การใช้ endophytic bacteria กระตุ้นเมล็ดพันธุ์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตข้าว

UTILIZATION OF ENDOPHYTIC BACTERIA IN SEED PRIMING FOR INCREASING RICE PRODUCTION EFFICIENCY

ทักษพร ช้างม่วง

TAKSAPHORN CHANGMUANG

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเกษตรศาสตร์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2561

KMITL-2018-AG-M-065-277

การใช้ endophytic bacteria กระตุ้นเมล็ดพันธุ์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตข้าว

UTILIZATION OF ENDOPHYTIC BACTERIA IN SEED PRIMING FOR INCREASING RICE PRODUCTION EFFICIENCY

ทักษพร ช้างม่วง

TAKSAPHORN CHANGMUANG

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเกษตรศาสตร์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2561

KMITL-2018-AG-M-065-277

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

UTILIZATION OF ENDOPHYTIC BACTERIA IN SEED PRIMING FOR INCREASING RICE PRODUCTION EFFICIENCY

TAKSAPHORN CHANGMUANG

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE IN AGRICULTURE

FACTULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2018

KMITL-2018-AG-M-065-277

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2018

FACTULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การใช้ endophytic bacteria กระตุ้นเมล็ดพันธุ์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตข้าว
ชื่อนักศึกษา	นางสาว ทักษพร ช้างม่วง
รหัสนักศึกษา	59604012
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขา	เกษตรศาสตร์
พ.ศ.	2561
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รองศาสตราจารย์ ดร. พรหมมาศ คูหากาญจน์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ดร. พจนา สีขาว

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการแยกแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืช (endophytic bacteria) จาก ใบ ลำต้น และรากของข้าว เพื่อทดสอบความสามารถในการส่งเสริมความแข็งแรงของต้นกล้าข้าว และการยับยั้งเชื้อ *Pyricularia oryzae* สาเหตุโรคไหม้ของข้าว โดยทำการแยกเชื้อ endophytic bacteria ได้ทั้งหมด 46 ไอโซเลท จากนั้นนำมาตรวจสอบด้วยวิธีการย้อมแกรม และ 3%KOH พบว่า endophytic bacteria ที่แยกได้ส่วนใหญ่เป็นกลุ่มของแบคทีเรียแกรมบวก และเมื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการเสริมความแข็งแรงของกล้าข้าว พบว่ามีจำนวน 41 ไอโซเลท ที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้าข้าว โดยไอโซเลท BaR917 มีเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวสูงที่สุดคือ 128.42 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ไอโซเลท SuS617 ที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งใกล้เคียงกัน และต่อมาเมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *P. oryzae* ด้วยวิธี dual culture test พบว่าทุกไอโซเลทมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *P. oryzae* ได้ โดยกลุ่มไอโซเลทที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งมากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไปได้แก่ ไอโซเลท Su2s217, SuR317, BaS417 และ BaR917 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง 66.80, 66.66, 64.86 และ 61.11 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

จากการพิจารณาคุณสมบัติทางด้านการส่งเสริมการเจริญเติบโต ความแข็งแรงของต้นกล้าข้าว ประกอบกับคุณสมบัติในการเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุโรคไหม้ข้าว จึงคัดเลือกนำไอโซเลท BaR917 ไปศึกษากรรมวิธีในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตข้าวโดยการกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธีชีวภาพ โดยผลการทดลองพบว่า ไม่ส่งผลกระทบทางลบต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ทั้งในด้านความชื้น และการงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าว โดยเมล็ดที่ผ่านการกระตุ้นด้วย endophytic bacteria (Bio-priming) พบว่าเดือนที่ 1 ถึง 3 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนในเดือนที่ 4 พบว่า กรรมวิธีกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ด้วย endophytic bacteria มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงที่สุดโดยยังคงมีเปอร์เซ็นต์การงอกเท่ากับ 95.50 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่กรรมวิธีที่ไม่ได้กระตุ้นเมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอก 93 เปอร์เซ็นต์ และพบว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลังจากการกระตุ้นเมล็ดพันธุ์จนสิ้นสุดการทดลองมีการลดลงเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ต่อมาเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ข้าวที่ผ่านการกระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria ไปทดสอบการควบคุมโรคไหม้ข้าวในสภาพโรงเรือนพบว่ากรรมวิธีที่การกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ด้วย endophytic bacteria มีระดับความรุนแรงของโรคอยู่ในระดับที่ 4 ซึ่งใกล้เคียงกับการกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ด้วยสารเคมี (Osmo priming) ที่มีระดับความรุนแรงของโรคอยู่ที่ระดับที่ 3 ในขณะที่กรรมวิธีที่ไม่ทำการกระตุ้นของเมล็ดพันธุ์ (No priming) และกรรมวิธีที่ทำการกระตุ้นของเมล็ดพันธุ์ด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (Hydro-priming) มีระดับความรุนแรงของโรคสูงถึงระดับที่ 6 เช่นเดียวกันกับอัตราการเกิดโรคที่กรรมวิธีที่กระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria มีอัตราการเกิดโรคต่ำกว่ากรรมวิธีที่ไม่ทำการกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ และกรรมวิธีที่กระตุ้นเมล็ดพันธุ์ด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ แสดงให้เห็นว่าการกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ด้วย endophytic bacteria ไอโซเลท BaR917 สามารถลดการเกิดโรคไหม้ได้อย่างมีประสิทธิภาพเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่ทำการกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ และกรรมวิธีกระตุ้นเมล็ดด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

เมื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวในสภาพแปลงทดลองจนถึงระยะเก็บเกี่ยวพบว่า การกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ด้วย endophytic bacteria ไอโซเลท BaR917 สามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีค่าดัชนีการเจริญเติบโตของต้นกล้า (seedling vigour index; %svi) ในกรรมวิธีที่กระตุ้นเมล็ดพันธุ์ด้วย endophytic bacteria มีค่า svi สูงที่สุดเท่ากับ 153 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ การกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ เท่ากับ 131 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่ากรรมวิธีควบคุม เช่นเดียวกับ ความสูง จำนวนรวงต่อกอ จำนวนเมล็ดดีต่อรวง ที่กรรมวิธีกระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria มีค่าสูงกว่ากรรมวิธีกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ และกรรมวิธีที่ไม่กระตุ้นเมล็ดพันธุ์ ที่สำคัญพบว่ากรรมวิธีที่กระตุ้นเมล็ดพันธุ์ด้วย endophytic bacteria ให้ผลผลิตต่อกอ และผลผลิตต่อไร่สูงที่สุดเท่ากับ 13.33 กรัมต่อกอ และ 553.4 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีที่ไม่กระตุ้นเมล็ดพันธุ์ และกรรมวิธีกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ ให้ผลผลิตอยู่ที่ 11.08 และ10.85 กรัมต่อกอตามลำดับ เมื่อตรวจสอบจำนวน endophytic bacteria ไอโซเลท BaR917 โดยตรวจนับเฉพาะโคโลนีของแบคทีเรียที่มีลักษณะของไอโซเลท BaR917 ตามลักษณะสัณฐานวิทยาเบื้องต้นที่ได้ทำการทดสอบไปข้างต้นแล้วนั้นพบว่า ยังคงมีปริมาณแบคทีเรียอยู่ตามส่วนต่างๆของต้นข้าว โดยพบในรากมากที่สุดจำนวน 3.48 log cfu/ml รองลงมาได้แก่ ในลำต้นและใบจำนวน 2.89 และ2.53 log cfu/ml ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการใช้ endophytic bacteria กระตุ้นเมล็ดพันธุ์สามารถเพิ่มผลผลิตข้าวได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไปในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis	Utilization of endophytic bacteria in seed priming for increasing rice production efficiency
Student	Miss Taksaphorn Changmuang
Student ID.	59604012
Degree	Master of Science
Program	Agriculture
Year	2018
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Prommart Koohakan
Thesis Co-Adviser	Dr. Potjana Sikhao

Abstract

This study is aimed for isolation endophytic bacteria from leaves, stems and roots of healthy rice and screening their potential to promote plant growth and inhibit *Pyricularia oryzae* causing rice blast. Forty-six isolates were obtained from this experiment. Characterization of benefit isolates by gram staining and 3% KOH test, found that most of them were gram-positive bacteria. Initially, the effect on rice seedling were tested. It was found that 41 isolates showed their ability to promote plant growth that was referred to benefit isolates. Isolate Bar917 had the highest seedling vigor index that was 128.42 %, followed by isolate SuS617. Then, the benefit isolates were also tested their efficiency to inhibit *P. oryzae* by dual culture technique. It was found that all benefit isolates could inhibit *P. oryzae*. The isolates giving 60% inhibition higher than control were SuS217, SuR317, BaS417 and BaR917, which was 66.80, 66.66, 64.86 and 61.11% respectively.

For screening the potential isolate, the qualifications of endophytic bacteria on growth promotion by seedling vigour index (%svi) combined with their antagonistic activity were considered. BaR917 was selected for further study on seed-priming to improve the efficiency of rice production. Seed priming with endophytic bacteria (Bio-priming) did not affect moisture content and seed germination along 3 months, In the fourth month, seed bio-priming had the highest germination compared with control at percentage of 95.50%, while the No priming seed had a germination rate of 93%. Detection the amount of bacteria consisted in this priming seed was slightly reduced from the beginning of bio-priming process untill the end of the experiment.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Bio-priming with endophytic bacteria was tested to control rice blast disease in greenhouse condition. It was show that Bio-priming treatment had disease severity index at level 4, closely to Osmo priming, while No priming treatment and Hydro priming treatment had highest level of severity disease index at level 6. Similarly result on disease incidence of Bio-priming was lower than No priming and Hydro priming treatment. Therefore, Bio-priming with endophytic bacteria BaR917 could reduce rice blast disease compared with No priming and Hydro priming.

Bio-priming was also tested the efficiency on growth promotion in the experimental pot until harvesting period. It was found that Bio-priming could promote the growth with highest seedling vigour index (%svi) at 158% followed by Hydro priming at 131% that was higher than control. Similar results were found on number of stem height, number of ears, number of unfilled-grain by Bio-priming that was higher than No priming and Hydro priming treatmens. Importantly, the Bio-priming had highest yield of grams/hill (13.33) and yield of kilogram/rai (553.4) while No priming treatment and Hydro priming treatment were 11.08 and 10.85 grams/hill, respectively. Checking the number of endophytic bacteria BaR917 by counting method on the colonies of BaR917 according to the basic morphology previously reported found that it colonized in root at the highest amount of 3.48 log cfu / ml, followed by stem and leaf at 2.89 and 2.53 log cfu / ml. This research indicated that bio-priming with endophytic bacteria could support rice production efficiency in the future.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. พรหมมาศ คูหากาญจน์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่กรุณาคอยให้คำปรึกษา คำแนะนำ ตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ รวมทั้งการแก้ไขปัญหาต่างๆ พร้อมทั้งการสนับสนุนการทำงานในทุกด้าน จนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จลงอย่างเรียบร้อย สมบูรณ์ และ ดร. พจนา สีขาว ที่เป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้กำลังใจและคำแนะนำที่ดีเสมอมา

ขอขอบพระคุณอาจารย์ทางด้านโรคพืช ได้แก่ รศ.ดร. ถนิมนันต์ เจนอักษร รศ.ดร.นวล พรรณ งามยี่สุน และผศ.ดร. นงลักษณ์ เภรินทวงค์ ที่คอยอบรมแนะนำให้คำปรึกษาทั้งทางด้านโรคพืช และคุณธรรม จริยธรรม

ขอขอบพระคุณ บิดา มารดา และบุคคลในครอบครัว การอบรมสั่งสอนให้เป็นคนดี ให้โอกาสต่างๆ คอยให้คำปรึกษาและเป็นกำลังใจตลอดมา พร้อมทั้งสนับสนุนทุนการศึกษาเล่าเรียนจนสามารถเรียนได้ถึงระดับปริญญาโท

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ปฏิบัติการโรคพืช ที่คอยช่วยอำนวยความสะดวกในการเบิกอุปกรณ์ต่างๆ สำหรับใช้ในการทดลอง และให้คำแนะนำในการปฏิบัติงานด้วยดีตลอดมา

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณน้องๆ และเพื่อนๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง นางสาวปาณิศา ประสม ที่คอยให้การช่วยเหลือตลอดการทำการงานตั้งแต่เริ่มต้น จนสิ้นสุดการทดลอง นายนคร บุญน้อย ที่คอยช่วยเหลือในการเก็บข้อมูล และทำการทดลอง ขอขอบคุณอย่างยิ่ง

ทักษพร ช้างม่วง

19 กรกฎาคม 2561

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	III
กิตติกรรมประกาศ	V
สารบัญ	VI
สารบัญตาราง	IX
สารบัญภาพ	X
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มา	1
1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์	2
1.3 ผลที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย	24
3.1 การแยกเชื้อรา *Pyricularia oryzae* สาเหตุโรคไหม้ของข้าว และทดสอบการก่อโรค	26
3.2 การคัดเลือก endophytic bacteria ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Pyricularia oryzae*	27
3.3 การศึกษากรรมวิธีการกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ข้าวด้วย endophytic bacteria	28
3.1.1 การศึกษาหาระยะเวลาที่เหมาะสมของเมล็ดพันธุ์ข้าวในการกระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria	28
3.1.2 การศึกษาหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดความชื้นเมล็ดพันธุ์ข้าวในการกระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria	29
3.1.3.การทดสอบคุณภาพของเมล็ดหลังการกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ข้าวด้วย endophytic bacteria	29
3.1.4 การทดสอบความมีชีวิตรอดของ endophytic bacteria	30
3.4 การทดสอบประสิทธิภาพการกระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria ในการควบคุมโรค 3 ไหม้ของข้าวในสภาพแปลงทดลอง	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.5 การทดสอบประสิทธิภาพการกระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว..... 31
บทที่ 4 ผลการทดลอง..... 32
4.1 ผลการแยกเชื้อรา *Pyricularia oryzae* สาเหตุโรคไหม้ของข้าว และทดสอบการก่อโรค..... 32
4.2 ผลการคัดเลือก endophytic bacteria ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Pyricularia oryzae*..... 33
4.2.1 ผลการคัดเลือก endophytic bacteria ต่อการเจริญของต้นกล้าข้าว..... 33
4.2.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของ endophytic bacteria ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Pyricularia oryzae*..... 40
4.3 ผลการศึกษาการกระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria..... 42
4.3.1 ผลการศึกษาหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ข้าวด้วย endophytic bacteria..... 42
4.3.2 ผลการศึกษาหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดความชื้นเมล็ดพันธุ์ข้าวในการกระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria..... 43
4.3.3 ผลการทดสอบคุณภาพของเมล็ดพันธุ์หลังการกระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria..... 44
4.3.3.1 ผลการทดสอบความชื้น..... 44
4.3.3.2 ผลการทดสอบความงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าว..... 45
4.3.3.3. ผลการทดสอบความมีชีวิตรอดของ endophytic bacteria..... 46
4.4 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการกระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria ในการควบคุมโรคไหม้ของข้าวในสภาพแปลงทดลอง..... 46
4.5 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการกระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว..... 48
บทที่ 5 วิจารณ์ผลการทดลอง..... 51
บทที่ 6 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ..... 56

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บรรณานุกรม..... 59

ภาคผนวก..... 64

ประวัติผู้เขียน..... 87

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
4.1	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและ คุณสมบัติเบื้องต้นของ endophytic bacteria……..	33
4.2	ผลของ endophytic bacterie ต่อการเจริญของต้นกล้าข้าว…….	38
4.3	ประสิทธิภาพของ endophytic bacteria ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Pyricularia oryzae*.....	40
4.4	การเปลี่ยนแปลงความชื้น ในการลดความชื้นของเมล็ดพันธุ์ข้าวหลังแช่เมล็ดด้วยสารแขวนลอย endophytic bacteria ……...	43
4.5	เปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ข้าวที่ผ่านและไม่ผ่านการกระตุ้นเมล็ดหลังจากเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 เดือน.....	45
4.6	การงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวที่ผ่านและไม่ผ่านการกระตุ้นเมล็ด หลังจากเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 เดือน……..	46
4.7	อัตราการเกิดโรคไหม้ข้าวในกรรมวิธีต่างๆ ภายหลังทำการปลูกเชื้อรา *P.oryzae*……...	47
4.8	ค่าเฉลี่ยข้อมูลการเจริญเติบโตของข้าวในสภาพแปลงทดลอง……...	49
4.9	ค่าเฉลี่ยข้อมูลผลผลิตข้าวในสภาพแปลงทดลอง.....	49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ตารางที่		หน้า
2.1	ลักษณะรากของข้าว	5
2.2	ลักษณะองค์ประกอบของใบข้าว	5
2.3	ลักษณะของช่อดอกข้าว	7
2.4	องค์ประกอบของเมล็ดพันธุ์ข้าว	7
2.5	ภาพ SEM photomicrographs ที่แสดงการเจริญของเส้นใย *T. harzianum* และการเจริญของ *P. aeruginosa* สายพันธุ์ UPM40 บนเมล็ดของถั่วเหลืองที่ผ่านการกระตุ้นการงอกของเมล็ด	22
4.1	การเกิดโรคไหม้ข้าวภายหลังทำการทดสอบโรคเป็นเวลา 7 วัน	32
4.2	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นของ endophytic bacteria ที่แยกได้จากข้าว	35
4.3	ประสิทธิภาพของ endophytic bacteria ทั้ง 5 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา *P. oryzae* มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังการทดสอบด้วยวิธี Dual-culture	42
4.4	การดูดน้ำของเมล็ดพันธุ์ข้าวที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส ที่ 0, 6, 12, 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง	43
4.5	จำนวน endophytic bacteria ภายหลังการกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ข้าวเป็นระยะเวลา 4 เดือน	46
4.6	การเกิดโรคไหม้ข้าวในกรรมวิธีต่างๆ ภายหลังทำการปลูกเชื้อรา *P. oryzae* เป็นเวลา 7 วัน	48
4.7	การเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวกรรมวิธีต่างๆ ที่ระยะเวลา 7 วัน	49
4.8	จำนวน endophytic bacteria (BaR917) ในใบ ลำต้น และรากของต้นข้าวภายหลังการกระตุ้นการงอกของเมล็ดในสภาพแปลงทดลอง	50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มา

ข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจอันดับหนึ่งของไทย โดยเฉพาะข้าวหอมมะลิ เป็นข้าวที่มีปริมาณการส่งออกและมูลค่ามากที่สุด (กรมการข้าว, 2555) นอกจากนี้กระทรวงเกษตรยังประกาศให้การรับรองเฉพาะข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ กข 15 เท่านั้น ที่สามารถส่งออกได้ในนามข้าวหอมมะลิไทย (กรมการค้าต่างประเทศ กระทรวงพาณิชย์, 2546) ทำให้ข้าวหอมมะลิสองพันธุ์นี้มีความสำคัญต่อการผลิตและส่งออก แต่ปัญหาสำคัญที่ส่งผลต่อการผลิตข้าวหอมมะลิคือ ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ กข 15 มีความอ่อนแอต่อโรคไหม้ของข้าว ที่เกิดจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae* (พูนศักดิ์ และคณะ, 2550) เชื้อสามารถเข้าทำลายได้ตั้งแต่ระยะกล้าจนถึงระยะข้าวออกรวง เชื้อชนิดนี้สามารถเข้าทำลายข้าวได้ทุกส่วนของต้นข้าว ตั้งแต่ใบ ลำต้น ข้อ และคอรวง ความเสียหายของข้าวในระยะคอรวงจะทำให้น้ำหนักและขนาดเมล็ดลดลง รวมถึงเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดน้อยลงด้วย (จินตนา และคณะ, 2559) การป้องกันกำจัดโรคดังกล่าวส่วนใหญ่ใช้สารเคมี ไม่ว่าจะใช้ฉีดพ่น คลุกหรือแช่เมล็ดก่อนปลูก ซึ่งการใช้สารเคมีอาจเป็นอันตรายต่อตัวเกษตรกร และส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ปัจจุบันจึงมีการนำวิธีการควบคุมทางชีวภาพมาใช้เช่น การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonistic microorganism) มาใช้ในการป้องกันกำจัดมากขึ้น โดยเฉพาะกลุ่มแบคทีเรียเอนโดไฟท์ (endophytic bacteria) ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืช แต่ไม่ทำให้เกิดอันตรายหรือก่อโรคต่อพืช (Hallman *et al*., 1997; สุจิตตรา และคณะ, 2556) ยังมีรายงานอีกว่าแบคทีเรียเอนโดไฟท์บางชนิดสามารถยับยั้งจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช และส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ (de Matos Nogueira *et al*., 2001) นอกจากนี้การเตรียมกล้าข้าวยังเป็นสิ่งที่สำคัญ เพราะจะทำให้ได้ข้าวที่เจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว และมีโอกาสให้ผลผลิตสูง ซึ่งต้นกล้าที่แข็งแรงจะต้องมีการเจริญเติบโตและความสูงสม่ำเสมอทั้งแปลง ไม่มีโรคและแมลงทำลาย (คณาจารย์ภาควิชาพืชไร่นา, 2547) ดังนั้นการที่จะได้มาซึ่งผลผลิตข้าวที่มีปริมาณและคุณภาพที่ดี จึงควรมีการจัดการที่ดีตั้งแต่เมล็ดพันธุ์

การกระตุ้นเมล็ด (seed priming) เป็นอีกหนึ่งวิธีสำหรับการเตรียมเมล็ดพันธุ์ก่อนนำไปปลูก มีหลักการคือทำให้เมล็ดพันธุ์ได้รับความชื้นในปริมาณหนึ่งตามความเหมาะสมของเมล็ดพันธุ์แต่ละชนิด เพื่อชักนำให้เกิดกระบวนการงอก จนมีการสร้างเอนไซม์ (Farooq *et al*., 2006; Nasri *et al*., 2011) และกระบวนการเมแทบอลิซึมภายในเมล็ด แล้วยุติกระบวนการงอกของรากก่อนงอก โดยลดความชื้นของเมล็ดกลับสู่ระดับความชื้นเดิมเพื่อให้สามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ได้ตามปกติ (Ashraf and Foolad, 2005; Dezfuli *et al*., 2008; ดวงกมลวรรณ และคณะ, 2556) ทั้งนี้การกระตุ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมล็ดมีหลายวิธีได้แก่ การแช่เมล็ดในน้ำ (hydropriming) หรือการใช้สารดูดซึม (osmopriming) ที่อุณหภูมิ และระยะเวลาที่เหมาะสม เมื่อนำเมล็ดที่ผ่านการกระตุ้นไปเพาะจะทำให้เมล็ดงอกได้เร็วและสม่ำเสมอ (McDonald, 2000) นอกจากนี้ยังมีการนำจุลินทรีย์มาใช้ร่วมกับการกระตุ้นการงอก (bio-priming) โดยมีการรายงานว่า bio-priming เป็นอีกหนึ่งวิธีการที่ช่วยยืดระยะเวลา หรือชะลอการเกิดโรคกับเมล็ดพันธุ์ นอกจากนี้ยังสามารถทำให้ต้นกล้าแข็งแรงปราศจากเชื้อสาเหตุโรคได้ (Callen *et al*., 1991; Callen and Mathre, 2000) ตัวอย่างเช่น Begum *et al*., (2010) ได้ทำการทดลองกระตุ้นการงอกของเมล็ดร่วมกับการใช้จุลินทรีย์ 3 ชนิดได้แก่ *Trichoderma harzianum* สายพันธุ์ UPN40 *Trichoderma virens* สายพันธุ์ UPM23 และ *Pseudomonas aeruginosa* สายพันธุ์ UPM13B8 มาใช้ในการควบคุมโรคโคนเน่าของถั่วเหลืองที่เกิดจากเชื้อ *Colletotrichum truncatum* โดยพบว่าเชื้อปฏิปักษ์ทั้ง 3 ชนิดสามารถควบคุมการเกิดโรคโคนเน่าของถั่วเหลืองทั้งก่อนการงอกและหลังการงอกได้อย่างมีนัยสำคัญ หรืองานวิจัยของ Raj *et al.* (2004) ที่ได้ศึกษาการกระตุ้นเมล็ดโดยใช้เชื้อ *Pseudomonas fluorescens* 5 สายพันธุ์เพื่อเพิ่มความต้านทานต่อโรคราน้ำค้างข้าวฟ่าง ซึ่งผลการทดลองพบว่าทั้ง 5 สายพันธุ์สามารถต้านทานโรคราน้ำค้างได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้การใช้ bio-priming ยังมีความเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อปฏิปักษ์ ซึ่งจะทำให้ประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคเพิ่มมากขึ้น (Wright *et al*., 2003)

ดังนั้นจึงได้ศึกษาการใช้เชื้อ endophytic bacteria ที่แยกได้จากข้าวร่วมกับการใช้เทคนิค seed priming เพื่อควบคุมโรคไหม้ที่เกิดจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae* ของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ข้าวให้มีการงอกอย่างรวดเร็วและสม่ำเสมอขึ้น มีความเหมาะสมต่อการนำไปใช้ในการผลิตข้าวต่อไปในอนาคต

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อคัดเลือก endophytic bacteria ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Pyricularia oryzae* สาเหตุโรคไหม้ของข้าว

1.2.2 เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ข้าว ภายหลังการกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ด้วย endophytic bacteria

1.2.3 เพื่อศึกษาการกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ด้วย endophytic bacteria เพื่อลดการเกิดโรคไหม้ที่เกิดจากเชื้อ *Pyricularia oryzae* ในข้าว

1.2.4 เพื่อศึกษาการใช้ endophytic bacteria ส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

ได้วิธีการที่เหมาะสมในการทำ Bio-priming โดยใช้ endophytic bacteria ที่มีประสิทธิภาพเพื่อประโยชน์ในการควบคุมโรคไหม้ของข้าว และส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว รวมถึงระยะเวลาการยืดอายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ และการมีชีวิตรอดของ endophytic bacteria หลังจากการทำ Bio priming ตลอดจนการนำผลงานวิจัยตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารวิชาการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. ข้าว

ข้าวเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Oryza sativa* ต้นที่อยู่เหนือดินจะเห็นข้อปล้องชัดเจนในระยะที่แตกกอและออกรวง ส่วนของตา ใบจะเจริญพัฒนาเป็นใบข้าว ในขณะที่ตายอดจะพัฒนาเป็นหน่อและรวง สำหรับตารากจะสามารถพัฒนาเป็นรากได้ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม ใบข้าวเป็นส่วนสำคัญอย่างหนึ่งของต้นข้าวในการให้ผลผลิตสูง โดยมีหน้าที่ในการสร้างอาหารโดยกระบวนการสังเคราะห์แสง ต้นข้าวจะมีจำนวนใบเฉลี่ยประมาณ 14 ใบ ตั้งแต่เริ่มงอกจนถึงออกรวง โดยใบสุดท้ายจะเป็นใบธง ก่อนที่ช่อดอกจะโผล่ขึ้นมา โดยช่อดอกข้าวจะพัฒนามาจากปล้องสุดท้ายของต้น ดอกข้าวหลังจากการผสมพันธุ์จะพัฒนากลายเป็นเมล็ดข้าว ภายในเมล็ดประกอบด้วยส่วนของคัพภะและแป้งซึ่งส่วนใหญ่ เป็นพวกอะไมโลเพคติน (amylopectin) และบางส่วนเป็นอะมิโลส (amylose) และวิวัฒนาการและการแพร่กระจายของข้าวในทวีปเอเชียมีการแพร่กระจายอยู่ 3 กลุ่ม (subspecies) คือ

1. กลุ่มจาปอนิกา (Japonica) มีลักษณะเมล็ดสั้นทนต่ออากาศหนาว และมีปริมาณอะมิโลสต่ำ ปลูกในเกาหลี ญี่ปุ่น ต่อมาได้มีการนำข้าวนี้ไปปลูกทางตอนใต้ของยุโรป รัสเซีย และอเมริกาใต้

2. กลุ่มอินดิกา (Indica) ข้าวสายพันธุ์นี้มีลักษณะเมล็ดยาว ขึ้นได้ในเขตร้อน เช่น ไทย อินเดีย และฟิลิปปินส์

3. กลุ่มจาวานิกา (Javanica) ข้าวสายพันธุ์นี้มีลักษณะเมล็ดใหญ่ ป้อม ต้นสูงปลูกทั่วไปบริเวณเส้นศูนย์สูตร เช่นอินโดนีเซีย (ชวา) พม่า (จำรัส, 2534)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ (คณาจารย์ภาควิชาพืชไร่นา, 2547)

การจำแนกทางพฤกษศาสตร์

Class	Angiospermae
Subclass	Monocotyledonae
Family	Gramineae
Genus	Oryza
Species	sativa

ลักษณะราก

ระบบรากเป็นแบบรากฝอย (fibrous root system) (ภาพที่ 2.1) ประกอบด้วยรากที่พัฒนามาจากส่วนแรดิเคิล (radicle) เรียกว่า primary root หรือ first seedling root และรากที่แตก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แขนงออกมาเรียกว่า secondary root หรือ lateral root รากที่เกิดจาก scutellar node เรียกว่า seminal root ส่วนรากที่เกิดจากข้อใต้ดินตั้งแต่ coleoptilar node ขึ้นไป เรียกว่า adventitious root

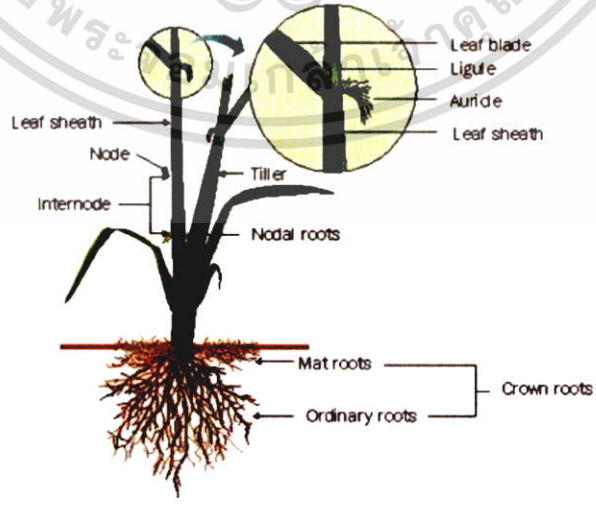
ภาพที่ 2.1 แสดงลักษณะรากของข้าว (คณาจารย์ภาควิชาพืชไร่นา, 2547)

ลักษณะลำต้น

ลำต้น (haulm หรือ culm) ประกอบด้วยข้อ (node) และปล้อง (internode) ข้อประกอบด้วย วงเจริญ (growth ring) ปุ่มกำเนิดราก (root primordia) ตา (bud) และรอยกาบใบ (leaf scar) ข้าวมีการแตกหน่อ (tillering) ลำต้นหลัก เรียกว่า main culm หน่อที่เจริญจาก main culm เรียกว่า primary tiller หน่อที่เจริญจาก primary tiller เรียกว่า secondary tiller และหน่อที่เจริญจาก secondary tiller เรียกว่า tertiary tiller ตามลำดับ

ลักษณะใบ

ใบเป็นใบเดี่ยว (simple leaf) ประกอบด้วย กาบใบ (leaf sheath) และแผ่นใบ (leaf blade) บริเวณรอยต่อระหว่างกาบใบและแผ่นใบ (leaf collar) มีเยื่อกันน้ำหรือลิ้นใบ (ligule) หูใบหรือเขี้ยวใบ (auricle) ส่วนที่มีลักษณะคล้ายใบแต่ไม่มีเส้นกลางใบ เป็นสัน 2 สัน พบระหว่างหน่อหรือแขนงที่แตกจากลำต้นเรียกว่า prophyllum (ภาพที่ 2.2)



ภาพที่ 2.2 แสดงลักษณะองค์ประกอบของใบข้าว (คณาจารย์ภาควิชาพืชไร่นา, 2547)

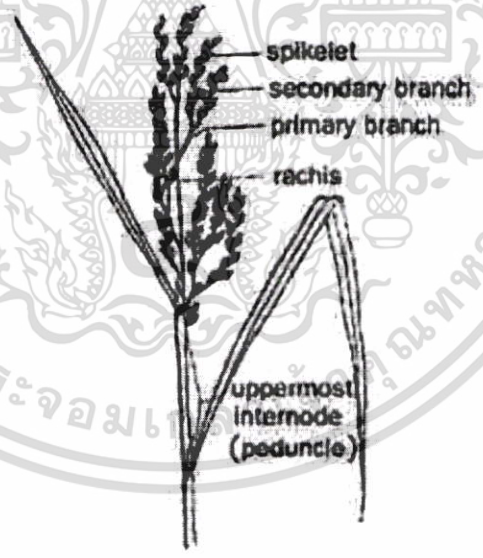
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ช่อดอกและดอก

- ช่อดอกเป็นแบบ panicle ปล้องสุดท้ายของลำต้น (uppermost internode) เป็นก้านช่อดอก (peduncle) แกนกลางช่อดอกเรียกว่า rachis หรือ panicle axis กิ่งที่แตกจาก rachis เรียกว่า primary branch และกิ่งที่แตกจาก primary branch เรียกว่า secondary branch (ภาพที่ 2.3)

- ดอกข้าวเกิดเป็นกลุ่มเรียกว่า spikelet ประกอบด้วย กลีบดอกที่หุ้ม spikelet 2 กลีบ ได้แก่ กลีบด้านนอก (outer glume) และกลีบด้านใน (inner glume) แต่มองเห็นไม่ชัด (rudimentary glume) ดอกประกอบด้วยดอกย่อย (floret) 3 ดอก มีดอกย่อยเพียงดอกเดียวที่มีการเจริญ เรียกว่า flowering glume ส่วนดอกย่อยที่ไม่เจริญเหลือเฉพาะส่วน lemma เรียกว่า sterile lemma หรือ non-flowering glume หรือ empty glume

- ดอกย่อยที่มีการเจริญประกอบด้วยกลีบดอกย่อยด้านนอก (lemma) ที่มีเส้นตามความยาว 5 เส้น และกลีบดอกย่อยด้านใน (palea) ที่มีเส้นตามความยาว 3 เส้น ดอกย่อยประกอบด้วยเกสรตัวผู้ (stamen) ที่มีก้านชูละอองเกสรตัวผู้ (filament) และอับละอองเกสรตัวผู้ (anther) ส่วนเกสรตัวเมีย (pistil) ประกอบด้วยรังไข่ (ovary) ก้านชูเกสรตัวเมีย (style) สั้น ปลายเกสรตัวเมีย (stigma) แยกเป็น 2 แฉก มีลักษณะคล้ายขนนกเรียกว่า plumose stigma และเยื่อรองรังไข่ (lodicule) อยู่ที่ส่วนฐานของรังไข่



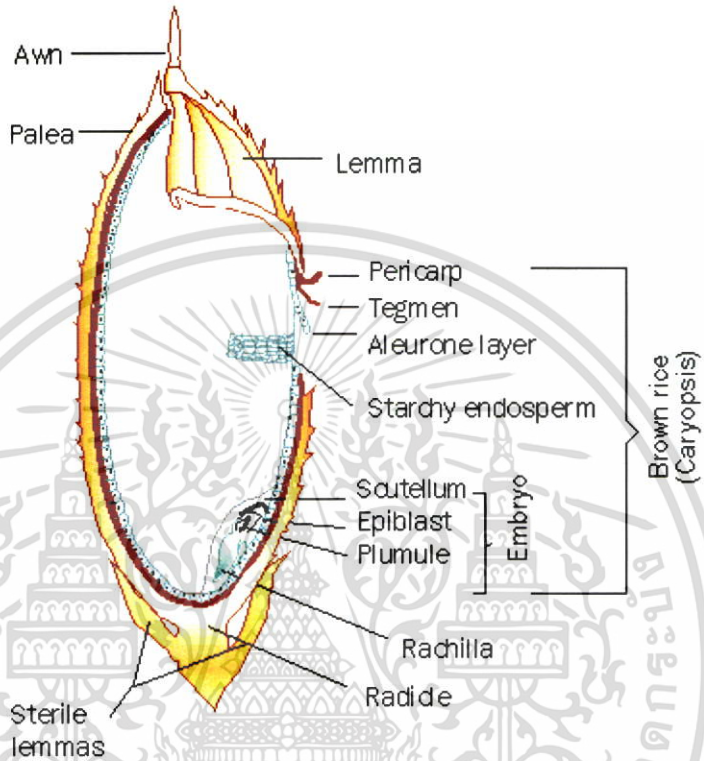
ภาพที่ 2.3 แสดงลักษณะของช่อดอกข้าว (คณาจารย์ภาควิชาพืชไร่นา, 2547)

ลักษณะผลและเมล็ด

ผลหรือเมล็ดเป็นแบบ caryopsis ประกอบด้วยเยื่อหุ้มผล (pericarp) ติดอยู่กับส่วนของเยื่อหุ้มเมล็ด (seed coat หรือ testa) มีเปลือกหุ้มซึ่งเป็นส่วนของ lemma และ palea เรียกว่า hull ผลของข้าวที่เก็บเกี่ยวมาเรียกว่า ข้าวเปลือก (hulled grain) เมื่อแกะส่วนของเปลือกหุ้มออก เห็นเยื่อหุ้มผลและเยื่อหุ้มเมล็ดที่มีสีน้ำตาล เรียกว่า ข้าวกล้อง (brown rice grain) เมื่อขัดส่วนของเยื่อหุ้มสีน้ำตาลออกจะเป็น ข้าวสาร (kernel) ส่วนหัวของข้าวสารมีสีขาวขุ่น เรียกว่า จมูกข้าวหรือคัพภะ (embryo)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่เหลือเป็นเอนโดสเปิร์ม (endosperm) คัพภะประกอบด้วยแรดิเคิล (radicle) พลูมูล (plumule) ใบเลี้ยงมีลักษณะที่ไม่มีการพัฒนา (epiblast) และเนื้อเยื่อที่กั้นระหว่างคัพภะกับเอนโดสเปิร์ม (scutellum) บริเวณรอบนอกของเอนโดสเปิร์มมีชั้น aleurone layer และส่วนสีขาวขุ่นที่ด้านท้องของเมล็ดด้านเดียวกับคัพภะ เรียกว่า ท้องปลาชิวหรือท้องไข่ (abdominal white) (ภาพที่ 2.4)



ภาพที่ 2.4 แสดงองค์ประกอบของเมล็ดพันธุ์ข้าว (คณาจารย์ภาควิชาพืชไร่นา, 2547)

ระยะการเจริญเติบโตของข้าว (จำรัส, 2534)

แบ่งการเจริญเติบโตของต้นข้าวได้ 3 ระยะคือ

1. การเจริญเติบโตทางลำต้นและใบ (vegetative growth) โดยมี 2 ระยะคือ

- ระยะต้นกล้า (seedling stage) เป็นระยะจากข้าวงอกจนกระทั่งถึงข้าวแตกกอ ใช้ระยะเวลาประมาณ 20 วัน (ขึ้นอยู่กับพันธุ์) สิ้นสุดระยะนี้ต้นข้าวจะมีใบประมาณ 5-6 ใบ

- ระยะแตกกอ (tillering stage) นับจากข้าวเริ่มแตกกอดังกล่าวจนถึงข้าวเริ่มสร้างช่อดอกอ่อน (panicle initiation) ใช้เวลาประมาณ 30-50 หลังจากระยะต้นกล้าขึ้นอยู่กับการตอบสนองต่อช่วงแสงของพันธุ์ข้าว

2. การเจริญเติบโตทางด้านการสืบพันธุ์ (reproductive growth) เริ่มจากข้าวเริ่มสร้างช่อดอกอ่อน ผ่านระยะตั้งท้อง (booting stage) จนถึงโผล่ช่อดอกและผสมเกสร (heading, flowering, fertilization) โดยจะใช้ระยะเวลาช่วงนี้ประมาณ 30-35 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะของระยะต่าง ๆของระยะสืบพันธุ์ มีดังนี้

- ระยะเริ่มสร้างช่อรวงอ่อน หลังจากแตกกอเต็มที่แล้วก็จะเข้าสู่ระยะสร้างช่อรวงอ่อน (พันธุ์ที่ไวแสงจะต้องได้รับช่วงแสงที่เหมาะสมก่อน จึงจะก่อให้เกิดระยะนี้ได้) ระยะนี้ต้นข้าวจะเปลี่ยนจากต้นที่มีลักษณะแบนเป็นต้นกลม และจะมีการยืดปล้อง (stem elongation) ในอัตรารวดเร็ว เมื่อผ่าลำต้นดูจะเห็นจุดกำเนิดช่อดอก (panicle primordium) ลักษณะเป็นสามเหลี่ยมมีสีขาวปุยๆ และจะเจริญเติบโตเรื่อย ๆ เป็นช่อดอกที่มีดอกเรียกว่า spikelets

- ระยะตั้งท้อง เป็นระยะที่ดอกอ่อนของข้าวขยายตัวใหญ่ขึ้นจนเป็นช่อดอกที่สมบูรณ์ ตรงกาบใบธงจะอ้วนพองขึ้น

- ระยะออกดอกและผสมเกสร ระยะที่ช่อดอกโผล่จากกาบใบ (heading) ดอกข้าวบาน (flowering) และผสมเกสร (fertilization) ซึ่งจะเกิดพร้อมกันหรือเหลื่อมกันบางเพียงเล็กน้อย

3. การพัฒนาการของเมล็ด (grain development) ได้แก่ระยะภายหลังการผสมเกสร ซึ่งรังไข่ที่ได้รับการผสมจะเจริญเติบโต อาหารที่ได้รับจากการสังเคราะห์แสงจะถูกสะสมในเมล็ดเป็นลำดับ ในหลายแห่งจึงเรียกระยะนี้ว่าระยะสะสมในเมล็ด (grain filling period) ในระยะแรกจะอยู่ในระยะน้ำนม (milky) เปลี่ยนเป็นแป้งอ่อน (dough) จนกระทั่งเมล็ดสุก (ripening) เป็นแป้งแข็งเป็นระยะสุกแก่หรือเก็บเกี่ยว (harvest maturity) จะใช้เวลาการพัฒนาการของเมล็ดทั้งหมดประมาณ 25-30 วัน ดังนั้นเมื่อรวมระยะต่าง ๆ แล้ว ข้าวจะมีอายุในระหว่าง 110-120 วัน สำหรับข้าวไม่ไวแสงและประมาณ 120-140 วันสำหรับข้าวไวแสง

การจัดจำแนกข้าว (สงกรานต์ และบริบูรณ์, 2540)

การจำแนกพันธุ์ข้าวตามระบบนิเวศหรือสภาพแวดล้อมที่ข้าวเจริญเติบโต แบ่งเป็น

1. ข้าวนาชลประทาน (irrigated rice) หมายถึง ข้าวซึ่งปลูกในสภาพนาที่มีน้ำขัง มีการทำนาเพื่อกักเก็บน้ำและมีการให้น้ำโดยระบบชลประทานซึ่งรักษาระดับน้ำไว้ 5-15 เซนติเมตร ตลอดฤดูปลูก ได้แก่ พันธุ์ปทุมธานี 1, ปทุมธานี 2, และสุพรรณบุรี 60

2. ข้าวนาน้ำฝน (rainfed lowland rice) หมายถึง ข้าวซึ่งปลูกในสภาพนาที่มีน้ำขัง มีการทำคันนาเพื่อกักเก็บน้ำ โดยอาศัยน้ำฝนตามธรรมชาติตลอดฤดูปลูก ระดับน้ำโดยทั่วไปไม่เกิน 50 เซนติเมตร แต่บางครั้งน้ำในนาอาจจะแห้งหรือมีระดับน้ำสูงกว่านี้ ขึ้นกับปริมาณของน้ำฝน ได้แก่ ข้าวขาวดอกมะลิ 105, เฉี้ยงพัทลุง, และ เล็บนกปัตตานี

3. ข้าวทนน้ำลึก (deepwater rice) และข้าวขึ้นน้ำ(floating rice) ข้าวทนน้ำลึก หมายถึง ข้าวซึ่งปลูกในแหล่งที่มีระดับน้ำสูงไม่เกิน 1 เมตร และเมื่อระดับน้ำสูงเกิน 1 เมตร ต้นข้าวจะมีการเจริญเติบโตขึ้นอย่างรวดเร็วหนีน้ำได้ทันในระยะ 1-3 เดือนแรก ทำให้ต้นข้าวมีการยืดยาวตามระดับน้ำที่เพิ่มสูงขึ้น ได้แก่ พันธุ์ปราจีนบุรี 2, ปิ่นแก้ว 56, และเล็บมือนาง 111

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ข้าวไร่ (upland rice) เป็นข้าวที่ปลูกในสภาพที่อาศัยน้ำฝนตามธรรมชาติในพื้นที่สภาพไร่หรือที่ดอน ซึ่งไม่มีการทำคันนาเพื่อกักเก็บน้ำ ไม่มีน้ำขังบนผิวดิน ปลูกโดยวิธีหยอดหรือโรยเมล็ดแห้งลงในดินโดยตรง ได้แก่ พันธุ์ขาวโป่งไคร้ เจ้าฮ่อ น้ำรู ลีซอสันป่าตอง ซึ่งปลูกทางภาคเหนือ และพันธุ์กู้เมืองหลวงสำหรับปลูกทางภาคใต้

การจำแนกพันธุ์ข้าวตามลักษณะความไวต่อช่วงแสง แบ่งเป็น

1. พันธุ์ข้าวไวต่อความยาวของช่วงแสง (photoperiod sensitive rice variety) โดยปกติข้าวเป็นพืชวันสั้น (short-day plant) ต้องการสภาพช่วงวันหรือช่วงแสงสั้น ในขณะที่มีการเจริญเติบโตในระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการกระตุ้นให้มีการสร้างและออกดอกหรือรวงข้าว ซึ่งมีวันออกดอกที่ค่อนข้างแน่นอนทุกปีแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มคือ

- ข้าวเบา (early maturing rice) ออกดอกในช่วงปลายเดือน กันยายนถึงราววันที่ 20ตุลาคม
- ข้าวกลาง (medium maturing rice) ออกดอกประมาณวันที่ 20 ถึง 31 ตุลาคม
- ข้าวหนัก (late maturing rice) ส่วนใหญ่ออกดอกประมาณเดือนพฤศจิกายน บางพันธุ์ออกดอกเดือนธันวาคมหรือมกราคม

2. พันธุ์ข้าวไม่ไวต่อความยาวของช่วงแสง (photoperiod insensitive rice variety) เป็นข้าวที่มีการออกดอกตามอายุ ซึ่งนับเป็นจำนวนวันตั้งแต่วันตกกล้าถึงวันออกรวง และจะเก็บเกี่ยวได้ภายหลังจากออกรวงประมาณ 30 วัน ซึ่งมักมีอายุตั้งแต่ 90-140 วัน สามารถปลูกได้ตลอดปีและนิยมปลูกในนาปรังที่มีน้ำเพียงพอต่อการปลูก

การจำแนกพันธุ์ข้าวตามชนิดของแป้งในเนื้อเมล็ด แบ่งเป็น

1. ข้าวเหนียว (glutinous rice หรือ waxy rice) ประกอบด้วยแป้งอะไมโลเพคทิน (amylopectin) เป็นส่วนใหญ่ มีแป้งอะไมโลส (amylose) น้อยหรือไม่มีเลย เมื่อเป็นข้าวสารมีสีขุ่น เมื่อนึ่งแล้วได้เมล็ดข้าวสุกที่จับตัวกันเหนียวและมีลักษณะใส ได้แก่ พันธุ์สันป่าตอง 1 เขี้ยวงู สกลนคร, หางหยี 71, กข 2, กข 4, กข 6, และ กข 8

2. ข้าวเจ้า (non-glutinous rice) มีแป้งอะไมโลสอยู่ 7-33 เปอร์เซ็นต์ ที่เหลือเป็นอะไมโลเพคทิน เมื่อเป็นข้าวสารมีลักษณะใส เมื่อหุงสุกแล้วมีสีขาวขุ่น เมล็ดร่วนไม่ติดกัน ได้แก่ พันธุ์กข 1, กข 2, กข 15, ปทุมธานี 1, ขาวดอกมะลิ 105 และหอมนิล

2. ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ได้มาโดยนายสุนทร สีหะเนิน เจ้าพนักงานข้าว รวบรวมจากอำเภอบางคล้าจังหวัดฉะเชิงเทรา เมื่อ พ.ศ.2493-2494 จำนวน 199 รวง แล้วนำไปคัดเลือกแบบคัดพันธุ์บริสุทธิ์ (pure line selection) และปลูกเปรียบเทียบพันธุ์ที่สถานีทดลองข้าวโคกสำโรง แล้วปลูกเปรียบเทียบพันธุ์ในท้องถิ่น ภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จนได้สายพันธุ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขาวดอกมะลิ 4-2-105 ซึ่งเลข 4 หมายถึง สถานที่เก็บรวงข้าว คืออำเภอบางคล้า เลข 2 หมายถึงพันธุ์ทดสอบที่ 2 คือ ขาวดอกมะลิ และเลข 105 หมายถึง แถวหรือรวงที่ 105 จากจำนวน 199 รวง

การรับรองพันธุ์

คณะกรรมการการพิจารณาพันธุ์ ให้ใช้ขยายพันธุ์เป็นพันธุ์รับรอง เมื่อวันที่ 25 พฤษภาคม 2502

ลักษณะประจำพันธุ์

เป็นข้าวเจ้ามีความสูงประมาณ 140 เซนติเมตร และเป็นข้าวไวต่อช่วงแสง ลำต้นสีเขียวจาง ใบสีเขียวยาวค่อนข้างแคบ ฟางอ่อน ใบธงทำมุมกับคอรวง เมล็ดข้าวรูปร่างเรียวยาวข้าวเปลือกสีฟางมีอายุเก็บเกี่ยว ประมาณ 25 พฤศจิกายน เมล็ดข้าวเปลือก ยาว x กว้าง x หนา = 10.6 x 2.5 x 1.9 มิลลิเมตร เมล็ดข้าวกล้อง ยาว x กว้าง x หนา = 7.5 x 2.1 x 1..8 มิลลิเมตร นอกจากนี้ยังมีปริมาณอมิโลส 12-17 % คุณภาพข้าวสุก นุ่ม มีกลิ่นหอม

ลักษณะเด่น

สามารถทนแล้งได้ดีพอสมควร เมล็ดข้าวสารใส แกร่ง คุณภาพการสีดี คุณภาพการหุงต้มดี อ่อนนุ่ม มีกลิ่นหอม ทนต่อสภาพดินเปรี้ยว และดินเค็ม

ข้อควรระวัง

ไม่ต้านทานโรคใบสีส้ม โรคขอบใบแห้ง โรคไหม้ และโรคใบหงิก ไม่ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยจักจั่นสีเขียว และหนอนกอ

3. โรคที่สำคัญของข้าว (กรมการข้าว,2550)

โรคไหม้

สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae*

พบมากในนาน้ำฝน ข้าวพันธุ์พื้นเมืองไวต่อช่วงแสงพบส่วนใหญ่ใน ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันตก และ ภาคใต้

ลักษณะอาการ

- ระยะกล้าใบมีแผล จุดสีน้ำตาลคล้ายรูปตา มีสีเทา อยู่ตรงกลางแผล ความกว้างของแผลประมาณ 2-5 มิลลิเมตร และความยาวประมาณ 10-15 มิลลิเมตร แผลสามารถขยายลุกลามและกระจายทั่วบริเวณใบ ถ้าโรครุนแรงกล้าข้าวจะแห้งยุบตาย อาการคล้ายถูกไฟไหม้

- ระยะแตกกอ อาการพบได้ที่ใบ ข้อต่อของใบ และ ข้อต่อ ของลำต้น ขนาดแผลจะใหญ่กว่า ที่พบในระยะกล้า แผลลุกลามติดต่อกันได้ บริเวณข้อต่อใบจะมี ลักษณะแผลช้ำสีน้ำตาล และมักหลุดจากกาบใบเสมอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ระยะคอรวง (ระยะออกรวง) ถ้าข้าวพึ่งเริ่มให้รวง เมื่อถูกเชื้อราเข้าทำลาย เมล็ดจะลีบหมด แต่ถ้าเป็นโรคตอนรวงข้าวแก่ ใกล้เก็บเกี่ยว จะปรากฏรอยแผลช้ำสีน้ำตาลที่บริเวณคอรวง ทำให้เปราะหักง่าย รวงข้าวร่วงหล่นเสียหายมาก

การแพร่ระบาด

พบโรคในที่อับลม ใส่ปุ๋ยสูงและมีสภาพแห้งในตอนกลางวันและชื้นจัดในตอนกลางคืน น้ำค้างยาวนานถึงตอนสายราว 9 โมง ถ้าอากาศค่อนข้างเย็น อุณหภูมิประมาณ 22-25 องศาเซลเซียส ลมแรงจะทำให้โรคแพร่กระจายได้ดี

การป้องกันกำจัด

1. ใช้พันธุ์ต้านทานโรค ภาคกลาง เช่น สุพรรณบุรี 1, สุพรรณบุรี 2, สุพรรณบุรี 60, สุพรรณบุรี 90, ชัยนาท 1, ปราจีนบุรี 1, พลายงาม, คลองหลวง 1, พิษณุโลก 1, ภาคเหนือและตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น สุรินทร์ 1, เหนียวอุบล 2, เหนียวแพร่, สันปาตอง 1, หางยี 71, กู้เมืองหลวง, ขาวโปร่งไคร้น้ำรู, ภาคใต้เช่น ดอกพะยอม

2. หว่านเมล็ดพันธุ์ในอัตราที่เหมาะสม คือ 15-20 กิโลกรัม/ไร่ ควรแบ่งแปลงให้มีการระบายถ่ายเท อากาศดี และไม่ควรใส่ปุ๋ยไนโตรเจนสูงเกินไป เพราะโรคไหมจะพัฒนาอย่าง รวดเร็ว

3. คลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสารป้องกันกำจัดเชื้อรา เช่น คาซูกะมัยซินไตรไซคลาโซล คาร์เบนดาซิม โปรคลอลาส ตามอัตราที่ระบุ

4. ในแหล่งที่เคยมีโรคระบาดและพบแผลโรคไหม้ทั่วไป 5 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ ควรฉีดพ่นสารป้องกันกำจัดเชื้อรา เช่น คาซูกะมัยซิน อีดิเฟนฟอส คาร์เบนดาซิม ตามอัตราที่ระบุ

โรคกาบใบแห้ง

สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani*

ลักษณะอาการ

ลักษณะแผลสีเขียวปนเทา ขนาดประมาณ 1-4 x 2-10 มิลลิเมตร ปรากฏตามกาบใบตรงบริเวณใกล้ระดับน้ำ เริ่มพบโรคในระยะแตกกอจนถึงระยะใกล้เก็บเกี่ยว ยิ่งต้นข้าวมีการแตกกอมากเท่าใด ต้นข้าวก็จะเบียดเสียดกันมากขึ้นโรคก็จะเป็นรุนแรง แผลจะลุกลามขยายใหญ่ขึ้นจนมีขนาดไม่จำกัดและลุกลามขยายขึ้นถึงใบข้าว ถ้าเป็นพันธุ์ข้าวที่อ่อนแอแผลสามารถลุกลามถึงใบธงและกาบหุ้มรวงข้าวทำให้ใบและกาบใบเหี่ยวแห้งผลผลิตจะลดลงอย่างมากมาย

การแพร่ระบาด

เชื้อราสามารถสร้างส่วนขยายพันธุ์อยู่ได้นานในตอซังหรือวัชพืชในนาตามดินนา และมีชีวิตข้ามฤดูหมุนเวียนทำลายข้าวได้ตลอดฤดูกาลทำนา

การป้องกันกำจัด

- หลังเก็บเกี่ยวข้าว และเริ่มฤดูใหม่ ควรพลิกไถหน้าดินเพื่อทำลายส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- กำจัดวัชพืชตามคันนา และแหล่งน้ำ เพื่อลดโอกาสการฟักตัวและเป็นแหล่งสะสมของเชื้อราสาเหตุโรค

- ใช้ชีวภัณฑ์บาซิลลัส ซับทิลิส (เชื้อแบคทีเรีย ปฏิปักษ์) ตามอัตราที่ระบุ

- ใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อรา เช่น วาลิดามัยซิน โพรพ์โคนาโซล เพนไซคูรอน (25%ดับบลิวพี)

โรคเมล็ดด่าง

สาเหตุเกิดจากเชื้อรา

- *Curvularia lunata*
- *Cercospora oryzae*
- *Helminthosporium oryzae*
- *Fusarium semitectum*

ลักษณะอาการ

ในระยะออกรวง พบแผลเป็นจุดสีน้ำตาลหรือดำที่เมล็ดบนรวงข้าว บางส่วนก็มีลายสีน้ำตาลดำและบางพวกมีสีเทาปนชมพู ทั้งนี้เพราะมีเชื้อราหลายชนิดที่สามารถเข้าทำลายและทำให้เกิดอาการต่างกันไป การเข้าทำลายของเชื้อรามักจะเกิดในช่วงดอกข้าวเริ่มโผล่จากกาบหุ้มรวงจนถึงระยะเมล็ดข้าวเริ่มเป็นน้ำนม และอาการเมล็ดด่างจะปรากฏเด่นชัดในระยะใกล้เก็บเกี่ยว

การแพร่ระบาด

เชื้อราสามารถแพร่กระจายไปกับลม ติดไปกับเมล็ด และอาจสามารถแพร่กระจายได้ในยุ้งฉาง

การป้องกันกำจัด

1.ควรเฝ้าระวังการเกิดโรคถ้าปลูกข้าวพันธุ์ อ่อนแอต่อโรคนี้ เช่น สุพรรณบุรี 60 สุพรรณบุรี 90 พิษณุโลก 2 และข้าวเจ้าหอม คลองหลวง 1

2. เมล็ดพันธุ์ที่ใช้ปลูก ควรคัดเลือกจากแปลงที่ ไม่เป็นโรค

3. คลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสารป้องกันกำจัดเชื้อรา เช่น คาร์เบนดาซิม หรือ แมนโคเซ็บ

4.ในระยะที่ต้นข้าวตั้งท้องใกล้ออกรวงเมื่อพบ อาการใบจุดสีน้ำตาลที่ใบธง และโรคกาบใบเน่าถ้ามีฝนตกชุก ควรวางมาตรการป้องกันแต่ต้นโดยพ่นสารป้องกันกำจัดเชื้อรา เช่น โพรพิโคนาโซล โพรพิโคนาโซล + ไดฟีโนโคนาโซล หรือ คาร์เบนดาซิม + แมน โคเซ็ป ตามอัตราที่ระบุ

โรคใบจุดสีน้ำตาล

สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Helminthosporium oryzae*

ลักษณะอาการ

แผลที่ใบข้าว พบมากในระยะแตกกอมีลักษณะเป็นจุดสีน้ำตาล รูปกลม หรือรูปไข่ ขอบนอกสุดของแผลมีสีเหลือง มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 - 1 มิลลิเมตร บางครั้งพบแผลที่ไม่เป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วงกลมหรือรูปไข่ แต่จะเป็นรอยเปื้อนคล้ายสนิมกระจัดกระจายทั่วไปบนใบข้าว แผลยังสามารถเกิดบนเมล็ดข้าวเปลือก (โรคเมล็ดด่าง) บางแผลมีขนาดเล็ก บางแผลอาจใหญ่คลุมเมล็ดข้าวเปลือก ทำให้เมล็ดข้าวเปลือกสกปรก เสื่อมคุณภาพ เมื่อนำไปสี ข้าวสารจะหักง่าย

การแพร่ระบาด

เกิดจากสปอร์ของเชื้อราปลิวไปตามลม และ ติดไปกับเมล็ด

การป้องกันกำจัด

1. ปรับปรุงดินโดยการไถกลบฟาง หรือเพิ่มความ อุดมสมบูรณ์ดินโดยการปลูกพืชปุ๋ยสด หรือปลูกพืชหมุนเวียนเพื่อช่วยลดความรุนแรงของโรค

2. คลุกเมล็ดพันธุ์ก่อนปลูกด้วยสารป้องกันกำจัดเชื้อรา เช่น แมนโคเซ็บ หรือ คาร์เบนดาซิม อัตรา 3 กรัม ต่อเมล็ด 1 กิโลกรัม

3. ใส่ปุ๋ยโปแตสเซียมคลอไรด์ (0-0-60) อัตรา 5-10 กิโลกรัมต่อไร่ ช่วยให้ข้าวเป็นโรคน้อยลง

4. กำจัดวัชพืชในนา ทำแปลงให้สะอาด และใส่ปุ๋ย ในอัตราที่เหมาะสม

5. ถ้าพบอาการของโรคใบจุดสีน้ำตาลรุนแรงทั่วไป 10 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบในระยะข้าวแตกกอ หรือในระยะที่ต้นข้าวตั้งท้องใกล้ออกรวงเมื่อพบ อาการใบจุดสีน้ำตาลที่ใบธงในสภาพฝนตก ต่อเนื่อง อาจทำให้เกิดโรคเมล็ดด่าง ควรพ่นด้วย สารป้องกันกำจัดเชื้อรา เช่น คาร์เบนดาซิม แมนโคเซ็บ หรือคาร์เบนดาซิม+แมนโคเซ็บ ตามอัตราที่ระบุ

โรคถอดฝักดาบ

สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Fusarium fujikuroi*

ลักษณะอาการ

พบโรคในระยะกล้า ต้นกล้าจะแห้งตายหลังจากปลูกได้ไม่เกิน 7 วัน แต่มักพบกับข้าวอายุเกิน 15 วัน ระยะเริ่มแตกกอ ข้าวเป็นโรคต้นจะผอมสูงเด่นกว่ากล้าข้าวโดยทั่วๆ ไปต้นข้าวผอมมีสีเขียวอ่อนซีด ปล้อง บางกรณีข้าวจะไม่ย่างปล้อง แต่รากจะเน่าช้ำ เวลาถอนมักจะขาดตรงบริเวณโคนต้น ถ้าเป็นรุนแรง กล้าข้าวจะตาย หากไม่รุนแรงอาการจะแสดงหลังจากย้ายไปปักดำได้ 15-45 วัน โดยที่ต้นเป็นโรคจะสูงกว่าข้าวปกติ ใบมีสีเขียวซีด เกิดรากแขนงที่ข้อลำต้น ตรงระดับน้ำ บางครั้งพบกลุ่มเส้นใยสีชมพูตรงบริเวณข้อที่ย่างปล้องขึ้นมา ต้นข้าวที่เป็นโรคมักจะตายและมีน้อยมากที่อยู่รอดจนถึงออกรวง

การแพร่ระบาด

เชื้อราจะติดไปกับเมล็ด สามารถมีชีวิตในซากต้นข้าว และในดินได้เป็นเวลาหลายเดือน พบว่า หญ้าชันกาดเป็นพืชอาศัยของโรค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การป้องกันกำจัด

1. หลีกเลี่ยงการนำเมล็ดพันธุ์จากแหล่งที่เคยเป็นโรคระบาดมาปลูก
2. คลุกเมล็ดพันธุ์ข้าวด้วยสารป้องกันกำจัดเชื้อรา เช่น แมนโคเซ็บ คาร์เบนดาซิม
3. ควรกำจัดต้นข้าวที่เป็นโรคโดยการถอนทิ้ง และเผาทำลาย

โรคขอบใบแห้ง

สาเหตุเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

ลักษณะอาการ

โรคนี้เป็นได้ตั้งแต่ระยะกล้า แตกกอ จนถึงออกรวง อาการเริ่มแรก จะมีลักษณะช้ำที่ขอบใบของใบล่าง ต่อมาประมาณ 7-10 วัน จุดช้ำนี้จะขยายกลายเป็นทางสีเหลืองยาวตามใบข้าว ใบที่เป็นโรคจะแห้งเร็ว และสีเขียวจะจางลงเป็นสีเทาๆ อาการในระยะปักดำจะแสดงหลังปักดำแล้วหนึ่งเดือนถึงหนึ่งเดือนครึ่ง ใบที่เป็นโรคขอบใบมีรอยขีดช้ำ ต่อมาจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ที่แผลมีหยดน้ำสีเหลืองขนาดเล็กเท่าหัวเข็มหมุด ต่อมาจะกลายเป็นสีน้ำตาลและหลุดไปตามลม น้ำ หรือฝน ซึ่งจะทำให้โรคสามารถระบาดต่อไปได้ แผลจะขยายไปตามความยาวของใบ บางครั้งขยายเข้าไปข้างในตามความกว้างของใบ ขอบแผลมีลักษณะเป็นขอบลายหยัก แผลนี้เมื่อนานไปจะเปลี่ยนเป็นสีเทา ใบที่เป็นโรค ขอบใบจะแห้งและม้วนตามความยาว ในบางกรณีที่เชื้อมีปริมาณสูงเข้าทำลายทำให้ท่อน้ำท่ออาหารอุดตัน ต้นข้าวจะเหี่ยวเฉาและตายอย่างรวดเร็ว

การแพร่ระบาด

แพร่ระบาดไปกับน้ำในสภาพแวดล้อมที่มีความชื้นสูงในสภาพที่มีฝนตก ลมพัดแรงจะช่วยให้โรคแพร่ระบาดอย่างกว้างขวางรวดเร็ว

การป้องกันกำจัด

1. ใช้พันธุ์ข้าวที่ต้านทาน
2. ไม่ควรใส่ปุ๋ยไนโตรเจนมากในดินที่อุดมสมบูรณ์อยู่แล้ว
3. ไม่ควรระบายน้ำจากแปลงที่เป็นโรคไปสู่แปลงอื่น

โรคใบขีดโปร่งแสง

สาเหตุเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicol*

ลักษณะอาการ

โรคนี้เป็นได้ตั้งแต่แตกกอจนถึงออกรวง อาการจะปรากฏที่ใบ ขั้นแรกเห็นเป็นขีดช้ำยาวไปตามเส้นใบ ต่อมาค่อยๆ เปลี่ยนเป็นสีเหลืองหรือส้ม เมื่อแผลขยายรวมกันก็จะเป็นแผลใหญ่แสงสามารถทะลุผ่านได้ และพบแบคทีเรียในรูปหยดน้ำสีเหลืองคล้ายยางสนกลมๆ ขนาดเล็กเท่าหัวเข็มหมุดปรากฏอยู่บนแผล ส่วนความยาวของแผลขึ้นอยู่กับความต้านทานของพันธุ์ข้าว และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความรุนแรงของเชื้อแต่ละท้องที่ ในพันธุ์ที่ไม่มีความต้านทานเลยแผลจะขยายจนใบไหม้ไปถึงกาบใบด้วย ลักษณะของแผลจะคล้ายคลึงกับเกิดบนใบ ส่วนในพันธุ์ต้านทานจำนวนแผลจะน้อยและแผลจะไม่ค่อยขยายตามยาว รอบๆ แผลจะมีสีน้ำตาลดำ

การแพร่ระบาด

ในสภาพที่มีฝนตก ลมพัดแรง จะช่วยให้โรคแพร่ระบาดอย่างกว้างขวางรวดเร็ว

การป้องกันกำจัด

1. ดินที่อุดมสมบูรณ์ไม่ควรใส่ปุ๋ยไนโตรเจนมาก

2 ไม่ควรปลูกข้าวแน่นเกินไปและอย่าให้ระดับน้ำในนาสูงเกินควร

3 โรคนี้จะลดความรุนแรงลงเมื่อข้าวมีอายุมากขึ้นและไม่ทำให้ผลผลิตเสียหายอย่างร้ายแรง จึงไม่แนะนำให้ใช้สารป้องกันกำจัดโรค

โรคใบสีส้ม

สาเหตุเกิดจากเชื้อไวรัส

- *Rice Tungro Bacilliform Virus* (RTBV)
- *Rice Tungro Spherical Virus* (RTSV)

ลักษณะอาการ

ต้นข้าวเป็นโรคได้ทั้งระยะกล้า แตกกอ ตั้งท้อง หากได้รับเชื้อตอนข้าวอายุอ่อน (ระยะกล้า-แตกกอ) ข้าวจะเสียหายมากกว่าได้รับเชื้อตอนข้าวอายุแก่ (ระยะตั้งท้อง-ออกรวง) ข้าวเริ่มแสดงอาการตั้งแต่อายุ 15-20 วัน ทั้งนี้แล้วแต่ว่าข้าวจะได้รับเชื้อระยะใด อาการเริ่มต้นใบข้าวจะเริ่มมีสีเหลืองสลับเขียว ต่อมาจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง เริ่มจากปลายใบเข้าหาโคนใบ ถ้าเป็นรุนแรงในระยะกล้าต้นข้าวอาจถึงตาย ถ้าอาการแสดงหลังปักดำ เริ่มสังเกตได้ที่ใบเช่นกัน ต้นที่เป็นโรคจะเตี้ยแคระแกรน ช่วงลำต้นสั้นกว่าปกติมาก ถ้าเป็นรุนแรงอาจตายทั้งกอ ถ้าไม่ตาย เมื่อถึงระยะออกรวงจะให้รวงเล็ก หรือไม่ออกรวงเลย และออก รวงล่าช้ากว่าปกติ

การแพร่ระบาด

การแพร่ระบาด มีเพลี้ยจั๊กจั่นสีเขียว เป็นแมลงพาหะนำโรค

การป้องกันกำจัด

1. ใช้พันธุ์ข้าวต้านทานแมลงเพลี้ยจั๊กจั่นสีเขียว เช่น กข1, กข3

2. กำจัดวัชพืช และพืชอาศัยของเชื้อไวรัสและ แมลงพาหะนำโรค

3. เมื่อพบอาการของโรคในบริเวณใกล้เคียง และข้าวอายุ 30-45 วัน แมลงส่วนใหญ่ที่พบ จะเป็นตัวอ่อน ให้ใช้สารฆ่าแมลง ไดโนทูฟีเรน หรือ บูโพรเฟซิน ไม่ควรใช้สารฆ่าแมลงผสมกันหลายๆชนิด หรือใช้สารฆ่าแมลงผสมสารกำจัดโรค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โรคใบหงิก (โรคจู๋)

สาเหตุเกิดจากเชื้อไวรัส *Rice Ragged Stunt Virus* (RRSV)

ลักษณะอาการ

ต้นข้าวเป็นโรคได้ทั้งระยะกล้าแตกกอ ตั้งท้อง อาการของต้นข้าวที่เป็นโรค สังเกตได้ง่าย คือข้าวต้นเตี้ย ไม่พุ่งสูงเท่าที่ควร ใบสีเขียวเข้ม แคบและสั้น ใบใหม่แตกช้ากว่าปกติ และเมื่อแตกพุ่งขึ้นมาไม่ค่อยสมบูรณ์ ปลายใบบิดเป็นเกลียว เป็นลักษณะเด่นที่เรียกว่า โรคใบหงิก นอกจากนี้ยังสังเกตเห็นขอบใบแหว่งวิ่นและเส้นใบบวมโป่งเป็นแนวยาวทั้งที่ใบและ กาบใบ ข้าวที่เป็นโรคออกรวงล่าช้าและให้รวงไม่สมบูรณ์ รวงให้เมล็ดลีบเป็นส่วนใหญ่ เมล็ดด่างเสียคุณภาพเป็นส่วนมาก ผลผลิตลดลงประมาณ 30 ถึง 70 เปอร์เซ็นต์ และถ้ามีโรคแทรกเข้าซ้ำเติม เช่น โรคเมล็ดด่างและโรคใบขีดสีน้ำตาล ซึ่งทั้งสองโรคนี้มักพบเสมอกับข้าวที่เป็นโรคใบหงิก อาจทำให้ผลผลิต เสียหายถึง 100 เปอร์เซ็นต์

การแพร่ระบาด

การแพร่ระบาดสามารถถ่ายทอดโรคได้โดยแมลงพาหะ เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และเชื้อไวรัสคงอยู่ในตอซัง และหญ้าบางชนิด

การป้องกันกำจัด

1. กำจัดหรือทำลายเชื้อไวรัส โดยไถกลบหรือเผาตอซังในนาที่มีโรค กำจัดวัชพืชโดยเฉพาะวัชพืชใกล้แหล่งน้ำที่เป็นที่อยู่อาศัยและขยายพันธุ์ของแมลงพาหะ

2. ในแหล่งที่มีการระบาด ควรควบคุมระดับน้ำในนาได้หลังปักดำหรือหว่าน 2-3 สัปดาห์ จนถึงระยะตั้งท้องควบคุมน้ำในแปลงนาให้พอดินเปียก หรือมีน้ำเรี่ยผิวดินนาน 7-10 วัน แล้วปล่อยขังทิ้งไว้ให้แห้งเองสลับกันไปจะช่วยลดการระบาดของเพลี้ยได้

3. เมื่อข้าวอายุ 30-45 วัน แมลงส่วนใหญ่ที่พบเป็นตัวอ่อนให้ใช้สารฆ่าแมลง ไดโนทีฟูเรน หรือ บูโพรเฟซิน หรือ อีโทเฟนพรอกซ์ ไม่ควรใช้สารฆ่าแมลงผสมกันหลายๆ ชนิดหรือ ใช้สารฆ่าแมลงผสมสารป้องกันกำจัดโรคหรือ สารกำจัดวัชพืช เพราะอาจทำให้ประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงลดลง

4. เมื่อพบแมลงส่วนใหญ่เป็นตัวเต็มวัยจำนวน มากกว่า 1 ตัวต่อต้นในระยะข้าวตั้งท้องถึงออกรวงให้ใช้สารไทอะบีโทแซม (แอคทาร่า 25% WP) อัตรา 2 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือสารไดโนทีฟูแรน (สตาร์เกิล 10% WP) อัตรา 15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

5. ไม่ควรใช้สารฆ่าแมลงที่ทำให้เพิ่มการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (resurgence) หรือสารกลุ่มไพรีทรอยด์สังเคราะห์ เช่น ไซเพอร์มิทริน ไซฮาโลทริน เดลต้ามิทริน เนื่องจากสารกลุ่มนี้ไปทำลายแมลงศัตรูธรรมชาติจึงทำให้เกิดการระบาดรุนแรงของ เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โรคเมาตอซัง

สาเหตุเกิดจาก การสะสมของก๊าซ H_2S ในดิน

ลักษณะอาการ

เริ่มพบอาการเมื่อข้าวอายุประมาณ 1 เดือน หรือระยะแตกกอ ต้นข้าวจะแสดงอาการคล้ายขาดธาตุไนโตรเจน ต้นแคระแกรน ใบซีดเหลืองจากใบล่างๆ มีอาการโรคใบจุดสีน้ำตาล จะพบในขณะที่ขบวนการเน่าสลายของเศษซากพืชในนายังไม่สมบรูณ์ ทำให้เกิดสารพิษเป็นสารซัลไฟด์ไปทำลายรากข้าว จะเกิดอาการรากเน่าดำ รากจึงไม่สามารถดูดธาตุอาหารจากในดินได้ ต้นข้าวจึงแสดงอาการขาดธาตุอาหาร ในขณะเดียวกันมักจะพบต้นข้าวสร้างรากใหม่ในระดับเหนือผิวดิน ซึ่งต้นเหตุของปัญหาเกิดจากเกษตรกรทำนาอย่างต่อเนื่องไม่มีการพักดิน และเกิดการหมักของตอซังระหว่างข้าวแตกกอ

การป้องกันกำจัด

1 ระบายน้ำเสียในแปลงออก ทิ้งให้ดินแห้งประมาณ 1 สัปดาห์ เพื่อให้รากข้าวได้รับอากาศ หลังจากนั้นจึงนำน้ำใหม่เข้าและหว่านปุ๋ย

2 หลังเก็บเกี่ยวข้าวควรทิ้งระยะพักดินประมาณ 1 เดือน ไถพรวนแล้วควรทิ้งระยะให้ตอซังเกิดการหมักสลายตัวสมบูรณ์อย่างน้อย 2 สัปดาห์

3 ไม่ควรให้ระดับน้ำในนาสูงมากเกินไปและมีการไหลเวียนของน้ำอยู่เสมอ

3. การกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ (seed priming)

การกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ (seed priming) เป็นเทคนิคที่เริ่มมีการใช้กันตั้งแต่สมัยกรีกโบราณ ซึ่งมีการพบว่าการนำเมล็ดพันธุ์แช่ในน้ำ น้ำผึ้ง หรือน้ำนมก่อนนำไปปลูกสามารถเร่งการงอกของเมล็ดได้ (Parera และ Cantliffe, 1994) ซึ่งการกระตุ้นเมล็ดจำเป็นต้องมีความรู้เกี่ยวกับกระบวนการงอกของเมล็ด เพื่อให้สามารถกระตุ้นเมล็ดได้อย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น โดยการดูดซึมน้ำของเมล็ดพันธุ์เป็นกระบวนการหนึ่งที่มีความสำคัญมากในการงอก การดูดซึมน้ำของเมล็ดพันธุ์ในช่วงการงอกแบ่งออกเป็น 3 ระยะตามที่ บุญมี (2546) ได้รายงานไว้ดังนี้

ระยะที่ 1 เมล็ดเริ่มดูดซึมด้วยวิธีอุ้มน้ำ เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ปรากฏการณ์นี้เกิดขึ้นได้ทั้งในเมล็ดที่มีชีวิต และไม่มีชีวิต โดยสามารถสังเกตเห็นได้ง่าย ส่วนใหญ่น้ำจะซึมผ่านช่องเปิดของเมล็ดอย่างรวดเร็ว เช่น ทางช่องไมโครไพล์ และบริเวณขั้วของเมล็ด มากกว่าการซึมผ่านทางเปลือก เมื่อน้ำซึมผ่านเข้าสู่เมล็ด จะทำให้เมล็ดพองใหญ่ขึ้นกว่าเดิม

ระยะที่ 2 ระยะนี้เรียกว่า ระยะช้าหรือล้า (lag period) เป็นระยะที่มีกิจกรรมเมแทบอริซึมต่างๆ หรือกระบวนการย่อยสลายอาหารสะสมภายในเมล็ด โดยจะเกิดขึ้นเฉพาะภายในเมล็ดที่มีชีวิตเท่านั้น ระยะที่ 2 นี้ใช้เวลาค่อนข้างนานกว่าระยะที่ 1 ระยะนี้ไม่สามารถเห็นได้ แต่ตรวจสอบได้ทางชีวเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระยะที่ 3 เป็นระยะที่เมล็ดงอกออกมา ส่วนแรกที่เห็นได้คือ รากแรกเกิดที่แทงทะลุเปลือกเมล็ดออกมา ขณะที่แกนเอ็มบริโอจะแบ่งเซลล์ และขยายขนาดเซลล์ มีการเจริญเติบโตเห็นได้ชัดเจน การที่รากแทงทะลุออกมามีผลทำให้การดูดซึมน้ำเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เนื่องจากเมล็ดที่กำลังงอกมีพื้นที่ผิวในการดูดซับน้ำมากขึ้นกว่าเดิมนั่นเอง

ปัจจุบันมีการนำเทคนิคการกระตุ้นเมล็ด มาใช้ในการปรับปรุงคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ ซึ่งวิธีนี้จะทำการเพิ่มความชื้นให้เมล็ดพันธุ์ เช่น การแช่เมล็ดในน้ำ หรือสารเคมีต่างๆ ทำให้เมล็ดพันธุ์พืชมีการเปลี่ยนแปลงทางเมตาบอลิซึม และทำให้เมล็ดมีความพร้อมในการงอกแต่ยังไม่งอกเมื่อนำไปปลูกจะสามารถงอกได้อย่างรวดเร็ว และมีความสม่ำเสมอ (Bray, 1995; McDonald, 2000) โดยรูปแบบของการกระตุ้นเมล็ดมีหลายรูปแบบได้แก่

1. Hydro-priming

เป็นการแช่เมล็ดในน้ำก่อนนำไปเพาะปลูก วิธีนี้เป็นวิธีที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในการทำการเกษตร เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย และมีต้นทุนต่ำ โดยเริ่มแรกสาเหตุที่มีการนำวิธีนี้มาใช้เนื่องจากบริเวณที่เพาะปลูกมีสภาพแวดล้อมไม่เอื้ออำนวยต่อการงอกของเมล็ด ทำให้เมื่อทำการเพาะปลูกได้ผลผลิตต่ำ และเมื่อนำวิธีนี้มาใช้ในการเพาะปลูกทำให้เมล็ดมีอัตราการงอกที่ดีขึ้น และมีปริมาณของผลผลิตเพิ่มสูงขึ้นอีกด้วย แต่ถึงแม้ว่าการแช่เมล็ดในน้ำนี้จะเป็นวิธีที่ง่ายที่สุด แต่การแช่เมล็ดในน้ำอาจทำให้เมล็ดไม่ได้รับความชื้นอย่างสม่ำเสมอ ส่งผลให้เมล็ดงอกไม่สม่ำเสมอตามไปด้วย และอาจไม่เหมาะกับพืชบางชนิดที่ถ้าหากได้รับความชื้นมากเกินไปจะทำให้สารอาหารที่จำเป็นต่อเมล็ดเกิดการรั่วไหลออกมา ทำให้เมล็ดเกิดความเสียหาย (Pill และ Necker, 2001) จึงควรให้ความชื้นที่เหมาะสมต่อเมล็ดพันธุ์แต่ละชนิด เพื่อลดความเสียหายที่เกิดขึ้น นอกจากนี้น้ำที่ใช้ในการกระตุ้นการงอกควรเป็นน้ำสะอาด มีค่าความเป็นกรด-ด่าง อยู่ในระดับปานกลาง เพื่อไม่ทำให้เมล็ดพันธุ์เสียหาย และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ที่ถูกกระตุ้นไปปลูก ก็จะไม่มีเชื้อโรคต่างๆ ติดไปกับเมล็ด (Nawaz *et al.*, 2013)

2. Osmopriming

เทคนิคนี้เป็นเทคนิคการแช่เมล็ดในสารดูดซึม เช่น น้ำตาล, polyethylene glycol (PEG), glycerol, sorbitol เป็นต้น จากนั้นจึงนำไปลดความชื้น เทคนิค osmopriming ยังเป็นอีกเทคนิคหนึ่งที่ช่วยเพิ่มอัตราการงอกของเมล็ด และยืดอายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ มีรายงานว่าการแช่เมล็ดข้าวป่า (*Leymus chinensis L.*) ใน PEG 30 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ช่วยเพิ่ม Superoxide dismutase ซึ่งเป็นเอนไซม์ชนิดหนึ่งในระบบป้องกัน ที่เป็นตัวทำลายอนุมูลอิสระที่เกิดจากการเผาผลาญภายในเซลล์ ทำให้เมล็ดยังคงมีความชุ่มชื้น และแข็งแรง เมื่อนำไปปลูกทำให้ต้นกล้าสามารถงอกได้อย่างรวดเร็ว แข็งแรง และมีความสม่ำเสมอ (Jie *et al.*, 2002) นอกจากนี้ยังมีรายงานของ ปรียา และคณะ (2553) ที่ได้รายงานว่าเทคนิค osmopriming สามารถป้องกันการเกิด peroxidation ของกรดไขมันในเซลล์เมมเบรนของพริกหวานได้ ทำให้เมล็ดพริกหวานมีการเสื่อม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คุณภาพช้าลง เนื่องจากภายในเมล็ดกระบวนการหายใจของเซลล์จะเกิดอนุมูลอิสระที่เป็นผลผลิตของ reactive oxygen species (ROS) ซึ่งเป็นรูปของออกซิเจนที่ไม่เสถียร และสามารถทำปฏิกิริยากับสารต่างๆ เช่น ไขมัน โปรตีน และกรดนิวคลิอิก ส่งผลให้เกิดการเสื่อมเสียของสารต่างๆ ภายในเซลล์ เกิดสารที่เป็นอันตรายต่อเซลล์ ในกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวที่เป็นองค์ประกอบในเมล็ด และผนังเซลล์เกิด peroxidation ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นอันตรายต่อเซลล์คือ peroxidation product ดังนั้นเทคนิค osmopriming จึงเป็นอีกเทคนิคหนึ่งที่สามารถเพิ่มการทำงานของเอมไซม์ และปรับปรุงคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ให้ดีขึ้น (Nawaz *et al.*, 2013)

3. Halo priming

การแช่เมล็ดในเกลืออินทรีย์เช่น NaCl, KNO_3, $CaCl_2$, และ $CaSO_4$, เป็นต้น เป็นการปรับปรุงการงอกของเมล็ดพันธุ์ให้ทนต่อสภาวะดินเค็ม มีการศึกษาของ Khan *et al.* (2009) ที่ได้ศึกษาการกระตุ้นเมล็ดร่วมกับ NaCl 1 mM ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกันได้แก่ 0, 3, 6 และ 9 dSm^{-1} พบว่าการกระตุ้นเมล็ดร่วมกับ NaCl มีการงอก และความแข็งแรงของต้นกล้าดีกว่าต้นที่ไม่ได้ถูกกระตุ้น นอกจากนี้ยังมีรายงานของ Bajehbaj (2010) ที่ได้รายงานว่าการกระตุ้นเมล็ดของทานตะวันร่วมกับการใช้ NaCl และKNO_3 ในสภาวะดินเค็ม พบว่าเมล็ดที่ถูกกระตุ้นด้วย NaCl และKNO_3 มีเปอร์เซ็นต์การงอกของทานตะวันมากกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่ได้ถูกกระตุ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการกระตุ้นการของของเมล็ดร่วมกับการใช้เกลืออินทรีย์จะช่วยเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ที่มีผลต่อการงอกของเมล็ด ทำให้เมล็ดสามารถงอกได้ในภาวะเครียด (Nawaz *et al.*, 2013)

4. Bio-priming

เป็นการใช้จุลินทรีย์กระตุ้นเมล็ดพันธุ์ เป็นอีกเทคนิคหนึ่งในการกระตุ้นเมล็ดที่ใช้กันเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช หรือควบคุมป้องกันกำจัดโรคพืชโดยชีววิธี เป็นเทคนิคการปรับปรุงคุณภาพของเมล็ดโดยวิธีบูรณาการระหว่างทางด้านสรีรวิทยา และด้านชีวภาพ เพื่อพัฒนาคุณภาพของเมล็ดให้ดียิ่งขึ้นซึ่ง Bio-priming มีความแตกต่างกับเทคนิคอื่นๆคือ จะไม่แช่เมล็ดในน้ำหรือสารดูดซึม แต่จะเป็นการแช่ในสารแขวนลอยของเชื้อจุลินทรีย์แทน เชื้อจุลินทรีย์ที่นิยมนำมาใช้ส่วนใหญ่จะเป็นเชื้อในกลุ่มจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonistic microorganism) หรือกลุ่มแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชที่อาศัยอยู่บริเวณรากพืช (Plant Growth Promoting Rhizobacteria; PGPR) (Callan *et al.*, 1990; Raj *et al.*, 2004)

4. ผลของระยะเวลาในการกระตุ้นเมล็ด

การกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ให้ได้ผลที่ดี ประสบความสำเร็จตามที่คาดหวังไว้ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ได้แก่ ชนิดของเมล็ดพันธุ์ อายุของเมล็ดพันธุ์ อุณหภูมิ ความเข้มข้นของสารเคมี และที่สำคัญคือระยะเวลาในการแช่เมล็ดพันธุ์ (พรทิพย์ และคณะ, 2553) ไม่ว่าจะเป็นแช่ในน้ำ (Hydro-priming) แช่ในสารเคมี (Osmo priming) และแช่ในสารแขวนลอยจุลินทรีย์ (Bio-priming) ล้วนมีระยะเวลาเข้ามา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกี่ยวข้องในการแช่เมล็ดทั้งสิ้น เพื่อให้ได้ระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดพันธุ์แต่ละสายพันธุ์ และมีประสิทธิภาพในการงอกดีที่สุด โดยมีรายงานของ Shahzad *et al.* (2000) ที่ได้ทำการทดลองกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ของข้าวสาลีด้วยน้ำ ในระยะเวลาที่แตกต่างกันคือ 0 (ควบคุม), 6, 12, และ 24 ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส จากนั้นนำเมล็ดมาลดความชื้นด้วยการอบที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงก่อนนำไปปลูก พบว่าการกระตุ้นเมล็ดข้าวสาลีที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ให้ผลดีกว่าช่วงระยะเวลาอื่นๆ โดยมีเปอร์เซ็นต์ความงอก รวมไปถึงความยาวของราก สูงกว่า

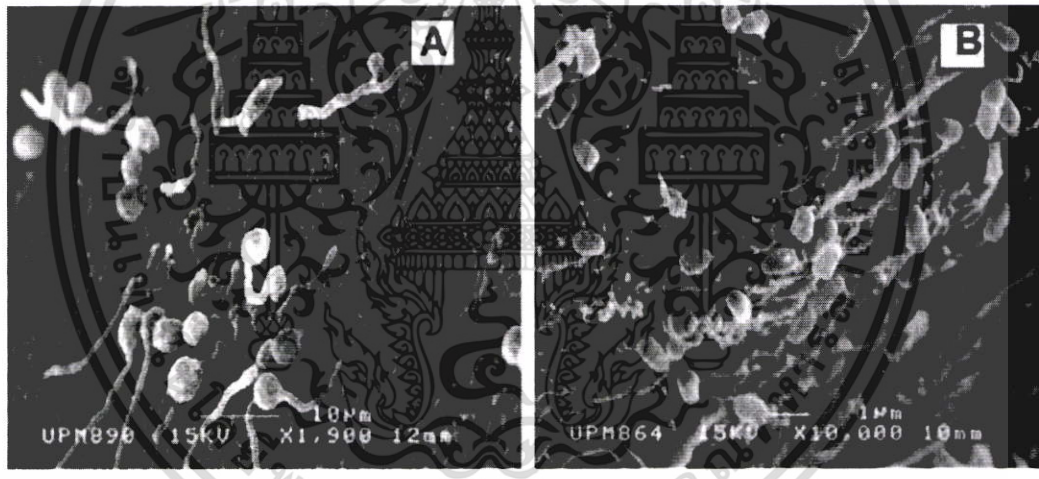
มีรายงานของ Muller และ Berg (2008) ที่ได้รายงานว่าระยะเวลาที่เหมาะสมในการแช่เมล็ดมีผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพของการกระตุ้นเมล็ดผักกาดร่วมกับการใช้จุลินทรีย์ โดยได้ทำการทดลองกับเชื้อ *Serratia plymuthica* HRO-C48 ซึ่งเป็นเชื้อปฏิปักษ์ พบว่าระยะการงอกของเมล็ดระยะที่ 1 (phase I) อยู่ในช่วง 4 ชั่วโมงแรกของการแช่เมล็ด โดยมีการดูดน้ำเพิ่มสูงขึ้นมากที่สุด ส่วนการงอกของเมล็ดระยะที่ 2 (phase II) เกิดขึ้นในช่วงเวลาที่แช่เมล็ดระหว่าง 4-16 ชั่วโมง และระยะที่ 3 จะเกิดขึ้นภายหลังจากแช่เมล็ด 16 ชั่วโมง ส่วนจำนวนของเชื้อ *S.plymuthica* HRO-C48 พบว่าเพิ่มจำนวนมากที่สุดหลังจากการแช่เมล็ดเป็นเวลา 20 ชั่วโมง มีจำนวนของเชื้อ *S. plymuthica* เท่ากับ $\log_{10}$ 6.3 ± 0.21 CFU ต่อเมล็ด โดยมากกว่าช่วงเวลาที่แช่เมล็ดเป็นเวลา 4 ชั่วโมง และ 12 ชั่วโมง ซึ่งมีปริมาเชื้อ *S. plymuthica* เท่ากับ $\log_{10}$ 3.4 ± 0.40 CFU ต่อเมล็ด และ $\log_{10}$ 6.2 ± 0.26 CFU ต่อเมล็ด ตามลำดับ โดยการเพิ่มมากขึ้นของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ก็จะมีผลทำให้การควบคุมเชื้อสาเหตุโรคมีประสิทธิภาพเพิ่มมากขึ้นอีกด้วย

5. ผลจากการใช้เชื้อจุลินทรีย์กระตุ้นเมล็ดพันธุ์เพื่อลดการเกิดโรคของพืช

ปัจจุบันมีการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดโรคพืชอย่างแพร่หลาย แต่การใช้สารเคมีอย่างต่อเนื่องจะส่งผลกระทบต่อสภาพแวดล้อม เกษตรกร และผู้บริโภค จึงหันมาใช้การควบคุมโรคพืชทางชีววิธีกันมากขึ้น ไม่ว่าจะเป็นการนำเชื้อจุลินทรีย์มาฉีดพ่น คลุกหรือแช่เมล็ด นอกจากนี้ยังมีการใช้จุลินทรีย์มากระตุ้นเมล็ดพันธุ์เพื่อชักนำให้เกิดความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรค โดยมีการศึกษาของ Raj *et al.* (2004) ที่ได้ศึกษาการกระตุ้นเมล็ดโดยใช้เชื้อ *Pseudomonas fluorescens* ส่งเสริมการเจริญเติบโต และเพิ่มความต้านทานต่อโรคราน้ำค้าง ซึ่งทำการทดลองโดยการนำเมล็ดข้าวฟ่างที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว แช่ลงในสารแขวนลอยของเชื้อ *P. fluorescens* ทั้ง 5 สายพันธุ์ได้แก่ UOM SAR 14, UOM SAR 30, UOM SAR 32, UOM SAR 56 และ UOM SAR 80 จากนั้นปั่นเหวี่ยงที่ 150 rpm เป็นเวลา 6 ชั่วโมง แล้วทำการลดความชื้น โดยผลการทดลองพบว่าในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อ *P. fluorescens* ทั้ง 5 สายพันธุ์กระตุ้นเมล็ดนั้นมีเปอร์เซ็นต์การงอก และความแข็งแรงของต้นกล้าสูงกว่ากรรมวิธีควบคุม นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้เชื้อ *P. fluorescens* สายพันธุ์ UOM SAR 14, UOM SAR 56 และ UOM SAR 80 กระตุ้นเมล็ดมีเปอร์เซ็นต์อัตราการเกิดโรคของราน้ำค้างต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองดังกล่าวยังสอดคล้องกับ Begum *et al.* (2010) ที่ได้ทำการทดลองกระตุ้นเมล็ดร่วมกับการใช้จุลินทรีย์ 3 ชนิดได้แก่ *Trichoderma harzianum* สายพันธุ์ UPN40 *Trichoderma virens* สายพันธุ์ UPM23 และ *Pseudomonas aeruginosa* สายพันธุ์ UPM13B8 มาใช้ในการควบคุมโรคโคนเน่าของถั่วเหลือง ที่เกิดจากเชื้อ *Colletotrichum truncatum* โดยนำถั่วเหลืองมาแช่ในสารแขวนลอยของจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดที่กล่าวไว้ข้างต้นในอัตราส่วน 1:3 (w / v) ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วนำไปเขย่าเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นแช่เมล็ดไว้ 12 ชั่วโมง ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่มีการศึกษาแล้วว่ามีความเหมาะสมต่อเมล็ดถั่วเหลือง ส่วนกรรมวิธีควบคุมจะแช่เมล็ดด้วยน้ำเพียงอย่างเดียว นำไปลดความชื้นด้วยเครื่อง laminar flow ซึ่งผลการทดลองพบว่าเชื้อ *T. harzianum* สายพันธุ์ UPN40 และ *P. aeruginosa* สายพันธุ์ UPM13B8 สามารถเจริญได้ดีบนเมล็ดถั่วเหลือง (ภาพที่ 2.5) นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อปฏิปักษ์ทั้ง 3 ชนิดสามารถควบคุมการเกิดโรคโคนเน่าของถั่วเหลืองทั้งก่อน และหลังการงอกได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำเพียงอย่างเดียว และกรรมวิธีที่ไม่ได้มีการกระตุ้นการงอกของเมล็ด



ภาพที่ 2.5 แสดงภาพ SEM photomicrographs ที่แสดงการเจริญของเส้นใย *T. harzianum* และการเจริญของ *P. aeruginosa* สายพันธุ์ UPM40 บนเมล็ดของถั่วเหลืองที่ผ่านการกระตุ้นการงอกของเมล็ด (A) เมล็ดที่กระตุ้นการงอกของเมล็ดด้วย *T. harzianum* (B) เมล็ดที่กระตุ้นการงอกของเมล็ดด้วย *P. aeruginosa* สายพันธุ์ UPM40 (Begum *et al.*, 2010)

นอกจากนี้ยังมีการทดลองของ Callan *et al.* 1990 ที่ได้ทำการทดลองใช้การกระตุ้นเมล็ดข้าวโพดร่วมกับการใช้เชื้อ *Pseudomonas fluorescens* สายพันธุ์ AB254 ควบคุมเชื้อ *Pythium ultimum* สาเหตุโรคเน่าคอดินของข้าวโพดหวาน เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมี Metalaxyl การให้ความชื้นอย่างเดียว (บ่มเมล็ดเพื่อให้ความชื้นใน vermiculite) การคลุกเมล็ดด้วย *P. fluorescens* สายพันธุ์ AB254, PCNB และMethylcellulose พบว่าการกระตุ้นเมล็ด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ร่วมกับการใช้เชื้อ *P. fluorescens* สายพันธุ์ AB254 สามารถควบคุมเชื้อ *P. ultimum* ได้ดีที่สุด และ AB254 มีการงอกของเมล็ดข้าวโพดสูงที่สุดเท่ากับ 39.4 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ Metalaxyl ที่มีเปอร์เซ็นต์การงอกเท่ากับ 30.1 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในกรรมวิธีที่ใช้การให้ความชื้นอย่างเดียว การคลุกเมล็ดด้วย *P. fluorescens* สายพันธุ์ AB254 PCNB และMethylcellulose มีเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดข้าวโพดเท่ากับ 19.8, 8.3, 1.4, และ 1.0 ตามลำดับ

6. การใช้จุลินทรีย์ endophyte ส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว

มีหลายงานวิจัยที่ได้รายงานถึงการใช้จุลินทรีย์ endophyte ส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว ดังเช่นรายงานของ สุจิตรา และคณะ (2556) ที่ได้ทำการแยก endophytic bacteria จากรากข้าวพันธุ์ข้าวเจ้าหอมสุพรรณบุรี โดยใช้ 13 ไอโซเลต มาทำการทดสอบการความสามารถในการผลิตสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว ผลการทดลองพบว่า endophytic bacteria มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตระหว่าง 421.7 - 465.9 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีการผลิตออกซิน 8.0 - 21.9 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมีการผลิตจิบเบอริลลิน 143.7 - 292.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อนำไปจัดจำแนกพบว่ามีความเหมือนกันของลำดับเบสกับ *Bacillus safensis* ที่ระดับความเหมือน 98 เปอร์เซ็นต์ โดยช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว โดยเพิ่มความสูง ปริมาณการแตกกอ จำนวนรวงต่อกอ และผลผลิตเฉลี่ยเท่ากับ 5.83, 42.62, 43.27 และ 38.42 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Raweekul *et al.* (2016) ที่ได้ศึกษาการใช้ประโยชน์จาก endophytic bacteria ส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว โดยทำการแยกแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตจากรากและลำต้นของข้าว พบว่าแบคทีเรียที่แยกได้มีความเหมือนกับ *Pedobacter, Sphingomonas, Paenibacillus* และ *Bacillus* เมื่อนำไปทดสอบการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวในหลอดทดลองพบว่า มีการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักสด 2.30-3.18 เท่า และพบว่ามีการผลิต siderophore กรด indole-3-อะซิติก (IAA) ซึ่งมีผลต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวอีกด้วย

นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยของ ปรารถนา (2555) ที่ได้แยกแบคทีเรีย endophyte ที่สามารถตรึงไนโตรเจนจากข้าว 5 สายพันธุ์ ได้แก่ เหมยนอง 24, เหมยนอง 25, สุพรรณบุรี 1, ปทุมธานี 1 และชัยนาท 1, โดยแยกจากส่วนราก ลำต้น และใบข้าว บนอาหาร Nitrogen free agar ได้ทั้งสิ้นจำนวน 123 ไอโซเลท ตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสโดยวิธี Acetylene reduction assay และคัดเลือกแบคทีเรียที่มีกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสสูงอยู่ระหว่าง 26-120 nmol C2H4/mg protein/hr ได้จำนวน 7 ไอโซเลต พบว่าเป็นแบคทีเรียใน genus *Pseudomonas* (CS5), *Sulfidobacillus* (25R14), *Enterobacter* (SS6), *Enterobacter* (CR9), *Enterobacter* (SS5), *Bacillus* (25R2) และ *Sulfidobacillus* (SR1) เช่นเดียวกับรายงานของ Adhikari *et al.* (2012) ที่ได้ทำการศึกษาโดยการแยก endophytic bacteria จากรากและลำต้นของข้าวในแคลิฟอร์เนียเช่นเดียวกัน โดยพบว่า endophytic bacteria ที่แยกได้เมื่อจัดจำแนกด้วยการหาลำดับยีนของยีน 16S

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

rRNA พบว่ามีความคล้ายคลึงกับ *Pseudomonas fluorescens* (S3), *Pseudomonas tolaasii* (S20), *Pseudomonas veronii* (S21) และ *Sphingomonas trueperi* (S12) โดยพบว่าทั้ง 4 สายพันธุ์สามารถเพิ่มความสูง และน้ำหนักของต้นข้าวได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และยังพบว่าสายพันธุ์ S20 S21 และS12 มียีนตรึงไนโตรเจน ซึ่งส่งผลดีต่อการเจริญเติบโตของพืชอีกด้วย นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ทำการปลูกเชื้อ endophytic bacteria แสดงให้เห็นว่า endophytic bacteria สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการดำเนินงานวิจัย

อุปกรณ์

1. ตู้เพาะเมล็ด
2. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
3. ตู้เขี่ยเชื้อ
4. เครื่องปั่นเหวี่ยง
5. เครื่องเขย่าสาร (vortex mixer)
6. เครื่องชั่ง
7. กล้องจุลทรรศน์
8. กล้องถ่ายภาพ
9. ตะเกียงแอลกอฮอล์
10. เข็มเขี่ยเชื้อ
11. cork borer
12. ไมโครปิเปต
13. ปิเปตทิป
14. โหลดูดความชื้น
15. จานอาหารเลี้ยงเชื้อขนาด 90 มิลลิเมตร
16. Haemacytometer
17. หลอดทดลอง
18. บีกเกอร์
19. กระดาษเพาะเมล็ด
20. สำลี
21. กระดาษชำระ
22. ไมโครเวฟ

อาหารเลี้ยงเชื้อ และสารอื่นๆ

1. Water agar (WA)
2. Potato dextrose agar (PDA)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. Rice Flour Agar (RFA)

4. Nutrient agar (NA)

5. Nutrient broth (NB)

อุปกรณ์ที่ใช้ในโรงเรือน

1. ถาดเพาะ

2. กระถางพลาสติกสีดำขนาด 15 นิ้ว

3. สายยาง

4. หัวสเปรย์พ่นหมอก

5. ปั๊มน้ำ

6. ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีดำเนินงานวิจัย

การกระตุ้นเมล็ดด้วยวิธีทางชีวภาพ (Bio-priming) โดยใช้ endophytic bacteria เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตข้าวโดยลดการเกิดโรคไหม้ของข้าวที่เกิดจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae* หรือช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว ประกอบด้วย 5 ขั้นตอนดังนี้

1. การแยกเชื้อรา *Pyricularia oryzae* สาเหตุโรคไหม้ของข้าว และทดสอบการก่อโรค
2. การคัดเลือก endophytic bacteria ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Pyricularia oryzae*
3. การศึกษากรรมวิธีในการทำการกระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria
4. การทดสอบประสิทธิภาพการกระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria ในการควบคุมโรคไหม้ของข้าวในสภาพแปลงทดลอง
5. การทดสอบประสิทธิภาพการกระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว

3.1 การแยกเชื้อรา *Pyricularia oryzae* สาเหตุโรคไหม้ของข้าว และทดสอบการก่อโรค

แยกเชื้อรา *P. oryzae* จากข้าวที่แสดงอาการของโรคไหม้ โดยวิธี single spore isolation ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ water agar (WA) และขอความอนุเคราะห์สายพันธุ์ที่มีการเกิดโรครุนแรงจากห้องปฏิบัติการโรคพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สจล. จากนั้นย้ายต่อไปยังอาหารเลี้ยงเชื้อ Rice Flour Agar (RFA) (ยอดขวัญ และคณะ, 2552) บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน เมื่อเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อจึงนำไปกระตุ้นให้เกิดการสร้างสปอร์ โดยการเติมน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อปริมาณ 2 มิลลิลิตร ลงบนหน้าอาหารที่มีเชื้อราเจริญ จากนั้นใช้แท่งแก้วรูปตัวแอลขูดให้ทั่วผิวหน้าอาหารแล้วผึ่งให้แห้งเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อกระตุ้นการสร้างสปอร์ จากนั้นเตรียมสารแขวนลอยสปอร์ให้ได้ความเข้มข้น 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร แล้วนำสารแขวนลอยสปอร์ที่ได้ 80 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายเจลาติน 2 เปอร์เซ็นต์ 20 มิลลิลิตร โดยเจลาตินจะทำหน้าที่เป็นสารจับใบ จากนั้นนำไปฉีดพ่นลงบนต้นกล้าข้าวอายุ 30 วัน และตรวจสอบการเกิดโรค โดยประเมินขนาดของแผล 6 ระดับ (Roumen *et al.*, 1997) ดังนี้

ระดับ 0 คือ ไม่ปรากฏแผล

ระดับ 1 คือ แผลจุดกลมสีน้ำตาลเล็กๆ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 0.5 มิลลิเมตร

ระดับ 2 คือ แผลกลมหรือยาวรีเล็กน้อยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 0.5-1 มิลลิเมตร

ระดับ 3 คือ แผลจุดเล็กๆ ขนาดประมาณ 1-3 มิลลิเมตร มีจุดสีเทาตรงกลาง

ระดับ 4 คือ แผลจุดเล็กๆ ขนาดประมาณ 3 มิลลิเมตร หรือยาวกว่า แผลเป็นสีเทามีขอบแผลน้ำตาล

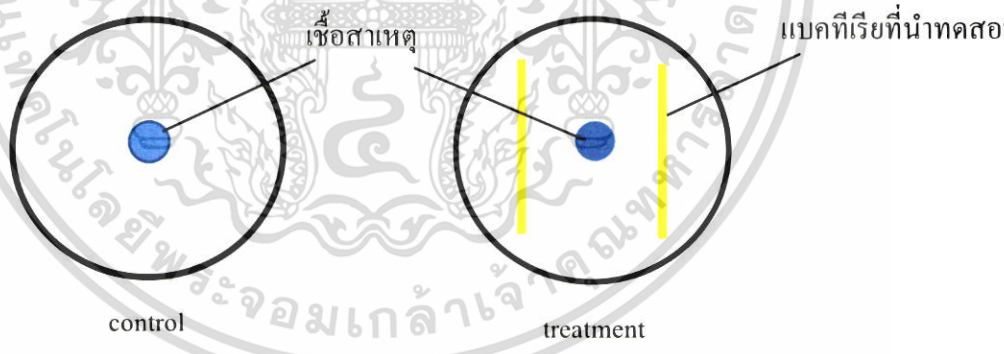
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระดับ 5 คือ แผลสีเทาเกาะกันเป็นกลุ่ม มีขอบแผลสีน้ำตาล เป็นอาการที่แสดงถึงความอ่อนแอต่อโรค

ระดับ 6 คือ แผลลุกลามยาวติดต่อกันเป็นสีเทาไม่มีขอบแผลที่แน่นอนเป็นอาการที่แสดงถึงความอ่อนแอต่อโรค

3.2 การคัดเลือก endophytic bacteria ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Pyricularia oryzae*

การทดสอบ endophytic bacteria ที่มีรายงานว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อโรคข้าว (พรหมมาศ และอนัตตา, 2558) และทำการแยกใหม่จากต้นข้าวที่แข็งแรงในแปลงที่มีรายงานการเกิดโรคไหม้ โดยการนำเชื้อจากหลอดเก็บเชื้อมา streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA) บ่มไว้เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำเชื้อที่ได้มาทดสอบกับต้นกล้าข้าว เพื่อหาสายพันธุ์ที่เป็นประโยชน์ตามวิธีการของพรหมมาศ และอนัตตา (2558) จากนั้นนำสายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือกและมาทดสอบประสิทธิภาพของ endophytic bacteria ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. oryzae* โดยทำการเลี้ยงเชื้อรา *P. oryzae* บนอาการ PDA บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ทำการทดสอบด้วยวิธี dual culture test วางแผนการทดสอบแบบ Completely Randomized Design (CRD) กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ นำเชื้อสาเหตุโรคข้าววางลงบนอาหาร PDA โดยวางตรงกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อในกรรมวิธีควบคุม ส่วนในกรรมวิธีทดสอบ ให้วางเชื้อสาเหตุโรคข้าวตรงกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อก่อน 4 วัน แล้วทำการ streak แบคทีเรียห่างจากขอบจานอาหารเลี้ยงเชื้อข้างละ 2 เซนติเมตร ดังภาพ



ภาพ Dual culture ระหว่างเชื้อแบคทีเรียกับเชื้อสาเหตุโรคข้าว

จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (Growth inhibition = GI) โดยใช้สูตร

$$GI = \frac{C-T}{C} \times 100$$

C = ขนาดโคโลนีของเชื้อราในจานอาหารควบคุม (control)

T = ขนาดโคโลนีของเชื้อราในจานอาหารทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 การศึกษากรรมวิธีในการกระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria

3.3.1 การศึกษาหาระยะเวลาที่เหมาะสมของเมล็ดพันธุ์ข้าวในการกระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria

ทำการทดลองโดยการนำ endophytic bacteria ที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา *P.oryzae* จากการทดลองข้อที่ 3.2 มาทำการทดสอบ เตรียมสารแขวนลอยแบคทีเรียโดยนำแบคทีเรียดังกล่าวมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth (NB) ปริมาณ 50 มิลลิลิตร นำสารแขวนลอยเชื้อดังกล่าวมาเขย่าด้วยเครื่อง ratory shaker เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge 10 นาที จากนั้นนำส่วนที่เป็น pellet มาปรับความเข้มข้นให้มีความขุ่นเท่ากับ Mcfarland เบอร์ 0.5 เพื่อให้ได้สารแขวนลอยแบคทีเรียที่ความเข้มข้น 10^8 cfu ต่อมิลลิลิตร แล้วนำเมล็ดพันธุ์ข้าวที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยการแช่ sodium hypochlorite เป็นเวลา 5 นาที ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตรที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว โดยให้เมล็ดจมอยู่ในสารแขวนลอยแบคทีเรียที่เตรียมไว้ ปิดปากบีกเกอร์แก้วด้วยแผ่นอะลูมิเนียมฟลอยด์ แล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส วางแผนการทดสอบแบบ Completely Randomized Design (CRD) กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ โดยแบ่งเป็น 7 กรรมวิธี ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 กระตุ้นเมล็ดเป็นเวลา 0 ชั่วโมง
กรรมวิธีที่ 2 กระตุ้นเมล็ดเป็นเวลา 6 ชั่วโมง
กรรมวิธีที่ 3 กระตุ้นเมล็ดเป็นเวลา 12 ชั่วโมง
กรรมวิธีที่ 4 กระตุ้นเมล็ดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง
กรรมวิธีที่ 5 กระตุ้นเมล็ดเป็นเวลา 48 ชั่วโมง
กรรมวิธีที่ 6 กระตุ้นเมล็ดเป็นเวลา 72 ชั่วโมง
กรรมวิธีที่ 7 กระตุ้นเมล็ดเป็นเวลา 96 ชั่วโมง

โดยเมื่อครบเวลาในแต่ละกรรมวิธี จะนำเมล็ดพันธุ์ข้าวในกรรมวิธีนั้นๆ มาซับให้แห้งแล้วนำไปชั่งน้ำหนักเมล็ด ก่อนอบด้วยเครื่อง Hot air oven เพื่อตรวจวัดปริมาณความชื้น (ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 17$\pm$ 1 ชั่วโมง จากนั้นนำมาใส่ในโหลดูดความชื้น 30 นาที จึงนำมาชั่งน้ำหนักเมล็ดอีกครั้ง แล้วนำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้นดังสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \left(\frac{\text{น้ำหนักเมล็ดก่อนอบ-น้ำหนักเมล็ดหลังอบ}}{\text{น้ำหนักเมล็ดก่อนอบ}} \right) \text{X } 100$$

การศึกษาในขั้นตอนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้ระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการกระตุ้นการงอกของเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธีทางชีวภาพโดยใช้ endophytic bacteria จากนั้นเมื่อได้ระยะเวลาที่เหมาะสมแล้วจะนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2 การศึกษาหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดความชื้นเมล็ดพันธุ์ข้าวในการกระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria

นำเมล็ดข้าวที่ผ่านการกระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria ที่ได้เวลาเหมาะสมแล้ว มาซับให้แห้งแล้วนำไปชั่งน้ำหนักเมล็ด เช่นเดียวกับข้อ 3.3.1 แล้วนำมาลดความชื้นด้วยเครื่อง Hot air oven ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส โดยจะสุ่มเมล็ดครั้งละ 5 กรัม 4 ซ้ำ มาชั่งน้ำหนักของเมล็ดพันธุ์ข้าวทุกชั่วโมง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นคำนวณหาความชื้นดังสูตรข้อ 3.3.1 เพื่อหาช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการกระตุ้นการงอกของเมล็ดด้วย endophytic bacteria

3.3.3 การทดสอบคุณภาพของเมล็ดหลังการกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ข้าวด้วย endophytic bacteria

ทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวที่ผ่านการกระตุ้นเมล็ดด้วยวิธีทางชีวภาพโดยใช้ endophytic bacteria (Bio-priming) ที่ได้ระยะเวลาการแช่เมล็ดพันธุ์ข้าวที่เหมาะสมแล้วจากข้อ 3.3.1 และระยะเวลาการลดความชื้นที่เหมาะสมแล้วจากข้อ 3.3.2 มาทดสอบคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ ได้แก่ ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ และความงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่ผ่านกระกระตุ้น (No priming) เมล็ดที่กระตุ้นด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ (Hydro-priming) และเมล็ดที่กระตุ้นด้วยสารเคมี Carbendazim (Osmopriming)

โดยจะทำการตรวจสอบดังนี้

1. ความชื้นของเมล็ดพันธุ์

สุ่มเมล็ดพันธุ์ข้าว 5 กรัม มาตรวจสอบความชื้นด้วยวิธีมาตรฐานโดยการอบด้วยเครื่อง Hot air oven เป็นเวลา 17±1 ชั่วโมง จากนั้นนำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้นดังสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \left(\frac{\text{น้ำหนักเมล็ดก่อนอบ-น้ำหนักเมล็ดหลังอบ}}{\text{น้ำหนักเมล็ดก่อนอบ}} \right) \text{X100}$$

2. ความงอกของเมล็ดพันธุ์

ทดสอบความงอกด้วยวิธีการเพาะบนกระดาษโดยใช้วิธี Top of Paper ทำการทดลอง 4 ซ้ำ ซ้ำละ 100 เมล็ด ที่อุณหภูมิห้อง ตรวจนับครั้งแรกหลังจากเพาะเมล็ด 5 วัน และตรวจนับครั้งสุดท้ายหลังจากเพาะเมล็ด 14 วัน โดยจะตรวจนับ จำนวนต้นปกติ จำนวนต้นที่ผิดปกติ เมล็ดสดไม่งอก และเมล็ดตาย จากนั้นคำนวณความงอกของเมล็ดพันธุ์เป็นเปอร์เซ็นต์ดังสูตร

$$\text{ความงอก (\%)} = \left(\frac{\text{จำนวนต้นปกติที่งอก}}{\text{จำนวนเมล็ดที่เพาะ}} \right) \text{X100}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.4 การทดสอบความมีชีวิตรอดของ endophytic bacteria

นำเมล็ดพันธุ์ข้าวที่ผ่านการกระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria แล้วเช่นเดียวกับข้อ 3.3.3 มาทำการทดสอบโดยสุ่มตัวอย่างทุกๆ เดือน เพื่อตรวจสอบการงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าว เป็นระยะเวลา 4 เดือน พร้อมสุ่มเมล็ดพันธุ์ข้าวจำนวน 1 กรัม แช่ใน ethyl alcohol 70 เปอร์เซ็นต์ 30 วินาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ตามด้วยแช่ Clorox 10 เปอร์เซ็นต์ 2 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้ออีกครั้ง และซับด้วยกระดาษซับที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วล้างด้วยน้ำกลั่น จากนั้นนำมาบดด้วยโกร่ง เติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 9 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง เขย่าเป็นเวลา 5 นาที แล้วนำสารละลายมาตรวจสอบด้วยการทำ serial dilution planting technique จากนั้นตรวจนับโคโลนีของแบคทีเรียด้วยวิธี pour plate tecnique บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง วางแผนการทดลองแบบCompletely Randomized Design (CRD) ทำการทดลอง 4 ซ้ำ

3.4.การทดสอบประสิทธิภาพการกระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria ต่อการควบคุมโรคไหม้ของข้าวในสภาพแปลงทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) มี 6 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 ไม่กระตุ้นเมล็ดพันธุ์และไม่ปลูกเชื้อรา *P. oryzae* (control)

กรรมวิธีที่ 2 ไม่กระตุ้นเมล็ดพันธุ์ก่อนปลูกเชื้อ *P. oryzae* (No priming)

กรรมวิธีที่ 3 กระตุ้นเมล็ดพันธุ์ด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อก่อนปลูกเชื้อ *P. oryzae* (Hydro-priming)

กรรมวิธีที่ 4 กระตุ้นเมล็ดพันธุ์ด้วยสารเคมีก่อนทำการปลูกเชื้อ *P. oryzae* (Osmopriming)

กรรมวิธีที่ 5 กระตุ้นเมล็ดพันธุ์ด้วย endophytic bacteria ก่อนทำการปลูกเชื้อ *P. oryzae* (Bio-priming)

กรรมวิธีที่ 6 กระตุ้นเมล็ดพันธุ์ด้วย endophytic bacteria ร่วมกับการฉีดพ่นทางใบก่อนทำการปลูกเชื้อรา *P. oryzae* (Bio-priming+spray)

การเตรียมต้นกล้าและดินปลูกข้าว โดยเตรียมดินปลูกข้าวที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วบรรจุลงในกระถางปริมาณ 5 กิโลกรัมต่อกระถาง และบ่มดินภายในสภาพน้ำขังเป็นระยะเวลา 7 วัน นำเมล็ดข้าว ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วกระตุ้นเมล็ดตามกรรมวิธีต่างๆ โดยกรรมวิธีที่กระตุ้นด้วยสารเคมีก่อนการปลูกเชื้อจะแช่เมล็ดข้าวในสารเคมี Crabandazim ที่อัตรา 5 กรัมต่อน้ำ 10 ลิตร ส่วนกรรมวิธีที่กระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria จะแช่เมล็ดข้าวในสารแขวนลอยแบคทีเรียที่ความเข้มข้น 10^8 cfuต่อมิลลิลิตร โดยทุกกรรมวิธีจะทำการแช่เมล็ดไว้ที่ระยะเวลาที่เหมาะสมตามข้อ 3.3.1 แล้วลดความชื้นให้อยู่ที่ระยะเวลาตามข้อ 3.3.2 ก่อนปลูกข้าวด้วยการเพาะกล้าข้าวก่อน 14 วัน แล้วจึงนำไปปลูกกระถางละ 5 ต้น สำหรับกรรมวิธีที่ 7 ฉีดพ่นด้วยสารแขวนลอยแบคทีเรีย ก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุโรคพืชเป็นเวลา 2 วัน ทำการตรวจผลโดยทำการประเมินโรคไหม้ที่เกิดจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อรา *P. oryzae* สังเกตจากลักษณะอาการและความรุนแรงของการเกิดโรค โดยประเมินจากขนาดแผลตามข้อ 3.1 ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 4 เดือน

3.5 การทดสอบประสิทธิภาพการกระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) มี 3 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 ไม่ทำการกระตุ้นเมล็ด (No priming)

กรรมวิธีที่ 2 กระตุ้นเมล็ดด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ (Hydro-priming)

กรรมวิธีที่ 3 กระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria (Bio-priming)

เตรียมต้นกล้าและดินปลูกข้าวเช่นเดียวกับข้อ 3.4 นำเมล็ดพันธุ์ข้าวที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วแช่ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อในกรรมวิธีที่กระตุ้นเมล็ดด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ และแช่เมล็ดพันธุ์ข้าวในสารแขวนลอย endophytic bacteria ที่ความเข้มข้น 10^8 cfu ต่อมิลลิลิตร โดยทุกกรรมวิธีจะทำการแช่เมล็ดไว้ที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง (จากข้อ 3.3.1) แล้วลดความชื้นที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 10 ชั่วโมง (จากข้อ 3.3.2) ตรวจวัดผลการทดลองโดยทำการตรวจนับจำนวนต้นกล้าที่งอก และน้ำหนักรวมของต้นข้าวหลังจากเพาะ 14 วัน จากนั้นนำมาคำนวณค่าดัชนีการเจริญเติบโตของต้นกล้า seedling vigour index (svi) ดังสูตร

svi = ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การงอก x ค่าเฉลี่ยน้ำหนักรวมต่อต้น

$$\% \text{ svi} = \frac{\text{ค่า svi ทรีตเมนต์}}{\text{ค่า svi ชุดควบคุม}} \times 100$$

พร้อมกับเก็บข้อมูลการเจริญเติบโต ได้แก่ จำนวนหน่อต่อต้น ที่ระยะ 30 และ60 ความสูงลำต้น จำนวนรวง ความยาวรวง แล้วทำการเก็บเกี่ยวข้าวเมื่อข้าวแก่ อายุประมาณ 120 วัน นำไปอบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักผลผลิตเมล็ด จำนวนเมล็ดดี เมล็ดลีบ ผลผลิตกรัมต่อกอ ผลผลิตกรัมต่อไร่ และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1. ผลการแยกเชื้อรา *Pyricularia oryzae* สาเหตุโรคไหม้ของข้าว และทดสอบการก่อโรค

จากการแยกเชื้อรา *Pyricularia oryzae* จากข้าวที่แสดงการเกิดโรคไหม้ด้วยวิธี single spore isolation พบว่าไอโซเลทที่แยกได้นั้นได้แก่ BTN6001 และเมื่อนำมาทดสอบการเกิดโรคเปรียบเทียบกับไอโซเลทที่ได้รับความอนุเคราะห์จากห้องปฏิบัติการโรคพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สจล ทั้ง 3 ไอโซเลทคือ RBR55001 UBN195171 และBKK55003 ผลการทดสอบโรคพบว่า ไอโซเลท RBR55001 มีระดับความรุนแรงของโรคสูงที่สุดอยู่ในระดับ 6 รองมาได้แก่ไอโซเลท BKK55003 อยู่ที่ระดับ 5 ไอโซเลท UBN195271 และ BTN6001 อยู่ที่ระดับ 4 และ 3 ตามลำดับ (ภาพที่ 4.1) ดังนั้นจึงเลือกใช้ไอโซเลท RBR55001 ที่มีความรุนแรงของโรคสูงที่สุดเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

ภาพที่ 4.1 แสดงการเกิดโรคไหม้ข้าวภายหลังทำการทดสอบโรคเป็นเวลา 7 วัน (A=control; B= BKK55003; C=UBN195171; D= RBR55001 และ BTN6001)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลการคัดเลือก endophytic bacteria ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Pyricularia oryzae*

4.2.1 ผลการคัดเลือก endophytic bacteria ต่อการเจริญของต้นกล้าข้าว

จากการทดลองสามารถแยก endophytic bacteric ได้ใหม่ทั้งหมด 31 ไอโซเลท ได้แก่ SnR117, SnS217, SnS317, Sn417, SnR517, SnR617, SnS717, SnR817, SnS917, SnS1017, SuR117, SuS217, SuR317, SuS417, SuR517, SuS617, SuR717, Su2R117, Su2S217, Su2R317, Su2L417, SuS2R517, Su2R617, BaR217, BaR517, BaL517, BaS417, BaR617, BaL717, BaR917, BaR1017 เมื่อนำไปทดสอบทางสัณฐานเบื้องต้นด้วยกล้องจุลทรรศน์ การย้อมแกรม และ 3 %KOH พบว่าเป็นแกรมบวก 27 ไอโซเลท และเป็นแกรมลบเพียง 4 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท SnR117, SnR617, Su2R317 และ Su2R617 โดยแกรมบวกส่วนใหญ่จะมีลักษณะเป็นสีขาวขุ่น ลักษณะรูปร่างเซลล์เป็นแบบ bacillus แกรมลบที่พบจะมีลักษณะโคโลนีเป็นสีขาวใส ลักษณะรูปร่างเซลล์เป็นแบบ coccus นอกจากนี้ยังพบว่ามีลักษณะอื่นๆ เช่น โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ สี และรูปร่างของเซลล์แตกต่างกันไปตามตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.2 และยังใช้ endophytic bacteric ที่มีรายงานว่ามีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมเชื้อสาเหตุโรคข้าวจาก พรหมมาศ และอนัตตา (2558) จำนวน 15 ไอโซเลท ได้แก่ BEdStUTI001, BEdStUTI002, BEdStUTI003, BEdStUTI004, BEdStUTI006, BEdStRBR001, BEdStRBR002, BEdStRBR003, BEdStRBR005, BEdStSPB001, BEdStSPB002, BEdStSPB003, BEdStSPB004, BEdStSPB005, BEdSTPB001_r มาศึกษาร่วมด้วย

ตารางที่ 4.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและ คุณสมบัติเบื้องต้นของ endophytic bacteria

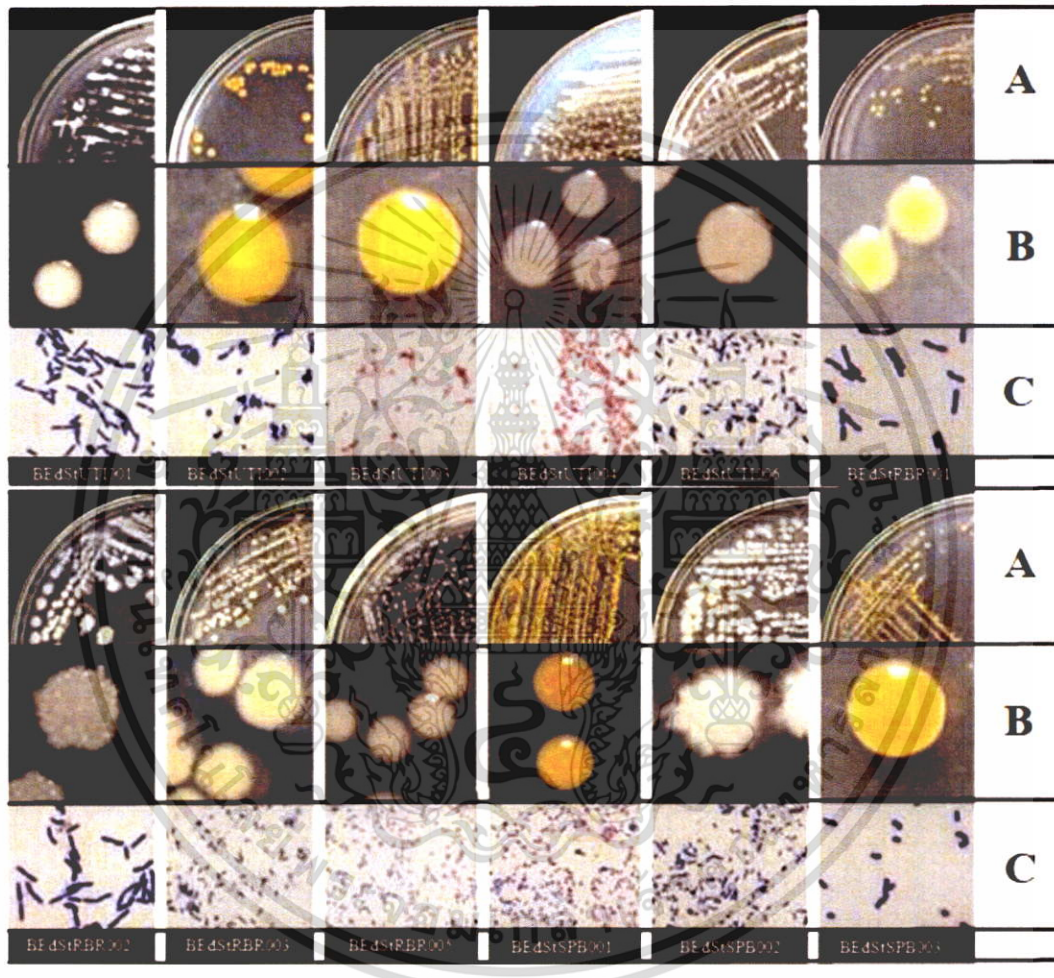
แบคทีเรีย	ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA				3%KOH	Gram	ลักษณะ
	สี	รูปร่าง	ขอบ	ผิว	test	staining	รูปร่าง
1.BEdStUTI001	ขาว	กลม	เรียบ	เป็นเมือก	+	+	bacillus
2.BEdStUTI002	เหลือง	กลม	เรียบ	เป็นเมือก	+	+	bacillus
3.BEdStUTI003	เหลือง	กลม	เรียบ	เป็นเมือก	-	-	coccus
4.BEdStUTI004	ขาว	กลม	เรียบ	เป็นเมือก	-	-	coccus
5.BEdStUTI006	ขาวขุ่น	กลม	เรียบ	เรียบ	+	+	bacillus
6.BEdStRBR001	เหลืองใส	กลม	เรียบ	เป็นเมือก	+	+	bacillus
7.BEdStRBR002	ขาวขุ่น	กลม	เรียบ	ขรุขระ	+	+	bacillus
8.BEdStRBR003	เนื้อ	กลม	เรียบ	เป็นเมือก	+	+	bacillus
9.BEdStRBR005	ขาว	กลม	เรียบ	เป็นเมือก	+	+	coccobacilli
10.BEdStSPB001	เหลือง	กลม	เรียบ	เป็นเมือก	+	+	coccobacilli
11.BEdStSPB002	ขาวขุ่น	กลม	เรียบ	เรียบ	+	+	bacillus

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรีย	ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA				3%KOH test	Gram staining	ลักษณะรูปร่าง
	สี	รูปร่าง	ขอบ	ผิว			
12.BEdStSPB003	เหลือง	กลม	เรียบ	ขรุขระ	+	+	bacillus
13. BEdStSPB004	ขาว	กลม	เรียบ	เป็นเมือก	+	+	coccobacilli
14.BEdStSPB005	เหลืองใส	กลม	เรียบ	เป็นเมือก	-	-	coccus
15.BEdSTPB001_r	เนื้อ	กลม	เรียบ	ขรุขระ	+	+	bacillus
---------- (พรหมมาศ และอนัตตา, 2558)							
16.SnR117	ขาว	กลม	เรียบ	เป็นเมือก	-	-	coccus
17.SnS217	ขาวขุ่น	ไม่แน่นอน	เป็นคลื่น	เรียบ	+	+	bacillus
18.SnS317	ขาวขุ่น	กลม	เรียบ	เรียบ	+	+	bacillus
19.SnS417	เนื้อ	กลม	เรียบ	เป็นเมือก	+	+	bacillus
20.SnR517	ขาว	กลม	เรียบ	เป็นเมือก	+	+	bacillus
21.SnR617	ขาว	กลม	เรียบ	เป็นเมือก	-	-	coccus
22.SnS717	ขาว	กลม	เรียบ	เป็นเมือก	+	+	bacillus
23.SnR817	ขาว	กลม	เรียบ	เป็นเมือก	+	+	bacillus
24.SnS917	เนื้อ	กลม	เรียบ	เป็นเมือก	+	+	bacillus
25.SnS1017	เหลือง	กลม	เรียบ	เป็นเมือก	+	+	bacillus
26.SuR117	ขาวขุ่น	กลม	เรียบ	เป็นเมือก	+	+	bacillus
27.SuS217	ขาวขุ่น	กลม	เรียบ	เป็นเมือก	+	+	bacillus
28.SuR317	ขาวขุ่น	กลม	เป็นคลื่น	เรียบ	+	+	bacillus
29.SuS417	ขาว	กลม	เรียบ	เป็นเมือก	+	+	bacillus
30.SuR517	ขาว	กลม	เรียบ	เป็นเมือก	+	+	bacillus
31.SuR617	ขาว	กลม	เรียบ	เป็นเมือก	+	+	bacillus
33.Su2R117	เนื้อ	กลม	เรียบ	เป็นเมือก	+	+	bacillus
34.Su2S217	ขาวขุ่น	กลม	เป็นคลื่น	ขรุขระ	+	+	bacillus
35.Su2R317	ขาว	กลม	เรียบ	เป็นเมือก	-	-	coccus
36.Su2L417	ขาว	กลม	เรียบ	เป็นเมือก	+	+	bacillus
37.Su2R517	ขาวขุ่น	กลม	เป็นคลื่น	ขรุขระ	+	+	bacillus
38.Su2R617	ขาว	กลม	เรียบ	เป็นเมือก	-	-	coccus
39.BaR217	ขาว	กลม	เรียบ	เป็นเมือก	+	+	coccobacilli
40.BaR317	ขาวขุ่น	กลม	เรียบ	ขรุขระ	+	+	coccobacilli
41.BaS417	ขาวขุ่น	กลม	เป็นคลื่น	ขรุขระ	+	+	bacillus
42.BaL517	เนื้อ	กลม	เรียบ	เรียบ	+	+	bacillus
43.BaR617	ขาว	กลม	เรียบ	เป็นเมือก	+	+	coccobacilli

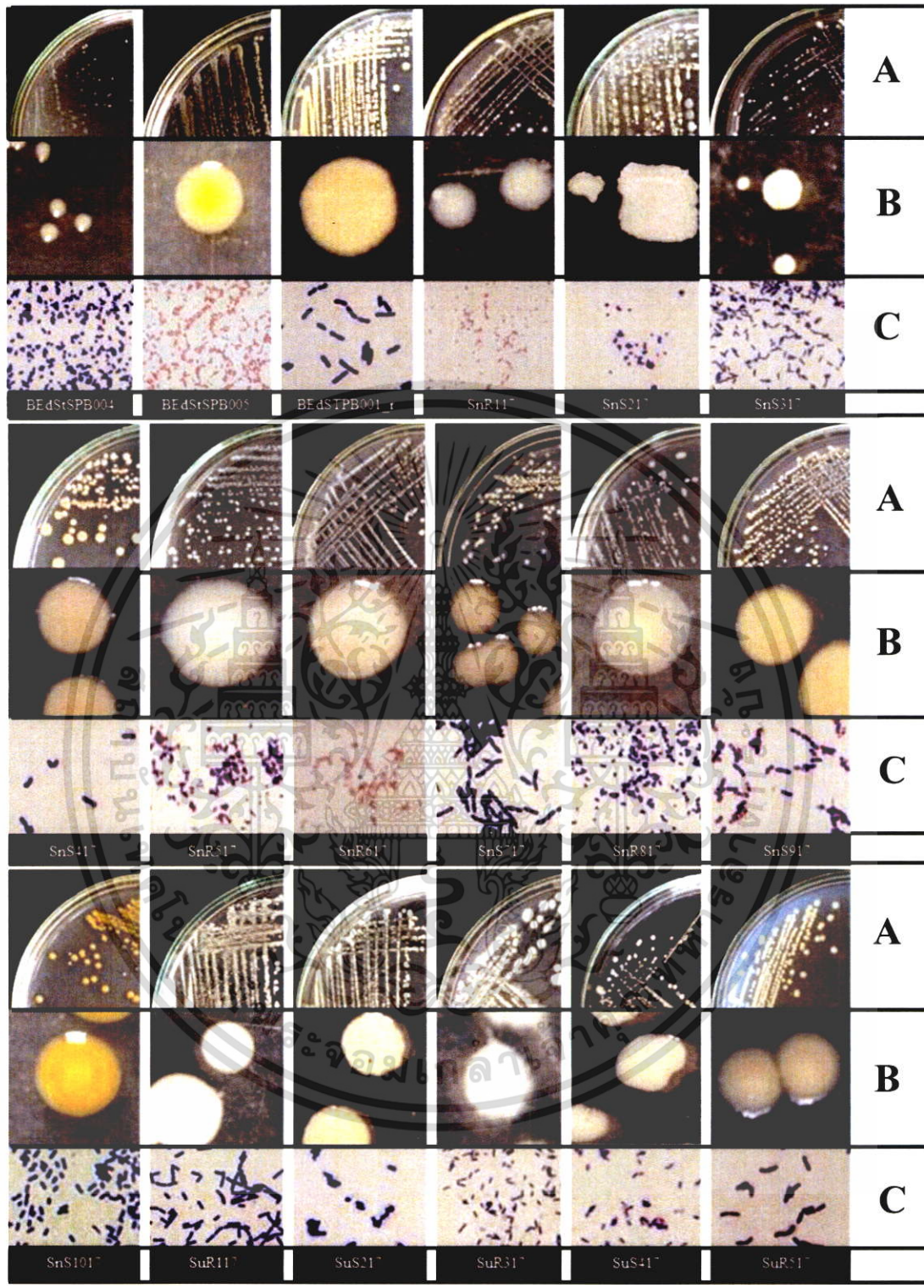
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรีย	ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA				3%KOH	Gram	ลักษณะ
	สี	รูปร่าง	ขอบ	ผิว	test	staining	รูปร่าง
44.BaL717	ขาวขุ่น	กลม	เป็นคลื่น	ขรุขระ	+	+	coccobacilli
45.BaR917	ขาวขุ่น	กลม	เรียบ	เรียบ	+	+	bacillus
46.BaR1017	น้ำตาล	กลม	เป็นคลื่น	เป็นเมือก	+	+	bacillus



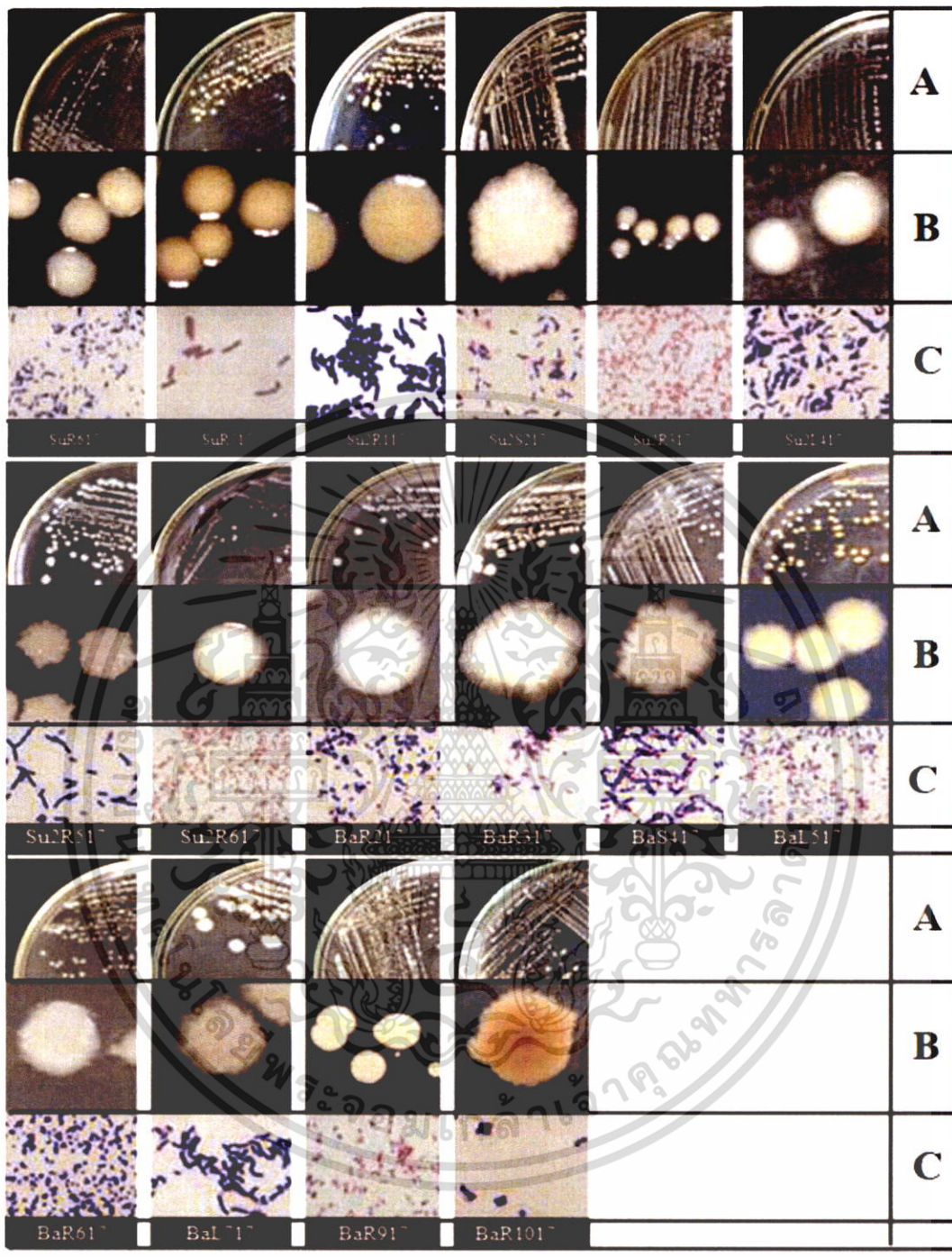
ภาพที่ 4.2 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นของ endophytic bacteria ที่แยกได้จากข้าว (A = ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA, B = ลักษณะโคโลนีที่กำลังขยาย 6.7 เท่า และ C = การติดสีย้อมแกรมของเซลล์แบคทีเรียที่กำลังขยาย 1,000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.2 (ต่อ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.2 (ต่อ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้การศึกษาผลของ endophytic bacteria ต่อการเจริญของต้นกล้าข้าวนั้นพบว่า จำนวนใบ และการรอดชีวิตของต้นกล้าข้าวในทุกไอโซเลทไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ส่วนความสูง น้ำหนักต้น น้ำหนักราก และน้ำหนักรวมในทุกไอโซเลทมีความแตกต่างกันทางสถิติ และเมื่อนำมาคำนวณเป็น %svi พบว่ามีทั้งหมด 43 ไอโซเลท ที่มี %svi สูงกว่ากรรมวิธีควบคุม โดยไอโซเลท BaR917 มีค่า %svi สูงที่สุดคือ 128.90 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่ากรรมวิธีควบคุม 28.9 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ ไอโซเลท BaR217 และ SuR617 โดยมีค่า %svi เท่ากับ 128.42 และ128.03 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2)

ตารางที่ 4.2 ผลของ endophytic bacteria ต่อการเจริญของต้นกล้าข้าว

แบคทีเรีย	จำนวนใบ	ความสูง (ซ.ม.)	การรอดชีวิตของต้นกล้า	น้ำหนักต้น (กรัม)	น้ำหนักราก (กรัม)	น้ำหนักรวม (กรัม)	%svi
1.control	2.2ab[y]	13.05c	92.50ab	0.21abc	0.36cd	0.57bcd	100
2.BEdStUTI001	2.1ab	14.37abc	100a	0.19abc	0.36cd	0.56cd	107.74
3.BEdStUTI002	2.2a	13.25abc	97.50ab	0.20abc	0.38abcd	0.59abcd	111.61
4.BEdStUTI003	2b	13.00c	100a	0.18bc	0.36cd	0.54d	104.37
5.BEdStUTI004	2.15ab	13.12bc	97.50ab	0.17c	0.36cd	0.54d	101.76
6.BEdStUTI006	2.2a	13.07c	95.00ab	0.19abc	0.35cd	0.55cd	100.98
7.BEdStRBR001	2b	13.82abc	100a	0.19abc	0.38bcd	0.58abcd	111.59
8.BEdStRBR002	2b	13.90abc	100a	0.18bc	0.38abcd	0.57abcd	110.14
9.BEdStRBR003	2.15ab	13.10c	100a	0.18bc	0.36cd	0.55cd	105.82
10.BEdStRBR005	2b	14.68abc	92.50ab	0.23ab	0.37cd	0.60abcd	116.40
11.BEdStSPB001	2b	14.52abc	97.50ab	0.19abc	0.35d	0.54cd	105.33
12.BEdStSPB002	2.05ab	15.37a	97.50ab	0.19abc	0.35cd	0.54cd	105.33
13.BEdStSPB003	2.05ab	14.11abc	100a	0.23ab	0.40abcd	0.63abcd	121.21
14. BEdStSPB004	2.05ab	14.45abc	100a	0.21abc	0.38bcd	0.59abcd	114.47
15.BEdStSPB005	2.05ab	14.60abc	100a	0.18bc	0.39abcd	0.57abcd	111.11
16.BEdSTPB001_r	2.15ab	13.76abc	97.50ab	0.19abc	0.38bcd	0.57abc	107.86
17.SnR117	2.1ab	13.01c	92.50ab	0.18bc	0.35cd	0.54d	96.54
18.SnS217	2b	15.22abc	100a	0.19abc	0.35d	0.55cd	106.30
19.SnS317	2.05ab	13.15bc	100a	0.18bc	0.36cd	0.54d	104.37
20.SnS417	2b	14.09abc	95.00ab	0.18bc	0.38abcd	0.57bcd	104.18
21.SnR517	2.05ab	14.85abc	97.50ab	0.17c	0.35cd	0.54d	104.37
22.SnR617	2.05ab	14.80abc	100a	0.20abc	0.41abcd	0.62abcd	119.76

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรีย	จำนวนใบ	ความสูง (ซ.ม.)	การรอดชีวิตของต้นกล้า	น้ำหนักต้น (กรัม)	น้ำหนักราก (กรัม)	น้ำหนักรวม (กรัม)	%svi
23.SnS717	2.05ab	13.15bc	100a	0.18bc	0.35d	0.53d	102.93
24.SnR817	2b	14.43abc	100a	0.18bc	0.35d	0.53d	102.45
25.SnS917	2.05ab	13.42abc	97.50ab	0.22abc	0.39abcd	0.61abcd	114.89
26.SnS1017	2b	13.02c	95.00ab	0.19abc	0.35d	0.53d	98.24
27.SuR117	2b	13.00c	97.50ab	0.18bc	0.35cd	0.54cd	102.23
28.SuS217	2.1ab	15.12abc	97.50ab	0.19abc	0.35d	0.55cd	97.07
29.SuR317	2.1ab	15.32ab	100a	0.21abc	0.42abcd	0.63abcd	121.21
30.SuS417	2.15ab	13.38abc	95.00ab	0.22abc	0.42abcd	0.64abc	117.89
31.SuR517	2.15ab	13.15bc	95.00ab	0.19abc	0.37cd	0.56cd	103.72
32.SuR617	2.05ab	14.18abc	97.50ab	0.22abc	0.45a	0.66ab	128.03
33.SuR717	2.15ab	13.00c	100a	0.18bc	0.35d	0.53d	102.93
34.Su2R117	2.15ab	13.03c	97.50ab	0.20abc	0.36cd	0.56cd	105.51
35.Su2S217	1.2ab	13.90abc	92.50ab	0.23ab	0.38abcd	0.61abcd	109.89
36.Su2R317	2.1ab	14.33abc	90.00b	0.21abc	0.38abcd	0.60abcd	103.89
37.Su2L417	2b	13.78abc	100a	0.24a	0.37cd	0.61abcd	117.84
38.Su2R517	2b	13.62abc	100a	0.20abc	0.36cd	0.57bcd	109.66
39.Su2R617	2.05ab	14.07abc	100a	0.20abc	0.37cd	0.57bcd	109.66
40.BaR217	2.05ab	14.75abc	97.50ab	0.21abc	0.45ab	0.66ab	128.42
41.BaR317	2.1ab	13.24abc	100a	0.19abc	0.35cd	0.55cd	105.82
42.BaS417	2.15ab	13.64abc	97.50ab	0.19abc	0.35cd	0.55cd	103.17
43.BaL517	2b	13.82abc	100a	0.19abc	0.40abcd	0.60abcd	115.92
44.BaR617	2b	14.47abc	95.00ab	0.21abc	0.36cd	0.58abcd	106.01
45.BaL717	2.1ab	14.70abc	100a	0.20abc	0.40abcd	0.62abcd	119.28
46.BaR917	2.1ab	13.73abc	100a	0.24a	0.43abc	0.67a	128.90
47.BaR1017	2.1ab	13.24abc	97.50ab	0.19abc	0.43abc	0.62abcd	116.30
F-test	*	*	*	*	*	*	-
C.V. (%)	4.60	6.90	5.27	14.57	10.76	9..69	-

[1]ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันตามแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น P=0.05 โดยวิธี Duncan's Multiple range test (DMRT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของ endophytic bacteria ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Pyricularia oryzae*

จากการนำ endophytic bacteria ทั้ง 46 ไอโซเลท มาทดสอบความเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อ *P .oryzae* สาเหตุโรคไหม้ข้าวด้วยวิธี dual culture test ในห้องปฏิบัติการ พบว่ามี 5 ไอโซเลทที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ SuS217, BarR917, BaS417, SuR317 และ Su2S217 โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 58.74, 61.11, 64.86, 66.66 และ 66.80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนไอโซเลทอื่นๆ มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ที่ระหว่าง 9.72-49.02 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 4.3 และตารางที่ 4.3)

ตารางที่ 4.3 ประสิทธิภาพของ endophytic bacteria ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Pyricularia oryzae*

แบคทีเรีย	การยับยั้งเชื้อรา *P.oryzae*	
	เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (ซ.ม.)[1/]	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง
1.BEdStUTI001	7.53	16.25
2.BEdStUTI002	7.52	16.38
3.BEdStUTI003	6.88	23.47
4.BEdStUTI004	7.15	20.55
5.BEdStUTI006	7.25	19.44
6.BEdStRBR001	5.71	36.52
7.BEdStRBR002	7.75	13.88
8.BEdStRBR003	5.71	36.52
9.BEdStRBR005	7.41	17.63
10.BEdStSPB001	8.12	9.72
11.BEdStSPB002	5.40	40.00
12.BEdStSPB003	5.18	42.36
13. BEdStSPB004	6.5	27.77
14.BEdStSPB005	4.58	49.02
15.BEdSTPB001_r	6.85	23.88
16.SnR117	5.50	38.88
17.SnS217	5.50	38.88
18.SnS317	6.18	31.25
19.SnS417	7.15	20.48
20.SnR517	5.87	34.72
21.SnR617	6.42	28.61
22.SnS717	5.35	40.55

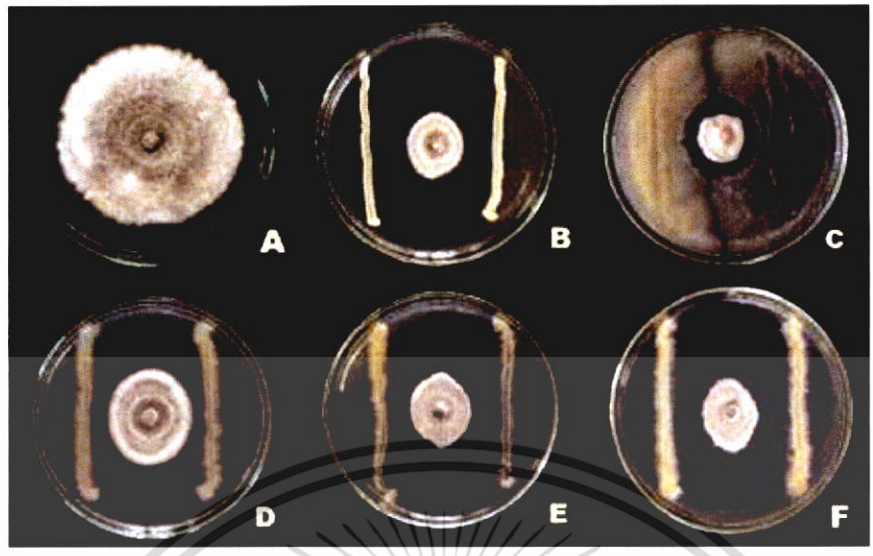
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรีย	การยับยั้งเชื้อรา *P.oryzae*	
	เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (ซ.ม.)[1/]	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง
23.SnR817	6.28	30.13
24.SnS917	6.21	30.97
25.SnS1017	7.00	22.22
26.SuR117	5.77	35.83
27.SuS217	3.73	58.47
28.SuR317	3.00	66.66
29.SuS417	5.71	36.52
30.SuR517	6.08	32.36
31.SuR617	7.78	13.47
32.SuR717	5.91	34.30
33.Su2R117	7.61	15.41
34.Su2S217	2.98	66.80
35.Su2R317	6.55	27.22
36.Su2L417	5.77	35.83
37.Su2R517	5.90	34.44
38.Su2R617	6.96	22.63
39.BaR217	6.30	30.00
40.BaR317	6.61	26.52
41.BaS417	3.16	64.86
42.BaL517	6.82	24.16
43.BaR617	8.03	10.69
44.BaL717	5.23	41.80
45.BaR917	3.50	61.11
46.BaR1017	6.60	26.66
F-test	*[2/]	*
C.V. (%)	2.23	16.04

[1/] ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีที่ 14 วัน

[2/] * =แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น P=0.05 โดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.3 ประสิทธิภาพของ endophytic bacteria ทั้ง 5 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา *P. oryzae* มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังการทดสอบด้วยวิธี Dual-culture (A=control, B = BarR917, C=BaS417, D= SuR317, E= SuS217 และ F= Su2S217)

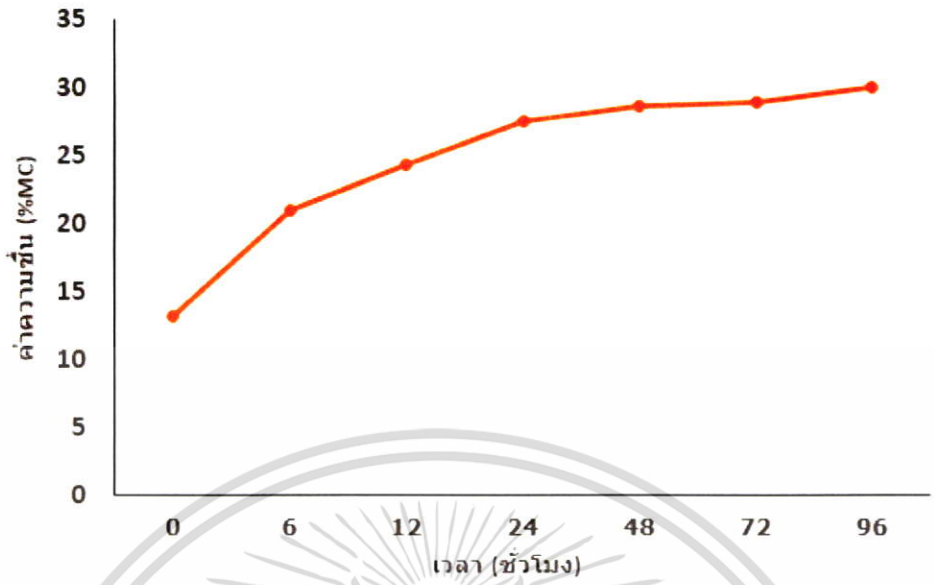
ดังนั้นจากการทดสอบคัดเลือก endophytic bacteria ที่มีผลต่อการเจริญของต้นกล้าข้าว และประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าว ทำให้สามารถคัดเลือก endophytic bacteria ที่เป็นประโยชน์ได้หลายไอโซเลท โดยไอโซเลทที่มีความน่าสนใจได้แก่ BaR917 เนื่องจากมีค่า %SVI สูงที่สุด และมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคไหม้ข้าวอยู่ใน 5 อันดับแรก ไอโซเลท BaR917 จึงมีความเหมาะสมต่อการนำไปศึกษาต่อในการทำการกระตุ้นเมล็ดด้วยวิธีทางชีวภาพ

4.3 ผลการศึกษาการกระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria

4.3.1 ผลการศึกษาหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ข้าวด้วย endophytic bacteria

จากการศึกษาพบว่าการกระตุ้นเมล็ดที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ได้มีรายงานไว้นั้นได้ช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ข้าวด้วยวิธีทางชีวภาพโดยใช้ endophytic bacteria ที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง เนื่องจากเมล็ดมีการดูดน้ำคงที่แล้วสังเกตเห็นได้จากภาพที่ 4.4 ที่ช่วงเวลาตั้งแต่ 0 ถึง 12 ชั่วโมงเมล็ดมีการดูดน้ำเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว แล้วเริ่มช้าลงในชั่วโมงที่ 24 และคงที่ในชั่วโมงที่ 48 ก่อนจะมีการดูดน้ำเพิ่มสูงขึ้นอีกครั้งในชั่วโมงที่ 72 ซึ่งการดูดน้ำที่เพิ่มสูงขึ้นแสดงให้เห็นว่าเมล็ดเริ่มเข้าสู่ระยะการงอกของเมล็ดแล้วจึงเลือกการกระตุ้นเมล็ดในชั่วโมงที่ 48 เพื่อนำไปใช้ในการทำการกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ข้าวด้วยวิธีทางชีวภาพโดยใช้ endophytic bacteria ในการทดลองต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.4 การดูดน้ำของเมล็ดพันธุ์ข้าวที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส ที่ 0, 6, 12, 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง

4.3.2 ผลการศึกษาหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดความชื้นเมล็ดพันธุ์ข้าวในการกระตุ้นเมล็ด ด้วยวิธีทางชีวภาพโดยใช้ endophytic bacteria

จากการศึกษาพบว่าระยะเวลาในการลดความชื้นเมล็ดพันธุ์ข้าวในการกระตุ้นเมล็ดด้วยวิธีทางชีวภาพโดยใช้ endophytic bacteria ที่เหมาะสมคือที่ 10 ชั่วโมง โดยค่าความชื้นอยู่ที่ 13.20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งใกล้เคียงกับค่าความชื้นในระดับเดิมก่อนทำการกระตุ้นการงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวที่อยู่ที่ 13 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นการลดความชื้นในการกระตุ้นเมล็ดด้วยวิธีทางชีวภาพโดยใช้ endophytic bacteria จะลดความชื้นที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 ชั่วโมง (ตารางที่ 4.4)

ตารางที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงความชื้น ในการลดความชื้นของเมล็ดพันธุ์ข้าวหลังแช่เมล็ดด้วย สารแขวนลอย endophytic bacteria

ชั่วโมง	ค่าความชื้น (%MC)
0	28.58
1	28.15
2	26.83
3	24.88
4	22.03
5	22.04
6	19.93

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมง	ค่าความชื้น (%MC)
7	18.20
8	18.14
9	15.62
10	13.20
11	10.95
12	10.21
13	9.81
14	9.63
15	9.34
16	9.27
17	9.21
18	9.18
19	8.54
20	8.19
21	8.12
22	7.86
23	7.65
24	7.56
F-test	*[1/]
C.V. (%)	24.16

[1/]* =แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น P=0.05 โดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

4.3.3 ผลการทดสอบคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ หลังการกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ด้วย endophytic bacteria

4.3.3.1. ความชื้นของเมล็ดพันธุ์

จากการศึกษาพบว่าค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นของทุกกรรมวิธีภายหลังการกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ข้าวในเดือนที่ 0 ถึง 3 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเดือนที่ 4 กรรมวิธีที่กระตุ้นด้วยสารเคมี (Osmopriming) มีค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นสูงที่สุด ส่วนกรรมวิธีที่เมล็ดไม่ผ่านกระกระตุ้นเมล็ด (No priming) เมล็ดที่กระตุ้นเมล็ดด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ (Hydro-priming) และการกระตุ้นเมล็ดด้วยวิธีทางชีวภาพโดยใช้ endophytic bacteria (Bio-priming) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติดังตารางที่ 4.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.3.2 ความงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าว

ผลการทดลองพบว่าเมล็ดพันธุ์ข้าวในเดือนที่ 0 ถึง 2 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ในเดือนที่ 3 กรรมวิธีที่เมล็ดไม่ผ่านกระกระตุ้น (No priming) เมล็ดที่กระตุ้นด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ (Hydro-priming) และเมล็ดที่กระตุ้นด้วย endophytic bacteria (Bio-priming) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนในเดือนที่ 4 กรรมวิธีเมล็ดที่กระตุ้นด้วย endophytic bacteria (Bio-priming) เปอร์เซ็นต์การงอกสูงที่สุดเท่ากับ 95.5 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ เมล็ดที่กระตุ้นด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ (Hydro- priming) เท่า 94.25 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.6)

ตารางที่ 4.5 เปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ข้าวที่ผ่านและไม่ผ่านการกระตุ้นเมล็ด หลังจากเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 เดือน

กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ยความชื้นเมล็ดพันธุ์ข้าว (%)				
	เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4
No priming	14.52[1/]	14.81	16.34	17.48	17.53b
Hydro priming	13.39	13.99	15.97	16.03	17.26b
Osmo priming	14.10	14.14	17.69	18.12	19.65a
Bio priming	13.80	13.84	15.89	18.32	19.13ab
F-test	ns[1/]	ns	ns	ns	*
C.V. (%)	20.12	9.39	9.39	7.02	6.63

[1/]ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ * =แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น P=0.05 โดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 4.6 การงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวที่ผ่านและไม่ผ่านการกระตุ้นเมล็ด หลังจากเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 เดือน

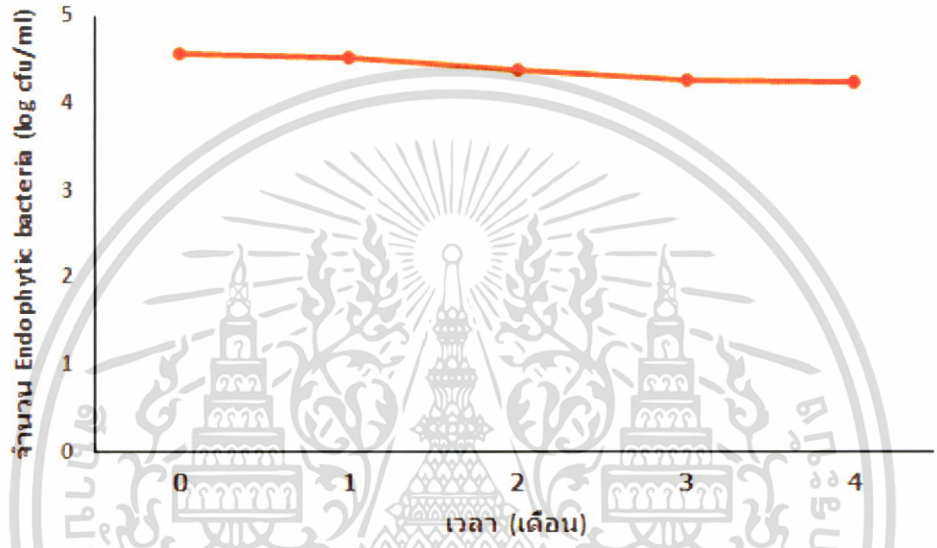
กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ยการงอกของเมล็ด (%)				
	เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4
No priming	92.25	93.00	92.00	92.75a	93.00b
Hydro priming	93.00	93.50	93.50	92.00ab	94.25ab
Osmo priming	92.00	93.25	93.00	90.50b	93.25b
Bio priming	94.25	93.75	93.25	93.50a	95.50a
F-test	ns	ns	ns	*	*
C.V. (%)	2.23	2.12	1.57	1.42	1.42

[1/]ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ * =แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น P=0.05 โดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.3.3 ผลการทดสอบความมีชีวิตรอดของ endophytic bacteria

จากผลการศึกษาพบว่า endophytic bacteria ภายในเมล็ดพันธุ์ข้าวภายหลังจากการกระตุ้นเมล็ดมีการลดจำนวนลงเพียงเล็กน้อยตั้งแต่เริ่มทำการทดลองเดือนที่ 0 ถึงเดือนที่ 4 โดยมีการลดลงจาก 4.56 log cfu/ml เป็น 4.25 log cfu/ml หรือลดลงไปเพียง 0.31 log cfu/ml (ภาพที่ 4.5) แสดงให้เห็นว่า endophytic bacteria สามารถมีชีวิตอยู่ได้ภายในเมล็ดพันธุ์ข้าวภายหลังการกระตุ้นเมล็ดอย่างน้อยที่สุดเป็นระยะเวลา 4 เดือน



ภาพที่ 4.5 จำนวน endophytic bacteria ภายหลังการกระตุ้นการงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวเป็นระยะเวลา 4 เดือน

4.4 ผลการกระตุ้นเมล็ดโดยใช้ endophytic bacteria ต่อการควบคุมโรคไหม้ของข้าวในสภาพแปลงทดลอง

จากการศึกษาพบว่ากรรมวิธีที่ทำการกระตุ้นด้วยสารเคมีคาร์เบนดาซิม (Osmo priming) ก่อนทำการปลูกเชื้อรา *P. oryzae* มีระดับความรุนแรงของโรคน้อยที่สุดอยู่ที่ระดับ 3 รองลงมาได้แก่ กรรมวิธีกระตุ้นด้วย endophytic bacteria (Bio-priming) ก่อนทำการปลูกเชื้อรา *P. oryzae* และกรรมวิธีที่ใช้การกระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria ร่วมกับการฉีดพ่นทางใบ (Bio-priming+spray) ก่อนทำการปลูกเชื้อรา *P. oryzae* โดยระดับความรุนแรงอยู่ในระดับที่ 4 ส่วนกรรมวิธีที่ไม่กระตุ้นเมล็ด (No priming) ก่อนปลูกเชื้อ *P. oryzae* และกระตุ้นด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ (Hydro-priming) ก่อนปลูกเชื้อ *P. oryzae* มีระดับความรุนแรงของโรคสูงที่สุดอยู่ในระดับที่ 6 สังเกตได้จากภาพที่ 4.6 เช่นเดียวกันกับเปอร์เซ็นต์อัตราการเกิดโรคที่พบว่ากรรมวิธีที่ทำการกระตุ้นการงอกด้วยสารเคมี (Osmo priming) ก่อนทำการปลูกเชื้อรา *P. oryzae* มีอัตราการเกิดโรคต่ำที่สุดคือ 11 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่กรรมวิธีที่ใช้การกระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic

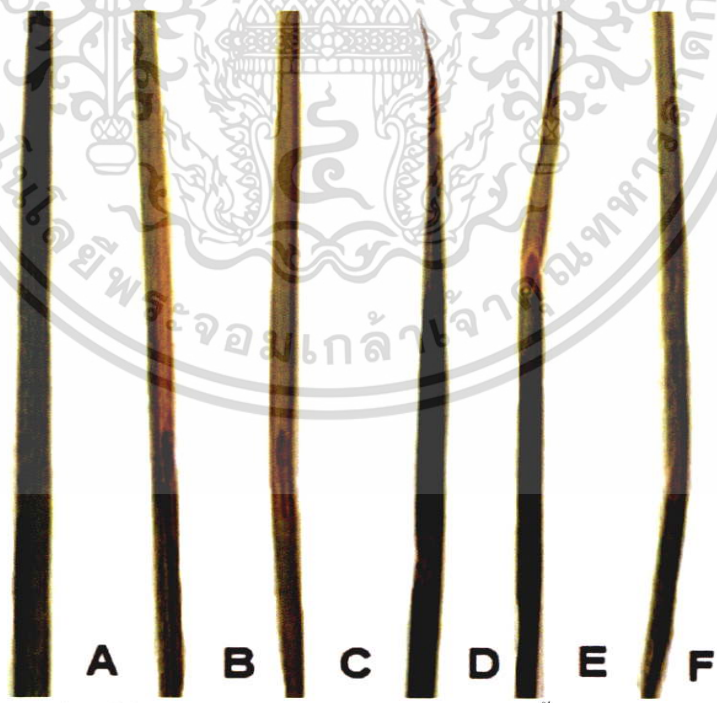
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

bacteria ร่วมกับการฉีดพ่นทางใบก่อนทำการปลูกเชื้อรา *P. oryzae* และกรรมวิธีกระตุ้นด้วย endophytic bacteria (Bio priming) ก่อนทำการปลูกเชื้อรา *P. oryzae* โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์อัตราการเกิดโรคเท่ากับ 15 และ 15.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.7)

ตารางที่ 4.7 อัตราการเกิดโรคไหม้ข้าวในกรรมวิธีต่างๆ ภายหลังทำการปลูกเชื้อรา *P.oryzae*

กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ยอัตราการเกิดโรค (%)
No priming	21.33a
Hydro priming	20.60a
Osmo priming	11c
Bio priming	15b
Bio priming+spray	15.67b
F-test	*[1/]
C.V. (%)	0.89

[1/] * =แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น P=0.05 โดยวิธี Duncan's Multiple range test (DMRT)



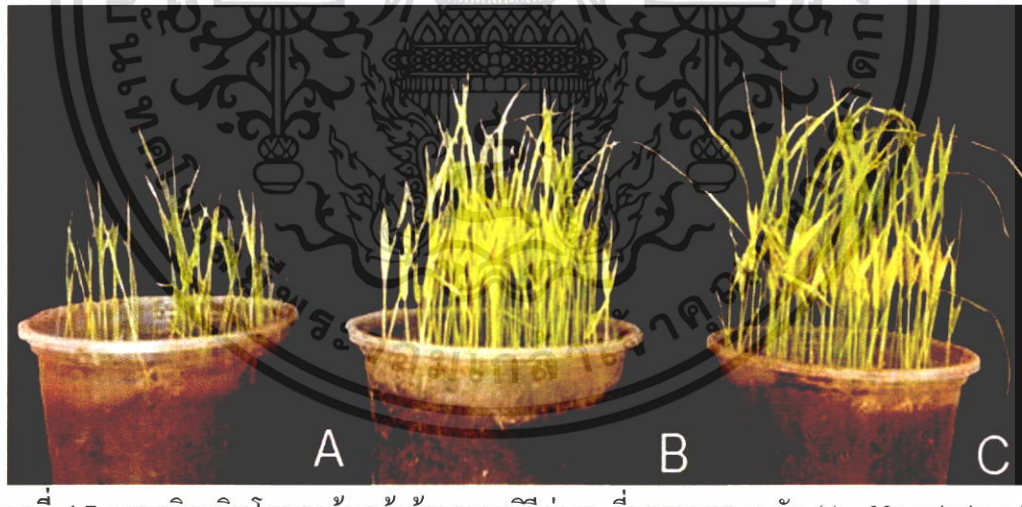
ภาพที่ 4.6 การเกิดโรคไหม้ข้าวในกรรมวิธีต่างๆ ภายหลังการปลูกเชื้อรา *P. oryzae* เป็นเวลา 7 วัน (A=control; B= No priming; C=Hydro priming; D=Osmo priming E=Bio priming และ F= Bio priming+spray)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการกระตุ้นเมล็ดด้วยวิธีทางชีวภาพโดยใช้ endophytic bacteria ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว

จากการทดลองพบว่า เปอร์เซ็นต์ค่าดัชนีการเจริญเติบโตของต้นกล้า seedling vigour index (%svi) ในกรรมวิธีที่กระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria (Bio-priming) ไอโซเลท BaR917 มีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 153 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ กระตุ้นการด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ (Hydro-priming) เท่ากับ 131 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่ากรรมวิธีควบคุม 53 และ31 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับสังเกตได้จากภาพที่ 4.7

เมื่อทำการตรวจนับจำนวนหน่อต่อกอที่ 30 และ 60 วัน พบว่าทั้ง 3 กรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบว่ากรรมวิธีที่กระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria ยังมีความสูงของต้นข้าว และมีจำนวนรวงมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่กระตุ้นเมล็ด (No priming) และกระตุ้นเมล็ดด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ (Hydro-priming) โดยมีค่าเฉลี่ยความสูงของต้นข้าวเท่ากับ 54.85 เซนติเมตร และมีจำนวนรวงเท่ากับ 11.35 รวง รองลงมาได้แก่ กรรมวิธีกระตุ้นเมล็ดด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ (Hydro-priming) ที่มีความสูงอยู่ที่ 52.58 เซนติเมตร และจำนวนรวงอยู่ที่ 7.95 ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่กระตุ้นเมล็ด (No priming) ส่วนความยาวรวงพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติทั้ง 3 กรรมวิธีดังตารางที่ 4.8



ภาพที่ 4.7 การเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวกรรมวิธีต่างๆ ที่ระยะเวลา 7 วัน (A= No priming; B= Hydropriming และ C= Bio priming)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 แสดงค่าเฉลี่ยข้อมูลการเจริญเติบโตของข้าวในสภาพแปลงทดลอง

กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ยข้อมูลการเจริญเติบโตของข้าว					
	%svi	จำนวนหน่อต่อกอ 30 วัน	จำนวนหน่อต่อกอ 60 วัน	ความสูง (ซ.ม.)	จำนวนรวง	ความยาวรวง (ซ.ม.)
No priming	100	6.55[ns]	9.75	52.53b	8.65b	21.97
Hydro priming	131	7.65	11.25	52.58b	7.95b	22.46
Bio priming	153	9	10.5	54.85a	11.35a	22.97
F-test	-	ns	ns	*	*	ns
C.V. (%)	-	19.79	20.69	12.87	13.35	2.77

[ns] ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ * =แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น P=0.05 โดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

จากนั้นนำผลผลิตที่ได้มาคำนวณหาข้อมูลผลผลิตข้าวพบว่า น้ำหนักเมล็ด 1,000 ในทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เช่นเดียวกันกับจำนวนเมล็ดลีบต่อรวง ส่วนจำนวนเมล็ดดี ร้อยละเมล็ดดี ผลผลิตกรัมต่อกอ และผลผลิตกิโลกรัมต่อไร่ พบว่ากรรมวิธีที่กระตุ้นด้วย endophytic bacteria มีค่าสูงที่สุดโดยมีค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดดีเท่ากับ 107.79 เมล็ดต่อรวง คิดเป็นร้อยละเมล็ดดีเท่ากับ 69.36 เมล็ด มีผลผลิตกรัมต่อกอเท่ากับ 13.33 กรัม และมีผลผลิตกิโลกรัมต่อไร่เท่ากับ 553.4 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 4.9)

ตารางที่ 4.9 แสดงค่าเฉลี่ยข้อมูลผลผลิตข้าวในสภาพแปลงทดลอง

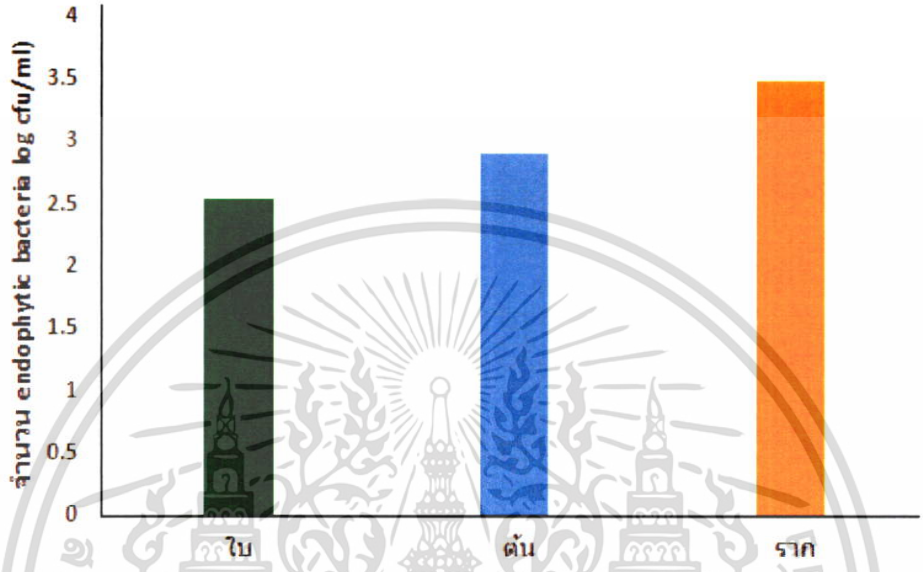
กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ยข้อมูลผลผลิตข้าว					
	น้ำหนัก 1,000 เมล็ด	จำนวนเมล็ดดีต่อรวง	จำนวนเมล็ดลีบต่อรวง	ร้อยละเมล็ดดี	ผลผลิตกรัมต่อกอ	ผลผลิตกก. ต่อไร่
No priming	25.05[ns]	88.76b	58.64	60.38b	11.08b	443.4b
Hydro priming	24.95	87.96b	56.70	60.86b	10.85b	434.2b
Bio priming	25.15	107.79a	48.27	69.36a	13.33a	553.4a
F-test	ns	*	ns	*	*	*
C.V. (%)	2.32	10.13	20.60	6.84	9.71	9.71

[ns] ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ * =แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น P=0.05 โดยวิธี Duncan's Multiple range test (DMRT)

เมื่อตรวจสอบจำนวน endophytic bacteria ไอโซเลท BaR917 โดยตรวจนับเฉพาะโคโลนีของแบคทีเรียที่มีลักษณะของไอโซเลท BaR917 ตามลักษณะสัณฐานวิทยาเบื้องต้นที่ได้ทำการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทดสอบไปข้างต้นแล้วนั้น พบว่ายังคงมีปริมาณของ endophytic bacteriaอยู่ โดยพบในรากมากที่สุด อยู่ที่ 3.48 log cfu/ml รองลงมาได้แก่ในลำต้นและใบอยู่ที่ 2.89 และ2.53 log cfu/ml ตามลำดับ (ภาพที่ 4.8)



ภาพที่ 4.8 จำนวน endophytic bacteria (BaR917) ในใบ ลำต้น และรากของต้นข้าวภายหลังการกระตุ้นการงอกของเมล็ดในสภาพแปลงทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการแยกเชื้อรา *Pyricularia oryzae* จากข้าวที่แสดงการเกิดโรคไหม้ด้วยวิธี single spore isolation พบว่าไอโซเลทที่แยกได้นั้นได้แก่ BTN6001 และไอโซเลทที่ได้รับความอนุเคราะห์จากห้องปฏิบัติการโรคพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สจล. ทั้งหมด 3 ไอโซเลท ได้แก่ RBR55001 UBN195171 และBKK55003 เมื่อนำมาทดสอบโรคพบว่า ไอโซเลท RBR55001 มีระดับความรุนแรงของโรคสูงที่สุด อยู่ในระดับ 6 รองลงมาได้แก่ไอโซเลท BKK55003 อยู่ที่ระดับ 5 ไอโซเลท UBN195171 และ BTN6001 อยู่ที่ระดับ 4 และ 3 ไอโซเลท RBR55001 เป็นไอโซเลทที่มีความรุนแรงในการเกิดโรคสูงที่สุด สอดคล้องกับที่ นวรัตน์ และคณะ (2557) รายงานไว้ดังนั้นจึงเลือกเอาไอโซเลทนี้ไปใช้ในการทดลองการกระตุ้นเมล็ดด้วยวิธีทางชีวภาพโดยใช้ endophytic bacteria เพื่อควบคุมโรคไหม้ข้าวในการทดลองต่อไป

โดยการทดลองนี้จะใช้ endophytic bacteria bacteria ที่มีรายงานว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อโรคข้าวจาก พรหมมาศ และอนัตตา, (2558) 15 ไอโซเลทได้แก่ BEdStUTI001, BEdStUTI002, BEdStUTI003, BEdStUTI004, BEdStUTI006, BEdStRBR001, BEdStRBR002, BEdStRBR003, BEdStRBR005, BEdStSPB001, BEdStSPB002, BEdStSPB003, BEdStSPB004, BEdStSPB005 และ BEdSTPB001_r และที่สามารถแยก endophytic bacteria ได้ใหม่ 31 ไอโซเลท ได้แก่ SnR117, SnS217, SnS317, Sn417, SnR517, SnR617, SnS717, SnR817, SnS917, SnS1017, SuR117, SuS217, SuR317, SuS417, SuR517, SuS617, SuR717, Su2R117, Su2S217, Su2R317, Su2L417, SuS2R517, Su2R617, BaR217, BaR517, BaL517, BaS417, BaR617, BaL717, BaR917, และ BaR1017 พบว่าส่วนใหญ่เป็นแกรมบวก 39 ไอโซเลท และเป็นแกรมลบเพียง 7 ไอโซเลท โดยมีลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ สี และรูปร่างของเซลล์แตกต่างกันไปตามแต่ละไอโซเลท ซึ่งการแยกและคัดเลือก endophytic bacteria เป็นการทดลองเพื่อที่จะคัดเลือกแบคทีเรียที่มีประโยชน์สำหรับการส่งเสริมการเจริญเติบโต และควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืช เห็นได้จากมีงานวิจัยในด้านนี้จำนวนมากในหลายๆ พื้นที่ (Hardoim *et al.*, 2008; Yang *et al.*, 2008 Muthukumar and Venkatesh, 2013; Koohakan and Konrangdee, 2015) จะเห็นได้ว่าการคัดเลือก endophytic bacteria ต่อการเจริญของพืชเป็นเรื่องที่มีความสำคัญ เนื่องจากแบคทีเรียที่แยกมาได้นั้นอาจจะเป็นได้ทั้งแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ หรือเป็นโทษต่อพืช (Lynch, 1990) ดังนั้นจึงต้องมีการคัดเลือกไอโซเลทที่เป็นโทษออกไปเพื่อให้เหลือเพียงไอโซเลทที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของพืชเท่านั้น และเมื่อนำ endophytic

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

bacteria ไปศึกษาผลต่อการเจริญของต้นกล้าข้าวเพื่อคัดเลือกนั้นผลการทดลองพบว่า จำนวนใบ และการรอดชีวิตของต้นกล้าข้าวในทุกไอโซเลทไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ส่วนความสูง น้ำหนักต้น น้ำหนักราก และน้ำหนักรวมในทุกไอโซเลทมีความแตกต่างกันทางสถิติ และเมื่อนำมาคำนวณเป็น %svi พบว่ามีทั้งหมด 43 ไอโซเลท ที่มี %svi สูงกว่ากรรมวิธีควบคุม โดยไอโซเลท BaR917 มีค่า %svi สูงที่สุดคือ 128.90 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่ากรรมวิธีควบคุม 28.9 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ ไอโซเลท BaR217 และ SuR617 โดยมีค่า %svi เท่ากับ 128.42 และ128.03 ตามลำดับ ไอโซเลท BaR917 จึงมีความน่าสนใจในการนำมาใช้ในด้านการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว จากนั้นเมื่อนำ endophytic bacteria ทั้ง 46 ไอโซเลท มาทดสอบการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *P. oryzae* สาเหตุโรคไหม้ข้าวด้วยวิธี dual culture test ในห้องปฏิบัติการพบว่า มี 5 ไอโซเลทที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ SuS217, BarR917, BaS417, SuR317 และ Su2S217 โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 58.74, 61.11, 64.86, 66.66 และ 66.80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามไอโซเลทอื่นๆ ก็ยังคงมีสามารถยับยั้งเชื้อรา *P. oryzae* ได้โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ระหว่าง 9.72-49.02 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Ji *et al.* (2013) ที่ได้ทำการแยกเชื้อ endophytic bacteria จากข้าว 10 สายพันธุ์ได้ทั้งหมด 576 ไอโซเลท ซึ่งแบคทีเรียที่แยกมาได้นั้นมี 12 ไอโซเลท ที่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นข้าวได้ และได้ศึกษาต่อไปถึงการนำไปใช้เพื่อยับยั้งเชื้อ *Fusarium oxysporum* และ *Rhizoctonia solani* สาเหตุโรคข้าวที่สำคัญ เช่นเดียวกับอีกหลายงานวิจัยที่ได้รายงานว่าเชื้อ endophytic bacteria สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโต และยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ (พรหมมาศ และอนัตตา, 2558; Nejad and Johnson, 2002; Pageni *et al.*, 2013)ซึ่งจากการทดลองจะเห็นได้ว่า endophytic bacteria ไอโซเลทที่น่าสนใจได้แก่ BaR917 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ค่าดัชนีการเจริญเติบโตของต้นกล้า seedling vigour index หรือ %svi สูงที่สุด และมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา *P. oryzae* อยู่ใน 5 ไอโซเลทที่มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงที่สุด ไอโซเลท BaR917 จึงมีความเหมาะสมที่จะคัดเลือกไปใช้ในการกระตุ้นเมล็ดด้วยวิธีทางชีวภาพโดยใช้ endophytic bacteria เพื่อควบคุมโรคไหม้ข้าวและส่งเสริมการเจริญเติบโตต่อไป

การกระตุ้นเมล็ดจะต้องมีช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการกระตุ้นเพื่อให้เมล็ดมีการดูดน้ำเข้าไปให้มากที่สุดเพื่อให้เกิดกระบวนการเมแทบอลิซึมต่างๆ ซึ่งจะเกิดขึ้นในช่วงการดูดน้ำของเมล็ดในระยะที่ 1 และ 2 และหยุดกระบวนการต่างๆ ลงก่อนเมล็ดงอก เมื่อนำไปปลูกจะช่วยให้เมล็ดมีการงอกเร็วขึ้น และมีความสม่ำเสมอ เนื่องจากลดช่วงระยะเวลาการงอกลง (Bray, 1995; McDonald, 2000) โดยจากการศึกษาครั้งนี้พบว่าการกระตุ้นเมล็ดที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส ช่วงเวลาตั้งแต่ 0 ถึง 12 ชั่วโมงเมล็ดมีการดูดน้ำเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว แล้วเริ่มช้าลงในชั่วโมงที่ 24 และคงที่ในชั่วโมงที่ 48ก่อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะมีการดูดน้ำเพิ่มสูงขึ้นอีกครั้งในชั่วโมงที่ 72 ซึ่งการดูดน้ำที่เพิ่มสูงขึ้นแสดงให้เห็นว่าเมล็ดเริ่มเข้าสู่ระยะการงอกของเมล็ดแล้ว ดังนั้นที่ 48 ชั่วโมง จึงเป็นระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ข้าวด้วยวิธีทางชีวภาพโดยใช้ endophytic bacteria เนื่องจากเมล็ดมีการดูดน้ำคงที่แล้ว ซึ่งเมล็ดพันธุ์พืชต่างชนิดกัน หรือสารที่นำมาใช้ในการกระตุ้นที่ต่างกันก็จะใช้ระยะเวลาในการกระตุ้นแตกต่างกันไปด้วย ตัวอย่างเช่นในข้าวสาลีระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการกระตุ้นเมล็ดจะอยู่ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง (Shahzad *et. al*., 2000) ดังนั้นควรหาระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการกระตุ้นเมล็ดเพื่อให้มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นเมล็ดสูงที่สุด จากนั้นเมื่อได้ระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการกระตุ้นเมล็ดแล้วนั้น จำเป็นต้องหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดความชื้น เช่นเดียวกันโดยจากการศึกษาพบว่า ระยะเวลาในการลดความชื้นเมล็ดพันธุ์ข้าวในการกระตุ้นเมล็ดด้วยวิธีทางชีวภาพโดยใช้ endophytic bacteria ที่เหมาะสมคือที่ 10 ชั่วโมง โดยค่าความชื้นอยู่ที่ 13.2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งใกล้เคียงกับค่าความชื้นในระดับเดิมก่อนทำการกระตุ้นการงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวที่อยู่ที่ 13 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นการกระตุ้นเมล็ดด้วยวิธีทางชีวภาพโดยใช้ endophytic bacteria ในการศึกษาครั้งนี้จะกระทำโดยการแช่เมล็ดในสารแขวนลอย endophytic bacteria เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง และลดความชื้นที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 ชั่วโมง

โดยต่อมาเมื่อนำเมล็ดที่ผ่านการกระตุ้นด้วยวิธีทางชีวภาพโดยใช้ endophytic bacteria มาทดสอบคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ ทางด้านความชื้น และการงอกพบว่า ค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นของทุกกรรมวิธีภายหลังการกระตุ้นเมล็ดในเดือนที่ 0 ถึง 3 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเดือนที่ 4 กรรมวิธีที่กระตุ้นด้วยสารเคมี (Osmopriming) มีค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นสูงที่สุด ส่วนกรรมวิธีอื่นๆรวมถึงการกระตุ้นเมล็ดด้วยวิธีทางชีวภาพโดยใช้ endophytic bacteria (Bio-priming) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และเมื่อทดสอบความงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าว และเมื่อสิ้นสุดการทดลองในเดือนที่ 4 พบว่ากรรมวิธีเมล็ดที่กระตุ้นด้วย endophytic bacteria (Bio-priming) มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงที่สุดเท่ากับ 95.5 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ เมล็ดที่กระตุ้นด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ (Hydro-priming) เท่า 94.25 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าการกระตุ้นเมล็ดด้วยวิธีทางชีวภาพโดยใช้ endophytic bacteria ไม่ส่งผลต่อการเพิ่มความชื้นของเมล็ดเมื่อเปรียบกับกรรมวิธีอื่นๆ และยังคงมีความงอกสูงที่สุดเมื่อสิ้นสุดการทดลองในเดือนที่ 4 สอดคล้องกับ Raj *et al.* (2004) ที่ได้รายงานว่าการกระตุ้นเมล็ดข้าวฟ่างด้วยเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* นั้นทำให้เมล็ดข้าวฟ่างมีเปอร์เซ็นต์การงอก และความแข็งแรงของต้นกล้าสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ทำการกระตุ้นเมล็ด และเมื่อศึกษาต่อไปยังความมีชีวิตรอดของ endophytic bacteria ภายในเมล็ดพันธุ์ข้าวภายหลังจากการกระตุ้นเมล็ด ผลการศึกษาพบว่ามีการลดจำนวนลงเพียงเล็กน้อยตั้งแต่เริ่มทำการทดลองเดือนที่ 0 ถึงเดือนที่ 4 โดยมีการลดลงจาก 4.56 log cfu/ml เป็น 4.25 log cfu/ml หรือ แสดงให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เห็นว่า endophytic bacteria สามารถมีชีวิตอยู่ได้ภายในเมล็ดพันธุ์ข้าวภายหลังการกระตุ้นเมล็ด ซึ่งผลการศึกษาเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับงานวิจัยของ Begum (2010) ที่ได้ทำการกระตุ้นเมล็ดถั่วเหลืองด้วย *P. aeruginosa* สายพันธุ์ UPM13B8 โดยพบว่า *P. aeruginosa* สามารถเจริญได้ดีในเมล็ดถั่วเหลือง เมล็ดยังคงมีเปอร์เซ็นต์การงอกดี และยังคงมีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคเน่าของถั่วเหลืองภายหลังเมล็ดงอกได้อย่างมีประสิทธิภาพ

หลังจากได้เมล็ดที่ผ่านการกระตุ้นเมล็ดด้วยวิธีทางชีวภาพโดยใช้ endophytic bacteria (Bio-priming) ไอโซเลท BaR917 ได้นำไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคไหม้ของข้าวในสภาพโรงเรือน ผลการทดลองพบว่ากรรมวิธีที่ทำการกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ข้าวด้วย endophytic bacteria ก่อนทำการปลูกเชื้อรา *P. oryzae* (Bio-priming) และกรรมวิธีที่ใช้การกระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria ร่วมกับการฉีดพ่นทางใบก่อนทำการปลูกเชื้อรา *P. oryzae* (Bio-priming+spray) มีความรุนแรงของการเกิดโรคแตกต่างจากกรรมวิธีที่ทำการกระตุ้นด้วยสารเคมีก่อนทำการปลูก เชื้อรา *P. oryzae* (Osmo priming) เพียงเล็กน้อย โดยมีความรุนแรงอยู่ที่ระดับที่ 4 ส่วนกรรมวิธีที่ทำการกระตุ้นด้วยสารเคมีก่อนทำการปลูกเชื้อรา *P. oryzae* (Osmo priming) มีระดับความรุนแรงของโรคที่ระดับ 3 ในขณะกรรมวิธีที่ไม่กระตุ้นเมล็ดก่อนปลูกเชื้อ *P. oryzae* (No priming) และกระตุ้นเมล็ดด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อก่อนปลูกเชื้อ *P. oryzae* (Hydro-priming) มีระดับความรุนแรงของโรคสูงที่สุดถึงระดับที่ 6 เช่นเดียวกับอัตราการเกิดโรคที่การกระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria ยังคงมีอัตราการเกิดโรคต่ำกว่า กรรมวิธีที่ไม่กระตุ้นเมล็ด และกระตุ้นเมล็ดด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ แสดงให้เห็นว่าการกระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria (Bio-priming) นั้นสามารถลดความรุนแรงของโรคไหม้ข้าวได้อย่างมีประสิทธิภาพเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่กระตุ้นเมล็ด และกระตุ้นเมล็ดด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Callan *et al.*, 1991 ที่ได้ใช้การกระตุ้นเมล็ดข้าวโพดด้วยเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมี Metalaxyl และการกระตุ้นเมล็ดด้วยน้ำเพียงอย่างเดียว พบว่าการกระตุ้นเมล็ดด้วย *P. fluorescens* สามารถลดการเกิดโรคเน่าคอดินได้ดีที่สุด และมีอีกหลายงานวิจัยที่ได้รายงานว่า endophytic bacteria สามารถควบคุมโรคพืชอื่นๆ ได้อีกหลายชนิดอีกด้วย (Chen *et al*, 1995; Adhik *et al.*, 2012 Pageni *et al.*, 2014)

นอกจากนี้ในด้านการส่งเสริมการเจริญเติบโตภายหลังการกระตุ้นเมล็ดด้วยวิธีทางชีวภาพโดยใช้ endophytic bacteria (Bio-priming) ไอโซเลท BaR917 พบว่าเปอร์เซ็นต์ค่าดัชนีการเจริญเติบโตของต้นกล้า seedling vigour index (%svi) ในกรรมวิธีที่กระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria (Bio-priming) มีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 153 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ การกระตุ้นเมล็ดด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ (Hydro-priming) เท่ากับ 131 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่ากรรมวิธีควบคุม 53 และ 31 เปอร์เซ็นต์ ความสูง จำนวนรวง จำนวนเมล็ดดีต่อรวง ผลผลิตกรัมต่อกอ ที่กรรมวิธีกระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria มีค่าสูงกว่ากรรมวิธีกระตุ้นเมล็ดด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ และไม่กระตุ้นเมล็ด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อตรวจสอบจำนวน endophytic bacteria ไอโซเลท BaR917 โดยตรวจนับเฉพาะโคโลนีของแบคทีเรียที่มีลักษณะของไอโซเลท BaR917 ตามลักษณะสัณฐานวิทยาเบื้องต้นที่ได้ทำการทดสอบไปข้างต้นแล้วนั้น พบว่ายังคงมีปริมาณแบคทีเรียอยู่ โดยพบในรากมากที่สุดอยู่ที่ 3.48 log cfu/ml รองลงมาได้แก่ในลำต้นและใบอยู่ที่ 2.89 และ2.53 log cfu/ml ตามลำดับ ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่า endophytic bacteria มีส่วนช่วยในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและผลผลิตข้าว ดังรายงานของ Raweekul *et al.* (2016) ที่พบว่า bacteria ที่แยกได้จากข้าว สามารถเพิ่มน้ำหนักสดของต้นข้าวได้ 2.30-3.18 เท่า และมีการผลิต siderophore กรด indole-3-อะซิติก (IAA) ซึ่งมีผลส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยของ Adhik *et al.* (2012) ที่ได้รายงานว่า endophytic bacteria ที่แยกได้จากลำต้น และรากของต้นข้าวนั้นมีอยู่ 4 สาย พันธุ์ได้แก่ S3 S20 S21 และ S12 ที่สามารถเพิ่มการเจริญเติบโตของพืชได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งความสูง และน้ำหนักแห้ง เมื่อนำไปจัดจำแนกโดยการหาลำดับยีนของยีน 16S rRNA พบว่ามีความคล้ายคลึงกับ *Pseudomonas fluorescens* (S3), *Pseudomonas tolaasii* (S20), *Pseudomonas veronii* (S21) และ *Sphingomonas trueperi* (S12) และยังพบว่าสายพันธุ์ S20 S21 และS12 มียีนตรึงไนโตรเจน ซึ่งส่งผลดีต่อการเจริญเติบโตของพืชอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 6

สรุปผลการทดลอง

จากการแยกเชื้อรา *P. oryzae* สาเหตุโรคไหม้ของข้าวพบว่า ไอโซเลทที่มีความรุนแรง และนำมาใช้ในการทดลองได้แก่ ไอโซเลท RBR55001 และการทดลองนี้สามารถแยก endophytic bacteria ได้ใหม่ 31 ไอโซเลท ได้แก่ SnR117, SnS217, SnS317, Sn417, SnR517, SnR617, SnS717, SnR817, SnS917, SnS1017, SuR117, SuS217, SuR317, SuS417, SuR517, SuS617, SuR717, Su2R117, Su2S217, Su2R317, Su2L417, SuS2R517, Su2R617, BaR217, BaR517, BaL517, BaS417, BaR617, BaL717, BaR917, และ BaR1017 พบว่าเป็นแกรมบวก 26 ไอโซเลท และเป็นแกรมลบ 5 ไอโซเลท โดยจะมีลักษณะรูปร่างแตกต่างกันไปในแต่ละไอโซเลท

การคัดเลือก endophytic bacteria ต่อการเจริญของพืชที่จากการทดลองครั้งนี้ได้ใช้วิธีคำนวณเป็น %SVI เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมสำหรับการคัดเลือกไอโซเลทที่สามารถส่งเสริมการเจริญของพืชได้ โดยจากการทดลองพบว่ามี endophytic bacteria ที่แยกใหม่ทั้งหมดถึง 23 ไอโซเลท ที่มี %svi สูงกว่ากรรมวิธีควบคุม ซึ่งหนึ่งในไอโซเลทที่มีความน่าสนใจคือไอโซเลท BaR917 ที่มี%svi สูงที่สุดเท่ากับ 128.90 เปอร์เซ็นต์ โดยสูงกว่ากรรมวิธีควบคุม 28.90 เปอร์เซ็นต์ จึงได้ทำการศึกษาต่อไปถึงการควบคุมทางชีววิธี โดยนำ endophytic bacteria ทั้งหมด 46 ไอโซเลท มาทดสอบความเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อ *P. oryzae* ในห้องปฏิบัติการพบว่าทุกไอโซเลทสามารถยับยั้งเชื้อ *P. oryzae* ได้ ซึ่งไอโซเลทที่ดีที่สุด 5 อันดับแรกได้แก่ SuS217, BarR917, BaS417, SuR317 และ Su2S217 โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 58.74, 61.11, 64.86, 66.66 และ 66.80 % ตามลำดับ ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าไอโซเลท BaR917 มีความเหมาะสมที่จะนำมาศึกษาต่อในการกระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria (Bio-priming)

จากการศึกษาการกระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria ไอโซเลท BaR917 พบว่าช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการกระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria อยู่ที่ 48 ชั่วโมง อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส และทำการลดความชื้นที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 ชั่วโมง เมื่อนำไปทดสอบในด้านคุณภาพเมล็ดพบว่าไม่ส่งผลกระทบต่อความชื้น และการงอกของเมล็ดข้าว โดยเมล็ดที่ผ่านการกระตุ้นเมล็ดยังสามารถงอกได้สูงถึง 95.50 เปอร์เซ็นต์ในเดือนที่ 4 และจำนวนแบคทีเรียมีการลดลงเพียงเล็กน้อยเท่านั้นจากภายหลังการกระตุ้นเมล็ดจนสิ้นสุดการทดลอง และเมื่อนำไปทดสอบการควบคุมโรคไหม้ข้าวในสภาพแปลงทดลองพบว่า การกระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria ไอโซเลท BaR917ทั้งใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรรมวิธีที่มีการฉีดพ่นใบและไม่ได้ฉีดพ่นใบ มีความรุนแรงของโรคต่ำรองลงมาจากกรรมวิธีที่ทำการกระตุ้นเมล็ดด้วยสารเคมี โดยมีระดับความรุนแรงในการเกิดโรคอยู่ในระดับที่ 4 ในขณะที่กรรมวิธีที่ไม่ทำการกระตุ้นเมล็ด และกรรมวิธีที่ทำการกระตุ้นเมล็ดด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อมีระดับความรุนแรงของโรคอยู่ในระดับที่ 6 เช่นเดียวกันกับอัตราการเกิดโรคที่กรรมวิธีที่ทำการกระตุ้นเมล็ดด้วยสารเคมีมีอัตราการเกิดโรคต่ำที่สุดคือ 11 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่กรรมวิธีที่กระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria ร่วมกับการฉีดพ่นทางใบก่อนทำการปลูกเชื้อรา *P. oryzae* และกรรมวิธีกระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria ก่อนทำการปลูกเชื้อรา *P. oryzae* โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์อัตราการเกิดโรคเท่ากับ 15 และ 15.67 ตามลำดับ

นอกจากนี้เมื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวพบว่าการกระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria ไอโซเลท BaR917 สามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวได้เป็นอย่างดีโดยมีค่า %svi จำนวนหน่อต่อกอที่ 120 วัน ความสูง และจำนวนรวงสูงที่สุด และในด้านผลผลิตยังมีจำนวนเมล็ดดี ร้อยละเมล็ดดี น้ำหนักผลผลิตกรัมต่อกอสูงที่สุด และผลิตกิโลกรัมต่อไร่ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่ทำการกระตุ้นการงอกของเมล็ด และกรรมวิธีที่กระตุ้นการงอกของเมล็ดด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้สำหรับการกระตุ้นด้วย endophytic bacteria หรือ seed-biopriming เพื่อพัฒนาการผลิตข้าวอย่างมีประสิทธิภาพต่อไปในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสนอแนะ

1. ศึกษาหาวิธีการเก็บรักษา endophytic bacteria ให้ยังคงมีประสิทธิภาพต่อการนำไปใช้ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและป้องกันกำจัดโรคไหม้ข้าว
2. ศึกษาหาวิธีการลดความชื้นในเมล็ดพันธุ์ข้าวหลังจากการกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ โดยเป็นวิธีที่เกษตรกรสามารถนำไปใช้ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กรมการข้าว. 2550. โรคข้าวและการป้องกันกำจัด. สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว 1-74.

กรมการข้าว. 2555. สถานการณ์การผลิตและการตลาดข้าวของโลก ปี 2555/2556 ณ เดือน กรกฎาคม 2555. แหล่งที่มา: http://www.ricethailand.go.th/rice%20web /Rice% 20 Situation/ Rice_Situation.html, 1 กันยายน 2556.

กรมการค้าต่างประเทศ. 2546. มาตรฐานข้าวไทยและมาตรฐานข้าวหอมมะลิ ไทย. กรมการค้าต่างประเทศ กระทรวงพาณิชย์, กรุงเทพฯ.

กานต์ จิตสุวรรณรักษ์. 2559. ผลของเชื้อราเอนโดไฟต์ต่อการควบคุมโรคไหม้ของข้าว (*Oryza sativa* L.). วารสารแก่นเกษตร 44(1) ฉบับพิเศษ: 232-237.

คณาจารย์ภาควิชาพืชไร่นาคณะเกษตรกำแพงแสน 2547. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน. พืชเศรษฐกิจ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 460 น.

จำรัส โปร่งศิริวัฒนา. 2534. ความรู้เรื่องข้าว. กรุงเทพฯ: กรมวิชาการเกษตร สถาบันวิจัยข้าว.

ดวงกมลวรรณ กบกันทา, ศิวาพร ธรรมดี และณัฐศักดิ์ กฤติกาเมษ. 2556. ผลของการทำ seed priming ต่อการงอกของเมล็ดพันธุ์แตงกวา. วารสารแก่นเกษตร 41(3): 239-246.

พรหมมาศ คูหากาญจน์ และอนัตตา คนแรงดี. 2558. การแยกและคัดเลือก phyllosphere bacteria และ endophytic bacteria จากใบและลำต้นข้าวที่มีศักยภาพในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืช. หน้า 697-706. *ใน* การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 12 เชียงราย.

พรทิพย์ ถาวงศ์ รอยบุญ, จำรัสกาญจน์ สุวัฒน์ สายมายา และอดุลย์ อินทรประเสริฐ. 2553. ผลของ seed priming ต่อการยืดอายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ข้าว. *ใน* การประชุมทางวิชาการเมล็ดพันธุ์พืชแห่งชาติครั้งที่ 7 โรงแรม ท๊อปแลนด์ พิษณุโลก

พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์ พยอม โคเบลลี่ อัจฉราพร ณ ลำปาง เนินพลับ ถนอมจิตร์ ฤทธิ์มนตรี กุลชนา เกศสุวรรณ ชนสิริน กลิ่นมณี และ สงวน เที่ยงดีฤทธิ์. 2550. การตรวจสอบความหลากหลายของสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าวในประเทศไทย. วารสารวิชาการข้าว 1(1): 52-64.

นวรัตน์ ใจหอม สุภาภรณ์ เอี่ยมเข่ง และนงลักษณ์ เภรินทวงค์. 2557. การประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าว (*Pyricularia grisea*) ที่เก็บรวบรวมในประเทศไทยโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล SSR. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 32 (3): 52 - 60)

บุญมี ศิริ. 2546. วิทยาการเมล็ดพันธุ์. ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 224 หน้า.

ปรารถนา หงส์ฤทธิพันธุ์ 2555. การแยกและการคัดเลือกแบคทีเรียเอนโดไฟท์ตรึงไนโตรเจนในข้าว. วิทยานิพนธ์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปรียา แก้วนารี, คณิต วิชิตพันธุ์, สุกานดา วิชิตพันธุ์, ปรีย์กมล กลั่นฤทธิ์ และบุญมี ศิริ. 2553. ผลของกระบวนการเร่งอายุและกระบวนการ osmo priming ต่อการงอกของพริกหวาน และการเกิด peroxidation product ในเมล็ดพริกหวาน. หน้า 45-49. *ใน* การประชุมวิชาการเมล็ดพันธุ์พืชแห่งชาติ. ครั้งที่ 7. โรงแรมท๊อปแลนด์ พิษณุโลก.

ยอดขวัญ วัดอิ่ม, จิรวัฒน์ สนิทชน, วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์ และ ปัทมา ศิริธัญญา. 2552. การประเมินความต้านทานโรคไหม้ข้าวพันธุ์พื้นเมืองในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน. วารสารเกษตร 30(3): 318-320.

สุจิตตรา ปะนันโต, ภาคภูมิ ตันเตชสาธิต, ศิริลักษณ์ จิตรอักษร, รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ และกรรณิการ์ สัจจาพันธ์. 2556. เอนโดไฟติกแบคทีเรียและผลในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว. วารสารแก่นเกษตร 41 (4): 457-468.

สงกรานต์ จิตรากร และบริบูรณ์ สมฤทธิ์. 2540. วิทยาศาสตร์เทคโนโลยีกับข้าวไทย. ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. 1-155.

Adhikari, T.B., Joseph, C.M., Yang, G., Phillips, D.A. and Nelson, L.M., 2001. Evaluation of bacteria isolated from rice for plant growth promotion and biological control of seedling disease of rice. Canadian Journal of Microbiology. 47(10): pp.916-924.

Ashraf, M. and M.R. Foolad. 2005. Pre-sowing seed treatment-a shotgun approach to improve germination, plant growth and crop yield under saline and none-saline conditions. Advances in agronomy. 88:223-271.

Bajehbaj AA. 2010. The effects of NaCl priming on salt tolerance in sunflower germination and seedling grown under salinity conditions. African. Journal Biotech.9 1764-1770.

Bewley, J.D. and Black, M. 1982. Physiology and Biochemistry of Seed in Relation to Germination Vol ll. Viability, Dormancy and Environmental Control. Springer Ver Berin. 1-33.

Begum, M.M., Sariah, M., Puteh, A.B., Abidin, M.Z., Rahman, M.A., and Siddiqui, Y. 2010. Field performance of bio-primed seeds to suppress *Colletotrichum truncatum* causing damping-off and seedling stand of soybean. Biological Control 53(1): 18-23.

Bray, C.M. 1995. Biochemical process during the osmopriming of seeds in seeds development and germination. USA. 767-789.

Callen, N.W., Mathre, D.E., and Miller, J.B. 1991. Field performance of sweet corn seed bio-primed and coated with *Pseudomonas fluorescens* AB254. HortScience 26: 1163–1165.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Callen, N.W. and Mathre, D.E. 2000. Biopriming Seed Treatment. Encyclopedia of Plant Pathology.

Chandra, N.S., Niranjana, S.R., Uday Shankar, A.C., Niranjan Raj, S., Reddy, M.S., Prakash, H.S. and Mortensen, C.N., 2010. Seed biopriming with novel strain of *Trichoderma harzianum* for the control of toxigenic *Fusarium verticillioides* and fumonisins in maize. Archives of Phytopathology and Plant Protection. 43(3): 264-282.

Chen, C., Bauske, E.M., Musson, G., Rodriguezkabana, R. and Kloepper, J.W., 1995. Biological control of Fusarium wilt on cotton by use of endophytic bacteria. Biological Control 5(1): 83-91.

De Matos Nogueira, E., F. Vinagre, H.P. Masuda, C. Vargas, V.L.M. de Pádua, F.R. da Silva, R.V. dos Santos, J.I. Baldani, P.C.G. Ferreira, and A.S. Hemerley. 2001. Expression of sugarcane genes induced by inoculation with *Gluconacetobacter diazotrophicus* and *Herbaspirillum rubrisubalbicans*. Genetics and Molecular Biology 24: 199-206.

Dezfuli, P.M. Sharif-zadeh, F. and Janmohammadi, M. 2008. Influence of priming techniques on seed germination behavior of maize inbred lines (*Zea mays* L.). Journal of Agriculture and Biological Sciences 3:22-25.

Farooq, M., Basra S.M.A., Khalid, M., Tabassum R., & Mehmood T. 2006. Nutrient homeostasis, metabolism of reserves and seedling vigor as affected by seed priming in coarse rice Canadian Journal of Botany 84 :1196–1202

Hallmann J., Quadt-Hallmann A., Mahaffe W.F. and Kloepper J.W. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. Canadian Journal of Microbiology 43: 895-914.

Ji, S. H., Gururani, M. A., and Chun, S. C. 2014. Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic diazotrophic bacteria from Korean rice cultivars. Microbiological Research 169(1), 83-98.

Jie L., Gong She L., Dong Mei O., Fang Fang L and En Hua W. 2002. Effect of PEG on germination and active oxygen metabolism in wildrye (Leymu.7 chinensis) seeds. Acta Prataculturae Sinica11: 59-64.

Khan H.A., Ayub C.M., Pervez M.A., Bilal R.M., Shahid M.A. and Ziaf K. 2009. Effect of seed priming with NaCl on salinity tolerance of hot pepper (*Capsicum annuum* L.) at seedling stage. Soil and Environ. 28: 81-87

McDonald, M.B. 2000. Seed deterioration: Physiology, repair and assessment. Seed Science and Technology 27: 177- 237.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Muller H. and Berg G. 2008. Impact of formulation procedures on the effect of the biocontrol agent *Serratia plymuthica* HRO-C48 on *Verticillium* wilt in oilseed rape. International Organization for Biological Control 53:905–916

Nejad P. and Johnson P., A. 2000. Endophytic bacteria induce growth promotion and wilt disease suppression in oilseed rape and tomato. Biological Control 18:208–215

Nasri, N., R. Kaddour, H. Mahmoudi, O. Baatour, N. Bouraoui, and M. Lachaal. 2011. The effect of osmo priming on germination, seedling growth and phosphatase activities of lettuce under saline condition. African Journal of Biotechnology 10:14366-14372.

Nawaz, J., Hussain, M., Jabbar, A., Nadeem, G.A., Sajid, M., Subtain, M.U. and Shabbir, I. 2013. Seed priming a technique. International Journal of Agriculture and Crop Sciences, 6(20):1373.

Nayaka, C.S., Niranjana, S. R., Shankar, U. A. C., Raj, N. S., Reddy, M. S., Prakash, H. S., and Mortensen, C. N. 2010. Seed biopriming with novel strain of *Trichoderma harzianum* for the control of toxigenic *Fusarium verticillioides* and fumonisins in maize. Archives of Phytopathology and Plant Protection 43(3): 264-282.

Pageni, B. B., Lupwayi, N. Z., Larney, F. J., Kawchuk, L. M., and Gan, Y. 2013. Populations, diversity and identities of bacterial endophytes in potato (*Solanum tuberosum* L.) cropping systems. Canadian Jurnal of Plant Science, 93(6), 1125-1142.

Parera, C.A. and D.J. Cantliffe. 1994. Presowing seed priming. Horticultural. Rev. 16: 109-141.

Pill WG. and Necker AD. 2001. The effects of seed treatments on germination and establishment of Kentucky bluegrass (*Poapratense* L.). Seed Science and Technology. 29: 65-72.

Raj, S.N., Shetty, N.P. and Shetty, H.S., 2004. Seed bio-priming with *Pseudomonas fluorescens* isolates enhances growth of pearl millet plants and induces resistance against downy mildew. International Journal of Pest Management, 50(1), pp.41-48.

Raweekul W., Wuttitummaporn S., Sodchuen W. and Kittiwongwattana C. 2016. Plant growth promotion by endophytic bacteria isolated from rice (*Oryza sativa*). Thammasat International Journal of Science and Technology 21: 7-17.

Roumen, E., Levy M. and Notteghem J. L. 1977. Characterisation of the European pathogen population of *Magnaporthe grisea* by DNA finger printing and pathotype analysis. European Journal Plant Pathology 103: 363-371.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Shahzad, M., Brasra A., Imtiaz A.P., and Irafan A. 2000. Evaluation of seedling vigor of hydro and matriprimed wheat (*Triticum aestivum* L.) Seeds. International Journal of Agriculture and Biology: 1560-8530

Varier, A., Vari, A.K. and Dadlani, M. 2010. The subcellular basic of seed priming. Current Science 99: 450-456

Wright, B., Rowse, H.R. and Whipps, J.M. 2003. Microbial populations on seeds during drum and steeping priming. Plant and Soil 255: 631–640.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. สูตรอาหาร Water agar (WA)

วุ้น	17 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

2. สูตรอาหาร Potato dextrose agar (PDA)

มันฝรั่ง	200 กรัม
Dextose	20 กรัม
วุ้น	10 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

3. สูตรอาหาร Rice flour agar (RFA)

ข้าวหอมมะลิ (บดละเอียด)	20 กรัม
ยีสต์	2 กรัม
วุ้น	20 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

4. สูตรอาหาร Nutrient agar (NA)

Beef extract	3 กรัม
Peptone	5 กรัม
วุ้น	17 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

5. สูตรอาหาร Nutrient broth (NB)

Beef extract	3 กรัม
Peptone	5 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 1 ผลของจุลินทรีย์ต่อการเจริญของต้นกล้าข้าว (ต่อ)

สายพันธุ์แบคทีเรีย	จำนวนซ้ำ	จำนวนเมล็ดที่เพาะ	จำนวนเมล็ดที่งอก	ความสูง	จำนวนใบ	น้ำหนักสุทธิ (กรัม)		
						น้ำหนักต้น	น้ำหนักราก	น้ำหนักรวม
46.BaR917	1	10	10	13.50	2	0.26	0.46	0.65
	2	10	10	14.14	2.2	0.21	0.41	0.62
	3	10	10	12.60	2.2	0.23	0.44	0.67
	4	10	10	14.70	2	0.26	0.41	0.67
ค่าเฉลี่ย		10	10	13.73	2.10	024	0.43	0.67
47. BaR1017	1	10	10	14.20	2	0.18	0.34	0.52
	2	10	10	14.00	2.2	0.18	0.36	0.54
	3	10	10	14.00	2.2	0.22	0.39	0.61
	4	10	9	12.00	2	0.19	0.44	0.63
ค่าเฉลี่ย		10	9.75	13.64	2.10	0.19	0.38	0.57

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางภาคผนวกที่ 1 ผลของจุลินทรีย์ต่อการเจริญของต้นกล้าข้าว (ต่อ)

สายพันธุ์แบคทีเรีย	จำนวนซ้ำ	จำนวนเมล็ดที่เพาะ	จำนวนเมล็ดที่งอก	ความสูง	จำนวนใบ	น้ำหนักสุทธิ (กรัม)		
						น้ำหนักต้น	น้ำหนักราก	น้ำหนักรวม
43.BaL517	1	10	10	14.70	2	0.18	0.34	0.52
	2	10	10	13.10	2	0.18	0.36	0.54
	3	10	10	14.50	2	0.22	0.39	0.61
	4	10	8	15.60	2	0.19	0.44	0.63
ค่าเฉลี่ย		10	9.50	14.47	2	0.19	0.38	0.57
44.BaR617	1	10	10	15.20	2	0.24	0.41	0.59
	2	10	10	15.00	2.2	0.24	0.37	0.60
	3	10	10	15.60	2.2	0.21	0.34	0.71
	4	10	10	13.00	2	0.18	0.33	0.58
ค่าเฉลี่ย		10	10	13.73	2.10	0.21	0.36	0.62
45.BaL717	1	10	10	15.20	2	0.19	0.40	0.59
	2	10	10	15.00	2.2	0.19	0.41	0.60
	3	10	10	15.60	2.2	0.23	0.48	0.71
	4	10	10	13.00	2	0.19	0.39	0.58
ค่าเฉลี่ย		10	10	13.73	2.10	0.20	0.42	0.62

ตารางภาคผนวกที่ 1 ผลของจุลินทรีย์ต่อการเจริญของต้นกล้าข้าว (ต่อ)

สายพันธุ์แบคทีเรีย	จำนวนซ้ำ	จำนวนเมล็ดที่เพาะ	จำนวนเมล็ดที่งอก	ความสูง	จำนวนใบ	น้ำหนักสุทธิ (กรัม)		
						น้ำหนักต้น	น้ำหนักราก	น้ำหนักรวม
40.BaR217	1	10	10	12.80	2	0.21	0.34	0.55
	2	10	10	13.00	2.2	0.15	0.33	0.48
	3	10	10	13.50	2.2	0.21	0.38	0.59
	4	10	10	13.80	2	0.20	0.38	0.58
ค่าเฉลี่ย		10	10	13.27	2.10	0.19	0.35	0.55
41.BaR317	1	10	10	13.24	2.2	0.21	0.40	0.61
	2	10	10	15.30	2.2	0.15	0.35	0.50
	3	10	10	13.34	2.2	0.21	0.35	0.56
	4	10	9	12.70	2	0.20	0.33	0.53
ค่าเฉลี่ย		10	9.75	13.64	2.15	0.19	0.35	0.55
42.BaS417	1	10	10	12.90	2	0.23	0.43	0.66
	2	10	10	14.40	2	0.21	0.45	0.66
	3	10	10	14.40	2	0.19	0.42	0.61
	4	10	10	1360	2	0.15	0.33	0.48
ค่าเฉลี่ย		10	10	13.82	2	0.19	0.40	0.60

ตารางภาคผนวกที่ 1 ผลของจุลินทรีย์ต่อการเจริญของต้นกล้าข้าว (ต่อ)

สายพันธุ์แบคทีเรีย	จำนวนซ้ำ	จำนวนเมล็ดที่เพาะ	จำนวนเมล็ดที่งอก	ความสูง	จำนวนใบ	น้ำหนักสุทธิ (กรัม)		
						น้ำหนักต้น	น้ำหนักราก	น้ำหนักรวม
37.Su2L417	1	10	10	14.50	2	0.20	0.40	0.60
	2	10	10	11.90	2	0.23	0.40	0.63
	3	10	10	15.00	2	0.18	0.35	0.53
	4	10	10	13.10	2	0.21	0.33	0.52
ค่าเฉลี่ย		10	10	13.62	2	0.20	0.37	0.57
38.Su2R517	1	10	10	14.50	2	0.21	0.40	0.61
	2	10	10	15.20	2.2	0.19	0.40	0.59
	3	10	10	13.20	2	0.19	0.35	0.54
	4	10	10	13.40	2	0.21	0.33	0.54
ค่าเฉลี่ย		10	10	14.07	2.05	0.20	0.37	0.57
39.Su2R617	1	10	10	14.50	2	0.23	0.34	0.55
	2	10	9	15.50	2.2	0.22	0.33	0.48
	3	10	10	14.60	2	0.20	0.38	0.59
	4	10	10	14.90	2	0.22	0.38	0.58
ค่าเฉลี่ย		10	9.75	14.75	2.05	0.21	0.35	0.55

ตารางภาคผนวกที่ 1 ผลของจุลินทรีย์ต่อการเจริญของต้นกล้าข้าว (ต่อ)

สายพันธุ์แบคทีเรีย	จำนวนซ้ำ	จำนวนเมล็ดที่เพาะ	จำนวนเมล็ดที่งอก	ความสูง	จำนวนใบ	น้ำหนักสุทธิ (กรัม)		
						น้ำหนักต้น	น้ำหนักราก	น้ำหนักรวม
34.Su2R117	1	10	10	14.60	2.2	0.25	0.39	0.64
	2	10	10	14.10	2.2	0.20	0.32	0.52
	3	10	9	12.90	2	0.22	0.44	0.66
	4	10	8	14.00	2	0.25	0.40	0.65
ค่าเฉลี่ย		10	9.25	13.90	2.10	0.23	0.38	0.61
35.Su2S217	1	10	10	14.40	2.2	0.19	0.39	0.58
	2	10	8	13.52	2.2	0.19	0.32	0.551
	3	10	10	14.70	2	0.22	0.44	0.66
	4	10	8	14.70	2	0.25	0.40	0.65
ค่าเฉลี่ย		10	9	14.33	2.10	0.21	0.38	0.60
36.Su2R317	1	10	10	12.94	2	0.17	0.40	0.57
	2	10	10	14.30	2	0.33	0.33	0.66
	3	10	10	14.80	2	0.28	0.39	0.67
	4	10	10	13.10	2	0.18	0.37	0.55
ค่าเฉลี่ย		10	10	13.78	2	0.24	0.37	0.61

ตารางภาคผนวกที่ 1 ผลของจุลินทรีย์ต่อการเจริญของต้นกล้าข้าว (ต่อ)

สายพันธุ์แบคทีเรีย	จำนวนซ้ำ	จำนวนเมล็ดที่เพาะ	จำนวนเมล็ดที่งอก	ความสูง	จำนวนใบ	น้ำหนักสุทธิ (กรัม)		
						น้ำหนักต้น	น้ำหนักราก	น้ำหนักรวม
31.SuR517	1	10	9	12.40	2	0.22	0.45	0.67
	2	10	10	14.80	2.2	0.20	0.40	0.60
	3	10	10	14.46	2	0.22	0.52	0.74
	4	10	10	15.06	2	0.20	0.46	0.66
ค่าเฉลี่ย		10	9.75	14.18	2.05	0.21	0.45	0.66
32.SuR617	1	10	10	13.20	2.2	0.18	0.33	0.51
	2	10	10	13.00	2.2	0.18	0.37	0.55
	3	10	10	12.60	2.2	0.17	0.33	0.50
	4	10	10	13.20	2	0.20	0.38	0.58
ค่าเฉลี่ย		10	10	13.00	2.15	0.18	0.35	0.53
33.SuR717	1	10	9	13.14	2.2	0.21	0.35	0.21
	2	10	10	12.90	2.2	0.18	0.36	0.18
	3	10	10	13.70	2.2	0.22	0.38	0.22
	4	10	10	12.40	2	0.20	0.35	0.20
ค่าเฉลี่ย		10	9.75	13.03	2.15	0.20	0.36	0.20

ตารางภาคผนวกที่ 1 ผลของจุลินทรีย์ต่อการเจริญของต้นกล้าข้าว (ต่อ)

สายพันธุ์แบคทีเรีย	จำนวนซ้ำ	จำนวนเมล็ดที่เพาะ	จำนวนเมล็ดที่งอก	ความสูง	จำนวนใบ	น้ำหนักสุทธิ (กรัม)		
						น้ำหนักต้น	น้ำหนักราก	น้ำหนักรวม
28.SuS217	1	10	10	14.30	2	0.25	0.38	0.63
	2	10	10	15.30	2.2	0.20	0.52	0.72
	3	10	10	15.30	2.2	0.17	0.40	0.57
	4	10	10	16.40	2	0.22	0.38	0.60
ค่าเฉลี่ย		10	10	15.32	2.1	0.21	0.42	0.63
29.SuR317	1	10	10	12.10	2.2	0.25	0.40	0.65
	2	10	10	13.64	2.2	0.18	0.40	0.58
	3	10	9	13.60	2.2	0.24	0.43	0.67
	4	10	10	14.21	2	0.21	0.47	0.68
ค่าเฉลี่ย		10	9.5	13.38	2.15	0.22	0.42	0.64
30.SuS417	1	10	9	11.70	2.2	0.13	0.29	0.42
	2	10	10	14.20	2.2	0.21	0.41	0.62
	3	10	10	13.30	2.2	0.23	0.39	0.62
	4	10	9	13.40	2	0.22	0.39	0.61
ค่าเฉลี่ย		10	9.5	13.15	2.15	0.19	0.37	0.56

ตารางภาคผนวกที่ 1 ผลของจุลินทรีย์ต่อการเจริญของต้นกล้าข้าว (ต่อ)

สายพันธุ์แบคทีเรีย	จำนวนซ้ำ	จำนวนเมล็ดที่เพาะ	จำนวนเมล็ดที่งอก	ความสูง	จำนวนใบ	น้ำหนักสุทธิ (กรัม)		
						น้ำหนักต้น	น้ำหนักราก	น้ำหนักรวม
25.SnS917	1	10	8	13.00	2	0.19	0.35	0.54
	2	10	10	13.20	2	0.15	0.39	0.54
	3	10	10	13.10	2	0.20	0.24	0.44
	4	10	10	12.80	2	0.19	0.44	0.63
ค่าเฉลี่ย		10	10	13.02	2	0.18	0.35	0.53
26.SnS1017	1	10	10	12.80	2	0.16	0.33	0.49
	2	10	10	13.20	2	0.20	0.38	0.58
	3	10	10	13.40	2	0.20	0.37	0.57
	4	10	9	12.60	2	0.19	0.35	0.54
ค่าเฉลี่ย		10	9.75	13.00	2	0.18	0.35	0.54
27.SuR117	1	10	10	17.20	2	0.21	0.35	0.56
	2	10	10	13.50	2.2	0.19	0.38	0.57
	3	10	10	14.90	2.2	0.20	0.39	0.59
	4	10	9	14.90	2	0.21	0.30	0.51
ค่าเฉลี่ย		10	9.75	15.12	2.10	0.20	0.35	0.55

ตารางภาคผนวกที่ 1 ผลของจุลินทรีย์ต่อการเจริญของต้นกล้าข้าว (ต่อ)

สายพันธุ์แบคทีเรีย	จำนวนซ้ำ	จำนวนเมล็ดที่เพาะ	จำนวนเมล็ดที่งอก	ความสูง	จำนวนใบ	น้ำหนักสุทธิ (กรัม)		
						น้ำหนักต้น	น้ำหนักราก	น้ำหนักรวม
22.SnR617	1	10	10	12.90	2	0.15	0.30	0.45
	2	10	10	13.20	2.2	0.19	0.37	0.56
	3	10	10	12.50	2	0.20	0.31	0.59
	4	10	10	14.00	2	0.18	0.38	0.54
ค่าเฉลี่ย		10	10	13.15	2.05	0.18	0.35	0.53
23.SnS717	1	10	10	13.60	2	0.18	0.35	0.53
	2	10	10	13.10	2	0.19	0.37	0.56
	3	10	10	16.14	2	0.15	0.39	0.46
	4	10	10	14.90	2	0.20	0.36	0.58
ค่าเฉลี่ย		10	10	14.43	2	0.18	0.35	0.53
24.SnR817	1	10	10	14.80	2	0.23	0.32	0.55
	2	10	10	12.20	2	0.27	0.41	0.68
	3	10	10	14.30	2	0.21	0.48	0.69
	4	10	9	12.40	3	0.18	0.35	0.53
ค่าเฉลี่ย		10	9.75	13.42	2.05	0.22	0.39	0.61

ตารางภาคผนวกที่ 1 ผลของจุลินทรีย์ต่อการเจริญของต้นกล้าข้าว (ต่อ)

สายพันธุ์แบคทีเรีย	จำนวนซ้ำ	จำนวนเมล็ดที่เพาะ	จำนวนเมล็ดที่งอก	ความสูง	จำนวนใบ	น้ำหนักสุทธิ (กรัม)		
						น้ำหนักต้น	น้ำหนักราก	น้ำหนักรวม
19.SnS317	1	10	9	14.70	2	0.19	0.32	0.51
	2	10	10	13.96	2	0.16	0.40	0.56
	3	10	10	14.20	2	0.19	0.46	0.65
	4	10	9	13.50	2	0.19	0.37	0.56
ค่าเฉลี่ย		10	9.5	14.09	2	0.18	0.38	0.57
20.SnS417	1	10	9	15.20	2	0.15	0.37	0.52
	2	10	10	14.90	2	0.22	0.33	0.55
	3	10	10	15.80	2	0.19	0.36	0.55
	4	10	10	13.50	2	0.18	0.37	0.55
ค่าเฉลี่ย		10	10	14.85	2	0.18	0.35	0.54
21.SnR517	1	10	10	14.50	2	0.13	0.39	0.52
	2	10	10	14.30	2.2	0.18	0.40	0.58
	3	10	10	15.10	2	0.24	0.45	0.69
	4	10	10	15.30	2	0.28	0.42	0.70
ค่าเฉลี่ย		10	10	14.80	2.05	0.20	0.41	0.62

ตารางภาคผนวกที่ 1 ผลของจุลินทรีย์ต่อการเจริญของต้นกล้าข้าว (ต่อ)

สายพันธุ์แบคทีเรีย	จำนวนซ้ำ	จำนวนเมล็ดที่เพาะ	จำนวนเมล็ดที่งอก	ความสูง	จำนวนใบ	น้ำหนักสุทธิ (กรัม)		
						น้ำหนักต้น	น้ำหนักราก	น้ำหนักรวม
16.BEdSTPB001_r	1	10	9	13.16	2	0.20	0.36	0.56
	2	10	9	13.50	2.2	0.19	0.36	0.55
	3	10	9	12.40	2	0.16	0.33	0.49
	4	10	10	13.00	2.2	0.19	0.38	0.57
ค่าเฉลี่ย		10	9.25	13.01	2.10	0.18	0.35	0.54
17.SnR117	1	10	10	17.20	2	0.21	0.35	0.56
	2	10	10	13.50	2	0.19	0.38	0.57
	3	10	10	14.90	2	0.18	0.39	0.57
	4	10	10	15.30	2	0.21	0.30	0.51
ค่าเฉลี่ย		10	10	15.22	2	0.19	0.35	0.55
18.SnS217	1	10	10	12.50	2	0.20	0.38	0.58
	2	10	10	12.00	2.2	0.19	0.38	0.57
	3	10	10	14.60	2	0.17	0.36	0.53
	4	10	10	13.50	2	0.17	0.32	0.49
ค่าเฉลี่ย		10	10	13.15	2.05	0.18	0.36	0.54

ตารางภาคผนวกที่ 1 ผลของจุลินทรีย์ต่อการเจริญของต้นกล้าข้าว (ต่อ)

สายพันธุ์แบคทีเรีย	จำนวนซ้ำ	จำนวนเมล็ดที่เพาะ	จำนวนเมล็ดที่งอก	ความสูง	จำนวนใบ	น้ำหนักสุทธิ (กรัม)		
						น้ำหนักต้น	น้ำหนักราก	น้ำหนักรวม
13.BEdStSPB003	1	10	10	15.34	2.2	0.21	0.43	0.64
	2	10	10	11.90	2	0.19	0.31	0.50
	3	10	10	14.50	2	0.23	0.42	0.65
	4	10	10	14.70	2	0.29	0.44	0.73
ค่าเฉลี่ย		10	10	14.11	2.05	0.23	0.40	0.63
14. BEdStSPB004	1	10	10	14..10	2	0.20	0.36	0.56
	2	10	10	13.60	2	0.20	0.35	0.55
	3	10	10	14.40	2.2	0.21	0.43	0.64
	4	10	10	15.70	2	0.23	0.40	0.63
ค่าเฉลี่ย		10	10	14.45	2.05	0.21	0.38	0.59
15.BEdStSPB005	1	10	10	14.20	2	0.15	0.41	0.56
	2	10	10	15.60	2	0.16	0.41	0.57
	3	10	10	15.60	2.2	0.24	0.41	0.65
	4	10	10	13.00	2	0.18	0.35	0.53
ค่าเฉลี่ย		10	10	14.60	2.05	0.18	0.39	0.57

ตารางภาคผนวกที่ 1 ผลของจุลินทรีย์ต่อการเจริญของต้นกล้าข้าว (ต่อ)

สายพันธุ์แบคทีเรีย	จำนวนซ้ำ	จำนวนเมล็ดที่เพาะ	จำนวนเมล็ดที่งอก	ความสูง	จำนวนใบ	น้ำหนักสุทธิ (กรัม)		
						น้ำหนักต้น	น้ำหนักราก	น้ำหนักรวม
10.BEdStRBR005	1	10	10	15.60	2	0.26	0.41	0.67
	2	10	10	14.30	2	0.23	0.39	0.62
	3	10	9	14.82	2	0.22	0.37	0.59
	4	10	8	14.00	2	0.21	0.33	0.54
ค่าเฉลี่ย		10	9.25	14.68	2	0.23	0.37	0.60
11.BEdStSPB001	1	10	10	13.10	2	0.16	0.35	0.51
	2	10	10	13.50	2	0.18	0.33	0.51
	3	10	9	15.20	2	0.25	0.39	0.64
	4	10	10	16.30	2	0.19	0.34	0.53
ค่าเฉลี่ย		10	9.75	14.52	2	0.19	0.35	0.54
12.BEdStSPB002	1	10	10	14.20	2	0.20	0.33	0.53
	2	10	10	15.50	2.2	0.16	0.35	0.51
	3	10	10	15.70	2	0.20	0.37	0.57
	4	10	9	16.10	2	0.20	0.38	0.58
ค่าเฉลี่ย		10	9.75	15.37	2.05	0.19	0.35	0.54

ตารางภาคผนวกที่ 1 ผลของจุลินทรีย์ต่อการเจริญของต้นกล้าข้าว (ต่อ)

สายพันธุ์แบคทีเรีย	จำนวนซ้ำ	จำนวนเมล็ดที่เพาะ	จำนวนเมล็ดที่งอก	ความสูง	จำนวนใบ	น้ำหนักสุทธิ (กรัม)		
						น้ำหนักต้น	น้ำหนักราก	น้ำหนักรวม
7.BEdStRBR001	1	10	10	14.30	2	0.22	0.42	0.64
	2	10	10	14.70	2	0.18	0.33	0.51
	3	10	10	11.90	2	0.21	0.39	0.60
	4	10	10	14.40	2	0.18	0.39	0.57
ค่าเฉลี่ย		10	10	13.82	2	0.19	0.38	0.58
8.BEdStRBR002	1	10	10	14.70	2	0.19	0.42	0.61
	2	10	10	13.60	2	0.16	0.32	0.48
	3	10	10	14.30	2	0.20	0.42	0.62
	4	10	10	13.00	2	0.19	0.39	0.58
ค่าเฉลี่ย		10	10	13.90	2	0.18	0.38	0.57
9.BEdStRBR003	1	10	10	12.40	2.2	0.20	0.33	0.53
	2	10	10	12.80	2.2	0.19	0.32	0.51
	3	10	10	13.20	2	0.18	0.39	0.57
	4	10	10	14.00	2.2	0.17	0.42	0.59
ค่าเฉลี่ย		10	10	13.00	2.15	0.18	0.36	0.55

ตารางภาคผนวกที่ 1 ผลของจุลินทรีย์ต่อการเจริญของต้นกล้าข้าว (ต่อ)

สายพันธุ์แบคทีเรีย	จำนวนซ้ำ	จำนวนเมล็ดที่เพาะ	จำนวนเมล็ดที่งอก	ความสูง	จำนวนใบ	น้ำหนักสุทธิ (กรัม)		
						น้ำหนักต้น	น้ำหนักราก	น้ำหนักรวม
4.BEdStUTI003	1	10	10	12.20	2	0.14	0.36	0.50
	2	10	10	13.60	2	0.19	0.37	0.56
	3	10	10	13.00	2	0.20	0.37	0.57
	4	10	10	13.20	2	0.19	0.35	0.54
ค่าเฉลี่ย		10	10	13..00	2	0.18	0.36	0.54
5.BEdStUTI004	1	10	10	15.60	2.4	0.16	0.35	0.51
	2	10	10	12.50	2	0.15	0.37	0.49
	3	10	10	11.70	2.2	0.22	0.37	0.60
	4	10	9	12.70	2	0.20	0.35	0.57
ค่าเฉลี่ย		10	9.75	13.12	2.15	0.18	0.36	0.54
6.BEdStUTI006	1	10	10	12.20	2	0.22	0.41	0.63
	2	10	8	13.30	2.2	0.19	0.35	0.54
	3	10	10	14.10	2.4	0.18	0.32	0.50
	4	10	10	12.70	2.2	0.19	0.35	0.54
ค่าเฉลี่ย		10	9.50	13.07	2.2	0.19	0.35	0.55

ตารางภาคผนวกที่ 1 ผลของจุลินทรีย์ต่อการเจริญของต้นกล้าข้าว

สายพันธุ์แบคทีเรีย	จำนวนซ้ำ	จำนวนเมล็ดที่เพาะ	จำนวนเมล็ดที่งอก	ความสูง (เฉลี่ย)	จำนวนใบ (เฉลี่ย)	น้ำหนักสุทธิ (กรัม)		
						น้ำหนักต้น	น้ำหนักราก	น้ำหนักรวม
1. control	1	10	10	12.84	2.4	0.20	0.38	0.58
	2	10	10	13	2.2	0.22	0.38	0.60
	3	10	8	13.32	2.2	0.21	0.33	0.54
	4	10	8	13.04	2	0.22	0.37	0.59
ค่าเฉลี่ย		10	9	13.05	2.2	0.21	0.36	0.57
2. BEdStUTI001	1	10	10	15.60	2	0.21	0.38	0.59
	2	10	10	13.30	2.2	0.17	0.41	0.58
	3	10	10	15.30	2.2	0.19	0.33	0.52
	4	10	10	13.30	2	0.20	0.35	0.55
ค่าเฉลี่ย		10	10	14.37	2.1	0.19	0.36	0.56
3. BEdStUTI002	1	10	10	13	2.4	0.20	0.39	0.59
	2	10	10	12.30	2.2	0.18	0.41	0.52
	3	10	9	13.90	2	0.20	0.33	0.54
	4	10	10	13.80	2.2	0.25	0.35	0.73
ค่าเฉลี่ย		10	9.75	13.25	2.2	0.20	0.36	0.59

ตารางภาคผนวกที่ 2 ผลของ endophytic bacteria ต่อการยับยั้งเชื้อ *P. oryzae* สาเหตุโรคไหม้ข้าว

สายพันธุ์แบคทีเรีย	ค่าเฉลี่ยการยับยั้งเชื้อ *P. oryzae* (%)				
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 4	เฉลี่ยรวม
1.BEdStUTI001	18.33	16.66	16.66	13.33	16.25
2.BEdStUTI002	13.33	13.33	22.22	16.66	16.38
3.BEdStUTI003	22.22	25	22.22	24.44	23.47
4.BEdStUTI004	16.66	20.55	24.44	20.55	20.55
5.BEdStUTI006	25.55	16.66	17.22	18.33	19.44
6.BEdStRBR001	38.88	36.11	35.55	35.55	36.52
7.BEdStRBR002	11.11	5.55	16.66	22.22	13.88
8.BEdStRBR003	38.88	33.33	31.11	27.77	32.77
9.BEdStRBR005	18.33	13.33	16.66	22.22	17.63
10.BEdStSPB001	0	5.55	16.66	16.66	9.72
11.BEdStSPB002	47.22	41.66	35.00	36.11	40.00
12.BEdStSPB003	50.00	40.55	40.00	38.88	42.36
13. BEdStSPB004	29.44	30.00	31.11	20.55	27.77
14.BEdStSPB005	49.44	51.11	47.77	47.77	49.02
15.BEdSTPB001_r	33.33	12.22	27.77	22.22	23.88
16.SnR117	44.44	41.66	36.11	33.33	38.88
17.SnS217	36.11	41.66	44.44	33.33	38.88
18.SnS317	33.33	36.11	27.77	27.77	31.25
19.SnS417	5.55	40.27	25	11.11	20.48
20.SnR517	27.77	38.88	38.88	33.33	34.72
21.SnR617	36.66	27.77	27.77	22.22	28.61
22.SnS717	40.55	38.88	41.11	41.66	40.55
23.SnR817	27.22	36.11	29.44	27.77	30.13
24.SnS917	28.88	23.88	29.44	41.66	30.97
25.SnS1017	16.66	16.66	27.77	27.77	22.22
26.SuR117	38.88	38.88	29.44	36.11	35.83
27.SuS217	59.44	61.11	55	58.33	58.47
28.SuR317	66.66	66.66	68.88	64.44	66.66
29.SuS417	33.33	40.55	38.88	33.33	36.52
30.SuR517	30.55	29.44	36.11	33.33	32.36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 2 ผลของ endophytic bacteria ต่อการยับยั้งเชื้อ *P. oryzae* สาเหตุโรคไหม้ข้าว (ต่อ)

สายพันธุ์แบคทีเรีย	ค่าเฉลี่ยการยับยั้งเชื้อ *P. oryzae* (%)				
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 4	เฉลี่ยรวม
31.SuR617	3.33	11.11	22.77	16.66	13.47
32.SuR717	32.77	34.44	36.66	33.33	34.30
33.Su2R117	23.33	20.55	6.66	11.11	15.41
34.Su2S217	66.66	66.11	67.77	66.66	66.80
35.Su2R317	22.22	30.55	31.11	25.00	27.22
36.Su2L417	35.00	38.88	36.11	33.33	35.83
37.Su2R517	35.00	36.11	33.33	33.33	34.44
38.Su2R617	23.88	22.22	16.66	27.77	22.63
39.BaR217	26.66	30.00	31.11	32.22	30.00
40.BaR317	25.00	24.44	33.33	23.33	26.52
41.BaS417	66.66	61.11	66.66	65.00	64.86
42.BaL517	26.11	23.88	24.44	22.22	24.16
43.BaR617	5.55	8.33	20.55	8.33	10.69
44.BaL717	41.11	41.66	45.55	38.88	41.80
45.BaR917	61.11	55.55	65.00	62.77	61.11
46.BaR1017	27.77	28.88	27.77	22.22	26.66

ตารางภาคผนวกที่ 3 แสดงการดูดน้ำของเมล็ดพันธุ์ข้าวในการกระตุ้นเมล็ดด้วย endophytic bacteria

ชั่วโมง	การดูดความชื้น (%MC)				
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 4	เฉลี่ย
0	12.05	12.54	15.64	12.45	13.17
6	20.84	20.90	21.12	21.03	20.97
12	24.11	24.59	24.11	24.19	24.25
24	27.22	27.15	27.89	27.81	27.52
48	29.92	25.47	29.71	29.34	28.61
72	29.02	29.06	28.59	28.82	28.87
96	30.07	29.92	29.88	30.36	30.06

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 4 แสดงค่าความชื้น ในการลดความชื้นของเมล็ดพันธุ์ข้าวภายหลังการกระตุ้นการงอกของเมล็ดด้วย endophytic bacteria

ชั่วโมง	ความชื้น (%MC)			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย
0	28.148	28.158	28.153	28.153
1	28.488	28.740	28.515	28.581
2	26.785	26.892	26.838	26.839
3	24.750	24.950	24.950	24.883
4	23.552	21.764	20.792	22.036
5	21.713	21.259	23.168	22.047
6	20.119	19.685	20.000	19.934
7	18.253	18.163	18.208	18.208
8	18.525	17.77	18.145	18.148
9	15.643	15.600	15.621	15.621
10	12.673	14.059	12.871	13.201
11	9.270	9.940	9.702	9.637
12	10.958	10.956	10.957	10.957
13	10.317	10.176	10.147	10.213
14	9.163	9.270	9.217	9.216
15	9.940	9.683	9.811	9.811
16	9.362	9.325	9.343	9.343
17	8.928	9.561	9.343	9.278
18	9.163	9.145	9.253	9.187
19	7.569	7.569	7.569	7.569
20	8.565	8.183	6.213	7.654
21	8.203	8.183	8.193	8.193
22	8.366	8.730	8.549	8.548
23	8.055	8.134	8.193	8.127
24	7.930	7.858	7.797	7.862

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 5 แสดงค่าเฉลี่ยข้อมูลการเจริญเติบโตของข้าวในสภาพแปลงทดลอง

กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ยข้อมูลการเจริญเติบโตของข้าว						
	จำนวนซ้ำ	จำนวนหน่อต่อกอ 30 วัน	จำนวนหน่อต่อกอ 60 วัน	จำนวนหน่อต่อกอ 120 วัน	ความสูง (ซม.)	จำนวนรวง	ความยาวรวง
No priming	1	6.6	12	9.2	51.6	7.6	22.4
	2	8.6	10	12.6	52.5	9.4	21.7
	3	6.2	10	10.8	54.2	9	21.7
	4	4.8	7	11.4	51.8	8.6	22.0
เฉลี่ย		6.55	9.75	11	52.5	8.6	21.9
Hydro priming	1	8.6	9	12.6	51.9	8.6	22.1
	2	8.4	13	11.6	53.4	8	21.8
	3	6	9	10.2	52.6	7	23.9
	4	7.6	14	11.2	52.4	8.2	21.9
เฉลี่ย		7.65	12.25	11.4	52.5	7.9	22.4
Bio priming	1	8	10	11.4	55.2	9	22.8
	2	7	9	12.6	54.8	10.8	22.8
	3	10.6	10	14.6	54.6	12.2	23.3
	4	10.4	13	16	54.6	1.4	22.9
เฉลี่ย		9	10.5	13.65	54.8	11.3	22.9

ตารางภาคผนวกที่ 6 แสดงค่าเฉลี่ยข้อมูลผลผลิตข้าวในสภาพแปลงทดลอง

กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ยข้อมูลการเจริญเติบโตของข้าว						
	จำนวนซ้ำ	น้ำหนัก 1,000 เมล็ด	เมล็ดดีต่อรวง	เมล็ดลีบต่อรวง	ร้อยละเมล็ดดี	ผลผลิตกรัมต่อกอ	ผลผลิตกก.ต่อไร่
No priming	1	25.57	75.60	41.25	64.69	9.64	385.60
	2	24.94	87.05	62.80	58.09	10.84	433.60
	3	25.10	81.54	59.66	57.75	10.23	409.20
	4	24.62	110.84	70.86	61.00	13.63	545.20
เฉลี่ย		25.05	88.76	58.64	60.38	11.08	443.40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 6 แสดงค่าเฉลี่ยข้อมูลผลผลิตข้าวในสภาพแปลงทดลอง **(ต่อ)**

กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ยข้อมูลการเจริญเติบโตของข้าว						
	จำนวนซ้ำ	น้ำหนัก 1,000 เมล็ด	เมล็ดดีต่อรวง	เมล็ดลีบต่อรวง	ร้อยละเมล็ดดี	ผลผลิตกรัมต่อกอ	ผลผลิต กก.ต่อไร่
Hydro priming	1	24.45	84.00	51.01	62.21	10.25	410.00
	2	25.33	94.07	64.06	59.48	11.70	468.00
	3	24.09	89.80	47.08	65.26	11.22	448.80
	4	26.06	84.00	64.66	56.50	10.25	410.00
เฉลี่ย		24.98	87.96	56.70	60.86	10.85	434.20
Bio priming	1	25.05	109.65	58.46	65.22	13.70	548.00
	2	25.51	109.65	31.36	77.76	13.70	548.00
	3	24.86	102.09	49.29	67.43	12.60	504.00
	4	25.20	109.77	54.00	67.02	13.34	533.60
เฉลี่ย		25.15	107.79	48.27	69.36	13.33	533.40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ผลงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์

Changmuang, T., Sikhao, P., and Koohakan, P. 2017. Isolation and Screening of Endophytic Bacteria against Rice Blast Pathogen. International Journal of Agricultural Technology.Vol. 13(7.1):1231-1244

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาว ทักษพร ช้างม่วง
วัน เดือน ปีเกิด	20 มิถุนายน 2537
ที่อยู่	28/51 หมู่บ้าน วราพร 2 ถ.บางกรวย-ไทรน้อย ต.โสนลอย อ.บางบัวทอง จ. นนทบุรี 11110
ประวัติการศึกษา	2559 วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ (เกียรตินิยมอันดับ 2) คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง 2561 วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ความชำนาญเฉพาะด้าน 1. การใช้ endophytic bacteria กระตุ้นเมล็ดพันธุ์ข้าวต่อการควบคุมโรคไหม้
2. การปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน

ประสบการณ์การทำงานและผลงานวิจัย

พ.ศ. 2559	ผลงานวิจัยเรื่อง ผลของวัสดุรองรับอินทรีย์ในการคงระดับจำนวนประชากร ของเชื้อรา *Trichoderma* sp. และประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Pythium* ในสารละลายธาตุอาหารของระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน
พ.ศ. 2560	ผลงานวิจัยเรื่อง ผลของวัสดุรองรับอินทรีย์ในการคงระดับจำนวนประชากรของเชื้อรา *Trichoderma* sp. และประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Pythium* sp. ในสารละลายธาตุอาหารของระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน
พ.ศ. 2560	ผลงานวิจัยเรื่อง Isolation and Screening of endophytic bacteria against rice blast pathogen
พ.ศ. 2560	ได้รับรางวัลรองชนะเลิศอันดับ 1 การนำเสนอผลงานภาคบรรยาย สาขาพืชผักและสมุนไพร ในการประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติครั้งที่ 15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

International Journal of Agricultural Technology 2017 Vol. 13(7.1):1231-1244
Available online http://www.ijat-aatsea.com
ISSN 1686-9141

Isolation and Screening of Endophytic Bacteria against Rice Blast Pathogen

Taksaphorn Changmuang, Potjana Sikhao and Prommart Koohakan*

Faculty of Agricultural Technology, King Mongut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, Thailand .

Taksaphorn Changmuang, Potjana Sikhao and Prommart Koohakan (2017). Isolation and Screening of Endophytic Bacteria against Rice Blast Pathogen. International Journal of Agricultural Technology 13(7.1): 1231-1244.

This study aimed for isolation endophytic bacteria from leaves, stems and roots of healthy rice and screening their potential to promote plant growth and inhibit *Pyricularia oryzae* caused rice blast disease. Forty-six isolates were obtained from this experiment. Initially, the effect on rice seedling were tested. It was found that 41 isolates showed their ability to promote plant growth that was referred to benefit isolates. Isolate Bar917 had the highest seedling vigor index that was 128.42 %, following by isolate sus617 at 128.03%. Then the benefit isolates were also tested their efficiency to inhibit *P. oryzae* by dual culture technique. It was found that all benefit isolates could inhibit *P. oryzae*. The group of isolates that was 60% inhibition higher than control including sus217, sur317, Bas417 and Bar917, which was 66.80, 66.66, 64.86 and 61.11% respectively. Characterization of benefit isolates by gram staining and 3% KOH test, found that most of them were gram-positive bacteria. From this experiment, we selected some benefit isolate for further study on seed bio-priming to improve its efficiency for rice production in the future.

Keywords: endophytic bacteria, rice blast, *Pyricularia oryzae*

Introduction

Rice is one of the most important economic crops particularly in Asia where almost half of the population relies on it as the main food (Hegde and Hedge, 2013), but rice production encountered a major problem in the field of plant disease that is rice blast disease. Rice blast disease is caused by the Ascomycetous fungus *Pyricularia oryzae* (Couch and Kohn, 2002) Rice blast symptoms can occur on all aboveground parts of the plant and is observed at earlier growing stages until the final grain production, percentage of seeds decreased causing economic damage. (Yorionori and Thurston 1974) This disease has been controlled with fungicides, though this method is the most effective control but the use of chemical frequently may affect on environment

*Coressponding Author: Prommart Koohakan; E-mail address: prommart.ko@kmitl.ac.th

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

and chemical residues that harmful to both farmers and consumers. Leading to some researcher have focused their efforts on developing alternative inputs to synthetic chemicals for controlling diseases, and biological control is an interesting alternative

Currently, biological control methods used for disease control has been more interesting. For example using of antagonistic microorganisms such as *Trichoderma hazianum* or *Bacillus subtilis*. There is also the attractions for endophytic bacteria, which are bacteria live inside the plant tissue but it does not cause plant disease. (Hallman *et al*., 1997) de Matos Nogueira *et al*., (2001) reported that endophytic bacteria could have the capacity to control plant pathogen and plant growth promotion. The purpose of this study was isolation and screening of endophytic bacteria against rice blast pathogen and growth promotion to rice and selected some benefit isolate for further study on seed bio-priming to improve its efficiency for rice production in the future.

Objectives: Isolation and screening of endophytic bacteria against rice blast pathogen and growth promotion for further study on seed bio-priming.

Materials and methods

Isolation of Pyricularia oryzae and pathogenicity tests

Cultures of *P. oryzae* used in this study were isolated from infected rice by single spore isolation and recieved from Plant Pathology Laboratory, faculty of Agricultural KMITL. The isolates were transferred to petri dishes containing rice flour agar (RFA) and incubated at 37 °C for 14 days. After 14 days, sporulations were induced by adding 2 ml of sterile distilled water into the petri dishes of *P. oryzae* then using L-Shape glass rod to scrap on the surface of culture media, and prepared to spore suspension at concentration of 10^5 spore / ml. Then 80 ml of the suspension was mixed with 20 ml of 2 % gelatin solution and sprayed on seedling rice. Disease severity was evaluated by scoring based on 0-9 ordinal scale (IRRI 1996) where: 0= No of lesions, 1= Small brown speaks of pin point size or large brown speak, 2= Small round dish to slightly elongated necrotic grey spots about 1-2 (mm) in diameter with distinct brown margin lesions are mostly found on lower leaves, 3= Lesion type is same in scale 2 but significant number of lesion are one on upper leaves, 4= Typical susceptible blast lesion, 3 mm or longer infecting lesions than 2% of leaf area, 5= Typical blast lesion infecting 2-10 % of the leaf area, 6= Typical blast lesion infecting 11-25 % of the leaf area, 7= Typical blast lesion infecting 26-50% of the leaf area, 8= Typical blast lesion infecting 51-75% of the leaf area many leaves are dead, and 9= More than 75% leaf are affected. The most violent

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

isolate was chose for next experiments. The experimental design was completely randomized design (CRD) with 4 replications.

Screening and selection the potential isolate

Promotion activities on rice seedling

The former isolate of endophytic bacteria that was reported on the ability to control rice disease (Koohakan and Konrangdee, 2015) and new one isolated from healthy rice were tested. All isolates were subcultured on nutrient agar (NA) and incubated for 48 hours. Then they were transferred to nutrient broth (NB) and incubated on ratary shaker for 48 hours. The culture was centrifuged at 5000 rpm for 10 minute, cell culture pellet was diluted with normal saline and adjusted the concentration by compared the turbidity with McFarland standard No. 0.5. Then the suspension was inoculated to rice seedling followed by Koohakarn and Konrangdee (2015). After 7 days of inoculation with endophytic bacteria, the growth parameter of seedlings such as seed germination, seedling height, stem weight, root weight, number of leaves and total weight were collected. Data were calculated for growth index of seedling vigor index (svi) as following formular

$$\text{svi} = \text{Average germination percentage} \times \text{Average weight per plants}$$

$$\%\ \text{svi} = \frac{\text{svi of teatment}}{\text{svi of control}} \times 100$$

Which isolate has % SVI $\geq$ 100% indicated the ability to promote plant growth and referred to benficial isolates for further tested.

Inhibitory activity against rice blast pathogen

The beneficial isolates of endophytic bacteria were grown on NA medium and incubated at room temperature for 24 hours. The pathogen, *P. oryzae*, was cultured on RFA for 14 days. Inhibition effect was evaluated by using dual culture test on petri dish containing PDA media. The pathogen agar plug was placed on the center of culture medium for 4 days before endophytic bacteria was streaked. Then the tested isolates were streaked 2 cm. length form the edge pararell on the left and right sides of the pathogen and incubated at room temperature. Evaluation of the mycelial growth inhibition was done when the pathogen in control grown full in the petri dish. The mycelial growth inhibition rate (IR) was calculated using the formula as follow: [(C2-C1)/ C2 x 100 where C2: diameter of the pathogen colony on control plate and C1: diameter of the pathogen colony on the inhibition plate. The experimental design was completely randomized design (CRD) with 4 replications.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Data analysis

The results data were subjected to analysis of variance and treatment means were separated by Duncan's multiple range test to assesssignificant ($P \leq 0.05$) differences among means (Duncan, 1955)

Results

Isolation of Pyricularia oryzae and pathogenicity tests

BTN6001 isolated from infected rice was morphological study to confirm as *P. oryzae* and pathogenicity test compared with 3 former isolates RBR55001, UBN195271 and BKK55003 obtained from Plant Pathology Laboratory, KMITL. The results found that RBR55001 had the highest disease severity at level 8, followed by isolate BKK55003 at level 6 isolates, UBN195271 and BTN6001 at levels 5 and 4, respectively. (Figure 1) Therefor, RBR55001was chose for further test.

Figure 1. Rice leaves inoculated with isolated of *P. oryzae* (A=control; B=BKK55003; C=UBN195271; D=RBR55001E= BTN6001)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Screening and selection the potential isolate

Promotion activities on rice seedling

Endophytic bacteria tested in this experiment consist of the 15 previous isolates reported by Koohakan and Konrangdee (2015) for their ability to promote rice growth and inhibit rice blast pathopgen (BEdStUTI001, BEdStUTI002, BEdStUTI003, BEdStUTI004, BEdStUTI006, BEdStRBR001, BEdStRBR002, BEdStRBR003, BEdStRBR005, BEdStSPB001, BEdStSPB002, BEdStSPB003, BEdStSPB004, BEdStSPB005, BEdSTPB001) and 31 recent islolates that were isolated from healthy rice (SnR117, SnS217, SnS317, Sn417, SnR517, SnR617, SnS717, SnR817, SnS917, SnS1017, SuR117, SuS217, SuR317, SuS417, SuR517, SuS617, SuR717, Su2R117, Su2S217, Su2R317, Su2L417, SuS2R517, Su2R617, BaR217, BaR517, BaL517, BaS417, BaR617, BaL717, BaR917, BaR1017). Their characteristics were observed under microscope, gram staining and 3%KOH were also tested. The results showed that there were 39 isolates of Gram-positive and 7 isolates of Gram-negative and showed different colony characteristics according to Table 1 and Figure 2

Table 1. Characterization of endophytic bacteria

Isolates	Colony on NA				3%KOH test	Gram staining	Shape style
	Colors	Shape	Margin	Surface			
1.BEdStUTI001	white	circular	entire	mucoid	+	+	bacillus
2.BEdStUTI002	yellow	circular	entire	mucoid	+	+	bacillus
3.BEdStUTI003	yellow	circular	entire	mucoid	-	-	coccus
4.BEdStUTI004	white	circular	entire	mucoid	-	-	coccus
5.BEdStUTI006	cloudy white	circular	entire	smooth	+	+	bacillus
6.BEdStRBR001	light yellow	circular	entire	mucoid	+	+	bacillus
7.BEdStRBR002	cloudy white	circular	entire	rough	+	+	bacillus
8.BEdStRBR003	egg	circular	entire	mucoid	+	+	bacillus
9.BEdStRBR005	white	circular	entire	mucoid	+	+	coccobacilli
10.BEdStSPB001	yellow	circular	entire	mucoid	+	+	coccobacilli
11.BEdStSPB002	cloudy white	circular	entire	smooth	+	+	bacillus
12.BEdStSPB003	yellow	circular	entire	rough	+	+	bacillus
13. BEdStSPB004	white	circular	entire	mucoid	+	+	coccobacilli
14.BEdStSPB005	light yellow	circular	entire	mucoid	-	-	coccus
15.BEdSTPB001_r	egg	circular	entire	rough	+	+	bacillus
16.SnR117	white	circular	entire	mucoid	-	-	coccus

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Isolates	Colony on NA				3%KOH test	Gram staining	Shape style
	Colors	Shape	Margin	Surface			
17.SnS217	cloudy white	irregular	undulate	smooth	+	+	bacillus
18.SnS317	cloudy white	circular	entire	smooth	+	+	bacillus
19.SnS417	egg	circular	entire	mucoid	+	+	bacillus
20.SnR517	white	circular	entire	mucoid	+	+	bacillus
21.SnR617	white	circular	entire	mucoid	-	-	coccus
22.SnS717	white	circular	entire	mucoid	+	+	bacillus
23.SnR817	white	circular	entire	mucoid	+	+	bacillus
24.SnS917	egg	circular	entire	mucoid	+	+	bacillus
25.SnS1017	yellow	circular	entire	mucoid	+	+	bacillus
26.SuR117	cloudy white	circular	entire	mucoid	+	+	bacillus
27.SuS217	cloudy white	circular	entire	mucoid	+	+	bacillus
28.SuR317	cloudy white	circular	undulate	smooth	+	+	bacillus
29.SuS417	cloudy white	circular	entire	mucoid	+	+	bacillus
30.SuR517	white	circular	entire	mucoid	+	+	bacillus
31.SuR617	white	circular	entire	mucoid	+	+	bacillus
32.SuR717	white	circular	entire	mucoid	+	+	bacillus
33.Su2R117	egg	circular	entire	mucoid	+	+	bacillus
34.Su2S217	cloudy white	circular	undulate	rough	+	+	bacillus
35.Su2R317	white	circular	entire	mucoid	-	-	coccus
36.Su2L417	white	circular	entire	mucoid	+	+	bacillus
37.Su2R517	cloudy white	circular	undulate	rough	+	+	bacillus
38.Su2R617	white	circular	entire	mucoid	-	-	coccus
39.BaR217	white	circular	entire	mucoid	+	+	coccobacilli
40.BaR317	cloudy white	circular	entire	rough	+	+	coccobacilli
41.BaS417	cloudy white	circular	undulate	rough	+	+	bacillus
42.BaL517	egg	circular	entire	smooth	+	+	bacillus
43.BaR617	white	circular	entire	mucoid	+	+	coccobacilli
44.BaL717	cloudy white	circular	undulate	rough	+	+	coccobacilli
45.BaR917	cloudy white	circular	entire	smooth	+	+	bacillus
46.BaR1017	brown	circular	undulate	mucoid	+	+	bacillus

The 46 isolatees of endophytic bacteria were tested their effects on the growth of rice seedling. It was found that the number of leaves and survival of

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

seedlings in all isolates were not significant difference compared with control, but stem height, shoot weight, root weight and total weight of seedling were significant difference. Acording to %SVI, we found that there were 43 isolates with %SVI higher than control, which referred to beneficial isolates to promote rice growth. Among the beneficial isolates, Bar917 had the highest %SVI that was 128.90 % compared with control (Table2).

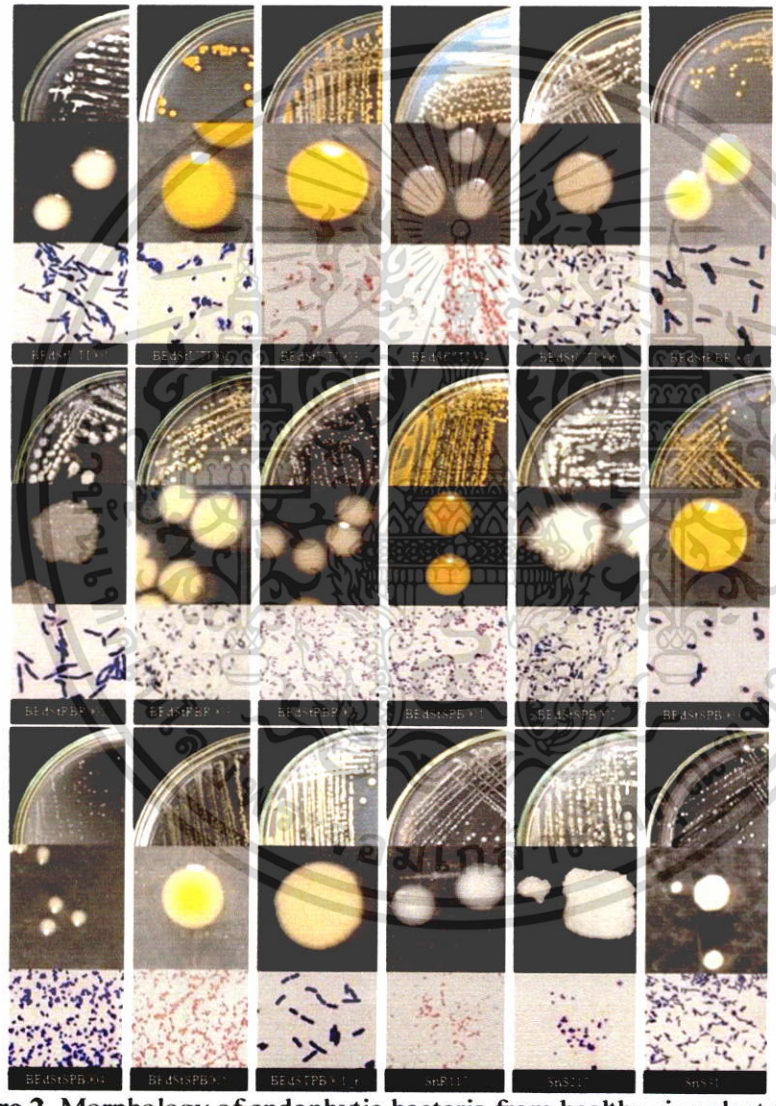


Figure 2. Morphology of endophytic bacteria from healthy rice plant (Above = colony on NA, Middle = colony at 6.7X and Under = gram staining)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

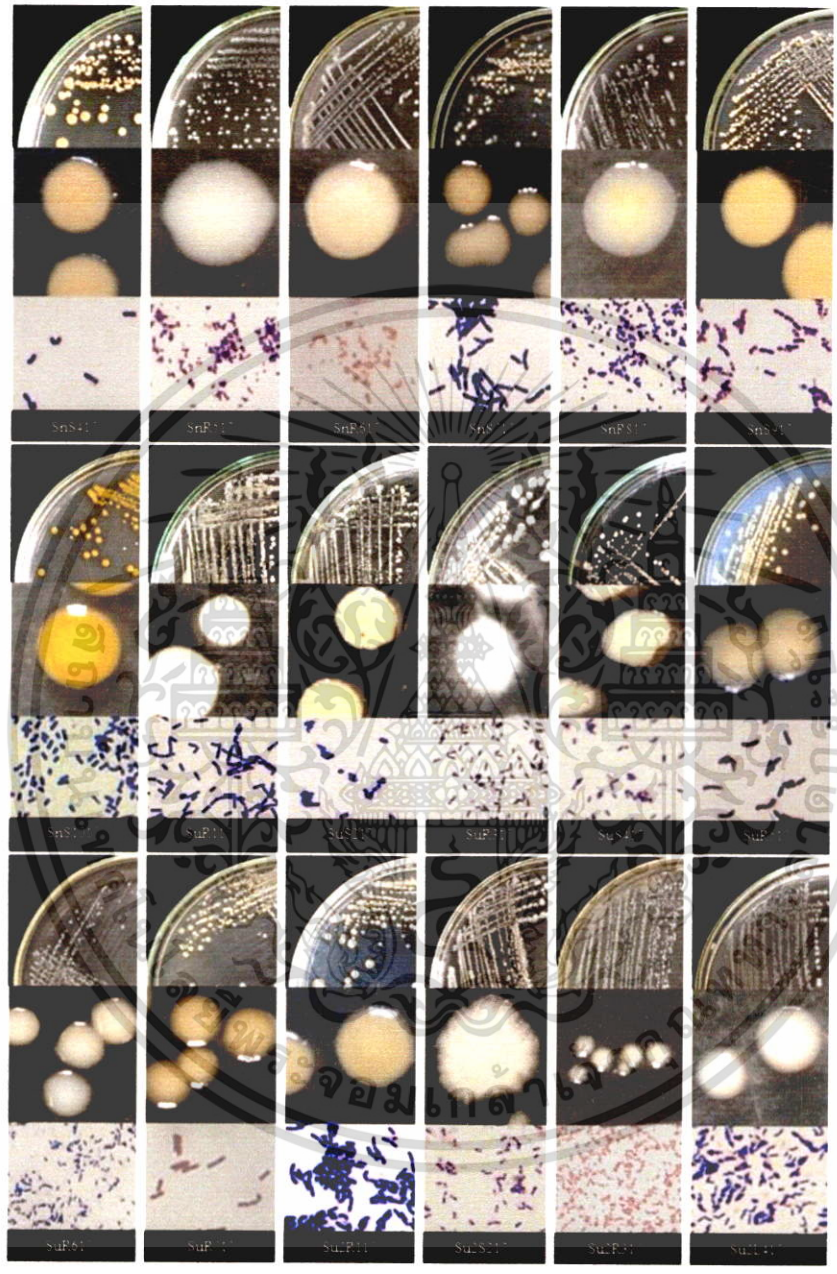


Figure 2(continue). Morphology of endophytic bacteria from healthy rice plant (Above = colony on NA, Middle = colony at 6.7X and Under = gram staining)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

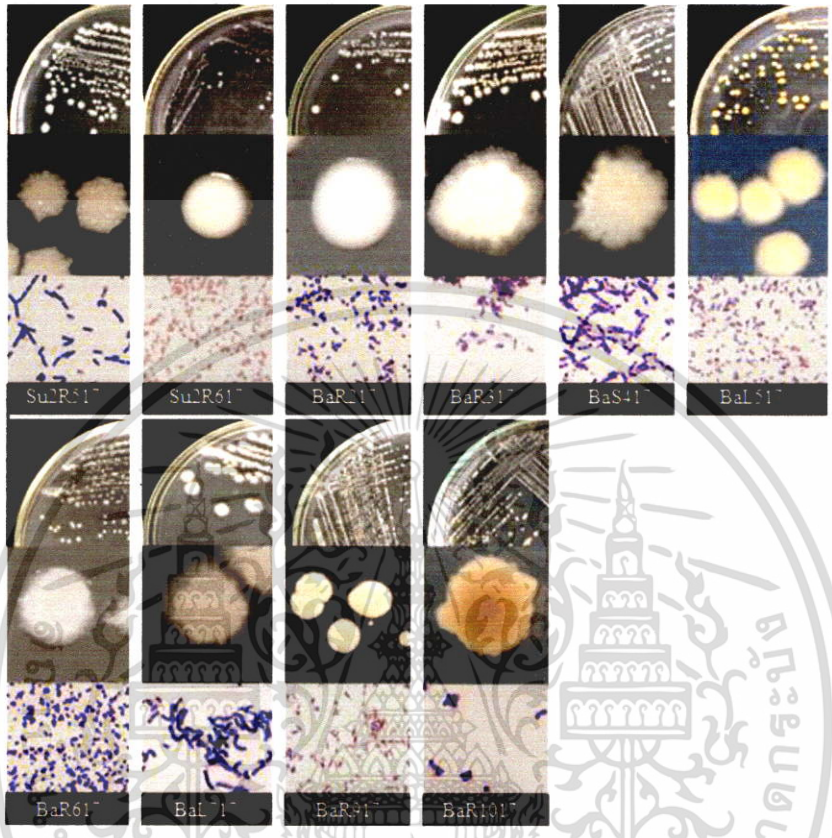


Figure 2 (continue). Morphology of endophytic bacteria from healthy rice plant (Above = colony on NA, Middle = colony at 6.7X and Under = gram staining)

Table 2. Effects of endophytic bacterie on the growth of rice seedlings.

Isolates	number of leave	Height	Survival of seedling	Shoot weight	Root weight	Total weight	%svi
1.control	2.2ab[1/]	13.05c	92.50ab	0.21abc	0.36cd	0.57bcd	100
2.BEdStUTI001	2.1ab	14.37abc	100a	0.19abc	0.36cd	0.56cd	107.74
3.BEdStUTI002	2.2a	13.25abc	97.50ab	0.20abc	0.38abcd	0.59abcd	111.61
4.BEdStUTI003	2b	13.00c	100a	0.18bc	0.36cd	0.54d	104.37
5.BEdStUTI004	2.15ab	13.12bc	97.50ab	0.17c	0.36cd	0.54d	101.76
6.BEdStUTI006	2.2a	13.07c	95.00ab	0.19abc	0.35cd	0.55cd	100.98
7.BEdStRBR001	2b	13.82abc	100a	0.19abc	0.38bcd	0.58abcd	111.59
8.BEdStRBR002	2b	13.90abc	100a	0.18bc	0.38abcd	0.57abcd	110.14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Isolates	numbe r of leave	Height	Survival of seedling	Shoot weight	Root weight	Total weight	%svi
9.BEdStRBR003	2.15ab	13.10c	100a	0.18bc	0.36cd	0.55cd	105.82
10.BEdStRBR005	2b	14.68abc	92.50ab	0.23ab	0.37cd	0.60abcd	116.40
11.BEdStSPB001	2b	14.52abc	97.50ab	0.19abc	0.35d	0.54cd	105.33
12.BEdStSPB002	2.05ab	15.37a	97.50ab	0.19abc	0.35cd	0.54cd	105.33
13.BEdStSPB003	2.05ab	14.11abc	100a	0.23ab	0.40abcd	0.63abcd	121.21
14. BEdStSPB004	2.05ab	14.45abc	100a	0.21abc	0.38bcd	0.59abcd	114.47
15.BEdStSPB005	2.05ab	14.60abc	100a	0.18bc	0.39abcd	0.57abcd	111.11
16.BEdSTPB001_r	2.15ab	13.76abc	97.50ab	0.19abc	0.38bcd	0.57abc	107.86
17.SnR117	2.1ab	13.01c	92.50ab	0.18bc	0.35cd	0.54d	96.54
18.SnS217	2b	15.22abc	100a	0.19abc	0.35d	0.55cd	106.30
19.SnS317	2.05ab	13.15bc	100a	0.18bc	0.36cd	0.54d	104.37
20.SnS417	2b	14.09abc	95.00ab	0.18bc	0.38abcd	0.57bcd	104.18
21.SnR517	2.05ab	14.85abc	97.50ab	0.17c	0.35cd	0.54d	104.37
22.SnR617	2.05ab	14.80abc	100a	0.20abc	0.41abcd	0.62abcd	119.76
23.SnS717	2.05ab	13.15bc	100a	0.18bc	0.35d	0.53d	102.93
24.SnR817	2b	14.43abc	100a	0.18bc	0.35d	0.53d	102.45
25.SnS917	2.05ab	13.42abc	97.50ab	0.22abc	0.39abcd	0.61abcd	114.89
26.SnS1017	2b	13.02c	95.00ab	0.19abc	0.35d	0.53d	98.24
27.SuR117	2b	13.00c	97.50ab	0.18bc	0.35cd	0.54cd	102.23
28.SuS217	2.1ab	15.12abc	97.50ab	0.19abc	0.35d	0.55cd	97.07
29.SuR317	2.1ab	15.32ab	100a	0.21abc	0.42abcd	0.63abcd	121.21
30.SuS417	2.15ab	13.38abc	95.00ab	0.22abc	0.42abcd	0.64abc	117.89
31.SuR517	2.15ab	13.15bc	95.00ab	0.19abc	0.37cd	0.56cd	103.72
32.SuR617	2.05ab	14.18abc	97.50ab	0.22abc	0.45a	0.66ab	128.03
33.SuR717	2.15ab	13.00c	100a	0.18bc	0.35d	0.53d	102.93
34.Su2R117	2.15ab	13.03c	97.50ab	0.20abc	0.36cd	0.56cd	105.51
35.Su2S217	2.1ab	13.90abc	92.50ab	0.23ab	0.38abcd	0.61abcd	109.89
36.Su2R317	2.1ab	14.33abc	90.00b	0.21abc	0.38abcd	0.60abcd	103.89
37.Su2L417	2b	13.78abc	100a	0.24a	0.37cd	0.61abcd	117.84
38.Su2R517	2b	13.62abc	100a	0.20abc	0.36cd	0.57bcd	109.66
39.Su2R617	2.05ab	14.07abc	100a	0.20abc	0.37cd	0.57bcd	109.66
40.BaR217	2.05ab	14.75abc	97.50ab	0.21abc	0.45ab	0.66ab	128.42
41.BaR317	2.1ab	13.24abc	100a	0.19abc	0.35cd	0.55cd	105.82
42.BaS417	2.15ab	13.64abc	97.50ab	0.19abc	0.35cd	0.55cd	103.17
43.BaL517	2b	13.82abc	100a	0.19abc	0.40abcd	0.60abcd	115.92
44.BaR617	2b	14.47abc	95.00ab	0.21abc	0.36cd	0.58abcd	106.01
45.BaL717	2.1ab	14.70abc	100a	0.20abc	0.40abcd	0.62abcd	119.28
46.BaR917	2.1ab	13.73abc	100a	0.24a	0.43abc	0.67a	128.90
47.BaR1017	2.1ab	13.24abc	97.50ab	0.19abc	0.43abc	0.62abcd	116.30

[1/]Means in the same column with different letters are singnificant different at P =0.05 , according to Duncan's Multiple range test (DMRT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Inhibitory activity against rice blast pathogen

All isolates of endophytic bacteria in this experiment was also tested for their efficiency to inhibit *P.oryzae* by dual culture technique. There were 5 isolates could inhibit more than 50%, those were SuS217, BarR917, BaS417, SuR317 and Su2S217, which referred to antagonistic isolates. Their percentage of inhibition was 58.74, 61.11, 64.86, 66.66 and 66.80, respectively. The rest of isolates had percentage of inhibition between 9.72-49.02%. (Figure 3 and Table 3)

Table 3. Effects of endophytic bacterie on growth of rice seedlings.

Isolates	Inhibitory against *P.oryzae*	
	Diameter of colony (cm.)	Growth inhibition (%)
1.BEdStUTI001	7.53	16.25
2.BEdStUTI002	7.52	16.38
3.BEdStUTI003	6.88	23.47
4.BEdStUTI004	7.15	20.55
5.BEdStUTI006	7.25	19.44
6.BEdStRBR001	5.71	36.52
7.BEdStRBR002	7.75	13.88
8.BEdStRBR003	5.71	36.52
9.BEdStRBR005	7.41	17.63
10.BEdStSPB001	8.12	9.72
11.BEdStSPB002	5.40	40.00
12.BEdStSPB003	5.18	42.36
13. BEdStSPB004	6.5	27.77
14.BEdStSPB005	4.58	49.02
15.BEdSTPB001_r	6.85	23.88
16.SnR117	5.50	38.88
17.SnS217	5.50	38.88
18.SnS317	6.18	31.25
19.SnS417	7.15	20.48
20.SnR517	5.87	34.72
21.SnR617	6.42	28.61
22.SnS717	5.35	40.55
23.SnR817	6.28	30.13
24.SnS917	6.21	30.97
25.SnS1017	7.00	22.22
26.SuR117	5.77	35.83
27.SuS217	3.73	58.47
28.SuR317	3.00	66.66
29.SuS417	5.71	36.52
30.SuR517	6.08	32.36
31.SuR617	7.78	13.47
32.SuR717	5.91	34.30
33.Su2R117	7.61	15.41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Isolates	Inhibitory against *P.oryzae*	
	Diameter of colony (cm.)	Growth inhibition (%)
34.Su2S217	2.98	66.80
35.Su2R317	6.55	27.22
36.Su2L417	5.77	35.83
37.Su2R517	5.90	34.44
38.Su2R617	6.96	22.63
39.BaR217	6.30	30.00
40.BaR317	6.61	26.52
41.BaS417	3.16	64.86
42.BaL517	6.82	24.16
43.BaR617	8.03	10.69
44.BaL717	5.23	41.80
45.BaR917	3.50	61.11
46.BaR1017	6.60	26.66

[1/]Diameter of colony*P.oryzae* at 14 day

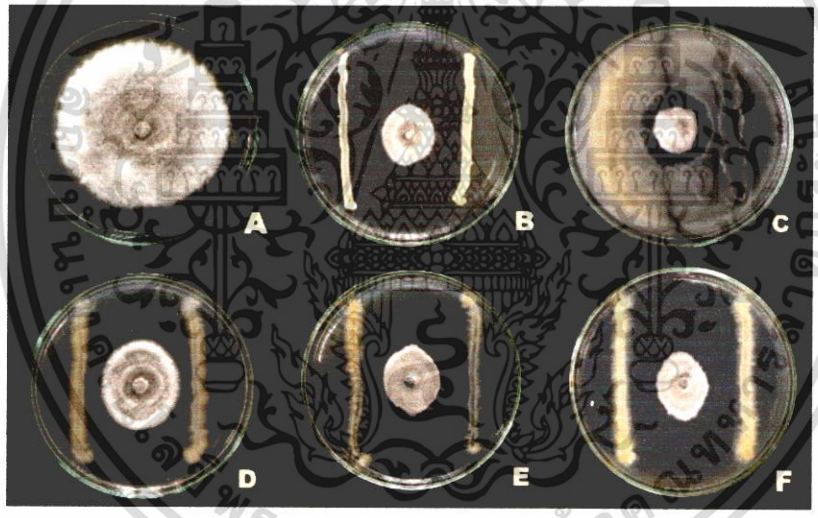


Figure 3 Dual-culture of five isolates inhibit more than 50 percentage (A=control, B = BarR917, C=BaS417, D= SuR317, E= SuS217 and F= Su2S217

Therefore, the screening of endophytic bacteria that promote plant geowth and inhibit rice blast pathogen was considered among beneficial isolates and antagonistic isolates.The most interesting isolates were BaR917 because of the highest %SVI and the highest percentage of inhibition of rice blast disease. Therefor, BaR917 has been selected as a potential isolate for further study on seed bio-priming.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Discussion

Isolation and screening of endophytic bacteria to select beneficial bacteria for growth promotion and control plant pathogens is an interesting topic, because there are a lot of research in several areas. (Hardoim *et. al.*, 2008; Yang *et. al.*, 2008; Muthukumar and Venkatesh, 2013; Koohakan and Konrangdee, 2015). In this study, we obtained 31 recent isolate from healthy rice, those were SnR117, SnS177, SnS177, Sn417, SnR1717, SnR177, SnS717, SnR817, SnS917, SnS1017, SuR117, SuS217, SuR317, SuS417, SuR517, SuS617, SuR717, Su2R117. Su2S217, Su2R317, Su2L417, SuS2R517, Su2R617, BaR217, BaR517, BaL517, BaS417, BaR617, BaL717, BaR917, and BaR1017. Base on ordinary study, most isolates were gram-positive (27 isolates) and the other was gram-negative (4 isolates) and showed different in morphological characteristics.

Selection of endophytic bacteria for plant growth promotion is important, because associated bacteria could be interact to plant either positive or negative. Therefore, we have to select only the positive isolate that benefit to plant in the category of growth promotion to plant and suppression to the pathogen. This experiment used %SVI to screen the growth promotion isolates and found that it had 23 recent isolates that was highest % SVI, which higher than control between 2.23-28.90% they were includings; SnS217, SnS317, Sn417, SnR517, SnR617, SnS717, SnR817, SnS917, SuR117, SuR317, SuS417, SuR517, SuS617, SuR717, Su2R117, Su2S217, Su2R317, Su2L417, SuS2R517, Su2R617, BaR217, BaR517, BaL517, BaS417, BaR617, BaL717, BaR917 and BaR1017. According to Ji *et al.* (2014) reported 576 isolates of endophytic bacteria from 10 rice cultivars were isolated.The athor found that it has 12 isolates that can promote the growth of rice and inhibited *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani*, a major rice pathogen. It can be seen that endophytic bacteria are not only useful in promoting plant growth. Some isolates may also have the ability to control plant pathogens.

Therefore, this study was conducted to study the bio-activity of 46 endophytic bacteria examined for growth promotion on rice that mentioned above and antagonist against *P. oryzae*. This results found that all isolates could be inhibit the growth of pathogen. The best 5 isolates were SuS217, BarR917, BaS417, SuR317 and Su2S217, which the percentage of inhibition was 58.74, 61.11, 64.86, 66.66 and 66.80%, respectively. Several studies have reported that the use of endophytic bacteria can inhibit pathogens. (Nejad and Johnson, 2002; Pageni *et al.*, 2014; Koohakan and Konrangdee, 2015) In conclusion, the results of this study show that endophytic bacteria are interesting for use in biological control and promote plant growth and could be possible for study on seed bio-priming to develop rice production in the future.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Acknowledgement

This research was supported by Geduate Research Fund from Faculty of Agricultural Technology, King Mongut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, Thailand.

References

Couch, B. C., and Kohn, L. M. (2002). A multilocus gene genealogy concordant with host preference indicates segregation of a new species, *Magnaporthe oryzae*, from *M. grisea*. Mycologia, 94(4), 683-693.

Duncan, D. B. (1955). Multiple range and multiple F tests. Biometrics. 11(1): 1-42.

De Matos Nogueira, E., F. Vinagre, H.P. Masuda, C. Vargas, V.L.M. de Pádua, F.R. da Silva, R.V. dos Santos, J.I. Baldani, P.C.G. Ferreira, and A.S. Hemerley. (2001). Expression of sugarcane genes induced by inoculation with *Gluconacetobacter diazotrophicus* and *Herbaspirillum rubrisubalbicans*. Genetics and Molecular Biology. 24: 199-206.

Hallmann J., Quadt-Hallmann A., Mahaffe W.F. and Kloepper J.W. (1997). Bacterial endophytes in agricultural crops. Canadian Journal of Microbiology. 43: 895-914.

Hardoim, P. R., van Overbeek, L. S., and van Elsas, J. D. (2008). Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. Trends in microbiology, 16(10): 463-471.

Hegde, S., and Hegde, V. (2013). Assessment of global rice production and export opportunity for economic development in Ethiopia. International Journal of Science and Research (IJSR). 2:257-260.

IRRI. (1996) Standard Evaluation System for Rice. Ed. 4. International Rice Research Institute. Manila, Philippines

Ji, S. H., Gururani, M. A., & Chun, S. C. (2014). Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic diazotrophic bacteria from Korean rice cultivars. Microbiological research. 169(1): 83-98.

Koohakan, P. and Konrangdee, A. (2015). Isolation and screening of phyllosphere bacteria and endophytic bacteria from leaf and stem of rice for controlling certain plant pathogen. The 10th National Plant Protection Conference. 697-706.

Muthukumar, A., Annamalainagar, C., and Venkatesh, A. (2015). Exploitation of Fungal and Endophytic Bacteria for the Management of Leaf Blight of Ribbon Plant. Journal of Plant Pathology and Microbiology. 4:209.

Pageni, B. B., Lupwayi, N. Z., Akter, Z., Larney, F. J., Kawchuk, L. M., and Gan, Y. (2014). Plant growth-promoting and phytopathogen-antagonistic properties of bacterial endophytes from potato (Solanum tuberosum L.) cropping systems. Canadian Journal of Plant Science. 94(5): 835-844.

Nejad, P., and Johnson, P. A. (2000). Endophytic bacteria induce growth promotion and wilt disease suppression in oilseed rape and tomato. Biological control. 18(3): 208-215.

Yang J-H, Liu H-X, Zhu G-M, Pan Y-L, Xu L-P & Guo J-H (2008). Diversity analysis of antagonists from rice-associated bacteria and their application in biocontrol of rice diseases. Journal Appl Microbiol 104: 91.

Yorionori, J.T. and Thurston, H.D. (1974). Fitopathologia 9:24-27.

(Received: 24 October 2017; accepted: 25 November 2017)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้