วารสารแก่นเกษตร
THAIJO

Content List Available at ThaiJo

Khon Kaen Agriculture Journal

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

การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Fusarium fujikuroi* สาเหตุโรคถอดฝักดาบข้าว

Selection of antagonistic bacteria against *Fusarium fujikuroi* causing bakanae disease of rice

จุฬารัตน์ หน่อแก้ว[1], วันพร เข็มมุกด์[2], โรเบิร์ต เจมส์ แมกกอฟเวิ่น[1] และ ชัยวัฒน์ โตอนันต์[1]*

Jurarat Norkaew[1], Wanporn Khemmuk[2], Robert J. McGovern[1] and Chaiwat To-anun[1]*

[1] *ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200*

[1] *Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200*

[2] *สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว เขตจตุจักร กทม. 10900*

[2] *Bureau of Rice Research and Development, Rice Department, Chatuchak, Bangkok 10900*

บทคัดย่อ: การศึกษาผลของแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้จากดินบริเวณรอบรากข้าวต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium fujikuroi* สาเหตุโรคถอดฝักดาบของข้าว โดยจากการแยกเชื้อราสาเหตุโรคถอดฝักดาบของข้าวได้รวม 58 ไอโซเลต เมื่อทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรค พบเชื้อรา *F. fujikuroi* ไอโซเลต CRFuRD-7 เป็นสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดความรุนแรงของโรคสูงสุด เมื่อนำเชื้อดังกล่าวมาทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียในดินที่แยกเชื้อได้จากบริเวณรอบรากข้าวโดยวิธี dual culture พบว่าเชื้อแบคทีเรียในดินบริเวณรอบรากข้าว ไอโซเลต RC-1, RR-51 และ SR-31 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 46.23, 52.69 และ 53.23 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ หลังจากนั้นจึงทำการทดสอบการสร้างสารเมตาโบไลท์ของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลต คือ RC-1, RR-51 และ SR-31 พบว่าเชื้อดังกล่าวสามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลส อะไมเลส และสร้างไซเดอร์โรฟอร์ได้ ผลการทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียต่อการควบคุมโรคถอดฝักดาบบนเมล็ด พบว่าสามารถลดการเกิดโรคบนเมล็ดได้ โดยกรรมวิธีแช่ด้วยสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลตก่อนนำไปทดสอบด้วยเชื้อราสาเหตุโรค *F. fujikuroi* มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 39.50 36.25 และ 39.00 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 81.75 เปอร์เซ็นต์ จากการหาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rRNA ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ใช้ในการทดลองนี้ พบว่าเป็นเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens*

คำสำคัญ: แบคทีเรีย; โรคถอดฝักดาบ; *Fusarium fujikuroi,* ข้าว

ABSTRACT: The study on the effect of antagonistic bacteria isolated from rice rhizosphere soil, on growth inhibition of *Fusarium fujikuroi*, causing the bakanae disease of rice. According to the test of pathogenicity of 58 isolates of *F. fujikuroi* which were isolated from diseased plants, the *F. fujikuroi* isolate CRFuRD-7 caused the highest disease severity. The antagonistic bacteria were tested for the mycelial growth inhibition of the *F. fujikuroi* isolate by the dual culture

* Corresponding author: chaiwat.toanun@gmail.com

Received: date; January 28, 2020 Accepted: date; July 21, 2020 Published: date February 15, 2021

method. Three isolates of antagonistic bacteria, RC-1, RR-51 and SR-31, showed high activity in suppression of the mycelial growth of *F. fujikuroi* with the percentages of 46.23, 52.69 and 53.23, respectively. These three isolates of antagonistic bacteria were tested on metababolic production. They were found to be capable of producing the enzymes cellulase, amylase, and siderophores. Therefore, these three isolates of antagonistic bacteria were tested on rice seed. The results found that the occurrence of diseases on the seeds could be reduced by soaking in bacterial suspensions of the three isolates before being challenged with *F. fujikuroi*. The percentages of disease incidence were about 39.50, 36.25 and 39.00 percent, respectively, compared with 81.75 percent in the control. Based on the nucleotide sequences of the 16S rDNA of these antagonistic bacteria, they were identified as *Bacillus amyloliquefaciens.*

Keywords: antagonistic bacteria; bakanae disease; *Fusarium fujikuroi*; rice

---

บทนำ

ข้าว (*Oryza sativa* L.) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ผลผลิตข้าวยังเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งภายในและต่างประเทศ แต่ในปัจจุบันพบว่าความสามารถในการผลิตข้าวของประเทศไทยลดลง (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2562) ซึ่งหนึ่งปัญหาที่ทำให้ผลผลิตข้าวลดลงมีสาเหตุเกิดจาก โรคถอดฝักดาบ (Bakanae disease) ของข้าว ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Fusarium fujikuroi* Nirenberg (synonym : *Fusarium moniliforme*) โรคนี้พบการระบาดทั่วโลกที่มีการปลูกข้าว โดยมีการรายงานว่าโรคดังกล่าวนี้ทำให้ผลผลิตข้าวลดลง 3-94 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งขึ้นอยู่กับพื้นที่ปลูกและสายพันธุ์ของข้าว (Gupta et al. 2015) แต่ในประเทศไทยพบมากในนาน้ำฝนทั้งภาคเหนือ ภาคตะวันออก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยเชื้อราสาเหตุโรคถอดฝักดาบสามารถติดไปกับเมล็ด หรือปนเปื้อนภายในดิน (อรทัย, 2555; Kazempour andElahinia, 2007; Sunder and Satyavir, 1997) เมื่อพบการระบาดของโรคถอดฝักดาบ เกษตรกรส่วนใหญ่มักเลือกใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัด แต่ปัจจุบันสารเคมีป้องกันกำจัดมีราคาสูงขึ้นและใช้สารเคมีอย่างผิดวิธีหรือมากเกินความจำเป็น ส่งผลต่อต้นทุนทางการผลิต มีผลกระทบต่อสุขภาพของผู้ใช้ และผู้บริโภค รวมทั้งกระตุ้นให้เชื้อโรคพืชเกิดการต้านทานต่อสารเคมี และก่อให้เกิดความเสียหายต่อต้นพืชเพิ่มมากขึ้น (Burr et al. 1988) วิธีการที่สามารถลด หรือหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมี คือ การให้เกษตรกรใช้วิธีการควบคุมโดยชีววิธี เช่น สายชล และสมบัติ (2550) ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. ในการป้องกันกำจัดเชื้อรา *F. moniliforme* บนเมล็ดข้าว โดยสามารถลดเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อของเมล็ดและเพิ่มความงอกของเมล็ด ความงอกในแปลงกล้า ความยาวต้น ความยาวราก น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของต้นกล้า ซึ่งได้ผลใกล้เคียงกับงานวิจัยของอนันต์ (2557) ที่ได้ทดสอบเชื้อราเอนโดไฟต์จากข้าวในการยับยั้งราสาเหตุโรคข้าว พบว่าเมล็ดที่แช่ด้วยสปอร์แขวนลอยของเชื้อราเอนโดไฟต์ ไอโซเลท GR03 สามารถลดการเกิดกล้าเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Bipolaris oryzae, Curvularia lunata, Fusarium sp.* ไอโซเลท FSK2 ส่วนชวลิต และเกวลิน (2560) ศึกษาการใช้ชีวภัณฑ์แอกติโนไมซีสต์ในควบคุมโรคถอดฝักดาบของข้าวไรซ์เบอร์รี่ในระยะกล้าด้วย พบว่า แอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ 3 ไอโซเลท คือ PRE5, CINv1 และ CEN26 มีประสิทธิภาพการควบคุมโรคถอดฝักดาบในระยะกล้า และ Matic et al. (2014) ศึกษาประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิปักษ์ร่วมกับการใช้ความร้อนในการควบคุม *Fusarium fujikuroi* บนเมล็ด พบว่า ยีสต์สามารถลดการเข้าทำลายของโรคถอดฝักดาบได้ จากผลงานวิจัยที่ได้มีรายงานไว้ข้างต้นแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ สามารถนำมาใช้ในการควบคุมทางชีววิธีได้อย่างมีประสิทธิภาพ เชื้อแบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ชนิดหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคได้ และยังสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญของพืชได้อีกด้วย (Vessey, 2003) การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ซึ่งเป็นแนวทางหนึ่งในการหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมี (Luo et al. 2005) ลดการต้านทานของเชื้อสาเหตุต่อสารเคมี (สุภาณี, 2540) และลดความเสี่ยงจากสารตกค้างอีกด้วย ในการทดลองครั้งนี้จึงได้คัดเลือกแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในดินบริเวณรอบรากข้าว มาใช้

ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคถอดฝักดาบข้าว และส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช Chung et al. (2015) ได้นำแบคทีเรียบริเวณรอบรากข้าวมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคข้าวที่สำคัญ นอกจากนี้ Kazempour and Elahinia (2007); Rosales and Mew (1997) ยังได้รายงานผลการใช้ เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* และ *Bacillus cereus* ว่าได้ผลดีในการควบคุมโรคถอดฝักดาบ ที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium moniliforme* หรือ *F. fujikuroi* อีกด้วย นอกจากนี้ Zhao et al. (2014) นำเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* มาทดสอบกับเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรครวม 22 ไอโซเลท พบว่าเชื้อ *B. amyloliquefaciens* สามารถยับยั้งเชื้อรา *Fusarium* spp. ได้หลายชนิด ได้แก่ *F. semitectum, F. oxysporum f.sp. spinaciae, F.graminearum F. oxysporum f.sp. cucumerinum* และ *F. moniliforme* ได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยวัตถุประสงค์ของงานวิจัยในครั้งนี้เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้จากดินบริเวณรอบรากข้าวในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium fujikuroi* สาเหตุโรคถอดฝักดาบ และทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคบนเมล็ดพันธุ์ข้าวในสภาพห้องปฏิบัติการ

วิธีการศึกษา

เก็บแยกเชื้อราสาเหตุและทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคของโรคถอดฝักดาบข้าว

ทำการแยกเชื้อราสาเหตุโรคถอดฝักดาบจากข้าวพันธุ์ กข 6 จากศูนย์วิจัยเชียงราย และแปลงปลูกข้าวในพื้นที่ อำเภอสันกำแพง จังหวัดเชียงใหม่ ด้วยวิธี tissue transplanting method โดยนำต้นข้าวมาล้างด้วยน้ำสะอาด จากนั้นตัดข้อปล้องหรือโคนต้นเหนือราก ฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย 10% Clorox (a.i. sodium hypochlorite) เป็นเวลา 3 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อผึ่งให้แห้ง แล้ววางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1-2 วัน เมื่อพบเส้นใยเจริญออกมาจากชิ้นพืช ใช้เข็มเขี่ยตัดปลายเส้นใย นำมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สังเกตลักษณะของเส้นใยและโคโลนีที่เจริญบนอาหารเพื่อนำไปศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และเก็บเชื้อราบริสุทธิ์บน Spezieller Nahrstoffarmer agar slant (Amatulli et al. 2010) เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

การทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรค

ทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคถอดฝักดาบจากเชื้อราที่แยกได้โดยใช้วิธี seed inoculation assay (Jeon et al., 2013) โดยเลี้ยงเชื้อรา *Fusarium* sp. บนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส จากนั้นเทน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วบนผิวหน้าอาหาร ใช้แท่งแก้วขูดผิวหน้าให้เชื้อกระจายในน้ำกลั่น แล้วนำมากรองผ่านผ้าขาวบาง ปรับความเข้มข้นของสปอร์ของเชื้อราให้มีความเข้มข้น 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำเมล็ดข้าวที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วแช่ลงในสารแขวนลอยของสปอร์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเพาะลงบนกระถาง บันทึกผลหลังปลูกเชื้อเป็นเวลา 14 และ 21 วันหลังการปลูกเชื้อ เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่แช่เมล็ดในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

การจำแนกชนิดของเชื้อรา *Fusarium* sp. สาเหตุโรคถอดฝักดาบ

นำเชื้อราสาเหตุ *Fusarium* sp. เลี้ยงในอาหาร potato dextrose broth (PDB) ที่บรรจุอยู่ในขวดรูปชมพู่ แล้วนำไปบ่มพร้อมเขย่าเป็นเวลา 6-8 ชั่วโมง ทำการกรองเสนใยด้วยเครื่องปั๊มสุญญากาศเก็บเส้นใยที่กรองได้ในแผ่นกระดาษกรอง whatman NO.1 นำไปทำให้แห้งด้วยวิธี freeze dye (lyophilization) เป็นเวลา 14-18 ชั่วโมง และเก็บที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส Weising et al. (2000)สกัดแยกดีเอ็นเอโดยใช้ phenol และ chloroform: isoamyl alcohol (24:1) 500 ไมโครลิตร ดัดแปลงมาจากวิธีของ Zimand et al. (1994) นำดีเอ็นเอที่ได้ไปทำปฏิกิริยา polymerase chain reaction (PCR) โดยด้วยไพรเมอร์ 2 ชนิด คือ ITS5 (5’-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3’) และ ITS4 (5’-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3’) (White et al. 1990) จากนั้นวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราบริเวณ ITS-rDNA โดยเปรียบเทียบกับเชื้อราที่อยู่ในฐานข้อมูล Genbank (NCBI)

การเก็บตัวอย่างดินเพื่อแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากดินบริเวณรอบรากข้าว

เก็บดินจากแปลงข้าวที่ไม่พบอาการของโรคถอดฝักดาบในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่บริเวณรอบรากข้าวจำนวน 5 แปลง แปลงละ 5 ซ้ำ ระดับความลึกประมาณ 0-15 เซนติเมตร แต่ละระดับความลึกปริมาณ 10 กรัม ผึ่งให้แห้งพอหมาด หลังจากนั้นนำดินที่ได้มาแยกจุลินทรีย์ด้วยวิธี soil dilution plate เตรียมดินแขวนลอยความเข้มข้นที่ 10^{-2}, 10^{-4}, 10^{-6} และ 10^{-8} ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร spread บนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar (NA) และ PDA ความเข้มข้นละ 4 ซ้ำ จากนั้นนำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน หรือจนกระทั่งสังเกตเห็นโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นจึงทำการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ให้ได้เป็นโคโลนีเดี่ยว ๆ เก็บในหลอดอาหารวุ้นเอียง (NA slant agar) ที่อุณหภูมิ 4-7 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปคัดเลือกความสามารถในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคถอดฝักดาบต่อไป

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคถอดฝักดาบ

ทดสอบการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคด้วยวิธี dual culture method ตามวิธีการของ Matic et al. (2014) ตัดบริเวณปลายเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคถอดฝักดาบ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8 เซนติเมตร วางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ห่างจากขอบจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 3 เซนติเมตร จากนั้นขีดเชื้อแบคทีเรียห่างจากขอบจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 3 เซนติเมตร แต่ละชุดการทดลองจะมีชุดควบคุมโดยวางเชื้อสาเหตุโรคเหมือนกันกับชุดทดลอง และใช้น้ำกลั่นขีดแทนเชื้อแบคทีเรีย นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD)
จำนวน 4 ซ้ำต่อกรรมวิธี โดยคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของอัตราการเจริญของเส้นใย

$$\text{percent inhibition rate growth: PIRG} = \left(\frac{R1-R2}{R1}\right) \times 100$$

โดยที่ R1 คือ รัศมีโคโลนีเชื้อราสาเหตุ (ชุดควบคุม)

R2 คือ รัศมีโคโลนีเชื้อราสาเหตุเมื่อถูกยับยั้งโดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์(ชุดทดลอง)

โดยเปรียบเทียบค่าความแตกต่างของข้อมูลโดยวิธี Least Significant Difference test (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และบันทึกการเปลี่ยนแปลงของลักษณะเส้นใยเชื้อรา *Fusarium fujikuroi* โดยการตรวจดูใต้กล้องจุลทรรศน์ เปรียบเทียบระหว่างเส้นใยที่เจริญในกรรมวิธีควบคุม กับเส้นใยที่ถูกยับยั้งโดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ปฏิปักษ์

การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีบางประการของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

ทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ โดยนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เลี้ยงบนอาหารเพื่อศึกษาคุณสมบัติในการสร้างสารต่าง ๆ ดังนี้ ความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส ทดสอบโดยเลี้ยงบนอาหาร carboxymethylcellulose (CMC) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน ทดสอบความสามารถในการสร้างไซเดอโรฟอร์บนอาหาร Chrome Azurol S (CAS) agar บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในที่มืดเป็นเวลา 48 ชั่วโมง และทดสอบการสร้างอะไมเลสบนอาหาร starch agar บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน สำหรับการทดสอบการสร้างเอนไซม์ไคติเนส โดยเลี้ยงบนอาหาร Chitin agar และทดสอบคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟตโดยเลี้ยงบนอาหาร Pikovskya's medium (PVK) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้จากดินบริเวณรอบรากข้าว

นำเชื้อแบคทีเรียจากดินบริเวณรอบรากข้าว มาจัดจำแนกชนิดของโดยอาศัยลักษณะทางพันธุกรรม โดยตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rDNA ด้วยเทคนิค polymerase chain reaction (PCR) ด้วย primer 27F (5' AGAGTTTGATCMTGGCTCAG 3') และ 1492R (5' TACGGYTACCTTGTTACGACTT 3') จากนั้นนำ PCR products ที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์ นำไปวิเคราะห์ (Macrogen Inc., Seoul, Korea) จากนั้นนำลำดับดีเอ็นเอที่ได้ไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลที่มีรายงานไว้ใน GenBank จาก The National Center for Biotechnology Information (NCBI) (Pane and Zaccardelli, 2015) เพื่อใช้จัดจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียต่อไป

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียเพื่อยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคถอดฝักดาบบนเมล็ด

ทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคถอดฝักดาบบนเมล็ดในสภาพห้องปฏิบัติการตามวิธีการของ Matic et al. (2014) โดยนำเมล็ดข้าวมาวางลงบนกระดาษชื้น (Blotter method) ตามมาตรฐานสากลของ International Seed Testing Association (ISTA, 2019) โดยมีกรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เมล็ดข้าวที่ไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคถอดฝักดาบ

กรรมวิธีที่ 2 เมล็ดข้าวที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคถอดฝักดาบ

กรรมวิธีที่ 3 เมล็ดข้าวที่แช่ด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลต RC-1 แล้วพ่นด้วยเชื้อราสาเหตุ

กรรมวิธีที่ 4 เมล็ดข้าวที่แช่ด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลต RR-51 แล้วพ่นด้วยเชื้อราสาเหตุ

กรรมวิธีที่ 5 เมล็ดข้าวที่แช่ด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลต SR-31 แล้วพ่นด้วยเชื้อราสาเหตุ

กรรมวิธีที่ 6 เมล็ดข้าวที่เชื้อแช่ด้วยเชื้อราสาเหตุโรคถอดฝักดาบแล้วพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ไอโซเลต RC-1

กรรมวิธีที่ 7 เมล็ดข้าวที่เชื้อแช่ด้วยเชื้อราสาเหตุโรคถอดฝักดาบแล้วพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ไอโซเลต RR-51

กรรมวิธีที่ 8 เมล็ดข้าวที่แช่ด้วยเชื้อราสาเหตุโรคถอดฝักดาบแล้วพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ไอโซเลต SR-31

กรรมวิธีที่ 9 เมล็ดข้าวที่คลุกด้วยสารเคมีกำจัดเชื้อรา mancozeb แล้วพ่นด้วยเชื้อราสาเหตุ

กรรมวิธีที่ 10 เมล็ดข้าวที่แช่ด้วยเชื้อราสาเหตุแล้วพ่นด้วยสารเคมีกำจัดเชื้อรา mancozeb

หลังจากทดสอบเป็นเวลา 7 และ14 วัน สังเกตลักษณะอาการของโรค และบันทึกข้อมูลวางแผนการทดลองแบบ CRD โดย ทดสอบ 4 ซ้ำ

บันทึกเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดข้าว และเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคฝักดาบข้าวที่อายุ 7 และ 14 วันหลังจากการปลูกเชื้อ ตามสมการดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การงอก} = \left(\frac{\text{จำนวนเมล็ดที่งอก}}{\text{จำนวนเมล็ดทั้งหมด}}\right) \times 100$$

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค} = \left(\frac{\text{จำนวนต้นที่เป็นโรคทั้งหมด}}{\text{จำนวนต้นที่ไม่เป็นโรคในชุดควบคุม}}\right) \times 100$$

ผลการทดลองและวิจารณ์

การเก็บแยกเชื้อราสาเหตุและทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคของโรคถอดฝักดาบของข้าว

การศึกษาตัวอย่างข้าวที่แสดงอาการของโรคพบลักษณะต้นข้าวที่เป็นโรคสูงกว่าต้นปกติอย่างชัดเจน ลำต้นผอม สีซีด มีอาการย่างปล้อง มีรากเกิดขึ้นบริเวณข้อของลำต้น และภายในข้อปล้องพบเส้นใยของเชื้อราจำนวนมาก **(Figure 1)** เมื่อทำการทดสอบความสามารถในการเกิดโรค พบว่า เชื้อราสาเหตุโรคถอดฝักดาบไอโซเลต CRFuRD-7 มีความสามารถในการก่อโรคในระดับรุนแรงที่สุด คือทำให้เมล็ดบางเมล็ดไม่สามารถเจริญได้ หากต้นกล้าเจริญมีอาการแคระแกร็นต่างจากชุดควบคุม เมื่อเวลาผ่านไป 14 วัน จะทำให้ต้นกล้าสูง ยืดยาว สีซีดผิดปกติ บางต้นเกิดอาการแคระแกร็น และเมื่อผ่านไป 21 วัน หลังจากการปลูกเชื้อจะพบว่าต้นกล้าผอมสูงยืดยาวผิดปกติ หากอาการรุนแรงจะพบว่า ต้นกล้าฟุบตาย และเมื่อต้นกล้าข้าวแห้งจะพบเส้นใยสีชมพูบริเวณโคนต้น ซึ่งผลที่ได้ตรงกับการรายงานของ Imura (1940) และ ที่กล่าวว่า ต้นข้าวที่เป็นโรคแสดงอาการสูงกว่าต้นข้าวปกติอย่างชัดเจน ต้นข้าวผอม ใบมีสีเขียวอ่อนซีด มีอาการย่างปล้อง มุมลำต้นมีขนาดกว้างเมื่อเปรียบเทียบกับต้นปกติ ทั้งนี้เป็นผลจากเชื้อรา *Fusarium fujikuroi* สามารถสร้างกรด fusaric และฮอร์โมน gibberellin ทำให้ต้นข้าวย่างปล้องสูงขึ้น (elongation) ตามที่มีผู้รายงานไว้ (Ou, 1985; Sun and Snyder, 1981; Webster and Gunnell, 1992)

การจำแนกชนิดของเชื้อรา *Fusarium* sp. สาเหตุโรคถอดฝักดาบ

เมื่อนำเชื้อรา *Fusarium* sp. ไอโซเลต CRFuRD-7 มาวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS โดยใช้ไพรเมอร์ 2 ชนิด คือ ITS5 และ ITS4 พบว่าจัดกลุ่มอยู่ร่วมกับเชื้อรา *F. fujikuroi* โดยมีค่าความเชื่อมั่นในการจัดกลุ่ม 99 % เมื่อเทียบกับ

ฐานข้อมูล NCBI ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Jeon et al. (2013) ปภัสสรและเพชรรัตน์ (2559) และ Gupta et al. (2004) ที่พบว่าเมล็ดที่ทดสอบด้วย *F. fujikuroi* ทำให้ต้นข้าวที่ได้นั้น มีลักษณะ ผอมสูง สีซีดและลำต้นยืดยาวแตกต่างจากชุดควบคุม เมื่อสังเกตใบจะพบว่า ใบจะมีสีเหลืองเขียวจนถึงสีซีด

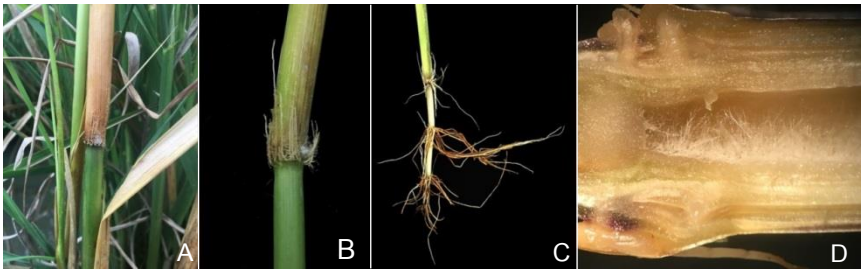

Figure 1 Symptoms of the bakanae disease in paddy field: A: symptomless plants, B and C: The production of roots from some of the nodes, D: mycelial growth in internode

ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคถอดฝักดาบ

ทดสอบการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคด้วยวิธี dual culture method

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต RC-1, RR-51 และ SR-31 ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคถอดฝักดาบ *Fusarium fujikuroi* ไอโซเลต CRFuRD-7 พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 46.23, 52.69 และ 53.23 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ **(Table 1)** ใกล้เคียงกับการศึกษาของพีระวรรณและคณะ (2560) ที่พบว่าประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จำนวน 6 ไอโซเลต ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. moniliforme* มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งระหว่าง 22.22-50.00 เปอร์เซ็นต์ โดยสังเกตพบว่าขอบโคโลนีบริเวณตรงข้ามเชื้อแบคทีเรีย มีสีเข้มขึ้น เมื่อตรวจบริเวณปลายเส้นใยของเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า เชื้อแบคทีเรียทำให้เส้นใยของเชื้อรามีลักษณะผิดปกติ ผนังเซลล์โป่งพอง เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่เส้นใยมีลักษณะปกติ **(Figure 2)** ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Chaurasia et al. (2005), Gond et al. (2015) และ Mardanova et al. (2017) ที่พบว่าประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียในการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium* sp. พบว่า เส้นใยมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง โดยเส้นใยมีอาการบวมพอง ลักษณะผิดปกติของเส้นใยนั้นเกิดจากสาร metabolite ได้แก่ Fengycin และ lipodecapeptide ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สร้างขึ้น ส่งผลให้ผนังเซลล์ของเชื้อราเปลี่ยนแปลงไป (bar= 20 μm)

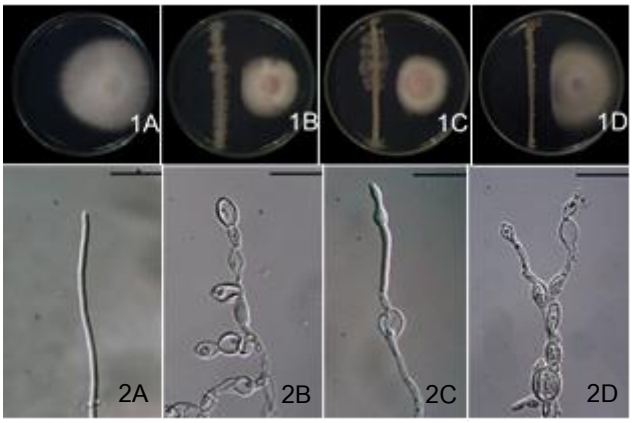

Figure 2 Growth of *Fusarium fujikuroi* isolate CRFuRD-7 in dual culture test with antagonistic bacteria: (1) Antagonism of antagonistic bacteria against *F. fujikuroi* isolate CRFuRD-7 on potato dextrose agar (2) Morphological change of mycelium of *F. fujikuroi* interaction with antagonistic bacteria; A:control B: RC-1 C: RR-51 D: SR-31

Table 1 Growth inhibition of *Fusarium fujikuroi* in dual culture assays with the antagonistic bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* isolates on PDA at 3 and 5 days after inoculation (DAI)

Isolate	Dual culture[1]			
	3 days		5 days	
	Radial growth (cm)	% inhibition	Radial growth (cm)	% inhibition
RC-1	1.28 a[2]	8.33 b	1.67 a	46.23 b
RR-51	1.17 b	16.67 a	1.47 b	52.69 a
SR-31	1.15 b	17.86 a	1.45 b	53.23 a
LSD (0.05)	3.39	23.56	2.44	2.37
%CV	0.09	6.72	0.08	2.41

[1] Average from 3 replicates for each isolate

[2] Means within the same column followed by the same letter are not significantly different at the 0.05 level by the LSD test

การศึกษาคุณสมบัติบางประการของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

ผลการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จำนวน 3 ไอโซเลต ได้แก่ RC-1, RR-51 และ SR-31 บนอาหารทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ เป็นเวลา 2 วัน พบว่า ทุกไอโซเลตสามารถย่อยสลายเซลลูโลส สร้างไซเดอร์โรฟอร์ และละลายฟอสเฟต แต่ไม่สามารถสร้างไคติเนสได้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ หนึ่งและนันทกร (2539) ที่พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สามารถสร้างไซเดอร์โรฟอร์ คือ Cathecolamides หรือ Cathecolate siderophores (CS) พบได้เฉพาะในแบคทีเรีย เช่น *Bacillus* โดยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ผลิตสารไซเดอร์โรฟอร์ สามารถจับยึดธาตุเหล็กในธรรมชาติมาใช้ได้ดีกว่าเชื้อสาเหตุโรคพืช ทำให้เชื้อโรคไม่สามารถเข้าทำลายพืชได้ ดังรายงานของ Ahmed et al. (2008) ซึ่งได้ศึกษาเชื้อแบคทีเรียบริเวณรอบรากพืช พบว่า เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* สามารถละลายฟอสเฟตได้ดี และยังสร้างสารไซเดอร์โรฟอร์อีกด้วย เนื่องจากสารไซเดอร์โรฟอร์มีส่วนช่วยในการส่งเสริมการเจริญของพืช และยังช่วยให้พืชแข็งแรง ป้องกันการเข้าทำลายของโรคพืชอีกด้วย

การจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากดินบริเวณรอบรากข้าว

การจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียจากดินบริเวณรอบรากข้าวโดยเทคนิค single 16S ribosomal DNA (rDNA) sequencing และวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์เพื่อ นำไปเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์อื่น ๆ ในฐานข้อมูล GenBank พบว่า RC-1, RR-51 และ SR-31 จากดินบริเวณรอบรากข้าว เป็นแบคทีเรียที่จัดอยู่ใน Bacillaceae เมื่อเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rDNA กับฐานข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *Bacillus* sp. ในฐานข้อมูล Genbank พบว่าดินบริเวณรอบรากข้าว ไอโซเลท RC-1, RR-51 และ SR-31 มีลำดับนิวคลีโอไทด์ ใกล้เคียงกับแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* โดยมีความเหมือนประมาณ 99.59 เปอร์เซ็นต์ซึ่งจากผลการวิจัยครั้งนี้มีความสอดคล้องกับรายงานของ ปฏิกรณ์ และศิริลักษณ์ (2560) ที่พบว่าเชื้อ *B. amyloliquefaciens* SB6 และ *B. amyloliquefaciens* SB9 ที่แยกได้จากดินบริเวณนาข้าวสามารถลดการเกิดโรคกล้าเน่าของข้าว รวมถึงช่วยส่งเสริมให้กล้าข้าวเจริญแข็งแรงอีกด้วย

การศึกษาความสามารถของเชื้อแบคทีเรียต่อการควบคุมโรคถอดฝักดาบบนเมล็ดในสภาพห้องปฏิบัติการ

การศึกษาความสามารถของเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* ทั้ง 3 ไอโซเลต ได้แก่ RC-1, RR-51 และ SR-31 ต่อการควบคุมโรคถอดฝักดาบบนเมล็ดในสภาพห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี Blotter method สังเกตการเกิดโรคเป็นระยะเวลา 7 และ 14 วัน เมื่อตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค พบว่า 7 วันหลังการทดสอบ กรรมวิธีแช่ด้วยเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลตก่อนทดสอบด้วยเชื้อราสาเหตุโรค *F. fujikuroi* มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 7.50, 7.00 และ 6.50 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีทดสอบด้วยเชื้อราสาเหตุโรค *F. fujikuroi* แล้วจึงแช่ด้วยเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลตมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ

8.75, 8.50 และ 9.25 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนชุดที่ควบคุมด้วยสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา mancozeb โดยวิธีคลุกก่อนปลูกเชื้อราสาเหตุโรค และคลุกหลังปลูกเชื้อราสาเหตุโรค มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 3.75 และ 3.00 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ขณะที่ชุดควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุ ชุดควบคุมที่ทดสอบด้วยเชื้อราสาเหตุเพียงอย่างเดียว มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 4.75 และ 21.00 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ และผลการทดลอง 14 วันหลังจากการทดสอบพบว่า แต่ละกรรมวิธีมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเพิ่มขึ้น กรรมวิธีแช่ด้วยเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลตก่อนทดสอบด้วยเชื้อราสาเหตุโรค *F. fujikuroi* มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 39.50, 36.25 และ 39.00 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีทดสอบด้วยเชื้อราสาเหตุโรค *F. fujikuroi* แล้วจึงแช่ด้วยเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลตมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 42.75, 41.25 และ 43.00 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนชุดควบคุมที่ใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา mancozeb คลุกก่อนปลูกเชื้อราสาเหตุโรคและคลุกหลังปลูกเชื้อราสาเหตุโรคมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 21.75 และ 27.00 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ขณะที่ชุดควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุ และชุดควบคุมที่ทดสอบด้วยเชื้อราสาเหตุเพียงอย่างเดียว มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 33.50 และ 81.75 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อตรวจสอบความงอกของเมล็ด พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การงอกไม่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ มีเปอร์เซ็นต์การงอกอยู่ในช่วงระหว่าง 96.50-99 เปอร์เซ็นต์ **(Table 2)** จากการทดลองของ Luo et al. (2005) ศึกษาเกี่ยวกับแบคทีเรียที่อยู่ในดินบริเวณรอบรากข้าวและส่วนต่าง ๆ ของต้นข้าวในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคกาบใบแห้งและโรคถอดฝักดาบ พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* และ *B. megaterium* ที่แยกได้สามารถยับยั้งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rhizoctonia solani* และ *F. moniliforme* ซึ่งคล้ายกับการทดลองของ Chung et al. (2015) ที่พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. oryzicola* ที่แยกได้จากรากข้าว สามารถผลิตสารยับยั้งเชื้อราและแบคทีเรียที่ก่อโรคในข้าวได้ ช่วยเพิ่มอัตราการงอกของข้าว และทำให้ข้าวแตกกอมากขึ้น Hossin et al. (2016) ได้ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. oryzicola* YC7007 มาควบคุมโรคถอดฝักดาบ พบว่าสามารถความรุนแรงของโรคถอดฝักดาบของข้าวและสามารถช่วยในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวได้

Table 2 Effect of the antagonistic bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* isolates RC-1, RR-51 and SR-31 on rice germination and percentage of seed pathogenicity

Isolate	Seed germination (%)[1]	Seed Pathogenicity (%)[2]	
		7 days	14 days
Control	95.75 c	4.75 de	33.50 d
CRFuRD-7	98.25 ab	21.00 a	81.75 a
RC-1+ CRFuRD-7	97.25 abc	7.50 bc	39.50 bcd
RR-51+ CRFuRD-7	97.25 abc	7.00 bcd	36.25 cd
SR-31+ CRFuRD-7	96.50 bc	6.50 cd	39.00 bcd
mancozeb+ CRFuRD-7	97.25 abc	3.75 e	21.75 e
CRFuRD-7 +RC-1	97.50 abc	8.75 bc	42.75 b
CRFuRD-7 +RR-51	97.25 abc	8.50 bc	41.25 bc
CRFuRD-7 +SR-31	97.25 abc	9.25 b	43.00 b
CFuRD-7+macozeb	99.00 a	3.00 e	27.00 e
%CV	1.32	20.83	10.33
LSD(0.05)	1.85	2.42	6.08

[1] Average from 4 replicates for each isolate

[2] Means within the same column followed by the same letter are not significantly different at the 0.05 level by the LSD test

สรุป

จากการศึกษาพบต้นข้าวที่เป็นโรคสูงกว่าต้นปกติอย่างชัดเจน ลำต้นผอม สีซีด มีอาการย่างปล้อง มีรากเกิดขึ้นบริเวณข้อของลำต้น พบสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Fusarium fujikuroi* เมื่อนำไปทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรค พบว่า เชื้อรา *F. fujikuroi* ไอโซเลต CRFuRD-7 สามารถก่อโรคถอดฝักดาบของข้าวได้สูงสุด เมื่อนำแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus amyloliquefaciens* มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *F. fujikuroi* สาเหตุโรคถอดฝักดาบ โดยวิธี Dual culture พบว่า แบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลต RC-1, RR-51 SR-31 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีผลทำให้เส้นใยของเชื้อรา *F. fujikuroi* มีอาการบวมพอง เมื่อทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีบางประการของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์พบว่าสามารถผลิตเอนไซม์เซลลูโลส อะไมเลส และสร้างไซเดอร์โรฟอร์ได้ จึงนำเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* มาทดสอบบนเมล็ดข้าว พบว่าสามารถลดการเกิดโรคก่อนนำไปปลูกได้ อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติม เพื่อนำไปใช้ในสภาพเรือนทดลองและแปลงปลูก

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัย เชียงใหม่ ในการสนับสนุนทุนวิจัยบางส่วนในการศึกษาในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

ชวลิต ตนะทิพย์ และ เกวลิน คุณาศักดากุล. 2561. ชีวภัณฑ์แอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์แบบกระดาษเพื่อควบคุมโรคถอดฝักดาบ ของข้าวไรซ์เบอร์รีในระยะกล้า. วารสารเกษตร. 34: 67 - 75

ปฏิกรณ์ อินโองการ และศิริลักษณ์ สันพา. การคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพยับยั้ง *Curvularia lunata* เชื้อราสาเหตุโรคกล้าเน่าของข้าว. 2560. น. 103-111ใน: นเรศวรวิจัย ครั้งที่ 13: วิจัยและนวัตกรรมขับเคลื่อนเศรษฐกิจและสังคม. มหาวิทยาลัยนเรศวร

ปภัสสร สีลารักษ์ และ เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล. 2559. การถ่ายทอดทางเมล็ดพันธุ์ของเชื้อราฟิวซาเรียมสาเหตุโรคถอดฝักดาบของข้าวและศักยภาพของเชื้อ *Streptomyces*-PR15 และ *Streptomyces*-PR87 ในการควบคุมโรคจากเชื้อฟิวซาเรียมของพืชเศรษฐกิจ. แก่นเกษตร. 44(ฉบับพิเศษ 1): 238-245.

พีระวรรณ พัฒนวิภาส ธารทิพย ภาสบุตร และบุษราคัม อุดมศักดิ์. 2560. การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium moniliforme* สาเหตุโรคต้นเน่าของข้าวโพด. หน้า 904-911. ใน: รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2560. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

สายชล โนชัย และสมบัติ ศรีชูวงศ์. 2550. ประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ที่แยกได้จากเมล็ดข้าว ขาวดอกมะลิ 105 ในการควบคุมโรคถอดฝักดาบต้นกล้าข้าว. วารสารเกษตร. 23: 59–66.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2562. สถานการณ์สินค้าเกษตรที่สำคัญแนวโน้ม ปี 2562. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 241 หน้า.

สุภาณี พิมพ์สมาน. 2540. สารฆ่าแมลง. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 164 หน้า.

หนึ่ง เตียอำรุง และ นันทกร บุญเกิด. 2539. ธาตุเหล็ก ซิเดอร์โรฟอร์ และ จุลินทรีย์. วารสารเทคโนโลยีสุรนารี 3: 95-100.

อรทัย เตชะฤทธิ์. 2555. กรมการข้าวพบโรคถอดฝักดาบในแปลงนาของเกษตรกรแถบ จ.ชัยนาท. กลุ่มประชาสัมพันธ์ ศูนย์สารสนเทศ กรมการข้าว กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2 หน้า.

อนันต์ วงเจริญ. 2557. การคัดเลือกเชื้อราเอนโดไฟต์จากข้าว (*Oryza sativa* L.) ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งราสาเหตุโรคข้าว. แก่นเกษตร. 42: 385-396

Ahmad, F., I. Ahmad, and M. S. Khan. 2008. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. Microbiological Research. 163: 173-181.

Amatulli, M. T., D. Spadaro, M. L. Gullino, and A. Garibaldi. 2010. Molecular identification of *Fusarium* spp. associated with bakanae disease of rice in Italy and assessment of their pathogenicity. Plant Pathology. 59: 839-844.

Burr, B., F. A. Burr, K. H. Thompson, M. C. Albertsen, and C. W. Stuber. 1988. Gene mapping with recombinant inbreeds in maize. Genetics. 118: 519–526.

Chauraria, B., A. Pandey, L. M. S. Palni, P. Trivedi, B. Kumar, and N. Colvin. 2005. Diffusible and volatile compounds produced by an antagonistic *Bacillus subtilis* strain cause structural deformations in pathogenic fungi *in vitro*. Microbiological Research. 160: 75-81.

Chung, E.J., M. T. Hossain, A. Khan, K. H. Kim, C. O. Jeon, and Y. R. Chung. 2015. *Bacillus oryzicola* sp. nov., an endophytic bacterium isolated from the roots of rice with antimicrobial, plant growth promoting, and systemic resistance inducing activities in rice., The Plant Pathology Journal. 31: 152–164.

Gond, S. K., S. B. Marshall, S. T. Mònica, and F. W. J. James. 2015. Endophytic *Bacillus* spp. produce antifungal lipopeptides and induce host defense gene expression in maize. Microbiological Research. 172: 79-87.

Gupta, A. K., I. S. Solanki, B. M. Bashyal, Y. Singh, and K. Srivastava. 2015. Bakanae of rice -an emerging disease in Asia. Journal Animal Plant Science. 25: 1499-1514.

Gupta, P., S. Sahai, N. Singh, C. Dixit, D. Singh, C. Sharma, M. Tiwari, R. Gupta, and S. Garg. 2004. Residue burning in rice-wheat cropping system: causes and implications. Current Science. 87: 1713-1717

Hossain, M.T., A. Khan, E.J. Chung, M.H. Rashid, and Y. R. Chung. 2016. Biological control of rice bakanae by an endophytic *Bacillus oryzicola* YC7007. Plant Pathology Journal. 32: 228- 241.

Imura, J. 1940. On the angles between blades and culms in the accelerated rice seedlings caused by *Gibberella fujikuroi*. Annals of the Phytopathological Society of Japan. 10: 45– 48.

International Seed Testing Association. 2019. Detection of *Alternaria dauci* in *Daucus carota* (carrot) seed by blotter method. ISTA Rules 2020 Chapter 7 Seed Health Testing International Seed Testing Association, Bassersdorf, Switzerland.

Jeon, Y.A., S.H. Yu, Y.Y. Lee, H.J. Park, S. Lee, J.S. Sung, Y.G. Kim, and H.S. Lee. 2013. Incidence, molecular characteristics and pathogenicity of *Gibberella fujikuroi* species complex associated with rice seeds from Asian countries. Microbiology. 41: 225-233.

Kazempour, M. N., and S. A. Elahinia. 2007. Biological control of *Fusarium fujikuroi,* the causal agent of bakanae disease by rice associated antagonistic bacteria. Bulgarian Journal of Agricultural Science. 13: 393-408.

Luo, J. Y., G.L. Xie, B. Li, Y.C. Luo, L.H. Zhao, X. Wang, and B. Liu. 2005. Gram-positive bacteria associated with rice in China and their antagonists against the pathogens of sheath blight and bakanae disesase in rice. Rice Science. 12: 213-218.

Mardanova, A. M., G. F. Hadieva, M. T. Lutfullin,I. V. Khilyas, L. F. Minnullina, A. G.Gilyazeva, L. M. Bogomolnaya, and M. R. Sharipova. 2017. *Bacillus subtilis* strains with antifungal activity against the phytopathogenic fungi. Agricultural Sciences. 8: 1-20.

Matic, S., D. Spadaro, A. Garibaldi, and L. M. Gullino. 2014. Antagonistic yeast and thermotherapy as seed treatments to control *Fusarium fujikuroi* on rice.Biological Control. 73: 59-67.

Ou, S. H. 1985. Rice diseases. Commonwealth Mycological Institute, Slough, UK. 371 p.

Pane, C., and M. Zaccardelli. 2015. Evaluation of Bacillus strains isolated from solanaceous phylloplane for biocontrol of Alternaria early blight of tomato. Biological Control. 84: 11- 18.

Rosales, A. M., and T. W. Mew. 1997. Suppression of *Fusarium moniliforme* in rice by rice-associated antagonistic bacteria. Plant Disease. 81: 49-52.

Sunder, S., and Satyavir. 1997. Survival of *Fusarium moniliforme* in soil enriched with different nutrients and their combinations. Indian Phytopathology. 50: 474-481.

Sun, S.K. and W.C. Snyder. 1981. The bakanae disease of the rice plant. In: *Fusarium*: Diseases, Biology and Taxonomy. The Pennsylvania State University. 104-113.

Webster, R. K. and P. S. Gunnell. 1992. Compendium of rice disease. First edition, The American Phytopathological Society Press. St. Paul, Minnesota, USA. pp: 86.

Weising, K., H. Nybom, K. Wolff, and W. Meyer. 2000. DNA fingerprinting in plants and fungi. CRC Press. 322 p.

White, T. J., T. Bruns, S. Lee, and J. W. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, eds. PCR protocols: a guide to methods and applications. New York: Academic Press. p 315-322.

Vessey, J. K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and Soil. 255: 571-586.

Zhao P., C. Quan, Y. Wang, J. Wang, and S. Fan. 2014. *Bacillus amyloliquefaciens* Q-426 as a potential biocontrol agent against *Fusarium oxysporum* f. sp. *Spinaciae*. Journal Basic Microbiology. 54: 448–456.

Zimand, G., L. Valinsky, Y. Elad, I. Chet, and S. Manulis. 1994. Use of the RAPD procedure for the identifcation of *Trichoderma* strains. Mycological Research. 98: 531-534.