รายงานการวิจัย

การศึกษาความหลากหลายของเชื้อราในนาข้าว และการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคข้าวโดยชีววิธี

The Study Fungal Diversity in Rice Field and Selective Antagonistic Bacteria for Control Rice Disease

พรศิลป์ สีเผือก Pornsil Seephueak

ชัยสิทธิ์ ปรีชา Chaisit Preecha

วุฒิชัย สีเผือก Wuttichai Seephueak

คณะเกษตรศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

งบประมาณแผ่นดิน ประจำปี พ.ศ. 2560-2561

รายงานการวิจัย

การศึกษาความหลากหลายของเชื้อราในนาข้าว และการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคข้าวโดยชีววิธี

The Study Fungal Diversity in Rice Field and Selective Antagonistic Bacteria for Control Rice Disease

พรศิลป์ สีเผือก Pornsil Seephueak

ชัยสิทธิ์ ปรีชา Chaisit Preecha

วุฒิชัย สีเผือก Wuttichai Seephueak

คณะเกษตรศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

งบประมาณแผ่นดิน ประจำปี พ.ศ. 2560-2561

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย สำหรับการสนับสนุนงบประมาณในการทำวิจัย ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560-2561 ขอขอบคุณนายสุชาติ เทียมดี เกษตรกรลุ่มน้ำปากพนัง ตำบลชะเมา สำหรับการอนุเคราะห์แปลงนาเพื่อใช้ในการทำวิจัย ซึ่งผลงานการวิจัยนี้สามารถใช้เป็นแนวทางในการนำไปใช้ประโยชน์ในด้านอื่นในอนาคต

ขอขอบคุณผู้เกี่ยวข้องทุกฝ่ายที่ได้ให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ ทั้งความสะดวกในการใช้อุปกรณ์และเครื่องมือวิเคราะห์ ตลอดจนสถานที่ในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ ที่ให้การช่วยเหลือและอำนวยความสะดวก ขอขอบคุณผู้ร่วมวิจัยที่อุทิศกำลังกายและกำลังใจ ช่วยให้การวิจัยครั้งนี้ลุล่วงสำเร็จได้ด้วยดี

พรศิลป์ สีเผือก
ชัยสิทธิ์ ปรีชา
วุฒิชัย สีเผือก

ตุลาคม 2561

การศึกษาความหลากหลายของเชื้อราในนาข้าว และการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคข้าวโดยชีววิธี

พรศิลป์ สีเผือก[1] ชัยสิทธิ์ ปรีชา[2] และวุฒิชัย สีเผือก[1]

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการวิจัยเพื่อศึกษาความหลากหลายของเชื้อราในนาข้าว และคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคข้าวโดยชีววิธี ดำเนินการทดลองในแปลงนาข้าวสายพันธุ์ กข 41 ตำบลชะเมา อำเภอปากพนัง จังหวัดนครศรีธรรมราช สำรวจและเก็บตัวอย่างเชื้อราจากดิน ใบ และลำต้น ใน 5 ระยะของการเจริญเติบโตของข้าว ได้แก่ ระยะกล้า ระยะแตกกอ ระยะติดดอก ระยะออกรวง และระยะสุกแก่ และ เก็บเมล็ดข้าวในระยะเก็บเกี่ยว แยกเชื้อด้วยวิธี dilution plates, moist chamber และ baiting ผลการศึกษาพบว่า โรคใบจุดสีน้ำตาล (*Curvularia lunata*) และโรคไหม้ของข้าว (*Pyricularia oryzae*) มีการระบาดและสร้างความเสียหายมากที่สุด เท่ากับ 95 และ 90 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ความหลากหลายของเชื้อราในแปลงนาข้าวพบทั้งหมด 39 สปีชีย์ 24 จีนัส แบ่งเป็นพบในดินและลำต้น 31 สปีชีย์ บนใบ 22 สปีชีย์ และเมล็ด 14 สปีชีย์ โดยที่เชื้อรา 4 สปีชีย์ ได้แก่ *Bipolaris oryzae*, *Curvularia lunata*, *Fusarium solani* และ *Nigrospora oryzae* เป็นเชื้อราสายพันธุ์เด่น (≥ 10% occurrence) พบได้ทั้งในดิน ลำต้น ใบ และเมล็ดข้าว สำหรับความหลากหลายของราที่แยกในแต่ละระยะของการเจริญเติบโตของข้าว พบว่า ระยะแตกกอพบเชื้อรามากที่สุด จำนวน 36 สปีชีย์ รองลงมาคือ ระยะออกดอก, ระยะสร้างรวง, ระยะสุกแก่ และระยะกล้า มีจำนวน 35, 33, 32 และ 30 สปีชีย์ ตามลำดับ โดยเชื้อรา *Curvularia lunata* เป็นราสายพันธุ์เด่นพบทุกระยะของการเจริญเติบโต

เชื้อราที่พบในดินจากแปลงนาข้าวมีทั้งหมด 31 สปีชีย์ พบว่า 3 สปีชีย์ คือ *Curvularia lunata, Penicillium fumiculosum* และ *Trichoderma harzianum* เป็นราสายพันธุ์เด่นพบได้ในดินและทุกระยะของการเจริญเติบโตของข้าว ในขณะที่เชื้อราที่พบบนลำต้นข้าวมีทั้งหมด 31 สปีชีย์ พบว่า *Curvularia lunata* เป็นราสายพันธุ์เด่น (≥ 10 occurrence) พบได้บนต้นข้าวทุกระยะของการเจริญเติบโตของข้าว สำหรับเชื้อราที่พบบนใบข้าวมีทั้งหมด 22 สปีชีย์ พบว่า 5 สปีชีย์ คือ *Bipolaris oryzae, Cladosporium elatum, Curvularia lunata, Nigrospora oryzae* และ *Pyricularia oryzae* เป็นราสายพันธุ์เด่นพบได้บนใบทุกระยะการเจริญเติบโตของข้าว ส่วนเชื้อ

ราที่พบบนเมล็ดข้าวมีทั้งหมด 14 สปีชีย์ ได้แก่ *Alternaria padwickii, Bipolaris oryzae, Cercospora oryzae, Chaetomium globosum, Cladosporium elatum, C. oxysporum, C. tennuissimum, Curvularia lunata, Drechslera australiensis, Fusarium solani, F. semitectum, Nigrospora oryzae, N. sphaerica* และ *Pyricularia oryzae* ทุกสปีชีย์เป็นราสายพันธุ์เด่น

ผลการแยกเชื้อแบคทีเรียจากดินในนาข้าว พบแบคทีเรียทั้งหมด 18 ไอโซเลท โดยที่ 3 ไอโซเลท คือ BCMN001, BCMN009 และ BCMN011 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Cuvularia lunata* เท่ากับ 55.56, 44.44 และ 45.45 เปอร์เซ็นต์ และ *Pyricularia oryzae* เท่ากับ 50.00, 42.86 และ 36.36 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อจำแนกสปีชีย์โดยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ พบว่า เป็นเชื้อ *Burkkholderia cepacia, Burkkholderia gladioli* และ *Burkkholderia* sp. ตามลำดับ ผลการทดสอบการประเมินความรุนแรงของโรคใบจุดสีน้ำตาลของข้าวที่เกิดจาก เชื้อ *Curvularia lunata* เมื่อใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) โดยที่การใช้เชื้อ *Burkkholderia cepacia* มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเชื้อ *Curvularia lunata* ดีที่สุด ทำให้เกิดความรุนแรงของโรคน้อยที่สุด เท่ากับ 15.199 เปอร์เซ็นต์และให้ผลผลิตข้าวสูงที่สุด เท่ากับ 46.259 กรัม

คำสำคัญ: ความหลากหลาย, โรคข้าว, แบคทีเรียปฏิปักษ์

[1] คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อ.ทุ่งใหญ่ จ.นครศรีธรรมราช

[2] คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อ.ทุ่งสง จ.นครศรีธรรมราช

The Study Fungal Diversity in Rice Field and Selective Antagonistic Bacteria for Control Rice Disease

Pornsil Seephueak[1], Chaisit Preecha[2] and Wuttichai Seephueak[1]

Abstract

The objective of this research focused on and investigated the fungal diversity in rice field and selective antagonistic bacteria for control rice disease. The study was conducted from rice field cultivar RD41 (*Oryza sativa* L.) at Chamao, Pak Phanang District, Nakhon Si Thammarat province. Disease survey in the field and the fungal samples were isolated form soil, stem and leaves at each growth stage of rice plants via transplanting, maximum tiller number, panicle formation, flowering and maturity and grains were collected when harvested. Dilution plate, moist chamber and baiting were used to study the fungi. The results showed that brown leaf spot (*Curvularia lunata*) and blast of rice (*Pyricularia oryzae*) were the highest epidemic and virulent diseases were obtained 95 and 90 %, respectively.

A total of 39 fungal species were found in the rice field, including 24 genera. Thirty-one species were found on soil and stem, 22 species were found on leaves and 14 species were found on grains. Among these, 4 species, *Bipolaris oryzae*, *Curvularia lunata*, *Fusarium solani* and *Nigrospora oryzae* were the dominant species (≥ 10% occurrence) found in all substrates. The diversity of fungi that were found at each growth stage of rice showed that in the maximum of the tiller stages had the highest fungi diversity was obtained 36 species following flowering, panicle formation, maturity and the transplanting stage which were 35, 33, 32 and 30 species, respectively. Only one species, *Curvularia lunata* was a dominant among fungi found of all growth stages of rice.

Thirty-one species of fungi were found from soil in the rice field. Three species, *Curvularia lunata*, *Penicillium fumiculosum* and *Trichoderma harzianum* were the dominant species (≥ 10% occurrence) from soil at found all growth stages of the

rice. While, 31 fungi species found on stem. Only one species, C. *lunata* was the dominant species (≥10% occurrence) found from stem at all growth stages of rice. A total of fungi found on leaves were 22 species. Five species were dominant species found of leaves at all growth stages of rice were *Bipolaris oryzae, Cladosporium elatum, Curvularia lunata, Nigrospora oryzae* and *Pyricularia oryzae.* Finally, 14 species of fungi were found on rice grains and all of them were dominant species via *Alternaria padwickii, Bipolaris oryzae, Cercospora oryzae, Chaetomium globosum, Cladosporium elatum, C. oxysporum, C. tennuissimum, Curvularia lunata, Drechslera australiensis, Fusarium solani, F. semitectum, Nigrospora oryzae, N. sphaerica and Pyricularia oryzae*

A total of 18 isolates of bacteria were isolated form soil. Only 3 isolates, BCMN001, BCMN009 and BCMN011 were antagonistic bacteria. The effective to inhibit the mycelium growth of *Curvularia lunata* was 55.56, 44.44 and 45.45 %, respectively. While, the percentage of inhibition the mycelium of *Pyricularia oryzae* was 50.00, 42.86 and 36.36 %, respectively. The antagonistic bacteria were classified by nucleotide sequence comparison and shown as *Burkkholderia cepacia*, *Burkkholderia gladioli* and *Burkkholderia* sp.

The results of evaluation of severity of brown leaf spot of rice was significantly different ($P < 0.01$). The use of *Burkkholderia cepacia* for control *Curvularia lunata* shown the lowest disease severity obtained 15.199 % and gave the highest rice yield was obtained 46.259 grams/tree

Keywords: Diversity, Rice disease, Antagonistic Bacteria

[1]Faculty of Agriculture, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Thung Yai, Nakhon Si Thammarat , 80240.

[2]Faculty of Agriculture, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Thung Song, Nakhon Si Thammarat, 80110.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ซ
สารบัญภาพ	ฌ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	2
1.3 วัตถุประสงค์	14
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	15
บทที่ 2 วิธีการดำเนินการวิจัย	16
2.1 การสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคข้าว	16
2.2 การศึกษาความหลากหลายของเชื้อราบนดิน	19
2.3 การคัดเลือกเชื้อราปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคไหม้ของข้าวในห้องปฏิบัติการ	20
2.4 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ในการควบคุมการเกิดโรคของข้าวในโรงเรือน	21
2.5 การตรวจผลการทดลอง	22
บทที่ 3 ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล	24
3.1 การสำรวจโรคของข้าวในแปลงนาข้าว	24
3.2 ความหลากหลายของเชื้อราในดินแปลงนาข้าว	26
3.3 ความหลากหลายของเชื้อราบนต้นข้าว	31
3.4 ความหลากหลายของเชื้อราบนใบข้าว	35
3.5 ความหลากหลายของเชื้อราบนเมล็ดข้าว	46
3.6 การคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคของข้าวในห้องปฏิบัติการ	46

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.7 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียในการควบคุมการเกิดโรคของข้าวในโรงเรือน	49
3.8 คุณภาพของผลผลิตข้าว	51
บทที่ 4 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	55
เอกสารอ้างอิง	56
ภาคผนวก	64

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 :	การวินิจฉัยลักษณะอาการข้าวเป็นโรคด้วยตาเปล่า	17
ตารางที่ 3.1 :	โรคของข้าวที่พบในระยะต่างๆ ของการเจริญเติบโต	26
ตารางที่ 3.2 :	ความหลากหลายของเชื้อราในดินแปลงนาข้าว	29
ตารางที่ 3.3 :	ความหลากหลายของเชื้อราที่พบบนต้นข้าวในแปลงนาข้าว	33
ตารางที่ 3.4 :	ความหลากหลายของเชื้อราที่พบบนใบข้าว	37
ตารางที่ 3.5 :	ความหลากหลายของเชื้อราที่พบบนเมล็ดข้าว	40
ตารางที่ 3.6 :	ความหลากหลายของเชื้อราทั้งหมดที่พบในดินและส่วนต่างๆ ของข้าว	42
ตารางที่ 3.7 :	ชนิดเชื้อราที่เป็นสายพันธุ์เด่นและพบได้บ่อยในแต่ละระยะการเจริญเติบโตของข้าว	43
ตารางที่ 3.8 :	ดัชนีความหลากหลายของเชื้อราในดิน ลำต้น ใบ และเมล็ดข้าวที่แยกได้ในแต่ละระยะการเจริญเติบโตของข้าว	44
ตารางที่ 3.9 :	ความหลากหลายของเชื้อราที่แยกได้จากดิน ลำต้น ใบ และเมล็ดข้าวที่ระยะการเจริญเติบโตของข้าวแตกต่างกัน	44
ตารางที่ 3.10 :	ค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงของชนิดเชื้อราที่พบในบน ดิน ลำต้น ใบ และเมล็ดของข้าว (Sorensen's similarity)	45
ตารางที่ 3.11	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ *C. lunata* และ *P. oryzae* โดยเชื้อแบคทีเรีย	47
ตารางที่ 3.12	การประเมินความรุนแรงของโรคใบจุดสีน้ำตาลโดยเชื้อ *C. lunata* ของข้าวเมื่อใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรค	50
ตารางที่ 3.13	น้ำหนักรวมและคุณภาพของข้าวที่ได้จากการแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคใบจุดสีน้ำตาลที่เกิดจากเชื้อ *C. lunata* ในสภาพโรงเรือนทดลอง	52

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 2.1 :	แสดงทิศทางการเดินสำรวจโรคข้าว	16
ภาพที่ 3.1 :	ตัวอย่างโรคข้าวที่พบในระยะต่างๆ ของข้าว	45
ภาพที่ 3.2 :	ลักษณะสปอร์ของโรคใบจุดสีน้ำตาล (*C. lunata*) และไหม้ของข้าว (*P. oryzae*)	46
ภาพที่ 3.3 :	การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคใบจุดสีน้ำตาลของข้าวในห้องปฏิบัติการโดยวิธี dual culture	48
ภาพที่ 3.4 :	การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคไหม้ของข้าวในห้องปฏิบัติการโดยวิธี dual culture	48
ภาพที่ 3.5	ลักษณะรวงข้าวที่ผ่านการทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในระดับโรงเรือน	53
ภาพที่ 3.6	ลักษณะของเมล็ดข้าวที่ได้จากการทดสอบในโรงเรือน	53

ตารางภาคผนวก

หน้า

ตารางผนวกที่ 1 :	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน ความรุนแรงของการเกิดโรคใบไหม้ในต้นข้าวอายุ 47 วัน	70
ตารางผนวกที่ 2 :	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน ความรุนแรงของการเกิดโรคใบไหม้ในต้นข้าวอายุ 53 วัน	70
ตารางผนวกที่ 3 :	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน ความรุนแรงของการเกิดโรคใบไหม้ในต้นข้าวอายุ 67 วัน	70
ตารางผนวกที่ 4 :	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน ความรุนแรงของการเกิดโรคใบไหม้ในต้นข้าวอายุ 74 วัน	71
ตารางผนวกที่ 5 :	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน ความรุนแรงของการเกิดโรคใบไหม้ในต้นข้าวอายุ 88 วัน	71
ตารางผนวกที่ 6 :	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน ความรุนแรงของการเกิดโรคใบไหม้ในต้นข้าวอายุ 95 วัน	71
ตารางผนวกที่ 7 :	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน ความรุนแรงของการเกิดโรคใบไหม้ในต้นข้าวอายุ 109 วัน	72
ตารางผนวกที่ 8 :	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน ความรุนแรงของการเกิดโรคใบไหม้ในต้นข้าวอายุ 123 วัน	72
ตารางผนวกที่ 9 :	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน ความรุนแรงของการเกิดโรคใบไหม้ในต้นข้าวอายุ 130 วัน	72
ตารางผนวกที่ 10 :	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน น้ำหนักรวมของเมล็ด	73
ตารางผนวกที่ 11 :	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน น้ำหนักรวมของเมล็ดดี	73
ตารางผนวกที่ 12 :	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน น้ำหนักรวมของเมล็ดด่าง	73
ตารางผนวกที่ 13 :	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน น้ำหนักรวมของเมล็ดลีบ	73
ตารางผนวกที่ 14 :	ผลการจำแนกชนิดแบคทีเรีย (IDENTIFICATION'S REPORT)	74

ภาพภาคผนวก

หน้า

ภาพผนวกที่ 1 :	ตัวอย่างชนิดของเชื้อราที่พบบนใบ ลำต้น และเมล็ดข้าว	61
ภาพผนวกที่ 2 :	ลักษณะของโรคที่เกิดขึ้นบนใบ ลำต้น และเมล็ดข้าว	62
ภาพผนวกที่ 3 :	ลักษณะของโรงเรือนและข้าวที่ใช้ในการทดสอบโรค	63

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

ข้าว (*Oryza sativa* L.) เป็นพืชอาหารหลักที่สำคัญต่อการดำเนินชีวิตของคนไทย และเป็นแหล่งรายได้หลักของประเทศ ปี พ.ศ. 2561 พบว่าประเทศไทยผลิตข้าวเป็นอันดับ 6 ของโลก รองจากประเทศจีน อินเดีย อินโดนีเซีย บังคลาเทศ และเวียดนาม อย่างไรก็ตามมูลค่าการส่งออกข้าวอยู่เป็นอันดับสองรองจากประเทศอินเดีย มูลค่าส่งออก 11 ล้านบาท (กรมการค้าต่างประเทศ, 2561) เป็นที่ทราบกันดีว่าการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ ส่งผลกระทบโดยตรงต่อระบบการทำเกษตร ประเด็นสำคัญที่น่าสนใจคือ ภาวะโลกร้อนส่งผลให้พืชเกิดโรคอย่างรวดเร็วและมีความรุนแรงมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งข้าวซึ่งเป็นสินค้าส่งออกที่สำคัญของประเทศ เมื่อข้าวเป็นโรคจะส่งผลให้ผลผลิตลดลง (Thomas, 2010 ; Godelieve et al., 2012) HovmØller (2012) กล่าวว่า สภาวะที่อุณหภูมิโลกร้อนขึ้น ส่งผลดีต่อการเจริญเติบโตของเชื้อโรคที่ชอบอุณหภูมิสูง ส่งผลให้การเข้าทำลายพืชรุนแรงและอาจเพิ่มชนิดของโรคมากขึ้น อีกทั้งการหมุนเวียนของเชื้อโรคสามารถเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็ว ตามธรรมชาติเชื้อโรคพืชสามารถพัฒนาสายพันธุ์ของตัวมันเองเพื่อให้อยู่รอด เช่น การพัฒนาเพื่อต้านทานสารเคมีที่ใช้ป้องกันโรคพืช หรือการปรับตัวให้เข้ากับระบบการปลูกพืชที่เปลี่ยนแปลงไปได้

การศึกษาของสถาบันสิ่งแวดล้อมไทย รายงานว่าแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศในประเทศไทยจะทำให้ปริมาณน้ำลดลง (ประมาณ 5 - 10 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งจะมีผลต่อผลผลิตด้านการเกษตร โดยเฉพาะข้าวซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ ซึ่งต้องอาศัยปริมาณน้ำฝนและแสงแดดที่แน่นอนรวมถึงความชื้นของดินและอุณหภูมิเฉลี่ยที่เหมาะสมด้วย อย่างไรก็ตามสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปและรูปแบบการทำนาที่เปลี่ยนไป เช่น ระบบการทำนาแบบใช้น้ำน้อย การปลูกแบบอินทรีย์ อาจส่งผลดีต่อเชื้อสาเหตุโรคข้าวบางชนิดที่สามารถอาศัยและปรับตัวได้ดีในสภาพสิ่งแวดล้อมที่เปลี่ยนไป นอกจากนี้อาจก่อให้เกิดการระบาดของเชื้อโรคสายพันธุ์ใหม่ที่ไม่เคยมีมาก่อน

เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์หลายชนิดมีบทบาทในการควบคุมการเกิดโรค และมีกลไกหลากหลายที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของพืช เช่น ย่อยสลายธาตุอาหารพืชให้อยู่ในรูปแบบที่เป็นประโยชน์ พืชสามารถนำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโตของพืช ชักนำให้ต้นพืชมีความต้านทานต่อโรค สร้างสารที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช และปรับโครงสร้างของดิน (จิระเดช และวาริน , 2554) เป็นต้น ดังนั้นเพื่อให้ระบบการปลูกข้าวแบบประสบความสำเร็จ การศึกษาโรคของข้าวจึงเป็นสิ่งที่

จำเป็น การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคข้าวโดยชีววิธี มีวัตถุประสงค์เพื่อแก้ปัญหาโรคข้าวที่สำคัญ ปลอดภัยต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม อีกทั้งสามารถพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์เพื่อความสะดวกในการเก็บรักษาและการ นำไปใช้ประโยชน์ต่อไปในอนาคต

1.2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1.2.1 ความสำคัญของเศษวัสดุทางการเกษตร

ข้าว (*Oryza sativa* L.) เป็นธัญพืชที่มีความสำคัญที่สุดของไทยและเอเชีย สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2560) รายงานเนื้อที่ปลูกข้าวรวมทั้งประเทศเท่ากับ 69,102,020 ไร่ ผลผลิตรวม 32,943,643 ตันต่อปี แบ่งเป็นเนื้อที่เพาะปลูกข้าวนาปี 58,645,474 ไร่ ให้ผลผลิต 25,236,345 ตัน ในขณะที่การทำนาปรังมีเนื้อที่เพาะปลูกประมาณ 10,456,546 ไร่ ให้ผลผลิต 6,620,845 ตัน พื้นที่ภาคใต้มีเนื้อที่ปลูกข้าวรวม 757,468 ไร่ จังหวัดนครศรีธรรมราชมีพื้นที่ปลูกมากที่สุด เท่ากับ 220,920 ไร่ รองลงคือ จังหวัดสงขลา และจังหวัดพัทลุง การปลูกข้าวมักประสบกับปัญหาเรื่องโรคเข้าทำลาย โรคข้าวที่สำคัญมีดังนี้

1.2.1.1 โรคไหม้ (rice blast disease) สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Magnaporthe oryzae* (*Pyricularia oryzae*) เป็นโรคที่สำคัญที่สุดในระบบการผลิตข้าว

อาการ

ระยะกล้า ใบมีแผลจุดสีน้ำตาลคล้ายรูปตา มีสีเทาอยู่ตรงกลางแผล ความกว้างของแผลประมาณ 2-5 มิลลิเมตร และความยาวประมาณ 10-15 มิลลิเมตร แผลสามารถขยายลุกลามและกระจายทั่วบริเวณใบ ถ้าต้นข้าวโรครุนแรงจะแห้งฟุบตาย อาการคล้ายถูกไฟไหม้

ระยะแตกกอ อาการพบได้ที่ใบ ข้อต่อของใบ และข้อต่อของลำต้น ขนาดแผลจะใหญ่กว่าที่พบในระยะกล้า แผลลุกลามติดต่อกันบริเวณข้อต่อ ใบจะมีลักษณะแผลช้ำสีน้ำตาลดำ และมักหลุดจากกาบใบ

ระยะออกรวง (โรคเน่าคอรวง) ข้าวเพิ่งเริ่มให้รวง หากถูกเชื้อราเข้าทำลาย เมล็ดจะลีบ แต่ถ้าเชื้อโรคเข้าทำลายตอนรวงข้าวแก่ใกล้เก็บเกี่ยว จะปรากฏรอยแผลช้ำสีน้ำตาลที่บริเวณคอรวง ทำให้เปราะหักง่าย รวงข้าวร่วงหล่น

การแพร่ระบาด พบโรคในแปลงที่ต้นข้าวหนาแน่น ทำให้อับลม หากใส่ปุ๋ยมากและสภาพอากาศแห้งในตอนกลางวันและชื้นจัดในตอนกลางคืน มีน้ำค้างยาวนาน อากาศค่อนข้างเย็น อุณหภูมิประมาณ 22-25 องศาเซลเซียส และมีลมแรงจะช่วยให้โรคแพร่กระจายได้ดี

1.2.1.2 โรคใบจุดสีน้ำตาล (brown spot disease) สาเหตุเกิดจากเชื้อราหลายชนิด เช่น *Curvularia lunata*, *Bipolaris oryzae* (*Helminthosporium oryzae* Breda de Haan.)

อาการ

แผลที่ใบข้าวพบมากในระยะแตกกอมีลักษณะเป็นจุดสีน้ำตาล รูปกลมหรือรูปไข่ ขอบนอกสุดของแผลมีสีเหลือง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-1.0 มิลลิเมตร แผลที่มีการพัฒนาเต็มที่ขนาดประมาณ 1-2 x 4-10 มิลลิเมตร บางครั้งพบแผลไม่เป็นวงกลมหรือรูปไข่ แต่จะเป็นรอยเปื้อนคล้ายสนิมกระจัดกระจายทั่วไปบนใบข้าว แผลยังสามารถเกิดบนเมล็ดข้าวเปลือก (โรคเมล็ดด่าง) บางแผลมีขนาดเล็ก บางแผลอาจใหญ่คลุมเมล็ดข้าวเปลือก ทำให้เมล็ดข้าวเปลือกสกปรก เสื่อมคุณภาพ เมื่อนำไปสีข้าวสารจะหักง่าย

การแพร่ระบาด เกิดจากสปอร์ของเชื้อราปลิวไปตามลม และติดไปกับเมล็ด

1.2.1.3 โรคใบขีดสีน้ำตาล (narrow brown spot disease) สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Cercospora oryzae* I. Miyake

อาการ

แผลที่ใบมีสีน้ำตาลเป็นขีด ๆ ขนานไปกับเส้นใบข้าว มักพบในระยะข้าวแตกกอ แผลไม่กว้าง ตรงกลางเล็กและไม่มีรอยช้ำที่แผล ต่อมาแผลจะขยายมาติดกัน มีแผลจำนวนมากในใบล่างและปลายใบ ใบที่เป็นโรคจะแห้งตายจากปลายใบก่อน ต้นข้าวที่เป็นโรครุนแรงจะมีแผลสีน้ำตาลที่ข้อต่อใบได้เช่นกัน เชื้อนี้สามารถเข้าทำลายคอรวง ทำให้คอรวงเน่าและหักพับได้

การแพร่ระบาด สปอร์ของเชื้อราสามารถปลิวไปกับลม และติดไปกับเมล็ด

1.2.1.4 โรคใบวงสีน้ำตาล (leaf scald disease) สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Rhynocosporium oryzae* Hashioka&Yokogi

อาการ

ระยะกล้า ข้าวจะแสดงอาการไหม้ที่ปลายใบและมีสีน้ำตาลเข้ม ระยะแตกกอ อาการส่วนใหญ่เกิดบนใบ แต่มักจะเกิดแผลที่ปลายใบมากกว่าบริเวณอื่นๆ ของใบ แผลที่เกิดบนใบในระยะแรกมีลักษณะเป็นรอยช้ำ รูปไข่ยาวๆ แผลสีน้ำตาลปนเทา ขอบแผลสีน้ำตาลอ่อน จากนั้นแผลจะขยายใหญ่ขึ้นเป็นรูปวงรีติดต่อกัน ทำให้เกิดอาการใบไหม้บริเวณกว้าง และเปลี่ยนเป็นสีฟางข้าว ในที่สุดแผลจะมีลักษณะเป็นวงซ้อนๆ กันลุกลามเข้ามาที่โคนใบ มีผลทำให้ข้าวแห้งก่อนกำหนด

การแพร่ระบาด มีพืชอาศัย เช่น หญ้าชันกาด และหญ้าขน

1.2.1.5 โรคกาบใบแห้ง (sheath blight disease) สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* (*Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk)

อาการ

เริ่มพบโรคในระยะข้าวแตกกอจนถึงระยะใกล้เก็บเกี่ยว ต้นข้าวที่มีการแตกกอมากจะเกิดการเบียดเสียดกัน โรคจะเกิดอย่างรุนแรง ลักษณะแผลสีเขียวปนเทา ขนาด 1-4 x 2-10 มิลลิเมตร ปรากฏตามกาบใบบริเวณใกล้ระดับน้ำ แผลจะลุกลามขยายใหญ่ขึ้นจนมีขนาดไม่จำกัดและลุกลามขยายขึ้นถึงใบข้าว ถ้าเป็นพันธุ์ข้าวที่อ่อนแอ แผลสามารถลุกลามถึงใบธงและกาบหุ้มรวงข้าว ทำให้ใบและกาบใบเหี่ยวแห้ง ผลผลิตจะลดลงอย่างรวดเร็ว

การแพร่ระบาด

เชื้อราสามารถสร้างเม็ด sclerotium อยู่ได้นานในตอซังหรือวัชพืชในนาตามดินนาและมีชีวิตข้ามฤดูหมุนเวียนทำลายข้าวได้ตลอดฤดูการทำนา

1.2.1.6 โรคกาบใบแห้ง สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Sarocladium oryzae* Sawada

อาการ

ข้าวแสดงอาการในระยะตั้งท้องโดยเกิดแผลสีน้ำตาลดำบนกาบห่อรวง ขนาดแผล 2-7 x 4-18 มิลลิเมตร ตรงกลางแผลมีกลุ่มเส้นใยสีขาวอมชมพู แผลจะขยายติดต่อกันทำให้บริเวณกาบหุ้มรวงมีสีน้ำตาลดำและรวงข้าวส่วนใหญ่โผล่ไม่พ้นกาบหุ้มรวง หรือโผล่ได้บางส่วน ทำให้เมล็ดลีบและมีสีดำ

การแพร่ระบาด

เชื้อราติดอยู่บนเมล็ดได้นาน นอกจากนี้ พบว่า “ไรขาว” ซึ่งอาศัยดูดกินน้ำเลี้ยงต้นข้าวในบริเวณกาบใบด้านใน สามารถเป็นพาหะช่วยทำให้โรคแพร่ระบาดได้รุนแรง และกว้างขวางยิ่งขึ้น

1.2.1.7 โรคเมล็ดด่าง (dirty panicle disease) สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Curvularia lunata* (Wakk) Boed., *Cercospora oryzae* I.Miyake., *Helminthosporium oryzae* Breda de Haan., *Fusarium semitectum* Berk & Rav., *Trichoconis padwickii* Ganguly. และ *Sarocladium oryzae* Sawada.

อาการ

ในระยะออกรวงพบแผลเป็นจุดสีน้ำตาลหรือดำที่เมล็ดบนรวงข้าว บางส่วนก็มีลายสีน้ำตาลดำและบางกลุ่มมีสีเทาปนชมพู ทั้งนี้เพราะมีเชื้อราหลายชนิดที่สามารถเข้าทำลายและทำให้

เกิดอาการต่างกันไป การเข้าทำลายของเชื้อรามักจะเกิดในช่วงดอกข้าวเริ่มโผล่จากกาบหุ้มรวง จนถึงระยะเมล็ดข้าวเริ่มเป็นน้ำนม และอาการเมล็ดด่างจะปรากฏเด่นชัดในระยะใกล้เก็บเกี่ยว

การแพร่ระบาด

เชื้อราสามารถแพร่กระจายไปกับลม ติดไปกับเมล็ด และสามารถแพร่กระจายในยุ้งฉางได้

1.2.1.8 โรคถอดฝักดาบ (bakanae disease) สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Fusarium fujikuroi* Nirenberg (*Fusarium moniliforme* J. Sheld)

อาการ

ในระยะกล้า ต้นกล้าจะแห้งตายหลังจากปลูกได้ไม่เกิน 7 วัน แต่ส่วนใหญ่จะเกิดกับต้นข้าวที่อายุมากกว่า 15 วัน ระยะเริ่มแตกกอ ข้าวที่เป็นโรคจะต้นผอมสูงเด่นกว่ากล้าข้าวโดยทั่ว ๆ ไป ต้นข้าวผอมมีสีเขียวอ่อน ซีด มักย่างปล้อง บางกรณีข้าวจะไม่ย่างปล้อง รากเน่าช้ำเวลาถอนมักจะขาดตรงบริเวณโคนต้น ถ้าเป็นรุนแรงกล้าข้าวจะตาย หากไม่รุนแรงอาการจะแสดงหลังจากย้ายไปปักดำได้ 15-45 วัน โดยที่ต้นเป็นโรคจะสูงกว่าข้าวปกติ ใบมีสีเขียวซีด เกิดรากแขนงที่ข้อลำต้นตรงระดับน้ำ บางครั้งพบกลุ่มเส้นใยสีชมพูตรงบริเวณข้อที่ย่างปล้องขึ้นมา ต้นข้าวที่เป็นโรคมักจะตายและมีน้อยมากที่อยู่รอดจนถึงออกรวง

การแพร่ระบาด

เชื้อราจะติดไปกับเมล็ด สามารถมีชีวิตในซากต้นข้าวและในดินได้เป็นเวลาหลายเดือน พบว่า หญ้าชันกาด เป็นพืชอาศัยของโรค

1.2.1.9 โรคขอบใบแห้ง (bacterial leaf blight disease or bacterial blight disease) สาเหตุเกิดจาก เชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (ex Ishiyama) Swings et al.

อาการ

ข้าวเป็นโรคตั้งแต่ระยะกล้าแตกกอจนถึงออกรวง ต้นกล้าก่อนนำไปปักดำจะมีจุดเล็กๆ ลักษณะช้ำที่ขอบใบของใบล่าง ต่อมาประมาณ 7-10 วัน จุดช้ำนี้จะขยายกลายเป็นทางสีเหลืองยาวตามใบข้าว ใบที่เป็นโรคจะแห้งเร็ว และสีเขียวจะจางลงเป็นสีเทาๆ อาการในระยะปักดำจะแสดงหลังปักดำแล้วหนึ่งเดือนถึงเดือนครึ่ง ใบที่เป็นโรคขอบใบมีรอยขีดช้ำ ต่อมาจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ที่แผลมีหยดน้ำสีครีมคล้ายยางสนกลม ๆ ขนาดเล็กเท่าหัวเข็มหมุด ต่อมาจะกลายเป็นสีน้ำตาลและ

หลุดไปตามน้ำหรือฝน ซึ่งจะทำให้โรคสามารถระบาดต่อไปได้ แผลจะขยายไปตามความยาวของใบ บางครั้งขยายเข้าไปข้างในตามความกว้างของใบ ขอบแผลมีลักษณะเป็นขอบลายหยัก เมื่อนานไปจะเปลี่ยนเป็นสีเทา ใบที่เป็นโรค ขอบใบจะแห้งและม้วนตามความยาว ในกรณีที่ต้นข้าวมีความอ่อนแอต่อโรคและเชื้อโรคมีปริมาณมาก จะทำให้ท่อน้ำท่ออาหารอุดตัน ต้นข้าวจะเหี่ยวเฉาและแห้งตายทั้งต้นโดยรวดเร็ว เรียกอาการของโรคนี้ว่า ครีเสก (kresek)

การแพร่ระบาด

เชื้อสาเหตุโรคแพร่กระจายไปกับน้ำ ในสภาพแวดล้อมที่มีความชื้นสูง และสภาพที่มีฝนตก ลมพัดแรง จะช่วยให้โรคแพร่ระบาดอย่างรวดเร็ว

1.2.1.10 โรคใบขีดโปร่งแสง (bacterial leaf streak disease) สาเหตุเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* (Fang et al.) Swings et al.

อาการ

พบโรคตั้งแต่ระยะข้าวแตกกอจนถึงออกรวง อาการปรากฏที่ใบ เริ่มแรกเห็นเป็นขีดช้ำยาวไปตามเส้นใบ ต่อมาค่อยๆ เปลี่ยนเป็นสีเหลืองหรือส้ม เมื่อแผลขยายรวมกันก็จะเป็นแผลใหญ่ แสงสามารถทะลุผ่านได้ และพบแบคทีเรียในรูปหยดน้ำสีเหลืองคล้ายยางสนกลมๆ ขนาดเล็กเท่าหัวเข็มหมุดปรากฏอยู่บนแผล ความยาวของแผลขึ้นอยู่กับความต้านทานของพันธุ์ข้าว และความรุนแรงของเชื้อ ในพันธุ์ที่อ่อนแอต่อโรค แผลจะขยายจนใบไหม้ไปถึงกาบใบ ลักษณะของแผลจะคล้ายคลึงกับเกิดบนใบ ส่วนในพันธุ์ต้านทาน จำนวนแผลจะน้อยและแผลจะไม่ขยายตามความยาวของใบ รอบๆ แผลจะมีสีน้ำตาลดำ

การแพร่ระบาด

ข้าวที่เป็นโรค มักถูกหนอนกระทู้ หนอนม้วนใบ และแมลงดำหนามเข้าทำลายซ้ำเติม ในสภาพที่มีฝนตก ลมพัดแรง จะช่วยให้โรคแพร่ระบาดอย่างรวดเร็ว และถ้าสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม ใบข้าวที่แตกใหม่ อาจไม่แสดงอาการโรคเลย

1.2.1.11 โรคใบสีส้ม (rice tungro disease or yellow orange leaf disease) สาเหตุเกิดจากเชื้อไวรัส rice tungro bacilliform virus (RTBV) และ rice tungro spherical virus (RTSV)

อาการ

ต้นข้าวเป็นโรคได้ตั้งแต่ระยะกล้า แตกกอ และตั้งท้อง หากข้าวได้รับเชื้อในระยะกล้าถึงระยะแตกกอ ข้าวจะเสียหายมากกว่าได้รับเชื้อในระยะตั้งท้องถึงระยะออกรวง ข้าวแสดงอาการหลังจากได้รับเชื้อ 15-20 วัน อาการเริ่มแรกใบข้าวจะเริ่มมีสีเหลืองสลับเขียว ต่อมาจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง เริ่มจากปลายใบเข้าหาโคนใบ ถ้าเป็นรุนแรงในระยะกล้าต้นข้าวอาจถึงตาย ต้นที่เป็นโรคจะเตี้ย แคระแกรน ช่วงลำต้นสั้นกว่าปกติมาก ใบใหม่ที่โผล่ออกมามีตำแหน่งต่ำกว่าข้อต่อใบล่าสุด ถ้าเป็นรุนแรงอาจตายทั้งกอ ถ้าไม่ตายจะออกรวงล่าช้ากว่าปกติ ให้รวงเล็ก หรือไม่ออกรวงเลย

การแพร่ระบาด

เชื้อไวรัสสาเหตุโรคถ่ายทอดได้โดยแมลงพาหะ คือ เพลี้ยจักจั่นสีเขียว

1.2.1.12 โรคใบหงิก (โรคจู๋) (rice ragged stunt disease) สาเหตุเกิดจากเชื้อไวรัส rice ragged stunt virus (RRSV)

อาการ

ต้นข้าวเป็นโรคได้ ทั้ง ระยะกล้า แตกกอ ตั้งท้อง อาการของต้นข้าวที่เป็นโรค สังเกตได้ง่าย คือ ข้าวต้นเตี้ยกว่าปกติ ใบแคบและสั้นสีเขียวเข้ม แตกใบใหม่ช้ากว่าปกติ แผ่นใบไม่สมบูรณ์ ปลายใบบิดเป็นเกลียว ขอบใบแหว่งวิ่นและเส้นใบบวมโป่งเป็นแนวยาวทั้งที่ใบและกาบใบ ข้าวที่เป็นโรคออกรวงล่าช้าและให้รวงไม่สมบูรณ์ เมล็ดลีบ ผลผลิตลดลง 30 ถึง 70 เปอร์เซ็นต์ และข้าวพันธุ์อ่อนแอที่เป็นโรคในระยะกล้า ต้นข้าวอาจตายและไม่ได้ผลผลิตเลย

การแพร่ระบาด

เชื้อไวรัสสาเหตุโรคถ่ายทอดได้โดยแมลงพาหะ คือ เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และเชื้อไวรัสสามารถคงอยู่ในตอซัง และหญ้าบางชนิด

1.2.1.13 โรคหูด (gall dwarf disease) สาเหตุเกิดจากเชื้อไวรัส Rice Gall Dwarf Virus (RGDV)

อาการ

ต้นข้าวเป็นโรคได้ตั้งแต่ระยะกล้าจนถึงระยะตั้งท้อง อาการของโรคคล้ายกับโรคใบหงิก คือ ข้าวต้นเตี้ย แคระแกร็น ใบสีเขียวเข้มและสั้นกว่าปกติ นอกจากนี้ที่บริเวณหลังและกาบใบปรากฏปมขนาดเล็ก สีเขียวซีดหรือขาวใส ลักษณะคล้ายเม็ดหูด ซึ่งเป็นเส้นใบที่บวมปูดออกมา จะปรากฏเด่นชัด และมีจำนวนเม็ดหูดเพิ่มมากขึ้นเมื่อต้นข้าวแสดงอาการรุนแรง ต้นข้าวที่เป็นโรคจะแตกกอน้อย รวงข้าวไม่สมบูรณ์

การแพร่ระบาด

เชื้อไวรัสสาเหตุโรคถ่ายทอดได้โดยแมลงพาหะ คือเพลี้ยจักจั่นปีกลายหยัก และเพลี้ยจักจั่นสีเขียว

1.2.1.14 โรคเขียวเตี้ย (grassy stunt disease) สาเหตุเกิดจากเชื้อไวรัส rice grassy stunt virus (RGSV)

อาการ

ต้นข้าวเป็นโรคได้ตั้งแต่ระยะกล้า แตกกอ และตั้งท้อง ต้นข้าวเตี้ย แคระแกรน เป็นพุ่มแจ้ แตกกอมาก เชื้อสาเหตุสายพันธุ์เดิมทำให้เกิดอาการใบแคบสีเขียวเข้ม แต่ในปัจจุบัน เชื้อสาเหตุสายพันธุ์ใหม่ที่พบทำให้เกิดอาการใบแคบมีสีเหลือง เหลืองอมเขียวจนถึงเหลืองอ่อน ใบมีจุดประสีเหลืองอ่อนจนถึงน้ำตาลอ่อน บางครั้งพบแถบสีเขียวเหลืองระหว่างเส้นใบขนานไปกับเส้นกลางใบ ต้นข้าวที่เป็นโรคมักจะไม่ออกรวง หรือให้รวงไม่สมบูรณ์ บางครั้งอาจพบโรคนี้เกิดร่วมกับโรคใบหงิก

การแพร่ระบาด

เชื้อไวรัสสาเหตุโรคถ่ายทอดได้โดยแมลงพาหะ คือ เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

1.2.1.15 โรคใบสีแสด (orange leaf disease) สาเหตุเกิดจากเชื้อไฟโตพลาสมา

อาการ

ข้าวเป็นโรคได้ตั้งแต่ระยะแตกกอจนถึงระยะตั้งท้อง ต้นข้าวที่เป็นโรคใบแสดงอาการสีแสดจากปลายใบที่ใบล่างและเป็นสีแสดทั่วทั้งใบ ยกเว้นเส้นกลางใบ ใบที่เป็นโรคจะม้วนจากขอบใบทั้งสองข้างเข้ามาหาเส้นกลางใบ และใบจะแห้งตายในที่สุด ต้นข้าวสูงตามปกติ แต่แตกกอน้อย และตายอย่างรวดเร็ว โรคใบสีแสดเกิดเป็นกอๆ ไม่แพร่กระจายเป็นบริเวณกว้างเหมือนโรคใบสีส้ม

การแพร่ระบาด

เชื้อสาเหตุโรคถ่ายทอดได้โดยแมลงพาหะ คือ เพลี้ยจักจั่นปีกลายหยัก เชื้อสามารถอาศัยอยู่ตามวัชพืชและพืชอาศัยชนิดต่าง ๆ

1.2.1.16 โรคเหลืองเตี้ย (yellow dwarf disease) สาเหตุเกิดจากเชื้อไฟโตพลาสมา

อาการ

โรคนี้พบในระยะข้าวแตกกอถึงระยะออกรวง ใบที่ออกใหม่มีอาการเหลืองซีด ต้นเตี้ย แตกกอมากเป็นพุ่มแจ้ ต้นเป็นโรคอาจตายหรือไม่ออกรวง ถ้าต้นข้าวได้รับเชื้อใกล้ระยะออกรวงจะไม่แสดงอาการ แต่จะแสดงอาการในลูกข้าวที่งอกจากตอซัง

การแพร่ระบาด

เชื้อสาเหตุโรคถ่ายทอดได้โดยแมลงพาหะ คือ เพลี้ยจักจั่นสีเขียว

1.2.1.17 โรครากปม (root-knot disease) สาเหตุเกิดจากไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne graminicola*

อาการ

มักเกิดในสภาพไร่และแปลงกล้าซึ่งปล่อยให้น้ำแห้ง เมื่อไส้เดือนฝอยตัวอ่อนระยะที่ 2 ฝังหัวเข้าไปที่ปลายรากอ่อนแล้ว จะปล่อยสารออกมากระตุ้นให้เนื้อเยื่อบริเวณรอบๆ นั้นแบ่งตัวเร็วและมากกว่าปกติ นอกจากนี้เซลล์จะมีขนาดใหญ่เกิดขึ้น เนื่องจากไส้เดือนฝอยปล่อยน้ำย่อยไปย่อยผนังเซลล์หลายเซลล์ทำให้เกิดเซลล์ใหม่ขนาดใหญ่ขึ้นมา และไส้เดือนฝอยจะดูดกินน้ำเลี้ยงจากเซลล์นี้ ทำให้เกิดรากพองขึ้นเป็นปม เมื่อปลายรากเกิดปมขึ้นแล้วรากนั้นก็จะไม่เจริญต่อไป ถ้ามีปมน้อยอาการไม่ปรากฏที่ใบ ถ้ามีปมมากจะทำให้ต้นข้าวแคระแกร็นและใบมีสีเหลือง

การแพร่ระบาด

ไส้เดือนฝอยแพร่ระบาดได้ทั้งทางดิน น้ำ และเศษซากพืช พืชอาศัยของไส้เดือนฝอยได้แก่ วัชพืชจำพวกกก, พืชตระกูลหญ้า, วัชพืชใบกว้าง และวัชพืชน้ำ

1.2.1.18 โรคใบแถบแดง (red stripe disease) สาเหตุยังไม่มีความชัดเจน อาจเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Microbacterium* sp. หรือเชื้อรา *Gonatophragmium* sp.

อาการ

ลักษณะอาการที่สำคัญของโรคเริ่มแรกใบข้าวจะเป็นจุดสีเหลืองแผลเป็นรูปกลมหรือรูปไข่ จากนั้นจะขยายจากจุดที่เริ่มเป็นขึ้นเป็นแถบไปทางปลายใบ สีของแผลจะเข้มขึ้นเป็นสีเหลืองส้ม บางครั้งจุดนี้จะมีสีเข้ม แผลที่เกิดขึ้นเมื่อเป็นรุนแรงจะแห้งทั้งใบ

การแพร่ระบาด

สามารถถ่ายทอดได้โดยการสัมผัส ทางบาดแผล และช่องเปิดตามธรรมชาติ

1.2.1.19 โรคเมาตอซัง (akiochi) สาเหตุ ไม่มีเชื้อสาเหตุ เกิดจากความเป็นพิษของสภาพดินและน้ำ

อาการ

เริ่มพบอาการเมื่อข้าวอายุประมาณ 1 เดือน หรือ ระยะแตกกอ ต้นข้าวจะแสดงอาการคล้ายขาดธาตุไนโตรเจน ต้นแคระแกร็น ใบชีดเหลืองจากใบล่าง มีอาการโรคใบจุดสีน้ำตาล จะพบเมื่อการเน่าสลายของเศษซากพืชในนายังไม่สมบูรณ์ ทำให้เกิดสารพิษ เช่น สารซัลไฟด์ ไปทำลายรากข้าวทำให้เกิดอาการรากเน่าดำ รากไม่สามารถดูดธาตุอาหารจากดินได้ ต้นข้าวจึงแสดงอาการขาดธาตุอาหาร และจะสร้างรากใหม่ในระดับเหนือผิวดิน ปัญหานี้มักเกิดจากการที่เกษตรกรทำนาอย่างต่อเนื่อง และไม่มีการพักแปลงนา

การแพร่ระบาด

เนื่องจากเป็นโรคที่ไม่มีเชื้อสาเหตุ จึงไม่มีการระบาดติดต่อกัน

1.2.1.20 โรคกล้าเน่าในกระบะเพาะ (seedling rot disease in nursery box) สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Curvularia lunata* (Wakk.) Board., *Helminthosporium oryzae* Breda de haan

อาการ

เริ่มพบอาการได้ในระยะหลังจากการตกกล้าข้าวในกระบะเพาะ โดยจะเริ่มพบเมล็ดข้าวบางส่วนที่เพาะไม่งอกและมีเส้นใยของเชื้อราปกคลุม ส่วนเมล็ดที่งอกต้นกล้าจะมีการเจริญเติบโตช้ากว่าต้นกล้าข้าวปกติ และเมื่อถอนต้นกล้าข้าวขึ้นมาดูจะพบส่วนของราก และโคนต้นกล้ามีแผลสีน้ำตาล และแผลที่เกิดบนโคนต้นจะลุกลามขึ้นไปยังส่วนบนของต้นกล้า ต่อจากนั้นจะทำให้ต้นกล้าเน่าตาย ในขณะเดียวกันเชื้อราสาเหตุของโรคจะขยายจากจุดเริ่มต้นที่เป็นโรค ออกไปบริเวณโดยรอบไปยังต้นกล้าข้างเคียง โดยในกรณีที่มีการตกกล้าที่หนาแน่น เชื้อราสาเหตุของโรคสามารถแพร่กระจายไปยังส่วนอื่นๆของกระบะเพาะได้อย่างรวดเร็ว หลังจากนั้นพบอาการตายของต้นกล้าข้าวเป็นหย่อมๆ กรณีที่เป็นโรคในกระบะกล้ารุนแรง ทำให้ไม่สามารถนำต้นกล้าข้าวนั้นไปใช้ปักดำได้

การแพร่ระบาด

ติดไปกับเมล็ดพันธุ์ที่ได้จากแปลงที่เป็นโรคเมล็ดด่าง

1.2.1.21 โรคลำต้นเน่า (stem rot disease) สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Sclerotium oryzae* Catt.

อาการ

พบอาการได้ในระยะต้นข้าวก่อนออกรวงหรือหลังออกรวง โดยจะพบแผลเป็นจุดสีน้ำตาลดำใกล้ระดับน้ำและแผลจะขยายใหญ่ขึ้นและลงตามกาบใบของต้นข้าว และในขณะเดียวกันภายในลำต้นก็จะมีแผลมีลักษณะเป็นขีดสีน้ำตาล เมื่อต้นข้าวเป็นโรครุนแรง ใบล่างของต้นข้าวเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ส่วนของกาบใบและลำต้นจะเน่า ต้นข้าวล้มง่ายและเมื่อดึงต้นข้าวก็จะหลุดออกจากกอได้ง่าย ต้นข้าวจะตายก่อนออกรวง แต่ถ้ามีการระบาดของโรคไม่รุนแรงหรือโรคเกิดขึ้นในระยะต้นข้าวหลังออกรวงแล้ว จะมีผลทำให้ผลผลิตของข้าวลดลงได้ และเมื่อต้นข้าวเป็นโรคและแห้งตายก็จะพบเม็ดขยายพันธุ์ของเชื้อราสาเหตุของโรคมีสีดำฝังอยู่ในเนื้อเยื่อของกาบใบและตามปล้องของต้นข้าว เม็ด sclerotium ของเชื้อราสามารถตกค้างอยู่บนตอซังข้าวและในดินได้เป็นระยะเวลานาน

การแพร่ระบาด

เนื่องจากเชื้อราสาเหตุโรคสร้างเม็ด sclerotium ที่สามารถตกค้างอยู่ในตอซังข้าวและดิน ในขณะเดียวกันก็สามารถลอยอยู่บนผิวน้ำและแพร่กระจายไปกับน้ำในนาข้าวได้

1.2.2 การใช้เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมโรคพืช

วิธีการควบคุมโรคและศัตรูพืชในการผลิตข้าว โดยไม่ใช้สารเคมีเป็นเรื่องที่มีความสำคัญและจำเป็นต้องนำมาใช้ในการควบคุมโรคพืชในระบบเกษตร เพื่อลดปัญหาสารพิษตกค้างในผลผลิตและสิ่งแวดล้อม การควบคุมโรคพืชโดยวิธีชีวภาพหรือชีววิธี (biological control หรือ biocontrol) เป็นวิธีการนำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่พบในธรรมชาติมาใช้ควบคุมโรคพืช จากการศึกษาพบว่า เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในธรรมชาติหลายชนิด เช่น *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp., *Chaetomium* sp., *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp. และ *Candida* sp. เป็นต้น สามารถควบคุมโรคพืชได้อย่างกว้างขวาง เช่น โรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนและส้ม โรคแอนแทรคโนสของพริกและมะม่วง โรคเน่าระดับดิน โรคเหี่ยว และโคนเน่าของพืชผัก ตลอดจนโรคพืชหลังการเก็บเกี่ยวต่าง ๆ (จิระเดช, 2546) นอกจากนี้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ยังมีประสิทธิภาพในการเพิ่มแร่ธาตุ เพิ่มอาหารในดินให้ต้นพืช ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช และชักนำให้ต้นพืชเกิดความต้านทานต่อเชื้อโรคพืช (Hyakumachi, 1994; Shivanna et al., 1996; Harman, 2000) เชื้อจุลินทรีย์มีกลไกในการเข้าทำลายเชื้อสาเหตุโรคพืช ได้แก่ การเป็นเชื้อปรสิต การสร้างสารปฏิชีวนะ การสร้างเอนไซม์มาย่อยและทำลายผนังเซลล์ของเชื้อโรคพืช การแข่งขันปัจจัยในการดำรงชีวิต การสร้างสารที่ส่งเสริมการ

เจริญเติบโตของพืช และการชักนำให้ต้นพืชต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรค เป็นต้น (จิระเดช และคณะ, 2540; Ghisalberti and Sivasithamparam, 1991; Anju, 1994; Harman, 2000; Howell, 2003)

ในปัจจุบันหลายประเทศ รวมทั้งประเทศไทยได้นำเชื้อจุลินทรีย์ มาผลิตเป็นชีวภัณฑ์ทางการค้าเพื่อจำหน่ายเป็นการค้าแล้ว ซึ่งชีวภัณฑ์เหล่านี้ได้ผ่านการทดสอบว่ามีประสิทธิภาพใน การควบคุมโรคพืช อีกทั้งยังมีความปลอดภัยต่อสิ่งมีชีวิตและไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม

1.2.3 การใช้เชื้อราปฏิปักษ์ควบคุมโรคพืช

มีการนำเชื้อราปฏิปักษ์มาใช้ควบคุมโรคพืชอย่างกว้างขวาง เช่น การใช้เชื้อรา *Trichoderma* sp. เพื่อควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนและส้ม โรคโคนเน่าของ มะเขือเทศ โรคเน่าระดับดินของแตงกวาและถั่วฝักยาว โรคต้นไหม้ของหน่อไม้ฝรั่ง และโรคกาบใบแห้งของข้าว เป็นต้น (จิระเดช และคณะ, 2546; Intana, 2003) นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำละลายเชื้อ (spore suspension) ของเชื้อรา *Cladosporium herbarum* และ *Pullularia pullulans* สามารถควบคุมโรคผลเน่าของสตอเบอร์รี่ (Botrytis rot) ได้ (Bhatt and Vaughan, 1962) Fokkema and Lorbeer (1974) รายงานว่าเชื้อรา *Alternaria pullulans* และ *Sporobolomyces roseus* สามารถลดการติดเชื้อของใบหอมที่เกิดจากเชื้อ *A. porri* ได้ถึง 55 และ 45 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Hyakumachi (1994) รายงานว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. ที่แยกได้จากดินบริเวณรอบรากของ *Zoysia tenuifolia* ข้าวสาลี และข้าวโพด สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช เช่น *Agrostis stolunifer, Lelium rigidum* ข้าวสาลี มะเขือเทศ แตง และพืชตระกูล radish ได้ ทั้งในด้านความสูงของพืชและน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับ control ที่ไม่ใส่เชื้อรา *Trichoderma* sp. ในขณะที่ Shivanna et al. (1996) พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. และเชื้อราในกลุ่มของ sterile fungi ที่แยกได้จากดินบริเวณอิทธิพลรอบรากของ zoysiagrass สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของถั่วเหลืองได้

นอกจากนี้เชื้อราไมคอร์ไรซาเป็นจุลินทรีย์อีกชนิดที่อาศัยในรากของพืชโดยสร้างเส้นใยขยายแผ่ออกไปตามผนังของเซลล์รากโดย ใช้คาร์โบไฮเดรตจากต้นพืชเป็นอาหาร ในขณะเดียวกันเชื้อราไมคอร์ไรซาที่เจริญอยู่ภายนอกราก ซึ่งมีลักษณะเหมือนรากฝอยของพืช สามารถช่วยหาธาตุอาหารพืช โดยเฉพาะธาตุฟอสฟอรัสที่มีอยู่แล้วในดิน ให้เกิดเป็นฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืช ช่วยให้ต้นพืชแข็งแรงออกดอกติดผลมากขึ้น นอกจากนี้เชื้อราไมคอร์ไรซายังผลิตสารออกซิน (auxins) ซึ่งเป็นฮอร์โมนพืชที่ทำให้พืช เจริญเติบโตได้ (ชนวน, 2544)

1.2.4 การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ควบคุมโรคพืช

การใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์เป็นแนวทางหนึ่งที่กำลังได้รับความสนใจและนิยมปฏิบัติกันอย่างกว้างขวาง แบคทีเรียที่นิยมนำมาใช้ เช่น *Bacillus* spp. เพื่อการควบคุมโรคพืช เนื่องจากสามารถควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ด้วยกลไกต่างๆ เช่น การสร้างสารปฏิชีวนะ การกระตุ้นให้เกิดความต้านทานโรคในพืช สามารถเจริญเพิ่มปริมาณได้รวดเร็ว (จิระเดช, 2549) แบคทีเรียกลุ่มนี้เป็นกลุ่มที่มักพบได้ทั่วไปในสภาพธรรมชาติ รวมทั้งเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ *B. subtilis* ที่มีการนำมาประยุกต์กันอย่างกว้างขวาง พบว่ามักจะเจริญปะปนอยู่มากมายทั้งในดิน สามารถแยกเชื้อได้ง่าย รวมทั้งสามารถมีชีวิตรอดอยู่ได้ในธรรมชาติได้ดี

จากการศึกษาของวนิดา (2552) พบว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* spp. สาเหตุโรคใบจุดในผักสลัดที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์ ได้เป็นอย่างดี ในขณะที่ กันทิมา (2014) ศึกษาการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* และ *B. thuringiensis* เพื่อควบคุมโรคใบจุดแบคทีเรียในมะเขือเทศ (*Xanthomonas campestris*) ผลการศึกษาพบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ชนิด สามารถควบคุมโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ เช่นเดียวกับ Jung et al. (2014) รายงานว่า เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ที่แยกได้จากดิน สามารถควบคุมเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganegse* subsp. *michiganense* สาเหตุโรคเหี่ยวและโรคแคงเคอร์ของมะเขือเทศได้เช่นกัน นอกจากนี้ Song et al. (2014) ศึกษาการควบคุมโรครากเน่าของโสมโดยชีววิธี พบว่าสามารถใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. เพื่อควบคุมเชื้อรา *Fusarium* cf. *incarnatum* สาเหตุของโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ

Baharlouei et al. (2011) รายงานว่าเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* sp. สามารถนำมาใช้ควบคุมเชื้อรา *Sclerotinia sclerotiorum* สาเหตุโรคลำต้นเน่าของทานตะวันและถั่วเหลือง ได้เป็นอย่างดี ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Boukaew et al. (2011) รายงานว่าสามารถใช้แบคทีเรีย *Streptomyces* เพื่อควบคุมโรค sclerotium rot, stem rot และ Ralstonis wilt ของพริกได้

1.2.5 การป้องกันกำจัดโรคของข้าว

โดยทั่วไปโรคข้าวมักสร้างความเสียหายและส่งผลกระทบต่อผลผลิตข้าวอย่างรุนแรง และยากต่อการควบคุม (Thomas, 2010; Russo and Callegarin, 2012) โรคข้าวที่สำคัญของการปลูกข้าว ได้แก่ โรค rice blast (Piotti et al., 2005; Kreye et al., 2009; Ng et al., 2012; Mann and Rehman, 2012) bacterial leaf blight, brown leaf spot, stem rot, kernel smut และ false smut (Mann and Rehman, 2012) นอกจากนี้ยังพบโรคข้าวที่เกิดจากเชื้อ *Pythium*

sp., *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* และ ไส้เดือนฝอย *Meloidogyne graminicola* (Kreye et al., 2009)

โดยเชื้อรา *Pyricularia oryzae* (teleomorph: *Magnaporthe oryzae* B. Couch) เป็นโรคที่มีความสำคัญ พบระบาดและสร้างความเสียหายแก่การปลูกข้าวทั่วโลก (Ou, 1985) Prabhu et al. (2009) พบว่าโรคใบไหม้สร้างความเสียหายระดับ 100 เปอร์เซ็นต์ในการปลูกข้าวของประเทศบราซิล การป้องกันกำจัดโรคใบไหม้ของข้าว โดยการใช้สารเคมีเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพแต่อย่างไรก็ตามการใช้สารเคมีทำให้เกิดสารพิษตกค้างในผลผลิตและเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมได้ อีกทั้งเชื้อสาเหตุโรคสามารถต้านทานต่อสารเคมีได้อีกด้วย (Ng et al., 2011)

Penning de Vries et al. (1990) รายงานว่าเชื้อราและแบคทีเรียที่อาศัยบริเวณรากพืชจะมีส่วนช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่ม ข้าว ถั่ว พืชผัก และพืชไร่ได้ (Hyakumachi, 1994; Kloepper et al., 1999) Ng et al. (2012) ศึกษาเชื้อจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในปุ๋ยหมักที่ทำจากฟางข้าว พบว่าสามารถควบคุมโรคใบไหม้ของข้าวได้และทำให้ผลผลิตข้าวสูงขึ้น เมื่อใช้ควบคุมเชื้อโรค *P. oryzae* ที่เข้าทำลายในระยะแรก เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่พบ ได้แก่ *P. aeruginosa*, *B. amyloliquefaciens*, *C. agropyri*, *E. gergoviae*, *T. harzianum* และ *T. virens* นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. (Ryu et al., 2004), *Bacillus* sp. (Idriss et al., 2002), *Enterobacter* (Gupta et al., 1998), *Corynebacterium* (El-Banna and Winkelmann, 1998) และเชื้อรา *Trichoderma* (Pandya and Saraf, 2010) มีประสิทธิภาพในการช่วยส่งเสริมให้พืชแข็งแรง สามารถควบคุมโรคใบไหม้ของข้าวได้ทั้งระบบการปลูกข้าวแบบใช้น้ำ (irrigated rice) (Lucas et al., 2009) และระบบน้ำน้อย (aerobic rice) (Filippi et al., 2011)

1.3 วัตถุประสงค์

1. ทราบความหลากหลายของเชื้อราที่อาศัยอยู่บนต้นข้าว ในดิน ในแต่ละช่วงของการเจริญเติบโต
2. ทราบชนิดของโรคข้าวที่สำคัญที่พบในแต่ละระยะของการเจริญเติบโต
3. คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคข้าวโดยชีววิธี

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. การเผยแพร่ในวารสาร จดสิทธิบัตร ฯลฯ และหน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

2. นำเสนอผลงานวิชาการของหน่วยงานที่เกี่ยวข้องทั้งในระดับชาติและนานาชาติ

3. ใช้เป็นฐานความรู้ที่สำคัญในการใช้ประโยชน์และการจัดการทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมอย่างมีประสิทธิภาพ

หน่วยงานที่จะนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตนครศรีธรรมราช อ.ทุ่งใหญ่ จ.นครศรีธรรมราช

2. หน่วยงานราชการอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง เช่น กองโรคพืช กรมการข้าว และกรมวิชาการเกษตร

3. เกษตรกรที่มีอาชีพทำนาข้าว

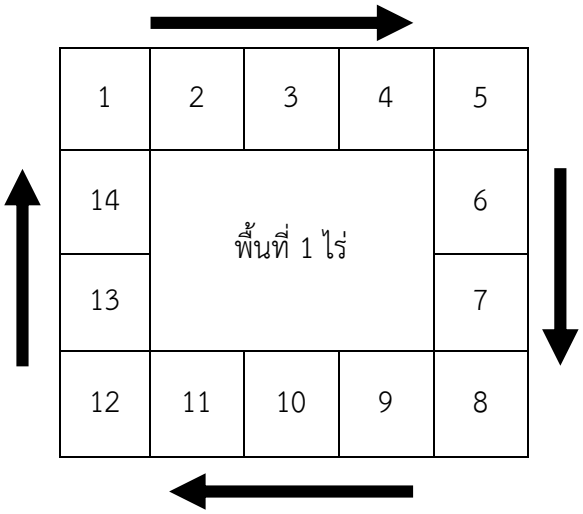
บทที่ 2
วิธีการดำเนินการวิจัย

2.1 การสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคข้าว

พื้นที่ศึกษาและเก็บตัวอย่างข้าวในแปลงนาข้าว นายสุชาติ เทียมดี เกษตรกร พื้นที่ตำบลชะเมา อ.ปากพนัง จ.นครศรีธรรมราช

2.1.1 วิธีการสำรวจโรคข้าว

ทำการโดยเดินรอบนอกของแปลงข้าวมองดูลักษณะอาการของโรคข้าวในเนื้อที่ 1 แปลงย่อยต่อ 1 จุดสำรวจ รวมทั้งสิ้น 14 แปลงย่อย (จุดสำรวจ) (ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตขอนแก่น, 2547) ดังรูปแสดง



ภาพที่ 2.1 แสดงทิศทางการเดินสำรวจโรคข้าว
ที่มา : ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตขอนแก่น (2547)

ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคเพื่อแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการทุก 20 วัน ตั้งแต่เริ่มปลูกจนถึงเก็บเกี่ยว เพื่อประเมินจำนวน และ/หรือความเสียหายระดับเศรษฐกิจ

หลักการตรวจวินิจฉัยต้นข้าวเป็นโรคด้วยตาเปล่า

ทำการวินิจฉัยต้นข้าวที่เป็นโรคในแปลงปลูกด้วยตาเปล่า ตามลักษณะอาการปรากฏซึ่งเกิดจากสาเหตุโรคดังนี้

ตารางที่ 2.1 การวินิจฉัยลักษณะอาการข้าวเป็นโรคด้วยตาเปล่า

สาเหตุ	ลักษณะอาการ
เชื้อรา	แผลแห้ง ไหม้ มีแผลเป็นจุด ขีด เห็นได้เด่นชัด
แบคทีเรีย	แผลแห้ง โดยเฉพาะที่ขอบใบ ใบมีแผลเป็นขีดลักษณะโปร่งแสง
ไวรัสและไฟโตพลาสมา	ซีด เหลือง สีส้ม แสดเขียวเข้ม ต้นเตี้ย และแคระแกรน
ไส้เดือนฝอย	ซีด เหลือง มีปมที่ราก
สิ่งไม่มีชีวิต	ซีด เหลืองเปื้อนคล้ายสนิม ใบห่อม้วนรากดำเมล็ดลีบสะอาด

ที่มา : ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตขอนแก่น (2547)

2.1.2 การเก็บตัวอย่างต้นข้าว

ทำการเก็บตัวอย่างข้าว ตั้งแต่เริ่มปลูกจนกระทั่ง 2 สัปดาห์ก่อนเก็บเกี่ยว ในพื้นที่ 1 ไร่ ทำการเก็บตัวอย่างจำนวน 7 แปลงย่อย (แปลง 1, 3, 5, 7, 9, 11 และ 13) แต่ละแปลงย่อยสุ่มเก็บตัวอย่างต้นข้าวจำนวน 4 ต้น รวม 28 ตัวอย่าง เก็บตัวอย่างใส่ในถุงพลาสติก เพื่อไปทำการแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ เก็บตัวอย่างเชื้อจากดินในแปลงปลูก ลำต้น และใบข้าว จำนวน 5 ครั้ง ตามระยะการเจริญเติบโตของข้าว ได้แก่ ระยะกล้า ระยะแตกกอ ระยะติดดอก ระยะออกรวง และระยะสุกแก่ สำหรับเมล็ดข้าวเก็บครั้งเดียวเมื่อเก็บเกี่ยว

2.1.2.1 การแยกเชื้อจุลินทรีย์จากต้นข้าว

ทำการการแยกเชื้อจุลินทรีย์จากต้นข้าว โดยแบ่งเป็น 3 ส่วน คือ ใบ ลำต้น และเมล็ด สำหรับส่วนของใบ และลำต้น สามารถแยกได้ตั้งแต่เริ่มปลูกจนกระทั่งเก็บเกี่ยว ส่วนเมล็ดข้าวให้แยกเชื้อจุลินทรีย์เมื่อเก็บเกี่ยวผลผลิต กระทำการแยกเชื้อ ดังนี้

1) วิธี dilution pour plate โดยการนำส่วนของใบ ลำต้น และเมล็ดข้าว จำนวน 10 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 90 มิลลิลิตร สับหรือปั่นด้วยเครื่องปั่น (blender) นาน 20-30 วินาที ดูดน้ำละลายเชื้อที่ได้ไปทำให้เจือจางที่ระดับความเข้มข้น 10^{-2} - 10^{-6} กระทำการทดลอง 4 ซ้ำ ดูดสารละลายที่ได้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อ แล้วเทอาหาร glucose ammonium nitrate agar (GANA) ที่ผสม streptomycin sulfate 400 ppm ขณะอุ่นๆ ตามลงไป หมุนแกว่งจานเลี้ยงเชื้อให้สารแขวนลอยกระจายผสมเข้ากันกับอาหาร (Manoch, 2008) นำไปบ่มในที่มืด ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 28-32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-5 วัน จะปรากฏโคโลนีของเชื้อรา ตรวจนับจำนวนโคโลนีที่ปรากฏในแต่ละความเข้มข้น เลือกเอาเฉพาะที่มีความเข้มข้นที่ทำให้มีจำนวนโคโลนีในแต่ละจานอยู่

ระหว่าง 20-30 โคโลนี ใช้เข็มเขี่ยย้ายเชื้อราทุกโคโลนีลงในอาหาร PDA slant โดยที่แต่ละ slant นับเป็น 1 ไอโซเลท เก็บเชื้อบริสุทธิ์เพื่อจำแนกชนิดต่อไป

2) วิธี moist chamber โดยการนำใบ ต้น และเมล็ดข้าว ที่เก็บมาในแต่ละครั้ง แปลงละ 4 ตัวอย่าง ตัดให้มีขนาด 1 x 4 เซนติเมตร ในจานเพาะเชื้อที่รองด้วยกระดาษกรอง เติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเพื่อให้ความชื้น วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง 28-32 องศาเซลเซียส ตรวจเชื้อหลัง 24 ชั่วโมง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบบ microscope เมื่อพบเชื้อราจึงใช้เข็มเขี่ยนำมาทำสไลด์กึ่งถาวรใน lactophenol ควบคู่ไปกับการทำ cellophane tape mount บันทึกภาพ สำหรับเชื้อราที่พบนำไปแยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยวิธีการ hyphal tip isolation เก็บเส้นใยเชื้อราใน PDA slant เพื่อจัดจำแนกต่อไป โดยอาศัยคีย์ของ Ellis (1971, 1976); Ellis and Ellis (1997); Kiffer and Morelet (2000); Ainsworth et al. (1973) หนังสือและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การวิเคราะห์ข้อมูลเชื้อราบนใบ ลำต้น และเมล็ด

1. บันทึกเปอร์เซ็นต์ความถี่ในการพบเชื้อราบนใบ ลำต้น และเมล็ด โดยคำนวณจากสูตร ความถี่ของเชื้อราที่พบ (%) =

$$\frac{\text{จำนวนเชื้อราแต่ละชนิดที่พบบนใบ/ลำต้น/เมล็ด ในแต่ละครั้ง}}{\text{จำนวนเชื้อราทั้งหมดที่พบบนใบ/ลำตัน/เมล็ด ในแต่ละครั้ง}} \times 100$$

2. ความหลากหลายของชนิด (species diversity) ของเชื้อราที่พบบนใบ ลำต้น และเมล็ดแต่ละชนิดในแต่ละครั้ง ศึกษาโดยใช้ค่า index of species diversity ของ Simpson หรือของ Shannon and Wiener (Somrithipol, 1997) ดังนี้

Simpson's index (D) $D = 1 - \sum_{i=1} [n_i/ (n_i - 1) / N/ (N - 1)]$

โดยที่ n_i คือ จำนวนไอโซเลทของราชนิดที่ i และ N คือจำนวนไอโซเลทของราทั้งหมด

Shannon and Wiener's index (H) $H = -\sum_{i=1}^{n} p_i \ln p_i$

โดยที่ p_i คือจำนวนไอโซเลทของราชนิดที่ I ต่อจำนวนไอโซเลทของราทั้งหมด

3. การเปรียบเทียบความคล้ายคลึงกันของชนิดราที่ปรากฏ ระหว่างสังคมราบนใบ ลำต้น และ เมล็ดรวมทั้งระหว่างสังคมราในแต่ละระยะของการการเจริญเติบโต โดยใช้ค่า Index of similarity ของ Jaccard (IS_j) ซึ่งหาความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนชนิดราที่พบในทั้งสองสังคมกับจำนวนชนิดราที่พบทั้งหมด หรือของ Sorensen (IS_s) ซึ่งหาความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนชนิดราที่พบในทั้งสอง สังคมกับจำนวนชนิดราที่พบทั้งหมดในสังคมแต่ละสังคมรวมกัน ดังนี้

$$IS_j = c/ (a + b + c) \times 100$$

โดยที่ a คือจำนวนชนิดของราที่พบเฉพาะในสังคม 1 เท่านั้น

b คือจำนวนชนิดของราที่พบเฉพาะในสังคม 2 เท่านั้น

c คือ จำนวนชนิดของราที่พบในทั้งสองสังคม

$$IS_s = 2C/ (A + B) \times 100$$

โดยที่ A คือ จำนวนราทุกชนิดที่พบในสังคมที่ 1

B คือ จำนวนราทุกชนิดที่พบในสังคมที่ 2

C คือ จำนวนชนิดของราที่พบในทั้งสองสังคม

ความแตกต่างระหว่างค่า IS_j และ IS_S นั้นขึ้นอยู่กับตัวหารที่มีแนวคิดต่างกัน กล่าวคือ Jaccard วัดอัตราส่วนชนิดพันธุ์ที่ปรากฏทั้งสองสังคม ต่อจำนวนชนิดพันธุ์ทั้งหมดที่ขึ้นในสองสังคม ส่วน Sorensen เป็นการวัดอัตราส่วนของค่าที่ปรากฏร่วมกันต่อค่าเฉลี่ยของทั้งสองสังคม ด้วยเหตุนี้ค่า IS_s จะมีค่ามากกว่า IS_s เมื่อคิดข้อมูลจากแหล่งเดียวกัน (Somrithipol, 1997)

2.2 การศึกษาความหลากหลายของเชื้อราในดิน

2.2.1 การเก็บตัวอย่างดิน

ทำการเก็บตัวอย่างดินในแปลงปลูกข้าว เช่นเดียวกับการเก็บตัวอย่างต้นข้าว ใน 1 ไร่ เก็บตัวอย่างดินใน 7 แปลงย่อย (แปลง 1, 3, 5, 7, 9, 11 และ 13) โดยการใช้พลั่วมือขุดลึกลงไปประมาณ 5-10 เซนติเมตร โดย 1 แปลง ขุดตัวอย่างดินจำนวน 5 จุด รวมเป็นถุงเดียวกันให้ได้น้ำหนักประมาณ 500 กรัม เก็บตัวอย่างแปลงละ 4 ตัวอย่าง รวมเก็บตัวอย่างดินครั้งละ 28 ตัวอย่าง

2.2.2 การแยกเชื้อราในดิน

2.2.2.1 การแยกเชื้อราในดินด้วยวิธี dilution pour plate

ชั่งดินน้ำหนัก 10 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 90 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที ทำการเจือจางให้มีความเข้มข้นระดับ 10^{-3} -10^{-5} ดูดสารแขวนลอยปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงในจานเลี้ยงเชื้อ แล้วเทอาหาร glucose ammonium nitrate agar (GANA) ที่ผสม streptomycin sulphate 500 mg/l ซึ่งอุ่นที่อุณหภูมิ

ประมาณ 55 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นละ 4 ซ้ำ บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-5 วัน จะปรากฏโคโลนีของเชื้อราและแบคทีเรียเจริญปะปนกัน ตรวจนับจำนวนโคโลนีที่ปรากฏในอาหารเลี้ยงเชื้อ ระหว่าง 20-30 โคโลนี ใช้เข็มเขี่ยย้ายทุกโคโลนีของเชื้อราลงในอาหาร PDA slant สำหรับโคโลนีของแบคทีเรียที่มีวงใสล้อมรอบวางบนอาหาร NA เพื่อเก็บเชื้อบริสุทธิ์และจำแนกต่อไป วิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความถี่ในการพบเชื้อราดินในแต่ละตัวอย่าง ดังนี้

$$\text{ความถี่ของเชื้อที่พบ (\%)} = \frac{\text{จำนวนจานเลี้ยงเชื้อที่พบเชื้อรา}}{\text{จำนวนจานเลี้ยงเชื้อทั้งหมดของแต่ละตัวอย่าง}} \times 100$$

2.3 การคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคของข้าวในห้องปฏิบัติการ

ทำการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากการทดลองที่ 2.2 เพื่อนำมาทดสอบความสามารถในการเป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์กับโรคที่สร้างความเสียหายกับข้าวมากที่สุด วิธีการทดสอบความสามารถในเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ กระทำดังนี้

2.3.1 การทดลอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค

ใช้วิธี dual culture ทำการเลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิห้อง 28-32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน ในขณะที่แบคทีเรียปฏิปักษ์เลี้ยงบนอาหาร NA slant อายุ 24 ชั่วโมง ทดสอบการเป็นเชื้อปฏิปักษ์โดย ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะวุ้นบริเวณปลายเส้นใยเชื้อราที่เจริญบนอาหารพีดีเอ วางบนอาหาร PDA อีกจาน โดยวางให้ห่างจากขอบจานเลี้ยงเชื้อ 2 เซนติเมตร หลังจากนั้น 3 วัน ทำการขีดเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในตำแหน่งตรงกันข้ามห่างจากขอบจานเพาะเชื้อ 2 เซนติเมตร ทำการศึกษาเปรียบเทียบกับการวางเชื้อพร้อมกัน และการขีดเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ก่อน 2 วันก่อนการวางเชื้อรา ผลการศึกษาแต่ละกรรมวิธีเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (control) และสารฆ่าเชื้อราคาร์เบนดาซิม (4 g/l) บันทึกผลโดยวัดขนาดของรัศมีโคโลนีเชื้อสาเหตุในชุดควบคุมและชุดทดสอบ นำข้อมูลไปคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (percent inhibition of radial growth: PIRG) ตามสูตร (Tronsmo, 1992) ดังนี้

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

เมื่อ R1 = เส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อในชุดควบคุม

R2 = เส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อที่เลี้ยงร่วมกับแบคทีเรียปฏิปักษ์

คัดเลือกเฉพาะแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีระดับเปอร์เซ็นต์ยับยั้งสูงสุดอย่างน้อย 3 สายพันธุ์ เพื่อนำไปใช้ทดสอบต่อไป

2.4 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมการเกิดโรคของข้าวในโรงเรือน

2.4.1 การเตรียมเชื้อราสาเหตุโรค แบคทีเรียปฏิปักษ์ และต้นข้าวทดสอบ (จิระเดช และวาริน, 2554)

2.4.1.1 การเตรียมเชื้อราสาเหตุโรคของข้าว

นำเชื้อราที่สร้างความเสียหายต่อการผลิตข้าวมากที่สุดเพียง 1 ชนิด มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7-10 วัน บนอาหารกระตุ้นสปอร์ (LCA) เติมน้ำนึ่งฆ่าเชื้อให้ท่วมเส้นใยของเชื้อราใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมขูดสปอร์ของเชื้อราโรคพืชให้ได้เป็นสปอร์แขวนลอย (spore suspension) ปรับความเข้มข้นของน้ำละลายเชื้อด้วย heamacytometer ให้ได้ $1x10^8$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร เก็บน้ำละลายเชื้อเพื่อใช้ทดลองต่อไป

2.4.1.2 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

การเตรียมสปอร์แขวนลอยของแบคทีเรียปฏิปักษ์โดยนำแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือกมาเลี้ยงในอาหาร NA เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อให้ท่วมผิวอาหารและใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมขูดเซลล์เบาๆ ให้หลุดเป็นเซลล์แขวนลอย ตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร และปรับความเข้มข้นของเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียจนมีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.2 เก็บเซลล์แขวนลอยเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

2.4.1.3 การเตรียมต้นข้าวทดสอบ

นำเมล็ดข้าวเล็บนกซึ่งเป็นข้าวสายพันธุ์ที่ต้องการทดสอบและอ่อนแอต่อโรค มาลอยในน้ำสะอาด คัดเลือกเฉพาะเมล็ดข้าวดีที่จมน้ำเพื่อใช้ทดลอง นำเมล็ดข้าวดังกล่าวห่อด้วยผ้าขาวบาง มัดเป็นถุงผ้าให้แน่นปานกลาง นำไปแช่ในน้ำสะอาดเป็นเวลานาน 18 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาแช่ต่อในน้ำละลายเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เตรียมไว้ ในข้อ 2.4.1.2 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำเมล็ดข้าวไปปลูกในกระถางปลูกข้าวที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 นิ้ว ซึ่งบรรจุดินผสม (ดินร่วน : ดินเหนียว : ปุ๋ยคอก อัตรา 3:1:1 โดยปริมาตร) จำนวน 5 เมล็ดต่อกระถาง วางกระถางปลูกข้าวไว้ในโรงเรือนทดลอง เป็นเวลา 14 วัน หลังจากนั้นให้ถอนต้นกล้าข้าวให้เหลือจำนวน 3 ต้นต่อกระถาง บันทึกการเจริญเติบโต

2.4.2 การทดสอบการควบคุมโรค

เมื่อต้นข้าวที่ปลูกไว้อายุครบ 1 เดือน ให้ทำการพ่นน้ำละลายเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ในอัตรา 20 มิลลิลิตรต่อกระถาง หลังจากนั้น 24 ชั่วโมง ฉีดพ่นด้วยสารละลายเชื้อรา *C. lunata* ซึ่งมีความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 มิลลิลิตรต่อกระถาง บันทึกลักษณะอาการของโรคหลังจากปลูกเชื้อ 15 วัน และ 21 วัน เมื่อต้นข้าวที่ปลูกมีอายุครบ 2 เดือน ทำการพ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์อีกครั้งในปริมาตร 50 มิลลิลิตรต่อกระถาง กระทำการทดลองกรรมวิธีละ 3 ซ้ำ (กระถาง) ซ้ำละ 4 ต้น สังเกตลักษณะอาการเกิดโรคบนใบและต้นข้าว บันทึกการเกิดโรคทุกสัปดาห์หลังฉีดพ่นเชื้อโรคข้าว เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ และกรรมวิธีที่ใช้สารเคมี คำนวณประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคของข้าว โดยดัดแปลงจาก จิระเดช และ วาริน (2554) ดังนี้

ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรค = [(LC - LT)/LC] x 100%

เมื่อ LC คือ ค่าเฉลี่ยของจำนวนแผลโรคใบจุด/ไหม้ ที่ตรวจพบในกรรมวิธีควบคุม และ การประเมินความรุนแรงของโรค

LT คือ ค่าเฉลี่ยของจำนวนแผลโรคใบจุด/ไหม้ ที่ตรวจพบในกรรมวิธีทดสอบ จากเชื้อสาเหตุ โดยใช้เกณฑ์ ดังนี้ (ดัดแปลงจาก Kiran et al., 2013)

ระดับ	อาการที่แสดง
1	ไม่มีแผล หรือ 0.1- 10 มิลลิเมตร หรือเกิดแผลน้อยกว่าร้อยละ 1 ของพื้นที่ใบ
2	มีแผลจุด/แผลไหม้ร้อยละ 1-5 ของพื้นที่ใบ
3	มีแผลจุด/แผลไหม้ร้อยละ 6-10 ของพื้นที่ใบ
4	มีแผลจุด/แผลไหม้ร้อยละ 11-20 ของพื้นที่ใบ
5	มีแผลจุด/แผลไหม้ร้อยละ 21-30 ของพื้นที่ใบ
6	มีแผลจุด/แผลไหม้ร้อยละ31-40 ของพื้นที่ใบ
7	มีแผลจุด/แผลไหม้ร้อยละ 41-50 ของพื้นที่ใบ
8	มีแผลจุด/แผลไหม้ร้อยละ 51-75 ของพื้นที่ใบ ใบส่วนใหญ่ตาย
9	มีแผลจุด/แผลไหม้มากกว่าร้อยละ75 ของพื้นที่ใบ ใบตายทั้งใบ

2.5 การตรวจผลการทดลอง

2.5.1 การเก็บเกี่ยวผลผลิต

หลังจากทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคข้าว เมื่อต้นข้าวที่ใช้ทดสอบมีอายุครบกำหนด 110 วัน ให้ทำการเก็บเกี่ยว นำรวงข้าวไปตากแดดให้แห้ง

สนิท จากนั้นแยกเมล็ดข้าวเปลือกในแต่ละกรรมวิธีออกจากรวง นำไปชั่งน้ำหนัก บันทึกคุณภาพของเมล็ดข้าว โดยการแยกเป็นจำนวนเมล็ดข้าวดี จำนวนเมล็ดข้าวลีบ และจำนวนเมล็ดข้าวด่าง เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ใส่แบคทีเรียปฏิปักษ์ และกรรมวิธีที่ใช้สารเคมี

2.5.2 การตรวจสอบความเสียหายของเมล็ดข้าวเปลือก

ทำการสุ่มเมล็ดข้าวครั้งละ 100 เมล็ด จำนวน 4 ครั้ง เพื่อตรวจนับจำนวนเมล็ดข้าวที่มีอาการผิดปกติจากลักษณะภายนอก ได้แก่อาการเมล็ดด่าง คือ เมล็ดข้าวที่เป็นจุดสีน้ำตาลหรือสีดำ และอาการเมล็ดลีบ คือ เมล็ดฝ่อ ไม่มีเนื้อเมล็ดอยู่ด้านใน คำนวณเปอร์เซ็นต์ความผิดปกติของเมล็ด

2.5.3 การวิเคราะห์ทางสถิติและสรุปผลการทดลอง

นำข้อมูลผลการทดลองในแต่และการทดลองมาวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อหาความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan’s Multiple Rang Test (DMRT) และนำค่าที่ได้ไปสรุปผลการทดลอง

บทที่ 3
ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

3.1 การสำรวจโรคของข้าวในแปลงนาข้าว

จากการสำรวจโรคและเก็บตัวอย่างของข้าวจากแปลงนาข้าว ของเกษตรกร นายสุชาติ เทียมดี ม.7 ต.ชะเมา อ.ปากพนัง จ.นครศรีธรรมราช ซึ่งปลูกข้าวพันธุ์ กข.41 พบโรคของข้าวในแปลงนาทั้งหมด 7 โรค ได้แก่ ไหม้ของข้าว (*Pyricularia oryzae*) ใบจุดสีน้ำตาล (*Curvularia lunata*) โรคขอบใบแห้ง (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) โรคกาบใบแห้ง (*Rhizoctonia solani*) โรคลำต้นขีด (*Cercospora oryzae*) โรคใบขีดสีน้ำตาล (*Cercospora oryzae*) และ โรคเมล็ดด่าง (*Curvularia lunata*)

ในระยะต้นกล้าพบโรคใบจุดสีน้ำตาลสูงสุด ซึ่งเกิดจากเชื้อ *C. lunata* คิดเป็น 75 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ โรคไหม้ของข้าว (*P. oryzae*), โรคขอบใบแห้ง (*Xa.* pv. *oryzae*) และ กาบใบแห้ง (*R. solani*) คิดเป็น 50, 31.50 และ 13 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ระยะข้าวแตกกอ พบว่า ข้าวเกิดโรคไหม้และ โรคใบจุดสีน้ำตาลสูงสุด พบการเกิดโรค 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือโรคขอบใบแห้ง ลำต้นขีด กาบใบแห้ง และ ใบขีดสีน้ำตาม การเกิดโรคเท่ากับ 75, 37.50 25 และ 12.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ในระยะติดดอกพบโรคไหม้ (*P. oryzae*) และโรคใบจุดสีน้ำตาล (*C. lunata*) การเกิดโรคเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ โรคขอบใบแห้ง (*Xa.* pv. *oryzae*) การเกิดโรค 31.25 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่โรคกาบใบแห้ง (*R. solani*) และโรคใบขีดสีน้ำตาล พบการเกิดโรคน้อยสุด เท่ากับ 12.5 เปอร์เซ็นต์

ในระยะออกรวงโรคที่พบมากที่สุด คือ โรคไหม้ และโรคใบจุดสีน้ำตาล เช่นเดียวกับระยะแตกกอ และระยะสร้างรวง พบการเกิดโรค 100 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่โรคขอบใบแห้ง (*Xa*. pv. *oryzae*) เกิดโรค 43.75 เปอร์เซ็นต์ ส่วนโรคกาบใบแห้ง (*R. solani*) เกิดโรค 25 เปอร์เซ็นต์ และ โรคใบขีดสีน้ำตาล และโรคลำต้นขีด (*C. oryzae*) มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคน้อยสุด คิดเป็น 12.5 เปอร์เซ็นต์

ในระยะสุกแก่ การเกิดโรคเช่นเดียวกับในระยะที่ผ่านมา โรคไหม้ (*P. oryzae*) และโรคใบจุดสีน้ำตาล (*C. lunata*) เกิดโรคสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ โรคเมล็ดด่าง (*C. lunata*) คิดเป็น 62.5 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่โรคขอบใบแห้ง (*Xa.* pv. *oryzae*), โรคกาบใบแห้ง (*R. solani*), โรคลำต้นขีด (*C. oryzae*) และโรคใบขีดสีน้ำตาล (*C. lunata*) พบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 12.5 เปอร์เซ็นต์

จากผลการสำรวจโรคในแปลงนาข้าวเกษตรกร ทำให้ทราบว่า การเกิดโรคของข้าวสร้างความเสียหายตลอดระยะการเจริญเติบโต โดยเฉพาะ โรคใบจุดสีน้ำตาล โรคไหม้ของข้าว โรคขอบใบแห้ง และโรคใบขีดสีน้ำตาล การเกิดโรคเฉลี่ยตลอดฤดูปลูกเท่ากับ 95, 90, 43.8 และ 18 เปอร์เซ็นต์.ทั้งนี้โรคที่พบถือได้ว่าเป็นโรคที่มีความสำคัญและระบาดหนักในแหล่งปลูกข้าวที่สำคัญทั่วโลก ซึ่งโรคเหล่านี้มีรายงานว่า ก่อให้เกิดการสูญเสียของผลผลิตได้ถึง 40 เปอร์เซ็นต์ โดยที่ Ou (1985) รายงานว่า ชาวนาต้องสูญเสียผลผลิตจากสาเหตุโรคไหม้ของข้าว โรคขอบใบแห้ง โรคใบจุดสีน้ำตาล และโรคกาบใบแห้ง ทำให้ผลผลิตข้าวลดลงตั้งแต่ 0.4-100 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกันกับ นลินี (2535) ได้ศึกษาการแพร่ระบาดของโรคข้าวที่สำคัญในภาคใต้พบโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง โรคใบจุดสีน้ำตาล โรคใบวงสีน้ำตาล และโรคใบขีดสีน้ำตาล เกิดการระบาดอย่างรุนแรง วิชิต และคณะ (2552) รายงานว่าพบการระบาดของโรคไหม้เกิดเป็นบริเวณกว้างกว่า 10,000 ไร่ ในพื้นที่ประสบภัยจากโรคไหม้ ในอำเภอภูเขียว จังหวัดชัยภูมิ นอกจากนี้การศึกษาของสุวพงษ์ (2542) รายงานว่าพบโรคของข้าว ได้แก่ โรคไหม้ (rice blast) โรคใบจุดสีน้ำตาล (brown leaf spot) โรคใบขีดสีน้ำตาล (narrow brown leaf spot) โรคถอดฝักดาบ (bakanae disease) โรคกาบใบแห้ง (sheath blight) โรคกาบใบเน่า (sheath rot) และโรคดอกกระถิน (false smut) ในขณะที่การศึกษาของ กัทลีวัลย์ (2557) ได้ออกสำรวจเก็บตัวอย่างโรคข้าวในแปลงเกษตรกรใน 3 อำเภอ ของจังหวัดลำปาง ได้แก่ อำเภอเมือง อำเภอห้างฉัตร และอำเภอแม่เมาะ การเก็บตัวอย่างดำเนินการ 2 ช่วงคือ ช่วงแรกเป็นข้าวนาปรังออกสำรวจ 11 มี.ค. – 2 เม.ย. 2557 ไม่พบโรคไหม้ข้าว แต่โรคที่พบส่วนใหญ่เป็นโรคใบจุดสีน้ำตาลที่เกิดจากเชื้อรา *Biploaris oryzae* จะเห็นได้ว่าการเกิดโรคและระดับความเสียหายของข้าวที่เกิดจากโรคพืช มีความแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ได้แก่ สภาพภูมิอากาศ ภูมิประเทศ สายพันธุ์ และการจัดการในแปลงปลูก อย่างไรก็ตาม ในงานทดลองครั้งนี้พบว่าโรคใบจุดสีน้ำตาล (*C. lunata*) และ โรคไหม้ของข้าว เกิดการระบาดและสร้างความเสียหายมากที่สุดในทุกระยะของการเจริญเติบโต

ตารางที่ 3.1 โรคของข้าวที่พบในระยะต่างๆ ของการเจริญเติบโต

โรคของข้าว	การเกิดโรค (%)				
	ระยะต้นกล้า	ระยะแตกกอ	ระยะติดดอก	ระยะออกรวง	ระยะสุกแก่
1. โรคไหม้ *(P. oryzae)*	50.00	100.00	100.00	100.00	100.00
2. โรคใบจุดสีน้ำตาล *(C. lunata)*	75.00	100.00	100.00	100.00	100.00
3. โรคขอบใบแห้ง (*Xa.* pv. *oryzae*)	31.50	75.00	31.25	43.75	37.50
4. โรคกาบใบแห้ง (*R. solani)*	13.00	25.00	12.50	25.00	12.50
5. โรคลำต้นขีด (*C. oryzae*)	-	37.50	-	12.50	12.50
6. โรคใบขีดสีน้ำตาล (*C. oryzae*)	-	12.50	12.50	12.50	12.50
7. โรคเมล็ดด่าง (*C. lunata*)	-	-	-	-	62.50

3.2 ความหลากหลายของเชื้อราในดินแปลงนาข้าว

การศึกษาความหลากหลายของเชื้อราที่พบในดินจากแปลงนาข้าวตลอดระยะการเจริญเติบโต พบทั้งหมด 31 สปีชีย์ (ตารางที่ 3.2) โดยในระยะต้นกล้า (อายุ 7-21 วัน) พบเชื้อราในดินทั้งหมด 16 ชนิด แยกโดยวิธีการ dilution pour plate จำนวน 9 ชนิด และวิธี baiting จำนวน 11 ชนิด สายพันธุ์เชื้อราที่พบ ได้แก่ *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus, A. niger, Bipolaris oryzae, Curvularia lunata, Cladosporium cladosporioides*, *Fusarium solani, Gongronella butleri, Nigrospora oryzae, Penicillium* sp., *P. digitatum*, *P. fumiculosum, P. janthinellum, Rhizoctonia solani, Rhizopus stolonifer* และ *Trichoderma harzianum*

ต้นข้าวระยะแตกกอ (อายุ 22-42 วัน) พบเชื้อราในดินทั้งหมด 22 ชนิด แยกโดยวิธีการ dilution pour plate 14 ชนิด และวิธี baiting จำนวน 16 ชนิด เชื้อราที่พบได้แก่ *Aspergillus flavus, A. fumigatus, A. niger, Bipolaris oryzae, Cercospora oryzae, Cladosporium cladosporioides*, *Curvularia. lunata, Fusarium solani, Gongronella butleri, Nigrospora oryzae*, *Penicillium* sp., *P. digitatum, P. fumiculosum, P. janthinellum, P. oxalicum, P. rubrum, Rhizoctonia solani, Rhizopus stolonifer, Rhynocosporium oryzae, Stachybotrys dichroa*, *Trichoderma harzianum* และ *Veronaea apiculata*

ต้นข้าวระยะติดดอก (อายุ 43-63 วัน) พบเชื้อราในดินทั้งหมด 24 ชนิด แยกโดยวิธีการ dilution pour plate จำนวน 14 ชนิด และวิธี baiting จำนวน 17 ชนิด เชื้อราที่พบได้แก่ *Alternaria alternata*, *A. padwickii*, *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger, Bipolaris oryzae, Chaetomium globosum*, *Cladosporium elatum, C. tennuissimum, Colletotrichum graminicola, Curvularia lunata, Fusarium solani, F. semitectum, Gongronella butleri, Nigrospora oryzae, N. sphaerica, Penicillium* sp., *P. fumiculosum, P. janthinellum, P. oxalicum, P. rubrum, Rhizopus stolonifer, Stachybotrys dichroa* และ *Trichoderma harzianum*

ต้นข้าวระยะออกรวง (อายุ 64-84 วัน) พบเชื้อราในดินทั้งหมด 27 ชนิด แยกโดยวิธีการ dilution pour plate จำนวน 19 ชนิด และวิธี baiting จำนวน 19 ชนิด เชื้อราที่พบได้แก่ *Alternaria alternata A. padwickii, Aspergillus flavus, A. fumigatus, A. niger, Bipolaris oryzae, Chaetomium globosum, Cladosporium cladosporioides, C. elatum, C. oxysporum, C. tennuissimum, C. graminicola, Curvularia lunata, Fusarium solani, F. semitectum, Gongronella butleri, Nigrospora oryzae, Penicillium* sp., *P. fumiculosum, P. janthinellum, P. oxalicum, P. rubrum, Rhizoctonia solani, Rhizopus stolonifer, Stachybotrys dichroa, Trichoderma harzianum* และ *Veronaea apiculata*

ต้นข้าวระยะสุกแก่ (อายุ 85-105 วัน) พบเชื้อราในดินทั้งหมด 22 ชนิด แยกโดยวิธีการ dilution plate 14 ชนิดและวิธี baiting จำนวน 16 ชนิด เชื้อราที่พบได้แก่ *Aspergillus flavus, A. fumigatus, A. niger, Bipolaris oryzae, Cercospora oryzae, Cladosporium cladosporioides, C. elatum, C. tennuissimum, C. graminicola, Curvularia lunata, Fusarium solani, F. semitectum, Gongronella butleri, Nigrospora oryzae, Penicillium digitatum, P. fumiculosum, P. janthinellum, P. oxalicum, P. rubrum, Rhizoctonia solani, Rhynocosporium oryzae* และ *Trichoderma harzianum*

อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาความหลากหลายของเชื้อราในดินแปลงนาข้าว พบเชื้อรา 11 ชนิด ซึ่งสายพันธุ์เชื้อราที่พบได้บ่อยในทุกระยะการเจริญเติบโตของข้าวบนดินในแปลงนาข้าว ได้แก่ *Aspergillus flavus, A. fumigatus, A. niger, Bipolaris oryzae, Curvularia lunata, Fusarium solani, Gongronella butleri, Nigrospora oryzae, Penicillium fumiculosum, P. janthinellum* และ *Trichoderma harzianum* โดยที่เชื้อ *C. lunata*, *P. fumiculosum* และ *T.*

harzianum เป็นสายพันธุ์เด่น (dominant species) และพบได้ในดินทุกระยะการเจริญเติบโตของข้าว

ตารางที่ 3.2 ความหลากหลายของเชื้อราในดินในแปลงนาข้าว

ชนิดของเชื้อรา	เปอร์เซ็นต์ที่พบ				
	ระยะต้นกล้า (อายุ 7-21 วัน)	ระยะแตกกอ (อายุ 22-42 วัน)	ระยะติดดอก (อายุ 43-63 วัน)	ระยะออกรวง (อายุ 64-84 วัน)	ระยะสุกแก่ (อายุ 85-105 วัน)
Alternaria alternata[1/*]	-	-	8.33	7.41	-
A. padwickii[1/*]	-	-	12.50	7.41	-
Aspergillus flavus[1/*]	6.25	13.64	16.67	7.41	9.09
A. fumigatus[1/]	18.75	22.73	4.17	3.70	9.09
A. niger[1/]	18.75	9.09	12.50	7.41	4.54
Bipolaris oryzae[*]	25	18.18	12.50	7.41	4.54
Cercospora oryzae[*]	-	18.18	-	-	4.54
Chaetomium globosum[1/*]	-	-	4.17	7.41	-
Cladosporium cladosporioides[1/*]	12.50	22.73	-	7.41	9.09
C. elatum[*]	-	-	4.17	7.41	9.09
*C. oxysporum**	-	-	-	7.41	-
C. tennuissimum[*]	-	-	4.17	3.70	9.09
Colletotrichum graminicola[*]	-	-	8.33	7.41	13.64
Curvularia lunata[*]	31.25	31.82	33.333	25.93	31.82
Fusarium solani[1/*]	25	27.27	8.33	11.11	9.09
F. semitectum[1/*]	-	-	8.33	7.41	9.09

ตารางที่ 3.2 (ต่อ) ความหลากหลายของเชื้อราในดินในแปลงนาข้าว

ชนิดของเชื้อรา	เปอร์เซ็นต์ที่พบ				
	ระยะต้นกล้า (อายุ 7-21 วัน)	ระยะแตกกอ (อายุ 22-42 วัน)	ระยะติดดอก (อายุ 43-63 วัน)	ระยะออกรวง (อายุ 64-84 วัน)	ระยะสุกแก่ (อายุ 85-105 วัน)
Gongronella butleri[*]	25	18.18	8.33	3.70	4.54
Nigrospora oryzae[*]	18.75	27.27	8.33	11.11	9.09
N. sphaerica[*]	-	-	4.17	-	-
Penicillium sp.[1/]	31.25	42.86	4.17	3.70	-
P. digitatum[*]	37.50	27.27	-	-	4.54
P. fumiculosum[1/]	18.75	31.82	16.67	18.52	18.18
P. janthinellum[1/]	12.50	13.64	8.33	7.41	13.64
P. oxalicum[1/]	-	31.82	4.17	3.70	4.54
P. rubrum [1/]	-	18.18	8.33	3.70	4.54
Rhizoctonia solani[1/*]	25	22.73	-	11.11	9.09
Rhizopus stolonifer[1/*]	25	13.64	4.17	3.70	-
Rhynocosporium oryzae[1/*]	-	9.09	-	-	4.54
Stachybotrys dichroa[*]	-	13.64	4.17	3.70	-
Trichoderma harzianum[*]	43.75	31.82	20.83	25.93	18.18
Veronaea apiculata[1/]	-	13.64	-	3.70	-
รวม	**16**	**22**	**24**	**27**	**22**

หมายเหตุ : [1/] = dilution plate , * = moist chamber

3.3 ความหลากหลายของเชื้อราบนต้นข้าว

ความหลากหลายของเชื้อราที่พบบนต้นข้าวทุกระยะการเจริญเติบโต พบทั้งหมด 31 สปีชีย์ (ตารางที่ 3.3) เชื้อราที่พบบนต้นข้าวระยะต้นกล้า (อายุ 7-21 วัน) มีจำนวน 15 ชนิด แยกด้วยวิธี dilution pour plate จำนวน 9 ชนิด และวิธี moist chamber จำนวน 11 ชนิด เชื้อราที่พบได้แก่ *Acremomium hansfordii, Alternaria padwickii, Aspergillus flavus, A. fumigatus, A. niger, Bipolaris oryzae, Cladosporium cladosporioides*, *Curvularia lunata, Dactylaria hawaiiensis*, *Drechslera australiensis, Fusarium solani*, *Nigrospora oryzae*, *Penicillium* sp., *P. fumiculosum* และ *Veronaea apiculata*

เชื้อราที่พบบนต้นข้าวระยะแตกกอ (อายุ 22-42 วัน) มีจำนวน 21 ชนิด โดยแยกด้วยวิธีการ dilution pour plate จำนวน 11 ชนิด และวิธี moist chamber จำนวน 17 ชนิด เชื้อราที่พบ ได้แก่ *Acremomium hansfordii*, *Alternaria padwickii, Aspergillus flavus, A. fumigatus, A. niger, Bipolaris oryzae, Cercospora oryzae, Cladospora cladosporioides*, *C. elatum, C. oxysporum, C. tennuissimum, Curvularia lunata, Dactylaria hawaiiensis*, *Drechslera australiensis*, *Fusarium solani*, *Nigrospora oryzae*, *Penicillium* sp., *Pyricularia oryzae, Rhynocosporium oryzae, Sarocladium oryzae, Stachybotrys dichroa* และ *Veronaea apiculata*

เชื้อราที่พบบนต้นข้าวระยะติดดอก (อายุ 43-63 วัน) มีจำนวน 17 ชนิด แยกโดยวิธีการ dilution pour plate จำนวน 7 ชนิด และวิธี moist chamber จำนวน 16 ชนิด เชื้อราที่พบได้แก่ *Acremonium hansfordii, Alternaria padwickii, Aspergillus flavus, A. fumigatus, Bipolaris oryzae, Cercospora oryzae, Cladosporium globosum, C. elatum, Curvularia lunata, Drechslera australiensis, Fusarium solani, Nigrospora oryzae, N. sphaerica, Pyricularia oryzae, Rhinocladiella simillis, Rhynocosporium oryzae* และ *Veronaea coprophila*

เชื้อราที่พบบนต้นข้าวในระยะออกรวง (อายุ 64-84 วัน) มีจำนวน 15 ชนิด แยกโดยวิธีการ dilution pour plate จำนวน 8 ชนิด และวิธี moist chamber จำนวน 13 ชนิด เชื้อราที่พบ ได้แก่ *Acremonium hansfordii, A. luzulae, Aspergillus flavus, A. niger, Bipolaris oryzae, Cercospora oryzae, Cladosporium elatum, C. oxysporum, Colletotrichum graminicola, Curvular lunata, Fusarium solani, F. semitectum, Nigrospora oryzae, Veronaea apiculata* และ *V. coprophila*

เชื้อราที่พบบนต้นข้าวในระยะสุกแก่ (อายุ 85-105 วัน) มีจำนวน 13 ชนิด แยกโดยวิธีการ dilution pour plate จำนวน 7 ชนิด และวิธี moist chamber จำนวน 12 ชนิด เชื้อราได้แก่ *Acremomium hansfordii, Aspergillus flavus, Bipolaris oryzae, Cercospora oryzae, Cladosporium cladosporioides, C. elatum, C. oxysporum, Curvulara lunata, Fusarium solani, F. semitectum, Nigospora oryzae, N. sphaerica* และ *Veronaea apiculata*

ตารางที่ 3.3 ความหลากหลายของเชื้อราที่พบบนต้นข้าวในแปลงนาข้าว

ชนิดของเชื้อรา	เปอร์เซ็นต์ที่พบ				
	ระยะต้นกล้า (อายุ 7-21 วัน)	ระยะแตกกอ (อายุ 22-42 วัน)	ระยะติดดอก (อายุ 43-63 วัน)	ระยะออกรวง (อายุ 64-84 วัน)	ระยะสุกแก่ (อายุ 85-105 วัน)
Acremonium hansfordii[*]	13.33	14.29	17.65	6.67	7.69
A. luzulae[1/*]	-	-	-	6.67	-
Alternaria padwickii[*]	13.33	9.52	11.77	-	-
Aspergillus flavus[1/]	13.33	19.05	11.77	13.33	7.69
A. fumigatus[1/]	20.00	28.57	5.88	-	-
A. niger[1/]	20.00	28.57	-	6.67	
Bipolaris oryzae[1/*]	26.67	14.29	17.65	6.67	7.69
Cercospora oryzae[*]	-	14.29	11.77	6.67	7.69
Chaetomium globosum[*]	-	-	5.88	-	-
Cladosporium cladosporioides[1/*]	26.67	14.29	-	-	15.38
C. elatum[*]	-	23.81	11.77	13.33	15.38
C. oxysporum[*]	-	23.81	-	6.67	7.69
C. tennuissimum[*]	-	17.29	-	-	-
Colletotrichum graminicola[*]	-	-	-	6.67	-
Curvularia lunata[1/*]	26.67	28.57	47.06	26.67	30.77

ตารางที่ 3.3 (ต่อ) ความหลากหลายของเชื้อราที่พบบนต้นข้าวในแปลงนาข้าว

ชนิดของเชื้อรา	เปอร์เซ็นต์ที่พบ				
	ระยะต้นกล้า (อายุ 7-21 วัน)	ระยะแตกกอ (อายุ 22-42 วัน)	ระยะติดดอก (อายุ 43-63 วัน)	ระยะออกรวง (อายุ 64-84 วัน)	ระยะสุกแก่ (อายุ 85-105 วัน)
Dactylaria hawaiiensis[*]	26.67	9.52	-	-	-
Drechslera australiensis[*]	26.67	-	5.88	-	-
Fusarium solani[1/*]	20.00	23.81	11.77	6.67	15.38
F. semitectum[1/*]	-	-	-	13.33	7.69
Nigrospora oryzae[*]	20.00	23.81	17.65	6.67	7.69
N. sphaerica[*]	-	-	11.77	-	7.69
Penicillium sp.[1/]	33.33	28.57	-	-	-
P. fumiculosum [1/]	40.00	-	-	-	-
Pyricularia oryzae[*]	-	28.57	47.06	-	-
Rhinocladiella simillis[*]	-	-	11.77	-	-
Rhynocosporium oryzae[*]	-	28.57	11.77	-	-
Sarocladium oryzae[*]	-	19.05	-	-	-
Stachybotrys dichroa[*]	-	19.05	-	-	-
Veronaea apiculata[1/*]	26.67	19.05	-	6.67	7.69
V. coprophila[*]	-	-	17.65	6.67	-
รวม	15	21	17	15	13

หมายเหตุ : [1/] = dilution plate , * = moist chamber

3.4 ความหลากหลายของเชื้อราบนใบข้าว

ความหลากหลายของเชื้อราที่พบบนใบข้าว พบเชื้อราทั้งหมด 22 สปีชีย์ (ตารางที่ 3.4) ผลการศึกษาพบว่า เชื้อราที่พบบนใบข้าวระยะต้นกล้า (อายุ 7-21 วัน) พบทั้งหมด 16 ชนิด แยกโดยวิธีการ dilution pour plate จำนวน 8 ชนิด และวิธี moist chamber จำนวน 13 ชนิด เชื้อราที่พบ ได้แก่ *Acremomium hansfordii, Alternaria padwickii, Aspergillus flavus, A. fumigatus, A. niger, Bipolaris oryzae, Cercospora oryzae, Chaetomium globosum, Cladosporium elatum, C. tennuissimum, Curvularia lunata, Fusarium semitectum, Nigrospora oryzae, Pyricularia oryzae, Rhinocladiella simillis* และ *Rhynocosporium oryzae*

เชื้อราที่พบบนใบข้าวในระยะแตกกอ (อายุ 22-42 วัน) พบทั้งหมด 17 ชนิด แยกโดยวิธีการ dilution pour plate จำนวน 9 ชนิด และวิธี moist chamber จำนวน 11 ชนิด เชื้อราที่พบ ได้แก่ *Acremonium hansfordii, Alternaria padwickii, Aspergillus niger, Bipolaris oryzae, Cercospora oryzae, Chaetomium globosum, Cladosporium elatum, C. oxysporum, Curvularia lunata, Drechslera australiensis, Fusarium solani, F. semitectum, Nigrospora oryzae, Pyricularia oryzae, Rhinocladiella simillis, Rhynocosporium oryzae* และ *Veronaea coprophila*

เชื้อราที่พบบนใบข้าวในระยะติดดอก (อายุ 43-63 วัน) มีทั้งหมด 17 ชนิด แยกโดยวิธีการ dilution pour plate จำนวน 7 ชนิด และวิธี moist chamber จำนวน 15 ชนิด สายพันธุ์เชื้อราที่พบ ได้แก่ *Acremonium hansfordii, Alternaria padwickii, Aspergillus flavus, A. fumigatus, Bipolaris oryzae, Cercospora oryzae, Chaetomium globosum, Cladosporium elatum, Curvularia lunata, Drechslera australiensis, Fusarium solani, Nigrospora oryzae, N. sphaerica, Pyricularia oryzae, Rhinocladiella simillis, Rhynocosporium oryzae* และ *Veronaea coprophila*

เชื้อราที่พบบนใบข้าวในระยะออกรวง (อายุ 64-84 วัน) พบเชื้อราบนใบข้าวทั้งหมด 15 ชนิด แยกโดยวิธีการ dilution pour plate จำนวน 8 ชนิด และวิธี moist chamber จำนวน 14 ชนิด เชื้อราที่พบ ได้แก่ *Acremonium hansfordii, Alternaria padwickii, Bipolaris oryzae, Cercospora oryzae, Chaetomium globosum, Cladosporium elatum, C. oxysporum, C. tennuissimum, Curvularia lunata, Drechslera australiensis, Fusarium solani, Nigrospora oryzae, Pyricularia oryzae, Rhynocosporium oryzae* และ *Veronaea coprophila*

เชื้อราที่พบบนใบข้าวในระยะสุกแก่ (อายุ 64-84 วัน) พบเชื้อราทั้งหมด 16 ชนิด แยกโดยวิธีการ dilution pour plate จำนวน 9 ชนิด และวิธี moist chamber จำนวน 14 ชนิด เชื้อราที่พบ ได้แก่ *Acremonium hansfordii, Alternaria padwickii, Bipolaris oryzae, Cercospora oryzae, Chaetomium globosum, Cladosporium elatum, C. oxysporum, C. tennuissimum, Curvularia lunata, Drechslera australiensis, Fusarium solani, Nigrospora oryzae, N. sphaerica, Pyricularia oryzae, Rhynocosporium oryzae* และ *Veronaea coprophila*

เชื้อราที่พบบ่อยบนใบข้าว ได้แก่ *Acremonium hansfordii, Alternaria padwickii, Bipolaris oryzae, Cercospora oryzae, Chaetomium globosum, Cladosporium elatum, Nigrospora oryzae, Pyricularia oryzae* และ *Rhynocosporium oryzae* โดยที่เชื้อราสายพันธุ์เด่นและพบได้บนใบทุกระยะการเจริญเติบโต ได้แก่ *B. oryzae C. elatum, C. lunata, N. oryzae* และ *P. oryza*e

จากการศึกษาความหลากหลายของเชื้อราบนใบข้าวครั้งนี้พบว่า เชื้อราที่พบมีความหลากหลายชนิดทั้งเป็นเชื้อสาเหตุโรค และเป็นราเอนโดไฟท์ สอดคล้องกับการศึกษาของ Naik et al. (2009) ซึ่งรายงานว่าเชื้อราที่พบบนใบข้าวมากที่สุดคือ *Aspergillus* spp., *C. globosum, C. cladosporioides, Fusarium* spp., *Penicillium chrysogenum* และ *Trichoderma* spp. โดยที่ Yuan et al. (2010) รายงานว่าเชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากข้าวป่า (*Oryza granulate*) พบมากที่สุดในกลุ่ม Ascomycota ได้แก่ เชื้อ *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp., *Trichoderma* sp., *Phomopsis* sp., *Xylaria* sp. ในขณะที่ Tian et al. (2004) รายงานว่าเชื้อราที่แยกจากข้าวและพบได้บ่อยคือ *Fusarium* sp., *Penicillium* sp. และ *Aspergillus* sp. และยังรายงานว่าเชื้อ *Fusarium*, *Aspergillus* และ *Penicillium* เป็นเชื้อราที่พบมากที่สุดในประเทศจีน (แยกจากใบอ่อนและรากของข้าว) นอกจากนี้ราเอนโดไฟท์ *Aspergillus* และ *Penicillium* สามารถแยกได้จากใบและต้นกล้วย (Cao et al., 2002) และใบของ *Plumeria rubra* ซึ่งเป็นไม้ผลัดใบเขตร้อน (Suryanarayanan and Thennerasan, 2004) อย่างไรก็ตามเชื้อราที่แยกได้จากส่วนต่างๆของข้าวที่เป็นเชื้อราก่อให้เกิดโรค เช่น *Fusarium, Aspergillus, Curvularia* และ *Penicillium* ก็ยังมีคุณสมบัติเป็นเอนโดไฟท์ของพืชหลายชนิดเช่นกัน (Fisher and Petrini, 1992; Geris dos Santos et al., 2003; Tian et al., 2004)

ตารางที่ 3.4 ความหลากหลายของเชื้อราที่พบบนใบข้าว

ชนิดของเชื้อรา	เปอร์เซ็นต์ที่พบ				
	ระยะต้นกล้า (อายุ 7-21 วัน)	ระยะแตกกอ (อายุ 22-42 วัน)	ระยะติดดอก (อายุ 43-63 วัน)	ระยะออกรวง (อายุ 64-84 วัน)	ระยะสุกแก่ (อายุ 85-105 วัน)
Acremonium hansfordii[*]	12.50	11.77	17.65	6.67	12.50
Alternaria padwickii[*]	6.25	5.88	11.77	6.67	12.50
Aspergillus flavus[1/]	6.25	-	11.77	-	-
A. fumigatus[1/]	6.25	-	5.88	-	-
A. niger[1/]	6.25	5.88	-	-	-
Bipolaris oryzae[1/*]	12.50	11.77	17.65	13.33	12.50
Cercospora oryzae[*]	12.50	11.77	11.77	6.67	6.25
Chaetomium globosum[1/*]	6.25	11.77	5.88	6.67	6.25
Cladosporium elatum[1/*]	12.50	17.65	11.77	13.33	12.50
C. oxysporum[*]	-	11.77	-	13.33	12.50
C. tennuissimum[1/*]	6.25	-	-	13.33	6.25
Curvularia lunata[1/*]	43.75	29.41	47.06	46.67	50.00
Drechslera australiensis[*]	-	5.88	5.88	6.67	6.25
Fusarium solani[1/*]	-	23.53	11.77	13.33	12.50
F. semitectum[1/*]	6.25	5.88	-	-	-
Nigrospora oryzae[1/*]	31.25	17.65	17.65	13.33	12.50

ตารางที่ 3.4 (ต่อ) ความหลากหลายของเชื้อราบนใบข้าว

ชนิดของเชื้อรา	เปอร์เซ็นต์ที่พบ				
	ระยะต้นกล้า (อายุ 7-21 วัน)	ระยะแตกกอ (อายุ 22-42 วัน)	ระยะติดดอก (อายุ 43-63 วัน)	ระยะออกรวง (อายุ 64-84 วัน)	ระยะสุกแก่ (อายุ 85-105 วัน)
N. sphaerica[*]	-	-	11.77	-	6.25
Pyricularia oryzae[*]	43.75	41.18	47.06	46.67	50.00
Rhinocladiella simillis[*]	18.75	11.77	11.77	-	-
Rhynocosporium oryzae[*]	12.50	5.88	11.77	13.33	6.25
Veronaea coprophila[*]	-	11.77	17.45	13.33	6.25
รวม	16	17	17	15	16

หมายเหตุ : 1/ = dilution plate , * = moist chamber

3.5 ความหลากหลายของเชื้อราบนเมล็ดข้าว

การศึกษาความหลากหลายของเชื้อราบนเมล็ดข้าว พบเชื้อราทั้งหมด 14 ชนิด ได้แก่ *Alternaria padwickii, Bipolaris oryzae, Cescospora oryzae, Cladospora globosum, C. elatum, C. oxysporum, C. tennuissimum, Curvularia lunata, Drechslera australiensis, Fusarium solani, F. semitectum, Nigrospora oryzae, N. sphaerica* และ *Pyricularia oryzae* (ตารางที่ 3.5) ทั้งนี้เชื้อราที่พบบนเมล็ดข้าวส่วนใหญ่เป็นเชื้อราที่พบได้ทั่วไปซึ่งก่อให้โรคกับพืช และแซฟโปรไฟท์ จากการศึกษาในปัจจุบันพบว่า *Fusarium* ที่แยกจากเมล็ดข้าว เป็นเชื้อราที่พบมากที่สุดเมื่อแยกจากข้าวเปลือก (Abdel-Hafez et al., 1987; Tonon et al., 1997; Pacin et al., 2002) และข้าวสาร (Tonon et al., 1997) นอกจากเมล็ดข้าวแล้ว *Fusarium* ยังแยกได้จากเมล็ดถั่วเหลือง (Pacin et al., 2002) และเมล็ดถั่วเขียว (Rodrigues and Menezes, 2005) นอกจากนี้เชื้อรา *Curvularia* ก็เป็นเชื้อราที่สามารถแยกได้จากเมล็ดข้าวเปลือก (Estrada and Sandoval, 2004) ซึ่งเป็นหนึ่งใน mycoflora ที่แยกได้บ่อยที่สุดจากเมล็ดข้าวเปลือก (Abdel-Hafez et al., 1987; Tonon et al., 1997) นอกจากนี้ รัตนากร (2560) ได้ศึกษาโดยการแยกเชื้อราในเมล็ดข้าวไร่จากภาคใต้พบเชื้อราจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ *Fusarium* spp., *Sarocladium oryzae* และ *Cladosporium* sp.

เชื้อราที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ เป็นเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคเมล็ดด่าง คือ เชื้อ *Alternaria padwickii*, *Fusarium* spp., *Sarocladium oryzae* และ *Rhizoctonia solani* ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Gopalakrishnan et al. (2010) ในขณะที่ Ibranim and Abo (2014) รายงานว่าพบเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดข้าวหลายชนิด เช่น *Fusarium* spp., *Biploaris oryzae*, *Alternaria* sp., *A. padwickii*, *Aspergillus* sp., *Chaetomium* sp., *Curvularia* sp., *Sarocladium* sp. และ *Trichoderma* sp. เป็นต้น นอกจากนี้ Rodolfi et al. (2006) ทำการเพาะเชื้อราเอนโดไฟท์ จากเมล็ดข้าวอิตาลี พบว่าเชื้อ *Penicillium, Fusarium* และ *Aspergillus* มากที่สุด ในขณะที่ Naveenkumar et al. (2011) ศึกษาเชื้อราจากตัวอย่างข้าวเปลือก พบว่าเชื้อราที่สำคัญและพบมาก ได้แก่ *Mucor* sp., *Helminthosporium* sp., *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Verticillium* sp. และ *Trichoderma* sp.

ตารางที่ 3.5 ความหลากหลายของเชื้อราที่พบบนเมล็ดข้าว

ชนิดเชื้อรา	ความหลากหลาย (%)
Alternaria padwickii	21.43
Bipolaris oryzae	35.71
Cercospora oryzae	28.57
Chaetomium globosum	14.29
Cladosporium elatum	21.43
C. oxysporum	28.57
C. tennuissimum	21.43
Curvularia lunata	50.00
Drechslera australiensis	28.57
Fusarium solani	21.43
F. semitectum	21.43
Nigrospora oryzae	21.43
N. sphaerica	35.71
Pyricularia oryzae	57.14

จากการศึกษาความหลากหลายของเชื้อราในดิน ลำต้น ใบ และเมล็ดข้าว พบเชื้อราทั้งหมด 39 ชนิด แบ่งเป็นในดิน 31 ชนิด ลำต้น 31 ชนิด ใบ 22 ชนิด และเมล็ด 14 ชนิด (ตารางที่ 3.6) โดยเชื้อราที่สามารถพบได้ทุกส่วนมีทั้งหมด 13 ชนิด คิดเป็น 33.33 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ *Alternaria padwickii*, *Bipolaris oryzae, Cercospora oryzae, Chaetomium globosum, Cladosporium elatum, C. oxysporum, C. tennuissimum, Curvularia lunata, Fusarium solani, F. semitectum, Nigrospora oryzae* และ *N. sphaerica* สำหรับเชื้อราที่พบบ่อยและเป็นสายพันธุ์เด่นในแต่ละระยะของการเจริญเติบโตของข้าวแสดงไว้ในตาราที่ 3.7

ค่าดัชนีความหลากหลายของชนิดเชื้อราแสดงไว้ในตารางที่ 3.8 และ 3.9 และความคล้ายคลึงกันของเชื้อราแสดงไว้ในตารางที่ 3.10 พบว่าค่าดัชนีความหลากหลายของเชื้อราในดิน และลำต้นสูงสุด รองลงมา คือ ใบ และเมล็ด ตามลำดับ สำหรับความความคล้ายคลึงของเชื้อราทั้ง 4 ส่วน พบว่าชนิดของเชื้อราที่มีความคล้ายคลึงกันมากที่สุด คือ ลำต้นกับใบ มีค่าเท่ากับ82.35 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ความคล้ายคลึงของดินกับลำต้น มีค่าเท่ากับ 76.67 เปอร์เซ็นต์ ในส่วนความคล้ายคลึง

ของใบกับเมล็ด ดินกับใบ มีค่าเท่ากับ 76.47 และ 66.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ ความคล้ายคลึงของดินกับเมล็ด และลำต้นกับเมล็ด มีค่าเท่ากันคือ 60.46 เปอร์เซ็นต์ จะเห็นได้ว่า เชื้อราที่พบในแต่ละส่วนของข้าวจะมีความคล้ายคลึงกันค่อนข้างสูง

ตารางที่ 3.6 ความหลากหลายของเชื้อราทั้งหมดที่พบในดินและส่วนต่างๆ ของข้าว

ชนิดเชื้อรา	ดิน	ส่วนของข้าว		
		ลำต้น	ใบ	เมล็ด
Ascomycetes				
Chaetomium globosum	2.42	1.18	7.36	14.29
Basidiomycetes				
Rhizoctonia solani	13.59	-	-	-
Mitosporic fungi				
Acremonium hansfordii	-	11.97	12.22	-
A. luzulae	-	1.33	-	-
Alternaria alternata	3.15	7.41	-	-
A. padwickii	3.98	6.92	8.61	21.43
Aspergillus flavus	1.61	13.13	3.60	-
A. fumigatus	11.69	10.89	2.43	-
A. niger	1.46	11.05	2.43	-
Bipolaris oryzae	13.53	14.59	13.55	35.71
Cercospora oryzae	4.54	8.08	9.79	28.57
Cladosporium cladosporioides	10.35	11.27	13.33	-
C. elatum	4.13	12.87	13.55	21.43
C. oxysporum	1.48	7.63	7.52	28.57
C. tennuissimum	3.39	3.46	3.92	21.43
Colletotrichum graminicola	5.88	1.33	-	-
Curvularia lunata	31.43	31.95	43.38	50.00
Dactylaria hawaiiensis	-	7.24	-	-
Drechslera australiensis	-	6.51	4.94	28.57
Fusarium solani	16.16	15.53	12.23	21.43
F. semitectum	4.97	4.20	2.43	21.43
Gongronella butleri	11.95	-	-	-
Nigrospora oryzae	14.91	15.16	18.84	21.43
N. sphaerica	0.83	12.38	3.60	35.71
Penicillium sp.	16.40	8.00	-	-
P. digitatum	13.86	-	-	-
P. fumiculosum	20.79	15.13	-	-
P. janthinellum	11.10	-	-	-

ตารางที่ 3.6 (ต่อ) ความหลากหลายของเชื้อราทั้งหมดที่พบในดินและส่วนต่างๆ ของข้าว

ชนิดเชื้อรา	ดิน	ส่วนของข้าว		
		ลำต้น	ใบ	เมล็ด
P. oxalicum	8.85	-	-	-
P. rubrum	6.94	-	-	-
Pyricularia oryzae	-	15.13	45.73	57.14
Rhinocladiella simillis	-	2.35	8.46	-
Rhynocosporium oryzae	2.73	8.07	9.95	-
Sarocladium oryzae	-	3.81	-	-
Stachybotrys dichroa	4.30	3.81	-	-
T. harzianum	28.10	-	-	-
Veronaea apiculata	3.47	12.02	-	-
V. coprophila	-	4.86	9.76	-
Zygomycetes				
Rhizopus stolonifer	9.30	-	-	-
Total	**31**	**31**	**22**	**14**

Table 3.7 ชนิดเชื้อราที่เป็นสายพันธุ์เด่นและพบได้บ่อยในแต่ละระยะการเจริญเติบโตของข้าว

ระยะ กล้า	ระยะ แตกกอ	ระยะ ติดดอก	ระยะ ออกรวง	ระยะ สุกแก่
A. fumigatus	*A. niger*	*A. fumigatus*	*B. oryzae*	*B. oryzae*
A. flavus	*B. oryzae**	*A. flavus**	*C. oxysporum*	*C. oryzae*
*B. oryzae**	*C. oryzae**	*B. oryzae**	*C. lunata**	*C. lunata**
*C. lunata**	*C. lunata**	*C. globosum*	*F. solani*	*F. solani*
*N. oryzae**	*F. solani**	*C. lunata**	*N. oryzae*	*N. oryzae*
	N. oryzae	*F. solani,*		
	R. oryzae	*N. sphaerica*		
		*N. oryzae**		

***** สายพันธุ์เด่น (dominant species)

ตารางที่ 3.8 ดัชนีความหลากหลายของเชื้อราบนดิน ลำต้น ใบ และเมล็ดข้าวที่แยกได้ในแต่ละระยะการเจริญเติบโตของข้าว

แหล่งที่พบ			***Index D***					***Index H***		
	20^1	40^2	60^3	80^4	100^5	20^1	40^2	60^3	80^4	100^5
ดิน	0.9443	0.9544	0.9549	0.9601	0.9556	2.7001	2.9635	2.9755	3.0976	2.9187
ลำต้น	0.9445	0.9520	0.9577	0.9572	0.9316	2.6766	2.7753	2.7001	2.5824	2.3854
ใบ	0.9190	09.390	0.9297	0.9160	0.9054	2.4965	2.6524	2.6258	2.4601	2.4494
เมล็ด	-	-	-	-	0.9336	-	-	-	-	2.5668

ตารางที่ 3.9 ความหลากหลายของเชื้อราที่แยกได้จากดิน ลำต้น ใบ และเมล็ดข้าวที่ระยะการเจริญเติบโตของข้าวแตกต่างกัน

แหล่งที่พบ	**ระยะการเจริญเติบโตของข้าว**							
	ระยะกล้า	**ระยะแตกกอ**	**ระยะติดดอก**	**ระยะออกรวง**	**ระยะสุกแก่**	**รวม**	***Index D***	***Index H***
ดิน	16	22	24	27	22	31	0.9539	2.9311
ลำต้น	15	21	17	16	13	31	0.9486	2.6240
ใบ	16	17	17	15	16	22	0.9218	2.5368
เมล็ด	-	-	-	-	14	14	0.9336	2.5668
รวม	**30**	**36**	**33**	**35**	**32**	**39**		

ตารางที่ 3.10 ค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงของชนิดเชื้อราที่พบในบน ดิน ลำต้น ใบ และเมล็ดของข้าว (Sorensen's similarity)

แหล่งที่พบ	แหล่งที่พบ			
	ดิน	ลำต้น	ใบ	เมล็ด
ดิน		0.7667	0.6667	0.6046
ลำต้น			0.8235	0.6046
ใบ				0.7647
เมล็ด				

(ก)

(ข)

(ค)

ภาพที่ 3.1 ตัวอย่างโรคข้าวที่พบในระยะต่างๆของข้าว

(ก) โรคไหม้ (rice blast)

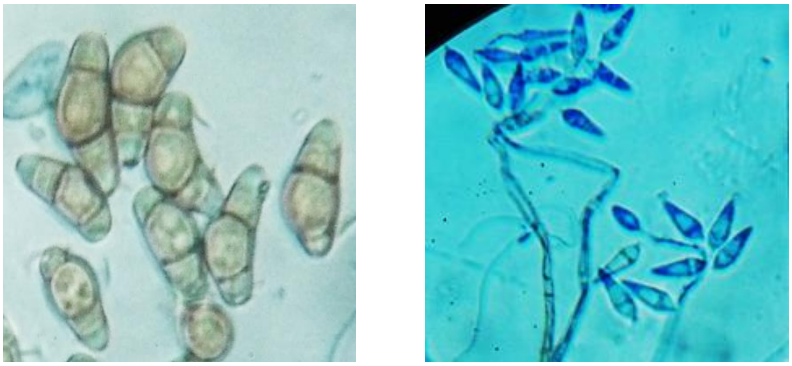
(ข) โรคใบจุดสีน้ำตาล (brown spot)

(ค) โรคเมล็ด (dirty panicle disease)

3.6 การคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคของข้าวในห้องปฏิบัติการ

การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคใบจุดสีน้ำตาลและโรคไหม้ของข้าวในห้องปฏิบัติการ โดยเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้มีทั้งหมด 18 ไอโซเลท ในขณะที่พบเชื้อแบคทีเรียเพียง 3 ไอโซเลท ซึ่งคิดเป็น 16.67 เปอร์เซ็นต์ ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรค โดยไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใย ได้แก่ ไอโซเลท BCMN001, BCMN009 และ BCMN011 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อ *C. lunata* เท่ากับ 55.56, 44.44 และ 45.45 เปอร์เซ็นต์ และยับยั้งเชื้อ *P. oryzae* เท่ากับ 50.00, 42.86 และ 36.36 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

เมื่อนำแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 3 ไอโซเลท ไปจำแนกสายพันธุ์โดยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ 16S rDNA พบว่า ไอโซเลท BCMN001 คือ *B. cepacia*, BCMN009 คือ *B. gladioli* และ BCMN011 คือ *Burkkholderia* sp. ตามลำดับ จากผลการศึกษาความหลากหลายของเชื้อราในแปลงนาข้าวเกษตรกร พบว่าโรคที่ระบาดและสร้างความเสียหายต่อข้าว คือโรคใบจุดสีน้ำตาล ซึ่งเกิดจากเชื้อ *C. lunata* ดังนั้นในเรือนทดลองจึงทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคใบจุดสีน้ำตาลของข้าว



(ก) (ข)

ภาพที่ 3.2 ลักษณะสปอร์ของโรคใบจุดสีน้ำตาล (*C. lunata*) และไหม้ของข้าว (*P. oryzae*)

(ก) สปอร์ของโรคใบจุดสีน้ำตาล (*C. lunata*)

(ข) สปอร์ของโรคไหม้ (*P. oryzae*)

ตารางที่ 3.11 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ *C. lunata* และ *P. oryzae* โดยเชื้อแบคทีเรีย

ชนิดเชื้อแบคทีเรีย	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง	
	C. lunata	*P. oryzae*
BCMN001	55.56	50.00
BCMN002	-	-
BCMN003	-	-
BCMN004	-	-
BCMN005	-	-
BCMN006	-	-
BCMN007	-	-
BCMN008	-	-
BCMN009	44.44	42.86
BCMN010	-	-
BCMN011	45.45	36.36
BCMN012	-	-
BCMN013	-	-
BCMN014	-	-
BCMN015	-	-
BCMN016	-	-
BCMN017	-	-
BCMN018	-	-

หมายเหตุ : B – แบคทีเรีย, CM – อำเภอชะเมา, N – นครศรีธรรมราช

(ก) (ข)

ภาพที่ 3.3 การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคใบจุดสีน้ำตาลของข้าวในห้องปฏิบัติการโดยวิธี dual culture

(ก) เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ควบคุมโรคใบจุดสีน้ำตาลของข้าว

(ข) เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ไม่ควบคุมใบจุดสีน้ำตาลของข้าว

(ก) (ข)

ภาพที่ 3.4 การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคไหม้ของข้าวในห้องปฏิบัติการโดยวิธี dual culture

(ก) เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ควบคุมโรคใบไหม้ของข้าว

(ข) เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ไม่ควบคุมโรคใบไหม้ของข้าว

3.7 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมการเกิดโรคของข้าวในโรงเรือน

ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบจุดสีน้ำตาลเมื่อต้นข้าวอายุ 30 วัน และ 60 วัน ประเมินผลหลังฉีดเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 15 วัน และ 21 วัน พบว่าความรุนแรงของโรคมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) โดยเมื่อสิ้นสุดการทดลองการใช้เชื้อ *B. cepacia* ในการควบคุมโรคใบไหม้จากเชื้อ *C. lunata* ทำให้เกิดความรุนแรงของโรคน้อยที่สุด เท่ากับ 15.199 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือการใช้ *Burkkholderia* sp. และ *B. gladioli* มีค่าความรุนแรงของโรคใบไหม้เท่ากับ 16.955 และ 17.968 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีความรุนแรงของโรคน้อยกว่าชุดควบคุมและชุดทดลองที่ใช้สารเคมีคาร์เบนดาซิม เท่ากับ 20.99 และ 34.103 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มที่ฉีดเฉพาะเชื้อรา *C. lunata* ในต้นข้าว มีความรุนแรงของโรคใบจุดสีน้ำตาลสูงที่สุด เท่ากับ 86.967 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 3.12 การประเมินความรุนแรงของโรคใบจุดสีน้ำตาล (*C. lunata)* ของข้าวเมื่อใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรค

ชุดทดลอง	เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค (% severity index: SI)								
	ต้นข้าว / อายุ 45 วัน	ต้นข้าว อายุ 52 วัน	ต้นข้าว // อายุ 59 วัน	ต้นข้าว อายุ 66 วัน	ต้นข้าว อายุ 73 วัน	ต้นข้าว อายุ 80 วัน	ต้นข้าว อายุ 87 วัน	ต้นข้าว อายุ 94 วัน	ต้นข้าว อายุ 101 วัน
1. *C. lunata* + *B. cepacia*	4.398^{b}	4.774^{b}	6.543^{bc}	6.670^{bc}	7.337^{bc}	10.204^{d}	12.691^{d}	12.775^{d}	15.199^{b}
2. *C. lunata* + *B. gladioli*	4.024^{b}	4.858^{bc}	4.936^{cd}	5.897^{c}	7.897^{c}	13.242^{cd}	15.203^{d}	15.415^{cd}	17.968^{c}
3. *C. lunata* + *Burkkholderia* sp.	3.770^{b}	4.776^{bc}	4.678^{cd}	5.903^{c}	6.887^{c}	15.855^{c}	16.203^{cd}	16.722^{cd}	16.955^{cd}
4. *C. lunata* + คาร์เบนดาซิม	4.485^{b}	6.796^{b}	9.172^{b}	9.648^{b}	10.654^{b}	25.711^{b}	30.843^{b}	30.844^{b}	34.103^{b}
5. *C. lunata* (control disease)	21.556^{a}	26.106^{a}	27.679^{a}	28.779^{a}	49.157^{a}	51.035^{a}	73.933^{a}	77.494^{a}	86.976^{a}
6. น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (control check)	0.022^{b}	0.112^{c}	1.051^{d}	1.976^{c}	2.245^{c}	9.498^{d}	20.021^{c}	20.612^{c}	20.999^{d}
C.V. (%)	45.897	38.837	20.527	22.589	17.155	10.850	8.895	15.019	13.433
Significant	*	**	**	**	**	**	**	**	**

หมายเหตุ : / ฉีดเชื้อแบคทีเรียครั้งที่ 1 (ต้นข้าวอายุ 30 วัน)

// ฉีดเชื้อแบคทีเรียครั้งที่ 2 (ต้นข้าวอายุ 60 วัน)

***** ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

****** ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$)

3.8 คุณภาพของผลผลิตข้าว

ผลผลิตข้าวที่ได้จากการฉีดพ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ สารเคมีคาร์เบนดาซิมและชุดควบคุม เมื่อตรวจสอบคุณภาพของผลผลิต โดยการบันทึกน้ำหนักรวม แยกเป็นจำนวนเมล็ดข้าวดี เมล็ดข้าวลีบ และเมล็ดข้าวด่าง ควบคู่กับการสังเกตลักษณะรวงข้าว พบว่า เมล็ดดีจะมีสีน้ำตาลอ่อนทั้งเมล็ด ไม่มีสีอื่นปน เมล็ดลีบจะมีลักษณะลีบแบนบิดเบี้ยวผิดรูป ส่วนเมล็ดด่างจะมีสีน้ำตาลปนดำไม่สม่ำเสมอ (ภาพที่ 3.5 และภาพที่ 3.6)

เมื่อพิจารณาผลผลิตรวมของข้าว พบว่าผลผลิตข้าวรวมที่ได้จากการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ สารเคมีคาร์เบนดาซิมร้อยละ 50 WP และฉีดพ่นเฉพาะเชื้อรา *C. lunata* (control disease) พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) โดยการใช้ *B. cepacia* ทำให้น้ำหนักรวมของเมล็ดข้าวสูงสุด เท่ากับ 46.259 กรัม/ต้น รองลงมาคือ ชุดทดลองที่ใช้เชื้อ *Burkkholderia* sp., น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม), *B. gladioli* และ การใช้สารเคมีคาร์เบนดาซิม เท่ากับ 45.741, 30.441, 25.927 และ 19.780 กรัม/ต้น ตามลำดับ ในขณะที่ชุดทดลองที่ฉีดพ่นเฉพาะเชื้อรา *C. lunata* น้ำหนักเมล็ดรวมน้อยที่สุด เท่ากับ 13.281 กรัม/ต้น ส่วนการตรวจสอบคุณภาพโดยการแยกเป็นเมล็ดดี เมล็ดด่าง และเมล็ดลีบ พบว่า จำนวนเมล็ดดีเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับน้ำหนักรวมของเมล็ด กล่าวคือ ชุดทดลองที่ใช้ *B. cepacia* มีจำนวนเมล็ดดีสูงสุด คิดเป็น 68.221 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ชุดทดลองที่ใช้เชื้อ *Burkkholderia* sp., น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) *B. gladioli* และ ชุดทดลองที่ใช้คาร์เบนดาซิม คิดเป็น 67.391, 61.489, 59.761 และ 41.457 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ชุดทดลองที่ฉีดพ่นเฉพาะเชื้อรา *C. lunata* มีจำนวนเมล็ดดีคิดเป็น 15.674 เปอร์เซ็นต์

จำนวนเมล็ดด่าง พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยชุดทดลองที่ใช้สารเคมีคาร์เบนดาซิมมีจำนวนเมล็ดด่างสูงสุด คิดเป็น 13.179 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ชุดทดลองที่ฉีดพ่นเฉพาะเชื้อรา *C. lunata*, น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม), ชุดทดลองที่ใช้เชื้อ *B. gladioli* และชุดทดลองที่ใช้เชื้อ *B. cepacia* คิดเป็น 13.160, 12.461, 11.353 และ 10.367 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ชุดทดลองที่ใช้เชื้อ *Burkkholderia* sp. มีจำนวนเมล็ดด่างน้อยสุด คิดเป็น 10.027 เปอร์เซ็นต์ จากผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Sivanesan (1987) พบว่าเชื้อรา *Curvularia* spp. สามารถเข้าทำลายพืชได้หลายชนิด เช่น ข้าว ข้าวโพด ข้าวฟ่าง รวมถึงวัชพืชและพืชใบเลี้ยงคู่บางชนิด โดยพบการแพร่กระจายโดยทั่วไปในพื้นที่ต่างๆ นอกจากนี้ เชื้อรา *C. lunata* ยังเข้าทำลายเมล็ดข้าว ทำให้ข้าวเป็นโรคเมล็ดด่าง และจำนวนเมล็ดลีบ พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) โดยชุดทดลองที่ฉีดพ่นเฉพาะเชื้อรา *C. lunata* มีจำนวนเมล็ดลีบสูงสุด คิดเป็น 63.692 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ชุดทดลองที่ใช้สารเคมีคาร์เบนดาซิม,

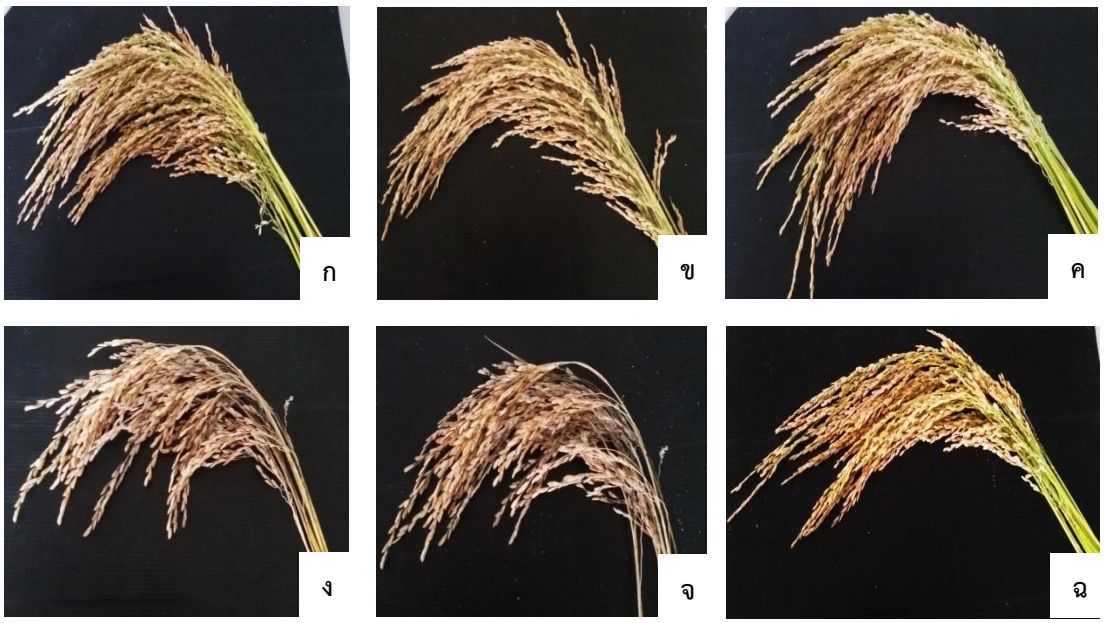
ชุดทดลองที่ใช้เชื้อ *B. gladioli*, และชุดทดลองที่ใช้เชื้อ *Burkkholderia* sp. คิดเป็น 36.723, 28.896 และ 21.426 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ชุดทดลองที่ใช้ *B. cepacia* และ น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ จำนวนเมล็ดลีบน้อยที่สุด คิดเป็น 20.798 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในตารางที่ 3.13

ตารางที่ 3.13 น้ำหนักรวมและคุณภาพของข้าวที่ได้จากการแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคใบจุดสีน้ำตาลที่เกิดจากเชื้อ *C. lunata* ในสภาพโรงเรือนทดลอง

ชุดทดลอง	น้ำหนักรวม (กรัม)	ค่าเฉลี่ยลักษณะเมล็ดข้าวที่พบ (%)		
		เมล็ดดี	เมล็ดด่าง	เมล็ดลีบ
1. *C. lunata* + *B. cepacia*	46.259^{a}	68.221^{a}	10.367	20.798^{c}
2. *C. lunata* + *B. gladioli*	25.927^{bc}	59.761^{a}	11.353	28.896^{bc}
3. *C. lunata* + *Burkkholderia* sp.	45.741^{a}	67.391^{a}	10.027	21.426^{bc}
4. *C. lunata* + คาร์เบนดาซิม	19.780^{cd}	41.457^{b}	13.179	36.723^{b}
5. *C. lunata* (control disease)	13.281^{d}	15.674^{c}	13.160	63.692^{a}
6. น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (control check)	30.441^{b}	61.489^{a}	12.461	20.798^{c}
C.V. (%)	19.651	16.205	32.475	29.420
Significant	**	**	ns	**

หมายเหตุ: ** ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$)

ns ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ



ภาพที่ 3.5 ลักษณะรวงข้าวที่ผ่านการทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในระดับโรงเรือน

(ก) รวงข้าวที่ทดสอบด้วย *B. cepacia*

(ข) รวงข้าวที่ทดสอบด้วย *B. gladioli*

(ค) รวงข้าวที่ทดสอบด้วย *Burkkholderia* sp.

(ง) รวงข้าวที่ทดสอบด้วยคาร์เบนดาซิมร้อยละ 50 WP

(จ) รวงข้าวที่ทดสอบโดยเชื้อรา *C. lunata* (control disease)

(ฉ) รวงข้าวที่ทดสอบด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (control check)

ภาพที่ 3.6 ลักษณะเมล็ดข้าวที่ได้จากการทดสอบในโรงเรือน

(ก) เมล็ดดี (ข) เมล็ดด่าง (ค) เมล็ดลีบ

อย่างไรก็ตามเชื้อแบคทีเรียที่พบเป็นแบคทีเรียจำพวก *Burkholderia* spp. ซึ่งโดยทั่วไปแล้ว เชื้อ *Burkholderia* spp. เป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคทั้งในคนและพืช แต่มีการศึกษาหลายๆการศึกษาที่มีการระบุว่า เชื้อ *Burkholderia* spp. บางสายพันธุ์มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้ จากการศึกษาครั้งนี้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้ คือ *B. gladioli, Burkholderia* sp. และ *Burkholderia cepacia* ซึ่งเชื้อ *B. gladioli* ที่แยกได้เป็นเชื้อที่มีรายงานว่าเป็นสาเหตุโรครวงไหม้ของข้าวในประเทศสหรัฐอเมริกา ทำให้ผลผลิตของข้าว ลดลง 40 เปอร์เซ็นต์ (Nandakumar et al., 2009) และปัจจุบันยังพบการแพร่ระบาดของเชื้อ *Burkkholderia glumae* ในประเทศ สหรัฐอเมริกา ปานามา โคลอมเบีย ศรีลังกา เนปาล ญี่ปุ่น เกาหลีใต้ จีน ไต้หวัน เวียดนาม ฟิลิปปินส์ กัมพูชา (CABI, 2014) ในขณะที่ *Burkholderia cepacia* เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดและมีความหลากหลายอย่างมากซึ่งพบได้ตามธรรมชาติในดิน น้ำ และบริเวณรากของพืช สายพันธุ์ของ *Bcc* ถูกนำมาใช้ในการควบคุมโรคทางชีวภาพและการบำบัดทางชีวภาพ (Parke and Sherman, 2001) นอกจากนี้บางการศึกษายังพบว่า *Burkholderia cepacia* XXVI มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสในมะม่วง โดยผลิตไซเดอโรฟอร์ที่ทำงานร่วมกับ antibiotic บริเวณรากพืช สามารถควบคุมละยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคได้ (Santos-Villalobos et al., 2012) สอดคล้องกับการศึกษาของ Wang et al. (2002) พบเชื้อ *Burkholderia cepacia* 5.5B ที่สามารถผลิตสารพีร์โรลนิตรินในการควบคุมโรคเน่าของลำต้นโดยเกิดจากเชื้อ *Rhizoctonia solani* และ *Burkholderia cepacia* AMMDR1 ยังถูกนำมาใช้ในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตา (King and Park, 1996)

ในส่วนของนักพยาธิวิทยาพืช รายงานว่าสายพันธุ์ *Burkholderia* บางชนิดสามารถผลิตสารควบคุมชีวภาพที่มีประสิทธิภาพต่อโรคที่เกิดจากดิน, ทางใบ และโรคหลังเก็บเกี่ยว(Milus, 1997 and Smilanick, 1993) และยังผลิตสารปฏิชีวนะอย่างน้อยหนึ่งชนิดที่ใช้งานได้กับเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคในวงกว้าง สารปฏิชีวนะเหล่านี้ปรากฏในหลาย ๆ กรณี ซึ่งเป็นสิ่งสำคัญสำหรับการควบคุมโรค *Burkholderia* บางชนิด สามารถใช้ทดแทนสารเคมีได้อย่างมีประสิทธิภาพซึ่งอาจก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม สายพันธุ์ *B. cepacia* จำนวนมากได้รับการจดทะเบียนโดย US EPA เพื่อใช้เป็นสารกำจัดศัตรูพืช (สารควบคุมทางชีวภาพ) ผลิตภัณฑ์ดังกล่าว ได้แก่ Blue Circle และ Deny (Stine Microbial Products) (Parke, 2000)

บทที่ 4
สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ

1. การสำรวจโรคของข้าวที่สำคัญในระยะการเจริญเติบโตซึ่งแบ่งเป็น 5 ระยะ คือ ระยะกล้า ระยะแตกกอ ระยะติดดอก ระยะออกรวง และระยะสุกแก่ พบโรคของข้าวทั้งหมด 7 โรค โดยพบโรคใบจุดสีน้ำตาล (*C. lunata*) มากที่สุด รองลงมาคือ โรคไหม้ของข้าว (*P. oryzae*), โรคขอบใบแห้ง (*Xa. oryzae* pv. *oryzae*), โรคกาบใบแห้ง (*R. solani*), โรคลำต้นขีด (*C. oryzae*), โรคใบขีด (*C. lunata*) และ โรคเมล็ดด่าง (*C. lunata*) คิดเป็น 95.00, 90.00, 43.80, 17.60, 20.83, 12.50 และ 62.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

2. ความหลากหลายของเชื้อราในแปลงนาข้าวพบทั้งหมด 39 สปีชีย์ แบ่งเป็น พบในดินและลำต้น 31 ชนิด บนใบ 22 ชนิด และเมล็ด 14 ชนิด โดยที่เชื้อรา 4 สปีชีย์ ได้แก่ *Bipolaris oryzae*, *Curvularia lunata*, *Fusarium solani* และ *Nigrospora oryzae* เป็นเชื้อราสายพันธุ์เด่น (dominant species) พบได้ทั้งในดิน ลำต้น ใบ และเมล็ดข้าว สำหรับความหลากหลายของราในแต่ละระยะของการเจริญเติบโตของข้าว พบว่า ระยะแตกกอพบเชื้อรามากที่สุด จำนวน 36 ชนิด รองลงมาคือ ออกดอก, ระยะสร้างรวง, ระยะสุกแก่ และระยะกล้า เพื่อจำนวน 35, 33, 32 และ 30 ชนิด ตามลำดับ โดยเชื้อรา *Curvularia lunata* เป็นราสายพันธุ์เด่นพบทุกระยะของการเจริญเติบโต

3. พบเชื้อแบคทีเรียจำนวน 3 ไอโซเลท จากเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด 18 ไอโซเลทที่แยกได้จากดินนาข้าว มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. lunata* และเชื้อ *P. oryzae* ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ *Burkkholderia cepacia*, *Burkkholderia gladioli* และ *Burkkholderia* sp. เมื่อนำแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 3 ไอโซเลท ไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบจุดสีน้ำตาล (*C. lunata*) ในโรงเรือน พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) โดยการใช้เชื้อ *B. cepacia* ทำให้เกิดความรุนแรงของโรคน้อยที่สุด เท่ากับ 15.199 เปอร์เซ็นต์ และมีน้ำหนักของเมล็ดข้าวรวมสูงสุด เท่ากับ 46.259 กรัม/ต้น (822.39 กิโลกรัม/ไร่)

ข้อเสนอแนะ

แบคทีเรียที่พบคือกลุ่มของ *Burkkholderia* spp. ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มนี้เป็นกลุ่มที่ก่อให้เกิดโรคในพืชบางชนิด จึงจำเป็นต้องมีความระมัดระวังในการนำมาใช้เพื่อความปลอดภัย นอกจากนี้เชื้อแบคทีเรียที่คัดเลือกได้เป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ช่วยยับยั้งการเกิดโรคพืชบางชนิดได้ จึงมีควรมีการศึกษาต่อในการนำไปใช้ควบคุมโรคของพืชแต่ละชนิดเพื่อสามารถนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด

เอกสารอ้างอิง

กัลทิมา พิชัย. 2557. **การเพาะเลี้ยงเซลล์ของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* BCC 6327 เพื่อควบคุม โรคใบไหม้ในมะเขือเทศ.** แหล่งที่มา: http://www.research.cmru.ac.th/2014 /ris/resout/arc/048-55-SCI-MUA.pdf, 21 กรกฎาคม 2561.

กัทลีวัลย์ สุขช่วย. 2557. **การควบคุมโรคไหม้ของข้าวโดยชีววิธี ด้วยเชื้อราไตรโคเดอร์มา**. สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา 31 หน้า.

กรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ. 2561. **ข้าว**. แหล่งที่มา: http://www.ditp.go.th, 15 พฤศจิกายน 2561.

จิระเดช แจ่มสว่าง. 2546. **การควบคุมโรคพืชและแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี.** เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการโครงการเกษตรกู้ชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 204 หน้า.

จิระเดช แจ่มสว่าง กนกนาฏ เรืองวิเศษ อำไพวรรณ ภราดรนุวัฒน์ ชวลิต ฮงประยูร วันทนีย์ ชุ่มจิตต์ และสุขวัฒน์ จันทรปรรณิก. 2540. **ศักยภาพของเชื้อราไตรโคเดอร์มาในการลดปริมาณเชื้อไฟทอฟธอรา และเพิ่มความสมบูรณ์ของทุเรียนที่เป็นโรครากเน่า.** *ใน* การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 35: สาขาพืช ส่งเสริมและนิเทศศาสตร์เกษตร อุตสาหกรรมเกษตร น. 265-276. กรุงเทพฯ.

จิระเดช แจ่มสว่าง และวาริน อินทนา. 2554. **การคัดเลือกพัฒนาเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และชีวภัณฑ์ของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคข้าวในการผลิตข้าวอินทรีย์.** รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.

ชนวน รัตนวราหะ. 2544. **เกษตรอินทรีย์.** กลุ่มพัฒนาระบบการจัดการสหกรณ์ด้านพืชผัก ไม้ผล กองสหกรณ์การเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร. กรุงเทพฯ. 152 น.

นลินี จาริกภากร. 2535. **ศึกษาการแพร่กระจายของโรคข้าวที่สำคัญในภาคใต้.** รายงานผลการดำเนินงานกลุ่มข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ประจำปี 2535. สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร.

รัตนากร กฤษณชาญ. 2560. **การจำแนกเชื้อราสาเหตุโรคพืชในเมล็ดพันธุ์ข้าวไร่ในภาคใต้และภาคเหนือ.** แก่นเกษตร 45 ฉบับพิเศษ 1: 1424-1429.

วนิดา ฐิตะฐาน. 2542. โรคเหี่ยวของพืชที่เกิดจากแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum*. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 150 หน้า.

วิชิต ศิริสันธนะ วันทนา ศรีรัตนศักดิ์ สุกัญญา เทพันดุง วาสนา พันธุ์เพ็ง พัชนี ชัยวัฒน์ สาธิต

ทยาพัชร. 2552. **สถานการณ์โรคแมลงศัตรูข้าวตามภารกิจของสำนักวิจัยและพัฒนาข้าว ในปี 2551/2552**. สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว.

ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตขอนแก่น. 2547. **คู่มือการตรวจศัตรูข้าว.** กรมวิชาการเกษตร. แหล่งที่มา: http://www.brrd.in.th/library/index.php?option =com_content&view=article&id=59&Itemid=37, 8 กรกฎาคม 2555.

สุวพงษ์ สวัสดิ์พาณิชย์. 2542. **พืชเศรษฐกิจ.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2560. **ระบบสถิติสินค้าเกษตร.** แหล่งที่มา: http://www.oae.go.th/view/1 /27626/TH-TH. 13 พฤศจิกายน 2561.

Abdel-Hafez, S., El-Kady, I.A, Mazen, M.B. and El-Maghraby, O.M.O. 1987. Mycoflora and trichothecene toxins of paddy grains from Egypt. **Mycopathologia** 100(2): 103-112.

Ainsworth, G.C., Sparrow, F.K. and Sussan, A.S. 1973. The Fungi. London : Academic Press.

Anju, P. 1994. Antagonism of *Trichoderma* against fungal pathogen and their enzyme production. **Advance in Plant Sciences** 7: 147-153.

Baharlouei, A., Sharifi-Sirchi, G.R. and Shahidi Bonjar, G.H. 2011. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* (oil seed rape isolate) by an effective antagonist *Streptomyces*. **African Journal of Biotechnology** 10(30): 5785-5794.

Bhatt, D.D. and Vaughan, E.K. 1962. Preliminary investigations on biological control of Gray mold (*Botrytis cinerea*) of strawberries. **Plant Disease Reporter** 46: 342-345.

Boukaew S., Chuenchit, S. and Petcharat, V. 2011. Evaluation of *Streptomyces* spp. for biological control of *Sclerotium* root and stem rot and *Ralstonia* wilt of chili pepper. **BioControl** 56: 365-374.

CABI. 2014. *Burkholderia glumae* (bacterial grain rot). [Online]. Available from http://www.cabi.org/ isc/datasheet/44964 [15 October 2016].

Cao, L.X., You, J.L. and Zhou, S.N. 2002. Endophytic fungi from *Musa acuminate* leaves and roots in South China. **World Journal of Microbiology and Biotechnology** 18(2): 169-171.

El-Banna, N. and Winkelmann, G. 1998. Pyrrolnitrin from *Burkholderia cepacia*: antibiotic activity against fungi and novel activities against *Streptomycetes*. **Journal of Applied Microbiology** 85: 69-78.

Ellis, M.B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. London : Commonwealth Agricultural Bureaux.

Ellis, M.B. 1976. More Dermatiaceous Hyphomycetes. London : Surrey Common wealth Mycological Institute.

Ellis, M.B. and Ellis, J.P. 1997. Microfungi on Land Plants : An Identification Handbook. Slough : The Richmond Publishing.

Estrada, G. and Sandoval, I. 2004. Pathogenicity of *Curvularia* spp. in rice. **Fitosanidad** 8(4): 23-26.

Fokkema, N.J. and Lorbeer, J.W. 1974. Interactions between *Alternaria porri* and the saprophytic mycoflora of onion leaves. **Phytopathology** 64: 1128-1133.

Filippi, M.C.C., Silva, G.B., Silva-Lobo, V.L, Cortes, M.V.C.B., Moraes, A.J.G. and Prabhu, A.S. 2011. Leaf blast (*Magnaporthe oryzae*) suppression and growth promotion by Rhizobacteria on aerobic rice in Brazil. **Biological Control** 58: 160-166.

Fisher, P. and Petrini, O. 1992. Fungal saprobes and pathogens as endophytes of rice (*Oryza sativa* L.). **New Phytologist** 120: 137-143.

Geris dos Santos, R.M., Rodrigues-Fo, E., Rocha, W.C. and Teixeira, M.F.S. 2003. Endophytic fungi from *Melia azedarach*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology** 19(8): 767-770.

Ghisalberti, E.L. and Sivasithamparam, K. 1991. Antifungal antibiotics produced by *Trichoderma* spp. **Soil Biology & Biochemistry** 23: 1011-1020.

Godelieve, V., Impe, J.V., Bernaerts, K. and Anné, J. 2012. On the influence of overexpression of *phosphoenolpyruvate carboxykinase* in *Streptomyces lividans* on growth and production of human tumour necrosis factor-alpha. **Applied Microbiology and Biotechnology** 2(96): 367-372.

Gopalakrishnan, C., Kamalakannan, A. and Valluvaparidasan, V. 2010. Survey of Seed-Borne Fungi Associated with Rice Seeds in Tamil Nadu, India. **Libyan Agriculture Research Center Journal International** 1(5): 307-309.

Gupta, A., Saxena, A.K., Gopal, M. and Tilak, K.V.B.R. 1998. Effect of plant growth promoting rhizobacteria on competitive ability of introduced *Bradyrhizobium* sp. (Vigna) for nodulation. **Microbiology Research** 153: 113-117.

Harman, G.E. 2000. Myths and dogma of biocontrol: changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T22. **Plant Disease** 84: 377-393.

Hovmøller, M.S. 2012. Climate change and plant disease. Department of Integrated Pest Management Aarhus University. Denmark.

Howell, C.R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concept. **Plant Disease** 87: 4-10.

Hyakumachi, M. 1994. Plant growth promoting fungi from turgrass rhizosphere with potential for disease suspension. **Soil Microorganism** 44: 53-68.

Ibranim E.A.M., and Abo El-Dahab, M. S. 2014. Seed Discoloration and their Effect on Seed-lings Growth of Egyptian Hybrid Rice. **Research Journal of Seed Science** 7(3): 63-74.

Idriss, E.E., Makarewicz, O., Farouk, A., Rosner, K., Greiner, R., Bochow, H., Richter, T. and Borriss, R. 2002. Extracellular phytase activity of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB45 contributes to its plant-growth-promoting effect. **Microbiology** 148: 2097-2109.

Intana, W. 2003. Selection and Development of *Trichoderma* spp. for High Glucanase, Antifungal Metabolites Producing and Plant Growth Promoting Isolates for Biological Control of Cucumber Damping-off caused by *Pythium* spp. Ph.D. Dissertation. Kasetsart University.

Jung, W.J., Maboodb, F., Souleimanovb, A., Whytec, L.G., Niederbergerc, T.D. and Smithb, D.L. 2014. Antibacterial activity of antagonistic bacterium *Bacillus subtilis* DJM-51 against phytopathogenic *Clavibacter michiganense* subsp. *michiganense* ATCC 7429 in vitro. **Microbial Pathogenesis** 77: 13-16.

Kiffer, E. and Morelet, M. 2000. **The Deuteromycetes Mitosporic Fungi Classification and Generic Key**. New Hampshire : Science Publisher Incorporation.

King, E.B. and Parke, J.L. 1996. Population density of the biocontrol agent *Burkholderia cepacia* AMMDR1 on four pea cultivars. **Soil Biology and Biochemistry** 28(3): 307-312.

Kiran, T.V., Rao, Y.V., Subrahmanyam, D., RaniV, N.S., Bhadana, P., Rao, P.R. and Voleti, S.R. 2013. Variation in leaf photosynthetic characteristics in wild rice species. **Photosynthetica** 51(3): 350-358.

Kloepper, J.W., Rodriguez-Ubana, R., Zehnder, G.W., Murphy, J.F., Sikora, E. and Fernandez, C. 1999. Plant root-bacterial interactions in biological control of soil borne diseases and potential extension to systemic and foliar diseases. **Australasian Plant Pathology** 28: 21-26.

Kreye, C., Bouman, B.A.M., Reversat, G., Fernandez, L., Vera Cruz, C., Elazegui F., Faronilo, J.E. and Llorca, L. 2009. Biotic and abiotic causes of yield failure in tropical aerobic rice. **Field Crops Research** 112: 97-106.

Lucas, J.A., Ramos Solano, B., Montes, F., Ojeda, J., Megias, M. and Gutierrez Manero, F.J. 2009. Use of two PGPR strains in the integrated management of blast disease in rice (*Oryzae sativa*) in Southern Spain. **Field Crops Research** 14: 404-410.

Mann, R.A. and Rehman, A. 2012. Rice. [Online]. Available from: http://www.parc.gov.pk /Faq /rice.htm [10 July 2018].

Manoch, L., Jeamjitt, O., Eamvijarn, A., Dethoup, T., Kokaew, J. and Paopun, Y. 2008. Light and SEM studies on leaf litter fungi. **Journal Microscopy Society of Thai** 22: 56-59.

Milus, E.A. and Rothrock, C.S. 1997. Efficacy of bacterial seed treatments for controlling *Pythium* root rot of winter wheat. **Journal of Plant Diseases** 81: 180-184.

Naik, A.K., Hanay, M.S., Hiebert, W.K., Feng, X.L. and Roukes, M.L. 2009. Towards single-molecule nanomechanical spectrometry. **Nature Nanotechnology** 4: 445-450.

Naveenkumar, K.J., Thippeswamy, B., Thirumalesh, B.V., Pradeepa, K. and Venkatesh. 2011. Comparative study of fungal diversity in the agricultural soil and non-

agricultural soil of Bhadravathi taluk, Shimoga district, Karnataka, India. **Journal of Research in Biology** 2: 129-134.

Ng, L.C, Sariah, M., Sariam, O, Radziah, O. and Zainal Abidin, M.A. 2012. Bio-efficacy of microbial-fortified rice straw compost on rice blast disease severity, growth and yield of aerobic rice. **Australasian Plant Pathology** Published online : 12 May 2012. Springer.

Ou, S.H. 1985. Rice diseases, 2nd edn. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England.

Pacin, A.M., Gonzalez, H.H.L., Etcheverry, M., Resnik, S.L., Vivas, L. and Espin, S. 2002. Fungi associated with food and feed commodities from Ecuador. **Mycopathologia** 156: 87-92.

Pandya, U. and Saraf, M. 2010. Application of fungi as a biocontrol agent and their biofertilizer potential in agriculture. **Journal of Advances in Developmental Research** 1: 90-99**.**

Parke, J.L. 2000. *Burkholderia cepacia*: Friend or Foe?. **Plant Health Instructor** 66(3): 124-125.

Parke, J.L. and Sherman, D.G. 2001. Diversity of the *Burkholderia cepacia* complex and implication for risk assessment of biological control strains. **Annual Review of Phytopathology** 39: 225-258.

Penning de Vries, F.W.T., Van Keulen, H. and Alogos, J.C. 1990. Nitrogen redistribution and potential production in rice. Proceedings of the international congress of plant physiology, New Delhi, India. **Society for Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, pp. 513-520.

Piotti, E., Rigano, M.M., Rodino, D., Rodolfi, M., Castiglione, S., Picco, A.M. and Sala, F. 2005. Genetic structure of *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc. isolates from Italian paddy fields. **Phytopathology** 153: 80-86.

Prabhu, A.S., Filippi, M.C., Silva, G.B., Lobo, V.L.S. and Moraes, O.P. 2009. An unprecedented outbreak of rice blast on a newly released cultivar BRS Colosso in Brazil. *In*: Wang, G.L. and Valente, B. (eds) Advances in genetics, genomics and control of rice blast disease. Springer, New York, pp. 257-266.

Rodolfi, M., Lorenzi, E. and Picco, A.M. 2006. Fungal pathogens on Italian rice (*Oryza sativa* L) seed. 3rd International Seed Health Conference of Seed Pathology Section; Bydgoszcz, Poland. 6–8 September 2006. pp. 76-77.

Rodrigues, A.A.C. and Menezes, M. 2005. Identification and pathogenic characterization of endophytic *Fusarium* species from cowpea seeds. **Mycopathlogia** 159: 79-85.

Russo, S. and Callegarin, A.M. 2012. Rice production and research potential in Italy. **Cahiers Options Méditerranéennes** 24: 139-146.

Ryu, C.M., Farag, M.A., Hu, C.H., Reddy, M.S., Kloepper, J.W. and Pare, P.W. 2004. Bacterial volatiles induce systemic resistance in *Arabiropsis*. **Plant Physiology** 134: 1017-1026.

Santos-Villalobos, S., Barrera-Galicia, G.C., Miranda-Salcedo, M.A. and Peña-Cabriales, J.J. 2012. *Burkholderia cepacia* XXVI siderophore with biocontrol capacity against *Colletotrichum gloeosporioides*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology** 28(8): 2615-2623.

Shivanna, M.B., Meera, M.S. and Hyakumachi, M. 1996. Role of root colonization ability of plant growth promotion fungi in the suspension of take-all and common root of wheat. **Crop Protection** 15: 497-504.

Sivanesan, A. 1987. Graminicolous species of *Bipolaris, Curvularia*, *Drechslera*, *Exserohilum* and their teleomorphs. **Mycological Papers** 158: 1-261.

Smilanick, J.L., Denis-Arrue, R., Bosch, J.R., Gonzalez, A.R., Henson, D. and Janisiewicz, W.J. 1993. Control of postharvest brown rot of nectarines and peaches by *Pseudomonas* species. **Crop Protection** 12: 513-520.

Somrithipol, S. 1997. Decomposition of Bamboo and Rang (*Shorea siamensis* Miq.) Leaf Litters in Mixed Deciduous Forest and Their Decomposition Fungi. Master of Science (Forestry). Thesis in Major Field Forest Biology, Department of Forest Biology. Kasatsat University.

Song, M., Yun, H. Y. and Kim, Y.Y. 2014. Antagonistic *Bacillus* species as a biological control of ginseng root rot caused by *Fusarium* cf. *incarnatum*. **Journal of Ginseng Research** 38: 136-145.

Suryanarayanan, T.S. and Thennarasan, S. 2004. Temporal variation in endophyte assemblages of *Plumeria rubra* leaves. **Fungal Diversity** 15: 197-204.

Tronsmo, A. 1992. Leaf and Blossom Epiphytes and Endophytes as Biological Control Agents. *In* Tjamos ES, Papavizas GC Cook RJ (eds) Plenum Press, New York, pp. 43-54.

Thomas, A. 2010. One response to "rice disease series (Part 2) – rice blast" [Online]. Available from : http://www.agribusinessweek.com/rice-disease-seriespart-2-rice-blast/[9 July 2012].

Tian, X.L., Cao, L.X., Tan, H.M., Zeng, Q.G., Jia, Y.Y., Han, W.Q. and Zhou, S.N. 2004. Study on the communities of endophytic fungi and endophytic actinomycetes from rice and their antipathogenic activities *in vitro*. World **Journal of Microbiology and Biotechnology** 20: 303-309.

Tonon, S.A., Marucci, R.S., Jerke, G. and Garcia, A. 1997. Mycoflora of paddy and milled rice produced in the region of northeastern Argentina and southern Paraguay. **International Journal of Food Microbiology** 37(2): 231-235.

Wang, J.H., Chilton, W.H. and Benson, D.M. 2002. Pyrrolnitrin production by *Burkholderia cepacia* and biocontrol of *Rhizoctonia* stem rot of poinsettia. **Biological Control** 25(1): 56-63.

Yuan, Z.l., Zhang, C.l., Lin, F.C. and Kubicek, C.P. 2010. Identity, diversity, and molecular phylogeny of the endophytic mycobiota in the roots of rare wild rice (*Oryza granulate*) from a nature reserve in Yunnan, China. **Applied and Environmental Microbiology** 76: 1642-1652.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

1. Glucose ammonium nitrate agar (GANA)

Glucose	10	กรัม
NH_4NO_3	1.0	กรัม
Yeast extract	1.0	กรัม
K_2HPO_4	0.5	กรัม
$MgSO_4 .7H_2O$	0.5	กรัม
Rose Bengal	0.06	กรัม
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

แบ่งน้ำเป็น 2 ส่วนๆ ละ 500 มิลลิลิตร ส่วนแรกเติมวุ้นผงนำไปหลอมให้ละลายอีกส่วนหนึ่งต้มให้อุ่น จากนั้นเติมสารเคมีครั้งละ 1 ชนิด กวนให้ละลาย นำ 2 ส่วนมาผสมกันเติมน้ำให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร แบ่งอาหารใส่ขวด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15-20 นาที

หมายเหตุ

ใส่ streptomycin sulfate ความเข้มข้น 2.0 มิลลิลิตร/อาหาร GANA 200 มิลลิลิตร และเขย่าให้เข้ากันก่อนจะเทอาหารลงจานเลี้ยงเชื้อ อุณหภูมิอาหารประมาณ 60 องศาเซลเซียส

2. Potato Dextrose Agar (PDA)

Potato	200.0	กรัม
Dextrose	20 .0	กรัม
Agar	15 .0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

แบ่งน้ำเป็น 2 ส่วนๆ ละ 500 มิลลิลิตร ส่วนแรกเติมวุ้นลงไปหลอมให้ละลาย อีกส่วนหนึ่งนำไปต้มกับมันฝรั่งที่หั่นเป็นสี่เหลี่ยมรูปเต๋า จนกระทั่งเดือด กรองเอาเฉพาะน้ำมาผสมกับน้ำอีกส่วน

หนึ่งตั้งไฟจนวุ้นผงละลาย เติมน้ำตาล Dextrose เติมน้ำให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร แบ่งใส่ขวดหรือหลอด นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15-20 นาที

3. Czapek's Agar

$NaNO_3$	3.0	กรัม
K_2HPO_4	1.0	กรัม
$MgSO_4 .7H_2O$	0.05	กรัม
KCl	0.50	กรัม
$FeSO_4. 7H_2O$	0.01	กรัม
Sucrose	30.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

แบ่งน้ำเป็น 2 ส่วนๆ ละ 500 มิลลิลิตร ส่วนแรกเติมวุ้นผงนำไปหลอมให้ละลายอีกส่วนหนึ่งต้มให้อุ่นจากนั้นเติมสารเคมีครั้งละ 1 ชนิด กวนให้ละลายแล้ว นำ 2 ส่วนมาผสมกันตั้งไฟให้เดือดอีกครั้ง เติมน้ำให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร แบ่งใส่ขวดหรือหลอดและนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลานาน 15-20 นาที

4. Nutrient Agar (NA)

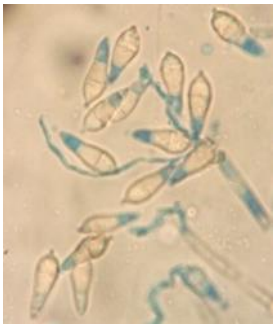
Beef extract	3.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

แบ่งน้ำเป็น 2 ส่วนๆ ละ 500 มิลลิลิตร ส่วนแรกเติมวุ้นผงนำไปหลอมให้ละลายอีกส่วนหนึ่งต้มให้อุ่นจากนั้นเติมสารเคมีครั้งละ 1 ชนิด กวนให้ละลายแล้ว นำ 2 ส่วนมาผสมกันตั้งไฟให้เดือดอีกครั้ง เติมน้ำให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร แบ่งใส่ขวดหรือหลอดและนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลานาน 15-20 นาที

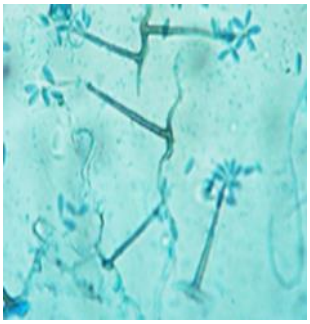
ภาคผนวก ข

Alternaria padwikii

Curvularia lunata



Pyricularia oryzae



Veronae apiculata

Cercospora oryzae

Bipolaris oryzae

Drechslera australiensis

ภาพผนวกที่ 1 ตัวอย่างชนิดของเชื้อราที่พบบนใบ ลำต้น และเมล็ดข้าว

ภาพผนวกที่ 2 ลักษณะของโรคที่เกิดขึ้นบนใบ ลำต้น และเมล็ดข้าว

ภาพผนวกที่ 3 ลักษณะของโรงเรือนและการเพาะข้าวที่ใช้ในการทดสอบโรค

ภาคผนวก ค

ตารางผนวกที่ 1 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน ความรุนแรงของการเกิดโรคใบไหม้ในต้นข้าวอายุ 47 วัน

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	5	4924.654	984.931	49.60
Error	18	357.453	19.859	
Total	23	5282.107		

C.V. = 45.897 %

ตารางผนวกที่ 2 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน ความรุนแรงของการเกิดโรคใบไหม้ในต้นข้าวอายุ 53 วัน

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	5	19640.642	392.928	48.17
Error	18	146.814	8.156	
Total	23	2111.457		

C.V. = 38.837 %

ตารางผนวกที่ 3 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน ความรุนแรงของการเกิดโรคใบไหม้ในต้นข้าวอายุ 67 วัน

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	5	19640.642	392.928	48.17
Error	18	146.814	8.156	
Total	23	2111.457		

C.V. = 38.837 %

ตารางผนวกที่ 4 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน ความรุนแรงของการเกิดโรคใบไหม้ในต้นข้าวอายุ 74 วัน

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	5	1912.631	382.526	80.58
Error	18	85.447	4.747	
Total	23	1998.078		

C.V. = 22.583 %

ตารางผนวกที่ 5 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน ความรุนแรงของการเกิดโรคใบไหม้ในต้นข้าวอายุ 88 วัน

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	5	6182.003	1236.401	223.97
Error	18	99.368	5.520	
Total	23	6281.372		

C.V. = 17.155 %

ตารางผนวกที่ 6 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน ความรุนแรงของการเกิดโรคใบไหม้ในต้นข้าวอายุ 95 วัน

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	5	15265.448	3053.090	385.93
Error	18	142.399	7.911	
Total	23	15407.847		

C.V. = 10.849 %

ตารางผนวกที่ 7 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน ความรุนแรงของการเกิดโรคใบไหม้ในต้นข้าวอายุ 102 วัน

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	5	19370.620	3874.124	485.79
Error	18	143.518	7.973	
Total	23	19514.137		

C.V = 8.897 %

ตารางผนวกที่ 8 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน ความรุนแรงของการเกิดโรคใบไหม้ในต้นข้าวอาย 123 วัน

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	5	12228.82	2445.765	131.09
Error	18	335.835	18.657	
Total	23	12564.661		

C.V. = 15.019 %

ตารางผนวกที่ 9 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน ความรุนแรงของการเกิดโรคใบไหม้ในต้นข้าวอายุ 130 วัน

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	5	15541.080	3108.216	157.87
Error	18	354.403	19.689	
Total	23	15895.483		

C.V. = 13.433 %

ตารางผนวกที่ 10 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน น้ำหนักรวมของเมล็ด

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	5	3577.956	715.591	20.15
Error	18	639.321	35.518	
Total	23	4217.277		

C.V. = 19.651 %

ตารางผนวกที่ 11 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน เมล็ดดี

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	5	8321.415	1664.283	23.11
Error	18	1294.518	71.918	
Total	23	9615.933		

C.V. = 16.205 %

ตารางผนวกที่ 12 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน เมล็ดด่าง

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	5	38.267	7.654	0.52
Error	18	262.449	14.581	
Total	23	300.717		

C.V. = 32.475 %

ตารางผนวกที่ 13 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน เมล็ดลีบ

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	5	5214.770	1042.954	11.11
Error	18	1689.700	93.872	
Total	23	6904.470		

C.V. = 29.420 %

ภาคผนวก ง

ตารางผนวกที่ 14 ผลการจำแนกชนิดแบคทีเรีย (IDENTIFICATION'S REPORT)

รหัสตัวอย่าง	**บริเวณของลำดับนิวคลีโอไทด์**	**ลำดับนิวคลีโอไทด์ (5' -> 3')**
Burkholderia cepacia (BCMN 009)	16S rDNA	GATTGAACGCTGGCGGCATGCCTTACACATGCAAGT CGAACGGCAGCACGGGTGCTTGCACCTGGTGGCGAG TGGCGAACGGGTGAGTAATACATCGGAACATGTCCT GTAGTGGGGGATAGCCCGGCGAAAGCCGGATTAATA CCGCATACGATCTACGGATGAAAGCGGGGGACCTTC GGGCCTCGCGCTATAGGGTTGGCCGATGGCTGATTA GCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCCACCAAGGCGACGA TCAGTAGCTGGTCTGAGAGGACGACCAGCCACACTG GGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAG CAGTGGGGAATTTTGGACAATGGGCGAAAGCCTGAT CCAGCAATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGGT TGTAAAGCACTTTTGTCCGGAAAGAAATCCTGAGGG CTAATATCCTTCGGGGATGACGGTACCGGAAGAATA AGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT ACGTAGGGTGCGAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCG TAAAGCGTGCGCAGGCGGTTTGTTAAGACCGATGTG AAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCATTGGTGA CTGGCAAGCTAGAGTATGGCAGAGGGGGGTAGAATT CCACGTGTAGCAGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGG AATACCGATGGCGAAGGCAGCCCCCTGGGCCAATAC TGACGCTCATGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGG ATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCCTAAACGATGT CAACTAGTTGTTGGGGATTCATTTCCTTAGTAACGTA GCTAACGCGTGAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGT CGCAAGATTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCC

		GCACAAGCGGTGGATGATGTGGATTAATTCGATGCA
		ACGCGAAAAACCTTACCTACCCTTGACATGGTCGGA
		ACCTTGGAGAGATCCGGGGGTGCTCGAAAGAGAACC
		GATACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTG
		TCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCA
		ACCCTTGTCCTTAGTTGCTACGCAAGAGCACTCTAG
		GGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGG
		ATGACGTCAAGTCCTCATGGCCCTTATGGGTAGGGC
		TTCACACGTCATACAATGGTCGGAACAGAGGGTCGC
		CAACCCGCGAGGGGGAGCTAATCCCAGAAAACCGAT
		CGTAGTCCGGATTGCACTCTGCAACTCGAGTGCATG
		AAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCC
		GCGG
Burkholderia gladioli (BCMN001)	16S rDNA	GATTGAACGCTGGCGGCATGCCTTACACATGCAAGT
		CGAACGGCAGCACGGGTGCTTGCACCTGGTGGCGAG
		TGGCGAACGGGTGAGTAATACATCGGAACATGTCCT
		GTAGTGGGGGATAGCCCGGCGAAAGCCGGATTAATA
		CCGCATACGATCCACGGATGAAAGCGGGGGACCTTC
		GGGCCTCGCGCTATAGGGTTGGCCGATGGCTGATTA
		GCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCTACCAAGGCGACGA
		TCAGTAGCTGGTCTGAGAGGACGACCAGCCACACTG
		GGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAG
		CAGTGGGGAATTTTGGACAATGGGCGAAAGCCTGAT
		CCAGCAATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGGT
		TGTAAAGCACTTTTGTCCGGAAAGAAATCCTTGACT
		CTAATACAGTCGGGGGATGACGGTACCGGAAGAATA
		AGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT
		ACGTAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCG
		TAAAGCGTGCGCAGGCGGTTTGCTAAGACCGATGTG
		AAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCATTGGTGA

		CTGGCAGGCTAGAGTATGGCAGAGGGGGGTAGAATT
		CCACGTGTAGCAGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGG
		AATACCGATGGCGAAGGCAGCCCCCTGGGCCAATAC
		TGACGCTCATGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGG
		ATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCCTAAACGATGT
		CAACTAGTTGTTGGGGATTCATTTCCTTAGTAACGTA
		GCTAACGCGTGAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGT
		CGCAAGATTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCC
		GCACAAGCGGTGGATGATGTGGATTAATTCGATGCA
		ACGCGAAAAACCTTACCTACCCTTGACATGGTCGGA
		ATCCCGCTGAGAGGTGGGAGTGCTCGAAAGAGAACC
		GGCGCACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTG
		TCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCA
		ACCCTTGTCCTTAGTTGCTACGCAAGAGCACTCTAA
		GGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGG
		ATGACGTCAAGTCCTCATGGCCCTTATGGGTAGGGC
		TTCACACGTCATACAATGGTCGGAACAGAGGGTTGC
		CAACCCGCGAGGGGGAGCTAATCCCAGAAAACCGAT
		CGTAGTCCGGATTGCACTCTGCAACTCGAGTGCATG
		AAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCC
		GCGG
Burkholderia sp. (BCMN 0011)	16S rDNA	GATTGAACGCCGGCGGCATGCCTTACACATGCAAGTC
		GAACGGCAGCACGGGTGCTTGCACCTGGTGGCGAGTG
		GCGAACGGGTGAGTAATACATCGGAACATGTCCTGTA
		GTGGGGGATAGCCCGGCGAAAGCCGGATTAATACCGC
		ATACGATCCACGGATGAAAGCGGGGGACCTTCGGGCC
		TCGCGCTATAGGGTTGGCCGATGGCTGATTAGCTAGT
		TGGTGGGGTAAAGGCCTACCAAGGCGACGATCAGTAG
		CTGGTCTGAGAGGACGACCAGCCACACTGGGACTGAG
		ACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGA

ATTTTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCAATGC
CGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCACT
TTTGTCCGGAAAGAAATCCTTGACTCTAATACAGTCG
GGGGATGACGGTACCGGAAGAATAAGCACCGGCTAAC
TACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAAG
CGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCGCAGG
CGGTTTGCTAAGACCGATGTGAAATCCCCGGGCTCAA
CCTGGGAACTGCATTGGTGACTGGCAGGCTAGAGTAT
GGCAGAGGGGGGTAGAATTCCACGTGTAGCAGTGAAA
TGCGTAGAGATGTGGAGGAATACCGATGGCGAAGGCA
GCCCCCTGGGCCAATACTGACGCTCATGCACGAAAGC
GTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCA
CGCCCTAAACGATGTCAACTAGTTGTTGGGGATTCAT
TTCCTTAGTAACGTAGCTAACGCGTGAAGTTGACCGC
CTGGGGAGTACGGTCGCAAGATTAAAACTCAAAGGAA
TTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGATGATGTGGAT
TAATTCGATGCAACGCGAAAAACCTTACCTACCCTTG
ACATGGTCGGAATCCTGCTGAGAGGTGGGAGTGCTCG
AAAGAGAACCGGCGCACAGGTGCTGCATGGCTGTCGT
CAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAA
CGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTGCTACGCAAGAGC
ACTCTAAGGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGG
TGGGGGATGACGTCAAGTCCTCATGGCCCTTATGGGT
AGGGCTTCACACGTCATACAATGGTCGGAACAGAGGG
TTGCCAACCCGCGAGGGGGAGCTAATCCCAGAAAACC
GATCGTAGTTCCGGATTGCACTCTGCAACTCGAGTGC
ATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATG
CCGCGG