



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

ปริญญา

โรคพืช

สาขา

โรคพืช

ภาควิชา

เรื่อง การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ เพื่อเพิ่มผลผลิตและลด โรคเมล็ดดำของข้าว

Screening of Antagonistic Bacteria for Increasing Yield and Reducing Dirty Panicle of Rice

นามผู้วิจัย นางสาวนิชากร แซ่ตั้ง

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์จิระเดช แจ่มสว่าง, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์วรรณวิไล อินทนู, วท.ศ.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์พิศสุวรรณ เจียมสมบัติ, Dr.Agr.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา วีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ เพื่อเพิ่มผลผลิตและลดโรคเมล็ดดำของข้าว

Screening of Antagonistic Bacteria for Increasing Yield and Reducing Dirty Panicle of Rice

โดย

นางสาวนิชากร แซ่ตั้ง

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

พ.ศ. 2553

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นิชากร แซ่ตั้ง 2553: การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ เพื่อเพิ่มผลผลิตและลดโรคเมล็ดต่างของข้าว
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาโรคพืช ภาควิชาโรคพืช อาจารย์ที่ปรึกษา
วิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์จรูญเดช แจ่มสว่าง, Ph.D. 79 หน้า

โรคเมล็ดต่างเป็นโรคสำคัญของข้าว ที่ทำให้ผลผลิตและคุณภาพของข้าวลดลง โดยสามารถตรวจพบเชื้อราสาเหตุโรคกว่า 6 ชนิดบนเมล็ดข้าวที่แสดงอาการเมล็ดต่าง การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อแยก คัดเลือก และทดสอบเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการเพิ่มผลผลิตและลดโรคเมล็ดต่างของข้าว จากการเพาะเมล็ดข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ผ่านการแช่ในปุ๋ยอินทรีย์น้ำ น้ำจากนาข้าว น้ำผสมด้วยปุ๋ยหมัก และน้ำผสมด้วยปุ๋ยหมักใบไผ่แห้งที่ได้มาจากมูลนิชีข้าวขวัญ จังหวัดสุพรรณบุรี บนกระดาดเพาะที่มีความชื้นเป็นเวลา 7 วัน ได้เมล็ดข้าวที่งอกเพื่อนำไปแยกเชื้อจากรากข้าวบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียที่เจริญครอบครองรากได้ 49 ไอโซเลท เมื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Helminthosporium oryzae*, *Trichoconis padwickii* และ *Curvularia lunata* สาเหตุโรคเมล็ดต่างของข้าว บนอาหาร PDA ในห้องปฏิบัติการ โดยเปรียบเทียบกับเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากพืชชนิดอื่นๆ จำนวน 6 ไอโซเลท พบเชื้อแบคทีเรีย 8 ไอโซเลทที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง ในจำนวนนี้บางสายพันธุ์สามารถส่งเสริมการเจริญของยอดและรากต้นกล้าข้าว และมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเมล็ดต่างในแปลงปลูก เชื้อแบคทีเรีย 5 ไอโซเลทได้รับการพัฒนาจนได้สายพันธุ์กลายที่ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ 100 ppm นำเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์กลายที่ยังคงประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคทั้ง 3 ชนิด และสายพันธุ์ดั้งเดิมไปพัฒนาเป็นสูตรสำเร็จชนิดผง ก่อนนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเมล็ดต่างในแปลงปลูกข้าว เปรียบเทียบกับการใช้เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย โดยแช่เมล็ดข้าวก่อนปลูก และพ่นลงบนรวงข้าวรวม 2 ครั้ง พบว่ากรรมวิธีที่ใช้ผงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์กลาย ไอโซเลท SBn07-M4 ให้ผลผลิตต่อกอสูงที่สุด (100.34 กรัม/กอ) รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ใช้เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์ BB165 (97.68 กรัม/กอ) และสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค (77.55 กรัม/กอ) อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อตรวจเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีและเมล็ดต่าง พบว่ากรรมวิธีที่ใช้ผงเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลายไอโซเลท CG06-M6 และ BB165-M3 มีประสิทธิภาพในการเพิ่มเปอร์เซ็นต์เมล็ดดี และลดเปอร์เซ็นต์เมล็ดต่างได้ดีกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีประสิทธิภาพเทียบเท่ากรรมวิธีที่ใช้สารเคมี propiconazole+difenoconazole 30% EC (อามูเร) เมล็ดต่างที่เก็บเกี่ยวได้จากกรรมวิธีที่ใช้ผงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์กลายไอโซเลท SBn07-M4 มีเปอร์เซ็นต์การงอก การเจริญเติบโตของยอดและรากต้นกล้าข้าวดีกว่าเมล็ดต่างที่เก็บเกี่ยวได้จากกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกและไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค และมีคุณภาพเทียบเท่ากับกรรมวิธีที่ใช้เมล็ดดีจากกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค

Nichakorn Saetang 2010: Screening of Antagonistic Bacteria for Increasing Yield and Reducing Dirty Panicle of Rice. Master of Science (Agriculture), Major Field: Plant Pathology, Department of Plant Pathology. Thesis Advisor: Associate Professor Chiradej Chamswarn, Ph.D. 79 pages.

Dirty panicle is the important disease of rice which causes the reduction of rice yield and quality. At least six plant pathogenic fungi were detected from dirty panicle infected rice seeds. This study was aimed at the isolation, screening and selection of antagonistic bacteria which effectively increased yield and reduced dirty panicle disease of rice. Rice seeds of Chainat 1 variety were soaked in liquid compost, rice field natural water, a water-mix of compost and a water-mix of dried bamboo leaf compost, obtained from Khao Khawn foundation in Suphan Buri, and incubated for 7 days on moisten blotter paper. Forty-nine isolates of root colonizing bacteria (RCB) were isolated from the roots of germinating rice seeds on potato dextrose agar (PDA). All RCB isolates and six bacterial isolates obtained from other sources were tested *in vitro* for the efficacy to inhibit mycelial growth of *Helminthosporium oryzae*, *Trichoconis padwickii* and *Curvularia lunata*, the causal agents of rice dirty panicle on PDA. Result showed that eight bacterial isolates inhibited mycelial growth of three pathogens of rice. Some isolates promoted shoot and root growth of rice seedlings and controlled dirty panicle disease under field condition. Five selected bacterial isolates were developed for resistance to 100 ppm rifampicin antibiotic. Mutant bacterial isolates with remained antagonistic activity against three dirty panicle pathogens and wild type strains were developed as powder formulations and then were tested for the control of dirty panicle disease under field condition. Rice seeds were soaked in the suspension prepared from powder formulation compared with bacterial cell suspension before sowing and followed by two spraying applications on rice panicles. The results revealed that powder formulation of mutant isolate SBn07-M4 and cell suspension of *Bacillus amyloliquefaciens* strain BB165 provided higher yield with 100.34 and 97.68 g/hill, respectively, which were significantly higher than the yield from pathogens inoculated control (77.55 g/hill). The treatments using powder formulation of mutants of *B. amyloliquefaciens* isolates CG06-M6 and BB165-M3 significantly increased the percentages of fertile seeds, while reduced the dirty panicle seeds when compared with the pathogens inoculated control. The efficacies of these isolates were comparable to the use of propiconazole+difenoconazole 30% EC (Armure). The dirty panicle seeds derived from the treatment of mutant bacterial isolate SBn07-M4 provided the seed germination, seedling height and root lengths better than the use of dirty panicle seeds obtained from the pathogens inoculated and non-inoculated control. Moreover, quality of dirty panicle seeds from this mutant isolate was comparable to the fertile seeds derived from non-pathogen inoculated control.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ รศ. ดร. จิระเดช แจ่มสว่าง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
ที่กรุณาให้คำปรึกษาเกี่ยวกับงานวิจัย การดำเนินชีวิต และตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์

กราบขอบพระคุณ ผศ. ดร. วรรณวิไล อินทนู อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณา
ให้คำปรึกษา กำลังใจและแนะแนวทางในการทดลองมาโดยตลอด

กราบขอบพระคุณ ดร. จินตนา อันอาดมิ่งงาม ประธานการสอบ และ ดร. รัศมี ฐิติเกียรติ
พงศ์ ผู้ทรงคุณวุฒิเป็นอย่างสูงที่กรุณาให้คำแนะนำ ตรวจสอบ ตลอดจนแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้
สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณ คุณพ่อศุภชัย คุณแม่สุดา แซ่ตั้ง ตลอดจนทุกคนในครอบครัวที่คอยเป็น
กำลังใจให้เสมอมา ขอขอบคุณพี่เครือวัลย์ คางงษ์ พี่ๆ เพื่อน และน้องๆ แห่งห้องปฏิบัติการควบคุม
โรคพืชโดยชีวภาพ และเจ้าหน้าที่ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสนทุกท่าน ที่ได้ให้
คำแนะนำ ความช่วยเหลือเอื้อเฟื้อ และเป็นกำลังใจให้ตลอดเวลาในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอมอบแด่ครอบครัว อาจารย์ผู้
ประสาทวิชาความรู้ ตลอดจนผู้มีพระคุณทุกท่านที่ได้ให้การสนับสนุน และเป็นกำลังใจตลอดมาจน
สำเร็จการศึกษา

นิชากร แซ่ตั้ง

เมษายน 2553

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	(5)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	17
ผลและวิจารณ์	26
ผล	26
วิจารณ์	60
สรุปและข้อเสนอแนะ	64
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	66
ภาคผนวก	74
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	79

สารบัญตาราง

ตารางที่	เนื้อหา	หน้า
1	เชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากรากของข้าวอายุ 7 วัน ซึ่งเพาะจากเมล็ดข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ผ่านการแช่ในปุ๋ยอินทรีย์น้ำ น้ำจากนาข้าว น้ำผสมด้วยปุ๋ยหมัก และน้ำผสมด้วยปุ๋ยหมักใบไม้	26
2	ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา <i>Helminthosporium oryzae</i> , <i>Trichoconis padwickii</i> และ <i>Curvularia lunata</i> บนอาหาร potato dextrose agar (PDA)	28
3	อิทธิพลของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อการส่งเสริมการเจริญของยอด และรากต้นกล้าข้าว ซึ่งแช่เมล็ดข้าวในน้ำเปล่า 1 คืน แล้วนำไปแช่ต่ออีกในเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ เป็นเวลา 30 นาที ก่อนบ่มเมล็ดข้าวในห่อผ้าชื้นเป็นเวลา 7 วัน	31
4	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักผลผลิตทั้งหมด น้ำหนักผลผลิตต่อรวง และน้ำหนักของเมล็ดต่อ 1,000 เมล็ด ภายใต้สภาพการเกิดโรคเมล็ดต่างตามธรรมชาติ เมื่อข้าวอายุ 117 วัน	35
5	เปอร์เซ็นต์เมล็ดดี เมล็ดต่างและเมล็ดลีบที่ได้จากการสุมเมล็ดข้าวที่เก็บเกี่ยวได้จากต้นข้าวซึ่งปลูกภายใต้สภาพการเกิดโรคเมล็ดต่างตามธรรมชาติ โดยแช่เมล็ดข้าวในเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ก่อนปลูก และพ่นลงบนต้นข้าวรวม 2 ครั้ง เมื่อข้าวอายุ 90 และ 97 วัน	36
6	ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา <i>Helminthosporium oryzae</i> , <i>Trichoconis padwickii</i> และ <i>Curvularia lunata</i> บนอาหาร potato dextrose agar (PDA) โดยเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์ดั้งเดิมและสายพันธุ์กลายที่ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin	38
7	ปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สูตรสำเร็จชนิดผงบรรจุในซองฟอยล์ เมื่อเก็บรักษาไว้ในห้องเย็น (10 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 180 วัน	41

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
8	ค่าเฉลี่ยจำนวนต้นข้าวต่อกอ น้ำหนักผลผลิตต่อกอ (น้ำหนักผลผลิตรวม) จำนวนรวงต่อกอ น้ำหนักผลผลิตต่อรวง และน้ำหนักของเมล็ดต่อ 1,000 เมล็ด เมื่อแช่เมล็ดข้าวด้วยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ก่อนปลูก และพ่นลงบนรวงข้าว จำนวน 2 ครั้ง เมื่อข้าวอายุ 80 และ 87 วัน	44
9	เปอร์เซ็นต์เมล็ดดี เมล็ดด่างและเมล็ดลีบ ที่ได้จากการสุมเมล็ดข้าว ซึ่งแช่เมล็ด ข้าวด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ และเชื้อรา <i>Trichoderma harzianum</i> ก่อนปลูก และพ่นลงบนรวงข้าวจำนวน 2 ครั้ง เมื่อข้าวอายุ 80 และ 87 วัน	46
10	ประสิทธิภาพในการเจริญครอบครองราก และผิวเมล็ดข้าวของเชื้อแบคทีเรีย ปฏิปักษ์และเชื้อรา <i>Trichoderma harzianum</i> เมื่อแช่เมล็ดข้าวด้วยจุลินทรีย์ ปฏิปักษ์ก่อนปลูก และพ่นลงบนรวงข้าวจำนวน 2 ครั้ง เมื่อข้าวอายุ 80 และ 87 วัน	49
11	เปอร์เซ็นต์ของเชื้อรา <i>Curvularia lunata</i> , <i>Helminthosporium oryzae</i> และ <i>Trichoconis padwickii</i> ที่เจริญจากผิวเมล็ดข้าวที่แสดงอาการเมล็ดด่าง หลัง พ่นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ลงบนรวงข้าวจำนวน 2 ครั้ง เมื่อข้าวอายุ 80 และ 87 วัน	51
12	อิทธิพลของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์และเชื้อรา <i>Trichoderma harzianum</i> ต่อ เปอร์เซ็นต์การงอก การส่งเสริมการเจริญของยอดและรากต้นกล้าข้าวของ เมล็ดข้าวที่แสดงอาการเมล็ดด่าง หลังพ่นเชื้อลงบนรวงข้าวจำนวน 2 ครั้ง เมื่อ ข้าวอายุ 80 และ 87 วัน	54
13	การเจริญครอบครองรากของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์และเชื้อรา <i>Trichoderma harzianum</i> ที่พ่นลงบนรวงข้าวจำนวน 2 ครั้ง ก่อนเก็บเกี่ยว แล้วนำเมล็ดข้าวที่ แสดงอาการเมล็ดด่างไปปลูกในถาดเพาะเป็นเวลา 7 และ 14 วัน	58

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ประสิทธิภาพเชื้อของแบคทีเรียปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา <i>Helminthosporium oryzae</i> , <i>Trichoconis padwickii</i> และ <i>Curvularia lunata</i> บนอาหาร PDA โดยวิธี Dual culture	29
2	การเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าว เมื่อแช่เมล็ดข้าวด้วยเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะและบ่มไว้ในห่อผ้าชื้นเป็นเวลา 7 วัน	32
3	อิทธิพลของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะต่อการส่งเสริมการเจริญของยอด และรากต้นกล้าข้าว เมื่อแช่เมล็ดข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ในเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ เป็นเวลา 30 นาที ก่อนนำไปบ่มในห่อผ้าชื้นเป็นเวลา 7 วัน	33
4	ประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิชีวนะสายพันธุ์กลายที่ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา <i>Helminthosporium oryzae</i> , <i>Trichoconis padwickii</i> และ <i>Curvularia lunata</i> บนอาหาร PDA โดยวิธี Dual culture	40
5	การเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่างบนผิวเมล็ดข้าวเปลือก	52
6	อิทธิพลของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะและเชื้อรา <i>Trichoderma harzianum</i> ต่อการส่งเสริมการเจริญของยอด และรากต้นกล้าข้าวของเมล็ดข้าวที่แสดงอาการเมล็ดด่าง หลังพ่นเชื้อลงบนรวงข้าวจำนวน 2 ครั้ง ก่อนเก็บเกี่ยว เมื่อต้นข้าวอายุ 7 วัน	56

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

CFU	=	จำนวนโคโลนีต่อหนึ่งหน่วย (colony forming unit)
g	=	กรัม (gram)
ml	=	มิลลิลิตร (milliliter)
NGA	=	อาหารแฉังเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย (nutrient glucose agar)
NGB	=	อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย (nutrient glucose broth)
O.D.	=	ค่าโอดี (Optical Density)
PDA	=	อาหารแฉังเลี้ยงเชื้อรา (Potato dextrose agar)
ppm	=	ส่วนในล้านส่วน (part per million)
μg	=	ไมโครกรัม (microgram)
%	=	เปอร์เซ็นต์

การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ เพื่อเพิ่มผลผลิตและลดโรคเมล็ดต่างของข้าว

Screening of Antagonistic Bacteria for Increasing Yield and Reducing Dirty Panicle of Rice

คำนำ

ข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของไทย มีเนื้อที่เพาะปลูกมากถึง 67 ล้านไร่ ปัจจุบันประสบปัญหาด้านโรค ซึ่งเกิดจากเชื้อสาเหตุหลากหลายชนิดมาโดยตลอด และโรคที่พบเป็นปัญหาสำคัญเกือบทุกแหล่ง โดยเฉพาะพื้นที่ในจังหวัดภาคกลาง โรคหนึ่ง คือ โรคเมล็ดต่างที่เกิดจากเชื้อราสาเหตุจำนวน 6 ชนิดคือเชื้อรา *Helminthosporium oryzae*, *Fusarium semitectum*, *Sarocladium oryzae*, *Cercospora oryzae*, *Trichoconis padwickii* และ *Curvularia lunata* เนื่องจากเมื่อความรุนแรงของโรคเมล็ดต่างเพิ่มขึ้น 1% จะทำให้ผลผลิตของข้าวลดลง 0.646% (พากเพียร และคณะ, 2532) นอกจากนี้ยังทำให้คุณภาพของเมล็ดเสีย โดยพบว่าเมล็ดข้าวที่มีระดับความรุนแรงของโรคเมล็ดต่างมากกว่า 25% ของพื้นที่ผิวเมล็ด มีผลทำให้ความงอก และอายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ข้าวลดลงอย่างรวดเร็ว รวมทั้งการมีเมล็ดพันธุ์ข้าวที่เป็นโรคนี้นั้นรุนแรงกว่า 25% ปนอยู่ในสัดส่วนของปริมาณเกิน 30-50% (ขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าว) มีผลทำให้อายุการเก็บรักษาลดลงเช่นกัน (อัญชลี และคณะ, 2546) และเมื่อนำไปขัดสี จะได้เมล็ดข้าวที่มีคุณภาพต่ำ และแตกหักง่าย จึงขายข้าวเปลือกได้ในราคาต่ำ นอกจากนี้เชื้อราสาเหตุโรคยังแพร่ระบาดโดยสปอร์ของเชื้อราปลิวไปกับลม หรือติดไปกับเมล็ดพันธุ์ข้าวได้ ซึ่งก่อให้เกิดโรคในการปลูกฤดูต่อไป (ฤกษ์, 2522)

เกษตรกรมักแก้ปัญหาโรคนี้ด้วยการพ่นสารเคมีควบคุมเชื้อรา แต่ปัจจุบันกระแสการผลิตข้าวอินทรีย์เพื่อการส่งออกและเพื่อบริโภคภายในประเทศ รวมถึงวิกฤตเศรษฐกิจที่ชาวนาต้องลดต้นทุนการผลิต โดยงดเว้นการใช้สารเคมีที่มีราคาแพง ประกอบกับเกษตรกรหันมาสนใจวิถีชีวภาพ และมีความต้องการใช้ชีวภัณฑ์ที่หลากหลายเพื่อทดแทนสารเคมี จึงมีงานวิจัยและพัฒนาชีวภัณฑ์หลายชนิดเพื่อใช้ควบคุมโรคข้าว ในประเทศไทยมีงานวิจัยการใช้เชื้อรา *Trichoderma* sp. และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ควบคุมโรคของข้าว ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าสามารถเพิ่มผลผลิตและลดโรคเมล็ดต่าง เมล็ดดิบได้ (จิระเดช และคณะ, 2548) และได้มีการพัฒนาประสิทธิภาพของเชื้อราไตรโคเดอร์มาโดยการฉายรังสีแกมมา เพื่อให้ต้านทานต่อสารเคมี แล้วนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเมล็ดต่างในแปลงนา พบว่าเชื้อราไตรโคเดอร์มาสายพันธุ์กลายดังกล่าว สามารถ

เพิ่มผลผลิต และลดโรคเมล็ดด่างของข้าวได้ (จิระเดช และ วรณวิไล, 2550) นอกจากนี้ มานะ และคณะ (2536) ได้แยกแบคทีเรีย *Bacillus* spp. จากธรรมชาติ และพบว่าเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวสร้างสารปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคข้าวหลายชนิด เช่น เชื้อรา *Rhizoctonia solani* สาเหตุโรคกาบใบแห้ง รวมถึงเชื้อรา *C. lunata* สาเหตุโรคเมล็ดด่างของข้าวได้ ซึ่งเชื้อแบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่มีการศึกษา แนะนำให้ใช้ในการควบคุมโรคต่างๆ ทั้งในและต่างประเทศเป็นจำนวนมาก เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ที่เจริญได้รวดเร็ว สร้างปฏิชีวนสารได้หลายชนิด และปรับตัวได้ง่ายในสภาพแวดล้อม ซึ่งถ้าสามารถคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนมาประยุกต์ใช้ร่วมกับเชื้อราไตรโคเดอร์มาได้ อาจเป็นแนวทางหนึ่งที่จะช่วยให้เกษตรกรควบคุมโรคข้าวได้มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น อีกทั้งยังอาจช่วยลดปัญหาการสะสมของมลพิษในสภาพแวดล้อมจากการใช้สารเคมี ลดปัญหาการดื้อต่อสารเคมีควบคุมโรคของเชื้อ และลดต้นทุนการผลิตข้าวได้ด้วย ดังนั้นการศึกษาค้นคว้าวิจัยมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการลดโรคเมล็ดด่าง และเพิ่มผลผลิตของข้าว

วัตถุประสงค์

1. เพื่อคัดเลือก และทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *Helminthosporium oryzae*, *Trichoconis padwickii* และ *Cuvularia lunata* สาเหตุโรคเมล็ดดำของข้าว ในระดับห้องปฏิบัติการ
2. เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียประยุกต์ในการลดโรคเมล็ดดำของข้าวในสภาพแปลงปลูกข้าว



การตรวจเอกสาร

มนุษย์รู้จักบริโภคข้าวและปลูกข้าวเป็นอาหารหลักเป็นเวลานานนับพันปีมาแล้ว และเชื่อว่าถิ่นกำเนิดของข้าวน่าจะอยู่ทางตะวันตกเฉียงใต้ของภูเขาลิมาลัยในประเทศอินเดีย ประเทศในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และแอฟริกา เพราะมีรายงานพบข้าวหลายชนิดในบริเวณเหล่านี้

ข้าวที่ปลูกเป็นอาหารของมนุษย์มีอยู่ 2 ชนิด คือ *Oryza sativa* ซึ่งปลูกมากในเอเชีย และ *O. glaberrima* ที่ปลูกมากในแอฟริกาตะวันตก ข้าวทั้ง 2 ชนิดนี้ต่างกันว่าข้าวแอฟริกาไม่มีการแตกกระแงที่สองจากกระแงแรกของรวงข้าว ในปัจจุบันข้าวเอเชียได้รับความนิยม และมีผู้นำไปปลูกแทนข้าวแอฟริมากมากขึ้น ข้าวเอเชียที่ปลูกกันในปัจจุบันแบ่งเป็น 3 พวกคือ

1. อินดิกา (Indica) มีเมล็ดยาวเรียวยาว ผลผลิตค่อนข้างต่ำ ทนร้อนต่อปุ๋ยน้อย แต่ปรับตัวเข้ากับสิ่งแวดล้อมได้ดี ปลูกมากในเขตร้อนของทวีปเอเชีย เช่น ไทย ฟิลิปปินส์ กัมพูชา และอินเดีย
2. จาปอนิกา (Japonica) มีเมล็ดป้อมสั้น ผลผลิตสูง ทนร้อนต่อปุ๋ยสูง ปลูกมากในเขตกึ่งร้อน หรืออบอุ่น เช่น ญี่ปุ่น เกาหลี และจีนตอนเหนือ
3. จาวานิกา (Javanica) มีเมล็ดค่อนข้างป้อมอ้วน ผลผลิตต่ำ ปลูกมากในอินโดนีเซีย และพม่า (นพพร และคณะ, 2542)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของข้าว (ชาญ, 2536; นพพร และคณะ, 2542)

ราก: รากของข้าวมีหน้าที่ยึดลำต้นให้ตั้งตรง และหาอาหารไปเลี้ยงลำต้น รากของข้าวเป็นแบบระบบรากฝอย (fibrous root system) เมื่อนำเมล็ดข้าวที่ผ่านระยะพักตัวแล้ว แช่น้ำไว้ 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาหุ้ม (incubation) อีก 48 ชั่วโมง สิ่งแรกที่งอกออกมาจากเมล็ดข้าวด้านติดกับก้านดอกตรงงอกข้าว (คัพพะ) คือ รากอ่อน หรือรากแรกกำเนิด (radicle) จากนั้นอีก 12-24 ชั่วโมง จะเห็นยอดอ่อน (plumule) งอกออกมาจากด้านตรงข้ามของงอกข้าว เมื่อข้าวเจริญเติบโตขึ้นเรื่อยๆ นั้น รากฝอยจะเริ่มเกิดขึ้น โดยงอกมาจากข้อถี่ต่างๆ เรียกว่า adventitious root ส่วนการเจริญเติบโตและการกระจายตัวของรากข้าวนั้น ขึ้นอยู่กับการเตรียมดิน และวิธีการปลูก

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

ใบ: ใบข้าว มีลักษณะแบนบาง ขาว แฉก อาจอโค้ง หรือตั้งตรง มีกำเนิดจากข้อในทิศทางสลับกัน ตรงข้ามกัน ประกอบด้วย กาบใบ (leaf sheath) ซึ่งก็คือก้านใบ (peduncle) ที่เปลี่ยนรูปมาเป็นส่วนที่ห่อหุ้มข้อ และปล้อง ไม่มีเส้นกลางใบ ส่วนที่ติดกับปลายกาบใบคือแผ่นใบ (leaf blade) มีส่วนปลายคล้ายหอก มีเส้นกลางใบชัดเจน ตรงรอยต่อระหว่างกาบใบและตัวใบมีลักษณะคล้ายรอยพับเรียกว่า ข้อต่อใบ (collar) ทำมุมทแยงยื่นออกไปจากลำต้น ที่ข้อต่อจะมีเยื่อถักน้ำฝนหรือลิ้นใบ (ligule) มีลักษณะเป็นเยื่อบางใส อาจมีสีชมพูอ่อนหรือสีม่วง ใกล้เคียงกับเยื่อถักน้ำฝนตรงรอยต่อ ส่วนที่ติดกับกาบใบจะเห็นเขี้ยวใบ (auricle) มีลักษณะคล้ายทางมะพร้าวสีขาวอมชมพูอ่อน ซึ่งจะใช้ลักษณะของเขี้ยวใบและเยื่อถักน้ำฝนในการแยกข้าวออกจากต้นหญ้า โดยหญ้าจะไม่มีเขี้ยวใบ

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

รวง: รวงข้าว คือ ช่อดอก (inflorescence) ของข้าวเกิดที่ปล้องสุดท้าย ระยะตั้งแต่ข้อของปล้องสุดท้ายลงมาถึงกาบของใบธง เรียกว่า คอรวง ข้าวพันธุ์ต่างๆ จะมีคอรวงสั้นยาวต่างกันออกไป แกนรวง (panicle axis) เกิดขึ้นที่ข้อของปล้องสุดท้าย และมีข้อ ซึ่งข้อเหล่านี้จะเป็นที่เกิดของแขนงปฐมภูมิ (primary branch) และแขนงทุติยภูมิ (secondary branch) ก็มีกำเนิดมาจากข้อแขนงปฐมภูมิ ซึ่งเป็นที่เกิดก้านดอก (panicle) และดอกข้าว (spikelet) ระยะระหว่างก้านดอกเรียกว่า ระแงะ ข้าวพันธุ์ที่มีระแงะถี่ จะมีผลผลิตสูงกว่าพันธุ์ที่มีระแงะห่าง

ดอก: ดอกข้าว เป็นดอกสมบูรณ์เพศ (perfect flower) ลักษณะเป็นช่อแบบ panicle ดอกข้าวจะบานในตอนเช้า การผสมเกสรภายในดอกจะเกิดขึ้นก่อนที่ดอกข้าวบาน ปกติดอกข้าวจะบานหลังจากที่ช่อดอกโผล่พ้นใบธงได้ 24-48 ชั่วโมง โดยจะเริ่มบานจากปลายช่อดอกมาหาโคนใช้เวลา 5-7 วัน จึงบานครบทุกดอก หลังผสมเกสรประมาณ 30 วัน ข้าวจะสุกแก่พร้อมเก็บเกี่ยว

เมล็ด: เมล็ดข้าวที่สุกแก่แล้ว ส่วนภายนอกเป็นเปลือก (hull) ห่อหุ้มส่วนภายในที่เรียกว่า ข้าวกล้อง (brown rice grain) ชั้นนอกสุดของข้าวกล้องเป็นเยื่อบางๆ (pericarp layer) สีนํ้าตาลอ่อน เชื่อมติดกับเปลือกหุ้มเมล็ดชั้นใน (seed coat) ถัดเข้าไป คือ nucellus และ aleurone layer ซึ่งเป็น ส่วนที่ห่อหุ้มแป้ง (endosperm) และจุมูกข้าว (embryo) ส่วนของจุมูกข้าวนี้จะเจริญเป็นรากและต้น ข้าว ส่วนแป้งซึ่งเป็นส่วนที่มนุษย์บริโภค จะเป็นอาหารของต้นอ่อนในระยะที่เมล็ดข้าวเริ่มงอก

สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญของข้าว (ชาญ, 2536; นพพร และคณะ, 2542)

สภาพพื้นที่ดิน: ดินที่เหมาะสมต่อการปลูกข้าวควรมีความสามารถในการอุ้มนํ้าได้ดี มีธาตุอาหารหลักที่เป็นประโยชน์แก่ข้าวมากพอ มีค่าความเป็นกรดเป็นด่าง 5.0-6.5 และมีอินทรีย์วัตถุไม่น้อยกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ ควรเป็นดินที่มีหน้าดินลึก 30-50 เซนติเมตร ประกอบไปด้วยอนุภาคดินเหนียวไม่ต่ำกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ เพราะหลังจากการไถและคราด ส่วนหนึ่งของอนุภาคนี้อจะตกตะกอนกลายเป็นชั้นดินดาน ช่วยลดการไหลซึมของนํ้าที่กักเก็บไว้ในนํ้า และดินเหนียวยังสามารถอุ้มนํ้าได้ดี

ความอุดมสมบูรณ์ของนํ้า: การให้นํ้าแก่ต้นข้าวมากเกินไปไม่เป็นผลดีต่อต้นข้าว เพราะจะทำให้ดินขาดออกซิเจน การปล่อยให้ข้าวขาดนํ้าบ้างเป็นระยะๆ จะช่วยเพิ่มออกซิเจนให้แก่รากข้าว และช่วยลดสารพิษลง นอกจากนี้ยังทำให้ความชื้นรอบต้นข้าวสูงเหมาะต่อการแพร่กระจายของโรคและแมลง สถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (IRRI) ได้แนะนำว่าการรักษาระดับนํ้าให้สูงประมาณ 5 เซนติเมตร ตลอดฤดูปลูกจะได้ผลผลิตสูงกว่าที่ระดับนํ้า 15-20 เซนติเมตร เพราะหลังปักดำต้นข้าวเจริญได้ดีกว่า และมีปูนาเข้าทำลายน้อยกว่า เนื่องจากกลางวันนํ้าจะร้อน

สภาพอากาศ: ความผันแปรของภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลงไปตามวัน เวลา และสถานที่ เป็นปัจจัยธรรมชาติที่มีผลต่อการปลูกข้าวเป็นอย่างมาก ซึ่งแบ่งได้ดังนี้

ปริมาณและการกระจายของนํ้าฝน: เป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อผลผลิตของข้าว โดยเฉพาะการทำนาแบบข้าวไร่ โดยปกติข้าวต้องการนํ้าฝนตลอดฤดูปลูกไม่น้อยกว่า 1,200 มิลลิเมตร แต่ถ้าในพื้นที่นั้นมีฝนตกเกือบทุกๆ 3-4 วัน รวมวันที่ฝนตกมากกว่า 15 วันต่อ 1 เดือน แม้ว่าจะมีปริมาณนํ้าฝนรวมไม่ถึง 900 มิลลิเมตร ก็จะไม่ทำให้ผลผลิตของข้าวลดลง

พลังงานรังสีจากดวงอาทิตย์: มีความจำเป็นต่อกระบวนการสังเคราะห์แสง หรือการสร้างอาหารของพืช โดยความยาวคลื่นที่เหมาะสม คือระหว่าง 380-720 นาโนเมตร เป็นช่วงความยาวคลื่นที่มองเห็นได้

ความยาวของแสงในแต่ละวัน: มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของข้าว เพราะมีผลต่อปริมาณพลังงานแสงที่พืชได้รับรวมต่อวัน

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

ความชื้น: แม้ว่าจะมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของข้าวน้อย แต่มีผลต่อการแพร่กระจายของโรค โดยถ้ามีความชื้นสูง จะส่งผลให้เชื้อราและแบคทีเรียบางชนิดแพร่กระจายได้อย่างรวดเร็ว ซึ่งมีผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโต และผลผลิตของข้าว

ลม: นอกจากจะช่วยระบายความร้อนและความชื้นที่มากเกินไปออกจากแปลงนา ซึ่งจะทำให้การระบาดของโรคและแมลงบางชนิดลดลงแล้ว ยังช่วยรักษาระดับของคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสง ทำให้การสร้างอาหารของข้าวเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตามถ้าลมแรงเกินไปอาจทำให้ใบข้าวฉีกขาด ต้นข้าวล้ม รวงแห้ง การผสมเกสรล้มเหลว รวมถึงการสร้างและสะสมอาหารหยุดชะงัก

ข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญต่อสังคมไทย ไม่เพียงแต่เป็นแหล่งอาหารที่ทำให้คาร์โบไฮเดรตประจำวันเท่านั้น ยังส่งไปจำหน่ายในตลาดต่างประเทศ แต่มักประสบปัญหาด้านโรคหลายโรค โดยเฉพาะโรคเมล็ดด่างซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อรา *Helminthosporium oryzae* Breda de Haan., *Cuvularia lunata* (Wak.) Boed., *Fusarium semitectum* Berk & Rav., *Sarocladium oryzae* Sawada., *Cercospora oryzae* I. Miyake, และ *Trichoconis padwickii* Ganguly (ดารา และคณะ, 2545) เป็นโรคที่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตของข้าว ตลอดจนคุณภาพของข้าวสาร ซึ่งโรคนี้มักจะเป็นรุนแรงกับข้าวพันธุ์ไม่ต้านทาน โดยเฉพาะข้าวที่ปลูกในฤดูนาปรัง ในระยะข้าวออกดอก

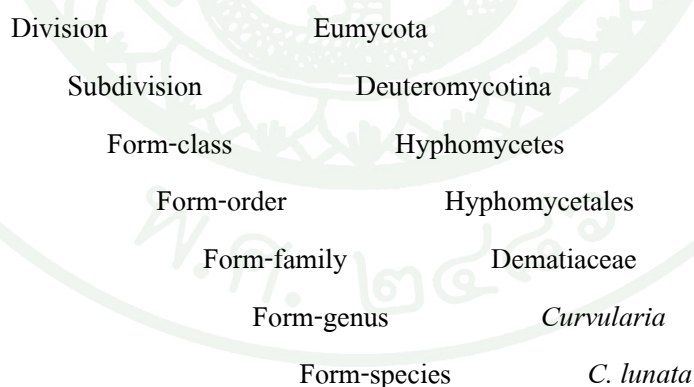
มีอากาศร้อนในช่วงบ่าย และมีฝนตกชุกในช่วงเย็น และคำ ทำให้สภาพความชื้นในแปลงนาสูง เหมาะสมต่อการเข้าทำลายของเชื้อราดังกล่าว (เอกสงวน, 2547)

ลักษณะอาการ

รวงข้าวที่ถูกทำลายโดยเชื้อราจะมีอาการแตกต่างจากโรคไหม้คอรวงตรงที่คอรวงไม่มีอาการแผลสีเทา คอรวงไม่หัก และเมล็ดไม่ลีบหมด รวงข้าวที่เป็นโรคจะมีทั้งเมล็ดเต็มและเมล็ดลีบ บนเมล็ดมีจุดสีน้ำตาลดำ บางเมล็ดก็มีลายสีน้ำตาลทั้งเมล็ด บางเมล็ดลีบ และมีสีเทาอมชมพูทั้งเมล็ด ทั้งนี้เนื่องจากมีเชื้อหลายชนิดที่สามารถเข้าทำลาย และทำให้เกิดอาการบนเมล็ดแตกต่างกันไป การเข้าทำลายของเชื้อรามักเกิดในช่วงดอกข้าวเริ่มโผล่จากกาบหุ้มรวง จนถึงระยะเมล็ดข้าวเริ่มเป็นนํ้านม หรือกำลังสุก หลังจากนั้น 2-3 สัปดาห์ หรือระยะใกล้เก็บเกี่ยว อาการเมล็ดต่างจะปรากฏเด่นชัด (สมคิด, 2532; ดารา และคณะ, 2545)

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Curvularia lunata*, *Trichoconis padwickii* และ *Helminthosporium oryzae*

เชื้อรา *C. lunata* สามารถจำแนกกลุ่ม และเรียงลำดับได้ดังนี้ (วิชัย, 2551)



เชื้อรา *Curvularia* spp. สร้าง conidium ที่มี 3-5 เซลล์ รูปร่างโค้ง เซลล์ตรงกลางมีสีเข้มกว่า เซลล์หัวท้าย เกิดบนก้าน conidiophore สีเข้ม ไม่แตกแขนง แต่อาจมีการ proliferation ออกทางด้าน ใกล้ส่วนปลาย ทำให้สร้างสปอร์เพิ่มขึ้นได้อีก และก้าน conidiophore มีลักษณะเป็นข้อหัก (geniculate) พบทั้งที่เป็น parasite ของพืช ทำให้เกิดจุดแผลบนใบและเป็น saprobe ในดิน

เชื้อรา *H. oryzae* สามารถจำแนกกลุ่ม และเรียงลำดับได้ดังนี้ (วิชัย, 2551; Ellis, 1971; Sivanesan, 1987)

Division	Eumycota
Subdivision	Deuteromycotina
Form-class	Hyphomycetes
Form-order	Hyphomycetales
Form-family	Dematiaceae
Form-genus	<i>Helminthosporium</i>
Form-species	<i>H. oryzae</i>

โคโลนีของเชื้อรา *Helminthosporium* บน PDA อายุ 7 วัน เจริญอย่างรวดเร็วมีการแผ่ขยาย สีเทาหรือดำ เส้นผ่าศูนย์กลาง 8.5 เซนติเมตร ด้านใต้อาหารมีสีดำ สร้างสปอร์น้อย conidiophore เกิดเดี่ยวๆ หรือเกิดเป็นกลุ่ม มีลักษณะตรงหรือโค้งงอ สีน้ำตาลอ่อนจนถึงสีน้ำตาล ผนังเรียบยาวถึง 600 ไมโครเมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 4-8 ไมโครเมตร บริเวณปลาย conidiophore มีการหักแบบ geniculate conidia ส่วนใหญ่รูปร่าง fusiform หรือ obclavate จนถึง cylindrical ลักษณะค่อนข้างโค้ง ขนาดสปอร์ 65x153x14-22 ไมโครเมตร สีน้ำตาลอ่อนจนถึงสีน้ำตาลทอง ผนังเรียบมี 6-14 pseudosepta พบการงอกจากเซลล์หัวท้าย (bipolar germination)

เชื้อรา *T. padwickii* สามารถจำแนกกลุ่ม และเรียงลำดับได้ดังนี้ (วิชัย, 2551)

Division	Eumycota
Subdivision	Deuteromycotina
Form-class	Hyphomycetes
Form-order	Hyphomycetales
Form-family	Dematiaceae
Form-genus	<i>Trichoconis (Alternaria)</i>
Form-species	<i>T. padwickii</i>

เชื้อรา *Trichoconis (Alternaria)* spp. สร้าง conidiophore สีเข้มไม่แตกกิ่งก้าน อาจมีการ proliferation ออกด้านข้างได้จุดที่ให้กำเนิดสปอร์ conidium มีสีเข้ม จัดอยู่ในพวก porospore และ

เป็น dictyospore มีรูปร่างรูปไข่จนถึง obclavate หรือทรงกระบอก สปอร์อันแรกเกิดที่ปลายก้าน conidiophore และสามารถทำหน้าที่เป็น conidiophore โดยสร้างรูที่ปลายของสปอร์ และให้กำเนิด สปอร์อันต่อไป ต่อกันเป็นลูกโซ่ยาว สปอร์อาจมีส่วนปลายเรียวยาวเป็น beak พบทั้งที่เป็น parasite ของพืช และ saprobe

การควบคุมโรคเมล็ดต่าง และเชื้อราสาเหตุของโรค

การควบคุมโดยวิธีทางเคมี

เนื่องจากปัจจุบันยังไม่มีพันธุ์ข้าวที่ต้านทานต่อโรคเมล็ดต่าง ดังนั้นการป้องกันโรคนี้จึง ควรคัดเลือกเมล็ดพันธุ์ที่สะอาด และควรคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสารเคมี เช่น คาร์เบนดาซิม (carbendazim) หรือแมนโคเซบ (mancozeb) และในระยะข้าวกำลังออกรวง หรือออกรวงแล้ว ถ้ามี ฝนตกชุก ควรพ่นด้วยสารเคมีที่ลด โพลีเอ็ก-ซิน เดลซิน-เอ็มเอ็กซ์ ซิลเทน บาวิสติน หรืออีโนซาน หรือเมื่อพบรวงข้าวมีเมล็ดต่างเพียงเล็กน้อย ควรพ่นด้วยสารเคมีโปรพิโคนาโซล เมื่อข้าวตั้งท้อง และระยะออกรวง หรือพ่นสารเคมีคาร์เบนดาซิม เมื่อข้าวออกรวง และหลังพ่นครั้งแรก 7-15 วัน (ดารา และคณะ, 2545; เอกสงวน, 2547)

ปากเพียร และคณะ (2529) ได้ทำการทดลอง พบว่าการพ่นสารเคมี propiconazole 25% EC และ polyoxin Z 2.2% WP ระยะที่รวงข้าวเริ่มโผล่ออกจากกาบหุ้มรวง และระยะข้าวเน่านม (milky stage) ภายใต้อาการเกิดโรคตามธรรมชาติ สามารถควบคุมโรคเมล็ดต่างของข้าวได้

นอกจากนี้ยังพบว่า การใช้สารเคมี propiconazole ร่วมกับ difenoconazole (Armure 30% EC) พ่นต้นข้าวในขณะที่ตั้งท้องใกล้ระยะออกรวง และระยะรวงเริ่มโผล่ได้ 5 เปอร์เซ็นต์ สามารถ ลดความรุนแรงของโรคเมล็ดต่างได้สูงกว่าการใช้สารเคมี propiconazole เพียงอย่างเดียว แต่ไม่ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ปากเพียร และคณะ, 2548)

การควบคุมโดยชีววิธี

จิระเดช และคณะ (2548) ได้รายงานว่าการใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 และ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ B03 แช่เมล็ดข้าวก่อนปลูก และพ่นเชื้อก่อนข้าวออกรวงใน สภาพแปลงปลูกขนาดเล็ก สามารถลดการเกิดโรคเมล็ดต่าง เมล็ดลีบและเพิ่มน้ำหนักผลผลิตได้ จึง

นำเชื้อรา *T. harzianum* มาฉายรังสีแกมมา เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. harzianum* ในการควบคุมโรค พบสายพันธุ์กลายจำนวน 2 สายพันธุ์ คือ 23/03-7 (สายพันธุ์กลายที่ได้จากการฉายรังสีแกมมาครั้งที่ 1) และ 03/7-I34 (สายพันธุ์กลายที่ได้จากการฉายรังสีแกมมาครั้งที่ 2) มีเปอร์เซ็นต์การครอบครองรากสูง และส่งเสริมการเจริญของรากได้ดีในระดับห้องปฏิบัติการ เมื่อนำเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์กลายทั้งสองสายพันธุ์ไปทดสอบประสิทธิภาพในสภาพแปลงนาเปรียบเทียบกับสายพันธุ์เริ่มต้น CB-Pin-01 พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* ทุกสายพันธุ์สามารถเจริญครอบครองรากข้าวได้ทุกระยะการเจริญเติบโต โดยพบการเจริญครอบครองรากได้ทุกส่วน ทั้งโคนราก กลางรากและปลายราก และพบสายพันธุ์กลาย 03/7-I34 ช่วยลดเปอร์เซ็นต์เมล็ดค้างและมีศักยภาพในการเพิ่มผลผลิตของข้าวได้สูงกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (จิระเดช และ วรณวิไล, 2550)

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

อย่างไรก็ตามนอกจากเชื้อราปฏิปักษ์แล้ว ยังพบเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีการนำมาใช้ในการควบคุมโรคอย่างแพร่หลาย เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียมีกลไกในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรค 4 ลักษณะ (นิพนธ์, 2546) ดังนี้

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

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

3. การเป็นปรสิต (Parasitism) เชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็นปรสิต (parasite) สามารถเข้าไปเจริญอาศัยทำลายสิ่งมีชีวิตอื่นนั้นปัจจุบันพบไม่มากนัก และการใช้เพื่อควบคุมโรคพืชยังไม่ประสบความสำเร็จเหมือนกลไกการผลิตสารปฏิชีวนะ แต่ยังมีรายงานการเป็นปรสิตของเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia uredinolytica* ที่เข้าทำลาย pedicel ของสปอร์เชื้อราสนิม (rust) เชื้อแบคทีเรีย

Bdellovibrio bacteriovorus ที่เป็นปรสิตของเชื้อแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *glycinina* สาเหตุโรคใบไหม้ของถั่วเหลือง หรือเชื้อแบคทีเรีย *Pasteuria penetrans* (Syn. *B. penetrans*) ที่เป็นปรสิตของไส้เดือนฝอย *Meloidogyne incognita* สาเหตุโรครากปม (Cook and Baker, 1983) เชื้อแบคทีเรียเหล่านี้ยังไม่ได้ได้รับความสนใจศึกษาปรับปรุงให้เกิดประโยชน์อย่างจริงจัง จึงนับว่าเป็นส่วนหนึ่งที่น่าศึกษาพัฒนานำมาใช้ในการควบคุมโรคต่อไป

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

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

สำหรับเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* นั้นมีรายงานว่าสามารถผลิตสารปฏิชีวนะได้ถึง 65-70 ชนิด (Lee *et al.*, 1985) โดยสารที่ผลิตขึ้นและสามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ ได้แก่ Iturin A, Surfactin (Asaka and Shoda, 1996) bacilysin, fengymycin A และ B (Loeffler *et al.*, 1986) bacliomycin (Chevanet *et al.*, 1986) albulutin, bacillin, fungistatin (Katz and Demain, 1977) รวมทั้งยังสามารถผลิตเอนไซม์ β -glucanase (Fergus and Richard, 1990) chitinase และ β -1,3

glucanase ได้ (Marten *et al.*, 2000) และพบสาร zwittermicin A ซึ่งผลิตโดยเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* (He *et al.*, 1994) นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. thuringiensis* ก็สามารถผลิตเอนไซม์ chitinase ได้เช่นกัน (Reyes-Ramírez *et al.*, 2004)

มานะ และคณะ (2536) ได้แสดงให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่แยกจากธรรมชาติ สามารถผลิตสารปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคข้าวหลายชนิด เช่น เชื้อรา *Rhizoctonia solani* สาเหตุโรคกาบใบแห้ง เชื้อรา *Pyricularia oryzae* สาเหตุโรคไหม้ (blast) และเชื้อรา *C. lunata* สาเหตุโรคเมล็ดค่างของข้าวได้ และจากรายงานในต่างประเทศพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. สายพันธุ์ BC121 ที่แยกจาก rhizosphere ของข้าวฟ่าง สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. lunata* ได้ ซึ่งเมื่อนำไปดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่าผนังของเส้นใยเชื้อรา *C. lunata* ถูกทำลาย โดยเส้นใยเกิดการแตกสลาย (lysis) และเมื่อนำเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. สายพันธุ์ BC121 ไปทดสอบบนอาหารที่มี 0.5% colloidal chitin พบบริเวณใสเกิดขึ้น ดังนั้นเชื้อแบคทีเรียนี้จึงน่าจะมีกลไกการยับยั้งเชื้อรา *C. lunata* โดยการสร้างเอนไซม์ chitinase (Basha and Ulaganathan, 2002)

พากเพียร และคณะ (2550) ได้นำเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ *B. subtilis* No.4, No.9 และ No.33 ที่มีความสามารถในการควบคุมโรคเมล็ดค่างมาใช้ร่วมกัน โดยพ่นเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะจำนวน 3 ครั้ง ในระยะต้นข้าวตั้งท้อง ระยะรวงข้าวเริ่มโผล่ออกจากกาบใบธง 5% และเมื่อต้นข้าวออกรวงแล้วทุกต้นตลอดแปลง พบว่าการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ 2 ไอโซเลท ร่วมกันมีระดับความรุนแรงของโรคเมล็ดค่างต่ำกว่าการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะแบบเดี่ยวๆ และกรรมวิธีควบคุม แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะแบบเดี่ยวๆ

ต่อมาได้นำเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ *B. subtilis* No.33 ที่ผ่านการคัดเลือกมาผลิตเป็นผงเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะแล้วนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเมล็ดค่างของข้าว โดยใช้ร่วมกับสารป้องกันกำจัดโรคพืช carbendazim+epoxiconazole 25% SC หรือ propiconazole 25% EC หรือ propiconazole+difenoconazole 30% EC พบการพ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ *B. subtilis* No.33 ความเข้มข้น 1.6×10^8 CFU/ml ร่วมกับสารป้องกันกำจัดโรคพืช carbendazim+epoxiconazole 25% SC หรือ propiconazole 25% EC หรือ propiconazole+difenoconazole 30% EC ในอัตราสารออกฤทธิ์ครึ่งหนึ่งของอัตราแนะนำ ในระยะตั้งท้องใกล้ออกรวงและระยะรวงข้าวโผล่ได้ 5 เปอร์เซ็นต์ สามารถควบคุมโรคเมล็ดค่างของข้าวในนาได้ดีเท่ากับการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช carbendazim+epoxiconazole 25% SC หรือ propiconazole 25% EC หรือ

propiconazole+difenoconazole 30% EC ในอัตราสารออกฤทธิ์อัตราแนะนำ และรองลงมาคือ กรรมวิธีที่พ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* No.33 ความเข้มข้น 1.6×10^9 CFU/ml และพบว่าทุก กรรมวิธีที่ทำการทดลองสามารถควบคุมโรคเมล็ดต่างให้มีระดับความรุนแรงของโรคต่ำกว่า กรรมวิธีเปรียบเทียบอย่างมีนัยสำคัญ แต่มีผลผลิตของข้าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ปากเพียร และคณะ, 2551)

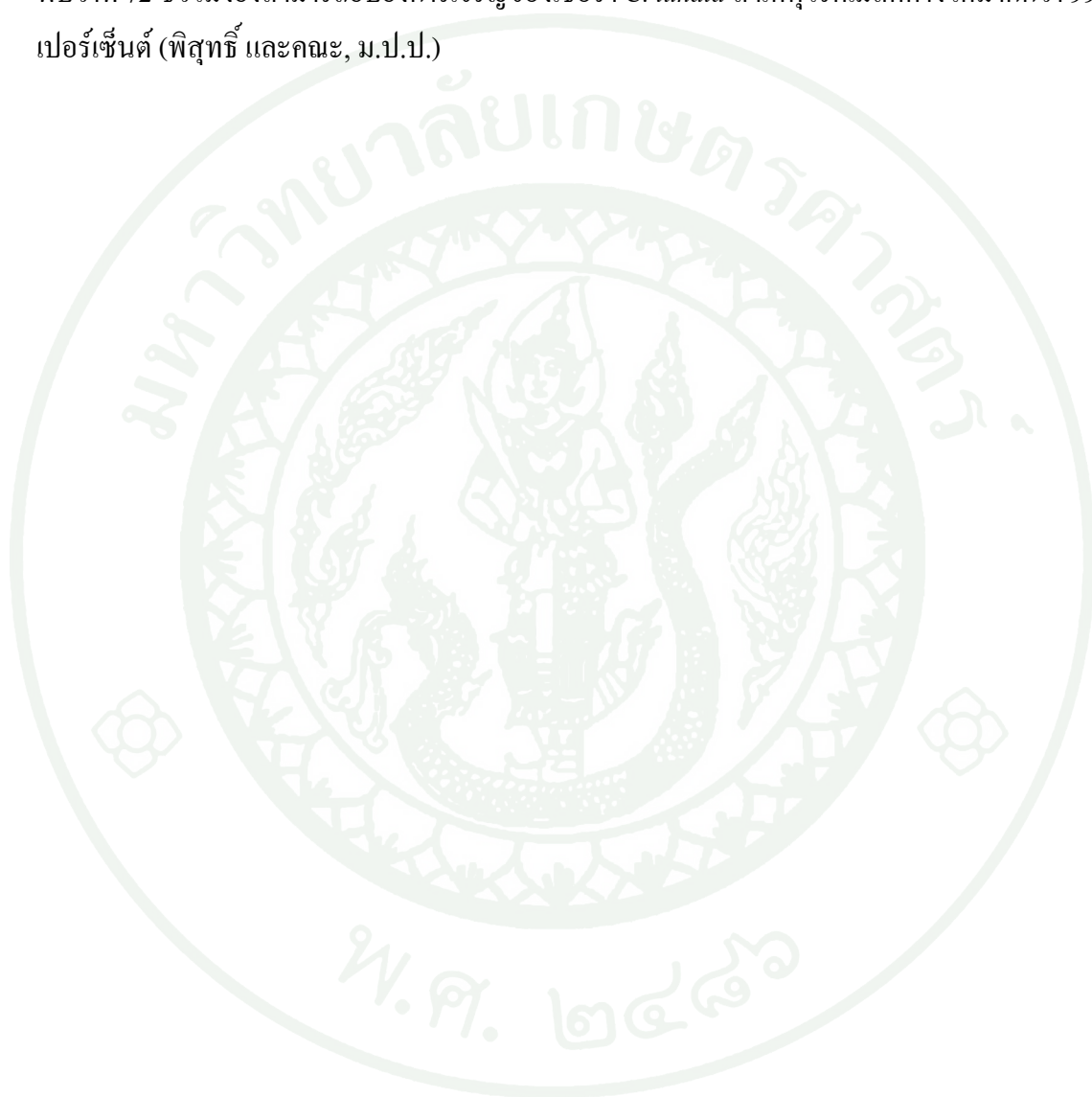
Nanda and Gangopadhyay (1983) ได้นำเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ที่แยกจากดิน มาแช่เมล็ด ข้าวก่อนปลูก และพ่นด้วยเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียดังกล่าว เมื่อข้าวอายุ 30 และ 60 วัน พบว่าสามารถป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อรา *Bipolaris oryzae* สาเหตุโรคใบจุดสีน้ำตาลของข้าว ในระยะต้นกล้า และระยะที่ข้าวแตกกอได้

วิลาวรรณ และ สุธฤดี (2552) ได้แสดงให้เห็นว่าการนำเชื้อแบคทีเรีย *P. fluorescens* SP007s ชนิดผงละลายน้ำที่เก็บไว้นาน 6 เดือน มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเมล็ดต่าง โดยคลุกเมล็ดร่วมกับพ่นใบข้าวจำนวน 3 ครั้ง เมื่อข้าวอายุ 30, 60 และ 90 วันหลังปลูก สามารถ ควบคุมโรคเมล็ดต่างได้ดีเทียบเท่ากับการคลุกเมล็ดร่วมกับการพ่นด้วยสูตรดังกล่าวจำนวน 5 ครั้ง เมื่อข้าวอายุ 15, 30, 45, 60 และ 75 วัน โดยลดการเกิดโรคเมล็ดต่างได้ 81.5% และสามารถยับยั้ง การเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคเมล็ดต่าง ได้แก่ *Alternaria padwickii*, *Cercospora oryzae*, *Curvularia lunata*, *Fusarium semitectum* และ *Helminthosporium oryzae* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ พร้อมทั้งยังสามารถเพิ่มการแตกกอ และปริมาณรวงข้าวส่งผลให้ปริมาณผลผลิตเพิ่มขึ้น 29.2% ซึ่ง ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับการพ่นเชื้อ 5 ครั้ง

นอกจากการนำจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มาใช้ในการควบคุมโรคของข้าวแล้ว ยังพบว่าการใส่ปุ๋ย โปแทสเซียม (0-0-60) ในอัตรา 15 กก.ต่อไร่ เมื่อข้าวอายุ 1 เดือน มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีสูงกว่าการไม่ ใส่ปุ๋ย 15.15% และมีเปอร์เซ็นต์เมล็ดต่างต่อรวงต่ำกว่าการไม่ใส่ปุ๋ย 12.56% ส่วนการใส่ปุ๋ย โปแทสเซียมในปริมาณที่มากเกินไป จะทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเพิ่มขึ้น (วรรณพรรณ และ ปราโมทย์, 2549) แต่ ลือชัย และคณะ (2550) ได้ทำการทดลองและพบว่า การใส่ปุ๋ยโปแทสเซียม- คลอไรด์สามารถลดความรุนแรงของโรคเมล็ดต่างในข้าวพันธุ์ กข9 และคลองหลวง 1 ได้ แต่ไม่มี ผลต่อข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 และสุพรรณบุรี 1

และยังพบว่าสารสกัดจากลำต้นและรากของวัชพืช 5 ชนิด คือ ครอบจักรวาล (*Abutilon* *lidicom* L.) โคลกกระออม (*Cardiospermum nalicaca* Buml.) ชุมเห็ดเทศ (*Cassia alata* L.)

คดหมุดคดหมา (*Paeteria piliera* Hook.) และต้อยติ่ง (*Ruellia tuberosa* L.) ที่สกัดสารด้วยน้ำ อัตราส่วน 1 ต่อ 20 (กรัมน้ำหนักสดต่อมิลลิลิตร) โดยแช่ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 24 ชั่วโมง จากนั้นกรองด้วยผ้าขาวบาง เมื่อนำสารที่สกัดได้มาผสมอาหาร PDA อัตรา 5: 15 (โดยปริมาตร) แล้วนำสปอร์ของเชื้อรา *C. lunata* 50,000 สปอร์มาเกลี่ยบนอาหารดังกล่าว ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าที่ 72 ชั่วโมงยังสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. lunata* สาเหตุโรคเมล็ดดำได้มากกว่า 99 เปอร์เซ็นต์ (พิสุทธิ และคณะ, ม.ป.ป.)



อุปกรณ์และวิธีการ

1. แยกเชื้อแบคทีเรียจากรากข้าว

นำเมล็ดข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 แช่ในน้ำเปล่าเป็นเวลา 15 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่ต่ออีก 1 ชั่วโมง ในปุ๋ยอินทรีย์น้ำ น้ำจากนาข้าว น้ำผสมด้วยปุ๋ยหมัก และน้ำผสมด้วยปุ๋ยหมักใบไม้ จากมูลนิธิข้าวขวัญ จังหวัดสุพรรณบุรี โดยใช้ปุ๋ยอินทรีย์น้ำ 1 มิลลิลิตรต่อน้ำ 200 มิลลิลิตร น้ำจากนาข้าว 1 มิลลิลิตรต่อน้ำ 10 มิลลิลิตร ปุ๋ยหมักผสมน้ำอัตรา 1 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร และปุ๋ยหมักใบไม้ผสมน้ำอัตรา 1 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร นำไปวางบนกระดาษเพาะ (Tissue towel) เป็นเวลา 7 วัน แล้วนำรากข้าวมาแยกเชื้อแบคทีเรีย โดยตัดรากของข้าวให้มีขนาด 1 เซนติเมตร ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษนึ่งฆ่าเชื้อ และอีกกรรมวิธีแช่ด้วย 0.525% sodium hypochlorite เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษนึ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นนำรากข้าวไปวางบนอาหาร nutrient glucose agar (NGA) บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24-72 ชั่วโมง แยกเชื้อจากรากให้ได้โคโลนีเดี่ยวหรือเชื้อบริสุทธิ์ แล้วย้ายลงในหลอดอาหารแข็ง NGA และเก็บไว้ที่ 10 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปทดสอบ

นอกจากนี้การทดลองครั้งนี้ได้คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการควบคุมโรคในพืชต่างๆ อีก 6 ไอโซเลตจากห้องปฏิบัติการควบคุมโรคพืชโดยชีวภาพ ภาควิชาโรคพืช ซึ่งประกอบด้วย WS18 (วราภรณ์, 2545), CG06 (วราภรณ์, 2544), BB133, BB165, BB167 (ประคองและคณะ, 2547) และ TM04 (พราวมาส และคณะ, 2547) มาทดสอบเปรียบเทียบกับเชื้อแบคทีเรียที่แยกจากรากข้าว เพื่อคัดเลือกไอโซเลตที่มีประสิทธิภาพไปใช้ในการควบคุมโรคของข้าวต่อไป

2. การแยกเชื้อรา *Curvularia lunata*, *Trichoconis padwickii* และ *Helminthosporium oryzae* จากเมล็ดข้าว

แยกเชื้อรา *C. lunata*, *T. padwickii* และ *H. oryzae* ด้วยวิธีการเพาะเชื้อที่เมล็ดบนกระดาษชื้น (blotter method) โดยนำเมล็ดข้าวที่แสดงอาการเมล็ดค่าง มาแช่ใน 0.525% sodium hypochlorite นาน 3 นาที เพื่อฆ่าเชื้อที่ติดอยู่บริเวณผิว ล้างด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 2-3 ครั้ง วางเมล็ดข้าวบนกระดาษเพาะเมล็ด (Tissue towel) เติมน้ำให้กระดาษเพาะมีความชื้น ปิดฝากล่อง บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน เติมน้ำลงบนกระดาษเพาะเป็นระยะๆ เพื่อป้องกันกระดาษเพาะแห้ง

เชื้อเชื้อราที่ขึ้นบนเมล็ดข้าวมาเลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) และจำแนกเชื้อราสาเหตุ โดยการศึกษาลักษณะพื้นฐานของเชื้อราด้วยกล้องจุลทรรศน์

3. การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์เพื่อใช้ในการทดสอบ

3.1 การเตรียมเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร NGA ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1-2 วัน โดยใช้ loop และ stock เชื้อมาเล็กน้อย แล้ว streak ลงบนอาหาร NGA จนทั่วผิวน้ำอาหาร บ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 1-2 วัน จากนั้นเติมน้ำนิ่งมาเชื้อ แล้วใช้แท่งแก้วชุดเบาๆ ให้ทั่วผิวน้ำอาหาร นำเซลล์แขวนลอยที่ได้ไป ปรับให้มีความเข้มข้น 10^8 CFU/มิลลิลิตร โดยนำไปวัดค่าความทึบแสง (Optical density: O.D.) ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ปรับค่าความทึบแสงให้เท่ากับ 0.2 O.D.

3.2 การเตรียมสปอร์แขวนลอยของเชื้อราสาเหตุของโรค

เลี้ยงเชื้อรา *C. lunata* บนอาหาร PDA เป็นเวลา 5-7 วัน ใช้ cork borer ขนาด เส้นผ่าศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร เจาะรู นำไปใส่ข้าวเปลือกที่ผ่านการนึ่งมาเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5-7 วัน

สำหรับการเลี้ยงเชื้อรา *T. padwickii* และ *H. oryzae* นั้น ปฏิบัติเช่นเดียวกับการเลี้ยง เชื้อรา *C. lunata* และนำเมล็ดข้าวเปลือกที่มีเชื้อราสาเหตุโรคแต่ละชนิดเจริญอยู่ไปล้างด้วยน้ำนิ่งมา เชื้อ ปรับความเข้มข้นของสปอร์ในสปอร์แขวนลอยให้ได้ 10^5 สปอร์/มิลลิลิตร ก่อนนำไปพ่น

3.3 การผลิตเชื้อแบคทีเรียชนิดผง

เตรียมวัสดุอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งประกอบด้วยดิน รัชูพืช และโปรตีนผง ผสมคลุกเคล้าให้เข้ากัน ใส่น้ำลงไปเล็กน้อยให้ความชื้น แล้วนำวัสดุอาหารไปนึ่งมาเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที 2 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียที่เลี้ยงในอาหาร NGB เป็นเวลา 48 ชั่วโมง มาใส่ในวัสดุอาหาร

ที่เตรียมไว้ โดยใช้อัตราเชื้อ 10 มิลลิลิตรต่อวัสดุอาหาร 300 กรัม คลุกเคล้าให้เข้ากัน แล้วนำไปผึ่งให้แห้ง เพื่อให้ความชื้นในผลลดลงจนมีค่าไม่เกิน 10%

3.4 การเตรียมเชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดสด

เลี้ยงเชื้อราไตรโคเดอร์มาบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน ขูดสปอร์จากผิวหน้าอาหาร 1 จาน ผสมน้ำ 9 มิลลิลิตร นำไปขยายเพื่อเพิ่มปริมาณโดยใช้ปลายข้าวสาร หุงให้สุกด้วยหม้อหุงข้าวไฟฟ้า อัตราข้าว 3 ส่วน ต่อน้ำ 2 ส่วน ตักปลายข้าวที่สุกแล้วขณะข้าวยังร้อน เพื่อช่วยทำลายเชื้อจุลินทรีย์ จากอากาศที่อาจปนเปื้อนในถุงข้าว ประมาณ 2 ทักพี (พูน) ใส่ถุงพลาสติกทนร้อน ขนาด 8x12 นิ้ว หรือประมาณ 250 กรัม/ถุง กดข้าวให้แบน ริดอากาศออกจากถุงให้ถุงพลาสติกแนบกับข้าว เพื่อลดการเกิดหยดน้ำ รอให้ข้าวอุ่นหรือเกือบเย็น จึงขูดสปอร์แขวนลอยปริมาตร 2 มิลลิลิตรใส่ลงในถุงข้าว โดยใส่สปอร์แขวนลอยของเชื้อไตรโคเดอร์มาในบริเวณที่ลมสงบ เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในอากาศ ริดยางตรงปากถุงให้แน่น ก่อนเขย่าหรือบีบข้าวเบาๆ เพื่อให้เชื้อกระจายทั่วทั้งถุง และเจาะถุงพลาสติกด้วยเข็มบริเวณปากถุงที่ริดยางไว้ ประมาณ 15-20 ครั้ง/ถุง กดข้าวในถุงให้แผ่กระจาย ไม่ซ้อนทับกัน ดึงบริเวณกลางถุงขึ้นเพื่อไม่ให้พลาสติกแนบติดกับข้าว และเพื่อให้มีอากาศเข้าไปในถุงข้าวพอเพียงต่อการเจริญของเชื้อ วางถุงเชื้อในห้องที่ปลอดจากมด ไร และสัตว์อื่นๆ อากาศไม่ร้อน ไม่ถูกแสงแดด แต่ได้รับแสงสว่าง 6-10 ชั่วโมง/วัน หากแสงไม่พอ ใช้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ช่วยได้ เมื่อครบ 2 วันบีบขยำก้อนข้าวที่มีเส้นใยของเชื้อเจริญอยู่ให้แตก แล้ววางถุงในที่เดิม ดึงถุงให้มีอากาศเข้าอีกครั้ง แล้วบ่มในสภาพเดิมต่ออีก 4-5 วัน เพื่อให้เชื้อสร้างสปอร์สีเขียว (จระเข้ และ วรณวิไล, 2545)

4. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา

Curvularia lunata, *Trichoconis padwickii* และ *Helminthosporium oryzae* ในระดับห้องปฏิบัติการ

เลี้ยงเชื้อรา *C. lunata* บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5-7 วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร ตัดปลายเชื้อเจาะบริเวณปลายเส้นใยของเชื้อรา *C. lunata* แล้วย้ายไปวางบนอาหาร PDA ที่กลางของจานเลี้ยงเชื้อ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมงใช้เข็มเจาะเส้นใยเชื้อแต่ละเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียอายุ 1-2 วัน แล้วนำมาตะบ่อนอาหารที่มีเชื้อรา *C. lunata* เจริญอยู่ โดยเจาะ 4 จุด ตรงข้ามกันในแนวกากบาท และให้แต่ละจุดห่างจากเชื้อราสาเหตุโรค 3 เซนติเมตร แล้วบันทึกผลการทดลองเปรียบเทียบกับจานควบคุมที่วางเชื้อโรคเพียงอย่างเดียว

และทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *T. padwickii* และ *H. oryzae* เช่นเดียวกับเชื้อรา *C. lunata*

การบันทึกผลการทดลอง

วัดรัศมีของเชื้อราสาเหตุโรค เพื่อนำข้อมูลมาหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อโรค เปรียบเทียบข้อมูลทางสถิติโดย Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) (P=0.05)

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อโรค} = \frac{(R_1 - R_2) \times 100}{R_1}$$

R_1 คือ ค่าเฉลี่ยของรัศมีของเส้นใยเชื้อโรคในจานเลี้ยงเชื้อในกรรมวิธีควบคุม

R_2 คือ ค่าเฉลี่ยของรัศมีของเส้นใยเชื้อโรคในจานเลี้ยงเชื้อในกรรมวิธีทดสอบ

5. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะในการลดโรคเมล็ดต่าง และเพิ่มผลผลิตของข้าว

5.1 การทดสอบอิทธิพลของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะต่อการส่งเสริมการเจริญของต้นกล้าข้าวในห้องปฏิบัติการ

นำเมล็ดพันธุ์ข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 มาห่อด้วยผ้าแล้วแช่ในน้ำเปล่าเป็นเวลา 15 ชั่วโมง ยกขึ้นให้สะเด็ดน้ำ แล้วนำมาแช่ในเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะที่ได้จากการคัดเลือกในข้อ 5 ความเข้มข้น 10^8 CFU/มิลลิลิตร เป็นเวลา 30 นาที เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดข้าวในน้ำเปล่า บ่มเมล็ดข้าวในห่อผ้าชื้นเป็นเวลา 7 วัน รักษาความชื้นของห่อผ้าในช่วงบ่มเมล็ดข้าว แล้ววัดความยาวราก โดยวัดจากโคนรากถึงปลายราก และวัดความสูงต้นกล้าข้าวโดยวัดจากโคนต้นที่ติดกับเมล็ดจนถึงปลายใบของยอดข้าว

5.2 การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะในการลดโรคเมล็ดต่าง และเพิ่มผลผลิตของข้าวในสภาพแปลงปลูกข้าวที่ได้รับแสงแดด 100 เปอร์เซ็นต์

นำเมล็ดพันธุ์ข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 มาห่อด้วยผ้าแล้วแช่น้ำเปล่าเป็นเวลา 15 ชั่วโมง ยกขึ้นให้สะเด็ดน้ำ แล้วนำมาแช่ในเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะความเข้มข้น 10^8 CFU/มิลลิลิตรเป็นเวลา 30 นาที บ่มเมล็ดข้าวในห่อผ้าขึ้นเป็นเวลา 1 คืนก่อนนำไปหว่านลงบนเลนในกระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 13 นิ้ว (ความจุ 20 ลิตร) หลังจากหว่านเมล็ดข้าว 20 วันถอนต้นกล้าที่เหลือ 5 ต้น/กระถาง

การทดลองประกอบด้วย 9 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 3 ซ้ำๆ ละ 3 กระถาง กระถางละ 5 ต้น กรรมวิธีที่ 1-8 เป็นไอโซเลทของเชื้อทดสอบ ส่วนกรรมวิธีที่ 9 เป็นกรรมวิธีควบคุมที่แช่น้ำเปล่าเพียงอย่างเดียว กำหนดแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Randomized complete block design, RCB)

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 10^8 CFU/มิลลิลิตร จำนวน 2 ครั้ง คือ ในระยะที่ข้าวตั้งท้อง และระยะที่ข้าวเริ่มเป็นนํ้านม เก็บเกี่ยวผลผลิตที่ 117 วัน

5.3 การตรวจและบันทึกผลการทดลอง

บันทึกผลผลิตรวมของข้าว น้ำหนักเมล็ดข้าวต่อ 1 รวง โดยสุ่มเก็บรวงข้าวกรรมวิธีละ 3 ซ้ำๆ ละ 10 รวง และน้ำหนัก 1,000 เมล็ด โดยสุ่มนับเมล็ดข้าวจาก 10 รวงข้างต้น กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ หลังจากนั้นนำเมล็ดข้าว 1,000 เมล็ดที่ชั่งน้ำหนักแล้ว มาตรวจเปอร์เซ็นต์เมล็ดดี เมล็ดต่าง เมล็ดลีบ โดยการสุ่มนับเมล็ดจำนวน 3 ซ้ำต่อกรรมวิธี ซ้ำละ 3 ครั้ง ครั้งละ 100 เมล็ด วิเคราะห์เพื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ($P=0.05$)

6. การพัฒนาเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์กลายที่ต้านทานสารปฏิชีวนะ

นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ผ่านการคัดเลือกมาพัฒนาให้ได้สายพันธุ์ที่ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ เพื่อใช้สำหรับการติดตามตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย โดยแต่ละเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไป streak บนอาหาร 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 (จิรัสสา, 2547)

นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์กลายที่ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ไปทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. lunata*, *T. padwickii* และ *H. oryzae* ในห้องปฏิบัติการอีกครั้ง

7. การทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการลดโรคเมล็ดด่าง และเพิ่มผลผลิตของข้าว

นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์กลายที่คัดเลือกไปทดสอบความสามารถในการเพิ่มผลผลิต และลดโรคเมล็ดด่างในแปลงปลูกข้าวที่ได้รับแสงแดด 100 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 และสารเคมี propiconazole+difenoconazole 30% EC (อามูเร่) โดยแช่เมล็ดพันธุ์ข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ในเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ในน้ำผสมด้วยผงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และในสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 อัตราเชื้อสด 50 กรัมต่อน้ำ 10 ลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมงและบ่มไว้ในห่อผ้าชื้นเป็นเวลา 1 คืน ก่อนนำไปหยอดในภาคเพาะกล้ารองก้นหลุมด้วย vermiculite เล็กน้อยเพื่อปิดรู แล้วใส่ดินลงไปเกือบเต็มหลุม หยอดเมล็ดข้าวหลุมละ 1 เมล็ด เมื่อกกล้าข้าวอายุ 14 วัน ย้ายลงกระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 นิ้ว (ปริมาตร 6 ลิตร)

เมื่อต้นข้าวอายุ 80 วัน พ่นด้วยเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ผงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร (เขย่าทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง แล้วนำไปผสมน้ำอัตรา 1 ลิตรต่อน้ำ 100 ลิตรก่อนพ่น) และเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 อัตราเชื้อสด 1 กิโลกรัมต่อน้ำ 200 ลิตรลงบนรวงข้าว หลังจากนั้น 24 ชั่วโมง พ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อราสาเหตุของโรคเมล็ดด่าง

(*C. lunata*, *T. padwickii* และ *H. oryzae*) ความเข้มข้น 10^5 สปอร์/มิลลิลิตร และทำการพ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะและเชื้อรา *T. harzianum* อีกครั้งเมื่อข้าวอายุ 87 วัน

การทดลองประกอบด้วย 20 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 3 ซ้ำๆ ละ 3 กระถาง กระถางละ 1 ต้น กำหนดแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Randomized complete block design, RCB)

กรรมวิธีที่ 1-5 = กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะสายพันธุ์ดั้งเดิมชนิดผง

กรรมวิธีที่ 6-10 = กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะสายพันธุ์กลายที่ต้านทานต่อ

ปฏิชีวนะ rifampicin ชนิดผง

กรรมวิธีที่ 11-13 = กรรมวิธีที่ใช้เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะสายพันธุ์ดั้งเดิม

กรรมวิธีที่ 14-16 = กรรมวิธีที่ใช้เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะสายพันธุ์กลาย

ที่ต้านทานต่อปฏิชีวนะ rifampicin

กรรมวิธีที่ 17 = กรรมวิธีที่ใช้สปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์

CB-Pin-01

กรรมวิธีที่ 18 = กรรมวิธีที่สารเคมี propiconazole+difenoconazole 30% EC (อามูเร่)

กรรมวิธีที่ 19 = กรรมวิธีควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่าง (Control-)

กรรมวิธีที่ 20 = กรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่าง (Control+)

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

7.1 ตรวจสอบผลผลิตและคุณภาพของเมล็ดข้าว

บันทึกจำนวนต้นข้าวต่อกอ จำนวนรวงต่อกอ น้ำหนักผลผลิตต่อกอ (ผลผลิตรวม) น้ำหนักผลผลิตต่อกอ และน้ำหนักเมล็ด 1,000 เมล็ด กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 1,000 เมล็ด จากนั้นนำเมล็ดข้าวมาตรวจเปอร์เซ็นต์เมล็ดดี เมล็ดด่าง เมล็ดลีบ โดยชั่งเมล็ดข้าวกรรมวิธีละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 กรัม

7.2 ตรวจการเจริญครอบครองรากข้าวของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

สุ่มรากข้าวจากแต่ละกรรมวิธี กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 9 ชิ้น โดยสุ่มตัดรากข้าวจากข้าวอายุ 133 วัน แต่ละกรรมวิธี และแบ่งรากข้าวเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกนำมาล้างน้ำให้สะอาด แล้วล้างด้วยน้ำนิ่งฆ่าเชื้ออีก 2 ครั้ง ซับรากให้แห้งด้วยกระดาษซับน้ำฆ่าเชื้อ วางบนอาหาร NGA ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin ความเข้มข้น 50 ppm สำหรับเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ และ Martin's medium สำหรับเชื้อรา *T. harzianum* ส่วนที่ 2 ล้างด้วยน้ำให้สะอาดแล้วล้างด้วย 0.525% sodium hypochlorite เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษซับน้ำฆ่าเชื้อ แล้ววางบนอาหาร NGA ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin ความเข้มข้น 50 ppm สำหรับเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ และ Martin's medium สำหรับเชื้อรา *T. harzianum*

7.3 ตรวจการครอบครองผิวเมล็ดข้าวของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

นำเมล็ดข้าวที่ปนด้วยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จำนวน 2 ครั้งก่อนเก็บเกี่ยวจากแต่ละกรรมวิธี มาล้างด้วยน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ 1 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษซับน้ำฆ่าเชื้อ และอีกกรรมวิธีแช่ด้วย 0.525% sodium hypochlorite เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษซับน้ำฆ่าเชื้อ จากนั้นนำเมล็ดข้าวไปวางบนอาหาร NGA ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin ความเข้มข้น 50 ppm สำหรับเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ และ Martin's medium สำหรับเชื้อรา *T. harzianum* กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 20 เมล็ด บ่มไว้ในที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง บันทึกเปอร์เซ็นต์การเจริญครอบครองผิวเมล็ดข้าว

7.4 ตรวจปริมาณเชื้อรา *Curvularia lunata*, *Trichoconis padwickii* และ *Helminthosporium oryzae* ที่เจริญบนเมล็ดข้าว

นำเมล็ดข้าวที่แสดงอาการเมล็ดด่างซึ่งมีลักษณะเป็นจุดสีน้ำตาลจนถึงเป็นปื้นสีน้ำตาลคลุมทั่วทั้งเมล็ดจากแต่ละกรรมวิธี มาแช่ด้วย 0.525% sodium hypochlorite เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษซับน้ำฆ่าเชื้อ นำเมล็ดข้าวไปวางบนอาหาร PDA กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 เมล็ด บ่มไว้ในที่อุณหภูมิห้อง บันทึกจำนวนเมล็ดข้าวที่มีเชื้อรา *C. lunata*, *T. padwickii* และ *H. oryzae* ที่เจริญออกจากเมล็ด

7.5 อิทธิพลของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้าข้าว และความสามารถในการเจริญครอบครองรากข้าว

นำเมล็ดข้าวที่แสดงอาการเมล็ดต่างจากแต่ละกรรมวิธีไปห่อด้วยผ้าแล้วแช่ด้วยน้ำนิ่งมาเชื้อเป็นเวลา 15 ชั่วโมง หลังจากนั้นยกขึ้นให้สะเด็ดน้ำ และบ่มเมล็ดข้าวในห่อผ้าขึ้นอีก 1 คืน แล้วนำเมล็ดข้าวส่วนหนึ่งไปหยอดในถาดเพาะกล้ารองก้นหลุมด้วย vermiculite เล็กน้อยเพื่อปิดรู แล้วไต่ดินลงไปเกือบเต็มหลุม หยอดเมล็ดข้าวหลุมละ 1 เมล็ด เมื่อข้าวอายุ 7 และ 14 วัน วัดความยาวราก โดยวัดจากโคนรากถึงปลายราก และวัดความสูงต้นกล้าข้าวโดยวัดจากโคนต้นที่ติดกับเมล็ดจนถึงปลายใบของยอดข้าว เปรียบเทียบกับกับกรรมวิธีที่ใช้เมล็ดดีจากกรรมวิธีที่ไม่ได้ปลูกเชื้อโรคและตรวจเปอร์เซ็นต์การครอบครองรากข้าวของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ และเชื้อรา *T. harzianum* โดยนำรากข้าวอายุ 7 วันมาล้างน้ำให้สะอาดแล้ว ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งมา 3 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษซับนิ่งมาเชื้อ วางบนอาหาร NGA ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin ความเข้มข้น 50 ppm สำหรับเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ และ Martin's medium สำหรับเชื้อรา *T. harzianum* กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ราก

ส่วนรากข้าวอายุ 14 นั้น นำมาล้างให้สะอาด แช่ด้วย 0.525% sodium hypochlorite เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งมาเชื้อ 3 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษซับนิ่งมาเชื้อ วางบนอาหาร NGA ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin ความเข้มข้น 50 ppm สำหรับเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ และ Martin's medium สำหรับเชื้อรา *T. harzianum* กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ราก

นำเมล็ดข้าวส่วนที่เหลือจากการเพาะในถาดซึ่งอยู่ในห่อผ้าขึ้นไปบ่มต่ออีก 3 วัน ตรวจนับเปอร์เซ็นต์การงอก กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 2 กรัม

สถานที่ทำการทดลอง

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

ระยะเวลาทำการทดลอง

ดำเนินการทดลองระหว่างเดือน กุมภาพันธ์ 2549-มกราคม 2553

ผลและวิจารณ์

ผล

1. การแยกเชื้อแบคทีเรียจากรากข้าว

จากการนำเมล็ดข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 มาแช่ในน้ำเปล่าเป็นเวลา 15 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่ต่ออีก 1 ชั่วโมงในปุ๋ยอินทรีย์น้ำ น้ำจากนาข้าว น้ำผสมด้วยปุ๋ยหมัก และน้ำผสมด้วยจุลินทรีย์ไบโไฟ จากมูลนิธิข้าวขวัญ จังหวัดสุพรรณบุรีนำไปวางบนกระดาษเพาะ เป็นเวลา 7 วัน แล้วนำรากข้าวมาทำการแยกเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร PDA เมื่อนำไปทดสอบด้วยสารละลายด่าง 3% KOH (potassium hydroxide) และการย้อมแกรมสามารถแยกเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ทั้งหมด 49 ไอโซเลท (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 เชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากรากของข้าวอายุ 7 วัน ซึ่งเพาะจากเมล็ดข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ผ่านการแช่ในปุ๋ยอินทรีย์น้ำ น้ำจากนาข้าว น้ำผสมด้วยปุ๋ยหมัก และน้ำผสมด้วยปุ๋ยหมักไบโไฟ

แหล่งที่มา ^{1/}	รหัส	จำนวนไอโซเลท
ปุ๋ยอินทรีย์น้ำ	SBn01-26	26
น้ำจากนาข้าว	RW01-16	16
น้ำผสมด้วยปุ๋ยหมัก	DC03-04	2
น้ำผสมด้วยปุ๋ยหมักไบโไฟ	KP03-05,07,09	5

^{1/} นำเมล็ดข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 มาแช่ในน้ำเปล่า 15 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่ต่ออีก 1 ชั่วโมงในปุ๋ยอินทรีย์น้ำ น้ำจากนาข้าว น้ำผสมด้วยปุ๋ยหมัก และน้ำผสมด้วยจุลินทรีย์ไบโไฟ ที่เก็บมาจากมูลนิธิข้าวขวัญ จังหวัดสุพรรณบุรี ก่อนนำไปบ่มบนกระดาษเพาะที่ขึ้น

เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากรากข้าว และเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากพืชอื่นๆ อีก 6 ไอโซเลทมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *H. oryzae*, *T. padwickii* และ *C. lunata* พบเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกที่แยกได้จากรากข้าวเพียง 2 ไอโซเลทคือ เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์ KP09 ซึ่งจำแนกโดยอาศัยหลักการใช้แหล่งคาร์โบไฮเดรต ด้วย Biolog™ และเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกไอโซเลท SBn07 ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างทั้ง 3 ชนิดได้ และจากตารางที่ 2 สามารถคัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย 6 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างทั้ง 3 ชนิด คือ เชื้อแบคทีเรียแกรมบวกไอโซเลท SBn07 เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ CG06, BB165, KP09 เชื้อแบคทีเรีย *B. licheniformis* สายพันธุ์ BB167 และเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ WS18 รวมทั้งเชื้อแบคทีเรียที่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างทั้ง 3 ชนิดได้อีก 2 ไอโซเลท คือ เชื้อแบคทีเรียแกรมบวกไอโซเลท KP07 และ LG07 เพื่อนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา

Helminthosporium oryzae, *Trichoconis padwickii* และ *Curvularia lunata* บนอาหาร potato dextrose agar (PDA)

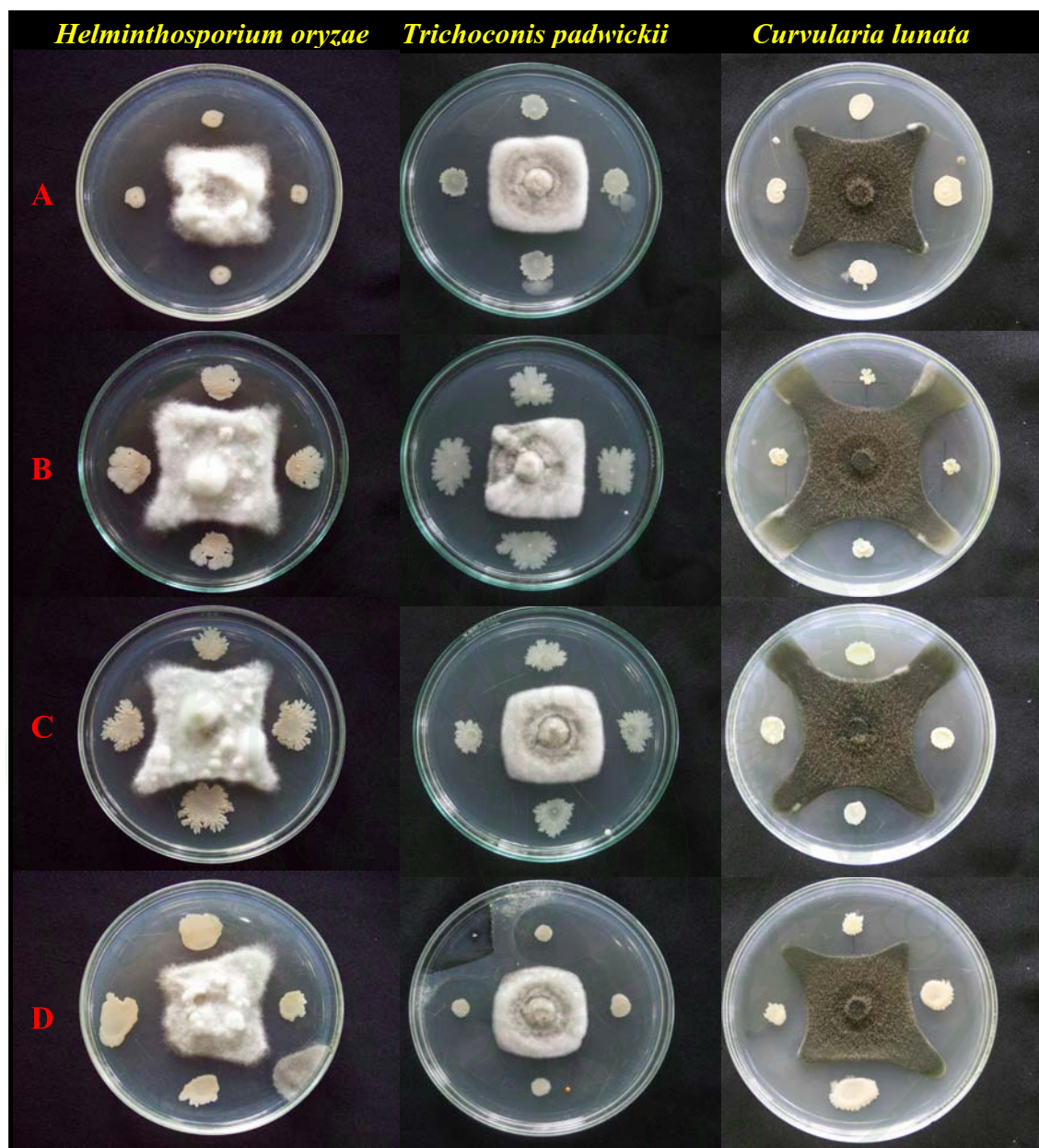
ไอโซเลต/ สายพันธุ์	การยับยั้งการเจริญของเส้นใย (%) ^{1/}		
	<i>H. oryzae</i>	<i>T. padwickii</i>	<i>C. lunata</i>
KP07	0.00 f ^{2/}	0.00 c	0.00 e
KP09	52.78 b-e	60.74 ab	56.67 b
LG07	0.00 f	0.00 c	0.00 e
SBn01	0.00 f	0.00 c	0.00 e
SBn07	52.22 c-e	62.22 a	57.03 b
WS18	56.11 a-d	57.04 ab	49.26 d
CG06	54.26 ab	57.50 ab	59.22 a
BB133	49.07 e	54.63 b	48.33 d
BB165	55.00 a-c	59.26 ab	59.44 a
BB167	57.41 a	58.70 ab	51.67 c
TM04	51.11 de	58.33 ab	48.47 d
Control	-	-	-

^{1/} เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อโรคคำนวณจากสมการ $[(R_1 - R_2)/R_1] \times 100$

R_1 คือ ค่าเฉลี่ยของรัศมีของเส้นใยเชื้อโรคในจานเลี้ยงเชื้อในกรรมวิธีควบคุม (ชม.)

R_2 คือ ค่าเฉลี่ยของรัศมีของเส้นใยเชื้อโรคในจานเลี้ยงเชื้อในกรรมวิธีทดสอบ (ชม.)

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) (P=0.05)



ภาพที่ 1 ประสิทธิภาพเชื้อของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา

Helminthosporium oryzae, *Trichoconis padwickii* และ *Curvularia lunata* บนอาหาร PDA โดยวิธี Dual culture

- A. เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์ CG06
- B. เชื้อแบคทีเรียแกรมบวกไอโซเลท SBn07
- C. เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ KP09
- D. เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ BB165

2. อิทธิพลของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อการส่งเสริมการเจริญของต้นกล้าข้าวในระดับห้องปฏิบัติการ

เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่คัดเลือกมาทดสอบความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของยอดและรากต้นกล้าข้าว พบเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 4 ไอโซเลทส่งเสริมให้ต้นกล้าข้าวอายุ 7 วันมีความสูงมากกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ คือกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียไอโซเลท KP07 เชื้อแบคทีเรีย *B. licheniformis* สายพันธุ์ BB167 เชื้อแบคทีเรียไอโซเลท LG07 และเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ 165 โดยมีความสูงของกล้าข้าวเท่ากับ 1.57, 1.53, 1.50 และ 1.39 เซนติเมตร ตามลำดับ และพบเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 6 ไอโซเลทที่ส่งเสริมให้รากข้าวมีความยาวมากกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ โดยเชื้อแบคทีเรียที่ส่งเสริมให้รากข้าวมีความยาวมากที่สุดคือ กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ BB165 รองลงมาคือ เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท LG07 และเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ KP09 โดยมีความยาวรากเท่ากับ 6.52, 6.43 และ 5.75 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

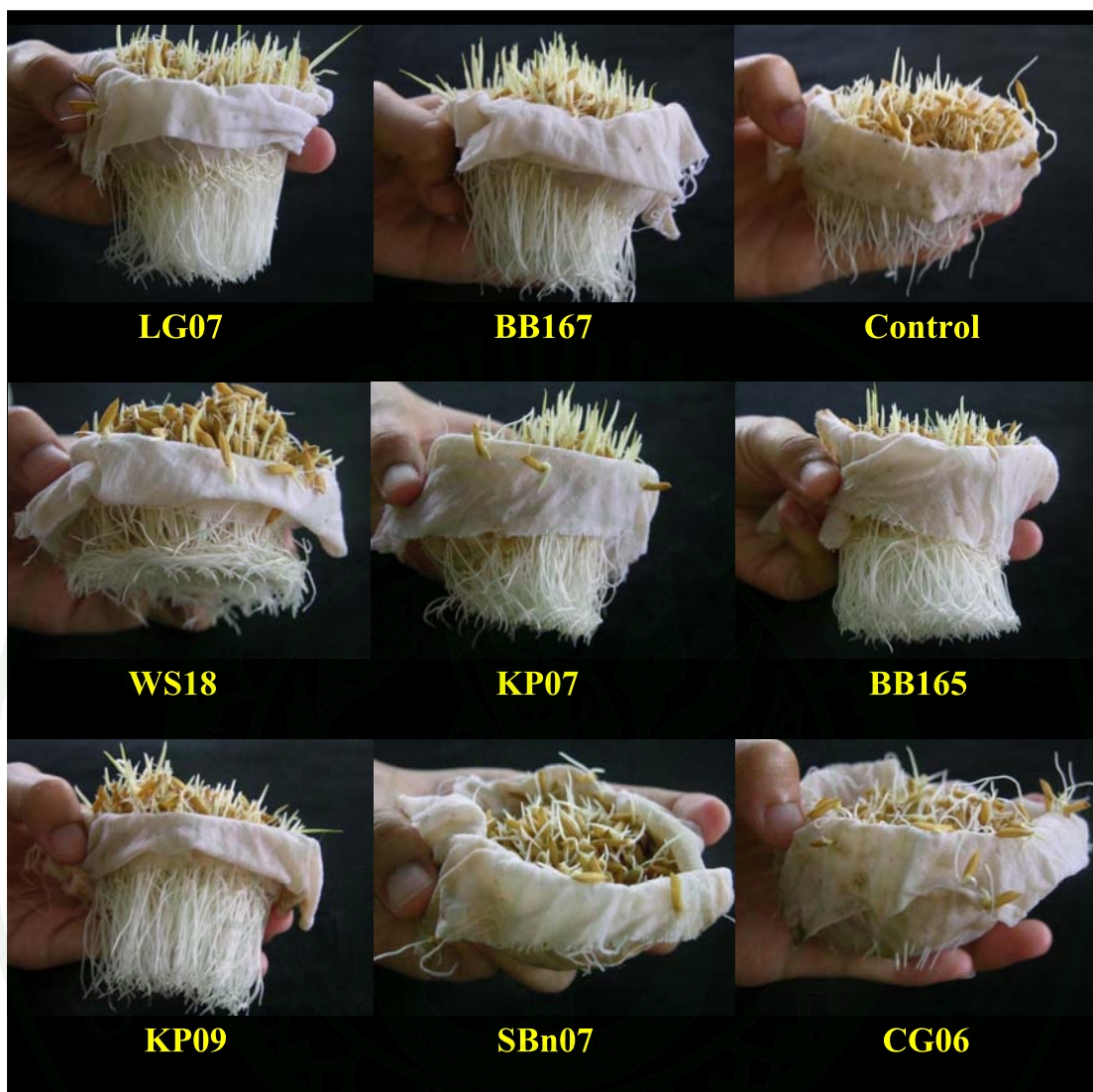
ตารางที่ 3 อิทธิพลของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะต่อการส่งเสริมการเจริญของยอด และรากต้นกล้าข้าว
ซึ่งแช่เมล็ดข้าวในน้ำเปล่า 1 คืน แล้วนำไปแช่ต่ออีกในเซลล์แขวนลอยของเชื้อ
แบคทีเรียปฏิชีวนะ เป็นเวลา 30 นาที ก่อนบ่มเมล็ดข้าวในห่อผ้าชื้นเป็นเวลา 7 วัน

กรรมวิธี (ไอโซเลท/สายพันธุ์)	ความสูงของต้นกล้าข้าว (ซม.) ^{1/}	ความยาวของรากข้าว (ซม.) ^{2/}
KP07	1.57 a ^{3/}	5.51 b
KP09	1.01 e	5.75 b
LG07	1.50 b	6.43 a
SBn07	0.73 fg	1.63 e
WS18	0.68 g	4.78 c
CG06	0.76 f	1.89 e
BB165	1.39 c	6.52 a
BB167	1.53 ab	4.73 c
Control	1.31 d	2.60 d

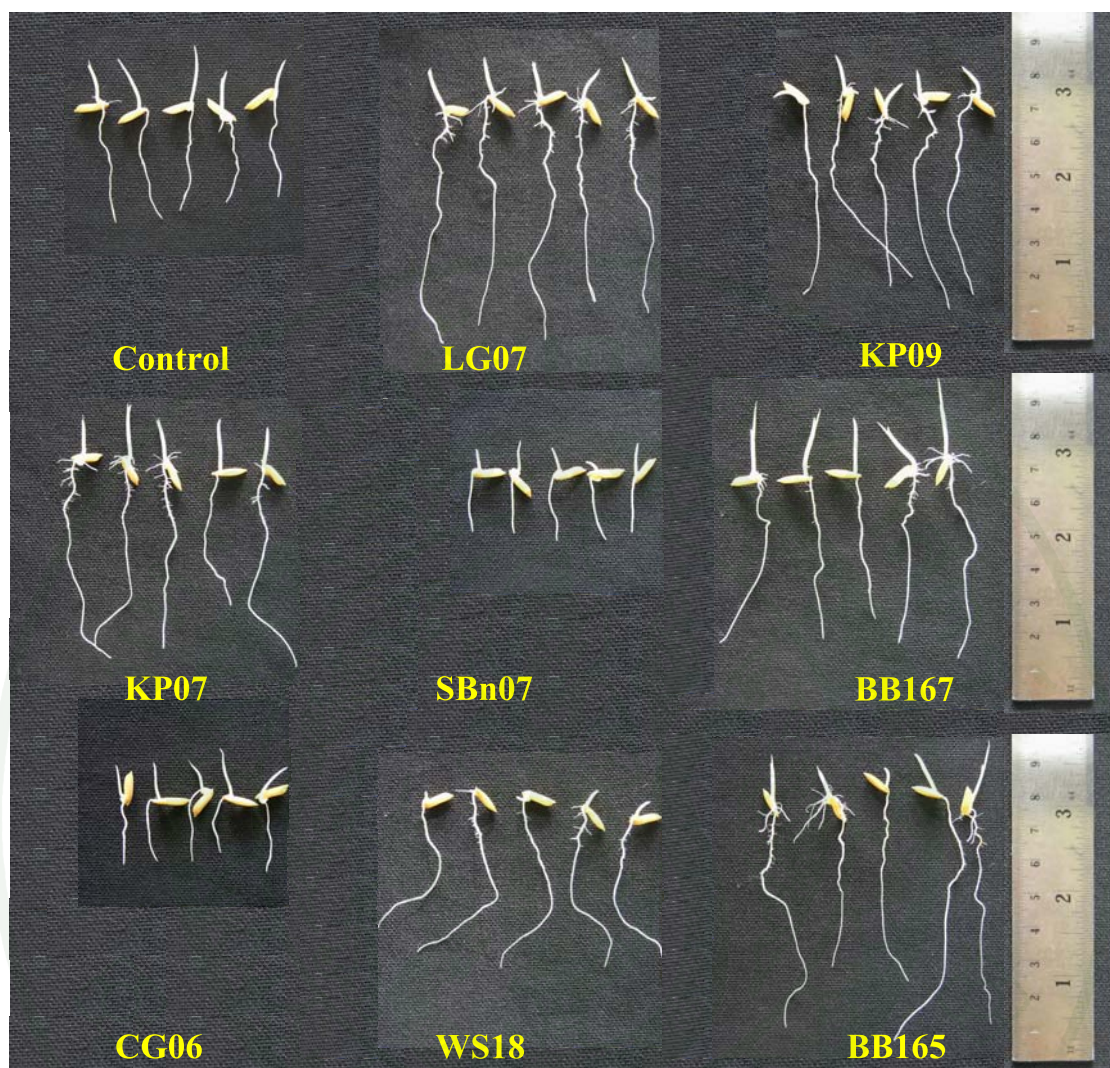
^{1/} ค่าเฉลี่ยความสูงต้นกล้าข้าวหลังเพาะ 7 วัน โดยวัดจากโคนต้นที่ติดกับเมล็ดจนถึงปลายใบของ
ยอดข้าวกรรมวิธีละ 5 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ต้น

^{2/} ค่าเฉลี่ยความยาวรากข้าวหลังเพาะ 7 วัน โดยวัดจากโคนรากถึงปลายราก กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ ซ้ำละ
10 ต้น

^{3/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จาก
การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) (P=0.05)



ภาพที่ 2 การเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าว เมื่อแช่เมล็ดข้าวด้วยเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย
ปฏิกรณ์และบ่มไว้ในห่อผ้าขึ้นเป็นเวลา 7 วัน



ภาพที่ 3 อิทธิพลของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อการส่งเสริมการเจริญของยอด และรากต้นกล้าข้าว เมื่อแช่เมล็ดข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ในเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ เป็นเวลา 30 นาที ก่อนนำไปบ่มในห่อผ้าชื้นเป็นเวลา 7 วัน

2. ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะในการลดโรคเมล็ดต่าง และเพิ่มผลผลิตของข้าว

เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะทั้ง 3 ไอโซเลท และ 5 สายพันธุ์มาทดสอบประสิทธิภาพในการลดโรคเมล็ดต่าง และเพิ่มผลผลิตของข้าวในสภาพแปลงปลูกข้าว พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ KP09 ช่วยให้ผลผลิตรวมของข้าวสูงที่สุด คือ 543.43 กรัม/ตารางเมตร และสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ WS18 และเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ CG06 โดยมีผลผลิตรวมเท่ากับ 519.29 และ 513.91 กรัม/ตารางเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

เมื่อพิจารณาน้ำหนักเมล็ดต่อรวง พบว่าทุกกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะให้น้ำหนักเมล็ดต่อรวงไม่แตกต่างจากกรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ โดยพบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย ไอโซเลท KP07 ให้น้ำหนักเมล็ดต่อรวงมากที่สุด รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ CG06 และเชื้อแบคทีเรีย *B. licheniformis* สายพันธุ์ BB167 ซึ่งมีน้ำหนักเมล็ดต่อรวงเท่ากับ 3.70, 3.68 และ 3.50 กรัม/รวง ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ส่วนน้ำหนักเมล็ดข้าว 1,000 เมล็ดนั้น พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ *B. subtilis* สายพันธุ์ WS18 ให้น้ำหนักเมล็ด 1,000 เมล็ดมากที่สุด คือ 38.19 กรัม/1,000 เมล็ด ซึ่งสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะไอโซเลท KP07 และเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ 165 โดยมีน้ำหนักเมล็ด 1,000 เมล็ดเท่ากับ 36.55 และ 35.51 กรัม/1,000 เมล็ด ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีควบคุม (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักผลผลิตทั้งหมด น้ำหนักผลผลิตต่อรวง และน้ำหนักของเมล็ดต่อ 1,000 เมล็ด ภายใต้สภาพการเกิดโรคเมล็ดต่างตามธรรมชาติ เมื่อข้าวอายุ 117 วัน

กรรมวิธี (ไอโซเลท/สายพันธุ์)	น้ำหนักผลผลิตรวม (กรัม/ตารางเมตร) ^{3/}	น้ำหนักผลผลิต/รวง ^{1/} (กรัม/รวง) ^{3/}	น้ำหนักเมล็ด 1,000 เมล็ด ^{2/} (กรัม/1,000 เมล็ด) ^{3/}
KP07	481.46 bc ^{4/}	3.70 ns	36.55 ab
KP09	543.43 a	3.31 ns	34.04 c
LG07	468.84 bc	3.46 ns	34.21 c
SBn07	440.86 c	3.09 ns	31.38 d
WS18	519.29 ab	3.31 ns	38.19 a
CG06	513.91 ab	3.68 ns	34.67 bc
BB165	509.86 ab	3.41 ns	35.51 bc
BB167	445.94 c	3.50 ns	34.87 bc
Control	471.23 bc	3.34 ns	35.26 bc

^{1/} ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเมล็ดข้าวต่อรวง จากการสุ่มกรรมวิธีละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 รวง

^{2/} ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเมล็ดจากการสุ่มนับจำนวนเมล็ดข้าว 1,000 เมล็ดในแต่ละกรรมวิธี กรรมวิธีละ 3 ครั้ง (1,000 เมล็ด/ซ้ำ)

^{3/} จำนวนน้ำหนักผลผลิตทั้งหมด น้ำหนักผลผลิตต่อรวง และน้ำหนักเฉลี่ยของเมล็ดต่อ 1,000 เมล็ด ที่ความชื้น 10%

^{4/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) (P=0.05)

และจากผลการทดลอง พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ KP09 มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีสูงสุด รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ BB165 และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SBn07 โดยมีเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีเท่ากับ 79.75, 78.17 และ 76.17 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 5)

เมื่อตรวจเปอร์เซ็นต์เมล็ดต่าง พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ KP09 มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดต่างต่ำที่สุด รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ BB165 และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SBn07 โดยมีเปอร์เซ็นต์

เมล็ดต่างต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีเปอร์เซ็นต์เมล็ดต่างเท่ากับ 9.25, 12.83 และ 13.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

ส่วนเปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบนั้น พบว่าทุกกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบใกล้เคียงกับกรรมวิธีควบคุม โดยมีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์เมล็ดดี เมล็ดต่างและเมล็ดลีบที่ได้จากการสุมเมล็ดข้าวที่เก็บเกี่ยวได้จากต้นข้าวซึ่งปลูกภายใต้สภาพการเกิดโรคเมล็ดต่างตามธรรมชาติ โดยแช่เมล็ดข้าวในเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ก่อนปลูก และพ่นลงบนต้นข้าวรวม 2 ครั้ง เมื่อข้าวอายุ 90 และ 97 วัน

กรรมวิธี (ไอโซเลท/สายพันธุ์)	เมล็ดดี (%) ^{1/}	เมล็ดต่าง (%) ^{2/}	เมล็ดลีบ (%) ^{3/}
KP07	63.33 d ^{2/}	27.00 a	9.67 ns
KP09	79.75 a	9.25 c	11.08 ns
LG07	71.67 a-d	18.75 ab	10.42 ns
SBn07	76.17 ab	13.25 bc	10.50 ns
WS18	69.25 b-d	19.50 ab	10.17 ns
CG06	74.63 a-c	15.25 bc	10.12 ns
BB165	78.17 a	12.83 bc	8.75 ns
BB167	64.25 d	26.42 a	9.33 ns
Control	66.58 cd	25.08 a	8.33 ns

^{1/} ตรวจเปอร์เซ็นต์เมล็ดดี เมล็ดต่างและเมล็ดลีบในแต่ละกรรมวิธี กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 100 เมล็ด

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) (P=0.05)

3. การพัฒนาเชื้อแบคทีเรียให้ต้านทานสารปฏิชีวนะ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *H. oryzae*, *T. padwickii* และ *C. lunata* การส่งเสริมการเจริญของกล้าข้าว การเพิ่มผลผลิต และลดโรคเมล็ดด่างของข้าว สามารถคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียได้ 3 ไอโซเลท และ 2 สายพันธุ์ คือ เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ KP09 และ BB165 ซึ่งมีประสิทธิภาพดีในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าว เพิ่มปริมาณผลผลิต เปอร์เซ็นต์เมล็ดดี และลดเปอร์เซ็นต์เมล็ดด่าง เชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะไอโซเลท SBn07 เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ CG06 ที่มีประสิทธิภาพต่ำในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าว แต่มีประสิทธิภาพดีในการเพิ่มเปอร์เซ็นต์เมล็ดดี และลดเปอร์เซ็นต์เมล็ดด่าง และเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะไอโซเลท KP07 ซึ่งมีประสิทธิภาพดีในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าว แต่ไม่สามารถควบคุมโรคได้ ไปพัฒนาให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ความเข้มข้น 100 ppm ก่อนนำไปทดสอบการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *H. oryzae*, *T. padwickii* และ *C. lunata* พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะทุกไอโซเลทสามารถพัฒนาให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ความเข้มข้น 100 ppm ได้ และเมื่อนำเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะสายพันธุ์กลายที่ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ไปทดสอบการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคทั้ง 3 ชนิด สามารถคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะที่ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin และมีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคทั้ง 3 ชนิด คือ เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ BB165-M3, CG06-M6 และ KP09-M5 เชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะไอโซเลท SBn07-M4 (ตารางที่ 6) และเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะไอโซเลท KP07-M2 (ไม่ได้แสดงข้อมูล) ไปพัฒนาเป็นสูตรสำเร็จชนิดผง เพื่อนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

ตารางที่ 6 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา

Helminthosporium oryzae, *Trichoconis padwickii* และ *Curvularia lunata* บนอาหาร potato dextrose agar (PDA) โดยเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์ดั้งเดิมและสายพันธุ์กลายที่ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin

ไอโซเลท/ สายพันธุ์	การยับยั้งการเจริญของเส้นใย (%) ^{1/}		
	<i>H. oryzae</i>	<i>T. padwickii</i>	<i>C. lunata</i>
SBn07-WT ^{2/}	52.22 ab ^{3/}	62.22 a	57.03 a
SBn07-M1 ^{4/}	48.89 c-d	53.09 cd	50.19 b
SBn07-M2	50.00 b-e	58.33 a-c	57.41 a
SBn07-M3	48.06 e	59.17 ab	56.48 a
SBn07-M4	51.67 ab	61.11 a	56.67 a
SBn07-M5	48.61 de	63.15 a	58.52 a
SBn07-M6	51.67 ab	52.70 d	58.33 a
SBn07-M7	50.83 b-d	63.06 a	57.78 a
SBn07-M8	50.00 b-e	54.72 b-d	57.78 a
SBn07-M9	51.11 a-c	62.70 a	58.06 a
SBn07-M10	53.33 a	62.48 a	57.96 a
KP09-WT	52.78 a	60.74 ab	56.67 a
KP09- M1	52.70 a	57.78 bc	55.37 ab
KP09-M2	52.96 a	60.28 ab	53.52 b
KP09-M3	48.61 b	55.56 cd	50.37 c
KP09-M4	51.85 a	47.15 e	53.15 b
KP09-M5	51.11 a	58.89 a-c	55.00 ab
KP09-M6	52.22 a	52.78 d	54.44 ab
KP09-M7	47.78 b	62.78 a	54.72 ab
KP09-M8	47.50 b	58.06 bc	54.07 ab
KP09-M9	52.22 a	55.56 cd	55.85 ab

ตารางที่ 6 (ต่อ)

ไอโซเลท/ สายพันธุ์	การยับยั้งการเจริญของเส้นใย (%)		
	<i>H. oryzae</i>	<i>T. padwickii</i>	<i>C. lunata</i>
BB165-WT	55.00 a	59.26 b	59.44 a
BB165-M1	41.23 b	50.09 c	57.96 ab
BB165-M2	43.33 b	56.04 b	54.44 b
BB165-M3	42.53 b	64.44 a	57.78 ab
BB165-M4	41.67 b	58.89 b	56.11 ab
BB165-M5	43.81 b	62.70 a	49.11 c
CG06-WT	54.26 a	57.50 c	59.23 a
CG06-M1	44.81 c	60.48 b	48.52 d
CG06-M2	50.00 b	54.44 d	52.13 bc
CG06-M3	50.00 b	62.78 a	54.07 b
CG06-M4	53.61 ab	61.59 ab	51.48 c
CG06-M5	50.93 ab	60.28 b	53.70 bc
CG06-M6	51.30 ab	63.06 a	51.85 bc
Control	-	-	-

^{1/} เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อโรคคำนวณจากสมการ $[(R_1 - R_2)/R_1] \times 100$

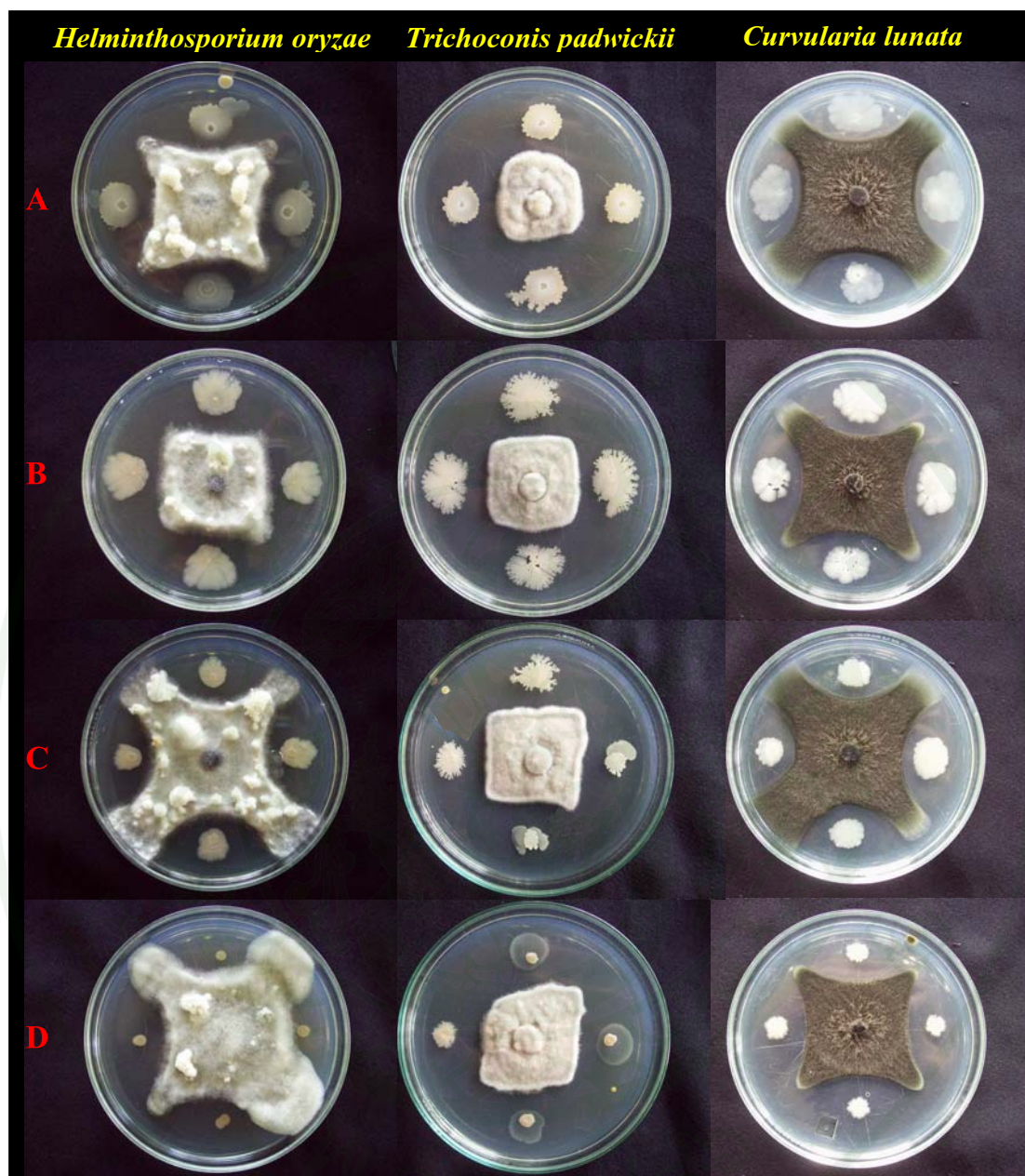
R_1 คือ ค่าเฉลี่ยของรัศมีของเส้นใยเชื้อโรคในจานเลี้ยงเชื้อในกรรมวิธีควบคุม (cm)

R_2 คือ ค่าเฉลี่ยของรัศมีของเส้นใยเชื้อโรคในจานเลี้ยงเชื้อในกรรมวิธีทดสอบ (cm)

^{2/} WT = เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ดั้งเดิม

^{3/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) (P=0.05)

^{4/} M = เชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์กลาย (mutant) ที่ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ความเข้มข้น 100 ppm



ภาพที่ 4 ประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์กลายที่ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Helminthosporium oryzae*, *Trichoconis padwickii* และ *Curvularia lunata* บนอาหาร PDA โดยวิธี Dual culture

- A. เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์ CG06-M6 (CG06-WT)
- B. เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SBn07-M4 (SBn07-WT)
- C. เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ KP09-M5 (KP09-WT)
- D. เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ BB165-M3 (BB165-WT)

4. ปริมาณของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ชนิดผง

การตรวจปริมาณของเชื้อแบคทีเรียที่พัฒนาเป็นสูตรสำเร็จชนิดผงบรรจุซองฟอยล์ พบ ปริมาณเชื้อแบคทีเรียหลังการเตรียมเสร็จ มีค่าระหว่าง 2.0×10^{10} - 2.1×10^{12} CFU/g เมื่อเก็บรักษาผงเชื้อไว้ในห้องเย็นที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 วัน พบทุกกรรมวิธีมีปริมาณของเชื้อลดลง 20-30 เท่า ยกเว้น กรรมวิธีของเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ CG06-M6 และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท KP07-M2 ซึ่งมีปริมาณเชื้อลดลง 40 และ 10 เท่า ตามลำดับ เมื่อเก็บรักษาต่อไปจนครบ 180 วัน พบเชื้อมีปริมาณอยู่ระหว่าง 1.4×10^7 - 1.6×10^{10} CFU/g (ตารางที่ 7) ซึ่งมีปริมาณค่อนข้างสูง

ตารางที่ 7 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สูตรสำเร็จชนิดผงบรรจุในซองฟอยล์ เมื่อเก็บรักษาไว้ในห้องเย็น (10 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 180 วัน

กรรมวิธี (ไอโซเลท/สายพันธุ์)	ปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ชนิดผง (CFU/ผง 1 g) ^{1/} ระหว่างเก็บรักษา (วัน)					
	0	60	90	120	150	180
BB165	3.8×10^{11}	4.7×10^{10}	3.1×10^9	8.1×10^9	1.2×10^{10}	1.3×10^{10}
CG06	1.5×10^{11}	2.8×10^{11}	1.8×10^{10}	6.9×10^9	1.1×10^{10}	5.8×10^9
KP07	1.3×10^{12}	5.4×10^{11}	2.0×10^{10}	5.1×10^9	2.2×10^{10}	1.6×10^{10}
KP09	1.7×10^{11}	1.8×10^{11}	8.2×10^9	3.9×10^9	6.2×10^9	1.2×10^{10}
SBN07	2.1×10^{12}	7.8×10^{11}	2.5×10^{10}	9.8×10^9	1.6×10^{10}	1.5×10^{10}
BB165-M3	2.0×10^{10}	9.0×10^8	1.0×10^8	1.3×10^8	1.0×10^8	1.1×10^9
CG06-M6	7.1×10^{11}	7.3×10^9	2.4×10^7	1.3×10^7	6.7×10^8	1.4×10^7
KP07-M2	8.0×10^{10}	1.0×10^9	8.9×10^9	1.8×10^9	1.9×10^9	3.6×10^9
KP09-M5	1.4×10^{11}	1.6×10^9	5.7×10^8	4.0×10^8	5.3×10^8	2.1×10^9
SBN07-M4	7.0×10^{11}	8.7×10^{10}	5.8×10^9	9.0×10^9	6.3×10^9	3.1×10^9

^{1/} ตรวจปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ โดยวิธี dilution spread plate บนอาหาร NGA และ NGA ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin ความเข้มข้น 50 ppm

5. ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการลดโรคเมล็ดต่าง และเพิ่มผลผลิตของข้าว

เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่คัดเลือกมาทดสอบประสิทธิภาพในการลดโรคเมล็ดต่างและเพิ่มผลผลิตของข้าวในสภาพแปลงปลูกข้าว พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ KP09-M5 ชนิดผง ช่วยให้ข้าวมีจำนวนต้นต่อกอมากที่สุด (32.0 ต้น/กอ) และมากกว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 (26.5 ต้น/กอ) กรรมวิธีควบคุมที่ปลูก (25.6 ต้น/กอ) และไม่ปลูก (26.5 ต้น/กอ) เชื้อราสาเหตุโรคอย่างมีนัยสำคัญ และพบกรรมวิธีที่ใช้เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ BB165 (31.55 ต้น/กอ) ซึ่งมากกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 และกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค (ตารางที่ 8)

เมื่อพิจารณาผลผลิตต่อกอ (ผลผลิตรวม) พบว่าทุกกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์และเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 มีผลผลิตรวมสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค โดยกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SBn07 ชนิดผง ช่วยให้ผลผลิตต่อกอสูงที่สุดคือ 100.34 กรัม/กอ และสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 และกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ใช้เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ BB165 และสารเคมี propiconazole+difenoconazole 30% EC (อามูเร่) โดยมีผลผลิตต่อกอเท่ากับ 97.68 และ 92.63 กรัม/กอ ตามลำดับ (ตารางที่ 8)

สำหรับจำนวนรวงของข้าวต่อกอ นั้น พบว่ามีค่าสอดคล้องกับจำนวนต้นต่อกอ โดยกรรมวิธีที่ใช้เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ BB165 มีจำนวนรวงสูงที่สุด คือ 29.1 รวงต่อกอ มากกว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 กรรมวิธีควบคุมที่ปลูกและไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคอย่างมีนัยสำคัญ รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ KP09-M5 ชนิดผง และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SBn07 ชนิดผงซึ่งมีจำนวนรวงเท่ากับ 28.5 และ 28.2 รวงต่อกอ ตามลำดับ และมากกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคและเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 (ตารางที่ 8)

เมื่อพิจารณาน้ำหนักเมล็ดต่อรวง กลับพบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ KP09 ชนิดผง ช่วยให้น้ำหนักเมล็ดต่อรวงสูงที่สุด และสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 และกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค โดยมีน้ำหนักเมล็ดต่อรวงเท่ากับ 4.21 กรัม/รวง รองลงมาคือกรรมวิธีไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค และกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลต SBn07 ชนิดผง ซึ่งมีน้ำหนักเมล็ดต่อรวงเท่ากับ 3.62 และ 3.56 กรัม/รวง ตามลำดับ (ตารางที่ 8)

ส่วนน้ำหนักเมล็ดข้าว 1,000 เมล็ดนั้น พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลต SBn07 ชนิดผง ให้น้ำหนักเมล็ด 1,000 เมล็ดมากที่สุด คือ 39.66 กรัม/1,000 เมล็ด ซึ่งสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 และกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลต SBn07-M4 ชนิดผง และเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 โดยมีน้ำหนักเมล็ด 1,000 เมล็ดเท่ากับ 39.14 และ 38.99 กรัม/1,000 เมล็ด ตามลำดับ (ตารางที่ 8)

จากการสุ่มเมล็ดข้าวจากแต่ละกรรมวิธีมาตรวจนับเปอร์เซ็นต์เมล็ดดี เมล็ดด่างและเมล็ดลีบ พบว่าทุกกรรมวิธีที่ใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค โดยกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ CG06-M6 ชนิดผง มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีสูงที่สุดเท่ากับ 75.52 เปอร์เซ็นต์ และสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 สารเคมี propiconazole+difenoconazole 30% EC (อามูเร่) และกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค และพบกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลต SBn07 ชนิดผง มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีเท่ากับ 73.64 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 สารเคมี propiconazole+difenoconazole 30% EC (อามูเร่) กรรมวิธีควบคุมที่ปลูกและไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 8 ค่าเฉลี่ยจำนวนต้นข้าวต่อกอ น้ำหนักผลผลิตต่อกอ (น้ำหนักผลผลิตรวม) จำนวนรวงต่อกอ น้ำหนักผลผลิตต่อรวง และน้ำหนักของเมล็ดต่อ 1,000 เมล็ด เมื่อแช่เมล็ดข้าวด้วยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ก่อนปลูก และพ่นลงบนรวงข้าวจำนวน 2 ครั้ง เมื่อข้าวอายุ 80 และ 87 วัน

กรรมวิธี (ไอโซเลท/ สายพันธุ์)	จำนวนต้น/ กอ	น้ำหนัก ผลผลิตรวม (กรัม/กอ) ^{1/}	จำนวน รวง/กอ	น้ำหนัก ผลผลิต/รวง (กรัม/รวง) ^{1/}	น้ำหนักเมล็ด 1,000 เมล็ด ^{1/} (กรัม/1,000 เมล็ด) ^{2/}
BB165 (cs) ^{3/}	31.5 ab ^{4/}	97.68 ab	29.1 a	3.34 b	36.66 a-c
BB165 (พง) ^{5/}	28.0 a-d	79.36 a-c	26.2 a-f	3.06 b	37.54 a-c
BB165-M3	29.7 a-c	90.90 a-c	27.8 a-d	3.30 b	36.20 bc
BB165-M3 (พง)	26.1 cd	85.25 a-c	24.5 a-f	3.46 ab	36.56 a-c
KP09 (cs)	29.6 a-c	89.05 a-c	27.3 a-e	3.25 b	36.79 a-c
KP09 (พง)	25.0 cd	90.37 a-c	21.7 f	4.21 a	38.25 a-c
KP09-M5(cs)	25.5 cd	82.74 a-c	24.6 a-f	3.38 b	38.12 a-c
KP09-M5 (พง)	32.0 a	87.54 a-c	28.5 ab	3.08 b	35.59 c
SBN07 (cs)	25.8 cd	73.95 c	24.5 a-f	3.00 b	36.59 a-c
SBN07 (พง)	29.8 a-c	100.34 a	28.2 a-c	3.56 ab	39.66 a
SBN07-M4 (cs)	24.5 cd	75.67 c	22.7 ef	3.32 b	36.34 a-c
SBN07-M4 (พง)	29.1 a-c	81.63 a-c	26.1 a-f	3.17 b	39.14 ab
CG06 (พง)	25.8 cd	76.69 bc	23.8 c-f	3.21 b	37.61 a-c
CG06-M6 (พง)	23.2 d	76.83 bc	21.7 f	3.53 ab	36.28 bc
KP07 (พง)	28.3 a-d	87.78 a-c	26.2 a-f	3.33 b	36.77 a-c
KP07-M2 (พง)	28.1 a-d	78.65 bc	26.0 a-f	3.02 b	37.71 a-c
CB-Pin-01	26.5 b-d	80.42 a-c	24.3 b-f	3.30 b	38.99 ab
สารเคมีอามูเร ^{6/}	29.4 a-c	92.63 a-c	26.2 a-f	3.53 ab	37.64 a-c
Control (-) ^{7/}	26.5 b-d	84.98 a-c	23.5 d-f	3.62 ab	37.61 a-c
Control (+) ^{8/}	25.6 cd	77.55 bc	24.2 b-f	3.19 b	36.31 bc

ตารางที่ 8 (ต่อ)

- ^{1/} คำนวณน้ำหนักผลผลิตต่อกอ น้ำหนักผลผลิตต่อรวง และน้ำหนักเฉลี่ยของเมล็ดต่อ 1,000 เมล็ดที่ความชื้น 10%
- ^{2/} ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเมล็ดจากการสุ่มนับจำนวนเมล็ดข้าว 1,000 เมล็ดในแต่ละกรรมวิธี กรรมวิธีละ 3 ครั้ง (1,000 เมล็ด/ซ้ำ)
- ^{3/} cs = กรรมวิธีที่ใช้เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ (cell suspension)
- ^{4/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ($P=0.05$)
- ^{5/} ผง = กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ชนิดผง
- ^{6/} กรรมวิธีที่ใช้สารเคมี propiconazole+difenoconazole 30% EC
- ^{7/} กรรมวิธีควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค
- ^{8/} กรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค

เมื่อตรวจเปอร์เซ็นต์เมล็ดต่าง พบว่าทุกกรรมวิธีที่ใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดต่างต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค และกรรมวิธีที่มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดต่างต่ำที่สุดคือ กรรมวิธีใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ CG06-M6 ชนิดผง และต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 สารเคมี propiconazole+difenoconazole 30% EC (อามูเร่) และกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค โดยมีเปอร์เซ็นต์เมล็ดต่างเท่ากับ 13.83 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ BB165-M3 ชนิดผง และสารเคมี propiconazole+difenoconazole 30% EC (อามูเร่) ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์เมล็ดต่างเท่ากับ 15.55 และ 15.55 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 9)

ส่วนเปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบนั้น พบว่าทุกกรรมวิธีที่ทำการทดลองมีเปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยกรรมวิธีที่มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบต่ำที่สุดคือ กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SBn07 ชนิดผง รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ใช้เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ KP09 และ BB165 โดยมีเปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบเท่ากับ 8.56, 10.14 และ 10.15 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 เปอร์เซ็นต์เมล็ดดี เมล็ดค้างและเมล็ดลีบ ที่ได้จากการสุ่มเมล็ดข้าว ซึ่งแช่เมล็ดข้าวด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ และเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ก่อนปลูก และพ่นลงบนรวงข้าวจำนวน 2 ครั้ง เมื่อข้าวอายุ 80 และ 87 วัน

กรรมวิธี (ไอโซเลต/สายพันธุ์)	เมล็ดดี (%) ^{1/}	เมล็ดค้าง (%) ^{1/}	เมล็ดลีบ (%) ^{1/}
BB165 (cs) ^{2/}	69.90 ab ^{3/}	19.95 ab	10.15 ns
BB165 (ผง) ^{4/}	70.63 ab	17.91 ab	11.46 ns
BB165-M3 (cs)	70.79 ab	18.67 ab	10.54 ns
BB165-M3 (ผง)	73.07 ab	15.35 ab	11.58 ns
KP09 (cs)	66.90 b	22.96 a	10.14 ns
KP09 (ผง)	71.35 ab	17.12 ab	11.53 ns
KP09-M5 (cs)	68.93 ab	19.03 ab	12.04 ns
KP09-M5 (ผง)	69.88 ab	17.42 ab	12.70 ns
SBn07 (cs)	66.94 b	22.76 a	10.30 ns
SBn07 (ผง)	73.64 ab	17.80 ab	8.56 ns
SBn07-M4	69.97 ab	17.48 ab	12.54 ns
SBn07-M4 (ผง)	70.34 ab	19.36 ab	10.30 ns
CG06 (ผง)	69.94 ab	16.53 ab	13.53 ns
CG06-M6 (ผง)	75.52 a	13.83 b	10.65 ns
KP07 (ผง)	67.68 ab	19.29 ab	13.03 ns
KP07-M2 (ผง)	70.56 ab	17.57 ab	11.86 ns
CB-Pin-01	69.77 ab	18.87 ab	11.36 ns
สารเคมีอามูเร ^{5/}	73.62 ab	15.55 ab	10.83 ns
Control (-) ^{6/}	69.49 ab	19.06 ab	11.45 ns
Control (+) ^{7/}	64.53 b	23.92 a	11.55 ns

^{1/} ตรวจเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีในแต่ละกรรมวิธี กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 กรัม

^{2/} cs = กรรมวิธีที่ใช้เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ (cell suspension)

^{3/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) (P=0.05)

ตารางที่ 9 (ต่อ)

- ^{4/} ผง = กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ชนิดผง
- ^{5/} กรรมวิธีที่ใช้สารเคมี propiconazole+difenoconazole 30% EC
- ^{6/} กรรมวิธีควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค
- ^{7/} กรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค

เมื่อนำรากข้าวหลังจากการเก็บเกี่ยวข้าวแล้วมาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อตรวจสอบความสามารถในการเจริญครอบครองรากข้าวของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ จากผลการทดลอง กรณีที่ล้างรากข้าวด้วยน้ำนิ่งฆ่าเชื้อเพียงอย่างเดียว พบกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ CG06-M6 ชนิดผง และกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 เท่านั้นที่พบการเจริญครอบครองรากของข้าว โดยมีค่าเท่ากับ 3.70 และ 18.52 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 10)

เมื่อนำรากข้าวอีกส่วนหนึ่งไปฆ่าเชื้อที่ผิวรากด้วย 0.525% sodium hypochlorite เป็นเวลา 3 นาทีก่อนนำไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ พบทุกกรรมวิธีมีการเจริญครอบครองรากข้าวของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ยกเว้นกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท KP07-M2 และกรรมวิธีที่มีการเจริญครอบครองรากข้าวสูงที่สุดคือ กรรมวิธีที่ใช้เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SBn07-M4 ซึ่งค่าเท่ากับ 18.52 เปอร์เซ็นต์ และสูงกว่าทุกกรรมวิธีที่ใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์อื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ใช้เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ KP09-M5, BB165-3 และเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 โดยมีเปอร์เซ็นต์การเจริญครอบครองรากข้าวเท่ากันคือ 7.41 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 10)

อย่างไรก็ตาม เมื่อตรวจสอบความสามารถในการเจริญครอบครองผิวเมล็ดข้าวของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์กลายและเชื้อรา *T. harzianum* ที่ฟ่นลงบนรวงข้าวจำนวน 2 ครั้งก่อนทำการเก็บเกี่ยว กรณีที่ล้างเมล็ดข้าวด้วยน้ำนิ่งฆ่าเชื้อเพียงอย่างเดียว พบกรรมวิธีที่ใช้เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ KP09-M5 มีการเจริญครอบครองผิวเมล็ดข้าวสูงที่สุด และสูงกว่าทุกกรรมวิธีที่ใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์อื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่าเท่ากับ 21.67 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 และเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SBn07-M4 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 6.67 และ 3.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีอื่นๆ (ตารางที่ 10)

ส่วนกรณีที่น่าเชื้อที่ผิวเมล็ดด้วย 0.525% sodium hypochlorite นั้น พบกรรมวิธีที่ใช้เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ KP09-M5 และเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 เท่านั้นที่มีการเจริญครอบครองเมล็ดของข้าว โดยมีค่าเท่ากับ 3.33 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 10)

เมื่อนำเมล็ดข้าวที่แสดงอาการเมล็ดค่างมาฆ่าเชื้อที่ผิวเมล็ดด้วย 0.525% sodium hypochlorite นำไปวางบนอาหาร PDA เชื้อราที่พบเจริญจากเมล็ดข้าวส่วนมากคือ เชื้อรา *C. lunata* รองลงมาคือ เชื้อรา *H. oryzae* และพบเชื้อรา *T. padwickii* เพียงเล็กน้อย (ตารางที่ 11)

และจากตารางผลการทดลองที่ 11 พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ KP09-M5 ชนิดผง มีเปอร์เซ็นต์ของเชื้อรา *C. lunata* ที่เจริญจากเมล็ดข้าวน้อยที่สุด และเท่ากับกรรมวิธีที่ใช้สารเคมี propiconazole+difenoconazole 30% EC (อามูเร่) ซึ่งน้อยกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค และเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 โดยมีค่าเท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใช้เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ BB165-M3 โดยมีเปอร์เซ็นต์ของเชื้อรา *C. lunata* ที่เจริญจากเมล็ดข้าวเท่ากับกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค คือ 23.33 เปอร์เซ็นต์ และน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค

ส่วนเปอร์เซ็นต์ของเชื้อรา *H. oryzae* ที่เจริญบนเมล็ดข้าวนั้น พบว่าทุกกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์มีเปอร์เซ็นต์ของเชื้อรา *H. oryzae* ที่เจริญจากเมล็ดข้าวน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค ยกเว้นกรรมวิธีที่ใช้เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ BB165 และเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 นอกจากนี้ยังพบว่ามีกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 7 กรรมวิธี ไม่พบการเจริญของเชื้อรา *H. oryzae* จากเมล็ดข้าว คือ กรรมวิธีที่ใช้เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลต SBn07-M4 เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ KP09, BB165 เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ชนิดผงดินไอโซเลต SBn07-M4, KP07-M2 เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* ชนิดผงดินสายพันธุ์ BB165-M3 และ CG06-M6 เช่นเดียวกับกรรมวิธีที่ใช้สารเคมี propiconazole+difenoconazole 30% EC (อามูเร่) (ตารางที่ 11)

ตารางที่ 10 ประสิทธิภาพในการเจริญครอบครองรากข้าว และผิวเมล็ดข้าวของเชื้อแบคทีเรีย
ปฏิชีวนะและเชื้อรา *Trichoderma harzianum* เมื่อแช่เมล็ดข้าวด้วยจุลินทรีย์
ปฏิชีวนะก่อนปลูก และพ่นลงบนรวงข้าวจำนวน 2 ครั้ง เมื่อข้าวอายุ 80 และ 87 วัน

กรรมวิธี (ไอโซเลท/ สายพันธุ์)	การเจริญครอบครองรากข้าว (%) ^{1/}		การเจริญครอบครองผิวเมล็ดข้าว (%) ^{2/}	
	ไม่แช่ 0.525% ^{3/}	แช่ 0.525%	ไม่แช่ 0.525% ^{3/}	แช่ 0.525%
	sodium hypochlorite	sodium hypochlorite ^{4/}	sodium hypochlorite	sodium hypochlorite ^{4/}
BB165 (cs) ^{5/}	ND ^{6/}	ND	ND	ND
BB165 (ฝง) ^{7/}	ND	ND	ND	ND
BB165-M3 (cs)	0.00 b ^{8/}	7.41 bc	1.67 bc	0.00 b
BB165-M3 (ฝง)	0.00 b	3.70 bc	1.67 bc	0.00 b
KP09 (cs)	ND	ND	ND	ND
KP09 (ฝง)	ND	ND	ND	ND
KP09-M5 (cs)	0.00 b	7.41 bc	21.67 a	3.33 a
KP09-M5 (ฝง)	0.00 b	3.70 bc	1.67 bc	0.00 b
SBn07 (cs)	ND	ND	ND	ND
SBn07 (ฝง)	ND	ND	ND	ND
SBn07-M4 (cs)	0.00 b	18.52 a	3.33 bc	0.00 b
SBn07-M4 (ฝง)	0.00 b	3.70 bc	0.00 c	0.00 b
CG06 (ฝง)	ND	ND	ND	ND
CG06-M6 (ฝง)	3.70 b	3.70 bc	1.67 bc	0.00 b
KP07 (ฝง)	ND	ND	ND	ND
KP07-M2 (ฝง)	0.00 b	0.00 c	1.67 bc	0.00 b
CB-Pin-01	18.52 a	7.41 bc	6.67 b	3.33 a
สารเคมีอามูเร ^{9/}	ND	ND	ND	ND
Control (-) ^{10/}	ND	ND	ND	ND
Control (+) ^{11/}	ND	ND	ND	ND

ตารางที่ 10 (ต่อ)

- ^{1/} ตรวจเปอร์เซ็นต์การเจริญครอบครองรากข้าวในแต่ละกรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 9 ชิ้น
- ^{2/} ตรวจเปอร์เซ็นต์การเจริญครอบครองผิวเมล็ดข้าวในแต่ละกรรมวิธี กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 20 เมล็ด
- ^{3/} กรรมวิธีที่ล้างด้วยน้ำนิ่งฆ่าเชื้อเพียงอย่างเดียว
- ^{4/} กรรมวิธีที่ฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย 0.525% sodium hypochlorite
- ^{5/} cs = กรรมวิธีที่ใช้เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ (cell suspension)
- ^{6/} ND = non-determined (ไม่ได้ตรวจสอบ)
- ^{7/} ผง = กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ชนิดผง
- ^{8/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) (P=0.05)
- ^{9/} กรรมวิธีที่ใช้สารเคมี propiconazole+difenoconazole 30% EC
- ^{10/} กรรมวิธีควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค
- ^{11/} กรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค

เมื่อตรวจเปอร์เซ็นต์ของเชื้อรา *T. padwickii* ที่เจริญบนเมล็ดข้าว มีเพียง 4 กรรมวิธีเท่านั้นที่พบการเจริญของเชื้อรา *T. padwickii* จากเมล็ดข้าวคือ กรรมวิธีที่ใช้เซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลต SBn07-M4 เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ชนิดผงไอโซเลต KP07, KP07-M2 และกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีอื่น (ตารางที่ 11)

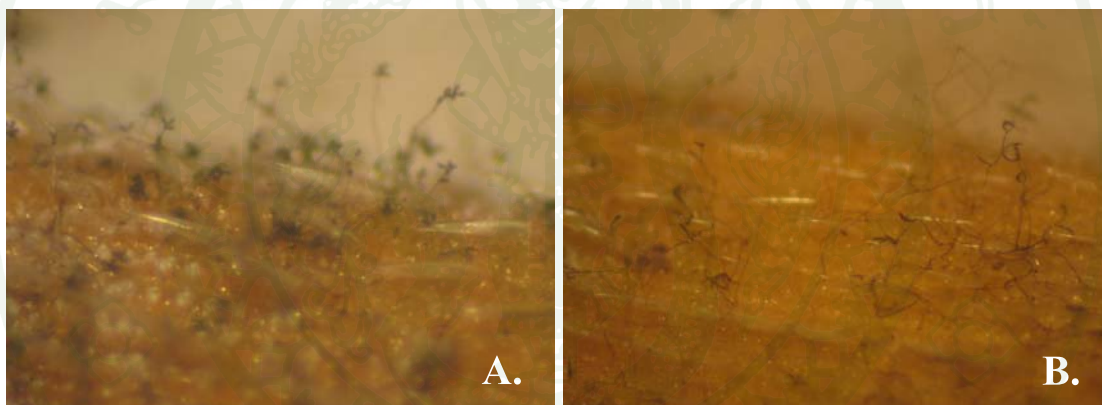
อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์โดยรวมของเชื้อราทั้ง 3 ชนิดที่เจริญจากเมล็ดข้าวพบว่ากรรมวิธีที่ใช้สารเคมี propiconazole+difenoconazole 30% EC (อามูเร่) มีค่าน้อยที่สุด รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ใช้ผงเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ KP09-M5 โดยมีค่าเท่ากับ 20.00 และ 23.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และน้อยกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค (ตารางที่ 11)

ตารางที่ 11 เปอร์เซ็นต์ของเชื้อรา *Curvularia lunata*, *Helminthosporium oryzae* และ *Trichococonis padwickii* ที่เจริญจากผิวเมล็ดข้าวที่แสดงอาการเมล็ดค่าง หลังพ้นจุลินทรีย์ปฏิบัติการลงบนรวงข้าวจำนวน 2 ครั้ง เมื่อข้าวอายุ 80 และ 87 วัน

กรรมวิธี (ไอโซเลต/สายพันธุ์)	เชื้อราที่เจริญจากผิวเมล็ดข้าว (%) ^{1/}			
	<i>C. lunata</i>	<i>H. oryzae</i>	<i>T. padwickii</i>	เชื้อราทั้ง 3 ชนิด
BB165 (cs) ^{2/}	30.00 b-d ^{3/}	0.00 b	0.00 b	30.00 a-c
BB165 (ผง) ^{4/}	26.67 b-d	3.33 b	0.00 b	30.00 a-c
BB165-M3 (cs)	23.33 cd	6.67 ab	0.00 b	30.00 a-c
BB165-M3 (ผง)	26.67 b-d	0.00 b	0.00 b	26.67 a-c
KP09 (cs)	33.33 b-d	0.00 b	0.00 b	33.33 a-c
KP09 (ผง)	36.67 a-c	3.33 b	0.00 b	40.00 a-c
KP09-M5 (cs)	33.33 b-d	3.33 b	0.00 b	36.67 a-c
KP09-M5 (ผง)	20.00 d	3.33 b	0.00 b	23.33 bc
SBN07 (cs)	30.00 b-d	3.33 b	0.00 b	33.33 a-c
SBN07 (ผง)	36.67 a-c	3.33 b	0.00 b	40.33 a-c
SBN07-M4 (cs)	30.00 b-d	0.00 b	6.67 a	36.67 a-c
SBN07-M4 (ผง)	36.67 a-c	0.00 b	0.00 b	36.67 a-c
CG06 (ผง)	40.00 ab	3.33 b	0.00 b	43.33 a-c
CG06-M6 (ผง)	30.00 b-d	0.00 b	0.00 b	30.00 a-c
KP07 (ผง)	50.00 a	3.33 b	3.33 ab	56.66 ab
KP07-M2 (ผง)	36.67 a-c	0.00 b	3.33 ab	40.00 a-c
CB-Pin-01	30.00 b-d	10.00 ab	0.00 b	40.00 a-c
สารเคมีอามูเร ^{5/}	20.00 d	0.00 b	0.00 b	20.00 c
Control (-) ^{6/}	23.33 cd	6.67 b	0.00 a	30.00 a-c
Control (+) ^{7/}	40.00 ab	16.67 a	3.33 ab	60.00 a

ตารางที่ 11 (ต่อ)

- ^{1/} ตรวจเปอร์เซ็นต์ของเชื้อราที่เจริญจากผิวเมล็ดข้าวในแต่ละกรรมวิธี กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 เมล็ด
- ^{2/} cs = กรรมวิธีที่ใช้เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ (cell suspension)
- ^{3/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ($P=0.05$)
- ^{4/} ผง = กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ชนิดผง
- ^{5/} กรรมวิธีที่ใช้สารเคมี propiconazole+difenoconazole 30% EC
- ^{6/} กรรมวิธีควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค
- ^{7/} กรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค



ภาพที่ 5 การเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างบนผิวเมล็ดข้าวเปลือก

- A. เชื้อรา *Curvularia lunata*
- B. เชื้อรา *Helminthosporium oryzae*

6. อิทธิพลของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้าข้าว และความสามารถในการเจริญครอบครองรากข้าว

เมื่อนำเมล็ดข้าวที่แสดงอาการเมล็ดต่างจากแต่ละกรรมวิธีมาตรวจนับเปอร์เซ็นต์การงอก พบว่าทุกกรรมวิธีมีเปอร์เซ็นต์การงอกไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีที่ใช้เมล็ดดี ยกเว้น กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ BB165-M3 ชนิดผง และพบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท KP07 ชนิดผง มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงที่สุดคือ 99.12 เปอร์เซ็นต์ และสูงกว่ากรรมวิธีใช้เมล็ดดี (98.27 เปอร์เซ็นต์) (ตารางที่ 12)

เมื่อนำต้นกล้าข้าวที่เพาะในถาดเพาะครบ 7 วัน มาวัดความสูงของต้นและความยาวของราก พบกรรมวิธีที่ใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ 10 กรรมวิธีที่มีความสูงของกล้าข้าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีที่ใช้เมล็ดดี และพบกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ CG06-M6 ชนิดผง มีความสูงของกล้าข้าวสูงกว่ากรรมวิธีที่ใช้เมล็ดดี โดยมีความสูงของกล้าข้าวเท่ากับ 10.93 เซนติเมตร และสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค และเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 (ตารางที่ 12)

ส่วนความยาวของรากนั้น พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เมล็ดดี มีความยาวของรากมากที่สุด คือ 9.18 เซนติเมตร และพบกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 2 กรรมวิธีที่มีความยาวของรากข้าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีที่ใช้เมล็ดดี คือ กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SBn07-M4 ชนิดผง (9.14 เซนติเมตร) และเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ CG06 ชนิดผง (8.66 เซนติเมตร) และยาวกว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 กรรมวิธีควบคุมที่ปลูกและไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 12)

เมื่อนำต้นข้าวอายุ 14 วัน มาวัดความสูงของต้น พบกรรมวิธีที่ใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ 10 กรรมวิธีที่มีความสูงของกล้าข้าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีที่ใช้เมล็ดดี และพบกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 2 กรรมวิธีที่ช่วยให้กล้าข้าวมีความสูงมากกว่ากรรมวิธีที่ใช้เมล็ดดี (23.44 เซนติเมตร) คือ กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SBn07-M4 ชนิดผง (25.07 เซนติเมตร) ซึ่งสูงกว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 กรรมวิธีควบคุมที่ปลูกและไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคอย่างมีนัยสำคัญ และกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ BB165 ชนิดผง (24.46 เซนติเมตร) ซึ่งสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูก

เชื้อราสาเหตุโรคอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค และเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 (ตารางที่ 12)

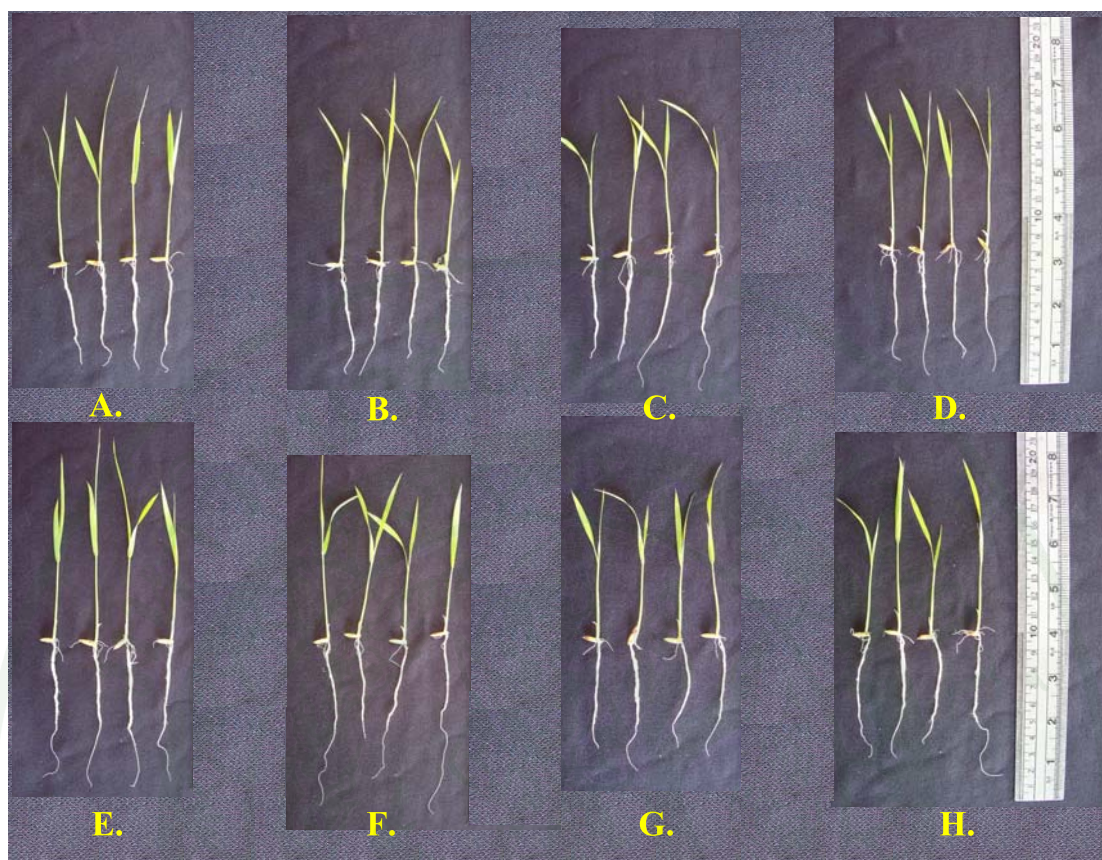
ตารางที่ 12 อิทธิพลของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์และเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ต่อเปอร์เซ็นต์การงอก การส่งเสริมการเจริญของยอดและรากต้นกล้าข้าวของเมล็ดข้าวที่แสดงอาการเมล็ดค้ำ หลังฝนเชื้อลงบนรวงข้าวจำนวน 2 ครั้ง เมื่อข้าวอายุ 80 และ 87 วัน

กรรมวิธี (ไอโซเลท/ สายพันธุ์)	การงอก (%) ^{1/}	กล้าข้าวอายุ 7 วัน		กล้าข้าวอายุ 14 วัน	
		ความสูง (ซม.) ^{2/}	ความยาวราก (ซม.) ^{3/}	ความสูง (ซม.) ^{2/}	ความยาว ราก(ซม.) ^{3/}
BB165 (cs) ^{4/}	92.52 ab ^{5/}	8.01 eg	6.68 c-e	18.99 e-h	7.84 d-f
BB165 (ฟง) ^{6/}	98.09 ab	9.47 a-e	7.15 c-e	24.46 ab	8.03 d-f
BB165-M3 (cs)	96.77 ab	9.34 b-f	6.49 d-f	19.93 d-h	7.25 ef
BB165-M3 (ฟง)	61.37 c	7.29 g	7.12 c-e	18.53 f-h	8.77 b-f
KP09 (cs)	96.17 ab	9.72 a-e	7.80 bc	20.81 c-f	10.61 a-d
KP09 (ฟง)	96.59 ab	9.33 b-f	7.54 cd	18.17 f-h	8.92 b-f
KP09-M5 (cs)	93.21 ab	9.14 c-f	5.39 f	17.46 gh	6.78 ef
KP09-M5 (ฟง)	96.35 ab	9.10 c-f	7.09 c-e	20.43 c-g	7.56 ef
SBN07 (cs)	95.63 ab	8.81 d-f	7.49 cd	19.02 e-h	8.01 d-f
SBN07 (ฟง)	94.81 ab	9.74 a-e	6.15 ef	18.45 f-h	7.79 d-f
SBN07-M4 (cs)	95.41 ab	7.42 g	6.45 d-f	17.06 h	7.91 d-f
SBN07-M4 (ฟง)	97.72 ab	10.57 a-c	9.14 a	25.07 a	13.39 a
CG06 (ฟง)	95.19 ab	9.50 a-e	8.66 ab	23.21 a-c	9.81 b-e
CG06-M6 (ฟง)	93.53 ab	10.93 a	7.12 c-e	23.23 a-c	13.01 a
KP07 (ฟง)	99.12 a	9.84 a-e	7.26 c-e	22.48 a-d	9.24 b-f
KP07-M2 (ฟง)	97.33 ab	9.93 a-d	7.76 bc	20.75 c-f	11.53 ab
CB-Pin-01	96.45 ab	9.33 b-f	6.32 ef	20.81 c-f	6.86 ef
สารเคมีอามูเร ^{7/}	89.62 b	9.95 a-d	8.87 a	23.14 a-d	11.18 a-c
เมล็ดค้ำ ^{8/}	98.27 ab	10.65 ab	9.18 a	23.44 a-c	12.77 a
Control (-) ^{9/}	96.12 ab	9.92 a-d	7.13 c-e	21.78 b-e	8.32 c-f
Control (+) ^{10/}	92.45 ab	8.36 e-g	6.17 ef	20.39 c-g	6.55 f

ตารางที่ 12 (ต่อ)

- ^{1/} ตรวจเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดข้าวที่แสดงอาการเมล็ดต่างในแต่ละกรรมวิธี
กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 2 กรัม
- ^{2/} ค่าเฉลี่ยความสูงต้นกล้าข้าวหลังเพาะ 7 และ 14 วัน โดยวัดจากโคนต้นที่ติดกับเมล็ด
จนถึงปลายใบของยอดข้าวกรรมวิธีละ 5 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ต้น
- ^{3/} ค่าเฉลี่ยความยาวรากข้าวหลังเพาะ 7 และ 14 วัน โดยวัดจากโคนรากถึงปลายราก
กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ต้น
- ^{4/} cs = กรรมวิธีที่ใช้เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ (cell suspension)
- ^{5/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมี
นัยสำคัญ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ($P=0.05$)
- ^{6/} ผง = กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ชนิดผง
- ^{7/} กรรมวิธีที่ใช้สารเคมี propiconazole+difenoconazole 30% EC
- ^{8/} กรรมวิธีที่ใช้เมล็ดดีจากกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค
- ^{9/} กรรมวิธีควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค
- ^{10/} กรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค

เมื่อพิจารณาความยาวของราก พบว่าทุกกรรมวิธีที่ใช้จุลินทรีย์มีความยาวของรากมากกว่า
กรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค แต่มีเพียง 5 กรรมวิธีเท่านั้นที่มีความยาวของรากข้าวไม่
แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีที่ใช้เมล็ดดี และพบกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 2
กรรมวิธี ที่มีความยาวของรากข้าวมากกว่ากรรมวิธีที่ใช้เมล็ดดี คือ กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย
ปฏิปักษ์ไอโซเลต SBn07-M4 ชนิดผง และเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ CG06-M6
ชนิดผง และมีความยาวของรากมากกว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01
กรรมวิธีควบคุมที่ปลูกและไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีความยาวเฉลี่ยของราก
เท่ากับ 13.39 และ 13.01 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 12)



ภาพที่ 6 อิทธิพลของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์และเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ต่อการส่งเสริมการเจริญของยอด และรากต้นกล้าข้าวของเมล็ดข้าวที่แสดงอาการเมล็ดค่าง หลังพ้นเชื้อลงบนรวงข้าวจำนวน 2 ครั้ง ก่อนเก็บเกี่ยว เมื่อต้นข้าวอายุ 7 วัน

- A. กรรมวิธีควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค
- B. กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลต SBn07 ชนิดผง
- C. กรรมวิธีที่ใช้เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ KP09
- D. กรรมวิธีควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค
- E. กรรมวิธีที่ใช้เมล็ดดี
- F. กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลต SBn07-M4 ชนิดผง
- G. กรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01
- H. กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ KP09-M5 ชนิดผง

นอกจากนี้ เมื่อนำรากต้นข้าวที่ปลูกในถาดเพาะเป็นเวลา 7 วัน มาล้างด้วยน้ำนิ่งฆ่าเชื้อเพียงอย่างเดียวก็นำไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ พบการเจริญครอบครองรากข้าวของจุลินทรีย์ปฏิบัติเพียงกรรมวิธีเดียวเท่านั้นคือ กรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเจริญครอบครองรากเท่ากับ 37.50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 13)

เมื่อนำรากข้าวที่อายุ 14 วัน ไปฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย 0.525% sodium hypochlorite ก่อนนำไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ พบการเจริญครอบครองรากของจุลินทรีย์ปฏิบัติทุกกรรมวิธี ยกเว้นกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ BB165-M3 ชนิดผง และเชื้อแบคทีเรียปฏิบัติไอโซเลท SBn07-M4 ชนิดผง และพบว่ากรรมวิธีที่ใช้เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ KP09-M5 มีเปอร์เซ็นต์การเจริญครอบครองรากสูงที่สุดคือ 75.00 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ CG06-M6 ชนิดผง และเชื้อแบคทีเรียปฏิบัติไอโซเลท KP07-M2 ชนิดผง โดยมีเปอร์เซ็นต์การเจริญครอบครองรากเท่ากัน คือ 37.50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 13)

ตารางที่ 13 การเจริญครอบครองรากข้าวของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ และเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ที่พ่นลงบนรวงข้าวจำนวน 2 ครั้ง ก่อนเก็บเกี่ยว แล้วนำเมล็ดข้าวที่แสดงอาการเมล็ดต่างไปปลูกในถาดเพาะเป็นเวลา 7 และ 14 วัน

กรรมวิธี (ไอโซเลท/สายพันธุ์)	การเจริญครอบครองรากข้าว (%) ^{1/}	
	7 วัน ^{2/}	14 วัน ^{3/}
BB165 (cs) ^{4/}	ND ^{5/}	ND
BB165 (ผง) ^{6/}	ND	ND
BB165-M3 (cs)	0.00	25.00 ab ^{7/}
BB165-M3 (ผง)	0.00	0.00 b
KP09 (cs)	ND	ND
KP09 (ผง)	ND	ND
KP09-M5 (cs)	0.00	75.00 a
KP09-M5 (ผง)	0.00	25.00 ab
SBn07 (cs)	ND	ND
SBn07 (ผง)	ND	ND
SBn07-M4 (cs)	0.00	25.00 ab
SBn07-M4 (ผง)	0.00	0.00 b
CG06 (ผง)	ND	ND
CG06-M6 (ผง)	0.00	37.50 ab
KP07 (ผง)	ND	ND
KP07-M2 (ผง)	0.00	37.50 ab
CB-Pin-01	37.50	25.00 ab
สารเคมีอามูเร ^{8/}	ND	ND
เมล็ดดี ^{9/}	ND	ND
Control (-) ^{10/}	ND	ND
Control (+) ^{11/}	ND	ND

ตารางที่ 13 (ต่อ)

^{1/} ตรวจเปอร์เซ็นต์การเจริญครอบครองรากข้าวในแต่ละกรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ราก

^{2/} กรรมวิธีที่ล้างด้วยน้ำนิ่งมาเชื้อเพียงอย่างเดียว

^{3/} กรรมวิธีที่มาเชื้อที่ผิวด้วย 0.525% sodium hypochlorite

^{4/} cs = กรรมวิธีที่ใช้เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ (cell suspension)

^{5/} ND = non-determined (ไม่ได้ตรวจสอบ)

^{6/} ผง = กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ชนิดผง

^{7/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ($P=0.05$)

^{8/} กรรมวิธีที่ใช้สารเคมี propiconazole+difenoconazole 30% EC

^{9/} กรรมวิธีที่ใช้เมล็ดดีจากกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค

^{10/} กรรมวิธีควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค

^{11/} กรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค

วิจารณ์

จากการแยกเชื้อแบคทีเรียบริเวณผิวรากข้าว พบแบคทีเรียแกรมบวกที่แยกได้จากรากข้าว ซึ่งแช่เมล็ดข้าวในปุ๋ยอินทรีย์น้ำ และนำจากนาข้าวก่อนการเพาะ เป็นจำนวนมาก แสดงให้เห็นว่าในปุ๋ยอินทรีย์น้ำ และน้ำจากนาข้าว มีเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการเจริญครอบครองรากข้าว มากกว่าในน้ำผสมด้วยปุ๋ยหมัก และน้ำผสมด้วยปุ๋ยหมักใบไผ่

จากผลการทดลอง พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียไอโซเลท KP07 และ LG07 ที่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคทั้ง 3 ชนิดในระดับห้องปฏิบัติการได้ แต่มีประสิทธิภาพดีในการส่งเสริมการเจริญของต้นกล้าข้าวในสภาพแปลงปลูกข้าว ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเชื้อแบคทีเรียมีการผลิตฮอร์โมน IAA หรือผลิต Phytohormone แล้วส่งผลไปกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นกล้าตั้งแต่ในระยะแรกได้ ซึ่งสอดคล้องกับเชื้อแบคทีเรีย plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) ที่มีจำหน่ายเป็นการค้า 2 สายพันธุ์ คือ *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ FZB24 และ FZB42 ที่สามารถผลิตฮอร์โมน IAA และละลาย phosphate ได้ในห้องปฏิบัติการ โดยผลิตฮอร์โมนอยู่ระหว่าง 0.065 ถึง 0.700 $\mu\text{g/ml}$ และพบว่าสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นกล้าแดงกว่า มะเขือเทศและพริกได้ (Kidoglu *et al.*, 2007)

จากการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างทั้ง 3 ชนิด พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท KP07 และ LG07 ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคได้ เมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการลดโรคเมล็ดต่าง พบกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ไอโซเลทข้างต้นไม่สามารถลดโรคเมล็ดต่างได้เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับผลที่ได้จากการทดสอบในห้องปฏิบัติการ นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์บางไอโซเลทที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคได้ดีในห้องปฏิบัติการ เมื่อนำมาทดสอบการลดโรคเมล็ดต่างในสภาพแปลงปลูกข้าว กลับลดโรคได้เพียงเล็กน้อยและไม่แตกต่างกับกรรมวิธีควบคุม ทั้งนี้อาจเนื่องจากสภาพแวดล้อมจริงไม่เหมาะต่อการเจริญ การเพิ่มปริมาณ การสร้างสารปฏิชีวนะ หรือกิจกรรมอื่นๆ ของเชื้อที่อาจมีส่วนทำให้ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคของเชื้อแบคทีเรียลดลง

ในการทดลองนี้ได้แยกเชื้อแบคทีเรียจากรากข้าว เพื่อนำมาใช้ในการควบคุมโรคเมล็ดต่างของข้าว ซึ่งเป็นโรคที่เกิดกับส่วนที่อยู่เหนือดินของข้าว เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียสามารถเจริญได้รวดเร็ว และมีกลไกการควบคุมโรคของพืชหลายกลไก ซึ่ง Nanda and Gangopadhyay (1983) ได้

แสดงให้เห็นว่าการนำเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ที่แยกจากดิน มาแช่เมล็ดข้าวก่อนปลูก และพ่นด้วยเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียดังกล่าว เมื่อข้าวอายุ 30 และ 60 วัน พบว่าสามารถป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อรา *Bipolaris oryzae* สาเหตุโรคใบจุดสีน้ำตาลของข้าวในระยะต้นกล้า และระยะที่ข้าวแตกกอได้ เช่นเดียวกับการทดลองครั้งนี้ที่แสดงให้เห็นว่า การแช่เมล็ดข้าวด้วยเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียก่อนปลูก และพ่นด้วยเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียอีก 2 ครั้งหลังปลูก สามารถลดโรคเมล็ดด่าง และเพิ่มผลผลิตของข้าวได้

จากการนำเชื้อแบคทีเรียที่คัดเลือกได้ไปพัฒนาให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ความเข้มข้น 100 ppm ก่อนนำไปทดสอบการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *H. oryzae*, *T. padwickii* และ *C. lunata* พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทุกไอโซเลทสามารถพัฒนาให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะได้ และยังสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคทั้ง 3 ชนิดได้ แต่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคแตกต่างกัน เช่น บางไอโซเลทมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคลดลง บางไอโซเลทเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับสายพันธุ์ดั้งเดิม บางไอโซเลทสามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคได้ดี เพียง 1 หรือ 2 ชนิดเท่านั้นเป็นต้น เห็นได้ชัดเจนจากกรณีของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ดั้งเดิมไอโซเลท KP07 ซึ่งไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค แต่เมื่อนำไปพัฒนาให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin พบสายพันธุ์กลายบางไอโซเลทสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคได้ โดยสร้างสารปฏิชีวนะก่อให้เกิดบริเวณยับยั้งเล็กน้อย

และเมื่อนำไปทดสอบการควบคุมโรคในสภาพแปลงปลูกข้าว พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์กลายไอโซเลท KP07-M2 ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคได้ ช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์เมล็ดดี ลดเปอร์เซ็นต์เมล็ดด่าง และลดเปอร์เซ็นต์การเจริญครอบครองผิวเมล็ดข้าวของเชื้อราสาเหตุโรคได้ดีกว่าการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ดั้งเดิมไอโซเลท KP07 ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคของไอโซเลท KP07-M2 ในระดับห้องปฏิบัติการ

นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ดั้งเดิมไอโซเลท SBn07 ชนิดผง ช่วยให้ผลผลิตต่อกอสูงกว่าการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์กลายไอโซเลท SBn07-M4 ชนิดผง (100.34 และ 81.63 กรัม/กอ ตามลำดับ) แต่ในกรณีของเปอร์เซ็นต์เมล็ดดี กลับพบว่าการใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลายไอโซเลท CG06-M6 ชนิดผง (77.52%) มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีสูงกว่าการใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ดั้งเดิมไอโซเลท CG06 ชนิดผง

(69.94%) จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการพัฒนาให้เชื้อแบคทีเรียเกิดการกลายพันธุ์ เพื่อให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะนั้น อาจทำให้คุณลักษณะเดิมบางประการของเชื้อแบคทีเรียเกิดการเปลี่ยนแปลงไป โดยอาจมีผลต่อการลดหรือเพิ่มศักยภาพในการควบคุมโรคของเชื้อแบคทีเรียได้ด้วย ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ จิระเดช และ วรณวิไล (2550) ที่ได้นำเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 ไปฉายรังสีแกมมา เพื่อให้เชื้อรา *T. harzianum* ต้านทานต่อสารเคมี benomyl แล้วนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคมะล็ดต่างในแปลงนา พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์กลายไอโซเลท 03/7-I34 ช่วยให้ผลผลิตของข้าวเพิ่มขึ้น และยังลดโรคมะล็ดต่างได้ดีกว่าสายพันธุ์ดั้งเดิม

สูตรสำเร็จของเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ นอกจากจะเพิ่มความสะดวกในการนำไปใช้แล้ว ยังมีผลต่ออายุการเก็บรักษาเชื้อ ซึ่งจากผลการทดลองยังคงพบเชื้อแบคทีเรียปริมาณที่สูง (10^7 - 10^{10} CFU/g) ในสูตรสำเร็จชนิดผง เมื่อเก็บรักษาไว้ในห้องเย็น (อุณหภูมิ 10 เซลเซียส) เป็นเวลา 180 วัน รวมทั้งยังมีความสำคัญต่อประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ด้วย โดยพบว่าการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ดั้งเดิมไอโซเลท SBn07 ชนิดผง ช่วยเพิ่มจำนวนต้นตอกอ น้ำหนักผลผลิตต่อกอ จำนวนรวงต่อกอ น้ำหนักผลผลิตต่อรวง น้ำหนักเมล็ด 1,000 เมล็ด เปอร์เซ็นต์เมล็ดดี และลดเปอร์เซ็นต์เมล็ดต่าง สอดคล้องกับการทดลองของวิลาวรรณ และ สุธฤดี (2552) ที่แสดงให้เห็นว่าการใช้สูตรสำเร็จของเชื้อแบคทีเรีย *P. fluorescens* SP007s สามารถส่งเสริมการเจริญของเติบโตของข้าวทั้งในส่วนของความสูง การแตกกอ และปริมาณรวงต่อกอ ส่งผลให้ผลผลิตของข้าวเพิ่มขึ้น พร้อมทั้งยังลดโรคมะล็ดต่างได้

จากผลการทดลองไม่พบเปอร์เซ็นต์การเจริญครอบครองผิวเมล็ดข้าวหลังเก็บเกี่ยวและรากข้าวที่เพาะจากเมล็ดข้าวที่แสดงอาการเมล็ดต่างของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SBn07-M4 ชนิดผง เมื่อนำเมล็ดข้าวที่แสดงอาการเมล็ดต่างมาเพาะในถาดเพาะกล้า กลับพบว่าต้นกล้าข้าวจากเชื้อไอโซเลทนี้มีการเจริญเติบโตเทียบเท่ากรรมวิธีที่ใช้เมล็ดดี อาจเนื่องมาจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SBn07-M4 ช่วยให้เมล็ดข้าวมีความสมบูรณ์ แข็งแรงแม้จะแสดงอาการต่างก็ตาม ส่วนในกรณีของเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ CG06-M6 ชนิดผงนั้น นอกจากจะพบการเจริญครอบครองผิวเมล็ดและรากข้าวแล้ว ยังพบว่าช่วยให้ต้นกล้าข้าวมีการเจริญเติบโตเทียบเท่ากรรมวิธีที่ใช้เมล็ดดีด้วย ทั้งนี้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ CG06-M6 อาจช่วยให้เมล็ดข้าวมีความสมบูรณ์ แข็งแรง หรือเชื้อแบคทีเรียที่เจริญครอบครองรากอาจกระตุ้นให้ต้นกล้าข้าวมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น

นอกจากนี้ยังพบว่า เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ BB165 ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้สามารถลดโรคเมล็ดด่างของข้าวได้นั้น เป็นสายพันธุ์ซึ่งแยกได้จากผิวของผลมะม่วงสามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง (ประคอง และคณะ, 2547) โรคแอนแทรคโนสของพริก (วรารักษ์ และคณะ, 2550) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรียเพียงไอโซเลตเดียวสามารถควบคุมโรคพืชได้หลายโรคบนพืชต่างชนิดกันได้ และยังแสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์ที่แยกได้จากพืชหนึ่ง สามารถนำไปใช้ควบคุมโรคในพืชอื่นๆ ได้ ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ดีของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่จะนำมาใช้ทดแทนสารเคมีควบคุมโรคพืชต่างๆ ได้ในอนาคต เช่นเดียวกับเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* KPS46 ที่สามารถควบคุมโรคใบจุดบนของถั่วเหลือง (สุพจน์ และ สุดฤดี, 2546) โรคเมล็ดด่างและขอบใบแห้งของข้าว (วรารักษ์ และ สุดฤดี, 2552; วิลาวรรณ์ และ สุดฤดี, 2552) และโรคเน่าดำของกะน้าได้ (ติยากร และคณะ, 2551)

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

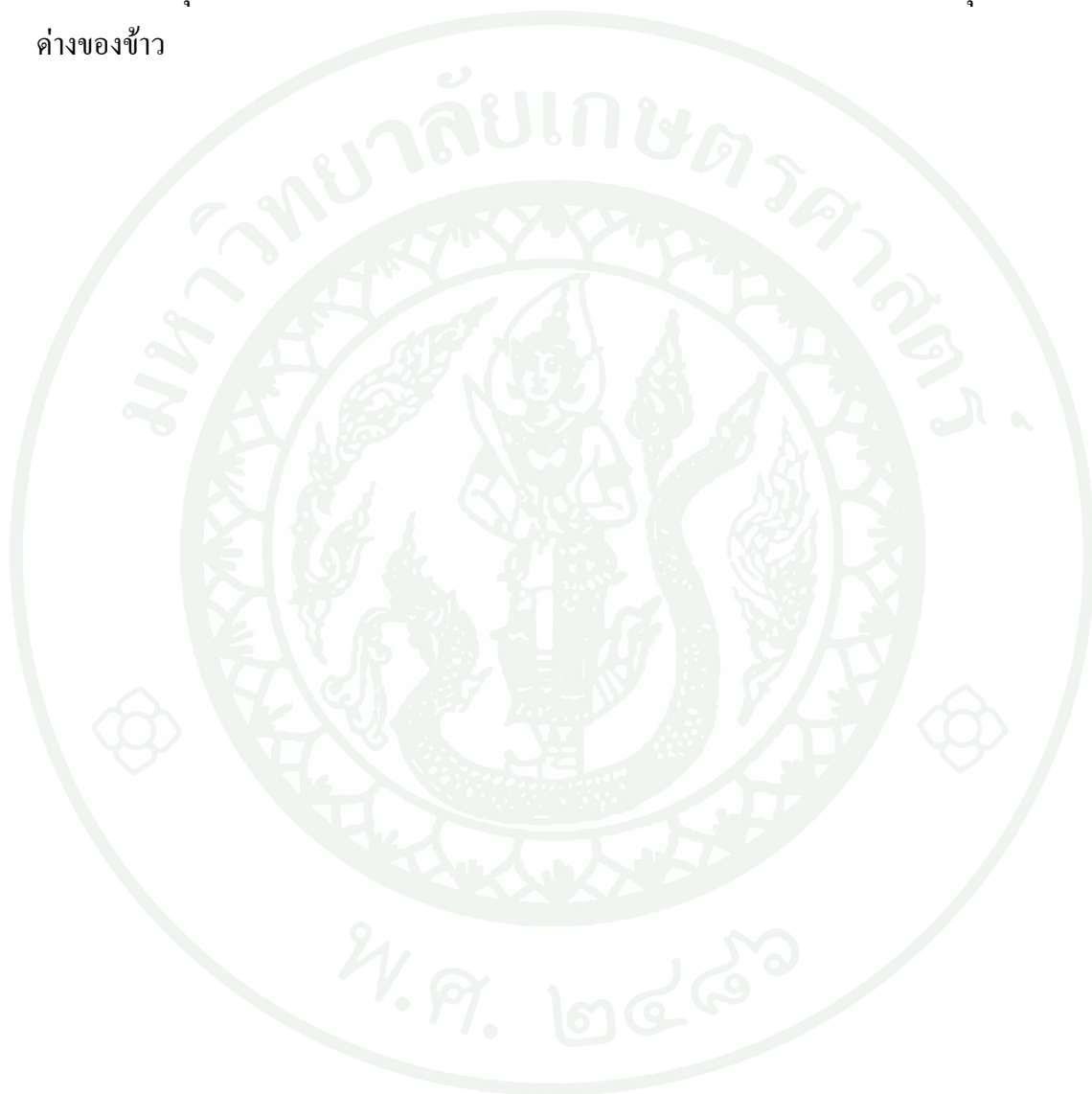
สรุปและข้อเสนอแนะ

จากการนำเชื้อแบคทีเรีย 49 ไอโซเลทที่แยกจากรากข้าวที่งอกจากเมล็ดข้าวซึ่งผ่านการแช่น้ำเปล่า 15 ชั่วโมง แล้วแช่ต่ออีก 1 ชั่วโมงในปุ๋ยอินทรีย์น้ำ น้ำจากรากข้าว น้ำผสมด้วยปุ๋ยหมัก และน้ำผสมด้วยปุ๋ยหมักใบไม้ จากมูลนิธิข้าวขวัญ จังหวัดสุพรรณบุรี มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่าง เปรียบเทียบกับเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้จากพืชอื่นอีก 6 ไอโซเลท สามารถคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียได้ 8 ไอโซเลท เพื่อนำไปทดสอบการส่งเสริมการเจริญของยอดและรากข้าว พบเชื้อแบคทีเรีย 4 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญของยอดและรากข้าวดีกว่ากรรมควบคุม และเมื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการเพิ่มผลผลิต และลดโรคโรคเมล็ดด่างของข้าว พบกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ KP09, BB165 และ CG06 มีแนวโน้มช่วยเพิ่มผลผลิตของข้าว มีน้ำหนักรวมผลผลิตสูงกว่ากรรมวิธีควบคุม นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์เมล็ดดี และลดเปอร์เซ็นต์เมล็ดด่างอย่างมีประสิทธิภาพเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์กลายที่ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin และยังมีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่างทั้ง 3 ชนิด และสายพันธุ์ดั้งเดิมไปพัฒนาเป็นสูตรสำเร็จชนิดผง และนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเมล็ดด่างในแปลงปลูกข้าวอีกครั้ง เปรียบเทียบกับการใช้เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ โดยแช่เมล็ดข้าวก่อนปลูก และพ่นลงบนรวงข้าวรวม 2 ครั้ง พบกรรมวิธีที่ใช้เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ดั้งเดิม BB165 และสายพันธุ์กลาย BB165-M3 เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ดั้งเดิม KP09 ชนิดผง และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ดั้งเดิมไอโซเลท SBn07 ชนิดผง ช่วยเพิ่มผลผลิตของข้าวให้มีน้ำหนักสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกและไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค ช่วยให้ข้าวมีเปอร์เซ็นต์เมล็ดดี ลดเปอร์เซ็นต์เมล็ดด่าง และปริมาณของเชื้อราสาเหตุโรคบนเมล็ดข้าวไม่แตกต่างจากกับกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค และกรรมวิธีที่ใช้สารเคมี propiconazole+difenoconazole 30% EC (อามูเร)

นอกจากนี้ ยังพบว่าเมล็ดข้าวที่แสดงอาการเมล็ดด่างจากกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์กลาย ชนิดผงไอโซเลท SBn07-M4, KP07-M2 เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลาย CG06-M6 และเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ดั้งเดิม KP09 มีเปอร์เซ็นต์การงอก การเจริญของเดิบทอดของกล้าข้าวทั้งในส่วนของความสูงของต้นและความยาวของรากข้าวเทียบเท่ากรรมวิธีที่ใช้เมล็ดดีจากกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค

จากการทดลอง พบว่าเชื้อแบคทีเรียแต่ละไอโซเลทมีคุณสมบัติเด่นแตกต่างกัน บางไอโซเลทมีประสิทธิภาพดีในการส่งเสริมการเจริญเติบโต แต่ไม่สามารถลดการเกิดโรคของข้าวได้ ในขณะที่บางไอโซเลทมีประสิทธิภาพดีในการลดการเกิดโรค แต่มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวต่ำ แนวทางการศึกษาการควบคุมโรคเมล็ดต่างในอนาคต อาจมีการนำเชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเด่นในแต่ละด้านมาใช้ร่วมกันเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเมล็ดต่างของข้าว



เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- จิระเดช แจ่มสว่าง และ วรรณวิไล อินทนู. 2545. การผลิตเชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดสดด้วยเทคนิคอย่างง่ายเพื่อใช้ควบคุมโรครากเน่าระดับดินของถั่วฝักยาวที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii*. ใน การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 40 4-7 กุมภาพันธ์ 2545. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- จิระเดช แจ่มสว่าง และ วรรณวิไล อินทนู. 2550. ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* สายพันธุ์กลายที่ได้จากการฉายรังสีแกมมาในการลดโรคเมล็ดด่าง และเพิ่มผลผลิตของข้าว. น. 86-87. ใน บทคัดย่อ การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 8: อารักขาพืชไทยได้ร่มพระบารมี 20-22 พฤศจิกายน 2550. โรงแรมอัมรินทร์ลากูน จังหวัดพิษณุโลก.
- จิระเดช แจ่มสว่าง, วรรณวิไล อินทนู และ สรिता ภาคพิเศษ. 2548. การใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* และ *Bacillus* sp. เพื่อเพิ่มผลผลิตของข้าวและลดโรคกาบใบแห้ง และโรคเมล็ดด่างของข้าว. น. 292-304. ใน รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 7: อารักขาพืช เพื่อคุณภาพชีวิตและสิ่งแวดล้อม. โรงแรมโลตัสปางสวนแก้ว, เชียงใหม่.
- จิรัสสา มีกลิ่นหอม. 2547. การคัดเลือกและการใช้จุลินทรีย์ที่แยกได้จากผิวพืชในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.
- ชาญ มงคล. 2536. ข้าว. หน่วยศึกษานิเทศก์ กรมการฝึกหัดครู, กรุงเทพฯ. 149 หน้า.
- ดารา เจตนะจิตร, นงรัตน์ นิลพานิชย์, พากเพียร อรัญนารถ, วิจิต ศิริสันธนะ, วิชชุดา รัตนากาญจน์, รัศมี ฐิติเกียรติพงศ์, เขียวภา ตันตวานิช, วันชัย โรจนหัสติน และ จรรยา อารยาพันธ์. 2545. คู่มือโรคข้าว. สมาคมนักโรคพืชแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ. 47 หน้า.

ดียวกร จัตรนภารัตน์, สุพจน์ กาเซ็ม และ สุกฤดี ประเทืองวงศ์. 2551. ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและความคุมโรคเน่าดำคะน้า. น. 563-571. ใน **เรื่องเต็ม การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46 (สาขาพืช)**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

นพพร สายัมพล, รังสฤษฎ์ กาวิต๊ะ, เรวัต เลิศฤทัยโยธิน และ สนธิชัย จันทน์เปรม. 2542. **พืชเศรษฐกิจ**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 471 หน้า.

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

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

พรพาส เจริญรักษ์, จิระเดช แจ่มสว่าง และ วรรณวิไล อินทนู. 2547. ประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกจากผิวใบมะเขือเทศในการควบคุมโรคใบไหม้ของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria solani*. น. 50. ใน **รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ครั้งที่ 1 (สาขาพืช)**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

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

ปากเพียร อรัญนารถ, นงรัตน์ นิลพานิชย์ และ รัศมิ์ ฐิติเกียรติพงศ์. 2550. การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะในการควบคุมโรคเมล็ดดำของข้าว. **วารสารวิชาการข้าว**. 1 (1): 21-28.

ปากเพียร อริญารณ, นงรัตน์ นิลพานิชย์ และ รัศมี จิตติเกียรติพงศ์. 2551. การใช้ผงเชื้อแบคทีเรีย
ปฏิชีวนะ *Bacillus subtilis* ร่วมกับสารป้องกันกำจัดโรคพืช. น. 324-335. ใน รายงานการ
ประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาวประจำปี 2551.

ปากเพียร อริญารณ, นงรัตน์ นิลพานิชย์, วิจิต ศิริสันธนะ และ เกษม สุนทราจารย์. 2548.
ประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืชบางชนิดในการควบคุมโรคเมล็ดด่างของข้าว.
น. 154-155. ใน เรื่องย่อ การประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาวประจำปี 2548.

ปากเพียร อริญารณ, อรุณี สุรินทร์ และ สมคิด ดิสถาพร. 2529. การศึกษาประสิทธิภาพของสาร
ป้องกันกำจัดโรคพืชในการป้องกันกำจัดโรคเมล็ดด่างของข้าว. น. 156-161. ใน รายงาน
ผลงานวิจัยประจำปี 2529. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

ปากเพียร อริญารณ, อรุณี สุรินทร์, วันชัย โรจนหัตถ์สิน และ สมคิด ดิสถาพร. 2532. การ
ประเมินความเสียหายของผลผลิตของข้าวที่ลดลงเนื่องจากโรคเมล็ดด่าง. น. 87-91. ใน
รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2532. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

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

ฤกษ์ ศยามานนท์. 2522. โรคข้าวและการป้องกันกำจัด. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่ง
ประเทศไทย จำกัด, กรุงเทพฯ. 34 หน้า.

ลือชัย อารยะรังสฤษฎ์, สุภาพร จันทร์บัวทอง และ อัญชลี ประเสริฐศักดิ์. 2550. ผลของปุ๋ย
โพแทสเซียมต่ออิทธิพลของโรคเมล็ดด่างจากเชื้อราเคอร์นูลาเรีย ถูนาตาในข้าวต่างสาย
พันธุ์. น. 319-325. ใน เรื่องเต็ม การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ครั้งที่ 45 (สาขาพืช). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วรรณพรรณ จันทาภา และ ปราโมทย์ คำปลิว. 2549. การลดความเสียหายของเมล็ดพันธุ์ข้าวจากโรคเมล็ดด่าง. น. 85-94. ใน **เรื่องย่อ การประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ประจำปี 2549.**

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

วราภรณ์ ภูักคิพันธ์ และ สุดฤดี ประเทืองวงศ์. 2552. เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ใหม่ กระตุ้นให้ข้าวพันธุ์ต้านทานผลิตเอนไซม์ปกป้องการติดเชื้อจาก *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ได้เพิ่มขึ้นมากกว่าข้าวพันธุ์อ่อนแอ. น. 649-658. ใน **รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 9: อารักขาพืชไทย เทิดไท้องค์ภูมิ ตามวิถีเศรษฐกิจพอเพียง 24-26 พฤศจิกายน 2552.** โรงแรมสุโขทัยแกรนด์ จังหวัดอุบลราชธานี.

วราภรณ์ สุทธิสา. 2544. การคัดเลือกและใช้จุลินทรีย์ที่แยกได้จากผิวพืชในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง. ปัญหาพิเศษปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วราภรณ์ สุทธิสา. 2545. การคัดเลือกและใช้จุลินทรีย์ที่แยกได้จากผิวพืชในการควบคุมเชื้อรา *Alternaria brassicola* สาเหตุโรคใบจุดของคะน้า. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

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

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

สมคิด คิสถาพร. 2532. **ชาวนาปราบโรคข้าว**. ห้างหุ้นส่วนจำกัด ฟีนีพับลิชชิง, กรุงเทพฯ. 116 หน้า.

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

อัญชลี ประเสริฐศักดิ์, เกษม สุนทราจารย์, นิพนธ์ มามทาน, ณัฐหทัย เอพาณิช และ อ่วม คงชู. 2546. ผลของระดับความรุนแรงของโรคเมล็ดด่างต่ออายุการเก็บรักษาของเมล็ดข้าวพันธุ์หลัก. น. 25. ใน **บทคัดย่อ การประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาวประจำปี 2546**.

เอกสงวน ชูวิสิฐกุล. 2547. **ข้อควรระวังในการปลูกข้าว**. สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร. 96 หน้า.

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.

Asaka, O. and M. Shoda. 1996. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* Damping-off of Tomato with *Bacillus subtilis* RB14. **Appl. Environ. Microbiol.** 62 (11): 4081-4085.

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

Basha, S. and K. Ulaganathan. 2002. Antagonism of *Bacillus* species (strain BC121) towards *Curvularia lunata*. **Current Science.** 82(12): 145-1463.

Bressan, W. 2003. Biological control of maize seed pathogenic fungi by use of actinomycetes.

Bio. Control. 48: 233-240.

Chevanet, C., F. Besson and G. Michel. 1986. Effect of various growth conditions on spore formation and bacillomycin L production in *Bacillus subtilis*. **Can. J. Microbiol.** 32: 254-258.

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

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.**

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 p.

Ellis, M. B. 1971. **Dematiaceous Hyphomycetes.** Commonwealth Mycological institute, Kew, Surrey, England. 608 p.

Fergus, G.P. and J.S. Richard. 1990. Fermentation of Bacilli. In **O.J. Neway. (ed). Fermentation process Development of Industrial Organisms.** Dekker, New York. 73 p.

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

Johnson, L.F. and E.A. Curl. 1972. **Methods for Research on the Ecology of Soil-borne Plant Pathogens.** Burgess Publishing Company, Minnesona. 247 p.

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

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

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

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

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

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

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.

- Reyes-Ramírez, A., B.I. Escudero-Abarca, G. Aguilar-Uscanga, P.M. Hayward-Jones and J. Eleazar Barboza-Corona. 2004. Antifungal activity of *Bacillus thuringiensis* chitinase and its potential for the biocontrol of phytopathogenic fungi in soybean seeds. **Journal of Food Science**. 69 (5): 131-134.
- Sarhan, A.R.T. and M.K.A. Shibly. 2003. Biological control of pathogenic fungi associated with rice seeds. **Arab Journal of Plant Protection**. 21 (2): 102-108.
- Schnider U, C. Keel, C. Blumer, J. Troxler, G. Défago and D. Haas. 1995. Amplification of the housekeeping sigma factor in *Pseudomonas fluorescens* CHA0 enhances antibiotic production and improves biocontrol abilities. **J. Bacteriol**. 177: 5387-5392.
- 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.
- Sivanesan, A. 1987. **Graminicolous Species of *Bipolaris*, *Curvularia*, *Drechslera*, *Exserohilum* and their Teleomorph**. C.A.B. International Mycological Institute, Wallingford. 261 p.
- Thomashow, L.S. and D.M. Weller. 1990. Role of antibiotics and siderophores in biocontrol of take-all disease of wheat. **Plant and Soil**. 129: 93-99.
- Thomson, J. 1987. The use of agrocin-producing bacteria 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 p.
- Thrane, C., T.H. Nielsen, M.N. Nielsen, J. Sørensen and S. Olsson. 2000. Viscosinamide-producing *Pseudomonas fluorescens* DR54 exerts a biocontrol effect on *Pythium ultimum* in sugar beet rhizosphere. **FEMS Microbiology Ecology**. 33 (2): 139-146.



สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

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

1. Potato dextrose agar (PDA)

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

2. Nutrient glucose agar (NGA)

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

3. Nutrient glucose agar (NGB)

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

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

KH_2PO_4	1.0	กรัม
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.5	กรัม
Bacto Peptone	5.0	กรัม
Dextrose	10.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Distilled water	1.0	ลิตร
Rose Bengal red (1%)	0.036	กรัม
Streptomycin	1.0	กรัม

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

น้ำยาและสารละลายที่ใช้ทดสอบแกรมเชื้อแบคทีเรีย

Gram's stain

Crystal violet

สารละลาย A

Crystal violet (85% dye)	2.0	กรัม
Ethyl alcohol 95 %	20.0	มิลลิลิตร

สารละลาย B

Ammonium oxalate	0.8	กรัม
น้ำกลั่น	80.0	มิลลิลิตร

Safranin O

Safranin O	2.5	กรัม
Ethyl alcohol 95 %	100.0	มิลลิลิตร

Gram's iodine solution

Iodine (crystal)	1.0	กรัม
Potassium iodide (KI)	2.0	กรัม
น้ำกลั่น	300.0	มิลลิลิตร

Alcohol-acetone (decolorizer)

Ethyl alcohol 95%	250.0	มิลลิลิตร
Acetone	250.0	มิลลิลิตร

สารละลาย 3% KOH (potassium hydroxide)

potassium hydroxide	3.0	กรัม
น้ำกลั่น	100.0	มิลลิลิตร

การวิเคราะห์จำแนกเชื้อแบคทีเรียโดยอาศัยหลักการใช้แหล่งคาร์โบไฮเดรตด้วย Biolog™

Program : Biolog MicroLog3 4.20
 Read From File : D:\511\511.D4C
 Save To File : D:\511\511.D4C
 Unrestricted Access? : Yes
 Read Time : ๓.๑. 07 2007 21:56
 Parent File : Original Data Record
 Plate Number : 1
 Incubation Time : 16-24
 Sample Number :
 Strain Type : GP-ROD SB Plate Type: GP2
 Strain Number :
 Strain Name : KP09
 Other :
 Data Input Mode : File
 590/750 Filters Used : 6 / 5
 Threshold Mode : Manual: Color: 43/65
 Number +/- Reactions : 17 / 14 / 65
 Database To Search : MicroLog
 Data Base(s) Searched : C:\Biolog420\Databases\GP602.KID

Key : <X>: positive; <X-: mismatched positive; X: negative; X+: mismatched negative
 {X}: borderline; -X: less than A1 well

Color	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0	40	< 105>	< 90>	34	9	{ 48}	< 190>	< 245>	{ 44}	38	{ 53}
B	{ 44}	8	26	< 93>	< 80>	12	41	37	41	27	< 112>	32
C	13	23	< 76>	< 83>	< 85>	< 73>	39	38	25	19	< 65>	{ 46}
D	15	13	< 74>	18	< 65>	38	41	40	41	{ 53}	{ 45}	< 112>
E	10	< 79>	{ 47}	36	{ 45}	25	6	24	38	8	{ 49}	25
F	-2	7	4	23	{ 51}	{ 50}	8	4	< 67>	42	{ 46}	12
G	-2	10	16	12	16	21	23	34	5	23	39	35
H	19	9	10	27	{ 43}	13	36	30	3	35	40	22

=> Species ID: Bacillus amyloliquefaciens <=

Species	PROB	SIM	DIST	TYPE
=>1) Bacillus amyloliquefaciens	99	0.61	5.98	GP-ROD SB
2) Bacillus licheniformis	1	0.00	7.77	GP-ROD SB
3) Bacillus megaterium	0	0.00	8.02	GP-ROD SB
4) Geobacillus stearothermophilus (55 C)	0	0.00	8.19	GP-ROD SB
5) Paenibacillus azotofixans	0	0.00	8.25	GP-ROD SB
6) Paenibacillus validus	0	0.00	9.24	GP-ROD SB
7) Bacillus subtilis	0	0.00	10.24	GP-ROD SB
8) Bacillus racemilacticus	0	0.00	10.87	GP-ROD SB
9) Bacillus laevolacticus	0	0.00	11.00	GP-ROD SB
10) Paenibacillus macerans	0	0.00	11.43	GP-ROD SB
Other)				

Print Time = ๓.๑. 13 2007 14:09

Page 1 of 1 pages

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวนิชากร แซ่ตั้ง
วัน เดือน ปี ที่เกิด	27 สิงหาคม 2526
สถานที่เกิด	กาญจนบุรี
ประวัติการศึกษา	ปี 2549 ระดับปริญญาตรี วท.บ. (เกษตรศาสตร์) เกียรตินิยมอันดับ 2 ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน
ประสบการณ์การทำงาน	ผู้ช่วยสอนรายวิชาโรคพืชเบื้องต้น ภาคต้น ปีการศึกษา 2551
ประชุมวิชาการ/ผลงาน	ประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขต กำแพงแสน ครั้งที่ 2 (สาขาพืช) เรื่อง ประสิทธิภาพของ เชื้อรา <i>Trichoderma harzianum</i> สายพันธุ์กลายที่ผ่านการ ฉายรังสีแกมมาในการควบคุมโรคเน่าระดับดินของมะเขือ เทศ ประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 9 เรื่อง การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะในการลดโรคเมล็ดด่าง ของข้าว