ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *Bacillus siamensis* RRK1–Rif ในการลดการเกิดโรคกาบใบแห้ง และโรคเมล็ดด่างของข้าว

Efficacy of Biological Products of *Bacillus siamensis* RRK1–Rif for Reducing Sheath Blight and Dirty Panicle of Rice

จิระเดช แจ่มสว่าง[1,*] วรรณวิไล อินทนู[1] และ บังอร น้อยใสย์[1]
Chiradej Chamswarng[1,*], Wanwilai Intanoo[1] and Bung–on Noisai[1]

[1] ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140
[1] Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140
รับเรื่อง: กรกฎาคม 2560 Received: July 2017
รับตีพิมพ์: ธันวาคม 2560 Accepted: December 2017

* Corresponding author: agrcdc@ku.ac.th

ABSTRACT: Efficacy of *Baciilus siamensis* RRK1–Rif bioproduct for reducing sheath blight and dirty panicle of rice was evaluated in small plot (1 × 3 m^2) condition. The results revealed that all treatments using bioproduct as seed soaking (Sk) and plant spray (Ps) (three–times) or applying during soil preparation (Sp) significantly reduced sheath blight severity and disease incidence caused by *Rhizoctonia solani* when compared with a pathogen inoculated control. At 14 and 21 days after pathogen inoculation, bioproduct of *B. siamensis* RRK1–Rif effectively reduced sheath blight by 49.80–60.14% and 32.55–62.78%, respectively when compared to a pathogen inoculated control. Moreover, this bioproduct also reduced discolored seed disease on panicles due to natural fungal pathogen infection by 35.26–55.53%, increased the percentages of fertile seeds by 6.36–11.71%, reduced the dirty panicle infected seeds by 3.78–23.19% and reduced empty seed by 9.01–43.40% when compared with the control treatment. The bioproduct of RRK1–Rif promoted plant growth by increasing the tiller number per plant, the number of panicles per plant. This product also increased yield by 20.60–54.45% and increased quality by increasing whole kernels and reducing broken rice of milled brown rice. *B. siamensis* RRK1–Rif colonized roots of rice plants from seedling to harvesting stages and could be detected on the leaves by 63.33–93.33% at 24 hrs after spaying bioproduct RRK1–Rif on the rice plant.

Keywords: Sheath blight disease, dirty panicle disease, *Bacillus* spp., biological control

บทคัดย่อ

การทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus siamensis* RRK1–Rif ในการลดการเกิดโรคกาบใบแห้งและโรคเมล็ดด่างของข้าวในแปลงขนาดเล็ก (1 × 3 ตารางเมตร) พบว่าทุกกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ *B. siamensis* RRK1–Rif แช่เมล็ด (Sk) และพ่นต้นข้าว 3 ครั้ง (Ps) หรือใส่ขณะเตรียมดิน (Sp) สามารถลดความรุนแรงและเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคกาบใบแห้งของข้าวซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อรา *R. solani* โดยสามารถลดการเกิดโรคหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคที่ 14 และ 21 วัน ได้ 49.80–60.14% และ 32.55–62.78% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อสาเหตุโรค นอกจากนี้ชีวภัณฑ์ *B. siamensis* RRK1–Rif ยังช่วยลดโรคเมล็ดด่างบนรวงข้าวที่เกิดจากการแพร่ระบาดของเชื้อโรคตามธรรมชาติได้ 35.26–55.53% เมล็ดดีเพิ่มขึ้น 6.36–11.71% เมล็ดด่างลดลง 3.78–23.19% และเมล็ดลีบลดลง 9.01–43.40% เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อรา *R. solani* ชีวภัณฑ์ *B. siamensis* RRK1–Rif สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวได้โดยเพิ่มจำนวนต้นต่อกอ รวงต่อกอ ช่วยให้ผลผลิตต่อไร่เพิ่มขึ้น 20.60–54.45% โดยมีค่าสูงกว่าน้ำหนักผลผลิตที่ได้จากกรรมวิธีที่ใช้สารเคมี ช่วยเพิ่มข้าวกล้องเต็มเมล็ด และลดข้าวกล้องหักได้ เชื้อแบคทีเรีย *B. siamensis* RRK1–Rif สามารถเจริญครอบครองรากได้ตั้งแต่ระยะต้นกล้าจนถึงระยะเก็บเกี่ยว และพบเชื้อแบคทีเรียมีชีวิตอยู่รอดบนใบข้าว 63.33–93.33% หลังพ่นชีวภัณฑ์บนต้นข้าว 24 ชั่วโมง

คำสำคัญ: โรคกาบใบแห้ง, โรคเมล็ดด่าง, เชื้อแบคทีเรียบาซิลลัส, การควบคุมโดยชีวภาพ

บทนำ

ข้าวเป็นพืชอาหารหลักและพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย โดยในปี พ.ศ. 2559 ที่ผ่านมามีการส่งออกข้าวคิดเป็นมูลค่า 155,912 ล้านบาท (Thairiceexporters, 2017) ในการผลิตข้าวมักพบปัญหาโรคต่าง ๆ เช่น โรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง โรคกาบใบแห้ง โรคเมล็ดด่าง ส่งผลให้ปริมาณ และคุณภาพของผลผลิตของข้าวลดลง โดยโรคกาบใบแห้งที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ทำให้ผลผลิตของข้าวลดลง 20% ถ้าโรคลามขึ้นไปถึงใบธง และโรคนี้มีแนวโน้มว่าจะมีการแพร่ระบาดมากยิ่งขึ้น เนื่องจากเชื้อสาเหตุโรคสามารถสร้างเม็ดสเคลอโรเทียม (sclerotium) อยู่รอดได้เป็นระยะเวลานานในดิน ตอซังหรือวัชพืชในนา และสามารถสร้างเส้นใยเจริญกลับเข้าทำลายข้าวได้อีกเมื่อมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม โรคเมล็ดด่างเป็นอีกโรคหนึ่งที่มีความสำคัญ เนื่องจากสามารถแพร่ระบาดได้ในข้าวทุกพันธุ์ เมื่อมีการแพร่ระบาดจะทำให้ผลผลิตของข้าวลดลงอย่างมาก โดยมีผลทำให้ความงอก และอายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ข้าวลดลงอย่างรวดเร็ว (Prasertsak *et al*., 2003) เมื่อนำไปขัดสีจะได้เมล็ดข้าวที่มีคุณภาพต่ำ และแตกหักง่าย นอกจากนี้สปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคยังแพร่ระบาดโดยปลิวไปกับลมหรือติดไปกับเมล็ดพันธุ์ข้าวได้ ซึ่งก่อให้เกิดโรคในการปลูกฤดูต่อไป การควบคุมโรคในปัจจุบันนิยมใช้สารเคมีซึ่งเป็นวิธีที่ใช้ได้ผลดีและสะดวก แต่การใช้สารเคมีมีข้อจำกัดคือสารออกฤทธิ์เสื่อมประสิทธิภาพเร็วภายใน 7–10 วัน จึงไม่สามารถกำจัดเม็ดสเคลอโรเทียมที่มีผนังหนา ทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่อยู่ข้ามฤดูปลูกได้ นอกจากนี้ถ้าใช้สารเคมีติดต่อกันเป็นเวลานานอาจเกิดปัญหาเชื้อราต้านทานต่อสารเคมี รวมทั้งปัญหาสารเคมีตกค้างในสิ่งแวดล้อมและผลิตผลข้าวซึ่งส่งผลเสียต่อผู้ผลิตและผู้บริโภคอีกด้วย การใช้จุลินทรีย์จึงเป็นแนวทางหนึ่งที่จะสามารถนำไปใช้ป้องกันโรคพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ

จากการทดลองของ Thampiban-Udom (2014) พบว่าการใช้แบคทีเรีย *Bacillus siamensis* RRK1 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคกาบใบแห้งได้ ปัจจุบันยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับการใช้แบคทีเรีย *B. siamensis* ในการควบคุมโรคต่าง ๆ ของข้าวทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศ ดังนั้นการศึกษานี้จึงมุ่งเน้นการพัฒนาชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. siamensis* RRK1 เพื่อให้สะดวกต่อการนำไปใช้และช่วยให้เชื้อแบคทีเรียมีชีวิตอยู่รอดได้นาน รวมทั้งการทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ในการลดโรคกาบใบแห้ง และโรคเมล็ดด่างของข้าวได้พร้อม ๆ กัน เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับนำมาประยุกต์ใช้ทดแทนการใช้สารเคมีควบคุมโรคข้าวต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. เตรียมแบคทีเรีย *Bacillus siamensis* RRK1–Rif

นำ stock แบคทีเรีย *B. siamensis* RRK1–Rif ที่เก็บในรูปผงดิน มาโรยบนอาหาร Nutrient glucose agar (NGA) ที่ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin เข้มข้น 100 ppm บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24–48 ชั่วโมง ย้ายแบคทีเรียที่เจริญโดยวิธี cross streak ลงบนอาหาร NGA ที่ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin เข้มข้น 100 ppm เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อให้ได้โคโลนีเดี่ยวจากนั้นใช้ loop แตะโคโลนีเดี่ยวของแบคทีเรียมา cross streak ลงบนอาหาร NGA ที่ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin เข้มข้น 100 ppm อีกครั้ง นำแบคทีเรียที่ได้ไปเพิ่มปริมาณโดยเลี้ยงในอาหาร Nutrient glucose broth (NGB) ก่อนนำไปใช้สำหรับเตรียมชีวภัณฑ์

2. การเตรียมชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus siamensis* RRK1–Rif

เลี้ยงแบคทีเรีย *B. siamensis* RRK1–Rif บนเมล็ดถั่วเหลือง โดยนำเมล็ดถั่วเหลือง 400 กรัม ไปแช่น้ำปริมาตร 1.5 ลิตร ที่เติมโปรตีน (นมผง) 100 กรัม แช่เป็นเวลา 8–12 ชั่วโมง จากนั้นตักเมล็ดถั่วเหลืองใส่ถุง ๆ ละ 100 กรัม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 20 นาที นำเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย 3 มิลลิลิตร ที่เลี้ยงในอาหาร NGB ใส่ในเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว เลี้ยงแบคทีเรียเป็นเวลา 5 วัน ล้างแบคทีเรียที่เจริญบนเมล็ดถั่วเหลือง 400 กรัม ด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 400 มิลลิลิตร แล้วนำไปวางในอ่างน้ำร้อน (water bath) ที่อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 30 นาที นำเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียที่ผ่านความร้อนแล้วมาผสมกับ 1% carboxymethyl cellulose (CMC) แล้วนำไปผสมกับผงแป้งจากพืช (สูตรที่ 1) และ Diatomaceous Earth (Dicalite®) (สูตรที่ 2) คลุกเคล้าส่วนผสมให้เข้ากัน จากนั้นเกลี่ยให้ส่วนผสมมีความหนาไม่เกิน 0.5 ซม. บนแผ่นพลาสติก ผึ่งไว้ในที่ร่มภายใต้อุณหภูมิห้อง (25–30°C) แล้วรอจนความชื้นลดลงเหลือ 35% โดยใช้เครื่องวัดวิเคราะห์ความชื้น (OHAUS รุ่น MB23) ก่อนเก็บชีวภัณฑ์บรรจุในถุงพลาสติกเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 8–10°C (ดัดแปลงจาก Buasuwan (2013))

3. การเตรียมเชื้อรา *Rhizoctonia solani* และการปลูกเชื้อ

เตรียมเชื้อรา *R. solani* โดยเลี้ยงเชื้อราบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) เป็นเวลา 2 วัน ใช้ cork borer ตัดปลายเส้นใย เพื่อนำไปเลี้ยงบนเมล็ดข้าวเปลือกที่ต้มจนเมล็ดปริแตก ก่อนผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C นาน 20 นาที ใช้ชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยจำนวน 5 ชิ้นต่อข้าวเปลือก 150 กรัม จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5–7 วัน ก่อนนำไปใช้ บรรจุข้าวเปลือกใส่ซองชาน้ำหนัก 10 กรัมต่อซอง (Thampiban–Udom, 2014) เมื่อต้นข้าวอายุ 60 วัน ปลูกเชื้อรา *R. solani* โดยเหน็บซองชาไว้ที่กอข้าวในระดับเดียว กับน้ำเป็นเวลา 3 วัน แล้วนำซองชาออก

4. การปลูกข้าวและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์

ชั่งเมล็ดข้าวเปลือกพันธุ์ชัยนาท1 น้ำหนัก 10 กรัม นำมาห่อผ้าดิบแล้วแช่ในเซลล์แขวนลอยของชีวภัณฑ์ *B. siamensis* RRK1–Rif ในอัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 24 ชั่วโมง นำไปบ่มอีก 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปลูกในดินเหนียวที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วลงในถาดเพาะขนาด 24 หลุม หยอดเมล็ดข้าวหลุมละ 1 เมล็ด ย้ายต้นกล้าข้าวอายุ 21 วัน ลงแปลงปลูกขนาดเล็ก 1 × 3 ตารางเมตร นอกจากการแช่เมล็ดข้าวในชีวภัณฑ์ (soaking, Sk) แล้วมีการใช้ชีวภัณฑ์อีก 2 วิธี คือ การพ่นพร้อมการเตรียมดิน (soil preparation, Sp) และการพ่นบนต้นข้าว (plant spray, Ps) จำนวน 3 ครั้ง คือ ก่อนปลูกเชื้อสาเหตุโรค 2 วัน และหลังปลูกเชื้อสาเหตุโรคที่ 7 และ 14 วัน โดยใช้ชีวภัณฑ์ในอัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 100 ลิตร ต่อไรใช้ชีวภัณฑ์เชื้อรา *Trichoderma asperellum* CB–Pin–01 (Ta สูตร 2) ที่เตรียมตามวิธีการของ Chewapanich (2016) แช่เมล็ดและพ่นลงบนต้นข้าวในอัตราเดียวกับชีวภัณฑ์ของแบคทีเรียสำหรับการเปรียบเทียบประสิทธิภาพ

5. การทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *Bacillus siamensis* RRK1–Rif ในการลดโรคกาบใบแห้งและโรคเมล็ดด่าง และการเพิ่มผลผลิตของข้าว

วางแผนการทดลองแบบ Randomized complete block design (RCBD) ประกอบด้วย 11 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ต้น กรรมวิธีที่ 1–2 ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1–Rif สูตร 1 และ 2 แช่เมล็ด และพ่น 3 ครั้ง (Sk+Ps) กรรมวิธีที่ 3–4 ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1–Rif สูตร 1 และ 2 แช่เมล็ดและใส่ตอนเตรียมดิน (Sk+Sp) กรรมวิธีที่ 5–6 ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1–Rif สูตร 1 และ 2 ใส่ตอนเตรียมดินและพ่น 3 ครั้ง (Sp+Ps) กรรมวิธีที่ 7 ใช้ชีวภัณฑ์ Ta สูตร 2 แช่เมล็ดและพ่น 3 ครั้ง กรรมวิธีที่ 8 ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย ลาร์มิน่า (Larminar®, *Bacillus subtilis* 1×10^9 cfu/g) พ่น 3 ครั้ง กรรมวิธีที่ 9 ใช้สารเคมีวาลิดามัยซิน (validamycin) พ่น 3 ครั้ง กรรมวิธีที่ 10–11 กรรมวิธีควบคุมที่ปลูกและไม่ปลูกเชื้อสาเหตุโรค วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม R (R–language and environment for statistical computing and graphics) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยจากกรรมวิธีต่าง ๆ โดย Least significant difference (LSD) ($P \leq 0.05$)

6. การประเมินความรุนแรงของโรคกาบใบแห้งของข้าว

หลังการปลูกเชื้อรา *R. solani* บนต้นข้าวเป็นเวลา 14 และ 21 วัน นับจำนวนต้นที่เป็นโรคต่อกอ และวัดความสูงของแผล โดยวัดจากโคนต้นที่ระดับความสูงของน้ำ (ระดับที่ทำการปลูกเชื้อ) จนถึงจุดสูงสุดของแผลที่ลุกลาม และวัดความสูงของต้นข้าวโดยวัดจากระดับของดินไปจนถึงปลายสุดของใบธง แล้วคำนวณหาความรุนแรงของโรค ดังสมการ ความรุนแรงของโรค (%) = (ความสูงของแผล/ความสูงของต้นข้าว) × 100

7. การประเมินโรคเมล็ดด่างบนรวงและคุณภาพของเมล็ดข้าว

ประเมินโรคตามเกณฑ์ของกรมการข้าว (Chettanachit *et al*., 2009) โดยประเมินบนรวงข้าวที่ได้จากการเก็บเกี่ยวผลผลิตในระยะเก็บเกี่ยว กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 5 รวง หลังนวดเมล็ดจากรวงข้าวแล้ว สุ่มเมล็ดข้าวมาชั่งตัวอย่างละ 10 กรัม นับจำนวนเมล็ดดี เมล็ดด่าง และเมล็ดลีบ โดยชั่งเมล็ดข้าวกรรมวิธีละ 3 ซ้ำ จากนั้นคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ต่อจำนวนเมล็ดทั้งหมด ตรวจสอบคุณภาพการขัดสี โดยบันทึกน้ำหนักข้าวกล้องเป็นน้ำหนักข้าวเต็มเมล็ด และน้ำหนักข้าวหักเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

8. การตรวจการเจริญบนใบข้าวของแบคทีเรีย *Bacillus siamensis* RRK1–Rif

ตรวจแบคทีเรีย *B. siamensis* RRK1–Rif บนใบข้าว 3 ครั้ง คือ หลังพ่นชีวภัณฑ์ครั้งที่ 1 เป็นเวลา

24 ชั่วโมง ก่อนพ่นชีวภัณฑ์ครั้ง 2 และ 3 ดัดแปลงจาก Noipun (2014) โดยเก็บใบข้าวใบที่ 3 นับจากใบล่างขึ้นมา ซ้ำละ 3 ใบ หลังจากนั้นนำใบข้าวมาตัดประมาณ 0.5 ซม. แล้วนำมาวางบนอาหาร NGA ที่ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin เข้มข้น 50 ppm บันทึกจำนวนใบที่พบแบคทีเรียเจริญ

9. การตรวจเปอร์เซ็นต์การเจริญครอบครองรากข้าวของแบคทีเรีย *Bacillus siamensis* RRK1–Rif และผลผลิตข้าว

สุ่มรากข้าวจากแต่ละกรรมวิธีมาล้างน้ำไหลให้สะอาด และล้างด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้ออีก 2 ครั้ง ซับรากให้แห้งด้วยกระดาษทิชชูนึ่งฆ่าเชื้อจนแห้ง ก่อนนำไปวางบนอาหาร NGA ที่ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin เข้มข้น 50 ppm บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24–48 ชั่วโมง ตรวจการเจริญครอบครองรากข้าวของแบคทีเรีย RRK1–Rif โดยบันทึกผลเป็นเปอร์เซ็นต์จำนวนรากที่พบแบคทีเรียเจริญอยู่บริเวณรอบราก ตรวจนับจำนวนต้น, รวงต่อกอ น้ำหนักผลผลิตรวมต่อกอ และคำนวณน้ำหนักผลผลิตรวมต่อไร่ (Charoenrak and Chamswarng, 2015)

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. อิทธิพลของชีวภัณฑ์ *Bacillus siamensis* RRK1–Rif ต่อความรุนแรงของโรคกาบใบแห้งและเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค

จากผลการประเมินความรุนแรงของโรคกาบใบแห้ง หลังจากปลูกเชื้อรา *R. solani* เป็นเวลา 14 วัน พบว่า ทุกกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1–Rif และ Ta 2 (Sk+Ps) มีความรุนแรงโรคไม่แตกต่างกันทางสถิติ (5.00–6.30 %) แต่ต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรค (12.56 %) อย่างมีนัยสำคัญ และมีความรุนแรงโรคต่ำกว่ากรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ลาร์มิน่า (Larminar®) (Ps) (7.01%) หรือเทียบเท่ากรรมวิธีที่ใช้สารเคมีวาลิดามัยซิน (Ps) (6.23%) ซึ่งกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1–Rif ช่วยลดการเกิดโรคได้ 49.80–60.14% เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรค โดยมีประสิทธิภาพเทียบเท่าการใช้สารเคมีและการใช้ชีวภัณฑ์ลาร์มิน่า (Larminar®) (Table 1)

เมื่อตรวจจำนวนต้นที่เป็นโรคต่อกอ พบว่า ทุกกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1–Rif และ Ta 2 (Sk+Ps) มีเปอร์เซ็นต์ต้นที่เป็นโรคต่อกอต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรค (61.80%) อย่างมีนัยสำคัญ กรรมวิธีที่ใช้ RRK1–Rif สูตร 1 (Sk+Ps) มีเปอร์เซ็นต์ต้นที่เป็นโรคน้อยที่สุด (37.92%) โดยมีค่าน้อยกว่ากรรมวิธีที่ใช้สารเคมีวาลิดามัยซิน (51.81%) และกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ลาร์มิน่า (Larminar®) (50.73%) อย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่แตกต่างจากกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1–Rif สูตร 2 (Sp+Ps) (44.15%) ในขณะที่กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1–Rif สูตร 2 (Sk+Ps), สูตร 1 และ 2 (Sk+Sp), สูตร 1 (Sp+Ps) และกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ Ta สูตร 2 (Sk+Ps) มีเปอร์เซ็นต์ต้นเป็นโรค 46.38–53.31% ซึ่งมีค่าเทียบเท่ากรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ลาร์มิน่า (Larminar®) (Table 1)

เมื่อประเมินความรุนแรงของโรคกาบใบแห้งหลังจากปลูกเชื้อรา *R. solani* เป็นเวลา 21 วัน พบว่า ทุกกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1–Rif และ Ta 2 (Sk+Ps) มีความรุนแรงของโรคไม่แตกต่างกันทางสถิติ (9.48–14.43%) แต่มีความรุนแรงโรคต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรค (25.47%) อย่างมีนัยสำคัญ กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1–Rif สูตร 1 (Sk+Ps) และ (Sk+Sp) ความรุนแรงโรคต่ำกว่ากรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ลาร์มิน่า (Larminar®) (Ps) (17.98%) อย่างมีนัยสำคัญ และในทุกกรรมวิธี ยกเว้นกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1–Rif สูตร 2 (Sk+Sp) (17.18%) และ (Sp+Ps) (15.72%) มีประสิทธิภาพเทียบเท่ากรรมวิธีที่ใช้สารเคมีวาลิดามัยซิน (Ps) (11.89%) (Table 1)

จำนวนต้นที่เป็นโรคจากการเข้าทำลายของเชื้อรา *R. solani* เป็นเวลา 21 วัน หลังปลูกเชื้อ พบว่า ทุกกรรมวิธี ยกเว้นกรรมวิธีที่ใช้ RRK1–Rif สูตร 1 (Sp+Ps) (67.12%) มีเปอร์เซ็นต์ต้นเป็นโรคต่ำกว่า

กรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรค (73.74%) อย่างมีนัยสำคัญ แต่มีเปอร์เซ็นต์ต้นเป็นโรคไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ลาร์มิน่า (Larminar®) (Ps) (57.82%) ในขณะที่กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1–Rif สูตร 1 (Sk+Ps) (52.65%) และ สูตร 2 (Sp+Ps) (54.07%) มีเปอร์เซ็นต์ต้นเป็นโรคต่ำกว่ากรรมวิธีที่ใช้สารเคมีวาลิดามัยซิน (Ps) (62.99%) อย่างมีนัยสำคัญ (Table 1) จากการทดลองจะเห็นได้ว่ากรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ *B. siamensis* RRK1–Rif ช่วยลดความรุนแรงของโรคกาบใบแห้งและเปอร์เซ็นต์ต้นเป็นโรคได้ต่ำกว่า หรือเทียบเท่าการใช้สารเคมี อาจเนื่องมาจากอิทธิพลของสารปฏิชีวนะที่แบคทีเรีย *B. siamensis* RRK1–Rif สร้างขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Jeong *et al.* (2012) ที่พบว่าแบคทีเรีย *B. siamensis* RRK1 KCTC 13613^{T} มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. solani* ได้ และ Shoda (2000) พบว่า แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ FR–2 สามารถผลิตสารปฏิชีวนะ Iturin A ที่มีฤทธิ์ต่อต้านโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราในแตงกวาและโรคกาบใบแห้งของข้าว เช่นเดียวกับงานทดลองของ Kumar *et al.* (2012) ที่พบว่า การใช้ชีวภัณฑ์ของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* MBI600 (Interal®) ที่ความเข้มข้น 2.2 × 10^{9} cfu/ml ชนิดน้ำแช่เมล็ดก่อนปลูกและพ่นต้นข้าวที่อายุ 45 วัน หลังจากย้ายปลูก มีความรุนแรงของโรคกาบใบแห้งต่ำที่สุด แต่ไม่แตกต่างจากการใช้สารเคมีคาร์เบนดาซิม (carbendazim) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า *B. siamensis* RRK1–Rif ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้มีศักยภาพสูงในการเป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์สำหรับใช้ควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคกาบใบแห้งได้

Table 1 Efficects of *Bacillus siamensis* RRK1–Rif fomulations on the severity of sheath blight on rice plant and infected tiller per plant at 14 and 21 days after inoculation by *Rhizoctonia solani*

Treatment	Severity of sheath blight (%)[1/]		Infected tiller/plant (%)[2/]	
	14 day	21 day	14 day	21 day
RRK1–Rif 1 (Sk[3/]+Ps[4/])	5.00^{c}[5/] (–60.14)	9.48^{d} (–62.78)[6/]	37.92 ^{d}	52.65 ^{e}
RRK1–Rif 2 (Sk+Ps)	5.98^{bc} (–52.38)	14.43^{b-d} (–43.35)	49.18 ^{bc}	64.52 ^{bc}
RRK1–Rif 1 (Sk+Sp[7/])	5.23^{bc} (–58.33)	11.57^{cd} (–54.57)	50.18 ^{bc}	63.23 ^{bc}
RRK1–Rif 2 (Sk+Sp)	6.30^{bc} (–49.80)	17.18^{bc} (–32.55)	53.31 ^{b}	60.47 $^{b-d}$
RRK1–Rif 1 (Sp+Ps)	5.21^{bc} (–58.47)	12.86^{b-d} (–49.51)	47.02 ^{bc}	67.12 ^{ab}
RRK1–Rif 2 (Sp+Ps)	5.74^{bc} (–54.31)	15.72^{bc} (–38.28)	44.15 ^{cd}	54.07 ^{de}
Ta 2[8/] (Sk+Ps)	6.23^{bc} (–50.35)	14.17^{b-d} (–44.37)	46.38 ^{bc}	58.86 $^{c-e}$
(Larminar®) (Ps)	7.01^{b} (–44.18)	17.98^{b} (–29.41)	50.73 ^{bc}	57.82 $^{c-e}$
Validamycin (Ps)	6.23^{bc} (–50.35)	11.89^{cd} (–53.32)	51.81 ^{b}	62.99 ^{bc}
Control *(+R. solani)*	12.56^{a}	25.47^{a}	61.80 ^{a}	73.74 ^{a}
Control *(–R. solani)*	–	–	–	–
C.V. (%)	20.72	26.12	10.67	8.67

[1/] Percent severity of sheath blight of rice (height of lesion/length of the rice plant) × 100
[2/] Percent of infected tiller/plant; [3/] Sk = Seed soaking; [4/] Ps = Plant spray
[5/] Means in each column followed by the same letter are not significantly different according to Least Significant Difference (LSD) ($P \leq 0.05$)
[6/] Percentage of decrement (–) of each treatment mean when compared with a control
[7/] Sp = Soil preparation
[8/] Ta 2 = Bioproduct of *Trichoderma asperellum* CB–Pin–01 formulation 2

2. อิทธิพลของชีวภัณฑ์ *Bacillus siamensis* RRK1–Rif ต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าว

เมื่อตรวจนับจำนวนต้นต่อกอ พบว่า ทุกกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1–Rif มีจำนวนต้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ (19.62–22.17 ต้น/กอ) ยกเว้นกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1–Rif สูตร 2 (Sp+Ps) (18.72 ต้น/กอ) โดยกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1–Rif สูตร 2 (Sk+Sp) มีจำนวนต้นมากที่สุด 22.17 ต้น/กอ รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1–Rif สูตร 1 (Sk+Ps) (20.16 ต้น/กอ) และ สูตร 2 (Sk+Sp) (20.10 ต้น/กอ) ซึ่งมีจำนวนต้นต่อกอสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรค (16.48 ต้น/กอ) อย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ Ta 2 (Sk+Ps) (18.92 ต้น/กอ) กรรมวิธีที่ใช้สารเคมีวาลิดามัยซิน (Ps) (18.65 ต้น/กอ) และกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ลาร์มิน่า (Larminar®) (Ps) (18.58 ต้น/กอ) ในส่วนจำนวนรวงต่อกอ พบว่า ทุกกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1–Rif ยกเว้นกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1–Rif สูตร 1 (Sp+Ps) (15.94 รวง/กอ) มีจำนวนรวง 18.33–20.57 รวง/กอ ซึ่งมีค่าสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรค (15.03 รวง/กอ) อย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ลาร์มิน่า (Larminar®) (Ps) (18.02 รวง/กอ) และกรรมวิธีที่ใช้สารเคมีวาลิดามัยซิน (Ps) (17.80 รวง/กอ) (Table 2)

เมื่อพิจารณาน้ำหนักผลผลิตของข้าว พบว่า ทุกกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1–Rif มีน้ำหนักผลผลิตไม่แตกต่างกันทางสิถิติ ช่วยให้ข้าวมีน้ำหนักผลผลิต 42.90–46.93 กรัม/กอ และ 672–750.82 กิโลกรัม/ไร่ ยกเว้นกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1–Rif สูตร 2 (Sk+Ps) (586.27 กิโลกรัม/ไร่) ซึ่งมีค่าสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรค (30.73 กรัม/กอ, 486.17 กิโลกรัม/ไร่) และ กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ลาร์มิน่า (Larminar®) (Ps) (25.34 กรัม/กอ, 478.04 กิโลกรัม/ไร่) อย่างมีนัยสำคัญ (Table 2) จากการทดลองจะเห็นได้ว่า การใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. siamensis* RRK1–Rif สามารถเพิ่มจำนวนต้น และรวงต่อกอ น้ำหนักผลผลิตต่อกอ และน้ำหนักผลผลิตต่อไร่ได้ ซึ่งในการทดลองครั้งนี้ พบว่า แบคทีเรีย *B. siamensis* RRK1–Rif สามารถผลิตฮอร์โมน IAA สามารถละลายฟอสเฟตให้อยู่ในรูปที่พืชนำไปใช้ประโยชน์ได้ ตลอดจนสร้างไซเดอโรฟอร์ได้ (ไม่ได้แสดงข้อมูล) ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้เป็นส่วนหนึ่งของ PGPR (plant growth promoting rhizobacteria) ที่มีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญของพืชได้ทั้งทางตรงและทางอ้อม (Ahmad *et al*., 2008) ซึ่งจะส่งผลให้การเจริญเติบโต ตลอดจนผลผลิตเพิ่มขึ้น

Table 2 Effects of *Bacillus siamensis* RRK1–Rif fomulations on tiller number per plant, panicle per plant and yield weight of rice (var. Chai Nat 1)

Treatment	Tiller number/ plant	Panicle/plant	Total weight of Yield (g)/plant	Total weight of yield/ (kg) rai
RRK1–Rif 1 (Sk[1/]+Ps[2/])	20.16 [ab3/]	18.86 [ab]	43.89 [ab]	702.20 (+44.44%)[4/]
RRK1–Rif 2 (Sk+Ps)	19.62 [a-c]	18.40 [a-c]	36.63 [b-d]	586.27 (+20.60%)
RRK1–Rif 1 (Sk+Sp[5/])	20.10 [ab]	18.50 [a-c]	45.49 [a]	727.86 (+49.72%)
RRK1–Rif 2 (Sk+Sp)	22.17 [a]	20.57 [a]	42.90 [a-c]	672.49 (+38.33%)
RRK1–Rif 1 (Sp+Ps)	19.74 [a-c]	15.94 [b-d]	43.67 [ab]	696.89 (+43.35%)

Table 2 Continue

Treatment	Tiller number/ plant	Panicle/plant	Total weight of Yield (g)/plant	Total weight of yield/ (kg) rai
RRK1–Rif 2 (Sp+Ps)	18.72 [bc]	18.33 [a-c]	46.93 [a]	750.82 (+54.45%)
Ta 2[6/] (Sk+Ps)	18.92 [a-c]	15.70 [cd]	31.22 [de]	567.16 (+16.67%)
(Larminar®) (Ps)	18.58 [bc]	18.02 [a-c]	25.34 [e]	478.04 (–1.67%)
Validamycin (Ps)	18.65 [bc]	17.80 [a-d]	35.78 [cd]	572.50 (+17.76%)
Control (*+R. solani*)	16.48 [c]	15.03 [d]	30.73 [de]	486.14 (–)
Control (*–R. solani*)	16.93 [bc]	15.07 [d]	26.57 [e]	426.72 (–12.34%)
C.V. (%)	12.49	11.54	13.85	

[1/] Sk = Seed soaking; [2/] Ps = Plant spray

[3/] Means in each column followed by the same letter (s) are not significantly different according to Least Significant Difference (LSD) ($P \leq 0.05$)

[4/] Percentage of increment (+) or decrement (–) of each treatment mean when compared with a control; [5/] Sp = Soil preparation

[6/] Ta 2 = Bioproduct of *Trichoderma asperellum* CB–Pin–01 formulation 2

3. อิทธิพลของชีวภัณฑ์ *Bacillus siamensis* RRK1–Rif ต่อโรคเมล็ดด่างและคุณภาพของข้าว

เมื่อประเมินโรคเมล็ดด่างบนรวงข้าว พบว่าในทุกกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1–Rif มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคบนรวงไม่แตกต่างกันทางสถิติ (1.69–2.46%) แต่มีค่าต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุม (3.80%) อย่างมีนัยสำคัญ ยกเว้นกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1–Rif สูตร 2 (Sk+Ps) (2.46%) และ สูตร 1 (Sp+Ps) (2.40%) โดยกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1–Rif สูตร 1 (Sk+Ps), (Sk+Sp) และ สูตร 2 (Sp+Ps) มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคบนรวงต่ำที่สุด คือ 1.69, 1.70 และ 1.73% ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่ากรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ลาร์มิน่า (Larminar®) (Ps) (3.30%) แต่ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่ใช้สารเคมีวาลิดามัยซิน (Ps) (2.65%) (Table 3)

จากการสุ่มเมล็ดข้าวในแต่ละกรรมวิธีมาตรวจนับเปอร์เซ็นต์เมล็ดดี พบว่า ทุกกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1–Rif มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่าง (73.88%) มีนัยสำคัญ ยกเว้นกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1–Rif สูตร 2 (Sk+Sp) (75.69%) โดยกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1–Rif สูตร 1 (Sp+Ps) มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีสูงที่สุด คือ 82.53% รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ Ta 2 (Sk+Ps) (80.39%) โดยทั้งสองกรรมวิธีมีเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีสูงกว่ากรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ลาร์มิน่า (Larminar®) (Ps) (76.46%) อย่างมีนัยสำคัญ หรือเทียบเท่ากรรมวิธีที่ใช้สารเคมีวาลิดามัยซิน (Ps) (79.18%) อย่างไรก็ตามกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1–Rif สูตร 1 (Sk+Sp) (79.82%) และ สูตร 2 (Sp+Ps) (79.23%) ก็มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ใช้สารเคมีวาลิดามัยซิน (Ps) (Table 3)

เมื่อตรวจเปอร์เซ็นต์เมล็ดด่าง พบว่าทุกกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1–Rif มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดด่างต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุม (13.24%) อย่างมีนัยสำคัญ โดยกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1–Rif สูตร 1 (Sk+Ps) (Sp+Ps) และ (Sk+Sp) มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดด่างในเกณฑ์ต่ำ คือ 10.17 10.18 และ 10.81% ตามลำดับ คิดเป็น

เปอร์เซ็นต์เมล็ดด่างลดลง 23.11, 23.19 และ18.35% ตามลำดับ ซึ่งมีค่าต่ำกว่ากรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ลาร์มิน่า (Larminar®) (Ps) (13.47%) อย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ใช้สารเคมีวาลิดามัยซิน (Ps) (11.83%) (Table 3)

ในส่วนเปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบ พบว่าทุกกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1–Rif และ Ta 2 (Sk+Ps) มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุม (12.88%) อย่างมีนัยสำคัญ ยกเว้นกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1–Rif สูตร 1 (Sk+Ps) และ สูตร 2 (Sk+Sp) โดยกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1–Rif สูตร 1 (Sp+Ps) และกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ Ta สูตร 2 (Sk+Ps) มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบต่ำที่สุด คือ 7.29% ซึ่งมีค่าต่ำกว่ากรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ลาร์มิน่า (Larminar®) (Ps) (10.08%) อย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติจากกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1–Rif สูตร 2 (Sk+Ps) (8.84%) และกรรมวิธีที่ใช้สารเคมีวาลิดามัยซิน (Ps) (9.00%) (Table 3)

จากการทดลองจะเห็นได้ว่า การใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. siamensis* RRK1–Rif ด้วยวิธีการต่าง ๆ และชีวภัณฑ์เชื้อรา *T. asperellum* Ta สูตร 2 ช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์เมล็ดดี ลดเปอร์เซ็นต์เมล็ดด่างบนรวงตลอดจนเมล็ดด่างจากการนับ และเมล็ดลีบได้ สอดคล้องกับการทดลองของ Saetang (2010) ที่พบว่ากรรมวิธีที่ใช้ผงแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์กลายไอโซเลต CG06–M6 และ BB165–M3 มีประสิทธิภาพในการเพิ่มเปอร์เซ็นต์เมล็ดดี และลดเปอร์เซ็นต์เมล็ดด่างได้ดีกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีประสิทธิภาพเทียบเท่ากรรมวิธีที่ใช้สารเคมี

Table 3 Effects of *Bacillus siamensis* RRK1–Rif on dirty panicle incidence and percentage of healthy seed, dirty panicle infected and empty seeds of ramdomized seed samples derived from rice plants (var. Chai Nat 1)

Treatment	Dirty panicle disease incidence (%)[1/]	Healthy seed (%)[2/]	Dirty panicle infected seed (%)[2/]	Empty seed (%)[2/]
RRK1–Rif 1 (Sk[3/]+Ps[4/])	1.69 [d5/] (–55.53%)[6/]	78.58 [b-d] (+6.36%)[6/]	10.17 [d] (–23.19%)	11.31 [ab] (–12.19%)
RRK1–Rif 2 (Sk+Ps)	2.46 [b-d] (–35.26%)	78.66 [b-d] (+6.47%)	12.50 [bc] (–5.59%)	8.84 [c-e] (–31.37%)
RRK1–Rif 1 (Sk+Sp[7/])	1.70 [d] (–55.26%)	79.82 [a-c] (+8.04%)	10.81 [cd] (–18.35%)	9.34 [cd] (–27.48%)
RRK1–Rif 2 (Sk+Sp)	2.26 [cd] (–40.53%)	5.69 [de] (+2.45%)	12.59 [bc] (–4.91%)	11.72 [ab] (–9.01 %)
RRK1–Rif 1 (Sp+Ps)	2.40 [b-d] (–36.48%)	82.53 [a] (+11.71%)	10.18 [d] (–23.11%)	7.29 [e] (–43.40%)
RRK1–Rif 2 (Sp+Ps)	1.73 [d] (–54.47%)	79.23 [a-d] (+7.24%)	12.74 [b] (–3.78%)	8.03 [de] (–37.66%)
Ta 2[8/] (Sk+Ps)	2.24 [cd] (–41.05%)	80.39 [ab] (+8.81%)	12.03 [bc] (–9.14%)	7.29 [e] (–43.40%)

Table 3 (Continue)

Treatment	Dirty panicle disease incidence (%)[1/]	Healthy seed (%)[2/]	Dirty panicle infected seed (%)[2/]	Empty seed (%)[2/]
(Larminar®) (Ps)	3.30 [bc] (–13.16%)	76.46 [c-e] (+3.49%)	13.47 [ab] (+1.74 %)	10.08 [bc] (–21.74%)
Validamycin (Ps)	2.65 [b-d] (–30.26%)	79.18 [a-d] (+7.71%)	11.83 [b-d] (–10.56%)	9.00 [c-e] (–30.12%)
Control *(+R. solani)*	3.80 [b] –	73.88 [e] –	13.24 [ab] –	12.88 [a] –
Control *(–R. solani)*	5.61 [a] (+47.63%)	76.84 [b-e] (+4.01)	14.73 [a] (+11.25 %)	7.52 [de] (–42.61%)
C.V. (%)	48.13	3.41	10.10	13.70

[1/] Percent dirty panicle disease incidence from four replication/treatment

[2/] Percent healthy seed, dirty panicle infected seed and empty seed from three replication/treatment (10 g/replication); [3/] Sk = Seed soaking; [4/] Ps = Plant spray

[5/] Means in each column followed by the same letter (s) are not significantly different according to Least Significant Difference (LSD) (P≤0.05)

[6/] Percentage of increment (+) or decrement (–) of each treatment mean when compared with a control; [7/] Sp = Soil preparation

[8/] Ta 2 = Bioproduct of *Trichoderma asperellum* CB–Pin–01 formulation 2

4. อิทธิพลของชีวภัณฑ์ *Bacillus siamensis* RRK1–Rif ต่อคุณภาพของข้าวหลังการขัดสี

หลังจากนำเมล็ดข้าวเปลือกไปขัดสีเป็นข้าวกล้อง แล้วนำมาคัดแยกเป็นเมล็ดข้าวที่มีลักษณะสมบูรณ์หรือเต็มเมล็ด และส่วนของเมล็ดข้าวหัก พบว่าทุกกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1–Rif มีน้ำหนักข้าวเต็มเมล็ด 9.16–9.38 กรัม/ข้าวกล้อง 10 กรัม ซึ่งสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรค (8.86 กรัม/ข้าวกล้อง 10 กรัม) อย่างมีนัยสำคัญ คิดเป็นน้ำหนักข้าวเต็มเมล็ดเพิ่มขึ้น 3.93–5.87% เช่นเดียวกันกับน้ำหนักเมล็ดข้าวหัก พบว่า ทุกกรรมวิธีมีน้ำหนักข้าวหัก 0.62–0.84 กรัม/ข้าวกล้อง 10 กรัม ซึ่งต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรค (1.14 กรัม/ข้าวกล้อง 10 กรัม) อย่างมีนัยสำคัญ คิดเป็นน้ำหนักข้าวหักลดลง 26.32–42.11% โดยกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ RRK1–Rif สูตร 1 (Sk+Sp) และ (Sp+Ps) มีน้ำหนักข้าวเต็มเมล็ดสูงที่สุด คือ 9.38 กรัม/ข้าวกล้อง 10 กรัม และมีน้ำหนักข้าวหักน้อยที่สุด คือ 0.62 กรัม/ข้าวกล้อง 10 กรัม (Table 4) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ชีวภัณฑ์ *B. siamensis* RRK1–Rif และชีวภัณฑ์เชื้อรา Ta สูตร 2 มีประสิทธิภาพในการช่วยให้น้ำหนักข้าวกล้องเต็มเมล็ดเพิ่มขึ้นและน้ำหนักเมล็ดข้าวหักลดลง โดยมีประสิทธิภาพไม่แตกต่างจากการใช้ชีวภัณฑ์ลาร์มิน่า (Larminar®) ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Noipan (2014) ที่แสดงให้เห็นว่า การใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* BB165–M3 ช่วยให้น้ำหนัก

ข้าวเต็มเมล็ดเพิ่มขึ้น 2.47% เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม อาจเนื่องมาจากการใช้แบคทีเรีย *Bacillus* spp. และเชื้อรา *Trichoderma* ด้วยวิธีการต่าง ๆ ช่วยให้เชื้อดังกล่าวสามารถเจริญครอบครองรากข้าวได้ จึงส่งเสริมให้มีการดูดซึม และสะสมแร่ธาตุอาหารในเมล็ดข้าวเพิ่มขึ้น ทำให้เมล็ดข้าวเปลือกมีความสมบูรณ์ ส่งผลให้ข้าวมีคุณภาพมากขึ้นกว่ากรรมวิธีควบคุม การตรวจพบแบคทีเรีย *B. siamensis* RRK1–Rif และเชื้อรา *T. asperellum* บนใบและรากข้าวในการทดลองนี้จึงเป็นการสนับสนุนการเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซับธาตุอาหารของข้าวได้ (Noipan, 2014; Charoenrak and Chamswarng, 2015, 2016)

Table 4 Effects of *Bacillus siamensis* RRK1–Rif fomulations on weight of whole kernel and broken rice of milled brown rice (var. Chai Nat 1)

Treatment	Weight of milled brown rice 10 g			
	Whole kernel (g)		Broken kenel (g)	
RRK1–Rif 1 (Sk[1/]+Ps[2/])	9.16 [c 3/]	(+3.39%)[4/]	0.84 [b]	(–26.32%)[4/]
RRK1–Rif 2 (Sk+Ps)	9.25 [a-c]	(+4.40%)	0.75 [b-d]	(–34.12%)
RRK1–Rif 1 (Sk+Sp[5/])	9.38 [a]	(+5.87%)	0.62 [d]	(–45.61%)
RRK1–Rif 2 (Sk+Sp)	9.34 [ab]	(+5.42%)	0.66 [cd]	(–42.11%)
RRK1–Rif 1 (Sp +Ps)	9.38 [a]	(+5.87%)	0.62 [d]	(–45.61%)
RRK1–Rif 2 (Sp+Ps)	9.19 [bc]	(+3.72%)	0.81 [bc]	(–28.95%)
Ta 2[6/] (Sk+Ps)	9.24 [a-c]	(+4.29%)	0.76 [b-d]	(–33.33%)
(Larminar®) (Ps)	9.34 [ab]	(+5.42%)	0.66 [cd]	(–42.11%)
Validamycin (Ps)	9.18 [c]	(+3.61%)	0.82 [b]	(–28.07%)
Control *(+R. solani)*	8.86 [d]	–	1.14 [a]	–
Control *(-R. solani)*	9.21 [bc]	(+3.95%)	0.78 [bc]	(–31.58%)
C.V. (%)	1.15		13.75	

[1/] Sk = Seed soaking; [2/] Ps= Plant spray

[3/] Means in each column followed by the same letter (s) are not significantly different according to Least Significant Difference (LSD) ($P \leq 0.05$)

[4/] Percentage of increase (+) or decrement (–) of each treatment mean when compared with a control;

[5/] Sp = Soil preparation

[6/] Ta 2 = Bioproduct of *Trichoderma asperellum* CB–Pin–01 formulation 2

5. การเจริญครอบครองรากและใบข้าวของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

เมื่อนำรากข้าวที่อายุ 21 วัน และ 115 วัน (หลังเก็บเกี่ยว) มาตรวจเปอร์เซ็นต์การเจริญครอบครองราก พบว่า ในข้าวอายุ 21 วัน แบคทีเรีย *B. siamensis* RRK1–Rif สูตร 1 และ 2 สามารถเจริญครอบครองรากข้าวได้ 91.66 และ 100% ตามลำดับ แล้วลดลงเหลือ 10.00 และ 25.00%ตามลำดับ เมื่อข้าวมีอายุ 115 วัน ขณะที่เชื้อรา *T. asperellum* ในชีวภัณฑ์ Ta สูตร 2 สามารถเจริญครอบครองรากได้ 100% และลดลงเหลือ 16.00% ในข้าวอายุ 21 และ 115 วัน ตามลำดับ (Table 5)

Table 5 Effects of *Bacillus siamensis* RRK1–Rif fomulations and *Trichoderma asperellum* (Ta No.2) on root colonization and survival on rice leaf at 21 and 115 days after sowing (DAS)

Treatment	Root colonization (%)		Survival on rice leaf (%)		
	21 DAS	115 DAS	24 hr after 1st spray	before 2nd spray	before 3rd spray
RRK1–Rif 1	91.66	10.00	63.33	90.00	42.50
RRK1–Rif 2	100.00	25.00	93.33	75.00	36.67
Ta No.2	100.00	16.00	70.00	70.00	75.00
Control	ND[1/]	ND	ND	ND	ND

[1/] ND = not determined

การเจริญบนใบของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์หลังการพ่นชีวภัณฑ์ 24 ชั่วโมง พบว่าแบคทีเรีย *B. siamensis* RRK1–Rif สูตร 1 และ 2 สามารถเจริญบนใบข้าวได้ 63.33 และ 93.33% ตามลำดับ ก่อนพ่นชีวภัณฑ์ครั้งที่ 2 สามารถเจริญบนใบข้าวได้ 90.00 และ 75.00% และก่อนพ่นชีวภัณฑ์ครั้งที่ 3 มีการเจริญบนใบข้าวลดลงเหลือ 42.50 และ 36.67% ตามลำดับ ขณะที่ Ta สูตร 2 สามารถเจริญบนใบข้าวได้ 70.00–75.00% หลังการพ่นชีวภัณฑ์ 24 ชั่วโมง จนถึงก่อนพ่นชีวภัณฑ์ครั้งที่ 3 (Table 5) จากการทดลองจะเห็นได้ว่า หลังการพ่นชีวภัณฑ์ทั้ง 3 ครั้ง ยังสามารถตรวจพบเชื้อแบคทีเรีย *B. siamensis* RRK1–Rif เจริญ และมีชีวิตอยู่รอดบนใบข้าวได้ สอดคล้องกับรายงานของ Wiwattanapatapee *et al*. (2007) ที่สามารถตรวจพบแบคทีเรีย *B. megaterium* ในปริมาณ 10^6 cfu/g บนใบข้าวหลังพ่นชีวภัณฑ์รูปเม็ดฟู่ ที่ 7 วัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่า แบคทีเรีย *Bacillus* spp. สามารถเจริญเพิ่มปริมาณอยู่รอดบนใบข้าวได้ และสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่มีความแปรผันสูงบนส่วนที่อยู่เหนือดินของพืชได้ (Demoz and Korsten, 2006)

สรุป

จากการศึกษาประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. siamensis* RRK1–Rif ทั้ง 2 สูตร ในการลดความรุนแรงของโรคกาบใบแห้ง และโรคเมล็ดด่างของข้าว พบว่าชีวภัณฑ์ทั้ง 2 สูตร ที่มีวิธีการใช้ต่างกัน สามารถลดความรุนแรงโรคกาบใบแห้งของข้าวได้ไม่แตกต่างกัน และลดความรุนแรงของโรคได้ต่ำกว่าหรือเทียบเท่าการใช้สารเคมี โดยการใช้ชีวภัณฑ์ RRK1–Rif สูตร 1 แช่เมล็ดร่วมกับพ่นลงบนต้นข้าว 3 ครั้ง สามารถลดความรุนแรงของโรคกาบใบแห้ง โรคเมล็ดด่างบนรวง และเมล็ดด่างจากการนับได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ทั้งนี้การใช้ชีวภัณฑ์ทั้ง 2 สูตร ด้วยวิธีการต่างกัน สามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์เมล็ดดี ลดเปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบ ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว โดยเพิ่มจำนวนต้นและรวงต่อกอ และช่วยเพิ่มผลผลิตในสภาพที่มีเชื้อสาเหตุโรคกาบใบแห้งเข้าทำลายได้ นอกจากนี้ พบว่าช่วยเพิ่มน้ำหนักข้าวกล้องเต็มเมล็ด ตลอดจนลดน้ำหนักข้าวกล้องหักได้ โดยตรวจพบแบคทีเรีย *B. siamensis* RRK1–Rif บนใบข้าว และรากได้ตั้งแต่ระยะต้นกล้า (21 วัน) จนถึงระยะเก็บเกี่ยว (115 วัน)

กิตติกรรมประกาศ

ขอบคุณห้องปฏิบัติการควบคุมโรคพืชโดยชีวภาพ และเรือนปลูกพืชทดลอง ของภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จังหวัดนครปฐม

เอกสารอ้างอิง

Ahmad, F., I. Ahmad and M.S. Khan. 2008. Screening of free–living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. Microbiol. Res. 183: 173–181.

Buasuwan, J. 2013. Efficacy of *Bacillus* spp. Bioproducts for the Control of Root Rot Caused by *Pythium aphanidermatum* on NFT Hydroponically Grown Lettuce. MS Thesis, Kasetsart University, Nakhon Pathom, Thailand. (in Thai)

Charoenrak, P. and C. Chamswarng. 2015. Application of *Trichoderma asperellum* fresh culture bioproduct as potential biological control agent of fungal diseases to increase yield of rice (*Oryza sativa* L.). J. ISSAAS. 21(2): 67–85.

Charoenrak, P. and C. Chamswarng. 2016. Efficacies of wettable pellet and fresh culture of *Trichoderma asperellum* biocontrol products in growth promoting and reducing dirty panicles of rice. Agr. Nat. Resour. 50(4): 243–249.

Chettanachit, D., N. Nilpanit, P. Arunyanart, V. Sirisantana, V. Rattanakarn, R. Dhitikiattipong, V. Rotchanahasadin and T. Arayapun. 2009. Rice Diseases and Their Control. Bureau of Rice Research and Development, Rice Department, Bangkok, Thailand. 68 p.

Chewapanich, W. 2016. Efficacy of *Trichoderma asperellum* and Potassium Dihydrogen Phosphate on Growth Promotion and Root Rot Reduction of Hydroponically Grown Lettuce. MS Thesis, Kasetsart University, Nakhon Pathom, Thailand. (in Thai)

Demoz, B.T. and L. Korsten. 2006. *Bacillus subtilis* attachment, colonization, and survival on avocado flowers and its mode of action on stem–end rot pathogens. Biol. Control 37(1): 68–74.

Jeong, H., D.E. Jeong, S.H. Kim, G.C. Song, S.Y. Park, C.M. Ryu, S.H. Park and S.K. Choia. 2012. Draft genome sequence of the plant growth-promoting bacterium *Bacillus siamensis* KCTC 13613^{T}. J. Bacteriol. 194(15): 4148–4149.

Kumar, K.V.K., S.K.R. Yellareddygari, M.S. Reddy, J.W. Kloepper, K.S. Lawrence, X.G. Zhou, H. Sudini, D.E. Groth, S.K. Raju and M.E. Miller. 2012. Efficacy of *Bacillus subtilis* MBI 600 against sheath blight caused by *Rhizoctonia solani* and on growth and yield of rice. Rice Sci. 19(1): 55–63.

Noipun, J. 2014. Efficiency of *Bacillus amyloliquefaciens* Mutant Strain BB165–M3 Bioproduct for Increasing Yield and Reducing Dirty Panicle of Rice. MS Thesis, Kasetsart University, Nakhon Pathom, Thailand. (in Thai)

Prasertsak, A., K. Soontarajarn, N. Makatarn, N. Aphanit and U. Kongchoo. 2003. Effect of grain discoloration severity on seed storability. *In* Proceedings of rice and temperate cereal crops annual conference 2003 (Abstracts). Bangkok, Thailand.

Saetang, N. 2010. Screening of Antagonistic Bacteria for Increasing Yield and Reducing Dirty panicle of Rice. MS Thesis, Kasetsart University, Nakhon Pathom, Thailand. (in Thai).

Shoda, M. 2000. Bacterial control of plant diseases. J. Biosci. Bioeng. 89: 515–521.

Thampiban-Udom, P. 2014. Application of Beneficial Bacteria for Reducing Rice Sheath Blight, Increasing Yield and Decomposition of Rice Straw. MS Thesis, Kasetsart University, Nakhon Pathom, Thailand. (in Thai)

Thairiceexporters. 2017. Annual Report 2016. Available Source: http://www.thairiceexporters.or.th, June 26, 2017.

Wiwattanapatapee, R., A. Chumthong, A. Pengnoo and M. Kanjanamaneesathian. 2007. Effervescent fast-disintegrating bacterial formulation for biological control of rice sheath blight. J. Control Release 119: 229–235.