

แบคทีเรียปฏิบััษที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรากล่อโรคในข้าว

Antagonistic Bacteria for Inhibition of Pathogenic Fungi in Rice

วาสนา เนียมแสวง

Wasana Naiumsawang

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม 73000

Faculty of Science and Technology, Nakhon Pathom Rajabhat University 73000

Corresponding author; E-mail: wasana@webmail.npru.ac.th

Received: 20 August 2021 /Revised: 17 September 2021 /Accepted: 26 October 2021

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิบััษไอโซเลท G5-5 ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อรากล่อโรคในสภาพเรือนทดลอง จากผลการทดลองที่นำต้นข้าวอายุ 12 วัน มาฉีดพ่นด้วยเซลล์แบคทีเรีย 5×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 15 มิลลิลิตรต่อต้น ภายหลังจากการฉีดพ่น 17 วัน เริ่มทำการศึกษากการควบคุมโรคในใบข้าว โดยการเก็บเกี่ยวสปอร์เชื้อรา *Bipolaris oryzae* ที่ 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร ฉีดพ่น 15 มิลลิลิตรต่อต้น จากนั้นพืชถูกเก็บไว้ในห้องมืดและคลุมด้วยแผ่นพลาสติกสีดำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วเปิดพืชให้ได้รับแสง 12 ชั่วโมง และไว้ในที่มืด 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 3-7 วัน ทำการเก็บข้อมูลจากใบข้าวที่เป็นโรค พบว่า มีค่าดัชนีความรุนแรงของโรค เท่ากับ 41.00 เปอร์เซ็นต์ มีระดับความต้านทานโรคอยู่ในระดับ Moderate susceptible และมีประสิทธิภาพการควบคุมโรค เท่ากับ 54.61 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rhizoctonia solani* โดยนำต้นข้าวมาทำการพ่นเซลล์แบคทีเรียก่อนปลูกเชื้อรา เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นปลูกเชื้อรา โดยใช้ Cork borer เจาะขึ้นอาหาร PDA ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร หลังจากปลูกเชื้อราแล้ว ฉีดพ่นเซลล์แบคทีเรียต่ออีก 2 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 3 วัน เมื่อปลูกเชื้อเป็นเวลา 7 วัน สังเกตลักษณะอาการของโรค พบว่า เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค และเปอร์เซ็นต์หน่อที่เกิดโรค มีค่าเท่ากับ 14.16 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อนำแบคทีเรียมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น พบว่า โคโลนีมีสีขาวใส รูปร่างนูน เยี่ยม ขอบหยัก ผิวหน้าด้าน เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีรูปร่างแท่ง มีการจัดเรียงตัวของเซลล์เดี่ยวและต่อกันเป็นสาย มีการสร้างเอนโดสปอร์ จึงสันนิษฐานว่าเป็นแบคทีเรียสกุล *Bacillus*

คำสำคัญ: แบคทีเรียปฏิบััษ เชื้อรา *Rhizoctonia solani* เชื้อรา *Bipolaris oryzae*



Abstract

This study aimed to investigate antifungal efficiency of antagonistic bacteria G5-5 in experimental fields. The bacterial suspension (5×10^8 cells/ml) was sprayed on 12 days - rice plant in 15 ml/plant. Then, spore suspension of *Bipolaris oryzae* (10^{10} spore/ml) was sprayed into the plant with 15 ml/plant. Then plants were kept in the darkroom and covered with black plastic sheet for 24 hours. After that, the plants were exposed to light for 12 hours and then to dark for 12 hours. The light/dark cycle was conducted for 3-7 days. The results showed that the relative disease severity of antifungal against *Bipolaris oryzae* showed significantly at 41%, which represented a moderate susceptible level of inhibition. The biological control efficiency was 54.61%. The growth inhibition of *Rhizoctonia solani* was examined by spraying bacterial suspension 3 days before fungal inoculation. For fungal inoculation, the 0.5 cm of mycelium on PDA were punched by a cork borer. Then, the bacterial suspension was sprayed twice for 3 days interval. After 7 days of fungal inoculation, the percentage of disease severity and diseased rice shoots were 14.16 and 100%, respectively. The morphological study of antagonistic bacteria G5-5 showed that the colony was white translucent, raised, undulated and greasy. Gram staining indicated that it was a gram-positive rod with linear cell arrangement and endospore development. Therefore, we suggest that the antagonistic bacterium belongs to the genus *Bacillus*.

Keywords: Antagonistic bacteria, *Rhizoctonia solani*, *Bipolaris oryzae*

บทนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศกสิกรรมที่ทำการเพาะปลูกข้าวมากกว่าการเกษตรชนิดอื่น และสามารถผลิตข้าวเป็นสินค้าส่งออกเป็นอันดับต้นของโลก เพื่อให้ได้ผลผลิตเพียงพอต่อความต้องการในกระบวนการผลิตข้าว ในปัจจุบันเกษตรกรจึงมีความจำเป็นต้องใช้ปุ๋ยเคมีมากขึ้นเพื่อเห็นผลชัดเจนและมีประสิทธิภาพแน่นอน แต่เมื่อใช้เป็นประจำและต่อเนื่อง ทำให้ต้นทุนการผลิตเพิ่มสูงขึ้น และการใส่ปุ๋ยเคมีต่อเนื่องในระยะนาน มีผลกระทบต่อความอุดมสมบูรณ์ของดิน ส่งผลให้จุลินทรีย์ในดินและ

สิ่งมีชีวิตอื่นที่อาศัยในดินมีจำนวนลดลง ทำให้เกิดความไม่สมดุลขึ้น ส่งผลให้ไม่สามารถปลูกพืชที่ให้ผลผลิตสูงได้ อีกทั้งโรคพืชแพร่ระบาดได้ง่ายอีกด้วย¹ ปัญหาสำคัญที่ส่งผลต่อปริมาณและคุณภาพของข้าวอีกปัจจัยหนึ่งก็คือโรคในนาข้าว ซึ่งนับเป็นปัญหาที่สำคัญของเกษตรกรไทยเป็นอย่างมาก เนื่องจากโรคของข้าวนั้นมีมากมาย สาเหตุที่ทำให้เกิดโรคในนาข้าวได้แก่ เชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัส และไส้เดือนฝอย โดยสาเหตุของโรคในนาข้าวส่วนใหญ่ก็มีสาเหตุมาจากเชื้อรา เช่น โรคไหม้ โรคกาบใบแห้ง โรคใบจุดสีน้ำตาล และโรคเมล็ดต่าง เป็นต้น ปัจจุบันการควบคุม



โรคพืชโดยชีววิธีเป็นที่ยอมรับในการนำมาใช้เป็นส่วนหนึ่งของการจัดการโรคพืชแบบผสมผสาน เนื่องจากเป็นวิธีที่ปลอดภัยและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม การควบคุมโรคพืชโดยการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์จึงเป็นวิธีการที่นำผลจากปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ ซึ่งตามปกติจะมีการควบคุมปริมาณของสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ ด้วยกันเองอยู่แล้ว² ซึ่งถือว่าเป็นวิธีการที่ได้รับการยอมรับและมีโอกาสสูงที่จะนำไปสู่การป้องกันกำจัดโรค จากรายงานการวิจัยของปีลันธนา และศรวิชัย³ ได้ศึกษาการควบคุมโรคกาบใบแห้งที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ไอโซเลท RSLPN - 4 โดยวิธีการพ่นชีวภัณฑ์เชื้อ *Bacillus megaterium* ในสภาพเรือนทดลอง พบว่าชีวภัณฑ์ดังกล่าวสามารถลดความรุนแรงของโรคกาบใบแห้งได้ และจากรายงานของ ปันณวิชัย และคณะ⁴ ที่ได้ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Bipolaris oryzae* NS-04 สาเหตุโรคเมล็ดต่าง พบว่า *Trichoderma* sp. NS-03 และ *Bacillus* sp. NS - 02 สามารถยับยั้งเชื้อ *B. oryzae* NS - 04 ไม่แตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ทางการค้า และเมื่อนำผงเชื้อปฏิปักษ์ที่ความเข้มข้น 2×10^5 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ฉีดพ่นจำนวน 2 ครั้ง เพื่อควบคุมโรคเมล็ดต่างในสภาพโรงเรือน พบว่าสามารถลดการเกิดโรคได้นอกจากนี้แบคทีเรียปฏิปักษ์ในสกุล *Bacillus* sp. และ *Pseudomonas* sp. มีการใช้กันอย่างแพร่หลายในการควบคุมโรคใบจุดสีน้ำตาลในข้าวที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *B. oryzae*⁵

ดังนั้นการทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มี

ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่ก่อโรคในนาข้าว ได้แก่ *R. solani* และ *B. oryzae* ในสภาพเรือนทดลอง

วิธีการวิจัย

1. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท G5-5 ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *B. oryzae* ในสภาพเรือนทดลอง

แช่เมล็ดข้าวในน้ำกัลัน เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วเพาะในถาดที่มีกระดาษดูดซับน้ำ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นหว่านเมล็ดที่งอกบนถาดที่มีดินฆ่าเชื้อ เพาะนาน 7 วัน จึงย้ายไปปลูกในกระถางพลาสติกที่มีส่วนผสมของดินและปุ๋ยหมัก ในอัตราส่วน (3:1) เป็นเวลา 12 วัน จึงนำไปใช้ในการทดลองได้ โดยมีการทดลอง 3 ชุดการทดลอง ดังนี้ ชุดควบคุมที่ 1 ฉีดพ่นด้วยน้ำกัลัน ชุดควบคุมที่ 2 ฉีดพ่นด้วยสารกำจัดเชื้อรา และชุดทดลองที่ 3 ฉีดพ่นด้วยเซลล์แบคทีเรีย 5×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยฉีดพ่น 15 มิลลิลิตรต่อต้น จำนวน 3 ครั้ง หลังจากการฉีดพ่นเซลล์แบคทีเรียบนต้นกล้าข้าว นาน 17 วัน เริ่มทำการศึกษารักษาการควบคุมโรคในใบข้าว โดยปลูกเชื้อราก่อโรคบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) บริษัท Himedia ประเทศอินเดีย ปมที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน จึงเก็บเกี่ยวสปอร์เชื้อราที่ 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร ฉีดพ่น 15 มิลลิลิตรต่อต้น หลังฉีดพ่น พืชถูกเก็บไว้ในห้องมืดและปกคลุมด้วยแผ่นพลาสติกสีดำ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นเปิดพืชให้ได้รับแสง 12 ชั่วโมง และไว้ในที่มืด 2 ชั่วโมง เป็นเวลา 3-7 วัน จากนั้นเก็บข้อมูลจากใบข้าวที่เป็นโรค จำนวน 6 ใบต่อต้น จากของแต่ละการทดลอง และให้คะแนนการเกิดโรคในใบข้าว



โดยใช้ระดับคะแนน 0 - 5 ดังนี้ (0) บ่งชี้ไม่มีอาการ ; (1) รอยแผลติดเชื้อ < 2% ของพื้นที่ใบ ; (2) รอยแผลติดเชื้อ 10 - 25% ของพื้นที่ใบ ; (3) รอยแผลติดเชื้อ 26 - 50% ของพื้นที่ใบ (4) รอยแผลติดเชื้อ 51 - 75% ของพื้นที่ใบ และ (5) รอยแผลติดเชื้อทั้งใบ นำมาคำนวณค่าดัชนีความรุนแรงของโรค และแปรระดับความต้านทาน ตามวิธีของ เจษฎากร และคณะ⁶ โดยกำหนดค่าดัชนีความรุนแรงของโรคในแต่ละระดับ ดังนี้ 0 = very resistance (VR), 1 - 20% = resistance (VR), 21 - 40% = moderate resistance (MR), 41 - 60% = moderate susceptible (MS), 61 - 80% = susceptible (S), 81 - 100% = very susceptible (VS) และคำนวณประสิทธิภาพการควบคุมโดยชีววิธี

ประสิทธิภาพการควบคุมโรค = $[(LC - LT)/LC] \times 100\%$

เมื่อ LC คือ ค่าเฉลี่ยของจำนวนแผลโรคที่ตรวจพบในกรรมวิธีควบคุมและการประเมินความรุนแรงของโรค

LT คือ ค่าเฉลี่ยของจำนวนแผลโรคที่ตรวจพบในกรรมวิธีทดสอบจากเชื้อสาเหตุ

2. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิบั๊กษ์ไอโซเลท G5-5 ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. solani* ในสภาพเรือนทดลอง

R. solani เป็นเชื้อราที่ไม่สร้างสปอร์จึงดัดแปลงจากวิธีของ ปิลันธนา และศรวิชัย³ โดยนำต้นข้าวอายุ 12 วัน มาทำการฉีดพ่นเซลล์แบคทีเรีย 5×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยการฉีดพ่น 15 มิลลิลิตรต่อต้น ก่อนปลูกเชื้อราเป็นเวลา 3 วัน จากนั้นปลูกเชื้อราก็โรคบนกาบใบข้าว โดยใช้ Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะขึ้นอาหาร PDA

ที่มีเชื้อรา *R. solani* เจริญเป็นเวลา 5 - 7 วัน หลังจากปลูกเชื้อราแล้ว ฉีดพ่นเซลล์แบคทีเรียอีก 2 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 3 วัน และฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่นในกรรมวิธีควบคุม หลังปลูกเชื้อเป็นเวลา 7 วัน สังเกตลักษณะอาการของโรคและบันทึกข้อมูลทั้งด้านการเจริญเติบโตและด้านโรค โดยวัดความสูงของต้นข้าว นับจำนวนหน่อต่อกอ วัดความสูงของแผลที่ถูกเชื้อสาเหตุเข้าทำลาย วัดความสูงของต้นข้าวแต่ละหน่อ และนับจำนวนหน่อที่เกิดโรค จากนั้นนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค (% relative lesion height, %RLH) ตามวิธีของ พากเพียร และคณะ⁷ และเปอร์เซ็นต์หน่อที่เกิดโรค (% of infected rice tillers) มีสูตรการคำนวณ ดังนี้

เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค (%RLH) = $\frac{\text{ความสูงของแผล/ความสูงของต้นข้าว}}{\text{ความสูงของต้นข้าว}} \times 100$

เปอร์เซ็นต์หน่อที่เกิดโรค = $\frac{\text{จำนวนหน่อที่แสดงอาการของโรค/จำนวนหน่อทั้งหมด}}{\text{จำนวนหน่อทั้งหมด}} \times 100$

3. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นของแบคทีเรียปฏิบั๊กษ์ไอโซเลท G5-5

นำแบคทีเรียปฏิบั๊กษ์ไอโซเลท G5-5 ที่คัดแยกได้จากดินบริเวณนาข้าวในพื้นที่อำเภอบางเลน จังหวัดนครปฐม มา Cross streak บนอาหาร Nutrient agar (NA) บริษัท Himedia ประเทศอินเดีย บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการย้อมสีแบบแกรม และตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่กำลังขยาย 1000 เท่า เพื่อศึกษารูปร่างและลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น

4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA) พร้อมทั้งคำนวณค่าความถี่ ร้อยละ และ



ค่าเฉลี่ย โดยวิเคราะห์ความสัมพันธ์ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P \leq 0.05$) โดยใช้โปรแกรม SPSS ด้วยวิธี Scheffe

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตสารยับยั้งของแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท G5-5 ในห้องปฏิบัติการ พบว่า เมื่อเพาะเชื้อในอาหาร NB ที่มีค่า pH 5 บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า แบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท G5-5 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. solani* ได้ดีที่สุดในค่าเท่ากับ 85.33 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งอยู่ในระดับสูงมาก และมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง

การเจริญของเชื้อรา *B. oryzae* ได้ดีที่สุดในค่าเท่ากับ 66.94 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งอยู่ในระดับสูง จากผลการทดลองดังกล่าวผู้วิจัยจึงได้คัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท G5-5 มาศึกษาต่อในสภาพเรือนทดลอง ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *B. oryzae* โดยเก็บข้อมูลจากใบข้าวที่เป็นโรค พบว่า ค่าดัชนีความรุนแรงของโรค มีค่าเท่ากับ 41.00 เปอร์เซ็นต์ มีระดับความต้านทานโรคเป็น moderate susceptible และมีประสิทธิภาพการควบคุมโรคเท่ากับ 54.61 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ($P \leq 0.05$) ดังแสดงใน (Table 1) และ (Figure 1)

Table 1. Efficacy of antagonist bacteria isolate G5-5 in inhibiting the growth of *B. oryzae*

Treatment	Disease severity (%)	Resistance level	Biological control efficacy (%)
Sterile water	90.33 ^c	Very susceptible	0.00 ^a
Fungicide	0.00 ^a	Very resistance	100.00 ^c
Bacterial cell spray	41.00 ^b	Moderate susceptible	54.61 ^b

Note: Different letters (a, b, c) in the same column indicate that the results are significantly different at $p \leq 0.05$ using the Scheffe's method.

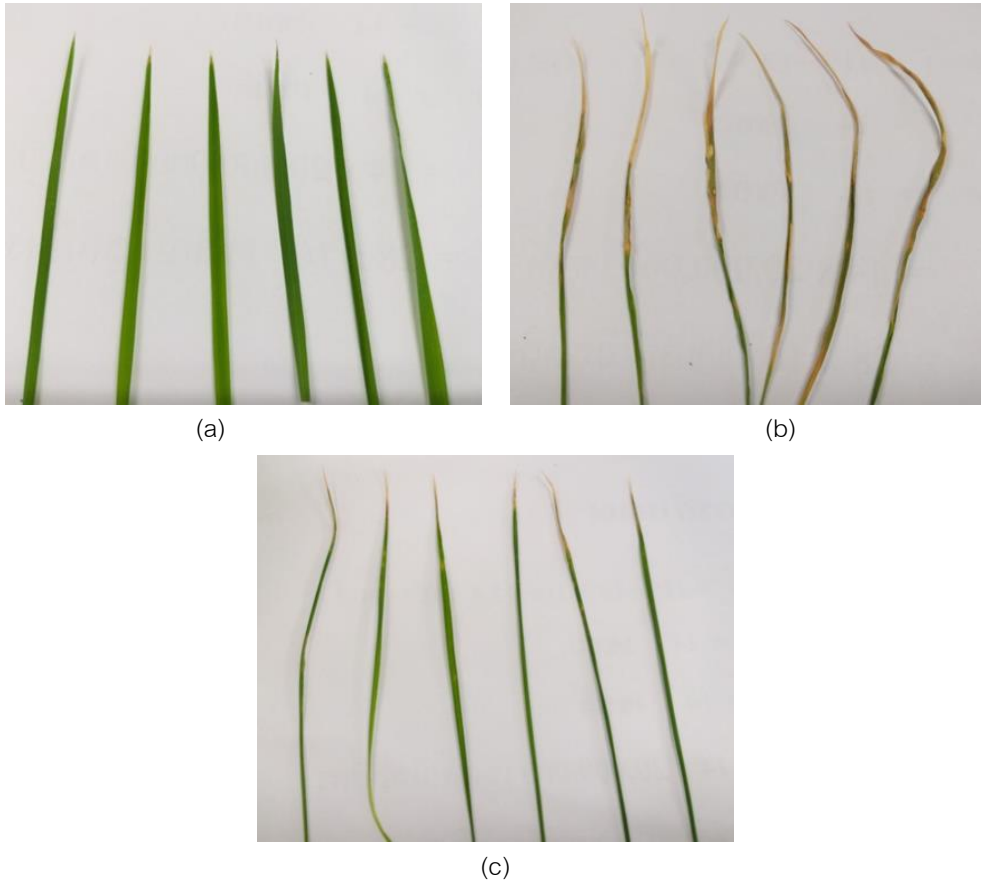


Figure 1. The efficacy of antagonistic bacteria for inhibition of *B. oryzae* growth on rice leaves at 7 days after pathogenic fungus inoculation. (a) Sterile water (b) Fungicide (c) Bacterial cell spray

ซึ่งจากการศึกษาการควบคุมโรคใบไหม้ในข้าว โดยชีววิธี (Biological control agents: BCAs) ของ Tokpah et al.⁸ พบว่า มีผลการควบคุมโรคตั้งแต่ 18.08 -77.50 เปอร์เซ็นต์ และประสิทธิภาพการควบคุมโดยชีววิธีที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ คือ 75 เปอร์เซ็นต์ และ 77.50 เปอร์เซ็นต์ แต่จากผลการทดลองดังกล่าว ประสิทธิภาพการควบคุมโรคเท่ากับ 54.61 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าน้อยกว่า 75 เปอร์เซ็นต์ จึงอาจจะไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการควบคุมโรคโดยชีววิธีได้

ส่วนการทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิบัคส์ไอโซเลท G5-5 ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *R. solani* พบว่า เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค มีค่าเท่ากับ 14.16 เปอร์เซ็นต์ และเปอร์เซ็นต์หน่อที่เกิดโรคมียค่าเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ดังแสดงใน (Figure 2)



Figure 2. Characteristics of rice leaf lesion caused by *R. solani* at 7 days after pathogenic fungus inoculation. (a) Sterile water (b) Fungicide (c) Bacterial cell spray

จากเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคอยู่ในระดับต่ำ สามารถลดการเกิดโรคหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรค ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ จิระเดช และคณะ⁹ ที่มีการทดสอบประสิทธิภาพของ ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus siamensis* RRK1-Rif ในการลดการเกิดโรคกาบใบแห้ง (*R. solani*) พบว่า สามารถลดการเกิดโรคหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคที่ 14 วัน เท่ากับ 49.80–60.14 เปอร์เซ็นต์ และจากรายงานการวิจัยของ ปิณฑนา และ ศราวิชญ์³ ที่ได้ศึกษาการควบคุมโรคกาบใบแห้ง (*R. solani*) ด้วยไฮโซเลท RSLPN-4 โดยวิธีการพ่นชีวภัณฑ์เชื้อ *B. megaterium* ในสภาพเรือนทดลอง พบว่า ชีวภัณฑ์ดังกล่าวสามารถลดความรุนแรงของโรคกาบใบแห้งได้ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม จากผลการทดลองถึงแม้ว่าเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคจะอยู่ในระดับต่ำ คือ

สามารถช่วยลดความรุนแรงของโรคได้ แต่เปอร์เซ็นต์หน่อที่เกิดโรคอยู่ในระดับสูง เนื่องจากหน่อข้าวทุกต้นมีการเกิดโรค จึงทำให้ไม่สามารถควบคุมโรคได้ ดังนั้นการฉีดพ่นเซลล์แบคทีเรียไฮโซเลท G5-5 โดยตรง อาจจะไปประยุกต์ใช้ในแปลงเกษตรจริงไม่ได้ ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาวิธีการนำแบคทีเรียไปใช้ประโยชน์รูปแบบอื่นต่อไป

และเมื่อนำแบคทีเรียไปใช้ไฮโซเลท G5-5 มา Cross streak บนอาหาร NA บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาย้อมสีแบบแกรม เพื่อตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่กำลังขยาย 1000 เท่า ศึกษารูปร่าง และลักษณะเบื้องต้น พบว่า โคโลนีมีสีขาวใส รูปร่างท่อน เยี่ยม ขอบหยัก ผิวหน้าด้าน เมื่อย้อมสีแบบแกรม พบว่าเป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีรูปร่างแท่ง มีการจัดเรียงตัวของเซลล์เดี่ยวและต่อกันเป็นสาย มีการสร้างเอนโดสปอร์ จัดเป็นแบคทีเรียสกุล *Bacillus* ดังแสดงใน (Figure 3)

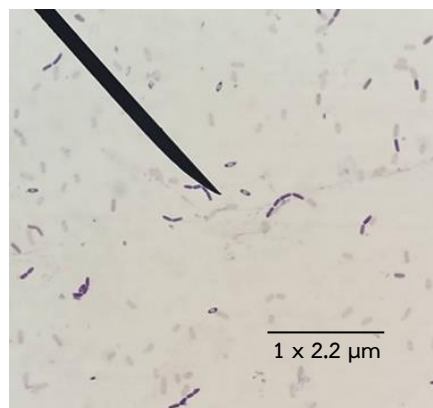


Figure 3. Cell morphology of antagonistic bacterium isolate G5-5 under a light microscope at 1000x magnification



สอดคล้องกับการศึกษาของ Nicholson et al.¹⁰ *Bacillus* เป็นพวกแอโรบิกเฮเทอโรโทรฟกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกที่สร้างสปอร์และมีแหล่งอาศัยที่หลากหลายจากหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้องกันที่ทำให้แบคทีเรียปฏิบักระแสดงความสามารถในการควบคุมโรคในสภาพเรือนทดลองที่แตกต่างกัน เมื่อแบคทีเรียปฏิบักระอาศัยบนใบข้าวเข้าครอบครองพื้นผิวใบข้าวและเชื้อราสาเหตุโรคเข้าทำลาย การใช้กลไกต่าง ๆ ของแบคทีเรียปฏิบักระกับเชื้อราสาเหตุโรคที่เกิดขึ้นมีปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้น ความแข็งแรงของต้นข้าว และปัจจัยอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง มีผลให้การควบคุมโรคแตกต่างกัน¹¹ นอกจากนี้วิธีการนำแบคทีเรียปฏิบักระไปใช้โดยการฉีดพ่นเซลล์แบคทีเรียโดยตรงลงบนใบข้าว อาจจะเป็นวิธีที่ไม่เหมาะสมเท่าที่ควร ถึงแม้แบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* ส่วนใหญ่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30-37 องศาเซลเซียส แต่แบคทีเรียปฏิบักระไอโซเลท G5-5 เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ดังนั้นการนำไปใช้อาจจะต้องผลิตสารชีวภัณฑ์ในรูปแบบอื่น ๆ เช่น รูปแบบผงรูปแบบแกรนูลละลายน้ำ และรูปแบบเม็ดฟู เป็นต้น¹² เพื่อให้เชื้อถูกปลดปล่อยออกมาอย่างช้า ๆ ในภายหลังการฉีดพ่น

สรุปผลการวิจัย

การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิบักระไอโซเลท G5-5 ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *B. oryzae* พบว่า มีค่าดัชนีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 41.00 เปอร์เซ็นต์ มีระดับความต้านทานโรคเป็น Moderate susceptible มีประสิทธิภาพการควบคุมโรค เท่ากับ 54.61 เปอร์เซ็นต์ และมีฤทธิ์ยับยั้ง

การเจริญของเชื้อรา *R. solani* พบว่า เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค มีค่าเท่ากับ 14.16 เปอร์เซ็นต์ และเปอร์เซ็นต์หน่อที่เกิดโรค มีค่าเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และเมื่อนำแบคทีเรียปฏิบักระไอโซเลท G5-5 มาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น พบว่า โคลินีสีสีขาวใส รูปร่างนูน เยี่ยม ขอบหยัก ผิวหน้าด้าน เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีรูปร่างแท่ง การจัดเรียงตัวของเซลล์มีทั้งเซลล์เดี่ยวและต่อกันเป็นสาย มีการสร้างเอนโดสปอร์ จึงสันนิษฐานว่าเป็นแบคทีเรียสกุล *Bacillus*

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.) และมหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม ที่สนับสนุนทุนการวิจัยครั้งนี้ และขอขอบคุณสาขาวิชาจุลชีววิทยาที่ให้ความอนุเคราะห์ใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ในการดำเนินงาน ทำให้การวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. วชิราวุธ ชนะเคน. การวิเคราะห์ลักษณะประจำพันธุ์ภายใต้สภาพแวดล้อมที่ต่างกัน และการตอบสนองต่อปุ๋ยไนโตรเจนของข้าวไร่พันธุ์ท้องถิ่นที่บ้านอาโยะใหม่ อำเภอแม่ฟ้าหลวง จังหวัดเชียงราย [วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต]. เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; 2552.
2. สายชล โนชัย, สมบัติ ศรีชูวงศ์. ประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิบักระที่แยกได้จากเมล็ดข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในการควบคุมโรคถดถุดักคอบในต้นกล้าข้าว. วารสารเกษตร 2550;23(1):59-65.



3. ปิไลนธนา ฐาปนพงษ์วรกุล, ศราวิชญ์ สายมงคล. ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิบั๊กษ์ *Bacillus megaterium* สายพันธุ์ No.16 ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าวพันธุ์ กข6. วารสารเกษตร 2558;31(3):301-10.
4. ปภัณณวิชญ์ เย็นจิตต์, ธิดา เดชชวบ, วาริน อินทนา. การประยุกต์ใช้ร่วมกันของผงเชื้อ *Trichoderma* sp. และ *Bacillus* sp. ต่อการควบคุมโรคเมล็ดต่างที่เกิดจาก *Bipolaris oryzae* ในข้าว. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 2561;49(1):15-26.
5. Rajasekar G, Ebenezar EG, Thiruvudainambi S, Vanniarajan C, Shanthi M. Antifungal activity of rice associated phyllosphere (RAP) communities against brown spot of rice (*Bipolaris oryzae*). Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 2019;8(6):171-5.
6. เจษฎากร หลวงมณี, ปรเมศ บรรรเทิง, อนันต์ วงเจริญ. การประเมินความต้านทานของโรคใบไหม้ของข้าวเหนียวดำในระยะแตกกอหลังการปลูกเชื้อ 7 และ 14 วัน. วารสารแก่นเกษตร 2559;44 (ฉบับพิเศษ 1):1126-30.
7. พากเพียร อนัญนารถ, นงรัตน์ นิลพานิชย์, วิจิตต์ ศิริสันธนะ, สมคิด ดิสถาพร. ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าว. วารสารวิชาการเกษตร 2544;19(1):4-12.
8. Tokpah DP, Li H, Wang L, Liu X, Mulbah QS, Liu H. An assessment system for screening effective bacteria as biological control against *Magnaporthe grisea* on rice. Biological Control 2016;103:21-9.
9. จิระเดช แจ่มสว่าง, วรณวิไล อินทหนู, บังอร น้อยไธย์. ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *Bacillus siamensis* RRK1-Rif ในการลดการเกิดโรคกาบใบแห้งและโรคเมล็ดต่างของข้าว. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 2561;49(1):1-14.
10. Nicholson WL, Munakata N, Horneck G, Melosh HJ, Setlow P. Resistance of *Bacillus* endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial environments. Microbiol Mol Biol Rev 2000;64(3):548-72.
11. ชนสิริน กลิ่นมณี, เสาวนีย์ ศรีบัว. การใช้จุลินทรีย์ปฏิบั๊กษ์ควบคุมโรคใบจุดสีน้ำตาลข้าว. ในการประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ครั้งที่ 35 พ.ศ. 2561; วันที่ 26-28 มิถุนายน 2561; โรงแรมแชนด์ ดูนส์ เจ้าหลาว บีช รีสอร์ท. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2561. หน้า132-40.
12. ดาราวดี วงษ์ชาติ. ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิบั๊กษ์ *Bacillus* สูตร ENCAPSULATE ในการควบคุมโรค แอนแทรคโนสของพริก [วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต]. นครราชสีมา: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี; 2558.