicle axis) เกิดขึ้นที่ข้อของปล้องสุดท้าย และมีข้อ ซึ่งข้อเหล่านี้เป็นที่เกิดของแขนงปฐมภูมิ (primary branch) และแขนงทุติยภูมิ (secondary branch) ก็มีกำเนิดมาจากข้อแขนงปฐมภูมิ ซึ่งเป็นที่เกิดก้านดอก (panicel) และดอกข้าว (spikelet) ระยะระหว่างก้านดอกเรียกว่าระแง้ ข้าวที่พันธุ์มีระแง้ถี่ จะมีผลผลิตสูงกว่าพันธุ์ที่มีระแง้ห่าง

ดอก: ดอกข้าว เป็นดอกสมบูรณ์เพศ (perfect flower) ลักษณะเป็นช่อแบบ panicle ดอกข้าวจะบานในตอนเช้า การผสมเกสรภายในดอกเกิดขึ้นก่อนดอกข้าวบาน ปกติดอกข้าวจะบานหลังจากที่ช่อดอกโพล่พ้นใบธงได้ 24-48 ชั่วโมง โดยจะเริ่มบานจากช่อดอกมาหาโคนใช้เวลา 5-7 วัน จึงบานครบทุกดอก หลังผสมเกสรประมาณ 30 วัน ข้าวจะสุกแก่พร้อมเก็บเกี่ยว

เมล็ด: เมล็ดข้าวที่สุกแก่แล้ว ส่วนภายนอกเป็นเปลือก (hull) ห่อหุ้มส่วนภายในที่เรียกว่าข้าวกล้อง (brown rice grain) ชั้นนอกสุดของข้าวกล้องเป็นเยื่อบางๆ (pericarp layer) สีน้ำตาลอ่อนเชื่อมติดกับเปลือกหุ้มเมล็ดชั้นใน (seed coat) ถัดเข้าไป คือ nucellus และ aleurone layer ซึ่งเป็นส่วนที่ห่อหุ้มแป้ง และจมูกข้าว ส่วนของจมูกข้าวนี้จะเจริญเป็นรากและต้นข้าว ส่วนแป้งซึ่งเป็นส่วนที่มนุษย์บริโภค จะเป็นอาหารของต้นอ่อนในระยะที่เมล็ดข้าวเริ่มงอก

สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญของข้าว

สภาพพื้นที่ดิน: ดินที่เหมาะสมต่อการปลูกข้าวควรมีความสามารถในการอุ้มน้ำได้ดี มีธาตุอาหารหลักที่เป็นประโยชน์แก่ข้าวมากพอ มีค่าความเป็นกรดเป็นด่าง 5.0-6.5 และมีอินทรียวัตถุไม่น้อยกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ ควรเป็นดินที่มีหน้าดินลึก 30-50 เซนติเมตร ประกอบไปด้วยอนุภาคดินเหนียวไม่ต่ำกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ เพราะหลังจากการไถและคราด ส่วนหนึ่งของอนุภาคนี้จะตกตะกอนกลายเป็นชั้นดินดาน ช่วยลดการไหลซึมของน้ำที่กักเก็บไว้ในดิน และดินเหนียวยังสามารถอุ้มน้ำได้ดี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ความอุดมสมบูรณ์ของน้ำ: การให้น้ำแก่ต้นข้าวมากเกินไปไม่เป็นผลดีต่อต้นข้าว เพราะจะทำให้ดินขาดออกซิเจน การปล่อยให้ข้าวขาดน้ำบ้างเป็นระยะๆ จะช่วยเพิ่มออกซิเจนให้แก่รากข้าว และช่วยลดสารพิษลง นอกจากนี้น้ำยังทำให้ความชื้นรอบต้นข้าวสูง เหมาะต่อการแพร่กระจายของโรคและแมลง ซึ่งสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (IRRI) ได้แนะนำว่าการรักษาระดับให้สูงประมาณ 5 เซนติเมตร ตลอดฤดูปลูกจะได้ผลผลิตสูงกว่าที่ระดับ 15-20 เซนติเมตร เพราะหลังปักชำต้นข้าวเจริญได้ดีกว่า และมีปูนาเข้าทำลายน้อยกว่า เนื่องจากกลางวันน้ำจะร้อน

สภาพอากาศ: ความผันแปรของภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลงไปตามวัน เวลา และสถานที่ เป็นปัจจัยธรรมชาติที่มีผลต่อการปลูกข้าวเป็นอย่างมาก ซึ่งแบ่งได้ดังนี้

ปริมาณและการกระจายของน้ำฝน: เป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อผลผลิตของข้าว โดยเฉพาะการทำนาแบบข้าวไร่ โดยปกติข้าวต้องการน้ำฝนตลอดฤดูปลูกไม่น้อยกว่า 1,200 มิลลิลิตร แต่ถ้าในพื้นที่นั้นมีฝนตกเกือบทุกๆ 3-4 วัน รวมวันที่ฝนตกมากกว่า 15 วันต่อ 1 เดือน แม้ว่าจะมีปริมาณน้ำฝนรวมไม่ถึง 900 มิลลิลิตร ก็จะไม่ทำให้ผลผลิตของข้าวลดลง

พลังงานรังสีจากดวงอาทิตย์: มีความจำเป็นต่อกระบวนการสังเคราะห์แสง หรือการสร้างอาหารของพืช โดยความยาวคลื่นที่เหมาะสม คือระหว่าง 380-720 นาโนเมตร เป็นช่วงความยาวคลื่นที่มองเห็นได้

ความยาวของแสงในแต่ละวัน: มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของข้าว เพราะมีผลต่อปริมาณพลังงานแสงที่พืชได้รับรวมต่อวัน

อุณหภูมิ: มีอิทธิพลต่อข้าวทุกระยะการเจริญเติบโต ตั้งแต่การงอกของเมล็ด การแตกกอ การเจริญของราก การสร้างช่อดอก รวมถึงการติดเมล็ด นอกจากนี้ยังพบว่าในช่วงที่ข้าวใกล้สุกแก่ถ้ามีอุณหภูมิเฉลี่ยประมาณ 22 องศาเซลเซียส จะทำให้เวลาการสุกแก่ของข้าวยืดออกไป ข้าวมีเวลาสร้างน้ำหนักเมล็ดเพิ่มขึ้น สำหรับประเทศไทยซึ่งมีอุณหภูมิเฉลี่ยสูงกว่า 30 องศาเซลเซียส ทำให้ข้าวสุกแก่เร็ว ได้ผลผลิตต่ำ รวมทั้งข้าวที่ออกดอกในช่วงที่ร้อนจัดบรรยากาศแห้งแล้งจะติดเมล็ดน้อยมาก ทั้งนี้เพราะความร้อนทำให้ไข่ที่ได้รับการผสมเกสรแล้วไม่เจริญเป็นเมล็ด

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ความชื้น: แม้ว่าจะมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของข้าวน้อย แต่มีผลต่อการแพร่กระจายของโรค โดยถ้ามีความชื้นมาก จะส่งผลให้เชื้อราและแบคทีเรียบางชนิดแพร่กระจายได้อย่างรวดเร็ว ซึ่งมีผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโต และผลผลิตของข้าว

ลม: นอกจากจะช่วยระบายความร้อนและความชื้นที่มากเกินพอออกจากแปลงนา ซึ่งจะทำให้การระบาดของโรคและแมลงบางชนิดลดลงแล้ว ยังช่วยรักษาระดับของคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสง ทำให้การปรุงอาหารของข้าวเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตามถ้าลมแรงเกินไปอาจทำให้ใบข้าวฉีกขาด ต้นข้าวล้ม รวงแห้ง การผสมเกสรล้มเหลว รวมถึงการสร้างและสะสมอาหารหยุดชะงัก (ชาญ, 2536; นพพร และคณะ, 2542)

การเจริญเติบโตของข้าว

การศึกษาทางการเจริญเติบโต หรือสรีรวิทยาของพืชนั้นมีความสำคัญทำให้ทราบถึงขั้นตอนของกระบวนการมีชีวิตของพืช และอิทธิพลของปัจจัยภายนอกที่ส่งผลต่อกระบวนการทำให้เกิดอาการผิดปกติหรือเจริญเติบโตไม่เต็มที่ ถ้าเราสามารถศึกษาและเข้าใจการตอบสนองของพืชดังกล่าวได้แล้ว ก็สามารถนำความรู้นั้นไปปรับปรุงแก้ไขให้พืชเจริญเติบโตในสภาพปกติและให้ผลผลิตตามเป้าหมายได้ ในที่นี้จะได้กล่าวถึงการเจริญเติบโตของข้าวพอสังเขปเท่านั้น

การเจริญเติบโตของข้าวโดยทั่วไปจะแบ่งออกเป็นระยะต่าง ๆ ได้ดังนี้ (ดูภาพการเจริญเติบโตและพัฒนาการของข้าวจาก: http://www.riceweb.org/Plant.htm)

(1) การเจริญเติบโตทางลำต้นและใบ (vegetative growth) โดยมี 2 ระยะคือ

- ระยะต้นกล้า (seedling stage) เป็นระยะจากข้าวงอกจนกระทั่งถึงข้าวแตกกอ ใช้ระยะเวลาประมาณ 20 วัน (ขึ้นอยู่กับพันธุ์) สิ้นสุดระยะนี้ต้นข้าวจะมีใบประมาณ 5-6 ใบ

- ระยะแตกกอ (tillering stage) นับจากข้าวเริ่มแตกกอดังกล่าวจนถึงข้าวเริ่มสร้างช่อดอกอ่อน (panicle initiation) ใช้เวลาประมาณ 30-50 หลังจากระยะต้นกล้าขึ้นอยู่กับการตอบสนองต่อช่วงแสงของพันธุ์ข้าว

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

(2) การเจริญเติบโตทางด้านการสืบพันธุ์ (reproductive growth) เริ่มจากข้าวเริ่มสร้างช่อดอกอ่อน ผ่านระยะตั้งท้อง (booting stage) จนถึงโผล่ช่อดอกและผสมเกสร (heading, flowering, fertilization) โดยจะใช้ระยะเวลาช่วงนี้ประมาณ 30-35 วัน

ลักษณะของระยะต่าง ๆ มีดังนี้

- ระยะเริ่มสร้างช่อรวงอ่อน หลังจากแตกกอเต็มที่แล้วก็จะเข้าสู่ระยะสร้างช่อรวงอ่อน (พันธุ์ที่ไวแสงจะต้องได้รับช่วงแสงที่เหมาะสมก่อน จึงจะก่อให้เกิดระยะนี้ได้) ระยะนี้ต้นข้าวจะเปลี่ยนจากต้นที่มีลักษณะแบนเป็นต้นกลม และจะมีการยืดปล้อง (stem elongation) ในอัตราที่รวดเร็ว เมื่อผ่าลำต้นดูจะเห็นจุดกำเนิดช่อดอก (panicle primordium) ลักษณะเป็นสามเหลี่ยมมีสีขาวปุยๆ และจะเจริญเติบโตเรื่อย ๆ เป็นช่อดอกที่มีดอกเรียกว่า spikelets

- ระยะตั้งท้อง เป็นระยะที่ดอกอ่อนของข้าวขยายตัวใหญ่ขึ้นจนเป็นช่อดอกที่สมบูรณ์ ตรงกาบใบธงจะอ้วนพองขึ้น

- ระยะออกดอกและผสมเกสร ระยะที่ช่อดอกโผล่จากกาบใบ (heading) ดอกข้าวบาน (flowering) และผสมเกสร (fertilization) ซึ่งจะเกิดพร้อมกันหรือเหลื่อมกันบางเพียงเล็กน้อย

(3) การพัฒนาการของเมล็ด (grain development) ได้แก่ระยะภายหลังการผสมเกสร ซึ่งรังไข่ที่ได้รับการผสมจะเจริญเติบโต อาหารที่ได้รับการสังเคราะห์แสงจะถูกสะสมในเมล็ดเป็นลำดับในหลายแห่งจึงเรียกระยะนี้ว่าระยะสะสมในเมล็ด (grain filling period) ในระยะแรกจะอยู่ในระยะน้ำนม (milky) เปลี่ยนเป็นแป้งอ่อน (dough) จนกระทั่งเมล็ดสุก (ripening) เป็นแป้งแข็งเป็นระยะสุกแก่หรือเก็บเกี่ยว (harvest maturity) จะใช้เวลาการพัฒนาการของเมล็ดทั้งหมดประมาณ 25-30 วัน

ดังนั้นเมื่อรวมระยะต่าง ๆ แล้ว ข้าวจะมีอายุในระหว่าง 110-120 วัน สำหรับข้าวไม่ไวแสง และประมาณ 120-140 วันสำหรับข้าวไวแสง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การตอบสนองต่อช่วงแสงในการออกดอกของข้าว (photoperiodism)

ลักษณะทางสรีรวิทยาที่ควรรู้อีกอย่างหนึ่งในเรื่องข้าวคือ การตอบสนองต่อช่วงแสง ในการออกดอกของข้าวหรือที่เรียกว่าข้าวไวแสง (sensitive to photoperiod) ซึ่งจัดข้าวอยู่ในประเภทพืชวันสั้น (short day plant) กล่าวคือ ข้าวพันธุ์นั้นๆ จะมีจำนวนชั่วโมงของช่วงความยาวกลางวันอยู่ระดับหนึ่งที่จะทำให้พืชมีการสร้างดอกได้ เรียกว่าช่วงแสงวิกฤต (critical daylength) โดยที่ถ้าช่วงแสงกลางวันมีจำนวนมากกว่าช่วงแสงวิกฤตแล้ว พืชจะไม่ออกดอกคือ จะมีการเจริญทางด้านลำต้นใบตลอดเวลาจนกว่าจะได้รับช่วงแสงต่ำกว่าช่วงแสงวิกฤต ดังนั้นในรอบหนึ่งปีจึงควรรู้ว่า ในพื้นที่ที่ปลูกข้าวนั้นมีปริมาณช่วงเวลากลางวันและกลางคืนเท่าไร ซึ่งสามารถจะคำนวณได้จากตำแหน่งของเส้นรุ้ง เช่นเปรียบเทียบสภาพช่วงแสงกลางวันในรอบปีของจังหวัดเชียงใหม่ กรุงเทพฯ และสงขลา จังหวัดที่ตั้งใกล้เส้นศูนย์สูตรมากที่สุดคือสงขลา จะมีช่วงแสงกลางวันกลางคืนไม่แตกต่างกันมากนัก แต่ถ้ายิ่งสูงขึ้นไปทางเหนือหรือเส้นรุ้งเหนือกรุงเทพฯ และเชียงใหม่ความแตกต่างของช่วงเวลากลางวันกลางคืนจะมากขึ้นตามลำดับ

ดังนั้นถ้าปลูกข้าวไวแสงสามพันธุ์พร้อม ๆ กันคือ ข้าวขาวดอกมะลิ 105 (ช่วงแสงวิกฤต = 11 ชม. 52 นาที) ข้าวขาวปากหม้อ 148 (ช่วงวิกฤต = 11 ชม. 45 นาที) และข้าวเหลืองปะขาว 123 (ช่วงแสงวิกฤต = 11 ชม. 32 นาที) จะพบว่าข้าวขาวดอกมะลิ 105 จะติดดอกก่อน เพราะผ่านช่วงแสงวิกฤติก่อน ส่วนพันธุ์อีก 2 พันธุ์ต้องชะลอออกไปอีกเนื่องจากช่วงแสงวิกฤตจะถึงภายหลัง สำหรับช่วงที่ต้องรอออกดอกซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการยืดอายุข้าวให้มากขึ้นเรียกว่าช่วง lag vegetative growth ดังนั้นข้าวทั้งสามพันธุ์นี้จึงมีอายุเก็บเกี่ยวต่างกัน

การเพาะปลูกข้าว

การปลูกข้าวในประเทศไทยแบ่งออกได้เป็น 3 วิธีด้วยกัน

1. การปลูกข้าวไร่ (upland rice planting) หมายถึงการปลูกข้าวบนที่ดอนและไม่มีน้ำขังในพื้นที่ปลูก พื้นที่ดังกล่าวมักเป็นพื้นที่เชิงเขามีระดับสูงๆ ต่ำๆ หรือในภาคใต้ปลูกแซมยางอ่อนไม่เกิน 4 ปี เนื่องจากมีพื้นที่ว่างระหว่างแถวยาง ซึ่งร่มใบยังไม่ปิดทางแสง จึงไม่สามารถไถเตรียมดินเหมือนการปลูกพืชไร่อื่น ๆ เกษตรกรมักจะปลูกแบบหยอดโดยจะทำการตัดไม้เล็กและหญ้าออก ใช้ไม้ปลายแหลมเจาะดินเป็นหลุมเล็กๆ ลึกประมาณ 3 ซม. ปากหลุมมีขนาดกว้างประมาณ 1 นิ้ว ระยะระหว่างหลุมประมาณ 25 x 25 ซม. มักจะหยอดเมล็ดทันทีที่ทำหลุมโดยหยอดหลุมละ 5-8 เมล็ด

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

หยอดเสร็จแล้วใช้เท้าเกลี่ยดินกลบ ข้าวจะงอกหลังจากได้รับความชื้นจากฝน วัชพืชเป็นปัญหาสำคัญ ต้องหมั่นกำจัดถ้าต้องการผลผลิต ส่วนใหญ่ปลูกข้าวไร่ไว้บริโภคในครัวเรือน

2. การปลูกข้าวนาดำ (transplanting rice culture) แบ่งวิธีการออกเป็น 2 ขั้นตอนคือ ตอนแรกเป็นการตกกล้า (เพาะกล้า) ในแปลงขนาดเล็ก ตอนที่สองได้แก่การถอนต้นกล้าหรือย้ายกล้าไปปักดำในนาที่ได้เตรียมพื้นที่ไว้แล้ว ขั้นตอนต่าง ๆ มีรายละเอียดดังนี้

การเตรียมดิน พื้นที่ที่จะปักดำต้องมีการไถดะ ไถแปรและคราด เอาเศษพืชจากนาออกไป เดิมเกษตรกรใช้ควาย วัว ปัจจุบันมีรถไถขนาดเล็กเรียกว่าควายเหล็กหรือรถไถเดินตาม นาโดยทั่วไปจะแบ่งออกเป็นแปลงเล็ก ๆ (ทางใต้เรียกว่าบิ้ง) มีขนาดประมาณ 1 ไร่ หรือเล็กกว่า คันนามีไว้สำหรับเก็บกักน้ำ หรือปล่อยน้ำทิ้งจากแปลงนา ก่อนไถต้องรอให้ดินมีความชื้นพอที่จะไถได้เสียก่อน อาจจะรอให้ฝนตกหรือปล่อยน้ำเข้าไปในแปลง การไถดะ หมายถึงการไถครั้งแรกเพื่อทำลายวัชพืชในนาและพลิกกลับหน้าดิน ปล่อยไว้ประมาณ 1 สัปดาห์ จึงไถแปร ซึ่งหมายถึงการไถเพื่อตัดกับรอยไถดะ ทำให้รอยไถดะแตกเป็นก้อนเล็ก ๆ จนวัชพืชออกจากดิน การไถแปรอาจจะไถมากกว่าหนึ่งครั้งก็ได้ขึ้นอยู่กับระดับน้ำและปริมาณวัชพืช หลังจากไถแปรแล้วควรทำคราดทันที การคราดนั้นมีวัตถุประสงค์เพื่อเอาวัชพืชออกจากในนา การเตรียมพื้นที่ที่ดีจะปรับให้พื้นที่สม่ำเสมอ จะเป็นการดีสำหรับให้ระดับน้ำมีมาสม่ำเสมอในแปลง หากพื้นที่ไม่สม่ำเสมอพื้นที่สูงจะมีวัชพืชขึ้นและเป็นที่พักพิงของหนูทำลายข้าวในระยะต่อมา

ขั้นการตกกล้า การตกกล้า หมายถึง การเอาเมล็ดไปหว่านให้งอกและเจริญเติบโตขึ้นมาเป็นต้นกล้า สามารถทำได้หลายวิธี เช่น การตกกล้าในดินเปียกคือตกกล้าบนเทือก การตกกล้าในดินแห้งจะตกกล้าในพื้นที่ดอนที่มีการปรับที่เรียบร้อยแล้ว เมล็ดพันธุ์ที่เอามาตกกล้าต้องเป็นเมล็ดพันธุ์ที่สมบูรณ์ปราศจากเชื้อโรคต่าง ๆ การแยกเอาเมล็ดสมบูรณ์ ทำได้โดยใส่เมล็ดพันธุ์ในน้ำเกลือที่มีความถ่วงจำเพาะประมาณ 1.08 (น้ำสะอาด 1 ลิตร ผสมเกลือแกง 1.7 กก. วัดดูได้จากไข่เริ่มลอย) เมล็ดสมบูรณ์จะจมก้น ส่วนเมล็ดไม่สมบูรณ์จะลอย และตักออก เอาเมล็ดที่ต้องการใส่ถุงผ้าไปแช่ในน้ำนาน 12-24 ชั่วโมง แล้วนำมาผึ่งบนกระดานที่มีลมถ่ายเทสะดวก เอาผ้าหรือกระสอบเปียกน้ำคลุมไว้ 36-48 ชั่วโมง หลังจากนั้นเมล็ดข้าวจะงอก จึงเอาไปหว่านบนแปลงกล้าเปียกที่ได้เตรียมไว้ สำหรับตกกล้าในดินแห้งนั้นจะใช้การหว่านเมล็ดบนแปลงกล้าที่เปิดเป็นร่องเป็นแถวแล้วกลบ อาจจะมีการรดน้ำช่วยให้ข้าวงอกเร็วขึ้นถ้าฝนไม่ตก โดยปกติใช้เมล็ดพันธุ์จำนวน 40-50 กก. ต่อเนื้อที่แปลงกล้าหนึ่งไร่ เมื่อกล้ามีอายุครบ 25-30 วันนับจากวันหว่านเมล็ด จะถอนต้นกล้าไปปักดำ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ขั้นการปักดำ ใช้ต้นกล้าอายุ 25-30 วัน โดยถอนต้นกล้าจากแปลงแล้วมัดรวมกันเป็นมัด ๆ ถ้าต้นกล้าสูงมากก็ให้ตัดปลายใบทิ้ง นำไปปักดำในที่นาที่เตรียมไว้ ซึ่งควรมีน้ำขังอยู่ประมาณ 5-10 ซม. เพราะช่วยค้ำต้นข้าวไม่ให้ล้มได้เมื่อมีลมพัด ทำการปักดำเป็นแถวโดยใช้กล้า 3-4 ต้นต่อกอ ปลูกให้มีระยะห่างระหว่างกอ 25x25 ซม.

3. การปลูกข้าวนาหว่าน (broadcasting or direct sowing rice culture) เป็นการปลูกข้าวโดยการหว่านเมล็ดพันธุ์ลงไปในพื้นที่นาที่ได้เตรียมไว้ พื้นที่ที่ทำข้าวนาหว่านนั้นมีการ ไถดะไถแปร โดยจะไถพื้นที่พลิกดินไว้ก่อน 1-2 เดือนเพื่อรอฝน เมื่อฝนเริ่มมาจึงหว่าน การหว่านมีหลายวิธีด้วยกัน เช่น การหว่านสำรวย หว่านคราด กลบหรือไถกลบ การหว่านหลังขี้ไถ และการหว่านน้ำตม

การหว่านสำรวย หลังจากเตรียมดินโดยการไถดะไถแปรแล้ว นำเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้เพาะให้งอกหว่านลงไปโดยตรง ปกติใช้เมล็ดพันธุ์ 1-2 ถังต่อไร่ (1 ถังข้าวเปลือก = 10 กก.) เมล็ดพันธุ์ที่หว่านจะตกอยู่ตามซอกก้อนดินและรอยไถ เมื่อฝนตกลงมา เมล็ดได้รับความชื้นก็จะงอก การหว่านแบบนี้ใช้กับดินที่มีความชื้นเพียงพออยู่แล้ว

การหว่านคราดกลบหรือไถกลบ กระทำเช่นเดียวกับการหว่านสำรวย แต่ใช้คราดหรือไถเพื่อกลบเมล็ด หากดินมีความชื้นอยู่แล้วเมล็ดก็จะเริ่มงอกทันที ต้นกล้าที่ขึ้นมาโดยวิธีนี้จะตั้งตัวได้ดีกว่า

การหว่านน้ำตม การหว่านแบบนี้นิยมใช้ในพื้นที่ที่มีน้ำขังประมาณ 3-5 ซม. การเตรียมดินเหมือนการเตรียมดินทำนาดำดังกล่าวแล้ว หลังจากดินตกตะกอนเป็นน้ำใสแล้ว จึงเอาเมล็ดพันธุ์จำนวน 1-2 ถังต่อไร่ เพาะให้งอกแล้วหว่านลงไป แล้วไขน้ำออก เมล็ดจะเจริญเติบโตเป็นต้นข้าว การหว่านข้าวแบบนี้จะต้องปรับพื้นที่ให้สม่ำเสมอ และควบคุมน้ำได้

การใส่ปุ๋ย

โดยธรรมชาติแล้วดินนาจะมีแร่ธาตุอาหารพืชต่ำกว่าดินสำหรับปลูกพืชอื่น ๆ ทั่วไป ยิ่งเมื่อได้ปลูกข้าวติดต่อกันมาหลายร้อยปี ปริมาณธาตุอาหารก็ยิ่งขาดแคลน ตัวอย่างเช่น จากการวิเคราะห์ต้นข้าวพันธุ์นางมล S-4 จากผลผลิต 576 กก.ต่อไร่ พบว่ามีปริมาณธาตุไนโตรเจน 6.84 กก. ธาตุฟอสฟอรัส 3.50 กก. และธาตุโปรแทสเซียม 2.15 กก. เมื่อเทียบกลับไปเป็นปริมาณปุ๋ยต่อไร่ก็จะได้เท่ากับปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟต (ให้ธาตุไนโตรเจน) จำนวน 34 กก. ปุ๋ยซูเปอร์ฟอสเฟต (ให้ธาตุ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ฟอสฟอรัส) จำนวน 17 กก. และปุ๋ยโปแทส (ให้ธาตุโปแทสเซียม) จำนวน 3.5 กก. ทั้งนี้ยังไม่ได้รวมแร่ธาตุที่เอาไปสร้างฟาง เท่ากับแสดงให้เห็นว่าข้าวนั้นดูดแร่ธาตุจากดินนาไปสร้างเมล็ดจริง หากปลูกโดยไม่ใส่ปุ๋ยก็จะทำให้ดินนั้นเสื่อมความอุดมสมบูรณ์ลงเป็นลำดับ ความต้องการธาตุอาหารหลักของข้าวสามารถวิเคราะห์ได้ดังแสดงในตารางที่ 1 ซึ่งจะเห็นว่าข้าวต้องการธาตุ โปแทสเซียมในปริมาณสูง แต่เนื่องจากดินนาส่วนใหญ่ของประเทศไทยเป็นดินเหนียวและดินร่วน ซึ่งมักมีธาตุโปรแทสเซียมเพียงพอแก่ความต้องการของข้าว ยกเว้นดินส่วนใหญ่ของภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคใต้ บางแห่งที่เป็นดินปนทราย ซึ่งจะขาดแคลนธาตุโปแทสเซียม จึงต้องพิจารณาใส่ธาตุอาหารนี้ในดินดังกล่าวนี้ด้วย เกษตรกรในปัจจุบันรู้จักใช้ปุ๋ยเคมีแทนการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ เนื่องจากสะดวกและให้ผลเร็ว แต่ส่วนใหญ่จะใส่ในปริมาณต่ำ เนื่องจากภาวะทางเศรษฐกิจของเกษตรกรเป็นข้อจำกัดที่สำคัญ อย่างไรก็ตามทางราชการได้มีข้อเสนอแนะสำหรับการใส่ปุ๋ยเคมีดังตัวอย่างต่อไปนี้คือ แบ่งการใส่ปุ๋ยออกเป็นสองครั้ง โดยที่ครั้งแรกใส่ก่อนปักดำ 1 วัน หรือใส่วันปักดำหรือหลังจากปักดำประมาณ 15 วัน เมื่อข้าวตั้งตัวได้แล้ว ครั้งที่ 2 ใส่หลังปักดำแล้วประมาณ 35-45 วัน ซึ่งเป็นช่วงที่ข้าวเริ่มสร้างช่อดอกอ่อน (ประมาณ 30 วันก่อนออกดอก) เป็นการใส่ปุ๋ยแต่งหน้า ส่วนชนิดของปุ๋ยและอัตราที่ใช้ขึ้นอยู่กับลักษณะของดิน วิธีปลูกและประเภทของพันธุ์ข้าว เช่นข้าวนาดำพันธุ์ข้าวประเภทไวต่อช่วงแสงในสภาพดินเหนียว ครั้งแรกใช้ปุ๋ย 16-20-0 หรือ 18-20-0 หรือ 20-20-0 อัตรา20-30 กก./ไร่ ครั้งที่ 2 ใช้ปุ๋ยแอมโมเนียซัลเฟต (20% N) อัตรา 15-30 กก./ไร่ หรือปุ๋ยยูเรีย (45% N) อัตรา 7-15 กก./ไร่ ส่วนข้าวไม่ไวต่อช่วงแสง (นาปรัง) จะใช้อัตราปุ๋ยที่สูงกว่า

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 1 ปริมาณความต้องการธาตุอาหารหลักของข้าวต่อการสร้างผลผลิตของข้าว

ผลผลิต	ปริมาณธาตุอาหาร (กก./ไร่)		
	N	P_2O_5	K_2O
ข้าวไวแสง			
เมล็ด 400	4	1.2	1.2
ฟาง 800	4	0.8	8.0
รวม	8	2.0	9.2
ข้าวไม่ไวแสง			
เมล็ด 800	8	4.8	2.4
ฟาง 1200	6	2.4	18.0
รวม	14	7.2	20.4

ที่มา: การทำนาน้ำฝน สถาบันวิจัยข้าว, กรมวิชาการเกษตร (ม.ป.ป.)

การใช้ประโยชน์

เมล็ด รับประทานเป็นอาหารหลัก รสเย็นจืด ช่วยปรับรสชาติของอาหาร เป็นอาหารหลักของชาวเอเชีย และเป็นส่วนประกอบในยาข้าว มีทั้งข้าวสารเจ้า และข้าวสารเหนียว คำว่าข้าวสารมาจากภาษาอังกฤษว่า rice คำว่าสาร เป็นภาษาไทย แปลว่า ข้าวที่เอากลีบรองดอกและเปลือกผลออกแล้ว ส่วนข้าวกล้องเป็นผลข้าวที่เอาเฉพาะกลีบรองดอกออก คำ rice หมายถึงทั้งข้าวสารเจ้า และข้าวสารเหนียว คำว่าข้าวสารเหนียวเรียกว่า sticky rice ถ้าข้าวเปลือก ภาษามลายู เรียกว่า ปาดี ภาษาอังกฤษ เรียก แพดดี้ (Paddy) สรรพคุณของข้าวกล้องมีคุณค่าของโภชนาการสูง คาร์โบไฮ-เดรท โปรตีน วิตามิน ใยอาหาร แร่ธาตุ โซเดียม โพแทสเซียม แคลเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม เหล็ก สังกะสี ทองแดง ป้องกันอาการท้องผูก มะเร็งลำไส้ใหญ่ เหน็บชา ปากนกกระจอก การหุงต้มใช้เวลานานกว่าข้าวขาว รำข้าว เปลือกผลข้าว แก้โรคเหน็บชา รักษาเบาหวาน ส่วนของผลข้าวที่มีวิตามินบีมากเป็นส่วนของผลข้าวที่มีวิตามินบีมากเป็นส่วนของผลข้าวที่ติดกับเปลือก เวลานำข้าวมาสีส่วนของวิตามินบีจะอยู่ที่รำข้าวเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งวิตามินบีมีคุณสมบัติในการบำบัดโรคเหน็บ-ชา โรค edema น้ำข้าว มีประโยชน์ทำให้เนื้อเยื่อภายในอ่อนนุ่ม แก้อาการอักเสบ แก้อาการขัดเบา

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อให้รสชาติดีขึ้นอาจเติมเกลือ มะนาว หรือน้ำตาล นอกจากนี้ยังใช้น้ำข้าวสวนทวารหนักสำหรับผู้ที่เป็นโรคท้องผูก เพื่อหล่อลื่นลำไส้

โรคเมล็ดด่างของข้าว (Dirty Panicle) เป็นโรคที่พบระบาดทำความเสียหายแก่แปลงข้าวของเกษตรกรอยู่เสมอ สามารถพบเห็นได้ทั่วไป โดยเฉพาะนาข้าวในพื้นที่ภาคกลางของประเทศไทย ซึ่งเดิมเกษตรกรเชื่อว่าอาการเมล็ดด่างเกิดจากแมลงทำลาย ซึ่งต่อมาพบว่ามีเชื้อรา ถึง 6 ชนิด ที่ทำให้เกิดอาการด่างลายของเมล็ดข้าวได้ โดยเชื้อราที่ทำให้เกิดอาการด่างลายของเมล็ดข้าวได้แก่ *Curvularia lunata, Helminthosporium oryzae, Fusarium semitectum, Trichoconis padwickii, Acrocylindrium oryzae* และ *Cercospora oryzae* โรคนี้ก่อให้เกิดความเสียหายอย่างมากในการปลูกข้าวทั้งในด้านคุณภาพและปริมาณ (ทวีศักดิ์ และคณะ, 2542) โดยพบว่า ปี พ.ศ. 2521 มีการระบาดอย่างรุนแรง เป็นพื้นที่กว้างขวางโดยเฉพาะพื้นที่ภาคกลางทำให้ผลผลิตลดลงมาก และคุณภาพเมล็ดเสีย (ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี, 2539) เป็นโรคที่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตของข้าวตลอดจนคุณภาพของข้าวสาร ซึ่งโรคนี้มักจะเป็นรุนแรงกับข้าวพันธุ์ไม่ต้านทาน โดยเฉพาะข้าวที่ปลูกในฤดูนาปรัง ในระยะข้าวออกดอกมีอากาศร้อนในช่วงบ่าย และมีฝนตกชุกในช่วงเย็น และค่ำทำให้สภาพความชื้นในแปลงนาสูง เหมาะสมต่อการเข้าทำลายของเชื้อราดังกล่าว (เอกสงวน, 2547)

ลักษณะอาการ

รวงข้าวที่ถูกทำลายโดยเชื้อราจะมีอาการแตกต่างจากโรคไหม้คอรวงตรงที่คอรวงไม่มีอาการแผลสีเทา คอรวงไม่หัก และเมล็ดไม่ลีบหมด รวงข้าวที่เป็นโรคจะมีทั้งเมล็ดเต็มและเมล็ดลีบ บนเมล็ดจะมีจุดสีน้ำตาลดำ บางเมล็ดก็มีลายสีน้ำตาลทั้งเมล็ด บางเมล็ดจะลีบ และมีสีเทาอมชมพูทั้งเมล็ด ทั้งนี้เนื่องจากมีเชื้อหลายชนิดที่สามารถเข้าทำลาย และทำให้เกิดอาการบนเมล็ดแตกต่างกันไป การเข้าทำลายของเชื้อรามักเกิดในช่วงดอกข้าวเริ่มโผล่จากกาบหุ้มรวง จนถึงระยะเมล็ดข้าวเริ่มเป็นน้ำนม หรือกำลังสุก หลังจากนั้น 2-3 สัปดาห์ หรือระยะใกล้เก็บเกี่ยว อาการเมล็ดด่างจะปรากฏเด่นชัด (สมคิด, 2532; ดารา และคณะ, 2550)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Curvularia lunata Trichoconis padwickii, Helminthosporium oryzae, Cercospora orezae, Fusarium semitecum* และ *Salocladium oryzae*

เชื้อรา *Curvularia lunata* สามารถจำแนกกลุ่ม และเรียงลำดับได้ดังนี้

Division	Eumycota
Subdivision	Deuteromycotina
Form-class	Hyphomycetes
Form-order	Moniliales
Form-family	Dematiaceae
Form-genus	*Curvularia*
Form-species	*C. lunata*

Boedijn (1933) ได้บรรยายลักษณะสำคัญบางอย่างของเชื้อรา species นี้ไว้คือ *C. lunata* เส้นใยมีผนังกั้น แตกก้านสาขามากเส้นใยมีสีน้ำตาลใสขนาดขอเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยเท่ากับ 2-5 ไมโครเมตร ก้าน conidiophores สีน้ำตาลดำไม่แตกก้านมีผนังกั้นบริเวณปลาย อาจมีการโค้งงอหรือมีปม มีขนาดระหว่าง 70-270 x 2-4 ไมโครเมตร ปลายก้านมี conidia รูปร่างคล้ายเรือมีผนังกั้น 3 อันแต่ละก้าน conidiophores มี conidia จำนวน 1อัน หรืออาจมากกว่าเรียงกันเป็นเกลียวรอบก้าน conidiophores ขนาดของ conidia ประมาณ 19-30 x 8-16 ไมโครเมตร แต่ส่วนมากขนาดจะอยู่ระหว่าง 23 x 11 ไมโครเมตร เชื้อรา *Curvularia* spp. สร้าง conidium ที่มี 3-5 เซลล์ รูปร่างโค้ง เซลล์ตรงกลางมีสีเข้มกว่าเซลล์หัวท้าย เกิดบนก้าน conidiophore สีเข้ม ไม่แตกแขนง แต่อาจมีการ proliferation ออกทางด้านใกล้ส่วนปลาย ทำให้สร้างสปอร์เพิ่มขึ้นได้อีก และก้าน conidiophore มีลักษณะเป็นข้อหัก (geniculate) พบทั้งที่เป็น parasite ของพืช ทำให้เกิดจุดแผลบนใบและเป็น saprobe ในดิน

Ou (1985) ได้รวบรวมรายงานการศึกษาเกี่ยวกับเชื้อรา *Curvularia* spp.ที่ทำให้เกิดอาการเมล็ดด่างของข้าว ไว้ว่ามีเชื้อรา *Curvularia* spp. มากกว่า 10 species ที่ทำให้เกิดอาการเมล็ดด่างของข้าว (Boedijn, 1933; Groves และ Skolko, 1945; Bugnicourt, 1950; Padwick, 1950; Wei, 1957) โดยนอกจากทำให้เกิดอาการเมล็ดด่างแล้ว ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม เชื้อดังกล่าวยังทำให้เกิดอาการใบจุดได้ ในส่วนของการเข้าทำลายนั้น Martin และ Altstatt (1940)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

รายงานไว้ว่าเชื้อ *Curvularia* spp. ที่เข้าทำลายเมล็ดข้าวจะอยู่ระหว่างชั้น black kernels และ อยู่ในชั้น polished โดยเมื่อมีการระบาดรุนแรงพบว่าเชื้ออาจติดไปกับเมล็ดพันธุ์และเข้าทำลายต้นกล้าทำให้เกิดโรค กล้าไหม้ หรือต้นกล้าที่ได้มีความอ่อนแอ Rao และ Salam (1954) รายงานไว้ว่าในประเทศอินเดียเชื้อรา *Curvularia* spp เป็นเชื้อสาเหตุที่สำคัญที่ทำให้เกิดอาการเมล็ดด่างในข้าว โดยพบว่า 60% ของเมล็ดที่ด่างเกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อราชนิดนี้ เมื่อจำแนกเชื้อลงไปในระดับ species แล้วพบว่า species ที่สำคัญและพบได้ทั่วไป คือ *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijn และ *Curvularia geniculata* (Tr.& Earle) Boedijn

เชื้อรา *Trichoconis padwickii* (*Alternaria padwickii)* สามารถจำแนกกลุ่ม และเรียงลำดับได้ดังนี้

Division	Eumycota
Subdivision	Deuteromycotina
Form-class	Hyphomycetes
Form-order	Moniliales
Form-family	Dematiaceae
Form-genus	*Trichoconis* (*Alternaria*)
Form-species	*T. padwickii*

Ganguly (1947) ได้ให้รายระเอียดของเชื้อ *Alternaria padwickii* ไว้คือเส้นใยมีการเจริญและแตกสาขาได้ดีในช่วง young stage เส้นใยมีสีครีมเหลือง ขนาดประมาณ 3.4-5.7 ไมโครเมตร septate แต่ละอันอยู่ห่างกันประมาณ 20-25 ไมโครเมตร conidia มี septate ขนาดของ conidia ค่อนข้างไม่แน่นอนมี septate ประมาณ 3-5 อันแต่ละอันหนา 2-5 ไมโครเมตร เชื้อรา *Trichoconis* (*Alternaria*) spp. สร้าง conidiophore สีเข้มไม่แตกกิ่งก้าน อาจมีการ proliferation ออกด้านข้างใต้จุดที่ให้กำเนิดสปอร์ conidium มีสีเข้ม จัดอยู่ในพวก porospore และเป็น dictyospore มีรูปร่างรูปไข่จนถึง obclavate หรือทรงกระบอก สปอร์อันแรกเกิดที่ปลายก้าน conidiophore และสามารถทำหน้าที่เป็น conidiophore โดยสร้างรูที่ปลายของสปอร์ และให้กำเนิดสปอร์อันต่อไป ต่อกันเป็นลูกโซ่ยาว สปอร์อาจมีส่วนปลายเรียวยาวเป็น beak พบทั้งที่เป็น parasite ของพืช และ saprobe

Godfrey (1916) ได้รายงานว่าพบเชื้อราชนิดนี้เข้าทำลายข้าวสาลีเป็นครั้งแรก และหลังจากนั้นมีรายงานว่าเชื้อราชนิดนี้สามารถเข้าทำลายเมล็ดและทำให้เกิดอาการกล้าไหม้เมื่อนำเอา

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เมล็ดที่ถูกเชื้อเข้าทำลายหลังปลูกในเวลาต่อมา Ellis (1971) ได้เปลี่ยนชื่อจาก *Trichoconis padwickii* เป็น *Alternaria padwickii* ในประเทศอินเดีย ความเสียหายที่เกิดจากเชื้อราชนิดนี้ พบว่าหากเกิดอาการบนใบความเสียหายจะไม่รุนแรงนักแต่ถ้าเชื้อเข้าทำลายที่เมล็ดความเสียหายอาจสูงถึง 73-80% (Padmanabhan , 1949; Suryanarayana และคณะ, 1963; Mathur และคณะ, 1972) นอกจากนั้นการเข้าทำลายของเชื้อที่เมล็ดจะทำให้เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกลดลง โดยเชื้อจะเข้าทำลาย ที่ coleoptiles ทำให้เมล็ดตาย และเชื้อจะเข้าทำลายในส่วนของ endosperm ทำให้คุณภาพของเมล็ดลดต่ำลง

เชื้อรา *Helminthopsorium oryzae* สามารถจำแนกกลุ่ม และเรียงลำดับได้ดังนี้

Division	Eumycota
Subdivision	Deuteromycotina
Form-class	Hyphomycetes
Form-order	Moniliales
Form-family	Dematiaceae
Form-genus	*Helminthosporium*
Form-species	*H. oryzae*

Drechsler (1934) ได้อธิบายลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *H. oryzae* ไว้คือ เส้นใยสีน้ำตาลดำหรือเขียวเข้ม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 8-15 ไมโครเมตร หรืออาจมากกว่านั้น ก้าน sporophores แตกออกจากเส้นใยและสีจะเปลี่ยนเป็นใส ความยาวของก้าน sporophores ประมาณ 150-600 ไมโครเมตร กว้างประมาณ 4-8 ไมโครเมตร conidia มีขนาดประมาณ 35-170 x 11-70 ไมโครเมตร conidia ที่มีขนาดใหญ่มีผนังกั้นถึง 13 อัน โคโลนีของเชื้อรา *Helminthosporium* บน PDA อายุ 7 วัน เจริญอย่างรวดเร็วมีการแผ่ขยาย สีเทาหรือดำ เส้นผ่านศูนย์กลาง 8.5 เซนติเมตร ด้านใต้วุ้นอาหารสีดำ มีการสร้างสปอร์น้อย conidiophore เกิดเดี่ยวๆ หรือเกิดเป็นกลุ่ม ลักษณะตรงหรือโค้งงอ สีน้ำตาลอ่อนจนถึงสีน้ำตาล ผนังเรียบยาวถึง 600 ไมโครเมตรเส้นผ่านศูนย์กลาง 4-8 ไมโครเมตร บริเวณปลาย conidiophore มีการหักแบบ geniculate conidia ส่วนใหญ่รูปร่าง fusiform หรือ obclavate จนถึง cylindrical ลักษณะค่อนข้างโค้ง ขนาดสปอร์ 65 x 153 x 14-22 ไมโครเมตร สีน้ำตาลอ่อนจนถึงสีน้ำตาลทอง ผนังเรียบมี 6-14 pseudosepta พบการงอกจากเซลล์หัวท้าย (bipolar germination) (Ellis, 1971; Sivanesan, 1987)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Muller (1953) ได้รายงานว่า เชื้อ *H. oryzae* ที่เข้าทำลายเมล็ดพันธุ์ข้าวในเขตอเมริกากลาง นั้นพบว่าเชื้อสามารถอาศัยอยู่ข้ามฤดูบนเมล็ดพันธุ์ ได้ถึง 100% ผลที่ตามมาคือ เมล็ดพันธุ์ที่นำไปปลูกในฤดูถัดไปจะแสดงอาการกล้าไหม้หรือเมื่อเชื้อเข้าทำลายเมล็ดข้าวที่จะนำไปบริโภคพบว่าทั้งคุณภาพของเมล็ดและผลผลิตจะลดลง Bedi และ Gill (1960) รายงานว่า เมื่อเชื้อโรคนี้เข้าทำลายข้าวแล้วน้ำหนักของผลผลิตจะลดลงประมาณ 4.58-29.1%

เชื้อรา *Cercospora oryzae* สามารถจำแนกกลุ่ม และเรียงลำดับได้ดังนี้

Division	Eumycota
Subdivision	Deuteromycotina
Form-class	Hyphomycetes
Form-order	Hyphales (Moniliales)
Form-family	Dematiaceae
Form-genus	*Cercospora*
Form-species	*C. oryzae*

Miyaki (1910) เป็นคนแรกที่ได้รายงานถึงเชื้อ *C. oryzae* ในประเทศญี่ปุ่น ได้บรรยายลักษณะต่างๆ ของเชื้อราชนิดนี้ไว้คือ conidiophore งอกออกมาจาก stomata อันเดียวหรืออาจเป็นกลุ่ม กลุ่มละ 2-3 อัน ที่ปลายของก้าน conidiophore มีสีซีด-อ่อน ก้าน conidiophore มี 3-10 septates ขนาด 88-140 x 4.5 ไมโครเมตร หลังจากนั้น (Constantinescu, 1982) ได้จัดเชื้อราชนิดนี้ใหม่โดยให้เปลี่ยน species เป็น *janseana* และให้ใช้ชื่อ *C. janseana* โดยเชื้อราสาเหตุโรคนี้เมื่อทำให้เกิดอาการบนใบจะมีลักษณะเป็นแผลขีดสีน้ำตาลพบได้ทั่วไปในประเทศแถบเอเชียและอีกหลายๆ ประเทศทั่วโลก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เชื้อรา *Fusarium semitectum* สามารถจำแนกกลุ่ม และเรียงลำดับได้ดังนี้

Division	Ascomycota
Subdivision	Deuteromycotina
Form-class	Hyphomycetes
Form-order	Hyphales (Moniliales)
Form-family	Tuberculariaceae
Form-genus	*Fusarium*
Form-species	*F. semitectum*

นิวัฒ (2526) ได้อธิบายถึง ลักษณะทั่วไปของ *Fusarium* spp. ว่ามีการสร้าง sporodocium (สปอโรโดเชียม) ในธรรมชาติแต่เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารจะมีการสร้างน้อยหรือไม่สร้างเลย spore เกิดอิสระจากเส้นใยโดยตรงลักษณะ conidium จัดอยู่ในพวก phialospore เกิดบนก้านที่เรียกว่า phialide อาจมีการแตกแขนงหรือไม่แตกก็ได้ spore (conidium) มี 2 แบบ แบ่งตามขนาดและรูปร่าง คือ 1. microconidium มีขนาดเล็ก อาจมีเซลล์เดียว หรือ 2 เซลล์ 2. macroconidium มีขนาดใหญ่มีหลายเซลล์ โดยเฉลี่ยมีขนาด 3-5 septate ขนาดของ conidia จะอยู่ระหว่าง 26-72 x 3-6 ไมโครเมตร ลักษณะโคโลนีของเชื้อราบนอาหาร PDA เมื่อเชื้อรามีอายุ 14 วัน สร้าง aerial mycelium หนาแน่น สีขาว มีลักษณะฟู บริเวณด้านล่างโคโลนีสีเหลืองออกน้ำตาล เส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 8.5 เซนติเมตร สร้าง sporodocium สีน้ำตาลอ่อน ไม่พบการสร้าง microconidium macroconidium รูปร่างโค้งเล็กน้อย (sickle-shaped) ผนังเซลล์ด้าน drosal surface มีความโค้งมากกว่าด้าน ventral surface มี 3 septate, basal cell รูป foot-shaped ขนาด 1.7-2.7 X 17.9-21.6 ไมโครเมตร สร้างบนก้าน conidiophore แบบ monophialidec ที่เป็นก้านเดี่ยวและแตกกิ่งก้าน ไม่พบการสร้าง chlamydospore (Nelson *et al*., 1983)

Ou (1985) ได้รวบรวมรายงานเกี่ยวกับอาการเมล็ดด่างของข้าวไว้ว่าเกิดได้จากเชื้อหลายชนิดโดยแบ่งเป็น 2 กลุ่มคือเชื้อราที่เข้าทำลายในช่วงก่อนการเก็บเกี่ยวและพวกที่เข้าทำลายภายหลังการเก็บเกี่ยว พบว่ามีเชื้อราใน สกุล *Fusarium* เกี่ยวข้องอยู่ด้วยหลาย species เช่น *F. graminearum (Gibberella zeae), F. moniliforme (Gibberella fujikuroi), F. nivale* ซึ่งแต่ละชนิดมีบทบาทในการทำให้เกิดโรคแตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ ในส่วนของประเทศไทย ทวีศักดิ์ และคณะ (2542) ได้รายงานว่า *F. semitectum* ก็เป็นเชื้อราอีกชนิดหนึ่งที่ทำให้เกิดอาการเมล็ดด่างในข้าว

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นอกจากนี้ในญี่ปุ่นพบว่ามีเชื้อ *F. roseum* ทำให้เกิดอาการเมล็ดสีชมพู (pink panicle) (Thomus, 1931)

เชื้อรา *Sarocladium oryzae* สามารถจำแนกกลุ่ม และเรียงลำดับได้ดังนี้

Division	Eumycota
Subdivision	Deuteromycotina
Form-class	Hyphomycetes
Form-order	Moniliales
Form-family	Dematiaceae
Form-genus	*Sarocladium (Acrocylindrium)*
Form-species	*S. oryzae*

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ เชื้อนี้มีเส้นใยสีขาวแตกกิ่งก้านกระจัดกระจายมี septate เส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5-2.0 ไมโครเมตร conidiophore ตั้งตรงจาก mycelium มีขนาดหนากว่า vegetative hypha เพียงเล็กน้อย conidiophore อาจแตกเป็นกิ่ง 2-3 กิ่งที่ปลาย conidiophore มี conidia เป็นกลุ่มกลุ่มละ 2-3 conidias ซึ่งหลุดออกจากกันง่าย ลักษณะของ conidia เป็นเซลเดี่ยวๆ รูปยาวรีสีขาวใสผนังเรียบขนาด 4-9 x 2.5 ไมโครเมตร ต่างจาก conidia ของ *Verticillium* คือ conidia ของรา *Acrocylindrium oryzae* จะมีขนาดยาวกว่า (Ou, 1985; Gilman, 1956) conidia ที่เกิดบนอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีขนาดใหญ่กว่า conidia ที่เกิดบนต้นข้าว คือมีขนาด 1.8-13 x 1.6 ไมโครเมตร (Tasugi และ Ikeda , 1956)

ความเสียหายที่เกิดกับเมล็ดข้าวมีเพียงเล็กน้อย แต่เมื่อเข้าทำลายรวงข้าวจะทำให้เกิดความเสียหายได้รุนแรง (Tasugi และ Ikeda, 1956) ในประเทศไทยพบว่ามีการระบาดอย่างรุนแรงในปี 2519 (วิภาดา, 2524) และจากการตรวจสอบในข้าวที่มีอาการเมล็ดด่าง โดยมีเชื้อราชนิดนี้เป็นสาเหตุพบว่ามีไรขาว (tarsonemid mite; *Steneotarsonemus madecassus*) จำนวนมากที่บริเวณ กาบใบและบนเมล็ด เมื่อแยกเชื้อจากรวงข้าวที่ลีบ พบ conidia ของรา *Acrocylindrium oryzae* เป็นจำนวนมาก และพบว่า 97% ของไรขาวเป็นพาหะของเชื้อราชนิดนี้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การแพร่ระบาด

เชื้อราสามารถแพร่กระจายไปกับลม ติดไปกับเมล็ด และสามารถแพร่กระจายในยุ้งฉางได้

การควบคุมโรคเมล็ดด่าง และเชื้อราสาเหตุของโรค

การควบคุมโดยวิธีทางเคมี

เนื่องจากปัจจุบันยังไม่มีพันธุ์ข้าวที่ต้านทานต่อโรคเมล็ดด่าง ดังนั้นการป้องกันโรคนี้จึงควรคัดเลือกเมล็ดพันธุ์ที่สะอาด และควรคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสารเคมี เช่น คาร์เบนดาซิม (carbendazim) หรือ แมนโคเซบ (mancozeb) และในระยะข้าวกำลังออกรวง หรือออกรวงแล้ว ถ้ามีฝนตกชุก ควรพ่นด้วยสารเคมีทิลท์ โพลีอ็อกซิน เดลซีน-เอ็มเอ็กซ์ ซีลเทน บาวิสติน หรือฮิโนซาน หรือเมื่อพบรวงข้าวมีเมล็ดด่างเพียงเล็กน้อย ควรพ่นด้วยสารเคมีโพรพิโคนาโซล เมื่อข้าวตั้งท้องและระยะออกรวง หรือพ่นสารเคมีคาร์เบนดาซิม เมื่อข้าวออกรวง และหลังพ่นครั้งแรก 7-15 วัน (เอกสงวน, 2547; ดารา และคณะ, 2545)

อย่างไรก็ตามได้มีรายงานว่าการใช้สารเคมี propiconazole ร่วมกับ difenoconazole (Amurae 30% EC) พ่นต้นข้าวในขณะที่ตั้งท้องใกล้ระยะออกรวง และระยะรวงเริ่มโผล่ได้ 5 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดความรุนแรงของโรคเมล็ดด่างได้สูงกว่าการใช้สารเคมี propiconazole เพียงอย่างเดียว แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (พากเพียร และคณะ, 2548 ข)

การควบคุมโดยชีววิธี

จิระเดช และคณะ (2548) ได้รายงานว่าการใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 และ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ B03 แช่เมล็ดข้าวก่อนปลูก และพ่นเชื้อก่อนข้าวออกรวงในสภาพแปลงปลูกขนาดเล็ก สามารถลดการเกิดโรคเมล็ดด่าง เมล็ดลีบและเพิ่มน้ำหนักผลผลิตได้ จึงนำเชื้อรา *T. harzianum* มาฉายรังสีแกมมา เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. harzianum* ในการควบคุมโรค พบสายพันธุ์กลายจำนวน 2 สายพันธุ์ คือ 23/03-7 (สายพันธุ์กลายที่ได้จากการฉายรังสีแกมมาครั้งที่ 1) และ 03/7-I34 (สายพันธุ์กลายที่ได้จากการฉายรังสีแกมมาครั้งที่ 2) มีเปอร์เซ็นต์การครอบครองรากสูง และส่งเสริมการเจริญของรากได้ดีในระดับห้องปฏิบัติการ เมื่อนำเชื้อรา

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

T. harzianum สายพันธุ์กลายทั้งสองสายพันธุ์ไปทดสอบประสิทธิภาพในสภาพแปลงนา เปรียบเทียบกับสายพันธุ์เริ่มต้น CB-Pin-01 พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* ทุกสายพันธุ์สามารถเจริญครอบครองรากข้าวได้ทุกระยะการเจริญเติบโต โดยพบการเจริญครอบครองรากได้ทุกส่วน ทั้งโคนราก กลางรากและปลายราก และพบสายพันธุ์กลาย 03/7-I34 ช่วยลดเปอร์เซ็นต์เมล็ดด่างและมีศักยภาพในการเพิ่มผลผลิตของข้าวได้สูงกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (จิระเดช และวรรณวิไล, 2550)

นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อรา *T. harzianum, T. pseudokonigii, Aspergillus niger, A. candidus, Penicillium* sp., เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* และ *Pseudomonas aeruginosa* ไอโซเลต I และ II สามารถยับยั้งเชื้อรา *Alternaria alternata, C. lunata* (*Cochliobolus lunatus*) และ *F. solani* (*Nectria haematococca*) สาเหตุโรคบนเมล็ดข้าวได้ และพบว่าสารกรองของเชื้อรา *T. harzianum, A. niger, A. candidus* และเชื้อแบคทีเรีย *P. aeruginosa* ทั้งสองไอโซเลต สามารถลดการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคดังกล่าวบนอาหาร PDA ลดน้ำหนักแห้งของเส้นใย ลดการงอกของสปอร์ และความยาวของเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคได้ รวมทั้งยังพบว่าสารกรองของเชื้อปฏิปักษ์ดังกล่าวไม่มีผลต่อการงอกของเมล็ดข้าว และสามารถลดปริมาณของเชื้อราสาเหตุโรคบนเมล็ดข้าวได้ (Sarhan and Shibly, 2003) นอกจากนี้ Bressan (2003) ได้ศึกษาเชื้อ *Streptomyces* spp. 2 สายพันธุ์ (DAUFPE 11470 และ DAUFPE 14632) ที่แยกจากบริเวณ rhizosphere ของข้าวโพดในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคของเมล็ดข้าวโพดในโรงเก็บ พบว่าการใช้เชื้อ *Streptomyces* spp. ในรูปเซลล์แขวนลอยและสารกรองเพียงอย่างเดียว แช่เมล็ดข้าวโพด สามารถยับยั้งเชื้อรา *C. lunata, Aspergillus* spp., *Drechslera maydis, Cephalosporium acremonium* และ *F. subglutinans* ได้ แต่ต้องใช้เชื้อ *Streptomyces* spp. ในรูปเซลล์แขวนลอยร่วมกับการทำความสะอาดเมล็ดด้วย 2% sodium hypochlorite จึงจะสามารถยับยั้งเชื้อรา *Diplodia maydis* ได้

กาญจนา (2539) ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* sp. จำนวน 12 ไอโซเลต ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rhizoctonia* sp. สาเหตุโรคเหี่ยวของสตรอเบอร์รี่ พบว่า *T. viride* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rhizoctonia* sp. ได้สูงสุด โดยทำให้เส้นใยของเชื้อราสาเหตุเหี่ยวแฟบลง และสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* sp. โดยการเข้าไปเจริญในเส้นใยของเชื้อรา *Fusarium* sp.

ต่อมา มณฑา และคณะ (2541) นำ *T. harzianum* คลุกลงในดินปลูกถั่วเหลืองฝักสดพันธุ์ TVB 7 ที่มีเชื้อ *Sclerotium rolfsii* เจริญอยู่ พบว่า *T. harzianum* สามารถลดความเสียหายของโรค

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

โคนเน่าได้ โดยทำให้จำนวนต้นเป็นโรคเมื่ออายุ 30 วันหลังปลูก ลดลงได้มากที่สุดถึงร้อยละ 62 และทำให้ความสูงตลอดจนน้ำหนักสดของถั่วเหลืองฝักสดเพิ่มขึ้น ยอดชาย (2543) ได้รายงานผลการแยกเชื้อราปฏิปักษ์จากดินบริเวณแปลงปลูกสตรอเบอรี จังหวัดเชียงใหม่ พบเชื้อราจำนวน 38 ไอโซเลต นำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 8 ชนิด คือ *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp., *Colletotrichum* sp., *Phomopsis obscurans, Phaeoisariopsis griseola, Septoria* sp., *Alternaria solani* และ *A. brassicicola* ในห้องปฏิบัติการบนอาหาร PDA โดยใช้ Dual Culture Technique พบราปฏิปักษ์ที่มีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุได้ดี จำนวน 3 ไอโซเลต ได้แก่ ไอโซเลต CMU 2000-9, CMU 2000-14 และ CMU 2000 - 16 เมื่อจำแนกชนิดราปฏิปักษ์ที่แยกได้ พบว่า คือ *Trichoderma viride, T. harzianum* และ *T. hamatum* ตามลำดับ

อย่างไรก็ตามนอกจากเชื้อราปฏิปักษ์แล้ว ยังพบเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีการนำมาใช้ในการควบคุมโรคอย่างแพร่หลาย เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียมีกลไกในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรค 4 ลักษณะ (นิพนธ์, 2546) ดังนี้

1. การแข่งขันกับเชื้อโรค (Competition) เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์มีความสามารถในการแข่งขันกับเชื้อสาเหตุโรคพืชในด้านต่างๆ เช่น การใช้ธาตุอาหาร อากาศ และการครอบครองพื้นที่ได้ดีกว่า ทำให้เชื้อสาเหตุโรคพืชไม่สามารถเจริญ หรืออาศัยอยู่ในบริเวณที่มีเชื้อปฏิปักษ์ ส่งผลให้เจริญเติบโตแข็งแรง มีผลผลิตสูงขึ้น สำหรับการแข่งขันที่พบมากคือการที่เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สามารถนำธาตุอาหารหรือสารต่างๆ ที่มีอยู่ในดินหรือในสภาพแวดล้อมนั้นมาใช้ประโยชน์ในการเจริญได้ดีกว่าเชื้อโรค ทำให้เชื้อโรคขาดสารอาหาร ไม่สามารถเจริญเข้าทำลายพืช เช่น การที่เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *P. fluorescens* ผลิตสาร siderophore ที่ช่วยในการจับยึดธาตุเหล็ก (Iron, Fe^{+3}) จึงทำให้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *P. fluorescens* สามารถใช้ธาตุเหล็กได้ดีกว่าเชื้อรา *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* สาเหตุโรค Take-all ของข้าวสาลี ทำให้เชื้อรานี้ไม่สามารถเข้าทำลายรากของข้าวสาลีได้ ส่งผลให้ข้าวสาลีเจริญเติบโต และมีผลผลิตดีขึ้น ซึ่งนิยมเรียกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีลักษณะนี้ว่า แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Plant Growth Promoting Rhizobacteria, PGPR) โดยแบคทีเรียนี้ชอบอาศัยอยู่ในดินบริเวณผิวราก (rhizoplane) หรือบริเวณรอบราก (rhizospere) (Schippers *et al*., 1987)

2. การผลิตสารปฏิชีวนะ (Antibiosis) เชื้อแบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ที่พบว่ามีการผลิตสารปฏิชีวนะได้หลากหลายมากที่สุด ซึ่งเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ได้รับความสนใจคัดเอามาใช้ในการ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีนั้น จะเน้นคุณสมบัติการทำลายชีวิตของเชื้อโรคเป็นส่วนใหญ่ และนับว่าเป็นกลไกชนิดแรกที่ศึกษา โดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์นี้สามารถผลิตสารที่มีคุณสมบัติยับยั้งหรือทำลายเชื้อโรค หรือจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้ เช่น สารพิษ (toxin) หรือสารปฏิชีวนะ (antibiotic) ที่นำมาผลิตใช้เป็นยารักษาโรคกับมนุษย์ สัตว์ และพืชมากมายในปัจจุบัน นอกจากนี้กลไกนี้ยังเป็นกลไกแรกที่ประสบความสำเร็จในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี นั่นคือการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Agrobacterium radiobacter* สายพันธุ์ K84 ซึ่งผลิตสาร bacteriocin ที่มีชื่อว่า agrocin 84 ไปยับยั้งหรือทำลายเชื้อแบคทีเรีย *A. tumefaciens* biotype 1 และ 2 สาเหตุโรค crown gall ของพืช ช่วยป้องกันการเกิดโรคกับต้นพืชได้ (Thomson, 1987; Penyalver *et al*., 2000) หรือในกรณีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *P. fluorescens* สายพันธุ์ 2-79 ที่ผลิตสารปฏิชีวนะ phenazine-1-carboxylate ซึ่งสามารถยับยั้งการเกิดโรค Take-all ของข้าวสาลีได้ 50-90 เปอร์เซ็นต์ (Cook, 1993)

3. การเป็นปรสิต (Parasitism) เชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็นปรสิต (parasite) สามารถเข้าไปเจริญอาศัยทำลายสิ่งมีชีวิตอื่นนั้นปัจจุบันพบไม่มากนัก และการใช้เพื่อควบคุมโรคพืชยังไม่ประสบความสำเร็จเหมือนกลไกการผลิตสารปฏิชีวนะ แต่ยังมีรายงานการเป็นปรสิตของเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia urediniolytics* ที่เข้าทำลาย pedicel ของสปอร์เชื้อราสนิม (rust) เชื้อแบคทีเรีย *Bdellovibrio bacteriovorus* ที่เป็นปรสิตของเชื้อแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *glycinnea* สาเหตุโรคใบไหม้ของถั่วเหลือง หรือเชื้อแบคทีเรีย *Pasteuria penetrans* (Syn. *B. penetrans*) ที่เป็นปรสิตของไส้เดือนฝอย *Meloidogyne incognita* สาเหตุโรครากปม (Cook and Baker, 1983) เชื้อแบคทีเรียเหล่านี้ยังไม่ได้รับความสนใจศึกษาปรับปรุงให้เกิดประโยชน์อย่างจริงจังจึงนับว่าเป็นส่วนหนึ่งที่น่าศึกษาพัฒนานำมาใช้ในการควบคุมโรคต่อไป

4. การชักนำให้เกิดความต้านทานโรค (Induce disease resistance) เป็นกลไกที่กำลังได้รับความสนใจศึกษากันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อรา หรือเชื้อแบคทีเรียบางชนิดที่เป็นเชื้อสาเหตุโรค เมื่อนำมาทำให้สูญเสียความสามารถในการก่อให้เกิดโรคแล้ว สามารถชักนำหรือกระตุ้นให้พืชสร้างความต้านทานต่อการทำลายของเชื้อโรคได้ เช่น การเกิดการกลายพันธุ์ในยีนเดียวของเชื้อรา *Colletotrichum magna* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพวกแตง (cucurbit) จะไม่ก่อให้เกิดโรค แต่จะเจริญอยู่ในพืช และช่วยให้พืชทนต่อการเข้าทำลายของเชื้อโรคดั้งเดิม (wild type) ได้ หรือในกรณีของเชื้อแบคทีเรีย *P. solanacearum* สายพันธุ์ไม่รุนแรง (avirulent) สามารถชักนำให้พืชสร้างสาร tomatine แล้วปลดปล่อยออกมาที่บริเวณรากทำให้มะเขือเทศต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อแบคทีเรีย *P. solanacearum* สายพันธุ์ดั้งเดิมได้ (Arwiyanto *et al*., 1994)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นอกจากนี้ ปัจจุบันยังพบว่ากลไกของจุลินทรีย์ควบคุมโรคพืชยังมีความสามารถเพิ่มจากที่กล่าวข้างต้นอีกหลายรูปแบบ (สุดฤดี, 2552) ดังนี้

1. การส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช โดยจุลินทรีย์จะกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะในระยะต้นกล้าเนื่องจากจุลินทรีย์สามารถครอบครองทีบริเวณรากของพืชและเจริญแข่งขันกับจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่บริเวณรากได้ดี นอกจากนี้จะผลิตสารที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตชนิดเดียวกับที่พืชผลิตได้ เช่น ออกซิน (auxin) จึงช่วยเพิ่มพูนการทำหน้าที่ของสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ดี

2. การผลิตสารส่งเสริมประสิทธิภาพการยึดติดแนบแน่นกับผิวพืช เชื้อจุลินทรีย์โดยเฉพาะแบคทีเรียหลายชนิดมีความสามารถยึดติดครอบครองผิวใบพืชได้แนบแน่น ซึ่งนอกจากจะช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพในลักษณะของการลดแรงตึงผิวพืชและเชื่อมสารที่มีประโยชน์ให้พืชสามารถรับได้เต็มที่แล้ว ยังกีดกันช่องทางเชื้อโรคอื่นไม่ให้สัมผัสพืชและเชื้อโรคไม่สามารถเข้าทำลายพืชได้

3. การรักษาและแก้ไขความผิดปกติตลอดจนการปรับสภาพความสมดุลให้พืชในทุกด้านรวมทั้งช่วยส่งเสริมควบคุมกระบวนการทางชีวเคมีหรือเมตาบอลิซึมให้เป็นปกติตามลักษณะทางพันธุกรรมพืช

4. การกระตุ้นและชักนำขีดความสามารถของลักษณะทางสรีรวิทยาพืชให้แสดงออกอย่างมีประสิทธิภาพ เช่น การชักนำลักษณะทางสรีรวิทยาของพืชที่เกี่ยวข้องในการสังเคราะห์แสง การคายน้ำ และการหายใจให้ดำเนินไปได้อย่างราบรื่นเต็มศักยภาพของพันธุ์พืชนั้น

5. การผลิตสารยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชต่างๆ ที่มีคุณสมบัติคล้ายสารปฏิชีวนะ เช่น สารแบคเทอริโอซิน และที่ไม่ใช่สารปฏิชีวนะ แต่เป็นพิษกับเชื้อโรค เช่น สารออกฤทธิ์เป็นกรดหรือสารพิษไซยาไนด์ หรือ เอนไซม์ย่อยผนังเซลล์เชื้อโรค

6. คุณสมบัติในการส่งเสริมและสนับสนุนการใช้ปุ๋ยหรือธาตุอาหารของพืช บทบาทของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์จะช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพในการใช้ธาตุอาหารต่างๆ ของพืช โดยปรับเปลี่ยนธาตุอาหารให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ เช่น การเปลี่ยนรูปจากก๊าซไนโตรเจนในบรรยากาศให้อยู่ในรูปของสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจน (ลักษณะเช่นเดียวกับปุ๋ย-

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ยูเรีย) ซึ่งพืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ หรือการเพิ่มพูนปุ๋ยฟอสเฟตให้กับพืช นอกจากนี้ยังเพิ่มพื้นผิวบริเวณรากพืชทำให้พืชดูดซับธาตุอาหารได้เพิ่มมากขึ้น เช่น ราไมโคไรซา เป็นต้น

จะเห็นได้ว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์นั้นมีหน้าที่ยับยั้งหรือควบคุมเชื้อโรคพืชได้ดี จึงอาจเรียกจุลินทรีย์เหล่านี้ว่าจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ขณะเดียวกันก็สามารถทำหน้าที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช และช่วยทำให้พืชมีสุขภาพที่ดีโดยองค์รวมจึงเรียกจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์เหล่านั้นว่า จุลินทรีย์ที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตพืช (plant growth promotion) หรือจุลินทรีย์สุขภาพ รวมทั้งกระตุ้นภูมิต้านทานพืชได้ทั้งระบบ ก็อาจจะมีชื่อเรียกเฉพาะเจาะจงดังกล่าวได้เช่นกัน เช่น จุลินทรีย์ที่ช่วยกระตุ้นภูมิต้านทานพืชได้ทั้งระบบ (induced systemic resistant: ISR)

สำหรับเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการควบคุมโรคเป็นจำนวนมากคือ เชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Pseudomonas* spp. และ *Bacillus* spp. เนื่องจากสามารถเพิ่มปริมาณได้อย่างรวดเร็ว และผลิตสารปฏิชีวนะได้หลายชนิด ส่วนใหญ่เป็นสารจำพวกเปปไทด์ และ โพลีเปปไทด์ โดยสารปฏิชีวนะที่เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* spp. ผลิตขึ้นและสามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ คือ pyoluteorin, 2,4-diacetylphluoroglucinol (DAPG), siderophore, pyrrolnitrin, phenazine-1-carboxylic acid (PCA), antharanilic acid (Thomashow and Weller, 1990; Schnider *et al*., 1995; Bakker *et al.*, 2002) phenazine-1-carboxamide (PCN) (Chin *et al.*, 2001) และ viscosinamide (Thrane *et al.*, 2000)

สำหรับเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* นั้นมีรายงานว่าสามารถผลิตสารปฏิชีวนะได้ถึง 65-70 ชนิด (Lee and Jame, 1985) โดยสารที่ผลิตขึ้นและสามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ ได้แก่ Iturin A, Surfactin (Asaka and Shoda, 1996) bacilysin, fengymycin A และ B (Loeffler *et al.* 1986) bacliomycin (Chevanet,1986) albolutin, bacillin, fungistatin (Katz and Demain, 1977) รวมทั้งยังสามารถผลิตเอนไซม์ β-glucanase (Fergus and Richard, 1990) chitinase และ β-1,3 glucanase ได้ (Marten *et al.*, 2000) และพบสาร zwittermicin A ซึ่งผลิตโดยเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* (He *et al.*, 1994) นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. thuringiensis* ก็สามารถผลิตเอนไซม์ chitinase ได้เช่นกัน (Reyes-Ramírez *et al.*, 2004)

มานะ และคณะ (2536) ได้แสดงให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่แยกจากธรรมชาติสามารถผลิตสารปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคข้าวได้หลายชนิด เช่นเชื้อรา *Rhizoctonia solani* สาเหตุโรคกาบใบแห้ง เชื้อรา *Pyricularia oryzae* สาเหตุโรคไหม้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

(blast) และเชื้อรา *C. lunata* สาเหตุโรคเมล็ดด่างของข้าวได้ และจากรายงานในต่างประเทศพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. สายพันธุ์ BC121 ที่แยกจาก rhizosphere ของข้าวฟ่าง สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. lunata* ได้ ซึ่งเมื่อนำไปดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่าผนังของเส้นใยเชื้อรา *C. lunata* ถูกทำลาย โดยเส้นใยเกิดการแตกสลาย (lysis) และเมื่อนำเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. สายพันธุ์ BC121 ไปทดสอบบนอาหารที่มี 0.5% colloidal chitin พบบริเวณใสเกิดขึ้น ดังนั้นเชื้อแบคทีเรียนี้จึงน่าจะมีกลไกการยับยั้งเชื้อรา *C. lunata* โดยการสร้างเอนไซม์ chitinase (Basha and Ulaganathan, 2002)

ประไพศรี และคณะ (2540) ทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภาพจาก *Bacillus subtilis* ในการควบคุมการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 11 สายพันธุ์ คือ *Aspergillus, Alternaria* sp. *Botryodiplodia* sp., *Colletotrichum* sp. *Corynespora* sp., *Curvularia* sp., *Dithiorella* sp., *Geotrichum* sp., *Phytophthora* sp., *Pestalotia* sp. และ *Phomopsis* sp. พบว่า สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพืช *Alternaria* sp., *Colletotrichum* sp., *Corynespora* sp., *Phytophthora* sp., *Pestalotia* sp., และ *Phomopsis* sp. ได้โดยสมบูรณ์

พากเพียร และคณะ (2548 ก) ได้นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. No.004, 009 และ 003 ที่มีความสามารถในการควบคุมโรคเมล็ดด่างมาใช้ร่วมกัน พบว่าการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 2 ไอโซเลตร่วมกันมีระดับความรุนแรงของโรคเมล็ดด่างต่ำกว่าการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์แบบเดี่ยวๆ และกรรมวิธีความควบคุม แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์แบบเดี่ยวๆ

พากเพียร และคณะ (2550) ได้นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* No.33 ซึ่งผ่านการคัดเลือกจากห้องปฏิบัติการ เรือนทดลองและแปลงนาทดลองมาผลิตเป็นผงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์แล้วนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเมล็ดด่างของข้าว โดยใช้ร่วมกับสารป้องกันกำจัดโรคพืช ในสภาพแปลงนาทดลองศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี บนข้าวพันธุ์ข้าวเจ้าหอมคลองหลวง 1 พบว่า การพ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* No.33 ความเข้มข้น $1.6x10^8$ CFU/ml ร่วมกับสารป้องกันกำจัดโรคพืช carbendazim+epoxiconazole 25% SC หรือpropiconazol 25% EC หรือ propiconazol+difenoconazole 30% EC ในอัตราสารออกฤทธิ์ครึ่งหนึ่งของอัตราแนะนำ ในระยะตั้งท้องใกล้ออกรวงและระยะรวงข้าวโผล่ได้ 5 เปอร์เซ็นต์ จะให้ผลในการควบคุมโรคเมล็ดด่างของข้าวในนาได้ดีเท่ากับการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช carbendazim+epoxiconazole 25% SC หรือ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

propiconazol 25% EC หรือ propiconazol+difenoconazole 30% EC ในอัตราสารออกฤทธิ์อัตรา แนะนำ

Nanda and Gangopadhyay (1983) ได้นำเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ที่แยกจากดิน มาแช่เมล็ดข้าวก่อนปลูก และพ่นด้วยเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียดังกล่าว เมื่อข้าวอายุ 30 และ 60 วัน พบว่าสามารถป้องการเข้าทำลายของเชื้อรา *Bipolaris oryzae* สาเหตุโรคใบจุดสีน้ำตาลของข้าวในระยะต้นกล้า และระยะที่ข้าวแตกกอได้

นอกจากการนำจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มาใช้ในการควบคุมโรคของข้าวแล้ว ยังพบว่าการใส่ปุ๋ยโพแทสเซียม (0-0-60) ในอัตรา 15 กก.ต่อไร่ เมื่อข้าวอายุ 1 เดือน มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีสูงกว่าการไม่ใส่ปุ๋ย 15.15% และมีเปอร์เซ็นต์เมล็ดด่างต่อรวงต่ำกว่าการไม่ใส่ปุ๋ย 12.56% ส่วนการใส่ปุ๋ยโพแทสเซียมในปริมาณที่มากเกินไป จะทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเพิ่มขึ้น (วรรณพรรณ และปราโมทย์, 2549) แต่ ลือชัย และคณะ (2550) ได้ทดลองพบว่า การใส่ปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์สามารถลดความลดความรุนแรงของโรคเมล็ดด่างในข้าวพันธ์ กข 9 และคลองหลวง 1 ได้ แต่ไม่มีผลต่อข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 และสุพรรณบุรี 1

แบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ KPS46 แยกได้จากผิวใบและรากถั่วเหลือง สามารถผลิตสารยับยั้งแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* สาเหตุโรคใบจุดนูนของถั่วเหลือง รวมทั้งผลิตสารปฏิชีวนะเซอร์เฟสติน (surfactin) เพื่อยับยั้งเชื้อโรคพืชหลายชนิด และสารนี้ยังช่วยในการยึดติดแนบแน่นกับผิวพืชจึงไม่เหลือพื้นที่ให้เชื้อโรคเข้าทำลาย และสามารถเพิ่มการผลิตฮอร์โมนพืช เช่น ออกซินกระตุ้นให้ต้นถั่วเหลืองแข็งแรงสมบูรณ์รวดเร็วให้ผลผลิตสูง และรอดพ้นจากการถูกเชื้อโรคทำลาย ตลอดจนกระตุ้นให้พืชหลายชนิดผลิตสารต่างๆ ในระบบภูมิต้านทาน ใช้ยับยั้งการเข้าทำลายของเชื้อโรคและแมลงซึ่งสารบางชนิดที่พืชถูกกระตุ้นให้สะสมเพิ่มขึ้นโดยเชื้อแบคทีเรีย KPS46 นั้นมีความเป็นพิษต่อแมลง จึงสามารถลดการระบาดของแมลงพาหะนำโรคได้อีกทางหนึ่ง ตลอดจนเพิ่มความทนทานต่อสภาพแล้งหรือขาดน้ำของพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมทั้งสามารถส่งเสริมให้พืชสังเคราะห์แสงได้เพิ่มมากขึ้น ทำให้พืชเจริญเติบโตดีรวดเร็วรอดพ้นจากการเข้าทำลายของเชื้อโรค รวมทั้งโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสลดลงภายใต้การกระตุ้นภูมิคุ้มกันพืช (สุดฤดี, 2552)

แบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescens* สายพันธุ์ SP007s แยกจากดินรอบรากกะหล่ำดอก สามารถเจริญแข่งขันคลุมทับเชื้อสาเหตุโรคได้อย่างรวดเร็ว และผลิตสารไซเดอโรฟอร์ที่มี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ความจำเพาะเจาะจงในการจับอนุมูลของธาตุเหล็กในดิน ทำให้ธาตุเหล็กอยู่ในรูปแบบที่แบคทีเรียปฏิปักษ์ SP007s และพืชนำไปใช้ได้ดี แต่เชื้อโรคเจริญช้ากว่าจนนำธาตุเหล็กไปใช้ไม่ได้จึงอ่อนแอและตายไป และแบคทีเรียปฏิปักษ์ดังกล่าวยังสามารถผลิตสารปฏิชีวนะหลายชนิดยับยั้งเชื้อโรคพืชได้โดยตรง รวมทั้งสามารถผลิตฮอร์โมนพืชออกซินและจิบเบอริลินกระตุ้นให้พืชเศรษฐกิจเจริญเติบโตสมบูรณ์แข็งแรงอย่างรวดเร็ว สามารถรอดพ้นวิกฤติจากการเข้าทำลายของเชื้อโรคในระยะต้นกล้าได้ดี รวมทั้งการผลิตสารภูมิต้านทานเช่นเดียวกับแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ KPS46 ส่งผลให้พืชมีผลผลิตที่มีคุณภาพเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะการกระตุ้นให้พืชสร้างสารกลูโคซิโนเลท (glucosinolate) ซึ่งเป็นสารที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *X. campestris* pv. *campestris* สาเหตุโรคขอบใบทองของคะน้าได้เป็นอย่างดี ตลอดจนมีความเป็นพิษต่อแมลงและหนอนใยผัก ทั้งยังพบว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ SP007s มีประสิทธิภาพในการลดจำนวนประชากรอย่างจำเพาะเจาะจงกับเชื้อโรคพืชเท่านั้น ไม่เข้าทำลายแบคทีเรียที่มีการดำรงชีพอิสระ (ไม่ใช่เชื้อสาเหตุโรค) จึงไม่มีผลกระทบต่อความหลากหลายของจุลินทรีย์ในสภาพแวดล้อม และได้รับการยอมรับในทางวิทยาศาสตร์แล้วว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ SN700s ไม่ใช่เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค และมีความปลอดภัยสูงต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม (สุดฤดี, 2552)

และยังพบว่าสารสกัดจากลำต้นและรากของวัชพืช 5 ชนิด คือ ครอบจักรวาล (*Abutilon lidicom* L.) โคกกระออม (*Cardiospermum nalicaca* Buml.) ชุมเห็ดเทศ (*Cassia alata* L.) ตดหมูตดหมา (*Paeteria piliera* Hook.) และต้อยติ่ง (*Ruellia tuberosa* L.) ที่สกัดสารด้วยน้ำอัตราส่วน 1 ต่อ 20 (กรัมน้ำหนักสดต่อมิลลิลิตร) โดยแช่ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 24 ชั่วโมง จากนั้นกรองด้วยผ้าขาวบาง เมื่อนำสารที่สกัดได้มาผสมอาหาร PDA อัตรา 5: 15 (โดยปริมาตร) แล้วนำสปอร์ของเชื้อรา *C. lunata* 50,000 สปอร์มาเกลี่ยบนอาหารดังกล่าว ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าที่ 72 ชั่วโมงยังสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. lunata* สาเหตุโรคเมล็ดด่างได้มากกว่า 99 เปอร์เซ็นต์ (พิสุทธิ์ และคณะ, ม.ป.ป.)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 ชนิดผง ในสภาพเรือนทดลอง (ฤดูนาปี: เดือนกรกฎาคม-เดือนตุลาคม 2555: พันธุ์สุพรรณบุรี 3)

1.1 การผลิตเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 ชนิดผง

นำเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 (นิชากร, 2553) ซึ่งมีประสิทธิภาพดีในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้าข้าว เพิ่มปริมาณผลผลิต เปอร์เซ็นต์เมล็ดดี และลดเปอร์เซ็นต์เมล็ดด่าง มาทำเป็นสูตรสำเร็จชนิดผง โดยเตรียมวัสดุอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งประกอบด้วยดิน ธัญพืช และโปรตีนผง ผสมคลุกเคล้าให้เข้ากัน ใส่น้ำลงไปเล็กน้อย เพื่อให้ความชื้น แล้วนำวัสดุอาหารไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที 2 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียที่เลี้ยงในอาหาร nutrient glucose broth (NGB) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง มาใส่ในวัสดุอาหารที่เตรียมไว้ โดยใช้อัตราเชื้อ 10 มิลลิลิตรต่อวัสดุอาหาร 300 กรัม คลุกเคล้าให้เข้ากัน บ่มไว้ 48 ชั่วโมง แล้วนำไปผึ่งให้แห้ง เพื่อให้ความชื้นลดลงจนมีค่าไม่เกิน 10 เปอร์เซ็นต์

1.2 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 ชนิดผงในการลดโรคเมล็ดด่าง และเพิ่มผลผลิตของข้าว

ทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 ในการเพิ่มผลผลิต และลดโรคเมล็ดด่าง เปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใช้สารเคมีควบคุมเชื้อรา mancozeb 80% WP คลุกเมล็ดพันธุ์ (3 กรัม/เมล็ดข้าว 1 กิโลกรัม) และพ่นต้นข้าวด้วย propiconazole + difenoconazole 30% EC (15 ซีซี/น้ำ 20 ลิตร) โดยแช่เมล็ดพันธุ์ข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 3 ในเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียที่เตรียมจากผงเชื้อผสมน้ำ อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และบ่มไว้ในห่อผ้าชื้นเป็นเวลา 1 คืน ก่อนนำไปหยอดในถาดเพาะกล้ารองก้นหลุมด้วย vermiculite เล็กน้อยเพื่อปิดรู แล้วใส่ดินลงไปเกือบเต็มหลุม หยอดเมล็ดข้าวหลุมละ 2 เมล็ด เมื่อ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กล้าข้าวอายุ 14 วัน ย้ายลงแปลงปลูกขนาด 1x3 ตารางเมตรที่บรรจุดินนา จำนวน 30 ต้น ในสภาพเรือนปลูกข้าวทดลองที่ได้รับแสงแดด 100 เปอร์เซ็นต์

พ่นเซลล์แขวนลอยที่เตรียมจากผงเชื้อผสมน้ำ อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ลงบนต้นข้าว จำนวน 3 ครั้ง คือ ระยะแตกกอ (45 วันหลังปลูก) ระยะตั้งท้อง (75 วันหลังปลูก) และระยะออกรวง (90 วันหลังปลูก) การทดลองประกอบด้วย 5 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำๆ ละ 30 ต้นต่อแปลงปลูก ขนาด 1x3 ตารางเมตร กำหนดแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Randomized complete block design, RCB)

กรรมวิธีที่ 1 = กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 แช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวจำนวน 3 ครั้ง

กรรมวิธีที่ 2 = กรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* สายพันธุ์ 01-52 ชนิดเม็ด แช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวจำนวน 3 ครั้ง

กรรมวิธีที่ 3 = กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 ร่วมกับเชื้อรา *Trichoderma harzianum* สายพันธุ์ 01-52 ชนิดเม็ด แช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าว จำนวน 3 ครั้ง

กรรมวิธีที่ 4 = กรรมวิธีที่ใช้สารเคมีควบคุมเชื้อรา mancozeb 80% WP คลุกเมล็ดพันธุ์ และพ่นต้นข้าวด้วย propiconazole+difenoconazole 30% EC

กรรมวิธีที่ 5 = กรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า และพ่นด้วยน้ำเปล่าจำนวน 3 ครั้ง

ดูแลรักษาต้นข้าวตามคำแนะนำของศูนย์ขยายเมล็ดพันธุ์ข้าวจังหวัดราชบุรี โดยใส่ปุ๋ยเคมีครั้งที่ 1 หลังปลูก 15 วัน สูตร 16-20-0 อัตรา 30 กิโลกรัมต่อไร่ ใส่ปุ๋ยเคมีครั้งที่ 2 หลังปลูก 45 วัน สูตร 46-0-0 อัตรา 15 กิโลกรัมต่อไร่ ใส่ปุ๋ยเคมีครั้งสุดท้าย หลังปลูก 55 วัน สูตร 46-0-0 อัตรา 10 กิโลกรัมต่อไร่

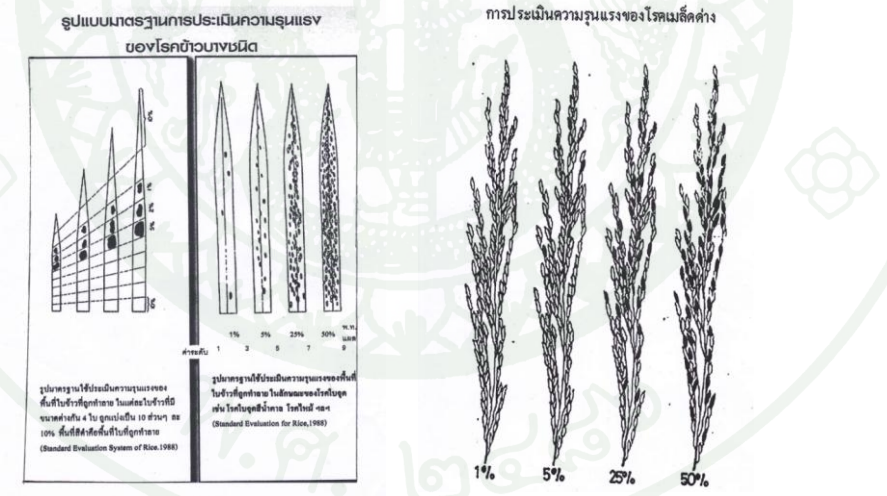
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.3 การตรวจผลผลิตและคุณภาพของเมล็ดข้าว

บันทึกน้ำหนักผลผลิตต่อ 1×3 ตารางเมตร สุ่มจากผลผลิตที่เก็บเกี่ยวได้ทั้งหมดชั่ง 10 กรัมมานับจำนวนเมล็ดดี เมล็ดด่าง และเมล็ดลีบ โดยชั่งเมล็ดข้าวกรรมวิธีละ 3 ซ้ำ จากนั้นคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์และน้ำหนัก 1,000 เมล็ดดี เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม 2.5.3.4 คุณภาพการขัดสี เป็นข้าวกล้อง ด้วยเครื่องสีข้าวขาว-ข้าวกล้องขนาดเล็ก บันทึกน้ำหนักเมล็ดข้าวที่ขัดสีได้ จากนั้นนำข้าวกล้อง และข้าวสารที่ได้มาตรวจสอบคุณภาพการสีข้าว โดยบันทึกผลเป็นน้ำหนักข้าวเต็มเมล็ด และน้ำหนักข้าวหักเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

1.4 การประเมินโรคบนใบและรวงของข้าว

ประเมินโรคตามเกณฑ์ของกรมการข้าว โดยประเมินบนใบยอด (ใบธง) และรวงข้าวในระยะเก็บเกี่ยวที่ได้จากการเก็บเกี่ยวผลผลิต ทำกรรมวิธีละ 4 ซ้ำซ้ำละ 20 ใบ ตามภาพที่ 1



ภาพที่ 1 เกณฑ์การประเมินความรุนแรงของโรคใบจุดสีน้ำตาลและโรคเมล็ดด่างทั้งรวง โดยกรมการข้าว (ดาราและคณะ, 2550)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.5 การตรวจการครอบครองผิวเมล็ดข้าวของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

นำเมล็ดข้าวหลังจากแช่ด้วยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และบ่มเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากแต่ละกรรมวิธีมาซับให้แห้งด้วยกระดาษซับนึ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นนำเมล็ดข้าวไปวางบนอาหาร NGA ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin ความเข้มข้น 50 ppm สำหรับเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ และ Martin's medium สำหรับเชื้อรา *T. harzianum* กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ ซ้ำละ 10 เมล็ด บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง บันทึกเปอร์เซ็นต์การเจริญครอบครองผิวเมล็ดข้าว

1.6 การตรวจการเจริญครอบครองรากข้าวของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

สุ่มรากข้าวจากแต่ละกรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ชิ้น โดยสุ่มตัดรากข้าวจากข้าวอายุ 14, 64 และ 130 วัน แต่ละกรรมวิธี นำมาล้างน้ำให้สะอาด แล้วล้างด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้ออีก 2 ครั้ง ซับรากให้แห้งด้วยกระดาษซับนึ่งฆ่าเชื้อ วางบนอาหาร NGA ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin ความเข้มข้น 50 ppm สำหรับเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ และ Martin's medium สำหรับเชื้อรา *T. harzianum*

1.7 การตรวจการเจริญบนใบของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3

เมื่อต้นข้าวอายุ 75 วัน พ่นเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียที่เตรียมจากผงเชื้อผสมน้ำอัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 100 ลิตร หลังจากพ่นเป็นเวลา 8 ชั่วโมง เก็บใบข้าวใบที่ 3 นับจากใบธงลงมา ซ้ำละ 3 ใบ หลังจากนั้นนำมาตัดความยาวประมาณ 1 เซนติเมตร แล้วนำมาวางบนอาหาร NGA ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin 50 ppm บันทึกจำนวนรอยใบที่พบเชื้อแบคทีเรียเจริญ แล้วคำนวณเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตรอดของเชื้อแบคทีเรียหลังพ่น 8 ชั่วโมง

1.8 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ผลการทดลองที่ได้ทั้งหมด โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์สถิติสำเร็จรูป SAS Version 9.1.3 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยและทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (P=0.05) ตามแผนการทดลองแบบ RCB ในแปลงปลูกพืชทดลองขนาดเล็ก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. การทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 ชนิดผง ในสภาพสภาพแปลงนา (ฤดูนาปี: เดือนสิงหาคม-เดือนธันวาคม 2555: พันธุ์ขาวดอกมะลิ105)

2.1 เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* ที่ใช้ทดสอบ

ใช้ชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 ชนิดผง ในอัตรา 20 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร ผสมสารจับใบเล็กน้อย สำหรับแช่เมล็ดข้าวและพ่นลงบนต้นข้าว

2.2 การเตรียมเมล็ดพันธุ์ข้าวที่ใช้ทดสอบ

แช่เมล็ดข้าวโดยนำเมล็ดข้าวเปลือกพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 แช่ในน้ำเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 ชนิดผง นาน 15 ชั่วโมง ยกถุงเมล็ดพันธุ์ข้าวขึ้นจากน้ำเชื้อแล้วบ่มต่ออีก 24 ชั่วโมง ก่อนนำไปหว่านอัตรา 15 กิโลกรัมต่อไร่ ในแปลงนาขนาด 1,200 ตารางเมตร/กรรมวิธี

2.3 การดูแลต้นข้าว และกรรมวิธีที่ใช้ทดสอบ

ใส่ปุ๋ยครั้งที่ 1 สูตร 16-12-8 เมื่อข้าวอายุ 25 วัน อัตราปุ๋ยเคมี 25 กิโลกรัมต่อไร่ หว่านทั่วแปลง ใส่ปุ๋ยครั้งที่ 2 สูตร 14-5-25 อัตรา 20 กิโลกรัม/ไร่ เมื่อข้าวอายุ 50 วัน วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) ซึ่งประกอบด้วย 4 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 6 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 = กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 แช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวจำนวน 3 ครั้ง

กรรมวิธีที่ 2 = กรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* สายพันธุ์ 01-52 ชนิดเม็ด แช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวจำนวน 3 ครั้ง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กรรมวิธีที่ 3 = กรรมวิธีที่ใช้สารเคมีควบคุมเชื้อรา mancozeb 80%WP คลุกเมล็ดพันธุ์และพ่นต้นข้าวด้วย propiconazole+difenoconazole 30% EC

กรรมวิธีที่ 4 = กรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า และพ่นด้วยน้ำเปล่าจำนวน 3 ครั้ง

เตรียมเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดที่ใช้พ่นตามอัตราดังกล่าวข้างต้น และผสมสารจับใบเล็กน้อย พ่นลงบนต้นข้าวทั้งหมด 3 ครั้ง ในระยะแตกกอ (30 วันหลังหว่าน) ระยะข้าวตั้งท้อง (60 วันหลังหว่าน) ระยะรวงข้าวเริ่มโผล่ออกจากใบธงได้ 5 เปอร์เซ็นต์ (70 วันหลังหว่าน)

ในการทดลองนี้ ไม่ได้ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค แต่ปล่อยให้ข้าวที่ปลูกทดลองเกิดโรคเองตามธรรมชาติ (natural infection) เนื่องจากมีแปลงนาข้าวที่พบการระบาดของโรคใบขีดสีน้ำตาล ใบจุดสีน้ำตาล และโรคเมล็ดด่างอยู่รอบแปลงนาทดลอง

2.4 การเก็บตัวอย่างข้าวในแปลงนาทดลอง

2.4.1 วิธีการสุ่มเก็บตัวอย่างต้นข้าว

สุ่มเก็บตัวอย่างต้นข้าวในแปลงนาทั้งหมด 2 ระยะ คือ ระยะต้นข้าวแตกกอ และระยะเก็บเกี่ยว โดยเก็บห่างจากขอบคันนาแต่ละด้านประมาณ 3-5 เมตร เก็บตัวอย่างกอข้าวพร้อมระบบราก 3-5 กอ ต่อจุดด้วยความระมัดระวัง เพื่อไม่ให้รากข้าวขาดหรือขาดให้น้อยที่สุด

2.4.2 การเกี่ยวข้าวในแปลงนา

เมื่อข้าวถึงอายุการเก็บเกี่ยว ทำการสุ่มเก็บเกี่ยวรวงข้าวด้วยตารางสุ่มขนาด 1×1 ตารางเมตร จากแปลงนาเกษตรกรกรรมวิธีละ 6 จุด จุดละ 1 ตารางเมตร โดยมีระยะจุดห่างจากหัวแปลงทั้งด้านซ้ายและด้านขวาจุดละ 3-5 เมตร จุดละ 1 ตารางเมตร นำรวงข้าวที่เก็บเกี่ยวได้มาตากให้แห้งในที่ร่ม จนความชื้นของเมล็ดข้าวลดลงเหลือประมาณ 14-15 เปอร์เซ็นต์ จึงนำไปประเมินระดับการเกิดโรคเมล็ดด่างบนรวงข้าวและข้อมูลต่างๆ ที่ใช้ในการทดลองต่อไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.5 การบันทึกผลการทดลอง

2.5.1 การเจริญครอบครองเมล็ดข้าวของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

สุ่มเมล็ดข้าวจากการเพาะบ่ม นำไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ จานละ 10 เมล็ด ทำกรรมวิธีละ 3 ซ้ำ (เชื้อแบคทีเรียวางบนอาหาร NGA ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin ความเข้มข้น 50 ppm)

2.5.2 การเจริญครอบครองรากข้าวของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

ตรวจเปอร์เซ็นต์การเจริญครอบครองรากข้าวของเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 โดยสุ่มเก็บต้นข้าวในระยะแตกกอและระยะเก็บเกี่ยวกรรมวิธีละ 4 จุด โดยเก็บห่างจากขอบคันนาแต่ละด้านประมาณ 3 เมตร นำมาล้างรากด้วยน้ำไหลให้สะอาด สุ่มตัดรากไปซับให้แห้งด้วยกระดาษทิชชูนึ่งฆ่าเชื้อ แล้ววางบนอาหาร NGA ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin ความเข้มข้น 50 ppm ทำกรรมวิธีละ 4 ซ้ำๆ ละ 5 ราก บันทึกจำนวนรากที่พบเชื้อแบคทีเรีย แล้วนำมาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การเจริญครอบครองรากข้าวของเชื้อแบคทีเรีย

2.5.3 ผลผลิตของข้าว

2.5.3.1 การเกี่ยวข้าวในแปลงนา

เมื่อข้าวถึงอายุเก็บเกี่ยว ทำการสุ่มเก็บเกี่ยวรวงข้าวด้วยตารางสุ่มขนาด 1x1 ตารางเมตร จากแปลงนากรรมวิธีละ 4 จุด โดยมีระยะจุดห่างจากหัวแปลงทั้งด้านซ้ายและด้านขวาจุดละ 3-5 เมตร จุดละ 1 ตารางเมตร นำรวงข้าวที่เก็บเกี่ยวได้มาตากให้แห้งจนความชื้นของเมล็ดข้าวลดลงเหลือประมาณ 14-15 เปอร์เซ็นต์

2.5.3.2 การประเมินโรคเมล็ดด่างทั้งรวง

ประเมินโรคเมล็ดด่างจากรวงข้าวทั้งรวงตามเกณฑ์ของกรมการข้าว (ภาพที่ 1) โดยประเมินกรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 10 รวง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.5.3.3 ลักษณะเมล็ดข้าวเปลือก และน้ำหนัก 1,000 เมล็ดดี

ชั่งข้าวเปลือก 10 กรัม มาคัดเลือกเมล็ดดี เมล็ดด่าง และเมล็ดลีบ แล้วชั่งน้ำหนัก คำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์เมล็ดดี เปอร์เซ็นต์เมล็ดด่าง และเปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบ น้ำหนัก 1,000 เมล็ดดี

2.5.3.4 คุณภาพการขัดสี

นำข้าวเปลือกที่เก็บเกี่ยวได้ไปขัดสีเป็นข้าวกล้อง และข้าวสาร ด้วยเครื่องสีข้าวขาว-ข้าวกล้องขนาดเล็ก บันทึกน้ำหนักเมล็ดข้าวที่ขัดสีได้ จากนั้นนำข้าวกล้อง และข้าวสารที่ได้มาตรวจสอบคุณภาพการสีข้าว โดยบันทึกผลเป็นน้ำหนักข้าวเต็มเมล็ด และน้ำหนักข้าวหัก เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

2.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ผลการทดลองที่ได้ทั้งหมด โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์สถิติสำเร็จรูป SAS Version 9.1.3 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยและทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (P=0.05) ตามแผนการทดลองแบบ CRD ในแปลงนา

3. การทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 ชนิดผง ในสภาพสภาพแปลงนา (ฤดูนาปรัง: เดือนเมษายน-เดือนสิงหาคม 2556: พันธุ์ชัยนาท1)

3.1 เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* ที่ใช้ทดสอบ

ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 ชนิดผง ในอัตรา 20 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร ผสมสารจับใบเล็กน้อย สำหรับแช่เมล็ดข้าวและพ่นลงบนต้นข้าว

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.2 การเตรียมเมล็ดพันธุ์ข้าวที่ใช้ทดสอบ

แช่เมล็ดข้าวโดยนำเมล็ดข้าวเปลือกพันธุ์ชัยนาท 1 ทำตามกรรมวิธีในข้อ 2.2

3.3 การดูแลต้นข้าว และกรรมวิธีที่ใช้ทดสอบ

ใส่ปุ๋ยครั้งที่ 1 สูตร 16-12-8 เมื่อข้าวอายุ 20 วัน อัตราปุ๋ยเคมี 25 กิโลกรัมต่อไร่ หว่านทั่วแปลง ใส่ปุ๋ยครั้งที่ 2 สูตร 20-10-4 เมื่อข้าวอายุ 45 วัน อัตรา 15 กิโลกรัม/ไร่ และใส่ปุ๋ยครั้งที่ 3 สูตร 14-5-25 เมื่อข้าวอายุ 60 วัน อัตรา 10 กิโลกรัม/ไร่ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Randomized complete block design, RCB) โดยมีกรรมวิธีตามข้อ 2.3

เตรียมเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดที่ใช้พ่นตามอัตราดังกล่าวข้างต้น และผสมสารจับใบเล็กน้อย พ่นลงบนต้นข้าวทั้งหมด 3 ครั้ง ในระยะแตกกอ (30 วันหลังหว่าน) ระยะข้าวตั้งท้อง (60 วันหลังหว่าน) ระยะรวงข้าวเริ่มโผล่ออกจากใบธงได้ 5 เปอร์เซ็นต์ (70 วันหลังหว่าน)

ในการทดลองนี้ ไม่ได้ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค แต่ปล่อยให้ข้าวที่ปลูกทดลองเกิดโรคเองตามธรรมชาติ (natural infection) เนื่องจากมีแปลงนาข้าวที่พบการระบาดของโรคใบขีดสีน้ำตาล ใบจุดสีน้ำตาล และโรคเมล็ดด่างอยู่รอบแปลงนาทดลอง

3.4 การเก็บตัวอย่างข้าวในแปลงนาทดลอง

3.4.1 วิธีการสุ่มเก็บตัวอย่างต้นข้าว

ทำตามกรรมวิธีในข้อ 2.4.1

3.4.2 การเกี่ยวข้าวในแปลงนา

ทำตามกรรมวิธีในข้อ 2.4.2

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.5 การบันทึกผลการทดลอง

3.5.1 การเจริญครอบครองเมล็ดข้าวของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

ทำตามกรรมวิธีในข้อ 2.5.1

3.5.2 การเจริญครอบครองรากข้าวของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

ทำตามกรรมวิธีในข้อ 2.5.2

3.5.3 ผลผลิตของข้าว

3.5.3.1 การเกี่ยวข้าวในแปลงนา

ทำตามกรรมวิธีในข้อ 2.5.3.1

3.5.3.2 การประเมินโรคเมล็ดด่างทั้งรวง

ทำตามกรรมวิธีในข้อ 2.5.3.2

3.5.3.3 ลักษณะเมล็ดข้าวเปลือก และน้ำหนัก 1,000 เมล็ดดี

ทำตามกรรมวิธีในข้อ 2.5.3.3

3.5.3.4 คุณภาพการขัดสี

ทำตามกรรมวิธีในข้อ 2.5.3.4

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ผลการทดลองที่ได้ทั้งหมด โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์สถิติสำเร็จรูป SAS Version 9.1.3 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยและทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (P=0.05) ตามแผนการทดลองแบบ RCB ในแปลงนา

4. การทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟต

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 และเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165 (สายพันธุ์ดั้งเดิม) ในอาหารเหลว nutrient glucose broth (NGB) เป็นเวลา 36-48 ชั่วโมง หลังจากนั้น นำมาหยดใส่หลุมบนอาหารทดสอบการละลายฟอสเฟต Pikovskaya's agar ที่ผ่านการเจาะชิ้นวุ้น ด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร จำนวน 4 หลุมต่อจานเลี้ยงเชื้อ โดยใช้ปิเปตดูดเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปริมาตร 50 ไมโครลิตร ต่อ 1 หลุม เลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 28 °C เป็นเวลา 2 วัน การบันทึกผลการทดลอง วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของการเกิดบริเวณใส (clear zone) ในหน่วยเซนติเมตร (cm) เพื่อดูความสามารถการละลายฟอสเฟตของเชื้อแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์

5. การจำแนกเชื้อแบคทีเรีย ด้วยวิธีการ Double stranded 16S rDNA sequencing

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165 (สายพันธุ์ดั้งเดิม) และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 บนอาหารแข็ง NGA เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์ผลที่ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีแห่งชาติ เพื่อสกัด DNA ของเชื้อแบคทีเรีย และเพิ่มปริมาณด้วยวิธีการ PCR ดังต่อไปนี้ การเพิ่มปริมาณ DNA ต้นแบบโดยใช้ยีนด้วยการใช้เทคนิค PCR โดยใช้ "Genomic DNA mini kit (Blood/culture cell)" (Geneaid Biotech Ltd., Taiwan) บริเวณ 16S rRNA เพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค PCR โดยการเติม *Taqpolymerase* ตามวิธี Kawasaki *et al.* (1993), Yamada *et al.* (2000) และ Katsura *et al.*(2001) ใช้ผลิตภัณฑ์ PCR ที่ได้เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ส่วนของ 16S DNA โดยใช้ primer 20F (5'-GAG TTT GAT CCT GGC TCA G-3' ตำแหน่ง 9-27 บน 16S rDNA (Brosius *et al,*. 1981) และ 1500R (5' -GTT ACC TTG TTA CGA CTT-3' ตำแหน่ง 1509-1492 บน 16S rDNA (Brosius *et al.*, 1981) เพิ่มปริมาณ DNA โดยใช้เครื่อง Engine Dyad® Thermal Cycler (Bio-Rad Laboratiries) โดยปฏิกิริยาดังต่อไปนี้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 2 การใช้สารตั้งต้นเพื่อการเพิ่มปริมาณ DNA โดยใช้เครื่อง Engine Dyad® Thermal Cycler (Bio-Rad Laboratiries)

สารตั้งต้น	ปริมาตร
Template DNA	15-20 ng
Primer 20F	2.0 µ moles
Primer 1500r	2.0 µ moles
Taq polymerase	2.5 units
$MgCl_2$	2.0 mM
dNTP	0.2 mM
10x*taq* buffer pH 8.8	10 µl

และทำปฏิกิริยาดังต่อไปนี้

1. initial denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที
2. denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที
3. annealing ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที
4. elongation ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที

เมื่อทำครบทั้ง 4 ขั้นตอนแล้ว ทำซ้ำขั้นตอนที่ 2-4 อีก 25 รอบ

5. final amplification ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาทีจากนั้นตรวจสอบด้วยวิธี agarose gel electrophoresis ความเข้มข้น 0.8% และ purified โดยใช้ GenepHlow™ Gel/PCR (Geneaid Biotech Ltd., Taiwan)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การวิเคราะห์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ โดยการทำ Sequence alignment

วิเคราะห์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 แบบ double standed บริเวณ 16S rDNA นำมาทำ Multiple alignment โดยใช้โปรแกรม Mega6 เปรียบเทียบตัวอย่างนิวคลีโอไทด์ของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 กับลำดับนิวคลีโอไทดข์ องแบคทีเรียที่ใช้เป็น type strain ซึ่งมีรายงานในฐานข้อมูลของ EzTaxon-e server (http://eztaxon-e.ezbiocloud.net/; kim *et al*., 2012) จากนั้นนำข้อมูล alignment มาสร้าง Phylogenetic tree เลือกวิธี UPGMA ในโปรแกรม mega 6 สำหรับการหาค่า bootstrap โดยทำการวิเคราะห์ 1,000 ซ้ำ

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการควบคุมโรคพืชโดยชีวภาพ เรือนปลูกพืช และแปลงปลูกข้าว ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อ.กำแพงแสน จ. นครปฐม

ระยะเวลาที่ทำการทดลอง

ดำเนินการทดลองระหว่างเดือน มิถุนายน 2555 - พฤษภาคม 2556

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลและวิจารณ์

ผล

1. ปริมาณของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 ชนิดผง

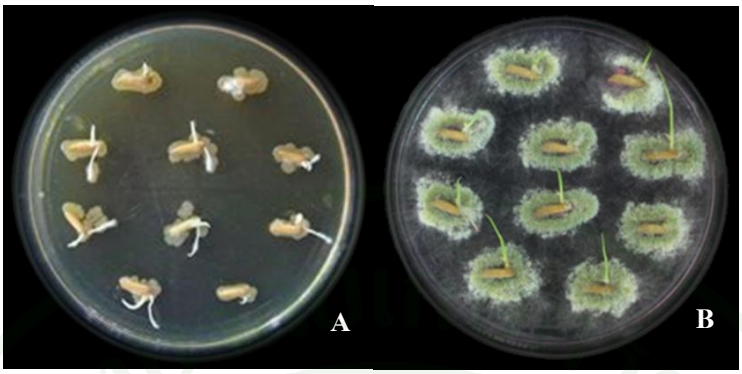
เมื่อตรวจปริมาณของเชื้อแบคทีเรียชนิดผง พบปริมาณเชื้อแบคทีเรียหลังการเตรียมเสร็จ มีค่าระหว่าง $1.85x10^{11}$ - $7.5x10^{11}$ CFU/g การเก็บรักษาผงเชื้อไว้ในห้องเย็นที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 วัน ยังพบเชื้อในปริมาณที่ค่อนข้างสูงอยู่ คือ $1.87x10^{9}$ - $9x10^{10}$ CFU/g โดยพบว่าปริมาณของเชื้อลดลง 20-30 เท่า

2. ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 ในการลดโรคเมล็ดด่าง และเพิ่มผลผลิตของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 3 ในสภาพเรือนปลูก (ฤดูนาปี: เดือนกรกฎาคม - เดือนตุลาคม 2555)

2.1 การเจริญครอบครองผิวเมล็ด รากข้าว และบนใบของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3

การแช่เมล็ดพันธุ์ข้าวด้วยเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด พบว่า ทั้งสองกรรมวิธีมีเปอร์เซ็นต์การเจริญครอบครองเมล็ดได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 2) และเมื่อนำรากข้าวอายุ 14, 64 วัน และ 130 วัน (หลังเก็บเกี่ยว) มาตรวจเปอร์เซ็นต์การเจริญครอบครองรากพบว่ารากข้าวที่อายุ 14 วัน มีเปอร์เซ็นต์การครอบครองรากของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสอง 100 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 3 A,B) ที่อายุข้าว 64 วัน เปอร์เซ็นต์การครอบครองรากของเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 และเชื้อรา *T. harzianum* 01-52 สามารถเจริญครอบครองรากได้ 40 และ 80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพที่ 3 E,F) และที่อายุข้าว 130 วัน วัน เปอร์เซ็นต์การครอบครองรากของเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 และเชื้อรา *T. harzianum* 01-52 สามารถเจริญครอบครองรากได้ 10 และ 47 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพที่ 3 C,D) และเปอร์เซ็นต์การเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 และเชื้อรา *T. harzianum* 01-52 หลังพ่น 8 ชั่วโมงพบว่า เชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์สามารถเจริญบนใบข้าวได้ 40-60 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 4)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

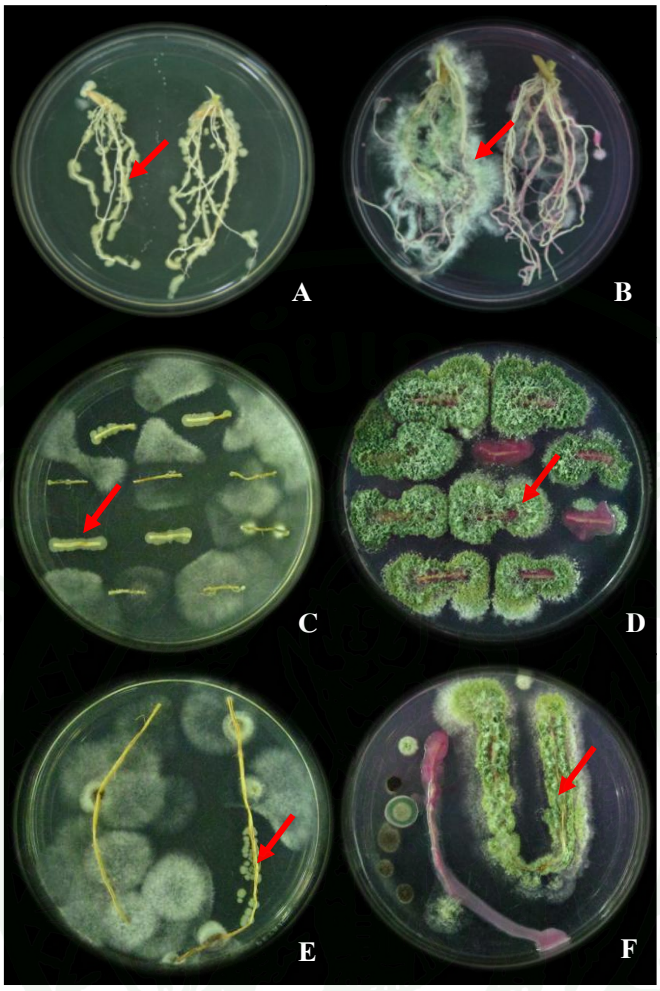


ภาพที่ 2 การเจริญครอบครองเมล็ดข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 3 ของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะ หลังการแช่เมล็ดพันธุ์ข้าวในเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 และสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* 01-52 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

A. เชื้อแบคทีเรีย *B.amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 เจริญรอบเมล็ดข้าวบนอาหาร nutrient glucose agar ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin ความเข้มข้น 50 ppm.

B. เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ 01-52 เจริญรอบเมล็ดข้าวบนอาหาร Martin's medium

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 3 การเจริญครอบครองรากข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี3 ของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะ

A. เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 เจริญรอบรากข้าวอายุ 14 วัน บนอาหาร nutrient glucose agar ผสมสารปฏิชีวนะ (ศรชี้) rifampicin ความเข้มข้น 50 ppm.

B. เชื้อรา *Trichoderma harzianum* สายพันธุ์ 01-52 เจริญรอบรากข้าวอายุ 14 วัน บนอาหาร Martin's medium (ศรชี้)

C. เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 เจริญรอบรากข้าวอายุ 60 วัน บนอาหาร nutrient glucose agar ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin ความเข้มข้น 50 ppm. (ศรชี้)

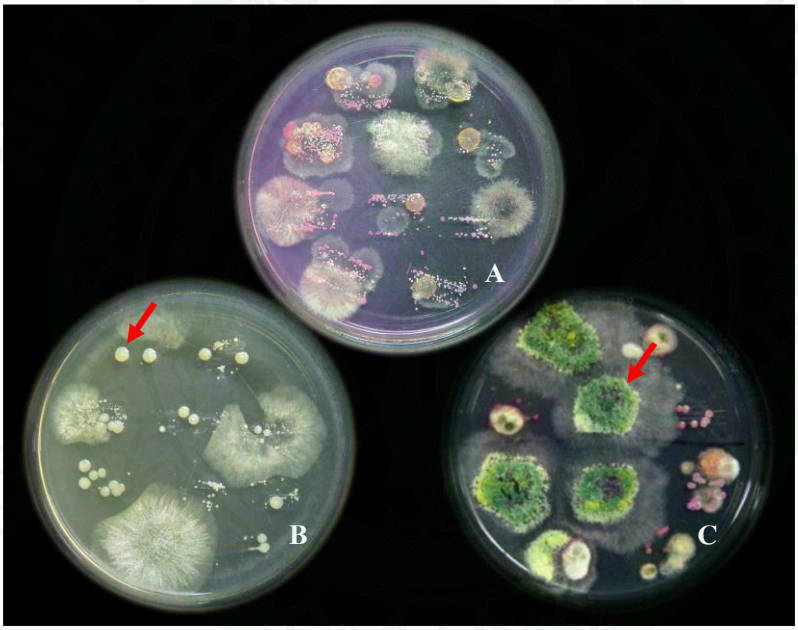
D. เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ 01-52 เจริญรอบรากข้าวอายุ 60 วัน บนอาหาร Martin's medium (ศรชี้)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาพที่ 3 (ต่อ)

E. เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 เจริญครอบครองรากข้าวอายุ 130 วัน บนอาหาร nutrient glucose agar ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin ความเข้มข้น 50 ppm. (ศรชี้)

F. เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ 01-52 เจริญครอบครองรากข้าวอายุ 130 วัน บนอาหาร Martin's medium (ศรชี้)



ภาพที่ 4 การเจริญครอบครองผิวใบข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 3 ของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ บนอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะ หลังพ่นเชื้อ 8 ชั่วโมง แล้วนำใบมาพิมพ์ลงบนผิวหน้าอาหาร

A. เชื้อราและแบคทีเรียตามธรรมชาติเจริญบนอาหารในกรรมวิธีควบคุม (Control) ที่ไม่ได้พ่นเชื้อ

B. เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 เจริญบนอาหาร nutrient glucose agar ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin ความเข้มข้น 50 ppm. (ศรชี้) ในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียพ่นต้นข้าว

C. เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ 01-52 เจริญบนอาหาร Martin's medium (ศรชี้) ในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อราพ่นต้นข้าว

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.2 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 ในการลดโรคเมล็ดด่าง และเพิ่มผลผลิตในสภาพเรือนปลูกของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 3

นำเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 มาทดสอบประสิทธิภาพในการลดโรคเมล็ดด่าง และเพิ่มผลผลิตของข้าว พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง แช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวจำนวน 3 ครั้ง ช่วยให้ข้าวมีผลผลิตสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า (416.7 กรัม/ตารางเมตร) อย่างมีนัยสำคัญ โดยมีผลผลิตเท่ากับ 506.7 กรัม/ตารางเมตร ส่วนกรรมวิธีที่ใช้สารเคมีควบคุมเชื้อราและกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด ให้ผลผลิตเท่ากับ 510.0 และ 480.0 กรัม/ตารางเมตร ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 โดยมีผลผลิตต่อ 3 ตารางเมตร เพิ่มขึ้น 21.6, 22.4 และ 15.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (ตารางที่ 3)

เมื่อพิจารณาน้ำหนักผลผลิตต่อไร่ พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด ให้น้ำหนักผลผลิตต่อไร่เทียบเท่ากรรมวิธีที่ใช้สารเคมีควบคุมเชื้อรา (816.00 กิโลกรัม/ไร่) โดยมีน้ำหนักผลผลิตต่อไร่เท่ากับ 810.67 และ 768.00 กิโลกรัม/ไร่ ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ส่วนน้ำหนักเมล็ดข้าว 1,000 เมล็ดดีนั้น พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง ให้น้ำหนักเมล็ด 1,000 เมล็ดดีมากที่สุด คือ 25.13 กรัม/1,000 เมล็ดดี และสูงกว่าแต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า (23.24 กรัม/1,000 เมล็ดดี) ส่วนกรรมวิธีที่ใช้สารเคมีควบคุมเชื้อรา และกรรมวิธี มีน้ำหนักเมล็ด 1,000 เมล็ดดีเท่ากับ 24.33 และ 23.68 กรัม/1,000 เมล็ดดี ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 3 น้ำหนักผลผลิตต่อ 1 ตารางเมตร น้ำหนักผลผลิตต่อไร่ และน้ำหนัก 1,000 เมล็ดดีของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 3 ที่ผ่านการแช่เมล็ด และพ่นด้วยเชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อ *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด

กรรมวิธี	น้ำหนักผลผลิต/ตร.ม^2 (กรัม/ตร.ม^2)[1/]	น้ำหนักผลผลิต/ไร่ (กก./ไร่)[1/]	น้ำหนักผลผลิต/1000 เมล็ดดี[1/] (ก./1,000 เมล็ดดี)[2/]
BB165-M3 (pf)[3/]	506.7	810.67 a[4/] (+21.6%)[5/]	25.13 a (+8.13%)[5/]
T. harzianum 01-52 (pl)[6/]	480.0	768.00 a (+15.2%)	23.68 a (+1.89%)
BB165-M3 + *T. harzianum* 01-52[7/]	423.3	677.33 b (+1.6%)	19.32 b (-16.86%)
สารเคมี[8/]	510.0	816.00 a (+22.4%)	24.33 a (+4.69%)
กรรมวิธีควบคุม[9/]	416.7	666.67 b	23.24 a
C.V. (%)		12.86	5.45

[1/] น้ำหนักผลผลิตต่อตารางเมตร น้ำหนักผลผลิตต่อไร่ และน้ำหนัก 1,000 เมล็ดดี คำนวณจากน้ำหนักเมล็ดที่ความชื้น 14 เปอร์เซ็นต์

[2/] ค่าเฉลี่ยของน้ำหนัก 1,000 เมล็ดดี จาก 3 ซ้ำต่อกรรมวิธี (1,000 เมล็ดดี/ซ้ำ).

[3/] pf = เซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 สำหรับแช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวเตรียมจากชีวภัณฑ์ชนิดผงผสมน้ำอัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

[4/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

[5/] ค่าผลผลิตข้าวต่อไร่ และน้ำหนัก 1,000 เมล็ดดี (กรัม) คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เพิ่มขึ้น (+) หรือลดลง (-) เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม คำนวณได้โดย

$$\text{เปอร์เซ็นต์เพิ่มขึ้น (+) หรือลดลง (-)} = \frac{\text{กรรมวิธีทดลอง} - \text{กรรมวิธีควบคุม}}{\text{กรรมวิธีควบคุม}} \times 100$$

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 3 (ต่อ)

[6/] pl = เซลล์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* 01-52 สำหรับแช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวเตรียมจากชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดผสมน้ำอัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 100 ลิตร

[7/] การใช้ร่วมกันของเชื้อ *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 (ชนิดผง) และเชื้อรา *T. harzianum* 01-52 (ชนิดเม็ด)

[8/] คลุกเมล็ดด้วยสาร mancozeb 80% WP (3 กรัมต่อเมล็ด 1 กิโลกรัม) และพ่นต้นข้าวด้วยสาร propiconazole+difenoconazole 30% EC (15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร)

[9/] แช่เมล็ดข้าวและพ่นต้นข้าวด้วยน้ำเปล่า

จากการประเมินโรคใบขีดสีน้ำตาลบนใบข้าว พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคบนใบต่ำที่สุด คือ 9.90 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธีใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด และกรรมวิธีใช้สารเคมีควบคุมเชื้อรา คือ 10.26 และ 10.35 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า โดยสามารถลดเปอร์เซ็นต์โรคใบขีดสีน้ำตาลบนใบข้าวเท่ากับ 7.48, 4.11 และ 3.27 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (ตารางที่ 4)

เมื่อประเมินโรคเมล็ดด่างบนรวงข้าว พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคบนรวงต่ำที่สุด คือ 6.00 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด และกรรมวิธีใช้สารเคมีควบคุมเชื้อราเท่ากับ 7.60 และ 7.70 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า (9.50 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญซึ่งเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง สามารถลดโรคเมล็ดด่างของข้าวได้สูงที่สุด คือ 36.84 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด และกรรมวิธีใช้สารเคมีควบคุมเชื้อรา โดยมีเปอร์เซ็นต์ลดโรคเมล็ดด่างของข้าวเท่ากับ 20.00 และ 18.95 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์ของโรคใบขีดสีน้ำตาลและโรคเมล็ดด่าง จากการสุ่มตัวอย่างใบธงและรวงหลังการเก็บเกี่ยว ของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 3 ที่ผ่านการแช่เมล็ด และพ่นด้วยเชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อ *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด

กรรมวิธี	โรคใบขีดสีน้ำตาล (%)[1/]	โรคเมล็ดด่าง (%)[1/]
BB165-M3 (pf)[2/]	9.90 a[3/] (-7.48%)[4/]	6.00 a (-36.84%)[4/]
T. harzianum 01-52 (pl)[5/]	10.26 a (-4.11%)	7.60 a (-20.00%)
BB165-M3+*T. harzianum* 01-52[6/]	10.35 a (-3.27%)	13.08 c (+37.68%)
สารเคมี[7/]	10.35 a (-3.27%)	7.07 a (-18.95%)
กรรมวิธีควบคุม[8/]	10.70 a	9.50 b
C.V. (%)	12.43	12.94

[1/] เปอร์เซ็นต์ของโรคใบขีดสีน้ำตาลและโรคเมล็ดด่างคำนวณจาก 4 ซ้ำต่อกรรมวิธี (20 ใบหรือรวงต่อซ้ำ)

[2/] pf = เซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 สำหรับแช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวเตรียมจากชีวภัณฑ์ชนิดผงผสมน้ำอัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

[3/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

[4/] ค่าของโรคใบขีดสีน้ำตาลและโรคเมล็ดด่าง คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เพิ่มขึ้น (+) หรือลดลง (-) เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม คำนวณได้โดย

$$\text{การเกิดโรคลดลง (\%)} = \frac{\text{กรรมวิธีควบคุม} - \text{กรรมวิธีทดลอง}}{\text{กรรมวิธีควบคุม}} \times 100$$

[5/] pl = เซลล์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* 01-52 สำหรับแช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวเตรียมจากชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดผสมน้ำอัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 100 ลิตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 4 (ต่อ)

[6/] การใช้ร่วมกันของเชื้อ *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 (ชนิดผง) และเชื้อรา *T. harzianum* 01-52 (ชนิดเม็ด)

[7/] คลุกเมล็ดด้วยสาร mancozeb 80% WP (3 กรัมต่อเมล็ด 1 กิโลกรัม) และพ่นต้นข้าวด้วยสาร propiconazole+difenoconazole 30% EC (15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร)

[8/] แช่เมล็ดข้าวและพ่นต้นข้าวด้วยน้ำเปล่า

จากการวัดความสูงของต้นข้าว และความยาวรากของข้าว (ภาพที่ 5) เมื่อข้าวอายุ 64 วัน (ระยะแตกกอ) พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด มีค่าเฉลี่ยความสูงของต้นข้าวสูงสุด คือ 89.93 เซนติเมตร รองลงมาคือกรรมวิธีใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง (89.86 เซนติเมตร) ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า (86.83 เซนติเมตร) ซึ่งจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดสามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์ความสูงได้ 3.57 และ 3.48 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์ความยาวราก 9.61 และ 7.88 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า (ตารางที่ 5) สำหรับจำนวนต้นต่อกอพบว่า กรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด มีค่าเฉลี่ยจำนวนต้นต่อกอสูงสุด คือ 14.48 ต้นต่อกอ รองลงมาคือกรรมวิธีใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง มีค่าเฉลี่ยจำนวนต้นต่อกอ 13.33 ต้นต่อกอ ไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีกรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า (13.08 ต้นต่อกอ) โดยมีจำนวนต้นต่อกอเพิ่มขึ้น 10.70 และ 1.91 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 5 การเจริญเติบโตของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 3 ที่ผ่านการแช่เมล็ด และพ่นด้วยเชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อ *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด

กรรมวิธี	การเจริญของข้าวอายุ 64 วัน		
	ความสูง (ซม.)	ความยาวราก (ซม.)	จำนวนต้นต่อกอ (ต้น)
BB165-M3 (pf)[1/]	89.96 a[2/] (3.48%)[3/]	33.67 a (7.88%)	13.33 a (1.91%)
T. harzianum 01-52 (pl)[4/]	89.93 a (3.57%)	34.21 a (9.61%)	14.48 a (10.70%)
BB165-M3+*T. harzianum* 01-52[5/]	88.06 a	33.67 a	13.00 a
สารเคมี[6/]	87.40 a	30.96 a	13.55 a
กรรมวิธีควบคุม[7/]	86.83 a	31.21 a	13.08 a
C.V. (%)	4.82	8.78	8.78

[1/] pf = เซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 สำหรับแช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวเตรียมจากชีวภัณฑ์ชนิดผงผสมน้ำอัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

[2/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

[3/] เปอร์เซ็นต์เพิ่มขึ้น (+) หรือลดลง (-) ของความสูงต้น ความยาวราก และจำนวนต้นต่อกอ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

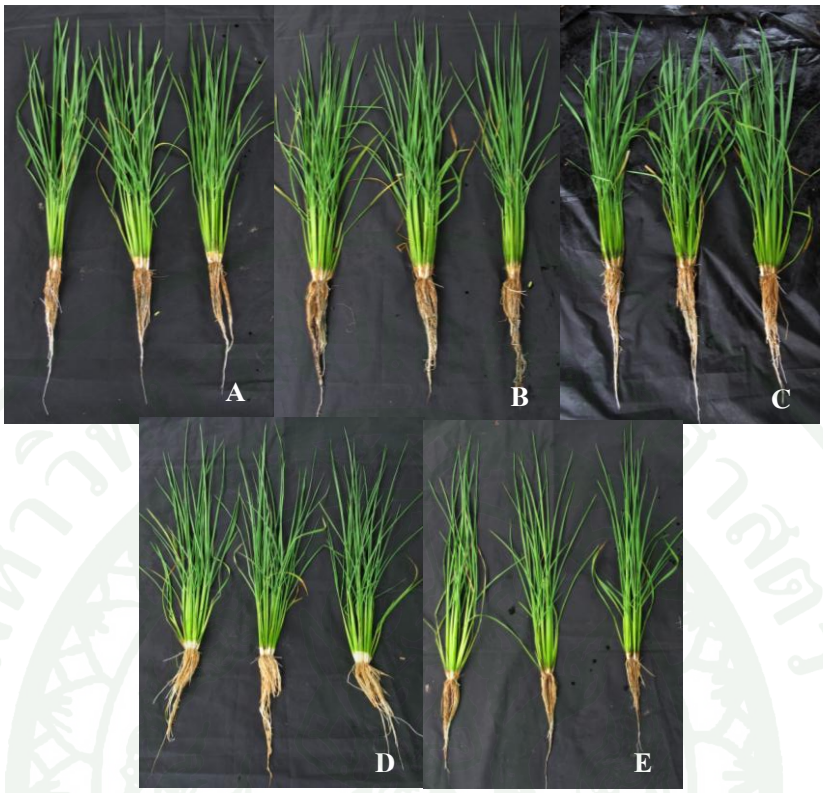
[4/] pl = เซลล์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* 01-52 สำหรับแช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวเตรียมจากชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดผสมน้ำอัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 100 ลิตร

[5/] การใช้ร่วมกันของเชื้อ *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 (ชนิดผง) และเชื้อรา *T. harzianum* 01-52 (ชนิดเม็ด)

[6/] คลุกเมล็ดด้วยสาร mancozeb 80% WP (3 กรัมต่อเมล็ด 1 กิโลกรัม) และพ่นต้นข้าวด้วยสาร propiconazole+difenoconazole 30% EC (15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร)

[7/] แช่เมล็ดข้าวและพ่นต้นข้าวด้วยน้ำเปล่า

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 5 ลักษณะการเจริญเติบโตของต้นข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 3 ระยะแตกกอ อายุ 64 วัน หลังปลูกด้วยเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการแช่เซลล์หรือสปอร์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อรา *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด

A. กรรมวิธีใช้เชื้อแบคทีเรีย *B.amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง แช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวจำนวน 3 ครั้ง
B. กรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด แช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวจำนวน 3 ครั้ง
C. กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B.amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 ร่วมกับเชื้อรา *Trichoderma harzianum* สายพันธุ์ 01-52 ชนิดเม็ด แช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวจำนวน 3 ครั้ง
D. กรรมวิธีใช้สารเคมีควบคุมเชื้อรา mancozeb 80 WP คลุกเมล็ดและพ่นด้วย propiconazole+difenoconazole 30% EC
E. กรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จากการสุ่มเมล็ดข้าวจากแต่ละกรรมวิธีมาตรวจนับเปอร์เซ็นต์เมล็ดดี เมล็ดด่างและเมล็ดลีบ (ภาพที่ 6) พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีสูงที่สุด (61.12 เปอร์เซ็นต์) และสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า (53.35 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญ โดยมีเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีเพิ่มขึ้นเท่ากับ 14.56 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด (58.16 เปอร์เซ็นต์) คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีเพิ่มขึ้น 9.02 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า (ตารางที่ 6)

เมื่อตรวจเปอร์เซ็นต์เมล็ดด่าง พบกรรมวิธีที่ใช้ *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดด่างต่ำที่สุด (28.99 เปอร์เซ็นต์) เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า (40.19 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญ รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด (35.77 เปอร์เซ็นต์) คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เมล็ดด่างลดลง 27.87 และ 11.00 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนเปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบนั้น พบว่าทุกกรรมวิธีมีเปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 6)

ภาพที่ 6 ลักษณะเมล็ดข้าวเปลือกปกติ และข้าวเปลือกที่แสดงอาการเมล็ดด่าง เมล็ดลีบ
A. เมล็ดดี B. เมล็ดด่าง C. เมล็ดลีบ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์เมล็ดดี เมล็ดด่างและเมล็ดลีบ จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดข้าวหลังการเก็บเกี่ยวของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 3 ที่ผ่านการแช่เมล็ด และพ่นด้วยเชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อ *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด

กรรมวิธี (แช่/พ่น)	เมล็ดดี (%)[1/]	เมล็ดด่าง (%)[1/]	เมล็ดลีบ (%)[1/]
BB165-M3 (pf)[2/]	61.12 a[3/] (+14.56%)[4/]	28.99 b (-27.87%)[4/]	9.89 a
T. harzianum 01-52 (pl)[5/]	58.16 ab (+9.02%)	35.77 ab (-11.00%)	6.07 a
BB165-M3+*T. harzianum* 01-52[6/]	51.84 c	40.75 a	7.41 a
สารเคมี[7/]	51.04 c	40.52 a	8.44 a
กรรมวิธีควบคุม[8/]	53.35 bc	40.19 a	6.46 a
C.V. (%)	5.25	13.33	31.44

[1/] เปอร์เซ็นต์เมล็ดดี เมล็ดด่างและเมล็ดลีบจาก 3 ซ้ำต่อกรรมวิธี (5 กรัม/ซ้ำ)

[2/] pf = เซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 สำหรับแช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวเตรียมจากชีวภัณฑ์ชนิดผงผสมน้ำอัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

[3/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

[4/] เปอร์เซ็นต์เมล็ดดีหรือเมล็ดด่างที่เพิ่มขึ้น (+) หรือลดลง (-) เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม คำนวณได้โดย

$$\text{เปอร์เซ็นต์เพิ่มขึ้น (+) หรือลดลง (-)} = \frac{\text{กรรมวิธีทดลอง} - \text{กรรมวิธีควบคุม}}{\text{กรรมวิธีควบคุม}} \times 100$$

[5/] pl = เซลล์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* 01-52 สำหรับแช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวเตรียมจากชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดผสมน้ำอัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 100 ลิตร

[6/] การใช้ร่วมกันของเชื้อ *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 (ชนิดผง) และเชื้อรา *T. harzianum* 01-52 (ชนิดเม็ด)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 6 (ต่อ)

[7/] คลุกเมล็ดด้วยสาร mancozeb 80% WP (3 กรัมต่อเมล็ด 1 กิโลกรัม) และพ่นต้นข้าวด้วยสาร propiconazole+difenoconazole 30% EC (15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร)

[8/] แช่เมล็ดข้าวและพ่นต้นข้าวด้วยน้ำเปล่า

ผลการขัดสีข้าวเปลือก 1 กิโลกรัม เป็นข้าวกล้องจากทุกกรรมวิธี เมื่อขัดสีจะได้ส่วนประกอบ 2 ส่วน คือ ข้าวกล้อง และแกลบ (ภาพที่ 7) จากผลการทดลอง พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง มีน้ำหนักข้าวกล้องสูงที่สุด (743.32 กรัมต่อข้าวเปลือก 1 กิโลกรัม) ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า (740.00 กรัมต่อข้าวเปลือก 1 กิโลกรัม) (ตารางที่ 7)

เมื่อคัดแยกข้าวกล้องที่ขัดสีแบ่งเป็น 2 ส่วน คือส่วนของเมล็ดข้าวที่มีลักษณะสมบูรณ์หรือเต็มเมล็ด (ภาพที่ 7B) และส่วนของเมล็ดข้าวหัก ซึ่งมีความยาวต่ำกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ของความยาวเมล็ดข้าว (ภาพที่ 7C) พบว่า กรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด มีน้ำหนักข้าวกล้องเต็มเมล็ดสูงกว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผงโดยมีน้ำหนัก 8.45 และ 8.28 กรัมต่อข้าวกล้อง 10 กรัม ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า (8.55 กรัมต่อข้าวกล้อง 10 กรัม) ส่วนน้ำหนักเมล็ดข้าวหักในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด และกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง มีน้ำหนักเมล็ดข้าวหัก 1.55 และ 1.72 กรัมต่อข้าวกล้อง 10 กรัม ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า (1.45 กรัมต่อข้าวกล้อง 10 กรัม) (ตารางที่ 7)

ภาพที่ 7 ผลการขัดสีข้าวเปลือกด้วยเครื่องสีข้าวขาว-ข้าวกล้องขนาดเล็กได้แกลบ (A.) ข้าวกล้องเต็มเมล็ด (B.) และเมล็ดข้าวหัก (C.)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 7 ประสิทธิภาพการขัดสีเป็นข้าวกล้องของข้าวเปลือกพันธุ์สุพรรณบุรี 3 น้ำหนัก 1 กิโลกรัมที่ได้จากข้าวซึ่งปลูกโดยการการแช่เมล็ด และพ่นด้วยเชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อ *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด

กรรมวิธี (แช่/พ่น)	น้ำหนัก (กรัม/ข้าวเปลือก 1 กิโลกรัม)		น้ำหนัก (กรัม/ข้าวกล้อง 10 กรัม)	
	ข้าวกล้อง	แกลบ	ข้าวเต็มเมล็ด	ข้าวหัก
BB165-M3 (pf)[1/]	743.32 a[2/]	256.68 a	8.28 a	1.72 a
T. harzianum 01-52 (pl)[3/]	726.66 a	273.34 a	8.45 a	1.55 a
BB165-M3+*T. harzianum* 01-52[4/]	726.66 a	273.34 a	8.53 a	1.47 a
สารเคมี [5/]	716.66 a	283.34 a	8.69 a	1.31 a
กรรมวิธีควบคุม[6/]	740.00 a	260.00 a	8.55 a	1.45 a
C.V. (%)	3.17	8.60	9.24	17.74

[1/] pf = เซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย *B.amyloliquefaciens* BB165-M3 สำหรับแช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวเตรียมจากชีวภัณฑ์ชนิดผงผสมน้ำอัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

[2/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

[3/] pl = เซลล์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* 01-52 สำหรับแช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวเตรียมจากชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดผสมน้ำอัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 100 ลิตร

[4/] การใช้ร่วมกันของเชื้อ *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 (ชนิดผง) และเชื้อรา *T. harzianum* 01-52 (ชนิดเม็ด)

[5/] คลุกเมล็ดด้วยสาร mancozeb 80% WP (3 กรัมต่อเมล็ด 1 กิโลกรัม) และพ่นต้นข้าวด้วยสาร propiconazole+difenoconazole 30% EC (15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร)

[6/] แช่เมล็ดข้าวและพ่นต้นข้าวด้วยน้ำเปล่า

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 ในการลดโรคเมล็ดด่าง และเพิ่มผลผลิตในสภาพแปลงนาของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (ฤดูนาปี: เดือนสิงหาคม - เดือนธันวาคม 2555)

3.1 การเจริญครอบครองผิวเมล็ด รากข้าว และบนใบของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3

การแช่เมล็ดพันธุ์ข้าวด้วยเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด พบว่า ทั้งสองกรรมวิธีมีเปอร์เซ็นต์การเจริญครอบครองเมล็ดได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำรากข้าวอายุ 25 วัน 60 วัน และ 130 วัน (หลังเก็บเกี่ยว) มาตรวจเปอร์เซ็นต์การเจริญครอบครองรากพบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเจริญครอบครองรากข้าวของเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 เท่ากับ 22.2, 10.0 และ 0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ขณะที่เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 สามารถเจริญครอบครองรากได้ 85, 60 และ 35 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 การเจริญครอบครองรากข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 อายุ 25, 60 และ 130 วัน (หลังการเก็บเกี่ยว) ของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อ *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด

กรรมวิธี (แช่/พ่น)	การเจริญครอบครองรากข้าวอายุ 25 วัน (%)	การเจริญครอบครองรากข้าวอายุ 60 วัน (%)	การเจริญครอบครองรากข้าวอายุ 130 วัน[1/] (%)
BB165-M3 (pf)[2/]	22.2	10.0	0.0
T. harzianum 01-52 (pl)[3/]	85.0	60.0	35.0
สารเคมี[4/]	ND[5/]	ND	ND
กรรมวิธีควบคุม[6/]	ND	ND	ND

[1/] เก็บตัวอย่างรากข้าวหลังเก็บเกี่ยวผลผลิต 10 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 8 (ต่อ)

[2/] pf = เซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย *B.amyloliquefaciens* BB165-M3 สำหรับแช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวเตรียมจากชีวภัณฑ์ชนิดผงผสมน้ำอัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

[3/] pl = เซลล์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* 01-52 สำหรับแช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวเตรียมจากชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดผสมน้ำอัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 100 ลิตร

[4/] คลุกเมล็ดด้วยสาร mancozeb 80% WP (3 กรัมต่อเมล็ด 1 กิโลกรัม) และพ่นต้นข้าวด้วยสาร propiconazole+difenoconazole 30% EC (15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร)

[5/] ND = Non-determined (ไม่ได้ตรวจสอบ)

[6/] แช่เมล็ดข้าวและพ่นต้นข้าวด้วยน้ำเปล่า

3.2 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 ในการลดโรคเมล็ดด่าง และเพิ่มผลผลิตข้าวของพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสภาพแปลงนา

นำเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 มาทดสอบประสิทธิภาพในการลดโรคเมล็ดด่าง และเพิ่มผลผลิตของข้าวในสภาพแปลงนา พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 แช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวจำนวน 3 ครั้ง ช่วยให้ข้าวมีผลผลิตสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า (352.50 กรัม/ตารางเมตร) อย่างมีนัยสำคัญ โดยมีผลผลิตเท่ากับ 447.50 กรัม/ตารางเมตร คิดเป็นผลผลิตเพิ่มขึ้น 26.95 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ส่วนกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด ให้ผลผลิต 407.50 กรัม/ตารางเมตร คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เพิ่มขึ้น 15.60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 (ตารางที่ 9)

เมื่อพิจารณาน้ำหนักผลผลิตต่อไร่ พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด ให้น้ำหนักผลผลิตต่อไร่สูงกว่ากรรมวิธีที่ใช้สารเคมีควบคุมเชื้อรา (600.00 กิโลกรัม/ไร่) โดยมีน้ำหนักผลผลิตต่อไร่เท่ากับ 716.00 และ 625.00 กิโลกรัม/ไร่ ตามลำดับ (ตารางที่ 9)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ส่วนน้ำหนักเมล็ดข้าว 1,000 เมล็ดดีนั้น พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด ให้น้ำหนักเมล็ด 1,000 เมล็ดดีมากที่สุด รองลงมากรรมคือวิธีที่ใช้สารเคมีควบคุมเชื้อรา และกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง คือ 32.89, 32.71 และ 31.10 กรัม/1,000 เมล็ดดี ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า แต่ไม่แตกต่างทางสถิติ (30.35 กรัม/1,000 เมล็ดดี) (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 น้ำหนักผลผลิตต่อตารางเมตร, น้ำหนักผลผลิตต่อไร่ และน้ำหนัก 1,000 เมล็ดดีของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ผ่านการแช่เมล็ด และพ่นด้วยเชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อ *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด

กรรมวิธี (แช่/พ่น)	น้ำหนักผลผลิต/ตารางเมตร (ก./ตร.ม^2)[1/]	น้ำหนักผลผลิต/ไร่ (กก./ไร่)[1/]	น้ำหนักผลผลิต/1000 เมล็ดดี[1/] (ก./1,000 เมล็ดดี)[2/]
BB165-M3 (pf)[3/]	447.5 a (+26.95%)[5/]	716.00	31.10 a (+2.47%)[5/]
T. harzianum 01-52 (pl)[6/]	407.50 ab (+15.60%)	625.00	32.89 a (+8.36%)
สารเคมี[7/]	375.00 b (+6.38%)	600.00	32.71 a (+7.77%)
กรรมวิธีควบคุม[8/]	352.50 b	564.00	30.35 a
C.V. (%)	10.03		19.29

[1/] น้ำหนักผลผลิตต่อ 1 ตารางเมตร, น้ำหนักผลผลิตต่อไร่ และน้ำหนัก 1,000 เมล็ดดี คำนวณจากน้ำหนักเมล็ดที่ความชื้น 14 เปอร์เซ็นต์

[2/] ค่าเฉลี่ยของน้ำหนัก 1,000 เมล็ดดี จาก 3 ซ้ำต่อกรรมวิธี (1,000 เมล็ดดี/ซ้ำ)

[3/] pf = เซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 สำหรับแช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวเตรียมจากชีวภัณฑ์ชนิดผงผสมน้ำอัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

[4/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 9 (ต่อ)

[5/] ค่าผลผลิตข้าวต่อไร่ และน้ำหนัก 1,000 เมล็ดดี (กรัม) คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เพิ่มขึ้น (+) หรือลดลง (-) เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

$$\text{เปอร์เซ็นต์เพิ่มขึ้น (+) หรือลดลง (-)} = \frac{\text{กรรมวิธีทดลอง} - \text{กรรมวิธีควบคุม}}{\text{กรรมวิธีควบคุม}} \times 100$$

[6/] pl = เซลล์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* 01-52 สำหรับแช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวเตรียมจากชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดผสมน้ำอัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 100 ลิตร

[7/] คลุกเมล็ดด้วยสาร mancozeb 80% WP (3 กรัมต่อเมล็ด 1 กิโลกรัม) และพ่นต้นข้าวด้วยสาร propiconazole+difenoconazole 30% EC (15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร)

[8/] แช่เมล็ดข้าวและพ่นต้นข้าวด้วยน้ำเปล่า

จากการสุ่มจำนวนรวงจากพื้นที่ 1 ตารางเมตร พบว่า กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง ให้จำนวนรวงต่อ 1 ตารางเมตร สูงที่สุด 332.67 รวงต่อตารางเมตร รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด 282.33 รวงต่อตารางเมตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่าคือ 237.83 รวงต่อตารางเมตร ส่วนกรรมวิธีที่ใช้สารเคมีควบคุมเชื้อรามีจำนวนรวง 255.17 รวงต่อ 1 ตารางเมตร (ตารางที่ 10)

เมื่อประเมินโรคเมล็ดด่างบนรวงข้าว พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคบนรวง ต่ำที่สุด รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง คือ 29.87 และ 30.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่ใช้สารเคมีควบคุมเชื้อราและกรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่าเท่ากับ 30.54 และ 32.37 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด สามารถลดโรคเมล็ดด่างของข้าวได้สูงที่สุด คือ 7.23 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และกรรมวิธีใช้สารเคมีควบคุมเชื้อรา โดยมีเปอร์เซ็นต์ลดโรคเมล็ดด่างของข้าวเท่ากับ 6.55 และ 5.65 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 10)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 10 จำนวนรวง และเปอร์เซ็นต์ของโรคเมล็ดด่าง จากการสุ่มตัวอย่างรวงหลังการเก็บเกี่ยวของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ผ่านการแช่เมล็ดและพ่นด้วยเชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อ *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด

กรรมวิธี (แช่/พ่น)	จำนวนรวงต่อตารางเมตร	โรคเมล็ดด่าง (%)[1/]
BB165-M3 (pf)[2/]	332.67 a[3/]	30.25 a (-6.55%)[4/]
T. harzianum 01-52 (pl)[5/]	282.33 ab	29.87 a (-7.23%)
สารเคมี[6/]	255.17 b	30.54 a (-5.65%)
กรรมวิธีควบคุม[7/]	237.83 b	32.37 a
C.V. (%)	17.83	18.57

[1/] เปอร์เซ็นต์ของโรคเมล็ดด่างคำนวณจาก 4 ซ้ำต่อกรรมวิธี (20 รวงต่อซ้ำ)

[2/] pf = เซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 สำหรับแช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวเตรียมจากชีวภัณฑ์ชนิดผงผสมน้ำอัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

[3/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

[4/] ค่าของโรคเมล็ดด่าง คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เพิ่มขึ้น (+) หรือลดลง (-) เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม คำนวณได้โดย

$$\text{การเกิดโรคลดลง (\%)} = \frac{\text{กรรมวิธีควบคุม} - \text{กรรมวิธีทดลอง}}{\text{กรรมวิธีควบคุม}} \times 100$$

[5/] pl = เซลล์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* 01-52 สำหรับแช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวเตรียมจากชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดผสมน้ำอัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 100 ลิตร

[6/] คลุกเมล็ดด้วยสาร mancozeb 80% WP (3 กรัมต่อเมล็ด 1 กิโลกรัม) และพ่นต้นข้าวด้วยสาร propiconazole+difenoconazole 30% EC (15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร)

[7/] แช่เมล็ดข้าวและพ่นต้นข้าวด้วยน้ำเปล่า

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จากการสุ่มเมล็ดข้าวจากแต่ละกรรมวิธีมาตรวจนับเปอร์เซ็นต์เมล็ดดี เมล็ดด่างและเมล็ดลีบ พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีสูงที่สุด (76.30 เปอร์เซ็นต์) โดยมีเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีเพิ่มขึ้นเท่ากับ 7.31 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง (76.00 เปอร์เซ็นต์) คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีเพิ่มขึ้น 6.14 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า (71.60 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญ(ตารางที่ 11)

เมื่อตรวจเปอร์เซ็นต์เมล็ดด่าง พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด มีเมล็ดด่าง 21.20 เปอร์เซ็นต์ โดยมีเปอร์เซ็นต์เมล็ดด่างลดลง เท่ากับ 5.70 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง มีเมล็ดด่าง 22.10 เปอร์เซ็นต์ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เมล็ดด่างลดลง 1.77 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า (22.50 เปอร์เซ็นต์) (ตารางที่ 11)

และเมื่อตรวจเปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบ พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบต่ำที่สุด (0.70 เปอร์เซ็นต์) โดยมีเปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบลดลง เท่ากับ 89.55 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด (1.20 เปอร์เซ็นต์) คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบลดลง 82.08 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า (6.70 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 11)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 11 เปอร์เซ็นต์เมล็ดดี เมล็ดด่างและเมล็ดลีบ จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดข้าวหลังการเก็บเกี่ยวของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ผ่านการแช่เมล็ด และพ่นด้วยเชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อ *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด

กรรมวิธี (แช่/พ่น)	เมล็ดดี (%)[1/]	เมล็ดด่าง (%)[1/]	เมล็ดลีบ (%)[1/]
BB165-M3 (pf)[2/]	76.00 a[3/] (+6.14%)[4/]	22.10 a (-1.77%)[4/]	0.7 b (-89.55%)
T. harzianum 01-52 (pl)[5/]	76.30 a (+7.31%)	21.20 a (-5.7%)	1.20 b (-82.08%)
Fungicide[7/]	77.70 a	19.10 a	1.30 b
Control[8/]	71.60 b	22.50 a	6.70 a
C.V. (%)	1.55	10.96	40.54

[1/] เปอร์เซ็นต์เมล็ดดี เมล็ดด่างและเมล็ดลีบจาก 3 ซ้ำต่อกรรมวิธี (5 กรัม/ซ้ำ)

[2/] pf = เซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย *B.amyloliquefaciens* BB165-M3 สำหรับแช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวเตรียมจากชีวภัณฑ์ชนิดผงผสมน้ำอัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

[3/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

[4/] เปอร์เซ็นต์เมล็ดดีหรือเมล็ดด่างที่เพิ่มขึ้น (+) หรือลดลง (-) เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม โดยคำนวณได้จาก

$$\text{เปอร์เซ็นต์เพิ่มขึ้น (+) หรือลดลง (-)} = \frac{\text{กรรมวิธีทดลอง} - \text{กรรมวิธีควบคุม}}{\text{กรรมวิธีควบคุม}} \times 100$$

[5/] pl = เซลล์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* 01-52 สำหรับแช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวเตรียมจากชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดผสมน้ำอัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 100 ลิตร

[6/] คลุกเมล็ดด้วยสาร mancozeb 80% WP (3 กรัมต่อเมล็ด 1 กิโลกรัม) และพ่นต้นข้าวด้วยสาร propiconazole+difenoconazole 30% EC (15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร)

[7/] แช่เมล็ดข้าวและพ่นต้นข้าวด้วยน้ำเปล่า

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลการขัดสีข้าวเปลือก 1 กิโลกรัมเป็นข้าวกล้องจากทุกกรรมวิธี เมื่อขัดสีจะได้ส่วนประกอบ 2 ส่วน คือ ข้าวกล้อง และแกลบ (ภาพที่ 7A-B) จากผลการทดลอง พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง มีน้ำหนักข้าวกล้องสูงที่สุด คือ 653.33 กรัมต่อข้าวเปลือก 1 กิโลกรัม ซึ่งมีค่าสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า (646.66 กรัมต่อข้าวเปลือก 1 กิโลกรัม) แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่น้ำหนักแกลบ พบว่าได้ผลในทำนองเดียวกันกับน้ำหนักข้าวกล้อง กล่าวคือ กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง มีน้ำหนักแกลบต่ำที่สุด คือ 346.33 กรัมต่อข้าวเปลือก 1 กิโลกรัม ซึ่งมีค่าต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า (353.33 กรัมต่อข้าวเปลือก 1 กิโลกรัม) เพียง 1.89 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 12)

เมื่อคัดแยกข้าวกล้องที่ขัดสีแบ่งเป็น 2 ส่วน คือส่วนของเมล็ดข้าวที่มีลักษณะสมบูรณ์หรือเต็มเมล็ด (ภาพที่ 7B) และส่วนของเมล็ดข้าวหักที่มีลักษณะแตกหักเป็นชิ้น (ภาพที่ 7C) ซึ่งมีความยาวต่ำกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ของความยาวเมล็ด พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด มีน้ำหนักข้าวเต็มเมล็ดสูงที่สุด คือ 9.31 กรัมต่อข้าวเปลือก 10 กรัม รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง (9.14 กรัมต่อข้าวเปลือก 10 กรัม) คิดเป็นน้ำหนักข้าวเต็มมล็ดที่เพิ่มขึ้น 4.37 เปอร์เซ็นต์และ 2.47 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า (8.92 กรัมต่อข้าวเปลือก 10 กรัม) ในขณะที่น้ำหนักข้าวหักได้ในทำนองเดียวกันกับน้ำหนักข้าวเต็มเมล็ด คือ กรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด มีน้ำหนักข้าวหักต่ำที่สุด คือ 0.69 กรัมต่อข้าวเปลือก 10 กรัม รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง (0.86 กรัมต่อข้าวเปลือก 10 กรัม) คิดเป็นน้ำหนักข้าวหักที่ลดลง 36.11 และ 20.37 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า คือ 1.08 กรัมต่อข้าวเปลือก 10 กรัม (ตารางที่ 12) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 และเชื้อรา *T. harzianum* 01-52 มีประสิทธิภาพในการช่วยให้น้ำหนักข้าวกล้องเต็มเมล็ดเพิ่มขึ้น และน้ำหนักเมล็ดข้าวหักลดลงเทียบเท่ากับการใช้สารเคมีควบคุมเชื้อรา propiconazole+difenoconazole 30% EC

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 12 ประสิทธิภาพการขัดสีเป็นข้าวกล้องของข้าวเปลือกพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 น้ำหนัก 1 กิโลกรัม ที่ได้จากข้าวซึ่งปลูกโดยการการแช่เมล็ด และพ่นด้วยเชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อ *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด

กรรมวิธี (แช่/พ่น)	น้ำหนัก (กรัม/ข้าวเปลือก 1 กิโลกรัม)		น้ำหนัก (กรัม/ข้าวกล้อง 10 กรัม)	
	ข้าวกล้อง	แกลบ	ข้าวเต็มเมล็ด	ข้าวหัก
BB165-M3 (pf)[1/]	653.33 a[2/] (+1.03%)[3/]	346.66 a (-1.89%)	9.14 a (+2.47%)	0.86 a (-20.37%)
T. harzianum 01-52 (pl)[4/]	646.66 a	353.33 a	9.31 a (+4.37%)	0.69 a (-36.11%)
สารเคมี [5/]	646.66 a	353.33 a	9.13 a (+2.35%)	0.87 a (-19.44%)
กรรมวิธีควบคุม[6/]	646.66 a	353.33 a	8.92 a	1.08 a
C.V. (%)	1.33	2.46	2.51	38.80

[1/] pf = เซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย *B.amyloliquefaciens* BB165-M3 สำหรับแช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวเตรียมจากชีวภัณฑ์ชนิดผงผสมน้ำอัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

[2/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

[3/] เปอร์เซ็นต์เมล็ดดีหรือเมล็ดด่างที่เพิ่มขึ้น (+) หรือลดลง (-) เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม โดยคำนวณได้จาก

$$\text{เปอร์เซ็นต์เพิ่มขึ้น (+) หรือลดลง (-)} = \frac{\text{กรรมวิธีทดลอง} - \text{กรรมวิธีควบคุม}}{\text{กรรมวิธีควบคุม}} \times 100$$

[4/] pl = เซลล์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* 01-52 สำหรับแช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวเตรียมจากชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดผสมน้ำอัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 100 ลิตร

[5/] คลุกเมล็ดด้วยสาร mancozeb 80% WP (3 กรัมต่อเมล็ด 1 กิโลกรัม) และพ่นต้นข้าวด้วยสาร propiconazole+difenoconazole 30% EC (15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร)

[6/] แช่เมล็ดข้าวและพ่นต้นข้าวด้วยน้ำเปล่า

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เมื่อขัดสีข้าวเปลือก 1 กิโลกรัม เป็นข้าวสารขาว จะได้ส่วนประกอบ 4 ส่วน คือ ข้าวสาร ปลายข้าว รำข้าว และแกลบ (ภาพที่ 8) จากผลการทดลองในตารางที่ 9 พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง ได้ปริมาณน้ำหนักข้าวสารสูงที่สุด (403.33 กรัมต่อข้าวเปลือก 1 กิโลกรัม) รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด (386.66 กรัมต่อข้าวเปลือก 1 กิโลกรัม) ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า (366.66 กรัมต่อข้าวเปลือก 1 กิโลกรัม) ในทำนองเดียวกันก็พบว่าปริมาณน้ำหนักของปลายข้าว รำข้าว และแกลบ ในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง มีปริมาณต่ำที่สุด คือ 220.00, 100.00 และ 276.66 กรัมต่อข้าวเปลือก 1 กิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งปริมาณน้ำหนักของรำข้าวและแกลบมีค่าต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า คือ 110.00 และ 293.33 กรัมต่อข้าวเปลือก 1 กิโลกรัม ตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 13)

ภาพที่ 8 การขัดสีข้าวด้วยเครื่องสีข้าวขาว-ข้าวกล้องขนาดเล็ก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 13 ประสิทธิภาพการขัดสีเป็นข้าวสารของข้าวเปลือกพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 น้ำหนัก 1 กิโลกรัม ที่ได้จากข้าวซึ่งปลูกโดยการการแช่เมล็ด และพ่นด้วยเชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อ *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด

กรรมวิธี (แช่/พ่น)	น้ำหนัก (กรัม/ข้าวเปลือก 1 กิโลกรัม)			
	ข้าวสาร	ปลายข้าว	รำข้าว	แกลบ
BB165-M3 (pf)[1/]	403.33 a[2/]	220.00 b	100.00 b	276.66 b
T. harzianum 01-52 (pl)[3/]	386.66 b	220.00 b	103.33 ab	293.33 a
สารเคมี[4/]	356.66 c	240.00 a	103.33 ab	300.00 a
กรรมวิธีควบคุม[5/]	366.66 c	230.00 b	110.00 a	293.33 a
C.V. (%)	1.70	2.19	4.23	1.90

[1/] pf = เซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย *B.amyloliquefaciens* BB165-M3 สำหรับแช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวเตรียมจากชีวภัณฑ์ชนิดผงผสมน้ำอัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

[2/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

[3/] pl = เซลล์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* 01-52 สำหรับแช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวเตรียมจากชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดผสมน้ำอัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 100 ลิตร

[4/] คลุกเมล็ดด้วยสาร mancozeb 80% WP (3 กรัมต่อเมล็ด 1 กิโลกรัม) และพ่นต้นข้าวด้วยสาร propiconazole+difenoconazole 30% EC (15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร)

[5/] แช่เมล็ดข้าวและพ่นต้นข้าวด้วยน้ำเปล่า

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 ในการลดโรคเมล็ดด่าง และเพิ่มผลผลิตของข้าวพันธุ์ชัยนาท1 ในสภาพแปลงนา (ฤดูนาปรัง: เดือนเมษายน - เดือนสิงหาคม 2556)

4.1 การเจริญครอบครองผิวเมล็ด รากข้าว และบนใบของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3

การแช่เมล็ดพันธุ์ข้าวด้วยเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด พบว่า ทั้งสองกรรมวิธีมีเปอร์เซ็นต์การเจริญครอบครองเมล็ดได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำรากข้าวอายุ 25 วัน 60 วัน และ 130 วัน (หลังเก็บเกี่ยว) มาตรวจเปอร์เซ็นต์การเจริญครอบครองรากพบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเจริญครอบครองรากข้าวของเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 เท่ากับ 22.2, 0.0 และ 0.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเชื้อรา *T. harzianum* 01-52 สามารถเจริญครอบครองรากได้ 55.0, 15.0 และ 25.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 14)

ตารางที่ 14 การเจริญครอบครองรากข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 อายุ 25, 60 และ 130 วัน (หลังการเก็บเกี่ยว) ของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อ *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด

กรรมวิธี (แช่/พ่น)	การเจริญครอบครองรากข้าวอายุ 25 วัน (%)	การเจริญครอบครองรากข้าวอายุ 60 วัน (%)	การเจริญครอบครองรากข้าวอายุ 130 วัน[1/] (%)
BB165-M3 (pf)[2/]	22.2	0.0	0.0
T. harzianum 01-52 (pl)[3/]	55.0	15.0	25.0
สารเคมี[4/]	ND[5/]	ND	ND
กรรมวิธีควบคุม[6/]	ND	ND	ND

[1/] เก็บตัวอย่างรากข้าวหลังเก็บเกี่ยวผลผลิต 10 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 14 (ต่อ)

[2/] pf = เซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย *B.amyloliquefaciens* BB165-M3 สำหรับแช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวเตรียมจากชีวภัณฑ์ชนิดผงผสมน้ำอัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

[3/] pl = เซลล์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* 01-52 สำหรับแช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวเตรียมจากชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดผสมน้ำอัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 100 ลิตร

[4/] คลุกเมล็ดด้วยสาร mancozeb 80% WP (3 กรัมต่อเมล็ด 1 กิโลกรัม) และพ่นต้นข้าวด้วยสาร propiconazole+difenoconazole 30% EC (15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร)

[5/] ND = Non-determined (ไม่ได้ตรวจสอบ)

[6/] แช่เมล็ดข้าวและพ่นต้นข้าวด้วยน้ำเปล่า

4.2 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 ในการลดโรคเมล็ดด่าง และเพิ่มผลผลิตของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1ในสภาพแปลงนา

นำเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 มาทดสอบประสิทธิภาพในการลดโรคเมล็ดด่าง และเพิ่มผลผลิตของข้าวในสภาพแปลงนา พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ดแช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวจำนวน 3 ครั้ง ช่วยให้ข้าวมีผลผลิต 436.11 และ 457.22 กรัม/ตารางเมตร สูงกว่ากรรมวิธีที่ใช้สารเคมี (393.22 กรัม/ตารางเมตร) และกรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า (382.78 กรัม/ตารางเมตร) อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 15)

เมื่อพิจารณาน้ำหนักผลผลิตต่อไร่ พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด ให้น้ำหนักผลผลิตคือ 697.78 และ 731.55 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งมีค่าสูงกว่ากรรมวิธีที่ใช้สารเคมีควบคุมเชื้อรา (628.45 กิโลกรัม/ไร่) และกรรมวิธีควบคุม(612.45 กิโลกรัมต่อไร่) อย่างมีนัยสำคัญ โดยมีผลผลิตเพิ่มขึ้น 13.93 และ 19.45 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (ตารางที่ 15)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ส่วนน้ำหนักเมล็ดข้าว 1,000 เมล็ดดีนั้น พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด ให้น้ำหนักเมล็ด 1,000 เมล็ดดีมากที่สุด (33.99 กรัม/1,000 เมล็ดดี) คิดเป็นน้ำหนัก 1,000 เมล็ดดีที่เพิ่มขึ้น 15.80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม รองลงมากรรมคือวิธีที่ใช้สารเคมีควบคุมเชื้อรา และกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง คือ 33.17 และ 32.01 กรัม/1,000 เมล็ดดี ตามลำดับ ซึ่งทุกกรรมวิธีมีค่าสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า (29.35 กรัม/1,000 เมล็ดดี) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับ (ตารางที่ 15)

ตารางที่ 15 น้ำหนักผลผลิตต่อตารางเมตร, น้ำหนักผลผลิตต่อไร่ และน้ำหนัก 1,000 เมล็ดดีของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ผ่านการแช่เมล็ด และพ่นด้วยเชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อ *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด

กรรมวิธี (แช่/พ่น)	น้ำหนักผลผลิต/ ตร.ม^2 (ก./ตร.ม^2)[1/]	น้ำหนักผลผลิต/ ไร่ (กก./ไร่)[1/]	น้ำหนักผลผลิต/ 1000 เมล็ดดี[1/] (ก./1,000 เมล็ดดี)[2/]
BB165-M3 (pf)[3/]	436.11 a[4/]	697.78 a[4/] (+13.93%)[5/]	32.01 a (+9.06%)[5/]
T. harzianum 01-52 (pl)[6/]	457.22 a	731.55 a (+19.45%)	33.99 a (+15.80%)
สารเคมี[7/]	393.22 b	628.45 b (+2.61%)	33.17 a (+13.01%)
กรรมวิธีควบคุม[8/]	382.78 b	612.45 b	29.35 a
C.V. (%)		8.83	17.92

[1/] น้ำหนักผลผลิตต่อ 1 ตารางเมตร และ น้ำหนักผลผลิตต่อไร่

[2/] ค่าเฉลี่ยของน้ำหนัก 1,000 เมล็ดดี คำนวณจากน้ำหนักเมล็ดที่ความชื้น 14 เปอร์เซ็นต์จาก 3 ซ้ำต่อกรรมวิธี (1,000 เมล็ดดี/ซ้ำ).

[3/] pf = เซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 สำหรับแช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวเตรียมจากชีวภัณฑ์ชนิดผงผสมน้ำอัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

[4/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 15 (ต่อ)

[5/] ค่าผลผลิตข้าวต่อไร่ และน้ำหนัก 1,000 เมล็ดดี (กรัม) คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เพิ่มขึ้น (+) หรือลดลง (-) เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

$$\text{เปอร์เซ็นต์เพิ่มขึ้น (+) หรือลดลง (-)} = \frac{\text{กรรมวิธีทดลอง} - \text{กรรมวิธีควบคุม}}{\text{กรรมวิธีควบคุม}} \times 100$$

[6/] pl = เซลล์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* 01-52 สำหรับแช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวเตรียมจากชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดผสมน้ำอัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 100 ลิตร

[7/] คลุกเมล็ดด้วยสาร mancozeb 80% WP (3 กรัมต่อเมล็ด 1 กิโลกรัม) และพ่นต้นข้าวด้วยสาร propiconazole+difenoconazole 30% EC (15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร)

[8/] แช่เมล็ดข้าวและพ่นต้นข้าวด้วยน้ำเปล่า

จากการสุ่มจำนวนรวงจากพื้นที่ 1 ตารางเมตร พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด ให้จำนวนรวงต่อ 1 ตารางเมตร สูงที่สุด 373.11 รวงต่อตารางเมตร รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง 367.00 รวงต่อตารางเมตร ซึ่งสูงกว่าแต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่าคือ 370.89 รวงต่อตารางเมตร ส่วนกรรมวิธีที่ใช้สารเคมีควบคุมเชื้อรามีจำนวนรวง 354.56 รวงต่อ 1 ตารางเมตร (ตารางที่ 16)

เมื่อประเมินโรคเมล็ดด่างบนรวงข้าว พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคบนรวง ต่ำที่สุด (5.38 เปอร์เซ็นต์) รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง คือ 6.61 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าต่ำกว่ากรรมวิธีที่ใช้สารเคมีควบคุมเชื้อรา (19.93 เปอร์เซ็นต์) และกรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า (37.75 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญตามลำดับ โดยกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด สามารถลดโรคเมล็ดด่างของข้าวได้สูงที่สุด คือ 85.74 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และกรรมวิธีที่ใช้สารเคมีควบคุมเชื้อรา โดยมีเปอร์เซ็นต์ลดโรคเมล็ดด่างของข้าวเท่ากับ 82.49 และ 47.20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 16)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 16 จำนวนรวง และเปอร์เซ็นต์ของโรคเมล็ดด่าง จากการสุ่มตัวอย่างรวงหลังการเก็บเกี่ยวข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ปลูกโดยการแช่เมล็ดและพ่นต้นข้าวด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อรา *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด

กรรมวิธี (แช่/พ่น)	จำนวนรวงต่อตารางเมตร	โรคเมล็ดด่าง (%)[1/]
BB165-M3 (pf)[2/]	367.00 a[3/]	6.61 c (-82.49%)[4/]
T. harzianum 01-52 (pl)[5/]	373.11 a	5.38 c (-85.74%)
Fungicide[6/]	354.56 a	19.93 b (-47.20%)
Control[7/]	370.89 a	37.75 a
C.V. (%)	7.73	14.63

[1/] เปอร์เซ็นต์ของโรคเมล็ดด่างคำนวณจาก 4 ซ้ำต่อกรรมวิธี (20 รวงต่อซ้ำ)

[2/] pf = เซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 สำหรับแช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวเตรียมจากชีวภัณฑ์ชนิดผงผสมน้ำอัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

[3/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

[4/] ค่าของโรคเมล็ดด่าง คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เพิ่มขึ้น (+) หรือลดลง (-) เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม คำนวณได้โดย

$$\text{การเกิดโรคลดลง (\%)} = \frac{\text{กรรมวิธีควบคุม} - \text{กรรมวิธีทดลอง}}{\text{กรรมวิธีควบคุม}} \times 100$$

[5/] pl = เซลล์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* 01-52 สำหรับแช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวเตรียมจากชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดผสมน้ำอัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 100 ลิตร

[6/] คลุกเมล็ดด้วยสาร mancozeb 80% WP (3 กรัมต่อเมล็ด 1 กิโลกรัม) และพ่นต้นข้าวด้วยสาร propiconazole+difenoconazole 30% EC (15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร)

[7/] แช่เมล็ดข้าวและพ่นต้นข้าวด้วยน้ำเปล่า

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จากการสุ่มเมล็ดข้าวจากแต่ละกรรมวิธีมาตรวจนับเปอร์เซ็นต์เมล็ดดี เมล็ดด่างและเมล็ดลีบ พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีสูงที่สุด (84.35 เปอร์เซ็นต์) โดยมีเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีเพิ่มขึ้นเท่ากับ 25.27 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง (81.87 เปอร์เซ็นต์) คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีเพิ่มขึ้น 21.59 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า (67.33 เปอร์เซ็นต์) (ตารางที่ 17)

เมื่อตรวจเปอร์เซ็นต์เมล็ดด่าง พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด (10.84 เปอร์เซ็นต์) มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดด่างต่ำที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์เมล็ดด่างลดลง เท่ากับ 55.39 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง (12.96 เปอร์เซ็นต์) คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เมล็ดด่างลดลง 46.66 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์เมล็ดด่างต่ำกว่ากรรมวิธีที่ใช้สารเคมี (24.98 เปอร์เซ็นต์) และกรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า (24.30 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 17)

และเมื่อตรวจเปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบ พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบต่ำที่สุด (4.80 เปอร์เซ็นต์) โดยมีเปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบลดลง เท่ากับ 42.58 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง (5.16 เปอร์เซ็นต์) คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบลดลง 38.27 เปอร์เซ็นต์ โดยทั้งสองกรรมวิธีมีเปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบต่ำกว่ากรรมวิธีที่ใช่สารเคมี (10.89 เปอร์เซ็นต์) และกรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า (8.36 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญ(ตารางที่ 17)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 17 เปอร์เซ็นต์เมล็ดดี เมล็ดด่างและเมล็ดลีบ จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดข้าวหลังการเก็บเกี่ยวของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ผ่านการแช่เมล็ด และพ่นด้วยเชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อ *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด

กรรมวิธี (แช่/พ่น)	เมล็ดดี (%)[1/]	เมล็ดด่าง (%)[1/]	เมล็ดลีบ (%)[1/]
BB165-M3 (pf)[2/]	81.87 a[3/] (+21.59%)[4/]	12.96 b (-46.66%)[4/]	5.16 c (-38.27%)
T. harzianum 01-52 (pl)[5/]	84.35 a (+25.27%)	10.84 b (-55.39%)	4.80 c (-42.58%)
Fungicide[6/]	64.12 a	24.98 a	10.89 a
Control[7/]	67.33 a	24.30 a	8.36 b
C.V. (%)	20.04	20.27	22.73

[1/] เปอร์เซ็นต์เมล็ดดี เมล็ดด่างและเมล็ดลีบจาก 3 ซ้ำต่อกรรมวิธี (5 กรัม/ซ้ำ)

[2/] pf = เซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย *B.amyloliquefaciens* BB165-M3 สำหรับแช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวเตรียมจากชีวภัณฑ์ชนิดผงผสมน้ำอัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

[3/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

[4/] เปอร์เซ็นต์เมล็ดดีหรือเมล็ดด่างที่เพิ่มขึ้น (+) หรือลดลง (-) เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม โดยคำนวณได้จาก

$$\text{เปอร์เซ็นต์เพิ่มขึ้น (+) หรือลดลง (-)} = \frac{\text{กรรมวิธีทดลอง} - \text{กรรมวิธีควบคุม}}{\text{กรรมวิธีควบคุม}} \times 100$$

[5/] pl = เซลล์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* 01-52 สำหรับแช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวเตรียมจากชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดผสมน้ำอัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 100 ลิตร

[6/] คลุกเมล็ดด้วยสาร mancozeb 80% WP (3 กรัมต่อเมล็ด 1 กิโลกรัม) และพ่นต้นข้าวด้วยสาร propiconazole+difenoconazole 30% EC (15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร)

[7/] แช่เมล็ดข้าวและพ่นต้นข้าวด้วยน้ำเปล่า

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลการขัดสีข้าวเปลือก 1 กิโลกรัมเป็นข้าวกล้องจากทุกกรรมวิธี เมื่อขัดสีจะได้ส่วนประกอบ 2 ส่วน คือ ข้าวกล้อง และแกลบ (ภาพที่ 7A-B) จากผลการทดลอง พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด มีน้ำหนักข้าวกล้องสูงที่สุด (751.94 กรัมต่อข้าวเปลือก 1 กิโลกรัม) ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า (745.28 กรัมต่อข้าวเปลือก 1 กิโลกรัม) รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง (745.00 กรัมต่อข้าวเปลือก 1 กิโลกรัม) และกรรมวิธีใช้สารเคมีควบคุมเชื้อรา (722.50 กรัมต่อข้าวเปลือก 1 กิโลกรัม) ในขณะที่น้ำหนักแกลบ พบว่าผลก็เป็นไปในทำนองเดียวกันกับน้ำหนักข้าวกล้อง (ตารางที่ 18)

เมื่อคัดแยกข้าวกล้องที่ขัดสีแบ่งเป็น 2 ส่วน คือส่วนของเมล็ดข้าวที่มีลักษณะสมบูรณ์หรือเต็มเมล็ด (ภาพที่ 7B) และส่วนของเมล็ดข้าวหัก ซึ่งมีความยาวต่ำกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ของความยาวเมล็ด (ภาพที่ 7C) พบว่าได้ผลในทำนองเดียวกับข้าวกล้อง กล่าวคือ กรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด มีน้ำหนักข้าวกล้องเต็มเมล็ดสูงกว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง โดยมีน้ำหนัก 8.70 และ 8.68 กรัมต่อข้าวกล้อง 10 กรัม ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า 8.66 กรัมต่อข้าวกล้อง 10 กรัม ส่วนน้ำหนักข้าวหักในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด มีน้ำหนักข้าวหัก 1.30 กรัมต่อข้าวกล้อง 10 กรัม ต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า (1.34 กรัมต่อข้าวกล้อง 10 กรัม) (ตารางที่ 18)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 18 ประสิทธิภาพการขัดสีเป็นข้าวกล้องของข้าวเปลือกพันธุ์ชัยนาท 1 น้ำหนัก 1 กิโลกรัม ที่ได้จากข้าวซึ่งปลูกโดยการการแช่เมล็ด และพ่นด้วยเชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อ *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด

กรรมวิธี (แช่/พ่น)	น้ำหนัก (กรัม/ข้าวเปลือก 1 กิโลกรัม)		น้ำหนัก (กรัม/ข้าวกล้อง 10 กรัม)	
	ข้าวกล้อง	แกลบ	ข้าวเต็มเมล็ด	ข้าวหัก
BB165-M3 (pf)[1/]	745.00 ab[2/]	255.00 ab	8.68 b	1.32 a
T. harzianum 01-52 (pl)[3/]	751.94 a	248.06 b	8.70 b	1.30 a
Fungicide[4/]	722.50 b	277.50 a	8.98 a	1.02 a
Control[5/]	745.28 ab	252.50 ab	8.66 b	1.34 a
C.V. (%)	3.32	9.55	2.42	17.07

[1/] pf = เซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย *B.amyloliquefaciens* BB165-M3 สำหรับแช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวเตรียมจากชีวภัณฑ์ชนิดผงผสมน้ำอัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

[2/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

[3/] pl = เซลล์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* 01-52 สำหรับแช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวเตรียมจากชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดผสมน้ำอัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 100 ลิตร

[4/] คลุกเมล็ดด้วยสาร mancozeb 80% WP (3 กรัมต่อเมล็ด 1 กิโลกรัม) และพ่นต้นข้าวด้วยสาร propiconazole+difenoconazole 30% EC (15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร)

[5/] แช่เมล็ดข้าวและพ่นต้นข้าวด้วยน้ำเปล่า

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5. การทดสอบความสามารถของเชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์ BB165 และเชื้อ *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 ในการละลายฟอสเฟต

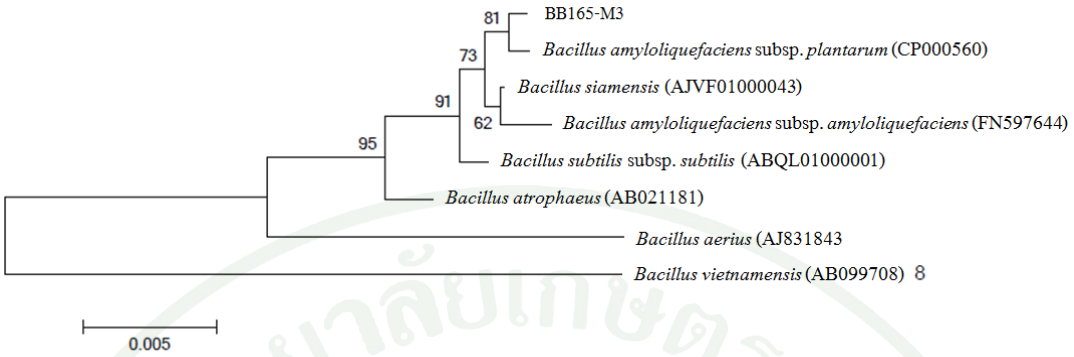
จากการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใสพบว่า เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ BB165 และ *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 สามารถละลายฟอสเฟตได้ มีขนาดบริเวณใส (clear zone) ไม่ต่างกันโดยมีขนาด 0.44 และ 0.43 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับ

ภาพที่ 9 ลักษณะบริเวณใส (clear zone) ที่เกิดจากการละลายฟอสเฟตของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus amyloliquefaciens* BB165 สายพันธุ์ดั้งเดิม (wild type strain) และ BB165-M3 สายพันธุ์กลาย (mutant strain)บนอาหาร Pikovskaya's agar (Gaur, 1990)

6. การจำแนกเชื้อแบคทีเรีย ด้วยวิธีการ Double stranded 16S rDNA sequencing

จากการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรีย ไอโซเลต BB165-M3 มีลำดับนิวคลีโอไทด์เหมือนกับแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* มากที่สุด (99.93%) โดยมีลำดับนิวคลีโอไทด์แตกต่างจากแบคทีเรียในลำดับถัดมาเล็กน้อย ซึ่งจากการศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเปรียบเทียบกับแบคทีเรียใกล้เคียงในสกุล *Bacillus* พบว่า แบคทีเรีย ไอโซเลต BB165-M3 มีวิวัฒนาการใกล้เคียงกับ *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* มากที่สุด โดยมีวิวัฒนาการแตกต่างจากแบคทีเรียใกล้เคียงเล็กน้อย จากผลวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียชนิดนี้จึงมีความเป็นไปได้สูงที่จะจำแนกแบคทีเรียเป็น *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* เมื่อนำมาจัดทำ phylogenetic trees พบว่า BB165-M3 มีลำดับนิวคลีโอไทด์เหมือนกับแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* มากที่สุด (ภาพที่ 10)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 10 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรีย ไอโซเลต BB165-M3 บน 16S rDNA ที่แสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเปรียบเทียบแบคทีเรียใกล้เคียงในสกุล *Bacillus*

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิจารณ์

ในการทดลองครั้งนี้ พบว่าการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ร่วมกันคือ แบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง ร่วมกับเชื้อรา *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด มีเปอร์เซ็นต์การลดโรคบนใบและโรคบนรวงต่ำกว่ากรรมวิธีที่ใช้แบบเดี่ยว ในขณะที่น้ำหนักผลผลิตของข้าวในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง มีน้ำหนักสูงกว่าการใช้ร่วมกัน ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ วราภรณ์ (2550) ที่พบว่าการใช้เชื้อรา *T. harzianum* ร่วมกับการใช้ *Bacillus* sp. BB165 มีประสิทธิภาพในการลดการเกิดโรคแอนแทรคโนสของพริกไม่แตกต่างกับการใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. BB165 แบบเดี่ยว กรพินธุ์ (2551) พบว่าประสิทธิภาพของการใช้เชื้อรา *T. harzianum* ร่วมกับการใช้ *Bacillus* sp. เพื่อควบคุมโรคใบปื้นเหลืองของกล้วยไม้ในช่วงฤดูร้อน ไม่แตกต่างกันในทางสถิติกับการใช้เชื้อรา *T. harzianum* หรือการใช้ *Bacillus* sp. แบบเดี่ยว เพ็ญภัค (2552) พบว่าการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ร่วมกันคือ แบคทีเรีย *Bacillus* sp. RO15 ร่วมกับเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคบนราก และดัชนีการเกิดโรครากเน่าบนรากผักกาดหอมไม่แตกต่างกันมากนัก ทั้งในกรรมวิธีที่ใช้แบบเดี่ยวหรือแบบร่วมกัน แต่ในขณะที่น้ำหนักสดของผักกาดหอมในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 กลับมีน้ำหนักสูงกว่าการใช้ร่วมกัน และการทดลองของจารุวรรณ (2556) พบว่าการใช้ชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 ลดการเกิดโรคได้ดีกว่าการใช้เชื้อรา *T. harzianum* ร่วมกับชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 จากรายงานดังกล่าวและผลการทดลองในครั้งนี้ ชี้ให้เห็นว่า การทำงานร่วมกันของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สองชนิด หรือมากกว่าสองชนิดขึ้นไปอาจจะต้องการสภาวะที่มีความเหมาะสม หรือส่งเสริมกันและกัน โดยจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดจะต้องมีคุณสมบัติที่ดีต่างกัน และไม่มีการยับยั้ง หรือแก่งแย่งกันเอง ซึ่งอาจเป็นเหตุให้ไปลดศักยภาพในการควบคุมโรคหรือการส่งเสริมการเจริญของพืช ตลอดจนไปมีผลกระทบในทางลบต่อการสร้างปฏิชีวนสาร และเอนไซม์ต่างๆ อีกด้วย แต่ทั้งนี้ถ้ามีการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์สองชนิด หรือมากกว่าหรือแม้แต่ชนิดเดียวกันแต่หลากหลายสายพันธุ์ แล้วมีการปรับสภาพให้มีความเหมาะสมกัน ก็อาจจะทำให้เกิดการส่งเสริมกันในด้านต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นด้านการเจริญเติบโต ควบคุมโรคได้กว้างขึ้นทนต่อสภาพแวดล้อมได้หลากหลายสภาวะขึ้น ซึ่งอาจเป็นแนวทางที่นำไปสู่การควบคุมโรคที่ดีและมีความยั่งยืนในอนาคตได้ ดังเช่นการทดลองของ Domenech *et al*. (2006) ที่มีการนำผลิตภัณฑ์ LS213 ซึ่งมีการผสมกันระหว่างไคโตซาน และแบคทีเรีย PGPR 2 ชนิด คือ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ GB03 ซึ่งมีคุณสมบัติในการกระตุ้นการเจริญเติบโต และ *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ IN937a ซึ่งมีคุณสมบัติในการกระตุ้นให้เกิดความต้านทานโรคในพืช และนำมาใช้ร่วมกับแบคทีเรียอีก 3 สายพันธุ์ คือ *B. licheniformis* CECT 5106, *Pseudomonas fluorescens* CECT 5398 และ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

แบคทีเรีย *Chryseobacterium balustinum* CECT 5399 พบว่าการใช้ LS213 ร่วมกับแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์ส่งผลให้มะเขือเทศและพริกมีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้นและสามารถควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium* และโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia* ได้ Da *et al*. (2014) กล่าวว่า เชื้อ *B. amyloliquefaciens* S20 สามารถควบคุมเชื้อ *R. solanacearum* และเชื้อ *F. oxysporum* ซึ่งเชื้อ *F. oxysporum* เป็นหนึ่งในเชื้อสาเหตุโรคที่สำคัญในการทำให้เกิดโรคเมล็ดด่างของข้าว และจากผลการทดลองยังพบว่า การใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ร่วมกับการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ทำให้มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคในดินได้ดีกว่าการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพียงอย่างเดียว

นอกจากนี้กรรมวิธีที่มีการใช้แบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง ร่วมกับเชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด พบว่า สามารถลดการเกิดโรคเมล็ดด่าง แตกต่างจากกรรมวิธีที่ใช้แบบเดี่ยวๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อาจจะเนื่องมาจากมีการแข่งขันครอบครองพื้นที่กันเองระหว่างแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 และเชื้อรา *T. harzianum* 01-52 อย่างไรก็ตาม พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 และเชื้อรา *T. harzianum* 01-52 มีค่าเปอร์เซ็นต์การครอบครองรากได้ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ จะเห็นได้ว่าในการทดลองครั้งนี้กรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตและลดความเสียหายที่เกิดจากเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่างได้ดีกว่าแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ทั้งนี้อาจจะเนื่องจากว่านอกเหนือจากกลไกอื่นๆ ที่มีเหมือนกันแล้ว เชื้อรา *Trichoderma* ยังสามารถเจริญพันรัดแนบชิดแล้วทำลายเส้นใยของเชื้อโรคได้โดยตรง มีประสิทธิภาพการครอบครอง บริเวณรากของข้าวได้ดีกว่าแบคทีเรีย จึงสามารถลดการเข้าทำลาย และลดความเสียหายที่เกิดจากเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่างได้ดี สอดคล้องกับงานทดลองของแพรทอง (2549) ที่แสดงให้เห็นว่า เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 ชนิดสดมีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมชนิดกรีนคอส ที่เกิดจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* ทั้งการคลุกเมล็ดและการผสมลงไปในสารละลายธาตุอาหาร นอกจากจะช่วยควบคุมระดับความรุนแรงของโรคแล้วยังช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักกาดหอมได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้ เชื้อรา *T. harzianum* ยังสามารถครอบครองรากพืชได้ดีและช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและ เพิ่มผลผลิตความสมบูรณ์ของรากพืช อีกทั้งยังช่วยให้พืชต้านทานต่อสภาวะเครียดที่เกิดจากสภาพแวดล้อมได้ดีขึ้น (Harman *et al*., 2004)

การลดการเกิดโรคเมล็ดด่างจะเห็นได้ว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B.amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 ชนิดผง สามารถลดการเกิดโรคเมล็ดด่างได้เทียบเท่ากับกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ 01-52 ชนิดเม็ด และกรรมวิธีที่ใช้สารเคมีควบคุมเชื้อรา ซึ่งอาจมีผลมาจากกลไกในการควบคุมโรคทั้งการแข่งขันในด้านที่อยู่อาศัย สร้างสารปฏิชีวนะ สารทุติยภูมิ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตลอดจนชักนำให้พืชสร้างเอนไซม์และกระตุ้นให้พืชเกิดความต้านทานโรคเช่นเดียวกับงานทดลองของ Kinsell *et al.* (2009) พบว่าดินที่บริเวณผิวรากของแตกกวาที่ปลูกเชื้อ *B. subtilis* QST 713 สามารถสร้างสารพวก surfactin, iturin สามารถยับยั้งการเข้าทำลายและลดระดับความรุนแรงของโรคที่เกิดขึ้นได้ หรือแม้แต่การชักนำให้พืชเกิดความต้านทานโรคพืชโดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ โดยที่แบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* มีการสร้างสารปฏิชีวนะ เอนไซม์ protease, cellulose, chitinase, β-1,3 glucanase และ β-1,4 endoglucanase (Marten *et al.,* 2000; wen *et al.,* 2003; Andre *et al*., 2005) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเชื้อแบคทีเรียมีการผลิตฮอร์โมน IAA หรือผลิต Phytohormone แล้วส่งผลไปกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นกล้าตั้งแต่ในระยะแรกได้ ซึ่งสอดคล้องกับเชื้อแบคทีเรีย plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) ที่มีจำหน่ายเป็นการค้า 2 สายพันธุ์ คือ *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ FZB24 และ FZB42 ที่สามารถผลิตฮอร์โมน IAA และละลาย phosphate ได้ในห้องปฏิบัติการ โดยผลิตฮอร์โมนอยู่ระหว่าง 0.065 ถึง 0.700 µg/ml และพบว่าสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นกล้าแตงกวา มะเขือเทศและพริกได้ (Kidoglu *et al*., 2007) นอกจากแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 จะสามารถควบคุมเชื้อโรคได้แล้วนั้น ยังสามารถละลายฟอสเฟตในดินได้อีกด้วย ซึ่งจะส่งผลต่อการดูดฟอสเฟตไปใช้ในกระบวนการเมทาบอลิซึมต่างๆ ซึ่งจะช่วยส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืช ตลอดจนเพิ่มผลผลิตได้อีกด้วย ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Peter *et al*. (2014) ที่ได้ศึกษาการละลายฟอสเฟตภายใต้สภาวะที่มีฟอสเฟตสูง พบว่ากรรมวิธีที่ใส่เชื้อ *B. amyloliquefaciens* FZB42 มีระบบรากยาวที่สุดและมีค่าเฉลี่ยการดูดฟอสเฟต 555.6 nmol/ต้น เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่มีอยู่ 458.7 nmol/ต้น ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติในแต่ละกรรมวิธี

การขัดสีข้าวเปลือกเป็นข้าวกล้องที่ได้จากกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด จากการทดลองพบว่า *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด สามารถเพิ่มได้ทั้งเปอร์เซ็นต์น้ำหนักข้าวกล้องเต็มเมล็ด (0.46-4.37 เปอร์เซ็นต์) ขณะที่เปอร์เซ็นต์น้ำหนักของเมล็ดข้าวหักลดลง (2.98-36.11 เปอร์เซ็นต์) เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม สอดคล้องกับการทดลองก่อนหน้านี้ ในสภาพแปลงนาที่ใช้ชีวภัณฑ์เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ดแช่เมล็ดข้าว ร่วมกับการพ่นบนต้นข้าว สามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์ข้าวกล้องเต็มเมล็ด และลดเปอร์เซ็นต์เมล็ดข้าวหัก เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม และกรรมวิธีควบคุมที่ใช้สารเคมี (จิระเดช และคณะ, 2556; วานิช และคณะ, 2556) อาจเนื่องมาจากการใช้เชื้อรา *T. harzianum* แช่เมล็ดพันธุ์และพ่นต้นข้าว มีการสะสมแร่ธาตุอาหารในเมล็ดข้าวเพิ่มขึ้น ช่วยให้ได้เมล็ดข้าวเปลือกที่มีความสมบูรณ์และแข็งแกร่ง จนสามารถขัดสีเป็นข้าวกล้องที่มีคุณภาพของการขัดสี (milling efficiency) สูงกว่ากรรมวิธีควบคุม โดยมีความ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เป็นไปได้ว่า เชื้อรา *T. harzianum* ที่อยู่บนและในรากข้าวมีส่วนช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซับธาตุอาหารของข้าวได้ (จิระเดช และคณะ, 2555ก)

นอกจากนี้ยังพบว่า เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ BB165-M3 ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้สามารถลดโรคเมล็ดด่างของข้าวได้นั้น เป็นสายพันธุ์ซึ่งแยกได้จากผิวของผลมะม่วงที่สามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง (ประคอง และคณะ, 2547) โรคแอนแทรคโนสของพริก (วราภรณ์ และคณะ, 2550) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรียเพียงไอโซเลตเดียวสามารถควบคุมโรคพืชได้หลายโรคบนพืชต่างชนิดกันได้ และยังแสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์ที่แยกได้จากพืชหนึ่ง สามารถนำไปใช้ควบคุมโรคในพืชอื่นๆ ได้ ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ดีของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่จะนำมาใช้ทดแทนสารเคมีควบคุมโรคพืชต่างๆ ได้ในอนาคต เช่นเดียวกับเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* KPS46 ที่สามารถควบคุมโรคใบจุดนูนของถั่วเหลือง (สุพจน์ และ สุดฤดี, 2546) โรคเมล็ดด่างและขอบใบแห้งของข้าว (วราภรณ์ และ สุดฤดี, 2552; วิลาวรรณ์ และ สุดฤดี, 2552;) โรคเน่าดำของคะน้าได้ (ติยากร และคณะ, 2551) เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* CG06-M6 และ BB165-M3 ที่สามารถควบคุมโรคเมล็ดด่างของข้าว (นิชากร และคณะ, 2553) เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* Lx-11 ที่สามารถควบคุมโรคขอบใบแห้งของข้าว (Zhang *et al.,* 2012)

และจากรายงานการวิจัย พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescens*, เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. สามารถลดการเกิดโรคเมล็ดด่างได้ (พากเพียร และคณะ, 2550; วิลาวรรณ์ และ สุดฤดี, 2552) นอกจากนี้ยังพบเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ที่แยกจากดิน เมื่อแช่เมล็ดข้าวก่อนปลูก และพ่นด้วยเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียดังกล่าว เมื่อข้าวอายุ 30 และ 60 วัน สามารถป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อรา *B. oryzae* สาเหตุโรคใบจุดสีน้ำตาลของข้าวในระยะต้นกล้า และระยะที่ข้าวแตกกอได้ (Nanda and Gangopadhyay, 1983) ซึ่งการทดลองครั้งนี้พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ KP09 ที่แยกได้จากรากข้าวที่แช่ในน้ำผสมปุ๋ยหมักใบไผ่แห้ง จังหวัดสุพรรณบุรี และเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ BB165 และ CG06 ที่แยกได้จากผิวผล และใบของมะม่วง ตามลำดับ (วราภรณ์, 2544; ประคอง และคณะ, 2547) ช่วยส่งเสริมให้ผลผลิตของข้าวเพิ่มขึ้น เพิ่มเปอร์เซ็นต์เมล็ดดี และลดเปอร์เซ็นต์เมล็ดด่างอย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของวิลาวรรณ์ และ สุดฤดี (2552) ที่พบว่าการใช้สูตรสำเร็จของเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* KPS46 สามารถลดการเกิดโรคเมล็ดด่างของข้าวได้ดีกว่าการใช้สารเคมี cabendazim อย่างมีนัยสำคัญ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จากผลการทดลองพบว่า ในสภาพอุณหภูมิสูง (33 องศาเซลเซียส) ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคโดยช่วยลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 36.84 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมในช่วงที่สภาพอุณหภูมิสูงการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเมล็ดด่างและส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวได้สูงกว่าการใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด และสูงกว่าการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง ร่วมกับเชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ จารุวรรณ (2556) ในทุกการทดลอง (ฤดูกาลต่างกัน) ที่มีการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* เปรียบเทียบกับการใช้เชื้อรา *T. harzianum* ผลการทดลองพบว่าการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* ดีกว่าการใช้เชื้อรา *T. harzianum* รวมถึงดีกว่าการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* ร่วมกับเชื้อรา *T. harzianum* ทั้งด้านการควบคุมโรครากเน่าและการส่งเสริมการเจริญเติบโตโดยเฉพาะในสภาพอุณหภูมิสูง

จากการทดลองดังกล่าวพบว่าการใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง ช่วยเพิ่มจำนวนต้นต่อกอ น้ำหนักผลผลิต น้ำหนักเมล็ด 1,000 เมล็ดดี เปอร์เซ็นต์เมล็ดดี และลดเปอร์เซ็นต์เมล็ดด่าง สอดคล้องกับการทดลองของนิชากร และคณะ (2553) ที่แสดงให้เห็นว่าการใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง สามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวทั้งในด้านการแตกกอ ปริมาณรวงต่อกอ ส่งผลให้ผลผลิตข้าวเพิ่มขึ้นรวมทั้งสามารถลดโรคเมล็ดด่างได้

จะเห็นได้ว่าเมื่อพัฒนาแบคทีเรียให้อยู่ในรูปสูตรสำเร็จ แบคทีเรียก็ยังคงมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้ดีอยู่เมื่อเทียบกับการใช้แบคทีเรียแบบชนิดสด (NGB) สอดคล้องกับงานทดลองของ รุ่งนภา (2549) ที่ทดสอบประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์ของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus amyloliquefaciens* ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริก ทั้งแบบชีวภัณฑ์แขวนลอย แบบน้ำและแบบผง พบว่า ชีวภัณฑ์สามารถควบคุมโรคได้ตลอดระยะเวลา 3 เดือน ในชีวภัณฑ์รูปผงแป้ง ผงดิน และผงดินบ่ม สามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกด้วยวิธี Detached fruit ได้เทียบเท่ากับสารเคมีแมนโคเซ็บโดยไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ทั้งนี้การพัฒนาสูตรสำเร็จก็เพื่อความสะดวกต่อการนำไปใช้จริงในแปลงปลูก หรือถ่ายทอดให้เกษตรกร แต่อย่างไรก็ตามควรคำนึงถึงปริมาณเชื้อหรือรูปแบบที่เหมาะสมต่อเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ความอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในสูตรสำเร็จชนิดต่าง ๆ ความรู้ความเข้าใจก่อนมีการนำไปใช้จริงในแปลงปลูกว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต้องมีปริมาณมากพอต่อการควบคุมโรค ซึ่งส่วนใหญ่มักตรวจพบแบคทีเรียบริเวณภายนอกผิวรากได้มากกว่า อาจเนื่องจากบริเวณผิวรากด้านนอกมีการหลั่ง root exudates ซึ่ง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เป็นอาหารของแบคทีเรีย จึงส่งเสริมการเจริญและเพิ่มปริมาณของแบคทีเรียที่มีอยู่ในบริเวณรอบผิวรากพืช ในธรรมชาติจุลินทรีย์ต่างๆ รวมทั้งแบคทีเรียมักมีการเคลื่อนที่เข้ามาหารากพืชหรือที่เรียกว่า chemotaxis ซึ่งเป็นคุณสมบัติทั่วไปของจุลินทรีย์ (De Weert. *et al*, 2002; Zheng, 1996)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สรุป

การแช่เมล็ดข้าวและพ่นต้นข้าวด้วยชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 ชนิดผงผสมน้ำอัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ในสภาพเรือนปลูก ช่วยให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น 21.6 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดดีเพิ่มขึ้น 14.56 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่เมล็ดด่างลดลง 27.87 เปอร์เซ็นต์ ลดโรคใบจุดสีน้ำตาลบนใบ 7.48 เปอร์เซ็นต์ และลดโรคเมล็ดด่างบนรวง 36.84 เปอร์เซ็นต์ และสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวทั้งด้านความสูง ความยาวราก และจำนวนต้นต่อกอได้ และการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรียแบบเดี่ยวมีประสิทธิภาพมากกว่าการใช้ร่วมกับเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ 01-52 ชนิดเม็ด

การแช่เมล็ดข้าวและพ่นต้นข้าวด้วยชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 ชนิดผงผสมน้ำอัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ในแปลงนา ช่วยให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น 13.93-26.95 เปอร์เซ็นต์ ลดโรคเมล็ดด่างบนรวง 6.55-82.49 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดดีเพิ่มขึ้น 6.14-21.59 เปอร์เซ็นต์ และเมล็ดด่างลดลง 1.77-46.66 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับการใช้ชีวภัณฑ์เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด ทั้งด้านการเพิ่มผลผลิตและลดโรคเมล็ดด่างบนรวง

ในการทดลอง (ฤดูกาลต่างกัน) ที่มีการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผง เปรียบเทียบกับการใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด ผลการทดลองพบว่าการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 มีผลผลิตใกล้เคียงกับการใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 รวมถึงดีกว่าการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ชนิดผงร่วมกับเชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด ทั้งด้านการควบคุมโรคเมล็ดด่างและการส่งเสริมการเจริญเติบโตโดยเฉพาะในสภาพที่มีอุณหภูมิสูง

การละลายฟอสเฟตของเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 บนอาหาร Pikovskaya's agar สามารถละลายฟอสเฟตได้ไม่แตกต่างกับเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ BB165 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ดั้งเดิม

เมื่อเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์และนำมาจัดทำ phylogenetic trees พบว่า เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 มีวิวัฒนาการใกล้เคียงกับเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* มากที่สุด

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรพินธุ์ ทนกล้า. 2551. **การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคใบปื้นเหลืองของกล้วยไม้สกุลหวาย สาเหตุจากเชื้อรา *Pseudocercospora dendrobii*.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

กรมวิชาการเกษตร. (ไม่ปรากฏปีที่พิมพ์). **การทำนาน้ำฝน** กรุงเทพฯ: ฝ่ายฝึกอบรม สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร.

กาญจนา วิชิตตระกูล. 2549. **การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* 12 ไอโซเลต ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช.** การค้นคว้าอิสระตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาโรคพืช, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

จารุวรรณ บัวสุวรรณ. 2556. **ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ของผักกาดหอม ซึ่งปลูกด้วยระบบไฮโดรโพนิกส์แบบ NFT**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จิระเดช แจ่มสว่าง, วรรณวิไล อินทนู, พราวมาส เจริญรักษ์, จิตรา น้อยพันธ์ และพัชรพร ธรรม-ภิบาลอุดม. 2556. ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์เชื้อรา *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด ในการควบคุมโรคใบจุดสีน้ำตาล โรคใบขีดสีน้ำตาล และโรคเมล็ดด่างของข้าวในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์, น. 507-516. *ใน* **การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 11 "อารักขาพืชไทย ก้าวไกลในประชาคมอาเซียน" 26-28 พฤศจิกายน 2556**. โรงแรมเซ็นทาราแอนด์คอนเวนชันเซ็นเตอร์, จังหวัดขอนแก่น.

จิระเดช แจ่มสว่าง, วรรณวิไล อินทนู, พราวมาส เจริญรักษ์ และศิริพร หนูนันท์. 2555ก. การใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* ชนิดผงแห้งร่วมกับการลดอัตราการใช้ปุ๋ยเคมีเพื่อลดโรคเมล็ดด่าง เพิ่มผลผลิต และคุณภาพของข้าว, *ใน* **การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 10 "อารักขาพืชไทย ภายใต้สภาวะโลกร้อน" 22-24 กุมภาพันธ์ 2555**. โรงแรมคุ้มภูคำเรสซิเดนซ์, จังหวัดเชียงใหม่.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จิระเดช แจ่มสว่าง และ วรรณวิไล อินทนู. 2550. ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* สายพันธุ์กลายที่ได้จากการฉายรังสีแกมมาในการลดโรคเมล็ดด่าง และเพิ่มผลผลิตของข้าว, น. 86-87. *ใน* **บทคัดย่อ การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 8: อารักขาพืชไทยใต้ร่มพระบารมี 20-22 พฤศจิกายน 2550.** โรงแรมอัมรินทร์ลากูน, จังหวัดพิษณุโลก.

จิระเดช แจ่มสว่าง, วรรณวิไล อินทนู และสริตา ภาคพิเศษ. 2548. การใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* และ *Bacillus* sp. เพื่อเพิ่มผลผลิตของข้าวและลดโรคกาบใบแห้ง และโรคเมล็ดด่างของข้าว, น. 292-304. *ใน* **รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 7: อารักขาพืช เพื่อคุณภาพชีวิตและสิ่งแวดล้อม**. โรงแรมโลตัสปางสวนแก้ว, เชียงใหม่.

ชาญ มงคล. 2536. **ข้าว.** หน่วยศึกษานิเทศก์ กรมการฝึกหัดครู, กรุงเทพฯ.

ดารา เจตนะจิตร, นงรัตน์ นิลพานิชย์, พากเพียร อรัญนารถ, วิชิต ศิริสันธนะ, วิชชุดา รัตนากาญจน์, รัศมี ฐิติเกียรติพงศ์, เยาวภา ตันติวานิช, วันชัย โรจนหัสดิน และ จรรยา อารยาพันธ์. 2545. **คู่มือโรคข้าว.** สมาคมนักโรคพืชแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ.

ดารา เจตนะจิตร, นงรัตน์ นิลพานิชย์, พากเพียร อรัญนารถ, วิชิต ศิริสันธนะ, วิชชุดา รัตนา-กาญจน์, รัศมี ฐิติเกียรติพงศ์, วันชัย โรจนหัสดิน และ ธัญลักษณ์ อารยาพันธ์. 2550. **โรคข้าวและการป้องกันกำจัด.** กรมวิชาการเกษตร สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว, กรุงเทพฯ.

ติยากร ฉัตรนภารัตน์, สุพจน์ กาเซ็ม และ สุดฤดี ประเทืองวงศ์. 2551. ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคเน่าดำคะน้า, น. 563-571. *ใน* **เรื่องเต็ม การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46 (สาขาพืช).** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ทวีศักดิ์ กลิ่นคง, ดำรงศักดิ์ เดี่ยววานิช, อุดมเดช นาคประเสริฐ และ S.M. Dale. 2542. ประสิทธิภาพของ “แอนวิน” 5 เอสซี (hexaconzole) ต่อการควบคุมโรคเมล็ดต่างๆในข้าว, หน้า 117-118. *ใน* **รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืช ครั้งที่ 4**. เทคโนโลยีการอารักขาพืชในทศวรรษหน้า. สมาคมอารักขาพืช, กรุงเทพฯ.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นพพร สายัมพล, รังสฤษฏ์ กาวีต๊ะ, เรวัต เลิศฤทัยโยธิน และ สนธิชัย จันทร์เปรม. 2542. **พืชเศรษฐกิจ.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

นิพนธ์ ทวีชัย. 2546. การควบคุมโรคแบคทีเรียของพืชโดยชีววิธี, น. 55-88. *ใน* จิระเดช แจ่มสว่าง, บรรณาธิการ. **การควบคุมโรคพืชและแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

นิชากร แซ่ตั้ง. 2553. **การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ เพื่อเพิ่มผลผลิตและลดโรคเมล็ดด่างของข้าว.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นิชากร แซ่ตั้ง, จิระเดช แจ่มสว่าง และ วรรณวิไล อินทนู. 2553. ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลายในการลดโรคเมล็ดด่างของข้าว. *ใน* **การประชุมวิชาการข้าวแห่งชาติครั้งที่ 2.** โรงแรม Swiss hotal concorde, กรุงเทพฯ.

นิวัฒ เสนาะเมือง. 2526. **เห็ดราวิทยา**. ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ประคอง เย็นจิตต์, วรรณวิไล อินทนู, จิระเดช แจ่มสว่าง, นิพนธ์ วิสารทานนท์ และ วาริน อินทนา. 2547. การคัดเลือกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนใบของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้, น.173-185. *ใน* **รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42 (สาขาพืช).** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ประไพศรี สมใจ, พวงเพ็ญ สุยะนันท์, บัณฑิต ฝั่งสินธ์, ภูษิต วรรณิสสาร และ จิราภรน์ วัฒนะกุล. 2540. การสกัดสารชีวภาพมีฤทธิ์ต้านทานเชื้อโรคพืชจากเชื้อ *Bacillus subtilis* ในระดับห้องปฏิบัติการ. **แก่นเกษตร ปีที่ 25**: 66-72.

พิสุทธิ์ พวงนาค, เมธี รุ่งโรจน์สกุล, สุณี ตันติกุล และ สรัญญา สิตะพงษ์. ม.ป.ป. **ศักยภาพของสารสกัดจากวัชพืชต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Curvularia lunata***. แหล่งที่มา: http://plantpro.doae.go.th/disease-research/P-38.pdf, 18 เมษายน 2551.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พากเพียร อรัญนารถ, นงรัตน์ นิลพานิชย์ และ รัศมี ฐิติเกียรติพงศ์. 2550. การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเมล็ดด่างของข้าว. **วารสารวิชาการข้าว** 1 (1): 21-28.

พากเพียร อรัญนารถ, นงรัตน์ นิลพานิชย์ และ วันชัย โรจนหัสดิน. 2548 ก. การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเมล็ดด่างของข้าว, น. 109-111. *ใน* **รายงานประจำปี 2548.** สถาบันวิจัยข้าว, กรุงเทพฯ.

เพ็ญภัค เสาวภาคย์. 2552. ประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่เจริญครอบครองรากในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*. **ว.วิทย.กษ** 41: 470-475.

แพรทอง ละมุล. 2549. **การใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* ในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์ สาเหตุจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum***. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มณฑา นันทพันธ์, ปรีชา สุรินทร์ และ สมยศ วิลัยสัตย์. 2541. การใช้ *Trichoderma harzianum* ในการควบคุมโรคโคนเน่าของถั่วเหลืองฝักสด. **วาราสารโรคพืช** ปีที่ 13: 42-47.

มานะ กาญจนมณีเสถียร, R.E. Gaunt, นลินี จาริกภากร, วสัณน์ เพชรรัตน์ และ นิพนธ์ ทวีชัย. 2536. ปฏิกิริยาระหว่างเชื้อแอนทาโกนิสต์ที่พบว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคข้าว, น. 606-610. *ใน* **รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 31.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ฤกษ์ ศยามานนท์. 2522. **โรคข้าวและการป้องกันกำจัด**. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด, กรุงเทพฯ.

ยอดชาย นิ่มรักษา. 2544. **การควบคุมโรคใบจุดและใบไหม้ของสตอเบอรี โดยใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

รุ่งนภา ไชยมาลี. 2549. **ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลพริก สาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*.** ปัญหาพิเศษปริญญาตรี, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ลือชัย อารยะรังสฤษฏ์, สุภาพร จันทร์บัวทอง และ อัญชลี ประเสริฐศักดิ์. 2550. ผลของปุ๋ยโพแทสเซียมต่ออิทธิพลของโรคเมล็ดด่างจากเชื้อราเคอร์วูลาเรีย ลูนาตาในข้าวต่างสายพันธุ์, น. 319-325. *ใน* **เรื่องเต็ม การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45 (สาขาพืช).** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วรรณพรรณ จันลาภา และ ปราโมทย์ คำปลิว. 2549. การลดความเสียหายของเมล็ดพันธุ์ข้าวจากโรคเมล็ดด่าง, น. 85-94. *ใน* **เรื่องย่อ การประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ประจำปี 2549.** โรงแรมลองบีช ชะอำ, เพชรบุรี.

วราภรณ์ สุทธิสา. 2544. **การคัดเลือกและใช้จุลินทรีย์ที่แยกได้จากผิวพืชในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง**. ปัญหาพิเศษปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วราภรณ์ บุญเกิด. 2550. **การใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* ร่วมกับเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วราภรณ์ บุญเกิด, จิระเดช แจ่มสว่าง และวรรณวิไล อินทนู. 2550. การใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* ร่วมกับเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. เพื่อยับยั้งโรคแอนแทรคโนสของพริกในสภาพเรือนทดลอง, น. 172-184. *ใน* **รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติครั้งที่ 8: อารักขาพืชไทยใต้ร่มพระบารมี 20-22 พฤศจิกายน 2550.** โรงแรมอัมรินทร์ลากูน, พิษณุโลก.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วราภรณ์ ภู่ภักดีพันธ์ และ สุดฤดี ประเทืองวงศ์. 2552. เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ใหม่กระตุ้นให้ข้าวพันธุ์ต้านทานผลิตเอนไซม์ปกป้องการติดเชื้อจาก *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ได้เพิ่มขึ้นมากกว่าข้าวพันธุ์อ่อนแอ, น. 649-658. *ใน* **รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 9: อารักขาพืชไทย เทิดไท้องค์ภูมี ตามวิถีเศรษฐกิจพอเพียง 24-26 พฤศจิกายน 2552.** โรงแรมสุนีย์ แกรนด์, อุบลราชธานี.

วานิช ทองนาเพียง และ จิระเดช แจ่มสว่าง. 2556. ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์เชื้อรา *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ดร่วมกับสาร Brassinolide ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตเพิ่มผลผลิตและลดโรคเมล็ดด่างของข้าวพันธุ์ กข31, น. 485-496. *ใน* **การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติครั้งที่ 11 "อารักขาพืชไทย ก้าวไกลในประชาคมอาเซียน" 26-28 พฤศจิกายน 2556.** โรงแรมเซ็นทาราแอนด์คอนเวนชันเซ็นเตอร์, ขอนแก่น.

วิลาวรรณ์ เชื้อบุญ และ สุดฤดี ประเทืองวงศ์. 2552. การลดจำนวนครั้งและการเพิ่มประสิทธิภาพของการใช้สูตรผงละลายน้ำของ *Pseudomonas fluorescens* SP007s ในการควบคุมโรคเมล็ดด่างของข้าว, น. 621-629. *ใน* **รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47 (สาขาพืช).** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วิภาดา ศุภกลิน. 2524. **การศึกษาเชื้อรา *Acrocylindrium oryzae Sawanda* ที่ติดมากับเมล็ดข้าวและการเกิดโรคกับข้าวสายพันธุ์ต่างๆ.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี. 2539. **ข้าวความรู้คู่ชาวนา.** เอกสารวิชาการครบรอบ 80 ปี สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

สมคิด ดิสถาพร. 2532. **ชาวนาปราบโรคข้าว.** ห้างหุ้นส่วนจำกัด ฟันนี่พับบลิชชิ่ง, กรุงเทพฯ.

สมพร ภูติยานันต์, 2551. **สมุนไพรใกล้ตัว เล่ม 13**: สมุนไพรแต่งสี กลิ่น รส. วิทยาศาสตร์เภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. ตุลย์การพิมพ์, เชียงใหม่.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สุดฤดี ประเทืองวงศ์. 2552. **การใช้จุลินทรีย์ควบคุมโรคพืช.** เกษตรกรรมธรรมชาติ ปีที่ 12 ฉบับที่ 9/2552. หจก. รุ่งเรื่องสาส์นการพิมพ์, กรุงเทพฯ.

สุพจน์ กาเซ็ม และ สุดฤดี ประเทืองวงศ์. 2546. ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคใบจุดนูนและเพิ่มผลผลิตของถั่วเหลือง, น. 524-531. *ใน* **เรื่องเต็ม การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 41.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

เอกสงวน ชูวิสิฐกุล. 2547. **ข้อควรระวังในการปลูกข้าว.** สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

อัญชลี ประเสริฐศักดิ์, เกษม สุนทราจารย์, นิพนธ์ มาฆทาน, ณัฐหทัย เอพาณิช และ อ่วม คงชู. 2546. ผลของระดับความรุนแรงของโรคเมล็ดด่างต่ออายุการเก็บรักษาของเมล็ดข้าวพันธ์หลัก, น. 25. *ใน* **บทคัดย่อ การประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาวประจำปี 2546.** โรงแรมแอมบาสเดอร์ ซิตี้ จอมเทียน, ชลบุรี.

Andre, O.S.L., M.C. Quecine, M.H.P. Fungaro, F.D. Andreote, W.M. Jr , W.L. Araújo, M.C. Silva-Filho, A.A. Pizzirani-Kleiner, and J.L. Azevedo. 2005. Molecular characterization of a β-1,4-endoglucanase from an endophytic *Bacillus pumilus* strain. **Appl**. **Microbiol. Biotechnol.** 68: 57-65.

Arwiyanto, T., K. Sakata, M. Goto, S. Tsuyamu and Y. Takikama. 1994. Induction of tomatine in tomato plant by an avirulent strain of *Pseudomonas solanacearum.* **Ann. Phytopath. Soc. Japan** 60: 288-294.

Bakker P. A., D.C. Glandorf, M. Viebahn, T.W. Ouwens, E. Smit, P. Leeflang, K. Wernars, L.S. Thomashow, J.E. Thomas-Oates and L.C. van Loon. 2002. Effects of *Pseudomonas putida* modified to produce phenazine-1-carboxylic acid and 2,4-diacetylphloro-glucinol on the microflora of field grown wheat. **Anton. Van Leeuw**. 81: 617-624.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Basha, S. and K. Ulaganathan. 2002. Antagonism of *Bacillus* species (strain BC121) towards *Curvularia lunata.* **Current Science** 82(12): 145-146**.**

Brosius, J., T. DullJ., D. D. Sleeter and H. F. Noller. 1981. Gene organization and primary structure of a ribosomal RNA operon from *Escherichia coli*. **J. Mol. Biol**. 148, 107-127.

Bedi, K.S. and H.S. Grill. 1960. Losses caused by the brown leaf-spot disease in the Punjab. **Indian Phytopathology** 13: 161-164.

Bressan, W. 2003. Biological control of maize seed pathogenic fungi by use of actinomycetes. **Bio. Control** 48: 233-240**.**

Boedjin, K.B. 1933. Ueber eining phragmasporen dermatiazeen. **Bulletin du Jardin botaniguede Buitenzorg** Series 3. 13: 120-134.

Bugnicourt, F. 1950. Les especes du *genre Curvularia isolees des semences de riz.* **Revue General de Botanique** 57: 65-77.

Chin, A.W., J.E. Thomas-Oates, B.J. Lugtenberg and G.V. Bloemberg. 2001. Phenazine-1-carboxamide production in the biocontrol strain *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 is regulated by multiple factors secreted into the growth medium. **Mol. Plant-Microbe Interact.** 14: 969-979.

Constatinescu, O. 1982. Studies on Cercospora and similar fungi. II. New combination in Cercospore and Mycovellosiella. **Cryptogamie Mycologie** 3(1): 63-70.

Cook, R.J. and K.F. Baker. 1983. The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens. **Amer. Phytopathol. Soc.** St. Paul, MN.: 539.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Da, C., L. Xin, L. Chunyu, T. Wei, S. Qirong and S. Biao. 2014. Isolation of *Bacillus amyloliquefaciens* S20 and its application in control of eggplant bacterial wilt. **Journal of Environmental Management 137**: 120-127.

De Weert, S.H. Vermeiren, H.M. Mulders, I. Kuiper, N. Hendrickx, G.V. Bloemberg, J. Vanderleyden, R.D. Mot, and B.J.J. Lugtenberg. 2002. Flagella-driven chemotaxis towards exudates components is an important trait for tomato root colonization by *Pseudomonas fluorescens*. **Mol. Plant-Microbe Interact**. 15: 1173-1180.

Drechsler, C. 1934. Phytopathological and taxonomic aspects of *Ophiobolus. Pyrenophora. Helminthosporium,* and a new genus *Cochiobolus.* **Phytopathology** 24: 953-985**.**

Domenech, J.M., S.J. Reddy, W. Kloepper, B. Ramos, and J. Gutierrez-manero. 2006. Combined application of the biological product LS213 with *Bacillus, Pseudomonas* or *Chryseobacterium* for growth promotion and biological control of soil-borne diseases in pepper and tomato. **Biol. Control** 51: 245-258.

Gaur, A.C. 1990. Phosphate solubilizing microorganisms as biofertilizers. 1sEdn., **Omega Scientific Publishers**, New Delhi, India, ISBN: 81-85399-09-3.

Gilman, J. C. 1956. A manual of soil fungi. Oxford & IBH Publishing Co. **New Delhi Bombay Calcutta**: 450.

Grove, J.W. and A.J. Skolko. 1945. Note on seed-borne fungi. III. *Curvularia.* **Canadian Journal of Research** 23: 94-104.

Godfrey, G.H. 1916. Preliminary note on a heretofore unreported leaf disease. of rice. **Phytopathology** 6: 97. [Abs]

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Harman, G.E., C.R. Howell, A. Viterbo, I. Chet, and M. Lorito. 2004. *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Rev. Microbiol.** 2: 43-56.

He, H.Y., L.A. Silo-Suh, J. Handelsman and J. Clardy. 1994. Zwittermicin-A, an antifungal and plant-protection agent from *Bacillus cereus*. **Tetrahedron Letters.** 35: 2499-2502.

Kidoglu, F.A., G.H. Ozaktan, and Y. Tüzel. 2007. Effect of rhizobacteria on plant growth of different vegetables. **Acta Hort.** 801: 1471-1477.

Katz, E. and A.L. Demain. 1977. The peptide antibiotics of *Bacillus*: chemistry biogenesis, and possible functions. **Bacteriological. Rev.** 41: 449-474.

Katsura, K., H. Kawasaki, W. Potacharoen, S. Saono, T. Saki, Y. Yamada, T. Uchimura and K. Komagata. 2001. *Asaia siamensis* sp. Nov., an actic acid bacterium in the α-*Proteobacteria. Int.* **J. Syst. Evol.Microbiol**. 51: 559-563.

Kawasaki, H., Y. Hoshino, A. Hirata, and K. Yamasato. 1993. Is intracytoplasmic membrane structure a generic criterion it does not coincide with phylogenetic interrelationships among photosynthetic purple non-sulfur bacteria. **Arch. Microbiol.** 160: 358-362.

Kim, O.S., Cho, Y.J., Lee, K., Yoon, S.H., Kim M., Na, H., Park, S.C. Jeon, Y.S., Lee, J.H., Yi, H., Won, S., Chun, J. (2012). Introducing EzTaxon-e colon a prokaryotic 16S rRNA Gene sequence database with Phylotypes that represent uncultured species. Int J Syst Evol Microbioal 62: 716-721.

Kinsella, K., C.P. Schulthess, T.F. Morris and D. Stnart. 2009. Rapid quantification of *Bacillus subtilis* antibioties in the rhizosphere. **Soil Biology and Biochemistry** 41: 374-379.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Lee, A.B., Jr. Jame and A. Hoch. 1985. Biology of the Bacilli. pp. 57-78. *In* **A. L. Demain and N. A. Solomon**. Biology of Industrial Microorganism: Biotech series. The Bejamin/ Cummings Publishing company INC, Murlo Park, California.

Loeffler, W., J.S.M. Tschen, N. Vanittanakom, M. Kugler, E. Knorpp, Ting-Fang Hsieh and T.G. Wu. 1986. Antifungal effects of bacilysin and fengymycin from *Bacillus subtilis* F-29-3 acomparison with activities of other *Bacillus* antibiotics. **Journal of Phytopathology-Phytopathologische Zeitschrift** 115: 204-213.

Martin, A.L. and G.E. Altstatt. 1940. Black kernels and white tip of rice. **Bulletin. Texas Aegricutural Experiment Station** No. 584: 14.

Marten, P., K. Smalla and G. Berg. 2000. Genotypic and phenotypic differentiation of an antifungal biocontrol strain belonging to *Bacillus subtilis*. **J. Appl. Microbiol.** 89: 463-471.

Mathur, S.B., J.I. Mallya and P. Neergaard. 1972. **Seed-borne infection of Trichoconis padwickii in rice distribution and damage to seed and seedlings**. Proceeding of the Intertional Seed Testing Assocoation 37: 803-810.

Miyaki, I. 1910. Studien uber die Pilze der Reispflanze in Japan. **Journal of the college of Agriculture**, Imperial University Tokyo. 2: 237-276.

Muller, A.S. 1953. Plant disease problem in Central America. **FAO Plant Protection Bullentin** 1: 136-138.

Nanda, H.P. and S. Gangopadhyay. 1983. Control of rice helminthosporiose with *Bacillus subtilis* antagonistic towards *Biopolaris oryzae*. **INT. J. TROP. PLANT DIS.** 1 (1): 25-30.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Ou, S.H. 1985. **Rice Diseases**. Commonwealth My cological Institute, Kew, Surrey, England: 368.

Padwick. G.W. 1950. **Manual of rice diseases**. Kew Commonwealth Mycologocal Instutute: 198.

Padmanabhan, S.Y. 1949. Fungi inside the rice kernel. **Current Science** 18: 442-443.

Penyalver, R., B. Vicedo and M.M. Lopez. 2000**.** Use of the genetically engineered *Agrobacterium* strain K1026 for biological control of crown gall. **Eur. J. Plant Pathol.** 106: 801-810

Peter J.T., Darren W.O., John R.H., Paul J.A. and David L.J. 2014. Auxin secration by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 both stimulates root exudation and limits phosphorus uptake in *Triticum aestium*. **BMC Plant Biology**: 14:51.

Rao, P.N. and M.A. Salam. 1954. Curvularia species from discoloured grains from Hyderabad. **Journal of the Indian Botanical Society** 33: 268-271.

Reyes-Ramĺrez, A., B.I. Escudero-Abarca, G. Aguilar-Uscanga, P.M. Hayward-Jones and J. Eleazar Barboza-Corona. 2004. Antifungal antivity of *Bacillus thuringiensis* chitinase and its potential for the biocontrol of phytopathogenic fungi in soybean seeds. **Journal of Food Science** 69 (5): 131-134.

Sarhan, A.R.T. and M.K.A. Shibly. 2003. Biological control of pathogenic fungi associated with rice seeds. **Arab Journal of Plant Protection** 21 (2): 102-108.

Schippers, B., B. Lugtenberg and P.J. Weisbeek. 1987. Plant growth control by fluorescent pseudomonads. pp. 19-40. *In* L. Chet, ed. **Inovative Approaches to Plant Disease Control.** John Wiley & Sons, New York.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Sivanesan, A. 1987. **Graminicolous Species of *Bipolaris*, *Curvularia*, *Drechslera*, *Exserohilum* and their Teleomorph.** C.A.B. International Mycological Institute, Wallingford: 261.

Suryanarayana, D. R. Nath and S.L. Prabha. 1963. **Seed-borne infection of stackburn disease of rice-its extent and control** Ibid. 16: 232-233.

Tasugi, H. and Y. Ikeda. 1956. Studies on the sheath rot of rice plant caused by *Acrocylindrium oryzae Sawada.* **Bulletin of the National Institute of Agricultural Sciences** 6: 151-166.

Thomas, K.M. 1931. A new paddy disease in madras. **Madras Agricultural Journal** 19: 34-36.

Thomashow, L.S. and D.M. Weller. 1990. Role of antibiotics and siderophores in biocontrol of take-all disease of wheat. **Plant and Soil.** 129: 93-99.

Thomson, J. 1987. The use of agrocin-producing barteria in the biological control of crown gall. pp. 213-228. *In* L. Chet, ed. **Inovative Approaches to Plant Disease Control.** John Wiley & Sons, New York.

Thrane, C., T.H. Nielsen, M.N. Nielsen, J. Sørensen and S. Olsson. 2000. Viscosinamide-producing *Pseudomonas fluorescens* DR54 exerts a biocontrol effect on *Pythium ultimum* in sugar beet rhizosphere. **FEMS Microbiology Ecology** 33 (2): 139-146.

Wei, C.T. 1957. Manaul of rice Pathogens. **Beijing, Science Press**. [Ch]: 267.

Wen, T.C., C.S. Chen and S.L. Wang. 2003. An Antifungal Chitinase Produced by *Bacillus cereus* with Shrimp and Crab Shell Powder as a Carbon Source. **Curr. Microbiol.** 47: 102-108.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Yamada, Y., K. Katsura, H. Kawasaki, Y. Widyastuti, S. Saono, T. saki, T. Uchimura, and K. Komagata. 2000. *Asaia bogorensis gen.* nov.,sp. Nov., an unusual acetic acid bacterium in *the α-Proteobacteria. Int.* **J. Syst. Evol.Microbiol**. 50: 823-829.

Zheng X.Y., and J.B. Sinclair. 1996. Chemotactic response of *Bacillus megaterium* strain B153-2-2 to soybean root and seed exudates. **Physiol. Mol. Plant Pathol**. 48: 21-35.

Zhang, R.S., Y.F. Lin, C.P. Luo, X.Y. Wang, Y.Z. Liu, J.Q. Qiao, J.J. Yu and Z.Y. Chen. 2012. *Bacillus amyloliquefaciens* Lx-11, a potential biocontrol agent against rice bacterial leaf streak. **Journal of Plant Pathology** 94(3): 609-619

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

สูตรอาหารเหล่านี้หลังจากเตรียมเสร็จให้นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ (autoclave) ที่ความดันไอน้ำเท่ากับ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

1. Potato dextrose agar (PDA)

มันฝรั่ง (ปอกเปลือกแล้ว)	200.0	กรัม
Dextrose	20.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Distilled water	1.0	ลิตร

2. Nutrient glucose agar (NGA)

Beef extract	3.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
Glucose	2.5	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Distilled water	1.0	ลิตร

3. Nutrient glucose bonth (NGB)

Beef extract	3.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
Glucose	2.5	กรัม
Distilled water	1.0	ลิตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. Martin's medium (Johnson and Curl, 1972)

KH_2PO_4	1.0	กรัม
$MgSO_4.7H_2O$	0.5	กรัม
Bacto Peptone	5.0	กรัม
Dextrose	10.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Distilled water	1.0	ลิตร
Rose Bengal red (1%)	0.036	กรัม
Streptomycin	1.0	กรัม

ละลาย Rose Bengal ในน้ำก่อนผสมกับสารอื่น จากนั้นค่อยนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ส่วน Streptomycin เติมก่อนเทอาหาร ในขณะที่มีอุณหภูมิประมาณ 40-45 องศาเซลเซียส

5. Pikovskaya's agar (Gaur, 1990)

Ammonium sulphate	0.5	กรัม
Calcium phosphate	5.0	กรัม
Ferrous sulphate	0.0001	กรัม
Magnesium sulphate	0.1	ลิตร
Potassium chloride	0.02	กรัม
Yeast extract	0.5	กรัม
Dextrose	10.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม

Dissolve ingredient in dH_2O and adjust volume to 1000 ml after that autoclave

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พันธุ์ข้าว

1. สุพรรณบุรี 3 (Suphan Buri 3)

ชื่อพันธุ์	- สุพรรณบุรี 3 (Suphan Buri 3)
ชนิด	- ข้าวเจ้า
คู่ผสม	- Basmati370*3 / กข7 // IR68
ประวัติพันธุ์	- ได้จากการผสมพันธุ์ระหว่างลูกผสมกลับครั้งที่ 2 (BC_2) ของ Basmati370*3/ กข7 กับพันธุ์ IR68 ที่ศูนย์วิจัยข้าวสุพรรณบุรี ในฤดูนาปรัง พ.ศ.2533 ปลูกคัดเลือกจนได้สายพันธุ์ SPR90008-58-1-1-3
การรับรองพันธุ์	- คณะกรรมการบริหาร กรมวิชาการเกษตร มีมติให้เป็นพันธุ์รับรอง เมื่อวันที่ 25 กรกฎาคม 2549
ลักษณะประจำพันธุ์	- เป็นข้าวเจ้า สูงประมาณ 114 เซนติเมตร - ไม่ไวต่อช่วงแสง - อายุเก็บเกี่ยว 115 - 120 วัน - ลักษณะทรงกอตั้ง ต้นแข็ง ใบสีเขียว ใบธงค่อนข้างตั้ง - เมล็ดข้าวเปลือกสีฟาง - ระยะพักตัวของเมล็ดพันธุ์ ประมาณ 5 สัปดาห์ - เมล็ดข้าวเปลือก ยาว x กว้าง x หนา = 10.7 x 2.5 x 2.1 มิลลิเมตร - เมล็ดข้าวกล้อง ยาว x กว้าง x หนา = 7.5 x 2.1 x 1.8 มิลลิเมตร - ท้องไข่น้อย - ปริมาณอมิโลสสูง (28.3%) - คุณภาพข้าวสุก ร่วน แข็ง ประเภทข้าวเสาไห้
ผลผลิต	- ประมาณ 772 กิโลกรัมต่อไร่

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ลักษณะเด่น - ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ดีกว่าพันธุ์สุพรรณบุรี 1
- ต้านทานโรคไหม้และโรคขอบใบแห้ง
- ให้ผลผลิตสูงใกล้เคียงกับพันธุ์สุพรรณบุรี 1

ข้อควรระวัง - ไม่ต้านทานโรคใบสีส้ม และโรคใบจุดสีน้ำตาลในสภาพธรรมชาติ

พื้นที่แนะนำ - นาชลประทานภาคกลางที่ทำนาต่อเนื่อง และพื้นที่ที่มีปัญหาการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

ที่มา: ฐานข้อมูลพันธุ์ข้าวรับรองของไทย (http://www.brrd.in.th/rvdb/)

2. พันธุ์ขาวดอกมะลิ105

ชื่อพันธุ์ - ขาวดอกมะลิ 105 (Khao Dawk Mali 105)

ชนิด - ข้าวเจ้าหอม

ประวัติพันธุ์ - ได้มาโดยนายสุนทร สีหะเนิน เจ้าพนักงานข้าว รวบรวมจากอำเภอบางคล้า จังหวัดฉะเชิงเทรา เมื่อ พ.ศ.2493-2494 จำนวน 199 รวง แล้วนำไปคัดเลือกแบบคัดพันธุ์บริสุทธิ์ (pure line selection) และปลูกเปรียบเทียบพันธุ์ที่สถานีทดลองข้าวโคกสำโรง แล้วปลูกเปรียบเทียบพันธุ์ในท้องถิ่น ภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จนได้สายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 4-2-105 ซึ่ง เลข 4 หมายถึง สถานที่เก็บรวงข้าว คืออำเภอบางคล้า เลข 2 หมายถึงพันธุ์ทดสอบที่ 2 คือ ขาวดอกมะลิ และเลข 105 หมายถึง แถวหรือรวงที่ 105 จากจำนวน 199 รวง

การรับรองพันธุ์ - คณะกรรมการการพิจารณาพันธุ์ ให้ใช้ขยายพันธุ์เป็นพันธุ์รับ

ลักษณะประจำพันธุ์
- เป็นข้าวเจ้า สูงประมาณ 140 เซนติเมตร
- ไวต่อช่วงแสง
- ลำต้นสีเขียวจาง ใบสีเขียวยาวค่อนข้างแคบ ฟางอ่อน ใบธงทำมุมกับคอรวง เมล็ดข้าวรูปร่างเรียวยาว

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

- ข้าวเปลือกสีฟาง
- อายุเก็บเกี่ยว ประมาณ 25 พฤศจิกายน
- เมล็ดข้าวเปลือก ยาว x กว้าง x หนา = 10.6 x 2.5 x 1.9 มิลลิเมตร
- เมล็ดข้าวกล้อง ยาว x กว้าง x หนา = 7.5 x 2.1 x 1..8 มิลลิเมตร
- ปริมาณอมิโลส 12-17 %
- คุณภาพข้าวสุก นุ่ม มีกลิ่นหอม

ผลผลิต - ประมาณ 363 กิโลกรัมต่อไร่

ลักษณะเด่น
- ทนแล้งได้ดีพอสมควร
- เมล็ดข้าวสารใส แกร่ง คุณภาพการสีดี
- คุณภาพการหุงต้มดี อ่อนนุ่ม มีกลิ่นหอม
- ทนต่อสภาพดินเปรี้ยว และดินเค็ม

ข้อควรระวัง
- ไม่ต้านทานโรคใบสีส้ม โรคขอบใบแห้ง โรคไหม้ และโรคใบหงิก
- ไม่ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยจักจั่นสีเขียว และหนอนกอ

พื้นที่แนะนำ - ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือตอนบน

ที่มา: ฐานข้อมูลพันธุ์ข้าวรับรองของไทย (http://www.brrd.in.th/rvdb/)

3. พันธุ์ชัยนาท 1 (Chai Nat 1)

ชื่อพันธุ์ - ชัยนาท 1 (Chai Nat 1)

ชนิด - ข้าวเจ้า

คู่ผสม - IR13146-158-1 / IR15314-43-2-3-3 // BKN6995-16-1-1-2

ประวัติพันธุ์ - ได้จากการผสม 3 ทาง ระหว่างสายพันธุ์ IR13146-158-1 และสายพันธุ์ IR15314-43-2-3-3 กับ BKN6995-16-1-1-2 ที่สถานีทดลองข้าวชัยนาท เมื่อ พ.ศ. 2525 ปลูกคัดเลือกจนได้สายพันธุ์ CNTBR82075-43-2-1

การรับรองพันธุ์ - คณะกรรมการวิจัยและพัฒนากรมวิชาการเกษตร มีมติให้เป็นพันธุ์รับรองเมื่อวันที่ 9 กันยายน 2536

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ลักษณะประจำพันธุ์

- เป็นข้าวเจ้า สูงประมาณ 113 เซนติเมตร
- ไม่ไวต่อช่วงแสง
- อายุเก็บเกี่ยว ประมาณ 121-130 วัน
- ทรงกอตั้ง ใบสีเขียว ใบธงค่อนข้างยาวตั้งตรง คอรวงสั้น รวงยาวและแน่น ระแง้ค่อนข้างถี่ ฟางแข็ง
- เมล็ดข้าวเปลือกสีฟาง
- ระยะพักตัวของเมล็ดประมาณ 8 สัปดาห์
- เมล็ดข้าวเปลือก ยาว x กว้าง x หนา = 10.4 x 2.3 x 1.7 มิลลิเมตร
- เมล็ดข้าวกล้อง ยาว x กว้าง x หนา = 7.7 x 2.1 x 1.7 มิลลิเมตร
- ปริมาณอมิโลส 26-27 %
- คุณภาพข้าวสุก ร่วน แข็ง

ผลผลิต

- ประมาณ 740 กิโลกรัมต่อไร่

ลักษณะเด่น

- ให้ผลผลิตสูง
- ตอบสนองต่อการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนดี
- ต้านทานโรคใบหงิก และโรคไหม้
- ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และเพลี้ยกระโดดหลังขาว
- มีท้องไข่น้อย

ข้อควรระวัง

- ไม่ต้านทานต่อโรคใบสีส้ม โรคขอบใบแห้ง และโรคใบขีดโปร่งแสง
- ในฤดูแล้งควรปลูกไม่เกินเดือนมีนาคม

พื้นที่แนะนำ

- ทุกภาคในเขตชลประทาน

ที่มา: ฐานข้อมูลพันธุ์ข้าวรับรองของไทย (http://www.brrd.in.th/rvdb/)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวจิตรา น้อยพันธ์
วัน เดือน ปี ที่เกิด	24 พฤศจิกายน 2530
สถานที่เกิด	พิจิตร
ประวัติการศึกษา	ปี 2552 ระดับปริญญาตรี วท.บ. (เกษตรศาสตร์) ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร
ประสบการณ์การทำงาน	ผู้ช่วยนักวิจัย ณ ศูนย์เมล็ดพันธุ์ข้าวพิษณุโลก เมื่อ พฤษภาคม 53 - พฤษภาคม 54
ประชุมวิชาการ/ผลงาน	- ประชุมรานานาชาติ ครั้งที่ 6 Thai Mycological Conference “Benificial and Harmful Roles of Fungi for Life”. March 6, 2012 เรื่อง Efficacy of storage stock culture of *Trichoderma harzianum* to inhibit mycelial growth of plant pathogenic fungi - ประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 11 เรื่อง ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย BB165-M3 ในการลดโรคใบขีดสีน้ำตาลและโรคเมล็ดด่างของข้าวในแปลงปลูกขนาดเล็ก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์