# การควบคุมเชื้อสาเหตุโรคข้าวในสภาพไร่ โดยแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ NSRS 89-24 และ NSRS 89-26

# Biological Control of Rice Diseases by *Bacillus subtilis* NSRS 89-24 and NSRS 89-26 in Upland Condition

นลินี จาริกภากร[1] พาณี หนูนิ่ม[1] โสพนา วรฉัตรวิทยา[1]
อุทิศ ดวงสุวรรณ[1] และมนูญ เอนกชัย[1]

**Nalinee Charigkapakorn[1] Panee Noonim[1] Sopana Vorachutvithaya[1] Uthid Dounsuwan[1] and Manoon Aneckchai[1]**

---

**ABSTRACT**

Two strains of *Bacillus subtilis* NSRS 89-24 and NSRS 89-26 were originally isolated from.a native rice seed, Choa Boa, which was collected from Nakornsrithamarat Rice Experiment Station in 1987. These two strains showed the remarkable results in inhibiting *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* in vitro and reduced the incidence of lesions on the inoculated leaves in the greenhouse. In vitro tests, these bacteria exhibited strong antagonism to field isolates of seven fungal pathogens of rice. Bacterization resulted in the effective biological control of seed borne pathogens of rice. The enhance growth of rice from bacteria-treated seed is attributed to suppress of seed borne pathogens and also exhibited some incidence in stimulation of the growth of the plants.

In upland condition, using a mixture of *Bacillus* in applying to aerial surfaces of rice plants and broadcasting into soil before seeding, the antagonists showed a remarkable ability to reduce the disease incidence. These investigations lead to the research in which to develop methodology and technology in producing bacterial and fungal inoculum which could be stored in room temperature over a year for the utilization in farmers' needs.

**Keywords : rice, pathogen antagonist. *Bacillus subtilis***

**บทคัดย่อ**

จากการทดลองแยก จำแนก และคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์จากเมล็ดพันธุ์ข้าว 11 สายพันธุ์ในภาคใต้ เพื่อให้ได้สายพันธุ์เชื้อแบคทีเรียที่สามารถนำมาใช้ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี ได้ประสบผลสำเร็จในการค้นพบสายพันธุ์เชื้อ *Bacillus subtilis* NSRS 89-24 และ NSRS 89-26 ซึ่งได้จากการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากในเปลือกเมล็ดข้าวพันธุ์ช่อเบา และนับเป็นรายงานครั้งแรกสำหรับการป้องกันกำจัดโรคข้าวโดยชีววิธีใช้เชื้อแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์นี้ ได้ทำการเก็บจาก

---

(1) ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง อำเภอเมือง จังหวัดพัทลุง 93000
Phatthalung Rice Research Center, Muang, Phatthalung 93000

สถานีทดลองข้าวนครศรีธรรมราช ในปี พ.ศ. 2530 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้งของข้าว *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* ในระดับห้องปฏิบัติการ และภายใต้สภาพเรือนปลูกทดลอง นอกจากนี้ยังมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคข้าว 7 ชนิด ในระดับห้องปฏิบัติการ ส่วนการทดสอบการคลุกเมล็ดพันธุ์ข้าวพบว่า มีความสามารถลดอัตราการเกิดโรคที่ติดมากับเมล็ด และช่วยให้ผลผลิตที่ได้มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น

การศึกษาเทคนิคการผลิตและทดสอบคุณภาพของผงเชื้อแบคทีเรียที่สามารถนำไปใช้ในสภาพไร่นา โดยทดลองผลิตเชื้อในสภาพผงแห้ง ที่สามารถเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องได้เกินกว่าหนึ่งปีขึ้นไป และนำผงเชื้อแบคทีเรียไปทดสอบในสภาพธรรมชาติ พบว่าสามารถควบคุมเชื้อสาเหตุโรคข้าว และอัตราการเกิดโรคได้ดีมากในสภาพไร่

**คำหลัก : ข้าว จุลินทรีย์ต่อต้านเชื้อโรค *Bacillus subtilis***

## คำนำ

ในปัจจุบันการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีได้รับความสนใจและสนับสนุนจากประเทศต่างๆ ทั่วโลก เพื่อเป็นการส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากธรรมชาติให้มากที่สุด โดยไม่ทำลายสภาพแวดล้อม หรือก่อเกิดมลพิษซึ่งทำลายระบบสมดุลธรรมชาติ ผลผลิตที่มีความปลอดภัยต่อมนุษย์ย่อมได้รับการพัฒนาให้ดีขึ้น เมื่อมีการลดบทบาทของสารเคมีหรือสารสังเคราะห์ให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม โดยการนำวิธีการจัดการปัจจัยสภาพแวดล้อม และการป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสานมาใช้

การป้องกันกำจัดโรคที่สำคัญของข้าวโดยชีววิธีได้ประสบความสำเร็จในระดับหนึ่ง โดยเฉพาะการนำเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถเป็นจุลินทรีย์ต่อต้านคลุกหรือแช่เมล็ดพันธุ์ เชื้อแบคทีเรียที่มีรายงาน ได้แก่ *Paeudomonas fluorescens* (Mew and Rosales 1986, Sakthivel and Gnanamanickam 1987) และ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ NSRS 89-24 และ NSRS 89-26 (Charigkapakorn *et. al* 1991) ซึ่งแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ทั้งสองสายพันธุ์เป็นผลการทดลองที่ได้มาจากการศึกษากิจกรรมของเชื้อแบคทีเรียที่เจริญบนผิวใบและเมล็ดข้าวที่เป็นโรคขอบใบแห้ง (นลินี 2534 (1)) และพบแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัสมากทั้งภายในและบนผิวเมล็ดรวมทั้งบนผิวใบ จึงนำเชื้อแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์มาทดสอบความสามารถในการป้องกันกำจัดโดยชีววิธี ผลการทดลอง พบว่า *B. subtilis* สายพันธุ์ NSRS 89-24 และ NSRS 89-26 สามารถลดความรุนแรงของโรคขอบใบแห้งสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* จากระดับความรุนแรงของโรค 94 เป็น 19 และ 10 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ นอกจากนี้สามารถควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคข้าวที่สำคัญ 7 ชนิด คือ *Pyricularia oryzae, Cercospora oryzae, Thanatephorus cucumeris, Curvularia oryzae, Acrocylindrium oryzae, Rhynchosporium oryzae, Alternaria padwickii* (Charigkapakorn *et. al* 1991)

การทดสอบการควบคุมโดยวิธีคลุกเมล็ด พบว่าสายพันธุ์ NSRS 89-26 ช่วยลดอัตราการเกิดโรคของเมล็ดพันธุ์ และต้นกล้าได้ดี ไม่มีผลกระทบต่อเปอร์เซ็นต์การงอกและความแข็งแรงของเมล็ด ต้นกล้าเจริญเติบโตได้ดีกว่าเมล็ดที่ไม่มีการคลุกเชื้อแบคทีเรีย และมีความเหมาะสมที่จะใช้ในสภาพที่มีโรคระบาดหรือมีโรคที่ติดมากับเมล็ดสูง (นลินี 2534 (2))

ในงานวิจัยนี้ได้นำผงเชื้อแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ซึ่งทำการผลิตและทดสอบความสามารถในการอยู่รอดของเชื้อโดยมีความสามารถเก็บไว้ได้นานเกินกว่าหนึ่งปีในสภาพปกติมาทำการศึกษา เพื่อทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคข้าวในสภาพไร่

## อุปกรณ์และวิธีการ

### 1) สายพันธุ์เชื้อแบคทีเรียต่อต้านในรูปผงแห้ง

สายพันธุ์เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง คือ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ NSRS 89-24 และ NSRS 89-26 ซึ่งได้ทำการคัดแยกจากเปลือกเมล็ดข้าวพันธุ์ช่อเบาจากสถานีทดลองข้าวนครศรีธรรมราช ในปี พ.ศ.

**Table 1** Type and rank of diseases detected on rice grown in upland condition with or without bacteria-treated using *Bacillus subtilis* NSRS 89-24 and NSRS 89-26 as the bacteria mixture.

| Treatment on rice | Days after seeding | Diseases | Infected plants (%) | Rank of disease damage |
|---|---|---|---|---|
| Non-bacteria treated | 7 | Stem rot | -* | Low |
| | 14 | Blast | 90 | High |
| | | Sheath blight | 45 | Medium |
| | | Narrow brown leaf spot | 20 | Low |
| | 21 | Blast | 100 | Very high |
| | | Sheath blight | 68 | high |
| | | Narrow brown leaf spot | 59 | high |
| | | Brown spot | 15 | Low |
| Soil incorporated | 7 | No disease | - | - |
| with bacteria before | 14 | Blast | 15 | Low |
| seeding | 21 | Blast | 68 | Medium |
| | | Narrow brown leaf spot | 37 | Low |
| Bacteria was sprayed | 7 | Stem rot | -* | Low |
| on the leaves | 14 | Blast | 55 | Medium |
| | | Sheath blight | 40 | Medium |
| | 21 | Blast | 67 | Medium |
| | | Sheath blight | 21 | Medium |

* Symptom of disease was slightly observed on a small portion of the stem near soil surface.

2530 และทำการคัดแยก จำแนกตลอดจนทำการศึกษาความสามารถในการเป็นเชื้อแบคทีเรียต่อต้านโรคข้าวในห้องปฏิบัติการและโรงเรือนกระจกของศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง

**การเตรียมผงแห้ง**โดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar บ่มเชื้อในอุณหภูมิ 25±1 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง ใช้แท่งแก้วปาดเชื้อที่อยู่บนผิวลงในถ้วยแก้วตวงที่มีน้ำกลั่นฆ่าเชื้อให้มีความ เข้มข้น $1x10^9$ cfu./มล. เขย่าให้ละลายเข้ากันให้ทั่วแล้วเติมผงทัลคัมและหินฝุ่นโดโลไมท์ ในอัตราส่วน 1 : 2 นำไปทำให้เป็นผงแห้งโดยวิธีการเป่าแห้งในเครื่องฉีดพ่นผ่านลมร้อน (spray drier)

**2) การทดสอบการควบคุมโรคข้าวในสภาพไร่**

พันธุ์ข้าวที่ใช้ทดสอบ คือ พันธุ์ขาวตาแห้ง โดยปลูกแบบข้าวไร่ขนาดแปลง 1.5x1.5 เมตร ปลูกโดยการหว่านอัตราเมล็ดพันธุ์ 225 กรัม/แปลงทดลอง วางแผนการทดลองแบบ Latin Square Design 3 ซ้ำ 3 กรรมวิธี คือ

1. ไม่มีการใช้เชื้อผงแบคทีเรีย

2. หว่านเชื้อผงแบคทีเรียแบบคลุกดินก่อนปลูก อัตรา 10 กก./ไร่

3. ฉีดพ่นเชื้อผงแบคทีเรียอัตรา 40 กรัม/ซ้ำ 20 ลิตร ทุกๆ 7 วัน

บันทึกผลการทดลองหลังจากการใช้ผงเชื้อแบคทีเรีย 7 ถึง 21 วัน บันทึกระดับการเกิดโรคชนิดของโรค และระยะเวลาการเกิดโรค

## ผลการทดลองและวิจารณ์

การใช้วิธีคลุกผงเชื้อแบคทีเรียในดินก่อนปลูกข้าว สามารถควบคุมการเกิดโรคข้าวในระยะต้นอ่อนได้ดี ในช่วงระยะ 7 ถึง 14 วันหลังจากหว่านเมล็ดข้าว หลังจากนั้นในช่วง 21 ถึง 28 วัน เริ่มพบโรคไหม้ของข้าว แต่ระดับความรุนแรงของโรคต่ำ โดยมีขนาดแผลอยู่ในระดับ 3

ส่วนการใช้วิธีการฉีดพ่นได้ผลปานกลาง เพราะพบแผลโรคปรากฏขึ้นตามใบข้าว แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบผลการทดสอบกับแปลงที่ไม่ใช้ผงเชื้อแบคทีเรีย พบว่า สามารถลดการเกิดโรคบนส่วนใบได้ดีกว่า (Fig. 1, Table 1)

ผลการทดลองการควบคุมโรคข้าวในสภาพไร่ แสดงให้เห็นว่า การคลุกดินด้วยผงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์รวมให้ผลดีที่สุด ซึ่งอาจเนื่องมาจากการลดแหล่งกำเนิดของเชื้อสาเหตุของโรคในดินและเมล็ด ส่วนการฉีดพ่นทางใบได้ผลปานกลาง ซึ่งเป็นไปได้ว่าเชื้อสาเหตุของโรคเข้าทำลายพืชก่อนที่จะมีการฉีดพ่น (Fig.1) การนำวิธีการทั้งสองมาใช้ร่วมกันจะเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมการเกิดโรค โดยสามารถลดอัตราและจำนวนครั้งในการใช้ให้ต่ำลง ซึ่งเป็นการประหยัดทั้งทางเศรษฐกิจและเวลา

## สรุป

วิธีการควบคุมโรคข้าวโดยใช้ผงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* NSRS 89-24 และ NSRS 89-26 ช่วยควบคุมเชื้อสาเหตุ และอัตราการเกิดโรคของข้าวได้ค่อนข้างดีในสภาพไร่ ผลการทดลองในครั้งนี้เป็นประโยชน์ต่อการที่จะพัฒนาวิธีการนำผงเชื้อไปทดลองใช้ควบคุมโรคข้าวในสภาพนาลุ่มต่อไป

## เอกสารอ้างอิง


นลินี จาริกภากร พาณี หนูนิ่ม บุญมี วารินสอาด พิรุณ จันทนกุล และมนูญ เอนกชัย. 2534. (1) การศึกษากิจกรรมของเชื้อแบคทีเรียที่เจริญบนผิวใบและเมล็ดข้าวเป็นโรคขอบใบแห้ง การสัมมนาวิชาการข้าวภาคใต้ ครั้งที่ 4 ณ โรงแรมโนรา อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา. 5 หน้า.

นลินี จาริกภากร พาณี หนูนิ่ม บุญมี วารินสอาด พิรุณ จันทนกุล และมนูญ เอนกชัย. 2534. (2) การป้องกันกำจัดโรคข้าวโดยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ว.วิจัยข้าว. 1: 42-53.

นลินี จาริกภากร พาณี หนูนิ่ม บุญมี วารินสอาด พิรุณ จันทนกุล และมนูญ เอนกชัย. 2534. การควบคุมโรคข้าวโดยวิธีคลุกเมล็ดด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ว.วิชาการ กษ. (อยู่ระหว่างการจัดพิมพ์)

Charigkapakorn, N., Noonim, P., Aneckachi, M. and Warensahd, B. 1991. Biological control of bacterial leaf blight and some fungal pathogens of rice in Thailand by *Bacillus subtilis* Thai Journal of Agricultural Science 24 (October 1991) : 283-299.

Mew, T.W. and Rosales, A.M. 1986. Bacterization of rice plants for control of sheath blight caused by *Rhizoctonia solani* Phytopathology. 76 (11) : 1260 -1264.

Sakthivel, N. and Ganamanickam, S.S. 1987. Evaluation of *Pseudomonas fluorescens* for suppression of sheath rot diesease and for enhancement of grain yield in rice (*Oryza sativa* L. Applied Enviromental Microbiology 53 (9) : 2056-2059.

# Biological Control of Rice Diseases by *Bacillus subtilis* NSRS 89-24 and NSRS 89-26 in Upland Condition

Figure 1 Comparison on disease incidence (leaves appearance) among non-bacteria treated rice (NO 1), rice on soil incorporated with bacteria inoculum (NO 2) and rice received bacteria spray at every 7-day interval (NO 3). The bacteria mixture were *Bacillus subtilis* NSRS 89-24 and NSRS 89-26.

# Relationship between *Colletotrichum falcatum* and *Fusarium subglutinans* or *F. moniliforme* sugarcane red rot-Fusarium stem rot pathogens

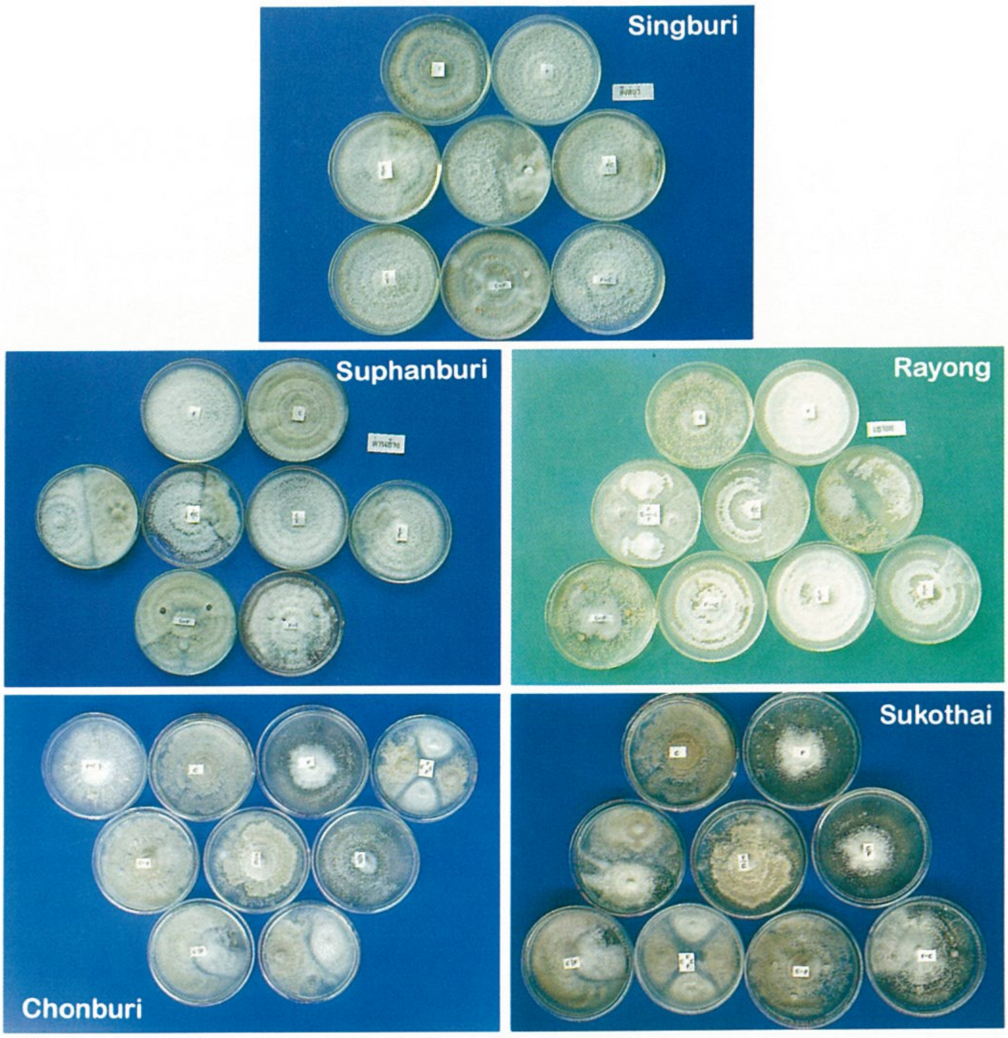
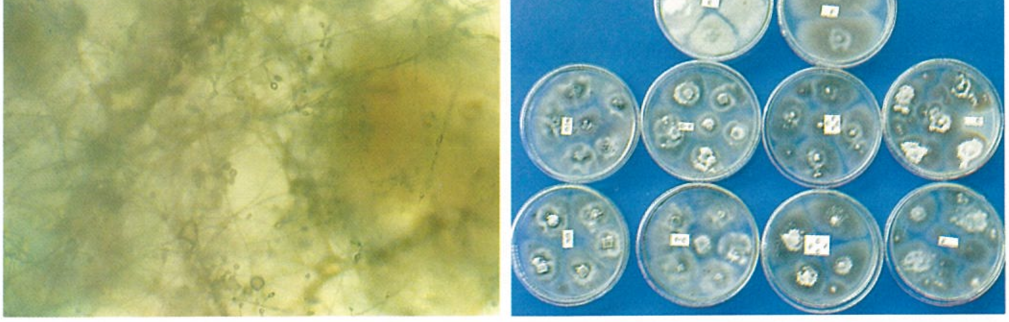



**Figure 1** Relationship of *C. falcatum* and *F. moniliforme* of *F. subglutinans* in dual culture test

2.1 ⇨ Culture of *C. falcatum* covered with *Fusarium sp.*



⇦ 2.2 *Fusarium sp.* colonies growing from agar disk taken from culture of *C. falcatum* covered with *Fusarium sp.*

**Figure 2** *F. moniliforme* or *F. subglutinans* colony produced from agar disk taken from culture *C. falcatum* covered with *F. moniliforme or F. subglutinans*