ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช)

ปริญญา

โรคพืช	โรคพืช
สาขา	**ภาควิชา**

เรื่อง การใช้แบคทีเรียเอื้อประโยชน์เพื่อลดโรคกาบใบแห้งของข้าว เพิ่มผลผลิต และย่อยสลายฟางข้าว

Application of Beneficial Bacteria for Reducing Rice Sheath Blight, Increasing Yield and Decomposition of Rice Straw

นามผู้วิจัย นางสาวพัชรพร ธรรมภิบาลอุดม

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ .....

(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

การใช้แบคทีเรียเอื้อประโยชน์เพื่อลดโรคกาบใบแห้งของข้าว เพิ่มผลผลิต และย่อยสลายฟางข้าว

Application of Beneficial Bacteria for Reducing Rice Sheath Blight, Increasing Yield and Decomposition of Rice Straw

โดย

นางสาวพัชรพร ธรรมภิบาลอุดม

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช)
พ.ศ.2557

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พัชรพร ธรรมภิบาลอุดม 2557: การใช้แบคทีเรียเอื้อประโยชน์เพื่อลดโรคกาบใบแห้งของข้าว เพิ่มผลผลิต และย่อยสลายฟางข้าว ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช) สาขาโรคพืช ภาควิชาโรคพืช อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์จิระเดช แจ่มสว่าง, Ph.D. 112 หน้า

นำเชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการเจริญเชื้อรา *Rhizoctonia solani* เชื้อสาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าว มาทดสอบประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้าข้าวโดยแช่เมล็ดข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ในเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ที่ความเข้มข้น 10^8 หน่วยโคโลนี/ มิลลิลิตร นาน 24 ชั่วโมง บ่มข้าวในห่อผ้าอีก 24 ชั่วโมงก่อนนำไปปลูกในวงบ่อซีเมนต์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 80 เซนติเมตร (0.5 ตารางเมตร) ที่บรรจุดินนา จากผลการทดลองพบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK1 มีประสิทธิภาพดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดข้าวสูงที่สุด (96.8 เปอร์เซ็นต์) และมีความยาวรากของกล้าข้าวอายุ 21 วันสูงที่สุด (17.6 เซนติเมตร) แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK1 สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้มากที่สุด โดยมีขนาดของบริเวณใส (clear zone) 1.37 เซนติเมตร บนอาหาร carboxy methyl cellulose agar แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK4 และ RRK1 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคหลังการปลูกเชื้อ 14 วัน ได้สูง โดยช่วยให้โรคกาบใบแห้งลดลง 36.52 และ 36.43 เปอร์เซ็นต์ แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK1 ส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตของข้าวโดยช่วยให้ได้จำนวนต้นและจำนวนรวงต่อกอสูงสุด คือ 22.77 ต้นต่อกอ และ 20.63 รวงต่อกอ ตามลำดับ หรือเพิ่มขึ้น 21.31 และ 16.23 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม นอกจากนี้ยังช่วยให้ได้ผลผลิตสูงที่สุด คือ 624.10 กรัมต่อตารางเมตร (998.56 กิโลกรัมต่อไร่) โดยให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น 28.92 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม หลังการหมักฟางเป็นเวลา 7และ 14 วัน พบว่า การใช้แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK1 มีประสิทธิภาพสูงสุดโดยมีเปอร์เซ็นต์การย่อยสลาย 48.00 และ 57.76 เปอร์เซ็นต์ หรือคิดเป็นการย่อยสลายเพิ่มขึ้น 137.15 และ 144.95 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ที่ได้รับการพัฒนาให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin (Rif) 100 ppm มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Rhizoctonia solani* บนอาหาร PDA หลังการทดสอบ 2 และ 3 วัน พบว่า กรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK1-Rif มีการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. solani* ได้สูงที่สุดคือ 59.76 และ 66.29 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ชีวภัณฑ์ชนิดผงของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK1-Rif และชีวภัณฑ์เชื้อรา *Trichoderma harzianum* สายพันธุ์ 01-52 ชนิดเม็ด มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคหลังการปลูกเชื้อ 21 วัน ได้สูง โดยช่วยให้โรคกาบใบแห้งลดลง 42.00 และ 38.24 เปอร์เซ็นต์ ชีวภัณฑ์ทั้งสองชนิดสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตของข้าวได้เท่ากัน โดยช่วยให้จำนวนต้นจำนวนรวงต่อกอสูงสุด และผลผลิตต่อไร่สูงถึง 1,280.99 กิโลกรัมต่อไร่ คิดเป็นผลผลิตเพิ่มขึ้น 46.47 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

_____ _____ ___ / ___ / ___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

PatcharapornThampiban-Udom 2014: Application of Beneficial Bacteria for Reducing Rice Sheath Blight, Increasing Yield and Decomposition of Rice Straw. Master of Science (Plant Pathology), Major Field: Plant Pathology, Department of Plant Pathology. Thesis Advisor: Associate Professor Chiradej Chamswarng, Ph.D. 112 pages.

Bacteria with high potential to inhibit mycelial growth of *Rhizoctonia solani*, a causal agent of rice sheath blight were evaluated for the efficacy to promote the growth of rice seedling. Rice seeds (var. Chainat 1) were soaked in bacterial cell suspension (10^8CFU/ml) for 24 hrs, incubated for 24 hrs before planting in the cement circular well (80 cm in diameter, 0.5 m^2) contained with paddy field soil. The results revealed that beneficial bacteria isolate RRK1 was the most promising isolate which provided the highest percentage of seed germination (96.8%) and the longest root length of 21-day-old seedlings (17.6 cm). The bacterial isolate RRK1 effectively produced cellulase by providing 1.37 cm-width of clear zone on carboxy methyl cellulose agar. Beneficial bacteria isolates RRK4 and RRK1 gave the high efficacy to control sheath blight at 14 days after pathogen inoculation by reducing 36.52and36.43% of disease incidence. Beneficial bacteria isolate RRK1 promoted plant growth and increased yield by providing the highest number of plants (22.77 plant/hill) and panicles (20.63 panicle/hill) or with 21.31 and 16.23% of increments, respectively when compared with a control. Moreover, this bacterial isolate also increased the yield with 624.10g/ m^2 (998.56 kg/rai or 1,600 m^2), which was increased by 28.92% as compared with a control. After fermentation of rice straw at 7 and 14 days the result showed that beneficial bacteria isolate RRK1 provided the highest rice straw decomposition efficiencies with 48.00 and 57.76%or 137.15 and 144.95 % of decomposition increments when compared with the control.

Antibiotic (100 ppm rifampicin,Rif) resistant beneficial bacteria were tested for the efficacy to inhibit mycelial growth of the pathogenic fungus, *Rhizoctonia solani* on potato dextrose agar (PDA). At 2 and 3 daysafter testing,bacteria isolate RRK1-Rif inhibited the mycelial growth of *R. solani*by 59.7and 66.29 %.The powder formulation of beneficial bacteria isolate RRK1-Rif and *Trichoderma harzianum* strain 01-52 pellet formulation gave the high efficacy to control sheath blight at 14 days after pathogen inoculation by reducing 42.00and38.24% of disease incidences. These bioproducts also promoted plant growth and increased yield by providing the higher numbers of plants and panicles per hill, while both of them increased the equal yields with 1,280.99 kg/rai(1,600 m^2), which were increased by 46.47% as compared with a control.

_____ / / _____

Student's signature Thesis Advisor's signature

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ จิระเดช แจ่มสว่าง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ซึ่งเป็นผู้ให้โดยประเสริฐ เป็นผู้ประสิทธ์ประสาทวิชาความรู้ เป็นเสมือนพ่อเมื่อยามลูกศิษย์พลาดพลั้งคอยให้คำแนะนำ ชี้แนะแนวทาง รวมทั้งกำลังใจให้แก่ลูกศิษย์เสมอ เป็นต้นบุญต้นแบบให้ลูกศิษย์ได้เดินรอยตาม และขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์วรรณวิไล อินทนู อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ผู้ซึ่งให้ความกรุณา ให้ความรู้ ให้คำแนะนำและเป็นกำลังใจตลอดจนช่วยเหลือในการวางแผนงานวิจัยในการตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ จนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์

ขอขอบกราบพระคุณ คุณพ่อพิทักษ์ธรรม ธรรมภิบาลอุดม คุณแม่จินดา ธรรมภิบาลอุดม และพี่สาว นางสาววรกร ธรรมภิบาลอุดม ที่เป็นทั้งกำลังใจที่ดีที่สุด เป็นแรงขับเคลื่อนที่ดีเสมอมา คอยชี้แนะ คอยสั่งสอน อบรมบ่มนิสัย ให้ได้ก้าวเดินอย่างมั่นคง พร้อมทั้งคอยสนับสนุน เอาใจใส่ดูแลเลี้ยงดู และผลักดันให้ข้าพเจ้าศึกษาจนสำเร็จการศึกษามาถึงวันนี้ และขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ได้ให้ความรู้ ตลอดจนคำชี้แนะต่างๆ แก่ข้าพเจ้า

สุดท้ายขอขอบคุณพี่ๆ น้องๆ ห้องปฏิบัติการควบคุมโรคพืชโดยชีวภาพ ทุกๆ ท่าน ที่คอยให้ความช่วยเหลือ และอำนวยความสะดวกในงานทดลองเสมอมา คอยเป็นทั้งกำลังกาย กำลังใจ ช่วยสร้างรอยยิ้มและเสียงหัวเราะ คอยให้ความอบอุ่นเสมือนหนึ่งครอบครัวของข้าพเจ้า

พัชรพร ธรรมภิบาลอุดม

กรกฎาคม 2557

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(5)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	27
ผลและวิจารณ์	42
สรุป	100
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	101
ภาคผนวก	109
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	112

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	องค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรบางชนิด	20
2	การใช้สารตั้งต้นเพื่อการเพิ่มปริมาณ DNA โดยใช้เครื่อง Engine Dyad® Thermal Cycler (Bio-Rad Laboratiries)	40
3	การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา*Rhizoctoniasolani* โดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ การเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์และบริเวณยับยั้ง (clear zone) บนอาหาร potatodextrose agar (PDA)	43
4	ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ ในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส เพื่อย่อย เซลลูโลสให้เกิดบริเวณใส(clear zone) บนอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียcarboxymethyl cellulose agar(CMCA)	47
5	ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ ในการละลายฟอสเฟตบนอาหารPikovskaya's agar จนเกิดบริเวณใส (clear zone)	50
6	ประสิทธิภาพของการแช่เมล็ดข้าวพันธุ์ชัยนาท 1ด้วยแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของกล้าข้าวในด้านความสูงต้นและความยาวรากเมื่อข้าวอายุครบ 21 วัน	52
7	ประสิทธิภาพของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 หลัง การปลูกเชื้อรา *Rhizoctoniasolani*สาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าวที่ 7 วัน	55
8	ประสิทธิภาพของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 หลัง การปลูกเชื้อรา *Rhizoctoniasolani*สาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าวที่ 14 วัน	58
9	ประสิทธิภาพของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 หลัง การปลูกเชื้อรา *Rhizoctoniasolani*สาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าวที่ 21 วัน	61

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
10	อิทธิพลของการใช้เชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์แช่เมล็ดและพ่นต้นข้าวต่อจำนวนต้นต่อกอ จำนวนรวงต่อกอและน้ำหนัก ผลผลิตของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ปลูกในวงบ่อซีเมนต์	64
11	ประสิทธิภาพของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ต่อการย่อยสลายตอซังและฟางข้าวในวงบ่อซีเมนต์หลังการเก็บเกี่ยวข้าวและหมักตอซังและฟาง (100 กรัม/ถุง) เป็นเวลา 7 วัน	67
12	ประสิทธิภาพของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ต่อการลดการสะสมเม็ดสเคลอโรเทียมในตอซังและฟางข้าวของเชื้อรา *Rhizoctoniasolani*สาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าว	70
13	การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา*Rhizoctoniasolani* โดยเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สายพันธ์กลายที่ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ความเข้มข้น100 ppm บนอาหาร potatodextrose agar (PDA) ที่ 2 และ 3 วัน หลังการวางเชื้อสาเหตุโรค	73
14	ปริมาณเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สายพันธุ์กลายสูตรสำเร็จชนิดผงบรรจุในซองฟอยล์ เมื่อเก็บรักษาไว้ในห้องเย็น (10 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 6 เดือน	76
15	ประสิทธิภาพของการใช้ชีวภัณฑ์ชนิดผงของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สายพันธ์กลายที่พัฒนาให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ความเข้มข้น 100 ppm แช่เมล็ดข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ต่อการงอกและการส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้าข้าว ที่อายุ 21 วัน	78
16	ประสิทธิภาพของการใช้ชีวภัณฑ์ชนิดผงของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สายพันธ์กลายที่พัฒนาให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ความเข้มข้น 100 ppm ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าวหลังการปลูกเชื้อรา *Rhizoctoniasolani*สาเหตุโรคกาบใบแห้ง ของข้าว 7 วัน	80

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
17	ประสิทธิภาพของการใช้ชีวภัณฑ์ชนิดผงของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สายพันธ์กลายที่พัฒนาให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ความเข้มข้น 100 ppm ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าวหลังการปลูกเชื้อรา *Rhizoctoniasolani*สาเหตุโรคกาบใบแห้งที่ 14 วัน	83
18	ประสิทธิภาพของการใช้ชีวภัณฑ์ชนิดผงของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สายพันธ์กลายที่พัฒนาให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ความเข้มข้น 100 ppm ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าวหลังการปลูกเชื้อรา *Rhizoctoniasolani*สาเหตุโรคกาบใบแห้งที่ 21 วัน	86
19	อิทธิพลของชีวภัณฑ์ชนิดผงของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สายพันธ์กลายที่พัฒนาให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ความเข้มข้น 100 ppm ต่อจำนวนต้นต่อกอ จำนวนรวงต่อกอและน้ำหนักผลผลิตของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ปลูกในวงบ่อซีเมนต์ (0.5 ตารางเมตร)	89
20	ประสิทธิภาพของชีวภีณฑ์แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ชนิดผงและเชื้อ *Trichodermaharzianum* 01-52 ชนิดเม็ดต่อคุณภาพของข้าวกล้องหลังการขัดสีข้าวเปลือกพันธุ์ชัยนาท 1	92
21	ประสิทธิภาพของการใช้ชีวภัณฑ์ชนิดผงแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สายพันธ์กลายที่พัฒนาให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ความเข้มข้น 100 ppm ในการย่อยสลายตอซังและฟางข้าว ที่ 7 วันและ 14 วัน	95
22	ประสิทธิภาพของการใช้ชีวภัณฑ์ชนิดผงแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สายพันธ์กลายที่พัฒนาให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ความเข้มข้น 100 ppm ในการย่อยสลายตอซังและฟางข้าวโดยการใช้เกณฑ์การประเมิน	97

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	โครงสร้างของเซลลูโลส	21
2	ลำดับการเข้าทำปฏิกิริยาการย่อยสลายเซลลูโลสของระบบเอนไซม์เซลลูเลส	24
3	การวัดการเจริญเตอบโตของกล้าข้าวที่อายุ 21 วัน	30
4	การเลี้ยงรา *Rhizoctoniasolani*ในข้าวเปลือก เป็นเวลา 5-7 วัน แล การบรรจุเมล็ดข้าวเปลือกที่มีเชื้อรา *R. solani* เจริญอยู่ใส่ในซองชา น้ำหนัก 10 กรัม	32
5	การปลูกเชื้อรา *Rhizoctoniasolani*เชื้อสาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าว และอาการของโรคกาบใบแห้งหลังการปลูกเชื้อ	33
6	การสร้างเม็ดสเคลอโรเทียมของเชื้อรา *Rhizoctoniasolani*บนฟางข้าว	34
7	ถุงไนลอนที่บรรจุตอซังและฟางข้าว 100 กรัมต่อถุงก่อนฝังลงไปในดินเลน	39
8	การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา*Rhizoctoniasolani*(กลางจานเลี้ยงเชื้อ) โดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ บนอาหาร potato dextrose agar(PDA)บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา7 วัน	45
9	ความสามารถในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์เพื่อย่อยเซลลูโลสบนอาหาร carboxy methyl cellulose agar (CMCA)เกิดเป็นบริเวณใส	48
10	ความสามารถในการละลายฟอสเฟตของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์บนอาหาร Pikovskaya's agar เกิดเป็นบริเวณใสรอบโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียหลังจากบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง	49
11	เปรียบเทียบความหนาแน่นและความยาวของรากข้าวที่งอกจากเมล็ดข้าวหลังนำห่อผ้าที่บรรจุเมล็ดข้าว 10 กรัม แช่เชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์24 ชั่วโมง แล้วบ่มต่ออีก 2 วัน ที่อุณหภูมิห้อง	53
12	การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา*Rhizoctoniasolani*โดยเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สายพันธุ์กลาย	74
13	การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรีย ไอโซเลต RRK1-Rifบน 16S rDNAที่แสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเปรียบเทียบแบคทีเรียใกล้เคียงในสกุล *Bacillus*	99

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การใช้แบคทีเรียเอื้อประโยชน์เพื่อลดโรคกาบใบแห้งของข้าว เพิ่มผลผลิต และย่อยสลายฟางข้าว

Application of Beneficial Bacteria for Reducing Rice Sheath Blight, Increasing Yield and Decomposition of Rice Straw

คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม พื้นที่ส่วนใหญ่ใช้ในการเพาะปลูก โดยเฉพาะการปลูกข้าวซึ่งถือเป็นพืชอาหารหลักของประเทศ นอกจากการใช้บริโภคภายในประเทศแล้วข้าวยังเป็นพืชเศรษฐกิจที่ทำรายได้ให้กับประเทศ ด้วยการส่งออกผลิตผลทางการเกษตร นับว่าเป็นส่วนสำคัญในการสร้างรายได้ให้แก่ประเทศไทย ดังนั้นในการผลิตที่มีปริมาณและคุณภาพที่ดีจึงเป็นเรื่องที่สำคัญสำหรับการแข่งขันกับประเทศอื่น

โรคของข้าวเป็นอีกปัญหาหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการปลูกข้าว โดยโรคข้าวที่สำคัญที่ระบาดทำความเสียหายกับข้าวนั้นมีมากมายหลายชนิด ไม่ว่าจะเป็นโรคกาบใบแห้ง โรคเมล็ดด่าง โรคใบจุดสีน้ำตาล ใบขีดสีน้ำตาลของข้าว เนื่องจากมีเชื้อราเข้าทำลายหลายชนิด การควบคุมโรคทำได้ยาก แม้ว่าการควบคุมโรคโดยใช้สารเคมีเป็นวิธีการที่ให้ผลผลิตที่ดีและรวดเร็ว แต่การใช้สารเคมีมีข้อจำกัด ทำให้เกิดสารพิษตกค้างในสภาพแวดล้อมและในตัวของผลิตผล ในกรณีของโรคกาบใบแห้งที่เกิดจากเชื้อรา*Rhizoctoniasolani*มีรายงานความเสียหายที่เกิดจากโรคนี้ซึ่งทำให้ผลผลิตของข้าวลดลง 20-40 เปอร์เซ็นต์และโรคนี้มีแนวโน้มว่าจะมีการแพร่ระบาดมากยิ่งขึ้นเนื่องจากปัจจุบันยังไม่มีพันธุ์ข้าวที่ต้านทานโรคแม้จะพบว่าบางพันธุ์มีความต้านทานโรคแต่ค่อนข้างต่ำเชื้อราชนิดนี้มีความสามารถในการอยู่รอดในดินได้เป็นเวลานานในรูปของเม็ดสเคลอโรเทียม (sclerotium) และสามารถเข้าทำลายข้าวได้อีกเมื่อมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม(ศิริวรรณ, 2521) นอกจากการใช้สารเคมีวาลิดามัยซิน®ในการควบคุมแล้วยังมีรายงานเกี่ยวกับการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ควบคุมโรค เช่น การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ซึ่งเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจสำหรับควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าว (Cook,1993) ในประเทศไทยมีรายงานการทดสอบคุณลักษณะทางชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. solani*พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้คือเชื้อ *Bacillus megaterium*สายพันธุ์ No. 16 มีคุณสมบัติในการยับยั้ง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การเจริญของเชื้อรา *R. solani* โดยการสร้างสารปฏิชีวนะที่ทนต่อความร้อน (Pengnoo *et al*., 2000) เป็นต้น

หลังฤดูการเก็บเกี่ยวในแต่และปีมีตอซังข้าวที่ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้เป็นจำนวนมาก จึงต้องหาวิธีกำจัดอย่างเหมาะสม การเผาเป็นวิธีการหนึ่งที่นิยมทำกัน เพราะสามารถกำจัดวัสดุเหลือทิ้งได้อย่างรวดเร็ว แต่การเผาตอซังข้าว ทำให้เกิดผลกระทบต่อสภาพแวดล้อม ทำให้โครงสร้างดินเสียเสื่อมสภาพ จุลินทรีย์ต่างๆที่เป็นประโยชน์ซึ่งอยู่ในดินถูกทำลาย สูญเสียธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช ถึงแม้ในระยะสั้นจะยังไม่เห็นผลกระทบ แต่ในระยะยาวจะทำให้สูญเสียความสมดุลของระบบนิเวศ โดยเฉพาะความสมดุลของธาตุอาหารในดิน

ปัจจุบันมีรายงานการใช้จุลินทรีย์ในการช่วยย่อยสลายตอซังและฟางข้าวข้าว ทั้งจากภาครัฐและเอกชนที่ผลิตจำหน่ายเป็นการค้า กฤษณพงศ์ (2557) โดยพบว่าการใช้สารจุลินทรีย์ย่อยสลายฟางข้าวสามารถลดต้นทุนการผลิตข้าวได้ การใช้ พด.2 ซึ่งเป็นหัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายผลิตโดยกรมพัฒนาที่ดิน และน้ำหมักชีวภาพ ในการหมักตอซังและฟางข้าวโดยระยะการหมักไม่น้อยกว่า 7-14 วัน จะช่วยกำจัดเมล็ดข้าวเรื้อ หรือข้าวพันธุ์ปนอื่นๆ รวมทั้งข้าวดีด ข้าวเด้งได้ สารจุลินทรีย์ที่ใช้ย่อยสลายตอซังข้าวจะประกอบไปด้วยกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ ในกลุ่มแบคทีเรีย *Bacillus* spp.

อย่างไรก็ตามยังไม่เคยมีงานวิจัยเกี่ยวกับการใช้เชื้อแบคทีเรียชนิดเดียวหรือสายพันธุ์เดียว ที่สามารถทำหน้าที่ได้หลายประการทั้งการส่งเสริมการเจริญเติบโต เพิ่มผลผลิต ลดการเกิดโรค และย่อยสลายตอซังและฟางข้าวได้ ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงมุ่งเน้นการแยกแบคทีเรียเอื้อประโยชน์จากดินบริเวณรอบรากข้าวที่ปลูกในแปลงนาของเกษตรกรเพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว การควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าว เพิ่มผลผลิตของข้าว ช่วยในการย่อยสลายตอซังและฟางข้าว และสามารถลดการสะสมของเชื้อสาเหตุโรคกาบใบแห้งในตอซังและฟางข้าวได้เชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ที่มีประสิทธิภาพสูงจะเกิดประโยชน์ต่อทุกขั้นตอนในกระบวนการผลิตข้าว เริ่มตั้งแต่การใช้ย่อยสลายตอซังและฟางข้าว การใช้แช่เมล็ดพันธุ์ข้าว การใช้พ่นลงบนต้นข้าว ซึ่งจะช่วยให้ได้ต้นข้าวที่มีความงอกดี ต้นข้าวแข็งแรงสมบูรณ์ โรคกาบใบแห้งลดลง และได้ผลผลิตตลอดจนคุณภาพของข้าวเพิ่มขึ้น ผลการศึกษาวิจัยในครั้งนี้จะก่อให้เกิดประโยชน์แก่เกษตรกรผู้ปลูกข้าวในหลายๆด้าน เช่นช่วยลดการใช้สารเคมีควบคุมโรคพืช ลดการเผาฟางในนาข้าว ซึ่งนอกจากจะช่วยลดต้นทุนการผลิตข้าวแล้วยังสามารถช่วยลดสภาวะโลกร้อนที่เป็นปัญหาในปัจจุบันและอนาคตได้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วัตถุประสงค์

1. เพื่อคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย *Rhizoctonia solani*เชื้อสาเหตุโรคกาบใบแห้งข้าวข้าวในระดับห้องปฏิบัติการ

2. เพื่อคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมและลดโรคกาบใบแห้ง ส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตของข้าว รวมทั้งการลดปริมาณการสะสมของเชื้อสาเหตุโรคในตอซังและฟางข้าว ในสภาพโรงเรือน

3. เพื่อคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สายพันธุ์ที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ดีเพื่อช่วยย่อยสลายตอซังและฟางข้าวหลังการเก็บเกี่ยว

4. เพื่อคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ที่สามารถละลายฟอสเฟตได้ดีในระดับห้องปฏิบัติการ

5. เพื่อพัฒนาเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สายพันธุ์ที่ต้านทานสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ความเข้มข้น100 ppm เพื่อใช้ในการตรวจสอบและติดตามเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์บนรากข้าวในดิน และเศษชิ้นส่วนตอซังและฟางข้าว เพื่อนำไปผลิตเป็นชีวภัณฑ์ชนิดผง

6. เพื่อทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ชนิดผงของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ต่อการควบคุมและลดโรคกาบใบแห้ง การส่งเสริมการเจริญเติบโตและการเพิ่มผลผลิตของข้าวตลอดจนการย่อยสลายตอซังและฟางข้าวหลังการเก็บเกี่ยวในสภาพโรงเรือน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การตรวจเอกสาร

ข้าว (Oryza sativa L.) เป็นหนึ่งในพืชหลักที่สำคัญที่สุด สำหรับประชากรส่วนใหญ่ของโลก มักจะปลูกอยู่ในตะวันออกกลาง ตะวันออกเฉียงใต้ และเอเชียใต้(Plodpai et al., 2013) จัดเป็นพืชสายพันธุ์เดียวกับหญ้า ซึ่งนับได้ว่าเป็นหญ้าที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในโลก และมีความหลากหลายทางชีวภาพ สามารถปลูกขึ้นได้ง่ายมีความทนทานต่อทุกสภาพภูมิประเทศในโลก ไม่ว่าจะเป็นถิ่นแห้งแล้งแบบทะเลทราย พื้นที่ราบลุ่มน้ำท่วมถึง หรือแม้กระทั่งบนเทือกเขาที่หนาวเย็น ข้าวก็ยังสามารถงอกได้

จุดเริ่มต้นของการเพาะปลูกข้าวของมนุษย์ มาจากวัฒนธรรมลุงชานของประเทศจีน และวัฒนธรรมฮัวบิเนียนของประเทศเวียดนาม บริเวณที่ราบลุ่มแม่น้ำตอนเหนือของอินเดียตอนล่างด้านตะวันออกของเชิงเขาหิมาลัย ซึ่งการเพาะปลูกใช้วิธีการปลูกคล้ายกับการทำไร่เลื่อนลอย หลังจากนั้นวิวัฒนาการปลูกข้าวจากการทำไร่เลื่อนลอย มาเป็นการทำนาหว่าน ประมาณ 9,000 ปีก่อน และพัฒนาสู่การทำนาแบบปักดำ ซึ่งพบหลักฐานในวัฒนธรรมบ้านเชียงของไทย เมื่อราว 5,000 ปีที่ผ่านมา

สายพันธุ์ของพืชตระกูลข้าว ที่มีอยู่บนโลกนี้มีมากถึง 120,000 สายพันธุ์ แต่พันธุ์ที่รู้จักและนำมาปลูกสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิดคือ *Oryza Savita*ที่นิยมเพาะปลูกในทวีปเอเชีย และ *Oryza glaberrina*ที่นิยมเพาะปลูกในทวีปแอฟริกา แต่ข้าวที่ปลูกและซื้อขายกันในตลาดโลกเกือบทั้งหมดจะเป็นข้าวจากทวีปเอเชีย แบ่งเป็น 3 กลุ่มตามลักษณะและพื้นที่ปลูกได้ดังนี้

1.**ข้าวอินดิกา (Indica)** หรือข้าวเจ้า เป็นข้าวที่มีลักษณะเม็ดเรียวยาวรี ลำต้นสูง ตั้งชื่อมาจากแหล่งที่ค้นพบครั้งแรกในประเทศอินเดีย เป็นข้าวที่นิยมเพาะปลูกในทวีปเอเชียเขตมรสุม ตั้งแต่จีน เวียดนาม ฟิลิปปินส์ ไทย อินโดนีเซีย ไปจนถึงอินเดียและศรีลังกา

2.ข้าวจาปอนิกา (Japonica)เป็นข้าวเหนียวเมล็ดป้อม กลมรี มีแหล่งกำเนิดจากทางภาคเหนือ นิยมปลูกในเขตอบอุ่นเช่น ญี่ปุ่น เกาหลี รัสเซีย ยุโรป และอเมริกา

3.ข้าวจาวานิกา (Javanica)เป็นข้าวลักษณะเมล็ดป้อมใหญ่ เป็นข้าวพันธุ์ผสมระหว่างข้าวอินดิกาและจาปอนิกา นิยมเพาะปลูกใน อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ ไต้หวัน หมู่เกาะริวกิว และญี่ปุ่น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประเภทของพันธุ์ข้าว

กรมการข้าว ได้แบ่งประเภทของพันธุ์ข้าว ไว้ดังนี้

1. เมล็ดพันธุ์คัด คุณภาพชั้นสูงสุด ผลิตโดยศูนย์วิจัยข้าว เพื่อนำไปขยายพันธุ์ต่อเป็นเมล็ดพันธุ์หลัก ไม่มีจำหน่าย

2. เมล็ดพันธุ์หลัก เป็นเมล็ดพันธุ์ที่ขยายพันธุ์จากเมล็ดพันธุ์คัด ผลิตโดยศูนย์วิจัยข้าว แล้วส่งมอบให้ศูนย์เมล็ดพันธุ์ข้าว และสหกรณ์การเกษตร เพื่อนำไปขยายพันธุ์ต่อเป็นเมล็ดพันธุ์ขยาย หรือใช้ภายใต้โครงการพิเศษ คุณภาพรองจากพันธุ์คัด

3. เมล็ดพันธุ์ขยาย เป็นเมล็ดพันธุ์ที่ขยายพันธุ์จากเมล็ดพันธุ์หลัก ผลิตโดยศูนย์เมล็ดพันธุ์ข้าว แล้วจำหน่ายให้สหกรณ์การเกษตร และเอกชน หรือส่งมอบให้ศูนย์ข้าวชุมชน เพื่อนำไปขยายพันธุ์ต่อเป็นเมล็ดพันธุ์จำหน่าย คุณภาพรองจากพันธุ์หลัก

ลักษณะของเมล็ดพันธุ์ที่ดี

1.คุณภาพในทางพันธุกรรม (Genetic Quality)

1.1 เป็นพันธุ์ดีที่แนะนำส่งเสริม
1.2 มีลักษณะตรงตามพันธุ์สายพันธุ์ดี
1.3 สืบหาประวัติที่มาได้
1.4 ปราศจากเมล็ดพันธุ์อื่น เมล็ดพืชอื่น และเมล็ดวัชพืช
1.5 เมื่อนำไปปลูกแล้วไม่แปรปรวนไม่ผิดปกติทางพันธุกรรม

2. คุณภาพในทางกายภาพ (Physical Quality)

2.1 สะอาด และใหม่
2.2 บริสุทธิ์ปราศจากสิ่งเจือปน
2.3 ลักษณะภายนอกดี สีสดใส ไม่ลีบย่น อ่อนหรือแก่เกินไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.4 ไม่มีเมล็ดแตกร้าว หรือหักป่น

2.5 ไม่มีเมล็ดที่แสดงว่ามีรอยถูกแมลงเข้าทำลายมาแล้ว

2.6 มีความชื้นพอเหมาะที่จะเก็บรักษาให้คงคุณภาพอยู่ได้นาน ไม่มีกลิ่นเหม็น อับหรือเน่าเหม็น

2.7 มีลักษณะส่อให้เห็นว่ามีคุณภาพในทางสรีรวิทยาที่ดี

2.8 มีลักษณะส่อให้เห็นว่ามีคุณภาพในทางพันธุกรรมที่ดี

3. คุณภาพในทางสรีรวิทยา (Physiological Quality)

3.1 มีความงอกดี

3.2 มีความแข็งแรงสูง

3.3 สามารถที่จะเก็บรักษาให้คงคุณภาพเอาไว้ได้นาน

4. คุณภาพในทางทนทานหรือต้านทานต่อโรคและแมลงศัตรูพืช (Phytosanitary Quality)

4.1 ไม่มีเชื้อรา หรือลักษณะของโรคพืช ติดมาปนเปื้อนปรากฏให้เห็น

4.2 ไม่มีแมลง ไม่ว่าระยะใดปรากฏให้เห็น

4.3 เพื่อส่งเสริมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ในทางทนทาน หรือต้านทานโรคหรือแมลง จึงมีการคลุกสารเคมีป้องกันและกำจัดเชื้อราและแมลง เพื่อคุ้มครองเมล็ดพันธุ์ทั้งก่อนงอกและที่กำลังงอกในดินไปอีกชั่วระยะหนึ่ง

ประโยชน์ของการใช้เมล็ดพันธุ์ดี

1.ให้ผลผลิตดี

1.1 ตรงตามสายพันธุ์ที่ต้องการ

1.2 ได้ผลผลิตสูง

2. มั่นคงทางเศรษฐกิจ

2.1 ใช้เมล็ดพันธุ์ปลูกน้อย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.2 ไม่ต้องเสียเวลาปลูกซ่อมหรือปลูกใหม่

2.3 ไม่ต้องเสียค่าแรงงานที่มาจากการปลูกซ่อมหรือปลูกใหม่ ตลอดจนแรงงานที่นำมาใช้ในการดูแลรักษา เช่น การป้องกันกำจัดโรค แมลง วัชพืชและศัตรูพืชต่างๆ

2.4 ไม่เป็นแหล่งแพร่เชื้อโรค แมลง วัชพืช และศัตรูพืช

2.5 เก็บเกี่ยวผลผลิตได้ตามกำหนด

2.6 จำหน่ายผลผลิตได้ตามกำหนด

3.ทำให้เกิดความมั่นใจเมื่อนำไปปลูกแล้วจะประสบผลสำเร็จ

3.1 เมล็ดพันธุ์มีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูง

3.2 ต้นพืชมีความสม่ำเสมอทั่วทั้งแปลง

3.3 ต้นพืชตั้งตัวได้เร็วและมีความแข็งแรง

3.4 ได้จำนวนต้นพืชมาก

3.5 ปลูกเพียงครั้งเดียว ไม่ต้องมาปลูกซ่อมหรือมาปลูกใหม่

3.6 ต้นพืชมีความคงทนและสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี

ข้อเสียของการใช้เมล็ดพันธุ์ที่ไม่มีคุณภาพมาปลูก

1. เสียเวลาและแรงงาน เพราะต้องมาปลูกซ่อมบางครั้งต้องไถทิ้งแล้วมาปลูกใหม่ ทำให้ต้องปลูกล่าช้าหรืออาจเลยฤดูกาลเพาะปลูก

2. ผลผลิตที่ได้รับไม่ค่อยมีคุณภาพ

3. เสียหายทางเศรษฐกิจ เพราะต้องใช้เงินซื้อเมล็ดพันธุ์จำนวนมากมาปลูก และต้องใช้อัตราการปลูกต่อไร่มากเพื่อการเก็บเกี่ยว นอกจากนี้ผลผลิตที่ได้ยังจำหน่ายไม่ได้ราคา ไม่เป็นที่ต้องการของตลาดและยังเป็นแหล่งสะสมของโรคแมลง วัชพืช และศัตรูพืชต่างๆ

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของข้าว

ราก: รากของข้าวมีหน้าที่ยึดลำต้นให้ตั้งตรง และหาอาหารไปเลี้ยงลำต้น รากของข้าวเป็นแบบระบบรากฝอย (fibrous root system) เมื่อนำเมล็ดข้าวที่พ้นระยะพักตัวแล้ว แช่น้ำไว้24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาหุ้ม (incubation) อีก 48 ชั่วโมง สิ่งแรกที่งอกออกมาจากเมล็ดข้าวด้านติดกับก้านดอกตรงจมูกข้าว (คัพภะ) คือ รากอ่อน หรือรากแรกกำเนิด (radicle) จากนั้นอีก 12-24 ชั่วโมง จะ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เห็นยอดอ่อน (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 ที่ข้อต่อจะมีเยื่อกันน้ำฝนหรือลิ้นใบ (ligule) มีลักษณะเป็นเยื่อบางใส อาจมีสีชมพูอ่อนหรือสีม่วง ใกล้ๆกับเยื่อกันน้ำฝนตรงรอยต่อส่วนที่ติดกับกาบใบจะเห็นเขี้ยวใบ (auricle) มีลักษณะคล้ายทางมะพร้าวสีขาวอมชมพูอ่อน ซึ่งจะใช้ลักษณะของเขี้ยวใบและเยื่อกันน้ำฝนในการแยกข้าวออกจากต้นหญ้า โดยหญ้าจะไม่มีเขี้ยวใบ

ใบสุดท้ายของข้าว เรียกว่า ใบธง (flag leaf) ใบธงจะทำมุมกับต้นข้าวต่างกันไปแล้วแต่พันธุ์ข้าว ใบธงมีหน้าที่สำคัญที่สุดคือ สังเคราะห์แสงสร้างอาหารไปสะสมที่เมล็ด ใบธงที่ทำมุมแคบกับต้น จะมีประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสงมากกว่าใบธงที่ทำมุมกว้างกับต้น เนื่องจากการที่ใบธงทำมุมกว้างกับต้น จะเกิดการบังแสงซึ่งกันและกัน

รวง: รวงข้าว คือ ช่อดอก (inflorescence) ของข้าวเกิดที่ปล้องสุดท้าย ระยะตั้งแต่ข้อของปล้องสุดท้ายลงมาจนถึงกาบของใบธง เรียกว่า คอรวง ข้าวพันธุ์ต่างๆ จะมีคอรวงสั้นยาวต่างกันออกไป แกนรวง (panicle axis) เกิดขึ้นที่ข้อของปล้องสุดท้าย และมีข้อ ซึ่งข้อเหล่านี้จะเป็นที่เกิดของแขนงปฐมภูมิ (primary branch) และแขนงทุติยภูมิ (secondary branch) ก็มีกำเนิดมาจากข้อแขนงปฐมภูมิ ซึ่งเป็นที่เกิดก้านดอก (panicel) และดอกข้าว (spikelet) ระยะระหว่างก้านดอกเรียกว่า ระแง้ ข้าวที่พันธุ์มีระแง้ถี่ จะมีผลผลิตสูงกว่าพันธุ์ที่มีระแง้ห่าง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

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

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 ช่วยลดการไหลซึมของน้ำที่กักเก็บไว้ในน้ำ และดินเหนียวยังสามารถอุ้มน้ำได้ดี

ความอุดมสมบูรณ์ของน้ำ:การให้น้ำแก่ต้นข้าวมากเกินไปไม่เป็นผลดีต่อต้นข้าว เพราะจะทำให้ดินขาดออกซิเจน การปล่อยให้ข้าวขาดน้ำบ้างเป็นระยะๆ จะช่วยเพิ่มออกซิเจนให้แก่รากข้าวและช่วยลดสารพิษลง นอกจากนี้น้ำยังทำให้ความชื้นรอบต้นข้าวสูงเหมาะต่อการแพร่กระจายของโรคและแมลง ซึ่งสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (IRRI) ได้แนะนำว่าการรักษาระดับให้สูงประมาณ 5 เซนติเมตร ตลอดฤดูปลูกจะได้ผลผลิตสูงกว่าที่ระดับ 15-20 เซนติเมตร เพราะหลังปักชำต้นข้าวเจริญได้ดีกว่า และมีปูนาเข้าทำลายน้อยกว่า เนื่องจากกลางวันน้ำจะร้อน

สภาพอากาศ:ความผันแปรของภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลงไปตามวัน เวลา และสถานที่ เป็นปัจจัยธรรมชาติที่มีผลต่อการปลูกข้าวเป็นอย่างมากซึ่งแบ่งได้ดังนี้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

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 นอกจากนี้ยังพบว่าในช่วงที่ข้าวใกล้สุกแก่ ถ้ามีอุณหภูมิเฉลี่ยประมาณ 22 องศาเซลเซียส จะทำให้เวลาการสุกแก่ของข้าวยืดออกไป ข้าวมีเวลาสร้างน้ำหนักเมล็ดเพิ่มขึ้น สำหรับประเทศไทยจะมีอุณหภูมิเฉลี่ยสูงกว่า 30 องศาเซลเซียส ทำให้ข้าวสุกแก่เร็ว ได้ผลผลิตต่ำ รวมทั้งข้าวที่ออกดอกในช่วงที่ร้อนจัดบรรยากาศแห้งแล้งจะติดเมล็ดน้อยมาก ทั้งนี้เพราะความร้อนทำให้ไข่ที่ได้รับการผสมเกสรแล้วไม่เจริญเป็นเมล็ด

ความชื้น: แม้ว่าจะมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของข้าวน้อย แต่มีผลต่อการแพร่กระจายของโรค โดยถ้ามีความชื้นมาก จะส่งผลให้เชื้อราและแบคทีเรียบางชนิดแพร่กระจายได้อย่างรวดเร็ว ซึ่งมีผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโต และผลผลิตของข้าว

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

ข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญต่อสังคมไทย ไม่เพียงแต่เป็นแหล่งอาหารที่ให้คาร์โบไฮเดรตประจำวันเท่านั้น ยังส่งไปจำหน่ายในตลาดต่างประเทศ ปัญหาที่สำคัญของการปลูกข้าวทุกชนิด คือ โรคของข้าวซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากการขยายพื้นที่ในการปลูกข้าว การนำเทคโนโลยี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สมัยใหม่มาใช้ในการเพิ่มผลผลิตของข้าว การเปลี่ยนแปลงทางด้านสภาพแวดล้อม ทำให้โรคข้าวที่มีอยู่เกิดการปรับตัวและก่อให้เกิดปัญหาการระบาด เกิดความสูญเสียทั้งด้านผลผลิตและการลงทุน

โรคกาบใบแห้ง (Sheath blight)

โรคกาบใบแห้งของข้าวเกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* มีการระบาดในทุกแหล่งปลูกทั่วทุกภาคของประเทศไทย ซึ่งก่อให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตของข้าว การติดเชื้อจะรุนแรงที่สุดในระยะต้นข้าวแตกกอ โดยเฉพาะแปลงนาที่มีการปักดำถี่ เมื่อข้าวแตกกอมากๆจะเหมาะแก่การเกิดโรคนี้ได้เป็นอย่างดี จึงส่งผลให้ผลผลิตลดลง มากกว่า 20% (Boukaew, 2014) เชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคกาบใบแห้ง มีการสร้างเม็ดสเคลอโรเทียม (sclerotia) ซึ่งสามารถลอยไปติดกับต้นข้าวในช่วงระดับน้ำ สามารถงอกเส้นใยแทงผ่านกาบใบ ก่อให้เกิดแผลบริเวณกาบใบลุกลามไปข้างบนและอาจก่อโรคบนใบข้าวได้ เชื้อราชนิดนี้สามารถที่จะมีชีวิตอยู่ข้าวฤดูได้ ในช่วงฤดูฝนจะพบการระบาดของโรคนี้มากกว่าฤดูกาลอื่นๆ (Saha and Dutta, 2007) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าอุณหภูมิและความชื้นสูงจะเหมาะต่อการเกิดโรคกาบใบแห้งโดยการส่งเสริมความกว้างของแผลและอัตราการหายใจของต้นข้าวเพิ่มขึ้น(Sarker *et al*., 2003)

ลักษณะอาการของโรคกาบใบแห้ง

พบในระยะข้าวแตกกอจนถึงระยะใกล้เก็บเกี่ยว ในระยะแตกกอเต็มที่และระยะออกรวงยิ่งต้นข้าวมีการแตกกอมากเบียดแน่น โรคนี้จะรุนแรง อาการเริ่มแรกจะเริ่มที่ต้นกล้าที่อยู่บริเวณระดับน้ำเนื่องจากเม็ดขยายพันธุ์ของเชื้อโรค(เม็ดสเคลอโรเทียม) จะลอยมาตามน้ำและติดอยู่ตามกาบใบของต้นข้าว อาการที่กาบใบ พบว่า เมื่อเริ่มจะเกิดเป็นแผลช้ำๆเป็นรูปไข่ ลักษณะแผลสีเขียวปนเทาขอบแผลมีสีน้ำตาลไหม้ ขนาด 1-4 x 2-10 มม. ปรากฏตามกาบใบตรงใกล้ระดับน้ำ แผลจะขยายใหญ่จนมีขนาดไม่จำกัด และลุกลามขยายขึ้นใบข้าว ถ้าเป็นพันธุ์ข้าวอ่อนแอ แผลสามารถลุกลามถึงใบธงและกาบหุ้มรวงข้าว ทำให้ใบและกาบใบเหี่ยวแห้ง ผลผลิตลดลงเป็นอย่างมาก เชื้อราสามารถสร้างเม็ดขยายพันธุ์ อยู่ได้นานในตอซัง หรือวัชพืชในนา หรือตามดินนาและเหล่งน้ำ สามารถมีชีวิตข้ามฤดูหมุนเวียนทำลายข้าวได้ตลอดฤดูการทำนา

การแพร่ระบาดของโรคกาบใบแห้ง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ดังกล่าวแล้วว่าเชื้อราสาเหตุโรคกาบใบแห้งอยู่ในรูปเม็ดขยายพันธุ์ซึ่งสามารถมีชีวิตอยู่ได้นานในตอซังข้าวและวัชพืช จากการศึกษาของ Sarker *et al.* (2003) รายงานว่า ในสภาพแวดล้อมที่มีความชื้นสูงเหมาะต่อการเกิดโรคกาบใบแห้ง สังเกตได้จากขนาดของแผลจะกว้างและยาวขึ้นในสภาพห้องปฏิบัติการ เมื่อฝนตกเม็ดสเคลอโรเทียมจะเข้าทำลายตอซังข้าวและวัชพืช

ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อ *Rhizoctonia solani*

เชื้อรา *R. solani*เป็นเชื้อราที่สามารถพบได้ทั่วไป โดยเป็น parasite ของวัชพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งส่วนราก และส่วนของลำต้นที่อยู่ใต้ดิน ก่อให้เกิดโรค ลำต้นเน่า (stem rot) และโรครากเน่า (root rot) (วิจัย, 2551) เป็นเชื้อรา Imperfect fungi ลักษณะที่สำคัญคือไม่สร้าง asexual spore สร้างเฉพาะเส้นใย และ resistant structure ที่เรียกว่า microsclerotium หรือ sclerotium มี telemorph ที่ชื่อว่า *Thanatephorus cucumeris (*Frank) Donk. และมีชื่ออื่นอีกคือ *Corticium solani* (Prill & Delaer) Bourd & Galz และ*Pellicularia filamentosa* (pat.) Rogers เชื้อราชนิดนี้ในระยะยังอ่อนเส้นใยจะใสไม่มีสี เมื่ออายุมากขึ้นเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแกมเหลือง มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 4.3-14.3 ไมโครเมตร เส้นใยเชื้อรามี 3 ลักษณะคือ แบบแรกเป็นเส้นยาว ตรง มีแขนงสั้นๆแตกออกจากเส้นใย แบบที่สอง เป็นแบบ lobate mycelium สร้าง penetration peg เข้าทำลายเนื้อเยื่อพืช ส่วนแบบที่สามมีลักษณะเป็น moniloid cell ซึ่งรวมกันจะสร้างเม็ด sclerotium

การจำแนกเชื้อรา *Rhizoctonia solani* เป็นดังนี้

Division Eumycota

Subdivition Deuteromycotina

Form-Class Hyphomycete

Form-Order Agonomycetales

Form-Family Agonomycetaceae

Form-Genus *Rhizoctonia*

Form-Species *R.solani*

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เส้นใยของเชื้อราแตกแขนงเป็นมุมฉาก และมีผนังกั้นเซลล์ (septate) ใกล้บริเวณจุดที่แตกแขนง เม็ด sclerotium ที่สร้างประกอบด้วย เส้นใยประสานกันเป็นกลุ่มๆอย่างหลวมๆแต่ไม่เป็นเนื้อเยื่อ แบบ pseudoparenchyma ลักษณะเป็นก้อนค่อนข้างแบน ขนาดไม่สม่ำเสมอ มีสีน้ำตาล พบรูพรุนที่ผิวเม็ด (Ou, 1987;วิจัย, 2551) การพัฒนาของเม็ด sclerotium ระยะแรกจะไม่สามารถลอยน้ำได้ (non-buoyant) ต้องใช้ระยะเวลาให้เซลล์รอบๆเม็ดพัฒนาเป็นช่องว่างทำให้มีคุณสมบัติลอยน้ำได้ (buoyant) เม็ด sclerotium สามารถเป็น primary inoculums ทั้งในฤดูปลูกและอยู่ข้ามฤดูกาลได้ ส่วนการเจริญของเชื้อราในระยะ perfect stage เชื้อราจะสร้าง basidia ขนาด 10-15 x 7-9 ไมโครเมตร มี sterigma ขนาด 4.5-7 x2-3 ไมโครเมตร และมี basidiospore ขนาด 8-11 x 5-6.5 ไมโครเมตร

การควบคุมโรคกาบใบแห้ง และเชื้อรา *Rhizoctonia solani*

การควบคุมโดยการปรับปรุงพันธุ์

การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานต่อโรคกาบใบแห้งนั้นเป็นเรื่องที่ทำได้ยาก โดยอาศัยการปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิมเพราะความต้านทานของข้าวต่อโรคกาบใบแห้งเป็นที่ความผิดปกติ ในลักษณะเชิงปริมาณแต่ยังมีโอกาสที่จะพัฒนาในอนาคต โดย Chena. *et al*, 2014. รายงานว่า การใช้ข้าวพันธุ์ Teqing (TQ) ที่มียีน qSB-7 และ qSB-9 อยู่บนโครโมโซม ผสมกับข้าวพันธุ์การค้า แล้วคัดเลือกโดยการใช้ Marker โดยได้รวมยีนทั้ง 2 ไว้ด้วยกัน เปรียบเทียบกับการใช้ยีนเพียงอย่างเดียว พบว่าการใช้ยีนคู่กันสามารถลดการเกิดโรคได้ดีกว่าการใช้เพียงยีนเดียวและยังพบอีกว่ายีนทั้งสองมีผลต่อการลดลงของผลผลิต ซึ่งจะเป็นปัจจัยสำคัญในการพัฒนาพันธุ์ข้าวให้ต้านทานต่อโรคกาบใบแห้งในอนาคต

การควบคุมโดยวิธีทางเคมี

การควบคุมโรคนี้นอกจากการปลูกข้าวพันธุ์ต้านทานเช่นพันธุ์ กข 13 แล้ว การเผาตอซังและพลิกหน้าดินหลังเก็บเกี่ยว เพื่อทำลายเม็ด sclerotium ของเชื้อรา การกำจัดวัชพืชตามคันนาและแหล่งน้ำ เพื่อลดโอกาสการพักตัว และเป็นแหล่งสะสมของเชื้อราสาเหตุโรค ก็สามารถป้องกันกำจัดโรคนี้ได้ หรือการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อรา เช่น วาลิดามัยซิน มอลเซอเลน มอลคัด หรือฮีโนซานพ่นในบริเวณที่เริ่มพบดรคระบาด ไม่จำเป็นต้องพ่นทั้งแปลง เพราะโรคกาบใบแห้ง จะเกิดเป็นย่อมๆ (สมคิด, 2532;ดาราและคณะ, 2545)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี

ในปีที่ผ่านมาการค้นพบและการประยุกต์ใช้สารเคมีกำจัดเชื้อรามีความน่าสนใจน้อยลง และมีความสนใจมากขึ้นในด้านของการเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม โดยได้รับการพัฒนาจากการควบคุมทางชีวภาพ การเกษตรแบบยั่งยืน การประยุกต์ใช้สารควบคุมทางชีวภาพมี กลายเป็นกลยุทธ์ที่สำคัญในการป้องกันพืชกับพืชกับเชื้อโรค การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ธรรมชาติแบคทีเรียหรือเชื้อราในการควบคุมโรคพืช (Jayaprakashvel et al., 2010). และรายงานของสมคิด (2540) กล่าวว่า การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชอย่างขาดความระมัดระวัง นอกจากจะเป็นปัญหาโดยตรงต่อผู้ใช้แล้วยังก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมและเป็นปัญหาของสังคมโดยส่วนรวมในปัจจุบันจึงมุ่งเน้นใช้วิธีที่เหมาะสมนำมาผสมผสานกันเพื่อให้ได้ประสิทธิภาพและผลตอบแทนสูงสุดโดยไม่กระทบกระเทือนต่อสิ่งแวดล้อมและสังคมสามารถนำไปปฏิบัติได้ซึ่งเรียกว่าการป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยวิธีผสมผสาน (Integrated Pest Management, IPM) การเลือกใช้วิธีการป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยชีววิธีเป็นกรรมวิธีหนึ่งของหลักการ IPM การศึกษาแนวทางการป้องกันกำจัดโรคพืชโดยชีววิธีเริ่มต้นเมื่อกลางปีค.ศ. 1920 เมื่อมีการค้นพบว่าปัญหาโรคพืชสามารถลดความรุนแรงลงได้ด้วยการใช้สารอินทรีย์ใส่ลงในดินปลูกโดยมุ่งเน้นการควบคุมโรคโดยอาศัยธรรมชาติจัดการกันเองต่อมาอีก 20-25 ปีจึงเริ่มมีการศึกษาวิธีใช้เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมโรคพืชและไส้เดือนฝอยสาเหตุโรคพืชโดยมีผู้ให้ความสนใจและศึกษาเพิ่มมากขึ้น (Baker, 1987; Cook, 1993; สมคิด, 2540) เนื่องจากตระหนักถึงพิษภัยของสารเคมีปราบศัตรูพืชที่ใช้กันมากขึ้นและปัญหาโรคที่ไม่สามารถควบคุมได้โดยสิ้นเชิงหรือควบคุมได้เพียงบางส่วนตัวอย่างเช่นโรคปุ่มปม (crown gall) บนพืชหลายชนิดที่มีสาเหตุจากเชื้อ*Agrobacterium* sp. ยังไม่สามารถป้องกันกำจัดด้วยวิธีการใดๆที่คุ้มทุนเท่ากับการป้องกันกำจัดโดยชีววิธีด้วยการใช้*Agrobacterium radiobacter* strain K-84

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี คือ การลดปริมาณและกิจกรรมที่ก่อให้เกิดโรคของเชื้อโรคโดยอาศัยสิ่งมีชีวิตหนึ่งหรือมากกว่าหนึ่งชนิดยกเว้นมนุษย์ (จิระเดช, 2549)

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีเป็นแนวทางหนึ่งโดยการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีคุณสมบัติในการแข่งขันการใช้อาหารกับเชื้อสาเหตุโรคได้ดีมีการเจริญเติบโตที่รวดเร็วเพื่อครอบครองพื้นที่ผิว การสร้างสารปฏิชีวนะมายับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคได้และการส่งเสริมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีอยู่แล้วตามธรรมชาตินั้น (resident antagonist) ให้เพิ่มปริมาณและเกิดกิจกรรมการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคได้ (Tronsmo, 1992) การป้องกันพื้นผิวส่วนต่างๆของพืชจากการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืชจึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการป้องกันการเข้าทำลายบริเวณพื้นผิว

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ใบ และดอกของพืชโดยชีววิธีซึ่งบริเวณดังกล่าวนี้จะเรียกว่าphylloplane หรือ phyllosphere (Dickenson and Preece, 1976;Andrews, 1992) วิธีการนี้ต้องอาศัยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการเจริญและสามารถแข่งขันการใช้อาหารบนผิวใบหรือดอกของพืชได้ดี สภาพแวดล้อมเข้ามามีบทบาทสำคัญในการดำรงชีวิตของเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้เช่นอาหารอุณหภูมิ ความชื้นแสงแดดฯลฯการดำรงชีพของเชื้อจุลินทรีย์มีทั้งที่เป็นแบบ epiphytes และ endophytes (Andrews, 1992) การแยกและคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพจากส่วนของผิวพืชที่มีในสภาพธรรมชาติมาใช้ในการป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืชจึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจ เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ดีควรจะมีชีวิตอยู่รอดได้ดีบนผิวพืชในสภาพแวดล้อมเช่นเดียวกับเชื้อสาเหตุโรคโดยสามารถเจริญและเพิ่มปริมาณได้ดีสร้างเซลล์หรือสปอร์ได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อจากการรายงานการศึกษา พบว่ามีทั้งที่เป็นเชื้อรายีสต์และเชื้อแบคทีเรียในปัจจุบันเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ได้มีการพัฒนารูปแบบเป็นผลิตภัณฑ์ในเชิงการค้า biofungicide เพื่อใช้ควบคุมโรคพืชได้นานตลอดฤดูกาลปลูกพืช (Knudsen and Spurr, 1985 ;Tronsmo, 1992)

1. การใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาในการควบคุมโรคพืช

เชื้อรา*Trichoderma harzianum* สามารถควบคุมยับยั้งการเจริญและเข้าทำลายเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้หลายชนิดโดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อราสาเหตุโรคพืชในดินเช่น*Rhizoctonia solani,Sclerotium rolfsii, Pythium* spp. สาเหตุโรคเมล็ดเน่าและเน่าระดับดินเชื้อรา*Phytophthora* spp. สาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าเชื้อรา*Fusarium* spp. สาเหตุโรคเหี่ยวในพืชหลายชนิดเชื้อรา *Macrophomina phasolina* สาเหตุโรคเมล็ดเน่าของพืชตระกูลถั่วเชื้อรา*Botrytis cinerea* สาเหตุโรคผลเน่าของสตรอเบอรี่ (จิระเดชและวรรณวิไล, 2542) โดยเชื้อรา*T. harzianum*มีกลไกในการต่อสู้กับเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายกลไกดังนี้

1.1 การแข่งขันกับเชื้อโรคพืช (Competition)

เชื้อรา*T. harzianum*เป็นผู้แข่งขันที่ดีในด้านการครอบครองพื้นที่อยู่อาศัยและแหล่งอาหารเนื่องจากเชื้อรา*T. harzianum* สร้างเส้นใยได้รวดเร็วและสามารถสร้างสปอร์ในปริมาณสูง โดยอาศัยอาหารจากเศษวัสดุอินทรีย์ต่างๆแสดงให้เห็นว่าเมล็ดพืชที่คลุกด้วยสปอร์ของ เชื้อรา*T. harzianum* เมื่อปลูกในดินที่มีความชื้นสม่ำเสมอช่วยให้เชื้อรา *T. harzianum* สามารถเข้าครอบครองรอบๆราก (rhizosphere) ได้ดีในขณะที่เชื้อรา*Fusarium* sp. สาเหตุโรคเหี่ยวมีปริมาณลดลง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.2 การเป็นปรสิตกับเชื้อโรค (Mycoparasitism)

Elad *et al.* (1983) พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* พันรัดเส้นใยเชื้อรา*Sclerotium rolfsii* พร้อมทั้งผลิตเอนไซม์β-(1, 3) -glucanase และ chitinase ออกมาย่อยสลายผนังของเส้นใยและผนังของเม็ดสเคลอโรเทียมทำให้เส้นใยของ*T. harzianum* เจริญเข้าไปในเส้นใยเชื้อรา*S. rolfsii*ได้โดยตรงการทำลายเม็ดสเคลอโรเทียมเกิดขึ้นโดยเส้นใยเชื้อรา*T. harzianum* แทงผ่านเนื้อเยื่อชั้น rind และชั้น cortex เข้าไปสลายชั้น medullar แล้วสร้าง chlamydospore อยู่ภายในและสร้างconidia อยู่ภายนอกเม็ดสเคลอโรเทียม (Henis *et al*., 1983)เชื้อรา*T. harzianum* เป็นปรสิตกับเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิดเช่น *Pythium* spp., *Phythophthora* sp., *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp., *Sclerotina* sp., *Macrophomina* sp., *Cylindocladium* sp., *Verticillium* sp., *Thielaviopsis* sp., *Botrytis cinerea*, *Botryodiplodia* sp. และ*Phomopsis asparagi* (จิระเดช, 2549; Elad, 2000)

1.3 การสร้างสารปฏิชีวนะ (Antibiosis)

ปฏิชีวนสารเป็นผลิตผลที่เกิดจากกระบวนการเมตาบอลิซึมของเชื้อรา*T. harzianum*ซึ่งสร้างสารที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งหรือต่อต้านการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชหรือเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆสารที่เชื้อรา*T. harzianum* สร้างขึ้นมามี 3 กลุ่มคือ

กลุ่มที่ 1 trichothecens ได้แก่ trichodermin, 2,3-epoxytrichodermin มีฤทธิ์ขัดขวางกระบวนการทำงานของเอนไซม์ peptidyl transferase ในเชื้อสาเหตุโรคพืชและยังมีผลช่วยส่งเสริมการเจริญของพืชด้วย มีการผลิตสาร trichodermin ขึ้นมาในรูปการค้าชื่อ Suzukacillin

กลุ่มที่ 2 cyclic peptides ได้แก่ alamithicine (antibiotic U-22324) trichotoxin, trichopolynyl และ trichorzianine สารกลุ่มนี้มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งที่เป็น prokaryotes และ eukaryotesโดยไปทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้เซลล์จุลินทรีย์แตกสลาย

กลุ่มที่ 3 isocyanide ได้แก่ trichoridin สารกลุ่มนี้เกิดขึ้นได้ในบางสภาวะมีฤทธิ์ไปยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในกระเพาะสัตว์เคี้ยวเอื้องที่ได้รับเชื้อนี้เข้าไปจากการกินอาหารแต่พบได้น้อยมาก (อนุเทพ, 2536 ;ชมพูนุท, 2550)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.4 การชักนำให้พืชเกิดความต้านทาน (Induced resistance)

เชื้อรา*T. harzianum*สามารถชักนำให้พืชมีความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคพืชบางชนิดได้ซึ่งแสดงให้เห็นจากการใส่เชื้อรา*T. harzianum* (T-39) บริเวณรากของต้นถั่วสามารถชักนำให้โรคบนใบถั่วที่เกิดจากเชื้อรา*Botrytis cinerea* และ*C. lindemuthianum* ลดลงได้และตรวจไม่พบเชื้อรา*T. harzianum* (T-39) บนใบนอกจากถั่วแล้วยังพบว่าเชื้อรา*T. harzianum* สามารถชักนำความต้านทานได้ทั้งพืชใบเลี้ยงคู่และพืชใบเลี้ยงเดี่ยว (Harman *et al*., 2004)

2. การใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคพืช

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เป็นจุลินทรีย์ที่มีการนำมาใช้ในการควบคุมโรคอย่างแพร่หลาย เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียมีกลไกในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรค 4 ลักษณะ (นิพนธ์, 2546) ดังนี้

2.1 การแข่งขันกับเชื้อโรค (Competition)

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์มีความสามารถในการแข่งขันกับเชื้อสาเหตุโรคพืชในด้านต่างๆ เช่น การใช้ธาตุอาหาร อากาศ และการครอบครองพื้นที่ได้ดีกว่า ทำให้เชื้อสาเหตุโรคพืชไม่สามารถเจริญ หรืออาศัยอยู่ในบริเวณที่มีเชื้อปฏิปักษ์ ส่งผลให้พืชเจริญเติบโตแข็งแรง มีผลผลิตสูงขึ้น สำหรับการแข่งขันที่พบมากคือการที่เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สามารถนำธาตุอาหารหรือสารต่างๆ ที่มีอยู่ในดินหรือในสภาพแวดล้อมนั้นมาใช้ประโยชน์ในการเจริญได้ดีกว่าเชื้อโรค ทำให้เชื้อโรคขาดสารอาหาร ไม่สามารถเจริญเข้าทำลายพืช เช่น การที่เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Pseudomonas 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)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.2 การผลิตสารปฏิชีวนะ (Antibiosis)

เชื้อแบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ที่พบว่ามีการผลิตสารปฏิชีวนะได้หลากหลายมากที่สุด เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ได้รับความสนใจคัดเอามาใช้ในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีนั้น จะเน้นคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคเป็นส่วนใหญ่ และนับว่าเป็นกลไกชนิดแรกที่นำมาใช้โดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์นี้สามารถผลิตสารที่มีคุณสมบัติยับยั้งหรือทำลายเชื้อโรค 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 ของข้าวสาลีได้ถึง 50-90 เปอร์เซ็นต์ (Cook, 1993) และการใช้เชื้อ*Streptomyces*sp. ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Rhizoctonai solani*เชื้อสาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าวโดยการสร้างสารปฏิชีวนะและการปลดปล่อยสารทุติยภูมิ(Boukaew *et al*, 2014)

2.3 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

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.4 การชักนำให้เกิดความต้านทานโรค (Induced disease resistance)

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

การย่อยสลายฟางข้าว

องค์ประกอบของฟางข้าวและตอซังข้าว

1.เซลลูโลส (cellulose)

ฟางข้าวมีองค์ประกอบ 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นเนื้อเซลล์ (cell contents) 21 เปอร์เซ็นต์และผนังเซลล์ (cell wall) 79 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผนังเซลล์ส่วนใหญ่เป็นเซลลูโลส 32-37 เปอร์เซ็นต์ เฮมิเซลลูโลส 29-37 เปอร์เซ็นต์ และลิกนิน 5-15 เปอร์เซ็นต์ (Glissmann and Conrad, 2000) องค์ประกอบทั้งสามชนิดจะมีปริมาณแตงต่างกันในพืชแต่ละชนิด (ตารางที่ 1) โดยเซลลูโลสเป็นโครงสร้างของผนังเซลล์เรียงขนานซ้อนกันมองดูคล้ายร่างแหที่ซับซ้อนล้อมรอบด้วยเฮมิเซลล์โลสและทั้งหมดจะถูกห่อหุ้มด้วยลิกนิน (อานนท์, 2542)นอกจากนั้นยังประกอบด้วยสารจำพวกคิวติน (cutin) เพคติน (pectin) เรซิน (resin) กรดไขมัน (fatty acid) น้ำตาล (sugar) ซึ่งจะแทรกปะปนอยู่กับเซลลูโลส

เซลลูโลสเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่พบมากที่สุดประมาณ 45% ของสารอินทรีย์ทั้งหมดในธรรมชาติส่วนใหญ่สะสมอยู่ที่ผนังเซลล์ในพืชชั้นสูงทุกชนิดซึ่งมีส่วนประกอบของเซลลูโลสมากกว่า 97-99% จัดว่าเป็นเซลลูโลสบริสุทธิ์ประกอบด้วย polymer chain เรียงขนานกันและยึดกันด้วย dispersion force และ hydrogen bond ภายในโมเลกุลเซลลูโลสจึงยึดติดกันแน่นทำให้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เซลลูโลสทำปฏิกิริยากับสารต่างๆได้ช้าเซลลูโลสใน primary cell wall ประกอบด้วยกลูโคสยาวประมาณ 2,000 โมเลกุลและไม่ต่ำกว่า 14,000 โมเลกุลใน secondary cell wall โดยโมเลกุลของเซลลูโลสจะเกาะกันเป็นคู่ตามยาวและเรียงขนานกันเป็นกลุ่ม 40 คู่เรียกว่าไมโครไฟบริล (microfibril) เพื่อให้ความแข็งแรงกับผนังเซลล์ของพืช (Fan *et al*., 1987)

สารประกอบในเซลลูโลสเป็นส่วนประกอบพอลิเมอร์ของเซลลูโลส (28-50%) เฮมิเซลลูโลส (20-30%) และลิกนิก(18-30%) ซึ่งจะพบในไม้ (ตารางที่ 1) โดยสารประกอบเหล่านี้ทำหน้าที่ร่วมกัน เป็นโครงสร้างในผนังเซลล์และ maiddle lamellae ของพืชชั้นสูง

ตารางที่ 1 องค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรบางชนิด

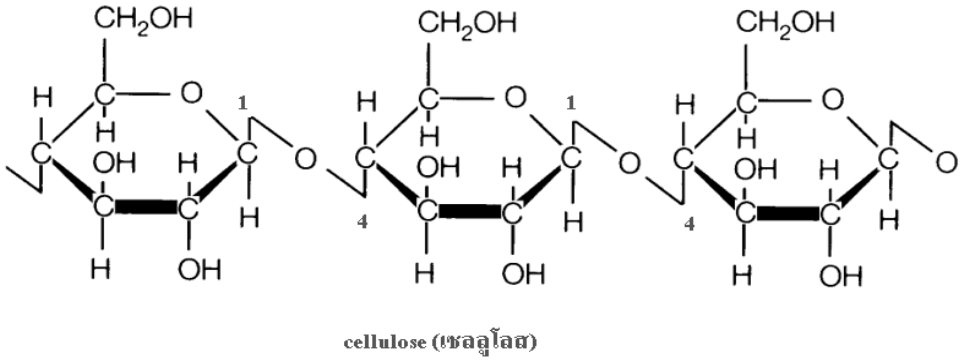
ชนิดของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร	องค์ประกอบ(เปอร์เซ็นต์)		
	เซลลูโลส	เฮมิเซลลูโลส	ลิกนิน
ตอข้าวสาสี	39	38	17
ฟางข้าวสาลี	50	30	15
ฟางข้าว	35	25	17
ซังข้าวโพด	45	35	15
ตอข้าวโพด	35	25	35
กาบข้าวโพด	32	28	13
ชานอ้อย	33	22	14
ฟางข้าวโพด	49.3	25	14-22
ไม้เนื้อแข็ง	45.8	30.7	20.3
ไม้เนื้ออ่อน	43.8	24.5	29.5

ที่มา: ดัดแปลงจาก อานนท์ (2542)

เซลลูโลสเป็นสารประกอบโพลีเมอร์ของกลูโคสซึ่งเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β-1,4-glycoside อย่างมีระเบียบ แต่ละโมเลกุลของกลูโคสในสายเซลลูโลสจะเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ที่คาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 3 กับหมูออกซิเจนของ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

โมเลกุลถัดไป และสายเซลลูโลสที่ขนานกันจะเชื่อมต่อกัน ระหว่างหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ที่คาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 6 กับออกซิเจนอะตอมที่เชื่อมต่อระหว่างโมเลกุลของกลูโคสในอีกสายหนึ่ง (ภาพที่ 1) ทำให้เซลลูโลสมีโครงสร้างที่ซับซ้อนขึ้นและมีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ โดยในส่วนของผนังเซลล์ชั้นที่สองของผนังเซลล์พืชนั้น เซลลูโลสและองค์ประกอบชนิดอื่นของผนังเซลล์พืชจะเรียงตัวเป็นกลุ่มยาวเรียกว่า ไมโครไฟบริล (microfibril) ซึ่งแต่ละสายจะเชื่อมต่อระหว่างสายที่ขนานกันด้วยพันธะไฮโดรเจน บริเวณที่มีการจัดเรียงโมเลกุลของเซลลูโลสอย่างเป็นระเบียบสูงเรียกว่า crystalline ส่วนบริเวณที่จัดเรียงไม่เป็นระเบียบหรือเป็นระเบียบน้อยกว่าเรียกว่าบริเวณ amorphous หรือ paracrytalline โดยบริเวณที่มีการจัดเรียงตัวไม่เป็นระเบียบจะยอมให้เอนไซม์เข้าทำปฏิกิริยาย่อยสลายได้ง่ายกว่าบริเวณที่มีการจัดเรียงอย่างเป็นระเบียบ (รุจิกาญจน์, 2546)



ภาพที่ 1 โครงสร้างของเซลลูโลส (Oregon State University,2004)

2. การย่อยสลายสารประกอบเซลลูโลส

การย่อยสลายสารประกอบเซลลูโลส ทำได้ 2 วิธี คือ

2.1 วิธีทางเคมี (acid hydrolysis)

การย่อยสลายสารประกอบเซลลูโลสด้วยกรด สำหรับโครงสร้างที่เป็นผลึกต้องใช้กรดที่มีความเข้มข้นสูงในการย่อยสลายจึงจะได้น้ำตาลกลูโคส ปฏิกิริยาการย่อยสลายจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วภายใน 15-20 นาที เนื่องจากปฏิกิริยาการใช้กรดไม่เฉพาะเจาะจง ดังนั้นกลูโคสบางส่วนที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับกรดต่อไป ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ข้างเคียงชนิดอื่นและกรดยังทำปฏิกิริยากับสารประกอบอื่นที่ติดมากับเซลลูโลสทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ไม่ต้องการอีกด้วย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.2 วิธีทางชีวเคมี (enzymatic hydrolysis)

การย่อยสลายสารประกอบเซลลูโลสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส พบได้ในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด เช่น หอยทาก (Helix pomatia) และจุลชีพต่างๆเช่น โปรโตซัว แบคทีเรีย แอคติโนมัยซีสและเชื้อราเป็นต้น ลักษณะการย่อยสลายจะเกิดช้าๆ จนได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นกลูโคส ลักษณะการย่อยสลายโดยเอนไซม์มีความเฉพาะเจาะจงระหว่างเอนไซม์และเซลลูโลส จะไม่ทำปฏิกิริยากับสารอื่นที่มาปะปน ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นไม่รุนแรง ดังนั้นกลูโคสจะไม่ถูกย่อยสลายไป ฉะนั้นการใช้เอนไซม์ย่อยสลายจึงได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นน้ำตาลที่ค่อนข้างบริสุทธิ์และไม่มีผลิตภัณฑ์ที่ไม่ต้องการปนออกมา

ในธรรมชาติการย่อยสลายเซลลูโลสจะเกิดการย่อยสลายโดยอาศัยกิจกรรมของจุลินทรีย์หลายชนิดร่วมกัน ในสภาพที่มีออกซิเจนผลที่ได้จากการย่อยสลายจะได้คาร์บอนไดออกไซด์ ฮิวมัส สารประกอบเซลลูโลสในสภาพที่เหมาะสม การระบายอากาศและอุณหภูมิที่เหมาะสม มีแหล่งอาหารหลัก (macro nutrient) เพียงพอกับการนำไปสร้างพลังงานเพื่อใช้ในเมตาบอลิซึม และการเพิ่มจำนวนเซลล์ ในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน (น้อย, 2529)

ข้อดีของการย่อยสลายด้วยเอนไซม์

1. เอนไซม์สามารถทำงานได้ดีที่อุณหภูมิต่ำจึงเร่งปฏิกิริยาได้โดยไม่ต้องให้ความร้อนทำให้ประหยัดต้นทุนในการผลิต

2. ปฏิกิริยาที่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่งจะเกิดได้เร็วกว่าปฏิกิริยาที่ไม่มีเอนไซม์เนื่องจากเอนไซม์ไปลดพลังงานอิสระของการกระตุ้นของปฏิกิริยาทำให้ปฏิกิริยาถึงภาวะสมดุลได้เร็ว

3. เอนไซม์มีความจำเพาะกับสารตั้งต้นดังนั้นผลผลิตที่ได้จะมีความบริสุทธิ์มาก

4. ไม่เกิดปฏิกิริยาข้างเคียงเนื่องจากเอนไซม์มีความจำเพาะกับสารตั้งต้น

5. เอนไซม์สามารถย่อยสลายสารที่มีโมเลกุลใหญ่ให้เล็กลงได้ตามที่ต้องการ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

6.ผลิตภัณฑ์ที่ได้ไม่เปลี่ยนเป็นสารอื่นและสามารถทำการหมักน้ำตาลที่เกิดขึ้นไป
พร้อมกับการย่อยเซลลูโลสได้

7. ไม่จำเป็นต้องใช้อุปกรณ์ที่ทนต่อการกัดกร่อน

แบคทีเรียที่ย่อยเซลลูโลส

ตัวอย่างของแบคทีเรียที่สามารถย่อยเซลลูโลสมีดังนี้

1.แบคทีเรียในกระเพาะอาหารของสัตว์กินพืชเช่นวัวควายในดินเช่น*Bacillus sp.* และในทะเลเช่น*Cytophaga* sp

2.แบคทีเรียที่เจริญได้ในสภาพทั้งที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) เช่น*Cellvibrio* sp. และ*Cellulomonas* sp. เป็นต้น

3. แบคทีเรียที่เจริญได้ในสภาวะไม่มีออกซิเจนเช่น*Clostridium thermophilum* และ *Ruminococcus albus* เป็นต้น

4. Myxobacteria เช่น*Sporocytophaga* sp.

5.จุลินทรีย์ที่เป็นปรสิตในพืชมีทั้งพวกย่อยเซลลูโลสอย่างเดียวหรือก่อโรคในพืชด้วย

3. เอนไซม์ที่ย่อยสลายเซลลูโลส

เอนไซลม์เซลลูเลสมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายวัสดุที่มีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ เอนไซม์เซลลูโลสจะย่อยสลายอนุพันธ์ของเซลลูโลส เป็นน้ำตาลกลูโคสซึ่งละลายน้ำได้ เรียกว่า β-1,4-glucan-glucanohydrolase เอนไซม์เซลลูโลสเป็นเอนไซม์ผสม (สุดาวดี,2543) ซึ่งเอนไซม์เซลลูเลสประกอบด้วย 3 ส่วนได้แก่

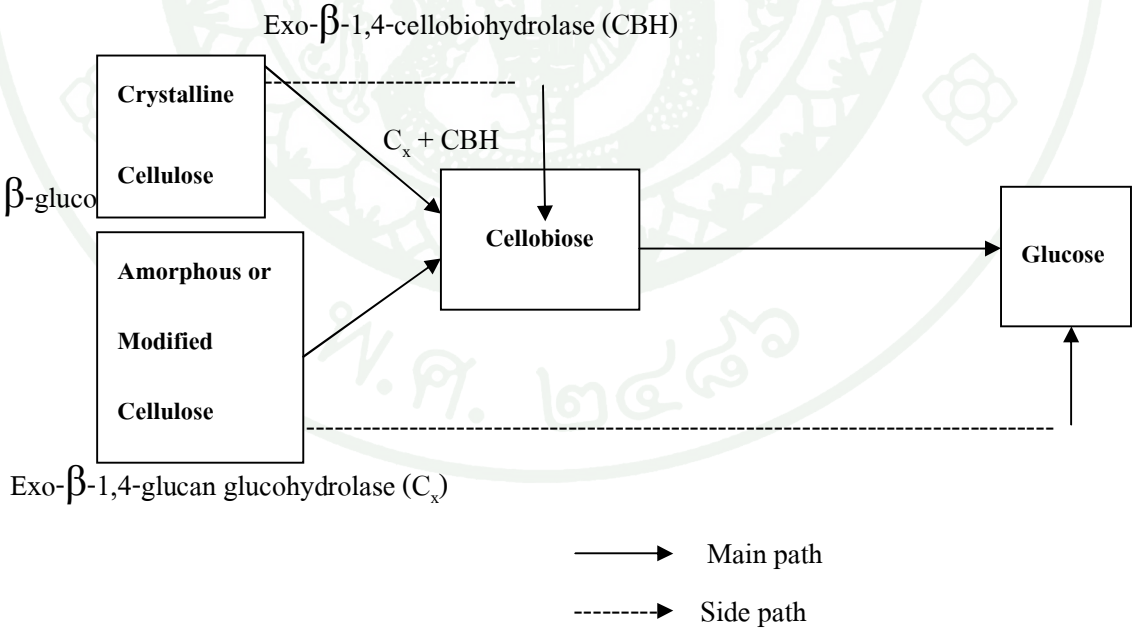
1. Endo-β-glucanase หรือ 1,4-β-D-glucan-glucanohydrolase (EC 3.2.1.4) หรือ CMCase (C_x) ทำหน้าที่ในการย่อยสลายเซลลูโลสในรูปที่เป็นระเบียบและไม่เป็นระเบียบ โดยตัดพันธะระหว่างโมเลกุล glucose ที่ตำแหน่ง β-1,4-glycosidic bond ภายในสายเซลลูโลสอย่างสุ่มได้กลูโคสและโอลิโกเมอร์ชนิดโลไบโอส

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. Exo-β-1,4-glucanase หรือ 1,4-β-D-glucan-cellobiohydrolase หรือ(EC 3.2.1.91) Avicelase (C_1) ตัดสายเซลลูโลสจากด้านปลาย non-reducing ได้กลูโคสและ เซลโลไบโอส

3. β-glucosidase (EC 3.2.1.21)ทำหน้าที่ย่อยสลายเซลโลไบโอส (celloboose) และโอลิโกแซคคาร์ไรด์เป็นกลูโคส

ดังนั้น crystalline cellulose จะถูกย่อยอย่างมีประสิทธิภาพโดยการทำงานร่วมกันของเอนไซม์ทั้ง 3ชนิด ส่วนสับสเตรทที่มีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบที่ถูกย่อยโดยเอนไซม์เซลลูเลสเพียงชนิดเดียวคือ acid-swollen cellulose, carboxymethy-cellulose (CMC), cellulose azure และ trinitrophenyl carboxymethy-cellulose ซึ่งถูกย่อยโดย endoglucanase ส่วนสับสเตรทที่ถูกย่อยได้ด้วย exoglucanase ได้แก่ MUC (methyllumbelliferyl-β-D-cellobiose) และ pNPC (p-nitropheny-β-D-cellobioside) ส่วน MUG (methyllumbelliferyl-β-D-glycopyranoside) และ pNPG (p-nitropheny-β-D- glycopyranoside) ถูกย่อยด้วย β-glucosidases (ภาพที่ 2) โดยเชื้อรานั้นสามารถผลิตเอนไซม์ได้ในปริมาณมากกว่า จุลินทรีชนิดอื่นๆแต่เอนไซม์จากราเกิดกิจกรรมได้ดีที่สภาวะเป็นกรด ส่วนเอนไซม์จากแบคทีเรียมีคุณสมบัติทนอุณหภูมิสูงและทนต่อความเป็นด่างได้ดี (รุจิกาญจน์, 2546)



ภาพที่ 2 ลำดับการเข้าทำปฏิกิริยาการย่อยสลายเซลลูโลสของระบบเอนไซม์เซลลูเลส

ที่มา: รุจิกาญจน์ (2546)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. คุณสมบัติของเอ็นไซม์เซลลูเลส

1. เอ็นไซม์เซลลูเลสมีน้ำหนักโมเลกุล 42,000 kDa เอ็นไซม์ Endo-β-1,4-glucanases มีน้ำหนักโมเลกุล 2,300-58,000kDa เอ็นไซม์ Exo-β-1, 4- glucanases มีน้ำหนักโมเลกุล 60,000-62,000 kDa และเอ็นไซม์β-glucosidase น้ำหนักโมเลกุล 76,000kDa

2. เอ็นไซม์เซลลูเลสที่ได้จากจุลินทรีย์จะมีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงาน (optimum temperature) ประมาณ 50 องศาเซลเซียส ยกเว้นจุลินทรีย์ทนความร้อนบางชนิด มีความคงทนต่อออ pH ในช่วงระหว่าง pH 4.9-9.0

3. มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ แต่ถูกยับยั้งโดยอิออนของโลหะหนัก –SH reagent, oxidizing reducing agant และโดยผลผลิตจากตัวเองคือ คลูโคส

4. การวัดเอคติวิตีจะวัดจากหมู่รีดิวซ์ที่เกิด นิยมใช้สับสเตรทที่ละลายน้ำได้ดี คือ สับสเตรทสังเคราะห์ เช่น คาร์บอกซีเมธิลเซลลูโลส

5. สามารถเก็บที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส และ 4 องศาเซลเซียสได้นานหลายปี หรือสามารถเก็บโดยวิธี freeze dry หรือตกตะกอนด้วย ethanol โดยไม่มีปัญหาการสูญเสียคุณสมบัติ (น้อย,2529:สุดาวดี,2543)

จุลินทรีย์ที่เป็นปรสิตในพืชมีทั้งพวกย่อยเซลลูโลสอย่างเดียวหรือก่อโรคในพืชด้วย เช่น *Pseudomonas solanacearum* (ปัจจุบันคือ*Ralstonia solanacearum*) ทำให้เกิดโรคเหี่ยวในพืช จุลินทรีย์ย่อยไม้ได้แก่แอคติโนไมซีสเป็นต้นแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจนจะย่อยเซลลูโลสได้ผลิตภัณฑ์หลัก 2 ชนิดคือ CO2 และสารอินทรีย์ที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์ส่วนราและแอคติโนไมซีสจะได้ CO2 เป็นผลิตภัณฑ์หลักและเกิดกรดอินทรีย์ในปริมาณน้อยอัตราการย่อยเริ่มต้นจะถูกจำกัดด้วยกระบวนการ oxidation ของคาร์โบไฮเดรตเพื่อไม่ให้เกิดการสะสมของสารตัวกลางซึ่งจะเกิดขึ้นขณะมีการใช้น้ำตาลส่วน mesophilic และ thermophilic anaerobe ไม่สามารถย่อยสารตั้งต้นอย่างสมบูรณ์ได้สารอินทรีย์ หลายชนิดจึงถูกขับออกมาเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายในสภาวะที่มีออกซิเจนจะเกิดการสะสมของ CO2,H2, ethanol และกรดอินทรีย์เช่น acetic acid, lactic acid และ succinic acid เป็นต้นการย่อยเซลลูโลสขั้นต้นเกิดจากการที่โมเลกุลถูก hydrolyse โดยเอนไซม์เซลลูเลสซึ่งเอนไซม์จะเข้าทำการย่อยเซลลูโลสที่ไม่ละลายน้ำให้อยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้แต่ข้อจำกัดใน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การทำงานของเอนไซม์เกิดจากการที่สารตั้งต้นละลายน้ำได้น้อยจากนั้น cellulose derivative ที่เกิดขึ้นก็จะถูกย่อยต่อได้เป็น monosaccharide หรือ disaccharide ผลผลิตขั้นตอนต่อมาของการย่อยจะแตกต่างกันตามชนิดของจุลินทรีย์และเนื่องจากโมเลกุลของเซลลูโลสไม่สามารถเข้าสู่เซลล์ของจุลินทรีย์ได้ดังนั้นจุลินทรีย์จึงต้องขับเอนไซม์ออกสู่นอกเซลล์เพื่อย่อยเซลลูโลสจนได้น้ำตาลที่ละลายน้ำจากนั้นจึงดูดซึมสู่ภายในเซลล์เพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนต่อไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อุปกรณ์และวิธีการ

1.การแยกเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ที่ใช้ในการทดลอง

สุ่มเก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบรากข้าว (Rhizosphere soil) ในแปลงนาของเกษตรกรเขต อำเภอเมือง จังหวัดกาญจนบุรี (แปลงเกษตรอินทรีย์) โดยการนำรากมาล้างน้ำ และเก็บตัวอย่างดินที่เกาะติดบริเวณรากข้าว มาแยกเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Serial Dilution spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient glucose agar (NGA) เพื่อคัดเลือกแบคทีเรียไอโซเลตที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย เชื้อรา *Rhizoctoniasolani* สาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าวแยกจุลินทรีย์ที่ได้จากบริเวณรากข้าวให้บริสุทธิ์ ก่อนเลี้ยงในหลอดอาหารเอียง โดยเลี้ยงแบคทีเรียเลี้ยงบนอาหาร NGA แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เพื่อรอการทดสอบต่อไป

2.การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์

2.1 การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Rhizoctonia solani* สาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าวในห้องปฏิบัติการ

การยับยั้งเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช

นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากรากข้าว มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R.solani* สาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าวด้วยวิธี Dual culture ซึ่งจะเลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคพืชกับเชื้อแบคทีเรียทดสอบบนอาหาร potato dextrose agar (PDA)พร้อมกัน โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8 เซนติเมตร เจาะชิ้นวุ้นบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคมาวางตรงกลางของจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (PDA)และใช้ไม้จิ้มฟันที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วแตะเชื้อแบคทีเรียลงบนอาหารทั้ง 4 จุด ทำทั้งหมด 4 ซ้ำต่อกรรมวิธี บันทึกผลการทดลองโดยวัดการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคและ สังเกตการณ์เกิดบริเวณใส หรือบริเวณการยับยั้ง (clear zone) สามารถวัดได้โดย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา (%) คำนวณได้จาก

การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา $= [(R1-R_2)/R1]x100$

เมื่อ R_1 คือ ค่าเฉลี่ยของรัศมีของเส้นใยเชื้อโรคในจานเลี้ยงเชื้อในกรรมวิธีควบคุม

R_2 คือ ค่าเฉลี่ยของรัศมีของเส้นใยเชื้อโรคในจานเลี้ยงเชื้อในกรรมวิธีทดสอบ

บริเวณการยับยั้ง (%) คำนวณได้จาก

บริเวณการยับยั้ง $= (D_1-D_2/2) x100$

เมื่อ D_1 คือค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง

D_2 คือค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อแบคทีเรีย

2.2 การทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส

ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Kasana *et al.* (2008) และ Abu Bakar *et al*. (2010) การทดสอบเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหารแข็งโดยเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร Carboxy methyl cellulose (CMC) agar ที่อุณหภูมิ 28°C เป็นเวลา 3 วันเทสารละลาย Congored ความเข้มข้น 1% ให้ท่วมผิวหน้าอาหารและโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียเป็นเวลา30 นาทีแล้วเทออก จากนั้นล้างออกด้วย 1M NaCl จำนวน 2 ครั้ง วัดเส้นผ่าศูนย์กลางของการเกิดบริเวณใส (clear zone) ในหน่วยเซนติเมตร (cm)

2.3 การทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟต

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในอาหารเหลว nutrient glucosebroth (NGB)เป็นเวลา 36-48 ชั่วโมง (ศึกษาตามวิธีการของ Gaur, 1990.)หลังจากนั้น นำมาหยอดใส่หลุมบนอาหารทดสอบการละลายฟอสเฟต Pikovskaya's agar ที่ผ่านการเจาะชิ้นวุ้น ด้วย cork borer จำนวน 4 หลุม ต่อจานเลี้ยงเชื้อ โดยใช้ปิเปตดูดเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ต่อ 1 หลุม เลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 28 °C เป็นเวลา2วัน สังเกตการเกิดบริเวณใส (clear zone) และวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของการเกิดบริเวณใส (clear zone) ในหน่วยเซนติเมตร (cm)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.4 ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ในการการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวในห้องปฏิบัติการ

2.4.1 การเตรียมเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร NGA ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1-2 วัน โดยใช้ loop แตะ stock เชื้อมาเล็กน้อย แล้ว steak ลงบนอาหาร NGA บ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 1-2 วัน จากนั้นเติมน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ แล้วใช้แท่งแก้ว ขูดเบาๆ ให้ทั่วผิวหน้าอาหาร นำเซลล์แขวนลอยที่ได้ไปปรับให้มีความเข้มข้น 10^8CFU/ มิลลิลิตร โดยนำไปวัดค่าความขุ่นของเซลล์ (Optical density: O.D.) ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ปรับค่าความขุ่นให้เท่ากับ 0.2

2.4.2 การทดสอบอิทธิพลของเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ต่อการส่งเสริมการเจริญของต้นกล้าข้าว

นำเมล็ดข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 น้ำหนัก 10 กรัม มาห่อด้วยผ้าดิบแล้วแช่ในเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ความเข้มข้น 10^8 CFU / มิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นาน 24 ชั่วโมง ก่อนนำไปบ่มอีก 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปลูกในดินเหนียวนึ่งฆ่าเชื้อที่บรรจุในถาดพลาสติกสำหรับเพาะขนาด 20 หลุม (ปริมาตรหลุมละ 10 มิลลิลิตร) หยอดเมล็ดข้าวหลุมละ 2 เมล็ด นำถาดเพาะมาใส่ในกล่องพลาสติกขนาด 10 x 16 x 6.5 เซนติเมตร ปิดฝาเพื่อรักษาความชื้นระหว่างการบ่มเมล็ด เมื่อเมล็ดงอกดีแล้วจึงเปิดฝากล่อง เติมน้ำนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร300 มิลลิลิตร ลงในกล่อง โดยสังเกตเห็นก้นหลุมเพาะเมล็ดแช่อยู่ในน้ำลึกประมาณ 1.0 เซนติเมตร ให้ต้นข้าวได้รับแสงตามธรรมชาติ(พราวมาส และคณะ, 2552)

2.4.3 บันทึกการเจริญเติบโตของกล้าข้าว

ตรวจนับเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดข้าวหลังการแช่เมล็ดพันธุ์ข้าวด้วยเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ 2 วัน และเมื่อกล้าข้าวอายุได้ 21 วัน นำต้นกล้ามาล้างรากให้สะอาด แล้วนำมาวัดการเจริญเติบโตของต้นข้าวโดยการวัดความสูงต้นและความยาวราก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.4.4 การเจริญครอบครองรากข้าวของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์

สุ่มรากข้าวจากแต่ละกรรมวิธี กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 9 ชิ้น โดยสุ่มตัดรากข้าวจากข้าวอายุ 21 วัน แต่ละกรรมวิธี และแบ่งรากข้าวเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกนำมาล้างน้ำให้สะอาด แล้วล้างด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้ออีก 2 ครั้ง ซับรากให้แห้งด้วยกระดาษซับนึ่งฆ่าเชื้อ วางบนอาหาร NGA เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24-48 ชั่วโมง ตรวจการเจริญครอบครองรากข้าวของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์

ภาพที่ 3 การวัดการเจริญเติบโตของกล้าข้าวที่อายุ 21 วัน

A.การวัดความสูงของต้นข้าว

B. การวัดความยาวของรากข้าว

2.5 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ในการลดโรคกาบใบแห้งและการเพิ่มผลผลิตของข้าวในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง

2.5.1การปลูกข้าว

นำเมล็ดข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 น้ำหนัก 10 กรัม มาห่อด้วยผ้าดิบแล้วแช่ในเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ความเข้มข้น 10^8 CFU / มิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นาน 24 ชั่วโมง ก่อนนำไปบ่มอีก 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปลูกในดินเหนียวนึ่งฆ่าเชื้อที่บรรจุในถาดพลาสติกสำหรับเพาะขนาด 20 หลุม (ปริมาตรหลุมละ 10 มิลลิลิตร) หยอดเมล็ดข้าวหลุมละ 2 เมล็ด นำถาดเพาะมาใส่ในกล่องพลาสติกขนาด 10 x 16 x 6.5 เซนติเมตร ปิดฝาเพื่อรักษาความชื้นระหว่างการบ่มเมล็ด เมื่อเมล็ดงอกดีแล้วจึงเปิดฝากล่อง เติมน้ำนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 300 มิลลิลิตร ลง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ในกล่อง เมื่อต้นกล้าอายุได้ 21 วันจึงย้ายต้นกล้าไปปลูกในรองปลูก(บ่อซีเมนต์วงกลมขนาด 95x95 เซนติเมตร)โดยแต่ละวงบ่อจะปลูกต้นกล้าข้าวจำนวน 5 ต้น/วงบ่อซีเมนต์

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 และพ่นด้วยเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียความเข้มข้น 10^8CFU/มิลลิลิตรจำนวน 3ครั้ง คือ หลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคกาบใบแห้งที่ 7 วัน 14 วันและ 21 วันโดยพ่นเชื้อในช่วงเวลาเย็นระหว่างเวลา 17.00-18.00 นาฬิกา และใช้เซลล์แขวนลอยอัตรา 75 มิลลิลิตร ต่อวงบ่อซีเมนต์

ทำการทดลองทั้งหมด 15 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 3 วงบ่อซีเมนต์ โดยมีกรรมวิธีในการแช่เมล็ดดังนี้

กรรมวิธีที่1 แช่เมล็ดและพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรีย สายพันธุ์ RRK1
กรรมวิธีที่ 2 แช่เมล็ดและพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรีย สายพันธุ์ RRK2
กรรมวิธีที่3 แช่เมล็ดและพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรีย สายพันธุ์ RRK3
กรรมวิธีที่ 4 แช่เมล็ดและพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรีย สายพันธุ์ RRK4
กรรมวิธีที่ 5 แช่เมล็ดและพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรีย สายพันธุ์ RRK5
กรรมวิธีที่6 แช่เมล็ดและพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรีย สายพันธุ์ RRK6
กรรมวิธีที่7 แช่เมล็ดและพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรีย สายพันธุ์ RRK7
กรรมวิธีที่8 แช่เมล็ดและพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรีย สายพันธุ์ RRK8
กรรมวิธีที่9 แช่เมล็ดและพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรีย สายพันธุ์ RRK9
กรรมวิธีที่10 แช่เมล็ดและพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรีย สายพันธุ์ RRK10
กรรมวิธีที่ 11 แช่เมล็ดและพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรีย สายพันธุ์ BB165
กรรมวิธีที่ 12 แช่เมล็ดและพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรีย สายพันธุ์ PT56
กรรมวิธีที่ 13 แช่เมล็ดด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อและพ่นด้วยสารเคมี Validamycin® (วาลิดามัยซิน) อัตรา 20 ซีซี ต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 14 แช่เมล็ดด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ (control +)
กรรมวิธีที่ 15 แช่เมล็ดด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ (control -)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.5.2 การเตรียมเชื้อรา *Rhizoctonia solani*

เลี้ยงเชื้อรา *R. solani* บนอาหาร PDA เป็นเวลา 2-3 วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร เจาะเชื้อบนอาหาร นำไปใส่ในข้าวเปลือกที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที จำนวน 5 ชิ้นต่อข้าวเปลือก 150 กรัม บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5-7 วัน ก่อนการนำไปใช้ บรรจุเมล็ดข้าวเปลือกที่มีเชื้อรา *R. solani* เจริญอยู่ ใส่ในซองชา ขนาด 1.5x1.7 เซนติเมตร ให้ได้น้ำหนัก 10 กรัมต่อซอง เพื่อนำไปเหน็บไว้ที่กอข้าว ระดับเดียวกับน้ำ

ภาพที่ 4 เชื้อรา *Rhizoctonia solani*ที่เจริญบนเมล็ดข้าวเปลือก เป็นเวลา 5-7 วัน (A) และ การบรรจุเมล็ดข้าวเปลือกที่มีเชื้อรา *R. solani* เจริญอยู่บรรจุในซองชา ขนาด 1.5x1.7 เซนติเมตร น้ำหนัก 10 กรัม (B)

2.6 การตรวจและบันทึกผลการทดลอง

2.6.1 ความรุนแรงของโรคกาบใบแห้งของข้าว

ปลูกเชื้อรา *R. solani*เชื้อสาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าวเมื่อข้าวอายุประมาณ 60-70 วัน เป็นช่วงของการตั้งท้องของข้าว หลังการปลูกเชื้อรา *R. solani*เชื้อสาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าวเป็นเวลา 7 วันวัดความสูงของแผล โดยวัดจากโคนต้นที่ระดับความสูงของน้ำ(ระดับที่ทำการปลูกเชื้อ) ถึงจุดสูงสุดของแผลที่ลุกลาม และวัดความสูงของต้นข้าวโดยวัดจากระดับของดินไปจนถึงปลายสุดของใบธงแล้วคำนวณหาความรุนแรงของโรค ดังสมการ

$$\text{ความรุนแรงของโรค(\%)} = \frac{\text{ความสูงของแผล}}{\text{ความสูงของต้นข้าว}} \times 100$$

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาพที่ 5 การปลูกเชื้อรา *Rhizoctonia solani*เชื้อสาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าว (A) และ อาการของโรคกาบใบแห้งหลังการปลูกเชื้อ (ลูกศรชี้) (B)

2.6.2 การเพิ่มผลผลิตของข้าว

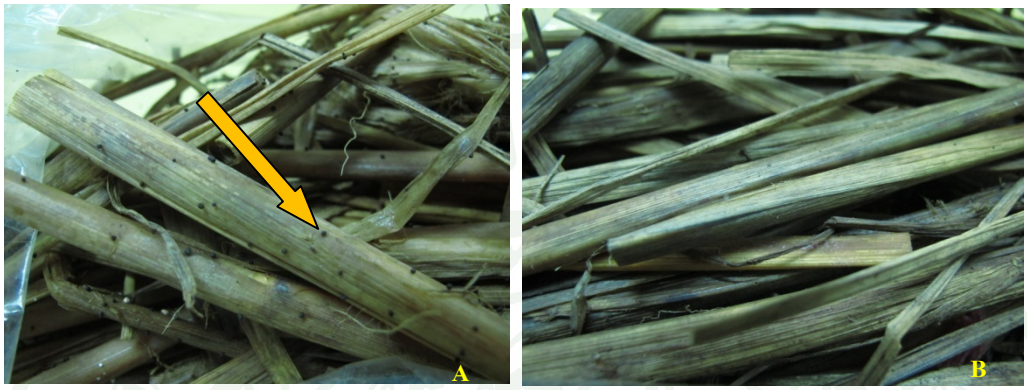
ตรวจนับจำนวนต้นต่อกอ จำนวนรวงต่อกอ น้ำหนักเมล็ดต่อรวง น้ำหนักเมล็ดต่อรองน้ำหนักผลผลิตรวมต่อกอ และน้ำหนักผลผลิตรวมต่อกรรมวิธี แล้วนำไปคำนวณทางสถิติ

2.7 ความสามารถของเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ในการย่อยสลายตอซังและฟางข้าว และการลดการสะสมของเชื้อสาเหตุโรคพืช

หลังจากเก็บเกี่ยวข้าวแล้วนำตอซัง(ต้นข้าว)และฟางข้าวในแต่ละกรรมวิธีมาตัดและชั่งน้ำหนักใส่ถุงไนลอนขนาด 5x7 นิ้ว ปริมาณ 100 กรัมต่อถุง กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรียในอัตรา 100 กรัม/ไร่ ละลายน้ำและใส่ลงไปในวงบ่อซีเมนต์ปลูกข้าว ฝังถุงไนลอนที่บรรจุตอซังและฟางข้าวลงไปในดิน สังเกตการย่อยสลายเซลลูโลสที่ 14 วัน เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ใช้จามินาผลิตภัณฑ์การค้าเพื่อการย่อยสลายและการปล่อยให้ย่อยสลายเองตามธรรมชาติ หลังจากนั้นนำถุงไนลอนมาล้างอัดฉีดด้วยน้ำเปล่าเพื่อให้เซลลูโลสส่วนที่ถูกย่อยสลายแล้วหลุดออกไป นำถุงไนลอนไปตากแดดจนตอซังและฟางข้าวแห้งสนิท จึงนำมาชั่งน้ำหนัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นำตอซังและฟางข้าวที่ผ่านการหมักแล้ว 14 วัน นำมานับจำนวนเม็ดสเคลอโรเทียม (sclerotium) ของเชื้อรา *R. solani*สาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าวเพื่อตรวจนับปริมาณการสะสมของเชื้อโรคในตอซังและฟางข้าว



ภาพที่ 6 การสร้างเม็ดสเคลอโรเทียมของเชื้อรา *Rhizoctonia solani*บนตอซังและฟางข้าว

A. กรรมวิธีควบคุม B. กรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK1

3. การพัฒนาเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ

3.1 การพัฒนาเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะrifampicin ที่ความเข้มข้น 100 ppm

นำเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ที่มีประสิทธิภาพ มาพัฒนาให้ได้สายพันธุ์ที่ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ เพื่อง่ายต่อการติดตามตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย โดยเตรียมเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร นำไปหยดและเกลี่ยบนอาหาร NGA ที่ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin ความเข้มข้น 1 ppm บ่มที่อุณหภูมิห้อง 24-48 ชั่วโมง นำเชื้อแบคทีเรียที่เจริญได้บนอาหารดังกล่าว มา streak บนอาหาร NGA ที่ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ความเข้มข้นเดิมซ้ำอีก 2-3 ครั้งเพื่อให้เกิดความคงตัว และเพิ่มระดับความเข้มข้นของสารปฏิชีวนะขึ้นเป็น 5 10 20 50 และ 100 ppm ตามลำดับ (สุพจน์, 2545; จิรัสสา, 2547)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.2 ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สายพันธุ์กลายต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. solani*

นำเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ที่ติดเครื่องหมายตัวตรวจต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin มาทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคกาบใบแห้งในห้องปฏิบัติการอีกครั้งด้วยวิธี Dual culture ซึ่งจะเลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคพืชกับเชื้อแบคทีเรียทดสอบบนอาหาร PDA พร้อมกันโดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8 เซนติเมตร เจาะชิ้นวุ้นบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคมาวางตรงกลางของจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (PDA)และใช้ loop ขีดแบคทีเรียทั้งสองฝั่งให้เป็นเส้นตรงขนาดยาว 2 เซนติเมตรทำทั้งหมด 4 ซ้ำต่อกรรมวิธี บันทึกผลการทดลองโดยวัดการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคและ สังเกตการณ์เกิดบริเวณใส หรือบริเวณการยับยั้ง (clear zone) (เหมือนข้อ 2.1)

แล้วคัดเลือกไอโซเลตที่มีประสิทธิภาพดีไปทดสอบความสามารถในการลดโรคกาบใบแห้งของข้าวในสภาพโรงเรือนทดลอง

4. การผลิตชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ชนิดผง

เตรียมวัสดุอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ ซึ่งประกอบด้วยดิน ธัญพืช และโปรตีนผงผสมคลุกเคล้าให้เข้ากัน ใส่น้ำลงไปเล็กน้อยให้ความชื้น แล้วนำวัสดุอาหารไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที 2 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ที่เลี้ยงในอาหาร NGB เป็นเวลา 48 ชั่วโมง มาใส่ในวัสดุอาหารที่เตรียมไว้ โดยใช้อัตราเชื้อ 15 มิลลิลิตรต่อวัสดุอาหาร 300 กรัม คลุกเคล้าให้เข้ากัน แล้วนำไปผึ่งให้แห้ง เพื่อให้ความชื้นในผงลดลงจนมีค่าไม่เกิน 10% เก็บรักษาเชื้อไว้ในตู้เย็น (10 องศาเซลเซียส) ตรวจนับปริมาณความอยู่รอดของเชื้อทุกเดือนเป็นเวลา 6 เดือน

4.1 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ในการลดโรคกาบใบแห้ง และการเพิ่ม ผลผลิตของข้าวในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง

4.1.1 การปลูกข้าว

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นำเมล็ดข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 น้ำหนัก 10 กรัม มาห่อด้วยผ้าดิบแล้วแช่ในเซลล์แขวนลอยของชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ชนิดผง อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร นาน 24 ชั่วโมง ก่อนนำไปบ่มอีก 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปลูกในดินเหนียวนึ่งฆ่าเชื้อที่บรรจุในถาดพลาสติกสำหรับเพาะขนาด 20 หลุม (ปริมาตรหลุมละ 10 มิลลิลิตร) หยอดเมล็ดข้าวหลุมละ 2 เมล็ด นำถาดเพาะมาใส่ในกล่องพลาสติกขนาด 10 X 16 X 6.5 เซนติเมตร ปิดฝาเพื่อรักษาความชื้นระหว่างการบ่มเมล็ด เมื่อเมล็ดงอกดีแล้วจึงเปิดฝากล่อง เติมน้ำนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 300 มิลลิลิตร ลงในกล่อง เมื่อต้นกล้าอายุได้ 21 วันจึงย้ายต้นกล้าไปปลูกในวงบ่อซีเมนต์ (ขนาด 95x95เซนติเมตร) คิดเป็นพื้นที่ 0.5 ตารางเมตร โดยแต่ละวงบ่อจะปลูกต้นกล้าข้าวจำนวน 7 ต้น/วงบ่อซีเมนต์

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 และพ่นด้วยเซลล์แขวนลอยของชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียชนิดผง จำนวน 3 ครั้ง คือ หลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคกาบใบแห้งที่ 7 วัน 14 วันและ 21 วัน อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (เขย่าทิ้งไว้ 48 ชั่วโมง แล้วนำไปผสมน้ำอัตรา 1 ลิตรต่อน้ำ 100 ลิตรก่อนพ่น)

วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete block design, RCB) ทำการทดลองทั้งหมด 12 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 3 วงบ่อซีเมนต์โดยมีกรรมวิธีในการแช่เมล็ดดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 แช่เมล็ดและพ่นด้วยชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียชนิดผง สายพันธุ์ RRK1-Rif
กรรมวิธีที่ 2 แช่เมล็ดและพ่นด้วยชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียชนิดผง สายพันธุ์ RRK2-Rif
กรรมวิธีที่ 3 แช่เมล็ดและพ่นด้วยชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียชนิดผง สายพันธุ์ RRK4-Rif
กรรมวิธีที่4 แช่เมล็ดและพ่นด้วยชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียชนิดผง สายพันธุ์ RRK5-Rif
กรรมวิธีที่5 แช่เมล็ดและพ่นด้วยชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียชนิดผง สายพันธุ์ RRK6-Rif
กรรมวิธีที่ 6 แช่เมล็ดและพ่นด้วยชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียชนิดผง สายพันธุ์ RRK7-Rif
กรรมวิธีที่7 แช่เมล็ดและพ่นด้วยชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียชนิดผง สายพันธุ์ RRK9-Rif
กรรมวิธีที่ 8 แช่เมล็ดและพ่นด้วยชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียชนิดผง สายพันธุ์ RRK10-Rif
กรรมวิธีที่ 9 แช่เมล็ดและพ่นด้วยชีวภัณฑ์เชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดเม็ด สายพันธุ์ 01-52 ปริมาตร 100 กรัม /1 ไร่

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กรรมวิธีที่ 10 แช่เมล็ดด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อและพ่นด้วยสารเคมี Validamycin®
อัตรา 20 ซีซี ต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่11 แช่เมล็ดด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ (control +)
กรรมวิธีที่ 12 แช่เมล็ดด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ (control -)

4.1.2 การเตรียมเชื้อรา *R. solani*

เลี้ยงเชื้อรา *R. solani* บนอาหาร PDA เป็นเวลา 2-3 วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร เจาะเชื้อบนอาหาร นำไปใส่ในข้าวเปลือกที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที จำนวน 5 ชิ้นต่อข้าวเปลือก 150 กรัม บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5-7 วัน ก่อนการนำไปใช้ บรรจุเมล็ดข้าวเปลือกที่มีเชื้อรา *R. solani* เจริญอยู่ใส่ในซองชา น้ำหนัก 10 กรัมต่อซอง เพื่อนำไปเหน็บไว้ที่กอข้าว ในระดับเดียวกับน้ำ

4.1.3 ความรุนแรงของโรคกาบใบแห้งของข้าว

ปลูกเชื้อรา *R. solani*เชื้อสาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าวเมื่อข้าวอายุประมาณ 60-70 วัน เป็นช่วงของการตั้งท้องของข้าว หลังการปลูกเชื้อรา *R. solani*เชื้อสาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าวเป็นเวลา 7 วันวัดความสูงของแผล โดยวัดจากโคนต้นที่ระดับความสูงของน้ำ(ระดับที่ทำการปลูกเชื้อ) ถึงจุดสูงสุดของแผลที่ลุกลาม และวัดความสูงของต้นข้าวโดยวัดจากระดับของดินไปจนถึงปลายสุดของใบธงแล้วคำนวณหาความรุนแรงของโรค ดังสมการ

$$\text{ความรุนแรงของโรค(\%)} = \frac{\text{ความสูงของแผล}}{\text{ความสูงของต้นข้าว}} \times 100$$

4.1.4 การเก็บเกี่ยวผลผลิต

เมื่อต้นข้าวอายุ 120 วัน ทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตเมื่อรวงข้าวแก่เต็มที่ นำมาตากแดดให้รวงข้าวและเมล็ดข้าวเปลือกแห้งสนิท นับจำนวนรวง ต่อวงบ่อซีเมนต์ นำเมล็ดข้าวไปชั่งหาค่าเฉลี่ยน้ำหนักผลผลิตต่อรวง น้ำหนักผลผลิตต่อวงบ่อซีเมนต์ และคำนวณเป็นน้ำหนักผลผลิตต่อตารางเมตรและน้ำหนักผลผลิตต่อไร่

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4.1.5 คุณภาพการขัดสี

นำข้าวเปลือกที่เก็บเกี่ยวได้ไปขัดสีเป็นข้าวกล้อง น้ำหนัก 500 กรัม ด้วยเครื่องสีข้าวขาว-ข้าวกล้องขนาดเล็ก บันทึกน้ำหนักเมล็ดข้าวและน้ำหนักแกลบที่ขัดสีได้ จากนั้นนำข้าวกล้อง มาตรวจสอบคุณภาพการสีข้าว โดยบันทึกผลเป็นน้ำหนักข้าวเต็มเมล็ด และน้ำหนักข้าวหัก เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

4.2 ความสามารถของเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ในการย่อยสลายตอซังและฟางข้าว

4.2.1 การย่อยสลายตอซังและฟางข้าว (เปอร์เซ็นต์)

นำตอซังและฟางข้าวในแต่ละกรรมวิธีมาตัดและชั่งน้ำหนักใส่ถุงไนลอนขนาด 5x7 นิ้ว ปริมาณ 200 กรัมต่อถุง กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรียในอัตรา อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20ลิตร (เขย่าทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง แล้วนำไปผสมน้ำอัตรา 1 ลิตรต่อน้ำ 100 ลิตรก่อนใส่วงบ่อซีเมนต์) ละลายชีวภัณฑ์ในน้ำและใส่ลงไปในวงบ่อปลูกข้าว ฝังถุงไนลอนที่บรรจุตอซังข้าวและฟางข้าวลงไปในดิน สังเกตการย่อยสลายเซลลูโลสที่ 7 และ 14 วัน หลังจากนั้นนำถุงไนลอนมาล้างอัดฉีดด้วยน้ำเปล่าเพื่อให้เซลลูโลสส่วนที่ถูกย่อยสลายหลุดออกไป และนำถุงไนลอนไปตากแดดจนตอซังและฟางข้าวแห้งสนิท จึงนำมาชั่งน้ำหนัก

4.2.2 ความเปื่อยยุ่ยของฟางข้าว

นำตอซังและฟางข้าวน้ำหนัก 300 กรัม หมักในวงบ่อซีเมนต์ (กลบถุงไนลอน) ประเมินการย่อยโดยการออกแรงดึงของผู้ประเมิน จำนวน 3 คน แบ่งระดับความเปื่อยยุ่ยของฟางข้าวออกเป็น 5 ระดับคือ

ระดับ 0 ไม่มีความเปื่อยยุ่ย (คนดึงออกแรงดึงตึงมือและกระตุกหนึ่งครั้งตอซังและฟางข้าวไม่ขาดออกจากกัน)

ระดับ 1 เกิดความเปื่อยยุ่ย 1-25 เปอร์เซ็นต์ (คนดึงออกแรงดึงตึงมือและกระตุกหนึ่งครั้งตอซังและฟางข้าวขาดออกจากกัน)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ระดับ 2 เกิดความเปื่อยยุ่ย 26-50 เปอร์เซ็นต์ (คนดึงออกแรงดึงตึงมือไม่กระตุกตอซังและฟางข้าวขาดออกจากกัน)

ระดับ 3 เกิดความเปื่อยยุ่ย 51-75 เปอร์เซ็นต์ (คนดึงออกแรงดึงเบาๆไม่ตึงมือตอซังและฟางข้าวขาดออกจากกัน)

ระดับ 4 เกิดความเปื่อยยุ่ย 76-100 เปอร์เซ็นต์ (คนดึงไม่ต้องออกแรง หยิบขึ้นมาและขยี้เบาๆตอซังและฟางข้าวขาดออกจากกัน

ภาพที่ 7 ถุงไนลอนที่บรรจุตอซังและฟางข้าว100 กรัมต่อถุง(ซ้าย) ก่อนฝังลงไปในดินเลน (ขวา)

5. การจำแนกเชื้อแบคทีเรีย

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK1-Rif บนอาหารแข็ง NGA เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง และส่งตัวอย่างไปยังศูนย์พันธุวิศวกรรม (BIOTEC) เพื่อสกัด DNAของเชื้อแบคทีเรีย และเพิ่มปริมาณด้วยวิธีการ PCR

PCR amplification of 16s DNA

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)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

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

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

วิเคราะห์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ ไอโซเลต RRK1 แบบ double stand บริเวณ 16s rDNA นำมาทำ Multiple alignment โดยใช้โปรแกรม Mega6 เปรียบเทียบตัวอย่างนิวคลีโอไทด์ของเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์กับลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียที่ใช้เป็น type strain ซึ่งมีรายงานในฐานข้อมูลของEzTaxon-e server (http://eztaxon-e.ezbiocloud.net/; kim *et al*., 2012) จากนั้นนำข้อมูล alignment มาสร้าง Phylogenetic tree เลือกวิธี UPGMA ในโปรแกรม mega6 สำหรับการหาค่า bootstrap โดยทำการวิเคราะห์ 1,000 ซ้ำ

6. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ผลการทดลองที่ได้ทั้งหมด และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยจากการทดลองโดยทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ด้วยโปรแกรม SPSS for Windows V. 11.5ตามแผนการทดลองแบบ CRD ซึ่งทำการทดลองในห้องปฏิบัติการและแผนการทดลองแบบ RCB ในสภาพโรงเรือนทดลอง

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการควบคุมโรคพืชโดยชีวภาพและเรือนปลูกพืชทดลอง
ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรกำแพงแสนมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน
อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม

ระยะเวลาที่ทำการทดลอง

ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนมิถุนายน 2554 – พฤษภาคม 2556

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลและวิจารณ์

1. การแยกเชื้อแบคทีเรียจากรากข้าว

จากการสุ่มเก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบรากข้าว (rhizosphere soil) ในแปลงนาของเกษตรกร เขตอำเภอเมือง จังหวัดกาญจนบุรี นำมาแยกเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี serial dilution spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient glucose agar (NGA) ได้ทั้งหมด 80 ไอโซเลต นำเชื้อแบคทีเรียมาเลี้ยงเชื้อในอาหาร NGA ศึกษาดูลักษณะและรูปร่างของเชื้อแบคทีเรีย ทดสอบแกรมด้วย 3 % KOH และการย้อมแกรมแบคทีเรียเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกจำนวน58 ไอโซเลตและแบคทีเรียแกรมลบจำนวน 22 ไอโซเลต โดยแบคทีเรียแกรมลบมีปฏิกิริยาเป็นบวก มีลักษณะยืดและแกรมบวกมีปฏิกิริยาเป็นลบมีลักษณะไม่ยืดเมื่อทดสอบด้วยสารละลายด่าง (Schaad *et al*., 1980) และได้ตั้งชื่อขึ้นต้นให้แบคทีเรียในแต่ละไอโซเลตว่า RRK ซึ่งมาจากคำว่า Root Rice Kanchanaburi Province

2. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์

2.1 ทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Rhizoctonia solani*

จากการวัดการเจริญของเส้นใยเชื้อรา*Rhizoctonia solani* บนอาหาร PDA พบว่าเมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. solani* สาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าวด้วยวิธี Dual culture บนอาหาร potato dextrose agar (PDA) กรรมวิธีที่มีการยับยั้งการเจริญของเส้นใยมากที่สุดคือ กรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ ไอโซเลต RRK1 ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. solani* ได้สูงที่สุดคือ 75 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ ไอโซเลต RRK2 ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. solani* ได้ 63.5 เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ ไอโซเลต RRK3 RRK4 RRK5 RRK6 และ RRK7 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. solani* ได้ 58.12, 57.50, 55.62, 55.00 และ51.25 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งมีค่าแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม กรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ ไอโซเลต RRK8 และ RRK9 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. solani* น้อยที่สุด คือ 38.75 และ 30.62 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ(ตารางที่ 3)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 3 การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา*Rhizoctonia solani* โดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ การเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์และบริเวณยับยั้ง (clear zone) บนอาหาร potato dextrose agar (PDA)

ไอโซเลต	การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Rhizoctonia solani* (%)	ขนาดโคโลนีของแบคทีเรียปฏิปักษ์ (มม.)	บริเวณยับยั้ง (clear zone) (ซม.)
RRK1	75.00 a[2/]	13.78 a[1/]	0.00 f [3/]
RRK2	63.75 b	7.00 b	0.65 b
RRK3	58.12 bc	5.28 c	1.86 a
RRK4	57.50 bc	2.12 d	0.60 bc
RRK5	55.62 bc	1.12 e	1.23 ab
RRK6	55.00 bc	0.88 ef	0.85 b
RRK7	51.25 c	0.67 ef	0.72 b
RRK8	38.75 d	0.20 f	0.25 c
RRK9	30.62 d	0.11 f	1.00 ab
กรรมวิธีควบคุม	00.00 e	-	-
C.V.	14.35	14.74	13.38

[1/] ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากการวิเคราะห์ด้วย Duncan's New Multiple Range Test (P=0.05)

[2/] การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา (%) คำนวณได้โดย

$$\text{การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา} = \left(\frac{R_1 - R_2}{R_1} \right) \times 100$$

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่3 (ต่อ)

R_1คือ ค่าเฉลี่ยของรัศมีของเส้นใยเชื้อโรคในจานเลี้ยงเชื้อในกรรมวิธีควบคุม

R_2 คือ ค่าเฉลี่ยของรัศมีของเส้นใยเชื้อโรคในจานเลี้ยงเชื้อในกรรมวิธี

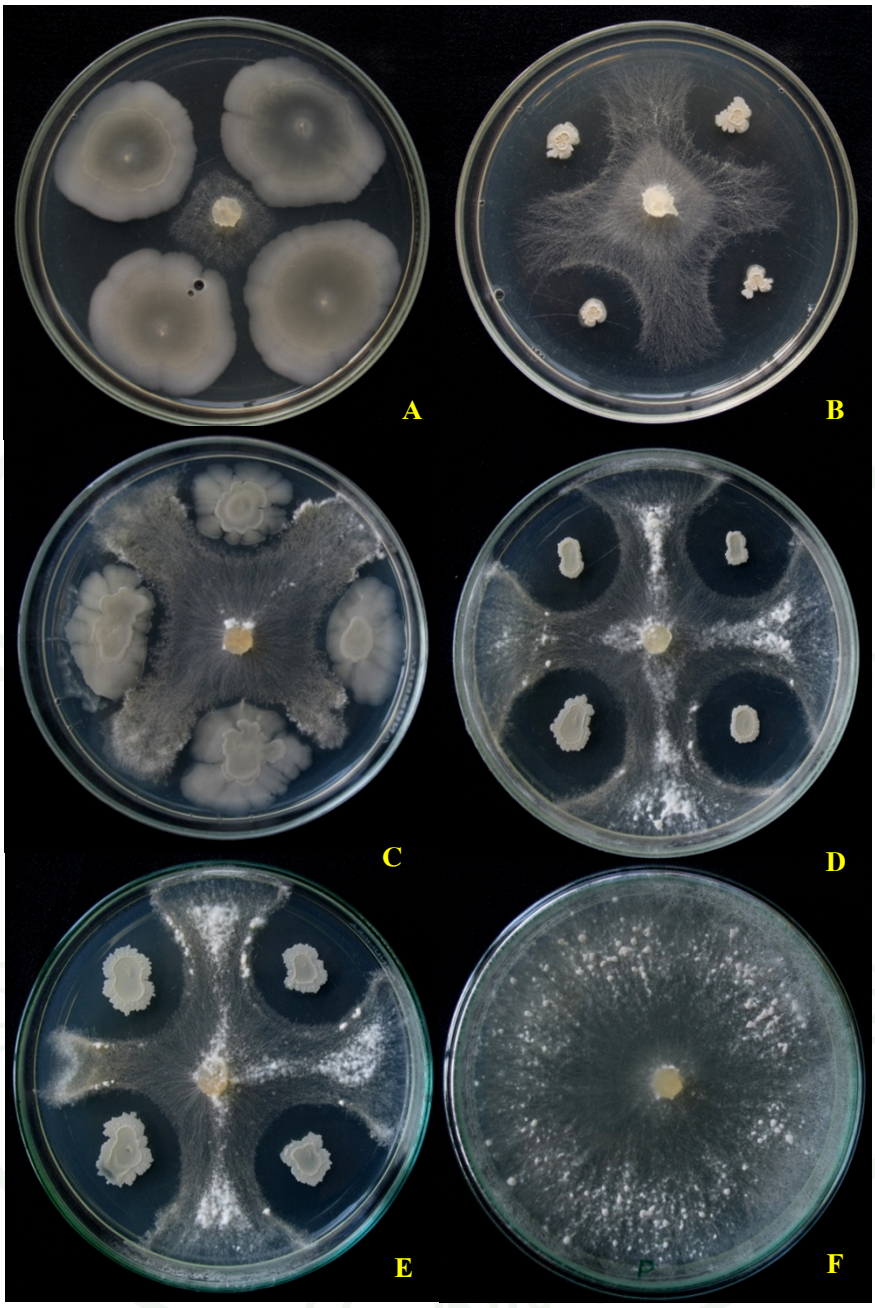
[3/] บริเวณการยับยั้ง (%) คำนวณได้โดย

$$\text{บริเวณการยับยั้ง} = \left(\frac{D_1 - D_2}{2} \right) \times 100$$

D_1 คือค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง

D_2 คือค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อแบคทีเรีย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 8 การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา*Rhizoctonia solani* (กลางจานเลี้ยงเชื้อ) โดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ บนอาหาร potato dextrose agar(PDA)บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน

A: แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลตRRK1 **B:** แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลตRRK3

C: แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลตRRK5 **D:** แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลตRRK7

E: แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลตRRK9 **F:** กรรมวิธีควบคุม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.2 ความสามารถในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส

จากการทดสอบพบว่าแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK1 สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้มากที่สุดและมีค่าสูงกว่าแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลตอื่นอย่างมีนัยสำคัญ โดยสังเกตจากขนาดของบริเวณใส (clear zone) ที่เกิดขึ้นบนอาหาร carboxy metylcellulose agar (CMCA) ซึ่งมีขนาดเท่ากับ 1.37 เซนติเมตร รองลงมาคือ ไอโซเลต RRK4RRK9 และ RRK10 ซึ่งมีขนาดของบริเวณใสที่เกิดขึ้นจากการทดสอบ (clear zone) คือ 1.02, 1.01 และ 0.91 เซนติเมตร ตามลำดับ และแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ได้น้อยที่สุด คือ ไอโซเลต RRK2 และ RRK8 โดยมีขนาดของบริเวณใส เท่ากับ 0.43 และ 0.58 เซนติเมตร ตามลำดับ ในขณะที่ไอโซเลต RRK3, RRK5, RRK6 และ RRK7 ไม่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้เลย (ตารางที่ 4) แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ สามารถย่อยเซลลูโลสได้ น่าจะมีประโยชน์ในการย่อยสลายฟางและตอซังข้าวได้ต่อไปเรื่อยๆ เป็นการเพิ่มปริมาณเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ในนาข้าวตามธรรมชาติให้มากขึ้น ซึ่งจะส่งผลให้ช่วยลดปริมาณเชื้อโรคที่ติดอยู่กับตอซังและฟางข้าวได้อย่างต่อเนื่องด้วย ดังรายงานของ Cowling,1976 ที่รายงานว่าความกว้างของบริเวณใสตามการทดลองเป็นขั้นตอนการคัดเลือกจุลินทรีย์ย่อยเซลลูโลสที่ดีขั้นแรก คือความกว้างของบริเวณใสในอาหารมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบเซลลูโลส ในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของจุลินทรีย์ จุลินทรีย์ย่อยเซลลูโลสที่ดีขั้นแรกคือความกว้างของบริเวณใสในอาหารมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบเซลลูโลสในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของจุลินทรีย์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

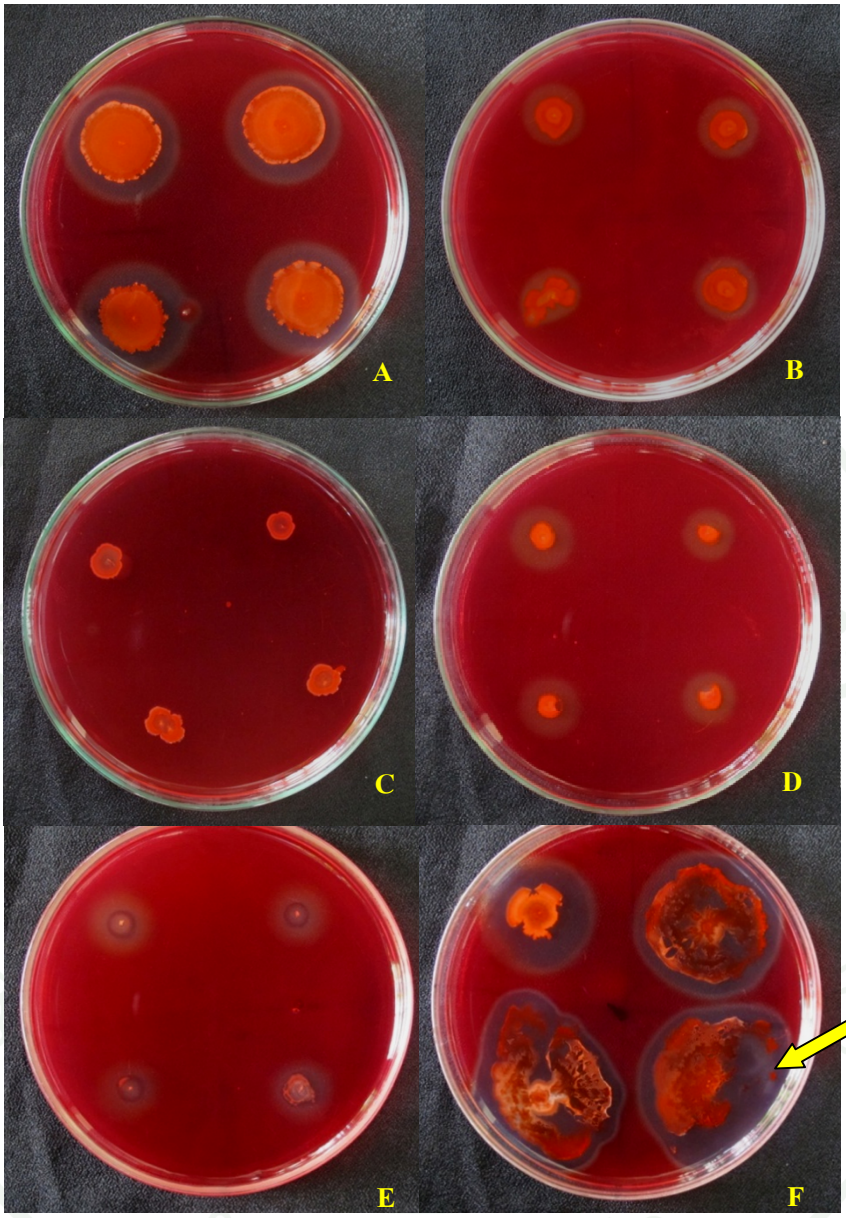
ตารางที่ 4 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ ในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส เพื่อย่อยเซลลูโลสให้เกิดบริเวณใส(clear zone) บนอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย carboxy methyl cellulose agar[1/](CMCA)

ไอโซเลต	ขนาดบริเวณใส (clear zone) (ซม.)[2/]
RRK 1	1.37 a[2/]
RRK 2	0.43 c
RRK 3	0.00 d
RRK 4	1.02 b
RRK 5	0.00 d
RRK 6	0.00 d
RRK 7	0.00 d
RRK 8	0.58 c
RRK 9	1.01 b
RRK 10	0.91 b
C.V..	24.60

[1/]ศึกษาตามวิธีการของ Yung *et al.* (2009).

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

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 9 ความสามารถในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์เพื่อย่อยเซลลูโลส บนอาหาร carboxy methyl cellulose agar (CMCA)เกิดเป็นบริเวณใส (ศรชี้)

A: แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลตRRK1 **B:** แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลตRRK2

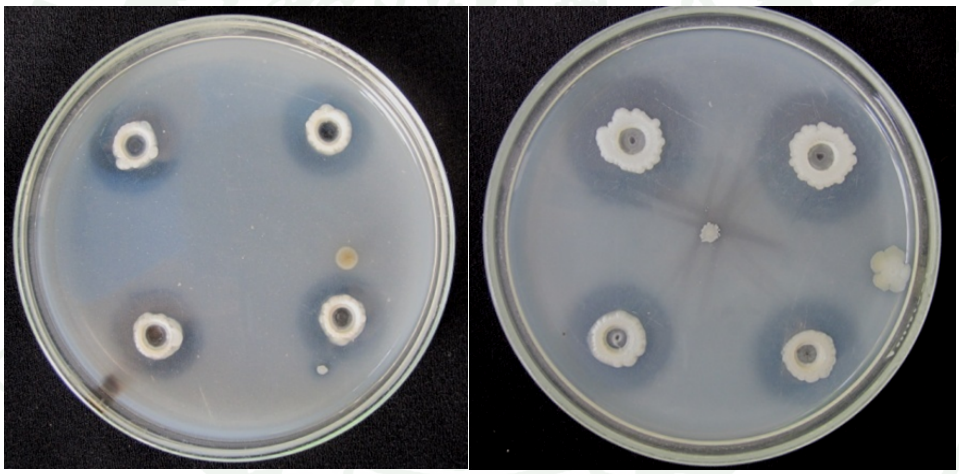
C: แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลตRRK4 **D:** แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลตRRK8

E: แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลตRRK9 **F:** แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลตRRK10

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.3 ความสามารถในการละลายฟอสเฟตของเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์

จากการทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟตของเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ พบว่าเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK7 สามารถละลายฟอสเฟตได้มากที่สุดและมีค่าสูงกว่าแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลตอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสังเกตจากขนาดของบริเวณใส (clear zone) ที่เกิดขึ้นบนอาหาร Pikovskaya's agar (Gaur A.C., 1990) มีขนาดเท่ากับ 1.07 เซนติเมตร รองลงมาคือ ไอโซเลต RRK8 และ RRK1 ซึ่งมีขนาดของบริเวณใสที่เกิดขึ้น (clear zone) คือ 0.77, และ 0.63 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 5) แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ที่สามารถละลายพันธะฟอสเฟตให้อยู่ในรูปที่พืชนำไปใช้ประโยชน์สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้



ภาพที่ 10 ความสามารถในการละลายฟอสเฟตของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์บนอาหาร Pikovskaya's agar เกิดเป็นบริเวณใสรอบโคโลนีของเชื้อแบคทีเรีย (ศรชี้) หลังจากบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 5 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ ในการละลายฟอสเฟตบนอาหาร Pikovskaya's agar[1/] จนเกิดบริเวณใส (clear zone)

ไอโซเลต	บริเวณใส (Clear zone) (ซม.)
RRK 1	0.63 b[2/]
RRK 2	0.23 d
RRK 3	ND[3/]
RRK 4	0.30 cd
RRK 5	ND
RRK 6	ND
RRK 7	1.07 a
RRK 8	0.77 b
RRK 9	0.42 c
RRK 10	ND
C.V. (%)	19.71

[1/] ศึกษาตามวิธีการของ Gaur A.C. (1990)

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

[3/] ND = non-determined (ไม่ได้ตรวจสอบ)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.4 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้าข้าว

จากการทดลองเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดข้าวพบว่ากรรมวิธีที่แช่ด้วยเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ทุกไอโซเลตมีค่าไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเทียบกรรมวิธีควบคุมโดยมีเปอร์เซ็นต์การงอกอยู่ระหว่าง 91.80-97.16 เปอร์เซ็นต์ และหลังนำห่อผ้าที่บรรจุเมล็ดข้าว 10 กรัม แช่เชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์24 ชั่วโมง แล้วบ่มต่ออีก 2 วัน ที่อุณหภูมิห้อง พบว่า กรรมวิธีที่แช่เมล็ดข้าวด้วยเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK1 และ RRK2 มีความหนาแน่นและความยาวของรากข้าวที่งอกจากเมล็ดข้าวสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมทีแช่เมล็ดข้าวด้วยน้ำเปล่า (ภาพที่ 11)

การส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้าข้าวที่อายุ 21 วัน พบว่าแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ 7 ไอโซเลต คือ RRK1,RRK3, RRK4, RRK6, RRK7, RRK8 และ RRK9 มีค่าเฉลี่ยความสูงของต้นไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ในขณะที่กรรมวิธีที่แช่ด้วยเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ ไอโซเลต RRK1 มีค่าเฉลี่ยความยาวรากสูงที่สุดคือ 17.6 เซนติเมตร โดยมีค่าสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่มีความยาวรากเท่ากับ 12.6 เซนติเมตรอย่างมีนัยสำคัญ สำหรับในส่วนของกรรมวิธีที่แช่ด้วยเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ ไอโซเลต RRK2,RRK3, RRK4, RRK6, RRK7, RRK8 และ RRK9 พบว่ามีความยาวรากไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม(ตารางที่ 6) การใช้แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ในการแช่เมล็ดข้าวสามารถพบการเจริญครอบครองเมล็ดข้าว และรากข้าวที่ 21 วันได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (ไม่แสดงข้อมูล) อย่างไรก็ตามตรวจพบการเจริญของแบคทีเรียที่ทดสอบออกจากผิวรากและเมล็ดข้าว แสดงถึงความสามารถเจริญครอบครองรากและเมล็ดข้าวของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สอดคล้องกับการศึกษาของ Kleifield and Chet, (1992) ที่รายงานว่า การตอบสนองการเจริญเติบโตของพืชโดยการใช้จุลินทรีย์ที่อยู่รอบรากนั้นมาจากการที่จุลินทรีย์ที่ใช้มีชีวิตรอดและพัฒนาตัวเองในบริเวณรากพืช สามารถครอบครองรากพืชจึงส่งเสริมการเจริญของพืชได้ แบคทีเรียที่อาศัยบริเวณดินรอบรากพืช (plant growth promotion rhizobacteria; PGPR) มีประโยชน์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มความต้านทานของพืชต่อโรคซึ่งการเก็บตัวอย่างรากข้าวครั้งนี้ ได้เก็บมาจากแปลงนาที่มีการจัดการดูแลแปลงในแนวทางธรรมชาติ จึงมีโอกาสสูงที่จะได้จุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพดีเด่นในด้านต่าง ๆ สอดคล้องกับนิชากร (2553) ที่ได้แยก คัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้จากเมล็ดข้าวที่ผ่านการแช่ในปุ๋ยอินทรีย์น้ำ น้ำจากนาข้าว น้ำผสมด้วยปุ๋ยหมัก และน้ำผสมด้วยปุ๋ยหมักใบไผ่แห้งที่ได้มาจากมูลนิธิข้าวขวัญ จังหวัดสุพรรณบุรี โดยพบว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้ สามารถลดโรค

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

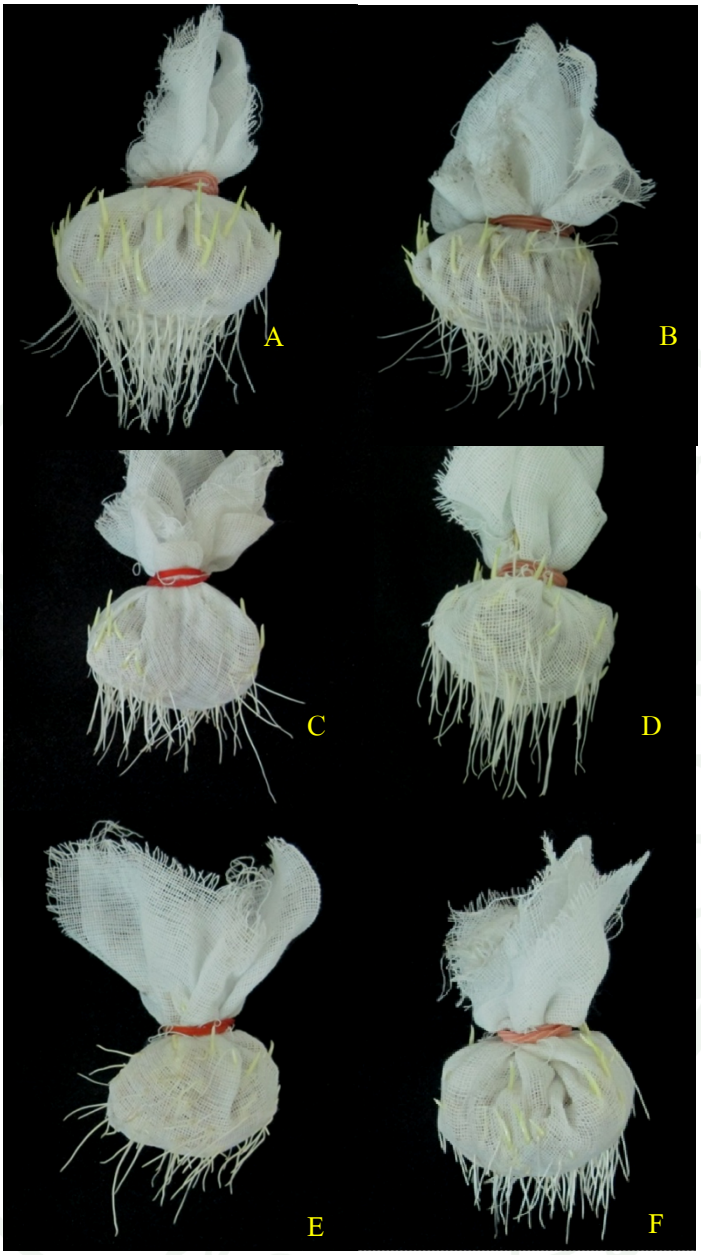
เมล็ดด่าง และเพิ่มผลผลิตของข้าวได้เทียบเท่ากับกรรมวิธีที่ใช้สารเคมี ในขณะที่เพชรพิกุล และคณะ (2553) ได้แยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากรากข้าวในแหล่งปลูกต่าง ๆ และพบว่า เชื้อแบคทีเรียที่แยกได้สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. solani* สาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าว มีประสิทธิภาพในการย่อยไคตินชักนำให้ข้าวผลิตเอนไซม์ไคติเนส เพื่อช่วยลดความรุนแรงของโรคกาบใบแห้ง ตลอดจนส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นข้าว และเพิ่มผลผลิตของข้าวได้

ตารางที่ 6 ประสิทธิภาพของการแช่เมล็ดข้าวพันธุ์ชัยนาท 1ด้วยแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของกล้าข้าวในด้านความสูงต้นและความยาวรากเมื่อข้าวอายุครบ 21 วัน

กรรมวิธี	การงอก (%)	การเจริญเติบโตของกล้าข้าว	
		ความสูงต้น (ซม.)	ความยาวราก (ซม.)
RRK1	96.88 a[1/]	23.80 a-d	17.60 a
RRK2	96.44 a	21.40 d	13.90 a-d
RRK3	97.16 a	24.60 abc	10.60 def
RRK4	95.83 a	22.10 cd	12.70 b-e
RRK5	93.26 a	16.50 e	7.90 f
RRK6	97.21 a	22.50 bcd	10.70 def
RRK7	96.68 a	26.10 a	15.90 ab
RRK8	91.80 a	22.90 bcd	13.10 bcd
RRK9	96.16 a	24.30 a-d	10.00 def
Control	94.58 a	24.10 a-d	12.60 b-e
C.V. (%)	2.95	16.84	6.67

[1/] ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากการวิเคราะห์ด้วย Duncan's New Multiple Range Test (P=0.05)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่11 เปรียบเทียบความหนาแน่นและความยาวของรากข้าวที่งอกจากเมล็ดข้าวหลังนำห่อผ้าที่บรรจุเมล็ดข้าว 10 กรัม แช่เชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์24 ชั่วโมง แล้วบ่มต่ออีก 2 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

A: แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลตRRK1 **B:** แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลตRRK2

C: แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลตRRK4 **D:** แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลตRRK7

E: แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลตRRK10 **F:** กรรมวิธีควบคุม(แช่ในน้ำเปล่า)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.5 ประสิทธิภาพของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ในการลดความรุนแรงของโรคกาบใบแห้งของข้าวหลังการปลูกเชื้อโรค 7 วัน

หลังการปลูกเชื้อรา *R. solani*เชื้อสาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าว7วัน นำเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ที่มีความเข้มข้น 10^8cfu/ มิลลิลิตร มาพ่นต้นข้าวในแต่ละกรรมวิธีและประเมินความรุนแรงของโรคที่ 7 วัน พบว่า เชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK 1 และ RRK 4 แสดงอาการความรุนแรงของโรคกาบใบแห้งน้อยที่สุดคือ 7.24 และ7.23 เปอร์เซ็นต์ซึ่งมีค่าต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อสาเหตุโรคที่มีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 11.39 เปอร์เซ็นต์ โดยพบว่าแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ทั้ง 2 ไอโซเลต ช่วยให้โรคลดลง 36.43 และ 36.52 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม รองลงมาคือการพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK3 RRK6 และ RRK2 โดยมีความรุนแรงของโรคอยู่ที่ 7.73,7.93 และ7.99 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โรคลดลง 32.13,30.37 และ 29.85 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม การใช้สารเคมีควบคุมโรคกาบใบแห้งที่ 7 วันหลังการปลูกเชื้อโรคพบว่ามีความรุนแรงของโรค 10.28 เปอร์เซ็นต์ โรคลดลง 9.74 เปอร์เซ็นต์ซึ่งไม่แตกต่างกับกรรมวิธีควบคุม เช่นเดียวกันกับแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK5, RRK9และแบคทีเรียปฏิปักษ์ BB165 ที่มีความรุนแรงของโรค 9.84, 9.89 และ 10.46 เปอร์เซ็นต์ โรคลดลง 13.60, 13.16 และ 8.16 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ การเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคที่รุนแรงก่อให้เกิดการแห้งตายของกาบใบข้าว หลังการปลูกเชื้อพบว่ากรรมวิธีควบคุมมีความรุนแรงของโรคมากที่สุดโดยมีจำนวนกาบใบที่เชื้อเข้าทำลายและแห้งตายใน 7 วันหลังการปลูกเชื้อ 1.33 ใบ สูงกว่ากรรมวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญ รองลงมาคือกรรมวิธีที่พ่นเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK4, RRK5 และการใช้สารเคมี โดยมีจำนวนกาบใบที่แห้งตาย เท่ากับ 0.66,0.33 และ 0.33 ใบ ตามลำดับ กรรมวิธีที่ไม่มีการแห้งตายของจำนวนกาบใบ คือ กรรมวิธีที่พ่นเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK1, RRK2,RRK3, RRK6,RRK7, RRK8 RRK9, RRK10 การพ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลต BB165 และ PT56 (ตารางที่ 7) การเพิ่มขึ้นของจำนวนกาบใบข้าวที่แห้งตายจากการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคทำให้เกิดการสูญเสียพื้นที่ใบในการสังเคราะห์แสงของข้าว ซึ่งมีผลต่อการสร้างอาหารของข้าวที่จะนำไปใช้ในการเจริญเติบโตของต้นข้าวและเมล็ดข้าวลดลง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 7 ประสิทธิภาพของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1หลัง การปลูกเชื้อรา *Rhizoctonia solani*สาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าวที่ 7 วัน

กรรมวิธี	ความรุนแรงของโรค 7 วัน (%)	โรคกาบใบแห้งลดลง (%)[2/]	จำนวนกาบใบที่แห้งตาย (ใบ/กอ)
RRK 1	7.24 e[1/]	36.43	0.00 c
RRK 2	7.99 de[3/]	29.85	0.00 c
RRK 3	7.73 de	32.13	0.00 c
RRK 4	7.23 e	36.52	0.66 b
RRK 5	9.84 abc	13.60	0.33 bc
RRK 6	7.93 de	30.37	0.00 c
RRK 7	8.89 b-e	21.94	0.00 c
RRK 8	9.18 bcd	19.40	0.00 c
RRK 9	9.89 abc	13.16	0.00 c
RRK 10	8.56 cde	24.84	0.00 c
BB165	10.46 ab	8.16	0.00 c
PT56	9.24 bcd	18.87	0.00 c
วาลิดามัยซิน ®	10.28 abc	9.74	0.33 bc
กรรมวิธีควบคุม (+*R. solani*)	11.39 a	-	1.33 a
กรรวิธีควบคุม (-*R. solani*)	ND[4/]	ND	ND
C.V. (%)	11.44	-	147.33

[1/]ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคกาบใบแห้งของข้าวหลังปลูกเชื้อรา *R. solani* โดยคำนวณจากสมการ

$$\text{ความรุนแรงของโรค} = \frac{\text{ความสูงของแผล}}{\text{ความสูงของกาบใบ}} \times 100$$

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 7 (ต่อ)

[2/] ค่าความรุนแรงของโรค (เปอร์เซ็นต์) ที่ลดลงจากการเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์และกรรมวิธีที่ใช้สารเคมีวาลิดามัยซิน(20cc/20L) กับกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค

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

[4/] ND = non-determined (ไม่ได้ตรวจสอบ)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประสิทธิภาพของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ในการลดความรุนแรงของโรคกาบใบแห้งของข้าวหลังการปลูกเชื้อโรค 14 วัน

ความรุนแรงของโรคหลังการปลูกเชื้อรา *R. solani*เชื้อสาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าวที่ 14 วันพบว่า เชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK 1 แสดงอาการความรุนแรงของโรคกาบใบแห้งน้อยที่สุดคือ 9.35 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคลดลง 54.89 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK 4,RRK7และ RRK6 มีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 10.07, 10.27 และ 10.72 เปอร์เซ็นต์ การเกิดโรคลดลง 51.41, 50.45, 48.28 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับในขณะที่การใช้สารเคมีในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าวมีความรุนแรงของโรค 14.21 เปอร์เซ็นต์ การเกิดโรคลดลง 31.45 เปอร์เซ็นต์ทุกกรรมวิธีกล่าวข้างต้น มีค่าความรุนแรงของโรคต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุม (20.73 เปอร์เซ็นต์)อย่างมีนัยสำคัญเช่นเดียวกันกับการใช้แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK9,RRK5, RRK3,RRK2 และ RRK10 มีความรุนแรงของโรค 10.86, 12.32, 12.61, 12.69 และ 14.60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีค่าต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญและสามารถควบคุมโรคได้เทียบเท่ากับการใช้สารเคมีซึ่งมีความรุนแรงของโรคต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุม(20.73 เปอร์เซ็นต์)อย่างมีนัยสำคัญ การเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคที่รุนแรงก่อให้เกิดการแห้งตายของกาบใบข้าว หลังการปลูกเชื้อพบว่ากรรมวิธีควบคุมมีความรุนแรงของโรคมากที่สุดโดยมีจำนวนกาบใบที่เชื้อเข้าทำลายและแห้งตายใน 14 วันหลังการปลูกเชื้อ 4.33 ใบ สูงกว่ากรรมวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญ รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใช้สารเคมีในการควบคุมโรคกาบใบแห้ง โดยมีจำนวนกาบใบที่แห้งตายเท่ากับ 2.00 ใบ กรรมวิธีที่ใช้การพ่นเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK4และ RRK2 โดยมีจำนวนกาบใบที่แห้งตาย เท่ากับ 1.33 และ 1.33.ใบกรรมวิธีที่มีจำนวนกาบใบแห้งตายน้อยที่สุดคือกรรมวิธีที่พ่นเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK1, RRK3,RRK,6 และ RRK7 มีจำนวนกาบใบแห้งตายเท่ากับ 0.33 ใบ (ตารางที่ 8)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 8 ประสิทธิภาพของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 หลัง การปลูกเชื้อรา *Rhizoctonia solani*สาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าวที่ 14 วัน

กรรมวิธี	ความรุนแรงของโรค 14วัน (%)[1/]	โรคกาบใบแห้งลดลง (%)[2/]	จำนวนกาบใบที่แห้งตาย (ใบ/กอ)
RRK 1	9.35d[3/]	54.89	0.33 c
RRK 2	12.69 bcd	38.78	1.33 bc
RRK 3	12.61 bcd	39.17	0.33 c
RRK 4	10.07 d	51.41	1.33 bc
RRK 5	12.32 bcd	40.56	1.00 bc
RRK 6	10.72 d	48.28	0.33 c
RRK 7	10.27 d	50.45	0.33 c
RRK 8	14.45 b	30.29	0.66 bc
RRK 9	10.86 cd	47.61	0.66 bc
RRK 10	14.60 b	29.57	0.66 bc
BB165	14.19 bc	31.51	0.66 bc
PT56	15.09 b	27.20	0.66 bc
วาลิดามัยซิน ®	14.21 bc	31.45	2.00 b
กรรมวิธีควบคุม (+*R. solani*)	20.73 a	-	4.33 a
กรรวิธีควบคุม (-*R. solani*)	ND[4/]	ND	ND
C.V. (%)	13.79	-	74.09

[1/] ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคกาบใบแห้งของข้าวหลังปลูกเชื้อรา *R. solani* โดยคำนวณจากสมการ

$$\text{ความรุนแรงของโรค} = \frac{\text{ความสูงของแผล}}{\text{ความสูงของกาบใบ}} \times 100$$

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 8 (ต่อ)

[2/] ค่าความรุนแรงของโรค (เปอร์เซ็นต์) ที่ลดลงจากการเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์และกรรมวิธีที่ใช้สารเคมีวาลิดามัยซิน (20cc/20L) กับกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค

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

[4/] ND = non-determined (ไม่ได้ตรวจสอบ)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประสิทธิภาพของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ในการลดความรุนแรงของโรคกาบใบแห้งของข้าวหลังการปลูกเชื้อโรค 21 วัน

หลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคกาบใบแห้งที่ 21 วัน พบว่า กรรมวิธีที่พ่นเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK1มีความรุนแรงของโรคกาบใบแห้งน้อยที่สุดคือ 16.04เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคลดลง 32.71 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK 10,RRK6 RRK4และ RRK3 มีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 17.88, 18.01, 18.05 และ 18.10 เปอร์เซ็นต์ การเกิดโรคลดลง 25.00, 24.45, 24.28 และ 24.07เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับในขณะที่การใช้สารเคมีในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าวมีความรุนแรงของโรค 19.33 เปอร์เซ็นต์ การเกิดโรคลดลง 18.91 เปอร์เซ็นต์ มีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (23.84 เปอร์เซ็นต์) เช่นเดียวกันกับการใช้แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK7,RRK9,แบคทีเรียปฏิปักษ์ BB165, แบคทีเรียปฏิปักษ์ PT56 , แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ RRK2, RRK8 และ RRK5 มีความรุนแรงของโรค 18.43, 18.53, 18.59, 18.61, 19.04,19.05 และ 19.27 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ความรุนแรงของโรคต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุม(23.84 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญ แต่สามารถควบคุมโรคได้เทียบเท่ากับการใช้สารเคมีซึ่งมีความรุนแรงของโรคต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน จะเห็นได้ว่าความรุนแรงของโรคกาบใบแห้งหลังการปลูกเชื้อโรค 21 วัน มีเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคที่ลดน้อยลง เนื่องจากกาบใบของข้าวที่ถูกเชื้อสาเหตุโรคเข้าทำลายยังคงเป็นกาบใบเดิม ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมมีจำนวนของกาบใบใหม่ที่เชื้อเข้าทำลายเพิ่มมากกว่ากรรมวิธีอื่นๆ โดยจะแสดงอาการกาบใบแห้งตายหลังจากเชื้อเข้าทำลายถึงปลายสุดของกาบใบ (ตารางที่ 9)จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าการใช้แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK1 มีประสิทธิภาพในการลดโรคกาบใบแห้งได้ดีกว่าการใช้สารเคมี ซึ่งช่วยเพิ่มโอกาสของการใช้เชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ทดแทนสารเคมีควบคุมโรคกาบใบแห้งในอนาคตได้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 9 ประสิทธิภาพของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1หลัง การปลูกเชื้อรา *Rhizoctonia solani*สาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าวที่ 21 วัน

กรรมวิธี	ความรุนแรงของโรค 21วัน (%)[1/]	โรคกาบใบแห้งลดลง (%)[2/]	จำนวนกาบใบที่แห้งตาย (ใบ/กอ)
RRK 1	16.04 c[3/]	32.71	0.66 bc
RRK 2	19.04 b	20.13	2.33 b
RRK 3	18.10 bc	24.07	1.00 bc
RRK 4	18.05 bc	24.28	2.00 b
RRK 5	19.27 b	19.16	1.00 bc
RRK 6	18.01 bc	24.45	1.00 bc
RRK 7	18.43 b	22.69	0.66 bc
RRK 8	19.05 b	20.09	0.66 bc
RRK 9	18.53 b	22.27	1.00 bc
RRK 10	17.88 bc	25.00	1.33 b
BB165	18.59 b	22.02	1.33 b
PT56	18.61 b	21.93	1.33 b
วาลิดามัยซิน ®	19.33 b	18.91	3.00 b
กรรมวิธีควบคุม (+*R. solani*)	23.84 a	-	5.00 a
กรรวิธีควบคุม (-*R. solani*)	ND[4/]	ND	ND
C.V. (%)	6.31	-	74.95

[1/] ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคกาบใบแห้งของข้าวหลังปลูกเชื้อรา *R. solani* โดยคำนวณจากสมการ

$$\text{ความรุนแรงของโรค} = \frac{\text{ความสูงของแผล}}{\text{ความสูงของกาบใบ}} \times 100$$

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 9 (ต่อ)

[2/] ค่าความรุนแรงของโรค (เปอร์เซ็นต์) ที่ลดลงจากการเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์และกรรมวิธีที่ใช้สารเคมีวาลิดามัยซิน (20 cc/20 L) กับกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค

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

[4/] ND = non-determined (ไม่ได้ตรวจสอบ)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.6 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตและการเพิ่มผลผลิตของข้าว

จากการสุ่มตัวอย่างต้นข้าวมาตรวจนับจำนวนต้นต่อกอ จำนวนรวงต่อกอ และน้ำหนักผลผลิตรวมต่อกรรมวิธี พบว่าเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK1 มีประสิทธิภาพในการเพิ่มจำนวนต้นต่อกอเฉลี่ยของข้าวได้มากที่สุด คือ 22.77 ต้นต่อกอ ซึ่งมีค่าสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อโรค (18.77 ต้นต่อกอ)อย่างมีนัยสำคัญ และในกรรมวิธีของเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ทั้ง 10 ไอโซเลต พบว่าสามารถที่จะส่งเสริมการแตกกอของข้าวได้เพิ่มขึ้นทั้งหมด ในด้านของผลผลิตรวมพบว่า แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK1 และ RRK7 มีน้ำหนักของผลผลิตรวม(ที่ความชื้นเมล็ด 14 เปอร์เซ็นต์)มากที่สุด คือ 624.10 และ 606.60 กรัม ต่อตารางเมตรหรือ 998.56 และ 970.56 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อโรค (774.56 กิโลกรัม/ไร่) และกรรมวิธีที่มีการใช้สารเคมี(793.12 กิโลกรัม/ไร่) อย่างมีนัยสำคัญขณะที่การใช้แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK4, RRK9, RRK6 และ RRK5มีน้ำหนักผลผลิต 600.70, 595.00, 589.10 และ560.00 กรัม/ตารางเมตร ตามลำดับ หรือ 961.12, 952.00, 942.56 และ 896.00 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (ตารางที่ 10) สอดคล้องกับรายงานของ (Chaiharn *et al*.,2008) กล่าวว่า กลไกที่สำคัญของเชื้อจุลินทรีย์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตของพืชมีหลายกลไกแต่กลไกที่สำคัญและได้รับการยอมรับกัน คือ การสร้างสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชกลไกการกระตุ้นให้พืชดูดซึมธาตุอาหารได้ดีขึ้น และกลไกการเปลี่ยนธาตุอาหารในดินให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถใช้ประโยชน์ได้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 10 อิทธิพลของการใช้เชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์แช่เมล็ดและพ่นต้นข้าวต่อจำนวนต้นต่อกอ จำนวนรวงต่อกอและน้ำหนัก ผลผลิตของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ปลูกในวงบ่อซีเมนต์

ไอโซเลต	จำนวนต้น/กอ	จำนวนรวง/กอ	น้ำหนักผลผลิตรวม (กรัม/กอ)	น้ำหนักผลผลิต/ตร.ม. (กรัม/ตร.ม.)	น้ำหนักผลผลิต/ไร่ (กิโลกรัม/ไร่)
RRK1	22.77 a[1/]	20.63 a	62.41	624.10 a	998.56 (+28.92%)[2/]
RRK2	21.66 abc	16.93 bcd	52.50	525.00 abc	840.00 (+8.45%)
RRK3	21.77 ab	16.86 bcd	57.75	577.50 ab	924.00 (+19.29%)
RRK4	20.88 a-d	18.26 abc	60.07	600.70 ab	961.12 (+24.08%)
RRK5	19.22 a-d	17.53 abc	56.00	560.00 abc	896.00 (+15.67%)
RRK6	20.77 a-d	16.86 bcd	58.91	589.10 abc	942.56 (+21.68%)
RRK7	21.55 abc	16.80 bcd	60.66	606.60 a	970.56 (+25.23%)
RRK8	20.55 a-d	17.20 bcd	53.07	530.70 abc	849.12 (+9.62%)
RRK9	20.22 a-d	16.80 bcd	59.50	595.00 abc	952.00 (+22.91%)
RRK10	20.21 a-d	16.43 bcd	51.91	519.10 abc	830.56 (+7.23%)
BB165	17.55 d	14.06 d	47.82	478.20 c	765.12 (-1.22%)
PT56	17.99 cd	16.20 bcd	55.41	554.10 abc	886.56 (+14.45%)
Validamycin®	17.99 cd	15.43 cd	49.57	495.70 abc	793.12 (+2.40%)
Control (+*R. solani*)	18.77 bcd	17.75 abc	48.41	484.10 bc	774.56
Control (-*R. solani*)	18.77 bcd	19.40 ab	58.32	582.32 abc	931.71
C.V. (%)	9.39	10.00	-	10.69	-

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 10 (ต่อ)

[1/] ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากการวิเคราะห์ด้วย Duncan's New Multiple Range Test (P=0.05)

[2/] น้ำหนักผลผลิตต่อไร่คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ที่เพิ่มขึ้น (+) เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรค

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.7 ประสิทธิภาพของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ต่อการย่อยสลายตอซังฟางข้าว

การฝังถุงไนลอนที่บรรจุตอซังและฟางข้าว 100 กรัม ลงไปในดินและหมักไว้เป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นนำถุงไนลอนมาล้างอัดฉีดด้วยน้ำเปล่าเพื่อให้เซลลูโลสส่วนที่ถูกย่อยสลายหลุดออกไป และนำถุงไนลอนที่บรรจุตอซังและฟางข้าวไปตากให้แห้งจึงนำมาชั่งน้ำหนักพบว่า กรรมวิธีที่มีการใช้เชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK1 มีน้ำหนักตอซังและฟางข้าวคงเหลืออยู่น้อยที่สุดคือ 52 กรัม มีเปอร์เซ็นต์การย่อยสลาย 48 เปอร์เซ็นต์ คิดเป็นการย่อยสลายเพิ่มขึ้น 137.15 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่มีการย่อยสลายตอซังและฟางข้าวตามธรรมชาติคือ 20.24 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือไอโซเลต RRK2,RRK7, RRK9และRRK8 มีน้ำหนักตอซังและฟางข้าวคงเหลือ 54.58,55.38,57.70 และ 58.82กรัม ตามลำดับ โดยมีเปอร์เซ็นต์การย่อยสลาย45.42, 44.62, 42.30และ 42.18 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ หรือคิดเป็นเปอร์เซ็นต์การย่อยสลายเพิ่มขึ้น 124.40, 120.45, 108.99 และ 108.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีค่าสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่มีน้ำหนักฟางคงเหลือ 79.76 กรัมโดยมีค่าการย่อยสลายเท่ากับ 20.24 เปอร์เซ็นต์อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ทางการค้าจามินา®มีน้ำหนักตอซังและฟางข้าวคงเหลือ75.69 กรัม มีเปอร์เซ็นต์การย่อยสลายภายใน 7 วัน คือ 24.34 เปอร์เซ็นต์ หรือมีค่าการย่อยสลายเพิ่มขึ้นเพียง 20.10 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 11)

การย่อยสลายตอซังและฟางข้าวที่ 14 วัน พบว่ากรรมวิธีที่มีการใช้เชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK1 มีน้ำหนักตอซังและฟางข้าวคงเหลืออยู่น้อยที่สุดคือ 42.24 กรัม มีเปอร์เซ็นต์การย่อยสลาย 57.76 เปอร์เซ็นต์ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การย่อยสลายเพิ่มขึ้น 144.95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่มีการย่อยสลายตอซังและฟางข้าวตามธรรมชาติ (23.58 เปอร์เซ็นต์) รองลงมาคือไอโซเลต RRK9, RRK2 และ RRK7มีน้ำหนักตอซังและฟางข้าวคงเหลือ 49.60,48.96 และ 49.60 กรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การย่อยสลายเพิ่มขึ้น 117.98,116.45 และ 114.33 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งมีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่มีน้ำหนักตอซังและฟางข้าวคงเหลือมากถึง 76.42 กรัมโดยมีเปอร์เซ็นต์การย่อยสลายเพียง 23.58 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 11) หลังการหมักตอซังและฟางข้าวที่ 14 วัน นำชิ้นส่วนของตอซังและฟางข้าวมาตรวจเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์บนฟางข้าวพบว่าเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สามารถเจริญอยู่บนฟางข้าวได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (ไม่แสดงข้อมูล)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 11 ประสิทธิภาพของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ต่อการย่อยสลายตอซังและฟางข้าวในวงบ่อซีเมนต์หลังการเก็บเกี่ยวข้าวและหมักตอซังและฟางข้าว(100 กรัม/ถุง) เป็นเวลา 7-14 วัน

กรรมวิธี	ตอซังและฟางข้าวน้ำหนัก 100 กรัม			
	หมักตอซังและฟางข้าว 7 วัน		หมักตอซังและฟางข้าว 14 วัน	
	น้ำหนักคงเหลือ (กรัม)	การย่อยสลาย (เปอร์เซ็นต์)	น้ำหนักคงเหลือ (กรัม)	การย่อยสลาย (เปอร์เซ็นต์)
RRK1	52.00	48.00 a[1/] (+137.15)[2/]	42.24	57.76 a (+144.95)
RRK2	54.58	45.42ab (+124.40)	48.96	51.04 ab (+116.45)
RRK3	65.61	34.39bcd (+69.91)	57.50	42.50 ed (+80.23)
RRK4	61.94	38.06 a-d (+88.04)	55.56	44.44 bcd (+88.46)
RRK5	62.42	37.58 a-d (+85.67)	56.34	43.66 bcd (+89.39)
RRK6	65.60	34.40 b-e (+69.96)	58.08	41.92 b-e (+77.77)
RRK7	55.38	44.62 ab (+120.45)	49.60	50.54 ab (+114.33)
RRK8	57.82	42.18 abc (+108.00)	50.90	49.10 abc (+108.35)
RRK9	57.70	42.30 abc (+108.99)	48.60	51.40 ab (+117.98)
RRK10	69.42	30.58 c-f (+51.08)	62.72	37.24 def (+57.93)
PT56	74.84	25.16 ef (+24.30)	70.16	29.84 fg (+26.54)
BB165	75.66	24.34 ef (+20.15)	68.32	31.68 fg (+34.35)
จุลินทรีย์ป่า[3/]	69.76	30.24 def (+49.40)	62.42	37.58 c-f (+59.37)
จามิน่า®[4/]	75.69	24.31 ef (+20.10)	71.68	28.32 fg (+20.10)
control	79.76	20.24 f	76.42	23.58 g
C.V.		17.78		14.47

[1/] ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากการวิเคราะห์ด้วย Duncan's New Multiple Range Test (P=0.05)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 11 (ต่อ)

[2/] การย่อยสลายตอซังและฟางข้าว (เปอร์เซ็นต์)ที่เพิ่มขึ้น (+)หรือลดลง (-)เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่มีการย่อยตอซังและฟางข้าวตามธรรมชาติ

[3/]จุลินทรีย์ป่า ได้มาจากเกษตรกรตัวอย่าง คุณชัยพร พรหมพันธ์

[4/]จุลินทรีย์ย่อยสลายฟางข้าวที่จำหน่ายเป็นการค้า

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประสิทธิภาพของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ต่อการลดการสะสมเม็ดสเคลอโรเทียมในตอซังและฟางข้าวของเชื้อรา *Rhizoctonia solani*สาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าว

หลังการหมักตอซังและฟางข้าวเป็นเวลา 14 วัน สุ่มเก็บตัวอย่างมาจำนวน 10 กรัม ในแต่ละกรรมวิธีมานับจำนวนเม็ดสเคลอโรเทียม (เชื้อโรคที่พักตัวและสะสมอยู่ในตอซังและฟางข้าว)พบว่ากรรมวิธีที่มีการใช้เชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK1 ในการลดโรคกาบใบแห้งและการย่อยสลายตอซังและฟางข้าวมีจำนวนค่าเฉลี่ยเม็ดสเคลอโรเทียมน้อยที่สุดคือ 56 เม็ด รองลงมาคือแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK 9,RRK 10, RRK 7 และ RRK 6 โดยมีค่าเฉลี่ยจำนวนเม็ดสเคลอโรเทียม เท่ากับ 61.33, 66.67, 76.67 และ 80.00 ตามลำดับ โดยพบว่ามีค่าจำนวนเม็ดสเคลอโรเทียมต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อโรคอย่างมีนัยสำคัญ(151.33 เม็ด)ในกรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อโรคก็พบการสะสมของเชื้อโรคเช่นกัน โดยมีค่าเฉลี่ยจำนวนเม็ดเสคลอโรเทียมเท่ากับ 138.33 เม็ด ในขณะที่กรรมวิธีที่มีการใช้สารเคมีในการควบคุมโรคกาบใบแห้งและใช้ผลิตภัณฑ์จามินาในการย่อยสลายฟางข้าว มีจำนวนเม็ดสเคลอโรเทียม เท่ากับ 119.33 เม็ด ซึ่งมีค่าสูงกว่ากรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียเอื้อประโยชน์(56.00-108.67 เม็ด)อย่างมีนัยสำคัญ(ตารางที่ 12)

การใช้แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งควบคู่ไปกับการย่อยสลายตอซังและฟางข้าวสามารถลดการสะสมของเชื้อโรคกาบใบแห้งได้ โดยเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK1 ลดการสะสมของเชื้อโรคได้ 66.99 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK9,RRK10, RRK7 และ RRK6 สามารถลดการสะสมของเชื้อโรคได้ เท่ากับ 59.47, 55.94, 49.33 และ47.13 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ขณะที่การใช้สารเคมีวาลิดามัยซินและจามินาลดการสะสมของเชื้อโรคได้เพียง 21.14 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 12) หลังการเก็บเกี่ยวผลผลิตและการหมักตอซังและฟางข้าวลงในวงบ่อเดิมพบว่าอิทธิพลของเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์หลังการพ่นต้นข้าวเพื่อควบคุมการเกิดโรคกาบใบแห้งยังคงส่งผลให้เชื้อแบคทีเรียทำงานได้ต่อเนื่อง สามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์การย่อยสลายและการลดปริมาณของเชื้อโรคลงได้ จิระเดช และวรรณวิไล(2542)รายงานว่า การใช้สารเคมียังมีปัญหามากในเรื่องพิษตกค้างอันเนื่องมาจากการใช้ในปริมาณมาก มักมีค่าใช้จ่ายสูง บางกรณีเกิดปัญหาเชื้อโรคต้านทานต่อสารเคมี และมีการสะสมของพิษในดินและน้ำทำให้สมดุลของจุลินทรีย์ และสิ่งมีชีวิตในสภาพธรรมชาติได้รับความกระทบกระเทือนอีกด้วยและการควบคุมเชื้อรา *S. rolfsii*และเชื้อสาเหตุโรคพืชในดินชนิดอื่นสามารถทำได้ยาก ดังนั้นการนำจุลินทรีย์ดินซึ่งมีคุณสมบัติเป็น parasite หรือมีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืช เช่น เชื้อรา*Trichoderma* spp. *Bacillus* spp. และ *Pseudomonas* spp. มาใช้แทน หรือใช้ร่วมกับสารเคมี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เป็นแนวทางที่จะลดปัญหาจากการใช้สารเคมีลงได้ และอีกประการหนึ่ง จุลินทรีย์ดินสามารถเพิ่มปริมาณ และคงทนอยู่ในดินได้นานกว่าสารเคมี (Cook and Baker, 1983)

ตารางที่ 12 ประสิทธิภาพของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ต่อการลดการสะสมเม็ดสเคลอโรเทียมในตอซังและฟางข้าวของเชื้อรา *Rhizoctoniasolani*สาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าว

ไอโซเลต	จำนวนเม็ดสเคลอโรเทียม	การลดลงของเม็ดสเคลอโรเทียม (%)
RRK 1	56.00 h[1/]	62.99[2/]
RRK 2	95.00 c-f	37.22
RRK 3	106.00 ced	29.95
RRK 4	86.33 d-g	42.95
RRK 5	108.67 cd	28.19
RRK 6	80.00 d-h	47.13
RRK 7	76.67 e-h	49.33
RRK 8	100.00 cde	33.91
RRK 9	61.33 gh	59.47
RRK 10	66.67 fgh	55.94
BB165	96.67 cde	36.11
PT56	105.00 cde	30.61
วาลิดามัยซิน ®[3/]	119.33 bc	21.14
กรรมวิธีควบคุม (+*R. solani*)	151.33 a	-
กรรวิธีควบคุม (-*R. solani*)	138.33 ab	8.60
C.V. (%)	15.90	

[1/] ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากการวิเคราะห์ด้วย Duncan's New Multiple Range Test (P=0.05)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 12 (ต่อ)

[2/]จำนวนเม็ดสเคลอโรเทียม (เปอร์เซ็นต์)ที่ลดลง (-)เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธี

$$\frac{\text{จำนวนเม็ดสเคลอโรเทียมกรรมวิธีควบคุม - จำนวนเม็ดสเคลอโรเทียมทดลอง}}{\text{จำนวนเม็ดสเคลอโรเทียมกรรมวิธีควบคุม}} \times 100$$

[3/]การใช้สารเคมีการค้าวาลิดามัยซินพ่นต้นข้าวเพื่อควบคุมโรคกาบใบแห้ง และใช้ผลิตภัณฑ์จามินา ในการย่อยสลายตอซังและฟางข้าวหลังการเก็บเกี่ยวผลผลิต

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. การพัฒนาเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ

3.1 การพัฒนาเชื้อแบคทีเรียให้ต้านทานสารปฏิชีวนะ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา*R. solsni* สาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าว การส่งเสริมการเจริญของกล้าข้าว การเพิ่มผลผลิต การย่อยสลายฟางข้าวและการลดการสะสมของเชื้อโรคสามารถคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียได้ 8 ไอโซเลต ซึ่งมีประสิทธิภาพดีในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าว เพิ่มปริมาณผลผลิต ไปพัฒนาให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ความเข้มข้น 100 ppm ก่อนนำไปทดสอบการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา*R. solsni* พบว่าเชื้อแบคทีเรียเอ้อประโยชน์ทุกไอโซเลตสามารถพัฒนาให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ความเข้มข้น 100 ppm ได้ และเมื่อนำเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สายพันธุ์กลายที่ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ไปทดสอบการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *R. solsni* สาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าว สามารถคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ที่ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin และมีประสิทธิภาพดีไปพัฒนาเป็นสูตรสำเร็จชนิดผง เพื่อนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

3.2 การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สายพันธุ์กลายในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R.solani*

จากการวัดการเจริญของเส้นใยเชื้อรา*R. solani*บนอาหาร PDA วันที่ 2 หลังการวางเชื้อ พบว่า กรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ ไอโซเลต RRK1-Rif มีการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. solani* ได้สูงที่สุดคือ 59.76เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK2-Rif ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. solani* ได้ 57.99เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ ไอโซเลต RRK9-Rif, RRK5-Rif, RRK4-Rif, RRK6-Rif, RRK7-Rif และ RRK10-Rif สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. solani* ได้ 57.46, 57.11, 52.16, 51.72, 51.01 และ 40.36 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 13)

จากการวัดการเจริญของเส้นใยเชื้อรา*Rhizoctonia solani* บนอาหาร PDA วันที่ 3 หลังการวางเชื้อ พบว่า กรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ ไอโซเลต RRK9-Rif และ RRK1-Rif มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย *R. solani* ได้ ได้สูงกว่าแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลตอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญ อาจเนื่องมาจากการสร้างสารปฏิชีวนะมีประสิทธิภาพสูงสุดในช่วงการ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เจริญเติบโตที่ 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นการสร้างสารอาจจะลดลงจึงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *R. solani* ได้น้อยลง(ตารางที่ 13)

ตารางที่ 13 การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราRhizoctonia *solani* โดยเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สายพันธ์กลายที่ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ความเข้มข้น 100 ppm (Rif) บนอาหาร potatodextrose agar (PDA) ที่ 2 และ 3 วัน หลังการวางเชื้อสาเหตุโรค

ไอโซเลต	การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Rhizoctonia solani* (%)[2/]	
	วันที่ 2	วันที่ 3
RRK1-Rif	59.76 a[1/]	66.29 ab
RRK2-Rif	57.99 ab	49.99 cd
RRK4-Rif	52.16 ab	38.29 cd
RRK5-Rif	57.11 ab	37.03 cd
RRK6-Rif	51.72 ab	31.84 cd
RRK7-Rif	51.01 b	26.81 d
RRK9-Rif	57.46 ab	68.14 a
RRK10-Rif	40.36 c	20.13 d
C.V.	7.90	23.28

[1/] ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากการวิเคราะห์ด้วย Duncan's New Multiple Range Test (P=0.05)

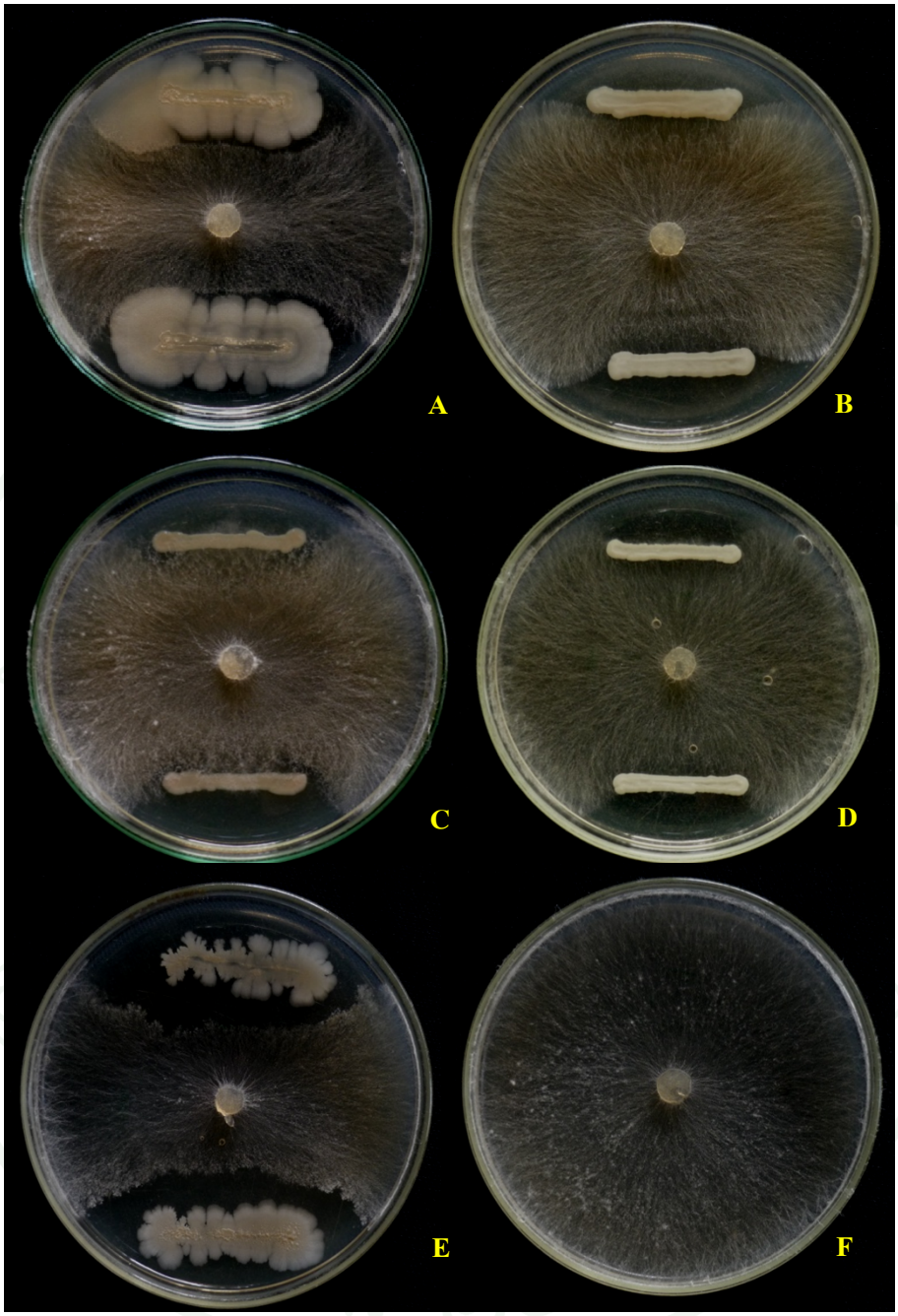
[2/] การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา (%) คำนวณได้โดย

$$\text{การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา} = \left(\frac{R_1 - R_2}{R_1} \right) \times 100$$

R_1คือ ค่าเฉลี่ยของรัศมีของเส้นใยเชื้อโรคในจานเลี้ยงเชื้อในกรรมวิธีควบคุม

R_2 คือ ค่าเฉลี่ยของรัศมีของเส้นใยเชื้อโรคในจานเลี้ยงเชื้อในกรรมวิธี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 12 การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Rhizoctonia solani* โดยเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สายพันธุ์กลาย

A: แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลตRRK1 **B:** แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลตRRK2

C: แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลตRRK6 **D:** แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลตRRK7

E: แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลตRRK9 **F:** กรรมวิธีควบคุม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. ปริมาณของเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ชนิดผง

การตรวจปริมาณของเชื้อแบคทีเรียที่พัฒนาเป็นสูตรสำเร็จชนิดผงบรรจุซองฟอยล์ เมื่อเก็บรักษาไว้ในห้องเย็น (10 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 6 เดือน เพื่อศึกษาอิทธิพลของสูตรสำเร็จและปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. จากชีวภัณฑ์ ว่าสามารถมีชีวิตรอด (shelf-life) อยู่ภายใต้อุณหภูมิห้องเย็นได้นานเพียงใด สูตรสำเร็จมีอิทธิพลช่วยทำให้จุลินทรีย์เอื้อประโยชน์มีความเสถียรหรือความคงตัว (stability) ในระหว่างการเก็บรักษา (storage) โดยที่ยังคงมีชีวิตจนกว่าจะนำไปใช้ ช่วยให้เกิดความสะดวกทั้งในการใช้และด้านความปลอดภัย เมื่อตรวจนับปริมาณแบคทีเรียจากชีวภัณฑ์ทุกเดือน ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า พบปริมาณเชื้อแบคทีเรียหลังการเตรียมเสร็จ มีค่าระหว่าง $1.7x10^{11}$-$2.0x10^{14}$ CFU/g โดยแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK7-Rif มีปริมาณตั้งต้นของแบคทีเรียมากที่สุด คือ $2.0x10^{14}$ CFU/gรองลงมาได้แก่RRK9-Rif, RRK1-Rif และ RRK2-Rif โดยมีปริมาณแบคทีเรียตั้งต้น $5.1x10^{13}$,$4.8x10^{13}$ และ $1.3x10^{13}$CFU/g ตามลำดับ ช่วงเดือนที่ 2 และ 3 การตรวจนับปริมาณความมีชีวิตรอดของเชื้อแบคทีเรียในชีวภัณฑ์พบว่าแบคทีเรียมีปริมาณจำนวนเชื้อลดลง 10-30 เท่าของจำนวนเดิม ยกเว้นแบคทีเรียไอโซเลต RRK1-Rif, RRK7-Rif และ RRK9-Rif การตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียในเดือนที่ 4 ถึงเดือนที่ 6 พบว่า แบคทีเรียไอโซเลต RRK1-Rif, RRK7-Rif มีปริมาณเชื้อลดลงเพียง 10 เท่า ของสามเดือนแรก ในขณะที่แบคทีเรียไอโซเลตอื่นๆมีปริมาณเชื้อลดลง 10-40 เท่า ของปริมาณเชื้อในช่วงสามเดือนแรก (ตารางที่ 14)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 14 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สายพันธุ์กลายที่พัฒนาให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ความเข้มข้น 100 ppm สูตรสำเร็จชนิดผงบรรจุในซองฟอยล์ เมื่อเก็บรักษาไว้ในห้องเย็น (10 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 6 เดือน

ไอโซเลต	ปริมาณเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ชนิดผง (CFU/ผง 10 g)[1]					
	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	4 เดือน	5 เดือน	6 เดือน
RRK 1-Rif	$4.8x10^{13}$	$4.7x10^{13}$	$4.3x10^{13}$	$3.3x10^{12}$	$1.2x10^{12}$	$2.3x10^{12}$
RRK 2-Rif	$1.3x10^{13}$	$2.8x10^{11}$	$1.8x10^{10}$	$2.4x10^{10}$	$1.1x10^{10}$	$5.8x10^{9}$
RRK 4-Rif	$2.0x10^{12}$	$5.4x10^{11}$	$3.2x10^{10}$	$5.1x10^{9}$	$2.2x10^{10}$	$1.6x10^{10}$
RRK 5-Rif	$1.7x10^{11}$	$1.8x10^{11}$	$8.2x10^{9}$	$3.9x10^{10}$	$6.2x10^{9}$	$1.2x10^{9}$
RRK 6-Rif	$2.1x10^{12}$	$7.8x10^{12}$	$2.5x10^{10}$	$9.8x10^{9}$	$1.6x10^{10}$	$1.5x10^{10}$
RRK 7-Rif	$2.0x10^{14}$	$2.6x10^{14}$	$4.2x10^{14}$	$1.3x10^{13}$	$1.0x10^{12}$	$1.1x10^{12}$
RRK 9-Rif	$5.1x10^{13}$	$7.3x10^{13}$	$2.4x10^{13}$	$1.3x10^{12}$	$6.7x10^{11}$	$3.4x10^{11}$
RRK 10-Rif	$8.0x10^{12}$	$1.0x10^{9}$	$8.9x10^{9}$	$1.8x10^{9}$	$1.9x10^{9}$	$3.6x10^{9}$

[1]/ตรวจปริมาณเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์โดยวิธีdilution spread plate บนอาหาร NGA และ NGA ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin ความเข้มข้น 50 ppm

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4.1 ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ชนิดผงของเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สายพันธุ์กลายในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้าข้าว

จากการทดลองเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดข้าวพบว่ากรรมวิธีที่แช่ด้วยสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum*สายพันธุ์ 01-52ในรูปชีวภัณฑ์ชนิดผงผสมน้ำสามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์การงอกได้สูงที่สุด คือ 98.66 เปอร์เซ็นต์ แต่มีค่าไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่แช่ด้วยแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สายพันธุ์ RRK1-Rif,RRK7-Rif และ RRK9-Rif ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การงอกเท่ากับ 97.66, 97.00 และ 96.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีค่าสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ รองลงมาคือการแช่เมล็ดข้าวด้วยเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK4-Rif, RRK6-Rif, RRK5-Rif, RRK2-Rif, และ RRK10-Rif มีเปอร์เซ็นต์การงอกเท่ากับ 93.00, 92.33, 92.00, 91.33 และ 90.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้าข้าวที่อายุ 21 วัน พบว่ากรรมวิธีที่แช่ด้วยเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ ไอโซเลต RRK4-Rif สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตโดยการเพิ่มความสูงของต้นกล้าข้าวได้สูงที่สุด คือ 27.10 เซนติเมตร รองลงมาคือกรรมวิธีที่แช่ด้วยเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ ไอโซเลต RRK2-Rif, RRK9-Rif,RRK1-Rif และกรรมวิธีที่แช่ด้วยสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum*สายพันธุ์ 01-52 โดยมีค่าเฉลี่ยความสูงต้น คือ 26.50, 25.86, 25.43 และ 25.53 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ความยาวรากนั้นกรรมวิธีที่แช่ด้วยเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ ไอโซเลต RRK9-Rif มีค่าเฉลี่ยความยาวรากสูงที่สุด คือ 12.96 เซนติเมตร รองลงมาคือกรรมวิธีที่แช่ด้วยสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum*สายพันธุ์ 01-52 มีค่าเฉลี่ยความยางราก 12.80 เซนติเมตร มีค่าไม่แตกต่างเมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่แช่ด้วยเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ ไอโซเลต RRK7-Rif และ RRK1-Rif มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 12.06 และ 12.03 เซนติเมตร ตามลำดับ แต่มีค่าเฉลี่ยแตกต่างกับกรรมวิธีควบคุมที่มีค่าเฉลี่ยความยาวรากเท่ากับ 9.81 เซนติเมตร อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 15)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 15 ประสิทธิภาพของการใช้ชีวภัณฑ์ชนิดผงของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สายพันธ์กลายที่พัฒนาให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ความเข้มข้น 100 ppm แช่เมล็ดข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ต่อการงอกและการส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้าข้าว ที่อายุ 21 วัน

กรรมวิธี	การงอก (%)	ความสูงต้น	ความยาวราก
RRK 1-Rif	97.66 ab[1/]	25.43 abc	12.03 ab
RRK 2-Rif	91.33 de	26.50 ab	10.86 bcd
RRK 4-Rif	93.00 a-e	27.10 a	11.00 bcd
RRK 5-Rif	92.00 de	24.83 bc	10.33 cd
RRK 6-Rif	92.33 cde	21.16 d	11.30 bc
RRK 7-Rif	96.00 a-d	23.93 c	12.06 ab
RRK 9-Rif	97.00 abc	25.86 abc	12.96 a
RRK 10-Rif	90.00 e	20.33 d	10.23 cd
T. harzianum 01-52[2/]	98.66 a	25.53 abc	12.80 a
Validamycin®	ND[3/]	ND	ND
Control	89.66 e	21.46 d	9.81 d
C.V. (%)	4.55	6.34	2.78

[1/] ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากการวิเคราะห์ด้วย Duncan's New Multiple Range Test (P=0.05)

[2/] เชื้อรา*Trichoderma harzianum*สายพันธุ์ 01-52 ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ด

[3/] ND = non-determined (ไม่ได้ตรวจสอบ)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4.2 ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ชนิดผงของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สายพันธุ์กลายในการลดความรุนแรงของโรคกาบใบแห้ง

4.2.1ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ชนิดผงของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สายพันธุ์กลายในการลดความรุนแรงของโรคกาบใบแห้งของข้าวหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรค 7 วัน

หลังการปลูกเชื้อรา *R. solani*เชื้อสาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าว7วัน นำชีว-ภัณฑ์ชนิดผงของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ มาพ่นต้นข้าวในแต่ละกรรมวิธีและประเมินความรุนแรงของโรคที่ 7 วัน พบว่า การใช้ชีวภัณฑ์ชนิดผงของเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ การใช้เชื้อรา*T. harzianum*ชนิดเม็ด สายพันธุ์ 01-52 และการใช้สารเคมีควบคุมโรคพืช มีความรุนแรงของโรคกาบใบแห้งอยู่ในช่วง 10.11-12.15 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความรุนแรงของโรคไม่แตกต่างกันในแต่ละกรรมวิธี แต่มีค่าความรุนแรงต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ โดยแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ RRK1-Rif มีความรุนแรงของโรคต่ำที่สุด คือ 10.11 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดการเกิดโรคได้ 38.20 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือการใช้ชีวภัณฑ์ชนิดผงของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ ไอโซเลต RRK9-Rif มีความรุนแรงของโรค คือ 10.60 เปอร์เซ็นต์ และ การใช้เชื้อรา *T. harzianum*ชนิดเม็ด สายพันธุ์ 01-52 มีความรุนแรงของโรค 10.82 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดการเกิดโรคได้ 35.08 และ 33.86 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ชีวภัณฑ์ชนิดผงของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK7-Rif,RRK4-Rif,RRK6-Rif,RRK5-Rif,RRK10-Rif และการใช้สารเคมีควบคุมโรคพืช มีความรุนแรงของโรค เท่ากับ11.15, 11.77, 11.87, 11.94, 12.01 และ 12.15 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับโดยมีความรุนรงของโรคลดลง 31.84, 28.05, 27.44, 27.01, 26.58 และ 25.73 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในสัปดาห์แรกหลังการปลูกเชื้อโรคจะเห็นได้ว่าการใช้ชีวภัณฑ์ชนิดผงของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สามารถควบคุมและลดการเกิดโรคกาบใบแห้งได้เทียบเท่ากับการใช้สารเคมีควบคุมโรคพืช (ตารางที่ 16)

จำนวนกาบใบข้าวที่แห้งตายจากการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคในสัปดาห์แรกหลังการปลูกเชื้อพบว่า การใช้ชีวภัณฑ์ชนิดผงของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ ไอโซเลต RRK1-Rif มีค่าเฉลี่ยของจำนวนกาบใบแห้งตายน้อยที่สุด คือ 0.75 ใบ รองลงมาคือแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ ไอโซเลต RRK9-Rifมีจำนวนกาบใบข้าวแห้งตายจำนวน 1 ใบ มีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อโรคที่มีจำนวนกาบใบข้าวแห้งตายเท่ากับ 4.25 ใบ (ตารางที่ 16)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่16 ประสิทธิภาพของการใช้ชีวภัณฑ์ชนิดผงของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สายพันธุ์กลายที่พัฒนาให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ความเข้มข้น 100 ppm ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าวหลังการปลูกเชื้อรา *Rhizoctonia solani*สาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าว 7 วัน

กรรมวิธี	ความรุนแรงของโรค ที่ 7 วัน (%)[1/]	โรคลดลง (%)[2/]	จำนวนกาบใบแห้งตาย (ใบ)
RRK 1-Rif	10.11 c[3/]	38.20	0.75 b
RRK 2-Rif	12.61 b	22.92	2.00 b
RRK 4-Rif	11.77 bc	28.05	1.50 b
RRK 5-Rif	11.94 bc	27.01	1.25 b
RRK 6-Rif	11.87 bc	27.44	1.25 b
RRK 7-Rif	11.15 bc	31.84	1.25 b
RRK 9-Rif	10.62 bc	35.08	1.00 b
RRK 10-Rif	12.01 bc	26.58	2.50 b
T. harzianum 01-52[4/]	10.82 bc	33.86	2.00 b
Validamycin®	12.15 bc	25.73	2.50 b
Control (+*R. solani*)	16.36 a	-	4.25 a
Control (-*R. solani*)	ND[5/]	ND	ND
C.V.	10.35		65.07

[1/] ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคกาบใบแห้งของข้าวหลังปลูกเชื้อรา *R. solani* โดยคำนวณจากสมการ

$$\text{ความรุนแรงของโรค} = \frac{\text{ความสูงของแผล}}{\text{ความสูงของกาบใบ}} \times 100$$

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 16 (ต่อ)

[2/]ค่าความรุนแรงของโรค (เปอร์เซ็นต์) ที่ลดลงจากการเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์และกรรมวิธีที่ใช้สารเคมีวาลิดามัยซิน (20cc/20L) กับกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค

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

[4/]เชื้อรา*Trichoderma harzianum*สายพันธุ์ 01-52 ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ด

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

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4.2.2 ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ชนิดผงของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สายพันธุ์กลายในการลดความรุนแรงของโรคกาบใบแห้งของข้าวหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรค 14 วัน

การพ่นชีวภัณฑ์ชนิดผงของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ครั้งที่ 2 ที่ 14 วัน หลังการปลูกเชื้อรา *R. solani*เชื้อสาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าวพบว่า การใช้ชีวภัณฑ์ชนิดผงของเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK1-Rif มีความรุนแรงของโรคกาบใบแห้งน้อยที่สุด คือ 11.57 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดการเกิดโรคได้ 42.00 เปอร์เซ็นต์ มีค่าไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่มีการพ่นด้วยเชื้อรา *T. harzianum*ชนิดเม็ด สายพันธุ์ 01-52 ที่มีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 13.02 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดการเกิดโรคลงได้ 34.73 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าความรุนแรงของโรคต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อโรค(19.95 เปอร์เซ็นต์)อย่างมีนัยสำคัญรองลงมาคือกรรมวิธีที่มีการพ่นด้วยชีว-ภัณฑ์ชนิดผงของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK7-Rif, RRK9-Rif, RRK6-Rif, RRK10-Rif, RRK4-Rif, RRK5-Rif และ RRK2-Rif โดยมีความรุนแรงของโรค คือ13.38,13.52,14.38,14.68,14.93,15.12 และ 15.41 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับโดยสามารถลดการเกิดโรคได้ เท่ากับ32.93,32.23,27.91,26.41,25.12,21.94 และ 22.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยมีค่าเทียบเท่ากับการใช้สารเคมีควบคุมโรคพืชที่มีความรุนแรงของโรค 12.17 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดการเกิดโรคได้ 28.96 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 17)

จำนวนกาบใบข้าวที่แห้งตายจากการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคในสัปดาห์ที่สองหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคพบว่า การใช้ชีวภัณฑ์ชนิดผงของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ ไอโซเลต RRK1-Rif มีค่าเฉลี่ยของจำนวนกาบใบแห้งตายน้อยที่สุด คือ 1.00 ใบ รองลงมาคือแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK6-Rif มีจำนวนกาบใบข้าวแห้งตายจำนวน 1.25 ใบ มีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อโรคที่มีจำนวนกาบใบข้าวแห้งตายเท่ากับ 6.00 ใบ ในขณะที่กรรมวิธีที่ใช้สารเคมีควบคุมโรคพืชมีค่าเฉลี่ยของจำนวนกาบใบเท่ากับ3.76 ใบ น้อยกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรคแต่มากกว่ากรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ชนิดผงของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK1-Rif อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 17)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่17 ประสิทธิภาพของการใช้ชีวภัณฑ์ชนิดผงของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สายพันธุ์กลายที่พัฒนาให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ความเข้มข้น 100 ppm ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าวหลังการปลูกเชื้อรา *Rhizoctonia solani*สาเหตุโรคกาบใบแห้งที่14 วัน

กรรมวิธี	ความรุนแรงของโรค ที่ 14 วัน (%)[1/]	โรคลดลง(%)[2/]	จำนวนกาบใบแห้งตาย (ใบ)
RRK 1-Rif	11.57 e	42.00	1.00 d
RRK 2-Rif	15.41 b	22.75	3.50 bc
RRK 4-Rif	14.93 bc	25.12	2.25 bcd
RRK 5-Rif	15.12 bc	31.94	1.75 bcd
RRK 6-Rif	14.38 bcd	24.21	1.25 cd
RRK 7-Rif	13.38 cd	32.93	2.00 bcd
RRK 9-Rif	13.52 cd	32.23	1.75 bcd
RRK 10-Rif	14.68 bcd	26.41	3.50 bc
T. harzianum 01-52[4/]	13.02 de	34.73	3.00 bcd
Validamycin®	14.17 bcd	28.96	3.75 b
Control (+*R. solani*)	19.95 a	-	6.00 a
Control (-*R. solani*)	ND[5/]	ND	ND
C.V.	7.86		54.55

[1/] ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคกาบใบแห้งของข้าวหลังปลูกเชื้อรา *R. solani* โดยคำนวณจากสมการ

$$\text{ความรุนแรงของโรค} = \frac{\text{ความสูงของแผล}}{\text{ความสูงของกาบใบ}} \times 100$$

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 17 (ต่อ)

[2/]ค่าความรุนแรงของโรค (เปอร์เซ็นต์) ที่ลดลงจากการเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์และกรรมวิธีที่ใช้สารเคมีวาลิดามัยซิน (20cc/20L) กับกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค

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

[4/]เชื้อรา*Trichoderma harzianum*สายพันธุ์ 01-52 ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ด

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

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4.2.2 ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ชนิดผงของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สายพันธุ์กลายในการลดความรุนแรงของโรคกาบใบแห้งของข้าวหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรค 14 วัน

การพ่นชีวภัณฑ์ชนิดผงของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ครั้งที่ 3 (ครั้งสุดท้าย) ที่ 21 วัน หลังการปลูกเชื้อรา *R. solani*เชื้อสาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าวพบว่า การใช้ชีวภัณฑ์ชนิดผงของเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK1-Rif มีความรุนแรงของโรคกาบใบแห้งน้อยที่สุด คือ 13.67 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดการเกิดโรคได้ 47.00 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธีที่พ่นด้วยชีวภัณฑ์ชนิดผงของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK7-Rif, RRK9-Rif และการพ่นด้วยเชื้อรา *T. harzianum*ชนิดเม็ด สายพันธุ์ 01-52 ที่มีความรุนแรงของโรค คือ 14.72,15.55 และ 16.22 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดการเกิดโรคลงได้ 44.11,40.09 และ 38.24 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สามารถควบคุมโรคได้ดีกว่าหรือเทียบเท่ากับการใช้สารเคมีที่มีความรุนแรงของโรค 17.15 เปอร์เซ็นต์ ลดการเกิดโรคได้ 34.88 เปอร์เซ็นต์ มีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อโรคมีความรุนแรงของโรคสูงถึง 26.34 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธีที่มีการพ่นด้วยชีวภัณฑ์ชนิดผงของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK10-Rif, RRK6-Rif, RRK2-Rif, RRK4-Rif และ RRK5-Rif โดยมีความรุนแรงของโรค คือ 17.22,17.43,17.92,18.12 และ 18.13เปอร์เซ็นต์ โดยสามารถลดการเกิดโรคได้ 34.62,33.82,31.96,31.20 และ 31.16 เปอร์เซ็นต์ ทุกกรรมวิธีในการทดลองทั้งการใช้ชีวภัณฑ์ชนิดผงของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์และการใช้ชีวภัณฑ์เชื้อรา *T. harzianum*ชนิดเม็ด สายพันธุ์ 01-52 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคพืชได้เทียบเท่ากับการใช้สารเคมีควบคุมโรคพืช

จำนวนกาบใบข้าวที่แห้งตายจากการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคในสัปดาห์สุดท้ายหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคพบว่า การใช้ชีวภัณฑ์ชนิดผงของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK1-Rif มีค่าเฉลี่ยของจำนวนกาบใบแห้งตายน้อยที่สุด คือ 1.50 ใบ รองลงมาคือแบคทีเรียเอประโยชน์ไอโซเลต RRK9-Rif มีจำนวนกาบใบข้าวแห้งตายจำนวน 2.00 ใบ มีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อโรคที่มีจำนวนกาบใบข้าวแห้งตายเท่ากับ 6.50 ใบในขณะที่กรรมวิธีที่ใช้สารเคมีควบคุมโรคพืชมีค่าเฉลี่ยของจำนวนกาบใบเท่ากับ 3.75 ใบน้อยกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรคแต่มากกว่ากรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ชนิดผงของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK1-Rif อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 18) ซึ่งจากการทดลองพบว่าการใช้แบคทีเรียเอื้อประโยชน์สายพันธุ์กลายมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคกาบใบแห้งมากกว่าการใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ดั้งเดิม ซึ่งสอดคล้องกับ จิระเดช และคณะ (2544) รายงานว่าเชื้อราไตรโคเดอร์มาสายพันธุ์กลาย (mutant) ที่ต้านทานต่อเบโนมิล สามารถยับยั้งการเจริญของ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เชื้อราสเคลอโรเทียมได้ดีกว่าสายพันธุ์แม่ (parental strain) นอกจากนี้ Intana *et al.*, (2003) ได้รายงานว่าเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์กลายที่ต้านทานต่อเบโนมิล สามารถควบคุมโรคโคนเน่าระดับดินของแตงกวาได้ดีกว่าสายพันธุ์แม่

ตารางที่ 18 ประสิทธิภาพของการใช้ชีวภัณฑ์ชนิดผงของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สายพันธ์กลายที่พัฒนาให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ความเข้มข้น 100 ppm ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าวหลังการปลูกเชื้อรา *Rhizoctonia solani*สาเหตุโรคกาบใบแห้งที่ 21 วัน

กรรมวิธี	ความรุนแรงของโรคที่ 21วัน (%)[1/]	โรคลดลง (%)[2/]	จำนวนกาบใบแห้งตาย (ใบ)
RRK 1-Rif	13.96 e	47.00	1.50 d
RRK 2-Rif	17.92 b	31.96	5.00 ab
RRK 4-Rif	18.12 b	31.20	2.50 bcd
RRK 5-Rif	18.13 b	31.16	2.50 bcd
RRK 6-Rif	17.43 bc	33.82	2.25 bcd
RRK 7-Rif	14.72 ed	44.11	3.00 bcd
RRK 9-Rif	15.55 d	40.96	2.00 cd
RRK 10-Rif	17.22 bc	34.62	4.50 abc
T. harzianum 01-52[4/]	16.22 cd	38.24	3.25 bcd
Validamycin®	17.15 bc	34.88	3.75 bcd
Control (+*R. solani*)	26.34 a	-	6.50 a
Control (-*R. solani*)	ND[5/]	ND	ND
C.V.	5.87		52.49

[1/] ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคกาบใบแห้งของข้าวหลังปลูกเชื้อรา *R. solani* โดยคำนวณจากสมการ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่18 (ต่อ)

$$\text{ความรุนแรงของโรค} = \frac{\text{ความสูงของแผล}}{\text{ความสูงของกาบใบ}} \times 100$$

[2/]ค่าความรุนแรงของโรค (เปอร์เซ็นต์) ที่ลดลงจากการเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์และกรรมวิธีที่ใช้สารเคมีวาลิดามัยซิน (20 cc/20L) กับกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค

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

[4/]เชื้อรา*Trichoderma harzianum*สายพันธุ์ 01-52 ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ด

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

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4.3 ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ชนิดผงของเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตและการเพิ่มผลผลิตของข้าว

จากการสุ่มตัวอย่างต้นข้าวมาตรวจนับจำนวนต้นต่อกอ จำนวนรวงต่อกอ และน้ำหนักผลผลิตรวมต่อกรรมวิธี พบว่าการใช้ชีวภัณฑ์ชนิดผงของเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK1-Rif มีประสิทธิภาพในการเพิ่มค่าเฉลี่ยจำนวนต้นต่อกอของข้าวได้มากที่สุด จำนวนรวงต่อกอมากที่สุด คือ 16.78 และ 24.25ตามลำดับ ซึ่งมีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม รองลงมาคือการใช้ชีวภัณฑ์ชนิดผงของเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK7-Rif และ RRK9 มีค่าเฉลี่ยจำนวนต้นต่อกอ 16.46 และ15.30 มีจำนวนรวงต่อกอเท่ากับ 23.10 และ 22.35สำหรับการใช้ชีวภัณฑ์เชื้อรา*T. harzianum* ชนิดเม็ด สายพันธุ์ 01-52 มีจำนวนต้นต่อกอเท่ากับ13.70 ต้น และมีจำนวนรวงต่อกอเท่ากับ 23.67 รวง ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์และกรรมวิธีควบคุม ในส่วนของน้ำหนักผลผลิตของข้าวพบว่าการใช้ชีวภัณฑ์ชนิดผงของเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK1-Rif และกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์เชื้อรา*T. harzianum* ชนิดเม็ด สายพันธุ์ 01-52 ให้น้ำหนักผลผลิตกรัมต่อกอ น้ำหนักผลผลิตกรัมต่อตารางเมตรและน้ำหนักผลผลิตกิโลกรัมต่อไร่เท่ากัน คือ 57.18 กรัมต่อกอ 800.62 กรัมต่อตารางเมตร และ 1,280.99 กิโลกรัมต่อไร่ ให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นจากกรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อสาเหตุโรคถึง 46.40 เปอร์เซ็นต์ มีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญรองลงมาคือกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ชนิดผงของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลตRRK7-Rif และ RRK9-Rif ให้ผลผลิตรวมต่อกอ56.87 และ 53.12 กรัมต่อกอ ผลผลิตรวมต่อตารางเมตร 796.24 และ 743.74 กรัมต่อตารางเมตร และผลผลิตรวมต่อไร่ เท่ากับ 1,273.98 และ 1,189.98 กิโลกรัมต่อไร่ ให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น 45.60 และ 36.00 เปอร์เซ็นต์มีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมในกรรมวิธีที่มีการใช้สารเคมีในการควบคุมโรคพืชให้ผลผลิตรวมต่อไร่เท่ากับ 1,064 กิโลกรัมต่อไร่ มากกว่ากรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อโรค 21.60 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อสาเหตุโรคมีผลผลิต874.97 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 19)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 19 อิทธิพลของชีวภัณฑ์ชนิดผงของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สายพันธ์กลายที่พัฒนาให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ความเข้มข้น 100 ppm ต่อจำนวนต้นต่อกอ จำนวนรวงต่อกอและน้ำหนักผลผลิตของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ปลูกในวงบ่อซีเมนต์ (0.5 ตารางเมตร)

กรรมวิธี	จำนวนต้น/กอ	จำนวนรวง/กอ	น้ำหนักผลผลิตรวม (กรัม/กอ)	น้ำหนักผลผลิต/ตร.ม. (กรัม/ตร.ม.)	น้ำหนักผลผลิต/ไร่ (กิโลกรัม/ไร่)
RRK 1-Rif	16.78 a[1/]	24.25 a	57.18	800.62 a	1,280.99 (+46.40)[2/]
RRK 2-Rif	14.03 abc	20.21 b	45.62	638.74 c	1,021.98 (+16.80)
RRK 4-Rif	14.92 abc	21.21 ab	49.37	691.24 bc	1,105.98 (+26.40)
RRK 5-Rif	13.63 bc	21.32 ab	4 7.96	671.56 bc	1,074.49 (+22.80)
RRK 6-Rif	14.53 abc	19.78 b	47.56	665.86 bc	1,065.37 (+21.76)
RRK 7-Rif	16.46 ab	23.10 ab	56.87	796.24 a	1,273.98 (+45.60)
RRK 9-Rif	15.38 abc	22.35 a	53.12	743.74 ab	1,189.98 (+36.00)
RRK 10-Rif	14.74 abc	21.03 ab	45.95	643.12 c	1,028.99 (+17.60)
T. harzianum 01-52	13.70 bc	23.67 ab	57.18	800.62 a	1,280.99 (+46.40)
Validamycin®	12.96 c	20.53 ab	47.50	665.00 bc	1,064 (+21.60)
Control (+*R. solani*)	15.42 abc	19.78 b	39.06	546.86 d	874.97
Control (-*R. solani*)	14.60 abc	21.17 ab	46.25	647.50 c	1,036
C.V.	11.92	10.74	-	8.16	-

[1/] ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากการวิเคราะห์ด้วย Duncan's New Multiple Range Test (P=0.05)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 19 (ต่อ)

[2/] น้ำหนักผลผลิตต่อไร่คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ที่เพิ่มขึ้น (+) เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรค

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4.4 ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ชนิดผงและเชื้อ*Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ดต่อการขัดสีเป็นข้าวกล้อง

ผลการขัดสีข้าวเปลือก 500 กรัม เป็นข้าวกล้องจากทุกกรรมวิธี เมื่อขัดสีจะได้ส่วนประกอบ 2 ส่วน คือ ข้าวกล้อง และแกลบ จากผลการทดลอง พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ด มีน้ำหนักข้าวกล้องสูงสุด(387.5 กรัม)หรือเพิ่มขึ้น 6.16 เปอร์เซ็นต์ส่วนน้ำหนักแกลบ(112.5 กรัม) ลดลง 16.66เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม(ปลูกเชื้อโรค) รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ของเชื้อแบคทีเรียชนิดผงไอโซเลต RRK9 มีน้ำหนักข้าวกล้อง (375.5 กรัม)เพิ่มขึ้น 2.73 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักแกลบ (125.0 กรัม) ลดลง 7.40 เปอร์เซ็นต์ต่อข้าวเปลือก 500 กรัมซึ่งเทียบเท่ากับการใช้สารเคมี แต่มีค่าสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรค (365.00 กรัมต่อข้าวเปลือก 500 กรัม) (ตารางที่ 20)

เมื่อคัดแยกข้าวกล้องที่ขัดสีแบ่งเป็น 2 ส่วน คือส่วนของเมล็ดข้าวที่มีลักษณะสมบูรณ์หรือเต็มเมล็ด และส่วนของเมล็ดข้าวที่แตกหักเป็นชิ้น ซึ่งมีความยาวต่ำกว่าครึ่งหนึ่งของเมล็ด พบว่ากรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ของเชื้อแบคทีเรียชนิดผงไอโซเลต RRK6และ RRK9 มีน้ำหนักข้าวกล้องเต็มเมล็ดสูงสุด มีน้ำหนัก 8.80 และ 8.73 กรัมต่อข้าวกล้อง 10 กรัม แต่มีค่าไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ชนิดผงของเชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK1 และกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ชนิดเม็ดซึ่งมีค่า 8.61 และ 8.60 กรัม ตามลำดับ แต่มีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรค (7.81 กรัมต่อข้าวกล้อง 10 กรัม) เช่นเดียวกันกับน้ำหนักข้าวแตกหักเป็นชิ้นในกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ชนิดผงของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต RRK6และ RRK9 มีน้ำหนักข้าวแตกหักเป็นชิ้น 1.20 และ 1.27กรัมต่อข้าวกล้อง 10 กรัม ตามลำดับ ช่วยลดเปอร์เซ็นต์การแตกหักของเมล็ดข้าวได้สูงถึง 45.20 และ 42.00 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใช้สารเคมีที่มีการแตกหักของเมล็ดข้าวเพิ่มขึ้น 9.58 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 20)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 20 ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ชนิดผงและเชื้อ *Trichoderma harzianum* 01-52 ชนิดเม็ดต่อคุณภาพของข้าวกล้องหลังการขัดสีข้าวเปลือกพันธุ์ชัยนาท 1

กรรมวิธี	น้ำหนัก (กรัม/ข้าวเปลือก 500กรัม)		น้ำหนัก (กรัม/ข้าวกล้อง 10 กรัม)	
	ข้าวกล้อง	แกลบ	ข้าวเต็มเมล็ด	ข้าวหัก
RRK 1-Rif	370.0 (+1.36%)[1/]	130.0 (-3.70%)[2/]	8.61 ab (+10.24%)[3/]	1.47 cd (-32.87%)[4/]
RRK 2-Rif	367.5 (+0.68%)[5/]	132.5 (-1.85%)	7.63 c (-2.30%)	2.37 a (+8.21%)
RRK 4-Rif	370.0 (+1.36%)	130.0 (-3.70%)	8.40 b (+7.55%)	1.60 c (-26.94%)
RRK 5-Rif	375.0 (+2.73%)	125.0 (-7.40%)	8.68 ab (+11.13%)	1.32 cd (+39.72%)
RRK 6-Rif	367.5 (+0.68%)	147.5 (+9.25%)	8.80 a (+12.67%)	1.20 d (-45.20%)
RRK 7-Rif	352.5 (-3.42%)	147.5 (+9.25%)	7.70 c (-0.12%)	2.30 ab (+5.02%)
RRK 9-Rif	375.0 (+2.73%)	125.0 (-7.40%)	8.73 a (+11.77%)	1.27 cd (-42.00%)
RRK 10-Rif	360.0 (-1.36%)	140.0 (+3.70%)	7.71 c (-1.28%)	2.29 ab (+4.56%)
T. harzianum 01-52[4/]	387.5 (+6.16%)	112.5 (-16.66%)	8.60 ab (+10.11%)	1.40 cd (-36.07%)
Validamycin®	375.0 (+2.73%)	125.0 (-7.40%)	7.60 c (-2.68%)	2.40 a (+9.58%)
Control (+*R. solani*)	365.0	135.0	7.81 c	2.19 ab
Control (-*R. solani*)	360.0	140.0	7.94 c	2.02 b
C.V. (%)	-	-	2.34	10.06

[1/] น้ำหนักข้าวกล้องของกรรมวิธีต่างๆที่เพิ่มขึ้น (+) หรือลดลง(-)เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อโรค (+*R. solani*)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 20 (ต่อ)

[2/]น้ำหนักแกลบของกรรมวิธีต่างๆที่เพิ่มขึ้น (+) หรือลดลง(-)เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อโรค (+*R. solani*)

[3/]น้ำหนักข้าวเต็มเมล็ดของกรรมวิธีต่างๆที่เพิ่มขึ้น (+) หรือลดลง(-)เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อโรค (+*R. solani*)

[4/]น้ำหนักข้าวหักของกรรมวิธีต่างๆที่เพิ่มขึ้น (+) หรือลดลง(-)เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อโรค (+*R. solani*)

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

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4.5 ประสิทธิภาพของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ต่อการย่อยสลายตอซังและฟางข้าว

การฝังถุงไนลอนที่บรรจุตอซังและฟางข้าว 100 กรัม ลงไปในดินและหมักไว้เป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นนำถุงไนลอนมาล้างอัดฉีดด้วยน้ำเปล่าเพื่อให้เซลลูโลสส่วนที่ถูกย่อยสลายหลุดออกไป แล้วนำถุงไนลอนไปตากให้แห้งก่อนนำมาชั่งน้ำหนักพบว่ากรรมวิธีที่มีการใช้เชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK1-Rif มีน้ำหนักตอซังและฟางข้าวคงเหลืออยู่น้อยที่สุดคือ 63.42 กรัม มีเปอร์เซ็นต์การย่อยสลาย 36.58 เปอร์เซ็นต์คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การย่อยสลายเพิ่มขึ้น 100.99 เปอร์เซ็นต์ มีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ปล่อยให้ย่อยสลายเองตามธรรมชาติ รองลงมาคือไอโซเลต RRK7-Rif และ RRK9-Rif มีน้ำหนักตอซังและฟางข้าวคงเหลือ 72.66และ 67.36กรัม ตามลำดับ โดยมีเปอร์เซ็นต์การย่อยสลาย 27.34 และ32.64 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับมีเปอร์เซ็นต์การย่อยสลายเพิ่มขึ้น 50.21และ 79.34เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่มีน้ำหนักฟางคงเหลือ 81.80กรัม ซึ่งเกิดการย่อยสลายได้น้อยมาก (18.20เปอร์เซ็นต์) (ตารางที่21)

การย่อยสลายตอซังและฟางข้าวที่ 14 วัน พบว่ากรรมวิธีที่มีการใช้เชื้อแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK1-Rif ยังคงมีน้ำหนักตอซังและฟางข้าวคงเหลืออยู่น้อยที่สุดคือ 47.13 กรัม มีเปอร์เซ็นต์การย่อยสลาย 52.88 เปอร์เซ็นต์ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การย่อยสลายเพิ่มขึ้น 159.98 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ปล่อยให้ย่อยสลายเองตามธรรมชาติ รองลงมาคือไอโซเลต RRK7-Rif และ RRK9-Rif มีน้ำหนักตอซังและฟางข้าวคงเหลือ 60.32 และ60.66กรัม มีเปอร์เซ็นต์การย่อยสลาย39.68และ 39.34เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีการย่อยสลายเพิ่มขึ้น 95.08และ 93.41เปอร์เซ็นต์ มีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่มีน้ำหนักตอซังและฟางข้าวคงเหลือมากถึง 79.66กรัม มีการย่อยสลาย 20.34เปอร์เซ็นต์ จะเห็นได้ว่าหลังการหมักฟางไว้ที่14วัน น้ำหนักของฟางข้าวหายไปเกินครึ่งหนึ่งของน้ำหนักตั้งต้นแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สามารถที่จะย่อยสลายเซลลูโลสซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในฟางข้าวได้(ตารางที่ 21)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 21 ประสิทธิภาพของการใช้ชีวภัณฑ์ชนิดผงแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สายพันธุ์กลายที่พัฒนาให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ความเข้มข้น 100 ppm ในการย่อยสลายตอซังและฟางข้าว ที่ 7 วัน และ 14 วัน

กรรมวิธี	ตอซังและฟางข้าวน้ำหนัก 100 กรัม			
	หมักตอซังและฟางข้าว 7 วัน		หมักตอซังและฟางข้าว 14 วัน	
	น้ำหนักคงเหลือ (กรัม)	การย่อยสลาย (เปอร์เซ็นต์)[2/]	น้ำหนักคงเหลือ (กรัม)	การย่อยสลาย (เปอร์เซ็นต์)
RRK1-Rif	63.42	36.58 a (+100.99)	47.13	52.88 a (+159.98)
RRK2-Rif	72.80	27.20 b (+49.45)	65.30	34.70 cd (+70.59)
RRK4-Rif	72.66	27.34 bc (+50.21)	65.84	34.16 d (+67.94)
RRK5-Rif	74.08	25.92 c (+42.41)	65.78	34.22 d (+68.23)
RRK6-Rif	73.66	26.34 bc (+44.72)	67.24	32.76 d (+61.06)
RRK7-Rif	72.66	27.34 bc (+50.21)	60.32	39.68 b (+95.08)
RRK9-Rif	67.36	32.64 ab (+79.34)	60.66	39.34 bc (+93.41)
RRK10-Rif	74.14	25.86 c (+42.08)	63.62	36.38 bcd (+78.85)
control	81.80	18.20 d	79.66	20.34e
C.V.		4.75		7.27

[1/] ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากการวิเคราะห์ด้วย Duncan's New Multiple Range Test (P=0.05)

[2/] การย่อยสลายตอซังและฟางข้าว (เปอร์เซ็นต์)ที่เพิ่มขึ้น (+)หรือลดลง (-)เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่มีการย่อยสลายตอซังและฟางข้าวเองตามธรรมชาติ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การประเมินความเปื่อยยุ่ยของฟางข้าว

หลังจากนำตอซังและฟางข้าวน้ำหนัก 300 กรัม หมักในวงบ่อซีเมนต์ (กลบถุงไนลอน) หมักทิ้งไว้ 7 วันและ 14 วันประเมินความเปื่อยยุ่ยของตอซังและฟางข้าวโดยการใช้เกณฑ์การประเมิน แบ่งระดับการเกิดย่อย เป็น 5 ระดับพบว่าการเปื่อยยุ่ย (การย่อย) ของตอซังที่ 7 วัน กรรมวิธีที่มีการใช้ชีวภัณฑ์ชนิดผงของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK6-Rif มีประสิทธิภาพในการย่อยมากที่สุด โดยประเมินความเปื่อยยุ่ยของตอซังได้ระดับที่ 3 มีความเปื่อยยุ่ยของตอซังเท่ากับ 55.92 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK4-Rif และ RRK5-Rif มีเกณฑ์การประเมินอยู่ในระดับที่ 2 มีความเปื่อยยุ่ยของตอซัง เท่ากับ 43.80 และ 42.74 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรียเอื้อประโยชน์อย่างมีนัยสำคัญโดยมีเกณฑ์การประเมินอยู่ที่ระดับ 1 ความเปื่อยยุ่ยของตอซังเท่ากับ 22.63 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่หมักทิ้งไว้ 14 วันพบว่าทุกกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์มีเกณฑ์การประเมินความเปื่อยยุ่ยของตอซังอยู่ในระดับที่ 3 มีการเปื่อยยุ่ยของตอซัง 62.05-68.92 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ที่มีเกณฑ์การประเมินอยู่ในระดับที่ 2 ความเปื่อยยุ่ยของตอซังเท่ากับ 38.10 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 22)

การประเมินความเปื่อยยุ่ยของฟางข้าวหลังการหมัก 7 วัน พบว่ากรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK1-Rif และ RRK4-Rif มีเกณฑ์การประเมินความเปื่อยยุ่ยของฟางข้าวดีที่สุดอยู่ในระดับที่ 3 มีความเปื่อยยุ่ย55.62 และ 55.02 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK7-Rif มีเกณฑ์การประเมินอยู่ในระดับที่ 2 มีความเปื่อยยุ่ยของฟางข้าว48.90 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญโดยกรรมวิธีควบคุมมีความเปื่อยยุ่ยอยู่ในระดับที่ 2 ความเปื่อยยุ่ยของฟางข้าว34.23 เปอร์เซ็นต์ หลังหมักทิ้งไว้เป็นเวลา 14 วัน พบว่า กรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK1-Rif มีเกณฑ์ในการประเมินความเปื่อยยุ่ยดีที่สุด อยู่ในระดับที่ 4 มีความเปื่อยยุ่ยของฟางข้าวเท่ากับ 86.28 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK2-Rif มีเกณฑ์การประเมินอยู่ระดับที่4 มีความเปื่อยยุ่ยของฟางข้าว80.52 เปอร์เซ็นต์ และ แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK5-Rif ความเปื่อยยุ่ยของฟางข้าวเท่ากับ 78.50 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีเกณฑ์การประเมินอยู่ในระดับที่ 2 ความเปื่อยยุ่ยของฟางข้าว 46.70 เปอร์เซ็นต์(ตารางที่ 22)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 22 ประสิทธิภาพของการใช้ชีวภัณฑ์ชนิดผงแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สายพันธ์กลายที่พัฒนาให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ความเข้มข้น 100 ppmในการย่อยสลายตอซังและฟางข้าวโดยการใช้เกณฑ์การประเมิน

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์ความเปื่อยยุ่ยของตอซังและฟางข้าวโดยใช้เกณฑ์การประเมิน [1/]			
	ตอซัง		ฟาง	
	7 วัน	14 วัน	7 วัน	14 วัน
RRK1-Rif	28.29 ed[2/]	67.94 a[2/]	52.62 a	86.28 a
RRK2-Rif	34.01 cde	63.81 a	45.91 ab	80.52 abc
RRK4-Rif	43.80 bc	64.76 a	55.02 a	75.72 cde
RRK5-Rif	42.74 bc	68.36 a	46.69 ab	78.50 bcd
RRK6-Rif	55.92 a	64.66 a	44.90 ab	75.10 cde
RRK7-Rif	46.44 ab	62.18 a	48.90 ab	71.70 de
RRK9-Rif	34.85 bcd	62.05 a	41.99 bc	68.83 e
RRK10-Rif	36.01 bcd	68.92 a	39.38 b	85.16 ab
control	22.63 e	38.10 b	34.23 c	46.70 f
C.V.	16.41	7.46	11.36	5.30

[1/] นำตอซังและฟางข้าวน้ำหนัก300 กรัม หมักในวงบ่อซีเมนต์ หมักทิ้งไว้ 7 วันและ 14 วัน ประเมินการย่อยโดยการออกแรงดึงของผู้ประเมิน จำนวน 3 คน แบ่งระดับการย่อยเป็น 5 ระดับคือ

ระดับ 0 ไม่มีความเปื่อยยุ่ย (คนดึงออกแรงดึงตึงมือและกระตุกหนึ่งครั้งตอซังและฟางข้าวไม่ขาดออกจากกัน)

ระดับ 1 เกิดความเปื่อยยุ่ย 1-25 เปอร์เซ็นต์ (คนดึงออกแรงดึงตึงมือและกระตุกหนึ่งครั้งตอซังและฟางข้าวขาดออกจากกัน)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 22 (ต่อ)

ระดับ 2 เกิดความเปื่อยยุ่ย 26-50 เปอร์เซ็นต์ (คนดึงออกแรงดึงตึงมือไม่กระตุกตอซังและฟางข้าวขาดออกจากกัน)

ระดับ 3 เกิดความเปื่อยยุ่ย 51-75 เปอร์เซ็นต์ (คนดึงออกแรงดึงเบาๆไม่ตึงมือตอซังและฟางข้าวขาดออกจากกัน)

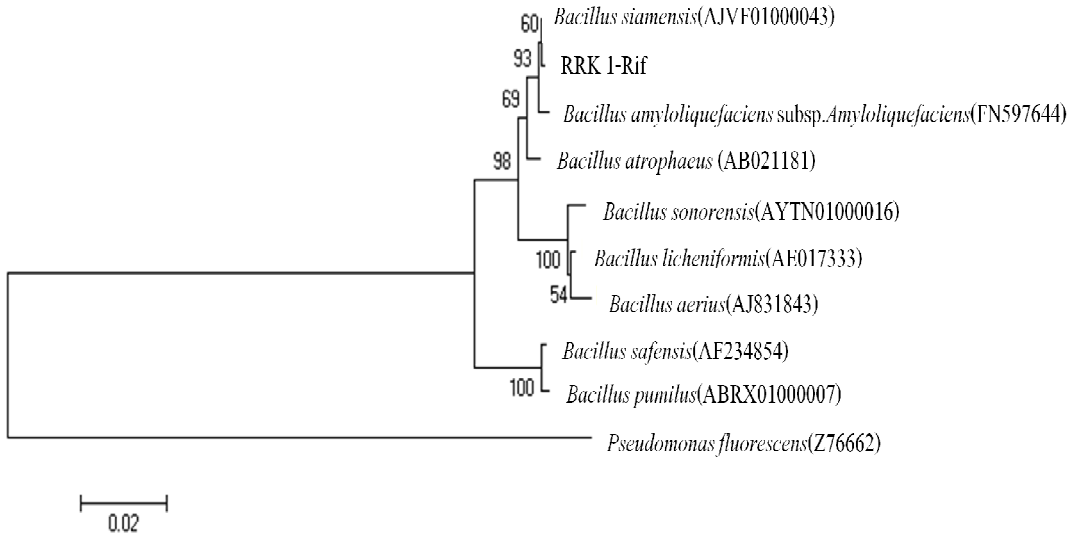
ระดับ 4 เกิดความเปื่อยยุ่ย 76- 100 เปอร์เซ็นต์ (คนดึงไม่ต้องออกแรง หยิบขึ้นมาและขยี้เบาๆตอซังและฟางข้าวขาดออกจากกัน

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

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5. ผลการจำแนกแบคทีเรียด้วยเทคนิค Single stand 16S rDNA

จากผลการทดลองสามารถระบุได้ว่าแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ ไอโซเลต RRK1-Rif มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมการเกิดโรคกาบใบแห้งของข้าว สามารถเพิ่มจำนวนต้นต่อกอ จำนวนรวงต่อกอ เพิ่มผลผลิตรวมต่อไร่ และสามารถย่อยสลายเซลลูโลสในฟางข้าวได้ดี จึงทำการส่งตัวอย่างแบคทีเรียไอโซเลต RRK1-Rif ไปยังศูนย์พันธุวิศวกรรม (BIOTEC) เพื่อตรวจสอบและจำแนกชนิด โดยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ พบว่า ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียไอโซเลต RRK1-Rif มีความใกล้ชิดกับแบคทีเรีย *Bacillus siamensis*มากที่สุด โดยมีลำดับนิวคลีโอไทด์แตกต่างจากลำดับถัดมาเพียงเล็กน้อย (2-3 bp)



ภาพที่ 13 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรีย ไอโซเลต RRK1บน 16S rDNA ที่แสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเปรียบเทียบแบคทีเรียใกล้เคียงในสกุล *Bacillus*

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สรุป

แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ที่แยกจากบริเวณรากข้าวไอโซเลต RRK1มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Rhizoctonia solani*เชื้อสาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าวได้สูงสุดถึง 75 เปอร์เซ็นต์ มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและสามารถละลายฟอสเฟตได้

แบคทีเรียเอื้อประโยชน์สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้าข้าวได้ดีทั้งด้านความสูงต้นและความยาวราก ช่วยเพิ่มจำนวนต้นต่อกอ จำนวนรวงต่อกอ ช่วยในการเพิ่มผลผลิตในสภาพที่มีเชื้อสาเหตุโรคกาบใบแห้งข้าวทำลายได้ สามารถควบคุมการเกิดโรคในสภาพโรงเรือนได้ดี

จากความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของแบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK1จึงทำให้สามารถย่อยสลายตอซังและฟางข้าวได้โดยสามารถย่อยสลายตอซังและฟางข้าวได้สูงถึง36.58- 52.88เปอร์เซ็นต์ เมื่อครบ 7 และ 14 วัน หลังการหมัก นอกจากนั้นยังสามารถลดการสะสมของเชื้อรา *R.solani*เชื้อสาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าว ซึ่งอยู่ในรูปของส่วนขยายพันธุ์ที่เรียกว่า เม็ดสเคลอโรเทียมได้อย่างมีประสิทธิภาพด้วย

หลังการพัฒนาแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สายพันธุ์ดั้งเดิม(wild type strain)ให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะและผลิตเป็นชีวภัณฑ์ชนิดผง พบว่าแบคทีเรียเอื้อประโยชน์สายพันธุ์กลาย (mutant strain) จำนวน 8 ไอโซเลตที่ต้านทานสารปฏิชีวนะแล้วสามารถเจริญ เพิ่มปริมาณตลอดจนยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา*R.solani*เชื้อสาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าวและส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวได้โดยช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด เพิ่มความสูงของต้นข้าว เพิ่มความยาวของราก เพิ่มผลผลิต และสามารถควบคุมการเกิดโรคกาบใบแห้งของข้าวในสภาพโรงเรือนได้เทียบเท่ากับการใช้สารเคมีควบคุมโรคพืช

แบคทีเรียเอื้อประโยชน์สายพันธุ์กลายในรูปแบบชีวภัณฑ์ชนิดผงมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายตอซังและฟางข้าวได้ดี ช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์การย่อยสลายได้สูงขึ้น และเมื่อใช้เกณฑ์ในการประเมินความเปื่อยยุ่ยของตอซังและฟางข้าวพบว่าชีวภัณฑ์แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ไอโซเลต RRK1-Rif มีประสิทธิภาพในการย่อยตอซังและฟางข้าวให้เปื่อยยุ่ยได้สูง67.94 และ86.62 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กฤษณพงศ์ ศรีพงษ์พันธุ์กุล.2557.**อู่ข้าว,** ปีที่2.ฉบับที่ 20: น. 12-14.

จิระเดช แจ่มสว่าง. 2549. **การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี.** ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.323 น.

จิระเดช แจ่มสว่าง และ วรรณวิไลอินทนู. 2542. **การใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาควบคุมโรคพืช: โครงการเกษตรกู้ชาติมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.** เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการ. ภาควิชาโรคพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม:90 น.

จิระเดช แจ่มสว่าง และ วรรณวิไล อินทนู. 2542. **การใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาควบคุมโรคพืช**. โครงการกู้ชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการ ฉบับที่ 2. กรุงเทพฯ.

จิรัสสา มีกลิ่นหอม. 2547. **การคัดเลือกและการใช้จุลินทรีย์ที่แยกได้จากผิวพืชในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.

ชาญ มงคล. 2536. **ข้าว.** หน่วยศึกษานิเทศก์ กรมการฝึกหัดครู, กรุงเทพฯ: 149 น.

ชมพูนุท บุญราชแขวง. 2550. **อิทธิพลของสารทุติยภูมิจากเชื้อรา*Trichoderma harzianum* ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา*Colletotrichum gloeosporioides* และการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริก.**วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.

ดารา เจตนะจิตร นงรัตน์ นิลพานิชย์ พากเพียร อรัญนารถ วิชิต ศิริสันธนะ วิชชุดา รัตนากาญจน์ รัศมี ฐิติเกียรติพงศ์ เยาวภา ตันตวานิช วันชัย โรจนหัสดิน และ จรรยา อารยาพันธ์. 2545. **คู่มือโรคข้าว.**สมาคมนักโรคพืชแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ: 47 น.

นิชากร แซ่ตั้ง. 2553. **การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ เพื่อเพิ่มผลผลิต และลดโรคเมล็ดด่างของข้าว**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์:79 น.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

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

นิพนธ์ ทวีชัย. 2553. **การควบคุมโรคแบคทีเรียของพืชโดยชีววิธี.** สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,กรุงเทพ ฯ:271 น.

น้อย เกษมสุขสกุล. 2529. **การผลิตเซลลูเลสโดยเชื้อราที่ชอบอุณหภูมิสูงบนวัสดุที่เป็นของแข็ง**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นพพร สายัมพล รังสฤษฎ์ กาวีต๊ะ เรวัต เลิศฤทัยโยธิน และ สนธิชัย จันทร์เปรม. 2542. **พืชเศรษฐกิจ.**มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ: 471 น.

ไพโรจน์ จ๋วงพานิช. 2525. **หลักวิชาการโรคพืช.** ภาควิชาโรคพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ:395 หน้า.

พราวมาส เจริญรักษ์ จิระเดช แจ่มสว่าง และวรรณวิไล อินทนู. 2552. **การคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma harzianum*ที่มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่างและเจริญครอบครองรากกล้าข้าวได้ดี** *ใน* รายงานการประชุมอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 9: อารักขาพืชไทย เทิดไท้องค์ภูมี ตามวิถีเศรษฐกิจพอเพียง. โรงแรมสุนีย์แกรนด์ จังหวัดอุบลราชธานี.

เพชรพิกุล วางมูล จิระเดช แจ่มสว่าง และจินตนา อันอาตม์งาม. 2553.**ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียย่อยไคตินในการเพิ่มผลผลิตและชักนำให้ต้นข้าวต้านทานโรคกาบใบแห้งสาเหตุจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani*.**ว. วิทย.กษ. 41(3):351-360.

รุจิกาญจน์ นาสนิท. 2546. **การศึกษาเอนไซม์เซลลูเลสและยีนที่เกี่ยวข้องจากแบคทีเรียในลำไส้ปลวก**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิจัย รักวิทยาศาสตร์. 2551. **ราวิทยาเบื้องต้น.** พิมพ์ครั้งที่ 2 จามจุรีโปรดักท์, กรุงเทพฯ:351 หน้า.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ศิริวรรณ คุณากร.2521.**โรคพืชและการป้องกันกำจัด**. ภาควิชาโรคพืช.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุดาวดี โอ่สกุล. 2543. **การศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อรา**. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุพจน์ กาเซ็ม. 2545. **การจำแนกชนิดและคุณสมบัติของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกจากผิวใบและดินบริเวณรากถั่วเหลืองที่สามารถควบคุมโรคใบจุดนูนของถั่วเหลือง.**วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สมคิด ดิสถาพร. 2532. **ชาวนาปราบโรคข้าว.** ห้างหุ้นส่วนจำกัด ฟันนี่พับบลิชชิ่ง, กรุงเทพฯ: 116 หน้า.

สมคิด ดิสถาพร. 2540. **การป้องกันกำจัดโรคพืชโดยชีววิธี.** กรมวิชาการเกษตร:92 หน้า.

อนุเทพ ภาสุระ. 2536. **การผลิตมวลชีวภาพเชื้อรา*Trichoderma hazianum* โดยกระบวนการหมักอาหารเหลวเพื่อใช้ในงานควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชทางชีววิธี**วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อานนท์ ประเสริฐศรี. 2542. **การผลิตเอนไซม์ไซลาเนสจากเชื้อรา *Humicola lanuginose* ด้วยกระบวนการหมักแบบ solid state โดยใช้ซังข้าวโพดเป็นวัฤดิบ.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Abubakar, MF., M. Mohamed, A. Rahmat, SA. Burr and J.R. Fry. 2010. Cytotoxicity and polyphenol diversity in selected part of Mangifera pajang and Artocarpus odoratissinus fruits. **Nutrition and Food Science**. 40:29-38.

Agrios, G. 1997. **Plant Pathology.** Academic Press, New York

Andrews, J.H. 1992. Biological control in the phyllosphere.**Annu. Rev.Phytopathol.** 30: 603-635.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

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.

Baker, K.F. 1987. Evolving concepts of biological control of plant pathogents.**Annu.Rev. Phytopathol**. 26: 67-85.

Boukaew, S. and P. Prasertsan.2014.Suppression of rice sheath blight disease using a heat stable culture filtrate from Streptomyces philanthi RM-1-138.**Crop Protection** 61: 2014. p 1-10

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

Chena,Z.X., Zhanga Y.F., F.Feng, M.H. Feng, W. Jiang, Y.Y. Mac, C.H.Pan, H.L. Hua, G.S.Li , X.B.Pan and S.M.Zuo, 2014. Improvement of japonica rice resistance to sheath blight by pyramiding qSB-9TQ and qSB-7TQ.**Field Crops Research** 161, 2014.: p. 118–127

Chaiharn, M., S. Chunhaleuchanon, A. Kozo and S. Lumyong. 2008. Screening of Rhizobacteria for their Plant Growth Promotion Activities. **KMITL Sci**. Tech. J. 18-23.

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 pp

Cook, R.J. 1993. The role of biological control in pest management in the 21st century.pp. 10-20 *In* R.D. Lumadon and J.L. Vaughn, eds. **ASD Conference proceedings Series. Pest Management: Biologically Based Technologies.**

Cowling, C.B. and T.K. Kirk. 1976. Properties of cellulose and lignocellulotic meterials as substrates for enzymatic conversion processes. **Biotechnol.Bioeng**. Symp.6:95-123

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Dickinson, C.H. and T.F. Preece. 1976. **Microbiology of Aerial Plant Surfaces**, Academic Press, London . 487p.

Elad, Y., I. Chet, P. Boyle and Y. Henis. 1983. Parasitism of *Trichoderma* spp. on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* scanning electron microscopy and fluorescence microscopy. **Phytopathology**73: 85-88.

Elad, Y. 2000. Biological control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action**. Crop Protect.** 19: 709-714.

Fan LT, Gharpuray MM, Lee YH, 1987. Cellulose Hydrolysis. Berlin, Germany: Springer-Verlag 3: 1-68

Gaur, A.C. 1990. Phosphate Solubilizing Microorganisms as Biofertilizers. 1sEdn., Omega Scientific Publishers, New Delhi, India, ISBN: 81-85399-09-3.

Glissmann, K. and R. Conrad. 2000. Fermentation pattern of methanogenic degradation of rice straw in anoxic pddy soil. **FEMS Microbiology** 31:117-126

Harman, G.E., C. R. Howell, A. Viterbo, I. Chet and M. Lorito. 2004. *Trichoderma* speices opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews/Microbiology** 2: 43-55.

Henis, Y., P. B. Adams, J. A. Lewis and G. C. Papavizas. 1983. Penetration of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma* spp. **Phytopathology**73: 1043-1046.

Intana., W. 2003. **Selection and development of *Trichoderma* spp. For high glucanase, antifungal metabolite producing and plant growth promoting isolates for biological control of cucumber damping-off caused by *Pytium* spp**. Ph.D., KASETSART UNIVERSITY, Bangkok. 202 pp.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Jayaprakashvel, M., M. Selvakumar, K. Srinivasan, S. Ramesh and N. Mathivanan, 2010.Control of sheath blight disease in rice by thermostable secondary metabolites of *Trichoderma roseum* MML003. Eur**. J. Plant Pathol**. 126:229-239.

Kasana, R.C., R.Salwan, , H. Dhar, S. Dutt and A. Gulati, 2008. A rapid and easy method for detection of microbial cellulases on agar plates using Gram's iodine.Curr.**Microbiol**., 57: 503-507.

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

Kawasaki, H., Hoshino, Y., Hirata, A. and Yamasato, K. (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.

Kleifield, O. and I. Chet. 1992. *Trichoderma harzianum*-interrection with plant and effect on growth response. **Plant Soil** 144: 267-272.

Knudsen, G.R. and H.W Spurr.Jr. 1985.Management of bacterial populations for foliar disease biocontrol.*In* Biological control on the phylloplane, Windels, C.E. and Lindow, S.E., Eds., **Amer. Phytopath.Soc**, St. Paul., Minn. 10 p.

Lawrence JJ, F. Saraga, JF. Churchill, JM. Statland, KE. Travis, FK. Skinner and CJ.McBain. 2006 Somatodendritic Kv7-KCNQ-M channels control interspike interval in hippocampal interneurons. **J Neurosci** 26:12325-38

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Oregon State University. 2004. Research. Wood Science and Engineering.

Ou, S. H. 1987. **Rice Diseases**. Commonwealth Mycological Institute UK.

Pengnoo, A., C. Kusonwiriyawong, L. Nilratana and M. Kanjanamaneesathian. 2000. Greenhouse and field of the bacteria antagonists in pellet formulations to suppres blight of rice caused by *Rhizoctonia solani*.**Bio Control** 45: 245-246.

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.

Plodpai, P., S. Chuenchitt, V. Petcharat, S. Chakthong and S.P. Voravuthikunchai, 2013. Anti-Rhizoctonia solani activity by Desmos chinensis extracts and its mechanismof action. **Crop Prot**. 43:65-71

Saha, S. and A. Dutta. 2007. Incidence of diseases in kharif rice in Murshidabad. **Journal of Interacademicia.** 11(3): 377-378.

Sarker, B., N.R. Chowdhury, G.B. Nair, M. Nishibuchi, T.Y. Yamasaki, S.K. Gupta, S.K. Bhattacharya and T. Ramamurthy. 2003. Molecular characterization of Vibrio parahaemolyticus of similar serovars isolated from sewage and clinical cases of diarrhoea in Kolkata, India. **World J Microbiol Biotechol**, 771 p.

Schaad, N.W. 1980. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. **American Phytopathol Society.**72p.

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

Schwarze, F.W.M.R., F. Juass, C. Spencer, C. Hallam and M. Schubert. 2012. Evaluation of an antagonistic *Trichoderma* strain for reducing the rate of wood decomposition by the white rot fungus *Phellinus noxius*. **Biological Control** 61: 160-168.

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.372 pp.

Tronsmo, A. 1992.Leaf and blossom epiphytes and endophytes as biological control agents.In **Biological Control of Plant Diseases, Edited by E.S. Tjamos et al., Plenum Press**, New York. 12 p

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

Yung C. L , Ganesh D. S., Wen M. C., Ming D. B., Jo-Shu C. 2009. Isolation of cellulose-hydrolytic bacteria and applications of the cellulolytic enzymes for cellulosic biohydrogen production.**Enzyme and Microbial Technology**. 44: 417–425

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

สูตรอาหารเหล่านี้หลังจากเตรียมเสร็จให้นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ที่ความดันไอน้ำเท่ากับ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 นาที

1. Potato dextrose agar (PDA)

มันฝรั่ง (ปอกเปลือกแล้ว)	200 กรัม
Dextrose	20 กรัม
Agar	15 กรัม
Distilled water	1 ลิตร

2. Nutrient glucose agar (NGA) (Schaad, 1980)

Beef extract	5 กรัม
Peptone	3 กรัม
Glucose	2.5 กรัม
Agar	15 กรัม
Distilled water	1 ลิตร

3. Nutrient glucose agar (NGB)

Beef extract	5 กรัม
Peptone	3 กรัม
Glucose	2.5 กรัม
Distilled	water 1 ลิตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. Pikovskaya's agar (Gaur, 1990.)

Agar	15 กรัม/ลิตร
Ammonium sulphate	0.5 กรัม/ลิตร
Calcium	phosphate 5 กรัม/ลิตร
Dextrose	10 กรัม/ลิตร
Ferrous sulphate	0.0001 กรัม/ลิตร
Magnesium sulphate	0.1 กรัม/ลิตร
Manganese sulphate	0.0001 กรัม/ลิตร
Potassium chloride	0.2 กรัม/ลิตร
Yeast extracts	0.5 กรัม/ลิตร

5. Carboxy methyl cellulose agar (CMCA)

$NH_4H_2PO_4$	2 กรัม/ลิตร
KH_2PO_4	0.6 กรัม/ลิตร
K_2HPO_4	0.4 กรัม/ลิตร
$MgSO_4$ $7H_2O$	0.5 กรัม/ลิตร
CMC	5 กรัม/ลิตร
Agar	15 กรัม/ลิตร

ทดสอบการเกิดบริเวณใสด้วย 0.1%Congo redโดยการเทสารละลายลงบนผิวหน้าอาหารและทิ้งไว้ 30 นาที ก่อนล้างด้วย 1MNacl

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวพัชรพร ธรรมภิบาลอุดม
วัน เดือน ปี ที่เกิด	5 กุมภาพันธ์ 2531
สถานที่เกิด	จังหวัดพัทลุง
ประวัติการศึกษา	ปี 2554 ระดับปริญญาตรี วท.บ.(เกษตรศาสตร์) ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนผู้ช่วยนักวิจัย ของศูนย์วิทยาการขั้นสูงเพื่อเกษตรและอาหาร
ประชุมวิชาการ/ผลงาน	**ประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 10** เรื่อง ศักยภาพของเชื้อรา *Trichoderma harzianun* ในการเพิ่มผลผลิตและลดเมล็ดด่างของข้าวในแปลงนาเกษตรกร **ประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 11** เรื่อง การลดโรคกาบใบแห้งและเพิ่มผลผลิตของข้าวโดยการใช้แบคทีเรียเอื้อประโยชน์ **ประชุมวิชาการงานนานาชาติใน The International Conference on Tropical and Subtropical Plant Diseases** เรื่อง Screening of Antagonistic Bacteria from Rice Rhizosphere Soil for Mycelial Growth Inhibition of Rhizoctonia Sheath Blight Fungus on Rice **การประชุมวิชาการข้าวแห่งชาติ ครั้งที่ 2"มิติใหม่วิจัยข้าวไทย พร้อมรับการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ และการเปิดตลาดเสรีอาเซียน"** เรื่อง การลดโรคกาบใบแห้งและการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโดยแบคทีเรียปฏิปักษ์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์