ผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์จากแบคทีเรียที่มีประโยชน์ *Pseudomonas fluorescens* ในการยับยั้งโรคขอบใบแห้งของข้าว

โดย

นายพันศักดิ์ จิตสว่าง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (การจัดการเกษตรอินทรีย์)
สาขาวิชาการจัดการเกษตรอินทรีย์
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ปีการศึกษา 2558

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์จากแบคทีเรียที่มีประโยชน์ *Pseudomonas fluorescens* ในการยับยั้งโรคขอบใบแห้งของข้าว

โดย

นายพันศักดิ์ จิตสว่าง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (การจัดการเกษตรอินทรีย์)
สาขาวิชาการจัดการเกษตรอินทรีย์
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ปีการศึกษา 2558

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

EFFECT OF BENEFICIAL BACTERIUM *PSEUDOMONAS FLUORESCENS* POLYSACCHARIDES APPLICATION TO INHIBIT BACTERIAL LEAF BLIGHT OF RICE

BY

MR. PHANSAK CHITSAWHANG

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE (ORGANIC FARMING MANAGEMENT)
DEPARTMENT OF ORGANIC FARMING MANAGEMENT
FACULTY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY
THAMMASAT UNIVERSITY
ACADEMIC YEAR 2015

COPYRIGHT OF THAMMASAT UNIVERSITY

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

วิทยานิพนธ์

ของ

นายพันศักดิ์ จิตสว่าง

เรื่อง

ผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์จากแบคทีเรียที่มีประโยชน์ *Pseudomonas fluorescens* ในการยับยั้งโรคขอบใบแห้งของข้าว

ได้รับการตรวจสอบและอนุมัติ ให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (การจัดการเกษตรอินทรีย์)

เมื่อวันที่ 4 กรกฎาคม พ.ศ. 2559

ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ _____
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศรีเมฆ ชาวโพงพาง)

กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ _____
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ดสิต อธินุวัฒน์)

กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม _____
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชนัญ ผลประไพ)

กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม _____
(อาจารย์ ดร.วิลาวรรณ์ เชื้อบุญ)

กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ _____
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปาริยา ณ นคร)

คณบดี _____
(รองศาสตราจารย์ ปกรณ์ เสริมสุข)

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์จากแบคทีเรียที่มีประโยชน์ *Pseudomonas fluorescens* ในการยับยั้งโรคขอบใบแห้งของข้าว
ชื่อผู้เขียน	นายพันศักดิ์ จิตสว่าง
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (การจัดการเกษตรอินทรีย์)
สาขาวิชา/คณะ/มหาวิทยาลัย	สาขาวิชาการจัดการเกษตรอินทรีย์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ดุสิต อธินุวัฒน์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชนัญ ผลประไพ อาจารย์ ดร.วิลาวรรณ์ เชื้อบุญ
ปีการศึกษา	2559

บทคัดย่อ

สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ได้แก่ 100, 200, 300, 500 และ 1,000 ppm สกัดมาจาก *Pseudomonas fluorescens* ถูกนำมาประเมินประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวพันธุ์เล็บนกและควบคุมโรคขอบใบแห้ง ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองและสภาพแปลงนาของเกษตรกร พบว่า สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 ppm มีประสิทธิภาพส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นข้าวอายุ 14 วัน ได้แก่ ความสูง; ความยาวราก; จำนวนราก; น้ำหนักสด; และน้ำหนักแห้ง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.05) เท่ากับ 14.58, 14.12 และ 12.36 เซนติเมตร; 9.65, 9.37 และ 9.87 เซนติเมตร; 16.10, 16.13 และ 15.69 ราก; 8.28, 8.35 และ 8.24 กรัม/ต้น; และ 3.23, 3.12 และ 2.87 กรัม/ต้น ตามลำดับ ขณะที่การใช้สารเคมี ต้นข้าวมีความสูง; ความยาวราก; จำนวนราก; น้ำหนักสด; และน้ำหนักแห้ง เท่ากับ 8.44 - 9.12 เซนติเมตร; 6.10 - 6.12 เซนติเมตร; 11.32 – 11.43 ราก; 6.11 – 6.12 กรัม/ต้น และ 1.23 – 1.34 กรัม/ต้น ตามลำดับ ผลการทดลองนี้สนับสนุนโดยการตรวจพบการสะสมสูงสุดของ indole-3-acetic acid ในต้นข้าวที่ผ่านการคลุกเมล็ดด้วยสารพอลิแซคคาไรด์ เท่ากับ 11.49 – 14.21 ไมโครกรัม/มิลลิกรัมน้ำหนักสด ยิ่งไปกว่านั้น สารพอลิแซคคาไรด์ทุกความเข้มข้น สามารถยับยั้งเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบเห้ง โดยแสดงบริเวณยับยั้ง เท่ากับ 7.55 – 12.75 มิลลิเมตร ลดการสร้าง biofilm เท่ากับ 46.67 – 60.63 เปอร์เซ็นต์ และลดความรุนแรงโรค

ขอบใบแห้งได้เท่ากับ 83.13 - 85.21 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่มีการใช้สารเคมี ผลการทดลองนี้สนับสนุนโดยการตรวจพบการสะสมสูงสุดของ salicylic acid เท่ากับ 0.75 – 0.876 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด หลังการพ่นต้นข้าวด้วยสารพอลิแซคคาไรด์ภายใน 1 วัน ผลการทดลองในสภาพแปลงนาของเกษตรกร พบว่า สารพอลิแซคคาไรด์ทุกความเข้มข้น ทำให้ต้นข้าวอายุ 70 -100 วัน มีความสูงไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=005) กับกรรมวิธีดั้งเดิมของเกษตรกรและกรรมวิธีที่ไม่เติมสาร แต่ส่งผลให้ต้นข้าวมีการแตกกอเพิ่มขึ้น ความรุนแรงโรคขอบใบแห้งลดลง จำนวนเมล็ดเสียลดลง จำนวนเมล็ดเพิ่มขึ้น และน้ำหนักเมล็ด 1,000 เมล็ด เพิ่มขึ้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=005) การศึกษาทดลองครั้งนี้บ่งชี้ให้เห็นว่า สารพอลิแซคคาไรด์ที่สกัดมาจาก *Pseudomonas fluorescens* มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นข้าว และควบคุมโรคขอบใบแห้งได้ดีดังเช่นวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้

คำสำคัญ: จุลินทรีย์ปฏิปักษ์, แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตพืช, การควบคุมโดยชีววิธี, ขอบใบแห้ง

Thesis Title	EFFECT OF BENEFICIAL BACTERIUM *PSEUDOMONAS FLUORESCENS* POLYSACCHARIDES APPLICATION TO INHIBIT BACTERIAL LEAF BLIGHT OF RICE
Author	Mr. Phansak Chitsawhang
Degree	Master of Science (Organic Farming Management)
Department/Faculty/University	Department of Organic Farming Management Faculty of Science and Technology Thammasat University
Thesis Advisor	Assistant Professor Dr. Dusit Athinuwat
Thesis Co-Advisor	Assistant Professor Dr. Chanan Phonprapai Dr. Wilawan Chuaboon
Academic Years	2015

ABSTRACT

Polysaccharide various concentrations of 100, 200, 300, 500 and 1,000 ppm extracted from *Pseudomonas fluorescens* was evaluated to enhance growth of rice plant cv. Leb Nok and bacterial leaf blight control under greenhouse and paddy field conditions. Polysaccharide 100, 200 and 300 ppm showed significantly highest enhance rice plant growth at 14 days after planting including plant height; root length; number of root; fresh weight; and dry weight (p=0.05) under greenhouse conditions with 14.58, 14.12 and 12.36 cm; 9.65, 9.37 and 9.87 cm; 16.10, 16.13 and 15.69 roots; 8.28, 8.35 and 8.24 g/plant; and 3.23, 3.12 and 2.87 g/plant, respectively. In contrast, chemical controls showed plant height; root length; number of root; fresh weight; and dry weight with 8.44 - 9.12 cm; 6.10 - 6.12 cm; 11.32 – 11.43 roots; 6.11 – 6.12 g/plant; and 1.23 – 1.34 g/plant, respectively. This phenomenon explained by significantly highest indole-3-acetic acid accumulated with 11.49 – 14.21 µg/mg fresh weight after polysaccharide seed treated. Moreover, all concentrations of polysaccharide showed *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, the causal agent of

bacterial leaf blight was inhibited with 7.55 – 12.75 mm in diameter of clear zone, 46.67 – 60.63% biofilm formation reduction, and 83.13 - 85.21% reduction of bacterial leaf blight on rice plant when compared with chemical controls. This phenomenon explained by significantly highest salicylic acid accumulated with 0.75 – 0.876 mg/g fresh weight after 1 day foliar sprayed with the polysaccharide. Under paddy field conditions, all concentrations of the polysaccharide showed non-significantly of rice plant height at 70 – 100 days old, but showed significantly of the tiller numbers, bacterial leaf blight severity, damaged seeds, quality seeds, total seeds and 1,000 seeds weight when compared with conventional and non-treated treatments. This study indicated that the polysaccharide extracted from *Pseudomonas fluorescens* had the potent to enhance rice plant growth and bacterial leaf blight control as the objective of this study.

Keywords: antagonistic microorganism, plant growth promoting bacteria, biocontrol, bacterial leaf blight

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ดุสิต อธินุวัฒน์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลักที่กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำทางด้านวิชาการ แนวคิดในการทำงานวิจัย และขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชนัญ ผลประไพ และอาจารย์ ดร.วิลาวรรณ์ เชื้อบุญ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รวมทั้ง ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศรีเมฆ ชาวโพงพาง ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปาริยา ณ นคร กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ให้คำปรึกษาแนะนำ ตลอดจนการตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณพี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ ชาวเกษตรอินทรีย์ ทุกคนที่เป็นกำลังใจในการเรียนและการทำวิจัยมาโดยตลอด

ท้ายนี้ประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอมอบแด่ครอบครัวตลอดจนครูอาจารย์ทุกท่านที่ได้อบรมสั่งสอนให้ความรู้มาจวบจนปัจจุบัน

นายพันศักดิ์ จิตสว่าง

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	(1)
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	(3)
กิตติกรรมประกาศ	(5)
สารบัญตาราง	(9)
สารบัญภาพ	(10)
รายการสัญลักษณ์และคำย่อ	(12)
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 สมมติฐาน	2
1.4 ขอบเขตการวิจัย	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 ข้าว	4
2.1.1 ลักษณะทั่วไปของข้าว	4
2.2 โรคขอบใบแห้ง	4
2.2.1 ความสำคัญของโรคขอบใบแห้ง	4
2.2.2 สาเหตุโรคขอบใบแห้ง	5
2.2.3 อาการโรคขอบใบแห้ง	5

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.2.3 การควบคุมโรคขอบใบแห้ง	6
2.3 การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี	6
2.3.1 จุลินทรีย์ปฏิปักษ์	8
2.3.2 กลไกการทำงานของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อพืช	8
2.4 เอ็กโซพอลิแซคคาไรด์	10
บทที่ 3 วิธีการวิจัย	14
3.1 การแยกเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้ง	12
3.2 ทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในสภาพห้องปฏิบัติการ	13
3.2.1 สกัดสารพอลิแซคคาไรด์จาก *Pseudomonas fluorescens*	13
3.2.2 ทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้ง	14
3.2.3 ทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในการยับยั้งการสร้าง biofilm ของเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae*	14
3.3 ทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตต้นข้าวและควบคุมโรคขอบใบแห้งในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง	15
3.3.1 วางแผนการทดลอง	15
3.3.2 วิเคราะห์ indole-3-acetic acid (IAA)	16
3.3.3 วิเคราะห์ salicylic acid (SA)	16
3.4 ทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตต้นข้าวและควบคุมโรคขอบใบแห้งในสภาพแปลงนาของเกษตรกร	16
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	
4.1 ผลการแยกเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้ง	18
4.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในสภาพห้องปฏิบัติการ	19

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.2.1 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้ง	19
4.4.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในการยับยั้งการสร้าง biofilm ของเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae*	20
4.3 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตต้นข้าวและควบคุมโรคขอบใบแห้งในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง	22
4.3.1 ผลการส่งเสริมการเจริญเติบโตต้นข้าวและควบคุมโรคขอบใบแห้ง	22
4.3.2 ผลการวิเคราะห์ indole-3-acetic acid (IAA)	26
4.3.3 ผลการวิเคราะห์ salicylic acid (SA)	29
4.4 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตต้นข้าวและควบคุมโรคในสภาพแปลงนาของเกษตรกร	31
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	36
รายการอ้างอิง	37
ประวัติผู้เขียน	48

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 ผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ของ *Pseudomonas fluorescens* ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตด้านความสูงต้นของต้นข้าวเล็บนกในนาข้าวของเกษตกร	31
4.2 ผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ของ *Pseudomonas fluorescens* ความเข้มข้นต่าง ๆ ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตด้านการแตกกอของต้นข้าวเล็บในนาข้าวของเกษตกร	32
4.3 ผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ของ *Pseudomonas fluorescens* ในการควบคุมโรคขอบใบแห้งของต้นข้าวเล็บนกในแปลงปลูกข้าวของเกษตรกร	34
4.4 ผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ของ *Pseudomonas fluorescens* ต่อปริมาณผลผลิตข้าวคุณภาพ	35

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
4.1	อาการขอบใบแห้งที่สำรวจพบบนใน อ. แม่ลาน้อย จ. แม่ฮ่องสอน (ก) และแถบดีเอ็นเอเป้าหมายขนาด 495 bp ที่พบในเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* สายพันธุ์เป้าหมายและสายพันธุ์อ้างอิง (ข)	18
4.2	ประสิทธิภาพของสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100, 200, 300, 500 และ 1,000 ppm ของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ *Pseudomonas fluorescens* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้ง ด้วยเทคนิค agar diffusion เปรียบเทียบกับเซลล์สด *P. fluorescens* ความเข้มข้น $1X10^8$ cfu/ml น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ สารเคมี bacbicure ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ และสารปฏิชีวนะ kanamycin ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/ลิตร	20
4.3	ประสิทธิภาพของสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100, 200, 300, 500 และ 1,000 ppm ของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ *Pseudomonas fluorescens* ในการยับยั้งการสร้าง biofilm ของเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้ง เปรียบเทียบกับปริมาณ biofilm ของเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งในอาหาร nutrient glucose broth	21
4.4	ผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ของ *Pseudomonas fluorescens* เปรียบเทียบกับเซลล์สดของ *P. fluorescens* สารเคมี bacbicure สารปฏิชีวนะ kanamycin และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตด้านความสูงของต้นกล้าข้าวเล็บนก อายุ 14 วัน ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง	23
4.5	ผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ของ *Pseudomonas fluorescens* เปรียบเทียบกับเซลล์สดของ *P. fluorescens* สารเคมี bacbicure สารปฏิชีวนะ kanamycin และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตด้านความยาวรากของต้นกล้าข้าวเล็บนก อายุ 14 วัน ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง	24
4.6	ผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ของ *Pseudomonas fluorescens* เปรียบเทียบกับเซลล์สดของ *P. fluorescens* สารเคมี bacbicure สารปฏิชีวนะ kanamycin และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตด้านจำนวนรากของต้นกล้าข้าวเล็บนก อายุ 14 วัน ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง	24

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4.7 ผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ของ *Pseudomonas fluorescens* เปรียบเทียบกับเซลล์สดของ *P. fluorescens s* สารเคมี bacbicure สารปฏิชีวนะ kanamycin และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตด้านน้ำหนักสดของต้นกล้าข้าวเล็บนก อายุ 14 วัน ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง 25

4.8 ผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ของ *Pseudomonas fluorescens* เปรียบเทียบกับเซลล์สดของ *P. fluorescens* สารเคมี bacbicure สารปฏิชีวนะ kanamycin และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตด้านน้ำหนักแห้งของต้นกล้าข้าวเล็บนก อายุ 14 วัน ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง 25

4.9 ผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ของ *Pseudomonas fluorescens* เปรียบเทียบกับเซลล์สดของ *P. fluorescens* สารเคมี bacbicure สารปฏิชีวนะ kanamycin และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ในการควบคุมโรคขอบใบแห้งของข้าวเล็บนกในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง 26

4.10 ผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ของ *Pseudomonas fluorescens* เปรียบเทียบกับเซลล์สดของ *P. fluorescens* สารเคมี bacbicure สารปฏิชีวนะ Kanamycin และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ในการชักนำให้ต้นข้าวสะสม indole-3-acetic acid เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตต้นข้าวเล็บนกในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง 28

4.11 ผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ของ *Pseudomonas fluorescens* เปรียบเทียบกับเซลล์สดของ *P. fluorescens* สารเคมี bacbicure สารปฏิชีวนะ kanamycin และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ในการชักนำให้ต้นข้าวสะสม salicylic acid และต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้ง ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง 30

รายการสัญลักษณ์และคำย่อ

สัญลักษณ์/คำย่อ	คำเต็ม/คำจำกัดความ
Cfu/ml	Colony forming units per milliliter
CRD	Completely randomized design
DMRT	Duncan's new multiple range tests
EPS	Exopolysaccharide
IAA	Indole-3-acetic acid
NGB	Nutrient glucose broth
NGA	Nutrient glucose agar
O.D.	Optical density
RCBD	Randomized complete block design
SA	Salicylic acid
SP007s	*Pseudomonas fluorescens* SP007s
Xoo	*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

บทที่1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ข้าวเป็นพืชที่มีความสำคัญเป็นอันดับ 3 ของโลก รองจากข้าวสาลีและข้าวโพด สำหรับในประเทศไทยข้าวถือว่าเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญเป็นอันดับ 1 ทั้งการบริโภคภายในประเทศและการส่งออก แต่ระบบการผลิตข้าวในปัจจุบันมุ่งเน้นการปลูกข้าวพันธุ์ที่ให้ผลผลิตมากและเป็นที่ต้องการของโรงสีและตลาดในปัจจุบัน จึงละเลยพันธุ์ข้าวท้องถิ่น ทำให้สูญเสียความหลากหลายของพันธุกรรมข้าว และกลายเป็นระบบการปลูกพืชเชิงเดี่ยวมากขึ้น รวมทั้งระบบการปลูกข้าวในแปลงขนาดใหญ่ยังจำเป็นต้องใช้สารเคมีและปุ๋ยเคมีเป็นหลัก ด้วยเหตุผลที่กล่าวมาข้างต้นนี้จะส่งผลให้ศัตรูพืช (โรคพืช แมลงศัตรูพืช และวัชพืช) ระบาดรุนแรงมากขึ้น อีกทั้งจะส่งผลให้ศัตรูพืชดังกล่าวดื้อต่อสารเคมี โดยเฉพาะข้าวพันธุ์ท้องถิ่นที่มีรสชาติ อร่อย และนุ่ม ได้แก่ ข้าวเล็บ ข้าวเหลืองใหญ่ และข้าวหรั่ง เป็นต้น ที่มักอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืช โดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้ง หากสภาพแวดล้อมเหมาะสมจะส่งผลทำให้ผลผลิตข้าวเสียหายถึง 80% (พากเพียร และคณะ, 2552) ทำให้เกษตรกรกำลังจะเลิกปลูกข้าวพันธุ์ท้องถิ่นและหันมาปลูกข้าวลูกผสมที่ให้ผลผลิตมากกว่าแทน ดังนั้นเพื่อให้เกษตรกรหันมาปลูกข้าวพันธุ์ท้องถิ่นร่วมกับการใช้หลักการเกษตรยั่งยืนที่ใช้ปัจจัยการผลิตน้อย (low-input sustainable agriculture, LISA) โดยเฉพาะการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี ซึ่งมีรายงานว่า เชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* ผลิตสารทุติยภูมิที่มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นให้พืชเศรษฐกิจหลายชนิดผลิตสารต่างๆ ในระบบภูมิต้านทาน ได้แก่ salicylic acid, jasmonic acid, β-1,3-glucanase, peroxidase, phenolics, guaiacol peroxidase และ glucosinolate ที่ใช้ยับยั้งการเข้าทำลายโรคหลายชนิด ได้แก่ โรคเน่าเละของพืชผักตระกลูกะหล่ำ (ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*) โรคขอบใบทองของพืชผักตระกลูกะหล่ำ (เชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) รวมทั้งโรคข้าวที่สำคัญ ได้แก่ เมล็ดด่าง (เชื้อรา *Curvularia lunata*, *Cercospora oryzae*, *Bipolaris oryzae*, *Fusarium semitectum*, *Alternaria padwickii* และ *Sarocladium oryzae*) ขอบใบแห้ง (เชื้อแบคทีเรีย *X. oryzae* pv. *oryzae*) และใบขีดโปร่งแสง (เชื้อแบคทีเรีย *X. oryzae* pv. *oryzicola*) เป็นต้น (นลินา และสุดฤดี, 2552; Prathuangwong *et al*., 2005; 2013; Buensanteai *et al*., 2008; 2012; Athinuwat *et al*., 2014;) แต่ยังไม่มีการศึกษารายละเอียดถึงประสิทธิภาพของสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์

P. fluorescens ในการยับยั้งเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้งเช่นเดียวกับผลการศึกษาวิจัยในพืชอื่นๆ ที่ผ่านมา ก็จะสามารถลดข้อจำกัดของการใช้เชื้อปฏิปักษ์ ซึ่งได้แก่ อายุและปริมาณเชื้อปฏิปักษ์ที่เหมาะสม การเพิ่มปริมาณและการเก็บรักษา ตลอดจนการสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม เป็นต้น ที่จะส่งผลต่อประสิทธิภาพในการควบคุมการระบาดของโรคขอบใบแห้งที่จะทำอันตรายต่อข้าวพันธุ์ท้องถิ่นได้เป็นอย่างดี องค์ความรู้ที่ได้จากประเด็นนี้จะสามารถนำไปศึกษาต่อยอดและกำหนดระดับความเข้มข้นต่ำสุด (minimum inhibition concentration, MIC) และ/หรือความถี่ของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคขอบใบแห้ง อันจะส่งผลทำให้เกษตรกรหันมาปลูกข้าวพันธุ์ท้องถิ่นมากขึ้น ลดปริมาณการใช้สารเคมีและปุ๋ยเคมี รักษาสิ่งแวดล้อมและอนุรักษ์พันธุ์ข้าวท้องถิ่นถึงชั่วลูกชั่วหลานจนสู่ความยั่งยืนของภาคการเกษตรไทยต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 ศึกษาผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ *Pseudomonas fluorescens* ในการยับยั้งเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้งบนข้าวเล็บนก

1.2.2 ศึกษาอัตราการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ *P. fluorescens* ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคขอบใบแห้งบนข้าวเล็บนก

1.3 สมมติฐาน

แบคทีเรียที่มีประโยชน์ *P. fluorescens* มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* และควบคุมโรคขอบใบแห้ง ดังนั้นสารพอลิแซคคาไรด์ของ *P. fluorescens* จึงน่าจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* และควบคุมโรคขอบใบแห้งได้เช่นเดียวกับการใช้เชื้อสด

1.4 ขอบเขตการวิจัย

แยกเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้ง พร้อมทั้งทดสอบประสิทธิภาพและอัตราการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ *P. fluorescens* ในการยับยั้งเชื้อ *X.*

oryzae pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้งบนข้าวเล็บนก ทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการ เรือนปลูกพืชทดลอง แปลงนาของเกษตรกร อ. แม่ลาน้อย จ. แม่ฮ่องสอน

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ประสิทธิภาพของสารพอลิแซคคาไรด์ของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ *P. fluorescens* ในการยับยั้งเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้ง

1.5.2 ทราบอัตราการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ *P. fluorescens* ที่สามารถควบคุมโรคขอบใบแห้งได้อย่างมีประสิทธิภาพ

บทที่ 2
วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้าว

2.1.1 ลักษณะทั่วไปของข้าว

ข้าวจัดอยู่ในวงศ์ Gramineae (Poaceae) ในสกุล Oryza (Chang, 1972) ซึ่งในสกุลนี้มีทั้งหมด 23 ชนิด จัดเป็นข้าวป่า (wild rice) 21 ชนิด มีเพียง 2 ชนิด ที่จัดเป็นข้าวปลูก (cultivate rice) ซึ่งได้แก่ *O. sativa* ปลูกในพื้นที่ปลูกทั่ว ๆไป และ *O. glaberrima* ปลูกเฉพาะในแถบแอฟริกาตะวันตกเป็นส่วนใหญ่ ข้าวเป็นพืชล้มลุกมีอายุแค่ปีเดียว (annual) เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว รากเป็นระบบรากฝอย สามารถเจริญเติบโตได้ดีทั้งในเขตร้อน (tropical zone) ซึ่งเป็นเขตมรสุม และในเขตอบอุ่น (temperate zone) อุณหภูมิเฉลี่ยที่เหมาะสมสำหรับการปลูกข้าวตลอดฤดูการเพาะปลูกคือ 21 ถึง 35 องศาเซลเซียส โดยสามารถพบข้าวป่าเจริญในสภาพธรรมชาติหรือมีการปลูกข้าวตั้งแต่เส้นรุ้ง 53 องศาเหนือ ไปจนถึงเส้นรุ้ง 35 องศาใต้ แม้แต่ในระดับที่อยู่สูงกว่าระดับน้ำทะเลปานกลาง 1,800 เมตร (บุญหงษ์, 2553) ข้าวขึ้นได้ในดินตั้งแต่ดินทรายจนถึงดินเหนียว แต่ดินเหนียวจะขึ้นได้ดีกว่าเพราะเก็บรักษาน้ำไว้ได้มากกว่า ความเป็นกรดเป็นด่างของดินที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง pH 5.5-6.5 ไม่ชอบกรดจัด (pH < 4.0) และด่างจัด (pH > 7.0) ไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารที่ข้าวต้องการมากที่สุดซึ่งจะมีอิทธิพลต่อปริมาณผลผลิต ในสภาพน้ำขัง ข้าวดูดใช้ไนโตรเจนในรูปแอมโมเนียม (NH_4^+ -N) และอาจดูดใช้ในรูปไนเตรต (NO_3^- -N) บ้างในขณะที่น้ำถูกระบายออกจนแห้งหรือเกือบแห้ง นอกจากนี้ก็มีธาตุฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมที่ข้าวต้องการสำหรับการเจริญเติบโตตามปกติ ในการผลิตข้าวจึงต้องคำนึงถึงความพอเพียงของธาตุอาหารในดิน ซึ่งที่สำคัญที่สุดคือ ธาตุหลักทั้ง 3 ธาตุ ที่กล่าวมาข้างต้น (กรมวิชาการเกษตร, 2543)

2.2 โรคขอบใบแห้ง

2.2.1 ความสำคัญของโรคขอบใบแห้ง

โรคขอบใบแห้งของข้าว เป็นโรคที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจโรคหนึ่ง ซึ่งเมื่อเกิดการระบาดของโรคนี้แล้ว จะทำให้ผลผลิตข้าวลดลงมากกว่า 80% โดยเฉพาะบนพันธุ์ข้าวพื้นเมืองหรือพันธุ์ข้าวที่มีคุณภาพดี เพื่อการส่งออกไปยังต่างประเทศ ซึ่งไม่มีความต้านทานต่อโรคนี้ เช่น ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และกข15 โดยเฉพาะความเสียหายที่เกิดจากโรคนี้ในจังหวัดทางภาค

ตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งเป็นแหล่งใหญ่และเป็นพื้นที่สำคัญในการผลิตข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เพื่อการส่งออก ซึ่งมักจะประสบปัญหาจากการทำลายที่เกิดจากโรคขอบใบแห้ง หลังจากเกิดน้ำท่วม จะมีการระบาดของโรคนี้อย่างรุนแรงอยู่เป็นประจำ นอกจากนี้แล้วในช่วงระยะเวลา 2-3 ปีที่ผ่านมา มักจะพบว่าเกิดมีการระบาดของโรคนี้อย่างกว้างขวางและรุนแรง มีพื้นที่นับหมื่นไร่ ในจังหวัดทางภาคกลางและภาคเหนือตอนล่าง ในข้าวพันธุ์พิษณุโลก2 และชัยนาท1 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่เกษตรกรนิยมปลูก เนื่องจากเป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง คุณภาพดี ต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จึงทำให้เกษตรกรนิยมการปลูกข้าวพันธุ์ดังกล่าวกันอย่างกว้างขวาง (พากเพียร และคณะ, 2552)

2.2.2 สาเหตุโรคขอบใบแห้ง

โรคขอบใบแห้งมีสาเหตุเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* จัดอยู่ใน Division Protophyta, Class Schizomycetes, Order Pseudomonadales, Family Pseudomonadaceae, Genus *Xanthomonas* Species *oryzae* (Specific approval and amendment, 2007) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อจัดเป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีลักษณะเป็นท่อนสั้นปลายมน มีขนาดประมาณ 0.55-0.73 x 1.35-2.17 micrometers มี flagella 1 เส้น ขนาดความกว้างประมาณ 8.75 ไมครอน และความยาวประมาณ 30 ไมครอน (Ghasemie *et al*., 2008) โคโลนีของเชื้อแบคทีเรียเมื่อเจริญบนอาหาร nutrient agar จะมีลักษณะกลมนูน ผิวเรียบ มีเมือก สร้างรงควัตถุสีเหลือง ขอบเรียบเป็นมันวาว และแบคทีเรียจะสร้าง mucous สามารถละลายได้ใน acetone

2.2.3 อาการโรคขอบใบแห้ง

ลักษณะโรคขอบใบแห้ง แผลจะเริ่มจากขอบใบข้าวซึ่งอยู่ห่างจากปลายใบประมาณ 5-6 เซนติเมตร ใบที่เป็นโรคครั้งแรกจะเกิดเป็นรอยแผลขีดช้ำ ต่อมาเป็นสีเหลืองส้ม แผลจะพัฒนากลายเป็นสีน้ำตาลและขยายไปตามความกว้างและความยาวของใบข้าว ในสภาพความชื้นสูง ที่แผลจะมีหยดน้ำสีครีมคล้ายยางสนขนาดเล็กเท่าหัวเข็มหมุด แผลที่เกิดจากขอบใบบางครั้งจะขยายเข้าไปข้างในตามเส้นใบ (veins) ทำให้ขอบแผลเป็นขอบลายหยัก แผลนี้เมื่อนานเข้าจะเปลี่ยนเป็นสีขาวหรือเทา ขอบใบจะแห้งและม้วนตามความยาวใบ สีเขียวจะเหลืออยู่เฉพาะที่ก้านกลางใบ (midrib) ถ้าเชื้อมีปริมาณสูงจะเข้าทำลายท่อน้ำท่ออาหาร ทำให้ท่อน้ำท่ออาหารอุดตัน ต้นข้าวจะเหี่ยวเฉาและตายอย่างรวดเร็ว ในระยะนี้บางทีอาจสับสนกับต้นข้าวที่ถูกทำลายโดยหนอนกอ (Ghasemie *et al*.,2008)

เชื้อสาเหตุสามารถเข้าทำลายต้นข้าวได้ตั้งแต่ระยะกล้าจนถึงออกรวง ระยะที่รุนแรงที่สุดของโรคคือ ระยะกล้าหรือปักดำ โดยแบคทีเรียจะเข้าไปทางแผลที่แมลงกัดหรือดูดกิน แผลที่เกิดจากการเสียดสีของใบข้าวเมื่อถูกลมพัด และเข้าทางช่องเปิดธรรมชาติ เช่น water pore และ hydrathode โรคนี้สามารถแพร่ระบาดได้กว้างขวางถ้ามีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมคือ อุณหภูมิ 28-35 องศาเซลเซียส ความชื้นสูง ระดับน้ำสูง การระบายน้ำไม่ดี ฝนตกพรำ มีลมพัดแรง เพราะจะทำให้เกิดบาดแผลที่ใบซึ่งเป็นช่องทางให้เชื้อเข้าทำลาย ทำให้เชื้อระบาดอย่างรวดเร็วจากต้นสู่ต้น จากแปลงสู่แปลง และโดยการไหลไปกับน้ำ (กรมวิชาการเกษตร, 2543)

2.2.4 การควบคุมโรคขอบใบแห้ง

การควบคุมโรคขอบใบแห้งของข้าวตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตรคือ การใช้ข้าวพันธุ์ต้านทาน เช่น กข5 กข7 กข23 เหลืองประทิว123 พัทลุง60 พิษณุโลก60-1 สันป่าตอง 1 สุรินทร์1 หรือการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชในเวลาที่เหมาะสมตามคำแนะนำของนักวิชาการ และไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนมากเกินไปในดินที่อุดมสมบูรณ์อยู่แล้ว ไม่ระบายน้ำในนาที่เป็นโรคลงในแปลงนาอื่น การจัดการโรคโดยทั่วไปในประเทศไทยหรือประเทศอื่น ๆ อีกหลายประเทศ เกษตรกรมักจะป้องกันความเสียหายอันเกิดจากโรคพืชด้วยการใช้สารเคมี เพราะเป็นวิธีที่สะดวกรวดเร็ว เห็นผลทันใจ ประหยัดเวลาและแรงงาน แต่อย่างไรก็ตามเมื่อมีการใช้สารเคมีกันอย่างกว้างขวางได้ก่อให้เกิดปัญหาต่าง ๆ ติดตามมา เช่น สารเคมีก่อให้เกิดอันตรายกับผู้ใช้ สารเคมีหลายชนิดเกิดการปนเปื้อนในสภาพแวดล้อม ก่อให้เกิดการระบาดใหม่ของโรคพืชชนิดเดิม และการระบาดของโรคพืชชนิดใหม่ เนื่องจากสารเคมีไปทำลายศัตรูธรรมชาติของเชื้อโรคพืช สารเคมีก่อให้เกิดปัญหาเชื้อโรคต้านทานต่อสารเคมีและสารเคมีมีราคาแพงทำให้ต้นทุนการผลิตพืชผลทางการเกษตรสูงขึ้น ในปัจจุบันทางออกที่ดีทางหนึ่งในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี

2.3 การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (Biological control of plant disease) หมายถึง การนำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonist) ชนิดหนึ่งหรือมากกว่า ที่มีอยู่ทั่วไปตามบริเวณผิวพืชส่วนเหนือดิน (Munk vald and Marois, 1993; Handelsman and Parke, 1989) บริเวณรากและดินรอบราก (Larkin *et al*., 1989) ที่มีความสามารถในการแข่งขัน (competition) ทางด้านแหล่งแร่ธาตุอาหาร และแหล่งที่อยู่อาศัย การเป็นปรสิต (parasite) รวมถึงการผลิตสารปฏิชีวนะ (antibiotics) ออกมายับยั้งการเจริญของเชื้อชนิดอื่น (Campbell, 1989) ซึ่งถือว่าเป็นกลไกที่สำคัญของจุลินทรีย์

ปฏิปักษ์มาใช้ในการควบคุมโรคพืชทดแทนการใช้สารเคมี (นิพนธ์ ทวีชัย, 2546) ในปัจจุบันได้มีการนำการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีมาใช้ควบคุมโรคที่สำคัญ ๆ ของข้าว ซึ่งกิจกรรมการยับยั้งของเชื้อปฏิปักษ์จะเป็นไปในลักษณะของ epiphytic fitness โดยการดำรงชีวิตและเพิ่มปริมาณประชากรอย่างรวดเร็ว มีประสิทธิภาพในการแข่งขันแก่งแย่งทั้งทางด้านอาหารและแหล่งที่อยู่อาศัยได้ดี นอกจากนี้มีรายงานความก้าวหน้าเกี่ยวกับการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคของพืชหลายชนิดในประเทศไทย ได้แก่ *Paenibacillus* sp. SW01/4 จากผิวใบถั่วเหลือง *Pseudomonas fluorescens* SP007s และ *Bacillus subtilis* SP009s จากผิวใบกะหล่ำดอก *Serratia macescens* Spt360 และ *B. cereus* Spt245 จากดินป่า *P. aeruginosa* Spd155 จากเมล็ดสัก *B. licheniformis* Spd20 จากเมล็ดงา และ *Bacillus* sp. (YP04, YP28, KP96 และ KP25) จากผิวใบข้าวโพด และ *B. amyloliquefaciens* KPS46 จากดินแปลงถั่วเหลือง (Prathuangwong *et al*., 2005) ซึ่งแบคทีเรียปฏิปักษ์มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบจุดนูน แอนแทรคโนส ราน้ำค้าง และโรคที่ระบบรากของถั่วเหลืองและถั่วเหลืองฝักสด และยังสามารถควบคุมโรคเน่าเละ ขอบใบทอง และใบจุด Alternaria ของพืชตระกูลกะหล่ำ และควบคุมโรคสำคัญของข้าวโพด ซึ่งเป็นใบเลี้ยงเดี่ยว ได้แก่ โรคใบขีดโปร่งแสง โรคเหี่ยว โรคใบไหม้แผลใหญ่ โรคใบไหม้แผลเล็ก และโรคลำต้นเน่า (นันทิยา, 2551) นอกจากนี้แบคทีเรียปฏิปักษ์ยังมีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและชักนำความต้านทานโรคสำคัญของพืชเศรษฐกิจหลายชนิดได้แก่ ถั่วเหลือง ถั่วเหลืองฝักสด ข้าว ข้าวโพด งาสัก กระถินเทพา หน้าวัว และพืชตระกูลกะหล่ำ โดยการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกลไกการต้านทานโรคของพืช เช่น phenylalanine ammonia lyase (PAL) peroxidase (POX) และ β-1,3-glucanase แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์มีประโยชน์คุณาปการต่อระบบการผลิตพืชเศรษฐกิจหลายชนิด จึงเหมาะที่จะนำมาปรับใช้ในการผลิตพืชตามแนวทางเกษตรยั่งยืนเพื่อลดการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในระบบการผลิตและเพิ่มศักยภาพการผลิตอย่างยั่งยืน

2.3.1 จุลินทรีย์ปฏิปักษ์

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการจัดการโรค คือ จุลินทรีย์เมื่อใส่ให้พืชแล้ว สามารถป้องกันพืชไม่ให้เกิดความเสียหายเนื่องจากการทำลายของโรค เช่น ยับยั้งการเจริญหรือฆ่าเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ จึงเรียกจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเช่นนี้ว่า “จุลินทรีย์ปฏิปักษ์” ซึ่งหมายถึง จุลินทรีย์ที่เป็นศัตรูคู่ต่อสู้หรือต่อต้านเชื้อโรค จุลินทรีย์ที่มีลักษณะดีเด่นหลายชนิดไม่ได้ทำหน้าที่ควบคุมเชื้อโรคโดยทางตรงอย่างเดียว (เช่น ฆ่าหรือยับยั้งเชื้อโรค) แต่ยังสามารถส่งเสริมและช่วยพัฒนาให้พืชมีการเจริญเติบโตสมบูรณ์ได้ในหลายแนวทาง จึงอาจเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า “จุลินทรีย์สุขภาพพืช” สำหรับการจัดการหรือควบคุมโรคคือการนำวิธีการและเทคนิคต่าง ๆ มาใช้ควบคุมโรคร่วมกันอย่างชาญฉลาด เพื่อการ

ควบคุมโรคให้อยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดความเสียหาย หรือเกิดความเสียหายเพียงเล็กน้อย ดังนั้น จุลินทรีย์จึงจัดเป็นอีกเทคนิคหนึ่งที่นำมาใช้ควบคุมโรคพืช โดยการคิดวางแผนและมีเป้าประสงค์เพื่อนำแต่ละวิธีและเทคนิคมาใช้ควบคุมโรค อาจเรียกว่าการจัดการโรคพืช ความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ที่เรียกว่าจุลินทรีย์จัดการโรค หรือจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ หรือจุลินทรีย์สุขภาพพืชในเรื่องต่างๆ ตลอดจนเทคนิคและวิธีการควบคุมโรคพืช จะนำไปสู่ความสำเร็จของการปลูกพืช เพื่อผลิตอาหารคุณภาพ (สุดฤดี และคณะ, 2552ก; 2552ข)

2.3.2 กลไกการทำงานของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อพืช

จุลินทรีย์ปฏิปักษ์มีความสามารถอย่างมหัศจรรย์ที่จะส่งเสริมให้พืชมีสุขภาพที่ดี โดยการจัดการโรคได้ทั้งโดยทางตรงและทางอ้อม ด้วยกลไกการทำงานดังต่อไปนี้

1) การแข่งขันโดยตรง เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มีความสามารถแข่งขันกับเชื้อโรคพืชเป้าหมายในด้านต่างๆ เช่น การใช้ธาตุอาหาร อากาศ และการครอบครองพื้นที่ได้ดีกว่าหรืออาศัยอยู่ในบริเวณนั้นทำให้พืชหรือแบคทีเรียสาเหตุโรคไม่สามารถเจริญและขาดอาหาร และพื้นที่ครอบครองและทำให้ประชากรของเชื้อสาเหตุโรคลดลง หรือมีการเพิ่มปริมาณในระดับที่ต่ำกว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ การแข่งขันที่พบมากคือ การนำธาตุอาหารหรือสารอาหารต่างๆ ที่มีอยู่ในดินหรือสภาพแวดล้อมนั้นมาใช้ เช่น เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Pseudomomas fluorescens* จะผลิตสารไซเดอโรฟอร์ที่ช่วยในการจับยึดธาตุเหล็กในธรรมชาติได้ดีกว่าเชื้อโรค

2) การสร้างสารปฏิชีวนะ เชื้อปฏิปักษ์มีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อโรค โดยสามารถผลิตสารประกอบทางเคมีที่มีพิษในการยับยั้งหรือทำลายเชื้อโรค และสามารถนำมาผลิตใช้เป็นยารักษาโรค กับมนุษย์ สัตว์ นอกเหนือจากพืช เช่น เชื้อแบคทีเรีย *Agrobacterium radiobacter* สายพันธุ์ KS4 จะผลิตสาร bacteriocin ที่มีชื่อว่า agrocin 84 สามารถยับยั้งทำลายเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* biotype 1 และ 2 สาเหตุโรค crown gall ของพืชและช่วยป้องกันการเกิดโรคกับต้นพืชได้

3) การส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช โดยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จะกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชเพิ่มขึ้น เนื่องจากเชื้อสามารถครอบครองที่บริเวณรากของพืช และแข่งขันกับเชื้อจุลินทรีย์อื่นที่อาศัยอยู่บริเวณรากได้ดี นอกจากนี้จะช่วยเพิ่มพูนการทำหน้าที่ของสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช เช่น ฮอร์โมนพืช

4) การเป็นปรสิตและการเป็นตัวห้ำ กลไกนี้เป็นกลไกที่พบมากที่สุดสำหรับการควบคุมโดยชีววิธี โดยเชื้อปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการเป็นปรสิตเข้าไปเจริญอาศัยทำลายสิ่งมีชีวิตอื่น มีหลายชนิดทั้งเชื้อราและแบคทีเรีย

5) การชักนำให้เกิดความต้านทานโรค การชักนำภูมิต้านทานเป็นกระบวนการที่พืชถูกกระตุ้นให้เกิดการต้านทานหรือกีดขวางกระบวนการเข้าทำลายเชื้อโรค ซึ่งอาจอยู่ในรูปของการกระตุ้นการผลิตโครงสร้างพิเศษทางด้านกายภาพ หรือชักนำกระบวนการทางชีวเคมีของพืชให้ผลิตสารยับยั้งเชื้อโรคโดยเชื้อปฏิปักษ์บางชนิดจะกระตุ้นกระบวนการรับรู้จดจำและตอบสนองให้พืชเกิดกระบวนการป้องกันตนเอง และนำระบบภูมิคุ้มกันต่างๆ ใช้ต่อต้านเชื้อโรคได้หลากหลายชนิด

6) การผลิตสารส่งเสริมประสิทธิภาพการยึดติดแนบแน่นกับผิวพืช เชื้อปฏิปักษ์โดยเฉพาะแบคทีเรียหลายชนิดมีความสามารถยึดติดครอบครองผิวพืชได้แนบแน่น ซึ่งนอกจากจะช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพในลักษณะของการลดแรงตึงผิวพืช และเชื่อมสารที่มีประโยชน์ให้พืชสามารถรับได้เต็มที่แล้ว ยังกีดกันหรือจำกัดช่องทางเชื้อโรคอื่นไม่ให้สัมผัสผิวพืชและเข้าทำลายพืชได้

7) การรักษาและแก้ไขความผิดปกติ ตลอดจนการปรับสภาพความสมดุลให้พืช ช่วยส่งเสริมควบคุมกระบวนการทางชีวเคมีหรือเมตาบอลิซึมให้เป็นปกติตามลักษณะทางพันธุกรรมพืช รวมทั้งการรักษาบาดแผลต่างๆ ของพืช เช่น แผลที่รากพืช

8) การกระตุ้นและชักนำขีดความสามารถของลักษณะทางสรีรวิทยาพืชให้แสดงออกอย่างมีประสิทธิภาพ เช่น การชักนำลักษณะทางสรีรวิทยาของพืชที่เกี่ยวข้องในการสังเคราะห์แสง การคายน้ำ การหายใจ

9) การผลิตสารยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชต่างๆ ที่มีคุณสมบัติคล้ายสารปฏิชีวนะและที่ไม่ใช่สารปฏิชีวนะ แต่เป็นพิษกับเชื้อโรค เช่น ออกฤทธิ์เป็นกรดหรือสารพิษไซยาไนด์ หรือเอนไซม์ย่อยผนังเซลล์เชื้อโรค

10) คุณสมบัติในการส่งเสริมและสนับสนุนการใช้ปุ๋ยหรือธาตุอาหารของพืช บทบาทของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จะช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพในการใช้ธาตุอาหารต่างๆ ของพืช โดยปรับเปลี่ยนธาตุอาหารให้อยู่ในรูปที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ เช่น การเปลี่ยนรูปจากก๊าซไนโตรเจนในบรรยากาศให้อยู่ในรูปของสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจน ซึ่งพืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ หรือการเพิ่มพูนปุ๋ยฟอสเฟสให้กับพืช นอกจากนี้ยังเพิ่มพื้นผิวบริเวณรอบรากพืชทำให้พืชดูดซับธาตุอาหารได้เพิ่มมากขึ้น

11) จุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถช่วยย่อยสลายเศษซากพืช จึงช่วยเพิ่มอินทรีย์สารให้กับพืชได้ดีอีกแนวทางหนึ่ง (สุดฤดี และคณะ, 2552ก; 2552ข)

2.4 เอ็กโซพอลิแซคคาไรด์ (Exopolysaccharide, EPS)

เอ็กโซพอลิแซคคาไรด์ เป็นพอลิเมอร์ชีวภาพที่ประกอบด้วยพอลิแซคคาไรด์ ซึ่งอาจมีส่วนประกอบของโปรตีน หรือ ไขมัน ที่ผลิตโดยจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ และถูกหลั่งออกมานอกเซลล์ในลักษณะเป็นเมือก หรืออยู่กับเซลล์ในรูปของแคปซูล (capsules) พบพอลิแซคคาไรด์ได้มากในโครงสร้างของไบโอฟิล์ม (biofilm) ซึ่งเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่อยู่ร่วมกันโดยการฝังตัว อยู่ภายใต้พอลิเมอร์ชีวภาพ และยึดเกาะอยู่บนพื้นผิวต่าง ๆ ในสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระบบนิเวศที่เปียกชื้น ซึ่งไบโอฟิล์มเมทริกซ์ประกอบด้วยน้ำมากกว่า 97 เปอร์เซ็นต์ เซลล์จุลินทรีย์ พอลิเมอร์ เช่น เอ็กโซพอลิแซคคาไรด์ สารมัธยันตร์ชนิดต่าง ๆ ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยของเซลล์ รวมถึงสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ (Magnuson, 2011) จึงจัดว่าไบโอฟิล์มของจุลินทรีย์เป็นพื้นฐานที่สำคัญ ในการหมุนเวียนพลังงานในระบบนิเวศ และเป็นรูปแบบการเจริญที่ทำให้จุลินทรีย์อยู่รอดได้ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม (Cortes *et al*., 2011) ทั้งนี้เซลล์จุลลินทรีย์ในธรรมชาติมักจะสร้าง พอลิแซคคาไรด์เพื่อปกคลุมไบโอฟิล์มและยึดเกาะกับพื้นผิว และประโยชน์อื่น ๆ ได้แก่ 1) การเพิ่มปริมาณสารอาหาร 2) การป้องกันเซลล์จากสารพิษและยาปฏิชีวนะ 3) การรักษากิจกรรมของเอนไซม์ที่ผลิตและหลั่งออกนอกเซลล์ (extracellular enzymes) 4) การป้องกันเซลล์จากสภาวะวิกฤต 5) เพื่อการรวมกลุ่มของจุลินทรีย์ในระบบนิเวศที่เหมาะสม และ 6) เพื่อการอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัยของสังคมจุลินทรีย์ (sociomicrobiology) (Rendueles and Ghigo, 2012) ซึ่ง Odeyemi (2012) รายงานว่าการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อจุลินทรีย์เป็นลำดับขั้นตอนที่ประกอบด้วย (1) การเกาะติดของเซลล์บนพื้นผิวทั้งชนิดที่มีสมบัติชอบน้ำ (hydrophilic) หรือไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) โดยใช้พิไล (pili) ไกลโคคาลิกซ์ (glycocalyx) หรือฟิมเบรีย (fimbrae) 2) การเพิ่มจำนวนเซลล์ ตามด้วยการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์พอลิเมอร์ชีวภาพที่ผลิตจากจุลินทรีย์ต่าง ๆ จะมีชนิดและความหลากหลายแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบ ทำให้พอลิเมอร์ที่ได้มีคุณสมบัติหลากหลายและสามารถนำไปใช้ประโยชน์ นอกจากนี้จันทร์จนา (2539) รายงานผลการศึกษาวิจัยว่าได้แยกเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียจากอาหารหมักดองจำนวน 104 เชื้อ และจากน้ำอ้อยจำนวน 23 เชื้อ ถูกนำมาทดสอบความสามารถในการผลิตเอ็กโซพอลิแซคคาไรด์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ชนิดแข็งและเหลวที่แปรชนิดของน้ำตาล คือ ซูโครส แลคโตส กลูโคส และฟรุคโตส พบว่าเชื้อ AP-1 และ AP-3 สามารถผลิตเอ็กโซพอลิแซคคาไรด์ได้สูงสุดในอาหารที่มีน้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน การผลิตเอ็กโซพอลิแซคคาไรด์นี้สัมพันธ์กับการเจริญ เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา การเจริญ สรีรวิทยา และชีวเคมี พบว่าทั้ง AP-1 และ AP-3 จัดอยู่ในสปีชีส์ *Pediococcus pentosaceus* จากการศึกษาสูตรอาหารและภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิต พบว่าเชื้อ

AP-1 และ AP-3 ผลิตเอ็กโซพอลิแซคคาไรด์ได้น้ำหนักเอ็กโซพอลิแซคคาไรด์ต่อน้ำหนักซูโครสสูง เมื่อใช้อาหารที่ดัดแปลงสูตรโดยประกอบด้วยน้ำตาลซูโครส 4 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แหล่งไนโตรเจนที่ประกอบด้วย yeast extract เท่ากับ 0.5 และ 0.5 กรัม/ลิตร peptone เท่ากับ 1.5 และ 1.5 กรัม/ลิตร beef extract เท่ากับ 1.0 และ 1.5 กรัม/ลิตร ตามลำดับ แหล่งแร่ธาตุที่ประกอบด้วย $MgSO_4$ 0.2 และ 0.4 กรัม/ลิตร $MnSO_4$ เท่ากับ 0.025 และ 0 กรัม/ลิตร ตามลำดับ โดยมีภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แบบไม่ให้อากาศ ในภาวะที่เหมาะสมนี้เชื้อ AP-1 สามารถผลิตเอ็กโซพอลิแซคคาไรด์ได้ 6.32 กรัม/ลิตร ในขณะที่เชื้อ AP-3 สามารถผลิตได้ 18.56 กรัม/ลิตร เมื่อนำสารละลายเอ็กโซพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อ AP-1 และ AP-3 ไปทดสอบคุณสมบัติด้านความหนืดพบว่า มีลักษณะเป็นแบบ pseudoplastic โดยให้คุณสมบัติ shear thinning เมื่อ shear rate สูงขึ้นความหนืดจะลดลง อย่างไรก็ตามความหนืดของสารละลายไม่คงตัวต่ออุณหภูมิและที่ pH ต่ำและยังพบว่าเมื่อละลายเอ็กโซพอลิแซคคาไรด์ในสารละลายที่มีความเข้มข้นของเกลือ NaCl และ KCl ตั้งแต่ 1 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป จะมีผลทำให้ความหนืดของสารละลายสูงขึ้นแต่เอ็กโซพอลิแซคคาไรด์ที่ผลิตได้จาก AP-1 และ AP-3 จะไม่ละลายน้ำเมื่อความเข้มข้นของเกลือ KCl สูงถึง 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากการจำแนกชนิดประจุของพอลิแซคคาไรด์ตามลักษณะประจุไฟฟ้า และชนิดของน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบพบว่าเอ็กโซพอลิแซคคาไรด์จากทั้ง AP-1 และ AP-3 มีประจุเป็นกลาง และมีน้ำตาลกลูโคสเป็นองค์ประกอบ มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 90.25 และ 85.20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีปริมาณไนโตรเจน 0.001 และ 0.004 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีน้ำหนักโมเลกุล $6x10^6$ - $4x10^7$ ดาลตัน ตามลำดับ เอ็กโซพอลิแซคคาไรด์ที่เชื้อจุลินทรีย์สร้างขึ้นนี้ถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางในด้านต่าง ๆ เช่น ด้านสิ่งแวดล้อม มีรายงานการย่อยน้ำมันดีเซลโดย *Pseudomonas extremaustralis* ซึ่งเป็นแบคทีเรียทะเลที่สร้างไบโอฟิล์ม (Tribelli *et al*., 2012) ส่วนการใช้ประโยชน์จาก แบคทีเรียที่ผลิตเอ็กโซพอลิแซคคาไรด์ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น การนำเอ็กโซพอลิแซคคาไรด์ที่สร้างจากแบคทีเรียแล็กติก (lactic acid bacteria) ไปใช้เพิ่มเนื้อสัมผัสของโยเกิร์ต เนยแข็ง และนม (Patel *et al*., 2011) สำหรับตัวอย่างของพอลิแซคคาไรด์ที่นำไปใช้ด้านการแพทย์ เช่น เป็นตัวนำพายา (carrier) ใช้ในการเร่งการหายของแผล (wound healing) ใช้เป็นวัสดุปิดแผล หรือมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้ออื่น ๆ (ศิริพร และคณะ, 2549) จากที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น จะเห็นได้ว่าแบคทีเรียที่สร้างไบโอฟิล์มเป็นแหล่งของพอลิเมอร์ชีวภาพที่น่าสนใจ และควรจะได้รับการศึกษาวิเคราะห์ให้แพร่หลายมากขึ้น

บทที่ 3
วิธีการวิจัย

3.1 การแยกเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้ง

เก็บรวบรวมสายพันธุ์เชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้ง จากแหล่งปลูกข้าวที่สำคัญในพื้นที่ อ. แม่ลาน้อย จ. แม่ฮ่องสอน โดยกำหนดพื้นที่สำรวจแบบสุ่มกระจายทั่วแปลงเป็นจำนวน 10 จุด ต่อแปลงในลักษณะตัวอักษร W ซ้าย โดยเก็บตัวอย่างใบข้าวที่แสดงอาการโรคใส่ถุงพลาสติกที่ปราศจากเชื้อ รัดปากถุงให้แน่น เขียนข้อมูลรายละเอียด ได้แก่ พันธุ์ อายุ วัน เดือนปีที่เก็บ เพื่อจัดทำเป็นฐานข้อมูล นำตัวอย่างใบข้าวที่คาดว่าเป็นโรคขอบใบแห้งมาแยกเชื้อสาเหตุด้วยวิธี tissue transplanting บนอาหาร nutrient glucose agar (NGA) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (28±3 องศาเซลเซียส) 24-48 ชั่วโมง ใช้ loop ปลอดเชื้อแตะโคโลนีสีเหลืองมันวาว cross streak บนอาหาร NGA และทำให้เชื้อบริสุทธิ์ จากนั้นทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคบนข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นพันธุ์อ่อนแอต่อโรคนี้ ด้วยวิธีการตัดปลายใบ (พากเพียร และคณะ, 2552) ตามวิธีการ Kock's postulation จากนั้นนำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค ดังสมการต่อไปนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค} = \frac{\text{ความยาวของแผล}}{\text{ความยาวของใบข้าว}} \times 100$$

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผลและความแปรปรวนด้วยวิธี ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยความรุนแรงโรคของเชื้อแบคทีเรียที่คาดว่าเป็น *X. oryzae* pv. *oryzae* แต่ละสายพันธุ์ โดยวิธี Duncan's new multiple range tests (DMRT) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป

จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากใบข้าวที่ก่อให้เกิดอาการโรคขอบใบแห้งและผ่านการพิสูจน์โรคแล้ว มาตรวจสอบความเป็นเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้งเปรียบเทียบกับ types strain ของ *X. oryzae* pv. *oryzae* โดยปฏิกิริยา PCR ด้วยไพรเมอร์จำเพาะบริเวณ 16S rDNA ได้แก่ XOR-F (5'-GCATGACGTCATCGTCCTGT-3') และ XOR-R2 (5'-CTCGGAGCTATATGCCGTGC-3') ที่สามารถเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอเป้าหมายขนาด 495 bp ตามรายงานของ Naoto และ Takashi (2000) โดยเตรียมปฏิกิริยา PCR ปริมาตรรวมเท่ากับ 25

ไมโครลิตร ในหลอดขนาด 0.2 มิลลิลิตร ประกอบด้วยดีเอ็นเอของเชื้อเป้าหมาย (100 นาโนกรัม) 1 ไมโครลิตร ผสมกับ 10X PCR buffer 2.5 ไมโครลิตร, dNTP 0.5 ไมโครลิตร, *Taq* DNA polymerase 0.5 ไมโครลิตร ไพรเมอร์ อย่างละ 1 ไมโครลิตร และน้ำกลั่น 18.5 ไมโครลิตร ผสมสารให้เข้ากัน โดยกำหนดอุณหภูมิและเวลาของปฏิกิริยา PCR ให้มีการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ ดังนี้

	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (นาที)
1. แยกสายดีเอ็นเอแม่แบบเริ่มต้น (initial denaturing)	94	2
2. แยกสายดีเอ็นเอแม่แบบ (denaturing)	94	1
3. ดีเอ็นเอเริ่มต้นจับคู่กับดีเอ็นเอแม่แบบ (annealing)	58	1
4. สังเคราะห์ดีเอ็นเอต่อจากดีเอ็นเอเริ่มต้น (extension)	72	5
5. สังเคราะห์ดีเอ็นเอรอบสุดท้าย (final extension)	72	10

ทำปฏิกิริยาขั้นตอนที่ 2-4 เป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ทั้งหมด 30 รอบ หยุดปฏิกิริยาที่ 4 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่องเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอ (thermal cycle) รุ่น MJ Research PTC-100 Programmable Thermal Controler ตรวจวิเคราะห์ขนาดดีเอ็นเอหลังการเพิ่มปริมาณโดยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟริซิส (agarose electrophoresis) ย้อมสีเจลด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ (ethidium bromide) จากนั้นตรวจดูแถบดีเอ็นเอ ภายใต้แสงอัลตร้าไวโอเลท (ultraviolet)

3.2 ทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในสภาพห้องปฏิบัติการ

3.2.1 สกัดสารพอลิแซคคาไรด์จาก *Pseudomonas fluorescens*

นำแบคทีเรียที่มีประโยชน์ *Pseudomonas fluorescens* มาเลี้ยงในอาหาร nutrient glucose broth (NGB) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดทำการปั่นแยกเอาเซลล์ออกด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็ว 10,000 รอบ/นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที จากนั้นตกตะกอนสารพอลิแซคคาไรด์ด้วยการแยกน้ำใน supernatant ออกโดยใช้ petroleum ether และ anhydrous sodium sulfate จากนั้นระเหยแห้ง petroleum ether ออกด้วยเครื่อง rotary evaporator และนำไปเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 100, 200, 300, 500 และ 1,000 ppm สำหรับไปในการทดลองต่อไป

3.2.2 ทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้ง

การทดสอบประสิทธิภาพของสารพอลิแซคคาไรด์ของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ *P. fluorescens* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้ง ด้วยเทคนิค agar diffusion โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) ประกอบด้วย 9 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 10 ซ้ำ ได้แก่ ได้แก่ 1) สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100 ppm 2) สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 200 ppm 3) สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 300 ppm 4) สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 500 ppm 5) สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 1,000 ppm 6) เซลล์สดของ *P. fluorescens* (ความเข้มข้น $1X10^8$ cfu/ml) 7) น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 8) สารเคมี bacbicure ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ และ 9) สารปฏิชีวนะ kanamycin ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/ลิตร โดยนำเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* ที่ปรับความเข้มข้นเชื้อประมาณ 10^9 cfu/ml มาผสมในอาหาร NGA ที่หลอมละลายและตั้งทิ้งจนกระทั่งมีอุณหภูมิลดลงเหลือ 50-55 องศาเซลเซียส ในอัตราส่วน 1 : 20 เขย่าให้เข้ากันแล้วเทลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อรอจนผิวหน้าอาหารแข็ง ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ที่ผ่านการลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว เจาะอาหารวุ้นให้เป็นหลุมตามจำนวนที่ต้องการ จึงหยดสารที่ต้องการทดสอบปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในหลุมที่เตรียมไว้ข้างต้น บ่มในสภาพอุณหภูมิห้องนาน 24 ชั่วโมง ตรวจและบันทึกผล โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) วิเคราะห์ผลและความแปรปรวนด้วยวิธี ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติ โดยวิธี DMRT ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป เพื่อคัดเลือกความเข้มข้นของสารพอลิแซคคาไรด์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งได้ดีที่สุดไปศึกษารายละเอียดในขั้นถัดไป

3.2.3 ทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในการยับยั้งการสร้าง biofilm ของเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae*

เตรียม suspension ของเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้ง อายุ 24 ชั่วโมง ในอาหาร NGB จากนั้นศึกษาประสิทธิภาพของสารพอลิแซคคาไรด์ในการยับยั้งการสร้าง biofilm ของเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD และนำ suspension เชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* มาเจือจางในอาหาร NGB ผสมสารพอลิแซคคาไรด์จนกระทั่งมีความเข้มข้นแตกต่างกัน ได้แก่ 100, 200, 300, 500 และ 1,000 ppm ปรับความขุ่นด้วยเครื่อง spectrophotometer ให้มีค่า $O.D._{.600nm}$ 0.1 (ความเข้มข้นเชื้อประมาณ 10^5 cfu/ml) จำนวนกรรมวิธีละ 10 ซ้ำ เปรียบเทียบกับการสร้าง biofilm ของเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งในอาหาร NGB เพียงอย่างเดียว เขย่าด้วยความเร็วรอบ 120 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 วัน สังเกตและเปรียบเทียบ

ปริมาณการสร้าง biofilm ตามวิธีการของ Li *et al.* (2007) วิเคราะห์ผลและความแปรปรวนด้วยวิธี ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติ โดยวิธี DMRT ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป

3.3 ทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตต้นข้าวและควบคุมโรคขอบใบแห้งในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง

3.3.1 วางแผนการทดลอง

นำสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100, 200, 300, 500 และ 1,000 ppm มาทดสอบประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและการควบคุมการเกิดโรคขอบใบแห้งในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD รวม 9 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 10 ซ้ำ ได้แก่ 1) สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100 ppm 2) สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 200 ppm 3) สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 300 ppm 4) สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 500 ppm 5) สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 1,000 ppm 6) เซลล์สดของ *P. fluorescens* ความเข้มข้น $1X10^8$ cfu/ml 7) น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 8) สารเคมี bacbicure ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ และ 9) สารปฏิชีวนะ kanamycin ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/ลิตร แต่ละกรรมวิธีปลูกข้าวเล็บนกในกระถางขนาด 8 นิ้ว ที่บรรจุดินเหนียว 1.5 กิโลกรัม คลุกเมล็ดข้าวก่อนปลูกด้วยสิ่งทดสอบแต่ละกรรมวิธี อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร เมื่อข้าวเล็บนกอายุ 14 วัน ประเมินประสิทธิภาพของสารพอลิแซคคาไรด์ โดยการวัดความสูงต้น ความยาวราก จำนวนราก น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง และเมื่อข้าวอายุ 30 วัน จะปลูกเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้ง ด้วยวิธีการตัดปลายใบ (พากเพียร และคณะ, 2552) และพ่นใบด้วยสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100, 200, 300, 500 และ 1,000 ppm เปรียบเทียบกับเซลล์สดของ *P. fluorescens* ความเข้มข้น $1X10^8$ cfu/ml สารเคมี bacbicure ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ และสารปฏิชีวนะ kanamycin ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/ลิตร และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ หลังปลูกเชื้อโรค 1 วัน และบ่มไว้ในโรงเรือนให้มีความชื้นสูง 100 %RH ประเมินประสิทธิภาพของสารพอลิแซคคาไรด์ ในการควบคุมโรคขอบใบแห้ง โดยวิเคราะห์ความรุนแรงโรคขอบใบแห้ง 7 วัน หลังปลูกเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* จดบันทึกความรุนแรงโรค โดยวัดความยาวของแผลที่เกิดขึ้น และความยาวของใบข้าวที่ได้รับการปลูกเชื้อไว้จำนวน 10 ใบ/กอ จากนั้นนำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคดังสมการที่แสดงไว้ในข้อ 3.1 นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ผลและความแปรปรวนด้วยวิธี ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติ โดยวิธี DMRT ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป

3.3.2 วิเคราะห์ indole-3-acetic acid (IAA)

เก็บใบข้าว 0.1 กรัม จากแต่ละซ้ำในแต่ละกรรมวิธีในข้อ 3.3.1 อย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 10 วัน เริ่มตั้งแต่ข้าวมีอายุ 5 – 14 วัน มาบดใน homogenization buffer [Tris – HCl buffer ความเข้มข้น 0.1 M, pH 7, KCl ความเข้มข้น 0.1 M, PMSF ความเข้มข้น 1 mM, leupeptin ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร, Triton X-100 ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์, PVPP ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์] ที่เย็นจัด ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นนำ homogenate ที่สกัดได้จากใบข้าว ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมกับ Salkowski's reagent ปริมาตร 4 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาว 535 nm (Specphotometer รุ่น EC1011) โดยใช้หลักการความเข้มของสีที่ได้จากการทำปฏิกิริยาระหว่างสาร IAA กับกรด sulfuric (colorimeter) คำนวณปริมาณสาร IAA เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0-50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (นิภาพร และคณะ, 2558) วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติด้วยวิธี DMRT ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป

3.3.3 วิเคราะห์ salicylic acid (SA)

นำใบข้าวอายุ 29 – 35 วัน จากแต่ละซ้ำในแต่ละกรรมวิธีมาสกัด homogenate ตามวิธีการข้อ 3.3.2 จากนั้นนำ homogenate ที่สกัดได้ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เติมสาร 0.02 M ferric ammonium sulfate ปริมาตร 500 ไมโครลิตร บ่มไว้สภาพอุณหภูมิห้อง นาน 5 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร โดยแสดงค่าเป็น มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด (Tatyane *et at*., 2007) เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน ตามสมการ คือ Y = 0.114X + 0.049 โดย Y = ปริมาณการสะสมของ SA และ X = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นคลื่น 530 นาโนเมตร นำข้อมูลที่ได้ทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติด้วยวิธี DMRT ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป

3.4 ทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตต้นข้าวและควบคุมโรคขอบใบแห้งในสภาพแปลงนาของเกษตรกร

ทำการทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคขอบใบแห้งในแปลงนา อ. แม่ลาน้อย จ. แม่ฮ่องสอน โดยนำสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100, 200, 300, 500 และ 1,000 ppm มาทดสอบประสิทธิภาพในสภาพแปลงนาเกษตรอินทรีย์ ซึ่งมีโรคขอบใบแห้งระบาดเป็นประจำ วางแผนการทดลองแบบ RCBD เปรียบเทียบกับการใช้เซลล์สด *P. fluorescens* กรรมวิธีดั้งเดิมของเกษตรกรที่มีการใช้สารเคมีควบคุมโรค และกรรมวิธีที่ไม่

ใส่อะไรเลย รวม 8 กรรมวิธี แต่ละกรรมวิธีมี 4 ซ้ำ ขนาดแปลงทดลองย่อยแปลงละ 10x25 เมตร โดยใช้ต้นกล้าพันธุ์ข้าวเล็บนกอายุ 15 วัน ปลูกโดยวิธีปักดำ จนกระทั่งข้าวมีอายุ 60 วัน และแสดงอาการโรคขอบใบแห้ง จึงพ่นสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมดังรายละเอียดข้างต้น จำนวน 3 ครั้ง ทุกๆ 10 วัน (70, 80 และ 90 วันหลังปลูก) บันทึกและประเมินผลการทดลองโดยเก็บข้อมูล 2 ลักษณะ คือ (1) ข้อมูลด้านการเจริญเติบโตของข้าว (ความสูงต้น จำนวนการแตกกอ จำนวนเมล็ดต่อรวง และน้ำหนัก 1,000 เมล็ด) จากการสุ่มตัวอย่างข้าวจำนวน 50 กอ/ซ้ำ/กรรมวิธี (2) ข้อมูลการระบาดของโรคขอบใบแห้งที่พบในธรรมชาติ โดยเก็บข้อมูลจากการสุ่มความยาวของแผลขีดจำนวน 5 แผล/ใบ 20 กอ/ซ้ำ วิเคราะห์ผลและความแปรปรวนด้วยวิธี ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติ โดยวิธี DMRT ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป

สถานที่ทำการทดสอบ

ห้องปฏิบัติการ และเรือนทดลอง สาขาวิชาการจัดการเกษตรอินทรีย์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต และแปลงนา อ. แม่ลาน้อย จ. แม่ฮ่องสอน

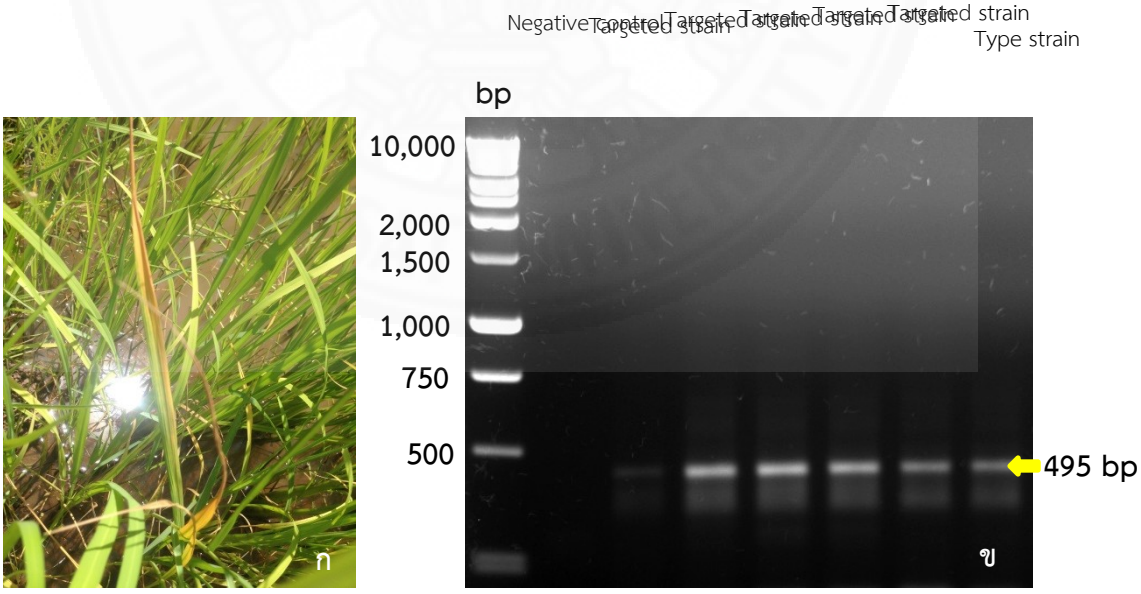
ระยะเวลาในการทดลอง

เริ่มทำการทดลอง	1 ตุลาคม 2557
เสร็จสิ้นการทดลอง	31 พฤษภาคม 2559

บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 ผลการแยกเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้ง

จากการเก็บตัวอย่างใบข้าวที่แสดงอาการโรคขอบใบแห้งจากแปลงปลูกข้าวใน อ. แม่ลาน้อย จ. แม่ฮ่องสอน (ภาพที่ 4.1ก) สามารถเก็บรวบรวมสายพันธุ์เชื้อแบคทีเรียที่มีแนวโน้มเป็นเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้ง ได้ทั้งหมด 38 สายพันธุ์ โดยแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ มีลักษณะโคโลนีสีเหลืองซีด กลม นูน เป็นมันวาว เยิ้ม บนอาหาร NGA ทั้งหมดเป็นแบคทีเรียแกรมลบ สามารถก่อให้เกิดอาการเซลล์ตายอย่างเฉียบพลันบนใบยาสูบ และก่อให้เกิดอาการขอบใบแห้งบนข้าวขาวดอกมะลิ105 รวมทั้งพบแถบดีเอ็นเอเป้าหมายขนาด 495 bp ในแบคทีเรียเป้าหมายทั้ง 38 สายพันธุ์ (ภาพที่ 4.1ข) แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียเป้าหมายทั้ง 38 สายพันธุ์ คือ *X. oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้ง (วราภรณ์, 2554) จึงคัดเลือกสายพันธุ์รุนแรงที่สุด ก่อให้เกิดความรุนแรงโรค 85% มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้ง *X. oryzae* pv. *oryzae* ด้วยสารพอลิแซคคาไรด์ของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ *Pseudomonas fluorescens* ต่อไป



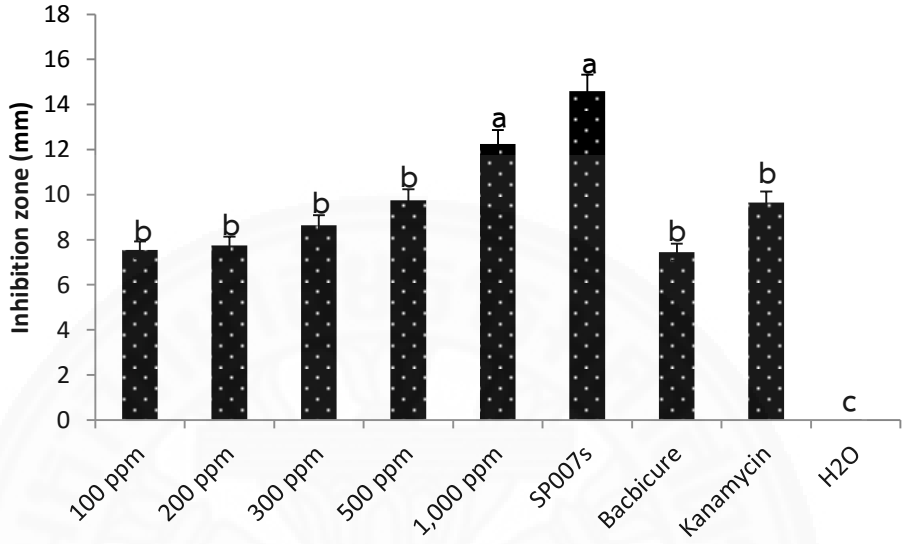
ภาพที่ 4.1 อาการขอบใบแห้งที่สำรวจพบบนใน อ. แม่ลาน้อย จ. แม่ฮ่องสอน (ก) และแถบดีเอ็นเอเป้าหมายขนาด 495 bp ที่จำเพาะต่อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* สายพันธุ์เป้าหมายและสายพันธุ์อ้างอิง (ข)

4.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในสภาพห้องปฏิบัติการ

4.2.1 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้ง

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100, 200, 300, 500 และ 1,000 ppm ของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ *P. fluorescens* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้ง ด้วยเทคนิค agar diffusion เปรียบเทียบกับเซลล์สด *P. fluorescens* ความเข้มข้น $1X10^8$ cfu/ml น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ สารเคมี bacbicure ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ และสารปฏิชีวนะ kanamycin ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/ลิตร รวม 9 กรรมวิธี พบว่าสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 1,000 ppm มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* ทัดเทียมกับเซลล์สด *P. fluorescens* โดยมีบริเวณยับยั้ง 12.25 และ 14.60 มิลลิเมตร ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.05) กับสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100, 200, 300 และ 500 ppm สารเคมี bacbicure สารปฏิชีวนะ kanamycin ซึ่งมีบริเวณยับยั้ง 7.55, 7.75, 8.65, 9.75, 7.45 และ 9.65 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 4.2) แสดงให้เห็นว่าสารพอลิแซคคาไรด์ของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ *P. fluorescens* มีประสิทธิภาพดีหรือทัดเทียมกับสารเคมี bacbicure สารปฏิชีวนะ kanamycin ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้ง ซึ่งประสิทธิภาพจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารพอลิแซคคาไรด์ สอดคล้องกับ ศตรรฆ (2558) รายงานประสิทธิภาพของสารพอลิแซคคาไรด์ของ *P. fluorescens* ในการยับยั้งเชื้อรา *Pythium* sp. สาเหตุโรครากและหัวเน่าของมันสำปะหลังในสภาพห้องปฏิบัติการ ได้ทัดเทียมกับการใช้เชื้อสด *P. fluorescens* สารเคมีแคปแทนอัตราแนะนำ และสารสังเคราะห์ salicylic acid เข้มข้น 2.5 mM โดยสารพอลิแซคคาไรด์ส่งผลให้เส้นใยเชื้อรามีการเจริญที่ผิดปกติ (abnormal growth) หดสั้น บวมพอง (swollen) และชะงักการเจริญ ตลอดจนยับยั้งการงอกของซูโอสปอร์ของเชื้อรา *Pythium* sp. นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับผลงานวิจัยของจักรพงษ์ และคณะ (2554) พบว่า *Pseudomonas* sp. ECO 008 มีอิทธิพลทำให้ปลายเส้นใยของเชื้อรา *Pythium myriotylum* มีการแตกแขนงตรงส่วนปลายมากขึ้น ตลอดจนปลายเส้นใยมีลักษณะหงิก งอ ผิดปกติ อีกทั้ง วราภรณ์ และคณะ (2558ข) รายงานว่า *P. fluorescens* SP007s ผลิตสารปฏิชีวนะ 6 ชนิด คือ phenacin, 2,4-DAPG, pyoluteorin, pyluteorin, pyrrolnitrin และ herbicolin รวมทั้งสามารถผลิต chitinase และ HCN ที่มีผลในการควบคุมโรคใบไหม้แผลใหญ่ของข้าวโพดที่เกิดจาก *Exserohilum turcicum* ได้ดี ซึ่งสารพอลิแซคคาไรด์เป็นโมเลกุลคาร์โบไฮเดรตสายยาวที่ประกอบด้วยหน่วยมอนอเมอร์ซ้ำ ๆ มาเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก รวมทั้งสามารถเป็นโมเลกุลเชิงซ้อนกับโปรตีนต่าง ๆ ทำให้มี

คุณสมบัติแตกต่างกัน โดยเฉพาะการเป็นประโยชน์ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืช (Ahemad and Khan, 2012)

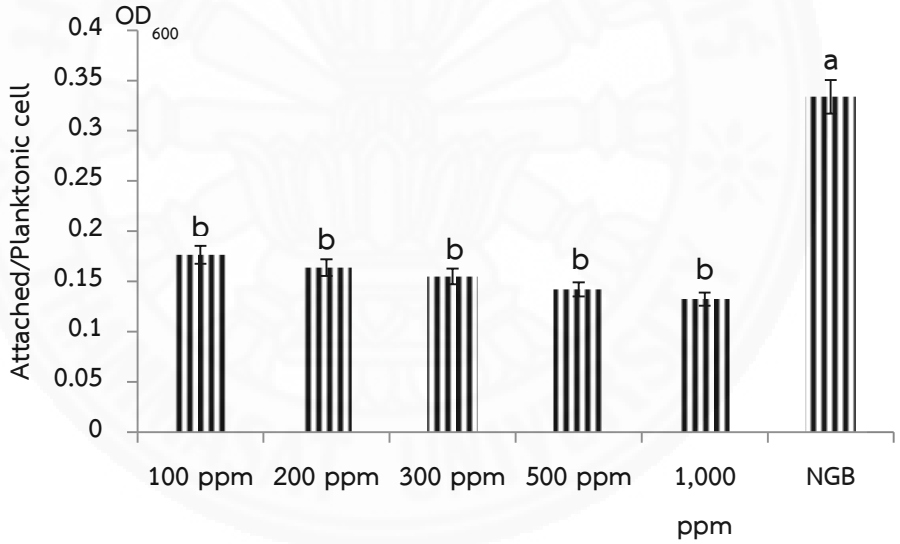


ภาพที่ 4.2 ประสิทธิภาพของสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100, 200, 300, 500 และ 1,000 ppm ของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ *Pseudomonas fluorescens* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้ง ด้วยเทคนิค agar diffusion เปรียบเทียบกับเซลล์สด *P. fluorescens* ความเข้มข้น $1X10^8$ cfu/ml น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ สารเคมี bacbicure ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ และสารปฏิชีวนะ kanamycin ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/ลิตร

4.2.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในการยับยั้งการสร้าง biofilm ของเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae*

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารพอลิแซคคาไรด์ของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ *P. fluorescens* ความเข้มข้น 100, 200, 300, 500 และ 1,000 ppm ในการยับยั้งการสร้าง biofilm ของเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้ง เปรียบเทียบกับการสร้าง biofilm ของเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* ในอาหาร NGB พบว่า สารพอลิแซคคาไรด์ทุกความเข้มข้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้าง biofilm ของเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* ได้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.05) กับปริมาณ biofilm ของเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* ในอาหาร NGB (ภาพที่ 4.3) โดยพบการสร้าง biofilm ในสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100, 200, 300, 500 และ 1,000 ppm ลดลงเท่ากับ 46.67, 51.05, 53.45, 57.36 และ 60.36 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สอดคล้องกับรายงาน

ของมะลิดา และคณะ (2556) ว่า *P. fluorescens* สายพันธุ์ SP007s มียีน *carA* และ *carB* ทำหน้าที่ในการย่อยสลาย biofilm ของเชื้อ *X. axonopodis* pv. *glycines* สาเหตุโรคใบจุดนูนของถั่วเหลืองได้ 20 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ *P. fluorescens* สายพันธุ์ SP007s ยังมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสาร diffusible signal factor (DSF) ในกระบวนการ quorum sensing หรือการส่งสัญญาณเรียกพวกพ้อง รวมตัวของเชื้อสาเหตุโรคให้มีปริมาณมากพอในการเข้าทำลายและส่งผลต่อความรุนแรงในการเกิดโรคใบจุดนูนของเชื้อสาเหตุโรคใบจุดนูนของถั่วเหลือง (ติยากร และคณะ, 2552) ซึ่งกลไกดังกล่าวล้วนเกี่ยวข้องกับการสร้าง biofilm ของเชื้อสาเหตุโรค รวมทั้งเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้ง เพื่อให้มีปริมาณมากพอในการเข้าทำลายพืช ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารพอลิแซคคาไรด์ของ *P. fluorescens* มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญและยับยั้งการสร้าง biofilm ของเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งของข้าวได้เช่นเดียวกับการใช้เชื้อสดจากงานวิจัยที่กล่าวมาข้างต้น จึงมีแนวโน้มความเป็นไปได้ในการสกัดสารพอลิแซคคาไรด์ของ *P. fluorescens* มาประยุกต์ใช้ในการควบคุมโรคพืชได้อีกทางหนึ่งด้วย



ภาพที่ 4.3 ประสิทธิภาพของสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100, 200, 300, 500 และ 1,000 ppm ของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ *Pseudomonas fluorescens* ในการยับยั้งการสร้าง biofilm ของเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้ง เปรียบเทียบกับปริมาณ biofilm ของเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งในอาหาร nutrient glucose broth

4.3 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตต้นข้าวและควบคุมโรคขอบใบแห้งในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง

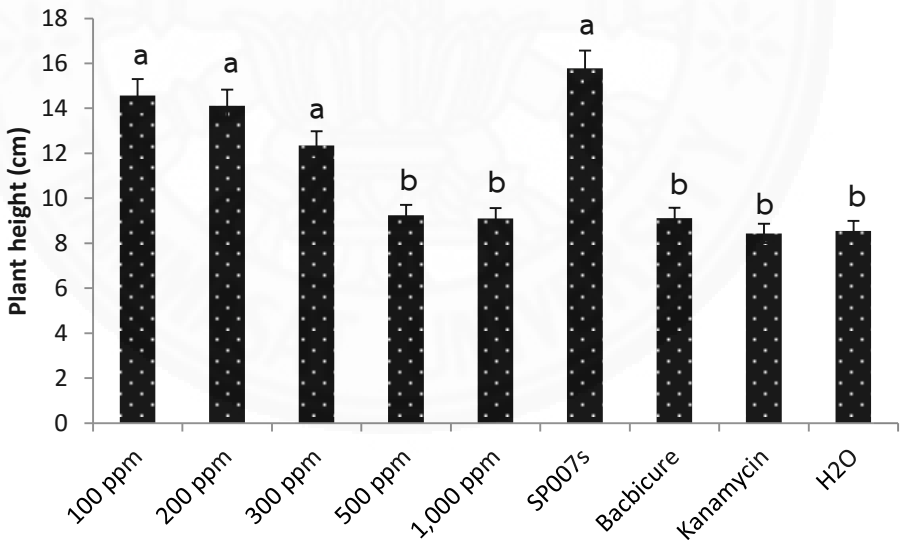
4.3.1 ผลการส่งเสริมการเจริญเติบโตต้นข้าวและควบคุมโรคขอบใบแห้ง

ผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นข้าวเล็บนก พบว่า สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 ppm อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตให้ต้นกล้าข้าวเล็บนก มีความสูงต้น ความยาวราก และจำนวนราก สูงที่สุดทัดเทียมกับการใช้เซลล์สดของ *P. fluorescens* ความเข้มข้น $1X10^8$ cfu/ml อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 500 และ 1,000 ppm สารเคมี bacbicure ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ สารปฏิชีวนะ kanamycin ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/ลิตร และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ในอัตราเดียวกันกับการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ โดยหลังการคลุกเมล็ดข้าวเล็บนกด้วยสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100, 200, 300, 500 และ 1,000 ppm เป็นเวลา 14 วัน ต้นข้าวเล็บนกมีความสูงต้นเฉลี่ยเท่ากับ 14.58, 14.12, 12.36, 9.25 และ 9.11 เซนติเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 4.4) มีความยาวรากเฉลี่ย 9.65, 9.37, 9.87, 7.85 และ 7.84 เซนติเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 4.5) และมีจำนวนรากเฉลี่ย 16.10, 16.13 15.69, 12.76 และ 13.54 ราก ตามลำดับ (ภาพที่ 4.6) ขณะที่การคลุกเมล็ดด้วยเซลล์สดของ *P. fluorescens* สารเคมี bacbicure สารปฏิชีวนะ kanamycin และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ต้นข้าวเล็บนกมีความสูงต้น เฉลี่ยเท่ากับ 15.78, 9.12, 8.44 และ 8.56 เซนติเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 4.4) มีความยาวราก เฉลี่ยเท่ากับ 10.43, 6.10, 6.12 และ 5.78 เซนติเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 4.5) และมีจำนวนราก เฉลี่ยเท่ากับ 17.45, 11.32, 11.43 และ 12.27 ราก ตามลำดับ (ภาพที่ 4.6)

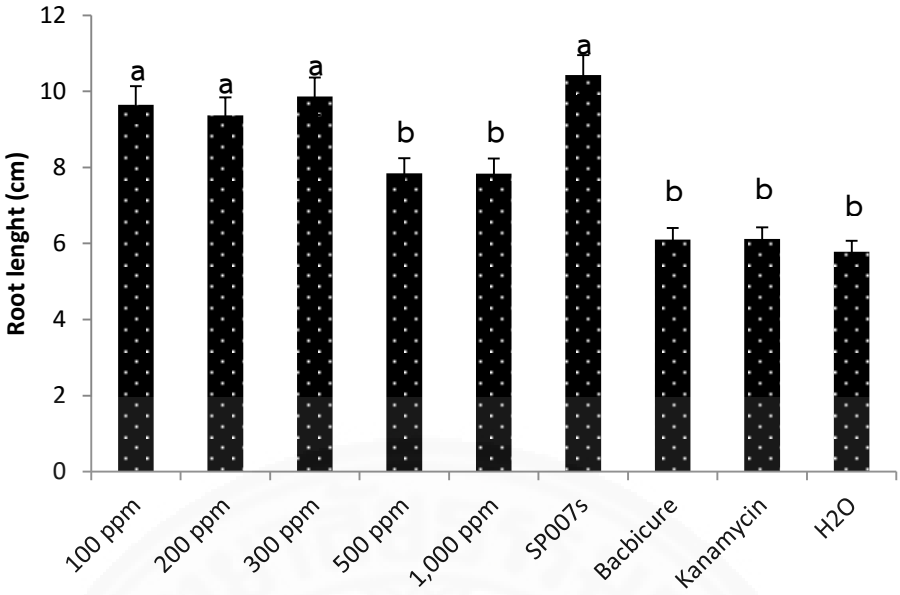
เมื่อพิจารณาผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นข้าวเล็บนก ด้านน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง พบว่า การคลุกเมล็ดข้าวเล็บนกด้วยสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100, 200, 300, 500 และ 1,000 ppm มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมให้ต้นกล้าข้าวเล็บ มีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเฉลี่ยสูงที่สุดทัดเทียมกับการใช้เซลล์สดของ *P. fluorescens* แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการคลุกเมล็ดด้วยสารเคมี bacbicure สารปฏิชีวนะ kanamycin และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ โดยหลังการคลุกเมล็ดข้าวเล็บนกด้วยสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100, 200, 300, 500 และ 1,000 ppm เป็นเวลา 14 วัน ต้นข้าวเล็บมีน้ำหนักสดเฉลี่ยเท่ากับ 8.28, 8.35, 8.24, 8.11 และ 8.13 กรัมต่อต้น ตามลำดับ (ภาพที่ 4.7) และมีน้ำหนักแห้งเฉลี่ยเท่ากับ 3.23, 3.12, 2.87, 2.87 และ 2.89 กรัมต่อต้น ตามลำดับ (ภาพที่ 4.8) ขณะที่หลังการคลุกเมล็ดข้าวเล็บนกด้วยเซลล์สดของ *P. fluorescens* สารเคมี bacbicure สารปฏิชีวนะ

kanamycin และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เป็นเวลา 14 วัน ต้นข้าวเล็บนกมีน้ำหนักสด เฉลี่ยเท่ากับ 8.76, 6.12, 6.11 และ 5.68 กรัม/ต้น ตามลำดับ (ภาพที่ 4.7) และมีน้ำหนักแห้ง เฉลี่ยเท่ากับ 3.58, 1.34, 1.23 และ 1.35 กรัม/ต้น ตามลำดับ (ภาพที่ 4.8)

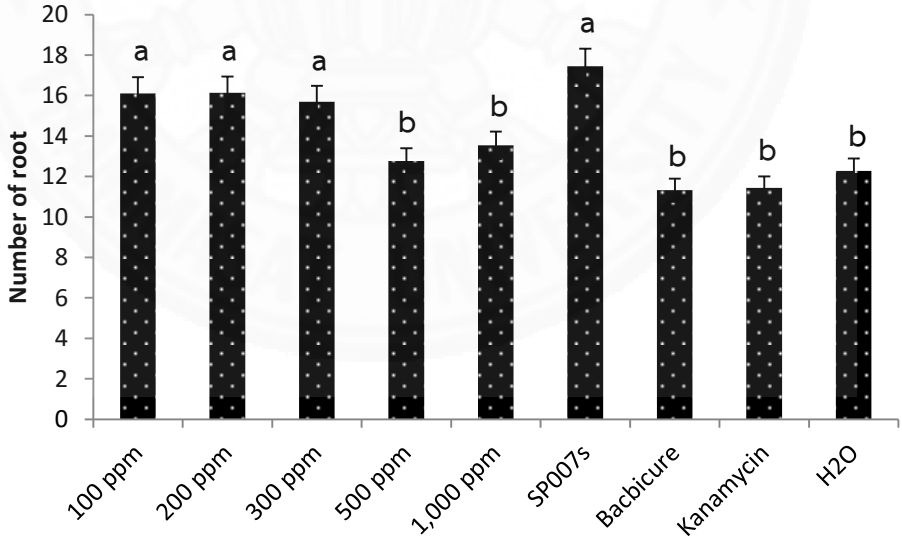
และเมื่อวิเคราะห์ความรุนแรงโรคขอบใบแห้ง 7 วันหลังปลูกเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* พบว่า การพ่นใบข้าวเล็บนกด้วยสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100, 200, 300, 500 และ 1,000 ppm อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หลังการปลูกเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* 1 วัน มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคขอบใบแห้งได้ดีที่สุดทัดเทียมกับการใช้เซลล์สดของ *P. fluorescens* และสารปฏิชีวนะ kanamycin แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการคลุกเมล็ดด้วยสารเคมี bacbicure และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ โดยสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100, 200, 300, 500 และ 1,000 ppm มีประสิทธิภาพในการลดความรุนแรงโรคขอบใบแห้ง เท่ากับ 84.73, 84.11, 83.67, 83.13 และ 85.21 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ขณะที่เซลล์สดของ *P. fluorescens* สารเคมี bacbicure และสารปฏิชีวนะ kanamycin มีประสิทธิภาพในการลดความรุนแรงโรคขอบใบแห้ง เท่ากับ 84.31, 64.32 และ 81.13 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพที่ 4.9)



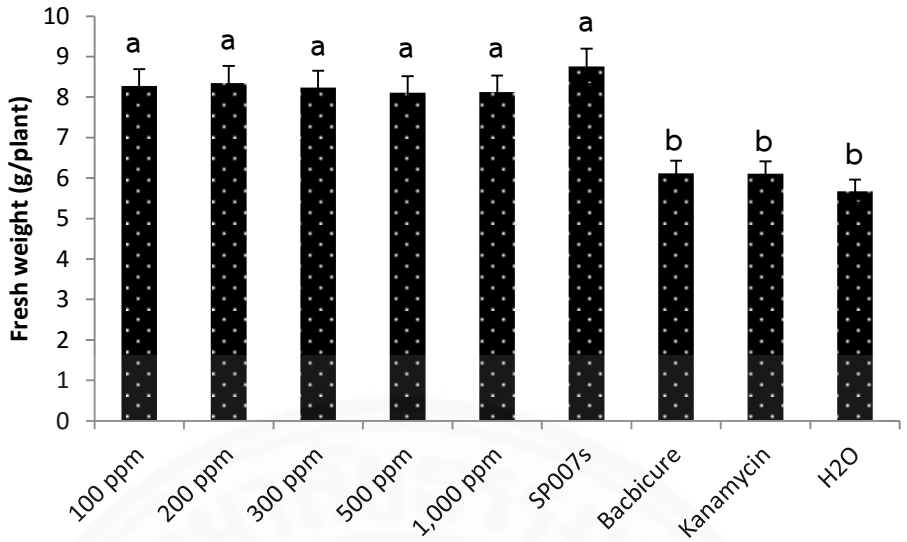
ภาพที่ 4.4 ผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ของ *Pseudomonas fluorescens* เปรียบเทียบกับเซลล์สดของ *P. fluorescens* สารเคมี bacbicure สารปฏิชีวนะ kanamycin และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตด้านความสูงของต้นกล้าข้าวเล็บนก อายุ 14 วัน ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง



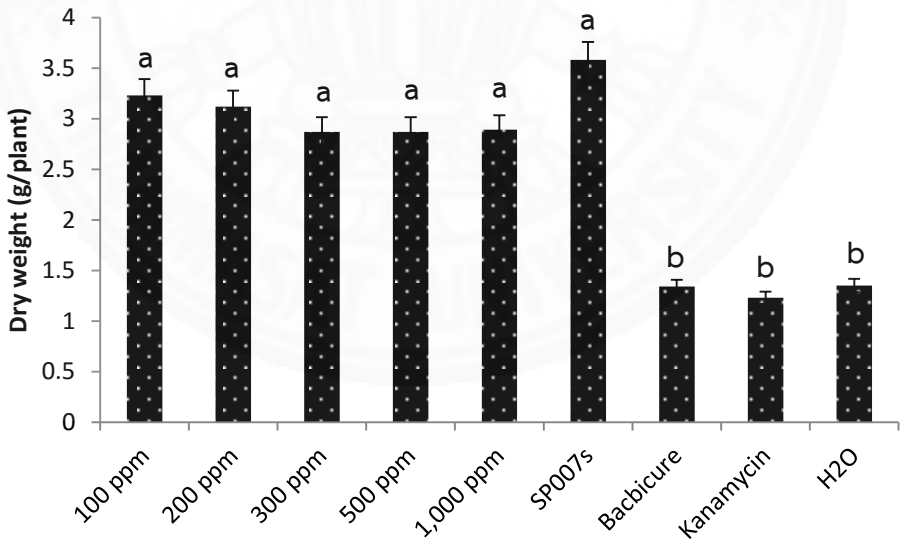
ภาพที่ 4.5 ผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ของ *Pseudomonas fluorescens* เปรียบเทียบกับเซลล์สดของ *P. fluorescens* สารเคมี bacbicure สารปฏิชีวนะ kanamycin และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตด้านความยาวรากของต้นกล้าข้าวเล็บนก อายุ 14 วัน ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง



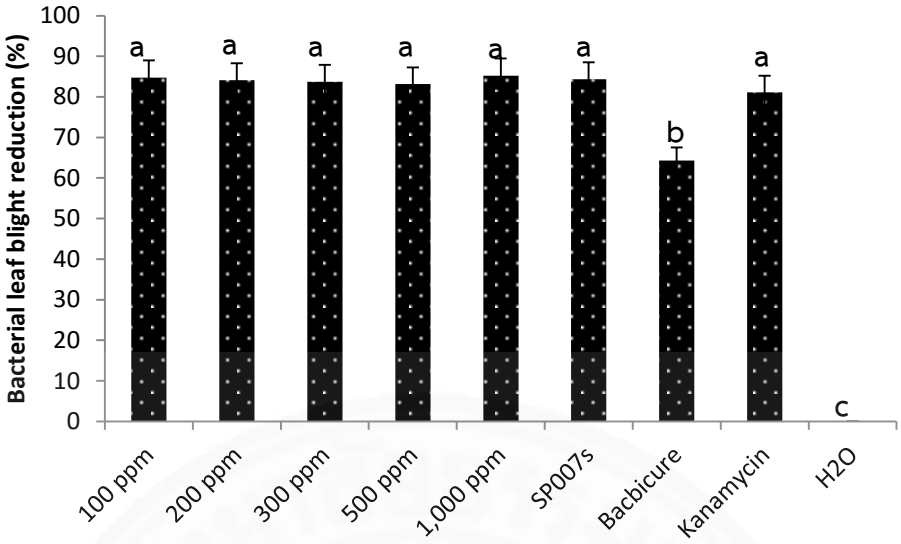
ภาพที่ 4.6 ผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ของ *Pseudomonas fluorescens* เปรียบเทียบกับเซลล์สดของ *P. fluorescens* สารเคมี bacbicure สารปฏิชีวนะ kanamycin และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตด้านจำนวนรากของต้นกล้าข้าวเล็บนก อายุ 14 วัน ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง



ภาพที่ 4.7 ผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ของ *Pseudomonas fluorescens* เปรียบเทียบกับเซลล์สดของ *P. fluorescens s* สารเคมี bacbicure สารปฏิชีวนะ kanamycin และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตด้านน้ำหนักสดของต้นกล้าข้าวเล็บนก อายุ 14 วัน ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง



ภาพที่ 4.8 ผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ของ *Pseudomonas fluorescens* เปรียบเทียบกับเซลล์สดของ *P. fluorescens* สารเคมี bacbicure สารปฏิชีวนะ kanamycin และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตด้านน้ำหนักแห้งของต้นกล้าข้าวเล็บนก อายุ 14 วัน ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง

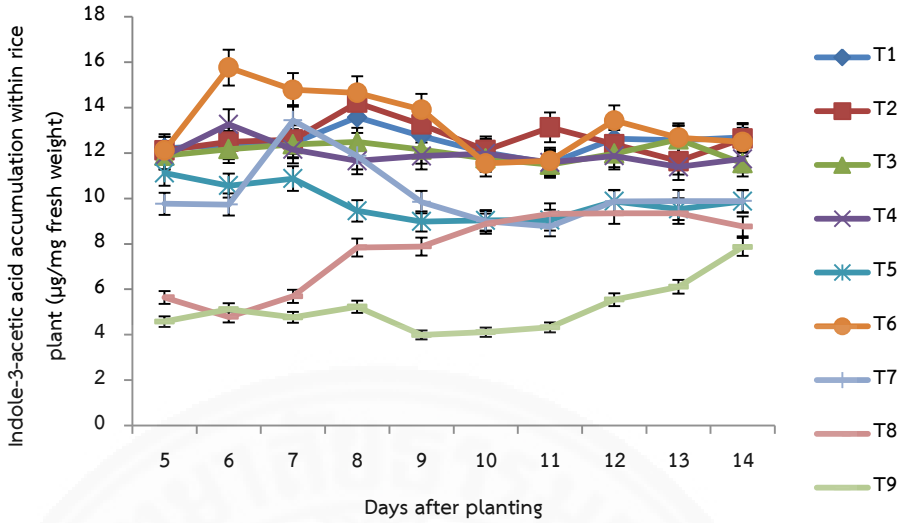


ภาพที่ 4.9 ผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ของ *Pseudomonas fluorescens* เปรียบเทียบกับเซลล์สดของ *P. fluorescens* สารเคมี bacbicure สารปฏิชีวนะ kanamycin และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ในการควบคุมโรคขอบใบแห้งของข้าวเล็บนกในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง

4.3.2 ผลการวิเคราะห์ indole-3-acetic acid (IAA)

จากผลการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นข้าวเล็บนกในข้อ 4.3.1 พบว่า สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 ppm อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตให้ต้นกล้าข้าวเล็บนก มีความสูงต้น ความยาวราก จำนวนราก น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง สูงที่สุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.05) จึงทำการวิเคราะห์ IAA ภายในต้นข้าวเล็บนก ตั้งแต่ต้นข้าวมีอายุ 5 – 14 วัน ซึ่ง endogenous IAA ภายในต้นพืชโดยส่งผลให้เซลล์พืชยืดยาวและช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซับธาตุอาหารจากดินของพืช (Buensanteai *et al*., 2008) พบว่า สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100, 200, 300 และ 500 ppm กระตุ้นให้ต้นกล้าข้าวเล็บนกสะสม IAA ได้สูงที่สุดทัดเทียมกับเซลล์สดของ *P. fluorescens* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.05) กับสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 1,000 ppm สารเคมี bacbicure สารปฏิชีวนะ kanamycin และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ในทุกวันที่วิเคราะห์ (ภาพที่ 4.10) โดยการคลุกเมล็ดข้าวเล็บนกด้วยสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100 ppm ส่งผลให้ต้นกล้าข้าวสะสม IAA ในช่วงอายุ 5 – 14 วัน เท่ากับ 11.55 – 13.57 ไมโครกรัม/มิลลิกรัมน้ำหนักสด การคลุกเมล็ดข้าวเล็บนกด้วยสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 200 ppm ส่งผลให้ต้นกล้าข้าวสะสม IAA ในช่วง

อายุ 5 – 14 วัน เท่ากับ 11.64 – 14.21 ไมโครกรัม/มิลลิกรัมน้ำหนักสด การคลุกเมล็ดข้าวเล็บนกด้วยสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 300 ppm ส่งผลให้ต้นกล้าข้าวสะสม IAA ในช่วงอายุ 5 – 14 วัน เท่ากับ 11.49 – 12.60 ไมโครกรัม/มิลลิกรัมน้ำหนักสด การคลุกเมล็ดข้าวเล็บนกด้วยสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 500 ppm ส่งผลให้ต้นกล้าข้าวสะสม IAA ในช่วงอายุ 5 – 14 วัน เท่ากับ 11.39 – 13.26 ไมโครกรัม/มิลลิกรัมน้ำหนักสด การคลุกเมล็ดข้าวเล็บนกด้วยสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 1,000 ppm ส่งผลให้ต้นกล้าข้าวสะสม IAA ในช่วงอายุ 5 – 14 วัน เท่ากับ 8.99 – 11.12 ไมโครกรัม/มิลลิกรัมน้ำหนักสด ขณะที่การคลุกเมล็ดข้าวเล็บด้วยเซลล์สด *P. fluorescens* ส่งผลให้ต้นกล้าข้าวสะสม IAA ในช่วงอายุ 5 – 14 วัน เท่ากับ 11.55 – 15.77 ไมโครกรัม/มิลลิกรัมน้ำหนักสด การคลุกเมล็ดข้าวเล็บนกด้วยสารเคมี bacbicure ส่งผลให้ต้นกล้าข้าวสะสม IAA ในช่วงอายุ 5 – 14 วัน เท่ากับ 8.78 – 13.44 ไมโครกรัม/มิลลิกรัมน้ำหนักสด การคลุกเมล็ดข้าวเล็บนกด้วยสารปฏิชีวนะ kanamycin ส่งผลให้ต้นกล้าข้าวสะสม IAA ในช่วงอายุ 5 – 14 วัน เท่ากับ 4.78 – 9.34 ไมโครกรัม/มิลลิกรัมน้ำหนักสด และการคลุกเมล็ดข้าวเล็บนกด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ส่งผลให้ต้นกล้าข้าวสะสม IAA ในช่วงอายุ 5 – 14 วัน เท่ากับ 3.99 – 7.86 ไมโครกรัม/มิลลิกรัมน้ำหนักสด สอดคล้องกับรายงานของวิลาวรรณ์ และดุสิต (2557) ว่าเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* สามารถผลิต IAA ในอาหาร NGB เท่ากับ 47.5 ไมโครกรัม/มิลลิกรัมน้ำหนักสด ซึ่งมีประสิทธิภาพส่งเสริมเปอร์เซ็นต์การงอก จำนวนรากแขนง ความสูงต้น และความยาวรากของต้นกล้าคะน้าได้ทัดเทียมกับฮอร์โมนสังเคราะห์ IAA ทั้งในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองและสภาพแปลงปลูกผักคะน้าของเกษตกร และสอดคล้องกับ ศตรรฆ (2558) รายงานประสิทธิภาพของสารพอลิแซคคาไรด์ ความเข้มข้น 500 ppm ส่งผลให้ต้นมันสำปะหลังอายุ 1 2 และ 3 เดือน มีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดทุกตัวชี้วัดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.05) กับการใช้สารสังเคราะห์ salicylic acid เข้มข้น 2.5 มิลลิโมล หรือการใช้สารเคมีแคปแทนผสมมาลาไธออนแทนอัตราแนะนำ รวมทั้งค้นพบว่า สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 500 ppm กระตุ้นให้ใบมันสำปะหลังมีการสะสม IAA ได้ดีที่สุด เมื่อมันสำปะหลังอายุ 10 – 16 วัน เท่ากับ 12.11 15.77 14.79 14.65 13.91 11.55 และ 11.65 ไมโครกรัม/มิลลิกรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า สารพอลิแซคคาไรด์ของ *P. fluorescens* มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นข้าวเล็บนก ผ่านกลไกการสะสม IAA ซึ่งประสิทธิภาพจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารพอลิแซคคาไรด์



ภาพที่ 4.10 ผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ของ *Pseudomonas fluorescens* เปรียบเทียบกับเซลล์สดของ *P. fluorescens* สารเคมี bacbicure สารปฏิชีวนะ kanamycin และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ในการชักนำให้ต้นข้าวสะสม indole-3-acetic acid เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตต้นข้าวเล็บนกในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง

นอกจากนี้ Suja *et al.* (2014) รายงานประสิทธิภาพของ IAA ผลิตจาก *Pseudomonas* sp. สำหรับทำหน้าที่เป็น elicitor กระตุ้นการเจริญเติบโตของมันสำปะหลัง ให้มีความสูงต้น เส้นรอบวงของลำต้น จำนวนใบ และน้ำหนักสดมวลรวม สูงที่สุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.05) กับกรรมวิธีควบคุม อภิวัฒน์ และคณะ (2558) รายงานประสิทธิภาพการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ของ *P. fluorescens* คลุกเมล็ดยางพันธุ์ RRIM600 ทำให้ต้นกล้ายางพาราอายุ 1 เดือน มีความสูงต้น ความยาวราก และเส้นรอบวงลำต้นสูงสุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุมและกรรมวิธีอื่น ๆ นอกจากนี้สารพอลิแซคคาไรด์ของ *P. fluorescens* ยังมีประสิทธิภาพในการส่งเสริมให้ต้นกล้ายางพาราสะสมผลิตฮอร์โมน IAA เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วภายใน 7 วัน หลังการงอกเท่ากับ 3.54 ไมโครกรัม/มิลลิกรัมน้ำหนักสด เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่น ๆ (p = 0.05) พันศักดิ์ และคณะ (2558) รายงานประสิทธิภาพการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ของ *P. fluorescens* ความเข้มข้น 100 ppm พ่นใบยางชำถุง ส่งผลให้ยางชำถุงมีความสูงต้น ความยาวราก และเส้นรอบวงลำต้นสูงที่สุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p = 0.05) กับกรรมวิธีควบคุม ภายใต้สภาพอุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียส เท่ากับ 14.1, 15.8 และ 37.5 เปอร์เซ็นต์ และ 17.3, 15.7 และ 62.2 เปอร์เซ็นต์ หลังพ่นใบ 30 และ 60 วัน ตามลำดับ ตลอดจนสารพอลิแซคคาไรด์ของ *P. fluorescens* ยังส่งเสริมให้ยางชำถุงมีการสะสม IAA และ guaiacol peroxidase (GPX) (สารใน

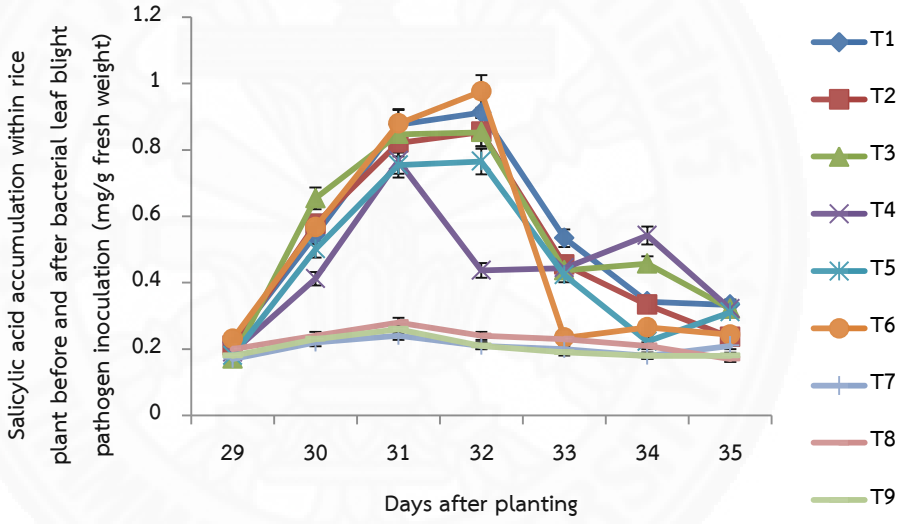
ระบบภูมิต้านทานพืช) สูงที่สุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม โดยพบการสะสม IAA อย่างรวดเร็วเท่ากับ 4.56 ไมโครกรัม/มิลลิกรัม หลังพ่นยางชำถุงด้วยสารพอลิแซคคาไรด์ ความเข้มข้น 100 ppm 4 วัน นอกจากนี้ Jaleel *et al.* (2008) รายงานประสิทธิภาพของสารพอลิแซคคาไรด์ของ *P. fluorescens* ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตต้นแพงพวยได้ดีที่สุด ได้แก่ ความสูงต้น ความยาวราก พื้นที่ใบ น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p = 0.05)

4.3.3 ผลการวิเคราะห์ salicylic acid (SA)

ผลการวิเคราะห์ SA ในต้นข้าวเล็บนกในแต่ละกรรมวิธีต่อเนื่องเป็นเวลา 7 วัน ระหว่างวันที่พืชอายุ 29 – 35 วัน พบว่าสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100, 200, 300, 500 และ 1,000 ppm มีประสิทธิภาพในการชักนำให้ต้นข้าวสะสม SA ซึ่งเป็นสารตัวกลางในระบบภูมิคุ้มกันของพืชได้ดีทัดเทียมเซลล์สด *P. fluorescens* และดีกว่าสารเคมี bacbicure สารปฏิชีวนะ kanamycin และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.05) โดยสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100, 200, 300, 500 และ 1,000 ppm และเซลล์สด *P. fluorescens* กระตุ้นให้ต้นข้าวสะสม SA สูงสุดภายใน 1 วัน หรือ 24 ชั่วโมง (วันที่พืชอายุ 31 วัน) หลังปลูกเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งและพ่นใบพืชด้วยสิ่งทดสอบต่าง ๆ) เท่ากับ 0.88, 0.82, 0.85, 0.77, 0.75 และ 0.88 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ ขณะที่สารเคมี bacbicure สารปฏิชีวนะ kanamycin และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ส่งผลให้มีปริมาณ SA สะสมในต้นข้าวกับ 0.24, 0.28 และ 0.26 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ (ภาพที่ 4.11) และ SA ภายในต้นข้าวจะคงที่ภายใน 48 ชั่วโมง และลดลงอย่างรวดเร็วในวันต่อมาตลอดการทดลอง ส่งผลให้ต้นข้าวต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งได้ทันสถานการณ์ (ภาพที่ 4.11)

เมื่อพิจารณาผลการควบคุมโรคขอบใบแห้งในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองพบว่า สารพอลิแซคคาไรด์ทุกความเข้มข้น 100, 200, 300, 500 และ 1,000 ppm มีประสิทธิภาพดีไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.05) กับเซลล์สด *P. fluorescens* และสารปฏิชีวนะ kanamycin ซึ่งสามารถลดความรุนแรงโรคขอบใบแห้งได้ 81.13 - 85.21 เปอร์เซ็นต์ หลังปลูกเชื้อสาเหตุโรคเป็นเวลา 7 วัน ดังแสดงในภาพที่ 4.9 แสดงให้เห็นว่าสารพอลิแซคคาไรด์ผลิตจาก *P. fluorescens* มีประสิทธิภาพกระตุ้นต้นข้าวสะสม IAA ให้เจริญเติบโตรวดเร็วพ้นระยะการเข้าทำลายของเชื้อโรค รวมทั้งมีประสิทธิภาพกระตุ้นภูมิต้านทานให้ต้นข้าวสะสม SA สำหรับควบคุมโรคขอบใบแห้งได้อย่างมีประสิทธิภาพ สอดคล้องกับ ศตรรฆ (2558) ที่รายงานว่า ผลการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ของ *P. fluorescens* เข้มข้น 100, 200, 300, 500 และ 1,000 ppm กระตุ้นให้ต้นมันสำปะหลังสะสมสาร salicylic acid (SA) ในระบบภูมิต้านทานพืช เพื่อควบคุมโรครากหรือหัวเน่า และพบว่าสารพอลิแซค

คาไรด์ 500 ppm มีประสิทธิภาพในการชักนำให้ต้นมันสำปะหลังสะสม SA ได้ดีที่สุดในทุกวันตั้งแต่วันแรกที่มีการวิเคราะห์ SA เปรียบเทียบกับการใช้สารสังเคราะห์ SA เข้มข้น 2.5 mM สารเคมีแคปแทนผสมมาลาไธออนอัตราแนะนำ และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ตลอดจนชักนำให้ต้นมันสำปะหลังสะสม SA สูงสุดในวันที่ 3 หลังปลูกเชื้อรา *Pythium* sp. (เมื่อมันสำปะหลังอายุ 33 วัน) อีกทั้งวราภรณ์ และคณะ (2558ก; 2558ข) รายงานประสิทธิภาพเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* ประกอบด้วยยีนที่หน้าที่ควบคุมการสังเคราะห์สารปฏิชีวนะ 6 ชนิด คือ phenacin, 2,4-DAPG, pyoluteorin, pyluteorin, pyrrolnitrin และ herbicolin ซึ่งสามารถผลิตและปลดปล่อยสารปฏิชีวนะออกมาฆ่าเชื้อโรค ตลอดจนมีกลไกการผลิต chitinase และ HCN สำหรับควบคุมโรคแผลใหญ่ของข้าวโพดที่เกิดจากเชื้อรา *Exserohilum turcicum*



ภาพที่ 4.11 ผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ของ *P. fluorescens* เปรียบเทียบกับเซลล์สดของ *P. fluorescens* สารเคมี bacbicure สารปฏิชีวนะ kanamycin และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ในการชักนำให้ต้นข้าวสะสม salicylic acid และต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้งในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง

4.4 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตต้นข้าวและควบคุมโรคในสภาพแปลงนาของเกษตรกร

ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100, 200, 300, 500 และ 1,000 ppm ของ *P. fluorescens* ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นข้าวเล็บนกในแปลงนาของเกษตกร อ. แม่ลาน้อย จ. แม่ฮ่องสอน เปรียบเทียบกับเซลล์สด *P. fluorescens* กรรมวิธีดั้งเดิมของเกษตรกรที่มีการใช้สารเคมีควบคุมโรค และกรรมวิธีที่ไม่ใส่อะไรเลย โดยการพ่นใบข้าว 3 ครั้ง เมื่อต้นข้าวอายุ 70, 80 และ 90 วัน ด้วยสิ่งทดลองในแต่ละกรรมวิธี พบว่าสารพอลิแซคคาไรด์ทุกความเข้มข้นสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตให้ต้นข้าวเล็บนกมีความสูงไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับเซลล์สด *P. fluorescens* และกรรมวิธีดั้งเดิมของเกษตรกรที่มีการใช้สารเคมีควบคุมโรค แต่ดีกว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่ใส่อะไรเลย (p=0.05) ดังรายละเอียดในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ของ *Pseudomonas fluorescens* ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตด้านความสูงต้นของต้นข้าวเล็บนกในนาข้าวของเกษตกร

Treatment	Rice plant height at difference day after planting (cm)			
	70 days	80 days	90 days	100 days
EPS 100 ppm	114.41a	134.39a	142.55a	143.25a
EPS 200 ppm	123.02a	132.73a	142.68a	142.69a
EPS 300 ppm	123.05a	133.38a	143.73a	143.76a
EPS 500 ppm	123.16a	134.76a	144.46a	144.49a
EPS 1,000 ppm	124.24a	134.71a	145.39a	145.33a
Pseudomonas fluorescens	125.03a	135.16a	152.36a	152.36a
Conventional treatment	114.49a	132.44a	141.20a	142.47a
Nontreated	82.47b	83.18b	83.29b	84.31b

อักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่แสดงในแต่ละคอลัมน์ บ่งชี้ความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยการวิเคราะห์แบบ Duncan’s New Multiple Range Test

ตารางที่ 4.2 ผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ของ *Pseudomonas fluorescens* ความเข้มข้นต่าง ๆ ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตด้านการแตกกอของต้นข้าวเล็บในนาข้าวของเกษตกร

Treatment	Tiller numbers of rice plant at difference day after planting			
	70 days	80 days	90 days	100 days
EPS 100 ppm	9.47a	9.47a	9.47a	9.47a
EPS 200 ppm	10.19a	10.19a	10.19a	10.19a
EPS 300 ppm	9.53a	9.53a	9.53a	9.53a
EPS 500 ppm	9.34a	9.34a	9.34a	9.34a
EPS 1,000 ppm	9.78a	9.78a	9.78a	9.78a
Pseudomonas fluorescens	10.21a	10.21a	10.21a	10.21a
Conventional treatment	7.96b	7.96b	7.96b	7.96b
Nontreated	6.75b	6.77b	6.80b	6.85b

อักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่แสดงในแต่ละคอลัมน์ บ่งชี้ความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยการวิเคราะห์แบบ Duncan's New Multiple Range Test

เมื่อพิจารณาผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ของ *P. fluorescens* ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตด้านการแตกกอของต้นข้าวเล็บนกในแปลงนาของเกษตกร พบว่าสารพอลิแซคคาไรด์ทุกความเข้มข้นสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตให้ต้นข้าวเล็บนกมีการแตกกอที่ดีทัดเทียมกับเซลล์สด *P. fluorescens* และดีกว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีดั้งเดิมของเกษตรกรที่มีการใช้สารเคมีควบคุมโรคและกรรมวิธีที่ไม่ใส่อะไรเลย (p=0.05) ดังรายละเอียดในตารางที่ 4.2 ซึ่งการแตกกอของต้นข้าวจะบ่งชี้ถึงจำนวนรวงข้าวและปริมาณผลผลิตข้าว ดังนั้นการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ของ *P. fluorescens* ส่งเสริมให้ต้นข้าวเล็บนกมีการแตกกอมากขึ้น จะทำให้ได้จำนวนรวงข้าวและผลผลิตข้าวเพิ่มขึ้นดังรายละเอียดในตารางที่ 4.4 สอดคล้องกับผลการวิจัยข้างต้น และวิลาวรรณ์ และดุสิต (2557) *P. fluorescens* สามารถผลิตและปลดปล่อย IAA และพอลิแซคคาไรด์ออกนอกเซลล์สู่สภาพแวดล้อม ซึ่งทั้ง IAA ที่ปลดปล่อยออกมาและสารพอลิแซคคาไรด์ของ *P. fluorescens* ล้วนมีคุณสมบัติเป็น elicitor ในการชักนำให้พืชสังเคราะห์ endogenous IAA เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตอย่างเหมาะสม จนกระทั่งเพิ่มผลผลิตอย่างยั่งยืน รวมทั้ง Suja *et al.* (2014) รายงานว่าแบคทีเรียในเขตรากพืช เช่น *Pseudomonas* sp. ที่มีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตพืช ตั้งแต่เริ่มงอกจนกระทั่งเก็บเกี่ยว รวมทั้งส่งเสริมให้ได้ผลผลิตเพิ่มสูงขึ้น ตลอดจน

กระตุ้นภูมิต้านทานพืชให้สามารถปกป้องตนเองจากการเข้าทำลายของศัตรูพืช ทั้งโรคและแมลง และ Marques *et al*. (2010) รายงาน *Pseudomonas* sp. สามารถผลิต HCN และแอมโมเนีย ที่มีความสัมพันธ์กับวัฏจักรของไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในดินให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์กับข้าวโพด ส่งผลให้ยอดและรากของข้าวโพดยืดยาวและส่งเสริมให้น้ำหนักมวลรวมของข้าวโพดเพิ่มขึ้น

เมื่อพิจารณาผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ของ *P. fluorescens* ในการควบคุมโรคขอบใบแห้งของต้นข้าวเล็บนกในแปลงนาของเกษตรกร พบว่าสารพอลิแซคคาไรด์ทุกความเข้มข้นมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคขอบใบแห้งได้ดีทัดเทียมกับเซลล์สด *P. fluorescens* และดีกว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีดั้งเดิมของเกษตรกรที่มีการใช้สารเคมีควบคุมโรคและกรรมวิธีที่ไม่ใส่อะไรเลย (p=0.05) ดังรายละเอียดในตารางที่ 4.3 สอดคล้องกับ วิลาวรรณ์และดุสิต (2557) รายงานประสิทธิภาพของ IAA และ GA_3 ที่สกัดได้จาก *P. fluorescens* ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับสารสังเคราะห์ IAA และ GA_3 ที่มีจำหน่ายทางการค้า เนื่องมากจาก IAA และ GA_3 ไม่ว่าจะสกัดจาก *P. fluorescens* หรือเป็นสารสังเคราะห์ล้วนมีประสิทธิภาพในการกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงโปรตีนของพืช ซึ่งเป็นการทำงานร่วมกันของยีนหลายชนิด (gene linkage) และขึ้นกับความสัมพันธ์โดยตรงระหว่างชนิดพืชกับ elicitor แต่ละชนิด (Ramamoorthy *et al*., 2002) ซึ่งนอกจาก IAA เป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็น elicitor ในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชแล้ว ยังทำหน้าที่เป็น signal molecule ส่งสัญญาณตัวกลางให้พืชเกิดความต้านทานทั้งระบบ (systemic acquired resistance: SAR และ induced systemic resistance : ISR) (Van Loon and Van Strien, 1999) ส่งผลให้พืชมีความแข็งแรง และสามารถเจริญรอดพ้นจากการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคและเจริญเติบโตได้ดี โดยเฉพาะในระยะแรกที่พืชเริ่มงอกก็สามารถเจริญรอดพ้นการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรค และกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อเชื้อสาเหตุโรคในระยะต่อมาทำให้พืชแข็งแรงมากขึ้น

ผลการศึกษาวิจัยครั้งนี้ยังสอดคล้องกับรายงานของ ศตรรฆ (2558) ว่าสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100, 200, 500 และ 1,000 ppm มีประสิทธิภาพในการลดความรุนแรงโรครากหรือหัวเน่าในสภาพธรรมชาติได้ดีไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.05) กับการใช้สารสังเคราะห์ salicylic acid และสารเคมีแคปแทนผสมมาลาไธออนอัตราแนะนำ แสดงให้เห็นว่าสารพอลิแซคคาไรด์ผลิตจาก *P. fluorescens* มีประสิทธิภาพส่งเสริมการเจริญเติบโตพืชและควบคุมโรคพืชในสภาพไรหรือแปลงปลูกพืชของเกษตรกรได้อย่างมีประสิทธิภาพ และสอดคล้องกับผลการทดลองในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง นอกจากนี้ Ashraf *et al.* (1999) รายงานประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์และสารปฏิชีวนะ pyoluteorin, 2,4-di-acetylphloroglucinol, phenazine-1-carboxylic acid และ hydrogen cyanide (HCN) ของ *P. fluorescens* ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของหัว

ไซเท้าและควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราและแบคทีเรีย โดยแบคทีเรียมีกลไกและระบบ autoinducer ที่ถูกควบคุมโดย homoserine lactone ในการแพร่สารปฏิชีวนะรอบ ๆ รากพืช ซึ่งจะถูกชักนำโดยสภาวะความเครียด ต่าง ๆ เช่น ethanol NaCl และอุณภูมิสูง

ตารางที่ 4.3 ผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ของ *Pseudomonas fluorescens* ในการควบคุมโรคขอบใบแห้งของต้นข้าวเล็บนกในแปลงปลูกข้าวของเกษตรกร

Treatment[1/]	Bacterial leaf blight severity at difference day after planting (%)			
	70 days	80 days	90 days	100 days
EPS 100 ppm	1.87c	1.87c	1.87c	1.87c
EPS 200 ppm	1.05c	1.57c	2.85c	2.86c
EPS 300 ppm	3.55c	3.55c	3.55c	3.55c
EPS 500 ppm	1.52c	1.52c	1.52c	1.52c
EPS 1,000 ppm	3.35c	3.35c	6.65c	3.35c
Pseudomonas fluorescens	3.42c	3.32c	3.24c	1.43c
Conventional treatment	5.43b	6.76b	9.43b	7.81b
Nontreated	7.98a	5.87a	7.89a	4.59a

[1/]การใช้ปุ๋ยยูเรีย 2 ครั้ง เมื่อพืชอายุ 21 และ 42 วัน และใช้ปุ๋ยสูตร 16-20-0 เมื่อพืชอายุ 70 วัน อัตรา 25 กก./ไร่ ร่วมกับสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช propiconazole, copper hydroxide และ difenoconazole ตามวิธีการและอัตราแนะนำ อักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่แสดงในแต่ละคอลัมน์บ่งชี้ความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยการวิเคราะห์แบบ Duncan's New Multiple Range Test

เมื่อพิจารณาผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ของ *P. fluorescens* ต่อปริมาณผลผลิตข้าวคุณภาพ พบว่าสารพอลิแซคคาไรด์ทุกความเข้มข้นมีประสิทธิภาพในการส่งเสริมให้ข้าวเล็บนกมีผลผลิตสูง มีปริมาณเมล็ดคุณภาพสูง น้ำหนัก 1,000 เมล็ดสูง และมีเมล็ดเสียต่ำทัดเทียมกับเซลล์สด *P. fluorescens* และดีกว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีดั้งเดิมของเกษตรกรที่มีการใช้สารเคมีควบคุมโรคและกรรมวิธีที่ไม่ใส่อะไรเลย (p=0.05) ดังรายละเอียดในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ของ *Pseudomonas fluorescens* ต่อปริมาณผลผลิตข้าวคุณภาพ

Treatment	Damaged seed	Quality seed	Total seed	Weight of 1,000 seed
EPS 100 ppm	17.45b	158.49a	175.94a	28.26a
EPS 200 ppm	13.12b	176.98a	189.57a	27.23a
EPS 300 ppm	16.63b	159.93a	176.67a	28.34a
EPS 500 ppm	14.33b	167.56a	182.88a	27.95a
EPS 1,000 ppm	16.46b	170.45a	186.25a	28.03a
Pseudomonas fluorescens	13.48b	169.24a	181.68a	27.95a
Conventional treatment	29.76a	127.27b	156.86b	23.54b
Nontreated	36.73a	98.43c	134.78c	18.35c

อักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่แสดงในแต่ละคอลัมน์ บ่งชี้ความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยการวิเคราะห์แบบ Duncan’s New Multiple Range Test

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

1. สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100 – 300 ppm ของ *P. fluorescens* มีประสิทธิภาพส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นข้าวเล็บนก ผ่านกลไกการสะสม indole-3-acetic acid (IAA) และมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคขอบใบแห้ง โดยการยับยั้งการสร้าง biofilm ของเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้ง อีกทั้งมีกลไกกระตุ้นให้ต้นข้าวเล็บนกมีการสะสมสาร salicylic acid (SA) ต่อต้านการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้ง

2. สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100 – 1,000 ppm ของ *P. fluorescens* มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคขอบใบแห้ง โดยกลไกการยับยั้งการเจริญและยับยั้งการสร้าง biofilm ของเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้ง อีกทั้งมีกลไกกระตุ้นให้ต้นข้าวเล็บนกมีการสะสมสาร salicylic acid (SA) ต่อต้านการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้ง

3. การพ่นสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100 – 1000 ppm ของ *P. fluorescens* หลังเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้ง เข้าทำลายภายใน 1 - 10 วัน มีประสิทธิภาพควบคุมการระบาดของโรคขอบใบแห้งได้ดีทัดเทียมกับการใช้สารเคมี และเพิ่มผลผลิตข้าวคุณภาพได้ดีที่สุด

4. ทั้งนี้หากมีการศึกษาการใช้และวิธีการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ของ *P. fluorescens* ในหลายพื้นที่และหลายฤดูปลูกจะทำให้สร้างความมั่นใจแก่เกษตรกรและผู้ที่สนใจ ซึ่งมีแนวคิดลดหรือเลิกใช้สารเคมีได้เป็นอย่างดี

รายการอ้างอิง

หนังสือและบทความในหนังสือ

กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2545). *เกษตรดีที่เหมาะสมสำหรับมันสำปะหลัง. เกษตรดีที่เหมาะสม ลำดับที่ 13*. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.

กลุ่มทำงานศึกษาและวิเคราะห์สินค้าเกษตรกรประเภทมันสำปะหลัง. (2554). *รายงานผลการศึกษาสินค้าเกษตรประเภทมันสำปะหลัง. ใน* รายงานผลการศึกษาสินค้าเกษตรประเภทมันสำปะหลัง สำนักงานคณะกรรมการกำกับการซื้อขายสินค้าเกษตรล่วงหน้า.

ทวี เก่าศิร. (2549). *หน่วยที่ 10 ตอนที่ 10.1.1 ราสาเหตุโรคพืชที่สำคัญ. เอกสารประกอบการเรียนการสอน ชุดวิชาศัตรูพืชเบื้องต้น (Introduction to Crop Pests) 93257 หน่วยที่ 8-15*. หน้า 10-8 – 10-22.

นิพนธ์ ทวีชัย. (2550). *การควบคุมโรคพืชโดยวิธีธรรมชาติ*. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. บางเขน. กรุงเทพมหานคร. 37 น.

Campbell, R. (1989). *Biological Control of Microbial Plant Pathogens*. Cambridge : Cambridge University Press.

Handelsman, J. and Parke J.L. (1989). *Mechanism in biocontrol of soilborne plant pathogens*. *In* T. Krouge and Nester E.E. (eds). Plant–Microbe. pp 27-61.

Waterhouse, G.M. (1967). *Key to Pythium Pringsheim*. Mycol. Papers No. 109. Commonwealth Mycol. Inst. Kew, Surrey, England. 15 p.

Waterhouse, G.M. (1968). *The Genus Pythium Pringsheim*. Diagnosis (or descriptions) and figures from the original papers. Mycol. Papers No. 110. Commonwealth Mycol. Inst. Kew, Surrey, England. 71 p.

บทความวารสาร

กัญญารัตน์ ว่องวิทย์เดชา. (2553). *มันสำปะหลัง*. วารสารเศรษฐกิจการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร.

จิระเดช แจ่มสว่าง วนิดา พงษ์ศักดิ์ชาติ และวรรณวิไล เกษนรา. (2534). *การตรวจและนับปริมาณเชื้อ Pythium aphanidermatum ในดินโดยวิธีเจือจางและการใช้เหยื่อล่อ*. ว. เกษตรศาสตร์ (วิทย.) 25: 39 – 46.

จักรพงษ์ หรั่งเจริญ ถนิมนันต์ เจนอักษร และพรหมมาศ คูหากาญจน์. (2554). *การยับยั้งการเจริญของเชื้อ Pythium myriotylum โดยแบคทีเรียเขตรากพืชจากระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน*. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา. 16 (1): 22-31.

ณัฐธิญา เบือนสันเทียะ ดุสิต อธินุวัฒน์ และสุดฤดี ประเทืองวงศ์. (2550). *Bacillus amyloliquefaciens ชักนำความต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรีย Xanthomonas axonopodis pv. glycines สาเหตุโรคใบจุดนูนถั่วเหลืองด้วยการเพิ่มสารประกอบฟีนอลและเอนไซม์ฟีนิลอลานีนแอมโมเนียไลเอส.* หน้า 364 - 371. *ใน* เอกสารประกอบการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45. 30 มกราคม - 2 กุมภาพันธ์ 2550. ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ณัฐธิญา เบือนสันเทียะ ดุสิต อธินุวัฒน์ ติยากร ฉัตรนภารัตน์ Gary Y. Yuen และสุดฤดี ประเทืองวงศ์. (2551). *Extracellular Proteome และผลในการชักนำการเจริญเติบโตและกระตุ้นความต้านทานบนถั่วเหลืองของ plant growth promoting-bacteria, Bacillus amyloliquefaciens KPS46*. หน้า 242 - 252. *ใน* เอกสารประกอบการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46. 29 มกราคม - 1 กุมภาพันธ์ 2551. ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

พันศักดิ์ จิตสว่าง วิลาวรรณ์ เชื้อบุญ และดุสิต อธินุวัฒน์. (2558). *สารพอลิแซคคาไรด์ของ Pseudomonas fluorescens ส่งเสริมการเจริญเติบโตของยางชำถุงภายใต้สภาพอุณหภูมิสูง*. Thai Journal of Science and Technology 4(2): 194-204.

วรรณภา เสนาดี กรกัญญา อักษรเนียม ดวงใจ เข็มแดง และอทิพัฒน์ บุญเพิ่มราศี. (2551). *ถอดรหัสมันสำปะหลังพืชทองคำใต้ดิน*. วารสารเคหะการเกษตร 7: 71-104.

วราภรณ์ บุญเกิด พัชรวิภา ใจจักรคำ สุพจน์ กาเซ็ม จีรนันท์ แหยมสูงเนิน ลาวัลย์ กลัดสุวรรณ์ มะลิดา ชูรินทร์ และสุดฤดี ประเทืองวงศ์. (2558ก). *ผลของสารปฏิชีวนะต่อการยับยั้ง Exserohilum turcicum ด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์ SP007s*. *ใน* เอกสารประกอบการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 53. 3 - 6 กุมภาพันธ์ 2558. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

วราภรณ์ บุญเกิด พัชรวิภา ใจจักรคำ สุพจน์ กาเซ็ม จีรนันท์ แหยมสูงเนิน และสุดฤดี ประเทืองวงศ์. (2558ข). *Pseudomonas fluorescense SP007s และ Trichoderma harzianum*

CB-Pin-01 ลดความรุนแรงของโรคใบไหม้แผลใหญ่ของข้าวโพด. ใน การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 12. วันที่ 20 -22 ตุลาคม 2558. ดุสิต ไอร์แลนด์ รีสอร์ท. เชียงราย.

วิลาวรรณ์ เชื้อบุญ และดุสิต อธินุวัฒน์. (2557). *ฮอร์โมนพืชผลิตจาก Pseudomonas fluorescens SP007s ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของคะน้าอินทรีย์*. Thai Journal of Science and Technology 3(3): 196-205.

วิลาวรรณ์ เชื้อบุญ และสุดฤดี ประเทืองวงศ์. (2550). *ลักษณะและการทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในการควบคุมเชื้อ Erwinia carotovora subsp. carotovora สาเหตุโรคเน่าเละของกะหล่ำดอก. ใน* การประชุมวิชาการ โครงการทุนวิจัยมหาบัณฑิต สกว. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี และทุน สกว.-บริษัท ปูนซีเมนต์นครหลวง จำกัด (มหาชน). 20-22 เมษายน 2550. โรงแรมจอมเทียน ปาล์ม บีช รีสอร์ท. ชลบุรี.

วิลาวรรณ์ เชื้อบุญ และสุดฤดี ประเทืองวงศ์. (2551). *ความถี่และความเข้มข้นที่เหมาะสมของเชื้อแบคทีเรียที่มีประโยชน์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมโรคสำคัญของกะหล่ำดอก*. หน้า 572 - 580. *ใน* เอกสารการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46. 29 มกราคม-1 กุมภาพันธ์ 2551. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

วิลาวรรณ์ เชื้อบุญ ศศิธร วุฒิวณิชย์ ชัยสิทธิ์ ปรีชา สุพจน์ กาเซ็ม ณัฐธิญา เบือนสันเทียะ และสุดฤดี ประเทืองวงศ์. (2549). *การส่งเสริมการเจริญเติบโตและชักนำภูมิต้านทานโรคของกะหล่ำดอกและผักคะน้าด้วยเชื้อจุลินทรีย์และสารชีวภัณฑ์ธรรมชาติ.* หน้า 795-810. *ใน* เอกสารการประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44 (สาขาพืช). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

วิลาวรรณ์ เชื้อบุญ สุพจน์ กาเซ็ม และสุดฤดี ประเทืองวงศ์. (2550). *ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียที่มีประโยชน์ร่วมกับสารชีวภัณฑ์ธรรมชาติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและกระตุ้นภูมิต้านทานโรคของการผลิตกะหล่ำดอกในสภาพไร่*. หน้า. 357-363. *ใน* เอกสารการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45. 30 มกราคม-2 กุมภาพันธ์ 2550. ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ศิริพร หมาดหล้า ภาวดี เมธะคานนท์ มาลินี ประสิทธิ์ศิลป์ และ กัญญวิมว์ กีรติกร. (2549). *คุณสมบัติของโพลิเมอร์จากเชื้อราในประเทศไทยและศักยภาพในการเป็นวัสดุปิดแผล*. หน้า 74-78. *ใน* รายงานวิจัยในโครงการ BRT.

สุดฤดี ประเทืองวงศ์ ชัยสิทธิ์ ปรีชา วิลาวรรณ์ เชื้อบุญ สุพจน์ กาเซ็ม จารุวัฒน์ เถาธรรมพิทักษ์ และดุสิต อธินุวัฒน์. (2549). *การพัฒนาปุ๋ยชีวภาพด้วยแบคทีเรียที่ส่งเสริมการเจริญและความแข็งแรงของพืชและการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ที่สามารถควบคุมการระบาดของโรคพืช. ใน* รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา.

อภิวัฒน์ วงศ์จินดาคุณ วิลาวรรณ์ เชื้อบุญ และดุสิต อธินุวัฒน์. (2558). *ประสิทธิภาพสารกรองของ Pseudomonas fluorescens ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้ายางพารา*. Thai Journal of Science and Technology. 4(2): 155-164.

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ และพีระวรรณ วัฒนวิภาส. (2549). *สำรวจ รวบรวม และจำแนกรา Pythium สาเหตุโรคพืช*. ใน รายงานวิจัยกลุ่มงานวิทยาไมโคกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 11 หน้า.

อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ วิชัย หฤทัยธนาสันติ์ งามผ่อง คงคาทิพย์ และอุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์. (2544). *การออกฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อราบางชนิดของสารสกัดพลูที่ได้จากตัวทำละลายเอทานอล และเอทานอลผสมกรด.* หน้า 197-202. *ใน* เอกสารการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 39. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.กรุงเทพฯ.

Ahemad, M. and Khan, M.S. (2012). *Effect of fungicides on plant promoting activities of phosphate solubilizing Pseudomonas putida isolated from mustard (Brassica compestris) rhizophere*. Chemosphere 86: 945-950.

Ashraf, M., Berge, O., Azam, F. and Heulin, T. (1999). *Bacterial exo-polysaccharides and productivity of the salt affected soils: I. Diversity of exo-polysaccharide producing bacteria from the rhizosphere of wheat (Triticum aestivum L.) grown in normal and saline Pakistani soils*. Pakistan Journal of Biological Sciences 2: 201-206.

Athinuwat, D., Thowthampitak, J., Kasem, S., Prathuangwong, S. and Choorin, M. (2013a). *Loss of CPSase activity in Pseudomonas fluorescens SP007s contributes to control efficacy against soybean bacterial pustule disease*. p. 52. *In* 10th International Congress of Plant Pathology. August 25-30, 2013. Beijing, People's Republic of China.

Athinuwat, D., Chuaboon, W., Buensanteai, N., Prathuangwong, S. and Wongchindakhun, A. (2013b). *Biological analysis of Pseudomonas fluorescens induced systemic resistance in para rubber seedling against climate change*.

p. 52. *In* 10th International Congress of Plant Pathology. August 25-30, 2013. Beijing, People's Republic of China.

Athinuwat, D., Chuaboon, W., Buensanteai, N., Prathuangwong, S. and Sottiwilaiphong, J. (2013c). *Enhanced biocontrol efficacy by bacterial antagonist mixtures against bacterial soft disease and flea beetle of Chinese kale*. p. 52. *In* 10th International Congress of Plant Pathology. August 25-30, 2013. Beijing, People's Republic of China.

Athinuwat, D., Chuaboon, W., Buensanteai, N. and Prathuangwong, S. (2014). *Efficiency of new plant growth promoting rhizobacteria on corn disease control*. African Journal of Microbiology Research 8(7): 710-717.

Budi, S.W., Arnould, C., Dumas-Gaudot, E., Gianinazzi- Pearson, V. and Gianinazzi, S. (2000). *Hydrolytic enzyme activity of Paenibacillus sp. strain B2 and effects of the antagonistic bacterium on cell integrity of two soil-borne pathogenic fungi*. Applied Soil Ecology 15: 191-199.

Buensanteai, N. and Athinuwat, D. (2012). *The antagonistic activity of Trichoderma virens strain TvSUT10 against cassava stem rot in Thailand*. African Journal of Biotechnology 11(84) : 14996-15001.

Buensanteai, N., Athinuwat, D., Chatnaparat, T., Yuen, G. Y. and Prathuangwong, S. (2008). *Extracellular proteome of plant growth promoting-bacteria, Bacillus amyloliquefaciens KPS46 and its effect on enhanced growth promotion and induced systemic resistance on soybean*. Kasetsart Journal 42(5): 13-26.

Buensanteai, N., Thumanu, K., Sompong, M., Athinuwat, D. and Prathuangwong, S. (2012). *The FTIR spectroscopy investigation of the cellular components of cassava after sensitization with plant growth promoting rhizobacteria, Bacillus subtilis CaSUT007*. African Journal of Microbiology Research 6(3) : 603-610.

Chatnaparat, T., Pupakdeepan, W. and Prathuangwong, S. (2009). *Bacterial antagonist mediated broad-spectrum resistance of maize against disease and water stress*. p. 36. *In* Proc. of the 1st International Conference on Corn and Sorghum

Research and the 34th National Corn and Sorghum Research Conference. April 8-10, 2009. Pattaya.

Cortes, M.E., Bonilla, J.C. and Simisterra, R.D. (2011). *Biofilm formation, control and novel strategies for eradication.* Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances. 896-905.

Flaishman, M.A., Eyal, Z.A., Zilberstein, A., Voisard, C. and Hass, D. (1996). *Suppression of Septoria tritici blotch and leaf rust of wheat by recombinant cyanide producing strains of Pseudomonas putida*. Molecular Plant Microbe Interaction 9: 642-645.

Fokunang, C.N., Dixon, A.G.O., Ikotun, T., Tombe, E.A., Akem, C.N. and Asiedu, R. (2001). *Anthracnose : an economic disease of cassava in Africa*. Pakistan Journal of Biologocal Sciences 4(7): 920-925.

Herman, M.A.B., Nault, B.A. and Smart, C.D. (2008). *Effects of plant growth promoting rhizobacteria on bell pepper production and green peach aphid infestations in New York*. Crop Protection 27: 996-1002.

Jaleel, C.A., Gopi, R., Zhao, C.-X., Azooz, M.M. and Panneerselvam, R. (2008). *Plant Growth Regulators and Fungicides Alters Growth Characteristics in Catharanthus roseus; Comparative Study*. Global Journal of Molecular Sciences 3 (2): 93-99.

Jatistienr, C. and Jatisatienr, A. (1999). *The fungicidal properties of extracts of clove (Eugenia caryophyllus Spreng.) and Sweet Flag (Acorus calamus Linn.)*. Acta Horticulturae : 87-93.

Kasem, S., Athinuwat D. and Prathuangwong, S. (2009). *Potential of Bacillus amyloliquefaciens KPS46 formula for disease control of green soybean*. *In* Proc. of World Soybean Research Conference VIII. Aug. 10-15, 2009. Beijing.

Kloepper, J.W., Ryu, C.M. and Zhang, S. (2004). *Induced systemic resistance and promotion of plant growth by Bacillus spp*. Phytopathology 94: 1259-1266.

Kokalis-Burelle, N., Kloepper, J.W. and Reddy, M.S. (2006). *Plant growth promoting rhizobacteria as transplant amendments and their effects on indigenous rhizosphere microorganisms*. Applied Soil Ecology 31: 91-100.

Larkin J.C., Hunsperger, J.F., Culley, D., Rubenstein, I. and Silflow, C.D. (1989). *The organization and expression of a maize ribosomal protein gene family*. Genes and Development 3: 500-509.

Magnuson, T.S. (2011). *How the xap locus put electrical "Zap" in Geobacter sulfurreducens biofilms*. Journal of Bacteriology 193: 1021-1022.

Marques, A.P.G.C., Pires, C., Moreira, H., Rangel, A.O.S.S. and Castro, P.M.L. (2010). *Assessment of the plant growth promotion abilities of six bacterial isolates using Zea mays as indicator plant*. Soil Biology and Biochemistry 42: 1229-1235.

Minorsky, P.V. (2008). *On the inside*. Plant Physiology 146: 323-324.

Munk vald, G.P. and Marios, J.J. (1993). *Efficacy of nature epiphytes and colonizes of grapevine pruning wounds of biological control of Eutypa dieback*. Phytopathology 83: 624 – 629.

Odeyemi, O.A. (2012). *Biofilm producing Vibrio species Isolated from Siloso Beach, Singapore : a preliminary study*. Webmed Central Microbiology. 3(1): 1-6.

Rendueles, Q. and Fhigo, J.-M. (2012). *Multispecies biofilms: How to avoid unfriendly neighbors*. FEMS Microbiology Reviews. 36(5): 972 - 989.

Nelson, E.B., Chao, W.L., Norton, J.M., Nash, G.T. and Harman, G.E. (1986). *Attachment of Enterobacter cloacae to hyphae of Pythium ultimun: possible role in biological control of Pythium preemergence damping-off*. Phytopathology 76: 327-335.

Pagliaccia, D., Ferrin, D. and Stanghellini, M.E. (2007). *Chemo-biological suppression of root-infecting zoosporic pathogens in recirculating hydroponic systems*. Plant Soil 299: 163-179.

Patel, S., Majumder, A., and Goyal, A. (2011). *Potentials of exopolysaccharide from lactic acid bacteria.* Indian Journal of Microbiology. 52(1): 3–12.

Phiriyaprasath, S., Prathuangwong, S., and Changkhan, N. (2002). *Effects of Termite Mound Bacteria on Disease Incidence and Growth of Soybean and Acacia*. p. 167. In Proc. of the Summary of the 1st International Conference on Tropical and Subtropical Plant Diseases. Nov. 5-8, 2002. Chiang Mai.

Prathuangwong, S. (2009). *Biological control of brassicaceae diseases using the new bacterial antagonist strains*. A 5-Year Report AFRP Project 2004-2005. Tokyo University of Agriculture, Tokyo.

Prathuangwong, S. and Athinuwat, D. (2009). *Mixtures of Bacterial antagonist strains enhance biocontrol efficacy and reduce fungicide use of green soybean production*. In Proc. of World Soybean Research Conference VIII. Aug. 10-15, 2009. Beijing.

Prathuangwong, S. and Buensanteai, N. (2007). *Bacillus amyloliquefaciens induced systemic resistance against bacterial pustule pathogen with increased phenols, peroxides, and 1,3-β-glucanase in soybean plant*. Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica 42: 321-330.

Prathuangwong, S., Kasem, S., Thowthampitak, J. and Athinuwat, D. (2005). *Multiple plant response to bacterial mediated protection against various diseases*. Journal of ISSAAS 11(3, Supplement): 79-87.

Prathuangwong, S., Vudhivanich, S., Kasem, S., Preecha, C., Thowthampitak, J., Athinuwat, D., Chuaboon, W., Chatnaparat, T., Hiromitsu, N. and Suyama, K. (2008). *Developing biological control for vegetable diseases with microorganisms and natural compounds*. pp 106-110. A 5-Year Report AFRP Project 2004-2005. Tokyo University of Agriculture, Tokyo.

Prathuangwong, S., Chuaboon, W., Kasem, S., Athinuwat, D., Suyama, K., and Negishi, H. (2009a). *Potential for application time of Pseudomonas fluorescens SP007s and biofertilizer for alternaria leaf spot management of Chinese kale*. *In* Proc. of the ISSAAS International Congress. February 23 -27, 2009. Bangkok.

Prathuangwong, S., Chuaboon, W., Thowthampitak, J., Thaveechai, N., Pitiyon, B., Pitiyon, V. and Uraichuen, S. (2009b). *Integrated pest management using bioproduct for Chinese kale production*. p. 104. *In* Proc. of the ISSAAS International Congress. February 23 -27, 2009. Bangkok.

Prathuangwong, S., Chatnaparat, T., Pupakdeepan, W., Hemsanit, N., Kasem, S., Hirata, H. and Tsuyumu, S. (2010). *Combining Pseudomonas fluorescens SP007s product and manure mixed SP007s improves disease control and effects defense related*

enzymes of rice. p. 100. *In* Proc. of the 2nd Joint Seminar in Asian Core Program. Nov 19-21, 2010. Khon Kaen.

Prathuangwong, S., Chatnaparat, T., Chuaboon, W., Pupakdeepan, W., Sulaiman, A., and Hemsanit, N. (2011a). *Pseudomonas fluorescens SP007s reduces plant infection and increases γ-aminobutyric acid in seed infected by a complex pathogens of rice.* Phytopathology 101: S146.

Prathuangwong, S., Chuaboon, W., Chatnaparat, T., Kladsuwan, L., Shoorin, M., and Kasem, S. (2011b). *Induction of disease and drought resistance in rice by Pseudomonas fluorescens SP007s*. p. 34. *In* Proc. of the International Conference on the Role of Agriculture and Natural Resources on Global Changes (ANGC2011). Nov 7-9, 2011. Imperial Mae Ping Hotel, Chiang Mai.

Prathuangwong, S., Chuaboon, W., Chatnaparat, T. and Tsuyumu, S. 2012a. *Bioformulation utilizing Pseudomonas fluorescens SP007s for seed treatment and foliar spray of rice against dirty panicle disease*. p. 10-11. *In* Proc. of Postharvest Pest and Disease Management in Exporting Horticultural Crops. February 21-24, 2012. Bangkok.

Prathuangwong, S., Chuaboon, W., Chatnaparat, T., Kladsuwan, L., Choorin, M., and Kasem, S. (2012b). *Induction of disease and drought resistance in rice by Pseudomonas fluorescens SP007s*. Chiang Mai University Journal of Natural Sciences Special Issue on Agriculture and Natural Resources 11(1): 45-56.

Prathuangwong, S., Chuaboon, W., Kladsuwan, L., Kasem, S., Hirata, H., and Tsuyumu, S. (2012c). *Metabolic responses implying mechanisms against disease and drought stress in multiple crops*. p. 141. *In* Proc. Asian Core Program (2008-2013) on Capacity Building and Development of Microbial Potential and Fermentation Technology towards New Era.

Prathuangwong, S., Athinuwat, D., Chuaboon, W., Chatnaparat, T., and Buensanteai, N. (2013). *Bioformulation Pseudomonas fluorescens SP007s against dirty panicle disease of rice*. African Journal of Microbiology Research 7(4): 5274-5283.

Pursky, D., Keen, N.T., Sims, J.J., and Midland, S.L. (1982). *Possible involvement of antifungal diene in the latecy of Colletotrichum gloeosporioides on unripe avocado fruits*. Phytopathology 72: 1578-1582.

Rehm, B.H.A. (2010). *Bacterial polymers: Biosynthesis, modifications and applications*. Nature Reviews Microbiology 8: 578-592.

Schneider-Mullar, S., Kurosaki, F., and Nishi, A. (1994). *Role of salicylic acid and intracellular Ca^{2+} in the induction of chitinase activity in carrot suspension culture*. Physiological and Molecular Plant Pathology 45: 101-109.

Suja, S.P., Hegde, V., Makeshkumar, T., and Anjanadevi, I.P. (2014). *Screening of Rhizobacteria Associated with Cassava for Plant Growth Promotion and Biocontrol Potential*. Journal of root Crops 40(1): 66-73.

Tribelli, P.M., Martino, C.D., Lopez, N.L. and Iustman, L.J.R. (2012). *Biofilm lifestyle enhances diesel bioremediation and biosurfactant production in the Antarctic polyhydroxyalkanoate producer Pseudomonas extremaustralis*. Biodegradation. 23(5): 645-51.

Zhao, J.-L, Zhou, L.-G. and Wu, J.-Y. (2010). *Promotion of Salvia miltiorrhiza hairy root growth and tanshinone production by polysaccharide–protein fractions of plant growth-promoting rhizobacterium Bacillus cereus*. Process Biochemictry 45(9): 1517-1522.

วิทยานิพนธ์

จันทร์จนา ตันสกุล. (2539). *การคัดเลือกเชื้อและการผลิตเอกโซพอลีแซคคาไรด์จากแลคติกแอซิดแบคทีเรีย*. (วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต). จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นลินา เหมสนิท. (2554). *การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ Pseudomonas fluorescens SP007s ชักนำให้คะน้าเกิดความต้านทานต่อโรคและแมลงศัตรูพืช*. (วิทยานิพน์ปริญญามหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นันทิยา เตชะติ. (2551). *การจำแนกชนิดและความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบขีดข้าวโพด.* (วิทยานิพน์ปริญญามหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิลาวรรณ์ เชื้อบุญ. (2551). *ลักษณะและการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในการควบคุมเชื้อ Erwinia carotovora subsp. carotovora สาเหตุโรคเน่าเละกะหล่ำดอก.* (วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สื่ออิเล็กทรอนิกส์

กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. *มันสำปะหลัง คำแนะนำพันธุ์มันให้เหมาะกับพื้นที่ กิจกรรมเครือข่ายเกษตรกรผู้ปลูกมันสำปะหลัง*. สืบค้นเมื่อวันที่ 23 มีนาคม 2552, จาก http://210.246.186.198/~cassava/index.php.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. *มันสำปะหลัง*. สืบค้นเมื่อวันที่ 27 มิถุนายน 2555, จาก http://www.oae.go.th.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นายพันศักดิ์ จิตสว่าง
วันเดือนปีเกิด	28 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2506
ตำแหน่ง	-
ทุนการศึกษา	-

ผลงานทางวิชาการ

Chitsawhang, P., K. Anan and D. Athinuwat. 2016. Formulation of Beneficial Microorganism for Rice Straw Degradation and Improve Soil Property and Plant Growth. *In* the ASEAN+6 Organic Agriculture forum 2016. June 28 – 30, 2016, The Imperial Maeping Hotel, Chiang Mai.

พันศักดิ์ จิตสว่าง วิลาวรรณ์ เชื้อบุญ และดุสิต อธินุวัฒน์. 2558. สารพอลิแซคคาไรด์ของ *Pseudomonas fluorescens* ส่งเสริมการเจริญเติบโตของยางชำถุงภายใต้สภาพอุณหภูมิสูง. Thai Journal of Science and Technology 4(2): 194-204.

พันศักดิ์ จิตสว่าง วิลาวรรณ์ เชื้อบุญ และ ดุสิต อธินุวัฒน์. 2558. เทคโนโลยีการจัดการโรคพืชในระบบการผลิตข้าวอินทรีย์. Thai Journal of Science and Technology 4(3):272-285.

ประสบการณ์ทำงาน -