ประสิทธิภาพแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ใหม่ TU-Orga1 ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคขอบใบแห้งของข้าว

Efficiency of New Antagonistic Bacterium TU-Orga1 Enhanced Growth and Controlled Bacterial Leaf Blight in Rice

ปาริชาติ สถิตธรรมพนา และดุสิต อธินุวัฒน์*

สาขาวิชาการจัดการเกษตรอินทรีย์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

วิลาวรรณ์ เชื้อบุญ

ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

Parichat Satisthamphana and Dusit Athinuwat*

Major of Organic Farming Management, Faculty of Science and Technology, Thammasat University, Rangsit Centre, Klong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 12120

Wilawan Chuaboon

Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkhen Campus, Ladyaow, Chatuchak, Bangkok 10900

บทคัดย่อ

นำแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ใหม่ที่แยกจากดินบริเวณรอบรากข้าว ได้แก่ TU-Orga1 ที่ได้จากการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ มาประเมินประสิทธิภาพการส่งเสริมการเจริญเติบโตพืชโดยเพิ่มการสร้าง indole-3-acetic acid (IAA) และยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งที่เกิดจากแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมี bacbicure (Canoron) พบว่าการคลุกเมล็ดข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 2 ด้วย TU-Orga1 (10^6 cfu/ml) มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นให้ข้าวมีปริมาณ IAA สะสมเพิ่มขึ้นสูงสุด 1.75 μg/ml และส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้าข้าวอายุ 14 วัน ให้มีความสูงต้น 8.7 เซนติเมตร ความยาวราก 5.2 เซนติเมตร และน้ำหนักสด 28.3 มิลลิกรัม นอกจากนี้ยังมีระดับการยับยั้งเชื้อ Xoo สูงสุด 11.3 มิลลิเมตร ขณะที่ bacbicure มีระดับการยับยั้งเชื้อ Xoo 8.2 มิลลิเมตร เมื่อนำ TU-Orga1 ไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคขอบใบแห้งภายใต้สภาพเรือนทดลอง ทั้งในลักษณะคลุกเมล็ด (10^6 cfu/ml) และพ่นใบ (10^8 cfu/ml) 2 ครั้ง เมื่อข้าวอายุ 14 และ 28 วัน และปลูกเชื้อ Xoo เมื่อข้าวอายุ 30 วัน เปรียบเทียบกับใช้สารเคมี

***Corresponding author:** *adusit@tu.ac.th* *DOI: 10.14456/tjst.2012.20*

bacbicure พบว่า TU-Orga1 มีประสิทธิภาพในการลดการเกิดโรคขอบใบแห้ง 75.6 % ซึ่งดีกว่าการใช้สารเคมี bacbicure ชี้ให้เห็นว่า TU-Orga1 มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตข้าวและควบคุมโรคขอบใบแห้ง จึงจัดว่ามีศักยภาพที่จะนำไปใช้เป็นการควบคุมทางเลือกหรือทดแทนการใช้สารเคมีเพื่อการผลิตข้าวอินทรีย์เชิงการค้าได้ดีอย่างชัดเจน (P=0.05)

คำสำคัญ : แบคทีเรียรอบรากพืช, การส่งเสริมการเจริญเติบโตพืช, การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี, ระบบเกษตรอินทรีย์

Abstract

New antagonistic strain TU-Orga1 from rice rhizosphere was evaluating for increased indole-3-acetic acid (IAA) to enhance rice growth of seeds treated. Its potentials on suppressed *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) caused bacterial leaf blight (BLB) compared with bacbicure (Canoron) were also characterized. We found that seed treated with TU-Orga1 (10^6 cfu/ml) increased highest IAA accumulation in Suphanburi 2 cultivar of rice with 1.75 μg/ml and promoted seedling growth (14-day old) with increased shoot and root length and fresh weight by 8.7 cm, 5.2 cm and 28.3 mg respectively. Moreover, TU-Orga1 was significantly greater in Xoo with 11.3 mm inhibition diameter where bacbicure showed Xoo suppression with 8.2 mm inhibition diameter. Greenhouse experiments using seed treated (10^6 cfu/ml) and 2-foliar sprayed (10^8 cfu/ml) at 14 and 28-day old plants were conducted to test the effectiveness of TU-Orga1 for protecting rice (cv. Suphanburi 2) against Xoo compared with bacbicure (30-day old plant inoculation). The result showed the best decrease in BLB severity by 75.6 % that better than chemical bacteriocide. Results suggested that TU-Orga1 significantly affects control efficacy (P=0.05) and has the potential for use in organic commercial field application as alternative control or reduced pesticide use.

Keywords: rhizosphere bacteria, plant growth promotion, plant disease biological control, organic farming system

1. คำนำ

แบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้งของข้าว ระบาดมากในช่วงฤดูฝน ส่งผลให้ผลผลิตข้าวลดลงมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ปัจจุบันมีการพัฒนาเทคนิคและวิธีการควบคุมโรคที่มีประสิทธิภาพและสามารถนำไปใช้ได้จริงทดแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์ (Buensanteai and Athinuwat, 2012) รวมทั้งผู้บริโภคให้ความสนใจเกี่ยวกับปัญหาสุขภาพและสภาพแวดล้อมมากยิ่งขึ้น การสร้างความต้านทานพืชต่อเชื้อโรคด้วยการกระตุ้นให้พืชมีกลไกในการปกป้องตัวเองเป็นอีกหนึ่งทางเลือกในการควบคุมโรคที่มีประสิทธิภาพปลอดภัย (Buensanteai *et al*., 2012) เช่น การกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกระบวนทางชีวเคมี โดยก่อให้เกิดการสะสมของฮอร์โมนพืช indole-3-acetic acid (IAA) ก่อให้เกิดการสะสม phytoalexins และโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานของพืช (pathogenesis-related proteins, PR

proteins) เช่น chitinase และ β-1,3-glucanase ซึ่งเป็น precursor ของกระบวนการสังเคราะห์ PR proteins และเป็น signal molecule ส่งสัญญาณให้พืชเกิดความต้านทานทั้งระบบ (induced systemic resistance, ISR) (Fernando and Linderman, 1994; van Loon and van Strien, 1999) งานวิจัยเหล่านี้บ่งชี้ถึงความสำคัญของเอนไซม์และสารชนิดต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งฮอร์โมนพืชที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของพืชเพื่อส่งเสริมให้พืชเจริญเติบโตแข็งแรงรอดพ้นจากการเข้าทำลายของเชื้อโรค การศึกษาวิจัยครั้งนี้เพื่อคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและยับยั้งเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้งเพื่อการจำแนกชนิดและใช้ในระบบการผลิตข้าวอินทรีย์ต่อไป

2. วิธีการทดลอง

2.1 การแยกเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้ง

เก็บรวบรวมสายพันธุ์เชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้ง *X. oryzae* pv. *oryzae* จากแหล่งผลิตข้าวที่สำคัญของประเทศ โดยนำตัวอย่างใบข้าวที่คาดว่าเป็นโรคขอบใบแห้งมาแยกเชื้อสาเหตุด้วยวิธี tissue transplanting (วราภรณ์ และสุดฤดี, 2552ก) บนอาหาร nutrient glucose agar (NGA) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (28±3 องศาเซลเซียส) นาน 24-48 ชั่วโมง ใช้ loop ปลอดเชื้อแตะโคโลนีสีเหลืองมันวาวและขอบเรียบมา cross streak บนอาหาร NGA และทำให้เชื้อบริสุทธิ์ จากนั้นทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคบนข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 2 ด้วยวิธีการตัดปลายใบ (วราภรณ์ และสุดฤดี, 2552ข)

2.2 การแยกและรวบรวมเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

นำดินบริเวณรอบรากต้นข้าวมาแยกแบคทีเรียปฏิปักษ์ด้วยวิธี soil dilution plate โดยการนำตัวอย่างดินจำนวน 1 กรัม ผสมลงในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 9 มิลลิ ลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer ปล่อยให้ดินตกตะกอน และเก็บเฉพาะส่วนของน้ำมาเจือจาง ด้วยวิธีการ ten-fold serial dilution จากนั้นใช้ micropipette ดูด suspension ปริมาตร 0.1 มิลลิ ลิตร กระจายให้ทั่วบนอาหาร NGA นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 48 ชั่วโมง เลือกเก็บโคโลนีของแบคทีเรียที่เจริญอยู่บนอาหารมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ เพื่อทดสอบประสิทธิภาพต่อไป

2.3 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

2.3.1 การทดสอบประสิทธิภาพในระดับห้องปฏิบัติการ

(1) ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้ง เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้จากดินบริเวณรอบรากข้าวและเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์เปรียบเทียบได้แก่ *Bacillus amyloliquefaciens* KPS46, *B. subtilis* XA6 และ *B. subtilis* D10 และเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้ง *X. oryzae* pv. *oryzae* ในอาหาร NGA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำเชื้อที่เลี้ยงได้มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* ด้วยวิธี dual culture โดยการ streak plate เป็นแนวขนานกันระหว่างเชื้อสาเหตุโรคและเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ บนอาหาร NGA วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) สายพันธุ์ละ 4 ซ้ำ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์เปรียบเทียบดังกล่าวข้างต้น และสารเคมี bacbicure บันทึกผลโดยการวัดบริเวณยับยั้ง

(2) ประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว คัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งดีที่สุด

3 สายพันธุ์ จากข้อ (1) มาทดสอบประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวด้วยวิธี blotter test โดยทดสอบข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 2 เริ่มจากล้างเมล็ดพันธุ์ข้าวด้วย clorox 10 % นาน 2 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ผึ่งเมล็ดพอหมาด ๆ คลุกด้วย suspension เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์แต่ละชนิด ที่ความเข้มข้นเซลล์ 10^6 cfu/ml นาน 5 นาที หลังจากนั้นนำเมล็ดข้าวมาทดสอบด้วยวิธี blotter test โดยวาง 25 เมล็ด/จานอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นเวลา 14 วัน เปรียบเทียบกับสารเคมี bacbicure และแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์เปรียบเทียบดังกล่าวในข้อ (1) ประเมินผลโดยวัดความสูงต้น ความยาวราก และน้ำหนักสด

(3) ตรวจหาปริมาณ IAA ด้วยวิธี Salkowski assay เก็บตัวอย่างข้าวที่ได้จากการทดลองในข้อที่ (2) โดยสุ่มเก็บอย่างต่อเนื่องตั้งแต่เริ่มเพาะเมล็ดจนกระทั่งข้าวอายุได้ 7 วัน จากนั้นบดใบข้าว 0.1 กรัม ใน homogenization buffer (0.1 M Tris-HCl buffer, pH 7, 0.1 M KCl, 1 mM PMSF, 1 μg/ml leupeptin, 1 % (v/v) Triton X-100 และ 3 % (w/v) PVPP) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นนำ homogenate ที่สกัดได้จากใบข้าว ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมกับ Salkowski's reagent ปริมาตร 4 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาว 535 nm (Specphotometer รุ่น EC1011) โดยใช้หลักการความเข้มของสีที่ได้จากการทำปฏิกิริยาระหว่างสาร indole-3-acetic acid กับกรด sulfuric (colorimeter) คำนวณปริมาณสาร indole-3-acetic acid เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0-50 μg/มิลลิลิตร (ณัฐธิญา และสุดฤดี, 2549)

2.3.2 การทดสอบประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคในเรือนทดลอง

คัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งดีที่สุด 3 สายพันธุ์ จากข้อ 3.1.1 มาทดสอบประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและการยับยั้งการเกิดโรคขอบใบแห้งของข้าวในระดับเรือนทดลองเปรียบเทียบกับแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์เปรียบเทียบและสารเคมี bacbicure รวม 7 กรรมวิธี โดยคลุกเมล็ดข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 2 ร่วมกับการพ่นใบข้าว 2 ครั้ง (เมื่อข้าวอายุ 14 และ 28 วันหลังปลูก) ด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์หรือสารเคมีควบคุมโรค วางแผนการทดลองแบบ CRD กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ แต่ละกรรมวิธีปลูกข้าวในกระถางขนาด 8 นิ้ว ที่บรรจุดินเหนียว 1 กิโลกรัม และเมื่อข้าวอายุ 30 วัน จะปลูกเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* ด้วยวิธีการตัดปลายใบ และบ่มไว้ในโรงเรือนให้มีความชื้นสูง 100 % RH ประเมินประสิทธิภาพของเชื้อปฏิปักษ์โดยวัดความสูงต้น ความยาวราก น้ำหนักสด และอัตราความรุนแรงโรคขอบใบแห้งที่ 7 วันหลังปลูกเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* โดยอัตราความรุนแรงโรคสังเกตจากความยาวของแผล ซึ่งดัดแปลงมาจาก วราภรณ์ และสุดฤดี (2552ข)

3. ผลการทดลอง

3.1 การแยกเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้ง

จากการเก็บตัวอย่างใบข้าวที่แสดงอาการโรคขอบใบแห้งจากแหล่งปลูกข้าวสำคัญของประเทศรวม 3 จังหวัด คือ สุพรรณบุรี อ่างทอง และพระนครศรีอยุธยา สามารถเก็บรวบรวมสายพันธุ์เชื้อที่มีแนวโน้มเป็นเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้ง ได้ทั้งหมด 150 สายพันธุ์ จากนั้นได้ทดสอบคุณสมบัติพื้นฐานซึ่งได้แก่ การทดสอบแกรม การก่อให้เกิดอาการเซลล์ตายอย่างเฉียบพลันบนใบยาสูบ และความสามารถในการก่อให้เกิดโรคบนข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 2 พบว่าแบคทีเรียทุกสายพันธุ์เป็นแกรมลบ สามารถ

ก่อให้เกิดอาการเซลล์ตายอย่างเฉียบพลันบนใบยาสูบ และก่อให้เกิดโรคบนข้าว โดยเฉพาะอย่างยิ่งสายพันธุ์ TU-Xoo89 ก่อให้เกิดโรครุนแรงที่สุด (Fig. 1) จึงนำสายพันธุ์นี้มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้ง *X. oryzae* pv. *oryzae* ด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อไป

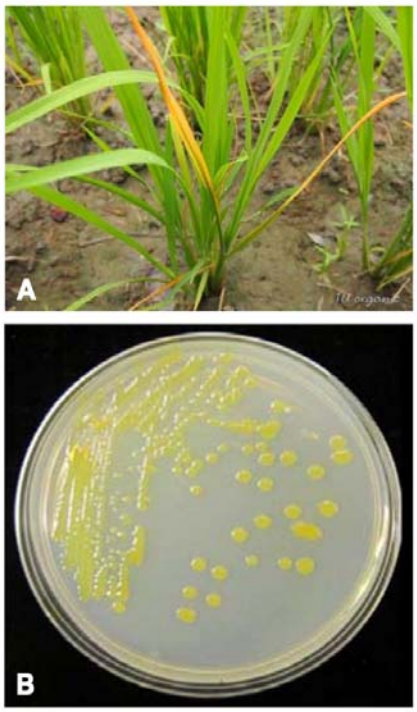

Fig. 1 Bacterial leaf blight symptoms (A) caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* TU-Xoo89 and colony characteristic on nutrient glucose agar (B).

3.2 การแยกและรวบรวมเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

จากการแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากดินบริเวณรอบรากข้าว ทั้งหมด 30 ตัวอย่าง ได้แบคทีเรียทั้งหมด 227 สายพันธุ์ ซึ่งจำแนกออกเป็นกลุ่มตามลักษณะโคโลนีบนอาหาร NGA ได้ 5 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มที่ 1 โคโลนีมีสีเหลืองน้ำตาล รูปร่างไม่แน่นอน ผิวขรุขระเล็กน้อย ขอบหยัก จำนวน 40 สายพันธุ์ กลุ่มที่ 2 โคโลนีสีขาว ด้าน กลมแบน ขอบเรียบ จำนวน 44 สายพันธุ์ กลุ่มที่ 3 โคโลนีมีสีขาว กลมนูน มันเยิ้ม จำนวน 45 สายพันธุ์ กลุ่มที่ 4 โคโลนีสีขาว ด้าน รูปร่างไม่แน่นอน ขอบหยัก จำนวน 52 สายพันธุ์ และกลุ่มที่ 5 โคโลนีมีสีเหลือง กลม ตรงกลางนูน ขอบเรียบ จำนวน 46 สายพันธุ์

3.3 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

3.3.1 การทดสอบประสิทธิภาพในระดับห้องปฏิบัติการ

(1) ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้ง แบคทีเรียที่มีแนวโน้มเป็นเชื้อปฏิปักษ์ทั้งหมด 227 สายพันธุ์ ได้ถูกนำมาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* ด้วย dual culture technique พบว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ TU-Orga1, TU-44 และ TU-60 มีประสิทธิภาพโดดเด่นในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* โดยสายพันธุ์ TU-Orga1 แสดงระดับการยับยั้งสูงสุด 11.3 มิลลิเมตร รองลงมาคือ TU-44 และ TU-60 ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งไม่แตกต่างทางสถิติกับแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์เปรียบเทียบ KPS46, D10 และ XA6 โดยมีระดับการยับยั้งเท่ากับ 10.2, 10.4, 10.7, 10.5 และ 10.3 มิลลิเมตร ตามลำดับ ขณะที่ bacbicure มีระดับการยับยั้ง 8.2 มิลลิเมตร

(2) ประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว เมื่อนำแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *X. oryzae* pv. *oryzae* ดีที่สุดจำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ TU-Orga1, TU-44 และ TU-60 มาทดสอบประสิทธิภาพในการส่งเสริมการงอกและการเจริญของข้าวพบว่าสายพันธุ์ TU-Orga1 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้าข้าวอายุ 14 วัน โดยสามารถเพิ่มความสูงต้น ความยาวราก และน้ำหนักสด

เท่ากับ 8.7 เซนติเมตร 5.2 เซนติเมตร และ 28.3 มิลลิกรัม ตามลำดับ รองมาคือสายพันธุ์ TU-44 และ *B. amyloliquefaciens* KPS46 โดยมีความสูงต้น; ความยาวราก; และน้ำหนักสด เท่ากับ 8.2, 8.0 เซนติเมตร; 4.8, 4.9 เซนติเมตร และ 24.8, 23.5 มิลลิกรัม ตามลำดับ ซึ่งการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์มีประสิทธิภาพดีกว่าการใช้สารเคมี bacbicure (Table 1)

(3) ตรวจหาปริมาณ IAA ด้วยวิธี Salkowski assay จากผลการทดลองพบว่าเมล็ดข้าวที่คลุกเมล็ดด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์ TU-Orga1 มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นให้ข้าวมีปริมาณ IAA สะสมเพิ่มขึ้นสูงสุด 1.75 μg/ml เมื่อเทียบกับแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์อื่น รวมทั้งการใช้สารเคมี รองมาคือกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ TU-60 และ D10 โดยมีการสะสมของ IAA เท่ากับ 1.5 และ 1.0 μg/ml ตามลำดับ ในวันที่ 4 หลังการคลุกเมล็ด (Fig. 2)

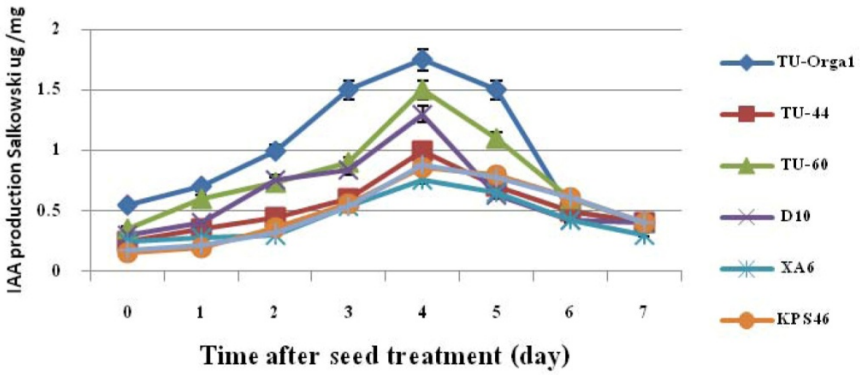

Fig. 2 Efficacy of new antagonistic strain on induced IAA accumulation in rice plants.

3.3.2 การทดสอบประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคในเรือนทดลอง

จากการทดลองพบว่ากรรมวิธีคลุกเมล็ดร่วมกับการพ่นด้วย suspension เชื้อปฏิปักษ์สายพันธุ์ TU-Orga1 มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตข้าวได้ดีเทียบเท่ากับกรรมวิธีเปรียบเทียบที่คลุกเมล็ดร่วมกับการพ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์เปรียบเทียบได้แก่ *Bacillus amyloliquefaciens* KPS46, *B. subtilis* XA6 และ *B. subtilis* D10 แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ TU-Orga1 ส่งเสริมให้ข้าวมีน้ำหนักสดเฉลี่ย 12.2 กรัม ความสูงต้นและความยาวราก เท่ากับ 47.4 และ 18.5 เซนติเมตร ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีการคลุกเมล็ดร่วมกับการพ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ TU-44 และ TU-60 และสารเคมี bacbicure มีความสูงต้น 45.7, 44.3, 48.9 เซนติเมตร; ความยาวราก17.2, 17.4, 16.3 เซนติเมตร และน้ำหนักสด 11.9, 10.8, 12.6 มิลลิกรัม ตามลำดับ และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้งสองสายพันธุ์ TU-44 และ TU-60 ให้ผลในการลดการเกิดโรคขอบใบแห้ง 71.3 และ 70.5 % ตามลำดับ (Table 1) นอกจากแบคทีเรียปฏิปักษ์ TU-Orga1 ยังส่งเสริมให้ข้าวเจริญเติบโตได้ดีแล้วยังมีประสิทธิภาพในการลดการเกิดโรคขอบใบแห้งในสภาพเรือนทดลองได้ดีและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยมีการลดการเกิดโรค 75.6 % (Table 1)

Table 1 Efficacy of antagonistic bacteria on increased plant growth promotion of rice plants under laboratory and greenhouse conditions.

Treatment	Laboratory conditions[1/] 14-day after planting			Greenhouse conditions[1/] 37-day after planting			
	Fresh weight (mg)	Shoot length (cm)	Root length (cm)	Fresh weight (g)	Shoot length (cm)	Root length (cm)	Disease reduction (%)
TU-Orga1	28.3a	8.7a	5.2a	12.2a	47.4a	18.5a	75.6a
TU-44	24.8b	8.2bc	4.8a	11.9ab	45.7a	17.2b	71.3b
TU-60	21.1b	8.3b	4.3b	10.8b	44.3a	17.4b	70.5b
D10	18.2c	8.0c	4.2b	11.3b	33.4b	15.9c	71.1b
XA6	22.1b	8.7a	5.0a	11.8ab	35.2b	16.0c	70.9b
KPS46	23.5b	8.0c	4.9a	12.1a	44.4a	18.4a	70.4b
Bacbicure	18.7c	8.0c	4.4b	12.6a	48.9a	16.3c	70.6b

[1/] Means in a column followed by the same letter are significantly different according to DMRT using program R (ชูศักดิ์, 2551).

[2/] D10 = *Bacillus subtilis* D10, XA6 = *B. subtilis* XA6 and KPS46 = *B. amyloliquefaciens* KPS46.

4. วิจารณ์

การแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากบริเวณรอบรากข้าวที่มีความสมบูรณ์และไม่แสดงอาการโรคสามารถแยกแบคทีเรียได้ทั้งหมด 227 สายพันธุ์ จัดกลุ่มตามลักษณะโคโลนีได้ 5 กลุ่ม เชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากดินบริเวณรอบรากนั้นมีความหลากหลายของชนิดและปริมาณ ซึ่งจากกลุ่มของแบคทีเรียเหล่านี้จะมีแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็น PGPR (plant growth promoting rhizobacteria) และ/หรือ การเป็นเชื้อปฏิปักษ์เจริญอยู่ (วิลาวรรณ์, 2551) การใช้เชื้อแบคทีเรียที่อาศัยตามบริเวณรากและดินรอบรากของพืชที่มีความสามารถในการอยู่อาศัยร่วมกับพืชและไม่เป็นโทษกับพืช (symbiosis) มาเพิ่มปริมาณและใส่ลงไปในดินปลูกเพื่อส่งเสริมการใช้ธาตุอาหารของพืช ตลอดจนสามารถกระตุ้นให้พืชผลิตสารต่าง ๆ ออกมายับยั้งการเจริญของเชื้อชนิดอื่น ๆ (Suslow and Schroth, 1982) รวมทั้งมีสารบางชนิดที่เชื้อแบคทีเรียผลิตกระตุ้นให้พืชเติบโตแข็งแรงจัดเป็นแนวทางหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Vancura *et al*., 1987) ซึ่งจากการศึกษาวิจัยพบว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์ TU-Orga1 มีคุณสมบัติโดดเด่นทั้งในด้านการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชโดยสามารถยืนยันประสิทธิภาพได้จากการกระตุ้นให้พืชเกิดการสะสมของ IAA เพิ่มมากขึ้นอย่างเด่นชัด ซึ่งเมื่อข้าวได้รับการกระตุ้นจากแบคทีเรียปฏิปักษ์โดยการคลุกเมล็ดก่อนปลูกและร่วมกับการพ่นใบพืช ทำให้เมล็ดมีการเปลี่ยนแปลงทางสรีระวิทยา สัณฐานวิทยา ชีวเคมี อย่างต่อเนื่องและเป็นลำดับ ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในระดับเซลล์ ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในระดับเนื้อเยื่อ อวัยวะ และส่วนประกอบต่าง ๆ ของพืชนำไปสู่การ

เกิดพัฒนาการทางด้านลำต้น (vegetative stage/phase) อย่างเป็นระบบ ในขณะที่เซลล์มีการเจริญเติบโตจะมีการสร้างและสะสมสารพวกโปรตีน ไขมัน ดีเอ็นเอ เอนไซม์ และสารอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการแบ่งเซลล์และการขยายขนาดของเซลล์ที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ข้าวมีความสูงต้น ความยาวรากและน้ำหนักสดเพิ่มสูงมากที่สุด (วราภรณ์ และสุดฤดี, 2552ก; วราภรณ์ และ สุดฤดี, 2552ข) ซึ่งเอนไซม์ที่พืชสร้างขึ้นจะมีปริมาณการสะสมสูงขึ้นก็ต่อเมื่อเชื้อสาเหตุโรคพืชเข้าทำลายจึงส่งผลต่อการเกิดโรคลดลง เมื่อการเจริญเติบโตดีเป็นปกติตามพันธุ์กรรม โรคไม่รบกวน ก็ส่งผลโดยตรงต่อผลผลิตพืชที่มากขึ้น โดยการศึกษาทดลองครั้งนี้แบคทีเรียที่ใช้ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรค TU-Orga1 ยังใช้ในรูปแบบของสารละลายแขวนลอยหรือ suspension หากได้รับการพัฒนาเป็นสูตรสำเร็จที่ใช้ง่าย อายุการเก็บรักษายาวนานจะทำให้แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์นี้มีคุณค่าและเหมาะสมที่จะนำไปส่งเสริมให้เกษตรหรือผู้ที่เกี่ยวข้องใช้ต่อไป

5. สรุป

ประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 3 สายพันธุ์ ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวในระดับห้องปฏิบัติการและเรือนทดลอง พบว่าแบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ คือ TU-Orga1, TU-44 และ TU-60 มีศักยภาพสูงในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคได้ดี การทดลองในครั้งนี้จึงจัดเป็นความสำเร็จของการคัดเลือกและปรับใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์คุณภาพ *B. subtilis* TU-Orga1 ในลักษณะเชื้อสดหรือในรูปแบบของสารแขวนลอย ซึ่งจะเป็นจุดเริ่มต้นหรือแนวทางในการพัฒนาสูตรสำเร็จที่เหมาะสมและมีคุณภาพต่อไป

6. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.สุดฤดี ประเทืองวงศ์ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่สนับสนุนเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์เปรียบเทียบเพื่อให้ใช้ในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

7. เอกสารอ้างอิง

ชูศักดิ์ จอมพุก, 2551, สถิติการวางแผนการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูลในงานวิจัยด้านพืชไร่, ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.

ณัฐธิญา เบือนสันเทียะ และสุดฤดี ประเทืองวงศ์, 2549, การสะสมเอนไซม์เพอรอกซิเดสและเบต้ากลูคาเนสในถั่วเหลืองที่ช่วยเพิ่มความต้านทานต่อโรคใบจุดนูนด้วยเชื้อปฏิปักษ์ *Bacillus amyloliquefacience* KPS46, น. 38-39, ใน การประชุมวิชาการพืชไร่วงศ์ถั่วแห่งชาติ ครั้งที่ 1 เรื่อง พืชไร่วงศ์ถั่วเพื่อสุขภาพและความพอเพียง, โรงแรมริมกกรีสอร์ท, เชียงราย.

วราภรณ์ ภู่ภักดีพันธ์ และสุดฤดี ประเทืองวงศ์, 2552ข, เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ใหม่กระตุ้นให้ข้าวพันธุ์ต้านทานผลิตเอนไซม์ปกป้องการติดเชื้อจาก *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ได้เพิ่มขึ้นมากกว่าข้าวพันธุ์อ่อนแอ, น. 649-658, ใน การประชุมวิชาการอารักขาพืช ครั้งที่ 9, อุบลราชธานี.

วราภรณ์ ภู่ภักดีพันธุ์ และสุดฤดี ประเทืองวงศ์, 2552ก, การผสมเชื้อปฏิปักษ์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมโรคขอบใบแห้งและส่งเสริมการเจริญเติบโตข้าว, น. 601-610, ใน การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตร

ศาสตร์ ครั้งที่ 47, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วิลาวรรณ์ เชื้อบุญ, 2551, ลักษณะและการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในการควบคุมเชื้อ *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* สาเหตุโรคเน่าเละกะหล่ำดอก, วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Buensanteai, N. and Athinuwat, D., 2012. The antagonistic activity of *Trichoderma virens* strain TvSUT10 against cassava stem rot in Thailand, Afr. J. Microbiol. Res. (Accepted)

Buensanteai, N., Thumanu, K., Sompong, M., Athinuwat, D. and Prathuangwong, S., 2012, The FTIR spectroscopy investigation of the cellular components of cassava after sensitization with plant growth promoting rhizobacteria, *Bacillus subtilis* CaSUT007, Afr. J. Microbiol. Res. 6: 603-610.

Fernando, W.G.D. and Linderman, R., 1994, Inhibition of *Phytophthora vignae* and root rot of cowpea by soil bacteria, Biol. Agri. Hort. 12: 1-14.

Prathuangwong, S., Kasem, S., Thaveechai, N., and Tsuyumu, S., 2000, Evaluation of thermotolerant bacteria from soybean phyllospheres and rhizospheres for secondary metabolite production and biological control of soybean bacterial pustule, pp. 69: 4-5, The 2nd JSPS-NRCT Joint Seminar on Development of Thermotelerant Microbial Resources and Their Applications, Yamaguchi, Japan.

van Loon, L.C. and van Strien, E.A., 1999, The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins, Physiol. Mol. Plant Pathol. 55:85-97.

Vancura, A., Rezanka, T., Marsalek, V., Kristan, V. and Barasova, G., 1987, Fatty acids and production of tylosin compounds in *Streptomyces fradiae*, J. Bas. Microbiol. 27: 167-171.