วารสารแก่นเกษตร THAIJO

Content List Available at ThaiJo

Khon Kaen Agriculture Journal

Journal Home Page : https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agkasetkaj

การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีฤทธิ์กว้างสำหรับควบคุมโรคขอบใบแห้งและโรคเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวในห้องปฏิบัติการ

In vitro screening broad spectrum antagonistic bacteria for control bacterial leaf blight disease and fungal seed borne diseases of rice

รัตนาพร รัฐเมือง[1] และ เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล[1,2]*

Rattanaporn Rutmuang[1] and Petcharat Thummabenjapone[1,2]*

[1] สาขากีฏวิทยาและโรคพืชวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
[1] Dept. of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University
[2]ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กรุงเทพฯ 10900
[2] Center of Excellence on Agricultural Biotechnology: (AG-BIO/PERDO-CHE), Bangkok 10900, Thailand

บทคัดย่อ: งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถควบคุมได้ทั้งเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้งและเชื้อราสาเหตุโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าว ดำเนินงานทดลองโดยนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* spp. 2 ไอโซเลต ได้แก่ *Streptomyces*-PR87, *Streptomyces*-PR15 และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. จำนวน 9 ไอโซเลต ได้แก่ *Bacillus*-MS4, *Bacillus*-Ba029, *Bacillus*-S32, *Bacillus*-Ba033, *Bacillus*-NTS3, *Bacillus*-BS, *Bacillus*-BK, *Bacillus*-PSK และ *Bacillus*-Ba037N มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) สาเหตุโรคขอบใบแห้งของข้าวจำนวน 4 ไอโซเลต และเชื้อราสาเหตุโรคข้าวที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ จำนวน 7 ชนิด ได้แก่ *Fusarium fujikuroi* -FURS017, *Fusarium proliferratum* -FUSR002, *Fusarium* spp.-FUSR021, *Bipolaris oryzae* -BiKD5, *Curvularia lunata* -CurRD, *Alternaria padwickii* -AlKD5 และ *Rhizoctonia oryzae*-Rhi-SMN1 โดยวิธี dual culture bioassay พบว่า มีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 7 ไอโซเลต ที่สามารถควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ทุกไอโซเลตที่นำมาทดสอบ ได้แก่ *Bacillus*-MS4, *Bacillus*-Ba029, *Bacillus*-S32, *Bacillus*-Ba033, *Bacillus*-NTS3, *Bacillus*-BS และ *Bacillus*-BK ส่วนเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces*-PR87, *Streptomyces*-PR15 มีประสิทธิภาพรองลงมาคือ สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Xoo* ทั้ง 4 ไอโซเลต และยับยั้งเชื้อรา *F. fujikuroi*-FURS017, *Fusarium* sp.-FUSR021, *B. oryzae*-BiKD5, *C. lunata*-CurRD, *A. padwickii*-AlKD5 ได้อย่างชัดเจนแต่ยับยั้งการเจริญเส้นใย ของ *Fusarium* spp.-FUSR002 และ *R. oryzae*-Rhi-SMN1 ได้เล็กน้อย ส่วน *Bacillus*-Ba037N และ *Bacillus*-PSK จัดเป็นเชื้อปฏิปักษ์ที่สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคได้บางชนิด และไม่ยับยั้งเชื้อ *Xoo* , *F. fujikuroi*- FURS017, *Fusarium proliferratum*-FUSR002 และ *R. oryzae*-Rhi-SMN1 ดังนั้นเชื้อปฏิปักษ์ที่คัดเลือกไว้ ได้แก่ *Bacillus*-MS4, *Bacillus*-Ba029, *Bacillus*-S32, *Bacillus*-Ba033, *Bacillus*-NTS3, *Bacillus*-BS, *Bacillus*-BK, *Streptomyces*-PR87 และ*Streptomyces*-PR15 จะถูกนำไปใช้ในการศึกษาวิจัยเพื่อควบคุมโรคข้าวที่สำคัญหลายชนิดและลดเปอร์เซ็นต์โรคที่ติดไปกับเมล็ดพันธุ์ข้าวต่อไป**คำสำคัญ**: การควบคุมโรคโดยชีววิธี; แบคทีเรียปฏิปักษ์; โรคเมล็ดด่าง; โรคขอบใบแห้ง

ABSTRACT: The objectives of this research was screening for broad spectrum antagonistic bacteria to control bacterial leaf blight disease and fungal seed borne diseases of rice. Two isolates of antagonistic *Streptomyces* spp. including *Streptomyces*-PR87and *Streptomyces*-PR15 and 9 isolates of *Bacillus* spp. (*Bacillus*-MS4, *Bacillus*-Ba029, *Bacillus*-S32, *Bacillus*-Ba033, *Bacillus*-NTS3, *Bacillus*-BS, *Bacillus*-BK, *Bacillus*-PSK and *Bacillus*-Ba037N) were

* Corresponding author: petsir@kku.ac.th

Received: date; February 25, 2021 Accepted: date; May 31, 2021 Published: date; December 5, 2021

selected for against 4 isolates of *X. oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*), causal agent of bacterial leaf blight disease (BLB) and 7 isolates of rice seed borne fungi (*Fusarium fujikuroi*-FURS017, *Fusarium proliferratum*-FUSR002, *Fusarium* sp.-FUSR021, *Bipolaris oryzae*-BiKD5, *Curvularia lunata*-CurRD, *Alternaria padwickii*-AlKD5 and *Rhizoctonia oryzae*-Rhi-SMN1) by dual culture bioassay. The results showed that 7 isolates *Bacillus*-MS4, *Bacillus*-Ba029, *Bacillus*-S32, *Bacillus*-Ba033, *Bacillus*-NTS3, *Bacillus*-BS and *Bacillus*- BK strongly inhibited the growth 4 isolates of *Xoo* and 7 isolates of tested pathogenic fungi. The *Streptomyces*-PR15 and *Streptomyces*-PR87 also strongly inhibited the growth of *Xoo* as the second ranking and strongly inhibited *F. fujikuroi*-FURS017, *Fusarium sp.*-FUSR021, *B. oryzae*-BiKD5, *C. lunata*-CurRD, and *A. padwickii* -AlKD5 but low inhibited the growth of *F. proliferratum*-FUSR002 and *R. oryzae*-Rhi-SMN1. The *Bacillus*-PSK and *Bacillus*-Ba037N were less effective antagonistic bacteria. They did not inhibit the growth of tested *Xoo* isolates and *F. fujikuroi*-FURS017, *F. proliferratum*-FUSR002 and *R. oryzae* -Rhi-SMN1. From this research, the high potential candidates were *Bacillus*-MS4, *Bacillus*-Ba029, *Bacillus*-S32, *Bacillus*-Ba033, *Bacillus*-NTS3, *Bacillus*-BS, *Bacillus*-BK, *Streptomyces*-PR87 and *Streptomyces*-PR15. These antagonists were selected for further study for biological control of major diseases of rice and reduce percentage of rice seed borne diseases.

Keywords: biological control**;** antagonistic bacteria; dirty panicle disease; bacterial leaf blight

บทนำ

ข้าว (*Oryza sativa* L.) เป็นพืชอาหารที่สำคัญของโลก เป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรต สำหรับประเทศไทย ข้าวยังเป็นสินค้าส่งออกที่สำคัญ สามารถนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เป็นจำนวนมาก ในการเพาะปลูกข้าวยังประสบปัญหาต้นทุนการผลิตสูง และ ผลผลิตต่อไร่ต่ำ ซึ่งสาเหตุหลักส่วนหนึ่งมาจากปัญหาเรื่องโรคและแมลง โรคข้าวที่พบในประเทศไทยและทั่วโลกมีหลายโรคที่สำคัญ เช่น โรคเมล็ดด่าง มีสาเหตุมาจากเชื้อราหลายชนิด เช่น *Curvularia lunata, Cercospora oryzae, Bipolaris oryzae, Fusarium semitectum, Trichoconis padwickii* (*Alternaria padwickii*), *Rhizoctonia solani* และ *Sarocladium oryzae* โรคไหม้มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Pyricularia grisea* โรคกาบใบแห้งสาเหตุมาจาก *Rhizoctonia solani* โรคถอดฝักดาบมีสาเหตุมาจาก *Fusarium fujikuroi* และโรคแบคทีเรียที่สำคัญคือ โรคขอบใบแห้งที่เกิดจากเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) โรคเหล่านี้พบได้ทั่วไปในแหล่งการผลิตข้าวของประเทศไทย ในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคอาจทำให้ผลผลิตข้าวลดลงถึง 80% และเมล็ดข้าวที่ได้มีคุณภาพต่ำ (IRRI, 2010) เชื้อสาเหตุโรคเหล่านี้ สามารถอยู่ข้ามฤดูปลูกโดยติดไปกับเมล็ดพันธุ์ข้าวและตอซังข้าวในแปลงปลูกและวัชพืชรอบๆ นาข้าว เพื่อแก้ไขปัญหาโรคที่สำคัญดังกล่าวให้ได้อย่างมีประสิทธิภาพและยั่งยืนตามแนวทางการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี ในการใช้ในแปลงนาข้าวจำเป็นต้องมีเชื้อปฏิปักษ์ที่มีความสามารถกว้าง ทั้งในด้านความสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคที่สำคัญของข้าว ซึ่งเป็นแนวทางใหม่ที่เป็นไปได้และดีกว่าการใช้สารเคมีกำจัดเชื้อราหรือสารเคมีกำจัดเชื้อแบคทีเรียที่จำเป็นต้องใช้หลายชนิดมาควบคุมโรคต่างๆ ดังกล่าว ซึ่งตามคำแนะนำจากกรมวิชาการเกษตรมีหลายชนิด เช่น ไอโซโพรไทโอเลน คอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ เสตร์พโตมัยซินซัลเฟต+ออกซีเตทตราไซคลินไฮโดรคลอร์ไรด์ หรือไตรเบซิคคอปเปอร์ซัลเฟต สำหรับควบคุมโรคขอบใบแห้งของข้าว และ โพรพิโคนาโซล โพรพิโคนาโซล+ไดฟีโนโคนาโซล หรือ โพรพิโคนาโซล+โพรคลอราซ หรือ ฟูซิราซอล หรือ ทีบูโคนาโซล หรือ แมนโคเซ็บสำหรับควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่าง (สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว, 2562) เป็นต้น

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์แกรมบวกที่มีศักยภาพสูงในการเป็นทั้งเชื้อปฏิปักษ์และเชื้อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้แก่ เชื้อแบคทีเรียจีนัส *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. (Elizabeth et al., 1999) มีรายงานการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ที่สามารถควบคุมโรคพืชได้กว้างขวาง (broad spectrum antagonistic bacteria) เช่นในรายงานของ Martina et al. (2013) ที่ได้ค้นพบเชื้อแบคทีเรียในจีนัส *Streptomyces* และ *Bacillus / Paenibacillus* จำนวนมากในตัวอย่างดินและสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* และ ไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*) ได้ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าแบคทีเรียในจีนัส *Bacillus* เช่น *Bacillus subtilis, Bacillus thuringiensis*, *Bacillus pseudomycoides* และ *Bacillus mycoides* สามารถควบคุมเชื้อ *Fusarium* spp. สาเหตุโรคในธัญพืชได้หลายชนิด เช่น *Fusarium anthophilum, Fusarium avenaceum, Fusarium culmorum, Fusarium sporotrichioides* รวมถึงเชื้อรา *Alternaria alternata* และ *Rhizoctonia solani* อีกด้วย (Simonas et al., 2014) ในงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์คือคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในจีนัส *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ที่มีฤทธิ์กว้าง สามารถยับยั้งได้ทั้งเชื้อรา

และเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวได้ โดยเฉพาะในกลุ่มที่ทำให้เกิดโรคเมล็ดด่าง โรคถอดฝักดาบ โรคกาบใบเน่าและโรคขอบใบแห้งที่เกิดจากเชื้อ *Xoo* ในระดับห้องปฏิบัติการ ก่อนนำไปศึกษาประสิทธิภาพเพิ่มเติม ในการควบคุมโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าว โดยวิธี Blotter test การควบคุมโรคในระยะต้นกล้า แตกกอ และสร้างรวง ในระดับโรงเรือนปลูกพืชทดลอง ซึ่งจะนำไปสู่การพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์ควบคุมโรคที่มีประสิทธิภาพกว้าง ควบคุมโรคที่สำคัญ ของข้าวได้หลายโรคพร้อมกัน และการถ่ายทอดเทคโนโลยีดังกล่าวให้แก่เกษตรกรต่อไป

วิธีการศึกษา

1. การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้ง

เตรียมเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จำนวน 11 ไอโซเลต ที่ผ่านการคัดเลือกและศึกษาวิจัยโดยรศ.ดร.เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพลและจำแนกระบุจีนัสด้วยข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ 16 S rDNA (ไม่ได้แสดงไว้) ประกอบด้วย เชื้อ *Streptomyces* - PR 87 และ *Streptomyces* - PR 15 ซึ่งแยกได้จากตัวอย่างดิน (เพชรรัตน์, 2545) เพาะเลี้ยงบนอาหาร AGMA บ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน และเชื้อ *Bacillus* spp. จำนวน 9 ไอโซเลต คือ BS, NTS3, MS4, Ba029, S32, BK, Ba033, Ba037N และ PSK ซึ่งแยกได้จากแหล่งต่างๆ ได้แก่ ดิน เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ เมล็ดพันธุ์เมลอน เมล็ดพันธุ์ข้าว ใบทานตะวัน พืทมอส และเมล็ดพันธุ์พริก เพาะเลี้ยงไว้บนอาหาร NA บ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 2 วัน ก่อนนำมาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Xoo* โดยเทคนิค Agar plug diffusion method

เชื้อแบคทีเรีย *Xoo* ที่นำมาทดสอบได้แก่ PR5-1, UT2-1, CN2-1 และ CM4-1 ซึ่งได้รับการอนุเคราะห์จาก ผศ.ดร.จิรวัฒน์ สนิทชน คณะเกษตรศาสตร์ ม.ขอนแก่น ที่ใช้ในโครงการวิจัยปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้านทานโรค ผ่านการทดสอบความสามารถในการก่อโรคแล้วโดยวิธีการตัดใบข้าว (clipping method) กับข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105, ไรซ์เบอรี่, กข.6, กข.10 และพันธุ์หอมสกล นำมาเพาะเลี้ยงไว้บนอาหาร sucrose peptone agar medium บ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง นำไปทำเซลล์แขวนลอยเชื้อให้มีความเข้มข้น 10^9 cfu/ml แล้วนำไปผสมกับอาหาร sucrose peptone agar โดยผสมเชื้อ *Xoo* ปริมาตร 15 มิลลิลิตร ต่ออาหาร 135 มิลลิลิตร ที่อุ่นไว้ที่อุณหภูมิประมาณ 55 องศาเซลเซียส เขย่าผสมให้เข้ากันแล้วเทลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปลอดเชื้อ 25 มิลลิลิตรต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 18 ชั่วโมง จึงนำมาทดสอบโดยเทคนิค Agar plug diffusion method (Elleuch et al., 2010)โดยใช้ cork borer ขนาด 5 มิลลิเมตร เจาะชิ้นวุ้นที่มีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เจริญอยู่ (ที่เตรียมไว้ข้างต้น) นำมาวางบนผิวหน้าอาหารที่มีเชื้อ *Xoo* ผสมอยู่ในอาหารที่เตรียมไว้ข้างต้น โดยวางจำนวน 4 จุด แล้ววางชิ้นวุ้นอาหาร NA ขนาด 5 มิลลิเมตร ลงตรงกลาง (กรรมวิธีควบคุม) นำเพลทไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง สังเกตลักษณะวงใสที่เกิดขึ้น วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสซึ่งแสดงถึงการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Xoo* ในหน่วยมิลลิเมตร วางแผนการทดลองแบบ complete randomized design (CRD) ทำการทดลองชุดละ 4 ซ้ำ

2. การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคข้าวได้กว้าง

นำเชื้อราสาเหตุโรคข้าวที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวเมื่อตรวจสอบสุขภาพเมล็ดพันธุ์ด้วยเทคนิค blotter test ได้แก่ *Fusarium fujikuroi*-FUSR017, *Fusarium proliferratum*-FUSR002 และ *Fusarium* spp.-FUSR021, *Bipolaris oryzae*-BiKD5, *Curvularia lunata*-CurRD , *Alternaria padwickii*-AlKD5 และ *Rhizoctonia oryzae*-Rhi-SMN1 มีการยืนยันการจำแนกโดยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลำดับนิวคลีโอไทด์ของส่วน ITS1- 5.8S-ITS2 (ปภัสสร, 2560) มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน จึงนำมาทดสอบ dual culture bioassay (Sheng and Kim, 2014) มีขั้นตอน คือ ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ตัดอาหารวุ้นในบริเวณปลายเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคข้าวที่เจริญอยู่ แล้วนำไปวางบนอาหาร PDA ให้ห่างจากตำแหน่งที่วางชิ้นอาหารวุ้นที่มีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 5 เซนติเมตร และในชุดกรรมวิธีควบคุมใช้ชิ้นอาหารวุ้นปกติ แทนชิ้นวุ้นอาหารที่มีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เจริญอยู่ บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน บันทึกผลโดยวัดขนาดความยาวของรัศมีของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคข้าวที่เจริญออกมาในกรรมวิธีควบคุมและกรรมวิธีทดสอบ แล้วนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ

ของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค (Percent Inhibition of Radial Growth: PIRG) ตามสูตรการคำนวณ (Kabir et al., 2012) วางแผนการทดลองแบบ complete randomized design (CRD) ทำการทดลองชุดละ 4 ซ้ำ สูตรคำนวณ มีดังนี้

$$PIRG = [(R1-R2)/ R1] \times 100$$

R1 = ความยาวรัศมีของโคโลนีเชื้อราสาเหตุโรคพืชในชุดควบคุม

R2 = ความยาวรัศมีของโคโลนีเชื้อราสาเหตุโรคพืชในชุดทดสอบ

สังเกตการเปลี่ยนแปลงลักษณะเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืชในชุดทดสอบเปรียบเทียบกับเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคในชุดควบคุม โดยนำเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคข้าวบริเวณแนวยับยั้งหรือขอบโคโลนีในด้านที่มีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์มาส่องดูลักษณะเส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์เชิงซ้อน (compound light microscope)

ผลการศึกษา

1. การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้ง

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเชื้อแบคทีเรีย *Xoo* ทั้ง 4 ไอโซเลตได้อย่างชัดเจน (**Table 1, Figure 1**) โดยมีความแตกต่างกันในระหว่างไอโซเลตของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ และไอโซเลตของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค *Xoo* ที่นำมาทดสอบด้วย มีจำนวน 9 ไอโซเลตที่ยับยั้งเชื้อสาเหตุโรค *Xoo* ได้อย่างชัดเจน คือ *Bacillus*-NTS3, *Bacillus*- BK, *Bacillus*-MS4, *Bacillus*-BS, *Bacillus*-Ba029, *Bacillus*-S32, *Bacillus*-Ba033, *Streptomyces*-PR15 และ *Streptomyces*- PR87 ส่วนแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus*-PSK และ *Bacillus*-Ba037N ไม่ยับยั้งเชื้อ *Xoo* (**Table 1, Figure 1**) เมื่อพิจารณาตามไอโซเลตของเชื้อสาเหตุโรค *Xoo* แล้วพบว่า *Bacillus*-Ba033 ยับยั้งการเจริญเชื้อแบคทีเรีย *Xoo*-CM4-1 ได้ดีที่สุดมีเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง เท่ากับ 25.00 มิลลิเมตร รองลงมาคือ *Bacillus*-Ba029, *Bacillus*-MS4, *Bacillus*-BS, *Bacillus*-S32, *Bacillus*- BK, *Bacillus*-NTS3, *Streptomyces*-PR15, *Streptomyces*-PR87 และแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus*-Ba033 สามารถยับยั้งการเจริญเชื้อแบคทีเรีย *Xoo*-CN2-1 ได้ดีที่สุดเช่นกัน มีเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง เท่ากับ 25.19 มิลลิเมตร รองลงมาคือ *Bacillus*-Ba029, *Bacillus*-MS4, *Bacillus*-S32, *Bacillus*-BS, *Bacillus*- BK, *Bacillus*-NTS3, *Streptomyces*-PR15, *Streptomyces*-PR87 สำหรับเชื้อแบคทีเรีย *Xoo*-UT2-1 มีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเชื้อนี้ได้ดีที่สุดคือ *Bacillus*-MS4 และ *Bacillus*-Ba033 มีเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง เท่ากับ 21.75 และ 21.13 มิลลิเมตร ตามลำดับซึ่งไม่แตกต่างกันในทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% รองลงมาคือ *Bacillus*-Ba029, *Bacillus*-S32, *Bacillus*-NTS3, *Bacillus*-BS, *Streptomyces*-PR87, *Bacillus*- BK, *Streptomyces*-PR15 ตามลำดับ และ เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเชื้อ *Xoo*-PR5-1 ได้ดีที่สุดคือ *Bacillus*-Ba033 และ *Bacillus*-MS4 มีเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง เท่ากับ 23.81 และ 23.38 มิลลิเมตร ตามลำดับ รองลงมาคือ *Bacillus*-Ba029, *Streptomyces*-PR15, *Bacillus*-BS, *Bacillus*- BK, *Streptomyces*-PR87, *Bacillus*-NTS3และ *Bacillus*-S32 ตามลำดับ (**Table 1, Figure 1**)

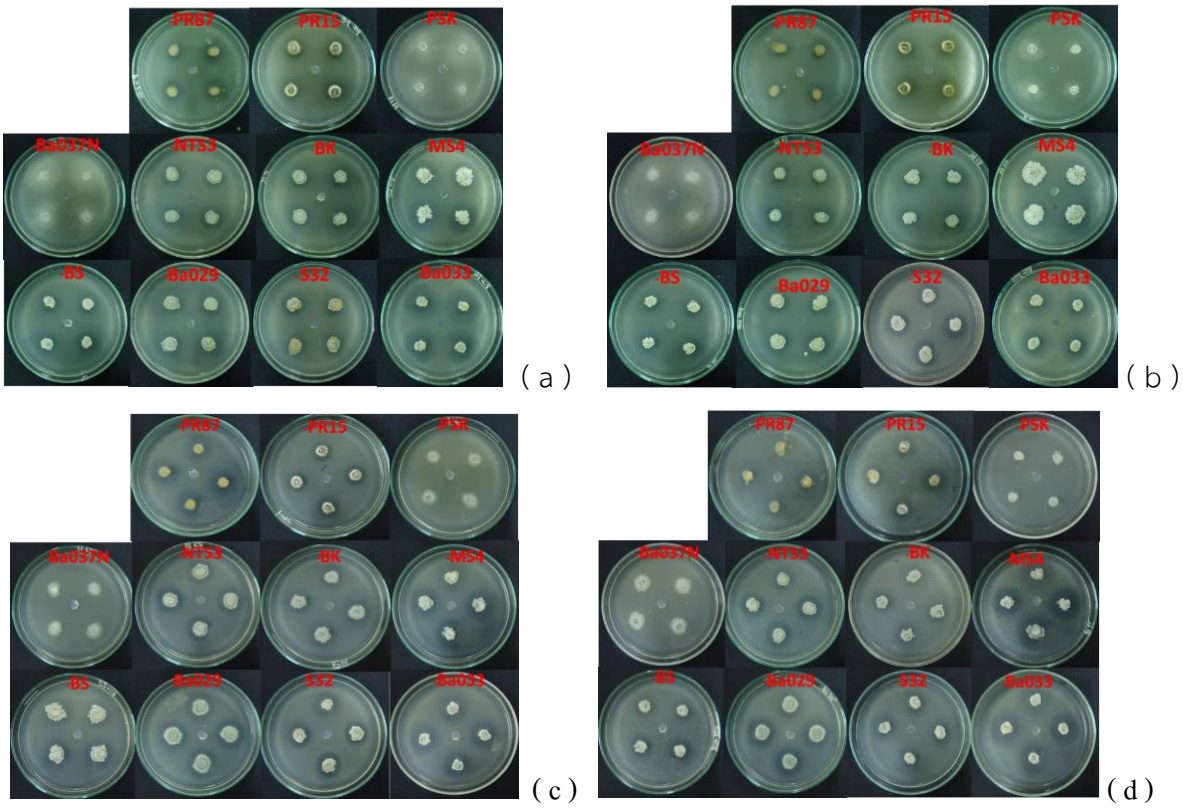

Figure 1 Agar plug diffusion bioassay of antagonistic bacteria 11 isolates (*Streptomyces*-PR87, *Streptomyces*-PR15, *Bacillus*-PSK, *Bacillus*-Ba037N, *Bacillus*-NTS3, *Bacillus*-BK, *Bacillus*-MS4, *Bacillus*-BS, *Bacillus*-Ba029, *Bacillus*-S32 and *Bacillus*-Ba033) with four isolates of *Xanthomonas oryzae* pv.*oryzae*. Photographs were taken after incubation at 28 °C for 48 hrs.

(a) *Xoo*-CM4-1, (b) *Xoo*-UT2-1, (c) *Xoo*-PR5-1, (d) *Xoo*-CN2-1

Table 1 Efficacy of antagonistic bacteria to inhibit the growth of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* strains as assayed by agar plug diffusion method, measured after incubation at 28 ºC for 48 hrs.

Treatment	Clear zone (mm.)[1/]			
	Xoo.-CM4-1	Xoo.-CN2-1	Xoo.-UT2-1	Xoo.-PR5-1
control	5.00 j	5.00 g	5.00 e	5.00 d
Streptomyces-PR87	15.00 i	14.88 f	17.44 c	15.94 c
Streptomyces-PR15	15.84 h	15.86 e	16.44 d	16.63 c
Bacillus-PSK	5.00 j	5.00 g	5.oo e	5.00 d
Bacillus-Ba037N	5.00 j	5.00 g	5.00 e	5.00 d
Bacillus-NTS3	18.84 g	19.86 d	18.63 b	15.94 c
Bacillus-BK	21.25 f	21.94 c	17.38 cd	16.23 c
Bacillus-MS4	24.31 c	23.38 b	21.75 a	23.38 a
Bacillus-BS	22.31d	22.13 c	17.56 c	16.31 c
Bacillus-Ba029	24.53 b	24.00 b	18.81 b	21.06 b
Bacillus-S32	22.16 e	22.13 c	18.69 b	15.63 c
Bacillus-Ba033	25.00 a	25.19 a	21.13 a	23.81 a
F-test	**	**	**	**
C.V.(%)	0.40	3.35	4.30	5.50

[1/]Means followed by the same later in the same column were not significantly different at P ≤ 0.01(**) by LSD

2. การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคข้าวได้กว้าง

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus*-NTS3, *Bacillus*- BK, *Bacillus*-MS4, *Bacillus*-BS, *Bacillus*-Ba029, *Bacillus*-S32 และ *Bacillus*-Ba033 สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคข้าวที่นำมาทดสอบได้อย่างชัดเจนแตกต่างจากกรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในทั้ง 7 ไอโซเลตที่นำมาทดสอบคือ เชื้อรา *F. fujikuroi*- FUSR017, *Fusarium proliferatum* -FUSR002 และ *Fusarium*-FUSR021, *B. oryzae*-BiKD5, *C. lunata*-CurRD, *A. padwickii* -AlKD5 และ *R. oryzae* -Rhi-SMN1 ส่วนเชื้อ *Streptomyces*-PR87 และ *Streptomyces*-PR15 ยับยั้งเชื้อรา *Fusarium* spp. ได้ชัดเจนมากสำหรับ *F. fujikuroi*- FUSR017 และ *Fusarium*-FUSR021 แต่ยับยั้งเชื้อ *F. proliferatum* -FUSR002 และ *R. oryzae* -Rhi-SMN1 ได้เล็กน้อยโดยเส้นใยเชื้อสาเหตุโรคสามารถเจริญเข้ามาใกล้ชิ้นวุ้นที่มีเชื้อปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลตเจริญอยู่ได้เกือบชิดแต่เจริญได้ไม่หนาแน่น ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมและ *Bacillus*-PSK, *Bacillus* –Ba037N ที่ไม่ยับยั้งเชื้อราทั้งสองชนิดแล้วพบความแตกต่างกันอย่างชัดเจนในด้านความหนาแน่นของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคที่เจริญอยู่ (**Figure 2b, 2g**) เชื้อ *Bacillus*-PSK และ *Bacillus*-Ba037N จัดเป็นเชื้อปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพจำกัด ยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคข้าวที่นำมาทดสอบได้เพียง 4 ไอโซเลตเท่านั้น คือยับยั้งเชื้อ *Fusarium* spp.-FUSR21, *B. oryzae*-BiKD5, *C. lunata*-CurRD และ *A. padwickii* -AlKD5 ได้ในระดับ 2.04% และ 2.73%, 8.08% และ10.54%, 19.69% และ 27.19%, 46.75% และ 53.75% ตามลำดับ (**Table 2**)

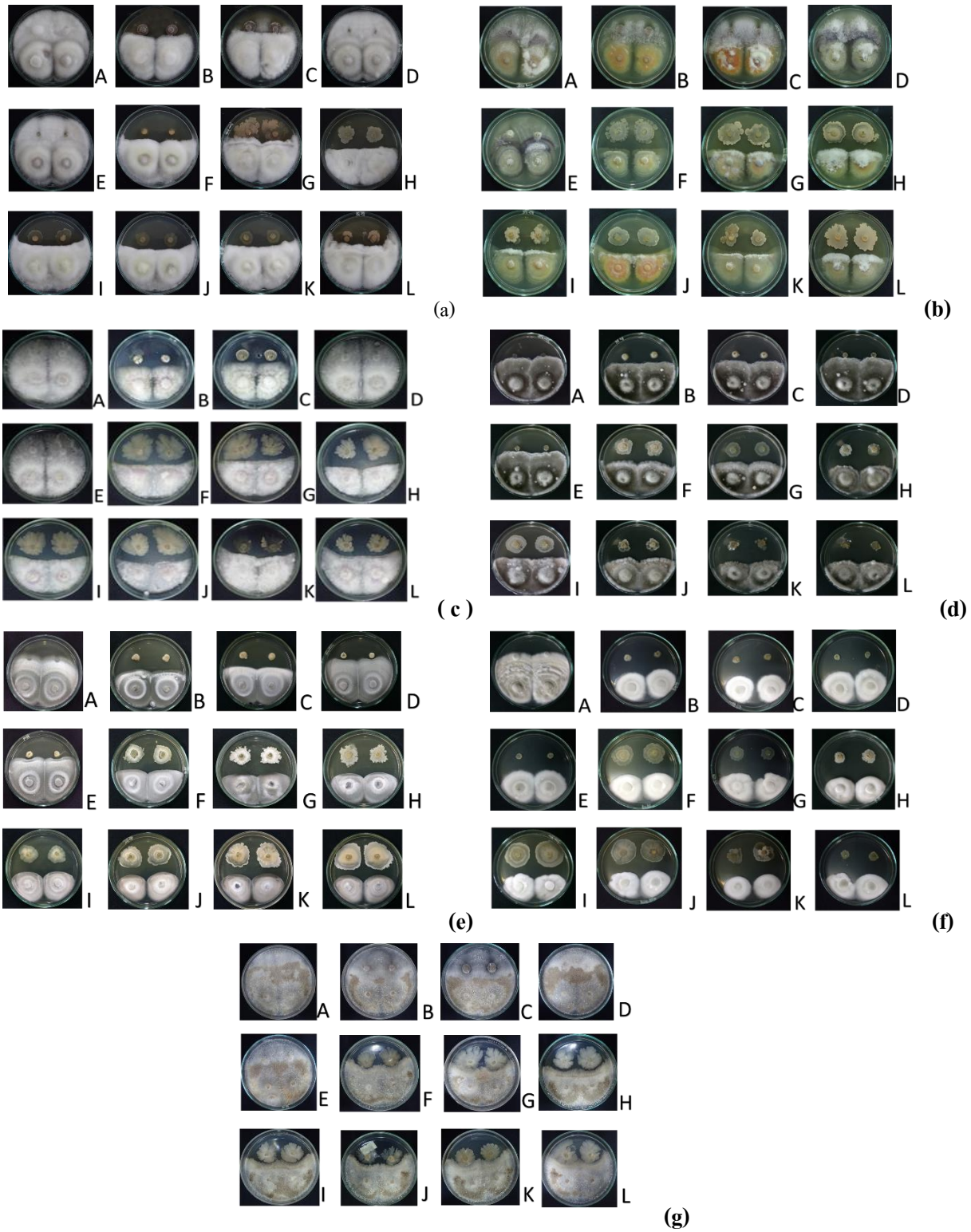

Figure 2 Dual culture assay of rice seed borne pathogenic fungi (a) *Fusarium fujikuroi* -FUSR017, (b) *Fusarium proliferratum* -FUSR002, (c) *Fusarium* spp,- FUSR021, (d) *Bipolaris oryzae* -BiKD5, (e) *Curvularia lunata* –CurRD , (f) *Alternaria padwickii* -AlKD5, (g) *Rhizoctonia oryzae* -Rhi-SMN1) by antagonistic bacteria isolates. (A) Control (B) *Streptomyces*-PR87 (C) *Streptomyces*-PR15 (D) *Bacillus*-PSK (E) *Bacillus*-Ba037 (F) *Bacillus*-NTS3 (G) *Bacillus*-BK (H) *Bacillus*-MS4 (I) *Bacillus*-BS (J) *Bacillus*-Ba029 (K) *Bacillus*-S32 (L) *Bacillus*-Ba033. Photographs were taken after incubating at 28 ℃ for 7 days

ในกลุ่มแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. จัดเรียงลำดับเชื้อที่มีศักยภาพมากที่สุดมีฤทธิ์กว้างควบคุมเชื้อสาเหตุโรคได้ทั้ง 7 ไอโซเลต คือ *Bacillus*-MS4 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคอยู่ในช่วง 63.30%-71.93% ขึ้นอยู่กับชนิดเชื้อราสาเหตุโรคข้าวที่นำมาทดสอบ รองลงมาอันดับ สองคือ *Bacillus*-Ba029 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคข้าวอยู่ในช่วง 51.16%-80.23% และลำดับที่สามมีหลายไอโซเลต ที่ระดับการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราเหตุโรคได้ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ หรือ แตกต่างกันเล็กน้อย ได้แก่ *Bacillus*-NTS3 ที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคอยู่ในช่วง 46.24%-69.64%, *Bacillus*-Ba033 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคอยู่ในช่วง 54.66%-67.97%, *Bacillus*-BSเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคอยู่ในช่วง 43.02%-66.57% , *Bacillus*-S32 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคอยู่ในช่วง 56.36%-69.92% และ *Bacillus*-BK มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคอยู่ในช่วง 39.56%-66.56% (**Table 2**)

Table 2 Inhibition percentage of mycelium growth on *Fusarium fujikuroi*-FUSR017, *Fusarium perliferatum*-FUSR002, *Fusarium* spp.-FUSR021, *Bipolaris oryzae*-BiKD5, *Curvularia lunata*-CurRD, *Alternaria padwickii* -AlKD5 and *Rhizoctonia oryzae*-Rhi-SMN1 by antagonistic *Streptomyces* spp. or *Bacillus* spp. isolates as determined by dual culture bioassay on PDA, measured after incubation at 28 ºC for 7 days.

Antagonists	Inhibition of mycelium growth (%)[1/] of pathogenic fungi						
	FUSR017	FUSR002	FUSR021	BiKD5	CurRD	AlKD5	Rhi-SMN1
Control	0.00 g	0.00 e	0.00 f	0.00 h	0.00 h	0.00 h	0.00 d
Streptomyces-PR87	45.12 e	0.00[/2] e	50.79 c	24.69 e	49.38 d	57.65 e	0.00[/2] d
Streptomyces-PR15	7.96 f	0.00[/2] e	48.75 d	20.48 f	45.00 e	58.19 e	0.00[/2] d
Bacillus-PSK	0.00 g	0.00 e	2.04 e	8.08 g	19.69 g	46.75 g	0.00 d
Bacillus-Ba037N	0.00 g	0.00 e	2.73 e	10.54 g	27.19 f	53.75 f	0.00 d
Bacillus-NTS3	56.71 b	62.16 d	62.73 b	46.24 c	59.07 c	69.64 ab	64.77 b
Bacillus-BK	54.55 d	62.61 bcd	62.39 b	39.56 d	66.56 b	65.47 d	60.91 c
Bacillus-MS4	71.93 a	63.30 b	79.89 a	65.71 a	67.82 b	70.75 a	67.50 a
Bacillus-BS	54.89 cd	62.62 bcd	62.27 b	43.02 cd	65.63 b	66.57 cd	64.09 b
Bacillus-Ba029	57.16 b	64.09 a	80.23 a	44.54 c	72.19 a	67.40 cd	64.55 b
Bacillus-S32	56.36 bc	62.39 cd	62.39 b	58.65 b	66.88 b	69.62 ab	60.00 c
Bacillus-Ba033	54.66 cd	63.07 bc	61.93 b	58.95 b	66.25 b	67.97 bc	60.68 c
F-test	**	**	**	**	**	**	**
C.V.(%)	3.14	1.50	1.66	7.99	3.06	2.34	3.65

[1/]Means followed by the same later in the same column were not significantly different at P ≤ 0.01(**) by LSD

[/2] slightly inhibition the growth of fungus as measured by visual on dense of mycelium mat and microscopic observation

ประเมินผลกระทบของสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) ที่ปลดปล่อยออกจากเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ โดยอ้อมได้โดยสังเกตจากลักษณะของเส้นใยใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า สารทุติยภูมิจากเชื้อปฏิปักษ์แต่ละไอโซเลตมีผลกระทบต่อเส้นใยเชื้อราทดสอบในลักษณะที่สอดคล้องไปกับผลการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อสาเหตุโรคข้าวโดยเชื้อปฏิปักษ์แต่ละไอโซเลต (**Table 2**) เมื่อตรวจสอบที่ 7 วันหลังจากบ่มเชื้อร่วมกันพบว่าเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคในบริเวณที่เกิดแนวยับยั้งนั้นมีลักษณะที่ผิดปกติ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นไปในลักษณะบวมพองเสียรูปร่าง เส้นใยบิดงอ หรือเส้นใยมีผนังหนาสีเข้มมากขึ้นและบวมพองด้วยในอัตราที่มากกว่าเส้นใยปกติในชุดควบคุม ในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อปฏิปักษ์ *Bacillus*-MS4 มีระดับการเปลี่ยนแปลงของเส้นใยเชื้อสาเหตุโรคที่รุนแรงชัดเจนมากกว่าเชื้อปฏิปักษ์ไอโซเลตที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ต่ำกว่า (**Figure 3**) ส่วนเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyce*-PR87 และ *Streptomyce*-PR15 ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *F. fujikuroi* -FUSR017, *Fusarium* sp.-FUSR021, *B. oryzae* -BiKD 5, *C. lunata* -CurRD และ *A. Padwickii*-AlKD5 ได้อย่างชัดเจน โดยเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคแต่ละชนิดมีการเปลี่ยนแปลงในลักษณะบวมพอง บิดงอหรือเส้นใยมีผนังสีเข้มมากขึ้นและบวมพองเช่นเดียวกับที่พบใน *Bacillus*–MS4 และยังพบว่าแม้แต่ในกรรมวิธีที่ทดสอบกับเชื้อรา *F. proliferatum* -FUSR002 และ *R. oryzae*-Rhi-SMN1 ซึ่งยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้เล็กน้อยนั้นเมื่อนำเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคทั้ง 2 ไอโซเลตซึ่งเจริญได้บางๆ ใกล้กับชิ้นวุ้นที่แบคทีเรียปฏิปักษ์เจริญอยู่ไปตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ก็พบว่าเส้นใยมีการบวมพองเช่นเดียวกัน

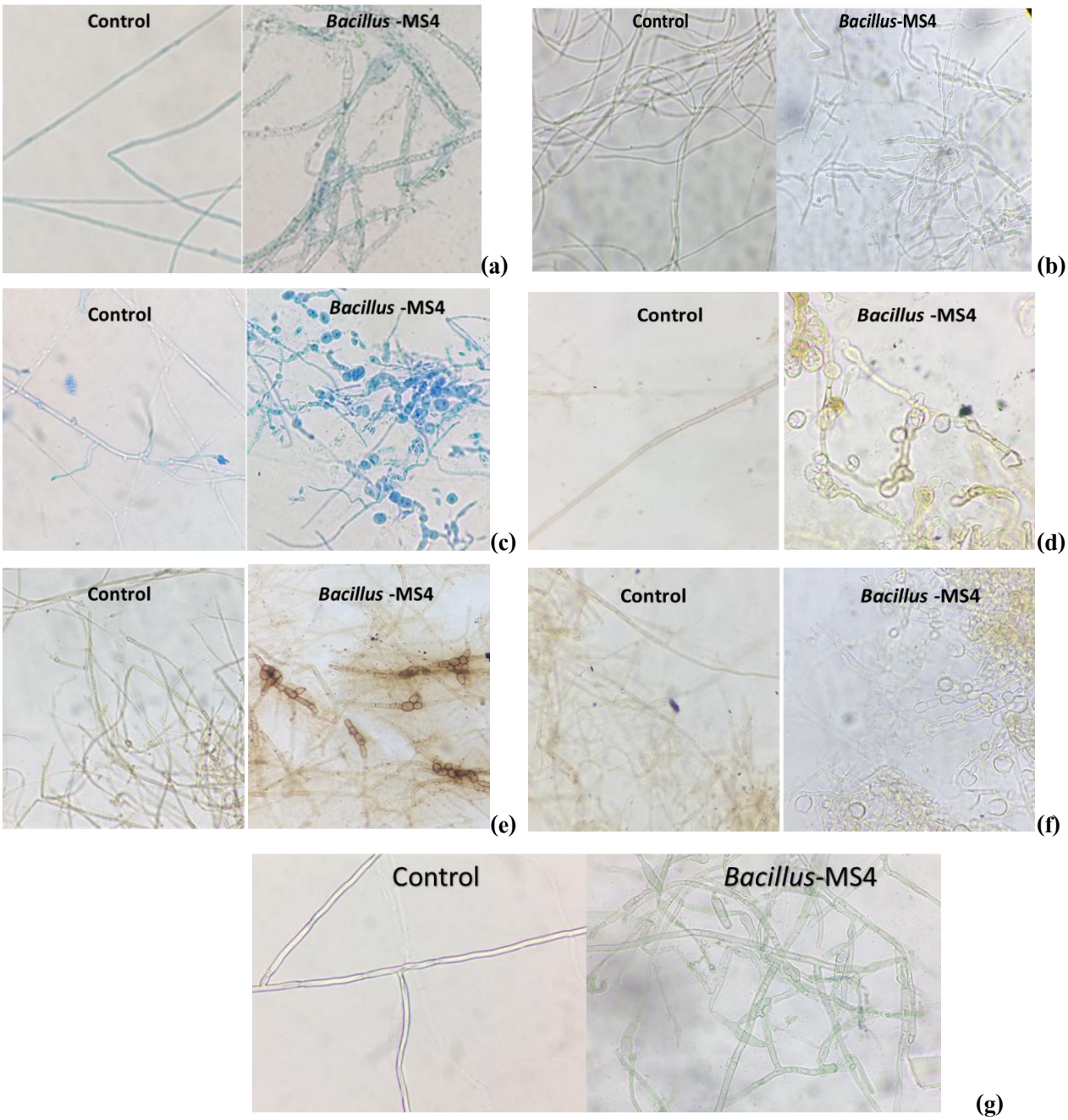

Figure 3 Light microscopic observation of abnormal growth of the pathogenic mycelium from inhibition zone after co-cultured with antagonistic *Bacillus*-MS4 (right panel) compared with normal mycelium in control treatment (left panel). (a) *Fusarium fujikuroi* -FUSR017, (b) *Fusarium proliferratum* -FUSR002 , (c) *Fusarium* spp.-FUSR021, (d) *Bipolaris oryzae* -BiKD5, (e) *Curvularia lunata* –CurRD, (f) *Alternaria padwickii* -AlKD5, (g) *Rhizoctonia oryzae*-Rhi-SMN1

สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

ผลการวิจัยสรุปได้ว่ามีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 9 ไอโซเลต ได้แก่ *Bacillus*-BK, *Bacillus*-NTS3, *Bacillus*-MS4, *Bacillus*-Ba033, *Bacillus*-BS, *Bacillus*-Ba029, *Bacillus*- S32, *Streptomyces*-PR87 และ *Streptomyces*-PR15 ที่เป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์มีฤทธิ์กว้าง สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคข้าวได้ทั้งเชื้อแบคทีเรีย *Xoo* สาเหตุโรคขอบใบแห้ง และเชื้อรา *F. fujikuroi*-FUSR017, *F. perliferatum*-FUSR002, *Fusarium* spp. สาเหตุโรคกล้าเน่าและโรคถอดฝักดาบ เชื้อ *B. oryzae*-BiKD5 สาเหตุโรคเมล็ดด่างและใบจุดสี

น้ำตาล เชื้อ *C. lunata*-CurRD สาเหตุโรคเมล็ดด่างและโรคกล้าเน่าของข้าว เชื้อ *A. padwickii*-AlKD5 สาเหตุโรคเมล็ดด่างและโรคใบจุด *Alternaria* ของข้าว และเชื้อ *R. oryzae*- Rhi-SMN1 สาเหตุโรคกาบใบแห้งได้ ถึงแม้ว่าในการวิจัยนี้เชื้อ *Streptomyces*-PR87 และ *Streptomyces*-PR15 ยับยั้งเชื้อ *F. perliferatum*-FUSR002 และ *R. oryzae*-Rhi-SMN1 ได้เพียงเล็กน้อย แต่จากประวัติการวิจัยในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชอื่นๆที่ผ่านมา รายงานว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ทั้ง 7 ไอโซเลต *Streptomyces*-PR87 และ *Streptomyces*-PR15 ยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. capsici* และ *C. acutatu*m สาเหตุโรคแอนแทรคโนสในพริกได้ดีมาก (ยลธิดา และ เพชรรัตน์, 2563) *Streptomyces*-PR87 และ *Streptomyces*-PR15 ยังสามารถยับยั้งเชื้อรา *F. fujikuroi*-FUSR017, *F. proliferratum*-FUSR002 *และ Fusarium* spp. อีกหลายไอโซเลตที่เป็นสาเหตุโรคถอดฝักดาบของข้าวได้ชัดเจนและลดการเกิดโรคในระยะต้นกล้าที่เชื้อติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้ดีมากแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม (ประภัสสร และ เพชรรัตน์, 2559) และยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax citrulli* และเชื้อรา *Didymella bryoniae* สาเหตุโรคที่สำคัญมากในพืชตระกูลแตง โดยพบว่า *Streptomyces*-PR87 และ *Streptomyces*-PR15 มีการสร้าง hydrolytic enzyme และปลดปล่อยออกมานอกเซลล์ เช่น cellulase (endo-β-glucanase), chitinase, amylase และ avicellase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช (ภัทรกร, 2548) ควบคุมได้ทั้งโรคแอนแทรกโนสและโรครากปมที่เกิดจากไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne* spp.) และช่วยเพิ่มผลผลิตพริก (รัติกาล , 2558) ส่งเสริมการเจริญเติบโตและกระตุ้นภูมิต้านทานโรค ไวรัสใบด่าง *Tobacco mosaic virus* (TMV) ของพริก (วีรกรณ์, 2557) ตลอดจนส่งเสริมการเจริญเติบโตให้กับมะเขือเทศด้วย (อัศศิริ และ เพชรรัตน์, 2556) นอกจากนี้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus*-BK, *Bacillus*-NTS3, *Bacillus*-MS4, *Bacillus*-Ba033*, Bacillus*-BS, *Bacillus*-Ba029, *Bacillus*-S32 ยังมีรายงานยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* สาเหตุโรคเหี่ยวสเคลอโรเตียม ในพืชผัก ไม้ผล ไม้ดอกได้ด้วย (นันทภัค และ เพชรรัตน์, 2562)

สารทุติยภูมิที่มีรายงานในแบคทีเรียสกุล *Bacillus* spp. ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ ได้นั้น ส่วนใหญ่เป็นกลุ่มสารปฏิชีวนะ เช่น bacilysocin, gramicidin, tyrocidine, bacitracin, mycobacillin, surfactin, bacilysin และ subtilin และแบคทีเรียสกุล *Streptomyces* spp. ผลิตสารปฏิชีวนะ เช่น streptomycin geldanamycin และ nigericin (Mannanov and Sattarova, 2001) และอาจมีกลุ่มเอนไซม์ผลิตออกมาด้วย เช่น สกุล *Bacillus* spp. สามารถปลดปล่อยเอนไซม์ hydrolytic enzymes ออกมาแล้วช่วยเสริมกิจกรรมการย่อยผนังเซลล์เส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรค ทำให้เส้นใยเชื้อราเสียสภาพ หรือแตกหักได้ง่ายขึ้น เช่น chitinase, chitosanase, laminarinase, lipase and protease (Prikko et al., 2001) Alekhya และ Gopalakrishnan (2017) รายงานว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* spp.ผลิตและปลดปล่อยเอนไซม์ยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค เช่น cellulase, lipase, protease และ b-1,3-glucanase ได้เช่นกัน และ Zeidan et al. (2019) รายงานการเปลี่ยนแปลงของลักษณะเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคที่นำมาทดสอบที่เกิดขึ้นมีลักษณะผิดรูปร่าง บวมพองหรือแตกหักเป็นชิ้นส่วนขนาดเล็ก ที่คล้ายกับการเปลี่ยนแปลงของเส้นใยเชื้อ *Aspergillus carbonarius, Fusarium culmorum* และ *Penicillium verrucosum* ที่ได้รับสารทุติยภูมิที่ผลิตโดยเชื้อแบคทีเรีย *Burkholderia cepacia* ที่เป็นเชื้อปฏิปักษ์ควบคุมเชื้อรา เป็นสารปฏิชีวนะที่มีบทบาทในการยับยั้งการทำงานของ ochratoxin A ในเชื้อสาเหตุโรค *A. carbonarius*

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 7 ไอโซเลตยังมีศักยภาพด้านความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชด้วย เช่น ความสามารถในการสังเคราะห์สาร indole-3-acetic acid (IAA) ที่มีบทบาทในการพัฒนาของระบบรากและการเจริญเติบโตของส่วนลำต้น (ยลธิดาและเพชรรัตน์, 2563) และควรศึกษาเพิ่มเติมในบทบาทการสร้างสารซิเดอร์โรฟอร์ที่เกี่ยวข้องกับการดึงธาตุเหล็กในสภาพแวดล้อมดินรอบรากพืชให้พืชเอาไปใช้ได้โดยผ่านกระบวนการของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สร้างซิเดอร์โรฟอร์ และการสร้างเอนไซม์ย่อยสลายส่วนของฟอสเฟตที่ถูกตรึงไว้ในดินให้ไปอยู่ในรูปธาตุฟอสฟอรัสที่พืชเอาไปใช้ในการเจริญเติบโตได้ เป็นต้น เพื่อที่จะได้คัดเลือกไอโซเลตเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีทั้งความสามารถด้านการควบคุมโรคข้าวได้หลายชนิดโรคและช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของข้าวและเพิ่มผลผลิตข้าวด้วยในตัวเดียวกัน ลดปัญหาโรคขอบใบแห้งและโรคจากเชื้อราที่สำคัญที่ก่อความเสียหายในแปลงและสาเหตุโรคเมล็ดด่างของข้าว สำคัญนอกจากนี้ยังสามารถนำไปวิจัยเพิ่มเติมในด้านการคัดเลือกเชื้อที่สามารถเจริญอยู่ด้วยกันได้ ไม่ยับยั้งซึ่งกันและกันเพื่อพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์เชื้อผสมสำหรับสร้างชุมชนแบคทีเรีย (consortium bacteria) ที่เกิดจากการนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มากกว่า 1 ชนิดขึ้นไปที่สามารถอยู่ร่วมกันได้มาใช้ร่วมกันเพื่อเป็นประโยชน์ต่อพืชได้กว้างขวางมากขึ้นในลักษณะที่ส่งเสริมกัน สำหรับควบคุมโรคพืชได้กว้างมากยิ่งขึ้นและส่งเสริมการเจริญเติบโตของ

พืช (synergistic effect) (Jain et al., 2013, Santoyo et al., 2021) เพิ่มประสิทธิภาพทั้งด้านการควบคุมโรคข้าวที่สำคัญซึ่งมีหลากหลายชนิดโรคทั้งที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์และที่พบสะสมในแหล่งปลูก ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช และลดสภาวะเครียดต่างๆ ทางด้าน abiotic stress ให้กับต้นข้าวได้หลากหลายพื้นที่ปลูกทั้งนาสวน นาดอน หรือนาบนที่ราบสูง เป็นต้น ซึ่งแนวคิดนี้มีรายงานเชิงประจักษ์เช่น การใช้ชุมชนแบคทีเรียส่งเสริมการผลิตข้าวโพดในอัฟริกาใต้ที่รายงานว่าการใช้เชื้อแบคทีเรียที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชที่เข้ากันได้ดีจำนวน 2 และ 3 ไอโซเลตช่วยเพิ่มผลผลิตข้าวโพดได้ดีกว่าการใช้เชื้อปฏิปักษ์แบบเดี่ยว (Olanrewaju and Babalola, 2019) และในข้าวที่มีการใช้เชื้อกลุ่มแบคทีเรียที่อยู่รอบรากต้นพืชคือ *Bacillus amyloliquefaciens* Bd7 และ *Brevibacillus laterosporus* B4 ในรูปแบบผสมกันกับสารเคมีที่มีบทบาทการกระตุ้นภูมิต้านทานเช่น salicylic acid และ b-aminobutyric acid ช่วยลดภาวะเครียดจากความเย็นและความแห้งแล้งได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Kakar et al., 2016)

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากทุนอุดหนุนทั่วไป มหาวิทยาลัยขอนแก่น และขอขอบคุณศูนย์วิจัย เทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรเพื่อเศรษฐกิจที่ยั่งยืน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือต่าง ๆ และห้องปฏิบัติการที่ใช้ในการวิจัย ขอบคุณ ผศ.ดร. จิรวัฒน์ สนิทชน ที่ให้ความอนุเคราะห์เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้งที่ใช้ในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

นันทภัค เกตุสุวงษ์ และ เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล. 2562. การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพสูงในการควบคุมโรคเหี่ยวสเคลอโรเตียม และช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นมะเขือเทศ. แก่นเกษตร. 47: 819-828.

ปภัสสร สีลารักษ์. 2560. ประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces*-PR15 และ *Streptomyces*-PR87 ในการควบคุมโรคจากเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์และส่งเสริมการเจริญเติบโตต้นกล้าข้าว. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ปภัสสร สีลารักษ์ และ เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล. 2559. การถ่ายทอดทางเมล็ดพันธุ์ของเชื้อราฟิวซาเรียมสาเหตุโรคถอดฝักดาบของข้าวและศักยภาพของเชื้อ *Streptomyces*-PR15 และ *Streptomyces*-PR87ในการควบคุมโรคจากเชื้อฟิวซาเรียมของพืชเศรษฐกิจ. แก่นเกษตร. 44: 238-245.

ยลธิดา ชนะชัย และ เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล. 2563. การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ควบคุมเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริกในแนวกว้างและช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช. แก่นเกษตร. 44: 238-245.

เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล. 2545. *Streptomyces* อีกมิติหนึ่งของการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี. แก่นเกษตร. 30: 20-27.

ภัทรกร ภูริชินาวุฒิ. 2548. พันธุศาสตร์โมเลกุลของเชื้อ *Streptomyces* spp. ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* และเชื้อรา *Didymella bryoniae*. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

รัติกาล ยุทธศิลป์. 2558. การควบคุมโรคแอนแทรกโนสและรากปมของพริกโดย *Streptomyces* sp. ปฏิปักษ์. วิทยานิพนธ์ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

วีรกรณ์ แสงไสย์. 2557. บทบาทของเชื้อ *Streptomyces* ปฏิปักษ์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและกระตุ้นภูมิต้านทานโรค ไวรัส TMV ของพริก. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว. องค์ความรู้เรื่องข้าว. แหล่งข้อมูล: http://www.thairiceexporters.or.th/ default_th.htm. ค้นเมื่อ 2 กุมภาพันธ์ 2561.

อัศศิริ กลางสวัสดิ์ และ เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล. 2556. วิธีการใช้ *Streptomyces*-PR87 สำหรับส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ. แก่นเกษตร. 41: 205–212.

Alekhya, G., and S. Gopalakrishnan. 2017. Biological control and plant growth-promotion traits of *Streptomyces* species under greenhouse and field conditions in chickpea. Journal of Agricultural Research. 6(4): 410–420.

Elizabeth, A., B. Emmert, and J. Handelsman. 1999. Biocontrol of plant disease: a (Gram-) positive perspective. Federation of European Microbiological Societies Microbiology Letters. 171: 1-9.

Elleuch, L., M. Shaaban, S. Smaoui, L. Mellouli, I. K. Rebai, L. F. B. Fguira, K. A. Shaaban, and H. Laatsch. 2010. Bioactive Secondary Metabolites from a New Terrestrial *Streptomyces* sp. TN262. Applied Biochemistry and Biotechnology. 162: 579-593.

Jain, A., A. Sigh, B. N. Singh, S. Singh, R.S. Upadhyay, B.K. Sarma, and H.B. Singh. 2013. Biotic stress management in agricultural crops using microbial consortium. In D.K. Maheshwari (ed.), Bacteria in Agrobiology : Disease Management. Springer-Verlag Burlin Heidelberg. 2013.

Pirkko, H., G. Aktuganov, N.F. Galimzyanova, and A. Melent. 2001. Lytic enzyme complex of an antagonistic *Bacillus* sp. X-b: Isolation and purification of components. Journal of chromatography biomedical sciences and applications. 758: 197-205.

IRRI. 2010. International Rice Research Institute, Rice Fact Sheet, Bacterial Blight. March 2010.

Kabir, L., W. K. Sang, S.K. Yun, and S.L. Youn. 2012. Application of rhizobacteria for plant growth promotion effect and biocontrol of anthracnose Caused by *Colletotrichum acutatum* on pepper. Mycobiology. 40: 244-251.

Kakar, K.U., X.X. Ren, Z. Nawaz, Z.O. Cui, B. Li, G.L. Xie, M.A. Hassan, E. Ali, and G.C. Sun. 2016. A consortium of rhizobacterial strains and biochemical growth elicitors improve cold and drought stress tolerance in rice. Plant Biology. 18: 471-483.

Mannanov R. N., and R.K. Sattarova. 2 0 0 1 . Antibiotics produced by *Bacillus* bacteria chemistry of natural compounds. Chemistry of Natural Compounds. 37: 117-123.

Martina, K., E. M. Ramadan, M. Adam, M. Cardinale, J. Hallmann, H. Heuer, K. Smalla, and G. Berg. 2013. *Bacillus* and *Streptomyces* were selected as broad-spectrum antagonists against soilborne pathogens from arid areas in Egypt. Federation of European Microbiological Societies Microbiology Letters. 342: 168-178.

Olanrewaju, O.S. and O.O. Babalola. 2019. Bacterial consortium for improved maize (Zea mays L.) production. Microorganisms. 7: 519.

Santoyo, G., P. Guzman-Guzman, F. I. Parra-Cota, S.d. l. Santos-Villalobos, M.d C. Orozco-Mosqueda, and B.R. Grick. 2021. Plant growth stimulation by microbial consortia. Agronomy. 11: 219.

Sheng, J.X. and B.S. Kim. 2014. Biocontrol of Fusarium Crown and Root Rot and Promotion of Growth of Tomato by *Paenibacillus* Strains Isolated from Soil. Mycobiology. 42(2): 158-166.

Simonas, S., A. K. Cergius, D. Janusaukaite, and D. Citavicius. 2014. Bacteria with a broad-spectrum of antagonistic against pathogenic fungi of cereals. Federation of European Microbiological Societies Microbiology Letters. 101: 185-192.

Zeidan, R., Z. Ul-Hassan, R. Al-Thani, G. Migheli, and S. Jaoua. 2019. In-Vitro application of a Qatari *Burkholderia cepacia* strain (QBCO3) in the biocontrol of mycotoxigenic fungi and in the reduction of Ochratoxin A. biosynthesis by *Aspergillus carbonarius*. Toxins. 11: 700.