รายงานฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การควบคุมทางชีวภาพของแบคทีเรียบริเวณรากพืชในการยับยั้งโรคขอบใบแห้งในข้าวสายพันธุ์เศรษฐกิจของไทย

Biological Control of Bacterial Leaf Blight Disease in Thai Economic Rice

โดย

มธุรส ชัยหาญ และ คณะ

มหาวิทยาลัยแม่โจ้

2557

รหัสโครงการวิจัย มจ. 1-56-059

รายงานผลการวิจัย

เรื่อง การควบคุมทางชีวภาพของแบคทีเรียบริเวณรากพืชในการยับยั้งโรคขอบใบแห้งในข้าวสายพันธุ์เศรษฐกิจของไทย

Biological Control of Bacterial Leaf Blight Disease in Thai Economic Rice

ได้รับการจัดสรรงบประมาณวิจัย ประจำปี 2556

จำนวน 350,000 บาท

หัวหน้าโครงการวิจัย นางสาวมธุรส ชัยหาญ

ผู้ร่วมโครงการวิจัย นายจักรพงษ์ หรั่งเจริญ

นางสาวนงลักษณ์ สายเทพ

งานวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์

30 / 12 / 2557

การควบคุมทางชีวภาพของแบคทีเรียบริเวณรากพืชในการยับยั้งโรคขอบใบแห้งในข้าวสายพันธุ์เศรษฐกิจของไทย

Biological Control of Bacterial Leaf Blight Disease in Thai Economic Rice

มธุรส ชัยหาญ[1], จักรพงษ์ หรั่งเจริญ[2] และ นงลักษณ์ สายเทพ[3]

Mathurot chaiharn[1], Chakrapong rangjaroen[2] and Nonglak saithep[3]

[1]สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

[2]ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร จ. กรุงเทพมหานคร 10220

[3]คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏลำปาง จ.ลำปาง 52100

บทคัดย่อ

แบคทีเรียบริเวณรากพืชที่สามารถส่งเสริมการเจริญของพืช (PGPR) คือ แบคทีเรียที่มีประโยชน์ต่อพืชที่อาศัยอยู่บริเวณรากพืช และ ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชด้วยกลไกต่างๆ การใช้ PGPR ทางการเกษตรมีการเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง เช่น การใช้แทนปุ๋ยเคมี และ สารกำจัดศัตรูพืช การศึกษาครั้งนี้ได้ใช้แบคทีเรีย 3 ไอโซเลท ได้แก่ W9, MC 8 และ MC 15 และ แอคติโนมัยซีส 3 ไอโซเลท ได้แก่ KT 6-4-1,SN5.4 และ 4.2.1.1 ซึ่งผ่านการทดสอบการสร้าง IAA และ การย่อยสลายฟอสฟอรัสในระดับห้องปฏิบัติการแล้ว ในการทดสอบการส่งเสริมการเจริญของข้าวโดยการผสมดินกับสารแขวนลอยของแบคทีเรีย และแอคติโนมัยซีส หลังจากนั้นวัด ความยาวราก ความสูงของต้น และ น้ำหนักแห้งของข้าว หลังจากปลูก 21 วัน พบว่า แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท SN 5.4 ทำให้ข้าวมีความสูงมากที่สุดและมีแนวโน้มที่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวได้มากที่สุด โดย ชุดการทดลองผสมระหว่างเชื้อ KT 6-4-1 และ MC 15 ส่งเสริมการเจริญของข้าว โดยกระตุ้นความยาวของรากข้าวในวันที่ 21 มากที่สุด จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่า การใช้ PGPR ที่นำมาทดสอบสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว เพราะ เนื่องจากจุลินทรีย์ดังกล่าวสามารถผลิต IAA และ ย่อยสลายฟอสฟอรัสในดินได้

คำสำคัญ : ข้าว PGPR การเจริญเติบโตของข้าว แบคทีเรีย แอคติโนมัยซีส

Abstract

Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) are beneficial bacteria that colonize plant roots and enhance plant growth by a wide variety of mechanisms. The use of PGPR is steadily increasing in agriculture and offers an attractive way to replace chemical fertilizers, pesticides and supplements. This study used three isolates of bacteria including W9, MC8 and MC15 and actinomycetes three isolates including KT 6-4-1, SN5.4 and 4.2.1.1 which was tested IAA production and phosphate solubilization. Subsequently, to investigate the effected of PGPR on the growth of rice and soil were mixed with cell suspension of PGPR isolates and seedlings were harvested after 21 days of inoculation. Results showed that isolate SN 5.4 are significant increase in plant height and are likely to enhancement of rice growth followed by mixed between KT 6-4-1 and MC15 a significant increase in root length. The present study suggested that the use of PGPR isolates SN5.4 and mixed between KT 6-4-1 and MC15 as inoculants biofertilizers might be beneficial for rice cultivation as they enhanced growth of rice, induced IAA production and phosphate solubilization.

Keywords: Rice, PGPR, Rice growth, Bacteria, Actinomycetes

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อง การควบคุมทางชีวภาพของแบคทีเรียบริเวณรากพืชในการยับยั้งโรคขอบใบแห้งในข้าวสายพันธุ์เศรษฐกิจของไทย (Biological control of bacterial leaf blight disease in Thai economic rice) ได้สำเร็จลุล่วงโดยได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ประจำปีงบประมาณ 2556 ผู้วิจัย ขอขอบคุณ หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่อนุเคราะห์เรื่องสถานที่ และ อุปกรณ์บางอย่างที่ใช้ในการดำเนินการวิจัยให้เสร็จสิ้นสมบูรณ์ และ หวังเป็นอย่างยิ่งว่างานวิจัยฉบับนี้จะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อไปในอนาคตได้ไม่มากก็น้อย

ผู้วิจัย

สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	**7**
สารบัญภาพ	**8**
บทคัดย่อ	1
Abstract	2
คำนำ	3
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	28
ผลการวิจัย	38
วิจารณ์ผลการวิจัย	77
สรุปผลการวิจัย	78
ข้อเสนอแนะ	78
เอกสารอ้างอิง	79
ภาคผนวก	84
ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อและวิธีการเตรียม	85
ภาคผนวก ข ชุดย้อมสีแกรม	88
ภาคผนวก ค Indole butyric acid (IBA)	90

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	ลักษณะทาง พฤษศาสตร์ของข้าวพันธุ์ กข 6	13
ตารางที่ 2	การยับยั้งกันของเชื้อทดสอบ	38
ตารางที่ 3	ค่าเฉลี่ยความยาวรากข้าวในดินที่มีแบคทีเรีย และ แอคติโนมัยซีส ทดสอบที่แตกต่างกันในวันที่ 5, 7, 15 และ 21 หลังปลูก (เซนติเมตร)	39
ตารางที่ 4	ค่าเฉลี่ยความยาวรากข้าวในดินที่มีแบคทีเรีย และ แอคติโนมัยซีส ทดสอบ และ เชื้อทดสอบที่ทำการผสมที่แตกต่างกัน ในวันที่ 15, 17 และ 21 หลังปลูก (เซนติเมตร)	41
ตารางที่ 5	ค่าเฉลี่ยความสูงของข้าวในดินที่มีแบคทีเรีย และ แอคติโนมัยซีส ทดสอบที่แตกต่างกันในวันที่ 5, 7, 15 และ 21 หลังปลูก (เซนติเมตร)	47
ตารางที่ 6	ค่าเฉลี่ยความยาวรากข้าวในดินที่มีแบคทีเรีย และ แอคติโนมัยซีส ทดสอบที่แตกต่างกันในวันที่ 15, 17 และ 21 หลังปลูก (เซนติเมตร)	49
ตารางที่ 7	ปริมาณเชื้อที่มีชีวิตรอดในดิน	59
ตารางที่ 8	ปริมาณเชื้อที่มีชีวิตรอดในรากข้าว	60
ตารางที่ 9	ค่าเฉลี่ยความยาวรากข้าวในดินที่มีแบคทีเรียและแอคติโนมัยซีส ทดสอบที่แตกต่างกันในวันที่ 17, 19, 21 และ 35 วัน หลังปลูก (เซนติเมตร)	67
ตารางที่10	ค่าเฉลี่ยความยาวของต้นข้าวในดินที่มีแบคทีเรียและแอคติโนมัยซีสทดสอบที่แตกต่างกันในวันที่ 17, 19, 21 และ 35 วัน หลังปลูก (เซนติเมตร)	67
ตารางที่ 11	การเปรียบเทียบความยาวราก ความสูงของต้น และ น้ำหนักแห้งของข้าวในวันที่ 21 หลังปลูก	73
ตารางที่ 12	การเปรียบเทียบความยาวราก ความสูงของต้น และ น้ำหนักแห้งของข้าวในวันที่ 21 หลังปลูก	74

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 1	ส่วนต่างๆของรากข้าว	5
ภาพที่ 2	ส่วนประกอบของลำต้น และ ใบข้าว	6
ภาพที่ 3	ส่วนประกอบของรวงข้าว	7
ภาพที่ 4	ส่วนประกอบของดอกข้าว	8
ภาพที่ 5	ส่วนประกอบของเมล็ดข้าว	10
ภาพที่ 6	กระบวนการสังเคราะห์ออกซินของพืชและเชื้อจุลินทรีย์บางชนิด	20
ภาพที่ 7	การขีดแนวเชื้อแบคทีเรียทดสอบ	29
ภาพที่ 8	การขีดแนวแอคติโนมัยซีสทดสอบ	30
ภาพที่ 9	การขีดแนวแอคติโนมัยซีสและแบคทีเรีย	30
ภาพที่ 10	การเจือจางดิน และ รากข้าว	32
ภาพที่ 11	การขีดแนวเชื้อทดสอบและเชื้อก่อโรค	34
ภาพที่ 12	การยับยั้งระหว่างแบคทีเรียไอโซเลท W 9 และ แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท SN 5.4	37
ภาพที่ 13	การยับยั้งกันเองของแบคทีเรียไอโซเลท MC 15 และ แบคทีเรีย ไอโซเลท W 9	37
ภาพที่ 14	ความยาวของรากข้าวในดินที่มีแบคทีเรีย และ แอคติโนมัยซีส ทดสอบที่แตกต่างกันในวันที่ 7	40
ภาพที่ 15	ความยาวของรากข้าวในดินที่มีแบคทีเรีย และ แอคติโนมัยซีส ทดสอบที่แตกต่างกันในวันที่ 15	42
ภาพที่ 16	ความยาวของรากข้าวในดินที่มีแบคทีเรีย และ แอคติโนมัยซีส ทดสอบที่แตกต่างกันในวันที่ 17	43
ภาพที่ 17	ความยาวของรากข้าวในดินที่มีแบคทีเรีย และ แอคติโนมัยซีส ทดสอบที่แตกต่างกันในวันที่ 19	44
ภาพที่ 18	ความยาวของรากข้าวในดินที่มีแบคทีเรีย และ แอคติโนมัยซีส ทดสอบที่แตกต่างกันในวันที่ 21	46

สารบัญภาพ (ต่อ)

		หน้า
ภาพที่ 19	ความสูงของต้นข้าวในดินที่มีแบคทีเรียและแอคติโนมัยซีสทดสอบที่แตกต่างกันในวันที่ 5	48
ภาพที่ 20	ความสูงของต้นข้าวในดินที่มีแบคทีเรียและแอคติโนมัยซีสทดสอบที่แตกต่างกันในวันที่ 17	50
ภาพที่ 21	ความสูงของต้นข้าวในดินที่มีแบคทีเรียและแอคติโนมัยซีสทดสอบที่แตกต่างกันในวันที่ 19	51
ภาพที่ 22	ความสูงของต้นข้าวในดินที่มีแบคทีเรียและแอคติโนมัยซีสทดสอบที่แตกต่างกันในวันที่ 21	52
ภาพที่ 23	การเปรียบเทียบความสูง และ ความยาวรากของข้าวในวันที่ 5 ของเชื้อไอโซเลท W9, KT 6-4-1, SN 5.4, 4.2.1.1, MC8, MC15, Negative control (น้ำกลั่น) และ Positive control (IBA 1,000 ppm) ตามลำดับ	53
ภาพที่ 24	การเปรียบเทียบความสูง และ ความยาวรากของข้าวในวันที่ 7 ของเชื้อไอโซเลท W9, KT 6-4-1, SN 5.4, 4.2.1.1, MC 8, MC 15, Negative control (น้ำกลั่น) และ Positive control (IBA 1,000 ppm) ตามลำดับ	54
ภาพที่ 25	การเปรียบเทียบความสูง และ ความยาวรากของข้าวในวันที่ 15 ของเชื้อไอโซเลท W9, KT 6-4-1, SN 5.4, 4.2.1.1, MC 8, MC 15, Negative control (น้ำกลั่น) และ Positive control (IBA 1,000 ppm) ตามลำดับ	55
ภาพที่ 26	การเปรียบเทียบความสูง และ ความยาวรากของข้าวในวันที่ 21 ของเชื้อไอโซเลท W9, KT 6-4-1, SN 5.4, 4.2.1.1, MC 8, MC 15, Negative control (น้ำกลั่น) และ Positive control (IBA 1,000 ppm) ตามลำดับ	56
ภาพที่ 27	น้ำหนักแห้งของต้นข้าวในดินที่มีเชื้อแบคทีเรียและแอคติโนมัยซีสที่แตกต่างกันในวันที่ 21	57

สารบัญภาพ (ต่อ)

		หน้า
ภาพที่ 28	แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท KT 6-4-1 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ กำลังขยาย 1,000 X	61
ภาพที่ 29	แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท 4.2.1.1 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ กำลังขยาย 1,000 X	61
ภาพที่ 30	แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท SN 5.4 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ กำลังขยาย 1,000 X	62
ภาพที่ 31	แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท W9 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ กำลังขยาย 1,000 X	63
ภาพที่ 32	แบคทีเรีย ไอโซเลท MC 8 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ กำลังขยาย 1,000 X	64
ภาพที่ 33	แบคทีเรีย ไอโซเลท MC 15 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ กำลังขยาย 1,000 X	65
ภาพที่ 34	การยับยั้งกันของแอคติโนมัยซีส ไอโซเลท KT 6-4-1 และ *Xanthomonas* sp.	66
ภาพที่ 35	การยับยั้งกันของแอคติโนมัยซีส ไอโซเลท SN 5.4 และ *Xanthomonas* sp.	66
ภาพที่ 36	ความสูงของต้นข้าวในวันที่ 17	68
ภาพที่ 37	การเปรียบเทียบความสูง และ ความยาวรากของข้าวในวันที่ 17 ของเชื้อในไอโซเลท SN 5.4, KT 6-4-1, Positive control (เชื้อก่อโรค) และ Negative control (น้ำกลั่น) ตามลำดับ	69
ภาพที่ 38	ความสูงของต้นข้าวในวันที่ 19	70
ภาพที่ 39	การเปรียบเทียบความสูง และ ความยาวรากในของข้าวในวันที่ 19 ของเชื้อในไอโซเลท SN 5.4, KT 6-4-1, Positive control (เชื้อก่อโรค) และ Negative control (น้ำกลั่น) ตามลำดับ	70
ภาพที่ 40	ความสูงของต้นข้าว ในวันที่ 21	71
ภาพที่ 41	การเปรียบเทียบความสูง และ ความยาวรากข้าวในวันที่ 21 ของเชื้อใน ไอโซเลท SN 5.4, KT 6-4-1, Positive control (เชื้อก่อโรค) และ Negative control (น้ำกลั่น) ตามลำดับ	72

คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศกสิกรรมที่ทำการเพาะปลูกข้าวมากกว่าการเกษตรชนิดอื่นๆ และสามารถผลิตข้าวเป็นสินค้าส่งออกอันดับต้นของโลก อีกทั้งข้าวเป็นพืชที่นิยมบริโภคกันมากในเขตภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ซึ่งส่งผลให้มีพืชที่ปลูกในภูมิภาคดังกล่าวถึง 90 % ของพืชที่ปลูกข้าวทั่วโลก (กรมวิชาการเกษตร 2541) จนทำให้ประเทศไทยได้อันดับหนึ่งการส่งข้าวไปให้ผู้บริโภคเกือบทั่งโลก และ สร้างรายได้ให้กับเกษตรกรไทยมากขึ้น แต่ในกระบวนการผลิตข้าวต้องมีระบบการจัดการกระบวนการผลิตที่เกิดขึ้นทั้งความอุดมสมบูรณ์ของดิน การจัดการทรัพยากรน้ำอย่างสมดุล พันธุ์ข้าว วัชพืช รวมไปถึงแมลง และ โรคศัตรูข้าว โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคข้าวที่สามารถลดปริมาณ และ คุณภาพของข้าวเป็นอย่างมาก เช่น โรคขอบใบแห้งของข้าวจากแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* อาจจะส่งผลให้ผลผลิตลดลงถึง 50%(Mew, 1993)การป้องกันโรคขอบใบแห้งที่ให้ผลดี คือ การใช้สารเคมี เช่น benzothiadiazole, cellocidin, chloramphenicol, phenazine oxide, phenazin 5-oxide (กรมวิชาการเกษตร 2542) แต่การใช้สารเคมีป้องกันโรคพืชในปริมาณมาก ต่อเนื่อง และ เกินความจำเป็น ส่งผลให้เกิดการตกค้างของสารเคมีในเมล็ดข้าว น้ำ ดิน ตลอดจนเกษตรกรผู้บริโภค และ ระบบนิเวศทั้งในระยะสั้น และ ระยะยาว จากการที่รัฐบาลได้มีนโยบายลดการใช้สารเคมีและพยายามให้ผลิตสินค้าเกษตรปลอดภัยจนถึงเกษตรอินทรีย์ จึงได้มีการวิจัยและพัฒนาชีวภัณฑ์จากแบคทีเรียเพื่อควบคุมแบคทีเรียก่อโรคข้าว อย่างไรก็ตามชีวภัณฑ์นั้นๆมีข้อจำกัดในการใช้และประสิทธิภาพยังไม่ดีเท่าที่ควร คณะผู้วิจัยจึงมีแนวความคิดในการวิจัยเพื่อค้นหาจุลินทรีย์ที่ยับยั้งโรคที่มีประสิทธิภาพสูง เพื่อพัฒนาต่อยอดให้ได้ชีวภัณฑ์ในรูปแบบพร้อมใช้ และ มีประสิทธิภาพเบื้องต้น โครงการวิจัยนี้ เป็นโครงการวิจัยเบื้องต้นในการศึกษาแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่คัดเลือกจากดินบริเวณรอบรากข้าวในสภาพธรรมชาติของประเทศไทย ที่มีความสามารถในการป้องกันโรคอย่างมีประสิทธิภาพ มาพัฒนาชีวภัณฑ์เชื้อปฏิปักษ์ให้อยู่ในรูปแบบพร้อมใช้ เพื่อสามารถพัฒนาในเชิงพาณิชย์เพื่อส่งเสริมให้เกษตรกรใช้ป้องกันโรคขอบใบแห้งในข้าวต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อรวบรวมแบคทีเรียก่อโรคขอบใบแห้งในข้าวบริเวณภาคเหนือของประเทศไทย
2. เพื่อคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ จากดินบริเวณรากข้าวที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคขอบใบแห้งได้ดีที่สุดในระดับห้องปฏิบัติการ และ ในระดับต้นกล้า เพื่อใช้เป็นเชื้อตั้งต้นในการพัฒนาชีวภัณฑ์ให้อยู่ในรูปแบบที่พร้อมใช้

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้แบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลทที่ดีที่สุดในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคขอบใบแห้งในระดับห้องปฏิบัติการ และ ในระยะต้นกล้า เพื่อนำไปต่อยอดพัฒนาชีวภัณฑ์ในรูปแบบพร้อมใช้
2. ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ที่นำไปสู่การถ่ายทอดเทคโนโลยีและการผลิตในเชิงพาณิชย์

การตรวจเอกสาร

ข้าว (Rice)

ข้าวเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Oryza sativa* L. จัดอยู่ในสกุล *Oryza* อยู่ในวงศ์ Graminaea สำหรับ *Oryza sativa* จัดเป็นข้าวปลูก (cultivated rice) ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 Subspecies โดยอาศัยลักษณะความแตกต่างทางสัณฐานวิทยาและการปรับตัวตามสภาพแวดล้อมในการเจริญเติบโตในอุณหภูมิที่แตกต่างกัน รวมทั้งการตอบสนองต่อช่วงแสง ได้แก่ Subspecies indica ปลูกทั่วไปในแถบเอเชียเขตร้อน (tropical) เช่น พม่า เวียดนาม และไทย เป็นพันธุ์ที่มักมีการตอบสนองต่อช่วงแสง Subspecies japonica ปลูกในเขตอบอุ่น (temperate) เช่นญี่ปุ่น เกาหลี และจีน ส่วนใหญ่เป็นพันธุ์ที่ไม่ตอบสนองต่อช่วงแสง และ Subspecies javanica ปลูกในเขตแถบเส้นศูนย์สูตร (equatorial) เช่น พื้นที่ต่ำแถบหมู่เกาะชวาของ

อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ และ อินเดีย ส่วนใหญ่เป็นพันธุ์ที่ไม่ตอบสนองต่อช่วงแสง (วาสนา, 2523 ; Purseglove,1978)ข้าวมีแหล่งกำเนิดในทวีปเอเชียถิ่นกำเนิดแห่งแรกนั้นสันนิษฐานว่ามาจากในประเทศจีน (วรวิทย์ และคณะ, 2529) ข้าวมีการปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี จึงสามารถปลูกได้ตั้งแต่เส้นรุ้งที่ 49 องศาเหนือในประเทศเชคโกสโลวาเกีย จนถึงเส้นรุ้งที่ 35 องศาใต้ ในรัฐนิวเซาท์เวลล์ ประเทศออสเตรเลีย (วรวิทย์ และคณะ, 2529; Greyson, 1994)

ข้าวที่ปลูกอยู่ในที่ต่างๆของโลกสามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ ได้แก่ ออไรซา ซาทิวา (*Oryza sativa*) ที่มีแหล่งกำเนิดอยู่ในทวีปเอเชีย ออไรซา กลาเบอริมา (*Oryza glaberrima*) มีแหล่งกำเนิดอยู่ในทวีปแอฟริกา และ กลุ่มสุดท้ายคือ ข้าวป่า (wild rice) ซึ่งจะเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ ตัวอย่างเช่น ออไรซา เพอเรนนิส (*Oryza perennis*) ออไรซา ออฟฟิซินาลิส (*Oryza officinalis*) ออไรซา สปอนทาเนีย (*Oryza spontanea*) และ ออไรซา นิวารา (*Oryza nivara*) เป็นต้น ซึ่งข้าวที่มนุษย์นิยมนำมาปลูกและนิยมรับประทานนั้นคือข้าวในสองกลุ่มแรกเท่านั้นโดยจำนวนชนิด (Species) ทั้งหมดที่พบในสกุลออไรซาของข้าวนั้นมีประมาณ 20 ชนิด ที่ส่วนใหญ่จะมีโครโมโซมเป็น 2 ชุด (diploid 2n = 24) และมีบางส่วนที่มีโครโมโซมเป็น 4 ชุด (tetraploid 2n = 48) (บุญหงส์, 2547)

พันธุ์ข้าวที่รู้จักและนำมาปลูกสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิดคือ *Oryza savita* ที่นิยมเพาะปลูกในทวีปเอเชีย และ *Oryza glaberrina* ที่นิยมเพาะปลูก ในทวีปแอฟริกา แต่ข้าวที่ปลูกและซื้อขายกันในตลาดโลกเกือบทั้งหมดจะเป็นข้าวจากทวีปเอเชีย แบ่งเป็น 3 กลุ่มตามลักษณะและพื้นที่ปลูกได้ดังนี้

ข้าวอินดิกา (Indica) หรือข้าวเจ้า เป็นข้าวที่มีลักษณะเม็ดเรียวยาวรี ลำต้นสูง ตั้งชื่อมาจาก แหล่งที่ค้นพบครั้งแรกในประเทศอินเดีย เป็นข้าวที่นิยมเพาะปลูกในทวีปเอเชียเขตมรสุม ตั้งแต่ จีน เวียดนาม ฟิลิปปินส์ ไทย อินโดนีเซีย ไปจนถึงอินเดียและศรีลังกา และแพร่กระจายไปทั่งเขตเอเชียอาคเนย์ตั้งแต่หลัง พ.ศ. 1000 ทั่งเขตลุ่มน้ำอิระวดี และต่อมาแพร่ขยายเพาะปลูกในทวีปอเมริกา เฉพาะในเมืองไทย ข้าวอินดิกานิยมเพาะปลูก ในบริเวณที่ราบลุ่มตอนใต้ของแม่น้ำเจ้าพระยา เพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว แทนข้าวเหนียวที่เคยปลูก ซึ่งคนไทยสมัยนั้นเรียกข้าวอินดิกาที่มาจากต่างประเทศ ว่า “ข้าวของเจ้า”แล้วเรียกกันสั้นลงเหลือเพียง " ข้าวเจ้า" มาถึงทุกวันนี้

ข้าวจาปอนิกา (Japonica) เป็นข้าวเหนียวเมล็ดป้อม กลมรี มีแหล่งกำเนิดจากทางภาคเหนือ แล้วผ่าน มาทางลุ่มแม่น้ำโขง ในสมัยก่อนพุทธศตวรรษที่ 20 หลังจากนั้นลดจำนวนลงไปแพร่หลาย ในเขตอบอุ่นที่ ญี่ปุ่น เกาหลี รัสเซีย ยุโรป และอเมริกา

ข้าวจาวานิกา(Javanica) เป็นข้าวลักษณะเมล็ดป้อมใหญ่สันนิษฐานว่าเป็นข้าวพันธุ์ผสม ระหว่างข้าวอินดิกาและจาปอนิกา นิยมเพาะปลูกใน อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ ไต้หวัน หมู่เกาะริวกิว และญี่ปุ่น แต่ไม่ ค่อยได้รับความนิยมนักเพราะให้ผลผลิตต่ำ ประเทศต่างๆในโลกต่างก็มีการพัฒนาสายพันธุ์ข้าวใหม่ เพิ่มพื้นที่การเพาะปลูกข้าวและวิธีการปลูกข้าวให้ได้ปริมาณผลผลิตเพิ่มขึ้น ในขณะที่ตำนานเกี่ยวกับข้าวของแต่ละชาติต่างก็มีประวัติศาสตร์อันยาวนาน (ประพาส, 2520)

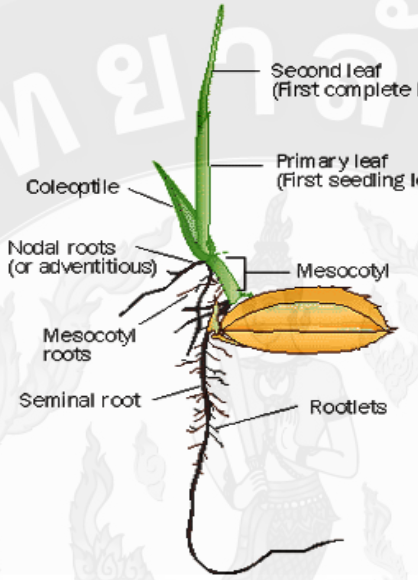
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของข้าว

1. ราก (Root)

ข้าวมีรากเป็นระบบรากฝอย (fibrous root system) รากอันแรกที่เจริญมาจากส่วนของ radicle เรียกว่า primary seminal root ซึ่งรากนี้จะทำหน้าที่เป็นรากชั่วคราว นอกจากรากชั่วคราวที่เจริญจาก radicle แล้ว ยังมีรากชั่วคราวอันอื่นอีก 2-3 ราก ซึ่งเกิดตามมา เรียกว่า secondary seminal roots ซึ่งจะพัฒนาไปเป็น lateral roots รากชั่วคราวเหล่านี้จะเน่าเปื่อยไป และ ถูกแทนที่ด้วยระบบรากชุดที่สองที่เรียกว่า "adventitious roots" ซึ่งเกิดจากส่วนของข้อของลำต้นที่อยู่ใต้ดิน ข้าวขึ้นน้ำ (floating rice varieties) สามารถเกิดรากที่ข้อของลำต้นที่อยู่สูงขึ้นมา แต่อยู่ใต้ระดับผิวน้ำ ราก adventitious อาจเกิดจากส่วนอื่น ๆ ของลำต้นได้ เช่น เกิดที่ข้อเหนือดินก็เป็น prop roots หรืออาจจะเกิดตามปล้องของต้นข้าว เช่น mesocotyl roots ซึ่งเกิดจากปล้อง mesocotyl และเกิดเฉพาะเมื่อเมล็ดถูกฝังไว้ค่อนข้างลึก หรือเมื่อเมล็ดถูกอบหรือคลุกด้วยสารเคมีบางอย่าง

รากพิเศษ (adventitious roots) แต่ละอันจะมีการแตกแขนงออกไปเป็นลำดับ จาก primary root เป็น secondary root จาก secondary root แตกออกเป็น tertiary root และในสภาพนาที่มีน้ำขัง รากอาจแตกแขนงออกได้ถึง 6 ลำดับ

ลักษณะพิเศษประการหนึ่งของรากข้าว คือ การที่มีช่องอากาศขนาดใหญ่ในรากที่เติบโตเต็มที่แล้ว เรียกว่า lysigenous intercellular space ซึ่งช่องอากาศนี้จะเชื่อมต่อกับช่องอากาศในลำต้นและใบ ทำให้อากาศส่งผ่านจากส่วนยอดมาสู่ส่วนรากได้



ภาพที่ 1 ส่วนต่างๆของรากข้าว (Chang *et al.*, 1965)

2. ลำต้น (Culm)

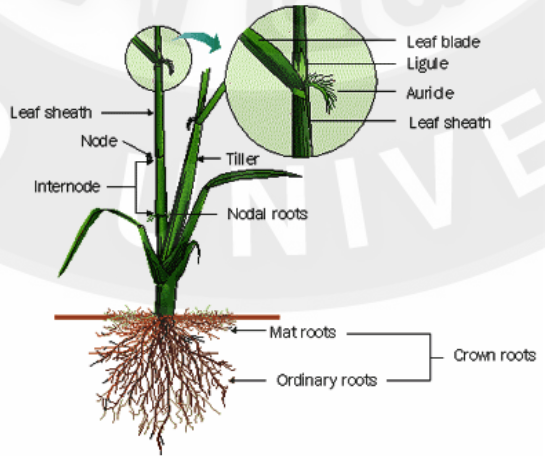
ลำต้นของข้าวประกอบด้วยชุดของข้อ (node) และปล้อง (internode) ตรงส่วนของข้อจะเป็นที่เกิดของใบและตา ตาอาจจะเจริญขึ้นเป็นแขนง (tiller) เยื่อที่อยู่ภายในข้อซึ่งเรียกว่า nodal septum จะแบ่งปล้องออกจากกัน ปล้องของลำต้นที่เจริญเติบโตเต็มที่แล้วจะกลวง ความยาวของปล้องจะแตกต่างกัน โดยปล้องที่อยู่บน ๆ จะยาวกว่าปล้องที่อยู่ล่าง ๆ ปล้องล่าง ๆ หลายปล้องอยู่ติด ๆ กัน ทำให้ลำต้นส่วนล่างมีลักษณะตัน

แขนง (tiller) จะแตกออกจากลำต้นหลัก (main culm) โดยแตกในลักษณะสลับข้างกัน (alternate pattern) แขนงที่แตกจากลำต้นหลักเรียกว่า primary tiller ซึ่งจะเริ่มเกิดจากข้อที่อยู่ล่างสุดก่อน และ primary tiller จะแตกแขนงออกไปได้อีกเป็น secondary tiller แขนงที่แตกออกจาก secondary tiller จะเรียกว่า tertiary tiller ระหว่างแขนงกับต้นจะมี prophyll หรือ prophyllum prophyll นี้มีลักษณะคล้าย ๆ

กาบใบแต่มีสีขาวค่อนข้างใส และมีสันตรงขอบ 2 สัน การแตกกอจะเริ่มประมาณเมื่อข้าวอายุ 10 วัน หลังปักดำ และจะถึงจุดการแตกกอสูงสุดเมื่ออายุ 50-60 วันหลังปักดำ

3. ใบ (Leaf)

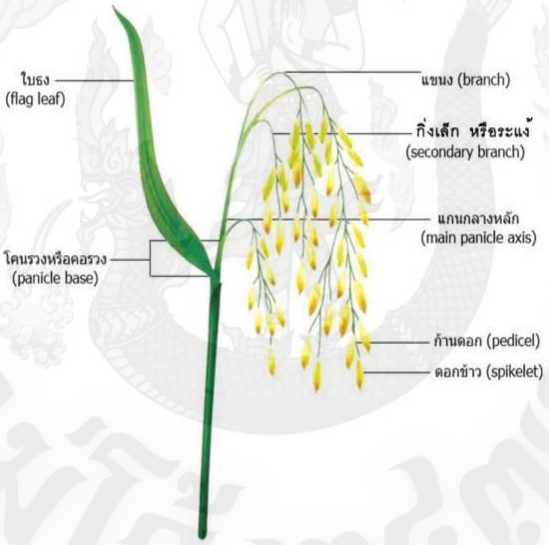
ใบจะประกอบด้วยกาบใบ (sheath) และแผ่นใบ (blade) กาบใบจะหุ้มส่วนของลำต้นไว้ จุดที่ฐานของกาบใบซึ่งพองนูนออกเรียกว่า sheath pulvinus แผ่นใบจะอยู่ต่อจากกาบใบมีความยาว ความกว้าง รูปร่าง สี และขนบนใบแตกต่างกันไปตามพันธุ์ ใบที่อยู่บนสุด (ใบสุดท้าย) ที่อยู่ถัดลงมาจากรวงเรียกว่า ใบธง (flag leaf) ใบธงมักมีลักษณะผิดแผกไปจากใบอื่น ๆ ในต้น ในเรื่องของรูปร่าง ขนาด และมุมใบ พันธุ์ต่างกันมักมีจำนวนใบแตกต่างกันไปด้วย ผิวบนของใบจะมีสันเล็ก ๆ จำนวนมาก ซึ่งเป็นส่วนของเส้นใบที่ขนานกัน (parallel veins) และ สันที่ใหญ่ที่สุดอยู่ตรงแนวกลางของผิวใบด้านล่างเป็นส่วนของเส้นกลางใบ (midrib) หูใบ หรือเขี้ยวใบ (auricles) ซึ่งเป็นระยางมีขนลักษณะรูปเคียว จะติดอยู่กับฐานของแผ่นใบทั้ง 2 ขอบ รอยต่อระหว่างแผ่นใบและกาบใบจะเป็นแถบสีขาว ๆ ซึ่งเรียกว่า collar หรือ junctura และที่รอยต่อนี้จะมีเยื่อบาง ๆ ผิวเกลี้ยงเรียบ หรือมีขนตอนปลายเยื่ออยู่เรียกว่า เยื่อกันฝน (ligule) ลำต้นหลักจะมีจำนวนใบมากที่สุด จำนวนใบบนต้นแขนงจะลดลงตามลำดับการเกิดของแขนง ที่ฐานของต้นหลักจะมีใบที่ไม่สมบูรณ์ (rudimentary leaf) คือไม่มีแผ่นใบและมีลักษณะเป็นสัน 2 สัน ที่เรียกว่า prophyll (หรือ rophyllum) ดังได้กล่าวมาแล้ว ซึ่งขอบของ prophyllum จะห่อหุ้มแขนงอ่อนที่แตกออกจากต้นหลัก ในขณะที่อีกด้านหนึ่งจะแนบติดกับต้นหลัก แขนงชนิด secondary และ tertiary tiller จะมี prophyllum เช่นเดียวกัน



ภาพที่ 2 ส่วนประกอบของลำต้นและใบข้าว (Chang *et al.*, 1965)

4. ช่อดอก (Inflorescence, panicle)

ช่อดอกข้าวหรือรวงข้าวจะเกิดอยู่เหนือปล้องสุดท้ายของลำต้น ซึ่งปล้องนี้เรียกว่า upper most internode ข้อที่เป็นฐานของช่อดอกเรียกว่า panicle base แกนกลางช่อดอกเรียกว่า panicle axis หรือ rachis ช่อดอกข้าวจะแตกแขนงแบบ racemose โดยที่แต่ละข้อของแกนกลาง ช่อดอกจะแตกแขนงออกเป็น primary branch และ primary branch แตกแขนงออกเป็น secondary branchโดยทั่วไป primary branch ที่ฐานของช่อดอกจะมีเพียงกิ่งเดียว แต่ภายใต้สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม เช่น มีแสงแดดจ้า มีความอุดมสมบูรณ์ของดินดี อาจจะมี primary branch จากฐานของช่อดอกได้ 2-3 กิ่ง ในระยะเวลา 2-3 วันหลังการเริ่มกำเนิดช่อดอก(panicle initiation) ช่อดอกจะมีขนาดยาวประมาณ 1 มิลลิเมตร ซึ่งอาจสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า หรือด้วยแว่นขยายเมื่อผ่าต้นข้าวตามยาวถึงปลายยอด

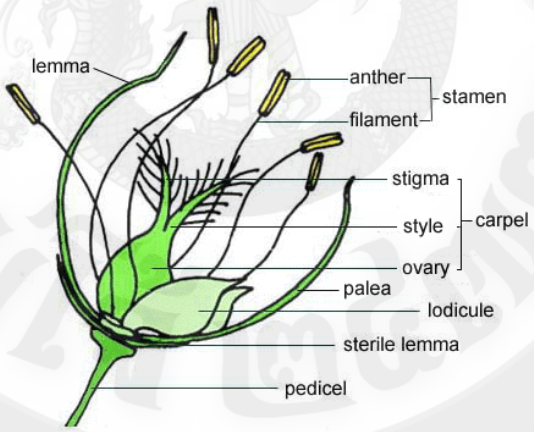


ภาพที่ 3 ส่วนประกอบของรวงข้าว (Chang *et al.,* 1965)

5. ดอกข้าว (Spikelet)

ดอกข้าวมีขนาดเล็ก เรียกว่า spikelet จะเกิดอยู่บนก้านดอก (pedicel) ปลายของก้านดอกจะพองเป็นปุ่มนูนซึ่งเป็นเปลือกนอก (glume) ที่แท้จริงของ spikelet เราเรียกปุ่มนูน 2 ปุ่มนี้ว่า rudimentary glumes โดย Spikelet ของพืชในสกุล *Oryza* จะประกอบด้วยดอกย่อย (floret) 3 ดอกย่อย ซึ่งดอกย่อย 2 ดอกจะไม่เจริญ Spikelet หนึ่ง ๆ จะมีแกนเล็ก ๆ ที่ต่อจากก้านดอก เรียกว่า rachilla บน rachilla จะมี 1 ดอกย่อยเกิดอยู่ระหว่างกลีบรองดอก (bracts) 2 ชั้น กลีบรองชั้นล่าง 1 คู่ มีขนาดสั้นกว่ากลีบรองชั้นบน กลีบรองชั้น

ล่างนี้เป็นดอกย่อยที่ไม่เจริญ เราเรียกว่า sterile lemmas (empty glumes, lower glumes) ส่วนกลีบรองชั้นบน (flowering glumes) มี 2 กลีบ กลีบที่ใหญ่กว่ามีสันบนกลีบ (nerves) 5 สัน กลีบนี้คือ lemma กลีบที่เล็กกว่าและมีสันบนกลีบ 3 สัน เรียกว่า Palea, Lemma และดอก (flower) ที่อยู่ภายในรวมกันเรียกว่า ดอกย่อย (floret) Sterile lemma จะสั้นกว่า lemma และ palea โดยมีความยาวไม่ถึง 1 ใน 3 ของ lemma และ palea lemma จะเป็นกลีบรองที่แข็งมีขนาดใหญ่กว่า palea และครอบ palea ไว้บางส่วน ปลายแหลมที่ยอดของ lemma และ palea เรียกว่า apiculi ส่วนหนวดข้าว หรือหางข้าว (awn) เป็นขนที่เกิดจากการยืดขยายจากสัน (nerve) กลางของ lemma ดอกประกอบด้วย stamen 6 อัน pistil และ lodicules stamen จะมีอับเรณู (anther) ที่มีลักษณะเป็นพูสองพูอยู่บนก้านอับเรณู (filament) pistill ประกอบด้วย stigma, styles และรังไข่ (overy) stigma มีลักษณะเป็นพู่ (plumose) บนส่วนปลายของก้าน styles ที่มีปลายแยกออกเป็น 2 แฉก Lodicules เป็นส่วนเล็ก ๆ ที่ฐานของรังไข่ มีลักษณะเป็นรูปไข่ มีอยู่ 1 คู่ ในขณะดอกบาน lodicules จะเต่ง ทำให้ lemma และ palea กางออก อับเรณูจะหลุดออกจากก้านชูเกสรตัวผู้ พร้อม ๆ กับการบานของดอก เมื่ออับเรณูแตกออกและโปรยละอองเกสรแล้ว ดอกข้าวจะหุบกลับ ข้าวจึงเป็นพืชผสมตัวเอง (self pollinated crop)



ภาพที่ 4 ส่วนประกอบของดอกข้าว (Chang *et al.,* 1965)

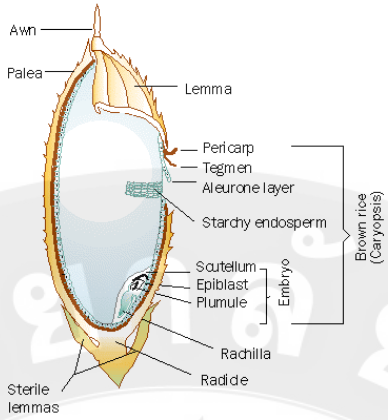
6. เมล็ดข้าว (Rice fruit, Rice grain, Rice seed)

เมล็ดข้าวเป็นผลชนิด caryopsis ซึ่งจะมีเมล็ด (seed) ติดกับผนังรังไข่ที่สุกแล้ว (pericarp) เมล็ดข้าวประกอบด้วยรังไข่ที่สุกแล้วพร้อมทั้งมี lemma, palea rachilla,sterile lemmas และหนวดข้าว (ถ้ามี) ติดอยู่ ส่วนที่เป็นเปลือกคือ lemma, palea, sterile lemma, rachilla และหนวดข้าว รวมเรียกว่า แกลบ (hull หรือ husk)

เมล็ดข้าวที่แยกส่วนแกลบออกเรียกว่า caryopsis หรือ ข้าวกล้อง (brown rice) ชั้นนอกสุดของข้าวกล้องคือชั้นของ pericarp ซึ่งแบ่งย่อยออกได้เป็น 3 ชั้น คือ epicarp, mesocarp และ endocarp ถัดจาก pericarp เข้ามาจะเป็นชั้นของ tegmen หรือ seed coat ถัดจาก tegment เข้ามาจะเป็นชั้นของ aleurone layear aleurone layer จะเป็นเยื่อชั้นในสุดที่ห่อหุ้ม endosperm และ คัพภะ (embryo) คัพภะ ซึ่งอยู่ทางด้านล่างของเมล็ดทางด้าน lemma จะประกอบด้วยส่วนที่จะเจริญเป็นต้น เรียกว่า plumule และส่วนที่จะเจริญเป็นราก เรียกว่า radicle

Plumule จะถูกหุ้มด้วย coleoptile และ radicle จะมี coleorhiza ห่อหุ้ม ซึ่งองค์ประกอบ ทั้ง 4 นี้ รวมเรียกว่า embryonic axis ซึ่งจะถูกยึดทางด้านในโดย scutellum (cotyledon) ซึ่งอยู่ติดกับ endosperm ส่วนของ coleoptile จะถูกล้อมรอบด้วย scutellum และ epiblast ซึ่งเป็นท่อส่งน้ำส่งอาหารที่เชื่อมติดกับด้านข้างของ scutellum

Endosperm จะประกอบด้วยแป้งเป็นส่วนใหญ่อยู่ปะปนกับโปรตีน ข้าวเหนียวจะมีแป้งชนิด amylopectin เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งเมื่อทำปฏิกิริยากับสารละลายไอโอดีนโปตัสเซียม ไอโอไดด์ จะให้สีน้ำตาลแดง ส่วนแป้งข้าวเจ้าจะมีทั้ง amylose และ amylopectin ซึ่งเมื่อทำปฏิกิริยากับสารละลายไอโอดีน-โปตัสเซียมไอโอไดด์ จะให้สีน้ำเงินเข้ม ใน endosperm นอกจากจะประกอบด้วย แป้งและโปรตีนแล้วยังประกอบด้วยน้ำตาลชนิดต่าง ๆ ไขมัน เยื่อใย และ สารอนินทรีย์ (ประภาสน์, 2521)



ภาพที่ 5 ส่วนประกอบของเมล็ดข้าว (Chang *et al.,* 1965)

การจำแนกชนิดของข้าว

มาตรการในการจำแนกข้าวนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัย และสิ่งแวดล้อมหลายประการด้วยกัน ซึ่งเฉพาะในประเทศไทยมีการจำแนกข้าวออกได้หลายรูปแบบ ดังนี้

1. จำแนกตามคุณสมบัติทางเคมีภายในเมล็ด
   1.1. ข้าวจ้าว (Non-glutinous rice) ประกอบด้วยแป้ง (Starch) ประมาณร้อยละ 90 ซึ่งแป้งนี้มีส่วนประกอบใหญ่ๆ 2 ส่วนด้วยกัน คือ Amylopectin ประมาณร้อยละ 60 - 90 และ Amylose ประมาณร้อยละ 10-30
   1.2. ข้าวเหนียว (glutinous rice) ประกอบด้วย Amylopectin ถึงร้อยละ 95 และพบว่ามี Amylose ในปริมาณที่น้อยมาก หรือไม่มีเลย
2. จำแนกตามสภาพพื้นที่ปลูก
   2.1. ข้าวไร่ (Upland rice) คือข้าวที่ปลูกได้ทั้งบนที่ราบ และลาดชัน ไม่ต้องทำคันนากักเก็บน้ำเพราะไม่ชอบน้ำขัง ปลูกได้เฉพาะในฤดูกาลทำนาปีเพราะข้าวไร่จะอาศัยน้ำฝนที่ตกตามฤดูกาล นิยมปลูกมากในบริเวณที่ราบสูงตามไหล่เขาของทุกๆภาค ซึ่งคิดเป็นเนื้อที่เพาะปลูกประมาณร้อยละ 10 ของ พื้นที่ปลูกข้าวทั่วประเทศ
   2.2. ข้าวนาสวน (Lowland rice) คือข้าวที่ปลูกในที่ราบลุ่มทั่วๆไป ในสภาพที่มีน้ำหล่อเลี้ยงข้าวตั้งแต่ปลูกจนกระทั่งก่อนเก็บเกี่ยว ข้าวนาสวนเป็นที่นิยมปลูกกันมากในแทบ

ทุกภาคของประเทศไทย คิดเป็นเนื้อที่ปลูกประมาณร้อยละ 80 ของเนื้อที่ปลูกข้าวทั่วประเทศ

2.3. ข้าวน้ำขึ้นหรือข้าวนาเมือง (Floating rice) คือข้าวที่ปลูกกันในแหล่งที่ไม่สามารถรักษาระดับน้ำได้ บางครั้งหากระดับน้ำในบริเวณที่ปลูก สูงกว่า 1 เมตร จะต้องปลูกข้าวพันธุ์ข้าวพันธุ์น้ำ ข้าวลอยหรือข้าวพันธุ์ฟางลอยเพราะข้าวประเภทนี้มีลักษณะพิเศษในการยืดตัวหนีน้ำได้ ส่วนใหญ่จะปลูกมากในแถบอยุธยา สุพรรณบุรี ลพบุรี พิจิตร อ่างทอง ชัยนาทและสิงห์บุรีคิดเป็นเนื้อที่เพาะปลูกประมาณร้อยละ 10 ของเนื้อที่ปลูกข้าวทั้งประเทศ

3. จำแนกตามอายุการเก็บเกี่ยว

3.1. ข้าวเบา (Early variety) คือข้าวที่มีอายุการเก็บเกี่ยวตั้งแต่ 90-100 วันนับตั้งแต่เพาะกล้าหรือว่านข้าวในนา จนเก็บเกี่ยว

3.2. ข้าวกลาง (Medium variety) คือข้าวที่มีอายุการเก็บเกี่ยวตั้งแต่ 100-120 วันนับตั้งแต่เพาะกล้าหรือหว่านข้าวในนา จนเก็บเกี่ยว

3.3. ข้าวหนัก (Late variety) คือข้าวที่มีอายุการเก็บเกี่ยวตั้งแต่ 120 วันขึ้นไปนับตั้งแต่เริ่มเพาะกล้าหรือหว่านข้าวในนา

4. จำแนกตามลักษณะความไวต่อช่วงแสง

4.1. ข้าวที่ไวต่อช่วงแสง (Photoperiod sensitive variety) ข้าวประเภทนี้จะมีอายุการเก็บเกี่ยวที่ไม่แน่นอน เพราะจะออกดอกในช่วงเดือนที่มีความยาวของกลางวันที่สั้นกว่ากลางคืนซึ่งในประเทศไทยช่วงดังกล่าวจะเริ่มที่เดือน ตุลาคม หรือ ฤดูฝนเท่านั้น

4.2. ข้าวที่ไม่ไวต่อช่วงแสง (Non-photoperiod sensitive variety) ข้าวประเภทนี้จะมีอายุการเก็บเกี่ยวที่แน่นอน จะออกดอกและสามารถเก็บเกี่ยวได้เมื่ออายุครบการเจริญเติบโต โดยที่ช่วงแสงจะไม่มีอิทธิพลในการบังคับให้เกิดการออกดอก จึงสามารถปลูกได้ทุกฤดูกาล

5. จำแนกตามรูปร่างของเมล็ดข้าวสาร
    5.1. ข้าวเมล็ดสั้น (Short grain) ความยาวของเมล็ดไม่เกิน 5.50 มิลลิเมตร
    5.2. ข้าวเมล็ดยาวปานกลาง (Medium-long grain) ความยาวเมล็ดตั้งแต่ 5.51-6.60 มิลลิเมตร
    5.3. ข้าวเมล็ดยาว (Long grain) ความยาวเมล็ดตั้งแต่ 6.61-7.50 มิลลิเมตร
    5.4. ข้าวเมล็ดยาวมาก (Extra-long grain) ความยาวเมล็ดตั้งแต่ 7.51 มิลลิเมตรขึ้นไป
6. จำแนกตามฤดูกาลปลูก
    6.1. ข้าวนาปี หรือข้าวนาน้ำฝน (Rained rice) คือข้าวที่ปลูกในฤดูกาลทำนาสำหรับประเทศไทยจะเริ่มตั้งแต่ เดือนพฤษภาคมจนถึงเดือนตุลาคม และจะเก็บเกี่ยวเสร็จสิ้นไม่เกินเดือนกุมภาพันธ์
    6.2. ข้าวนาปรัง (Off - season rice) คือข้าวที่ปลูกนอกฤดูกาลการทำนาปกติ โดยจะเริ่มตั้งแต่เดือนมกราคม ในบางพื้นที่ และเก็บเกี่ยวอย่างช้าสุดไม่เกินเดือนเมษายน ซึ่งจะนิยมปลูกในพื้นที่ ที่มีการชลประทานที่ดี (อรรควุฒิ, 2526)

ข้าวพันธุ์ กข 6

ชื่อวิทยาศาสตร์ (Scientific name): *Oryza sativa* L.

ชื่อสามัญ (Common name): ข้าวเหนียว (Rice)

ชื่อพันธุ์กลาย (Name of mutant): กข 6 (RD 6)

ประวัติความเป็นมา

ข้าวพันธุ์ กข 6 เป็นพันธุ์ข้าวเหนียวหอม ไวต่อช่วงแสง เป็นพันธุ์ข้าวเหนียวที่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 โดยใช้รังสีแกมมาที่ 20 กิโลแรด ที่สำนักงานพลังงานปรมาณูเพื่อสันติแห่งประเทศไทย ในปี พ.ศ. 2508 ปลูกและคัดเลือกข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่ฉายรังสีชั่วที่ 2 ที่สถานีทดลองข้าวบางเขน ปลูกชั่วที่ 3 ที่สถานีทดลองข้าวพิมาย จังหวัดนครราชสีมา ฯลฯ คัดเลือกได้ข้าวสายพันธุ์ดีทั้งสายพันธุ์ข้าวเจ้าและข้าวเหนียว ปลูกทดสอบผลผลิตระหว่างสถานีและในนาเกษตรกรในภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือระหว่างปี พ.ศ. 2514- 2519 ผลปรากฏว่า สายพันธุ์ KDML105’65-G3U-68-254

ซึ่งเป็นสายพันธุ์ข้าวเหนียว นุ่ม มีกลิ่นหอม ทนแล้ง และ มีคุณภาพการหุงต้มรับประทานดี ให้ผลผลิตเฉลี่ยสูงสุดเป็นอันดับหนึ่ง และ ให้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์เหนียวสันป่าตอง ซึ่งเป็นพันธุ์ข้าวเหนียวที่นิยมปลูกกันแพร่หลายในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ กรมวิชาการเกษตรจึงพิจารณาให้เป็นพันธุ์รับรอง และแนะนำให้เกษตรกร (ผลิใบ, 2545)

ตารางที่ 1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของข้าวพันธุ์ กข 6

ประเภท	พืชล้มลุก วงศ์หญ้า พวกข้าวเหนียวนาสวน ไวต่อช่วงแสง ต้น สูงประมาณ 160 เซนติเมตร ทรงกอแผ่ ปล้องสีเหลืองอ่อน ต้นแข็งแรง ไม่ล้ม
ใบ	ใบสีเขียวจาง มีขนเล็กน้อย กาบใบสีเขียว ใบธงค่อนข้างสั้น การ แก่ของใบปานกลาง
ดอก/ช่อดอก	กลีบรองดอกมีขนาดสั้น สีฟาง รวงยาวปานกลาง คอรวงยาว จำนวนรวงต่อตารางเมตรเฉลี่ย 146 รวง
เมล็ด	จำนวนเมล็ดดีต่อรวง เฉลี่ย 109 เมล็ด เมล็ดยาวเรียว มีเปลือกสีน้ำตาล เมล็ดมีขนสั้นยอดเมล็ดสีน้ำตาล ขนาดเมล็ดยาว 10.59 มิลลิเมตร กว้าง2.79 มิลลิเมตร และหนา 2.02 มิลลิเมตร น้ำหนัก 1,000 เมล็ด เฉลี่ย 26.11 กรัม คิดเป็นน้ำหนักข้าวเปลือก 10.84 กิโลกรัมต่อถัง ข้าวกล้องสีขาว ขนาดเมล็ดเฉลี่ยยาว 7.25 มิลลิเมตร กว้าง 2.26 มิลลิเมตร และหนา 1.80 มิลลิเมตร
ลักษณะอื่น ๆ	ผลผลิตเฉลี่ย 670 กิโลกรัมต่อไร่ วันเก็บเกี่ยวได้ประมาณ วันที่ 21 พฤศจิกายน ระยะพักตัวของเมล็ดประมาณ 5 สัปดาห์ น้ำหนักข้าวเปลือก 1,000 เมล็ด ประมาณ 27.0 กรัม

ที่มา : ผลิใบ (2545)

ลักษณะประจำพันธุ์ (ผลิใบ, 2545)

1. ให้ผลผลิตและทนแล้งดีกว่าพันธุ์เหนียวสันป่าตอง
2. คุณภาพการหุงต้มดี มีกลิ่นหอม
3. ตอบสนองต่อการใช้ปุ๋ยดี
4. ต้านทานต่อโรคไหม้และโรคใบจุดสีน้ำตาล
5. ให้ผลผลิตที่ค่อนข้างมีเสถียรภาพในสภาพแวดล้อมต่างๆ และทนแล้ง

ข้อควรระวัง : ไม่ต้านทานโรคขอบใบแห้ง เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและแมลงบั่ว

Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)

จุลินทรีย์พวกแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดินหลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับการดึงดูดธาตุอาหาร โดยช่วยในการตรึงไนโตรเจนและช่วยละลายธาตุฟอสฟอรัสในดินให้เป็นประโยชน์ต่อพืช รวมเรียกว่า Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) นิยมนำมาผสมเป็นส่วนประกอบของปุ๋ยชีวภาพ (จักรพงษ์ และคณะ, 2555 อ้างจาก Karlidag *et al.,* 2007) ย้อนกลับไปเมื่อช่วงปี ค.ศ. 1888-1904 จากการค้นพบความสัมพันธ์ของแบคทีเรียในดินกับระบบรากพืชบริเวณ rhizosphere (หนึ่งและคณะ, 2548 อ้างจาก Hellriegel and Wilfarth, 1888) พบว่ามีกิจกรรมมากมายของแบคทีเรียในบริเวณ rhizosphere รวมไปถึงการสร้างปมของพืชตระกูลถั่วโดยแบคทีเรียในสกุลไรโซเบียม (Rhizobium) ซึ่งสามารถก่อให้เกิดปฏิกิริยาการตรึงไนโตรเจน (Nitrogen Fixation) ให้กับพืชได้ ดังนั้น จึงอาจกล่าวได้ว่าการค้นพบแบคทีเรียกลุ่มไรโซเบียมเป็นจุดกำเนิดของงานวิจัย ค้นคว้าเกี่ยวกับปุ๋ยชีวภาพและPGPR ที่แท้จริง จากนั้นในช่วงปี ค.ศ.1978 จึงได้นิยามและใช้คำว่า PGPR เป็นต้นมา โดยทั่วไป PGPR หรือการจะกล่าวเรียกจุลินทรีย์ใด ๆ ว่าเป็น PGPR จะต้องคำนึงว่ามีบทบาทต่อการส่งเสริมการเจริญของพืชตามกลไกดังต่อไปนี้ (หนึ่ง และคณะ, 2548)

1. กลไกทางตรงต่อพืช ได้แก่

1.1. ความสามารถในการตรึงไนโตรเจน
1.2. ความสามารถในการเพิ่มความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารพืช เช่น ละลายฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม เป็นต้น
1.3. ความสามารถในการสร้างสาร siderophores ในการจับธาตุเหล็ก
1.4. ความสามารถในการสร้างฮอร์โมนพืช (phytohormone) เช่น auxin, cytokinin, gibberelin
1.5. ลดปริมาณ ethylene ในพืช

2. กลไกทางอ้อมต่อพืช ได้แก่

2.1. ความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiotics)
2.2. ความสามารถในการสร้างสารยับยั้งเชื้อราก่อโรค
2.3. ความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อราก่อโรค
2.4. ความสามารถในการแข่งขันเพื่อเข้าอาศัยบริเวณระบบรากพืช
2.5. ความสามารถในการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ (antagonist) ยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืช
2.6. ความสามารถในการเป็นเชื้อปรสิต (parasite) ของเชื้อสาเหตุโรคพืช

บริเวณที่อยู่อาศัยของ PGPR ในระบบรากพืชและ rhizosphere ทำให้สามารถแบ่งชนิดของ PGPR ได้ 2 ประเภท ได้แก่

1. **Intracellular PGPR (iPGPR)** หมายถึง กลุ่ม PGPR ที่เข้าอาศัยภายในเซลล์ของรากพืช ตัวอย่างที่ชัดเจน ได้แก่ การเข้าอาศัยและสร้างปมของไรโซเบียมกับพืชตระกูลถั่ว
2. **Extracellular PGPR (ePGPR)** หมายถึง กลุ่ม PGPR ที่ไม่ได้อาศัยอยู่ในเซลล์ของรากพืช แต่มีคุณสมบัติเช่นเดียวกับ PGPR ทั่วไป ซึ่งสามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยตามตำแหน่งที่อยู่ได้อีก 3 กลุ่ม คือ

2.1. กลุ่มที่อาศัยอยู่ใกล้กับราก

2.2. กลุ่มที่อาศัยติดอยู่ที่ผิวของราก

2.3. กลุ่มที่อาศัยอยู่บริเวณระหว่างเซลล์ของรากในชั้น cortex

กลไกของ PGPR กับการเข้าสู่ระบบรากพืชในการเข้าสู่ระบบรากนั้นเริ่มจากแบคทีเรียส่งสัญญาณ (signal) ซึ่งอยู่ในรูปสารอินทรีย์ เช่น ในกลุ่ม N-acetyl-homoserine lactone ซึ่งระบบการใช้สารอินทรีย์เป็นสัญญาณในการสื่อสารระหว่างเซลล์ของแบคทีเรียด้วยกันเองเรียกว่า quorum sensing โดยสารนี้จะไปกระตุ้นการทำงานและการแสดงออกของยีนที่สำคัญ หลังจากแบคทีเรียรวมกลุ่มกันได้แล้วจะเคลื่อนเข้าสู่บริเวณผิวของราก ซึ่งพบว่าเป็นกลไกที่คล้ายกับการสร้าง biofilm ในสิ่งแวดล้อมอื่น ๆ จากนั้นพืชจะมีการตอบสนองต่าง ๆ โดยเฉพาะการตอบสนองต่อสารบางชนิดที่ PGPR ปลดปล่อยออกมาโดยผ่านระบบที่เรียกว่า Systemic Acquired Resistance (SAR) ซึ่งเป็นระบบหนึ่งของการป้องกันตัวเองจากสิ่งแปลกปลอม สาระสำคัญที่ผลิตจากฝ่ายพืชได้แก่ ethylene, jasmonic acid (JA) และ salicylic acid (SA) (หนึ่ง และคณะ, 2548)

การประยุกต์ใช้ PGPR ในระบบการเกษตร

แบคทีเรียกลุ่ม PGPR เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติที่ดีต่อพืชใน 3 ประการ ได้แก่

1. **ปุ๋ยชีวภาพ (Biofertilizer)** กลุ่มแบคทีเรียที่มีความสามารถเปลี่ยนก๊าซไนโตเจนในบรรยากาศมาเป็นไนโตรเจนให้กับพืชได้ เช่น แบคทีเรียใน จีนัส *Beijerinckia* และไซยาโนแบคทีเรีย สกุล *Nostoc* แบคทีเรียที่เพิ่มฟอสฟอรัส หรือ กลุ่มแบคทีเรียที่สร้าง siderophore เพื่อสกัดธาตุเหล็กในดินให้กับพืช เป็นต้น ตัวอย่างบทบาทของ PGPR ที่มีคุณสมบัติเป็นปุ๋ยชีวภาพ เช่น แบคทีเรีย *Paenibacillus polymyxa* มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนได้ และสามารถให้ธาตุอาหารไนโตรเจนกับพืช หรือการใช้ PGPR ในจีนัส *Serratia proteoemaculans* 1-10 และ *S. liquefaciens* 2-68 ร่วมกับ *Bradyrhizobium japonicum* ในการปลูกถั่วเหลืองสามารถเพิ่มจำนวนปม มวลชีวภาพ และ ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนได้ดีขึ้นกว่าเมื่อใช้ในถั่วกับ *B. japonicum* ตามลำพัง ซึ่งพบว่า *Serratia* ทั้งสองสายพันธุ์ช่วยย่นระยะเวลาการสร้างปมของถั่ว และ สามารถเพิ่มอัตราการสร้างปมกับ *B. japonicum* อีกด้วย ตัวอย่าง การผลิตแบคทีเรียกลุ่ม PGPR เป็นปุ๋ยชีวภาพเชิงพาณิชย์ ในภาคเกษตรกรรม ได้แก่ ประเทศบราซิล เม็กซิโก และ สหรัฐอเมริกา ซึ่งได้พัฒนาปุ๋ยชีวภาพสร้างธาตุไนโตรเจน โดยแบคทีเรีย *Gluconacetobacter diazotrophicus* และ *Azospirillum* ใช้กับพืช

ไร่สำคัญ เช่น อ้อย ข้าวสาลี โดยพบว่า เมื่อทำการใส่ปุ๋ยชีวภาพในพื้นที่ 600,000 เฮกเตอร์ ในประเทศเม็กซิโก ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1999 และ เพิ่มเป็น 1.5 ล้านเฮกเตอร์ ในปี ค.ศ. 2000 ทำให้ผลผลิตของพืชเพิ่มขึ้นเฉลี่ยร้อยละ 26

2. ผู้สร้างสารกระตุ้นการเจริญเติบโต (Phytostimulator) หรือ ฮอร์โมนพืช (Phytohormone) ซึ่งสารกลุ่มนี้ที่แบคทีเรียสร้างได้แก่ Auxin, Gibberellins และ Cytokinin ตัวอย่างสกุลของแบคทีเรียกลุ่มนี้ คือ *Azospirillum* และ *Azotobacter* ดังตัวอย่างงานวิจัยของ Ramos *et al.* (2002) พบว่าการใช้แบคทีเรีย *Bacillus licheniformis* กับการปลูกต้นกล้า Alder (*Alnus glutinosa*) สามารถส่งเสริมการเจริญของต้น Alder ได้อย่างดีเมื่อเทียบกับชุดกำรทดลองที่ไม่ได้ใส่เชื้อ โดยเฉพาะมีระบบรากที่สมบูรณ์พื้นที่ผิวของใบเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งพบว่าเป็นบทบาทมาจากสารประกอบกลุ่ม Auxin และ Gibberellins ที่ผลิตจากแบคทีเรียกลุ่มนี้ หรือ การใช้ *B. licheniformis* ร่วมกับ *B. pumis* กับต้นกล้าของพืช *Pinus pinae* ซึ่งมีความสามารถในการสร้าง Gibberellins พบว่าเพิ่มพื้นที่ผิวของใบและความยาวของรากได้สูงกว่าใช้ *Bacillus* เพียงชนิดเดียวอย่างมีนัยสำคัญ (หนึ่งและคณะ, 2548 อ้างจาก Probanaza *et al*., 2002)

3. ผู้ควบคุมศัตรูพืช (Biopesticide) ซึ่งส่วนใหญ่พบว่ามีกำรสร้างสารแอนติไบโอติก ยับยั้งเชื้อราก่อโรคได้ ตัวอย่างเช่น *Bacillus* และ *Pseudomonas* ดังเช่นจากรายงาน การวิจัยโดยใช้แบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescens* กับ ข้าว Rye (*Secale cereale*) พบว่า สามารถยับยั้งเชื้อรา *Fusaricum culmorom* ที่ทำให้เกิดโรคเหี่ยวได้ดียิ่งขึ้น ถ้ามี การปรับสภาพของดินให้มีปริมาณอนุภาคดินเหนียวมากขึ้น (Kurek and Jaraszuk-Scise, 2003 อ้างถึงใน หนึ่ง เตียอำรุง และ คณะ, 2548) หรือ การใช้เชื้อผสมในกลุ่มจีนัส *Bacillus* เช่น *B. amyloliquefaciens*, *B. sphaericus* และ *B. pumilis* สามารถยับยั้งกลุ่มของเชื้อก่อโรค เช่น *Ralstonia*, *Collectotrichum* หรือ *Rhizoctonia* โดยกระบวนการสร้างภูมิคุ้มกันให้แก่พืชได้เป็นอย่างดี (Jetiyanon and Kloepper, 2002)

จะเห็นได้ว่าการใช้แบคทีเรียกลุ่ม PGPR เป็นอีกทางเลือกหนึ่งโดยเฉพาะกับสภาวการณ์ปัจจุบันที่เน้นความเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ซึ่งสามารถใช้ทดแทนปุ๋ยเคมี และ ยาปราบศัตรูพืช โดยเฉพาะเชื้อราที่มีภาวะดื้อยาสูงขึ้นในปัจจุบัน จึงเห็นได้ว่าในกลุ่มประเทศที่พัฒนาแล้ว เช่น กลุ่มประเทศ EU หรือ สหรัฐอเมริกา ได้มีการพัฒนาขึ้นเป็นการค้าในรูปของ Bioinoculant เช่น กลุ่ม *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Bacillus* และ *Streptomyces* เป็นต้น (Bloemberg and Lugtenberg, 2001)

โดยทั่วไปการใช้ PGPR มี 3 รูปแบบ ได้แก่ การแช่เมล็ดในสารละลายแบคทีเรีย (bacterial suspension) เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นผึ่งให้แห้งในที่ร่มเป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง แช่ต้นกล้าลงในสารละลายแบคทีเรียข้ามคืน และการเติมสารแบคทีเรียลงในดินโดยตรง (Islam and Bora, 1998)

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

ฮอร์โมนพืช (Plant Hormone หรือ Phytohormone) หมายถึง สารอินทรีย์ซึ่งเกิดขึ้นภายในพืช มีปริมาณเพียงเล็กน้อย แต่สามารถกระตุ้น หรือ ยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชได้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (Plant Growth Regulator หรือ PGR) หมายถึง สารอินทรีย์ซึ่งไม่จำกัดว่าพืชจะสร้างขึ้นเองหรือมนุษย์สังเคราะห์ขึ้น และ ถ้าใช้ในปริมาณเพียงเล็กน้อยก็สามารถกระตุ้น ยับยั้ง หรือ เปลี่ยนแปลงสภาพทางสรีรวิทยาของพืชได้ (สมบุญ และ กฤษณ์, 2540)

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช จำแนกตามสมบัติของสาร มีผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพทางสรีรวิทยา และ การเติบโตของพืชได้เป็น 7 กลุ่ม ได้แก่ ออกซิน (auxins) จิบเบอเรลลิน (gibberellins) ไซโตไคนิน (cytokinins) เอทิลีน และ สารปลดปล่อยเอทิลีน (ethylene and ethylene releasing compounds) สารชะลอการเจริญเติบโต (plant growth retardants) สารยับยั้งการเจริญเติบโต (plant growth inhibitors) และ สารอื่นๆ ซึ่งเป็นสารไม่อาจจัดอยู่ในกลุ่มใดกลุ่มหนึ่งข้างต้น เนื่องจากมีสมบัติแตกต่างกันออกไป (พีรเดช, 2537)

ออกซิน (Auxin) เป็นฮอร์โมนชนิดแรกค้นพบในพืช ซึ่งทำให้ส่วนยอดต้นกล้าโค้งงอเบนเข้าหาแสง ออกซิน เป็น กลุ่มสารเกี่ยวกับการขยายขนาดของเซลล์ ทำให้พืชมีการเติบโตยืดยาวขึ้นเฉพาะ จนพืชเบนเข้าหาแสง (phototropism) และตอบสนองต่อแรงดึงดูดของโลก (geotropism) นอกจากนี้ ออกซินยังกระตุ้นการเจริญของใบ กิ่ง ราก ดอก ผล และ เมล็ด ส่วนใหญ่พืชสร้างออกซิน ให้อยู่ในรูปสารเคมี เรียกว่า กรดอินโดล-3-แอซิติก (indole-3-acetic acid, IAA) โดยพืชสังเคราะห์ IAA จาก กรดอะมิโนทริปโทแฟน (tryptophan) นอกจากนี้ยังมีสารสังเคราะห์ที่มีคุณสมบัติคล้ายออกซิน เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ทางการเกษตร ได้แก่ NAA (1-naphthylacetic acid), IBA (4-(indol-3-yl)butyric acid), 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid), IPA (indolepropionic acid) และ 2,3,6-T (2,3,6-trichlorobenzoic acid) ออกซินเป็นสารมีคุณสมบัติทางเคมีเป็นกรดโครงสร้างมีนิวเคลียสเป็น unsaturated ring (พีรเดช, 2537; สมบุญ และ กฤษณ์, 2540;

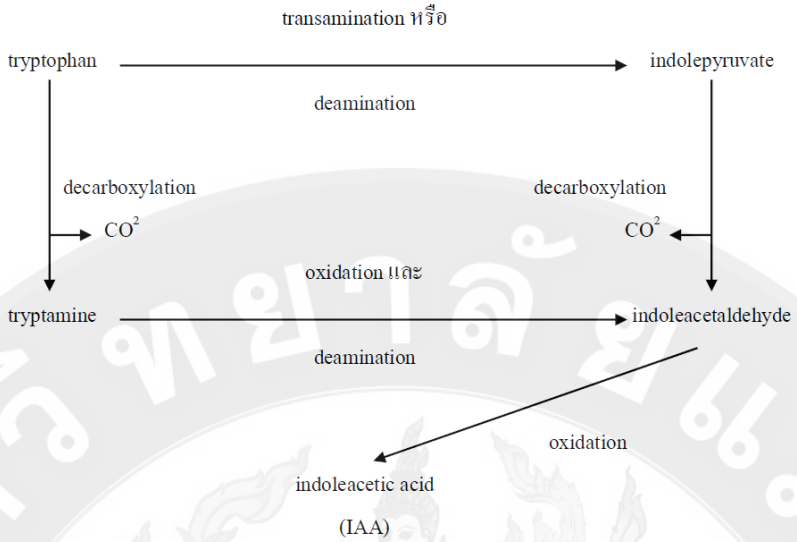
สัมพันธ์, 2526) ในส่วนของพืชมีการสร้างออกซิน ได้แก่ บริเวณเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด ปลายราก ตาที่กำลังเจริญ ใบอ่อน และ เอมบริโอ ออกซิน ที่พืชสร้างขึ้นแล้วจะถูกลำเลียงไปสู่ส่วนต่างๆ ของพืชอย่างมีทิศทาง โดยส่งผ่านเซลล์ต่อเซลล์ โดยอาศัยพลังงานในการเคลื่อนย้าย แบบ แอคทีฟ ทรานสปอร์ต (Active transport) กล่าวคือ ออกซินจะเคลื่อนย้ายจากส่วนยอด หรือ ส่วนตา ไปสู่ส่วนต้น ใบ และ ราก (สมบุญ และ กฤษณ์, 2540)

กลไกการสังเคราะห์สารออกซิน

ออกซินเป็นสารที่พืชสามารถสังเคราะห์ได้เองตามธรรมชาติ พบโดยทั่วไป คือ IAA แหล่งสำคัญในพืชที่มีการผลิต IAA ได้แก่ บริเวณปลายยอด จากนั้นจึงเคลื่อนย้ายไปยังส่วนต่างๆของพืช โดยปริมาณของ IAA ที่สร้างในพืชจะถูกควบคุมโดยเอนไซม์ Indole-3-acetic acid oxidase และ นอกจากนั้น IAA ยังสามารถสลายตัวได้โดยขบวนการ photo-oxidation อีกด้วย

การสังเคราะห์ IAA ในพืช และ จุลินทรีย์หลายชนิด พบว่า มีกระบวนการคล้ายคลึงกันโดยมีสารเริ่มต้น คือ กรดอะมิโน L-tryptophan โดยครั้งแรก L-tryptophan จะเปลี่ยนเป็น indole pyruvate โดยขบวนการ deamination เสร็จแล้วขบวนการ decarboxylation จะดึงคาร์บอนไดออกไซด์จาก indole pyruvate ทำให้ indole pyruvate กลายเป็น indole acetaldehyde จากนั้นหมู่ aldehyde ของ indole acetaldehyde จะถูกออกซิไดซ์ให้กลายเป็น IAA อีกกรณีหนึ่ง tryptophan อาจเปลี่ยนไปเป็น IAA โดยไม่ต้องผ่าน indole pyruvate โดย tryptophan จะเปลี่ยนไปเป็น tryptamine ด้วยขบวนการ decarboxylation จากนั้น tryptamine จะเปลี่ยนไปเป็น indole acetaldehyde ด้วยขบวนการ oxidative and deamination จากนั้นหมู่ aldehyde ของ indole acetaldehyde จะถูกออกซิไดซ์ให้กลายเป็น IAA

สำหรับในแบคทีเรียพบว่าสามารถเปลี่ยน tryptophan ให้เป็น indole ethanol ได้ ซึ่งสารชนิดนี้สามารถแสดงคุณสมบัติเป็นออกซินได้ เพราะ พืชจะเปลี่ยน indole ethanol ให้เป็น indole acetaldehyde และ IAA ในสุด (ภาพ 6) (Nonhebel *et al.*, 1993)



ภาพที่ 6 การสังเคราะห์ออกซินของพืช และจุลินทรีย์บางชนิด (Nonhebel *et al.* 1993)

ฟอสฟอรัส

ฟอสฟอรัส (P) เป็นธาตุจำเป็นต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิต เพราะ เป็นองค์ประกอบของโปรตีนและเซลล์ เช่น เป็นองค์ประกอบของ Deoxyribonucleic acid (DNA), Ribonucleic acid (RNA) เป็นส่วนสำคัญของยีน (gene) บนโครโมโซม ซึ่งกำหนดลักษณะทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต และ Adenosine triphosphate (ATP) เป็นแหล่งของพลังงาน เนื่องจาก ฟอสฟอรัสในดินไม่มีการหมุนเวียน และ แลกเปลี่ยนกับบรรยากาศ เมื่อพืชดูดใช้ฟอสฟอรัสจากสารละลายดิน ทำให้ฟอสเฟตมีปริมาณลดลง ฟอสฟอรัสจากส่วนอื่นจะละลายออกมาทดแทน ในขณะเดียวกันฟอสเฟตในสารละลายดินสามารถตกตะกอนเป็นของแข็งละลายน้ำยากได้เช่นกัน ฟอสเฟต อยู่ในรูปอินทรียวัตถุจะปลดปล่อยธาตุอาหารออกมาโดยกระบวนการ Mineralization ให้ฟอสฟอรัสที่มีประโยชน์แก่ดิน ในทางกลับกัน ฟอสฟอรัสที่อยู่ในดินถูกจุลินทรีย์ในดินนำไปใช้ ทำให้ฟอสฟอรัสนั้นไม่เป็นประโยชน์ต่อพืช กระบวนการนี้ เรียกว่า Imobilization ในส่วนของฟอสฟอรัสถูกดูดซับบนผิวอนุภาคคอลลอยด์ดินสามารถแลกเปลี่ยนกับฟอสฟอรัสในสารละลายดิน ฟอสฟอรัสในดินทั่วไปมีประมาณ 0.03-0.22% ซึ่งน้อยกว่าธาตุไนโตรเจน และ โพแทสเซียม ในประเทศไทยมีปริมาณฟอสฟอรัสเฉลี่ยอยู่ที่0.021% และ ในภาคเหนือมีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Available-P) 6-12 ppm นับว่ามีปริมาณค่อนข้างต่ำ ปริมาณของฟอสฟอรัสในดินแตกต่างกันตามชนิดของวัตถุต้นกำเนิดดิน การกร่อนของดิน (Erosion) อัตราการชะล้างดิน (Leaching) และ การใช้ที่ดิน หากดินมีแหล่งกำเนิด

จากวัตถุต้นกำเนิดชนิดเดียวกัน ดินเนื้อละเอียดจะมีปริมาณฟอสฟอรัสมากกว่าดินเนื้อหยาบ ดินที่เกิดมานานจะมีปริมาณฟอสฟอรัสน้อยกว่าดินเกิดใหม่ ดินชั้นบนจะมีปริมาณฟอสฟอรัสมากกว่าดินชั้นล่าง ฟอสฟอรัสเป็นธาตุที่ไวต่อการทำปฏิกิริยาสูงมาก และ จะรวมตัวกับธาตุออกซิเจนเมื่อสัมผัสกับอากาศ โดยทั่วไปมักพบอยู่ในรูปออร์โทฟอสเฟต (Orthophosphate) สารประกอบฟอสฟอรัสในดินนั้นมีอยู่หลายรูปแบบ แต่อาจจะแบ่งได้เป็นสองกลุ่มใหญ่ๆ คือ ฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปของสารประกอบอินทรีย์ (Organic phosphorus) เป็นสารที่ประกอบด้วยโมเลกุลขนาดใหญ่ของสารอินทรีย์ มีมากในดินชั้นบนที่มีการทับถมของเศษซากพืช หรือ ตะกอนที่ถูกพัดพา สารประกอบอินทรีย์ฟอสฟอรัสที่มีอยู่ในดินเป็นสารประกอบหลายชนิดโดยทั่วไป คือ

1. Phytin โดยเฉพาะ Inositol hexaphosphate ส่วน Inositol hexaphosphate อื่นๆ ก็มีอยู่ในดินเช่นกัน พบประมาณ 30-45% ของอินทรีย์ฟอสฟอรัสในดิน

2. Nucleic acid และ Nucleotides พบประมาณ 2% ของอินทรีย์ฟอสฟอรัสในดิน

3. Phospholipids พบประมาณ 1% ของอินทรีย์ฟอสฟอรัสในดิน

นอกจาก Organic phosphorus 3 รูปใหญ่ ที่กล่าวมาแล้วยังมีอินทรีย์ฟอสฟอรัสที่ไม่สามารถจำแนกชนิดได้ว่าเป็นสารประกอบใด พบปริมาณมากกว่า 62% ของอินทรีย์ฟอสฟอรัสในดิน อีกกลุ่มหนึ่ง คือ ฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปของสารประกอบอนินทรีย์ (Inorganic phosphorus) มีอยู่มากมายหลายชนิด ทั้งนี้เพราะ Phosphate Ion สามารถทำปฏิกิริยากับ Mineral และ Cation ต่างๆ ในดินได้ง่ายมาก และ กลายเป็นสารประกอบที่ละลายในน้ำได้ยาก ซึ่งสารประกอบที่เกิดขึ้นก็ตกต่างกันออกไปจนไม่อาจระบุชื่อเรียกให้ครบหมดทุกสารประกอบ อย่างไรก็ตาม Inorganic phosphorus ที่มีอยู่ในดินอาจจะแบ่งออกเป็น 3 พวกใหญ่ๆ คือ

1. Inorganic phosphorus ที่อยู่ในรูปของแร่ Apatite

2. ฟอสฟอรัสที่อยู่ในดินในรูปของ Calcium phosphate ที่ไม่ละลายน้ำ

3. ฟอสฟอรัสในดินที่อยู่ในรูปที่ถูกดูดซับหรือตรึงอยู่ตามพื้นผิวของ Hydrousoxide ของ Fe และ Al และ Silicate clay mineral ฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปนี้จะยากต่อการปลดปล่อยกลับลงไปในสารละลายดิน (จีราภรณ์, 2554)

แหล่งสำคัญของฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดิน

1. ซากพืชที่ใส่ลงไปในดิน ฟอสฟอรัสในซากพืชจะถูกจุลินทรีย์ดินย่อยสลายให้อยู่ในรูปของฮิวมัสในดิน และ หากมีมากกว่าความต้องการของจุลินทรีย์ ฟอสฟอรัสจะเปลี่ยนรูปกลับไปเป็นอนินทรีย์ฟอสเฟต ส่วนที่เหลือจะถูกปลดปล่อยให้กับพืช

2. อินทรีย์ฟอสฟอรัสในฮิวมัสจะถูกจุลินทรีย์ย่อยสลายไปเป็น อนินทรีย์ฟอสฟอรัสอย่างช้าๆ แต่มีปริมาณน้อยมากเมื่อเทียบกับแหล่งอื่น

3. แร่ฟอสเฟตในดิน แบ่งตามความเป็นประโยชน์ได้ 3 ชนิด คือ ฟอสเฟตที่เป็นประโยชน์ได้ช้ามาก ฟอสเฟตที่เป็นประโยชน์อย่างช้าๆ และฟอสเฟตที่เป็นประโยชน์ได้ง่าย

4. ปุ๋ยฟอสเฟต ได้แก่ ปุ๋ยคอก (มีปริมาณฟอสฟอรัสประมาณ 0.1-0.4) ปุ๋ยซูเปอร์ฟอสเฟตชนิดต่างๆ อย่างไรก็ตามปุ๋ยฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำได้เมื่อใส่ลงไปในดินอาจถูก ตรึงในดินทำให้ความเป็นระโยชน์ต่อพืชลดลง แต่ปุ๋ยที่ตกค้างในดินสามารถกลับมาเป็นประโยชน์ต่อพืชได้ใน pH ที่เหมาะสม

การเคลื่อนที่ของฟอสฟอรัสในดิน

ฟอสฟอรัสในดินจะย่อยสลายมาจาก แร่อะพาไตร์ และเปลี่ยนรูปมาเป็นฟอสเฟตตามช่วงระยะเวลาการเกิดดินการเปลี่ยนแปลงรูปต่างๆ ของฟอสฟอรัสขึ้นอยู่กับระยะเวลาและสิ่งแวดล้อมในการพัฒนาการกำเนิดดิน (Walker and Syers, 1976) ฟอสฟอรัสเป็นธาตุที่เคลื่อนที่ได้ช้ามากเมื่อเทียบกับ ไนโตรเจน และโพแทสเซียม (Glendinning, 1999) และมักเคลื่อนตัวด้วยกระบวนการแพร่ ทำให้ส่วนที่เคลื่อนที่ได้ช้าเหล่านี้เกิดความเป็นประโยชน์ต่อพืชยาก จะผันแปรไปตามชนิดของดิน ความชื้นความลึกของระดับปุ๋ยที่ใส่ และความต้องการของพืชในแต่ละสายพันธุ์

การสูญเสียฟอสฟอรัสในดิน

ฟอสฟอรัสในดินสามารถสูญเสียไปจากดินได้หลายวิธีโดยส่วนใหญ่จะติดไปกับส่วนของพืชที่ออกไปจากดิน (Crop removal) เมื่อมีการเก็บเกี่ยวผลผลิต ฟอสฟอรัสที่อยู่ในเมล็ด ตอซัง ต้น และ ใบของพืชจะติดไปด้วย ปริมาณที่สูญเสียในรูปนี้ขึ้นอยู่กับจำนวนและชนิดของพืชนอกจากนี้ฟอสฟอรัสในสารละลายดินอาจถูก ชะละลายลงไปในดินชั้นล่าง (Leaching) หากดินนั้นมีเนื้อดินที่เป็นทรายมากกว่ากลุ่มดินเหนียว ส่วนการระเหย (Volatilization) โดยทั่วไปในสภาพดินไร่จะไม่พบการระเหยของสารประกอบฟอสเฟต แต่สำหรับดินน้ำขังอาจมีการสูญเสียในรูปของ Phosphine (PH_3) ในกรณีของการกร่อนของดิน (Soil erosion หรือ Run off) ดินที่เกิดการกัดกร่อนเมื่อถูกน้ำพัดพา หรือ ลมพัดดินไปจากแหล่งเดิมจะมีฟอสฟอรัสติดไปด้วย โดยเฉพาะดินในสภาวะอิ่มตัวด้วยน้ำ ซึ่งฟอสฟอรัสที่ไหลบ่าไปกับหน้าดินมีทั้งรูปอินทรีย์ และ แร่อนินทรีย์ปะปนกันไป ตัวอย่างเช่น ประเทศออสเตรีย รัฐ Victoria พบว่า ในพื้นที่ 3.6 ha มีน้ำไหล่บ่าสูงถึง 660 ล้านลิตร โดยมีฟอสฟอรัสเป็นสัดส่วน 5.2 มิลลิกรัม/ลิตร (จีราภรณ์, 2554)

การจัดการฟอสฟอรัสในดิน

เนื่องจากฟอสฟอรัสในดินทั่วไปมีน้อยและไม่เพียงพอต่อความต้องการของพืช และ ปุ๋ยฟอสเฟตที่ใส่ลงไปในดินเพื่อยกระดับ Available P ในดินนั้น 80-90% มักจะถูกตรึงในดินยากต่อการที่พืชจะนำไปใช้ประโยชน์ ดังนั้นปัญหาเกี่ยวกับการจัดการและควบคุมระดับของฟอสเฟต และ การใช้ปุ๋ยฟอสเฟตจึงมีความสำคัญเป็นอย่างมาก การที่จะควบคุมให้ Available P ในดินอยู่ในระดับที่สูงเมื่อได้รับปุ๋ยฟอสเฟตอาจทำได้ ดังนี้

1. รักษาระดับ pH ของดินให้อยู่ระหว่าง 6-7

2. ใส่ปุ๋ยโดยวิธีโรยเป็นแถวขนานกับแถวของพืชที่ปลูก (Row หรือ Banding application) ให้ใกล้กับบริเวณรากพืช ซึ่งจะช่วยลดการตรึงของฟอสฟอรัส และ ทำให้ประสิทธิภาพของการใช้ปุ๋ยเพิ่ม สูงขึ้น จากงานทดลองของ Glendinning (1999) จะเห็นว่าข้าวโพดที่เจริญเติบโตในดินแต่ละประเภทจะมีความสามารถในการดูดฟอสฟอรัสไปใช้ไม่เท่ากัน โดยการใส่แบบแถบจะทำให้ประสิทธิภาพการดูดฟอสฟอรัสดีกว่าการใส่แบบหว่าน

3.หาวิธีลดจำนวนพื้นที่สัมผัสที่จะเกิดขึ้นระหว่างปุ๋ยฟอสเฟตกับดิน เพื่อลดปฏิกิริยาการตรึงฟอสเฟต เช่น ทำปุ๋ยให้เป็นก้อน (Pellet) ก่อนที่จะใส่ลงไปในดิน

4. รักษาระดับอินทรียวัตถุให้สูงอยู่เสมอ หรือ ใส่ปุ๋ยฟอสเฟตพร้อมกับปุ๋ยคอก

5. การใส่ปุ๋ยที่ละลายช้า เช่น หินฟอสเฟต ในดินกรด เพราะ จะทำให้การปลดปล่อยฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์เกิดอย่างสม่ำเสมอ และ ทำให้ค่าความเป็นกรดด่างของดินสูงขึ้นเป็นผลดีต่อการเปลี่ยนรูปของฟอสเฟตที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้

6.เพิ่มจุลินทรีย์กลุ่มที่มีศักยภาพในการย่อยละลายฟอสเฟต เมื่อตรวจสอบพบว่าปริมาณทั้งหมดของฟอสฟอรัสสูงแต่ความเป็นประโยชน์ต่ำ ซึ่งเป็นแนวทางที่มีบทบาทมากขึ้นในปัจจุบันเพราะมีการนำมาใช้ร่วมกับการใส่หินฟอสเฟต และ การใส่อินทรียวัตถุในดิน โดยมีจุลินทรีย์หลายกลุ่ม ไม่ว่าจะเป็น เชื้อรา แบคทีเรีย และแอคติโนมัยซีท

หินฟอสเฟต

หินฟอสเฟต คือ แร่อะพาไทต์ซึ่งเป็นแหล่งที่มาของแร่ที่ใช้ในการผลิตปุ๋ยฟอสเฟตชนิดต่าง หรือจะนำหินฟอสเฟตนี้มาใช้โดยตรงก็ได้ ซึ่งมีองค์ประกอบเป็นแร่กลุ่ม คาร์บอเนตไฮดรอกซิลอะพาไทต์ ฟลูออออะพาไทต์ เป็นต้น โดยจะมีการนำหินฟอสเฟตมาผ่านกระบวนการบดให้มีขนาดเล็กเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของฟอสเฟต หรือ คุณสมบัติการละลาย หินฟอสเฟตในแต่ละที่จะมีปริมาณฟอสฟอรัสไม่เท่ากันผันแปรตามองค์ประกอบแร่ดั้งเดิม เฉลี่ยอยู่ในช่วง 12-15% P ซึ่งหินฟอสเฟตสามารถจำแนกได้เป็นประเภทต่างๆ โดยอาศัย แหล่งกำเนิดของหิน จำแนกตามคุณภาพของหินฟอสเฟต และ จำแนกตามชนิดของแร่ (ยงยุทธ และคณะ, 2551)

การใช้หินฟอสเฟตควรคำนึงถึงคุณค่าของปุ๋ย คือ ศักยภาพในการใช้กับพืช เป็นสมบัติในการปลดปล่อยฟอสฟอรัสออกมาให้พืชได้ประโยชน์ เมื่อปลูกพืชในสภาพแวดล้อมแบบหนึ่ง และ จะเกี่ยวข้องโดยตรงกับสภาพการละลายได้ของหินฟอสเฟตแต่ละชนิด อีกประการหนึ่งที่ควรคำนึงถึง คือ ประสิทธิผลของการใช้กับพืช เป็นผลที่แท้จริงของหินฟอสเฟตต่อพืช จึงเกี่ยวข้องกับศักยภาพในการใช้กับพืช และอิทธิพลของสภาพแวดล้อมขณะที่ใส่ในแปลงพืช จะเห็นได้ว่าการใส่หินฟอสเฟตในดินโดยตรง จะสามารถ

ช่วยในการประหยัดพลังงานที่จะแปรสภาพหินฟอสเฟตโดยกระบวนการทางเคมี และ ยังประหยัดค่าใช้จ่ายในการทำปุ๋ยอีกด้วย แต่หินฟอสเฟตจะใช้เวลาในการปลดปล่อยฟอสฟอรัสออกมาให้เป็นประโยชน์ได้ช้า เนื่องจากหินฟอสเฟตละลายน้ำได้ยาก และ ปลดปล่อยฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ได้น้อยและช้า

จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายหินฟอสเฟต

จุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีบทบาทสำคัญในการทำให้เกิดกระบวนการ หรือ กิจกรรมที่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของพืชมากที่สุด ซึ่งจุลินทรีย์ดินหลายชนิด เช่น Bacteria, actinomycetes และ เชื้อราชนิดต่างๆ มีความสามารถในการละลายสารประกอบฟอสเฟตได้ (Kucey *et al*., 1989) ซึ่งเชื้อราไมคอร์ไรซา (mycorrhiza fungi) เป็นราที่อาศัยอยู่กับรากพืช และ ช่วยให้พืชดูดซับธาตุฟอสฟอรัสจากดินให้กับพืชอาศัยได้มากกว่าเดิม นอกจากนี้ยังมีจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยหินฟอสเฟต (Phosphate solubilizing microorganism) โดยจุลินทรีย์กลุ่มนี้จะสร้างเอนไซม์ หรือ กรดอินทรีย์บางชนิดแล้วปลดปล่อยออกมาย่อยหินฟอสเฟตที่ตกตะกอนในดิน กรดอินทรีย์เหล่านี้ได้แก่ lactic acid, citric acid, ketogluconic acid, malic acid, oxalic acid, tartaric acid และ succinic acid หรือ ในรูปหินฟอตเฟตให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ จุลินทรีย์ในกลุ่มนี้ เช่น *Aspergillus, Bacillus, Pseudomonas*, Actinomycetes และเชื้อรา เป็นต้น ขณะที่ Kucey (1983) พบว่าเชื้อรามีความสามารถในการย่อยหินฟอสเฟตได้มากกว่าแบคทีเรีย ประมาณ 3-100 เท่า โดยเชื้อราละลายฟอสฟอรัสได้ประมาณ 1-30% ในขณะที่แบคทีเรียสามารถจะละลายฟอสฟอรัสได้ 0.01-11.0 %ในช่วงเวลาเดียวกัน เชื้อรา ที่พบว่ามีความสามารถในการย่อยหินฟอสเฟต ได้แก่ *Aspergillus* และ *Penicillium* ในส่วนของแบคทีเรีย ได้แก่ *Arthrobacter* sp., *Bacillus* sp. เป็นต้น (Banik,1982) จากงานวิจัยของ Sundara *et al*. (2002) ทำการทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยฟอสเฟตร่วมกับการใช้ปุ๋ยเคมีฟอสเฟตต่อปริมาณจุลินทรีย์ ผลผลิต และ คุณภาพของอ้อย ซึ่งพบว่า การใส่เชื้อจุลินทรีย์ทำให้ผลผลิต ความหวาน และ ปริมาณน้ำตาลสูงกว่าการไม่ใส่เชื้อจุลินทรีย์ นอกจากนี้ ยุพิน และคณะ (2531) ได้ทำการศึกษาการใส่หินฟอสเฟตลงไปในปุ๋ยหมักเพื่อให้จุลินทรีย์ที่มีอยู่ในปุ๋ยหมักช่วยย่อยละลายหินฟอสเฟตที่เป็นประโยชน์ต่อพืชออกมา โดยพบว่าถ้าใส่หินฟอสเฟตลงไปในอัตรา 1 ส่วนต่อปุ๋ยหมักจากบ่อก๊าซชีวภาพ 20 ส่วนจะทำให้ความเป็นประโยชน์ของหินฟอสเฟตเพิ่มสูงขึ้นภายใน 1 เดือน โดยมีฟอสเฟตที่เป็นประโยชน์ละลายออกมาตั้งแต่ 29-71 % ของหินฟอสเฟตจากแหล่งต่างๆ ในประเทศไทย และเมื่อนำไปใส่ในดินแล้วปลูกข้าวโพดทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นพอๆ กับการใช้ปุ๋ยซูเปอร์ฟอสเฟต แสดงว่า เชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในปุ๋ยหมักปลดปล่อยกรดอินทรีย์ออกมาช่วยละลายหินฟอสเฟตได้ นอกจากนี้ Kucey *et al.* (1989) ยังได้

ศึกษาถึงจุลินทรีย์ละลายสารอนินทรีย์ฟอสเฟตจากดินรอบผิวรากของพืชหลายชนิด เช่น ซับเทอรา เนียนโคลเวอร์ หญ้าไรย์และ ข้าวสาลีมี 26-39% ของประชากรจุลินทรีย์ทั้งหมด หากจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในดินรอบผิวรากพืชเพิ่มขึ้น จำนวนจุลินทรีย์ละลายสารอนินทรีย์ฟอสเฟตมักจะเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนด้วย

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

อุปกรณ์

จุลินทรีย์ทดสอบ

แบคทีเรีย	3 ไอโซเลท	คือ MC8, MC15 และ W9
แอคติโนมัยซีส	3 ไอโซเลท	คือ KT-6-4-1, SN 5.4 และ 4.2.1.1
จุลินทรีย์กลุ่ม PGPR	6 ไอโซเลท	สามารถสังเคราะห์ IAA และ ย่อยสลายฟอสฟอรัสได้
แบคทีเรีย *Xanthomonas* sp.		ได้รับการอนุเคราะห์จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

พันธุ์ข้าวทดสอบ

ข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 จากสหกรณ์การเกษตรแม่จัน จำกัด อำเภอแม่จัน จังหวัดเชียงราย

อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

1. ตู้เขี่ยเชื้อ (laminar flow)
2. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (incubator)
3. ตู้อบลมร้อน (hot air oven)
4. หม้อนึ่งอบไอน้ำ (autoclave)
5. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)
6. อ่างน้ำร้อน (water wath)
7. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง
8. ไมโครปิเปต (micropipette)

9. ปิเปตทิป (pipette tip)
10. จานเลี้ยงเชื้อ (petri dish) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร
11. ขวดดูแรน (duran bottle)
12. ขวดรูปชมพู่
13. สำลี Swab
14. เครื่องเขย่าแบบ orbital shaker
15. Cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร
16. Hemacytometer

อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับปลูกข้าว

1. ดิน
2. ทราย
3. ถาดหลุมขนาด 96 หลุม ขนาด 35×55 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางหลุม 4 เซนติเมตร และลึก 4 เซนติเมตร

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง (ภาคผนวก ก)

1. Nutrient agar (NA)
2. Nutrient broth (NB)
3. Nutrient glucose agar (NGA)
4. Nutrient glucose broth (NGB)
5. International *Streptomyces* Project medium 2 (ISP2)
6. King *et al*.'s medium B agar (KB)

สารเคมี

1. Indole butyric acid (IBA) (ภาคผนวก ค)
2. Sodium chloride
3. Dimethylsulfoxide (DMSO)
4. Ethanol

5. ชุดย้อมสีแกรม (ภาคผนวก ข)

วิธีการทดลอง

<u>ตอนที่ 1</u>: การทดสอบการยับยั้งกันของเชื้อทดสอบและการทดสอบความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวในระยะต้นกล้า

1. การเตรียมเชื้อทดสอบ

1.1. การเตรียมเชื้อแบคทีเรียทดสอบ โดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหารสังเคราะห์ Nutrient glucose agar (NGA) โดยบ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 48 ชั่วโมง จากนั้นทำการถ่ายเชื้อลงในหลอดอาหารสังเคราะห์ Nutrient glucose broth (NGB) ขนาด 5 ml แล้วเขย่าด้วยเครื่องเครื่องเขย่าแบบ Orbital shaker เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อ จากนั้นถ่ายหัวเชื้อลงในอาหารสังเคราะห์ Nutrient glucose broth (NGB) ปริมาตร 150 ml แล้วเขย่าด้วยเครื่องเขย่าแบบ Orbital shaker เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 650 nm ให้มีค่าเท่ากับ 0.5 หากค่าการดูกลืนแสงมากกว่า 0.5 ทำการเจือจางด้วยน้ำเกลือ 0.85%

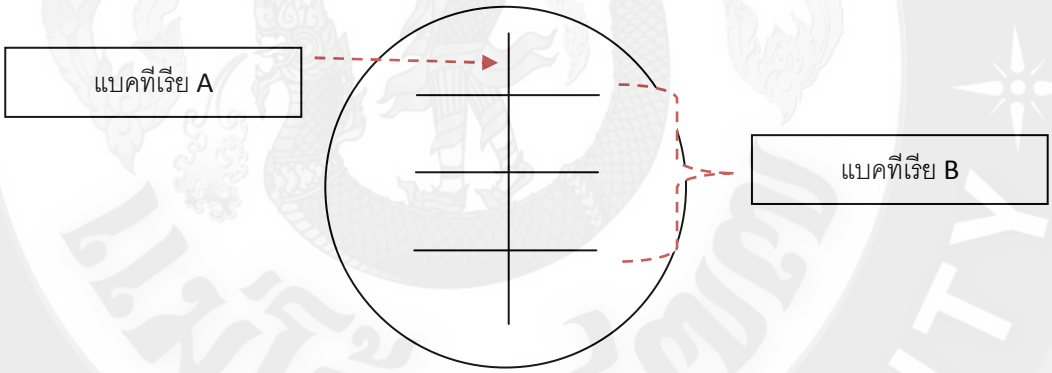
1.2. การเตรียมแอคติโนมัยซีสทดสอบ

1.2.1. การเตรียมแอคติโนมัยซีสไอโซเลท SN 5.4 และ 4.2.1.1 โดยเลี้ยง แอคติโนมัยซีสบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium 2 agar (ISP 2- agar)โดยบ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 72 ชั่วโมง จากนั้นทำการถ่ายเชื้อลงในหลอดอาหารสังเคราะห์ International *Streptomyces* Project medium 2 broth (ISP 2- broth) ขนาด 5 ml แล้วเขย่าด้วยเครื่อง เครื่องเขย่าแบบ Orbital shaker เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อ จากนั้นถ่ายหัวเชื้อลงในอาหารสังเคราะห์ International *Streptomyces* Project medium 2 broth (ISP 2- broth) ปริมาตร 150 ml แล้วเขย่าด้วยเครื่อง เขย่าแบบ Orbital shaker เป็นเวลา 72 ชั่วโมง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 650 nm ให้มีค่าเท่ากับ 0.5 หากค่าการดูกลืนแสงมากกว่า 0.5 ทำการเจือจางด้วยน้ำเกลือ 0.85%

1.2.2. การเตรียมเชื้อแอคติโนมัยซีสไอโซเลท KT 6-4-1 โดยเลี้ยงแอคติโนมัยซีสบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium 2 agar (ISP2-agar) โดยบ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 7 วัน จากนั้นชะสปอร์ของแอคติโนมัยซีสด้วย น้ำเกลือ 0.85% เพื่อทำเป็นสารละลายแขวนลอยของสปอร์จากนั้นทำการนับสปอร์ของแอคติโนมัยซีสโดยใช้ Hemacytometer ให้มีความเข้มข้นของสปอร์เท่ากับ 10^5 spores/ml

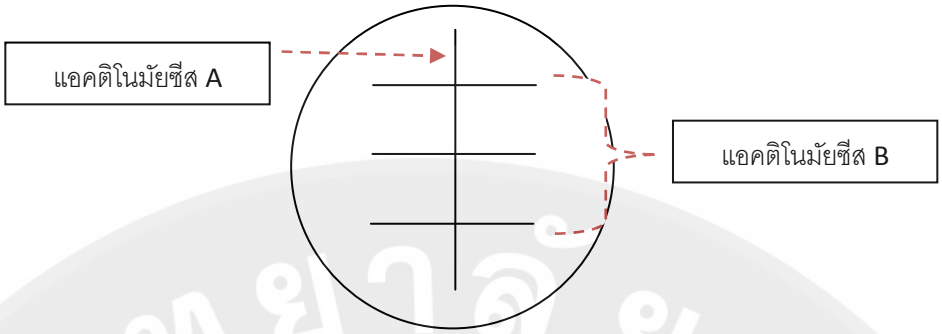
2. การทดสอบการยับยั้งกันของเชื้อทดสอบ

2.1. การทดสอบการยับยั้งกันของแบคทีเรียโดยเลี้ยงแบคทีเรียบนอาหารสังเคราะห์ Nutrient glucose agar (NGA) โดยบ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 48 ชั่วโมง จากนั้นทำการขีดแบคทีเรีย A เป็นแนวตั้ง และขีดแบคทีเรีย B เป็นแนวนอน 3 ขีด ผ่านเชื้อทดสอบ A บนอาหารสังเคราะห์ Nutrient glucose agar (NGA) แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 48 ชั่วโมง



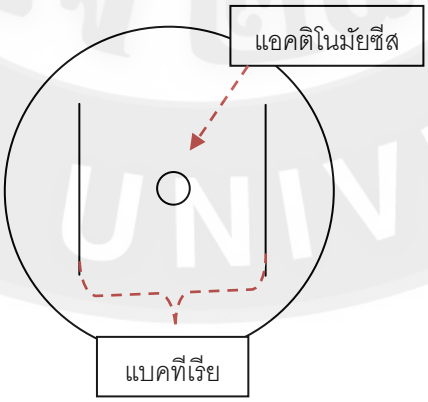
ภาพที่ 7 การขีดแนวเชื้อแบคทีเรียทดสอบ

2.2. การทดสอบการยับยั้งกันของแอคติโมมัยซีสโดยเลี้ยงแอคติโนมัยซีสบนอาหารสังเคราะห์ International *Streptomyces* Project medium 2 agar (ISP2- agar) โดยบ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 72 ชั่วโมง (ไอโซเลท KT-6-4-1 บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 7 วัน) จากนั้นทำการขีดแอคติโนมัยซีส A เป็นแนวตั้ง และขีดแอคติโนมัยซีส B เป็นแนวนอน 3 ขีด ผ่านเชื้อทดสอบ A บนอาหารสังเคราะห์ International *Streptomyces* Project medium 2 agar (ISP2-agar) แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 72 ชั่วโมง



ภาพที่ 8 การขีดแนวแอคติโนมัยซีสทดสอบ

2.3. การทดสอบการยับยั้งกันของแบคทีเรียและแอคติโนมัยซีส ด้วยวิธีการการ Dual culture methodโดยทำการเลี้ยงแบคทีเรียบนอาหารสังเคราะห์ Nutrient glucose agar (NGA) โดยบ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 48 ชั่วโมง และ เลี้ยงแอคติโนมัยซีสบนอาหารสังเคราะห์ International *Streptomyces* Project medium 2 agar (ISP2-agar) โดยบ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 72 ชั่วโมง (ไอโซเลท KT-6-4-1 บ่มบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 7 วัน) จากนั้นใช้ Cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะแอคติโนมัยซีสแล้วนำไปวางบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium 2 agar (ISP2-agar) บ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 72 ชั่วโมง (ไอโซเลท KT-6-4-1 บ่มบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 7 วัน) จากนั้นทำการขีดแบคทีเรียให้ห่างจากแอคติโนมัยซีสด้านละ 2 เซนติเมตร แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง



ภาพที่ 9 การขีดแนวแอคติโนมัยซีสและแบคทีเรีย

3. การเตรียมดิน

โดยทำการผสม ดิน:ทราย ในอัตราส่วน 2:1 (v/v) แล้วทำการนึ่งฆ่าเชื้อดิน 2 ครั้งที่อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 psi นาน 15 นาที โดยทำการนึ่งฆ่าเชื้อห่างกัน 24 ชั่วโมง

4. การนำเชื้อลงดิน

โดยนำแบคทีเรียและแอคติโนมัยซีสที่มีความเข้มข้น 10^5 cfu/ml ใส่ลงไปผสมในดินในอัตราส่วน เชื้อจุลินทรีย์ : ดิน เท่ากับ 1 : 10 (v/v) แล้วคลุกผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปบ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน เพื่อให้เชื้อจุลินทรีย์เจริญทั่วดิน

5. การปลูกข้าว

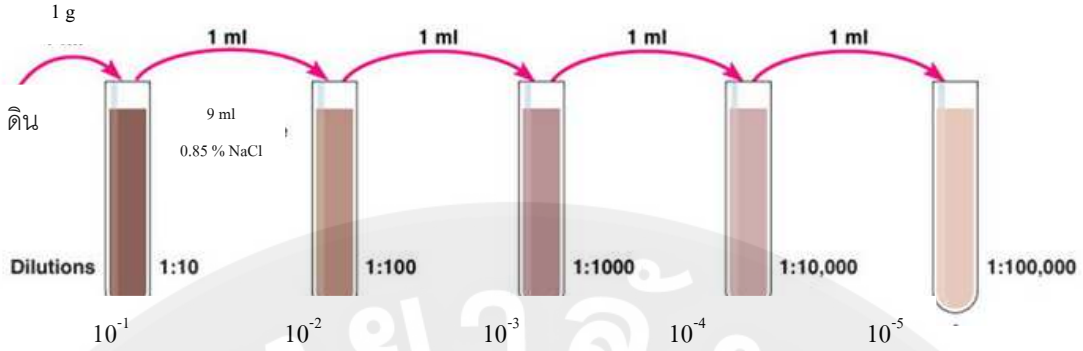
นำดินที่มีจุลินทรีย์ใส่ลงในถาดหลุมขนาด 96 หลุม จากนั้นทำการหยอดเมล็ดข้าวพันธุ์ กข 6 ลงในหลุม หลุมละ 1 เมล็ดโดยใช้ดินผสมน้ำกลั่น (Negative control) และดินผสม Indole butyric acid (IBA) ความเข้มข้น 1,000 ppm (Positive control) เป็นชุดควบคุมทำการรดน้ำและคลุมด้วยพลาสติกเป็นเวลา 5 วันเพื่อให้ข้าวงอก จากนั้นเปิดพลาสติกออกและรดน้ำทุกวัน

6. การบันทึกผล

บันทึกผลของข้าวหลังปลูกในวันที่ 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 และวันที่ 21 โดยบันทึกความสูงของต้น ความยาวราก และน้ำหนักแห้ง

7. การทดสอบการมีชีวิตรอดของเชื้อในดินและรากข้าว

7.1. การทดสอบการมีชีวิตรอดของจุลินทรีย์ในดิน โดยชั่งดิน 1 กรัม ใส่ในน้ำเกลือ 0.85% ปริมาตร 9 ml จากนั้นทำการเจือจางให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, และ 10^{-5} แล้วทำการ spread plateโดย ดินที่มีแบคทีเรีย spread plate บนอาหารสังเคราะห์ Nutrient glucose agar (NGA) โดยบ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 48 ชั่วโมง และ ดินที่มีแอคติโนมัยซีส sperad plate บนอาหารสังเคราะห์International *Streptomyces* Project medium 2 agar (ISP2- agar) โดยบ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 72 ชั่วโมง (แอคติโนมัยซีส รหัส KT-6-4-1 บ่มบ่มบ่มที่อุณหภูมิ 37°C 7 วัน) และบันทึกผล



ภาพที่ 10 การเจือจางดินและรากข้าว

7.2. การทดสอบการมีชีวิตรอดของจุลินทรีย์ในรากข้าว โดยบดรากข้าว 1 กรัมใส่ในน้ำเกลือ 0.85% ปริมาตร 9 ml จากนั้นทำการเจือจางให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, และ 10^{-5} แล้วทำการ spread โดย ดินที่มีแบคทีเรีย spread บนอาหารสังเคราะห์ Nutrient glucose agar (NGA) โดยบ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 48 ชั่วโมง และ ดินที่มีแอคติโนมัยซีส spread บนอาหารสังเคราะห์ International *Streptomyces* Project medium 2 agar (ISP 2- agar) โดยบ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 72 ชั่วโมง (ไอโซเลท KT 6-4-1 บ่ม 7 วัน) และบันทึกผล

8. การศึกษาสัณฐานวิทยาของจุลินทรีย์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ทำการศึกษาสัณฐานวิทยาของจุลินทรีย์ที่มีชีวิตรอดในดิน โดนทำการย้อมสีแบบแกรมและส่งภายใต้กล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบ กำลังขยาย 1,000 x

9. การวิเคราะห์ข้อมูล

ทำการวิเคราะห์วาเรียนซ์ โดยใช้โปรแกรม SPSS for Windows Version 14.0 เพื่อเปรียบข้อมูลของความยาวลำต้นและความยาวรากและน้ำหนักแห้ง และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

ตอนที่ 2: การทดสอบการยับยั้งกันของเชื้อทดสอบและเชื้อก่อโรค

1. การเตรียมเชื้อทดสอบและเชื้อก่อโรค

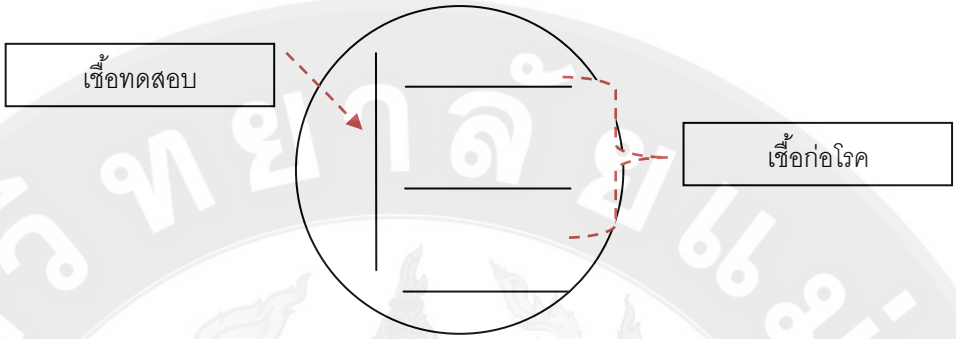
1.1 การเตรียมแอคติโนมัยซีสทดสอบ

1.1.1 การเตรียมแอคติโนมัยซีส ไอโซเลท SN 5.4 โดยเลี้ยงแอคติโนมัยซีสบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium 2 agar (ISP2- agar) โดยบ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 72 ชั่วโมง จากนั้นทำการถ่ายเชื้อลงในหลอดอาหารสังเคราะห์ International *Streptomyces* Project medium 2 broth (ISP2-broth) ขนาด 5 ml แล้วเขย่าด้วยเครื่อง เครื่องเขย่าแบบ Orbital shaker เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อ จากนั้นถ่ายหัวเชื้อลงในอาหารสังเคราะห์ International *Streptomyces* Project medium 2 broth (ISP2- broth) ปริมาตร 150 ml แล้วเขย่าด้วยเครื่องเขย่าแบบ Orbital shaker เป็นเวลา 72 ชั่วโมง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 650 nm ให้มีค่าเท่ากับ 0.5 หากค่าการดูกลืนแสงมากกว่า 0.5 ทำการเจือจางด้วยน้ำเกลือ 0.85%

1.1.2 การเตรียมแอคติโนมัยซีสไอโซเลท KT 6-4-1 โดยเลี้ยงแอคติโนมัยซีสบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium 2 agar (ISP2-agar) โดยบ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 7 วัน จากนั้นชะสปอร์ของแอคติโนมัยซีสด้วย น้ำเกลือ 0.85%

1.2 การเตรียมเชื้อก่อโรคทดสอบโดยเลี้ยงเชื้อก่อโรค (*Xanthomonas* sp.) บนอาหารสังเคราะห์ King medium B agar (KB) โดยบ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 48 ชั่วโมง จากนั้นทำการถ่ายเชื้อลงในหลอดอาหารสังเคราะห์ Nutrient glucose broth (NGB) ขนาด 5 ml แล้วเขย่าด้วยเครื่องเขย่าแบบ Orbital shaker เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อ จากนั้นถ่ายหัวเชื้อลงในอาหารสังเคราะห์ Nutrient glucose broth (NGB) ปริมาตร 150 ml แล้วเขย่าด้วยเครื่องเขย่าแบบ Orbital shaker เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 650 nm ให้มีค่าเท่ากับ 0.5 หากค่าการดูกลืนแสงมากกว่า 0.5 ทำการเจือจางด้วยน้ำเกลือ 0.85%

1.3 การทดสอบการยับยั้งกันของแบคทีเรียโดยเลี้ยงเชื้อทดสอบบนอาหารสังเคราะห์ Nutrient glucose agar (NGA) โดยบ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 48 ชั่วโมง จากนั้นทำการขีดเชื้อก่อโรคเป็นแนวตั้ง



ภาพที่ 11 การขีดแนวเชื้อทดสอบและเชื้อก่อโรค

<u>ตอนที่ 3: การทดสอบการยับยั้งกันของเชื้อทดสอบและเชื้อก่อโรคในกระถาง</u>

1. การเตรียมเชื้อทดสอบและเชื้อก่อโรค

1.1 การเตรียมแอคติโนมัยซีสทดสอบ

1.1.1 การเตรียมแอคติโนมัยซีส ไอโซเลท SN 5.4 โดยเลี้ยงแอคติโนมัยซีสบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium 2 agar (ISP 2- agar) โดยบ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน72 ชั่วโมง จากนั้นทำการถ่ายเชื้อลงในหลอดอาหารสังเคราะห์ International *Streptomyces* Project medium 2 broth (ISP2- broth) ขนาด 5 ml แล้วเขย่าด้วยเครื่องเขย่าแบบ Orbital shaker เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อ จากนั้นถ่ายหัวเชื้อลงในอาหารสังเคราะห์ International *Streptomyces* Project medium 2 broth (ISP 2- broth) ปริมาตร 150 ml แล้วเขย่าด้วยเครื่อง เขย่าแบบ Orbital shaker เป็นเวลา 72 ชั่วโมง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 650 nm ให้มีค่าเท่ากับ 0.5 หากค่าการดูกลืนแสงมากกว่า 0.5 ทำการเจือจางด้วยน้ำเกลือ 0.85%

1.1.2 การเตรียมแอคติโนมัยซีส ไอโซเลท KT 6-4-1 โดยเลี้ยงแอคติโนมัยซีสบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium 2 agar (ISP 2- agar) โดยบ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 7 วัน จากนั้นชะสปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยซีสด้วย น้ำเกลือ 0.85%

1.2 การเตรียมเชื้อก่อโรคทดสอบ โดยเลี้ยงเชื้อก่อโรค (*Xanthomonas* sp.)บนอาหารสังเคราะห์ King medium B agar (KB)โดยบ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 48 ชั่วโมง จากนั้นทำการถ่ายเชื้อลงในหลอดอาหารสังเคราะห์ Nutrient glucose broth (NGB) ขนาด 5 ml แล้วเขย่าด้วยเครื่องเขย่าแบบ Orbital shaker เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อ จากนั้นถ่ายหัวเชื้อลงในอาหารสังเคราะห์ Nutrient glucose broth (NGB) ปริมาตร 150 ml แล้วเขย่าด้วยเครื่องเขย่าแบบ Orbital shaker เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 650 nm ให้มีค่าเท่ากับ 0.5 หากค่าการดูกลืนแสงมากกว่า 0.5 ทำการเจือจางด้วยน้ำเกลือ 0.85%

2 การเตรียมดิน

โดยทำการผสม ดิน : ทราย ในอัตราส่วน 2:1 (v/v) แล้วทำการนึ่งฆ่าเชื้อดิน 2 ครั้งที่อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 psi นาน 15 นาที โดยทำการนึ่งฆ่าเชื้อห่างกัน 24 ชั่วโมง

3 การนำเชื้อลงดิน

โดยนำแบคทีเรียและแอคติโนมัยซีสที่มีความเข้มข้น 10^8 cfu/ml ใส่ลงไปผสมในดินในอัตราส่วนจุลินทรีย์ : ดิน เท่ากับ 1:10 (v/v) แล้วคลุกผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปบ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน เพื่อให้เชื้อจุลินทรีย์เจริญทั่วดิน

4 การปลูกข้าว

นำดินที่มีจุลินทรีย์ใส่ลงในถาดหลุมขนาด 96 หลุม จากนั้นทำการหยอดเมล็ดข้าวพันธุ์ กข 6 ลงในหลุม หลุมละ 1 เมล็ดโดยใช้ดินผสมน้ำกลั่น (Negative control) และเชื้อก่อโรค (Positive control) เป็นชุดควบคุมทำการรดน้ำและคลุมด้วยพลาสติกเป็นเวลา 5 วันเพื่อให้ข้าวงอก จากนั้นเปิดพลาสติกออกและรดน้ำทุกวัน

5 การทดสอบเชื้อก่อโรคในข้าว

หลังจากข้าวมีอายุ 10 วัน ทำการสเปรย์เชื้อก่อโรคที่มีความเข้มข้นของเชื้อเท่ากับ 10^8 CFU/ml ลงบนใบข้าว

6 การบันทึกผล

บันทึกผลของข้าวหลังปลูกในวันที่ 17, 19, 21, และวันที่ 35 โดยบันทึกความสูงของต้นและ ความยาวราก

7 การวิเคราะห์ทางสถิติ

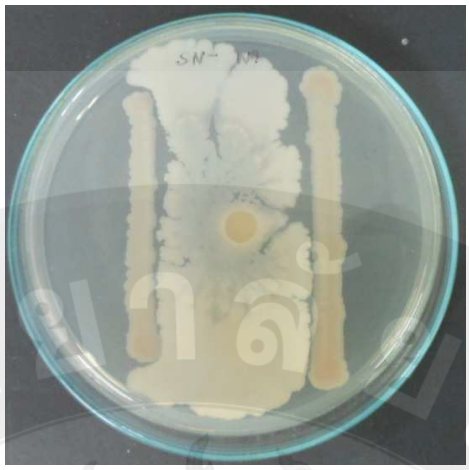
ทำการวิเคราะห์วาเรียนซ์ โดยใช้โปรแกรม SPSS for Windows Version 14.0 เพื่อเปรียบข้อมูลของความยาวลำต้นและความยาวราก โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

ผลการวิจัย

ตอนที่ 1 การทดสอบการยับยั้งกันของเชื้อทดสอบและการทดสอบความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวในระยะต้นกล้า

1. การทดสอบการยับยั้งซึ่งกันและกันของเชื้อทดสอบ

ทำการทดสอบการยับยังซึ่งกันและกันของเชื้อทดสอบ จากแบคทีเรีย 3 ไอโซเลท คือ MC8 MC15 และ W9 และ แอคติโนมัยซีส 3 ไอโซแลท คือ KT-6-4-1 SN 5.4 และ 4.2.1.1 เพื่อทำการผสมเชื้อทดสอบลงในดินเพื่อปลูกข้าวแล้วเปรียบเทียบกับการใช้เชื้อทดสอบเพียงชนิดเดียว โดยทำการทดสอบบนอาหารสังเคราะห์ Nutrient glucose agar (NGA) สำหรับแบคทีเรีย และอาหารสังเคราะห์ International *Streptomyces* Project medium 2 agar (ISP 2- agar) สำหรับแอคติโนมัยซีส ผลการทดสอบแสดงใน ตารางที่ 3 และภาพที่ 11 และ 12



ภาพที่ 12 การยับยั้งระหว่างแบคทีเรีย ไอโซเลท W9 และ แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท SN 5.4

ภาพที่ 13 การยับยั้งกันเองของแบคทีเรีย ไอโซเลท MC 15 และ แบคทีเรีย ไอโซเลท W9

ตารางที่ 2 การยับยั้งกันของเชื้อทดสอบ

เชื้อทดสอบ	ผลการยับยั้ง
MC8 + MC15	ไม่ยับยั้ง
MC8 + W9	ยับยั้ง
MC15 + W9	ยับยั้ง
KT-6-4-1 + SN 5.4	ไม่ยับยั้ง
KT-6-4-1 + 4.2.1.1	ไม่ยับยั้ง
SN 5.4 + 4.2.1.1	ไม่ยับยั้ง
KT-6-4-1 + MC8	ยับยั้ง
KT-6-4-1 + MC15	ไม่ยับยั้ง
KT-6-4-1 + W9	ไม่ยับยั้ง
SN 5.4 + MC8	ไม่ยับยั้ง
SN 5.4 + MC15	ยับยั้ง
SN 5.4 + W9	ยับยั้ง
4.2.1.1 + MC8	ยับยั้ง
4.2.1.1 + MC15	ยับยั้ง
4.2.1.1 + W9	ไม่ยับยั้ง

หมายเหตุ : ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

จากการทดสอบพบว่า แบคทีเรีย ไอโซเลท MC8 ยับยั้งซึ่งกันและกันกับ แบคทีเรีย ไอโซเลท W9 และ แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท 4.2.1.1 และ KT 6-4-1 แบคทีเรีย ไอโซเลท MC15 ยับยั้งซึ่งกันและกันกับแบคทีเรีย ไอโซเลท W9 และ แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท 4.2.1.1 และ SN 5.4 และแบคทีเรีย ไอโซเลท W9 ยับยั้งซึ่งกันและกันกับ แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท SN 5.4

2. **ผลการเจริญเติบโตของข้าว**

วัดการเจริญเติบโตของข้าวโดยวัดความยาวราก ความสูงของลำต้น และ น้ำหนักแห้ง หลังปลูกลงดินในวันที่ 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 และ 21

2.1. การวัดความยาวรากของข้าว

จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความยาวรากของข้าวในวันที่ 5, 15 และ 21 หลังปลูกพบว่าค่าเฉลี่ยความยาวรากแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ แต่ค่าเฉลี่ยความยาวรากข้าวในวันที่ 7 หลังปลูกพบว่าค่าเฉลี่ยของรากข้าวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญดังแสดงผลในตารางที่ 4

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยความยาวรากข้าวในดินที่มีแบคทีเรียและแอคติโนมัยซีสทดสอบที่แตกต่างกันในวันที่ 5, 7, 15,และ 21 หลังปลูก (เซนติเมตร)

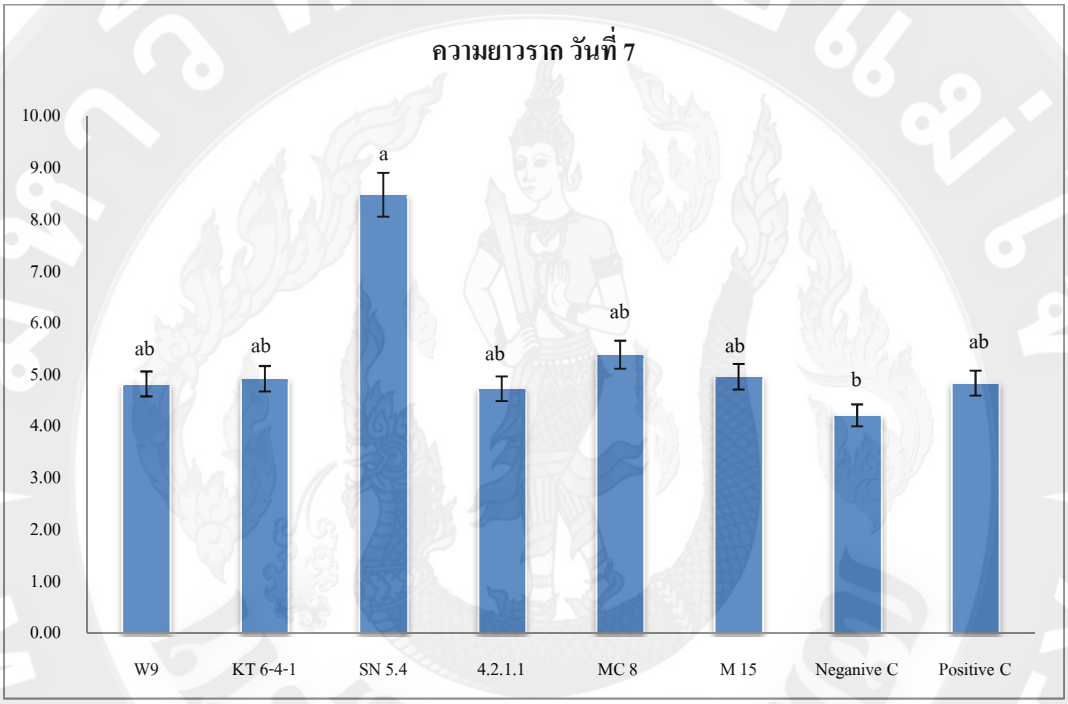
Isolate	DAY			
	5	7	15	21
W9	3.57±1.23[a]	4.83±0.46[ab]	7.41±1.38[a]	10.18±1.62[a]
KT 6-4-1	3.71±0.83[a]	4.93±1.91[ab]	9.45±4.94[a]	11.17±0.80[a]
SN 5.4	2.61±1.33[a]	8.49±3.03[a]	8.71±5.87[a]	10.56±0.55[a]
4.2.1.1	4.31±1.57[a]	4.74±0.42[ab]	7.68±3.27[a]	9.74±1.83[a]
MC8	3.71±2.21[a]	5.40±2.79[ab]	7.17±6.31[a]	9.91±2.13[a]
MC15	3.74±2.05[a]	4.97±2.34[ab]	8.27±4.04[a]	7.09±0.65[a]
Negative control	3.66±1.62[a]	4.23±2.06[b]	5.53±2.17[a]	13.03±3.21[a]
Positive control	3.33±0.10[a]	4.85±1.32[ab]	8.65±2.97[a]	10.66±3.14[a]

หมายเหตุ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความยาวรากของข้าวโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$)

ในวันที่ 7 หลังปลูกพบว่าค่าเฉลี่ยของรากข้าวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็นสองกลุ่ม ดังต่อไปนี้

<u>กลุ่มแรก</u> คือ negative control (น้ำกลั่น), แบคทีเรีย ไอโซเลท MC15, MC8, W9, แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท KT 6-4-1,4.2.1.1 และ positive control (IBA 1,000 ppm) ให้ค่าเฉลี่ยความยาวรากไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$)

<u>กลุ่มที่สอง</u> คือ แบคทีเรีย ไอโซเลท MC15, MC8, W9, แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท KT 6-4-1, 4.2.1.1 และ SN 5.4 และ positive control (IBA 1,000 ppm) ให้ค่าเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกัน ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$) โดยข้าวที่มีความยาวรากมากที่สุด คือ ข้าวที่ปลูกในดินที่มีแอคติโนมัยซีส ไอโซเลท SN5.4 เท่ากับ 8.49±3.03 เซนติเมตร



ภาพที่ 14 ความยาวรากข้าวในดินที่มีแบคทีเรียและแอคติโนมัยซีสทดสอบที่แตกต่างกันในวันที่ 7

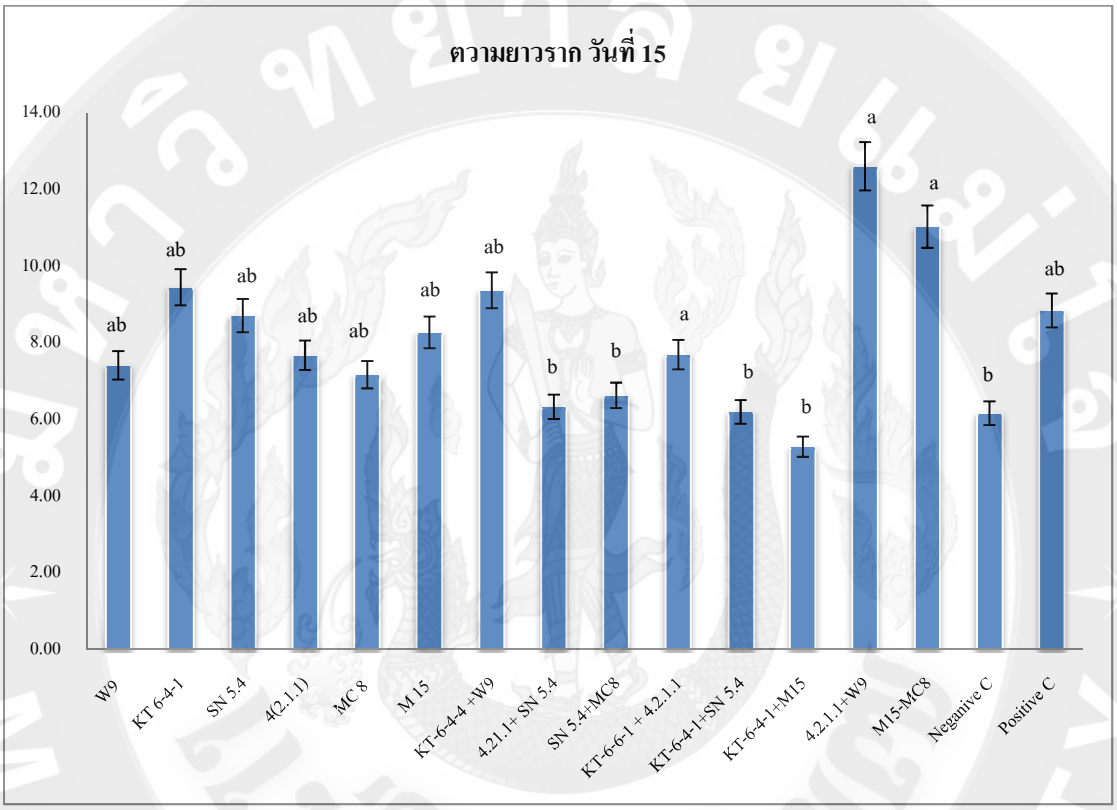
ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยความยาวรากข้าวในดินที่มีแบคทีเรีย และ แอคติโนมัยซีสทดสอบ และ เชื้อทดสอบที่ทำการผสมกันที่แตกต่างกันในวันที่ 15, 17 และ 21 หลังปลูก (เซนติเมตร)

Isolate	DAY			
	15	17	19	21
W 9	7.41±1.38^{ab}	8.81±1.18^{abc}	8.52±2.10^{bc}	10.18±1.62^{gf}
KT 6-4-1	9.45±4.94^{ab}	8.37±3.84^{abc}	10.73±3.36^{b}	11.17±0.80^{defg}
SN 5.4	8.71±5.87^{ab}	9.93±6.32^{abc}	8.50±3.25^{bc}	10.56±0.55^{efg}
4.2.1.1	7.68±3.27^{ab}	7.65±1.83^{abc}	8.61±0.51^{bc}	9.74±1.83^{g}
MC 8	7.17±6.31^{ab}	8.74±3.51^{abc}	8.03±2.12^{bc}	9.91±2.13^{g}
MC 15	8.27±4.04^{ab}	7.84±3.30^{abc}	8.38±1.53^{bc}	7.09±0.65^{h}
KT-6-4-1 + W 9	6.33±0.64^{ab}	11.68±0.96^{ab}	16.03±0.07^{a}	16.35±0.41^{a}
4.2.1.1 + SN 5.4	6.63±0.44^{b}	6.78±2.21^{bc}	5.49±0.69^{c}	11.48±1.73^{defg}
SN 5.4 + MC 8	7.69±0.95^{b}	9.32±2.32^{abc}	9.74±2.21^{b}	13.95±3.01^{bc}
KT-6-4-1 + 4.2.1.1	6.20±0.06a^{a}	7.48±2.09^{abc}	10.72±5.57^{b}	11.73±0.41^{cdefg}
KT-6-4-1 + SN 5.4	5.29±0.21^{b}	6.72±0.25^{c}	10.14±2.57^{b}	12.82±1.22^{bcde}
KT-6-4-1 + MC 15	12.61±0.07^{b}	7.69±0.41^{abc}	9.75±0.55^{b}	13.31±0.52^{bcd}
4.2.1.1 + W 9	11.03±0.33^{a}	12.06±0.20^{a}	17.59±2.19^{a}	14.14±0.45^{abc}
MC 15 + MC 8	6.33±0.64a^{a}	11.16±3.48^{abc}	11.34±1.75^{b}	14.92±0.23^{ab}
Negative control	5.53±2.17^{b}	7.94±2.75^{abc}	10.65±2.09^{b}	13.03±3.21^{cdef}
Positive control	8.65±2.97^{ab}	9.43±3.73^{abc}	15.79±14.87^{a}	10.66±3.14^{defg}

หมายเหตุ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความยาวรากของข้าวโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$)

จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความยาวรากของข้าวในวันที่ 15, 17, 19 และ 21 หลังปลูก พบว่าในวันที่ 15 ค่าเฉลี่ยความยาวรากของข้าวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มแรก ไอโซเลท W 9, KT 6-4-1, SN 5.4, 4.2.1.1, MC 8, MC 15 และ เชื้อทดสอบระหว่าง KT 6-4-1 + W 9, 4.2.1.1 + SN 5.4, SN 5.4 + MC 8, KT 6-4-1 + SN 5.4, KT 6-4-1 + MC 15, Negative control(น้ำกลั่น) และ Positive control (IBA 1,000 ppm) ให้ค่าเฉลี่ยความยาวรากของข้าวแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$)

กลุ่มที่สอง คือ ไอโซเลท W 9, KT 6-4-1, SN 5.4, 4.2.1.1, MC 8, MC 15 และ เชื้อทดสอบระหว่าง KT 6-4-1 + 4.2.1.1, 4.2.1.1 + W 9, MC 15 + MC 8 และ Positive control (IBA 1,000 ppm) ให้ค่าเฉลี่ยความยาวรากของข้าวแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$) โดยเชื้อทดสอบที่ทำการผสมกันระหว่าง 4.2.1.1 + W 9 ให้ค่าเฉลี่ยความยาวของรากข้าวมากที่สุด เท่ากับ 11.03±0.33 เซนติเมตร



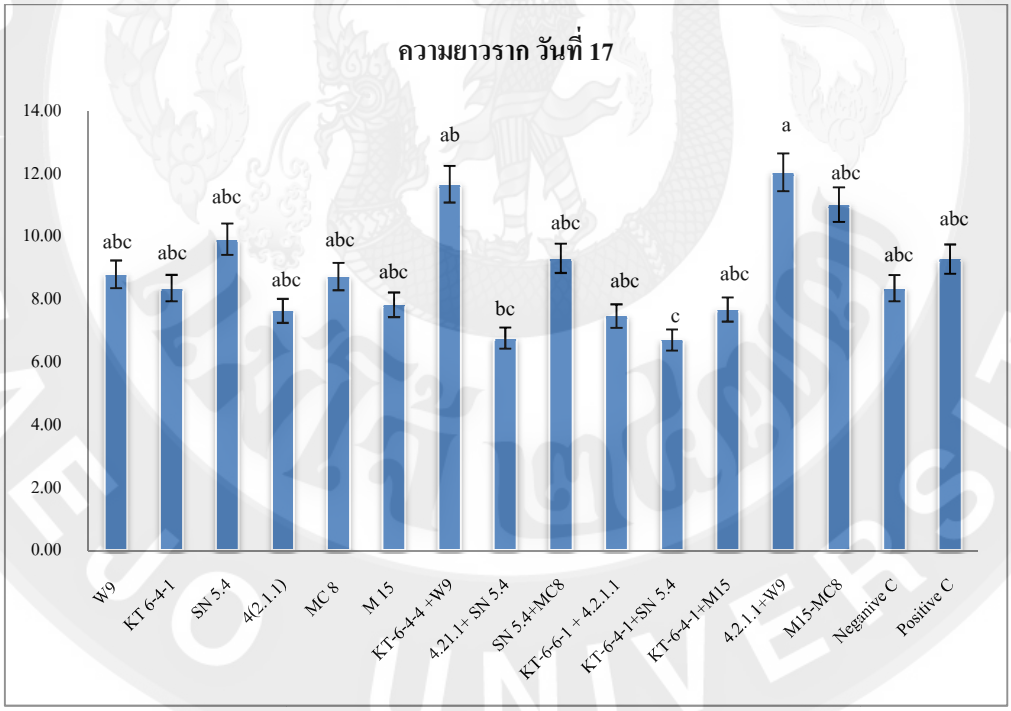
ภาพที่ 15 ความยาวรากข้าวในดินที่มีแบคทีเรียและแอคติโนมัยซีสทดสอบที่แตกต่างกันในวันที่ 15

ค่าเฉลี่ยความยาวรากของข้าวในวันที่ 17 หลังปลูก พบว่าค่าเฉลี่ยความยาวรากของข้าวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่

<u>กลุ่มแรก</u> คือ ไอโซเลท W9, KT 6-4-1, SN 5.4, 4.2.1.1, MC8, MC15 และ เชื้อทดสอบระหว่าง 4.2.1.1 + SN 5.4, SN 5.4 + MC 8, KT 6-4-1 + 4.2.1.1, KT 6-4-1 + SN 5.4, KT 6-4-1 + MC 15, MC 15 + MC 8, Negative control (น้ำกลั่น) และ Positive control(IBA 1,000 ppm)ให้ค่าเฉลี่ยความยาวรากของข้าวแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$)

<u>กลุ่มที่สอง</u> คือ ไอโซเลท W9, KT 6-4-1, SN 5.4, 4.2.1.1, MC 8, MC 15 และ เชื้อทดสอบระหว่าง KT 6-4-1 + W 9, 4.2.1.1 + SN 5.4, SN 5.4 + MC 8, KT 6-4-1 + 4.2.1.1, KT 6-4-1 + MC 15, MC 15 + MC 8, Negative control (น้ำกลั่น) และ Positive control (IBA 1,000 ppm) ให้ค่าเฉลี่ยความยาวรากของข้าวแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$)

<u>กลุ่มที่สาม</u> คือ ไอโซเลท W 9, KT 6-4-1, SN 5.4, 4.2.1.1, MC 8, MC 15 และ เชื้อทดสอบระหว่าง KT 6-4-1 + W 9, SN 5.4 + MC 8, KT 6-4-1 + 4.2.1.1, KT 6-4-1 + MC 15, 4.2.1.1 + W 9, MC 15 + MC 8, Negative control (น้ำกลั่น) และ Positive control (IBA 1,000 ppm)ให้ค่าเฉลี่ยความยาวของรากข้าวแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$) โดยเชื้อทดสอบที่ทำการผสมกันระหว่าง 4.2.1.1 + W 9 ให้ค่าเฉลี่ยความยาวของรากข้าวมากที่สุด เท่ากับ 12.06 ± 0.20 เซนติเมตร



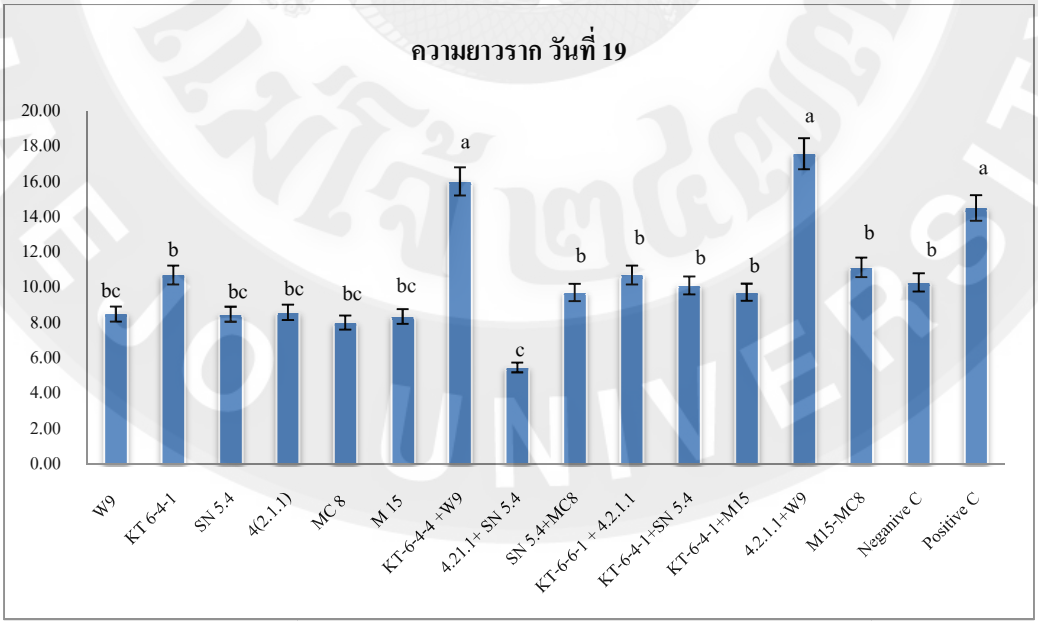
ภาพที่ 16 ความยาวรากข้าวในดินที่มีแบคทีเรียและแอคติโนมัยซีสทดสอบที่แตกต่างกันในวันที่ 17

ค่าเฉลี่ยความยาวรากของข้าวในวันที่ 19 หลังปลูก พบว่าค่าเฉลี่ยความยาวรากของข้าวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่

<u>กลุ่มแรก</u> คือ ไอโซเลท W 9, SN 5.4, 4.2.1.1, MC 8, MC 15 และ เชื้อทดสอบระหว่าง 4.2.1.1 + SN 5.4 ให้ค่าเฉลี่ยความยาวรากของข้าวแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$)

<u>กลุ่มที่สอง</u> คือ ไอโซเลท W 9, KT 6-4-1, SN 5.4, 4.2.1.1, MC8, MC15 และ เชื้อทดสอบระหว่าง SN 5.4+MC 8, KT 6-4-1+4.2.1.1, KT 6-4-1+SN 5.4, KT 6-4-1+MC15, MC15+MC8 และ Negative control (น้ำกลั่น) ให้ค่าเฉลี่ยความยาวรากของข้าวแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น95% ($p \leq 0.05$)

<u>กลุ่มที่สาม</u> คือ เชื้อทดสอบระหว่าง KT 6-4-1+W9, 4.2.1.1 + W 9 และ Positive control (IBA 1,000 ppm) ให้ค่าเฉลี่ยความยาวรากของข้าวแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$) โดยเชื้อทดสอบระหว่าง 4.2.1.1+W9 ให้ค่าเฉลี่ยความยาวของรากข้าวมากที่สุด เท่ากับ 17.59±2.19 เซนติเมตร



ภาพที่ 17 ความยาวรากข้าวในดินที่มีแบคทีเรียและแอคติโนมัยซีสทดสอบที่แตกต่างกันในวันที่ 19

ค่าเฉลี่ยความยาวรากของข้าวในวันที่ 21 หลังปลูก พบว่าค่าเฉลี่ยความยาวรากของข้าวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แบ่งออกเป็น 8 กลุ่ม ได้แก่

กลุ่มแรก คือ ไอโซเลท MC15

กลุ่มที่สอง คือ ไอโซเลท W9, KT 6-4-1, SN 5.4, 4.2.1.1, MC 8 และ เชื้อทดสอบระหว่าง 4.2.1.1 + SN 5.4, KT 6-4-1 + 4.2.1.1 และ Positive control ให้ค่าเฉลี่ยความยาวรากของข้าวแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$)

กลุ่มที่สาม คือ ไอโซเลท W 9, KT 6-4-1, SN 5.4 และ เชื้อทดสอบระหว่าง, 4.2.1.1 + SN 5.4, KT 6-4-1 + 4.2.1.1, Negative control (น้ำกลั่น) และ Positive control (IBA 1,000 ppm) ให้ค่าเฉลี่ยความยาวรากของข้าวแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$)

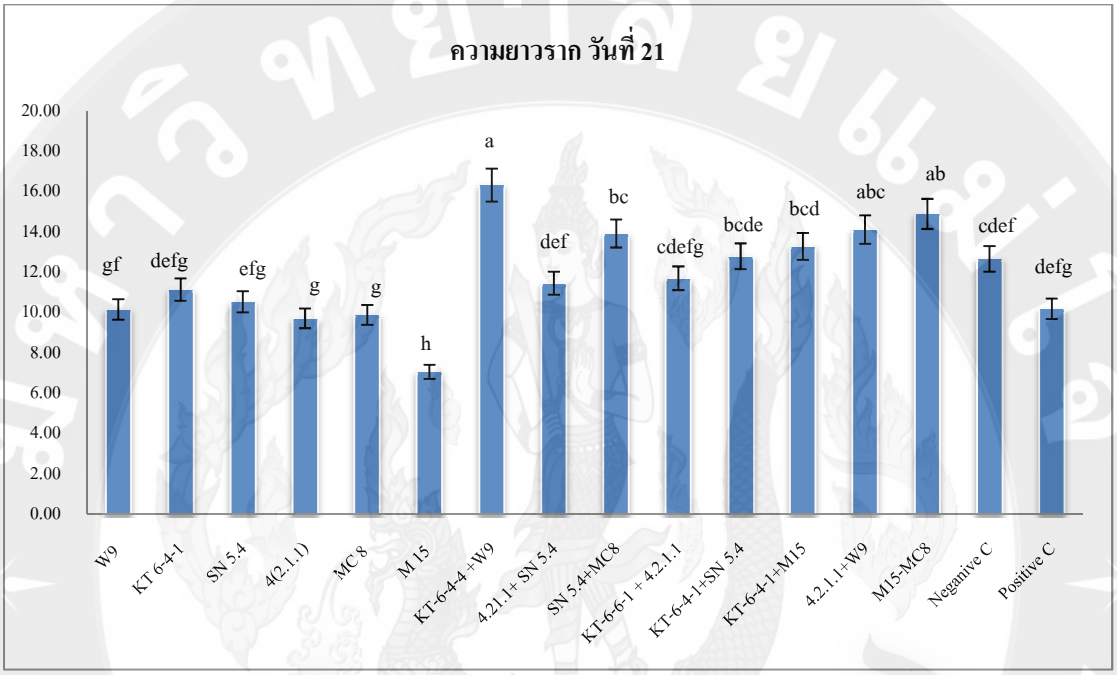
กลุ่มที่สี่ คือ ไอโซเลท KT 6-4-1, SN 5.4 และ เชื้อทดสอบระหว่าง 4.2.1.1 + SN 5.4, KT 6-4-1 + 4.2.1.1, KT 6-4-1 + SN 5.4, Negative control (น้ำกลั่น) และ Positive control (IBA 1,000 ppm) ให้ค่าเฉลี่ยความยาวรากของข้าวแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$)

กลุ่มที่ห้า คือ ไอโซเลท KT 6-4-1 และ เชื้อทดสอบระหว่าง 4.2.1.1 + SN5.4, KT 6-4-1 + 4.2.1.1, KT 6-4-1 + SN 5.4, KT 6-4-1 + MC 15, Negative control (น้ำกลั่น) และ Positive control (IBA 1,000 ppm) ให้ค่าเฉลี่ยความยาวรากของข้าวแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$)

กลุ่มที่หก คือ เชื้อทดสอบระหว่าง KT 6-4-1+4.2.1.1, KT 6-4-1+SN 5.4, KT 6-4-1+MC15, 4.2.1.1 +W9 และ Negative control (น้ำกลั่น) ให้ค่าเฉลี่ยความยาวรากของข้าวแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$)

กลุ่มที่เจ็ด คือ เชื้อทดสอบระหว่าง SN 5.4 + MC 8, KT 6-4-1 + MC 15, MC 15 + MC 8, KT6-4-1 + SN 5.4 และ 4.2.1.1 + W 9 ให้ค่าเฉลี่ยความยาวรากของข้าวแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$)

<u>กลุ่มที่แปด</u> คือ เชื้อทดสอบระหว่าง MC15+ MC 8, 4.2.1.1 + W 9 และ KT 6-4-1 + W 9 ให้ค่าเฉลี่ยความยาวรากของข้าวแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$) เชื้อทดสอบระหว่าง KT 6-4-1 + W 9 ให้ค่าเฉลี่ยความยาวของรากข้าวมากที่สุด เท่ากับ 16.35±0.41 เซนติเมตร



ภาพที่ 18 ความยาวรากข้าวในดินที่มีแบคทีเรียและแอคติโนมัยซีสทดสอบที่แตกต่างกันในวันที่ 21

2.2. การวัดความสูงของลำต้นของข้าว

จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความสูงของต้นข้าวในวันที่ 7, 15 และ 21 หลังปลูกพบว่าค่าเฉลี่ยความสูงของต้นข้าวแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ แต่ค่าเฉลี่ยความยาวรากข้าวในวันที่ 5 หลังปลูกพบว่าค่าเฉลี่ยของรากข้าวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นข้าว ในดินที่มีแบคทีเรียและแอคติโนมัยซีสที่แตกต่างกันในวันที่ 5, 7, 15 และ 21 หลังปลูก (เซนติเมตร)

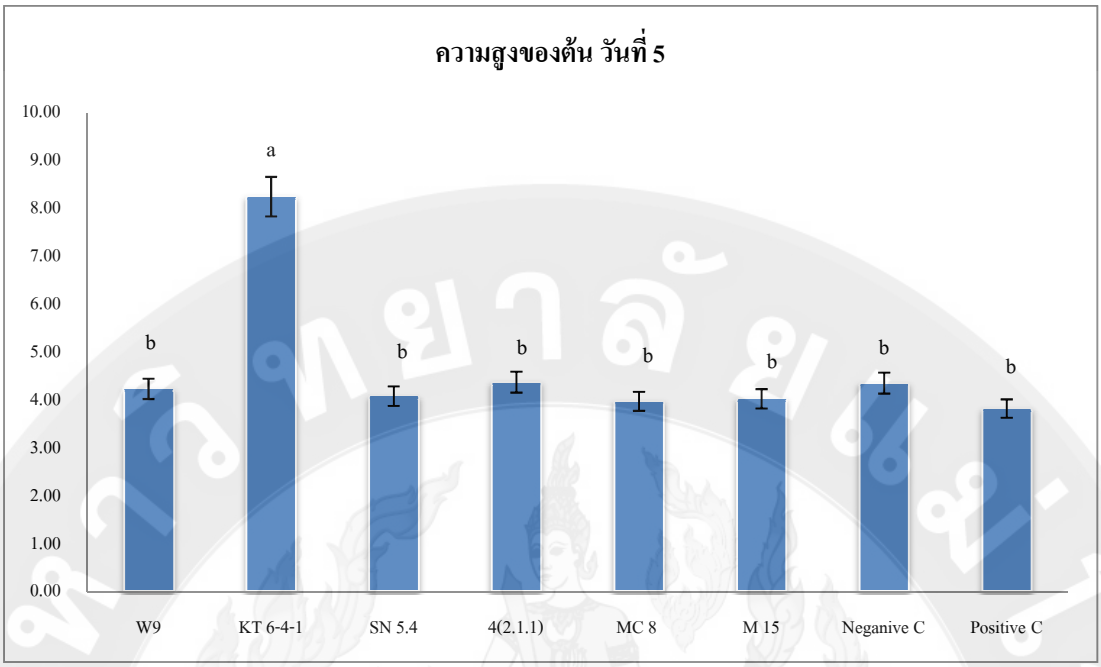
Isolate	DAY			
	5	7	15	21
W9	4.24±0.44[b]	7.53±2.35[a]	20.33±6.49[a]	24.74±6.60[a]
KT 6-4-1	8.25±5.17[a]	7.96±2.03[a]	20.43±7.77[a]	27.11±8.52[a]
SN 5.4	4.09±1.00[b]	9.03±0.67[a]	23.24±9.92[a]	32.03±5.11[a]
4.2.1.1	4.38±0.27[b]	9.54±0.28[a]	23.66±8.84[a]	28.64±9.24[a]
MC8	3.98±1.69[b]	7.90±2.67[a]	21.64±9.93[a]	27.91±7.72[a]
MC15	4.03±1.16[b]	7.31±1.66[a]	21.62±6.78[a]	26.69±4.82[a]
Negative control	4.36±1.13[b]	7.71±2.38[a]	14.62±3.13[a]	22.70±2.93[a]
Positive control	3.83±0.72[b]	7.00±2.40[a]	18.71±4.78[a]	22.14±3.09[a]

หมายเหตุ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความยาวรากของข้าวโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$)

จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความสูงของต้นข้าวในวันที่ 7, 15 และ 21 หลังปลูกพบว่าค่าเฉลี่ยความสูงของต้นข้าวแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ แต่ค่าเฉลี่ยความยาวรากข้าวในวันที่ 5 หลังปลูกพบว่าค่าเฉลี่ยของรากข้าวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็นสองกลุ่ม ได้แก่

<u>กลุ่มแรก</u> คือ W 9, SN 5.4, 4.2.1.1, MC 8, MC 15, Negative control (น้ำกลั่น) และ Positive control (IBA 1,000 ppm) ให้ค่าเฉลี่ยความยาวรากแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$)

<u>กลุ่มที่สอง</u> คือ แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท KT 6-4-1 โดยข้าวที่มีความยาวรากมากที่สุดคือข้าวที่ปลูกในดินที่มี แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท KT 6-4-1 เท่ากับ 8.25±5.17 เซนติเมตร



ภาพที่ 19 ความสูงของต้นข้าวในดินที่มีแบคทีเรียและแอคติโนมัยซีสทดสอบที่แตกต่างกันในวันที่ 5

ตารางที่ 6 ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นข้าวในดินที่มีแบคทีเรียและแอคติโนมัยซีสทดสอบ และเชื้อทดสอบที่ทำการผสมกันที่แตกต่าง กันในวันที่ 15, 17 และ 21 หลังปลูก (เซนติเมตร)

Isolate	DAY			
	15	17	19	21
W 9	20.33±6.49[a]	23.04±5.55[abc]	23.51±6.70[abc]	24.74±6.60[ab]
KT 6-4-1	20.43±7.77[a]	24.29±8.14[abc]	26.95±9.23[ab]	27.11±8.52[ab]
SN 5.4	23.24±9.92[a]	30.52±0.08[a]	29.09±3.90[a]	32.03±5.11[a]
4.2.1.1	23.66±8.84[a]	24.86±5.59[ab]	26.97±3.59[ab]	28.64±9.24[ab]
MC 8	21.64±9.93[a]	25.17±9.65c[a]	26.54±8.44[abc]	27.91±7.72[ab]
MC 15	21.62±6.78[a]	22.70±4.49[abc]	23.62±6.35[abc]	26.69±4.82[ab]
KT 6-4-1 + W 9	14.35±0.38[a]	17.99±1.26[bc]	23.50±0.74[abc]	24.54±1.81[ab]
4.2.1.1 + SN 5.4	14.52±0.34[a]	15.35±1.29[d]	18.45±1.99[bc]	22.85±0.04[b]
SN 5.4 + MC 8	13.91±0.33[a]	15.67±0.92[d]	18.01±1.32[c]	23.02±0.08[b]
KT 6-4-1 + 4.2.1.1	14.20±0.23[a]	17.86±0.65[bc]	20.72±3.79[abc]	27.28±0.23[ab]
KT 6-4-1 + SN 5.4	15.05±0.24[a]	15.31±0.13[d]	19.68±1.73[bc]	23.95±0.81[ab]
KT 6-4-1 + MC15	13.88±0.37[a]	17.99±0.83[bc]	22.04±0.82[abc]	27.33±1.37[ab]
4.2.1.1 + W 9	15.62±0.08[a]	17.11±3.46[bc]	21.28±2.18[abc]	25.69±1.88[ab]
MC 15 + MC 8	15.00±0.34[a]	18.29±0.55[bc]	19.70±0.99[bc]	23.50±0.48[ab]
Negative control	14.62±3.13[a]	16.65±2.60[c]	23.22±6.47[abc]	22.70±2.93[b]
Positive control	18.71±4.78[a]	19.21±4.12[bc]	21.09±2.77[ab]	22.14±3.09

หมายเหตุ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความยาวรากของข้าวโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$)

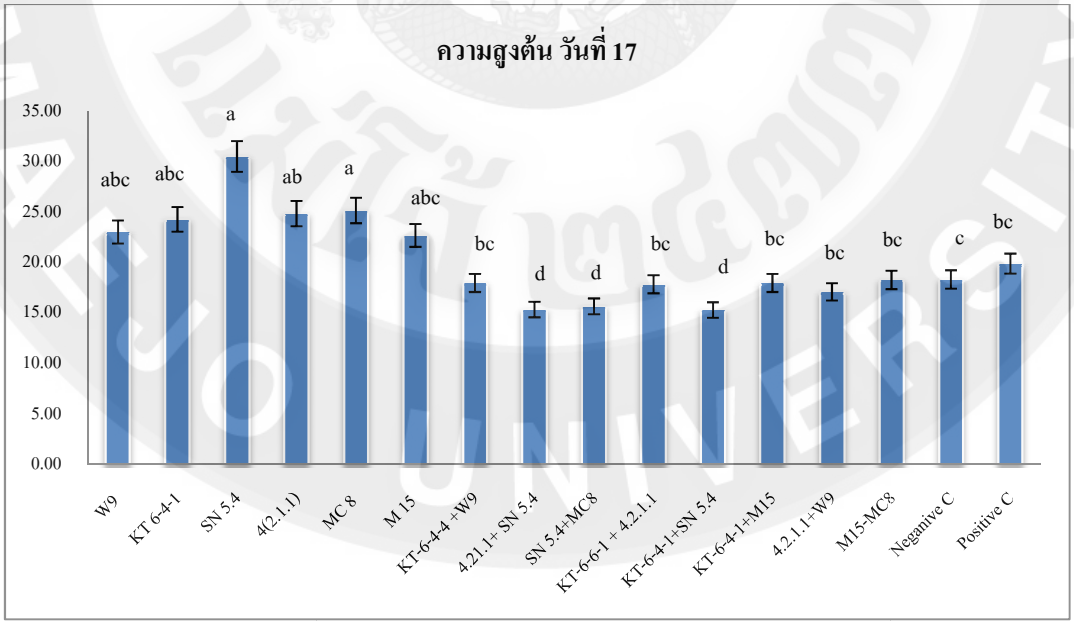
จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความสูงงของต้นข้าวในวันที่ 15, 17, 19 และ 21 หลังปลูก พบว่าในวันที่ 15 ค่าเฉลี่ยความยาวความสูงงของต้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นข้าวในวันที่ 17 หลังปลูก พบว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่

<u>กลุ่มแรก</u> ได้แก่ เชื้อทดสอบระหว่าง 4.2.1.1 + SN 5.4, SN 5.4 + MC 8 และ KT 6-4-1 + SN 5.4 ให้ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นข้าวแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$)

<u>กลุ่มที่สอง</u> ได้แก่ ไอโซเลท W 9, KT 6-4-1, MC 15 และ เชื้อทดสอบระหว่าง KT 6-4-1 + W 9, KT 6-4-1 + 4.2.1.1, KT 6-4-1 + MC15, 4.2.1.1 + W 9, MC 15 + MC 8, Negative control (น้ำกลั่น) และ Positive control (IBA 1,000 ppm) ให้ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นข้าวแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$)

<u>กลุ่มที่สาม</u> ได้แก่ ไอโซเลท W 9, KT 6-4-1, 4.2.1.1. MC 15 และ เชื้อทดสอบระหว่าง KT 6-4-1 + W 9, KT 6-4-1 + 4.2.1.1, KT 6-4-1 + MC 15, 4.2.1.1 + W 9, MC 15 + MC 8 และ Positive control (IBA 1,000 ppm) ให้ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นข้าวแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$)

<u>กลุ่มที่สี่</u> ได้แก่ ไอโซเลท SN 5.4, 4.2.1.1, MC 8 และ MC 15 ให้ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นข้าวแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$) โดย ไอโซเลท SN 5.4 ให้ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นรากข้าวมากที่สุด เท่ากับ 30.52±0.08 เซนติเมตร



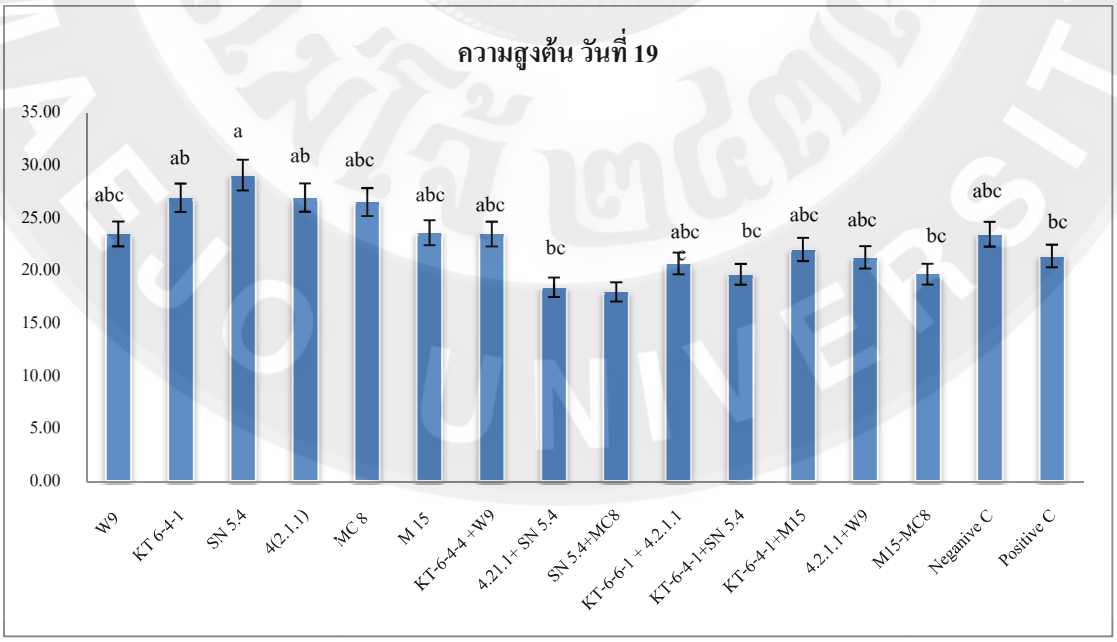
ภาพที่ 20 ความสูงของต้นข้าวในดินที่มีแบคทีเรียและแอคติโนมัยซีสทดสอบที่แตกต่างกันในวันที่ 17

ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นข้าวในวันที่ 19 หลังปลูก พบว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่

<u>กลุ่มแรก</u> ได้แก่ ไอโซเลท W9, MC8, MC15 และ เชื้อทดสอบระหว่าง KT 6-4-1 + W9, 4.2.1.1+SN 5.4, SN 5.4+MC 8, KT 6-4-1+4.2.1.1, KT 6-4-1+ SN 5.4, KT 6-4-1+MC15, 4.2.1.1+W 9, MC 15+MC 8, Negative control (น้ำกลั่น) และ Positive control (IBA 1,000 ppm) ให้ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นข้าวแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$)

<u>กลุ่มที่สอง</u> ได้แก่ ไอโซเลท W9, KT 6-4-1, 4.2.1.1, MC 8, MC15 และ เชื้อทดสอบระหว่าง KT 6-4-1+W 9, 4.2.1.1+ SN 5.4, KT 6-4-1+4.2.1.1, KT 6-4-1+SN 5.4, KT 6-4-1+MC15, 4.2.1.1+W 9, MC15+MC8, Negative control (น้ำกลั่น) และ Positive control (IBA 1,000 ppm)ให้ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นข้าวแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$)

<u>กลุ่มที่สาม</u> ได้แก่ ไอโซเลท SN 5.4, 4.2.1.1, MC 8, MC 15 และ เชื้อทดสอบระหว่าง KT 6-4-1 + W9, 4.2.1.1+SN 5.4, KT 6-4-1+4.2.1.1, KT 6-4-1+MC 15, 4.2.1.1+W 9 และ Negative control (น้ำกลั่น) ให้ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นข้าวแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$) โดยเชื้อในไอโซเลท SN 5.4 ให้ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นรากข้าวมากที่สุด เท่ากับ 29.09±3.90 เซนติเมตร

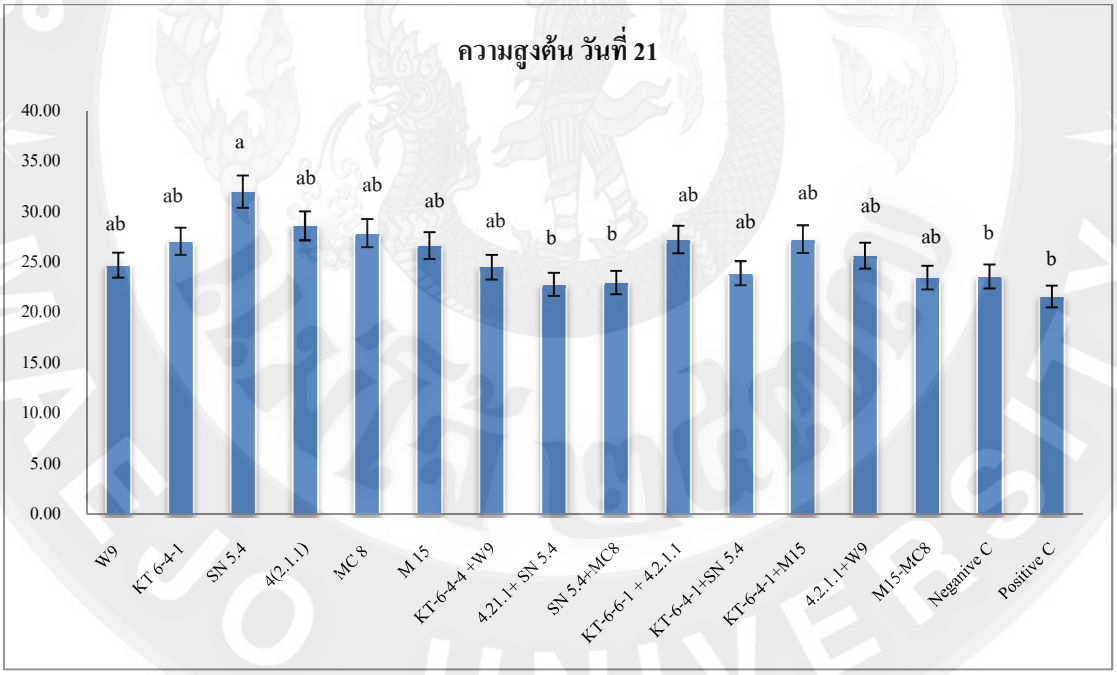


ภาพที่ 21 ความสูงของต้นข้าวในดินที่มีแบคทีเรียและแอคติโนมัยซีสทดสอบที่แตกต่างกันในวันที่ 19

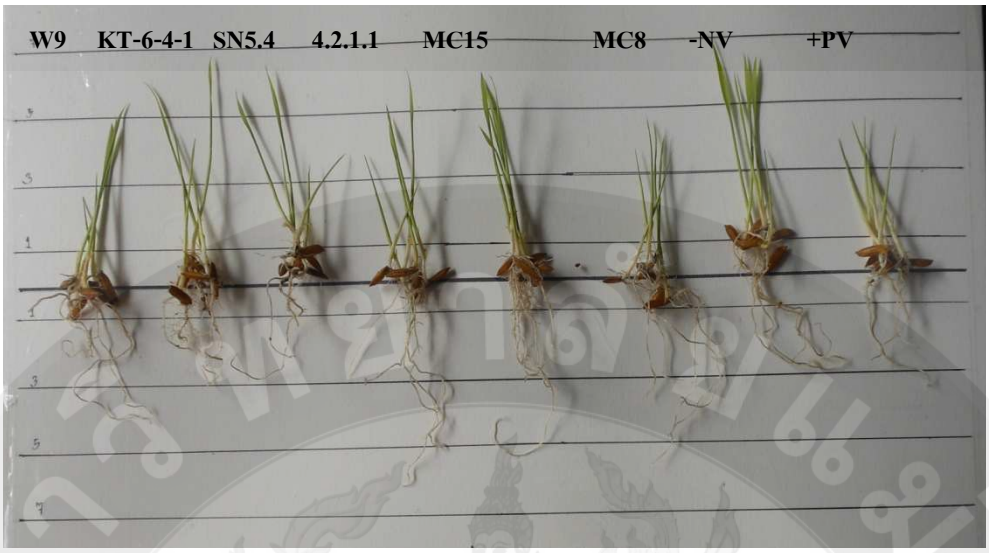
ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นข้าวในวันที่ 21 หลังปลูก พบว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่

<u>กลุ่มแรก</u> คือ ไอโซเลท W 9, KT 6-4-1, 4.2.1.1, MC 8, MC15 และ เชื้อทดสอบระหว่าง KT 6-4-1 + W9, 4.2.1.1 + SN5.4, SN5.4 + MC8, KT 6-4-1 + MC15, 4.2.1.1 + W9, MC15 + MC 8, KT 6-4-1 + 4.2.1.1, KT 6-4-1 + SN 5.4, Negative control (น้ำกลั่น) และ Positive control (IBA 1,000 ppm)ให้ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นข้าวแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$)

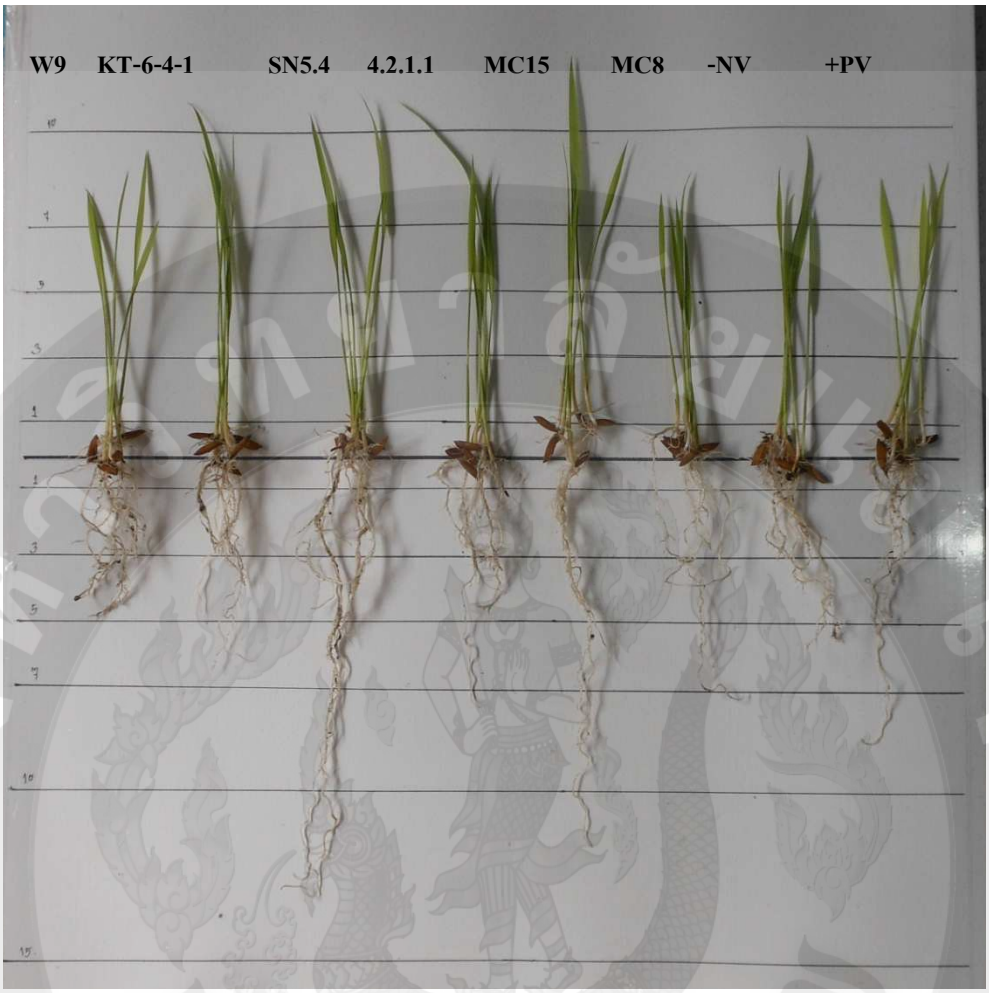
<u>กลุ่มที่สอง</u> คือ ไอโซเลท W 9, KT 6-4-1, SN 5.4, 4.2.1.1, MC 8, MC 15 และ เชื้อทดสอบ KT6-4-1 + W9, KT 6-4-1+4.2.1.1, KT 6-4-1+SN5.4, KT 6-4-1+MC15, 4.2.1.1+W9 และ MC15 + MC8 ให้ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นข้าวแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$) โดยไอโซเลท SN 5.4 ให้ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นรากข้าวมากที่สุด เท่ากับ 32.03±5.11เซนติเมตร



ภาพที่ 22 ความสูงของต้นข้าวในดินที่มีแบคทีเรียและแอคติโนมัยซีสทดสอบที่แตกต่างกันในวันที่ 21



ภาพที่ 23 การเปรียบเทียบความสูงและความยาวรากของข้าวในวันที่ 5 ของเชื้อในไอโซเลท W 9, KT 6-4-1, SN 5.4, 4.2.1.1, MC 8, MC 15, Negative control (น้ำกลั่น) และ Positive control (IBA 1,000 ppm) ตามลำดับ

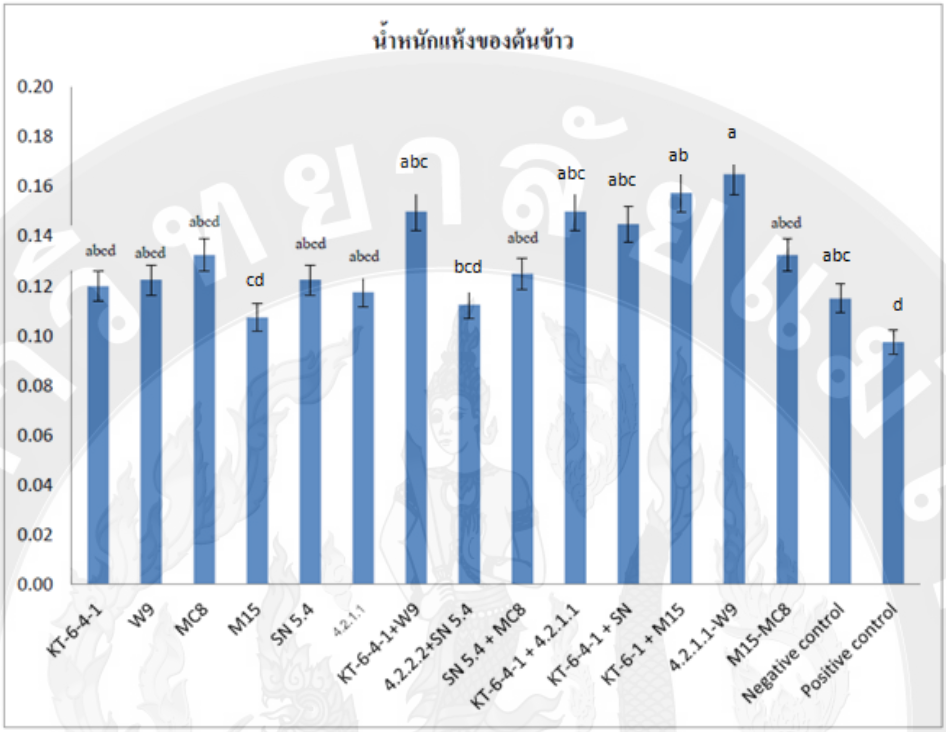


ภาพที่ 24 การเปรียบเทียบความสูงและความยาวรากของข้าวในวันที่ 7 ของเชื้อในไอโซเลท W 9, KT 6-4-1, SN 5.4, 4.1.1, MC 8, MC 15, Negative control (น้ำกลั่น) และ Positive control (IBA 1,000 ppm) ตามลำดับ

ภาพที่25 การเปรียบเทียบความสูงและความยาวรากของข้าวในวันที่15 ของเชื้อในไอโซเลท W9, KT 6-4-1,SN 5.4, 4.2.1.1, MC 8, MC15, Negative control (น้ำกลั่น)และPositive control (IBA 1,000 ppm) ตามลำดับ

ภาพที่ 26 การเปรียบเทียบความสูงและความยาวรากของข้าวในวันที่ 21 ของเชื้อในไอโซเลท W 9, KT 6-4-1, SN 5.4, 4.1.1, MC 8, MC 15, Negative control (น้ำกลั่น) และ Positive control (IBA 1,000 ppm) ตามลำดับ

2.3. น้ำหนักแห้งของข้าว



ภาพที่ 27 น้ำหนักแห้งของต้นข้าวในดินที่มีเชื้อแบคทีเรียและแอคติโนมัยซีสที่แตกต่างกันในวันที่ 21

จากกราฟเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของข้าวในวันที่ 21 พบว่า ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ดังต่อไปนี้

<u>กลุ่มแรก</u> คือ เชื้อในไอโซเลท W9, SN5.4, MC 15, 4.2.1.1, KT 6-4-1, MC8 และ เชื้อทดสอบระหว่าง SN5.4 + MC8, MC15+MC8, KT 6-4-1 + SN5.4, 4.2.1.1+SN5.4, Positive control (IBA 1,000 ppm) และ Negative control (น้ำกลั่น) ให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของต้นข้าวแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$)

<u>กลุ่มที่สอง</u> คือ เชื้อในไอโซเลท W9, SN5.4, MC15, 4.2.1.1, KT 6-4-1, MC8 และเชื้อทดสอบระหว่าง SN 5.4 + MC 8, MC 15+MC 8, KT 6-4-1+ SN5.4, 4.2.1.1 + SN5.4, KT 6-4-1 + W9, KT 6-4-1 + W 9, KT 6-4-1+4.2.1.1 และ Negative control (น้ำกลั่น) ให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของต้นข้าวแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$)

<u>กลุ่มที่สาม</u> คือ เชื้อในไอโซเลท W9, SN5.4, MC15, 4.2.1.1, KT 6-4-1, MC8 และเชื้อทดสอบระหว่าง SN5.4 + MC8, MC15+MC8, KT 6-4-1 + SN5.4, KT 6-4-1+W9, KT 6-4-1+W9, KT 6-4-1+ 4.2.1.1, KT 6-4-1+MC15 และ Negative control (น้ำกลั่น) ให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของต้นข้าวแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$)

<u>กลุ่มที่สี่</u> คือ เชื้อในไอโซเลท W9, KT 6-4-1, SN5.4, MC8 และ เชื้อทดสอบระหว่าง SN5.4 + MC 8, 4.2.1.1+ W9, MC15+MC8, KT 6-4-1 + SN5.4, KT 6-4-1 + W9, KT 6-4-1 + 4.2.1.1, และ KT 6-4-1+MC 15 ให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของต้นข้าวแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$) โดยเชื้อทดสอบระหว่าง 4.2.1.1+ W9 ให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของข้าวมากที่สุดเท่ากับ 0.17 กรัม

3. การทดสอบการมีชีวิตรอดและสัณฐานวิทยาของเชื้อในดินและรากข้าว

3.1. การตรวจสอบการมีชีวิตรอดของเชื้อในดินและรากข้าว

จากการตรวจสอบการมีชีวิตรอดของเชื้อในดินและรากข้าวของแบคทีเรีย และ แอคติโนมัยซีสทดสอบ หลังจากทำการปลูกข้าว 21 วัน พบว่าเชื้อในไอโซเลท MC8, W9, MC8 + MC15, KT 6-4-1, SN5.4 และ 4.2.1.1 มีปริมาณเชื้อมากกว่า 10^5 CFU/g โดยเชื้อทดสอบระหว่าง MC8 + MC15 มีปริมาณของเชื้อมากที่สุดซึ่งแสดงว่าเชื้อสามารถเจริญเติบโตในดินได้ และ เชื้อทดสอบ KT 6-4-1 + SN 5.4, KT 6-4-1 + 4.2.1.1, SN5.4 + 4.2.1.1 และ KT 6-4-1+W9 มีปริมาณเชื้อที่น้อยกว่า 10^5 CFU/g ดังแสดงในตารางที่ 8 และจากการทดสอบการรอดชีวิตของเชื้อในรากข้าว พบว่า เชื้อทดสอบมีชีวิตรอดในรากข้าว โดย แบคทีเรียไอโซเลท W9 มีปริมาณมากที่สุด (ตารางที่ 7) ซึ่งอาจเป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ภายในรากพืช (หนึ่ง และคณะ , 2548)

ตารางที่ 7 ปริมาณเชื้อที่มีชีวิตรอดในดิน

เชื้อทดสอบ	ปริมาณเชื้อในดิน (CFU/g)
MC 8	$1.97\times10^{6}\pm2.15^{b}$
MC15	$1.02\times10^{5}\pm1.09^{b}$
W 9	$1.13\times10^{6}\pm1.22^{b}$
KT 6-4-1	$1.20\times10^{6}\pm0.98^{b}$
SN 5.4	$3.86\times10^{6}\pm2.34^{b}$
4.2.1.1	$1.15\times10^{6}\pm4.23^{b}$
MC 8 + MC 15	$6.16\times10^{7}\pm3.45^{a}$
KT 6-4-1 + SN 5.4	$8.65\times10^{4}\pm3.67^{cd}$
KT 6-4-1 + 4.2.1.1	$3.90\times10^{4}\pm2.58^{d}$
SN 5.4 + 4.2.1.1	$5.30\times10^{4}\pm3.74^{d}$
KT 6-4-1 + MC 15	$2.30\times10^{3}\pm1.23^{e}$
KT 6-4-1 + W 9	$5.05\times10^{4}\pm2.98^{c}$
SN 5.4 + MC 8	$1.37\times10^{5}\pm3.22^{c}$
4.2.1.1 + W 9	$2.05\times10^{5}\pm2.17^{c}$

หมายเหตุ ทำการทดลอง 9 ซ้ำ โดยเก็บตัวอย่างดิน 3 ครั้ง และทำการทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

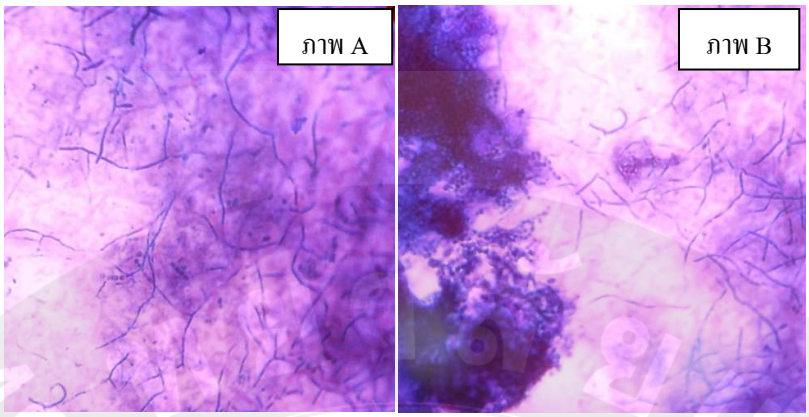
ตารางที่ 8 ปริมาณเชื้อที่มีชีวิตรอดในรากข้าว

เชื้อทดสอบ	ปริมาณเชื้อในรากข้าว (CFU/g)
MC 8	$1.87\times10^{5} \pm 0.78^{a}$
MC 15	$1.31\times10^{5} \pm 1.06^{a}$
W 9	$2.68\times10^{5} \pm 1.78^{b}$
KT 6-4-1	$4.75\times10^{4} \pm 2.60^{c}$
SN 5.4	$4.80\times10^{4} \pm 3.47^{c}$
4.2.1.1	$7.40\times10^{4} \pm 3.96^{c}$
MC 8 และ MC 15	$5.35\times10^{4} \pm 2.35^{c}$
KT 6-4-1 และ SN 5.4	$2.15\times10^{4} \pm 4.55^{c}$
KT 6-4-1 และ 4.2.1.1	$1.22\times10^{4} \pm 1.03^{c}$
SN 5.4 และ 4.2.1.1	$2.34\times10^{3} \pm 1.54^{d}$
KT 6-4-1 และ MC 15	$1.25\times10^{3} \pm 1.06^{d}$
KT 6-4-1 และ W 9	$2.43\times10^{3} \pm 1.56^{d}$
SN 5.4 และ MC 8	$1.36\times10^{4} \pm 0.98^{c}$
4.2.1.1 และ W 9	$3.45\times10^{4} \pm 3.21^{c}$

หมายเหตุ ทำการทดลอง 9 ซ้ำโดยเก็บตัวอย่างรากข้าว 3 ครั้ง และทำการทดลอง ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

3.2. ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อทดสอบในดินและรากข้าวภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ

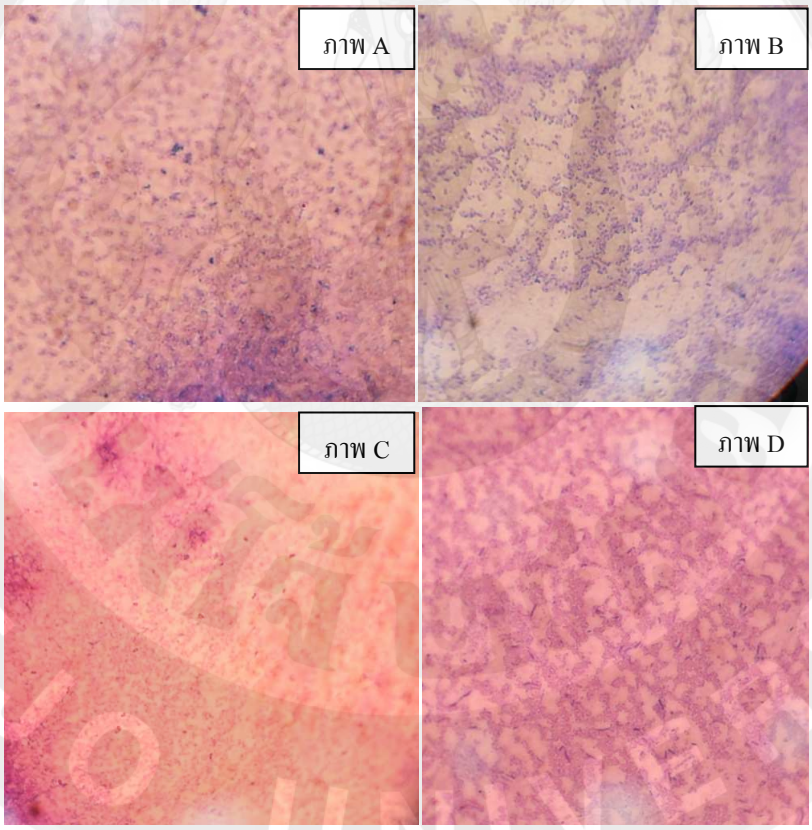
จากการศึกษาสัณฐานวิทยาของเชื้อทดสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบกำลังขยาย 1000x พบว่า มีลักษณะรูปร่างของเชื้อคล้ายกับเชื้อเริ่มต้นที่ทำการผสมกับดิน จึงคาดว่าเชื้อทดสอบสามารถมีชีวิตรอดในดินได้ ซึ่งเป็นแบคทีเรียทั้งหมด 33 ไอโซเลท เป็นแบคทีเรียติดสีแกรมลบ 27 ไอโซเลท คิดเป็น 78.78 % แบ่งออกเป็นรูปท่อน 26 ไอโซเลท และ กลม 1 ไอโซเลท และ เป็นติดสีแกรมบวก 6 ไอโซเลท คิดเป็น 21.22% แบ่งอออกเป็นรูปท่อน 4 ไอโซเลท และกลม 2 ไอโซเลท และแอคติโนมัยซีส 7 ไอโซเลท



ภาพที่ 28 แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท KT 6-4-1 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบกำลังขยาย 1000 x

ภาพ A แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท KT 6-4-1 เริ่มต้น

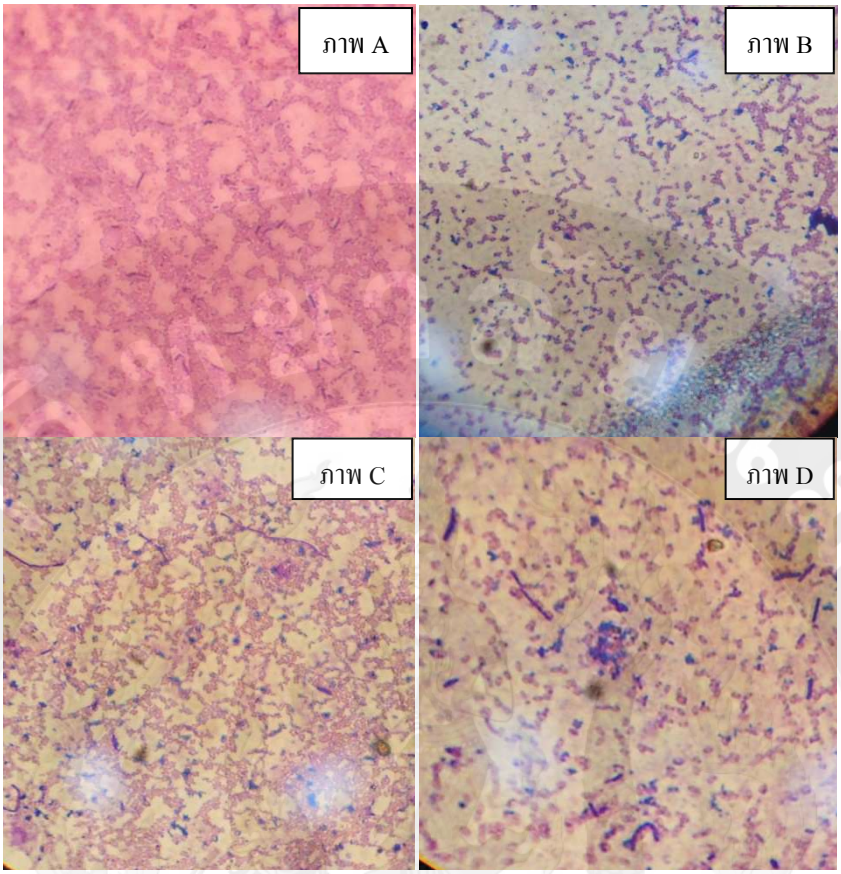
ภาพ B แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท KT 6-4-1 จากดินหลังปลูกข้าว 21 วัน



ภาพที่ 29 แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท 4.2.1.1 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบกำลังขยาย 1000x

ภาพ A แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท 4.2.1.1 เริ่มต้น

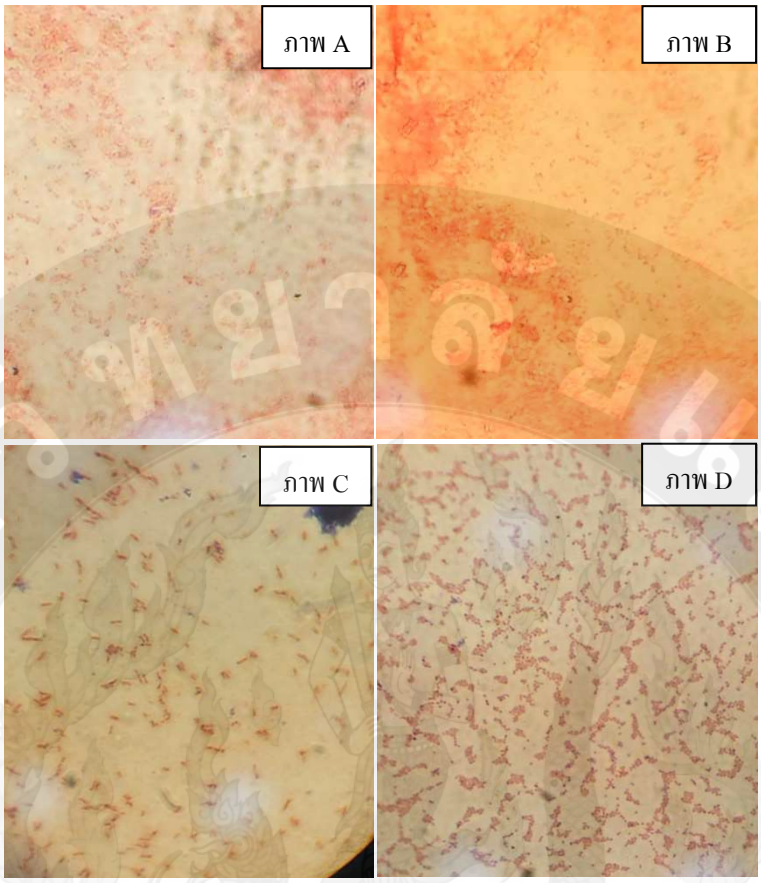
ภาพ B, C, D แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท 4.2.1.1 จาก ดินหลังปลูกข้าว 21 วัน



ภาพที่ 30 แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท SN 5.4 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบกำลังขยาย 1000 x

ภาพ A แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท SN 5.4 เริ่มต้น

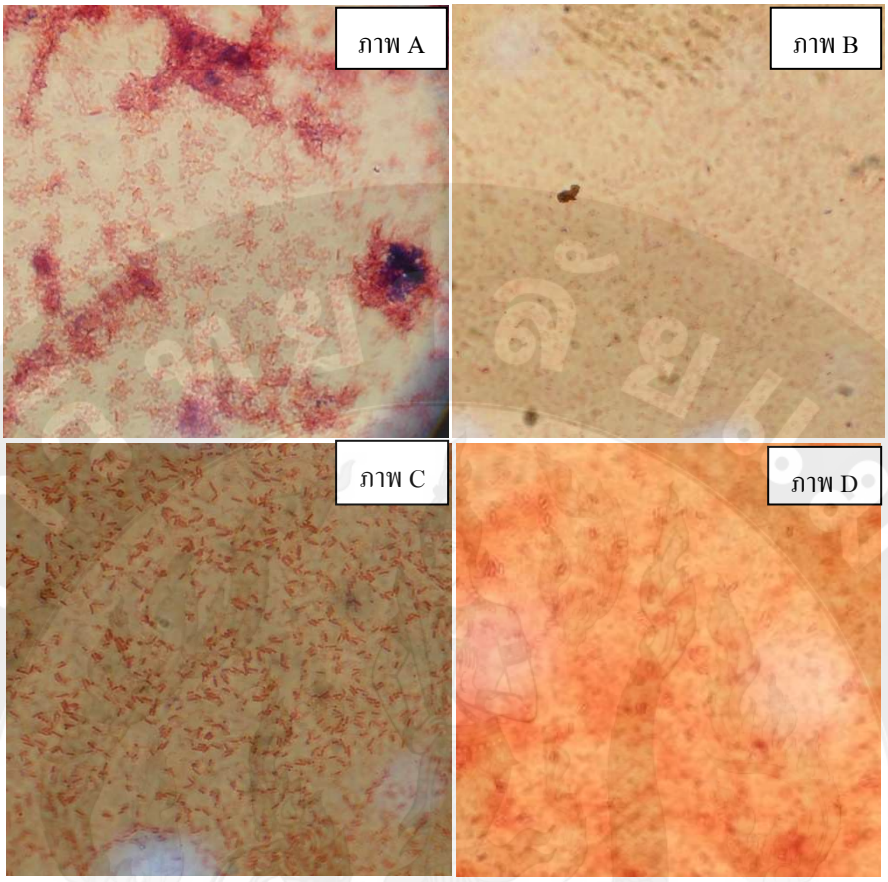
ภาพ B, C, D แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท SN 5.4 จากดินหลังปลูกข้าว 21 วัน



ภาพที่ 31 แบคทีเรีย ไอโซเลท W 9 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ กำลังขยาย 1000x

ภาพ A แบคทีเรีย ไอโซเลท W9 เริ่มต้น

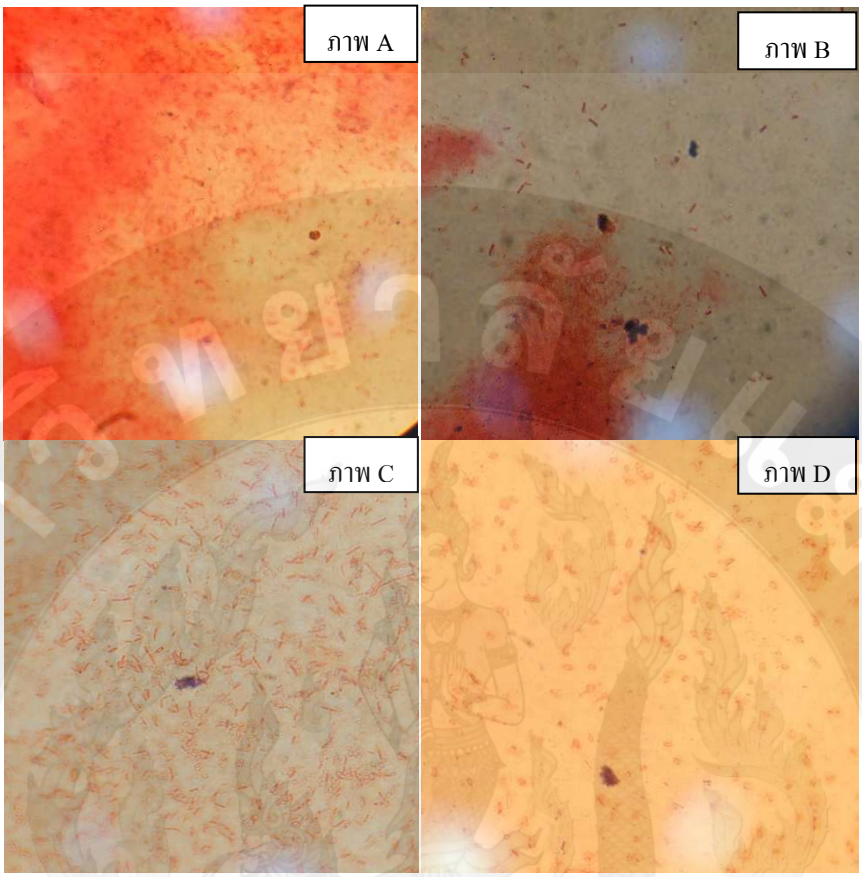
ภาพ B, C, D แบคทีเรีย ไอโซเลท W9 จากดินหลังปลูกข้าว 21 วัน



ภาพที่ 32 แบคทีเรีย ไอโซเลท MC 8 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ กำลังขยาย 1000x

ภาพ A แบคทีเรีย ไอโซเลท MC 8 เริ่มต้น

ภาพ B, C, D แบคทีเรีย ไอโซเลท MC 8 จากดินหลังปลูกข้าว 21 วัน



ภาพที่ 33 แบคทีเรีย ไอโซเลท MC 15 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ กำลังขยาย 1000 x

ภาพ A แบคทีเรีย ไอโซเลท MC 15 เริ่มต้น

ภาพ B, C, D แบคทีเรีย ไอโซเลท MC 15 จากดินหลังจากปลูกข้าว 21 วัน

ตอนที่ 2: การทดสอบการยับยั้งกันของเชื้อทดสอบและเชื้อก่อโรค

จากผลการศึกษาในตอนที่ 1 พบว่า แอคติโนมันซีส ไอโซเลท SN 5.4 และไอโซเลท KT 6-4-1 สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวได้ดีที่สุด จึงนำแอคติโนมันซีสทั้งสองไอโซเลทมาทำการทดสอบการยับยั้งเชื้อก่อโรค *Xanthomonas* sp. ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคขอบใบแห้งในข้าว พบว่าแอคติโนมันซีสทั้งสองไอโซเลท สามารถยังยั้งเชื้อก่อโรคได้ ดังภาพที่ 34

ภาพที่ 34 การยับยั้งกันของแอคติโนมัยซีส ไอโซเลท KT 6-4-1 และ *Xanthomonas* sp.

ภาพที่ 35 การยับยั้งกันของแอคติโนมัยซีส ไอโซเลท SN 5.4 และ *Xanthomonas* sp.

ตอนที่ 3: การทดสอบการยับยั้งกันของเชื้อทดสอบและเชื้อก่อโรคในกระถาง

1.1. การวัดความยาวรากของข้าว

จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความยาวรากของข้าวที่มีเชื้อทดสอบและเชื้อก่อในวันที่ 17, 19 และ 21 หลังปลูกพบว่าค่าเฉลี่ยความยาวรากแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ แต่ค่าเฉลี่ยความยาวรากข้าวในวันที่ 35 หลังปลูกพบว่าค่าเฉลี่ยของรากข้าวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญดังแสดงผลในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 ค่าเฉลี่ยความยาวรากข้าวในดินที่มีแบคทีเรียและแอคติโนมัยซีสทดสอบที่แตกต่างกันในวันที่ 17, 19, 21,และ 35 หลังปลูก (เซนติเมตร)

ไอโซเลท	วันที่		
	17	19	21
KT 6-4-1	4.60±2.23[a]	4.60±1.72[a]	3.80±2.34[a]
SN 5.4	4.27±2.40[a]	3.87±1.99[a]	3.86±1.92[a]
น้ำกลั่น (Negative control)	3.60±1.06[a]	4.60±1.52[a]	6.20±2.28[a]
เชื้อก่อโรค (Positive control)	3.20±1.52[a]	4.00±1.58[a]	4.60±1.34[a]

หมายเหตุ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความยาวรากของข้าวโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$)

1.2. การวัดความสูงของต้นข้าว

จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความสูงของต้นข้าวที่มีเชื้อทดสอบและเชื้อก่อในวันที่ 17, 19, 21 และ 35 หลังปลูกพบว่าค่าเฉลี่ยของรากข้าวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญดังแสดงผลในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ค่าเฉลี่ยความยาวของต้นข้าวในดินที่มีแบคทีเรียและแอคติโนมัยซีสทดสอบที่แตกต่างกันในวันที่ 17, 19, 21,และ 35 หลังปลูก (เซนติเมตร)

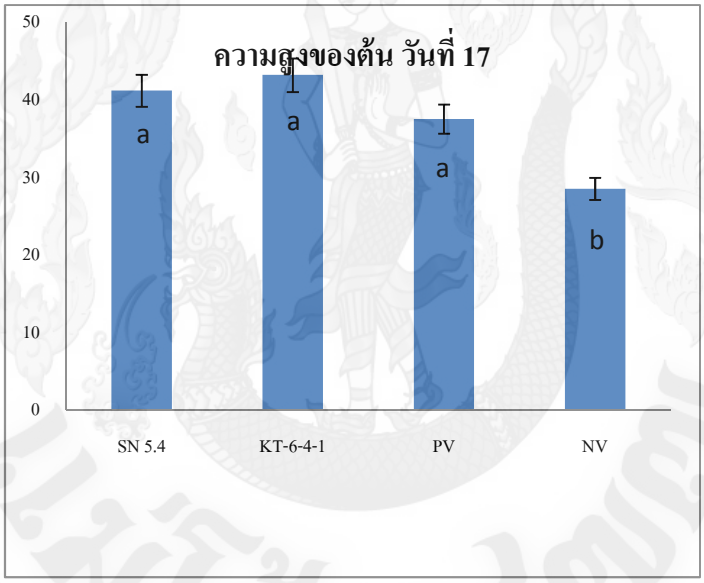
ไอโซเลท	วันที่		
	17	19	21
KT 6-4-1	43.27±8.76[a]	40.00±17.47[b]	45.20±12.10[a]
SN 5.4	41.27±12.88[a]	53.67±10.18[a]	45.47±10.36[a]
น้ำกลั่น (Negative control)	28.60±5.42[b]	30.00±3.97[bc]	34.20±2.49[b]
เชื้อก่อโรค (Positive control)	37.60±9.68[a]	33.00±5.39[c]	34.80±6.90[b]

หมายเหตุ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความยาวรากของข้าวโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$)

ในวันที่ 17 หลังปลูกพบว่าค่าเฉลี่ยของรากข้าวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็นสองกลุ่ม คือ

<u>กลุ่มแรก</u> คือ แอคติโนมันซีส ไอโซเลท KT 6-4-1, แอคติโนมันซีส ไอโซเลท SN 5.4 และ Positive control (เชื้อก่อโรค) ให้ค่าเฉลี่ยความยาวรากไม่แตกต่างกัน ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$)

<u>กลุ่มที่สอง</u> คือ Negative control (น้ำกลั่น) โดยข้าวที่มีความยาวสูงมากที่สุดคือข้าวที่ปลูกในดินที่มีแอคติโนมัยซีส ไอโซเลท KT 6-4-1 เท่ากับ 43.27±8.76 เซนติเมตร



ภาพที่ 36 ความสูงของต้นข้าวในวันที่ 17

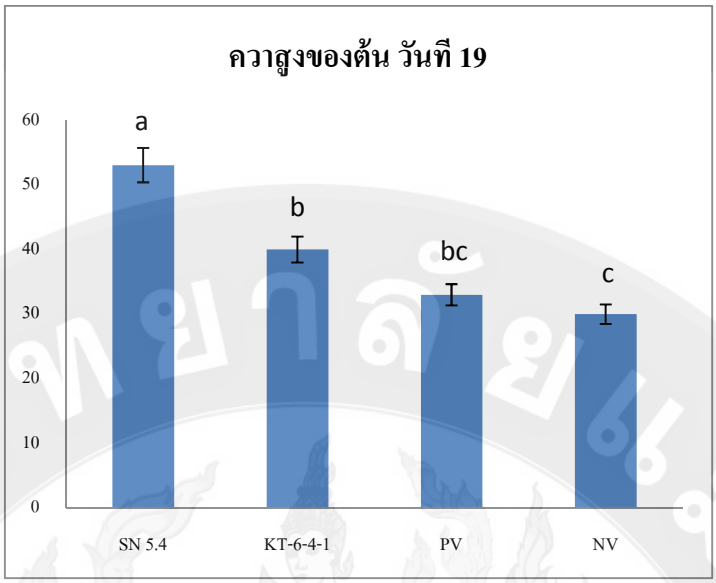
ภาพที่ 37 การเปรียบเทียบความสูงและความยาวรากของข้าวในวันที่ 17 ของเชื้อในไอโซเลท SN5.4, KT 6-4-1, Positive control (เชื้อก่อโรค) และ Negative control (น้ำกลั่น) ตามลำดับ

ในวันที่ 19 หลังปลูกพบว่าค่าเฉลี่ยของรากข้าวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็นสามกลุ่ม ได้แก่

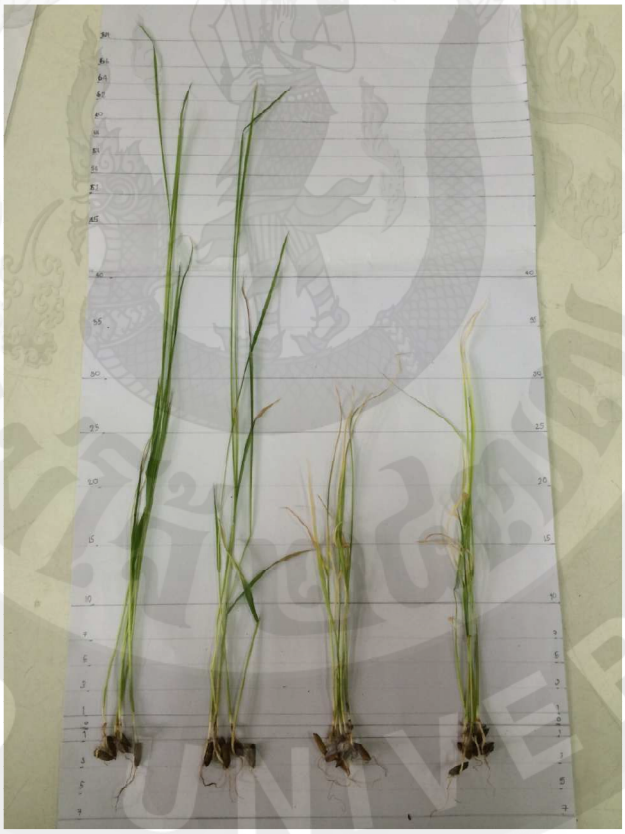
<u>กลุ่มแรก</u> คือ แอคติโนมันซีส ไอโซเลท SN 5.4

<u>กลุ่มที่สอง</u> คือ แอคติโนมันซีส ไอโซเลท KT 6-4-1 และ Negative control (น้ำกลั่น) ให้ค่าเฉลี่ยความยาวรากไม่แตกต่างกัน ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$)

<u>กลุ่มที่สาม</u> คือ Negative control (น้ำกลั่น) และ Positive control (เชื้อก่อโรค) ให้ค่าเฉลี่ยความยาวรากไม่แตกต่างกัน ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$) โดยข้าวที่มีความยาวสูงมากที่สุด คือ ข้าวที่ปลูกในดินที่มีแอคติโนมัยซีส ไอโซเลท SN 5.4 เท่ากับ 53.67±10.18 เซนติเมตร



ภาพที่ 38 ความสูงของต้นข้าวในวันที่ 19

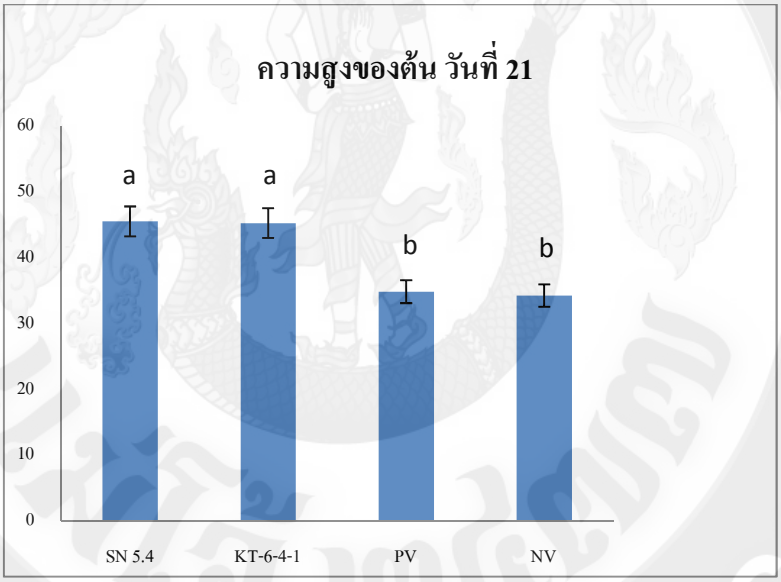


ภาพที่ 39 การเปรียบเทียบความสูง และ ความยาวรากของข้าวในวันที่ 19 ของ เชื้อในไอโซเลท SN 5.4, KT 6-4-1, Positive control (เชื้อก่อโรค) และ Negative control (น้ำกลั่น) ตามลำดับ

ในวันที่ 21 หลังปลูกพบว่าค่าเฉลี่ยของรากข้าวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็นสองกลุ่ม ได้แก่

<u>กลุ่มแรก</u> คือ แอคติโนมันซีส ไอโซเลท KT 6-4-1 และ แอคติโนมันซีส ไอโซเลท SN 5.4 ให้ค่าเฉลี่ยความยาวรากไม่แตกต่างกัน ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$)

<u>กลุ่มที่สอง</u> คือ Negative control (น้ำกลั่น) และ Positive control (เชื้อก่อโรค) ให้ค่าเฉลี่ยความยาวรากไม่แตกต่างกัน ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$) โดยข้าวที่มีความยาวสูงมากที่สุดคือข้าวที่ปลูกในดินที่มีแอคติโนมัยซีส ไอโซเลท SN 5.4 เท่ากับ 45.47±10.36 เซนติเมตร



ภาพที่ 40 ความสูงของต้นข้าวในวันที่ 21

ภาพที่ 41 การเปรียบเทียบความสูงและความยาวรากของข้าวในวันที่ 21 ของเชื้อในไอโซเลท SN5.4, KT 6-4-1, Positive control (เชื้อก่อโรค) และ Negative control (น้ำกลั่น) ตามลำดับ

1.3 การส่งเสริมการเจริญของต้นข้าวภายหลังจากการปลูก 21 วัน

จากการทดลองจะเห็นได้ว่าแอคติโนมัยซีส ไอโซเลท SN5.4 มีแนวโน้มที่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวได้มากที่สุด โดยสามารถส่งเสริมความสูงของข้าวได้มากที่สุด ซึ่งในวันที่ 21 ทำให้ข้าวสูงถึง 32.03 เซนติเมตร ซึ่งการส่งเสริมความสูงของข้าวอาจเกี่ยวเนื่องมาจากแอคติโนมัยซิส ไอโซเลท SN 5.4 สามารถผลิต IAA ได้มาก จึงทำให้ต้นข้าวมีความสูงกว่าเชื้อทดสอบอื่นๆ นั่น คือ ทรีตเม้นท์ ที่มีการผสมกันระหว่างไอโซเลท KT 6-4-1 + MC15 โดยให้ความยาวของรากข้าวในวันที่ 21 เท่ากับ 13.31 เซนติเมตร และ จะเห็นได้ว่าการผสมกันระหว่างเชื้อ KT 6-4-1 + MC15 สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวได้ดีรองจาก แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท SN 5.4 โดยให้ค่าความสูงของต้นเท่ากับ 27.33 เซนติเมตร

ดังแสดงตารางที่ 11 ซึ่ง แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท KT 6-4-1 ยังผ่านการทดสอบแล้วว่าสามารถยับยั้งเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคขอบใบแห้งในข้าว

ตารางที่ 11 การเปรียบเทียบความยาวราก ความสูงของต้น และ น้ำหนักแห้งของข้าวในวันที่ 21 หลังปลูก

ไอโซเลท	ความยาวราก (เซนติเมตร)	ความสูง (เซนติเมตร)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)
SN 5.4	10.56 ± 0.55^{efg}	32.03 ± 5.11^{a}	0.12 ± 0.02^{efg}
KT 6-4-1 + MC 15	13.31 ± 0.52^{bcd}	27.33 ± 1.37^{ab}	0.16 ± 0.04^{bcd}
KT 6-4-1	11.17 ± 0.80^{defg}	27.11 ± 8.52^{ab}	0.12 ± 0.02^{defg}
4.2.1.1	9.74 ± 1.83^{g}	28.64 ± 9.24^{ab}	0.12 ± 0.02^{g}
MC 8	9.91 ± 2.13^{g}	27.91 ± 7.72^{ab}	0.13 ± 0.03^{g}
4.2.1.1 + W 9	14.14 ± 0.45^{abc}	25.69 ± 1.88^{ab}	0.15 ± 0.05^{bcd}
KT 6-4-1 + W 9	16.35 ± 0.41^{a}	24.54 ± 1.81^{ab}	0.17 ± 0.04^{a}
น้ำกลั่น (Negative control)	13.03 ± 3.21^{cdef}	22.70 ± 2.93^{b}	0.12 ± 0.04^{cdef}
เชื้อก่อโรค (Positive control)	10.66 ± 3.14^{defg}	22.14 ± 3.09^{a}	$0.10. \pm 0.02^{defg}$

หมายเหตุ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$)

1.4 การทดสอบการยับยั้งเชื้อโรคขอบใบแห้งในระดับกระถางโดยจุลินทรีย์กลุ่ม PGPR สายพันธุ์ที่ดีที่สุด

จากการนำแอคติโนมัยซีส ไอโซเลทที่คัดเลือก ได้แก่ ไอโซเลท SN 5.4 และ KT 6-4-1 มาทำการทดสอบการยับยั้งเชื้อก่อโรคขอบใบแห้งบนอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า แอคติโนมัยซีส ทั้งสองไอโซเลท สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคขอบใบแห้งได้ และ เมื่อนำแอคติโนมัยซีสทั้งสองไอโซเลท มาทำการทดสอบการยังยั้งเชื้อก่อโรคในระยะกระถางโดยทำการปลูกข้าวในดินที่มีเชื้อทดสอบ และ ทำการฉีดพ่นเชื้อก่อโรคลงบนใบข้าวหลังจากปลูก 21 วัน พบว่าแอคติโนมัยซีสทั้งสองไอโซเลท ยังคงสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นข้าวได้ดีกว่า น้ำกลั่น(Negative control) และ เชื้อก่อโรค (Positive control) ดังแสดงในตารางที่ 12 และหลังจากทำการฉีดพ่นเชื้อก่อโรคลงบนใบข้าว พบว่า ทรีทเม้นต์ที่เป็นเชื้อก่อโรค (Positive control) ต้นข้าวจะเริ่มแสดงอาการของโรคในวันที่ 7 หลังทำการฉีดพ่น แต่ใน ทรีทเม้นต์ ของ แอคติโนมัยซีส

ไอโซเลท SN 5.4 และ KT 6-4-1 จะไม่แสดงอาการของโรคขอบใบไหม้ ซึ่งเป็นการแสดงให้เห็นว่า แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท SN 5.4 และ KT 6-4-1 สามารถยังยั้งเชื้อก่อโรคในข้าวซึ่งปลูกในระยะกระถางได้

ตารางที่ 12 การเปรียบเทียบความยาวราก ความสูงของต้น และ น้ำหนักแห้งของข้าวในวันที่ 21 หลังปลูก

ไอโซเลท	ความยาวราก (เซนติเมตร)	ความสูง (เซนติเมตร)
KT 6-4-1	3.80±2.34[a]	45.20±12.10[a]
SN 5.4	3.86±1.92[a]	45.47±10.36[a]
น้ำกลั่น (Negative control)	6.20±2.28[a]	34.20±2.49[b]
เชื้อก่อโรค (Positive control)	4.60±1.34[a]	34.80±6.90[b]

วิจารณ์ผลการวิจัย

จากการยับยั้งกันซึ่งกันและกันของเชื้อทดสอบ 15 คู่ พบว่ามีเชื้อทดสอบยับยั้งซึ่งกันและกันทั้งหมด 7 คู่ และเชื้อทดสอบสามารถเข้ากันได้ทั้งหมด 8 คู่ โดยลักษณะของเชื้อทดสอบที่ยับยั้งซึ่งกันและจะไม่เจริญเข้าใกล้กันซึ่งการยับยั้งกันของเชื้อทดสอบอาจเกิดจากเชื้อทดสอบตัวใดตัวหนึ่งสร้างสารปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งเชื้ออีกตัวได้ หรือ เชื้อทดสอบมีการแย่งสารอาหารในการเจริญเติบโต

คุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญของข้าว พบว่า ในการส่งเสริมความยาวของรากข้าวของเชื้อทดสอบ เชื้อทดสอบที่ทำการผสมกันระหว่างไอโซเลท KT 6-4-1 + W 9 สามารถส่งเสริมการเจริญของรากข้าวได้ดีที่สุด รองลงมา คือ เชื้อทดสอบที่ทำการผสม 4.2.1.1 + W 9 และ แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท SN 5.4 ตามลำดับ การส่งเสริมความสูงของต้นข้าวของเชื้อทดสอบ พบว่า เชื้อทดสอบ SN5.4 สามารถส่งเสริมความสูงของต้นข้าวได้ดีที่สุด รองลงมา คือ เชื้อทดสอบ MC 8 และ KT 6-4-1 ตามลำดับ และ เชื้อที่ให้ค่าน้ำหนักแห้งของข้าวมากที่สุดคือเชื้อทดสอบที่ทำการผสม 4.2.1.1 + W9 รองลงมา คือ เชื้อทดสอบที่ทำการผสม KT 6-4-1 + MC 15 และ KT 6-4-1 + W 9 ตามลำดับ

จากการตรวจสอบการมีชีวิตรอดของเชื้อในดินและรากข้าวของแบคทีเรียและแอคติโนมัยซีส ทดสอบ หลังจากทำการปลูกข้าว 21 วัน โดยการ spread plate บนอาหารแข็ง ISP-2 agar และ NA พบว่าเชื้อในไอโซเลท MC 8, W 9, MC 8 + MC 15, KT 6-4-1, SN 5.4 และ 4.2.1.1 มีปริมาณเชื้อมากกว่า 10^5 CFU/g โดยเชื้อทดสอบระหว่าง MC8 + MC15 มีปริมาณของเชื้อมากที่สุด ซึ่งแสดงว่า เชื้อสามารถเจริญเติบโตในดินได้ และ เชื้อทดสอบ KT 6-4-1 + SN 5.4, KT 6-4-1 + 4.2.1.1, SN 5.4 + 4.2.1.1 และ KT 6-4-1 + W9 มีปริมาณเชื้อที่น้อยกว่า 10^5 CFU/g (ตารางที่ 8) และ จากการทดสอบการรอดชีวิตของเชื้อในรากข้าวพบว่าเชื้อทดสอบมีชีวิตรอดในรากข้าว โดย แบคทีเรียไอโซเลท W9 มีปริมาณมากที่สุด ซึ่งในการทดลองทำการผสมเชื้อทดสอบลงในดินเพียงครั้งเดียวจึงทำให้เชื้อเหลือรอดในดินในปริมาณที่น้อย ในการทดลองครั้งต่อไปควรมีการเพิ่มปริมาณเชื้อลงในดินหลังจากปลูกข้าวแล้วให้มากขึ้น เพื่อส่งผลให้พืชมีการเจริญเติบโตได้มากขึ้น จากนั้นนำจุลินทรีย์ที่ปรากฏบนจานอาหารแข็ง มาน้อมสีแบบแกรม แล้ว ส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ กำลังขยาย 1000x พบว่า มีลักษณะรูปร่างของเชื้อคล้ายกับเชื้อเริ่มต้นที่ทำการผสมกับดิน จึงคาดว่าเชื้อทดสอบสามารถมีชีวิตรอดในดินได้ ซึ่งเป็นแบคทีเรียติดสีแกรม

บวก ทั้งหมด 6 ไอโซเลท และ แบคทีเรียติดสีแกรมลบ ทั้งหมด 27 ไอโซเลท คิดเป็น 78.78% แบ่งออกเป็น รูปท่อน 26 ไอโซเลท และกลม 1 ไอโซเลท และ ติดสีแกรมบวก 6 ไอโซเลท คิดเป็น 21.22% แบ่งออกเป็น รูปท่อน 4 ไอโซเลท และ กลม 2 ไอโซเลท และ แอคติโนมัยซีส จำนวน 7 ไอโซเลท

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาวิจัยในครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงแนวโน้มในการนำแอคติโนมัยซีท และ แบคทีเรียมาใช้ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว โดยจุลินทรีย์ดังกล่าวสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว ตั้งแต่การงอกของเมล็ด จนถึง ต้นข้าว อายุได้ 21 วัน จุลินทรีย์เหล่านี้ สามารถส่งเสริมให้ต้นข้าว มีอัตราการงอกของเมล็ด ความสูงของต้นข้าว ความยาวราก และ น้ำหนักแห้ง ของข้าวเพิ่มมากยิ่งขึ้น เมื่อนำตัวอย่างดินที่ปลูกข้าว และ ตัวอย่างรากข้าว มาศึกษาอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ทดสอบ พบว่า ทั้งในส่วนของดินและ ในรากข้าว พบอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ทดสอบลดลง ประมาณ 2 เท่า (10^4 CFU/g) ของเชื้อเริ่มต้น(10^6CFU/g) การใช้จุลินทรีย์กลุ่ม PGPR ในการส่งเสริมการงอก และ การเจริญของข้าว สามารถใช้ทดแทนการใช้ปุ๋ยเคมีที่ส่งผลกระทบต่อสภาพแวดล้อม ซึ่งจะได้มีการศึกษาในระดับโรงเรือนและพัฒนาเป็นจุลินทรีย์ชีวภาพอัดเม็ด เพื่อส่งเสริมให้เกษตรกรใช้อย่างสะดวกทดแทนการใช้ปุ๋ยเคมีต่อไป

ข้อเสนอแนะ

ควรมีการศึกษาในระดับโรงเรือนและพัฒนาสูตรจุลินทรีย์อัดเม็ดในรูปแบบที่สะดวก เพื่อนำไปใช้ทดแทนปุ๋ยเคมีต่อไป

เอกสารอ้างอิง

คณาจารย์จุลชีววิทยา. 2544. **คู่มือปฏิบัติการจุลชีววิทยา**. เอกสารประกอบการสอนคณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 134 น.

จักรพงษ์ ไชยวงศ์ และ คณะ. 2555. **การศึกษาผลของการใช้เชื้อราอาบัสคูล่าไมคอร์ไรซา และ พีจีพีอาร์ (PGPR) ต่อการดึงดูดธาตุอาหารการเจริญเติบโตและผลผลิตของลำไย**. รายงานผลการวิจัย. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. เชียงใหม่.

จีราภรณ์ อินทสาร และ คณะ. 2556. **การใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ที่สามารถละลายฟอสเฟตได้ภายใต้การผลิตลำไยอินทรีย์ในพื้นที่ภาคเหนือตอนบน**. รายงานผลการวิจัย. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. เชียงใหม่.

จีราภรณ์ อินทสาร. 2554. **ความอุดมสมบูรณ์ของดิน**. คณะผลิตกรรมการเกษตร. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 288 น

จำรัส โปร่งศิริวัฒนา. 2534. **ความรู้เรื่องข้าว**. สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 458 น.

ธงชัย มาลา สุภาพ บูรณากาญจน์ และ วันทนีย์ พึงแสง.2535. ปริมาณและการกระจายของเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถละลายฟอสเฟตได้ ในดินต่างๆ. **รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 30 สาขาพืชศาสตร์**. กรุงเทพฯ: 587-595.

นลิน วงศ์ขัตติยะ และ ศรีกาญจนา คล้ายเรือง. 2552. **คู่มือปฏิบัติการจุลชีววิทยา**. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 124 น.

บุญหงส์ จงคิด. 2547. **ข้าวและเทคโนโลยีการผลิต**. ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.กรุงเทพฯ: 38-41.

ประพาส วีระแพทย์. 2517. **ความรู้เรื่องข้าว**. พิมพ์ครั้งที่ 2. มปท.

ประพาส วีระแพทย์. 2521. **ความรู้เรื่องข้าว**. สาขาคัดพันธุ์ต้านทานศัตรูข้าว. กองการข้าว กรมวิชาการเกษตร. 71 น.

พิชิต ราชแบน. 2547. **การสร้าง indole-3-acetic acid (IAA) โดยเชื้อราเวสสิคูลาร์ - อาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา (VAMF) ในต้นกล้าส้ม**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์: กรุงเทพฯ.

พีรเดช ทองอำไพ. 2537. **ฮอร์โมนพืช และสารสังเคราะห์**. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 196 น.

ยงยุทธ โอสถสภา อรรถศิษฐ์ วงศ์มณีโรจน์ และชวลิต ฮงประยูร. 2551. **ปุ๋ยเพื่อการเกษตรยั่งยืน**. สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 519 น.

เรวัต เลิศฤทัยโยธิน.2541.**ข้าว**.*ใน*:**พฤกษศาสตร์พืชเศรษฐกิจ**. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

วัชรินทร์ บุญวัฒน์. 2527. **ข้าว**. *ใน*: พฤกษศาสตร์พืชเศรษฐกิจ เล่ม 1. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. น. 26-34.

วรวิทย์ พาณิชย์พัฒน์ สุเทพ ลิ้มทองกุล และ สุเทพ นุชสวาท. 2529. **ความรู้เรื่องข้าว**. *ใน* : การทำนาน้ำฝน. ปรับปรุงและจัดพิมพ์ครั้งที่ 7. ฝ่ายฝึกอบรม สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. น. 49-84.

วราภรณ์ ภู่ภักดีพันธ์ และ สุดฤดี ประเทืองวงศ์. 2552. การผสมเชื้อปฏิปักษ์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมโรคขอบใบแห้ง และส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว. **รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 601-610.

วาสนา ผลารักษ์. 2523. **ข้าว**. ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น.

ผลิใบ. 2545. พันธุ์พืชขึ้นทะเบียนและพันธุ์พืชรับรอง. **จดหมายข่าวผลิใบ.** ปีที่ 5 ฉบับที่ 9 ประจำเดือนตุลาคม 2545. น. 7.

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์ และ กฤษณ์ มงคลปัญญา. 2540. **ชีววิทยา: ฮอร์โมนพืช**.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 221-226.

สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2555. องค์ความรู้เรื่องข้าว. http://www.brrd.in.th/rkb/disease%20and%20insect/index.php- file=content.php&id=120.htm. [14 มกราคม 2557]

หนึ่ง เตียอำรุง. 2549. การรวบรวมและคัดเลือกสายพันธุ์ Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR). **รายงานผลการวิจัย**. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. นครราชสีมา.

อรรควุฒิ ทัศน์สองชั้น. 2526. **เรื่องของข้าว**. ภาควิชาไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตร. กรุงเทพฯ. 22-26.

Banik, S. and B.K. Dey. 1983. Alluvial soil microorganisms capable of utilizing insoluble aluminium phosphate as a sole source of phosphorus. Zbl. **Microbiol**.138: 437-442.

Bloemberg, G.V. and B.J.J., Lugtenberg. 2001. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. **Curr. Opi. In Plant Bio**. 4: 343-350.

Braunberger, P.G., M.H. Miller and R.L. Peterson. 1991. Effect of phosphorus nutrition on morphological characteristics of vesicular- arbuscular mycorrhizal colonization of maize. **New Phytol**.119: 107-113.

Chandraratna, M.F. 1964. **Genetics and Breeding of Rice**. Longman Group Ltd., London.

Chang, T.T. and E.A. Bardenas. 1976.The morphology and varietal characteristics of the rice plant. **IRRI Tech**. **Bull**. 4: 40.

Chang, T.T. and E.A. Bardenas.1965.The Morphology and Varietal Characteristics of the Rice Plant. Technical Bulletin 4. IRRI, Philippines.

Ghose, R.L.M., M.B. Ghatge and V. Subrahmanyan. 1960. **Rice in India**. I.C.A.R., New Delhi, India.

Glendinning, J.S. 1999. **Australian Soil Fertility Manual**. Fertilizer Industry Federation Australia, Inc.126 p.

Han, J., L. Sun., X. Dong., Z. Cai., X. Sun., H. Yang., Y. Wang and W. Song. 2005. Characterization of a novel plant growth-promoting bacteria strain *Delftia tsuruhatensis* HR4 both as a diazotroph and a potential biocontrol agent against various pathogen. **Syst. and Applied Micro**. 28: 66-76.

Jetiyanon, K. and J.W. Kloepper.2002.Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria for induction of systemic resistance against multiple plant diseases. **Bio. Control**. 24: 285-291.

Karlidag, H., A. Esitken., M. Turan and F. Sahin. 2007. Effects of root inoculation of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient element contents of leaves of apple. **Scientia Hort**. 114: 16-20.

Kucey, R.M.N., H.H. Janzen and M.E. Leggett. 1989. Microbial mediated increases in plant available phosphorus. **Ad. Agron.** 42: 199-228.

Kucey, R.M.N. 1983. Phosphate-solobilizing bacteria and fungi in various cultivated and virgin Alberta soils. **Can. J. Soil Sci.** 63: 671-678.

Kurek, E. and J, Jaroszuk-Scisel. 2003. Rye (*Secale cereale*) growth promotion by *Pseudomonas fluorescens* strains and their interactions with *Fusarium culmorum* under various soil conditions. **Bio. Control.** 26: 48-56.

Nitsch, J.M. and C. Nitsch.1956. Studies on the growth of coleoptile and first internode section: A new sensitive straight growth test for auxin. **Plant Physiol.** 31: 94-111.

Nonhebel, H.M., T.P. Cooney and R. Simpson. 1993. The route, Control and compartmentation of auxin synthesis. **Aust J. Plant. Physiol.** 20:527-539.

Poehlman, J.R. 1959. **Breeding Field Crops.** Henry Holt and Company, Inc., New York.

Probanaza, A., J.A. Lucas Garcia., M. Ruiz Palomino., B. Ramos., F.J. Gutierrez Manero. 2002. *Pinus pinea* L. seedling growth and bacterial rhizosphere structure after inoculation with PGPR *Bacillus* (*B. licheniformis* CECT 5106 and *B. pumilus* CECT 5105). **Appl. Soil. Ecol.** 20: 75-84.

Purseglove, J.W. 1978. **Tropical Crops Monocotyledons.** Volume 1 and 2 combined. Longman Group Ltd., London.

Ramos, B., J.A. Lucas Garcia., A. Probanza., M.L. Barrientos and F.J. Guterrrez Manero. 2002. Alterations in the rhizobacterial community associated with European alder growth when inoculated with PGPR strain *Bacillus licheniformis*. **Env. Exp. Bot.** 49: 61-68.

Sundara, B., V. Natarajan. and K., Hari. 2002. Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane and sugar yields. **Field Crops. Res.** 77: 43-49.

Walker, T. and J. Syers. 1976. The fate of phosphorus during pedogenesis. **Geoderma**.15: 1-19.

Yoshida, S. 1981.**Fundamentals of rice crop science**. The International Rice Research Institute. Los Banos: Laguna. Philippines.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อและวิธีการเตรียม

1. International *streptomyces* projects 2 broth (ISP 2)

Malt extract	10 กรัม
Yeast extract	4 กรัม
Glucose	4 กรัม
Distilled water	1000 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน นำไปฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

2. International *streptomyces* projects 2 agar (ISP 2)

Malt extract	10 กรัม
Yeast extract	4 กรัม
Glucose	4 กรัม
Agar	15 กรัม
Distilled water	1000 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน นำไปฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

3. Nutrient Broth (NB)

Beef extract	3 กรัม
Peptone	5 กรัม
Distilled water	1000 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน นำไปฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

4. Nutrient agar (NA)

Nutrient Broth	10 กรัม
Agar	15 กรัม
Distilled water	1000 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน นำไปฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

5. Nutrient Glucose Broth (NGB)

Beef extract	3 กรัม
Bacto peptone	5 กรัม
Glucose	10 กรัม
Distilled water	1000 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน นำไปฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

6. Nutrient broth glucose agar (NGA)

Nutrient Glucose Broth	10 กรัม
Agar	15 กรัม
Distilled water	1000 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน นำไปฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

7. King *et al.*'s medium Bagar (KB)

Protease peptone #3	20 กรัม
K_2HPO_4 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	1.5 กรัม
Agar	1.5 กรัม
Glycerine (99.5%)	15 กรัม
Distilled water	1000 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน นำไปฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

ภาคผนวก ข

ชุดสีย้อมแกรม

ชุดสีย้อมแกรม (คณาจารย์จุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2544)

1.1.	Crystal violet solution	
	Crystal violet	5 กรัม
	Distilled water	100 มิลลิลิตร
1.2.	Gram iodine solution	
	Iodine	1 กรัม
	Potassium iodine	2 กรัม
	Distilled water	100 มิลลิลิตร
1.3.	Decolorizer	
	Ethanol 95%	250 มิลลิลิตร
	Acetone	250 มิลลิลิตร
1.4.	Safranin O solution	
	Safranin O	2.5 กรัม
	Ethanol 95%	100 มิลลิลิตร

เมื่อจะนำมาใช้ต้องนำมาเจือจางอีก 5-10 เท่า โดยใช้น้ำกลั่น

การย้อมสีแกรม

ใช้ห่วงถ่ายเชื้อลนไฟเพื่อฆ่าเชื้อ นำไปแตะเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบมาผสมในน้ำบนสไลด์ เกลี่ยเชื้อบนสไลด์ให้กระจายออกเป็นบริเวณบางๆปล่อยสไลด์ทิ้งไว้ในอากาศให้แห้ง (air dry) นำสไลด์ไปผ่านเปลวไฟอ่อนๆจากตะเกียงแอลกอฮอล์ เพื่อให้เชื้อติดแน่นบนสไลด์ (heat-fixed) ปล่อยให้สไลด์เย็นลงก่อนจึงนำไปย้อมสีแกรมเพื่อดูการติดสีของแบคทีเรีย เชื้อที่ติดสีย้อมครั้งแรก คือ สีม่วงของ crystal violet เรียกว่าแบคทีเรียแกรมบวก ส่วนเชื้อที่ถูกล้างออกด้วย decolorizer นั้นจะติดสีย้อมครั้งหลัง คือ สีแดงของ safranin O เรียกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (คณาจารย์จุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยแม่โจ้,2552)

วิธีย้อมสีแกรม

1. หยด crystal violet ลงบนแผ่นสไลด์ที่มีเชื้อทิ้งไว้ 1 นาที
2. เทสีออกล้างด้วยน้ำเบาๆจากนั้นหยด iodine ทิ้งไว้ 1 นาทีเพื่อให้สีย้อมติดดีขึ้น
3. เทออกล้างด้วยน้ำเบาๆ หยด decolorizer 3-4 หยด ล้างน้ำออกเบาๆอย่างรวดเร็ว
4. ย้อมด้วย safranin O เป็นเวลา 30 วินาที
5. ล้างออกด้วยน้ำเบาๆ ซับน้ำออกจากสไลด์ปล่อยให้แห้งสนิทด้วยอากาศ
6. นำไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบต่อไป

ภาคผนวก ค

Indole butyric acid (IBA)