



การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียบาซิลลัส (*Bacillus* sp.) ที่รวบรวมจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง
เพื่อประเมินศักยภาพในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

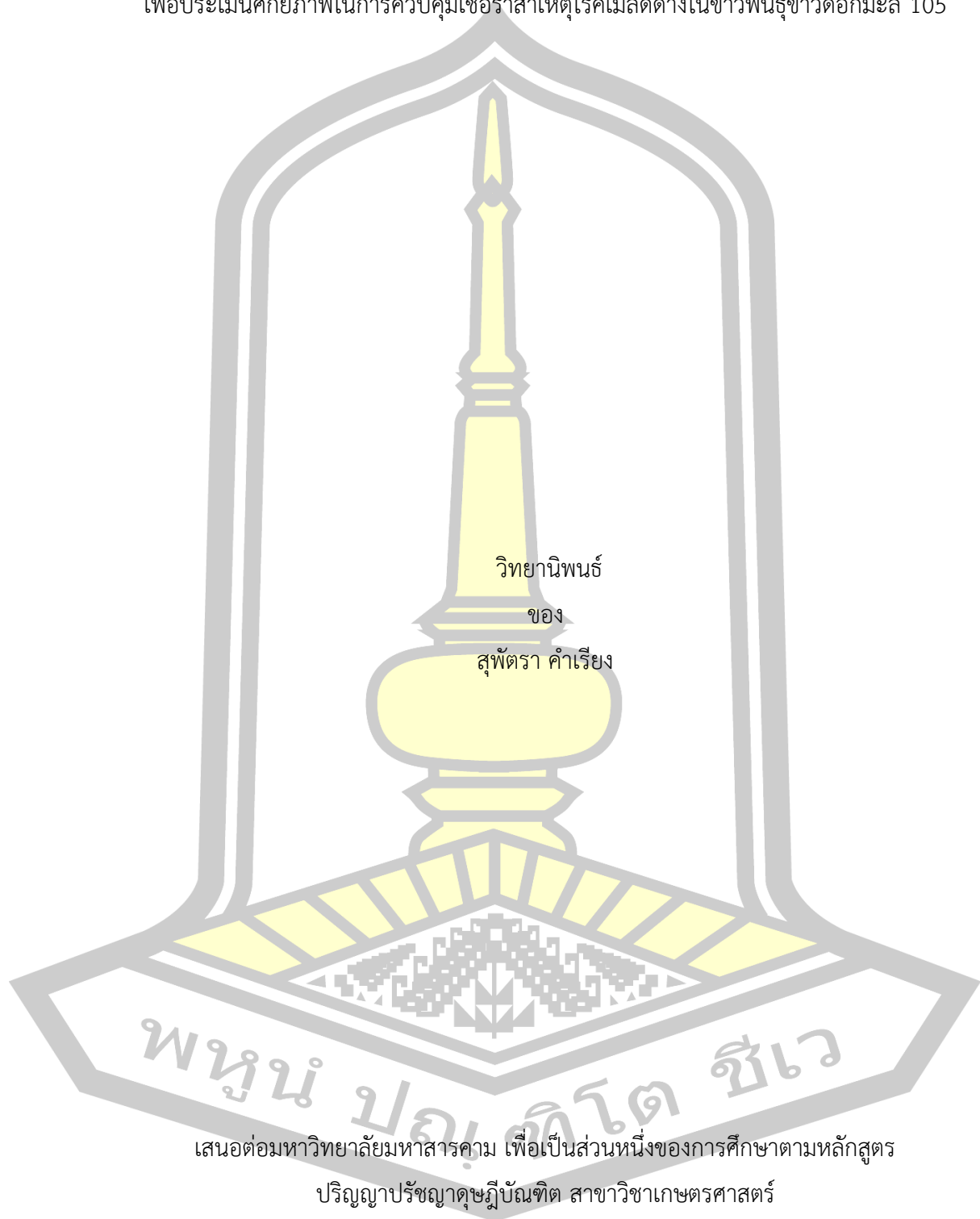
วิทยานิพนธ์
ของ
สุพัตรา คำเรียง

เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาเกษตรศาสตร์

กรกฎาคม 2568

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียบาซิลลัส (*Bacillus* sp.) ที่รวบรวมจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง
เพื่อประเมินศักยภาพในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105



เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

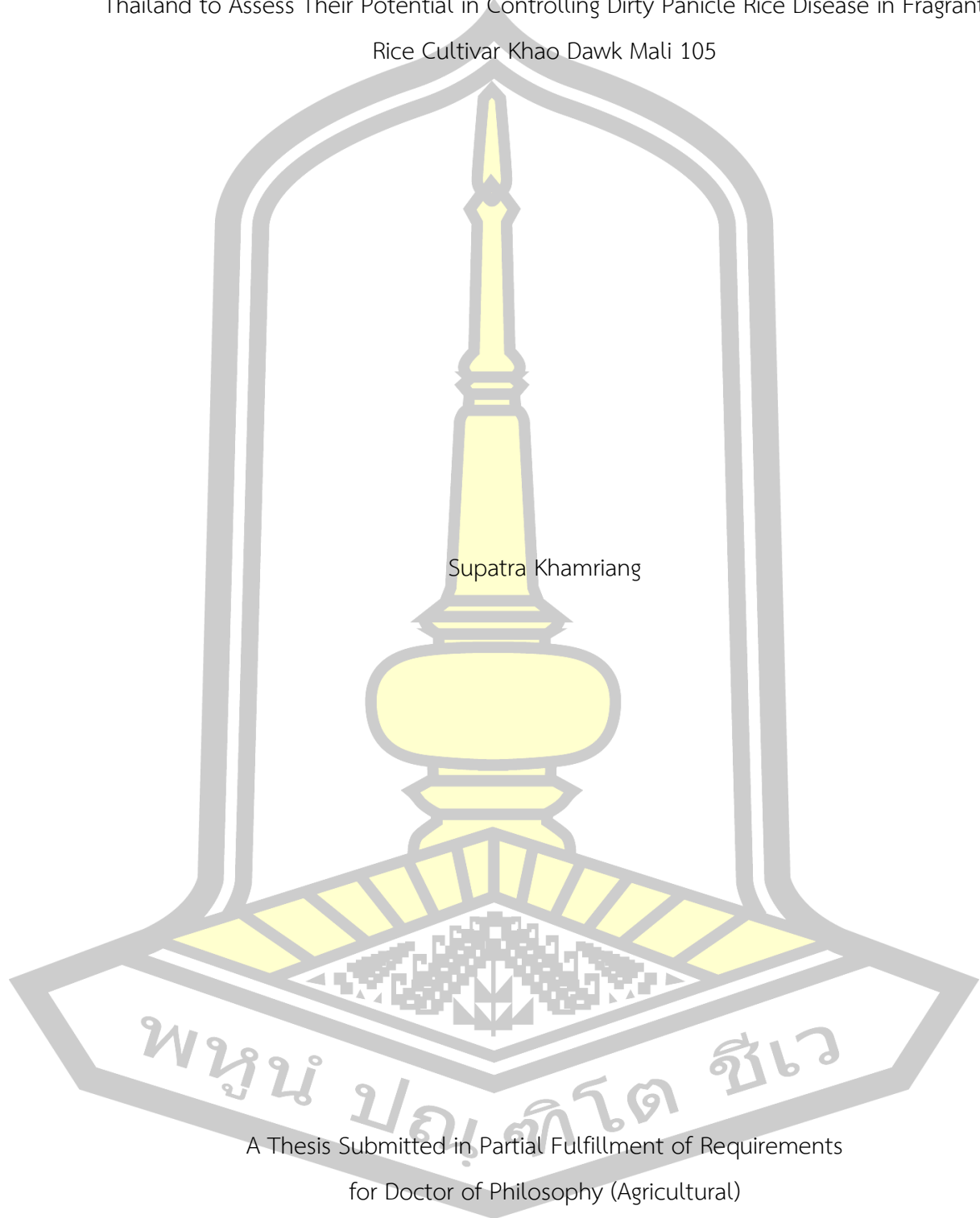
ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาเกษตรศาสตร์

กรกฎาคม 2568

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

Screening of *Bacillus* sp. Strains Collected from Lower Northeastern Region of
Thailand to Assess Their Potential in Controlling Dirty Panicle Rice Disease in Fragrant
Rice Cultivar Khao Dawk Mali 105

Supatra Khamriang



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of Requirements
for Doctor of Philosophy (Agricultural)

July 2025

Copyright of Mahasarakham University



คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณาวิทยานิพนธ์ของนางสาวสุพัตรา คำเรียง แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

ประธานกรรมการ

(ศ. ดร. อนันต์ พลธานี)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผศ. ดร. วรธนา สิ้นศิริ)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผศ. ดร. นริศ สิ้นศิริ)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผศ. ดร. สุวิตา แสไพศาล)

กรรมการ

(ศ. ดร. อนุชิตา มุ่งงาม)

กรรมการ

(ศ. ดร. ปรีชา ประเทพา)

กรรมการ

(ผศ. ดร. พีระยศ แข็งขัน)

มหาวิทยาลัยขอนแก่นให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

(ศ. ดร. ปรีชา ประเทพา)

คณบดีคณะเทคโนโลยี

(ผศ. ดร. พลเดช เขาวรัตน์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อเรื่อง	การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียบาซิลลัส (<i>Bacillus</i> sp.) ที่รวบรวมจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง เพื่อประเมินศักยภาพในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105		
ผู้วิจัย	สุพัตรา คำเรียง		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรพธมา สิ้นศิริ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นริศ สิ้นศิริ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุวิตา แสไพศาล		
ปริญญา	ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต	สาขาวิชา	เกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัย	มหาวิทยาลัยมหาสารคาม	ปีที่พิมพ์	2568

บทคัดย่อ

โรคเมล็ดต่างในข้าว (Dirty Panicle Disease) จัดเป็นปัญหาสำคัญในการผลิตข้าว หากเกิดการระบาดรุนแรงส่งผลทำให้ผลผลิตเสียหายมาก อาการเมล็ดต่างจะปรากฏเด่นชัดในช่วงเก็บเกี่ยวและส่งผลให้ผลผลิตลดลงถึงร้อยละ 85 การควบคุมโรคโดยชีววิธีจึงเข้ามามีบทบาทมากขึ้น เพื่อลดปัญหาการใช้สารเคมีและเป็นการรักษาความสมดุลของธรรมชาติ ปัจจุบันมีการศึกษานำเชื้อจุลินทรีย์ในดินมาใช้ประโยชน์ พบว่าเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* sp. มีความสามารถในการผลิตสารต้านจุลชีพและเอนไซม์ที่สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ รวมถึงส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ดังนั้นการศึกษาดังกล่าวจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. จากท้องถิ่นที่สามารถยับยั้งการเข้าทำลายของโรคเมล็ดต่างในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 โดยดำเนินการวิจัยเป็น 5 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 การทดสอบการก่อโรคของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เพื่อประเมินการก่อโรคและอาการต่างบนเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ด้วยแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design จำนวน 4 ซ้ำ 9 กรรมวิธี โดยทำการทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคเมล็ดต่างในข้าวจากเชื้อรา โดยใช้วิธี seed inoculation assay แล้วประเมินอาการของโรคที่เกิดขึ้นที่ 12, 24, 48, 72, 120 และ 168 ชั่วโมงภายหลังจากการปลูกเชื้อ ตามหลักการของ International Seed Testing Association (ISTA) และตรวจสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของกิจกรรมเอนไซม์คาตาเลสต่อการเสื่อมคุณภาพเมล็ดพันธุ์ ผลการศึกษาพบว่าอาการบนเปลือกเมล็ดข้าวซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่พบอาการภายในเมล็ดซึ่งส่งผลต่อการงอกของเมล็ดข้าวที่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยเชื้อ *Curvularia* sp. มีความรุนแรงสูงสุดต่อเมล็ดข้าวที่ได้รับเชื้อทำให้เมล็ดไม่งอก 100% แต่เมล็ดข้าวที่ได้รับเชื้อรา *Sarocladium* sp. จะได้รับผลกระทบน้อยที่สุด จากการตรวจวัดกิจกรรมเอนไซม์คาตาเลส เมล็ดข้าวที่ได้รับเชื้อรา *Curvularia* sp., *Cercospora* sp., *Bipolaris* sp., *Fusarium* sp., *Trichoconis* sp., *Sarocladium* sp. และได้รับเชื้อราด้วยกัน 6 ชนิด มีกิจกรรมเอนไซม์คาตาเลสแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ บ่งชี้ว่าเชื้อราสาเหตุมีความรุนแรงต่อการก่อโรคได้แตกต่างกัน การทดลองที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพสารกรองเชื้อแบคทีเรีย

Bacillus sp. ต่อการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง และประเมินประสิทธิภาพของสารกรอง ด้วยแผนการทดลองแบบ 10x6x2 Factorial in Completely Randomized Design มี 120 กลุ่มทดลอง ๆ ละ 4 ซ้ำ ปัจจัย A คือเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. จำนวน 10 ไอโซเลต ปัจจัย B คือลักษณะเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. 2 รูปแบบ และปัจจัย C คือเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง 6 ชนิด โดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. จำนวน 10 ไอโซเลต ได้แก่ *Bacillus* UBU1, *Bacillus* UBW2, *Bacillus* BRBR3, *Bacillus* BRBD12, *Bacillus* SKKH3, *Bacillus* SKNK4, *Bacillus* SKKK4, *Bacillus* SKNK3, *Bacillus* SKY7 และ *Bacillus* SRSHP19 เตรียมให้อยู่ในรูป cell suspension (CS) และ cell-free culture filtrate (CFF) สำหรับการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว ด้วยวิธี Dual culture method และตรวจสอบยืนยันที่กำหนดยการสร้างสารปฏิชีวนะ คัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่ยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าวได้ดีที่สุด ผลการทดลองพบว่า รูปแบบเซลล์ CFF ของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* SKKH3 และ BRBD12 สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ โดยรูปแบบเซลล์ CFF ของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราได้ดีกว่ารูปแบบเซลล์ CS และเมื่อนำเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ทั้ง 10 ไอโซเลต ทำการตรวจหาพื้นที่กำหนดยการสร้างสารปฏิชีวนะ 4 ยีน ได้แก่ ยีน *srfA*, *ituA*, *bacD* และ *bmyA* พบว่ามีเชื้อแบคทีเรีย *B. siamensis* UBU1, *B. siamensis* BRBD12, *B. siamensis* SKKH3, *B. siamensis* SKY7 และ *B. siamensis* SKKK4 มียีนสร้างสารปฏิชีวนะทั้ง 4 ยีน ที่แตกต่างจากไอโซเลตอื่น การทดลองที่ 3 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว เพื่อคัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไอโซเลตที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว จากการทดลองที่ 2 จำนวน 5 ไอโซเลต คือ *B. siamensis* UBU1, *B. siamensis* BRBD12, *B. siamensis* SKKH3, *B. siamensis* SKKK4 และ *B. cereus* SRSHP19 ด้วยแผนการทดลองแบบ 5x6 Factorial in Completely Randomized Design มี 30 กลุ่มทดลอง ๆ ละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 100 สปอร์ ปัจจัย A คือเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. 5 ไอโซเลต ปัจจัย B คือเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง 6 ชนิด ได้แก่ *Trichoconis* sp., *Sarocladium* sp., *Cercospora* sp., *Bipolaris* sp., *Curvularia* sp. และ *Fusarium* sp. ดำเนินการทดลองโดยใช้เทคนิค slide culture ตรวจผลที่ 15 ชั่วโมงหลังทดสอบ และตรวจนับการงอกของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ผลการทดลองพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าวได้แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ คือเชื้อแบคทีเรีย *B. siamensis* SKKK4 และ *B. siamensis* SKKH3 สามารถยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อราสาเหตุทั้ง 6 ชนิดได้ดีที่สุด นอกจากนี้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. สามารถยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อราชนิด *Curvularia* sp. ได้ดีที่สุด การทดลองที่ 4 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อการงอกของเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เพื่อตรวจหาคุณสมบัติของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. จำนวน 5 ไอโซเลต ที่มีผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวขาวดอกมะลิ 105 ด้วยแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design จำนวน 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี คือเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ และนำมาคลุกกับเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp.

แต่ละไอโซเลตจำนวน 5 ไอโซเลต และกรรมวิธีควบคุมไม่คลุกเชื้อ ผลการทดลองพบว่า การงอกของเมล็ดข้าว และดัชนีการงอก ที่อายุ 7 และ 14 วันหลังการเพาะเมล็ด ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม และเมื่อเมล็ดข้าวได้รับเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* SRSHP19, *B. siamensis* SKKH3, *B. siamensis* BRBD12 และ *B. siamensis* SKKK4 มีพลังงานในการงอกและอัตราเร็วในการงอก ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม ส่วนดัชนีความแข็งแรงของต้นกล้า *B. siamensis* SKKK4 และ *B. siamensis* SKKH3 มีดัชนีความแข็งแรงมากกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งบ่งชี้ให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไม่มีผลกระทบต่ออาการงอกของเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 การทดลองที่ 5 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในการลดโรคเมล็ดต่างข้าว ในสภาพเรือนทดลอง เพื่อนำผลประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. จำนวน 5 ไอโซเลต ในการลดปริมาณการเกิดโรคเมล็ดต่างข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสภาพเรือนทดลอง ด้วยแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design จำนวน 4 ซ้ำ 38 กรรมวิธี ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. จำนวน 5 ไอโซเลต ที่ร่วมกับการฉีดพ่นเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างจำนวน 6 ชนิด และพ่นเชื้อราสาเหตุที่รวมมาจากเชื้อทั้ง 6 ชนิด และกรรมวิธีควบคุมประกอบด้วย กรรมวิธีไม่คลุกเชื้อราสาเหตุโรค กรรมวิธีที่ใช้สารเคมี และกรรมวิธีที่ใช้ *B. subtilis* ที่ผลิตเพื่อการค้า ผลการทดลองพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ทั้ง 5 ไอโซเลต สามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเมล็ดต่างบนเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ได้แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมทั้ง 3 กรรมวิธี จึงทำให้น้ำหนัก 1000 เมล็ด น้ำหนักเมล็ดข้าวดี และผลผลิตต่อหน่วยทดลองแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้คลุกเชื้อ แต่ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีควบคุมที่ใช้สารเคมีและกรรมวิธีควบคุมที่ใช้ *Bacillus* sp. ที่ผลิตเพื่อการค้า

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้สรุปได้ว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. มีศักยภาพสูงในการควบคุมเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคเมล็ดต่างในข้าว โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เชื้อแบคทีเรีย *B. siamensis* ไอโซเลต SKKK4 และ SKKH3 ข้อเสนอแนะควรพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์สำหรับการใช้จริงในเชิงพาณิชย์ และหาแนวทางในการสร้างสูตรให้มีความคงตัวสูง และสามารถเก็บรักษาได้นาน ให้เป็นทางเลือกที่ปลอดภัย และยังยืนต่อการผลิตข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ภายใต้สภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ต่อไป

คำสำคัญ : บาซิลลัส, โรคเมล็ดต่างข้าว, ข้าวขาวดอกมะลิ 105, เชื้อราก่อโรค, การควบคุมโดยชีววิธี

TITLE	Screening of <i>Bacillus</i> sp. Strains Collected from Lower Northeastern Region of Thailand to Assess Their Potential in Controlling Dirty Panicle Rice Disease in Fragrant Rice Cultivar Khao Dawk Mali 105		
AUTHOR	Supatra Khamriang		
ADVISORS	Assistant Professor Wantana Sinsiri , Ph.D. Assistant Professor Naris Sinsiri , Ph.D. Assistant Professor Suwita Saepaisan , Ph.D.		
DEGREE	Doctor of Philosophy	MAJOR	Agricultural
UNIVERSITY	Maharakham University	YEAR	2025

ABSTRACT

Dirty Panicle Disease presents a major constraint to rice production, causing yield losses of up to 85% during severe outbreaks, with the most noticeable symptoms emerging at harvest. Due to the limitations and environmental concerns of chemical control, biological methods have gained prominence as sustainable and eco-friendly alternatives. Recent research has focused on soil microorganisms, particularly *Bacillus* sp., which are known to produce antimicrobial compounds and hydrolytic enzymes that inhibit plant pathogens. This study aimed to identify native *Bacillus* sp. strains capable of inhibiting the fungal pathogens responsible for Dirty Panicle Disease in Khao Dawk Mali 105 rice. The research comprised five sequential experiments: The first experiment aimed to assess the pathogenicity of fungi causing Dirty Panicle Disease. This experiment evaluated disease severity and seed symptom expression caused by six fungal pathogens (*Curvularia* sp., *Cercospora* sp., *Bipolaris* sp., *Fusarium* sp., *Trichoconis* sp., and *Sarocladium* sp.) using a Completely Randomized Design (CRD) with 9 treatments and 4 replications. Seed inoculation followed ISTA standards, and symptom progression was observed at 12, 24, 48, 72, 120, and 168 hours post-inoculation. Catalase enzyme activity served as a biochemical indicator of seed deterioration. Although no external seed coat symptoms (disease level 0) were detected, internal infections significantly reduced germination. *Curvularia* sp. caused total inhibition (0% germination), marking it as the most aggressive, while *Sarocladium* sp. had the least impact (68% germination). Catalase activity significantly varied among fungi, reflecting differences in pathogenic aggressiveness. The second experiment aimed to

evaluate the *Bacillus* sp. for antifungal activity against Dirty Panicle pathogens. Ten *Bacillus* isolates (UBU1, UBW2, BRCR3, BRBD12, SKKH3, SKNK4, SKKK4, SK-NK3, SKY7, and SRSHP19) were tested in cell suspension (CS) and cell-free culture filtrate (CFF) forms using a 10×6×2 factorial CRD design (120 treatments, 4 replications). Antagonistic activity was assessed using the dual culture method. The CFF of isolates SKKH3 and BRBD12 fully inhibited fungal spore germination (100%). Overall, CFF treatments were more effective than CS. PCR analysis showed that *B. siamensis* UBU1, BRBD12, SKKH3, SKY7, and SKKK4 carried four key antibiotic synthesis genes (*srfA*, *ituA*, *bacD*, and *bmyA*), identifying them as strong biocontrol candidates. The third experiment aimed to investigate the spore germination inhibition by selected *Bacillus* sp. Five high-performing isolates from Experiment 2 (*B. siamensis* UBU1, BRBD12, SKKH3, SKKK4, and *B. Cereus* SRSHP19) were tested for spore inhibition of the six fungal pathogens using a 5×6 factorial in CRD (30 treatments, 4 replications; 100 spores/treatment). Slide cultures were observed at 15 hours under a microscope. Results showed significant treatment effects. *B. siamensis* SKKH3 and SKKK4 exhibited the highest efficacy, completely suppressing spore germination of *Curvularia* sp. (100%). The fourth experiment aimed to assess the effects of *Bacillus* sp. on germination and seedling vigor of Khao Dawk Mali 105. To assess compatibility with seed physiology, the same five *Bacillus* isolates were evaluated for their effects on germination and early seedling growth in a CRD with 6 treatments and 4 replications. Surface-sterilized seeds were coated with the isolates and incubated under controlled conditions. No significant differences were observed in germination rates or germination index at 7 and 14 days. However, seedlings treated with *B. siamensis* SKKH3 and SKKK4 showed significantly higher vigor indices, suggesting growth-promoting effects. Importantly, none of the treatments negatively impacted germination, confirming their suitability for seed application. The fifth experiment aimed to investigate the efficacy of *Bacillus* sp. in reducing Dirty Panicle Disease under greenhouse conditions. This experiment tested the efficacy of the five *Bacillus* isolates in suppressing Dirty Panicle Disease in Khao Dawk Mali 105 under greenhouse conditions. A CRD with 38 treatments and 4 replications was used. Treatments included individual *Bacillus* applications with fungal inoculation, a mixed fungal inoculum, a chemical fungicide, and a commercial *Bacillus* product, alongside a non-inoculated control. All five *Bacillus* isolates significantly reduced disease incidence compared to the untreated control. They also improved 1,000-grain weight, weight of unbroken grains, and total yield per plot. These parameters were significantly better than the distilled water

control but not significantly different from chemical or commercial *Bacillus*-based treatments.

This study demonstrates that native *Bacillus* sp., particularly *B. siamensis* SKKH3 and SKKK4, exhibit strong potential for suppressing fungal pathogens associated with Dirty Panicle Disease. The recommendation is to develop the product into a bioformulation for actual commercial use and to find ways to create a formulation with high stability and long shelf life, offering a safe and sustainable alternative for the production of Khao Dawk Mali 105 rice under varying environmental conditions across different regions.

Keyword : *Bacillus* sp., Dirty Panicle Disease, Khao Dawk Mali 105 rice, Phytopathogenic fungi, Biological control



กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรพณา สิ้นศิริ อาจารย์ที่ปรึกษา วิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นริศ สิ้นศิริ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุวิตา แสไพศาล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้คำแนะนำและคำปรึกษา ตลอดจนถึงแนะทางในการทำ วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณศาสตราจารย์ ดร. อนันต์ พลธานี ประธานสอบวิทยานิพนธ์ ศาสตราจารย์ ดร. ปรีชา ประเทพา ศาสตราจารย์ ดร. อนุชิตา มุ่งงาม และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พิระยศ แข็งขัน กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำชี้แนะและแนวทาง รวมถึงให้คำปรึกษาอันเป็นประโยชน์ ต่อการแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้รับทุนสนับสนุนวิจัยและนวัตกรรม คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัย อุบลราชธานี

ขอขอบพระคุณคณาจารย์และบุคลากรภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัย อุบลราชธานี และภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ทุกท่านที่ กรุณาให้คำปรึกษาและความช่วยเหลือด้านวัสดุ อุปกรณ์ และสถานที่ในการทำวิทยานิพนธ์รวมถึงงาน ด้านธุรการ

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และสมาชิกในครอบครัวที่คอยให้กำลังใจและความห่วงใย เสมอมา ขอขอบคุณพี่ ๆ เพื่อน ๆ น้อง ๆ ที่ให้ความช่วยเหลือ และกำลังใจตลอดระยะเวลาในการทำ วิทยานิพนธ์ จึงเป็นผลให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สุพัตรา คำเรียง

พนุน ปณ จิตโต ชีเว

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ช
กิตติกรรมประกาศ.....	ญ
สารบัญ.....	ฎ
สารบัญตาราง.....	ท
สารบัญภาพ.....	ณ
บทที่ 1	1
บทนำ.....	1
1.1 ภูมิหลัง.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	3
1.3 สมมติฐานของการวิจัย.....	3
1.4 ขอบเขตการวิจัย	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
1.6 นิยามศัพท์เฉพาะ	4
บทที่ 2	5
เอกสารที่เกี่ยวข้อง.....	5
2.1 ลักษณะของข้าวขาวดอกมะลิ 105.....	5
2.2 สถานการณ์การเกิดโรคเมล็ดต่างข้าว	7
2.2.1 โรคเมล็ดต่างของข้าว (Dirty Panicle Disease).....	8
2.2.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง	10
2.2.3 การคัดแยกเชื้อสาเหตุโรคเมล็ดต่างที่ติดมากับเมล็ดข้าว	13

2.3 การควบคุมโรคเมล็ดต่างโดยชีววิธี.....	14
2.4 เชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> spp.....	15
2.4.1 ลักษณะทั่วไปของ <i>Bacillus</i> spp.....	15
2.4.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ <i>Bacillus</i> spp.	16
2.4.3 การเก็บรวบรวมเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> spp. จากดินบริเวณรากพืช	17
2.4.4 การจำแนกเชื้อแบคทีเรียที่เป็นปฏิปักษ์	18
2.4.5 คุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ <i>Bacillus</i> spp.	19
2.4.6 นิเวศวิทยาของ <i>Bacillus</i> spp.....	20
2.4.7 สารที่แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> spp. สามารถผลิตได้	21
2.4.8 กลไกการควบคุมโรคของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> spp.....	22
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	23
บทที่ 3	27
ระเบียบวิธีการดำเนินการวิจัย	27
3.1 แหล่งที่มาเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว.....	27
3.2 แหล่งที่มาเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp.....	29
3.3 วิธีการดำเนินงาน	30
การทดลองที่ 1 การทดสอบการก่อโรคของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105.....	30
การทดลองที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพสารกรองเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ต่อการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว	33
การทดลองที่ 3 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ในการยับยั้งการออกสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว	39
การทดลองที่ 4 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ต่อการงอกของเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105	41

การทดลองที่ 5 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ในการลดโรคเมล็ด ต่างข้าว ในสภาพเรือนทดลอง.....	46
บทที่ 4	53
ผลการทดลองและวิจารณ์ผล.....	53
4.1 แหล่งที่มาเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง.....	53
4.2 แหล่งที่มาเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp.	53
4.3 ผลการทดลอง	59
ผลการทดลองที่ 1 การทดสอบการก่อโรคของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างในข้าวพันธุ์ขาวดอก มะลิ 105.....	63
ผลการทดลองที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพสารกรองเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ต่อการ ยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว	71
ผลการทดลองที่ 3 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ในการยับยั้งการงอก สปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว	78
ผลการทดลองที่ 4 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ต่อการงอกของ เมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105	80
ผลการทดลองที่ 5 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ในการลดโรค เมล็ดต่างข้าว ในสภาพเรือนทดลอง	86
4.5 การวิจารณ์ผล	112
บทที่ 5	119
สรุปผลและข้อเสนอแนะ	119
5.1 สรุปผล.....	119
5.2 ข้อเสนอแนะ	120
บรรณานุกรม.....	121
ภาคผนวก.....	134
ประวัติผู้เขียน	147

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเมล็ดต่าง และเชื้อราสาเหตุโรคที่พบบนเมล็ดข้าวของแปลง เกษตรกร.....	28
ตารางที่ 2 แบคทีเรีย 10 ไอโซเลต ที่คัดแยกได้จากดินที่เก็บตัวอย่างดินจากป่าดิบชื้นภาค ตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง ประเทศไทย	30
ตารางที่ 3 รายละเอียดกรรมวิธีในการทดสอบการก่อโรคของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างในข้าวพันธุ์ ขาวดอกมะลิ105.....	31
ตารางที่ 4 กรรมวิธีในการทดสอบประสิทธิภาพสารกรองเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp.ต่อการยับยั้ง เชื้อสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว	34
ตารางที่ 5 กรรมวิธีในการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ต่อการยับยั้งการ งอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว	39
ตารางที่ 6 รายละเอียดกรรมวิธีในการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ต่อการงอก และการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวขาวดอกมะลิ105	41
ตารางที่ 7 กรรมวิธีในการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ในการลดโรคเมล็ด ต่างของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสภาพเรือนทดลอง	46
ตารางที่ 8 ค่าคะแนนแสดงระดับความรุนแรงของโรคเมล็ดต่างบนเมล็ดข้าว	49
ตารางที่ 9 แสดงรายละเอียดของไพรเมอร์ที่ใช้ปฏิกิริยา PCR ของยีนที่กำหนดการสร้างสารปฏิชีวนะ และตรวจสอบการแสดงออกของยีน 16S rDNA ของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp.....	52
ตารางที่ 10 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเมล็ดต่าง และเชื้อราสาเหตุโรคที่พบบนเมล็ดข้าวของแปลง เกษตรกร.....	56
ตารางที่ 11 แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. จำนวน 10 ไอโซเลต ที่คัดแยกได้จากตัวอย่างดินป่าดิบชื้นภาค ตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง ประเทศไทย	58
ตารางที่ 12 การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ด้วยยีน 16S rDNA.....	61
ตารางที่ 13 การตรวจหายีนที่กำหนดการสร้างสารปฏิชีวนะของเชื้อ <i>Bacillus</i> sp.....	63

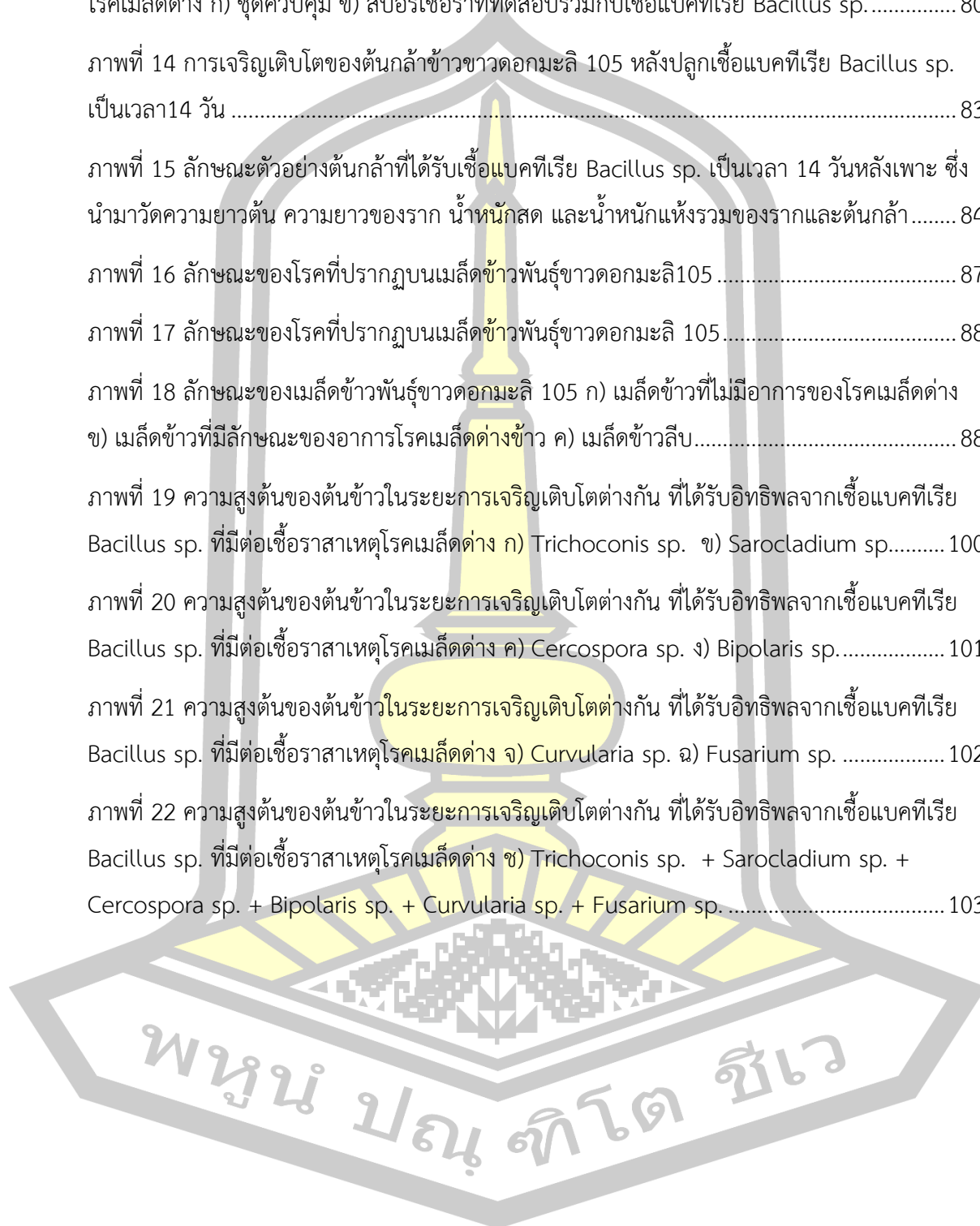
ตารางที่ 14 ระดับความรุนแรงของโรคเมล็ดต่างบนเปลือกเมล็ดข้าว เมื่อทำการปลูกเชื้อราด้วยวิธีการแช่สปอร์แขวนลอยของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง.....	64
ตารางที่ 15 ผลของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างต่อการงอกของเมล็ดและดัชนีความแข็งแรงของข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่อายุ 7 วัน หลังปลูกเชื้อราสาเหตุโรค.....	67
ตารางที่ 16 ประสิทธิภาพของรูปแบบเซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ต่อการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคเมล็ดต่าง	72
ตารางที่ 17 ผลของรูปแบบของเซลล์เชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ต่อการยับยั้งเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง	76
ตารางที่ 18 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง	79
ตารางที่ 19 ผลของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ต่อการงอกของเมล็ดและดัชนีการงอกของเมล็ดข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่อายุ 7 และ 14 วันหลังเพาะ	81
ตารางที่ 20 พลังงานในการงอก อัตราการความเร็วในการงอก และดัชนีความแข็งแรงของต้นกล้าข้าวขาวดอกมะลิ 105 หลังจากได้รับแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ที่อายุ 14 วันหลังการเพาะเมล็ด	82
ตารางที่ 21 ผลของต้นกล้าที่ได้รับเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ต่อการเจริญเติบโต น้ำหนักรากและน้ำหนักต้น ที่อายุ 14 วันหลังเพาะ	84
ตารางที่ 22 ผลของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ต่อพารามิเตอร์ทางชีวเคมีของข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่อายุ 14 วันหลังเพาะ	86
ตารางที่ 23 ผลของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ต่อการลดการเกิดโรคเมล็ดต่าง เมล็ดปกติ และเมล็ดลีบของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสภาพเรือน ทดลอง.....	89
ตารางที่ 24 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ต่อน้ำหนัก 1,000 เมล็ด น้ำหนักเมล็ดข้าวดี น้ำหนักเมล็ดข้าวหัก และผลผลิตต่อต่อหน่วยทดลองของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ในสภาพเรือนทดลอง	94
ตารางที่ 25 ผลของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ต่อจำนวนหน่อตอก จำนวนรวงต่อรวง และจำนวนเมล็ดของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ในสภาพเรือนทดลอง.....	105
ตารางที่ 26 ผลของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ต่อน้ำหนักต้นสดและน้ำหนักต้นแห้ง และน้ำหนักรากสดและน้ำหนักรากแห้งของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ในสภาพเรือนทดลอง	109

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 เนื้อที่เพาะปลูก เนื้อที่เก็บเกี่ยว และผลผลิตต่อไร่ระดับประเทศ ปีการเพาะปลูก 2564/2565	6
ภาพที่ 2 เนื้อที่เพาะปลูก เนื้อที่เก็บเกี่ยว และผลผลิตต่อไร่ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง ปีการเพาะปลูก 2564/2565	7
ภาพที่ 3 ลักษณะของ conidia ของเชื้อราชนิดต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ก) <i>Trichoconis</i> sp. 40x ข) <i>Sarocladium</i> sp. 40x ค) <i>Cercospora</i> sp. 40x ง) <i>Bipolaris</i> sp. 40x จ) <i>Curvularia</i> sp. 40x ฉ) <i>Fusarium</i> sp. 40x	55
ภาพที่ 4 ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. จำนวน 10 ไอโซเลตที่เจริญบน Nutrient agar (NA) ที่อายุ 48 ชั่วโมง	57
ภาพที่ 5 Phylogenetic tree ของยีน 16S rDNA ของเชื้อ <i>Bacillus</i> sp.	60
ภาพที่ 6 ยีนที่กำหนดการสร้างสารปฏิชีวนะ RT-PCR (16s rRNA)	62
ภาพที่ 7 ผลกระทบของโรคเมล็ดต่างข้าวที่เกิดจากเชื้อราหลายชนิดต่อเมล็ดข้าว	65
ภาพที่ 8 ผลกระทบของโรคเมล็ดต่างข้าวที่เกิดจากเชื้อราหลายชนิดต่อเมล็ดข้าว	66
ภาพที่ 9 กิจกรรมของเอนไซม์คาตาเลสในเมล็ดข้าว ณ จุดเวลาต่าง ๆ หลังจากการได้รับเชื้อรา ก) ชุดควบคุมที่ไม่ได้ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง	68
ภาพที่ 10 กิจกรรมของเอนไซม์คาตาเลสในเมล็ดข้าว ณ จุดเวลาต่าง ๆ จ) ปลูกเชื้อรา <i>Bipolaris</i> sp. ฉ) ปลูกเชื้อรา <i>Fusarium</i> sp.	69
ภาพที่ 11 กิจกรรมของเอนไซม์คาตาเลสในเมล็ดข้าว ณ จุดเวลาต่าง ๆ ฉ) ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง 6 ชนิด	70
ภาพที่ 12 การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา <i>Curvularia</i> sp. สาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าวโดยเชื้อแบคทีเรีย ก) แบคทีเรีย <i>B. cereus</i> SKNK3 ข) แบคทีเรีย <i>B. siamensis</i> SRSH19 ที่อยู่ในรูปของเซลล์ Cell-free culture filtrate (CFF) ค) แบคทีเรีย <i>B. siamensis</i> SKKH3 ง) แบคทีเรีย <i>B. siamensis</i> UBU1 ที่อยู่ในรูปของเซลล์ cell suspension (CS)	74

ภาพที่ 13 ผลของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา <i>Curvularia</i> sp. สาเหตุโรคเมล็ดต่าง ก) ชุดควบคุม ข) สปอร์เชื้อราที่ทดสอบร่วมกับเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp.	80
ภาพที่ 14 การเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวขาวดอกมะลิ 105 หลังปลูกเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. เป็นเวลา 14 วัน	83
ภาพที่ 15 ลักษณะตัวอย่างต้นกล้าที่ได้รับเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. เป็นเวลา 14 วันหลังเพาะ ซึ่งนำมาวัดความยาวต้น ความยาวของราก น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งรวมของรากและต้นกล้า	84
ภาพที่ 16 ลักษณะของโรคที่ปรากฏบนเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105	87
ภาพที่ 17 ลักษณะของโรคที่ปรากฏบนเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105	88
ภาพที่ 18 ลักษณะของเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ก) เมล็ดข้าวที่ไม่มีอาการของโรคเมล็ดต่าง ข) เมล็ดข้าวที่มีลักษณะของอาการโรคเมล็ดต่าง ข้าว ค) เมล็ดข้าวลีบ	88
ภาพที่ 19 ความสูงต้นของต้นข้าวในระหว่างการเจริญเติบโตต่างกัน ที่ได้รับอิทธิพลจากเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ที่มีต่อเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง ก) <i>Trichoconis</i> sp. ข) <i>Sarocladium</i> sp.	100
ภาพที่ 20 ความสูงต้นของต้นข้าวในระหว่างการเจริญเติบโตต่างกัน ที่ได้รับอิทธิพลจากเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ที่มีต่อเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง ค) <i>Cercospora</i> sp. ง) <i>Bipolaris</i> sp.	101
ภาพที่ 21 ความสูงต้นของต้นข้าวในระหว่างการเจริญเติบโตต่างกัน ที่ได้รับอิทธิพลจากเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ที่มีต่อเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง จ) <i>Curvularia</i> sp. ฉ) <i>Fusarium</i> sp.	102
ภาพที่ 22 ความสูงต้นของต้นข้าวในระหว่างการเจริญเติบโตต่างกัน ที่ได้รับอิทธิพลจากเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ที่มีต่อเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง ช) <i>Trichoconis</i> sp. + <i>Sarocladium</i> sp. + <i>Cercospora</i> sp. + <i>Bipolaris</i> sp. + <i>Curvularia</i> sp. + <i>Fusarium</i> sp.	103



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ภูมิหลัง

ข้าว (*Oryza sativa*) เป็นสินค้าเกษตรส่งออกหลักของประเทศไทยที่ครอบคลุมพื้นที่เพาะปลูกมากที่สุด (คิดเป็น 43.7% ของพื้นที่เกษตรทั้งหมดของประเทศไทย) และครอบคลุมครัวเรือนถึง 5.1 ล้านครัวเรือน (คิดเป็น 63.6% ของจำนวนครัวเรือนภาคเกษตรทั้งหมด) ไทยมีพื้นที่ปลูกข้าวทั้งสิ้น 72.56 ล้านไร่ ส่วนใหญ่อยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือตอนล่าง และภาคกลาง ซึ่งประเทศไทยเป็นผู้ผลิตและส่งออกข้าวที่สำคัญของโลก โดยปี 2564/2565 ไทยมีผลผลิตข้าวสูงเป็นอันดับ 6 ของโลก เฉลี่ย 31-33 ล้านตัน คิดเป็น 4.0% ของผลผลิตข้าวทั่วโลก และไทยเป็นผู้ส่งออกข้าวอันดับ 2 ของโลก 13.5% (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2566) การผลิตข้าวและการส่งออกข้าวของประเทศไทยลดลง เนื่องจากการผลิตข้าวต้องเผชิญกับปัญหาศัตรูพืชที่มีผลกระทบด้านคุณภาพ และปริมาณที่ลดลง ซึ่งโรคเมล็ดด่างของข้าว (Dirty panicle) นับว่าเป็นโรคสำคัญโรคหนึ่ง เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรค 6 ชนิด คือ *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijn, *Cercospora oryzae* I. Miyake, *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoemaker, *Fusarium semitectum* Berk & Rav. *Trichoconis padwickii* Ganguly. และ *Sarocladium oryzae* (Sawada) W.Gams & D.Hawksw. เชื้อราสามารถเข้าทำลายผลผลิตข้าวได้โดยตรง (Tschen and Wen, 1980) ซึ่งเข้าทำลายตั้งแต่ข้าวเริ่มติดเมล็ดและพัฒนาต่อไปจนทำให้เกิดอาการเมล็ดด่าง และเมล็ดลีบในระยะใกล้เคียงเกี่ยว เชื้อราสาเหตุโรคเพิ่มปริมาณโดยการสร้างสปอร์ที่สามารถแพร่ระบาดทางอากาศ และติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ (Charoenrak and Chamswang, 2016)

ลักษณะอาการของโรคเมล็ดด่างข้าว คือเปลือกเมล็ดข้าวแสดงอาการจุดสีดำ ขนาดเล็ก และแผ่ขยายขนาดใหญ่ขึ้น อาจพบอาการแผลดำขนาดใหญ่ หรือเป็นรอยด่างดำทั่วทั้งเมล็ด และเมล็ดลีบ ส่งผลต่อปริมาณและคุณภาพของผลผลิต (พรทิพย์, 2545) ได้แก่ การลดลงของปริมาณน้ำตาลในเมล็ดข้าว (Gopalakrishnan *et al.*, 2010) และเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดข้าว อีกทั้งส่งผลให้เมล็ดพันธุ์เสื่อมคุณภาพ สูญเสียความงอกจนเสียคุณภาพของการเป็นเมล็ดพันธุ์ หากนำผลผลิตจากแปลงที่เกิดการระบาดของโรคมาใช้ทำเมล็ดพันธุ์ข้าว เมื่อนำข้าวไปขัดสีจะได้เมล็ดข้าวที่มีคุณภาพต่ำ เกิดการแตกหักของเมล็ดข้าว รวมไปถึงปริมาณผลผลิตข้าวลดลง 9.6-85 เปอร์เซ็นต์ ในฤดูปลูกถัดไป ขึ้นอยู่กับความรุนแรงของโรค (Lalan *et al.*, 2013)

ปัจจุบันเกษตรกรส่วนมากนิยมใช้สารเคมีในการควบคุม ป้องกัน และกำจัดโรคเมล็ดด่าง ซึ่งเป็นวิธีการที่ไม่ยั่งยืน เนื่องจากการใช้สารเคมีต้องใช้อย่างต่อเนื่อง และหากใช้ในปริมาณมากหรือใช้

เป็นระยะเวลานาน อาจชักนำให้เชื้อสาเหตุโรคพืชเกิดความต้านทานต่อสารเคมีได้ (Suzuki *et al.*, 2010) อีกทั้งการใช้สารเคมีมักก่อให้เกิดปัญหาสารตกค้างในผลผลิต ดิน สภาพแวดล้อม และเป็นอันตรายต่อเกษตรกรรวมไปถึงผู้บริโภค การป้องกันควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี ด้วยการนำเชื้อจุลินทรีย์หรือศัตรูธรรมชาติชนิดต่าง ๆ มาใช้ในการควบคุมป้องกันกำจัดโรค จึงเป็นอีกแนวทางเลือกหนึ่ง ซึ่งเป็นวิธีที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย สามารถลดปัญหาการสร้างความต้านทานของเชื้อสาเหตุโรคปลอดภัยต่อมนุษย์ และสิ่งแวดล้อม (Zimmermann, 1992) รวมทั้งทำให้สามารถขับเคลื่อนระบบการเกษตรให้ยั่งยืน สอดคล้องกับนโยบายรัฐบาลในการส่งเสริมการทำการเกษตรแบบปลอดภัย เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคข้าว เช่น เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus megaterium* สายพันธุ์ No.16 เพื่อควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าวพันธุ์ กข6 สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ในสภาพห้องปฏิบัติการและเรือนทดลองได้ (ปิ่นธนา และศราวิชญ์, 2558) เชื้อ *Bacillus subtilis* NSRS 89-24 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Pyricularia grisea* และ *Rhynchosporium oryzae* (สุชล, 2539) เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 9 ไอโซเลต ได้แก่ *Bacillus*-BK, *Bacillus*-NTS3, *Bacillus*-MS4, *Bacillus* Ba033, *Bacillus*-BS, *Bacillus*-Ba029, *Bacillus*-S32, *Streptomyces*-PR87 และ *Streptomyces*-PR15 ที่เป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์มีฤทธิ์กว้างสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคข้าวได้ทั้งเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้ง และเชื้อรา *Fusarium fujikuroi*-FUSR017, *Fusarium periferatum*-FUSR002, *Fusarium* spp. สาเหตุโรคกล้าเน่าและโรคยอดฝักดาบ เชื้อ *Bipolaris oryzae*-BiKD5 สาเหตุโรคเมล็ดด่างและใบจุดสีน้ำตาล เชื้อ *Curvularia lunata*-CurRD สาเหตุโรคเมล็ดด่างและโรคกล้าเน่าของข้าว เชื้อ *Alternaria padwickii*-ALKD5 สาเหตุโรคเมล็ดด่างและโรคใบจุด *Alternaria* ของข้าว และเชื้อ *Rhizopus oryzae*- Rhi-SMN1 (รัตนารักษ์ และเพชรรัตน์, 2564) เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus siamensis* RRK1-Rif สูตรผงเปียกน้ำ (WP) หลังเก็บไว้ 11 เดือน ที่อุณหภูมิห้อง (25-30 °C) สามารถลดการเกิดโรคกาบใบแห้งของข้าวซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยสามารถลดความรุนแรงของโรคและเปอร์เซ็นต์ต้นเป็นโรคตอโก หลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคที่ 21 วัน ได้ 36.56-48.82 เปอร์เซ็นต์ และ 7.94-30.65 เปอร์เซ็นต์ (บังอร และคณะ, 2561)

ดังนั้นจึงนำมาสู่การทําวิจัยในครั้งนี้ เพื่อศึกษาเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* spp. เพื่อนำมาใช้ในการป้องกันการเกิดโรคเมล็ดด่างในข้าว ตลอดจนช่วยเพิ่มผลผลิตและคุณภาพของข้าว และเป็นข้อมูลสำหรับนำมาประยุกต์ใช้ทดแทนการใช้สารเคมีควบคุมโรคต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) ศึกษาระดับความรุนแรงของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างจำนวน 6 ชนิด ได้แก่ *Curvularia* sp., *Cercospora* sp., *Bipolaris* sp., *Fusarium* sp., *Trichoconis* sp. และ *Sarocladium* sp. บนเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

2) ประเมินผลของรูปแบบเซลล์เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคเมล็ดต่าง

3) ศึกษาผลของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว

4) ศึกษาผลของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

5) ศึกษาผลของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. เพื่อลดการเกิดโรคเมล็ดต่างข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสภาพเรือนทดลอง

1.3 สมมติฐานของการวิจัย

เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. สามารถควบคุมโรคเมล็ดต่างของข้าวที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรค 6 ชนิด คือ *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijn, *Cercospora oryzae* I. Miyake, *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoemaker, *Fusarium semitectum* Berk & Rav. *Trichoconis padwickii* Ganguly. และ *Sarocladium oryzae* (Sawada) W.Gams & D.Hawksw. ในสภาพห้องปฏิบัติการ และปลูกในสภาพแปลงทดลอง

1.4 ขอบเขตการวิจัย

การศึกษาการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าวในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่างของประเทศไทย โดยใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. จำนวน 10 ชนิด ได้แก่ *Bacillus*-UBU1, *Bacillus* UBW2, *Bacillus* BRRCR3, *Bacillus* BRBD12, *Bacillus* SKKH3, *Bacillus* SKNK4, *Bacillus* SKKK4, *Bacillus* SKNK3, *Bacillus* SKY7 และ *Bacillus* SRSH19 เพื่อทดสอบการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว 6 ชนิด ได้แก่ *Curvularia* sp., *Cercospora* sp., *Bipolaris* sp., *Fusarium* sp., *Trichoconis* sp. และ *Sarocladium* sp. ในห้องปฏิบัติการของคณะเกษตรศาสตร์ และโรงเรียนทดลองของศูนย์ควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีแห่งชาติ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ได้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีศักยภาพในการควบคุมเชื้อรา *Curvularia* sp., *Cercospora* sp., *Bipolaris* sp., *Fusarium* sp., *Trichoconis* sp. และ *Sarocladium* sp. ซึ่งเป็นเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว

1.6 นิยามศัพท์เฉพาะ

1.6.1 ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 หรือข้าวหอมมะลิ เป็นข้าวคุณภาพดีเป็นที่นิยมของผู้บริโภคทั้งในและต่างประเทศ เนื่องจากข้าวสารเมล็ดเรียวยาว ขาวใส ข้าวสุกมีเนื้อสัมผัสเหนียวนุ่ม และมีกลิ่นหอม สามารถปลูกข้าวหอมมะลิได้ทั่วทุกภาคของประเทศไทย

1.6.2 โรคเมล็ดต่างข้าว คือ โรคที่เกิดจากเชื้อหลายชนิด เช่น เชื้อรา *Curvularia lunata*, *Cercospora oryzae*, *Bipolaris oryzae*, *Fusarium semitectum*, *Trichoconis padwickii* และ *Sarocladium oryzae* ซึ่งเป็นเชื้อราที่สามารถพบในแปลงปลูกเข้าทำลายข้าวระยะต่างๆ ตั้งแต่ระยะก่อนออกรวง จนกระทั่งถึงระยะติดเมล็ด ซึ่งก่อให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตข้าวโดยเฉพาะในด้านคุณภาพ

1.6.3 เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ (Antagonistic bacteria) คือ แบคทีเรียที่สามารถควบคุมจุลินทรีย์ก่อโรคพืชโดยการทำลาย ยับยั้งการเจริญ ลดหรือหยุดการแพร่ระบาดของจุลินทรีย์ก่อโรคพืช ด้วยการเข้าทำลายเซลล์ของจุลินทรีย์ก่อโรคพืช

1.6.4 เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. เป็นแบคทีเรียแกรมบวก (Gram-positive) รูปร่างเป็นท่อน ทรงกระบอก (Rod shape) Facultative anaerobe สร้างสปอร์ภายในเซลล์ (Endospore forming) สามารถผลิตเอนไซม์หลายชนิด เช่น Carbohydrase Chitinase Glucanase Amylase Catalase Lipase และ Protease และสร้างสารปฏิชีวนะได้หลายชนิด เช่น Bacitracin Gramicidin Tyrocidine Subtilin และ Bacilycin

พูน ปณ ทิโต ชีเว

บทที่ 2

เอกสารที่เกี่ยวข้อง

ข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจของประเทศไทย ที่เป็นแหล่งรายได้หลักของการส่งออกในหมวดสินค้าเกษตร นอกจากนี้ข้าวยังเป็นอาหารหลักของประชากรไทย และมีพื้นที่ปลูกข้าวทั้งสิ้น 72.56 ล้านไร่ ส่วนใหญ่อยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือตอนล่าง และภาคกลาง ประเทศไทยเป็นผู้ผลิตและส่งออกข้าวที่สำคัญของโลก ในปี 2564/2565 ไทยมีผลผลิตข้าวสูงเป็นอันดับ 6 ของโลก คิดเป็นร้อยละ 4.0 ของผลผลิตข้าวทั่วโลก และไทยยังเป็นผู้ส่งออกข้าวอันดับ 2 ของโลก คิดเป็นร้อยละ 13.5 (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2566)

ในปี 2564/2565 ประเทศไทยมีแหล่งปลูกข้าวที่สำคัญอยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยมีเนื้อที่เพาะปลูกข้าว 38,571,250 ไร่ เนื้อที่การเก็บเกี่ยว 36,381,861 ไร่ ผลผลิต 13,050,196 ตัน และมีผลผลิตเฉลี่ยอยู่ที่ 359 กิโลกรัมต่อไร่ (ภาพที่ 1) และจังหวัดที่มีการปลูกข้าวมากที่สุดอยู่ที่จังหวัดอุบลราชธานี 4,086,172 ไร่ รองลงมาคือ นครราชสีมา 3,587,839 ไร่ สุรินทร์ 3,119,992 ไร่ ศรีสะเกษ 3,020,397 ไร่ ยโสธร 1,367,528 ไร่ บุรีรัมย์ 2,997,490 ไร่ ชัยภูมิ 1,835,990 ไร่ และอำนาจเจริญ 1,074,427 ไร่ (ตารางที่ 2) (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2566)

2.1 ลักษณะของข้าวขาวดอกมะลิ 105

ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เป็นข้าวที่มีความไวต่อช่วงแสง คือ พันธุ์ข้าวจะออกดอกในวันที่กลางคืนยาวกว่ากลางวันเท่านั้น ซึ่งเป็นช่วงฤดูหนาวจึงทำให้สามารถปลูกได้เฉพาะนาปีเท่านั้น และจัดอยู่ในประเภทข้าวขาว เพราะเปลือกข้าวมีสีขาวหรือสีฟางคล้ายสีขาวของดอกมะลิและมีกลิ่นหอมคล้ายใบเตย โดยลักษณะที่สำคัญของข้าวหอมมะลิ คือ เมล็ดข้าวเปลือกเรียวยาวได้มาตรฐานข้าวชั้นหนึ่ง เมื่อขัดสีเป็นข้าวสารจะได้เมล็ดที่เรียวยาว ขาว ใส เป็นเงา และมีท้องไข่น้อย เมื่อหุงเป็นข้าวสุกก็นจะได้ข้าวที่มีความเลื่อมมัน อ่อนนุ่ม และมีกลิ่นหอม ข้าวที่ปลูกเพื่อใช้เป็นข้าวหอมมะลิมี 2 พันธุ์ ได้แก่ ข้าวขาวดอกมะลิ 105 และ กข.15

ลักษณะประจำพันธุ์ ข้าวขาวดอกมะลิ 105 เป็นข้าวเจ้า ต้นสูงประมาณ 140 เซนติเมตร ไวต่อช่วงแสง ลำต้นสีเขียวจาง ใบสีเขียวยาวค่อนข้างแคบ ฟางอ่อน ใบตรงทำมุมกับคอรวง เมล็ดข้าวรูปร่างเรียวยาว ข้าวเปลือกสีฟาง อายุเก็บเกี่ยวประมาณ 120 วัน เมล็ดข้าวเปลือก ยาว 10.6 มิลลิเมตร กว้าง 2.5 มิลลิเมตร หยา 1.9 มิลลิเมตร เมล็ดข้าวกล้อง ยาว 7.5 มิลลิเมตร กว้าง 2.1 มิลลิเมตร หยา 1.8 มิลลิเมตร มีปริมาณ Amylose 12-17 เปอร์เซ็นต์คุณภาพข้าวสุก นุ่ม มีกลิ่นหอมประมาณ 363 กิโลกรัมต่อไร่ ทนแล้งได้ดี เมล็ดข้าวสารใส คุณภาพการขัดสีดี คุณภาพการหุงต้มดี

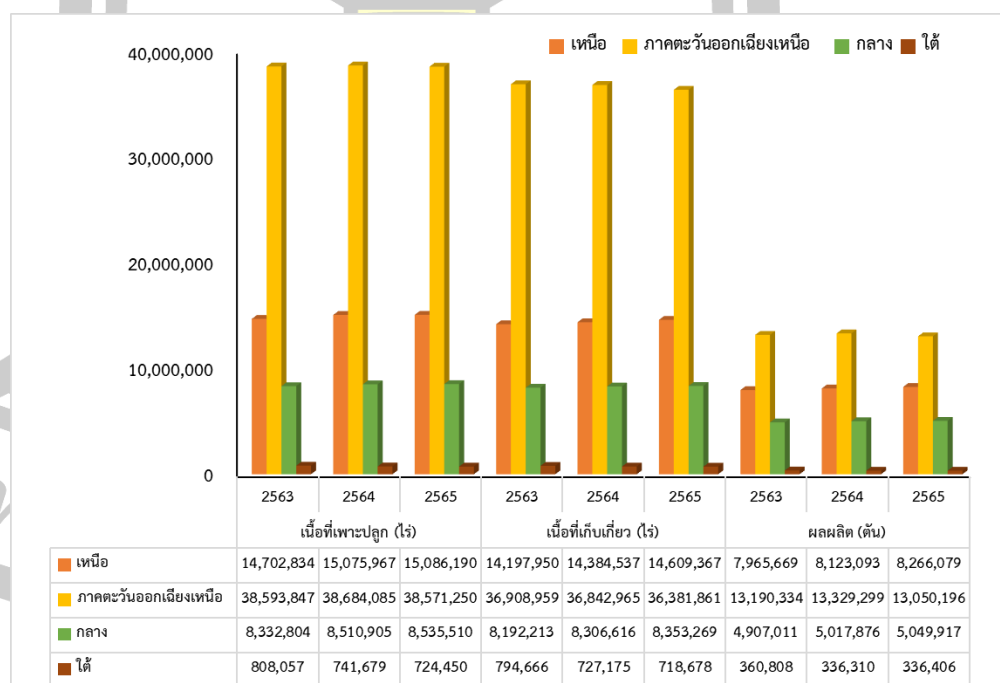
อ่อนนุ่ม มีกลิ่นหอม ทนต่อสภาพดินเปรี้ยว และดินเค็ม ไม่ต้านทานโรคใบสีส้ม โรคขอบใบแห้ง โรคไหม้ และ โรคใบหงิก ไม่ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยจักจั่นสีเขียว และหนอนกอ (ฐานข้อมูลพันธุ์ข้าวรับรองของไทย, 2555)

ระยะการเจริญเติบโตของข้าว แบ่งได้เป็น 3 ระยะ คือ

1) การเจริญเติบโตทางลำต้นและใบ (vegetative growth) การเจริญเติบโตในช่วงนี้แบ่งเป็น 2 ระยะ คือ ระยะกล้า (seedling stage) เริ่มตั้งแต่ต้นข้าวงอกออกจากเมล็ด จนกระทั่งต้นข้าวเริ่มแตกกอ ระยะนี้ใช้เวลาประมาณ 20 วัน ต้นข้าวจะมีใบ 5-6 ใบ และระยะแตกกอ (tillering stage) เริ่มจากต้นข้าวแตกกอจนกระทั่งเริ่มสร้างดอกอ่อน ระยะนี้ใช้เวลา 30-50 วัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าว

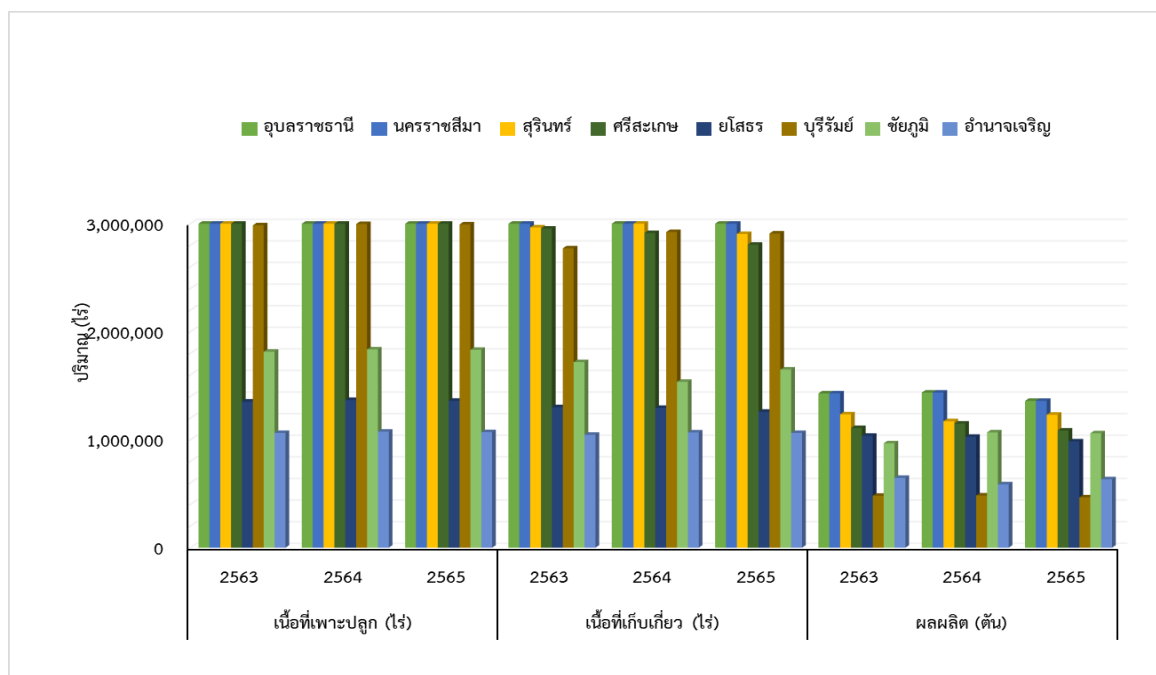
2) การเจริญเติบโตทางด้านการสืบพันธุ์ (reproductive growth) เริ่มจากต้นข้าวเริ่มสร้างดอกอ่อน (panicle initiation) ตั้งท้อง (booting) ออกดอก (flowering) จนถึงการผสมพันธุ์ (fertilization) ใช้เวลาประมาณ 30-55 วัน

3) การพัฒนาการของเมล็ด (grain development) เริ่มจากการผสมพันธุ์ของดอกข้าว เมล็ดเป็นน้ำนม (milky) เป็นแป้ง (dough) จนกระทั่งเมล็ดสุกแก่ (ripening grain) จะใช้เวลาประมาณ 25-30 วัน ดังนั้นการเจริญเติบโตของต้นข้าวในการที่จะให้ผลผลิตสูง ใช้เวลาประมาณ 120-140 วัน (จำรัส, 2534)



ภาพที่ 1 เนื้อที่เพาะปลูก เนื้อที่เก็บเกี่ยว และผลผลิตต่อไร่ระดับประเทศ ปีการเพาะปลูก

2564/2565



ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2566)

ภาพที่ 2 เนื้อที่เพาะปลูก เนื้อที่เก็บเกี่ยว และผลผลิตต่อไร่ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง ปีการเพาะปลูก 2564/2565

ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2566)

2.2 สถานการณ์การเกิดโรคเมล็ดต่างข้าว

เชื้อราสาเหตุโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวสามารถถ่ายทอดผ่านทางเมล็ดพันธุ์ เกิดการแพร่ระบาดของโรคข้าวที่สำคัญได้ จากการตรวจหาชนิดและปริมาณของเชื้อราสาเหตุโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าว โดยวิธีเพาะบนกระดาษขึ้น พบเชื้อราสาเหตุโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวจำนวน 6 ชนิด ได้แก่ *Alternaria padwickii*, *Bipolaris oryzae*, *Curvularia lunata*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium moniliforme* และ *Fusarium spp.* โดยพบปริมาณของเชื้อราสาเหตุโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวที่ผลิตในภาคใต้มากที่สุดเฉลี่ยร้อยละ 96.0 และ 69.2 ตามลำดับ เชื้อราที่พบมากที่สุด ได้แก่ *C. lunata*, *A. padwickii*, *B. oryzae* และ *F. moniliforme* ตามลำดับ (อังคณา และคณะ, 2563) อาจเนื่องจากพื้นที่การผลิตข้าวในเขตภาคใต้ ข้าวออกดอกช่วงกลางเดือนตุลาคมถึงธันวาคม อยู่ในระยะลมมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ ในช่วงดังกล่าวจะมีฝนตกชุกในบริเวณภาคใต้ฝั่งตะวันออก สภาพอากาศที่ร้อนชื้นสลับฝนตก ส่งผลต่อปริมาณเชื้อราและคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ข้าวได้ (ชนสิริน และคณะ, 2562)

สภาพภูมิอากาศ ของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวนวันฝนตกในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ปี 2564 มีวันฝนตกเฉลี่ย 134 วัน ลดลงจากช่วงเดียวกันของปีที่ผ่านมา ซึ่งอยู่ที่ 173 วัน หรือลดลง ร้อยละ 22.5 ในขณะที่ปริมาณน้ำฝนเท่ากับ 1,433 มิลลิเมตร เพิ่มขึ้นจากช่วงเดียวกันของปีที่ผ่านมา ซึ่งมีปริมาณ 1,296 มิลลิเมตร หรือเพิ่มขึ้นร้อยละ 10.6 การเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ (Climate Change) ส่งผลให้เกิดฝนทิ้งช่วง และเกิดอุทกภัยจากพายุดีเปรสชันเตี้ยนหมู่และคมปาซุ ที่ เข้าสู่ประเทศไทยในช่วงปลายเดือนกันยายน - ตุลาคม 2564 ทำให้มีฝนตกหนักต่อเนื่อง เกิดอุทกภัย ส่งผลให้พื้นที่ทำการเกษตรได้รับความเสียหาย ความแปรปรวนของสภาพฟ้าอากาศ ซึ่งส่งผลกระทบต่อวิธีการปลูกการเจริญเติบโต และผลผลิตของพืช ตลอดจนเชื้อสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคพืช ซึ่งสามารถ ทำความเสียหายต่อผลผลิตของพืชได้ในชาวนั้นผลกระทบใด ๆ ที่ทำให้เกิดการแปรปรวน หรือ เปลี่ยนแปลงลักษณะอากาศไปจากเดิม ก็มีโอกาที่จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม และ รูปแบบปฏิกิริยาการทำให้เกิดโรค (pathotype) ของโรคข้าว การปรับตัวให้เข้าทำลายข้าวส่งผลต่อ การระบาดของโรคข้าว และระดับความรุนแรงของการระบาด การระบาดของ race /lineage ซึ่ง อาจส่งผลกระทบให้เกิดความเสียหายแก่ผลผลิตข้าวได้อย่างรุนแรงเกินคาด ซึ่งการเปลี่ยนแปลง ภูมิอากาศ มีแนวโน้มจะส่งต่อการเปลี่ยนแปลงในชนิดของแมลงพาหะ การขยายพันธุ์และการเข้า ทำลายของแมลงที่เป็นพาหะนำโรคด้วย (ดวงกมล, 2557) ช่วงเดือนกันยายน -ธันวาคม อุณหภูมิ เฉลี่ย 25.9–31.1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย 62 – 83 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณน้ำฝนรวม 0 – 446.1 มิลลิเมตร ระยะออกรวง คือ โรคเมล็ดด่าง (ดวงกมล, 2557)

ปัจจุบันพบว่าการระบาดของโรคที่สำคัญรุนแรงขึ้น และมีการเปลี่ยนแปลงในการเข้า ทำลายข้าว แสดงให้เห็นว่ามีการเปลี่ยนแปลงของเชื้อสาเหตุทั้งในด้านพันธุกรรม และการทำให้เกิด โรค ซึ่งคาดว่าจะการเปลี่ยนแปลงนี้จะยังคงดำเนินต่อไป ส่วนโรคที่มีความสำคัญลำดับรองลงมาและมี แนวโน้มว่าจะความสำคัญมากขึ้น เช่น โรคยอดผักดาบ ใบสีส้ม ใบสีแสด และใบจุดสีน้ำตาล เนื่องจากการระบาดของโรคขึ้นอยู่กับความสัมพันธ์ระหว่างพืชอาศัย เชื้อสาเหตุ และสภาพภูมิอากาศ (ดวงกมล, 2557)ดวงพร

2.2.1 โรคเมล็ดด่างของข้าว (Dirty Panicle Disease)

เกษตรกรผู้ปลูกข้าวประสบปัญหาเรื่องโรคเมล็ดด่างในข้าว เมื่อมีการระบาดมากส่งผลให้ สูญเสียผลผลิต รายได้ของเกษตรกรลดลง และกระทบต่อระบบเศรษฐกิจ ซึ่งนำไปสู่คุณภาพชีวิตที่ ลดลง และทรัพยากรที่จำกัดสำหรับการลงทุน ในแนวทางปฏิบัติหรือเทคโนโลยีการทำฟาร์มที่ดีขึ้น นอกจากนี้ ความสูญเสียทางเศรษฐกิจ อาจขยายวงกว้างต่อภาคการเกษตรทั้งหมด และกระทบต่อ เศรษฐกิจของประเทศที่มีพึ่งพาการผลิตและการส่งออกข้าวเป็นอย่างมาก โดยในภาค

ตะวันออกเฉียงเหนือเป็นแหล่งปลูกข้าวที่สำคัญ และพบการระบาดของโรคสร้างความเสียหายให้แก่โรคเมล็ดต่างของข้าว (Dirty Panicle Disease) ที่เกิดจากเชื้อราสาเหตุหลายชนิด คือ *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijn. *Cercospora oryzae* I. Miyake. *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoemaker. *Fusarium semitectum* Berk & Rav. *Trichoconis padwickii* Ganguly. และ *Sarocladium oryzae* (Sawada) W.Gams & D.Hawsw. เชื้อสาเหตุโรคดังกล่าวสามารถเข้าทำลายข้าวได้ทุกชนิดและแพร่ระบาดได้ดีโดยลม รวงข้าวที่ถูกทำลายจะเกิดอาการรวงไหม้ทั้งรวง แต่แตกต่างจากโรคไหม้คอรวงตรงที่ไม่เกิดแผลที่คอรวงและคอรวงไม่หัก เมล็ดลีบเป็นบางส่วน บนเมล็ดเต็มจะมีแผลเป็นจุดสีน้ำตาลดำ มีลายสีน้ำตาลหรือสีเทาปน หรือสีชมพูปน ทั้งนี้เนื่องจากเมล็ดมีเชื้อหลายชนิดที่เข้าทำลายเมล็ดข้าว จึงทำให้อาการที่เกิดบนเมล็ดข้าวแตกต่างกัน มักพบอาการโรคในช่วงที่ดอกข้าวผสมเกสรแล้ว อยู่ในระยะเป็นนํ้านมและกำลังจะสุก เมื่อเข้าสู่ระยะใกล้เก็บเกี่ยวอาการเมล็ดต่างจะปรากฏอย่างชัดเจน สร้างความเสียหายแก่ผลผลิตข้าว ทำให้ผลผลิตของข้าวลดลง การงอกและอายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ข้าวลดลง อีกทั้งเชื้อราแพร่กระจายเข้าไปในยุ่งฉางและติดไปกับเมล็ดได้

ในทุกภูมิภาคของประเทศไทย มีเชื้อราที่สามารถก่อให้เกิดโรคเมล็ดต่างในข้าว ซึ่งเชื้อราสามารถเข้าทำลายข้าวได้ตั้งแต่ระยะกล้าจนถึงระยะออกรวง โดยส่วนใหญ่พบโรคเมล็ดต่างในข้าวในข้าวระยะแตกกอ โดยเชื้อราสามารถติดไปกับเมล็ด (seed born) และถ่ายทอดผ่านทางเมล็ด (seed transmission) (Ba and Sangchote, 2006) ซึ่งเชื้อราติดไปกับเมล็ดได้ เชื้อราสามารถแพร่กระจายในสภาวะที่มีฝนตกต่อเนื่องและมีเมฆมาก และแพร่กระจายได้อย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิตั้งแต่ 22-30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 92 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการก่อโรคในข้าว (Percich *et al.*, 1997) โรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวจัดเป็นสาเหตุหนึ่งที่มีสาเหตุมาจากเชื้อราโรคเมล็ดต่างของข้าว เป็นโรคเมล็ดพันธุ์ที่มีความสำคัญมาก เชื้อราสามารถเข้าทำลายเมล็ดทำให้สูญเสียความงอก ต้นกล้าไหม้ ต้นกล้าเน่า และเชื้อราสามารถเข้าทำลายข้าวตั้งแต่ระยะตั้งท้องบริเวณกาบใบที่ห่อหุ้มรวงข้าวไว้ ทำให้เกิดแผลสีน้ำตาลที่กาบใบ และทำให้ข้าวที่แทงรวงออกมามีอาการเมล็ดต่าง มีแผลสีน้ำตาลบนเมล็ด (Ayyadurai *et al.*, 2005) โดยเชื้อจะส่งผลทำให้เมล็ดลีบ เปอร์เซ็นต์ความงอกจะลดลง (Prathuangwong *et al.*, 2013) โรคเมล็ดต่างส่งผลให้เกิดการแตกหักของเมล็ดข้าว และสามารถลดปริมาณผลผลิตข้าวได้ 9.6-85 เปอร์เซ็นต์ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความรุนแรงของโรค (Lalan *et al.*, 2013) และถ้าอาการรุนแรงมากข้าวจะไม่แทงรวงออกมาเกิดอาการเมล็ดต่าง

จากการศึกษาความหลากหลายและความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *B. oryzae* โดย อริษา และคณะ (2564) ที่เก็บรวบรวมเชื้อราจาก 26 จังหวัด ในภาคเหนือ กลาง ใต้ และ ตะวันออกเฉียงเหนือ และทดสอบความสามารถในการก่อโรคบนข้าว จำนวน 50 พันธุ์ จัดกลุ่มเชื้อรา

ได้ 16 กลุ่ม และพบว่า เชื้อราที่มาจากจังหวัดกาญจนบุรี นครนายก กรุงเทพฯ สระบุรี อุบลราชธานี ร้อยเอ็ด ยโสธร ชัยภูมิ อุดรธานี และพัทลุง สามารถก่อโรคได้รุนแรงบนข้าวทดสอบทั้ง 50 พันธุ์ พบว่าเชื้อรา *B. oryzae* มีความสามารถในการก่อโรคบนข้าวที่แตกต่างกัน และมีความหลากหลายของลักษณะสัณฐานวิทยา ขึ้นกับตามแหล่งที่พบโรค

ประเมินการเกิดโรคเมล็ดต่าง โดยคำนวณเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (จำนวนต้นที่เป็นโรค/จำนวนต้นทั้งหมด) $\times 100$ เก็บตัวอย่างเมล็ดข้าวมาศึกษาลักษณะอาการของโรคเมล็ดต่างตามความรุนแรงที่พบ โดยสุ่มเมล็ดแปลงละ 400 เมล็ด ตามกฎของ ISTA (International Seed Testing Association) แบ่งความรุนแรงออกเป็น 7 ระดับดังนี้

ระดับ 1 เมล็ดข้าวปกติไม่แสดงอาการ

ระดับ 2 เมล็ดข้าวที่มีแผลจุดขนาดเล็กกว่า 0.1 มิลลิเมตร แสดงอาการ 1 – 5% ต่อพื้นที่เมล็ด

ระดับ 3 เมล็ดข้าวที่มีแผลจุดขนาดใหญ่กว่า 0.1 มิลลิเมตร แสดงอาการ 6 – 25% ต่อพื้นที่เมล็ด ระดับ 4 เมล็ดข้าวที่มีแผลดำ แสดงอาการ 26 – 50% ต่อพื้นที่เมล็ด

ระดับ 5 เมล็ดข้าวที่มีแผลดำ แสดงอาการ 51 – 75% ต่อพื้นที่เมล็ด

ระดับ 6 เมล็ดข้าวที่มีแผลดำมากกว่า 75% ต่อพื้นที่เมล็ด

ระดับ 7 อาการเมล็ดลีบ (ดัดแปลงจาก พรทิพย์, 2545)

2.2.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง

1. เชื้อรา *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijn.

Division: Ascomycota

Class: Dothideomycetes

Order: Pleosporales

Family: Pleosporaceae

Genus: *Curvularia*

Species: *lunata*

เชื้อรา *Curvularia* spp. สร้างสปอร์ (conidium) ที่มี 3-5 เซลล์ รูปร่างโค้ง เซลล์ตรงกลางมีสีเข้มกว่าเซลล์หัวและท้าย เกิดบนก้านชูสปอร์ (conidiophores) สีเข้ม ไม่แตกแขนง แต่อาจมีการ proliferation ออกทางด้านใกล้ส่วนปลาย ทำให้สร้างสปอร์เพิ่มขึ้นได้อีก และก้านก้านชูสปอร์ (conidiophores) มีลักษณะเป็นข้อหัก (geniculate) พบทั้งที่เป็น parasite ของพืช ทำให้เกิดจุดแผลบนใบและเป็น saprobe ในดิน (พีระวรรณ และคณะ, 2553)

2. เชื้อรา *Cercospora oryzae* I. Miyake.

Division: Ascomycota

Class: Ascomycetes

Order: Mycosphaerellales

Family: Mycosphaerellaceae

Genus: *Cercospora*

Species: *oryzae*

เชื้อรา *C. oryzae* I. Miyake. ก้านชูสปอร์ (conidiophores) ตรง โค้ง หรือเป็นข้อหัก (geniculate) มีฐานสปอร์ (scar) บริเวณข้อหักและที่ปลายเห็นได้ชัด สีซีดจางจนถึงสีน้ำตาลอมเขียว มะกอก ส่วนมากบริเวณปลายสีจะอ่อนกว่า (ปัญญวิชญ์ และคณะ, 2563)

3. *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoemaker.

Division: Ascomycota

Class: Dothideomycetes

Order: Pleosporales

Family: Pleosporaceae

Genus: *Bipolaris*

Species: *oryzae*

เชื้อรา *B. oryzae* เส้นใยสีเทาเข้มถึงดำ ปลายเส้นใยโคนมีสีเทาฟูเล็กน้อย สปอร์ยาว 58.15-105.40 ไมครอน กว้าง 15.46-22.54 ไมครอน มี pseudoseptum 6-12 เซลล์ (อมินา และคณะ, 2559)

4. *Fusarium semitectum* Berk & Rav.

Division: Ascomycota

Class: Sordariomycetes

Order: Hypocreales

Family: Nectriaceae

Genus: *Fusarium*

Species: *semitectum*

เชื้อรา *F. semitectum* เส้นใยมีสีขาวจนถึงสีน้ำตาลเหลือง เซลล์ที่ฐานมี papilla เป็นตุ่มเล็กๆ ไม่มีรูปร่างคล้ายเท้า (foot-shaped) ส่วนปลายเรียวแหลม ไม่มีสี มี 3-5 septum ขนาด $17-28 \times 2.5-4$ ไมครอน เกิดบน conidiophore แบบ mono- และ polyphialide ที่แตกกิ่งก้าน (อภีรัชต์ และคณะ, 2554)

5. เชื้อรา *Trichoconis padwickii* Ganguly.

Division: Ascomycota

Class: Ascomycetes

Order: Incertae sedis

Family: Incertae sedis

Genus: *Trichoconis*

Species: *padwickii*

เชื้อรา *T. padwickii* Ganguly. สร้างก้านชูสปอร์ สีเข้มไม่แตกกิ่งก้าน อาจมีการการแพร่ขยายออกด้านข้างได้จุดที่ให้กำเนิดสปอร์ (conidium) มีสีเข้ม จัดอยู่ในพวก porospore และเป็น dictyos pore มีรูปร่างเป็นรูปไข่ หรือทรงกระบอก สปอร์อันแรกเกิดที่ปลายก้านชูสปอร์ conidiophores โดยสร้างรูที่ปลายของสปอร์ และให้กำเนิดสปอร์อันต่อไปที่ต่อกันยาวเป็นลูกโซ่ สปอร์อาจมีส่วนปลายเรียวยาวเป็น beak พบทั้งที่เป็น parasite ของพืชและ saprobe (กวินธรธรพ์ และคณะ, 2559)

6. *Sarocladium oryzae* (Sawada) W. Gams & D. Hawksw.

Division: Ascomycota

Class: Sordariomycetes

Order: Hypocreales

Family: Sarocladiaceae

Genus: *Sarocladium*

Species: *oryzae*

เชื้อรา *S. oryzae* Conidia are สปอร์มีลักษณะทรงกระบอก (cylindrical) มีผนังกันเซลล์ และขนาด $4-7 \times 1-2$ ไมโครเมตร เรียงกันที่ส่วนปลาย (ผกายวรรณ และคณะ, 2564)

2.2.3 การคัดแยกเชื้อสาเหตุโรคเมล็ดต่างที่ติดมากับเมล็ดข้าว

ประเมินระดับความรุนแรงของโรค

ตรวจสอบลักษณะการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคเมล็ดต่างที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวเบื้องต้น โดยทำการประเมินจากขนาดของแผลหรือพื้นที่ผิวของเมล็ดที่ถูกทำลาย ซึ่งจะให้คะแนนตามระบบ standard evaluation system for rice (IRRI, 1996) รายละเอียดดังนี้

0 เปอร์เซ็นต์	ไม่มีการเข้าทำลายของโรค
1-5 เปอร์เซ็นต์	พื้นที่ผิวของเมล็ดถูกทำลาย 1-5 เปอร์เซ็นต์
6-25 เปอร์เซ็นต์	พื้นที่ผิวของเมล็ดถูกทำลาย 6-25 เปอร์เซ็นต์
26-50 เปอร์เซ็นต์	พื้นที่ผิวของเมล็ดถูกทำลาย 26-50 เปอร์เซ็นต์
51-100 เปอร์เซ็นต์	พื้นที่ผิวของเมล็ดถูกทำลาย 51-100 เปอร์เซ็นต์

การแยกเชื้อสาเหตุโรคที่ติดมากับเมล็ดข้าว

นำตัวอย่างเมล็ดข้าวมาตรวจหาเชื้อที่ติดมากับเมล็ดโดยวิธี Blotter Test ดัดแปลงวิธีการจาก Mew and Misra (1994) นำกระดาษกรอง Whatman No.1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร จำนวน 1 แผ่น ประกบติดกับกระดาษเพาะที่ตัดเป็นวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร จำนวน 3 แผ่น โดยให้กระดาษกรองวางอยู่ด้านบน แล้วนำไปจุ่มในน้ำกลั่นหนึ่งชามเพื่อให้ชุ่ม จากนั้นนำมาวางในจานอาหาร นำเมล็ดข้าวที่ต้องการทดสอบวางบนกระดาษชั้น จำนวนจานละ 10 เมล็ด ทำ 4 ซ้ำๆ ละ 100 เมล็ด จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์ 16 ชั่วโมง นาน 14 วัน จากนั้นตรวจดูเชื้อราที่เจริญบนเมล็ดข้าวภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง และแยกเชื้อราบริสุทธิ์จากตัวอย่างเมล็ดข้าวลงบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) เก็บรักษาเชื้อราบริสุทธิ์บน PDA slant ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สำหรับนำมาศึกษา ลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ได้แก่ ลักษณะโคโลนี รูปร่างและสีของสปอร์โดยใช้คู่มือของ Mew and Gonzales (2002) เพื่อจำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุโรค

การจำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าวด้วยลักษณะทางสัณฐาน

นำเชื้อราบริสุทธิ์ที่แยกได้จากเมล็ดข้าวซึ่งแสดงอาการโรคเมล็ดต่าง มาเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จากนั้นเตรียมสปอร์แขวนลอยโดยเทน้ำกลั่นหนึ่งชามเพื่อลงบนผิวหน้าอาหาร PDA ที่มีเชื้อราเจริญอยู่ ใช้แท่งแก้วรูปตัวแอลชุบผิวหน้าอาหารเบา ๆ และดูดสปอร์แขวนลอยจำนวน 100 ไมโครลิตร (μL) ลงบนผิวหน้าอาหาร Water Agar (WA) และใช้แท่งแก้วเกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหาร บ่มไว้ 24 ชั่วโมง อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส ตรวจสอบการ

งอกของสปอร์ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Light microscope แบบ compound และตัดส่วนปลายของเส้นใยเชื้อรา (Hypha tip) เลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน นำเชื้อราที่ได้จากการแยกสปอร์เดี่ยวมาจำแนกชนิด โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่าง ๆ ได้แก่ ลักษณะโคโลนี (Colony) ลักษณะก้านชูสปอร์ (Conidiophores) ลักษณะโคนิเดีย (Conidia) เช่น สี รูปร่าง ขนาด และจำนวนเซลล์ของโคนิเดีย ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด Compound โดยเทียบเคียงกับข้อมูลจากหนังสือ The Coelomycetes (Sutton, 1980)

2.3 การควบคุมโรคเมล็ดต่างโดยชีววิธี

ในปัจจุบันเกษตรกรหันมาทำการเกษตรโดยการปลูกพืชในระบบอินทรีย์กันมากขึ้น เพื่อลดการใช้สารเคมีที่มีราคาแพงและมีฤทธิ์ตกค้างต่อสิ่งแวดล้อมและผลผลิต รวมไปถึงเป็นอันตรายต่อเกษตรกรผู้ใช้สารเคมีเองด้วย การควบคุมโรคพืช โดยชีววิธีจึงมีบทบาทมากขึ้นในระบบการปลูกพืชแบบอินทรีย์ที่ลดการใช้สารเคมี โดยหันมาใช้สารจากธรรมชาติหรือการเลือกใช้สิ่งมีชีวิตมาช่วยในการควบคุมโรคและแมลงศัตรูพืช ทั้งนี้เพื่อลดความเสี่ยงจากการใช้สารเคมี รวมไปถึงการปลูกพืชเพื่อส่งออก ซึ่งการควบคุมโรคโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ป้องกันและควบคุมโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่สามารถควบคุมโรคเมล็ดต่างข้าวได้มีหลายชนิด ได้แก่ เชื้อแบคทีเรียบาซิลลัส (*Bacillus* spp.) ซูโดโมนาส (*Pseudomonas* spp.) และเชื้อราไตรโคเดอร์มา (*Trichoderma* spp.) ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคพืช (Nalkkeeran, 2005)

พากเพียร และคณะ (2550) ได้ศึกษาแบคทีเรียปฏิปักษ์: *Bacillus subtilis* No.4, No.9 และ No.33 มีความสามารถในการควบคุมโรคเมล็ดต่าง โดยพ่นเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* 3 ครั้ง ในระยะข้าวตั้งท้อง ระยะข้าวเริ่ม โผล่ออกจากใบธง 5 เปอร์เซ็นต์ และข้าวออกรวงแล้ว พบว่าการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ 2 ไอโซเลตร่วมกันมีระดับความรุนแรงของโรคเมล็ดต่างต่ำกว่าการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์แบบเดี่ยว ๆ

การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* No.4 ร่วมกับการพ่นสารรองผงจากเมล็ดข้าว ระยะข้าวตั้งท้องใกล้ออกรวง ระยะข้าวออกรวง 5 เปอร์เซ็นต์ และระยะข้าวออกรวง 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่าควบคุมโรคเมล็ดต่างได้ดีที่สุด และการใช้ชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรีย *B. siamensis* RRK1-Rif สูตรผงเปียกน้ำ ลดการเกิดโรคเมล็ดต่างบนรวงข้าวที่เกิดจากการแพร่ระบาดของเชื้อโรคตามธรรมชาติได้ 17.02–37.02 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดดีเพิ่มขึ้น 6.05–11.27 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดต่างและเมล็ดลีบลดลง 3.29–32.71 เปอร์เซ็นต์ และ 25.15–55.11 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และยังส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว โดยมีจำนวนต้นและรวงต่อกอ เพิ่มขึ้น 20.38–22.68 เปอร์เซ็นต์ และ 14.55–15.40 เปอร์เซ็นต์

ตามลำดับ และช่วยให้ผลผลิตต่อไร่เพิ่มขึ้น 34.49–45.66 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ข้าวกล้องซึ่งได้จากการขัดสีข้าวเปลือกมีข้าวเต็มเมล็ดเพิ่มขึ้น 4.95–16.78 เปอร์เซ็นต์ และข้าวหักลดลง 13.24–44.85 เปอร์เซ็นต์ (บังอร และคณะ, 2561)

นอกจากนี้การใช้ชีวภัณฑ์เชื้อปฏิปักษ์ร่วมกันมากกว่า 1 ชนิดสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมโรค จากการศึกษาของปณณวิญญ์ และคณะ (2561) พบว่า เชื้อรา *Trichoderma harzianum* ลดการเกิดโรคเมล็ดต่างได้ 55.84 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อใช้ชีวภัณฑ์เชื้อรา *T. harzianum* ร่วมกับ เชื้อรา *Bacillus subtilis* ลดการเกิดโรคได้สูงสุดเมื่อทดสอบในสภาพโรงเรือน ส่วนในสภาพแปลงการใช้ชีวภัณฑ์เชื้อรา *T. harzianum* ร่วมกับเชื้อรา *B. subtilis* และ *T. viride* อย่างละ 15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่นควบคุมโรคเมล็ดต่างในแปลงนาจำนวน 3 ครั้ง เป็นเวลา 21 วัน พบว่า ลดการเกิดโรคได้สูงถึง 74.36 เปอร์เซ็นต์ และข้าวให้ผลผลิตสูงที่สุดที่ 940.50 กิโลกรัมต่อไร่

2.4 เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp.

แบคทีเรีย *Bacillus* spp. จัดอยู่ใน

Domain: Bacteria

Division: Firmicutes

Class: Bacilli

Order: Bacillales

Family: Bacillaceae

Genus: *Bacillus*

2.4.1 ลักษณะทั่วไปของ *Bacillus* spp.

เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. เป็นแบคทีเรียแกรมบวก (Gram-positive) มีรูปร่างเป็นท่อนทรงกระบอก (Rod shape) อาจเป็นท่อนเดี่ยวหรือต่อกันเป็นสาย มีขนาด 0.5-2.5 × 1.2-10 ไมโครเมตร หรือ 0.3-2.2 × 0.7-1.2 ไมโครเมตร (ดวงพร, 2537) ต้องการออกซิเจนในการหายใจ บางครั้งสามารถเจริญได้ในที่ที่ไม่มีออกซิเจน (Facultative anaerobe) สร้างสปอร์ภายในเซลล์ (Endospore forming) 1 เซลล์ต่อ 1 สปอร์ทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เจริญได้ในอาหารหลายชนิด เติบโตได้ในอุณหภูมิปกติและ pH เป็นกลาง สามารถผลิตเอนไซม์หลายชนิด ได้แก่ โคติเนส (chitinase) ไคโตซานเนส (chitosanase) ไลเปส (lipase) ลามินาลิเนส (laminarinase) และ โปรติเอส (protease) เคลื่อนที่ได้ด้วย Peritrichous flagella และ *Bacillus* spp. สามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้หลายชนิด เช่น Bacitracin ผลิตจาก *Bacillus licheniformis* สาร Polymyxin ผลิตจาก *Bacillus polymyxa* สาร Gramicidin และสาร Tyrocidine ผลิตจาก *Bacillus brevis* และ

สาร Subtilin และ Bacilycin ผลิตจาก *Bacillus subtilis* การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทป์ (DNA sequence) ในแบคทีเรียสกุล *Bacillus* มีความแตกต่างกันอย่างมาก มีเปอร์เซ็นต์ปริมาณ G+C มีความแปรปรวนตั้งแต่ 33 เปอร์เซ็นต์ใน *B. anthracis* จนถึง 69 เปอร์เซ็นต์ ในแบคทีเรีย *B. thermocatenulatus* ซึ่งสูงกว่าความแปรปรวนของลักษณะภายในสกุล ปกติความแปรปรวนของลักษณะในสกุลไม่ควรเกิน 15 เปอร์เซ็นต์ (Rosovitz et al., 1998)

2.4.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *Bacillus* spp.

เชื้อ *Bacillus* spp. ความหลากหลายทางลักษณะสัณฐานวิทยา และสรีรวิทยา ลักษณะโคโลนี มีความแปรปรวนมากขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม คุณภาพและปริมาณของอาหารเลี้ยงเชื้อ อายุโคโลนี และจำนวนโคโลนีต่อจานอาหารที่เลี้ยงมีผลต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี ดังนั้นจึงเป็นการยากในการแยกชนิดด้วยลักษณะโคโลนี อย่างไรก็ตามในสภาพแวดล้อมเดียวกันลักษณะโคโลนีสามารถใช้ในการจำแนกชนิดได้ เช่น เมื่อเลี้ยงในอาหาร Casein agar แบคทีเรีย *Bacillus megaterium* มีโคโลนีมีสีเหลือง แบคทีเรีย *Bacillus firmus* มีโคโลนีสีชมพู แบคทีเรีย *Bacillus licheniformis* มีโคโลนีสีแดงถึงน้ำตาล แบคทีเรีย *Bacillus pumilus* มีโคโลนีสีเหลืองอ่อน แบคทีเรีย *Bacillus sphaericus* มีโคโลนีสีชมพู และแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* มีโคโลนีสีชมพูเหลืองส้มหรือน้ำตาลในอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรต แบคทีเรีย *B. subtilis* var. *aterrimus* มีโคโลนีสีน้ำตาลเงินถึงดำ เมื่อเลี้ยงบนอาหาร Tyrosine agar แบคทีเรีย *Bacillus megaterium* และ *Bacillus subtilis* var. *niger* มีโคโลนีมีสีดำ เป็นต้น เซลล์ของแบคทีเรียสกุล *Bacillus* ประกอบด้วยเยื่อหุ้มเซลล์ (Cytoplasmic membrane) และผนังเซลล์ (Cell wall) ในบางสายพันธุ์เซลล์ของ *Bacillus* spp. ไม่มีเยื่อหุ้มชั้นนอก (Outer membranes) ซึ่งต่างจากแบคทีเรียแกรมลบ ส่วนผนังเซลล์ (Cell wall) ประกอบด้วยเพปทิโดไกลแคน (Peptidoglycan) หลายชั้นพอลิเมอร์ที่มีประจุลบ (Anionic polymers) ทำให้ผนังเซลล์มีความเหนียว บริเวณผิวหน้าของผนังเซลล์ (Cell wall) ชั้นของ Paracrystalline cell wall surface layers (S layers) ประกอบด้วยโปรตีนหรือ Glycoprotein แบคทีเรีย *Bacillus* spp. หลายชนิดสร้าง Carbohydrate capsules เช่น Poly-D-glutamic acid capsule สร้างโดย *B. anthracis* ทั้งในท้องปฏิบัติการและในสภาพธรรมชาติซึ่งเป็นการแสดงออกของ Virulence factor (Rosovitz et al., 1998) *Bacillus* spp. ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลาแบบ Peritrichous flagella และการใช้แฟลกเจลลาเป็น Antigens มีประโยชน์ในการตรวจจำแนก *B. cereus*, *B. thuringiensis* และ *B. sphaericus* (Turnbull et al., 1990)

แบคทีเรียสกุล *Bacillus* สร้างสปอร์ภายในเซลล์เมื่ออาหารมีจำกัด เซลล์จะเข้าสู่ระยะ Stationary phase และอยู่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม ทำให้สามารถทนทานต่อสภาพแวดล้อม

ที่ไม่เหมาะสมได้ เช่น ความร้อน แสงยูวี และสารเคมีต่างๆ บางเซลล์อาจมีแวกคิวโอล บางชนิดอาจพบพอลิโพรตีน เช่น *B. thuringiensis* (Rosovitz *et al.*, 1998) รูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสปอร์และตำแหน่งการสร้างสปอร์ภายในเซลล์สามารถจำแนกแบคทีเรียสกุล *Bacillus* ได้เป็น 3 กลุ่ม (สุรางค์, 2538) คือ

กลุ่มที่ 1 เซลล์ไม่โป่งพอง สปอร์เป็นรูปวงรีหรือรูปทรงกระบอก ตำแหน่งสปอร์อยู่ตรงกลางหรือค่อนข้างปลายเซลล์กลุ่มนี้แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อย คือ

กลุ่มที่ 1A : เซลล์ขนาดใหญ่กว้างมากกว่า 1 ไมโครเมตร ภายใน protoplasm จะมีแกรนูลที่ไม่ติดสีแกรม ทำให้เห็นเซลล์ไม่ติดสีเป็นช่วง ๆ ได้แก่ *Bacillus megaterium*, *Bacillus cereus*, *Bacillus cereus mycoides*, *Bacillus thuringiensis* และ *Bacillus anthracis*

กลุ่มที่ 1B : เซลล์จะมีขนาดกว้างน้อยกว่า 1 ไมโครเมตร เช่น *Bacillus coagulans*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus firmus* และ *Bacillus pumilis* เป็นต้น

กลุ่มที่ 2 เซลล์โป่งพอง สปอร์มีลักษณะเป็นรูปไข่ มีตำแหน่งอยู่กลางหรือปลายของเซลล์ ได้แก่ *Bacillus circulans*, *Bacillus macerans*, *Bacillus polymyxa*, *Bacillus alvei*, *Bacillus laterosporus*, *Bacillus brevis*, *Bacillus popilliae*, *Bacillus larvae*, *Bacillus stearothermophilus* และ *Bacillus lentimorbus*

กลุ่มที่ 3 สปอร์ทำให้เซลล์โป่งออก หรือบางครั้งไม่โป่ง สปอร์รูปร่างกลม ตำแหน่งอยู่ปลายหรือค่อนข้างปลายเซลล์ เช่น *Bacillus sphaericus*

2.4.3 การเก็บรวบรวมเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. จากดินบริเวณรากพืช

การเก็บรวบรวมและแยกเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์บริเวณรากพืชในแปลงที่ไม่ได้ทำเกษตรกรรม และพื้นที่ป่า ในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง โดยถอนต้นพืชที่ต้องการเก็บเชื้อแบคทีเรียเขย่าราก เพื่อให้ดินหลุดออกจากราก นำไปบดให้ละเอียดในน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ได้เป็นเซลล์แบคทีเรียแขวนลอย นำไปเจือจางเชื้อโดยวิธี Serial dilution method และเลือกที่ระดับความเข้มข้น 10^{-2} และ 10^{-3} แขนงน้ำร้อนอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ก่อนนำไปแยกเชื้อบริสุทธิ์โดยวิธี Spread plate บนอาหาร Nutrient Agar (NA, pH 5.6) บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 48 ชั่วโมง เลือกเก็บโคโลนีเดี่ยว สีครีม ขนาด 1-2 มิลลิเมตร และมีการสร้างสปอร์ (Spore-forming bacteria) ซึ่งตรวจวัดโดยการย้อมสปอร์แล้วตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Light microscope แบบ Compound เก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์ บนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) สำหรับการศึกษาน้ำในขั้นตอนต่อไป และใน 50 เปอร์เซ็นต์ glycerol ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส สำหรับการเก็บไว้เป็นแหล่งของเชื้อในระยะยาว (Samson *et al.*, 1988)

2.4.4 การจำแนกเชื้อแบคทีเรียที่เป็นปฏิปักษ์

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างจะถูกคัดเลือกเพื่อระบุชนิด โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ ลักษณะโคโลนี สี และรูปร่าง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ร่วมกับการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ด้วยเทคนิค PCR ทำการสกัด DNA ด้วยการใช้ความร้อน (Dashti *et al.*, 2009) เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ใช้ห้วงเชื้อเชื้อย่ายโคโลนีเชื้อแบคทีเรียใส่หลอด 1.5 มิลลิลิตร ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ เดมน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร นำไปต้มเป็นเวลา 10 นาที ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ ที่ 1,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ดูดน้ำส่วนบน (supernatant) ปริมาตร 5 ไมโครลิตร สำหรับนำไปตรวจวัดปริมาณของสารละลาย DNA โดยใช้ Nanodrop-1000 (Thermo Scientific, USA) และนำไปทำปฏิกิริยา PCR เพื่อเพิ่มปริมาณ DNA ในส่วนของยีน 16S rRNA ส่วนผสมของปฏิกิริยา PCR (25 ไมโครลิตร) ประกอบด้วย Taq polymerase 0.1 ไมโครลิตร, บัฟเฟอร์ PCR 10x 2.5 ไมโครลิตร, Deoxynucleotide triphosphates (dNTPs) 2.0 ไมโครลิตร, ไพรมเมอร์ 0.5 ไมโครลิตร (forward primers 27 F: 5'AGGAGTTTGATCMTGGGAAGTC3' และ reserve primers 1389R: 5'ACGGGCGGTGTGTACAAG3' ; Hongoh *et al.*, 2003), น้ำปราศจากไอออน (deionized water) 18.4 ไมโครลิตร และ DNA ต้นแบบ 1 ไมโครลิตร ตั้งโปรแกรม PCR ดังนี้ อุณหภูมิ 94 °C เป็นเวลา 5 นาที จำนวน 1 รอบ อุณหภูมิ 94 °C นาน 30 วินาที อุณหภูมิ 50 °C นาน 30 วินาที อุณหภูมิ 72 °C นาน 2 นาที จำนวน 30 รอบ และอุณหภูมิ 72 °C เป็นเวลา 4 นาที ตรวจสอบการเพิ่มปริมาณ DNA ด้วยเทคนิค agarose gel electrophoresis และนำผลิตภัณฑ์ PCR ไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ โดยใช้บริการกับบริษัท Macrogen Int. (Seoul, Korea). นำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ไปเปรียบเทียบกับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล GenBank โดยใช้โปรแกรม BLAST ผ่านอินเทอร์เน็ตที่เว็บไซต์ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>.

สำหรับการวิเคราะห์สายวิวัฒนาการ โดยนำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนของยีน 16S rRNA ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์และลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีความเหมือนกันจากการเปรียบเทียบในฐานข้อมูล GenBank มาจัดเรียงความสัมพันธ์ด้วยโปรแกรม ClustalW (Thomson, 1994) วิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยวิธี neighbor-joining method (NJ) ผ่านโปรแกรม MEGA6 (Tamura, 2013) เพื่อสร้าง phylogenetic tree

2.4.5 คุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *Bacillus* spp.

สามารถสร้างเอนไซม์ Catalase จึงทำให้สามารถแยกความแตกต่างจากแบคทีเรียสกุล *Clostridium* และ *Sporolactobacillus* ได้มีบางชนิดที่สร้างเอนไซม์ Catalase ได้น้อยหรือไม่สร้างเลย เช่น *B. larvae* *B. lentimorbus* *B. popilliae* และ *B. stearothermophilus* (Turnball et al., 1990) แบคทีเรียสกุล *Bacillus* ต้องการสารอาหารและสภาพแวดล้อมในการเจริญแบ่งเป็น 3 กลุ่ม คือ

กลุ่มที่ 1 ต้องการอาหารธรรมดาทั่วไปที่มีส่วนประกอบไม่ซับซ้อน

กลุ่มที่ 2 ต้องการอาหารที่มีส่วนประกอบซับซ้อน

กลุ่มที่ 3 ต้องการอาหารเฉพาะสำหรับการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อต่าง ๆ ที่มีส่วนประกอบของคาร์โบไฮเดรต

แบคทีเรีย *Bacillus* spp. จะสร้างกรดแต่ไม่สร้างแก๊ส ยกเว้น *B. polymyxa* และ *B. macerans* ที่สร้างแก๊สด้วยและคาร์โบไฮเดรต แบคทีเรียชนิดเดียวกันอาจจะให้แก๊สที่แตกต่างกัน เช่น *B. subtilis* *B. cereus* และ *B. licheniformis* เจริญบนอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็น 2,3-Butanediol และ Glycerol ในขณะที่ *B. polymyxa* เปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็น 2,3-Butanediol Ethanol และ Hydrogen ส่วน *B. macerans* เปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็น Ethanal, Acetone, Acetic และ Formic acid บางชนิดให้กรดแลคติก *Bacillus* spp. ส่วนใหญ่สร้าง Proteolytic enzyme และสามารถย่อย Casein และ Gelatin ได้

Bacillus spp. ทุกชนิดเจริญได้ดีในที่ที่มีออกซิเจน บางชนิดจำเป็นต้องมีออกซิเจนจึงจะสามารถเจริญได้ เช่นแบคทีเรีย *B. subtilis*, *B. brevis*, *B. firmus*, *B. megaterium* และ *B. sphaericus* ส่วน *B. cereus*, *B. athracis*, *B. licheniformis*, *B. polymyxa* และ *B. Coagulans* บางครั้งสามารถเจริญได้ในที่ไม่มีออกซิเจน *Bacillus* spp. ส่วนใหญ่สามารถตรึงไนโตรเจนและสามารถรีดิวซ์ไนเตรทได้ (Turnball et al., 1990)

Bacillus spp. สามารถเจริญได้ดีที่ pH เป็นกลางหรือกรดเล็กน้อย แต่ *B. alcalophilus* สามารถเจริญได้ที่ pH 9-10 ขณะที่ *B. acidocaldarius* สามารถเจริญได้ที่ pH 2-6 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. อยู่ในช่วง 25-37 องศาเซลเซียส ในขณะที่ *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. acidocaldarius*, *B. brevis*, *B. stearothermophilus* และ *B. coagulans* ที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส (Turnball et al., 1990)

2.4.6 นิเวศวิทยาของ *Bacillus* spp.

Bacillus spp. พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ เช่น ดิน น้ำ อากาศ ฝุ่น พืช เศษซากพืชหรือแม้แต่ในอาหาร นม และธัญญาหาร (Claus and Berkeley, 1986) *Bacillus* spp. พบได้ทุกสภาพแวดล้อม เพราะสปอร์ที่แบคทีเรียสร้างทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ สภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันทำให้ชนิดของ *Bacillus* spp. มีความหลากหลาย เช่น กลุ่มที่ต้องการออกซิเจน (Aerobes) แต่ไม่ต้องการออกซิเจนเป็นบางครั้ง (Facultative anaerobes) เจริญได้ในสภาพกรด (Acidophiles) สภาพด่าง (Alkalophiles) เจริญได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ (Psychrophiles) อุณหภูมิสูง (Thermophiles) สภาพที่มีความเค็ม (Halophiles) และพวกที่ใช้สารเคมี อนินทรีย์ในการเจริญ (Chemolithotrophs) ส่วนใหญ่เป็นพวกที่เจริญอยู่ในดิน แต่บางครั้งพบ *B. subtilis* และ *B. licheniformis* อยู่ในน้ำทะเล และน้ำกร่อย (Rosovitz et al., 1998) *Bacillus* spp. ที่พบจะแตกต่างกันตามชนิดของดิน เช่น *B. subtilis* *B. licheniformis* และ *B. cereus* ไม่ต้องการสารประกอบในอาหารมากนัก สามารถพบได้ในดินที่มีธาตุอาหารต่ำ *B. polymyxa* และ *B. azotofixans* พบในดินรอบ ๆ รากพืชที่มีธาตุอาหาร ส่วน *B. macerans* และ *B. circulans* ต้องการสารประกอบอาหารที่ซับซ้อนและพบในเศษซากพืชที่ย่อยสลาย (Rosovitz et al., 1998)

แบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* spp. เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างสปอร์ได้ และมีชีวิตอยู่ในสภาพแวดล้อมได้นาน แบคทีเรีย *Bacillus* spp. มีรูปร่างเป็นท่อน (Rod-shape) ติดสีแกรมบวก (Gram positive) เป็นแบคทีเรียที่เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีอากาศหรือสภาวะที่ไม่มีอากาศ (Facultative anaerobic) ซึ่งเป็นโครงสร้างที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ (Endospore) การสร้างสปอร์เป็นการสร้างเพื่อดำรงชีพไม่ใช่เพื่อการสืบพันธุ์ อีกทั้งการสร้างสปอร์และการสร้างสัณฐานขึ้นอยู่กับปัจจัยหลักสำคัญ ได้แก่ ช่วงระยะการเจริญเติบโต อุณหภูมิ และอาหาร เป็นต้น และบางชนิดเป็นแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติก (probiotic) ที่ได้รับการยอมรับว่าปลอดภัย เมื่อนำมาใช้ในอาหารมีประโยชน์เมื่อได้รับเข้าไปในร่างกายในปริมาณที่เหมาะสม สามารถทนความร้อนและทนต่อสภาพแวดล้อมในระบบทางเดินอาหารได้ดี นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติที่เป็นผลดีต่อสุขภาพ ได้แก่ การผลิตสารยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค ปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารให้เหมาะสม (Kovacs et al., 2010)

แบคทีเรีย *B. licheniformis*, *B. subtilis* และ *B. pumilus* พบในน้ำทะเลที่สะอาด แบคทีเรีย *Bacillus* spp. หลายชนิดสามารถเจริญได้แม้ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น *B. pasteurii* พบในสภาพแวดล้อมที่มียูเรียสูง แหล่งที่พบโดยทั่วไป คือ อ่างถ่ายปัสสาวะและดิน ในเขตเมือง *B. psychrophilus* และ *B. insolitus* พบในอาหารแช่แข็ง *B. acidocaldarius* เจริญเฉพาะในน้ำพุร้อนที่เป็นกรดและดินรอบ ๆ บริเวณนั้นเท่านั้น (Rosovitz et al., 1998) *B. coagulans* และ *B.*

stearothermophilus พบในอาหารที่ต้องผ่านขบวนการให้ความร้อน เช่น น้ำตาลจากบีท (Beet sugar) และอาหารกระป๋อง เป็นต้น

2.4.7 สารที่แบคทีเรีย *Bacillus* spp. สามารถผลิตได้

เอนไซม์ไคตินเนส (Chitinase) เป็นเอนไซม์ในกลุ่ม Hydrolase ซึ่งจะย่อยสลายไคตินให้ได้เป็น N-acetylglucosamine อิสระโดยเอนไซม์ chitinase มีชื่อทางเคมีว่า poly- β 1,4-(2-acetamido-2-deoxy)-D-glucoside glycanohydrolase : E.C. 3.2.1.14) ซึ่งจะตัดสายยาวของ N-acetylglucosamine ตรงตำแหน่ง β ภายในสายยาว โดยตัดแบบสุ่ม ซึ่งจะได้เส้นสายสั้น ๆ ของ N-acetylglucosamine ไคโตไบเอส (Chitobiase) มีชื่อทางเคมี Chitobiose และ Chitotriose ให้ได้เป็น N-acetylglucosamine อิสระ (Shaikh and Deshpande, 1993) ได้แบ่งประเภทของเอนไซม์ย่อยไคตินไว้ 2 ประเภท คือ Endo-chitinase ซึ่งเป็นสายโซ่ของ N-acetylglucosaminidase ต่อมาจะมีเพิ่มคือ Exo-chitinase

1. Endo-chitinase เป็นเอนไซม์ที่ย่อยแบบสุ่มในสายโซ่ของน้ำตาล N-acetylglucosamine ซึ่งจะได้ Diacetylchitobiose เป็นผลิตภัณฑ์หลักและได้ Triacetylchitotriose เป็นส่วนน้อย
2. N-acetylglucosaminidase เป็นเอนไซม์ที่ย่อย Diacetylchitobiose โดยที่บางเอนไซม์จะย่อยหน่วยของ N-acetylglucosaminidase จากปลายด้าน Non-reducing ของสายโซ่ไคติน
3. Exo-chitinase เป็นเอนไซม์ที่ทำให้เกิดการแตกตัวของ Diacetylchitobiose จากปลาย Non-reducing ของสายโซ่ไคติน

Flach *et al.* (1992) ได้แบ่งประเภทของเอนไซม์ย่อยไคตินไว้ 4 ชนิด คือ

- 1) Endochitinase เป็นเอนไซม์ที่ทำให้สายโพลิเมอร์แยกออกจากกัน
 - 2) Exochitinase เป็นเอนไซม์ที่ย่อยไคตินแล้วได้ Chitobiose
 - 3) β -N-acetylglucosaminidase เป็นเอนไซม์ที่ย่อยภายในสายไคตินได้ N-acetylglucosamine
 - 4) Chitobiase เป็นเอนไซม์ที่ย่อย Chitobiose ได้ N-acetylglucosamine
- Jeuniaux (1996) รายงานว่า การย่อยไคตินโดยเอนไซม์ 2 ชนิด เพื่อให้ได้ N-acetylglucosamine ได้เกิดขึ้นจากการย่อยภายใน 2 กระบวนการต่อเนื่องกัน โดยเอนไซม์ 2 ชนิด ได้แก่ ชนิดที่ 1 คือ เอนไซม์ chitinase (poly- β 1,4-(2-acetamido-2-deoxy)-d-glucoside glycanohydrolase) จะย่อยไคตินหรือโพลิเมอร์ของ N-acetylglucosamine และรวมทั้งจะย่อย Tetramer ให้ได้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีขนาดเล็กกว่า Trimer และชนิดที่ 2 คือเอนไซม์ Chitobiase

(Chitobiase acetabidodeoxy-glycohydrolase) ซึ่งจะย่อย Chitobiose และ Chitotriose แล้วได้ N-acetylglucosamine

นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* มีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Ahmad *et al.*, 2008) โดยกลไกการผลิตสารที่มีลักษณะคล้ายฮอร์โมนพืช (Indole-3-acetic acid (IAA), gibberellic acid and ethylene) การตรึงไนโตรเจน การละลายธาตุฟอสฟอรัสในดินให้อยู่ในรูปที่รากพืชนำไปใช้ประโยชน์ได้ การผลิตเอนไซม์ 1-aminocyclopropane1-carboxylate deaminase ช่วยลดสภาวะเครียดในพืช รวมทั้งการผลิตสาร Siderophore เป็นต้น (Souza *et al.*, 2015)

2.4.8 กลไกการควบคุมโรคของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp.

Bacillus spp. มีกลไกในการควบคุมโรคพืชได้หลายวิธี ได้แก่ การแข่งขันกับเชื้อโรคพืช และการผลิตสารที่มีคุณสมบัติยับยั้งหรือทำลายชีวิต ดังรายงานวิจัยของ มณจันทร (2536) รายงานว่า *B. subtilis* สายพันธุ์ AP01 สามารถเข้าครอบครองพื้นที่ก่อนการเจริญของเชื้อรา *Fusarium roseum* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวและโคนเน่าของกล้วยไม้และ *Pythium* sp. ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุโรครากเน่าของส้มโอ และเมื่อนำ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ NSRS 89-24 และ NSRS 89-26 คลุกเมล็ดข้าวหรือแช่เมล็ดพันธุ์ก่อนปลูก พบว่า *B. subtilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์ สามารถลดความรุนแรงของโรคขอบใบแห้ง สาเหตุจาก *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* จากระดับความรุนแรงของโรค 94 เหลือ 19 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนั้นยังสามารถควบคุมการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคข้าวที่สำคัญ 7 ชนิดคือ *Pyricularia oryzae*, *Cercospora oryzae*, *Thanatephorus cucumeris*, *Curvularia oryzae*, *Acrocyndrium oryzae*, *Rhynchosporium oryzae* และ *Alternaria padwickii*

กลไกการผลิตสารที่มีลักษณะคล้ายฮอร์โมนพืช (Indole-3-acetic acid (IAA), gibberellic acid and ethylene) การตรึงไนโตรเจน การละลายธาตุฟอสฟอรัสในดินให้อยู่ในรูปที่รากพืชนำไปใช้ประโยชน์ได้ การผลิตเอนไซม์ 1-aminocyclopropane1-carboxylate deaminase ช่วยลดสภาวะเครียดในพืช รวมทั้งการผลิตสาร Siderophore เป็นต้น (Souza *et al.*, 2015)

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Jintana *et al.* (2021) ทำการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากป่าพรุในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าวในประเทศไทย โดยสำรวจและสุ่มตัวอย่างดินในปี 2560-2561 นำมาแยกเชื้อแบคทีเรียได้จำนวน 513 ไอโซเลต และเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว 3 ไอโซเลต ได้แก่ *B. oryzae* (NPT0508), *C. lunata* (SPB0627) และ *F. incarnatum* (SKA06131) เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียที่แยกในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างโดยใช้วิธี Dual culture method และคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา พบว่า เชื้อแบคทีเรีย 3 ไอโซเลต (IBK-4, IBK-8 และ IBK-5) จากทั้งหมด 513 ไอโซเลต มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง คือเชื้อรา *C. lunata* (0-34.55 เปอร์เซ็นต์) *B. oryzae* (0-38.78 เปอร์เซ็นต์) และ *F. incarnatum* (0-34.97 เปอร์เซ็นต์) จากนั้นนำไปทดสอบบนข้าวสายพันธุ์ข47 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่อ่อนแอในระยะข้าวตั้งท้อง โดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ IBK-8, IBK-4 และ IBK-5 ในอาหาร NB เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดความเข้มข้นของแบคทีเรียด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร แล้วปรับความเข้มข้นเซลล์แขวนลอยเป็น 10^8 CFU/มล. (0.2 O.D.) (Schaad *et al.*, 2001) นำไปฉีดพ่นลงบนต้นข้าว จากนั้นฉีดพ่นด้วยสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคที่ความเข้มข้น (10^5 สปอร์/มล.) วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) โดยพ่นบนรวงข้าว 3 รวง/ต้น จำนวน 5 ต้น หลังจากฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรคเป็นเวลา 21 วัน ทำการประเมินความรุนแรงของโรคโดยนำเมล็ดที่ได้จาก 15 รวง สุ่มเลือก 400 เมล็ด จำนวน 5 ครั้ง พบว่า เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต IBK-8 สามารถควบคุมการเกิดโรคเมล็ดต่างข้าวที่เกิดจากเชื้อรา *B. oryzae* NPT0508 (27.6 เปอร์เซ็นต์), *C. lunata* SPB0627 (22.6 เปอร์เซ็นต์) และ *F. incarnatum* SKA06131 (19.40 เปอร์เซ็นต์) ทั้งนี้ได้ทำการจำแนกเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลต โดยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลำดับนิวคลีโอไทด์ (16S rRNA) พบว่าเป็นเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* (IBK-4, IBK-5 และ IBK-8) และแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลต IBK-8 มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการควบคุมพัฒนาการของโรค ซึ่งชี้ให้เห็นว่า เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ที่แยกได้จากป่าพรุมีโอกาสในการนำไปใช้เป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ควบคุมเชื้อโรคพืชได้

รัตนพร และ เพชรรัตน์ (2564) ได้คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีฤทธิ์กว้างสำหรับควบคุมโรคเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวในท้องปฏิบัติการ โดยนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *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 มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคข้าวที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์

จำนวน 7 ชนิด ได้แก่ *Fusarium fujikuroi*-FURS017, *Fusarium proliferatum* FUSR002, *Fusarium* spp.-FUSR021, *Bipolaris oryzae*-BiKD5, *Curvularia lunata*-CurRD, *Alternaria padwickii* AlKD5 และ *Rhizoctonia oryzae*-Rhi-SMN1 โดยวิธี dual culture bioassay พบว่า เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. มีศักยภาพมากที่สุด มีฤทธิ์กว้างควบคุมเชื้อสาเหตุโรคได้ทั้ง 7 ไอโซเลต คือ *Bacillus*-MS4 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคอยู่ในช่วง 71.93 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา อันดับสองคือ *Bacillus*-Ba029 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคข้าวอยู่ในช่วง 80.23 เปอร์เซ็นต์ และลำดับที่สามมีหลายไอโซเลต ที่ระดับการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคได้ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ หรือ แตกต่างกันเล็กน้อย ได้แก่ *Bacillus*-NTS3, *Bacillus*-Ba033, *Bacillus*-BS, *Bacillus*-S32 และ *Bacillus*-BK ที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคอยู่ในช่วง 69.64, 67.97, 66.57 69.92 และ 66.56 เปอร์เซ็นต์ และประเมินผลของสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) จากลักษณะของเส้นใยบริเวณแนวการยับยั้งภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่ 7 วันหลังการทดสอบ พบว่า สารทุติยภูมิจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์แต่ละไอโซเลตมีผลกระทบต่อเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค ส่งผลให้เส้นใยมีลักษณะผิดปกติ บวมพองเสียรูปร่าง เส้นใยบิดงอ หรือเส้นใยมีผนังหนา สัมผัสมากขึ้นและบวมพองมากกว่าเส้นใยปกติในชุดควบคุม สอดคล้องกับผลการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อสาเหตุโรคข้าวโดยเชื้อปฏิปักษ์แต่ละไอโซเลต ซึ่งกรรมวิธีที่ใช้เชื้อปฏิปักษ์ *Bacillus*-MS4 มีการเปลี่ยนแปลงของเส้นใยเชื้อสาเหตุโรคที่รุนแรงชัดเจนมากกว่าเชื้อปฏิปักษ์ไอโซเลตที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ต่ำกว่า ส่วนเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces*-PR87 และ *Streptomyces*-PR15 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *F. fujikuroi* -FURS017, *Fusarium* sp.-FURS021, *B. oryzae* -BiKD 5, *C. lunata* -CurRD และ *A. Padwickii*-AlKD5 ได้อย่างชัดเจน พบว่าเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคมีลักษณะบวมพอง บิดงอ หรือเส้นใยมีผนังที่สัมผัสมากขึ้นและบวมพองเช่นเดียวกับที่พบใน *Bacillus*-MS4 และยังพบว่ากรรมวิธีที่ทดสอบกับเชื้อรา *F. proliferatum* -FUSR002 และ *R. oryzae*-Rhi-SMN1 ซึ่งยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้เล็กน้อย พบการเจริญของเส้นใยบางๆ บริเวณใกล้ขึ้นวันที่แบคทีเรียปฏิปักษ์เจริญอยู่ แต่เมื่อตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคมีลักษณะบวมพองเช่นเดียวกัน

Sukanya *et al.* (2018) ได้นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus amyloliquefaciens* BAS23 ที่แยกได้จากดินในนาข้าวมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว (*C. lunata*, *F. semitectum* และ *H. oryzae*) ด้วยวิธี dual culture method และการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว หลังจากทำการทดสอบเป็นเวลา 7 วัน ตรวจสอบลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราสาเหตุโรคด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Olympus CX31, Japan) พบว่า เชื้อแบคทีเรีย BAS23 ส่งผลให้เส้นใยเชื้อรา *Curvularia lunata* และ *Helminthosporium*

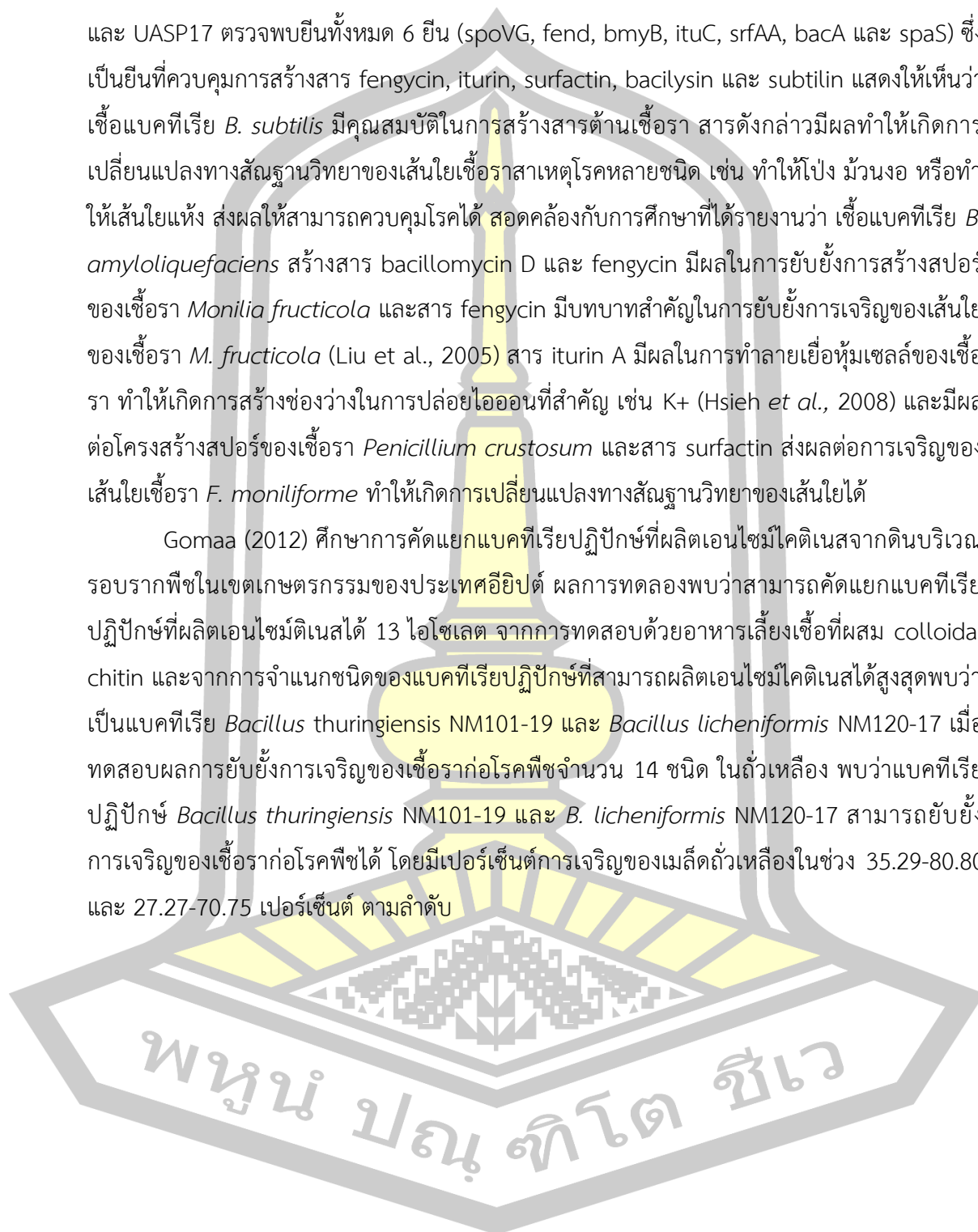
oryzae บริเวณที่มีการยับยั้ง มีลักษณะบวมและเกิดกระเปาะ แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของเส้นใยเชื้อรา *Fusarium Semitectum* แต่เมื่อตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM; Quanta 400, Thermo Fisher Scientific สหรัฐอเมริกา) พบว่า เส้นใยของเชื้อรา *F. semitectum* มีลักษณะบวม ในขณะที่เส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าวทั้ง 3 ชนิดในชุดควบคุมมีลักษณะปกติ ยาว ผิวเรียบ และไม่บวม จากนั้นทำการทดสอบโดยใช้ Cell-Free Culture ของเชื้อแบคทีเรีย BAS23 (ความเข้มข้น 5, 10, 15, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์) ต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. lunata*, *H. oryzae* และ *F. semitectum* พบว่า ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. lunata* ได้ดีที่สุด รองลงมา คือ เชื้อรา *H. oryzae* และ *F. semitectum* ตามลำดับ

จิระเดช และคณะ (2561) ทำการศึกษาประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus siamensis* RRK1-Rif ในการลดการเกิดโรคเมล็ดต่างของข้าว ในแปลงขนาดเล็ก (1 × 3 ตารางเมตร) พบว่าทุกกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ *B. siamensis* RRK1-Rif แช่เมล็ด และพ่นต้นข้าว 3 ครั้ง หรือใส่ขณะเตรียมดิน ก่อนปลูกเชื้อสาเหตุโรค 2 วัน และหลังปลูกเชื้อสาเหตุโรคที่ 7 และ 14 วัน โดยใช้ชีวภัณฑ์ในอัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 100 ลิตร ต่อไร่ ทำการประเมินบนรวงข้าวที่ได้จากการเก็บเกี่ยวผลผลิตในระยะเก็บเกี่ยว หลังนวดเมล็ดจากรวงข้าวแล้วสุ่มเมล็ดข้าวมาชั่งตัวอย่างละ 10 กรัม นับจำนวนเมล็ดดี เมล็ดต่าง และเมล็ดลีบ โดยชั่งเมล็ดข้าวกรรมวิธีละ 3 ซ้ำ จากนั้นคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ต่อจำนวนเมล็ดทั้งหมด ตรวจสอบคุณภาพการขัดสี โดยบันทึกน้ำหนักข้าวกล้องเป็นน้ำหนักข้าวเต็มเมล็ด และน้ำหนักข้าวหักเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม พบว่า ทุกกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1-Rif มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่าง (73.88 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญ โดยกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1-Rif สูตร 1 มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีสูงสุด คือ 82.53 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ Ta 2 (80.39 เปอร์เซ็นต์)

Prasanna *et al.* (2017) แยกเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* จำนวน 4 ไอโซเลต คือ UASR5, UASP15, UASP16 และ UASP17 จากบริเวณรอบรากต้นข้าว (VC farm, Mandya, Karnataka, India) ด้วยวิธี serial dilution บนอาหาร Luria-Bertani (LB) และบ่มที่ $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ และนำไปทดสอบกิจกรรมทางชีวเคมี (การลดไนเตรต อะไมเลส ยูรีเอส โปรตีเอส คาคาเลส การผลิตเอสเทอร์ อาร์โบไฮเดรต การใช้ประโยชน์และการหมัก) (Amruta *et al.*, 2016) ระบุชนิดโดยอาศัยลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rRNA และตรวจสอบยีน (gene) ที่เกี่ยวข้องกับกลไกการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ เพื่อคัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ที่มีคุณสมบัติในการเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์นำไปใช้ในการควบคุมโรคข้าวที่สำคัญได้อย่างมีประสิทธิภาพ พบว่า เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* 4 ไอโซเลต เป็นแกรมบวก ลักษณะโคโลนีกลม ขอบหยัก รูปร่างเป็นแท่ง สร้างเอนโดสปอร์ และแสดงปฏิกิริยาเชิงบวกสำหรับกิจกรรมอะไมเลส การลดไนเตรต ยูรีเอส โปรตีเอส การผลิต H₂S และคาคาเลส แต่ให้ผลเชิง

ลบสำหรับกิจกรรมเอสเทอร์ และเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ไอโซเลต UASR5, UASP15, UASP16 และ UASP17 ตรวจพบยีนทั้งหมด 6 ยีน (*spoVG*, *fend*, *bmyB*, *ituC*, *srfAA*, *bacA* และ *spaS*) ซึ่งเป็นยีนที่ควบคุมการสร้างสาร *fengycin*, *iturin*, *surfactin*, *bacilysin* และ *subtilin* แสดงให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* มีคุณสมบัติในการสร้างสารต้านเชื้อรา สารดังกล่าวมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคหลายชนิด เช่น ทำให้โป่ง ม้วนงอ หรือทำให้เส้นใยแห้ง ส่งผลให้สามารถควบคุมโรคได้ สอดคล้องกับการศึกษาที่ได้อ้างอิงว่า เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สร้างสาร *bacillomycin D* และ *fengycin* มีผลในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Monilia fructicola* และสาร *fengycin* มีบทบาทสำคัญในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *M. fructicola* (Liu et al., 2005) สาร *iturin A* มีผลในการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อรา ทำให้เกิดการสร้างช่องว่างในการปล่อยไอออนที่สำคัญ เช่น K^+ (Hsieh et al., 2008) และมีผลต่อโครงสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium crustosum* และสาร *surfactin* ส่งผลต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *F. moniliforme* ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเส้นใยได้

Gomaa (2012) ศึกษาการคัดแยกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ผลิตเอนไซม์ไคตินเนสจากดินบริเวณรอบรากพืชในเขตเกษตรกรรมของประเทศอียิปต์ ผลการทดลองพบว่าสามารถคัดแยกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ผลิตเอนไซม์ไคตินเนสได้ 13 ไอโซเลต จากการทดสอบด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสม colloidal chitin และจากการจำแนกชนิดของแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ไคตินเนสได้สูงสุดพบว่า เป็นแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* NM101-19 และ *Bacillus licheniformis* NM120-17 เมื่อทดสอบผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคพืชจำนวน 14 ชนิด ในถั่วเหลือง พบว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus thuringiensis* NM101-19 และ *B. licheniformis* NM120-17 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคพืชได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเจริญของเมล็ดถั่วเหลืองในช่วง 35.29-80.80 และ 27.27-70.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ



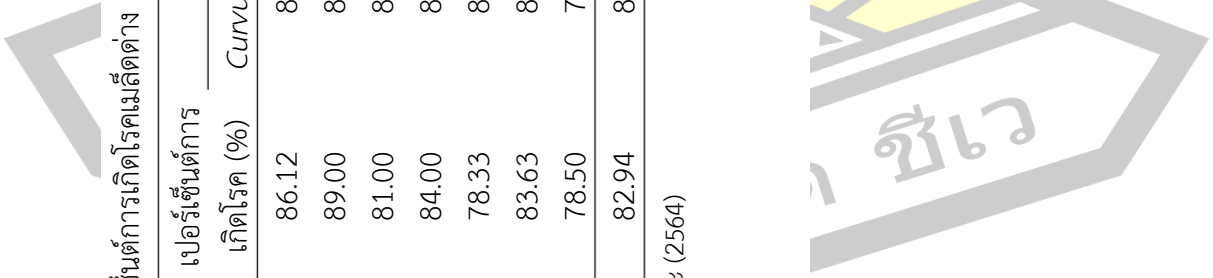
บทที่ 3

ระเบียบวิธีการดำเนินการวิจัย

การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่รวบรวมจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง เพื่อประเมินศักยภาพในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างในข้าวพันธุ์หอมดอกมะลิ 105 มีวัตถุประสงค์ ดังนี้ 1) เพื่อศึกษาระดับความรุนแรงของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างจำนวน 6 ชนิดบนเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 2) เพื่อประเมินประสิทธิภาพสารกรองเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง 3) ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในการยับยั้งการงอกสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว 4) เพื่อศึกษาคุณสมบัติแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวขาวดอกมะลิ 105 และ 5) เพื่อศึกษาศักยภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. เพื่อช่วยลดปริมาณการเกิดโรคเมล็ดต่างข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสภาพเรือนทดลอง

3.1 แหล่งที่มาเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว

การสำรวจโรคเมล็ดต่างข้าว โดยใช้เชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าวจำนวน 6 ชนิดที่ผ่านการคัดเลือกและศึกษาวิจัยการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อควบคุมศัตรูข้าวในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง ศูนย์วิจัยและควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีแห่งชาติ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ในการสำรวจโรคเมล็ดต่างข้าว เก็บตัวอย่างเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 จากพื้นที่เพาะปลูกข้าวที่สำคัญในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่างของประเทศไทย จำนวน 7 จังหวัด ได้แก่ อุบลราชธานี ยโสธร อำนาจเจริญ ศรีสะเกษ นครราชสีมา และ สุรินทร์ ซึ่งข้าวอยู่ในระยะใกล้เก็บเกี่ยว (ช่วงเดือนพฤศจิกายน-ธันวาคม 2564) โดยสุ่มตัวอย่างในรูปแบบตัว Z แต่ละจุดห่างกัน 10 เมตร สุ่มเก็บจุดละ 20 รวง และนับจำนวนรวงทั้งหมด และจำนวนรวงที่พบเมล็ดข้าวที่แสดงอาการต่างต่อพื้นที่ 1 ตารางเมตร พบว่า มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ด 82.94 % โดยพบเชื้อรา *Curvularia* sp. 83.18%, *Cercospora* sp. 74.50%, *Bipolaris* sp. 38.14%, *Fusarium* sp. 39.57%, *Trichoconis* sp. 45.71% และ *Sarocladium* sp. 38.43 % (ตารางที่ 1) (สุพัตรา และคณะ, 2564)



ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเมล็ดต่าง และเชื้อราสาเหตุโรคที่พบบนเมล็ดข้าวของแปลงเกษตรกร

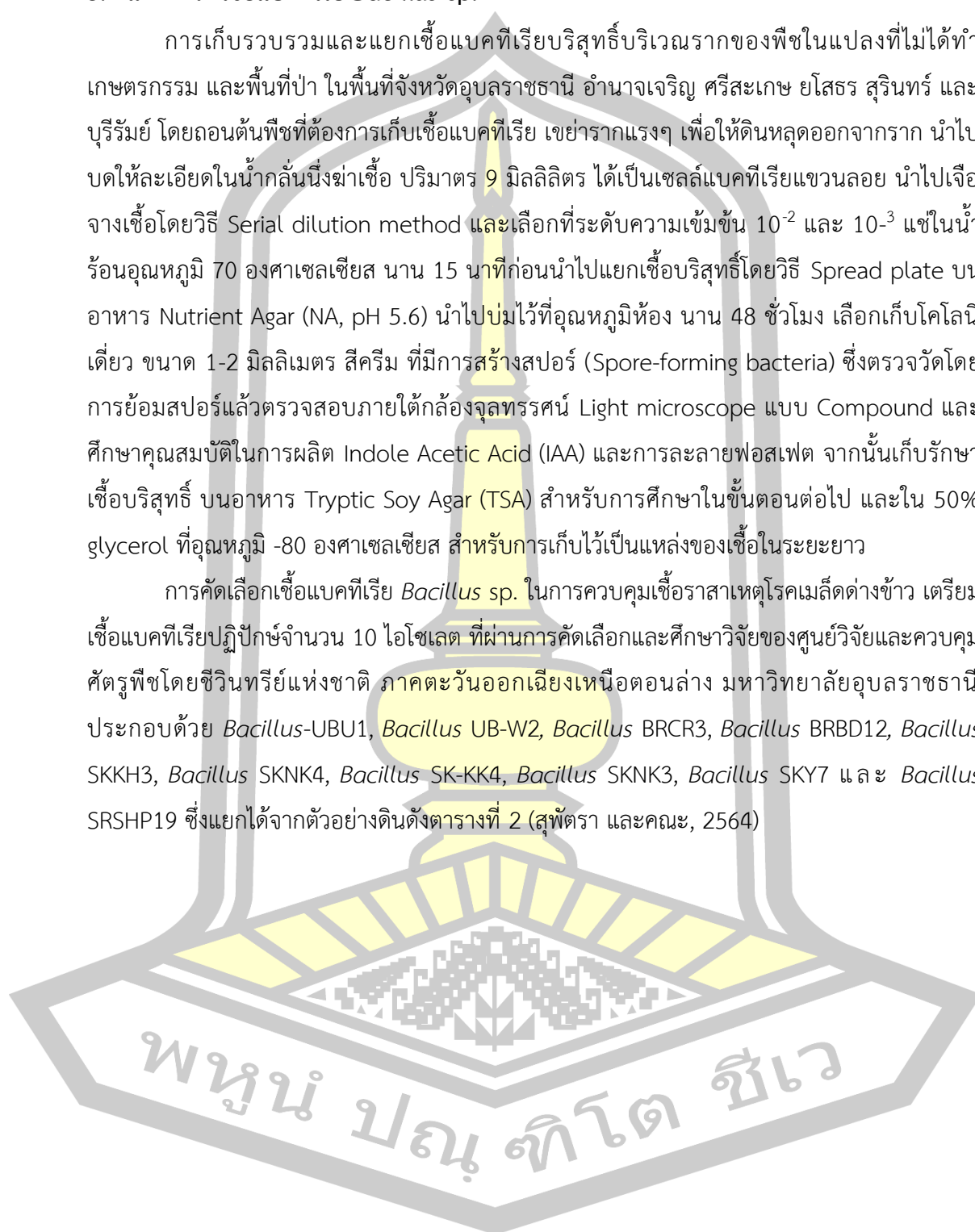
	เปอร์เซ็นต์การ		เชื้อสาเหตุที่พบ (%)				
	เกิดโรค (%)	<i>Curvularia</i> sp.	<i>Cercospora</i> sp.	<i>Bipolaris</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Trichoconis</i> sp.	<i>Sarocladium</i> sp.
อุบลราชธานี	86.12	86.12	74.00	45.00	45.00	45.00	25.00
บุรีรัมย์	89.00	89.00	73.00	52.00	52.00	52.00	21.00
ศรีสะเกษ	81.00	81.00	72.00	36.00	36.00	36.00	36.00
อำนาจเจริญ	84.00	84.00	84.00	40.00	40.00	40.00	40.00
ยโสธร	78.33	80.00	70.00	32.00	32.00	45.00	45.00
สุรินทร์	83.63	83.63	70.00	38.00	38.00	58.00	58.00
นครราชสีมา	78.50	78.50	78.50	24.00	34.00	44.00	44.00
เฉลี่ย (%)	82.94	83.18	74.50	38.14	39.57	45.71	38.43

ที่มา: สุพิตร และคณะ (2564)

3.2 แหล่งที่มาเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp.

การเก็บรวบรวมและแยกเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์บริเวณรากของพืชในแปลงที่ไม่ได้ทำเกษตรกรรม และพื้นที่ป่า ในพื้นที่จังหวัดอุบลราชธานี อำนาจเจริญ ศรีสะเกษ ยโสธร สุรินทร์ และบุรีรัมย์ โดยถอนต้นพืชที่ต้องการเก็บเชื้อแบคทีเรีย เขย่ารากแรงๆ เพื่อให้ดินหลุดออกจากราก นำไปบดให้ละเอียดในน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ได้เป็นเซลล์แบคทีเรียแขวนลอย นำไปเจือจางเชื้อโดยวิธี Serial dilution method และเลือกที่ระดับความเข้มข้น 10^{-2} และ 10^{-3} แหย่ในน้ำร้อนอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 15 นาทีก่อนนำไปแยกเชื้อบริสุทธิ์โดยวิธี Spread plate บนอาหาร Nutrient Agar (NA, pH 5.6) นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 48 ชั่วโมง เลือกเก็บโคโลนีเดี่ยว ขนาด 1-2 มิลลิเมตร สีครีม ที่มีการสร้างสปอร์ (Spore-forming bacteria) ซึ่งตรวจวัดโดยการย้อมสปอร์แล้วตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Light microscope แบบ Compound และศึกษาคุณสมบัติในการผลิต Indole Acetic Acid (IAA) และการละลายฟอสเฟต จากนั้นเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์ บนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) สำหรับการศึกษาในขั้นตอนต่อไป และใน 50% glycerol ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส สำหรับการเก็บไว้เป็นแหล่งของเชื้อในระยะยาว

การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว เตรียมเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จำนวน 10 ไอโซเลต ที่ผ่านการคัดเลือกและศึกษาวิจัยของศูนย์วิจัยและควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ประกอบด้วย *Bacillus*-UBU1, *Bacillus* UB-W2, *Bacillus* BRRCR3, *Bacillus* BRBD12, *Bacillus* SKKH3, *Bacillus* SKNK4, *Bacillus* SK-KK4, *Bacillus* SKNK3, *Bacillus* SKY7 และ *Bacillus* SRSHP19 ซึ่งแยกได้จากตัวอย่างดินดังตารางที่ 2 (สุพัตรา และคณะ, 2564)



ตารางที่ 2 แบคทีเรีย 10 ไอโซเลต ที่คัดแยกได้จากดินที่เก็บตัวอย่างดินจากป่าดิบชื้นภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง ประเทศไทย

ไอโซเลต	วัน/เดือน/ปี	สถานที่เก็บตัวอย่างดิน	พิกัด
<i>Bacillus</i> UBU1	5 มิ.ย. 64	บริเวณป่าใกล้แหล่งน้ำ ม.อุบลราชธานี จุดที่ 3 จ.อุบลราชธานี	N15°07'20" E104°54'55"
<i>Bacillus</i> UBW2	5 มิ.ย. 64	บริเวณป่า อ. วารินชำราบ จ. อุบลราชธานี	N15°8'7" E104°55'35"
<i>Bacillus</i> BRRCR3	5 มิ.ย. 64	บริเวณป่า อ.แคนดง จ.บุรีรัมย์	N15°22'57" E103°5'36"
<i>Bacillus</i> BRBD12	15 มิ.ย. 64	บริเวณป่าในวัด อ.บ้านด่าน จ.บุรีรัมย์	N15°8'5" E103°11'28"
<i>Bacillus</i> SKKH3	3 ก.ค. 64	บริเวณป่าใกล้แหล่งน้ำ อ.กันทรารมย์ จ.ศรีสะเกษ	N15°2'7" E104°37'49"
<i>Bacillus</i> SKNK4	3 ก.ค. 64	บริเวณป่า อ.โนนคูณจุดที่ 2 จ.ศรีสะเกษ	N14°51'39" E104°40'5"
<i>Bacillus</i> SKKK4	3 ก.ค. 64	บริเวณป่า อ.ขุนขันธ์ จ.ศรีสะเกษ	N14°38'20" E104°6'29"
<i>Bacillus</i> SKNK3	3 ก.ค. 64	บริเวณป่า อ. โนนคูณจุดที่ 1 จ.ศรีสะเกษ	N14°53'5" E104°42'33"
<i>Bacillus</i> SKY7	3 ก.ค. 64	บริเวณป่าไต้ต้นไผ่ อ.ยางชุมน้อย จ.ศรีสะเกษ	N15°13'9" E104°24'12"
<i>Bacillus</i> SRSHP19	4 ก.ค. 64	บริเวณนา อ. ศรีขรรค์ จ.สุรินทร์	N4°55'15" E03°46'15"

ที่มา: สุพัตรา และคณะ (2564)

3.3 วิธีการดำเนินงาน

การทดลองที่ 1 การทดสอบการก่อโรคของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

เพื่อศึกษาระดับความรุนแรงของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างจำนวน 6 ไอโซเลต บนเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 โดยใช้แผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ 9 กรรมวิธี ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 รายละเอียดกรรมวิธีในการทดสอบการก่อโรคของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105

กรรมวิธี	รายละเอียดกรรมวิธี ^{1/}
T1	control – เมล็ดข้าวที่ไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง (ชุดควบคุม)
T2	control + เมล็ดข้าวที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดข้าว (<i>Curvularia</i> sp.) (ชุดควบคุม) ^{2/}
T3	เชื้อรา <i>Curvularia</i> sp.
T4	เชื้อรา <i>Cercospora</i> sp.
T5	เชื้อรา <i>Bipolaris</i> sp.
T6	เชื้อรา <i>Fusarium</i> sp.
T7	เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.
T8	เชื้อรา <i>Sarocladium</i> sp.
T9	เชื้อรา <i>Curvularia</i> sp., <i>Cercospora</i> sp. <i>Bipolaris</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Trichoconis</i> sp. และ <i>Sarocladium</i> sp.

หมายเหตุ: ^{1/} ความเข้มข้น 1×10^6 สปอร์/มิลลิลิตร, ^{2/} เชื้อรา *Curvularia* sp. จากกรมวิชาการเกษตร

ทำการทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคเมล็ดต่างข้าวจากเชื้อราที่แยกได้โดยใช้วิธี seed inoculation assay (Jeon et al., 2013) โดยเลี้ยงเชื้อรา จำนวน 6 ชนิด บนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส จากนั้นเทน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้วบนผิวหน้าอาหาร ใช้แท่งแก้วชุดผิวหน้าให้เชื้อกระจายในน้ำกลั่น แล้วนำมากรองผ่านผ้าขาวบาง ปรับความเข้มข้นของสปอร์ของเชื้อราให้มีความเข้มข้น 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ทำการฆ่าเชื้อที่ผิวเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ด้วย 2.5 เปอร์เซ็นต์ Sodium hypochlorite นาน 3 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 3 นาที จากนั้นผึ่งเมล็ดให้แห้งในตู้ปลอดเชื้อก่อนนำไปใช้แช่ลงในสารแขวนลอยของสปอร์บ่มเชื้อไว้ 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดวางเมล็ดลงในจานทดลองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ซึ่งรองพื้นจานทดลองด้วยกระดาษเพาะเมล็ดที่ผ่านการนิ่งฆ่าเชื้อแล้ว จำนวน 50 เมล็ดต่อจาน ปิดฝาจานทดลองและวางในตู้ปลอดเชื้อเพื่อบันทึกผลต่อไป

บันทึกผล

ประเมินโรคเมล็ดต่างที่เกิดขึ้นภายหลังจากปลูกเชื้อรา 3, 5, 7, 14 และ 21 วัน โดยประเมินอาการบนเมล็ดข้าว โดยสุ่มเมล็ดข้าวกรรมวิธีละ 400 เมล็ด ตามกฎของ ISTA แบ่งระดับอาการเป็น 6 ระดับ (ดัดแปลงจาก พรทิพย์, 2545) ดังนี้

ระดับ 0 ไม่แสดงอาการของโรค

ระดับ 1 แสดงอาการแผลจุดขนาดเล็กกว่า 0.1 มิลลิเมตร

ระดับ 2 แสดงอาการแผลจุดขนาดใหญ่กว่า 0.1 มิลลิเมตร

ระดับ 3 แสดงอาการแผลดำใหญ่ไม่น้อยกว่า 50% ของพื้นที่เมล็ด

ระดับ 4 แสดงอาการแผลดำขนาดใหญ่ 50-75% ของพื้นที่เมล็ด

ระดับ 5 แสดงอาการดำขนาดใหญ่กว่า 75% ของพื้นที่เมล็ด

ความงอกของเมล็ด (germination percentage: %G โดยใช้สูตร (ISTA, 2016; Yousof *et al.*, 2010; Manisha and Angoorbala, 2015):

$$\text{ความงอก (\%)} = \left(\frac{\text{จำนวนต้นกล้าที่งอกปกติ}}{\text{จำนวนเมล็ดที่ปลูกทั้งหมด}} \right) \times 100$$

ความแข็งแรงของต้นกล้า เมื่อต้นกล้าครบ 7 วัน นำเมล็ดออกมาตรวจนับความงอก นำต้นกล้าที่ปกติมาตัดเอาเฉพาะส่วนยอดกับส่วนรากอ่อน บรรจุลงกระดาษ นำไปอบที่อุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปชั่งน้ำหนักแห้งของยอดอ่อนและรากอ่อน แล้วคำนวณหาอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้าจากสูตร (ISTA, 2006) ดังต่อไปนี้

$$\text{อัตราการเจริญเติบโต} = \frac{\text{น้ำหนักแห้งของยอดอ่อนและรากอ่อน}}{\text{จำนวนต้นกล้าปกติ}}$$

วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างด้วย Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซนต์

ขั้นตอนตรวจสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีที่สำคัญต่อการเสื่อมคุณภาพเมล็ดพันธุ์

ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ดัดแปลงจากวิธีของ (Velikova *et al.*, 2000) โดยสกัดจากเมล็ดข้าวที่ผ่านการบด 0.2 กรัม เติมน้ำ 0.1% Trichloroacetic acid (TCA) 1.5 มิลลิลิตร ทำการปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ทำการแยกสารละลายส่วนใสปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร เติมน้ำ 10 mM potassium phosphate buffer (pH 7.0) 0.5 มิลลิลิตร และ 1 M Potassium iodide 1 มิลลิลิตร แล้วทำการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 390 nm หลังจากนั้น คำนวณหาปริมาณ H_2O_2 โดยเปรียบเทียบกับค่าดูดกลืนแสงมาตรฐานในแต่ละความเข้มข้น ของสาร H_2O_2 และนำไปใช้ในขั้นตอนการตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระในขั้นตอนต่อไป

การตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส (EC 1.11.1.6) การตรวจวัดการลดลงของสาร H_2O_2 โดยเตรียมสารละลายที่ใช้ทำปฏิกิริยาทั้งหมด 2 มิลลิลิตร ประกอบด้วย 50 mM potassium phosphate buffer, (pH 7.0) 1.8 มิลลิลิตร ผสมกับ 0.5 M H_2O_2 0.1 มิลลิลิตร และสารสกัดเอนไซม์ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 240 nm แล้วคำนวณกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส โดยค่า extinction coefficient ($40 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) ของ H_2O_2

กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส = (ปริมาณสารตั้งต้นที่ลดลง) ($\mu\text{mol/ml}$) $\times$ ปริมาตรของปฏิกิริยาทั้งหมด (ml) / (เวลา (นาทีก) $\times$ ปริมาตรของเอนไซม์ (ml))

วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างด้วย Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซนต์

การทดลองที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพสารกรองเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว

เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของรูปแบบเซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง

วางแผนการทดลองแบบ $10 \times 6 \times 2$ Factorial in Completely Randomized Design (Factorial in CRD) มี 120 กลุ่มทดลองๆ ละ 4 ซ้ำ ปัจจัย A คือ เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. จำนวน 10 ไอโซเลต ได้แก่ *Bacillus* UBU1, *Bacillus* UBW2, *Bacillus* BRRCR3, *Bacillus* BRBD12, *Bacillus* SKKH3, *Bacillus* SKNK4, *Bacillus* SKKK4, *Bacillus* SKNK3, *Bacillus* SKY7 และ *Bacillus* SRSHP19 ปัจจัย B คือ ลักษณะเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. 2 รูปแบบ ได้แก่ cell suspension และ cell-free culture filtrate ปัจจัย C คือ เชื้อสาเหตุโรคเมล็ดต่าง 6 ชนิด ได้แก่ *Trichoconis* sp., *Sarocladium* sp., *Cercospora* sp., *Bipolaris* sp., *Curvularia* sp. และ *Fusarium* sp. (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 กรรมวิธีในการทดสอบประสิทธิภาพสารกรองเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus sp.* ต่อการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว

กรรมวิธี	รายละเอียดกรรมวิธี
T1	<i>Bacillus</i> UBU1 + cell suspension + <i>Trichoconis</i> sp
T2	<i>Bacillus</i> UBU1 + cell suspension + <i>Sarocladium</i> sp.
T3	<i>Bacillus</i> UBU1 + cell suspension + <i>Cercospora</i> sp.
T4	<i>Bacillus</i> UBU1 + cell suspension + <i>Bipolaris</i> sp.
T5	<i>Bacillus</i> UBU1 + cell suspension + <i>Curvularia</i> sp.
T6	<i>Bacillus</i> UBU1 + cell suspension + <i>Fusarium</i> sp.
T7	<i>Bacillus</i> UBU1 + cell-free culture filtrate + <i>Trichoconis</i> sp.
T8	<i>Bacillus</i> UBU1 + cell-free culture filtrate + <i>Sarocladium</i> sp.
T9	<i>Bacillus</i> UBU1 + cell-free culture filtrate + <i>Cercospora</i> sp.
T10	<i>Bacillus</i> UBU1 + cell-free culture filtrate + <i>Bipolaris</i> sp.
T11	<i>Bacillus</i> UBU1 + cell-free culture filtrate + <i>Curvularia</i> sp.
T12	<i>Bacillus</i> UBU1 + cell-free culture filtrate + <i>Fusarium</i> sp.
T13	<i>Bacillus</i> UBW2 + cell suspension + <i>Trichoconis</i> sp.
T14	<i>Bacillus</i> UBW2 + cell suspension + <i>Sarocladium</i> sp.
T15	<i>Bacillus</i> UBW2 + cell suspension + <i>Cercospora</i> sp.
T16	<i>Bacillus</i> UBW2 + cell suspension + <i>Bipolaris</i> sp.
T17	<i>Bacillus</i> UBW2 + cell suspension + <i>Curvularia</i> sp.
T18	<i>Bacillus</i> UBW2 + cell suspension + <i>Fusarium</i> sp.
T19	<i>Bacillus</i> UBW2 + cell-free culture filtrate + <i>Trichoconis</i> sp.
T20	<i>Bacillus</i> UBW2 + cell-free culture filtrate + <i>Sarocladium</i> sp.
T21	<i>Bacillus</i> UBW2 + cell-free culture filtrate + <i>Cercospora</i> sp.
T22	<i>Bacillus</i> UBW2 + cell-free culture filtrate + <i>Bipolaris</i> sp.
T23	<i>Bacillus</i> UBW2 + cell-free culture filtrate + <i>Curvularia</i> sp.
T24	<i>Bacillus</i> UB-W2 + cell-free culture filtrate + <i>Fusarium</i> sp.
T25	<i>Bacillus</i> BR3R3 + cell suspension + <i>Trichoconis</i> sp.
T26	<i>Bacillus</i> BR3R3 + cell suspension + <i>Sarocladium</i> sp.
T27	<i>Bacillus</i> BR3R3 + cell suspension + <i>Cercospora</i> sp.
T28	<i>Bacillus</i> BR3R3 + cell suspension + <i>Bipolaris</i> sp.
T29	<i>Bacillus</i> BR3R3 + cell suspension + <i>Curvularia</i> sp.
T30	<i>Bacillus</i> BR3R3 + cell suspension + <i>Fusarium</i> sp.
T31	<i>Bacillus</i> BR3R3 + cell-free culture filtrate + <i>Trichoconis</i> sp.

ตารางที่ 4 กรรมวิธีในการทดสอบประสิทธิภาพสารกรองเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว (ต่อ)

กรรมวิธี	รายละเอียดกรรมวิธี
T32	<i>Bacillus</i> BR3 + cell-free culture filtrate + <i>Sarocladium</i> sp.
T33	<i>Bacillus</i> BR3 + cell-free culture filtrate + <i>Cercospora</i> sp.
T34	<i>Bacillus</i> BR3 + cell-free culture filtrate + <i>Bipolaris</i> sp.
T35	<i>Bacillus</i> BR3 + cell-free culture filtrate + <i>Curvularia</i> sp.
T36	<i>Bacillus</i> BR3 + cell-free culture filtrate + <i>Fusarium</i> sp.
T37	<i>Bacillus</i> BR12 + cell suspension + <i>Trichoconis</i> sp.
T38	<i>Bacillus</i> BR12 + cell suspension + <i>Sarocladium</i> sp.
T39	<i>Bacillus</i> BR12 + cell suspension + <i>Cercospora</i> sp.
T40	<i>Bacillus</i> BR12 + cell suspension + <i>Bipolaris</i> sp.
T41	<i>Bacillus</i> BR12 + cell suspension + <i>Curvularia</i> sp.
T42	<i>Bacillus</i> BR12 + cell suspension + <i>Fusarium</i> sp.
T43	<i>Bacillus</i> BR12 + cell-free culture filtrate + <i>Trichoconis</i> sp.
T44	<i>Bacillus</i> BR12 + cell-free culture filtrate + <i>Sarocladium</i> sp.
T45	<i>Bacillus</i> BR12 + cell-free culture filtrate + <i>Cercospora</i> sp.
T46	<i>Bacillus</i> BR12 + cell-free culture filtrate + <i>Bipolaris</i> sp.
T47	<i>Bacillus</i> BR12 + cell-free culture filtrate + <i>Curvularia</i> sp.
T48	<i>Bacillus</i> BR12 + cell-free culture filtrate + <i>Fusarium</i> sp.
T49	<i>Bacillus</i> SKH3 + cell suspension + <i>Trichoconis</i> sp.
T50	<i>Bacillus</i> SKH3 + cell suspension + <i>Sarocladium</i> sp.
T51	<i>Bacillus</i> SKH3 + cell suspension + <i>Cercospora</i> sp.
T52	<i>Bacillus</i> SKH3 + cell suspension + <i>Bipolaris</i> sp.
T53	<i>Bacillus</i> SKH3 + cell suspension + <i>Curvularia</i> sp.
T54	<i>Bacillus</i> SKH3 + cell suspension + <i>Fusarium</i> sp.
T55	<i>Bacillus</i> SKH3 + cell-free culture filtrate + <i>Trichoconis</i> sp.
T56	<i>Bacillus</i> SKH3 + cell-free culture filtrate + <i>Sarocladium</i> sp.
T57	<i>Bacillus</i> SKH3 + cell-free culture filtrate + <i>Cercospora</i> sp.
T58	<i>Bacillus</i> SKH3 + cell-free culture filtrate + <i>Bipolaris</i> sp.
T59	<i>Bacillus</i> SKH3 + cell-free culture filtrate + <i>Curvularia</i> sp.
T60	<i>Bacillus</i> SKH3 + cell-free culture filtrate + <i>Fusarium</i> sp.
T61	<i>Bacillus</i> SK-NK4 + cell suspension + <i>Trichoconis</i> sp.
T62	<i>Bacillus</i> SK-NK4 + cell suspension + <i>Sarocladium</i> sp.
T63	<i>Bacillus</i> SK-NK4 + cell suspension + <i>Cercospora</i> sp.

ตารางที่ 4 กรรมวิธีในการทดสอบประสิทธิภาพสารกรองเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว (ต่อ)

กรรมวิธี	รายละเอียดกรรมวิธี
T64	<i>Bacillus</i> SKNK4 + cell suspension + <i>Bipolaris</i> sp.
T65	<i>Bacillus</i> SKNK4 + cell suspension + <i>Curvularia</i> sp.
T66	<i>Bacillus</i> SKNK4 + cell suspension + <i>Fusarium</i> sp.
T67	<i>Bacillus</i> SKNK4 + cell-free culture filtrate + <i>Trichoconis</i> sp.
T68	<i>Bacillus</i> SKNK4 + cell-free culture filtrate + <i>Sarocladium</i> sp.
T69	<i>Bacillus</i> SKNK4 + cell-free culture filtrate + <i>Cercospora</i> sp.
T70	<i>Bacillus</i> SKNK4 + cell-free culture filtrate + <i>Bipolaris</i> sp.
T71	<i>Bacillus</i> SKNK4 + cell-free culture filtrate + <i>Curvularia</i> sp.
T72	<i>Bacillus</i> SKNK4 + cell-free culture filtrate + <i>Fusarium</i> sp.
T73	<i>Bacillus</i> SKKK4 + cell suspension + <i>Trichoconis</i> sp.
T74	<i>Bacillus</i> SKKK4 + cell suspension + <i>Sarocladium</i> sp.
T75	<i>Bacillus</i> SKKK4 + cell suspension + <i>Cercospora</i> sp.
T76	<i>Bacillus</i> SKKK4 + cell suspension + <i>Bipolaris</i> sp.
T77	<i>Bacillus</i> SKKK4 + cell suspension + <i>Curvularia</i> sp.
T78	<i>Bacillus</i> SKKK4 + cell suspension + <i>Fusarium</i> sp.
T79	<i>Bacillus</i> SKKK4 + cell-free culture filtrate + <i>Trichoconis</i> sp.
T80	<i>Bacillus</i> SKKK4 + cell-free culture filtrate + <i>Sarocladium</i> sp.
T81	<i>Bacillus</i> SKKK4 + cell-free culture filtrate + <i>Cercospora</i> sp.
T82	<i>Bacillus</i> SKKK4 + cell-free culture filtrate + <i>Bipolaris</i> sp.
T83	<i>Bacillus</i> SKKK4 + cell-free culture filtrate + <i>Curvularia</i> sp.
T84	<i>Bacillus</i> SKKK4 + cell-free culture filtrate + <i>Fusarium</i> sp.
T85	<i>Bacillus</i> SKNK3 + cell suspension + <i>Trichoconis</i> sp.
T86	<i>Bacillus</i> SKNK3 + cell suspension + <i>Sarocladium</i> sp.
T87	<i>Bacillus</i> SKNK3 + cell suspension + <i>Cercospora</i> spp.
T88	<i>Bacillus</i> SKNK3 + cell suspension + <i>Bipolaris</i> sp.
T89	<i>Bacillus</i> SKNK3 + cell suspension + <i>Curvularia</i> sp.
T90	<i>Bacillus</i> SKNK3 + cell suspension + <i>Fusarium</i> sp.
T91	<i>Bacillus</i> SKNK3 + cell-free culture filtrate + <i>Trichoconis</i> sp.
T92	<i>Bacillus</i> SKNK3 + cell-free culture filtrate + <i>Sarocladium</i> sp.
T93	<i>Bacillus</i> SKNK3 + cell-free culture filtrate + <i>Cercospora</i> sp.
T94	<i>Bacillus</i> SKNK3 + cell-free culture filtrate + <i>Bipolaris</i> sp.
T95	<i>Bacillus</i> SKNK3 + cell-free culture filtrate + <i>Curvularia</i> sp.

ตารางที่ 4 กรรมวิธีในการทดสอบประสิทธิภาพสารกรองเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว (ต่อ)

กรรมวิธี	รายละเอียดกรรมวิธี
T96	<i>Bacillus</i> SKNK3 + cell-free culture filtrate + <i>Fusarium</i> sp.
T97	<i>Bacillus</i> SKY7 + cell suspension + <i>Trichoconis</i> sp.
T98	<i>Bacillus</i> SKY7 + cell suspension + <i>Sarocladium</i> sp.
T99	<i>Bacillus</i> SKY7 + cell suspension + <i>Cercospora</i> sp.
T100	<i>Bacillus</i> SKY7 + cell suspension + <i>Bipolaris</i> sp.
T101	<i>Bacillus</i> SKY7 + cell suspension + <i>Curvularia</i> sp.
T102	<i>Bacillus</i> SKY7 + cell suspension + <i>Fusarium</i> sp.
T103	<i>Bacillus</i> SKY7 + cell-free culture filtrate + <i>Trichoconis</i> sp.
T104	<i>Bacillus</i> SKY7 + cell-free culture filtrate + <i>Sarocladium</i> sp.
T105	<i>Bacillus</i> SKY7 + cell-free culture filtrate + <i>Cercospora</i> sp.
T106	<i>Bacillus</i> SKY7 + cell-free culture filtrate + <i>Bipolaris</i> sp.
T107	<i>Bacillus</i> SKY7 + cell-free culture filtrate + <i>Curvularia</i> sp.
T108	<i>Bacillus</i> SKY7 + cell-free culture filtrate + <i>Fusarium</i> sp.
T109	<i>Bacillus</i> SRSH19 + cell suspension + <i>Trichoconis</i> sp.
T110	<i>Bacillus</i> SRSH19 + cell suspension + <i>Sarocladium</i> sp.
T111	<i>Bacillus</i> SRSH19 + cell suspension + <i>Cercospora</i> sp.
T112	<i>Bacillus</i> SRSH19 + cell suspension + <i>Bipolaris</i> sp.
T113	<i>Bacillus</i> SRSH19 + cell suspension + <i>Curvularia</i> sp.
T114	<i>Bacillus</i> SRSH19 + cell suspension + <i>Fusarium</i> sp.
T115	<i>Bacillus</i> SRSH19 + cell-free culture filtrate + <i>Trichoconis</i> sp.
T116	<i>Bacillus</i> SRSH19 + cell-free culture filtrate + <i>Sarocladium</i> sp.
T117	<i>Bacillus</i> SRSH19 + cell-free culture filtrate + <i>Cercospora</i> sp.
T118	<i>Bacillus</i> SRSH19 + cell-free culture filtrate + <i>Bipolaris</i> sp.
T119	<i>Bacillus</i> SRSH19 + cell-free culture filtrate + <i>Curvularia</i> sp.
T120	<i>Bacillus</i> SRSH19 + cell-free culture filtrate + <i>Fusarium</i> sp.

ขั้นตอนวิธีการเตรียมแบคทีเรีย *Bacillus* sp. จำนวน 10 ไโสลิต เลี้ยงบนอาหารเหลว Tryptic Soy Broth (TSB) บ่มแบบเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบ/นาที อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง จะได้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่อยู่ในรูปแบบ cell suspension และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. อีกส่วนนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เก็บ

ส่วนน้ำใส (Supernatant) ที่ได้กรองผ่านเยื่อกรอง (Membrane filter) ขนาด 0.45 ไมโครเมตร ได้น้ำเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากเซลล์แบคทีเรีย Cell-free culture filtrate (สุพจน, 2545)

ขั้นตอนวิธีการเตรียมเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว จำนวน 6 ชนิด เลี้ยงบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) บ่มที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

ขั้นตอนการทดสอบรูปแบบของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว บนจานอาหารด้วยวิธี Dual culture method โดยใช้ Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อายุ 7 วัน ที่ป้ายขึ้นวุ้นไปวางตรงกลางบนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) จากนั้นใช้ Paper disc ที่จุ่มกับ cell suspension และ Cell-free culture filtrate โดยวางห่างจากขอบจานอาหาร 2 เซนติเมตร 5 จุดต่อจาน และวิธีควบคุมวางเฉพาะเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างตรงกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 เซนติเมตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส ทำการการทดลองในระดับห้องปฏิบัติการ เป็นเวลา 7 วัน บันทึกผลการทดลองและคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ} = \frac{(R1 - R2)}{R1} \times 100$$

R1 = รัศมีของโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคในจานควบคุม

R2 = รัศมีของโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคในจานอาหารเลี้ยงเชื้อผสมน้ำเลี้ยงเชื้อ

ทำการบันทึกผลการทดลอง คำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใย วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างด้วย Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ และคัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่ยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าวได้ดีที่สุด 5 ลำดับแรกเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

พูน ปณ ทิโต ชีเว

การทดลองที่ 3 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในการยับยั้งการงอก สปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว

เพื่อศึกษาผลของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว

วางแผนการทดลองแบบ 5x6 Factorial in Completely Randomized Design (Factorial in CRD) มี 30 กลุ่มทดลองๆ ละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 100 สปอร์ ดังตารางที่ 5 ประกอบด้วย ปัจจัย A คือ เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. จำนวน 5 ไอโซเลต ปัจจัย B คือ เชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง 6 ชนิด ได้แก่ *Trichoconis* sp., *Sarocladium* sp., *Cercospora* sp., *Bipolaris* sp., *Curvularia* sp. และ *Fusarium* sp.

ตารางที่ 5 กรรมวิธีในการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว

กรรมวิธี	รายละเอียดกรรมวิธี
T1	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลต 1 + <i>Trichoconis</i> sp.
T2	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลต 1 + <i>Sarocladium</i> sp.
T3	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลต 1 + <i>Cercospora</i> sp.
T4	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลต 1 + <i>Bipolaris</i> sp.
T5	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลต 1 + <i>Curvularia</i> sp.
T6	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลต 1 + <i>Fusarium</i> sp.
T7	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลต 2 + <i>Trichoconis</i> sp.
T8	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลต 2 + <i>Sarocladium</i> sp.
T9	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลต 2 + <i>Cercospora</i> sp.
T10	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลต 2 + <i>Bipolaris</i> sp.
T11	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลต 2 + <i>Curvularia</i> sp.
T12	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลต 2 + <i>Fusarium</i> sp.
T13	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลต 3 + <i>Trichoconis</i> sp.
T14	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลต 3 + <i>Sarocladium</i> sp.
T15	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลต 3 + <i>Cercospora</i> sp.
T16	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลต 3 + <i>Bipolaris</i> sp.
T17	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลต 3 + <i>Curvularia</i> sp.
T18	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลต 3 + <i>Fusarium</i> sp.
T19	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลต 4 + <i>Trichoconis</i> sp.

กรรมวิธี	รายละเอียดกรรมวิธี
T20	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลต 4 + <i>Sarocladium</i> sp.
T21	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลต 4 + <i>Cercospora</i> sp.
T22	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลต 4 + <i>Bipolaris</i> sp.
T23	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลต 4 + <i>Curvularia</i> sp.
T24	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลต 4 + <i>Fusarium</i> sp.
T25	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลต 5 + <i>Trichoconis</i> sp.
T26	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลต 5 + <i>Sarocladium</i> sp.
T27	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลต 5 + <i>Cercospora</i> sp.
T28	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลต 5 + <i>Bipolaris</i> sp.
T29	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลต 5 + <i>Curvularia</i> sp.
T30	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลต 5 + <i>Fusarium</i> sp.

การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. นำเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่บริสุทธิ์จำนวน 5 ไอโซเลต เลี้ยงบนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) บ่มที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เติมน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ใช้หวงเขี่ยเชื้อชุดโคโลนีของแบคทีเรียให้หลุดออกจากผิวหน้าอาหาร จากนั้นนำไปปรับความเข้มข้นให้ได้ 10^8 CFU/ml ด้วยการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ค่าความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร เท่ากับ 0.2 OD (บุษราคัม และ คณะ, 2560)

การเตรียม spore suspension ของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง ปรับความเข้มข้นของ spore suspension โดยใช้ Haemocytometer ให้ได้ความเข้มข้นที่ 10^6 CFU/ml

การทดสอบเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง หยดสปอร์แขวนลอยเชื้อราสาเหตุลงบนสไลด์หลุมที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ตามด้วยหยดเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ผสมลงไป (1:1) นำสไลด์บ่มในกล่องขึ้น วางไว้ในอุณหภูมิห้อง 28 ± 2 องศาเซลเซียส ตรวจผลที่ 15 ชั่วโมงหลังทดสอบ

ทำการบันทึกผลการทดลอง และคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา (Alam et al., 2021) ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา} = \frac{(x-y)}{x} \times 100$$

x คือ จำนวนสปอร์ที่งอกในชุดควบคุม

y คือ จำนวนสปอร์ที่งอกในชุดทดสอบ

วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างด้วย Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซนต์

การทดลองที่ 4 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อการงอกของ เมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

เพื่อศึกษาผลของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้า ข้าวขาวดอกมะลิ 105

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 รายละเอียดกรรมวิธีในการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อการงอก และการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวขาวดอกมะลิ 105

กรรมวิธี	รายละเอียดกรรมวิธี
T1	Control (กรรมวิธีควบคุมไม่คลุกเชื้อ) + เมล็ดข้าวขาวดอกมะลิ 105
T2	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 1 + เมล็ดข้าวขาวดอกมะลิ 105
T3	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 2 + เมล็ดข้าวขาวดอกมะลิ 105
T4	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 3 + เมล็ดข้าวขาวดอกมะลิ 105
T5	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 4 + เมล็ดข้าวขาวดอกมะลิ 105
T6	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 5 + เมล็ดข้าวขาวดอกมะลิ 105

การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. นำเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่บริสุทธิ์จำนวน 5 ไอโซเลต เลี้ยงบนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) บ่มที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เติมน้ำกลั่นหนึ่งฝาเชื้อ จำนวน 5 มิลลิลิตร/จาน ใช้แท่งแก้วรูปตัวแอลที่ปลอดเชื้อชุบโคลนเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ให้ผสมกันกับน้ำและปรับความเข้มข้น 10^8 CFU/ml จากนั้นใช้หัวเข็มเชื้อย้ายโคลนเชื้อแบคทีเรียเพื่อนำไปผสมกับ methylcellulose ความเข้มข้น 1% ปริมาณ 25 มิลลิกรัม ได้สารละลายที่พร้อมนำไปคลุกเมล็ดพันธุ์ข้าวต่อไป

การเตรียมเมล็ดข้าวเคลือบด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิบัณ *Bacillus* sp. ทำการฆ่าเชื้อที่ผิวเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ด้วย 2.5% sodiumhypochlorite นาน 3 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฝาเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 3 นาที ผึ่งเมล็ดให้แห้งในตู้ปลอดเชื้อ

การทดสอบเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในสภาพห้องปฏิบัติการ นำเมล็ดข้าวที่ผ่านการฆ่าเชื้อ อัตรา 50 กรัม คลุกเคล้ากับสารละลาย methylcellulose ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ในกรรมวิธีควบคุมคลุกเมล็ดข้าวด้วยสารละลาย methylcellulose เพียงอย่างเดียว จากนั้นนำเมล็ดข้าวที่คลุกวางฝังให้แห้งในตู้ปลอดเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำเมล็ดข้าววางใส่ลงในจานทดลองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ซึ่งรองพื้นจานทดลองด้วยกระดาษเพาะเมล็ดที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว จำนวน 50 เมล็ดต่อจาน ปิดฝาจานทดลองและวางจานทดลองไว้ในชั้นเพาะเลี้ยง โดยให้แสงสว่างด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ชนิด daylight ความเข้ม 3,800 ลักซ์ 13 ชั่วโมงต่อวัน

บันทึกผลการทดลอง

นำต้นกล้าข้าวขาวดอกมะลิ 105 เมื่ออายุครบ 7 และ 14 วัน บันทึกความงอกของเมล็ด (germination percentage: %G โดยใช้สูตร (ISTA, 2016; Yousof *et al.*, 2010; Manisha and Angoorbala, 2015):

$$\text{ความงอก (\%)} = \left(\frac{\text{จำนวนต้นกล้าที่งอกปกติ}}{\text{จำนวนเมล็ดที่ปลูกทั้งหมด}} \right) \times 100$$

ดัชนีการงอกดัชนีการงอกของเมล็ดพันธุ์ (Germination index หรือ speed of germination) เป็นวิธีการตรวจสอบความแข็งแรงของเมล็ดจากอัตราการความเร็วในการงอกของเมล็ดพันธุ์ โดยอาศัย หลักการว่าเมล็ดที่แข็งแรงงอกได้อย่างรวดเร็ว แต่ทั้งนี้เมล็ดพันธุ์ต้องไม่มีการพักตัวหรือการพักตัวสิ้นสุดแล้ว วิธีการคล้ายกับการทดสอบความงอกมาตรฐาน ซึ่งอาจทำควบคู่ไปด้วยกัน แต่ต้องทำการตรวจนับการงอกทุกวัน นับจากวันแรกที่เมล็ดงอก นำต้นกล้าข้าวขาวดอกมะลิ 105 เมื่ออายุครบ 7 และ 14 วัน ประเมินผลค่าดัชนีการงอกได้จากผลรวมของสัดส่วนระหว่างจำนวนต้นกล้าที่งอกต่อจำนวนวันหลังเพาะ

$$\text{ดัชนีการงอกเมล็ด} = \frac{\text{ผลบวกของ (จำนวนต้นที่งอก)}}{\text{(จำนวนวันหลังเพาะ)}}$$

อัตราการความเร็วในการงอก นับจำนวนเมล็ดที่งอกเป็นต้นกล้าปกติ ประเมินนับทุกวัน ตั้งแต่เริ่มนับครั้งแรก (First count) จนถึงวันสุดท้าย (Final count) ครบ 14 วัน บันทึก แล้วนำผลการนับมาคำนวณหาความเร็วในการงอกตามสูตร

$$\text{ความเร็วในการงอก (ต้น/วัน)} = \frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนต้นกล้าปกติที่งอกในแต่ละวันจำนวน)}}{\text{จำนวนวันหลังเพาะ}}$$

พลังงานในการงอก (Germination Energy) หมายถึง สัดส่วนระหว่างจำนวนเมล็ดที่งอกภายใน 3 วันหลังการเพาะเปรียบเทียบกับจำนวนเมล็ดทั้งหมดที่เพาะ

$$\text{พลังงานที่ใช้ในการงอกความเร็วในการงอก} = \frac{\text{จำนวนเมล็ดที่งอกใน 3 วัน}}{\text{จำนวนเมล็ดทั้งหมด}} \times 100$$

ดัชนีความแข็งแรงของต้นกล้า (Seedling Vigor Index) คือตัวชี้วัดความแข็งแรงและความสามารถในการเจริญเติบโตของต้นกล้า นำต้นกล้าข้าวขาวดอกมะลิ 105 เมื่ออายุครบ 14 วัน บันทึกผล และคำนวณดัชนีความแข็งแรงของต้นกล้า:

$$\text{ดัชนีความแข็งแรง} = (\text{ความยาวของต้นกล้า (ซม.)} \times \text{เปอร์เซ็นต์การงอก})$$

ความแข็งแรงของต้นกล้า นำต้นกล้าข้าวขาวดอกมะลิ 105 เมื่ออายุครบ 14 วัน บันทึกผล และนำเมล็ดออกมาตรวจนับความงอก นำต้นกล้าที่ปกติมาตัดเอาเฉพาะส่วนยอดกับส่วนรากอ่อน บรรจุถุงกระดาษ นำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปชั่งน้ำหนักแห้งของยอดอ่อนและรากอ่อน แล้วคำนวณหาอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้าจากสูตร (ISTA, 2006) ดังต่อไปนี้

$$\text{อัตราการเจริญเติบโต} = \frac{\text{น้ำหนักแห้งของยอดอ่อนและรากอ่อน}}{\text{จำนวนต้นกล้าปกติ}}$$

ความยาวราก วัดจากปลายรากที่ยาวที่สุดจนถึงส่วนบนสุดของระบบราก เมื่ออายุครบ 14 วัน บันทึกผลและคำนวณหาค่าเฉลี่ย

ความยาวต้น วัดความยาวไปตามลำต้นจนถึงยอดสุดของลำต้น หรือส่วนที่สูงที่สุดของต้นข้าว เมื่ออายุครบ 14 วัน บันทึกผล และคำนวณหาค่าเฉลี่ย

น้ำหนักสดราก สุ่มเมล็ดมาเพาะในระยะเวลาหนึ่ง จากนั้นนำต้น กล้าที่งอกทั้งหมดมาวัดค่าน้ำหนักสดในส่วนของรากเมื่ออายุครบ 14 วัน บันทึกผลและคำนวณหาค่าเฉลี่ย

น้ำหนักแห้งของราก สุ่มเมล็ดมาเพาะในระยะเวลาหนึ่ง จากนั้นนำต้นกล้าข้าวขาวดอกมะลิ 105 เมื่ออายุครบ 14 วัน ที่งอกทั้งหมดมาวัดค่าน้ำหนักแห้ง โดยการอบที่อุณหภูมิ 70-75°C เป็นเวลานาน 72 ชั่วโมง ประเมินผลจากการชั่งน้ำหนักแห้งของรากที่ได้

น้ำหนักสดต้น สุ่มเมล็ดมาเพาะในระยะเวลาหนึ่ง จากนั้นนำต้นกล้าข้าวขาวดอกมะลิ 105 เมื่ออายุครบ 14 วัน ที่งอกทั้งหมดมาวัดค่าน้ำหนักสดในส่วนของต้นกล้า และคำนวณหาค่าเฉลี่ย

น้ำหนักแห้งของต้นกล้า (Seedling dry weight) เป็นการตรวจสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์โดยใช้น้ำหนักแห้งของต้นกล้าเป็นเกณฑ์ มีหลักการว่าเมล็ดที่มีความแข็งแรงย่อมให้กล้า ที่เจริญเติบโตดี ให้น้ำหนักแห้งของต้นกล้ามาก วิธีการคือ สุ่มเมล็ดมาเพาะในระยะเวลาหนึ่ง จากนั้นนำต้นกล้าข้าวขาวดอกมะลิ 105 เมื่ออายุครบ 14 วัน ที่งอกทั้งหมดมาวัดค่าน้ำหนักแห้ง โดยการอบที่อุณหภูมิ 70-75°C เป็นเวลานาน 72 ชั่วโมง ประเมิน ผลจากค่าความแข็งแรงของเมล็ดจากน้ำหนักแห้งของต้นกล้าที่ได้

ปริมาณน้ำตาล (sugar estimation) (Dubois et al., 1956)

นำต้นกล้าข้าวขาวดอกมะลิ 105 เมื่ออายุครบ 14 วัน วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล ตามวิธีการของ Lane and Eynon (AOAC, 2000) ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ คำนวณหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (Total Soluble Solids, °Brix)

การวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนอิสระ (Free Amino acid contents)) ตามวิธีของ Jimenez-Martín et al. (2012)

นำต้นกล้าข้าวขาวดอกมะลิ 105 เมื่ออายุครบ 14 วัน ที่ถูกบดละเอียดแล้วจำนวน 100 มิลลิกรัม เติมนอร์มอลโซเดียมคลอไรด์ 25 เปอร์เซ็นต์ ในกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล ปริมาตร 4 มิลลิลิตร นำตัวอย่างไป sonicate เป็นเวลา 20 นาที และปั่นเหวี่ยงที่ด้วยเครื่อง Centrifuge ความเร็ว 9,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที นำตัวอย่างส่วนใสที่ได้ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผ่าน solid phase extraction (SPE) และทำปฏิกิริยา ตามขั้นตอนของชุดทดสอบ EZ-Faast (Phenomenex, USA) และวิเคราะห์ด้วย GC-MS

การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ (Total Chlorophyll) และแคโรทีนอยด์ (Carotenoids) (Iqbal et al., 2013)

นำต้นกล้าข้าวขาวดอกมะลิ 105 เมื่ออายุครบ 14 วัน แต่ละตัวอย่างใช้กรรไกรตัดให้เป็นชิ้นเล็กๆ ใส่ขวดพลาสติกแล้วเขย่าให้เข้ากัน จากนั้นชั่งใบน้ำหนักที่แน่นอน 0.2 กรัม ใส่ในโถงบด และชั่ง Magnesium carbonate ($MgCO_3$) จำนวน 0.1 กรัม บดให้ละเอียดจนเปื่อยยุ่ย แล้วเติม ตัวทำละลายที่มีอะซิโตน 80% จำนวน 25 มิลลิลิตร เทใส่หลอดเซนติฟิวส์ ขนาด 50 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ในตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเหวี่ยงปั่นด้วยเครื่อง Centrifuge ความเร็ว

10,000 รอบต่อนาที (rpm) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ส่วนใสที่สกัดได้ใส่ลงในขวดวัดปริมาตร แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 50 มิลลิลิตรด้วยตัวทำละลายที่มีอะซิโตน 80% (พาส้า 3 ครั้ง) นำสารละลายไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 480 510 645 และ 663 นาโนเมตร โดยใช้ตัวทำละลายที่มีอะซิโตน 80% เป็น blank (Gogoi & Basumatary, 2018; Kamble et al., 2015) นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ ไปคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์เอ (Chlorophyll-a) คลอโรฟิลล์บี (Chlorophyll-b) คลอโรฟิลล์ทั้งหมด (Total Chlorophyll) และแคโรทีนอยด์ (Carotenoid) ในหน่วย มิลลิกรัม/ลิตร สามารถคำนวณได้จากสมการที่ (1-4) และรายงานผลการวิเคราะห์ในหน่วย มิลลิกรัม/กรัม ของน้ำหนักใบสด คำนวณได้จากสมการที่ (5)

การคำนวณปริมาณคลอโรฟิลล์ (Arnon, 1949)

$$\text{Chlorophyll-a (mg/L)} = 12.7(A_{663}) - 2.69(A_{645}) \quad (1)$$

$$\text{Chlorophyll-b (mg/L)} = 22.9(A_{645}) - 4.68(A_{663}) \quad (2)$$

$$\text{Total Chlorophyll (mg/L)} = 20.2(A_{645}) + 8.02(A_{663}) \quad (3)$$

การคำนวณปริมาณแคโรทีนอยด์ (Momin and Kadam, 2011)

$$\text{Carotenoid (mg/L)} = 7.6(A_{480}) - 1.49(A_{510}) \quad (4)$$

สมการแสดงการรายงานผลในหน่วย มิลลิกรัม/กรัม ของน้ำหนักใบสด

$$\text{Chlorophyll -a (mg/g)} = \text{Chl.a (mg/L)} \times V(\text{ml}) / 1000 \times 1/W(\text{g}) \quad (5)$$

เมื่อ A หมายถึง ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นเฉพาะ
V หมายถึง ปริมาตรสุดท้ายในการปรับปริมาตร (มิลลิลิตร)
W หมายถึง น้ำหนักตัวอย่างใบสด (กรัม)

นำข้อมูลที่ได้ทั้งหมดมาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซนต์

**การทดลองที่ 5 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในการลดโรค
เมล็ดข้าว ในสภาพเรือนทดลอง**

ขั้นตอนวิธีการศึกษา จากการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีผลกระทบต่อการงอกของเมล็ดข้าวน้อยที่สุดต่อ 5 อันดับ เพื่อทำการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในการลดปริมาณการเกิดโรคเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสภาพเรือนทดลอง วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) 4 ซ้ำ 38 กรรมวิธี ดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 กรรมวิธีในการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในการลดโรคเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสภาพเรือนทดลอง

กรรมวิธี	รายละเอียดกรรมวิธี
T1	Control + (กรรมวิธีควบคุมไม่คลุกเชื้อ) แช่เมล็ดข้าวในน้ำปลอดเชื้อนาน 24 ชั่วโมง
T2	Control - (กรรมวิธีควบคุมใช้สารเคมี)
T3	Control (กรรมวิธีควบคุมใช้ <i>B. subtilis</i> ชื่อการค้า ไบโอเบส)
T4	เมล็ดข้าวคลุกด้วยชีวภัณฑ์ <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 1 + เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.
T5	เมล็ดข้าวคลุกด้วยชีวภัณฑ์ <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 1 + เชื้อรา <i>Sarocladium</i> sp.
T6	เมล็ดข้าวคลุกด้วยชีวภัณฑ์ <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 1 + เชื้อรา <i>Cercospora</i> sp.
T7	เมล็ดข้าวคลุกด้วยชีวภัณฑ์ <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 1 + เชื้อรา <i>Bipolaris</i> sp.
T8	เมล็ดข้าวคลุกด้วยชีวภัณฑ์ <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 1 + เชื้อรา <i>Curvularia</i> sp.
T9	เมล็ดข้าวคลุกด้วยชีวภัณฑ์ <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 1 + เชื้อรา <i>Fusarium</i> sp.
T10	เมล็ดข้าวคลุกด้วยชีวภัณฑ์ <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 1 + เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp. + <i>Sarocladium</i> sp. + <i>Cercospora</i> sp. + <i>Bipolaris</i> sp. + <i>Curvularia</i> sp. + <i>Fusarium</i> sp.
T11	เมล็ดข้าวคลุกด้วยชีวภัณฑ์ <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 2 + เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.
T12	เมล็ดข้าวคลุกด้วยชีวภัณฑ์ <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 2 + เชื้อรา <i>Sarocladium</i> sp.
T13	เมล็ดข้าวคลุกด้วยชีวภัณฑ์ <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 2 + เชื้อรา <i>Cercospora</i> sp.
T14	เมล็ดข้าวคลุกด้วยชีวภัณฑ์ <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 2 + เชื้อรา <i>Bipolaris</i> sp.
T15	เมล็ดข้าวคลุกด้วยชีวภัณฑ์ <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 2 + เชื้อรา <i>Curvularia</i> sp.
T16	เมล็ดข้าวคลุกด้วยชีวภัณฑ์ <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 2 + เชื้อรา <i>Fusarium</i> sp.
T17	เมล็ดข้าวคลุกด้วยชีวภัณฑ์ <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 2 + เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp. + <i>Sarocladium</i> sp. + <i>Cercospora</i> sp. + <i>Bipolaris</i> sp. + <i>Curvularia</i> sp. + <i>Fusarium</i> sp.
T18	เมล็ดข้าวคลุกด้วยชีวภัณฑ์ <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 3 + เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.
T19	เมล็ดข้าวคลุกด้วยชีวภัณฑ์ <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 3 + เชื้อรา <i>Sarocladium</i> sp.

กรรมวิธี	รายละเอียดกรรมวิธี
T20	เมล็ดข้าวคลุกด้วยชีวภัณฑ์ <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 3 + เชื้อรา <i>Cercospora</i> sp.
T21	เมล็ดข้าวคลุกด้วยชีวภัณฑ์ <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 3 + เชื้อรา <i>Bipolaris</i> sp.
T22	เมล็ดข้าวคลุกด้วยชีวภัณฑ์ <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 3 + เชื้อรา <i>Curvularia</i> sp.
T23	เมล็ดข้าวคลุกด้วยชีวภัณฑ์ <i>Bacillus</i> sp. <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 3 + เชื้อรา <i>Fusarium</i> sp.
T24	เมล็ดข้าวคลุกด้วยชีวภัณฑ์ <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 3 + เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp. + <i>Sarocladium</i> sp. + <i>Cercospora</i> sp. + <i>Bipolaris</i> sp. + <i>Curvularia</i> sp. + <i>Fusarium</i> sp.
T25	เมล็ดข้าวคลุกด้วยชีวภัณฑ์ <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 4 + เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.
T26	เมล็ดข้าวคลุกด้วยชีวภัณฑ์ <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 4 + เชื้อรา <i>Sarocladium</i> sp.
T27	เมล็ดข้าวคลุกด้วยชีวภัณฑ์ <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 4 + เชื้อรา <i>Cercospora</i> sp.
T28	เมล็ดข้าวคลุกด้วยชีวภัณฑ์ <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 4 + เชื้อรา <i>Bipolaris</i> sp.
T29	เมล็ดข้าวคลุกด้วยชีวภัณฑ์ <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 4 + เชื้อรา <i>Curvularia</i> sp.
T30	เมล็ดข้าวคลุกด้วยชีวภัณฑ์ <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 4 + เชื้อรา <i>Fusarium</i> sp.
T31	เมล็ดข้าวคลุกด้วยชีวภัณฑ์ <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 4 + เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp. + <i>Sarocladium</i> sp. + <i>Cercospora</i> sp. + <i>Bipolaris</i> sp. + <i>Curvularia</i> sp. + <i>Fusarium</i> sp.
T32	เมล็ดข้าวคลุกด้วยชีวภัณฑ์ <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 5 + เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.
T33	เมล็ดข้าวคลุกด้วยชีวภัณฑ์ <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 5 + เชื้อรา <i>Sarocladium</i> sp.
T34	เมล็ดข้าวคลุกด้วยชีวภัณฑ์ <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 5 + เชื้อรา <i>Cercospora</i> sp.
T35	เมล็ดข้าวคลุกด้วยชีวภัณฑ์ <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 5 + เชื้อรา <i>Bipolaris</i> sp.
T36	เมล็ดข้าวคลุกด้วยชีวภัณฑ์ <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 5 + เชื้อรา <i>Curvularia</i> sp.
T37	เมล็ดข้าวคลุกด้วยชีวภัณฑ์ <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 5 + เชื้อรา <i>Fusarium</i> sp.
T38	เมล็ดข้าวคลุกด้วยชีวภัณฑ์ <i>Bacillus</i> sp. ไอโซเลตที่ 5 + เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp. + <i>Sarocladium</i> sp. + <i>Cercospora</i> sp. + <i>Bipolaris</i> sp. + <i>Curvularia</i> sp. + <i>Fusarium</i> sp.

การเตรียมเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว โดยเลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 วัน จากนั้นนำไปเตรียมสปอร์แขวนลอยปรับความเข้มข้นให้ได้ 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร โดยใช้ Haemocytometer

การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ทั้ง 5 ไอโซเลต โดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร TSA บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง (Santos et al., 2021) เติมน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อลงไป 20 มิลลิลิตร/จาน ใช้แท่งแก้วปลอดเชื้อชุดเซลล์ผสมกับน้ำกลั่น ปรับปริมาตรความเข้มข้น 1×10^8

โคโลนี/มิลลิลิตร ดูดเซลล์แขวนลอยเชื้อปฏิปักษ์ จำนวน 15 มิลลิลิตร ผสมลงในโปรตีนปลาผสมกากถั่วเหลือง ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บ่มแบบเขย่า ที่ความเร็ว 130 รอบ/นาที สภาพอุณหภูมิห้อง นาน 48 ชั่วโมง นำไปผสมกับ Carboxymethylcellulose, Talcum และ $MgSO_4$ อัตรา 1 : 1 : 4 ผสมให้เข้ากันดี ก่อนนำไปผึ่งให้แห้งในที่ร่มนาน 24 ชั่วโมง ร้อนผ่านตะแกรงขนาด 16 ช่อง/ตารางนิ้ว ได้ชีวภัณฑ์ลักษณะเป็นผงละเอียด จากนั้นนำชีวภัณฑ์ *Bacillus* sp. ที่ได้บรรจุในถุงพอยต์ในสภาพสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สำหรับใช้ในการทดสอบต่อไป

การเตรียมเมล็ดข้าว ทำการฆ่าเชื้อที่ผิวเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ด้วย 2.5% sodiumhypochlorite นาน 3 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 3 นาที ผึ่งเมล็ดให้แห้งในตู้อบลดเชื้อก่อนนำไปใช้

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในการลดการเกิดโรคเมล็ดต่างข้าว ในสภาพเรือนทดลอง มีขั้นตอนดังนี้

1. คลุกเมล็ดข้าวด้วยเชื้อแบคทีเรียแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในอัตราส่วน เมล็ด 50 กรัม/ผงชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* sp. (ความเข้มข้น 1×10^8 cfu/ml) นาน 24 ชั่วโมง
2. เตรียมดินในกระถางอัตราส่วนของ ดิน: แกลบดำ: แกลบดิบ (2:1:1) และใส่ปุ๋ยครั้งที่ 1 ร่องกัน 16-8-8 อัตรา 50 กรัม/กระถาง
3. นำเมล็ดข้าวที่คลุกผงชีวภัณฑ์แต่ละกรรมวิธีปลูกลงในกระถางขนาด 15 นิ้ว กระถางละ 2 ต้น จากนั้นดูแลและรดน้ำ การใส่ปุ๋ย ครั้งที่ 2 ที่ข้าวระยะแตกกอ ใส่ปุ๋ยสูตร 46-0-0 ในอัตรา 5-10 กิโลกรัมต่อไร่ และครั้งที่ 3 ใส่ปุ๋ยสูตร 46-0-0 ในอัตรา 5-10 กิโลกรัมต่อไร่
4. การปลูกพ่นเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. โดยทำการพ่นเชื้อปฏิปักษ์ 6 ครั้ง
 - ครั้งที่ 1 ข้าวระยะแตกกอ (30 มิลลิลิตร/ต้น)
 - ครั้งที่ 2 ข้าวระยะตั้งท้อง (5 มิลลิลิตร/ต้น)
 - ครั้งที่ 3 ข้าวระยะออกรวงโดยพ่นหลังจากพ่นเชื้อราสาเหตุโรค 2 วัน (5 มิลลิลิตร/ต้น)
 - ครั้งที่ 4, 5 และ 6 ห่างกันครั้งละ 1 สัปดาห์
5. ทำการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง เมื่อระยะข้าวออกรวงอายุประมาณ 85 วันหลังปลูก โดยการฉีดพ่นสปอร์แขวนลอยความเข้มข้น 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร ปริมาตร 3 มิลลิลิตรต่อต้น คลุมรวงด้วยถุงพลาสติกนาน 2 วัน

การเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตทุก 7 วัน โดยสุ่มจำนวน 10 ต้น/กรรมวิธี และวัดการเจริญเติบโตจนกระทั่งถึงเก็บเกี่ยวที่อายุ 120 วัน ประกอบด้วย ความสูงต้น ความยาวใบของข้าว จำนวนใบต่อกอ และจำนวนต้นต่อกอ การเก็บข้อมูลน้ำหนักสด น้ำหนักแห้งของต้น และรวงของข้าว

เก็บเมื่อเก็บเกี่ยวข้าวที่อายุ 120 วัน นำส่วนของต้นและรวงที่ซึ่งน้ำหนักสดแล้วไปอบด้วยตู้อบลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง ได้เป็นน้ำหนักแห้งของข้าว

การเก็บข้อมูลเพื่อประเมินการเกิดโรคเมล็ดต่างบนเมล็ดข้าวที่อายุ 3, 7, 10, 14 และ 21 วัน หลังปลูกเชื้อ ประเมินความรุนแรงของโรคของโรคเมล็ดต่าง (Disease severity) โดยดัดแปลงวิธีจาก พรทิพย์ (2545) และนำมาคำนวณดัชนีการเกิดโรค (Disease index) ตามวิธีของ McMaugh (2005) และบันทึกลักษณะที่แสดงออก (Phenotype) ตามค่าดัชนีการเกิดโรค แบ่งระดับอาการเป็น 6 ระดับ ดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ค่าคะแนนแสดงระดับความรุนแรงของโรคเมล็ดต่างบนเมล็ดข้าว

ระดับ	ความรุนแรงของโรคเมล็ดต่าง
ระดับ 0	ไม่แสดงอาการของโรค
ระดับ 1	แสดงอาการแผลจุดขนาดเล็กกว่า 0.1 มิลลิเมตร
ระดับ 2	แสดงอาการแผลจุดขนาดใหญ่กว่า 0.1 มิลลิเมตร
ระดับ 3	แสดงอาการแผลดำใหญ่น้อยกว่า 50% ของพื้นที่เมล็ด
ระดับ 4	แสดงอาการแผลดำขนาดใหญ่ 50-75% ของพื้นที่เมล็ดหรือเมล็ดลีบ
ระดับ 5	แสดงอาการดำขนาดใหญ่กว่า 75% ของพื้นที่เมล็ด

การคำนวณดัชนีการเกิดโรคจากระดับความรุนแรงโรค (Disease severity) ตามสูตร

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค (\%)} = \left[\frac{(na \times 0x + (nb \times 1) + (nd \times 3) + (ne \times 4) + (nf \times 5))}{(N \times 5)} \right] \times 100$$

เมื่อ na, nb, nc, ne และ nf แทนจำนวนเมล็ดข้าวที่มีระดับความรุนแรงเป็น 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ตามลำดับ และ N แทนจำนวนเมล็ดข้าวที่สุ่มมาประเมินระดับความรุนแรงของโรคคือ 400 เมล็ด

การเก็บข้อมูลองค์ประกอบผลผลิตเมื่อเก็บเกี่ยวผลผลิตข้าวอายุ 120 วัน ประกอบด้วย เมล็ดดี เมล็ดต่าง เมล็ดลีบ น้ำหนักเมล็ดข้าวเปลือก/รวง จำนวนเมล็ด/รวง จำนวนรวง/ต้น น้ำหนักเมล็ดทั้งหมด/ต้น น้ำหนัก 1,000 เมล็ด

การประเมินคุณภาพการขัดสี โดยคัดแยกเป็นเมล็ดข้าวดี และเมล็ดข้าวหัก บันทึกผลเป็น น้ำหนักข้าวเต็มเมล็ด และน้ำหนักข้าวหัก

การวิเคราะห์ข้อมูลค่าความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ($p=0.05$)

การตรวจหายีนที่กำหนดการสร้างสารปฏิชีวนะ

การเตรียมแบคทีเรีย *Bacillus* sp.

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. (สุพัตรา และคณะ, 2564) ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าวได้ โดยนำมาเลี้ยงบนอาหาร nutrient broth (NB) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาสกัดดีเอ็นเอ เพื่อใช้ในการตรวจหาการมีอยู่และการแสดงออกของยีนที่กำหนดการสร้างสารปฏิชีวนะ

การสกัดดีเอ็นเอของแบคทีเรีย

นำแบคทีเรีย *Bacillus* sp. เลี้ยงในอาหาร NB ตูตใส่หลอดไมโครเซนทริฟิวจ์ แล้วนำไปปั่นตกตะกอนเซลล์ เทส่วนใสทิ้งแล้วเติม *Bacillus* lysis buffer pH 7.5 ปริมาตร 300 ไมโครลิตร จากนั้นนำ beat ball ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์แล้ว ใส่ลงในหลอดไมโครเซนทริฟิวจ์ ประมาณ 5-10 เม็ด ทำให้เซลล์แตกด้วยเครื่องบดตัวอย่างอัตโนมัติที่ความเร็ว 20 รอบต่อวินาที นาน 2 นาที นำมาปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ดูดส่วนใสมาเติมสารละลาย Phenol: Chloroform : Isoamyl (25:24:1) ปริมาตร 300 ไมโครลิตร พลิกหลอดกลับไปมา นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 8,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ดูดส่วนใสด้านบนมาประมาณ 400 ไมโครลิตร ใส่หลอดไมโครเซนทริฟิวจ์หลอดใหม่ ตกตะกอนดีเอ็นเอโดยการเติม sodium acetate 3M ปริมาตร 20 ไมโครลิตร พลิกหลอด 10 ครั้ง เติม Absolute Ethanol 99.8% ที่เย็น ปริมาตร 150 ไมโครลิตร เก็บไว้ที่ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เมื่อครบเวลานำมาปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วเท Absolute Ethanol ทิ้ง ล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วยเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำมาปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที จากนั้นใช้ปิเปตดูดเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ทิ้งแล้วทำให้แห้ง ละลายตะกอน DNA ด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อปริมาตร 20 ไมโครลิตร เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณและตรวจสอบคุณภาพของดีเอ็นเอ (Kovacs et al., 2010)

การจัดจำแนกชนิดของ *Bacillus* sp. ด้วยเทคนิค PCR ของ 16S rRNA

เพิ่มปริมาณ DNA ในส่วนของยีน 16S rRNA ยีน *gyrA* (DNA gyrase subunit A gene) และ ยีน *rpoB* (RNA polymerase β subunit gene) โดยใช้เทคนิค PCR ขั้นตอนการทำ PCR ของยีน 16S rRNA ดังนี้คือ ยีน 16S rDNA ทำตามขั้นตอน ดังนี้ initial denaturation ที่อุณหภูมิ 94

องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ตามด้วยปฏิกิริยาจำนวน 35 รอบของ denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เวลา 30 วินาที annealing ที่อุณหภูมิ 64 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที และ extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เวลา 2 นาที และปฏิกิริยา 1 รอบของ final extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เวลา 10 นาที ตรวจสอบผลผลิต PCR ด้วยวิธี gel electrophoresis และวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ โดยใช้เทคนิค Fluorescent dye-terminator sequencing โดยเครื่อง ABI Prism™ 3730xl DNA sequencers (Bio Basic Inc) จากนั้นนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มา เปรียบเทียบความเหมือนกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียในฐานข้อมูล GenBank ของ NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) ด้วยโปรแกรม BLAST จากนั้นนำลำดับนิวคลีโอไทด์มาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม โดยใช้ phylogenetic tree แบบ maximum-likelihood ที่ค่า bootstrap ทั้งหมด 1,000 ซ้ำ ด้วยโปรแกรม MEGA X (Kumar et al., 2018; Yurnaliza et al., 2020) เพื่อสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

การตรวจสอบยีนที่กำหนดการสร้างสารปฏิชีวนะ

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้ทำปฏิกิริยา PCR ด้วยไพรเมอร์สำหรับเพิ่มปริมาณยีนที่กำหนดการสร้างสารปฏิชีวนะจำนวน 4 ยีน ได้แก่ *srfA*, *ituA*, *bacD* และ *bmyA* โดยใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อยีนทั้ง 4 ยีน (ตารางที่ 9) โดยมีขั้นตอนการทำปฏิกิริยา PCR ดังนี้ ขั้นตอน initial denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 นาที denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เวลา 30 วินาที annealing ที่ช่วงอุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที และ extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เวลา 60 วินาที จำนวน 35 รอบ และ final extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จำนวน 1 รอบ ตรวจสอบ PCR product ด้วยวิธี gel electrophoresis และตรวจสอบการแสดงออกของยีน 16S rDNA ของแบคทีเรียทุกไอโซเลตที่นำมาทดสอบเพื่อใช้เป็น internal control (ตารางที่ 9) (อรณภา และคณะ, 2565)

พูน ปณ จิต ชเว

ตารางที่ 9 แสดงรายละเอียดของไพรเมอร์ที่ใช้ในปฏิกิริยา PCR ของยีนที่กำหนดการสร้างสารปฏิชีวนะและตรวจสอบการแสดงออกของยีน 16S rDNA ของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp.

Antibiotic name	Gene name	Primer	Sequence	Product size (bp)	Ta ^{1/} (°C)	Reference
Bacilysin	<i>bacD</i>	BACD-F1	5'-AAAAACAGTATTGGTYATCGCTGA-3'	749	55	Chung <i>et al.</i> (2008)
		BACD-R1	5'-CCATGATGCCCTTCKATRCTGAT-3'			
Bacillomycin D	<i>bmyA</i>	BACC-F1	5'-GAAGGAACGGCAGAGAGTC-3'	875	60	Athukorala <i>et al.</i> (2009)
		BACC-R1	5'-CGCTGATGACTGTTTCATGCT-3'			
Surfactin	<i>srfA</i>	SUR3F	5'-ACAGTATGGAGGCATGGTC-3'	411	55	Athukorala <i>et al.</i> (2009)
		SUR3R	5'-TTCCGCCACTTTTTCAGTTT-3'			
Iturin A	<i>ituA</i>	ITUD1F	5'-GATCGCATCTCCTTGGATGT-3'	647	55	Athukorala <i>et al.</i> (2009)
		ITUD1R	5'-ATCGTCATGTGCTGCTTGAG-3'			
16S rRNA (Internal control)		8F	5'-AGAGTTTGACCTGGCTCAG-3'	1,484	55	Galkiewicz and Kellogg (2008)
		1492R	5'-GGTTACCTTGTACGACTT-3'			

^{1/}Ta = annealing temperature

ที่มา: (อรณภา และคณะ, 2565)

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

4.1 แหล่งที่มาเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง

การสำรวจโรคเมล็ดต่างในแปลงปลูกข้าวของเกษตรกรที่ทำการเก็บเมล็ดพันธุ์เองใน 7 จังหวัด จำนวน 70 แปลง ในช่วงเดือนมิถุนายน ถึง เดือนพฤศจิกายน 2564 ได้แก่ จ. อุบลราชธานี (10 แปลง) จ. บุรีรัมย์ (10 แปลง) จ. ศรีสะเกษ (10 แปลง) จ. อำนาจเจริญ (10 แปลง) จ. ยโสธร (10 แปลง) จ. สุรินทร์ (10 แปลง) และ จ. นครราชสีมา (10 แปลง) เก็บตัวอย่างเมล็ดข้าวมาศึกษา ลักษณะอาการของโรคเมล็ดต่างมาแยกเชื้อราด้วยวิธีการวางเมล็ดข้าวบนกระดาษขึ้น (Blotter method) โดยสุมเมล็ดข้าวตัวอย่าง นำไปล้างด้วย 10% Clorox เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำ กลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ 3 นาที แล้วนำมาวางบนกระดาษที่หนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว เมื่อเมล็ดแห้ง นำไปวางบนจานเลี้ยง เชื้อที่มีกระดาษเพาะเมล็ดที่ชุ่มน้ำ จานละ 25 เมล็ด แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง ภายใต้ยูวี สลับกับ ความมืด 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน นำมาตรวจภายใต้กล้องสเตอริโอ โดยตรวจสอบทุกเมล็ดและ จำแนกชนิดของเชื้อราด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยทำสไลด์กึ่งถาวรตรวจสอบลักษณะทาง สัณฐานวิทยาของเชื้อราโดยการเขียนส่วนต่างๆ ของเชื้อราที่เจริญบนเมล็ด ได้แก่ ลักษณะก้านชูสปอร์ โคนิเดีย (Conidiophores) และโคนิเดีย (Conidia) สี จำนวนเซลล์ของโคนิเดียที่เป็นลักษณะจำเพาะ ของแต่ละจีนัสและสปีชีส์ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 40x (ภาพที่ 3) เมื่อตรวจสอบลักษณะ เส้นใยและสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างบนเมล็ดข้าวที่สุมเก็บตัวอย่างจากเมล็ดพันธุ์ข้าวของ เกษตรกร โดยการแยกเชื้อด้วยวิธี blotter พบว่า มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของเชื้อราสาเหตุโรคเฉลี่ย 82.94 % โดยพบเชื้อรา *Curvularia* sp. 83.18 % *Cercospora* sp. 74.50 % *Bipolaris* sp. 38.14% *Fusarium* sp. 39.57% *Trichoconis* sp. 45.71% และ *Sarocladium* sp. 38.43 % (ตารางที่ 10)

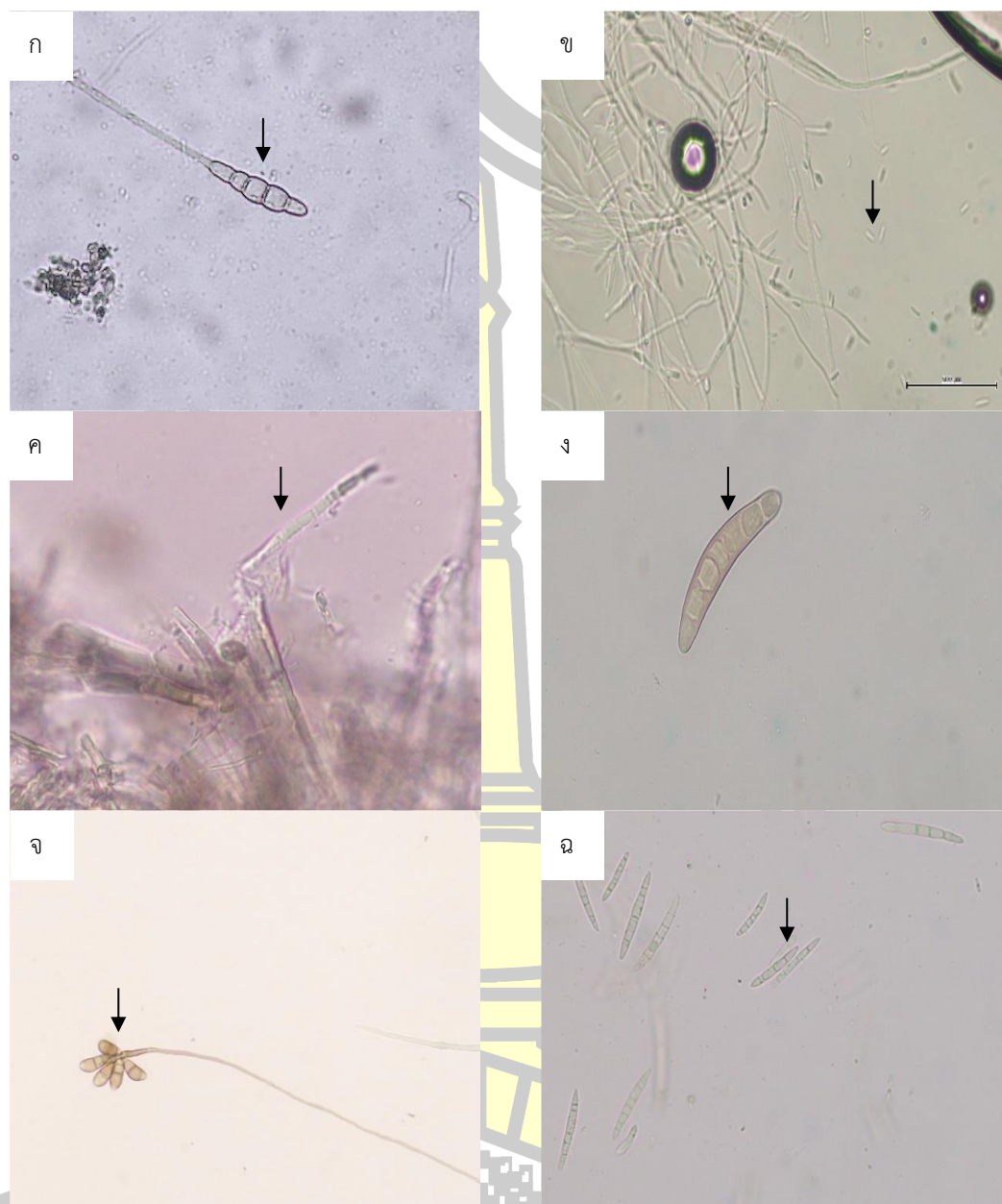
4.2 แหล่งที่มาเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp.

การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว เตรียม เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จำนวน 10 ไอโซเลต ที่ผ่านการคัดเลือกและศึกษาวิจัยของศูนย์วิจัยและควบคุม ศัตรูพืชโดยชีววิธีแห่งชาติ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ประกอบด้วย *Bacillus* ไอโซเลต UBU1, *Bacillus* ไอโซเลต UBW2, *Bacillus* ไอโซเลต BRCR3, *Bacillus* ไอโซเลต BRBD12, *Bacillus* ไอโซเลต SKKH3, *Bacillus* ไอโซเลต SKNK4, *Bacillus* ไอโซเลต SKKK4, *Bacillus* ไอโซเลต SK-NK3, *Bacillus* ไอโซเลต SKY7 และ *Bacillus* ไอโซเลต

SRSHP19 ซึ่งแยกได้จากตัวอย่างดินที่เก็บจากสวนที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง ประเทศไทย ดังตารางที่ 10 และลักษณะโคโลนีของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. จำนวน 10 ไอโซเลตที่เลี้ยงอยู่บน Nutrient agar (NA) ดังภาพที่ 4 และจากการศึกษาคุณสมบัติของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในการละลายฟอสเฟตได้แตกต่างกัน พบว่าแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลต SKNK4 มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตทำให้เกิดบริเวณ clear zone มีขนาดเท่ากับ 0.50 เซนติเมตร (ภาพที่ 3) รองลงมา *Bacillus* ไอโซเลต SKKK4 และ *Bacillus* ไอโซเลต BRBD12 (การละลายฟอสเฟต 0.39 เซนติเมตร และ 0.0620 เซนติเมตร ตามลำดับ) (สุพัตรา และคณะ, 2564)

การศึกษาการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าวในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่างของประเทศไทย โดยใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. จำนวน 10 ชนิด ได้แก่ *Bacillus* ไอโซเลต UBU1, *Bacillus* ไอโซเลต UBW2, *Bacillus* ไอโซเลต BRRCR3, *Bacillus* ไอโซเลต BRBD12, *Bacillus* ไอโซเลต SKKH3, *Bacillus* ไอโซเลต SKNK4, *Bacillus* ไอโซเลต SKKK4, *Bacillus* ไอโซเลต SK-NK3, *Bacillus* ไอโซเลต SKY7 และ *Bacillus* ไอโซเลต SRSHP19 (ตารางที่ 10) ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว 6 ชนิด ได้แก่ *Curvularia* sp., *Cercospora* sp., *Bipolaris* sp., *Fusarium* sp., *Trichoconis* sp. และ *Sarocladium* sp. ในห้องปฏิบัติการของคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี และโรงเรียนทดลองของศูนย์ควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีแห่งชาติ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ซึ่งมีวัตถุประสงค์ดัดแปลงศึกษาระดับความรุนแรงของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าวจำนวน 6 ชนิดบนเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ประเมินประสิทธิภาพของรูปแบบเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในการยับยั้งการออกสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว ศึกษาคุณสมบัติแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ศึกษาศักยภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. เพื่อช่วยลดปริมาณการเกิดโรคเมล็ดต่างข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสภาพเรือนทดลอง

พูน ปณ จิต ชเว



ภาพที่ 3 ลักษณะของ conidia ของเชื้อราชนิดต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ก) *Trichoconis* sp. 40x ข) *Sarocladium* sp. 40x ค) *Cercospora* sp. 40x ง) *Bipolaris* sp. 40x จ) *Curvularia* sp. 40x ฉ) *Fusarium* sp. 40x

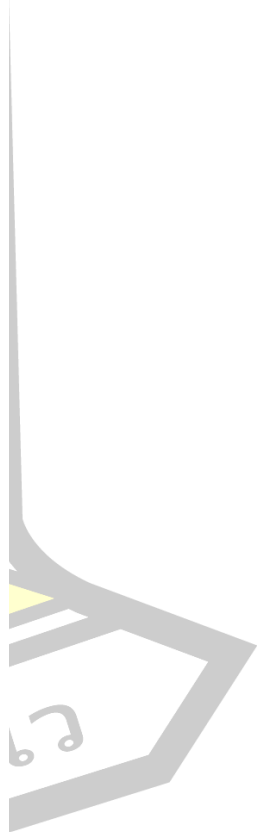
ที่มา: สุพัตรา และคณะ (2564)

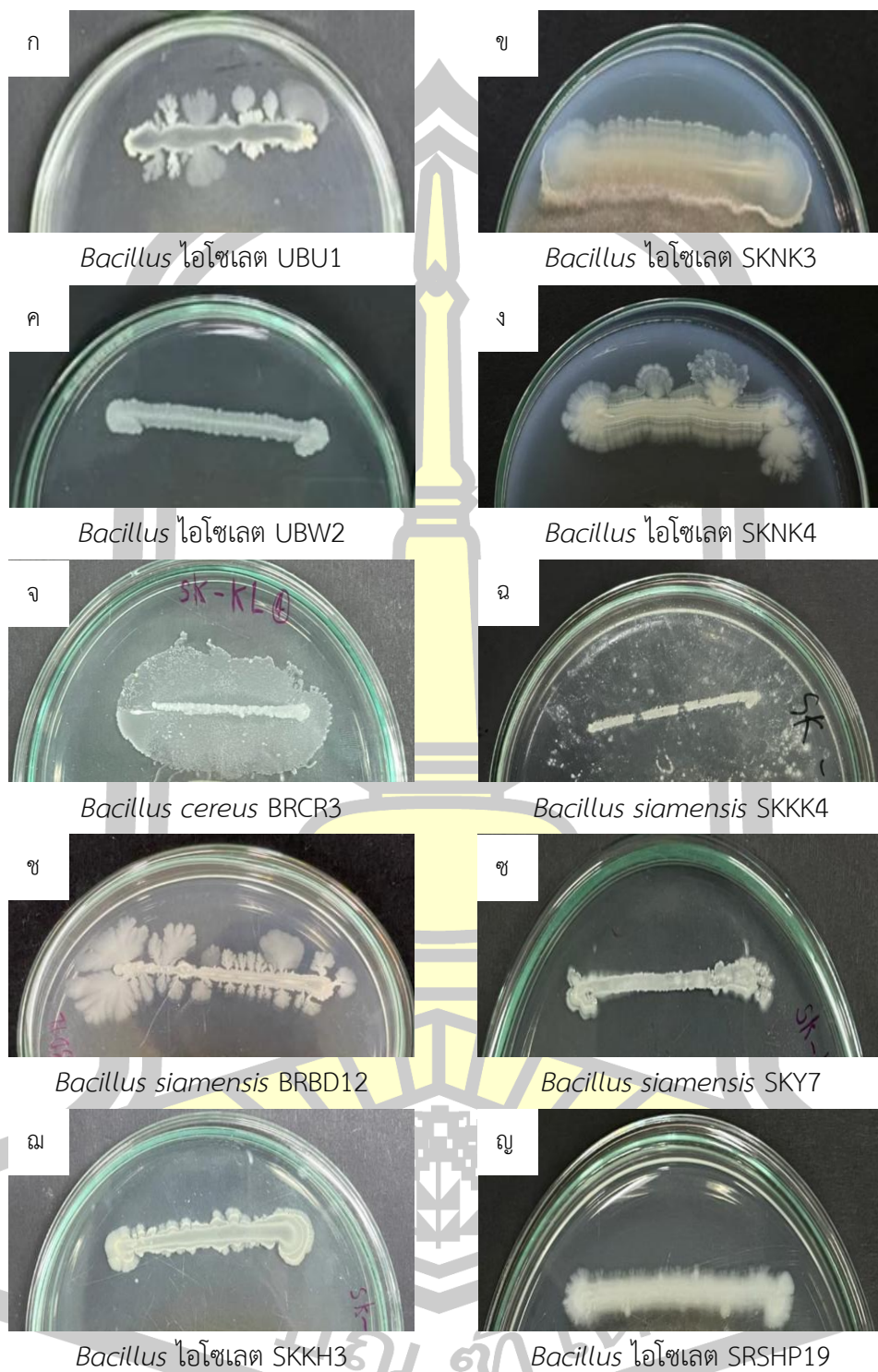


ตารางที่ 10 เพอร์เซ็นต์การเกิดโรคเมล็ดต่าง และเชื้อราสาเหตุที่พบบนเมล็ดข้าวของแปลงเกษตรกร

จังหวัด ^{1/}	เปอร์เซ็นต์ การเกิดโรค	เชื้อสาเหตุที่พบ (%)				
		<i>Curvularia</i> sp.	<i>Cercospora</i> sp.	<i>Bipolaris</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Trichoconis</i> sp.
อุบลราชธานี	86.12	86.12	74.00	45.00	45.00	45.00
บุรีรัมย์	89.00	89.00	73.00	52.00	52.00	52.00
ศรีสะเกษ	81.00	81.00	72.00	36.00	36.00	36.00
อำนาจเจริญ	84.00	84.00	84.00	40.00	40.00	40.00
ยโสธร	78.33	80.00	70.00	32.00	32.00	45.00
สุรินทร์	83.63	83.63	70.00	38.00	38.00	58.00
นครราชสีมา	78.50	78.50	78.50	24.00	34.00	44.00
เฉลี่ย (%)	82.94	83.18	74.50	38.14	39.57	45.71

^{1/} ช่วงที่สำรวจเดือนพฤษภาคม-ธันวาคม พ.ศ. 2564





ภาพที่ 4 ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. จำนวน 10 ไอโซเลตที่เจริญบน Nutrient agar (NA) ที่อายุ 48 ชั่วโมง
ที่มา: สุพัตรา และคณะ (2564)

ตารางที่ 11 แบคทีเรีย *Bacillus* sp. จำนวน 10 ไอโซเลต ที่คัดแยกได้จากตัวอย่างดินป่าดิบชื้นภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง ประเทศไทย

ไอโซเลต	วัน/เดือน/ปี	สถานที่เก็บตัวอย่างดิน	พิกัด
<i>Bacillus</i> ไอโซเลต UBU1	5 มิ.ย. 64	บริเวณป่าใกล้แหล่งน้ำ ม. อุดรราชธานี จุดที่ 3 จ. อุดรราชธานี	N15°07'20" E104°54'55"
<i>Bacillus</i> ไอโซเลต UBW2	5 มิ.ย. 64	บริเวณป่า อ. วารินชำราบ จ. อุดรราชธานี	N15°8'7" E104°55'35"
<i>Bacillus</i> ไอโซเลต BRCR3	5 มิ.ย. 64	บริเวณป่า อ.แคนดง จ.บุรีรัมย์	N15°22'57" E103°5'36"
<i>Bacillus</i> ไอโซเลต BRBD12	15 มิ.ย. 64	บริเวณป่าในวัด อ.บ้านด่าน จ. บุรีรัมย์	N15°8'5" E103°11'28"
<i>Bacillus</i> ไอโซเลต SKKH3	3 ก.ค. 64	บริเวณป่าใกล้แหล่งน้ำ อ.กันทรารมย์ จ.ศรีสะเกษ	N15°2'7" E104°37'49"
<i>Bacillus</i> ไอโซเลต SKNK4	3 ก.ค. 64	บริเวณป่า อ.โนนคูณจุดที่ 2 จ.ศรีสะเกษ	N14°51'39" E104°40'5"
<i>Bacillus</i> ไอโซเลต SKKK4	3 ก.ค. 64	บริเวณป่า อ.ขุขันธ์ จ.ศรีสะเกษ	N14°38'20" E104°6'29"
<i>Bacillus</i> ไอโซเลต SKNK3	3 ก.ค. 64	บริเวณป่า อ. โนนคูณจุดที่ 1 จ.ศรีสะเกษ	N14°53'5" E104°42'33"
<i>Bacillus</i> ไอโซเลต SKY7	3 ก.ค. 64	บริเวณป่าไต้ต้นไผ่ อ.ยางชุมน้อย จ. ศรีสะเกษ	N15°13'9" E104°24'12"
<i>Bacillus</i> ไอโซเลต SRSHP19	4 ก.ค. 64	บริเวณนา อ. ศรีขรรค์ชัย จ.สุรินทร์	N4°55'15" E03°46'15"

ที่มา: สุพัตรา และคณะ (2564)

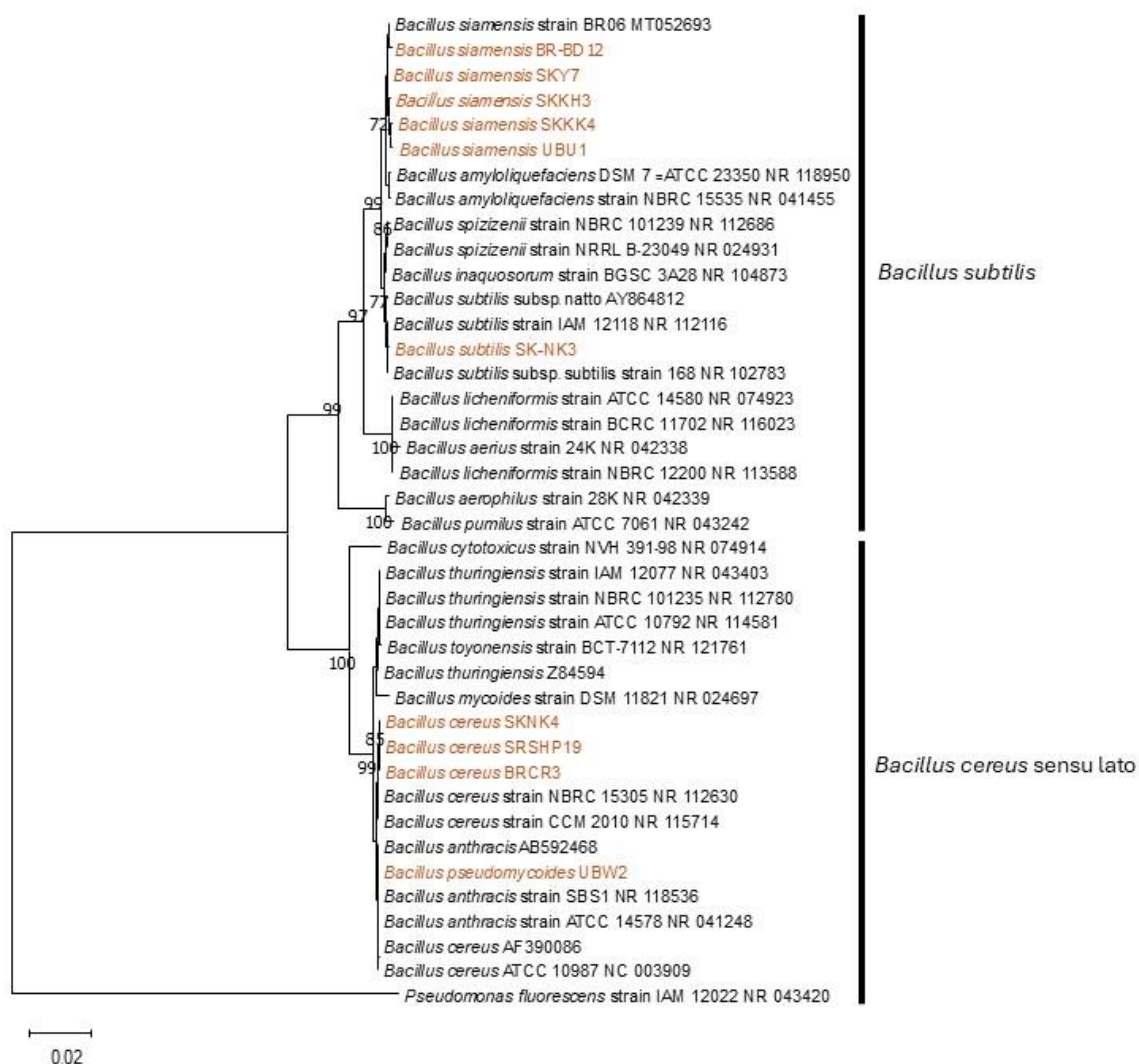
พจนานุกรมพืชไทย

4.3 ผลการทดลอง

การระบุชนิดของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่ผ่านการคัดเลือก

เมื่อระบุชนิดของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ทั้ง 10 ไอโซเลต ด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล เปรียบเทียบข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนของ 16S rDNA ด้วยไพรเมอร์ 27F/1492R กับฐานข้อมูล NCBI ด้วยโปรแกรม BLASTn (ภาพที่ 5-8) พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลต UBU1, BRBD12, SKKH3, SKKK4 และ ไอโซเลต SKY7 มีความใกล้เคียงกับเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus siamensis* เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลต SKNK4, BRCR3 และ SRSHP19 มีความใกล้เคียงกับเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลต SKNK3 มีความใกล้เคียงกับเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สำหรับเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลต UBW2 มีความใกล้เคียงกับเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus pseudomycoloides* (ตารางที่ 12 และภาพที่ 5)





ภาพที่ 5 Phylogenetic tree ของยีน 16S rDNA ของเชื้อ *Bacillus* sp.

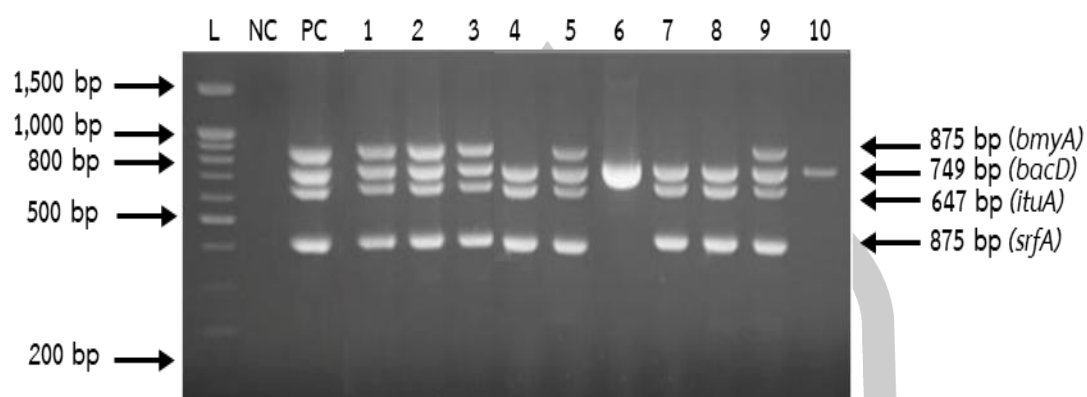


ตารางที่ 12 การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ด้วยยีน 16S rDNA

Isolates	16S rDNA gene BLAST analysis
<i>Bacillus</i> ไอโซเลต UBU1	<i>Bacillus siamensis</i>
<i>Bacillus</i> ไอโซเลต BRBD12	
<i>Bacillus</i> ไอโซเลต SKKH3	
<i>Bacillus</i> ไอโซเลต SKKK4	
<i>Bacillus</i> ไอโซเลต SKY7	<i>Bacillus cereus</i>
<i>Bacillus</i> ไอโซเลต SKNK4	
<i>Bacillus</i> ไอโซเลต BRRC3	
<i>Bacillus</i> ไอโซเลต SRSHP19	
<i>Bacillus</i> ไอโซเลต SKNK3	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Bacillus</i> ไอโซเลต UBW2	<i>Bacillus pseudomycolides</i>

การตรวจหายีนที่กำหนดการสร้างสารปฏิชีวนะ

เมื่อนำเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. จำนวน 10 ไอโซเลต มาสกัดดีเอ็นเอใช้เป็นดีเอ็นเอต้นแบบในการเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (polymerase chain reaction, PCR) จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ PCR จากบริเวณ 16S rDNA โดยใช้ไพรเมอร์สำหรับตรวจหายีน เพื่อใช้ในการตรวจหาการมีอยู่และการแสดงออกของยีนที่กำหนดการสร้างสารปฏิชีวนะ 4 ยีน ได้แก่ *srfA*, *ituA*, *bacD* และ *bmyA* ของเชื้อ *Bacillus* sp. ทั้ง 10 ไอโซเลต ไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ (sequence) และนำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ไปเปรียบเทียบกับความเหมือนหรือความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของ GenBank พบว่า เชื้อแบคทีเรีย *B. siamensis* UBU1, *B. siamensis* BRBD12, *B. siamensis* SKKH3, *B. siamensis* SKY7, *B. siamensis* SKKK4 พบยีนที่กำหนดการสร้างสารปฏิชีวนะ จำนวน 4 ยีน คือ *bacD*, *bmyA*, *ituA* และ *srfA* เชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* SRSHP19, *B. cereus* BRRC3 และ *B. cereus* SKNK4 พบยีนที่กำหนดการสร้างสารปฏิชีวนะ จำนวน 3 ยีน คือ *bacD*, *ituA* และ *srfA* ในส่วนของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* SKNK3 และ *B. pseudomycolides* UBW2 พบยีนที่กำหนดการสร้างสารปฏิชีวนะ จำนวน 1 ยีน คือ *bacD* (ภาพที่ 6 และ ตารางที่ 13)



ภาพที่ 6 ยีนที่กำหนดการสร้างสารปฏิชีวนะ RT-PCR (16s rRNA)

L: DNA ladder

NC: negative control using nuclease-free water

PC: positive control using mixed *bmyA*, *bacD*, *ituA* และ *srfA*

หมายเลข 1-10: เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลต UBU1, BRBD12, SKKH3, SKKH3, SRSH19, SKY7, SKNK3, BRCR3, SKNK4, SKKK4 และไอโซเลต UBW2 ตามลำดับ

พูน ปณ ทิโต ชีเว

ตารางที่ 13 การตรวจหาปฏิกิริยาที่กำหนดการสร้างสารปฏิชีวนะของเชื้อ *Bacillus* sp.

ลำดับ	ไอโซเลต	<i>srfA</i>	<i>ituA</i>	<i>bacD</i>	<i>bmyA</i>
1	<i>Bacillus siamensis</i> UBU1	+	+	+	+
2	<i>Bacillus siamensis</i> BRBD12	+	+	+	+
3	<i>Bacillus siamensis</i> SKKH3	+	+	+	+
4	<i>Bacillus cereus</i> SRSHP19	+	+	+	
5	<i>Bacillus siamensis</i> SKY7	+	+	+	+
6	<i>Bacillus subtilis</i> SKNK3	-	-	+	-
7	<i>Bacillus cereus</i> BRRCR3	+	+	+	-
8	<i>Bacillus cereus</i> SKNK4	+	+	+	-
9	<i>Bacillus siamensis</i> SKKK4	+	+	+	+
10	<i>Bacillus pseudomycoloides</i> UBW2	-	-	+	-

หมายเหตุ: (+) positive result, (-) negative result

ผลการทดลองที่ 1 การทดสอบการก่อโรคของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างในข้าวพันธุ์ขาว

ดอกมะลิ 105

การศึกษาระดับความรุนแรงของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างจำนวน 6 ชนิด ได้แก่ *Curvularia* sp., *Cercospora* sp., *Bipolaris* sp., *Fusarium* sp., *Trichoconis* sp. และ *Sarocladium* sp. บนเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 โดยแช่เมล็ดด้วยสปอร์แขวนลอยของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างและบ่มในสภาวะที่มีความชื้นสัมพัทธ์สูงเป็นเวลา 24 ชั่วโมงเพื่อให้เชื้อราเกาะติดบนเมล็ดข้าว ประเมินโรคโดยสังเกตอาการที่แสดงบนเมล็ดข้าวด้วยสายตาอายุ 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วันหลังปลูกเชื้อรา เปรียบเทียบกับการมวิธีควบคุม และใช้กล้องจุลทรรศน์ ชนิด Stereo Microscope ตรวจสอบลักษณะอาการบนเปลือกเมล็ดข้าวโดย เพื่อประเมินระดับความรุนแรงของอาการโรคเมล็ดต่างที่แสดงบนเปลือกเมล็ดข้าว ผลการทดลองพบว่า ค่าคะแนนที่ได้จากอาการบนเปลือกเมล็ดข้าวจัดอยู่ในระดับ 0 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ บ่งชี้ว่าเปลือกเมล็ดปราศจากอาการของโรคบนเปลือกเมล็ดตลอดระยะเวลา 21 วัน (ตารางที่ 14) หลังจากเก็บข้อมูลเป็นเวลา 21

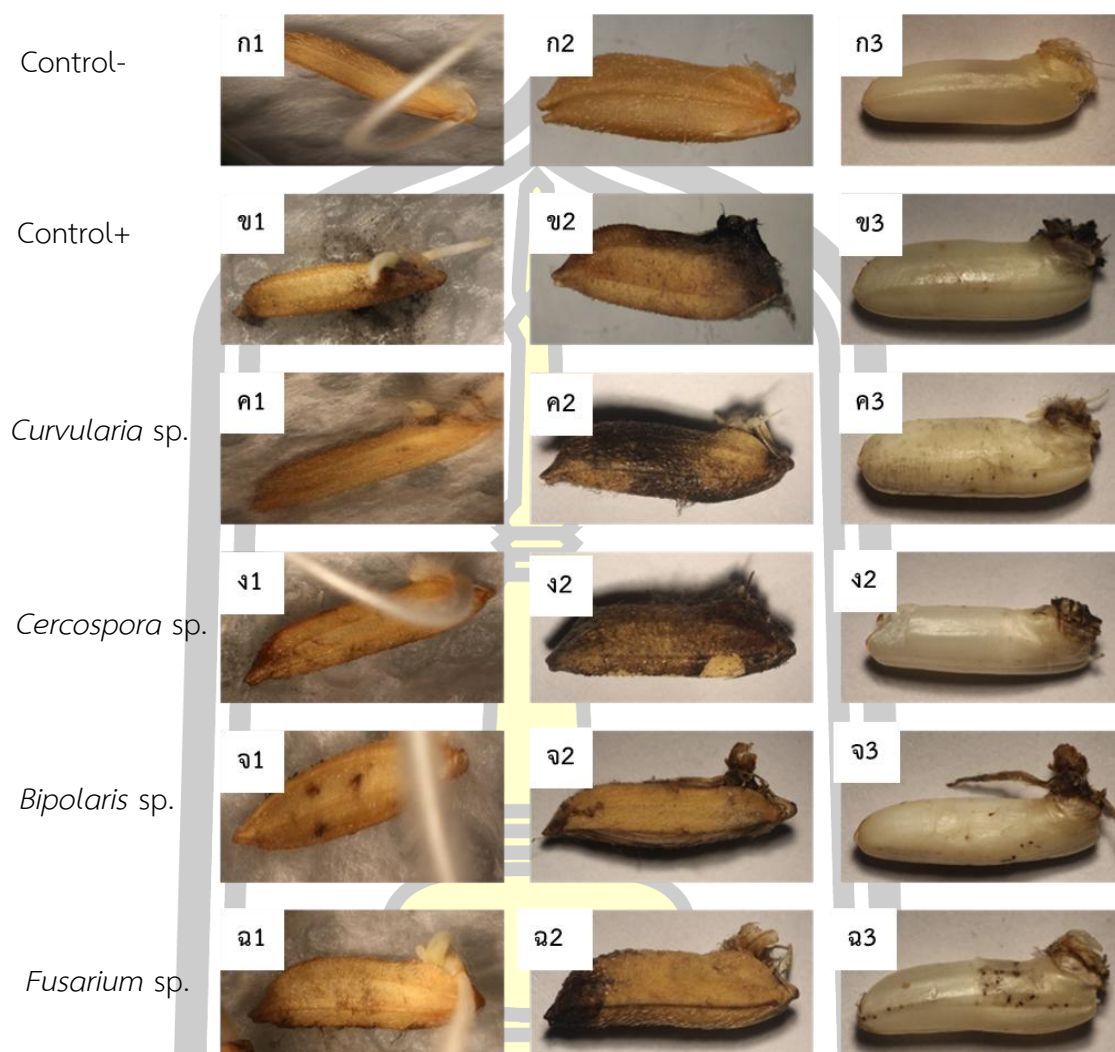
วัน ไม่พบอาการจุดบนเปลือกเมล็ด แต่พบอาการภายในเมล็ดดังภาพที่ 7 และ 8 การปนเปื้อนของเชื้อราในเมล็ดพันธุ์และเมล็ดข้าวอาจส่งผลกระทบต่อการงอก ความแข็งแรงของต้นกล้าหรือคุณภาพของเมล็ดข้าวในแต่ละช่วงการสังเกต

ตารางที่ 14 ระดับความรุนแรงของโรคเมล็ดต่างบนเปลือกเมล็ดข้าว เมื่อทำการปลูกเชื้อราด้วยวิธีการแช่สปอร์แขวนลอยของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง

กรรมวิธี	ระดับความรุนแรงของโรคเมล็ดต่างข้าว ที่ปรากฏบนเมล็ดข้าว				
	วัน				
	3	5	7	14	21
Control- (not treat fungi)	0	0	0	0	0
Control+ (treat <i>curvularia</i> sp.) ^{1/}	0	0	0	0	0
<i>Curvularia</i> sp.	0	0	0	0	0
<i>Cercospora</i> sp.	0	0	0	0	0
<i>Bipolaris</i> sp.	0	0	0	0	0
<i>Fusarium</i> sp.	0	0	0	0	0
<i>Trichoconis</i> sp.	0	0	0	0	0
<i>Sarocladium</i> sp.	0	0	0	0	0
Formulation six Fungi Causing Dirty Panicle Disease	0	0	0	0	0

หมายเหตุ: ^{1/}ชุดควบคุมที่มีการปลูกเชื้อรา *Curvularia* sp. จากกรมวิชาการเกษตร

พูน ปณ ทิโต ชีเว



ภาพที่ 7 ผลกระทบของโรคเมล็ดต่างข้าวที่เกิดจากเชื้อราหลายชนิดต่อเมล็ดข้าว

ก1-ก3: Control- เมล็ดข้าวที่ไม่เสียหาย

ข1-ข3: Control+ (treat *curvularia* sp. ของกรมวิชาการเกษตร) ต่อเมล็ดข้าว

ค1-ค3: ผลกระทบของ *Curvularia* sp. ต่อเมล็ดข้าว

ง1-ง3: ผลกระทบของ *Cercospora* sp. ต่อเมล็ดข้าว

จ1-จ3: ผลกระทบของ *Bipolaris* sp. ต่อเมล็ดข้าว

ฉ1-ฉ3: ผลกระทบของ *Fusarium* sp. ต่อเมล็ดข้าว



ภาพที่ 8 ผลกระทบของโรคเมล็ดต่างข้าวที่เกิดจากเชื้อราหลายชนิดต่อเมล็ดข้าว

ซ1-ซ3: ผลกระทบของ *Trichoconis* sp. ต่อเมล็ดข้าว

ซ1-ซ3: ผลกระทบของ *Sarocladium* sp. ต่อเมล็ดข้าว

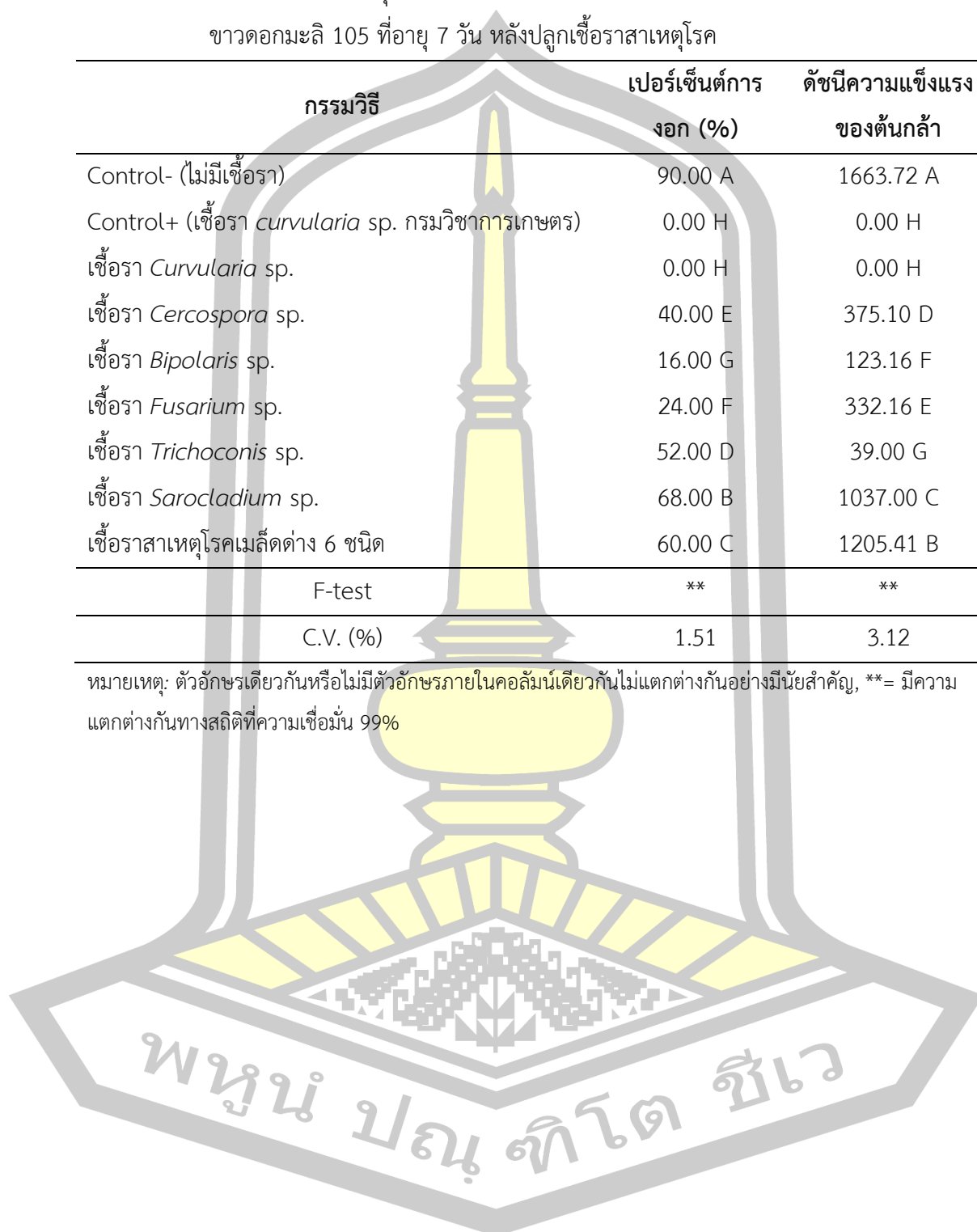
ณ1-ณ3: ผลกระทบของเชื้อราก่อโรค 6 ชนิดต่อเมล็ดข้าว

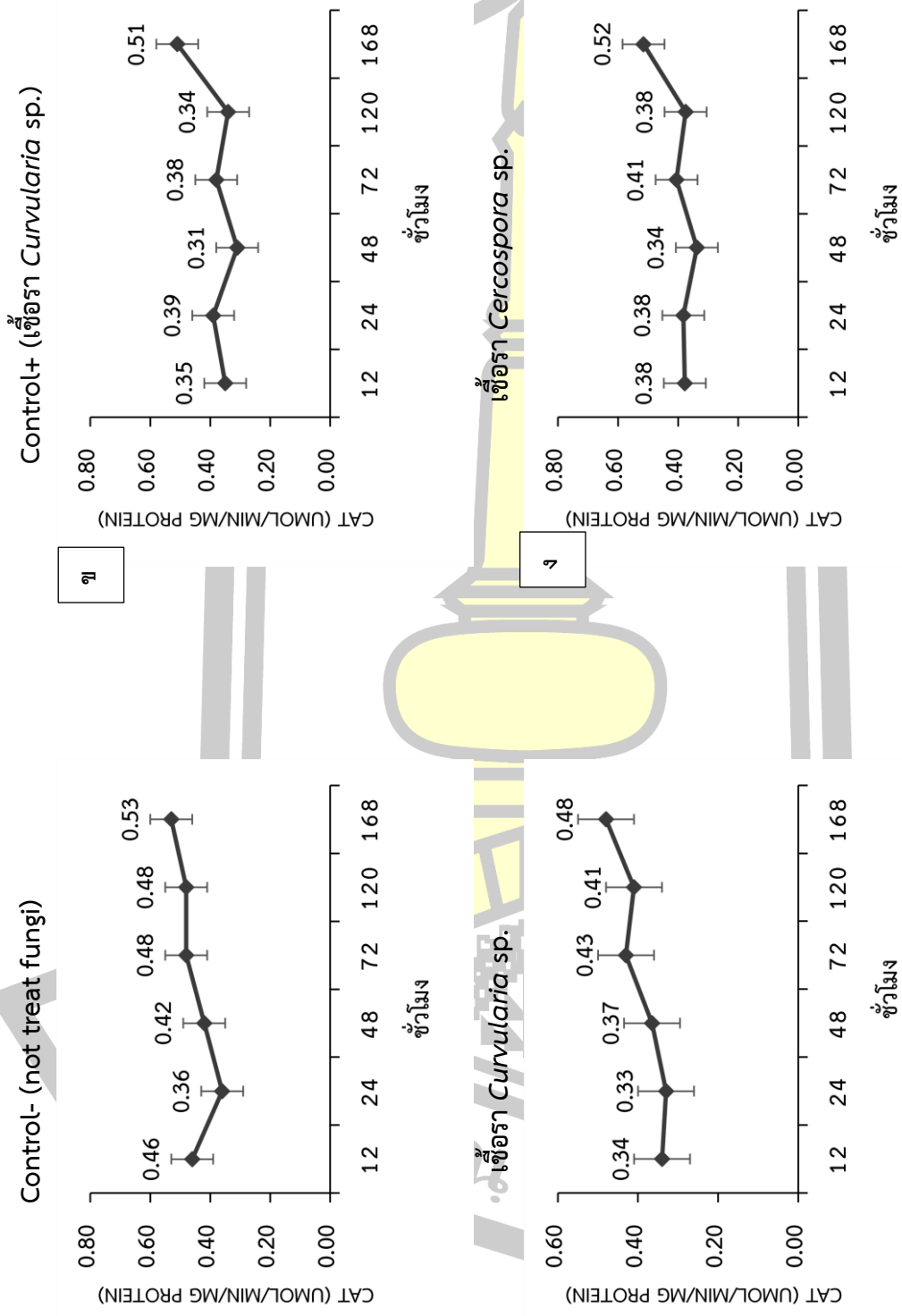
จากศึกษาผลของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างต่อการงอกของเมล็ดและดัชนีความแข็งแรงต้นกล้าข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 หลังจากปลูกเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างเป็นเวลา 7 วัน และประเมินผลกระทบของเชื้อราแต่ละชนิดต่อการพัฒนาเริ่มต้นของต้นกล้า ผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งในแต่ละกรรมวิธี ในกรรมวิธีที่ไม่ได้ปลูกเชื้อรา มีอัตราการงอกของเมล็ดสูงที่สุด คือ 90.00% และมีค่าดัชนีความแข็งแรงของการเพาะเมล็ดอยู่ที่ 1,663.72 ซึ่งสะท้อนถึงสภาวะการเจริญเติบโตที่เหมาะสมที่สุดในทางตรงกันข้ามเมล็ดที่ได้รับเชื้อรา *Curvularia* sp. ทั้ง 2 กรรมวิธีส่งผลต่อการงอกของเมล็ดข้าว และมีดัชนีความแข็งแรงของเมล็ดเท่ากับ 0 แสดงให้เห็นถึงผลกระทบเชิงลบอย่างรุนแรงของเชื้อราชนิดนี้ต่อความมีชีวิตของเมล็ดข้าว นอกจากนี้ผลของเชื้อราชนิดอื่น ได้แก่ *Cercospora* sp., *Bipolaris* sp., *Fusarium* sp., *Trichoconis* sp., *Sarocladium* sp. และกรรมวิธีที่ได้รับเชื้อาร่วมกัน 6 ชนิด ส่งผลให้การงอกและความแข็งแรงของเมล็ดลดลงในระดับที่แตกต่างกัน แต่ในกรรมวิธีของ *Sarocladium* sp. ส่งผลกระทบน้อยที่สุด โดยมีอัตราการงอกของเมล็ดอยู่ที่ 68% และดัชนีความแข็งแรงที่ 1,037.00 (ตารางที่ 15)

ตารางที่ 15 ผลของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างต่อการงอกของเมล็ดและดัชนีความแข็งแรงของข้าว
ขาวดอกมะลิ 105 ที่อายุ 7 วัน หลังปลูกเชื้อราสาเหตุโรค

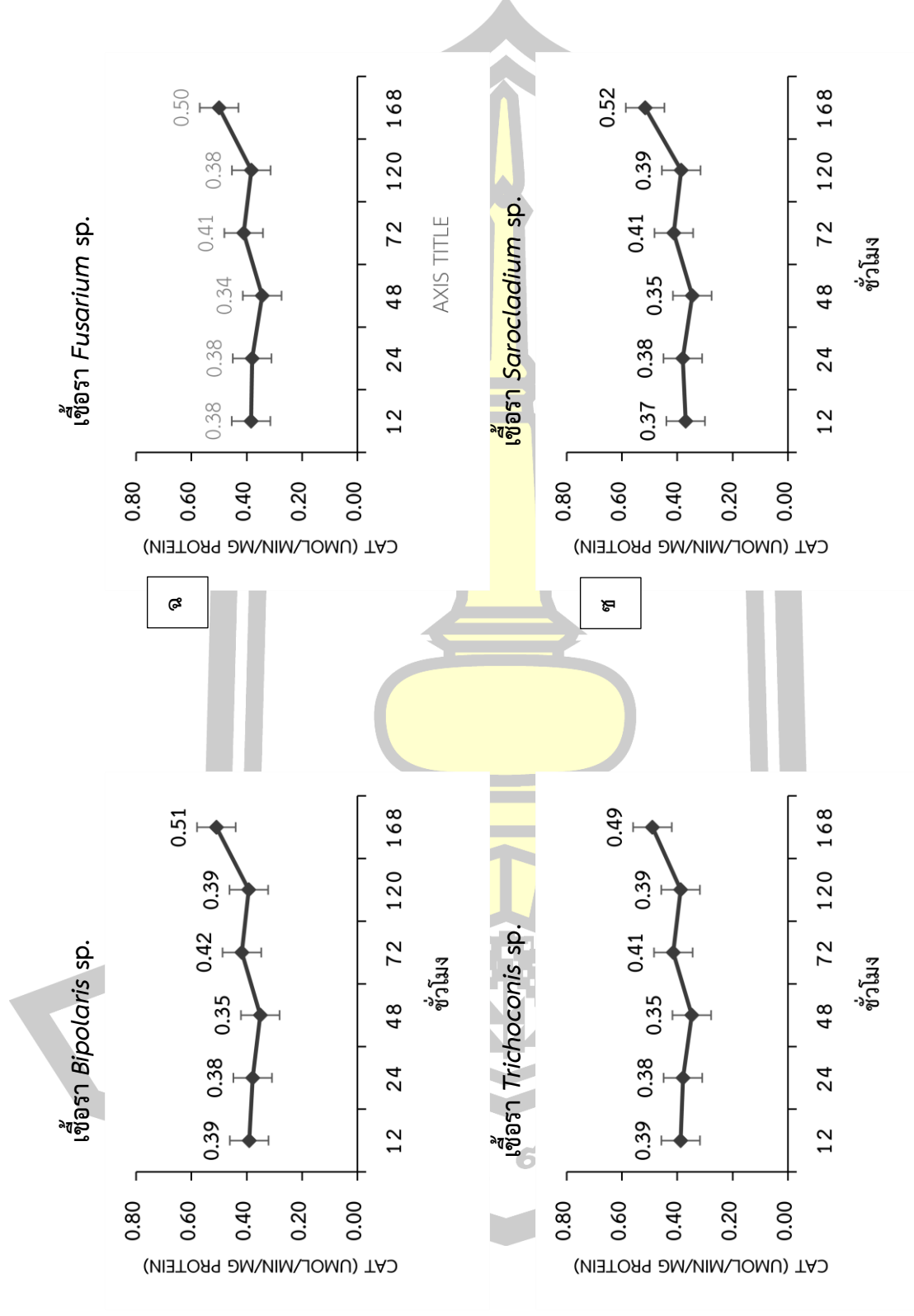
กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การ	ดัชนีความแข็งแรง
	งอก (%)	ของต้นกล้า
Control- (ไม่มีเชื้อรา)	90.00 A	1663.72 A
Control+ (เชื้อรา <i>curvularia</i> sp. กรรมวิชาการเกษตร)	0.00 H	0.00 H
เชื้อรา <i>Curvularia</i> sp.	0.00 H	0.00 H
เชื้อรา <i>Cercospora</i> sp.	40.00 E	375.10 D
เชื้อรา <i>Bipolaris</i> sp.	16.00 G	123.16 F
เชื้อรา <i>Fusarium</i> sp.	24.00 F	332.16 E
เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.	52.00 D	39.00 G
เชื้อรา <i>Sarocladium</i> sp.	68.00 B	1037.00 C
เชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง 6 ชนิด	60.00 C	1205.41 B
F-test	**	**
C.V. (%)	1.51	3.12

หมายเหตุ: ตัวอักษรเดียวกันหรือไม่มีตัวอักษรภายในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ, **= มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99%

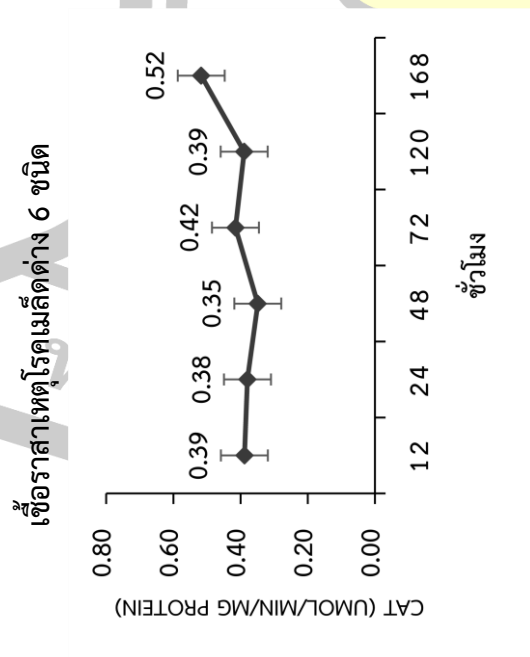




ภาพที่ 9 กิจกรรมของเอนไซม์คาตาเลสในเมล็ดข้าว ณ จุดเวลาต่าง ๆ หลังจากการได้รับเชื้อรา ก) ชุดควบคุมที่ไม่ได้ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง ชุดควบคุมที่ไม่ได้ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง ข) ชุดควบคุมที่ปลูกเชื้อรา *Curvularia* sp. จากกรมวิชาการเกษตร ค) ปลูกเชื้อรา *Curvularia* sp. ง) ปลูกเชื้อรา *Cercospora* sp.



ภาพที่ 10 กิจกรรมของเอนไซม์คาตาเลสในเมล็ดข้าว ณ จุดเวลาต่าง ๆ จ) ปลวกเชื้อรา *Bipolaris* sp. ฉ) ปลวกเชื้อรา *Fusarium* sp. ข) ปลวกเชื้อรา *Trichoconis* sp. ช) ปลวกเชื้อรา *Sarocladium* sp.



ภาพที่ 11 กิจกรรมของเอนไซม์คาตาเลสในเมล็ดข้าว ณ จุดเวลาต่าง ๆ ณ) ปลูกรูเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง 6 ชนิด

การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์คาตาเลสในเมล็ดข้าวที่ได้รับเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าวในช่วงเวลาแตกต่างกัน มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์การตอบสนองของพืชต่อความเครียดจากเชื้อโรคโดยเอนไซม์คาตาเลส มีบทบาทสำคัญในการปกป้องเซลล์พืชจากความเสียหายที่เกิดจากกระบวนการออกซิเดชัน ดังนั้น การเปลี่ยนแปลงของระดับกิจกรรมของเอนไซม์คาตาเลสจึงสามารถใช้เป็นตัวชี้วัดหนึ่งในการประเมินกลไกการป้องกันตัวเองของพืชต่อเชื้อก่อโรค ในการทดลองนี้ ได้วัดระดับกิจกรรมของเอนไซม์คาตาเลสในเมล็ดข้าว ณ จุดเวลาต่าง ๆ ได้แก่ 12, 24, 48, 72, 120 และ 168 ชั่วโมง หลังจากได้รับเชื้อราชนิดต่างๆ เพื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่ได้รับเชื้อรา ผลการทดลองพบว่ากรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้รับเชื้อรามีระดับกิจกรรมของเอนไซม์คาตาเลสเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยเริ่มจาก 0.46 ที่ 12 ชั่วโมง และเพิ่มขึ้นสูงสุดที่ 0.53 เมื่อครบ 168 ชั่วโมง สะท้อนให้เห็นถึงกระบวนการตอบสนองต่อสภาวะแวดล้อมตามปกติของพืช ในทางกลับกันกรรมวิธีที่ได้รับเชื้อรา *Curvularia* sp. ที่ได้จากกรมวิชาการเกษตร แสดงให้เห็นกิจกรรมของเอนไซม์คาตาเลสที่ลดลงเล็กน้อยในช่วงต้นของการทดลอง โดยเริ่มจาก 0.35 ที่ 12 ชั่วโมง อย่างไรก็ตาม เมื่อถึงเวลา 168 ชั่วโมง ระดับกิจกรรมของเอนไซม์คาตาเลสกลับเพิ่มขึ้นจนใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม คือ 0.51 สำหรับเมล็ดพันธุ์ข้าวที่ได้รับเชื้อราแต่ละชนิด ได้แก่ *Curvularia* sp., *Cercospora* sp., *Bipolaris* sp., *Fusarium* sp., *Trichoconis* sp., *Sarocladium* sp. และกรรมวิธีที่ได้รับเชื้อาร่วมกัน 6 ชนิด แสดงรูปแบบของกิจกรรมเอนไซม์คาตาเลสในทิศทางเดียวกัน โดยในช่วงต้น (12-72 ชั่วโมง) ระดับกิจกรรมอยู่ระหว่าง 0.34 ถึง 0.39 และเพิ่มขึ้นเป็นช่วง 0.48 ถึง 0.51 เมื่อครบ 168 ชั่วโมง (ภาพที่ 9-11) ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่า แม้เชื้อราก่อโรคจะมีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์คาตาเลสในระยะแรกของการติดเชื้อ แต่พืชสามารถฟื้นตัวและปรับระดับกิจกรรมของเอนไซม์เพื่อรับมือกับความเครียดจากเชื้อราได้ในเวลาที่เหมาะสม

ผลการทดลองที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพสารกรองเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว

จากผลการทดสอบรูปแบบเซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ด้วยวิธี Dual culture method โดยนำส่วนใสปราศจากเซลล์ของแบคทีเรีย (Cell-free culture filtrate, CFF) และแบคทีเรียที่เลี้ยงในอาหาร cell suspension (CS) จำนวน 10 ไอโซเลต ได้แก่ *B. siamensis* UBU1, *B. pseudomycooides* UBW2, *B. cereus* BRCR3, *B. siamensis* BRBD12, *B. siamensis* SKKH3, *B. cereus* SKNK4, *B. siamensis* SK-KK4, *B. subtilis* SKNK3, *B. siamensis* SKY7 และ *B. cereus* SRSH19 มาทดสอบการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคเมล็ดต่าง 6 ชนิด ได้แก่ *Trichoconis* sp., *Sarocladium* sp., *Cercospora* sp., *Bipolaris* sp., *Curvularia* sp. และ *Fusarium* sp. ผลการ

ทดลองพบว่า ค่าปฏิสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรีย *Bacillus* sp. รูปแบบของเซลล์ และเชื้อสาเหตุโรคเมล็ดต่าง 6 ชนิด มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง เช่นเดียวกับค่าปฏิสัมพันธ์ของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. และรูปแบบของเซลล์ และค่าปฏิสัมพันธ์ของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. และการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคเมล็ดต่าง 6 ชนิด (ตารางที่ 16)

ตารางที่ 16 ประสิทธิภาพของรูปแบบเซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคเมล็ดต่าง

ปัจจัย	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (%)	
<i>Bacillus</i> sp. (A)	<i>Bacillus siamensis</i> UBU1	66.07 BC
	<i>Bacillus pseudomyoides</i> UBW2	54.15 E
	<i>Bacillus cereus</i> BRCR3	63.34 CD
	<i>Bacillus siamensis</i> BRBD12	68.50 B
	<i>Bacillus siamensis</i> SKKH3	66.09 BC
	<i>Bacillus cereus</i> SKNK4	56.77 E
	<i>Bacillus siamensis</i> SKKK4	74.46 A
	<i>Bacillus subtilis</i> SKNK3	65.18 C
	<i>Bacillus siamensis</i> SKY7	60.39 D
	<i>Bacillus cereus</i> SRSHP19	75.92 A
	F-test	**
Cell <i>Bacillus</i> sp. (B)	Cell Suspension (CS)	63.11 B
	Cell-free Culture Filtrate (CFF)	67.07 B
	F-test	**
เชื้อสาเหตุโรคเมล็ดต่าง (C)	<i>Trichoconis</i> sp.	65.36 B
	<i>Sarocladium</i> sp.	65.25 B
	<i>Cercospora</i> sp.	64.45 C
	<i>Bipolaris</i> sp.	61.95 C
	<i>Curvularia</i> sp.	67.53 AB
	<i>Fusarium</i> sp.	67.99 A
	F-test	**
	A x B	**

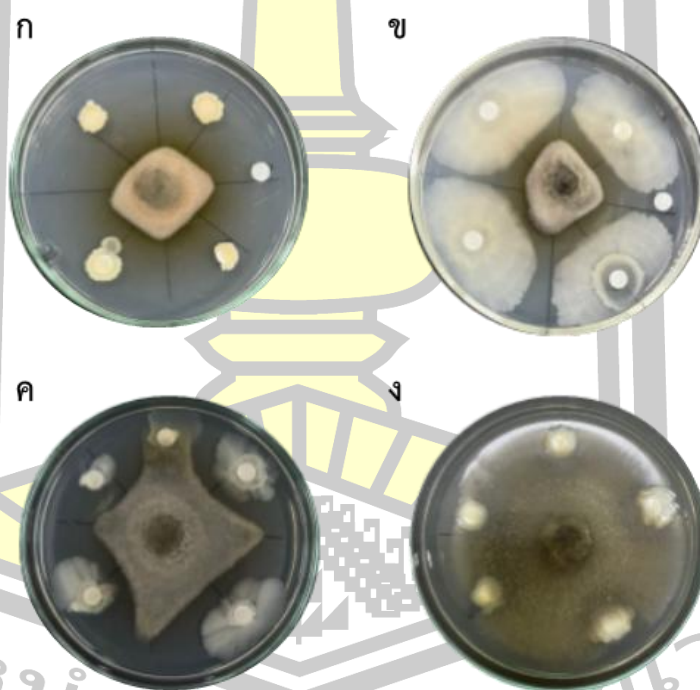
ปัจจัย	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (%)
A x C	**
B x C	ns
A x B x C	**
CV	9.92

หมายเหตุ: ตัวอักษรเดียวกันหรือไม่มีตัวอักษรภายในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ, *= มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95%, **= มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99%, ns= ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ผลการทดลองพบว่า แบคทีเรีย *Bacillus* sp. จำนวน 5 ไอโซเลต คือ *B. cereus* SRSHP19, *B. siamensis* SKKK4, *B. siamensis* BRBD12, *B. siamensis* SKKH3 และ *B. siamensis* UBU1 มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราโดยไอโซเลต *Bacillus cereus* SRSHP19 ส่วนที่เป็น Cell-free culture filtrate และ cell suspension สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง โดยมีบริเวณการยับยั้ง 79.44 และ 72.39 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ *B. siamensis* SKKK4 ส่วนที่เป็น Cell-free culture filtrate และ cell suspension สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง (ภาพที่ 12) โดยมีบริเวณการยับยั้ง 74.07 และ 74.85 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ *B. siamensis* BRBD12 ส่วนที่เป็น Cell-free culture filtrate และ cell suspension สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง โดยมีบริเวณการยับยั้ง 76.48 และ 71.48 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ *B. siamensis* SKKH3 ส่วนที่เป็น Cell-free culture filtrate และ cell suspension สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง โดยมีบริเวณการยับยั้ง 69.16 และ 71.52 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และ *B. siamensis* UBU1 ส่วนที่เป็น Cell-free culture filtrate และ cell suspension สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง โดยมีบริเวณการยับยั้ง 67.04 และ 64.40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ผลการทดลองพบว่า แบคทีเรีย *Bacillus* sp. 5 ไอโซเลต คือ เชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* SRSHP19, *B. siamensis* SKKK4, *B. siamensis* BRBD12, *B. siamensis* SKKH3 และ *Bacillus siamensis* UBU1 มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา 6 ชนิด โดยเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* SRSHP19 สามารถยับยั้งเชื้อรา *Fusarium* sp., *Curvularia* sp., *Bipolaris* sp., *Cercospora* sp., *Sarocladium* sp. และ *Trichoconis* sp. โดยมีบริเวณการยับยั้ง 82.54, 82.49, 78.84, 77.44, 76.97 และ 76.41 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เชื้อแบคทีเรีย *B. siamensis* SKKK4 สามารถยับยั้งเชื้อรา *Curvularia* sp. ได้ดีที่สุด 78.30 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ *Bipolaris* sp. (74.97 เปอร์เซ็นต์), *Sarocladium* sp. (75.44 เปอร์เซ็นต์), *Trichoconis* sp. (73.50 เปอร์เซ็นต์)

Fusarium sp., (68.33 เปอร์เซ็นต์) และ *Cercospora* sp., (65.00 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ *B. siamensis* SKKH3 สามารถยับยั้งเชื้อรา *Sarocladium* sp. ได้ดีที่สุด คือ 79.55 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ *Fusarium* sp. (75.33 เปอร์เซ็นต์) *Trichoconis* sp. (73.40 เปอร์เซ็นต์) *Cercospora* sp. (71.18 เปอร์เซ็นต์) *Curvularia* sp. (70.00 เปอร์เซ็นต์) และ *Bipolaris* sp. (67.16 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ เชื้อแบคทีเรีย *B. siamensis* BRBD12 สามารถยับยั้งเชื้อรา *Curvularia* sp. ได้ดีที่สุด คือ 71.64 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ *Trichoconis* sp. (71.26 เปอร์เซ็นต์) *Sarocladium* sp. (70.55 เปอร์เซ็นต์) *Cercospora* sp. (69.65 เปอร์เซ็นต์) *Bipolaris* sp. (69.65 เปอร์เซ็นต์) และ *Fusarium* sp. (68.52 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ และ *B. siamensis* UBU1 สามารถยับยั้งเชื้อรา *Sarocladium* sp. ได้ดีที่สุดคือ 68.57 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ *Cercospora* sp. (67.73 เปอร์เซ็นต์) *Fusarium* sp. (64.44 เปอร์เซ็นต์) *Bipolaris* sp. (63.33 เปอร์เซ็นต์) *Trichoconis* sp. (62.22 เปอร์เซ็นต์) *Curvularia* sp. (43.61 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ



ภาพที่ 12 การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Curvularia* sp. สาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าวโดยเชื้อแบคทีเรีย ก) แบคทีเรีย *B. cereus* SKNK3 ข) แบคทีเรีย *B. siamensis* SRSH19 ที่อยู่รูปของเซลล์ Cell-free culture filtrate (CFF) ค) แบคทีเรีย *B. siamensis* SKKH3 ง) แบคทีเรีย *B. siamensis* UBU1 ที่อยู่ในรูปของเซลล์ cell suspension (CS)

การวิเคราะห์ผลการปฏิสัมพันธ์ระหว่าง *Bacillus* sp. (A), รูปแบบของเซลล์ (B) และเชื้อสาเหตุโรคเมล็ดต่าง 6 ชนิด (C) พบว่า *Bacillus* sp. แต่ละไอโซเลตมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อราแต่ละชนิดได้แตกต่างกัน โดยเชื้อ *Bacillus* sp. จำนวน 6 ไอโซเลต ได้แก่ *B. subtilis* SK-NK3, *B. cereus* SRSHP19, *B. siamensis* BRBD12, *B. siamensis* UBU1, *B. cereus* SKNK4 และ *B. siamensis* SKKH3 ที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้ตั้งแต่ 80.00 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป

เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* SKNK3 ในรูปของเซลล์ Cell-free culture filtrate (CFF) สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *Curvularia* sp. สูงที่สุด คือ 93.33 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 12ก) รองลงมาคือ เชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* SRSHP19 ในรูปของเซลล์ Cell-free culture filtrate (CFF) สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *Trichoconis* sp., *Sarocladium* sp., *Curvularia* sp. (ภาพที่ 12ข) และ *Fusarium* sp. ได้ 86.67 เปอร์เซ็นต์ *B. siamensis* BRBD12 ในรูปของเซลล์ Cell-free culture filtrate (CFF) สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *Curvularia* sp. ได้ 85.00 เปอร์เซ็นต์ ไอโซเลต *B. siamensis* UBU1 ในรูปของเซลล์ Cell-free culture filtrate (CFF) สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *Trichoconis* sp. ได้ 84.44 เปอร์เซ็นต์ ไอโซเลต *B. cereus* SKNK4 ในรูปของเซลล์ Cell-free culture filtrate (CFF) สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *Sarocladium* sp. ได้ 84.44 เปอร์เซ็นต์ ไอโซเลต *B. cereus* SRSHP19 ในรูปของเซลล์ Cell-free culture filtrate (CFF) สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *Bipolaris* sp. ได้ 83.89 เปอร์เซ็นต์ เชื้อแบคทีเรีย *B. siamensis* SKKH3 ในรูปของเซลล์ cell suspension (CS) สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *Sarocladium* sp. ได้ 83.33 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 12ค) และเชื้อแบคทีเรีย *B. siamensis* UBU1 ที่อยู่ในรูปของเซลล์ cell suspension (CS) ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Curvularia* sp. ได้น้อยที่สุด (ภาพที่ 12ง) เชื้อแบคทีเรีย *B. siamensis* BRBD12 ในรูปของเซลล์ Cell-free culture filtrate (CFF) สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *Cercospora* sp. ได้ 82.22 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* SKNK3 ในรูปของเซลล์ Cell-free culture filtrate (CFF) สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *Trichoconis* sp. ได้ 80.00 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 17)

พูน ปณ ทิโต ชเว

ตารางที่ 17 ผลของรูปแบบของเซลล์เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อการยับยั้งเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง

<i>Bacillus</i> sp. (A)	Cell (B)	<i>Trichoconis</i> sp.	<i>Sarocladium</i> sp.	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง 6 ชนิด (C)		
				<i>Cercospora</i> sp.	<i>Bipolaris</i> sp.	<i>Curvularia</i> sp.
<i>Bacillus</i>	CS	40.00 fg	53.33 cde	71.18 H-S	58.89 U-Za-d	70.00 H-T
<i>siamensis</i> UBU1	CFF	84.44 ABCD	53.33 cde	71.18 H-S	58.89 U-Za-d	70.00 HT
<i>Bacillus</i>	CS	77.66 B-M	66.67 N-Y	54.44 a-e	60.00 T-Za-d	70.00 H-T
<i>pseudomycooides</i>	CFF	16.67 i	32.22 gh	64.44 O-Zab	25.56 hi	53.33 cde
UBW2						58.89 U-Za-d
<i>Bacillus cereus</i>	CS	55.55 Za-e	63.82 P-Zabc	62.14 R-Za-d	63.22 Q-Zabc	58.13 V-Za-d
BRCR3	CFF	71.11 H-S	73.33 E-Q	73.33 E-Q	71.11 H-S	71.38 H-S
<i>Bacillus</i>	CS	69.20 J-U	55.72 Za-e	57.09 X-Za-d	60.85 S-Za-d	58.29 V-Za-d
<i>siamensis</i> BR-	CFF		65.00 N-Za	82.22 B-G	78.33 B-L	85.00 ABC
BD12		73.33 E-Q				75.00 C-O
<i>Bacillus</i>	CS	73.47 E-Q	83.33 A-F	62.22 R-Za-d	40.00 fg	53.89 b-e
<i>siamensis</i> SKKH3	CFF	73.33 E-Q	57.78 W-Za-d	16.66 i	66.67 N-Y	33.33 gh
						63.33 Q-Zabc

หมายเหตุ: ตัวอักษรเดียวกันหรือไม่มีตัวอักษรภายในคอลัมน์เดียวกันแต่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ, ** = มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99%

ตารางที่ 17 ผลของรูปแบบของเซลล์เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อการยับยั้งเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคมะลิแตกต่าง (ต่อ)

<i>Bacillus</i> sp. (A)	Cell	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคมะลิแตกต่าง 6 ชนิด (C)					
		<i>Trichoconis</i> sp.	<i>Sarocladium</i> sp.	<i>Cercospora</i> sp.	<i>Bipolaris</i> sp.	<i>Curvularia</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.
<i>Bacillus cereus</i>	CS	73.33 E-Q	66.22 N-Z	59.11 U-Za-d	52.00 de	71.11 H-S	64.63 O-Zab
SKNK4	CFF	53.33 cde	84.44 ABCD	72.22 G-R	71.11 H-S	57.78 W-Za-d	67.78 L-X
<i>Bacillus siamensis</i>	CS	69.22 I-U	73.11 F-Q	74.44 C-P	75.51 C-N	77.71 B-M	79.11 B-J
SKKK4	CFF	77.78 B-M	77.77 B-M	55.56 Za-e	74.44 C-P	78.89 B-K	79.99 B-I
<i>Bacillus subtilis</i> SK-	CS	54.44 a-e	56.22 YZabcde	58.00 W-Za-d	59.77 T-Za-d	61.55 R-Za-d	63.33 Q-Za-c
NK3	CFF	80.00 B-H	68.89 J-V	77.78 B-M	35.55 fgh	93.33 A	73.33 E-Q
<i>Bacillus siamensis</i>	CS	51.56 de	51.58 de	51.60 de	51.62 de	51.64 de	51.67 de
SKY7	CFF	60.00 T-Za-d	68.33 K-W	68.89 J-V	77.78 B-M	70.00 H-T	70.00 H-T
<i>Bacillus cereus</i>	CS	66.16 N-Z	67.27 M-X	70.39 H-T	73.79 D-Q	78.31 B-L	78.42 B-L
SRSHP19	CFF	86.67 AB	86.67 AB	46.11 ef	83.89 ABCDE	86.67 AB	86.67 AB
F-test		**					

หมายเหตุ: ตัวอักษรเดียวกันหรือไม่มีตัวอักษรภายในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ, **= มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99%

ผลการทดลองที่ 3 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว

จากผลการทดสอบรูปแบบเซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. (การทดลองที่ 2) คัดเลือกแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีประสิทธิภาพ จำนวน 5 ไอโซเลต คือ *B. siamensis* UBU1, *B. siamensis* BRBD12, *B. siamensis* SKKH3, *B. siamensis* SKKK4 และ *B. cereus* SRSHP19 มาทดสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง 6 ชนิด ได้แก่ *Trichoconis* sp., *Sarocladium* sp., *Cercospora* sp., *Bipolaris* sp., *Curvularia* sp. และ *Fusarium* sp. ผลการทดลองพบว่า ค่าปฏิสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรีย *Bacillus* sp. และเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง 6 ชนิด มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 18)

จากการทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* sp. ในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว พบว่า ไอโซเลต *B. siamensis* SKKK4 และ *B. siamensis* SKKH3 สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราได้ดีที่สุด คือ 93.83 และ 91.20 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ *Bacillus cereus* SRSHP19 เท่ากับ 89.75 เปอร์เซ็นต์ *B. siamensis* UBU1 เท่ากับ 86.48 เปอร์เซ็นต์ และ *B. siamensis* BRBD12 เท่ากับ 84.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และพบว่า *Bacillus* sp. สามารถยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Curvularia* sp. ได้ดีที่สุด 100.00 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 13ข) รองลงมาคือ ยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Fusarium* sp., *Cercospora* sp., *Trichoconis* sp., *Sarocladium* sp. และ *Bipolaris* sp. ได้ 89.68, 87.55, 88.55, 86.10 และ 82.45 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 18)

จากการทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* sp. จำนวน 5 ไอโซเลต ในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา 6 ชนิด พบว่า *B. siamensis* UBU1, *B. siamensis* BRBD12, *B. siamensis* SKKH3, *B. siamensis* SKKK4 และ *B. cereus* SRSHP19 สามารถยับยั้งการงอกสปอร์เชื้อรา *Curvularia* sp. ได้ดีที่สุด 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ไอโซเลต *B. siamensis* SKKK4 สามารถยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Cercospora* sp. ได้ 96.00 เปอร์เซ็นต์ *B. cereus* SRSHP19 ยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Sarocladium* sp. ได้ 96.00 เปอร์เซ็นต์ ไอโซเลต *B. siamensis* SKKK4 ยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Trichoconis* sp. และ *Fusarium* sp. ได้ 95.00 และ 94.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และ *B. cereus* SRSHP19 ยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Trichoconis* sp. ได้ 94.00 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 18)

ตารางที่ 18 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง

Factor	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (%)
<i>Bacillus</i> sp. (A)	<i>Bacillus siamensis</i> UBU1 86.48 BC
	<i>Bacillus siamensis</i> BRBD12 84.00 C
	<i>Bacillus siamensis</i> SKKH3 91.20 A
	<i>Bacillus siamensis</i> SKKK4 93.83 A
	<i>Bacillus cereus</i> SRSHP19 89.75 AB
	F-test **
Fungi (B)	<i>Trichoconis</i> sp. 88.55 B
	<i>Sarocladium</i> sp. 86.10 BC
	<i>Cercospora</i> sp. 87.55 B
	<i>Bipolaris</i> sp. 82.45 C
	<i>Curvularia</i> sp. 100.00 A
	<i>Fusarium</i> sp. 89.68 B
	F-test **
	A x B *
	CV 9.08

หมายเหตุ: ตัวอักษรเดียวกันหรือไม่มีตัวอักษรภายในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ, **= มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99%

พูน ปณ ทิโต ชีเว



ภาพที่ 13 ผลของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา *Curvularia* sp. สาเหตุโรคเมล็ดต่าง ก) ชูตควบคุม ข) สปอร์เชื้อราที่ทดสอบร่วมกับเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ค) germ tube

ผลการทดลองที่ 4 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อการงอกของเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

จากการทดสอบผลของ *Bacillus* sp. จำนวน 5 ไอโซเลต ได้แก่ *B. cereus* SRSHP19, *B. siamensis* SKKH3, *B. siamensis* BRBD12, *B. siamensis* SKKK4 และ *B. siamensis* UBU1 ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นอ่อนข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในระยะเวลา 7 และ 14 วัน หลังจากการปลูก พบว่า ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่คลุกด้วย *Bacillus* sp. ภายใต้เงื่อนไขการทดลองในห้องปฏิบัติการ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมไม่คลุกเชื้อ กล่าวคือ การงอกของเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มีการงอกของเมล็ดข้าวอยู่ในช่วง 85.50-91.50 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเพาะเมล็ดได้ 7 วัน และการงอกของเมล็ดข้าวอยู่ในช่วง 89.50-93.50 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเพาะเมล็ดได้ 14 วัน ตามลำดับ ซึ่งกรมการข้าวได้กำหนดมาตรฐานสำหรับเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดข้าว > 80.00 เปอร์เซ็นต์ และดัชนีการงอกอยู่ในช่วง 6.18 -6.53 ในช่วง 7 วันหลังเพาะเมล็ด และ 3.19-3.34 ในช่วง 14 วันหลังเพาะเมล็ด (ตารางที่ 19) แสดงให้เห็นว่าการ

คลุกเมล็ดด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไม่ส่งผลกระทบต่อการงอกของเมล็ดข้าว และเมล็ดข้าวยังเป็นไปตามมาตรฐานของกรมการข้าวกำหนดไว้

ตารางที่ 19 ผลของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อการงอกของเมล็ดและดัชนีการงอกของเมล็ดข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่อายุ 7 และ 14 วันหลังเพาะ

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การงอก (%)		ดัชนีการงอก	
	7 วัน	14 วัน	7 วัน	14 วัน
Control (กรรมวิธีควบคุมไม่คลุกเชื้อ)	91.50	92.50	6.53	3.30
<i>Bacillus cereus</i> SRSHP19	88.50	92.50	6.32	3.30
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH3	89.00	93.50	6.36	3.34
<i>Bacillus siamensis</i> BRBD12	86.50	89.50	6.18	3.19
<i>Bacillus siamensis</i> SKKK4	91.00	93.00	6.50	3.32
<i>Bacillus siamensis</i> UBU1	85.50	89.50	6.53	3.19
F-test	ns	ns	ns	ns
C.V. (%)	5.89	3.94	5.87	3.99

หมายเหตุ: ตัวอักษรเดียวกันหรือไม่มีตัวอักษรในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ns= ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

จากผลการตรวจสอบพลังงานในการงอก (Energy of germination) หลังการเพาะเมล็ด 14 วัน มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ พบว่า ไอโซเลต *B. cereus* SRSHP19, *B. siamensis* SKKH3, *B. siamensis* BRBD12 และกรรมวิธีควบคุมไม่คลุกเชื้อ มีพลังงานในการงอกมากที่สุด 70.00, 72.00, 73.00 และ 74.50 ตามลำดับ (ตารางที่ 20)

อัตราการความเร็วในการงอกของเมล็ดข้าวหลังจากได้รับเชื้อ *Bacillus* sp. มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง พบว่า ไอโซเลต *B. cereus* SRSHP19, *B. siamensis* SKKH3, *B. siamensis* BRBD12 และกรรมวิธีควบคุมไม่คลุกเชื้อ มีอัตราความเร็วในการงอกมากที่สุด เท่ากับ 82.62, 81.07, 81.11 และ 81.12 ตามลำดับ (ตารางที่ 20)

ดัชนีความแข็งแรงของต้นกล้า (Seeding Vigor Index) หลังจากได้รับเชื้อ *Bacillus* sp. มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดย *B. siamensis* SKKK4 มีดัชนีความแข็งแรง มากที่สุด คือ 1831.80 รองลงมาคือ *B. siamensis* SKKH3 (1801.40), *B. cereus* SRSHP19

(1685.90), *B. siamensis* BRBD12 (1551.80), กรรมวิธีควบคุมไม่คลุกเชื้อ (1495.10) และ *B. siamensis* UBU1 (1350.10) ตามลำดับ (ตารางที่ 20)

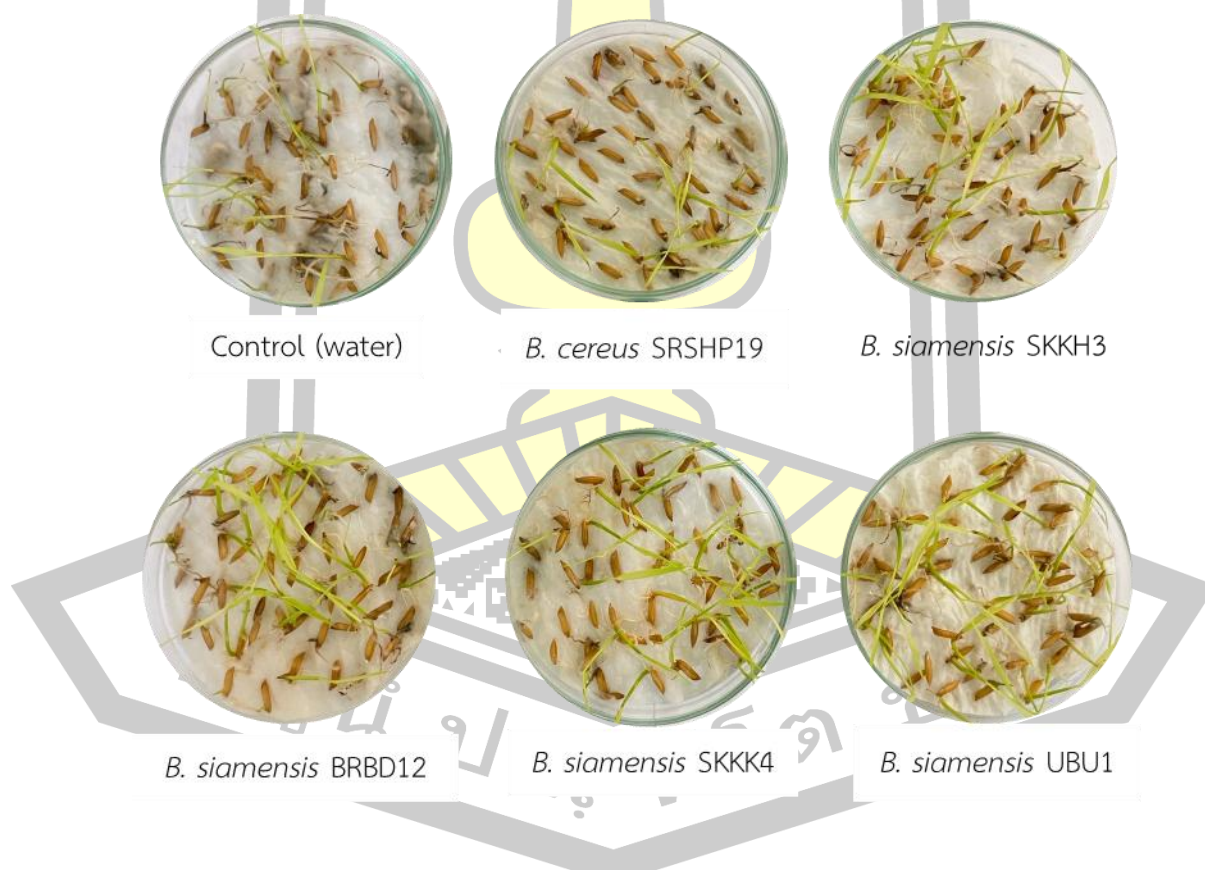
ตารางที่ 20 พลังงานในการงอก อัตราการความเร็วในการงอก และดัชนีความแข็งแรงของต้นกล้า ข้าวขาวดอกมะลิ 105 หลังจากได้รับแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่อายุ 14 วันหลังการเพาะเมล็ด

กรรมวิธี	พลังงานในการงอก	อัตราการความเร็วในการงอก	ดัชนีความแข็งแรงของต้นกล้า
Control (กรรมวิธีควบคุมไม่คลุกเชื้อ)	74.50 A	81.12 A	1,495.10 D
<i>B. cereus</i> SRSHP19	73.00 A	82.62 A	1,685.90 BC
<i>B. siamensis</i> SKKH3	72.00 A	81.07 A	1,801.40 AB
<i>B. siamensis</i> BRBD12	70.00 A	81.11 A	1,551.80 CD
<i>B. siamensis</i> SKKK4	64.50 AB	70.95 AB	1,831.80 A
<i>B. siamensis</i> UBU1	51.00 B	65.46 B	1,350.10 E
F-test	*	*	**
C.V. (%)	15.04	14.21	5.64

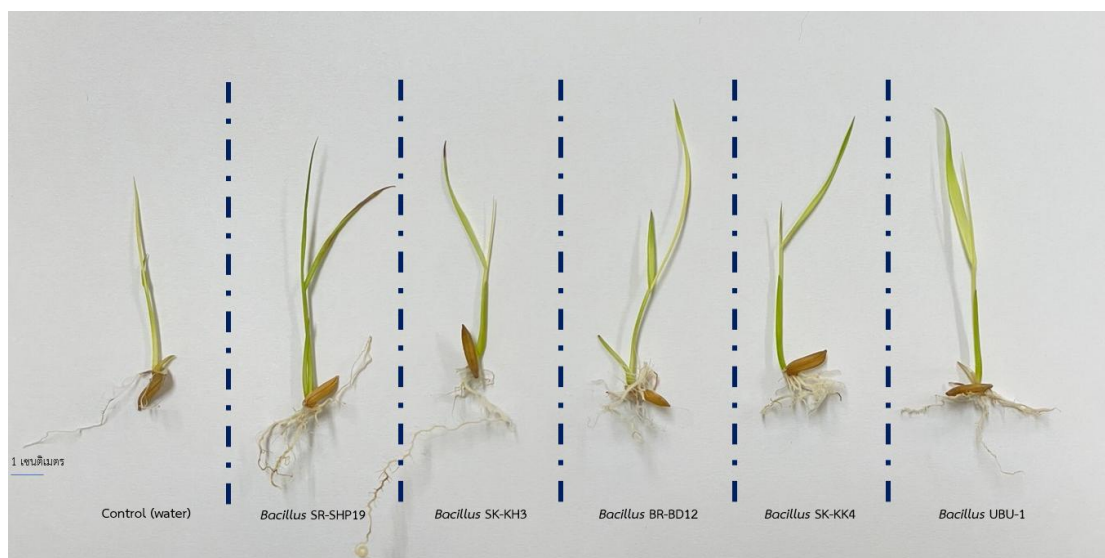
หมายเหตุ: ตัวอักษรเดียวกันหรือไม่มีตัวอักษรภายในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ, *= มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95%, **= มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99%, ns= ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

พูน ปณ จิต ชีเว

การประเมินการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวเป็นเวลา 14 วัน (ภาพที่ 14) ได้วัดความยาวของต้น ความยาวของราก น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งรวมของรากและต้น (ภาพที่ 15) ผลการทดลองพบว่า ความยาวของต้นกล้ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยเชื้อแบคทีเรีย *B. siamensis* SKKH3 ส่งผลต่อความยาวรากมากที่สุด คือ 7.77 เซนติเมตร รองลงมาคือ *B. siamensis* SKKK4 เท่ากับ 7.15 เซนติเมตร เชื้อแบคทีเรีย *B. siamensis* BRBD12, *B. cereus* SRSHP19 และ *B. siamensis* UBU1 ส่งผลต่อความยาวราก เท่ากับ 6.18, 6.17 และ 5.71 เซนติเมตร ตามลำดับ แต่เมล็ดข้าวที่ไม่คลุกเชื้อความรากต่ำที่สุด จากการประเมินน้ำหนักต้นสดพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยเชื้อแบคทีเรีย *B. siamensis* SKKK4 ส่งผลให้ต้นกล้าข้าวมีน้ำหนักต้นสดมากที่สุดคือ 2.28 กรัมต่อต้น รองลงมาคือ *B. cereus* SRSHP19, *B. siamensis* SKKH3 และ *B. siamensis* BRBD12 ต้นกล้าข้าวมีน้ำหนักต้นสด อยู่ในช่วง 2.05-2.15 กรัมต่อต้น ในส่วนของ *B. siamensis* UBU1 และกรรมวิธีควบคุมไม่คลุกเชื้อ ต้นกล้าข้าวมีน้ำหนักต้นสดน้อยที่สุด คือ 1.91 และ 1.79 กรัมต่อต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 21)



ภาพที่ 14 การเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวขาวดอกมะลิ 105 หลังปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. เป็นเวลา 14 วัน



ภาพที่ 15 ลักษณะตัวอย่างต้นกล้าที่ได้รับเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. เป็นเวลา 14 วันหลังเพาะ ซึ่งนำมาวัดความยาวต้น ความยาวของราก น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งรวมของรากและต้นกล้า

ตารางที่ 21 ผลของต้นกล้าที่ได้รับเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อการเจริญเติบโต น้ำหนักรากและน้ำหนักต้น ที่อายุ 14 วันหลังเพาะ

กรรมวิธี	การเจริญเติบโต (เซนติเมตร)		น้ำหนักราก (กรัม/ต้น)		น้ำหนักต้น (กรัม/ต้น)	
	ความยาว ราก	ความยาวต้น	น้ำหนัก สด	น้ำหนัก แห้ง	น้ำหนัก สด	น้ำหนัก แห้ง
Control (กรรมวิธีควบคุมไม่ คลุกเชื้อ)	5.59 A	5.30	1.25	0.02	1.79 C	0.32
<i>B. cereus</i> SRSHP19	6.17 BC	6.53	1.23	0.02	2.15 B	0.29
<i>B. siamensis</i> SKKH3	7.77 A	5.72	1.28	0.02	2.05 B	0.32
<i>B. siamensis</i> BRBD12	6.18 BC	5.78	1.32	0.03	2.10 B	0.39
<i>B. siamensis</i> SKKK4	7.15 AB	6.27	1.26	0.03	2.28 A	0.38
<i>B. siamensis</i> UBU1	5.71 C	5.90	1.28	0.02	1.91 C	0.35
F-test	**	ns	ns	ns	**	ns
C.V. (%)	10.67	9.15	4.01	3.56	8.71	12.31

หมายเหตุ: ตัวอักษรเดียวกันหรือไม่มีตัวอักษรภายในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ, **= มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99%, ns= ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

จากผลการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อพารามิเตอร์ทางชีวเคมีของต้นกล้าข้าว พบว่าต้นกล้าข้าวที่เคลือบเมล็ดด้วย *Bacillus* sp. มีปริมาณน้ำตาลแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยเมล็ดข้าวที่ได้รับเชื้อแบคทีเรีย *B. siamensis* BRBD12 มีปริมาณน้ำตาลมากที่สุด คือ 6.62 มิลลิกรัม/กรัมของน้ำหนักสด รองลงมาคือ ไอโซเลต *B. siamensis* SKKH3, *B. cereus* SRSHP19, *B. siamensis* UBU1, *B. siamensis* SKKK4 และกรรมวิธีควบคุมไม่คลุกเชื้อ มีปริมาณน้ำตาล เท่ากับ 5.78, 4.76, 4.32, 3.99 และ 3.88 มิลลิกรัม/กรัมของน้ำหนักสด ตามลำดับ (ตารางที่ 22)

จากผลการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อพารามิเตอร์ทางชีวเคมีของต้นกล้าข้าว พบว่าต้นกล้าข้าวที่เคลือบเมล็ดด้วย *Bacillus* sp. มีปริมาณอะมิโนแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดย เมล็ดข้าวที่ได้รับเชื้อแบคทีเรีย *B. siamensis* SKKK4 มีปริมาณอะมิโนมากที่สุด คือ 2.83 มิลลิกรัม/กรัมของน้ำหนักสด รองลงมาคือ *B. siamensis* SKKH3, *B. siamensis* BRBD12, *B. cereus* SRSHP19, กรรมวิธีควบคุมไม่คลุกเชื้อ และ *B. siamensis* UBU1 มีปริมาณน้ำตาล เท่ากับ 2.51, 1.79, 1.34, 1.45 และ 1.22 มิลลิกรัม/กรัมของน้ำหนักสด ตามลำดับ (ตารางที่ 22)

จากผลการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อพารามิเตอร์ทางชีวเคมีของต้นกล้าข้าว พบว่าต้นกล้าข้าวที่เคลือบเมล็ดด้วย *Bacillus* sp. มีปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยเมล็ดข้าวที่ได้รับเชื้อแบคทีเรีย *B. siamensis* SKKH3 มีปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดมากที่สุด คือ 42.66 ไมโครกรัม/กรัมของน้ำหนักสด รองลงมาคือ *B. siamensis* SKKK4, *B. cereus* SRSHP19, *B. siamensis* BRBD12, *B. siamensis* UBU1 และกรรมวิธีควบคุมไม่คลุกเชื้อ มีปริมาณน้ำตาล เท่ากับ 42.02, 39.05, 35.79, 36.21 และ 30.69 ไมโครกรัม/กรัมของน้ำหนักสด ตามลำดับ (ตารางที่ 22)

จากผลการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อพารามิเตอร์ทางชีวเคมีของต้นกล้าข้าว พบว่าต้นกล้าข้าวที่เคลือบเมล็ดด้วย *Bacillus* sp. มีปริมาณแคโรทีนอยด์แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยเมล็ดข้าวที่ได้รับเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus siamensis* BRBD12 มีปริมาณแคโรทีนอยด์มากที่สุด คือ 1.68 ไมโครกรัม/กรัมของน้ำหนักสด รองลงมาคือ *B. siamensis* SKKH3, *B. siamensis* UBU1, *B. siamensis* SKKK4, *B. cereus* SRSHP19 และกรรมวิธีควบคุมไม่คลุกเชื้อ มีปริมาณน้ำตาล เท่ากับ 1.20, 1.23, 0.91, 0.75 และ 0.52 ไมโครกรัม/กรัมของน้ำหนักสด ตามลำดับ (ตารางที่ 22)

ตารางที่ 22 ผลของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อพารามิเตอร์ทางชีวเคมีของข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่อายุ 14 วันหลังเพาะ

กรรมวิธี	Sugar Estimation (mg g ⁻¹ FW)	Free Amino acid (mg g ⁻¹ FW)	Total Chlorophyll (µg g ⁻¹ FW)	Carotenoids (µg g ⁻¹ FW)
Control (ชุดควบคุมน้ำ)กลั่น	3.88 D	1.45 C	30.69 D	0.52 D
<i>B. cereus</i> SRSHP19	4.76 C	1.34 C	39.05 BC	0.75 CD
<i>B. siamensis</i> SKKH3	5.78 B	2.51 AB	42.66 A	1.20 B
<i>B. siamensis</i> BRBD12	6.62 A	1.79 BC	35.79 C	1.68 A
<i>B. siamensis</i> SKKK4	3.99 D	2.83 A	42.02 AB	0.91 C
<i>B. siamensis</i> UBU-1	4.32 CD	1.22 C	36.21 C	1.23 B
F-test	**	**	**	**
C.V. (%)	6.23	16.19	3.83	9.16

หมายเหตุ: ตัวอักษรเดียวกันหรือไม่มีตัวอักษรภายในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ, **= มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99%

ผลการทดลองที่ 5 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในการลดโรคเมล็ดต่างข้าว ในสภาพเรือนทดลอง

จากการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. จำนวน 5 ไอโซเลต ได้แก่ *B. cereus* SRSHP19, *B. siamensis* SKKH3, *B. siamensis* BRBD12, *B. siamensis* SKKK4 และ *B. siamensis* UBU1 เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมใช้ *B. subtilis* การค้าซื้อไบโอเบส กรรมวิธีควบคุมใช้สารเคมี และกรรมวิธีควบคุมไม่คลุกเชื้อ ในการทดสอบการลดโรคเมล็ดต่างของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสภาพเรือนทดลอง จากการตรวจสอบลักษณะของโรคที่ปรากฏบนเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 พบว่า การเกิดโรคเมล็ดต่างมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ประเมินอาการบนเมล็ดข้าวมีลักษณะเป็นจุดสีน้ำตาลดังภาพที่ 16 และทำการแยกเมล็ดดี เมล็ดที่มีอาการต่าง และเมล็ดลีบ (ภาพที่ 16) เพื่อทำการเปรียบเทียบกรรมวิธีกรรมวิธีควบคุมไม่คลุกเชื้อ , กรรมวิธี *B. subtilis* การค้าซื้อไบโอเบส, กรรมวิธีควบคุมใช้สารเคมี และเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* SRSHP19 ร่วมกับการปลูกเชื้อรา *Sarocladium* sp., *B. cereus* SRSHP19 ร่วมกับการปลูกเชื้อรา *Bipolaris* sp., *B. siamensis* BRBD12 ร่วมกับการปลูกเชื้อรา *Sarocladium* sp., *B. cereus* SRSHP19 ร่วมกับการปลูกเชื้อรา *Bipolaris* sp. มีการเกิดโรคเมล็ดต่างอยู่ที่ 84.68, 82.86, 81.58,

72.78, 68.86, 68.86 และ 68.42 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และ กรรมวิธี *B. cereus* SRSHP19 ร่วมกับการปลูกเชื้อรา *Trichoconis* sp. มีการเกิดโรคน้อยที่สุด คือ 59.02 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 23) เมล็ดข้าวที่ไม่มีอาการแผลจุดบนเปลือกเมล็ดเมื่อทำการขัดสีไม่พบการแตกหักของเมล็ด (ภาพที่ 17ก) แต่เมล็ดข้าวที่มีอาการเมล็ดต่างเมื่อนำเมล็ดข้าวขัดสีข้าวกล้องพบการแตกหักและเมล็ดมีรอยร้าว(ภาพที่ 17ข)



ภาพที่ 16 ลักษณะของโรคที่ปรากฏบนเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105

- ก) เมล็ดที่ไม่มีอาการของโรคเมล็ดต่าง
- ข) จุด (เมล็ดที่มีลักษณะของแผลรูปร่างค่อนข้างกลม มีขนาดเล็กกว่า 0.1 มม.)
- ค) แผล (เมล็ดที่มีลักษณะของแผลมีขนาดใหญ่กว่า 0.1 มม.)



ภาพที่ 17 ลักษณะของโรคที่ปรากฏบนเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

- ก1) เมล็ดที่ไม่มีอาการของโรคเมล็ดต่าง
- ก2) เมล็ดข้าวที่ผ่านการขัดสีข้าวกล้อง
- ก3) เมล็ดข้าวที่ผ่านการขัดขาว
- ข1) เมล็ดที่แสดงอาการโรคเมล็ดต่างบนเปลือก
- ข2) เมล็ดข้าวที่ผ่านการขัดสีข้าวกล้อง
- ข3) เมล็ดข้าวที่ผ่านการขัดขาว



ภาพที่ 18 ลักษณะของเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ก) เมล็ดข้าวที่ไม่มีอาการของโรคเมล็ดต่าง
ข) เมล็ดข้าวที่มีลักษณะของอาการโรคเมล็ดต่างข้าว ค) เมล็ดข้าวลีบ

พูน ปณ จิต ชีเว

ตารางที่ 23 ผลของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อการลดการเกิดโรคเมล็ดต่าง เมล็ดปกติ และเมล็ดลีบของข้าวพันธุ์ขาวอมงะลิ 105 ในสภาพเรือน

ทดลอง

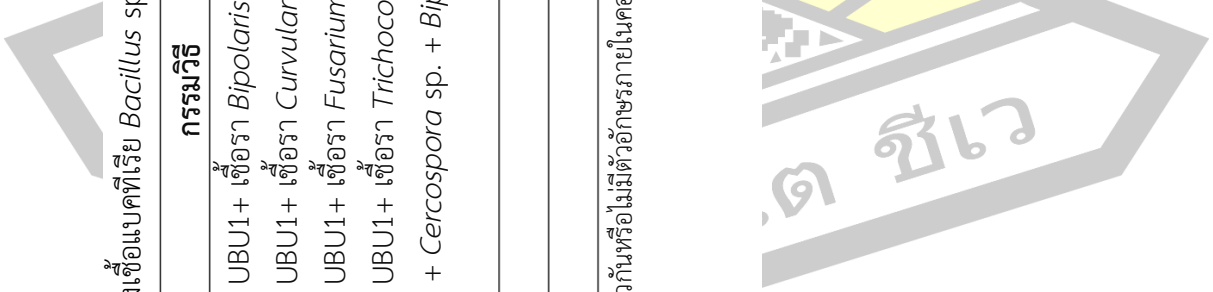
กรรมวิธี		การเกิดโรคเมล็ดต่าง (%)	เมล็ดปกติ (%)	เมล็ดลีบ (%)
Control + (กรรมวิธีไม่คลุกเชื้อ)	แช่เมล็ดข้าวในน้ำปลอดเชื้อนาน 24 ชั่วโมง	84.68 A	14.31 K	9.83 A
Control - (กรรมวิธีใช้สารเคมี)		81.58 B	17.43 IJK	7.08 BCDE
Control	กรรมวิธีใช้ <i>Bacillus subtilis</i> การค้าชื่อไบโอเบส	82.86 AB	15.16 JK	8.30 ABCD
<i>Bacillus cereus</i> SRSHP19 + เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.		59.02 I	21.21 A-I	9.01 A
<i>Bacillus cereus</i> SRSHP19 + เชื้อรา <i>Sarocladium</i> sp.		72.78 C	17.72 IJK	8.48 ABC
<i>Bacillus cereus</i> SRSHP19 + เชื้อรา <i>Cercospora</i> sp.		66.56 D-H	19.29 D-I	8.75 AB
<i>Bacillus cereus</i> SRSHP19 + เชื้อรา <i>Bipolaris</i> sp.		68.86 D	18.69 HIJ	8.68 AB
<i>Bacillus cereus</i> SRSHP19 + เชื้อรา <i>Curvularia</i> sp.		67.81 DEFG	18.98 F-J	8.72 AB
<i>Bacillus cereus</i> SRSHP19 + เชื้อรา <i>Fusarium</i> sp.		68.19 DEF	18.86 GHIJ	8.70 AB
<i>Bacillus cereus</i> SRSHP19 + เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp. + <i>Sarocladium</i> sp. + <i>Cercospora</i> sp. + <i>Bipolaris</i> sp. + <i>Curvularia</i> sp. + <i>Fusarium</i> sp.		68.07 DEF	18.90 GHIJ	8.71 AB
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH3 + เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.		64.47 H	19.48 C-I	6.07 EFGH
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH3 + เชื้อรา <i>Sarocladium</i> sp.		65.41 FGH	19.33 D-I	6.73 DEF
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH3 + เชื้อรา <i>Cercospora</i> sp.		65.53 EFGH	19.31 D-I	6.82 CDEF
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH3 + เชื้อรา <i>Bipolaris</i> sp.		67.96 DEF	18.93 GHIJ	8.71 AB
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH3 + เชื้อรา <i>Curvularia</i> sp.		65.01 GH	19.39 C-I	6.44 EFG
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH3 + เชื้อรา <i>Fusarium</i> sp.		65.47 EFGH	19.32 D-I	6.77 DEF
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH3 + เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp. + <i>Sarocladium</i> sp. + <i>Cercospora</i> sp. + <i>Bipolaris</i> sp. + <i>Curvularia</i> sp. + <i>Fusarium</i> sp.		64.47 H	19.48 C-I	6.07 EFGH

หมายเหตุ: ตัวอักษรเดียวกันหรือไม่มีตัวอักษรภายในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ, ** = มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99%

ตารางที่ 23 ผลของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อการลดการเกิดโรคเมล็ดต่าง เมล็ดปกติ และเมล็ดลีบของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสภาพเรือน (ต่อ)

กรรมวิธี	การเกิดโรคเมล็ดต่าง (%)			เมล็ดลีบ (%)	
	เมล็ดปกติ (%)	เมล็ดลีบ (%)	เมล็ดลีบ (%)	เมล็ดปกติ (%)	เมล็ดลีบ (%)
<i>Bacillus siamensis</i> BR-BD12 + เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.	67.13 D-H	24.79 A	4.56 H		
<i>Bacillus siamensis</i> BR-BD12 + เชื้อรา <i>Sarocladium</i> sp.	68.42 DE	24.59 A	5.50 EFGH		
<i>Bacillus siamensis</i> BR-BD12 + เชื้อรา <i>Cercospora</i> sp.	65.83 EFGH	21.17 A-I	5.91 EFGH		
<i>Bacillus siamensis</i> BR-BD12 + เชื้อรา <i>Bipolaris</i> sp.	66.60 D-H	23.18 ABC	5.19 FGH		
<i>Bacillus siamensis</i> BR-BD12 + เชื้อรา <i>Curvularia</i> sp.	67.52 DEFG	23.67 AB	5.48 EFGH		
<i>Bacillus siamensis</i> BR-BD12 + เชื้อรา <i>Fusarium</i> sp.	66.40 D-H	22.22 A-H	5.65 EFGH		
<i>Bacillus siamensis</i> BR-BD12 + เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.+ <i>Sarocladium</i> sp. + <i>Cercospora</i> spp. + <i>Bipolaris</i> sp. + <i>Curvularia</i> sp. + <i>Fusarium</i> sp.	66.75 D-H	23.08 ABCD	5.35 FGH		
<i>Bacillus siamensis</i> SKKK4+ เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.	67.11 D-H	23.22 ABC	5.50 EFGH		
<i>Bacillus siamensis</i> SKKK4+ เชื้อรา <i>Sarocladium</i> sp.	66.62 D-H	22.60 A-G	5.55 EFGH		
<i>Bacillus siamensis</i> SKKK4+ เชื้อรา <i>Cercospora</i> sp.	66.81 D-H	23.03 A-E	5.42 EFGH		
<i>Bacillus siamensis</i> SKKK4+ เชื้อรา <i>Bipolaris</i> sp.	66.95 D-H	23.05 A-E	5.49 EFGH		
<i>Bacillus siamensis</i> SKKK4+ เชื้อรา <i>Curvularia</i> sp.	66.72 D-H	22.78 A-F	5.51 EFGH		
<i>Bacillus siamensis</i> SKKK4+ เชื้อรา <i>Fusarium</i> sp.	66.83 D-H	22.99 A-E	6.07 EFGH		
<i>Bacillus siamensis</i> SKKK4+ เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.+ <i>Sarocladium</i> sp. + <i>Cercospora</i> sp. + <i>Bipolaris</i> sp. + <i>Curvularia</i> sp. + <i>Fusarium</i> sp.	66.87 D-H	22.97 A-E	4.56 H		
<i>Bacillus siamensis</i> UBU1+ เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.	66.14 D-H	20.04 B-I	5.50 EFGH		
<i>Bacillus siamensis</i> UBU1+ เชื้อรา <i>Sarocladium</i> sp.	65.39 FGH	19.25 D-I	5.91 EFGH		
<i>Bacillus siamensis</i> UBU1+ เชื้อรา <i>Cercospora</i> sp.	66.07 D-H	19.21 E-I	5.19 FGH		

หมายเหตุ: ตัวอักษรเดียวกันหรือไม่มีตัวอักษรภายในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ, **= มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99%



ตารางที่ 23 ผลของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อการลดการเกิดโรคเมล็ดต่าง เมล็ดปกติ และเมล็ดลีบของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสภาพเรือน (ต่อ)

กรรมวิธี		การเกิดโรคเมล็ดต่าง (%)	เมล็ดปกติ (%)	เมล็ดลีบ (%)
<i>Bacillus siamensis</i> UBU1 + เชื้อรา <i>Bipolaris</i> sp.		68.07 DEF	19.57 C-I	5.48 EFGH
<i>Bacillus siamensis</i> UBU1 + เชื้อรา <i>Curvularia</i> sp.		64.47 H	24.59 A	5.59 EFGH
<i>Bacillus siamensis</i> UBU1 + เชื้อรา <i>Fusarium</i> sp.		65.49 EFGH	21.16 A-I	4.93 GH
<i>Bacillus siamensis</i> UBU1 + เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.		65.84 EFGH	23.01 ABCDE	5.88 EFGH
+ <i>Sarocladium</i> sp. + <i>Cercospora</i> sp. + <i>Bipolaris</i> sp. + <i>Curvularia</i> sp.				
+ <i>Fusarium</i> sp.				
F-test		**	**	**
C.V. (%)		18.41	3.11	13.25

หมายเหตุ: ตัวอักษรเดียวกันหรือไม่มีตัวอักษรภายในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ, ** = มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99%

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อองค์ประกอบผลผลิตข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสภาพเรือนทดลอง พบว่า น้ำหนัก 1,000 เมล็ด มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยกรรมวิธี *B. cereus* SRSHP19 ที่มีการปลูกเชื้อรา *Trichoconis* sp., *B. siamensis* SKKH3 ที่มีการปลูกเชื้อรา *Sarocladium* sp., ส่งผลให้น้ำหนัก 1,000 เมล็ด 24.30 และ 24.19 กรัม ตามลำดับ หลังจากนำเมล็ดข้าวเปลือกไปขัดสีเป็นข้าวกล้อง แล้วนำมาคัดแยกเป็นเมล็ดข้าวที่มีลักษณะสมบูรณ์หรือเต็มเมล็ด และส่วนของเมล็ดข้าวหัก (น้ำหนักเมล็ดข้าวดีมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยกรรมวิธีสารเคมี และ *Bacillus subtilis* การค้าชื่อไบโอเบส ส่งผลให้น้ำหนักเมล็ดข้าวดี 85.18 และ 82.00 กรัม ตามลำดับ ลักษณะของน้ำหนักเมล็ดข้าวหักมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยกรรมวิธีสารเคมี ไบโอเบส มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดข้าวหักน้อยที่สุด 14.32 และ 14.26 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ *Bacillus* UBU1 ที่มีการปลูกเชื้อรา *Fusarium* sp., *B. siamensis* BRBD12 ที่มีการปลูกเชื้อรา *Trichoconis* sp. คือ 24.64, 24.64 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ น้ำหนักต้นสดและน้ำหนักต้นแห้ง มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยกรรมวิธี *B. siamensis* BRBD12 ที่มีการปลูกเชื้อรา *Trichoconis* sp. และ *Bacillus* UBU1 ที่มีการปลูกเชื้อรา *Fusarium* sp. มีน้ำหนักต้นสดอยู่ที่ 445.28, 445.28, 313.70 และ 313.70 กรัม (ตารางที่ 24)

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อองค์ประกอบผลผลิตข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสภาพเรือนทดลอง พบว่า ลักษณะเมล็ดปกติ (ภาพที่ 20ก และ 21ก) มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยกรรมวิธี *B. siamensis* BRBD12 ที่มีการปลูกเชื้อรา *Trichoconis* sp., *B. siamensis* BRBD12 ที่มีการปลูกเชื้อรา *Sarocladium* sp. และ *B. siamensis* UBU1 ที่มีการปลูกเชื้อรา *Curvularia* sp. 24.79, 24.59 และ 24.59 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ลักษณะเมล็ดลีบ (ภาพที่ 21ค) มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยกรรมวิธี *B. siamensis* SKKK4 ที่มีการปลูกเชื้อรา 6 ชนิดรวมกัน (*Trichoconis* sp. + *Sarocladium* sp. + *Cercospora* sp. + *Bipolaris* sp. + *Curvularia* sp. + *Fusarium* sp.) และ *B. siamensis* BRBD12 ที่มีการปลูกเชื้อรา *Trichoconis* sp. มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบน้อยที่สุด 4.56 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรรมวิธีที่มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบมากที่สุด คือ กรรมวิธีควบคุมไม่คลุมเชื้อ 9.83 เปอร์เซ็นต์ และ *B. cereus* SRSHP19 ที่มีการปลูกเชื้อรา *Trichoconis* sp. มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบ 9.01 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 24)

ผลการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อผลผลิตข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสภาพเรือนทดลอง พบว่าผลผลิตข้าวมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99% โดย กรรมวิธีที่มีการฉีดพ่นเชื้อแบคทีเรีย *B. siamensis* BRBD12 ร่วมกับเชื้อรา

Curvularia sp. สามารถให้ผลผลิตต่อไร่ได้สูงสุดที่ 0.97 กิโลกรัมต่อหน่วยทดลอง ซึ่งผลผลิตสูงกว่าชุดควบคุมสารเคมีและกรรมวิธีที่ฉีดพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* การค้าซื้อไบโอเบส (0.58 กิโลกรัมต่อหน่วยทดลอง) เชื้อแบคทีเรีย *B. siamensis* SKKH3 ร่วมกับการฉีดพ่นเชื้อราหลายชนิด ผลผลิตที่ได้มีการแสดงถึงประสิทธิภาพที่ดีที่สุดในกลุ่มที่ใช้ *B. siamensis* SKKH3 ฉีดพ่นในกรรมวิธีที่มีเชื้อรา *Trichoconis* sp. ได้ผลผลิตข้าวเท่ากับ 0.93 กิโลกรัมต่อหน่วยทดลอง และ *B. siamensis* SKKH3 ฉีดพ่นในกรรมวิธีที่มีเชื้อรา *Sarocladium* sp. ได้ผลผลิตข้าวเท่ากับ 0.94 กิโลกรัมต่อหน่วยทดลอง (ตารางที่ 24)

จากผลการทดสอบพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. siamensis* สามารถช่วยเพิ่มผลผลิตข้าวได้ในหลายกรรมวิธี ทั้งนี้ผลผลิตของข้าวในแต่ละกลุ่มมีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน ซึ่งบ่งชี้ถึงความสามารถในการเสริมประสิทธิภาพการผลิตของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสภาพเรือนทดลอง

นอกจากนี้ยังพบว่าในกรณีของการใช้สารเคมี (Control -) ผลผลิตต่อไร่มีค่าน้อยกว่ากลุ่มที่ใช้เชื้อ *Bacillus* sp. ซึ่งสะท้อนถึงผลลัพธ์ที่ดีในการใช้เทคโนโลยีชีวภาพในทางการเกษตร



ตารางที่ 24 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อน้ำหนัก 1,000 เมล็ด น้ำหนักเมล็ดข้าวดี น้ำหนักเมล็ดข้าวหัก และผลผลิตต่อหน่วย

ทดลองของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ในสภาพเรือนทดลอง

กรรมวิธี	น้ำหนัก 1,000 เมล็ด (กรัม)	น้ำหนักเมล็ดข้าวดี (กรัม)	น้ำหนักเมล็ดข้าวหัก (กรัม)	ผลผลิตต่อหน่วยทดลอง (กก.)
Control + (กรรมวิธีไม่คลุกเชื้อ) แซ่เมล็ดข้าวในน้ำปลอดเชื้อนาน 24 ชั่วโมง	22.89 B-I	43.81 J	56.16 A	0.14 L
Control - (กรรมวิธีใช้สารเคมี)	23.51 A-F	85.18 A	14.32 J	0.82 D
Control กรรมวิธีใช้ <i>Bacillus subtilis</i> การค้าเชื้อโอบีเอส	21.50 JKL	82.00 A	14.26 J	0.58 H
<i>Bacillus cereus</i> SRSHP19 + เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.	24.30 A	59.52 I	40.76 B	0.44 K
<i>Bacillus cereus</i> SRSHP19 + เชื้อรา <i>Sarocladium</i> sp.	24.02 AB	73.11 BCD	25.40 HI	0.63 FG
<i>Bacillus cereus</i> SRSHP19 + เชื้อรา <i>Cercospora</i> sp.	23.58 ABCDE	66.71 H	32.36 C	0.61 FG
<i>Bacillus cereus</i> SRSHP19 + เชื้อรา <i>Bipolaris</i> sp.	23.20 A-H	69.07 EFGH	29.83 CDEF	0.48 I
<i>Bacillus cereus</i> SRSHP19 + เชื้อรา <i>Curvularia</i> sp.	22.81 C-I	67.95 H	30.99 CD	0.57 H
<i>Bacillus cereus</i> SRSHP19 + เชื้อรา <i>Fusarium</i> sp.	22.43 E-J	68.38 FGH	30.56 CDE	0.45 JK
<i>Bacillus cereus</i> SRSHP19 + เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp. + <i>Sarocladium</i> sp. + <i>Cercospora</i> sp. + <i>Bipolaris</i> sp. + <i>Curvularia</i> sp. + <i>Fusarium</i> sp.	22.05 HIJK	68.22 FGH	30.70 CDE	0.48 I
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH3 + เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.	20.00 M	72.55 BCD	26.80 FGHI	0.93 BC
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH3 + เชื้อรา <i>Sarocladium</i> sp.	24.19 A	71.48 CDEF	27.75 E-I	0.94 BC
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH3 + เชื้อรา <i>Cercospora</i> sp.	23.68 ABCD	71.32 DEFG	27.89 D-H	0.95 ABC
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH3 + เชื้อรา <i>Bipolaris</i> sp.	23.29 A-G	68.12 GH	30.81 CDE	0.95 AB
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH3 + เชื้อรา <i>Curvularia</i> sp.	22.91 B-H	73.21 BCD	27.32 FGHI	0.92 C

หมายเหตุ: ตัวอักษรเดียวกันหรือไม่มีตัวอักษรภายในคอลัมน์เดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ, **= มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99%

ตารางที่ 24 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อน้ำหนัก 1,000 เมล็ด น้ำหนักเมล็ดข้าวดี น้ำหนักเมล็ดข้าวหัก และผลผลิตต่อต่อหน่วยทดลองของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ในสภาพเรือน (ต่อ)

กรรมวิธี	น้ำหนัก 1,000 เมล็ด			น้ำหนักเมล็ดข้าวดี		น้ำหนักเมล็ดข้าวหัก		ผลผลิตต่อต่อหน่วยทดลอง (กก.)
	(กรัม)	(กรัม)	(กรัม)	(กรัม)	(กรัม)	(กรัม)	(กรัม)	
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH3 + เชื้อรา <i>Fusarium</i> sp.	22.50 D-J	71.41 DEFG	27.81 EFGH					0.94 BC
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH3 + เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.	22.06 HIJK	72.55 BCD	26.80 FGHI					0.94 ABC
+ <i>Sarocladium</i> sp. + <i>Cercospora</i> sp. + <i>Bipolaris</i> sp. + <i>Curvularia</i> sp. + <i>Fusarium</i> sp.								
<i>Bacillus siamensis</i> BR-BD12 + เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.	20.00 M	74.94 B	24.64 I					0.93 BC
<i>Bacillus siamensis</i> BR-BD12 + เชื้อรา <i>Sarocladium</i> sp.	22.72 C-I	73.41 BCD	26.03 GHI					0.95 ABC
<i>Bacillus siamensis</i> BR-BD12 + เชื้อรา <i>Cercospora</i> sp.	22.33 FGHIJ	72.77 BCD	26.59 GHI					0.94 BC
<i>Bacillus siamensis</i> BR-BD12 + เชื้อรา <i>Bipolaris</i> sp.	21.50 JKL	73.93 BCD	25.55 GHI					0.95 ABC
<i>Bacillus siamensis</i> BR-BD12 + เชื้อรา <i>Curvularia</i> sp.	21.12 KLM	73.44 BCD	25.99 GHI					0.97 A
<i>Bacillus siamensis</i> BR-BD12 + เชื้อรา <i>Fusarium</i> sp.	24.02 AB	73.19 BCD	26.22 GHI					0.92 C
<i>Bacillus siamensis</i> BR-BD12 + เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp. + <i>Sarocladium</i> sp. + <i>Cercospora</i> spp. + <i>Bipolaris</i> sp. + <i>Curvularia</i> sp. + <i>Fusarium</i> sp.	22.72 C-I	73.67 BCD	25.79 GHI					0.92 C
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH4+ เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.	22.33 FGHIJ	74.75 BC	24.81 HI					0.47 IJ
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH4+ เชื้อรา <i>Sarocladium</i> sp.	21.50 JKL	71.80 BCDE	28.60 DEFG					0.56 H
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH4+ เชื้อรา <i>Cercospora</i> sp.	21.12 KLM	73.22 BCD	26.18 GHI					0.43 K
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH4+ เชื้อรา <i>Bipolaris</i> sp.	24.02 AB	73.48 BCD	25.96 GHI					0.63 FG
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH4+ เชื้อรา <i>Curvularia</i> sp.	24.13 A	72.62 BCD	26.74 FGHI					0.61 FG

หมายเหตุ: ตัวอักษรเดียวกันหรือไม่มีตัวอักษรภายในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ. **= มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99%

ตารางที่ 24 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อหนูนก 1,000 เมล็ด หนูนกเมล็ดข้าวดี หนูนกเมล็ดข้าวหัก และผลผลิตต่อหน่วยทดลองของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ในสภาพเรือน (ต่อ)

กรรมวิธี	หนูนก 1,000 เมล็ด (กรัม)	หนูนกเมล็ดข้าวดี (กรัม)	หนูนกเมล็ดข้าวหัก (กรัม)	ผลผลิตต่อหน่วยทดลอง (กก.)
<i>Bacillus siamensis</i> SKKK4+ เชื้อรา <i>Fusarium</i> sp.	23.87 ABC	74.06 BCD	25.44 HI	0.49 I
<i>Bacillus siamensis</i> SKKK4+ เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.+	23.49 A-F	73.49 BCD	25.95 GHI	0.45 JK
<i>Sarocladium</i> sp. + <i>Cercospora</i> sp. + <i>Bipolaris</i> sp. + <i>Curvularia</i> sp. + <i>Fusarium</i> sp.				
<i>Bacillus siamensis</i> UBU1+ เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.	23.10 A-H	73.06 BCD	26.33 GHI	0.76 E
<i>Bacillus siamensis</i> UBU1+ เชื้อรา <i>Sarocladium</i> sp.	21.69 IJKL	73.76 BCD	25.71 GHI	0.61 G
<i>Bacillus siamensis</i> UBU1+ เชื้อรา <i>Cercospora</i> sp.	20.71 LM	74.31 BCD	26.34 GHI	0.58 H
<i>Bacillus siamensis</i> UBU1+ เชื้อรา <i>Bipolaris</i> sp.	22.62 D-J	71.41 DEFG	27.81 EFGH	0.47 IJ
<i>Bacillus siamensis</i> UBU1+ เชื้อรา <i>Curvularia</i> sp.	22.24 G-K	72.55 BCD	26.80 FGHI	0.55 H
<i>Bacillus siamensis</i> UBU1+ เชื้อรา <i>Fusarium</i> sp.	22.48 D-J	74.94 B	24.64 I	0.64 F
<i>Bacillus siamensis</i> UBU1+ เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp. + <i>Sarocladium</i> sp. + <i>Cercospora</i> sp. + <i>Bipolaris</i> sp. + <i>Curvularia</i> sp. + <i>Fusarium</i> sp.	22.72 C-I	73.41 BCD	26.03 GHI	0.47 IJ
F-test	**	**	**	**
C.V. (%)	3.80	3.31	8.05	1.96

หมายเหตุ: ตัวอักษรเดียวกันหรือไม่มีตัวอักษรภายในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ, ** = มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99%

จากการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. จำนวน 5 ไอโซเลต ได้แก่ *B. cereus* SRSHP19, *B. siamensis* SKKH3, *B. siamensis* BRBD12, *Bacillus siamensis* SKKK4 และ *B. siamensis* UBU1 เปรียบเทียบกับกรรมวิธีการใช้เชื้อ *B. subtilis* การค้าเชื้อไปโอเบส กรรมวิธีใช้สารเคมี และกรรมวิธีควบคุมไม่คลุกเชื้อ ร่วมกับการปลูกเชื้อรา *Trichoconis* sp. ทำการทดสอบในสภาพเรือนทดลอง เมื่อบันทึกการเจริญเติบโตด้านความสูงของต้นกล้าข้าว พบว่า ความสูงของต้นกล้าข้าวมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ที่อายุ 23, 37, 51, 65, 79, 93, 107 และ 120 วัน โดยเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* SRSHP19, *B. siamensis* SKKH3 และ *B. siamensis* SKKK4 ต้นกล้าข้าวมีการเจริญเติบโตด้านความสูงที่ดี เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมไม่คลุกเชื้อ และกรรมวิธีใช้สารเคมี ในช่วงเวลา 23-120 วัน โดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรีย *B. siamensis* BRBD12 และ *B. siamensis* SKKH3 ส่งผลต่อความสูงต้นมากที่สุดในทุกช่วงเวลา (ภาพที่ 19ก)

จากการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. จำนวน 5 ไอโซเลต ได้แก่ *B. cereus* SRSHP19, *B. siamensis* SKKH3, *B. siamensis* BRBD12, *B. siamensis* SKKK4 และ *B. siamensis* UBU1 เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม คือ กรรมวิธี *B. subtilis* การค้าเชื้อไปโอเบส กรรมวิธีใช้สารเคมี และกรรมวิธีควบคุมไม่คลุกเชื้อ ร่วมกับการปลูกเชื้อรา *Sarocladium* sp. ต่อความสูงของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสภาพเรือนทดลอง พบว่า ต้นข้าวมีความสูงที่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่อายุ 23, 37, 51, 65, 79, 93, 107 และ 120 วัน สำหรับการใช้ *B. siamensis* SKKH3 และ *B. cereus* SRSHP19 และมีการฉีดพ่นเชื้อรา *Sarocladium* sp. พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* SRSHP19, *B. siamensis* SK KH3, *B. siamensis* SKKK4 ส่งผลต่อการเจริญเติบโตที่ดีขึ้นเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมไม่คลุกเชื้อ และกรรมวิธีควบคุมใช้สารเคมีในช่วงเวลา 23-120 วัน โดยเฉพาะ *B. siamensis* BRBD12 และ *B. siamensis* SKKH3 ส่งผลต่อความสูงต้นมากที่สุดในทุกช่วงเวลา (ภาพที่ 19ข)

จากการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. จำนวน 5 ไอโซเลต ได้แก่ *B. cereus* SRSHP19, *B. siamensis* SKKH3, *B. siamensis* BRBD12, *B. siamensis* SKKK4 และ *B. siamensis* UBU1 เปรียบเทียบกับ *B. subtilis* การค้าเชื้อไปโอเบส สารเคมี และกรรมวิธีควบคุมไม่คลุกเชื้อ ร่วมกับการปลูกเชื้อรา *Cercospora* sp. พบว่า ต้นข้าวมีความสูงที่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งสำหรับการใช้ *Bacillus* sp. ที่ส่งผลต่อความสูงของต้นข้าวในช่วงเวลาต่าง ๆ ตั้งแต่ 23, 37, 51, 65, 79, 93, 107, และ 120 วัน โดยกรรมวิธีควบคุม (ไม่คลุกเชื้อ และใช้สารเคมี) *Bacillus* sp. (เช่น *B. siamensis* SKKH3, *B. siamensis* BRBD12 และ *B. siamensis* UBU1) แสดงให้เห็นถึงการเพิ่มขึ้นของความสูงของต้นข้าว โดยมีค่าความสูงที่สูงกว่าในหลายช่วงเวลาเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และมีแนวโน้มที่ดีในการป้องกันผลกระทบจากเชื้อ *Cercospora* sp. โดยแสดงให้เห็นถึงการเจริญเติบโตที่สูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัดในทุกช่วงเวลา โดยเฉพาะในช่วง 79 วันถึง 120 วัน กรรมวิธีควบคุมไม่คลุกเชื้อ และกรรมวิธีควบคุมใช้สารเคมี ส่งผลต่อความสูงต้นข้าวต่ำที่สุด ซึ่งหมายความว่าเชื้อ *Sarocladium* sp. มีผลกระทบอย่างมากกับการเจริญเติบโตของต้นข้าว มีความ

สูงของต้นข้าวที่ต่ำกว่าในทุกช่วงเวลา เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับการฉีดพ่น *Bacillus* sp. โดยเฉพาะ *B. siamensis* SKKH3 และ *B. siamensis* BRBD12 ซึ่งมีผลดีมากที่สุดในทุกช่วงเวลาทดสอบ และสามารถช่วยให้ต้นข้าวเติบโตได้ดีกว่าในสภาพที่มีเชื้อโรค (ภาพที่ 20ค)

ต้นข้าวมีความสูงที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในช่วงเวลา 23 วัน, 37 วัน, 51 วัน, 65 วัน, 79 วัน, 93 วัน, 107 วัน และ 120 วัน ที่มีการฉีดพ่นเชื้อรา *Bipolaris* sp. พบว่า การใช้ *B. siamensis* SKKH3, *B. siamensis* BRBD12, *B. siamensis* UBU1 ช่วยเพิ่มความสูงของต้นข้าวอย่างเห็นได้ชัด เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมไม่คลุกเชื้อ กรรมวิธีควบคุมสารเคมี แบบที่เรีย *B. siamensis* SKKH3 และ *B. siamensis* BRBD12 เป็นผลดีในการป้องกันผลกระทบจากเชื้อรา *Bipolaris* sp. แสดงให้เห็นถึงการเจริญเติบโตที่สูงขึ้นตลอดช่วงเวลา โดยเฉพาะในช่วง 79 วันถึง 120 วัน *B. siamensis* UBU1 มีการเจริญเติบโตที่ดีแต่ยังไม่ดีเท่ากับ *B. siamensis* SKKH3 และ *B. siamensis* BRBD12 กรรมวิธีควบคุมไม่คลุกเชื้อ และกรรมวิธีควบคุมใช้สารเคมี พบว่ามีความสูงต้นข้าวต่ำที่สุดในทุกช่วงเวลา ซึ่งบ่งชี้ว่า *Bipolaris* sp. มีผลกระทบอย่างมากต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าว (ภาพที่ 20ง)

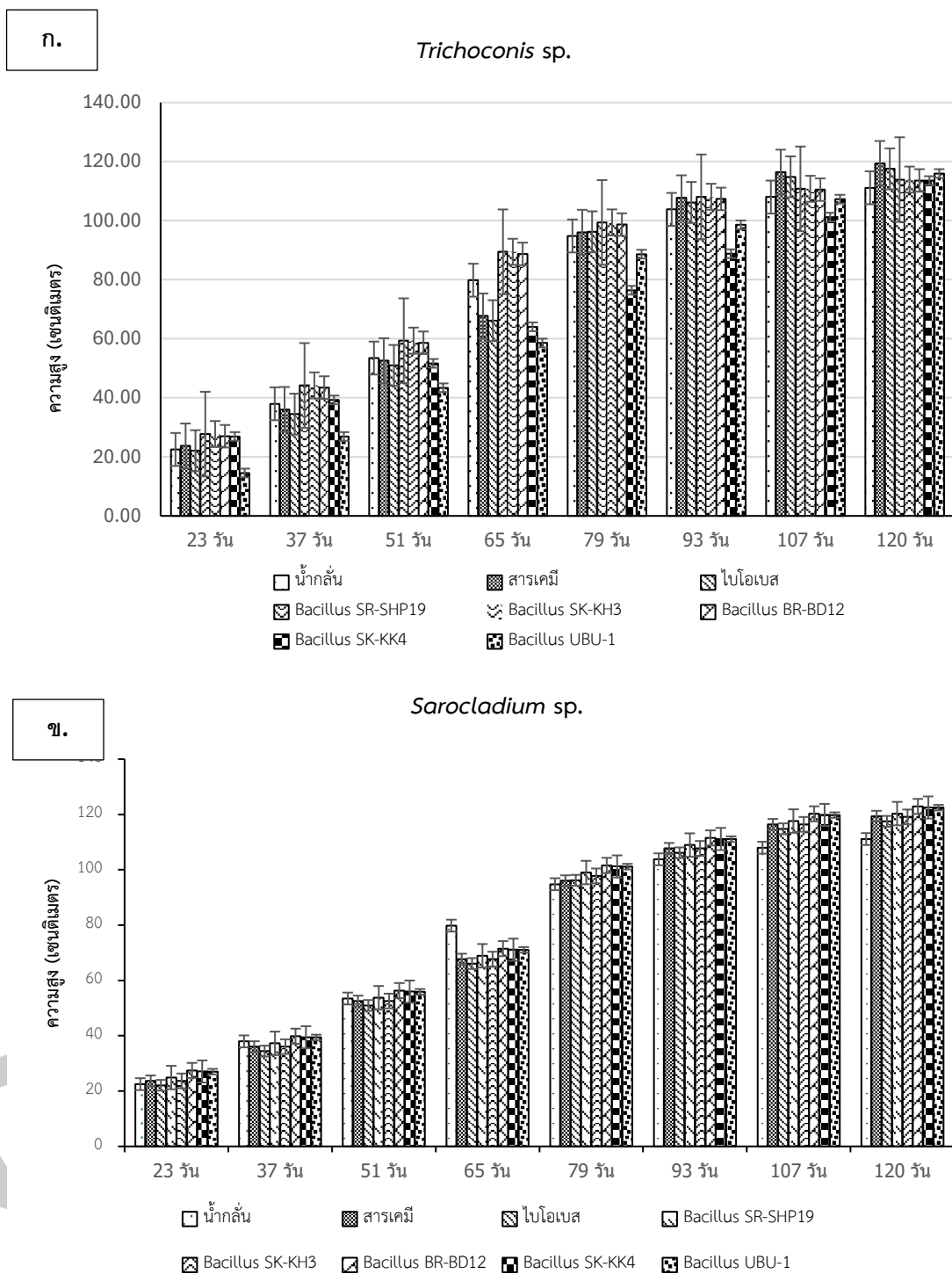
ความสูงของต้นข้าวที่ได้รับการฉีดพ่นด้วยเชื้อรา *Curvularia* sp. มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในช่วงเวลา 23 วัน, 37 วัน, 51 วัน, 65 วัน, 79 วัน, 93 วัน, 107 วัน และ 120 วัน พบว่า *Bacillus* sp. (*B. siamensis* SKKH3, *B. siamensis* BRBD12, *B. siamensis* UBU1) ช่วยเพิ่มความสูงของต้นข้าวเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมไม่คลุกเชื้อ หรือสารเคมี ผลของ *B. siamensis* SKKH3 และ *B. siamensis* BRBD12 มีผลดีที่สุดในการป้องกันผลกระทบจาก *Curvularia* sp. โดยแสดงให้เห็นถึงการเจริญเติบโตที่สูงขึ้นในทุกช่วงเวลา โดยเฉพาะในช่วง 79 วันถึง 120 วัน *B. siamensis* UBU1 แสดงผลที่ดี แต่ยังคงไม่สูงเท่ากับ *B. siamensis* SK KH3 และ *B. siamensis* BRBD12 กรรมวิธีควบคุมไม่คลุกเชื้อ และสารเคมี แสดงผลการเจริญเติบโตที่ต่ำที่สุดในทุกช่วงเวลา ซึ่งบ่งชี้ว่า *Curvularia* sp. มีผลกระทบอย่างมากต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าว ซึ่งแสดงให้เห็นว่า *Bacillus* sp. โดยเฉพาะ *B. siamensis* SKKH3 และ *B. siamensis* BRBD12 สามารถช่วยป้องกันผลกระทบจากเชื้อราได้ดี สามารถช่วยเพิ่มความสูงของต้นข้าวได้ดีเมื่อมีการติดเชื้อจาก *Curvularia* sp. (ภาพที่ 21จ)

ความสูงของต้นข้าวที่ได้รับการฉีดพ่นด้วยเชื้อรา *Fusarium* sp. มีความสูงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในช่วงเวลา 23 วัน, 37 วัน, 51 วัน, 65 วัน, 79 วัน, 93 วัน, 107 วัน และ 120 วัน พบว่า *Bacillus* sp. (เช่น *B. siamensis* SKKH3, *B. siamensis* BRBD12, *B. siamensis* UBU1) ช่วยเพิ่มความสูงของต้นข้าวอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมไม่คลุกเชื้อ หรือสารเคมี ซึ่งแสดงการเจริญเติบโตที่ต่ำกว่าในกลุ่มควบคุม ผลของ *B. siamensis* SKKH3 และ *B. siamensis* BRBD12 มีผลดีที่สุดในการป้องกันผลกระทบจาก *Fusarium* sp. โดยแสดงให้เห็นถึงการเจริญเติบโตที่สูงขึ้นในทุกช่วงเวลา โดยเฉพาะในช่วง 79 วันถึง 120 วัน *B. siamensis* UBU1 แสดงผลที่ดี แต่ยังคงไม่สูงเท่ากับ *B. siamensis* SKKH3 และ *B. siamensis* BRBD12 กรรมวิธี

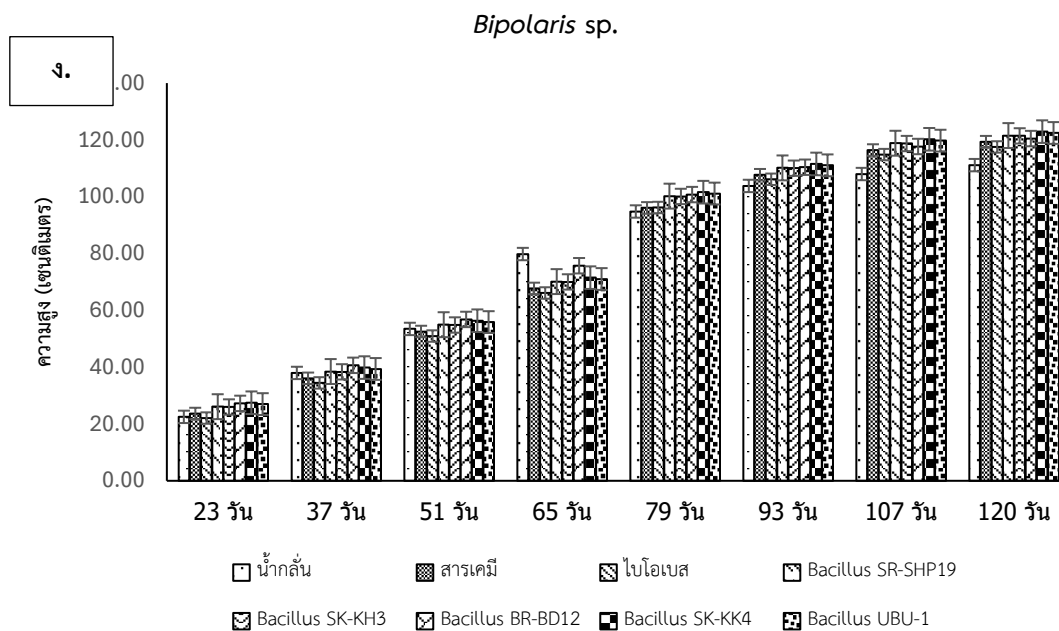
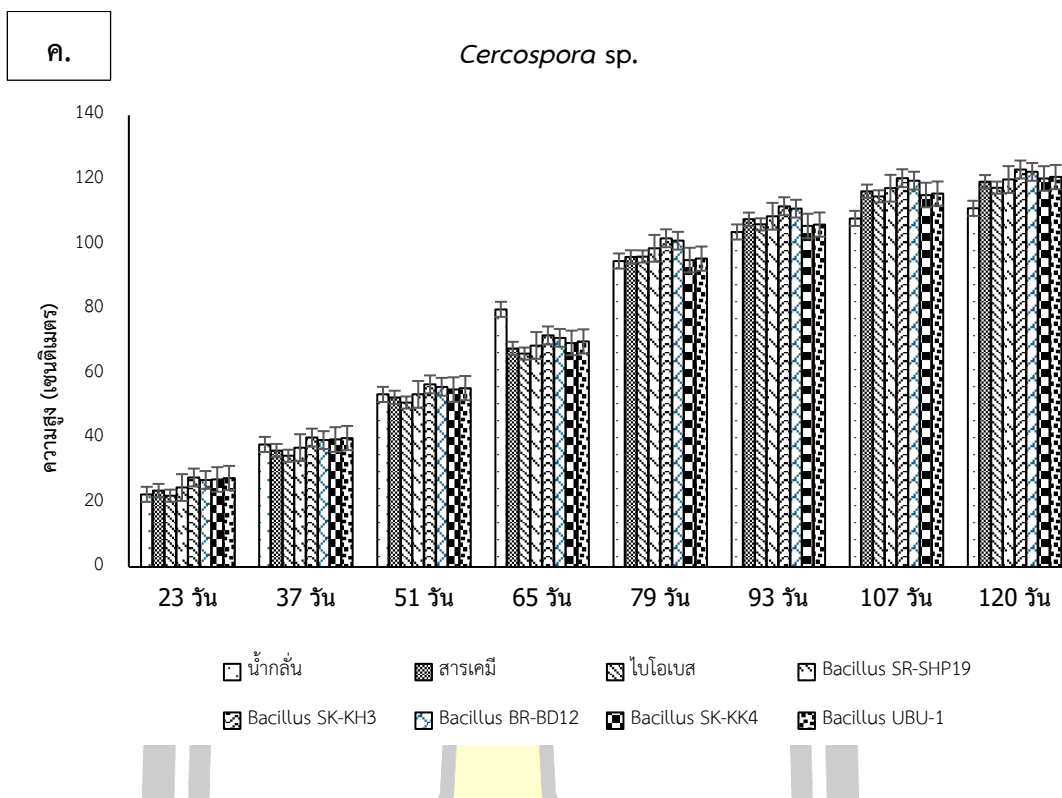
ควบคุมไม่คลุกเชื้อ และสารเคมี แสดงผลการเจริญเติบโตที่ต่ำที่สุดในทุกช่วงเวลา ซึ่งบ่งชี้ว่า *Fusarium* sp. มีผลกระทบอย่างมากต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าว แต่ *Bacillus* sp. สามารถช่วยเพิ่มความสูงของต้นข้าวได้ดีเมื่อมีการติดเชื้อจาก *Fusarium* sp. และสามารถช่วยป้องกันผลกระทบจากเชื้อราได้ดี (ภาพที่ 21ฉ)

ความสูงของต้นข้าวที่ได้รับการฉีดพ่นด้วย เชื้อรา 6 ชนิด มีความสูงที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในช่วงเวลา 23 วัน, 37 วัน, 51 วัน, 65 วัน, 79 วัน, 93 วัน, 107 วัน และ 120 วัน *Bacillus* sp. (เช่น *B. siamensis* SKKH3, *B. siamensis* BRBD12 และ *B. siamensis* UBU1) ช่วยเพิ่มความสูงของต้นข้าวเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมไม่คลุกเชื้อ หรือ สารเคมี ซึ่งแสดงการเจริญเติบโตที่ต่ำกว่าในกลุ่มควบคุม ผลของ *B. siamensis* SKKH3 และ *B. siamensis* BRBD12 แสดงผลดีที่สุดในการป้องกันผลกระทบจากเชื้อรา 6 ชนิด โดยแสดงการเจริญเติบโตที่สูงขึ้นในทุกช่วงเวลา โดยเฉพาะในช่วง 79 วันถึง 120 วัน *B. siamensis* SKKH4 และ *B. siamensis* UBU1 ก็แสดงผลดี แต่ยังไม่ดีเท่ากับ *B. siamensis* SKKH3 และ *B. siamensis* BRBD12 กรรมวิธีควบคุมไม่คลุกเชื้อ และสารเคมี มีความสูงต้นข้าวที่ต่ำที่สุดในทุกช่วงเวลา ซึ่งบ่งชี้ว่า เชื้อรา 6 ชนิด มีผลกระทบอย่างมากต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าว แต่ *Bacillus* sp. สามารถช่วยป้องกันผลกระทบจากเชื้อราได้ดี (ภาพที่ 22ข)

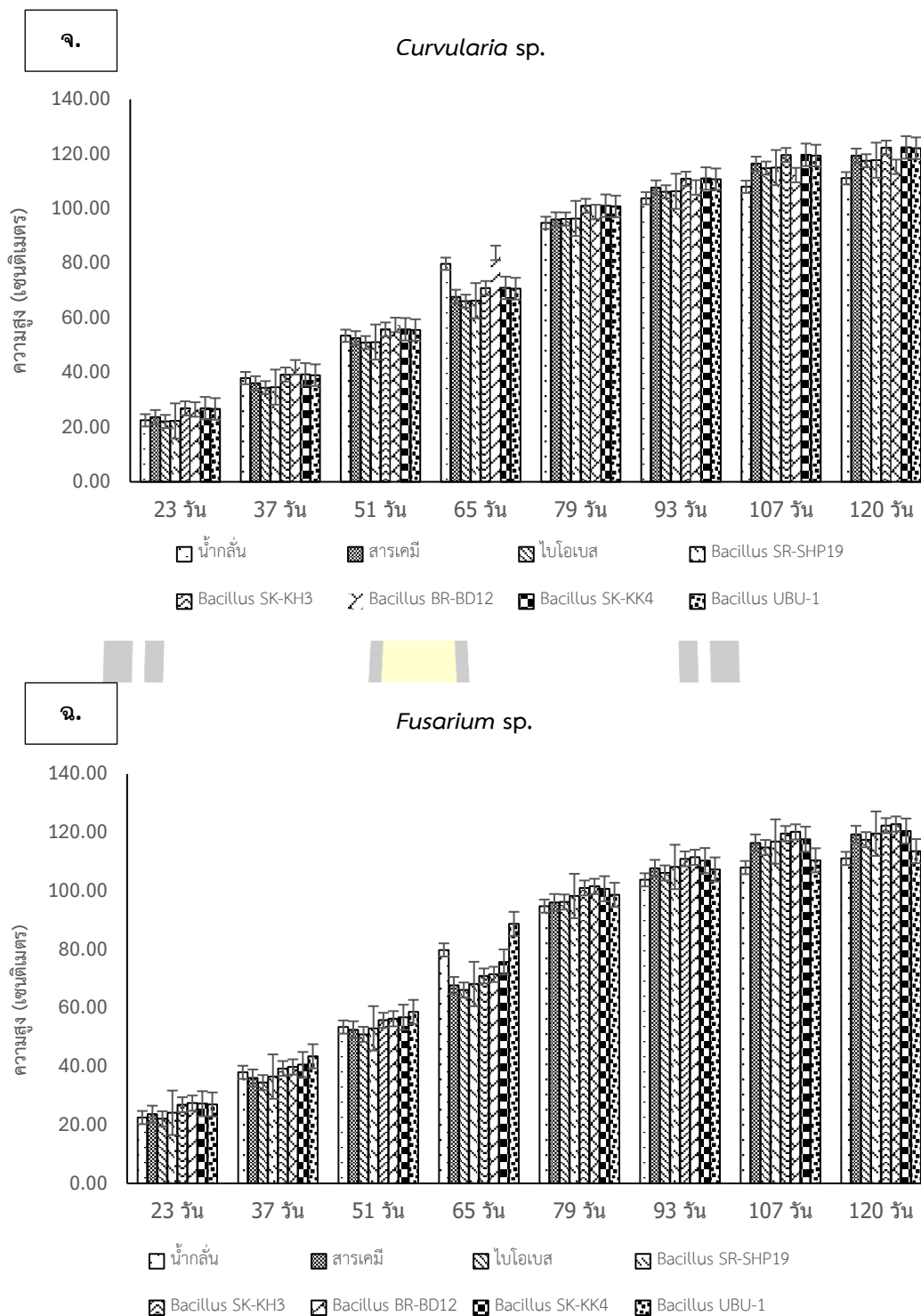




ภาพที่ 19 ความสูงต้นของต้นข้าวในระยะเวลาเจริญเติบโตต่างกัน ที่ได้รับอิทธิพลจากเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus sp.* ที่มีต่อเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง ก) *Trichoconis sp.* ข) *Sarocladium sp.*



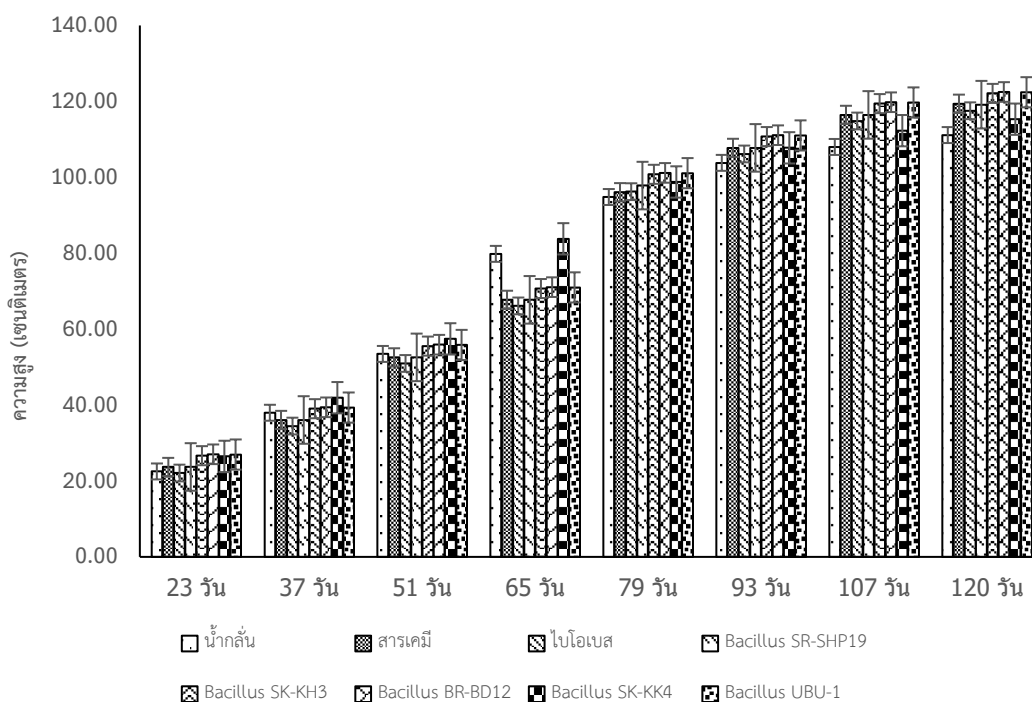
ภาพที่ 20 ความสูงต้นของต้นข้าวในระยะการเจริญเติบโตต่างกัน ที่ได้รับอิทธิพลจากเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีต่อเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง ค) *Cercospora* sp. ง) *Bipolaris* sp.



ภาพที่ 21 ความสูงต้นของต้นข้าวในระยะการเจริญเติบโตต่างกัน ที่ได้รับอิทธิพลจากเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีต่อเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง จ) *Curvularia* sp. ข) *Fusarium* sp.

ข.

Trichoconis sp. + Sarocladium sp. + Cercospora sp. + Bipolaris sp. + Curvularia sp. + Fusarium sp.



ภาพที่ 22 ความสูงต้นของต้นข้าวในระยะการเจริญเติบโตต่างกัน ที่ได้รับอิทธิพลจากเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีต่อเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง ๆ) *Trichoconis* sp. + *Sarocladium* sp. + *Cercospora* sp. + *Bipolaris* sp. + *Curvularia* sp. + *Fusarium* sp.

จากการทดสอบผลของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อองค์ประกอบผลผลิตข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสภาพเรือนทดลอง พบว่า จำนวนหน่อตอกมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยกรรมวิธีควบคุมใช้สารเคมี ไอโซเลต *B. siamensis* BRBD12 ที่ฉีดพ่นในกรรมวิธีที่มีเชื้อรา *Trichoconis* sp. และเชื้อรา *Fusarium* sp. มีจำนวนหน่อตอกมากที่สุด คือ 26.80 และ 26.26 รองลงมาคือ *B. siamensis* SKKH3 ในกรรมวิธีเชื้อราแตกต่างกันมีจำนวนหน่อตอกอยู่ที่ 22.81-23.06 หน่อตอก *B. siamensis* BRBD12 ที่มีการฉีดพ่นเชื้อรา *Sarocladium* sp., *Cercospora* sp., *Bipolaris* sp., *Curvularia* sp. และเชื้อราด้วยกัน 6 ชนิด (ตารางที่ 25)

จากการทดสอบผลของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อองค์ประกอบผลผลิตข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสภาพเรือนทดลอง พบว่า จำนวนรวงตอกมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยกรรมวิธีควบคุมใช้สารเคมี *B. siamensis* BRBD12 และ *B. siamensis* SKKH3 ที่มีเชื้อรา

แตกต่างกัน ส่งผลให้จำนวนรวงต่อกอมากที่สุด คือ 16.50 และอยู่ในช่วง 16.85- 17.29 รวง
รองลงมาคือ *B. cereus* SRSHP19 (ตารางที่ 25)

จากการทดสอบผลของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อดังค์ประกอบผลผลิตข้าวพันธุ์ขาวดอก
มะลิ 105 ในสภาพเรือนทดลอง พบว่า จำนวนเมล็ดต่อรวงมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมี
นัยสำคัญยิ่ง โดยกรรมวิธีควบคุมใช้สารเคมี ไอโซเลต *B. siamensis* SKKH3 และ *B. siamensis*
BRBD12 ที่มีเชื้อราแตกต่างกัน ส่งผลให้จำนวนรวงต่อกอมากที่สุดอยู่ในช่วง 25.44-25.89 เมล็ดต่อ
รวง (ตารางที่ 25)



ตารางที่ 25 ผลของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อจำนวนหน่อตอออก จำนวนรวงต่อรวง และจำนวนเมล็ดตอของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ในสภาพเรือนทดลอง

กรรมวิธี	จำนวนหน่อตอออก (หน่อ)	จำนวนรวงตอออก (รวง)	จำนวนเมล็ดตอต่อรวง (เมล็ด)
Control + (กรรมวิธีไม่คลุกเชื้อ) แซ่เมล็ดข้าวในน้ำปลอดเชื้อนาน 24 ชั่วโมง	13.24 I	8.910 DE	7.44 F
Control - (กรรมวิธีใช้สารเคมี)	19.00 C	16.50 A	23.04 AB
Control กรรมวิธีใช้ <i>Bacillus subtilis</i> การค้าชื่อไบโอเบส	14.63 EFGHI	10.54 CD	18.17 BC
<i>Bacillus cereus</i> SRSHP19 + เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.	13.60 HI	8.00 DE	7.415 F
<i>Bacillus cereus</i> SRSHP19 + เชื้อรา <i>Sarocladium</i> sp.	17.20 CD	15.04 AB	19.17 BC
<i>Bacillus cereus</i> SRSHP19 + เชื้อรา <i>Cercospora</i> sp.	15.88 DEF	11.62 C	19.39 BC
<i>Bacillus cereus</i> SRSHP19 + เชื้อรา <i>Bipolaris</i> sp.	14.22 FGHI	8.915 DE	9.975 EF
<i>Bacillus cereus</i> SRSHP19 + เชื้อรา <i>Curvularia</i> sp.	14.63 EFGHI	10.54 CD	18.17 BC
<i>Bacillus cereus</i> SRSHP19 + เชื้อรา <i>Fusarium</i> sp.	13.65 HI	8.250 DE	7.372 F
<i>Bacillus cereus</i> SRSHP19 + เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp. + <i>Sarocladium</i> sp. + <i>Cercospora</i> sp. + <i>Bipolaris</i> sp. + <i>Curvularia</i> sp. + <i>Fusarium</i> sp.	14.02 FGHI	8.960 DE	12.70 DE
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH3 + เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.	22.97 B	17.29 A	25.49 A
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH3 + เชื้อรา <i>Sarocladium</i> sp.	22.84 B	17.18 A	25.60 A
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH3 + เชื้อรา <i>Cercospora</i> sp.	23.06 B	17.04 A	25.58 A
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH3 + เชื้อรา <i>Bipolaris</i> sp.	22.81 B	17.27 A	25.70 A
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH3 + เชื้อรา <i>Curvularia</i> sp.	22.89 B	17.06 A	25.64 A
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH3 + เชื้อรา <i>Fusarium</i> sp.	22.88 B	17.07 A	25.64 A
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH3 + เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp. + <i>Sarocladium</i> sp. + <i>Cercospora</i> sp. + <i>Bipolaris</i> sp. + <i>Curvularia</i> sp. + <i>Fusarium</i> sp.	22.83 B	17.04 A	25.58 A

หมายเหตุ: ตัวอักษรเดียวกันหรือไม่มีตัวอักษรภายในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ, ** = มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99%

ตารางที่ 25 ผลของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อจำนวนหน่อต่อ จำนวนรวงต่อรวง และจำนวนเมล็ดต่อรวงข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ในสภาพเรือนทดลอง (ต่อ)

กรรมวิธี	จำนวนต้นต่อกอ (ต้น)	จำนวนรวงต่อกอ (รวง)	จำนวนเมล็ดต่อรวง (เมล็ด)
<i>Bacillus siamensis</i> BR-BD12 + เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.	26.80 A	17.06 A	25.64 A
<i>Bacillus siamensis</i> BR-BD12 + เชื้อรา <i>Sarocladium</i> sp.	23.11 B	17.08 A	25.44 A
<i>Bacillus siamensis</i> BR-BD12 + เชื้อรา <i>Cercospora</i> sp.	22.88 B	17.07 A	25.64 A
<i>Bacillus siamensis</i> BR-BD12 + เชื้อรา <i>Bipolaris</i> sp.	22.83 B	17.04 A	25.58 A
<i>Bacillus siamensis</i> BR-BD12 + เชื้อรา <i>Curvularia</i> sp.	23.73 B	17.34 A	25.89 A
<i>Bacillus siamensis</i> BR-BD12 + เชื้อรา <i>Fusarium</i> sp.	26.26 A	17.06 A	25.64 A
<i>Bacillus siamensis</i> BR-BD12 + เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.+ <i>Sarocladium</i> sp. + <i>Cercospora</i> spp. + <i>Bipolaris</i> sp. + <i>Curvularia</i> sp. + <i>Fusarium</i> sp.	23.66 B	16.85 A	25.31 A
<i>Bacillus siamensis</i> SKKK4+ เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.	13.90 FGHI	8.68 DE	10.12 EF
<i>Bacillus siamensis</i> SKKK4+ เชื้อรา <i>Sarocladium</i> sp.	14.29 FGHI	10.10 CDE	15.42 CD
<i>Bacillus siamensis</i> SKKK4+ เชื้อรา <i>Cercospora</i> sp.	13.73 GHI	7.87 E	6.915 F
<i>Bacillus siamensis</i> SKKK4+ เชื้อรา <i>Bipolaris</i> sp.	16.45 DE	15.04 AB	19.17 BC
<i>Bacillus siamensis</i> SKKK4+ เชื้อรา <i>Curvularia</i> sp.	15.38 DEFGH	11.62 C	19.39 BC
<i>Bacillus siamensis</i> SKKK4+ เชื้อรา <i>Fusarium</i> sp.	14.22 FGHI	8.91 DE	9.975 EF
<i>Bacillus siamensis</i> SKKK4+ เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.+ <i>Sarocladium</i> sp. + <i>Cercospora</i> sp. + <i>Bipolaris</i> sp. + <i>Curvularia</i> sp. + <i>Fusarium</i> sp.	14.04 FGHI	10.41 CDE	11.12 DEF
<i>Bacillus siamensis</i> UBU1+ เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.	17.18 CD	14.93 AB	21.98 AB
<i>Bacillus siamensis</i> UBU1+ เชื้อรา <i>Sarocladium</i> sp.	15.70 DEFG	11.85 C	19.24 BC
<i>Bacillus siamensis</i> UBU1+ เชื้อรา <i>Cercospora</i> sp.	14.63 EFGHI	10.54 CD	18.17 BC

หมายเหตุ: ตัวอักษรเดียวกันหรือไม่มีตัวอักษรภายในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ. ** = มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99%

ตารางที่ 25 ผลของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อจำนวนหน่อต่อ จำนวนรวงต่อรวง และจำนวนเมล็ดต่อรวงของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ในสภาพเรือน

ทดลอง	กรรมวิธี	จำนวนหน่อต่อกอ (ต้น)	จำนวนรวงต่อกอ (รวง)	จำนวนเมล็ดต่อรวง (เมล็ด)
<i>Bacillus siamensis</i> UBU1+ เชื้อรา <i>Bipolaris</i> sp.		13.55 HI	8.25 DE	7.37 F
<i>Bacillus siamensis</i> UBU1+ เชื้อรา <i>Curvularia</i> sp.		15.21 DEFGHI	12.66 BC	15.17 CD
<i>Bacillus siamensis</i> UBU1+ เชื้อรา <i>Fusarium</i> sp.		15.70 DEFG	12.10 C	18.97 BC
<i>Bacillus siamensis</i> UBU1+ เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.		13.55 HI	8.25 DE	7.37 F
+ <i>Sarocladium</i> sp. + <i>Cercospora</i> sp. + <i>Bipolaris</i> sp. + <i>Curvularia</i> sp. + <i>Fusarium</i> sp.				
F-test		**	**	**
C.V. (%)		8.11	14.26	19.37

หมายเหตุ: ตัวอักษรเดียวกันหรือไม่มีตัวอักษรภายในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ, **= มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99%

น้ำหนักต้นสดและน้ำหนักต้นแห้ง มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยกรรมวิธี *B. siamensis* BRBD12 ที่มีการปลูกเชื้อรา *Trichoconis* sp. และ *B. siamensis* UBU1 ที่มีการปลูกเชื้อรา *Fusarium* sp. มีน้ำหนักต้นสดอยู่ที่ 445.28, 445.28, 313.70 และ 313.70 กรัม (ตารางที่ 26)

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อการรณรงค์ประกอบผลผลิตข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสภาพเรือนทดลอง พบว่า น้ำหนักรากสดและน้ำหนักรากแห้งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยกรรมวิธี *B. siamensis* BRBD12 ที่มีการปลูกเชื้อรา *Trichoconis* sp. มีน้ำหนักรากสดและน้ำหนักรากแห้งอยู่ที่ 262.21 และ 91.59 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 26)



ตารางที่ 26 ผลของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อน้ำหนักต้นสดและน้ำหนักต้นแห้ง และน้ำหนักรากสดและน้ำหนักรากแห้งของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ในสภาพเรือนทดลอง

กรรมวิธี	น้ำหนักต้น (กรัม)		น้ำหนักราก (กรัม)	
	ต้นสด	ต้นแห้ง	รากสด	รากแห้ง
Control + (กรรมวิธีไม่คลุกเชื้อ) แซ่เมล็ดข้าวในน้ำปลอดเชื้อนาน 24 ชั่วโมง	223.72 GHI	126.86 HI	160.07 I	54.92 K
Control - (กรรมวิธีใช้สารเคมี)	384.81 ABCD	253.87 ABCD	246.62 ABC	82.30 A-F
Control กรรมวิธีใช้ <i>Bacillus subtilis</i> การค้าชื่อไบโอเบส	275.75 E-I	190.20 D-H	225.93 BCDE	68.61 GHJ
<i>Bacillus cereus</i> SRSHPI9 + เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.	181.36 I	95.510 I	160.39 I	62.31 JK
<i>Bacillus cereus</i> SRSHPI9 + เชื้อรา <i>Sarocladium</i> sp.	241.69 FGHI	153.23 E-I	199.66 EFGH	66.59 HIJK
<i>Bacillus cereus</i> SRSHPI9 + เชื้อรา <i>Cercospora</i> sp.	214.45 HI	127.60 HI	181.69 HI	64.73 IJK
<i>Bacillus cereus</i> SRSHPI9 + เชื้อรา <i>Bipolaris</i> sp.	223.74 GHI	136.68 FGHI	188.24 FGHI	65.31 IJK
<i>Bacillus cereus</i> SRSHPI9 + เชื้อรา <i>Curvularia</i> sp.	219.40 HI	132.53 HI	185.26 GHI	65.05 IJK
<i>Bacillus cereus</i> SRSHPI9 + เชื้อรา <i>Fusarium</i> sp.	220.89 HI	133.98 GHI	186.33 GHI	65.13 IJK
<i>Bacillus cereus</i> SRSHPI9 + เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp. + <i>Sarocladium</i> sp. + <i>Cercospora</i> sp. + <i>Bipolaris</i> sp. + <i>Curvularia</i> sp. + <i>Fusarium</i> sp.	220.38 HI	133.49 HI	185.97 GHI	65.10 IJK
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH3 + เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.	361.65 A-E	245.05 ABCD	227.31 BCDE	77.20 B-I
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH3 + เชื้อรา <i>Sarocladium</i> sp.	326.11 CDEF	217.00 CDE	216.96 C-G	74.15 C-J
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH3 + เชื้อรา <i>Cercospora</i> sp.	321.11 C-G	213.05 C-G	215.49 C-H	73.73 E-J
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH3 + เชื้อรา <i>Bipolaris</i> sp.	219.93 HI	133.06 HI	185.68 GHI	65.07 IJK
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH3 + เชื้อรา <i>Curvularia</i> sp.	341.58 BCDE	229.22 BCDE	221.49 B-F	75.48 B-I

หมายเหตุ: ตัวอักษรเดียวกันหรือไม่มีตัวอักษรภายในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ, **= มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99%

ตารางที่ 26 ผลของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อน้ำหนักต้นสดและน้ำหนักต้นแห้ง และน้ำหนักรากสดและน้ำหนักรากแห้งของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ในสภาพเรือนทดลอง (ต่อ)

กรรมวิธี	น้ำหนักต้น (กรัม)		น้ำหนักราก (กรัม)	
	ต้นสด	ต้นแห้ง	รากสด	รากแห้ง
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH3 + เชื้อรา <i>Fusarium</i> sp.	323.76 CDEF	215.14 CDEF	216.28 C-G	73.95 D-J
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH3 + เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.	361.65 A-E	245.05 ABCD	227.31 BCDE	77.20 B-I
+ <i>Sarocladium</i> sp. + <i>Cercospora</i> sp. + <i>Bipolaris</i> sp. + <i>Curvularia</i> sp. + <i>Fusarium</i> sp.				
<i>Bacillus siamensis</i> BR-BD12 + เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.	445.28 A	313.70 A	262.21 A	91.59 A
<i>Bacillus siamensis</i> BR-BD12 + เชื้อรา <i>Sarocladium</i> sp.	394.92 ABCD	273.93 ABC	247.48 ABC	87.28 AB
<i>Bacillus siamensis</i> BR-BD12 + เชื้อรา <i>Cercospora</i> sp.	370.85 A-E	253.18 ABCD	233.48 A-E	80.40 A-G
<i>Bacillus siamensis</i> BR-BD12 + เชื้อรา <i>Bipolaris</i> sp.	410.56 ABC	285.51 ABC	248.96 ABC	86.48 ABCD
<i>Bacillus siamensis</i> BR-BD12 + เชื้อรา <i>Curvularia</i> sp.	395.29 ABCD	273.74 ABC	245.66 ABC	85.98 ABCDE
<i>Bacillus siamensis</i> BR-BD12 + เชื้อรา <i>Fusarium</i> sp.	385.54 ABCD	265.29 ABCD	239.84 ABCD	83.08 A-F
<i>Bacillus siamensis</i> BR-BD12 + เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.+ <i>Sarocladium</i> sp. + <i>Cercospora</i> spp. + <i>Bipolaris</i> sp. + <i>Curvularia</i> sp. + <i>Fusarium</i> sp.	401.99 ABC	278.71 ABC	246.33 ABC	85.66 ABCDE
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH4+ เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.	436.44 AB	305.50 AB	254.75 AB	87.45 AB
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH4+ เชื้อรา <i>Sarocladium</i> sp.	296.27 D-H	193.42 D-H	208.20 D-H	71.60 F-J
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH4+ เชื้อรา <i>Cercospora</i> sp.	383.70 ABCD	262.46 ABCD	233.77 A-E	79.09 A-H
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH4+ เชื้อรา <i>Bipolaris</i> sp.	397.17 ABC	275.71 ABC	248.15 ABC	87.47 AB

หมายเหตุ: ตัวอักษรเดียวกันหรือไม่มีตัวอักษรภายในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ, ** = มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99%

ตารางที่ 26 ผลของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อน้ำหนักต้นสดและน้ำหนักต้นแห้ง และน้ำหนักรากสดและน้ำหนักรากแห้งของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ในสภาพเรือนทดลอง (ต่อ)

กรรมวิธี	น้ำหนักต้น (กรัม)		น้ำหนักราก (กรัม)	
	ต้นสด	ต้นแห้ง	รากสด	รากแห้ง
<i>Bacillus siamensis</i> SKK4+ เชื้อรา <i>Curvularia</i> sp.	365.86 A-E	249.24 ABCD	232.02 A-E	79.97 A-G
<i>Bacillus siamensis</i> SKK4+ เชื้อรา <i>Fusarium</i> sp.	414.46 ABC	288.49 ABC	249.72 ABC	86.54 ABCD
<i>Bacillus siamensis</i> SKK4+ เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.+	397.06 ABC	275.34 ABC	246.95 ABC	86.66 ABC
<i>Sarocladium</i> sp. + <i>Cercospora</i> sp. + <i>Bipolaris</i> sp. + <i>Curvularia</i> sp. + <i>Fusarium</i> sp.				
<i>Bacillus siamensis</i> UBU1+ เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.	381.24 ABCD	261.77 ABCD	238.06 ABCD	82.36 A-F
<i>Bacillus siamensis</i> UBU1+ เชื้อรา <i>Sarocladium</i> sp.	404.84 ABC	280.96 ABC	247.16 ABC	85.90 A-E
<i>Bacillus siamensis</i> UBU1+ เชื้อรา <i>Cercospora</i> sp.	379.39 ABCD	259.38 ABCD	233.78 A-E	79.61 A-G
<i>Bacillus siamensis</i> UBU1+ เชื้อรา <i>Bipolaris</i> sp.	323.76 CDEF	215.14 CDEF	216.28 C-G	73.95 D-J
<i>Bacillus siamensis</i> UBU1+ เชื้อรา <i>Curvularia</i> sp.	361.65 A-E	245.05 ABCD	227.31 BCDE	77.20 B-I
<i>Bacillus siamensis</i> UBU1+ เชื้อรา <i>Fusarium</i> sp.	445.28 A	313.70 A	262.21 A	91.59 A
<i>Bacillus siamensis</i> UBU1+ เชื้อรา <i>Trichoconis</i> sp.	394.92 ABCD	273.93 ABC	247.48 ABC	87.28 AB
+ <i>Sarocladium</i> sp. + <i>Cercospora</i> sp. + <i>Bipolaris</i> sp. + <i>Curvularia</i> sp. + <i>Fusarium</i> sp.				
F-test	**	**	**	**
C.V. (%)	20.93	24.96	10.94	11.71

หมายเหตุ: ตัวอักษรเดียวกันหรือไม่มีตัวอักษรภายในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ. **= มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99%

4.5 การวิจารณ์ผล

เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. สามารถส่งผลกระทบต่อกลไกต่าง ๆ ของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง จากความสามารถในการผลิตสารปฏิชีวนะ (Beneduzi et al., 2012) เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ผลิตสารทุติยภูมิในกลุ่มลิโปเปปไทด์ ได้แก่ surfactin, iturin, fengycin และ bacillomycin (Lang, 2002) ซึ่งสารแต่ละชนิดมียีนที่ควบคุมการผลิตแตกต่างกัน เช่น ยีน *urfAA* กำหนดการสร้างสาร surfactin ยีน *fenD* กำหนดการสร้างสาร fengycin (Joshi and Gardener, 2008) ยีน *ituA* กำหนดการสร้างสาร iturin A (Rahman et al., 2012) ยีน *bamA* กำหนดการสร้างสาร bacillomycin A (Athukarala et al., 2009) เป็นต้น Pajcin et al. (2020) ศึกษาประสิทธิภาพของ *B. velezensis* ไอโซเลต IP22 ที่มีคุณสมบัติในการสร้างสารในกลุ่มลิโปเปปไทด์ ได้แก่ fengycin และ locillomycin ที่สามารถยับยั้งแบคทีเรีย *Xanthomonas euvesicatoria* ได้ ชยามรและ อังสนา (2566) ตรวจสอบยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารต้านจุลินทรีย์ของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. โดยใช้ไพรเมอร์ และ DNA ต้นแบบ ปริมาตรรวมทั้งหมด 50 µl ตรวจสอบ ยีน iturin A (*ituA*) ที่มีผลผลิต PCR ขนาด 647 bp ใช้ไพรเมอร์ ITUD1F (5'-GATGCGATCTCCTTGATGT-3') และ ITUD1R (5'-ATCGTCATGTGCTTGAG-3') (Narendra Kumar et al., 2017) และตรวจสอบ ยีน surfactin (*SrfAA*) ที่มีผลผลิต PCR ขนาด 201 bp ใช้ไพรเมอร์ SRFA-F (5'-ATGAAGATTTACGGAATTTA-3') และ SRFA-R (5'-CCACTCAAACGGATAATCCTGA3') (Joshi & McSpadden-Gardener, 2006) และวิเคราะห์และเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยยีน 16S rRNA *gyrA* และ *rpoB* จากฐานข้อมูล GenBank ด้วยโปรแกรม blastn และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของแบคทีเรียปฏิชีวนะ บริเวณตำแหน่งยีน *gyrA* เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมด 919 ตำแหน่ง และบริเวณตำแหน่งยีน *rpoB* เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมด 709 ตำแหน่ง พบว่า แบคทีเรียปฏิชีวนะทั้งสองไอโซเลตจัดจำแนกเป็น *Bacillus siamensis* โดยไอโซเลต KY16 มีความใกล้เคียงกับ *B. siamensis* ไอโซเลต YB-1631 (CP110268.1) และไอโซเลต KY17 มีความใกล้เคียงกับ *B. siamensis* ไอโซเลต B28 (CP066219.1) มียีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารต้านจุลินทรีย์ในกลุ่มสาร iturin และ surfactin สอดคล้องกับ Xu et al. (2018) ศึกษาแบคทีเรีย *B. siamensis* ไอโซเลต JFL15 พบยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสาร เช่น กลุ่ม surfactin (*srf*), bacillibactin (*dhb*) และ fengycin (*fen*) มียีนที่ผลิตสามารถผลิตสารต้านจุลินทรีย์ในกลุ่มดังกล่าว โดยปรากฏแถบ DNA ของยีนเป้าหมายจากการตรวจสอบด้วย gel electrophoresis

การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. จากพื้นที่เป้าหมาย ซึ่งทำให้ได้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีการปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อม และยับยั้งเชื้อราสาเหตุการเกิดโรคได้โดยตรง จึง

ทำให้สามารถเห็นผลการยับยั้งได้ชัดเจน จากการศึกษาในระดับความรุนแรงของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างจำนวน 6 ชนิดบนเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 จากตรวจสอบผลกระทบของเชื้อราแต่ละชนิดมีผลต่อการงอกและดัชนีความแข็งแรงของเมล็ดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับเมล็ดไม่ได้รับการปลูกเชื้อราสาเหตุจะมีสถานะที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการเจริญเติบโต โดยมีอัตราการงอกและดัชนีความแข็งแรงของเมล็ดสูงที่สุด ผลลัพธ์เหล่านี้สะท้อนให้เห็นว่าเมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพดีสามารถงอกและเจริญเติบโตได้ดีตามธรรมชาติ ในทางตรงกันข้ามเมล็ดพันธุ์ข้าวที่ได้รับการเชื้อราสาเหตุ *Curvularia* sp. ทำให้เมล็ดไม่งอก และมีดัชนีความแข็งแรงต่ำสุด แสดงให้เห็นถึงผลกระทบที่รุนแรงของเชื้อราที่ก่อโรคเมล็ดต่างในข้าว มีผลต่อการพัฒนาของต้นกล้าข้าว โดยเชื้อรา *Curvularia* sp. ส่งผลต่อการกระบวนการทางสรีรวิทยาที่จำเป็นต่อการงอก และการพัฒนาด้านกล้าข้าวในระยะเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งอาจเกิดจากความสามารถของเชื้อราก่อโรคในการเข้าทำลายเนื้อเยื่อเมล็ดข้าว ส่งผลให้เมล็ดไม่งอก ในส่วนของเชื้อราชนิดอื่นๆ แสดงให้เห็นถึงผลกระทบในระดับต่างๆ ตัวอย่างเช่น เมล็ดข้าวที่ได้รับการปลูกเชื้อรา *Sarocladium* sp. ส่งผลให้มีการงอก 68.00% และดัชนีความแข็งแรงของเมล็ด 1037.00 และเมล็ดข้าวที่มีการปลูกเชื้อรา *Sarocladium* sp. จะส่งผลกระทบต่อกระบวนการงอกไม่รุนแรงเท่ากับ *Curvularia* sp. ในขณะที่ปลูกเชื้อราสาเหตุร่วมกันทั้ง 6 ชนิดมีผลต่อการงอกของเมล็ดข้าวได้ 60% และดัชนีความแข็งแรงของเมล็ดอยู่ที่ 1205.41 ผลดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าความรุนแรงของการเกิดโรคเมล็ดต่างขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อราสาเหตุการเกิดโรคเชื้อแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน แต่เมื่อเชื้อราสาเหตุอยู่ร่วมกันอาจส่งผลกระทบในเชิงลบที่อาจรุนแรงขึ้นหรือลดลง เพราะเชื้อบางชนิดอยู่ร่วมกันแล้วเป็นปฏิปักษ์ต่อกัน หรือส่งเสริมการทำงานร่วมกัน หรือแม้แต่เกิดการแข่งขันระหว่างเชื้อ จึงทำให้อาการที่แสดงของการเกิดโรคแตกต่างกันไปตามสภาพแวดล้อมนั้น ๆ ตามกรณีเชื้อรา ข้อมูลนี้มีความสำคัญต่อการพัฒนากลยุทธ์การจัดการโรคที่กำหนดเป้าหมาย

เมล็ดข้าวที่ได้รับผลกระทบจากเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างที่แตกต่างกันจะแสดงการตอบสนองของกิจกรรมเอนไซม์คาตาเลสในเมล็ดข้าวได้แตกต่างกัน เอนไซม์คาตาเลสเป็นเอนไซม์ที่สำคัญเกี่ยวข้องกับการกำจัด H_2O_2 สอดคล้องกับ Abdul and Anderson (1973); Magbanua et al. (2007) ได้ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์นี้เกี่ยวข้องกับความต้านทานของพืชหรือความอ่อนไหวต่อโรคในข้าวบาร์เลย์ พบการยับยั้งเอนไซม์ Catalase และมีการเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของ H_2O_2 ซึ่งส่งผลทำให้เซลล์ตายและเกิดความต้านทานต่อโรคราแป้ง (Misra et al., 1994) จึงไม่น่าแปลกใจที่การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ Catalase ถูกพบในพืชที่ติดเชื้อรา ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Mathur et al., 1972 พบว่าเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคเมล็ดต่างข้าวสามารถปรับเปลี่ยนกิจกรรมของเอนไซม์ Catalase ได้ ในทำนองเดียวกันพบว่าความเข้มข้นของ H_2O_2 เพิ่มขึ้นในพันธุ์ข้าวสาลีที่

อ่อนไหวในระยะเนโครโทรฟิกของ *Pyricularia oryzae* ซึ่งเป็นผลมาจากกิจกรรม Superoxide Dismutase (SOD) ที่เพิ่มขึ้นและกิจกรรมเอนไซม์ Catalase ที่ลดลง นอกจากนี้สายพันธุ์ข้าวโพดที่ต้านทานเชื้อราเนโครโทรฟิก *Aspergillus flavus* ยังแสดงกิจกรรม เอนไซม์ Catalase ที่เพิ่มขึ้นและความเข้มข้นของ H_2O_2 ที่ลดลง (Abdul and Anderson, 1973)

การประเมินเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่อยู่ในรูปของ Cell-free culture filtrate (CFF) ส่งผลในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างได้ดีกว่ารูปของ cell suspension (CS) ซึ่งบ่งชี้ถึงบทบาทของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคพืช สอดคล้องกับการศึกษาของ สุภารัตน์ และคณะ (2022) ศึกษา cell-free culture filtrate (CFF) จากแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* S93 และ *B. siamensis* RFCD306 ในอาหารเหลว สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *F. oxysporum* ได้มากที่สุดที่ 66.67% เมื่อตรวจสอบสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound microscope พบความผิดปกติของสปอร์ โดยสปอร์มีรูปร่างบวมพอง เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่สปอร์มีรูปร่างปกติ แบคทีเรียสามารถผลิตสารทุติยภูมิและปลดปล่อยออกมาในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ ดังนั้น เมื่อนำ cell-free culture filtrate (CFF) มาทดสอบจึงสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์หรือทำให้สปอร์ผิดปกติได้ โดยสารทุติยภูมิที่ปลดปล่อยออกมา สามารถลดแรงดึงผิวของสปอร์ และทำให้เกิดรอยร้าวของผนังเซลล์ รวมทั้งทำให้สปอร์บวมพอง (Sansinenea and Ortiz, 2011) สอดคล้องกับรายงานของ Pan et al. (2019) ที่รายงานว่า อาหารเหลว 3% TSB มีผลต่อการผลิตสารทุติยภูมิของเชื้อ *B. siamensis* ได้แก่ bacillibactin, fengycin, bacillomycin และ surfactin ที่มีผลต่อเชื้อจุลินทรีย์ เช่นเดียวกับรายงานของ Maung et al. (2021) ที่เลี้ยงเชื้อ *B. velezensis* CE 100 ในอาหาร TSB ซึ่งมีผลต่อการผลิตสารทุติยภูมิในกลุ่ม methyl hippurate โดยพบว่า สามารถยับยั้งการงอกของ สปอร์เชื้อรา *Botrytis cinerea* สาเหตุโรคราสีเทาของสตรอว์เบอร์รี เท่ากับ 39.05-93.79% ส่งผลให้สปอร์มีความผิดปกติ บวมพอง อาจเป็นไปได้ว่าส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลต่อการผลิตสารทุติยภูมิ โดยพบว่า 3 สูตรอาหารที่นำมาทดสอบ มีส่วนประกอบของ yeast extract และ peptone เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งเป็นแหล่งอาหารที่ประกอบไปด้วยคาร์บอน ไนโตรเจน กรดอะมิโน และวิตามิน ที่สำคัญต่อการเจริญของเซลล์แบคทีเรีย มีบทบาทในการกระตุ้นเมตาบอลิซึม ส่งผลให้แบคทีเรียปฏิปักษ์สามารถผลิตสารทุติยภูมิได้ดีขึ้น (Velu, 2013)

เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. มีความสามารถในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว และส่งผลทำให้สปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างไม่สามารถเจริญต่อไปได้ สอดคล้องกับรายงานของ Sajitha et al. (2014) ที่พบว่าแบคทีเรีย *Bacillus* spp. มีผลต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* สาเหตุโรคต้นแตกของยางพารา และรายงานของ เอมลิน และคณะ (2563) ที่พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* และ *B. siamensis* มีประสิทธิภาพใน

การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Lasiodiplodia* sp. สาเหตุโรคผลเน่าของลำไยได้ อาจเนื่องมาจากแบคทีเรีย *Bacillus* spp. มีการผลิตสารปฏิชีวนะส่งผลให้โครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ถูกย่อย และนำไปสู่การทำให้เซลล์ตาย นอกจากนี้ แบคทีเรีย *Bacillus* spp. มีประสิทธิภาพในการผลิตสารทุติยภูมิที่มีผลต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์ เช่น bacillibactin, bacillomycin และ surfactin (Maung et al., 2021)

เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าวได้ และไม่มีผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งสอดคล้องกับศึกษาของ Tidarat et al. (2021) ที่ทำการวิจัยการงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่เคลือบเมล็ดด้วยเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ภายใต้สภาวะในห้องปฏิบัติการ ไม่พบความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับเมล็ดที่ไม่ได้รับเชื้อ *B. subtilis* แต่พบมีความแตกต่างของดัชนีการงอกของเมล็ดข้าว ในกรรมวิธีที่มีการเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* ไม่ส่งผลกระทบต่อดัชนีการงอกของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ภายใต้สภาวะในห้องปฏิบัติการ เช่นเดียวกับการทดลองของ Jakkrapong et al. (2017) ที่ทดลองเคลือบเมล็ดฝักกาดหอมด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescens* และ *B. subtilis* พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติในอัตราการงอกภายใต้สภาวะควบคุม เป็นสัญญาณที่ดีสำหรับการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าว ตลอดจนรายงานของ Xie et al. (2014) ชี้ให้เห็นว่า *B. subtilis* เป็นแบคทีเรียที่มีปฏิสัมพันธ์กับอนุภาบริเวรรอบรากพืชและมีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (PGPR) โดยเซลล์ของแบคทีเรีย *B. subtilis* มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวมากกว่ากลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลายธาตุอาหาร (Hoagland solution) เพื่อแสดงให้เห็นว่าการเจริญเติบโตที่ดีขึ้นมีสาเหตุมาจากการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีในเซลล์พืช ได้ทำการวัดปริมาณสารชีวเคมีภายในเซลล์ข้าว ผลการทดลองพบว่า ปริมาณน้ำตาล กรดอะมิโนอิสระ คลอโรฟิลล์ทั้งหมด และปริมาณแคโรทีนอยด์ในเซลล์ข้าวที่ได้รับ *B. subtilis* เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในช่วงการเจริญเติบโตคงที่ (stationary phase) Ashiuchi and Misono (2002) พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. มีความสามารถในการผลิต PGA ซึ่งเป็นสารที่ปล่อยออกมาภายนอกเซลล์แบคทีเรีย ทำให้เกิดความหนืดเพิ่มขึ้นอาจเป็นเพราะมี L-glutamate ใน PGA ซึ่งทำหน้าที่เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ดีสำหรับการเจริญเติบโตของพืช เมื่อรวมกับข้าวซึ่งมีไนโตรเจนในปริมาณสูงโดยธรรมชาติ ก็จะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต นอกจากนี้ ไนโตรเจนยังเป็นองค์ประกอบสำคัญของสารโมเลกุลหลายชนิดในพืช และมีบทบาทสำคัญในการเจริญเติบโตและคุณภาพของผลผลิตข้าว โดยเฉพาะอย่างยิ่งในฐานะส่วนประกอบของคลอโรฟิลล์ (Yongyut, 2009) ซึ่งเป็นสารสีเขียวในพืช การศึกษาแสดงให้เห็นว่าเมื่อข้าวได้รับ PGA ปริมาณคลอโรฟิลล์จะเพิ่มขึ้น

อย่างชัดเจน ซึ่งแตกต่างอย่างชัดเจนจากต้นกล้าข้าวที่ไม่ได้รับ PGA เนื่องจากคลอโรฟิลล์เป็นโมเลกุลที่ดูดซับพลังงานแสงที่จำเป็นสำหรับการสังเคราะห์ด้วยแสง อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงที่ต่ำจะทำให้พืชเจริญเติบโตช้า Glycine และ glutamic acid เป็นสารสำคัญในกระบวนการสร้างเนื้อเยื่อและการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ ซึ่งเริ่มต้นด้วยการเปลี่ยน glutamate เป็น 5-aminolevulinic acid (ALA) ก่อนที่จะเปลี่ยนเป็นคลอโรฟิลล์ อย่างไรก็ตาม มีรายงานว่าต้นอ่อนข้าวสาลีที่ปลูกภายใต้สภาวะปกติจะตอบสนองต่อการสังเคราะห์ด้วยแสงมากกว่าการใช้กรดอะมิโน Cha-um et al. 2007; Azooz et al., 2004) กรดอะมิโนมีบทบาทสำคัญในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของรากพืช ส่งผลให้พืชมีอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงเพิ่มขึ้น และมีระบบรากที่แข็งแรง ทำให้สามารถดูดซับสารอาหารเข้าสู่ลำต้นและใบได้อย่างรวดเร็ว ส่งผลให้พืชสะสมอาหารและเปลี่ยนเป็นพลังงานเพื่อการเจริญเติบโตเมื่ออัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงเพิ่มขึ้น พืชจะสะสมน้ำตาลและกรดอะมิโนมากขึ้นในเนื้อเยื่อเซลล์ (Yongyut, 2009)

การเคลือบเมล็ดข้าวด้วย *Bacillus* sp. แสดงให้เห็นผลกระทบที่ชัดเจน โดยพบปริมาณน้ำตาล กรดอะมิโนอิสระ คลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้เคลือบด้วยเชื้อ *Bacillus* sp. ซึ่งความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อ *B. subtilis* ในพืชนั้นได้รับการยืนยันแล้ว ในการศึกษาที่แปลงทดลองที่ได้รับเชื้อ *Bacillus* sp. แสดงให้เห็นว่ามีผลผลิตข้าวเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับแปลงที่ไม่ได้รับ *Bacillus* sp. ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Kumar et al. (2012) ที่ระบุว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในบริเวณรากข้าวสามารถผลิต indole-3-acetic acid และสามารถละลายฟอสเฟตในดินได้ นอกจากนี้ยังช่วยลดความรุนแรงของโรคใบไหม้ข้าวได้อีกด้วย (Kumar et al., 2012)

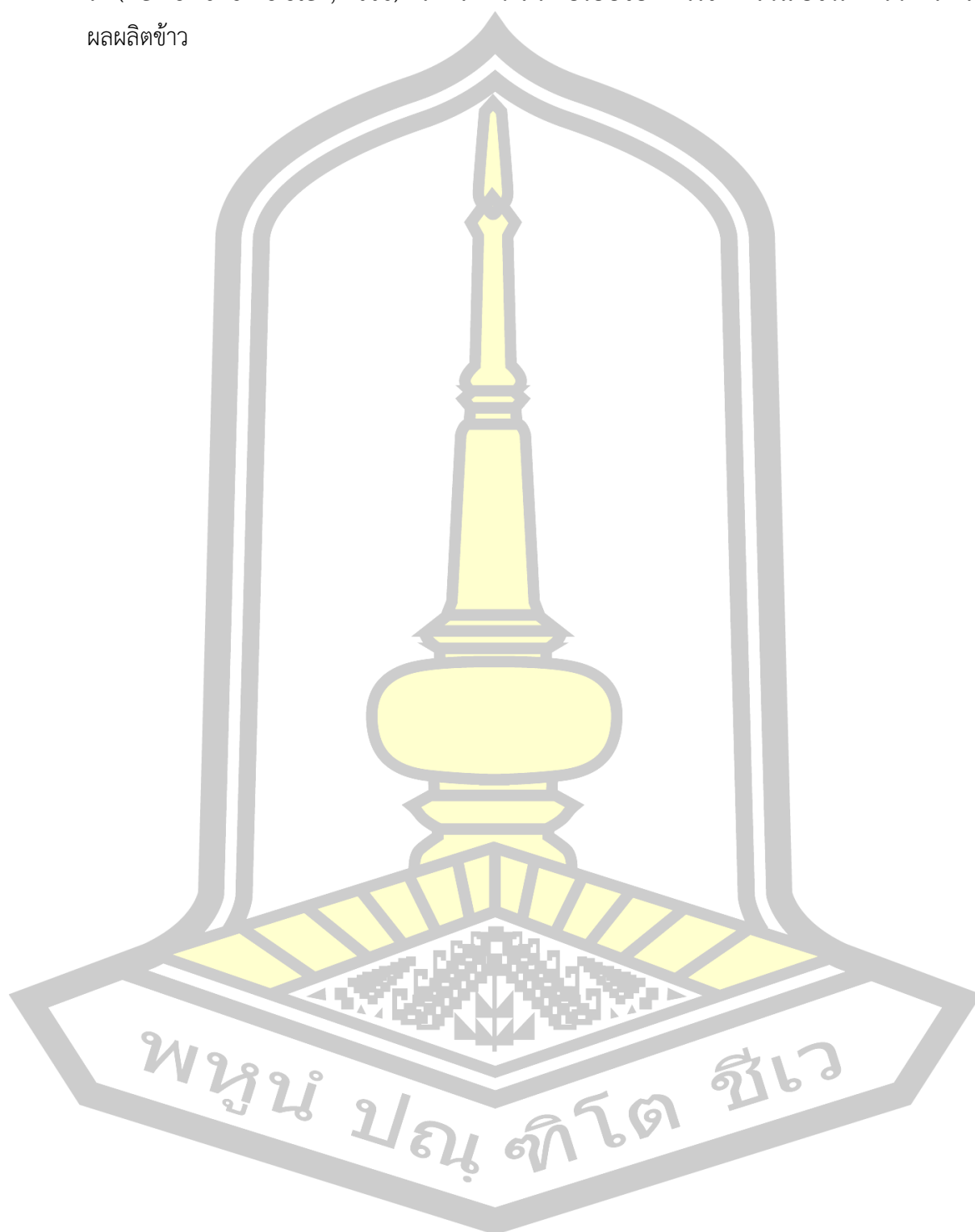
เกษตรกรส่วนใหญ่มักจะเก็บเมล็ดพันธุ์ไว้ใช้เองในภาชนะท้องถิ่น เช่น กระสอบเก็บของหรือถุงฉาง (Wanida and Kulpa, 2019) หรือซื้อจากร้านค้าที่อยู่ใกล้เคียง คุณภาพของเมล็ดพันธุ์ที่ใช้ปลูกจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับสภาพการเก็บรักษา ซึ่งนำไปสู่คุณภาพเมล็ดพันธุ์ที่ไม่สม่ำเสมอหรือเสื่อมสภาพในการปลูกครั้งถัดไป ส่งผลให้ผลผลิตข้าวลดลง อย่างไรก็ตาม หากใช้เมล็ดพันธุ์คุณภาพดีก็มีแนวโน้มที่จะให้ผลผลิตสูง (Sirakarn et al., 2019) ประเทศไทยประสบปัญหาโรคเมล็ดด่างในข้าว ซึ่งเป็นความท้าทายสำคัญในการผลิตข้าว โรคนี้เป็นความเสี่ยงที่สำคัญต่อการเพาะปลูกข้าว โดยมักทำให้เกิดการสูญเสียผลผลิตเป็นอย่างมาก และการติดเชื้อรุนแรงอาจทำให้ผลผลิตลดลงและคุณภาพเมล็ดพันธุ์ลดลง เช่น อัตราการงอก (Thavong, 2002) เชื้อราก่อโรคที่ติดกับช่อดอกมีส่วนทำให้ทั้งคุณภาพและปริมาณผลผลิตข้าวลดลง คุณภาพเมล็ดพันธุ์อินทรีย์สำหรับการผลิตข้าวในประเทศไทยยังคงมีข้อจำกัดอยู่มาก เนื่องจากความซับซ้อนของกระบวนการเพาะปลูก ซึ่งจำเป็นต้องมีการวิจัย

อย่างครอบคลุมเกี่ยวกับเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์และการผลิตเมล็ดพันธุ์อินทรีย์ที่ยังขาดความหลากหลาย งานวิจัยส่วนใหญ่เน้นไปที่การพัฒนาต้นกล้าจนกระทั่งได้เมล็ดพันธุ์คุณภาพสูง การวิจัยต่อจากนั้น มุ่งเน้นไปที่การปรับปรุงคุณภาพเมล็ดพันธุ์ ซึ่งรวมถึงการปรับปรุงอัตราการงอกและการยกระดับคุณภาพโดยรวมของเมล็ดพันธุ์ (Natsima and Kanokkan, 2021) เกษตรกรมักใช้วิธีฉีดพ่นสารเคมี กำจัดเชื้อราอย่างเข้มข้นในนาข้าว ส่งผลให้ข้าวที่เก็บเกี่ยวมีคุณภาพต่ำและแตกหักง่าย จากความท้าทายเหล่านี้จึงเป็นเรื่องสำคัญที่จะต้องปรับปรุงคุณภาพเมล็ดพันธุ์เพื่อเพิ่มมูลค่า ซึ่งจะส่งผลให้การงอกดีขึ้นและการเจริญเติบโตของต้นกล้ามีความสม่ำเสมอมากขึ้น

การใช้ *Bacillus* sp. ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าวได้ดี และช่วยเพิ่มน้ำหนักรวง น้ำหนัก 1,000 เมล็ด สอดคล้องกับการทดลองของ Noipan (2014) ที่แสดงให้เห็นว่า การใช้ชีวภัณฑ์ แบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165-M3 ช่วยให้น้ำหนักข้าวเต็มเมล็ดเพิ่มขึ้น 2.47 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม อาจเนื่องมาจากการใช้แบคทีเรีย *Bacillus* sp. ทำให้เชื้อดังกล่าวสามารถเจริญครอบครองรากข้าวได้ จึงส่งเสริมให้มีการดูดซึมและสะสมแร่ธาตุอาหารในเมล็ดข้าวเพิ่มขึ้น ทำให้เมล็ดข้าวเปลือกมีความสมบูรณ์ ส่งผลให้ข้าวมีคุณภาพมากขึ้นกว่ากรรมวิธีควบคุม (Noipan, 2014; Charoenrak and Chamswarn, 2015, 2016)

ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ทำให้การเจริญเติบโตของข้าวดีขึ้นในสภาพที่มีเชื้อราสาเหตุโรค สอดคล้องกับงานวิจัยของ จิระเดช และคณะ (2560) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. siamensis* RRK1-Rif ในการลดการเกิดโรคกาบใบแห้งและโรคเมล็ดต่างของข้าว ในแปลงขนาดเล็ก (1 × 3 ตารางเมตร) พบว่าทุกกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ *B. siamensis* RRK1-Rif ลดความรุนแรงและเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคกาบใบแห้งของข้าวซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ได้ อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม นอกจากนี้ชีวภัณฑ์ *B. siamensis* RRK1Rif ยังช่วยลดโรคเมล็ดต่างบนรวงข้าวที่เกิดจากการแพร่ระบาดของเชื้อโรคตามธรรมชาติได้ 35.26-55.53 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดดีเพิ่มขึ้น 6.36-11.71 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดต่างลดลง 3.78-23.19 เปอร์เซ็นต์ และเมล็ดลีบลดลง 9.0143.40 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อรา *R. solani* เพียงอย่างเดียว ชีวภัณฑ์ *B. siamensis* RRK1-Rif สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวได้ โดยเพิ่มจำนวนต้นตอก รวงตอกอ ช่วยให้ผลผลิตต่อไร่เพิ่มขึ้น 20.60-54.45% โดยมีค่าสูงกว่าน้ำหนัก ผลผลิตที่ได้จากกรรมวิธีใช้สารเคมี ช่วยเพิ่มข้าว กล้องเต็มเมล็ด และลดข้าวกล้องหักได้ เชื้อแบคทีเรีย *B. siamensis* RRK1-Rif สามารถเจริญครอบครองรากได้ตั้งแต่ระยะต้นกล้าจนถึงระยะเก็บเกี่ยว และพบเชื้อแบคทีเรียมีชีวิตอยู่รอดบนใบข้าว 63.33-93.33% หลังพ่นชีวภัณฑ์บนต้นข้าว 24 ชั่วโมง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรีย *Bacillus* spp. สามารถเจริญเพิ่มปริมาณอยู่รอดบนใบข้าวได้ และสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่มีความแปรผันสูงบนส่วนที่อยู่เหนือดินของพืช

ได้ (Demoz and Korsten, 2006) แสดงถึงความได้เปรียบของการใช้เทคโนโลยีชีวภาพในการเพิ่มผลผลิตข้าว



บทที่ 5

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผล

5.1.1 จากการทดสอบความรุนแรงของเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคในเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 พบว่า เชื้อรา *Curvularia* sp. ส่งผลกระทบอย่างรุนแรงต่อการงอกของเมล็ดข้าว (อัตราการงอก 0%) ในขณะที่เชื้อรา *Sarocladium* sp. มีผลกระทบน้อยกว่า โดยการตรวจวัดกิจกรรมของเอนไซม์ คาตาเลส (CAT) ที่แสดงให้เห็นถึงการตอบสนองจากกระบวนการออกซิเดชันที่เกิดจากเชื้อรา โดยเวลาเพิ่มขึ้นกิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มขึ้น ยกเว้นกรณีเชื้อรา *Curvularia* sp.

5.1.2 เชื้อแบคทีเรีย *B. siamensis* UBU1, *B. siamensis* BRBD12, *B. siamensis* SKKH3, *B. siamensis* SKY7 และ *B. siamensis* SKKK4 พบยีนที่กำหนดการสร้างสารปฏิชีวนะ จำนวน 4 ยีน คือ *bacD*, *bmyA*, *ituA* และ *srfA* *B. cereus* SRSHP19, *B. cereus* BRRCR3 และ *B. cereus* SKNK4 พบยีนที่กำหนดการสร้างสารปฏิชีวนะ จำนวน 3 ยีน คือ *bacD*, *ituA* และ *srfA* ในส่วนของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* SKNK3 และ *B. pseudomycoides* UBW2 พบยีนที่กำหนดการสร้างสารปฏิชีวนะ จำนวน 1 ยีน คือ *bacD*

5.1.3 การประเมินประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในรูปแบบ cell-free culture filtrate (CFF) สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างได้ดีกว่ารูปแบบของ cell suspension (CS)

5.1.4 เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus siamensis* SKKK4 และ SKKH3 มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างได้สูงที่สุด 93.83 และ 91.20 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. สามารถยับยั้งเชื้อราได้ระดับสูง และยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Curvularia* sp. ได้สูงที่สุดถึง 100 เปอร์เซ็นต์

5.1.5 การเคลือบเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ด้วย *Bacillus* sp. ไม่มีผลกระทบต่อเปอร์เซ็นต์งอกและดัชนีการงอกของต้นกล้าข้าว และมีบทบาทในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นข้าวทั้งรากและลำต้น ปริมาณน้ำตาล กรดอะมิโน คลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์

5.1.6 การใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. siamensis* ไอโซเลต SKKH3, BRBD12 และ UBU1 ช่วยลดการเกิดโรคเมล็ดต่าง และเพิ่มความสูงของต้นข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ได้ และ *B. siamensis* SKKH3 และ ไอโซเลต BRBD12 ช่วยเพิ่มผลผลิตข้าว 0.97 กิโลกรัมต่อหน่วยทดลอง และช่วยเพิ่มน้ำหนักรวงและน้ำหนัก 1,000 เมล็ด

5.2 ข้อเสนอแนะ

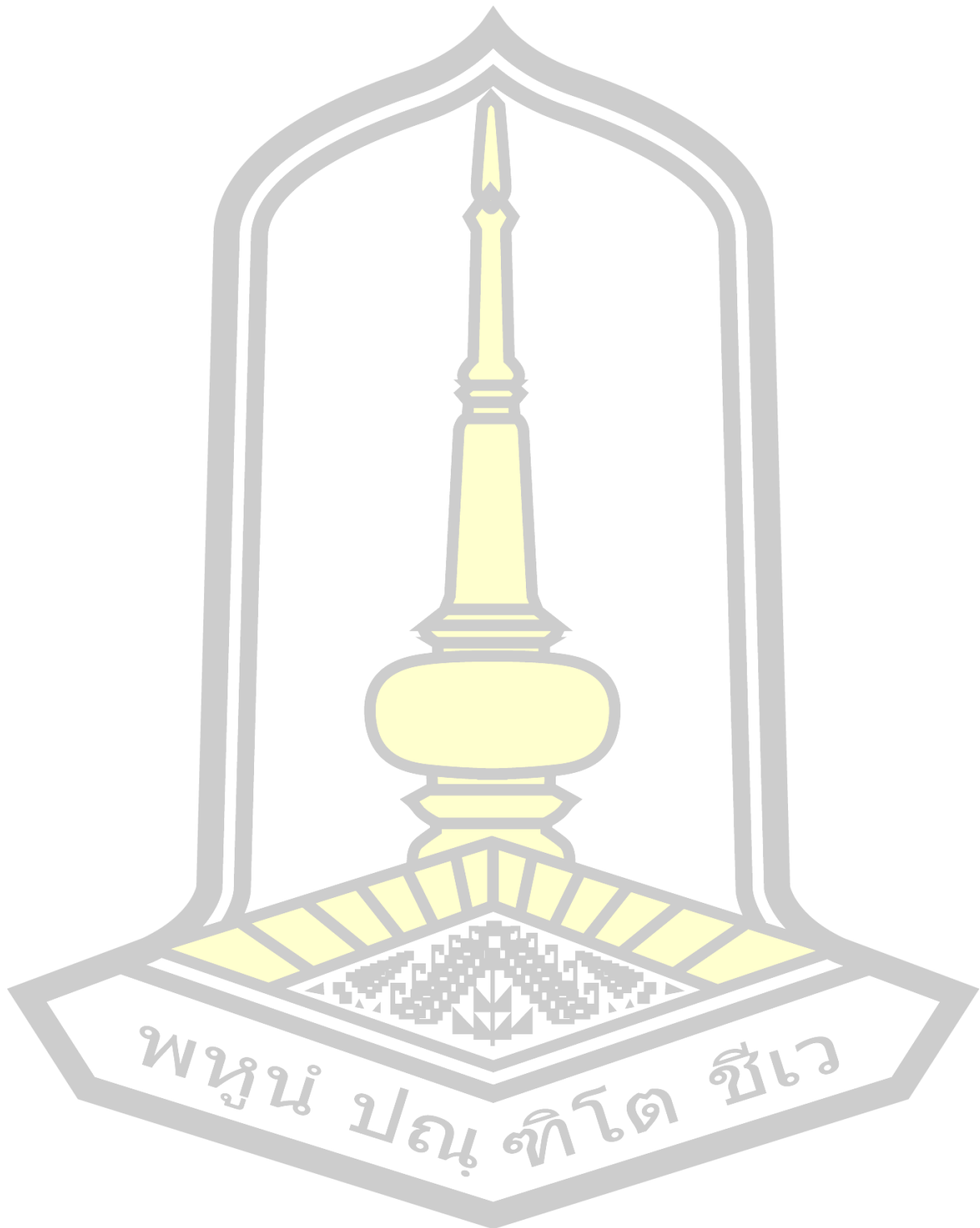
5.2.1 ควรศึกษาแนวทางอื่น ๆ ที่บ่งชี้ว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. มีกลไกในการควบคุมโรคเมล็ดต่างในข้าว นอกเหนือจากการตอบสนองของเอนไซม์คาตาเลส (CAT)

5.2.2 ควรศึกษาหาสารทุติยภูมิที่เกิดขึ้นจากกระบวนการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างในข้าว และศึกษาการผลิตสารทุติยภูมิในอาหารเหลวที่มีผลยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุ

5.2.3 นำเชื้อแบคทีเรีย *B. siamensis* ไอโซเลต SKKH3 และ ไอโซเลต BRBD12 ที่มีประสิทธิภาพมาพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์สู่การใช้จริงในเชิงพาณิชย์ และหาแนวทางในการสร้างสูตรให้มีความคงตัวสูง และสามารถเก็บรักษาได้นาน



บรรณานุกรม



เอกสารอ้างอิง

- กวินธรณ์ บุปผา เทตศักดิ์ สวัสดิ์สุข รัศมี จิตติเกียรติพงศ์ ศิริพร กออินทร์ศักดิ์ และ จินตนา อันอาตม์งาม. 2559. การสำรวจโรคเมล็ดต่างข้าวที่เกิดจากเชื้อราและการพัฒนาวิธีการประเมินโรคในสภาพเรือนทดลอง. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 47(3): 339-349.
- เกษม สร้อยทอง. 2532. การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี. คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 326 หน้า.
- จันทร์หา อุปาลี และ อรุณา เรืองวงษ์. 2561. การคัดเลือกไรโซแบคทีเรียที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคต้นแตงยางไหลของเมล่อน. วารสารเกษตร. 34(2): 179-191.
- จำรัส โปร่งศิริวัฒนา. 2534. ความรู้เรื่องข้าว. กรุงเทพฯ: สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- จิระเดช แจ่มสว่าง, วรรณวิไล อินทนู และ บังอร น้อยไสมัย. 2560. ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *Bacillus siamensis* RRK1-Rif ในการลดการเกิดโรคกาบใบแห้งและโรคเมล็ดต่างของข้าว. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 49(1). 1-14.
- ชนสิริน กลิ่นมณี ฉัฐมาน เพชรภาพ และ อังคณา กันทาจันทร์. 2562. การสำรวจเชื้อราและการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวที่ผลิตจากศูนย์วิจัยข้าวในเขตภาคใต้. หน้า 284-300. ใน รายงานการประชุมวิชาการข้าว ภาคกลาง ตะวันตก ตะวันออก และภาคใต้ ประจำปี 2562. 26 กุมภาพันธ์ – 1 มีนาคม 2562. ณ ศูนย์พัฒนา การ์เด็นท์ แอนด์ รีสอร์ท อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี.
- ฐานข้อมูลพันธุ์ข้าวรับรองของไทย. 2555. ข้าวเหนียวพันธุ์ปรับปรุง. 25 ตุลาคม 2557. <http://www.brrd.in.th/rvdb/index.php?option=comcontent&view=article&id=74:nahn-g-cha-lawng&catid=25:photosensitive-floatingrice&Itemid=56>.
- ดวงมล สัตบุตร์. 2557. ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการวางไข่ การตายของลูกน้ำ และการไล่ตัวเต็มวัยของยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* (Linn.)) และยุงรำคาญ (*Culex quinquefasciatus* (Say)). สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง/กรุงเทพฯ. DOI: <https://doi.nrct.go.th/ListDoi/listDetail?ResolveDOI=10.14457/KMITL.the.2014.4>
- ดวงพร คันธโชติ. 2537. อนุกรมวิธานของแบคทีเรียและปฏิบัติการ. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์. พิมพ์ครั้งที่ 1. 202 หน้า.

- บังอร น้อยใสย์ จิระเดช แจ่มสว่าง และ วรณวิไล อินทน. 2561. ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *Bacillus siamensis* RRK1-Rif สูตรผงเปียกน้ำในการควบคุมโรคกาบใบแห้งและโรคเมล็ดต่างและการเพิ่มผลผลิตของข้าว. วารสารแก่นเกษตร 46 (4) : 633-642.
- ปณณวิชญ์ เย็นจิตต์ ศรัณยา เฟ่งผล และ วาริน อินทนา. 2563. ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* NS-03 ในการควบคุมโรคใบขีดสีน้ำตาลของข้าวที่เกิดจากเชื้อรา *Cercospora oryzae*. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร ปีที่ 51 ฉบับที่ 1 มกราคม-เมษายน 2563. หน้า 11-21.
- ปณณวิชญ์ เย็นจิตต์, ธิตา เดชชวบ และ วาริน อินทนา. 2561. การประยุกต์ใช้ร่วมกันของผงเชื้อ *Trichoderma* sp. และ *Bacillus* sp. ต่อการควบคุมโรคเมล็ดต่างที่เกิดจาก *Bipolaris oryzae* ในข้าว. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 49(1), 15-26.
- ปิลันธนา ฐานพงษ์วรกุล และ ศราวิชญ์ สายมงคล. 2558. ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus megaterium* สายพันธุ์ No.16 ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าวพันธุ์ กข6. วารสารเกษตร 31(3): 301-310.
- ผกายวรรณ ชื้อสตัยวงศ์ ขนมนิภา ตีวงศ์ วนิดา ธรรมธะสาร และจินดา อันอาดมงาม. 2564. การประเมินความต้านทานข้าวพันธุ์พื้นเมืองต่อโรคเมล็ดต่างที่เกิดจากเชื้อรา *Sarocladium oryzae*. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตรและการจัดการ 4 (1): 5-12.
- พรทิพย์ ถาวงค์. 2545. ผลของโรคเมล็ดต่างต่อความแข็งแรงของเมล็ดข้าว. วารสารวิชาการเกษตร 20(2) : 111-120.
- พากเพียร อรัญนารถ นงรัตน์ นิลพานิชย์ และ รัศมี จูติเกียรติพงศ์. 2550. การใช้ผงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเมล็ดต่างในข้าว. วารสารวิชาการข้าว ปีที่ 1 (1): 21-28.
- พากเพียร อรัญนารถ อรุณี สุรินทร์ วันชัย โรจนหัสติน สมคิด ดิสถาพร พยงค์ ขาวสะอาด และ เกษม สุนทรจารย์. 2532. ผลผลิตของข้าวที่ลดลงเนื่องจากโรคเมล็ดต่าง. หน้า 87-91. ใน: รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2532. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.
- พีระวรรณ พัฒนวิภาส ทศนาพร ทศร และธารทิพย์ ภาสบุตร. 2553. สำรวรรวบรวม และจำแนกราสกุล *curvularia* spp.. รายงานผลงานวิจัยปี 2553 เล่ม 3. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 1782-1793.
- มณจันท์ เมฆธน . 2536. ศักยภาพของเชื้อ *Bacillus subtilis* AP-01 ในการป้องกันกำจัดเชื้อสาเหตุของ โรคพืช . วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. ปีที่ 11 (1): 9-20.

รัตนพร รัฐเมือง และเพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล. 2564. การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์กว้างสำหรับควบคุมโรคขอบใบแห้งและโรคเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวในห้องปฏิบัติการ. เกษตร 49 ฉบับที่ 6: 1474-1486 (2564)./doi:10.14456/kaj.2021.130.

ฤกษ์ ศยามานนท์. 2522. โรคข้าวและการป้องกันกำจัด. โรงพิมพ์ชุมชนสหกรณ์แห่งประเทศไทย จำกัด. กรุงเทพฯ. 34 หน้า.

วรรณดา คงสมทอง จุฑามาศ ร่มแก้ว สุณิสา สงวนทรัพย์ และ ชัยสิทธิ์ ทองจุ. 2559. การสูญเสียทางด้านคุณภาพเมล็ดพันธุ์ข้าวและแมลงศัตรูในโรงเก็บที่มีผลจากสภาพการเก็บรักษา. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 54. หน้า 366-375.

วิจิตรา จุติดำรงพันธ์ และ สุชล แก้วพรหม. 2539. การศึกษาการควบคุมโรคข้าวโดยจุลินทรีย์ปฏิชีวนะ *Bacillus subtilis* ในระดับห้องปฏิบัติการ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 81 หน้า.

สำนักงานปลัดกระทรวงพาณิชย์. 2563. การส่งออกสินค้าสำคัญของไทยเรียงตามมูลค่า ปี 2558-2562 (มกราคม-ธันวาคม). แหล่งที่มา: <http://www.ops3.moc.go.th/export/>, 27 มีนาคม 2563.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2566. ข้อมูลการผลิตสินค้าเกษตร. แหล่งที่มา: <https://www.oae.go.th/view/1/>. 30 สิงหาคม 2566.

สุชล แก้วพรหม. 2539. การศึกษาการควบคุมโรคข้าวแบบชีววิธีโดยจุลินทรีย์ปฏิชีวนะ *Bacillus subtilis* ในระดับห้องปฏิบัติการ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สุดาร์ตน์ จิโน สุภัทสรณ์ ไชยรัตน์ ศลิษฐ์ ศุภกิจธนากร และ อรุมา เรืองวงษ์. 2022. ประสิทธิภาพของ *Bacillus subtilis* S93 และ *Bacillus siamensis* RFCD306 ในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวของเบญจมาศในห้องปฏิบัติการ. วารสารแก่นเกษตร. ฉบับพิเศษ 1: 184-190.

สุพจน์ กาเซ็ม. 2545. การจำแนกชนิดและคุณสมบัติของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะที่แยกจากผิวใบและดินบริเวณรากกล้วยที่สามารถควบคุมโรคใบจุดบนของกล้วยเหลือง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 123 น.

สุพัตรา คำเรียง สังวาล สมบูรณ์ สุวิดา แสไพศาล และ ยุวดี ชูประภาวรรณ. 2564. รายงานการวิจัยและส่งเสริมการใช้จุลินทรีย์ปฏิชีวนะเพื่อควบคุมศัตรูข้าวในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

ตอนล่าง. ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี จังหวัดอุบลราชธานี. 107 หน้า.

สุรางค์ สุธิราช. 2538. การศึกษาคุณสมบัติทางจุลชีววิทยาของ EM: การศึกษา Lactic acid bacteria. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อภิรัชต์ สมฤทธิ์ ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี ธารทิพย์ ภาสบุตร และ สุณิรัตน์ สิมะเตือ. 2554. สำรวจรวบรวม และจำแนกราสกุล *Fusarium* สาเหตุโรค. รายงานผลงานวิจัยปี 2553 เล่ม 3. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 1762-1781.

อมิณา ทองสวัสดิ์ ชัยณรงค์ รัตนกริฑากุล และ รณภพ บรรเจิดเชิดชู. 2559. ปัจจัยธาตุอาหารที่ช่วยส่งเสริมการสร้างโคนิเดียของเชื้อรา *Bipolaris oryzae*. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 54: สาขาวิทยาศาสตร์, สาขาพันธุ์วิศวกรรม, สาขาสถาปัตยกรรมศาสตร์และวิศวกรรมศาสตร์, สาขาอุตสาหกรรมเกษตร, สาขาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม (พ.ศ. 2559). หน้า 139-146.

อริษา จิตรติกรกุล พยอม โคเบลล์ สมใจ สาลีโท รุจิรัตน์ วงศ์จันทร์แดง ธนาภา สมใจ ดวงกมล บุญช่วย ขนสิริน กลิ่นมณี อัญชลี ตาคำ ศุภลักษณ์ สนคณอก และ มาสุชล สัยุพิง. 2564. ความหลากหลายของลักษณะสัณฐานวิทยาและความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoemaker สาเหตุโรคใบจุดสีน้ำตาลของข้าวในประเทศไทย. วารสารวิชาการข้าว. หน้า 92-106.

อังคณา กันหาจันทร์ อัญชลี ตาคำ ดวงกมล บุญช่วย ธนาภา สมใจ ขนสิริน กลิ่นมณี สิทธิใจสงฆ์ และ อัญชลี ประเสริฐศักดิ์. 2563. การตรวจสอบเชื้อราและแบคทีเรียสาเหตุโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าว และการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่าง.

เอมลิน พิพัฒน์ภักดี ดนัย มุณยเกียรติ พิมพ์ใจ สีหะนาม และ อรุมา เรืองวงศ์. 2563. การตรวจหาเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของลำไยหลังการเก็บเกี่ยว และการคัดเลือกแบคทีเรียปฏิชีวนะในการควบคุมโรค. Postharvest Newsletter. 19: 1-6.

Abdul AAB and Anderson JD. 1973. Vigor determinations in soybean seed multiple criteria. Crop Science;1(3): 630-633.

Alam, M.K., M.M. Rahman, A.H.J. Jamal, and R. Islam. 2021. Screening of antagonistic potential bacterial from rhizosphere soil against phytopathogenic fungi related to selected vegetable crops. Journal of Advanced Biotechnology and Experimental Therapeutics. 4: 35-43.

- Ashiuchi, M. and Misono, H. 2002. Biochemistry and molecular genetics of poly- γ -glutamate synthesis. *Applied Microbiology and Biotechnology* 59: 9-14.
- Ayyadurai Niraikulam, Sundar Isaac Kirubakaran, Sirobhooshanam Srisha, Natarajan SakthivelBa and Sangchote. 2005 . Biological and Molecular Variability of *Sarocladium oryzae*, the Sheath Rot Pathogen of Rice (*Oryza sativa* L.). *Current Microbiology Journal* Vol. 50: 319-323.
- Azooz, M., M. A. Shaddad and A. A. Latef. 2004. The accumulation and compartmentation of proline in relation to salt tolerance of three sorghum cultivars. *Indian Journal of Plant Physiology* 9: 1-8.
- Beneduzi, A., A. Ambrosini, and L. M. P. Passaglia. 2012 . Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genetics and Molecular Biology*. 34(4) (suppl): 1044-1051.
- Chai- um, S., K. Supaibulwatana and V. Kirdmanee. 2007. Glycine betaine accumulation, physiological characterizations and growth efficiency in salt-tolerant and saltsensitive lines of indica rice (*Oryza sativa* L.) in response to salt stress. *Journal of Agronomy and Crop Science* 193: 157-166.
- Charoenrak P. and C. Chamswarn. 2016 . Efficacies of wettable pellet and fresh culture of *Trichoderma asperellum* biocontrol products in growth promoting and reducing dirty panicles of rice, *Agriculture and Natural Resources*. doi: 10.1016/j.anres.2016.04.001
- Charoenrak, P. and C. Chamswarn. 2015. Application of *Trichoderma asperellum* fresh culture bioproduct as potential biological control agent of fungal diseases to increase yield of rice (*Oryza sativa* L.). *J. ISSAAS*. 21(2): 67-85.
- Charoenrak, P. and C. Chamswarn. 2016. Efficacies of wettable pellet and fresh culture of *Trichoderma asperellum* biocontrol products in growth promoting and reducing dirty panicles of rice. *Agr. Nat. Resour.* 50(4): 243-249.
- Chommanat Kerdkhong and Manee Tantirungkij. 2021. Effectiveness of Bacteria Isolated from Peat Swamp Forests to Control Rice Dirty Panicle Fungi in Thailand. *AGRIVITA Journal of Agricultural Science*. 43(2): 262-272.

- Claus D and RCW Berkeley. 1986. Genus *Bacillus*. In Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME and JG Holt (eds.) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Williams and Wilkins, Baltimore, 1104-1139.
- Dashti Ali A., Mehrez M Jadaon, Abdulsamad M Abdulsamad, Hussein M Dashti. 2009. Heat Treatment of Bacteria: A Simple Method of DNA Extraction for Molecular Techniques. Kuwait Medical Journal: 41 (2): 117-122.
- Demoz, B.T. and L. Korsten. 2006. *Bacillus subtilis* attachment, colonization, and survival on avocado flowers and its mode of action on stem-end rot pathogens. Biol. Control 37(1): 68-74.
- Egley, G. H. 1974. Dormancy variations in common purslane seeds. Weed Sciences 22: 535-540.
- Fergus, G.P. and J.S. Richard. 1990. In O.J. Neway. (ed). Fermentation process Development of Industrial Organisms. Dekker, New York. P 73.
- Gajbhiye, A., Rai, A. R., Meshram, S. U., Dongre, A. B. 2010. Isolation, evaluation and characterization of *Bacillus subtilis* from rhizospheric soil with biocontrol activity against *Fusarium oxysporum*. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 26: 1187-1194.
- Gilbert, D. A., Lehman, N. O'Brien, S.J. and Wayne, R. K. 1990. Genetic fingerprinting reflects population differentiation in the California Channel Island fox. Nature 344, 764-767.
- Gomaa, E. Z. 2012. Chitinase production by *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus licheniformis*: their potential in antifungal biocontrol. The Journal of Microbiology. 50(1): 103-111.
- Gopalakrishnan, Ch., A. Kamalakannan and V. Valluvaparidasan. 2010. Effect of seedborne *Sarocladium oryzae*, the incitant of rice sheath rot on rice seed quality. Journal of Plant Protection Research 50(1): 98-102.
- Haavik, H.I. and S. Thomassen. 1973. The Journal of General Microbiology. 76: 451-454.

- Hongoh Y., M. Ohkuma and T. Kudo. 2003. Molecular analysis of bacterial microbiota in the gut of the termite *Reticulitermes speratus* (Isoptera; Rhinotermitidae). *In* FEMS Microbiology Ecology.
- IRRI. 1996. Standard evaluation system for rice. 4th Edition, IRRI, The Philippines.
- Jakkrapong Kangsopa, Russell K. Hynes and Boonmee Siri. 2018. Effects of Seed Treatment with Plant Growth Promoting Bacteria on Germination and Growth of Lettuce. *Journal of Agriculture* 34(3): 385-397.
- Jintana Unartngam, Thiphaphorn Naunnet, Sasawat Sangsuk, Orawan Chountragoon, Katz, E. and A.L. Demain. 1977. *Bacterial. Rev.* 41: 449-474.
- Joshi, R., and M. Gardener. 2006. Identification and characterization of novel genetic markers associated with biological control activities in *Bacillus subtilis*. *Biological Control.* 96(2): 145-154.
- Kassa, A., Brownbridge, M., Pakker, B. L., Skinner, M., Gouli, V., Gouli, S., Guo, M., Lee, F., & Hata, T. 2008. Whey for mass production of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. *Mycological Research*, 112, 583-591.
- Kovacs, A. M., E. Teglas and A. D. Endress. 2010. The Social Sense: Susceptibility to Others' Beliefs in Human Infants and Adults. *Replication in the Social Sciences. Science*, 330, pp. 1830–1834.
- Kovacs, A., T. Hartkamp, M. V. Kuipers, O. P. and R. V. Kranenburg. 2010. Genetic tool development for a new host for biotechnology, the thermotolerant bacterium *Bacillus coagulans*. *Applied and Environmental Microbiology.* 76(12): 4085-4088.
- Kumar, A. S., Lakshmanan, V., Caplan, J. L., Powell, D., Czymmek, K. J., Levia, D. F., & Bais, H. P. 2012. Rhizobacteria *Bacillus subtilis* restricts foliar pathogen entry through stomata. *The Plant J.*, 72, 694–706.
- Lalan Sh., D. T. Nagrale, S.K. Singh, K.K. Sharma and A.P. Sinha. 2013. A study on fungicides potential and incidence of sheath rot of rice caused by *Sarocladium oryzae* (Sawada). *Journal of Applied and Natural Science* 5(1): 24-29.
- Lang, S. 2002. Biological amphiphiles (microbial biosurfactants). *Current Opinion in Colloid and Interface Science.* 7: 12-20.

- Magbanua ZV, De Moraes CM, Brooks TD, Williams WP, Luthe DS. 2007. Is catalase activity one of the factors associated with maize resistance to *Aspergillus flavus*. *Mol Plant Microbe Interact*; 20: 697–706.
- Mathur M, Ramalingaswami F, Deo MG. 1972. Influence of protein deficiency on 19S antibody-forming cells in rats and mice. *J. Nutr.* 102(7): 841-846.
- Matić, S., D. Spadaro, A. Garibaldi and M. L. Gullino, 2014. Antagonistic yeasts and thermotherapy as seed treatments to control *Fusarium fujikuroi* on rice. *Biol. Control* 73:59–67.
- Maung E.C., S.W. Beak, G.T. Choi, and Y.K. Kim. 2021. Control of grey mould disease on strawberry using the effective agent, *Bacillus amyloliquefaciens* Y1 . *Biocontrol Science and Technology*. 5: 468-482.
- Mew T.W. and J.K. Misra. 1994. A Manual of rice seed health testing. International rice research institute (IRRI), Philippines.
- Mew, T.W. and P. Gonzales. 2002. A Handbook of Rice Seedborne Fungi. Science Publishers, International rice research institute (IRRI), Philippines. 83 p
- Misra JK, Merca SD, Mew TW. 1994. Organisms causing grain discoloration and damage. In: A Manual of Rice Seed Health Testing. IRRI; P 99-100.
- Nagy Sa'ndor, Pe'ter Pocza'i, Istva'n Cerna'k, Ahmad Mousapour Gorji, Ge'za Hegedus and Ja'nos Taller. 2012. PICcalc: An Online Program to Calculate Polymorphic Information Content for Molecular Genetic Studies. *Biochem Genet.* 50:670–672. DOI 10.1007/s10528-012-9509-1.
- Nakkeeran S., P. Renukadevi and T. Marimuthu. 2005. Antagonistic potentiality of *Trichoderma viride* and assessment of its efficacy for the management of cotton root rot.
- Natsima Tokhun and Kanokkan Worawut. 2021. Effects of different soaking techniques on germination and seed vigor of Kaowong Kalasin and Pathum Thani 1 rice varieties. *Khon Kaen Agr. J. suppl* 1: 942-948.
- Nielsen K, PG. Sørensen, F. Hynne and HG. Busse. 1998. Sustained oscillations in glycolysis: an experimental and theoretical study of chaotic and complex periodic behavior and of quenching of simple oscillations. *Journal Biophysical Chemistry*. 72(1-2):49-62.

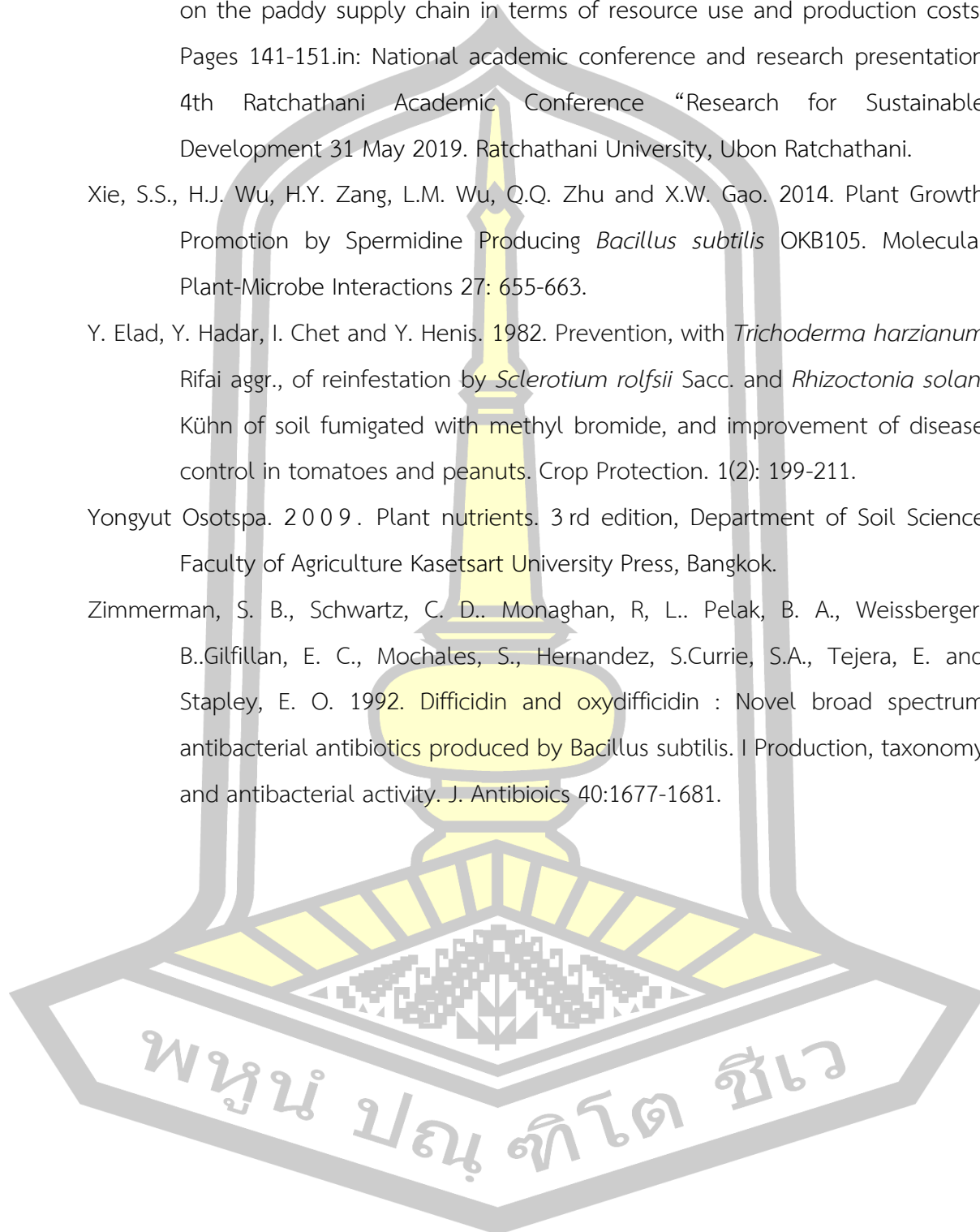
- Noipun, J. 2014. Efficiency of *Bacillus amyloliquefaciens* Mutant Strain BB165–M3 Bioproduct for Increasing Yield and Reducing Dirty Panicle of Rice. MS Thesis, Kasetsart University, Nakhon Pathom, Thailand. (in Thai)
- Orachos Napasintuwong. 2019. Rice Economy of Thailand. ARE Working Paper No. 2562/1 (January 2019). Department of Agricultural and Resource Economics, Faculty of Economics, Kasetsart University, Bangkok, Thailand
- Pajcin, I., V. Vljakov, M. Frohme, S. Grebinyk, M. Grahovac, M. Mojicevic, and J. Grahovac. 2020. Pepper bacterial spot control by *Bacillus velezensis*: bioprocess solution. *Microorganisms*. 8(1463): 1-22.
- Pan, H., X. Tian, M. Shao, Y. Xie, H. Huang, J. Hu, and J. Ju. 2019. Genome mining and metabolic profiling illuminate the chemistry driving diverse biological activities of *Bacillus siamensis* SCSIO 05746. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 103: 1-13.
- Percich JA, RF. Nyvall, DK. Malvick and CL Kohls, 1997. Interaction of temperature and moisture on infection of wild rice by *Bipolaris oryzae* in the growth chamber. *Plant Dis*. 81: 1193-1195.
- Phraomas Charoenrak, Chiradej Chamswarnng. 2016. Efficacies of wettable pellet and fresh culture of *Trichoderma asperellum* biocontrol products in growth promoting and reducing dirty panicles of rice. *Agriculture and Natural Resources*. 50(4): 243-249.
- Prasanna Kumara M. K., A. Narayanappa, C. P. Manjula, M. E. Puneeth and T. Kalavathi. 2017. Characterization, screening and selection of *Bacillus subtilis* isolates for its biocontrol efficiency against major rice diseases, *Biocontrol Science and Technology*, DOI:10.1080/09583157.2017.1323323
- Prathuangwong S., D. Athinuwat, W. Chuaboon, T. Chatnaparat and N. Buensanteai. 2013. Bioformulation *Pseudomonas fluorescens* SP007s against dirty panicle disease of rice. *African Journal of Microbiology Research* 7(47): 5274-5283: <http://www.academicjournals.org/AJMR>
- Rahman, M.M., M.E. Ali, A.A. Khan, A.M. Akanda, Md.K. Uddin, U. Hashim, and S.B.A. Hamid. 2012. Isolation, characterization, and identification of biological

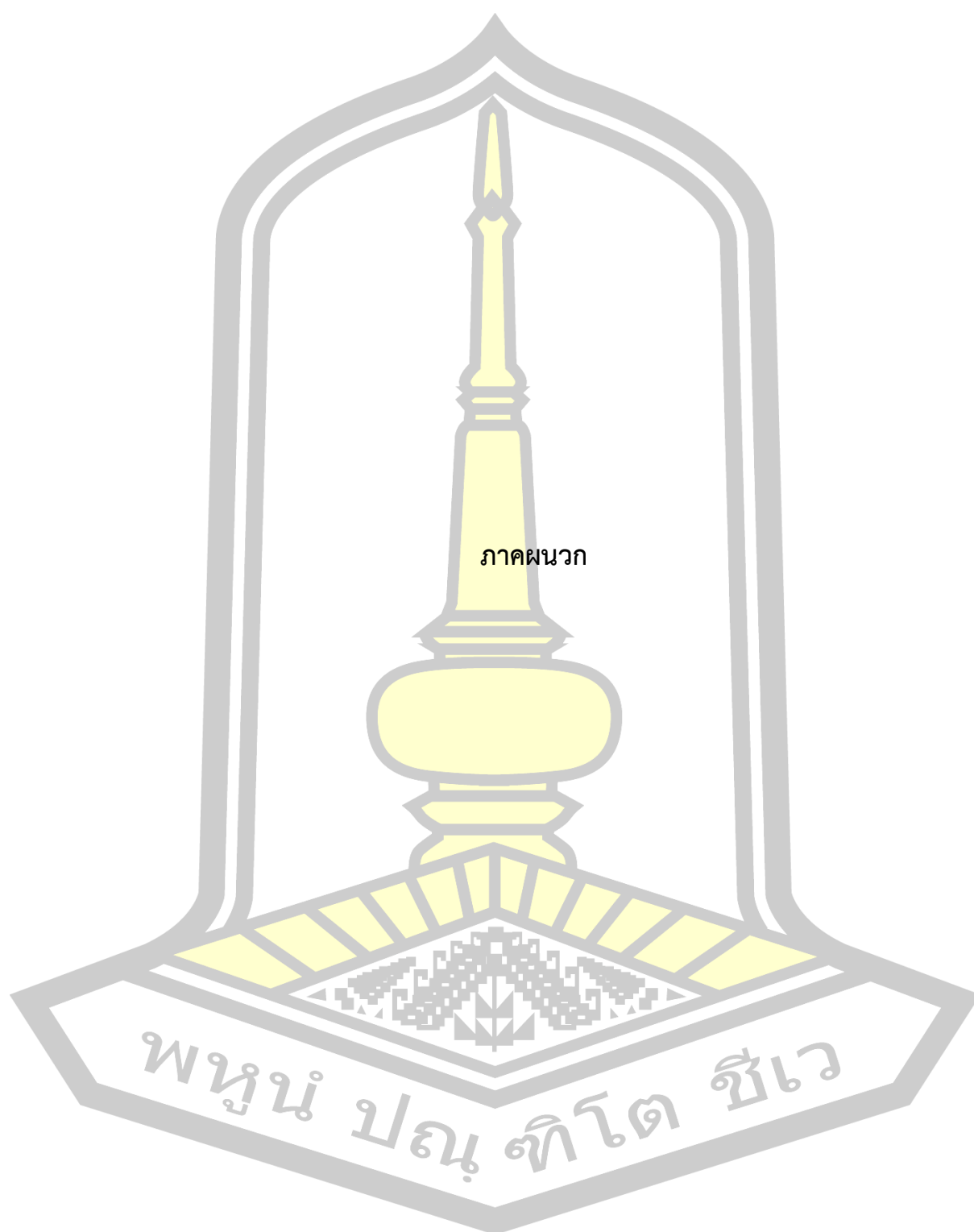
- control agent for potato soft rot in Bangladesh. The Scientific World Journal. 723293: 1-6.
- Rosovitz, M.J., Voskuil, M.I., and Chambliss, G.H. 1998. *Bacillus*. Topley and Wilson's Microbiology and microbial infections. 9th ed. In: Collier J, Balows A, Sussman M, editors. London: Edward Arnold, p. 79.
- Sajitha, K.L., E.J. Florence, and S.A. Dev. 2014. Screening of bacterial biocontrols against sapstain fungus (*Lasiodiplodia theobromae* Pat.) of rubberwood (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.). Research in Microbiology. 7: 1-8.
- Samson R. A., Evans H. C. and Latge J. P. 1988. Atlas of entomopathogenic fungi. Springer-Verlag, Berlin. Springer-Verlag. pp. 187.
- Sansinenea, E., and A. Ortiz. 2011. Secondary metabolites of soil *Bacillus* spp. Biotechnology Letters. 33: 1523–1538.
- Santos, R. A., A. Oliva-Teles, P. Pousão-Ferreira, R. Jerusik, M.J. Saavedra, P. Enes, and C. R. Serra. 2021. Isolation and characterization of fish-gut *Bacillus* spp. as source of natural antimicrobial compounds to fight aquaculture bacterial diseases. Marine Biotechnology. 23(2): 276-293.
- Schaad, N. W., Jones, J. B., & Chun, W. (Eds.). 2001. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria (3rd ed.). The American Phytopathological Society. Retrieved from <https://my.apsnet.org/APSSStore/Product-Detail.aspx?WebsiteKey=2661527A-8D44-496CA730-8CFEB6239BE7&iProductCode=42635>
- Shaikh, S.A. and M.V., Deshpande. 1993. Chitinolytic Enzymes: Their Contribution to Basic and Applied Research. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 9: 468-475. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00328035>.
- Sirakarn Khayankarn, Nipaphon Phannara, Sumana Champa, Waralak Bunmachai, Phapatsorn Wattanakulphakin and Chanantawat Suphasutthirangkul. 2019. Influence of soybean seed vigor on germination in the field. p. 303-309. The 7th National Academic Conference on Legumes, "Pleats, Recovering the Thai Agricultural Crisis" between 6 – 8 August 2019, Rajamangala University of Technology Lanna, Phitsanulok.
- Souza, D. H., Freitas, E. R., Santos, E. O. dos, Cipriano, R. M., Figueiredo, C. W. S. and Dantas, F. D. T. 2015. Inclusion of annatto seed by-product in diets

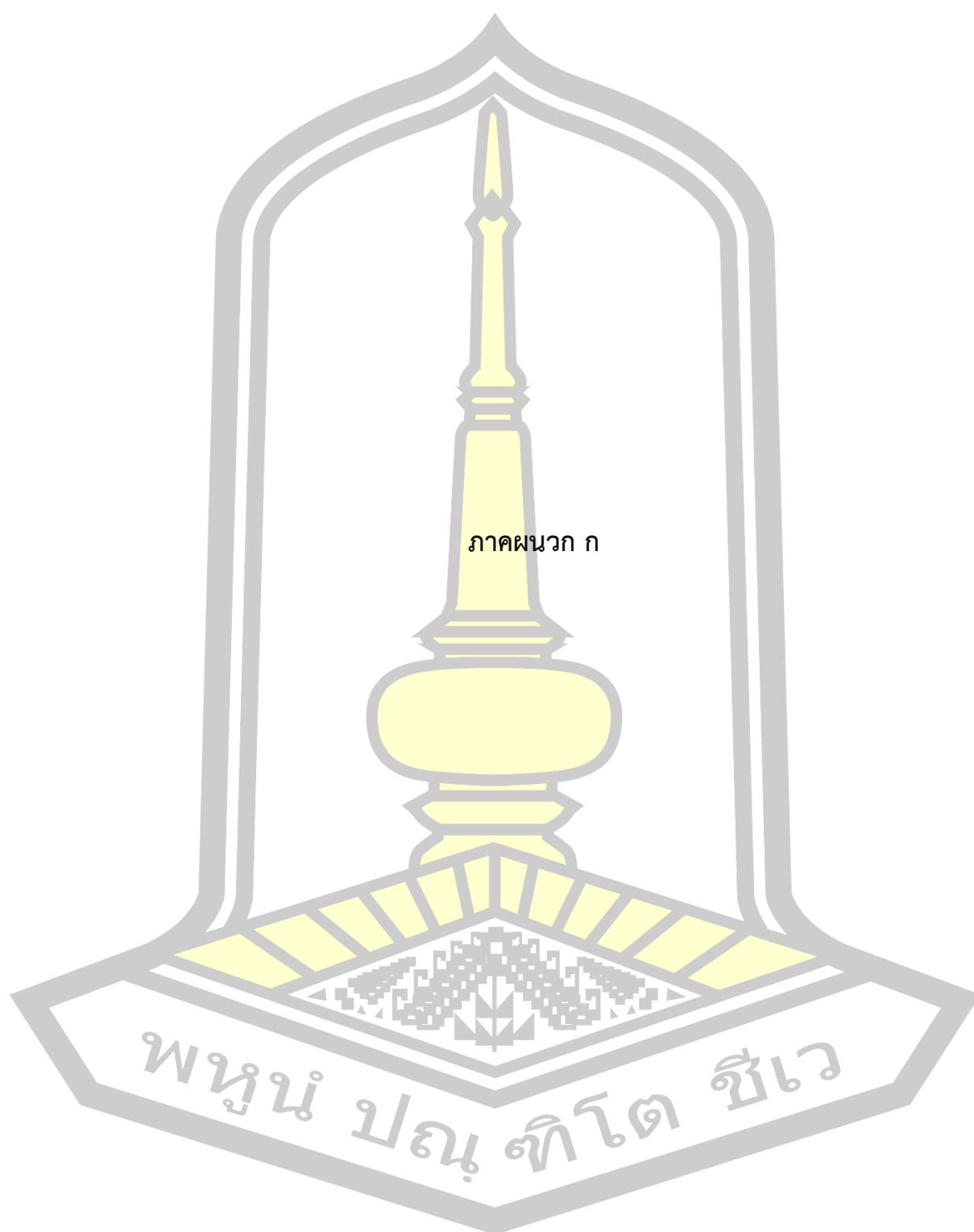
containing sorghum for slow-growth broilers. *Ciência Agrotecnol.* 39 (3): 248-259

- Sukanya Saechow, Anon Thammasittirong, Prasat Kittakoop, Surasak Prachya, and Sutticha Na-Ranong Thammasittirong. 2018. Antagonistic Activity against Dirty Panicle Rice Fungal Pathogens and Plant Growth-Promoting Activity of *Bacillus amyloliquefaciens* BAS23. *J. Microbiol. Biotechnol.* 28(9): 1527–1535. <https://doi.org/10.4014/jmb.1804.04025>
- Sutton, B.C. 1980. The Coelomycetes. Fungi Imperfecti with Pycnidia, Acervuli and Stromata. CMI, Kew, 696 p.
- Suzuki, F., J. Yamaguchi, A. Koba, T. Nakajima and M. Arai. 2010. Changes in fungicide resistance frequency and population structure of *Pyricularia oryzae* after discontinuance of MBI-D fungicides. *Plant Disease Journal* 94: 329-334.
- Tamura Koichiro, Glen Stecher, Daniel Peterson, Alan Filipski and Sudhir Kumar. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* 30(12): 2725–2729 doi:10.1093/molbev/mst197.
- Thavong P. 2002. Effect of dirty panicle disease on rice seed vigor. *Agric. Res. J.* 20: 111-120.
- Thompson, R. A. 1994. Emotion regulation: A theme in search of definition. *Monographs of the Society for Research in Child Development*, 59(2-3), 25–52, 250–283. <https://doi.org/10.2307/1166137>
- Tidarat Kaewkham, Thongla Pukumvong and Duangjai Noiwon. 2021. Effect of seed coating with plant promoting bacteria on seed quality of khao dawk mali 105 and RD69 rice seed varieties. *Khonkaen Agriculture Journal* suppl. 1:936-941.
- Tschen, J.S.-M. and F.S. Wen. 1980. Physiological studies on etiology of the sterility of rice plants. *Plant Protect. Bull.* 22: 57-62
- Turnbull J., Aitken I., Black L. and Paterson B. 1990. Turn it around, short-term management of violence and aggression. *Journal of Psychosocial Nursing and Mental Health Services.* 26(6): 6–12.
- Velu, R. K. 2013. Microbiological Research in Agroecosystem Management. Springer Science & Business Media. USA.

- Wanida Nokthong and Kulpa Sorat. 2019. Impact of using different rice seed sources on the paddy supply chain in terms of resource use and production costs. Pages 141-151.in: National academic conference and research presentation 4th Ratchathani Academic Conference “Research for Sustainable Development 31 May 2019. Ratchathani University, Ubon Ratchathani.
- Xie, S.S., H.J. Wu, H.Y. Zang, L.M. Wu, Q.Q. Zhu and X.W. Gao. 2014. Plant Growth Promotion by Spermidine Producing *Bacillus subtilis* OKB105. Molecular Plant-Microbe Interactions 27: 655-663.
- Y. Elad, Y. Hadar, I. Chet and Y. Henis. 1982. Prevention, with *Trichoderma harzianum* Rifai aggr., of reinfestation by *Sclerotium rolfsii* Sacc. and *Rhizoctonia solani* Kühn of soil fumigated with methyl bromide, and improvement of disease control in tomatoes and peanuts. Crop Protection. 1(2): 199-211.
- Yongyut Osotsapa. 2009. Plant nutrients. 3rd edition, Department of Soil Science Faculty of Agriculture Kasetsart University Press, Bangkok.
- Zimmerman, S. B., Schwartz, C. D., Monaghan, R. L., Pelak, B. A., Weissberger, B., Gilfillan, E. C., Mochales, S., Hernandez, S., Currie, S.A., Tejera, E. and Stapley, E. O. 1992. Difficidin and oxydifficidin : Novel broad spectrum antibacterial antibiotics produced by *Bacillus subtilis*. I Production, taxonomy and antibacterial activity. J. Antibiotics 40:1677-1681.







Nutrient Agar (NA) ประกอบด้วย

Peptone	5.0	กรัม
Beef extract	3.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม

ละลายส่วนประกอบข้างต้นในน้ำกลั่นให้เข้ากันดีเติมน้ำกลั่นเพื่อปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 1 ลิตร ก่อนนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

Tryptic Soy Agar (ร้อยละ 3.0 NaCl) ประกอบด้วย

Tryptone	5.0	กรัม
Soytone	5.0	กรัม
Sodium chloride	30.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม

ละลายส่วนประกอบข้างต้นในน้ำกลั่นให้เข้ากันดีเติมน้ำกลั่นเพื่อปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 1 ลิตร ก่อนนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

Tryptic Soy Broth (ร้อยละ 3.0 NaCl)

Tryptone	5.0	กรัม
Soytone	5.0	กรัม
Sodium chloride	30.0	กรัม
Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม

ละลายส่วนประกอบข้างต้นในน้ำกลั่นให้เข้ากันดีเติมน้ำกลั่นเพื่อปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 1 ลิตร ก่อนนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

Potato Dextrose Agar (PDA)

ละลาย PDA 39 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร แล้วนำไป autoclave ที่ 121 °C ภายใต้อากาศความดันไอน้ำนาน 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นลงประมาณ 50-60 °C ก่อนเทใส่จานเลี้ยงเชื้อจานละประมาณ 8 มิลลิลิตร

การทดสอบคาตาเลส (Catalase test)

วิธีทดสอบ

1. หยด H_2O_2 ที่ความเข้มข้น 3% 1 หยด ลงบนสไลด์
2. ใช้ห้วงเขี่ยเชื้ออายุ 24 ชั่วโมง เขี่ยเชื้อลงไปทำการผสมให้เข้ากัน

ผลบวก	เกิดฟองแก๊ส
ผลลบ	ไม่มีฟอง

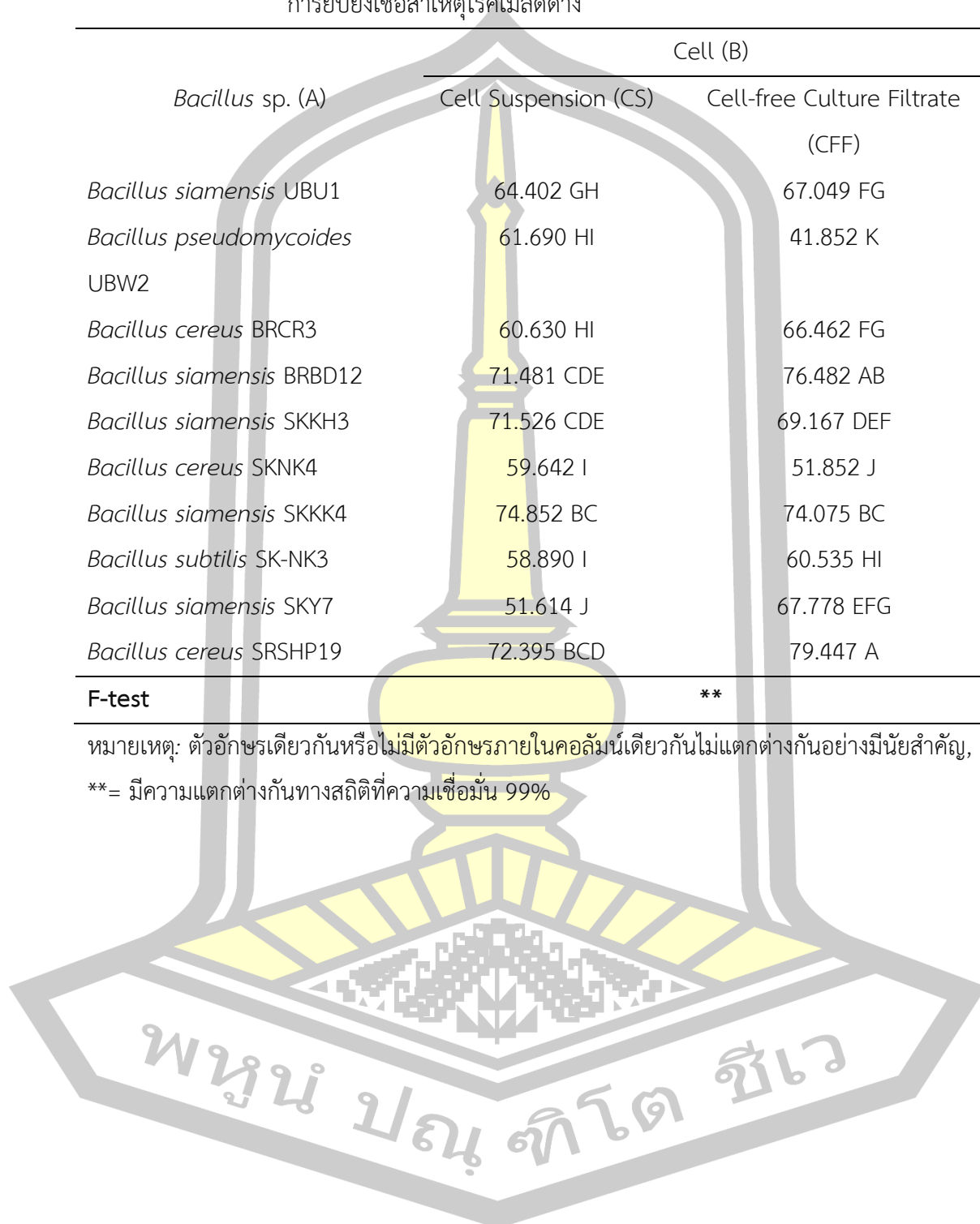


ตารางภาคผนวกที่ 1 วิเคราะห์ความแปรปรวนประสิทธิภาพสารกรองเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคเมล็ดต่าง

<i>Bacillus</i> sp. (A)	Cell (B)	
	Cell Suspension (CS)	Cell-free Culture Filtrate (CFF)
<i>Bacillus siamensis</i> UBU1	64.402 GH	67.049 FG
<i>Bacillus pseudomyoides</i> UBW2	61.690 HI	41.852 K
<i>Bacillus cereus</i> BRRC3	60.630 HI	66.462 FG
<i>Bacillus siamensis</i> BRBD12	71.481 CDE	76.482 AB
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH3	71.526 CDE	69.167 DEF
<i>Bacillus cereus</i> SKNK4	59.642 I	51.852 J
<i>Bacillus siamensis</i> SKKK4	74.852 BC	74.075 BC
<i>Bacillus subtilis</i> SK-NK3	58.890 I	60.535 HI
<i>Bacillus siamensis</i> SKY7	51.614 J	67.778 EFG
<i>Bacillus cereus</i> SRSHP19	72.395 BCD	79.447 A
F-test	**	

หมายเหตุ: ตัวอักษรเดียวกันหรือไม่มีตัวอักษรภายในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ,

**= มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99%



ตารางภาคผนวกที่ 2 วิเคราะห์ความแปรปรวนเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคมะเร็ง

<i>Bacillus</i> spp. (A)	เชื้อราสาเหตุโรคมะเร็ง 6 ชนิด (C)					
	<i>Trichoconis</i> sp.	<i>Sarocladium</i> sp.	<i>Cercospora</i> sp.	<i>Bipolaris</i> sp.	<i>Curvularia</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.
<i>Bacillus siamensis</i> UBU1	62.222 M-U	68.578 G-N	67.738 H-Q	63.333 K-U	43.610 YZ	64.443 J-T
<i>Bacillus pseudomycoloides</i> UBW2	47.165 XY	49.445 W-Y	59.444 S-V	42.781 Y-Z	61.665 N-U	64.445 J-T
<i>Bacillus cereus</i> BR-CR3	58.890 S-V	53.332 V-X	39.443 Z	53.335 V-X	64.893 J-T	64.760 J-T
<i>Bacillus siamensis</i> BR-BD12	71.265 C-J	70.556 E-K	69.656 F-M	69.656 F-M	71.646 C-J	68.526 G-N
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH3	73.401 B-I	79.550 AB	71.185 D-J	67.169 I-R	70.000 E-I	75.334 A-H
<i>Bacillus cereus</i> SKNK4	63.331 K-U	66.207 I-S	65.668 J-T	61.555 N-U	64.445 J-T	60.364 P-V
<i>Bacillus siamensis</i> SKKK4	73.501 B-I	75.445 A-G	65.003 J-T	74.978 A-H	78.301 ABC	68.333 G-O
<i>Bacillus subtilis</i> SK-NK3	67.224 I-R	62.556 L-U	67.890 G-P	47.666 XY	58.253 T-V	60.835 O-V
<i>Bacillus siamensis</i> SKY7	55.780 U-W	59.956 R-V	60.246 Q-V	64.703 J-T	60.824 O-V	60.280 P-V
<i>Bacillus cereus</i> SRSHP19	76.419 A-F	76.974 A-F	77.443 A-E	78.844 ABC	82.491 A	82.545 A

**

F-test

หมายเหตุ: ตัวอักษรเดียวกันหรือไม่มีตัวอักษรภายในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ. **= มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99%

ตารางภาคผนวกที่ 3 ค่าปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคเมล็ดต่าง

<i>Bacillus</i> spp. (A)		เชื้อสาเหตุโรคเมล็ดต่าง 6 ชนิด (B)				
		<i>Trichoconis</i> sp.	<i>Sarocladium</i> sp.	<i>Cercospora</i> sp.	<i>Bipolaris</i> sp.	<i>Curvularia</i> sp.
<i>Bacillus siamensis</i> UBU1		86.00 BCDEF	79.50 EFG	84.00 CDEF	82.00 DEF	100.00 A
<i>Bacillus siamensis</i> BRBD12		79.00 EFG	76.00 FG	80.00 EF	85.00 BCDEF	100.00 A
<i>Bacillus siamensis</i> SKKH3		88.75 ABCDE	90.00 ABCDE	87.75 BCDE	87.75 BCDE	100.00 A
<i>Bacillus siamensis</i> SKKK4		95.00 ABC	89.00 ABCDE	96.00 AB	89.00 ABCDE	100.00 A
<i>Bacillus cereus</i> SRSHP19		94.00 ABC	96.00 AB	90.00 ABCDE	68.50 G	100.00 A
F-test				*		

หมายเหตุ: ตัวอักษรเดียวกันหรือไม่มีตัวอักษรภายในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ. ** = มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99%

ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนของ 16S rRNA

1. *Bacillus siamensis* UBU1

GCGGAGAGACTGCTAGTGTTAGGGGGTTCCGCCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTA
AGCACTCCGCCGGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCC
GCACAAGCGGTGGAGCAGGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAAAACCTTACCAGGTCTTG
ACATCCTCTGACAATCCTAAAGATAGGAGGTCCCCCTTCGGGGGCAGAGTGACAGGTGGTGC
AGGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCT
TGATCTTAGTTGCCAGCATTCAGTTGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAA
GAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACA
ATGGACAGAACAAAGGGCAGCGAAACCGCGAGGTTAAGCCAATCCCACAAATCTGTTCTCA
GTTCCGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCA
GCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGTT
TGTAACACCCGAAGTCGGTGAGGTAACCTTTATGGAGCCAGCCGCCGAAGGTGGTGACAGA
TGATTGGGGTGAAGTCTCAAAGGGGGGGGCACACAA

2. *Bacillus siamensis* BRBD12

AAAGAAAGAGTGCTAGTGTTAGGGGGTTTCCGCCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCATT
AAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCC
GCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTG
ACATCCTCTGACAATCCTAGAGATAGGACGTCCCCCTTCGGGGGCAGAGTGACAGGTGGTGC
ATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCT
TGATCTTAGTTGCCAGCATTCAGTTGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAG
GAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACA
ATGGACAGAACAAAGGGCAGCGAAACCGCGAGGTTAAGCCAATCCCACAAATCTGTTCTCA
GTTCCGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCA
GCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGTT
TGTAACACCCGAAGTCGGTGAGGTAACCTTTATGGAGCCAGCCGCCGAAGGTGGGACAGAT
GATTGGGGTGAAGTCGTACAAAGGGGGGAACCAAA

3. *Bacillus siamensis* SKKH3

CAAGAGAGTGCTAGTGTTAGGGGGTTTCCGCCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAA
GCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCG
CACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGA
CATCCTCTGACAATCCTAGAGATAGGACGTCCCCTTCGGGGGCAGAGTGACAGGTGGTGCA
TGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTT
GATCTTAGTTGCCAGCATTCAAGTTGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGG
AAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAA
TGGGCAGAACAAAGGGCAGCGAAACCGCGAGGTTAAGCCAATCCCACAAATCTGTTCTCAG
TTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAG
CATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGTTT
GTAACACCCGAAGTCGGTGAGGTAACCTTTATGGAGCCAGCCGCGCAAGGTGGGACAGATG
ATTGGGGTGAAGTCTACAAAGGGGAACAAAAAACAAAAACGCACCCAACCAACCACGAA
AGCACCAGCACCGGACCAGCGGCAGACCCCCGCGCACGGAGACCGGGGCACACACACGAC
ACACGCCGCCAGCGCCGCGCAGCCATCGGGACTCGCACTTCATGGATTCTGCGCTGCTTTA
CTTTCATATATACCTGCACTCGATCAGTCCTCGCGCTCGCGAGTGTCTTCCAGTACATAT
ATAATTCAAACCTAAAAACGGTGCCTATGTTTCTTTTGACAACTAACTCGGCAATCTGGTA
GAGGACACCGCATCTTCGTACCTAGTTGTGGGTGAGGCAGATTGCTACGTGCGTTGGGTCT
TTGTGATTTTTAGATCGCTAGTGATGGGGTGTCCCTACTTCTTTAGTTGGCCCGGGTTTTT
TTTTTTTACCCCCACAGTATACTAAGTTTGGTGATTATCGGAAGCCCAGTTTTATTGTGCA
GCTTAAGGGTGTTGTTTCGGCCGTCTAATTGCAGCAGCCCTCTAGACTACTAAAGGGGGGA
GAAACACTCTTAGAGGAGGGGCGGG

4. *Bacillus siamensis* SKKK4

ACGATGAAATAGTGCTAGTGTTAGGGGGTTTCCGCCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCA
TTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGC
CCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCT
TGACATCCTCTGACAATCCTAGAGATAGGACGTCCCCTTCGGGGGCAGAGTGACAGGTGGT
GCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACC
CTTGATCTTAGTTGCCAGCATTCAAGTTGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGG
AGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTA

CAATGGACAGAACAAAGGGCAGCGAAACCGCGAGGTTAAGCCAATCCCACAAATCTGTTCT
 CAGTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGAT
 CAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCACACCACGAGAG
 TTTGTAACACCCGAAGTCGGTGAGGTAACCTTTATGGAGCCAGCCGCCGAAGGTGGGACAG
 ATGATTGGGGTGAAGTCGTACAAGGGGTAACCAAAGCATACAACCATCCGGATTACACTCC
 GTTTTCCAGGTGTTATCCCCGACTCCATGTCAGGTTACTCGCGTAGTTCTCACCTCACACGT
 CATTATCCGCGCCAGCACGCTGCGGCCTTCAGAGTTCCATTTCCATGTATTAGCTCACC
 TTCCCGCGATCGTCCGACCGCTAAAAACACCTCACAAAATGCCAAATCTTCGAAAACATC
 TTTCTACATAACTGCCTTACTCGCCGGTTTCTTAATATATTAAATAAGTTACATAACACCCC
 CAGATCTTTTATGAAGCCCTACTAATTTACTTCTTTCTTTTATATTCTTCGCGCGGTCCTTT
 TTCTTTGCCGCGCTCCACTTTTTTCTTTTTTTTTCTTTCTTTCCCATTAATTTTTACTTCC
 CCCTCTTGCTTACCTTTTTTTTTTTGCCATTTCTATTTTTTTGTGCGGTATTTTTTTGTGCG
 GCGAGCTTTTTATACCCTCAGTTTGTTTTTTTTTAAATATTGTTTTGTGATCAGCGGAT
 GGCACT

5. *Bacillus cereus* SRSHP19

GCAGAGAGTGCTAGTGTTAGAGGGTTTCCGCCCTTTAGTGCTGAAGTTAACGCATTAA
 GCACTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCG
 CACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGA
 CATCCTCTGAAAACCCTAGAGATAGGGCTTCTCCTTCGGGAGCAGAGTGACAGGTGGTGCA
 TGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTT
 GATCTTAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGG
 AAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAA
 TGGACGGTACAAAGAGCTGCAAGACCGCGAGGTGGAGCTAATCTCATAAAACCGTTCTCAG
 TTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAG
 CATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGTTT
 GTAACACCCGAAGTCGGTGGGGTAACCTTTTGGAGCCAGCCGCTAAGGTGGGACAGATG
 ATTGGGGTGAAGTCGAAAAGGGGGGGCCAAAAA

6. *Bacillus pseudomyoides* UBW2

CCAAGAAGAGTGCTAGTGTTAGAGGGTTTCCGCCCTTTAGTGCTGAAGTTAACGCATTA
AGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCA
CAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCTGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCC
TCTGACAACCCTAGAGATAGGGCTTCCCCCTTCGGGGGCAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTC
GTCAGCTCGTGCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGATCTTAGTTG
CCATCATTAAGTTGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGA
CGTCAAATCATCATGCCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACGGTACAAAGAG
CTGCAAGACCGCGAGGTGGAGCTAATCTCATAAAACCGTTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAA
CTCGCTACATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCC
CGGGCCTTGACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGTTTGTAAACCCCGAAGTCGGTGGGGTAA
CCTTTTGGAGCCAGCCGCCTAAGGTGGGACAGATGATTGGGGTGAAGTCGTACAAAGGGGGGT
AACCCAAAA

7. *Bacillus cereus* BRCR3

CCGACGAGAGTGCTAGTGTTAGAGGGTTTCCGCCCTTTAGTGCTGAAGTTAACGCATTAAGCAC
TCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGC
GGTGGAGCATGTGGTTTAATTCTGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGA
AAACCCTAGAGATAGGGCTTCTCCTTCGGGAGCAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAG
CTCGTGCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGATCTTAGTTGCCATC
ATTAAGTTGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCA
AATCATCATGCCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACGGTACAAAGAGCTGCA
AGACCGCGAGGTGGAGCTAATCTCATAAAACCGTTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGC
CTACATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGC
CTTGACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGTTTGTAAACCCCGAAGTCGGTGGGGTAACCTTT
TTGGAGCCAGCCGCCTAAGGTGGGACAGATGATTGGGGTGAAGTCGTACAAAGGGGAAACACA
A

8. *Bacillus cereus* SKNK4

GCAGAGAGTGCTAGTGTTAGAGGGTTTCCGCCCTTTAGTGCTGAAGTTAACGCATTAA
GCACTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCAC
AAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCTGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCT
CTGAAAACCCTAGAGATAGGGCTTCTCCTTCGGGAGCAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCTG
TCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGATCTTAGTTGC
CATCATTAAGTTGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGAC
GTCAAATCATCATGCCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACGGTACAAAGAGC
TGCAAGACCGCGAGGTGGAGCTAATCTCATAAAACCGTTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAAC
TCGCCTACATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCC
GGGCCTTGTACACACCGCCCCGTACACCACGAGAGTTTGTAACACCCGAAGTCGGTGGGGTAAC
CTTTTTGGAGCCAGCCGCCTAAGGTGGGACAGATGATTGGGGTGAAGTCGACAAAGGGGGGGG
CAAAAAGGGGCCGGGTCGTGGTCTTTTCCCCTCGTCCTCTCCTTCTCCCCGGGGTTGTTCCCT
TCTCGTCGGGCGTGTGCCCCGCGTGCTCCTCGCCCGTCCGCTCGCTTCCTTCGTGCGCGCTCGC
TCTTCGTCCGTTTCGTCTCGCTTGCCTGGGTTGTGCCCCCCTTCTCCGCGTGTCTGTGCGCC
TGTCGTTTTTCCGTTGTCCTCGTGGTGCTCGGTGCGCGCCCGTTGTCCCGTTCTTTGTTCTGT
GGTCTGCGCCCCGCCCTGTGTCGCTTCTCGCTCGGGGCCGTTCCGTGTCCCCCTGCCCGTG
CCTGTTTTGGGTTGTCCCCCTGGCGTGGGGTGTTTGTCTGCGGTGCTTCTCTTCTC
CCCCGGCTTGGGCTTCCGGGTGGTGGGGTGCTCCCCTCTTGCCCGCCGTTGCTTCGTC
TTCGCTTTTTGCGGCTCT

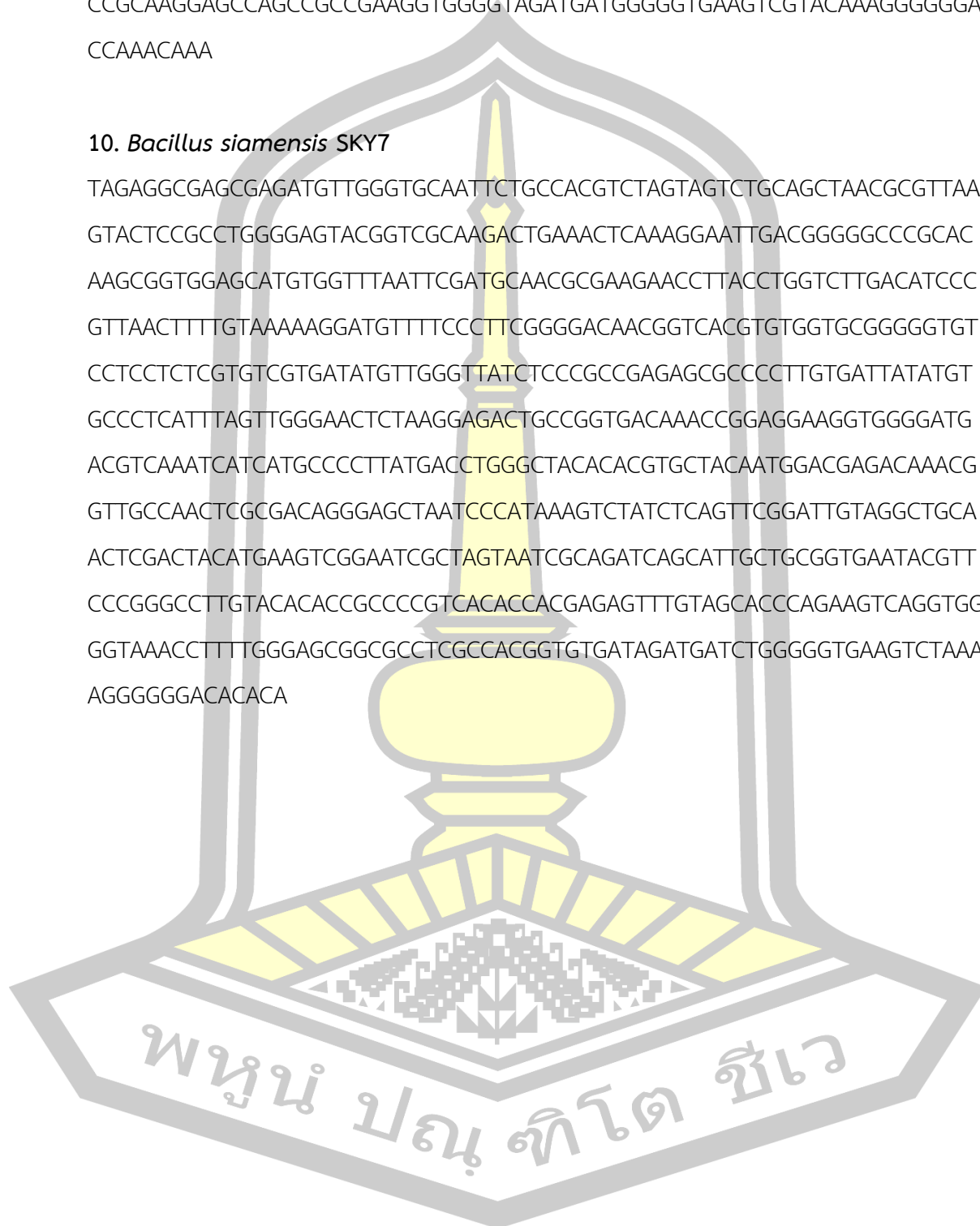
9. *Bacillus subtilis* SKNK3

GCAGGAGATGCTAGTGTTAGGGGTTTCGATACCTTTGGTGCTCGAAGTTAACACATTAA
GCATTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCAC
AAGCAGTGGAGTATGTGGTTTAATTCTGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCTG
AATGACCGTCTAAAGATAGGGCTTCTCCTTCGGGACATTCAAGACAGGTGGTGCATGGTTGTCTG
TCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTAACCTTTAGTTGC
CAGCATTAGTTGGGCACTCTAGAGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGAC
GTCAAATCATCATGCCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTACTACAATGGTGGTACAACGGGA
AGCGAAGCCGCGAGGTGGAGCCAATCCTAAAAAGCCGATCTCAGTTCGGATTGCAGGCTGCAA
CTCGCCTGCATGAAGTCGGAATTGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCC

CGGGTCTTGTACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGTTTACAACACCCGAAGTCGGTGAGGTAA
CCGCAAGGAGCCAGCCGCCGAAGGTGGGGTAGATGATGGGGGTGAAGTCGTACAAAGGGGGGA
CCAAACAAA

10. *Bacillus siamensis* SKY7

TAGAGGCGAGCGAGATGTTGGGTGCAATTCTGCCACGTCTAGTAGTCTGCAGCTAACGCGTTAA
GTACTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCAC
AAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGTCTTGACATCCC
GTTAACTTTTGTAAAAAGGATGTTTTCCCTTCGGGGACAACGGTCACGTGTGGTGCGGGGGTGT
CCTCCTCTCGTGTCTGATATGTTGGGTATCTCCCGCCGAGAGCGCCCTTGTGATTATATGT
GCCCTCATTTAGTTGGGAACCTAAGGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATG
ACGTCAAATCATCATGCCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACGAGACAAACG
GTTGCCAACTCGCGACAGGGAGCTAATCCCATAAAGTCTATCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCA
ACTCGACTACATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTT
CCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGTTTGTAGCACCCAGAAGTCAGGTGG
GGTAAACCTTTTGGGAGCGGCGCCTCGCCACGGTGTGATAGATGATCTGGGGGTGAAGTCTAAA
AGGGGGGACACACA



ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาวสุพัตรา คำเรียง
วันเกิด	1 กุมภาพันธ์ 2531
สถานที่เกิด	จังหวัดขอนแก่น
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	142 หมู่ 8 ตำบลพระลับ อำเภอเมืองขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น
ตำแหน่งหน้าที่การงาน	อาจารย์
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2549 มัธยมศึกษาปลาย โรงเรียนขอนแก่นวิทยายน 2 พ.ศ. 2553 ว.ทบ. เทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัย มหาสารคาม พ.ศ. 2557 ว.ทม. เทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัย มหาสารคาม
ทุนวิจัย	ทุนอุดหนุนการวิจัยและนวัตกรรม คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัย อุบลราชธานี
ผลงานวิจัย	Effect of <i>Bacillus</i> spp. seed dressing on germination and growth of rice cultivar Khao Dawk Mali 105

พูน ปณ จิต ชีเว