

ศักยภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อต้านโรคกาบใบเน่าของข้าวไรซ์เบอร์รี่
สาเหตุจากเชื้อรา *Sarocladium oryzae*

Potential of Antagonistic Microorganisms Against Sheath Rot Disease of
Riceberry Caused by *Sarocladium oryzae*

ศศิศ คมวีระวงศ์¹ และ วรณวิไล อินทนู^{1*}

Sasit Khomweerawong¹ and Wanwilai Intanoo^{1*}

Received 13 May 2024, Revised 13 July 2024, Accepted 19 July 2024

ABSTRACT

Riceberry sheath rot caused by *Sarocladium oryzae* significantly reduces rice production in both quantity and quality. This study aimed to evaluate the effectiveness of antagonistic microorganisms in inhibiting *S. oryzae* *in vitro* and controlling sheath rot disease of riceberry *in vivo*. *S. oryzae* was isolated from riceberry showing symptoms of sheath rot and dirty panicle using the tissue transplanting method and confirmed for pathogenicity. Efficiency test of seven species of antagonistic microorganisms in inhibiting the growth of *S. oryzae* in laboratory conditions using the dual culture method on potato dextrose agar medium. It was found that the yeast *Torulaspora indica* DMKU-RP31 was able to inhibit the growth of *S. oryzae* the most, with a percentage inhibition of pathogenic fungi at 22.67%, while other antagonistic microorganisms were inhibited at 6 - 20.67%. Evaluating the ability to control sheath rot disease in greenhouse conditions by spraying cells or suspended spores of antagonistic microorganisms at a concentration of 1.0×10^5 cells per ml. on the leaf sheaths of 75-day-old riceberry once during pregnancy compared with the control method that uses water. When the rice was 103 days old, it was found that *Trichoderma asperellum* CB-Pin-01, *T. indica* DMKU-RP31, and *Bacillus amyloliquefaciens* reduced the sheath rot disease index compared to the control treatment. The disease incidence index was found to be 11.23%, 12.54%, and 13.22%, respectively, while the control method had a disease incidence index as high as 42.53%.

Keywords: Antagonist microorganisms, Riceberry, Sheath rot disease, Dirty panicle disease

บทคัดย่อ

โรคกาบใบเน่าของข้าวไรซ์เบอร์รี่สาเหตุจากเชื้อรา *Sarocladium oryzae* เป็นโรคหนึ่งที่สำคัญ ทำให้ผลผลิตข้าวลดลงทั้งปริมาณและคุณภาพ การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อการยับยั้งเชื้อรา *S. oryzae* ในห้องปฏิบัติการ และควบคุมโรคกาบใบเน่าของข้าวไรซ์เบอร์รี่ใน

¹ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ต.กำแพงแสน อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Sean, Kasetsart University Kamphaeng Sean Campus, Kamphaeng Saen, Kamphaeng Saen, Nakhon Pathom 73140, Thailand. Nakhon Pathom 73140, Thailand.

* Corresponding author: Tel. 08-7482-3121, E-mail address: agrwli@ku.ac.th

โรงเรือนปลูกพืชทดลอง เชื้อรา *S. oryzae* ที่ใช้ทดสอบแยกได้จากข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่แสดงอาการกาบใบเน่า และเมล็ดต่างด้วยวิธี tissue transplanting และผ่านการพิสูจน์การเกิดโรคแล้ว การทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ 7 สปีชีส์ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *S. oryzae* ในสภาพห้องปฏิบัติการโดยใช้วิธี dual culture บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar ผลการทดลองพบว่ายีสต์ *Torulaspora indica* DMKU-RP31 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *S. oryzae* ได้ดีที่สุดโดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคอยู่ที่ 22.67% ในขณะที่จุลินทรีย์ปฏิปักษ์อื่นยับยั้งได้ 6 – 20.67% การทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคกาบใบเน่าในสภาพโรงเรือนปลูกพืชทดลองโดยพ่นเซลล์หรือสปอร์แขวนลอยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ความเข้มข้น 1.0×10^5 เซลล์ต่อมล. บริเวณกาบใบของข้าวไรซ์เบอร์รี่อายุ 75 วัน 1 ครั้ง ในระยะตั้งท้อง เทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ใช้น้ำพบว่าเมื่อข้าวมีอายุ 103 วัน เชื้อรา *Trichoderma asperellum* CB-Pin-01, *T. indica* DMKU-RP31 และ *Bacillus amyloliquefaciens* สามารถลดดัชนีการเกิดโรคกาบใบเน่าได้เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม โดยพบดัชนีการเกิดโรค 11.23%, 12.54% และ 13.22% ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมพบดัชนีการเกิดโรคสูงถึง 42.53%

คำสำคัญ: จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ข้าวไรซ์เบอร์รี่ โรคกาบใบเน่า โรคเมล็ดต่าง

คำนำ

ข้าว (Rice) (*Oryza sativa* L.) เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่มีความสำคัญอย่างมากต่อมนุษย์และสัตว์กินพืช ซึ่งนับว่าเป็นหนึ่งในพืชเศรษฐกิจหลักที่มีความสำคัญต่อประเทศไทย (พินิจ, 2555) เนื่องจากประชากรส่วนใหญ่ของโลกบริโภคข้าวเป็นอาหารหลักเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่ให้พลังงานแก่ร่างกายเกษตรกรภายในประเทศไทยส่วนใหญ่มีอาชีพทำนาปลูกข้าว ผลผลิตที่ได้นอกจากบริโภคภายในประเทศแล้ว ส่วนที่เหลือก็ส่งออกไปจำหน่ายทำให้มีรายได้เข้าประเทศอย่างมาก ข้าวไรซ์เบอร์รี่ (Riceberry) เป็นข้าวเจ้าสายพันธุ์ที่พัฒนาพันธุ์โดยการผสมข้ามพันธุ์ระหว่างข้าวเจ้าหอมนิลของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (พันธุ์พ่อ) กับ ข้าวมะลิ 105 จากสถาบันวิจัยข้าว (พันธุ์แม่) เริ่มผสมพันธุ์เมื่อ ปี พ.ศ. 2545 ณ ศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม มีลักษณะเป็นข้าวเจ้าสีม่วงดำ เมล็ดมีลักษณะนุ่มเหนียว มีคุณค่าทางโภชนาการสูง (สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2555) อุดมด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ เบต้าแคโรทีน แกมมาโอไรซานอล วิตามินอี แทนนิน สังกะสี แต่การปลูกข้าวไรซ์เบอร์รี่ ให้ได้ผลผลิตที่มีปริมาณและคุณภาพสูง จำเป็นต้องมีการดูแลอย่างเหมาะสม และข้อจำกัดต่าง ๆ ของการทำเกษตรอินทรีย์ ทำให้เสี่ยงต่อการเกิดโรคต่าง ๆ

โรคกาบใบเน่า (sheath rot) ซึ่งเกิดจากเชื้อ

รา *Sarocladium oryzae* Gams and Hawksworth, 1975 มีการระบาดแพร่หลายในข้าวนาปรัง เกิดได้ทุกฤดู ส่งผลให้ข้าวเสียหายไม่ติดรวงมากกว่า 70 % (วันิดา และคณะ, 2562) ส่วนใหญ่ข้าวแสดงอาการในระยะตั้งท้อง อาการที่พบคือเป็นแผลรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าสีน้ำตาล ตรงกลางมีสีเทาอ่อน ขอบแผลสีน้ำตาลเข้มกระจายทั่วกาบใบและเมื่อแผลขยายใหญ่จนเต็มกาบใบ จะทำให้เมล็ดลีบและเป็นหมัน ติดดอกต่อรวงลดลง (Sakthivel, 2001) นอกจากนี้ เชื้อรา *S. oryzae* ยังเป็นหนึ่งในเชื้อราสาเหตุของโรคเมล็ดต่าง (dirty panicle) (กวินธรพร, 2559) ส่งผลให้ปริมาณข้าวสารที่ได้หลังจากสีลดลงอย่างมาก

การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ เป็นหนึ่งในวิธีการป้องกันความเสียหายที่เกิดกับผลผลิตข้าว เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มีกลไกที่ใช้ในการควบคุมโรคได้แก่ การแข่งขัน การเป็นปรสิต การสร้างสารปฏิชีวนะ และการชักนำให้พืชเกิดการต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรค โดยมีรายงานว่าแบคทีเรียในจีนัส *Bacillus* เช่น *B. amyloliquefaciens* Priest, 1987 และ *B. subtilis* Ehrenberg, 1835 สามารถควบคุมเชื้อ *Fusarium* spp. สาเหตุโรคดอกฝักดาบ ซึ่งเป็นหนึ่งในเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างได้ (Sakalauskas *et al.*, 2014) เชื้อรา *Trichoderma* sp. สามารถควบคุมโรคกาบใบเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn, 1858

(เสริมวิทย์ และคณะ, 2564) และยังมีรายงานว่าการใช้ยีสต์ปฏิบัฏ เช่น และ *Torulaspora indica* Saluja, 2012 ไอโซเลต DMKU-RP31, *T. indica* ไอโซเลต DMKU-RP35 และ *Wickerhamomyces anomalus* Kurtzman, 2008 ซึ่งเป็นยีสต์ที่แยกได้จากบริเวณพื้นผิวของข้าว สามารถควบคุมโรคกาบใบแห้งที่เกิดจากเชื้อรา *R. solani* ได้ทั้งในห้องปฏิบัติการและในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง (Into *et.al.*, 2020) การวิจัยในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิบัฏ ที่คัดเลือกในการควบคุมโรคกาบใบเน่าในข้าวไรซ์เบอร์รี่

อุปกรณ์และวิธีการ

การเก็บตัวอย่างข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่แสดงอาการกาบใบเน่า

เก็บตัวอย่างข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่แสดงอาการของโรคกาบใบเน่าภายในมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ในช่วงฤดูหนาว เดือนพฤศจิกายน ปีพ.ศ.2562 โดยสุ่มเก็บตัวอย่างข้าวไรซ์เบอร์รี่ 5 จุดภายในแปลงข้าว คือ บริเวณมุมทั้ง 4 และตรงกลางของแปลงข้าว ในระยะเริ่มออกรวง เก็บรวงข้าวพร้อมกาบใบ จุดละ 15 ตัวอย่าง เก็บรักษาโดยการตากตัวอย่างให้แห้ง โดยผึ่งลมเป็นเวลา 4 ชั่วโมง และนำเข้าห้องเย็นที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อนำไปทดสอบในขั้นตอนถัดไป

การแยกเชื้อบริสุทธิ์และศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราสาเหตุโรค

นำตัวอย่างข้าวที่แสดงอาการไปแยกเชื้อราด้วยวิธี Tissue transplanting โดยตัดชิ้นส่วนบริเวณรอยต่อระหว่างเนื้อเยื่อดีและเนื้อเยื่อที่เกิดโรคขนาด 5x5 มม. ล้างด้วยน้ำสะอาด จากนั้นฆ่าเชื้อภายนอกด้วย 1.25% sodium hypochlorite เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ รินน้ำออกและนำเนื้อเยื่อพืชไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) 4 ชื้น บ่มที่อุณหภูมิห้อง (25°C) เป็นเวลา 2-7 วัน หลังจากนั้นย้ายเชื้อราที่แยกได้ลงบนอาหาร PDA ที่เติมสารปฏิชีวนะสเตربتอมัยซิน เพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อแบคทีเรียบริเวณพื้นผิวของชิ้นเนื้อเยื่อ และบ่มเป็นเวลา 7 วัน แยกเชื้อ

ให้บริสุทธิ์ ด้วยวิธี Single spore isolation โดยเจือจางสปอร์ของเชื้อราที่แยกได้ให้มีความเข้มข้น 1.0×10^2 สปอร์ต่อมล. จากนั้นนำไปเกลี่ยบนอาหาร Water agar (WA) บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จึงย้ายสปอร์เดี่ยวภายใต้กล้องจุลทรรศน์ใช้แสงแบบสเตอริโอ ไปไว้บนอาหาร PDA และบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7-10 วัน เพื่อใช้ในขั้นตอนถัดไป

พิสูจน์การเกิดโรคโดยนำเชื้อราที่แยกได้จากขั้นตอนก่อนหน้า เตรียมเป็นสปอร์แขวนลอยที่มีความเข้มข้น 1.0×10^5 สปอร์ต่อมล. พ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อราสาเหตุโรคบริเวณกาบใบของข้าวไรซ์เบอร์รี่อายุ 75 วัน เมื่อผ่านไป 21 วันหลังจากพ่นเชื้อราสาเหตุโรค สังเกตอาการและเก็บตัวอย่างข้าวที่แสดงอาการของโรคกาบใบเน่า นำไปแยกเชื้อราด้วยวิธี Tissue transplanting และ Single spore isolation ซ้ำอีกครั้ง

จำแนกชนิดเชื้อราโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ ลักษณะโคโลนี (colony) ลักษณะก้านชูโคโคนีเดีย (conidiophores) และลักษณะของโคโคนีเดีย (conidia) เช่น สี ขนาด รูปร่าง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ใช้แสงแบบธรรมดา ตามรายงานของ Giraldo *et.al.*, (2015)

การทดสอบความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิบัฏต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Sarocladium oryzae* บนอาหารในห้องปฏิบัติการ

จุลินทรีย์ปฏิบัฏที่นำมาทดสอบในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เชื้อแบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ คือ *B. amyloliquefaciens*, *B. cereus* Frankland, 1887, *B. subtilis* และ เชื้อรา *Trichoderma asperellum* Samuels, 1999 ไอโซเลต CB-Pin-01 (Schoch *et.al.*, 2020) ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากห้องปฏิบัติการควบคุมโรคพืชโดยชีวภาพ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน และ ยีสต์ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ และ *T. indica* DMKU-RP31, *T. indica* DMKU-RP35 และ *W. anomalus* DMKU-RP25 (Into *et.al.*, 2020) ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จาก ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ทำการ

ทดลองโดยใช้วิธี Dual culture โดยแบ่งลักษณะการวางแผนเป็น 2 แบบตามความเหมาะสมของกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ คือแบบที่ 1.วางเชื้อรา *S. oryzae* อายุ 7 วัน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มม. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มุมด้านหนึ่งห่างจากขอบ 1.5 ซม. ก่อนวางเชื้อจุลินทรีย์ปฏิบัติการเป็นเวลา 10 วัน แล้ววาง *T. asperellum* CB-Pin-01 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มม. ในฝั่งตรงข้ามห่างจากขอบ 1.5 ซม. บ่มที่อุณหภูมิห้องและบันทึกผลการทดลองที่ 5 7 และ 14 วัน (เสริมวิทย์ และคณะ, 2564) แบบที่ 2.วางเชื้อรา *S. oryzae* อายุ 7 วัน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มม. บริเวณตรงกลางของจานเลี้ยงเชื้อ PDA ก่อนเชื้อจุลินทรีย์ปฏิบัติการเป็นเวลา 10 วัน แล้ว streak เชื้อแบคทีเรีย หรือ ยีสต์เป็นเส้นตรง ทั้งสองฝั่งห่างจากขอบ 1.5 ซม. (Into *et.al.*, 2020) บ่มที่อุณหภูมิห้องและบันทึกผลการทดลองที่ 5 7 และ 14 วัน จากนั้นนำผลที่ได้ไปคำนวณการหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราและหาอัตราการคลุมทับของเชื้อรา *T. asperellum* CB-Pin-01 นำค่าที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติ โดยใช้โปรแกรม R ของ The R Project for Statistical Computing มีระดับนัยสำคัญของปัจจัยทั้งหมด ($\alpha=0.05$)

วิเคราะห์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา (%) (เสริมวิทย์, 2564) ตามสูตร

การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา (%) = $[(R1 - R2) \div R1] \times 100$

เมื่อ R1 คือ ระยะทางที่เชื้อราสาเหตุโรคสามารถเจริญบนอาหารในกรรมวิธีควบคุม (ซม.) และ R2 คือ ระยะทางที่เชื้อราสาเหตุโรคสามารถเจริญบนอาหารในกรรมวิธี Dual culture (ซม.)

วิเคราะห์หาอัตราการคลุมทับของเชื้อรา *T. asperellum* CB-Pin-01 (เสริมวิทย์ และคณะ, 2564) ตามสูตร

อัตราการคลุมทับของเชื้อรา *T. asperellum* CB-Pin-01 = $(D \times 1) \div T$

เมื่อ D คือ ระยะทางที่เชื้อรา *T. asperellum* CB-Pin-01 เจริญคลุมทับเชื้อโรค ซึ่งเริ่มวัดจากจุดที่วางเชื้อ *T. asperellum* CB-Pin-01 คลุมทับเชื้อโรคจน

สุดขอบจานเลี้ยงเชื้อ และ T คือ ระยะเวลาที่เชื้อแต่ละไอโซเลตใช้ในการเจริญคลุมทับเชื้อโรคจนสุดขอบจานเลี้ยงเชื้อ

การทดสอบความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิบัติการในการควบคุมโรคกาบใบเน่าของข้าว ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Sarocladium oryzae* ในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง

การเตรียมพันธุ์ข้าว โดยใช้ข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ จากศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขต กำแพงแสน โดยแช่เมล็ดข้าวในน้ำสะอาดสำหรับปลูก 30 เมล็ด ต่อหนึ่งกรรมวิธี และอีก 30 เมล็ด สำหรับชุดควบคุม แช่ไว้เป็นเวลา 24 ชม. ก่อนจะเทน้ำออก จากนั้นบ่มต่ออีก 24 ชม. จึงนำไปปลูกในถาดเพาะจนข้าวมีอายุ 21 วัน ย้ายข้าวไปปลูกในบ่อซีเมนต์ขนาดผ่านศูนย์กลาง 60 ซม. กรรมวิธีละ 6 บ่อ บ่อละ 5 ต้น

การเตรียมเชื้อราสาเหตุโรค โดยเลี้ยงเชื้อรา *S. oryzae* บนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิห้อง (25°C) เป็นเวลา 14 วัน นำเชื้อราที่ได้มาเตรียมสปอร์แขวนลอยที่มีความเข้มข้นของสปอร์อยู่ที่ 1.0×10^5 สปอร์ต่อ มล. ฟนบนกาบใบของข้าวในระยะตั้งท้อง (75 วันหลังปลูก)

การเตรียมจุลินทรีย์ปฏิบัติการ โดยใช้ชีวภัณฑ์จากห้องปฏิบัติการควบคุมโรคพืชโดยชีวภาพ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ได้แก่ ชีวภัณฑ์แบคทีเรียชนิดผง เบอร์ 1 (*B. subtilis*) เบอร์ 2 (*B. amyloliquefaciens*) เบอร์ 3 (*B. cereus*) และชีวภัณฑ์เชื้อราไตรโคเดอร์มา ชนิดน้ำ (*T. asperellum* CB-Pin-01) และยีสต์ ได้แก่ *T. indica* DMKU-RP31 และ *T. indica* DMKU-RP35 และ *W. anomalus* DMKU-RP25 ซึ่งเลี้ยงบนอาหาร Yeast Malt medium (YM) ปรับความเข้มข้นเซลล์แขวนลอยให้มี 1.0×10^5 เซลล์ต่อมล. ฟนเชื้อจุลินทรีย์ปฏิบัติการก่อนปลูกเชื้อรา *S. oryzae* สาเหตุโรคกาบใบเน่าเป็นเวลา 7 วัน ตรวจผลด้วยการวัดขนาดแผลที่กาบใบข้าวและประเมินโรคบนเมล็ดข้าว สังเกตอาการของโรคที่เกิดขึ้นบนกาบใบและรวงข้าวด้วยสายตาที่ 21 วัน

หลังปลูกเชื้อสาเหตุโรค แยกลักษณะอาการของโรคกาบใบเน่า (International Rice Research Institute (IRRI), 2013) และอาการของโรคเมล็ดต่าง จากนั้นสุ่มเมล็ด 400 เมล็ด จากเมล็ดข้าวทั้งหมดของแต่ละกรรมวิธี ตามวิธีของ IRRI, (2013) ดัง Table 1 นำค่าที่ได้ไปวิเคราะห์ค่าทางสถิติ โดยใช้โปรแกรม R ของ The R Project for Statistical Computing มีระดับนัยสำคัญของปัจจัยทั้งหมด ($\alpha=0.05$)

วิเคราะห์ความรุนแรงของโรคกาบใบเน่า โดยการหาดัชนีการเกิดโรค (McMaugh, 2005) ตามสูตร

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค (\%)} = [(A \times 0) + (B \times 1) + (C \times 2) + (D \times 3) + (E \times 4) + (F \times 5) \div (N \times 5)] \times 100$$

เมื่อ A, B, C, D, E และ F คือจำนวนรวงที่มีคะแนนการเกิดโรคที่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ตามลำดับ และ N คือจำนวนรวงทั้งหมดที่ทดสอบ

Table 1 The symptoms of rice sheath rot disease and dirty panicle disease at different scores (IRRI, 2013)

Level	Disease severity	
	sheath rot disease	rice dirty panicle disease
0	No symptoms	No symptoms
1	Show spot lesions less than 1% on flag leaf sheath area and panicle emergence normal	Show spot lesions smaller than 0.1 mm, less than 5% of seed area
2	Show spot lesions from 1-5% on flag leaf sheath area and panicle emergence normal	Show spot lesions larger than 0.1 mm, 6-25% of seed area
3	Show spot lesions from 6-25% on flag leaf sheath area and 75% of the panicle emerged	Show black lesions less than 50% of seed area
4	Show spot lesions from 26-50% on flag leaf sheath area and 50% of the panicle emerged	Show black lesions larger than 50% of seed area
5	Show spot lesions from 51-100% on flag leaf sheath area and 25% of the panicle emerged	Show black lesions larger than 75% of seed area and undeveloped kernels

วิเคราะห์ความรุนแรงของโรคเมล็ดต่าง โดยการหาดัชนีการเกิดโรค (McMaugh, 2005) ตามสูตร

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค (\%)} = [(NA \times 0) + (NB \times 1) + (NC \times 2) + (ND \times 3) + (NE \times 4) + (NF \times 5) \div (N \times 5)] \times 100$$

เมื่อ NA, NB, NC, ND, NE และ NF คือจำนวนเมล็ดที่มีคะแนนการเกิดโรคที่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ตามลำดับ และ N คือจำนวนเมล็ดทั้งหมดที่ได้จากการสุ่ม (400 เมล็ด ของแต่ละกรรมวิธี)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง การแยกเชื้อสาเหตุโรคและศึกษาลักษณะทาง สัณฐานวิทยา

จากการเก็บตัวอย่างข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ปลูกในแปลงนาภายในพื้นที่มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ช่วงต้นเดือนธันวาคม พ.ศ. 2562 สามารถแยกเชื้อราที่มีลักษณะเส้นใยสีขาวได้ 4 ไอโซ

เลต นำเชื้อราทั้ง 4 ไอโซเลต ไปพิสูจน์การเกิดโรคพบว่าหลังจากพ่นเชื้อสาเหตุโรค 21 วัน เชื้อราทั้ง 4 ไอโซเลตสามารถทำให้เกิดโรคกาบใบเน่าที่บริเวณกาบใบของข้าวไรซ์เบอร์รี่ได้ โดยมีลักษณะอาการของโรคเช่นเดียวกับอาการของโรคที่แยกได้ในรอบแรก จึงเลือกนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไปเพียงไอโซเลตเดียว

เมื่อนำเชื้อราที่ได้มาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่าเชื้อราที่มีลักษณะโคโลนีเป็นสีขาวฟู ได้โคโลนีเป็นสีส้มอ่อน เมื่อนำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า พบก้านชูสปอร์ (Conidiophore) มี phialides แตกกิ่งประมาณ 3 - 4 กิ่ง สปอร์มีลักษณะเป็นทรงกระบอก หัวและท้ายมน ไม่มีผนังกัน มีขนาดประมาณ 6.0×1.5 ไมโครเมตร ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของวนิดา และคณะ (2562) ที่ได้ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาไว้ โดยเชื้อรา *S. oryzae* ที่แยกได้มีอัตราการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ เท่ากับ 2.7 มม. ต่อวัน

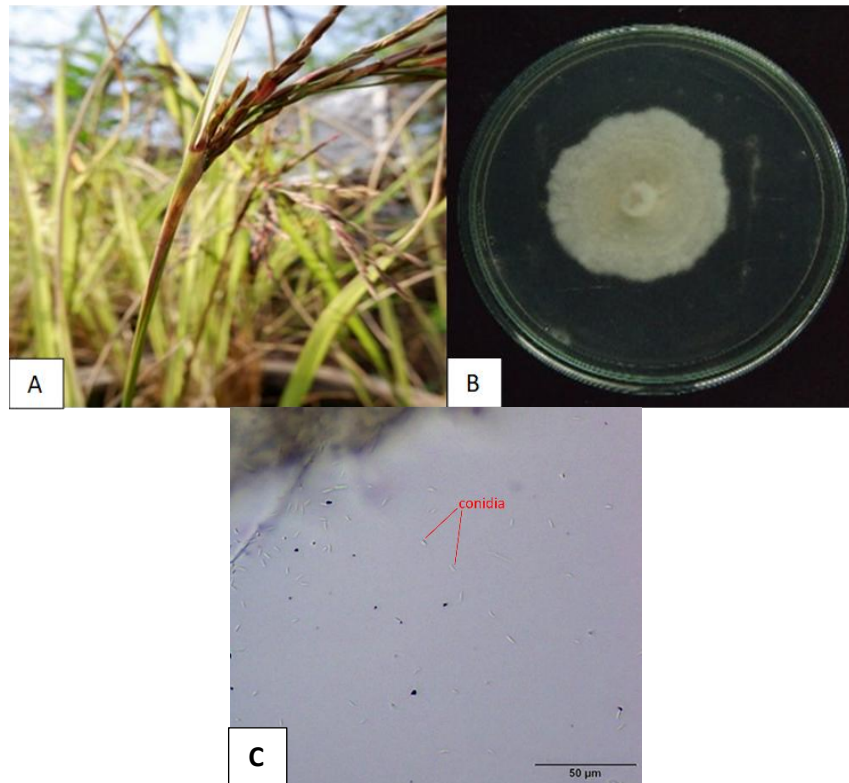


Figure 1 Sheath rot disease and Morphological of *Sarocladium oryzae* A: The symptoms on flag leaf sheaths, B: colony of *S. oryzae* on PDA, after incubation for 7 days and C: conidia of *S. oryzae*

ความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญเชื้อรา *Sarocladium oryzae* บนอาหารในห้องปฏิบัติการ

จากการทดสอบการเป็นปฏิปักษ์เมื่อผ่านไป 7 วัน นับจากวันที่วางเชื้อราสาเหตุโรค พบว่ายีสต์ปฏิปักษ์ 2 สายพันธุ์ สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคได้ดีกว่าเชื้อราและ แบคทีเรียปฏิปักษ์อื่น ๆ โดยยีสต์ปฏิปักษ์ *T. indica* DMKU-RP31 และ *T. indica* DMKU-RP35 สามารถยับยั้งเชื้อรา *S. oryzae* ได้ดีที่สุดโดยไม่แตกต่างกันทางสถิติเท่ากับ 22.67% และ 20.67% ตามลำดับ รองลงมาคือ *T. asperellum* CB-Pin-01 และ *B. amyloliquefaciens* เท่ากับ 16.2% และ 16% ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติเช่นกัน ส่วน *B. subtilis* และ *B. cereus* ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. oryzae* ได้ (Table 2) และจากการหาอัตราการเจริญคลุมทับของเชื้อรา *T. asperellum* CB-Pin-01 พบว่ามีอัตราการเจริญคลุมทับอยู่ที่ 0.41 ซม.ต่อวัน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Deb and Khair (2018) ที่พบว่าการใช้ *T. harzianum*,

T. viridae และ *T. hamatum* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *S. oryzae* ได้ระหว่าง 36.40%-56.99% เนื่องจากมีการสร้างสารปฏิชีวนะ เช่น butanolide, harzianolide ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรค Benitez *et.al.*, (2004) พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. มีความสามารถในการแข่งขัน (Competition) การพันรัดและเข้าทำลายเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรค (Mycoparasitism) ได้ การใช้ *B. amyloliquefaciens* สอดคล้องกับรายงานของ Surya *et.al.*, (2020) ที่พบว่าสามารถใช้ *Bacillus* spp. ในการยับยั้งเชื้อรา *S. oryzae* ได้ โดย *Bacillus* spp. สร้างสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา ได้แก่ Pyrrole (1,2-a)pyrazine-1,4-dione, hexahydro, 9-Octadecenol, 1- Propanol, 2, 2- dimethyl-acetate, Butanoic acid, 2- methyl-, N,N-Dimethyl, 3- Heptanone, 5- ethyl-4-methyl-, Phenol, Benzeneacetic acid จากรายงานของ จุฬารัตน์ และคณะ (2564) พบว่า *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลต SR-31 มีการสร้าง Fengycin และ lipodecapeptide ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุ

โรค Das *et al.*, (2012) พบว่า *B. amyloliquefaciens* มีการสร้างเอนไซม์ Chitinase ซึ่งทำหน้าที่ในการทำลายผนังเซลล์ของเชื้อสาเหตุโรค แต่การใช้ *B. subtilis* และ *B. cereus* ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *S. oryzae* ได้ อาจเกิดจากเชื้อรา *S. oryzae* สร้างสารปฏิชีวนะบางชนิดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Zhang *et al.*, (2021) ที่พบว่าเชื้อรา *S. oryzae* บางไอโซเลต สามารถสร้างสาร Helvolic Acid ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียต่างๆ เช่น *Staphylococcus aureus*, *B. subtilis*, และ *B. cereus*

เป็นต้น สาเหตุที่ *T. indica* DMKU-RP31 และ *T. indica* DMKU-RP35 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. oryzae* ได้ดีกว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สายพันธุ์อื่น ๆ อาจเกิดจากกลไกการเป็นปฏิปักษ์ต่างๆ เช่นการผลิตสารปฏิชีวนะ การสร้างเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Into *et al.*, (2020) ที่พบว่ายีสต์ปฏิปักษ์ได้แก่ *W. anomalous* DMKU-RP25, *T. indica* DMKU-RP31 และ *T. indica* DMKU-RP35 มีการสร้างเอนไซม์ β -Glucanase และ Chitinase ซึ่งสามารถทำลายผนังเซลล์ของเชื้อสาเหตุโรค ทำให้สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคกาบใบแห้งในข้าวได้

Table 2 Antagonistic activity of antagonistic microorganisms to inhibit mycelial growth of *Sarocladium oryzae* by dual culture plate method 5 days after pasting antagonistic microorganism

Treatment	Percentage inhibition of radial growth ^{1/} (%)
Control	0.00 d ^{2/}
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	16.00 b
<i>Bacillus cereus</i>	0.00 d
<i>Bacillus subtilis</i>	0.00 d
<i>Torulaspora indica</i> DMKU-RP31	22.67 a
<i>Torulaspora indica</i> DMKU-RP35	20.67 a
<i>Trichoderma asperellum</i> CB-Pin-01	16.20 b
<i>Wickerhamomyces anomalous</i> DMKU-RP25	6.00 c
> cv.model (md)	20.88

Note: ^{1/}Percentage inhibition of radial growth = $(R1-R2/R1) \times 100$

^{2/}Means in a column followed by the same letter are not significantly different by Least Significance Difference Test (LSD) at $P \geq 0.05$.

ความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคกาบใบเน่า ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Sarocladium oryzae* ในสภาพโรงเรือนปลูกพืชทดลอง

จากการทดสอบการใช้ชีวภัณฑ์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ฉีดพ่นข้าวอายุ 75 วัน ในระยะตั้งท้อง พบว่าความรุนแรงของโรคกาบใบเน่าลดลงในทุกกรรมวิธีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมหลังจากปลูกเชื้อสาเหตุโรค 21 วัน จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีความสามารถควบคุมโรคกาบใบเน่าได้ดีที่สุด คือ *T. asperellum* CB-Pin-01 โดยมีความ

รุนแรงของโรคกาบใบเน่าอยู่ที่ 11.23% และรองลงมาคือ *T. indica* DMKU-RP31, *B. amyloliquefaciens* และ *T. indica* DMKU-RP35 ที่มีความรุนแรงของโรคกาบใบเน่า 12.54%, 13.22% และ 13.71% ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมมีความรุนแรงของโรคถึง 42.53% สอดคล้องกับผลการทดลองในห้องปฏิบัติการ ที่การใช้ยีสต์ปฏิปักษ์ทั้ง 2 สายพันธุ์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคกาบใบเน่าได้ดี แต่สิ่งที่แตกต่างจากในห้องปฏิบัติการ คือ เชื้อรา *T. asperellum* CB-Pin-01 ที่สามารถควบคุมทั้ง 2 โรคได้ดีกว่ายีสต์ อาจเกิดจากความสามารถในการมีชีวิต

รอดในสภาพธรรมชาติของเชื้อรา *T. asperellum* CB-Pin-01 และสามารถครอบครองพื้นที่บริเวณพื้นผิวของกาบใบข้าวได้ สอดคล้องกับรายงานของวารินและคณะ (2561) หลังจากพ่นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ 30 วัน สามารถพบเชื้อจุลินทรีย์ได้ โดยพบปริมาณเชื้อรา *T. asperellum* เท่ากับ 0.17×10^6 CFU ต่อกรัม และสามารถครอบครองใบข้าวได้ 97.5% ในขณะที่ *B. subtilis* NST-008 ครอบครองใบได้ 53% ในรายงานของเสริมวิทย์ และคณะ (2564) พบว่า *T. asperellum* สามารถลดความรุนแรงของโรคกาบใบแห้งหลังพ่น 14 วัน เท่ากับ 41.33% และเมื่อผ่านไป 21 วัน เท่ากับ 29.06% สาเหตุที่ *T. asperellum* ควบคุมโรคกาบใบแห้งได้ทั้งนี้อาจเนื่องจากเชื้อรา *Trichoderma* spp. มีกลไกหลายอย่างที่เกี่ยวกับการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคพืชและการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (PGPR) (Harman, 2006) สาเหตุที่ยีสต์ทั้ง 2 สายพันธุ์สามารถควบคุมโรคกาบใบแห้งและโรคของข้าวซึ่งเกิดจากเชื้อรา ได้เนื่องจากยีสต์มีกลไกที่เกี่ยวข้องกับการปฏิบัติต่างๆ มีการเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อรา เช่น Chitinase, β -Glucanase เป็นต้น นอกจากนี้อรุณชาญ (2553) ยังกล่าวว่ายีสต์บางสายพันธุ์มีกลไกในการปฏิบัติอื่นๆ ได้แก่ การเจริญแก่แย่งอาหารการชักนำให้พืชเกิดการต้านทาน การผลิตสารพิษที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรค และสอดคล้องกับรายงานของ Into *et.al.*, (2020) ที่รายงานการใช้ยีสต์ปฏิปักษ์ในการ

ควบคุมโรคกาบใบแห้ง ที่พบว่า *T. indica* DMKU-RP31 ลดความรุนแรงโรคอยู่ที่ 70.3% รองลงมาคือ *T. indica* DMKU-RP35 ลดความรุนแรงโรคอยู่ที่ 66% โดยยีสต์ทั้งสองชนิดมีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ chitinase ในการย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อราได้

เมื่อวัดความรุนแรงของโรคเมล็ดต่างพบว่ากรรมวิธีที่มีการใช้ชีวภัณฑ์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์มีความรุนแรงของโรคน้อยกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่สามารถควบคุมโรคเมล็ดต่างได้ดีที่สุด คือ *T. asperellum* CB-Pin-01 มีความรุนแรงของโรคเมล็ดต่างอยู่ที่ 10.1% รองลงมาคือ *T. indica* (DMKU-RP35), *T. indica* (DMKU-RP31) และ *B. amyloliquefaciens* โดยมีความรุนแรงของโรคเมล็ดต่างอยู่ที่ 12.54%, 16.08% และ 16.18% ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมมีความรุนแรง 37.68% (Table 3) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของปัทมวิษญ์ และคณะ (2561) ที่ศึกษาการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเมล็ดต่างซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Bipolaris oryzae* NS-04 ที่พบว่าหลังใช้ *Trichoderma* sp. NS-03 และ *Bacillus* sp. NS-02 สามารถลดการเกิดโรคเมล็ดได้ โดยพบการเกิดโรคเมล็ดต่างอยู่ที่ 43.77%-52.07% แต่ถ้าหากใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์สองชนิดร่วมกันจะลดความรุนแรงของโรคเมล็ดต่างได้มากขึ้น เนื่องจากกลไกการควบคุมโรคของ *Trichoderma* spp. และ *Bacillus* spp. มีความแตกต่างกันทำให้มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้มากยิ่งขึ้น

Table 3 Disease Severity Index of Sheath rot disease and Dirty panicle disease on Riceberry 21 days after spraying *Sarocladium oryzae*

Treatment	Disease Severity Index: DSI ^{3/} (%)	
	Sheath rot disease	Dirty panicle disease ^{4/}
control + ^{1/}	42.53 h ^{5/}	37.68 f
control - ^{2/}	0.83 a	2.83 a
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	13.22 d	16.18 c
<i>Bacillus cereus</i>	34.42 f	28.12 e
<i>Bacillus subtilis</i>	35.98 g	28.83 e
<i>Torulaspora indica</i> DMKU-RP31	12.54 c	16.08 c
<i>Torulaspora indica</i> DMKU-RP35	13.71 de	15.07 c
<i>Trichoderma asperellum</i> CB-Pin-01	11.23 b	10.10 b
<i>Wickerhamomyces anomalus</i> DMKU-RP25	17.76 e	19.88 d
> cv.model (md)	4.94	7.5

Note: ^{1/}Control with *Sarocladium oryzae*

^{2/}Control without *S. oryzae*

^{3/}Disease Severity Index (%) = [(A × 0) + (B × 1) + (C × 2) + (D × 3) + (E × 4) + (F × 5) + (N × 5)] × 100

^{4/}Dirty panicle disease from random 400 seed/treatment

^{5/}Means in a column followed by the same letter are not significantly different by Least Significance Difference Test (LSD) at $P \geq 0.05$.

สรุปผลการทดลอง

ในห้องปฏิบัติการยีสต์ปฏิบัติได้แก่ *T. indica* DMKU-RP31 และ *T. indica* DMKU-RP35 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคได้ดีที่สุด และการใช้จุลินทรีย์ปฏิบัติได้แก่ *B. amyloliquefaciens*, *B. cereus*, *B. subtilis*, เชื้อรา *T. asperellum* CB-Pin-01, *T. indica* DMKU-RP31, *T. indica* DMKU-RP35 และ *W. anomalus* DMKU-RP25 พ่นเมื่อข้าวมีอายุ 75 วัน ในระยะตั้งท้อง สามารถควบคุมโรคกาบใบเน่าของข้าวสาเหตุจากเชื้อรา *S. oryzae* ในสภาพโรงเรือนได้ โดยกรรมวิธีที่พ่นเชื้อรา *T. asperellum* CB-Pin-01 สามารถควบคุมโรคกาบใบเน่าและเมล็ดต่างได้ดีที่สุด รองลงมาคือ

T. indica DMKU-RP31 และ *B. amyloliquefaciens* โดยพบความรุนแรงของโรคกาบใบเน่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อนำไปใช้ในสภาพแปลงนาต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

กราบขอบพระคุณ ศ.ดร.จิระเดช แจ่มสว่าง และ ศ.ดร.สาวิตรี ลี้มทอง ที่กรุณาอนุเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ในการทดสอบและขอขอบคุณภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน และห้องปฏิบัติการควบคุมโรคพืชโดยชีวภาพ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่สนับสนุนสถานที่ทำการวิจัยในครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วง

เอกสารอ้างอิง

- กวินธรพ์ บุปผา. (2559). การจำแนก *Physiological Races* ของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดต่างข้าว และการประเมินโรคบนข้าวพันธุ์ต่าง ๆ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. iThesis Kasetsart University. <https://www-lib-ku-ac-th.kasetsart.idm.oclc.org/KUthesis/2559/kawinthun-bup-all.pdf>
- จุฬารัตน์ หน่อแก้ว, วันพร เข้มมุกด์, โรเบิร์ต เจมส์ แมกกอฟเวิน และ ชัยวัฒน์ โตอนันต์. (2564). การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Fusarium fujikuroi* สาเหตุโรคถดถอยข้าว. วารสารแก่นเกษตร, 49(1), 144-154.
- ปัทมวิษญ์ เย็นจิตต์, ธิดา เดชชวบ และ วาริน อินทนา. (2561). การประยุกต์ใช้ร่วมกันของผงเชื้อ *Trichoderma* sp. และ *Bacillus* sp. ต่อการควบคุมโรคเมล็ดต่างที่เกิดจาก *Bipolaris oryzae* ในข้าว. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 49(1), 15-26.
- พินิจ จันทร. (2555). 100 พันธุ์ข้าวไทย อาหารสู่ครัวโลก. สำนักพิมพ์ปัญญาชน.
- วนิดา ธรรมธะสาร, ศิริพร ดอนเหนือ, ศิริพร กออินทร์ศักดิ์ และ จินตนา อันอาตม์งาม. (2562). การประเมินความต้านทานต่อโรคกาบใบเน่าและโรคเมล็ดต่างข้าวที่เกิดจากเชื้อรา *Sarocladium oryzae*. วารสารเกษตร, 35(1), 113-123.
- วาริน อินทนา, อรรถกร พรหมวี และ ปัทมวิษญ์ เย็นจิตต์. (2561). เพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมโรคใบขีดสีน้ำตาลข้าวด้วยการใช้ *Trichoderma asperellum* NST-009 ร่วมกับ *Bacillus subtilis* NST-002. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 49(2), 147-158.
- สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. (2555). มหัตถรย์พันธุ์ข้าวไทย คุณค่าก้าวไกลจากวิถีไทยสู่วิถีโลก (2) ข้าวไรซ์เบอร์รี่: ข้าวอินทรีย์เพื่อสุขภาพ. ศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- เสริมวิทย์ กาพภักดี, อรุมา เพี้ยซ้าย, วันวิสา ศิริวรรณ, พิมพ์ กาพภักดี และ เนตรนภิส เขียวขำ. (2564). การประยุกต์ใช้ผงเชื้อ *Trichoderma asperellum* ต่อการควบคุมโรคกาบใบเน่าของข้าวที่เกิดจาก *Rhizoctonia solani*. วารสารแก่นเกษตร, 49(1), 155-166.
- อรุณชาญ ชัยเชาว์วิวัฒน์. (2553). การใช้ยีสต์ควบคุมโรคพืช. วารสารหน่วยวิจัยวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อมเพื่อการเรียนรู้, 1(1), 46-53.
- Benítez, T., Rincón, A. M., Limón, M. C., & Codón, A. C. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*, 7, 249-260.
- Das, M. P., Rebecca, L., Sharmila, D., Anu, Banerjee, A., & Kumar, D. (2012). Identification and optimization of cultural conditions for chitinase production by *Bacillus amyloliquefaciens* SM3. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 4(11), 4816-4821.
- Deb, S. C. & Khair, A. (2018). Control of Seed - Borne Fungi of Rice by *Aspergillus* and *Trichoderma*. *SSRG International journal of Agriculture & Environment Science*, 5(1), 34-39. <https://doi.org/10.14445/23942568/IJAES-V5I1P106>

- Gams, W., & D.L. Hawksworth. (1975). Identity of *Acrocyndrium oryzae* Sawada and a similar fungus causing sheath-rot of rice. *Kavaka*, 3, 57-61.
- Giraldo, A., Gené, J., Sutton, D.A., Madrid, H., De Hoog, G.S., Cano, J., Decock, C., Crous, P.W., & Guarro, J. (2015). Phylogeny of *Sarocladium* (Hypocreales). *Persoonia*. 34, 10–24. <https://doi.org/10.3767/003158515X685364>
- Harman, G. E. (2006). Overview of mechanism and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology*. 96(2), 190–194. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-0190>
- International Rice Research Institute (IRRI). (2013). *Standard Evaluation System (SES) for Rice* (5th ed). IRRI.
- Into, P., Khunnamwong, P., Jindamoragot, S., Am-In, S., Intanoo, W., and Limtong, S. (2020). Yeast Associated with Rice Phylloplane and Their Contribution to Control of Rice Sheath Blight Disease. *Microorganisms*, 8(3), 362. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8030362>
- McMaugh, T. (2005). *Guidelines for Surveillance for Plant Pests in Asia and the Pacific*. ACIAR Monograph No. 119. Australian Centre for International Agricultural Research.
- Sakalauskas, S., Kacergius, A., Janušauskaite, D., & Citavicius, D. (2014). Bacteria with a broad-spectrum of antagonistic against pathogenic fungi of cereals. *Zemdirbyste-Agriculture*, 101(2), 185-192. <https://doi.org/10.13080/z-a.2014.101.024>
- Sakthivel, N. (2001). Sheath rot disease of rice: Current status and control strategies. In: S. Sreenivasaprasad and R. Johnson (Eds.). *Major Fungal Diseases of Rice* (pp. 271-283). Kluwer Academic Publishers.
- Schoch, C. L., Ciufo, S., Domrachev, M., Hottton, C. L., Kannan, S., Khovanskaya, R., Leipe, D., Mcveigh, R., O'Neill, K., Robbertse, B., Sharma, S., Soussov, V., Sullivan, J. P., Sun, L., Turner, S., & Karsch-Mizrachi, I. (2020). NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. *Database The Journal of Biological Databases and Curation*, 2020, baaa062. <https://doi.org/10.1093/database/baaa062>
- Surya, M., Thiruvudainambi, S., Ebenezer, E.G., Vanniarajan, C., Kumutha, K., & Vellaikumar, S. (2020). GC-MS Analysis of antimicrobial compounds produced by *Bacillus* spp. against rice sheath rot pathogen *Sarocladium oryzae*. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 8(1), 1417-1423.
- Zhang, Z. B., Du, S. Y., Ji, B., Ji, C. J., Xiao, Y. W., Yan, R. M., & Zhu, D. (2021). New Helvolic Acid Derivatives with Antibacterial Activities from *Sarocladium oryzae* DX-THL3, an Endophytic Fungus from Dongxiang Wild Rice (*Oryza rufipogon* Griff.). *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(7), 1828. <https://doi.org/10.3390/molecules26071828>