



รายงานผลการวิจัย

เรื่อง ประสิทธิภาพของเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ในการควบคุมโรคขอบใบแห้งของข้าว
Efficiency of Endophytic Actinomycetes in Controlling Bacterial Leaf Blight of Rice

ได้รับการจัดสรรงบประมาณ ประจำปี 2561
จำนวน 50,000 บาท

หัวหน้าโครงการ นางสาวนัตริสุดา เผือกใจแผ้ว

งานวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์

สารบัญ

หน้า

สารบัญตาราง	๗
สารบัญภาพ	๘
บทคัดย่อ	1
Abstract	2
คำนำ	3
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
การตรวจเอกสาร	5
อุปกรณ์และวิธีการ	11
ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย	14
สรุปผลการวิจัย	23
เอกสารอ้างอิง	23

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1	
จำนวนไอโซเลทของเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโคไฟต์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ของชะพลูที่รวบรวมจาก 3 แหล่งธรรมชาติ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP-2 บ่มไว้เป็นเวลา 30 วัน	15
ตารางที่ 2	
เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคขอบใบแห้งและเปอร์เซ็นต์การลดความรุนแรงในการเกิดโรคด้วยเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโคไฟต์ไอโซเลท PIP5 และ PIP21 ในระดับโรงเรียน	22



สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1	12
ตำแหน่งการวางชิ้นวุ้นที่มีเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์เจริญอยู่และ ชุดควบคุมที่เป็นชิ้นวุ้นเปล่าบนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar ที่มีเชื้อ แบคทีเรีย <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> สาเหตุโรคขอบใบแห้งของ ข้าวเจริญอยู่	
ภาพที่ 2	14
แหล่งรวบรวมชะพลูในตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่	
ภาพที่ 3	15
ลักษณะโคโลนีของเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่เจริญออกจากส่วน ใบและลำต้นของชะพลู บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP-2 บ่มไว้เป็นเวลา 30 วัน	
ภาพที่ 4	16
ลักษณะผิวหน้าโคโลนีที่มีสีขาวและสีขาวเปลือกไข่ของเชื้อแอกติโนไม ซีสต์เอนโดไฟต์	
ภาพที่ 5	17
ลักษณะอาการขอบใบแห้งของข้าว	
ภาพที่ 6	18
ลักษณะ โคโลนีของเชื้อแบคทีเรีย <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> สาเหตุโรคขอบใบแห้งของข้าวพันธุ์ขาวหอมมะลิ 105 บนอาหารเลี้ยง เชื้อ NA เป็นเวลา 2 วัน	
ภาพที่ 7	18
ลักษณะ โคโลนีของเชื้อแบคทีเรีย <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> สาเหตุโรคขอบใบแห้งของข้าวพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA เป็นเวลา 2 วัน	
ภาพที่ 8	18
ลักษณะ โคโลนีของเชื้อแบคทีเรีย <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> สาเหตุโรคขอบใบแห้งของข้าวพันธุ์เหนียวสันป่าตอง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA เป็นเวลา 2 วัน	
ภาพที่ 9	19
การทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อแบคทีเรีย <i>Xanthomonas</i> <i>oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> กับข้าวพันธุ์หอมมะลิ 105 อายุ 40 วัน	

สารบัญภาพ (ต่อ)

	หน้า
ภาพที่ 10 การทดสอบความเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อแบคทีเรีย <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> ที่แยกได้จากชะพลูต่อเชื้อแบคทีเรีย <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA เป็นเวลา 3 วัน	20
ภาพที่ 11 ลักษณะการเกิดโรคขอบใบแห้งจากเชื้อแบคทีเรีย <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> บน ใบข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในชุดควบคุม และการคลุกเมล็ดพันธุ์และพันธุ์ด้วยเชื้อแบคทีเรีย <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> ไอโซเลต PIP5 และ PIP21	22

ประสิทธิภาพของเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ในการควบคุมโรคขอบใบแห้งของข้าว
Efficiency of Endophytic Actinomycetes in Controlling Bacterial Leaf Blight of Rice

ฉัตรสุดา เผือกใจแก้ว
Chatsuda Phuakjaiphaeo

คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

บทคัดย่อ

จากการแยกเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์จากส่วนใบ ลำต้น ดอก และรากของชะพลู
บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP-2 พบว่าสามารถแยกเชื้อได้จำนวน 37 ไอโซเลต (PIP1 - PIP37) โดยแยกได้
จากส่วนใบมากที่สุด 13 ไอโซเลต จากนั้นนำเชื้อทั้งหมดไปทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการ
เจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้งของข้าวในระดับ
ห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี agar diffusion method บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA พบว่า เชื้อแอคติโนไมซีสต์
เอนโดไฟต์ไอโซเลต PIP5 และ PIP21 สามารถสร้างบริเวณยับยั้งได้มากที่สุด ขนาด 14 และ 10
มิลลิเมตร ตามลำดับ จากนั้นทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ไอโซเลต
PIP5 และ PIP21 ในการควบคุมโรคขอบใบแห้งของข้าวพันธุ์ขาวหอมดอกมะลิ 105 ในระดับ
โรงเรือน ด้วยวิธีคลุกเมล็ดร่วมกับการพ่นใบข้าว จำนวน 2 ครั้ง แล้วปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค
ด้วยวิธีการตัดปลายใบข้าว พบว่า เชื้อไอโซเลต PIP5 สามารถลดเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงในการเกิด
โรคขอบใบแห้งมากที่สุด 62.41 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับเชื้อไอโซเลต
PIP21 ที่ลดเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงในการเกิดโรคได้ 61.54 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุด
ควบคุม ผลจากการศึกษานี้สามารถนำเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ทั้งสองไอโซเลตไปต่อยอด
ใช้ในการควบคุมแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้งของข้าวต่อไป

คำสำคัญ: เชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ ชะพลู โรคขอบใบแห้งของข้าว การควบคุมโรคโดยชีววิธี

Abstract

Endophytic actinomycetes were isolated from leaves, stems, flowers and roots of *Piper sarmentosum* on ISP-2 medium. Thirty-seven isolates were recovered, namely PIP1 - PIP37, which endophytic actinomycetes were most abundant in leaf tissues ($n = 13$). All actinomycetes isolates were determined against *X. oryzae* pv. *oryzae* caused bacterial leaf blight disease of rice in vitro by using agar diffusion method on NA medium. Only PIP5 and PIP21 isolates capable to inhibit the pathogenic bacterium with 14 and 10 mm inhibition diameter, respectively. After that, the biological control of bacterial leaf blight of rice cv. KDML105 in greenhouse was evaluated by using seed treatment and leaf spraying twice with the PIP5 and PIP21 isolates. The rice-leaves in the PIP5 treatment after pathogen inoculation exhibited the best disease reduction at 62.41 % which no significant difference with the treatment of PIP21 (61.54 %). The obtained results can be used for further development to control bacterial blight of rice.

Keywords: endophytic actinomycetes, *Piper sarmentosum*, Bacterial leaf blight disease of rice, biological control

คำนำ

ข้าวนับได้ว่าเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญทั้งต่อการบริโภคภายในประเทศ และการส่งออกสู่ตลาดโลก ในปี พ.ศ. 2560 มีปริมาณการส่งออก 11.48 ล้านตัน เพิ่มขึ้นจากปีที่ผ่านมาถึง 15.84 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งคิดเป็นมูลค่าส่งออก 5,106 ล้านดอลลาร์สหรัฐ คิดเป็นเงินไทยมูลค่า 1.72 แสนล้านบาท (กรมการค้าต่างประเทศ, 2561) แต่ปัจจุบัน การผลิตข้าวประสบกับปัญหาและอุปสรรคมากขึ้น โดยเฉพาะปัญหาด้านโรคพืช ซึ่งหนึ่งในโรคที่สำคัญ ได้แก่ โรคขอบใบแห้งของข้าวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ที่ระบาดในนาข้าว สามารถเข้าทำลายต้นได้ทุกระยะการเจริญเติบโต ตั้งแต่ระยะกล้า แตกกอ ออกรวง รวมถึงสามารถถ่ายทอดทางเมล็ดพันธุ์ได้อีกด้วย ส่งผลให้ปริมาณผลผลิตข้าวลดลงมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และคุณภาพผลผลิตตกต่ำ ไม่เป็นที่ต้องการของท้องตลาด โดยการจัดการปัญหาโรคนี้นิยมนำใช้สารเคมีเกษตรเป็นจำนวนมาก ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของสำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร (2561) ปี พ.ศ. 2560 ประเทศไทยมีการนำเข้าวัตถุดิบทรายทางการเกษตร ประเภทสารป้องกันและกำจัดโรคพืช มูลค่า 6,865 ล้านบาท ซึ่งมีปริมาณเพิ่มขึ้นจากปี พ.ศ. 2550 มากถึง 73.30 เปอร์เซ็นต์ แต่การจัดการโรคด้วยสารเคมีเกษตรยังมีข้อจำกัด เนื่องจากเชื้อสาเหตุโรคพืชมีความหลากหลายและสามารถเกิดความต้านทานต่อสารเคมีได้ง่าย โดยเฉพาะแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช ผสมกับการใช้สารเคมีอย่างไม่ถูกต้องเหมาะสม และใช้ต่อเนื่องเป็นเวลานานของเกษตรกร นอกจากนี้การใช้สารเคมีเกษตรในการควบคุมโรคพืชนั้น ยังเป็นเหตุก่อให้เกิดปัญหาตามมาอีกหลายด้าน ไม่ว่าจะเป็นสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อมทั้งดินและน้ำ ผลผลิตทางการเกษตร เป็นอันตรายต่อเกษตรกรและผู้บริโภค ส่งผลให้เกิดการดื้อยาของเชื้อสาเหตุโรค รวมทั้งยังเป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิตของเกษตรกรอีกด้วย ปัจจุบันได้มีการพัฒนาเทคนิคและวิธีการเพื่อการควบคุมโรคพืชให้มีประสิทธิภาพและสามารถนำไปใช้ได้จริง สำหรับลด หรือทดแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์ รวมทั้งผู้บริโภคให้ความสำคัญเกี่ยวกับปัญหาสุขภาพและใส่ใจต่อสภาพแวดล้อมมากยิ่งขึ้น ด้วยเหตุนี้การจัดการโรคพืชโดยชีววิธีจึงเป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถลดปัญหาดังกล่าวได้ โดยการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีคุณสมบัติและความสามารถสร้างสารปฏิชีวนะเป็นตัวควบคุมเชื้อสาเหตุโรค เพื่อทดแทนหรือลดปริมาณการใช้สารเคมีเกษตรให้น้อยลง

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อคัดเลือกเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่มีคุณสมบัติในการควบคุมเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ในระดับห้องปฏิบัติการ
2. เพื่อประยุกต์ใช้เชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่คัดเลือกได้ควบคุมโรคขอบใบแห้งของข้าวในระดับโรงเรือน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. องค์ความรู้ในการควบคุมโรคขอบใบไหม้ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *X. oryzae* pv. *oryzae* ด้วยเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์
2. ตอบสนองต่อ Roadmap การพัฒนามหาวิทยาลัย ด้านเกษตรอินทรีย์ ด้วยการควบคุมโรคโดยชีววิธี
3. เกษตรกรสามารถลดต้นทุนการซื้อสารเคมีเกษตรในการควบคุมโรคของข้าว และมีแนวโน้มในการลดต้นทุนในระบบการผลิตข้าวอีกด้วย
4. การใช้จุลินทรีย์ประยุกต์ในการควบคุมโรคพืชถือเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ไม่เป็นอันตรายต่อผลิตผลทางการเกษตร เกษตรกร และผู้บริโภค

การตรวจเอกสาร

โรคขอบใบแห้ง

โรคขอบใบแห้ง (bacterial leaf blight disease or bacterial blight disease) สาเหตุเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ซึ่งพบการเกิดโรคมามากในนาข้าว นาชลประทานทางภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ของประเทศไทย เชื้อแบคทีเรียนี้สามารถเข้าทำลายและแสดงอาการของโรคได้ตั้งแต่ระยะกล้า แดกกอ จนถึงออกรวง และแพร่ระบาดไปกับน้ำในสภาพแวดล้อมที่มีความชื้นสูง และสภาพที่มีฝนตก ลมพัดแรง จะช่วยให้การแพร่ระบาดรวดเร็วและขยายเป็นวงกว้าง โดยพันธุ์ข้าวที่มีความต้านทานต่อโรคนี้ เช่น พันธุ์สุพรรณบุรี 60 สุพรรณบุรี 90 สุพรรณบุรี 1 สุพรรณบุรี 2 กข7 และ กข23 ส่วนพันธุ์ข้าวที่อ่อนแอต่อโรค เช่น พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 กข6 เหนียวสันป่าตอง พิชญ์โลก 2 และ ชัยนาท 1 (กรมการข้าว, 2561)

ลักษณะอาการของโรคขอบใบแห้ง ต้นกล้าก่อนนำไปปักดำจะมีจุดเล็ก ๆ ลักษณะซ้ำที่ขอบใบของใบล่าง ต่อมาประมาณ 7 - 10 วัน จุดซ้ำนี้จะขยายกลายเป็นทางสีเหลืองตามใบข้าว ใบที่เป็นโรคจะแห้งเร็ว และสีเขียวจะจางลงเป็นสีเทา ๆ อาการในระยะปักดำจะแสดงหลังปักดำแล้วประมาณ 45 วัน ใบที่เป็นโรค ขอบใบมีรอยขีดซ้ำ ต่อมาจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ที่แผลมีหยดน้ำสีครีมคล้ายยางสนกลม ๆ ขนาดเล็กเท่าหัวเข็มหมุด ต่อมาจะกลายเป็นสีน้ำตาลและหลุดไปตามลม น้ำหรือฝน ซึ่งจะทำให้โรคสามารถระบาดต่อไปได้ แผลจะขยายไปตามความยาวของใบ บางครั้งขยายเข้าไปข้างในตามความกว้างของใบ ขอบแผลมีลักษณะเป็นขอบลายหยัก แผลนี้เมื่อนานไปจะเปลี่ยนเป็นสีเทา ใบที่เป็นโรค ขอบใบจะแห้งและม้วนตามความยาว ในกรณีที่เชื้อมีปริมาณสูงเข้าทำลาย ทำให้อาหารขาดอาหารอุดตัน ต้นข้าวทั้งต้นจะเหี่ยวเฉาและตายโดยเร็ว เรียกอาการของโรคนี้ว่า ศรีเสก (กรมการข้าว, 2561)

การป้องกันกำจัดโรคขอบใบแห้งของข้าว ได้แก่

- 1) ไม่ควรใส่ปุ๋ยไนโตรเจนมากในดินที่อุดมสมบูรณ์อยู่แล้ว
- 2) ไม่ควรระบายน้ำจากแปลงที่เป็นโรคไปสู่แปลงอื่น
- 3) ควรเฝ้าระวังการเกิดโรคหากปลูกข้าวพันธุ์ที่อ่อนแอต่อโรค เช่น พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 กข6 เหนียวสันป่าตอง พิชญ์โลก 2 ในกรณีที่ปลูกข้าวพันธุ์ไม่ต้านทานต่อโรค ควรเฝ้าระวังการเกิดโรค และใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช เสด์ฟโตมัยซินซัลเฟต + ออกซีเตตราไซคลินไฮโดรคลอไรด์ หรือ คอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ หรือ ไอโซโพรไทโอเลน เมื่อเริ่มพบอาการของโรคบนใบข้าว

เชื้อแอกติโนไมซีสต์

แอกติโนไมซีสต์เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีลักษณะเป็นเส้นสาย จัดอยู่ใน Order Actinomycetales โดยแตกต่างจากเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกทั่วไป คือ มีปริมาณของกัวนินและไซโตซีน (G+C) สูง ประมาณ 57 - 75 mol% เชื้อแอกติโนไมซีสต์เป็นจุลินทรีย์มีลักษณะคล้ายกับเชื้อรา คือ สร้างเส้นใย (mycelium) ที่ประกอบด้วย hypha ที่แตกกิ่งก้าน เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 ไมโครเมตร แต่มีขนาดเล็กกว่าเชื้อราที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 - 10 ไมโครเมตร นอกจากนี้ยังสร้างสปอร์แบบไม่อาศัยเพศ เรียกว่า โคนิดิโอสปอร์ (conidiospore) หรือโคนิเดีย (conidia) ซึ่งทำให้โคโลนีของเชื้อแอกติโนไมซีสต์มีลักษณะเป็นฝุ่นหรือผงคล้ายผงแป้งหรือผงชอล์ก และยังมีลักษณะอื่น ๆ ที่คล้ายเชื้อรา เช่น เมื่อเจริญในอาหารเหลวจะมีลักษณะเป็นกลุ่มก้อน ไม่เจริญกระจุกกระจายเหมือนแบคทีเรีย และยังมีลำดับการเพิ่มจำนวนแบบเดียวกับรา คือ apically ซึ่งแตกต่างจากแบคทีเรียที่เป็นแบบ exponential

แบคทีเรียหลายชนิดในกลุ่มแอกติโนไมซีสต์มีความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiotic) ที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้หลายชนิด เช่น ยับยั้งการเจริญของเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช ส่วนใหญ่เชื้อแบคทีเรียในกลุ่มแอกติโนไมซีสต์ จะมีถิ่นอาศัยในดิน แต่ก็พบแพร่กระจายในปฏิกิริยา น้ำ โคลนตม และบริเวณรากพืช เป็นต้น การแยกแอกติโนไมซีสต์จากตัวอย่างต่าง ๆ เช่น ดิน มักจะพบเชื้อ *Streptomyces* อยู่เป็นจำนวนมาก ประมาณ 70 - 95% ของแอกติโนไมซีสต์ทั้งหมด ทั้งนี้เนื่องจากแอกติโนไมซีสต์ชนิดอื่น ๆ มีปริมาณน้อย และเจริญได้ช้ากว่า จึงจัดแอกติโนไมซีสต์อื่น ๆ นอกเหนือจากสกุล *Streptomyces* เป็นแอกติโนไมซีสต์ที่หายาก ซึ่งได้แก่สกุล *Micromonospora*, *Nocardia*, *Actinomadura*, *Microtetraspora*, *Microbiospora*, *Streptosporangium*, *Dectylosporangium* และ *Actinoplanes* เป็นต้น

เชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์

เอนโดไฟต์ (endophyte) คือ สิ่งมีชีวิตประเภทรา แบคทีเรีย รวมทั้งแอกติโนไมซีสต์ที่อาศัยอยู่ภายในหรือระหว่างเนื้อเยื่อพืชทั้ง พืชน้ำและพืชบกที่แข็งแรงโดยไม่ก่อให้เกิดโรค ซึ่งอาจอยู่อาศัยทั้งชีวิตหรือเพียงบางช่วงชีวิตก็ได้ (De Barry, 1866) สำหรับเอนโดไฟต์แบคทีเรีย เป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ภายในเนื้อเยื่อพืชชนิดต่าง ๆ โดยไม่ก่ออันตรายให้แก่พืชหรือก่อให้เกิดโรคแก่พืชดังกล่าว (Hallmann *et al.*, 1997)

เชื้อแบคทีเรียเอนโดไฟต์เป็นจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืช (plant tissue) ทั้งพืชน้ำและพืชบก โดยมีช่วงหนึ่งของวงจรชีวิตอาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืช อาจอยู่ในส่วนราก ลำต้น กิ่ง หรือใบ

สามารถใช้ชีวิตร่วมกับพืชได้หลายรูปแบบ ความสัมพันธ์ระหว่างเอนโดไฟต์กับพืชมีหลายกับแบบด้วยกัน เช่น การอยู่ร่วมกันแบบ mutualism neutral symbiotic หรือ antagonistic pathogen โดยเอนโดไฟต์เป็นตัวควบคุมทางชีวภาพ (biological control) และเป็นแหล่ง metabolite สำหรับการป้องกันโรคให้กับพืชอาศัย อีกทั้งเป็นต้นแบบในการศึกษาถึงความสัมพันธ์ต่าง ๆ ในธรรมชาติ บางชนิดนอกจากผลิตสาร primary metabolite แล้วยังสามารถผลิตสาร secondary metabolite ในกลุ่มของสารปฏิชีวนะ (antibiotic) ซึ่งมีคุณสมบัติด้านการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น ด้านเชื้อรา (antifungal) และด้านแบคทีเรีย (antibacterial) ที่ก่อโรคในพืช (Hasegawa *et al.*, 2006) เชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์สามารถย่อยสลายโลหะหนักและย่อยสลายอินทรีย์สารในพืชและน้ำได้ดี จึงเป็นตัวการสำคัญที่ช่วยให้มลพิษลดลง (Germaine *et al.*, 2006)

กลไกการควบคุมโรคพืชโดยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

1. การแข่งขัน (competition)

เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จะมีความสามารถในการเจริญเติบโตแข่งขันกับเชื้อโรคพืช เพื่อความอยู่รอดได้ดี ทำให้เชื้อโรคไม่สามารถเจริญเติบโตจนก่อให้เกิดโรคพืช หรือทำให้เกิดโรคน้อยลง เช่น มีความสามารถในการหาอาหารได้ดี เจริญเติบโตครอบครองพื้นที่บนผิวพืชได้เร็ว ทำให้เชื้อโรคพืชไม่สามารถเจริญแข่งขันเข้าทำลายพืชได้ ดังนั้น พืชจึงแข็งแรงเจริญเติบโต โดยไม่มีโรคและให้ผลผลิตสูง เช่น เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* ซึ่งมีคุณสมบัติเรืองแสง เมื่อถูกรังสีอัลตราไวโอเลต จะผลิตสารชนิดหนึ่งเรียก ซิเดอโรฟออร์ (siderophore) มาช่วยยึดธาตุเหล็กที่มีอยู่ในธรรมชาติมาใช้ได้ดีกว่าเชื้อโรค ทำให้เชื้อโรคไม่สามารถนำธาตุเหล็กไปใช้ในการเจริญเติบโตเข้าทำลายพืช

2. การทำลายชีวิตหรือปฏิชีวนะ (antibiosis)

เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ใช้ในการทำลายชีวิตเชื้อโรคมีจำนวนมากที่สุด และนับเป็นกลไกชนิดแรกที่ทดลองนำมาใช้ โดยเชื้อปฏิปักษ์จะมีความสามารถในการผลิตสารปฏิชีวนะ เพื่อทำลายเชื้อโรคหรือจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้ ทำให้โรคลดลง ยาปฏิชีวนะมากมายหลายชนิดที่ผลิตขึ้นมาสำหรับใช้รักษาโรคของมนุษย์ สัตว์ และพืช ก็ได้มาจากเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เหล่านี้

3. การเป็นปรสิต (parasitism)

เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีคุณสมบัติเป็นปรสิต คือ เชื้อพวกที่สามารถเข้าไปเจริญอาศัยอยู่ในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตอื่น และคอยดูดกินอาหาร ทำให้สิ่งมีชีวิตที่ถูกดูดกินอาหารอ่อนแอและตายไป เชื้อโรคพืชหลายชนิดทั้งเชื้อรา แบคทีเรีย หรือไส้เดือนฝอย ที่เป็นศัตรูพืชจะมีเชื้อปรสิตเข้าไป

ทำลาย ทำให้ลดการเกิดโรคพืชได้ เช่น การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทำลายเชื้อโรครากเน่า *Phytophthora* spp. และการใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus penetrans* ทำลายไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* spp.

4. การชักนำให้เกิดความต้านทานโรค (Induced host resistance)

เป็นกลไกที่ปัจจุบันได้รับความสนใจศึกษากันมาก เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถชักนำ หรือกระตุ้นให้พืชสร้างความต้านทานต่อการทำลายของเชื้อโรคได้ โดยเฉพาะการนำเอาเชื้อโรคมารทำให้เกิดสายพันธุ์ ที่หมดความสามารถ ในการทำให้เกิดโรค หรือเป็นเชื้อสายพันธุ์ไม่รุนแรง แล้วนำไปใส่ในพืช จะกระตุ้นให้พืชสร้างภูมิคุ้มกันหรือต้านทาน การเข้าทำลายของเชื้อโรค เหมือนกับการผลิตวัคซีนสำหรับใช้รักษาโรคของคนและสัตว์ ในประเทศไทยมีการผลิตวัคซีนจากไวรัสพืชสายพันธุ์ไม่รุนแรง เพื่อนำไปสร้างภูมิคุ้มกันโรคไวรัสจุดวงแหวนในมะละกอ

วิธีการทดสอบการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

1. **Agar diffusion method** เป็นวิธีการที่ทำให้สารที่จะทดสอบซึมผ่านอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย แล้วดูผลจากวงใสที่เกิดขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ
2. **Tube dilution method** วิธีใส่สารที่จะทดสอบตามลำดับของความเจือจาง ลงในหลอดที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อภายใต้การทดสอบ เพาะเชื้อที่จะทดสอบลงไป จากนั้นนำไปบ่ม สังเกตการเจริญของเชื้อแบคทีเรียและการฆ่าเชื้อของยา
3. **Simplified disc procedure** นำกระดาษกรองที่ฆ่าเชื้อแล้วจุ่มใน suspension ของเชื้อแบคทีเรีย จากนั้นนำมาย้อมสี เช่น methylene blue ซึ่งสีที่ย้อมต้องเป็นสีที่ไม่เป็นอันตรายกับแบคทีเรีย โดยสังเกตสีของ methylene blue ที่เจือจาง
4. **Blood agar plate method** วิธีนี้เร็วและมีประสิทธิภาพ โดยจะมีเลือดเป็น indicator สังเกตสีของอาหารเลือดที่เปลี่ยนแปลงไป คือดำไม่มีสีเกิดขึ้น ก็แสดงว่ามีเชื้อแบคทีเรีย เพราะแบคทีเรียสามารถเจริญและทำลายเม็ดเลือดจนแตก
5. **Stokes method** เป็นการทดสอบสารและตัวควบคุม โดยเปรียบเทียบกับ disc อื่น ๆ สังเกตขนาดของ zone แล้ววัดขนาดของ zone

การควบคุมโรคขอบใบแห้งโดยชีววิธี

วรารักษ์และสุทธฤดี (2552) พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ XA6 จากดินบริเวณรากข้าวมีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุ *X. oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) สาเหตุโรคขอบใบแห้ง โดยชักนำให้พืชมีกลไกในการป้องกันตนเอง คือ การสะสมเอนไซม์ β -1,3-glucanase ของข้าวที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรค นอกจากนี้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์นี้ยังส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทั้งทางด้านความสูงต้น ความยาวราก และน้ำหนักสด

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* TU-Orga1 แยกได้จากดินบริเวณรอบรากข้าว มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xoo* โดยเชื้อสายพันธุ์ TU-Orga1 มีบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคสูงสุด 11.3 มิลลิเมตร เปรียบเทียบกับสารเคมี bacibicure ที่มีบริเวณยับยั้ง 8.2 มิลลิเมตร นอกจากนี้ยังพบว่าการคลุกเมล็ดข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 2 ด้วย TU-Orga1 (10^6 cfu/ml) กระตุ้นให้ข้าวมีการสะสมปริมาณ indole-3-acetic acid (IAA) เพิ่มขึ้นสูงสุด 1.75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้าข้าวอายุ 14 วัน โดยมีความสูงต้น 8.7 เซนติเมตร ความยาวราก 5.2 เซนติเมตร และน้ำหนักสด 28.3 มิลลิกรัม แตกต่างจากการคลุกเมล็ดด้วยสารเคมีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อสายพันธุ์ TU-Orga1 ในการควบคุมโรคขอบใบแห้งภายใต้สภาพเรือนทดลอง ทั้งการคลุกเมล็ดและพ่นใบ 2 ครั้ง เมื่อข้าวอายุ 14 และ 28 วัน และปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค เมื่อข้าวอายุ 30 วัน เปรียบเทียบกับใช้สารเคมี bacibicure พบว่า เชื้อสายพันธุ์ TU-Orga1 สามารถลดการเกิดโรคขอบใบแห้ง 75.6 % แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้สารเคมี แสดงให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* TU-Orga1 มีศักยภาพในการควบคุมโรคขอบใบแห้งและส่งเสริมการเจริญเติบโตข้าว เป็นทางเลือกสำหรับทดแทนสารเคมีเพื่อการผลิตข้าวอินทรีย์เชิงการค้าได้อย่างชัดเจน (ปาริชาติ และคณะ, 2555)

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus amyloliquefaciens* S20A1 แยกได้จากดินรอบรากข้าว สามารถผลิตสารทุติยภูมิที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Xoo* สาเหตุโรคขอบใบแห้งได้ โดยน้ำกรองเซลล์แบคทีเรีย (cell-free filtrate; CFF) ของเชื้อสายพันธุ์ S20A1 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว half yeast extract peptone broth (half YPB) เป็นเวลา 60 ชั่วโมง บนเครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชได้ มีบริเวณยับยั้ง 37.82 มิลลิเมตร มีค่าความเข้มข้นต่ำสุด (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) ของ CFF ในการควบคุมเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค เท่ากับ 10 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพของสาร CFF ในการควบคุมโรคขอบใบแห้งของข้าวในสภาพโรงเรือน พบว่า การพ่นสาร CFF หลัง

การปลูกเชื้อสาเหตุโรค สามารถลดการเกิดโรคลงได้ดีที่สุด 68.56% เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีประสิทธิภาพดีกว่าและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้เซลล์สด เซลล์แขวนลอย และสารเคมี gentamicin sulfate ผสม copper hydroxychloride (พัชรภรณ์และสุพจน์, 2561)

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus cereus* N55314 และ *Serratia* sp. N43203 แยกได้จากดินบริเวณรอบรากข้าว มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Xoo* สาเหตุโรคขอบใบแห้งและส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวได้ โดยการผลิตสารทุติยภูมิเป็นกลไกสำคัญในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคจากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคขอบใบแห้งของข้าวภายใต้สภาพโรงเรือน พบว่า *B. cereus* N55314 และ *Serratia* sp. N43203 สามารถลดการเกิดโรคขอบใบแห้งของข้าวได้ถึง 67.47 และ 46.73 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้สารเคมี copper hydroxide ที่ลดการเกิดโรคได้เพียง 8.74 เปอร์เซ็นต์ (อนุสรและสุพจน์, 2561)

นอกจากนี้ ในต่างประเทศมีการศึกษาประยุกต์ใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ เช่น สเตรปโตไมซีสต์เอนโดไฟต์ (Hastuti *et al.*, 2012) สเตรปโตไมซีสต์ (Hop *et al.*, 2014) และ แอกติโนไมซีสต์ผิวใบ (Ilsan *et al.*, 2016) ในการควบคุมโรคขอบใบแห้งของข้าวทั้งในระดับห้องปฏิบัติการ โรงเรือน และแปลงปลูก โดยพบว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เหล่านี้มีศักยภาพในการลดและควบคุมการเกิดโรคขอบใบแห้งได้เป็นอย่างดีเยี่ยม รวมทั้งยังส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวอีกด้วย

Hastuti *et al.* (2012) รายงานว่ากลไกการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อ *Streptomyces* spp. ต่อเชื้อแบคทีเรีย *Xoo* สาเหตุโรคขอบใบแห้ง คือการผลิต chitinase phosphatase และ siderophore ควบคุมเชื้อ *Xoo* ในระดับห้องปฏิบัติการ สำหรับในสภาพโรงเรือน พบว่า การใช้ เชื้อ *Streptomyces* spp. สามารถลดการเกิดโรคขอบใบแห้งได้ไม่แตกต่างกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช แต่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวได้ดีกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งด้านความสูงต้นและจำนวนการแตกกอ

Streptomyces toxytricini ไอโซเลท VN08-A-12 มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญทั้ง 10 สายพันธุ์ (race) ของเชื้อ *Xoo* ในระดับห้องปฏิบัติการ สำหรับในสภาพแปลงปลูกข้าวสายพันธุ์ SS1 และ KD18 พบว่า เชื้อไอโซเลท VN08-A-12 สามารถลดความยาวของแผลได้มากถึง 38.3 เปอร์เซ็นต์ อีกทั้งยังลดการสูญเสียผลผลิตของต้นข้าวที่เป็นโรคแล้ว ได้มากถึง 43.2 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มผลผลิตของต้นข้าวปกติได้ 2.66 ถึง 16.98 เปอร์เซ็นต์ ในสายพันธุ์ SS1 และ 3.11 ถึง 5.94 เปอร์เซ็นต์ ในสายพันธุ์ KD18 (Hop *et al.*, 2014)

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

1. การรวบรวมและแยกเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์

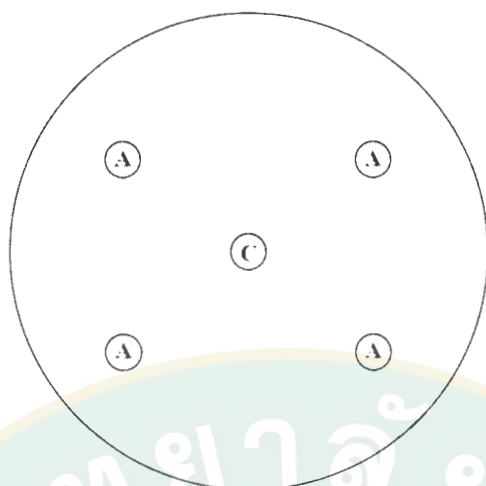
เก็บตัวอย่างพืชสมุนไพรไทย คือ ชะพลู โดยเลือกจากต้นที่สมบูรณ์ ไม่มีการเข้าทำลายของศัตรูพืช แล้วล้างด้วยน้ำไหลเป็นเวลา 30 นาที และผึ่งลมให้แห้ง จากนั้นตัดแต่ละส่วนของพืชให้มีขนาดประมาณ 1 ซม. แช่ในสารละลาย Clorox ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 2 นาที เอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที และสารกำจัดเชื้อรา เป็นเวลา 1 นาที แล้วนำไปวางบนกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ภายในตู้เพาะเลี้ยงเชื้อ เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง จนกว่าชิ้นพืชจะแห้งสนิท จากนั้นนำชิ้นพืชวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP-2 จำนวน 15 ชิ้นต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มไว้ในที่มีอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน จะพบการเจริญของเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ออกจากชิ้นพืช จึงดำเนินการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป

2. การแยกเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งของข้าว

เก็บรวบรวมอาการของโรคขอบใบแห้งจากแหล่งปลูกข้าวในตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ โดยนำตัวอย่างใบข้าวที่คาดว่าเป็นโรคขอบใบแห้งมาแยกเชื้อสาเหตุด้วยวิธี tissue transplanting บนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar (NA) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ จากนั้นทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคบนข้าว

3. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งในระดับห้องปฏิบัติการ

ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *X. oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรค ด้วยวิธี agar-piece (ภาพที่ 1) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA โดยเลี้ยงเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP-2 ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นตัดชิ้นวุ้นที่มีเชื้อเจริญอยู่ ขนาด 5 มิลลิเมตร วางบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเจริญอยู่ แล้วบ่มวุ้นที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 - 4 วัน วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) โอโหลทะเล 4 ซ้ำ จากนั้นตรวจสอบบริเวณใส (clear inhibition zone) และบันทึกความกว้างของบริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร) จากนั้นคัดเลือกเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่มีศักยภาพสำหรับการทดสอบขั้นต่อไป



ภาพที่ 1 ตำแหน่งการวางชิ้นวัชพืชที่มีเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์เจริญอยู่ (A) และชุดควบคุมที่เป็นชิ้นวัชพืชเปล่า (C) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar ที่มีเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้งของข้าวเจริญอยู่

4. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ในการควบคุมโรคขอบใบแห้งในระดับโรงเรือน

นำเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่คัดเลือกได้ ไอโซเลท PIP5 และ PIP21 มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคขอบใบแห้งในระดับโรงเรือน โดยปลูกเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ร่วมกับการพ่นใบข้าว จำนวน 2 ครั้ง เมื่อข้าวอายุ 14 และ 28 วันหลังปลูก ด้วยสปอร์แขวนลอยของเชื้อที่คัดเลือกได้ และเมื่อข้าวอายุ 30 วัน ปลูกเชื้อแบคทีเรีย *X. oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้ง ด้วยวิธีการตัดปลายใบ ระยะห่างจากปลายใบ 1 เซนติเมตร และบ่มไว้ในโรงเรือน โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD มี 3 กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 พ่นน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ + ปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้ง (ชุดควบคุม)

กรรมวิธีที่ 2 ปลูกเมล็ดพันธุ์และพ่นด้วยเชื้อไอโซเลท PIP5 + ปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้ง

กรรมวิธีที่ 3 ปลูกเมล็ดพันธุ์และพ่นด้วยเชื้อไอโซเลท PIP21 + ปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้ง

จากนั้นหลังปลูกเชื้อแล้ว 7 - 14 วัน ประเมินประสิทธิภาพของเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่คัดเลือกได้ โดยวัดความยาวของแผลที่เกิดจากโรคขอบใบแห้ง และความยาวของใบข้าวที่ได้รับการปลูกเชื้อไว้ จากนั้นคำนวณเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค (Disease severity; DS) และ

เปอร์เซ็นต์การลดความรุนแรงในการเกิดโรค (Disease reduction; DR) ตามสูตรของพัชราภรณ์และ
สุพจน์ (2561) ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค (\%DS)} = \frac{\text{ความยาวของแผล}}{\text{ความยาวของใบข้าว}} \times 100$$

$$\text{เปอร์เซ็นต์การลดความรุนแรงในการเกิดโรค (\%DR)} = \frac{\%DS_C - \%DS_T}{\%DS_C} \times 100$$

เมื่อ $\%DS_C$ คือ เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีควบคุม
 $\%DS_T$ คือ เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีทดสอบ

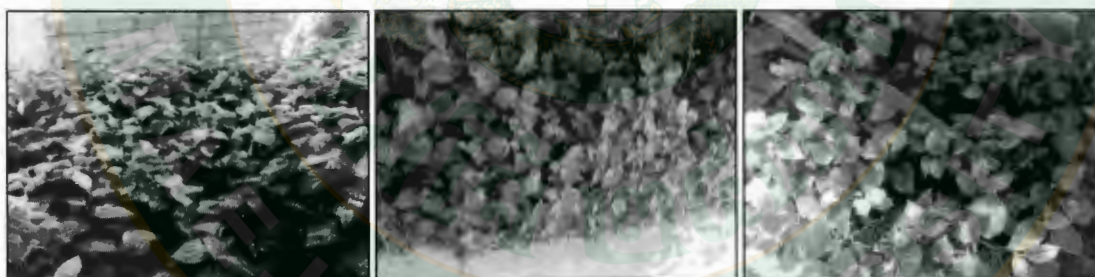


ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย

1. เชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์

1.1 การรวบรวมชะพลูจากแหล่งธรรมชาติ

รวบรวมชะพลูจากแหล่งธรรมชาติในตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 3 แหล่ง (ภาพที่ 2) เพื่อใช้ในการแยกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ โดยจากการศึกษาวิจัยที่ผ่านมา ได้มีการใช้ประโยชน์จากชะพลูในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืช และป้องกันกำจัดโรคพืช อาทิ Syed-Ab-Rahman and Omar (2018) รายงานว่า การศึกษาเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากสารสกัดชะพลูมีศักยภาพในการลดการเกิดโรคและความรุนแรงของโรคของเมล็ดพันธุ์ข้าวที่ปลูกเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* ได้ รวมทั้งยังสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้าข้าวทั้งความสูงต้น ความยาวราก น้ำหนักแห้งของกล้าและรากข้าว นอกจากนี้ Bussaman *et al.* (2012) รายงานว่า สารสกัดจากใบชะพลู (*Piper sarmentosum*) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ อีกทั้งยังยับยั้งการออกสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคอีกด้วย สอดคล้องกับพจนนา และคณะ (2556) รายงานว่า สารสกัดชะพลูสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *Pestalotiopsis guepinii* สาเหตุโรคผลเน่าของชมพู่ได้ 100 เปอร์เซ็นต์



แหล่งที่ 1

แหล่งที่ 2

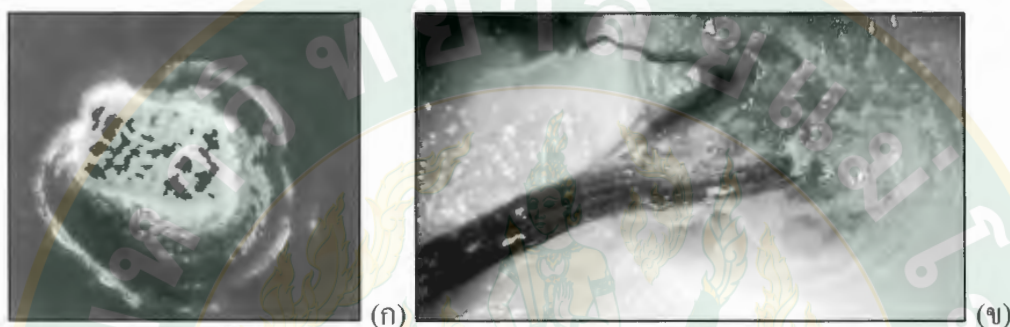
แหล่งที่ 3

ภาพที่ 2 แหล่งรวบรวมชะพลูในตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่

1.2 การแยกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์

จากแยกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์จากชะพลูที่รวบรวมจาก 3 แหล่งธรรมชาติบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP-2 บ่มไว้ที่มีอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน พบโคโลนีที่มีลักษณะคล้ายผงแป้งบริเวณผิวหน้าของชิ้นพืช (ภาพที่ 3) โดยสามารถแยกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ได้รวม 37 ไอโซเลต (ตารางที่ 1) จากรายงานของ Matsukuma *et al.* (1994) และ Okazaki *et al.*

(1995) กล่าวว่า ความหลากหลายของเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่อาศัยอยู่ในพืชหลายชนิดเป็นแบบ symbionts หรือ parasites โดยชนิดและปริมาณของเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่พบในพืชขึ้นอยู่กับชนิดของพืช แหล่งของพื้นที่ปลูกพืช (Sardi *et al.*, 1992) ตลอดจนปัจจัยทางสภาพแวดล้อมและภูมิอากาศ นอกจากนี้การมีเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์หรือไม่ขึ้นอยู่กับอายุพืช ระยะการเจริญเติบโต ชนิดของดินที่ปลูกและ รวมทั้งขั้นตอนในการฆ่าเชื้อที่บริเวณผิวพืช ต้องฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ให้หมด เพื่อป้องกันเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการปกคลุมผิวพืช ทำให้เชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์เจริญออกมาไม่ได้ (Shimizu *et al.*, 2000)



ภาพที่ 3 ลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่เจริญออกจากส่วนใบ (ก) และ ลำต้น (ข) ของชะพลู บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP-2 บ่มไว้เป็นเวลา 30 วัน

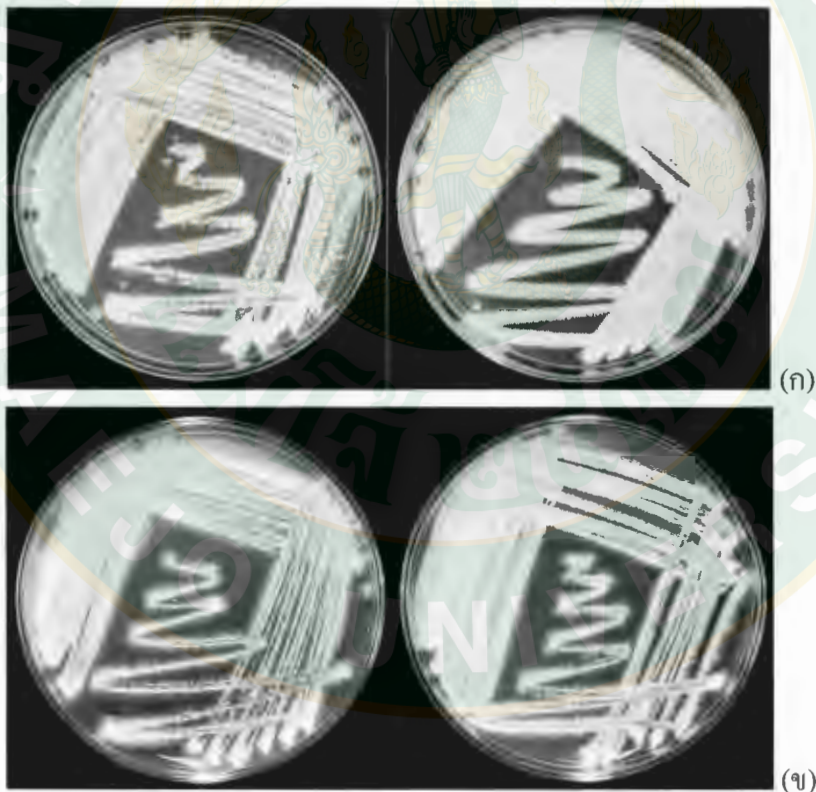
ตารางที่ 1 จำนวนไอโซเลตของเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ของชะพลูที่รวบรวมจาก 3 แหล่งธรรมชาติ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP-2 บ่มไว้เป็นเวลา 30 วัน

แหล่งของชะพลู	จำนวนไอโซเลตที่ตรวจพบ				รวมทั้งหมด
	ใบ	ลำต้น	ดอก	ราก	
แหล่งที่ 1	5	4	0	5	14
แหล่งที่ 2	4	5	0	4	13
แหล่งที่ 3	4	3	0	3	10
รวมทั้งหมด	13	12	0	12	37

โดยกำหนดให้แต่ละไอโซเลทเรียกชื่อตามอักษรภาษาอังกฤษ 3 ตัวแรกของชื่อวิทยาศาสตร์ของพืชอาศัย คือ PIP แล้วตามด้วยลำดับของเชื้อ ดังนั้นเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์จากชะพลูแหล่งที่ 1 มีชื่อเรียกว่า ไอโซเลท PIP1 ถึง PIP14 แหล่งที่ 2 มีชื่อเรียกว่า ไอโซเลท PIP15 ถึง PIP27 และแหล่งที่ 3 มีชื่อเรียกว่า ไอโซเลท PIP28 ถึง PIP37

1.3 ลักษณะของเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์

จากศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ ได้แก่ ลักษณะและสีของโคโลนี การสร้างรงควัตถุ และอัตราการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP-2 พบว่า เชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่แยกได้จากชะพลูมีลักษณะโคโลนีคล้ายผงแป้ง เจริญสม่ำเสมอตามแนวที่ streak ขอบโคโลนีเป็นเส้นคล้ายเส้นใยเชื้อรา มีผิวหน้าโคโลนีสีขาว และสีขาวเปลือกไข่ (ภาพที่ 4) ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ และมีอัตราการเจริญเติบโตแตกต่างกันไปเมื่ออายุ 7 วัน คือ เจริญได้ดี ปานกลาง และน้อย บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP-2

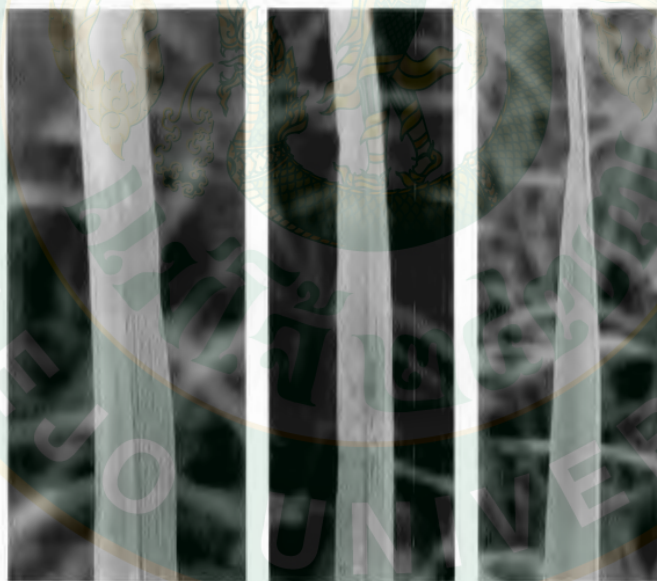


ภาพที่ 4 ลักษณะผิวหน้าโคโลนีที่มีสีขาว (ก) และสีขาวเปลือกไข่ (ข) ของเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์

2. เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้งของข้าว

2.1 การแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้ง

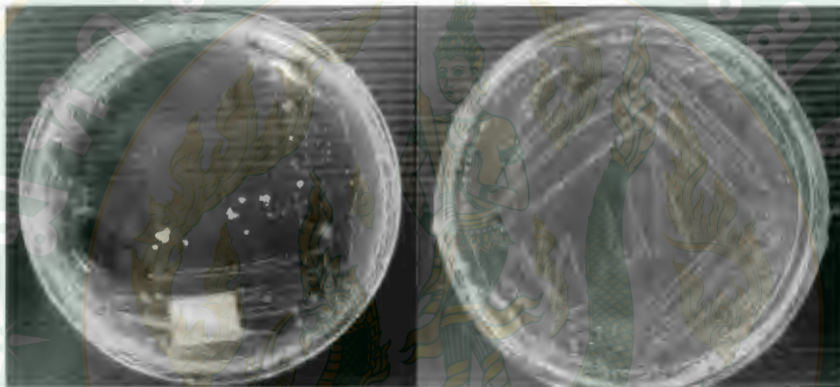
จากการเก็บตัวอย่างใบข้าวที่แสดงอาการของโรคขอบใบแห้ง (ภาพที่ 5) จากแปลงปลูกข้าวในตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ ข้าวหอมมะลิ 105 ข้าวไรซ์เบอร์รี่ และข้าวเหนียวสันป่าตอง สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียที่มีแนวโน้มเป็นเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้ง รวมทั้งสิ้น 5 ไอโซเลท จากข้าวหอมมะลิ 105 จำนวน 2 ไอโซเลท ข้าวไรซ์เบอร์รี่ จำนวน 2 ไอโซเลท และข้าวเหนียวสันป่าตอง จำนวน 1 ไอโซเลท โดยมีลักษณะโคโลนีสีเหลืองซีด สีเหลืองเข้ม กลม นูน เป็นมันวาว เข้ม บนอาหาร NA (ภาพที่ 6 - 8) จากรายงานของ อภิชาติและคณะ (2555) ทำการประเมินลักษณะความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งของเชื้อพันธุกรรมข้าวนาสวน ด้วยเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* จำนวน 3 ไอโซเลท จากทั้งหมด 10 ไอโซเลท ที่รวบรวมได้จากแหล่งปลูกข้าวในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ซึ่งแสดงให้เห็นว่า สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้งของข้าวได้มากกว่า 1 ไอโซเลทต่อ 1 อาการของโรคพืช



ภาพที่ 5 ลักษณะอาการขอบใบแห้งของข้าว



ภาพที่ 6 เชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้งของข้าวพันธุ์ขาวหอมมะลิ 105 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA เป็นเวลา 2 วัน



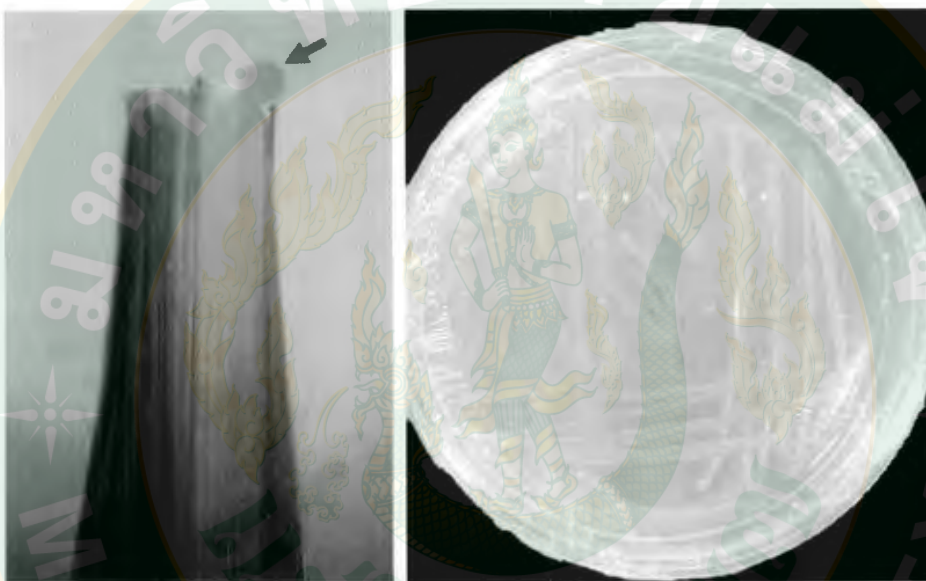
ภาพที่ 7 เชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้งของข้าวพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA เป็นเวลา 2 วัน



ภาพที่ 8 เชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้งของข้าวพันธุ์เหนียวสันป่าตอง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA เป็นเวลา 2 วัน

2.2 การทดสอบความสามารถในการก่อให้โรค

จากการทดสอบความสามารถในการก่อให้โรคของเชื้อแบคทีเรีย *X. oryzae* pv. *oryzae* จำนวน 5 ไอโซเลต บนข้าวพันธุ์หอมมะลิ 105 อายุ 30 วัน พบว่า เชื้อแบคทีเรียจำนวน 3 ไอโซเลต สามารถก่อให้เกิดอาการขอบใบแห้งบนใบข้าวอย่างชัดเจน และมีการเจริญออกมาของ bacterial ooze (ภาพที่ 9 ครึ่ง) ของเชื้อสาเหตุโรค จากนั้นแยกเชื้อสาเหตุกลับ (re-isolation) จากใบที่แสดงอาการของโรค พบว่า มีเชื้อแบคทีเรียเพียง 1 ไอโซเลตเท่านั้น ที่มีลักษณะของเชื้อสาเหตุเช่นเดียวกันกับเชื้อแบคทีเรียที่สามารถแยกได้ครั้งแรก จึงนำเชื้อแบคทีเรีย *X. oryzae* pv. *oryzae* ไอโซเลตนี้มาทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ต่อไป

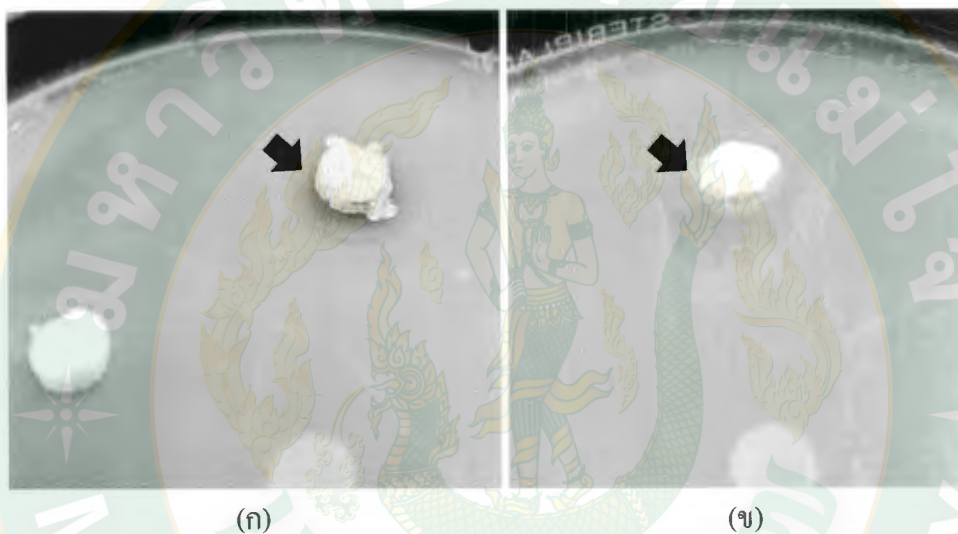


ภาพที่ 9 การทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* กับข้าวพันธุ์หอมมะลิ 105 อายุ 40 วัน

3. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งในระดับห้องปฏิบัติการ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ ไอโซเลต PIP1 ถึง PIP37 รวมจำนวน 37 ไอโซเลตในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *X. oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้ง พบว่า มีเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์เพียง 2 ไอโซเลต คือ PIP5 และ PIP21 ที่มีความสามารถในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุได้ โดยมีบริเวณยับยั้ง เกิดเป็นวงใส (clear inhibition zone) ขนาด 14 และ 10 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 10) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ ทายาท และคณะ (2560) แยกเชื้อ *Streptomyces* sp. ได้จากดินในนาข้าว สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ

แบคทีเรีย *X. oryzae* pv. *oryzae* ได้ โดยมีขนาดบริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 5.9 -15.5 มิลลิเมตร จากการทดสอบด้วยวิธี agar diffusion method บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato peptone agar (PPA) รวมถึงรายงานของ Ilsan *et al.*, (2016) เชื้อแอคติโนไมซีสต์ที่แยกได้จากผิวใบของข้าวสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคได้ มีขนาดบริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 8.0 - 14.7 มิลลิเมตร จากการทดสอบด้วยวิธี plug agar method บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Luria agar (LA) นอกจากนี้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากดินบริเวณรอบรากต้นข้าวจากรายงานของปาริชาติ และคณะ (2555) ยังสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้งได้ดี มีขนาดบริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 10.2 - 11.3 มิลลิเมตร บนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient glucose agar (NGA)



ภาพที่ 10 การทดสอบความเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่แยกได้จากชะพลูต่อเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA เป็นเวลา 3 วัน

- (ก) บริเวณยับยั้งเกิดเป็นวงใส (clear inhibition zone) ของไอโซเลท PIP5
- (ข) บริเวณยับยั้งเกิดเป็นวงใส (clear inhibition zone) ของไอโซเลท PIP21

4. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ในการควบคุมโรคขอบใบแห้งในระดับโรงเรือน

จากการนำเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *X. oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้งของข้าวบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ในระดับห้องปฏิบัติการ จำนวน 2 ไอโซเลท คือ PIP5 และ PIP21 มาทดสอบในระดับโรงเรือนเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเพียงอย่างเดียว พบว่า กรรมวิธีที่คลุกเมล็ดพันธุ์

ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ร่วมกับการพ่นใบข้าว จำนวน 2 ครั้ง ด้วยเชื้อไอโซเลท PIP5 สามารถควบคุมโรคขอบใบแห้งได้ดีที่สุด มีเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคขอบใบแห้งเพียง 15.49 เปอร์เซ็นต์ ค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 14.29 - 17.22 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับเชื้อไอโซเลท PIP21 ที่มีเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคขอบใบแห้งเพียง 15.85 เปอร์เซ็นต์ ค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 14.50 - 17.37 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ชุดควบคุมที่ปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเพียงอย่างเดียวมีเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคขอบใบแห้งถึง 41.21 เปอร์เซ็นต์ ค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 38.33 - 43.89 เปอร์เซ็นต์ โดยเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์สามารถลดเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงในการเกิดโรคขอบใบแห้งของข้าวขาวดอกมะลิ 105 ได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป (ตารางที่ 2) สอดคล้องกับรายงานของ Ilsan *et al.*, (2016) เชื้อแอคติโนไมซีสต์ที่แยกได้จากผิวใบของข้าว สามารถลดความรุนแรงของโรคขอบใบแห้งของข้าวได้มากถึง 25.87 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม อีกทั้งเชื้อเหล่านี้ยังสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นข้าวทั้งด้านความสูงและจำนวนแตกกอมากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้รายงานของอนุสรและสุพจน์ (2561) กล่าวว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. cereus* N55314 และ *Serratia* sp. N43203 มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดและลดการเกิดโรคขอบใบแห้งของข้าวได้ถึง 67.47 และ 46.73 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งดีกว่าการใช้สารคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ที่ลดการเกิดโรคได้เพียง 8.74 เปอร์เซ็นต์ คล้ายคลึงกับรายงานของอังคณา และคณะ (2561) เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ที่แยกได้จากข้าว มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคขอบใบแห้งของข้าวขาวดอกมะลิ 105 โดยต้นข้าวที่ปลูกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ลงไปมีเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคอยู่ในช่วง 32.4 - 46.0 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ชุดควบคุมมีเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคมมากถึง 76.8 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบความรุนแรงของโรคขอบใบแห้งและเปอร์เซ็นต์การลดความรุนแรงในการเกิดโรคด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ในระดับโรงเรือน

กรรมวิธี	% DS	% DR
1. ชุคควบคุม (พ่นน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ + ปลูกระยะที่เรีย สาเหตุโรคขอบใบแห้ง)	41.21 ^b	-
2. คลุกเมล็ดพันธุ์และพ่นด้วยเชื้อไอโซเลท PIP5 + ปลูกระยะที่เรีย สาเหตุโรคขอบใบแห้ง	15.49 ^a	62.41
3. คลุกเมล็ดพันธุ์และพ่นด้วยเชื้อไอโซเลท PIP21 + ปลูกระยะที่เรีย สาเหตุโรคขอบใบแห้ง	15.85 ^a	61.54



(ก)

(ข)

(ค)

ภาพที่ 11 ลักษณะการเกิดโรคขอบใบแห้งจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* บนใบข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในชุดควบคุม (ก) และการคลุกเมล็ดพันธุ์และพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ไอโซเลท PIP5 (ข) และ PIP21 (ค)

สรุปผลการวิจัย

เชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่แยกได้จากชะพลู (*P. sarmentosum*) มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *X. oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้งของข้าวได้ โดยสังเกตจากการสร้างบริเวณยับยั้งเป็นวงใส (clear inhibition zone) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA และเมื่อประยุกต์ใช้เชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ด้วยการคลุกเมล็ดพันธุ์ข้าวร่วมกับการพ่นใบข้าว พบว่าเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์มีศักยภาพในการลดความรุนแรงของการเกิดโรคขอบใบแห้งของข้าวได้มากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ จากผลการวิจัยทำให้เห็นถึงศักยภาพของเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ชีวภาพในการควบคุมโรคขอบใบแห้งของข้าวได้

เอกสารอ้างอิง

- กนกอร เขียวดำ, ประภา ศรีพิจิตร, ธาณี ศรีวงศ์ชัย และสุภาพร จันทน์บัวทอง. 2560. การพัฒนาสายพันธุ์ข้าวต้านทานโรคขอบใบแห้งโดยวิธีการผสมกลับและคัดเลือกด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ. วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 45(3): 595 - 604.
- กรมการข้าว กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2561. ศัตรูข้าวและการป้องกันกำจัด. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.ricethailand.go.th/Rkb/disease%20and%20insect/index.php-file=content.php&id=120.htm> (4 มิถุนายน 2561)
- กรมการค้าต่างประเทศ กระทรวงพาณิชย์. 2561. ข้อมูลการผลิตและการค้าข้าว การส่งออกข้าวของไทยแยกตามชนิดข้าว ปีที่ : 2560 (มกราคม - ธันวาคม). [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.thairiceinfo.go.th/?page=DataL3.ShowData&codeData=A1003> (4 มิถุนายน 2561)
- ทนายท ศรียาภัย, กัญจน์ ศิลป์ประสทธิ, อรินทน์ งามนิม และพิชาภัก ศรียาภัย. 2560. การคัดเลือกแอคติโนไมซีทปลูกเพื่อใช้ในการเตรียมสารสกัดยับยั้งที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพและพัฒนาสูตรหัวเชื้อผงสำหรับควบคุมจุลินทรีย์ก่อโรคข้าว. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา 22 (3): 423 - 437.
- ปาริชาติ สถิตธรรมพนา, ดุสิต อธิวัฒน์ และวิลาวรรณ เชื้อบุญ. 2555. ประสิทธิภาพแบคทีเรียปฏิชีวนะสายพันธุ์ใหม่ TU-Orga1 ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคขอบใบแห้งของข้าว. Thai Journal of Science and Technology 1(3): 180 - 188.

- พจนา ตระกูลสุจริตน์ พรพิมล อธิปัญญาคม และนลินี ศิวากรณ์. 2556. ผลของสารสกัดจากพืช และสารป้องกันกำจัดโรคพืชต่อเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของชมพู. รายงานผลงานวิจัย ประจำปี 2556 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 2628 - 2639.
- พัชรารักษ์ หอมกรุ่น และสุพจน์ กาเข้ม. 2561. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตสารทุติยภูมิ และประสิทธิภาพในการควบคุมโรคขอบใบแห้งของข้าวของแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* S20A1. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 36(2): 22 - 32.
- วรารักษ์ ภูภักดีพันธ์ และสุดฤดี ประเทืองวงศ์. 2552. เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ใหม่กระตุ้นให้ ข้าวพันธุ์ต้านทานผลิตเอนไซม์ปกป้องการติดเชื้อจาก *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ได้ เพิ่มขึ้นมากกว่าข้าวพันธุ์อ่อนแอ. การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 9 24 - 26 พฤศจิกายน 2552, อุบลราชธานี. 649 - 658.
- อนุสร จันทรแสง และสุพจน์ กาเข้ม. 2561. กลไกที่หลากหลายของแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ ใหม่จากดินบริเวณรากข้าวต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคขอบใบแห้งของ ข้าว. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 36(2): 33 - 42.
- อภิชาติ จันละคร เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล และจิรวัดน์ สนิทชน. 2555. การประเมินลักษณะความ ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง ของเชื้อพันธุ์กรรมข้าวนาสวน. แก่นเกษตร 40 (ฉบับพิเศษ 4): 48 - 52.
- อังคณา กันหาจันทร์ ชนสิริน กลิ่นมณี และรัศมิ์ จูติเกียรติพงศ์. 2561. การใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ ควบคุมโรคขอบใบแห้งของข้าว ในสภาพเรือนทดลอง. การประชุมวิชาการข้าวและธัญพืช เมืองหนาว ครั้งที่ 35: 123 - 131.
- Alvin, A., Miller, K.I. and Neilan, B.A. 2014. Exploring the potential of endophytes from medicinal plants as sources of antimycobacterial compounds. Microbiological Research 169: 483 - 495.
- Bussaman, P., Namsena, P., Rattanasena, P. and Chandrapatya, A. 2012. Effect of crude leaf extracts on *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. Psyche: 309046. doi:10.1155/2012/309046
- De Barry, A. 1866. Hofmeister's Hand Book of Physiological Botany. 2. Leipzig: Doss PR, Welty.
- Germaine, K.J., Xuemei, L., Guiomar, G.C., Jill, P.H., David, R. and David, N.D. 2006. Bacterial endophyte-enhanced phytoremediation of the organochlorine herbicide 2,4-

- dichlorophenoxyacetic acid. Federation of European Microbiological Societies Microbiology Ecology 57: 302 - 310.
- Hallmann, J., Andrea, Q.H., Walter, F.M. and Joseph, W.K. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. Journal of Microbiology 43: 895 - 914.
- Hasegawa, S., Akane, M., Masafumi, S., Tomio, N. and Hitoshi, K. 2006. Endophytic actinomycetes and their interactions with host plants. Actinomycetologica 20(2): 72 - 81.
- Hastuti, R.D., Lestari, Y., Suwanto, A. and Saraswati, R. 2012. Endophytic *Streptomyces* spp. as biocontrol agents of rice bacterial leaf blight pathogen (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*). HAYATI Journal of Biosciences 19(4): 155-162.
- Hop, D.V., Hoa, P.T.P., Quang, N.D., Ton, P.H., Ha, T.H., Hung, N.V., Van, N.T., Hai, T.V., Quy, N.T.K., Dao, N.T.A. and Thom, V.T. 2014. Biological control of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* causing rice bacterial blight disease by *Streptomyces toxytricini* VN08-A-12, isolated from soil and leaf-litter samples in Vietnam. Biocontrol Science 19(3): 103 - 111.
- Ilsan, N.A., Nawangsih, A.A. and Wahyudi, A.T. 2016. Rice phyllosphere actinomycetes as biocontrol agent of bacterial leaf blight disease on rice. Asian Journal of Plant Pathology 10: 1-8.
- Matsukuma, S., Okuda, T. and Watanabe, J. 1994. Isolation of actinomycetes from pine litter layers. Actinomycetology 8: 57 - 65.
- Okazaki, T., Takahashi, K., Kizuka, M. and Enokita, R. 1995. Studies on actinomycetes isolated from plant leaves. Annual Report of the Sankyo Research Laboratory 47: 97 - 106.
- Sardi, P., Saraeehi, M., Quaroni, S., Peterolini, B., Borgonovi, G.E. and Merli, S. 1992. Isolation of endophytic *Streptomyces* strains from surface-steriled roots. Applied and Environmental Microbiology 58(8): 2691 - 2693.
- Shimizu, M., Yoshiko, N., Yukio, S., Tamotsu, F., Yasuhiro, I., Hiroyasu, O., Ryuji, Y. and Hitoshi, K. 2000. Studies on endophytic actinomycetes (I) *Streptomyces* sp. isolated from *Rhododendron* and its antifungal activity. Journal of General Plant Pathology 66: 360 - 366.
- Syed-Ab-Rahman, S.F. and Omar, D. 2018. Development of bio-formulations of *Piper sarmentosum* extracts against bacterial rice diseases. Current Biotechnology 7: 453 - 463.