การประยุกต์ใช้ร่วมกันของผงเชื้อ *Trichoderma* sp. และ *Bacillus* sp. ต่อการควบคุมโรคเมล็ดด่างที่เกิดจาก *Bipolaris oryzae* ในข้าว
The Combined Application of *Trichoderma* sp. and *Bacillus* sp. Powders to Control Dirty Panicle Disease Caused by *Bipolaris oryzae* in Rice

ปัณณวิชญ์ เย็นจิตต์[1,*] ธิดา เดชฮวบ[2] และ วาริน อินทนา[3]
Punnawich Yenjit[1,*], Tida Dethoup[2] and Warin Intana[3]

[1] ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตรและเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์ นครสวรรค์ 6000
[2] ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร 10900
[3] หน่วยวิจัยพืชเขตร้อน สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ นครศรีธรรมราช 80161
[1] Department of Agricultural Technology, Faculty of Agricultural Technology and Industrial Technology, Nakhon Sawan Rajabhat University, Nakhon Sawan 60000
[2] Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900
[3] The Tropical Crop Research Unit, School of Agricultural Technology, Walailak University, Nakhon Si Thammarat, 80161
รับเรื่อง: กันยายน 2560 Received: September 2017
รับตีพิมพ์: ธันวาคม 2560 Accepted: December 2017

* Corresponding author: pyenjit@yahoo.com

ABSTRACT: Three isolate of *Trichoderma* spp. obtained from rice rhizosphere soil, *Trichoderma* sp. NS–01 and *Trichoderma* sp. NS–02, were classified as *T. viride* and *Trichoderma* sp. NS–03 as *T. harzianum*. Two isolates of *Bacillus* sp. NS–01 and *Bacillus* sp. NS–02 from rice leaves were classified as *B. amyloliquefaciens* and *B. subtillis* respectively. Testing the efficacy of antagonatic microorganisms to inhibit growth of *Bipolaris oryzae* NS–04 (from Krok Phra district, Nakhon Sawan province) found that *Trichoderma* sp. NS–03 and *Bacillus* sp. NS–02 could inhibit *B. oryzae* NS–04, did not statistically differ when compared to commercial strains of *T*. asperellum CB–Pin–01 and *Bacillus* sp. No2 respectively. In greenhouse condition, the use of antagonistic powders at concentration of 2 x 10^5 cfu/ml sprayed to control dirty panicle disease at 2 times. After spraying for 14 days, the results found that only *Trichoderma* sp. NS.–03 powder could reduce disease incidence at 55.84%, whereas the application of *Trichoderma* sp. NS.–03 powder combined with *Bacillus* sp. NS–02 provided the highest disease reduction at 72.98%, which was similar to Armure fungicide 30% w/v EC (Propiconazole + Difenoconazole) with 73.71% reduction. In addition, the combined use of *Trichoderma* sp. NS–03 and *Bacillus* sp. NS–02 powders at 15 gram of each powder per 20 litters water sprayed to control of dirty panicle disease in rice fields at 3 times for 21 days, it was found that the combined application of the antagonistic powders highly reduced the dirty panicle disease to 74.36% and provided the highest yield at 940.50 kg per rai. While the untreated control treatment had the highest disease and the lowest yield at 697.50 kg per rai, which was significantly different.

Keywords: Rice disease, biological control, combined antagonisms, *Trichoderma* spp., *Bacillus* spp.

บทคัดย่อ

เชื้อ *Trichoderma* spp. จำนวน 3 สายพันธุ์ที่แยกได้จากดินบริเวณรอบรากข้าว ได้แก่ *Trichoderma* sp. NS–01 และ *Trichoderma* sp. NS–02 ถูกจำแนกเป็น *T. viride* และ *Trichoderma* sp. NS–03 เป็น *T. harzianum* สำหรับ *Bacillus* spp. จำนวน 2 สายพันธุ์ คือ *Bacillus* sp. NS–01 และ *Bacillus* sp. NS–02 ที่แยกได้จากใบข้าวถูกจำแนกเป็น *B. amyloliquefaciens* และ *B. subtillis* ตามลำดับ การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Bipolaris oryzae* NS–04 (สายพันธุ์จาก อ.โกรกพระ จ.นครสวรรค์) พบว่า *Trichoderma* sp. NS–03 และ *Bacillus* sp. NS–02 สามารถยับยั้งเชื้อ *Bi. oryzae* NS–04 ไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ทางการค้า *T. asperellum* CB–Pin–01 และ *Bacillus* sp. No2 ตามลำดับ จากนั้นทดสอบในสภาพโรงเรือนโดยใช้ผงเชื้อปฏิปักษ์ที่ความเข้มข้น 2×10^5 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ฉีดพ่นจำนวน 2 ครั้ง เพื่อควบคุมโรคเมล็ดด่าง พบว่าที่ระยะ 14 วันหลังการฉีดพ่น การใช้เชื้อ *Trichoderma* sp. NS–03 เชื้อเดียวสามารถลดการเกิดโรคได้ 55.84 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อใช้ผงเชื้อ *Trichoderma* sp. NS–03 ร่วมกับผงเชื้อ *Bacillus* sp. NS–02 สามารถลดการเกิดโรคได้สูงสุด 72.98 เปอร์เซ็นต์ ใกล้เคียงกับการใช้สารเคมีอามูเร่ 30% w/v EC (โพรพิโคนาโซล + ไดฟีโนโคนาโซล) ที่ลดการเกิดโรคได้ 73.71 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ การใช้ร่วมกันของผงเชื้อ *Trichoderma* sp. NS–03 และผงเชื้อ *Bacillus* sp. NS–02 อย่างละ 15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่นควบคุมโรคเมล็ดด่างในแปลงนาจำนวน 3 ครั้ง เป็นเวลา 21 วัน พบว่าสามารถลดการเกิดโรคได้สูงถึง 74.36 เปอร์เซ็นต์ และข้าวให้ผลผลิตสูงสุดที่ 940.50 กิโลกรัมต่อไร่ ในขณะที่กรรมวิธีควบคุม (Untreated control) มีการเกิดโรคสูงสุดและให้ผลผลิตต่ำสุดที่ 697.50 กิโลกรัมต่อไร่ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

คำสำคัญ: โรคเมล็ดด่างของข้าว, การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี, การเป็นปฏิปักษ์ร่วมกัน, เชื้อราไตรโคเดอร์มา แบคทีเรียบาซิลลัส

บทนำ

ข้าว (*Oryza sativa* L.) เป็นธัญพืชที่มีความสำคัญที่สุดของไทยและเอเชีย ในแต่ละปีประเทศไทยผลิตและส่งออกข้าวเป็นจำนวนมหาศาล ซึ่งในปี พ.ศ. 2560 ประเทศไทยส่งออกข้าวมีมูลค่าเท่ากับ 2,756 ล้านเหรียญสหรัฐ (Thai Rice Exporters Association, 2017) แต่การผลิตข้าวในประเทศไทยยังประสบปัญหาด้านคุณภาพที่เกิดจากเชื้อสาเหตุโรคพืชที่สำคัญ คือ โรคเมล็ดด่างที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อรา *Bipolaris oryzae*, *Fusariu* sp., *Alternaria* sp., *Cercospora* sp. และ *Curvularia* sp. โดยเฉพาะการเข้าทำลายของเชื้อรา *Bi. oryzae* ทำให้เมล็ดเน่า (Seed rot) ต้นกล้าไหม้ (Seedling blight) รากเน่า (Root rot) ใบจุดสีน้ำตาล (Brown leaf spot) และเมล็ดด่าง (Discoloration) ซึ่งสามารถทำลายข้าวได้หลายพันธุ์ เช่น กข41 ชัยนาท 1 สุพรรณบุรี 1 ปทุมธานี 1 พิษณุโลก 2 และหอมมะลิ 105 (Jaisong, 2010) การแพร่กระจายของเชื้อสาเหตุจะอาศัยลมและติดไปกับเมล็ด (Seed borne) การป้องกันกำจัดโรคเมล็ดด่างสามารถทำได้โดยการคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสารเคมีสังเคราะห์คาร์เบนดาซิมหรือแมนโคเซบในอัตรา 3 กรัม/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม ส่วนในระยะข้าวใกล้ออกรวงหากพบอาการใบจุดสีน้ำตาลที่ใบธงควรฉีดพ่นสารเคมีโพรพิโคนาโซลร่วมกับไดฟีโนโคนาโซล หรือ โพรพิโคนาโซลร่วมกับโพรคลอราซ หรือ คาร์เบนดาซิมร่วมกับอีพ๊อกซี่โคนาโซล หรือ โพรคลอราซร่วมกับคาร์เบนดาซิม หรือ คาร์เบนดาซิมร่วมกับแมนโคเซบ ตามอัตราที่ระบุไว้ในฉลาก อย่างไรก็ตาม การใช้สารเคมีสังเคราะห์ในการควบคุมโรคก่อให้เกิดการตกค้างของสารเคมีในผลผลิตซึ่งเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค และก่อให้เกิดความต้านทานต่อการใช้สารเคมี การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเมล็ดด่างของข้าว

Sawatdikarn and Samithiarporn (2011) พบว่าเชื้อ *Trichoderma* sp. และ *Bacillus* sp. สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรคเมล็ดด่างได้แก่ เชื้อ *Curvularia* sp., *Fusarium* sp. และ *Alternaria* sp. ส่วน Charoenrak and Chamswarng (2016) ใช้ชีวภัณฑ์ *Trichoderma asperellum* แช่เมล็ดข้าวและฉีดพ่นช่อดอกเพื่อควบคุมโรคเมล็ดด่าง พบการเกิดโรคเมล็ดด่างลดลงและสามารถเพิ่มผลผลิตข้าวได้ นอกจากนี้ Dhitikiattipong *et al*. (2011) ใช้ผงเชื้อแบคทีเรีย BAK–131 และ BAK–088 (Bacterial powder formulation) ซึ่งให้ผลในการลดการเกิดโรคถอดฝักดาบและเพิ่มผลผลิตของข้าวได้ สำหรับการใช้ร่วมกันของเชื้อปฏิปักษ์มีรายงานของ Yobo *et al*. (2011) ที่แสดงให้เห็นว่า การใช้ร่วมกันของ *Trichoderma* sp. กับ *Bacillus* sp. ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าระดับดิน (Damping–off) ที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ในถั่ว และ Ali and Nadarajah (2014) แสดงให้เห็นว่า การใช้ *Trichoderma* T2 ร่วมกับ *Bacillus substilis* UKM1 สามารถลดความรุนแรงของโรคเน่าระดับดิน (Damping–off) ของข้าวที่เกิดจากเชื้อรา *Magnaporthe grisea* ได้สูงสุด ดังนั้น การทดลองครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของการใช้ *Trichoderma* sp. ร่วมกับ *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคเมล็ดด่างของข้าว

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การแยกและทดสอบความสามารถในการก่อโรคพืช

แยกเชื้อราสาเหตุโรคด้วยวิธี Tissue transplanting technique (Agrios, 2005) จากเมล็ดข้าวที่แสดงอาการโรคเมล็ดด่างจำนวน 6 ตัวอย่างที่พบในพื้นที่อำเภอเมือง อำเภอโกรกพระ และอำเภอชุมแสง จังหวัดนครสวรรค์ โดยตัดชิ้นส่วนเนื้อเยื่อตรงบริเวณคาบเกี่ยวในส่วนที่เป็นโรคและปกติขนาด 0.2 × 0.2 เซนติเมตร ทำการฆ่าเชื้อปนเปื้อนที่ผิวโดยแช่ในSodiumhypochorile ที่มีความเข้มข้น 0.50 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 นาที ล้างชิ้นพืชด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อจำนวน 2 ครั้ง และซับให้แห้ง วางชิ้นพืชบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) จำนวน 10 ชิ้นต่อจานเลี้ยงเชื้อ ทำ 3 ซ้ำ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วัน หลังจากนั้นตรวจนับเชื้อในแต่ละไอโซเลทที่แตกต่างกันบนชิ้นส่วนพืชและแยกเชื้อให้บริสุทธิ์โดยวิธี Single spore isolation บนจานอาหาร PDA ที่เติม Streptomycin แล้วทำการจำแนกชนิดของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ตามลักษณะโครงสร้างและการสร้างเซลล์สืบพันธุ์จากหนังสือ The Coelomycetes (Sutton, 1980) และทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคตามวิธีของ Koch และทำการคัดเลือกไอโซเลทที่ก่อให้เกิดโรครุนแรงเก็บเชื้อไว้ในหลอดอาหารเอียง (slant) ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส (Intana and Chamswarng, 2007)

2. การแยกและจำแนกชนิดเชื้อปฏิปักษ์

แยกเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. จากดินบริเวณรอบราก (Rhizosphere soil) ของต้นข้าว จำนวน 5 ตัวอย่าง ในพื้นที่อำเภอโกรกพระ จังหวัดนครสวรรค์ โดยนำดินในแต่ละตัวอย่างจำนวน 10 กรัม ใส่ลงในขวดแก้วรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 90 มิลลิลิตรและเขย่าที่ 200 รอบต่อนาที (rpm) อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นทำการเจือจางสารละลายดินด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อที่ 10^{-1}–10^{-3} เท่าตามวิธี Serial dilution ดูดสารแขวนลอยเชื้อจำนวน 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงบนอาหาร PDA ที่ผสม Rose bengal (ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร) เกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าบ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน จึงทำการแยกเชื้อราที่มีลักษณะแตกต่างกันเพาะเลี้ยงบนจานอาหาร PDA และทำให้เชื้อบริสุทธิ์ด้วยวิธี Single spore isolation แล้วตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเส้นใยและการจำแนกชนิดของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ตามรายละเอียดที่กล่าวไว้โดย Watanabe (2002)

แยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากใบข้าวในพื้นที่อำเภอพยุหะคีรี จังหวัดนครสวรรค์ โดยนำชิ้นส่วนใบข้าวจำนวน 5 กรัม ใส่ลงในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปริมาตร 45 มิลลิลิตร เขย่าด้วยความเร็ว 120 รอบต่อนาที (rpm) เป็นเวลา 10 นาที ก่อนเจือจางที่ระดับความเข้มข้น 10^{-1}–10^{-3} เท่า ดูดสารแขวนลอยปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เกลี่ยให้ทั่วบนอาหาร Nutrient agar บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียแบบ Single colony isolation โดยนำมา Cross streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA จนได้เชื้อบริสุทธิ์ จากนั้นจำแนกแบคทีเรียเบื้องต้นโดยทำการย้อมแกรม (Gram staining) ย้อมสปอร์ด้วย Malachite green ตรวจสอบลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และศึกษาการสร้างเอนไซม์ Catalase ด้วยไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ และจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. โดยวิธีทางชีวเคมีในการเจริญบนอาหารโดยไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic agar) การย่อยแป้ง (Starch hydrolysis) การย่อยเจลาติน (Gelatin hydrolysis) การย่อยเคซีน (Casein hydrolysis) การใช้โพรพิโอเนทในการเจริญเติบโต (Propionate utilization) การทนเค็มโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ที่ความเข้มข้น 5 และ 7 เปอร์เซ็นต์ การผลิตกรดจาก D–glucose, L–arabinose, D–xylose, D–manitol, Lactose, Tween 40 และ Tween 60 และการใช้แหล่งคาร์บอน 95 ชนิด ด้วยเครื่อง Biolog Microlog System, Release 4.2 (Vos *et al*., 2009)

3. ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อปฏิปักษ์ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรค

ตัวอย่างเชื้อราปฏิปักษ์ที่ได้จากการแยกดินบริเวณรอบรากของต้นข้าวในพื้นที่อำเภอโกรกพระ จังหวัดนครสวรรค์ จำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ *Trichoderma* sp. NS–01, *Trichoderma* sp. NS–02 และ *Trichoderma* sp. NS–03 รวมทั้งตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จำนวน 2 ไอโซเลท คือ ได้แก่ *Bacillus* sp. NS–01และ *Bacillus* sp. NS–02 ที่แยกได้จากใบต้นข้าวในพื้นที่อำเภอพยุหะคีรี จังหวัดนครสวรรค์ นำมาใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Bipolaris oryzae* NS–04 สาเหตุโรคเมล็ดด่าง โดยมีเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทางการค้า คือ *Trichoderma asperellum* CB–Pin–01 และ *Bacillus subtillis* เบอร์ 2 ที่ได้รับความอนุเคราะห์จากห้องปฏิบัติการควบคุมโรคพืชชีวภาพ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน เป็นตัวเปรียบเทียบในแต่ละกลุ่ม โดยการใช้เทคนิค Dual culture ซึ่งมีวิธีการดังนี้ เลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหาร PDA เป็นเวลา 2 วัน ก่อนนำตัวอย่างเชื้อรา *Trichoderma* spp. และแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่บริสุทธิ์ มาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ในแนวตรงกันข้าม ห่างกัน 6.0 เซนติเมตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ บ่มจานเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 วัน (Sawatdikarn and Samithiarporn, 2011) บันทึกผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อสาเหตุโรค และคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (ไม่เติมเชื้อปฏิปักษ์) ตามสูตรการคำนวณดังนี้

$$\text{การยับยั้ง (\%)} = \frac{A - B}{A} = \times 100$$

เมื่อ A คือ เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของราสาเหตุโรคพืชในกรรมวิธีควบคุม และ B คือ เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของราสาเหตุโรคพืชในกรรมวิธีทดสอบ (Jantasorn *et al*., 2016)

4. ทดสอบประสิทธิภาพของผงเชื้อปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคในโรงเรือนปลูกพืช

การเตรียมผงเชื้อปฏิปักษ์ นำเซลล์แขวนลอยของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่ได้จากการเลี้ยงบนอาหาร PDA และขูดเซลล์ผสมกับน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปริมาตร 15 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหารเหลว Molasses yeast medium ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องบนเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 50

รอบต่อนาที (rpm) เป็นเวลา 10 วัน และนำเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่ได้จากการเลี้ยงบนอาหาร NGA และขูดเซลล์ผสมกับน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปริมาตร 15 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Brown sugar yeast extract medium ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องบนเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 50 รอบต่อนาที (rpm) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นทำการปั่นผสมระหว่างเซลล์เชื้อปฏิปักษ์กับสารพาผงทัลคัม จำนวน 230 กรัม (อัตราส่วน 1 : 2) และเติมสารเหนียว Carboxymethy cellulose จำนวน 3.45 กรัม (อัตราส่วน 1 : 100) คลุกเคล้าให้เข้ากัน ผึ่งให้แห้งในตู้เขี่ยเชื้อ และเก็บในถุงฟอยด์ (Bhat *et al*., 2009; Muis, 2006)

กล้าข้าวเจ้าพันธุ์ กข41 (ไม่ต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรค) อายุ 15 วัน นำมาปักดำลงในกระถางปลูก ใส่ปุ๋ยสูตร 16–20–0 ปริมาณ 50 กรัมต่อกอ สูตร 46–0–0 ปริมาณ 12 กรัมต่อกอ และสูตร 0–0–21 ปริมาณ 3 กรัมต่อกอ และรดน้ำจนกระทั่งข้าวเริ่มออกรวง จึงทำการปลูกเชื้อรา *Bipolaris oryzae* NS–04 โดยการฉีดพ่นสปอร์แขวนลอยที่ความเข้มข้น 2 x 10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 3 มิลลิลิตรต่อรวง (เตรียมโดยการเก็บเกี่ยวสปอร์ของเชื้อรา *Bi. oryzae* NS–04 ด้วยการล้างและนำสปอร์เจือจางด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแล้ววัดความเข้มข้นด้วย Haemacytometer) จากนั้นนำถุงพลาสติกคลุมรวงข้าวเป็นเวลา 2 วัน เมื่อนำถุงพลาสติกออกฉีดพ่นด้วยผงเชื้อปฏิปักษ์ (สายพันธุ์ที่แยกได้จากพื้นที่ทดลอง) *Trichoderma* sp. NS–03 (*T. harzianum* จากการจำแนก) หรือผงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. NS–02 (*B. subtillis* จากการจำแนก) ความเข้มข้น 2 x 10^5 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 3 มิลลิลิตรต่อรวง ส่วนกรรมวิธีที่ใช้เชื้อปฏิปักษ์ร่วมกันนั้นใช้สารละลายผงเชื้อ *Trichoderma* sp. NS–03 ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร และสารละลายผงเชื้อ *Bacillus* spp. NS–02 ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) 4 ซ้ำ ซ้ำละ 1 กอ ทำการฉีดพ่นเชื้อปฏิปักษ์ทุก ๆ 7 วัน และหลังฉีดพ่น เป็นเวลา 7 และ 14 วัน ทำการตรวจนับจำนวนเมล็ดด่างทุกรวงและหาเปอร์เซ็นต์เมล็ดด่างเฉลี่ยต่อรวง เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีอามูเร่ 30% w/v EC (โพรพิโคนาโซล + ไดฟีโนโคนาโซล) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (Charoenrak and Chamswarng, 2016)

5. ประสิทธิภาพของผงเชื้อปฏิปักษ์ต่อการควบคุมโรคในแปลงนา

ทำการทดลองในช่วงเดือนพฤษภาคมถึงเดือนสิงหาคม วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ Randomized complete block design (RCBD) จำนวน 3 ซ้ำ (แปลงย่อย) โดยเตรียมแปลงปลูกแบ่งเป็นแปลงย่อย ขนาด 400 ตารางเมตร ทำคันดินขนาดกว้าง 50 เซนติเมตร และสูง 30 เซนติเมตร จำนวน 12 แปลง ทำการปักดำกล้าข้าวเจ้าพันธุ์ กข41 ที่ระยะ 25 × 25 เซนติเมตร ใส่ปุ๋ยจำนวน 3 ระยะ คือ ระยะหลังปักดำใส่ปุ๋ยสูตร 16–20–0 ปริมาณ 20 กิโลกรัมต่อไร่ ระยะหลังแตกกอใส่ปุ๋ยสูตร 46–0–0 ปริมาณ 5 กิโลกรัมต่อไร่ และระยะเริ่มตั้งท้องใส่ปุ๋ยสูตร 46–0–0 และสูตร 0–0–21 อย่างละ 5 กิโลกรัมต่อไร่ เมื่อข้าวเริ่มออกรวงทำการปลูกเชื้อรา *Bipolaris oryzae* NS–04 ที่ความเข้มข้น 2 × 10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ด้วยการฉีดพ่นปริมาตร 20 ลิตรต่อไร่ (เตรียมโดยขยายเชื้อ *Bi. oryzae* NS–04 ในเมล็ดข้าวนึ่งฆ่าเชื้อ เป็นเวลา 10 วัน ล้างสปอร์ของเชื้อ เจือจางด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ หลังจากฉีดพ่นเป็นเวลา 24 ชั่วโมงจึงทำการฉีดพ่นด้วยสารละลายผงเชื้อปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. และ *Bacillus* spp. ที่ผ่านการเจือจางอัตรา 30 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่นในพื้นที่ 1 ไร่ สำหรับในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อปฏิปักษ์ร่วมกันนั้นใช้สารละลายผงเชื้อปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. และ *Bacillus* spp. อย่างละ 15 กรัม เจือจางในน้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่นเชื้อปฏิปักษ์ทุก ๆ 7 วัน หลังฉีดพ่น เป็นเวลา 7, 14 และ 21 วัน ทำการสุ่มกอข้าวตามแนวทแยงมุมทั้ง

สองด้าน ๆ ละ 10 จุด แต่ละจุดมีระยะห่างเท่ากัน แล้วนับจำนวนเมล็ดด่างทุกรวง และหาเปอร์เซ็นต์เมล็ดด่างเฉลี่ยต่อรวง เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีอามูเร่ 30% w/v EC (โพรพิโคนาโซล + ไดฟีโนโคนาโซล) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (Charoenrak and Chamswarng, 2016)

6. การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ผลโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance: ANOVA) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (MRT) ด้วยโปรแกรมสถิติ Sirichai_6

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การแยกและทดสอบความสามารถในการก่อโรคพืช

สามารถแยกเชื้อรา *Bipolaris oryzae* ได้ทั้งหมด 6 ไอโซเลท จากเมล็ดข้าวที่แสดงอาการของโรคเมล็ดด่างจำนวน 6 ตัวอย่าง ที่เก็บมาจากอำเภอเมือง อำเภอโกรกพระ และอำเภอพยุหะคีรี ในจังหวัดนครสวรรค์ เมื่อทดสอบความสามารถในการก่อโรคกับข้าวเจ้าพันธุ์ กข41 อายุ 105 วัน ในระยะออกรวง ทุกไอโซเลทสามารถก่อโรคเมล็ดด่างโดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (Disease incidence) ในช่วง 45.05–88.36 เปอร์เซ็นต์ (Table 1) โดยเฉพาะไอโซเลท *Bi. oryzae*–NS–04 ที่ทำให้เกิดโรคเมล็ดด่างสูงสุดที่ 88.36 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งถูกเลือกใช้เป็นเชื้อโรคในการทดลองของการควบคุมโดยเชื้อปฏิปักษ์

Table 1 Place of collection and disease incidence of *Bipolaris oryzae* isolates after inoculation for 7 days

Treatment	Place of collection	Disease incidence (%)
B. oryzae NS–01	Mueang district	45.05[d1/]
B. oryzae NS–02	Mueang district	48.24[d]
B. oryzae NS–03	Krok Phra district	73.51[b]
B. oryzae NS–04	Krok Phra district	88.36[a]
B. oryzae NS–05	Phayuha Khiri district	61.26[c]
B. oryzae NS–06	Phayuha Khiri district	59.43[c]
Sterile distilled water (Control)	–	1.04[e]
F–test		**
CV (%)		6.52

[1/]Mean values within the same columns followed by the same letter are not significantly different according to the Duncan's new multiple range test ($P < 0.01$)

2. การแยกและจำแนกชนิดเชื้อ *Trichoderma* spp. และ *Bacillus* spp.

สามารถแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ได้จำนวน 3 ไอโซเลท โดย *Trichoderma* sp NS–01 และ *Trichoderma* sp NS–02 เป็นเชื้อรา *T. viride* และ *Trichoderma* sp NS–03 เป็น *T. harzianum* ตามลักษณะโครงสร้างที่ได้กล่าวไว้โดย Watanabe (2002) และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่แยกได้

จำนวน 2 ไอโซเลท เป็นพวกที่มีขนาดเซลล์น้อยกว่า 1 μm สปอร์เป็นรูปวงรีที่ไม่ทำให้เซลล์โป่ง โดยแบคทีเรีย *Bacillus* sp. NS–01 เป็น Aerobic bacterium (ไม่เจริญใน Anaerobic agar) สามารถย่อยแป้ง (Starch hydrolysis) ย่อยเจลาติน (Gelatin hydrolysis) ย่อยเคซีน (Casein hydrolysis) ไม่ทนเค็มของโซเดียมคลอไรด์ ที่ความเข้มข้น 5 และ 7 เปอร์เซ็นต์ ผลิตกรดจาก D–glucose, L–arabinose, D–xylose, D–manitol, Lactose, Tween 40 และ Tween 80 และผลการเจริญเติบโตในแหล่งคาร์บอนจากเครื่อง Biolog Microlog System, Release 4.2 แสดงให้เห็นว่าเป็น *B. amyloliquefaciens* ส่วน *Bacillus* spp. NS–02 เป็น Aerobic bacterium ที่สามารถย่อยแป้ง ย่อยเจลาติน และย่อยเคซีน ไม่ทนเค็มของโซเดี่ยมคลอไรด์ ที่ความเข้มข้น 5 และ 7 เปอร์เซ็นต์ ผลิตกรดจาก D–glucose, L–arabinose, D–xylose และ D–manitol และผลการเจริญเติบโตในแหล่งคาร์บอนจากเครื่อง Biolog Microlog System, Release 4.2 แสดงให้เห็นว่าเป็น *B. subtillis* (Vos *et al*., 2009)

3. ประสิทธิภาพของเชื้อปฏิปักษ์ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรค

การทดสอบประสิทธิภาพแต่ละไอโซเลทของเชื้อรา *Trichoderma* spp. และแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Bipolaris oryzae* บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคเท่ากับ 26.74–81.01 เปอร์เซ็นต์ โดยกลุ่มเชื้อรา *Trichoderma* spp. ให้ผลในการยับยั้งมากกว่ากลุ่มแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ซึ่งไอโซเลท *Trichoderma* sp. NS–03 มีความสามารถในการยับยั้งการเกิดโรคที่ 79.83 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับ *Trichoderma asperellum* CB–Pin–01 (ทางการค้า) ในขณะที่แบคทีเรียไอโซเลท *Bacillus* sp. NS–02 สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้ที่ 36.42 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับ *Bacillus* sp. No–2 ทางการค้า (Table 2) สอดคล้องกับการทดลองของ Sawatdikarn and Samithiarporn (2011) ที่พบว่า *Trichoderma* spp. สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่าง (*Alternaria* sp.) ได้โดยการคลุมทับอย่างสมบูรณ์ ในขณะที่ *Bacillus* spp. มีการยับยั้งได้ที่ 36 เปอร์เซ็นต์ สำหรับกลไกในการยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคเกิดจากเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. พันรัดและเจาะเข้าไปทำลายเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรค (Mycoparasitism) นอกจากนี้ เชื้อรา *Trichoderma* spp. มีความสามารถในการแข่งขัน (Competition) การใช้ธาตุอาหารได้ดีกว่า (Benítez *et al*., 2004) ส่วนกลไกในการยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. เกิดจากการสร้างเอนไซม์และสารปฏิชีวนะ (Antibiotics) ซึ่ง Nagy *et al*. (2012) กล่าวว่า *Bacillus* spp. สามารถสร้างสารปฏิชีวนะหลายชนิด ได้แก่ Iturin A, Bacilomycin, Mycosubtilin Fungistatin และ Subsporin เป็นต้น

Table 2 Effects of *Trichoderma* spp. and *Bacillus* spp. to inhibit mycelial growth of *Bipolaris oryzae*

Treatments	Mycelial growth inhibition (%)
Trichoderma sp. NS–01	26.74[c1/]
Trichoderma sp. NS–02	71.77[b]
Trichoderma sp. NS–03	79.83[ab]
T. asperellum CB–Pin–01 (Commercial strain)	81.01[a]
F–test	**
CV (%)	6.59
Bacillus sp. NS–01	26.78[b]
Bacillus sp. NS–02	36.42[a]
Bacillus sp. No–2 (Commercial strain)	37.56[a]
F–test	**
CV (%)	7.13

[1/]Mean values within the same columns followed by the same letter are not significantly different according to the Duncan's new multiple range test (P < 0.01)

4. ประสิทธิภาพของผงเชื้อปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคในโรงเรือนปลูกพืช

การทดสอบประสิทธิภาพของผงเชื้อปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเมล็ดด่างที่เกิดจากเชื้อรา *Bipolaris oryzae* NS–04 ในสภาพโรงเรือน พบว่า หลังการฉีดพ่นด้วยผงเชื้อรา *Trichoderma* spp. และผงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. เป็นเวลา 7 วัน สามารถลดการเกิดโรคได้ 35.68–62.72 เปอร์เซ็นต์ จึงมีการเกิดโรคเพียง 30.18–52.07 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำผงเชื้อปฏิปักษ์ทั้งสองชนิด คือ *Trichoderma* sp. NS–03 และผงเชื้อ *Bacillus* sp. NS–02 ใช้ร่วมกันสามารถลดการเกิดโรคได้สูง (62.72 เปอร์เซ็นต์) โดยมีการเกิดโรคเมล็ดด่างต่ำเท่ากับ 30.18 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีอามูเร่ 30% w/v EC (โพรพิโคนาโซล + ไดฟีโนโคนาโซล) ซึ่งมีการเกิดโรคต่ำที่ 29.89 เปอร์เซ็นต์ ในขณะกรรมวิธีควบคุม (น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ) มีการเกิดโรคเมล็ดด่างสูงสุดที่ 80.95 เปอร์เซ็นต์ และหลังการฉีดพ่นเป็นเวลา 14 วัน พบว่า ผงเชื้อปฏิปักษ์ (*Trichoderma* sp. NS–03 และ *Bacillus* sp. NS–02) สามารถลดการเกิดโรคได้ 47.67–72.98 เปอร์เซ็นต์ และมีการเกิดโรคเท่ากับ 22.36–43.30 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำผงเชื้อ *Trichoderma* sp. NS–03 กับผงเชื้อ *Bacillus* sp. NS–02 ใช้ร่วมกันมีการเกิดโรคเมล็ดด่างต่ำที่ 22.36 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีอามูเร่ (การเกิดโรคที่ 21.75 เปอร์เซ็นต์) ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมมีการเกิดโรคเมล็ดด่างสูงสุดที่ 82.74 เปอร์เซ็นต์ (Table 3) ซึ่งมีรายงานว่า *Trichoderma* spp. สามารถควบคุมโรคใบจุดสีน้ำตาลที่เกิดจากเชื้อรา *Bi. oryzae* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Abdel-Fattah *et al*., 2007) และ Dhitikiattipong *et al*. (2011) พบว่า แบคทีเรีย *Bacillus* spp. สามารถควบคุมโรคเมล็ดด่างของข้าวได้ นอกจากนี้ งานวิจัยของ Suryadi *et al*. (2013) แสดงให้เห็นว่า ผงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. (Talcum formulation of *Bacillus firmus* E65) สามารถลดความรุนแรงโรคไหม้ (Blast disease) และกาบใบแห้ง (Sheath blight) ของข้าวในสภาพโรงเรือนได้

Table 3 Effects of *Trichoderma* spp. and *Bacillus* spp. powders to control dirty panicle disease in green house

Treatments	Disease incidence at 7 days	Disease incidence at 14 days
Trichoderma sp. NS–03	43.77[c1/] (–45.93%)[2/]	36.54[c] (–55.84%)
Bacillus sp. NS–02	52.07[b] (–35.68%)	43.30[b] (–47.67%)
Trichoderma sp. NS–03 + *Bacillus* sp.NS–02	30.18[d] (–62.72%)	22.36[d] (–72.98%)
Armure fungicide	29.89[d] (–63.08%)	21.75[d] (–73.71%)
Untreated control	80.95[a]	82.74[a]
CV	8.43	9.12
LSD	6.22	6.14

[1/] Mean values within the same columns followed by the same letter are not significantly different according to the Duncan's new multiple range test (P < 0.01)

[2/] Percentage of decrease reduction (–) of each treatment mean when compared with untreated control

5. ประสิทธิภาพของผงเชื้อปฏิปักษ์ต่อการควบคุมโรคในแปลงนา

การควบคุมโรคเมล็ดด่างที่เกิดจากเชื้อรา *Bipolaris oryzae* NS–04 ในสภาพแปลงปลูก หลังการฉีดพ่นสารละลายผงเชื้อปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. NS–03 และ *Bacillus* sp. NS–02 เป็นเวลา 7 วัน พบว่า สามารถลดการเกิดโรคได้โดยมีเกิดโรคต่ำที่ 25.86–43.14 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่เกิดโรคสูงสุดที่ 65.88 เปอร์เซ็นต์ ซึ่ง Phraomas and Chamswarng (2016) ที่ใช้สารละลายชีวภัณฑ์ *Trichoderma asperellum* CB–Pin–01 แช่เมล็ดข้าวและฉีดพ่นช่อดอกข้าวทำให้โรคเมล็ดด่างลดลงและเพิ่มผลผลิตข้าวได้ไม่แตกต่างกับการใช้สารเคมีสังเคราะห์ ส่วนหลังการฉีดพ่นเชื้อปฏิปักษ์ เป็นเวลา 14 วัน พบว่า มีเกิดโรคต่ำที่ 20.24–37.56 เปอร์เซ็นต์ โดยเฉพาะการใช้ร่วมกันของสารละลายผงเชื้อปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. NS–03 และ *Bacillus* sp. NS–02 มีการเกิดโรคเมล็ดด่างต่ำเพียง 20.24 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีอามูเร่ 30% w/v EC (โพรพิโคนาโซล + ไดฟีโนโคนาโซล) ซึ่งมีการเกิดโรคต่ำที่ 19.89 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่กรรมวิธีควบคุม (Untreated control) มีการเกิดโรคเมล็ดด่างสูงสุดที่ 69.46 เปอร์เซ็นต์ และหลังการฉีดพ่นเป็นเวลา 21 วัน พบว่า การใช้สารละลายผงเชื้อปฏิปักษ์ (*Trichoderma* spp. และ *Bacillus* spp.) มีการเกิดโรคต่ำที่ 18.43 –33.30 เปอร์เซ็นต์ โดยเฉพาะการใช้ร่วมกันของสารละลายผงเชื้อปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. NS–03 และ *Bacillus* sp. NS–02 มีการเกิดโรคเมล็ดด่างต่ำที่ 18.43 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีอามูเร่ (การเกิดโรคที่ 17.75 เปอร์เซ็นต์) ในขณะที่กรรมวิธีควบคุม มีการเกิดโรคเมล็ดด่างสูงสุดที่ 71.87 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้หลังการเก็บเกี่ยว พบว่า การใช้ร่วมกันของสารละลายผงเชื้อปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. NS–02 และ *Bacillus* sp. NS–02 ให้ผลผลิตข้าวสูงสุดที่ 940.50 กิโลกรัมต่อไร่ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีอามูเร่ ที่ให้ผลผลิต 970.34 กิโลกรัมต่อไร่

ในขณะที่กรรมวิธีควบคุม ให้ผลผลิตข้าวต่ำสุดที่ 697.50 (Table 4) สอดคล้องกับการทดลองของ Ali and Nadarajah (2014) ที่รายงานว่า การใช้ *Trichoderma* T2 ร่วมกับ *Bacillus substilis* UKM1 ลดความรุนแรงของโรคเน่าระดับดิน (Damping–off) ของข้าวที่เกิดจากเชื้อรา *Magnaporthe grisea* ได้สูงสุด และ Yobo *et al*. (2011) ได้รายงานว่า กลไกการควบคุมโรคของ *Trichoderma* sp. ที่แตกต่างกันกับ *Bacillus* sp. ทำให้ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าระดับดินที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* มากกว่าการใช้เชื้อปฏิปักษ์เพียงชนิดเดียว

Table 4 Effects of *Trichoderma* spp. and *Bacillus* spp. powders to control dirty panicle disease in field

Treatments	Disease incidence at 7 days	Disease incidence at 14 days	Disease incidence at 21 days	Rice yield (kilogram/rai)
Trichoderma sp. NS–03	35.26 [b1/]	32.87 [bc1/]	28.75 [bc]	789.25 [b]
Bacillus sp. NS–02	43.14 [c]	37.56 [b]	33.30 [b]	750.42 [b]
Trichoderma sp. NS–03 + *Bacillus* sp. B–NS–02	25.86 [d]	20.24 [c]	18.43 [c]	940.50 [a]
Armure fungicide	20.53 [e]	19.89 [c]	17.75 [c]	970.34 [a]
Untreated control	65.88 [a]	69.46 [a]	71.87 [a]	697.50 [c]
CV	9.95	10.42	10.16	16.22
LSD	5.48	5.59	5.34	198.41

[1/]Mean values within the same columns followed by the same letter are not significantly different according to the Duncan's new multiple range test ($P < 0.01$)

สรุป

ในกลุ่มเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. พบว่า ไอโซเลท *Trichoderma* sp. NS–03 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อรา *Bipolaris oryzae* NS–04 สาเหตุโรคเมล็ดด่างได้ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับ *Trichoderma asperellum* CB–Pin–01 (ทางการค้า) ในขณะที่แบคทีเรียไอโซเลท *Bacillus* sp. NS–02 สามารถยับยั้งได้ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับ *Bacillus* sp. No–2 (ทางการค้า) เนื่องจากไอโซเลท *Trichoderma* sp. NS–03 เป็น *T. harzianum* และ *Bacillus* sp. NS–02 เป็น *B. subtillis* ในการจัดจำแนกชนิดเชื้อปฏิปักษ์ เมื่อนำผงเชื้อ *Trichoderma* sp. NS–03 กับผงเชื้อ *Bacillus* sp. NS–02 มาใช้ร่วมกันสามารถควบคุมโรคเมล็ดด่างและให้ผลผลิตข้าวสูงไม่มีความแตกต่างกับการใช้สารเคมีอามูเร่ ทั้งในสภาพโรงเรือนและแปลงปลูกข้าว

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์ ซึ่งคณะผู้วิจัยขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัย

ราชภัฏนครสวรรค์ เป็นอย่างยิ่ง และขอขอบคุณ สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์ ที่อำนวยความสะดวกในด้านสถานที่และเครื่องมือในการทำงานวิจัย ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

Abdel–Fattah, G.M., Y.M. Shabana, A.E. Ismail and Y.M. Rashad. 2007. *Trichoderma harzianum*: a biocontrol agent against *Bipolaris oryzae*. Mycopathologia 164(2): 81–89.

Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology (5th ed). Academic Press., New York. 922 p.

Ali, H. and K. Nadarajah. 2014. Evaluating the efficacy of *Trichoderma* spp. and *Bacillus substilis* as biocontrol agents against *Magnaporthe grisea* in rice. Aust. J. Crop Sci. 8(9): 1324–1335.

Bhat, K.A., A. Anwar, G.M. Lone, K. Hussain and G. Nazir. 2009. Shelf life of liquid fermented product of *Trichoderma harzianumin* talc. J. Mycol. Pl. Pathol. 39(2): 263–265.

Benítez, T., A. Rincón, M. Limón and A. Codón. 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. Int. Microbiol. 7(4): 249–260.

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. Agri. Nat. Res. 50: 243–249.

Dhitikiattipong, R., W. Khemmuk, W. Rattanakarn and N. Boonmee. 2011. Effectiveness of antagonistic bacteria and some plant extract to control seed discoloration of rice. p. 242–247. *In* Proc. Rice Research Center Groups in Upper and Lower Northern Region, Thailand. (in Thai)

Dhitikiattipong, R., P. Srikoom, W. Rattanakarn and W. Khemmuk. 2011. Efficacy of powder formulation of antagonistic bacteria to control rice bakanae disease in the field. Agricultural Sci. J. 42 (2) (Suppl.): 157–160.

Muis, A. 2006. Biomass production and formulation of *Bacillus subtilis* for biological control. Indones. J. Agric. Sci. 7(2): 51–56.

Jaisong, S. 2010. Detection of Seedborne Fungi on Rice Seeds and Application of Test Results for Seed Treatment Decision. MS Thesis, Kasetsart University, Bangkok, Thailand (in Thai)

Jantasorn, A., J. Mongon, B. Moungsrimuangdee and T. Oiuphisittraiwat. 2016. Antifungal activity of *Talaromyces flavus* Bodhi001 and *Talaromyces trachyspermus* Bodhi002 crude extracts isolated from riparian forest soils against plant pathogenic fungi causing economic crop diseases. Agricultural Sci. J. 47(2): 121–131. (in Thai)

Intana, W. and C. Chamswarng. 2007. Control of Chinese–kale damping–off caused by *Pythium aphanidermatum* by antifungal metabolites of *Trichoderma virens*. Songklanakarin J. Sci. Technol. 29(4): 919–927. (in Thai)

Sawatdikarn, S. and S. Samithiarporn. 2011. Effects of antagonistic microorganisms on growth of pathogenic fungus of Dirty panicle disease in rice. Agricultural Sci. J. 42(2) (Suppl.): 169–172. (in Thai)

Suryadi, Y., D.N. Susilowati, T.S. Kadir, Z.R. Zaffan, N. Hikmawati and N.R. Mubarik. 2013. Bioformulation of antagonistic bacterial consortium for controlling blast, sheath blight and bacterial blight diseases on rice. Asian J. Plant Pathol. 7(3): 92–108.

Sutton, B.C. 1980. The Coelomycetes. Kew: Commonweath Mycological Institute. 696 p.

Thai Rice Exporters Association. 2017. Export statistics. Available Source: http://www.thairiceexporters.or.th /default_th.htm, August 27, 2017.

Vos, P., G. Garrity, D. Jones, N.R. Krieg, W. Ludwig, F.A. Rainey, K.H. Schleifer and W.B. Whitman. 2009. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume 3: The Firmicutes (Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Springer–Verlag)) 2nd Edition. 323 pp.

Watanabe, T. 2002. *Trichoderma* spp. Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi: Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species, 2; CRC Press LLC, USA. 486 pp.

Yobo, K.S., M.D. Laing and C.H. Hunter. 2011. Effects of single and combined inoculations of selected *Trichoderma* and *Bacillus* isolates on growth of dry bean and biological control of *Rhizoctonia solani* damping–off. Afr. J. Biotechnol. 10(44): 8746–8756.