

ศักยภาพการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อแอคติโนมัยซีสไดโนไมซิสต์เอนโดไฟต์ที่แยกจากข้าว ในการควบคุมโรคไหม้ของต้นกล้าข้าว

Antagonistic Potential of Endophytic Actinomycetes Isolated from Rice to Control Rice Seedling Blast

ณปภพ แก้วกันทา และ เกวลิน คุณาศักดากุล^{*}
Napaphop Kaewkanta and Kaewalin Kunasakdakul^{*}

สาขาวิชาโรคพืช ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

Division of Plant Pathology, Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University,
Chiang Mai 50200, Thailand

^{*}Corresponding author: Email: kaewalin.k3@gmail.com

(Received: 4 January 2017; Accepted: 31 March 2017)

Abstract: One hundred and seventy-four isolates of endophytic actinomycetes were isolated from rice (*Oryza sativa* L.) on inhibitory mold agar 2 (IMA-2). The isolates were divided into groups by the periods of aerial mycelium initiation and full-plate production. According to aerial mycelium initiation in 1 day and full-plate production in 3 days, then ten isolates were selected for their antagonistic potentials against *Pyricularia grisea* pathogen of rice blast testing by dual culture method. The results of PIRG at the highest percentage showed in the testing of isolates ORR107 and ORR719 with non-statistically significant at 78.35 and 74.17%, respectively. Followed by isolates ORP119, ORR721, ORS110, ORR175, ORR728, ORR737, ORR162 and ORP123 gave a percent inhibition at 70.00, 69.17, 65.00, 61.67, 60.00, 55.84, 50.00 and 48.33%, respectively. Thus, the 2 isolates were applied to control rice blast disease in seedling trials using rice seed soaked in 1×10^9 cell/ml suspension of each isolate of ORR107 and ORR719 for 1 day and let them germinated. Fourteen day old rice seedlings were inoculated with the pathogen. Evaluations of blast severities were observed after 7 days of incubation, results showed that isolates ORR719 and ORR107 were statistically decreased the severity of blast at 1.20 and 1.47, respectively, compared with 4.73 in control treatment. Additionally, colonization of the 2 isolates in rice seedling using seed soaking method were performed, after transplanting for 1, 3, 5, 7 and 14 days, rice plant, leave, root and husk explants were found to be colonized with the two isolates in recovery percentage of 40-90 percent. Moreover, the colonization percentage of isolates ORR107 was potentially increased along incubation periods.

Keywords: *Pyricularia grisea*, endophytic actinomycetes, biological control, colonization

บทคัดย่อ: จากการแยกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์จากข้าว (*Oryza sativa* L.) บนอาหาร inhibitory mold agar 2 (IMA-2) สามารถแยกเชื้อได้ทั้งหมด 174 ไอโซเลท แบ่งกลุ่มไอโซเลทตามระยะเวลาในการเริ่มสร้าง aerial mycelium และการเจริญเต็มจานอาหาร และคัดเลือกไอโซเลทที่มีการเริ่มสร้าง aerial mycelium ภายใน 1 วัน และเจริญเต็มจานอาหาร ภายใน 3 วัน จำนวน 10 ไอโซเลท มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pyricularia grisea* สาเหตุโรคไหม้ของข้าว ด้วยวิธีการ dual culture พบว่า ไอโซเลท ORR107 และ ORR719 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคได้สูงที่สุดไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 78.35 และ 74.17 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รองลงมาคือ ไอโซเลท ORP119, ORR721, ORS110, ORR175, ORR728, ORR737, ORR162 และ ORP123 โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 70.00, 69.17, 65.00, 61.67, 60.00, 55.84, 50.00 และ 48.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ด้วยเหตุนี้ ไอโซเลท ORR107 และ ORR719 จึงถูกนำมาใช้ในการควบคุมโรคไหม้ของข้าวในต้นกล้าข้าว ด้วยวิธีการแช่เมล็ดข้าวในสปอร์แขวนลอยของแต่ละไอโซเลท ที่ความเข้มข้น 1×10^9 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 1 วัน เมื่อต้นกล้าข้าว อายุ 14 วัน ทำการปลูกเชื้อราสาเหตุโรค จากนั้นประเมินความรุนแรงในการเกิดโรคหลังจากบ่มเชื้อ เป็นเวลา 7 วัน พบว่า ไอโซเลท ORR719 และ ORR107 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคไหม้ของข้าวได้ดีที่สุด มีค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงในการเกิดโรคเท่ากับ 1.20 และ 1.47 ตามลำดับ แตกต่างจากชุดควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคเพียงอย่างเดียว ที่มีค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงในการเกิดโรคเท่ากับ 4.73 นอกจากนี้การทดสอบความสามารถในการเข้าอาศัยในเนื้อเยื่อต้นกล้าข้าว โดยวิธีการแช่เมล็ด และแยกเชื้อกลับที่ระยะเวลา 1, 3, 5, 7 และ 14 วัน หลังการออกปลูก พบว่า ทั้งสองไอโซเลทสามารถเข้าอยู่อาศัยในเนื้อเยื่อต้นกล้าข้าวได้ทั้งในส่วนของใบ ราก และเปลือกเมล็ดข้าว โดยมีเปอร์เซ็นต์การแยกเชื้อกลับอยู่ในช่วง 40-90 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ ไอโซเลท ORR107 สามารถเพิ่มปริมาณในปริมาณที่เพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาหลังการปลูกเชื้อ

คำสำคัญ: เชื้อรา *Pyricularia grisea* แอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ การควบคุมโดยชีววิธี การเข้าอาศัยอยู่ในพืช

คำนำ

ข้าว (*Oryza sativa* L.) เป็นพืชอาหารหลักและพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย อีกทั้งข้าวยังเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งภายในประเทศและต่างประเทศ (ปิลันธนา และศรวิชัย, 2558) โดยเกษตรกรไทยมีความชำนาญในด้านการผลิตข้าวที่ถ่ายทอดมาจากบรรพบุรุษสู่รุ่นลูกรุ่นหลานมาอย่างยาวนาน หากแต่ในปัจจุบันการผลิตข้าวส่วนใหญ่มีการใช้สารเคมีเกษตร เพื่อเร่งผลผลิต และควบคุมศัตรูพืชในนาข้าวมากขึ้น ก่อให้เกิดการตกค้างของสารเคมีในนาข้าวและในผลผลิต ส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม ที่ทวีความรุนแรงมากขึ้น หน่วยงานภาครัฐจึงได้เร่งรณรงค์ให้เกษตรกรใช้ระบบเกษตรอินทรีย์ในการปลูกข้าวให้มากขึ้น ประกอบกับผู้บริโภคทั้งภายในและภายนอกประเทศให้ความสำคัญกับสุขภาพและสิ่งแวดล้อมมากขึ้น มีการบริโภคสินค้าเกษตรอินทรีย์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยมี

ทวีปอเมริกาและยุโรปเป็นผู้บริโภครายใหญ่ที่มีการบริโภครวมกันประมาณร้อยละ 96 แต่เนื่องจากการกำลังการผลิตที่ไม่เพียงพอ จึงต้องนำเข้าสินค้าเกษตรอินทรีย์จากประเทศอื่น ๆ ทั่วโลก ทำให้ผลผลิตที่ได้จากการผลิตแบบอินทรีย์เป็นที่ต้องการในตลาดเพิ่มมากขึ้น และมีราคาสูงกว่าผลผลิตที่ได้จากการผลิตแบบเคมี ในปี พ.ศ. 2558 ประเทศไทยมีพื้นที่เพาะปลูกข้าวทั้งนาปีและนาปรัง รวม 69.28 ล้านไร่ มีพื้นที่ปลูกข้าวอินทรีย์ประมาณ 131,502 ไร่ หรือคิดเป็นร้อยละ 0.20 ของพื้นที่เพาะปลูกข้าวทั้งหมด มีมูลค่าการส่งออกข้าวอินทรีย์ราว 552.25 ล้านบาท ซึ่งนับว่าเป็นประเทศที่ส่งออกข้าวอินทรีย์เป็นอันดับต้น ๆ ของโลก โดยข้าวอินทรีย์ที่ได้รับความนิยมในตลาดส่งออก คือ ข้าวหอมมะลิอินทรีย์เป็นสินค้าที่มีลักษณะเด่นในด้านความหอม และเมล็ดอ่อนนุ่ม และเป็นที่ต้องการในตลาดอียูเป็นอย่างมาก โดย 96% ของข้าวอินทรีย์ที่ผลิตในไทยถูกส่งออกไปยังอียู และมีแนวโน้มในการขยายตลาดมากขึ้นในอนาคต (สำนักงานเศรษฐกิจ

อุปกรณ์และวิธีการ

การเกษตร, 2558) ทำให้เห็นว่าโอกาสการส่งออกสินค้าเกษตรอินทรีย์สู่ตลาดโลกยังมีช่องว่างให้เกษตรกรไทยเข้าไปมีส่วนแบ่งตลาดได้อย่างแน่นอนทั้งในระยะสั้นและระยะยาว แต่การผลิตข้าวหอมมะลิอินทรีย์ประสบปัญหาเรื่องสายพันธุ์ที่อ่อนแอต่อโรค ส่งผลให้ปริมาณและคุณภาพของผลผลิตลดลง ซึ่งโรคที่สำคัญต่อการผลิตข้าวอินทรีย์ คือ โรคไหม้ สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Pyricularia grisea* (ชื่อเดิม *P. oryzae*) สามารถทำความเสียหายให้กับส่วนต่าง ๆ ของต้นข้าวทุกระยะการเจริญเติบโต (ชัชวาล และชุลีพร, 2552) ในหลายพื้นที่ของประเทศไทย โดยจะทำให้เมล็ดข้าวลีบ ร่วงหล่น ปริมาณและคุณภาพของผลผลิตลดลง ซึ่งทำให้เกิดความเสียหายโดยอาจทำให้ผลผลิตลดลงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ (Ou, 1985) ปัจจุบันได้มีการนำชีวภัณฑ์จากเชื้อปฏิปักษ์มาใช้ เพื่อตอบสนองเงื่อนไขในระบบการผลิตแบบอินทรีย์ที่ไม่ใช้สารเคมี เชื้อปฏิปักษ์ที่ได้รับความนิยมจากนักวิจัยในการศึกษาค้นคว้า และนำมาพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์กันอย่างกว้างขวาง คือ เชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ (endophytic actinomycetes) เป็นเชื้อในกลุ่มแบคทีเรียที่มีรายงานในการนำมาใช้เพื่อควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ และเป็นเชื้อปฏิปักษ์ที่สามารถอาศัยอยู่ภายในเนื้อเยื่อพืช ไม่ก่อให้เกิดโรคกับพืชอาศัย สามารถผลิตสารทุติยภูมิสำคัญหลายประเภท เช่น สารปฏิชีวนะ (Araujo *et al.*, 2000) เอนไซม์ และวิตามิน ที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชได้หลายชนิด (Shimizu *et al.*, 2000; Franco, 2002) นอกจากนี้ยังสามารถผลิตฮอร์โมนออกซินที่ช่วยกระตุ้นให้พืชมีความแข็งแรงและเพิ่มผลผลิตของพืช (Lahdenpera, 2000) ด้วยเหตุนี้การใช้เชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์จึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่นักวิจัยนำมาใช้ในการศึกษาการควบคุมโรคไหม้ของข้าว เพื่อเผยแพร่ให้กับเกษตรกร หน่วยงานภาครัฐ ภาคเอกชน และผู้สนใจ ใช้เป็นปัจจัยการผลิตในระบบเกษตรอินทรีย์ต่อไปในอนาคต ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยในครั้งนี้ เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่แยกได้จากข้าวในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. grisea* สาเหตุโรคไหม้ของข้าวในระดับห้องปฏิบัติการ และประสิทธิภาพในการควบคุมการเกิดโรคไหม้ของข้าวในระดับโรงเรือน

1. การแยกเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้ของข้าว

สุ่มเก็บตัวอย่างใบข้าวที่เป็นโรคไหม้จากแปลงปลูกข้าวในศูนย์วิจัย สาริตและฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ นำมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำไหล จากนั้นฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยเอทานอล ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที แล้วนำมาบ่มในกล่องขึ้น เป็นเวลา 1 วัน เมื่อพบการเจริญของเชื้อรา จึงแยกเชื้อบริสุทธิ์ ด้วยวิธีการแยกสปอร์เดี่ยว (single spore isolation) นำมาเลี้ยงบนอาหาร PDA (potato dextrose agar) บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (28 ± 2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7 วัน แล้วจึงทำการย้ายเชื้อราสาเหตุโรคมากระตุ้นการสร้างสปอร์บนอาหาร RPA (rice polish agar) บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน อีกครั้ง ใช้แท่งแก้วรูปตัว L ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ กดเส้นใยให้แนบกับผิวอาหาร นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 12 ชั่วโมง สลับกับความมืด เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ตรวจสอบลักษณะการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรค ลักษณะของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ และลักษณะสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า จากนั้นเทียบกับรายงานของ Ou (1985) เพื่อจำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุโรค แล้วจึงตรวจนับสปอร์ด้วย hemocytometer และปรับความเข้มข้นให้เท่ากับ 10^5 cfu/ml เพื่อนำไปทดสอบการก่อโรค และใช้ในการทดลองต่อไป

2. การแยกเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์จากส่วนต่าง ๆ ของต้นข้าว

เก็บตัวอย่างต้นข้าวจากแหล่งพื้นที่เพาะปลูกอำเภอบางเลน จังหวัดนครปฐม จำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ กข1 และ กข7 อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี จำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ ปทุมธานี 1 และ สุพรรณบุรี 1 รวม 4 สายพันธุ์ โดยเลือกเก็บเฉพาะต้นที่สมบูรณ์ ไม่มีการเข้าทำลายของโรคและแมลง นำส่วนใบ และราก มาล้างในน้ำไหล 30 นาที จากนั้นผึ่งลมให้แห้ง ตัดใบให้มีขนาด 1x1 เซนติเมตร และส่วนราก ยาว 1 เซนติเมตร นำ

ขึ้นส่วนของพืชทั้งหมดแช่ในสารละลาย Clorox ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 2 นาที แล้วแช่ในเอทานอล ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นแช่ในสารละลาย heritage ความเข้มข้น 0.6 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที ผึ่งให้แห้งในตู้ปลอดเชื้อ วางขึ้นพืชบนอาหาร IMA-2 (inhibitory mold agar 2) จำนวน 15 ชิ้นต่อ 1 จาน บ่มไว้ในตู้มืด ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน จากนั้นแยกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ให้บริสุทธิ์ตามวิธีของ Shimizu *et al.* (2000) จัดกลุ่มและคัดเลือกไอโซเลทที่สามารถสร้าง aerial mycelium และเจริญฟูบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อได้ในระยะเวลาสั้น โดยสังเกตการเริ่มสร้าง aerial mycelium ที่ระยะเวลา 1, 2, 3, 4, 5 วัน และการเจริญเต็มจานอาหารของ aerial mycelium ที่ระยะเวลา 3, 5 และ 7 วัน

สำหรับการเรียกชื่อไอโซเลทของเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์จะเรียกตามตัวอักษรสองตัวแรกของชื่อสกุลของพืชอาศัย ซึ่งการศึกษาในครั้งนี้ใช้ข้าวในการแยกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ โดยข้าวมี่ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Oryza sativa* L. ดังนั้นการเรียกชื่อไอโซเลทของเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่แยกได้ คือ OR และแบ่งกลุ่มไอโซเลทตามตัวอักษรสองตัวแรกของสายพันธุ์ข้าวที่นำมาแยกแต่ละชนิด โดยหมายเลขของไอโซเลทเรียงตามการแยกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์จากส่วนของใบ และรากตามลำดับ

3. การคัดเลือกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์

คัดเลือกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่มีความสามารถในการสร้าง aerial mycelium และเจริญฟูเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อได้ในระยะเวลาน้อยที่สุด (จากวิธีการที่ 2) มาทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *P. grisea* ด้วยวิธี dual culture วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ สำหรับชุดควบคุมวางเชื้อราสาเหตุโรคเพียงอย่างเดียว เมื่อเชื้อราสาเหตุโรคควบคุมเจริญเกือบเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ บันทึกขนาดรัศมีของโคโลนีเชื้อราสาเหตุโรคในชุดควบคุมและชุดทดสอบ จากนั้นนำมาคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (percent inhibition of radial growth; PIRG)

สูตรคำนวณเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ

$$\text{PIRG} = (R_1 - R_2) / R_1 \times 100$$

R_1 = รัศมีการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคในชุดควบคุม

R_2 = รัศมีการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคในชุดทดสอบ

จากนั้นคัดเลือกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่ให้ค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่สูงที่สุด จำนวน 2 ไอโซเลท มาศึกษาในขั้นตอนต่อไป

4. ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคไหม้ของต้นกล้าข้าว

แช่เมล็ดข้าวในสปอร์แขวนลอยของเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่คัดเลือกได้ แบ่งเป็น 3 กรรมวิธี ๆ ละ 3 ซ้ำ ที่ความเข้มข้น 1×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 1 วัน แล้วปลูกลงบนกระเพาะเพาะ บ่มไว้ในสภาพโรงเรือนเมื่อกล้าข้าวอายุ 14 วันหลังปลูก ใส่ปุ๋ยสูตร 46-0-0 อัตรา 25 กิโลกรัม/ไร่ (2.46 กรัม/กระเพาะเพาะ) เพื่อกระตุ้นให้กล้าข้าวอ่อนแอต่อการเกิดโรคไหม้ จากนั้นพ่นด้วยสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *P. grisea* ความเข้มข้นที่ 10^5 สปอร์/มิลลิลิตร ที่ผสมเจลาติน บ่มไว้ในถุงพลาสติกสีดำ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำกระเพาะต้นกล้าข้าวไปไว้ในสภาพธรรมชาติ และพ่นไอน้ำทุก ๆ เช้า-เย็น เป็นเวลา 4 วัน ประเมินความรุนแรงในการเกิดโรคหลังการปลูกเชื้อ 7 วัน ให้คะแนนการเกิดโรคโดยใช้ระดับคะแนนการเกิดโรค 7 ระดับ ตามรายงานของ Roumen *et al.* (1997) ดังนี้ 0 คือ ไม่ปรากฏแผล, 1 คือ เกิดแผลจุดกลมสีน้ำตาลขนาดเล็กผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 0.5 มิลลิเมตร ไม่มีการสร้างโคนเดี่ยว, 2 คือ เกิดแผลกลมหรือยาวรีเล็กน้อยขนาดเล็กผ่านศูนย์กลางระหว่าง 0.5-1 มิลลิเมตร ไม่มีการสร้างโคนเดี่ยว, 3 คือ เกิดแผลจุดเล็ก ๆ ขนาดประมาณ 1-3 มิลลิเมตร มีจุดสีเทาตรงกลางแผล 4 คือ เกิดแผลจุดขนาดประมาณ 4 มิลลิเมตร หรือยาวกว่า แผลเป็นสีเทา มีขอบแผลสีน้ำตาล, 5 คือ เกิดแผลสีเทาเกาะกันเป็นกลุ่ม มีขอบแผลสีน้ำตาล เป็นอาการที่แสดงถึงความอ่อนแอต่อโรค และ 6 คือ เกิดแผลลูกกลมยาวติดต่อกันเป็นสีเทา ไม่มีขอบแผลที่แน่นอน เป็นอาการที่แสดงถึงความอ่อนแอต่อโรค

5. การเข้าอาศัยในเนื้อเยื่อต้นกล้าข้าว

นำเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. grisea* มากที่สุด มาตรวจสอบความสามารถในการเข้าอาศัยในเนื้อเยื่อด้วยวิธีการแยกเชื้อกลับ (re-isolation) โดยนำเมล็ดข้าวมาแช่ในเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ ความเข้มข้น 1×10^9 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 1 วัน แล้วปลูกลงบนกระเพาะเพาะ บ่มไว้ในสภาพโรงเรือน จากนั้นแยกเชื้อกลับที่ระยะเวลา 1, 3, 5, 7 และ 14 วัน หลังการออกปลูก โดยตัดต้นกล้าข้าวเป็นชิ้นเล็ก ๆ แยกเป็นส่วนใบ ลำต้น ราก และเปลือกเมล็ด นำชิ้นพืชทั้งหมดมาฆ่าเชื้อที่ผิว โดยใช้วิธีการในข้อ 2 ขั้วขึ้นพืชให้แห้ง โดยนำมาวางบนกระดาษกรองที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ผึ่งลมให้แห้งภายในตู้ถ่ายเชื้อเป็นเวลา 2-3 วัน จากนั้นวางชิ้นพืชแต่ละส่วนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ IMA-2 บ่มไว้ในตู้มืด ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน ตรวจสอบการเจริญของเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่เจริญออกมาจากชิ้นพืช และนับจำนวนชิ้นพืชที่สามารถแยกเชื้อกลับได้ เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้ปลูกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ คำนวณเปอร์เซ็นต์การแยกเชื้อกลับจากสูตรดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การแยกเชื้อกลับ} = \frac{\text{จำนวนชิ้นพืชที่แยกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ได้}}{\text{จำนวนชิ้นพืชทั้งหมด}} \times 100$$

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การแยกเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ของข้าว

จากการศึกษาลักษณะอาการของโรคไหม้บนใบข้าว พบแผลจุดสีน้ำตาลคล้ายรูปตา บริเวณกลางแผลมีสีเทา แผลมีความกว้าง 2-5 มิลลิเมตร และความยาว 10-15 มิลลิเมตร (ภาพที่ 1A) เมื่อนำมาแยกเชื้อสาเหตุด้วยวิธี single spore isolation พบว่า โคลนเชื้อของเชื้อราสาเหตุบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เริ่มแรกสร้างเส้นใย สีขาว ค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นสีเทา (ภาพที่ 1B) และเมื่อนาสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคมาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า พบลักษณะเส้นใยไม่มีผนังกัน สปอร์ไม่มีสี (hyaline) มี 2-3 เซลล์ รูปกระสวย หัวมน-ท้ายแหลม (spindle) มีขนาดความกว้าง 7.5 ไมโครเมตร และยาว 25 ไมโครเมตร (ภาพที่ 1C) จากนั้นเทียบกับรายงานของ Ou (1985) พบว่าเชื้อราสาเหตุโรคนี้คือ เชื้อรา *P. grisea* ซึ่งจากผลการทดลอง พบว่า สามารถแยกได้เชื้อรา *P. grisea* สาเหตุโรคไหม้ของข้าว ซึ่งชนิดของเชื้อราที่พบนี้มีความสอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมา (นวรรตน์, 2557) ที่ทำการศึกษาและแยกเชื้อสาเหตุโรคไหม้ของข้าวจากแปลงข้าวที่เกิดโรคไหม้ระบาดในประเทศไทย พบว่า เชื้อสาเหตุโรคไหม้ของข้าว คือ เชื้อรา *P. grisea* ซึ่งเชื้อราเหล่านี้ส่วนใหญ่มักแพร่กระจายทั่วไปในอากาศ และอาจมีความแตกต่างกันของสายพันธุ์ในแต่ละแหล่งปลูก

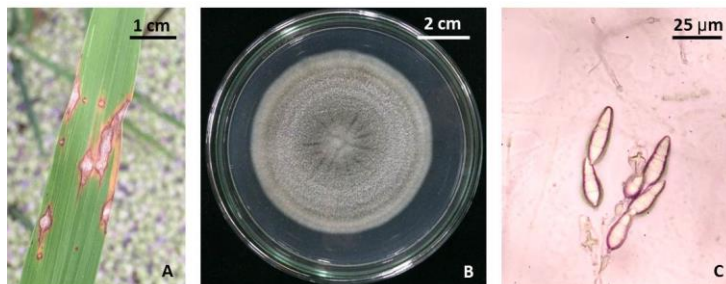


Figure 1. Characteristics of rice leaf blast symptom (A), colony on PDA medium (B) and conidia of *Pyricularia grisea* (C)

2. การแยกเชื้อแอกติโนไมซีต์เอนโดไฟต์จากส่วนต่าง ๆ ของต้นข้าว

จากการแยกเชื้อแอกติโนไมซีต์เอนโดไฟต์จากชิ้นส่วนของข้าว จำนวน 4 สายพันธุ์ พบโคโลนีเชื้อแอกติโนไมซีต์เอนโดไฟต์เจริญบนผิวหน้าชิ้นส่วนพืช (ภาพที่ 2) สามารถแยกเชื้อแอกติโนไมซีต์เอนโดไฟต์ได้ทั้งหมด 174 ไอโซเลท โดยนับจำนวนไอโซเลทจากโคโลนีที่เจริญบนชิ้นส่วนพืช ซึ่งส่วนใหญ่แยกได้จากส่วนใบ จำนวน 139 ไอโซเลท และส่วนราก จำนวน 35 ไอโซเลท เมื่อเปรียบเทียบจำนวนไอโซเลทของเชื้อแอกติโนไมซีต์เอนโดไฟต์ที่แยกได้จากข้าวแต่ละสายพันธุ์ พบว่า สามารถแยกเชื้อจากข้าวสายพันธุ์ กข1 ได้มากที่สุด จำนวน 75 ไอโซเลท รองลงมาคือ กข7 จำนวน 42 ไอโซเลท สุพรรณบุรี 1 จำนวน 34 ไอโซเลท และปทุมธานี 1 จำนวน 23 ไอโซเลท (ตารางที่ 1) สำหรับการแยกเชื้อแอกติโนไมซีต์เอนโดไฟต์จากข้าวแต่ละสายพันธุ์นั้น จำนวนและชนิดของเชื้อที่แยกได้ มักแปรตามปัจจัยต่าง ๆ ด้านพืชอาศัย เช่น ชนิดพืช และพื้นที่เพาะปลูก เป็นต้น (Sardi *et al.*, 1992) รวมไปถึงส่วนต่าง ๆ ของพืชที่เชื้อแอกติโนไมซีต์เอนโดไฟต์อาศัยอยู่ในที่แตกต่างกัน เช่น ราก ลำต้น ใบ ดอก ผล และเมล็ด (Qin *et al.*, 2011) ตลอดจนขั้นตอนการฆ่าเชื้อที่ผิวพืช ก็ยังมีอิทธิพลต่อชนิดและ

จำนวนของเชื้อด้วยเช่นกัน เนื่องจากหากไม่ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ผิวให้หมดอาจทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ที่ไม่พึงประสงค์ จึงอาจส่งผลให้เชื้อแอกติโนไมซีต์เอนโดไฟต์ไม่สามารถเจริญออกมาจากชิ้นพืชได้ (Shimizu *et al.*, 2000) จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า สามารถแยกเชื้อแอกติโนไมซีต์เอนโดไฟต์ได้จากส่วนใบมากกว่าส่วนราก เนื่องจากส่วนของรากมีโอกาสของการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ค่อนข้างสูง สอดคล้องกับรายงานของ ศิริมาศ และเกวลิน (2557) มีรายงานว่าสามารถแยกเชื้อกลุ่มนี้ได้จากส่วนใบของพืชสมุนไพร และพืชวงศ์กุหลาบได้มากที่สุดเช่นกันเมื่อจัดกลุ่มตามการสร้าง aerial mycelium ที่เจริญฟูเต็มจานอาหารภายในระยะเวลาอันสั้น สามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่สร้าง aerial mycelium เจริญฟูเต็มจานอาหารภายใน 3 วัน (61 ไอโซเลท), 5 วัน (87 ไอโซเลท) และ 7 วัน (26 ไอโซเลท) (ตารางที่ 2) จากนั้นคัดเลือกเชื้อแอกติโนไมซีต์เอนโดไฟต์ที่สร้าง aerial mycelium ได้รวดเร็วที่สุดภายใน 1 วัน มาจำนวน 10 ไอโซเลท เพื่อใช้ทดลองต่อไป สำหรับการคัดเลือกเชื้อปฏิบัติที่สร้าง aerial mycelium ได้ในระยะเวลาอันสั้น จะสามารถเร่งกระบวนการในการผลิตสารทุติยภูมิที่สำคัญต่าง ๆ ได้ไวยิ่งขึ้น เนื่องจากกระบวนการผลิตสารทุติยภูมิของเชื้อ

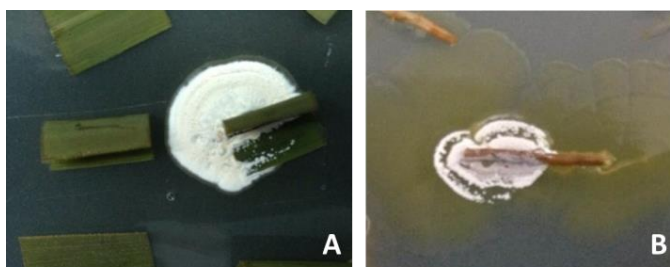


Figure 2. Endophytic actinomycetes grew out from leave (A) and root explants (B) of rice cultivar RD1 on IMA-2 medium after 30 days of incubation at 30 °C

Table 1. Numbers of isolation frequency of endophytic actinomycetes isolated from 4 cultivars of rice

Rice cultivars	Isolate numbers of endophytic actinomycetes			
	Leaves	Isolate codes	Roots	Isolate codes
RD1	61	ORR101-161	14	ORR162-175
RD7	26	ORR701-726	16	ORR727-742
PT1	19	ORP101-119	4	ORP120-123
SP1	33	ORS101-133	1	ORS134

Table 2. Numbers of endophytic actinomycetes isolated from rice grouped by day of aerial mycelium initiation and periods of full plate growth

Full plate growth (day)	Numbers of endophytic actinomycetes					Total
	1-day ¹	2-day	3-day	4-day	5-day	
3	10	37	14	0	0	61
5	13	39	34	0	1	87
7	7	6	7	3	3	26

¹ day of aerial mycelium initiation

ปฏิปักษ์ จะเกิดขึ้นพร้อมกับการเจริญเติบโตของ aerial mycelium (Chater, 2006) อีกทั้งเป็นประโยชน์ต่อการนำไปประยุกต์ใช้ในระบบการผลิตสารชีวภัณฑ์จากเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่สามารถลดต้นทุนการผลิตและระยะเวลาในการผลิตได้

3. การคัดเลือกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์

จากการคัดเลือกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่สามารถสร้าง aerial mycelium รวดเร็วที่สุด ภายใน 1 วัน พบเชื้อ จำนวน 10 ไอโซเลท ที่สามารถเจริญฟูเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อภายใน 3 วัน มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ของข้าว ด้วยวิธีการ dual culture บนอาหาร IMA-2 พบว่า เชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์แต่ละไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. grisea* สาเหตุโรคไหม้ของข้าวได้แตกต่างกัน (ภาพที่ 3) โดยพบไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคได้มากที่สุด ไม่แตกต่างกันทางสถิติ 2 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท ORR107 และ ORR719 โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 78.35 และ 74.17 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะไอโซเลท ORR107 และ ORR719 มีการผลิตสารปฏิชีวนะที่จำเพาะเจาะจงกับเชื้อราสาเหตุโรคที่แตกต่างจากไอโซเลทอื่นๆ จึงทำให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคได้ดีที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Sardi *et al.* (1992) ที่กล่าวไว้ว่า การผลิตสารทุติยภูมิของเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์แต่ละชนิดนั้น สามารถผลิตสารทุติยภูมิจำพวกสารปฏิชีวนะได้หลายชนิด ซึ่งแต่ละชนิดมีผลต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ต่างกัน นอกจากนี้ผลการทดลองยังสอดคล้องกับรายงานของ Zarandi *et al.*

(2009) ที่สามารถแยกเชื้อแอกติโนไมซีสต์ในกลุ่มของ *Streptomyces* spp. ได้จากดิน และเมื่อนำมาทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. grisea* พบว่า เชื้อ *Streptomyces* แต่ละไอโซเลท มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. grisea* ที่แตกต่างกัน

4. ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคไหม้ของต้นกล้าข้าว

จากการทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคไหม้ของต้นกล้าข้าว โดยวิธีแช่เมล็ดข้าวในสปอร์แขวนลอยของเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ ไอโซเลท ORR107 และ ORR719 ทำการปลูกเชื้อราสาเหตุโรค เมื่อต้นกล้าข้าวอายุ 14 วัน และประเมินโรคหลังการปลูกเชื้อ 7 วัน พบว่า ต้นกล้าข้าวที่ได้รับการปลูกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ทั้งสองไอโซเลท มีระดับความรุนแรงในการเกิดโรค ไม่แตกต่างกันทางสถิติ เฉลี่ยเท่ากับ 1.47 และ 1.20 ตามลำดับ แต่แตกต่างกันทางสถิติกับชุดควบคุมที่ปลูกเชื้อเพียงอย่างเดียว ที่มีค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงเท่ากับ 4.73 (ภาพที่ 4) คิดเป็นร้อยละการลดลงของระดับความรุนแรงของโรคเฉลี่ยเท่ากับ 68.90 และ 74.60 ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ทั้ง 2 ไอโซเลท สามารถผลิตสารทุติยภูมิจำพวกสารปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา (antifungal) (Araujo *et al.*, 2000) รวมทั้งเชื้อสามารถเข้าอยู่อาศัย (colonization) ในพืชอาศัย แล้วชักนำให้พืชอาศัยเกิดความต้านทานต่อโรคไหม้เพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ ศิริมาศ และ เกวลิน (2557) ที่สามารถชักนำให้ต้นกล้าสตรว์เบอร์รี่เกิดการต้านทานโรคทางใบในสตรว์เบอร์รี่ภายหลังปลูกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่แยกได้จากพืชสมุนไพร และพืชวงศ์กุหลาบลงบนต้นกล้า และรายงานของ



Figure 3. Inhibitory effects of 10 endophytic actinomycete isolates on growth of *Pyricularia grisea* colony after dual culture testing for 10 days on IMA-2 medium

Table 3. Inhibition percentage of endophytic actinomycete isolates obtained from 4 cultivars of rice against *Pyricularia grisea* using dual culture method on IMA-2 medium

Inhibitory levels ¹	Isolate numbers of endophytic actinomycetes (% Inhibition)	
Strong	ORR107	(78.35 ^A) ²
	ORR719	(74.17 ^{AB})
Moderate	ORP119	(70.00 ^{BC})
	ORR721	(69.17 ^{CD})
	ORS110	(65.00 ^{DE})
	ORR175	(61.67 ^{EF})
Weak	ORR728	(60.00 ^{FG})
	ORR737	(55.84 ^G)
Non active	ORR162	(50.00 ^H)
	ORP123	(48.33 ^H)

¹ Strong: 71.00-80.00 %, moderate: 61.00-70.00%, weak: 51.00-60.00%, non-active: less than 50.00%

² Means in the parentheses within the same column followed by different letters were significantly different at $P < 0.05$ by LSD=4.9892, CV (%) = 4.98

ชัยพร (2556) ที่สามารถควบคุมการเกิดโรคเน่าของผลลำไยได้ในระดับห้องปฏิบัติการ หลังจากพ้นสปอร์แขวนลอยเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ลงบนผลลำไย

5. การเข้าอาศัยในเนื้อเยื่อต้นกล้าข้าว

จากการทดสอบการเข้าอาศัยในเนื้อเยื่อของต้นกล้าข้าว โดยเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ ไอโซเลท ORR107 และ ORR719 จากวิธีแยกเชื้อกลับจากใบลำต้น ราก และเปลือกเมล็ดของข้าวที่ได้รับการปลูกเชื้อพบว่า เชื้อทั้ง 2 ไอโซเลท สามารถเข้าอาศัยภายในเนื้อเยื่อ

ของต้นกล้าข้าวได้ นอกจากนี้ การเจริญออกของเชื้อจากบริเวณรอยตัดของชิ้นพืชส่วนใบ ลำต้น ราก และเปลือกเมล็ดข้าว หลังจากบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ไอโซเลท ORR107 มีแนวโน้มการแยกเชื้อกลับเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาหลังการปลูกเชื้อ ที่ 1, 3, 5, 7 และ 14 วัน เท่ากับ 40.00, 63.33, 76.67, 80.00 และ 90.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เช่นเดียวกับ ไอโซเลท ORR719 (ตารางที่ 4) สำหรับการเพิ่มปริมาณของเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่เป็นเชื้อแบคทีเรีย สามารถแบ่งตัวที่รวดเร็ว ส่งผลให้เชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์

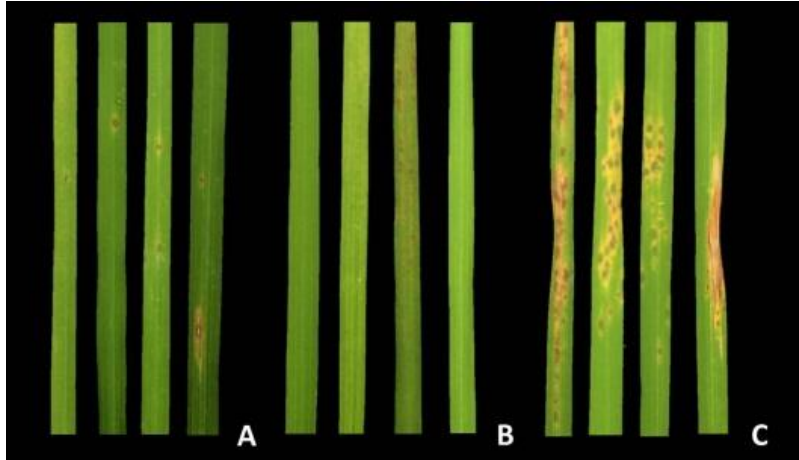


Figure 4. Blast disease symptoms on 21-day-old leaves of rice seedlings treated by seed soaking with spore suspension (conc. 10^9 cfu/ml) of endophytic actinomycetes isolate ORR107 (A) and ORR719 (B) compared with untreated control (C) after inoculation with *Pyricularia grisea* spore suspension (conc. 10^5 cfu/ml) on 14-day-old seedling

Table 4. Numbers and recovery percentages the selected endophytic actinomycetes 2 isolates from the segments of inoculated rice seedling after 1, 3, 5, 7 and 14 days of transplanting

Isolates	After transplant (day)	Part of tissue ¹			Total (%) ²
		Leave	Root	Rice husk	
ORR107	1	1	2	9	12 (40.00)
	3	4	5	10	19 (63.33)
	5	7	8	8	23 (76.67)
	7	5	10	9	24 (80.00)
	14	9	9	9	27 (90.00)
ORR719	1	2	4	10	16 (53.33)
	3	6	9	10	25 (83.33)
	5	9	10	10	29 (96.67)
	7	8	6	10	24 (80.00)
	14	7	8	9	24 (80.00)

¹ 10 pieces of each part of tissue

² calculated per 30 pieces

เพิ่มปริมาณในต้นพืชได้มากขึ้นเรื่อย ๆ นอกจากนี้เชื้อทั้งสองไอโซเลทเป็นเชื้อที่แยกได้จากต้นกล้าข้าว จึงทำให้เชื้อทั้งสองไอโซเลทสามารถเข้าอาศัยในพืชอาศัยเดิมได้ สอดคล้องกับรายงานของ Shimizu *et al.* (2000) ที่แยกเชื้อแอคติโนไมซีส์เอ็นโดไฟต์จากพืช rhododendron

แล้วสามารถปลูกเชื้อกลับเข้าอาศัยในพืชอาศัยเดิมได้ และสอดคล้องกับรายงานของ Meguro *et al.* (2004) ที่สามารถเชื้อกลับ หลังจากการปลูกเชื้อ *Streptomyces padanus* AOK-30 บนพืช mountain laurel ได้ในปริมาณที่เพิ่มมากขึ้น แปรตามระยะเวลาหลังการปลูกเชื้อ

สรุป

สามารถแยกเชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์จากข้าวทั้ง 4 สายพันธุ์ ได้จำนวน 174 ไอโซเลท เมื่อคัดเลือก 10 ไอโซเลท ที่มีการสร้าง aerial mycelium และเจริญฟูเต็มจานอาหารได้ภายในระยะเวลาอันสั้น มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pyricularia grisea* สาเหตุโรคไหม้ของข้าว ในระดับห้องปฏิบัติการ สามารถคัดเลือกเชื้อได้ 2 ไอโซเลท ซึ่งได้แก่ ORR107 และ ORR719 ที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคสูงสุด และนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคไหม้ของข้าวในระดับโรงเรือน พบว่า มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคไหม้ได้ดี สามารถลดระดับความรุนแรงของการเกิดโรคลงได้ร้อยละ 68.90 และ 74.60 ตามลำดับ จากนั้นนำมาตรวจสอบความสามารถในการเข้าอาศัยในเนื้อเยื่อด้านกล้าข้าว พบว่า เชื้อทั้ง 2 ไอโซเลท สามารถเข้าอาศัยในเนื้อเยื่อด้านกล้าของข้าวได้ และ มีเปอร์เซ็นต์การแยกเชื้อกลับเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาหลังการปลูกเชื้อที่นานขึ้น แสดงให้เห็นว่า เชื้อปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลทเหมาะสำหรับที่จะนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ เพื่อนำไปใช้ในการควบคุมโรคไหม้ของข้าวระดับแปลงในเชิงอนุรักษ์ต่อไปในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยได้รับทุนสนับสนุนวิจัยจากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

เอกสารอ้างอิง

- ชัชวาล จันทราสุริยารัตน์ และ สุวีพร เกตุงาม. 2552. โรคไหม้ใน ข้าวและสถานการณ์ปัจจุบันของงานวิจัยด้านยีนต้านทาน โรคไหม้ในข้าว. แก่นเกษตร 37: 69-78.
- ชัยพร ชัดสงคราม และ เกวลิน คุณาศักดากุล. 2556. ประสิทธิภาพของเชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์จากพืชวงศ์ลำไยในการควบคุมโรคผลเน่าของลำไย. วารสารเกษตร 29(3): 239-248.
- นวรรตน์ ไจหอม และนงลักษณ์ เกรินทวงศ์. 2557. เอกสารประกอบการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 52 สาขาพืช. การประเมินความหลากหลายและการจัดกลุ่มความรุนแรงของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าวที่เก็บรวบรวมในประเทศไทย. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 8 หน้า.
- ปิลันธนา สุาปนพงษ์วรกุล และ ศรวิชัย สายมวงค. 2558. ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus megaterium* สายพันธุ์ No.16 ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าวพันธุ์ กข6. วารสารเกษตร 31(3): 301-310.
- ศิริมาศ ชัยชม และ เกวลิน คุณาศักดากุล. 2557. การใช้เชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์ชักนำให้เกิดความต้านทานโรคทางใบของสตรอว์เบอร์รี่ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วารสารเกษตร 30(2): 141-150.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2558. เศรษฐกิจการเกษตรรายสินค้า ปี 2558. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: <http://www.oae.go.th/economiccon.html> (25 ตุลาคม 2559).
- Araujo, J.M. de, A.C. da Silva and J.L. Azevedo. 2000. Isolation of endophytic actinomycetes from roots and leaves of maize (*Zea mays* L.). Brazilian Archives of Biology and Technology 43: 447- 451.
- Chater K.F. 2006. *Streptomyces* inside-out: a new perspective on the bacteria that provide us with antibiotics. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B, Biological Science 361(1469): 761-768.
- Franco, C. 2002. The role of actinomycetes in plant growth and development. (Online). Available: http://www.bio.flinders.edu.au/biotech/staff/cmmf_res.htm. (September 29, 2016).
- Lahdenpera, M.L. 2000. How Mycostop® acts in the control of fungal plant diseases. Info letter

- (Online). Available: <http://www.yankeegrower.uconn.edu/2002.doc.pdf> (September 29, 2016).
- Meguro, A., S. Hasegawa, M. Shimizu, T. Nishimura and H. Kunoh. 2004. Induction of disease resistance in tissue-cultured seedlings of mountain laurel after treatment with *Streptomyces padanus* AOK-30. *Actinomycetologica* 18(2): 48-53.
- Ou, S.H. 1985. Rice Disease. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, UK. 380 p.
- Qin, S., K. Xing, J. H. Jiang. L. H. Xu and W. J. Li. 2011. Biodiversity, bioactive natural products and biotechnological potential of plant-associated endophytic actinobacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology* 89(3): 457-473.
- Roumen E., M. Levy and J.L. Notteghem. 1997. Characterisation of the European pathogen population of *Magnaporthe grisea* by DNA fingerprinting and pathotype analysis. *European Journal of Plant Pathology* 103(4): 363-371.
- Sardi, P., M. Saracchi, S. Quaroni, B. Petrolini, G. E. Borgonovi and S. Merli. 1992. Isolation of endophytic *Streptomyces* strains from surface-steriled roots. *Applied and Environmental Microbiology* 58(8): 2691-2693.
- Shimizu, M., Y. Nakagawa, Y. Sato, T. Furumai, Y. Igarashi, H. Onaka, R. Yoshida and H. Kunoh. 2000. Studies on endophytic actinomycetes (I) *Streptomyces* sp. isolated from rhododendron and its antifungal activity. *Journal of General Plant Pathology* 66(4): 360-366.
- Zarandi, M.E., G.H. S. Bonjar, F.P. Dehkaei, S.A.A. Moosavi, P.R. Farokhi and S. Aghighi. 2009. Biological control of rice blast (*Magnaporthe oryzae*) by use of *Streptomyces sindeneusis* isolate 263 in greenhouse. *American Journal of Applied Sciences* 6(1): 194-199.
-